

この添付文書をよく読んでから使用してください。

クラスIII血液検査用シリーズ

プロテインCキット

ヒーモスアイエル プロテインC

●全般的な注意

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. 基質試薬
ピログルタミン酸-プロリン-アルギニン-p-ニトロアニリン塩酸塩
2. (濃縮)希釈液
3. プロテインC活性化剤
Fraction from the Venom of Agkistrodon C. Contortrix
(プロタック) (蛇毒由来)

●使用目的

血漿中のプロテインCの測定

●測定方法(測定原理)

血漿検体中のプロテインCは、プロテインC活性化剤により活性化プロテインC (APC) に活性化されます。活性化プロテインCに対する発色合成基質を添加すると、加水分解されp-ニトロアニリン (p-NA) を遊離します。これを波長405nmで比色測定します。遊離されたp-NA量は、活性化プロテインC量と比例します。検量線よりプロテインC活性を求めます。

- ・プロテインCはビタミンK依存性のタンパク質であり、活性化される前の前駆物質として血漿中に存在しています^{1,2)}。in vivoではトロンボモジュリンの存在下でトロンビンにより活性化され、またin vitroではアメリカマムシ (Agkistrodon Contortrix Contortrix) の毒から得られるタンパク質などにより活性化されます^{3,4)}。
- ・活性化されたプロテインCは、プロテインSをコファクターとし、活性化された血液凝固第V因子 (FVa) や第VIII因子 (FVIIIa) を失活させて凝固阻止活性を示します。
- ・本法は、発色合成基質法による活性化プロテインCを基にした測定法です。
- ・インスツルメンテーション ラボラトリー社 (IL社) の自動血液凝固分析装置により自動測定することができます。

●操作上の注意

1. 検体

- 1) 凝固検査に用いる血液は抗凝固剤クエン酸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CLSIDキュメント H21-A5⁵⁾ を参照してください。
- 2) フィブリンが析出している検体は使用しないでください。
- 3) 遠心操作が不十分な検体は使用しないでください。

* 2. 妨害物質

ACLシリーズ (100-7000) において、ヘパリン (UFまたはLMW) では2 U/mL、ヘモグロビンでは200mg/dLまで、ビリルビンでは5mg/dLまで、トリグリセライドでは500mg/dLまで影響を受けませんでした。ACL TOPファミリー、ACL TOPファミリー-50シリーズ において、ヘパリン (UFまたはLMW) では2 U/mL、ヘモグロビンでは500mg/dLまで、ビリルビンでは21mg/dLまで、トリグリセライドでは890mg/dLまで影響を受けませんでした。

3. 精度管理

精度管理を確実に実施するために、コントロール血漿の使用をお勧めします⁶⁾。IL社から精度管理用コントロール血漿としてヒーモスアイエル ノーマルコントロール (00020003110) 及びヒーモスアイエル ロー アブノーマル コントロール (00020003210)、ヒーモスアイエル スペシャルテストコントロール レベル2 (00020012000) 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。精度管理実施のための平均値、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⁷⁾ 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) 基質試薬 (凍結乾燥) : 1バイアルに精製水⁸⁾ 2.5mLを加え溶解します。中栓をしてゆるやかに攪拌し、完全に溶解していることを確認してください。15~25°Cで30分間静置します。使用前にバイアルを転倒混和してください。

・ 溶解後の安定性

15°C保存 7日間 (オリジナルバイアルで)

2~8°C保存 3ヶ月 (オリジナルバイアルで)

* 15°C保存 5日間 (ACL TOPファミリー、ACL TOPファミリー-50シリーズ)

- ・ 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°Cで冷蔵保存するようにしてください。

- 2) (濃縮) 希釈液 (溶液) : 濃縮希釈液1容量に対して精製水⁸⁾ 9容量を加えて希釈し、測定用希釈液とします。使用前に混和してください。
- ・ 開栓後の濃縮緩衝液はオリジナルバイアルで2~8°C保存してください。

- 3) プロテインC活性化剤 (凍結乾燥) : 1瓶に精製水⁸⁾ 2.5mLを加え溶解します。中栓をしてゆるやかに攪拌し、完全に溶解していることを確認してください。15~25°Cで30分間静置します。使用前にバイアルを転倒混和してください。

・ 溶解後の安定性

15°C保存 7日間 (オリジナルバイアルで)

2~8°C保存 3ヶ月 (オリジナルバイアルで)

* 15°C保存 5日間 (ACL TOPファミリー、ACL TOPファミリー-50シリーズ)

- ・ 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°Cで冷蔵保存するようにしてください。

- ・ プロテインC活性化剤は、プロテインCの測定のみにご使用ください。

- 4) 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) : バイアル1瓶に精製水⁸⁾ 1.0 mLを加え、再びバイアルキャップをはめて、ゆるやかに攪拌してください。内容物が完全に溶解しているのを確認してください。溶解後の試薬は、15~25°Cで30分間静置し、使用前に、再度バイアルを転倒混和してください。その際バイアルを激しく振らないようにご注意ください。

・ 溶解後の安定性

2~8°C保存 24時間 (オリジナルバイアルで)

- 5) 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。

- * 溶解後の安定性は使用条件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. 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 ノーマルコントロール (00020003110)
- ・ ヒーモスアイエル スペシャルテストコントロール レベル1 (00020011000)
- ・ ヒーモスアイエル スペシャルテストコントロール レベル2 (00020012000)
- ・ ヒーモスアイエル ロー アブノーマルコントロール (00020003210)
- ・ ヒーモスアイエル ファクター・ダイリュエント (00009757600)
- ・ ヒーモスアイエル クリーニング エージェント (00009832700)

3. 測定操作法

各自動血液凝固分析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、IL社自動血液凝固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凝固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]

測定用希釈液で4倍希釈 (1:3) した検体56 µLに対し、プロテインC活性化剤56 µLを添加して37°Cで所定時間加温します。更に基質試薬56 µLを加え、120秒間 波長405 nmで吸光度を測定します。同様に操作した標準品を用いたときの吸光度と比較しプロテインC量を求めます。結果は、% (活性%) で報告されます。

●測定結果の判定法

1. 参考基準範囲

約70~140 活性(%)

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、施設にて必ず自施設での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) 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。
- 4) プロテインC欠損症は、特に若い成人に見られる特発性静脈血栓塞栓症と関係があると言われています²⁾。
- 5) プロテインCの後天性欠損症は、肝臓疾患、経口抗凝固療法、播種性血管内凝固症候群(DIC)などと関係があると言われています^{9, 10, 11)}。
- 6) 接触活性を受けている病気の検体は、プロテインCレベルが不当に高くなります。
- 7) 200-300 U/Lのカリクレイン様活性では、プロテインC活性が10-20%高くなる場合があります。
- 8) アプロチニンは、活性化したプロテインCを抑制することが知られており、アプロチニン処置をしている患者では、プロテインCが低く出ることがあります。
- 9) プロテインC活性は、新生児及び乳幼児で低く、成長過程で成人レベルに達します¹²⁾。

●性能

1. 感度

正常管理血漿及び異常管理血漿を試料として操作する場合の測定値は、正常管理血漿では85~115活性(%), 異常管理血漿では45~75活性(%)です。

2. 正確性

既知活性の管理血漿を測定するとき、既知活性の±15%以内にあります。

3. 同時再現性

同一検体を3回以上測定するとき、測定値のC.V.値は10%以下です。

4. 直線性

ACLシリーズ 10~120活性(%)

* ACL TOPファミリー、
ACL TOPファミリー50シリーズ 10~150活性(%)

5. 相関性

本法と他社試薬との相関は、以下のとおりでした。(ACLシリーズにおいて)
 $r=0.990$, $y=0.955x + 0.204$ (y:本法)
この結果は、特定のロット番号の試薬を使用して得られたものです。

●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) (濃縮)希釈液には、0.1%未満のアジ化ナトリウム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。
- 4) プロテインC活性化剤は、プロテインCの測定のみにご使用ください。

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1,000 ppm、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) 試薬及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) (濃縮)希釈液には、0.1%未満のアジ化ナトリウムが含まれています。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°C
2. 有効期間 24ヶ月

●包装単位

製品番号	品目名	包装単位
00020300500	基質試薬	2.5mL用×2
	(濃縮)希釈液	8mL×1
	プロテインC活性化剤	2.5mL用×2

●主要文献

- 1) Kiesel W. Human plasma Protein C - Isolation, Characterization and Mechanism of Activation by Alpha Thrombin. J. Clin. Invest. 1979; 64:761-769.
- 2) Stenflo J. Structure and Function of Protein C. Seminars in Thrombosis and Haemostasis 1984;10(2): 109-121.
- 3) Francis Jr. RB, Patch MJ. A Functional Assay for Protein C in Human Plasma. Thrombosis Research 1983; 32: 605-613.
- 4) Martinoli JL, Stocker K. Fast Functional Protein C Assay Using Protac, A Novel Protein C Activator. Thrombosis Research 1986; 43: 253-264.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Haemostasis Assays; Approved Guideline – Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
- 6) Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- 7) Westgard JO, Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process. AACC Press 1986.
- 8) Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. Fourth, Edition, CLSI Document C3-A4; Vol. 26 No.22.
- 9) Griffin JH, Mosher DF, Zimmerman TS, Kleiss AJ. Protein C, an Antithrombotic Protein, is Reduced in Hospitalized Patients with Intravascular Coagulation. Blood 1982; 60: 261-264.
- 10) Mannucci PM, Viganò S. Deficiency of Protein C and Inhibitor of Blood Coagulation. Lancet 1982; 2: 463-467.
- 11) Comp PC, Nixon R, Esmon CT. Determinations of Functional Levels of Protein C, an Antithrombotic Protein, using Thrombin/Thrombomodulin Complex. Blood 1984; 63: 16-21.
- 12) Kottke-Marchant K, Comp P. Laboratory Issues in Diagnosing Abnormalities of Protein C, Thrombomodulin, and Endothelial Cell Protein C Receptor. Arch Pathol Lab med 2002; 126:1337-1348

●問い合わせ先

アイ・エル・ジャパン株式会社

** 東京都品川区東品川2-5-8

TEL : 0120 (274) 011

外国特例承認取得者

インスツルメンテーション 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

** 東京都品川区東品川2-5-8