

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1月改訂(第2版)
2020年8月作成(第1版)

製造販売承認番号:30200EZ00059000

コバス® システム

インターロイキン-6 キット

エクルーシス® 試薬 IL-6

【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 IL-6

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)/黒

ビオチン化抗 IL-6 マウスモノクローナル抗体

(ビオチン化抗 IL-6 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 IL-6 マウスモノクローナル抗体

(Ru(bpy)₃ 標識抗 IL-6 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】

血清又は血漿中のインターロイキン-6(IL-6)の測定(救急搬送された患者、集中治療を要する患者又は集中治療管理下の患者の重症度判定の補助)

【測定原理】

本キットは、血清又は血漿中のインターロイキン-6(IL-6)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、ビオチン化抗 IL-6 マウスモノクローナル抗体(ビオチン化抗 IL-6 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 IL-6 マウスモノクローナル抗体(Ru(bpy)₃ 標識抗 IL-6 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、磁石により 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 IL-6 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ションの発光強度から、検体中の IL-6 濃度を算出します。

cobas®

*【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, EDTA)

測定試料の安定性:20~25°Cで6時間、2~8°Cで2日間、
-20°C(±5°C)で24月間安定(凍結融解は1回のみ)

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。

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は2時間以内に測定してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

- (1) 下表に示す物質について、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±15%以内でした。

物質	濃度
乳ビ(イントラリビッド)	1,500 mg/dL
ビオチン(ビタミン B ₇)	1,200 ng/mL
ビリルビン	40 mg/dL
ヘモグロビン	1,000 mg/dL
リウマチ因子	1,200 IU/mL

- (2) IL-6 濃度 200,000 pg/mL まではプロゾーン現象による偽低値は認められません。
- (3) 下表に示す 16 種の一般的な治療薬についての影響を in-vitro 試験で確認したところ、以下の濃度までは測定に与える影響は認められませんでした。
- (4) 下表に示す 8 種の薬剤について、本品に測定に与える影響を確認したところ、以下の濃度までは測定に与える影響は認められませんでした。

薬剤	添加濃度
Cefotaxime	900 mg/L
Dobutamine	11.2 mg/L
Furosemide	20 mg/L
Noradrenaline	2 mg/L
Vancomycin	3,500 mg/L
Dopamine	130 mg/L
Imipenem	1,180 mg/L
Fentanyl	10 mg/L

- (5) 下表に示す交差反応物質について、以下の濃度までは本品の測定結果に影響は認められませんでした。

成分	濃度
インターロイキン-1 α	50 ng/mL
インターロイキン-1 β	50 ng/mL
インターロイキン-2	50 ng/mL
インターロイキン-3	50 ng/mL
インターロイキン-4	50 ng/mL
インターロイキン-8	50 ng/mL
インターフェロン γ	50 ng/mL
TNF- α	50 ng/mL

- (6) 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 e 801 モジュール)に適用できます。そのほかの適用可能な機器は弊社までお問合せください。

【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 IL-6

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 e 801 モジュール)など
- ・エクルーシス IL-6 キャリブレータ
- ・エクルーシス プレチコントロール MM
- ・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
- ・エクルーシス 希釈液 MA (S)

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。機種により使用する製品が異なりますので、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 IL-6

(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 IL-6 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、機器に記録されません。

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 日間以上使用する場合:

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 IL-6 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(サンドイッチ法)

① 第 1 反応: 検体、試液 1(ビオチン化抗 IL-6 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 IL-6 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 IL-6 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。

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 IL-6 濃度を算出します。

例) 操作概略(コバス 8000(e 801 モジュール)の場合)

第 1 反応

検体(18 μL)及び試液 1(45 μL)を分注し、37℃でインキュベーション

第 2 反応

試液 2(39 μL)、MP 液(18 μL)を分注

37℃でインキュベーションを行い、反応液を測定セルに吸引

← プロセル

B/F 分離

測定(光電子増倍管) 測定時間: 18 分

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 MM(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

参考基準範囲: 7 pg/mL 以下³⁾

(健常者 817 例における 95 パーセンタイル値より設定しました。)

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、エクレーシス 希釈液 MA (S)(別売)を用いて検体を適宜希釈して測定してください。

検体は自動希釈、用手法による希釈のいずれにおいても、1:10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 450 pg/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。

【臨床的意義】

多臓器障害は ICU 入室患者の主たる死亡原因です。特に敗血症や多発外傷などに合併すると死亡率が著明に高まることが知られています。また、臓器障害の遷延による ICU 在室期間の長期化は ICU-AW (ICU-acquired weakness : ICU 関連神経筋障害)などの新たな問題をもたらすことが指摘されており、臓器障害の有無を早期に認知し、早期介入による多臓器障害への進展予防と、多臓器障害からの早期離脱を目指すことが必要とされています。

多臓器障害は、ウイルスや細菌等の感染に伴う敗血症や外傷などの侵襲により、炎症性サイトカインが過剰産生されること(サイトカインストーム)により惹起されます。炎症性サイトカインのひとつである IL-6 は、既存のバイオマーカーに比べ早期にピークを示し、TNF- α や IL-1 β 等と比べ半減期が長いことに加え、加療に伴って速やかに低下を認めることから、炎症の程度を評価し治療方針を決定するためのバイオマーカーとして優れた特徴を備えています。

弊社は SOFA スコアにより評価された多臓器障害を患者重症度の指標とし、救急搬送または ICU 入室患者を対象とした臨床性能試験を実施しました。その結果、IL-6 はそれらの患者の重症度判定を可能とし、経時的に病態把握をすることで、治療方針や治療強度の決定に貢献する優れた臨床的有用性を示しました。

*【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従った場合の測定範囲は、下記の規格値に適合します。

(1) 感度試験

- ① IL-6 濃度 10~30 pg/mL の標準液を測定するとき、発光強度は 500~5,000 Counts の範囲内にある。
- ② IL-6 濃度 500~900 pg/mL の標準液を測定するとき、発光強度は 20,000~100,000 Counts の範囲内にある。

(2) 正確性試験

既知濃度の管理用試料(25~150、200~3,000 及び 3,500~4,200 pg/mL)を測定するとき、測定値は既知濃度の \pm 20%以内である。

(3) 同時再現試験

同一管理用試料(25~150、200~3,000 及び 3,500~4,200 pg/mL)を3回同時に測定するとき、測定値の CV 値は 10%以下である。

(4) 測定範囲

1.5~5,000 pg/mL

(5) 測定下限値

LoB: 1.0 pg/mL

LoD: 1.5 pg/mL

LoQ: 3.5 pg/mL

CLSI ガイドライン EP17-A2²⁾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. 臨床性能試験成績

本臨床性能試験は、救急搬送または ICU 入室となった全身性炎症反応症候群(SIRS)患者において、本品の患者重症度判定の補助に対する臨床的有用性を検証することを目的として実施されました。対象患者の臓器障害は SOFA スコアにより評価し(2点以上を臓器障害)、SOFA スコアにより評価された臓器障害が複数臓器で生じている状態(以下、SOFA スコアにより評価された多臓器障害)を患者の重症度の指標としました。なお、救急搬送または ICU 入室となった日を Day0 と定義しています。以下の解析は、199 例の登録症例のうち解析可能な測定結果を有する 193 例を対象に行いました。

(1) 本品による重症度判定の補助

Day1 の IL-6 値による Day2 時点の、Day2 の IL-6 値による Day3 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能を、臨床上有用性があると考えられるカットオフ値で算出しました(表 1 及び 2)。なお、これらのカットオフ値は参考値であり、実臨床においては各施設で個別にカットオフ値を検討されることを推奨いたします。

表 1. Day1 の IL-6 値による Day2 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能

参考カットオフ値 (pg/mL)	100	500	1,000	2,000
感度	79%	50%	42%	26%
特異度	70%	87%	94%	97%
PPV	80%	85%	92%	93%
NPV	69%	54%	52%	47%

表 2. Day2 の IL-6 値による Day3 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能

参考カットオフ値 (pg/mL)	100	500	1,000	2,000
感度	70%	26%	18%	6%
特異度	76%	96%	100%	100%
PPV	79%	89%	100%	100%
NPV	66%	50%	49%	45%

(2) 既存マーカーとの比較

Day2 及び Day3 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能について、IL-6 と炎症マーカーであるプロカルシトニン(以下、PCT)及び CRP を比較するため、ROC 解析による AUC の算出を行いました(図 1 及び 2)。

その結果、Day2 及び Day3 いずれの時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測においても、IL-6 は PCT あるいは CRP と比較して有意に高い予測性能を示しました。

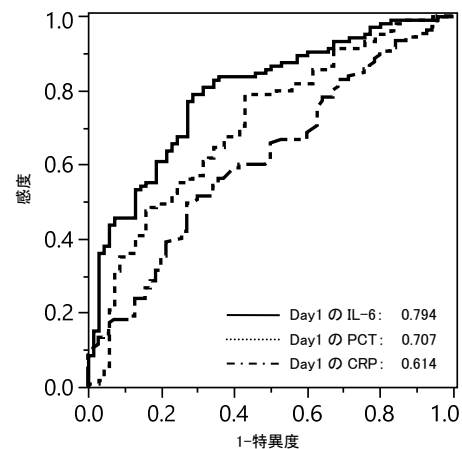


図 1. Day1 の各マーカーによる Day2 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能

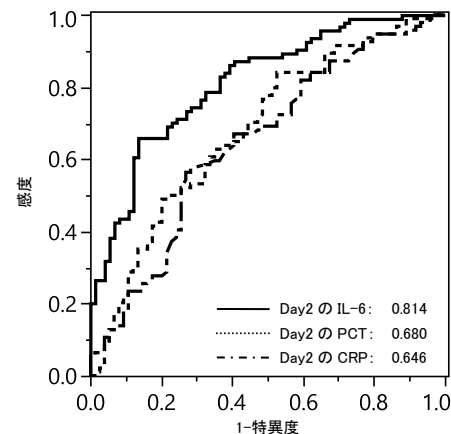


図 2. Day2 の各マーカーによる Day3 時点の SOFA スコアにより評価された多臓器障害の予測性能

(3) 感染症及び臓器障害の有無とIL-6の関係

感染症及び臓器障害の有無とIL-6との関連を検討するため、Day3時点の感染症及び臓器障害の有無別に患者を4群に分け、各群のIL-6値の分布及び中央値を確認しました。感染症及び臓器障害が共にない群と比較し、感染症及び臓器障害を共に有し敗血症である群はIL-6値が有意に高値であり(p=0.002)、感染症のみ呈する群では有意差は認められず(p=0.956)、臓器障害のみ呈する群ではIL-6値が高値の傾向が示されました(p=0.071)。また、臓器障害及びMODSを目的変数とした多重ロジスティック回帰分析を行った結果、IL-6は感染症の有無や既存炎症マーカーによる調整後も有意差を示し、独立して測定日翌日の臓器障害及び多臓器障害を反映することが示されました。

そこで、IL-6値と既存炎症マーカーについて障害臓器数との関連を検討した結果、IL-6だけが障害臓器数が少ない段階から有意に上昇することが示されました(図3)。このことから、IL-6は既存炎症マーカーと比較して臓器障害を鋭敏に反映可能であり、臓器障害の重症度判定に有用なマーカーであることが示されました。

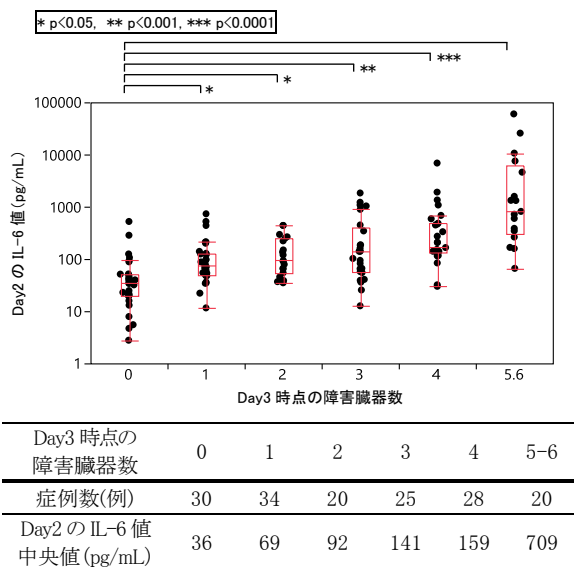


図3. Day3時点の障害臓器数とIL-6値の関係

3. 校正用の基準物質

NIBSC 89/548

*【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)の注意

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。

- 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

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- RFID をぬらしたり、強く押さないでください。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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、泡立ったりしないでください。
- 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、垂直の状態での保存してください。
- 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、垂直の状態での使用してください。
- 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

- 測定により生じた廃液については、検体など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。
- 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。
- 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。
- 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、ゴム手袋などにより手を保護してください。
- 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。

【貯蔵方法・使用期間】

1. 貯蔵方法

- エクルーシス試薬 IL-6**
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。
- 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

- エクルーシス試薬 IL-6**
27 ヶ月
使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。
- エクルーシス試薬 プロセル(別売)**
24 ヶ月
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 IL-6 (S100) 100 テスト

MP 液(M)	1×5.8 mL
試液 1 (R1)	1×9.9 mL
試液 2 (R2)	1×7.6 mL

エクルーシス試薬 プロセル G2(別売)※

プロセル 2×2 L 又は 2×2 L×2

※ 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) Gary F. Blackburn. et al. Electrochemiluminescence Detection for Development of Immunoassays and DNA Probe Assays for Clinical Diagnostics. Clin.Chem. 1991, 37(9), p.1534~1539.
- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute. Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures. CLSI Document EP17-A2. Wayne, PA: CLSI; 2012.
- 3) 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。



ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社