

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 Aspirin テスト

● 一般的な注意

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）
アラキドン酸

● 使用目的

血小板凝集能の測定
注）本品はアスピリンによる血小板凝集抑制の程度を検出する試薬です。

● 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（アラキドン酸）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、Aspirin Reaction Units (ARU)として報告します。

アラキドン酸はシクロオキシゲナーゼ-1 (COX-1) によりトロンボキサン A2 へ変換し、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。

アスピリンは COX-1 を不可逆的に阻害することにより、血小板凝集を抑制します。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す。

● 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 30 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 30 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 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、血液と抗凝固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。アスピリン投与前及び投与後の検体に、下記の物質を記載された濃度になるように添加した場合、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。ただし、イブプロフェン (121µM) はアスピリン投与前の検体において ARU 値を抑制するという影響が認められました。

被験物質	濃度	被験物質	濃度
A3P5PS*	100 µM	L-サイロキシシン	32 nM
アセトアミノフェン	1.32 mM	ニトログリセリン	0.1 µg/mL
ベタメタゾン	64 µM	ノルフロキサシン	7.5 µM
カフェイン	306 µM	ノルベラパミル	4.5 µM
カプトプリル	23 µM	オキシプリノール	99 µM
カテキン	86 µM	プラバスタチン	56 µM
シメチジン	79 µM	プロプラノロール	7.7 µM
ジピリダモール	20 µM	ストレプトキナーゼ	333 U/mL
ジルチアゼム	15 µM	サリチル酸	4.3 mM
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	トリグリセライド	37 mM
シロスタゾール	15 µM	ワーファリン	30 µM
グルコサミン塩酸塩	9.4 µM	α-トコフェロール	58 µM
ヒドロクロロチアジド	20 µM	セレコキシブ (内服)	200mg 錠
インスリン	3 ng/mL	オメプラゾール (内服)	20mg 錠
リドカイン	51 µM	DMSO	0.10%
低分子ヘパリン	1764U/L		

* 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、ARU 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 ベリファイナウ/PRU ブ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 ベリファイナウ
VerifyNow System PRU ブルー

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/針の保護シース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) 174µL 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アラキドン酸 (0.053mg) と混合されます。
- 8) 測定は約 5 分で終了し、光透過率から計算された測定結果 (ARU) が表示されます。

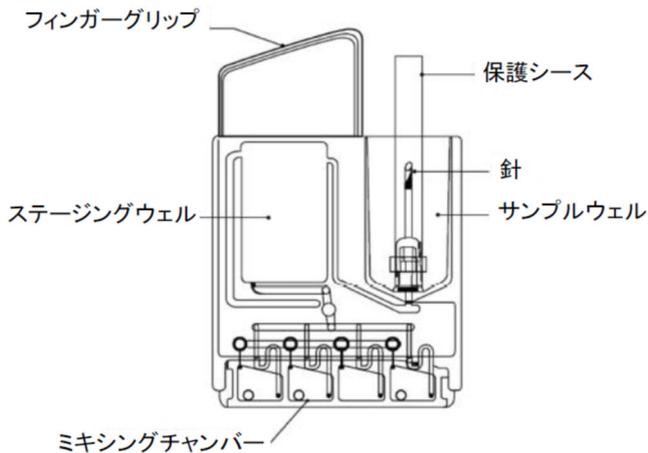


図1 テストデバイス

● 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アラキドン酸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、ARU (Aspirin Reaction Units) で報告されます。判定は下記のカットオフ値に従って行ってください。

- ≥550ARU：アスピリンによる血小板機能抑制が認められない。
- <550ARU：アスピリンによる血小板機能抑制が認められる。

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。

● 臨床的意義

アスピリンはドイツのBayer社が1897年に開発して以来、世界各国で汎用されている解熱・鎮痛・消炎剤です。1960年代後半になって血小板凝集を抑制することが報告され、その後抗血小板薬としての有用性が確立されました。

2000年代になって抗血小板薬としてのアスピリンに対する抵抗性の問題が学会や論文で取り上げられるようになり、それに伴い、アスピリンの薬効モニタリングの必要性が取り上げられてきました^{1), 2)}。

アスピリンはアラキドン酸からトロンボキサン A2 への変換に関与するシクロオキシゲナーゼ-1 (COX-1) を不可逆的に阻害することにより、血小板機能に影響を与えます。本品はアラキドン酸を使用し、血小板凝集能を判定する試薬です。検体にアラキドン酸が添加されてもアスピリンが期待される効果を示していれば、血小板の凝集は起こりません。したがって、アスピリンの薬効モニタリングとしての有用性が期待できます。

● 性能

1. 感度

管理用試料 1 (WQC Level 1) を VerifyNow System を用いて試験するとき、その値は 350-362 ARU の範囲内です。

2. 正確性

管理用試料 2 (WQC Level 2) を VerifyNow System を用いて試験するとき、その値は 528-690 ARU の範囲内です。

3. 同時再現性

同一の管理用試料を VerifyNow System を用いて 3 回繰返し試験するとき、CV%は 10%以下です。

4. 最小検出感度

該当しません (機器により 350ARU に設定されています)。

5. 相関性試験成績

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: コラーゲン) 及び研究用試薬のアラキドン酸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。

① 既存体外診断用医薬品 (LTA 法) との比較

		対照品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	63	97	160
	陰性	18	88	106
計		81	185	266

$$\text{陽性一致率} = 63/81 = 77.8\%$$

$$\text{陰性一致率} = 88/185 = 47.6\%$$

$$\text{全体一致率} = (63+88)/266 = 56.8\%$$

本品と対照品において良好な相関が得られなかった一因として、血小板活性化物質の違いが考えられます。コラーゲンを用いた LTA 法がアスピリン投与を必ずしも反映しないという報告もいくつかあります^{3), 4)}。

実際、本試験においてアスピリン投与群における陽性率は、本品 76.5%、対照品 42.4%でした。

② アラキドン酸 (LTA 法) との比較

		アラキドン酸		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	144	16	160
	陰性	23	83	106
計		167	99	266

$$\text{陽性一致率} = 144/167 = 86.2\%$$

$$\text{陰性一致率} = 83/99 = 83.8\%$$

$$\text{全体一致率} = (144+83)/266 = 85.3\%$$

検体種及び測定法 (測定機器) の違いを考慮すると、本品と研究用試薬のアラキドン酸 (LTA 法) との相関性は良好であると考えられます。

③ アスピリン投与との関連

本品と対照品である既存体外診断用医薬品について、アスピリン投与との関係をまとめた (196 症例) ところ、本品の方が対照品よりアスピリン投与を良好に反映していることが示されました。

【本品 vs アスピリン投与】

		アスピリン投与		計
		あり	なし	
本品	陽性	101	8	109
	陰性	31	56	87
計		132	64	196

陽性一致率 = 101/132 = 76.5%
 陰性一致率 = 56/64 = 87.5%
 全体一致率 = (101+56)/196 = 80.1%

【対照品 vs アスピリン投与】

		アスピリン投与		計
		あり	なし	
対照品	陽性	56	4	60
	陰性	76	60	136
計		132	64	196

陽性一致率 = 56/132 = 42.4%
 陰性一致率 = 60/64 = 93.8%
 全体一致率 = (56+60)/196 = 59.2%

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

- 取扱い上の注意
 - 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。
 - 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。
 - 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。
- 使用上の注意
 - 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。
 - 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）。
 - 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。
- 廃棄上の注意
 - 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。
 - 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。
 - 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。
 - 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

- 保管方法
2～25℃
- 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
0000085053	VerifyNow アスピリンデバイス	25個

● 主要文献

- 高野勝弘他, 抗血小板療法のモニタリングと薬剤抵抗性脳卒中, 30; 953-959 (2008)
- 松原由美子, 抗血小板薬不応性 脈管学, 51; 309-314 (2011)
- Guabel, P.A. et al. Evaluation of dose-related effects of aspirin on platelet function: Results from the aspirin-induced platelet effect (ASPECT) study. Circulation, 2007; 115: 3156-3164.
- Velik-Salchner, C. et al. Point of care whole blood impedance aggregometry versus classical light transmission aggregometry for detecting Aspirin and Clopidogrel: The results of a pilot study. Anesth Analg, 2008; 107: 1798-1806.

● 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 三田神田ビル
 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