

エリスロポエチンキット

## ケミルミ EPO

## ■ 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。
- 電子添文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。
- 使用する機器の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。
- 適切な保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防御マスクを使用し測定ください。

## ■ 形状・構造等（キットの構成）

## 1. ケミルミ EPO

基本試薬パック

構成試薬	内容量	成分
標識試薬	10.0 mL	アクリジニウムエステル標識抗エリスロポエチンマウスモノクローナル抗体（略名：アクリジニウムエステル標識抗EPO抗体）（アジ化ナトリウム<0.1%）
固相化試薬	24.0 mL	抗エリスロポエチンマウスモノクローナル抗体化ストレプトアビジン結合磁性粒子（略名：抗EPO抗体化磁性粒子）

ケミルミ EPO 校正剤

構成試薬	内容量	成分
低濃度校正剤	2.0 mL/バイアル	リコンビナントEPO、アジ化ナトリウム<0.1%
高濃度校正剤	2.0 mL/バイアル	

本キットにはケミルミ EPO マスターカープカードと校正剤表示値カードが付属します。

## 2. 酸化剤/酸化補助剤（別売）

構成試薬	内容量	成分
酸化剤	1500 mL/本	0.5% 過酸化水素 0.1 N 硝酸
酸化補助剤	1500 mL/本	0.25 N 水酸化ナトリウム

## ■ 使用目的

血清又は血漿中のエリスロポエチン（EPO）の測定

## ■ 測定原理

本品は、化学発光免疫測定技術を用いた1ステップサンドイッチ法です。検体に標識試薬及び固相化試薬を加えて反応させると、検体中のエリスロポエチンが試薬に含まれるアクリジニウムエステル標識抗EPO抗体、及び抗EPO抗体化磁性粒子と反応して、免疫複合体を形成します。B/F分離し反応液を洗浄後、酸化剤及び酸化補助剤を加えることでアクリジニウムエステルがアルカリ条件下で反応して化学発光します。その発光量を測定し、検体中のEPO濃度に換算します。

## ■ 操作上の注意

本品はケミルミADVIA Centaur® シリーズ（以下ADVIA Centaur シリーズ）の専用試薬です。

## 1. 測定試料の性質、採取法

## (1) 検体の性質、採取法

本品の測定には血清又は血漿（EDTA2カリウム、ヘパリンリチウム、ヘパリンナトリウム）検体を使用ください。

下記の血液検体の取り扱い、保存方法はお客様のガイダンスを目的に記載しています。それ以外の取り扱い、保存方法については各施設で検討の上、使用者の責任において設定ください。

- EPOの日内変動に関する報告があります<sup>1,2,3,4</sup>。一日のうち、決まった時間に検体採取をすることが重要です。午前中（朝7:30～昼12:00）に採血することをお勧めします。
- 検体を採取する際は、感染予防措置を講じてください。すべての検体は感染性があるものとして取り扱いください。
- 静脈穿刺により血液検体を採取する際の推奨手順に従ってください<sup>5</sup>。
- 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<sup>6</sup>。
- 検体は完全に凝固してから遠心分離ください。
- 採血後、2時間以内にできるだけ速やかに遠心分離ください<sup>7</sup>。
- 検体は常に栓をして保存ください。
- 明らかに微生物で汚染された検体は使用しないでください。
- 保存検体は室内温度に戻してから使用ください。

検体を機器に装填する前に下記の事項を確認ください。

- 検体中には、フィブリンや浮遊物がないこと。浮遊物は、遠心分離で除去ください。
- 検体には気泡がないこと。

## (2) 検体の保存

- 血清検体は、室温で8時間、2～8℃で7日間安定です。長期保管の場合は、-20℃以下で3ヶ月間安定です。
- 3回を超える凍結融解は避けてください。
- 霜取り機能付きの冷凍庫は使用しないでください。
- 融解した検体は、試験前に十分に混和してから遠心分離ください。

## (3) 検体の輸送

- 検体を輸送する際は、臨床検体及び病原体の輸送に関して適用される規制に従い、検体を梱包・表示ください。
- 検体は到着次第すぐに栓をして2～8℃に保存ください。
- 輸送日数が2日間を超える場合は、凍結して輸送ください。

## 2. 妨害物質

- 本品の溶血、黄疸、脂肪血による測定結果への影響は、EPO濃度4～6 mIU/mL、25～35 mIU/mLにおいて、誤差が≤10%となるように設計されています。CLSI EP07-A2<sup>8</sup>に従い試験を行い、下表の濃度までは測定結果に有意な影響は認められませんでした。

検体	濃度
溶血	500 mg/dL (0.31 mmol/L) ヘモグロビン
黄疸	60 mg/dL (1026 μmol/L) 非抱合型ビリルビン 40 mg/dL (475 μmol/L) 抱合型ビリルビン
脂肪血	3000 mg/dL (34.0 mmol/L) 乳び (Intralipid)

- 下表に示す濃度の薬剤を試験した結果、2濃度のEPO検体（4～6 mIU/mL及び25～35 mIU/mL）の測定結果に有意な影響は認められませんでした。

物質	濃度
アセトアミノフェン	14 mg/dL (927µmol/L)
アセチルサリチル酸	50 mg/dL (2.8 mmol/L)
ヒトアルブミン	6 g/dL (60 g/L)
ビオチン	100 mg/dL (4.1 mmol/L)
コレステロール	500 mg/dL (12.95 mmol/L)
EPO可溶性受容体	15 ng/mL
ヘパリン	8000 U/dL
ヒトγグロブリン	4.9 g/dL
イブプロフェン	40 mg/dL (1942 µmol/L)
総合ビタミン剤	0.2%
リウマトイド因子	200 IU/mL
Silwet L720	0.2 mg/dL
総蛋白質	12 g/dL (120 g/L)
トリグリセリド	1000 mg/dL (11.3 mmol/L)

測定結果は検査室により異なります。

### 3. 交差反応性

本品は、α-2-マクログロブリン、トランスフェリン、rhスロンボポエチン、α-1-酸性糖蛋白質、α-1-アンチトリプシン、α-及びβ-グロブリン、γ-グロブリンへわずかな交差反応を示します。交差反応性は、CLSI EP07-A2<sup>®</sup>に従い、EPO濃度がおおよそ4～6 mIU/mLの検体を測定して実施しました。交差反応は下式で算出しました。

$$\text{交差反応(\%)} = \frac{(\text{添加検体のEPO濃度} - \text{無添加検体のEPO濃度})}{\text{交差反応物質濃度}} \times 100$$

測定結果は下表のとおりです。

物質	添加濃度	交差反応 (%)
α-2-マクログロブリン	400 mg/dL	-0.01
トランスフェリン (鉄飽和)	200 mg/dL	0.00
トランスフェリン (鉄不飽和)	200 mg/dL	0.00
rhスロンボポエチン	10,000 ng/mL	-0.10
α-1-酸性糖蛋白質	80 mg/dL	0.01
α-1-アンチトリプシン	200 mg/dL	0.00
α-及びβ-グロブリン	5 g/dL	0.00
γ-グロブリン	6 g/dL	0.00

## ■ 用法・用量 (操作方法)

操作法の詳細は機器の取扱説明書を参照ください。

### 1. 試薬の調製と取扱い

試薬は全て液状のためそのまま使用ください。

- 冷蔵庫から取り出したら、基本試薬パックは機器に装填する前に手で混和ください。
- 試薬パックの底の微粒子が全て分散し、試薬パックの底に沈殿物が無いことを確認してください。

#### 注意：

- 機器に装填後、28日を経過した試薬パックは廃棄ください。
- 使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。

### 2. 必要な器具・器材・試料等

- ADVIA Centaur シリーズ
- ケミルミ共通希釈液 13：アジ化ナトリウム (<0.1%)
- 特殊洗浄液 1：アジ化ナトリウム (<0.1%)
- APWプローブ洗浄液 1 (ADVIA Centaur CP用)：0.4N 水酸化ナトリウム
- ケミルミ EPOコントロール：アジ化ナトリウム (<0.1%)

### 3. 機器への装填

- 測定を開始する前に、機器に装填している試薬の量が測定に十分な量であることを確認してください。
- 基本試薬パックをラベルの端にある矢印に合わせて、試薬挿入部に装填ください。
- 装填後の試薬は、機器が自動的に攪拌するので、常に均一な懸濁液状に保たれています。

- 検体を自動希釈する場合は、ケミルミ 共通希釈液 13を補助試薬挿入部に装填ください。

- 詳細な情報については、機器の取扱説明書を参照ください。

### 4. 較正間隔と装填後の安定性

本品の較正にはケミルミ EPO較正剤を使用ください。較正剤は同梱の基本試薬パックに対応しています。

機器装填後試薬（基本試薬パック）の安定性：28日間  
較正間隔：14日間

以下の場合において低濃度及び高濃度較正剤による較正（2ポイントキャリブレーション）を実施ください。

- 較正後、14日経過したとき
- 基本試薬パックのロットが変更になったとき
- 機器の部品を交換したとき
- 精度管理の結果が繰返し期待値から外れるとき

#### 注意：

- 機器に装填後、28日を経過した基本試薬パックは廃棄ください。
- 使用期限の過ぎた試薬は使用しないでください。

### 5. マスターカーブの較正

新しいロットの試薬（標識試薬、固相化試薬）を使用する際には、マスターカーブによって較正ください。マスターカーブカードには、マスターカーブ値が記載されています。ロット変更ごとにバーコードスキャナ又はキーボードで、マスターカーブ値を機器に入力ください。

- マスターカーブ値の入力方法の詳細については取扱説明書を参照ください。

### 6. 較正

本測定の較正には各キット中に同梱されているケミルミ EPO較正剤を使用ください。

**注意：**本キット中に同梱されている低濃度較正剤及び高濃度較正剤は基本試薬パックに対応しています。較正剤のロットと異なる基本試薬パックのロットを一緒にしないでください。

各較正剤はロットごとに、機器に較正剤の値を入力するための較正剤表示値カードが付属されています。バーコードスキャナもしくはキーボードを使用してその値を入力ください。較正剤は同梱の基本試薬パックに対応しています。較正値の入力についての情報の詳細は機器の取扱説明書を参照ください。

#### 較正の実施：

以下の用量で較正を実施ください。

- 適切に較正剤の表示値が入力されているか確認ください。
- 適切にマスターカーブの値が入力されているか確認ください。マスターカーブの較正を参照ください。
- 測定に必要な試薬が機器に装填されていることを確認ください。
- ワークリストで較正を指示ください。
- 較正剤のバーコードラベルを貼付するために検体カップを2つ準備ください。1つは低濃度較正剤用、もう1つは高濃度較正剤用です。

**注意：**バーコードラベルを機器が読み取りやすいように垂直に貼付します。バーコードラベルはロットごとに異なります。あるロットの較正剤のバーコードラベルは他のロットの較正剤には使用できません。

6) 低濃度較正剤及び高濃度較正剤を転倒混和後、それぞれの検体カップに較正剤を7~8滴分注します。気泡がないことを確認ください。  
**注意：**較正剤バイアルの1滴はおおよそ50 µLです。

この操作は、それぞれの較正剤を2回測定するのに十分な較正剤の量です。

- 検体カップをラックに装填ください。
- ラックを検体挿入ラインに装填ください。

#### • ADVIA Centaur/XP/XPT

9) 必要に応じて、スタートボタンを押してください。  
**注意：**24時間を経過した検体カップ内の較正剤は廃棄ください。残った較正剤をバイアルに戻さないでください。較正剤の液が揮発し、結果に影響を及ぼすおそれがあります。検体カップ内の較正剤残量が少なくなったら注ぎ足さず、必要に応じて新たに調製ください。

#### • ADVIA Centaur CP

- メインメニューでReagent compartment screenを開いてください。
- 較正剤の測定を選択ください。

11) 較正を選択ください。

**注意**：24時間を経過した検体カップ内の較正剤は廃棄ください。残った較正剤をバイアルに戻さないでください。較正剤の液が揮発し、結果に影響を及ぼすおそれがあります。検体カップ内の較正剤残量が少なくなったら注ぎ足さずに、必要に応じて新たに調製ください。

## 7. 検体量

1回の測定に必要な検体量は100 μLです。この検体量には、検体カップ内の測定に使用できない量 (dead volume)、2重測定や再測定等を実施する際にさらに必要となる量は含まれていません。最小必要量の測定の詳細に関しては機器の取扱説明書を参照ください。

## 8. 希釈方法

- 血清検体の測定結果が750.00 mIU/mLを超える場合は、正しい結果が得られるように検体を希釈してから再測定ください。
- 自動希釈の場合、ケミルミ 共通希釈液13を装填し、以下のとおりにパラメーターを設定ください。

Dilution point : ≤750.00 mIU/mL

Dilution factor : 10

自動希釈の設定方法に関しては、機器の取扱説明書を参照ください。

- 希釈した検体の測定結果が計算上およそ正しい値であることを確認ください。機器に予めDilution factorを設定入力した場合は、自動的に測定結果が算出されます。
- 自動希釈に必要な検体量は、1回の測定に必要な検体量と異なります。自動希釈に必要な検体量については、次の情報を参照ください。

希釈率	検体量 (μL)
10倍	20

自動希釈の設定方法に関しては、機器の取扱説明書を参照ください。

## 9. 精度管理

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。機器の性能や測定値の傾向を管理するため、最低限の要求事項として、測定実施日ごとに3濃度の既知濃度の精度管理用コントロールで精度管理を実施ください。較正 (2ポイントキャリブレーション) を実施する際にも精度管理用コントロールを測定ください。精度管理用コントロールは全て患者検体と同様に取り扱ってください。

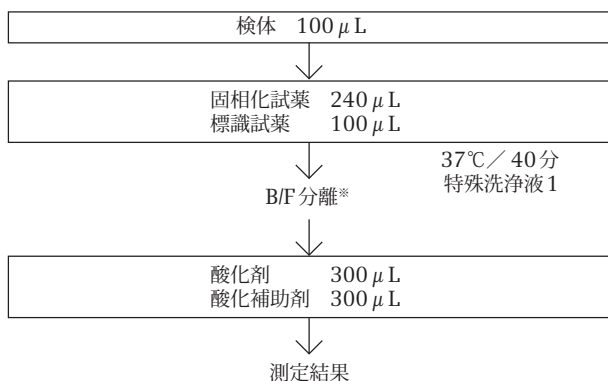
精度管理には、ケミルミ EPOコントロール又は3濃度以上の市販の管理用検体を使用ください。適切に実施された検査室内の精度管理法によって測定した精度管理用コントロールの結果が本機器又は各施設の基準範囲内であるとき、機器の性能は基準に達しています。精度管理は、精度管理物質の使用説明書に従い実施ください。精度管理に関する詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。精度管理物質のロットに対応する表示値及び範囲は、ロットに対応した表示値を参照ください。精度管理の結果が期待値あるいは検査室で設定した値の範囲から外れる場合は、測定結果をそのまま報告せず、次の操作を行ってください。

- 試薬等の使用期限が切れていないか確認ください。
- 必要な保守点検が行われたか確認ください。
- 機器の取扱説明書や本電子添文の手順に従って測定されたか確認ください。
- 新しいコントロールで再測定ください。

施設の手順に従い、是正措置を実施ください。必要な場合は、当社に連絡ください。

## 10. 測定方法

検体の測定方法及び測定結果の算出方法の詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。機器により、次の動作が自動的に実行されます。



※B/F分離とは、抗原抗体複合体 (B,bound) と未反応の標識体 (F,free) を分離することです。

患者検体中のEPO量と機器によって検出されるRLUs (相対的発光量) の間には、正の相関関係があります。

## ■ 測定結果の判定法

測定結果の算出方法の詳細については、機器の取扱説明書を参照ください。

### 1. 結果の判定法

機器は、EPOの結果をmIU/mLで報告します。

#### • ADVIA Centaur/XP/XPT

機器は定量限界 (LoQ : 0.83 mIU/mL) 未満の結果を表示しますが、LoQ未満の結果は<0.83 mIU/mLと報告ください。

#### • ADVIA Centaur CP

機器は定量限界 (LoQ : 0.89 mIU/mL) 未満の結果を表示しますが、LoQ未満の結果は<0.89 mIU/mLと報告ください。

### 2. 参考基準範囲

ヘマトクリットが健常な165検体 (男性 : n=89、女性 : n=76) を本品によりADVIA Centaur XPで測定しました。年齢幅は、21~66歳でした。EP28-A3cに従い定義した本品の95%信頼区間は5.45~28.35 mIU/mLで中央値10.77 mIU/mLでした。他の全ての検査薬と同様に、各施設で患者の測定結果の診断評価を基に基準範囲を設定ください。上記の結果は参考としてください。

### 3. 判定上の注意

#### • 高濃度フック現象

高濃度EPOの患者検体は、相対発光量 (RLU) と矛盾する低値となることがあります (高濃度フック現象)。

#### • ADVIA Centaur/XP/XPT

高濃度EPO検体 (114,500 mIU/mL) は>750.00 mIU/mLとして測定されます。

#### • ADVIA Centaur CP

高濃度EPO検体 (102,000 mIU/mL) は>750.00 mIU/mLとして測定されます。

\* 臍帯血、新生児検体、熱非働化検体、又は唾液、尿、羊水、胸膜液などの血清及び血漿以外の体液の測定では、本品の性能は確立されていません。

• 免疫不全又は免疫抑制状態にある患者検体について、本品の性能は確立されていません。

• ヒト血清中の異好抗体は、試薬中の抗体と反応して、反応系を妨害することがあります<sup>10</sup>。動物や動物の血清に日常的に接触している患者では、この妨害が発生しやすく、測定結果が異常値を示すことがあります。診断にはさらなる情報を要することがあります。

• 本品と他の測定法によるEPOの測定結果は異なるので、同一患者で繰り返し測定をする場合は、同一の測定法で試験を実施ください。

• アセトアミノフェン (18 mg/dL) はEPO濃度4~6 mIU/mLの検体において、EPOの測定結果を最大12.79%減少させます。EPO測定結果はこの誤差を基に修正しないでください。治療濃度以上のアセトアミノフェンを含む検体は注意して判定ください。

• ワルデンストレームマクログロブリン血症及びリンパ形質細胞性リンパ腫患者は、過粘稠によりEPOの産生が減少し、インターロイキン (IL-6) 高値の貧血を呈することがあります<sup>11</sup>。

• EPO濃度25~35 mIU/mLにおいて、IgG (6.7 g/dL) はEPOの測定結果を最大11.3%減少させます。EPO測定結果はこの誤差を基に修正しないでください。IgG高値検体の結果の解釈には注意ください。

• 管理物質の測定結果が規格から外れる場合は、検体の測定結果は無効とし、再測定ください。

• 本品の測定結果は、患者の臨床所見及び病歴も含め、必ず他の診断法と併せて総合的に評価ください。

• EPO値を参照して赤血球増加症の鑑別診断をする際には注意が必要です。EPO低値は、PVなどの一次赤血球増加症が考えられます。EPO高値は、二次赤血球増加症が考えられます。しかしながら、一次性及び二次赤血球増加症は、参考基準範囲でオーバーラップするEPO値を取りえます<sup>12</sup>。予想よりもEPOが低値の場合、免疫不全症候群、関節リウマチ<sup>13</sup>及び癌<sup>14</sup>に関連する貧血が考えられます。潰瘍性大腸炎患者<sup>15</sup>及び鎌状赤血球症患者<sup>16</sup>においては、貧血の程度がEPO値に相関しない場合があります。

• 同種骨髄移植をした患者の貧血は、EPO分泌障害によりEPO値の回復が遅くなる場合があります<sup>17</sup>。

## ■ 臨床的意義

エリスロポエチン (EPO) は、4つのリンケージサイト上のペプチドに結合する4本の入り組んだ構造の糖鎖を持つ165個のアミノ酸からなる糖蛋白ホルモンです<sup>12, 18, 19</sup>。EPOの分子量は、30,000~38,000ダルトンです<sup>12, 18, 20</sup>。EPOの糖鎖は、分子量のおよそ40%を占めます。血漿中のEPOの半減期はおよそ7~8時間です<sup>21</sup>。高地に住む患者及び睡眠時無呼吸症又は肺疾患の患者で血漿中のEPO値の日内変動が報告されています<sup>1, 2, 3, 4</sup>。

EPOは、骨髄中の赤芽球系前駆細胞に作用し、増殖と分化を促進する赤血球生成の主要な調節因子です。哺乳類において、胎児では肝臓でほぼすべてのホルモンを産生します。成人においては、肝臓での産生量は10%以下に低下し、90%以上が腎臓で分泌されます<sup>22, 23</sup>。循環血中EPOは、主に骨髄中のターゲット細胞に取り込まれ消失します<sup>14, 24</sup>。また、尿からの排泄及び肝臓での代謝もEPOの排泄の役割をしています。

EPOは組織の酸素需要量に応じて赤血球を産生します。低酸素応答転写因子(HIFs)により調節される腎臓からのホルモン分泌において、複雑なフィードバック機構に影響を及ぼします<sup>14, 25</sup>。低酸素症による低酸素分圧でHIFsは増加し、これによりEPOの産生は促進されます。周辺の酸素濃度が上昇した状況下では、HIF- $\alpha$ は速やかに分解してEPO濃度は減少します<sup>14, 21</sup>。肺炎や長期の喫煙のように体内酸素量に影響を与える状況は、低酸素濃度状態を補うために、EPOの産生は高まります。高地に居住する人もEPO濃度が高くなります<sup>4</sup>。

貧血はEPO濃度により、一次性貧血及び二次性貧血の2種に分類されます。一次性貧血は、正常に赤血球産生を回復させるための血中EPOの増加により特徴づけられます。EPOが上昇する貧血の例としては、鉄欠乏性貧血、腎臓への血流量の減少(血液喪失による)、酸素へのヘモグロビンの親和性の増加を呈するヘモグロビン異常を含むヘモグロビン異常症があります<sup>12</sup>。EPO産生速度は、酸素濃度の減少に応じて指数関数的に増加が見られます。非腎性貧血においては、通常よりもEPO値が100倍になるという報告もあります<sup>12</sup>。

貧血は、炎症、関節リウマチ、腫瘍、及び慢性腎症に対する二次性貧血としても現れます。これらの二次性貧血は、少なくともEPOの産生能低下が部分的に関与していると考えられます<sup>13, 22</sup>。末期腎不全で十分なEPOを産生できない状態は、中等度から重度の貧血の原因となります。EPO産生の低下は、腎臓でEPOが産生できないことに起因します<sup>13, 22</sup>。ホルモン濃度は参考基準範囲をわずかに上回りますが、透析、赤血球半減期の減少、鉄及び葉酸欠乏、赤血球系前駆細胞への鉄輸送障害や、そのような患者が直面するであろう、さまざまな状況による血液消失を補うには不十分です。無腎の患者はEPO低値を顕著に示します。しかしながら、慢性腎不全患者の中には、ヘマトクリット値は正常又は重度の貧血が少なく、EPO値上昇を示す場合もあります。これらの患者は、嚢胞腎又はウイルス性肝炎である場合もあります。後者のEPO値上昇は、肝臓における産生能の増加によると考えられます。

リコンビナントヒトエリスロポエチン (rhEPO) は、慢性腎不全及びその他の疾病による貧血の治療に使用されています<sup>13, 22, 23</sup>。rhEPOは、血漿中のEPOと類似の構造です<sup>26, 27, 28</sup>。より新しい治療のオプションとして、赤血球産生刺激蛋白質 (NESP) が開発されました。NESPはグリコシル化部位を2個多く持ち、NESPの循環血中半減期を長くすることで治療効果を強化しています<sup>29</sup>。より大きな分子量とより負に荷電しているNESPは、生化学的にrhEPOと区別されています。EPO免疫測定法は、EPO、rhEPO、NESPを検出しますが、交差反応は異なります<sup>30</sup>。

赤血球の過剰産生は、多血症と呼ばれます。多血症は、EPO値について一次性又は二次性の2種に分類されます。真性赤血球増加症 (PV) でEPO値が低下しており、赤血球増加症はEPOによる刺激とは別に増加する一次性です<sup>13</sup>。その他の状態は、EPO産生を補う酸素濃度のフィードバック機構調節が上手くいかないことにより特徴づけられ、EPO値の上昇が生じます<sup>12, 21</sup>。これらは、腎細胞癌を含み、この患者においては、赤血球増加症及び嚢胞、腎動脈狭窄と微小血管の異常のような良性腎病変を呈することもあります<sup>12, 21</sup>。さらに、腎移植患者においては、赤血球増加症を呈することもあります。しかし、この病態は通常一過性です<sup>25</sup>。

二次性多血症は、EPO値が上昇したことにより、赤血球量の増加により特徴づけられます。この病態はEPOに依存し、ヘモグロビン欠乏、喫煙、肺線維症、心疾患及び腫瘍などのさまざまな要因の結果によります<sup>12, 21</sup>。血清EPO低値はPVを強く示唆しますが、確定診断ではありません。PV患者において血清EPO値は、参考基準範囲内となります<sup>31</sup>。血清EPO低値及び高値は、PV及び二次性赤血球増加症の診断の補助となります<sup>32</sup>。さらに、血清EPOの単回測定の結果から一次性又は二次性赤血球増加症の鑑別をするには限界があります<sup>14</sup>。

本品は、貧血及び赤血球増加症の診断の補助に使用されます。

## ■ 性能

### 1. 測定範囲

- ADVIA Centaur/XP/XPT  
0.83~750.00 mIU/mL
- ADVIA Centaur CP  
0.89~750.00 mIU/mL

### 2. 性能

用法・用量 (操作方法) の測定法により、感度・正確性・同時再現性の各試験を行なった場合、下記の規格値に適合します。

### (1) 感度試験

濃度既知管理用検体 (QC1) を用いて測定するとき、その測定値は表示値の65~135%です。

### (2) 正確性試験

3濃度の濃度既知管理用検体 (QC2~QC4) を用いて測定するとき、その測定値は表示値の75~125%です。

### (3) 同時再現性試験

4濃度の濃度既知管理用検体 (QC1~QC4) を複数回同時に測定するとき、その変動係数 (CV) は20%以下です。

## 3. 相関性

### (1) 試薬の相関性

#### • ADVIA Centaur/XP/XPT

本品は、対照品との相関係数が $\geq 0.95$ となるように設計されています。

EPO濃度4.17~535.82 mIU/mLの計122ヒト血清検体を3ロット試薬で試験しました。本品 (y) (ADVIA Centaur XPを使用) 及び対照品 (x) の相関性をPassing-Bablok回帰法及びPearson係数で示します。

$$y = 0.99 (x) + 0.36 \text{ mIU/mL (切片)}, \\ r = 1.00 \text{ (rは小数点第三位を四捨五入した値)}$$

相関係数は試験デザイン、対照法、検体母集団によって異なります。相関性試験は、CLSI EP09-A3<sup>33</sup>に従い実施しました。各検査室で得られた測定結果が示されたデータと異なる場合があります。

#### • ADVIA Centaur CP

本品は、ADVIA Centaur XPとの相関係数が $\geq 0.95$ となるように設計されています。

EPO濃度4.70~566.70 mIU/mLの計145ヒト血清検体を3ロット試薬で試験しました。ADVIA Centaur CP (y) 及びADVIA Centaur XP (x) を用いて本品の相関性をPassing-Bablok回帰法及びPearson係数で示します。

$$\text{ADVIA Centaur EPO (y)} = 1.02 (x) + 0.02 \text{ mIU/mL (切片)}, \\ r = 1.00 \text{ (rは小数点第三位を四捨五入した値)}$$

相関係数は試験デザイン、対照法、検体母集団によって異なります。相関性試験は、CLSI EP09-A3<sup>33</sup>に従い実施しました。各検査室で得られた測定結果が示されたデータと異なる場合があります。

### (2) 血清と血漿の相関性

本品を用いて、ヒト血清及び血漿の相関性を評価しました。本品は、ヒト血清 (x) に対する血漿 (y) の結果が、相関係数 (r)  $\geq 0.95$ 、傾き0.90~1.10、及び切片 $\pm 1.0$  mIU/mLとなるように設計されています。試験した血清EPO検体は、4.39~707.81 mIU/mLでした。Passing-Bablok回帰法及びPearson係数の解析の結果、採血管の違いによる有意な差は認められませんでした。結果は下表のとおりです。

			切片		
	ヒト血清 (x)	n	傾き (mIU/mL)	r <sup>*1</sup>	
	K2-EDTA (y)	65	0.97	-0.30	1.00
	ヘパリンリチウム (y)	65	1.00	-0.27	0.99
	ヘパリンナトリウム (y)	65	0.98	-0.33	0.99
	血漿分離剤入り (y) <sup>*2</sup>	65	0.99	-0.33	1.00
	血清分離剤入り (y)	65	1.02	-0.20	0.99

\*1: 小数点第三位を四捨五入した値

\*2: ヘパリンリチウム

## 4. 直線性

### • ADVIA Centaur/XP/XPT

CLSI EP06-A<sup>34</sup>に従い直線性の試験をしました。検体は、高濃度EPO検体とヒト血清 (EPOを含まない) の2種の検体から調製しました。調製した検体のEPO値を測定したところ、0.83~750.00 mIU/mLで直線性を示しました。

### • ADVIA Centaur CP

CLSI EP06-A<sup>34</sup>に従い直線性の試験をしました。検体は、高濃度EPO検体とヒト血清 (EPOを含まない) の3種の検体から調製しました。調製した検体のEPO値を測定したところ、0.89~750.00 mIU/mLで直線性を示しました。

## 5. 希釈回収試験

### • ADVIA Centaur/XP/XPT

高濃度EPO10検体 (618.63~986.07 mIU/mL) をケミルミ 共通希釈液13を用いて10倍希釈 (検体: 希釈液=1:9) し、予測濃度と希釈検体の測定結果から回収率を算出するために試験をしました。

回収率は、76～111%でした。

$$\% \text{回収率} = \frac{\text{試験結果}}{\text{予測濃度}} \times 100$$

施設により得られる結果は、上述の結果と異なります。

• ADVIA Centaur CP

高濃度EPO5検体 (592.29 ~ 791.52 mIU/mL) をケミルミ 共通希釈液13を用いて10倍希釈 (検体：希釈液=1:9) し、予測濃度と希釈検体の測定結果から回収率を算出するために試験をしました。

回収率は、89 ~ 110%でした。

$$\% \text{回収率} = \frac{\text{試験結果}}{\text{予測濃度}} \times 100$$

施設により得られる結果は、上述の結果と異なります。

6. 精度

精度は CLSI EP05-A3<sup>35</sup> に従い評価しました。精度は施設内再現性 CV (%) が下記を満たすように設計されています。

濃度 (mIU/mL)	施設内再現性 CV(%)
≥1.50~2.50	≤10%
>2.50~7.00	≤7.0%
>7.00	≤6.0%

• ADVIA Centaur/XP/XPT

プール7血清を本品の測定範囲にまたがる濃度に調製しました。各検体を2重測定で2回、20日にわたり、計80測定しました。測定には、ADVIA Centaur XP及び本品3ロットを用いました。結果は下表のとおりです。

検体	n	平均 (mIU/mL)	併行精度		施設内再現性(総再現性)	
			SD (mIU/mL)	CV (%)	SD (mIU/mL)	CV (%)
検体1	80	1.69	0.08	4.8	0.14	8.4
検体2	80	4.51	0.13	2.9	0.23	5.0
検体3	80	9.30	0.25	2.6	0.33	3.6
検体4	80	25.16	0.54	2.2	1.00	4.0
検体5	80	94.30	1.82	1.9	3.22	3.4
検体6	80	220.25	3.69	1.7	7.03	3.2
検体7	80	579.41	9.20	1.6	15.17	2.6

各検査室で得られた測定結果は、示したデータと異なる場合があります。

• ADVIA Centaur CP

プール7血清を本品の測定範囲にまたがる濃度に調製しました。各検体を2重測定で2回、20日にわたり、計80測定しました。測定には、ADVIA Centaur CP及び本品3ロットを用いました。結果は下表のとおりです。

検体	n	平均 (mIU/mL)	併行精度		施設内再現性(総再現性)	
			SD (mIU/mL)	CV (%)	SD (mIU/mL)	CV (%)
検体1	80	2.16	0.11	4.9	0.16	7.4
検体2	80	4.75	0.19	3.9	0.24	5.0
検体3	80	9.45	0.26	2.7	0.34	3.6
検体4	80	25.47	0.83	3.3	1.02	4.0
検体5	80	94.26	2.68	2.8	3.95	4.2
検体6	80	221.74	5.46	2.5	8.32	3.8
検体7	80	473.97	16.11	3.4	23.38	4.9

各検査室で得られた測定結果は、示したデータと異なる場合があります。

7. ブランク上限/検出限界/定量限界

• ADVIA Centaur/XP/XPT

ADVIA Centaur XPを使用し、CLSI EP17-A2<sup>36</sup> に従い、ブランク上限 (LoB)、検出限界 (LoD) 及び定量限界 (LoQ) を求めました。本品は、LoQ ≤ 1.00 mIU/mLとなるように設計されています。

LoBは、ブランク検体において測定される最高濃度に相当します。本品のLoBは、0.46 mIU/mLでした。

LoDは、95%の確率で検出可能なEPOの最低濃度に相当します。10濃度の低濃度検体の323測定及び本品のLoB 0.46 mIU/mLからLoDは0.75 mIU/mLとなりました。

LoQは、総誤差30%で測定されるEPOの最低濃度に相当します。本品のLoQは0.83 mIU/mLでした。LoQ未満の結果は、<0.83 mIU/mLと報告されます。

検査室で得られる結果は上述の値と異なる場合があります。

• ADVIA Centaur CP

ADVIA Centaur CPを使用し、CLSI EP17-A2<sup>36</sup> に従い、ブランク上限 (LoB)、検出限界 (LoD) 及び定量限界 (LoQ) を求めました。本品は、LoQ < 1.00 mIU/mLとなるように設計されています。

LoBは、ブランク検体において測定される最高濃度に相当します。本品のLoBは、0.66 mIU/mLです。

LoDは、95%の確率で検出可能なEPOの最低濃度に相当します。7濃度の低濃度検体の166測定及び本品のLoB 0.66 mIU/mLからLoDは0.89 mIU/mLとなりました。

LoQは、総誤差30%で測定されるEPOの最低濃度に相当します。本品のLoQは0.89 mIU/mLでした。LoQ未満の結果は、<0.89 mIU/mLと報告されます。

検査室で得られる結果は上述の値と異なる場合があります。


8. 標準物質のトレーサビリティ

本品は、World Health Organization (WHO) 2<sup>nd</sup> International Reference Preparation for Erythropoietin (Human, urinary derived); NIBSC code:67/343にトレーサビリティを有しています。較正剤の表示値もこの標準品にトレーサビリティを有します。また、本品は、3rd World Health Organization (WHO) International Standard for Erythropoietin, recombinant, for bioassay; NIBSC code: 11/170にもトレーサビリティを有しています。


■ 使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意


- 検体及びヒト由来成分を含む試薬は、HIV、HBV、HCV等の感染のおそ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、また口によるピペッティングを行わないでください。
- 酸化剤は酸性溶液 (pH<2)、酸化補助剤はアルカリ性溶液 (pH13) です。使用に際しては、試薬が直接皮膚に付着したり、眼に入らないように注意ください。
- ケミルミ EPO 較正剤、ケミルミ共通希釈液13、特殊洗浄液1及びケミルミ EPO コントロールには保存剤としてアジ化ナトリウム等が含まれていますので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合は、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 本品は動物由来成分を含むので潜在的感染性のあるものとして取り扱ってください。
- 次の試薬に関する危険有害性情報、注意事項を示します。

	酸化剤は、硝酸を含有しています。
	H290 P390, P501
	警告：金属腐食のおそれがあります。

物的被害を防止するためにも流出したものを吸収してください。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。

	酸化補助剤は、水酸化ナトリウムを含有しています。
	H290, H315, H319 P280, P305+P351+P338, P390, P501
	警告：金属腐食のおそれがあります。皮膚に刺激があります。眼に強い刺激があります。

保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防御マスクを着用ください。眼に入った場合、水で数分間注意深く洗ってください。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外してください。その後も洗浄を続けてください。物的被害を防止するためにも流出したものを吸収してください。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。

	APWプローブ洗浄液1 (ADVIA Centaur CP用) は、水酸化ナトリウムを含有しています。
	H319, H315, H290 P280, P264, P305+P351+P338
	警告：眼に強い刺激があります。皮膚に刺激があります。金属腐食のおそれがあります。

保護手袋、保護衣、保護用眼鏡及び顔防御マスクを着用ください。取り扱い後は手をよく洗ってください。眼に入った場合、水で数分間注意深く洗ってください。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外してください。その後も洗浄を続けてください。

## 2. 使用上の注意

- ・試薬は立てた状態で2~8℃で保存ください。
- ・試薬パックは全ての熱源及び光源を避けてください。機器に装填した試薬は遮光されます。未使用の試薬は熱源及び光源を避け、2~8℃で保存ください。
- ・ケミルミ EPO 校正剤は2~8℃で保存ください。未開封の場合は、ラベルに記載されている使用期限まで安定です。
- ・基本試薬パックは、機器に装填する前に手で混和ください。
- ・パックの底の微粒子が全て分散し、試薬パックの底に沈殿物が無いことを確認ください。
- ・使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- ・異なるロットの試薬を組み合わせて使用しないでください。
- ・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。
- ・未開封の試薬は下表に記載されている貯法において、ラベルに記載されている使用期限まで使用できます。開封後・調製後の安定性と保存条件は次の通りです。ただし、各バイアルに記載した使用期限内に使用ください。装填期限を超えた試薬は廃棄ください。

試薬	貯法	機器装填後の安定性
ケミルミ EPO 校正剤	2~8℃	使用開始から90日間 装填後24時間
特殊洗浄液1	2~25℃	装填後1ヶ月間
ブロープ洗浄液1 (ADVIA Centaur CP用)	2~8℃	装填し使用開始後14日間
ケミルミ共通希釈液13	2~8℃	装填し使用開始後28日間

## 3. 廃棄上の注意

- ・危険性のある試薬又は感染性廃棄物は、検査室の基準に従い廃棄ください。試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従い処理ください。
- ・廃液、検体等が付着した器具等は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1,000 ppm、1時間以上浸漬）又はグルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）による消毒処理あるいはオートクレーブ（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。
- ・保存剤として試薬に含まれるアジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがあるため廃棄の際は各法令に従い多量の水と共に流してください。
- ・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

### 1. 貯蔵方法

- (1) 標識試薬、固相化試薬、低濃度校正剤、高濃度校正剤：2~8℃で保存
- (2) 酸化剤、酸化補助剤：4~25℃で保存

### 2. 有効期間

- (1) 標識試薬、固相化試薬、低濃度校正剤、高濃度校正剤：12ヶ月
- (2) 酸化剤、酸化補助剤：1年6ヶ月

## ■ 包装単位

ケミルミ EPO 100テスト用 品目コード：10995096

基本試薬パック（標識試薬/固相化試薬）1本

校正剤（低濃度校正剤/高濃度校正剤）各1バイアル

〈別売〉

酸化剤/酸化補助剤 品目コード：03852677  
5000テスト用、各1500 mL/本 (112219)

(ADVIA Centaur/XP/XPT/CP用)

特殊洗浄液1

2×2500 mL (ADVIA Centaur/XP/XPT/CP用) 品目コード：03773025

2×1500 mL (ADVIA Centaur/XP/XPT/CP用) 品目コード：01137199  
(112351)

APWブロープ洗浄液1

2×25.0 mL (ADVIA Centaur CP用) 品目コード：03395373

ケミルミ EPOコントロール

品目コード：10995099

コントロール1 1×7.0 mL

コントロール2 1×7.0 mL

コントロール3 1×7.0 mL

ケミルミ 共通希釈液13

品目コード：10492364

2×10.0 mL

## ■ 主要文献

1. Cristancho E, Riveros A, Sanchez A, et al. Diurnal changes of arterial oxygen saturation and erythropoietin concentration in male and female highlanders. *Physiol Rep*. Sep;4(17).
2. Wide L, Bengtsson C, Birgegård G. Circadian rhythm of erythropoietin in human serum. *Br J Haematol*. 1989 May;72(1):85-90.
3. Cahan C, Decker MJ, Arnold JL, et al. Diurnal variations in serum erythropoietin levels in healthy subjects and sleep apnea patients. *J Appl Physiol* (1985). 1992 Jun;72(6):2112-2117.
4. Miller M, et al. Diurnal levels of immunoreactive erythropoietin in normal subjects and subjects with lung disease. *British J of Haematology*. 1981, 49, 189-200.
5. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Procedures for the Collection of Diagnostic Blood Specimens by Venipuncture; Approved Standard - Sixth Edition*. CLSI Document GP41-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2007.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Tubes and Additives for Venous Blood Specimen Collection; Approved Standard- Sixth Edition*. CLSI Document GP39-A6. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests; Approved Guideline - Fourth Edition*. CLSI Document GP44-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guidelines - Second Edition*. CLSI Document EP07-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Third Edition*. CLSI Document EP28-A3c. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2010.
10. Boscato LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem*. 1988;34:27-33.
11. Naderi N, Yang DT. Lymphoplasmacytic lymphoma and Waldenström macroglobulinemia. *Arch Pathol Lab Med*. 2013 Apr;137(4):580-585.
12. Eckardt KU, Bauer C. Erythropoietin in health and disease. *Europ J Clin Invest*. 1989 Apr;19(2):117-127.
13. Jelkmann W. Erythropoietin: structure, control of production, and function. *Physiol Rev*. 1992 Apr;72(2):449-489.
14. Jelkmann W. Regulation of erythropoietin production. *J Physiol*. 2011 Mar 15;589(Pt 6):1251-8.
15. Tsiolakidou G, Koutroubakis IE. Stimulating erythropoiesis in inflammatory bowel disease associated anemia. *World J Gastroenterol*. 2007 Sep;13(36):4798-4806.
16. Pulte ED, McKenzie SE, Caro J, Ballas SK. Erythropoietin levels in patients with sickle cell disease do not correlate with known inducers of erythropoietin. *Hemoglobin*. 2014;38(6):385-389.
17. Gaya A, Urbano-Ispizua A, Fernández-Avilés F, Salamero O, et al. Anemia associated with impaired erythropoietin secretion after allogeneic stem cell transplantation: incidence, risk factors, and response to treatment. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2008 Aug;14(8):880-887.
18. Recny MA, Scoble HA, Kim Y. Structural characterization of natural human urinary and recombinant DNA-derived erythropoietin. Identification of des-arginine 166 erythropoietin. *J Biol Chem*. 1987 Dec 15;262(35):17156-17163.
19. Dordal MS, Wang FF, Goldwasser E. The role of carbohydrate in erythropoietin action. *Endocrinology*. 1985 Jun;116(6):2293-2299.
20. Miyake T, Kung CK-H, Goldwasser. Purification of human erythropoietin. *J Bio Chem*. 252,(15), 5558-5564. 1977.
21. Bunn HF. Erythropoietin. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013 Mar 1;3(3):a011619.
22. Eschbach JW, Adamson JW. Recombinant human erythropoietin: implications for nephrology. *Am J Kidney Dis*. 1988; 11:203-209.
23. Koch KM, Kuhn K, Nonnast-Daniel B, Scigalla P, eds. *Treatment of renal anemia with recombinant human erythropoietin*. In: Berlyne GM, Giovannetti S, series editors. *Contributions to Nephrology*. New York: Karger, 1988; 66:1-15 and 54-61.

24. Gross AW, Lodish HF. Cellular trafficking and degradation of erythropoietin and novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *J Biol Chem.* 2006 Jan 27;281(4):2024-2032.
25. Eschbach JW, Kelly MR, Haley NR, et al. Treatment of the anemia of progressive renal failure with recombinant human erythropoietin. *N Engl J Med.* 1989 Jul 20;321(3):158-163.
26. Haase VH. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2010 Jul;299(1):F1-13.
27. Egrie JC, Strickland TW, Lane J, et al. Characterization and biological effects of recombinant human erythropoietin. *Immunobiology.* 1986 Sep;172(3-5):213-224.
28. Lin FK, et al. Cloning and expression of the human erythropoietin gene. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985 Nov;82(22):7580-7584.
29. Egrie JC, Browne JK. Development and characterization of novel erythropoiesis stimulating protein (NESP). *Br J Cancer.* 2001 Apr;84 Suppl 1:3-10.
30. Owen WE, Roberts W. Performance characteristics of a new Immulite 2000 system erythropoietin assay. *Clin Chim Acta.* 2011 Feb 20;412 (5-6):480-482.
31. Messinezy M, Westwood NB, El-Hemaidi I, et al. Serum erythropoietin values in erythrocytoses and in primary thrombocythaemia. *Br J Haematol.* 2002 Apr;117(1):47-53.
32. Mossuz P, Girodon F, Hermouet S, et al. Serum erythropoietin measured by chemiluminescent immunometric assay: an accurate diagnostic test for absolute erythrocytosis. *Clin Chem.* 2005 Jun;51 (6):1018-1021.
33. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Measurement Procedure Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Third Edition.* CLSI Document EP09-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.
34. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures. A Statistical Approach; Approved Guideline.* CLSI Document EP06-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2003.
35. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guidelines - Third Edition.* CLSI Document EP05-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
36. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline - Second Edition.* CLSI Document EP17-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

## ■ 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

\*電話：03-4582-5520

## ■ 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

輸入
----