

# Cistatina C



## Note applicative per immunodosaggio per Cistatina C su SISTEMI IMAGE® 800 Beckman Coulter®

Uso di kit di reagenti per cistatina C A52761 e cartucce di reagenti definite dall'utente IMAGE

### Uso previsto

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

### Riepilogo e spiegazione 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 e l'anti-cistatina C delle immunoparticelle si aggregano. 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. Le piattaforme IMAGE® calcoleranno automaticamente i risultati.

### Reagenti forniti nel kit di reagenti

#### Tampone di reazione 1 (R1)

Tampone di reazione per cistatina C, 1 fiala da 100 ml. 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):

Immunoparticelle di cistatina C, 2 fiale da 10 ml. 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.

Materiali inclusi in CYSX IMAGE Sales Group REF B69746:	
Kit di reagenti di cistatina C Gentian	REF A52761
Cartucce di reagenti definite dall'utente (pacchetto di 10)	REF 447250
Tappi per evaporazione (pacchetto di 20)	REF 447170
Materiali richiesti (non inclusi):	
Kit di calibratori per cistatina C Gentian (6 x 1 ml)	RIF. A52763
Kit di controlli, basso e alto (2 x 1 ml), per cistatina C Gentian,	RIF. A52765

### 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.
- I reagenti contengono azoturo di sodio come conservante e 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<sub>3</sub> 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.
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale. Lo smaltimento di qualsiasi materiale di scarto deve avvenire nel rispetto delle norme localmente vigenti.
- Il siero usato per la produzione dei calibratori e dei controlli è stato testato e riscontrato negativo per HBsAG (antigene di superficie dell'epatite B), anti-HCV (anticorpi anti virus epatite C), anti-HIV1 (anticorpi anti virus dell'immunodeficienza umana di tipo 1) e anti-HIV2 (anticorpi anti virus dell'immunodeficienza umana di tipo 2). I materiali contengono tuttavia sostanze di origine umana e animale e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione. Lo smaltimento di qualsiasi materiale di scarto deve avvenire nel rispetto delle norme localmente vigenti.

### 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: Fino alla data di scadenza quando si usano i tappi duri a 2 - 8 °C. Stabilità in uso: 28 giorni quando si usano i tappi per evaporazione.

### 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. In ogni caso 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) o per 26 giorni se i campioni vengono conservati a 2 - 8 °C. Inoltre, è stato pubblicato che i campioni possono

\*Un marchio registrato di Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

essere conservati al di sotto di -70°C per più di 5 anni [6]. Miscelare bene i campioni prima di analizzarli.

## Procedura di dosaggio

### Note applicative/installazione del sistema di dosaggio

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](http://www.gentian.com). La predisposizione, la manutenzione, nonché il funzionamento dello strumento e le precauzioni d'uso devono conformarsi ai manuali dello strumento IMMAGE® Beckman Coulter®.

### Preparazione dei reagenti

Il reagente è fornito pronto per il trasferimento nella cartuccia di reagenti IMMAGE. Trasferire il contenuto di reagente 1 e reagente 2 in compartimenti adeguati della cartuccia definita dall'utente come mostrato nella tabella sotto e applicare i tappi per evaporazione quando in uso. Usare con attenzione per evitare la contaminazione. Quando non in uso, i reagenti devono essere conservati con tappi duri originali a 2-8°C.

Kit di cistatina C	Compartimento A	Compartimento B
R1, Tampone reagente	-	8,5 mL
R2; immunoparticelle	1,5 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 IMMAGE® 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. Occorre eseguire una nuova calibrazione ogni 4 settimane.

### Controlli di qualità

Per convalidare la curva di calibrazione, i controlli di livello alto e basso 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 nei manuali d'uso dei sistemi IMMAGE® Beckman Coulter®.

### Risultati

I risultati vengono calcolati automaticamente dai sistemi IMMAGE® Beckman Coulter®. I risultati sono presentati in mg/L.

### Limitazioni

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

### Range di misurazione

Il range di misurazione della cistatina C per il dosaggio è circa 0,4 - 8,0 mg/L. Il range esatto dipende dai punti impostati di calibratori del numero di lotto del kit di calibratori di cistatina C Gentian.

### Intervalli di riferimento

Per determinare la trasferibilità dell'intervallo di riferimento, la Gentian segue le Linee guida CLSI, C28-A2; *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.

## Caratteristiche di prestazione

Tutti gli studi sono stati eseguiti usando un lotto di reagenti in un laboratorio se non diversamente indicato.

### Precisione

L'immunodosaggio per cistatina C Gentian è stato usato in uno studio di precisione di 3 giorni progettato secondo il protocollo EP5-A di CLSI. Sono stati misurati quattro pool di siero e 2 livelli di controllo sul sistema IMMAGE 800\* Beckman Coulter®.

ID	Valore medio (mg/L)	CV intra-analisi (%)	CV totale (%)	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

### Linearità

È stato usato l'immunodosaggio per cistatina C Gentian in uno studio di linearità sul sistema IMMAGE 800, è stato osservato un range lineare di 0,35 - 6,79 mg/L. Non sono state testate concentrazioni al di fuori di questo range.

### Recupero analitico

Usando l'immunodosaggio per cistatina C Gentian su uno strumento IMMAGE 800 Beckman Coulter® si osserva un recupero del 100-110%.

### Limite di quantificazione

Il limite di quantificazione è definito come la quantità effettiva più bassa di un analita che può essere rilevata in modo affidabile e in cui l'errore totale soddisfa i requisiti di precisione.

Usando l'immunodosaggio per cistatina C Gentian su uno strumento IMMAGE 800, è stato misurato un limite inferiore di quantificazione di 0,24 mg/l.

### Zona di sicurezza

Usando l'immunodosaggio per cistatina C Gentian in uno studio su IMMAGE 800, la zona di sicurezza per l'eccesso di antigene si è estesa fino a 43 mg/l.

### Interferenza

In uno studio non è stata rilevata alcuna interferenza significativa con emoglobina (8 g/l), Intralipid (16 g/l) o bilirubina (800 mg/l) nei campioni di cistatina C. Lo studio di interferenza è stato progettato secondo il protocollo EP7-A di CLSI [7]. In precedenza non è stata rilevata alcuna interferenza significativa con i farmaci testati secondo le indicazioni contenute in una pubblicazione di Sonntag e Scholer [8]. Nell'immunodosaggio per cistatina C Gentian non è presente interferenza con FR in quanto gli anticorpi sono costituiti da anticorpi aviari (pollo) [9].

### Variazione dovuta allo strumento

È stata misurata la variazione dovuta allo strumento per cistatina C Gentian sugli strumenti IMMAGE e Hitachi 917, e i risultati sono stati analizzati utilizzando l'analisi di regressione di Passing-Bablok:

Metodi	N	Range campione (mg/L)	Termine	Coefficiente	95% CI di coefficiente
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Intercetta Pendenza	0,08 1,01	0,05 - 0,11 0,99 - 1,03

\* Marchi registrati di Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

## Ulteriori informazioni

Per informazioni più dettagliate sui sistemi IMMAGE®, 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.

## Danni di spedizione

Si prega di avvisare il distributore del prodotto qualora alla consegna il prodotto risulti danneggiato. Per assistenza tecnica, rivolgersi al rappresentante locale Beckman Coulter®. 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** **CE**

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norvegia

TEL: -47 99 33 99 05

FAX: -47 69 24 09 62

<http://www.gentian.com>

## 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 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 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.

# Impostazioni dello strumento per immunodosaggio per Cistatina C su Sistemi IMMAGE Beckman Coulter®\* (IMMAGE 800)

## Pagina 1

Nome del test: cysx	Unità: mg/L
Numero di lotto di reagente: *	Protocollo: NIPIA non competitivo
Numero cartuccia : **	Data di scadenza reagente: *
Numero di lotto di reagente: **	Tests per lotto: 40
Limite AGXS:	AGXS consentito:

## Pagina 2

Tampone: BUF10	Diluente: DIL10
Volume campione: 5 µl	Diluizione di calibratore 1:1
Volume di tampone di reazione: 0 µl	Diluizione di campione: 1:1
Volume di reagente A: 30 µl	Tempo di reazione: 5 minuti
Volume di reagente B: 195 µl	

## Pagina 3

Livelli: 6	Livello calibratore
Replicati: 2	Livello 1: *
Aggiornamento livello: 3	Livello 2: *
Replicati: 2	Livello 3: *
Tipo di calibrazione: 3. ordine polinomio	Livello 4: *
	Livello 5: *
	Livello 6: *

## Pendenza e sfalsamento (sotto «Reagente e Calibrazione»)

Fattore a (a x + b) : 1,10

Trasferire il tampone di saggio di cistatina C Gentian nel compartimento B e immunoparticelle di cistatina C Gentian nel compartimento A. Il volume massimo dei compartimenti "A" e "B" della cartuccia UDR è 8,5 ml. Quindi il numero massimo di test caricati nella cartuccia è approssimativamente 40 test.

\* Lotto dipendente

\*\* Utente definito