

この添付文書をよく読んでから使用してください。

クラスⅢ血液検査用シリーズ
ヘパリンキット

ヒモスアイエル ヘパリン

●全般的な注意

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. 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）

1. 基質試薬
Z-D-アルギニン-グリシン-アルギニン-p-ニトロアニリン塩酸塩
2. ファクターXa試薬
第Xa因子（ウシ由来）
3. アンチトロンビン試薬
アンチトロンビン（ヒト由来）
4. 濃縮緩衝液

●使用目的

血漿中のヘパリンの測定

●測定方法（測定原理）

血漿検体中のヘパリンに、所定量のアンチトロンビン試薬を加えると、ヘパリンは、アンチトロンビン(AT)と複合体[ヘパリン・AT]を形成します。それに過剰量の活性化X因子(FXa)を添加すると、[ヘパリン・AT]によりFXaが中和され¹⁾、更にFXaに対する発色合成基質を添加すると、中和されず残存したFXaにより加水分解されp-ニトロアニリン(p-NA)を遊離します。これを波長405nmで比色測定します。遊離されたp-NA量はヘパリン量と反比例します²⁾。検量線よりヘパリン濃度を求めます。

- ・ヘパリンは臨床的に血栓症と判定された場合や、血栓症のリスクがあると疑われるときの一時的な予防処置として、最もよく使われている抗凝固剤です。
- ・ヘパリンの本質は、硫酸基を持つグリコサミノグリカンで、その生物活性は、凝固系のプロテアーゼ（トロンビンなど）に対するアンチトロンビン（AT）の抗凝固作用を2000倍以上増幅することです。
- ・LMWH（低分子ヘパリン）は、UFH（未分画ヘパリン）のように抗凝固療法に有効であることが認められており、そして、その半減期が非常に長いことも示されています。治療を進める上で、患者の血中ヘパリン濃度のモニタリングが必要となってきています。
- ・UFHとLMWHは、それぞれ特有の抗活性化X因子活性（anti-FXa）を示すため、検量線の標準物質に使用するヘパリンは、患者の治療に使用されているヘパリンと同じ物を使う必要があります^{3,4)}。
- ・インストルメンテーション ラボラトリー社（IL社）の血液凝固分析装置により自動測定することができます。

●操作上の注意

1. 検体
 - 1) 凝固検査に用いる血液は抗凝固剤クエン酸3ナトリウム1容に対して新鮮静脈血9容の割合で採血します。血漿化するときは1500×gで15分間遠心します。検体の採取、取り扱いについてはCLSIドキュメントH21-A5⁵⁾を参照してください。
 - 2) フィブリンが析出している検体は使用しないでください。
 - 3) 遠心操作が不十分な検体は使用しないでください。
2. 妨害物質
IL社の血液凝固分析装置を使用した場合、下記の濃度まで影響はありませんでした。

	ACL (100-7000) ACL Elite Pro/8000/9000/10000 ACL Futura/Advance	ACL TOP ファミリー
ヘモグロビン	200 mg/dL	375 mg/dL
トリグリセライド	700 mg/dL	1630 mg/dL
ビリルビン	20 mg/dL	25 mg/dL

3. 精度管理

精度管理を確実に実施するために、2濃度のコントロールの使用をお勧めします⁶⁾。少なくとも8時間ごとのコントロールの測定をお勧めします。精度管理実施のための平均値、標準偏差及び運用法は各施設で設定してください。コントロール測定値が、設定値から外れる場合には、Westgardらの文献⁷⁾を参照してください。

●用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製方法

- 1) 基質試薬（凍結乾燥）：1バイアルに精製水⁸⁾ 4.0mLを加え溶解します。中栓をしてゆるやかに攪拌し、完全に溶解していることを確認してください。15～25℃で30分間静置します。使用前にバイアルを転倒混和してください。
 - ・溶解後の安定性
15℃保存 7日間（オリジナルバイアルで）
2～8℃保存 3ヶ月間（オリジナルバイアルで）
15℃保存 48時間 ACL Futura/ACL Advance、ACL TOP
- ・試薬の至適安定性を保つために、測定終了後は測定機器から外して2～8℃で冷蔵保存するようにしてください。
- 2) ファクターXa試薬（凍結乾燥）：1バイアルに精製水⁸⁾ 5.0mLを加え溶解します。中栓をしてゆるやかに攪拌し、完全に溶解していることを確認してください。15～25℃で30分間静置します。使用前にバイアルを転倒混和してください。
 - ・溶解後の安定性
15℃保存 7日間（オリジナルバイアルで）
2～8℃保存 3ヶ月間（オリジナルバイアルで）
15℃保存 48時間 ACL Futura/ACL Advance、ACL TOP
- ・試薬の至適安定性を保つために、測定終了後は測定機器から外して2～8℃で冷蔵保存するようにしてください。
- 3) アンチトロンビン試薬（凍結乾燥）：1バイアルに精製水⁸⁾ 3.0mLを加え溶解します。中栓をしてゆるやかに攪拌し、完全に溶解していることを確認してください。15～25℃で30分間静置します。使用前にバイアルを転倒混和してください。
 - ・溶解後の安定性
2～8℃保存 3ヶ月間（オリジナルバイアルで）
- ・試薬の至適安定性を保つために、測定終了後は測定機器から外して2～8℃で冷蔵保存するようにしてください。
- 4) 希釈緩衝液（溶液）：濃縮緩衝液1容量に対して精製水⁸⁾ 9容量を加えて希釈します。使用前に混和してください。
 - ・濃縮緩衝液開栓後の安定性
2～8℃保存 3ヶ月間（オリジナルバイアルで）
- 5) 測定用緩衝液（溶液）：4)の希釈緩衝液24mLに3)で調製したアンチトロンビン試薬1mLを加え混和し、測定用緩衝液として用います。
 - ・調製後の安定性
2～8℃保存 7日間（ボトルに入れ蓋を閉めて）
15℃保存 7日間（ボトルに入れ蓋を閉めて）
15℃保存 48時間 ACL Futura/ACL Advance、ACL TOP
- 6) ヒモスアイエル キャリブレーション血漿（凍結乾燥・別売品）：バイアル1瓶に精製水⁸⁾ 1.0mLを加え、再びバイアルキャップをはめて、ゆるやかに攪拌してください。内容物が完全に溶解しているのを確認してください。溶解後の試薬は、15～25℃で30分間静置し、使用前に、再度バイアルを転倒混和してください。その際バイアルを激しく振らないようにご注意ください。
（製品添付の使用説明書に従ってご使用下さい）
- 7) ヒモスアイエル クリーニング エージェント（クリーンA）（溶液・別売品）：そのまま使用します。
- 8) ヒモスアイエル クリーニング エージェント（クリーンB）（溶液・別売品）：そのまま使用します。

注）凍結乾燥の試薬を調製する際に一時的に乳白色を示すことがありますが、2分ほどで消えます。

2. 必要な器具・器材・試薬等

- ・標準品
施設で対象患者に対して治療使用中のヘパリン剤と同じ種類のものを使用し、血液凝固自動分析装置のオペレーターズマニュアルに従って0.8U/mLに調製します。
- ・標準品希釈液
正常血漿（ヘパリン治療をしていないもの、NPP）又はヒモスアイエル キャリブレーション血漿（00020003700）

- ・ 洗浄液
ヒーモスアイエル クリーニング エージェント（クリーンA）
(00009831700)
ヒーモスアイエル クリーニング エージェント（クリーンB）
(00009832700)
- 3. 測定操作法
IL社血液凝固自動分析装置の各装置にはあらかじめ測定条件がセットされています。
装置のオペレーターズマニュアルに従い、治療に使用しているヘパリンを下記の標準品希釈液を用いて希釈し、0.8IU/mL標準品を準備します。
ACL TOPファミリー：正常血漿（NPP）
ACL Advance/Futura：キャリブレーション血漿
ACL Elite Pro/8000/9000/10000：キャリブレーション血漿
ACL (100-7000)：正常血漿（NPP）

操作法詳細については、血液凝固自動分析装置のオペレーターズマニュアル及びアプリケーション/リファレンスマニュアルを参照してください。
IL社製の自動血液凝固分析装置で測定することをお勧めします。
IL社製以外の自動血液分析装置での測定結果については保証いたしません。
注意）ACL（100-7000）でヘパリン測定したときは、クリーニング操作を行ってください。

[ACL TOPによる例（未分画ヘパリン）]
血漿 8μL を測定用緩衝液 160μL で希釈します。その希釈検体を 50μL とし、ファクターXa 試薬 50μL を加えて一定時間加温します。更に基質試薬 50μL を加え、p-ニトロアニリンの放出量を 405nm で比色測定します。測定結果は IU/mL で報告されます。
上記操作は ACL TOP 内で自動的に行われます。

●測定結果の判定法

- 1. 参考基準範囲
ヘパリン濃度の判定には、ヘパリン製剤の製造販売元で推奨している範囲をご使用ください⁹⁾。
- 2. 判定上の注意
1) 検体によっては、まれに検体中の目的成分以外との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、反応曲線を確認し、再検査や希釈再検査等により確認してください。
2) 測定値に影響を与えるため、クエン酸ナトリウム以外は抗凝固剤として使用しないでください。
3) 診断・治療効果の判定は、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。

●性能

- 1. 感度
ヘパリン濃度0.3IU/mL及び0.6IU/mLのものを試料として操作する場合の測定値は、0.3IU/mLでは0.24～0.36IU/mL、0.6IU/mLでは0.48～0.72IU/mLです。
- 2. 正確性
既知濃度の管理血漿を測定するとき、既知濃度の±20%以内にあります。
- 3. 同時再現性
同一検体を3回以上同時に測定するとき、測定値のC.V.値は10%以下です。
- 4. 測定範囲
ACL (100-7000)、ACL Futura/ACL Advance 0～1.0 IU/mL
ACL Elite Pro/8000/9000/10000 0～1.0 IU/mL
ACL TOP 0～1.1 IU/mL
- 5. 相関性
本法と他試薬との相関は、以下のとおりでした。
N=50、r=0.974、y=0.958x + 0.046 (y：本法)
この結果は、特定のロット番号の試薬を使用して得られたものです。
- 6. 校正用の基準物質（標準物質）
NIBSC（ヘパリン標準品）

●使用上又は取り扱い上の注意

- 1. 取り扱い上の注意
1) 検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れのあるものとして取り扱いってください。
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、口でのピペットティグは行わないでください。
3) 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て等を受けてください。
4) この製品の原材料は、HBs抗原とHIV抗体及びHCV抗体が陰性であることをFDAで認められている方法で確認しています¹⁰⁾。また、動物由来

- 成分も含まれております。現在の検査法ではすべての感染性を完全に否定できませんので、患者検体と同様に扱ってください。
- 2. 使用上の注意
1) 試薬は貯蔵方法に従って保存し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
2) 異なるロットとの組み合わせで使用しないでください。
3) 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きたすことがあります）。
4) ゴミなどが試薬及びセルに混入しないように留意してください。

- 3. 廃棄上の注意
1) 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。
2) 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。

●貯蔵方法及び有効期間

- 1. 貯蔵方法 2～8℃
- 2. 有効期間 24ヶ月

●包装単位

製品番号	品目名	包装単位
00020009400	基質試薬	4mL用×1
	ファクターXa試薬	5mL用×1
	アンチトロンビン試薬	3mL用×1
	濃縮緩衝液	8mL×1

●主要文献

- 1) Teien AN, Lie M. Evaluation of an Amidolytic Heparin Assay Method: Increased Sensitivity by Adding Purified Antithrombin III, Thromb. Res. 1977; 10: 399-410.
- 2) Teien AN, et al. Assay of Heparin in Plasma using a Chromogenic Substrate, Thromb. Res. 1976; 8: 413-416.
- 3) Fareed J, Hoppenstadt D, Jeske W, Clarizio R, Waleng JM, Bick RL. The Available Low Molecular Weight Heparin Preparations Are Not the Same, Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis. 1997; 3 (suppl. 1): s38-s52.
- 4) Holmer E, Kurachi K, Söderström. The Molecular-Weight Dependence of the Rate-Enhancing Effect of Heparin on the Inhibition of Thrombin, Factor Xa, Factor IXa and Kallikrein by Antithrombin, Biochem J. 1981: 193: 395-400.
- 5) Clinical and Laboratory Standards Institute. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation Assays and Molecular Hemostasis Assay ; Approved Guideline Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
- 6) Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- 7) Westgard JO, and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press 1986.
- 8) Clinical and Laboratory Standards Institute. Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory, Fourth Edition, CLSI Document C3-A3; Vol.26 No. 22.
- 9) Holm HA, Abildgaard U, Kalvenes S. Heparin Assays and Bleeding Complications in Deep Venous Thrombosis with Particular Reference to Retroperitoneal Bleeding, Thromb. Haemost. 1985; 53: 278-281.
- 10) Richmond JY, McKinney RW eds. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, 4th Edition, 1999.

- 問い合わせ先
アイ・エル・ジャパン株式会社
* 東京都品川区東品川2-5-8
TEL：0120（274）011

外国特例承認取得者
インストルメンテーション ラボラトリー社
米国

- 選任製造販売業者
アイ・エル・ジャパン株式会社
* 東京都品川区東品川 2-5-8

000301825R10AJPv2