

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

血小板凝集能キット

VerifyNow PRU テスト

● 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・治療効果の判定については、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. 本品にはヒト由来の成分が使用されていますが、HIV-1/2抗体、HBs抗原及びHCV抗体が陰性であることが確認されています。しかしながら感染性を完全に否定できるものではありませんので、感染の可能性があるものとして扱ってください。
5. 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）

テストデバイス（試薬カートリッジ）

ADP（アデノシン-5'-二リン酸塩）

● 使用目的

血小板凝集能の測定

注）本品はクロピドグレル等のP2Y₂阻害剤による血小板凝集抑制の程度を測定する試薬です。

● 測定原理

本品は、血小板が活性化してフィブリノーゲンに結合する能力に基づいています。血小板凝集に最終的に関与する血小板上のGP IIb/IIIa レセプターの発現量に応じ、フィブリノーゲンでコートされたマイクロビーズが全血中で凝集します。血小板が活性化されているとマイクロビーズの凝集は早く、再現性が高くなります。そのため、フィブリン形成せずに血小板の活性化を誘導するための試薬（ADP）がテストチャンネルに添加されています。活性化された血小板が結合しフィブリノーゲンでコートされたビーズが凝集するにつれて、光透過率は増加します。この光信号の変化を機器が測定し、P2Y₁₂ Reaction Units (PRU)として報告します。

ADP は、アデニリル酸シクラーゼを抑制して血小板内cAMP レベルを低下させ、細胞内カルシウム濃度を上昇させることによって最終的には血小板上のGP IIb/IIIa レセプターを活性化して血小板の凝集を起こします。

クロピドグレル等のチエノピリジン系薬剤は、P2Y₁₂受容体を阻害することにより、血小板凝集を抑制する。したがって、薬剤の効果が十分である場合、本品による凝集は抑制されません。

● 操作上の注意

1. 検体の採取と取扱い

1) 留置静脈カテーテルから血液を採取する場合の手順

- ① 留置静脈カテーテルから全血検体を採取する場合は、ラインをクリアするために十分な量（約5mL）を廃棄した後に採取する必要があります。留置カテーテルにクロットがないことを確認してください。
- ② 採血後すぐに採血管に血液を移してください。
- ③ 内容物が完全に混合されるように、採血管を少なくとも5回静かに転倒混和します。
- ④ 採血後、室温（18～25℃）で少なくとも10分間静置してから検査を開始してください。ただし、4時間を超えないようにしてください。

2) 末梢血液を採取するための手順

- ① 適切な採血管の21ゲージ以上（18～20ゲージなど）の針を使用して、静脈から全血を採取します。血液は末梢静脈点滴注入のない四肢から採取してください。
- ② 最初に添加物を含まない廃棄用チューブに採血します（2mL以上）。その後に適切な採血管に採血してください。
- ③ 内容物が完全に混合されるように、採血管を少なくとも5回静かに転倒混和します。
- ④ 採血後、室温（18～25℃）で少なくとも10分間静置してから検査を開始してください。ただし、4時間を超えないようにしてください。

3) 検体採取の注意事項

- ① 本品で使用するための新鮮な全血検体の採取はこの添付文書の手順に従って適切に実施してください。
- ② 同時に全血算（CBC）用の血液を採取する場合は、先に本品測定用の採血を行い、その後にCBC用の採血を行ってください。
- ③ 検体を凍結あるいは冷蔵しないでください。
- ④ 血液の採取は、溶血や組織因子による汚染を避けるように注意して行ってください。クロットの兆候のある検体は使用しないでください。
- ⑤ 採血管は常に指定された量まで充填されていることを確認してください。標高が762m以上の高地では指定量まで充填されず、血液と抗凝剤の比率が不正確になる場合があります。このような高地にある施設では、各施設の採血手順に従ってください。
- ⑥ 揺れを生じるようなエアシューターのような空圧式チューブ輸送システムなどの使用は避けてください

2. 妨害物質

妨害物質による本品の測定値への影響は、CLSI の EP7-A2 "Interference Testing in Clinical Chemistry – Second Edition" に従って検討しました。下記の物質を記載された濃度になるように検体に添加した場合、本品の測定結果に影響を与えないことが確認されました。

被験物質	濃度	被験物質	濃度
トリグリセライド	37 mM	ヒドロクロロチアジド	20 μM
A3P5PS*	100 μM	イブプロフェン	2.4 mM
アセトアミノフェン	1.32 mM	インスリン	3 ng/mL
ベタメタゾン	64 μM	リドカイン	51 μM
カフェイン	306 μM	ニトログリセリン	0.1 μg/mL
カプトプリル	23 μM	ノルフロキサシン	7.27 μM
カテキン	86 μM	ノルベラバミル	4.5 μM
セレコキシブ	8.5 μg/mL	オメプラゾール (内服)	20mg 錠
シロスタゾール	60 μM	オキシブリンオール	99 μM
シメチジン	79 μM	プラバスタチン	56 μM
DMSO	0.11 %	プロプラノロール	7.7 μM
ジピリダモール	20 μM	サリチル酸	4.3 mM
ジルチアゼム	15 μM	ストレプトキナーゼ	400 U/mL
エタノール	87 mM	テオフィリン	220 μM
魚油 (サプリメント)	32 mg/mL	L-サイロキシシン	32 nM
グルコサミン塩酸塩	9.4 μM	α-トコフェロール	58 μM
低分子ヘパリン	1833 U/L	ワーファリン	32 μM

* アデノシン-3'-リン酸-5'-ホスホ硫酸

3. 品質管理

機器による品質管理

VerifyNow System (機器) には電子品質管理 (EQC) の機能があります。EQC は毎日 1 回の実施が推奨されます。機器は本品に関し、検体の充填、正しい液体の流れ、混合を自動的に検証します。

テストデバイスの内部コントロール

テストデバイスには 2 種の内部コントロールが組み込まれており、ランダムエラー、試薬の劣化、不適切な血液検体に起因する無効な測定を識別します。血小板の活性化とフィブリノーゲンへの結合が始まる前に陰性内部コントロールが非特異凝集の試験を行います。

測定実施中には、陽性内部コントロールが反応をモニターし、コントロールユニットを計算します。この値は規定された範囲内に収まらなくてはなりません。

陰性または陽性コントロールの試験に問題が生じると、機器にエラーメッセージが表示され、PRU の結果は報告されません。エラーメッセージが表示された際の対応等、詳細は

機器の取扱説明書をご参照ください。

別売のコントロールによる品質管理

別売の VerifyNow WQC レベル 1 とレベル 2 の品質管理用コントロール (ウシ血清アルブミン由来) は、臨床的に適切な値に調整されており、検査室の精度管理プログラムの一部として使用でき、主要なシステム障害を検出することが可能です。

テストデバイスのロット毎、あるいは入荷毎に WQC レベル 1 と WQC レベル 2 の両方を 1 回、または少なくとも 30 日ごとに測定することを推奨します。測定値の許容範囲内はコントロールの使用説明書に記載されています。

測定値が許容範囲内に入らない場合は、新しいコントロールとテストデバイスを用いて再測定してください。それでも不合格の場合はアイ・エル・ジャパン株式会社のテクニカルサポートへお問い合わせください。

4. その他

本品は血小板凝集測定装置 VerifyNow System PRU プルーの専用試薬です。

● 用法・用量 (操作方法)

1. 試薬の調製方法

テストデバイス (試薬カートリッジ) はそのまま使用します。

2. 必要な器具・器材等

- 1) 採血管 : Nipro ネオチューブ [カタログ#NP-CW0185-1 (1.8mL)] (クエン酸ナトリウム 3.2% を含む)
- 2) 血小板凝集測定装置
VerifyNow System PRU プルー

3. 測定操作方法

- 1) 測定法の詳細については、機器の取扱説明書をご参照ください。
- 2) アルミホイル袋を開け、テストデバイスを取り出します。テストデバイスを扱う場合は図 1 の「フィンガーグリップ」の部分を持つようにしてください。
- 3) テストデバイスに装着されているニードル/針の保護キャップを時計回りに回して引き上げ、取り外します。
- 4) 機器のテストデバイスポートにテストデバイスをセットします。
- 5) 機器の指示に従い、全血検体の入った採血管を少なくとも 5 回静かに転倒混和し、テストデバイスの針に装着します。
- 6) カバーを閉じると自動で測定が開始されます。
- 7) 174 μL の全血検体がミキシングチャンバーに移動し、フィブリノーゲンでコートされたマイクロビーズ及び血小板の活性化を誘導する試薬である ADP (0.0014mg) と混合されます。
- 8) 測定は約 3 分で終了し、光透過率から計算された測定結果 (PRU) が表示されます。

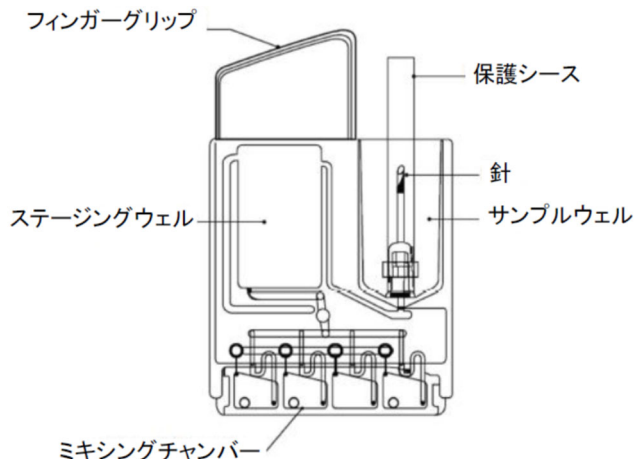


図 1 テストデバイス

● 測定結果の判定方法

測定結果は、血小板活性化物質である ADP を含むチャンネルに記録された血小板凝集の速度と程度に基づいて計算され、PRU (P2Y12 Reaction Units) で報告されます。

参考として、健康人 152 例における測定値を下記に示します。

N	平均	標準偏差	95%信頼区間 (CI)	
			下限 (95%CI)	上限 (95%CI)
152	266	42	182 (116-197)	335 (324-354)

本品と同一の成分・分量の製品である VerifyNow P2Y12 (本品の前世代品、研究用) については、海外において大規模臨床試験が実施されており、その結果、カットオフ値として 208PRU が推奨されています^{1), 2)}。

診断・治療効果の判定については、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。

なお、P2Y12 受容体阻害剤による薬物治療を受けている特定の患者の血小板凝集阻害の割合 (ベースラインからの減少率) を手動で計算することもできます。そのためには、薬物治療を開始する前 (ベースライン) に本品の測定を行う必要があります。抑制率の計算は次のとおりです。

$$\text{抑制率(\%)} = \frac{\text{ベースライン PRU} - \text{治療開始後 PRU}}{\text{ベースライン PRU}} \times 100$$

● 臨床的意義

クロピドグレル等のチエノピリジン系の抗血小板薬は、血小板の P2Y12 受容体を特異的に遮断することが知られています。本品はこの遮断の程度を判定するために開発されました。

クロピドグレルやプラスグレルはプロドラッグであり、それぞれが生体内で活性代謝物に代謝されます。クロピドグレルの代謝はシトクロム P450 依存性経路を介して起こり、プラスグレルはカルボキシルエステラーゼ (hCE)-2 および他のシトクロム P 酵素によって代謝されます。したがって、これら

薬剤の抗血小板作用は、活性代謝物への変換の違いやその他の要因により、個々の患者によって異なる可能性があり、本品によって薬剤の効果を判定することが臨床的に有用であると考えられます。

血小板凝集の活性化は、血小板にある 2 つの受容体、P2Y1 と P2Y12 によって媒介されます。両方の受容体は ADP によって活性化され、血小板凝集を媒介する最終的な共通経路、つまり糖タンパク質 IIb / IIIa 受容体の活性化につながります。

本品の反応に関与する成分である ADP は、P2Y1 と P2Y12 双方の受容体を活性化します。そこで本品には P2Y1 受容体の働きを阻害する PGE1 が添加されており、P2Y1 受容体を介する非特異的な凝集の影響は受けません。つまり本品は、P2Y12 受容体阻害薬であるチエノピリジン系抗血小板薬の効果の程度を特異的に測定することが可能です。

● 性能

1. 感度
管理用試料 1 (WQC Level 1) を VerifyNow System を用いて 3 回測定するとき、その値は 30 PRU 以下です。
2. 正確性
管理用試料 2 (WQC Level 2) を VerifyNow System を用いて 3 回測定するとき、その値は 230-362 PRU の範囲内です。
3. 同時再現性
管理用試料 2 (WQC Level 2) を VerifyNow System を用いて 3 回測定するとき、測定値の CV% は 10% 以下です。
4. 測定範囲
本品の理論的に可能な測定範囲は 0 ~ 1000 PRU です。
5. 相関性試験成績
 - 1) VerifyNow P2Y12 との相関性
本品と本品と成分・分量が同一である自社の既存品 VerifyNow P2Y12 (研究用) との相関性を検討したところ、回帰直線の傾きは 1.01、相関係数は 0.98 であり、良好な相関を示しました。
 - 2) 本品と既承認品との相関性
本品と透過光測定法 (LTA 法) による既存の体外診断用医薬品 (血小板活性化物質: ADP) との相関性を検討したところ、次のような結果が得られました。

		対照品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	46	34	80
	陰性	7	46	53
計		53	80	133

陽性一致率: 87%
陰性一致率: 58%
全体一致率: 69%

また、ピアソンの相関係数を求めたところ、0.71 になりました。

5. 較正用基準物質
設定していません。

● **使用上又は取扱い上の注意**

1. 取扱い上の注意

- 1) 本品の原材料にはヒト由来の成分を使用しています。HBs抗原、HIV抗体及びHCV抗体が陰性であることを確認していますが、感染性を完全には否定できませんので、患者検体と同様に扱ってください。
- 2) 検体は感染の恐れのあるものとして取り扱い、作業時には使い捨て手袋等の感染を予防する措置を実施してください。
- 3) 試薬を誤って目や口に入れたり、皮膚に付着したりした場合には、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管し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2) 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来すことがあります）。
- 3) ゴミなどが試薬及びセルに混入しないよう、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1,000ppm、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) 試薬あるいは検体が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1,000ppm）などを使用し、十分に拭き取ってください。
- 3) テストデバイス及び品質管理用コントロールは0.1%以下のアジ化ナトリウムを含んでいます。アジ化合物は金属配管において、爆発性の強い金属アジドを生成する可能性があります。
- 4) 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。

● **保管方法・有効期間**

1. 保管方法

15～25℃

2. 有効期間

18ヶ月

使用期限は外箱及び各試薬ラベルに記載してあります。

● **包装単位**

製品番号	製品名	包装
0000085225	VerifyNow PRU テスト	25個

● **主要文献**

- 1) Stone, G.W. et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. Lancet, 2013; 382: 614-623.
- 2) Price, M.J. et al. Platelet reactivity and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention. A time-dependent analysis of the gauging responsiveness with a VerifyNow P2Y12 assay: Impact on thrombosis and

safety (GRAVITAS) trial. Circulation, 2011; 124: 1132-1137.

● **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

製造販売元

アイ・エル・ジャパン株式会社
東京都港区三田1-3-30