

## Gentian Cystatin C Immunoassay (Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C) na systemie Synchron UniCel firmy Beckman Coulter

REF A52761

### Przeznaczenie

Gentian Cystatin C Immunoassay (Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C) 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 jądrzastej 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 cząstkami opłaszczonymi przeciwciałami (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 krzywą kalibracji.

### Odczynniki dostarczone w zestawie testu

Materiały wymagane, lecz niedostarczone	
Gentian Cystatin C Calibrator Kit (Zestaw kalibratorów cystatyny C firmy Gentian), poziom 1-6, fiołki o obj. 1 ml	REF A52763
Gentian Cystatin C Control Kit (Zestaw kontroli cystatyny C firmy Gentian), niska i wysoka, 2 fiołki o obj. 1 ml	REF A52765
User-Defined Reagent Cartridge (Definiowany przez użytkownika wkład z odczynnikami) (12 w opakowaniu)	REF 442835

### Skład

**Bufor reakcyjny 1 (R1):** 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):** 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.

### 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. Immunocząsteczki, kalibratory i kontrole zawierają potencjalnie zakaźne substancje pochodzenia zwierzęcego i ludzkiego i należy się z nimi obchodzić z należytą ostrożnością. Utylizacja jakichkolwiek odpadków powinna odbywać się zgodnie z wymaganiami lokalnymi.
4. Należy używać wyłącznie instrumentów zwalidowanych i zatwierdzonych przez firmę Gentian AS.
5. 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 określane jako niebezpieczne. Nagromadzenie  $\text{NaN}_3$  w rurkach ołowianych i miedzianych może jednak prowadzić do powstawania wybuchowych azydków metali. Aby temu zapobiec, należy obficie spłukać po wyrzuceniu do kanalizacji.
6. Odczynniki zawierające MOPS mogą działać drażniąco na oczy i skórę. Podczas obchodzenia się z odczynnikami zachować ostrożność.
7. R2 zawiera cząsteczki polistyrenowe.
8. Unikać stosowania próbek silnie lipemicznych, żółtaczkowych lub zhemolizowanych.
9. Nie mieszać odczynników z zestawów o różnych numerach serii ani nie zamieniać zatyczek pomiędzy odczynnikami.

### Przechowywanie i trwałość odczynników

Okres trwałości nieotwieranych odczynników w temperaturze 2 - 8°C: Patrz termin ważności na etykiecie. Stabilność po otwarciu: 9 tygodni w temp. 2-8 °C. Stabilność w analizatorze: 4 tygodnie w prawidłowej temperaturze (2-8°C).

## 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° C - 8° C; oraz przez co najmniej 5 lat przy przechowywaniu próbek zamrożonych w temperaturze poniżej -70 °C [6]. Wymieszać dokładnie próbki przed analizą. Próbkę można przesyłać bez specjalnego schładzania i muszą być wtedy badane w ciągu 14 dni od przesyłki.

## Zakres pomiarowy

Zakres pomiarowy stężeń cystatyny C tego testu to w przybliżeniu 0,4 - 8,0 mg/l. Dokładny zakres zależy od wartości kalibratorów z danej serii zgodnie z informacją w arkuszu wartości analitycznych.

## Procedura testu

### Uwagi dotyczące użycia

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

### Przygotowanie odczynników

Odczynniki są dostarczane jako gotowe do użycia. Przenieść zawartość odczynnika 1 i odczynnika 2 do odpowiednich przedziałów wkładu definiowanego przez użytkownika, jak to pokazano w tabeli poniżej. Zachować ostrożność, aby zapobiec skażeniu. W okresach pomiędzy kolejnymi użyciami odczynników należy przechowywać w temperaturze 2-8 °C zamknięte zatyczkami.

Zestaw cystatyny C	Komora A	Komora B
R1, Bufor odczynnika	25 ml	-
R2, Immunocząstki	-	5 ml

### Wyznaczanie krzywej kalibracji

Do ustalenia 6-punktowej krzywej kalibracji należy zastosować preparaty wzorcowe od 1 do 6 zgodnie z instrukcjami analizatorów systemu Synchron UniCel 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. System Synchron UniCel firmy Beckman Coulter wymaga kalibracji co 2 tygodnie.

### Kontrola KJ

Kontrola testu Gentian Cystatin C 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 systemu Synchron UniCel firmy Beckman Coulter.

### Wyniki

Wyniki są obliczane automatycznie przez system Synchron UniCel firmy Beckman Coulter. Wyniki podawane są w mg/l.

## Zakres referencyjny

Zastosowano zalecenia CLSI nr C28-A2 [7], aby określić przenośność zakresu referencyjnego. Zakres referencyjny powstał w oparciu o zakres referencyjny w badaniu przeprowadzonym w Karolinska University Hospital, Stockholm, Szwecja, obejmującym próbki surowicy od 138 uczestników w wieku 20-80 lat, deklarujących się jako zdrowi. Próbkę analizowano pod kątem cystatyny C w aparacie Synchron LX20. Ustalono równorzędność pomiędzy systemami Synchron LX i UniCel Dx. Zakres referencyjny obliczono nieparametrycznie i ustalono od 0,62 do 1,15 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 [8] (Uwaga: Produkt nie jest dopuszczony do stosowania u pacjentów pediatrycznych w Stanach Zjednoczonych).

## Charakterystyka testu

Badania opierają się na pomiarach na analizatorze Synchron UniCel Dx 800PRO w jednej placówce badawczej przy użyciu odczynników jednej serii, jeśli nie podano inaczej.

### Próg wykrywalności

Próg wykrywalności został określony jako: najmniejsza ilość analitu, która może zostać wiarygodnie wykryta za pomocą danej metody i umożliwia stwierdzenie obecności lub braku analitu. Granica oznaczenia ilościowego została określona jako: najmniejsza rzeczywista ilość analitu, która może zostać wiarygodnie wykryta i przy której błąd całkowity spełnia wymogi dokładności.

Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian ma granicę oznaczenia ilościowego równą 0,46 mg/l w analizatorze Synchron UniCel Dx.

### Precyzja

Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian był stosowany w 5-dniowym badaniu precyzji w analizatorze UniCel Dx, zaprojektowanym zgodnie z protokołem EP5-A CLSI. Zmierzone stężenia dla trzech pul surowicy i 2 kontroli w analizatorze Dx z ponowną kalibracją pomiędzy kolejnymi dniami.

Próbka	Wartość średnia (mg/l)	W jednej analizie (CV%)	Pomiędzy analizami w różnych dniach (CV%)	Pomiędzy analizami (CV%)	Łącznie współczynnik wariacji (CV%)
P1	1,12	1,72	2,13	5,08	5,77
P2	2,83	1,04	0,84	2,73	3,03
P3	5,79	3,33	2,40	2,38	4,75
P4	0,97	2,62	0,97	4,29	5,12
L (niska)	1,00	2,88	1,50	2,95	4,38
H (wysoka)	3,90	1,67	0,58	2,36	2,95

### Liniowość

Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian zachowuje liniowość w zakresie 0,34-7,95 mg/l w analizatorze UniCel Dx. Nie badano stężeń spoza tego zakresu.

### Odzysk analityczny

Oczekiwany odzysk w przypadku testu immunologicznego do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian w analizatorze UniCel Dx może wynosić 98-107%.

## Efekt pozorny

Badanie przeprowadzono w analizatorze Synchron LX20, dla którego ustalono równoważność. Nie wykryto żadnego efektu pozornego poniżej 25 mg/l. Jednak analizator Synchron UniCel DxC jest zaprogramowany w taki sposób, aby nie podawać żadnych wyników powyżej najwyższego stężenia kalibratora.

## Zakłócenia

Nie stwierdzono zakłóceń w przypadku trójglicerydów (15 mmol/l), hemoglobiny (4 g/l), substancji Intra Lipid (12 g/l) ani bilirubiny (2 g/l) w analizatorze Synchron LX20. Nie stwierdzono zakłóceń z badanymi lekami zgodnie z zaleceniem Sonntag i Scholer [9]. Badanie zakłóceń zaplanowano zgodnie z protokołem EP7-A z CLSI [11]. W teście immunologicznym do oznaczania stężenia cystatyny C firmy Gentian nie występują interferencje z obecnym czynnikiem reumatoidalnym (RF), ponieważ stosowane są przeciwciała ptasie (kurczą) [10]

## Różnice aparatuowe i porównanie metod

Różnice aparatuowe pomiędzy wynikami testu cystatyny C firmy Gentian w analizatorze Synchron LX20 i 1) testu w analizatorze UniCel DxC z zastosowaniem analizy regresji Passinga-Babloka przedstawiono w poniższej tabeli. Ponadto tabela przedstawia porównanie pomiędzy testem cystatyny C firmy Gentian w analizatorze Synchron LX20 i 2) dostępnym w handlu testem nefelometrycznym za pomocą analizy regresji Passinga-Babloka.

Metoda	N	Zakres próbek (mg/l)	Zasada	Współczynnik	95% CI współczynnika
LX20 w porównaniu do DxC	53	0,68-7,65	Punkt przecięcia	0,03	-0,01-0,07
			Nachylenie	0,97	0,95-1,00
LX20 w porównaniu do BN ProSpec	51	0,87-7,46	Punkt przecięcia	0,30	0,21-0,34
			Nachylenie	1,04	1,01-1,08

## Dodatkowe informacje










Więcej szczegółowych informacji na temat systemów Synchron UniCel 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.

Informacja w innych językach jest dostępna na:

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

## Objaśnienie symboli

	Numer serii
	Limit temperatury
	Termin ważności
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Producent
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro
	Uwaga
	Zagrożenie biologiczne

 Gentian AS

CE

Bjornasveien 5, N-1509 Moss, Norwegia  
TEL: +47 99 33 99 05  
FAKS: +47 69 24 09 62  
<http://www.gentian.no>

## Uszkodzenie w trakcie transportu

Jeśli dostarczony produkt jest uszkodzony, należy poinformować lokalnego dystrybutora.

## Bibliografia

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. CLSI; Document C28-A2; Reference Intervals in the Clinical Lab; Approved Guideline.
8. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1
11. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.

# Parametry analizatora

## Gentian Cystatin C Immunoassay (Test immunologiczny do oznaczania stężenia cystatyny C) w systemie Synchron UniCel firmy Beckman Coulter

Numer [ ] Chem [CYSX]

Parametry chemiczne		Strona 1 z 3		
Typ reakcji	[Szybkość 1]			
Jednostki	[mg/l]			
Precyzja	[X.XX]			
Kierunek reakcji	[Dodatni]			
Model matem.	[8]			
Główna długość fali	[410]			
Druga długość fali	[700]			
Współczynnik obliczeniowy	[1,000]			
Liczba kalibratorów	[6]			
Ustawienia	1	[C]	4	[C]
	2	[C]	5	[C]
	3	[C]	6	[C]
Limit czasu kal.	[336] godz.			

Progi wykrywalności błędów		Strona 3 z 3		
Próba zerowa	Dolna/górna granica abs.	[-1,500]/[2,200]		
	Dolna/górna granica szybkości	[-1,500]/[2,200]		
	Średnie odchylenie	[2,200]		
Reakcja 1	Dolna/górna granica abs.	[-1,500]/[2,200]		
	Dolna/górna granica szybkości	[-1,500]/[2,200]		
	Średnie odchylenie	[2,200]		
Reakcja 2	Dolna/górna granica abs.	[-1,500]/[2,200]		
	Dolna/górna granica szybkości	[-1,500]/[2,200]		
	Średnie odchylenie	[2,200]		
Ubywanie substratu				
	Szybkość początkowa	[99,999]		
	Delta abs.	[2,200]		
Rozpiętość wielopunktowa				
	1-2	[0,001]	4-5	[0,001]
	2-3	[0,001]	5-6	[0,001]
	3-4	[0,001]	6-1	[0,001]

Parametry testowe		Strona 2 z 3	
Pierwsze wstrzyknięcie	Element	[A]	
	Objętość odmierzona	[230] µL	
Drugie wstrzyknięcie	Element	[Brak]	
	Objętość odmierzona	[ ]	
Trzecie wstrzyknięcie	Element	[B]	
	Objętość odmierzona	[45] µL	
	Czas wstrzyknięcia	[80] s	
Objętość próbki	[5] µL		
Objętość ORDAC	[Brak] µl		
Próba zerowa	Start odczytu	[56] s	
	Koniec odczytu	[72] s	
Początkowy	Start odczytu	[81] s	
	Koniec odczytu	[96] s	
Reakcja 1	Start odczytu	[90] s	
	Koniec odczytu	[154] s	
Reakcja 2	Start odczytu	[ ] s	
	Koniec odczytu	[ ] s	
Użyteczny zakres wyników			
	Dolna granica	[0,4]	
	Górna granica	[8,0]	
ORDAC			
	Dolna granica	[ ]	
	Górna granica	[ ]	