

Instructions d'utilisation de l'immunodosage Cystatin C à bord des SYSTÈMES IMAGE® 800 Beckman Coulter®

Utilisation du coffret de réactifs Gentian Cystatin C A52761 et des cartouches de réaction définies par l'utilisateur IMAGE

Usage prévu

L'immunodosage Cystatin C à bord du système IMAGE® 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. La concentration en cystatine C dans le sang humain est donc étroitement liée au débit de filtration glomérulaire (DFG) [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 de 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 IMAGE® 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 anti-cystatine C, 2 flacons de 100 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.

Éléments inclus dans le groupe des ventes CYSX IMAGE, RÉF. B69746 :	
Coffret de réactifs Gentian Cystatin C	RÉF. A52761
Cartouche de réaction définie par l'utilisateur (boîte de 10)	RÉF. 447250
Capuchons d'évaporation (boîte de 20)	RÉF. 447170
Éléments requis (non fournis) :	
Coffret de calibrage Gentian Cystatin C (6 x 1 ml)	RÉF. A52763
Coffret de contrôle Gentian Cystatin C (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 capuchons rigides, entre 2 et 8 °C. Stabilité à bord : 28 jours en cas d'utilisation de capuchons d'évaporation.

Les produits dont la date de péremption est au format mois/année expirent le dernier jour de ce mois.

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 -20 °C pendant un maximum de 10 ans [6]. Bien mélanger les échantillons avant de les analyser.

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'utilisation sont également disponibles sur www.gentian.no. 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

Les réactifs sont fournis prêts à être transférés dans la cartouche de réactif IMMAGE. Transférer le contenu du réactif 1 et du réactif 2 dans les compartiments appropriés de la cartouche de réaction définie par l'utilisateur, comme indiqué dans le tableau ci-dessous. Veiller à éviter toute contamination. Les réactifs doivent être conservés avec leurs capuchons rigides d'origine entre 2 et 8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés.

Coffret Cystatin C	Compartiment A	Compartiment B
R1, Tampon de réaction	-	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 calibrage doit être effectué toutes les 4 semaines.

CQ des contrôles

Les contrôles haut et bas doivent être testés chaque jour avant d'utiliser 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 contrôles. 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 0,8 mg/l. La plage exacte dépend des valeurs de consigne des calibrateurs indiquées par le numéro du lot du coffret de calibrateurs Gentian Cystatin C.

Intervalles 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 138 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 façon non paramétrique et fixé à 0,53 – 1,01 mg/l. Ceci représente les 95 % centraux de la population testée totale. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine un intervalle de référence local car les valeurs peuvent varier en fonction de la population testée.

Dans une autre étude incluent 850 enfants en bonne santé (46 % de garçons, 54 % de filles) âgés de 5 à 15 ans, l'intervalle de référence de 0,51 – 1,05 mg/l a été confirmé pour tous les âges jusqu'à 5 ans [7].

Caractéristiques de performance

Toutes les études ont été réalisées avec un lot de réactifs dans un laboratoire, sauf mention contraire.

Précision

L'immunodosage Gentian Cystatin 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 Gentian Cystatin C a été utilisé dans une étude de linéarité à bord du système IMMAGE 800 ; une plage linéaire de 0,35 – 6,79 mg/l a été observée. Les concentrations extérieures à cette plage n'ont pas été testées.

Détection analytique

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

Limite de quantification

Avec l'immunodosage Gentian Cystatin C à bord d'un automate IMMAGE 800 Beckman Coulter®, 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 Cystatin C.

Interférences

Dans une étude, aucune interférence significative n'a été détectée avec l'hémoglobine (8 g/l), l'intralipide (16 g/l) ou la bilirubine (800 mg/l) dans les échantillons de cystatine C. L'étude d'interférence était conçue conformément au protocole EP7-A du CLSI [8]. Précédemment, aucune interférence significative n'avait été détectée avec les médicaments testés, tel que recommandé par Sonntag et Scholer [9]. Aucune interférence du facteur rhumatoïde n'a été observée avec l'immunodosage Gentian Cystatin C car les anticorps sont d'origine aviaire (poulet) [10].

Variations instrumentales

Les variations instrumentales de Gentian Cystatin C à bords 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 de l'échantillon (mg/l)	Terme	Coefficient	IC à 95 % du coefficient
IMMAGE 800 versus Hitachi 917	24	0,58 – 6,97	Intercept	0,08	0,05 – 0,11
			Pente	1,01	0,99 – 1,03

Informations supplémentaires

Pour des informations plus détaillées sur les systèmes IMMAGE®, consulter le manuel du système approprié. Comme 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.

Dommages 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 : <http://gentian.no/products/beckman-coulter-customers/>

Symboles



Numéro de lot



Limite de température



Date de péremption



Consulter le mode d'emploi



Fabricant



Référence catalogue



Dispositif médical de diagnostic *in vitro*



Avertissement



Risques biologiques



Gentian AS CE

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norvège

TÉL. : +47 99 33 99 05

FAX : +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

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. 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.

Paramètres instrumentaux pour l'immunodosage Cystatin C à bord des systèmes IMMAGE®800 Beckman Coulter® (IMMAGE 800)

Page 1

Nom du test : cysx

Unité : mg/l

Numéro de lot du réactif : *

Protocole : NIPIA non compétitif

Numéro de cartouche : **

Date de péremption du réactif : *

Numéro de série du réactif : **

Tests par lot : 40

Limite AGXS :

AGXS activé :

Page 2

Tampon : BUF10

Diluant : DIL10

Volume d'échantillon : 5 µl

Dilution du calibrateur : 1:1

Volume de tampon de réaction : 0 µl

Dilution d'échantillon : 1:1

Volume de réactif A : 30 µl

Temps de réaction : 5 minutes

Volume de réactif B : 195 µl

Page 3 :

Niveau de calibrateur :

Niveaux : 6

Niveau 1 : *

Réplicats : 2

Niveau 2 : *

Mise à jour du niveau : 3

Niveau 3 : *

Réplicats : 2

Niveau 4 : *

Type de calibration: polynôme du 3ème degré

Niveau 5 : *

Niveau 6 : *

Pente et Décalage (voir « Réactif et calibrage »)

Facteur a (a·x + b) : 1.10

Transférer le tampon du dosage Gentian Cystatin C dans le compartiment B et les immunoparticules Gentian Cystatin C dans le compartiment A. Le volume maximum des compartiments « A » et « B » de la cartouche de réaction définie par l'utilisateur est de 8,5 ml. Ainsi, le nombre maximum de tests chargés dans la cartouche est d'environ 40.

*Selon le lot

** Défini par l'utilisateur