この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

cobas®

体外診断用医薬品　　** 2021 年　3 月改訂（第 9 版）
＊2019 年　12 月改訂（第 8 版）

製造販売承認番号：22500AMX00891000

コバス® システム

I 型プロコラーゲン-N-プロペプチドキット

エクルーシス®試薬 total P1NP

【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. 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）】

1. **エクルーシス試薬 total P1NP**
   構成試薬/キャップの色
   MP 液(M)/無色
   ストレプトアビジンコーティング磁性マイクロパーティクル（SA 磁性 MP）
   試液1(R1)/灰色
   ビオチン化抗 P1NP マウスモノクローナル抗体（ビオチン化抗 P1NP 抗体）
   試液2（R2）/黒
   トリス(2, 2'-ビピリジル)ルテニウム(Ⅱ)標識抗 P1NP マウスモノクローナル抗体
   （$Ru(bpy)_3$ 標識抗 P1NP 抗体）
2. **エクルーシス試薬 プロセル（別売）**
   構成試薬/キャップの色
   プロセル/白
   トリプロピルアミン

注意）1．2.は組み合わせて使用してください。

【使用目的】

血清又は血漿中のⅠ型プロコラーゲン-N-プロペプチド（P1NP）の測定（骨粗鬆症治療における治療効果の判定及びモニタリング、診断の補助）

【測定原理】

本キットは、血清又は血漿中のⅠ型プロコラーゲン-N-プロペプチド(P1NP)を測定するもので、電気化学発光免疫測定法(ECLIA 法)を測定原理としています[1)]。第1反応として検体及びビオチン化抗 P1NP マウスモノクローナル抗体（ビオチン化抗 P1NP 抗体）を加えインキュベーションします。第2反応としてトリス(2, 2'-ビピリジル)ルテニウム(Ⅱ)標識抗 P1NP マウスモノクローナル抗体（$Ru(bpy)_3$ 標識抗 P1NP 抗体）及びストレプトアビジンコーティング磁性マイクロパーティクル（SA 磁性 MP）を加えインキュベーションし、反応混合液を測定セルに吸引し、磁力により SA 磁性 MP を電極に引き付けます。次にトリプロピルアミンを吸引し、未反応物を除去します(B/F 分離)。SA 磁性 MP に結合している $Ru(bpy)_3$ 標識抗 P1NP 抗体の $Ru(bpy)_3$ は、電極への荷電による酸化と、トリプロピルアミンでの還元反応により励起発光を繰り返します。所定時間での発光強度を光電子増倍管で測定します。同様の操作をしたキャリブレータの発光強度から、検体中の P1NP 濃度を算出します。

**【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（EDTA、ヘパリン）
   測定試料の安定性：15～25℃で 24 時間、
   2～8℃で5日間、
   -20℃(±5℃)で6ヵ月間安定
   （凍結融解は5回まで）
   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ので使用する採血管の製造元の指示に従ってください。
   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。また、加熱した検体は使用しないでください。
   アジ化ナトリウムを含有する検体やコントロールは、測定に使用しないでください。
   蒸発による測定への影響を回避するため、機器に設置した検体、キャリブレータ、コントロールは2時間以内に測定してください。
   目視で溶血が疑われる検体は、測定に使用しないでください。
2. **妨害物質・妨害薬剤**
   (1) 下表に示す物質が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影響は以下の範囲内でした。
   P1NP 濃度≦15 ng/mL の検体：±1.5 ng/mL 以内
   P1NP 濃度＞15 ng/mL の検体：±10%以内

物質	濃度
溶血（ヘモグロビン）	100 mg/dL
黄疸（ビリルビン）	65 mg/dL
乳ビ（イントラリピッド）	2,000 mg/dL
リウマチ因子	1,000 IU/mL
ビオチン（ビタミン B_7）※1	50 ng/mL

   ※1 ビオチン（ビタミン B_7）を1日5 mg 以上投与している患者からの採血は、投与後、少なくとも8時間以上経過してから実施してください。
   (3) 28 種の一般的な治療薬、及びイバンドロネート、リセドロネート、アレンドロネート、エストロゲンベースの治療法（「HRT」）、カルシウムとビタミン D の補給療法などの一般的な骨粗鬆症治療薬についての影響を In-vitro 試験で確認したところ、影響は認められませんでした。
   (4) P1NP 濃度 3,900 μg/L までは、プロゾーン現象による偽低値は認められません。
   (5) 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**
   本試薬は以下の機器に適用できます。

卓上型機器	コバス e 411 など
据置型機器	コバス 6000（免疫処理用 e601 モジュール） コバス 8000（免疫処理用 e602 モジュール） など

   そのほかの適用可能な機器については弊社までお問い合わせください。

**【用法・用量（操作方法）】

1. **試薬の調製方法**
   すべての試薬はそのままご使用ください。
2. **試薬の安定性**
   (1) **エクルーシス試薬 total P1NP**
   未開封時：2～8℃で使用期限まで安定
   開封後：2～8℃で8週間安定
   （使用を開始してからの安定性）
   機器上：8週間安定

（2） エクルーシス試薬 プロセル（別売）

未開封時: 15～25℃で使用期限まで安定

機器上:

① エクルーシス試薬 プロセルの場合

キャップを開けた状態で3日間、

キャップを閉めた状態で4週間安定

② エクルーシス試薬 プロセル M の場合

5日間安定

3. 別途必要な器具・器材・試薬

・コバス 6000（免疫処理用 e601 モジュール）、コバス 8000（免疫処理用 e602 モジュール）（そのほかの適用可能な機器については弊社までお問い合わせください）

・エクルーシス total P1NP キャリブレータ

・エクルーシスプレチコントロール 骨・貧血マーカー

・エクルーシス クリーンセル

・エクルーシス シスウォッシュ

・エクルーシス 2010 分注チップ

・エクルーシス 2010 アッセイカップ

・エクルーシス 2010 クリーンライナー

・エクルーシス クリーンセル M

・エクルーシス プレクリーン M

・エクルーシス プローブウォッシュ M

・エクルーシス アッセイカップ/チップ M

・エクルーシス クリーンライナーM

・エクルーシス PC/CC カップ M

使用方法は、各製品の添付文書及び取扱説明書をご参照ください。また、機種により使用する製品が異なりますので、ご不明な点などがございましたら弊社までお問い合わせください。

4. 操作方法

（1） 測定準備

① エクルーシス試薬 total P1NP

(a) 機器への試薬パックの設置

機器の試薬ディスクの空いているポジションに試薬パックをセットします。

使用する前日に機器にセットすることをお勧めします。

試薬は泡立てないでください。

キャップの開閉は、機器が自動的に行います。

使用後は、そのまま機器の試薬ディスク内に保存するか、冷蔵庫（2～8℃）に戻してください。

(b) 機器への測定試料の設置

所定の位置に検体をセットします。

機器への設置方法の詳細は、機器の取扱説明書を参照してください。

(c) キャリブレーション

本試薬に使用するマスターキャリブレーションデータは試薬パック、並びにキャリブレータの2D バーコード、バーコードカード、バーコードシート及び電子配信されるキャリブレーション情報に記録されています。マスターキャリブレーションデータを各機器の状態に適合させるために、キャリブレーションを行います。

このキャリブレーションには、エクルーシス total P1NP キャリブレータ（別売）を使用します。

ア） 新しいロットの試薬を使用する場合、機器に設置してから 24 時間以内の新しい試薬パックを用いて、必ずキャリブレーションを行ってください。このキャリブレーションデータが、同一ロットの試薬パックに使用されるキャリブレーション(L-Cal)として、機器に記録されます。

イ） 推奨するキャリブレーションの測定・更新頻度は、以下のとおりです。しかしながら、精度管理などで必要が生じた場合は、必ずキャリブレーションを行ってください。

1つの試薬パックを 7 日間で使いきる場合:

上記 L-Cal は、1 ヵ月（28 日）間有効です。この間キャリブレーションは不要です。ただし同一ロット内でも、1 ヵ月（28 日）間に1度 L-Cal を更新してください。

1つの試薬パックを7日間を超えて使用する場合:

7日間に1度その試薬パックでキャリブレーションしてください。その際のキャリブレーションデータは、その試薬パックにのみ有効なキャリブレーション(R-Cal)として、機器に記録されます。

エクルーシス total P1NP キャリブレータ（別売）の包装、使用方法、安定性などは、キャリブレータ添付文書をご参照ください。

キャリブレーション実施後は、必ずコントロール試料を測定し、精度管理を行ってから検体測定を行ってください。

② エクルーシス試薬 プロセル（別売）

機器への設置方法の詳細は、機器の取扱説明書を参照してください。

(a) エクルーシス試薬 プロセル/プロセル M 共通

測定する1時間以上前に、機器に設置します（泡立てないでください）。

(b) エクルーシス試薬 プロセルをご使用の場合

以下の点にご留意ください。

測定前にキャップを開けます。

測定後、あるいは3時間以上使用しない場合はキャップを閉めます。

（2） 測定（サンドイッチ法）

① 第1反応：検体及び試液1（ビオチン化抗 P1NP 抗体）を加え、反応させます。

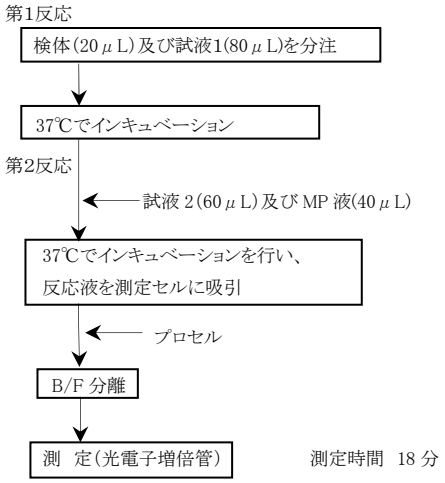
② 第2反応：試液2（$Ru(bpy)_3$標識抗 P1NP 抗体）及び MP 液（SA 磁性 MP）を加え、反応させます。

③ 反応混合液を測定セルに吸引し、磁力により SA 磁性 MP を電極に引き付けます。

④ プロセル（トリプロピルアミン）を吸引し、未反応物を除去します(B/F 分離)。SA 磁性 MP に結合している $Ru(bpy)_3$標識抗 P1NP 抗体の $Ru(bpy)_3$は、電極への荷電による酸化と、トリプロピルアミンでの還元反応により励起発光を繰り返します。所定時間での発光強度を光電子増倍管で測定します。

⑤ 同様の操作をしたキャリブレータの発光強度から、検体中の P1NP 濃度を算出します。

例） 操作概略（コバス e 411 の場合）



5. 精度管理

精度管理には、エクルーシスプレチコントロール 骨・貧血マーカー(別売)をご使用ください。

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。

【測定結果の判定法】

1. 参考基準範囲[2)]

国内の健常人を対象として実施した臨床性能試験において得られた結果から、骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン[3)]の記載に従って算出した参考基準範囲は以下のとおりです。

	n	参考基準範囲 (ng/mL)
閉経前女性(30～44 歳)	79	16.8～70.1
閉経後女性(45～79 歳)	141	26.4～98.2
男性(30～83 歳)	182	18.1～74.1

基準範囲は、測定試料、測定条件、基準個体などにより異なる場合がありますので、各施設で臨床医と相談の上、設定してください。

2. 個体内の最小有意変化[4)]

PTH 製剤やビスホスホネート等の治療薬による骨粗鬆症の治療効果は、治療開始から一定期間後に再測定を行い、ベースラインからの変化を評価することにより判定されます。そのとき最少有意変化を超える変化を示すかどうかが、治療効果判定におけるひとつの基準となります[3)]。

国内の閉経後健常女性 15 名より3ヶ月間に計9回採血した血清検体を用いて算出した個体内の測定変動、及び最少有意変化は以下のとおりです。

(1) 個体内測定変動の中央値(CVi):9.8%

(2) 最小有意変化(LSC※1): 27.1%

※1 $LSC = 1.96 \times \sqrt{2} \times CVi$

3. 検体の希釈

血清 total P1NP 値の顕著な上昇は骨転移疾患と関連し、また腎不全患者でも認められる場合があります。測定範囲上限を超える高値を示した場合は、1,200 ng/mL 超(>1,200 ng/mL)と報告してください。

【臨床的意義】

骨基質の 90%以上を占める I 型コラーゲンは、線維芽細胞及び骨芽細胞で合成される I 型プロコラーゲンから生じます。I 型プロコラーゲンは、N 末端側と C 末端側の双方に伸長部分(プロペプチド)を持ち、これらが特異的プロテアーゼで切断されることにより I 型コラーゲンに変化し、骨組織へと取り込まれます。このとき N 末端側から切断されたプロペプチドが I 型プロコラーゲン-N-プロペプチド(P1NP)であり、P1NP は骨形成マーカーのひとつと定義され、骨粗鬆症治療における治療効果の判定及びモニタリング、診断等の補助を目的として測定されています。

【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 P1NP 濃度 14～45 ng/mL の標準液を試料として操作した場合の発光強度は 5,700～40,000 Counts の範囲内です。

② P1NP 濃度 295～960 ng/mL の標準液を試料として操作した場合の発光強度は 55,000～550,000 Counts 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、測定結果は既知濃度の±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、測定値の CV 値は 10%以下です。

(4) 測定範囲

5～1,200 ng/mL

2. 相関性試験成績

(1) 国内の健常人及び原発性骨粗鬆症患者より採取した血清を用いて Intact PINP を測定する RIA 法との相関性を検討したところ、いずれも良好な相関性が得られました。

① 健常人(454 例)[2)]

相関係数 r=0.96

回帰式 y=0.93x + 1.72

y:本法(total P1NP) x:RIA 法(Intact PINP)

② 原発性骨粗鬆症患者(50 例)[4)]

相関係数 r=0.98

回帰式 y=1.03x - 1.45

y:本法(total P1NP) x:RIA 法(Intact PINP)

本法(total P1NP): 単量体及び三量体 P1NP を測定

RIA 法(Intact PINP): 三量体 PINP を測定

(2) 血清検体と血漿検体(K3EDTA)との相関性を検討したところ、59 例の検体において良好な相関性が得られました[4)]。

相関係数 r=1.0

回帰式 y=1.0x - 4.8

y:血漿検体(K3EDTA) x:血清検体

(3) 血清検体と血漿検体(ヘパリン Li)との相関性を検討したところ、28 例の検体において良好な相関性が得られました[4)]。

相関係数 r=1.0

回帰式 y=1.1x - 6.9

y:血漿検体(ヘパリン Li) x:血清検体

3. 較正用基準物質

社内標準品

【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) 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) ピペットは口で吸わないでください。

(4) 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。

(5) 試薬(MP 液、試液1及び試液2)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。

(6) 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。

(7) 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。

(8) 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) 試薬パックは使用する前に、恒温槽(Water bath など)に浸けたりしないでください。
(5) バーコードをぬらしたり、ペンで記入するなどして汚したりしないでください。
(6) 測定の前はすべての試薬と測定試料中の気泡の有無を確認してください。気泡がある場合は除いてください。
(7) 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。
(8) 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。
(9) 測定系及び洗浄液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。
(10) 検体は使用前に 20～25℃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。
(11) 本品を保存する際は、キャップの裏に試薬を付けないように、垂直の状態で保存してください。
(12) 本品を使用する際は、キャップの裏に試薬を付けないように、垂直の状態で使用してください。
(13) 試薬の調製に使用する器具は、汚染されていない清浄なものを使用してください。
(14) 構成試薬のうちプロセルは、個別に包装されていますので、組み合わせて使用してください。

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。
(5) プロセル(別売)を原液のまま廃棄する場合は強アルカリ溶液(エクルーシス クリーンセル)と混合しないでください。

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
(1) エクルーシス試薬 total P1NP
2～8℃で保存してください(凍結は避けてください)。
製品を倒さないでください。
(2) エクルーシス試薬 プロセル(別売)
15～25℃で保存してください(凍結は避けてください)。
製品を倒さないでください。

2. 有効期間
(1) エクルーシス試薬 total P1NP
18 ヵ月
使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。
(2) エクルーシス試薬 プロセル(別売)
24 ヵ月
使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

エクルーシス試薬 total P1NP 100 テスト

MP 液(M)	1×6.5 mL
試液1(R1)	1×10 mL
試液2(R2)	1×8 mL

エクルーシス試薬 total P1NP 5×100 テスト

MP 液(M)	1×6.5 mL×5
試液1(R1)	1×10 mL×5
試液2(R2)	1×8 mL×5

エクルーシス試薬 プロセル(別売)※

プロセル	6×380 mL

エクルーシス試薬 プロセル M(別売)※

プロセル	1×2L 又は 2×2L

※ 使用する機器に合わせてエクルーシス試薬 プロセル又はエクルーシス試薬 プロセル M をご使用ください。ご不明な点などがございましたら弊社までお問い合わせください。

【主要文献】

1) Blackburn, G.F. et al. Electrochemiluminescence Detection for Development of Immunoassays and DNA Probe Assays for Clinical Diagnostics. Clin.Chem. 1991, 37(9), p.1,534～1,539.
2) 日髙好博. エクルーシス試薬 total P1NP の基本性能および基準範囲の検討. 医学と薬学. 2013, 70(2), p.357～365.
3) 骨粗鬆症診療における骨代謝マーカーの適正使用ガイドライン(2012 年版). 日本骨粗鬆症学会. 骨代謝マーカー検討委員会.
4) 自社データ

【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】

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

COBAS is a trademark of Roche.
コバス及びエクルーシスは Roche の商標です。

06977090001-I