

Cystatyna C

Uwagi dotyczące użycia testu immunologicznego do oznaczania stężenia cystatyny C dla SYSTEMÓW serii IMAGE[®]800 firmy Beckman Coulter[®]

Używanie Cystatin C Reagent Kit (Zestaw odczynników cystatyny C) A52761 i IMAGE User-Defined Reagent cartridges (Definiowany przez użytkownika wkład z odczynnikami IMAGE)

Przeznaczenie

Gentian Cystatin C Immunoassay (Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C) używany na systemach IMAGE[®] firmy Beckman Coulter[®] jest testem diagnostycznym *in vitro*, przeznaczonym do ilościowego oznaczania stężenia cystatyny C w surowicy i osoczu ludzkim. Pomiar cystatyny C służy do diagnostyki i leczenia chorób nerek.

Podsumowanie i objaśnienie testu

Nieglikozylowane białko podstawowe, cystatyna C (masa cząsteczkowa 13,2 kD), jest produkowane ze stałą szybkością w prawie każdej komórce jądrazstej organizmu człowieka [1]. Jest swobodnie filtrowane przez prawidłową błonę kłębuszków nerkowych, a następnie ponownie wchłaniane i prawie w całości katabolizowane w kanalikach bliższych. Stąd, stężenie cystatyny C w krwi człowieka jest ściśle związane z szybkością przesączania kłębuszkowego (GFR) [2]. Obniżenie GFR powoduje zwiększenie stężenia cystatyny C. Nie wykazano, aby na stężenie cystatyny C wpływały w istotnym zakresie inne czynniki, takie jak masa mięśniowa, choroby zapalne, płeć, wiek lub dieta [2, 3, 4].

Normalizacja kalibratorów

Normalizację kalibratora testu Gentian Cystatin C przeprowadzono wobec międzynarodowego wzorca kalibratora ERM-DA471/IFCC.

Obliczenie szacunkowego GFR

Opublikowano kilka wzorów dla obliczania szacunkowego GFR dla dorosłych i dzieci na podstawie stężenia cystatyny C. Należy zauważyć, że te wzory oceniano za pomocą różnych testów do pomiarów stężenia cystatyny C (nefelometryczny test immunologiczny PENIA lub turbidymetryczny test immunologiczny PETIA) i mogą powodować niedokładne obliczenie GFR, jeżeli stosuje się nieodpowiednie połączenie wzoru i testu. Do obliczania GFR na podstawie wartości stężeń cystatyny C oznaczonych za pomocą testu firmy Gentian zaleca się stosowanie następującego równania przy użyciu mg/l jako współczynnika jednostkowego [5]: Równanie jest prawidłowe dla osób, które ukończyły 14 lat.

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

Zasada testu

Próbka surowicy lub osocza ludzkiego jest mieszana z opłaszczonymi cząstkami przeciwciał (immunocząsteczki) przeciwko cystatinie C. Dochodzi do agregacji cystatyny C z próbki i przeciwciał przeciwko cystatinie C z opłaszczonych cząstek. Utworzone kompleksy pochłaniają światło i na podstawie analizy turbidymetrycznej absorpcja zostaje powiązana ze stężeniem cystatyny C poprzez interpolację na wyznaczonej standardowej krzywej kalibracji. Platformy IMAGE[®] automatycznie obliczają wyniki.

Odczynniki dostarczone w zestawie odczynników

Bufor reakcyjny 1 (R1)

Cystatin C Reaction buffer (Bufor reakcyjny dla cystatyny C), 1 fiolka 100 ml. R1 zawiera sól fizjologiczną buforowaną kwasem MOPS [kwas 3-(N-

morfolino)-propanosulfonowy], konserwowaną azydkami sodu (0,09% [wagowo-objętościowych]). Bufor jest gotowy do użycia.

Bufor reakcyjny 2 (R2):

Cystatin C Immunoparticles (Immunocząsteczki cystatyny C), 2 fiolki o obj. 10 ml. R2 zawiera Immunocząsteczki, które są oczyszczoną frakcją immunoglobulin skierowanych przeciwko cystatinie C, która ulega kowalencyjnemu związaniu do jednorodnych cząstek polistyrenowych. W procesie tworzenia immunocząsteczek jako immunogenu używano ludzkiej cystatyny C. Odczynnik jest dostarczany jako zawiesina gotowa do użycia, konserwowana azydkiem sodu (0,09% [wagowo-objętościowych]) i antybiotykami.

Pozycje zawarte w Grupie Handlowej CYSX IMAGE REF B69746:	
Gentian Cystatin C Reagent Kit (Zestaw odczynników cystatyny C firmy Gentian)	REF A52761
User-Defined Reagent Cartridge (Definiowany przez użytkownika wkład z odczynnikami) (10 w opakowaniu)	REF 447250
Nakładki zapobiegające parowaniu (20 w opakowaniu)	REF 447170
Pozycje wymagane lecz nie załączone:	
Gentian Cystatin C Calibrator Kit (Zestaw kalibratorów cystatyny C firmy Gentian) (6 x 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C Calibrator Kit (Zestaw kalibratorów cystatyny C firmy Gentian), niski i wysoki (2 x 1 ml)	REF A52765

Ostrzeżenia i środki ostrożności

1. Niniejszy test służy wyłącznie do zastosowań *in vitro* i musi być wykonywany przez wykwalifikowany personel.
2. Odczynniki zawierają antybiotyki i należy je stosować z należytą ostrożnością.
3. Odczynniki zawierają azydek sodu jako środek konserwujący i należy je stosować z należytą ostrożnością: Nie wolno połykać ani dopuścić do kontaktu ze skórą lub błonami śluzowymi. Stężenie azydku sodu w tym produkcie nie jest określone jako niebezpieczne. Nagromadzenie NaN_3 w rurkach ołowianych i miedzianych może jednak prowadzić do powstawania wybuchowych azydków metali. Aby temu zapobiec, należy obficie spłukać po wyrzuceniu do kanalizacji.
4. Immunocząsteczki zawierają substancje pochodzenia zwierzęcego. Utylizacja jakichkolwiek odpadków powinna odbywać się zgodnie z wymaganiami lokalnymi.
5. Surowica stosowana do produkcji kalibratorów i kontroli była badana pod kątem obecności antygenu HBs wirusa zapalenia wątroby, przeciwciał anty-HCV, anty-HIV1 i anty-HIV2, dając wyniki ujemne. Niemniej materiały zawierają substancje pochodzenia ludzkiego i zwierzęcego, dlatego muszą być traktowane z należytą starannością. Utylizacja jakichkolwiek odpadków powinna odbywać się zgodnie z wymaganiami lokalnymi.

Przechowywanie i trwałość odczynników

Okres trwałości nieotwieranych odczynników w temperaturze 2 - 8°C: Patrz termin ważności na etykiecie. Stabilność po otwarciu: Do upłynięcia terminu ważności, jeśli używane są sztywne zatyczki, w temperaturze 2 - 8°C. Stabilność w analizatorze: 28 dni, jeśli używane są nakładki zapobiegające parowaniu. Termin ważności produktów z terminami ważności podanymi jako miesiąc i rok upływa ostatniego dnia danego miesiąca.

* Zarejestrowany znak towarowy firmy Beckman Coulter[®] Inc., Brea, CA 92821

Pobieranie i postępowanie z próbkami

Wymagany materiał próbki to surowica ludzka, osocze z EDTA lub osocze heparynizowane. Zaleca się analizowanie próbek możliwie najszybciej po ich pobraniu. Badania stabilności próbek wykazały stabilność cystatyny C w próbkach surowicy i osocza przez 26 dni w temperaturze pokojowej (8-25 °C) oraz przez 26 dni przy przechowywaniu w temperaturze 2° - 8° C. Ponadto opublikowano informacje, że próbki mogą być przechowywane przez maksymalnie 10 lat, jeśli są zamrożone w temperaturze poniżej - 20° C [6]. Wymieszać dokładnie próbki przed analizą.

Procedura analityczna

Uwagi dotyczące użycia/Instalacja testu

Szczegółowa lista parametrów analizatora znajduje się poniżej w punkcie „Parametry analizatora”. Uwagi dotyczące użycia są także dostępne na następującej stronie internetowej: www.gentian.no. Należy przestrzegać zasad konfiguracji, konserwacji i obsługi analizatora oraz środków ostrożności zgodnie z instrukcjami analizatorów IMMAGE® firmy Beckman Coulter®.

Przygotowanie odczynników

Odczynnik jest dostarczany jako gotowy do przeniesienia do wkładu odczynników analizatora IMMAGE. Przenieść zawartość odczynnika 1 i odczynnika 2 do odpowiednich przedziałów wkładu definiowanego przez użytkownika, jak to pokazano w tabeli poniżej i podczas używania używać nakładek zapobiegających parowaniu. Zachować ostrożność, aby zapobiec skażeniu. W okresach pomiędzy kolejnymi użyciami odczynniki należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C zamknięte oryginalnymi sztywnymi zatyczkami.

Zestaw cystatyny C	Komora A	Komora B
R1, Bufor odczynnika	-	8,5 ml
R2, Immunocząstki	1,5 ml	-

Wyznaczanie krzywej kalibracji

Do ustalenia 6-punktowej krzywej kalibracji należy zastosować preparaty wzorcowe od 1 do 6 zgodnie z instrukcjami analizatorów systemu IMMAGE® firmy Beckman Coulter®. Wartości kalibratorów zależą od serii i zawsze konieczne jest przeprowadzenie nowej kalibracji w przypadku zastosowania nowej serii kalibratorów. Wartości przydzielone do kalibratora są podane w arkuszu wartości analitycznych, dostarczonym z kalibratorem. Nową kalibrację należy wykonywać co 4 tygodnie.

Kontrola KJ

Kontrola testu niska i wysoka muszą zostać oznaczone każdego dnia przed testowaniem jakichkolwiek próbek, aby zwalidować krzywą kalibracji. Kontrole mają przydzielony zakres wartości, który trzeba uzyskać przed oznaczeniem próbek. Przypisane wartości są podane w arkuszu wartości analitycznych dołączonym do zestawu kontroli cystatyny C firmy Gentian. Jeśli wartości kontroli nie są poprawne, powtórzyć pomiary dla kontroli. Jeśli nie można bezbłędnie przeprowadzić kalibracji lub nie można odtworzyć prawidłowych wartości dla kontroli, należy skontaktować się z firmą Beckman Coulter® w celu uzyskania pomocy.

Pomiar próbek pacjenta

Po przeprowadzeniu poprawnej kalibracji i uzyskaniu wyników dla kontroli w zatwierdzonym zakresie, można dokonać pomiarów dla próbek surowicy lub osocza. Sprawdzić, czy próbka ma wymaganą minimalną objętość i oznaczyć próbki zgodnie ze wskazówkami podanymi w instrukcji obsługi analizatora systemów IMMAGE® firmy Beckman Coulter®.

Wyniki

Wyniki są obliczane automatycznie przez systemy IMMAGE® firmy Beckman Coulter®. Wyniki podawane są w mg/l.

Ograniczenia

Materiałów nie wolno używać po upływie terminu ważności.

Zakres pomiarowy

Zakres pomiarowy stężeń cystatyny C tego testu to w przybliżeniu 0,4 - 8,0 mg/l. Dokładny zakres zależy od punktów zestawu kalibratorów numeru serii Gentian Cystatin C Calibrator Kit (Zestaw kalibratorów cystatyny C firmy Gentian).

Zakres referencyjny

Firma Gentian przestrzegając zaleceń CLSI nr C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition*, aby określić przenośność zakresu referencyjnego. Zakres referencyjny powstał w oparciu o zakres referencyjny w badaniu przeprowadzonym w Växjö Hospital w Szwecji, obejmującym próbki surowicy od 138 uczestników w wieku 20-80 lat, deklarujących się jako zdrowi. Próbkę analizowano pod kątem cystatyny C na platformie AU 2700. Zakres referencyjny obliczono nieparametrycznie i ustalono od 0,53 do 1,01 mg/l. Obejmuje on środkowe 95% wszystkich wyników badanej populacji. Zaleca się, aby każde laboratorium ustaliło lokalny zakres referencyjny, ponieważ wartości mogą różnić się w zależności od badanej populacji.

W odrębnym badaniu z udziałem 850 zdrowych dzieci (46% chłopców, 54 % dziewcząt) w wieku od 5 do 15 lat, zakres referencyjny 0,51 - 1,05 mg/l ustalono w dół do piątego roku życia [7].

Charakterystyka działania

Wszystkie badania przeprowadzono w jednym laboratorium przy użyciu odczynników jednej serii, jeśli nie podano inaczej.

Precyzja

Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian był stosowany w 3-dniowym badaniu precyzji zaprojektowanym zgodnie z protokołem EP5-A CLSI. Zmierzono stężenia dla czterech pul surowicy i 2 kontroli w systemie IMMAGE® firmy Beckman Coulter®.

ID	Wartość średnia (mg/L)	CV% w jednej analizie	Łącznie Współczynnik Wariancji (%)	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

Liniowość

Do badania liniowości na systemie IMMAGE 800 wykorzystano test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian, który zachowuje liniowość w zakresie 0,35-6,79 mg/l. Nie badano stężeń spoza tego zakresu.

Odzysk analityczny

W przypadku testu immunologicznego do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian w analizatorze IMMAGE 800 firmy Beckman Coulter® obserwowano odzysk 100-110%.

Próg wykrywalności

Używając testu immunologicznego do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian w analizatorze IMMAGE 800, zmierzono dolny próg wykrywalności wynoszący 0,24 mg/l.

Strefa bezpieczeństwa

W badaniu przy użyciu testu do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian przeprowadzonym w analizatorze IMMAGE 800, strefa bezpieczeństwa dla nadmiaru antygenu była rozszerzona do 43 mg/l.

Zakłócenie

Nie stwierdzono zakłóceń w przypadku hemoglobiny (8 g/l), substancji Intra Lipid (16 g/l) ani bilirubiny (800 mg/l) w próbkach cysteiny C. Badanie zakłóceń zaplanowano zgodnie z protokołem EP7-A z CLSI [8]. Wcześniej nie stwierdzono zakłóceń z badanymi lekami zgodnie z zaleceniem w publikacji Sonntag i Scholer [9]. W teście immunologicznym do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian nie występują interferencje z obecnym czynnikiem reumatoidalnym (RF), ponieważ przeciwiata są przygotowane z przeciwiata ptasich (kurcząt) [10]

Różnice aparatuowe

Zmierzono różnice aparatuowe pomiędzy wynikami testu cystatyny C firmy Gentian w analizatorze IMMAGE i wynikami testu w analizatorach Hitachi 917 i przeanalizowano wyniki z zastosowaniem analizy regresji Passinga-Babloka:

* Zarejestrowany znak towarowy firmy Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

Metody	N	Zakres próbek (mg/l)	Zasada	Współczynnik	95% CI współczynnika
IMMAGE 800 w porównaniu do Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Punkt przecięcia Nachylenie	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 – 1,03

Dodatkowe informacje

Więcej szczegółowych informacji na temat systemów IMMAGE® znajduje się w instrukcji odpowiedniego systemu. Ponieważ firma Beckman Coulter® nie jest producentem odczynnika, nie wykonuje kontroli jakości ani innych testów poszczególnych serii, firma Beckman Coulter® nie może ponosić odpowiedzialności za jakość uzyskanych danych, która wynika z charakterystyki odczynnika, jakiegokolwiek zmienności pomiędzy seriami odczynnika lub zmian protokołu dokonanych przez producenta.

Uszkodzenie w trakcie transportu

Jeśli dostarczony produkt jest uszkodzony, należy poinformować dystrybutora. W sprawie pomocy technicznej należy kontaktować się z lokalnym przedstawicielem firmy Beckman Coulter®. Informacja w innych językach jest dostępna na: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Objaśnienie symboli

LOT

Numer serii



Limit temperatury



Termin ważności



Zapoznać się z instrukcją użycia



Producent

REF

Numer katalogowy

IVD

Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro



Uwaga



Zagrożenie biologiczne



Gentian AS



Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norwegia

TEL: +47 99 33 99 05

FAKS: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

Piśmiennictwo

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.

Ustawienia analizatora dla Gentian Cystatin C Immunoassay (Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C) w systemach IMMAGE* firmy Beckman Coulter®

Strona 1

Nazwa testu: CYSX	Jednostka: mg/L
Numer serii odczynnika: *	Protokół: Niekompetycyjny NIPIA
Numer wkładu: **	Termin ważności odczynnika: *
Numer serii odczynnika: **	Testy wg serii: 40
Limit AGXS:	Włączona opcja AGXS:

Strona 2

Bufor: BUF10	Rozcieńczalnik: DIL10
Objętość próbki: 5 µl	Rozcieńczalnik kalibratora: 1:1
Objętość buforu reakcji: 0 µl	Rozcieńczalnik próbki: 1:1
Objętość odczynnika A: 30 µl	Czas reakcji: 5 minut
Objętość odczynnika B: 195 µl	

Strona 3:

Poziomy: 6	Poziom kalibratora
Powtórzenia: 2	Poziom 1: *
Aktualizacja poziomu: 3	Poziom 2: *
Powtórzenia: 2	Poziom 3: *
Typ kalibratora: Wielomian 3. stopnia	Poziom 4: *
	Poziom 5: *
	Poziom 6: *

Nachylenie i kompensacja (w punkcie „Odczynnik i kalibracja”)

Współczynnik a (a·x + b) : 1,10

Przenieść bufor analityczny testu cystatyny C firmy Gentian do komory B i immunocząsteczki cystatyny C firmy Gentian do komory A. Maksymalna objętość komory „A” i „B” wkładu UDR wynosi 8,5 ml. Dlatego maksymalna liczba testów umieszczonych we wkładzie wynosi w przybliżeniu 40.

* Zależny od serii

** Zdefiniowane przez użytkownika