



Dimension® clinical chemistry system

シクロスポリンキット

フレックスカートリッジ シクロスポリン CSA

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。

【 形状・構造等(キットの構成) 】

構成試薬名	ウェル ^a	形状	成分
第一試薬	1, 2	液状	β -ガラクトシダーゼ標識抗シクロスポリン マウスモノクローナル抗体
第二試薬	3, 4	錠剤 ^b	シクロスポリン結合二酸化クロム粒子
第三試薬	5, 6	錠剤 ^b	クロロフェノールレッド- β -ガラクトピラノシド
第四試薬	7	液状	緩衝液
第五試薬	8	液状	エデト酸ナトリウム

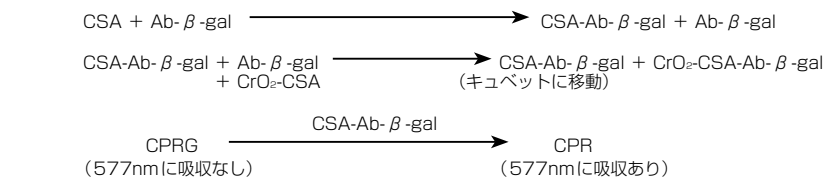
a. 試薬封入部をウェルと呼び、カートリッジの幅の広い方より1から順番に番号付けしています。
b. 試薬には、プロテアーゼフリーウシ血清アルブミン、ウシガンマグロブリン、30%ウシ血清アルブミン、賦形剤、緩衝剤及び安定化剤が含まれています。

【 使用目的 】

全血中のシクロスポリンの測定

【 測定原理 】

本品は、CSAと未反応又はCSAと反応した酵素標識抗体を磁性粒子により分離する方法を用いた酵素免疫測定法に基づき、全血中のCSAを測定します。本品には、エデト酸ナトリム(前処理試薬)、 β -ガラクトシダーゼ標識抗シクロスポリンマウスモノクローナル抗体、シクロスポリン結合二酸化クロム粒子、クロロフェノールレッド- β -ガラクトピラノシド(CPRG)及び緩衝液が含まれています。
CSAを測定するために、全血検体の入ったサンプルカップと本品を装置に適切に装填ください。全血検体は前処理試薬により溶血され、次いで溶血検体に β -ガラクトシダーゼ標識抗シクロスポリンマウスモノクローナル抗体 (Ab- β -gal) が混和されます。溶血検体中のCSAは、Ab- β -galと反応し、CSAと反応しなかったAb- β -galは、次いで添加されるシクロスポリン結合二酸化クロム粒子 (CrO₂-CSA) と結合して、磁性分離により除去されます。クロロフェノールレッド- β -ガラクトピラノシド(CPRG)は、CSA結合 β ガラクトシダーゼと反応し、加水分解により577nmで吸収される色素クロロフェノールレッド(CPR)を生成します。CPR生成による577nmの吸光度変化量は検体中のCSA量に比例し、2波長(577及び700nm)でレート測定され、検体中のCSA濃度が求められます。



【 操作上の注意 】

- 測定試料の性質、採取法
 - 通常の方法でEDTAを添加した採血管で採取された全血を使用ください¹⁾。
 - 全血は静脈穿刺による推奨方法で採血ください¹⁾。
 - 検体採取に用いる器具の使用及び操作については使用説明書に従ってください²⁾。
 - CSAの測定にはトラフ検体を用いることをお勧めします。結果を適切に判定するために、直近のCSA投与から全血検体を採血するまでの時間を記録ください。
 - 採取、冷蔵、融解検体は、全血中のCSAが均質になるように測定前によく混和ください³⁾。
 - 浮遊物や塊を含む検体は使用しないでください。
 - 全血は室温で7日間安定です⁴⁾。冷蔵(2～8℃)で7日間保存可能です。また、凍結(－20℃)で長期保存が可能です⁵⁾。検体は繰り返しでの凍結及び融解は避けてください。保存検体は温室に戻してから使用ください。
- 妨害物質・妨害薬剤
全血中に以下の物質が存在しても、記載の濃度までは本法を妨害しません。CSA 200ng/mLにおける、これらの物質による系統誤差は10%未満です。

物質	濃度	物質	濃度
アセトアミノフェン	20mg/dL	硫酸カナマイシンB	100µg/mL
アミカシン	15mg/dL	ケトコナゾール	100µg/mL
硫酸アミカシン	100µg/mL	リドカイン	6mg/dL
アンホテリシンB	100µg/mL	リンコマイシン	100µg/mL
アンピシリン	5mg/dL	トリグリセライド	1500mg/dL
アプレソリン	100µg/mL	リチウム	3.5mg/dL
アスコルビン酸	3mg/dL	メトトレキサート	100µg/mL
アザチオプリン	100µg/mL	メチルプレドニゾン	100µg/mL
ビリビン	60mg/dL	ミコフェノール酸	100µg/mL
カフェイン	10mg/dL	N-アセチルプロカインアミド	100µg/mL
カルバマセピン	12mg/dL	硫酸ネオマイシン	100µg/mL
セファロスポリン	100µg/mL	ニコチン	2mg/dL
クロラムフェニコール	25mg/dL	オキシトシン	100µg/mL
クロルプロマジン	5mg/dL	ベニシリンG	25U/mL
コレステロール	500mg/dL	ペントバルビタール	10mg/dL
シメチジン	10mg/dL	フェノバルビタール	15mg/dL
クレアチニン	30mg/dL	フェニトイン	10mg/dL
デキストラン75	2500mg/dL	プラソジン	100µg/mL
アザセパム	2mg/dL	プレドニゾン	100µg/mL
ジゴキシン	5ng/mL	プレドニゾン	100µg/mL
ジギトキシン	100µg/mL	プリミドン	10mg/dL
ジピリタモール	100µg/mL	プロカインアミド	100µg/mL
ジソピラミド	100µg/mL	プロボキシフェン	0.4mg/dL
エリスロマイシン	20mg/dL	プロプラノロール	100µg/mL
エタノール	350mg/dL	アルブミン	6g/dL
エトスクシミド	30mg/dL	総タンパク	4g/dL
FK506(タクロリムス)	0.1µg/mL	総タンパク	12g/dL
フロセミド	2mg/dL	キニジン	100µg/mL
ゲンタマイシン	12mg/dL	ラバマイシン	0.1µg/mL
ヘモグロビン	1000mg/dL	リウマトイド因子	500IU/mL
ヘパリン	8000U/L	リファンピシン	100µg/mL
イブプロフェン	40mg/dL	サリチル酸	50mg/dL
免疫グロブリンG	6g/dL	スペクチノマイシン	100µg/mL
カナマイシンA	100µg/mL	ストレプトマイシン	100µg/mL

物質	濃度	物質	濃度
デオフィリン	25mg/dL	尿酸	20mg/dL
トブラマイシン	100µg/mL	パルプロ酸	50mg/dL
トカイニド	100µg/mL	パンコマイシン	100µg/mL
トリアムテレン	100µg/mL	ペラバミル	100µg/mL
尿素	500mg/dL		

交差反応性
6つの主要な代謝物についてCSA 200ng/mLにおける交差反応性を評価しました。交差反応率(%)は次式より算出しました。

交差反応率(%) =
$$\frac{\text{測定値}-\text{コントロール(CSA200ng/mL)}}{\text{添加した代謝物濃度}} \times 100$$

CSA代謝物	代謝物濃度 (ng/mL)	交差反応率 (%)
AM1 (M17)	1000	1.8
AM1c (M18)	1000	1.1
AM1c9 (M26)	1000	1.7
AM4N (M21)	1000	6.0
AM9 (M1)	1000	2.1
AM19 (M8)	1000	1.8

- その他
本品はディメンション シリーズの専用試薬です。

【 用法・用量 】

- 試薬の調製法
試薬の混合及び希釈はディメンション シリーズにより自動的に行われます。
- 必要な器具・器材・試料等
 - ディスクリット方式臨床化学自動分析装置 ディメンション シリーズ(HMモジュール付)
 - サンプルブローブ洗浄液
 - 試薬ブローブ洗浄液
 - CSA標準液(品目コード:DC89)その他の必要な器具・器材等については ディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください。
- 測定法
 - (1)測定前に検体(全血、標準液及び精度管理物質)をゆっくりと完全に混和します。ポルテックスミキサーの使用は避けてください。サンプルカップに検体(200µL)を移します。検体はサンプルホイルに搭載後30分以内にサンプリングください。本法の測定では、採血管を直接機器に搭載することはできません。
 - (2)本品をディメンション シリーズの所定位置に装填します。
 - (3)患者ID 及び検査項目を入力します。検体(全血、標準液及び精度管理物質)を指定された位置に装填し、操作ボタンを押します。下記の手順で自動的に分析が行なわれます。
 - (4)第五試薬(70µL)、検体(5µL)、第一試薬(50µL)及び第二試薬(50µL)が反応ベッセル(HM)に分注混和され、42.0℃*でインキュベーションされます。
* LOCI法搭載のディメンション EXLシリーズでは37℃です。
 - (5)インキュベーション後、反応しなかった試薬及び検体は磁性分離により除去されます。
 - (6)(5)の反応液(54µL)、第三試薬(150µL)及び第四試薬(191µL)が反応キューベットに分注混和され、37.0℃でインキュベーションされます。反応液の吸光度が2波長(577及び700nm)でレート測定され、検体中のシクロスポリン(CSA)濃度 (ng/mL)に変換されます。
 - (7)測定結果がプリントアウトされます。
- 較正(キャリブレーション)
一般的な較正手順はディメンション・オペレーターマニュアルに記載されています。本法の較正を行う場合、以下の情報を考慮の上実施ください。
較正物質 : CSA標準液を使用ください。
較正物質濃度 : 0、100、200、350、500 (ng/mL)
注意) 当社標準液を使用の際は、該当製品の添付文書に記載されている数値を使用ください。
- 測定回数 : 5濃度、4重測定 : レベル1、3重測定 : レベル2、4、5、2重測定 : レベル3
- 較正頻度 : カートリッジのロット変更時或いは同一ロットにおいても30日ごとに必ず較正を行ってください。
- 較正が必要な場合 :
 - 試薬カートリッジのロットを変更する場合
 - 点検又は修理後の精度管理の結果により必要と思われる場合
 - 各施設における精度管理方法に基づき必要とされる場合
 - 行政により求められた場合
- 指定係数 : C₀:41.9 C₁:746 C₂:－2.25
C₃:562 C₄:0.5
- 精度管理
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。
5重測定時の再現性の結果が以下のようなであれば、何らかの異常の可能性があります。

濃度	SD
200ng/mL	>20.4ng/mL
350ng/mL	>35.2ng/mL

注意) CSA標準液レベル3及びレベル4をそれぞれのサンプルカップに300µL分注し5重測定の精密性を検討ください。各レベル5重測定し、上記SDを参照して評価ください。

【 測定結果の判定法 】

- 基準範囲
全血中のCSAに対する一般的な治療濃度域は設定されていません。測定原理及び試薬の特性に違いがあるため、異なる測定法による結果とは互換性がありません。CSA値単独では、治療法を変更するための指標にはなりません。治療法を調整する前に、患者ごとに綿密な臨床評価を行い、臨床結果に基づいた治療濃度域を設定ください。代謝物による交差反応のパターンが多様化しているため、患者ごとに一貫した測定法を用いることをお勧めします。変換係数を患者の測定値を予測するために使用しないでください。
CSAの最適血中レベルは、臨床状態、CSAの免疫抑制作用や腎毒性作用に対する感度の個人差、他の免疫抑制剤との併用、移植の種類、移植後の経過時間などにより異なります⁶⁾。
- 判定上の注意
 - 患者検体中に異好抗体が存在すると、免疫測定に正又は負の誤差を与えることがあります。そのため、本法は検体の異好抗体の影響を最小限にするよう工夫されていますが、すべての患者検体からこの妨害物質を完全に除去できるわけではありませんので、測定結果が臨床状態と矛盾する場合には注意して判断ください^{7a)}。
 - 本法では β -ガラクトシダーゼに対する抗体の影響についても最小限にするよう工夫されています。このような抗体は細菌感染により検体中に混入して測定値に正の誤差を与え、臨床症状に伴う値の上昇とは矛盾する結果を招きます。ごく稀に、患者特有の影響が免疫測定に正又は負の誤差を与えることがあります⁸⁾。
 - 肝機能障害をもつ患者、チトクローム酵素活性を誘発・阻害する可能性がある他の薬剤の投与を受けている患者など、代謝や排泄の変動が予想される検体の測定には注意が必要です。確認試験にはHPLC法を用いてください。
- ※※3. 測定限界
 - 結果 : 500ng/mLを超えるとその旨が報告されます。このような場合は、検

体を希釈ください。又は、フレックスカートリッジ シクロスポリン高域用 CSAE (品目コード：DF108、測定範囲 350 ～ 2000ng/mL) を用いて測定することが可能です。

- 希釈方法：4倍希釈。全血1容量に対しCSA標準液のレベル1（0ng/mL）3容量を加えて、測定範囲内に結果が収まるように希釈ください。検体属性入力時に希釈係数(4)を入力ください。次いで再測定ください。結果は希釈係数で補正されます。希釈後の結果が測定範囲を超える場合は、その旨が報告されます。
 - 自動測定法：全血測定は自動希釈ができません。
 - 結果が25ng/mL未満の場合、その旨が報告されます。
4. エラーメッセージ
- エラーメッセージが表示された場合は、メッセージの内容が解決されるまでプリントアウトされた報告書を破棄しないでください。メッセージの解決方法の詳細はディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください。

【臨床的意義】

CSAの測定は心臓、肝臓、腎臓移植患者の治療の補助に用いられます。CSAは真菌に由来する環状の11ペプチドからなる強力な免疫抑制剤です。CSAレベルが不十分な場合、移植した臓器の拒絶反応を招きます。また、毒性レベルの場合、腎毒性や肝毒性といった重篤な副作用を引き起こします。患者の全血中CSA濃度をモニターし他の検査結果及び臨床症状と合わせて総合的に判断することが、臓器被移植者の適切な免疫抑制治療を確実に行うために最も効果的な方法です^{10,11,12}。大方のCSAは肝臓で代謝されます。血中CSAレベルは、肝ミクロソーム酵素、特にチトクロームP450の代謝経路を使用する薬剤に影響を受けます。シメチジン、ケトコナゾール、メチルプレドニゾンなどの酵素活性抑制剤は、肝代謝を低下させるためCSAレベルが上昇します。リファンピシン、フェニトイン、フェノバルビタール、カルバマゼピンなどのチトクロームP450活性誘発剤は、肝代謝を上昇させるためCSAレベルが低下します¹³。

【性能】

1. 性能
- (1)感度 シクロスポリン (CSA) 濃度500ng/mLと0ng/mLの標準液を測定するときの吸光度変化量の差は161mAU以上です。
- (2)正確性 濃度既知の管理用検体を測定するとき、その測定値は表示値の80 ～120%です。
- (3)同時再現性 異なる2濃度の検体を同時に3回測定するとき、その変動係数 (CV) は10%以下です。
- (4)測定範囲 25 ～ 500ng/mL
これは、検体を直接測定した時の濃度範囲です。希釈や通常操作にない前処理はしていません。

2. 精密性^{c,d,e}

試料	標準偏差 (CV%)		
	平均 (ng/mL)	同時再現性	総再現性
精度管理物質			
レベル1	65	3.4 (5.2)	5.3 (8.2)
レベル2	151	6.5 (4.3)	8.1 (5.4)
レベル3	400	17.3 (4.3)	19.0 (4.8)
プール全血*			
1	83	4.9 (5.9)	6.0 (7.3)
2	132	5.5 (4.2)	8.1 (6.2)
3	219	7.7 (3.5)	9.5 (4.3)
4	369	13.5 (3.6)	14.4 (3.9)

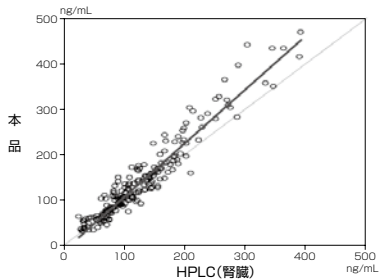
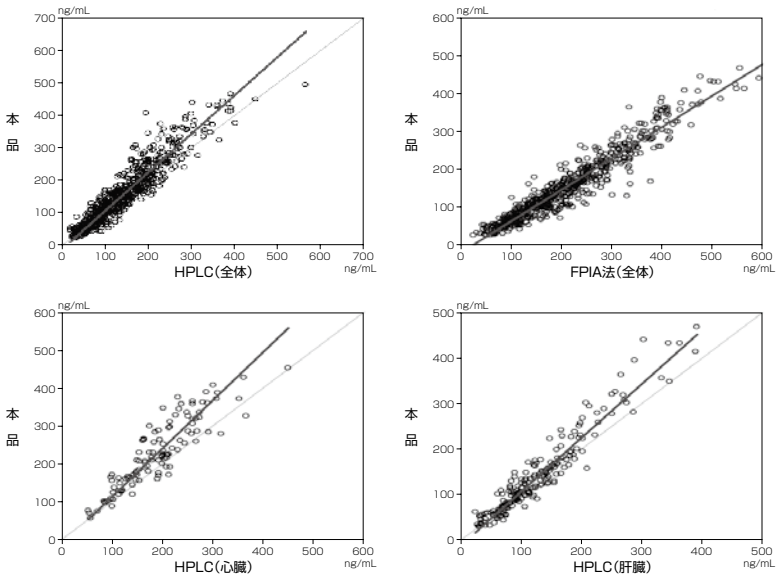
- * EDTA加全血に上記濃度のCSAを添加し精製したプール全血を使用。
- c. すべての性能試験は、通常の機器精度管理チェックの実施後に行いました (ディメンション・オペレーターマニュアルを参照ください)。
- d. 再現性試験は、NCCLS Guideline for User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices (EP5-A2, 2004) に従って実施しました。
- e. 各レベルの検体は1日1回20日間2重測定を行いました。同時再現性と全体の標準偏差は分散分析により算出しました。

3. 相関性^{e,f}

比較法	傾き	切片	相関係数	n*
エミット 2000 シクロスポリンアッセイ 他社製品機種 (FPIA法)	1.04	6.01	0.975	65
全体	0.83	-21.3	0.957	667
心臓	0.83	-20.9	0.927	111
肝臓	0.82	-26.3	0.952	201
腎臓	0.83	-18.8	0.966	279
他社製品機種 (HPLC法)				
全体	1.19	-13.7	0.935	661
心臓	1.28	-16.0	0.893	111
肝臓	1.18	-13.3	0.961	201
腎臓	1.13	-8.9	0.920	273

- f. 帰帰式を補正するために Passing-Bablok法を使用しました¹⁴。
- 帰帰統計のためのモデル方程式：[ディメンションの結果]=傾き×[比較法の結果]+切片 (注意) 本法 (y) と HPLC法 (x) との相関は、最小二乗法を用いて算出しました。帰帰エラー (sy/x) は、32.3ng/mL (全体)、40.5ng/mL (心臓)、24.7ng/mL (肝臓)、25.4ng/mL (腎臓) です。
- g. 相関性試験の母集団の範囲は、27.3 ～ 494.3ng/mL です。患者数 (成人23 ～ 76歳) は、36名 (心臓)、44名 (肝臓)、68名 (腎臓)、32名 (骨髓・肺) です。

関連図：



4. 回収率
全血に100、200、300、400ng/mLのCSAを添加した検体のCSA濃度を測定したところ、回収率は93.0 ～ 101.4%で、平均回収率は96.6%でした。

$$\text{回収率 (\%)} = \frac{\text{測定値} - \text{ベースライン}}{\text{添加量}} \times 100$$

5. 直線性
ディメンション RxC-HMによる本品の測定では、95%信頼度、200ng/mL濃度における乖離は10ng/mL未満です。直線性の下限値は25ng/mLです。
6. 検出感度
本法の検出感度は25ng/mLです。CLSI EP-17Aに従い、ブランク5検体及び低レベル5検体を含む120の測定値に基づき評価したところ、偽陽性 (α) は5%未満、偽陰性 (β) は5%未満でした¹⁵。
7. 実効感度
実効感度は複数検体 (10 ～ 70ng/mL) を用いて測定し全体の精密性を評価しました。測定は6週間に渡り実施し、1日1回12日間1重測定を2台の機器で2ロットを用いて行いました。測定データには2つの較正データが含まれます。相互分析の変動係数 (CV) を非直線帰帰と濃度でプロットした結果、CV20%における実効感度は30ng/mLでした。
8. 較正用の基準物質 (標準物質)
USP Cyclosporine A

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) 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、また口によるピベッティングを行わないでください。
 - サンプルカップ及び使用済みキュベットは体液成分が含まれているため、直接皮膚に触れたり口には含んだりしないように十分に注意ください。
 - 試薬には5-クロロ-2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンと2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンが3：1の割合で含まれています。試薬に触れると刺激を与えますので、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。
2. 使用上の注意
- 本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存してください。
 - 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
 - 装置に試薬カートリッジを装填しシールが未開封の状態では30日間安定です。一度開封されると、第一試薬、第二試薬及び第三試薬は3日間、第四試薬及び第五試薬は10日間安定です。
 - 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。
 - － 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℃
有効期間 12 ヶ月 (使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

80テスト (20テスト／カートリッジ×4)

【主要文献】

- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard-Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H3-A5 [ISBN 1-56238515-1]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2003.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard – Fifth Edition*. CLSI/NCCLS document H1-A5 [ISBN 1-56238-519-4]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne PA 19087-1898 USA, 2003.
- Lemaire M, Tillement JP. Role of lipoproteins and erythrocytes in the *in vitro* binding and distribution of cyclosporin A in the blood. *J Pharm Pharmacol* 1982;34:715.
- Warner A, Annesley T. *Guidelines for Therapeutic Drug Monitoring Services*, NACB/AACC Press, 2029 K Street, N.W., Washington, D.C., 1999, p46.
- Kaplan LA, Pesce, AJ. Clinical Chemistry-Theory, analysis and correlation, Third Edition, Mosby Co., 1996, p.1105.
- Cyclosporine Task Force. Critical issues in cyclosporine monitoring: Report of the task force on cyclosporine monitoring. *Clin Chem* 1987;33:1269-88.
- Vaidya HC, Beatty BG. Eliminating interference from heterophilic antibodies in a two-site immunoassay for creatine kinase MB by using F(ab')2 conjugate and polyclonal mouse IgG. *Clin Chem* 1992;38:1737-1742.
- Kricka LJ. Human Anti-Animal Antibody Interferences in Immunological Assays. *Clin Chem* 1999; 45:7:942-956.
- Ismail AA, Walker, PL, Cawood ML and Arth JH. Interference in immunoassay is an underestimated problem. *Ann. Clin. Biochem* 2002; 39:1737-1742.
- McMillan MA. Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Pharmac Ther* 1989;42:135-156.
- Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989;321:1725-1738.
- Borel JF. Cyclosporin A - present experimental status. *Transplant Proc* 1981;13:344-8.
- Physicians Desk Reference, ed 49 Montvale, NJ Medical Economics Data Production Company, 1995, pp 2184-2185.
- Passing HW, Bablok (1983): A New Biometrical Procedure for Testing the Equality of Measurements from Two Different Analytical Methods. *J. Clin. Chem. Biochem.* 21: 709-720.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. CLSI/NCCLS document EP17-A [ISBN 1-56238-551-8]. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA, 2004.

※【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