

Notas de aplicación para Cystatin C Immunoassay (inmunoensayo de cistatina C) en los sistemas IMMAGE® 800 de Beckman Coulter®

Utilización de Gentian Cystatin C Reagent Kit A52761 y de IMMAGE User-Defined Reagent Cartridges

Uso previsto

Cystatin C Immunoassay para los sistemas IMMAGE® de Beckman Coulter® es una prueba diagnóstica *in vitro* para la determinación cuantitativa de la cistatina C en el suero y el plasma humanos. El análisis de cistatina C se utiliza para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales.

Resumen y explicación de la prueba

La proteína básica no glicosilada cistatina C (peso molecular: 13,2 kDa) se genera en una proporción constante en prácticamente todas las células nucleadas del organismo humano [1]. Dicha proteína se filtra libremente a través de una membrana glomerular normal, tras lo que se reabsorbe y cataboliza casi en su totalidad en los túbulos proximales. Por este motivo, la concentración de cistatina C en la sangre humana está íntimamente ligada a la tasa de filtrado glomerular (GFR, por sus siglas en inglés) [2]. Una disminución en la GFR provoca un aumento en la concentración de cistatina C. No obstante, no se ha observado que la concentración de cistatina C se vea influida significativamente por otros factores, como la masa muscular, enfermedades inflamatorias, el sexo, la edad o la dieta [2, 3, 4].

Estandarización del calibrador

Gentian Cystatin C Calibrator (calibrador de cistatina C de Gentian) está estandarizado de acuerdo con la norma ERM-DA471/IFCC.

Cálculo de la predicción de la GFR

Se han publicado varias ecuaciones de predicción basadas en la cistatina C para el cálculo de la GFR en adultos y niños. Debe tenerse en cuenta que estas fórmulas se evaluaron con diferentes ensayos de cistatina C (inmunoensayo nefelométrico mejorado con partículas (PENIA) o inmunoensayo turbidimétrico mejorado con partículas (PETIA)) y pueden arrojar resultados imprecisos para la GFR si se emplea una combinación inapropiada de fórmula y ensayo. Para el cálculo de la GFR a partir de los valores de cistatina C calculados con el ensayo de Gentian, se recomienda la siguiente ecuación de predicción con mg/l como el factor de unidad [5]: la ecuación es válida para personas mayores de 14 años.

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

Principio del ensayo

La muestra de suero o plasma humano se mezcla con inmunopartículas de cistatina C: cistatina C de la muestra y anti-cistatina C de los agregados de inmunopartículas. Las partículas complejas creadas absorben la luz y, tras la turbidimetría, la absorción se relaciona con la concentración de cistatina C mediante la interpolación en una curva de calibración estándar establecida. Con esto, las plataformas IMMAGE® calcularán automáticamente los resultados.

Reactivos proporcionados en Reagent Kit

Reaction Buffer 1 (tampón de reacción 1) (R1)

Cystatin C Reaction buffer, 1 vial de 100 ml. R1 es un salino amortiguador MOPS [ácido 3-(N-morfolino)-propanosulfónico] preservado con azidas de sodio (0,09 % (w/v)). Este tampón está listo para su uso.

Reaction Buffer 2 (tampón de reacción 2) (R2)

Cystatin C Immunoparticles (inmunopartículas de cistatina C), 2 viales de 10 ml. R2 contiene inmunopartículas, que constan de una fracción de inmunoglobulina purificada dirigida contra la cistatina C y enlazada de forma covalente con partículas de poliestireno uniformes. Se utilizó la cistatina C humana como inmunógeno en el proceso de generación de las inmunopartículas. Este tampón se suministra como una suspensión lista para su uso y preservada con azida de sodio (0,09 % (w/v)) y antibióticos.

Elementos incluidos en el grupo de venta CYSX IMMAGE REF B69746:	
Gentian Cystatin C Reagent Kit	REF A52761
User-Defined Reagent Cartridge (envase de 10)	REF 447250
Tapas de evaporación (envase de 20)	REF 447170
Elementos necesarios pero no incluidos:	
Gentian Cystatin C Calibrator Kit (6 unidades de 1 ml)	REF A52763
Gentian Cystatin C Control Kit, bajo y alto, (2 unidades de 1 ml)	REF A52765

Advertencias y precauciones

- Esta prueba solo es apta para su uso *in vitro* y debe ser manipulada por personal cualificado.
- Los reactivos contienen antibióticos y deben manipularse con la debida cautela.
- Los reactivos contienen conservantes de azida de sodio y deben manipularse con la debida cautela: no ingiera el producto ni permita el contacto con la piel ni con las membranas mucosas. La concentración de azida de sodio de este producto no se considera peligrosa. No obstante, la NaN_3 acumulada en las tuberías de plomo y cobre puede causar la generación de azidas de metal explosivas. Para evitarlo, aclárelas concienzudamente si se desecha el producto por el desagüe.
- Las inmunopartículas contienen sustancias de origen animal. El desecho de cualquier material descartado debe realizarse de acuerdo con la normativa local.
- El suero utilizado en la elaboración de los calibradores y controles se ha sometido a pruebas para el antígeno de superficie de la hepatitis B, para los anticuerpos del virus de la hepatitis C y para los anticuerpos contra el VIH1 y el VIH2 con un resultado negativo. No obstante, los materiales contienen sustancias de origen humano y animal que deben manipularse con el debido cuidado. El desecho de cualquier material descartado debe realizarse de acuerdo con la normativa local.

Almacenamiento y estabilidad de los reactivos

Durabilidad de los reactivos sin abrir a 2-8 °C: consulte la fecha de caducidad del etiquetado. Estabilidad tras la apertura: hasta la fecha de caducidad si se utilizan tapas duras a 2-8 °C. Estabilidad durante el uso: 28 días si se utilizan tapas de evaporación.

Los productos con fechas de caducidad especificadas con el formato de año y mes caducan el último día del mes especificado.

Recolección y manipulación de muestras

El material requerido para la muestra es suero o plasma con EDTA/heparinizado de origen humano. Se recomienda analizar las muestras lo antes posible tras su recolección. No obstante, una prueba de estabilidad realizada en las muestras demostró que la cistatina C de las muestras de suero y plasma se mantenía estable durante 26 días a temperatura ambiente (8-25 °C) o 26 días si se almacenaba a 2-8 °C. Asimismo, se ha publicado que las muestras pueden almacenarse a una temperatura inferior a -20 °C durante hasta 10 años [6]. Mezcle bien las muestras antes de realizar el análisis.

Procedimiento del ensayo

Notas de aplicación/instalación del ensayo

En la sección "Ajustes para los instrumentos", se ofrece una lista detallada de parámetros para los instrumentos. La nota de aplicación también está disponible en www.gentian.no. Deben observarse las instrucciones de configuración, mantenimiento y funcionamiento y las precauciones especificadas en los manuales de los instrumentos IMMAGE® de Beckman Coulter®.

Preparación de los reactivos

El reactivo se suministra listo para su transferencia al IMMAGE Reagent Cartridge. Transfiera el contenido del reactivo 1 y del reactivo 2 en los correspondientes compartimentos del User-Defined Cartridge de la manera mostrada en la siguiente tabla y utilice las tapas de evaporación durante el uso. Proceda con cautela para evitar una contaminación. Los reactivos deben almacenarse con las tapas duras originales a 2-8 °C cuando no estén en uso.

Cystatin C Kit	Compartimento A	Compartimento B
R1, Reagent Buffer	-	8,5 ml
R2, Immunoparticles	1,5 ml	-

Establecimiento de la curva de calibración

Use los estándares del 1 al 6 para establecer una curva estándar de 6 puntos de la forma definida en los manuales de los sistemas IMMAGE® de Beckman Coulter®. Los valores del calibrador dependen del lote, por lo que debe realizarse una nueva calibración siempre que se utilice un nuevo lote de calibración. Los valores asignados para el calibrador se especifican en la hoja de valores analíticos suministrada con el calibrador. Debe realizarse una nueva calibración cada 4 semanas.

Controles de calidad

Los controles alto y bajo deben analizarse cada día antes de analizar cualquier muestra para validar la curva de calibración. Los controles poseen un rango asignado de valores que debe cumplirse antes de analizar las muestras. Los valores asignados se especifican en la hoja de datos analíticos incluida con Gentian Cystatin C Control Kit. Si los valores de control no son válidos, repita las medidas de control. Si no puede realizarse la calibración sin errores o no pueden reproducirse los valores de control válidos, póngase en contacto con Beckman Coulter®.

Análisis de las muestras de pacientes

Una vez se realice la calibración correctamente y los valores de control estén dentro del rango válido, podrán analizarse las pruebas de suero o plasma. Compruebe la disponibilidad de un volumen mínimo de la muestra y analice las muestras según las instrucciones proporcionadas en los manuales de los sistemas IMMAGE® de Beckman Coulter®.

Resultados

Los sistemas IMMAGE® de Beckman Coulter® calculan automáticamente los resultados, que se presentan en mg/l.

Límites

Los materiales no deben utilizarse una vez expirada su fecha de caducidad.

Rango de medición

El rango de medición de la cistatina C para el ensayo es de aproximadamente 0,4-8,0 mg/l. El rango exacto depende de los puntos de ajuste del calibrador del número de lote de Gentian Cystatin C Calibrator Kit.

Intervalos de referencia

Para determinar la transferibilidad del intervalo de referencia, Gentian observa la directriz C28-A2 del CLSI (Instituto estadounidense de normas clínicas y de laboratorio): *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition (Cómo definir y determinar los intervalos de referencia en el laboratorio clínico; segunda edición de la directriz aprobada)*. El intervalo de referencia se basa en un estudio al respecto realizado en el hospital de Växjö (Suecia) que incluyó las muestras de suero de 138 personas autodeclaradas sanas de entre 20 y 80 años. Se hizo un análisis de cistatina C de las muestras en la plataforma AU 2700. El intervalo de referencia se calculó de forma no paramétrica y se estableció en 0,53-1,01 mg/l. Este valor representa el 95 % central de toda la población analizada. Se recomienda que cada laboratorio defina un intervalo de referencia local, ya que los valores pueden variar según la población analizada.

En un estudio separado realizado con 850 niños sanos (46 % niños y 54 % niñas) de edades comprendidas entre los 5 y los 15 años, se confirmó el rango de referencia 0,51-1,05 mg/l para todas las edades hasta los 5 años [7].

Características de rendimiento

Salvo que se especifique lo contrario, todos los estudios se realizaron con un lote de reactivos en un laboratorio.

Precisión

Gentian Cystatin C Immunoassay se utilizó en un estudio de precisión de 3 días diseñado de acuerdo con el protocolo EP5-A del CLSI. Se analizaron 4 mezclas de suero y 2 niveles de control en el sistema IMMAGE 800* de Beckman Coulter®.

Id.	Valor medio (mg/l)	CV intraserie (%)	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

Linealidad

Gentian Cystatin C Immunoassay se utilizó en un estudio de linealidad en el sistema IMMAGE 800 y se observó un rango lineal de 0,35-6,79 mg/l. No se analizaron las concentraciones por encima de este rango.

Recuperación analítica

Con el uso de Gentian Cystatin C Immunoassay en un instrumento IMMAGE 800 de Beckman Coulter®, se observó una recuperación del 100-110 %.

Límite de cuantificación

Con el uso del ensayo Gentian Cystatin C en un instrumento IMMAGE 800, se obtuvo un límite inferior de cuantificación de 0,24 mg/l.

Zona de seguridad

En un estudio realizado en IMMAGE 800, la zona de seguridad para el exceso de antígeno se extendió hasta 43 mg/l con el uso del ensayo de cistatina C de Gentian.

Interferencia

En un estudio realizado, no se detectó ninguna interferencia significativa con la hemoglobina (8 g/l), los intralípidos (16 g/l) o la bilirrubina (800 mg/l) en las muestras de cistatina C. El estudio de interferencia se diseñó de acuerdo con el protocolo EP7-A del CLSI [8]. Anteriormente, no se detectó ninguna interferencia significativa con los fármacos analizados según lo recomendado en la publicación de Sonntag y Scholer [9]. No se observa ninguna interferencia del factor reumatoide en Gentian Cystatin C Immunoassay porque los anticuerpos se han obtenido a partir de material aviar (pollo) [10].

Variación entre instrumentos

Se calculó la variación entre las pruebas de Gentian Cystatin C realizadas en los instrumentos IMMAGE e Hitachi 917 y se analizaron los resultados por medio del análisis de regresión de Passing-Bablok:

Métodos	N	Rango de las muestras (mg/l)	Término	Coefficiente	IC del 95 % del coeficiente
IMMAGE 800 frente a Hitachi 917	24	0,58-6,97	Intersección	0,08	0,05-0,11
			Pendiente	1,01	0,99-1,03

Información adicional

Para obtener información adicional sobre los sistemas IMMAGE®, consulte el manual del sistema correspondiente. Dado que Beckman Coulter® no elabora el reactivo ni realiza controles de calidad ni ninguna otra prueba con lotes individuales, Beckman Coulter® no se hace responsable de la calidad de los datos obtenidos derivada del comportamiento del reactivo, de cualquier variación entre los lotes de reactivos o de los cambios de protocolo realizados por el fabricante.

Daños durante el transporte

Si constata daños al recibir el producto, le rogamos que se los notifique a su distribuidor. Si requiere asistencia técnica, póngase en contacto con su representante de Beckman Coulter®. Para obtener información en otros idiomas, consulte: <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Leyenda de los símbolos



Número de lote



Límite de temperatura



Fecha de caducidad



Consulte las instrucciones de uso



Fabricante



Número del catálogo



Producto sanitario para el diagnóstico *in vitro*



Precaución



Riesgos biológicos



Gentian AS CE

Bjørnåsveien 5, 1596 Moss, Noruega

TEL.: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

Bibliografía

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. Nitsch D. et al: The Uppsala Family Stud. Am J Kidney Dis. 2011;57(6):863-872
8. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
9. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 :376-85.
10. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.

Ajustes del instrumento para Cystatin C Immunoassay en los sistemas IMMAGE*(IMMAGE 800) de Beckman Coulter®

Página 1

Nombre de la prueba: CYSX

Unidad: mg/l

Número de lote del reactivo: *

Protocolo: NIPIA no competitivo

Número de cartucho: **

Fecha de caducidad del reactivo: *

Número de serie del reactivo: **

Pruebas por lote: 40

Límite AGXS:

AGXS activado:

Página 2

Tampón: BUF10

Diluyente: DIL10

Volumen de la muestra: 5 µl

Dilución del calibrador: 1:1

Volumen del tampón de reacción: 0 µl

Dilución de la muestra: 1:1

Volumen del reactivo A: 30 µl

Tiempo de reacción: 5 minutos

Volumen del reactivo B: 195 µl

Página 3:

Nivel del calibrador

Niveles: 6

Nivel 1: *

Repeticiones: 2

Nivel 2: *

Nivel de actualización: 3

Nivel 3: *

Repeticiones: 2

Nivel 4: *

Tipo de Calibración: 3. fin polinomio

Nivel 5: *

Nivel 6: *

Pendiente y offset (en "Reactivo y calibración")

Factor a (a·x + b) : 1,10

Transfiera Gentian Cystatin C Assay Buffer al compartimento B y Gentian Cystatin C Immunoparticles al compartimento A. El volumen máximo de los compartimentos "A" y "B" del cartucho User-Defined Reagent Cartridge es de 8,5 ml. Por lo tanto, el número máximo de pruebas cargadas en el cartucho es de aproximadamente 40.

* Según el lote

** Definido por el usuario