



Cystatin C

PETIA

Particle enhanced Turbidimetric Immunoassay

KK-CYC
KK-CYC-6*

*Kit contains pre-diluted Calibrators for the use in the clinical chemistry analysers of Olympus (AU) and Ortho (Vitros 5.1)

Revision date: 2008-11-13

ENGLISH

INTENDED USE

The Cystatin C Immunoassay is an *in-vitro* diagnostic test for quantitative determination of cystatin C in human serum and plasma. The assay can be applied on any clinical analyzer according to the specific application note. The measurement of cystatin C is used in the diagnosis and treatment of renal diseases.

SUMMARY AND EXPLANATION OF TEST

The non-glycosylated basic protein, cystatin C (molecular weight 13.2 kDa), is produced at a constant rate in nearly every nucleated cell in the human body [1]. It is freely filtered through a normal Glomerular membrane, and is then reabsorbed and almost entirely catabolized in the proximal tubules. Hence, the cystatin C concentration in human blood is closely related to glomerular filtration rate (GFR) [2]. A reduction in the GFR causes a rise in the concentration of cystatin C. Cystatin C concentration has not been shown to be significantly influenced by other factors such as muscular mass, inflammatory diseases, sex, age or diet [2, 3, 4].

ASSAY PRINCIPLE

Serum or plasma sample from human is mixed with cystatin C immunoparticles. Cystatin C from the sample and anti cystatin C from the immunoparticles aggregate. The complex particles created absorb light, and by turbidimetry the absorption is related to cystatin C concentration via interpolation on an established standard calibration curve.

REAGENTS SUPPLIED AND PREPARATION

Reagents	Quantities	Code	Reconstitution
Reaction Buffer (R1) a MOPS [3-(N-Morpholino)-propanesulfonic acid] buffered saline, preserved with sodium azides (0.09 % (w/v))	1 vial 55 ml	B-CYC-R1	Ready to use
Immunoparticles (R2) purified immunoglobulin fraction directed against Cystatin C. Covalently attached to uniform polystyrene particles. preserved with 0.09 % (w/v) sodium azide and antibiotics	1 vial 10 ml	B-CYC-R2	Ready to use
Calibrator¹⁾ delipidated human serum pool spiked with human cystatin C. Antibiotics are used as preservative.	1 vial 1 ml	B-CYC-CA	Ready to use
Calibrator pre-diluted²⁾ Pre-diluted Calibrators A-F	6 x 1 vial 1 ml	B-CYC-CASET	Ready to use
Controls low/high¹⁾ delipidated human serum pool spiked with human cystatin C. Antibiotics are used as preservative.	2 vials 1 ml	B-CYC-CONSET	Ready to use

Table 1

¹⁾ Content of KK-CYC.

Calibrator values are lot dependent and a new calibration must be performed whenever a new calibration lot is used. The calibrator's assigned values are given on the analytical value sheet provided with the kit.

²⁾ Content of KK-CYC-6

The pre-diluted Calibrator set (B-CYC-CASET) will be needed for the application on the Olympus AU and the Vitros 5,1 Analyser from Ortho. Applying the Cystatin C assay on these analyzers please order the kit KK-CYC-6

The reagents last for at least 220 tests dependent on the analyzer specific instrument settings (see section Materials required)

STORAGE AND SHELF LIFE OF REAGENTS

Unopened Reagents	
Store at 2-8°C until expiration date. Do not use past expiration date.	
Opened Reagents	
Reaction Buffer	Stable for 9 weeks at 2-8°C On board stability: 4 weeks at 2-8°C
Immunoparticles	Reagents should be stored capped at 2-8°C when not in use.
Calibrator(s)	Store at 2-8°C. stable until expiration date.
Controls	

Table 2

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- This test is for *in vitro* use only, and must be handled by qualified personnel.
- Reagents contain antibiotics and must be handled with due caution.
- Reagents contain sodium azide preservative and must be handled with due caution: Do not ingest or allow contact to skin or mucous membranes. The sodium azide concentration of this product is not characterised as dangerous. Although, accumulated NaN₃ in lead and copper pipes may cause generation of explosive metal azides. To prevent this, rinse thoroughly if discarded into the drain.
- The immunoparticles contain substances of animal origin. Disposal of any discarded materials should be in accordance with local requirements.
- Serum used in the manufacture of calibrators and controls was tested for hepatitis HBsAG, anti-HCV, anti-HIV1 and anti-HIV2 and found to be negative. Nevertheless, the materials contain substances of human and animal origin and must be handled with due care. Disposal of any discarded materials should be in accordance with local requirements.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- Analyzer specific reagent cartridge for R1 and R2 as well as for Calibrator and Controls
- instrument specific settings (parameter lists) are available for the following analyser upon request:

Hitachi 911	Advia 1650/1800
Hitachi 917	Olympus AU*
Roche Modular P	Ortho Vitros 5,1*
Roche Cobas c501	Abbott Architect

A General Application Note is also available

*The instrument specific settings for Olympus AU and Ortho Vitros 5,1 require pre-diluted calibrators which will be provided by BÜHLMANN AG with the Cystatin C kit Order code: KK-CYC-6.

SPECIMEN COLLECTION AND HANDLING

Required sample material is human serum or EDTA/Heparinized plasma. It is recommended to analyse fresh samples. Mix samples well before analysing. Sample stability testing shows that cystatin C in serum and plasma samples are stable for 14 days at room temperature (8-25°C) and for 21 days if stored at 2-8°C, otherwise store frozen at ≤-20°C [8].

ASSAY PROCEDURE

Application Notes/Assay Installation

An Application Note is available for the analyzer mentioned above and will be provided upon request. Instrument set-up, maintenance, operation and precautions must be handled in accordance with the instrument manuals.

Reagent Preparation

Reagents are supplied ready to use. Transfer the content of Reagent 1 (Reaction buffer) and Reagent 2 (Immunoparticles) into appropriate compartments of the User Defined Cartridge as described in the Application Note. Use care to avoid contamination. Reagents should be stored capped at 2-8°C when not in use.

Establishment of the Calibration Curve

Use BÜHLMANN Cystatin C Calibrator (B-CYC-CA or B-CYC-CASET) to establish a 6-point standard curve as defined in the instrument manuals. Calibrator values are lot dependent and a new calibration must be performed whenever a new calibration lot is used. The calibrator's assigned values are given on the analytical value sheet provided with the kit.

QC Controls

The controls (low and high) must be assayed each day before any samples are assayed in order to validate the calibration curve. The controls have an assigned value range that must be met before measuring samples. The assigned values are given in the lot specific data sheet included with the BÜHLMANN Cystatin C kit. If the control values are not valid, repeat the control measurements. If the calibration cannot be performed without error, or valid control values cannot be reproduced, contact the instrument manufacturer for support.

Measuring Patient Samples

When a valid calibration has been performed and the control values are within the valid range, serum or plasma samples may be measured. Check that minimum volume of sample is present and assay the samples according to the instructions given in the Instrument Manuals.

RESULTS

The results are presented in mg/L.

The GFR values can be calculated using the **GFR Calculator v2.0** on the website: www.gfrcalc.com

Measuring range

The measuring range of Cystatin C for the assay is approximately 0.4 – 8.0 mg/L. The exact range is dependent on the calibrator value, which is lot specific.

LIMITATIONS

The materials shall not be used past expiration date. Interference studies are a part of instrument validation. For a variety of analysers, no interference is detected for this product with triglycerides, haemoglobin, Intralipid or bilirubin at tested concentrations. There is no interference detected with the drugs tested on recommendation from Sonntag and Scholer [5]. There is no RF interference present because the antibodies are made from an avian source (chicken) [6].

REFERENCE INTERVALS

The CLSI Guideline, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* was followed to determine the transferability of the reference interval. For Architect® ci8200 the reference interval is 0.53-1.01mg/L. For any other instrument the reference interval should be in

accordance with the interval obtained on the Architect® ci8200. It is recommended that every laboratory determine a local reference interval since values may vary depending on the population tested.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

All results refer to the validation of BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay on Abbott Architect® ci8200.

Detection Limit

Limit of Quantification is defined as: *The lowest actual amount of an analyte that can be reliably detected and at which the total error meets the requirements for accuracy.*

Limit of Detection is defined as: *The smallest amount of an analyte that the method can reliably detect to determine presence or absence of the analyte.* BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay has a Limit of Detection of 0.031mg/L and a Limit of Quantification of 0.33 mg/L.

Precision

The BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay was used in a 5 day precision study designed in accordance with CLSI protocol EP5-A. 4 serum pools and 2 control levels were measured on the Architect® ci8200.

Sample	Mean value (mg/L)	Within- Run CV (%)	Total CV (%)
Low human serum pool	0,69	1,51	2,81
High human serum pool	5,71	1,12	4,18
Medium human serum pool	3,38	1,93	3,75
Medium human serum pool	1,35	0,97	2,67
Low Control	0,88	1,42	3,72
High Control	3,58	0,71	1,41

Linearity

BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay on Architect® ci8200 is linear in the range of 0.3 – 8.8 mg/L. Concentrations outside this range have not been tested.

Analytical Recovery

For the BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay on Architect® ci8200 a recovery of 100-107% can be expected.

Interference

No interference is detected with Triglycerides (12.5 mmol/mL) Haemoglobin (8.0 g/L), Intralipid (11.0 g/L) or Bilirubin (420 mg/L) on Architect® ci8200 .

There is no interference detected with the drugs tested on recommendation from Sonntag and Scholer [5]. The interference study was designed in accordance with the protocol EP7-A from CLSI [7]. There is no RF interference present in the BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay because the antibodies are made from avian (chicken) [6].

DEUTSCH

VERWENDUNGSZWECK

Der Cystatin C Immunoassay ist ein diagnostischer *in-vitro*-Test zur quantitativen Bestimmung von Cystatin C in Humanserum und -plasma. Der Test wird entsprechend der Anwendungsbeschreibungen auf klinisch-chemischen Analysegeräten durchgeführt. Die Cystatin-C Messung wird bei der Diagnose und Behandlung von Nierenerkrankungen verwendet.

ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Cystatin C ist ein nicht-glykosyliertes basisches Protein mit einem Molekulargewicht von 13,2 kD, das mit einer konstanten Rate von fast allen kernhaltigen Zellen des menschlichen Körpers produziert wird [1]. Die normale glomeruläre Basalmembran kann Cystatin C unbehindert filtern, woraufhin es in den proximalen Tubuli reabsorbiert und fast vollständig katabolisiert wird. Daher hängt die Cystatin-C-Konzentration im menschlichen Blut eng mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) zusammen [2]. Bei einer verminderten GFR kommt es zu einem Anstieg der Konzentration von Cystatin C. Untersuchungen haben ergeben, dass die Cystatin-C Konzentration von anderen Faktoren wie Muskelmasse, entzündlichen Erkrankungen, Geschlecht, Alter oder Ernährung weitgehend unabhängig ist [2, 3, 4].

TESTPRINZIP

Humanserum- bzw. -plasmaproben werden mit Cystatin C Immunpartikeln vermischt. Cystatin C in der Probe bindet sich an das Anti-Cystatin-C der Immunpartikel. Die so entstandenen komplexen Partikel absorbieren Licht. Die Absorption wird mittels Turbidimetrie gemessen und durch Interpolation an einer festgelegten Standard-Kalibrierungskurve mit der Cystatin-C Konzentration in Verbindung gebracht.

GELIEFERTE REAGENZIEN UND VORBEREITUNG

Reagenz	Inhalt	Art.-Nr.	Rekonstitution
Reaktionspuffer (R1) MOPS [3-(N-Morpholino)-Propansulfonsäure] gepufferte Kochsalzlösung, Natriumazid (0,09 Gewichts-%) als Konservierungsmittel	1 Flasche 55 ml	B-CYC-R1	Gebrauchsfertig
Immunpartikel (R2) gereinigte, gegen Cystatin C gerichtete Immunoglobulinfraktion, kovalent an uniforme Polystyrolpartikel gebunden Natriumazid (0,09 Gewichts-%) und Antibiotika als Konservierungsmittel	1 Flasche 10 ml	B-CYC-R2	Gebrauchsfertig
Kalibrator¹⁾ delipidierter Humanserumpool mit humanem Cystatin C vergesetzt. Klonservierungsmittel: Antibiotika	1 Flasche 1 ml	B-CYC-CA	Gebrauchsfertig
Kalibratoren vorverdünnt²⁾ Vorverdünnte Kalibratoren A-F	6 x 1 Flasche 1 ml	B-CYC- CASET	Gebrauchsfertig
Kontrollen tief/hoch¹⁾ delipidierter Humanserumpool mit humanem Cystatin C vergesetzt. Klonservierungsmittel: Antibiotika	2 Flaschen 1 ml	B-CYC- CONSET	Gebrauchsfertig

Table 3

¹⁾ Inhalt von KK-CYC.

Die Kalibratorwerte sind Lot-abhängig. Die Kalibrierung muss bei jedem neuen Kalibratorlot erneut durchgeführt werden. Die zugeordneten Werte der Kalibratoren gehen aus dem Analysewertblatt hervor, das dem Kit beiliegt.

²⁾ Inhalt von KK-CYC-6.

Das vorverdünnte Kalibratorenset (B-CYC-CASET) wird für die Anwendungen auf dem Olympus AU und auf dem Vitros 5,1 Analysegerät von Ortho Diagnostics Inc. Gebraucht. Für die Anwendung des Cystatin C Tests auf diesen Geräten muss der Kit KK-CYC-6 bestellt werden.

Die Reagenzien reichen für mindestens 220 Tests. Die genaue Anzahl Tests hängt von den Anwendungsbeschreibungen der einzelnen Analysegeräte ab (siehe Abschnitt: Erforderliche Laborgeräte).

LAGERUNG UND HALTBARKEIT DER REAGENZIEN

Ungeöffnete Reagenzien	
Bei 2-8°C lagern. Zu verwenden bis zum Verfallsdatum, angegeben auf der Verpackungsetikette.	
Geöffnete Reagenzien	
Reaktionspuffer	Für 9 Wochen bei 2-8°C stabil Stabilität im Messsystem: 4 Wochen bei 2-8°C
Immunpartikel	Bei Nichtgebrauch sind die Reagenzien verschlossen bei 2-8 °C zu lagern
Kalibrator(en)	Bei 2-8°C lagern. Zu verwenden bis zum Verfallsdatum.
Kontrollen	

Table 4

WARNHINWEISE UND VORSICHTSMAßNAHMEN

- Dieser Test dient nur zur *In-vitro*-Diagnostik und darf nur durch Fachpersonal ausgeführt werden.
- Die Reagenzien enthalten Antibiotika und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden.
- Die Reagenzien enthalten Natriumazid als Konservierungsmittel und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden. Nicht einnehmen oder auf die Haut oder auf Schleimhäute gelangen lassen. Die Natriumazidkonzentration in diesem Produkt gilt nicht als gefährlich. Jedoch können durch Ansammlungen von NaN₃ in Blei- und Kupferrohren explosive Metallazide entstehen. Um dies zu vermeiden, muss gründlich nachgespült werden, wenn das Produkt über den Ausguss entsorgt wird.
- Die Immunpartikel enthalten Substanzen tierischen Ursprungs. Die Entsorgung aller verworfenen Materialien muss entsprechend den örtlich geltenden Vorschriften geschehen.
- Das für die Herstellung der Kalibratoren und Kontrollen verwendete Serum wurde auf Hepatitis (HBsAG), Anti-HCV, Anti-HIV1 und Anti-HIV2 getestet und negativ befunden. Trotz allem enthalten die Materialien Substanzen menschlichen und tierischen Ursprungs und müssen mit entsprechender Vorsicht behandelt werden. Die Entsorgung aller verworfenen Materialien muss im Einklang mit den örtlich geltenden Vorschriften geschehen.

ERFORDERLICHE LABORGERÄTE UND HILFSMITTEL

- Geräteabhängige Reagenzienkartuschen für R1 und R2, wie auch entsprechende Röhrchen für den Kalibrator und die Kontrollen.
- Geräteabhängige Anwendungsbeschreibung (Geräteparameter) sind für die folgenden Geräte auf Anfrage erhältlich:

Hitachi 911	Advia 1650/1800
Hitachi 917	Olympus AU
Roche Modular P	Ortho Vitros 5,1
Roche Cobas c501	Abbott Architect

Eine allgemeine Anwendungsbeschreibung ist ebenfalls erhältlich.

- Die Geräteparameter für die Olympus AU und Ortho Vitros 5,1 Geräte, verlangen nach vorverdünnten Kalibratoren,

welche von BÜHLMANN mit dem Cystatin Kit mit geliefert werden:

Artikelnummer: KK-CYC-6.

PROBENENTNAHME UND HANDHABUNG DER PROBEN

Das erforderliche Probenmaterial ist Humanserum oder mit EDTA oder Heparin versetztes Humanplasma. Es wird empfohlen, für die Analyse frische Proben zu verwenden. Proben vor der Analyse gut mischen.

Bei Probenstabilitätstests hat sich ergeben, dass Cystatin C in Serum- und Plasmaproben bei Zimmertemperatur (8-25°C) 14 Tage lang und bei 2-8°C 21 Tage lang stabil ist. Die Proben können auch bei einer Temperatur unter -20°C gefroren gelagert werden [8].

ARBEITSANLEITUNG

Anwendungsbeschreibung /Testinstallation

Anwendungsbeschreibungen sind für die oben beschriebenen klin.-chem. Analysegeräte erhältlich und werden auf Anfrage geliefert. Aufstellung, Wartung und Betrieb des Instruments sowie Vorsichtsmaßnahmen müssen sich nach dem Instrumentenhandbuch richten.

Vorbereitung der Reagenzien

Das Reagenz wird gebrauchsfertig geliefert. Den Inhalt von Reagenz 1 (Reaktionspuffer) und Reagenz 2 (Immunpartikel) in die entsprechenden Fächer der benutzerdefinierten Kartusche überführen, wie in der Anwendung beschrieben. Dabei vorsichtig vorgehen, um eine Kontamination zu vermeiden. Bei Nichtgebrauch sind die Reagenzien verschlossen bei 2-8 °C zu lagern.

Erstellung der Kalibrierungskurve

Mit den BÜHLMANN Cystatin C Kalibrator (B-CYC-CA oder B-CYC-CASET) eine 6-Punkte-Standardkurve erstellen, wie im Instrumentenhandbuch beschrieben. Die Kalibratorwerte sind chargenabhängig. Die Kalibrierung muss bei jeder neuen Kalibrator Charge erneut durchgeführt werden. Die zugeordneten Werte der Kalibratoren gehen aus dem Analysewertblatt hervor, das dem Kit beiliegt.

QK-Kontrollen

Die niedrige und die hohe Kontrolle müssen zur Validierung der Kalibrierungskurve jeden Tag analysiert werden, bevor Proben analysiert werden. Den Kontrollen ist ein Wertebereich zugeordnet, der eingehalten werden muss, bevor Proben analysiert werden. Die zugeordneten Werte gehen aus dem Analysewertblatt hervor, das dem BÜHLMANN Cystatin C Kit beiliegt. Falls die Kontrollwerte nicht im gültigen Bereich liegen, die Kontrollmessungen wiederholen. Falls eine fehlerfreie Kalibrierung nicht durchführbar ist bzw. keine gültigen Kontrollwerte erzielt werden können, ist der Gerätehersteller zu verständigen.

Messung von Patientenproben

Wenn eine gültige Kalibrierung durchgeführt wurde und die Kontrollwerte im gültigen Bereich liegen, dürfen Serum- oder Plasmaproben analysiert werden. Darauf achten, dass das erforderliche Mindestprobenvolumen vorhanden ist und die Proben nach den Anweisungen im Instrumentenhandbuch analysieren.

RESULTATE

Die Ergebnisse werden in mg/l angegeben.

Der GFR-Wert lässt sich anhand des GFR Calculator v2.0 auf der Website www.gfrcalc.com berechnen.

Messbereich

Der Messbereich des Assays für Cystatin C liegt ungefähr zwischen 0,4 – 8,0 mg/l. Der genaue Messbereich hängt von den Kalibrator Punkten der betreffenden Charge des BÜHLMANN Cystatin C Kalibrator-Kits ab.

EINSCHRÄNKUNGEN

Die Reagenzien dürfen nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwendet werden. Interferenz Studien sind Teil der Instrumentenvalidierung. Für eine Reihe von Analysengeräten, konnte keine Interferenz mit Triglyceriden, Hämoglobin, Intralipid oder Bilirubin festgestellt werden. Es konnte keine Interferenz festgestellt werden bei den Medikamenten welche von Sonntag und Scholer [5] vorgeschlagen werden. Da die Antikörper von Vögeln (Hühnern) stammen, liegt beim BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay keine RF-Interferenz vor [6].

REFERENZINTERVALLE

BÜHLMANN richtet sich bei der Bestimmung der Übertragbarkeit des Referenzintervalls nach der CLSI-Richtlinie C28-A2, *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* (Definition und Bestimmung von Referenzintervallen im klinischen Labor; Genehmigte Richtlinie, zweite Auflage). Die Referenzwerte wurden im Architect® ci8200 ermittelt und betragen 0.53-1.01mg/L. Die Referenzwerte für weitere Analysegeräte müssen mit den Werten aus dem Architect® ci8200 übereinstimmen. Jedem Labor wird empfohlen, ein lokales Referenzintervall zu bestimmen, da sich die Werte je nach der getesteten Population ändern können.

LEISTUNGSMERKMALE

Alle Tests mit dem BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay wurden auf dem Abbot Architect® ci8200 durchgeführt.

Nachweisgrenze

Die Bestimmungsgrenze ist definiert als: *Die niedrigste tatsächliche Menge eines Analyten, die zuverlässig nachgewiesen werden kann und bei der der Gesamtfehler die Genauigkeitsanforderungen erfüllt.*

Die Nachweisgrenze ist definiert als: *Die niedrigste Menge eines Analyten, die die Methode zur Bestimmung des Vorhandenseins bzw. Nichtvorhandenseins des Analyten zuverlässig nachweisen kann.*

Der BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay zeigt eine Nachweisgrenze von 0.031mg/L und eine Bestimmungsgrenze von 0.33 mg/L.

Präzision

Der BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay wurde in einer 5-Tages Präzisionsstudie getestet, welche auf dem Protokoll EP5-A von CLSI beruht. Vier humane Serenpools sowie zwei Kontrollen wurden auf dem Architect® ci8200 gemessen.

Probe	Mittelwert (mg/L)	Within- Run CV (%)	Total CV (%)
Serum Pool tief	0,69	1,51	2,81
Serum Pool hoch	5,71	1,12	4,18

Serum Pool Medium	3,38	1,93	3,75
Serum Pool medium	1,35	0,97	2,67
Kontrolle tief	0,88	1,42	3,72
Kontrolle mean	3,58	0,71	1,41

Linearität

Der BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay ist auf dem Architect® ci8200 über einen Bereich von 0.3–8.8 mg/L linear. Konzentrationen ausserhalb dieses Bereichs wurden nicht getestet.

Analytische Wiederfindung

Mit dem BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay auf dem Architect® ci8200 kann eine Wiederfindung von 100-107% erwartet werden.

Interferenzen

Es konnten keine Interferenzen mit Triglyceriden (12.5 mmol/mL) Haemoglobin (8.0 g/L), Intralipid (11.0 g/L) oder Bilirubin (420 mg/L) auf dem Architect® ci8200 festgestellt werden.

Es konnten keine Interferenzen mit Medikamenten welche von Sonntag und Scholer [5] vorgeschlagen werden beobachtet werden. Die Interferenzstudie wurde entsprechend den Vorgaben des Protokolls EP7-A von CLSI [7] durchgeführt. Interferenzen von Rheumafaktoren mit dem BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay kommen keine vor, da der Antikörper aus Vögeln (Huhn) stammt [6].

FRANCAIS

UTILISATION

Le Cystatin C Immunoassay (dosage immunologique de la cystatine C) un test de diagnostic *in vitro* pour la détermination quantitative de la cystatine C dans le sérum et le plasma humains. L'analyse peut être effectuée sur n'importe quel analyseur clinique selon les recommandations spécifiques d'utilisation. Les mesures de la cystatine C sont utilisées dans le diagnostic et le traitement des maladies rénales.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La cystatine C (poids moléculaire de 13,2 kDa), protéine basique non glycosylée, est produite à un taux constant dans presque toutes les cellules nucléées du corps humain [1]. Elle est librement filtrée par une membrane glomérulaire normale puis réabsorbée et presque entièrement catabolisée dans les tubules proximaux. La concentration de la 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. Il n'a pas été démontré que la concentration en cystatine C est influencée d'une manière significative par d'autres facteurs comme la masse musculaire, les maladies inflammatoires, le sexe, l'âge ou le régime alimentaire [2, 3, 4].

PRINCIPE DU TEST

Un échantillon sérique ou plasmatique d'origine humaine est mélangé à 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 et 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.

REACTIFS FOURNIS ET PREPARATION

Réactifs	Quantité	Code	Réconstitution
Tampon de réaction (R1) tampon saline MOPS [acide 3-(N-morpholino)-propanesulfonique], conservée avec des azides de sodium (0,09% (p/v)).	1 flacon 55 ml	B-CYC-R1	prêt à l'emploi
Immunoparticules (R2) fraction d'immunoglobuline purifiée dirigée contre la cystatine C fixée par liaison covalente à des particules uniformes de polystyrène. conservée avec de l'azide de sodium à (0,09 % (p/v)) et des antibiotiques.	1 flacon 10 ml	B-CYC-R2	prêt à l'emploi
Calibrateur ¹⁾ pool de sérum humain délipidé surchargé en cystatine C humaine. Conservateur : antibiotiques	1 flacon 1 ml	B-CYC-CA	prêt à l'emploi
Calibrateurs pré dilués ²⁾ A-F	6x1 flacons 1 ml	B-CYC-CASET	prêt à l'emploi
Contrôles niveau bas/haut ¹⁾ pool de sérum humain délipidé surchargé en cystatine C humaine. Conservateur : antibiotiques	2 flacons 1 ml	B-CYC-CONSET	prêt à l'emploi

Table 5

¹⁾ Contenu du KK-CYC

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 incluse avec le calibrateur.

2) Contenu du KK-CYC-6

Le calibrateur prés dilués (B-CYC-CASET) sera nécessaire pour la mise en application sur l'Olympus AU et l'analyseur Vitros 5,1 de l'Ortho-Clinical Diagnostics Inc. Lors de l'analyse de la Cystatine C sur ces analyseurs, veuillez commander le kit KK-CYC-6.

Les réactifs sont suffisants pour au moins 220 tests, en fonction des réglages spécifiques de l'instrument d'analyse (voir section Matériel nécessaire).

STOCKAGE ET STABILITE DES REACTIFS

Réactifs non-ouverts	
Stocker à 2-8°C. voir la date de péremption sur l'étiquette.	
Réactifs ouverts	
Tampon de Réaction	Stables pour 9 semaines à 2-8°C Stabilité à bord: 4 semaines à 2-8°C
Immunoparticules	Les réactifs doivent être conservés bien fermés entre 2-8°C lorsqu'ils ne sont pas utilisés
Calibrateur(s)	Stable à 2-8°C jusqu'à la date de péremption.
Contrôles	

Table 6

AVERTISSEMENTS ET MISES EN GARDE

- Ce test est destiné uniquement à une utilisation *in vitro* et doit être manipulé par un personnel qualifié.
- Les réactifs contiennent des antibiotiques et doivent être manipulés avec précaution.
- Les réactifs contiennent un conservateur azide de sodium et doivent être manipulés avec précaution : ne pas ingérer ni laisser entrer en contact avec la peau ou les muqueuses. La concentration en azide de sodium de ce produit n'est pas qualifiée de dangereuse. Toutefois, une accumulation de NaN_3 dans les canalisations de plomb ou de cuivre peut produire la formation d'azides métalliques explosifs. Pour éviter une telle accumulation, rincer à grande eau si le produit est jeté à l'évier.
- Les immunoparticules contiennent des substances d'origine animale. Éliminer tout produit jeté conformément aux exigences locales en vigueur.
- Le sérum utilisé dans la fabrication des calibrateurs et des contrôles a été testé et trouvé négatif pour l'antigène de surface de l'hépatite B (AgHBs) et les anticorps anti-VHC, anti-VIH1 et anti-VIH2. Les produits contiennent néanmoins des substances d'origine humaine et animale et doivent être manipulés avec précaution. Éliminer tout produit jeté conformément aux exigences locales en vigueur.

MATERIEL NECESSAIRE MAIS NON FOURNI

- La cartouche de réactif spécifique à l'analyseur pour R1 et R2 ainsi que les tubes pour le calibrateur et les doses témoins.
- Les recommandations d'utilisation spécifiques à l'instrument (listes de paramètres) sont disponibles pour les analyseurs suivants sur demande :

Hitachi 911	Advia 1650/1800
Hitachi 917	Olympus AU*
Roche Modular P	Ortho Vitros 5,1*
Roche Cobas c501	Abbott Architect

Une Note générale d'application est également disponible.

*Les recommandations d'utilisation spécifiques à l'instrument pour l'Olympus AU et l'Ortho Vitros 5,1 nécessitent des calibrateurs de prédilution qui seront fournis par BÜHLMANN AG avec le kit Cystatine C.
Code référence : KK-CYC-6

PRELEVEMENT ET MANIPULATION DES ECHANTILLONS

Le matériel requis pour les échantillons est du sérum humain ou du plasma EDTA/hépariné. Il est recommandé d'analyser des échantillons frais. Bien mélanger les échantillons avant l'analyse. Les tests sur la stabilité des échantillons ont montré que les échantillons sériques et plasmatiques contenant de la cystatine C sont stables pendant 14 jours à température ambiante (à 8-25°C) et pendant 21 jours s'ils sont conservés à 2-8°C; sinon, les conserver congelés en dessous de -20°C [8].

PROCEDURE DE TEST

Recommandation d'utilisation/configuration du test

Une recommandation d'utilisation est disponible pour l'analyseur mentionné plus haut et sera fournie sur demande. En ce qui concerne l'installation de l'instrument, son entretien, son fonctionnement et les précautions d'emploi, suivre les consignes contenues dans les manuels des automates.

Préparation des réactifs

Les réactifs sont fournis prêts à l'emploi. Transférer le contenu du Réactif 1 et du Réactif 2 dans les compartiments appropriés de la cartouche définie par l'utilisateur comme indiqué dans la recommandation d'utilisation. Prendre des précautions pour éviter la contamination. Les réactifs doivent être conservés bien fermés à 2-8 °C lorsqu'ils ne sont pas utilisés.

Établissement de la courbe de calibrage

Utiliser les calibrateur Cystatin C de BÜHLMANN (B-CYC-CA ou B-CYC-CASET) pour établir une courbe standard à 6 points comme définie dans les manuels des automates. 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 incluse avec le kit.

Contrôles qualités

Les contrôles bas et haut doivent être testés chaque jour avant de tester les échantillons afin de valider la courbe de calibrage. Les contrôles ont une plage de valeurs assignées qui doit être satisfaite avant de mesurer les échantillons. Les valeurs assignées sont fournies dans la fiche de valeurs analytiques incluse avec le kit cystatine C de BÜHLMANN. Si les valeurs des contrôles ne sont pas valides, répéter les mesures des contrôles. S'il n'est pas possible de réaliser le calibrage sans erreur, ou de reproduire des valeurs de contrôles valides, contacter le fabricant de l'instrument pour assistance.

Mesure des échantillons patients

Une fois qu'un calibrage valide a été réalisé et que les valeurs des contrôles se trouvent dans la plage valide, les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être mesurés. Vérifier que le volume minimum d'échantillon est présent et analyser les échantillons en suivant les instructions fournies dans les manuels des automates.

RESULTATS

Les résultats sont présentés en mg/l.

La valeur DFG peut être calculée à l'aide de la formule fournie par le GFR Calculator v2.0 sur le site Web

www.gfrcalc.com

Plage de mesure

La plage de mesure de la cystatine C pour ce test est d'environ 0,4 à 8,0 mg/l. La plage exacte dépend des

valeurs de consigne des calibrateurs indiquées par le numéro de lot du kit de cystatine C de BÜHLMANN.

LIMITES

Les produits ne doivent pas être utilisés au-delà de la date de péremption. Aucune interférence n'est détectée pour ce produit avec les triglycérides, l'hémoglobine, l'Intralipide ou la bilirubine aux concentrations testées. Aucune interférence n'est détectée avec les médicaments testés suivant les recommandations de Sonntag et Scholer [5]. Aucune interférence du facteur rhumatoïde n'est observée car les anticorps sont d'origine aviaire (poulet) [6].

INTERVALLES DE RÉFÉRENCE

Suit la directive C28-A2 du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute ou Institut des normes cliniques et de laboratoire): *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* (Définition et détermination des intervalles de référence au laboratoire clinique ; Directive approuvée - Deuxième édition) pour déterminer la transférabilité de l'intervalle de référence. Pour l'Architect® ci8200, l'intervalle de référence est de 0.53-1.01mg/L. Pour tout autre instrument, l'intervalle de référence devrait être conforme à celui obtenu sur l'Architect® ci8200. Il est recommandé que chaque laboratoire détermine un intervalle de référence local car les valeurs peuvent varier en fonction de la population testée.

CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE

Tous les résultats sont relatifs à la validation de l'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C sur l'Architect® ci8200 de Abbott.

Seuil de détection

Le seuil de quantification est défini comme étant : *la quantité effective la plus faible d'un analyte qui puisse être détectée de façon fiable et dont l'erreur totale répond aux exigences de précision.*

Le seuil de détection est défini comme étant : *la quantité la plus faible d'un analyte que la méthode puisse détecter de manière fiable afin de déterminer la présence ou l'absence de l'analyte.* L'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C a un seuil de détection de 0.031mg/L et un seuil de quantification de 0.33 mg/L.

Précision

L'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C a été utilisé dans une étude de précision sur cinq jours conçue conformément au protocole CLSI EP5-A. 4 pools sériques et 2 doses témoins ont été mesurés sur l'Architect® ci8200.

Échantillon	Valeur moyenne (mg/L)	Intra-essai CV (%)	CV Totale (%)
Pool sérique humain faible	0,69	1,51	2,81
Pool sérique humain élevé	5,71	1,12	4,18
Pool sérique humain moyen	3,38	1,93	3,75
Pool sérique humain moyen	1,35	0,97	2,67
Témoin faible	0,88	1,42	3,72
Témoin élevé	3,58	0,71	1,41

Linéarité

L'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C sur l'Architect® ci8200 est linéaire dans l'intervalle 0.3 – 8.8 mg/L. Les concentrations hors de cet intervalle n'ont pas été testées.

Taux de récupération analytique

Pour l'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C sur l'Architect® ci8200, on peut s'attendre à un taux de récupération de 100 - 107 %.

Interférence

Aucune interférence n'est détectée avec les triglycérides (12.5 mmol/mL), l'hémoglobine (8.0 g/L), l'intralipide (11.0 g/L) ou la bilirubine (420 mg/L) sur l'Architect® ci8200.

On ne détecte aucune interférence avec les médicaments testés sur recommandation de Sonntag et Scholer [5]. L'étude d'interférence a été conçue conformément au protocole EP7-A du CLSI [7]. Aucune interférence RF n'est présente dans l'immunoessai BÜHLMANN Cystatine C parce que les anticorps sont fabriqués à partir de volailles (poulets) [6].

USO PREVISTO

Il immunodosaggio per cistatina C è un test diagnostico *in vitro* per la determinazione quantitativa della cistatina C nel siero e nel plasma umano. Il dosaggio può essere effettuato con qualsiasi analizzatore clinico in conformità alle note applicative specifiche. La determinazione della cistatina C viene usata nella diagnosi e nel trattamento delle nefropatie.

SOMMARIO E SPIEGAZIONE DEL TEST

La cistatina C, una proteina basica non glicosilata (peso molecolare di 13,2 kD), viene prodotta a velocità costante in quasi tutte le cellule nucleate nell'organismo umano [1]. La cistatina C viene filtrata liberamente attraverso una normale membrana glomerulare e viene quindi riassorbita e quasi interamente catabolizzata nei tubuli prossimali. Di conseguenza, la concentrazione di cistatina C nel sangue umano è strettamente correlata alla velocità di filtrazione glomerulare (GFR) [2]. La riduzione della velocità di filtrazione glomerulare causa un aumento della concentrazione di cistatina C. Non risulta che sulla concentrazione di cistatina C influiscano significativamente altri fattori, come la massa muscolare, le malattie infiammatorie, il sesso, l'età o il regime alimentare [2, 3, 4].

PRINCIPIO DEL DOSAGGIO

Il campione di siero o di plasma umano viene mescolato con immunoparticelle di cistatina C. La cistatina C del campione si aggrega all'anti-cistatina C delle immunoparticelle. Le particelle complesse che vengono create assorbono la luce e l'assorbimento viene correlato mediante turbidimetria alla concentrazione di cistatina C mediante interpolazione su una curva di calibrazione standard prestabilita.

REAGENTI FORNITI E PREPARAZIONE

Reagenti	Quantità	Codice	Ricostituzione
Tampone di reazione (R1) soluzione salina tamponata di MOPS [acido 3-(N-morfolino)-propanosulfonico], con sodio azide come conservante (0,09 % (peso/volume)).	1 flacone 55 ml	B-CYC-R1	pronto per l'uso
Immunoparticelle (R2) frazione di immunoglobulina purificata diretta contro la cistatina C, legata covalentemente a particelle di polistirene di dimensione uniforme, conservata con sodio azide allo 0,09 % (peso/volume) e antibiotici.	1 flacone 10 ml	B-CYC-R2	pronto per l'uso
Calibratore ¹⁾ pool di siero umano delipidato, arricchito con cistatina C umana. Antibiotici sono usati come conservanti.	1 flacone 1 ml	B-CYC-CA	pronto per l'uso
Calibratori prediluiti ²⁾ A-F	6 x 1 flaconi 1 ml	B-CYC-CASET	pronto per l'uso
Controllo basso/alto ¹⁾ pool di siero umano delipidato, arricchito con cistatina C umana. Antibiotici sono usati come conservanti.	2 flaconi 1 ml	B-CYC-CONSET	pronto per l'uso

Table 7

1) Contenuto del kit KK-CYC

I valori dei calibratori dipendono dal lotto e occorre eseguire una nuova calibrazione ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di calibratore. I valori assegnati ai calibratori sono forniti nel foglio dei valori analitici incluso con il kit.

2) Contenuto del kit KK-CYC-6

Per l'uso con gli analizzatori Olympus AU e Vitros 5,1 di Ortho-Clinical Diagnostics Inc. è necessario il set di calibratori prediluiti (B-CYC-CASET). Si prega di ordinare il kit KK-CYC-6 per effettuare il dosaggio della cistatina C su questi analizzatori.

I reagenti sono sufficienti per effettuare un minimo di 220 test, a seconda delle impostazioni specifiche dell'analizzatore (vedere il paragrafo Materiali necessari).

CONSERVAZIONE E VALIDITÀ DEI REAGENTI

Reagenti chiusi	
Conservare a 2-8 °C. Vedere la data di scadenza indicata sull'etichetta.	
Reagenti aperti	
Tampone di Reazione	Stabile a 2-8°C per 9 settimane Stabilità a bordo: 4 settimane a 2-8°C
Immunoparticelle	
Calibratore/i	Stabile a 2-8°C fino alla data di scadenza
Controlli	

Table 8

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 sodio azide 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 sodio azide contenuta in questo prodotto non è classificata come pericolosa. Tuttavia, l'accumulo di NaN_3 nelle tubazioni di piombo e rame può generare azidi metalliche esplosive. Per evitare ciò, lavare con abbondanti quantità di acqua se il prodotto viene gettato nello scarico.
- Le immunoparticelle contengono sostanze di origine animale. Smaltire i materiali di scarto nel rispetto delle norme in vigore a livello locale.
- Il siero usato per la preparazione dei calibratori e dei controlli è stato analizzato e riscontrato negativo per l'antigene di superficie dell'epatite B (HBsAG) e gli anticorpi anti-HCV, anti-HIV1 e anti-HIV2. I materiali contengono tuttavia sostanze di origine umana e animale e devono essere maneggiati con la dovuta attenzione. Smaltire i materiali di scarto nel rispetto delle norme in vigore a livello locale.

MATERIALI NECESSARI, MA NON FORNITI

- Cartuccia di reagente specifica dell'analizzatore per R1 e R2, provette per il calibratore e i controlli.
- Le note applicative specifiche (elenco dei parametri) sono disponibili su richiesta per i seguenti analizzatori:

Hitachi 911	Advia 1650/1800
Hitachi 917	Olympus AU*
Roche Modular P	Ortho Vitros 5,1*
Roche Cobas c501	Abbott Architect

 È disponibile anche una nota applicativa generica

*Le note applicative specifiche per Olympus AU e Ortho Vitros 5,1 prevedono l'uso dei calibratori prediluiti che verranno forniti da BÜHLMANN AG con il kit Cystatin C
Numero di ordinazione: KK-CYC-6.

LIMITAZIONI

I materiali non devono essere utilizzati dopo la data di scadenza. Alle concentrazioni testate, non sono state individuate interferenze di questo prodotto con trigliceridi, emoglobina, intralipidi o bilirubina. Non è stata individuata alcuna interferenza con i farmaci testati dietro suggerimento di Sonntag e Scholer [5]. Non è presente alcuna interferenza del fattore reumatoide, in quanto gli anticorpi sono di origine aviaria (pollo) [6].

INTERVALLI DI RIFERIMENTO

Per determinare la trasferibilità dell'intervallo di riferimento, la BÜHLMANN segue la CLSI Guideline, C28-A2; *How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition* (direttiva del CLSI, C28-A2; Come definire e determinare gli intervalli di riferimento nel laboratorio clinico; direttiva approvata, seconda edizione). Per l'analizzatore Architect® ci8200 l'intervallo di riferimento è 0,53-1,01 mg/l. Per qualsiasi altro strumento, l'intervallo di riferimento deve essere conforme all'intervallo ottenuto con l'analizzatore Architect® ci8200. Si consiglia a ciascun laboratorio di stabilire un intervallo di riferimento locale, dato che i valori possono variare a seconda della popolazione testata.

CARATTERISTICHE DI PRESTAZIONE

Tutti i risultati si riferiscono alla validazione del dosaggio BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay sull'analizzatore Abbott Architect® ci8200.

Il limite di quantificazione viene definito come: *la quantità minima effettiva di un analita che sia attendibilmente rilevabile e che presenti un totale di errore compatibile con i requisiti di accuratezza.*

Il limite di rilevamento viene definito come: *la quantità minima di un analita che sia attendibilmente rilevabile dal metodo per determinare la presenza o l'assenza dell'analita stesso.*

Limite di rilevabilità

Il limite di quantificazione è definito come *la quantità minima effettiva di un analita che sia attendibilmente rilevabile e che presenti un totale di errore compatibile con i requisiti di accuratezza.*

Il limite di rilevabilità è definito come *la quantità minima di un analita che sia attendibilmente rilevabile dal metodo per determinare la presenza o l'assenza dell'analita stesso.* Il dosaggio BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay ha un limite di rilevabilità di 0,031mg/l e un limite di quantificazione di 0,33 mg/l.

Precisione

Il BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay è stato utilizzato in uno studio di precisione di 5 giorni, progettato in osservanza del protocollo CLSI EP5-A. Sono stati misurati 4 pool di siero e 2 livelli di controlli sull'analizzatore Architect® ci8200.

Campione	Valore medio (mg/l)	CV intra-analisi (%)	CV totale (%)
Pool di siero umano di livello basso	0,69	1,51	2,81
Pool di siero umano di livello alto	5,71	1,12	4,18
Pool di siero umano di livello medio	3,38	1,93	3,75
Pool di siero umano di livello medio	1,35	0,97	2,67
Controllo basso	0,88	1,42	3,72
Controllo alto	3,58	0,71	1,41

ACQUISIZIONE E PREPARAZIONE DEI CAMPIONI

Il materiale richiesto per i campioni è siero o plasma umano trattato con EDTA/eparinato. Si raccomanda di analizzare campioni freschi. Prima dell'analisi, miscelare con cura i campioni.

I test di stabilità dei campioni hanno dimostrato che la cistatina C in campioni di siero o plasma è stabile per 14 giorni a temperatura ambiente (8-25°C) e per 21 giorni se i campioni vengono conservati a 2-8°C; altrimenti, è possibile conservare i campioni congelati a temperature inferiori a -20°C [8].

PROCEDURA DI DOSAGGIO

Nota applicativa/installazione del sistema di dosaggio

Per l'analizzatore menzionato è disponibile una nota applicativa, che verrà fornita su richiesta.

La predisposizione e la manutenzione dello strumento, le funzioni operative e le precauzioni devono essere eseguite in osservanza dei manuali d'uso dei sistemi.

Preparazione dei reagenti

I reagenti vengono forniti pronti per l'uso. Trasferire il contenuto dei flaconi di Reagente 1 e Reagente 2 negli scomparti appropriati della cartuccia definita dall'utente, come indicato nella nota applicativa. Fare attenzione ad evitare la contaminazione. Quando non sono in uso, i reagenti devono essere conservati a 2-8 °C.

Determinazione della curva di calibrazione

Usare gli standard cistatina C da BÜHLMANN (B-CYC-CA o B-CYC-CASET) per determinare una curva standard a 6 punti, come indicato nei manuali d'uso dei sistemi. I valori dei calibratori dipendono dal lotto e occorre eseguire una nuova calibrazione ogni volta che si utilizza un nuovo lotto di calibratore. I valori assegnati ai calibratori sono forniti nel foglio dei valori analitici incluso con il kit.

Controlli di qualità

Per convalidare la curva di calibrazione, i controlli di livello alto e basso devono essere analizzati ogni giorno prima dell'analisi di qualsiasi campione. Prima di analizzare i campioni, è necessario assicurarsi che venga rispettato il range di valori assegnato ai controlli. I valori assegnati devono essere nell'ambito di un range lotte specifico e sono inclusi nel foglio fornito nella scatola. 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 alla costruttore dello strumento per assistenza.

Determinazione dei campioni di pazienti

Una volta eseguita la calibrazione e quando i valori dei controlli rientrano nel range valido, è possibile misurare i campioni di siero o di plasma. Verificare che il volume del campione corrisponda al minimo richiesto e analizzare i campioni secondo le istruzioni fornite nei manuali d'uso dei sistemi.

RISULTATI

I risultati sono espressi in mg/l.

Per calcolare il valore della velocità di filtrazione glomerulare (GFR) è possibile usare la formula reperibile del GFR Calculator v2.0 sul sito web www.gfrcalc.com

Range di misurazione

Il range di misurazione per il dosaggio della cistatina C è di circa 0,4-8,0 mg/l. Il range esatto dipende dai setpoint di calibrazione del numero di lotto del kit cistatina C di BÜHLMANN.

Linearità

Il dosaggio BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay è lineare nell'intervallo 0,3-8,8 mg/l sull'analizzatore Architect® ci8200. Non sono state analizzate concentrazioni fuori da questo intervallo.

Recupero analitico

Per il dosaggio BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay si prevede un recupero del 100-107% sull'analizzatore Architect® ci8200.

Interferenza

Non è stata rilevata alcuna interferenza con trigliceridi (12,5 mmol/ml), emoglobina (8,0 g/l), intralipidi (11,0 g/l) o bilirubina (420 mg/l) sull'analizzatore Architect® ci8200.

Non è stata rilevata alcuna interferenza con i medicinali analizzati dietro suggerimento di Sonntag e Scholer [5]. Lo studio di interferenza è stato progettato in osservanza del protocollo CLSI EP7-A [7]. Il dosaggio BÜHLMANN Cystatin C Immunoassay non presenta interferenza con il fattore reumatoide, in quanto gli anticorpi sono di origine aviaria (pollo) [6].

INDICACIONES

El inmunoanálisis de cistatina C es una prueba diagnóstica *in vitro* para la determinación cuantitativa de cistatina C en suero y plasma humanos. El análisis puede aplicarse en cualquier analizador clínico, con arreglo a las notas de aplicación específicas. La medición de la cistatina C se emplea en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades renales.

RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

La cistatina C es una proteína básica no glucosilada (peso molecular: 13,2 kD) que se produce a una tasa constante en casi todas las células nucleadas del organismo humano [1]. Se filtra libremente a través de una membrana glomerular normal y, a continuación, se reabsorbe y cataboliza casi por completo en los túbulos proximales. Por lo tanto, la concentración de cistatina C en la sangre humana está estrechamente relacionada con la tasa de filtración glomerular (TFG) [2]. Una reducción de la TFG provoca un aumento de la concentración de cistatina C. No se ha demostrado que la concentración de cistatina C se vea influida considerablemente por otros factores, tales como la masa muscular, las enfermedades inflamatorias, el sexo, la edad o la dieta [2, 3, 4].

PRINCIPIO DEL ANÁLISIS

Se mezcla una muestra de suero o plasma humanos con inmunopartículas de cistatina C. La cistatina C de la muestra y los anticuerpos anticistatina C de las inmunopartículas forman un agregado. Las partículas complejas creadas absorben la luz y, mediante turbidimetría, la absorción se relaciona con la concentración de cistatina C a través de la interpolación sobre una curva de calibración estándar establecida.

REACTIVOS SUMINISTRADOS Y PREPARACIÓN

Reactivos	Cantidad	Código	Reconstitución
Tampón de reacción (R1) solución salina tamponada MOPS (ácido 3-[N-morfolino] propanosulfónico), conservada con azidas sódicas (al 0,09 % [p/v]).	1 frasco 55 ml	B-CYC-R1	listo para su uso
inmunopartículas (R2) fracción de inmunoglobulina purificada dirigida contra la cistatina C, unida por enlaces covalentes a partículas de poliestireno uniforme. conservada con azida sólida al 0,09% (p/v) y antibióticos.	1 frasco 10 ml	B-CYC-R2	listo para su uso
Calibrador ¹⁾ combinado de suero humano deslipidado y enriquecido con cistatina C humana. Se utilizan antibióticos como conservantes	1 frasco 1 ml	B-CYC-CA	listo para su uso
Calibradores prediluidos ²⁾ A-F	6 x 1 frascos 1 ml	B-CYC- CASET	listo para su uso
Controles bajo/alto ¹⁾ combinado de suero humano deslipidado y enriquecido con cistatina C humana. Se utilizan antibióticos como conservantes	2 frascos 1 ml	B-CYC- CONSET	listo para su uso

Table 9

¹⁾ Contenido de KK-CYC
Los valores de los calibradores dependen del lote, y cada vez que se cambie de lote de calibración deberá realizarse una nueva calibración. Los valores asignados del calibrador se proporcionan en la hoja de valores analíticos suministrada con el calibrador.

²⁾ Contenido de KK-CYC-6

El juego de calibrador prediluido (B-CYC-CASET) será necesario para la aplicación en el Olympus AU y el analizador Vitros 5,1 de Ortho-Clinical Diagnostics Inc. Para la aplicación del análisis Cystatin C en este analizador, haga un pedido del sistema KK-CYC-6.

Los reactivos tienen una duración mínima de 220 pruebas, dependiendo de los ajustes específicos del instrumento analizador (véase el apartado Materiales necesarios).

CONSERVACIÓN Y PERÍODO DE VALIDEZ DE LOS REACTIVOS

Reactivos sin abrir	
Consérvese a una temperatura entre 2-8°C. consulte la fecha de caducidad, indicada en la etiqueta.	
Reactivos abiertos	
Tampón de reacción	Estable durante 9 semanas a 2-8°C
inmunopartículas	Estabilidad en el interior del analizador: 4 semanas a la temperatura correcta (2-8°C).
Calibrador(es)	Estable a 2-8°C hasta la fecha de caducidad.
Controles	

Table 10

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

- Esta prueba es para uso *in vitro* solamente, y debe utilizarla personal cualificado.
- Los reactivos contienen antibióticos y deben manipularse con el debido cuidado.
- Los reactivos contienen azida sódica como conservante y deben manipularse con el debido cuidado: no los ingiera ni permita que entren en contacto con la piel o con las mucosas. La concentración de azida sódica de este producto no se considera peligrosa. No obstante, la acumulación de NaN_3 en tuberías de plomo y cobre puede provocar la generación de azidas metálicas explosivas. Para evitar esto, lleve a cabo un enjuague minucioso si desecha el producto en un desagüe.
- Las inmunopartículas contienen sustancias de origen animal. La eliminación de todos los materiales desechados debe llevarse a cabo de acuerdo con los requisitos locales.
- El suero empleado en la fabricación de los calibradores y los controles fue sometido a pruebas de antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAG) y de anticuerpos anti-VHC, anti-VIH1 y anti-VIH2, y se comprobó que daba negativo en todas ellas. No obstante, los materiales contienen sustancias de origen humano y animal, por lo que deben manipularse con el debido cuidado. La eliminación de todos los materiales desechados debe llevarse a cabo de acuerdo con los requisitos locales.

MATERIALES NECESARIOS PERO NO SUMINISTRADOS

- Cartucho de reactivo específico del analizador para R1 y R2, así como tubos para el calibrador y los controles.
- Se dispone de notas de aplicación específicas del equipo (listas de parámetros) para los siguientes analizadores, previo pedido:

Hitachi 911	Advia 1650/1800
Hitachi 917	Olympus AU*
Roche Modular P	Ortho Vitros 5,1*
Roche Cobas c501	Abbott Architect

 Se dispone también de una Nota de aplicación general.

*Las notas de aplicación específicas del equipo para el Olympus AU y el Ortho Vitros 5,1 requieren calibradores prediluidos, que serán suministrados por BÜHLMANN AG

con el sistema Cystatin C.
Código de pedido: KK-CYC-6.

RECOGIDA Y MANIPULACIÓN DE MUESTRAS

El material de muestra requerido es suero humano o plasma heparinizado o conservado con ácido edético (EDTA). Se recomienda analizar muestras frescas. Las muestras deben mezclarse bien antes del análisis. Las pruebas de estabilidad de las muestras mostraron que la cistatina C de muestras de suero y plasma permanece estable durante 14 días a temperatura ambiente (8-25°C) y durante 21 días si se almacenan a 2-8°C; las muestras también pueden almacenarse congeladas a temperaturas inferiores a -20°C [8].

PROCEDIMIENTO DEL ANÁLISIS

Notas de aplicación e instalación del análisis

Se dispone de una nota de aplicación para el analizador mencionado más arriba y se enviará previo pedido. La configuración, el mantenimiento y el manejo del instrumento, así como las precauciones relacionadas con él, deben tratarse de acuerdo con los manuales de los instrumentos.

Preparación de los reactivos

Los reactivos se suministran listos para su uso. Transfiera el contenido de los frascos de reactivo 1 y reactivo 2 a los compartimentos adecuados del cartucho definido por el usuario, tal como se muestra en las Notas de aplicación. Tenga cuidado para evitar la contaminación. Cuando no se estén utilizando, los reactivos deben almacenarse con sus frascos tapados y a 2-8 °C.

Establecimiento de la curva de calibración

Utilice los estándares de calibración del cistatina C (B-CYC-CA o B-CYC-CASET) para establecer una curva estándar de 6 puntos de la manera definida en los manuales de los instrumentos. Los valores de los calibradores dependen del lote, y cada vez que se cambie de lote de calibración deberá realizarse una nueva calibración. Los valores asignados del calibrador se proporcionan en la hoja de valores analíticos suministrada con el kit.

Controles de calidad

Los controles alto y bajo deben analizarse cada día antes de analizar muestras, a fin de validar la curva de calibración. Los controles tienen asignado un rango de valores que debe cumplirse antes de realizar mediciones de muestras. Los valores asignados se indican en la hoja de valores analíticos incluida con el kit de cistatina C BÜHLMANN. Si los valores de los controles no son válidos, repita las mediciones de los controles. Si la calibración no puede realizarse sin errores, o si no pueden reproducirse valores de controles válidos, póngase en contacto con el fabricante del instrumento para solicitar ayuda.

Medición de muestras de pacientes

Cuando se haya realizado una calibración válida y los valores de los controles estén dentro del rango válido, podrán realizarse mediciones de muestras de suero o plasma. Compruebe que haya presente el volumen mínimo de muestra y analice las muestras de acuerdo con las instrucciones de los manuales de los instrumentos.

RESULTADOS

Los resultados se presentan en mg/L.

El valor de la TFG puede calcularse mediante la fórmula indicada en el GFR Calculator v2.0 en la web de www.gfrcalc.com

Rango de medición

El rango de medición de cistatina C del análisis es de aproximadamente 0,4-8,0 mg/L. El rango exacto depende de los ajustes de los calibradores del número de lote del kit de calibradores de cistatina C BÜHLMANN.

LIMITACIONES

Los materiales no deben utilizarse después de sus fechas de caducidad. Con este producto no se detectan interferencias de triglicéridos, hemoglobina, intralípido o bilirrubina a las concentraciones indicadas. No se detectan interferencias con los fármacos comprobados siguiendo la recomendación de Sonntag y Scholer [5]. El factor reumatoide no produce interferencias, ya que los anticuerpos se han obtenido a partir de material aviar (pollo) [6].

INTERVALOS DE REFERENCIA

BÜHLMANN sigue la directriz C28-A2 del CLSI, «How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline Second edition» (Cómo definir y determinar intervalos de referencia en el laboratorio clínico; directriz aprobada, segunda edición) para determinar la transferibilidad del intervalo de referencia.

Para el Architect® ci8200, el intervalo de referencia es de 0,53 a 1,01mg/l. Para cualquier otro equipo, el intervalo de referencia deberá estar en conformidad con el intervalo obtenido en el Architect® ci8200. Se recomienda que cada laboratorio determine un intervalo de referencia local, ya que los valores pueden variar según la población analizada.

CARACTERÍSTICAS DEL RENDIMIENTO

Todos los resultados se refieren a la validación del inmunoanálisis de cistatina C de BÜHLMANN en el Architect® ci8200 de Abbott.

Límite de detección

El límite de cuantificación se define como: *La mínima cantidad real de un analito que puede detectarse de manera fiable y a la cual el error total cumple los requisitos de exactitud.*

El límite de detección se define como: *La cantidad más pequeña de un analito que el método puede detectar de manera fiable para determinar la presencia o ausencia del analito.* El inmunoanálisis Cystatin C de BÜHLMANN tiene

un límite de detección de 0,031 mg/l y un límite de cuantificación de 0,33 mg/l.

Precisión

El inmunoanálisis Cystatin C de BÜHLMANN se utilizó en un estudio de precisión de cinco días ideado con arreglo al protocolo EP5-A de CLSI. Se midieron cuatro mezclas de suero y dos niveles de control en el Architect® ci8200.

Muestra	Valor medio (mg/l)	Intraejecución CV (%)	CV total (%)
Mezcla inferior de suero humano	0,69	1,51	2,81
Mezcla superior de suero humano	5,71	1,12	4,18
Mezcla intermedia de suero humano	3,38	1,93	3,75
Mezcla intermedia de suero humano	1,35	0,97	2,67
Control inferior	0,88	1,42	3,72
Control superior	3,58	0,71	1,41

Linealidad

El inmunoanálisis Cystatin C de BÜHLMANN en el Architect® ci8200 es lineal dentro de los límites de 0,3 a 8,8 mg/l. No se han examinado las concentraciones fuera de estos límites.

Recuperación analítica

Para el inmunoanálisis Cystatin C de BÜHLMANN en el Architect® ci8200, puede esperarse una recuperación del 100 al 107%.





Interferencia

En el Architect® ci8200 no se detecta ninguna interferencia con los triglicéridos (12,5 mmol/ml), la hemoglobina (8,0 g/l), intralípidos (11,0 g/l) ni la bilirrubina (420 mg/l).

No se detecta ninguna interferencia con los fármacos examinados sobre la recomendación de Sonntag y Sholer [5]. El estudio de interferencia se diseñó con arreglo al protocolo EP7-A de CLSI [7]. No hay interferencia de RF presente en el inmunoanálisis Cystatin C de BÜHLMANN porque los anticuerpos se elaboran de origen aviar (pollo) [6].

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. Sonntag O, Scholer A: Ann Clin Biochem 2001 ;38 : 376-85.
6. Larsson A et al: Poultry Science 1993 ;72 :1807-1812.
7. CLSI; Document EP7-A ; Interference testing in Clinical Chem ; Approved Guideline.
8. Mussap M et al: Clin Chem Lab Med 1998 ;36 :859-65.

APPENDIX IV
SYMBOLS/ SYMBOLE/ SYMBOLES/ SIMBOLI/ SIMBOLOS

Symbol	Explanation
	Use By Verwendbar bis Utiliser jusqu'au Utilizzare entro Fecha de caducidad
REF	Catalogue number Bestellnummer Référence du catalogue Numero di catalogo Número de catálogo
LOT	Batch code Chargenbezeichnung Code du lot Codice del lotto Codigo de lote
IVD	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device <i>In Vitro</i> Diagnostikum Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i> Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Contains sufficient for <n> tests Ausreichend für "n" Ansätze Contenu suffisant pour „n“ tests Contenuto sufficiente per „n“ saggi Contenido suficiente para <n> ensayos
	Consult Instructions for Use- Gebrauchsanweisung beachten Consulter le mode d'emploi Consultare le istruzioni per l'uso Consulte las instrucciones de uso
	Temperature limitation Zulässiger Temperaturbereich Limites de température Limiti di temperatura Limite de temperatura

Symbol	Explanation
BUFA	Reaction Buffer (R1) Reaktionspuffer (R1) Tampon de réaction Tampone di Reazione Tampón de Reacción
IP	Immunoparticles (R2) Immunpartikel (R2) Immunoparticules (R2) Immunoparticelle (R2) Inmunopartículas (R2)
CAL	Calibrator Kalibrator Calibreur Calibratore Calibrador
CAL A - CAL F	Pre-diluted Calibrators A – F Vorverdünnte Kalibratoren A – F Calibrateurs prédiluéés A – F Calibratori prediluiti A – F Calibradores prediluidos A – F
CONTROL L	Control Low Kontrolle tief Contrôle bas Controllo basso Control bajo
CONTROL H	Control High Kontrolle hoch Contrôle élevé Controllo alto Control alto

CE



IVD

Printing Date
2008-12-04

The BÜHLMANN Cystatin C kit is manufactured by
Gentian AS (Moss, Norway)