

Quantitative determination of Cystatin C (C-CYS) IVD

Store 2 - 8°C.

PRINCIPLE OF THE METHOD

The C-CYS is a quantitative turbidimetric test for the measurement of Cystatin C in serum or plasma.

Latex particles coated with polyclonal rabbit anti-Cystatin C antibodies are agglutinated when mixed with samples containing Cystatin C. The agglutination causes an absorbance change, dependent upon the C-CYS contents of the patient sample. Cystatin C concentration is then determined by interpolation from a calibration curve prepared from calibrators of known concentrations.

CLINICAL SIGNIFICANCE

Cystatin C is a low molecular weight (13 kDa) cytoplasmic protein, functioning as an inhibitor of various cysteine proteases in the bloodstream. Cystatin C has a stable production rate and is removed from the blood circulation by glomerular filtration. In healthy individuals Cystatin C is completely reabsorbed and degraded in the tubules but in subjects with renal tubular disorders its level in blood may be raised as high as 2 to 5 times normal values. Unlike creatinine, Cystatin C is unaffected by inflammatory processes, sex, age, diet, and nutritional status. Numerous studies have shown that serum Cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of GFR ^(1, 2).

REAGENTS

Diluent (R1)	Tris buffer 20 mmol/L, pH 8.6.
Latex (R2)	Synthesized polystyrene latex particles coated with polyclonal anti- Cystatin C antibodies (rabbit)
Optional	C-CYS Calibrator Set C-CYS Control Set

PRECAUTIONS

Components from human origin have been tested and found to be negative for the presence of HBsAg, HCV, and antibody to HIV (1/2). However, handle cautiously as potentially infectious.

CALIBRATION

Cys-C Calibrators sold separately from Spinreact should be used for calibration and 0.9% NaCl shall be used for the zero calibrator (blank solution). It is recommended that each laboratory determine calibration frequency, as this would depend on the analyzer in use as well as the types and number of other assays being run. A new calibration curve should be drawn at least once a month or when a new lot of reagent is used.

PREPARATION

Reagents are ready for use. Do NOT shake the reagent bottles when set on analyzers.

STORAGE AND STABILITY

All the components of the kit are stable until the expiration date on the label when stored tightly closed at 2-8°C and contaminations prevented during their use. Reagents should not be left inside the analyzer after use, they must be stored refrigerated at 2-8°C. Latex may sediment. Mix reagents gently before use. Do not use reagents over the expiration date.

Reagent deterioration: Presence of particles (R1, R2) and turbidity (R1).

ADDITIONAL EQUIPMENT

- Thermostatic bath at 37°C.
- Spectrophotometer or photometer thermostatable at 37°C with a 546 nm filter.

SAMPLES

Human serum, EDTA-plasma and heparinized-plasma can be used for the assay. After sampling, the test should be performed without delay. If the test cannot be performed immediately, the sample should be placed in a tightly sealed container and stored at -20°C or below. Once the sample has been thawed it should not be refrozen.

For serum samples, after the blood has clotted thoroughly, the sample should be centrifuged to allow the serum to be separated from blood cells and fibrin.

PROCEDURE

The assay should be conducted according to the specific application parameters for the automated chemistry analyzer in use.

1. Incubate 3 µL sample with 230 µL R1 at 37°C for 5 minutes.
2. Add 50 µL R2.
3. Read absorbance change at 546 nm for 4 minutes, 30 seconds after the addition of R2.
4. Calculate Cystatin concentration with the read absorbance change by interpolation from a calibration curve prepared with calibrators of known concentrations.

SPINREACT has instruction sheets for several automatic analyzers. Instructions for many of them are available on request.

QUALITY CONTROL

For quality control, use Cys-C Controls sold separately from Spinreact. Each laboratory should establish its own Quality Control scheme and corrective actions if controls do not meet the acceptable tolerances.

REFERENCE VALUES

0.59 – 1.03 mg/L

It is recommended each laboratory establish its own reference intervals based on its patient population.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. **Detection limit:** Values less than 0.1 mg/L give non-reproducible results.
2. **Measurement range:** Up to 10 mg/L, under the described assay conditions. Samples with higher concentrations should be diluted 1/5 in NaCl 9 g/L and retested again. The linearity limit and measurement range depends on the sample to reagent/ratio, as well as the analyzer used. It will be higher by decreasing the sample volume, although the sensitivity of the test will be proportionally decreased.
3. **Prozone effect:** No prozone effect was detected up to 60 mg/L.
4. **Precision:**

Mean (mg/L)	Intra-assay (n=10)	
	0.545	0.545
SD	0.010	0.009
CV	1.82	0.85

5. **Accuracy:** Results obtained using this reagent (y) was compared to those obtained using a commercial reagent (x) with similar characteristics. 100 samples ranging from 0.58 to 6.42 mg/L of C-CYS were assayed. The correlation coefficient (r) was 0.999 and the regression equation $y=1.047x - 0.080$.

The results of the performance characteristics depend on the analyzer used.

INTERFERENCES

Hemoglobin (up to 500 mg/dL), conjugated and unconjugated bilirubin (up to 30 mg/dL), and Intralipid (up to 5%) do not interfere with Cystatin C determination of this test. Other substances may interfere.

NOTES

Clinical diagnosis should not be made on findings of a single test result, but should integrate both clinical and laboratory data.

BIBLIOGRAPHY

1. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínéz-Brú C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research. Clin. Biochem. 38: 1, 2005.
2. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. Am J Kidney Dis. 40, 221, 2002.

PACKAGING

Ref.: 43070

Cont.

R1. Diluent: 1 x 20 mL
R2. Latex: 1 x 4 mL



Cistatina C-turbilátex

Turbidimetría Látex

Determinación cuantitativa de Cistatina C (C-CYS)

IVD

Conservar a 2- 8°C.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

C-CYS es un ensayo turbidimétrico para la cuantificación de Cistatina C en suero o plasma.

Las partículas de látex recubiertas con anticuerpos policlonales de conejo anti-Cistatina C, son aglutinadas por C-CYS presente en la muestra del paciente. El proceso de aglutinación provoca un cambio de absorbancia proporcional a la concentración de Cistatina C de la muestra. La concentración de Cistatina C se determina por interpolación de la curva de calibración preparada a partir de calibradores de concentraciones conocidas.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La Cistatina C es una proteína citoplasmática de bajo peso molecular (13 kDa), que funciona como inhibidor de varias cistein proteasas en el torrente sanguíneo. La Cistatina C tiene una velocidad de producción estable y se elimina de la sangre por filtración glomerular. En individuos sanos, la Cistatina C es completamente absorbida y degradada en los túbulos, pero en individuos con desórdenes renales, los valores de Cistatina C pueden aumentar de 2 a 5 veces por encima de sus valores normales. A diferencia de la creatinina, la Cistatina C no se ve afectada por procesos inflamatorios, sexo, edad, dieta y estado nutricional. Numerosos estudios han demostrado que el suero Cistatina C es mejor marcador TFG que el suero creatinina ^(1,2).

REACTIVOS

Diluyente (R1)	Tampón tris 20 mmol/L, pH, 8,6 .
Látex (R2)	Partículas de látex recubiertas de anticuerpos policlonales anti- Cistatina C (conejo)
Opcional:	Calibrador Cistatina C Control Cistatina C

PRECAUCIONES

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV, y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

CALIBRACIÓN

Usar los calibradores de Cistatina C vendidos por separado por Spinreact. Para el blanco se debe usar NaCl 0.9%. Se recomienda que cada laboratorio establezca la frecuencia de calibración, ya que ésta depende del tipo de analizador usado, así como del tipo y número de otros ensayos realizados. Se debe realizar una nueva curva de calibración al menos una vez al mes y siempre que se use un nuevo lote de reactivo.

PREPARACIÓN

Los reactivos están listos para su uso. No agitar los frascos de reactivo cuando se usen en los analizadores.

CONSERVACIÓN Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No deben dejarse los reactivos dentro del analizador después de su uso; conservar refrigerados a 2-8°C. El látex puede sedimentar. Agitar suavemente los reactivos antes de usar.

No utilizar reactivos que hayan sobrepasado la fecha de caducidad.

Deterioro de los reactivos: Presencia de partículas (R1, R2) y turbidez (R1).

MATERIAL ADICIONAL

- Baño de agua a 37°C.
- Espectrofotómetro o fotómetro con cubeta termostatable a 37°C para lecturas a 546 nm.

MUESTRAS

Suero humano, plasma-EDTA o plasma- heparinizado. Una vez tomada la muestra, el ensayo se debe realizar sin demora. Si el ensayo no se puede realizar inmediatamente, la muestra se debe conservar bien cerrada a Temperaturas ≤ -20°C. Una vez descongelada, la muestra no se puede volver a congelar. Las muestras de suero se deben centrifugar para permitir que el suero se separe de los hematíes y fibrina.

PROCEDIMIENTO

El ensayo se debe realizar de acuerdo a la aplicación de los parámetros específicos al analizador químico automático en uso.

1. Incubar 3 µL de muestra con 230 µL R1 a 37°C durante 5 minutos.
2. Añadir 50 µL de R2.
3. Leer el cambio de absorbancia a 546nm 30 segundos después de la adición de R2 y a los 4 minutos.
4. Calcular la concentración de Cistatina C con la lectura del cambio de absorbancia por interpolación de la curva de calibración preparada con calibradores de concentraciones conocidas.

SPINREACT dispone de adaptaciones detalladas a la mayoría de analizadores automáticos del mercado. Solicite la información a su distribuidor.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar los controles C-CYS vendidos por separado por Spinreact.

Cada laboratorio debería establecer su propio Control de Calidad y establecer correcciones en el caso de que los controles no cumplan con las tolerancias exigidas.

VALORES DE REFERENCIA

0.59-1.03 mg/L

Es recomendable que cada laboratorio establezca sus propios valores de referencia.

CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

1. **Límite de detección:** valores por debajo de 0.1 mg/L dan lugar a resultados poco reproducibles.
2. **Rango de medida:** Hasta 10mg/L, en las condiciones descritas del ensayo. Puede variar en función del analizador o espectrofotómetro utilizado. Las muestras con valores superiores deben diluirse 1/5 en NaCl 9 g/L y ensayarse de nuevo. La linealidad y el rango de medida dependen de la relación muestra/reactivo. Disminuyendo el volumen de muestra, se aumenta el límite superior de linealidad, aunque se reduce la sensibilidad.
3. **Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta valores de 60 mg/L.
4. **Precisión:**

	Intraserie (n=10)	
Media (mg/L)	0.545	1.058
SD	0.010	0.009
CV	1.82	0.85

5. **Exactitud:** El comportamiento de este método (y) fue comparado con otro método (x) de características similares. 100 muestras de concentraciones de C-CYS entre 0.58 y 6.42 mg/L fueron analizadas con ambos métodos. El coeficiente de correlación (r) fue de 0,999 y la ecuación de la recta de regresión $y = 1.047x - 0.080$. Las características del método pueden variar según el analizador utilizado.

INTERFERENCIAS

Bilirrubina (hasta 30 mg/dL), hemoglobina (hasta 500mg/dL) y lípidos (hasta 5%), no interfieren. Otras sustancias pueden interferir.

NOTAS

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínéz-Brú C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research. Clin. Biochem. 38: 1, 2005.
2. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. Am J Kidney Dis. 40, 221, 2002.

PRESENTACIÓN

Ref.: 43070

Cont.

R1. Diluyente: 1 x 20 mL
R2. Látex : 1 x 4 mL

Cistatina C-turbilatex

Turbidimetria Latex

Determinação quantitativa de Cistatina C (C-CYS)

IVD

Armazenar 2- 8 °C.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

C-CYS é um ensaio turbidimétrico para a quantificação de Cistatina C no soro ou plasma.

As partículas de latex revestidas com anticorpos policlonais de coelho anti-Cistatina C são aglutinadas por C-CYS presente na amostra do paciente. O processo de aglutinação provoca uma mudança de absorção proporcional à concentração de Cistatina C da amostra. A concentração de Cistatina C determina-se por interpolação da curva de calibração preparada a partir de calibradores de concentrações conhecidas.

SIGNIFICADO CLÍNICO

A Cistatina C é uma proteína citoplasmática de baixo peso molecular (13 kDa), que funciona como inibidor de várias cisteínas proteases no fluxo sanguíneo. A Cistatina C tem uma velocidade de produção estável e elimina-se do sangue por filtração glomerular. Em indivíduos sãos, a Cistatina C é completamente absorvida e degradada nos túbulos, mas em indivíduos com insuficiências renais, os valores de Cistatina C podem aumentar de 2 a 5 vezes acima dos seus valores normais. Ao contrário da creatinina, a Cistatina C não é afetada por processos inflamatórios, sexo, idade, dieta e estado nutricional. Inúmeros estudos demonstraram que o soro Cistatina C é melhor marcador TFG do que o soro creatinina^(1,2).

REAGENTES

Diluyente (R1)	Tampão tris 20 mmol/L, pH, 8,6 .
Latex (R2)	Partículas de latex revestidas por anticorpos policlonais anti-Cistatina C (coelho)
Opcional:	Calibrador Cistatina C Controlo Cistatina C

PRECAUÇÕES

Os componentes de origem humana foram testados e tiveram resultados negativos para HBsAg, VHC e anticorpos para o VIH (1/2). Contudo, manusear com cuidado, como potencialmente infeccioso.

CALIBRAÇÃO

Utilizar os calibradores de Cistatina C vendidos em separado pela Spinreact. Para o branco, deve utilizar-se NaCl 0,9%. Recomenda-se que cada laboratório estabeleça a frequência de calibração, uma vez que esta depende do tipo de analisador utilizado, bem como do tipo e número de outros ensaios realizados. Deve-se realizar uma nova curva de calibração, pelo menos uma vez por mês, e sempre que se utilize um novo lote reativo.

PREPARAÇÃO

Os reagentes estão prontos para utilização. Não agitar os frascos de reagente quando se utilizarem nos analisadores.

CONSERVAÇÃO E ESTABILIDADE

Todos os componentes do kit são estáveis até à data de validade que consta da etiqueta quando armazenados bem fechados a 2-8 °C e as contaminações são evitadas durante a sua utilização. Os reagentes não devem ser deixados dentro do analisador após o uso; mantenha refrigerado a 2-8°C. O látex pode sedimentar. Agite suavemente os reagentes antes de usar

Não utilizar os reagentes após passar o prazo de validade.

Reagente de degradação: Presença de partículas (R1, R2) e turbidez (R1).

EQUIPAMENTO ADICIONAL

- Banho de água a 37 °C.
- Espectrofotómetro ou fotómetro com cuvette termostaticável a 37 °C para leituras a 546 nm.

AMOSTRAS

Soro humano, plasma-EDTA ou plasma- heparinizado. Uma vez recolhida a amostra, o ensaio deve realizar-se sem demoras. Se o ensaio não se puder realizar imediatamente, a amostra deve-se conservar bem fechada a temperaturas ≤ -20°C. Uma vez descongelada, a amostra não se pode voltar a congelar. As amostras de soro devem-se centrifugar para permitir que o soro se separe dos eritrócitos e fibrina.

PROCEDIMENTO

O ensaio deve ser realizado de acordo com a aplicação dos parâmetros específicos do analisador químico automático em utilização.

1. Incubar 3 µL de amostra com 230 µL R1 a 37°C durante 5 minutos.
2. Acrescentar 50 µL de R2.
3. Ler a mudança de absorção a 546nm 30 segundos depois da adição de R e aos 4 minutos.
4. Calcular a concentração de Cistatina C com a leitura da mudança de absorção por interpolação da curva de calibração preparada a partir de calibradores de concentrações conhecidas.

A Spinreact dispõe de adaptações detalhadas para a maioria dos analisadores automáticos existentes no mercado. Solicite a informação ao seu distribuidor.

CONTROLO DE QUALIDADE

Recomenda-se a utilização dos controlos C-CYS vendidos em separado pela Spinreact.

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio esquema de Controlo de Qualidade e as ações corretivas no caso de os controlos não estarem de acordo com as tolerâncias aceitáveis.

VALORES DE REFERÊNCIA

0,59-1,03 mg/L

Cada laboratório deve estabelecer o seu próprio intervalo de referência.

CARACTERÍSTICAS DO MÉTODO

1.Limite de quantificação: Os valores menores de 0,1 mg/L dão resultados que não podem ser reproduzidos.

2.Intervalo de medição: até 10 mg/L, nas condições descritas do ensaio. Pode variar em função do analisador ou espectrofotómetro utilizado. As amostras com valores superiores, devem diluir-se na proporção 1/5 em NaCl 9 g/L e testar-se novamente. A linearidade e o intervalo de medição dependem da relação amostra/reagente. Diminuindo o volume de amostra, aumenta-se o limite superior de linearidade, embora se reduza a sensibilidade.

3.Efeito prozona: Não foi detetado qualquer efeito prozona abaixo de 60 mg/L.

4.Precisão:

	Intrasérie (n=10)	
Média (mg/L)	0,545	1,058
SD	0,010	0,009
CV	1,82	0,85

5. Exatidão: O comportamento deste método (y) foi comparado com outros método (x) de características similares. 100 amostras de concentrações de C-CYS entre 0,58 e 6,42 mg/L foram analisadas com ambos os métodos. O coeficiente de correlação (r) foi de 0,999 e a equação da reta de regressão y = 1,047x – 0,080.

As características do método podem variar de acordo com o analisador utilizado.

INTERFERÊNCIAS

Bilirrubina (até 30 mg/dL), hemoglobina (até 500mg/dL) e lípidos (até 5%), não interferem. Outras substâncias podem interferir.

NOTAS

O diagnóstico clínico não deve ser realizado unicamente com os resultados de um único ensaio, devendo considerar-se em conjunto os dados clínicos do doente.

BIBLIOGRAFIA

1. Filler G, Bökenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martínéz-Brú C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR - history, indications, and future research. Clin. Biochem. 38: 1, 2005.
2. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. Am J Kidney Dis. 40, 221, 2002.

APRESENTAÇÃO

Ref.: 43070

Cont.

R1. Diluyente: 1 x 20 mL

R2. Latex :1 x 4 mL