

Immunodosaggio per cistatina C Gentian su Sistema Synchron UniCel Beckman Coulter

REF A52761

Uso previsto

L'immunodosaggio per cistatina C Gentian su sistemi Synchron UniCel Beckman Coulter® è un test diagnostico in vitro per la determinazione quantitativa della cistatina C nel siero e nel plasma umano da utenti professionisti. La misurazione della cistatina C è utilizzata nella diagnosi e nel trattamento delle nefropatie.

Indicazioni per l'uso

La misurazione della cistatina C può essere utilizzata per valutare la velocità di filtrazione glomerulare (VFG) dei reni del paziente. La VFG è utilizzata per determinare la funzione del rene del paziente e diagnosticare una malattia renale cronica (MRC).

Spiegazione riassuntiva del test

La cistatina C, una proteina basica non glicosilata (peso molecolare 13,2 kD), è prodotta a velocità costante in quasi tutte le cellule nucleate nell'organismo umano [1]. Essa viene liberamente filtrata attraverso una normale membrana glomerulare, e poi riassorbita e quasi completamente catabolizzata nei tubuli prossimali. Di conseguenza, la concentrazione di cistatina C nel sangue umano è strettamente correlata alla velocità di filtrazione glomerulare (VFG) [2]. Una riduzione della VFG provoca un aumento della concentrazione di cistatina C. Non risulta che la concentrazione di cistatina C sia influenzata in modo significativo da altri fattori, come massa muscolare, malattie infiammatorie, sesso, età o regime alimentare [2, 3, 4].

Standardizzazione del calibratore

Il calibratore di cistatina C Gentian rispetta lo standard internazionale dei calibratori ERM-DA471/IFCC.

Calcolo di previsione della VFG

Sono state pubblicate diverse equazioni di previsione basate sulla cistatina C per il calcolo della VFG per adulti e bambini. Si noti che queste formule sono state valutate con diversi dosaggi di cistatina C (immunodosaggio nefelometrico potenziato con particelle, PENIA, o immunodosaggio turbidimetrico potenziato con particelle, PETIA) e, in caso di uso di combinazione inappropriata di formula e dosaggio, potrebbero rivelare risultati di VFG non accurati. Per il calcolo della VFG a partire dai valori di cistatina C misurati con il dosaggio Gentian, si raccomanda la seguente equazione di previsione, usando mg/l come fattore unitario [5]: L'equazione è valida per pazienti di età superiore a 14 anni.

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

Principio del dosaggio

Il campione di siero o plasma umano viene miscelato con immunoparticelle di cistatina C. La cistatina C del campione si aggrega con gli anticorpi anti-cistatina C delle immunoparticelle. Le particelle complesse che si creano assorbono la luce e l'assorbimento viene correlato mediante turbidimetria alla concentrazione di cistatina C mediante interpolazione su una curva di calibrazione standard prestabilita.

Reagenti di dosaggio

Materiali inclusi:	
Kit di reagenti di cistatina C Gentian per sistemi Synchron e UniCel	RIF A52761
Materiali necessari ma non forniti	
Kit di calibratori per cistatina C Gentian, livello 1-6, fiale da 1 mL	RIF. A52763
Kit di controlli, Basso e Alto, per cistatina C Gentian, fiale da 1 mL	RIF A52765
Cartucce di reagenti definite dall'utente (pacchetto di 12)	RIF 442835

Composizione

Tampone di reazione 1 (R1) R1 è una soluzione salina tamponata con MOPS [acido 3-(N-morfolino)-propansolfonico], conservata con azoturo di sodio (0,09 % (p/v)). Il tampone è pronto per l'uso.

Tampone di reazione 2 (R2): R2 contiene immunoparticelle che consistono in una frazione di immunoglobulina purificata diretta contro la cistatina C, la quale è legata covalentemente a particelle di polistirene di dimensione uniforme. Nel processo di generazione delle immunoparticelle, come immunogeno è stata usata cistatina C umana. È fornita come sospensione pronta per l'uso, conservata con azoturo di sodio allo 0,09% (p/v) e antibiotici.

Avvertenze e precauzioni

- Questo test è esclusivamente per uso *in vitro* e deve essere maneggiato da personale qualificato.
- I reagenti contengono antibiotici e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione.
- Le immunoparticelle, i calibratori e i controlli contengono sostanze potenzialmente infettive di origine animale e umana e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione. Lo smaltimento di qualsiasi materiale di scarto deve avvenire nel rispetto delle norme localmente vigenti.
- Utilizzare esclusivamente applicazioni strumentali convalidate e approvate da Gentian AS.
- I reagenti che contengono azoturo di sodio devono essere maneggiati con la dovuta attenzione. Non ingerire o portare a contatto con la pelle o le mucose. La concentrazione di azoturo di sodio di questo prodotto non è classificata come pericolosa. Tuttavia l'accumulo di NaN_3 in tubazioni di piombo e rame potrebbe causare la generazione di azoturi di metallo esplosivi. Per evitare ciò, risciacquare accuratamente nel caso in cui il prodotto venga gettato nello scarico.
- I reagenti che contengono MOPS possono essere irritanti per gli occhi e la pelle. Maneggiare con la dovuta attenzione.
- R2 contiene nanoparticelle di polistirene.
- Evitare di utilizzare campioni altamente lipemici, itterici o emolitici.
- Non mescolare reagenti di lotti di reagenti differenti né cambiare i tappi tra i reagenti.

Conservazione e stabilità dei reagenti

Durata dei reagenti conservati in flaconi chiusi a 2 - 8°C: vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta. Stabilità dopo l'apertura dei flaconi: 9 settimane a 2 - 8°C. Stabilità a bordo: 4 settimane alla temperatura appropriata (2 - 8°C).

Raccolta e preparazione dei campioni

Il materiale richiesto per i campioni è siero o plasma umano trattato con EDTA/eparinizzato. Si consiglia di analizzare i campioni quanto prima possibile. Dai test di stabilità dei campioni risulta che la cistatina C in campioni di siero o plasma è stabile per 26 giorni a temperatura ambiente (8 - 25 °C), 26 giorni se i campioni vengono conservati a 2 - 8 °C e se vengono conservati a temperatura inferiore a -70°C per almeno 5 anni [6]. Miscelare bene i campioni prima di analizzarli. I campioni possono essere spediti senza raffreddamento speciale e devono quindi essere analizzati entro 14 giorni dalla spedizione.

Range di misurazione

Il range di misurazione della cistatina C per il dosaggio è circa 0,4 - 8,0 mg/l. L'intervallo esatto dipende dal valore di calibrazione specifico del lotto, come indicato nella Scheda dei valori analitici.

Procedura di dosaggio

Note applicative

Un elenco dettagliato dei parametri dello strumento è reperibile nella sezione che segue "Parametri dello strumento". La nota applicativa è disponibile anche su: www.gentian.com. La predisposizione, la manutenzione, nonché il funzionamento dello strumento e le precauzioni d'uso devono conformarsi al manuale dello strumento del sistema Synchron UniCel Beckman Coulter.

Preparazione dei reagenti

Il reagente è fornito pronto per l'uso. Trasferire il contenuto di Reagente 1 e Reagente 2 in compartimenti adeguati della cartuccia definita dall'utente come mostrato nella tabella di seguito. Usare con attenzione per evitare la contaminazione. Quando non in uso, i reagenti devono essere conservati tappati a 2-8°C.

Kit di cistatina C	Compartimento A	Compartimento B
R1, Tampone reagente	25 ml	-
R2; immunoparticelle	-	5 ml

Determinazione della curva di calibrazione

Usare gli standard da 1 a 6 per determinare una curva standard a 6 punti, come definito nei manuali d'uso dei sistemi Synchron UniCel Beckman Coulter. I valori dei calibratori dipendono dal lotto e occorre eseguire una nuova calibrazione ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di calibrazione. I valori assegnati ai calibratori sono dati nella scheda dei valori analitici fornita con il calibratore. Il sistema Synchron UniCel Beckman Coulter richiede una calibrazione ogni 2 settimane.

Controlli di qualità

Per convalidare la curva di calibrazione, i controlli di livello alto e basso di cistatina C Gentian devono essere saggiati ogni giorno prima del saggio di qualsiasi campione. Prima di misurare i campioni, è necessario assicurarsi che venga rispettato il range di valori assegnato ai controlli. I valori assegnati sono dati nella scheda dei valori analitici inclusa nel kit di controlli per cistatina C Gentian. Se i valori dei controlli non sono validi, ripetere le misurazioni dei controlli. Se non è possibile eseguire la calibrazione senza errori o riprodurre valori validi dei controlli, rivolgersi a Beckman Coulter per l'assistenza.

Misurazione dei campioni dei pazienti

Una volta eseguita una calibrazione valida e quando i valori dei controlli rientrano nel range valido, è possibile misurare i campioni di siero o di plasma. Verificare che vi sia il volume minimo di campione e analizzare i campioni secondo le istruzioni fornite nel manuale d'uso del sistema Synchron UniCel Beckman Coulter.

Risultati

I risultati vengono calcolati automaticamente dal sistema Synchron UniCel Beckman Coulter. I risultati sono presentati in mg/l.

Intervalli di riferimento

Per determinare la trasferibilità dell'intervallo di riferimento, la Gentian segue le Linee guida CLSI, C28-A2 [7]; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline*, [Come definire e determinare gli intervalli di riferimento nel laboratorio clinico; linee guida approvate], *seconda edizione*. L'intervallo di riferimento si basa su uno studio in merito condotto presso l'ospedale svedese di Växjö, includente campioni di siero provenienti da 136 soggetti dichiaratisi sani, di età compresa tra i 20 e gli 80 anni. I campioni sono stati analizzati per cistatina C sulla piattaforma AU 2700. L'intervallo di riferimento è stato calcolato con metodo non parametrico ed è stato determinato tra 0,53 e 1,01 mg/L. Questo rappresenta il 95% centrale dell'intera popolazione testata. Si consiglia a ciascun laboratorio di determinare un intervallo di riferimento locale, dato che i valori possono variare a seconda della popolazione testata.

Limitazioni

I materiali non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza.

Caratteristiche di prestazione

Studi basati su misurazioni su Synchron UniCel Dx C 800PRO in un unico laboratorio utilizzando un lotto di reagenti se non diversamente specificato.

Precisione

L'immunodosaggio per cistatina C Gentian è stato usato in uno studio di precisione di 5 giorni su UniCel Dx C, progettato secondo il protocollo EP5-A di CLSI. Tre pool di siero e 2 livelli di controllo sono stati misurati sullo strumento Dx C con ricalibrazione tra i giorni.

Campione	Media (mg/l)	CV intra-analisi (%)	CV inter-giorni (%)	CV inter-analisi (%)	CV totale (%)
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
Basso	1,00	2,88	1,50	2,95	4,38
Alto	3,90	1,67	0,58	2,36	2,95

Linearità

Immunodosaggio per cistatina C Gentian è lineare nel range di 0,34-7,95 mg/l per UniCel Dx C. Non sono state testate concentrazioni al di fuori di questo range.

Recupero analitico

Per Immunodosaggio per cistatina C Gentian su Synchron UniCel Dx C ci si può aspettare un recupero del 98-107%.

Limite di quantificazione

Il limite di quantificazione è definito come la concentrazione più bassa di un analita che può essere rilevata in modo affidabile e in cui l'errore totale soddisfa i requisiti di precisione. L'immunodosaggio per cistatina C Gentian su uno strumento Synchron UniCel Dx C ha un limite di quantificazione di 0,46 mg/l.

Zona di sicurezza

È stato eseguito uno studio sullo strumento Synchron LX20, per il quale è stata stabilita l'equivalenza. Non è stato rilevato alcun effetto gancio al di sotto di 25 mg/l. Tuttavia, Synchron UniCel Dx C è programmato per non riportare alcun risultato al di sopra del livello più alto del calibratore.

Interferenza

Non è stata rilevata alcuna interferenza con trigliceridi (15 mmol/l), emoglobina (4 g/l), Intralipid (12 g/l) o bilirubina (200 mg/l) sullo strumento Synchron LX20. Non è stata rilevata alcuna interferenza con i farmaci testati su raccomandazione di Sonntag e Scholer [9]. Lo studio di interferenza è stato progettato secondo il protocollo EP7-A di CLSI [11]. Nell'immunodosaggio per cistatina C Gentian non è presente interferenza con FR in quanto gli anticorpi sono di origine aviaria [10].

Variatione dello strumento e confronto dei metodi

La tabella seguente mostra la variazione tra cistatina C Gentian su Synchron LX20 e 1) UniCel DxC mediante analisi di regressione di Passing-Bablok. Inoltre, la tabella mostra un confronto tra cistatina C Gentian su Synchron LX20 e 3) un test nefelometrico disponibile in commercio mediante analisi di regressione di Passing-Bablok.

Metodo	N	Range campione (mg/L)	Termine	Coefficiente	95% CI di coefficiente
LX20 vs DxC	53	0,68-7,65	Intercetta	0,03	0.01-0.07
			Pendenza	0,97	0.95-1.00
LX20 vs. BN ProSpec	51	0,87-7,46	Intercetta	0.30	0,21-0,34
			Pendenza	1,04	1,01-1,08

Ulteriori informazioni

Per informazioni più dettagliate sul sistema Synchron UniCel consultare il manuale di tali sistemi.

Dal momento che Beckman Coulter non produce il reagente e non esegue il controllo di qualità o altre prove sui singoli lotti, non può essere ritenuta responsabile della qualità dei dati ottenuti, la quale dipende dalle prestazioni del reagente, da eventuali differenze tra i lotti di reagente o da modifiche apportate al protocollo dal produttore.

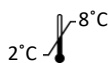
Per altre lingue, visitare:

<https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Legenda dei simboli



Numero di lotto



Limite di temperatura



Data di scadenza



Consultare le istruzioni per l'uso



Produttore



Numero di catalogo



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Attenzione



Rischi biologici



Gentian AS



Bjornasveien 5, N-1509 Moss, Norvegia

TEL: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

Danni di spedizione

Si prega di avvisare il distributore locale qualora alla consegna il prodotto risulti danneggiato.

Riferimenti

1. Abrahamson M et al: Biochem J 1990;268:287-94.
2. Laterza OF et al: Clin Chem 2002;48:63-99.
3. Grubb A.O.: 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.

Parametri dello strumento

Immunodosaggio per cistatina C Gentian su Sistema Synchron UniCel Beckman Coulter

Numero [] Chem [CYSX]

Parametri chimici		Pagina 1 di 3		
Tipo di reazione	[Tasso 1]			
Unità	[mg/L]			
Precisione	[X.XX]			
Direzione di reazione	[Positiva]			
Modello matematico	[8]			
Lunghezza d'onda primaria	[410]			
Lunghezza d'onda secondaria	[700]			
Fattore di correlazione	[1.000]			
N. di calibratori	[6]			
Setpoint	1	[C]	4	[C]
	2	[C]	5	[C]
	3	[C]	6	[C]
Limite di tempo di calibrazione	[336] ore			

Limiti di rilevamento degli errori		Pagina 3 di 3		
Vuoto	Limiti basso/alto ABS	[-1.500]/[2.200]		
	Limiti basso/alto tasso	[-1.500]/[2.200]		
	Deviazione media	[2.200]		
Reazione 1	Limiti basso/alto ABS	[-1.500]/[2.200]		
	Limiti basso/alto tasso	[-1.500]/[2.200]		
	Deviazione media	[2.200]		
Reazione 2	Limiti basso/alto ABS	[-1.500]/[2.200]		
	Limiti basso/alto tasso	[-1.500]/[2.200]		
	Deviazione media	[2.200]		
Esaurimento del substrato				
	Tasso iniziale	[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]

Parametri di elaborazione		Pagina 2 di 3	
Prima iniezione	Componente	[A]	
	Volume di erogazione	[230] µL	
Seconda iniezione	Componente	[Nessuno]	
	Volume di erogazione	[]	
	Tempo di iniezione	[]	
Terza iniezione	Componente	[B]	
	Volume di erogazione	[45] µL	
	Tempo di iniezione	[80] sec	
Volume campione	[5] µL		
Volume ORDAC	[Nessuno] µL		
Vuoto	Inizio lettura	[56] sec	
	Termine lettura	[72] sec	
Iniziale	Inizio lettura	[81] sec	
	Termine lettura	[96] sec	
Reazione 1	Inizio lettura	[90] sec	
	Termine lettura	[154] sec	
Reazione 2	Inizio lettura	[] sec	
	Termine lettura	[] sec	
Intervallo di risultati utilizzabile			
	Limite basso	[0.4]	
	Limite alto	[8.0]	
ORDAC			
	Limite basso	[]	
	Limite alto	[]	