使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

８ＩＸ０２Ｔ

*2017年3月改訂（第2版）
2016年9月作成（第1版）

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：22800EZX00047000

ＰＩＶＫＡ－Ⅱキット

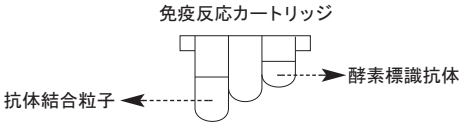
* ルミパルス® PIVKAⅡ-N

■全般的な注意

1. 本試薬は、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 診断の際は、本測定値以外に他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、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致しません。
4. 本試薬のＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータにはｈｂｓ抗原、ＨＣＶ抗体およびＨＩＶ抗体検査陰性の原料を使用しておりますが、感染の危険性があるものとして検体同様十分に注意して取扱ってください。
5. 本試薬および検体は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
6. 本試薬には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、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。
7. 本試薬の使用に際しては、本書とあわせ使用する測定システムの添付文書および取扱説明書をご参照ください。

■形状・構造等（キットの構成）

1. **抗体結合粒子**[注1]**（使用時液状、２５０μＬ/免疫反応カートリッジ）**
   抗ＰＩＶＫＡ－Ⅱモノクローナル抗体ＭＵ－３（マウス）結合フェライト粒子を含みます。
2. **酵素標識抗体（液状、３５０μＬ/免疫反応カートリッジ）**
   アルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）標識抗プロトロンビンモノクローナル抗体２０Ｂ８（マウス）およびアルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）標識抗プロトロンビンモノクローナル抗体ｈＰＴＮ７－２（マウス）を含みます。



3. **ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ：３濃度×２**
   ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータは凍結乾燥品です。ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液を用いて調製します。
   (1)　　０mAU/mL　ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ（凍結乾燥、０.５ｍＬ用×２）
   (2)　　５０mAU/mL　ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ（凍結乾燥、０.５ｍＬ用×２）
   (3)　７５０００mAU/mL　ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ（凍結乾燥、０.５ｍＬ用×２）
4. **ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液（液状、５ｍＬ×１）**
5. **基質液（液状、１００ｍＬ×６、５０ｍＬ×６）**
   基質としてＡＭＰＰＤ[注2]を含みます。
   ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。
6. **洗浄液（濃縮液、１０００ｍＬ×１）**
7. **検体希釈液（液状、３００ｍＬ×４、８０ｍＬ×４）**
   ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。

注１）１５℃以下の温度ではゲル化しています。
注２）AMPPD：3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3''-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt / 3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3''-ホスホリルオキシ)フェニル-1,2- ジオキセタン・2ナトリウム塩

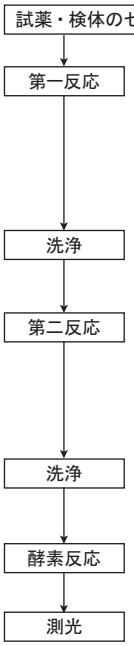
■使用目的

血清又は血漿中の異常プロトロンビン（ＰＩＶＫＡ－Ⅱ）の測定（悪性腫瘍の診断補助等）

■測定原理

本試薬は２ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定法によるＰＩＶＫＡ－Ⅱ測定試薬です。

＜反応プロトコール；２ステップモード＞



抗体結合粒子に結合した抗ＰＩＶＫＡ－Ⅱ抗体と、検体中に含まれるＰＩＶＫＡ－Ⅱによる免疫複合体が形成されます。
抗ＰＩＶＫＡ－Ⅱ抗体が結合した抗体結合粒子２５０μＬに、検体またはＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ２０μＬが分注されます。反応液は、撹拌後３７℃で１０分間インキュベートされます。

反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。
粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

検体中のＰＩＶＫＡ－Ⅱを介して結合した抗ＰＩＶＫＡ－Ⅱ抗体と、アルカリホスファターゼ標識抗プロトロンビン抗体（酵素標識抗体）による免疫複合体が形成されます。
酵素標識抗体２５０μＬと抗体結合粒子が混合されます。反応液は３７℃で１０分間インキュベートされます。

再び反応液除去の後、抗体結合粒子の洗浄が行われます。
粒子は磁石によって集められ、反応液が除去されます。洗浄液注入、洗浄液の除去が繰り返され、粒子が洗浄されます。

基質液２００μＬを粒子に加え撹拌後、３７℃で５分間反応させます。

波長４７７ｎｍに発光極大を持つ光の発光量を測定します。
基質液に含まれるAMPPDは、粒子に間接的に結合したアルカリホスファターゼの触媒作用により分解します。分解に伴って放出される光は、粒子に結合したＰＩＶＫＡ－Ⅱ量を反映するため、これを測定することによってＰＩＶＫＡ－Ⅱ濃度の測定を行うことができます。

検体中のＰＩＶＫＡ－Ⅱ濃度が測定範囲を超えた場合は、必要に応じて、検体希釈液を用いて検体を希釈し再測定してください。

■操作上の注意

1. **測定検体の性質、採取法**
   (1) 検体の採取は使用する採血管の添付文書をよく確認し、指定された方法（採血量、遠心分離方法など）により採取してください。
   (2) 検体は、血清、血漿いずれでも測定できます。
   (3) 可能な限り新鮮な検体を用い、保存する場合は－２０℃以下で凍結保存してください。
   (4) 検体を繰り返し凍結融解することは避けてください。
   (5) 赤血球・その他の有形成分、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場合があります。正しい結果が得られるように遠心または除去した後に使用してください。
   (6) 検体間の汚染が生じないように検体は注意して取扱ってください。
   (7) 非働化した検体は使用しないでください。
   (8) 検体は血清または血漿(ＥＤＴＡ－二ナトリウム、ＥＤＴＡ－二カリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム、ヘパリンリチウム)を使用してください。検体に抗凝固剤（ＥＤＴＡ－二カリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム）を添加して試験した結果、それぞれ６.４ｍｇ/ｍＬ、７.６ｍｇ/ｍＬ、６９Ｕ/ｍＬまで測定値に影響は認められませんでしたが、液状の抗凝固剤を用いる場合は、検体の希釈率にご注意ください。
2. **妨害物質・妨害薬剤**
   (1) 検体にビリルビンＦ、ビリルビンＣ、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ１８.５ｍｇ/ｄＬ、２１.０ｍｇ/ｄＬ、４９０.０ｍｇ/ｄＬまで測定値に影響は認められませんでした。また、乳ビに関しても１４５０ホルマジン濁度まで測定値に影響は認められませんでした。
   (2) ビタミンＫ剤の投与された患者検体では、ＰＩＶＫＡ－Ⅱ量が減少することがありますので注意してください。
   (3) ビタミンＫ拮抗剤（ワーファリン等）および抗生物質の投与によりＰＩＶＫＡ－Ⅱ量が上昇することがありますので注意してください。
3. **その他**
   本試薬は全自動化学発光酵素免疫測定システム
   （代表例：ルミパルス　Ｇ１２００）用試薬です。

■用法・用量（操作方法）

1. **試薬の調製法**
   (1) 抗体結合粒子および酵素標識抗体
   免疫反応カートリッジには抗体結合粒子および酵素標識抗体が充填されています。カートリッジケースの透明フィルムを剥がし、そのまま使用します。
   ・免疫反応カートリッジを取扱う際に、振動を加えたり、逆さまにしたりしないでください。
   ・免疫反応カートリッジを装置にセットする際は、カートリッジケースの透明フィルムを必ず剥がしてください。剥がし忘れや剥がし残りがある場合、装置の動作異常の原因となります。

・項目および試薬ロットはカートリッジケースのバーコードによって管理されています。カートリッジケース間の免疫反応カートリッジの入れ替えは試薬の誤認識に繋がる可能性がありますので行わないでください。

(2) ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ
常温（１５～２５℃）に戻してから使用します。
各濃度のＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ（凍結乾燥）にＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液を正確に０.５ｍＬ加え、ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液を調製します。
ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液は、デッドボリュームを考慮して、サンプルカップに必要量を分取し、そのまま使用します。
・デッドボリュームはご使用の測定システムによって異なりますので各測定システムの取扱説明書をご覧ください。一例としてルミパルス　Ｇ１２００でサンプルカップをご使用の場合、デッドボリュームは１００μＬとなります。

(3) ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液
冷蔵庫から出してそのまま使用します。

(4) 基質液
冷蔵庫から出してそのまま使用します。
・基質液の漏れがないように装置にセットしてください。
・基質液を装置にセットした後は、基質液交換時まで取外しは避けてください。基質液の注ぎ足しはしないでください。基質液がアルカリホスファターゼ（ＡＬＰ）に汚染されますと使用できません。手指が直接基質液に触れた場合は、廃棄してください。

(5) 洗浄液
濃縮液のため精製水で１０倍に希釈し、よく撹拌します。希釈した洗浄液は、常温（１５～２５℃）に戻してから使用します。

(6) 検体希釈液
１５～３０℃に戻してから使用します。ルミパルス　Ｇ１２００にセットする場合は、冷蔵庫から出してそのまま使用してください。

2. 必要な器具・器材

(1) マイクロピペット、サンプリングチップおよびサンプルカップ
(2) 全自動化学発光酵素免疫測定システム

3. 測定法

(1) 測定システムの取扱説明書を参照し、検体および測定に必要な試薬を所定の位置にセットしてください。（サンプルの最少必要量は、使用する容器や測定システムによって異なりますので、各測定システムの取扱説明書をご覧ください。）
(2) ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータの測定依頼内容と、検体の測定依頼内容をそれぞれ入力します。
(3) 測定を開始する前に、免疫反応カートリッジ、基質液、洗浄液、サンプリングチップの残量を確認します。
(4) スタートキーを押し、測定を開始します。装置内で自動的に実行される動作については測定原理の「反応プロトコール」の項をご参照ください。

4. 濃度の算出法

マスターキャリブレーションデータは、免疫反応カートリッジケースの２次元バーコードに記録されています。検体中のＰＩＶＫＡ－Ⅱ濃度は、ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液の発光量をもとに較正された検量線から自動的に算出されます。また複数装置をお使いの場合は１台ごとに検量線を作成してください。

ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液の測定は以下の場合に行います。
・免疫反応カートリッジが新しいロットに切り替わった場合。
・キャリブレーションデータを更新後、３０日が経過した場合。
上記以外においても必要が生じた場合は、ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液を測定し検量線を更新してください。

検体中のＰＩＶＫＡ－Ⅱ濃度が、７５０００ｍＡＵ/ｍＬを超えた場合は、必要に応じて、検体希釈液を用いて希釈し、再測定してください。

■測定結果の判定法

1. 測定結果の判定法

次の値をカットオフ値として用いることができます。[1)]
カットオフ値：４０ｍＡＵ/ｍＬ

2. 判定上の注意

(1) 基準範囲は、測定条件や検体によって多少異なることがありますので、各施設に適した基準範囲を設定してください。
(2) 検体中に存在する未同定の非特異反応性物質の影響により、まれに測定値が正確に得られない場合がありますので、他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
(3) 異好性抗体の影響を受ける可能性があります。
(4) 本試薬は肝細胞癌の補助診断として用います。本試薬の測定値だけから肝細胞癌の確定診断はできません。他の検査結果、臨床症状等を加味して総合的に判断してください。

■臨床的意義

ＰＩＶＫＡ－Ⅱは、血液凝固因子の第Ⅱ因子のＰＩＶＫＡ体であり、肝細胞癌で特異的に上昇します。ＡＦＰとは相関が無く相補的なマーカーで肝細胞癌の診断および治療効果判定マーカーとして測定されており、さらに、再発の補助診断として、有用性が認められています[2-7)]。よって、画像診断などと合わせて肝細胞癌の補助診断に使用されます。
本試薬は、化学発光基質（ＡＭＰＰＤ）を用いた化学発光酵素免疫測定法[8)]（ＣＬＥＩＡ；chemiluminescent enzyme immunoassay）に基づく試薬です。

■性能

1. 性能

(1) 感度
ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータを所定の操作で測定するとき、５０ｍＡＵ/ｍＬ　ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液と０ｍＡＵ/ｍＬ　ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液の発光量の比は６以上になります。

(2) 正確性
自家管理検体３例を所定の操作で測定するとき、測定値は各管理値に対して±２０％以内になります。

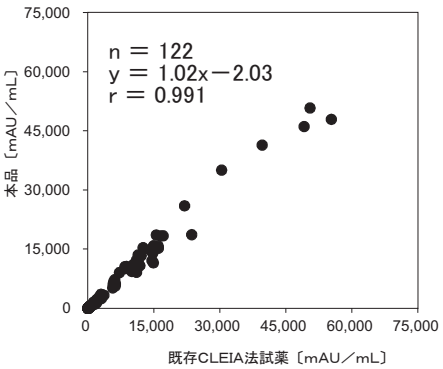
(3) 同時再現性(併行精度)
自家管理検体３例を所定の操作で６回繰り返し測定するとき、変動係数（ＣＶ値）は１０％以下になります。

(4) 測定範囲
1) 検出限界
ＣＬＳＩのガイドラインに従って所定の操作で測定したとき、３ｍＡＵ/ｍＬとなりました。
2) 実効感度（Ｆｕｎｃｔｉｏｎａｌ　ｓｅｎｓｉｔｉｖｉｔｙ）
低濃度試料数例を所定の操作で５日間にわたり合計４０回測定し、測定値の変動係数(ＣＶ値)が１４％以下となる最小濃度を実効感度として求めたとき、４ｍＡＵ/ｍＬとなりました。
3) 測定上限は７５０００ｍＡＵ/ｍＬです。
全自動化学発光酵素免疫測定システム（代表例：ルミパルス　Ｇ１２００）では３ｍＡＵ/ｍＬから出力されます。

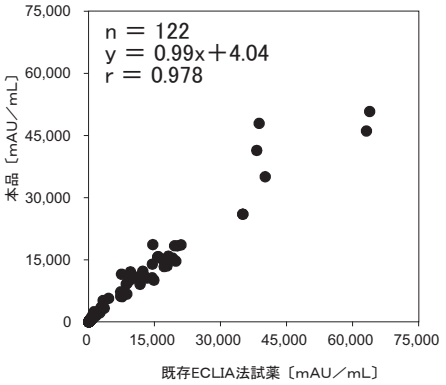
(5) 血清検体と血漿検体の相関性に関する試験成績
1) 同一人から採取した血清・血漿ペア検体１０９例（抗凝固剤：ＥＤＴＡ－二カリウム、擬似検体を含む）を使用し、本試薬にて測定値を比較検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：ｎ＝１０９
相関係数：ｒ＝１.０００
回帰式　：ｙ＝１.００ｘ－１.００
（ｘ；血清、ｙ；血漿）
2) 同一人から採取した血清・血漿ペア検体１０９例（抗凝固剤：ヘパリンナトリウム、擬似検体を含む）を使用し、本試薬にて測定値を比較検討した結果、以下に示す成績が得られました。
測定例数：ｎ＝１０９
相関係数：ｒ＝１.０００
回帰式　：ｙ＝０.９９ｘ－１.７１
（ｘ；血清、ｙ；血漿）

2. 相関性試験成績

(1) 血清検体１２２例を使用し、既存ＣＬＥＩＡ法試薬（対照品（１））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。
測定例数：ｎ＝１２２
相関係数：ｒ＝０.９９１
回帰式　：ｙ＝１.０２ｘ－２.０３
（ｘ；既存ＣＬＥＩＡ法試薬、ｙ；本品）



(2) 血清検体１２２例を使用し、既存ＥＣＬＩＡ法試薬（対照品（２））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。
測定例数：ｎ＝１２２
相関係数：ｒ＝０.９７８
回帰式　：ｙ＝０.９９ｘ＋４.０４
（ｘ；既存ＥＣＬＩＡ法試薬、ｙ；本品）



3. **較正用の基準物質(標準物質)**
社内調製品

■使用上又は取扱い上の注意

1. **取扱い上（危険防止）の注意**
(1) 検体はＨＩＶ、ＨＢＶ、ＨＣＶ等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。
(2) 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、また口によるピペッティングを行わないでください。
(3) 基質液はアルカリ性溶液（ｐＨ１０）です。使用に際しては、液が皮膚についたり、目に入らないように注意してください。
(4) 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。
2. **使用上の注意**
(1) 使用に際しては本書、使用する測定システムの添付文書および取扱説明書に記載された使用法に従ってください。
(2) 免疫反応カートリッジ（抗体結合粒子・酵素標識抗体）、ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータセット、基質液、洗浄液、検体希釈液は個別に包装されていますので、ご使用の測定システムに合わせ、組み合わせて使用してください。
(3) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。各構成試薬外箱および容器の表示をご確認のうえ使用してください。
(4) サンプリングチップ、サンプルカップは使用する測定システム指定のものを使用してください。
(5) サンプリングチップ、サンプルカップは常に新しいものを使用してください。
(6) 試薬は保存条件を守って使用してください。特に凍結しないように注意してください。
(7) 保管に冷蔵庫をご使用の場合、庫内のファンからの風が直接あたる場所および庫内最下部での保管は、温度変化により水分蒸発の原因となりますので避けてください。
(8) 検体、ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液は蒸発による濃縮を考慮し、サンプルの準備後は速やかに測定を開始してください。
(9) 調製後のＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ溶液は２～１０℃に保存した場合、２ヵ月間安定です。なお、保存する場合は、異物の混入や蒸発による濃縮に十分注意し、シーリングフィルム等で封をしてください。
(10) 正確な測定を行うために、精製水は常に新しいものを使用してください。
(11) ソーダライムは交換せずに長期間使用を続けると、二酸化炭素の吸収力が低下します。また基質キャップパッキンも交換せずに長期間使用を続けると密閉性が失われ基質液を劣化させる原因となります。ソーダライムと基質キャップパッキンの交換時期についてはご使用の測定システムの取扱説明書をご覧ください。
3. **廃棄上の注意**
(1) 各試薬には保存剤として以下のとおりアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際は爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水とともに流してください。
洗浄液：１.０％（希釈調製前）
基質液：０.０５％
抗体結合粒子、酵素標識抗体、検体希釈液：０.１％
(2) 試薬およ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、医療廃棄物または産業廃棄物等区別して処理してください。
(3) 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って処理してください。
(4) 使用した器具（ピペット、試験管等）、廃液、サンプリングチップ等は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度１０００ｐｐｍ、１時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド（２％、１時間以上浸漬）等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。
(5) 検体、廃液等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１０００ｐｐｍ、１時間以上浸漬）、グルタールアルデヒド（２％、１時間以上浸漬）等によるふき取りと消毒を行ってください。
(6) 消毒処理に使用する次亜塩素酸ナトリウム溶液、グルタールアルデヒド溶液が、皮膚についたり、目に入らないように注意してください。

■保管方法・有効期間

抗体結合粒子	２～１０℃に保存	有効期間：１年
酵素標識抗体	２～１０℃に保存	有効期間：１年
ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータ	２～１０℃に保存	有効期間：１年
ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液	２～１０℃に保存	有効期間：１年
基質液	２～１０℃に保存	有効期間：９ヵ月
洗浄液	２～１０℃に保存	有効期間：９ヵ月
検体希釈液	２～１０℃に保存	有効期間：９ヵ月

使用期限については、各構成試薬の外箱および容器の表示をご参照ください。

■包装単位

個別包装
ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。

		品名	包装
*	５２０４９５	ルミパルスＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ 免疫反応カートリッジ (抗体結合粒子・酵素標識抗体)	１４テスト×３
*	５２０５０１	ルミパルスＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータセット （ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎキャリブレータおよび ＰＩＶＫＡⅡ－Ｎ用溶解用液を含む）	３濃度×２
	２１９９７３	ルミパルス　基質液(共通試薬)	１００ｍＬ×６
	２９２６００	ルミパルス　基質液(共通試薬)	５０ｍＬ×６
	２１９９４２	ルミパルス　洗浄液(共通試薬)	１０００ｍＬ×１
	２１９９３５	ルミパルス　検体希釈液(共通試薬)	３００ｍＬ×４
	２９２６１７	ルミパルス　検体希釈液(共通試薬)	８０ｍＬ×４

■主要文献

1. 高津和子，他．ECL技術によるPIVKA-Ⅱ測定試薬（ED038）の開発および試薬の性能特性．臨床と研究，73: 2656，1996.
2. Liebman， H. A. et al. DES-γ-Carboxy (Abnormal)Prothorombin as a Serum Marker of Primary Hepatocellular Carcinoma. New Engl. J. Med. ， 310: 1427， 1984.
3. 藤山重俊　他．肝疾患と異常プロトロンビン.肝胆膵， 11: 539， 1985.
4. 藤山重俊　他．肝細胞癌と異常プロトロンビン.消化器科， 5: 55， 1986.
5. 奥田博明　他．肝細胞癌と異常プロトロンビンPIVKA-Ⅱ． 肝胆膵， 14 : 759， 1987.
6. 松本康彦　他．肝細胞癌における異常プロトンビン（PIVKA-Ⅱ）とその変動－モノクローナル抗体を用いたELISAによる測定－． 肝臓， 28: 1073， 1987.
7. 服部　信　他．肝細胞癌における異常プロトロンビンの臨床的評価． 臨床と研究， 65: 941， 1988.
8. Nishizono， I. et al. Rapid and Sensitive Chemiluminescent Enzyme Immunoassay for Measuring Tumor Markers. Clin Chem， 37: 1639， 1991.

■問い合わせ先

*積水メディカル株式会社　学術担当
電話番号：0120-249-977
FAX番号：0120-247-477

富士レビオ株式会社　お客様コールセンター
TEL：0120-292-832

＊販売元
積水メディカル株式会社
製造販売元
富士レビオ株式会社
東京都八王子市小宮町51番地