

* この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。



シスタチンCキット

Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）

EIA 法による血清、ヘパリン血漿又は EDTA 血漿中の
シスタチン C 測定用試薬

【一般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
- * 3. 本電子添文に記載された方法及び目的以外での使用については保証を致しません。
4. 本キットの構成試薬については、HBV 抗原、HIV 抗体及び HCV 抗体が陰性であることが確認されていますが、被検検体と同様に取扱いには注意してください。
5. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置をご使用の際には、装置添付の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

* 本製品は次に示す試薬を組み合わせて使用してください。

1. Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）免疫反応試薬
抗シスタチンCマウスモノクローナル抗体固定化ビーズ
抗シスタチンCマウスモノクローナル抗体アルカリ性ホスファターゼ結合物
2. Eテスト「TOSOH」II 基質セット（ラベルに桃色で SUB II と表示）
(1) Eテスト「TOSOH」II 基質
4-メチルウンベリフェリルン酸
(2) Eテスト「TOSOH」II 基質溶解液
3. Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品セット
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (1)
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (2)
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (3)
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (4)
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (5)
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (6)
4. Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）検体希釈液
5. Eテスト「TOSOH」II 洗浄液
6. Eテスト「TOSOH」II 分注液

【使用目的】

血清又は血漿中のシスタチンCの測定

【測定原理】

1. 特徴

- 1) 高親和性抗シスタチンC抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。
- 2) 磁性ビーズに固定化された抗体と酵素標識された抗体が試薬カップに凍結乾燥状態で封入されているため、試薬調製の必要がありません。
- 3) 抗原抗体反応から蛍光測定まで専用の試薬カップ内で行われるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがほとんどありません。
- 4) 全自動エンザイムイムノアッセイ装置を用いて、短時間で自動測定できます。（抗原抗体反応時間は10分）
- 5) 放射性同位元素を使用していないので、そのための特殊な設備を必要としません。

2. 測定原理

本法の原理は、抗シスタチンCマウスモノクローナル抗体を用いた1ステップサンドイッチEIA（IEMA）法です。磁性ビーズに固定化された抗シスタチンCマウスモノクローナル抗体と、酵素としてアルカリ性ホスファターゼが標識された抗シスタチンCマウスモノクローナル抗体とが、凍結乾燥体として試薬カップに封入されています。この試薬カップに分注水と検体を添加すると、凍結乾燥試薬が溶解し抗原抗体反応が開始します。一定時間、一定温度で抗原抗体反応をした後、洗浄水で洗浄することにより未反応の酵素標識抗体と検体成分を除去します（B/F分離）。その後、磁性ビーズに結合した酵素活性を測定するため酵素基質として4-メチルウンベリフェリルン酸を添加し、酵素反応の結果得られる蛍光物質（4-メチルウンベリフェロン）の生成速度を測定することにより、血清、ヘパリン血漿又はEDTA血漿中のシスタチンC濃度を知ることができます。

【操作上の注意】

1. 検体には新鮮な血清、ヘパリン血漿又はEDTA血漿を用いてください。検体を分取する場合は、溶血させないように注意してください。検体を保存する場合は、2～8℃で保存し、7日以内に測定してください。7日以内に測定しない場合は、-20℃以下で凍結保存し、60日以内に測定してください。2～8℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、15～25℃に戻してから使用してください。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 検体の希釈にはEテスト「TOSOH」II（シスタチンC）検体希釈液を用い、十分に混和してください。
4. 妨害物質
妨害物質として、ヘモグロビンは470 mg/dLまで、遊離型ビリルビンは19 mg/dLまで、抱合型ビリルビンは18 mg/dLまで、イントラリビッド（静注用脂肪乳剤）は1,600 mg/dLまで、アルブミンは5 g/dLまで、アスコルビン酸は20 mg/dLまで、クエン酸・3Naは20 mg/mLまで、ヘパリン・Naは100 U/mL（日本薬局方定量法による）まで、EDTA・2Kは10 mg/mLまで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. 2～8℃保存されていた試薬をご使用の際には、15～25℃に戻してから使用してください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法及び調製後の貯法・有効期間

- 1) 免疫反応試薬
Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）免疫反応試薬の防湿袋を開封して使用してください。開封後の免疫反応試薬は、15～25℃での累積時間として96時間以内に使用してください。例えば、1日あたり15～25℃に8時間、2～8℃に16時間保存することを毎日繰り返した場合は12日に相当します。但し、一度防湿袋を開封した免疫反応試薬は、2～8℃に保存していたとしても、30日を超えては使用しないでください。

2) 基質液

Eテスト「TOSOH」II 基質1びんにEテスト「TOSOH」II 基質溶解液1びん（100 mL）を加えて基質液を調製してください。調製後は、遮光下、15～25℃で3日間、2～8℃保存で30日間有効です（直射日光、紫外線に当たらないように注意してください）。

* 3) 標準品

Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品 (1) ～ (6) はいずれも液体ですので、開封後、それぞれ必要量を検体カップにとりそのまま使用してください。いずれも、開封後は密封するならば、2～8℃保存で1日間有効です。Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品の表示濃度は、社内標準品を基準として決めたものです。その値は、びんのラベルに記載されています。

4) 検体希釈液

Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）検体希釈液は液体ですので、開封後、そのまま使用してください。開封後は、15～25℃での累積時間として240時間有効です。例えば、15～25℃で1日に8時間開封して使用し、使用後直ちに密封して2～8℃で保存した場合は、30日間有効です。また、全自動エンザイムイムノアッセイ装置に検体希釈液をセットしない場合（自動希釈機能を利用しない場合）に限り、毎回使用後直ちに密封し2～8℃で保存するならば90日間有効です。

但し、AIA-600 IIをご使用の場合、検体希釈液を30 mL用の別容器に移し替えて装置にセットする必要がありますので、別容器に移し替えた検体希釈液は、15～25℃での累積時間として72時間有効です。例えば、15～25℃で1日に8時間開封して使用し、使用後直ちに密封して2～8℃で保存した場合は、9日間有効です。

5) 洗浄水

Eテスト「TOSOH」II 洗浄液1びんを適量の精製水で希釈して2.5 Lとし、濃度勾配を生じないように十分に混和して、洗浄水を調製してください。調製後は、15～25℃放置で30日間有効です。

6) 分注水

Eテスト「TOSOH」II 分注液1びんを適量の精製水で希釈して5 Lとし、濃度勾配を生じないように十分に混和して、分注水を調製してください。調製後は、15～25℃放置で30日間有効です。

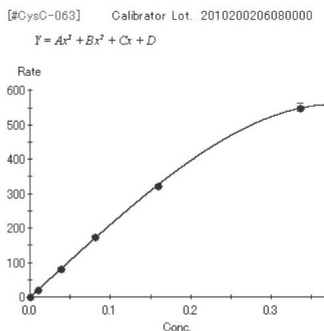
2. 必要な器具・器材・試薬等

- 1) 検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、別売の弊社コントロールをお薦めします。
- 2) 測定の際には、必要に応じてピペット、サンプルカップ、サンプルチップ等を用意してください。

3. 測定（操作）法

- 1) 検体は検体希釈液にて25倍希釈します。標準品は希釈しないで使用してください。
- 2) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）免疫反応試薬の試薬カップのアルミシールを破ります。
- 3) この試薬カップに分注水140 μ Lと、標準品又は希釈した検体10 μ Lを正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら攪拌し、37℃で10分間、抗原抗体反応を行います。
- 4) 試薬カップを洗浄水で洗浄し、未反応の酵素標識抗体及び検体成分を除去します（B/F分離）。
- 5) 基質液を200 μ L注入した後、磁性ビーズを振動・攪拌させながら、酵素反応により生成した蛍光物質の蛍光強度を落射型蛍光光度計を用いて、励起波長363 nm、蛍光波長447 nmで測定し、蛍光物質の生成速度を算出します。
- 6) 標準品に対する蛍光物質の生成速度から検量線を作成し、検体中のシスタチンC濃度を算出します。
なお、検量線は次の場合に作成します。
 - ① 免疫反応試薬のロットの変更時
 - ② 同一の免疫反応試薬ロットにおいて、検量線作成後90日を超えた場合
 - ③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられた場合
- 7) 測定結果が8.00 mg/Lを超えたときは、検体希釈液を用いて適宜希釈率を変えて検体を希釈し、同様の操作2)～6)により再測定します。

全自動エンザイムイムノアッセイ装置AIA-1800を使用したときに得られる検量線の例を次に示します。（検量線の濃度範囲は、25倍希釈にて測定された検体の濃度に相当しますので、測定範囲の1/25の値で表示されます。）



【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定及び参考基準範囲

- 1) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品セットを用いた検量線から得られた濃度に希釈倍率を乗じて、検体中のシスタチンC濃度を算出します。（装置で自動希釈により測定した場合は、自動的に希釈倍率を乗じた結果となります。一方、手希釈により測定した場合は、得られた濃度に希釈倍率を乗じて算出してください。）
- 2) 参考基準範囲
健康者 150 例について、血清中のシスタチンC濃度を測定しノンパラメトリック法による 95 % 基準範囲を求めた結果、参考基準範囲は 0.52 ～ 0.97 mg/L でした。なお、参考基準範囲は種々の要因で変動することがありますので、各施設において設定願います。

2. 判定上の注意

疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

【臨床的意義】

シスタチンCは、分子量 13 kDa の塩基性低分子蛋白でシスタチンスーパーファミリーに属し、全身の有核細胞からシステインプロテアーゼインヒビターとして産生され、生体内での酵素活性による細胞及び組織の障害を抑制しています。遺伝子はハウスキーピングタイプであり、炎症などによる細胞内外の環境変化に対する影響を受けることなく一定の割合で産生・分泌されています（1）。細胞外に分泌されたシスタチンCは、他の血清蛋白と複合体を形成することなく腎糸球体から濾過され、近位尿細管で再吸収・分解されます（2-3）。そのため糸球体濾過量（glomerular filtration rate: GFR）の悪化とシスタチンC濃度は相関するとされ（4-5）、GFRの低下により血中のシスタチンC濃度が上昇すると報告されています（6）。

現在、臨床的に用いられている GFR 測定法には、内因性物質であるクレアチニンを用いた 24 時間クレアチニンクリアランスの測定があります。また、GFR を推定するための腎機能マーカーとして血清クレアチニン値やβ₂-マイクログロブリン値等が用いられています（7）。クレアチニンクリアランスの測定は、畜尿の煩雑さや時間の制約があり患者への負担が大きいという問題点があります。血清クレアチニン値は筋肉量や食事の影響を受け、性差・年齢により変化することなど実際の GFR より過大に算出される場合が指摘されています。また、β₂-マイクログロブリン値は腎機能の低下に関わらず、悪性腫瘍及び自己免疫疾患の場合に高くなる場合があります。これらの問題に対しシスタチンCは、血清又は血漿を用いて評価することができる上に、前述のような腎前性の影響が小さいことなどから、GFR の指標として簡便に測定できる内因性腎機能マーカーとして腎機能の評価に有用とされています（8-13）。

【性能】

1. 感度

- 1) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品（1）の蛍光単位（FU）は 2.0（nmol/（L・s））以下です。
- 2) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品（1）とEテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品（2）の FU（nmol/（L・s））を測定して、シスタチンC濃度に対する FU の比 [注 1] を求めると、400（nmol/（L・s））/（mg/L）以上となります。

[注 1] FU の比は、下式により計算しました。

FU の比 = (A - B) / C

A：標準品（2）の FU（nmol/（L・s））

B：標準品（1）の FU（nmol/（L・s））

C：標準品（2）のシスタチンC濃度（mg/L）

2. 正確性

シスタチンC濃度の異なる 3 種類（0.50 ～ 1.25 mg/L、1.75 ～ 3.50 mg/L、4.00 ～ 8.00 mg/L）の濃度既知コントロール [注 2] を測定するとき、その測定値は表示濃度の 100±20 % 以内です。

[注 2] 濃度既知コントロールとは、東ソーシスタチンC標準品を対照としてEテスト「TOSOH」II（シスタチンC）を用いて測定し、表示濃度を定めたものをいいます。

なお、東ソーシスタチンC標準品とは、「東ソーシスタチンC一次標準品」及び「東ソーシスタチンC一次標準品を基準にして調製した標準品」を総称したものです。

3. 同時再現性

シスタチンC濃度の異なる 3 種類（0.50 ～ 1.25 mg/L、1.75 ～ 3.50 mg/L、4.00 ～ 8.00 mg/L）の濃度既知コントロールについて、同一コントロールを 5 回同時に測定するとき、それぞれの測定値の変動係数は 15 % 以下です。

4. 測定範囲：0.01 ～ 8.00 mg/L

（25 倍希釈後の濃度では 0.0004 ～ 0.32 mg/L に相当します。）

低濃度検出限界 0.01 mg/L は、標準品（1）～（6）の測定値から検量線を作成し、標準品（1）の FU の平均値 + 2 × SD（5 回測定の標準偏差）に対する濃度に希釈倍率（25 倍）を乗じることで算出しました。

また、過剰抗原により誤って低い値が報告される現象は 20 mg/L 以下の濃度ではおきません。（25 倍希釈後の濃度では 0.8 mg/L に相当します。）

5. 相関性試験成績

1) 血清に関する相関性

① 本法（y）と他社ネフェロメトリー法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

$$y = 0.979x + 0.087$$

$$r = 0.997$$

$$n = 129$$

② 本法（y）と他社社会コロイド凝集法（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

$$y = 0.980x - 0.004$$

$$r = 0.997$$

$$n = 77$$

2) 検体種に関する相関性

① 本法でヘパリン血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

$$y = 0.980x + 0.018$$

$$r = 0.999$$

$$n = 106$$

② 本法で EDTA 血漿（y）と血清（x）との相関性を検討した結果は以下のとおりです。

$$y = 0.986x + 0.022$$

$$r = 0.999$$

$$n = 132$$

【使用上又は取扱以上の注意】

1. 使用上の注意

- 1) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。特に、免疫反応試薬を試薬トレイごととセットする機種は、項目名及びロット番号の識別を試薬トレイのバーコード情報でのみ行い、個々の試薬カップのドットコードでは行いませんのでご注意ください。
- 3) 検量線を作成する場合には、新しく防湿袋を開封した免疫反応試薬を使用してください。
- 4) 検量線の有効期間は 90 日です。これを過ぎた場合は、新たに検量線を作成してください。また、精度管理用サンプルの測定値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられる場合には、90 日以内であっても検量線を作成しなおしてください。
- 5) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体を保存する場合は、2～8℃で保存し、7 日以内に測定してください。7 日以内に測定しない場合は、-20℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
- 6) 試験器具などの汚れは判定を誤らせる場合がありますので、清浄なものを使用してください。
- 7) 本品は血清又は血漿中のシスタチンC測定試薬ですので、検体には血清、ヘパリン血漿又は EDTA 血漿のみを用いてください。
- 8) 検体には HAMA（Human Anti-Mouse Antibody）を含むものがありますので、マウスモノクローナル抗体を用いた測定系では正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご使用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
- 9) アスホターゼ アルファ（遺伝子組換え）製剤を投与されている患者の検体では、測定値に影響を受ける可能性があります。
- 10) 開封後の検体希釈液を保存する際は、密封してください。密封に用いるキャップ等の汚れは、試薬劣化の原因となりますので、清浄なものを使用してください。
- 11) 濃縮やコンタミネーションの影響を避けるため、一度装置にセットした検体希釈液には注ぎ足しをしないで残液は廃棄してください。
- 12) AIA-600 II をご使用の場合、検体希釈液を 30 mL 用の別容器に移し替えて装置にセットする必要がありますが、容器は清浄なものを使用してください。
- 13) 調製後の基質液は、血清、ごみ、金属類、微生物などの混入により酵素基質成分の分解が促進される場合がありますので、清浄な状態で保存してください。

2. 取扱い上（危険防止）の注意

- 1) 試料（検体）は HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険性を避けるために使い捨て手袋を着用し、また口によるビベティングを行わないでください。
- *2) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）免疫反応試薬、Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品セット、Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）検体希釈液、Eテスト「TOSOH」II 基質セット、Eテスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

3. 廃棄上の注意

- *1) Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）免疫反応試薬、Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）標準品セット、Eテスト「TOSOH」II（シスタチンC）検体希釈液、Eテスト「TOSOH」II 基質セット、Eテスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。
- 2) 検体の付着したビベットチップ、手袋などの器具、及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば 121℃、20 分以上）などで滅菌後廃棄してください。
- 3) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法 2～8℃保存
2. 有効期間 12ヶ月
※使用期限は、各構成試薬の外箱等のラベルに記載されています。

*【包装単位】

品番	品名	包装
0025217	 Eテスト「TOSOH」II （シスタチンC）免疫反応試薬	100 回測定分
0025317	 Eテスト「TOSOH」II （シスタチンC）標準品セット	標準品（1）～（6）： 各 1.0 mL 入り ×2 本
0025517	 Eテスト「TOSOH」II （シスタチンC）検体希釈液	100 mL 入り ×4 本
0015968	Eテスト「TOSOH」II 基質セット Eテスト「TOSOH」II 基質 Eテスト「TOSOH」II 基質溶解液	100 mL 用 ×2 本 100 mL 入り ×2 本
0015955	Eテスト「TOSOH」II 洗浄液	100 mL 入り ×4 本
0015956	Eテスト「TOSOH」II 分注液	100 mL 入り ×4 本

【主要文献】

1. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A: Structure and expression of the human cystatin C gene. Biochem J 1: 287-294 (1990).
2. Simonsen O, Grubb A, Thysell H: The blood serum concentration of cystatin C (γ -trace) as a measure of the glomerular filtration rate. Scand J Clin Lab Invest 45: 97-101 (1985).
3. Randers E, Erlandsen EJ: Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function a review. Clin Chem Lab Med 37: 389-395 (1999).
4. Grubb A: Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. Clinical Nephrology 38: 20-27 (1992).
5. Coll E, Botey A, Alvarez L, et al.: Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. Am J Kidney Dis 36: 29-34 (2000).
6. Newman DJ: Cystatin C. Ann Clin Biochem 39: 89-104 (2002).
7. Filler G, Witt I, Priem F, Ehrlich JH, Jung K: Are cystatin C and beta 2-microglobulin better markers than serum creatinine for prediction of a normal glomerular filtration rate in pediatric subjects. Clin Chem 43: 1077-1088 (1997).
8. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H: Serum concentration of cystatin C, factor D and β_2 -microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. Acta Med Scand 218: 499-503 (1985).
9. Hoke FJ, Kemperman FAW, Krediet RT: A comparison between cystatin C, plasma creatinine and the Cockcroft and Gault formula for the estimation of glomerular filtration rate. Nephrol Dial Transplant 18: 2024-2031 (2003).
10. Pucci L, Triscornia S, Lucchesi D, Fotino C, et al.: Cystatin C and estimates of renal function: searching for a better measure of kidney function in diabetic patients. Clin Chem 53: 480-488 (2007).
11. 佐藤弘恵, 風間潤一郎, 下条文武, cystatin C 精密測定, モダンメディア, 52 巻 4 号: 184-192 (2006).
12. 堀田修, 遊佐なを子, 向山一郎, 田熊淑男: 内科的腎疾患腎機能評価における cystatin-C の有用性- β_2 -microglobulin, α_1 -microglobulin, クレアチニンとの比較-, 日腎会誌, 41 (8): 797-803 (1999).
13. 平田明彦, 五十嵐雅彦, 富永真琴: 糖尿病の免学・病態・診断学の進歩, 血液検査シスタチン C. 日本臨床, 60 (8): 515-519 (2002).
14. 金子拓志, 石川直子, 丸山佐和子, 平野有司, 芳賀博子, 小林聡子, 原光雅: 血清シスタチン C, 24 時間クレアチンクリアランス, 血清クレアチニン, 予測式による糸球体濾過率 estimated glomerular filtration rate (eGFR) の相互関係と血清シスタチン C の有用性, 医学検査, 56 (6): 955-963 (2007).

【問い合わせ先】

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川 2743-1
フリーダイヤル® 0120-17-1200
TEL. (0467) 76-5384
FAX. (0467) 79-2550

※※【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

製造販売元



TOSOH

東ソー株式会社

東京都中央区八重洲 2-2-1

製造元



TOSOH

東ソー・エイアイエイ株式会社

富山県富山市岩瀬古志町 2 番地