

The NGAL Test

Pro Váš biochemický analyzátor

The NGAL Test™ Reagent Kit
REF ST001CA

Revize: TNT2011-10-EN

POUŽITÍ

The NGAL Test™ je imunoturbidimetrický test pro kvantitativní stanovení hladiny lipokalínu asociovaného s želatinázou neutrofilů (NGAL) v lidské moči a EDTA plazmě a heparinové plazmě na automatických biochemických analyzátoch. Měření NGALu jsou užitečná při diagnóze akutního poškození ledvin, které může vést k akutnímu renálnímu selhání.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ

Renální produkce NGALu se z nejrůznějších příčin podstatně zvedá při ledvinových poškozeních a NGAL se uvolňuje do moči i krve. Celá řada ledvinových poruch je spojena se zvýšenými hladinami NGALu v moči a plazmě. Močový NGAL slouží jako včasný indikátor akutního poškození ledvin po operaci kardiopulmonálního by-passu^{1,2} a hladiny NGALu v moči i plazmě zajišťují včasnou indikaci akutního renálního selhání u nevybraných pacientů s intenzivní péčí³. Zvýšené hladiny NGALu v moči a plazmě byly také pozorovány u pacientů s chronickým onemocněním ledvin⁴ a persistentně zvýšená hladina NGALu po transplantaci ledvin je spojena se špatnou funkcí transplantátu⁵.

PRINCIP TESTU

The NGAL Test™ je imunoturbidimetrický test pro kvantitativní stanovení NGALu v lidské moči a plazmě. Vzorek lidské moči nebo plazmy se smíchá s reakčním pufr R1. Po krátké inkubaci se nastartuje reakce přidáním suspenze s imunočásticemi (polystyrenové mikročástice koutované monoklonální myší anti-NGAL protilátkou). NGAL ve vzorku způsobí shlukování imunočástic. Míra shlukování je potom změřena množstvím absorbovaného světla. Koncentrace NGALu ve vzorku se určí interpolací na sestavené kalibrační křivce.

REAGENCIE

Balení obsahuje

R1 Reakční pufr, 35 ml, je ready-to-use roztok, obsahující myší protein a konzervant.
R2 Suspenze imunočástic, 7 ml, je ready-to-use suspenze z částic polystyrénu nakoutovaných monoklonální myší anti-NGAL protilátkou obsahující konzervant.

VAROVÁNÍ A DOPORUČENÍ

Pro diagnostiku in vitro IVD

- Před zahájením testování si přečtěte všechny instrukce
- Tuto soupravu by měl používat pouze kvalifikovaný personál
- Nepipetujte ústy
- Neprotřepávejte reagentie
- Při přelívání reagentií používejte pouze čisté nádoby
- Nenalívejte reagentie zpět do originálních lahviček po přelítí jinam
- Všechny vzorky použité během testování by měly být posuzovány jako potenciálně infekční a s jako takovými by

se mělo nakládat dle standardních bezpečnostních opatření. Používejte bezpudrové rukavice. Vyhněte se přímému kontaktu s pokožkou. Dojde-li ke kontaktu reagentií s pokožkou, očima nebo ústy, důkladně je opláchněte vodou. Pokud pozorujete symptomy nebo pokud to považujete za nutné, vyhledejte lékařskou pomoc.

- Nezaměňujte víčka na nádobách s reagentiemi, protože by mohlo dojít ke kontaminaci nebo smíchání
- Nepoužívejte reagentie po datu expirace na štítku
- Nemíchejte reagentie různých šarží
- Se všemi dodávanými roztoky musí být manipulováno opatrně a musí být zlikvidovány v souladu s národními a místními předpisy
- Všechno vybavení používané při testování musí být sterilizováno jednou z následujících metod:
 - Máčejte v 3,5% roztoku glutaraldehydu po dobu 30 minut nebo déle
 - Máčejte v 0,5% roztoku chlornanu sodného po dobu 1 hodiny nebo déle
 - Autoklávejte při 121 °C po dobu 20 minut nebo déle

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Skladujte při 2 – 8 °C: Viz datum expirace na štítku.

Stabilita po otevření: 4 týdny při 2 – 8 °C.

Stabilita při skladování na analyzátoru s chlazením: 4 týdny při správné teplotě (2 – 8 °C) ve vhodných nádobách.

Pro analyzátor Hitachi 917 byla prokázána skladovatelnost až 8 týdnů při zachování odpovídající kvality.

ZÍSKÁVÁNÍ VZORKŮ

NGAL může být měřen ve vzorcích lidské moči a plazmy. Krevní vzorky by měly být odebírány asepticky do pro tento účel vhodných zkumavek kvalifikovaným personálem za použití schválených venepunkčních technik. Plazma by měla být připravena standardními technikami pro laboratorní testování. Moč by měla být centrifugována. Připravené vzorky uzavřete. Pokud nebude možné vykonat test během 24 hodin, nebo pokud budou vzorky odesílány, zmrazte je na – 20°C nebo méně. Pro dlouhodobé skladování vzorků je doporučeno – 70 °C nebo méně. Vyvarujte se opakovaného zmražení a rozmražení. Nepoužívejte vzorky hemolyzované, hyperlipemické, ošetřené teplem nebo kontaminované.

STABILITA VZORKU

Vzorky by měly být analyzovány co možná nejdříve. Nicméně vzorky moči i plazmy jsou stabilní nejméně 1 den při pokojové teplotě (20 – 25 °C) a po dobu 3 dnů při 2 – 8 °C. Hodnoty NGALu nejsou podstatně ovlivněny 3 cykly zmražení/rozmražení během 3 dnů.

PROCEDURA

Dodané materiály

R1 Reakční pufr, 35 ml
R2 Suspenze imunočástic, 7 ml

POŽADOVANÉ MATERIÁLY (NEJSOU SOUČÁSTÍ BALENÍ)

- NGAL Test™ Calibrator Kit REF ST002CA
- NGAL Test™ Control Kit REF ST003CA
- 0,9% vodný roztok chloridu sodného jako nulový kalibrátor
- biochemický analyzátor

- aplikační list dle typu analyzátoru (dostupné pro mnoho typů analyzátorů)
- reagenční nádoby dle typu analyzátoru pro R1 a R2

POSTUP MĚŘENÍ

Měření by mělo být provedeno s přihlédnutím k aplikačnímu listu pro použitý biochemický analyzátor. Obecný případ testovací procedury na automatickém analyzátoru následuje níže:

1. Inkubujte 3 μ l vzorku se 150 μ l R1 při 37 °C po dobu 5 minut
2. Přidejte 50 μ l R2
3. Odečtěte změnu absorbance při 570 nm po 5 minutách po přidání R2
4. Vypočtěte koncentraci NGALu ze změny absorbance interpolací na kalibrační křivce sestavené podle kalibrátorů známých koncentrací.

APLIKAČNÍ PARAMETRY PRO ANALYZÁTOR HITACHI 917

TEPLOTA	37 °C
KÓD TESTU	2stupňový konec-10
STUPEŇ TESTU	18-34
OBJEM VZORKU	3 (μ l)
R1 OBJEM	150 (μ l)
R2 OBJEM	50 (μ l)
VLNOVÁ DÉLKA	800/570
KAL. METODA	SPLINE - 6-6
JEDNOTKY	ng/ml

POČET STANOVENÍ

Na Hitachi 917, 1ml R2 suspenze imunočastic postačí na 20 měření standardů nebo vzorků na kyvetě. Zbytkový objem (dead volume) analyzátoru a zásobníku by měl být zahrnut při výpočtu potřebného množství reagentie.

PŘÍPRAVA REAGENCIÍ

Reagencie NGAL Test™ jsou dodávány v lahvičkách, které jsou vhodné pro celou řadu běžně používaných analyzátorů. Pro použití na jiných analyzátoch přelijte obsah R1 a R2 do vhodných nádob.

KALIBRACE

Kalibrační sada NGAL Test™ REF ST002CA od BioPorto Diagnostics by měla být používána pro kalibraci s 0,9% vodným roztokem chloridu sodného jako nulovým kalibrátorem.

Každá laboratoř by si měla určit přiměřenou frekvenci kalibrací. Kalibrace by měla být opakována nejméně jednou za měsíc a při použití nové šarže reagentie.

KONTROLA KVALITY

Pro kontrolu kvality použijte kontrolní soupravu NGAL Test™ Control Kit REF ST003CA od BioPorto Diagnostics. Intervaly kontroly kvality a limity by měly být přizpůsobeny individuálním požadavkům každé laboratoře. Každá laboratoř by měla provést opravna měření, pokud se hodnoty nachází mimo limity.

ROZSAH MĚŘENÍ

Na analyzátoru Hitachi 917 je rozsah měření pro NGAL Test™ 25 ng/ml až 5 000 ng/ml. Pro další informace ohledně rozsahu měření na jiných analyzátoch použijte relevantní aplikační list pro daný analyzátor.

VÝSLEDKY

Různé analyzátoři mohou používat různé postupy pro sestavení křivky výsledků kalibrátoru podle aplikačních parametrů. Kalibrační křivka musí být ověřena kontrolní soupravou NGAL Test™ Control Kit REF ST003CA, jak je uvedeno výše, a v případě, že se výsledky vysoké a nízké kontroly nachází mimo limity stanovené laboratoři, musí být provedena opravna měření.

OMEZENÍ

Nalezení zvýšené hladiny NGALu v moči nebo plazmě nemůže být nezávisle diagnostikou jediné patologie. Se zvýšenými hladinami NGALu v moči anebo plazmě je spojena řada jiných patologií, než jsou renální poruchy. Lékaři musí určit závažnost zvýšené hladiny NGALu ve světle klinických vlastností pacienta.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Průměrná koncentrace NGALu ve vzorcích zdravých dárců byla 63 ng/ml (rozsah 37 – 106 ng/ml, n = 80) v EDTA plazmě a 5,3 ng/ml (rozsah 0,7 – 9,8 ng/ml, n = 7) v moči. U nevybraných pacientů přijatých do intenzivní péče se koncentrace NGALu pohybovaly od 9 ng/ml do 40 000 ng/ml v moči (n = 60) a od 25 ng/ml do 3 500 ng/ml v EDTA plazmě (n = 60).

Hladiny NGAL stanovené z EDTA a heparinové plazmy, zjištěné simultánně od 40 pacientů byly téměř identické: NGAL (heparin) = 1.01*NGAL(EDTA) + 16.6 (R² = 0.998).

Interpretace

Koncentrace NGALu v moči anebo plazmě může být značně zvýšená při stavech, které neovlivnily ledviny, včetně bakteriálních infekcí, jiných zánětlivých onemocněních a při určitých karcinomech. BioPorto Diagnostics určila, že koncentrace NGALu v izolovaném vzorku moči anebo EDTA plazmy by měla překročit 250 ng/ml, aby byla indikována přítomnost renální poruchy, včetně akutního onemocnění ledvin, aniž by vznikalo riziko nepřijatelně vysokého podílu mylně pozitivních diagnóz renální poruchy.

VÝKONNOSTNÍ CHARAKTERISTIKY

Následující údaje reprezentují výkon testu NGAL Test™ na analyzátoru Hitachi 917. Pro údaje ohledně výkonu testu na jiných analyzátoch použijte relevantní aplikační příručku pro daný analyzátor.

DETEKČNÍ LIMIT

Limit detekce byl definován jako nejmenší koncentrace NGALu dávající signál, který byl statisticky podstatně odlišný od prázdné hodnoty (průměr + 3SD). Ta byla určena na 12 ng/ml.

PŘESNOST

Nízké a vysoké kontroly (NGAL Test™ Control Kit REF ST003CA) byly změřeny duplicitním stanovením ve dvou oddělených běžích každý den po dobu 10 dnů.

Vzorek	Průměr (ng/ml)	V rámci běhu CV	Mezi běhy CV	Mezi dny CV	Celkem CV
Nízká kontrola	198,1	1,2%	1,5	0	3,6%
Vysoká kontrola	497,7	0,7%	1,2	0	2,5%

LINEARITA

NGAL Test™ je lineární od 25 ng/ml do 5 000 ng/ml.

BEZPEČNÁ HODNOTA MĚŘENÍ

NGAL Test™ neukázal žádné falešně nízké výsledky koncentrací NGALu nižší než 40 000 ng/ml (nejvyšší testovaná koncentrace).

INTERFERENCE

Žádná interference nebyla zjištěna: hemoglobin až do 5 g/l, konjugovaný bilirubin až do 300 mg/l, volný bilirubin až do 300 mg/l a do 5% roztoku 10% roztoku lipidové emulze (odpovídá 5g/l).

ODPOVĚDNOST

Tento reagenční kit je určen pouze pro in vitro diagnostiku NGALu v lidské moči nebo plazmě. Test je určen pouze pro použití kvalifikovaným personálem vykonávajícím výzkum nebo diagnostické aktivity. Pokud příjemce tohoto testu předá jakýmkoli způsobem třetí straně, tyto instrukce musí být přiloženy a následný příjemce si na vlastní bezpečí ve prospěch BioPorto Diagnostics A/S zjistí všechna omezení odpovědnosti.

R1	Reakční pufr
R2	Suspenze imunočástic
REF	Katalogové číslo
IVD	Diagnostické zdravotnické prostředky in vitro
LOT	Číslo šarže
IFU	Platná verze návodu



Přečtěte si návod k použití



Evropská značka shody



Použitelné do



Výrobce



Teplotní rozmezí

REFERENCE

1. Xin C, Yulong X, Yu C, Changchun C, Feng Z, Xinwei M (2008) Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin and

interleukin-18 predict acute kidney injury after cardiac surgery. Renal Fail 30:904-913.

2. Tuladhar SM, Püntmann VO, Soni M, Punjabi PP, Bogle RG (2009) Rapid detection of acute kidney injury by plasma and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin after cardiopulmonary bypass. J Cardiovasc Pharmacol 53:261-266.

3. Bangert K, Heslet L, Ghiglione M, Utenthal LO (2006) NGAL is significantly increased in urine and plasma in acute renal failure. Intensive Care Med 32(Suppl 1):S10.

4. Bolognani D, Donato V, Coppolino G, Campo S, Buemi A, Lacquaniti A, Buemi M (2008) Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage. Am J Kidney Dis 52:595-605.

5. Hollmen ME, Kyllönen LE, Inkinen K A, Lalla ML, Salmela K T (2011) Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a marker of graft recovery after kidney transplantation. Kidney Int 79:89-98

Patentované/projedinávané patentované diagnostické použití ve vybraných zemích, WO2006066587. Viz www.bioporto.com pro aktualizovaný seznam vydaných nebo projedinávaných patentů.

Distributor pro ČR a SK



LAB MARK a.s. Tel.: (+420) 233 335 548
Pod Cihelnou 23 Fax: (+420) 224 311 830
161 00 Praha 6 E-mail: labmark@labmark.cz
Česká republika Web: www.labmark.cz, www.ngal.cz

Výrobce



BIOPORTO[®]
Diagnostics

BioPorto Diagnostics A/S Telefon (+45) 4529 0000
Grusbakken 8 Fax (+45) 4529 0001
DK-2820 Gentofte E-mail info@bioporto.com
Denmark Web www.bioporto.com
www.ngal.com