



Coffret Cystatine C Optilite®

Pour un usage en diagnostic *in vitro*

Référence produit : LK048.OPT

Produits fabriqués par:
The Binding Site Group Ltd., 8 Calthorpe Road, Edgbaston, Birmingham, B15 1QT, UK
www.bindingsite.co.uk

Distribué en France par la société:
The Binding Site France, 14 rue des Glairaux, CS 30026, 38522 Saint Egrève Cedex
Téléphone: 04.38.02.19.19
Fax: 04.38.02.19.20
E-mail: info@bindingsite.fr

Optilite est une marque enregistrée de The Binding Site Group Limited (Birmingham, RU) dans certains pays. D'autres noms de marques ou de produits peuvent être des marques enregistrées de leurs propriétaires respectifs.



1 INDICATIONS

Le coffret Cystatine C est destiné à une mesure quantitative *in vitro* de la Cystatine C dans le sérum, le plasma héparine lithium et le plasma EDTA en utilisant l'automate Optilite de The Binding Site. Les mesures en Cystatine C dans le sérum et le plasma sont utilisées comme aide au diagnostic et au traitement des pathologies rénales. Ce test doit être utilisé en conjonction avec les autres renseignements cliniques et de laboratoire.

2 RESUME ET EXPLICATIONS

La cystatine C est une protéine non-glycosylée d'un poids moléculaire de 13kDa. Il s'agit d'un inhibiteur des cystéines-protéinases endogène produit à taux constant par toutes les cellules nucléées. Elle est librement filtrée par le glomérule et est presque entièrement réabsorbée et dégradée par les cellules tubulaires proximales (réf. 1). La production de la cystatine C n'est pas influencée par le sexe, l'âge, la masse musculaire ou les réactions inflammatoires ce qui en fait un marqueur idéal du débit de filtration glomérulaire (DFG). Une diminution du DFG entraîne une augmentation de la concentration en cystatine C. Il a été démontré par plusieurs études et analyse (réfs 2-7) que la cystatine C est un meilleur marqueur du DFG que la créatinine.

3 PRINCIPE

La détermination de la concentration d'un antigène soluble en turbidimétrie implique une réaction avec l'antisérum spécifique pour former des complexes insolubles. Lorsque la lumière traverse la suspension formée, une portion de lumière est transmise et focalisée sur une photodiode par un système de lentilles optiques. La quantité de lumière transmise est indirectement proportionnelle à la concentration en protéine spécifique de l'échantillon. Les concentrations sont automatiquement calculées à partir d'une courbe de calibration enregistrée dans l'automate.

4 REACTIFS

- 4.1 **Réactif Latex:** Fourni en format liquide stable et contenant des billes de polystyrène couplées au latex et recouvertes d'anticorps de mouton monospécifiques. Conservateurs: 0.05% Proclin™, 0.025% sodium azide, 0.1% E-amino-n-caproic acid (EACA) and 0.01% benzamidine.
- 4.2 **Calibrateur et Contrôles:** Sérums humain poolés et fournis sous forme liquide. La concentration en cystatine C donnée sur le certificat de contrôle qualité a été obtenue par comparaison avec le matériel européen de référence ERM DA471/IFCC. Conservateurs: 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine.
- 4.3 **Tampon de réaction:** contenant de l'azide de sodium à 0.099% comme conservateur.

5 PRECAUTIONS

Tous les sérums humains fournis dans ce coffret ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface de l'hépatite B (Ag HBs), pour les anticorps anti-virus de l'immunodéficience humaine (HIV1 and HIV2) et pour les anticorps anti-virus de l'hépatite C. Les tests utilisés ont soit été approuvés par la FDA (USA), soit acceptés pour un usage en diagnostic *in-vitro* par l'union européenne (Directive 98/79/EC, Annexe II); cependant ces tests ne peuvent garantir l'absence d'agent infectieux. Des méthodes de manipulation et d'éliminations appropriées doivent être établies pour tout matériel potentiellement infectieux, incluant, entre autres, le port de vêtements et d'équipement de protection en permanence par les utilisateurs. Seul un personnel complètement formé à de telles méthodes doit être autorisé à réaliser ces procédures.

AVERTISSEMENT: Ce produit contient de l'azide de sodium et doit être manipulé avec précaution; des gants et d'autres vêtements de protection appropriés doivent être portés en permanence lors de la manipulation de ce produit. Ne pas ingérer ou mettre en contact avec la peau (spécialement sur les plaies ouvertes) ou les muqueuses. En cas de contact, laver abondamment avec de l'eau et demander en urgence un avis médical. Des azides de métaux explosifs peuvent se former par contact prolongé entre l'azide de sodium et les tuyauteries en plomb et en cuivre; pour éliminer les réactifs, rincer avec un grand volume d'eau afin d'éviter la formation des azides de métaux.

Ce produit ne doit être utilisé que par du personnel formé à l'utilisation stipulée dans le paragraphe Indications. Le suivi strict de ces instructions est essentiel. Les résultats seront considérés comme invalides si d'autres paramètres que ceux mentionnés dans les instructions sont utilisés.

Les réactifs de coffrets de numéros de lots différents **NE SONT PAS** interchangeables.

6 STOCKAGE ET STABILITE

Le coffret non ouvert doit être stocké à 2-8°C et peut être utilisé jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du coffret. **NE PAS CONGELER.** Le réactif, le calibrateur et les contrôles peuvent être stockés jusqu'à 3 mois après ouverture à condition que les flacons soient rebouchés afin d'éviter toute évaporation et conservés à 2-8°C au réfrigérateur. Le Réactif peut être stocké ouvert sur l'automate Optilite jusqu'à 30 jours à condition que l'automate soit sous tension.

7 PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS

Les échantillons de sang doivent être collectés par ponction veineuse et dans le cas du plasma, séparé dès que possible. Laisser coaguler le sang naturellement et séparer le sérum dès que possible afin d'éviter l'hémolyse. Les échantillons sériques peuvent être stockés à 2-8°C jusqu'à 7 jours ou peuvent être aliquotés et congelés à -20°C ou à une température inférieure (Réf 8). Les cycles répétés de congélation/décongélation doivent être évités. Les sérums lipidiques, hémolysés, contaminés par des bactéries ou contenant des particules de matière ne doivent pas être utilisés. Il est de la responsabilité du laboratoire d'utiliser toutes les références disponibles et/ou les études réalisées dans le laboratoire pour déterminer les critères de stabilité spécifiques au laboratoire (Réf 9)

8 METHODOLOGIE

8.1 Matériel fourni

- 8.1.1 1 x 100 Tests Optilite Cystatin C Reagent (Réactif Cystatine C Optilite)
- 8.1.2 1 x 2.1mL Optilite Cystatin C Calibrator (calibrateur Cystatine C Optilite)
- 8.1.3 1 x 1.5mL Optilite Cystatin C High Control (contrôle haut Cystatine C Optilite)
- 8.1.4 1 x 1.5mL Optilite Cystatin C Low Control (contrôle bas Cystatine C Optilite)

8.2 Matériel requis mais non fourni

- 8.2.1 Equipement pour la collecte et la préparation des échantillons, ex : tubes échantillons, centrifugeuse etc.
- 8.2.2 Un automate Optilite entièrement opérationnel et équipé
- 8.2.3 Instructions opératoires de l'automate: Manuel opératoire Optilite, Référence fiche technique INS700.OPT
- 8.2.4 Diluant 1 Optilite, Référence produit IK709
- 8.2.5 Diluant 2 Optilite, Référence produit IK710

8.3 Préparation des réactifs

Avant le chargement, mélanger doucement par inversion en s'assurant de ne pas générer de mousse ou de bulle qui resterait à la surface et qui pourrait interférer avec l'aspiration des réactifs.

8.4 Procédure de test

L'utilisateur doit être familiarisé avec les opérations sur l'automate Optilite avant de réaliser les procédures de tests. L'automate doit être préparé en suivant les instructions du manuel opératoire Optilite.

- 8.4.1 Les paramètres de ce test sont fournis sur les codes à barres du certificat de contrôle de qualité (QCcert048.OPT). Scanner le code à barre 1 et le code à barre 2 pour charger les paramètres.

8.5 Gamme de mesure

La gamme de mesure approximative du test est présentée dans le tableau ci-dessous.

Dilution de l'automate Optilite	Gamme approximative (mg/L)
1+9	0.4 – 6.00
1+19	0.8 – 12.00

9 CONTROLE DE QUALITE

Au moins deux niveaux de matériel de contrôle approprié doivent être testés au minimum une fois par jour. De plus, les contrôles doivent être testés après calibration, à chaque changement lot de réactif et après une maintenance spécifique ou des problèmes mentionnés dans le manuel opératoire Optilite.

Les tests de contrôle de qualité doivent être réalisés en accord avec les dispositions réglementaires et les procédures standardisées de chaque laboratoire.

Les concentrations des contrôles fournis sont indiquées sur le certificat de contrôle de qualité (QCcert048.OPT). Les résultats obtenus pour les échantillons ne doivent être validés que si les résultats des contrôles sont compris dans l'intervalle de la concentration cible $\pm 15\%$.

Si un contrôle obtenu à partir d'une courbe de calibration en mémoire est en dehors des valeurs attendues, le test doit être recalibré à nouveau. Si après re-calibration, les valeurs des contrôles obtenues à partir de la nouvelle courbe de calibration sont encore en dehors des valeurs attendues, l'automate et les paramètres du test doivent être vérifiés avant de répéter les tests. Si un problème persiste, veuillez contacter le support technique local.

10 LIMITES

- 10.1 Les tests turbidimétriques ne peuvent pas être utilisés avec des échantillons hautement lipidiques, hémolysés ou contenant des taux élevés de complexes immuns circulants (CICs), du fait du degré imprévisible de déviation de lumière non spécifique que de tels échantillons peuvent générer. Des résultats inattendus doivent être confirmés en utilisant une autre méthode.

- 10.2 Un diagnostic ne peut pas être fait et un traitement ne peut pas être donné uniquement sur la base des mesures de Cystatine C. L'historique clinique du patient ainsi que d'autres analyses doivent être pris en considération.
- 10.3 Les variations de température du réactif peuvent altérer les résultats. S'assurer que les réactifs sont transférés directement du réfrigérateur au compartiment réfrigéré de l'automate – Ne pas laisser à température ambiante.

11 VALEURS ATTENDUES

Les gammes fournies ont été obtenues à partir d'un nombre limité d'échantillons et ne sont fournies qu'à titre indicatif. Les valeurs attendues peuvent varier en fonction de l'âge, du sexe, du type d'échantillon, du régime alimentaire et de la situation géographique. Chaque laboratoire doit vérifier la transférabilité des valeurs attendues à sa population et, si nécessaire, déterminer ses propres valeurs de référence.

Gamme de sérums adultes

Cet intervalle de référence a été obtenu en mesurant la concentration en cystatine C de sérums issus de donneurs de sang adultes et sains britanniques en utilisant l'automate SPAplus de Binding Site. Il a été calculé en utilisant des statistiques non-paramétriques et représente 95% de la population centrale.

	Nombre (n)	Moyenne (mg/L)	Médiane (mg/L)	Gamme 95 percentiles (mg/L)
Cystatine C	127	0.72	0.70	0.56 – 0.99

12 PERFORMANCES

12.1 Précision

L'étude de précision a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP5-A2 *Evaluation of Precision Performance of Clinical Quantitative Measurement Methods*. L'étude a été réalisée sur 21 jours ouvrés, avec 2 séries par jour. Un utilisateur a évalué 5 échantillons différents, en utilisant 1 de lot de réactif sur 3 automates.

Résumé de l'étude de précision									
	Moyenne (mg/L)	Intra-essai		Inter-essais		Inter-jours		Total	
		SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %	SD	CV %
Niveau 1	0.574	0.0179	3.1	0.0150	2.6	0.0213	3.7	0.0316	5.5
Niveau 2	1.239	0.0234	1.9	0.0176	1.4	0.0509	4.1	0.0587	4.7
Niveau 3	3.029	0.0616	2.0	0.0515	1.7	0.0979	3.2	0.1266	4.2
Niveau 4	4.374	0.0838	1.9	0.0549	1.3	0.1682	3.8	0.1957	4.5
Niveau 5	6.483	0.1618	2.5	0.0818	1.3	0.1591	2.5	0.2412	3.7

12.2 Comparaison

Une étude de comparaison a été réalisée en analysant 135 échantillons (42 normaux et 93 pathologique) en utilisant le coffret Cystatine C Optilite et un autre test commercialement disponible. L'analyse de régression Passing Bablok a généré les résultats suivants :

$$y = 0.97x + 0.03 \text{ mg/L} \quad (y = \text{Optilite}; x = \text{predicate analyser})$$

coefficient de corrélation $r = 0.985$ (calculé par régression linéaire)

Une étude comparative a été réalisée en analysant 62 paires d'échantillon de sérums et plasma EDTA en utilisant le coffret Cystatine C Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 0.95x + 0.03 \text{ mg/L} \quad (y = \text{EDTA plasma}; x = \text{sérum})$$

Coefficient de corrélation $r = 0.993$ (calculé par régression linéaire)

Une étude comparative a été réalisée en analysant 62 paires d'échantillon de sérums et plasma Héparine Lithium en utilisant le coffret Cystatine C Optilite. L'analyse de régression de Passing Bablok a générée les résultats suivant:

$$y = 1.03 - 0.02 \text{ mg/L} \quad (y = \text{plasma héparine lithium}; x = \text{sérum})$$

Coefficient de corrélation $r = 0.992$ (calculé par régression linéaire)

12.3 Limite de quantification

La limite de quantification (LdQ) pour ce test est définie comme la valeur basse de la gamme de mesure, 0,4mg/L. L'étude de validation de la LdQ a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP17-A *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation*.

12.4 Linéarité

L'étude de linéarité a été réalisée selon les recommandations du guide CLSI EP6-A *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures*. La linéarité a été montrée sur la gamme de l'analyte allant de 0,359 à 6,482mg/L en utilisant la dilution échantillon 1+9.

Equation de régression: $y = 1,06 + - 0,03$ (y = concentration mesurée, x = concentration théorique)
 $r = 0,997$

12.5 Interférence

Une étude a été réalisée en suivant le guide de référence CLSI EP7-A2: *Interference Testing in Clinical Chemistry, Approved Guideline* (CLSI Document EP7-A2). Un échantillon de sérum normal, un échantillon de sérum proche du point de décision médicale et un échantillon de sérum anormal ont été testés. Aucun effet interférant significatif n'a été observé lors du test avec des intralipides (2000mg/dL), Triglycérides (1000 mg/dL), bilirubine (200mg/L) ou hémoglobine (5g/L).

Aucune interférence significative avec les médicaments communément utilisés n'a été détectée. Pour plus d'informations, veuillez consulter la littérature¹⁰.

12.6 Excès d'antigène

Aucun excès d'antigène n'a été observé jusqu'à un niveau équivalent à 3,3 fois la valeur du point haut de la courbe de calibration à la dilution standard échantillon 1+9, soit 20mg/L.

13 BIBLIOGRAPHIE

- Grubb A.O. (2000) Cystatin C – properties and use as a diagnostic marker. *Adv Clin Chem* **35**:63-99.
- Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, et al. (2004) Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* **66**:1115-22.
- Grubb A, Nyman U, Bjork J, Landstrom V, Rippee B, Sterner G, Christensson A. (2005) Simple Cystatin C-based prediction equations for glomerular Filtration Rate compared with the Modification of Diet in Renal Disease prediction equations for adults and the Schwartz and the Counahan-Barratt Prediction Equations for children. *Clinical Chemistry* **51**:8 1420-1431.
- Wasen E, Suominen P, Isoaho R, Mattila K, Virtanen A, Kivela S, Irtala K. (2002) Serum cystatin C as a marker of kidney dysfunction in an elderly population. *Clin Chem* **48**:1138-40.
- Herrero-Morin J, Malaga S, Fernandez N, Rey C, Diegues M.A, Solis G, Concha A, Medina A. (2007) Cystatin C and Beta 2-microglobulin: markers of glomerular filtration in critically ill children. *Critical Care* **11**:R59.
- Herget-Rosenthal S, Bokenkamp A, Hofmann W. (2007) How to estimate GFR- serum creatinine, serum Cystatin C or equations. *Clinical Biochemistry* **40**:153-161.
- Dharmidharka VR, Kwon C, Stevens G. (2002) Serum Cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis* **40**:221-6.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2 2002
- CLSI GP44-A4, Vol. 30 No. 10, 5.5.1.1.1, May 2010, "Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline".
- Young D. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. AACC Press, 2000.