体外診断用医薬品　　**2023 年 7 月改訂（第 6 版）
製品番号 A74702　　*2022 年 6 月改訂（第 5 版）
製造販売承認番号 20500AMY00118000

BECKMAN COULTER

クラスⅢ生化学・免疫・内分泌検査用シリーズ

ビタミン B12 キット

アクセス B12

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

全般的な注意

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断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. 添付文書等に記載した内容以外の方法で使用した場合は、保証の対象とはなりません。

*4. 本品は、Access Immunoassay Systems［Accessイムノアッセイアナライザー、Access2イムノアッセイシステム、Access2イムノアッセイシステムPRO、ユニセル（UniCel）DxI800/600システム］用の試薬です。ご使用にあたっては測定装置の取扱説明書をよく読んでからご使用ください。

形状・構造等（キットの構成）

1.構成試薬

ラベル	構成試薬名	主要成分
R1	試薬パック	
R1a	抗体結合性磁性マイクロビーズ	抗マウス IgG ヤギ抗体結合磁性マイクロビーズ 抗内因子マウス抗体
R1b	緩衝液	ほう酸緩衝液
R1c	酵素標識液	アルカリフォスファターゼ標識ブタ内因子
R1d	前処理液	水酸化ナトリウム
R1e	還元液	ジチオスレイトール
R2	基質液	ルミジェン PPD（4-メトキシ-4-（3-フォスフェイトフェニル）スピロ[1,2-ジオキセタン-3,2'-アダマンタン]ジナトリウム塩）

2.その他の試薬

ラベル	試薬名	主要成分
R3	洗浄液	トリス緩衝液
S0	キャリブレータ	ヒト血清アルブミン
S1、S2、S3、S4、S5		ヒト血清アルブミン、 ビタミン B_{12}（約 100、250、500、900、1,500 pg/mL：ロットにより濃度は異なります）
-	検体希釈液	

使用目的

血清又は血漿中のビタミン B12 濃度の測定

測定原理

本品は、競合法を用いた化学発光酵素免疫測定法（CLEIA）を測定原理としています。検体に還元液、前処理液を加えて前処理した後、緩衝液、酵素標識液、抗体結合磁性マイクロビーズを反応させると、検体中のビタミン B_{12} はアルカリフォスファターゼ標識ブタ内因子に結合し、アルカリフォスファターゼ標識ブタ内因子と抗内因子マウス抗体結合磁性マイクロビーズの結合を阻害します。抗体結合磁性マイクロビーズと未反応のアルカリフォスファターゼ標識ブタ内因子を洗浄後、化学発光基質（ルミジェン PPD）を加えて酵素反応を行います。ルミジェンPPDの分解による発光量は検体のビタミンB_{12}の濃度を反映するため、これを測定することによりビタミンB_{12}濃度を求めます。

操作上の注意

1.測定試料の性質、採取法

（1）測定には血清又は抗凝固剤にヘパリンを用いた血漿を使用してください。
（2）静脈穿刺に対する所定の注意事項を守って採血を行ってください。
（3）常に検体は密栓してください。
（4）遠心分離を行う場合は、十分に凝固させてから実施してください。遠心分離の条件は、採血管の推奨条件に従ってください[1]。
**（5）遠心分離後、すぐに上清をふた付きのチューブに 500 μL 以上分注し、直ちにふたをしっかり閉じてください。室温（15～30℃）で 8 時間以上保管しないでください。8 時間以内に測定しない場合は 2～8℃で保管してください。また、24 時間以内に測定しない場合や輸送する場合には－20℃以下で凍結してください。なお、検体の凍結融解は 1 回のみ可能です[1]。
（6）フィブリン残渣や細胞物質は分析前に取り除いてください。
（7）各検査室において、使用する採血管や血清分離剤の適合性を確認してください。採血管や血清分離剤については、製造メーカ間差やロット間差が存在する可能性があります。

2.測定時の注意点

（1）検体容器と装置デッドボリュームに加え、本品 1 測定につき検体 45 μL を使用します。また、ユニセル DxI800/600 システムのオンボード希釈機能を使用する際は、検体容器と装置デッドボリュームに加え、1 測定につき検体 66 μL を使用します。検体最小必要量については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。
（2）装置のデフォルト測定単位は、pg/mL です。SI 単位である pmol/L に変更する場合は、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。マニュアルで SI 単位に換算するためには、pg/mL に係数 0.7378 を乗じてください。
（3）ユニセル DxI システムでご使用の場合、測定中の室温は、キャリブレーション時の室温±4℃の変動範囲内にしてください。室温がこれ以上に大きく変動した場合は、再キャリブレーションを実施してください。

3.干渉物質

各物質は以下の濃度まで測定値に影響ありませんでした。

被検物質	添加濃度	被検物質	添加濃度
ビリルビン	10 mg/dL	総タンパク質	9 g/dL
トリグリセライド	1,800 mg/dL		

*4.交差反応性

血清にビタミン B_{12} アナログであるコビンアミド 10,000 pg/mL を添加した場合の交差反応性は 0.5%未満でした。

用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製方法

試薬	調製法	開封後の貯法・有効期間
R1 試薬パック	調製は不要です。装置に搭載する前に、パックを泡立たないよう静かに数回転倒混和してください。測定に使用する前に少なくとも 2 時間は 2～10℃に冷やしてください。	開封後、2～10℃で 14 日間安定です。
R2 基質液	調製は不要です。未開封状態で、15～30℃に少なくとも 18 時間以上放置してから使用してください。	開封後、装置に搭載した状態で 14 日間安定です。

2. その他の試薬の調製方法

製品名（別売）	調製法	開封後の貯法・有効期間
R3 洗浄液	調製は不要です。	開封後、15～30℃で、ラベルに記載された有効期限前日まで安定です。
S0～S5 キャリブレータ	調製は不要です。泡立たないよう静かに数回転倒混和してから使用してください。	開封して使用後、直ちに閉栓し、直立させて 2～10℃で保管した場合、ラベルに記載された有効期限前日まで安定です。

3.その他測定に必要なもの

精度管理用コントロール
　製品番号 A23909　：アクセス イムノコントロール 1、2、3 など

反応チューブ
　製品番号 81901　：アクセス用反応チューブ
　製品番号 386167　：UniCel DxI 800 用ヴェッセル

4.操作方法

試料の取扱い、装置への測定項目設定、測定依頼、測定結果解釈については、装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

（1）キャリブレーション

測定の際には、有効な検量線（キャリブレーションカーブ）が必要です。アクセス B12 キャリブレータ（別売）に同梱のキャリブレーションカード情報を装置に登録後、S0～S5 を検体と同様に操作し検量線を作成します。
キャリブレータは 6 濃度とも 2 重測定です。キャリブレーション理論、キャリブレータ登録、キャリブレータ測定依頼、キャリブレーションデータ解釈などの詳細については、装置の取扱説明書及びヘルプシステムを参照してください。検量線は 21 日間有効です。

（2）検体の測定

装置に付設する表示画面で検体の情報及び測定項目を入力した後、ラック又はサンプルトレイにセットした検体を装置に架設し、操作すると次の分析操作が行われます。
①検体（40 μL）に、還元液、前処理液を加え、反応させる。
②さらに、緩衝液、酵素標識液、固相液を加え、反応させる。
③洗浄後、基質液を加え、反応させる。
④発光強度（λmax=540 nm）を測定する。
⑤検量線から、検体中のビタミン B_{12} 濃度を算出する。
検体の測定開始から約 40 分後に最初の結果が得られます。

5.精度管理

精度管理用試料は患者試料の特質を反映し、免疫化学検査装置の性能をモニタリングするために必要なものです。アクセス イムノコントロール 1、2、3 又は市販の少なくとも 2 濃度以上の精度管理用試料を用いて、1 日 1 回以上測定してください[2]。調製及び保存条件は製造元の取扱説明書に従ってください。各施設においては、適切な性能を保証するために精度管理用試料の平均値及び許容範囲を設定してください。精度管理用試料の値が許容範囲に入らなかった場合は検査結果が無効である可能性があります。その検査においては、精度管理用試料が前回、許容範囲に入っていた時点に遡って、全てを再測定してください。精度管理用試料の結果値の評価については、本装置の取扱説明書あるいはヘルプシステムを参照してください。

測定結果の判定法

1. 判定基準

*参考基準範囲:

(1)180～914 pg/mL 判定保留:145～180 pg/mL(n=166) 海外データ[14]

(2)177～1,037 pg/mL(n=1,719) 国内データ[15, 16]

アジア地域共有基準範囲設定国際プロジェクトで得られた健常人データのうち、日本国内に限定したデータで、年齢は 20～60 才でほぼ均等に分布しています。調整 Box-Cox べき乗変換によるパラメトリック法で求めました。

基準値は種々の要因から各検査室によって異なる可能性があるため個々の検査室に適した基準値を設定してください[3, 4, 5]。

2. 判定上の注意

(1)測定結果がキャリブレータの最高濃度(S5)を超える値の場合は、その S5 の濃度以上と報告してください。また、希釈する場合は、検体と検体希釈液又はキャリブレータ S0 を 1 対 4 の割合で混和し、再測定してください。ユニセル DxI800/600 システムのオンボード希釈機能を使用した際は、検体と DxI 用検体希釈液パック A を 1 対 4 で自動的に希釈し、測定します。

(2)測定結果が測定範囲下限値以下の場合、測定範囲下限値以下と報告してください。ユニセル DxI800/600 システムのオンボード希釈機能を使用した際は、システムは 1,275 pg/mL 以下と出力します。

(3)検体中のヒト抗マウス抗体(HAMA)やその他の異好性抗体の存在が測定系に干渉することがあります[6, 7]。測定結果に基づく診断は、他の検査や臨床症状等を考慮し、総合的に判断してください。

(4)悪性貧血患者の約 50%が抗内因子抗体をもっています[8]。本測定系では前処理で内因子ブロッキング抗体を不活化します。しかしながら、稀に異質であったり著しく高濃度の抗内因子抗体が存在すると、それらの不活化が不十分となり、正しい測定結果が得られないことがあります[9]。

(5)新生児又は骨髄増殖性症候群における本品での血清中ビタミン B_{12} 濃度の評価は行われていません。

臨床的意義[10, 11]

ビタミンB_{12}は肉、卵、牛乳などの動物性食品に含まれ、ヒト体内では合成されないため食物から摂取する必要があります。消化されると胃液内の内因子と結合し回腸から吸収されます。その後、門脈血中へ移行し、血中の担送蛋白トランスコバラミンへ結合して体内臓器組織へ移送されます。ビタミンB_{12}は、補酵素であり、細胞の正常な成長及びDNA合成に必須である重要な二つの代謝機能(メチオニン合成と、メチルマロニルCoAのサクシニルCoAへの変換)に関わっています。ビタミンB_{12}欠乏の最も一般的な原因は、内因子の分泌障害であり、ビタミンB_{12}が十分に吸収されない悪性貧血や巨赤芽球性貧血、重度の神経障害、胃切除、外科的切除による吸収不良、小腸に影響する様々な細菌性、及び炎症性疾患などを引き起こす場合があります。ビタミンB_{12}が高値になる場合、妊娠、経口避妊薬やビタミン剤の摂取、慢性顆粒球性白血病あるいは慢性骨髄単球性白血病などの骨髄増殖性疾患などがあります。

性能[14]

【感度試験】

ビタミン B12 濃度の 100 pg/mL の試料 B と 0 濃度の試料 A をそれぞれ測定するとき、その発光強度の比 B/A は 0.6～0.9 の範囲です。

【正確性試験】

管理用検体を測定するとき、基準濃度範囲内の値を示します。

基準濃度範囲はあらかじめ管理用検体を 5 回測定したときの平均値±2SD です。ただし、±2SD は±20%以下です。

【同時再現性試験】

同一試料を同時に 5 回測定するとき、測定値の変動係数は 10%以下です。

【測定範囲】50～1,500 pg/mL

【相関性試験】

	血清検体	血漿検体
試料数	N =71	N =46
相関係数	r =0.995	r =0.937
回帰式(X:他法、Y:本法)	Y =0.998X - 27.7	Y =0.86X + 46.41
他法	RIA 法	CLEIA 法

【標準物質】社内調製品

使用上又は取扱い上の注意

1.取扱い上(危険防止)の注意

(1)装置のご使用にあたっては、取扱説明書をよくお読みください。

(2)システム上、測定範囲上限値はキャリブレータ最大濃度値となります。

(3)検体、キャリブレータ、コントロールは 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、使い捨て手袋やゴーグルを着用してください。また口によるピペッティングを行わないでください[12]。

(4)本品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合には、水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要であれば医師の手当を受けてください[13]。

(5)本品は、ProClin※ 300 を含有しており、皮膚等を刺激する場合があります。もし、皮膚や衣服に付いた時は速やかに水で洗い流してください。皮膚に炎症を生じた場合は医師の手当てを受けてください。

※ProClin™は、The Dow Chemical Company(Dow)又は Dow の関連会社の商標です。

2.使用上の注意

(1)本品は凍結しないでください。凍結された試薬は使用できません。

(2)開封後の試薬パックを転倒混和しないでください。

(3)試薬を注ぎ足して使用しないでください。

(4)有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

(5)基質液は空気酸化の影響を受けやすいので、ふたをしっかり閉め、ボトル間の基質液の注ぎ足しは避けてください。

(6)開封後の本品を別の装置に搭載しないでください。

3.廃棄上の注意

(1)試薬及び器具等を廃棄する場合には、医療廃棄物等の規定に従って処理してください。

(2)本品はアジ化ナトリウムを使用しています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の高い金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください。

*(3)検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、感染防止のために 0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でふき取ってください。

貯蔵方法・有効期間

試薬	製品名	貯法	有効期間
R1 試薬パック	アクセス B12 試薬パック	2～10℃	1 年間
R2 基質液	アクセス 基質液(別売)	2～8℃	1 年間

(使用期限:外装に記載してあります)

包装単位

試薬	製品番号	製品名	包装
R1 試薬パック	A74702	アクセス B12 試薬パック	50 テスト×10
R2 基質液	81906	アクセス 基質液(別売)	130 mL×4
R3 洗浄液	A16792	アクセス用洗浄液Ⅱ(別売)	1,950 mL ×4
	A16793	UniCel DxI 800 用洗浄液Ⅱ(別売)	10 L
S0～S5 キャリブレータ	33005	アクセス B12 キャリブレータ(別売)	4 mL / バイアル
検体希釈液	33006	アクセス B12 S0 セット(別売)	4 mL×1
	81908	アクセス検体希釈液(別売)	4 mL×1
	A79783	DxI 用検体希釈液パック A(別売)	32.9 mL×2

主要文献

*1. Approved Guideline – Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens for Common Laboratory Tests, GP44-A4. 2010. Clinical and Laboratory Standards Institute.

2. Cembrowski GS, Carey RN. Laboratory quality management: QC ⇔QA. ASCP Press, Chicago, IL, 1989.

*3. 中森誠,橋詰直孝:ビタミン B_{12} と葉酸の標準化について(日本ビタミン標準化検討協議会報告). ビタミン 81(5・6):276-278, 2007.

4. 柿木孝志:全自動化学発光酵素免疫測定装置 UniCel DxI800 によるビタミン B_{12}、葉酸、フェリチンの検討.医学と薬学 58(2):347-353.2007

5. 北川昌美:全自動化学発光酵素免疫測定装置 UniCel DxI800 による Access 試薬の健常者基準値の検討.医学と薬学 58(6):873-879.2007.

6. Kricka L. Interferences in immunoassays – still a threat. Clin Chem 2000; 46: 1037–1038.

7. Bjerner J, et al. Immunometric assay interference: incidence and prevention. Clin Chem 2002; 48: 613-621.

8. Chanarin I. The megaloblastic anaemias 3rd ed. Blackwell Scientific Publications, Oxford, 1990.

9. Taylor KB. Immune aspects of pernicious anaemia and atrophic gastritis. Clin Haematol 1976; 5: 497–519

10. 佐伯ひろみ:ビタミン B_{12} の測定.臨床検査,45:1098-1102,2001.

11. 佐伯ひろみ:アクセスイムノアッセイシステムによる貧血関連検査 ビタミン B_{12}・葉酸.生体試料分析 29(3):243-248.2006.

*12. HHS Publication, 5th ed., December 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.

13. DHHS (NIOSH) Publication No. 78-127, August 1976. Current Intelligence Bulletin 13 - Explosive Azide Hazard. Available http://www.cdc.gov/niosh.

14. ベックマン・コールター株式会社 社内データ

*15. 市原清志. Ⅱ.基準範囲を求める統計手法の実践. 基準範囲の実践マニュアル Ver.1.0. JJCLA 2012; 37; Suppl.1:15-35.

*16. 市原清志. Ⅲ.我が国の基準範囲 1.中央測定方式による共有基準範囲の設定. 基準範囲の実践マニュアル Ver.1.0. JJCLA 2012; 37; Suppl.1:36-54.

IFU_2020_A89094 L

問い合わせ先

ベックマン・コールター株式会社 お客様サポートセンター

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目5番7号 TOC有明ウエストタワー

TEL:0120-566-730

製造販売業者の氏名又は名称及び住所

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063 東京都江東区有明三丁目5番7号 TOC有明ウエストタワー