

Hinweise für den Cystatin C Immunoassay auf IMMAGE® 800 Systemen von Beckman Coulter®

Unter Verwendung des Gentian Cystatin C Reagenz-Kits A52761 und IMMAGE benutzerdefinierten Reagenzkartuschen

Vorgesehener Verwendungszweck

Der Cystatin C Immunoassay auf IMMAGE® Systemen von Beckman Coulter® ist ein In-vitro-Diagnostikum zur quantitativen Bestimmung von Cystatin C in Humanserum und -plasma. Die Bestimmung von Cystatin C fließt in die Diagnose und Behandlung von Nierenerkrankungen ein.

Zusammenfassung und Erläuterung des Tests

Cystatin C ist ein nicht glycosyliertes basisches Protein (Molekulargewicht 13,2 kD), das in fast allen kernhaltigen Körperzellen in konstanten Mengen produziert wird [1]. Es kann die glomeruläre Basalmembran ungehindert passieren und wird anschließend in den proximalen Tubuli resorbiert und praktisch vollständig katabolisiert. Somit ist die Cystatin-C-Konzentration in humanem Blut eng mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) verknüpft [2]. Eine Abnahme der GFR verursacht einen Anstieg der Cystatin-C-Konzentration. Untersuchungen haben ergeben, dass die Cystatin-C-Konzentration von anderen Faktoren wie Muskelmasse, Entzündungskrankheiten, Geschlecht, Alter und Ernährung weitgehend unabhängig ist [2, 3, 4]

Kalibratorstandardisierung

Der Gentian Cystatin C Kalibrator ist gegen den internationalen Kalibratorstandard ERM-DA471/IFCC standardisiert.

Ermittlung der GFR-Prognose

Für Cystatin C sind mehrere Prognosegleichungen zur Ermittlung der GFR bei Erwachsenen und Kindern veröffentlicht. Dabei ist zu beachten, dass diese Formeln mit verschiedenen Cystatin-C-Tests (partikelverstärker nephelometrischer Immunoassay (PENIA) und partikelverstärker immunturbidimetrischer Immunoassay (PETIA)) beurteilt wurden. Das kann zu falschen GFR-Ergebnissen führen, wenn die verwendete Formel nicht zu dem Test passt. Zur Ermittlung der GFR anhand von Cystatin-C-Werten, die mit dem Test von Gentian erhalten wurden, wird die folgende Prognosegleichung empfohlen, die als Einheit mg/l verwendet [5]. Die Gleichung kann für Personen verwendet werden, die das 14. Lebensjahr vollendet haben.

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

Testprinzip

Eine Humanserum- oder -plasmaprobe wird mit Cystatin C Immunpartikeln vermischt. Dabei kommt es zu einer Agglutination von Cystatin C aus der Probe mit Anti-Cystatin-C-Antikörpern der Immunpartikel. Die so gebildeten Komplexe absorbieren Licht. Mithilfe einer turbidimetrischen Messung wird aus dieser Absorption über eine Interpolation mit einer bekannten Standard-Kalibrationskurve die Cystatin-C-Konzentration bestimmt. Das IMMAGE® System ermittelt das Ergebnis automatisch.

Reagenzien im Reagenz-Kit

Reaktionspuffer 1 (R1)

Cystatin-C-Reaktionspuffer, 1 Fläschchen, 100 ml. R1 ist eine mit MOPS [3-(N-Morpholino)-propan sulfonsäure] gepufferte Kochsalzlösung mit Natriumazid (0,09 Gew./Vol.-%) als Konservierungsmittel. Der Puffer ist gebrauchsfertig.

Reaktionspuffer 2 (R2)

Cystatin C Immunpartikel, 2 Fläschchen, 10 ml. R2 enthält Immunpartikel, d. h. die gegen Cystatin C gerichtete aufgereinigte Immunglobulinfraktion, die kovalent an einheitliche Polystyrolpartikel gebunden ist. Beim Herstellungsprozess der Immunpartikel wurde humanes Cystatin C als Immunogen eingesetzt. R2 ist eine gebrauchsfertige Suspension, die 0,09 Gew./Vol.-% Natriumazid als Konservierungsmittel und Antibiotika enthält.

Artikel in der Verkaufsgruppe CYSX IMMAGE, REF B69746:	
Gentian Cystatin C Reagenz-Kit	REF A52761
Benutzerdefinierte Reagenzkartusche (Packung mit 10 Stück)	REF 447250
Verdunstungskappen (Packung mit 20 Stück)	REF 447170
Zusätzlich benötigte Materialien:	
Gentian Cystatin C Kalibrator-Kit (6 x 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C Kontroll-Kit von, niedrige + hohe Kontrolle, 2 x 1 ml	REF A52765

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Der Test dient nur zur In-vitro-Diagnostik und darf nur von Fachpersonal angewendet werden.
- Die Reagenzien enthalten Antibiotika und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden. Nicht verschlucken. Kontakt mit Haut und Schleimhäuten vermeiden. Die Natriumazidkonzentration in diesem Produkt ist als ungefährlich eingestuft. Allerdings können durch die Ansammlung von NaN_3 in Blei- und Kupferrohren explosive Metallazide entstehen. Um dies zu vermeiden, ist bei der Entsorgung des Produkts über den Ausguss gründlich nachzuspülen.
- Die Immunpartikel enthalten Substanzen tierischen Ursprungs. Die Entsorgung aller verworfenen Materialien muss im Einklang mit den örtlich geltenden Vorschriften geschehen.
- Das für die Herstellung der Kalibratoren und Kontrollen verwendete Serum wurde auf Hepatitis (HBsAG), Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 getestet und für negativ befunden. Nichtsdestotrotz enthalten die Materialien Substanzen menschlichen und tierischen Ursprungs und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden. Die Entsorgung aller verworfenen Materialien muss im Einklang mit den örtlich geltenden Vorschriften geschehen.

Aufbewahrung und Haltbarkeit der Reagenzien

Haltbarkeit der ungeöffneten Reagenzien bei 2 bis 8 °C: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett. Haltbarkeit nach dem Öffnen: bei 2 bis 8 °C und Verwendung von Schraubdeckeln bis zum Verfallsdatum. Haltbarkeit im Gerät: 28 Tage bei Verwendung von Verdunstungskappen. Ist das Verfallsdatum im Format Jahr/Monat angegeben, bezieht es sich auf den letzten Tag des Monats.

Probenentnahme und Handhabung der Proben

Das erforderliche Probenmaterial ist Humanserum oder mit EDTA oder Heparin versetztes Humanplasma. Es wird empfohlen, die Proben so frisch wie möglich zu analysieren. Tests der Probenstabilität haben ergeben, dass Cystatin C in Serum- und Plasmaproben bei Raumtemperatur (8 bis 25 °C) 26 Tage lang und bei 2 bis 8 °C 26 Tage lang stabil ist. Aus Veröffentlichungen geht außerdem hervor, dass die Proben bei einer Temperatur unter -20 °C bis zu 10 Jahre aufbewahrt werden können [6]. Vor der Analyse die Proben gut mischen.

Testablauf

Anwendungshinweise/Testaufbau

Eine detaillierte Liste der Instrumentenparameter findet sich im Abschnitt „Instrumentenparameter“. Diese Anwendungshinweis ist auch abrufbar unter: www.gentian.no. Aufstellung, Wartung, Betrieb des Instruments sowie die Vorsichtsmaßnahmen sind im Handbuch des IMMAGE® Systems von Beckman Coulter* ausführlich beschrieben.

Vorbereitung der Reagenzien

Das Reagenz wird gebrauchsfertig für die Befüllung der IMMAGE Reagenzkartusche geliefert. Inhalt von Reagenz 1 und Reagenz 2 in das jeweilige Fach der Kartusche füllen, siehe nachstehende Tabelle, und für die Verwendung Verdunstungskappen aufsetzen. Sorgfältig arbeiten, um Verunreinigungen zu vermeiden. Bei Nichtgebrauch sind die Reagenzien mit Schraubdeckeln verschlossen bei 2 bis 8 °C zu lagern.

Cystatin C Kit	Fach A	Fach B
R1, Reagenzpuffer	-	8,5 ml
R2, Immunpartikel	1,5 ml	-

Erstellung der Kalibrierungskurve

Mit den Standards 1 bis 6 eine 6-Punkte-Standardkurve erstellen, wie im Instrumentenhandbuch des IMMAGE® Systems von Beckman Coulter® beschrieben. Die Kalibratorwerte sind chargenabhängig. Die Kalibrierung muss bei jeder neuen Kalibratorcharge erneut durchgeführt werden. Die zugeordneten Werte der Kalibratoren gehen aus dem Analysewertblatt hervor, das den Kalibratoren beiliegt. Die Kalibrierung sollte alle 4 Wochen wiederholt werden.

QK-Kontrollen

Die niedrige und die hohe Kontrolle müssen zur Validierung der Kalibrierungskurve jeden Tag analysiert werden, bevor Proben analysiert werden können. Den Kontrollen ist ein Wertebereich zugeordnet, der eingehalten werden muss, bevor Proben analysiert werden. Die zugeordneten Werte gehen aus dem Analysewertblatt hervor, das dem Gentian Cystatin C Kontroll-Kit beiliegt. Sind die Kontrollwerte ungültig, muss die Kontrollmessung wiederholt werden. Falls eine fehlerfreie Kalibrierung nicht durchführbar ist bzw. keine gültigen Kontrollwerte erzielt werden können, ist Beckman Coulter® zu verständigen.

Messung von Patientenproben

Wenn eine gültige Kalibrierung durchgeführt wurde und die Kontrollwerte im gültigen Bereich liegen, können Serum- oder Plasmaproben analysiert werden. Darauf achten, dass das erforderliche Mindestprobenvolumen vorhanden ist. Die Proben nach den Anweisungen im Instrumentenhandbuch des IMMAGE® Systems von Beckman Coulter® analysieren.

Ergebnisse

IMMAGE® Systeme von Beckman Coulter® berechnen die Ergebnisse automatisch. Die Ergebnisse werden in mg/l angegeben.

Begrenzungen

Die Materialien dürfen nach dem Verfallsdatum nicht mehr verwendet werden.

Messbereich

Der Messbereich des Cystatin-C-Tests ist etwa 0,4 bis 8,0 mg/l. Der genaue Messbereich hängt von den Kalibratorpunkten der betreffenden Charge des Gentian Cystatin C Kalibrator-Kits ab.

Referenzintervalle

Gentian hält sich bei der Bestimmung der Übertragbarkeit des Referenzintervalls an die CLSI-Richtlinie C28-A2 *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline; second edition* (Definition und Bestimmung von Referenzintervallen im klinischen Labor; genehmigte Richtlinie, zweite Auflage). Das Referenzintervall basiert auf einer Studie zum Referenzintervall am Klinikum der Karolinska-Universität in Stockholm (Schweden), die Serumproben von 138 nach eigenen Angaben gesunden Probanden im Alter von 20 bis 80 Jahren umfasste. Die Proben wurden auf einem AU 2700 auf Cystatin C analysiert. Das Referenzintervall wurde nicht parametrisch berechnet und auf 0,53 bis 1,01 mg/l festgelegt. Dieser Bereich repräsentiert die zentralen 95% der untersuchten Population. Jedem Labor wird empfohlen, ein lokales Referenzintervall zu bestimmen, da sich die Werte je nach untersuchter Population ändern können.

In einer getrennten Studie mit 850 gesunden Kindern (46 % Jungen, 54 % Mädchen) im Alter von 5 bis 15 Jahren wurde ein Referenzintervall von 0,51 bis 1,05 mg/L für alle Altersgruppen bis hin zu 5 Jahren bestätigt [7].

Leistungsmerkmale

Sofern nicht anders angegeben, wurden alle Studien an einem Laobr mit einer Charge der Reagenzien durchgeführt.

Präzision

Der Gentian Cystatin C Immunoassay wurde in einer 3-tägigen gemäß dem CLSI-Protokoll EP5-A konzipierten Präzisionsstudie verwendet. Auf einem IMMAGE 800* System von Beckman Coulter® wurden 4 Serumpools und 2 Kontrollstufen gemessen.

ID	Mittelwert (mg/l)	VK innerhalb eines Durchlaufs (%)	VK, insgesamt (%)	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

Linearität

Eine Linearitätsstudie mit dem Gentian Cystatin C Immunoassay auf einem IMMAGE 800 System ergab, dass der Test im Bereich von 0,35 bis 6,79 mg/L linear ist. Konzentrationen außerhalb dieses Bereichs wurden nicht getestet.

Analytische Wiederverwendung

Mit dem Gentian Cystatin C Immunoassay auf einem IMMAGE 800 System von Beckman Coulter® wurde eine Wiederverwendung von 100 bis 110 % beobachtet.

Nachweisgrenze

Mit dem Gentian Cystatin C Immunoassay auf einem IMMAGE 800 System wurde eine untere Nachweisgrenze von 0,24 mg/l ermittelt.

Sicherheitszone

In einer Studie mit dem IMMAGE 800 und dem Gentian Cystatin C Immunoassay wurde die Sicherheitszone für Antigen-Überschuss auf 43 mg/l erhöht.

Störungen

In einer Studie wurden mit Hämoglobin (8 g/l), Intralipid (16 g/l) und Bilirubin (800 mg/l) in Cystatin-C-Proben keine signifikanten Störungen festgestellt. Die Studie zur Störung wurde gemäß dem CLSI-Protokoll EP7-A konzipiert [8]. Zuvor wurden gemäß den Empfehlungen eines Artikels von Sonntag und Scholar keine signifikanten Störungen mit den untersuchten Medikamenten festgestellt [9]. Da die Antikörper von Vögeln (Hühnern) stammen, liegt beim Gentian Cystatin C Immunoassay keine RF-Interferenz vor [10].

Variation zwischen Instrumenten

Der Gentian Cystatin C Immunoassay wurde auf einem IMMAGE und auf einem Hitachi 917 durchgeführt, und die sich ergebende Variationen mittels Passing-Bablok-Regressionsanalyse untersucht.

Methoden	N	Bereich der Probe (mg/l)	Ausdruck	Koeffizient	95%-K, Koeffizient
IMMAGE 800	24	0,58–6,97	Achsenabschnitt	0,08	0,05–0,11
vergleichen mit Hitachi 917			Steigung	1,01	0,99–1,03

Zusätzliche Informationen

Eingehende Informationen zu den IMMAGE® Systemen finden Sie im jeweiligen Systemhandbuch. Da Beckman Coulter® das Reagenz nicht herstellt und auch keine Qualitätskontrolle oder andere Tests an einzelnen Chargen durchführt, ist Beckman Coulter® nicht für die Qualität der aufgrund der Leistung des Reagenzes erzielten Daten, etwaige Abweichungen zwischen verschiedenen Reagenzchargen oder Protokolländerungen seitens des Herstellers verantwortlich.

Transportschäden

Bitte benachrichtigen Sie das Versandunternehmen, falls dieses Produkt bei Empfang beschädigt ist. Bei technischen Problemen wenden Sie sich bitte an Ihre Beckman Coulter® Vertretung. Andere Sprachen unter: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Symbollegende



Chargenbezeichnung



Temperaturbereich



Verfallsdatum



Bedienungsanleitung konsultieren



Hersteller



Artikelnr.



In-vitro-Diagnostikum



Vorsicht



Biologische Gefahren



Gentian AS 

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norwegen

Tel.: +47 99 33 99 05

Fax: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

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 Study. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
8. CLSI; Document EP7-A : Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Geräteeinstellungen für den Cystatin C Immunoassay auf einem IMMAGE System* (IMMAGE 800) von Beckman Coulter®

Seite 1

Testbezeichnung: cysx

Einheit: mg/l

Chargennummer des Reagenz: *

Protokoll: Nicht kompetitiver NIPIA

Kartuschennummer: **

Verfallsdatum des Reagenz: *

Seriennummer des Reagenz: **

Tests pro Charge: 40

AGXS-Grenzwert:

AGXS aktiviert:

Seite 2

Puffer: BUF10

Lösungsmittel: DIL10

Probenvolumen: 5 µl

Kalibratorverdünnung: 1:1

Volumen des Redaktionspuffers: 0 µl

Probenverdünnung: 1:1

Volumen, Reagenz A: 30 µl

Reaktionszeit: 5 Minuten

Volumen, Reagenz B: 195 µl

Seite 3

Konzentrationen: 6

Kalibratorkonzentration

Konz. 1: *

Replikate: 2

Konz. 2: *

Konzentrationsaktualisierung 3

Konz. 3: *

Replikate: 2

Konz. 4: *

Kalibrationstyp: Polynom 3. Grades

5. Ebene: *

6. Ebene: *

Steigung und Achsenabschnitt (unter „Reagenz und Kalibrierung“)

Faktor a (a·x + b): 1,10

Puffer für Gentian Cystatin C Immunoassay in Fach B und Gentian Cystatin C Immunpartikel in Fach A einbringen. Das Volumen in Fach A und B der UDR-Kartusche beträgt maximal 8,5 ml. Demzufolge kann die Kartusche mit höchstens 40 Tests beladen werden

* Chargenabhängig

** Benutzerdefiniert