

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Ⅱ免疫検査用シリーズ

血小板第 4 因子-ヘパリン複合体抗体キット

ヒモスアイエル アキュスター HIT-IgG(PF4-H)

● 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) 本品はヘパリン起因性血小板減少症（HIT）の診断補助に使用するものであり、診断・治療効果の判定は、臨床症状（4T's 等の臨床スコア）、血小板機能検査並びに本法の測定結果より医師が総合的に診断してください。
- 3) ヒモスアイエル アキュスターHIT-Ab(PF4-H)（別売品）は、HIT 抗体のスクリーニング検査として有用であり、ヒモスアイエル アキュスターHIT-IgG(PF4-H) は、確定診断補助検査として有用です。
- 4) 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。
- 5) HIT-IgG(PF4-H)キャリブレーター1 及び 2 は、FDA により認可された検査方法により HIV 抗原、HBs 抗原、HCV 抗体が陰性であることが確認されています。しかし、HIV、HBV、HCV 及び他の感染症の病原体の存在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物質として扱ってください。
- 6) 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. R:HIT-IgG(PF4-H)試薬カートリッジ
 - 1) PF4-PVS 複合体コーティング磁性粒子懸濁液
Magnetic particles
ヒト血小板第 4 因子-ポリビニルスルホン酸ナトリウム複合体
コーティング磁性粒子
 - 2) 測定用緩衝液
Assay buffer
 - 3) トレーサー
Tracer
イソルミノール標識抗ヒト IgG マウスモノクローナル抗体
 - 4) 検体希釈液
Sample diluent
2. C1:HIT-IgG(PF4-H)キャリブレーター1
HIT-IgG(PF4-H) Calibrator 1
3. C2:HIT-IgG(PF4-H)キャリブレーター2
HIT-IgG(PF4-H) Calibrator 2
4. トリガー1（別売品）
Trigger1
ポルフェリン鉄錯体（ $C_{36}H_{36}ClN_4O_8Fe$ ）
5. トリガー2（別売品）
Trigger2
過酸化尿素

● 使用目的

血漿又は血清中の血小板第 4 因子(PF4)-ヘパリン複合体に対する IgG(HIT 抗体 IgG)の測定

● 測定方法（測定原理）

本品は化学発光を利用した 2 ステップ免疫法です。
検体中の血小板第 4 因子(PF4)-ヘパリン複合体に対する IgG(HIT 抗体 IgG)が磁性粒子にコーティングされた PF4-PVS 複合体（ヒト血小板第 4 因子-ポリビニルスルホン酸ナトリウム複合体）と結合します。インキュベーション、洗浄後にイソルミノールで標識された抗体（イソルミノール標識抗ヒト IgG マウスモノクローナル抗体）を加えることで磁性粒子上にある HIT 抗体 IgG を捕らえます。再度インキュベーションと洗浄を行い、発光を促す試薬であるトリガー1（ポルフェリン鉄錯体）およびトリガー2（過酸化尿素）を添加すると、標識物であるイソルミノールが発光します。発生した光の相対的光量（単位：RLUs）を ACL アキュス

ターの光学システムにより検出します。RLUs は検体中の HIT 抗体 IgG 濃度に比例することにより、検体中の HIT 抗体 IgG 抗体の濃度を算出します。

● 操作上の注意

1. 検体
 - 1) 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。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 NCCLS ドキュメント H21-A5¹⁾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。
 - 4) 凍結検体は 37℃で素早く解凍し、測定は 2 時間以内に実施してください。
 - 5) 検査前に検体に粒子状の物質が存在する場合は、遠心分離を行って下さい。
 - 6) 血清を検体として用いる場合は、採血後、凝固塊から血清を分離して下さい。
 - 7) 貯蔵等に関しては CLSI ドキュメント H18-A3 の勧告に従って下さい²⁾。
2. 妨害物質
 - 1) 共存物質
ACL アキュスターにおいて、本品はヘモグロビン 500mg/dL、ビリルビン C 及び F 18mg/dL、トリグリセリド 1250mg/dL、ヘパリン（低分子、未分画）1IU/mL まで影響を受けませんでした。リウマチ因子については、陰性から HIT 抗体 IgG が 1.7IU/mL までの低濃度までは影響は見られませんでした。高陽性では影響が見られました。ただし、最終的な判定(陽性・陰性)には影響は及ぼしません。
注意：リウマチ因子陽性検体は HIT 抗体 IgG 陽性検体の測定値を増加させる場合があります。

2) 交差反応

本品で交差反応の可能性がある下記 56 検体について、海外で流通している製品と比較し影響の有無を検討した。

検体種	検討数	不一致数	一致率
リウマチ因子陽性	10	0	100%
伝染性単核球症	10	0	100%
高 IgG 血	10	1	90%
高 IgM 血	10	1	90%
パラプロテイン IgG 陽性	4	0	100%
パラプロテイン IgM 陽性	2	0	100%
妊婦	6	0	100%
妊婦（多重産）	4	0	100%
合計	56	2	96.4%

3. 精度管理

良質な精度管理プログラムを行うにおいては 2 濃度のコントロールを用いることを推奨します³⁾。
精度管理用血清は低値、高値の 2 つの濃度があります。それぞれの検査室において各自の平均値及び標準偏差値を設定し、各検査項目のモニターのための品質管理計画を設定する必要があります。検査室においては、項目を使用している場合、8 時間間隔でコントロールを実施することが推奨されます。詳細については機器の操作説明書をご参照下さい。
コントロールの状況についての検証と判断については「Westgard」⁴⁾を参照下さい。

4. 血清と血漿との比較

血清及び血漿の 16 検体を本品により分析を行いました。濃度は血漿検体を参照値 (X 軸) とし Passing and Bablok の直線回帰式により比較した結果、直線の傾き及び切片はそれぞれ 1.06、0.01 であり相関係数は 0.978 でした。

また、血清及び血漿の 41 検体の定性結果について比較した結果、一致率 97.6%と良好でした。

		クエン酸血漿	
		陽性	陰性
血清	陽性	15	0
	陰性	1	25

5. その他

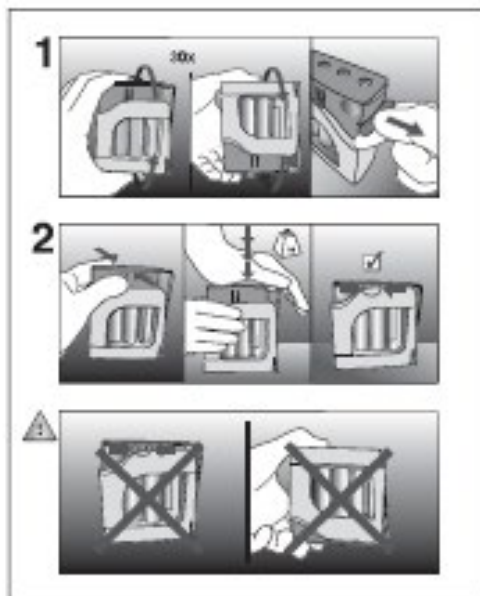
本品はインストルメンテーション ラボラトリー社製免疫発光測定装置 ACL アキュスターの専用試薬です。

● 用法・用量 (操作方法)

1. 試薬の調製法

1) HIT-IgG_(PF4-H)試薬カートリッジ

- ① 試薬中の磁性粒子は保管期間等で沈殿していますので使用前に混和が必要になります。
- ② カートリッジを初めて使用するときは泡が生じないように緩やかにカートリッジを 30 回転倒混和します。
- ③ 試薬中の磁性粒子が再懸濁していることを確認します。磁性粒子が再懸濁していない場合、完全に懸濁するまでカートリッジを転倒混和して下さい。
- ④ 磁性粒子が再懸濁しない場合は、そのカートリッジは使用しないで下さい。
- ⑤ 磁性粒子が再懸濁されたなら、カートリッジを固定できる面に置き、ゆっくりとカートリッジより、赤い安全輸送タブを取り外して下さい。
- ⑥ この面にカートリッジを置いたままピアッシング キャップ (灰色部分) の側面にある 2 つのタブを押し、さらにカートリッジ上面をロックポジションの中でカチッと音がするまで押します。一度ロックされるとタブは見えませんが、開封されたカートリッジを転倒混和しないでください。
- ⑦ カートリッジが分析機にセットされた後は、オンボード上で定期的な混和が行われます。



2) HIT-IgG_(PF4-H)キャリブレーター1 及び 2

本品は液体です。性能を保持するために使用前に数回の緩やかな転倒混和を行って下さい。泡が生じないようにしてください。

2. 試薬の安定性 :

未開封状態では HIT-IgG_(PF4-H)試薬カートリッジ、HIT-IgG_(PF4-H)キャリブレーター 1 及び 2 は、2~8℃で保存した場合、ラベルに記載されている有効期限内で使用できます。

- ・ HIT-IgG_(PF4-H)試薬カートリッジ :
開封後、ACL アキュスターシステム上で 12 週間安定。
- ・ HIT-IgG_(PF4-H)キャリブレーター 1 及び 2
開封後、ACL アキュスターシステム上で 4 時間安定。
キャリブレーターは、使用后システムから取り外しオリジナルバイアルにキャップをした状態で 2~8℃で保存して下さい。

3. 必要な器具・機材・試薬等

- ・ ACL アキュスター専用共通試薬(トリガー1 及びトリガー2)
(0009802201)
- ・ 管理用血清
ヒモスアイエル アキュスターHIT コントロール
(0009802122)

4. 測定操作方法

免疫発光測定装置 ACL アキュスターには、あらかじめ測定条件がセットされています。

測定法の詳細については、機器の操作説明書をご覧ください。

- ① ACL アキュスターに検体、HIT-IgG_(PF4-H) 試薬カートリッジ、トリガー1、トリガー2 (必要に応じて HIT-IgG_(PF4-H)キャリブレーター 1 及び 2) を所定の箇所にセットし、測定を開始します。
- ② 血漿検体 15 µL を検体希釈液 135 µL で、または血清検体 15 µL を検体希釈液 150 µL で希釈します。
- ③ 試薬カートリッジ内の PF4-PVS 複合体コーティング磁性粒子懸濁液 20 µL、測定用緩衝液 60 µL、希釈した血漿または血清検体 15 µL を反応キュベットに加え、混和後 37℃で加温 (9 分) し、検体中の HIT 抗体 IgG と PF4-PVS 複合体を結合させます。
- ④ 洗浄し、不要な検体成分等を除去します。
- ⑤ 反応キュベット中に試薬カートリッジ内のトレーサー-150 µL を加え、混和後 37℃で加温 (10 分) し、磁性粒子と結合している HIT 抗体 IgG と標識抗ヒト IgG 抗体を結合させます。
- ⑥ 再度洗浄を行い非結合の標識抗体を除去します。
- ⑦ 反応キュベットにトリガー1(200 µL) およびトリガー2 (200 µL) を分注します。
- ⑧ 標識されたイソルミノールが発光し、その相対性発光量を測定 of 増減より検体中の HIT 抗体 IgG の濃度を算出します。

上記の操作 (②~⑧) は免疫発光測定装置 ACL アキュスターにおいて自動的に実施され、反応終了まで約 30 分間を要します。結果は U/mL (HIT-IgG_(PF4-H)Arbitrary Units(自社単位)) で表示されます。

単位 U/mL について

HIT-IgG_(PF4-H)Arbitrary Units(自社単位)は、健康者と臨床的に HIT と疑われる患者の集団を分析しカットオフ値を 1U/mL と設定しました。

● 測定結果の判定法

基準範囲

成人健康者の血液バンククエン酸血漿を試料とし本品及びキャリブレーターを用いて測定し、検討を行った結果下記の結果が得られました。

機種	N	ULNR(U/mL)
ACL アキュスター	150	0.39

健康者及びヘパリン起因性血小板減少症の疑われる患者より、統計学的に得られた臨床的カットオフ値は下記の通りでした。

臨床的カットオフ値 : 1 U/mL (自社単位)

カットオフ値 1U/mL を用い 1U/mL 以上を陽性とする。

注意 : ACL アキュスターは血漿と血清の希釈の違いを自動的に計算します。報告される血清検体の結果を係数で再計算する必要はありません。

- ・ 本品で使用する PF4-PVS 複合体と体内で産生される PF4-ヘパリン複合体で若干異なる可能性があります。その結果抗体によっては PF4-PVS 複合体に反応するが PF4-ヘパリン複合体で反応しないあるいはその逆の特性をもつ場合もあります。
- ・ 本品を使用して得られた陽性反応はヘパリン関連抗体の存在を示します (抗体の検出)、しかしながら、ヘパリン起因性血小板減少症 (HIT) の診断の確定にはなりません。
- ・ 一部の患者において、PF4 に対する抗体を先天性に持っている場合があります。
- ・ 分析はプロゾーン現象の影響は受けません。分析プロトコルにはプロゾ

- ・ 128U/mL 以上の結果の検体の場合、128U/mL 以上あるいは測定範囲以上と報告をしてください。
- ・ 検体によっては非直線性の変動を示す場合があります。

● 臨床的意義

血栓症に関与するヘパリン起因性血小板減少症（HIT）は、免疫複合体によってもたらされた疾患で、ヘパリン投与を受けている患者において発症し及び死亡に至ることもあります。

迅速な診断は、適切な患者管理を行う上で重要です。HIT は下記場合に疑われます。

- ・ ヘパリン投与中に血小板数の継続的な減少が見られる
- ・ ヘパリン投与を中止後に血小板数が回復する
- ・ 血小板減少症の起因として明確な他の要因がない

HIT II 型（免疫アレルギー反応が原因の免疫アレルギー型）はヘパリン投与中における重大な合併症です⁵⁾。これはヘパリン-PF4 複合体の形成が原因になっています⁶⁾。

HIT のおよそ 85%においてヘパリン-PF4 複合体に対する抗体が産生されることが示されています⁷⁾。

HIT II 型と関連した抗体は血小板第 4 因子（PF4）上の部位（抗原決定基）を認識することが知られており、この部位は PF4 がヘパリンあるいはポリビニルスルホン酸塩（スルホン化ポリビニル（PVS））のような線型のポリアニオン化合物と結合した際に形成されます⁸⁻⁹⁾。

病状の出現は主に IgG アイソタイプのヘパリン依存性抗体が関係しています。

しかしながら、検査が臨床的合併症の出現のリスクの評価を目的としたときには、総抗体（IgG/IgA/IgM）の測定が、この合併症の予後の予測因子として有用です。これらの抗体の存在が、必ずしも血小板減少を導きませんが、警告としての指標になります¹⁰⁾。

● 臨床的性能

- 1) 臨床的にヘパリン起因性血小板減少症を確定診断された血清 95 検体、血漿 41 検体について本試薬で測定した結果はそれぞれ、一致率は 91.6%、95.1%、感度は 85.4%、88.9%、特異度は 96.3%、100% でした。

		臨床的診断結果	
		陽性	陰性
本製品	陽性	35 例	2 例
	陰性	6 例	52 例

乖離例詳細

乖離結果を示した検体は、臨床診断陰性、セロトニン放出試験(SRA 法)陰性、本製品陽性：2 例、臨床診断陽性、SRA 法陽性、本製品陰性：2 例、臨床診断陽性、SRA 法陰性、本製品陰性：4 例でした。

血漿 41 検体

		臨床的診断結果	
		陽性	陰性
本製品	陽性	16 例	0 例
	陰性	2 例	23 例

乖離例詳細

乖離した 2 例とも、臨床診断は陽性に対し SRA 法は陰性、他社 HIT-IgG キットは陰性、他社 HIT-Ab キットは陽性、本製品陰性でした。

- 2) 機能的検査法である SRA 法で測定された血清 88 検体を本製品で測定した結果、陽性一致率は 61.5%、陰性一致率は 87.8%、総一致率は 76.1%でした。

		SRA 法	
		陽性	陰性
本製品	陽性	24 例	6 例
	陰性	15 例	43 例

乖離例詳細

乖離結果を示した検体は、臨床診断陰性、SRA 法陰性、本製品陽性：2 例、臨床診断陰性、SRA 法陽性、本製品陰性：13 例、臨床診断陽性、SRA 法陰性、本製品陽性：4 例、臨床診断陽性、SRA 法陽性、本製品陰性 2 例でした。

- 3) 海外で臨床検査薬として使用されている A 試薬（血清検体、ELISA 法）、B 試薬（血漿検体、ELISA 法）で測定された血清 125 検体、血漿 266 検体を本製品で測定した結果、血清検体では陽性一致率は 92.3%、陰性一致率は 97.7%、総一致率は 96.0%、血漿検体では陽性一致率は 61.4%、陰性一致率は 97.0%、総一致率は 83.5%でした。

血清 125 検体

		A 試薬（ELISA 法）	
		陽性	陰性
本製品	陽性	36 例	2 例
	陰性	3 例	84 例

血漿 266 検体

		B 試薬（ELISA 法）	
		陽性	陰性
本製品	陽性	62 例	5 例
	陰性	39 例	160 例

乖離例について

製品間の乖離については、現在、HIT 抗体に対して標準化した物質が存在しないため、カットオフ値は製造元独自で設定しているため製品で使用している固相物質、使用抗体の違いにより生じたと考えられます。

ヘパリン起因性血小板減少症の診断は、HIT 抗体検査のみならず、臨床評価（4Ts 等）、血小板機能検査（SRA 等）の各結果を考慮し総合的に診断する必要があります。各項目の評価対象が異なることによる結果の乖離が生じることがあります。

● 性能

1. 性能

(1)感度

HIT 陰性管理用血清（0.20～0.90U/mL）と HIT 陽性管理用血清（1.5～5.0 U/mL）を 3 回測定するとき、HIT 陽性管理用血清の平均値－2SD 及び HIT 陰性管理用血清の平均値＋2SD 計算したとき、HIT 陽性管理用血清の平均値－2SD は HIT 陰性管理用血清の平均値＋2SD 以上です。

(2)正確性

HIT 陰性管理用血清（0.20～0.90U/mL）と HIT 陽性管理用血清（1.5～5.0 U/mL）を測定したとき、HIT 陰性管理用血清は陰性を示し、HIT 陽性管理用血清は陽性を示す。

(3)同時再現性

HIT 陰性管理用血清（0.20～0.90U/mL）と HIT 陽性管理用血清（1.5～5.0 U/mL）について同一検体を 3 回同時に測定するとき、C.V.値は 15%以下である。

(4)測定範囲

0.13-128 U/mL

2. 校正用標準物質

使用される表示値は社内の特定のロットの試薬を用いハウススタンダードを ACL アキュスターシステムにて多重測定し決定されます。

● 使用上又は取り扱い上の注意

1. 取り扱い上の注意

- 1) 本品の原材料にヒト由来の成分を使用していますが、HBs 抗原、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。しかし、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¹¹⁾。
- 2) 検体は HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れのあるものとして取り扱ってください。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を着用し、また口によるビベッティングを行わないでください。
- 3) 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て等を受けてください。

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) 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）。
- 3) 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) 全ての試薬は、0.1%以下のアジ化ナトリウムを含んでいます。アジ化物は鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを精製することがありますので、廃棄の際は多量の水とともに流してください。
- 3) 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。

● 貯蔵方法および有効期間

HIT-IgG _(PF4-H) 試薬カートリッジ及び HIT-IgG _(PF4-H) キャリブレーター 1 及び 2	
貯蔵方法	2～8℃
有効期間	12 ヶ月間
トリガー 1 及び 2（別売品）	
貯蔵方法	15～25℃
有効期間	24 ヶ月間

● 包装単位

製品番号	品目名	包装
0009802028	ヒームスアイエル アキュスター HIT-IgG _(PF4-H)	HIT-IgG _(PF4-H) 試薬 カートリッジ (25 テスト)
		HIT-IgG _(PF4-H) キャリブレーター 1 (1mL ×1 バイアル)
		HIT-IgG _(PF4-H) キャリブレーター 2 (1mL ×1 バイアル)
0009802201 (別売品)	ACL アキュスター 専用共通試薬 (トリガー 1 及び トリガー 2)	トリガー 1 (250mL ×1)
		トリガー 2 (250mL ×1)

トリガー 1 及び 2 は別売品です。

● 主要文献

- 1) Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI. Collection, Transport, and Processing of Blood Specimens for Testing Plasma-Based Coagulation and Molecular Hemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition, CLSI/NCCLS Document H21-A5; Vol. 28 No. 5
- 2) Clinical and Laboratory Standards Institute/CLSI. Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: Third Edition, CLSI/NCCLS Document H18-A3; Vol. 24 No. 38
- 3) Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am. J. Clin. Pathol. 1970; 53: 924-927.
- 4) Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Process, AACC Press. 1986.
- 5) Warkentin TE et al, Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight-heparin or unfractionated heparin. N Eng J Med. 1995, 332(1):1330-1335
- 6) Amiral J et al, Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced-thrombocytopenia, Thromb Haemost. 1992, 68(1):95-96
- 7) Greinacher A et al, Heparin-associated thrombocytopenia: isolation of the antibody and characterization of a molecular PF4-heparin complex as the major antigen Thromb. Haemost. 1994, 71(2) 247-251
- 8) Visentin GP et al, Antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia (HIT) report conformational changes in platelet factor 4 (PF4) induced by linear, polyanionic compounds. Blood (Suppl 1) 1997, 90:460a
- 9) Visentin GP et al, Heparin is not required for the detection of antibodies associated with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis. J Lab clin med. 2001, 138(1):22-31
- 10) Amiral J et al, Antibodies to macromolecular platelet factor 4-heparin complexes in heparin-induced thrombocytopenia: a study of 44 cases, Thromb Haemost. 1995, 73(1), 21-28
- 11) 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

キャリブレーター表示値

Lot.XXXXXX Exp.XXXX.XX.XX

C1 : HIT-IgG _(PF4-H) キャリブレーター 1	XXXX U/mL
C2 : HIT-IgG _(PF4-H) キャリブレーター 2	XXXX U/mL

T38004116R0AJPv2