

Observação da aplicação para Cistatina C Imunoensaio em Beckman Coulter® IMMAGE®800 SYSTEMS

Utilizando o Kit de Reagente de Cistatina C A52761 e IMMAGE Cartucho de Reagente de usuário definido

Utilização prevista

O Cistatina C Imunoensaio em Beckman Coulter® IMMAGE® Systems é um teste diagnóstico *in vitro* para a determinação quantitativa de cistatina C no soro e plasma humano. A medição de cistatina C é usada em diagnósticos e tratamentos de doenças renais.

Resumo e Explicação do Teste

A proteína básica não-glicosilada, cistatina C (peso molecular 13.2 kD), é produzida em quase todas as células nucleadas no corpo humano, em um nível constante. [1]. Filtra-se livremente através de uma membrana Glomerular normal, e então, é reabsorvida e quase inteiramente catabolizada nos túbulos proximais. Consequentemente, a concentração da cistatina C no sangue humano é proximamente relacionado com o nível glomerular de filtração (GFR) [2]. A redução no GFR provoca um aumento na concentração da cistatina C. A concentração da cistatina C não tem sido provado em ser significativamente influenciado por outros fatores tais como a massa muscular, doenças inflamatórias, sexo, idade ou dieta [2, 3, 4].

Padronização do Calibrador

Gentian Cistatina C Calibrador é padronizado diante do padrão internacional ERM-DA471/IFCC.

GFR Cálculo de Predição

Diversas equações de predição de GFR, para adultos e crianças, de cistatina C tem sido publicadas. Deve notar-se que estas fórmulas foram avaliadas com diferentes ensaios de cistatina C (partícula-reforçada nefelométrico imunoensaio PENIA ou partícula reforçada turbidimétrico imunoensaio PETIA) e pode revelar resultados imprecisos de GFR; caso uma combinação de fórmula e ensaio for inadequadamente usado. Para calcular o GFR da cistatina C, os valores da medição com o ensaio Gentian, é recomendado utilizar a equação de predição abaixo, usando mg/L como fator de unidade [5]. A equação é válida para pessoas acima 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 de humanos são misturados com imunopartículas de cistatina C. A amostra de cistatina C e anti cistatina C das imunopartículas se agregam. O complexo das partículas absorvem luz e por turbidimetria a absorção está relacionada à concentração de cistatina C via interpolação em uma curva de calibração no padrão estabelecido. As plataformas IMMAGE irão calcular os resultados automaticamente.

Reagentes Fornecidos no Kit de Reagente

Tampão de Reação 1 (R1)

Tampão de reação da Cistatina C, 1 frasco de 100 mL. R1 é um MOPS [3-(N-Morpholino)-ácido sulfônico propano] salina tamponada, conservado com azida de sódio (0.09 % (w/v)). O tampão está pronto para uso.

Tampão de Reação (R2):

Cistatina C Imunopartículas, 2 frascos de 10mL. R2 contém imunopartículas, a qual é uma fração da imunoglobulina purificada. Por sua vez, esta é direcionada contra a cistatina C, a qual são ligadas de forma covalente às partículas de poliestireno uniformes. A cistatina C humana foi utilizada como imunogênio no processo de geração das imunopartículas. Este, é fornecido com uma suspensão pronto para uso, conservado com 0.09 % (w/v) azida de sódio e antibióticos.

* A marca registrada da Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

Itens incluídos no CYSX IMMAGE Grupo de Vendas REF B69746:	
Kit de Reagente Gentian Cistatina C	REF A52761
Cartucho de Reagente usuário definido (pc. de 10)	REF 447250
Tampas de Evaporação (pc. de 20)	REF 447170
Itens requeridos (não inclusos):	
Kit de Calibração Gentian Cistatina C (6 x 1 ml)	REF A52763
Kit de Controle Gentian Cistatina C, Baixo & Alto (2 x 1 ml)	REF A52765

Advertências e Precauções

- Este teste é somente para uso *in vitro*, e deve ser manuseado por um profissional qualificado.
- Reagentes contém antibióticos e deve ser manuseado com devido cuidado.
- Reagentes contém conservantes de azida de sódio e deve ser manuseado com devido cuidado. Não ingerir ou permitir o contato com a pele ou membranas mucosas. A concentração de azida de sódio neste produto não é caracterizado como perigoso. Embora que NaN_3 e tubos de cobre pode causar a geração de azidas metálicas explosivas. Para prevenir isto, enxágue-o completamente se for descartado pelo esgoto.
- As imunopartículas contém substâncias de origem animal. A eliminação de quaisquer materiais descartados deve estar dentro de acordo com as requisitos locais.
- O soro usado na fabricação dos calibradores e controles foi testado para hepatite HBsAG, anti-HCV, anti-HIV1 e anti-HIV2 e foi considerado negativo. No entanto, os materiais contém substâncias de origem humana e animal e devem ser manuseados com devido cuidado. A eliminação de quaisquer materiais descartados deve estar dentro de acordo com as requisitos locais.

Armazenamento e Estabilidade do Reagente

Prazo de validade para reagentes fechados a 2-8°C: Consulte a data de validade na embalagem. Estabilidade após abertura: Até a data de validade quando forem usados tampas rígidas a 2 - 8°C. Estabilidade em uso: 28 dias quando forem usados tampas de evaporação. Os produtos são indicados com datas de validade no formato ano e mês, e expiram no último dia do mês indicado.

Colheita de amostras e Manuseamento

Os materiais de amostras requisitados são de soro humano ou EDTA/plasma heparinizado. Recomenda-se analisar as amostras o mais fresco possível. No entanto, a durabilidade testada na amostra constatou que a cistatina C nas amostras de soro e plasma são duráveis por 26 dias na temperatura ambiente (8 - 25°C) ou 26 dias se armazenado a 2 - 8°C. Além disso, foi publicado que as amostras possam ser armazenadas abaixo de -20°C por 10 anos [6]. Misture bem as amostras antes de analisar.

Procedimento do ensaio

Observação da aplicação/Instalação do ensaio

A lista detalhada de parâmetros de instrumento está disponível na seção abaixo "Parâmetro do instrumento". Estes também estão disponíveis em: www.gentian.no. Configuração do instrumento, manutenção, operação e precauções devem ser manuseados de acordo com os manuais de instrumento Beckman Coulter® IMMAGE®.

Preparação do Reagente

Os reagentes fornecidos estão prontos para serem transferidos para o Cartucho de Reagente IMMAGE. Transfira os conteúdos do reagente 1 e reagente 2 para compartimentos apropriados do Cartucho do usuário definido, como a tabela abaixo indica; e aplique as tampas de evaporação quando estiverem sendo usados. Tenha cuidado para evitar a contaminação. Os reagentes devem ser armazenados com sua tampa rígida original a 2-8°C quando não estiverem em uso.

Kit de Cistatina C	Compartimento A	Compartimento B
R1, Padrão de Reagente	-	8.5 mL
R2, Imunopartículas	1.5 mL	-

Estabelecimento da Curva de Calibração

Utilize os requisitos de 1 a 6 para estabelecer uma curva padrão de 6 pontos, tal definida nos manuais de instrumentos de Beckman Coulter IMMAGE® Systems. Os valores do calibrador são dependentes do lote e uma nova calibração deve ser realizada sempre quando um novo lote de calibração seja usado. Os valores atribuídos do calibrador são fornecidos na Folha de Valor Analítico, anexada ao calibrador. Uma nova calibração deve ser realizada a cada 4 semanas.

QC Controles

Os controles baixos e altos devem ser ensaiados todos os dias antes de cada amostra ensaiada, a fim de validar a curva de calibração. Os controles tem uma variação de valor atribuído que devem ser cumpridos antes de medir as amostras. Os valores atribuídos são fornecidos na Tabela de Valor Analítico incluso com o Kit de Controle de Cistatina C Gentian. Se os valores do controle não forem válidos, repita o controle de medida. Se a calibração não pode ser realizada sem erro, ou valores de controle válidos não podem ser reproduzidas, entre em contato Beckman Coulter® para suporte.

Medição de Amostras de Pacientes

Quando uma calibração válida tenha sido realizada e os valores de controle estão dentro da variação válida, as amostras de soro ou plasma podem ser medidas. Verifique se o volume mínimo da amostra está presentes e ensaie as amostras de acordo com as instruções fornecidas no manual de instrumento Beckman Coulter® IMMAGE® Systems.

Resultados

Os resultados são calculados automaticamente por Beckman Coulter® IMMAGE® Systems. Os resultados são apresentados em mg/L.

Restrições

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

Variação de medição

A variação de medição da cistatina C para o ensaio é de aproximadamente 0.4 - 8.0 mg/L. A variação exata depende dos pontos definidos do calibrador no número do lote do Kit de Calibração Gentian Cistatina C.

Intervalos de Referência

Gentian segue o Guia CLSI, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* para determinar a possibilidade de transferência do intervalo de referência. O intervalo de referência é baseado em um estudo de intervalo de referência realizado no hospital de Växjö, na Suécia. Este, inclui amostras de soro de 138 indivíduos autodeclarados saudáveis entre as idades de 20-80 anos. As amostras foram analisadas por cistatina C na plataforma AU 2700. A referência do intervalo foi calculada não parametricamente e foi considerado 0.53 - 1.01 mg/L. Isto representa 95% de toda a população testada. Recomenda-se que todo o laboratório deve determinar um intervalo de referência local já que os valores podem variar dependendo da população testada. Em um estudo separado envolvendo 850 crianças saudáveis (46% meninos, 54 % meninas) nas idades de 5 to 15 anos, o intervalo de referência 0.51 - 1.05 mg/L foi confirmado em todas as idades abaixo de 5 anos [7].

Características de Desempenho

Todos os estudos foram realizados usando um lote de reagente, em um laboratório. A menos que seja indicado de outra forma.

Precisão

O Gentian Cistatina C Imunoensaio foi usado em 3 dias de estudo preciso e foi concebido de acordo com CLSI protocolo EP5-A. 4 soros e 2 níveis de controles foram medidos no sistema de Beckman Coulter® IMMAGE 800*.

ID	Valor médio (mg/L)	Intra-ensaio 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 Gentian Cistatina C Imunoensaio foi usado em um estudo de linearidade no sistema IMMAGE 800. Sendo assim, foi observado uma variação linear de 0.35 - 6.79 mg/L. Concentrações fora dessa variação não foram testados.

Recuperação Analítica

Usando o Gentian Cistatina C Imunoensaio em Beckman Coulter® IMMAGE 800 instrumento, foi observado uma recuperação de 100 - 110%.

Limite de Quantificação

Usando o ensaio Gentian Cistatina C em IMMAGE 800 instrumento, foi medido um limite inferior de quantificação de 0.24 mg/L.

Zona de segurança

Em um estudo sobre IMMAGE 800, a zona de segurança de excesso de antigénio foi estendido até 43 mg/L usando o ensaio Gentian Cistatina C.

Interferência

Em um estudo, nenhuma interferência significativa foi detectada com a Hemoglobina (8 g/L), Intralipid (16 g/L) ou Bilirrubina (800 mg/L) nas amostras de cistatina C. O estudo de interferência foi concebido de acordo com o protocolo EP7-A de CLSI [8]. Previamente, nenhuma interferência significativa foi detectada com os medicamentos testados, como foi recomendado na publicação de Sonntag e Scholer [9]. Não há nenhuma RF interferência presente no Gentian Cistatina C Imunoensaio, pois os anticorpos são feitos usando anticorpos de aves (galinha) [10].

Variação de Instrumento

A variação do instrumento entre Gentian Cistatina C em IMMAGE e Hitachi 917 instrumentos foi medido. Segue abaixo os resultados analisados usando a análise de regressão Passing-Bablok:

Método	N	Taxa das amostras (mg/L)	Termo	Coefficiente	95% CI do Coeficiente
IMMAGE 800 vs. Hitachi 917	24	0.58 - 6.97	Interceptar Inclinação	0.08 1.01	0.05 - 0.11 0.99 - 1.03

Informações Adicionais

Para mais informações detalhadas no sistema IMMAGE, consulte o manual do sistema adequado. Beckman Coulter® não fabrica o reagente ou faz controle de qualidade ou outros testes em lotes individuais, portanto, Beckman Coulter® não se responsabiliza pela qualidade dos dados obtidos para os quais são causados pelo desempenho do reagente, assim como qualquer variação entre os lotes de reagente, ou alterações do protocolo pelo fabricante.

Danos de transporte

Por favor, informe ao distribuidor se este produto se encontra danificado. Para assistência técnica, por favor entre em contato com o seu representante local do Beckman Coulter®.

Para demais línguas, visite:

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

* A marca registrada da Beckman Coulter® Inc., Brea, CA 92821

Símbolos



Número do lote



Limite de temperatura



Data de validade



Consultar as instruções de uso



Fabricado por:



Número de catálogo



Uso médico-diagnóstico "in vitro"



Cuidado



Risco biológico



Gentian AS

Bjornasveien 5, N-1596 Moss, Norway

TEL: +47 99 33 99 05

FAX: +47 69 24 09 62

<http://www.gentian.no>

CE

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. 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.

Configurações de instrumento para Cistatina C Imunoensaio em Beckman Coulter® IMAGE Systems*(IMAGE 800)

Página 1

Nome Teste: cysx	Unidade: mg/L
Lote de número do Reagente: *	Protocolo: Não competitivo NIPIA
Número do Cartucho: **	Data de validade do Reagente: *
Série de número do Reagente: **	Testes por lote: 40
AGXS Limite:	AGXS Permitido:

Página 2

Tampão: BUF10	Diluyente: DIL10
Volume da amostra: 5 µl	Diluição do Calibrador: 1:1
Volume da reação do tampão: 0 µl	Diluição da 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: *
Nível atualizado: 3	Nível 2: *
Repetições: 2	Nível 3: *
Tipo de Calibração: 3.encomenda polynom	Nível 4: *
	Nível 5: *
	Nível 6: *

Inclinação e Distância (referente a 'Reagente e Calibração')

Fator a (a·x + b) : 1.10

Transfira o Tampão de ensaio Gentian Cistatina C para um compartimento B e Gentian Cistatina C imunopartículas para um compartimento A. O volume máximo do compartimento "A" e "B" do cartucho UDR é de 8.5 mL. Portanto, o número máximo de testes carregados para dentro do cartucho é de aproximadamente 40 testes.

* Lote dependente

** Usuário definido