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。

体外診断用医薬品　　** 2021年8月改訂(第6版)
　　* 2020年2月改訂(第5版)

製造販売認証番号:229AAEZX00065000

コバス® システム

葉酸キット

エクルーシス®試薬 葉酸Ⅳ

【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. 構成試薬(試液 1 及び試液 2)はヒト血液由来成分を含みます。HBs 抗原、抗 HIV(HIV-1 及び HIV-2)抗体及び抗 HCV 抗体の陰性が確認されていますが、感染性がないことを完全に保証する試験方法はないため、感染性があるものとして、検体と同様に取り扱ってください。
5. 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 葉酸Ⅳ**
   構成試薬/キャップの色
   前処理液 1(PT1)/白
   前処理液 2(PT2)/灰色※1
   水酸化ナトリウム(NaOH)
   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)/黒※2
   トリス(2,2'-ビピリジル)ルテニウム(Ⅱ)標識葉酸結合蛋白
   ($Ru(bpy)_3$ 標識葉酸結合蛋白)
   試液 2(R2)/黒※2
   ビオチン化葉酸
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。

※1 腐食性を有する成分(水酸化ナトリウム)を含みます。詳細は【使用上又は取扱い上の注意】の項「1. 取扱い上(危険防止)の注意」を参照してください。

※2 ヒト血液由来成分を含みます。詳細は【全般的な注意】の項及び【使用上又は取扱い上の注意】の項「1. 取扱い上(危険防止)の注意」を参照してください。

【使用目的】

血清又は血漿中の葉酸の測定

【測定原理】

本キットは、血清又は血漿中の葉酸を測定するもので、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、前処理液 1 及び前処理液 2 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)標識葉酸結合蛋白($Ru(bpy)_3$ 標識葉酸結合蛋白)を加えインキュベーションします。さらに第 3 反応としてビオチン化葉酸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ます。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 $Ru(bpy)_3$ 標識葉酸結合蛋白の $Ru(bpy)_3$ 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すので、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、検体中の葉酸濃度を算出します。

【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(ヘパリン)
   測定試料の安定性:20～25℃で 2 時間、
   2～8℃で 48 時間、
   -20℃(±5℃)で 28 日間
   (凍結融解は 1 回のみ)
   採血は空腹時に行ってください。採血後、直ちに測定しない検体は、冷蔵(2～8℃)保存してください。
   検体は、遮光して取り扱ってください。
   測定への影響を回避するため、抗菌剤、酸化防止剤又は pH を変化させる物質が含まれている検体は使用しないでください。
   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及びキャリブレータは 2 時間以内に測定してください。
   赤血球中には、高濃度の葉酸が存在するため、溶血した検体の使用は避けてください。
   原発性マクログロブリン血症などで総たん白濃度が異常高値の検体は反応液がアッセイカップ内でゲル化し、機器の動作を停止させるおそれがあるため、測定には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。
   葉酸濃度 0.6～4 ng/mL の検体:0.4 ng/mL 以下
   葉酸濃度＞4 ng/mL の検体:10%以下

物質	濃度
黄疸 (ビリルビン)	29 mg/dL
乳び (イントラリピッド)	1,500 mg/dL
IgG	1.6 g/dL
IgA	0.4 g/dL
IgM	1 g/dL
リウマチ因子	1,000 IU/mL
ビオチン(ビタミン B_7)※3	21 ng/mL

   ※3 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。

   (2) 16 種の薬剤及びヒトエリスロポエチン製剤が本品の測定に与える影響を 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。

   (3) メトトレキサート、ロイコボリンなど、葉酸結合たん白への交差反応性を有する薬剤を投与している患者の検体は、葉酸測定に使用することはできません。

   (4) 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 8000(免疫処理用 e801 モジュール)に適用できます。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 葉酸Ⅳ

未開封時:2～8℃で使用期限まで安定

機器上:16 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:21 日間安定

3. 別途必要な器具・器材・試薬

・コバス 8000(免疫処理用 e801 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)

・エクルーシス 葉酸Ⅳ キャリブレータ (S)

・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 検体希釈液 (S)

・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 G2

・エクルーシス アッセイカップ/チップ G2

・エクルーシス PC/CC カップ G2

・エクルーシス DU 用 LFC カップ G2

・エクルーシス PW 用 LFC カップ G2

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 葉酸Ⅳ

(a) 機器への試薬パックの設置

機器の試薬マネージャーに試薬パックをセットします。

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マネージャー内に保存してください。

(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バーコード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 葉酸Ⅳ キャリブレータ (S)(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 28 日間で使いきる場合:

上記 L-Cal は、12 週間有効です。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、12 週間に 1 度 L-Cal を更新してください。

1 つの試薬パックを 28 日間を超えて使用する場合:

28 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 葉酸Ⅳ キャリブレータ (S)(別売)の包装、使用方法、安定性などは、キャリブレータの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。

泡立てないでください。

(2) 測定(競合法)

① 第 1 反応:検体、前処理液 1 及び前処理液 2 を加え反応させます。

② 第 2 反応:試液 1(Ru(bpy)$_3$ 標識葉酸結合蛋白)を加え反応させます。

③ 第 3 反応:試液 2(ビオチン化葉酸)及び MP 液(SA 磁性 MP)を加え反応させます。

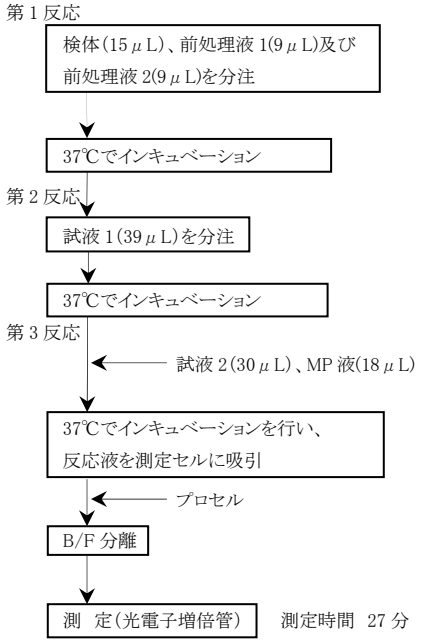
④ 反応混合液を測定セルに吸引し、磁力により SA 磁性 MP を電極に引き付けます。

⑤ 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)$_3$ 標識葉酸結合蛋白の 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すので、所定時間での発光強度を光電子増倍管で測定します。

⑥ 同様の操作をしたキャリブレータの発光強度から、検体中の葉酸濃度を算出します。

例) 操作概略(コバス 8000(e801 モジュール)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. 測定結果の判定及び参考基準範囲

健常者 404 例の血清(男性 177 例、女性 227 例)の参考基準範囲は以下のとおりになりました[2)]。

n	参考基準範囲 (ng/mL)
404	3.89～26.8(2.5th–97.5th percentile)

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. 検体の希釈

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、エクルーシス 検体希釈液 (S)(別売)を用いて検体を適宜希釈して測定してください。検体の希釈は自動希釈でも用手法による希釈でも、1:2 の比率で希釈して測定することを推奨します。なお、希釈測定時は希釈検体の実濃度が 8.5 ng/mL より大きくなるように希釈してください。用手法で希釈した場合は結果に希釈倍率を乗じてください。自動希釈の場合、測定値は装置が希釈倍率を自動計算して結果を算出します。

【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う場合、下記の規格値に適合します。

(1) 感度試験

① 葉酸濃度 0.60～6.00 ng/mL の標準液を試料として操作した場合の発光強度は 41,000～200,000 Counts の範囲内です。

② 葉酸濃度 15.0～20.0 ng/mL の標準液を試料として操作した場合の発光強度は 2,500～40,000 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±20%の範囲内にあります。

(3) 同時再現性試験

既知濃度の管理用試料を 3 回同時に測定するとき、CV 値は 10%以下です。

管理用物質

標準液はエクルーシス 葉酸Ⅳ キャリブレータ(別売)です。また、管理用試料は葉酸をヒト血清で希釈して調製したものです。

(4) 測定範囲

0.6～20.0 ng/mL

(5) 測定下限値

LoB : 0.6 ng/mL (1.36 nmol/L)

LoD : 1.2 ng/mL (2.72 nmol/L)

LoQ : 2.0 ng/mL (4.54 nmol/L)

CLSI ガイドライン EP17-A2[3)]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。

2. 相関性試験成績

(1) 本品と既承認品(弊社、ECLIA 法)との相関性を検討したところ、145 例の血清検体において良好な相関性が得られました[2)]。

相関係数 r＝0.996

回帰式 y＝1.03x - 0.114

y:本品 x:既承認品

(2) 本品と既承認品(他社、CLEIA 法)との相関性を検討したところ、96 例の血清検体において良好な相関性が得られました[2)]。

相関係数 r＝0.932

回帰式 y＝0.987x - 0.562

y:本品 x:既承認品

3. 較正用の基準物質

NIBSC 03/178

**【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(前処理液 1、前処理液 2 及び MP 液)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) 検体又はヒト血液由来成分を含む構成試薬(試液 1 及び試液 2)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) 検体及びヒト血液由来成分を含む構成試薬(試液 1 及び試液 2)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。

(8) 前処理液(PT2)は、腐食性を有する成分(水酸化ナトリウム)が含まれています。誤って目や皮膚に付着した場合には、ただ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。また、装置などに付着した場合は不織布などで拭き取ってください。皮膚などを傷める原因となりますので、作業中には、適切な衣服、手袋、目や顔を保護するものを身に着けてください。

(9) 本品にはアレルギー反応を起こすおそれがある 2-メチルイソチアゾール-3(2H)-オン・塩酸塩が含まれていますので、取扱いにはじゅうぶんに注意してください。

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) RFID をぬらしたり、強く押さないでください。

(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) 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 葉酸Ⅳ

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 葉酸Ⅳ

15 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 葉酸Ⅳ (S300) 300 テスト

前処理液 1(PT1)	1×7.3 mL
前処理液 2(PT2)	1×7.3 mL
MP 液(M)	1×12.4 mL
試液 1(R1)	1×16.7 mL
試液 2(R2)	1×13.9 mL

エクルーシス試薬 プロセル G2(別売)※4

プロセル	2×2L 又は 2×2 L×2

※4 e801 モジュールのプロセルは、その他のモジュール(e601 及び e602 モジュール)にはご使用になれません。また、e601 及び e602 モジュールのプロセルは e801 モジュールにはご使用になれません。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) 自社データ

3) 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】

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。

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
0 8173974 001-F
08173974001-F