

# Cistatina C



## Notas de aplicação para Imunoensaio Cistatina C nos SISTEMAS IMMAGE®800 da Beckman Coulter®

Utilizar o Kit de Reagente Cistatina C A52761 e cartuchos de Reagente Definidos por Utilizador IMMAGE

### Utilização prevista

O imunoensaio cistatina C nos sistemas IMMAGE® da Beckman Coulter® é um teste diagnóstico *in vitro* para determinação quantitativa de cistatina C no soro e plasma humanos. A medição de cistatina C é usada no diagnóstico e tratamento de doenças renais.

### Resumo e Explicação de Teste

A proteína básica não-glicosilada, cistatina C (peso molecular 13,2 kD), é produzida a uma taxa constante em quase todas as células nucleadas no corpo humano [1]. É livremente filtrada através de uma membrana Glomerular normal e em seguida é reabsorvida e quase totalmente catabolizada nos túbulos proximais. Por conseguinte a concentração de cistatina C no sangue humano está estreitamente relacionada com a velocidade de filtração glomerular (GFR) [2]. A redução de GFR resulta num aumento da concentração de cistatina C. Não foi demonstrado que a concentração de cistatina C fosse significativamente influenciada por outros fatores como a massa muscular, doenças inflamatórias, sexo, idade ou dieta [2, 3, 4].

### Padronização de Calibrador

O calibrador cistatina C da Gentian foi padronizado em relação à norma de calibração internacional ERM-DA471/IFCC.

### Cálculo de Predição GFR

Foram publicadas várias equações de predição com base em cistatina C para cálculo de GFR em adultos e crianças. É de salientar que estas fórmulas foram avaliadas com diferentes ensaios de cistatina C (imunoensaio nefelométrico coadjuvado por partículas PENIA ou imunoensaio turbidimétrico coadjuvado por partículas PETIA) e podem revelar resultados GFR imprecisos caso seja utilizada uma combinação inadequada de fórmula e ensaio. Para cálculo de GFR a partir de valores de cistatina C medidos com o ensaio Gentian é recomendada a seguinte equação de predição utilizando mg/L como fator de unidade [5]: A equação é válida para pessoas com mais de 14 anos.

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

### Princípio do Ensaio

Amostra de soro ou plasma humano misturada com imunopartículas de cistatina C. Cistatina C da amostra e anti cistatina C dos agregados de imunopartículas. As partículas complexas criadas absorvem luz e por turbidimetria a absorção é relacionada com concentração de cistatina C através de interpolação e numa curva de calibração padrão estabelecida. As plataformas IMMAGE® vão calcular os resultados automaticamente.

### Reagentes fornecidos com o Kit de Reagente

#### Tampão de Reação 1 (R1)

Tampão de Reação Cistatina C, 1 frasco de 100 ml. R1 é um tampão salino MOPS [3-(N-Morfolino)-ácido propano-sulfónico], conservado com azidas de sódio (0,09 % (p/v)). O tampão está pronto a utilizar.

#### Tampão de Reação 2 (R2):

Imunopartículas de Cistatina C, 2 frascos de 10 ml. R2 contém imunopartículas, as quais estão purificadas com uma fração de imunoglobulina direcionada contra cistatina C, com ligação covalente a

\* Uma marca registada da Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

partículas de polistireno uniformes. A cistatina C humana foi utilizada como imunogénico no processo de geração das imunopartículas. Fornecida como suspensão pronta a utilizar, conservada com 0,09 % (p/v) azida de sódio e antibióticos.

Itens incluídos no Grupo de Vendas CYSX IMMAGE REF B69746:	
Kit de Reagente de Cistatina C Gentian	REF A52761
Cartucho de Reagente Definido por Utilizador (emb. de 10)	REF 447250
Tampas de evaporação (emb. de 20)	REF 447170
Itens requeridos (não incluídos):	
Kit Calibrador Cistatina C da Gentian (6 x 1 ml)	REF A52763
Kit de Controlo Cistatina C da Gentian, baixo e alto (2 x 1 ml)	REF A52765

### Advertências e Precauções

- Este teste destina-se a utilização *in vitro* apenas e tem de ser manuseado por pessoal qualificado.
- Os reagentes contêm antibióticos e têm de ser manuseados com as devidas precauções.
- Os reagentes contêm azida de sódio como conservante e têm de ser manuseados com as devidas precauções: Não ingerir nem permitir contacto com a pele ou membranas mucosas. A concentração de azida de sódio deste produto não é caracterizada como perigosa. Embora a acumulação de NaN<sub>3</sub> em tubos de chumbo e cobre possa causar a geração de azidas metálicas explosivas. Para evitar esta situação, enxaguar abundantemente em caso de eliminação através da canalização.
- As imunopartículas contêm substâncias de origem animal. A eliminação de quaisquer materiais descartados deverá ser realizada em conformidade com os requisitos locais.
- O soro utilizado na criação dos calibradores e dos controlos foi testado quanto a hepatite HBsAG, anticorpos anti-VHC, anti-HIV1 e anti-HIV2 com resultados negativos. Não obstante, os materiais contêm substâncias de origem humana e animal e têm de ser manuseados com as devidas precauções. A eliminação de quaisquer materiais descartados deverá ser realizada em conformidade com os requisitos locais.

### Armazenamento e Estabilidade do Reagente

Prazo de validade de reagentes fechados a 2-8 °C: Ver data de validade na etiqueta. Estabilidade após a abertura: Até à data de validade ao utilizar tampas duras a 2-8 °C. Estabilidade em utilização: 28 dias ao utilizar tampas de evaporação.

### Recolha e Manuseamento de Espécimes

O material de amostra necessário é soro humano ou EDTA/plasma heparinizado. É recomendável analisar as amostras o mais frescas possível. Contudo testes de estabilidade de amostra mostraram que a cistatina C nas amostras de soro e plasma é estável durante 26 dias à temperatura ambiente (8 - 25 °C) ou 26 dias se armazenada a 2 - 8 °C. Adicionalmente foi publicado que as amostras podem ser armazenadas abaixo dos -70 °C durante até 5 anos [6]. Misturar bem antes de analisar.

## Procedimento de Ensaio

### Notas de Aplicação/Instalação de Ensaio

Uma lista detalhada de parâmetros de instrumento está disponível na secção "Parâmetros de Instrumento" abaixo. A nota de aplicação também está disponível em: [www.gentian.com](http://www.gentian.com). As operações de configuração de instrumentos, manutenção, funcionamento e precauções devem ser realizadas em conformidade com os manuais de instrumentos IMMAGE® da Beckman Coulter®.

### Preparação de Reagentes

O reagente é fornecido pronto para transferência para o Cartucho de Reagente IMMAGE. Transferir os conteúdos do reagente 1 e reagente 2 para os compartimentos apropriados do Cartucho Definido por Utilizador, conforme apresentado na tabela abaixo, e aplicar tampas de evaporação quando estiverem a ser utilizados. Utilizar com cuidado para evitar contaminação. Os reagentes devem ser armazenados com as tampas duras originais a 2-8 °C quando não estiverem a ser utilizados.

Kit Cistatina C	Compartimento A	Compartimento B
R1, Tampão de Reagente	-	8,5 ml
R2, Imunopartículas	1,5 ml	-

### Estabelecer a Curva de Calibração

Utilizar as normas 1 a 6 para estabelecer uma curva padrão de 6 pontos tal como definido nos manuais de instrumentos dos sistemas IMMAGE® da Beckman Coulter®. Os valores do calibrador dependem dos lotes pelo que é necessário realizar nova calibração sempre que é utilizado um novo lote de calibração. Os valores atribuídos do calibrador são fornecidos na folha de valores analíticos fornecida com o calibrador. É necessário efetuar uma nova calibração a cada 4 semanas.

### Controlos CQ

Os controlos baixos e altos têm de ser testados todos os dias previamente aos testes de quaisquer amostras de modo a validar a curva de calibração. Os controlos têm uma gama de valor atribuída que tem de ser respeitada previamente à medição de amostras. Os valores atribuídos são indicados na folha de valores analíticos incluída com Kit de Controlo de Cistatina C da Gentian. Se os valores de controlo não forem válidos, repetir as medições de controlo. Se a calibração não puder ser realizada sem erro ou se não for possível reproduzir valores de controlo válidos, contactar a assistência da Beckman Coulter®.

### Medição dos Valores dos Doentes

Após realizar uma calibração válida se os valores de controlo se encontrarem dentro do intervalo válido é possível realizar uma medição ao soro ou às amostras de plasma. Verifique que o volume mínimo da amostra está presente e ensaie as amostras em conformidade com as instruções fornecidas nos manuais de instrumentos dos Sistemas IMMAGE® da Beckman Coulter®.

### Resultados

Os resultados são calculados automaticamente pelos Sistemas IMMAGE® da Beckman Coulter®. Os resultados são apresentados em mg/L.

### Limitações

Os materiais não devem ser utilizados após a data de validade.

### Intervalo de Medição

O intervalo de medição da cistatina C para o ensaio é aproximadamente 0,4 – 8,0 mg/L. O intervalo exato depende dos pontos definidos do calibrador do número de lote do Kit Calibrador Cistatina C da Gentian.

### Intervalos de Referência

A Gentian segue as Recomendações CLSI, C28-A2; *Como determinar intervalos de referência no laboratório clínico; Recomendações aprovadas segunda edição* para determinar a transferibilidade do intervalo de referência. O intervalo de referência é baseado num estudo de intervalo de referência realizado no Hospital Växjö, Suécia, incluindo as amostras de soro de 136 sujeitos autodeclarados saudáveis com idades entre os 20-80 anos. As amostras foram analisadas quanto a cistatina C na plataforma AU 2700. O intervalo de referência foi calculado de forma não paramétrica e foi determinado como sendo 0,53 - 1,01 mg/L. Isto representa os 95% centrais da totalidade da população testada. É recomendável que todos os

laboratórios determinem um intervalo de referência local uma vez que os valores podem variar dependendo da população testada.

## Características de Desempenho

Todos os estudos foram realizados utilizando um lote dos reagentes num laboratório, salvo indicação em contrário.

### Precisão

O Imunoensaio Cistatina C da Gentian foi utilizado num estudo de precisão de 3 dias concebido em conformidade com o protocolo CLSI EP5-A. Quatro agregados de soro e 2 níveis de controlo foram medidos no sistema IMMAGE 800\* da Beckman Coulter®.

ID	Valor médio (mg/L)	Dentro da determinação CV (%)	Total CV (%)	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

### Linearidade

O Imunoensaio Cistatina C da Gentian foi utilizado num estudo de linearidade no sistema IMMAGE 800, foi observado um intervalo linear de 0,35 – 6,79 mg/L. Não foram testadas concentrações fora deste intervalo.

### Recuperação Analítica

Utilizando o Imunoensaio Cistatina C da Gentian num instrumento IMMAGE 800 da Beckman Coulter®, foi observada uma recuperação de 100-110%.

### Limite de Quantificação

O Limite de Quantificação é definido como a quantidade real mais baixa de uma substância a analisar que pode ser detectada de forma fiável e na qual o erro total cumpre os requisitos de precisão

Utilizando o ensaio Cistatina C da Gentian num instrumento IMMAGE 800, foi medido um limite mais baixo de quantificação de 0,24 mg/L.

### Zona de segurança

Num estudo com IMMAGE 800, a zona de segurança para excesso de antigénio estendeu-se até 43 mg/L utilizando o ensaio Cistatina C da Gentian.

### Interferência

Num estudo não foi detetada qualquer interferência significativa com Hemoglobina (8 g/L), Intralipid (16 g/L) ou Bilirrubina (800 mg/L) em amostras de cistatina C. O estudo de interferência foi concebido em conformidade com o protocolo EP7-A de CLSI [7]. Anteriormente, não foi detetada qualquer interferência significativa com os medicamentos testados tal como recomendado numa publicação por Sonntag e Scholer [8]. Não existe qualquer interferência RF presente no Imunoensaio Cistatina C da Gentian porque os anticorpos são criados utilizando anticorpos de aves (galinha) [9].

### Variação de Instrumentos

Foi medida variação de instrumentos entre Cistatina C da Gentian nos instrumentos IMMAGE e Hitachi 917 e os resultados analisados utilizando análise de regressão Passing-Bablok:

Métodos	N	Intervalo de espécimes (mg/L)	Termo	Coefficiente	95% CI de Coeficiente
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0,58 - 6,97	Interceção	0,08	0,05 - 0,11
			Declive	1,01	0,99 - 1,03

\* Marcas registadas da Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821


## Informação Adicional


Para informação mais detalhada sobre os Sistemas IMAGE®, consulte o manual de sistema apropriado. Uma vez que a Beckman Coulter® não fabrica o reagente nem executa controlos de qualidade ou outros testes a lotes individuais, a Beckman Coulter® não pode ser responsabilizada pela qualidade dos dados obtidos resultante do desempenho do reagente, de qualquer variação entre lotes de reagente, ou de alterações de protocolo efetuadas pelo fabricante.


## Danos no Transporte


Contacte o seu distribuidor se receber este produto com danos. Contacte o seu representante local Beckman Coulter® para assistência técnica. Para outros idiomas, visite: <https://www.gentian.com/clinical-diagnostic-products/beckman-coulter-customers-cystatin-c>


## Tecla Símbolos


 Número de lote


 Limite de temperatura

 Prazo de validade

 Leia as instruções de utilização

 Fabricante

 Número de catálogo

 Dispositivo médico de diagnóstico *in vitro*

 Atenção

 Riscos biológicos

 **Gentian AS** 

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Noruega

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 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.

# Configuração de Instrumento para Imunoensaio Cistatina C em Sistemas IMMAGE da Beckman Coulter® (IMMAGE 800)

## Página 1

Nome de Teste: CYSX	Unidade: mg/L
Número de lote de Reagente: *	Protocolo: NIPIA não competitivo
Número de cartucho: **	Data de validade do reagente: *
Número de série do reagente: **	Testes por lote: 40
Limite de AGXS:	AGXS ativado:

## Página 2

Tampão: BUF10	Diluyente: DIL10
Volume da Amostra: 5 µl	Diluição do Calibrador: 1:1
Volume do Tampão de Reação: 0 µl	Diluição Amostra: 1:1
Volume do Reagente A: 30 µl	Tempo de Reação: 5 minutos
Volume do Reagente B: 195 µl	

## Página 3:

Níveis: 6	Nível do Calibrador
Repetições: 2	Nível 1: *
Atualização de nível: 3	Nível 2: *
Repetições: 2	Nível 3: *
Tipo de Calibração: Polinómio de 3.º grau	Nível 4: *
	Nível 5: *
	Nível 6: *

## Declive e Desvio (em 'Reagente e Calibração')

Fator a ( $a \cdot x + b$ ) : 1,10

Transferir o Tampão de Ensaio Cistatina C da Gentian para o compartimento B e as partículas Cistatina C da Gentian no compartimento A. O volume máximo do compartimento "A" e "B" do cartucho definido pelo utilizador é 8,5 ml. Por conseguinte, o número máximo de testes carregados no cartucho é aproximadamente 40 testes.

\* Depende do lote

\*\* Definido por Utilizador