この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品　　2025年1月作成(第1版)
製造販売届出番号:13E1X80206000212

コバス システム-G

血液検査用メトトレキサートキット

コバス試薬 メトトレキサート

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
3. 電子化された添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
4. 使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

コバス試薬 メトトレキサート

R1:抗体試薬
　抗メトトレキサートウサギモノクローナル抗体
　(抗メトトレキサート抗体)
　グルコース-6-リン酸ナトリウム(G6P)
　ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド(NAD)
R2:酵素標識試薬
　グルコース-6-リン酸脱水素酵素標識メトトレキサート
　(G6PDH 標識メトトレキサート)
(R1:ポジション B、R2:ポジション C)

【使用目的】

血清又は血漿中のメトトレキサートの測定

【測定原理】

本品は、血清又は血漿中のメトトレキサートを測定するもので、抗原抗体反応を利用したホモジニアスエンザイムイムノアッセイ(HEIA)を測定原理としています。測定試料中のメトトレキサートは試薬中の G6PDH 標識メトトレキサートと競合します。その結果、抗メトトレキサート抗体と結合できなかった G6PDH 標識メトトレキサートの G6PDH の酵素活性によって、NAD は還元型 NAD である NADH に変換されます。この酵素活性は抗体に結合することによって低下しますので、試料中のメトトレキサートの量に比例して NADH が増加します。この NADH を吸光度変化量として測定し、同様の操作を行った標準液の吸光度変化量から標準曲線を作成し、測定試料中のメトトレキサート濃度を求めます。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法
　測定試料:血清又は血漿(ヘパリン Li、ヘパリン Na、EDTA-2K、EDTA-3K)
　測定試料の安定性:
　　15～25℃で 24 時間、
　　2～8℃で 14 日間、
　　-20℃(±5℃)で 26 週間安定
　採血管の種類によっては、測定結果に影響を及ぼす場合があります。採血管をそのまま機器にセットして測定する場合は、採血管の製造元の指示に従ってください[1]。
　沈殿物のある検体は、使用前に遠心操作を行ってください。
　検体中に気泡が存在する場合は取り除いてください。
　検体の凍結融解は 3 回までです。
　融解後の検体はよく混和してから測定に使用してください。
　分離剤を含む採血管については検証されていません。
　点滴静注の場合、注射側とは反対の腕から採血を行ってください。
2. 妨害物質・妨害薬剤
　(1) 抱合型ビリルビン濃度及び非抱合型ビリルビン濃度 60 mg/dL、ヘモグロビン濃度 1000 mg/dL、乳び(イントラリピッド)L インデックス 1000 まで測定に与える影響は、メトトレキサート濃度 0.1 μmol/L の試料においては±0.0200 μmol/L 以内、メトトレキサート濃度 1 μmol/L の試料においては±10.0 %以内です[2]。
　(2) リウマチ因子 1000 IU/mL まで測定に与える影響は、メトトレキサート濃度 0.1 μmol/L の試料においては±0.0200 μmol/L 以内、メトトレキサート濃度 1 μmol/L の試料においては±10.0 %以内です。
　(3) 総たんぱく濃度 2～12 g/dL で測定に与える影響は、メトトレキサート濃度 0.1 μmol/L の試料においては±0.0200 μmol/L 以内、メトトレキサート濃度 1 μmol/L の試料においては±10.0 %以内です。
　(4) 検体中にヒト抗ウサギ抗体(HARA)が存在する場合、結果が誤って低値になることがあります。
　(5) 非常に稀なケースとして免疫グロブリン異常症、特に IgM 型(ワルデンシュトレームマクログロブリン血症)の場合、信頼性に欠ける結果となる場合があります[3]。
　(6) DAMPA 4-[(2,4-ジアミノプテリジン-6-イル)メチルメチルアミノ]安息香酸は、50 %～150 %の範囲で交差反応する可能性があります。
　　高用量メトトレキサート救援療法としてグルカルピダーゼを投与された患者の検体は、メトトレキサートの代謝産物である DAMPA が高濃度で含まれています。DAMPA は本品と交差反応し、メトトレキサートの結果が偽高値になります。グルカルピターゼ投与後の患者の検体を測定する場合は注意が必要です。
　(7) 測定に影響を与える以下の化合物についての影響は、メトトレキサート濃度 0.2 μmol/L 未満の試料においては±0.0200 μmol/L 以内、メトトレキサート濃度 0.2 μmol/L より高濃度の試料においては±10.0 %以内です。

化合物	添加濃度 (mg/L)
Folic acid	0.44
Folinic acid (Leucovorin)	1420
Dihydrofolic acid	443
5-Methyl-tetrahydrofolic acid	459
Tetrahydrofolic acid	445

　　なお、メトトレキサートの主要代謝産物である 7-Hydroxymethotrexate については MTX 濃度[4]の 200 倍の濃度で検討しましたが、影響は認められませんでした。
　(8) 以下に示す薬剤が本品の測定に与える影響はありません。

化合物	添加濃度 (mg/L)
(±)-6-Methyl-5,6,7,8-tetrahydropterin-dihydrochloride	254
5-Fluorouracil	90
6-Mercaptopurin	1.48
Acetaminophen	156
N-Acetylcysteine	150
Acetylsalicylic acid	30
Adriamycin	580
Ampicillin-Na	75
Ascorbic acid	52.5
Carbamazepine	45
Cefoxitin	750
Chloramphenicol	78

化合物	添加濃度 (mg/L)
Cisplatin	15
Cyclophosphamide	549
Cyclosporine	1.8
Cytosine	111
Digoxin	0.039
Disopyramide	16.8
Doxycyclin	18
Erythromycin	138
Furosemide	15.9
Gabapentin	26.7
Heparin	3300 IU/L
Hydrochlorothiazide	1.13
Ibuprofen	219
Isoproterenol hydrochloride	0.0595
Levodopa	7.5
Lidocaine	15
Methyldopa	22.5
Metronidazole	123
Naproxen	360
Phenobarbital	690
Phenylbutazone	321
Phenytoin	60.0
Prednisolone	1.2
Prednisone	0.099
Pyrimethamine	249
Rifampicin	48
Sulfamethoxazole	405
Theophylline	60
Triamteren	0.585
Trimethoprim	42
Vancomycin	120
Vinblastine	811
Vincristine	825

(9) イムノアッセイでは、非特異反応物質が存在した場合、得られた結果に対して、非特異的反応を完全に否定できない場合があります。

3. その他
本試薬はコバス pro 又はコバス pure などに適用できます。

【用法・用量(操作方法)】

1. 試薬の調製方法
全ての構成試薬はそのままご使用ください。
試薬(カセット)を泡立てないように静かに転倒混和してから機器にセットします。
標準液:コバス メトトレキサート キャリブレーター(別売)を使用してください。
2. 試薬の安定性
未開封時:2～8℃で使用期限まで安定
機器上 :12 週間安定
3. 別途必要な器具・器材・試薬
・コバス pro 又はコバス pure など
・コバス メトトレキサート キャリブレーター
・コバス TDM マルチコントロール
4. 操作方法
詳細な操作方法は別途パラメーターを用意してありますので、弊社までお問い合わせください。
(コバス pro の例)
(1) 精製水(試薬ブランク用)、標準液又は試料 2.0 μL を量り取ります。抗体試薬 100 μL を加え、37℃でインキュベーションします。
(2) 酵素標識試薬 50 μL を加え、37℃でインキュベーションします。
(3) 5 分以内に 1 分間あたりの吸光度変化量を主波長 340 nm、副波長 415 nm で測定します。
(4) 標準液の 1 分間あたりの吸光度変化量から検量線を作成し、試料の 1 分間あたりの吸光度変化量からメトトレキサート濃度を求めます。
5. 精度管理
精度管理には、コバス TDM マルチコントロール(別売) をご使用ください。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定
メトトレキサートの血中濃度の中毒域は 24 時間値で 10 μmol/L、48 時間値で 1 μmol/L、72 時間値で 0.1 μmol/L とされています[5]。
患者によってはこの濃度域以外で有効な場合があります。したがって、血中薬物濃度の解釈は上記の濃度域を参考とし、各施設で臨床医と相談の上、設定してください。
2. 結果の判定にかかる注意
測定範囲上限を超える高値を示した検体又は、あらかじめ高値が予測される検体については、精製水を用いて検体を適宜希釈して測定してください。

【性能】

1. 性能
【用法・用量(操作方法)】の記載に従い、感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。
(1) 感度試験
1) メトトレキサート濃度 0.020～0.025 μmol/L の標準液を試料として測定した場合の吸光度変化量は、0.0000～0.3000 counts/Abs の範囲内です。
2) メトトレキサート濃度 1.10～1.30 μmol/L の標準液を試料として測定した場合の吸光度変化量は、0.3100～0.8000 counts/Abs の範囲内です。
(2) 正確性試験
既知濃度の管理用試料を測定するとき、
1) メトトレキサート濃度 0.050 ～ 0.120 μmol/L では既知濃度の±25%以内です。
2) メトトレキサート濃度 0.480 ～ 1.14 μmol/L では既知濃度の±20%以内です。
(3) 同時再現性試験
同一管理用試料を 3 回同時に測定するとき、
1) メトトレキサート濃度 0.050～0.120 μmol/L では測定値の CV は 20%以下です。
2) メトトレキサート濃度 0.480～1.14 μmol/L では測定値の CV は 10%以下です。
(4) 測定範囲
0.0400～1.20 μmol/L
(5) 測定下限値
LoB:0.0250 μmol/L
LoD:0.0350 μmol/L
LoQ:0.0400 μmol/L
CLSI ガイドライン EP17-A2[6]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。

＜較正用の基準物質＞

USP (米国薬局方(United States Pharmacopeia))

【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) 検体及び本品の取扱いには、使い捨て手袋、実験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用するなど、人体に直接触れないように注意してください。また、測定終了後はよく手を洗ってください。
   (2) 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水でじゅうぶんに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などを受けてください。
   (3) 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合には、直ちに大量の水で洗い流してください。
   (4) 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
   (5) 検体をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 1,000 ppm、0.1%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
   (6) 検体及び本品を取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。
   (7) 検体は HIV、HBV、HCV などのウイルスによる感染の危険性があるものとして取り扱い、検体又は検査に使用した器具類は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱滅菌処理をするか、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 1,000 ppm、0.1%)に 1 時間以上浸すなどにより消毒してください。これらの作業中は、じゅうぶんに換気を行ってください。
2. 使用上の注意
   (1) 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
   (2) 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
   (3) ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。
   (4) 試薬カセット内の試薬ボトルの組合せを変えないでください。
   (5) RFID をぬらしたり、強く押さないでください。
   (6) すべての試薬は保存又は反応中に強い光を当てないでください。
   (7) すべての試薬は開封又は分注時に微生物の汚染を避けてください。
   (8) 測定系の調製には必ず精製水を使用し、水道水は用いないでください。
   (9) 検体は使用前に 15～25℃に戻し、よく混和してください。ただし、激しく振り混ぜたり、泡立てたりしないでください。
   (10) 本品を保存する際は、垂直の状態で保存してください。
   (11) 本品の試薬カセットは再使用できません。
3. 廃棄上の注意
   (1) 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。
   (2) 使用後の容器を廃棄する場合には、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など区別して処理してください。
   (3) 廃棄する際は、水質汚濁防止法等の規制に留意して処理してください。
   (4) 検体及び試薬をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 1,000 ppm、0.1%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
4. その他の注意
   本品による測定値は既存製品と高い相関性を示しますが、系統的な誤差を生じる場合がありますので、必要に応じて相関性について検討されることをお勧めします。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法
   2～8℃で保存してください。
2. 有効期間
   18 ヵ月
   使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

コバス システム-G コバス試薬 メトトレキサート　100 テスト
R1:抗体試薬　10.0 mL
R2:酵素標識試薬　5.0 mL

【主要文献】

1) 西原カズヨほか. 血清分離のための血液採取管中での血清中薬物濃度変化. 病院薬学. 1989;15(4):285-291
2) Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
3) Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
4) Breithaupt H, Küenzlen E. Pharmacokinetics of methotrexate and 7-hydroxymethotrexate following infusions of high-dose methotrexate. Cancer Treat Rep 1982 Sep;66(9):1733-1741. PMID: 6956440.
5) 高久史麿ほか. 薬物血中濃度モニタリング(TDM)の対象となる薬物とその有効・中毒濃度範囲(付録). 治療薬マニュアル 2022 (医学書院).
6) Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. CLSI Document EP17-A2. Wayne, PA: CLSI; 2012.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
カスタマーソリューションセンター
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル:0120-600-152

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所等】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル:0120-600-152

コバスは Roche の登録商標です。
その他の全ての製品名及び商標は、各所有者に帰属します。