

体外診断用医薬品

製造販売承認番号 30500EZ00052000

この電子添文をよく読んでから使用してください。

Mac-2結合蛋白(M2BP)糖鎖修飾異性体キット

HISCL™ M2BPGi™-Qt 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. 診断の際には、他の関連する検査結果や臨床症状に基づいて総合的に判断してください。
3. 電子添文以外での使用方法については保証をいたしかねます。
4. 測定に使用する装置の電子添文及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 M2BPGi-Qt R1試薬（以下、R1試薬）
2. HISCL M2BPGi-Qt R2試薬（以下、R2試薬）
WFA固定化磁性粒子
3. HISCL M2BPGi-Qt R3試薬（以下、R3試薬）
ALP標識抗M2BPモノクローナル抗体（マウス）
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 M2BPGi-Qt キャリブレーション（以下、キャリブレーション）
(1) HISCL M2BPGi-Qt C0
(2) HISCL M2BPGi-Qt C1
(3) HISCL M2BPGi-Qt C2
(4) HISCL M2BPGi-Qt C3
(5) HISCL M2BPGi-Qt C4

M2BP：Mac-2 Binding Protein

M2BPGi：Mac-2結合蛋白(M2BP)糖鎖修飾異性体(WFA⁺-M2BP)

WFA：Wisteria floribunda agglutinin レクチン

ALP：アルカリフォスファターゼ

CDP-Star™：Disodium 2-chloro-5-(4-methoxyspiro{1,2-dioxetane-3,2'-(5'-chloro)-tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan}-4-yl)-1-phenyl phosphate

【使用目的】

血清又は血漿中のMac-2 Binding Protein (M2BP) 糖鎖修飾異性体の測定

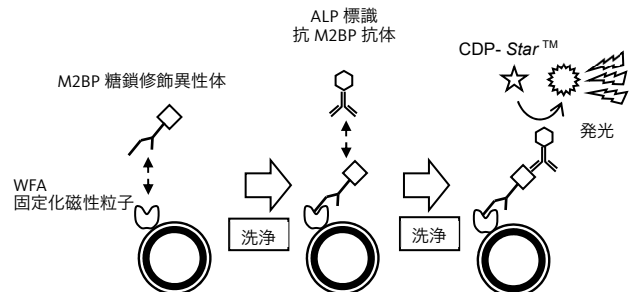
（肝臓の線維化進展の診断の補助）

【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試薬によって試料を希釈します。
2. 試料中のM2BP糖鎖修飾異性体とR2試薬中のWFA固定化磁性粒子が特異的に反応します。
3. 未反応液を除去後、R3試薬を添加すると、ALP標識抗M2BPモノクローナル抗体（マウス）が磁性粒子上のM2BP糖鎖修飾異性体と特異的に反応します。
4. 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M2BP糖鎖修飾異性体(WFA反応性M2BP)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M2BP糖鎖修飾異性体を含む試料(HISCL M2BPGi-Qt C0～C4)を測定して検量線を作成しておくことにより、試料中のM2BP糖鎖修飾異性体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. ヒトの血清、血漿以外について本キットの性能は保証していません。
2. 検体の採取は使用する採血管の添付文書をよく確認し、指定された方法（採血量、遠心分離など）により採取してください。
3. 検体は採取後、できるだけ速やかに測定してください。可能な限り新鮮な検体を用いてください。
4. 検体の保存が必要な場合は、2～8℃で8日間、それ以上の場合は-20℃以下で凍結して保存してください。なお、室温で7時間保存したところ、値の変動は16%以内でした。また2～8℃で8日間保存したところ、値の変動は16%以内でした。凍結融解を5回実施したところ、値の変動は16%以内でした。

保管温度	保存期間
室温	7時間
2～8℃	8日間

5. 保存された検体は測定前によく混合してください。なお、凍結保存した検体は混合前に、完全に融解していることを確認してください。
6. 検体を保存する際は、サンプルカップは使用せず、必ず密閉できる容器を用いてください。
7. フィブリン、赤血球、その他の不溶物が含まれていると正確な測定結果が得られない恐れがあります。
8. 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。
9. 血清又は血漿検体を使用する場合は以下を使って採血されたものを使用してください。液体の抗凝固剤を使用すると、検体が希釈されて正しく測定できません。

検体種	採血管
血清	血清 血清分離剤入り
血漿	EDTA・2K EDTA・3K EDTA・2Na ヘパリンリチウム ヘパリンナトリウム

10. 同一患者の経過観察の際は、同一の検体種を使用してください。
11. 同一患者で経時的に測定する際には同じ種類の採血管を使用してください。
12. 検体固有の性質により、まれに希釈直線性が得られない場合があります。

- 検体に気泡が発生している場合、検体吸引が正常に行われない場合があるため、必ず気泡を取り除いてから測定してください。
- 検体固有の性質により磁性粒子が凝集し、反応液の濁度が低下することで測定エラー（「R4/R5吐出できませんでした」エラー）が発生することがあります。その際は、当該試料を4倍希釈し、再度測定する事で測定可能となる場合があります。

妨害物質・妨害薬剤

- 下表に示す物質を管理用試料に添加し、本品の測定に与える影響を確認したところ、下表の各濃度までは測定に与える値の変動は10 %以下でした。

物質	濃度
ヘモグロビン	611.8 mg/dL
ビリルビンF	40.0 mg/dL
ビリルビンC	39.6 mg/dL
トリグリセリド	1,499.6 mg/dL
RF	100.0 IU/mL
アルブミン	59.6 g/L
グルコース	999.6 mg/dL
ガラクトース	59.6 mg/dL
フルクトース	18.2 mg/dL

- 下表に示す薬剤を管理用試料に添加し、本品の測定に与える影響を確認したところ、下表の各濃度までは測定に与える値の変動は10 %以下でした。

物質	濃度
ペグインターフェロン α 2a	20.0 ng/mL
リバビリン	1,200.6 mg/L
テノホビル	0.0976 mg/dL
ビオチン（ビタミンB ₁₂ ）	3,498.8 ng/mL

※ ここに記載したデータは弊社内での検証データであり、各施設では異なる結果を示す場合があります。

その他

- 本品は「全自動免疫測定装置HISCL-5000」（シスメックス株式会社）、「全自動免疫測定装置HISCL-800」（シスメックス株式会社）の専用試薬であり、他の装置には使用できません。
- 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）を使用してください。
- 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。
- 体液中に広く含まれるアルカリフォスファターゼの試薬及び検体への混入を防ぐため、手指の接触や唾液の飛散等に注意して取り扱ってください。
- 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。
- 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 μ L以上分注してください。なお、最低分注量については、各装置の取扱説明書をご確認ください。

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

本キットの各構成試薬及びHISCL 検体希釈液（トリエタノールアミン緩衝液、BSA等）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

- ・マイクロピペット、サンプリングチップ及びサンプルカップ
- ・HISCL-5000又はHISCL-800
- ・HISCL反応キュベット又は同等品
- ・HISCLチップ

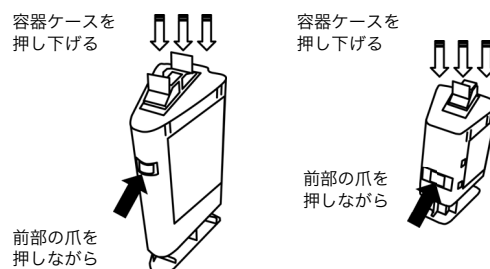
測定（操作）法

1. 準備

- 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）。



- 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）。



- 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}

- 反応キュベットにR1試薬100 μ Lと試料10 μ Lを分注し、42 $^{\circ}$ Cで3分間反応させます。
- R2試薬30 μ Lを分注し、42 $^{\circ}$ 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。
- 洗浄液100～900 μ L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。
- R3試薬100 μ Lを分注し、42 $^{\circ}$ Cで3分間反応させた後、磁気分離します。
- 洗浄液100～900 μ L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。
- R4試薬50 μ Lを分注して混合かくはんした後、R5試薬100 μ Lを分注して混合かくはんし、42 $^{\circ}$ 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

- HISCL M2BPGi-Qt C0～C4のそれぞれを、泡立たないように静かにかくはんし、サンプルカップに分注します。最低分注量については、各装置の取扱説明書をご確認ください。
- 標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- 各キャリブレーション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

- 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。必要に応じてHISCL 検体希釈液を用いて装置内で自動希釈し、測定試料とすることもできます。
- 標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- 発光強度を検量線に当てはめ、検体中のM2BP糖鎖修飾異性体濃度を求めます。^{※1}

5. 精度管理

- HISCL M2BPGi-Qt コントロール（別売）をサンプルカップに分注します。最低分注量については、各装置の取扱説明書をご確認ください。
- 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、M2BPGi糖鎖修飾異性体濃度を求めます。^{※1}
- (4) (3)の測定値が許容範囲内にあることを確認します。
- ※ 精度管理は少なくとも24時間に1回の実施を推奨しています。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。

※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

参考基準範囲：0.84 AU/mL^{※2}未満^①

※2：AU/mL：M2BPGi濃度を示す任意の単位

HISCL M2BPGi試薬の1.00 C.O.I.が1.00 AU/mLとなるように社内標準品に基づき調製しています。

判定上の注意

- 本品は、M2BPGi糖鎖修飾異性体量を測定する試薬です。本品の結果はHISCL M2BPGi試薬のC.O.I.と高い相関性を示します。しかし、まれに両者で異なる結果を示すことがありますので、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。
- 他の臓器線維症での検討はされていないので、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。
- 参考基準範囲は、様々の要因で変動しますので、各施設で臨床医と相談の上、設定してください。
- 免疫反応においては、一般的に非特異反応を起こす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線維化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。
- 検体を希釈測定する場合は、HISCL 検体希釈液を使用してください。

【性能】

性能

- 感度
HISCL M2BPGi-Qt C1の発光強度はHISCL M2BPGi-Qt C0の発光強度より大きく、HISCL M2BPGi-Qt C1の発光強度(L_{C1})に対するHISCL M2BPGi-Qt C4の発光強度(L_{C4})の比、 L_{C4}/L_{C1} を計算するとき30以上です。
- 正確性
M2BPGi低値管理用試料^{※3}、M2BPGi中値管理用試料^{※3}及びM2BPGi高値管理用試料^{※3}を試料として測定するとき、測定値はそれぞれ既知濃度の100±20 %の範囲内です。
- 同時再現性
M2BPGi低値管理用試料^{※3}、M2BPGi中値管理用試料^{※3}及びM2BPGi高値管理用試料^{※3}をそれぞれ10回同時に測定するとき、測定値のCVは10 %以下です。

※3：管理用物質：

M2BPGi低値管理用試料 0.20 ～ 0.80 AU/mL

M2BPGi中値管理用試料 2.70 ～ 3.30 AU/mL

M2BPGi高値管理用試料 12.00 ～ 16.60 AU/mL

- 測定範囲
0.10～20.00 AU/mL

相関性

- 本品と弊社既存製品（HISCL M2BPGi試薬）との相関性を検討したところ、125例の血清検体において良好な相関性が得られました。
<対既存製品>
相関係数 $r=1.00$
回帰式 $y=1.05x+0.02$
 y ：本品、 x ：既存製品

- 血清検体と血漿検体との相関性について30例の肝疾患患者検体にて検討したところ、良好な相関性が得られました。
相関係数 $r=1.00$
回帰式 $y=1.04x+0.01$
 y ：血漿検体、 x ：血清検体
- 血清検体と血漿検体との相関性について53例の健常人及び肝疾患患者検体にて検討したところ、良好な相関性が得られました。
相関係数 $r=0.99$
回帰式 $y=1.04x+0.01$
 y ：血漿検体、 x ：血清検体

* 検出限界・定量限界

CLSIガイドラインEP17-A2^②に従って、ブランク上限(LoB)、検出限界(LoD)、定量限界(LoQ)を算出しました。

	AU/mL
LoB	0.00012
LoD	0.00026
LoQ	0.025147

* 精度

CLSIガイドラインEP05-A3^③に従って、併行精度(CV_i)、室内再現精度(CV_i)を求めました。

サンプル	n	平均値 (AU/mL)	併行精度 (CV _i)	室内再現精度 (CV _i)
低値管理用試料	80	0.471	2.1 %	2.9 %
中値管理用試料	80	2.913	1.7 %	2.4 %
高値管理用試料	80	15.578	1.6 %	1.7 %

採血管の影響度

下記の採血管種を用いて複数のドナーから採血したサンプルを測定した結果、値の変動（ドナー平均）は15 %以内でした。

$$\text{誤差(\%)} = \frac{\text{各種採血管の測定値} - \text{採血管の平均測定値}}{\text{採血管の平均測定値}} \times 100$$

シリーズ名	メーカー	品番	採血管タイプ
ベノジェクトⅡ	テルモ	VP-AS054K	凝固促進フィルム
		VP-AR109K63	血清分離剤＋凝固促進フィルム＋トロンビン
		VP-DK050K	EDTA・2K
		VP-TK052K	EDTA・3K
		VP-NA050K	EDTA・2Na
		VP-HL050K	ヘパリンLi
		VP-H050K	ヘパリンNa
ネオチューブ	ニプロ	30-124	凝固促進剤
		30-083	トロンビン＋トロンビン様酵素
インセバックⅡ D	セキスイ	500664	凝固促進剤
		500732	高速凝固促進剤（分離剤入り）
	極東	551-78105-2	高速凝固促進剤（分離剤入り）
バキュティナ SST	BD	367986	凝固促進用シリカ微粒子

特性	抗凝固剤
凝固促進タイプ	EDTA・2K
高速凝固タイプ	EDTA・3K
	EDTA・2Na
	ヘパリンLi
	ヘパリンNa

校正用基準物質に関する情報

リコンビナントM2BP抗原を用いて社内一次標準品を作成し、これを校正用基準物質としています。HISCL M2BPGi試薬の1.00 C.O.I.が1.00 AU/mLとなるように社内標準品に基づき調製しています。

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

- 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等を受けてください。院内感染対策マニュアル等がある場合はその指示に従ってください。
- 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、マスク等を着用してください。
- 感染を避けるために口によるピペティングを行わないでください。
- R1～R4試薬、HISCL M2BPGi-Qt C0～C4及びHISCL 検体希釈液には、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等を受けてください。

使用上の注意

- 各試薬は、気泡が生じないように、ていねいに扱ってください。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。
- Lot No.が異なるR1～R3試薬を組み合わせ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。
- R1～R3試薬を装置から取り出した場合は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。
- 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。
- 各キャリブレーション及びコントロール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または精度管理が正常に行えなくなります。
- 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
- 新しいLot No.のR4/R5試薬を使用する場合は、検量線を補正するか、もしくは検量線を作成し直してください。

廃棄上の注意

- 試薬及び容器等を廃棄する場合は、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。
- 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。
- 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。
- 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従ってください。

- 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プにかける
- 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

- 定期的な精度管理を実施してください。
- 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】

- 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
- 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 M2BPGi-Qt 試薬 100テスト ^{※4}	HISCL M2BPGi-Qt R1試薬 ^{※5}	10 mL × 1
	HISCL M2BPGi-Qt R2試薬	3 mL × 1
	HISCL M2BPGi-Qt R3試薬 ^{※5}	10 mL × 1
HISCL M2BPGi-Qt キャリブレーション ^{※6}	HISCL M2BPGi-Qt C0～C4	5濃度 1 mL × 1
HISCL 発光基質セット ^{※6}	HISCL R4試薬	40 mL × 1
	HISCL R5試薬	70 mL × 1
HISCL 洗浄液 ^{※4 ※6}	HISCL 洗浄液	10 L × 1

関連製品

製品名	構成試薬名	包装
HISCL 検体希釈液 ^{※6}	HISCL 検体希釈液	20 mL × 1
HISCL M2BPGi-Qt コントロール ^{※6}	HISCL M2BPGi-Qt	2濃度
	Level 1, Level 2	2 mL × 3

※4：本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。

※5：R1試薬とR3試薬は一体型の容器で提供されます。

※6：これらの製品は別売品となります。

【主要文献】

- (1) 社内データ
- (2) Wayne PA: Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures; Approved Guideline—Second Edition. CLSI Document EP17-A2, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012)
- * (3) Wayne PA: Evaluation of Precision of Quantitative Measurement Procedures; Approved Guideline—Third Edition. CLSI Document EP05-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2014)
- (4) Kurokawa T, et al: Purification and characterization of a lectin from Wisteria floribunda seeds., J Biol Chem. **251(18)**, 5686-93(1976)
- (5) Piller V, et al: Comparison of the carbohydrate-binding specificities of seven N-acetyl-D-galactosamine-recognizing lectines., Eur J Biochem. **191(2)**, 461-6(1990)
- (6) Ozaki Y, et al: Expression and immunogenicity of a tumor-associated antigen, 90K/Mac-2 binding protein, in lung carcinoma., Cancer. **95(9)**, 1954-62(2002)
- (7) Sun W, et al: N-glycans of human protein C inhibitor: tissue-specific expression and function., PLoS One. **6(12)**, e29011(2011)

- (8) Comelli EM, et al: A focused microarray approach to functional glycomics: transcriptional regulation of the glycome., Glycobiology. **16(2)**, 117-31(2006)
- (9) Kuno A, et al: A serum “sweet-doughnut” protein facilitates fibrosis evaluation and therapy assessment in patients with viral hepatitis., Sci. Rep. **3**, 1065-73(2013)
- (10) Ahmad W, et al: A brief review on molecular, genetic and imaging techniques for HCV fibrosis evaluation., Virology Journal, **8**, 53(2011)
- * (11) Abe M, et al: Association between Wisteria floribunda agglutinin-positive Mac-2 binding protein and the fibrosis stage of non-alcoholic fatty liver disease., J Gastroenterol. **50(7)**, 776-84(2015)
- (12) Yamasaki K, et al: Elevated serum levels of Wisteria floribunda agglutinin-positive human Mac-2 binding protein predict the development of hepatocellular carcinoma in hepatitis C patients., Hepatology. **60(5)**, 1563-70(2014)
- * (13) Tamaki N, et al: Wisteria floribunda agglutinin positive human Mac-2-binding protein as a predictor of hepatocellular carcinoma development in chronic hepatitis C patients., Hepatol Res. **45(10)**, E82-8(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



カタログ番号



使用期限



体外診断用の専用製品



ロット番号



製造販売元



テスト数



添付の文書参照



上



保存温度

* 製造販売元

シスメックス株式会社

神戸市西区高塚台4丁目4番地の4 〒651-2271

Tel 078-991-1911