

この電子添文をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

製造販売承認番号 30800EZ00017000

ADAMTS13キット

HISCL™ ADAMTS13活性試薬

【全般的な注意】

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. 各試薬の電子添文、測定に使用する装置の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。
5. HISCL ADAMTS13 C0～C5 (HISCL ADAMTS13キャリブプレート) は、原料の一部にヒト血漿を用いています。HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体及びHIV-2抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、感染の可能性を完全に否定できるものではありません。また、それ以外のウイルスに関する検査はしていません。感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分に注意をして取扱いをしてください。
6. 本品は、医療従事者や適切な訓練を受けた人が使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

本キットは、次の試薬により構成されています。

1. HISCL ADAMTS13 R1試薬（以下、R1試薬）
ビオチン結合VWF73
2. HISCL ADAMTS13 R1試薬溶解液（以下、R1試薬溶解液）
3. HISCL ADAMTS13 R2試薬（以下、R2試薬）
4. HISCL ADAMTS13 R3試薬（以下、R3試薬）
ALP標識抗N10モノクローナル抗体（マウス）
5. HISCL 発光基質セット
(1) HISCL R4試薬（以下、R4試薬）
(2) HISCL R5試薬（以下、R5試薬）
CDP-*Star*TM
6. HISCL 洗浄液（以下、洗浄液）
7. HISCL ADAMTS13キャリブプレート（以下、キャリブプレート）
(1) HISCL ADAMTS13 C0
(2) HISCL ADAMTS13 C1
(3) HISCL ADAMTS13 C2
(4) HISCL ADAMTS13 C3
(5) HISCL ADAMTS13 C4
(6) HISCL ADAMTS13 C5
8. HISCL ADAMTS13検体希釈液（以下、検体希釈液）
VWF：von Willebrand 因子
ALP：アルカリホスファターゼ
CDP-*Star*TM： Disodium 2-chloro-5-(4-methoxyspiro[1,2-dioxetane
3,2'- (5'-chloro)-tricyclo[3.3.1.1^{3,7}]decan}-4-yl)-1-phen
phosphate

【使用目的】

血漿中のADAMTS13活性の測定（血栓性血小板減少性紫斑病（TTP）の診断補助）

【測定原理】

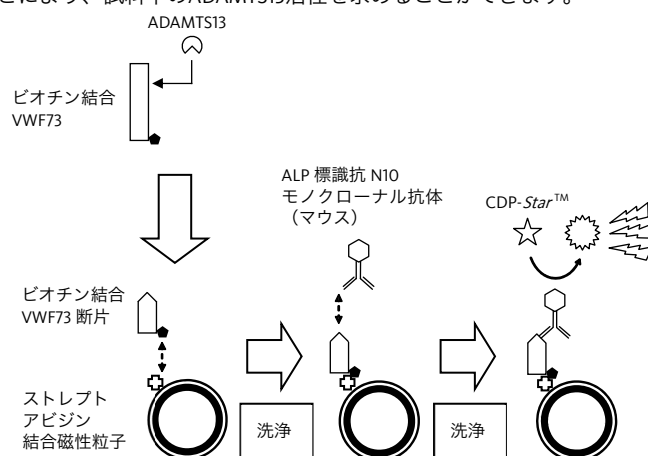
本法は、2ステップサンドイッチ法を用いた化学発光酵素免疫測定法です。

1. R1試薬中のビオチン結合VWF73が試料中のADAMTS13によって特異的に切断され、次いでR2試薬中のストレプトアビジン結合磁性粒子に結合します。
2. 未反応液を除去後、R3試薬を添加すると、ALP標識抗N10モノクローナル抗体が結合し、ALP活性が検出されます。

クローナル抗体（マウス）が磁性粒子上のADAMTS13により切断されたVWF73断片と特異的に反応します。

3. 未反応液を除去後、R4試薬及びR5試薬を添加すると、発光基質CDP-*Star*TMが磁性粒子上のALPにより分解され、生じた発光の強度を測定します。

試料中のADAMTS13活性に応じて発光強度が増加しますので、あらかじめ既知濃度のADAMTS13活性を有するキャリブレーション(HISCL ADAMTS13 C0~C5)を測定して検量線を作成しておくことにより、試料中のADAMTS13活性を求めることができます。



【操作上の注意】

測定試料の性質，採取法

1. 検査に用いる血液は抗凝固剤3.2 %クエン酸ナトリウム1容量に対して新鮮静脈血9容量の割合で採血し、1,500 × gで15分間遠心します。
2. 可能な限り新鮮な検体を使用してください。検体は18～25 °Cで保管し、5時間以内に測定してください。測定値に影響を及ぼす恐れがあるため、検体は2～8 °Cで保存しないでください。
3. 検体の長期保存が必要な場合は-20 °C以下で3カ月間保存可能です。ただし凍結融解は2回以内としてください。保存された検体は測定前によく混合等してください。なお、凍結検体を使用する場合、検体を37 °Cで融解し、目視による融解確認の後に、10回転倒混和するか、低速のボルテックスミキサーを用いて十分に混和した上で測定してください。
4. 凍結融解を繰り返した際にクロットが発生する場合があります。そのような検体は測定に使用しないでください。
5. 検体を保存する際は、サンプルカップは使用せず、必ず密閉できる容器を用いてください。
6. 赤血球などの有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体では測定値に影響を与える可能性があります。正しい結果が得られるように、これらの成分を遠心などにより除去して使用してください。
7. 検体間での汚染が生じぬよう検体の取扱いには注意してください。
8. 同一患者で経時的に測定する際には同じ種類の採血管を使用してください。

9. 検体に気泡が発生している場合、検体吸引が正常に行われない場合があるため、必ず気泡を取り除いてから測定してください。

妨害物質・妨害薬剤

1. 下表に示す物質が本品の測定に与える影響を確認したところ、記載の濃度以下では測定結果に影響を与えませんでした。

物質	濃度
ヘモグロビン	200 mg/dL
ビリルビンF	50 mg/dL
ビリルビンC	50 mg/dL
トリグリセリド	500 mg/dL
アスコルビン酸	250 mg/dL
RF	500 IU/mL
VWF	200 IU/dL
ピオチン（ビタミンB ₁₂ ）	80 ng/mL

2. 下表に示す薬剤が本品の測定に与える影響を確認したところ、記載の濃度以下では測定結果に影響を与えませんでした。

薬剤	濃度
未分画ヘパリン	2 IU/mL

3. ヒトマウス特異抗体(HAMA)及び低分子ヘパリンが含まれる検体は、測定値に影響を与えることがあります。

その他

1. 本品は「全自動血液凝固測定装置CN-6500」（シスメックス株式会社）、「全自動血液凝固測定装置CN-3500」（シスメックス株式会社）の専用試薬であり、他の装置には使用できません。
2. 必ず本電子添文で指定された試薬（R1～R5試薬・キャリブレータ・検体希釈液・洗浄液等）を使用してください。
3. R1～R3試薬容器は、後述の測定（操作）法に従って正しく組み立ててから使用してください。組立が不完全な場合、装置のエラーや試薬の蒸発が起こり、正しく測定が行えない恐れがあります。
4. 体液中に広く含まれるアルカリホスファターゼの試薬及び検体への混入を防ぐため、試薬容器口部への手指の接触や唾液の飛散等に注意して取り扱ってください。
5. R5試薬はアルカリ性であり、空気中の二酸化炭素によるpH変動を避けるため、セット後は交換時まで取り外さないでください。
6. 試料をサンプルカップ等に分注する場合は、蒸発の影響を考慮して350 µL以上分注してください。なお、最低分注量については、各装置の取扱説明書をご確認ください。
7. R1試薬に含まれるピオチン結合VWF73は作業環境あるいは体液中に存在するプロテアーゼ等の混入に対して不安定であるため、清潔な手袋を着用の上、試薬を取り扱ってください。

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

R1試薬はR1試薬溶解液にて溶解し使用してください。その他の各構成試薬は調製済みですので、そのまま使用してください。R1試薬については、本キットに同梱されているHISCLADAMTS13 R1試薬調製手順書をよく読んでから調製してください。

必要な器具・器材・試料等

- ・マイクロピペット、サンプリングチップ及びサンプルカップ
- ・CN-6500又はCN-3500
- ・消耗品（反応キュベット等）

測定（操作）法

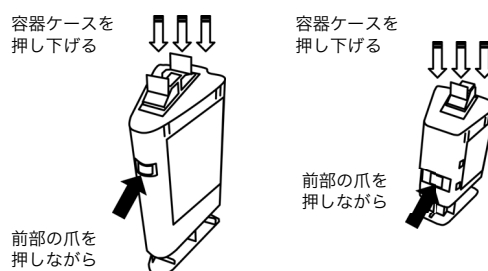
1. 準備

- (1) R1試薬及びR1試薬溶解液を常温（15～25 °C）に戻し、R1試薬に漏斗等でR1試薬溶解液を全量加え、10分間静置した後、緩やかに転倒混和し溶解してください。

- (2) R3試薬容器のR1試薬部スライドキャップをスライドさせて開口し、試薬箱に同梱された漏斗を挿入してアルミシールを破り、(1)で調製したR1試薬液を注入してください。その後、スライドキャップをスライドさせて開口部を閉じてください。
- (3) R2試薬容器を取り出し、気泡が生じないようにゆるやかに手振りかくはんし、磁性粒子が分散されたことを目視で確認してください（転倒混和は避けてください）。



- (4) 初回のみ、試薬容器前部の爪を押しながら容器ケースを完全に押し下げてください（アルミシールが破れて開栓されます）。



- (5) 使用する装置の取扱説明書に従い、試薬容器を装置にセットしてください。

2. 標準操作法^{※1}

- (1) 反応キュベットにR1試薬120 µLと試料10 µLを分注し、42 °Cで3分間反応させます。
- (2) R2試薬30 µLを分注し、42 °Cで2分間反応させた後、磁気分離（反応キュベットに磁石を近づけ、液体部分を吸引除去）します。
- (3) 洗浄液200～900 µLの分注と磁気分離を組み合わせ洗浄します。この操作を計4回行います。
- (4) R3試薬100 µLを分注し、42 °Cで3.5分間反応させた後、磁気分離します。
- (5) 洗浄液200～900 µLの分注と磁気分離を組み合わせ洗浄します。この操作を計4回行います。
- (6) R4試薬50 µLを分注して混合かくはんした後、R5試薬100 µLを分注して混合かくはんし、42 °Cで5.5分間反応させ、発光強度を測定します。

3. 検量線の作成

- (1) HISCL ADAMTS13 C0～C5のそれぞれにピペット等で計量した1 mLの精製水を加え、泡立たないように緩やかにかくはんして10分静置した後、泡立たないように緩やかに転倒混和して溶解し、使用する装置の取扱説明書に従ってセットします。
- (2) 2.標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- (3) 各キャリブレータの発光強度を縦軸に、活性値を横軸にとり、検量線を作成します。^{※1}
検量線作成後は、精度管理を行ってください。

4. 検体の測定

- (1) 使用する装置の取扱説明書に従って検体をセットします。
- (2) 2.標準操作法に準じて測定を行い、発光強度を測定します。
- (3) 発光強度を検量線に当てはめ、検体中のADAMTS13活性を求めます。^{※1}

※1：装置ではこれらの操作を自動で行います。

5. インヒビター力価の測定

- (1) 検体及びコントロール^{※2}としてヒト正常血漿^{※3}を56℃で30分間インキュベーション（非働化）します。
- (2) (1)で非働化した検体及びコントロール^{※2}を遠心分離（例：8,000×g、2分間）し、上清を全量分取します。
- (3) (2)で分取した非働化した検体の上清については、検体希釈液を用いて希釈系列（2、5、10倍など）を調製します。
- (4) 上記(2)及び(3)で調製した各試料（非働化した検体の上清及びその希釈系列、コントロール^{※2}）とヒト正常血漿^{※3}を等量混合し、それぞれ37℃で60分間インキュベーションします。
- (5) 上記(4)の各試料を4.検体の測定に従い、ADAMTS13活性を算出します。
- (6) コントロール^{※2}を対照に残存活性率を算出し、残存活性率が25～75%となる希釈倍率の結果からインヒビター力価を算出します。このとき、複数の希釈系列の結果から残存活性率が最も50%に近い希釈系列の結果をインヒビター力価の値とします。

なお、インヒビター力価の算出には以下の式を用います。

残存活性率(%)=

検体の測定値 ÷ コントロール^{※2}の測定値 × 100

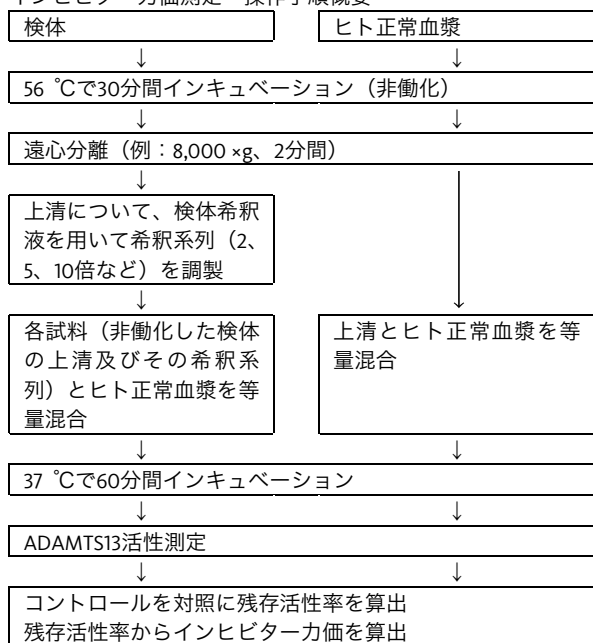
インヒビター力価(BU/mL) =

(2-Log[残存活性率]) ÷ 0.30103 × 希釈倍率

※2：ヒト正常血漿を56℃で30分反応させた非働化血漿をインヒビター力価のコントロールとします。

※3：ヒト正常血漿は健康人のクエン酸血漿をプールしたものを using してください。

インヒビター力価測定 操作手順概要



【測定結果の判定法】

健康人の参考基準範囲

健康人129例を試料として検討した結果、健康人の参考基準範囲は63.58 IU/dL以上（63.58%以上、0.6358 IU/mL以上）でした。

判定基準

1. TTP
ADAMTS13活性 10.00 IU/dL(10.00%、0.1000 IU/mL)未満⁽¹⁾⁽²⁾
2. 後天性TTP
インヒビター力価 0.5 BU/mL以上⁽³⁾

判定上の注意

1. ADAMTS13インヒビター力価の陰性判定は必ずしも容易ではありません。一般的には0.5 BU/mL未満を陰性とします。（0.5 BU/mL以上1.0 BU/mL未満の場合については評価が困難なことがあります。1.0 BU/mL以上については明確な陽性と判断されます。）
2. 先天性TTPの診断は経時的なADAMTS13活性の確認や両親のADAMTS13検査などを参考に行いますが、確定診断にはADAMTS13遺伝子解析が必要になります。また、先天性TTP患者の両親はヘテロ接合体異常であることから、ADAMTS13活性は30.00～50.00 IU/dL(30.00～50.00%、0.3000～0.5000 IU/mL)を示す場合が多いです⁽⁴⁾⁽⁵⁾。
3. 臨床的にTTPが強く疑われるにもかかわらずADAMTS13活性が著減していない症例は、現状ではその病態が明らかではありませんが、TTPと同様に直ちに血漿交換などの治療が必要になる症例が存在するので、注意してください⁽²⁾。
4. インヒビターが陰性であっても、自己抗体が存在し後天性TTPである場合があるので、注意してください⁽²⁾。
5. 参考基準範囲は様々な要因により変動する可能性があるため、あらかじめ施設で設定することが望まれます。なお、ADAMTS13活性は性差や年齢差が報告されています⁽⁶⁾。
 - ・男性は女性よりわずかに低値を示します。
 - ・加齢により低下します。特に60歳以降では顕著な低下が見られます。
6. 本試薬は検体の希釈測定はできません。測定結果が測定範囲上限を超えた場合は、測定上限以上として扱ってください。
7. 免疫反応を用いた測定を行う場合、非特異反応が起こり得ますので診断は他の検査や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。

【性能】

性能

1. 感度
 - (1) HISCL ADAMTS13 C0を試料として測定するとき、発光強度は200,000カウント^{※4}以下です。
 - (2) ADAMTS13活性0.00 IU/dL及び10.00 IU/dLに対応する発光強度を検量線から読み取るとき、10.00 IU/dLと0.00 IU/dLの発光強度の比率が18.3以上です。
2. 正確性
ADAMTS13低値管理用試料^{※5}、ADAMTS13中値管理用試料^{※5}及びADAMTS13高値管理用試料^{※5}を試料として3回測定するとき、測定値はそれぞれ既知活性値の100±25%の範囲内です。
3. 同時再現性
ADAMTS13低値管理用試料、ADAMTS13中値管理用試料及びADAMTS13高値管理用試料をそれぞれ5回同時に測定するとき、測定値のCVは10%未満です。
4. 測定範囲
0.50～120.00 IU/dL(0.50～120.00%、0.0050～1.2000 IU/mL)

※4：カウント：HISCL専用装置の発光強度の単位

※5：管理用試料：

ここで用いる低値管理用試料、中値管理用試料、高値管理用試料はヒト正常血漿を非働化ヒト正常血漿で希釈調製したプール血漿です。

ADAMTS13低値管理用試料 5.00～8.00 IU/dL

ADAMTS13中値管理用試料 20.00～30.00 IU/dL

ADAMTS13高値管理用試料 70.00～90.00 IU/dL

ADAMTS13活性における相関性（一致率）

72例について、既存のELISA法との相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。

相関係数 $r = 0.927$

回帰式 $y = 1.12x - 0.01$

y:本品、x:既存製品

また、100例について、既存のELISA法との一致率を検討した結果、以下に示す成績が得られました。

		ELISA	
		陽性	陰性
本法	陽性	35	0
	陰性	0	65

全体一致率100%（100例/100例）

陽性一致率100%（35例/35例）

陰性一致率100%（65例/65例）

インヒビター力価における相関性（一致率）

30例について、既存のELISA法との相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。

相関係数 $r = 0.943$

回帰式 $y = 1.48x - 0.53$

y:本品、x:既存製品

また、100例について、既存のELISA法との一致率を検討した結果、以下に示す成績が得られました。

		ELISA	
		陽性	陰性
本法	陽性	30	0
	陰性	2	68

全体一致率98.0%（98例/100例）

陽性一致率93.8%（30例/32例）

陰性一致率100.0%（68例/68例）

較正用基準物質に関する情報

WHO Standard

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

- 検体はHBV, HCV, HIV等による感染の恐れがあるものとして、取扱いには厳重な注意をしてください。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、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。院内感染対策マニュアル等がある場合はその指示に従ってください。
- 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、マスク等を着用してください。
- 感染を避けるために口によるピペティングを行わないでください。
- R1試薬溶解液、溶解後のR1試薬、R2～R4試薬および検体希釈液には、アジ化ナトリウムが含有されていますが、法的には毒物として取り扱われません。また、R5試薬はアルカリ性（pH9.6）です。これらの試薬が誤って目や口に入ったり皮膚に付着したりした場合は、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。
- 瓶はワレモノです。取り扱い中にヒビが入ったり、割れたりする恐れがありますので、特に開栓時にはご注意ください。

使用上の注意

- 各試薬は、気泡が生じないように、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るかもしれません。この場合には、気泡が消えるのを待ってからご使用ください。
- Lot No.が異なるR1～R3試薬を組み合わせ使用しないでください。また、Lot No.が同じであっても試薬をつぎ足して使用しないでください。使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。開封後の有効期間は60日です。

- R1～R3試薬を装置から取り出した場合は2～8℃で保存してください。R1～R3試薬を装置から取り出して保存する場合は、蒸発やコンタミネーション等を防ぐため、開閉口を閉めた状態で倒れないように保存してください。その場合、試薬容器が立てた状態を保つためにも、もとのボックス及びトレイ中で保存することを推奨します。なお、装置から取り出した試薬容器が立てた状態で保存されなかった場合、この試薬キットは廃棄してください。試薬容器を装置から取り出す方法については使用する装置の取扱説明書を参照してください。装置に戻す場合はR2試薬容器を【用法・用量（操作方法）】に従ってかくはんしてからセットしてください。
- 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りますので使用しないでください。
- 各キャリブレーション及びコントロールは必要量を分注した後、速やかにふたをして常温（15～25℃）もしくは-20℃以下で凍結して保存してください。放置したままですと蒸発等の影響で濃度変化が起こり、キャリブレーションまたは精度管理が正常に行えなくなります。各キャリブレーション及びコントロールは15～25℃で5時間、-20℃以下で3カ月間保存可能です。また、凍結融解は1回以内としてください。凍結融解する場合には検体と同様の方法で融解してください。
- 検量線の有効期間は作成から60日です。ただし期間内でも、以下の場合には作成し直してください。
 - 新しいLot No.のR1～R3試薬を使用する場合
 - 精度管理で異常が生じた場合
 - 装置の取扱説明書に記載されている特定のメンテナンス・修理を実施した場合
- 新しいLot No.のR4/R5試薬を使用する場合は、検量線を補正するか、もしくは検量線を作成し直してください。
- 汚染された消耗品（サンプルカップ、反応キュベット等）を使用した場合、正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。

廃棄上の注意

- 試薬及び容器等を廃棄する場合は、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。
- アジ化ナトリウムは、鉛、銅などと反応して爆発性の化合物を生成する危険性がありますので、廃棄の際には、大量の水と共に流してください。
- 廃棄にあたっては水質汚濁防止法等の規制及び各都道府県の条例等に留意して処理してください。
- 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従ってください。
- 検体に接触した器具を滅菌する場合は、次のいずれかの方法で処理してください。
 - 0.05%ホルマリン溶液に37℃、72時間以上浸す。
 - 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸す。
 - 次亜塩素酸ナトリウムを0.1%以上含む溶液に1時間以上浸す。
 - 121℃で少なくとも1時間以上オートクレーブにかける。
- 検体、廃液等が飛散した場合は、2%グルタルアルデヒド溶液、又は次亜塩素酸ナトリウムを0.1%以上含む溶液等によるふき取りと消毒を行ってください。

その他の注意

- 定期的な精度管理を実施してください。
- 試薬の容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

HISCL 洗浄液：2～30℃で保存
上記以外の構成試薬：2～8℃で保存

2. 有効期間

HISCL 発光基質セット、HISCL 洗浄液：12カ月
上記以外の構成試薬：12カ月
(使用期限は、外箱に表示しています。)

【包装単位】

製品名	構成試薬名	包装
HISCL ADAMTS13活性試薬 50テスト	HISCL ADAMTS13 R1試薬	7.5 mL分 × 1
	HISCL ADAMTS13 R1試薬溶解液	7.5 mL × 1
	HISCL ADAMTS13 R2試薬	1.5 mL × 1
	HISCL ADAMTS13 R3試薬	5 mL × 1
HISCL ADAMTS13 キャリブレーション※6	HISCL ADAMTS13 C0～C5	6濃度 1 mL分 × 1
HISCL ADAMTS13 検体希釈液※6	HISCL ADAMTS13 検体希釈液	7.5 mL × 2
HISCL 発光基質セット※6	HISCL R4試薬	40 mL × 1
	HISCL R5試薬	70 mL × 1
HISCL 洗浄液※6	HISCL 洗浄液	2 L × 2

関連製品

製品名	構成試薬名	包装
HISCL ADAMTS13 コントロール※6	HISCL ADAMTS13 Control Level 1	1 mL分 × 3
	HISCL ADAMTS13 Control Level 2	1 mL分 × 3

※6：これらの製品は別売品となります。

【主要文献】

- (1) X. Long Zheng, et al.: ISTH guidelines for the diagnosis of thrombotic thrombocytopenic purpura.: J Thromb Haemost, **18**, 2486 (2020)
- (2) 松本雅則ら：血栓性血小板減少性紫斑病診療ガイド 2023, 臨床血液. **64**：445 (2023)
- (3) 松本雅則：血栓性血小板減少性紫斑病の新展開, 臨床血液. **58**：2081 (2017)
- (4) Kokame K et al.: Mutations and common polymorphisms in ADAMTS13 gene responsible for von Willebrand factor-cleaving protease activity.: Proc Natl Acad Sci U S A, **99**, 11902 (2002)
- (5) Matsumoto M et al.: Molecular characterization of ADAMTS13 gene mutations in Japanese patients with Upshaw-Schulman syndrome.: Blood, **103**, 1305 (2004)
- (6) Kokame K et al.: von Willebrand factor-to-ADAMTS13 ratio increases with age in a Japanese population.: J Thromb Haemost, **9**, 1426 (2011)

【問合せ先】

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



カタログ番号



ロット番号



体外診断用の専用製品



直射日光遮へい



製造販売元



生物学的リスク



添付の文書参照



テスト数



保存温度



溶解時の容量



使用期限



上

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