

体外診断用医薬品

* 2022 年 12 月改訂 (第 2 版)

2021 年 9 月作成 (第 1 版)

認証番号 : 303ADEZX00075000

リン酸化タウ蛋白キット
pTau(181) ELISA ユーロイミュン
 pTau(181) ELISA

【一般的な注意事項】

1. 本品は体外診断用医薬品です。それ以外の目的には使用できません。
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. 添付文書以外の使用方法については保証致しません。
4. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。

* 【形状・構造等 (キットの構成)】

構成	色	マーク
1. マイクロプレートウェル 抗ヒト p-Tau モノクローナル抗体 (ウサギ)	—	STRIPS
2. キャリブレーター1	白	CAL1
3. キャリブレーター2	白	CAL2
4. キャリブレーター3	白	CAL3
5. キャリブレーター4	白	CAL4
6. キャリブレーター5	白	CAL5
7. キャリブレーター6	白	CAL6
8. コントロール 1	白	CONTROL1
9. コントロール 2	白	CONTROL2
10. ビオチン ビオチン標識抗ヒト total tau モノク ローナル抗体 (マウス)	緑	BIOTIN
11. 酵素コンジュゲート ペルオキシダーゼ標識ストレプトア ビジン	青	CONJUGATE
12. 洗浄バッファー	無色	WASH BUFFER 10x
13. 色素原/基質液 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン 過酸化水素	無色	SUBSTRATE
14. 停止液 0.5 M 硫酸	無色	STOP SOLUTION

【使用目的】

脳脊髄液中の 181 位のリン酸化タウ蛋白濃度の測定 (アルツハイマー型認知症の診断の補助に用いる)。

【測定原理】

本品は ELISA 法(Enzyme-Linked Immuno Sorvent Assay)により脳脊髄液中の 181 位リン酸化タウ蛋白濃度を測定します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法
検体は、脳脊髄液を使用します。
2. 検体の保存方法
脳脊髄液は次のように保存してください。
 - 標準化された検体処理方法、検査システム及び検査手順は脳脊髄液を用いた正確なアルツハイマー検査のための前提条件です。より詳しい情報は Alzheimer's Biomarkers Standardization Initiative(ABSI)の推奨事項を参照ください。
 - 脳脊髄液採取にはポリプロピレンチューブまたは蛋白質低吸着チューブを使用してください。
 - 脳脊髄液を分注する場合は、最低 500 µL を推奨します。更にサンプルバッファー (EUROIMMUN 社製品コード ZE 1100-0100) によるポリプロピレンチューブの洗浄を推奨します (例 : 2 mL 用 Sarstedt 社チューブにサンプルバッファー 1.5 mL を分注し、一晩放置後、サンプルバッファーを除き室温で乾燥する。)
 - 検体の溶解、ピペッティング及び移し替えのたびに測定対象物濃度が低下する可能性があります。
 - 検体採取後すぐに測定を実施しない場合は、18~25°C で 7 日間、2~8°C で 3 週間、-20°C で 8 週間安定です。これ以上の保存期間の場合は、-80°C で保存してください。
 - 検体を輸送する場合は、検体の溶解を避けるためドライアイスを使用してください。凍結した検体は 30 分以上かけて溶解し、測定前に緩やかに混和してください (例 : ボルテックスで 5 秒間)。凍結溶解は最大で 2 回までにしてください。
3. 妨害物質
交差反応 : 本品は 181 位にあるリン酸化タウ蛋白質、スレオニン (pTau181) を特異的に検出します。他の非タウ蛋白質及びタウ蛋白質との交差反応は観察されませんでした。
共存物質 : 血液濃度 10% まで検査への影響は見られませんでした。赤みが見える検体は血液による著しい汚染を示しているため、使用しないでください。
ビオチン(ビタミン B₇)は検体中の濃度が 10 µg/mL まで影響を与えません。

* 【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

- 全ての試薬を使用約 30 分前に 18~25°C に戻します。
- **マイクロプレートウェル**：そのまま使用します。マイクロプレートの保護包装の再封可能なジッパーより上の部分を破って開封します。湿気から各ストリップを保護するためマイクロプレートが 18~25°C に戻るまで開封しないでください。使用しないマイクロプレートウェルはすぐにパックに戻ししっかりと閉じます（乾燥剤は取り除かないでください）。一度開封したマイクロプレートは 2~8°C の乾燥した場所で 4 ヶ月保存が可能です。
 - **キャリブレーター及びコントロール**：使用 10 分前に精製水又は脱イオン水 500 µL を加え転倒混和します。使用前に完全に結晶が溶解していることを確認してください。必要であれば、キャップに残った液体をチューブに落とすため軽く遠心分離します。溶解したキャリブレーター及びコントロールは使用後すぐに -20°C で凍結します。キャリブレーター及びコントロールは 3 回まで凍結溶解を繰り返し使用できます。長時間室温に置くことはできるだけ避けてください。
 - **ビオチン**：そのまま使用します。使用前によく混和してください。
 - **酵素コンジュゲート**：そのまま使用します。使用前によく混和してください。
 - **洗浄バッファー**：洗浄バッファーは 10 倍濃縮液です。濃縮バッファーに結晶が見られる場合は 37°C に温め希釈する前によく混和します。必要な量を清潔なピペットを使用してボトルから取り出し、脱イオン水または蒸留水（洗浄バッファー 1 容量：脱イオン水又は蒸留水 9 容量）で希釈します。
例示：マイクロプレート 1 個の場合、濃縮液 5 mL と脱イオン水又は蒸留水 45 mL。
希釈洗浄バッファーは 2~8°C 保管で適切に扱った場合、4 週間安定です。
 - **色素原／基質溶液**：そのまま使用します。内容物は光に弱いため使用後すぐにボトルを閉めてください。本品は使用時に透明でなければなりません。溶液が青色の場合は使用しないでください。
 - **停止液**：そのまま使用します。

注意：保存剤を含む試薬がありますので皮膚に付着しないようにしてください。

2. 保存条件

全ての試薬を 2~8°C で保存してください。凍結はしないでください。開封後、適切に管理及び保存されていれば有効期限まで安定です。

3. 測定（操作）法

サンプルインキュベーション（第 1 ステップ）：ピペッティングプロトコルに従ってビオチン 20 µL、キャリブレーター、コントロール及び未希釈検体各 80 µL を各マイクロプレートウェル（以下、ウェル）に滴下します。18~25°C で 180 分間インキュベートします。

洗浄：マニュアル：ウェルを空にし、希釈洗浄バッファー 300 µL（各洗浄プロセス毎）で 5 回洗浄します。

自動：希釈洗浄バッファー 450 µL で 5 回ウェルを洗浄します（プログラム設定：TECAN Columbus 洗浄機「オーバーフローモード」など）。

洗浄サイクルごとに 30~60 秒間各ウェルに洗浄バッファーを残してから完全にウェルを空にします。洗浄（手動及び自動テスト）後、マイクロプレートからすべての液体を完全に廃棄するために開口部を下に向けて吸収紙にたたき全ての残留バッファーを除去します。

注：洗浄後のウェル内の残留液体 (> 10 µL) は、基質に干渉し誤って低い吸光度の読み取り値につながる可能性があります。不十分な洗浄（たとえば、5 回未満の洗浄サイクル、洗浄バッファーの量が少なすぎる、または滞留時間が短すぎる）は誤って高い吸光度の読み取りにつながる可能性があります。

マイクロプレートウェルの空いた列には、測定するパラメーターと同じプレート形式のブランクウェルを含める必要があります。

コンジュゲートインキュベーション（第 2 ステップ）：酵素コンジュゲート（ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン）100 µL を各ウェルにピペットで滴下します。18~25°C で 30 分間インキュベートします。

洗浄：ウェルを空にし、上記同様に洗浄を行います。

基質のインキュベーション（第 3 ステップ）：色素原/基質溶液 100 µL を各ウェルにピペットで滴下します。18~25°C で 30 分間インキュベートします（直射日光から保護します）。

停止：色素原/基質溶液の滴下時と同じ順序、同じ速度で、各ウェルに停止液 100 µL をピペットで滴下します。

測定：停止液を添加してから 30 分以内に、波長 450 nm 及び参照波長 620 nm~650 nm で吸光度の測定を行います。測定前にマイクロプレートをわずかに振って溶液が均一に分布するようにします。

自動測定中、試薬の反応性が低下する可能性があるため、デバイス内の温度上昇 (> 25°C) は絶対に避けてください。デバイス内で空調システムを使用することをお勧めします。

ピペッティングプロトコルの例示

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C1	P1	P9									
B	C2	P2	P10									
C	C3	P3	P11									
D	C4	P4	P12									
E	C5	P5	P13									
F	C6	P6	P14									
G	Co1	P7	P15									
H	Co2	P8	P16									

上記ピペッティングプロトコルは、16 検体用の測定用ストリップ 1-3 の使用例です（P1~P16）。

キャリブレーター（C1~C6）、コントロール（Co1、Co2）及び検体はそれぞれ 1 つのウェルでインキュベートされています。

各サンプルの二重測定により、さらに信頼性の高い測定が可能です。コントロールはELISA法の信頼性のための内部管理として機能します。各測定においてコントロールを測定してください。

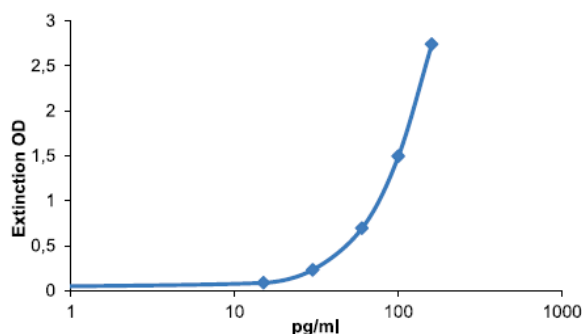
4. 精度管理

キャリブレーション：キャリブレーターの正確な濃度とコントロールの許容範囲はロットに依存し、各キットに添付されている品質管理証明書に記載されています。実施されたすべての測定について、コントロールの濃度は、品質管理証明書に記載された範囲内に収まる必要があります。コントロールが範囲内の値から外れる場合は、測定結果は不正確になる可能性があり、測定を再度実施する必要があります。

【測定結果の判定法】

1. 結果の算出法

脳脊髄液検体のpTau濃度を求めるための標準曲線は、対応する単位（線形/対数）に対して6つのキャリブレーターで測定された吸光度をポイントツープロットでプロットすることによって計算されます。コンピュータによる検量線の計算には、4-PL、5-PL（PL=パラメタロジスティクス）又は3次スプラインを使用してください。正しい対数表現を行うには、キャリブレーター1の濃度を0から例えば0.1 pg/mLに設定する必要がある可能性があります。下記のプロットは、典型的な検量線の例です。検体の濃度測定にこの曲線を使用しないでください。



検体の吸光度がキャリブレーター6の値より高値の場合は、測定を開始する前に検体をキャリブレーター1により1:4で希釈し測定することをお勧めします。注意：希釈にはポリプロピレンチューブのみを使用してください。チューブにサンプルを滴下する前にサンプルバッファーを滴下します。検量線から読み取られた検体の測定結果 (pg/mL) は、4倍する必要があります。

二重測定では2つの値の平均をとる必要があります。2つの値が互いに大きく異なる場合、検体の再テストをお勧めします。

2. 結果の解釈

参考値

臨床的に確認されたアルツハイマー型認知症 (AD) 患者79人とコントロール110人の脳脊髄液検体を、本品で測定した結果、61 pg/mLより大きい場合、陽性と評価されました。

本品	臨床診断		
	AD 陽性	AD 陰性	合計
AD 陽性 (>61 pg/mL)	72	21	93
AD 陰性 (<=61 pg/mL)	7	89	96
合計	79	110	189

3. 測定限界

- 本品はヒト脳脊髄液 (CSF) の pTau 定量測定に対してのみ検証されています。
- 信頼性のある測定結果を得るため、検体採取及び保存は正しく実施してください。
- 使用したサンプルチューブの材質やその他の消耗品に加えて検体の保管温度、凍結溶解の回数、検体量が測定結果に影響を与える可能性があります。検体処理が正しく実施されていない場合、pTau(181)濃度が低下し偽陰性を示すことがあります。
- 本品の結果は、疾患を否定する証拠とはなりません。診断は臨床所見及びその他の検査結果により総合的に判断されます。
- 陰性はADを除外するものではありません。臨床的疑い及び陰性所見の場合、他の検査が推奨されます。

【性能】

1. 性能

1) 感度

キャリブレーター1を試料として測定するとき、吸光度は0.15未満です。キャリブレーター6を試料として測定するとき、吸光度は1.2を超えます。キャリブレーター4を試料として測定するとき、吸光度はキャリブレーター1<キャリブレーター4<キャリブレーター6を示します。

2) 正確性

キャリブレーター1を試料として測定するとき、吸光度は0.15未満です。キャリブレーター6を試料として測定するとき、吸光度は1.2を超えます。キャリブレーター4を試料として測定するとき、吸光度はキャリブレーター1<キャリブレーター4<キャリブレーター6を示します。

3) 同時再現性

濃度の異なる2種類の既知濃度管理検体について3回同時に測定するとき、測定値の平均値は既知濃度±30%です。

4) 測定範囲 (例示) 5.65~160 pg/mL

2. 相関性

本品と他社試薬 (ELISA 法) との相関は以下の通りでした。

検体数 : n=71
 相関係数 : r=0.9
 回帰式 : y= 1.1x + 2.2

3. 校正用の基準物質

本品のコントロール、キャリブレーター及び既知濃度管理検体は、合成 pTau ペプチドです。

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- 1) 未開封のキットにダメージがある場合は使用しないでください。
- 2) 本品の停止液には硫酸が含まれています。また、構成成分には微量の保存剤が含まれています。検体及び試薬が目や皮膚に触れないようにしてください。目に入ったり皮膚に接触した場合は、大量の水で洗ってください。また、汚染された服を脱ぎ洗ってください。飲み込んだ場合は医師の診断を受けてください。
- 3) 検体は HIV、HBV、HCV 等の感染のあるものとして扱ってください。

2. 使用上の注意

- 1) 本品は臨床検査に習熟した担当者からのみの使用となります。
- 2) 添付文書に記載されている分注量、インキュベーション時間、温度、準備方法を遵守してください。
- 3) 他社の試薬を代用又は本品と混合しないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検体及び検査に使用した器具類及び廃液は、次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度 1,000ppm、1 時間以上浸漬)、グルタルアルデヒド溶液(2%、1 時間以上浸漬)等での消毒、又はオートクレーブ処理(121°C、20 分以上)を行ってください。
- 2) アジ化ナトリウムは防腐剤として使われています。アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性のある金属アジ化物を形成します。試薬を廃棄する場合は、金属アジ化物の形成を防ぐために大量の水と共に洗浄シンクに流してください。
- 3) 試薬および検査に使用する器具類、及び廃液を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等に従って、廃棄してください。

【貯法・有効期間】

貯蔵方法 : 2~8°C

有効期間 : 6 箇月 (使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

96 テスト

製品コード : EQ 6591-9601-L

*** 【問い合わせ先】**

EUROIMMUN Japan 株式会社

東京都中央区日本橋堀留町 1-9-10

Tel : 03-6661-2117

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

EUROIMMUN Japan 株式会社

東京都中央区日本橋堀留町 1-9-10

製造元

EUROIMMUN Medizinische Labordiagnostika AG (ドイツ)

EQ_6591L_A_JP_C05