

## Napomene za primjenu za imunotest Cystatin C na sustavima Beckman Coulter® IMMAGE® 800

Uporaba kompleta reagensa Gentian Cystatin C A52761 i uložaka s reagensima koje je definirao korisnik sustava IMMAGE

### Namjena

Cistatin C imunotest na sustavima Beckman Coulter® AU Systems *in vitro* je dijagnostički test za kvantitativno određivanje cistatina C u humanom serumu i plazmi. Mjerenje cistatina C koristi se u dijagnozi i liječenju bolesti bubrega.

### Sažetak i objašnjenje testa

Neglikolizirani osnovni protein, cistatin C (molekularne težine 13,2 kD) proizvodi se pri stalnoj brzini u gotovo svakoj stanici s jezgrom u ljudskom tijelu [1]. Slobodno se filtrira kroz normalnu glomerularnu membranu i potom se ponovno apsorbira i gotovo u cijelosti katabolizira u proksimalnim tubulima. Stoga je koncentracija cistatina C u ljudskoj krvi blisko povezana s brzinom glomerularne filtracije (GFR) [2]. Redukcija GFR uzrokuje porast koncentracije cistatina C. Nije se pokazalo da na koncentraciju cistatina C značajno utječu drugi faktori poput mišićne mase, upalnih bolesti, spola, dobi ili prehrane [2, 3, 4].

### Standardizacija kalibratora

Komplet kalibratora Gentian Cystatin C standardiziran je naspram međunarodnog standarda kalibratora ERM-DA471/IFCC.

### Izračun predviđanja GFR

Postoje objavljenih nekoliko jednadžbi predviđanja za izračun GFR u odraslih i djece koje se temelje na cistatinu C. Treba zabilježiti da su te formule procijenjene različitim testovima cistatina C (česticama potpomognuti nefelometrijski imunotest PENIA ili česticama potpomognuti turbidimetrijski imunotest PETIA) i mogu otkriti netočne rezultate GFR-a ako se koristila odgovarajuća kombinacija formule i testa. Za izračun GFR-a iz vrijednosti cistatina C mjereno testom Gentian preporučuje se sljedeća jednadžba predviđanja uporabom mg/L kao faktora jedinice (5): Jednadžba vrijedi za osobe starije od 14 godina.

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

### Načelo testa

Uzorak seruma ili plazme od ljudi miješa se s imunočesticama cistatina C. Cystatin C iz uzorka i anti cistatin C iz imunočestica združuju se. Kompleksi kreiranih čestica apsorbiraju svjetlost, a turbidimetrija apsorpcije povezana je s koncentracijom cistatina C putem interpolacije na utvrđenoj standardnoj krivulji kalibracije. Platforme IMMAGE® automatski će računati rezultat.

### Reagensi priloženi u kompletu s reagensima

#### Reakcijski pufer 1 (R1)

Reakcijski pufer cistatina C, 1 bočica od 100 ml. R1 je puferirana fiziološka otopina MOPS [3-(N-morfolino)-propan sulfonska kiselina] konzervirana natrijevim azidom (0,09 % masenog udjela). Pufer je spreman za uporabu.

#### Reakcijski pufer 2 (R2)

Cystatin C imunočestice, 2 bočice od 10 ml R2 sadrži imunočestice što je pročišćena frakcija imunoglobulina koja je usmjerena protiv cistatina C koji je kovalentno vezan na uniformne čestice polistirena. Humani cistatin C korišten je kao imunogen u procesu generiranja imunočestica. Isporučuje se kao suspenzija spremna za uporabu, konzervirana s 0,09-postotnim natrijevim azidom i antibioticima.

Artikli uključeni u prodajnu grupu CYSX IMMAGE REF B69746:	
Komplet reagensa Gentian Cystatin C	REF A52761
Uložak s reagensom sa specifikacijama korisnika (pakiranje od 10)	REF 447250
Čepovi za evaporaciju (pakiranje od 20)	REF 447170
Potrebni predmeti (nisu uključeni):	
Namjena kompleta kalibratora Gentian Cystatin C (6x1 ml)	REF A52763
Komplet kontrola Gentian Cystatin C, niskih i visokih, (2x1 ml)	REF A52765

### Upozorenja i mjere opreza

- Test se koristi samo za *in vitro* uporabu i njime mora rukovati kvalificirano osoblje.
- Reagensi sadrže antibiotike i njima treba rukovati s oprezom.
- Reagensi sadrže konzervans natrijev azid i njime treba rukovati oprezno: Nemojte gutati ili omogućiti doticaj s kožom ili sluznicama. Koncentracija natrijeva azida u ovom proizvodu nije karakterizirana kao opasna. Međutim, akumulirani  $\text{NaN}_3$  u olovnim i bakrenim cijevima može uzrokovati nastanak eksplozivnih metalnih azida. Da bi se to spriječilo, temeljito isperite cijevi ako bacate  $\text{NaN}_3$  u odvod.
- Imunočestice sadrže tvari životinjskog podrijetla. Zbrinjavanje bilo kojih odbačenih materijala mora biti u skladu s lokalnim zahtjevima.
- Serum korišten u proizvodnji kalibratora i kontrola testiran je na hepatitis HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 i anti-HIV2 te je nađeno da je negativan. Međutim, materijali sadrže tvari humanog i životinjskog podrijetla i njima treba rukovati pažljivo. Zbrinjavanje bilo kojih odbačenih materijala mora biti u skladu s lokalnim zahtjevima.

### Pohrana i stabilnost reagensa

Rok valjanosti neotvorenih reagensa pri 2-8°C: Vidjeti datum isteka roka valjanosti na naljepnici. Stabilnost nakon otvaranja: Sve do datuma isteka roka valjanosti prilikom uporabe čepova pri 2-8°C. Stabilnost tijekom uporabe: 28 dana prilikom uporabe čepova za evaporaciju. Proizvodi s rokovima valjanosti navedenim u formatu godine i mjeseca, istječu posljednjeg dana navedenog mjeseca.

### Prikupljanje uzoraka i rukovanje uzorcima

Materijal potreban za uzorke je humani serum ili EDTA/heparinizirana plazma. Preporučuje se analizirati uzorke u što svježijem stanju. Međutim, uzorak testiranja stabilnosti pokazao je da je cistatin C u uzorcima seruma i plazme stabilan tijekom 26 dana (8-25°C) ako se čuva na 2 - 8°C. Dodatno je objavljeno da se uzorci mogu pohraniti ispod -20°C do 10 godina [6]. Dobro promiješajte uzorak prije analiziranja.

### Postupak testa

#### Napomene za primjenu/Instalacija testa

Detaljan popis parametara instrumenta dostupan je u dijelu u nastavku "Postavke instrumenta" u nastavku. Napomena za primjenu također je dostupna na: [www.gentian.no](http://www.gentian.no). Podešavanje instrumenta, održavanje, rad i mjere opreza moraju biti u skladu s priručnicima instrumenta Beckman Coulter® IMMAGE®.

## Priprema reagensa

Reagens se isporučuje spreman za prijenos u uložak s uloškom IMMAGE. Prenesite sadržaj reagensa 1 i reagensa 2 u odgovarajuće odjeljke uložaka koji definira korisnika kako je to prikazano u tablici u nastavku i primijenite čepove za evaporaciju kad su u uporabi. Pazite da izbjegnute kontaminaciju. Reagense treba pohraniti s originalnim tvrdim čepovima na 2-8°C kada nisu u uporabi.

Komplet cistatina C	Odjeljak A	Odjeljak B
R1, puferski reagens	-	8,5 mL
R2, imunočestice	1,5 mL	-

## Utvrđivanje kalibracijske krivulje

Upotrijebite standarde od 1 do 6 da biste utvrdili standardnu krivulju kako je to definirano u priručnicima za instrumente sustava Beckman Coulter® IMMAGE®. Vrijednosti kalibratora ovise o seriji te je potrebno provesti novu kalibraciju kad god se koristi nova kalibracijska serija. Dodijeljene vrijednosti kalibratora dane su na listu s analitičkim vrijednostima koji se isporučuje s kalibratorom. Novu kalibraciju treba provoditi jednom svaka 4 tjedna.

## Kontrole kvalitete

Niske i visoke kontrole treba ispitivati svaki dan prije ispitivanja bilo kojeg uzorka kako bi se validirala kalibracijska krivulja. Kontrole imaju dodijeljeni raspon vrijednosti kojeg treba ispuniti prije mjerenja uzorka. Dodijeljene vrijednosti dane su u Listu s analitičkom vrijednosti koji je uključen u komplet kontrola Gentian Cystatin C. Ako kontrolne vrijednosti nisu valjane, ponovite mjerenja kontrola. Ako nije moguće provesti kalibraciju bez greške ili reproducirati valjane vrijednosti kontrole, obratite se tvrtki Beckman Coulter® za potporu.

## Mjerenje pacijentovih uzoraka

Kada se provodi validirana kalibracija i kontrolne vrijednosti su unutar valjanog raspona, moguće je mjeriti uzorke seruma ili plazme. Provjerite postoji li minimalni volumen uzorka i ispitajte uzorke u skladu s uputama danim u priručnicima za instrument sustava Beckman Coulter® IMMAGE®.

## Rezultati

Rezultati se računaju automatski putem sustava Beckman Coulter® IMMAGE®. Rezultati su prikazani u mg/L.

## Ograničenja

Materijalima ne smije isteći rok valjanosti.

## Mjerni raspon

Mjerni raspon cistatina C za test iznosi približno 0,4 - 8,0 mg/L. Točan raspon ovisi o točkama kompleta kalibratora Gentian Cystatin C na broju serije.

## Referentni intervali

Gentian se pridržava smjernica CLSI C28-A2; *Kako definirati i odrediti referentne intervale u kliničkom laboratoriju; Odobrene smjernice Drugo izdanje* za određivanje prenosivosti referentnog intervala. Referentni interval temelji se na ispitivanju referentnog intervala u bolnici Växjö, Švedska, uključujući uzorke seruma od 138 ispitanika koji su se smatrali zdravima, a bili su u dobi od 20 do 80 godina. Uzorci su analizirani za cistatin C na platformi AU 2700. Referentni interval izračunat je ne-parametarski i određeno je da iznosi 0,53 - 1,01 mg/L. To predstavlja središnjih 95% cjelokupne testirane populacije. Preporučuje se da svaki laboratorij odredi lokalni referentni interval jer vrijednosti mogu varirati ovisno o testiranoj populaciji.

U zasebnom ispitivanju koje je uključivalo 850 zdrave djece (46% dječaka, 54% djevojčica) u dobi od 5 do 15 godina, referentni raspon 0,51 - 1,05 mg/L potvrđen je u svim dobima od 5 do 7 godina (7).

## Radne karakteristike

Sva su ispitivanja provedena uporabom jedne serije reagensa u jednom laboratoriju osim ako nije drugačije navedeno.

## Preciznost

Imunotest Gentian Cystatin C korišten je u trodnevnoj, studiji preciznosti koja je osmišljena u skladu s protokolom CLSI EP5-A. Četiri serumska "pula" i 2 kontrolne razine mjerene su na sustavu Beckman Coulter® IMMAGE 800\*.

Beckman Coulter je registrirani robni žig tvrtke Beckman Coulter Inc., Brea, CA 92821  
Napomene za primjenu za Cistatin C na serijama IMMAGE

ID	Prosječna vrijednost (mg/L)	Unutar probe KV(%)	Ukupni KV (%)	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

## Linearnost

Imunotest Gentian C korišten je u ispitivanjima linearnosti na sustavu IMMAGE 800, a uočen je linearni raspon od 0,35-6,79 mg/L. Koncentracije izvan ovog raspona nisu ispitane.

## Analitički oporavak

Uporaba imunotesta na instrumentu Gentian Cystatin C Beckman Coulter® IMMAGE 800, uočeno je iskorištenje od 100-110%.

## Granica kvantifikacije

Uporaba testa Gentian Cystatin C na instrumentu IMMAGE 800 donja granica kvantifikacije izmjerena je kao 0,24 mg/L.

## Sigurnosna zona

U ispitivanju IMMAGE 800, sigurnosna zona za višak antigena proširena je do 43 mg/L uporabom testa Gentian Cystatin C.

## Interferencija

U ispitivanju nije uočena značajna interferencija se hemoglobinom (8 g/L), intralipidom (16 g/L) ili bilirubinom (800 mg/L) u uzorcima cistatina C. Studija interferencije osmišljena je u skladu s protokolom EP7-A od CLSI (8). Prethodno gledano, nije uočena značajna interferencija s lijekovima ispitivanim u skladu s preporukom Sonntaga i Scholera (9). Nema RF interferencije u imunotestu Gentian Cystatin C jer su protutijela načinjena uporabom ptičjih protutijela (pileća) (10).

## Varijacija instrumenta

Varijacije instrumenta između Gentian Cystatin C na instrumentima IMMAGE i Hitachi 917 mjerena je, a rezultati su analizirani uporabom analize regresije Passing-Bablok.

Metode	N	Raspon uzoraka (mg/L)	Pojam	Koeficijent	95-postotni interval pouzdanosti
IMMAGE 800 naspram Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Presječak Nagib	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 - 1,03

## Dodatne informacije

Za detaljnije informacije o sustavima IMMAGE® proučite odgovarajući priručnik sustava. S obzirom da Beckman Coulter® ne proizvodi reagens ili ne provodi kontrolu kvalitete ili druge testove na pojedinim serijama, Beckman Coulter® ne može biti odgovoran za kvalitetu dobivenih podataka što je uzrokovano performansom reagensa, bilo koja varijacija između serija reagensa ili promjene protokola od strane proizvođača.

## Oštećenje prilikom slanja

Obavijestite svog distributera ako je proizvod zaprimljen oštećen. Za tehničku pomoć obavijestite svog lokalnog predstavnika tvrtke Beckman Coulter®. Za druge jezike posjetite:

<http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

## Objašnjenje simbola

	Broj serije
	Temperaturno ograničenje
	Upotrijebiti do datuma
	Proučite upute za uporabu
	Proizvođač
	Kataloški broj
	In vitro medicinski dijagnostički uređaj
	Oprez
	Biološki rizici

## Reference

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; 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.



Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norveška  
TEL: +47 99 33 99 05  
TELEFAKS: +47 69 24 09 62  
<http://www.gentian.no>

# Postavke instrumenta za imunotest Cystatin C na sustavima Beckman Coulter® IMMAGE\*(IMMAGE 800)

## Stranica 1

Naziv testa: CYSX

Jedinica: mg/L

Broj serije reagensa: \*

Protokol: Nekompetitivna NIPIA

Broj uložka: \*\*

Datum isteka roka valjanosti reagensa: \*

Broj serije reagensa: \*\*

Testova po seriji: 40

AGXS granica:

AGXS omogućen:

## Stranica 2

Pufer: BUF10

Sredstvo za razrjeđivanje: DIL10

Volumen uzorka: 5 µl

Razrjeđivanje kalibratora: 1:1

Volumen reakcijskog pufera: 0 µl

Razrjeđivanje uzorka: 1:1

Volumen reagensa A: 30 µl

Vrijeme reakcije: 5 minuta

Volumen reagensa B: 195 µl

## Stranica 3

Razina kalibratora

Razine: 6

Razina 1: \*

Replikati: 2

Razina 2: \*

Ažuriranje razine: 3

Razina 3: \*

Replikati: 2

Razina 4: \*

Vrsta kalibracije: polinom 3. stepena

Razina 5: \*

Razina 6: \*

Nagib i pomak pod ("Reagens i kalibracija")

Faktor a (a·x + b): 1,10

Prenesite pufer testa Gentian Cystatin C u odjeljak B i imunočestice Gentian Cystatin C u odjeljku A. Maksimalni volumen odjeljka "A" i "B" uložka UDR iznosi 8,5 mL. Stoga je maksimalni broj testova unesenih u uložaka iznosi približno 40 testova.

\* Ovisi o seriji

\*\* Definira korisnik