

## 新規開発の LA 試薬 DRVVT の基礎性能評価

下村 大樹<sup>\*1</sup>, 高田 旬生<sup>\*1</sup>, 松本 智子<sup>\*2</sup>, 河野 紋<sup>\*1</sup>, 高田 章美<sup>\*1</sup>, 北野 圭介<sup>\*4</sup>,  
熊野 穰<sup>\*3</sup>, 鈴木 健史<sup>\*4</sup>, 新井 信夫<sup>\*4</sup>, 嶋田 昌司<sup>\*1</sup>, 上岡 樹生<sup>\*1</sup>

\*1 公益財団法人 天理よろづ相談所病院 臨床検査部：奈良県天理市三島町 200 (〒 632-8552)

\*2 学校法人 天理よろづ相談所学園 天理医療大学 医療学部 臨床検査学科

\*3 HYPHEN BioMed, SAS

\*4 シスメックス株式会社 診断薬エンジニアリング本部 タンパク技術グループ

抗リン脂質抗体症候群（以下，APS）は，抗リン脂質抗体（以下，aPL）が血中に証明され，動静脈血栓症や妊娠合併症を臨床症状とする患者群の総称である。臨床所見として動静脈血栓症か妊娠合併症のいずれか1つ以上が存在し，かつ検査所見としてループスアンチコアグラント（以下，LA），抗カルジオリピン抗体（aCL），抗 $\beta_2$ -グリコプロテイン I 抗体（a $\beta_2$ GPI）のいずれか1つ以上が12週間の間隔を空けて2回以上陽性であればAPSと診断される。2020年に発表された国際血栓止血学会標準化委員会（ISTH-SSC）のLA/aPL検査ガイドラインでは，LAを2種類の原理の異なる検査を組み合わせて実施することが推奨されており，第一選択に希釈ラッセル蛇毒時間（以下，dRVVT），第二選択に活性化部分トロンボプラスチン時間（以下，APTT）となっている。本研究では，新たに開発されたLA試薬DRVVT（シスメックス株式会社：以下，LA試薬，シスメックス）を用いて基礎性能評価と既承認品との相関性と判定一致率を確認した。

対象は，LA陽性の患者血漿34検体，正常検体としてCRYOcheck™ Normal Donor Set（Precision BioLogic Inc.：ND）25検体と血液凝固試験用コントロール血漿N（シスメックス：CPN），LA弱陽性と強陽性のLAコントロールLow（シスメックス：LA Lo），LAコントロールHigh（シスメックス：LA Hi）およびCRYOcheck Pooled Normal Plasma（Precision BioLogic Inc.：NP）を用いた。

同時再現性は変動係数（以下，CV）0.8%以下，日差再現性はCVが1.6%以下，干渉物質の影響では，溶血ヘモグロビンは100 mg/dLまで，抱合型ビリルビンは30 mg/dLまで，イントラリピッド（大塚製薬株式会社）は200 mg/dLまで，それぞれ測定値に影響がなかった。一方，遊離型ビリルビンは，凝固時間で濃度依存的な短縮を認めたが，LA Rは30 mg/dLまで影響がなかった。オンボード安定性は，3日間（72時間）まで安定していた。Ratioにおける既承認品との相関性は， $y = 1.002x - 0.105$ ， $r = 0.997$ と良好で，判定一致率は100.0%であった。

評価に用いた全自動血液凝固測定装置CN-6000（シスメックス）において，新たにdRVVT試薬による測定が可能となったことで，APTT試薬によるLAの検出とdRVVT試薬によるLAの鑑別が一台で実施可能となり，今後の臨床検査の発展に寄与することが期待される。

### キーワード

抗リン脂質抗体症候群（APS），抗リン脂質抗体（aPL），ループスアンチコアグラント（LA），希釈ラッセル蛇毒時間（dRVVT），CN-6000

## はじめに

抗リン脂質抗体症候群 (Antiphospholipid Syndrome: 以下, APS) は, 抗リン脂質抗体 (Antiphospholipid Antibodies: 以下, aPL) が血中に証明され, 動静脈血栓症や妊娠合併症を臨床症状とする患者群の総称である<sup>1)</sup>. 臨床所見として動静脈血栓症か妊娠合併症のいずれか1つ以上が存在し, かつ検査所見としてループスアンチコアグラント (Lupus Anticoagulant: 以下, LA), 抗カルジオリピン抗体 (Anti-cardiolipin Antibodies: 以下, aCL), 抗 $\beta_2$ -グリコプロテインI抗体 (anti- $\beta_2$  Glycoprotein I Antibodies: 以下, a $\beta_2$ GPI) のいずれか1つ以上が12週間の間隔を空けて2回以上陽性であればAPSと分類される<sup>2)</sup>. 検査所見の一つであるLAは, 「個々の凝固因子活性を阻害することなく, リン脂質依存性の凝固反応を阻害する免疫グロブリン」と定義され, 凝固時間法により検出される<sup>3)</sup>. LAは凝固反応を阻害するリン脂質依存性のインヒビターであるため, 凝固時間が延長するが, 臨床症状としては前述のとおり動脈血栓, 静脈血栓などの血栓症を引き起こす<sup>4)</sup>. 2020年に発表された国際血栓止血学会標準化委員会 (Scientific and Standardization

Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: 以下, ISTH-SSC) のLA/aPL検査ガイドライン<sup>5,6)</sup>において, LAは2種類の異なる原理による検査を組み合わせることで実施することが推奨されており, 第一選択に希釈ラッセル蛇毒時間 (dilute Russell's viper venom time: 以下, dRVVT), 第二選択に活性化部分トロンボプラスチン時間 (Activated Partial Thromboplastin Time: 以下, APTT) となっている. また, 本邦においても, dRVVTはLA確認試験として用いられ, APSの診断において重要な検査である<sup>3)</sup>. dRVVTは活性化剤として凝固第X因子をXaに変換する蛇毒を用いる試薬であり, 新たにシスメックス株式会社 (以下, シスメックス) から開発されたLA試薬DRVVT (以下, LA試薬) は, リン脂質低濃度試薬のLA1試薬 (以下, LA1) と高濃度試薬のLA2試薬 (以下, LA2) で構成される. それぞれの試薬で凝固時間 (以下, CT1, CT2) を測定し, その凝固時間比 (CT1/CT2) を計算してLARを算出する (図1). 海外でのdRVVTでの検査方法は, まずLA1でスクリーニングを行い, 凝固時間が延長した

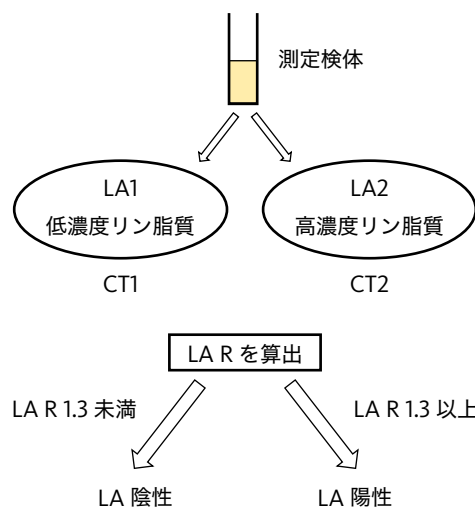


図1. 本邦でのdRVVT検査方法  
(参考文献3)より引用改変)

検体のみに LA2 で凝固時間が短縮しているかについて確認試験を行うが、本邦では 2 試薬同時に測定する方法が主流となっている<sup>3,7)</sup>。今回、LA 試薬の基礎性能と既承認品との判定一致率を評価したので報告する。

## 対象および方法

### 1. 対象・試料

天理よろづ相談所病院臨床検査部に LA の測定依頼があり、dRVVT が陽性であった患者 34 検体、市販人血漿および市販コントロール血漿を対象とした。患者検体は 3.2% クエン酸ナトリウム加血を 2,000 g × 10 分間 2 回遠心分離して得られた血漿を用いた。LA 陽性患者 34 検体の内訳は、抗凝固療法未実施の患者 27 検体、抗凝固療法中の患者 7 検体である。LA 陰性血漿は、凝血学的検査で異常のない市販品の CRYOcheck™ Normal Donor Set (Precision BioLogic Inc. : 以下, ND) 25 検体を用いた。また、正常コントロール血漿として血液凝固試験用コントロール血漿 N (シスメックス : 以下, CPN), LA 弱陽性と強陽性の LA コントロール Low (シスメックス : 以下, LA Lo), LA コントロール High (シスメックス : 以下, LA Hi) および CRYOcheck Pooled Normal Plasma (Precision BioLogic Inc. : 以下, NP) を用いた。なお、本研究は、天理よろづ相談所病院倫理審査委員会の承認 (承認番号 1070) およびシスメックス株式会社倫理委員会の承認 (登録番号 2019-76) を得て実施した。

### 2. 測定装置

全自動血液凝固測定装置 CN-6000 (シスメックス : 以下, CN-6000) を使用した。

### 3. 測定試薬

検討試薬として LA 試薬、対照試薬として本邦で既に承認を得ている体外用診断医薬品 (A 社 : 以下, 既承認試薬) を用いた。既承認試薬も試薬 1 と試薬 2 の 2 試薬系の構成となっており、検討試薬と既承認試薬ともに各 2 試薬でそれぞれの CT1, CT2 を測定し、その LA R から LA の有無を鑑別した。

## 4. 検討方法

### 1) 再現性

#### ①同時再現性

同時再現性は、CPN, LA Lo および LA Hi をそれぞれ 20 回連続測定し、平均値と標準偏差 (Standard Deviation : 以下, SD) より変動係数 (Coefficient of Variance : 以下, CV) を求めた。

#### ②日差再現性

日差再現性は、CPN, LA Lo および LA Hi を同日中の午前と午後にそれぞれ 2 重測定し、これを 20 日間行い、平均値と SD より CV を求めた。

### 2) 干渉物質の影響

干渉物質の影響は、干渉チェック・A プラス (シスメックス) を NP および LA Hi に添加し、溶血ヘモグロビン、抱合型ビリルビンおよび遊離型ビリルビンの影響を評価した。トリグリセライドの影響については、イントラリピッド (大塚製薬株式会社) を NP および LA Hi に添加し評価した。なお、未添加の測定値と比較したときの変動率を評価基準とした。

### 3) オンボード安定性

調製した試薬を装置内に開栓した状態で設置し、CPN, LA Lo および LA Hi を 3 日間 2 重測定して、安定性を評価した。なお、0 日目の測定値と比較したときの変動率を評価基準とした。

### 4) 相関性と判定一致率

LA 試薬および既承認試薬を用いて、LA 陽性患者検体 34 例と LA 陰性の ND25 例の計 59 例を測定し、それぞれ LA R を算出して、相関性を評価した。また、LA R 1.3 未満を陰性、LA R 1.3 以上を陽性と判定し、2 × 2 分割表にて両試薬の判定一致率を求めた。

## 結果

### 1) 再現性

同時再現性は、CPN で CV が 0.3 ~ 0.8 %, LA Lo が 0.3 ~ 0.6 %, LA Hi が 0.3 ~ 0.7 % であった (表 1)。日差再現性は、CPN で CV が 0.5 ~ 0.8 %, LA Lo が 0.6 ~ 1.6 %, LA Hi が 0.6 ~ 1.2 % であった (表 1)。

2) 干渉物質の影響

溶血ヘモグロビンは 100 mg/dL まで、抱合型ビリルビンは 30mg/dL まで、イントラリピッドは 200 mg/dL まで、CT1, CT2 および LA R の変動率はそれぞれ ± 5% 以内で、測定値に影響はなかった (図 2)。一方、遊離型ビリルビンは、濃度依存的に CT1, CT2 が短縮したが、LA R の変動率は ± 5% 以内であった。

3) オンボード安定性

3 日間の測定において、0 日目の測定値と比較したときの変動率は、CT1 で最大 + 7.0%, CT2 で最大 + 2.1%, LA R で最大 + 5.1% といずれも ± 10% 以内であった (図 3)。

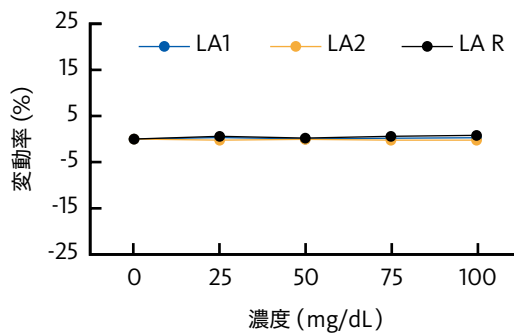
4) 相関性と判定一致率

LA 試薬および既承認試薬で 59 検体を測定した結果、Ratio における既承認試薬との相関性は、 $y = 1.002x - 0.105$ ,  $r = 0.997$  であった (図 4)。また、判定一致率は、陽性一致率、陰性一致率、総一致率のすべてにおいて 100.0% であった (表 2)。

表 1. 同時再現性および日差再現性

		同時再現性 (n = 20)			日差再現性 (n = 80)		
		LA1	LA2	LA R	LA1	LA2	LA R
CPN	平均値 (秒)	37.50	35.10	1.07	36.50	34.70	1.05
	SD	0.30	0.10	0.01	0.22	0.19	0.01
	CV (%)	0.80	0.30	0.60	0.60	0.50	0.80
LA Lo	平均値 (秒)	62.70	40.10	1.57	59.10	40.60	1.46
	SD	0.20	0.10	0.01	0.86	0.25	0.02
	CV (%)	0.30	0.30	0.60	1.50	0.60	1.60
LA Hi	平均値 (秒)	85.40	43.80	1.95	72.90	41.60	1.75
	SD	0.20	0.30	0.01	0.62	0.26	0.02
	CV (%)	0.30	0.60	0.70	0.90	0.60	1.20

A. 溶血ヘモグロビン：正常試料



B. 溶血ヘモグロビン：異常試料

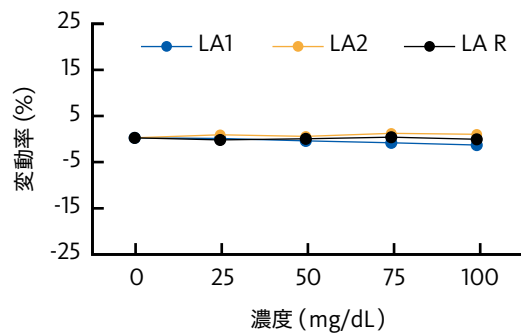
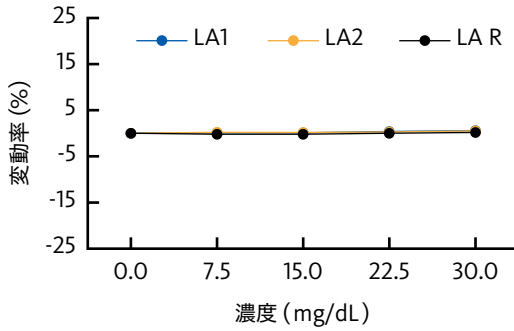


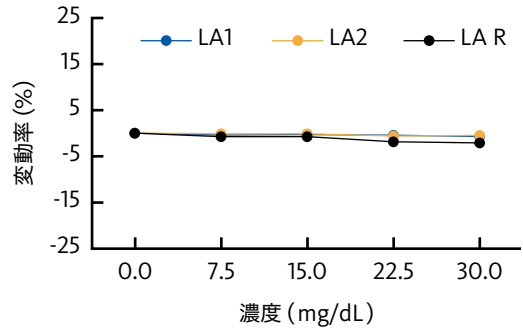
図 2. 干渉物質の影響

正常試料：NP, 異常試料：LA Hi

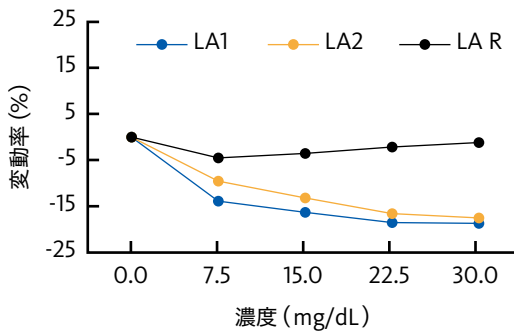
C. 抱合型ビリルビン：正常試料



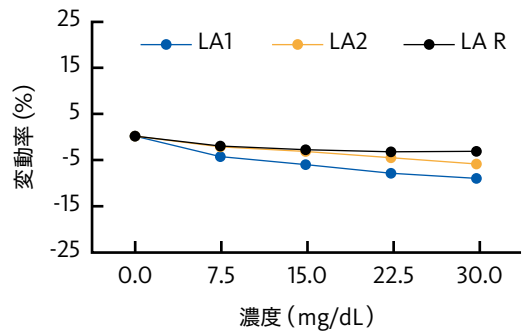
D. 抱合型ビリルビン：異常試料



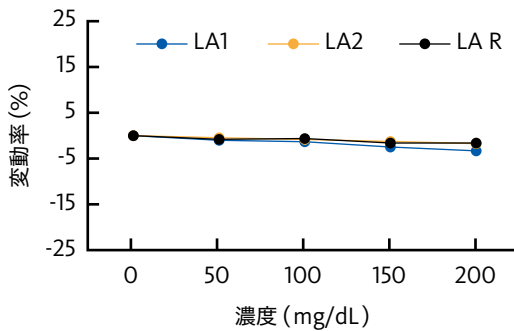
E. 遊離型ビリルビン：正常試料



F. 遊離型ビリルビン：異常試料



G. イントラリピッド：正常試料



H. イントラリピッド：異常試料

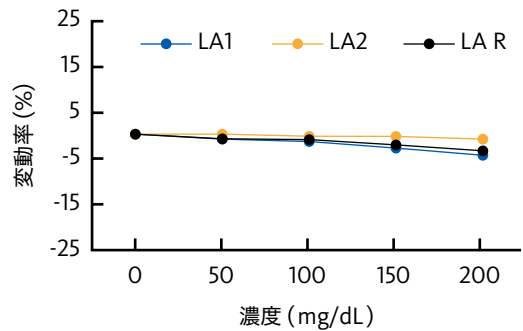


図2. 干渉物質の影響 (続き)

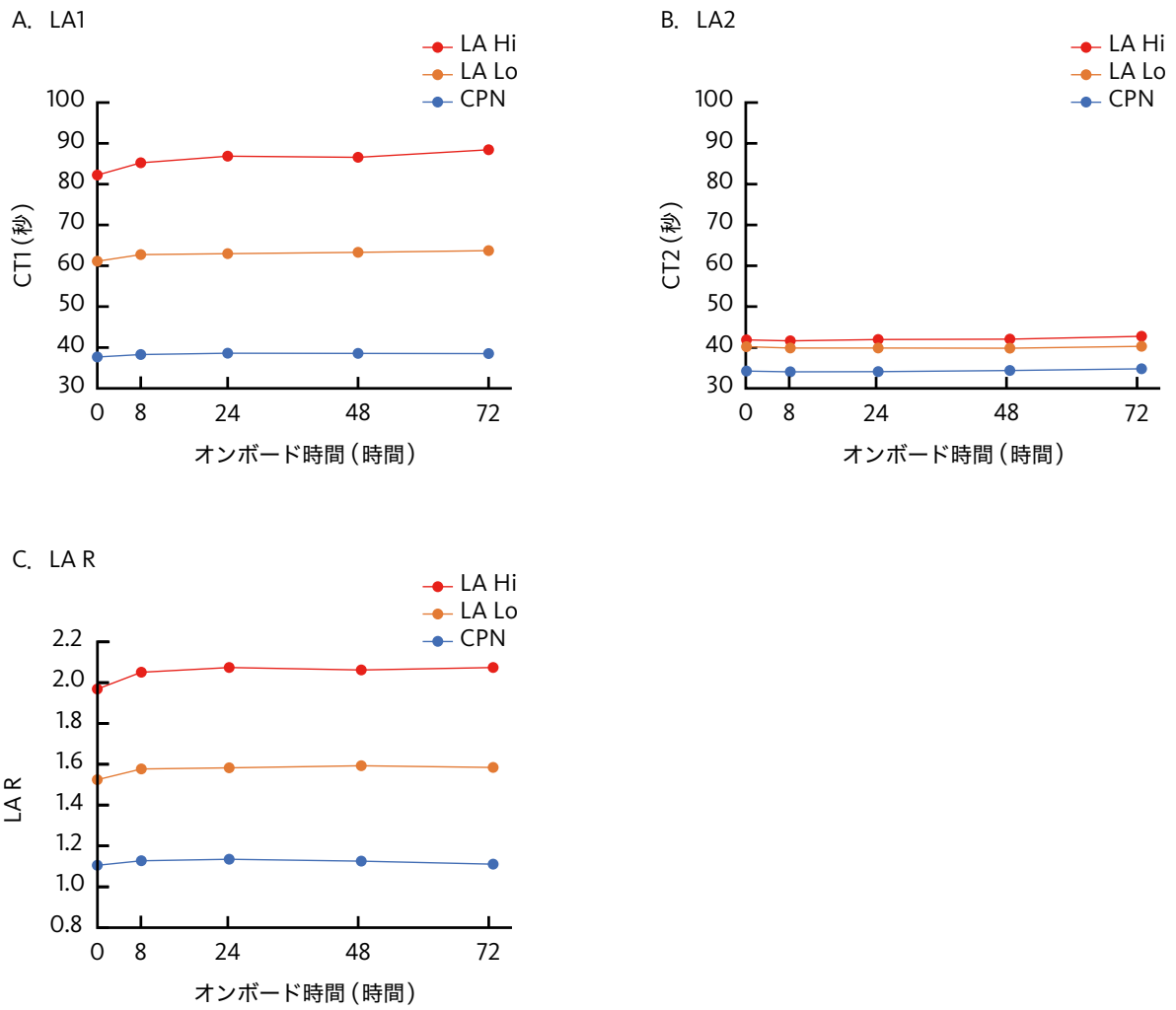


図3. オンボード安定性

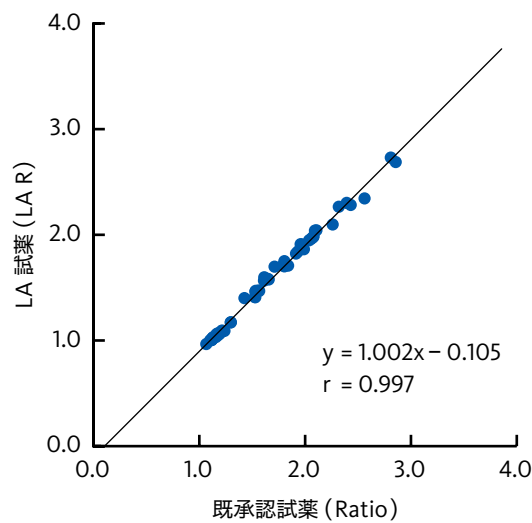


図4. 既承認試薬との相関性 (Ratio)

表2. 対照試薬(既承認試薬)との一致率

		既承認試薬	
		陽性	陰性
LA 試薬	陽性	34	0
	陰性	0	25

陽性一致率：100.0 %  
陰性一致率：100.0 %  
総一致率：100.0 %

## 考 察

新たに発売された LA 試薬は、dRVVT 法を測定原理とした LA 検出試薬である。ラッセル蛇毒は凝固カスケードの内因系、外因系をバイパスして共通系の凝固第 X 因子を直接活性化するので、外因系および内因系凝固因子の影響を受けず、APTT よりも特異的に LA を検出できる<sup>8)</sup>。今回実施した基礎性能評価において、同時再現性および日差再現性は、すべての試料において、CV がそれぞれ 0.8% 以下、1.6% 以下と良好であった。干渉物質の影響は、溶血ヘモグロビン、抱合型ビリルビン、イントラリピッドにおいて、添加した干渉物質の最大濃度まで測定値に影響がなかった。一方、遊離型ビリルビンでは、濃度依存的に CT1、CT2 が短縮したが、LA R の変動率は ± 5% 以内と大きな影響はなかった。別ロットの干渉チェック・A プラスを使用して再評価したところ、CT1、CT2 の短縮度合いはロット毎に異なったが、同様の傾向を示した。干渉チェック・A プラスの遊離型ビリルビン(成分：ビリルビン、ウシアルブミン、トリス緩衝液)が、臨床検体と同じ挙動を示すかは明らかでないが、通常の干渉物質の影響評価は、この方法が多用されている。今回の凝固時間が短縮傾向を示した原因は不明であるが、臨床検体と異なる挙動を示すこともあるので注意が必要である<sup>9)</sup>。オンボード安定性は、0 日目と 3 日目の測定値を比較した変動率が最大で CT1 + 7.0%、CT2 + 2.1%、LA R + 5.1% といずれも ± 10% 以内であり、3 日間(72 時間)は使用可能であっ

た。また、Ratio における既承認試薬との相関性は、 $y = 1.002x - 0.105$ 、 $r = 0.997$  と良好であった。既承認試薬の LA R の平均値が 1.61 に対して、LA 試薬は 1.51 と 0.10 程度の低値を示したが、判定一致率は、陽性一致率、陰性一致率および総一致率ともに 100.0% であり、判定の乖離はなかった。

凝固検査は、多くの要因が測定結果に影響を及ぼす。特に、dRVVT 検査はリン脂質の中和反応を原理とし、凝固時間の延長がリン脂質依存性かを検知する試験であることから、検体の品質に注意すべきである。血小板に含まれるリン脂質は、dRVVT 測定値に影響を与えるため、「凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス」<sup>10)</sup>に基づいた遠心条件で残存血小板数を 1 万/ $\mu$ L 未満とし、極力血小板の混入を避けなければならない。また、そのため、LA 試薬では LA R が 1.2 ~ 1.3、既承認試薬では LA R が 1.1 ~ 1.3 をグレーゾーンに設定されており、判定不一致などが起こる可能性があるため、再測定およびクロスミキシングテストなど、他の検査結果や臨床症状を含めて注意深く判定する必要がある。なお、LA 試薬における正常血漿の LA1 および LA2 の凝固時間は、CT1 で 34 ~ 46 秒、CT2 で 31 ~ 41 秒で、LA R は 1.3 以下を示し、既報とほぼ同等であった<sup>11)</sup>。

dRVVT 検査にて LA が存在する場合、ラッセル蛇毒と低濃度リン脂質を含有する CT1 は、LA の影響を受けて延長するが、ラッセル蛇毒と高濃度リン脂質を含有する CT2 は、LA が高濃度リン脂質で中和されるため、凝固時間が延長せず、LA R が大き

くなり LA と判断できる (表 3)<sup>7)</sup>。ただし、それぞれが異常延長した凝固時間を示すときにも LA R が 1.3 以上となる場合があり、この場合は因子欠乏、リン脂質非依存性のインヒビターおよび抗凝固薬などの関与が疑われる。そのため、LA R が 1.3 以上となった場合は、CT2 が延長しているかどうかを確認し、延長していた場合は患者血漿と正常血漿を 1:1 にした混合試験が推奨される。なお、抗凝固療法中の患者検体は、抗凝固薬の種類により混合試験の判定が異なり、結果解釈が困難であるため、LA/aPL 検査ガイドラインでは混合試験を推奨していない<sup>5,6)</sup>。抗凝固療法を施行していない場合は、他の検査結果ならびに臨床所見を参考にして、凝固因子定量、ベセスダ法の実施を考慮すべきである。また、日本血栓止血学会標準化委員会・抗リン脂質抗体部会の検討において、LA 試薬を含む本邦で市販されている dRVVT 試薬は、試薬・機器間差の軽減に有効とされる補正值 (健常人の平均凝固時間で各試薬での凝固時間を割り、凝固時間を補正して LA

R を算出した値、NR: Normalized Ratio) (図 5) を用いることで、すべての試薬において NR が 1.2 以上で陽性と判定することが可能であり、NR を用いることを推奨している<sup>12,13)</sup>。

LA は aPL の一種であるが、抗体を直接検出しているのではなく、凝固時間法を用いて間接的に測定している。また、heterogenous な自己免疫疾患の責任抗体であることから、前述のとおり単独のアッセイ系のみで検出することができないため、APTT に加えて dRVVT など複数のアッセイ系で検出することが推奨されている<sup>5~7,10)</sup>。LA/aPL 検査ガイドラインでは、① APTT または dRVVT でリン脂質依存性凝固時間が延長していることをスクリーニングする、② クロスミキシングテストで凝固時間の短縮を認めず、インヒビターの存在を確認する、③ 過剰リン脂質添加により凝固時間の短縮を確認し、インヒビターが aPL であることを証明するといった手順が示されている<sup>14)</sup>。図 6 に本邦での LA 測定方法を示す<sup>15)</sup>。

表 3. LA 検査の判定例

患者血漿		患者血漿 + 正常血漿		判定例
LA1	LA2	LA1	LA2	
正常	正常	—	—	LA 陰性
延長	正常	—	—	LA 陽性
延長	延長	正常	正常	因子欠乏 / 抗凝固薬
延長	延長	延長	正常	LA 陽性 / 因子欠乏 / 抗凝固薬
延長	延長	延長	延長	他のインヒビター

抗凝固薬：種類により異なる

$$NR = \frac{\left( \frac{\text{LA1 による患者血漿の CT1 (秒)}}{\text{LA1 による健常人の平均 CT1 (秒)}} \right)}{\left( \frac{\text{LA2 による患者血漿の CT2 (秒)}}{\text{LA2 による健常人の平均 CT2 (秒)}} \right)}$$

図 5. 補正值 (NR) の求め方



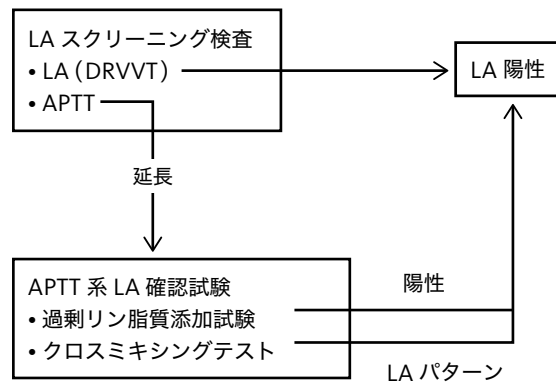


図6. LA 検査の進め方

(参考文献 14) より引用改変)

LA 試薬は、評価に使用した LA 陽性の LA Lo, LA Hi が別売されており、正常血漿の CPN とともに利用することで日々の精度管理を実施することができる。さらに、シスメックスが提供している外部精度管理アプリケーション Caresphere™ XQC にも対応していることから、他施設とのデータ比較も容易に実施できる。また、本評価で使用した CN-6000 は、dRVVT における NR の算出と表示、患者血漿と正常血漿を 1:1 にした混合試験、患者血漿と正常血漿を複数割合で自動混合して APTT 測定を行うクロスミキシングテスト機能<sup>16)</sup> が搭載されており、今後の標準化に貢献できると考える。

## 結 語

今回、新たに発売された LA 試薬の基礎性能評価を実施したところ、同時再現性・日差再現性、共存物質の影響、オンボード安定性は良好であり、既承認試薬との Ratio における相関性が高く、判定一致率が 100.0%であった。これらの結果から、LA 試薬は日常の臨床検査で使用できる十分な基礎性能を有すると考えられた。新たに dRVVT 試薬による測定が可能となったことで、APTT 試薬による LA のスクリーニング検査<sup>14, 17)</sup> と dRVVT 試薬による LA の鑑別が CN-6000 一台で実施可能となり、今後の臨床検査の発展に寄与することが期待される。

全自動血液凝固測定装置 CN-6000：医療機器製造販売届出番号 8B1X10014000001

LA 試薬 DRVVT：体外診断用医薬品製造販売認証番号 304ABEZX00006000

## 参考文献

- 1) 家子正裕. 抗リン脂質抗体症候群の診断と治療. 臨床血液. 2021; **62** (5): 445–455.
- 2) Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). J Thromb Haemost. 2006; **4** (2): 295–306.
- 3) 熊野 稔, 家子正裕, 内藤澄悦, 他. ループスアンチコアグラントの検出方法 —現状の課題と今後の展望—. 日本検査血液学会雑誌 (検査と血液). 2015; **16** (3): 232–246.
- 4) 渥美達也. 抗リン脂質抗体症候群の診断. 日本血栓止血学会誌. 2008; **19** (3): 329–332.
- 5) Devreese KMJ, de Groot PG, de Laat B, et al. Guidance from Scientific and Standardization Committee for Lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis: Update of the

- guidelines for lupus anticoagulant detection and interpretation. *J Thromb Haemost.* 2020 ; **18** (11): 2828–2839.
- 6) Tripodi A, Cohen H, Devreese KMJ. Lupus anticoagulant detection in anticoagulated patients. Guidance from the Scientific and Standardization Committee for lupus anticoagulant/antiphospholipid antibodies of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *J Thromb Haemost.* 2020 ; **18** (7): 1569–1575.
- 7) CLSI. Laboratory Testing for the Lupus Anticoagulant ; Approved Guideline. CLSI document H60-A. Wayne, PA : Clinical and Laboratory Standards institute ; 2014.
- 8) 吉田美香, 内藤澄悦, 垂水隆志, 他. ループスアンチコアグラントの測定方法とその解釈. *日本検査血液学会雑誌 (検査と血液)*. 2008 ; **9** (1): 69–76.
- 9) 小野美由紀, 木下美沙, 小原康博, 他. 試薬性能評価における溶血の影響確認の留意点. *生物試料分析*. 2015 ; **38** (3): 202–207.
- 10) 家子正裕, 小宮山豊, 山崎 哲, 他. 凝固検査検体取扱いに関するコンセンサス. *日本検査血液学会雑誌 (検査と血液)*. 2016 ; **17** (2): 149–157.
- 11) Reber G, Wissel T, Wagner C. Anti-phospholipid Syndrome and Testing for Lupus Anticoagulants : Routine Approach Using Siemens APTT Reagents. White Paper. 2013 ; Siemens Healthcare Diagnostics Inc.
- 12) 山崎 哲, 内藤澄悦, 静 怜子, 他. APTT 検査およびループスアンチコアグラント検査の標準化. *日本血栓止血学会誌*. 2016 ; **27** (6): 636–643.
- 13) 日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ. 第2回學術集會日本抗リン脂質抗体標準化ワークショップ記録集. 2015 ; **2**: 18–24.
- 14) 野島順三. ループスアンチコアグラント. *臨床検査*. 2022 ; **66** (2): 198–203.
- 15) 長屋聡美, 森下英理子. 抗カルジオリピン IgG/IgM 抗体および抗 $\beta$  2 グリコプロテイン I IgG/IgM 抗体測定. *臨床検査アップデート. モダンメディア*. 2021 ; **67** (3): 146–150.
- 16) 下村大樹, 松本智子, 河野紋, 他. 活性化部分トロンボプラスチン時間キット レボヘム TM APTT SLA におけるクロスミキシングテストによる病態鑑別方法の検討. *Sysmex Journal Web*. 2021 ; **22** (3). 62–77.
- 17) 下村大樹, 河野 紋, 高田旬生, 他. 全自動血液凝固測定装置 CN-6000 における活性化部分トロンボプラスチン時間キット レボヘム TM APTT SLA の基礎的検討. *Sysmex Journal Web*. 2021 ; **22** (2): 31–49.

# Evaluation of the Basic Performance of a Newly Developed Dilute Russell's Viper Venom Time Lupus Anticoagulant Reagent

Daiki SHIMOMURA<sup>\*1</sup>, Tokio TAKATA<sup>\*1</sup>, Tomoko MATSUMOTO<sup>\*2</sup>, Aya KOUNO<sup>\*1</sup>, Akimi TAKADA<sup>\*1</sup>, Keisuke KITANO<sup>\*4</sup>, Osamu KUMANO<sup>\*3</sup>, Takeshi SUZUKI<sup>\*4</sup>, Nobuo ARAI<sup>\*4</sup>, Masashi SHIMADA<sup>\*1</sup> and Mikio KAMIOKA<sup>\*1</sup>

<sup>\*1</sup> Department of Laboratory Medicine, Tenri Hospital, 200 Mishima, Tenri, Nara, 632-8552, Japan

<sup>\*2</sup> Department of clinical laboratory, Tenri Health Care University

<sup>\*3</sup> HYPHEN BioMed, SAS

<sup>\*4</sup> Protein Technology, Department of Reagent Engineering, Sysmex Corporation

*Antiphospholipid antibody syndrome (APS) features evidence of antiphospholipid antibodies (aPL) in the blood and clinical symptoms of arteriovenous thrombosis or pregnancy complications. Patients are classified as having APS if they have clinical findings of arteriovenous thrombosis and/or pregnancy complications and one or more of the following laboratory findings: lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin antibody (aCL), or anti- $\beta_2$ -glycoprotein I antibody (a $\beta_2$ GPI), with positive findings on two or more occasions within a 12-week interval. The International Society for Thrombosis and Haemostasis Standardization Committee (ISTH-SSC) 2020 guidelines for LA/aPL testing recommend a combination of two tests with different principles: dilute Russell's viper venom time (dRVVT) as the first choice and activated partial thromboplastin time (APTT) as the second choice. In this study, we evaluated the basic performance of the newly developed LA reagent DRVVT (Sysmex Corporation, Kobe, Japan) and confirmed the correlation of LA ratio (LA R) and the agreement with the approved product.*

*Thirty-four patient samples (LA-positive) and 25 normal samples were used for measurements. The normal samples comprised commercially available LA-negative CRYOcheck™ Pooled Normal Donor Set (Precision BioLogic Inc., Dartmouth, Nova Scotia, Canada) and LA control High, LA control Low, Control Plasma N, and CRYOcheck Pooled Normal Plasma (Precision BioLogic Inc.).*

*Repeatability was < 0.8% of coefficient of variation (CV), within laboratory values were < 1.6% of CV. Interferents had no effect on hemoglobin up to 100 mg/dL, conjugated bilirubin up to 30 mg/dL, and intralipid up to 200 mg/dL. Free bilirubin showed a concentration-dependent shortening in clotting time, while the LA R showed no effect up to 30 mg/dL. On-board stability testing revealed that the reagents were stable for up to 3 days. Correlation with the approved product LA R as good ( $y = 1.002x - 0.105$ ,  $r = 0.997$ ), with a judgment agreement rate of 100.0%. Based on these results, this reagent was considered to have sufficient basic performance to be used in routine clinical testing.*

*The model CN-6000 fully automated blood coagulation analyzer (Sysmex) that is used for the evaluation, can detect LA using the APTT reagent and differentiate LA by dRVVT. It can thus contribute to the development of clinical tests.*

## Key Words

Antiphospholipid Antibody Syndrome, Antiphospholipid Antibodies, Lupus Anticoagulant, dilute Russell's viper venom time, CN-6000