

Cystatin C

Beckman Coulter® IMMAGE® 800 SYSTEMS'de Sistatin C Immunoassay için Kullanma Talimatı

Gentian Cystatin C Reagent Kit A52761 ve IMMAGE Kullanıcı Tarafından Tanımlanmış Reaktif Kartuşları kullanılarak

Kullanım Amacı

Beckman Coulter® IMMAGE® Systems'de Sistatin C Immunoassay, insan serumu ve plazmasındaki sistatin C'nin kantitatif olarak belirlenmesi için kullanılan *in-vitro* diagnostik bir testtir. Sistatin C ölçümü, böbrek hastalıklarının tanısında ve tedavisinde kullanılmaktadır.

Özet ve Testin Açıklanması

Non-glikolize temel protein sistatin C (molekül ağırlığı 13,2 kD) insan vücudundaki çekirdekli hücrelerin neredeyse hepsinde sabit bir hızla üretilir [1]. Normal bir glomerülir membrandan serbestçe süzülür ve sonra proksimal tübüllerde tekrar emilip hemen tamamen katabolize edilir. Bu nedenle insan kanındaki sistatin C konsantrasyonu glomerüler filtrasyon hızı (GFR) ile yakından ilişkilidir [2]. GFR'de bir azalma sistatin C konsantrasyonunda bir artışa neden olur. Sistatin C konsantrasyonuna, kas kitlesi, inflamatuvar hastalıklar, cinsiyet, yaş veya diyet gibi başka faktörlerin anlamlı bir etkisi olduğu görülmemiştir [2, 3, 4].

Kalibratörlerin Standardizasyonu

Gentian Cystatin C Calibrator, uluslararası kalibratör standardı ERM-DA471/IFCC'ye göre standardize edilmiştir.

GFR Tahmin Hesaplaması

Yetişkinlerde ve çocuklarda GFR'nin hesaplanması için çeşitli sistatin C tabanlı tahmin denklemleri yayımlanmıştır. Bu formüllerin, farklı sistatin ölçümleriyle değerlendirildiği (parçacık geliştirilmiş nefelometrik immünoassay PENIA ya da parçacık geliştirilmiş turbidimetrik immünoassay PETIA) ve uygun olmayan bir formül kombinasyonu ve ölçüm kullanıldığında yanlış GFR sonuçları ortaya koyabileceği unutulmamalıdır. Gentian ölçümüyle ölçülen sistatin C değerlerinden GFR hesaplaması için birim faktörü olarak mg/l kullanılarak aşağıdaki tahmin etme denkleminin kullanılması önerilmektedir[5]: Denklem 14 yaşından büyük kişiler için geçerlidir.

$$\text{GFR [ml/dal/1,73 m}^2\text{]} = \frac{79,901}{\text{Sistatin C (mg/l)}^{1.4389}}$$

Ölçüm İlkesi

İnsandan alınan serum ya da plazma örneği sistatin C immün parçacıkları ile karıştırılır. Örnekteki sistatin C ve immün parçacıklardaki anti sistatin C, agregatlar oluşturur. Oluşan kompleks parçacıklar ışığı emer ve turbidimetre ile bu emme saptanmış bir standart kalibrasyon eğrisi üzerinde interpolasyon yoluyla, sistatin C konsantrasyonu ile ilişkilendirilir. IMMAGE® platformları sonuçları otomatik olarak hesaplayacaktır.

Reaktif Kitinde Sağlanan Reaktifler

Reaksiyon Tamponu 1 (R1):

Cystatin C Reaction buffer (Sistatin C Reaksiyon tamponu), 100 ml'lik 1 şişe. R1, MOPS [3-(N-Morfolino)-propan sülfonik asit] tamponlu salin olup, sodyum azit (%0,09 (w/v)) ile korunmuştur. Tampon kullanıma hazırdır.

Reaksiyon Tamponu 2 (R2):

Cystatin C Immunoparticles (Sistatin C İmmün parçacıkları), 10 ml'lik 2 şişe. R2, üniform polistiren parçacıklarına kovalan olarak bağlanmış, sistatin C'ye karşı yönlendirilmiş ve saflaştırılmış immünglobülin olan immün parçacıklar içerir. İmmün parçacıkların oluşturulma sürecinde immünojen olarak insana ait sistatin C kullanılmıştır. %0,09 (w/v) sodyum azit ve antibiyotiklerle korunmuş, kullanıma hazır bir süspansiyon olarak sağlanmıştır.

CYSX IMMAGE Satış Grubuna dahil öğeler REF B69746:	
Gentian Cystatin C Reagent Kit	REF A52761
Kullanıcı Tarafından Tanımlanmış Reaktif Kartuşu (10'li paket)	REF 447250
Buharlaştırma Kapakları (20'li paket)	REF 447170
Gerekli öğeler (sağlanmamış):	
Gentian Cystatin C Calibrator Kit (6 x 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C Control Kit, low & high, (2 x 1 ml)	REF A52765

Uyarılar ve Önlemler

- Bu test, yalnızca *in vitro* kullanım içindir ve uzman personel tarafından kullanılmalıdır.
- Reaktiflerde antibiyotik bulunmaktadır ve bu açıdan dikkat edilerek kullanılması gerekmektedir.
- Reaktiflerde koruyucu olarak sodyum azit bulunmaktadır ve bu açıdan dikkat edilerek kullanılması gerekmektedir. Yutmayın ve deri veya mukoz membranlar ile temas ettirmeyin. Bu ürünün sodyum azit konsantrasyonu tehlikeli olarak tanımlanmamıştır. Ancak kurşun ve bakır borularda biriken NaN_3 , patlayıcı metal azitlerin oluşmasına neden olabilir. Bunu önlemek için eğer atık su sistemine atılacaksa iyice durulayın.
- İmmün parçacıklar hayvan kökenli maddeler içerir. Atılacak malzemelerin uzaklaştırılması yerel gereksinimlerine uygun olarak yapılmalıdır.
- Kalibratörlerin ve kontrollerin üretiminde kullanılan serum, hepatit HBsAg, anti-HCV, anti-HIV1 ve anti-HIV2 için test edilmiştir ve negatif sonuçlar elde edilmiştir. Buna karşın malzemelerde insan ve hayvan kaynaklı maddeler bulunmaktadır ve bu açıdan dikkat edilerek kullanılması gerekmektedir. Atılacak malzemelerin uzaklaştırılması yerel gereksinimlerine uygun olarak yapılmalıdır.

Reaktiflerin Depolanması ve Stabilité

2-8 °C arasında açılmamış reaktiflerin raf ömrü: Etikettedeki son kullanma tarihine bakın. Açılmasından sonra stabilite: 2 - 8°C'de sert kapak kullanıldığında son kullanma tarihine kadar. Kullanım sırasında stabilite: Buharlaştırma kapakları kullanılırken 28 gün. Yıl ve ay biçiminde belirtilen son kullanma tarihine sahip ürünlerin son kullanma tarihi, belirtilen ayın son günüdür.

Örnek Toplanması ve Kullanımı

Gerekli örnek materyal insan serumu veya EDTA/Heparinize plazmadır. Örneklerin mümkün olduğunca taze olarak incelenmesi tavsiye edilir. Örnek stabilite testi serum ve plazma örneklerindeki sistatin C'nin oda sıcaklığında (8-25 °C) 26 gün ve 2 - 8 °C arasında saklanırsa 26 gün dayandığını göstermiştir. Ayrıca örneklerin -20 °C altında dondurarak 10 yıl saklanabildiği yayımlanmıştır [6]. Analiz etmeden önce örnekleri iyice karıştırın.

Ölçüm İşlemleri

Uygulama Notları/Ölçümün Kurulumu

Aşağıdaki "Cihaz Parametreleri" bölümünde ayrıntılı bir cihaz parametreleri listesi bulunmaktadır. Uygulama notu aynı zamanda bu adreste yer almaktadır: www.gentian.no. Cihaz kurulumu, bakımı, çalıştırılması ve önlemlerin, Beckman Coulter® IMMAGE® cihaz kılavuzlarına göre yapılması gerekmektedir.

Reaktiflerin Hazırlanması

Reaktif IMMAGE Reaktif Kartuşuna transfer edilmeye hazır halde sağlanmaktadır. Reaktif 1 ve reaktif 2'nin içeriklerini aşağıdaki tabloda gösterildiği gibi Kullanıcı Tanımlı Kartuşun ilgili bölümlerine aktarın ve kullanırken buharlaştırma kapaklarını takın. Kirlenmeyi önlemek için dikkatli kullanın. Reaktifler, kullanılmadığı zaman 2-8°C sıcaklıkta ağız orijinal sert kapaklarla kapalı halde saklanmalıdır.

Cystatin C Kiti	Bölme A	Bölme B
R1, Reaktif Tamponu	-	8,5 ml
R2, İmmün parçacıklar	1,5 ml	-

Kalibrasyon Eğrisinin Elde Edilmesi

Beckman Coulter® IMMAGE® Systems cihaz kılavuzlarında tanımlanan 6 noktalı standart eğriyi oluşturmak için 1-6 standartlarını kullanın. Kalibratör değerleri ürün partisine bağlıdır ve her yeni kalibrasyon partisi kullanıldığında yeni bir kalibrasyon gerçekleştirilmelidir. Kalibratörün atanmış değerleri, kalibratör tarafından sağlanan analitik değer sayfasında verilmektedir. Her 4 haftada bir yeni kalibrasyonun yapılması gerekmektedir.

Kalite Kontrolleri

Kalibrasyon eğrisini doğrulamak için her gün herhangi bir örnek ölçülmeden önce düşük ve yüksek kontrollerin ölçülmesi gerekmektedir. Kontrollerin, örnek ölçümünden önce karşılanması gereken, belirlenmiş bir değer aralığı vardır. Belirlenmiş değerler Gentian Cystatin C Control Kit ile birlikte verilen Analitik Değerler sayfasında verilmektedir. Eğer kontrol değerleri geçerli değilse, kontrol ölçümlerini tekrarlayın. Eğer kalibrasyon hatasız gerçekleştirilemiyorsa ya da geçerli kontrol değerleri elde edilemiyorsa destek için Beckman Coulter® ile iletişim kurun.

Hasta Örneklerinin Ölçülmesi

Geçerli bir kalibrasyon yapıldığında ve kontrol değerleri geçerli aralıkta bulunduğu serum veya plazma örnekleriyle ölçüm yapılabilir. Gerekli minimum örnek hacminin mevcut olduğunu kontrol edin ve Beckman Coulter® IMMAGE® Cihaz Kılavuzlarında verilen talimatlara uygun olarak örnekleri ölçün.

Sonuçlar

Sonuçlar Beckman Coulter® IMMAGE® Systems tarafından otomatik olarak hesaplanır. Sonuçlar mg/l cinsinden verilir.

Sınırlamalar

Malzemelerin, son kullanma tarihinden sonra kullanılmaması gerekmektedir.

Ölçüm Değerleri Aralığı

Ölçüm için sistatin C'nin ölçüm değerleri aralığı yaklaşık 0,4 - 8,0 mg/l'dir. Tam aralık Gentian Cystatin C Calibrator Kit parti numarasının kalibratör ayar noktalarına bağlıdır.

Referans Aralıklar

Gentian, referans aralığın aktarılabiliğini belirlemek için *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* adlı CLSI Kılavuz Bilgileri, C28-A2'yi uygulamaktadır. Referans aralık, İsveç'teki Växjö Hospital tarafından gerçekleştirilen, 20-80 yaşları arasında kendi beyanlarına göre sağlıklı olan 138 kişiden alınan serum örneklerini içeren referans aralık çalışmasını temel almaktadır. Örnekler AU 2700 platformunda sistatin C için analiz edilmiştir. Referans aralık non-parametrik olarak hesaplanmıştır ve 0,53 - 1,01 mg/l olarak belirlenmiştir. Bu aralık, test edilen tüm popülasyonun merkezi %95'ini temsil etmektedir. Değerler test edilen popülasyona bağlı olarak değişebileceğinden her laboratuvarın yerel bir referans aralığı belirlemesi önerilir.

5-15 yaşları arasında 850 sağlıklı çocuğun (%46 erkek, %54 kız) yer aldığı ayrı bir çalışmada 5 yaşına kadar tüm yaşlardaki çocuklar için 0,51 - 1,05 mg/l referans aralık onaylanmıştır [7].

Performans Özellikleri

Tüm çalışmalar aksi belirtilmediği sürece bir parti reaktif kullanılarak bir laboratuvarda gerçekleştirilmiştir.

Kesinlik

Gentian Cystatin C Immunoassay, CLSI protokolü EP5-A'ya da göre tasarlanmış bir 3 günlük kesinlik çalışmasında kullanılmıştır. Dört serum havuzu ve 2 kontrol seviyesi Beckman Coulter® IMMAGE 800* sistemi üzerinde ölçülmüştür.

KOD	Ortalama değer (mg/l)	Çalışma içi CV (%)	Toplam CV (%)	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

Doğrusallık

Gentian Cystatin C Immunoassay, IMMAGE 800 sisteminde bir doğrusallık çalışmasında kullanılmıştır ve 0,35 – 6,79 mg/l doğrusal aralık gözlenmiştir. Bu aralığın dışındaki konsantrasyonlar test edilmemiştir.

Analitik Geri Kazanım

Beckman Coulter® IMMAGE 800 cihazında Gentian Cystatin C Immunoassay kullanıldığında %100 - 110 geri kazanım gözlenmiştir.

Miktar Belirleme Sınırı

Bir IMMAGE 800 cihazında Gentian Cystatin C ölçümü kullanılarak en düşük miktar belirleme sınırı 0,15 mg/l - 0,24 mg/l olarak ölçülmüştür.

Güvenlik Bölgesi

IMMAGE 800 üzerinde yapılan, Gentian Cystatin C ölçümünün kullanıldığı bir çalışmada, antijen fazlalığı için güvenlik bölgesinin 43 mg/l'ye kadar çıktığı görülmüştür.

İnterferans

Bir çalışmada, sistatin C örneklerinde Hemogloblin (8 g/l), İntralipid (16 g/l) ya da Bilirubin (800 mg/l) ile hiçbir önemli interferans belirlenmemiştir. İnterferans çalışması CLSI'den EP7-A protokolüne uygun olarak tasarlanmıştır [8]. Daha önce Sonntag ve Scholer tarafından yapılan bir yayımda [9] önerilen şekilde test edilen ilaçlarla hiçbir önemli interferans tespit edilmemiştir. Antikorlar kuş antikorları (tavuk) kullanılarak yapıldığından Gentian Cystatin C Immunoassay'da hiçbir RF interferansı yoktur.

Cihaz Varyasyonu

IMMAGE ve Hitachi 917 cihazlarında Gentian Cystatin C arasındaki cihaz varyasyonu ölçülmüştür ve sonuçlar Passing-Bablok regresyon analizi kullanılarak analiz edilmiştir:

Yöntemler	N	Örnekleri n aralığı (mg/l)	Terim	Katsayı	Katsayının %95 CI
IMMAGE 800	24	0,58 - 6,97	Kesişim	0,08	0,05 - 0,11
Hitachi 917			Eğim	1,01	0,99 - 1,03

Ek Bilgiler

IMMAGE® sistemleri hakkında ayrıntılı bilgi için ilgili sistem kılavuzuna bakın. Beckman Coulter® reaktifleri üretmediğinden ya da her bir ürün partisi üzerinde kalite kontrolü ya da diğer testleri gerçekleştirmediğinden, reaktifin performansı, reaktif partileri arasındaki farklılıklar nedeniyle elde edilen verilerin kalitesinden ya da üreticinin protokol değişikliklerinden sorumlu tutulamaz.

Nakliye Sırasında Hasar Görme

Eğer ürün hasarlı geldiyse lütfen dağıtıcınıza bildirin. Teknik yardım için lütfen yerel Beckman Coulter® Temsilciniz ile görüşün. Diğer dillerde yardım için: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Sembol Açıklamaları

LOT

Parti numarası



Sıcaklık sınırlaması



Son kullanma tarihi



Kullanma talimatlarına bakın



Üretici

REF

Katalog numarası

IVD

In vitro diagnostik tıbbi cihaz



Dikkat



Biyolojik riskler



Gentian AS **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norveç

TEL: +47 99 33 99 05

FAKS: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

Kaynaklar

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.

Beckman Coulter® IMMAGE Systems*(IMMAGE 800) üzerinde Cystatin C Immunoassay için Cihaz Ayarları

Sayfa 1

Test adı: cysx	Birim: mg/l
Reaktif parti numarası: *	Protokol: Rekabetçi olmayan NIPIA
Kartuş numarası: **	Reaktif son kullanma tarihi: *
Reaktif seri numarası: **	Parti başına test sayısı: 40
AGXS Limiti:	AGXS Etkin:

Sayfa 2

Tampon: BUF10	Seyreltici: DIL10
Örnek hacmi: 5 µl	Kalibratör seyreltmesi: 1:1
Reaksiyon tampon hacmi: 0 µl	Örnek seyreltmesi: 1:1
Reaktif A hacmi: 30 µl	Reaksiyon süresi: 5 dakika
Reaktif B hacmi: 195 µl	

Sayfa 3:

Seviyeler: 6	Kalibratör Seviyesi
Tekrarlamalar: 2	Seviye 1: *
Seviye güncellemesi: 3	Seviye 2: *
Tekrarlamalar: 2	Seviye 3: *
Kalibrasyon türü: 3. sipariş polinom	Seviye 4: *
	Seviye 5: *
	Seviye 6: *

Eğim ve Ofset ('Reaktif ve Kalibrasyon' altında)

Faktör a (a·x + b): 1,10

Gentian Cystatin C Assay Buffer'ı B bölmesine ve Gentian Cystatin C immün parçacıklarını A bölmesine aktarın. UDR kartuşunun "A" ve "B" bölmelerinin maksimum hacmi 8,5 ml'dir. Kartuşu en fazla yaklaşık 40 test yüklenebilir.

* Ürün partisine bağlıdır

** Kullanıcı tanımlı