

## Poznámky k použití imunoanalytické soupravy Cystatin C v systémech Beckman Coulter® IMAGE®800

Použití soupravy činidel Gentian Cystatin C Reagent Kit A52761 a uživatelsky definovaných kazet na činidlo IMAGE

### Účel použití

Imunoanalýza Cystatin C v systémech Beckman Coulter® IMAGE® je diagnostický test *in vitro* ke kvantitativnímu stanovení cystatinu C v lidském séru a plazmě. Měření cystatinu C se využívá v diagnostice a léčbě onemocnění ledvin.

### Shrnutí a vysvětlení testu

Neglykosylovaný bazický protein cystatin C (molekulová hmotnost 13,2 kD) se vytváří konstantním tempem prakticky v každé jaderné buňce lidského těla [1]. Je volně filtrován normální glomerulární membránou a následně reabsorbován a téměř zcela katabolizován v proximálních tubulech. Koncentrace cystatinu C v lidské krvi tedy úzce souvisí s rychlostí glomerulární filtrace (GFR) [2]. Snížení GFR způsobuje zvýšení koncentrace cystatinu C. Ukázalo se, že koncentrace cystatinu C není významně ovlivněna dalšími faktory, jako jsou například svalová hmota, zánětlivá onemocnění, pohlaví, věk či způsob stravování [2, 3, 4].

### Standardizace kalibrátoru

Kalibrátor Gentian Cystatin C je standardizován dle mezinárodního kalibračního standardu ERM-DA471/IFCC.

### Výpočet predikce glomerulární filtrace

Bylo publikováno několik predikčních rovnic založených na hodnotě cystatinu C pro výpočet glomerulární filtrace u dospělých i dětí. Je třeba poznamenat, že tyto vzorce byly vyhodnoceny použitím různých analýz cystatinu C (metodou PENIA [particle-enhanced nephelometric immunoassay] nebo PETIA [particle enhanced turbidimetric immunoassay] a při použití nevhodné kombinace vzorce a analýzy mohou přinést nepřesné výsledky glomerulární filtrace. Pro výpočet GFR z hodnot cystatinu C naměřených analýzou Gentian se doporučuje použít následující predikční rovnici využívající jednotku faktoru mg/l [5]: Rovnice platí pro osoby nad 14 let.

$$\text{GFR [ml/min/1,73 m}^2\text{]} = \frac{79,901}{\text{Cystatin C (mg/l)}^{1,4389}}$$

### Princip analýzy

Vzorek lidského séra či plazmy se smísí s imunočásticemi cystatin C immunoparticles. Cystatin C ze vzorku se naváže na anti-Cystatin C protilátku z imunočástic. Vytvořené částice komplexu absorbují světlo. Absorpce se pak turbidimetrií interpolačně vztahuje ke koncentraci cystatinu C ve zjištěné standardní kalibrační křivce. Platformy IMAGE® vypočítají výsledky automaticky.

### Činidla dodaná v soupravě činidel

#### Reakční pufr 1 (R1)

Reakční pufr Cystatin C, 1 lahvička s obsahem 100 ml R1 je fyziologický roztok pufovaný MOPS (3-[N-morfolino] propansulfanová kyselina) a konzervovaný azidem sodným (0,09 % [hmot./obj.]). Pufr je připraven k použití.

#### Reakční pufr 2 (R2)

Imunočástice Cystatin C Immunoparticles, 2 lahvičky s obsahem 10 ml R2 obsahuje imunočástice, což je čištěná frakce imunoglobulinu zacílená proti cystatinu C, jež je kovalentně navázána na uniformní polystyrenové částice. V procesu generování imunočástic byl jako imunogen použit lidský cystatin C. Dodává se jako suspenze připravená k použití, konzervovaná 0,09 % (hmot./obj.) azidu sodného a antibiotiky.

Položky zahrnuté v balení CYSX IMAGE, prodejní skupina REF B69746:	
Souprava činidel Gentian Cystatin C Reagent Kit	REF A52761
Uživatelsky definovaná kazeta na činidlo (10 kusů v balení)	REF 447250
Víčka proti odpařování (20 kusů v balení)	REF 447170
Požadované (nezahrnuté) položky:	
Kalibrační souprava Gentian Cystatin C Calibrator Kit (6x1 ml)	REF A52763
Kontrolní souprava Gentian Cystatin C Control Kit, Low a High, (2x1 ml)	REF A52765

### Varování a bezpečnostní opatření

- Tento test je určen pouze k použití *in vitro* a manipulovat s ním může jen kvalifikovaný personál.
- Činidla obsahují antibiotika a je nutno s nimi zacházet s patřičnou opatrností.
- Činidla jsou konzervována azidem sodným a je nutno s nimi zacházet s patřičnou opatrností. Zamezte náhodnému požití a kontaktu s kůží či sliznicemi. Koncentraci azidu sodného v tomto produktu nelze pokládat za nebezpečnou. Nahromaděný  $\text{NaN}_3$  v olověném a měděném potrubí však může vést k vytváření výbušných azidů kovů. Při vypouštění do odpadu tomuto riziku zamezíte důkladným splachováním.
- Imunočástice obsahují látky živočišného původu. Likvidaci jakéhokoli vyřazeného materiálu je třeba provést v souladu s místními požadavky.
- Sérum použité při výrobě kalibrátorů a kontrolního materiálu prošlo testováním na hepatitidu HBSAG, anti-HCV, anti-HIV1 a anti-HIV2 a bylo shledáno negativním. Materiály však obsahují látky lidského a zvířecího původu a je nutné s nimi zacházet s náležitou péčí. Likvidaci jakéhokoli vyřazeného materiálu je třeba provést v souladu s místními požadavky.

### Skladování a stabilita činidla

Skladovatelnost neotevřených činidel při teplotě 2–8 °C: Viz datum expirace na štítku. Stabilita po otevření: Do vypršení data expirace s použitím pevných víček při teplotě 2–8 °C. Stabilita po otevření: 28 dnů při použití víček proti odpařování.

Výrobky s daty expirace uvedenými ve formátu rok a měsíc expirují poslední den uvedeného měsíce.

### Odběr a manipulace se vzorky

Požadovaným materiálem vzorku je lidské sérum nebo EDTA/heparinizovaná plazma. Doporučujeme analyzovat co nejčerstvější vzorky. Testování stability vzorků však prokázalo, že cystatin C je ve vzorcích séra a plazmy stabilní po dobu 26 dnů při pokojové teplotě (8–25 °C) nebo 26 dnů – při skladování v teplotě 2–8 °C. Navíc bylo publikováno, že vzorky lze při teplotě pod -20 °C skladovat po dobu až 10 let [6]. Před analyzováním vzorky dobře promíchejte.

### Postup analýzy

#### Poznámky k použití/instalaci analýzy

Podrobný seznam parametrů přístroje je k dispozici v níže uvedené kapitole „Parametry přístroje“. Poznámky k použití jsou k dispozici také na webové adrese: [www.gentian.no](http://www.gentian.no). Nastavení, údržba a provoz přístroje s bezpečnostními opatřeními musí být prováděny v souladu s příručkami k přístroji Beckman Coulter® IMAGE®.

## Příprava činidla

Činidla se dodávají připravená k přemístění do kazety na činidlo IMMAGE. V souladu s následující tabulkou přemístěte obsah činidla 1 a činidla 2 do příslušných oddílů uživatelsky definované kazety a při používání nasadte víčka proti odpařování. Postupujte pečlivě, aby nedošlo ke kontaminaci. Nepoužívaná činidla je třeba skladovat zakrytá původními pevnými víčky při teplotě 2–8 °C.

Souprava Cystatin C	Oddíl A	Oddíl B
R1, činidlo, pufr	-	8,5 ml
R2, imunočástice	1,5 ml	-

## Stanovení kalibrační křivky

Ke stanovení 6bodové standardní křivky definované návodech k systémům Beckman Coulter® IMMAGE® použijte standardy 1 až 6. Hodnoty kalibrátoru závisí na šarži a při každém použití nové šarže kalibrátoru musí být provedena nová kalibrace. Přiřazené hodnoty kalibrátoru jsou uvedeny v atestu analytických hodnot dodaném ke kalibrátoru. Jednou za 4 týdny je třeba provést novou kalibraci.

## Kontrolní vzorky

Před rozbohem jakýchkoli vzorků k potvrzení kalibrační křivky musí být každý den nejprve analyzován kontrolní materiál s nízkou a vysokou hodnotou. Kontrolní materiál má přiřazen rozsah hodnot, jenž musí být před měřením vzorků splněn. Přiřazené hodnoty jsou uvedeny v atestu analytických hodnot dodaném ke kontrolní soupravě Gentian Cystatin C Control Kit. Nejsou-li kontrolní hodnoty platné, opakujte kontrolní měření. Jestliže kalibraci nelze provést bez chyby nebo nelze reprodukovat platné kontrolní hodnoty, požádejte o podporu společnost Beckman Coulter®.

## Měření vzorků pacientů

Po provedení platné kalibrace s kontrolními hodnotami v platném rozsahu lze zahájit měření vzorků séra či plazmy. Zkontrolujte, zda je vložen minimální objem vzorku a podle pokynů uvedených v příručkách k systému Beckman Coulter® IMMAGE® proveďte analýzu vzorků.

## Výsledky

systém Beckman Coulter® IMMAGE® vypočítá výsledky automaticky. Výsledky budou uvedeny v mg/l.

## Omezení

Po uplynutí data expirace materiál nepoužívejte.

## Rozsah měření

Rozsah měření cystatinu C v analýze je přibližně 0,4 - 8,0 mg/l. Přesný rozsah závisí na nastavených hodnotách kalibrátoru daného čísla šarže v kalibrační soupravě Gentian Cystatin C Calibrator Kit.

## Referenční intervaly

Při určování převoditelnosti referenčního intervalu postupuje společnost Gentian v souladu s druhým schváleným vydáním směrnice CLSI, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory*. Referenční interval je založen na studii referenčních intervalů skutečně švédským Växjö Hospital se zahrnutím vzorků séra 138 zjevně zdravých jedinců ve věku 20–80 let. Ve vzorcích byl analyzován cystatin C pomocí platformy AU2700. Referenční interval byl vypočten neparametricky a stanoven na 0,53–1,01 mg/l, což představuje střední hodnotu 95 % testované populace. Doporučujeme, aby si každá laboratoř stanovila místní referenční interval, neboť hodnoty se mohou v závislosti na testované populaci lišit.

V samostatné studii zahrnující 850 zdravých dětí (46 % chlapců, 54 % dívek) ve věku 5-15 let bylo ve všech věkových kategoriích až do 5 let věku zjištěno referenční rozmezí mezi 0,51-1,05 mg/l [7].

## Výkonnostní charakteristiky

Všechny studie byly provedeny použitím jedné šarže činidla v jediné laboratoři, pokud není uvedeno jinak.

## Přesnost

Imunoanalýza Gentian Cystatin C byla použita v 3denní studii přesnosti navržené v souladu s protokolem CLSI EP5-A. Měření v systému Beckman Coulter® IMMAGE 800\* byly podrobeny hladiny ve čtyřech směsných sérech a 2 kontrolních materiálech.

ID	Střední hodnota (mg/l)	CV v sérii (%)	CV celkově (%)	N
P1	0,72	1,71	3,86	10
P2	0,62	2,35	5,59	10
P3	0,67	3,74	3,76	10
P4	0,96	1,63	3,10	10
P5	0,82	2,14	6,78	10
P6	2,54	0,67	3,84	10

## Linearita

Imunoanalytická souprava Gentian Cystatin C byla použita ve studii linearity v systému IMMAGE 800, přičemž byl zaznamenán lineární rozsah 0,35–6,79 mg/l. Koncentrace mimo toto rozmezí nebyly testovány.

## Analytická návratnost

Použitím imunoanalytické soupravy Gentian Cystatin C byla v systému Beckman Coulter® IMMAGE 800 zjištěna návratnost 100–110 %.

## Mez stanovitelosti

Použitím imunoanalýzy Gentian Cystatin C byla v přístroji IMMAGE 800 naměřena dolní mez stanovitelosti 0,24 mg/l.

## Bezpečnostní zóna

Ve studii s využitím systému IMMAGE 800 byla pomocí analýzy Gentian Cystatin C rozšířena bezpečnostní zóna pro nadbytek antigenu až na 43 mg/l.

## Interference

Ve studii s hemoglobinem (8 g/l), intralipidem (16 g/l) či bilirubinem (800 mg/l) nebyly ve vzorcích cystatinu C zjištěny žádné významné interference. Studie interferencí byla navržena v souladu s protokolem EP7-A institutu CLSI [8]. V dřívější době nebyly zjištěny žádné významné interference s léky testovanými dle doporučení publikace Sonntag a Scholer [9]. V imunoanalýze Gentian Cystatin C neexistují žádné RF interference, neboť protilátky byly vytvořeny použitím ptačích protilátek (kuřecí) [10].

## Variace mezi přístroji

Bylo provedeno měření variace hodnoty Gentian Cystatin C mezi přístroji IMMAGE a Hitachi 917 a výsledky byly analyzovány Passing-Bablokovou regresní analýzou:

Metody	N	Rozsah vzorků (mg/l)	Výraz	Koeficient	95% interval spolehlivosti koeficientu
IMMAGE 800 versus Hitachi 917	24	0,58–6,97	Úsek na ose y (intercept) Strmost	0,08 1,01	0,05–0,11 0,99–1,03

## Další informace

Podrobnější informace o systémech IMMAGE® naleznete v příslušných příručkách k systémům. Vzhledem k tomu že společnost Beckman Coulter® nevyrobí činidlo ani neprovádí kontroly kvality či další testy jednotlivých šarží, nemůže odpovídat za kvalitu získaných dat ovlivněných působením činidla, kolísáním mezi šaržemi činidla či změnami protokolu výrobce.

## Poškození při přepravě

Při dodání poškozeného výrobku informujte svého dodavatele. Technickou podporu vám poskytne místní zástupce společnosti Beckman Coulter®. Jiné jazykové verze naleznete na webové adrese: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

## Vysvětlení symbolů

	Číslo šarže
	Teplotní meze
	Datum spotřeby
	Viz návod k použití
	Výrobce
	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek in vitro
	Upozornění
	Biologická rizika

## Bibliografie

1. Abrahamson M et al: Biochem J 1990;268:287-94.
2. Laterza OF et al: Clin Chem 2002;48:63-99.
3. Grubb AO. Adv Clin Chem 2000;35:63-99.
4. Filler G et al: Clin Biochem 2005 ;38 :1-8.
5. Flodin M et al: Scand J Clin Lab Invest 2007;67:560-567
6. Shlipak M.G, et al: Clinical Chemistry 57: 737-745, 2011
7. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
8. CLSI; dokument EP7-A; Interference testing in Clinical Chemistry; schválená směrnice.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.



Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norsko

TEL: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

# Nastavení přístroje pro imunoanalytickou soupravu Cystatin C Immunoassay v systémech na Beckman Coulter® IMAGE Systems\* (IMAGE 800)

## Stránka 1

Název testu: cysx

Jednotka: mg/l

Číslo šarže činidla: \*

Protokol: Nekompetitivní NIPIA

Číslo kazety: \*\*

Datum expirace činidla: \*

Číslo série činidla: \*\*

Testů na šarži: 40

Limit AGXS:

Aktivace AGXS:

## Stránka 2

Pufr: BUF10

Ředidlo: DIL10

Objem vzorku: 5 µl

Ředění kalibrátoru: 1:1

Objem reakčního pufru: 0 µl

Ředění vzorku: 1:1

Objem činidla A: 30 µl

Reakční doba: 5 minut

Objem činidla B: 195 µl

## Strana 3:

Hladina kalibrátoru

Hladiny: 6

Hladina 1: \*

Replikáty: 2

Hladina 2: \*

Aktualizace hladiny: 3

Hladina 3: \*

Replikáty: 2

Hladina 4: \*

Typ kalibrace: 3. uložil polynom

Hladina 5: \*

Hladina 6: \*

## Strmost a odchylka (v části Činidlo a kalibrace)

Faktor a (a·x + b): 1,10

Pufr pro stanovení Gentian Cystatin C Assay Buffer přemístěte do oddílu B a imunočástice Gentian Cystatin C immunoparticles do oddílu A. Maximální objem oddílu „A“ a „B“ kazety UDR je 8,5 ml. Maximálně lze tedy do kazety vložit přibližně 40 testů.

\* Závisí na šarži

\*\* Definováno uživatelem