

Cystatine C



Instructions d'utilisation pour l'immunodosage de la Cystatine C à bord des systèmes Beckman Coulter® IMMAGE® 800

Utilisation du kit de réactifs à la cystatine C A52761 et des cartouches de réactifs IMMAGE définies par l'utilisateur

Usage prévu

L'immunodosage de la cystatine C à bord des systèmes IMMAGE® de Beckman Coulter® est un test diagnostique *in vitro* destiné à la détermination quantitative de la cystatine C dans le sérum et le plasma humains. Le dosage de la cystatine C est utilisé dans le diagnostic et le traitement des maladies rénales.

Résumé et explication du test

La cystatine C, une protéine basique non glycosylée (poids moléculaire de 13,2 kD), est produite à un rythme constant dans la quasi-totalité des cellules nucléées de l'organisme humain [1]. Elle est librement filtrée à travers une membrane glomérulaire normale puis réabsorbée et presque entièrement catabolisée dans les tubules proximaux. Ainsi, la concentration du sang humain en cystatine C est étroitement liée au taux de filtration glomérulaire (TFG) [2]. Une baisse du DFG entraîne une augmentation de la concentration en cystatine C. La concentration en cystatine C ne s'est pas révélée significativement influencée par d'autres facteurs tels que la masse musculaire, la présence de maladies inflammatoires, le sexe, l'âge ou l'alimentation [2, 3, 4].

Standardisation du calibrateur

Le calibrateur Gentian Cystatin C est standardisé selon la norme internationale des calibrateurs, ERM-DA471/IFCC.

Calcul prédictif du DFG

Plusieurs équations prédictives basées sur la cystatine C ont été publiées pour calculer le DFG chez l'adulte et l'enfant. Il convient de noter que ces formules ont été évaluées avec différents dosages de la cystatine C (immunonéphélométrie microparticulaire [PENIA] ou test immunoturbidimétrique à particules améliorées [PETIA]) et qu'elles peuvent révéler des résultats de DFG erronés si la combinaison de formule et de dosage est inappropriée. Pour le calcul du DFG à partir des valeurs de cystatine C mesurées à l'aide du dosage Gentian, l'équation prédictive suivante est recommandée, avec mg/l comme facteur unitaire [5] : l'équation est valide pour les personnes de plus de 14 ans.

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

Principe du test

L'échantillon de sérum ou de plasma humain est mélangé avec des immunoparticules anti-cystatine C. La cystatine C de l'échantillon et les anticorps anti-cystatine C des immunoparticules s'agglomèrent. Les particules complexes créées absorbent la lumière la turbidimétrie permet d'établir une corrélation entre l'absorption et la concentration en cystatine C par interpolation sur une courbe de calibrage standard établie. Les plateformes IMMAGE® calculent automatiquement les résultats.

Réactifs fournis dans le coffret de réactifs

Tampon de réaction 1 (R1)

Tampon de réaction cystatine C, 1 flacon de 100 ml. R1 est une solution tampon saline MOPS [acide 3-(N-morpholino)-propanesulfonique] conservée avec des azides de sodium (0,09 % (p/v)). Le tampon est prêt à l'emploi.

Tampon de réaction 2 (R2)

Immunoparticules de cystatine C, 2 flacons de 10 ml. R2 contient des immunoparticules constituées d'une fraction d'immunoglobuline purifiée dirigée contre la cystatine C, qui est fixée par liaison covalente à des particules uniformes de polystyrène. De la cystatine C humaine a été utilisée comme immunogène dans le processus de génération des immunoparticules. Elle est fournie sous forme de suspension prête à l'emploi conservée avec de l'azide de sodium (0,09 % p/v) et des antibiotiques.

Articles inclus dans le groupe de vente CYSX IMMAGE REF B69746 :	
Kit de réactif Gentian Cystatine C	REF A52761
Cartouche de réactifs définie par l'utilisateur (pqt. de 10)	REF 447250
Capsules d'évaporation (pqt. de 20)	REF 447170
Éléments requis (non fournis) :	
Coffret de calibrage Gentian Cystatine C (6 x 1 ml)	RÉF A52763
Coffret de contrôle Gentian Cystatine C, bas et haut, flacons de (2 x 1 ml)	RÉF A52765

Mises en garde et précautions d'emploi

1. Ce test est réservé à une utilisation *in vitro* et doit être manipulé par du personnel qualifié.
2. Les réactifs contiennent des antibiotiques et doivent être manipulés avec précaution.
3. Les réactifs contiennent de l'azide de sodium comme conservateur et doivent être manipulés avec précaution. Ne pas ingérer et éviter tout contact avec la peau ou les muqueuses. La concentration en azide de sodium de ce produit n'est pas qualifiée de dangereuse. Néanmoins, une accumulation de NaN_3 dans les canalisations en plomb et en cuivre peut provoquer la formation d'azides métalliques explosifs. Pour éviter cela, rincer abondamment si le produit est jeté dans l'évier.
4. Les immunoparticules contiennent des substances d'origine animale. Éliminer tout matériel jeté conformément aux dispositions locales en vigueur.
5. Le sérum utilisé dans la fabrication des calibrateurs et des contrôles a été testé et avéré négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) et les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2. Néanmoins, les produits contiennent des substances d'origine humaine et animale et doivent être manipulés avec précaution. Éliminer tout matériel jeté conformément aux dispositions locales en vigueur.

Conservation et stabilité des réactifs

Durée de conservation des réactifs non ouverts entre 2 et 8 °C voir la date de péremption figurant sur l'étiquette. Stabilité après ouverture : Jusqu'à la date de péremption en cas d'utilisation de bouchons durs à 2 - 8 °C. Stabilité : 28 jours en cas d'utilisation de bouchons d'évaporation.

Prélèvement et manipulation des échantillons

Le matériel requis pour les échantillons est du sérum humain ou du plasma EDTA/hépariné. Il est conseillé d'analyser des échantillons aussi frais que possible. Toutefois, les essais de stabilité réalisés sur des échantillons de sérum et de plasma ont montré que la cystatine C était stable pendant 26 jours à température ambiante (8-25 °C) ou 26 jours entre 2 et 8 °C. Par ailleurs, il a été publié que les échantillons peuvent être conservés à une température inférieure à -70 °C pendant un maximum de 5 ans [6]. Bien mélanger les échantillons avant de les analyser.

* Une marque déposée de Beckman Coulter® Inc, Brea, CA 92821

Procédure de test

Instructions d'utilisation/Configuration du test

Une liste détaillée des paramètres de l'instrument est disponible à la rubrique « Paramètres de l'instrument » ci-dessous. Les instructions d'utilisations sont également disponible à l'adresse suivante www.gentian.com. L'installation, l'entretien, le fonctionnement et les précautions d'emploi doivent être conformes aux consignes contenues dans les manuels des automates IMMAGE® Beckman Coulter®.

Préparation des réactifs

Le réactif est fourni prêt à être transféré dans la cartouche de réactif IMMAGE. Transférez le contenu des réactifs 1 et 2 dans les compartiments appropriés de la cartouche définie par l'utilisateur comme indiqué dans le tableau ci-dessous et appliquez les bouchons d'évaporation lors de l'utilisation. Soyez prudent pour éviter toute contamination. Les réactifs doivent être conservés avec les bouchons d'origine entre 2 et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés.

Kit Cystatine C	Compartiment A	Compartiment B
R1, Tampon de réactif	-	8,5 ml
R2, Immunoparticules	1,5 ml	-

Établissement de la courbe de calibrage

Utiliser les standards 1 à 6 pour établir une courbe standard à 6 points comme définie dans les manuels des automates IMMAGE® Beckman Coulter®. Les valeurs des calibrateurs dépendent des lots et un nouveau calibrage doit être réalisé lorsqu'un nouveau lot de calibrage est utilisé. Les valeurs assignées au calibrateur sont fournies sur la fiche de valeurs analytiques jointe au calibrateur. Le nouveau calibrage doit être effectué toutes les 4 semaines.

Contrôles de la qualité

Les contrôles haut et bas doivent être testés chaque jour avant de faire des essais sur les échantillons afin de valider la courbe de calibrage. Les contrôles ont une plage de valeurs assignées qui doit être satisfaite avant de mesurer des échantillons. Les valeurs assignées sont fournies dans la fiche de valeurs analytiques incluse dans le coffret de contrôles Gentian Cystatin C. Si les valeurs des contrôles ne sont pas valides, répéter les mesures de contrôle. S'il n'est pas possible de procéder au calibrage sans erreur ou de reproduire des valeurs de contrôles valides, contacter Beckman Coulter® pour obtenir une assistance.

Mesure des échantillons de patients

Une fois le calibrage valide réalisé et les valeurs des contrôles dans la plage valide, les échantillons de sérum ou de plasma peuvent être mesurés. Vérifier que le volume minimum d'échantillon est disponible et analyser les échantillons en suivant les instructions fournies dans les manuels des automates IMMAGE® Beckman Coulter®.

Résultats

Les résultats sont calculés automatiquement par les automates IMMAGE® Beckman Coulter®. Les résultats sont exprimés en mg/l.

Limites

Les produits ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption.

Plage de mesure

La plage de mesure de la cystatine C pour le dosage est d'environ 0,4 à 8,0 mg/l. La portée exacte dépend des points de consigne du calibrateur du numéro de lot du kit de calibrage Gentian Cystatine C.

Intervalle de référence

Gentian suit la directive CLSI, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* pour déterminer la transférabilité de l'intervalle de référence. L'intervalle de référence se base sur une étude de l'intervalle de référence réalisée à l'hôpital de Växjö, en Suède, incluant des échantillons de sérum de 136 sujets âgés de 20 à 80 ans se déclarant en bonne santé. Les échantillons ont été analysés pour la présence de cystatine C à bord de la plateforme AU 2700. L'intervalle de référence a été calculé de manière non paramétrique et a été déterminé comme étant de 0,53 - 1,01 mg/l. Cela représente 95 % de l'ensemble de la population testée. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine un intervalle de référence local car les valeurs peuvent varier en fonction de la population testée.

Caractéristiques de performance

Toutes les études ont été réalisées en utilisant un seul lot de réactifs dans un laboratoire, sauf indication contraire.

Précision

L'immunodosage Gentian Cystatine C a été utilisé dans une étude de précision sur 3 jours, conformément au protocole EP5-A du CLSI. Quatre pools de sérum et 2 niveaux de contrôle ont été mesurés à bord du système IMMAGE 800* Beckman Coulter®.

ID	Valeur moyenne (mg/l)	CV intra-série (%)	CV total (%)	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

Linéarité

L'immunodosage de Gentian Cystatine C a été utilisé dans une étude de linéarité sur le système IMMAGE 800, une plage linéaire de 0,35 - 6,79 mg/l a été observée. Les concentrations en dehors de cette plage n'ont pas été testées.

Détection analytique

Avec l'immunodosage Gentian Cystatine C à bord d'un automate IMMAGE 800 Beckman Coulter®, un niveau de détection de 100 à 110 % a été observé.

Limite de quantification

La limite de quantification « est définie comme la plus faible quantité réelle d'un analyte, qui peut être décelée de manière fiable et dans laquelle le nombre total d'erreurs respecte les exigences relatives à la précision.

Avec l'immunodosage Gentian Cystatine C à bord d'un automate IMMAGE 800, une limite de quantification inférieure à 0,24 mg/l a été observée.

Zone de sécurité

Dans une étude réalisée à bord de l'automate IMMAGE 800, la zone de sécurité pour l'excès d'antigène allait jusqu'à 43 mg/l avec l'immunodosage Gentian Cystatine C.

Interférences

Dans une étude, aucune interférence notable n'a été détectée dans les échantillons de cystatine C à l'Hémoglobine (8 g/l), l'Intralipide (16 g/l) et la Bilirubine (800 mg/l). L'étude d'interférence était conçue conformément au protocole EP7-A du CLSI [7]. Précédemment, aucune interférence significative n'avait été détectée avec les médicaments testés, tel que recommandé par Sonntag et Scholer [8]. Aucune interférence du facteur rhumatoïde n'a été observée avec l'immunodosage Gentian Cystatine C, car les anticorps sont d'origine aviaire (poulet) [9].

Variations au niveau des instruments

Les variations instrumentales de Gentian Cystatine C à bord des automates IMMAGE et Hitachi 917 ont été mesurées et les résultats ont été analysés à l'aide de l'analyse de régression de Passing-Bablok :

Méthodes	N	Plage des échantillons (mg/l)	Terme	Coefficient	IC 95 % du coefficient
IMMAGE 800 contre Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Intercepteur Pente	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 - 1,03

* Marques déposées de Beckman Coulter® Inc, Brea, CA 92821

Informations supplémentaires

Pour des informations plus détaillées sur les systèmes IMMAGE®, consulter le manuel du système approprié. Étant donné que Beckman Coulter® ne fabrique pas le réactif et n'effectue pas de tests de contrôle de la qualité ou d'autres tests sur des lots individuels, Beckman Coulter® ne peut être tenu pour responsable de la qualité des données obtenues en lien avec les performances du réactif, à toute variation entre les lots de réactifs ou aux modifications du protocole émises par le fabricant.

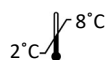
Domages pendant le transport

Si ce produit est livré endommagé, veuillez le signaler à votre distributeur. Pour toute assistance technique, veuillez contacter votre représentant Beckman Coulter® local. Pour les autres langues, rendez-vous sur : <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>

Symboles



Numéro de lot



Limite de température



Date de péremption



Consulter le mode d'emploi



Fabricant



Référence de catalogue



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Avertissement



Risques biologiques



Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norvège
TÉL. : +47 99 33 99 05
FAX : +47 69 24 09 62
<http://www.gentian.com>

Bibliographie

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 EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
8. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
9. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Paramètres instrumentaux pour l'immunodosage Cystatine C à bord des systèmes Beckman Coulter® IMAGE* (IMAGE 800)

Page 1

Nom du test : cvsx	Unité : mg/l
Numéro de lot du réactif : *	Protocole : NIPIA non concurrentiel
Numéro de cartouche : **	Date d'expiration du réactif : *
Numéro de série du réactif : **	Tests par lot : 40
Limite AGXS :	AGXS activé :

Page 2

Tampon : BUF10	Diluant : DIL10
Volume de l'échantillon : 5 µl	Dilution du calibrateur : 1:1
Volume du tampon de réaction : 0 µl	Dilution de l'échantillon 1:1
Volume du réactif A : 30 µl	Temps de réaction : 5 minutes
Volume du réactif B : 195 µl	

Page 3 :

Niveaux : 6	Niveau du calibrateur
Reproduit : 2	Niveau 1 :*
Mise à jour niveau : 3	Niveau 2 :*
Reproduit : 2	Niveau 3 : *
Type de calibrage : Polynôme du troisième degré	Niveau 4 :*
	Niveau 5 :*
	Niveau 6 :*

Pente et décalage (sous « Réactif et calibrage »)

Facteur a (a·x + b) : 1,10

Transférer le tampon de test de Gentian Cystatine C dans le compartiment B et les immunoparticules de Gentian Cystatine C dans le compartiment A. Le volume maximal des compartiments « A » et « B » de la cartouche UDR est de 8,5 ml. Ainsi, le nombre maximum de tests chargés dans la cartouche est d'environ 40 tests.

* Selon le lot

** Défini par l'utilisateur