

** この電子添文をよく読んでから使用してください。

インターフェロン-λ3キット

HISCL™ IFN-λ3 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. 判定の際には、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. 電子添文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電子添文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 IFN-λ3 R1試薬 (以下、R1試薬)
ビオチン結合抗IFN-λ3モノクローナル抗体(マウス)
(産生細胞: マウスハイブリドーマ細胞)
2. HISCL IFN-λ3 R2試薬 (以下、R2試薬)
3. HISCL IFN-λ3 R3試薬 (以下、R3試薬)
ALP標識抗IFN-λ3モノクローナル抗体(マウス)
(産生細胞: マウスハイブリドーマ細胞)
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 IFN-λ3 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 IFN-λ3 C0
(2) HISCL IFN-λ3 C1
(3) HISCL IFN-λ3 C2
(4) HISCL IFN-λ3 C3

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-phenyl phosphate

【使用目的】

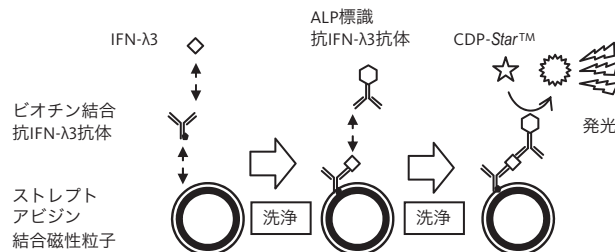
血清中のインターフェロン-λ3の測定
(SARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助)

【測定原理】

本法は、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試薬中のビオチン結合抗IFN-λ3モノクローナル抗体(マウス)が試料中のIFN-λ3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. R3試薬を添加すると、ALP標識抗IFN-λ3モノクローナル抗体(マウス)が、磁性粒子上のIFN-λ3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により分解され、生じた発光の強度を測定します。

試料中のIFN-λ3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IFN-λ3抗原を含む試料(HISCL IFN-λ3 C0~C3)を測定して検量線を作成しておくことにより、試料中のIFN-λ3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. 検体は採取後、できるだけ速やかに測定してください。

2. 速やかに測定できない場合は、-80℃で凍結保存してください。凍結保存した検体は、凍結融解を繰り返すことは避けてください。
3. 採血時、溶血しないよう注意してください。
4. 冷蔵又は冷凍保存されていた検体を使用する場合は室温に戻してください。
5. 患者検体の採取/輸送方法については、国立感染症研究所より公表されている「2019-nCoV(新型コロナウイルス)感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル」、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)病原体検査の指針」に従って実施してください。

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、2,000×gで10分以上遠心分離し、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. IFN-λ3低値管理用試料およびIFN-λ3中値管理用試料を用いて下記の干渉物質が与える影響を評価したところ、記載の濃度以下では±10%以内でした。⁽¹⁾

物質名	濃度
ヘモグロビン	397.1 mg/dL
ビリルビンF	11.7 mg/dL
ビリルビンC	20.6 mg/dL
乳び	1,598.6 ホルマジン濁度数
RF	501 IU/mL
ビオチン(ビタミンB7)	9.8 ng/mL

4. IFN-λ3低値管理用試料およびIFN-λ3中値管理用試料を用いて下記の物質が与える影響を評価したところ、記載の濃度以下では±10%以内でした。⁽¹⁾

物質名	濃度
Human IL-29/IFN-λ1	1000.0 pg/mL
Human IL-28A/IFN-λ2	1000.0 pg/mL

5. IFN-λ3低値管理用試料およびIFN-λ3中値管理用試料を用いて下記の薬剤が与える影響を評価したところ、記載の濃度以下では±10%以内でした。⁽¹⁾

薬剤名	濃度
デキサメタゾン	1.8 µg/mL
シクレソニド	1.2 ng/mL
ナファモスタット	0.9 µg/mL
サリルマブ	90.0 µg/mL

その他

1. 本品は「全自動免疫測定装置HISCL-5000」(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. 必ず本電子添文で指定された試薬(R1~R5試薬・キャリブレーション・洗浄液等)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こり、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ご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200 µL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

本品の各構成試薬は調製済みですので、そのまま使用してください。

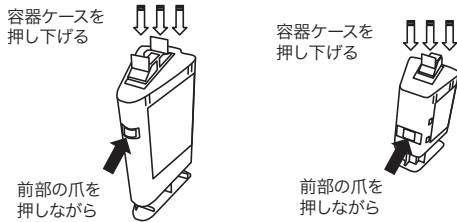
必要な器具・器材・試料等

- ・ HISCL-5000 または同等品
- ・ 本品はHISCL-2000iでは使用できません。
- ・ 消耗品(反応キュベット、チップ等)

測定(操作)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かくはんし、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. 標準操作法^{*1}

- (1) 反応キュベットにR1試薬100 μLと試料30 μLを分注し、42 °Cで3分間反応させます。
- (2) R2試薬30 μLを分注し、42 °Cで2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200~900 μL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100 μLを分注し、42 °Cで3分間反応させた後、磁気分離します。
- (5) 洗浄液200~900 μL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50 μLを分注して混合かくはんした後、R5試薬100 μLを分注して混合かくはんし、42 °Cで5.5分間反応させ、発光強度を測定します。

3. 検量線の作成

- (1) HISCL IFN-λ3 C0~C3のそれぞれを、泡立たないように静かにかくはんし、使用する装置の取扱説明書に従ってセットします。
- (2) 2.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) 各キャリアプレート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}検量線作成後は、精度管理を行ってください。

4. 検体の測定

- (1) 使用する装置の取扱説明書に従って検体をセットします。
- (2) 2.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、検体中のIFN-λ3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

SARS-CoV-2陽性患者の重症化予測診断のカットオフ値: 13.6 pg/mL⁽²⁾

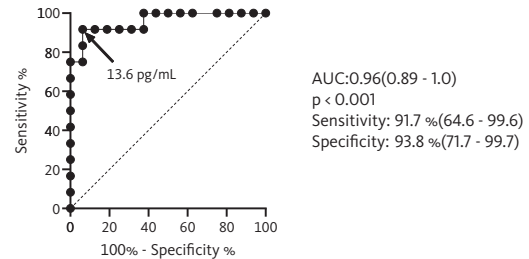
判定上の注意

1. 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)化する前に、IFN-λ3の一過性の上昇が認められることが報告されています。⁽²⁾このため、IFN-λ3測定値がカットオフ値を超える一過性の上昇後、カットオフ値以下まで低下した時期に採血を行った場合は、重症化を予測できない可能性があります。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。
2. 免疫反応においては、一般的に非特異反応により陽性または陰性の判定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. 希釈測定はできません。測定結果が測定範囲上限を超えた場合は、測定上限以上として扱ってください。
4. IFN-λ3はC型慢性肝炎患者の血清で高値を示すことが報告されています。⁽²⁾⁽³⁾そのため、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。

【臨床的意義】

IFN-λ3はⅢ型インターフェロンの一つであり、抗ウイルス活性と免疫応答の調整を行っている分子です。生体内では、IFN-λ3は受容体に結合した後、JAK活性化およびSTAT1/STAT2のチロシンリン酸化を誘導します。リン酸化されたSTAT1およびSTAT2は、他の因子と結合して、転写因子複合体を形成し、核内へ移行することで様々なサイトカイン類を含む免疫応答に関連する分子の発現、調整を行っていると言われております。⁽⁴⁾⁽⁵⁾

杉山ら⁽²⁾は、SARS-CoV-2に感染した患者血清中のIFN-λ3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る症例において、血清中のIFN-λ3の濃度が上昇する現象を見出し、本分子の測定がSARS-CoV-2陽性患者の重症化予測に寄与する可能性を報告しています。酸素吸入・人工呼吸器の装着が必要となった重症例12例、軽症例16例の治療経過中のIFN-λ3の最大値との関係を検討し、ROC解析によるIFN-λ3のカットオフ値は13.6 pg/mLでした。



〈臨床性能試験成績〉

本臨床性能試験はSARS-CoV-2感染により入院となった患者において、本品の患者重症化判定の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されました。対象患者の重症度は、COVID-19診療の手引き中の重症度判定により酸素投与が必要となる中等症Ⅱ以上を重症例としました。

1. 本品による重症化判定の補助

入院後、経時的に採血を実施された32例の症例について入院後いずれかの時点で血清中のIFN-λ3がカットオフ値(13.6 pg/mL)以上となった症例を本品の陽性として重症化との全体一致率を判定しました。(表1)

表1 本品による陽性判定と重症化との関係

		重症度	
		中等症Ⅱ以上	中等症Ⅰ以下
IFN-λ3	陽性	15	2
	陰性	4	11

重症度: 厚生労働省より公表されている「COVID-19診療の手引き」(第4版)中の重症度判定

本品と重症化との全体一致率は81.3%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、78.9%、84.6%、88.2%、73.3%でした。

また、表1の検討結果の内、初回採血時以前に既に中等症Ⅱの症状を示した10症例を除外した22症例について、重症化を判定したところ、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(10症例除外)

		重症度	
		中等症Ⅱ以上	中等症Ⅰ以下
IFN-λ3	陽性	8	2
	陰性	1	11

本品と重症化との全体一致率は86.4%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、88.9%、84.6%、80.0%、91.7%でした。

2. 重症化リスクの判定補助

表3は表2の検討結果から、中等症Ⅱ以上と分類された9症例において、IFN-λ3陽性判定日と、酸素吸入開始日を比較したものです。

表3 中等症Ⅱ以上の症例におけるIFN-λ3陽性判定日と酸素吸入開始日の関係

登録ID	IFN-λ3陽性判定日(A)	酸素吸入開始日(B)	B - A(日)	観察期間中のピーク値(pg/mL)
A	2020/4/20	2020/4/21	1	123.8
B	2020/5/2	2020/5/3	1	130.0
C	2020/5/10	2020/5/11	1	29.3
D	2020/5/11	2020/5/12	1	128.4
E	2020/3/28	2020/3/31	3	63.4
F	2020/4/20	2020/4/21	1	28.5
G	2020/4/22	2020/4/23	1	37.9
H	2020/4/2	2020/4/3	1	22.0
I	なし	2020/4/9	-	11.4

中等症Ⅱ以上と分類された患者9症例中8症例で、酸素吸入開始日の1～3日前に、IFN-λ3測定値が陽性であることが確認されました。この結果から本品で測定しているIFN-λ3はSARS-CoV-2陽性患者の重症化リスクの判定補助に利用可能なマーカーであることが示されました。

【性能】

性能

1. 感度

- (1) HISCL IFN-λ3 C0を試料として測定した場合の発光強度は、5,000カウント※2以下であること。
- (2) HISCL IFN-λ3 C0及びHISCL IFN-λ3 C2を試料として測定するとき、C2とC0の発光強度の比が5.0以上であること。

2. 正確性

IFN-λ3低値管理用試料、IFN-λ3中値管理用試料、IFN-λ3高値管理用試料※3を測定するとき、測定値は既知濃度の100±20%の範囲内であること。

3. 同時再現性

IFN-λ3低値管理用試料、IFN-λ3中値管理用試料、IFN-λ3高値管理用試料※3をそれぞれ10回測定するとき、測定値のCV値は10%以下であること。

4. 測定範囲

3.0-200.0 pg/mL

※2: カウント: HISCL専用装置の発光強度の単位

※3: 管理物質:

ここで用いるIFN-λ3管理用試料(低値、中値、高値)は、IFN-λ3陰性である溶液に、IFN-λ3を各設定濃度内となるよう添加して調製したものです。

IFN-λ3低値管理用試料 8.0 - 12.0 pg/mL

IFN-λ3中値管理用試料 72.0 - 88.0 pg/mL

IFN-λ3高値管理用試料 135.0 - 165.0 pg/mL

較正用基準物質に関する情報

社内較正用基準物質

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上(危険防止)の注意

1. 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。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を受けてください。院内感染対策がある場合はその指示に従ってください。
2. 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。
3. 感染を避けるために口によるピベッティングを行わないでください。
4. R1～R4試薬及びIFN-λ3 C0～C3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り扱われません。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を受けてください。

使用上の注意

1. 各試薬は、気泡が生じないように、丁寧に扱ってください。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。
2. Lot No.が異なるR1～R3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。開封後の有効期間は30日です。

3. R1～R3試薬を装置から取り出した場合は、速やかに開閉キャップを閉じて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)」に従ってかくはんしてからセットしてください。
4. 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。
5. 各キャリブレーションは必要量を分注した後、速やかにふたをして2～8℃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こり、キャリブレーションが正常に行えなくなります。
6. 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

廃棄上の注意

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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
5. 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、又は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

1. 精度管理を実施し、コントロールの測定値が許容範囲内にあることを確認してから、検体測定を行ってください。
2. 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】

1. 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

12カ月(使用期限は、外箱に表示しています。)

【包装単位】

製品名	構成試薬名	包装
HISCL IFN-λ3 試薬 50テスト	HISCL IFN-λ3 R1試薬※4	5 mL×1
	HISCL IFN-λ3 R2試薬	1.5 mL×1
	HISCL IFN-λ3 R3試薬※4	5 mL×1
HISCL IFN-λ3 キャリブレーション※5	HISCL IFN-λ3 C0～C3	4濃度 1 mL×1
HISCL 発光基質セット※5	HISCL R4試薬	40 mL×1
	HISCL R5試薬	70 mL×1
HISCL 洗浄液※5	HISCL 洗浄液	10 L×1

関連製品

製品名	構成試薬名	包装
HISCL IFN-λ3 コントロール※5	HISCL IFN-λ3 Control Level1	2濃度
	HISCL IFN-λ3 Control Level2	3 mL×2

※4: R1試薬とR3試薬は一体型の容器で提供されます。

※5: これらの製品は別売品となります。

製品には別容量の包装があります。弊社までお問い合わせください。

【主要文献】


- (1) 社内データ
- (2) Sugiyama M et al. : Serum CCL17 level becomes a predictive marker to distinguish between mild/moderate and severe/critical disease in patients with COVID-19. : Gene in press.
- (3) Aoki Y et al.: Association of serum IFN-λ3 with inflammatory and fibrosis markers in patients with chronic hepatitis C virus infection.: J Gastroenterol, **50**, 894(2015)

- (4) Li M et al.: Interferon-λs: the modulators of antiviral, antitumor, and immune responses.: J Leukoc Biol, **86**, 23 (2009)
- (5) Wack A et al.: Guarding the frontiers: the biology of type III interferons.: Nat Immunol, **16**, 802 (2015)

【問合せ先】

シスメックス株式会社 カスタマーサポートセンター
 神戸市西区室谷1丁目3番地の2 〒651-2241
 Tel 0120-413-034

REF カタログ番号

 使用期限

IVD 体外診断用の専用製品

LOT ロット番号

 製造販売元

 テスト数

 添付の文書参照

 保存温度

製造販売元
シスメックス株式会社
 神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073
 Tel 078-265-0500