

Th2ケモカイン・TARCキット

HISCL® TARC試薬

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
2. 診断の際には、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用方法については保証をいたしかねます。
4. 測定に使用する機器の添付文書および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)】

本キットは、次の試薬により構成されています。

1. HISCL TARC R1試薬 (以下、R1試薬)
ビオチン標識マウス抗ヒトTARCモノクローナル抗体
2. HISCL TARC R2試薬 (以下、R2試薬)
ALP標識マウス抗ヒトTARCモノクローナル抗体
3. HISCL TARC R3試薬 (以下、R3試薬)
ALP標識マウス抗ヒトTARCモノクローナル抗体
4. HISCL発光基質セット
(1) HISCL R4試薬 (以下、R4試薬)
(2) HISCL R5試薬 (以下、R5試薬)
CDP-Star®
5. HISCL洗浄液 (以下、洗浄液)
6. HISCL TARCキャリブレーションプレート (以下、キャリブレーションプレート)

(1) HISCL TARC C0 (凍結乾燥品)	0 pg/mL (調製後)
(2) HISCL TARC C1 (凍結乾燥品)	100 pg/mL (調製後)
(3) HISCL TARC C2 (凍結乾燥品)	500 pg/mL (調製後)
(4) HISCL TARC C3 (凍結乾燥品)	2,000 pg/mL (調製後)
(5) HISCL TARC C4 (凍結乾燥品)	8,000 pg/mL (調製後)
(6) HISCL TARC C5 (凍結乾燥品)	30,000 pg/mL (調製後)

ALP : アルカリホスファターゼ

CDP-Star®: Disodium 2-chloro-5-(4-methoxy Spiro[1,2-dioxetane-3,2'-(5'-chloro)-tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan]-4-yl)-1-phenylphosphate

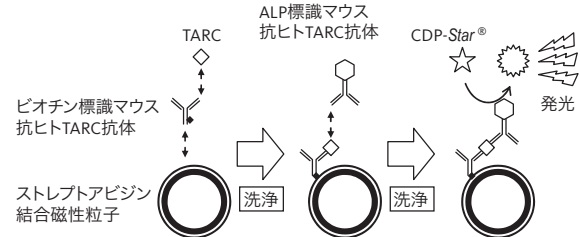
【使用目的】**

血清中ヒトTARC量の測定 (アトピー性皮膚炎の重症度評価の補助、SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助)

【測定原理】

本品は、2ステップサンドイッチ法を用いた化学発光酵素免疫測定法です。

1. R1試薬中のビオチン標識マウス抗ヒトTARCモノクローナル抗体が試料中のTARCと特異的に反応し、次いでR2試薬中のストレプトアビジン結合磁性粒子に結合します。
2. 未反応液を除去後、R3試薬を添加すると、ALP標識マウス抗ヒトTARCモノクローナル抗体が磁性粒子上のTARCと特異的に反応します。
3. 未反応液を除去後、R4試薬及びR5試薬を添加すると発光基質CDP-Star®が磁性粒子上のALPにより酵素分解され、生じた発光強度を測定します。
4. 試料中のTARC濃度を反映して発光強度が増加しますので、あらかじめ既知濃度のTARCを含む試料(HISCL TARC C0～C5)を測定して検量線を作成しておくことにより、試料中のTARC濃度を求める事ができます。



【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

1. 検体は血清を使用してください。
トロンビン入りの採血管は測定値に影響を与えるおそれがあるため使用しないでください。
2. 検体は採取後、できるだけ速やかに測定してください。
3. 検体は室温に戻してから使用してください。
4. 検体の保存が必要な場合は、冷蔵(2～8°C)又は-20°C以下の凍結保管で1ヵ月間保存できます。ただし凍結融解を繰り返すことは避けてください。
5. 凍結保存されていた検体を使用する場合は、速やかに融解し、よく混和してから使用してください。

妨害物質・妨害薬剤**

1. フィブリン塊等の固形物が見られる検体は、2000×gで10分間以上遠心分離し、固形物を除去してから測定してください。
2. 濁りのある検体、溶血が見られる検体は、正しく測定が行えない恐れがあります。
3. ヘモグロビン(491 mg/dL以下)、ビリルビン(ビリルビンF: 19.4mg/dL以下、ビリルビンC: 20.3 mg/dL以下)、乳び(1410ホルマジン濁度数以下)、ビオチン(ビタミンB7: 25 ng/mL以下)及びリウマチ因子(550 IU/mL以下)は、記載の濃度以下では判定に影響を与えません⁽¹⁾。
4. ヒトMDC (macrophage-derived chemokine)、ヒトMCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1)、ヒトEotaxin及びマウスTARCについて検討した結果、MDCは2,500 ng/mL、MCP-1は1,000 ng/mL、Eotaxinは2,000 ng/mL、マウスTARCは2,500 ng/mLまで交差反応を認めませんでした⁽¹⁾。

その他

1. 本品は「全自動免疫測定装置HISCL-2000 i」(シスメックス株式会社)又は同等品の専用試薬であり、他の装置には使用できません。
2. 必ず本添付文書で指定された試薬を使用してください。
3. R1～R3試薬容器は、後述の測定(操作)法に従って正しく組み立ててから使用してください。組立が不完全な場合、装置のエラーや試薬の蒸発が起り、正しく測定が行えない恐れがあります。
4. R4試薬、R5試薬を装置にセットする際には、体液中に広く含まれるアルカリホスファターゼの混入を防ぐため、手指の接触や唾液の飛散等に注意して取り扱ってください。またR5試薬はアルカリ性であり、空気中の二酸化炭素によるpH変動を避けるため、セット後は交換時まで取り外さないでください。
5. 試料をサンプルカップ等に分注する場合は、蒸発の影響を考慮して200µL以上分注してください。なお、最低分注量については、装置の取扱説明書をご覧ください。

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

1. R1～R5 試薬及び洗浄液は調製済みですので、そのまま使用してください。
2. キャリブレーションプレートはHISCL TARC C0～C5に各々0.5mLの精製水を加えて、転倒混和し溶解してください。調製後の溶液はそれぞれHISCL TARC C0溶液～C5溶液とします。

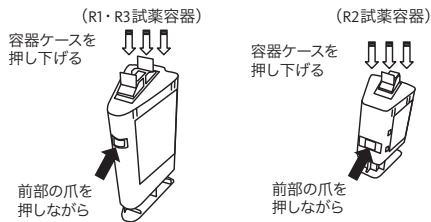
必要な器具・器材・試料等

- ・HISCL-2000i又は同等品
- ・マイクロピペット 0.5mL
- ・消耗品
反応キュベット、チップ等

測定（操作方法）

1. 準備

- (1) R2試薬容器を取り出し、気泡が生じないようにゆるやかに手振り攪拌し、磁性粒子が分散されたことを目視で確認してください（転倒混和は避けてください）。
- (2) 初回のみ、試薬容器前部の爪を押しながら容器ケースを完全に押し下げてください（アルミシールが破れて開栓されます）。



- (3) 使用する装置の取扱説明書に従い、試薬容器を装置にセットしてください。

2. 操作法

(1) 標準操作法※1

- 1) 反応キュベットにR1試薬50μLと試料10μLを分注し、42°Cで2分間反応させます。
- 2) R2試薬30μLを分注し、42°Cで1分間反応させた後、磁気分離（反応キュベットに磁石を近づけ、液体部分を吸引除去）します。
- 3) 洗浄液100～700μLの分注と磁気分離を組み合わせ洗浄します。この操作を計4回行います。
- 4) R3試薬100μLを分注し、42°Cで2.5分間反応させた後、磁気分離します。
- 5) 洗浄液100～700μLの分注と磁気分離を組み合わせ洗浄します。この操作を計4回行います。
- 6) R4試薬50μLを分注して混合攪拌した後、R5試薬100μLを分注して混合攪拌し、42°Cで5分間反応させ、波長300～650 nmの範囲の発光強度を測定します。

(2) 検量線の作成

- 1) HISCL TARC C0溶液～C5溶液のそれぞれを、泡立たないように静かに攪拌し、使用する装置の取扱説明書に従ってセットします。
- 2) (1)標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- 3) HISCL TARC C0溶液～C5溶液の発光強度を縦軸に、濃度を横軸にとり、検量線を作成します。※1

(3) 試料の測定

- 1) 使用する装置の取扱説明書に従って試料をセットします。
- 2) (1)標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- 3) 発光強度を検量線に当てはめ、試料中のTARC濃度を求めます。※1

※1 装置ではこれらの操作を自動で行います。

【測定結果の判定法】**

判定法

1. アトピー性皮膚炎の重症度評価の補助

参考基準範囲^{(2),(3)}

小児(6ヵ月以上12ヵ月未満)	: 1,367 pg/mL 未満
小児(1歳以上2歳未満)	: 998 pg/mL 未満
小児(2歳以上)	: 743 pg/mL 未満
成人	: 450 pg/mL 未満

基準範囲は様々な要因により変動することがありますので、あらかじめ各施設で設定することをお勧めいたします。

2. SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助

カットオフ値^{(1),(4)}

成人: 95.0 pg/mL

SARS-CoV-2陽性患者において、重症(呼吸不全を伴う中等症Ⅱ以上)化する患者のTARC濃度は、発症初期からカットオフ値以下の値を示すことが確認されています⁽¹⁾。

判定上の注意

< SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助 >

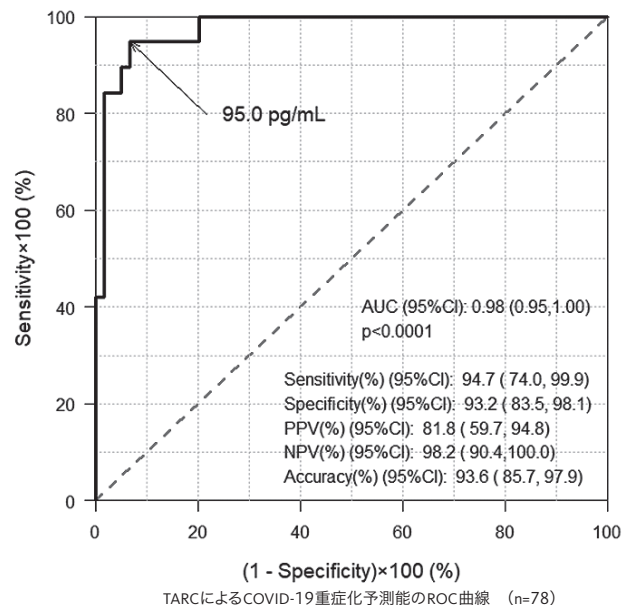
1. 本品はSARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助を目的としているため、重症化後には使用しないでください。なお、重症化する患者でもカットオフ値以下であったTARC濃度が病態経過に応じて上昇する症例があるため、SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助には、他の関連検査及び臨床症状等も含めて総合的に判断してください。

< 使用目的共通 >

2. 免疫反応においては、一般的に非特異反応により異常高値となる場合があることが知られていますので、測定結果に基づく診断は他の関連検査及び臨床症状等により総合的に判断してください。
非特異反応の原因としては、各種の自己抗体、不溶物(特にフィブリン)及び自然抗体などが考えられます。
3. 測定結果が測定範囲上限を超えた検体は、別売のHISCL 検体希釈液(1%BSAを含むトリエタノールアミン緩衝液、pH7.5)を用いて希釈し、再検査してください。また検体を希釈する場合は正しく希釈してください。

【臨床的意義】(SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助)**

TARCはCCケモカインの一つ(CCL17)であり、リンパ球(CCR4を発現するTh2細胞)を炎症部位に遊走させる作用をもつ分子です。アトピー性皮膚炎では、Th2優位の免疫応答により、IgE産生や好酸球の潤滑・活性化が惹起されてアレルギー症状が出現すると考えられています。



TARCによるCOVID-19重症化予測能のROC曲線 (n=78)

杉山らは、SARS-CoV-2に感染した患者血清中のTARC量を経時的に測定し、酸素吸入・人工呼吸器の装着が必要となった重症(呼吸不全を伴う中等症Ⅱ以上)化群と必要にならなかった軽症(中等症Ⅰ以下)群⁽⁵⁾の入院直後のTARC量を比較検討した結果、重症化群のTARC濃度が軽症群に比べて有意に低いことを見出し、本分子のSARS-CoV-2陽性判定後速やかな測定が、重症化する可能性のある患者を早期に予測するために有用であることを報告しています⁽⁴⁾。酸素吸入・人工呼吸器の装着が必要となった重症化群(19例)と軽症群(59例)の、ROC解析によるカットオフ値は95.0 pg/mLでした⁽¹⁾⁽⁴⁾。

臨床性能試験成績

本臨床性能試験⁽¹⁾はSARS-CoV-2感染により入院となった患者において、本品の重症化リスクの判定補助に対する臨床的有用性を検証することを目的として実施しました。対象患者の重症度は、厚生労働省より公表されている「新型コロナウイルス感染症(COVID-19)診療の手引き」(第4.2版)⁽⁵⁾の重症度分類により呼吸不全を伴う中等症Ⅱ以上を重症としました。

入院時に採血した78例について、血清中のTARC濃度がカットオフ値(95.0 pg/mL)以下となった症例を本品の陽性とし、重症化との関係をまとめた結果は次のとおりです。

表1 本品による陽性判定と重症化との関係

TARC	重症度	重症度	
		重症(呼吸不全を伴う中等症Ⅱ以上)群	軽症(中等症Ⅰ以下)群
陽性		18	4
陰性		1	55

本品と重症化との全体一致率は93.6%でした。また、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ94.7%、93.2%、81.8%、98.2%でした。

なお、表1の症例から採血日と重症化日(中等症Ⅱ以上の症状を示した日)が同一であった12症例を除外した66症例について実施したところ、表2のとおりでした。

表2 本品による陽性判定と重症化との関係(12症例除外)

TARC	重症度	重症度	
		重症(呼吸不全を伴う中等症Ⅱ以上)群	軽症(中等症Ⅰ以下)群
陽性		6	4
陰性		1	55

本品と重症化との全体一致率は92.4%でした。また、12例を除外しないで設定したカットオフ値95.0 pg/mLのもとの、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率はそれぞれ85.7%、93.2%、60.0%、98.2%でした。

また、表2の重症群(7症例)の採血日と酸素吸入開始日の関係は表3に示すとおりでした。

表3 重症群における採血日と酸素吸入開始日の関係

登録ID	発症日	採血日(A)	酸素吸入開始日(B)	B-A(日)	TARC測定値(pg/mL)
A	2020/3/28	2020/3/29	2020/3/30	1	54.0
B	2020/3/30	2020/4/8	2020/4/9	1	93.6
C	2020/2/13	2020/2/18	2020/2/20	2	33.7
D	2020/3/18	2020/3/28	2020/3/30	2	118.9
E	2020/3/8	2020/3/16	2020/3/19	3	33.5
F	2020/3/22	2020/3/28	2020/3/31	3	73.6
G	2020/4/5	2020/4/12	2020/4/18	6	84.2

酸素吸入開始日を重症化日(中等症Ⅱ以上の症状を示した日)としました。

【性能】

性能**

1. 感度試験

HISCL TARC C0溶液の発光強度 L_{C0} に対するHISCL TARC C1溶液の発光強度 L_{C1} の比 L_{C1}/L_{C0} は10以上で、HISCL TARC C1溶液の発光強度 L_{C1} に対するHISCL TARC C5溶液の発光強度 L_{C5} の比 L_{C5}/L_{C1} を計算するとき165以上です。

2. 正確性試験

既知濃度の管理用検体^{※2}を測定するとき、管理用検体の濃度は既知濃度の $\pm 20\%$ 以内です。

3. 同時再現性試験

管理用検体を5回同時に測定するとき、測定値のCV値は、低濃度の検体は15%以下、中及び高濃度の検体は10%以下です。

4. 測定範囲

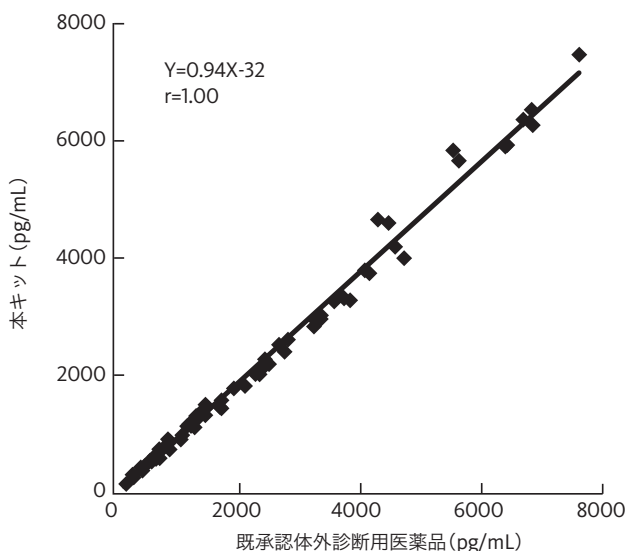
10 ~ 30,000 pg/mL

※2管理用検体:管理用検体はヒトTARCを添加して下記の範囲となるよう調製した血清です。

低濃度管理用検体	150 ~ 400 pg/mL
中濃度管理用検体	700 ~ 3,000 pg/mL
高濃度管理用検体	6,000 ~ 20,000 pg/mL

相関性試験成績

既承認体外診断用医薬品(アラポート TARC)との相関性は、回帰式 $Y = 0.94X - 32$ 、相関係数 $r = 1.00$ ($n = 91$)でした⁽¹⁾。



較正用基準物質に関する情報

ヒトTARCの一次標準物質として、遺伝子組換えヒトTARCを使用し、その定量はアミノ酸分析により行いました。

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上(危険防止)の注意

- R1、R2、R4 試薬及びHISCL 検体希釈液には、アジ化ナトリウムが含有されていますが、法的には毒物として取扱われません。また、R5 試薬はアルカリ性(pH9.6)です。これらの試薬が誤って目や口に入ったり皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 検体はHBV、HCV、HIV等による感染の恐れがあるものとして、取扱いには厳重な注意をしてください。
- 検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋等を着用してください。
- 感染を避けるために口によるピペティングを行わないでください。

使用上の注意

- 各試薬は、気泡が生じないように、ていねいに扱ってください。気泡が生じると、測定が正常に行われなことがある場合があります。この場合には、気泡が消えるのを待ってからご使用ください。
- R1～R3試薬は異なるLot No.の構成試薬を組み合わせて使用しないでください。また、Lot No.が同じであっても試薬をつぎ足して使用しないでください。使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- R1～R3試薬を装置から取り出した場合は2～8℃で保存してください。装置に戻す場合はR2試薬容器を【用法・用量（操作方法）】に従って攪拌してからセットしてください。誤って凍結させた試薬は品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。開封後の有効期間は30日です。
- HISCL TARC C0 溶液～C5 溶液は必要量を分注した後、速やかにふたをして凍結(-20℃)で保存してください。放置したままですと蒸発等の影響で濃度変化が起り、キャリブレーションが正常に行えなくなります。溶解後の有効期間は凍結(-20℃)保存で90日です。
- 検量線の有効期間は作成から30日です。ただし期間内でも、以下の場合には作成し直してください。
 - ・新しいLot No.のR1～R3試薬を使用する場合
 - ・精度管理で異常が生じた場合
 - ・装置の取扱説明書に記載されている特定のメンテナンス・修理を実施した場合
- 各構成試薬は個別に包装されているものもありますので、組み合わせで使用してください。

廃棄上の注意

- アジ化ナトリウムは、鉛、銅などと反応して爆発性の化合物を生成する危険性がありますので、廃棄の際には、大量の水と共に流してください。
- 廃棄にあたっては水質汚濁防止法等の規制及び各都道府県の条例等に留意して処理してください。
- 使用後の容器は、焼却処理するか、廃棄する場合には廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理してください。
- 検体に接触した器具を滅菌する場合は、次のいずれかの方法で処理してください。
 - ・0.05%ホルマリン溶液に37℃、72時間以上浸す。
 - ・2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸す。
 - ・次亜塩素酸ナトリウムを0.1%以上含む溶液に1時間以上浸す。
 - ・121℃で少なくとも1時間以上オートクレーブにかける。
- 検体、廃液等が飛散した場合は、2%グルタルアルデヒド溶液、次亜塩素酸ナトリウムを0.1%以上含む溶液等によるふき取りと消毒を行ってください。

その他の注意

- 定期的な精度管理を実施してください。
- 試薬の容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】**

- 貯蔵方法
HISCL洗浄液：2～30℃で保存
上記以外の構成試薬：2～8℃で保存

2. 有効期間（使用期限は外箱等に表示しています。）

- (1) HISCL TARC R1 試薬：12 ヶ月
- (2) HISCL TARC R2 試薬：12 ヶ月
- (3) HISCL TARC R3 試薬：12 ヶ月
- (4) HISCL 発光基質セット
 - 1) HISCL R4 試薬：12 ヶ月
 - 2) HISCL R5 試薬：12 ヶ月
- (5) HISCL 洗浄液：12 ヶ月
- (6) HISCL TARC キャリブレータ
 - 1) HISCL TARC C0：12 ヶ月
 - 2) HISCL TARC C1：12 ヶ月
 - 3) HISCL TARC C2：12 ヶ月
 - 4) HISCL TARC C3：12 ヶ月
 - 5) HISCL TARC C4：12 ヶ月
 - 6) HISCL TARC C5：12 ヶ月

【包装単位】

品番	製品名	構成試薬名	規格
AM218305	HISCL TARC 試薬 70テスト	HISCL TARC R1 試薬 ^{※3}	3.5 mL×1
		HISCL TARC R2 試薬	2.1 mL×1
		HISCL TARC R3 試薬 ^{※3}	7 mL×1
AG917389	HISCL TARC 試薬 70テスト×10	HISCL TARC R1 試薬 ^{※3}	3.5 mL×10
		HISCL TARC R2 試薬	2.1 mL×10
		HISCL TARC R3 試薬 ^{※3}	7 mL×10
AJ144409	HISCL TARC キャリブレータ ^{※4}	HISCL TARC C0～C5	6濃度 各0.5mL分×1
06443319	HISCL 発光基質セット ^{※4,5}	HISCL R4 試薬	40 mL×1
		HISCL R5 試薬	70 mL×1
05423618	HISCL 洗浄液 ^{※4,5}	HISCL 洗浄液	10 L×1

関連製品

品番	製品名	規格
CS617657	HISCL 検体希釈液 ^{※4,5}	20 mL×1
BM027915	HISCL TARC コントロール ^{※4}	2濃度 各1 mL分×3

※3 R1 試薬とR3 試薬は一体型の容器で提供されます。

※4 これらの製品は別売品となります。

※5 これらの製品はシスメックス株式会社が製造販売する商品です。また、HISCL 発光基質セット及びHISCL 洗浄液は、HISCL HBsAg 試薬の構成試薬です。

【主要文献】**

- (1) 社内データ
- (2) 藤澤隆夫ほか：日本小児アレルギー学会誌，2005，19 (5)，744
- (3) 玉置邦彦ほか：日本皮膚科学会雑誌，2006，116 (1)，27
- (4) Sugiyama M. et al.：Gene，2021，766，145145
- (5) 厚生労働省 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)診療の手引き，第4.2版

【問合せ先】

シスメックス株式会社 CSセンター
〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2
TEL 0120-413-034

HISCLはシスメックス株式会社の登録商標です。

製造販売元

塩野義製薬株式会社

大阪市中央区道修町3丁目1番8号 〒541-0045

販売元

シスメックス株式会社

神戸市中央区臨浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073
TEL(078)265-0500(代)