

この添付文書をよく読んでから使用してください。

プロトロンビン時間キット、フィブリノーゲンキット

ヒーモスアイエル リコンビプラスチン

＜プロトロンビン時間及びフィブリノーゲン濃度測定試薬＞

●一般的な注意

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・治療効果の判定は、本法を含めて関連する他の検査や臨床症状に基づき医師が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)

1. RTF試薬
リコンビナントヒト組織トロンボプラスチン
2. RTF溶解液
塩化カルシウム

●使用目的

血漿中のプロトロンビン時間(PT)及びフィブリノーゲン濃度の測定

●測定方法(測定原理)

- 所定量の血漿検体に組織トロンボプラスチンとカルシウムイオンを添加することにより、外因性凝固系因子(II、V、VII、X因子)を活性化し、フィブリノゲンを形成させ、この凝固時間を測定することにより、プロトロンビン時間を求めます^{1,2)}。又、産生したフィブリノクロット量を光学的に測定することにより、フィブリノーゲン濃度を求めます。
- ・ 本品は、RTF(遺伝子組み換えヒト組織因子)及び合成リン脂質を用いて作製されており、従来の動物由来の組織トロンボプラスチン³⁾を使用した試薬と比較して優れたロット間の均質性を維持しています。
 - ・ 国際標準品と同等の非常に高い感度(ISI≒1.0)を有しており、特に経口抗凝固療法のモニタリングに適しています^{1,2)}。又、RTFには血液凝固因子の混入が全く無く、第II、V、VII、X因子の欠乏に対して高い感受性を示すため血液凝固外因子の因子測定に適しています⁴⁾。
 - ・ ヘパリンの影響を受けにくいように設計されているためヘパリンとの併用時の経口抗凝固薬療法(OAT)のモニタリングにも使用できます。
 - ・ 本品は、インスツルメンテーション ラボラトリー社(IL社)の血液凝固自動分析装置により、プロトロンビン時間(PT)とフィブリノーゲン濃度を同時に自動測定することができます。
 - ・ フィブリノーゲンは、フィブリノクロット量を吸光度もしくは散乱光度を用いて測定する方法(PTベースメソッド)により定量されます⁴⁾。

●操作上の注意

1. 検体
 - 1) 採取方法
 - ・ 凝固検査に用いる血液は抗凝固剤3.2%クエン酸3ナトリウム1容に対して新鮮静脈血9容の割合で採血します。血漿化するときは1500×gで15分間遠心します。検体の採取、取り扱いについてはCLSIドキュメントH21-A5⁵⁾を参照してください。
 - ・ 析出物がある検体は使用しないでください。
 - ・ クエン酸3ナトリウム以外の抗凝固剤を使用しないでください。
 - ・ 血液と抗凝固剤の割合が不適切な検体は使用しないでください。
 - ・ 溶血している検体は使用しないでください。
 - ・ 1,500×gに達しない遠心器は使用しないでください。
 - 2) 検体の保存方法
 - ・ 新鮮静脈血を使用してください。
 - ・ 検体採取後、未開封真空採血管で18~24℃保存をした場合は、24時間以内に使用してください。
 - ・ 分離された血漿は、-20℃で2週間、-70℃で6ヶ月間保存することが出来ます。
 - ・ 凍結された血漿は、37℃で直ちに解凍し、直ちに試験を行ってください。直ちに試験ができない場合は、4℃で最大2時間保存できます。
 - ・ 2~4℃で保存した場合、第VII因子の活性化によりPT結果が変わります。
 - 3) その他
 - ・ 検体及び標準品等を分注するときは、泡立てないように注意してください。

** 2. 妨害物質

- * IL社の血液凝固分析装置を使用した場合、下記の濃度まで影響はありませんでした。

	妨害物質	PT測定	フィブリノーゲン測定
ACL Elite Pro	ヘパリン	1.0 U/mL	1.0 U/mL
	ヘモグロビン	500 mg/dL	500 mg/dL
	トリグリセライド	720 mg/dL	675 mg/dL
	ビリルビン	30 mg/dL	30 mg/dL
ACL TOPファミリー ACL TOPファミリー 50シリーズ	ヘパリン	1.0 U/mL	1.6 U/mL
	ヘモグロビン	500 mg/dL	500 mg/dL
	トリグリセライド	1000 mg/dL	1000 mg/dL
	ビリルビン	30 mg/dL	30 mg/dL

フィブリノーゲン測定結果(PTベースメソッド)は検体中のフィブリンおよびフィブリノーゲンの分解産物の影響を受けることがあります⁴⁾。

3. 精度管理

精度管理を確実に行うためにノーマル及びアブノーマルコントロール血漿をご使用ください^{6,7)}。IL社から精度管理用コントロール血漿としてPT測定用にヒーモスアイエル ノーマルコントロール(00020003110)、ヒーモスアイエル ロー アブノーマルコントロール(00020003210)及びハイアブノーマルコントロール(00020003310)が、フィブリノーゲン測定用にヒーモスアイエル ノーマルコントロール(00020003110)、ヒーモスアイエル ロー アブノーマルコントロール(00020003210)及び低フィブリノーゲンコントロール血漿(00020004200)が発売されています。少なくとも8時間ごとのコントロールの測定をお勧めします。平均値、標準偏差及び運用法は各施設で設定してください。コントロール測定値が設定値から外れる場合にはWestgardらの文献⁸⁾を参照してください。

●用法・用量(操作方法)

** 1. 試薬の調製方法

- 1) RTF試薬(凍結乾燥): 試薬を溶解する前に少なくとも15分間は15~25℃温度下で静置してください。RTF試薬バイアル(8mL用)にRTF溶解液のバイアル(8mL)からピペットで正確に8mL採取して加えます。バイアルのキャップを閉め、ゆるやかに回すように攪拌し溶解します。完全に溶解していることを確認してください。試薬を15~25℃で15~20分間静置し、使用前にバイアルを転倒混和します。

直接RTF試薬バイアルにRTF溶解液バイアルから溶解液を注がないでください。必ずピペットで正確に量って分注してください。

・溶解後の安定性

2~8℃保存	10日間	(オリジナルバイアルで)
15~25℃保存	5日間	(オリジナルバイアルで)
15℃保存	4日間	(ACL TOPファミリー/ACL TOPファミリー50シリーズ、ACL Elite Pro上で)

試薬の至適安定性を保つために測定終了後は測定機器から外して2~8℃で冷蔵保存するようにしてください。

* 注意

機上の安定性は相対湿度と室温により短くなることがあります。安定性を保つため、施設の温度、湿度の管理を行ってください。

- 2) RTF溶解液(溶液): そのまま使用できますが、使用前に少なくとも15分間は15~25℃で静置してください。

- 3) ヒーモスアイエル キャリブレーション血漿(凍結乾燥・別売品): 製品の使用説明書をご覧ください。

- 4) ヒーモスアイエル ファクター・ダイリュエント(溶液・別売品): そのまま使用します。

2. 必要な器具・器材・試薬等

- ・ ヒーモスアイエル キャリブレーション血漿 (00020003700)
- ・ ヒーモスアイエル ファクター・ダイリュエント (00009757600)
- ・ ピペット (8mL)

3. 測定操作法

IL社血液凝固自動分析装置の各装置にはあらかじめ測定条件がセットされています。操作法については、血液凝固自動分析装置のオペレーターズマニュアル及びアプリケーション/リファレンスマニュアルを参照してください。IL社製の自動血液凝固分析装置で測定することをお勧めします。IL社製以外の自動血液分析装置での測定結果については保証いたしません。[ACL TOP]による例] 検体50 µLを加温後、反応試液100 µLを加え、凝固による透過光の変化を100秒間、波長671nmで測定しプロトロンビン時間およびフィブリノーゲン量を求めます。測定結果の単位はプロトロンビン時間が秒、活性(%), レジオ、INR、フィブリノーゲン量がmg/dLで報告されます。

●測定結果の判定法

** 1. 参考基準範囲

テスト	装置	N	範囲	(単位)
PT	ACL Elite Pro	130	9.1-12.1	(秒)
PT	ACL TOPファミリー/ACL TOPファミリー50シリーズ	130	9.4-12.5	(秒)
フィブリノーゲン	ACL Elite Pro	129	308-340	(mg/dL)
フィブリノーゲン	ACL TOPファミリー/ACL TOPファミリー50シリーズ	129	276-471	(mg/dL)

範囲はCLSIドキュメントC28-3Aで認められている方法で計算されています¹⁰⁾。この結果はある特定のロット番号の試薬を使用して得られたものです。凝固検査においては測定結果に影響を及ぼす多くの要因が考えられる為、各施設において検査室基準範囲を設定してください。

** 2. 判定上の注意

- 1) 検体によっては、まれに検体中の目的成分以外との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、反応曲線を確認し、再検査や希釈再検査等により確認してください。
- 2) 測定値に影響を与えるため、クエン酸3ナトリウム以外は抗凝固剤として使用しないでください。
- 3) PT測定は、先天性の凝固異常、肝臓病、ビタミンK欠乏症、経口抗凝固療法等による第II、V、VII、X因子の欠損状態に対して鋭敏に反応し、凝固時間が延長する場合があります。
- 4) フィブリノゲンは、急性相反応物質であり、感染症、妊娠中において増加することがあります。血栓治療、播種性血管内凝固症候群(DIC)の場合、濃度が変化することもあります。
- 5) PT測定結果は、試薬のトロンボプラスチンの種類や測定機種、測定方法(的手法、半自動法、全自動法)によって異なります^{11,12)}。ICSH(国際血液学標準化委員会)とICTH(国際血栓止血学会)は、INRを計算する係数としてISI(国際感度指数)を提唱し、経口抗凝固療法ガイドラインを提示しています¹³⁾。リコンビラスチンは、WHOの推奨品に準ずる国際標準品IRPIに対してISIが確認されたハウス・スタンダードを使用して製造ロットごとに検定されています^{14,15)}。ISI値表のISI値はIL社血液凝固自動分析装置を使用して測定されたものです。INR値は血液凝固自動分析装置にISI値を入力することにより自動的に得られます¹⁶⁾。

INR=(患者PT/正常域PT平均値)^{ISI}

この試薬のISI値、IRPIは、本添付文書の文末をご覧ください。

- 6) 経口抗凝固療法の治療域¹⁷⁾や治療期間は、その地域ごとのローカルガイドラインを参照してください。
- 7) PT測定結果は、抗凝固薬等の投与により影響を受けることがあります。
- 8) フィブリノゲン測定には、PTベースメソッドを用いています。検体、臨床症状等によっては、他の測定原理に基づく方法と測定値が一致しない場合があります。
- 9) 診断・治療効果の判定は、本法を含めて関連する他の検査や臨床症状に基づき医師が総合的に判断してください。

●性能

1. 感度

精製水を検体として測定した場合、凝固を認めません。また、正常管理血漿を検体として測定した場合、凝固時間は、10.0~14.0 秒の範囲内であり、フィブリノゲン濃度は、270~360mg/dLです。

2. 正確

既知凝固時間及び既知フィブリノゲン濃度の管理血漿を検体として測定した場合、既知凝固時間及び既知フィブリノゲン濃度の±15%以内です。

3. 同時再現性

正常管理血漿及び異常管理血漿を検体として5回同時に測定した場合、凝固時間の変動係数は、10%以下です。正常管理血漿を検体として5回同時に測定した場合、フィブリノゲン濃度の変動係数は、10%以下です。また、異常管理血漿を検体として5回同時に測定した場合、フィブリノゲン濃度の変動係数は、15%以下です。

** 4. 測定範囲

* 凝固時間

ACL 10000	5.24~165秒
ACL TOP	8~320秒
フィブリノゲン濃度	
ACL Elite Pro	80~700mg/dL
ACL TOP	60~700mg/dL

5. 相関性

本法と他承認品の相関は、以下のとおりでした。(y:本法)
プロトロンビン時間:(vs ヘモライアンス リコンビラスチン)
n=180、r=0.995、y=0.994x-1.028
フィブリノゲン濃度:(vs ILテスト PT・フィブリノゲン)
n=167、r=0.963、y=1.089x-38.131
これらの結果は特定のロット番号の試薬を使用して得られたものです。

** 6. 較正用の基準物質(フィブリノゲン測定)

WHO International Standard

●使用上又は取り扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意

- 1) 検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れのあるものとして取り扱ってください。
- 2) 検査にあたっては、感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、口でのピペティングは行わないでください。
- 3) 誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- 4) 本品にはアジ化ナトリウム(0.17%)が含まれていますので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 試薬は保管方法に従って保存し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2) 異なるロットとの組み合わせで使用しないでください。
- 3) 使い残りの試薬の混合は避けてください(汚染や試薬の劣化をきたすことがあります)。
- 4) ゴミなどが試薬及びセルに混入しないように留意してください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検体およ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℃、20分以上)を行ってください。
- 2) 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。
- 3) 本品にはアジ化ナトリウム(0.17%)が含まれています。アジ化ナトリウムは、爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、金属性配管には流さないでください。

●保管方法及び有効期間

- 1. 保管方法 2~8℃
- 2. 有効期間 36ヶ月

●包装単位

製品番号	品目名	包装単位
00020002950	ヒーモスアイエル リコンビラスチン	RTF試薬
		RTF溶解液
		8mL用×5
		8mL×5

●主要文献

- 1) Rizza CR, Walker W. One-stage prothrombin time techniques. In: Bang NU, Beller FK, Deutsch E, Mammen EF, eds. Thrombosis and bleeding disorders. New York: Academic Press, 1971.
- 2) Quick AJ. Hemorrhagic Diseases and Thrombosis. 2nd Ed., Philadelphia: Lea and Febiger; 1966.
- 3) Tripodi A, Arbini A, Chantarangkul V, Mannucci PM. Recombinant tissue factor as substitute for conventional thromboplastin in the prothrombin time test. Thromb. Haemost. 1992; 67(1): 42-45.
- 4) Rossi E, Mondonico P, Lombardi A, Preda L. Method for the determination of functional (clottable) fibrinogen by the new family of ACL coagulometers. Thromb. Res. 1988; 52: 453-468.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Hemostasis Assay; Approved Guideline Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute. One Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline, CLSI Document H47-A2; Vol. 28 No.20.
- 7) Zucker S, Cathey MH, and West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation, Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- 8) Westgard JO, and Barry PL. Cost-Effective Quality Control; Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Preparation. Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Third Edition, CLSI/NCCLS Document C3-A3; Vol. 17 No. 18.
- 10) Clinical and Laboratory Standards Institute. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Document C28-A3; Vol. 28 No. 3.
- 11) Van Rijn JLML, Schmidt NA, Rutten WPF. Correction of Instrument - and Reagent-Based in Difference in Determination of the International Normalized Ratio (INR) for Monitoring Anticoagulant Therapy, Clinical Chemistry. 1989; 35 (5): 840-843.
- 12) Ray MJ, Smith IR. The Dependence of the International Sensitivity Index on the Coagulumeter used to Perform the Prothrombin Time, Thromb. Haemost. 1990; 63 (3): 424-429.
- 13) ICSH/ICTH Recommendations for Reporting Prothrombin Time in Oral Anticoagulant Control, Thromb. Haemost. 1985; 53 (1): 155-156.
- 14) WHO Expert Committee on Biological Standardization. 33rd Report, WHO Technical Report Series 687; p. 81-105, Geneva, WHO, 1983.
- 15) Tripodi A, Chantarangkul V, Negri B, Clerici M, Mannucci PM. International Collaborative Study for the Calibration of a Proposed Reference Preparation for Thromboplastin, Human Recombinant, Plain. Thromb. Haemost. 1998; 79(2): 439-443.
- 16) Poller L, Hirsch J. A simple system for the derivation of International Normalized Ratios for the reporting of prothrombin time results with North American thromboplastin reagents. Am. J. Clin. Pathol. 1989; 61: 166-169.
- 17) Hirsh J, Dalen JE, Deykin D, Poller L. Oral anticoagulants: mechanism of action, clinical effectiveness and optimal therapeutic range. Chest 1992;102(4):312S-326S.

●問い合わせ先

アイ・エル・ジャパン株式会社
〒108-0073 東京都港区三田1-3-30
TEL : 0120 (274) 011

** Lot/Rev: 使用期限: 年 月

IRP	
ISI(ACL ElitePro)	
ISI(ACL TOPファミリ- / ACL TOPファミリ-50シリーズ)	

外国特例承認取得者

インストルメンテーション ラボラトリー社
米国

選任製造販売業者

アイ・エル・ジャパン株式会社
東京都港区三田1-3-30