

体外診断用医薬品

製造販売承認番号 16200EZY00439000

この電子添文をよく読んでから使用してください。

活性化部分トロンボプラスチン時間キット データファイ・APTT(FS)

ACTIN FS

【一般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
2. 診断の際には、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 電子添文以外の使用方法については保証をいたしかねます。
4. 測定に使用する機器の電子添文および取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【開発の経緯及び特徴】

活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) は、主に内因系凝固機序に関わる凝固因子の総合的なスクリーニングの検査法です。^{1),2)} 試薬には、血小板第3因子としてのリン脂質と、活性化物質としての陰性荷電体を含んでいます。APTTの延長の原因としては、Fitzgerald因子、Fletcher因子、X II、X I、X、IX、VIII、Vの各因子、プロトロンビン、およびフィブリノゲンの欠乏、低下、質的異常、または凝固阻害因子の出現や薬剤投与などが考えられます。従って、APTT測定により、これらの因子の欠乏、低下および阻害物質の存在を検査することができます。また、APTTがヘパリンの濃度に比例して延長することから、APTT測定は、ヘパリン療法のモニターとして広く用いられています。^{3)~6)}

APTT測定は、全血凝固時間に始まり、カルシウム再加時間、ついで、血小板第3因子としてのリン脂質を添加する部分トロンボプラスチン時間 (PTT) と発展してきました。最終的に、接触相の活性化を一定にするため、活性化物質を添加してできたのが、活性化部分トロンボプラスチン時間 (APTT) です。

データファイ・APTT (FS) は、大豆由来のリン脂質を使用しており、血液汚染による不純物や凝固因子を含んでおりません。また活性化剤としてエラジン酸を使用しており、光学式測定装置に適しています。手法、自動測定法のいずれにも使用できます。

【形状・構造等 (キットの構成)】

1. アクチン・FS
大豆由来セファリン
2. 塩化カルシウム0.02M

【使用目的】

血漿中 活性化部分トロンボプラスチン時間の測定

【測定原理】

0.11mol/Lクエン酸ナトリウム溶液添加血漿に大豆由来セファリンを加えることにより、活性化剤のエラジン酸が作用し、血漿中の接触系凝固因子 (第X I、X II因子等) が活性化されます。これらの活性化した因子が、カルシウムとリン脂質の存在下で、第IX、VIII、V、X因子を活性化し、プロトロンビンを活性型のトロンビンに変えます。トロンビンは可溶性のフィブリノゲンを不溶性のゲル状フィブリン塊に変えます。

APTT測定では検体血漿に塩化カルシウム液を添加してから、フィブリン塊を形成するまでの時間を測定します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法
 - (1) 本製品による測定には、血漿を使用してください。
 - (2) 抗凝固剤として0.11mol/Lクエン酸ナトリウム溶液を用いてください。なお、フッ素化物オキザレートは用いないでください。
 - (3) 患者から採取した新鮮血液9容に対し、0.11mol/Lクエン酸ナトリウム溶液を1容の割合で混合します。市販の抗凝固剤入り真空採血管も使用できますが、採血方法には十分留意してください。特殊な試験においては、シリンジ採血の方が好ましい場合があります。血液試料は採血後すぐに、室温で1500×gで15分以上遠心分離します。保存は室温で、閉栓した容器にて行ってください。遠心分離後ただちに試験を行う場合は、検体分画上清 (血漿) を分取する必要がありますが、そうでない場合には、血漿を分取して使用してください。血漿を取り出す際は、プラスチック製のピペットを使用

し、プラスチック製の容器に移してください。氷上で保存しないでください。ヘパリン治療を施していない血漿は、血液採取から4時間以内に検査してください。未分画ヘパリンを含む血漿は、血液採取後1時間以内に遠心分離し、室温で保存して4時間以内に検査してください。

乏血小板血漿は霜のつかない冷凍庫にて-20℃以下で2週間まで保存できます。

凍結血漿は37℃に融解して穏やかにかくはんし、ただちに検査してください。血漿は37℃で5分以上放置しないでください。測定試料の準備と保存に関する詳細な情報は、CLSI文書H21-A5を参照してください。⁷⁾

2. 妨害物質・妨害薬剤

- (1) APTT試験は接触因子活性化からフィブリン形成までの凝固反応全体を含むため、個別の試験と比較して様々な変動の影響をより多く受けます。したがって、APTT試験の管理と使用に際しては内在的な制約があります。
- (2) 血漿試料状態の管理は極めて重要です。冷蔵せずに保存した試料は、冷蔵した試料より早く分解されることが報告されています。血漿のpHが生理的条件下での値と乖離する可能性があるため、極端に少量の血漿を使用することは避けてください。このようなpHの変化は、血液凝固系の血漿成分の分解を促すことがあります。
- (3) 一般的に使用される多くの薬剤はAPTT測定に影響を与える可能性があります。ことに注意してください。男性の結合型エストロゲンや女性の経口避妊薬投与によるAPTTの短縮が報告されています。^{9),10)} ジフェニルヒダントイン、ヘパリン、ワーファリン、ナロキソン、X線造影剤投与によってAPTTの延長が見られます。^{11),12)} 治療に使用する量のヒルジンや他の直接トロンビンインヒビターによって凝固時間が延長する場合があります。¹³⁾ また、抗凝固剤の選択 (例えばクエン酸塩の代わりにシュウ酸塩を使用) や、試料の状態 (溶血、乳び、非経口的食療法等) によっては、それらが測定値に影響を与える可能性があります。^{6),14),15)} 後者の要因は特に光学的測定装置において顕著です。
- (4) 血液凝固因子の欠乏は凝固時間を延長させますが、他の凝固因子の活性レベルの上昇により補われ、正常な凝固時間を示す場合があります。同様に、凝固時間を短縮させる傾向のある活性仲介物質により、通常であればAPTTの延長を促すような状態が隠される場合があります。複数の因子の微量な欠乏は、APTTの延長に加算的な影響をもたらす可能性があります。通常と異なる結果、または予期しない異常な結果が得られた場合は、更なる凝固検査を実施することで原因を調査してください。
- (5) 抗凝固剤としてのヘパリンの作用は、血漿補因子とともに凝固機序のさまざまな局面を阻害し、フィブリン形成を遅延させます。
- (6) グリコペプチド系抗菌薬 (例: oritavancinやtelevancin) がAPTT測定に影響を与えることがあります。各薬剤の電子添文をご参照ください。

3. その他

- (1) APTTをヘパリン治療のモニタリングに使用する際は、検査に影響を及ぼす可能性のある要因に注意してください。一般的に考慮される事項は以下のとおりです。
 - ・未分画ヘパリンの生体内での半減期は約1.5時間と短いため、血液試料採取の時間は重要です。⁹⁾ ヘパリンを投与するとただちに抗凝固作用を示しますが、その作用は時間とともに急速に低下します。このことは断続的な単回静脈内注射において顕著です。
 - ・抗凝固剤の使用により測定結果が変わる可能性があります。

- ・ α 顆粒中のヘパリン中和剤である血小板因子第4因子は、血小板の凝集および崩壊により放出されます。これを回避するために、検体採取の際の外傷は最小限におさえてください。低温では血小板凝集が起こりやすく、血小板因子第4因子の放出を促しますので、検体は室温で速く分離することをお勧めします。
- ・APTTによる未分画ヘパリン治療のモニタリングは時間に依存します。検査の遅延はAPTT値を延長させますので、すべての検体は可能な限りすぐに検査してください。
- ・ヘパリンを含む血漿において、接触因子活性化時間の増加はAPTTの延長を促す可能性があります。本試薬と血漿の混合物の最適な加温時間は厳密に守ってください。⁸⁾
- ・異なる検査方法(手法、光学法など)は、異なるヘパリン感受性を生じます。検査方法の混用は避けてください。
- ・各施設が定めた正常範囲を基準にして、それぞれの患者のAPTT値を評価してください。治療開始前に、各患者のAPTTのベースラインデータを設定してください。
- ・異なる原料や製品から由来する未分画ヘパリンの効果の初期予測は変わることが報告されています。生体内での反応は、投与するヘパリンの種類や患者の代謝作用、共投与する他の薬剤によって変わる可能性があります。^{5),6)}
- ・APTT値は測定手技、測定方法、測定装置、測定試薬ロットおよび使用するヘパリンによって施設間で異なります。したがって、それぞれの施設は実施する測定方法にしたがって治療域を設定してください。また、前述の測定条件を変更した場合には治療域を検証してください。このとき、ヘパリン治療を施されている患者検体のAPTT値とヘパリン濃度を同時に決める必要があります。回帰分析を用いたデータから薬剤反応曲線を算出し、ヘパリン濃度0.3～0.7U/mL(第Xa因子阻害検査にて測定時)に対応するAPTTの範囲を求めてください。^{4)~6)}

【用法・用量(操作方法)】

1. 試薬の調整および保存

本製品を使用前に穏やかに転倒混和(5～8回)してください。

開栓後の安定性(密栓保存)

2～15℃ 7日間

※血漿の混入は避けてください。

2. 測定(操作)方法(手法)※1

(1) 検体 100 μ L と予め 37℃ で 1 分間加温した試液 100 μ L を小試験管に取り、37℃ で 2 分間加温します。

(2) (1) の混合液に予め 37℃ に加温した塩化カルシウム溶液 100 μ L を混合してから検体が凝固するまでの時間を測定します。APTT 測定の結果は凝固時間(秒)で報告されます。

※5分以上加温するとV因子およびⅧ因子の失活を招くおそれがあるため推奨できません。

それぞれの施設は使用する測定方法に従い加温時間を決定する必要があります。

※1 血液凝固分析装置で測定する場合は、機器の取扱説明書の操作法に従って測定してください。

3. 結果の評価

APTT検査の結果は凝固時間(秒)で報告し、その結果はそれぞれの施設でのAPTT検査の正常範囲と関連しています。患者検体の測定値は正常範囲と合わせて臨床医に報告することをお勧めします。精度管理物質の測定値は、正常範囲の代わりに使用しないでください。APTT値を、正常範囲の上限のみと合わせて報告することは、誤った解釈を導く可能性があります。APTT値の短縮もまた、患者の凝固系における何らかの異常な状態を示している場合があります。

【測定結果の判定法】

基準範囲は、測定する検体の母集団や測定手技、測定方法、測定装置、および測定試薬ロットにより施設間で異なりますので、それぞれの施設は実施する測定方法にしたがって正常範囲を設定してください。また、前述の測定条件を変更した場合には基準範囲を検証してください。

参考基準範囲：27～42秒¹⁸⁾

小児集団のような他の母集団における基準範囲も設定してください。

※CLSI文書C28-A2(H-47-A)において、パラメトリック手法(平均 $\pm$ 2SD)の適用が記述されていますが、この手法における仮定(ガウス正規分布)を確認する必要があります。^{16),17)}

【性能】

1. 性能

(1) 感度

①正常血漿を試料とした場合、凝固時間は、23.0～35.0秒です。

②正常血漿を生理食塩水で4倍に希釈したものを試料とした場合、凝固時間は、60秒以上です。

(2) 正確性

①正常管理用血漿を試料とした場合、凝固時間は、24～34秒です。

②異常管理用血漿を試料とした場合、凝固時間は、45～95秒です。

(3) 同時再現性

正常域および異常域の同一血漿を各々5回同時測定した場合、凝固時間の変動係数(C.V.)は、15%以下です。

(4) 測定範囲(例示)

特に定めません。

※正常血漿、正常管理用血漿および正常域レベルの試料：正常ヒトプール血漿より製します。

異常管理用血漿および異常域レベルの試料：因子吸着ヒトプール血漿又は希釈ヒトプール血漿より製します。

2. 相関性試験成績

市販品との相関性試験(n=61)により、下記のような結果が得られています。

相関係数 r=0.928 一回帰式 Y=1.24X-1.9

3. 校正用の基準物質(標準物質)

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(危険防止)の注意

(1) 感染因子が完全に無いことは決して証明できませんので、人の血液由来のすべての試料(患者の血漿など)や製品(コントロール血漿など)は、十分注意して取り扱ってください。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、また、口によるビペッティングを行わないでください。

(2) 試薬が目や口に入った場合には、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) 開封後は、細菌の汚染に注意してください。細菌汚染されたものは使用しないでください。

(2) 開封後はできるだけ速やかに使用してください。

(3) 期限切れの試薬は、使用しないでください。

(4) 試薬は2～8℃に保存し、凍結しないでください。

(5) まれに緑色の析出物が発生することがあります。これはエラジン酸とリン脂質が複合したものであり、かくはんすることにより消失しますので品質に問題はありません。発生した場合は使用前によく転倒かくはんを行ってから使用してください。

(6) すべての試薬は、使用前に室温(15～30℃)に戻してから使用してください。

(7) 測定器具は、清浄なものを正しく使用してください。

(8) 試薬をつぎ足して使用しないでください。

(9) 試薬は、気泡を生じないように、ていねいに扱ってください。気泡が生じると測定が正常に行われなことがあります。

(10) 誤って凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがあるので使用しないでください。

(11) 検量線は、測定装置や試薬ロットの変更時、あるいは測定条件に何らかの変更があった時に再度作成してください。

3. 廃棄上の注意

(1) 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)による消毒処理あるいはオートクレーブ(121℃,20分以上)による滅菌処理を行ってください。

(2) 使用後の容器は、熱却処理するか、廃棄する場合には、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してください。

(3) 試薬の容器、付属品等は他の目的に転用しないでください。

4. その他の注意

内部精度管理

正常域：血液凝固試験用コントロール血漿N、デイド サイトロール レベル1

異常域：血液凝固試験用コントロール血漿P、デイド サイトロール レベル2、デイド サイトロール レベル3

内部精度管理は、2濃度の精度管理物質(正常域・異常域)の測定を測定開始時、試薬バイアルの変更時、およびルーチン測定の少なくとも8時間ごとに実施してください。精度管理物質は検体と同様に取り扱って測定を行ってください。各施設で精度管理限界域を決定してください。この範囲は通常、精度管理物質の測定値の平均値 $\pm$ 2SD～2.5SDの範囲に基づいて決定します。精度管理物質の測定値が決定した精度管理域を外れた場合は装置、試薬、精度管理物質に問題がないかを確認してください。また、患者検体の測定値を報告する前に、その原因を特定し是正するまでの措置を文書化することをお勧めします。試薬や精度管理物質のロット変更時には新しい精度管理域を設定してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：2～8℃(禁凍結)

有効期間：24ヵ月(使用期限は外箱に表示)

【包装単位】

製品コード	製品	包装
GAF-200A	データファイ・APTT (FS)	2mL×10
GMZ-310	20mM塩化カルシウム	25mL×6
0.02M塩化カルシウム液 (DADE用)		10mL×10 (別売)

【主要文献】

1. Kamal AH, Tefferi A, Pruthi RK. How to interpret and pursue an abnormal prothrombin time, activated partial thromboplastin time, and bleeding time in adults. Mayo Clin Proc 2007; 82: 864-73.

2. Leung LLK. Perioperative evaluation of bleeding diathesis. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2006; 457-61.

3. Eikelboom JW, Hirsh J. Monitoring unfractionated heparin with the aPTT: Time for a fresh look. Thromb Haemost 2006; 96: 547-52

4. Bates SM, Johnston M, Hirsh J, Ginsberg JS. Use of a fixed activated partial thromboplastin time ratio to establish a therapeutic range for unfractionated heparin. Arch Intern Med 2001; 161: 385-91.

5. Hirsh J, Raschke R. Heparin and low-molecular-weight heparin. The seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. Chest 2004; 126: 188S-203S.

6. Olson JD, Arkin CF, Brandt JT, et al. College of American Pathologists Conference XXXI on laboratory monitoring of anticoagulant therapy: laboratory monitoring of unfractionated heparin therapy. Arch Pathol Lab Med. 1998; 122: 782-98

7. CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline—Fifth Edition. CLSI document H21-A5 (ISBN 1-56238-657-3). CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 1908781898 USA, 2008.

8. Hattersley PG, Hayse D. The effect of increased contact activation time on the activated partial thromboplastin time. Am J Clin Pathol 1976; 66: 479-82.

9. Ambrus JL, Schimert G, Lajos TZ, et al. Effect of antifibrinolytic agents and estrogens on blood loss and blood coagulation factors during open heart surgery. J Med 1971; 2: 65-81.

10. Prasad RN, Koh SC, Viegas OA, Ratnam SS. Effects on hemostasis after two-year use of low dose combined oral contraceptives with gestodene or levonorgestrel. Clin Appl Thromb Hemost 1999; 51: 60-70.

11. Solomon GE, Hilgartner MW, Kutt H. Coagulation defects caused by diphenylhydantoin. Neurology 1972; 22: 1165-71.

12. Young DS, ed. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests, 5th ed. Washington: AACC Press, 2000.

13. Greinacher A, Warkentin TE. The direct thrombin inhibitor hirudin. Thromb Haemost 2008; 99: 819-29.

14. Soloway HB, Cox SP, Donahoo JV. Sensitivity of the activated partial thromboplastin time to heparin: effect of anticoagulant used for sample collection. Am J Clin Pathol 1973; 59: 760-2.

15. Lippi G, Franchini M, Montagnana M et al. Quality and reliability of routine coagulation testing: can we trust that sample? Blood Coag Fibrinol 2006; 17: 513-9.

16. CLSI. One-Stage Prothrombin Time (PT) Test and Activated Partial Thromboplastin Time (APTT) Test; Approved Guideline. CLSI document H47-A [ISBN 1-56238-301-9]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 1996.

17. CLSI. How to Define and Determine Reference Intervals in the Clinical Laboratory; Approved Guideline - Second Edition. CLSI document C28-A2 [ISBN 1-56238-406-6]. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898, USA, 2000.

18. 社内資料 Scientific Tools 参考基準範囲

【問い合わせ先】

シスメックス株式会社 カスタマーサポートセンター
神戸市西区室谷1丁目3番地の2 〒651-2241
TEL 0120-413-034

**【製造販売元】

シスメックス株式会社
神戸市西区高塚台4丁目4番地の4 〒651-2271
TEL 078-991-1911

	再使用禁止		体外診断用の専用製品
	使用期限		保存温度
	ロット番号		添付の文書参照
	カタログ番号		非滅菌処理
	注意、使用に際しては説明書参照		CEマーク
	製造販売元		内容
	欧州代理人		溶解量
	テスト数		レベル