

この添付文書をよく読んでから使用してください。

プロテインSキット

ヒーモスアイエル Free PS

＜遊離型プロテインS測定試薬＞

●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. C4BP緩衝液
塩化カルシウム・二水和物
2. C4BPラテックス
ヒト補体 C4b 結合蛋白（C4BP）
塩化カルシウム・二水和物
3. 抗PS MAbラテックス
抗ヒトプロテインSマウスモノクローナル抗体
塩化カルシウム・二水和物

●使用目的

血漿中の遊離型プロテインS濃度の測定。

●測定方法（測定原理）

血漿検体中の遊離型プロテインSをCa²⁺存在下でC4BP吸着ラテックス粒子（C4BPラテックス）と結合させ^{1,2,3)}、更に、抗ヒトプロテインSマウスモノクローナル抗体感作ラテックス（抗PS MAbラテックス）を加えることでプロテインS・C4BPラテックス複合体と抗PS MAbラテックスとが凝集する。この凝集の度合いは検体中の遊離型プロテインS濃度に比例することから、凝集より生ずる濁度より遊離型プロテインSの濃度を求める。

- ・ ビタミンK依存蛋白質の一つであるプロテインSは、活性化プロテインCの補助因子として抗凝固作用を促進する⁴⁾。血漿中では遊離型プロテインS（40%）、もしくは補体系制御因子の一つであるC4BPとの複合体（60%）として存在し、活性を示すのは遊離型プロテインSのみである⁵⁾。
- ・ インストルメンテーション ラボラトリー社（IL社）の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CLSI(旧NCCLS)ドキュメントH21-A5⁶⁾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。
- 4) 凍結血漿を使用する場合は37℃で融解し、融解後は2時間以内に測定を行ってください。

2. 妨害物質

ACL Elite Pro/8000/9000/10000、ACL Futura及びACL Advanceを使用した場合、ヘパリンでは1.5IU/mLまで、ビリルビンでは18mg/dLまで、ヘモグロビンでは200mg/dLまで、トリグリセライドでは1280mg/dLまで、血小板は10¹¹/Lまで、リウマチ因子は350IU/mLまで遊離型プロテインS濃度の測定結果に影響ありませんでした。ACL TOPを使用した場合は、ヘパリンでは1.5IU/mLまで、ビリルビンでは25mg/dLまで、ヘモグロビンでは200mg/dLまで、トリグリセライドでは1500mg/dLまで、血小板は10¹⁰/Lまで、リウマチ因子は900IU/mLまで遊離型プロテインS濃度の測定結果に影響ありませんでした。又、本法は第V因子Leiden変異の影響を受けませんでした。

3. 精度管理

精度管理を確実にを行うためにコントロール血漿をご使用ください⁷⁾。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。少なくとも8時間ごとのコントロール類の測定をお勧めします。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) C4BP緩衝液（溶液）：そのまま使用します。
- 2) C4BPラテックス（凍結乾燥）：C4BPラテックス試薬1バイアル中にC4BP緩衝液1バイアル分まで注ぎ入れます。再び中栓をして静かに20秒以上混和し内容物を溶解します。均一な懸濁液になったことを確認してください。15～25℃で30分間静置し、使用前に転倒混和してください。その際、激しく振らないよう注意してください。
 - ・ 溶解後の安定性
2～8℃保存 1ヶ月 （オリジナルバイアルで）
15℃保存 1週間 （ACL Elite Pro/8000/9000/10000, ACL Futura/Advance, ACL TOP）
- 3) 抗PS MAbラテックス（溶液）：液状試薬なので調製の必要はありませんが、使用前に転倒混和してください。
 - ・ 開封後の安定性
2～8℃保存 1ヶ月 （オリジナルバイアルで）
15℃保存 1週間 （ACL Elite Pro/8000/9000/10000, ACL Futura/Advance, ACL TOP）
- 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。
- 5) 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）：バイアルに1.0mLの精製水⁹⁾を加え溶解します。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℃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、激しく振らないでください。
 - ・ 溶解後の安定性
2～8℃保存 24時間 （オリジナルバイアルで）

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。

2. 必要な器具・器材・試薬等

- ・ 標準品
ヒーモスアイエル キャリブレーション血漿（20003700）
- ・ 検体又は標準品希釈液
ヒーモスアイエル ファクター・ダイリュエント（09757600）

3. 測定操作法

血液凝固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]

被検検体12μLにC4BPラテックス150μLを添加し攪拌します。37℃で加温した後、80μLの抗PS MAbラテックスを加え濁度の変化を405nmで120秒間測定します。検量線より遊離型プロテインS濃度(%)を求めます。

●測定結果の判定法

1. 参考基準範囲

性別	n	ACL Elite Pro 8000/9000/10000	ACL Futura ACL Advance	n	ACL TOP
男性	130	72.2 - 123.3%	64.4 - 128.8%	128	74.1 - 146.1%
女性 ⁵⁾	102	57.6 - 112.5%	53.2 - 109.1%	128	54.7 - 123.7%

注) ホルモン状態等が正常範囲に影響を与えることがあります¹⁰⁾。

範囲は国際臨床化学連合（IFCC）で認められている方法で計算されています¹¹⁾。

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により確認してください。
- 2) プロテインS欠乏は先天的¹²⁾及び後天的に見られ、血栓症になる可能性があります。
- 3) プロテインSの欠乏は、若年層での血栓症の主な発生要因のひとつとされています^{13,14)}。
- 4) 後天性プロテインS欠乏症は妊娠中、経口避妊薬使用時、肝臓疾患、経口抗凝固薬使用時などに見られます^{15,16,17)}。
- 5) 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

- (ア) 遊離型プロテインS濃度0%の試料を用いて測定した場合のmAU（ミリ吸光度単位）は、-15mAUから15mAUの範囲内です。
- (イ) 遊離型プロテインS濃度80-105%の試料を用いて測定した場合のmAU（ミリ吸光度単位）は、150mAUから250mAUの範囲内です。

2. 正確性

既知の濃度の管理血漿を測定するとき、既知濃度の±20%以内です。

3. 同時再現性

同一の管理血漿を5回同時に測定するとき、CV 値 10%以下です。

4. 測定範囲

血液凝固分析装置	遊離型プロテインS濃度
ACL Elite Pro/8000/9000/10000	10～135%
ACL Futura、ACL Advance	12～135%
ACL TOP	11～150%

5. 相関性¹⁸⁾

本品と他社品との相関は、以下のとおりでした。（y：本法）
n = 143、r = 0.962、y = 1.06x + 0.691

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) C4BPラテックスにはヒト血液由来成分が含まれています。当原料については、HBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体が陰性であることをFDAで認められている方法で確認しております¹⁹⁾。しかし、現在の検査法ではすべての感染性を完全に否定できませんので、患者検体と同様に扱ってください。
- 3) 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、口でのビベティングは行わないでください。
- 4) 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) 試薬は貯蔵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、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。

●貯蔵方法及び有効期間

1. 貯蔵方法 2～8℃

2. 有効期間 24ヶ月

●包装単位

製品番号	品目名	包装単位
20002700	ヒーモスアイエル Free PS	C4BP緩衝液
		4mL×3
		C4BPラテックス
		4mL用×3
	抗PS MAbラテックス	2mL×3

●主要文献

- 1) Dahlbäck B. Purification of human C4b-binding protein and formation of its complex with vitamin K-dependent protein S, Biochem. J. 1983; 209: 847-856.
- 2) He XH, Shen L, Malmberg AC, Smith KJ. Dahlbäck B, Linse S. Binding site for C4-binding protein in vitamin K-Dependent protein S fully contained in carboxy-terminal laminin-G-type repeats. A study using recombinant factor IX protein S chimeras and surface plasmon resonance. Biochemistry 1997; 36: 3745-3754.
- 3) Serra J, Sales M, Chitolie A, Domènech P, Rossi E, Borrell M, Dahlbäck B. Multicentre Evaluation of IL Test™ Free PS: A Fully Automated Assay to Quantify Free Protein S. Thromb. Haemost. 2002; 88: 975-983.
- 4) Walker FJ. Regulation of Activated Protein C by a New Protein: A Possible Function for Bovine Protein S, J. Biol. Chem. 1980; 255: 5521-5524.
- 5) Suzuki K, Nishioka J. Plasma Protein S Activity measured using Protac, a Snake Venom Derived Activator of Protein C, Thromb. Res. 1988; 49: 214-251.
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Hemostasis Assay ; Approved Guideline-Fifth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
- 7) Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- 8) Westgard JO, Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press1986.
- 9) Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Third Edition, NCCLS Document C3-A3; Vol. 17 No. 18.
- 10) Liberti G, Bertina RM, Rosendaal FR. Hormonal State rather than Age Influences Cut-off Values of Protein S: Reevaluation of the Thrombotic Risk Associated with Protein S Deficiency. Thromb. Haemost. 1999; 82: 1093-1096.
- 11) Solberg HE. Approved Recommendation (1987) on the Theory of Reference Values. Part 5 Statistical Treatment of Collected Reference Values. Determination of Reference Limits, J. Clin. Chem. Clin. Biochem. 1987; 25: 645-656.
- 12) Sala N, Morell M, Tirado I, Espinosa Y, Llobet D, Fontcuberta J, Soria JM, Volpini V, Estivill X. Linkage disequilibrium between the protein S Heerlen allele and protein S deficiency in Spanish families. Thromb. Haemost. 1995; 73: 1259.
- 13) Maccaferri M, Legnani C, Preda L, Palareti G. Protein S Activity in Patients with Heredofamilial protein S Deficiency and in patients with Juvenile venous Thrombosis. Results of a functional method, Thromb. Res. 1991; 64: 647-658.
- 14) Faioni EM, Valsecchi C, Palla A, Taioli E, Razzari C, Mannucci PM. Free protein S deficiency is a Risk Factor for Venous Thrombosis. Thromb. Haemost. 1997; 78: 1343-1346.
- 15) Mannucci PM, Valsecchi C, Krachmalnicoff A, Faioni EM, Tripodi A. Familial Dysfunction of Protein S, Thromb. Haemost. 1989; 62: 763-766.
- 16) D' Angelo A, Viganò D' Angelo S, Esmon CT, Comp PC. Acquired Deficiencies of Protein S. Protein S Activity during Oral Anticoagulation, in Liver Disease, and in Disseminated Intravascular Coagulation, J.Clin. Invest. 1988; 81: 1445-1454.
- 17) Comp PC, Esmon CT. Recurrent Venous Thromboembolism in Patients with a Partial Deficiency of Protein S, N. Engl. J. Med. 1984; 311: 1522-1528.
- 18) インスツルメンテイション ラボラトリー社 資料
- 19) Richmond JY, McKinney RW eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S.Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, 4th Edition, 1999.

●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

外国特許承認取得者

インスツルメンテイション 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

00038002937R10AJPv2