

SIEMENS

トロンビンアンチトロンビンⅢ複合体キット

エンザイグノスト® TAT micro

Enzygnost® TAT micro

この添付文書をよく読んでから使用ください。

【一般的な注意】

- ・本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- ・本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- ・添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- ・TAT 標準血漿及び TAT コントロール血漿にはヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので感染性のあるものとして取り扱ってください。
- ・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ください。
- ・本品にはアジ化ナトリウム等が含まれているので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着したりした場合は、大量の水で洗い流し、必要に応じ医師の診断を受けてください。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. トロンビン抗体プレート
microtitration plate
抗ヒトトロンビン抗体 (ウサギ) 96 穴×2 プレート
2. POD 標識 AT Ⅲ 抗体液
Anti-AT Ⅲ / POD Conjugate
POD 標識抗ヒトアンチトロンビンⅢ抗体液 (ウサギ) 0.5mL×1 バイアル
3. 基質緩衝液
Buffer/Substrate POD
尿素・過酸化水素 50mL×1 ボトル
4. クロモゲン
Chromogen POD
1,2- フェニレンジアミン塩酸塩 10mL 用×4 バイアル
5. 標識抗体希釈液
Conjugate Buffer (Coag.) 11mL×2 バイアル
6. TAT 標準血漿 1
TAT Standard Plasma S1
TAT 含有ヒト血漿 1mL 用×1 バイアル
7. TAT 標準血漿 2
TAT Standard Plasma S2
TAT 含有ヒト血漿 1mL 用×1 バイアル
8. TAT 標準血漿 3
TAT Standard Plasma S3
TAT 含有ヒト血漿 1mL 用×1 バイアル
9. TAT 標準血漿 4
TAT Standard Plasma S4
TAT 含有ヒト血漿 1mL 用×1 バイアル
10. TAT コントロール血漿
TAT Control Plasma
TAT 含有ヒト血漿 1mL 用×1 バイアル
11. 検体希釈液
Sample Buffer (TAT)
保存剤：アジ化ナトリウム (<1g/L) 20mL×1 バイアル
12. 濃縮洗浄液
Washing Solution POD (concentrate) 100mL×1 ボトル
13. 反応停止液
Stopping Solution POD 100mL×1 ボトル

付属品：

- ・カバーシール 6 枚
- ・添付文書 1 部

【使用目的】

血漿中のトロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体 (TAT) の測定

【測定原理】

エンザイムイムノアッセイ (酵素免疫測定法)

本品はヒトトロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体 (TAT) の体外診断用サンドイッチ酵素免疫測定法です。

第一段階のインキュベーションで、検体中の TAT はトロンビン抗体プレート表面に固相化されている抗トロンビン抗体と結合します。結合していない検体成分を洗浄除去後、第二段階で、POD 標識 AT Ⅲ 抗体液は、TAT のフリーの AT Ⅲ と結合します。未反応の POD 標識 AT Ⅲ 抗体液を洗浄除去し、その後結合体の酵素活性を測定します。過酸化水素とクロモゲンの酵素反応は反応停止液によって停止し、その際に得られた呈色強度は TAT 濃度に比例し、光学的に測定されます。2 ~ 60µg/L の濃度範囲はキット内の TAT 標準血漿で測定されますが、それ以上の濃度の場合は、検体を正常血漿で希釈し測定ください。

【操作上の注意】

※1. 測定試料の性質・採取法

血漿を採取するために、クエン酸緩衝液またはクエン酸ナトリウム溶液 (0.11mol/L) 1 容に対し、静脈血 9 容を加え、泡立てないように慎重に攪拌します。直ちに 1500×g 以上で 15 分間以上遠心分離し、上清の血漿を採取します。

検体の安定性：

2 ~ 8℃	4 時間
15 ~ 25℃	4 時間
≤ -20℃	1 カ月

・保存検体は室温 (18 ~ 25℃) に戻してから使用ください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

溶血血漿、高脂血症患者血漿又はリウマトイド因子を含む血漿は、測定に影響を及ぼしません。EDTA 加血漿も使用できます。

【用法・用量 (操作法)】

1. 試薬の調製法

キットの包装に記載されている試薬ロット番号を用いて測定ください。異なるロット番号の試薬を組合せて使用しないでください。

(1) 洗浄液

濃縮洗浄液 15mL を精製水又は脱イオン水を用いて全量 300mL とし洗浄液とします (2 プレート用)。2 プレート分の量を必要としない場合は、対応する比率で洗浄液を準備ください。

(2) 標識抗体液

POD 標識 AT Ⅲ 抗体液 200µL を標識抗体希釈液 1 バイアル (11mL) に加え、穏かに混和し標識抗体液とします (1 テストプレート用)。

(3) TAT 標準血漿 1 ~ 4 及び TAT コントロール血漿

TAT 標準血漿 1 ~ 4 及び TAT コントロール血漿の各バイアルに精製水又は脱イオン水を 1mL ずつ加えて溶解します。TAT 標準血漿 1 ~ 4 は順に 2、6、20、60µg/L の TAT を含み、TAT コントロール血漿は、ラベルに表示された分量 (例：10 ± 2µg/L) の TAT を含みます。

測定前に、全ての試薬及び検体を 15 ~ 25℃ に戻してください。

基質緩衝液、クロモゲン溶液及び反応停止液は重金属イオンまたは酸化剤と一緒に使用しないでください (金属部品を含むピペットの使用は避けてください)。

大量のクロモゲンを調製する際にバイアル以外のガラス容器等を使用する場合は、ガラス容器をよく洗浄し、120℃ で乾燥させてから使用ください。

※2. 保存条件と安定性

未開封の試薬は 2 ~ 8℃ で保存した場合、ラベルに記載されている使用期限まで使用できます。

開封後・調製後の安定性は次の通りです。ただし、各バイアルに記載した使用期限内に使用ください。

構成試薬	保存条件	安定性
トロンビン抗体プレート (未使用のストリップ)	2~8℃ (乾燥剤を入れて密封バックで保存)	4週間
検体希釈液 POD標識ATⅢ抗体液 標識抗体希釈液	2~8℃ ≤-20℃	4週間 3ヶ月
標識抗体液	2~8℃	4週間
TAT標準血漿1,2,3,4 TATコントロール血漿	15~25℃ ≤-20℃	8時間 5週間
基質緩衝液	15~25℃	使用期限内
クロモゲン溶液	15~25℃ (遮光)	1時間
濃縮洗浄液	15~25℃	使用期限内

構成試薬	保存条件	安定性
洗浄液	2～8℃	1週間
反応停止液	15～25℃	使用期限内

※3. 必要な器具・器材・試料等

- ・ピストンタイプピペット：50μL、100μL、200μL
- ・BEPⅡ装置（試薬の自動分注、洗浄及び測定）、水浴（＋37℃、循環性）BEPⅡ装置を使用しない場合、以下の器具が必要です。
- ・洗浄器具：マイクロプレート・分注装置用（約0.3mLの吸引システム付）
- ・分光光度計：マイクロプレート用、波長492nm（490～500nm）

※4. 操作法

TAT標準血漿及びTATコントロール血漿及び検体はすべて2重測定を行ってください。毎回の測定毎に、標準血漿を用いて標準曲線を作成します。本法の正確性、精密性を保証するため検体の分注は全プレートで5分以内に完了ください(例：検体処理ステーション、マルチチャンネルピペット及びマイクロプレート用分注器の利用)。あるいは、未分注のマイクロプレートについては、5分後に新たに標準曲線を作成し測定してください。プレートを水浴へ移した時点がインキュベーション時間の開始点となります。

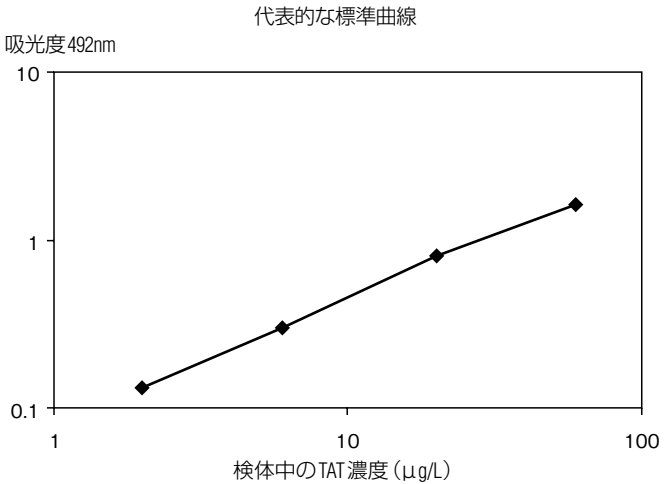
ピペッティング操作中に泡を立てないようにご注意ください。インキュベーション時間は、定められた時間内であれば自由に選択できますが、一連の測定は同一の時間で行ってください。

- (1)測定に必要な穴の数を決めます（各ストリップは8穴からなり、TAT標準血漿、TATコントロール血漿及び検体に各2穴必要です）。使用しないストリップはホルダーからはずし、プラスチック袋に乾燥剤とともに封入し、使用するまで2～8℃に保存します。
- (2)検体希釈液を50μLずつ各穴に加えます。
TAT標準血漿（1～4）、TATコントロール血漿及び検体をそれぞれ50μLずつ入れ、軽く振とうし、完全に混和します。
- (3)カバースीलでおおい、37℃で15±2分インキュベートします。
- (4)カバースीलを除き、各穴の反応液を吸引した後、洗浄液を約0.3mLずつ加え、再び吸引します。この洗浄操作をさらに2回繰り返した後、プレートを吸湿性の良い紙の上に軽く叩きつけ、残った洗浄液をすべて除去します。
- (5)標識抗体液を各穴に100μLずつ検体分注順に加えます。その際、穴の縁に液が付かないように注意してください。
- (6)新しいカバースीलでおおい、37℃で15±2分インキュベートします。
- (7)インキュベーション終了直前に基質緩衝液（温度15～25℃）10mLをクロモゲンの1バイアルに加え、振とうしながら溶解させ、クロモゲン溶液とします。
- (8)カバースीलを除き、各穴の反応液を吸引した後、(4)と同様に洗浄操作を3回繰り返します。プレートを吸湿性の良い紙の上に軽く叩きつけて残った洗浄液をすべて除去します。
- (9)直前に調製したクロモゲン溶液を各穴に100μLずつ加えます。
- (10)新しいカバースीलでおおい、遮光して（例えば、暗い引き出しの中など）15～25℃で30±2分間インキュベートします。
- (11)カバースीलを除き、反応停止液を各穴に100μLずつ加えます。このとき、反応時間が各穴ごとに差のないように、(9)でクロモゲンを分注したときと同様の順に加えます。
- (12)1時間以内に、492nm（490～500nm）における吸光度を測定します。

【測定結果の判定法】

※1. 測定結果の評価

吸光度の平均値を算出し、両対数グラフ用紙に標準曲線を描きます。



TAT濃度は、測定された吸光度から標準曲線を介して直接読み取れます。検体の吸光度が標準曲線の上限を超える場合は、希釈して再試験ください。

検体を希釈（例えば1：10）する場合には、TATが4μg/L未満の正常血漿を用いてください。希釈に用いた血漿のTAT濃度を考慮してTAT濃度を計算してください。

2. 内部精度管理

精度管理は、各測定ごとにキットに付属したTATコントロール血漿を用いて行ってください。コントロール血漿の値がコントロール物質の許容範囲を外れた場合には、検体の測定値を採用しないでください。

※※3. 基準範囲

クエン酸加血漿において

健康な成人（n＝196）：中央値＝1.5μg/L

基準範囲（2.5～97.5パーセンタイル）

＝1.0～4.1μg/L

基準範囲は、対象群、測定技術、測定法、測定装置及び使用した試薬ロットにより施設で異なります。各施設では、施設毎に基準範囲を設定するか、上述した条件の一つでも変更した際には変更事項を検証ください。

【臨床的意義】

プロトロンビンから活性トロンビンへの変換は、凝固カスケードの中でも鍵となる反応です。トロンビンは、様々な生理的基質（フィブリノゲン、プロテインC、血小板など）に作用し、アンチトロンビンⅢによって阻害されます。その結果、不活性なプロテアーゼ・インヒビター複合体が形成され、この複合体の濃度はエンザイムイムノアッセイ法により測定できます¹。

トロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体の測定の臨床的意義には、血栓形成の診断にあります。血栓症の素因を持つ人や播種性血管内血液凝固症候群(DIC)の患者では、TAT濃度が上昇していることが知られています^{2,3}。また、TATの測定は多重外傷性障害、肝機能障害、敗血症⁴及び子癇前症⁵のような患者群においても重要です。悪性疾患の患者では、疾患の進行に伴いTATの濃度が上昇することが知られています。ヘパリン及び線溶療法を受けている患者でもTAT濃度が上昇していることが知られています^{6,7}。

【性能】

1. 感度

TAT濃度2μg/Lにおける吸光度は0.25以下で、TAT濃度60 μg/Lにおける吸光度は1.20以上の値を示します。

2. 正確性

TAT濃度既知の管理用血漿を測定するとき、既知濃度の±20%以内にあります。

3. 同時再現性

濃度の異なる2種類の検体を各々3回同時に測定するとき、測定値のC.V.値は15%以下です。

4. その他のデータ

・測定範囲

2～60μg/L

・特異性

本品はヒトトロンビン・アンチトロンビンⅢ複合体に対し特異性があります。

・精密性及び再現性

2～60μg/Lの範囲における同時再現性は4～6%で、日差再現性は6～9%でした。

血漿中のTATの回収率は95～105%でした。

なお、「4. その他のデータ」に記載されたデータは、本品の代表的な結果を示しており、キットの仕様ではありません。

5. 較正用の基準物質（標準物質）

社内標準品

【使用上又は取扱い上の注意】

※1. 取扱い上（危険防止）の注意

・検体希釈液は、アジ化ナトリウム（＜0.1%）を含んでいますので、誤って飲み込んだり皮膚や粘膜に触れないようにしてください。もしも、皮膚に付着した場合は、多量の水で洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

・TAT標準血漿及びTATコントロール血漿の原料である供血は、体外診断薬に関するEU指令（In Vitro Diagnostic Directive in the EU）又はFDAにより承認された方法によって検査され、HIV-1、HIV-2、HBV及びHCVに対して、陰性であることが確認されています。しかし、これは、感染性物質が存在しないことを証明するものではありません。ヒトの血液を原料とする試料・試薬を取り扱う際は、感染の危険があるものとして取扱い上の注意を守り、皮膚に触れたり飲み込んだりしないでください。

・クロモゲン、クロモゲン溶液及び反応停止液は皮膚に触れないようにしてください。

・クロモゲンは2.45%のo-フェニレンジアミンジヒドロクロリドを含みます。海外（EUガイドライン）では、健康に有害な物質として分類されま

す。このガイドラインでの該当項目は以下のとおりです：発がん性について限定された報告がある。回復不能のリスクの可能性がある。皮膚接触により感作性を引き起こすおそれがある。水生生物に有害性がある。水生環境中では長期で悪影響を引き起こすおそれがある。適切な保護服及び手袋を着用のこと。

- ・TAT標準血漿S1からS4及びTATコントロール血漿は>0.0015%の5-クロロ-2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オン及び2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンを混合した物質を含みます。海外（EUガイドライン）では、刺激物質として分類されます。このガイドラインでの該当項目は以下のとおりです：皮膚接触により感作性を引き起こすおそれがある。適切な手袋を着用のこと
- ・検査実施中は防護手袋を着用ください。手袋及び付属品の互換性に関しては、メーカーの推奨に従ってください。

2. 使用上の注意

不適切な採血（例：検体とクエン酸溶液の不十分な混和）により TAT 濃度が偽高値を示すことがあります。

- ・試薬の注ぎ足しは行わないでください。

※3. 廃棄上の注意

- ・試料（検体）中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは適当な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。
- ・残った試薬や検体を廃棄する場合には、医療廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物又は産業廃棄物等区別して処理ください。
- ・検体希釈液は保存剤としてアジ化ナトリウム（<0.1%）を含んでいます。アジ化ナトリウムは、銅や鉛等の重金属と反応して爆発性のアジ化塩を形成することがありますので、廃棄の際はゆっくりと大量の水で洗い流してください。
- ・試薬類や廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃

2. 有効期間：(1)キットとしての有効期間 12 ヶ月（使用期限は外箱に表示）

(2)各構成試薬の有効期間（使用期限はラベルに表示）

トロンビン抗体プレート	12 ヶ月
POD 標識 AT Ⅲ 抗体液	12 ヶ月
基質緩衝液	24 ヶ月
クロモゲン	24 ヶ月
標識抗体希釈液	24 ヶ月
TAT 標準血漿 1	24 ヶ月
TAT 標準血漿 2	24 ヶ月
TAT 標準血漿 3	24 ヶ月
TAT 標準血漿 4	24 ヶ月
TAT コントロール血漿	24 ヶ月
検体希釈液	24 ヶ月
濃縮洗浄液	24 ヶ月
反応停止液	60 ヶ月

【包装単位】

192テスト

【主要文献】

1. Pelzer H, Schwarz A, Heimburger N. Determination of human thrombin-antithrombin III complex in plasma with an enzyme-linked immunosorbent assay. Thromb Haemost 1988; 59: 101-6.
2. Blanke H, Prätorius G, Leschke M, et al. Die Bedeutung des Thrombin-Antithrombin III Komplexes in der Diagnostik der Lungenembolie und der tiefen Venenthrombose - Vergleich mit Fibrinopeptid A, Plättchenfaktor 4 und b-Thromboglobulin. Klin Wochenschr 1987; 65: 757-63.
3. Hoek JA, Sturk A, ten Cate JW, et al. Laboratory and clinical evaluation of an assay of thrombin-antithrombin III complexes in plasma. Clin Chem 1988; 34: 2058-62.
4. Seitz R, Wolf M, Egbring R, Havemann K. The disturbance of hemostasis in septic shock: role of neutrophil elastase and thrombin, effects of antithrombin III and plasma substitution. Eur J Haematol 1989; 43: 22-8.
5. Kobayashi T, Terao T. Preeclampsia as chronic disseminated intravascular coagulation. Study of two parameters: thrombin-antithrombin III complex and D-dimers. Gynecol Obstet Invest 1987; 24: 170-8.
6. Gulba DC, Barthels M, Reil GH, Lichtlen PR. Thrombin/antithrombin-III complex level as early predictor of reocclusion after successful thrombolysis. Lancet 1988; 332: 97.
7. Seitz R, Blanke H, Prätorius G, et al. Increased thrombin activity during thrombolysis. Thromb Haemost 1988; 59: 541-2.

※【問い合わせ先】

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

カスタマーケアセンター

TEL : 03-3493-8400

製造販売元

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

※東京都品川区大崎 1-11-1
ゲートシティ大崎ウエストタワー

DL-114-031F
(OWMG G15 E0502)