

エミット® 2000 タクロリムス アッセイ
Emit® 2000 Tacrolimus Assay

※ 2018 年 8 月改訂 (第 4 版)
※※ 2015 年 7 月改訂 (第 3 版)
製造販売承認番号 21400AMY00178000

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	成分
試薬 1	(Antibody Reagent) 抗タクロリムスマウスモノクローナル抗体* ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NAD) グルコース-6-リン酸 (G6P)
試薬 2	(Enzyme Reagent) グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PDH) 標識タクロリムス*
緩衝液	(Buffer Reagent) トリスバッファ

* 抗体力価と酵素複合体の活性はロットごとに異なります。

【使用目的】

全血中のタクロリムス水和物の測定

※※【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、全血中のタクロリムスの濃度を測定するための試薬で、タクロリムスに高い特異性を有するマウスモノクローナル抗体を使用しています。
この測定原理は、抗タクロリムスマウスモノクローナル抗体の結合部位における競合反応に基づいています。検体中のタクロリムスは、試薬中に含まれる G6PDH 標識タクロリムスと競合します。その結果、抗タクロリムスマウスモノクローナル抗体と結合できなかった G6PDH 標識タクロリムスは、酸化型 NAD を NADH に変換するので、その際に生じた吸光度変化を光学的に測定することができます。酵素活性は抗体に結合することにより低下しますので、検体中のタクロリムス濃度は酵素活性から測定することができます。なお、酸化型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドは本品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。

検体、キャリブレーション及びコントロールの前処理

測定する前に検体、キャリブレーション及びコントロールをメタノールとエミット 2000 シロリムス／タクロリムス前処理液で前処理を行います。前処理により、赤血球を溶解しタクロリムスを抽出し、他のほとんどの血中蛋白を沈殿させます。その後前処理した検体を遠心分離し、得られたタクロリムスを含む上清を測定に使用します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法
 - 必要な検体量は全血で 200μL です。
 - 抗凝固剤 EDTA を含む採血管で採血ください。全血検体のタクロリムス測定には抗凝固剤として EDTA が最適です。ヘパリン加検体は保存中に凝固してしまう可能性があるので不適です¹。
 - 新鮮な検体を使用ください。採取してから 8 時間以内に測定を行う場合には、室温 (18 ~ 25℃) で保存ください。2 ~ 8℃では 1 週間まで保存できます。それ以上保存する場合は、-20℃で凍結すれば、全血検体で少なくとも 6 ヶ月は安定です¹。測定前には凍結検体を

溶解し、完全に混合ください。凍結溶解は繰り返さないでください。凍結時に生じた不溶性物質は分注するときに避けてください。

- 保存検体は室温に戻してから使用ください。
 - 最終投薬後の検体採取時間は薬物動態に係わる因子に影響を与えます。これらの因子には剤形、投与方法、併用薬、薬理作用に影響する生理的変動などが含まれます。トラフ検体がタクロリムス測定には推奨されま²す。
 - すべての検体は感染の恐れのあるものとして取り扱い、感染性検体取扱いの予防策に従ってください³。
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。以下は総合的な情報であり、本試薬やキャリブレーションのみの情報ではありません。

0 ng/mL のタクロリムスの存在下で、8 種類の主なタクロリムス代謝物との交差反応性を検討しました。表 1 に示された交差反応性は、タクロリムスの測定値から真のタクロリムス濃度 (Ong/mL) を差し引いて得られた見かけ上の濃度を、加えた代謝物の濃度で割って求めたもので、% で表されています。

表 1：タクロリムスとその代謝物との交差反応性

タクロリムス代謝物	濃度 (ng/mL)	交差率 (%)
M-1 (13-O-demethyl tacrolimus)	100	10.4
M-2 (31-O-demethyl tacrolimus)	100	1.6
M-3 (15-O-demethyl tacrolimus)	100	2.2
M-4 (12-hydroxy tacrolimus)	100	21.1
M-5 (15,31-didemethyl tacrolimus)	100	2.5
M-6 (13,31-didemethyl tacrolimus)	100	0.6
M-7 (13,15-didemethyl tacrolimus)	100	0.9
M-8	100	2.2

- 化学構造式や併用する治療上の使用から交差反応が示唆される化合物の検討を行いました。表 2 に示す物質は、本品を用いてタクロリムス濃度 15ng/mL で試験を行うときその正確性には影響しません。試験に用いた各物質の濃度は、CLSI (The Clinical and Laboratory Standards Institute) EP7-P の提案する妨害物質のガイドラインに準じて決定されました⁴。タクロリムス濃度 15ng/mL における、これらの物質による系統誤差は 10% 以下でした。

表 2：測定に影響しない薬剤と薬剤の代謝産物

薬物	濃度 (μg/mL)	薬物	濃度 (μg/mL)
アセトアミノフェン	200	ジピリダモール	25
N-アセチルプロカインアミド	120	ジソピラミド	30
アシクロビル	1000	ドキサソシン	32
アルブテロール	0.18	エリスロマイシン	200
アロプリノール	60	塩酸イソプロテレノール	0.06
アルブラゾラム	0.37	カナマイシン	100
アミカシン	150	ケトコナゾール	70
アミトリプチリン	20	ラベタロール	200
アムホテリシン B	100	リドカイン	100
アスコルビン酸	30	ロバスタチン	4
アテノロール	40	塩酸メトホルミン	5100
アザチオプリン	10	メチルプレドニゾロン	12
カフェイン	100	メトクロプラミド	4
カプトプリル	50	ミシプロストル	0.015
カルバマゼピン	120	硫酸モルヒネ	6
セファクロール	230	ムロモナブ CD3	1
クロラムフェニコール	250	ミコフェノール酸	400
シメチジン	100	ミコフェノール酸グルクロニド	1000
シプロフロキサシン	43	ナドロール	480
シクロホスファミド	250	ナプロキセン	1000
シクロスポリン A	1	ナイアシン	12000
シクロスポリン A AM1 代謝物	0.5	ニフェジピン	120
シクロスポリン A AM19 代謝物	0.5	ニトログリセリン	5
シクロスポリン A AM4N 代謝物	0.5	オメプラゾール	14
シクロスポリン A AM9 代謝物	0.5	ペニシリン G	100
ジゴキシシン	10	フェノバルビタール	150

フェニトイン	100	イブプロフェン	400
ピベラシリン	8	インドメタシン	10
ブラゾシン	25	インシュリン	400μU/mL
ブレドニゾロン	12	イソニアジド	70
ブレドニゾン	12	プロバノール	0.5
ブリミドン	100	硫酸キニジン	100
塩酸プロカインアミド	25	ラニチジン	200
プロメタジン	10	ラバマイシン	0.375
エタノール	3500	リファンピシン	50
フルコナゾール	81	サリチル酸	500
フロセミド	100	スペクチノマイシン	100
ガンシクロビル	400	サルファメトキサゾール	400
ゲンタマイシン	120	テオフィリン	250
グリビジド	60	トリアムテレン	600
グリブリド	40	トリメトプリム	20
ヘパリン	8000IU/L	バルプロ酸	1000
ヒドララジン	32	バンコマイシン	630
ヒドロクロロチアジド	40	ベラパミル	10

・内因性物質による影響

タクロリムスEDTA加全血プールに、アルブミン、ビリルビン、尿酸、トリグリセライド(乳び)又はコレステロールをそれぞれ別々に添加しました。タクロリムス濃度 15ng/mLにおける、これらの物質による系統誤差は 10%未満でした。

使用した添加物質	濃度
アルブミン	12 g/dL
ビリルビン	60 mg/dL
コレステロール	500 mg/dL
トリグリセライド(乳び)	1500 mg/dL
尿酸	26 mg/dL
IgG ガンマグロブリン	12 g/dL
リウマトイド因子	500 IU/mL

アステラス製薬株式会社によって報告された薬物相互作用に関する情報をPhysician's Desk Referenceより抜粋しました⁷。タクロリムスの血中濃度を増加又は減少させるかもしれない薬剤を記載していますが、最新の薬剤がリストに記載されていない場合もあります。タクロリムスは肝臓で主に代謝されるので、タクロリムスの循環濃度は肝臓の酵素、特にチトクロームP450 系に作用するような薬剤によって影響されることがあります。これらの酵素を阻害することが知られている物質は、肝臓の代謝作用を減少させタクロリムス濃度を増加させます。

チトクロームP450活性を誘導する物質は、肝臓の代謝作用を増大させタクロリムス濃度を減少させます。これらの薬剤を使用する際は、タクロリムスの濃度とプログラフ[®](タクロリムス)の適切な投与量をモニターすることが必須になります。

タクロリムス濃度を増加させる薬剤		タクロリムス濃度を減少させる薬剤
プロモクリブチン	フルコナゾール	カルバマゼピン フェノバルビタール フェニトイン リファブチン リファンピシン
シメチジン	イトラコナゾール	
シサプリド	ケトコナゾール	
クラリスロマイシン	メチルプレドニゾン	
クロトリマゾール	メトクロプラミド	
シクロスボリン	ニカルジピン	
ダナゾール	ニフェジピン	
シルチアゼム	蛋白酵素阻害剤	
エリスロマイシン	トロレANDOMマイシン	
	ベラパミル	

・その他の影響

V-Twin[®] Analyzerを使用した場合は、シクロスボリン、ミコフェノール酸及びタクロリムスのEmit法における測定間の影響は見られませんでした。
ヘパリンを抗凝固剤として使用すると微量な凝固塊が形成されるので推奨できませんが、ヘパリンの存在自体はタクロリムスの測定に影響しません。

【用法・用量（操作法）】

1. 試薬の調製法

- 試薬はそのまますぐに使用できます。
- 使用しない時は、バイアルをしっかりと閉めて保存ください。また、使用後は必ず試薬のスクリュキャップを元の容器に戻してください。
- 試薬 1 が黄色を呈していたら、品質の低下が考えられますので、試薬 2 及び緩衝液と一緒に廃棄ください。
- 試薬と緩衝液は凍結させたり、32℃以上の温度にさらさないでください。
- 開封していない試薬は 2 ～ 8℃で保存すればラベルに記載されている使用期限まで安定です。開封後は、2 ～ 8℃で垂直に立てて、蓋をきつく閉めて保存すれば、12週間又はラベルに記載されている使

用期限内まで安定です。

※※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。本品は、反応時間を一定に保ち、検体や試薬の採取と酵素活性の測定を精密に行い、反応時間の設定が正確で試薬を完全に混和できる自動分析装置を使用ください。
- (別売) エミット2000 タクロリムス キャリブレータ(0、2.5、5.0、10、20、30ng/mL) (Emit2000 Tacrolimus Calibrators)
- (別売) エミット2000 シロリムス／タクロリムス前処理液 (Emit2000 Siro/Tacro Sample Pretreatment Reagent)
- 前処理を実施する場合は次のものがが必要です。
 - *メタノール(HPLC グレード)
 - *200μL用マイクロピペット又はエッペンドルフリピーター(メタノール用)
 - *50μL用マイクロピペット又はエッペンドルフリピーター(前処理液用)
 - *100μL又は200μL用マイクロピペット(検体用)
 - *エッペンドルフコンピチップ(1.25、2.5又は5.0 mL) (エッペンドルフリピーターを使用する際に必要)
 - *マイクロ遠心機用試験管(容量 1.5 ～ 2.0 mL)
 - *マイクロ遠心機・マイクロ遠心機用試験管ラック
 - *ボルテックスミキサー
 - *実験室用ティッシュ
- その他：
 - *マルチレベル全血用コントロール

3. 測定法

※※(1)操作準備

- 1) キャリブレータ・コントロール・検体は、使用前に室温(18 ～ 25℃)に戻してください。
- 2) エミット2000 シロリムス／タクロリムス前処理液とメタノールは、18 ～ 25℃で使用し、2 ～ 30℃で保存ください。
- 3) コントロールは製造元の説明書に従って、調製、保存、使用ください。
- 4) 前処理のため、各キャリブレータ、コントロール及び検体用にマイクロ遠心機用試験管を1つずつ用意してラベルを貼ります。

(2)前処理と操作手順

操作手順は、操作ステップと操作上の注意事項の2 つのパートに分かれて記載されています。操作上の注意事項は操作に不可欠な部分ですので、操作を実施する前に必ずすべてお読みください。

注：・機械や検体を取扱う器具は、製造元の説明書に従って使用し、以下の操作ステップと操作上の注意事項に示されている操作手順に従って測定ください。

- ・検体とメタノールの分注器具の再現性と正確性が測定結果に影響を与えます。必ず定期的にキャリブレーションを実施してください。器具を適切に使用することも重要です。
- ・一度に 30 検体以上を前処理しないでください。

操作ステップ	操作上の注意事項
1. 使用前に全てのキャリブレータ、コントロール及び検体を静かに完全に混合します。	・ボルテックスミキサーは使用しないでください。溶液は、手又はローターで混合ください。 ・キャリブレータは全血の溶血物ですので、全血検体とは外観が若干異なります。
2. マイクロピペットでキャリブレータ、コントロール又は検体の各200μLを、ラベルの貼ったマイクロ遠心機用試験管に移します。(操作ステップ5を参照)	・分注時には、分注前に、使用したチップの外側を、ティッシュ等で完全に拭き取ってください。
3. メタノール200μL をマイクロピペットで各マイクロ遠心機用試験管に加えます。(操作ステップ5を参照)	・メタノールの粘性は水に比べて低いので、メタノールの分注にはマイクロピペット又はエッペンドルフリピーター (コンピチップ2.5mL又は5mL) を必ず使用ください。
4. 検体前処理液(硫酸銅) 50μL をマイクロピペットで各マイクロ遠心機用試験管に加え、すぐに蓋をします。(操作ステップ5を参照)	・分注にはマイクロピペット又はエッペンドルフリピーター(コンピチップ1.25mL)を推奨します。メタノールの前に検体前処理液(硫酸銅)を加えると、すぐにゲル化するコントロールもあります。
5. 各マイクロ遠心機用試験管を少なくとも10秒間ボルテックスミキサーにかけます。 * 細い円錐形マイクロ試験管は検体混和を容易にするために操作ステップ2～4を逆に実施することがあります。	・メタノールと検体前処理液(硫酸銅)を添加後すぐにボルテックスミキサーにかけると、形成される凝固塊を壊すのに必要な時間が最小になります。検体、メタノール及び硫酸銅の混合物はボルテックスミキサー後すぐに完全に均質になっていなければなりません。

6. 検体をボルテックスミキサーにかけ終えた後、18～25℃で少なくとも1分間インキュベートします。	・ボルテックスミキサーにかけた後、遠心機にかけるときに最大1時間放置可能です。
7. 各マイクロ遠心機試験管を少なくとも2分間遠心します。	・上清が濁っていたら再度遠心ください。(≥ 25,000 g・分) 例：2,500g×10分
8. サンプルカップに上清をあけます。この液を検体としてそのまま測定に用います。	・検体が無いのに測定値が得られてしまうことを避けるために、全てのカップに検体があることを確認してください。

4. キャリブレーション

- (1) 試薬のロットが新しくなったときは必ずキャリブレーションを実施ください。機器のメンテナンス中に機器の重要な変更(分注システムや光学系の変更等)があった場合は再度キャリブレーションを実施ください。
- (2) システムが取扱説明書の指示に従って正しく作動することを確認ください。
- (3) 検体の前処理プロトコルに従ってエミット2000 タクロリムス キャリブレータを処理ください。キャリブレータは検体やコントロールと一緒に前処理できます。
- (4) 前処理済みのキャリブレータを適切な位置／ラックに置き、取扱説明書の指示に従って測定ください。
- (5) 2濃度又は3濃度の各コントロールが許容範囲以内にあれば、そのキャリブレーションを使用します。(【用法・用量】の5.精度管理の表3コントロールの許容範囲を参照)

5. 精度管理

- (1) 一時的なコントロールの許容範囲の設定
 - 1) 最初のキャリブレーション後、2濃度又は3濃度のコントロールでそれぞれ3重測定を同時に実施ください。測定者のエラーや機器の不調によって生じた結果、又は統計外 (statistical outlier test) のデータにより除外する以外は、コントロール結果はすべて保存ください。
 - 2) 1)に示したように、キャリブレーション、コントロール測定、コントロール結果の記録を更に2回繰り返してください。それによって、3重測定から各レベルにおける9つの結果が記録されます。
 - 3) 各コントロールレベルの平均濃度を9つの結果から算出ください。
 - 4) 3)で得られた平均コントロール値を使用し、また表3を参考にして各コントロールレベルの一時的なコントロールの許容範囲を設定ください。

表3：コントロールの許容範囲

コントロール	平均コントロール値 (ng/mL)	許容範囲
低	3～7	平均値± 30%
中	10～14	平均値± 20%
高	20～25	平均値± 20%

- 5) 患者検体を測定するときは、設定した一時的なコントロールの許容範囲を少なくとも30日間使用ください。長期的なコントロールの許容範囲を設定するためには、一時的な許容範囲を使用している間に、各コントロールレベルで最低20の測定値を集めて、少なくとも10日毎にキャリブレーションを実施ください。
注：一時的なコントロールの許容範囲は30日間使用可能であるべきですが、もし一時的な許容範囲と比較してコントロールの測定値が一定の偏りを示すようであれば、上記1)から5)までを繰り返して一時的なコントロールの許容範囲を再設定ください。もし一時的なコントロールの許容範囲を使用することが難しければ、製造販売元にお問い合わせください。
- (2) 長期的なコントロールの許容範囲
 - 1) 一時的なコントロールの許容範囲を使用している30日間に、各コントロールレベルで最低20の測定値を集めてください。測定者のエラーや機器の不調によって生じた結果、又は統計外 (statistical outlier test) のデータにより除外する以外は、コントロール結果はすべて保存ください。
 - 2) 1)で集めた結果と一時的な許容範囲を設定した際に得られた9つの結果を含めて、各レベルのコントロール濃度の平均値と標準偏差を再計算します。
 - 3) 長期的なコントロールの許容範囲は平均値の± 2.25SDで設定します。もし平均の± 2.25SDが平均の± 12%未満であれば、長期的なコントロールの許容範囲を平均の± 12%に設定ください。もし平均の± 2.25SDが平均の± 25%以上であれば、長期的なコントロールの許容範囲を平均の± 25%に設定ください。少なくとも20回検量線を書き直したら、再度各コントロールレベルの平均値を算出し、標準偏差に2を掛けて長期的なコントロール

ルの許容範囲を設定ください。

- 4) 新ロットのコントロールを使用する場合には必ず新規にコントロールの許容範囲を設定ください。前のコントロールを使用して確認された新しいコントロールを20回測定し、新しい許容範囲を設定することができます。
- (3) 日常の精度管理

精度管理の頻度については、行政当局の規制又は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。
6. 高濃度検体について

30ng/mL以上のタクロリムス濃度の前処理済み検体を測定する場合は、次の指示に従って用手法で検体を希釈ください。

高濃度の全血検体を、陰性の全血キャリブレータか、陰性のヒトEDTA添加全血を使用して次の方法で希釈します。

 - (1) 高濃度の全血検体と陰性の全血検体を使用直前に静かに完全に混合します。
 - (2) 1容量の高濃度の全血検体と2容量の陰性の全血検体を混合します。
 - (3) 転倒混和を繰り返して溶液を完全に混合します。
 - (4) 前処理と操作手順ステップ1から8に従って、希釈した全血検体を前処理し測定します。
 - (5) 測定結果に希釈倍数を掛けてタクロリムス測定濃度を算出します。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定
 - ・結果は各種自動分析装置によって自動的に計算されます。検体を用手法で希釈しないのであれば、さらに必要な操作はありません。各機器の取扱説明書を参考にしてください。
 - ・詳しい説明は機器の取扱説明書及び測定操作法を参照ください。
2. 判定上の注意
 - ・本品は全血中のタクロリムス測定用の体外診断用医薬品で、血清又は血漿中のタクロリムスの測定には使用できません。
 - ・測定結果は常に、患者の病歴、臨床症状及び他の所見を考慮して解釈ください。
 - ・分析装置の微生物汚染はタクロリムスの酵素試薬のキャリーオーバーの原因になります。このことによりタクロリムス測定直後、他のEmit試薬で測定すると、得られた検体結果を上昇させることがあります。キャリーオーバーの影響の度合は、測定試薬によって異なります。詳細は、製造販売元にお問い合わせください。
 - ※ 静脈穿刺は偽高値を示す可能性があるため、スルファサラジン又はスルファピリジン投与前に行ってください。
 - ・注意：治療又は診断でマウスモノクローナル抗体の前処置を受けた患者の検体は、ヒト抗マウス抗体 (HAMA) を含むことがあります。このような検体は、マウスモノクローナル抗体を利用する分析キットで測定すると、偽高値又は偽低値を示すことがありますので、これらの検体は、本品で測定しないでください。
3. 参照治療域

全血中のタクロリムスに対する明確な治療濃度範囲はありません。臨床状態の複雑さ、免疫抑制に対する感受性とタクロリムス腎毒性作用の個人差、採血の時間、その他の免疫抑制剤との併用投与、移植のタイプ、移植後の経過時間及びその他の多くの要因によって、様々なタクロリムスの最適血中濃度が要求されます。タクロリムス値単独では治療内容を変更する際の指標にはできません。各患者は治療内容の変更が適用される前に、臨床的に徹底的に検討されるべきであり、タクロリムス濃度測定用試薬はその使用に先立って臨床経験を基にそれぞれの治療濃度範囲を確立する必要があります。このような治療濃度範囲は使用される市販の体外診断用医薬品に応じて幅がありますので、使用される各市販の試薬毎に設定される必要があります。異なる測定法による結果は、測定原理及び代謝物の交差反応性に違いがあるため、代用することはできません。同様に異なる測定法から得られた補正係数も、代用することはできません。患者ごとに1つの測定法を一貫して使用することをお奨めします。Consensus Documentには12時間のトラフの全血濃度がターゲットとして記載されています¹。その濃度範囲は、移植のタイプ、移植後のステージ及び医療内容などによって5～20ng/mLになっています⁵。これより高値又は低値は有害事象の増大と関係している可能性があります。

血中レベルは併用している薬物治療からも影響を受けます。HIV感染のためのウイルス蛋白酵素阻害剤による治療を実施している患者では、タクロリムスの代謝が著しく変化し、タクロリムス濃度が少なくとも100ng/mLに上昇する原因となり、通常とは異なる投与法が必要となることがあります⁶。

【臨床的意義】

1984年に藤沢薬品株式会社（現アステラス製薬）により発見されたタクロリムスは菌由来のマクロライド系の免疫抑制剤で^{8,9}、Tリンパ球上における選択的カルシニューリン阻害剤です^{1,5,10}。

多くのデータによりタクロリムスが主要なあるいは補助的な免疫抑制剤として有用であることが確認されています⁹。タクロリムスの安全で有効な治療レンジは狭く^{5,2}、過少投与や低血中濃度は移植の拒絶反応をひきおこします⁵。またタクロリムス中毒域は腎毒性、神経毒性、移植後糖尿病、易感染性、悪性腫瘍、高血圧、胃腸障害を含む多くの副作用に関係しています^{1,9,11}。

臓器移植の適切な免疫抑制治療を確実に実施するための最も効果的な方法は、全血中のタクロリムス濃度をモニタリングし、その濃度の意味をその他の検査データや臨床所見と照らし合わせながら判断していくことです^{1,10}。タクロリムス治療に対する臨床的反応は、投与量とあまり良く相関しない場合もあります^{8,10,11}。タクロリムスの吸収とクリアランスは患者毎に大きく異なります¹。タクロリムス濃度に影響する因子には患者の年齢、移植臓器の性質、移植前の健康状態、その他の薬剤との作用などがあります^{1,2,10,11}。

タクロリムスは、肝薬物代謝酵素チトクロームP450によって代謝されます。そのためチトクロームP450を誘導する薬剤は、タクロリムス濃度を低下させますが、多くの薬剤はタクロリムスの血中濃度を増加させることが知られています^{2,11}。患者への投与薬剤が変更された場合、タクロリムスの血中濃度に大きな変動が見られる可能性があります。【測定結果の判定法】3.参照治療域の項を参照ください。

タクロリムスのConsensus Documentでは、測定用の検体としてEDTAで処理された全血が推奨されています¹。タクロリムスの代謝物と免疫抑制や毒性との関係はまだ不明です^{1,2,5}。現在使用されている免疫測定法は、代謝物との交差反応があるので特異的ではなく、タクロリムスの濃度を過剰測定してしまう可能性があります。そのような場合は、特異的な方法（例：HPLC/MS）での測定を考慮ください^{5,10}。タクロリムス濃度のモニターに使用されているその他の方法には、酵素免疫測定法（ELISA）、粒子酵素免疫測定法（MEIA）、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）及びHPLC－質量分析が含まれます⁵。

【性能】

1. 性能

(1)感度

タクロリムス濃度30ng/mLと0ng/mLの標準液を測定するとき、吸光度変化量の差は16mAU/min以上です。

(2)正確性

濃度既知の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80～120%です。

(3)同時再現性

異なる2濃度の検体を各5回同時に測定するとき、その変動係数（CV%）は15%以下です。

(4)測定範囲

本品による全血中のタクロリムス濃度の測定範囲は、2.0～30ng/mLです。タクロリムス濃度が約80ng/mL程度までは、検体を希釈し、測定した結果に希釈倍数を掛けることで推定することができます。（【用法・用量】の6.高濃度検体についての項を参照）希釈した検体の回収テストを80ng/mLまで実施したところ、結果はタクロリムスの予測値の±10%以内でした。高濃度（80ng/mL）から低濃度（5ng/mL）検体へのキャリーオーバー、又はその逆の低濃度から24ng/mLの検体へのキャリーオーバーは見られませんでした。

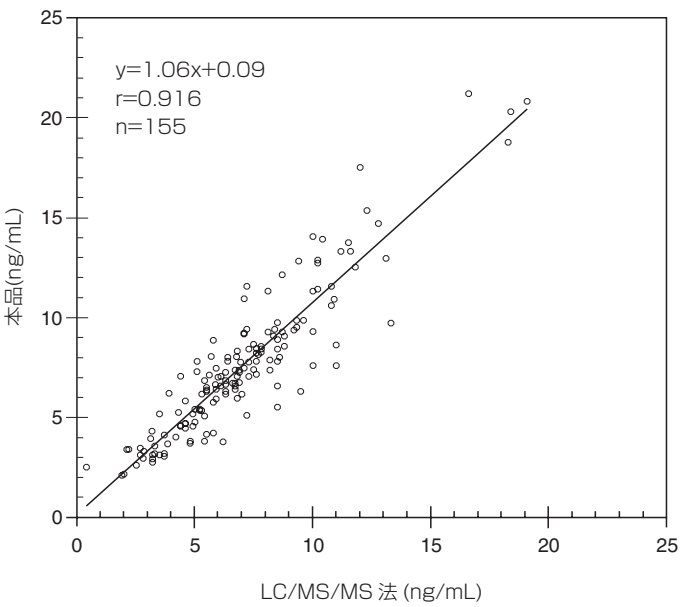
2. 相関性

本品の相関性の検討は肝臓及び腎臓の移植患者の検体を用いて2ヶ所の施設で実施しました。患者検体は液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析（LC/MS/MS法）及び他社製品（MEIA法）を用いて解析しました。表4に相関性データを示します。

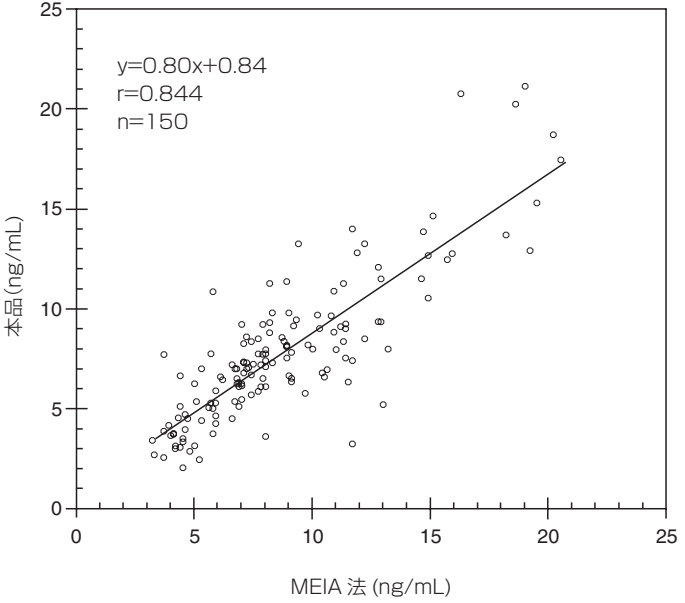
表4：相関性データ

比較法	傾き	切片	相関係数（r）	患者数
LC/MS/MS法				
全体	1.06	0.09	0.916	155
肝	1.01	0.35	0.946	65
腎	1.10	-0.12	0.899	90
MEIA法				
全体	0.80	0.84	0.844	150
肝	0.83	0.69	0.812	62
腎	0.79	0.87	0.863	88

LC/MS/MS法との相関性



MEIA法との相関性



3. 精密性

精密性の一時的な評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLS¹²に準じて本品の同時再現性と日差再現性を検討しました。ヒトの血液の溶血物を加えたコントロールの2重測定を1日に2回行い、それを20日間実施しました。（N=80）これらの測定はV-Twin[®]を使用しました。表5に各コントロールの平均値及び95%信頼範囲における標準偏差（SD）と変動係数（CV%）を示します。

表5：再現性

コントロール値 (ng/mL)	同時再現性		日差再現性	
	SD	CV%	SD	CV%
5.10	0.40	7.8	0.83	16.4
9.98	0.50	5.0	1.03	10.3
15.11	0.59	3.9	1.27	8.4
23.87	0.81	3.4	1.62	6.8

4. 回収率

タクロリムスの回収率を、タクロリムスフリーのEDTA加全血にタクロリムスを加えて検討しました。全血検体をタクロリムス濃度5、15及び25ng/mLに調製し、それぞれの検体につき前処理及び5重測定を4回行いました。表6に結果を示します。

表6：回収率の検討

調製濃度 (ng/mL)	5.0	15	25
平均測定値 (ng/mL)	5.3	16.1	27.6
回収率	106%	107%	110%

タクロリムスの回収率におけるヘマトクリット値の影響について試験を実施しました。赤血球を検体に加え、ヘマトクリット値が15～60%の検体を5種作成し、各々に15ng/mLのタクロリムスを添加しました。測定の結果、タクロリムスの回収率におけるヘマトクリット値の影響はヘマトクリット値が15～60%のコントロール検体では10%以内でした。

5. 直線性

直線性の評価ガイドラインとして推奨されているCLSI/NCCLS¹³に準じて本品の直線性を検討した結果、2～30ng/mLまでの範囲で直線性が得られました。表7の情報は、目標値(x)に対する分析範囲で(y)を図示して得られた結果を示します。

表7：直線性

傾き	1.024
切片	0.244
r	0.9992

6. 分析感度

本法は0ng/mLと95%の信頼範囲で区別できる最小濃度は2.0ng/mLです。

7. 実効感度

本品の実効感度は希釈した患者検体を測定し、その再現性を検討して求めました。4患者のプール検体(0.0～3.0ng/mL)を週1回6週間、2ロットの試薬とキャリブレーションを使用して測定しました。20% CVでの定量限界は約2.8ng/mLでした。

8. 較正用の基準物質(標準物質)

社内標準品

【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、また口によるピペティングを行わないでください。
- キャリブレーションはアジ化ナトリウム(<0.1%)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、大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。

※ 試薬には5-クロロ-2-メチル-3(2h)-インチアゾロンと2-メチル-3(2h)-インチアゾロンが含まれています。

H317

P272, P280, P302 + P352, P333 + P313, P501

警告：

アレルギー性皮膚反応を起こすおそれがあります。

保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防衛マスクを着用ください。汚染された作業衣は作業場から出さないでください。皮膚に付着した場合、石けんと大量の水で洗ってください。皮膚刺激又は発疹が生じた場合、医師の診断/手当てを受けてください。内容物及び容器は、地方自治体及び国の規制に従い廃棄ください。

- 本品を取り扱う場所では、飲食や喫煙、化粧をしないでください。
- キャリブレーションにはヒト血液の溶血物が含まれています。各ロットはHBs抗原、HIV抗体(HIV1/2)、HCV抗体及び梅毒の検査を実施し陰性の結果を得ていますが、ヒト由来の試薬は常に感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。
- メタノールは必要な試薬ですが本品には含まれていません。メタノールは検体からタクロリムスを抽出するために使用される可燃性の試薬です。摂取したり、皮膚に触れないようにしてください。

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。
- 試薬1、試薬2及び緩衝液はセットとして調製されていますので、別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品の性能や測定結果に影響することがあるので保証できません。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切な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。

- －キャリブレーションは保存剤としてアジ化ナトリウム(<0.1%)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ゆっくりと大量の水で洗い流してください。
- －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：15ヶ月(使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

試薬1 22mL×1バイアル

試薬2 10mL×1バイアル

緩衝液 10mL×1バイアル

【主要文献】

- Jusko WJ, Thomson AW, Fung J, et al. Consensus document: therapeutic monitoring of tacrolimus (FK- 506). *Ther Drug Monit.* 1995;17:606-614.
- Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 1995;29(6):404-430.
- Occupational exposure to bloodborne pathogens (29 CFR Part 1910.1030). *Federal Register.* December 06, 1991;56:64004; amended April 13, 1992;57:12717; July 01, 1992;57:29206;February 13, 1996;61:5507.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Interference testing for clinical chemistry.* CLSI/NCCLS proposed guideline EP7-P, February 1982. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.
- Oellerich M, Armstrong VW, Schutz E, Shaw LM. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine and tacrolimus. *Clin Biochem.* 1998;31(5):309-316.
- Sheikh AM, Wolf DC, Lebovics E, Goldberg R, Horowitz HW. Concomitant human immunodeficiency virus protease inhibitor therapy markedly reduces tacrolimus metabolism and increases blood levels. *Transplantation.* 1999;68(2):307-309.
- Physician's Desk Reference, 57th ed. Montvale, NJ: Medical Economics Co, Inc; 2003:1371-1376.
- Wallemacq PE, Reding R. A novel immunosuppressant in organ transplantation: clinical, biomedical, and analytical aspects. *Clin Chem.* 1993;39(11):2219-2228.
- Laskow DA, Neylan JF III, Shapiro RS, Pirsch JD, Vergne-Marini PJ, Tomlanovich SJ. The role of tacrolimus in adult kidney transplantation: a review. *Clin Transplant.* 1998;12:489-503.
- Trull AK. Therapeutic monitoring of tacrolimus. *Ann Clin Biochem.* 1998;35:167-180.
- Kelly PA, Burckart GJ, Venkataramanan R. Tacrolimus: a new immunosuppressive agent. *Am J Health-Syst Pharm.* 1995;52:1521-1535.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS.

Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices; Approved Guideline - Second Edition. CLSI/NCCLS document EP5-A, Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.

13. Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. *Evaluation of the linearity of quantitative analytical methods*. CLSI/NCCLS proposed guideline EP6-A, August 1986. Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA.

【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