gentian

Cystatin C Immunoassay

IVD Pouze pro diagnostiku in vitro

Pro systémy Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coulter Skladujte při 2-8°C

Kat. číslo A52761 (300 testů) Květen 2011

Použití

Souprava Cystatin C Immunoassay, firmy Gentian pro přístroje Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coluter je určena pro in vitro diagnostické stanovení hladin cystatinu C v lidském séru nebo plazmě. Toto stanovení se využívá při diagnostice a léčení onemocnění ledvin.

Souhrn a výklad

Cystatin C je neglykosylovaný bazický protein (m. h. 13,2 kD) a je v lidském těle produkován konstantní rychlostí téměř každou buňkou, která má jádro [1]. Je volně filtrován přes normální ledvinovou membránu a je pak reabsorbován a téměř úplně katabolizován v proximálních tubulech. Koncentrace cystatinu C v krvi je tak úzce závislá na rychlosti glomerulární filtrace (GFR) [2]. Snížení GFR způsobuje zvýšení hladin cystatinu C. Ukázalo se, že jeho koncentrace není významně ovlivněna ostatními faktory, jako je svalová hmota, horečnaté onemocnění, pohlaví, věk nebo způsob stravování [2,3,4].

Standardizace kalibrátoru

Kalibrátor Gentian Cystatin C je standardizován na mezinárodní kalibrační standard ERM-DA471/IFCC.

Výpočet pro předpověď glomerulární filtrace

Bylo publikováno několik predikčních vzorců založených na cystatinu C pro výpočet glomerulární filtrace (GFR) u dospělých i dětí. Je třeba poznamenat, že tyto vzorce byly hodnoceny za použití různých stanovení cystatinu C (částicového nefelometrického imunologického stanovení PENIA nebo částicového turbidimetrického imunologického stanovení PETIA) a že v případě použití nevhodné kombinace vzorce a stanovení mohou poskytnout nesprávné výsledky. Pro výpočet GFR z hodnot cystatinu C naměřených pomocí stanovení společnosti Gentian je doporučena následující rovnice s jednotkami mg/l [9]: Rovnice platí pro osoby starší 14 let.

$$\text{GFR [mL/min/1.73 m}^2\text{]} = \frac{79.901}{\text{Cystatin C (mg/L)}^{1.4389}}$$

Princip stanovení

Vzorek séra nebo plazmy je smíchán s částicemi, pokrytými protilátkou proti cystatinu C. Cystatin C ze vzorku vytváří s protilátkou vázanou na částicích agregáty, které absorbují světlo a absorbance je měřena turbidimetricky. Absorbance je pak přímo úměrná koncentraci cystatinuC a je odečítána z předem sestrojené kalibrační křivky. Systémy Synchron* a UniCel* automaticky vyhodnotí výsledky.

Reagencie

Reakční pufr 1 (R1)

Cystatin C Reaction Bufer, 1 lahvička, 100 mL, kat.č. A52761 (R1) je salinizovaný pufrovaný roztok MOPS [3-(N-morfolino)-propansulfonové kyseliny], s azidem sodným (0,09% w/v). Pufr je připraven k použití.

Reakční pufr 2 (R2)

Cystatin C Immunoparticles , 2 lahvičky po 10 mL, kat.č. A52761. Reagencie obsahuje „immunočástice“, co ž jsou homogenní polystyrénové částice s kovalentně navázanou přečištěnou imuno-globulinovou frakcí protilátky proti cystatinu C. Pro vytvoření protilátky byl použit čistý lidský cystatin C jako imunogen. Reagencie je dodávána jako suspenze, obsahující azid sodný 0,09% (w/v) a antibiotika a je připravena k použití.

Požadovaný ale nedodávaný materiál

Kalibrátory Cystatin C firmy Gentian, 6 lahviček po 1 mL; Kat č. A52763
Kontrolní vzorky Cystatin C firmy Gentian; 2 lahvičky po 1 mL; kat. č. A52765
Kazety na reagencie, k příslušnému přístroji; 12 kusů v balíčku; kat. č. 442835.

Upozornění a bezpečnostní opatření

1. Souprava je určena pouze pro in vitro použití a smí s ní zacházet jen vyškolený laboratorní personál.
2. Reagencie obsahují antibiotika a podle toho s nimi musí být nakládáno.
3. Reagencie obsahují azid sodný jako konzervační látku, při manipulaci s nimi zachovávejte následující pravidla: Zabraňte požití nebo kontaktu s kůží a sliznicemi. Koncentrace azidu v reagenciích není charakterizována jako nebezpečná, nicméně nakumulovaný azid sodný v potrubí může reagovat s olovem, mědí nebo mosazí za vzniku příslušných výbušných azidů. Proto likvidované reagencie splachujte velkým množstvím vody.
4 Částice navázaným imunoglobulinem obsahují materiál zvířecího původu. Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.
5. Sérum, ze kterého jsou vyrobeny kalibrátory a kontrolní vzorky, mělo negativní test na přítomnost protilátek proti viru hepatitidy C, proti povrchovému antigenu hepatitidy B (HBsAg) a proti viru HIV 1 a 2. Reagencie však obsahují materiál lidského a zvířecího původu a je tedy nutné pracovat s těmito reagenciemi jako s potenciálně infekčními. Veškerý vzniklý odpad je třeba likvidovat podle platných předpisů.

Skladování a stabilita reagencií

Neotevřené reagencie skladujte při 2-8 °C do data exspirace uvedeného na štítku. Po otevření jsou stabilní po dobu 9 týdnů při 2-8 °C. Stabilita reagencií v přístroji je 4 týdny při správné teplotě (2-8°C).

Sběr a příprava vzorků

Stanovení provádějte ve vzorcích séra nebo plazmy (EDTA nebo heparin). Vzorky my měly být pokud možno čerstvé. Testem stability bylo zjištěno, že cystatin C je v séru a plazmě stabilní po dobu 14 dnů při laboratorní teplotě (8-25 °C) a po dobu 21 dnůpři teplotě 2-8 °C. Vzorky zmražené při -20° C jsou stabilní po dobu 3 měsíců [8]. Před stanovením vzorky řádně promíchejte.

*Registrovaná obchodní značka firmy Beckman Coulter Inc.

Postup stanovení

Poznámky ke stanovení / instalace soupravy

Podrobný popis parametrů je uveden v kapitole „Instrument parameters“, viz dále.Podrobné poznámky ke stanovení jsou dostupné na webových stránkách www.gentian.no Spuštění přístroje, jeho nastavení, údržba a různá upozornění jsou uvedeny v příslušných návodech k použití přístrojů Synchron * a UniCel* firmy Beckman Coulter.

Příprava reagencií

Reagencie jsou dodávány připravené k použití. Přenew¨ste obsah reagencie R1 a R2 do příslušných oddílů v kazetě pro váš přístroj, jak je uvedeno v tabulce. Zabraňte kontaminaci. Pokud reagencie nepoužíváte, skladujte je zavíčkované při 2-8 °C .

Cystatin C kit	oddíl A	oddíl B
R1 Reakční pufr 1	25 mL	-
R2 Reakční pufr 2	-	5 mL

Stanovení kalibrační křivky

Použijte standardy č. 1-6 pro stanovení hodnot a sestrojení 6ti bodové kalibrační křivky, tak jak je popsáno v příslušných návodech k obsluze pro přístroje Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coulter. Hodnoty kalibrátorů se liší v různých šaržích a proto je třeba vždy při použití nové šarže kalibrátorů provést novou kalibraci. Hodnoty kalibrátorů jsou uvedeny v kalibračním listu, přiloženém ke každé sadě. Přístroje Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coluter vyžadují novou kalibraci každé 2 týdny.

Kontrolní vzorky

Každý den před stanovením neznámých vzorků, musí být stanoveny hodnoty kontrolních vzorků – o vysoké a nízké hladině analytu, aby byla ověřena kalibrační křivka. Naměřené rozsahy kontrolních vzorků musí spadat do rozsahu, uvedeného v kontrolním listu (Analytical value sheet), přiloženém k sadě kontrolních vzorků Gentian Cystatin C Control set (kat.č. A52765) a to vždy před zahájením vlastního stanovení. Pokud váš výsledek není v daných mezích, zopakujete kontrolní měření. Pokud nemůžete provést bezchybnou kalibraci nebo nemůžete reprodukovat vyhovující hodnoty kontrol, kontaktujte pracovníky firmy Beckman Coulter.

Měření vzorků od pacientů

Proveď te kalibraci a proměřte kontrolní vzorky. Pokud naměřené hodnoty kontrol spadají do očekávaného rozsahu, je možno začít měřit neznámé vzorky. .Zkontrolujte, zda je dostupný alespoň minimální požadovaný objem vzorku a proveďte analýzu podle návodu k použití přístrojů Synchron* nebo UniCel* firmy Beckman Coulter.

Výsledky

Systémy Synchron* a UniCel* automaticky vyhodnotí výsledky. Výsledky jsou uvedeny v mg/L.

Omezení použití soupravy

Nepoužívejte reagencie po datu exspirace.

Nebyla zjištěná žádná interference s triglyceridy, hemoglobinem,, intralipidem nebo bilirubinem při testovaných koncentracích. Nebyla zjištěna žádná interference s léky, doporučenými firmou Sonntag a Scholler [5]. Nebyla zjištěná žádná interference s RF, protože protilátky jsou ptačího původu (kuře) [6].

Rozsah měření

Rozsah měření cystatinu C je přibližně 0,4 – 8,0 mg/L. Přesný rozsah měření je závislý na koncentraci kalibrátorů (Gentian Cystatin C Calibrator Kit) dané šarže.

Referenční interval

Firma Gentian postupuje při stanovení referenčního intervalu podle směrnice CLSI Guideline, C28-A2;*how to DEfineand Determine Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition.* Referenční interval je založen na měření, provedeném v Karolinska University Hospitál, Stockholm ve Švédsku. Studie zahrnovala vzorky sér od 138 zjevně zdravých jedinců ve věku 20-80 let. Ve vzorcích byl stanoven cystatinC na přístroji Synchron LX20*. Referenční interval byl vypočten neparametricky a byl stanoven na hodnotu 0,62 – 1,15 mg/mL, což představuje 95 % testované populace. Každá laboratoř by si měla stanovit vlastní rozmezí referenčních hodnot, protože mohou záviset na místní populaci.

Analytické parametry stanovení

Výsledky byly získány pomocí přístrojů Synchron LX20* a UniCel* DxC 800 PRO.

Detekční limit

Kvantifikační limit stanovení je definován: *Nejnižší aktuální obsah analytu, který je možno spolehlivě detekovat s nejnižší celkovou chybou a vyhovuje požadavkům pro přesnost.*

Detekční limit je definován: *Nejmenší množství analytu,odlišitelné od nuly které může být spolehlivě stanoveno uvedenou metodou.*

Souprava Cystatin C Ammunoassay, firmy Gentian má kvantifikační limit 0,42 mg/mL a detekční limit 0,00042 mg/mL, dosažených na přístrojích Synchron LX20* a kvantifikační limit 0,46 mg/mL, dosažený na UniCel* DxC.

Správnost

Souprava Cystatin C Ammunoassay, firmy Gentian byla použita při 3-denní studii správnosti na přístroji Synchron LX20* a při 5-denní studii správnosti na přístroji UniCel* DxC. Měření byla provedena tak, aby vyhovovala postupu CLSI EP5-A. Byly proměřeny 3 hladiny směsných sér a 2 hladiny kontrolních vzorků.

Synchron Lx20*

Vzorek	Průměrná hodnota (mg/L)	Intra-assay Var. koef. (%)	Inter-assay Var. koef. (%)
Směsné sérum – nízké	0,88	3,25	5,35
Směsné sérum – střední	3,71	0,67	2,21
Směsné sérum – vysoké	6,63	1,40	2,85
Nízká kontrola	1,04	2,40	4,83
Vysoká kontrola	3,89	1,88	3,30

UniCel* DxC

Vzorek	Průměrná hodnota (mg/L)	Intra-assay Var. koef. (%)	Inter-assay Var. koef. (%)
Směsné sérum – nízké	0,97	2,62	5,12
Směsné sérum – nízké	1,12	1,72	5,77
Směsné sérum – střední	2,83	1,04	3,03
Směsné sérum – vysoké	5,79	3,33	4,75
Nízká kontrola	1,00	2,88	4,38
Vysoká kontrola	3,90	1,67	2,95

Test ředění

Souprava Cystatin C Immunoassay, firmy Gentian dává lineární výsledky v rozsahu 0,43 až 7,98 mg/L pro Synchron LX20* a v rozsahu 0,34 až 7,95 mg/L, pro UniCel* DxC. Koncentrace přesahující tyto hranice nebyly testovány.

Recovery test

Pro soupravu Cystatin C Immunoassay, firmy Gentian se dá očekávat recovery v rozsahu 95 – 104 % pro Synchron LX20* a 98 – 107 % pro UniCel* DxC.

Hook efekt

Pro soupravu Cystatin C Immunoassay, firmy Gentian se pro Synchron LX20* a pro UniCel* DxC neprojeví hook efekt u vzorků do koncentrace 25 mg/L cystatinu C. Oba přístroje jsou však nastaveny tak, že nevydávají výsledky vyšší než nejvyšší kalibrátor.

Interference

*Registrovaná obchodní značka firmy Beckman Coulter Inc.

Nebyla zjištěná žádná interference s triglyceridy (1316 mg/dL = 15 mmol/mL), hemoglobinem (400 mg/dL), intralipidem (1200mg/dL) nebo bilirubinem (20 mg/dL).
Nebyla zjištěna žádná interference s léky, doporučenými firmou Sonntag a Scholler [5]. Měření interference byla provedena tak, aby vyhovovala postupu CLSI EP7-A [7]. Nebyla zjištěná žádná interference s RF, protože protilátky jsou ptačího původu (kuře) [6].

Variace mezi přístroji

Variace výsledků získaných soupravou Cystatin C Immunoassay na přístroji Synchron LX20* a 1) jinou turbidimetrickou soupravou firmy Gentian Cystatin C, a 2) na přístroji UniCel* DxC byla vyhodnocena regresní analýzou Passing-Bablok.

Metody sorvnání

Srovnání výsledků získaných soupravou Cystatin C Immunoassay firmy Gentian na přístroji LX20*a 3) komerčně dostupnou nefelometrickou soupravou, bylo vyhodnoceno regresní analýzou Passing-Bablok.

Metoda		N	Rozsah vzorků (mg/L)	Název	Koef.	95% CI koeficientu
1	LX20* vs Architect	47	0,71-7,91	Intercept Sklon	0,17 0,95	0,13-0,22 0,93-0,97
2	LX20* vs DxC*	50	0,68-7,65	Intercept Sklon		-0,01-0,06 0,95-1,00
3	LX20* vs BN ProSpec	51	0,87-7,46	Intercept Sklon	0,30 1,04	0,21-0,34 1,01-1,08

Doplňující informace

Podrobnější informace o systémech jsou uvedeny v příslušných návodech k obsluze pro přístroje Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coulter.

Společnost Beckman Coulter není výrobcem těchto reagencií a neprovádí kontrolu kvality ani další testy jednotlivých šarží. Společnost Beckman Coulter tudíž neručí za kvalitu naměřených dat, která se odvíjí od vlastností reagencií, jejich návazností mezi šaržemi nebo za případné změny postupu, oznámené výrobcem.

Další jazykové verze najdete na: http://www.gentian.no/gentian/show.php

Poškození při dopravě

Pokud dostanete výrobek poškozený během dopravy, oznamte to neprodleně firmě Beckman Coulter.

Synchron LX* a UniCel* DxC jsou registrované obchodní značky firmy Beckman Coulter Inc. Fullerton, CA 92835.

Při potížích kontaktujte prosím pracovníky firmy Beckman Coulter.

Literatura

1. Abrahamson M et al: Biochem J 1990;268:287-94.
2. Latzera OF et al: Clin Chem 2002;48:63-99
3. Grubb AO. AdvClin Chem 2000;35:63-99
4. Filler G et al: Clin Biochem 2005;38:1-8
5. SonntagO,Scholer A: AnnClin Biochem 2001; 38:376-85
6. Larsson A et al: Poultry Science 1993;72:1807-1812
7. CLSI; Dokument EP7-A; Interference testing in Clinical Chem; Approved Guideline
8. Mussap M et al: Clin Chem Med 1993;36:859-65

LOT Číslo šarže	Viz návod
Rozmezí skladovacích teplot	Výrobce
IVD Pro diagnostiku in vitro	REF Katalogové číslo
Použitelné do…	

Výrobce:
Gentian AS, PO BOX 733,N-1509 Moss, Norway
Tel: +47 69 24 27 26
Fax: +47 69 24 09 62

*Registrovaná obchodní značka firmy Beckman Coulter Inc.

gentian

Cystatin C Immunoassay

IVD Pouze pro diagnostiku in vitro

Pro systémy Synchron* a UniCel* firmy Beckman Coulter Skladujte při 2-8°C

Kat. číslo A52761 (300 testů) Červen 2008

Parametry přístroje

Number/číslo **[*]** Chem **[CYSX]**

Chemistry Parameters			Strana 1 ze 3	
Reaction Type		**[Rate 1]**		
Units/jednotky		**[mg/L]**		
Precision		**[X.XX]**		
Reaction Direction		**[Positive]**		
Math Model		**[8]**		
Primary Wavelength		**[410]**		
Secondary Wavelength		**[700]**		
Calculation Factor		**[1.000]**		
No. of Calibrators		**[6]**		
Setpoints	1	**[C***]**	4	**[C***]**
	2	**[C***]**	5	**[C***]**
	3	**[C***]**	6	**[C***]**
Cal Time Limit		**[336] hours**		

Processing Parameters		Strana 2 ze 3
First Inject	Component	**[A]**
	Dispense Volume	**[230] µL**
Second Inject	Component	**[None]**
	Dispense Volume	**[ ]**
	Inject Time	**[ ]**
Third Inject	Component	**[B]**
	Dispense Volume	**[45] µL**
	Inject Time	**[80] sec**
Sample Volume	**[5] µL**	
ORDAC Volume	**[None] µL**	
Blank	Start Read	**[56] sec**
	End Read	**[72] sec**
Initial (DxC only)	Start Read	**[ ] sec**
	End Read	**[ ] sec**
Reaction 1	Start Read	**[84] sec**
	End Read	**[148] sec**
Reaction 2	Start Read	**[ ] sec**
	End Read	**[ ] sec**
Usable Result Range		
	Low Limit	**[0.4]**
	High Limit	**[8.0]**
ORDAC	Low Limit	**[ ]**
	High Limit	**[ ]**

Error Detection Limits		strana 3 ze 3		
Blank	ABS Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Rate Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Mean Deviation	**[2.200]**		
Reaction 1	ABS Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Rate Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Mean Deviation	**[2.200]**		
Reaction 2	ABS Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Rate Low/High Limits	**[-1.500]/[2.200]**		
	Mean Deviation	**[2.200]**		
Substrate Depletion				
	Initial Rate	**[99.999]**		
	Delta ABS	**[2.200]**		
Multipoint Span				
	1-2	**[0.001]**	**4-5**	**[0.001]**
	2-3	**[0.001]**	**5-6**	**[0.001]**
	3-4	**[0.001]**	**6-1**	**[0.001]**

* = Definováno uživatelem
C*** = Přiřazené hodnoty kalibrátorů

*Registrovaná obchodní značka firmy Beckman Coulter Inc.