

トロンボモジュリンキット TMテスト「コウサイ」・F

【一般的な注意】

- (1) 本品は体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
- (2) 診断の際には、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をいたしかねます。
- (4) 測定に使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- (5) 本キット中のTM標準物質(12.5, 25, 50, 100, 200TU/mL)及びTMコントロール(LおよびH)の原料である血液は、HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体及びHIV-2抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、感染性を完全に否定できるものではありません。またそれ以外のウイルスに関する試験はしていません。感染の危険性があるものとして検体と同様に十分注意をして取り扱ってください。

【形状・構造等(キットの構成)】

本キットは次の試薬より構成されています。

- ① 固相チューブ
ヒトトロンボモジュリン抗体(ウサギ)固定チューブ
- ② 標識抗体液
ペルオキシダーゼ標識ヒトトロンボモジュリンモノクローナル抗体(マウス)他を含む溶液
- ③ 緩衝液
- ④ HPPA基質液
3-(p-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸他を含む溶液
- ⑤ 反応停止液
- ⑥ 洗浄液
- ⑦ TM標準物質(0, 12.5, 25, 50, 100, 200TU/mL)
- ⑧ TMコントロール(LおよびH)

【使用目的】

血漿及び血清中のトロンボモジュリン(TM)の測定。

【測定原理】

本法はチューブ固相を用いたEIAサンドイッチ法です。

- (1) 一次反応
検体中のトロンボモジュリン(TM)がチューブ上のTM抗体に結合して[TM抗体-TM]複合体を形成します。
- (2) 二次反応
未反応液を除去後、POD標識TM抗体を加えると、チューブ上に[TM抗体-TM-POD標識TM抗体]の複合体を形成します。

(3) 酵素反応

未反応液を除去後、基質液(HPPA)を加えると、チューブ上に結合した酵素(POD)により蛍光物質が生成されます。

(4) 測定

この蛍光物質に323nmの励起光を照射し生じた蛍光を410nmで測定します。得られた蛍光強度を用いて、あらかじめTM標準液より作成した検量線から検体中のTM濃度を求めます。

(特徴)

- (1) ペルオキシダーゼ(POD)の酵素活性の測定に蛍光基質を使用しており、短時間で高感度な測定結果を得ることができます。
- (2) RIのような特別な設備は不要です。
- (3) モノクローナル抗体を使用していますので、特異性の高い結果が得られます。
- (4) 広い濃度範囲1.0~200TU/mLにわたって測定可能です。
- (5) 試薬は液状で、溶解の手間が不要です。
- (6) 全自動酵素免疫測定装置エルジア・F300あるいはエルジア・F750の専用ボトルに入っていますので、そのまま装置にセットができます。

【操作上の注意】

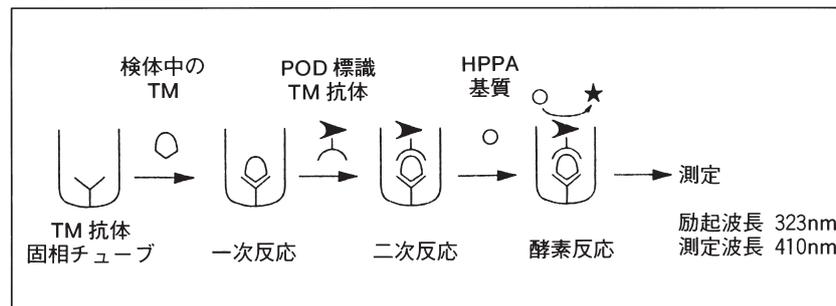
(1) 測定試料の性質・採取法

- ① 検体はクエン酸血漿または血清を用いてください。
- ② 検体は2~8℃保存し、24時間以上保存する場合には-20℃以下で凍結保存してください。ただし、凍結・融解の繰り返しは避けてください。
- ③ フィブリンなどの不溶解物が混在した検体は、検体吸引エラーとなり測定できないことがありますので、測定前に遠心分離を行って除去してください。

(2) 妨害物質

- ① 溶血は溶血ヘモグロビンとして480mg/dLまで影響はありませんが、血球中の他の成分については確認できません。溶血した検体の使用はできるだけ避けてください。
- ② 本キットによる測定は、乳び(ホルマジン濁度数):2780度、ビリルビン:20mg/dL、リウマトイド因子:500IU/mLまで影響を受けません。

反応原理



【用法・用量(操作方法)】

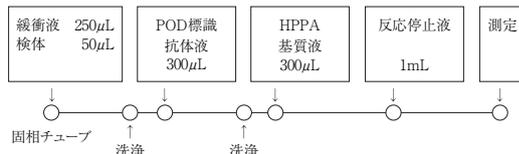
(1) 試薬の調製方法

- ① 固相チューブ、標識抗体液、緩衝液、HPPA基質液、反応停止液及び洗浄液は常温に戻した後、そのまま使用してください。
- ② TM標準物質(0, 12.5, 25, 50, 100, 200TU/mL)各1バイアルに各々1.0mLの精製水を加えて溶解し、TM標準液(0, 12.5, 25, 50, 100, 200TU/mL)とします。溶解したTM標準液は2~8℃で30日以内に使用してください。

(2) 必要な器具・器材・試料等

包装単位欄をご参照ください。

(3) 測定(操作)法



- ① 固相チューブ(以下チューブと略す)を常温に戻した後、開封します。
- ② チューブに緩衝液250 μLを分注します。
- ③ TM標準液または検体をそれぞれ50 μL分注します。
- ④ 37℃で攪拌しながら10分間反応させます。
- ⑤ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 2回)後、標識抗体液300 μLを分注します。
- ⑥ 37℃で攪拌しながら9分間反応させます。
- ⑦ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑧ チューブ内の洗浄液を吸引除去した後、HPPA基質液300 μLを分注します。
- ⑨ 37℃で攪拌しながら10分間反応させます。
- ⑩ 反応停止液1mLを分注します。
- ⑪ 反応停止後1時間以内に励起波長323nm、蛍光波長410nmで蛍光強度を測定します。

(4) 濃度の算出方法

- ① 方眼紙の横軸にTM濃度、縦軸に蛍光強度をとり、TM標準液の各濃度に対応する蛍光強度をプロットして検量線を作成します。この検量線を用い、各検体の蛍光強度からTM濃度を求めます。
- ② 求めた蛍光強度が検量線の範囲を超えた場合、必要ならば検体をTM濃度既知の健常人血漿で希釈して再測定してください。

【測定結果の判定法】

(1) 結果の判定

本キットにおける参考基準範囲(平均値±S.D.)は次の通りです。

(社内データより)

血漿: 8.9±3.0 TU/mL

血清: 11.2±3.7 TU/mL(男性)

8.9±2.7 TU/mL(女性)

(2) 判定上の注意

免疫測定法には必ず反応性や感度の違いによる他法との結果の不一致があります。本キットでの結果は必ずしも絶対的ではなく、他の関連検査及び臨床症状等により総合的に判断してください。

【性能】

(1) 性能

用法・用量欄の操作法により感度、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) TM標準液0TU/mLを試料として、操作した場合の相対蛍光強度は、15以下です。
- 2) TM標準液25TU/mLを試料として操作した場合の相対蛍光強度と、上記1)の相対蛍光強度の差は、TM1TU/mL当たり2.5~8.0です。
尚、蛍光強度は0.1N硫酸の蛍光強度を0、キニーネ液(2 μg/mL)の蛍光強度を100(励起波長326nm、蛍光波長410nm)として、相対値であらわします。

② 正確性試験

既知濃度の管理用検体を測定するとき、既知濃度の±20%以内です。

③ 同時再現性試験

同一検体を5回同時に測定するとき、C.V.は10%以下です。

④ 測定範囲

本キットによる血漿又は血清中TMの測定範囲は1.0~200TU/mLです。

(2) 相関性

本キットと同一測定法(サンドイッチEIA法)であるA社製品と血漿検体70例について相関性を検討した結果、下記の通りとなりました。

$$Y(\text{本キット}) = 0.99X(\text{A社製品}) + 0.66, n = 70, r = 0.988$$

(3) 校正用基準物質に関する情報

社内標準品

【使用上又は取扱い上の注意】

(1) 取扱い上の注意

- ① 本キット中の反応停止液は、皮膚や粘膜に触れないように注意してください。万一、肌に触れた場合は、十分な水で洗い流してください。
- ② 検体は肝炎ウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱ってください。

(2) 使用上の注意

- ① 本キットはエルジア・F300専用試薬あるいはエルジア・F750専用試薬であり、異なる装置には使用できません。使用に際しては必ずエルジア・F300あるいはエルジア・F750の取扱い説明書を参照してください。
- ② すべての試薬はラベルに表示されている使用期限内のものを使用してください。
- ③ 本キットは製造番号(ロット番号)毎に正確な値が得られるように管理されていますので、製造番号の異なる試薬を組み合わせ使用しないでください。
- ④ 検量線は、測定日毎に作成してください。
- ⑤ 本キット中の緩衝液および標識抗体液を装置にセットするときは、ボトル内の泡を取り除いてセットしてください。
- ⑥ 試薬及び反応液は、保存中や反応中は直射日光を避けてください。
- ⑦ 試薬の取扱い時には汚染に注意し、濁り等の異常が生じた場合は、使用しないでください。
- ⑧ 本キット中の固相チューブは、開封後は湿気を避けて2~8℃に保存し、4週間以内に使用してください。
- ⑨ 本キット中の緩衝液及び標識抗体液は、開封後はキャップをして2~8℃に保存し、4週間以内に使用してください。

⑩ 本キット中のHPPA基質液は、ほこり・手指の接触により容易に汚染されブランクが上昇します。従いまして、取扱い時には以下の点をご注意ください。

- 1) 反応時以外は容器にキャップをして保存してください。
- 2) チップやピペットは清浄なものをご使用ください。
- 3) 万一、汚染の可能性が考えられる時は試薬ブランクを確認してください。試薬ブランクが相対蛍光強度で15以上ある場合は使用しないでください。

(3) 廃棄上の注意

- ① 使用後の検体・試薬及び器具はすべて、次のいずれかの方法で処理してください。
 - 1) 1%ホルマリン溶液に1時間以上浸すか、0.05%ホルマリン溶液に37℃で72時間以上浸す。
 - 2) 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸す。
 - 3) 次亜塩素酸剤(1,000ppm)に1時間以上浸す。
 - 4) 121℃で1時間以上オートクレーブにかける。
- ② 使用後の容器は、熱処理するか、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等区別してください。
- ③ 試薬の容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法： 2～8℃

有効期間： 18 ヶ月。

【包装単位】

品番	製商品名	構成試薬		包装
15051	TMテスト「コクサイ」・F	固相チューブ	80本	80テスト
		標識抗体液	14mL×2	
		緩衝液	14mL×2	
		HPPA基質液	14mL×2	
19630	TMテスト「コクサイ」・F	固相チューブ	120本	120テスト
		標識抗体液	36mL×1	
		緩衝液	30mL×1	
14780	エルジア・F・反応停止液	反応停止液		80mL×4
14800				250mL×2
14770	エルジア・F・洗浄液	洗浄液		2L×1
15052	TMキャリブ I ・F	標準物質(0, 12.5, 25, 50, 100, 200TU/mL)		1mL分×6
15053	TMキャリブ II ・F	標準物質(0, 25TU/mL)		1mL分×4
15054	TMコントロール・F	TMコントロール		1mL分×4

【主要文献】

- (1) 青木延男, 他: トロンボモジュリンの各種病態における血中濃度, 臨床病理 42(12), 1279～1286(1994).
- (2) 丸山征郎: トロンボモジュリン, 臨床検査 33(12), 1643～1646(1989).
- (3) S.Takano, S.Kimura, S.Ohdama, N.Aoki: Plasma Thrombomodulin in Health and Diseases, Blood 76(10), 2024～2029(1990).
- (4) 新名主宏一, 他: 血漿 Thrombomodulin 濃度測定 of 臨床的意義に関する検討, Medical Postgraduates, 29(6), 512～522(1991).
- (5) H.Asakura et al: Plasma Level of Soluble Thrombomodulin increase in Cases of Disseminated Intravascular Coagulation With Organ Failure, Am. J. Hematol. 38, 281～287(1991).
- (6) 平田政徳: 血中トロンボモジュリン(TM)測定キットとその臨床的意義-血管内皮細胞損傷のマーカーとしてのトロンボモジュリン, 臨床検査機器・試薬, 16(6), 1069～1075(1993).
- (7) 戸村成男: Plasma thrombomodulin in primary glomerular and lupus glomerulonephritic, Nephron, 67, 185～189(1994).
- (8) 松沢公彦, 他: 血中トロンボモジュリン測定キットの基礎的研究, 臨床検査機器・試薬, 15(4), 603～608(1992).

【問合せ先】

主要文献の内容, その他ご質問等は, 下記にお問い合わせください。

シスメックス株式会社 CSセンター
〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2
TEL 0120-413-034

製造販売元

シスメックス株式会社

神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073 TEL(078)265-0500(代)

(4/4)
23621040E