SIEMENS

6L119UL

体外診断用医薬品

血液検査用メトトレキサートキット

エミット® メトトレキサートアッセイ
Emit® Methotrexate Assay

※※2013年 4 月改訂（第3版）
※2010年11月改訂（第2版）
自己認証番号：13A2X10031001011

この添付文書をよく読んでから使用ください。

【全般的な注意】
- 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- 本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- 添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。
- 各キャリブレータにはヒト由来成分が含まれており、感染の危険がありますので感染性のあるものとして取り扱ってください。

【形状・構造等（キットの構成）】

構成試薬名　成分

試薬A[a]　（Antibody/Substrate Reagent A）
抗メトトレキサートヒツジポリクローナル抗体[b]
グルコース-6-リン酸
ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド

試薬B[a]　（Enzyme Reagent B）
グルコース-6-リン酸脱水素酵素標識メトトレキサート[b]

濃縮緩衝液　（Emit® Drug Assay Buffer Concentrate）

キャリブレータ0、0.2、0.5、1、1.5、2[a]
（Emit® Methotrexate Calibrators 0, 0.2, 0.5, 1, 1.5, 2）
ヒト血清、メトトレキサート
（メトトレキサート濃度は以下の表を参照ください）

a.試薬A、試薬B及び各キャリブレータは凍結乾燥品です。
b.抗体力価及び酵素活性はロットごとに異なります。

キャリブレータ

キャリブレータ	0	0.2	0.5	1	1.5	2
メトトレキサート（μmol/L）	0	0.2	0.5	1	1.5	2

【使用目的】
血清又は血漿中のメトトレキサート濃度の測定

【測定原理】
本品はホモジニアスエンザイムイムノアッセイにより、検体中の特定の薬物濃度を求める試薬です[1]。検体中のメトトレキサートは、試薬中に含まれるグルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PDH）標識メトトレキサートと競合します。酵素活性は抗体に結合することにより低下しますので、検体中のメトトレキサート濃度は酵素活性から測定することができます。抗メトトレキサートヒツジポリクローナル抗体と結合できなかったG6PDH標識メトトレキサートは、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド（NAD）をNADHに変換するので、その際に生じる吸光度変化を光学的に測定します。なお、酸化型NADは本キットに使用されている菌（*Leuconostoc mesenteroides*）由来の酵素にのみ作用しますので、血清中の内因性のG6PDHは本法に影響を及ぼしません。

【操作上の注意】

※※1．測定試料の性質・採取法
- 本品の測定には血清又は血漿を使用ください。全血は使用できません。抗凝固剤としてヘパリン、EDTA、シュウ酸が使用できます。
- 検体量は使用する機器により異なります。詳細は、各機器の測定パラメーターを参照ください
- 最終投与後の検体を採取する時間は薬物動態因子に影響を及ぼします。これらの因子には、剤形、投与方法、併用薬物療法、薬剤の特性による生物学的変動などが含まれます。
- 採取した血清及び血漿は冷蔵（2～8℃）で遮光して保存ください（溶液中のメトトレキサートは、光に不安定です）。また輸送する場合も2～8℃に維持ください。
- 保存検体は室温に戻してから使用ください。

2．妨害物質・妨害薬剤
本法の性能は、あらゆる測定パラメーターの影響を受けます。以下は、総合的なシステム性能に関する情報であり、本試薬についてのみの情報ではありません。
- 本品は、血清又は血漿中の総メトトレキサート濃度（タンパク質結合＋非結合）を測定する試薬です。化学構造的に交差反応を示す可能性のある化合物及び併用療法に用いられる薬剤で交差反応を示す可能性のある化合物について、本法への影響を調べました。
- メトトレキサートとは通常併用されない抗癌剤のアミノプテリンや、メトトレキサートの代謝物の1つである4-amino-4-deoxy-N[10]-methylpteroic acid（APA）は本アッセイにおいて著しい交差反応を示します。
- 次の表に示す化合物はメトトレキサート濃度1μmol/Lで試験を行うとき、本法を妨害しません。試験に用いた各化合物の濃度は、薬理学的又は生理学的として最大の濃度です。

化合物名
構造が類似しない化合物
シクロホスファミド ドキソルビシン（アドリアマイシン） 5-フルオロウラシル ビンブラスチン ビンクリスチン
構造が類似する化合物
二水素葉酸 葉酸 7-水酸化メトトレキサート ロイコボリン（citrovorum factor） メトプテリン トリメトプリム

- ヘモグロビン800mg/dL、トリグリセライド1000mg/dL、ビリルビン30mg/dLを検体に加えて、溶血、乳び、及び黄疸血を模擬的に作製して試験したところ臨床的に有意な妨害は認められませんでした。

【用法・用量（操作法）】

1．試薬の調製法

⑴試薬A、試薬B、キャリブレータ0、0.2、0.5、1、1.5、2
金属シールを取り外し、各試薬バイアルを区別するためゴム栓に印を付けてください。試薬A及び試薬Bにそれぞれ3mLの精製水又は脱イオン水を加え、各キャリブレータにはそれぞれ1mLの精製水又は脱イオン水を加えて、穏やかに攪拌し溶解します。溶解後、室温（20～25℃）に1時間放置した後使用します。別の方法として、使用する前日に溶解し、冷蔵保存（2～8℃）で一晩置きます。
1時間の室温放置後、使用しない場合は冷蔵保存（2～8℃）し、使用する前に室温に戻してください。溶解後は、バイアルを垂直に立てて保存ください。凍結したり、32℃以上に放置しないでください。

⑵緩衝液
濃縮緩衝液の内容物全体を清潔な目盛り付き容器（プラスティック又

はガラス製)に移します。濃縮緩衝液のバイアルを精製水又は脱イオン水で数回洗浄し、完全に内容物を移します。精製水又は脱イオン水を加えて正確に200mLとした後、数回よく転倒混和して完全に溶解します。

※ ⑶試薬の保存条件と安定性

試薬	溶解後の保存温度	溶解量	溶解後の室温放置時間(20～25℃)	安定性[c]	
				未開封	開封後
試薬A 試薬B	2～8℃	3mL	1時間	使用期限まで	12週間
キャリブレータ 0,0.2,0.5,1,1.5,2	2～8℃	1mL	1時間	使用期限まで	12週間
緩衝液	2～8℃ (未開封)	–	–	使用期限まで	–
	20～25℃ (希釈後)	希釈して 200mLにする	不要	–	12週間

c. 添付文書に記載されている通りに試薬を取扱った場合の安定性です。

2. 必要な器具・器材・試料等
本品は、各種の自動分析装置に使用できます。
分析装置は、反応温度保持機能、検体／試薬分注機能、酵素比率精密測定機能、反応時間調整機能、試薬混合機能を有するものを使用ください。
測定パラメーター及び詳細な操作方法は別途用意されています。弊社担当者又はコールセンターにご確認ください。

※※3. 測定法
使用する自動分析装置の取扱説明書及び各パラメーターを参照ください。

4. キャリブレーション
試薬が新しくなったとき、あるいはコントロールの測定結果から必要に応じて(精度管理の項を参照)キャリブレーションを実施ください。新しい濃縮緩衝液を使用する場合は、コントロールを測定し機器を検証ください。

※※5. 精度管理
- 市販のマルチレベルのコントロールを測定し、検量線の確認を行ってください。コントロールの測定結果が各施設における精度管理基準の許容範囲内であることを確認ください。検体の測定は、検量線の確認後に行ってください。
- 精度管理の頻度については、行政当局の規制や許可条件に従ってください。既知濃度の精度管理物質を少なくとも1日1回、2濃度測定ください。測定結果が許容範囲外の場合は、各施設の手順に従い対処ください。
- 機器の点検は機器の取扱説明書を参考にしてください。

6. 高濃度検体について
メトトレキサートの濃度が2.0μmol/L以上の検体は、緩衝液で6～1296倍に希釈してから再測定ください。

7. 日常のメインテナンス
各機器の取扱説明書を参照ください。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定
- 測定結果は機器によって自動的に計算されます。結果を再計算する必要はありません。
- 血清又は血漿中のメトトレキサート濃度は、最終薬剤投与時間、投与方法、併用薬物療法、検体の状態、検体採取時間、及び吸収・分布・生体内変化・排泄の個人差などに依存します。測定結果を判定する際は、これらの要因を考慮する必要があります[2]。

2. 判定上の注意
- メトトレキサートの濃度が、0.3μmol/L未満の検体測定は推奨しません。
- メトトレキサートとは通常併用されない抗癌剤のアミノプテリンや、メトトレキサートの代謝物の1つである4-amino-4-deoxy-N[10]-methylpteroic acid(APA)は本アッセイにおいて著しい交差反応を示します。

3. 参照治療域
本品は血清又は血漿中に含まれるメトトレキサート濃度0.3～2600μmol/Lを正確に測定します。大量療法を施して24時間後の血清メトトレキサート濃度が5μmol/Lを超える場合は、一般的に毒性を示す危険性がありますが[2]、この濃度はあくまでも参照値ですので、測定結果の判定は患者の臨床症状と照らし合わせて行ってください。

【臨床的意義】

最大の抗癌活性を得るためのメトトレキサート大量療法は、ロイコボリン救援療法により比較的安全に行うことができます。メトトレキサートの細胞毒性は、その濃度及び作用時間に関係するため、ロイコボリン救援療法におけるロイコボリン投与量は十分高濃度かつ長時間行う必要があります。大量療法中のメトトレキサート濃度及びその消失をモニタリングすることは、適切なロイコボリン投与量を設定する際に次のような理由から必須とされています[2]。
- メトトレキサートの細胞外濃度が高すぎると、細胞内へのロイコボリン輸送を競合的に阻害することがあり、"救援"剤としての効果が減少します。
- 腎疾患、腹水症、胸膜浸潤、消化管閉塞、尿のpH、あるいは他の薬物などによってメトトレキサートのクリアランスが遅延し毒性濃度が通常のロイコボリン救援期間を超過して持続することがあります。そのような場合にロイコボリン投与法の変更を即座に行わなければなりません。もし適切な救援が42～48時間以上遅れると、メトトレキサートの毒性防止は容易にはできません。
- メトトレキサートのクリアランスが正常な患者では、ロイコボリン投与量はメトトレキサートの抗癌効果を低下させない程度にする必要があります。

メトトレキサートの血中濃度をモニタリングする方法には、従来よりラジオイムノアッセイ(RIA)、競合的還元結合あるいはラジオエンザイマティックアッセイ(REM)、酵素阻害アッセイ(DHFR)、UV検出器又は蛍光検出器を用いる高速液体クロマトグラフィー(HPLC)などがあります[2]。

【性能】

1. 性能

⑴感度
キャリブレータ0及びキャリブレータ0.5を測定するとき、その吸光度差は20⊿A以上です。
キャリブレータ0.2及びキャリブレータ2を測定するとき、その吸光度差は77⊿A以上です。

⑵正確性
濃度既知管理用検体を用いて測定するとき、その測定値は表示値の±15%以内です。

⑶同時再現性
濃度既知管理用検体を各々5回同時に測定するとき、その変動係数(CV%)は10%以下です。

⊿A: 反応液吸引後の34サイクル目及び40サイクル目の吸光度を読み取り、その間の吸光度差($A_{40}-A_{34}$)から次の式により⊿Aを求め、実用的な酵素活性の指標とします。
$\Delta A = (A_{40}-A_{34}) / 44.86 \times 60$

⑷測定範囲
0.3～2600μmol/L

※※2. 精密性
同時再現性試験はキャリブレータ1を用いて20回繰り返し測定を行いました。
日差再現性試験はコントロール(0.77μmol/L)を用いて測定を行いました。

	測定回数	平均値(μmol/L)	CV(%)
同時再現性			
1	20	1	5.3
2	20	1	3.2
3	20	1	6.8
日差再現性			
2	49	1.63	5.6

3. 相関性
メトトレキサートを投与中の患者から得られた検体を用いて、本法とRIA法及び二水素葉酸還元酵素阻害アッセイ法を比較検討した結果を次の表に示します。

項　目	施設1 RIA法	施設2 RIA法	施設3 酵素阻害 アッセイ法
傾　き	0.96	0.98	0.97
切　片（μmol/L）	−0.04	−0.07	−0.21
平均値（μmol/L）			
本法	3	5.6	4.5
対照法	3.3	6.8	4.5
相関係数	0.991	0.996	0.997
検体数	104	98	100

4．較正用の基準物質（標準物質）
USP Methotrexate

【使用上又は取扱い上の注意】

1．取扱い上（危険防止上）の注意
- 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。検査実施にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
- キャリブレータの原料は米国で承認された検出法によりHIV-1、HIV-2、HBs抗原、及びHCV抗体が陰性を示したヒト血液を用いていますが、どのような検出法も完全とは言えませんので、使用時は感染の危険性がある他の生体物質と同じように取扱い上の注意を守ってください[3,4]。
- 試薬はアジ化ナトリウムを含んでいますので、誤って飲み込んだり皮膚や粘膜にふれないようにしてください。もし、皮膚に付着した場合は、多量の水で洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 試薬は2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンを含んでいます。試薬を飲み込むと有害です。試薬に触れると刺激がありますので、皮膚に触れないようにして、適切な手袋などを着用ください。水生生物に有害で水生環境下において長期の悪影響を及ぼすことがあります。事故や気分が悪くなった場合は、直に医師の診察を受けてください。

※※2．使用上の注意
- 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 試薬A、試薬B及び各キャリブレータはセットとして調製されていますので、別のロットの試薬と交換して用いることはできません。
- 本品は、各種自動分析装置で使用できることを確認していますが、使用者による変更は本法の性能や測定結果に影響することがあるため保証できません。添付文書に記載されている使用方法を変更した場合は、使用者の責任において検証ください。
- 同一ロットであっても試薬の注ぎ足しはしないでください。
- 廃棄上の注意：— 試料（検体）中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは適当な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。
  — 残った試薬や検体を廃棄する場合には、医療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。
  — 保存剤としてアジ化ナトリウムを含んでいます。アジ化ナトリウムは銅や鉛等の重金属と反応して爆発性のアジ化塩を形成することがありますので、廃棄の際は、各法令に従い廃液をゆっくりと大量の水で洗い流してください。
  — 試薬類や廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8℃保存
有効期間：3年間（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】

試薬A	3mL用×1バイアル
試薬B	3mL用×1バイアル
濃縮緩衝液	13.3mL×1バイアル
キャリブレータ0	1mL用×1バイアル
キャリブレータ0.2	1mL用×1バイアル
キャリブレータ0.5	1mL用×1バイアル
キャリブレータ1	1mL用×1バイアル
キャリブレータ1.5	1mL用×1バイアル
キャリブレータ2	1mL用×1バイアル

【主要文献】

1．Oellerich M: Enzyme immunoassays in clinical chemistry: Present status and trends. *J Clin Chem Clin Biochem* 1980;18:197-208.
2．Crom WR, Taylor RH, Pratt CB: Methotrexate: Therapeutic use and serum concentration monitoring, in Taylor WJ, and Finn AL (eds): *Individualizing Drug Therapy: Practical Applications of Drug Monitoring*. New York, Gross, Townsend, Frank, Inc, 1981;, Vol. 1, pp. 149-173.
3．Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, JY Richmond, RW McKinney (eds). Atlanta, GA, U.S. Dept of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention; Bethesda, MD, National Institutes of Health, 1993.
4．Occupational exposure to Bloodborne Pathogens; Final Rule. Federal Register. Part Ⅱ; Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration (OSHA); 29 CFR Part 1910.1030; Friday, December 6,1991.

※※【問い合わせ先】

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーケアセンター
TEL：03-3493-8400

製造販売元
シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
※※ 東京都品川区大崎1-11-1
ゲートシティ大崎ウエストタワー

DL-117-010H
（6L184UL.11DS_US_D）