

CISTATINA C TURBIQUEST PLUS

Instruções de Uso

Ref.: **350**
MS 10009010239

Finalidade . Sistema para determinação quantitativa de cistatina C em amostras de soro ou plasma por imunoturbidimetria.

[Somente para uso diagnóstico in vitro.]

Princípio . A cistatina C presente na amostra se liga ao anticorpo específico anti-cistatina C, o qual se encontra ligado nas partículas de látex, causando aglutinação, que pode ser medida pela formação da turbidez. A intensidade da aglutinação, medida em absorbância, é proporcional à quantidade de cistatina C presente na amostra, cuja concentração é obtida através da curva de calibração.

Características do sistema . Cistatina C Turbiquest Plus® utiliza o princípio da imunoturbidimetria, que possibilita a detecção de cistatina C, utilizada como auxiliar no diagnóstico e tratamento de doenças renais.

O sistema é facilmente aplicável a analisadores automáticos capazes de medir absorbâncias em 540 nm (540 a 570 nm), permitindo a realização da medição junto aos demais exames bioquímicos, sem necessidade da utilização de instrumentos dedicados. Além disso, a medição imunoturbidimétrica apresenta excelente desempenho operacional e permite a avaliação de grande número de amostras em curto intervalo de tempo. Todas estas características agregam maior praticidade e segurança para o usuário, além de propiciar maior agilidade e rapidez ao processo analítico.

Metodologia . Imunoturbidimetria.

Reagentes

1. **R1** - Reagente 1 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Pronto para uso. Não congelar. Contém tampão Tris 100 mmol/L, cloreto de sódio <0,1% e azida sódica 0,095%.

2. **R2** - Reagente 2 - Armazenar entre 2 - 8 °C.

Pronto para uso. Não congelar. Contém suspensão de partículas de látex sensibilizadas com anticorpo policlonal de galinha anti-Cistatina C e azida sódica 0,095%.

Os reagentes não abertos, quando armazenados nas condições indicadas, são estáveis até a data de expiração impressa no rótulo. Após abertos, os reagentes devem ser manuseados de acordo com as boas práticas de laboratório para evitar contaminações de natureza química e microbiana que podem provocar redução da estabilidade.

Precauções e cuidados especiais

Homogeneizar suavemente os reagentes por inversão antes de utilizar. Evitar formação de espuma.

Os cuidados habituais de segurança devem ser aplicados na manipulação dos reagentes, os quais não devem ser pipetados com a boca.

Os reagentes contêm azida sódica que é tóxica. Não ingerir e, no caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com grande quantidade de água e procurar auxílio médico. A azida pode formar compostos altamente explosivos com tubulações de chumbo e cobre. Portanto, utilizar grandes volumes de água para descartar os reagentes.

Material necessário e não fornecido

1. Analisador capaz de medir com exatidão absorbância entre 540 e 570 nm.
2. Calibra Plus Cistatina C (Ref. 351) - Labtest.
3. Qualitrol Plus Cistatina C (Ref. 352) - Labtest.

Amostra

Usar soro fresco ou plasma (heparina ou EDTA). O soro ou plasma deve ser centrifugado e separado o mais rápido possível após a coleta. O analito é estável por 7 dias entre 2 - 8 °C. Para obter maior estabilidade, armazenar as amostras em temperatura igual ou inferior a -20 °C negativos por até 30 dias em recipiente hermeticamente fechado. Assegurar que as amostras estejam descongeladas, homogeneizadas e límpidas antes da sua utilização.

Deve ser criado um Procedimento Operacional Padrão (POP) para colheita, preparação e armazenamento da amostra. Enfatizamos que os erros devidos à amostra podem ser muito maiores que os erros ocorridos durante o procedimento analítico.

Como nenhum teste conhecido pode assegurar que amostras de sangue não transmitem infecções, todas elas devem ser consideradas como potencialmente infectantes. Portanto, ao manuseá-las deve-se seguir as normas estabelecidas para biossegurança.

Para descartar os reagentes e o material biológico, sugerimos aplicar as normas locais, estaduais ou federais de proteção ambiental.

Interferências

Concentrações de bilirrubina até 40 mg/dL, hemoglobina até 1000 mg/dL, triglicérides até 1000 mg/dL, ácido ascórbico até 176 mg/dL e fator reumatóide até 1000 UI/mL não produzem interferências significativas.

Calibração . Utilizar o Calibra Plus Cistatina C Ref. 351 .

Sistema automático Calibração de 6 pontos

Ponto 0: utilizar solução de cloreto de sódio 150 mmol/L (0,85%).
Ponto 1 ao 5: Calibra Plus Cistatina C (Ref. 351).

Intervalo de calibrações

Quando o controle interno da qualidade indicar;
Quando utilizar novo lote de reagentes.

Quando utilizar novos frascos de reagente de um mesmo lote, caso uma nova calibração tenha sido realizada durante a utilização do frasco anterior.

Parâmetros para realização do teste

Parâmetros	Aplicação Birreagente
Tipo de Reação	Ponto final
Direção da Reação	Crescente
λ Primário	540 nm
λ Secundário	700 nm
Temperatura	37 °C
Calibração	6 pontos Ponto 0: Branco (NaCl 0,85%) Ponto 1: Calibra Plus Cistatina C 1 Ponto 2: Calibra Plus Cistatina C 2 Ponto 3: Calibra Plus Cistatina C 3 Ponto 4: Calibra Plus Cistatina C 4 Ponto 5: Calibra Plus Cistatina C 5
Modelo da Calibração*	Spline
Volume de Amostra**	4 μ L
Volume de R1**	250 μ L
Incubação	300 segundos de incubação a 37 °C de R1 + amostra
Volume de Reagente 2**	50 μ L
Leitura 1 (Absorbância 1)	60 segundos após adição de R2
Leitura 2 (Absorbância 2)	300 segundos após adição de R2

*A definição de modelo de calibração deve ser adequada a cada modelo de equipamento. Em caso de dúvida entre em contato com o Serviço de Apoio ao Cliente Labtest.

**Os volumes de amostra e reagentes podem ser modificados proporcionalmente sem prejuízo para o desempenho do teste. Em caso de redução dos volumes é fundamental que se observe o volume mínimo necessário para a medição fotométrica.

Intervalo operacional . O intervalo operacional de medição é de 0,2 a 8,0 mg/L. Para concentrações maiores, diluir a amostra com NaCl 150 mmol/L (0,85%), realizar nova determinação e multiplicar o resultado obtido pelo fator da diluição.

Controle interno da qualidade . O laboratório deve manter um programa de controle interno da qualidade que defina claramente os regulamentos aplicáveis, objetivos, procedimentos, critérios para especificações da qualidade e limites de tolerância, ações corretivas e registro das atividades. Ao mesmo tempo deve-se manter um sistema definido para monitorar a variabilidade analítica que ocorre em todo o sistema de medição. Materiais de controle devem ser utilizados para monitorar a imprecisão da medição e desvios da calibração^{1,2}.

Sugere-se utilizar o produto Qualitrol Plus Cistatina C (Ref. 352) - Labtest para controle interno da qualidade.

Valores de referência³ . Estes valores devem ser usados apenas como orientação. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça, na população atendida, sua própria faixa de valores de referência.

O intervalo de referência é de 0,5 a 1,03 mg/L.

Características do desempenho⁴

Estudos de recuperação . Em duas amostras com concentrações de cistatina C iguais a 1,60 mg/L e 5,40 mg/L foram adicionadas quantidades iguais do analito, sendo obtidos os seguintes resultados:

Concentração (mg/L)

Inicial	Adicionada	Esperada	Encontrada	Recuperação (%)
1,60	0,77	2,37	2,41	101,7
5,40	0,77	6,17	6,30	102,1

O erro sistemático proporcional médio estimado é igual a 0,02 mg/L para o nível de decisão 0,91 mg/L, 0,05 mg/L para o nível de decisão 2,51 mg/L e 0,11 mg/L para o nível de decisão 5,40 mg/L.

Estudos de comparação de métodos . O método proposto foi comparado com método que utiliza tecnologia similar, sendo obtidos os seguintes resultados:

	Método Comparativo	Método Labtest
Número de amostras	45	45
Intervalo de concentrações (mg/L)	0,51 - 7,34	0,66 - 7,41
Equação da regressão	Método Labtest (mg/L) = 0,999 x Comparativo + 0,072	
Coefficiente de correlação	0,996	

Estudos de precisão . Os estudos de precisão foram realizados utilizando três amostras com concentrações iguais a 0,91, 2,51 e 5,40 mg/L.

Repetitividade - Imprecisão intra-ensaio

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	0,91	0,03	3,5
Amostra 2	20	2,51	0,06	2,5
Amostra 3	20	5,40	0,11	2,0

Reprodutibilidade - Imprecisão total

	N	Média	DP	CV (%)
Amostra 1	20	0,91	0,04	4,6
Amostra 2	20	2,51	0,08	3,0
Amostra 3	20	5,40	0,25	4,6

A imprecisão encontrada atende ao critério de aceitação de 8,9% (CV) de acordo com Keevil et al⁵.

Sensibilidade metodológica . Limite de quantificação: 0,19 mg/L. Equivale a menor concentração que pode ser medida com uma imprecisão (CV) menor ou igual a 20%. Foram ensaiadas 5 amostras com concentrações entre 0,013 a 0,269 mg/L. O valor de 0,19 mg/L foi estimado utilizando as concentrações das amostras testadas e os coeficientes de variação obtidos.

Efeitos da diluição da matriz . Amostra com concentração igual a 7,72 mg/L foi utilizada para avaliar a resposta do sistema na diluição da matriz com salina. Usando fatores de diluição entre 1, 1 e 8 foi encontrada recuperação média de 96,6%.

Efeito prozona . Não foi observado efeito prozona em amostras com concentrações de cistatina C inferiores a 20 mg/L.

Significado clínico^{5, 6, 7} . O Ritmo de Filtração Glomerular (RFG) é uma medida direta da função renal, e é estimado através da determinação da depuração de uma substância biológica inerte livremente filtrada e reabsorvida pela membrana glomerular. A determinação da depuração da creatinina é o método mais amplamente utilizado para estimativa não invasiva do RFG. No entanto, a avaliação da creatinina é influenciada pela massa muscular, superfície corporal e ingestão de alimentos, e sendo assim, deve-se considerar idade, sexo, altura e composição corporal quando se avalia amostras de pacientes. A depuração da creatinina pode superestimar o RFG em pacientes com RFG altamente reduzido, devido à secreção tubular dessa substância. Além disso, a necessidade da coleta de urina de 24 horas consome tempo e é uma fonte adicional de erro.

A Cistatina C, uma proteína de baixo peso molecular, é produzida em todas as células nucleadas sem sofrer alteração em processos inflamatórios, e que aparece no plasma e soro humano. A Cistatina C é livremente filtrada pelos glomérulos, não é secretada pelos túbulos ou eliminada por qualquer via extra-renal, e é quase completamente absorvida e metabolizada pelas células dos túbulos proximais. Assim, a concentração de Cistatina C no plasma é quase exclusivamente determinada pelo RFG, fazendo da Cistatina C um excelente indicador do RFG. A Cistatina C possui vantagens em relação à avaliação clínica de rotina da função renal, pois é mais exata que a creatinina plasmática e que a estimativa da depuração da creatinina de Cockcroft-Gault, além de ser mais confiável que a depuração de creatinina por 24hs. Há um crescente grupo de evidências que sugerem que a Cistatina C pode ser utilizada para detectar doenças renais mais precocemente que a creatinina sérica, o que pode facilitar os esforços de prevenção em idosos e em pacientes com diabetes, hipertensão e doenças cardiovasculares.

Observações

1. O laboratório clínico tem como objetivo fornecer resultados exatos e precisos. A utilização de água de qualidade inadequada é uma causa potencial de erros analíticos. A água utilizada no laboratório deve ter a qualidade adequada a cada aplicação. Assim, para preparar reagentes, usar nas medições e para uso no enxágue final da vidraria, a água deve ter resistividade ≥ 1 megaohm.cm ou condutividade ≤ 1 microsiemens/cm e concentração de silicatos $< 0,1$ mg/L.

Quando a coluna deionizadora está com sua capacidade saturada ocorre liberação de vários íons, silicatos e substâncias com grande poder de oxidação ou redução que deterioram os reagentes em poucos dias ou mesmo horas, alterando os resultados de modo imprevisível. Assim, é fundamental estabelecer um programa de controle da qualidade da água.

2. Para uma revisão das fontes fisiopatológicas e medicamentosas de interferência nos resultados e na metodologia sugere-se consultar Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 3ª edição, Washington: AACC Press, 1990.

Referências

1. Basques JC. Especificações da Qualidade Analítica. Labtest Diagnóstica 2005.
2. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR, Groth T. Clin Chem 1981;27:493-501.
3. Alan H.B. Wu. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests. 4. ed. St. Louis: Saunders/Elsevier, 2006, 328-329.
4. Labtest: Dados de arquivo.
5. Keevil BG, Kilpatrick ES, Nichols SP, Maylor PW. Biological variation of cystatin C: implications for the assessment of glomerular filtration rate. Clinical Chemistry 1998; 44:7:1535-1539.
6. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE: Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4.ed. St. Louis: Saunders/Elsevier, 2006. p. 819, 823-824.
7. Hoek FJ, Kemperman FAW, Krediet RT. A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault for the estimation of glomerular filtration rate. Nephrol Dial Transplant 2003; 18: 2024-2031.

Apresentação

Produto	Referência	Conteúdo
Cistatina C Turbiquest Plus	350-1/30	R1 1 x 25 mL
		R2 1 x 5 mL

Estão disponíveis aplicações para sistemas automáticos e semi-automáticos.

O volume de reagente por teste em aplicações automáticas depende dos parâmetros de programação de cada equipamento.

Informações ao consumidor

[Termos e Condições de Garantia]

A Labtest Diagnóstica garante o desempenho deste produto dentro das especificações até a data de expiração indicada nos rótulos, desde que os cuidados de utilização e armazenamento indicados nos rótulos e nestas instruções sejam seguidos corretamente.

Símbolos utilizados com produtos diagnósticos in vitro

Símbolos usados con productos diagnósticos in vitro . Symbols used with ivd devices

	Conteúdo suficiente para < n > testes Contenido suficiente para < n > tests Contains sufficient for < n > tests		Consultar instruções de uso Consultar instrucciones de uso Consult instructions for use		Controle Control Control		Tóxico Tóxico Poison
	Data limite de utilização (aaaa-mm-dd ou mm/aaaa) Estable hasta (aaaa-mm-dd o mm/aaaa) Use by (yyyy-mm-dd or mm/yyyy)		Número de catálogo Número de catálogo Catalog Number		Controle negativo Control negativo Negative control		Reagente Reactivo Reagent
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Adições ou alterações significativas Cambios o suplementos significativos Significant additions or changes		Controle positivo Control positivo Positive control		Fabricado por Elaborado por Manufactured by
	Material Calibrador Material Calibrador Calibrator Material		Produto diagnóstico in vitro Dispositivo de diagnóstico in vitro In vitro diagnostic device		Controle Control Control		Número do lote Denominación de lote Batch code
	Limite de temperatura (conservar a) Temperatura limite (conservar a) Temperature limitation (store at)		Liofilizado Liofilizado Lyophilized		Risco biológico Riesgo biológico Biological risk		Período após abertura Período post-abertura Period after-opening
	Representante Autorizado na Comunidade Europeia Representante autorizado en la Comunidad Europea Authorized Representative in the European Community		Corrosivo Corrosivo Corrosive		Marca CE Marcado CE CE Mark		