

この添付文書をよく読んでから使用してください。

ルーブス抗凝固因子キット

ヒーモスアイエル dRVVT

＜ルーブス抗凝固因子検出試薬＞

●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. S: dRVVT スクリーン試薬
ラッセルマムシ毒
リン脂質
塩化カルシウム
2. C: dRVVT コンファーム試薬:
ラッセルマムシ毒
リン脂質
塩化カルシウム

●使用目的

血漿中のルーブス抗凝固因子の検出

●測定方法（測定原理）

本品は、クエン酸血漿に活性化剤及びカルシウムを添加することで血液凝固するまでの時間を測定する血液凝固時間法によりルーブスアンチコアグラント(Lupus Anticoagulant: LA)を検出します。LAの影響を受けるリン脂質濃度のdRVVT スクリーン試薬（活性化剤：ラッセルマムシ毒、リン脂質、カルシウム）を用いて得られた凝固時間と、LAの影響を中和するリン脂質濃度であるdRVVT コンファーム試薬（活性化剤：ラッセルマムシ毒、過剰のリン脂質、カルシウム）を用いて得られた凝固時間の比よりLAの有無を検出します。

●操作上の注意

1. 検体
 - 1) 検体の採取方法
 - ・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。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NCCLSドキュメントH21-A5を参照してください¹⁾。
 - ・不溶物が析出している検体は使用しないこと。
 - ・クエン酸3ナトリウム以外の抗凝固剤を使用しないこと。
 - ・血液と抗凝固剤の割合が不適切な検体は使用しないこと。
 - ・溶血している検体は使用しないこと。
 - ・1,500×gに達しない遠心器は使用しないこと。
 - ・ISTH LAガイドラインでは、LA測定には乏血小板血漿を推奨しております²⁾。そのため測定又は血漿を凍結保存する前には、再度遠心分離するか0.2µmの低タンパクビンディングフィルターを通して残存血小板を除いてください。
 - 2) 検体の採取方法
 - ・新鮮静脈血を使用してください。
 - ・分離された血漿は、2~8℃で4時間、-20℃で2週間、-70℃で6ヶ月間保存することができます。
 - ・凍結血漿はdRVVT スクリーン試薬の凝固時間を短縮する残存血小板リン脂質を含んでいます。血漿を凍結する場合は、再度遠心分離するか、または0.2µmのフィルターを通して残存血小板を除いてください。
 - ・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、4℃で最大2時間保存できます。

2. 妨害物質

	ヘモグロビン	ビリルビン	トリグリセライド	ヘパリン	
				未分画	低分子
ACL TOPファミリー	200 mg/dL	10 mg/dL	500 mg/dL	1 IU/mL	1 IU/mL
ACL TOP ELITE/ELITE PRO/8/9/10000	300 mg/dL	10 mg/dL	500 mg/dL	1 IU/mL	0.8 IU/mL
ACL TOP 100-7000	200 mg/dL	10 mg/dL	100 mg/dL	1 IU/mL	0.8 IU/mL

抗ビタミンK療法患者ではdRVVT比が上昇する可能性がありますので確認検査を行うか、患者は抗ビタミンK療法を停止しているときに反復検査を実施してください³⁾。

3. 精度管理

精度管理を確実に行うために正常及び異常コントロール血漿をご使用ください⁴⁾。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⁵⁾を参照してください。IL社では、容易に精度管理を実施できるヒーモスアイエル LA陽性コントロール（品番：00020012500）、ヒーモスアイエル LA陰性コントロール（品番：00020012600）をご用意しております。

4. その他

インストゥルメンテーション ラボラトリー社製血液凝固自動分析装置以外の機器をご使用の場合は御連絡ください。

●用法・用量（操作方法）**

測定には、dRVVT スクリーン試薬及びdRVVT コンファーム試薬の双方を用いてください。

1. 試薬の調製方法

- 1) dRVVT スクリーン試薬及びdRVVT コンファーム試薬（凍結乾燥品）：
バイアル1瓶に精製水⁶⁾ 2.0mL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℃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。凍結しないでください。
- ・開封後の安定性
オリジナルバイアル：2~8℃で 15日間安定。
ACL TOPファミリー機上：15℃で3日間安定。
ACL ELITE/ELITE PRO機上（オリジナルバイアル）：
15~25℃で24時間安定。
ACL 100-7000機上：15℃で24時間安定。
※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：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 クリーニング エージェント（クリーンB）
(00009832700)
ヒーモスアイエル LA陽性コントロール (00020012500)
ヒーモスアイエル LA陰性コントロール (00020012600)

3. 測定操作法

本品は凝固自動分析装置により測定を行います。IL社の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凝固分析装置での測定結果については保証致しません。

[ACL TOPによる例]

- ①被検検体 75μL に調製済み dRVVT スクリーン試薬（または dRVVT コンファーム試薬）75μL を加え、所定温度で所定時間、加温します。
- ②波長 671nm でスクリーン試薬は 240 秒間、コンファーム試薬は 121 秒間透過光の変化を測定します。測定結果は、dRVVT 比(Ratio)で報告されます。

●測定結果の判定法

1. 判定方法

以下の方法により、dRVVTスクリーン試薬とdRVVTコンファーム試薬の凝固時間を用いた比を計算してください。

準備

- 1) 各ロットの dRVVT スクリーン試薬と dRVVT コンファーム試薬により健常者の凝固時間を CLSI C28-A37 に従い求めてください。
- 2) 各試薬の健常者の凝固時間の平均（秒）を計算してください。
- 3) 求められた健常者の平均（秒）は各試薬の比を計算するときの分母となります。

dRVVT比の求め方

- 1) dRVVT スクリーン比: 患者の dRVVT スクリーン試薬の凝固時間（秒）を dRVVT スクリーン試薬の健常者の平均凝固時間（秒）で割ります。

$$\text{スクリーン比} = \frac{\text{患者のdRVVTスクリーン試薬測定結果 (秒)}}{\text{dRVVTスクリーン試薬の健常者の平均凝固時間 (秒)}}$$

- 2) dRVVTコンファーム比: 患者のdRVVTコンファーム試薬の凝固時間（秒）をdRVVTコンファーム試薬の健常者の平均凝固時間（秒）で割ります。

$$\text{コンファーム比} = \frac{\text{患者のdRVVTコンファーム試薬測定結果 (秒)}}{\text{dRVVTコンファーム試薬の健常者の平均凝固時間 (秒)}}$$

- 3) dRVVT比: スクリーン比をコンファーム比で割ります。

$$\text{dRVVT比} = \frac{\text{スクリーン比}}{\text{コンファーム比}}$$

判定

- 1) 最終結果は dRVVT 比を用いて判定してください。
- 2) dRVVT スクリーン及びコンファームの凝固時間が延長した場合は、凝固因子の欠乏又はインヒビターの検査のためミキシング試験を行ってください。ミキシング試験で延長が見られた場合は凝固因子に対する妨害又は特異的なインヒビター、あるいは LA との結合による妨害を判断するためさらなる検査を行ってください。
- 3) dRVVT スクリーン及びコンファームを一緒に使用した場合は、ループスアンチコアグラント検査のガイドラインで示された検査項目の一つを実施したことになります³⁾。

2. 参考基準範囲

CLSI C28-A39⁴⁾に従い計算された dRVVT 比の参考基準範囲は下記の通りでした(n=120)。

	下限	上限
ACL TOP	0.92(0.91-0.93)	1.11(1.10-1.15)
ACL TOP 500 CTS	0.91(0.89-0.92)	1.13(1.11-1.16)
ACL ELITE/ELITE	0.91(0.88-0.92)	1.14(1.11-1.18)
PRO/8/9/10000		
ACL 100-7000	0.91(0.75-0.93)	1.14(1.11-1.24)

カットオフ値(dRVVT 比)

健常者 40 人の検体により平均値+3SD より求められた標準化カットオフ値は、下記のとおりです。

カットオフ値(dRVVT 比)	
ACL TOP	>1.2
ACL TOP 500 CTS	>1.2
ACL ELITE/ELITE	>1.2
PRO/8/9/10000	>1.2
ACL 100-7000	>1.2

カットオフ値を超えた場合、LA 陽性と考えます。

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。

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ため、各施設において自施設のカットオフ値を設定してください。

3. 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、必要に応じて再検査等を実施してください。
- 2) クエン酸 3 ナトリウム以外の抗凝固剤は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) LA 保有患者では、血栓症や習慣性流産のような臨床症状の発症のリスクが高くなります^{2,8-10)}。
- 5) LA 検査では、測定原理が異なると LA の特定のサブグループに対して精度がより高くなる、あるいは低くなる場合があります。このため、LA の存在を排除する前に少なくとも測定原理の異なる 2 つの測定方法を用いて、LA の診断を行ってください^{2,11)}。
- 6) dRVVT スクリーン試薬及び dRVVT コンファーム試薬ともに凝固時間の延長が見られる場合、凝固因子欠乏症あるいは阻害物質の存在の可能性がございます。

●臨床的意義

ループスアンチコアグラント(Lupus Anticoagulant: LA)は陰性荷電したリン脂質、リン脂質とプロテイン(βグリオブリン若しくはプロトロンビンのような凝固因子)の複合体に対する抗リン脂質抗体に属します。リン脂質依存性凝固時間反応(APTT、シリカ凝固時間、希釈ラッセル蛇毒時間)を測定するとき血液凝固時間の延長を引き起こすこれらの抗体を LA と呼びます。本品は臨床診断を行う上で簡単かつ規格的に LA を検出するために改良された dRVVT 試薬です^{2,8)}。dRVVT スクリーン試薬は、含有するリン脂質が少なく LA に鋭敏に反応します。一方コンファーム試薬はリン脂質を過剰量にすることで LA による凝固時間の短縮を無効にします。ラッセルマムシ毒はカルシウムの存在下で患者検体中の凝固第 X 因子を直接活性化します。そのため本品は、接触因子異常、凝固第 VII 因子、凝固第 VIII 因子、凝固第 IX 因子の欠乏及びインヒビターの影響を受けません。また、ポリブレンにより 1U/mL までヘパリンの影響を受けません。この結果、dRVVT スクリーン試薬及び dRVVT コンファーム試薬は APTT と比較すると LA の評価により特異的な試薬となっています^{2,12)}。本品は ISTH (2009)で推奨されたループスアンチコアグラント検出方法の一つです²⁾。

●性能

1. 感度 陰性コントロール及び陽性コントロールを測定するとき、dRVVT比は、陰性コントロールで1.1以下、陽性コントロールで1.4~2.5の値を示します。
2. 正確性 陰性コントロール及び陽性コントロールを測定するとき、それぞれのコントロールは同一の反応性を示す。
3. 同時再現性 陰性コントロール及び陽性コントロールを 3 回繰り返し測定するとき、それぞれのコントロールは同一の反応性を示す。
4. 相関性 本品と他社試薬（凝固時間法及び dRVVT 法）との相関は、以下のとおりでした。

他社製品（凝固時間法）との相関性

		他社試薬	
		LA 陽性	LA 陰性
本品 (dRVVT 比)	LA 陽性	29	0
	LA 陰性	1	28

検体数 n=58

全体一致率 98%(57例/58例)

他社製品（dRVVT 法）との相関性

		他社試薬	
		LA 陽性	LA 陰性
本品 (dRVVT 比)	LA 陽性	28	1
	LA 陰性	1	28

検体数 n=58

全体一致率 97%(56例/58例)

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。

5. 校正用標準物質 該当しません。

●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 等の感染のおそれのあるものとして取り扱ってください。
- 2) 本品は原材料にウシ資材を使用していますが BSE フリー群から供給されています。また、獣医による検査において伝染性の感染症はフリーであることが確認されています。しかし、感染性のある試料と同等に扱ってください。

- 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。

2. 使用上の注意

- 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。
- 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）。
- 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

- 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）等での消毒等又はオートクレーブ処理（121℃、20分以上）を行ってください。
- 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。

●貯法及び有効期間

- 貯蔵方法 2～8℃
- 有効期間 21 ヶ月

●包装単位

製品番号	品目名	包装単位
00020301500	ヒモスアイエル dRVVT dRVVTスクリーン試薬	2mL用×10
00020301600	ヒモスアイエル dRVVT dRVVTコンファーム試薬	2mL用×10

●主要文献

- Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI. 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.
- Pengo V et al. Update of the Guidelines for Lupus Anticoagulant Detection. J. Thromb. Haem. 2009; 7:1737- 1740.
- Moll, S. Thrombophilias-practical implications and testing caveats. Journal of Thrombosis and Thrombolysis, 2006 21 (1), 7-15.
- Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimen for Coagulation, Am. J. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
- Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory; Approved Guideline. Fourth, Edition, CLSI Document C3-A4; Vol. 26 No.22.
- Clinical and Laboratory Standards/CLSI. Defining, Establishing, and Verifying Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline, Document C28-A3; Vol. 28 No. 30.
- Love PE, Santoro SA. Antiphospholipid Antibodies: Anti Cardiolipin and the Lupus Anticoagulant in Systemic Lupus Erythematosus (SLE) and in Non-SLE Disorders. Ann. Int. Med. 1990; 112:682-698.
- Exner T, Triplett DA, Taberner D, Machin SJ. Guidelines for Testing and Revised Criteria for Lupus Anticoagulants. Thromb Haem. 1991; 65:320-322.
- Feinstein DI. Lupus Anticoagulant, Thrombosis and fetal Loss, N. Eng. J. Med. 1985; 313:1248-1350.
- Brandt JT, Triplett DA, Alving B, Scharrer I, Criteria for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants: An Update. Thromb. Haemostas. 1995, 74 (4), 1185-90.
- Thiagarajan P, Pengo V, Shapiro SS. The use of Dilute Russell’s Viper Venom Time for the Diagnosis of Lupus Anticoagulants, Blood Coag. Fibrinol. 1990; 1: 295-296.

●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1-3-3
TEL : 0120 (274) 011

外国特例認証取得者

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
東京都港区三田1-3-30 HIE MITA

000303795R3AJP