体外診断用医薬品
承認番号　22400AMI00004000
00020302700

2017年8月作成（第1版）

この添付文書をよく読んでから使用してください。

血小板第4因子-ヘパリン複合体抗体キット

ヒーモスアイエル　HIT-Ab (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. 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. PF4-PVS複合体試薬は、FDAにより認可された検査方法によりHIV抗体、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。
5. 本品は、インスツルメンテイション　ラボラトリー社製ACL TOPファミリーの専用試薬になります。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: ラテックス試薬
   Latex Reagent
   抗 PF4-ヘパリン複合体マウスモノクローナル抗体
2. S: 安定化剤
   Stabilizer
3. Com: PF4-PVS 複合体試薬
   Complex
   ヒト血小板第 4 因子(PF4)
   ポリビニルスルホン酸ナトリウム
4. C: キャリブレーター(凍結乾燥)
   Calibrator

●使用目的

血漿中の血小板第4因子(PF4)－ヘパリン複合体に対するIgG、IgM及びIgA(HIT抗体)の測定

●測定方法（測定原理）

本品は、検体中の血小板第4因子(PF4)－ヘパリン複合体に対するIgG、IgM及びIgA(HIT抗体)あるいはラテックス表面の抗PF4-ヘパリン複合体マウスモノクローナル抗体をコーティングしたラテックス粒子が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）との抗原抗体反応により結合する反応を利用した競合法を用いたラテックス比濁法です。
キュベットに検体、抗PF4-ヘパリン複合体マウスモノクローナル抗体がコーティングされたラテックス粒子を分注し一定時間加温します。さらにPF4-PVS複合体を添加、混和することで検体中のHIT抗体と試薬中の抗PF4-ヘパリン複合体マウスモノクローナル抗体が競合し結合します。
PF4-PVS複合体は、ラテックス粒子上の抗体と結合した場合、PF4-PVS複合体がラテックス粒子間の架橋となり凝集しますが、検体中のHIT抗体とPF4-PVS複合体が結合した場合は凝集しません。この凝集の度合いを透過光により測定します。凝集が増加するに伴い透過光が減少するため透過光の変化より検体中のHIT抗体を算出します。

●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（旧NCCLS）ドキュメント H21-A5[1] 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、遠心分離を行ってください。
2. 妨害物質
   1) HIT-Ab(PF4-H)の結果は ACL TOP ファミリーにおいて下記濃度まで影響を受けませんでした。

物　質	ヘモグロビン	ビリルビン C	ビリルビン F	濁　度
濃　度	495 mg/dL	20 mg/dL	18 mg/dL	1.46 FTU#
物　質	トリグリセライド	リウマトイド因子	HAMA	
濃　度	250 mg/dL	1000 IU/mL	1 μg/mL	

#:FTU(Formazin Turbidity Units)

注意：トリグリセライド濃度 250mg/dl 以上では測定値が増加する可能性があります。

   2) 交差反応
   ヘパリン起因性血小板減少症の疑いのないヘパリン（未分画、低分子）使用患者の検体をヒーモスアイエル HIT-Ab(PF4-H)で測定したところ下記の通りでした。
   低分子ヘパリン使用患者（使用濃度 0.25-1.08IU/mL）20 検体全ての測定結果で、カットオフ値（1U/mL）を下回りました。
   未分画ヘパリン使用患者（使用濃度 0.15-6.74IU/mL）22 検体の測定結果で、20 検体はカットオフ値（1U/mL）を下回りましたが、2 検体でカットオフ値を僅か（最高値 1.3U/mL）に上回りました。しかしながら、HIT 抗体の結果と未分画ヘパリンの使用濃度との間に相関関係はありませんでした。
   抗リン脂質症候群（APS）と診断された患者の検体をヒーモスアイエル HIT-Ab(PF4-H)で測定したところ下記の通りでした。
   抗リン脂質症候群（APS）と診断された 26 検体全ての測定結果でカットオフ値（1U/mL）を下回りました。
   本検討より、ヘパリン治療を受けている患者において、ヒーモスアイエル HIT-Ab(PF4-H)の結果が 1.0U/mL を若干超える場合が在ることが示されました。
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 [2]。
   精度管理用血漿は低値、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ください。
   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」[3]を参照ください。
4. その他
   本品はインスツルメンテイション　ラボラトリー社製ACL TOPファミリーの専用試薬です。
   (ACL TOPファミリーとは、同一測定原理を有する機器群で処理能力、サイズにより機器の名称は異なります。)

●用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製方法
   本試薬はすべて調製済みですのでそのまま使用してください。
   1) ラテックス試薬
   使用前に数回転倒混和してください。激しく混和しないでください。泡が生じないよう注意してください。
   2) 安定化剤
   使用前に数回転倒混和してください。激しく混和しないでください。泡が生じないよう注意してください。
   3) PF4-PVS 複合体試薬
   使用前に数回転倒混和してください。激しく混和しないでください。泡が生じないよう注意してください。
   4) キャリブレーター
   開封は、十分注意してゆっくりと行ってください。バイアルに精製水 1mL*を加え、再度キャップをした後緩やかに混和します。完全に溶解したことを確認後、室温（15-25℃）で30分静置します。使用前に数回緩やかに混和して下さい。このとき、泡が出来ないように注意して下さい。
   *CLSI [1] が定める水質基準を満たす臨床検査用試薬水(CLRW [2])または同等物
   1) CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute（米国臨床検査標準協会）
   2) CLRW: Clinical Laboratory Reagent Water（臨床検査用試薬水）

注意：液面にある泡は分析機の液面センサーに対し干渉する可能性があります。

2. 試薬の安定性

未開封状態で2～8℃において保存された場合はラベルに記載されている有効期限まで使用できます。

試薬（ラテックス試薬、安定化剤及びPF4-PVS複合体試薬）の開封後の安定性

・オリジナルバイアル：2~8℃保存で2ヶ月間安定。
・ACL TOPファミリー：15℃保存で36時間安定。
・機器上で4時間使用し、その後キャップをし、2~8℃で保存された場合：試薬の機上での累積時間は20時間まで安定。（本累積保存に関する検討は9日間実施）
・機器上で2時間使用し、その後キャップをし、2~8℃で保存された場合：試薬の機上での累積時間は16時間まで安定。（本累積保存に関する検討は15日間実施）凍結しないでください。
・キャリブレーター
調製後、直ちにご使用ください。調製後の安定性はACL TOPファミリーの機器上で15~25℃保存して3時間安定です。

3. 必要な器具・機材・試薬等

・ヒーモスアイエル　HIT-Ab(PF4-H)コントロール
（製品番号：00020013200, 00020013300）
・ファクターダイリューエント（製品番号：00009757600）

4. 測定操作方法

ACL TOPファミリーには、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。

①ACL TOPファミリーにラテックス試薬、PF4-PVS複合体試薬、キャリブレーター、安定化剤を試薬ラックに、検体を所定の箇所にセットし測定を開始します。
②検体またはキャリブレーター（20μL）、ラテックス試薬（50μL）、安定化剤（100μL）を反応キュベットに加え37℃で加温します。
③キュベットにPF4-PVS複合体試薬（10μL）を添加し、検体中のHIT抗体とラテックス上の抗PF4-ヘパリン複合体マウスモノクローナル抗体が競合しPF4-PVS複合体と結合します。ラテックス上の抗体に結合した場合PF4-PVS複合体がラテックス間の架橋となり凝集します。一方検体中のHIT抗体とPF4-PVS複合体が結合した場合はラテックスの凝集に関与しません。
④波長671nmでの透過光量を600秒間測定し、この透過光量よりHIT抗体の濃度を算出します。

本操作（①～④）は、血液凝固自動装置ACL TOPファミリーにおいて自動的に実施され、反応終了まで約15分間要します。

自動再検の設定が有効である場合、機器上で希釈し希釈係数を用いて最終結果を補正します。これにより測定範囲が16U/mLまで拡大します。結果が16U/mLを上回る場合、手希釈により検体を10倍希釈し（検体50μL+ファクターダイリューエント450μL）、通常の検体として再測定した後、得られた結果を10倍にし、最終的な結果を算出することが出来ます。

単位U/mLについて
U/mL（HIT-Ab(PF4-H) Arbitrary Units(自社単位)）は、健常者と臨床的にHITと疑われる患者の集団を統計学的に分析し、カットオフ値を1U/mLと設定しました。

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。

●測定結果の判定法

基準範囲
健常者において通常HIT抗体は持っていません。
性能試験の一環としてACL TOPファミリーを用いたヒーモスアイエルHIT-Ab(PF4-H)の最適なカットオフ値の下記の検討が行われました。
明らかな健常人（血液バンクドナー）131血漿検体を測定したところ、95%信頼間隔は0-0.6U/mLでした。更に臨床的にHITの疑いの無いヘパリン（未分画、低分子）使用患者51検体を測定したところ、95%信頼間隔は0-1.2U/mLでした。
臨床的カットオフ値は1 U/mL（自社単位）とし、1 U/mL 以上を陽性とします。

診断を行う上では、本結果と臨床的背景を含む他の情報を使用し総合的に判断する必要があります。
・このキット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。しかし、ヘパリン起因性血小板減症（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。
・本製品は、185U/mLまでプロゾーン現象は確認されませんでした。

●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[4]。
抗凝固剤が血栓症を抑えるために投与される点からすると、HITは逆説の疾患と言えます。しかしながら、HITの主な臨床症状は静脈及び動脈での血栓に対するリスクを増大させることです[5]。
未分画ヘパリン（UFH）又は低分子ヘパリン（LMWH）で治療される患者で抗凝固処置後5～10日後に初期の値の50%以上の血小板減少が生じた場合、HITが推測されます[6]。早期発症HITおよび遅延性HITが報告されています[5]。
HITが確定した場合、ヘパリン治療の中止および代替抗凝固剤への切り替えを行う必要があるので迅速な診断は非常に重要です。
タイプII型（免疫的タイプ）は血小板を活性化する抗体の出現により生じ、多くがヘパリンと複合体(PF4-H)を形成したときに血小板第4因子に直接反応します[7]。これらの抗体は静脈、動脈の双方に血栓を生じさせます。
現時点での機序の仮説は、PF4-H複合体（おそらく内因性の非ヘパリン要因によって導かれる）への初期の曝露がPF4-H密集させ、そしてB-細胞のT細胞依存性クラスへ変わります。その後、PF4-H複合体がヘパリン治療によって誘導されるとき、これらのB細胞は再び過度的に作動します[5]。病的な出現は、主にIgGアイソタイプのヘパリン関連抗体と関連します[4]。しかしながら、一部の患者においてはIgM又は（及び）IgAの存在のみで血栓症の合併を生じている場合もあります[8]。
適切な臨床判断の組み合わせによるPF4-H抗体検査は、HITの疑いのある患者の管理の補助として非常に有効であることが証明されています。
特にPF4-H抗体検査が陰性の場合、HITの可能性を除外するという臨床判断を補助することが可能であることから、ヘパリン治療の継続を行うことが出来ます[5]。
弱陽性のPF4-H抗体は、血小板を活性化させない抗体であること示すことができ、逆に強陽性がHITに対する高リスクである事を示します。どちらの場合も機能的な検査である血小板機能検査による確認を推奨します。
検査により補助される臨床的判断は、診断の確定あるいは除外を行う前に必ず行わなければなりません[5]。

●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 77 検体について本試薬で測定した結果、一致率は 93.5%、感度は 94.3%、特異度は 92.9%でした。

		臨床的診断結果	
		陽　性	陰　性
本製品	陽　性	33	3
	陰　性	2	39

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、臨床診断陰性、SRA法陽性、本製品陽性：1例、臨床診断陽性、SRA法陽性、本製品陰性：2例でした。

2）SRA 法で測定された 66 検体を本製品で測定した結果、陽性一致率は 90.3%、陰性一致率は 94.3%、総一致率は 92.4%でした。

		SRA法	
		陽　性	陰　性
本製品	陽　性	28	2
	陰　性	3	33

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、臨床診断陽性、SRA法陽性、本製品陰性：2例、臨床診断陰性、SRA法陽性、本製品陰性：1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（ELISA 法）で測定された 257 検体を本製品で測定した結果、陽性一致率は 85.9%、陰性一致率は 93.7%、総一致率は 90.7%でした。

		A試薬	
		陽　性	陰　性
本製品	陽　性	85	10
	陰　性	14	148

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おり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（4T’s等）、血小板機能検査（SRA法等）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. 感度
   低濃度 HIT コントロール(0.3-1.2 U/mL)と高濃度 HIT コントロール(1.6-3.2 U/mL)を 3 回測定するとき、高濃度 HIT コントロールの平均値－2SD 及び低濃度 HIT コントロールの平均値＋2SD を計算したとき、高濃度 HIT コントロールの平均値－2SD は低濃度 HIT コントロールの平均値＋2SD 以上です。
2. 正確性
   低濃度 HIT コントロールを 3 回測定したとき、測定値の平均値は 0.3-1.2 U/mL 以内である。高濃度 HIT コントロールを 3 回測定したとき、測定値の平均値は 1.6-3.2 U/mL 以内です。
3. 同時再現性
   低濃度 HIT コントロール(0.3-1.2 U/mL)と高濃度 HIT コントロール(1.6–3.2 U/mL)について同一試料を 3 回同時に測定するとき、C.V.値は 15%以下です。
4. 測定範囲
   0.6～5.7 U/mL
5. 較正用標準物質
   使用される表示値は特定のロットの試薬を用い、ハウススタンダードを用いた ACLTOP ファミリー上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[9]。
   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、また口によるピペ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。
   4) ラテックス試薬、安定化剤、PF4-PVS 複合体試薬、キャリブレーターはウシ由来の成分を含みますが、全て BSE 陰性群の動物を用いています。ウシは死亡前後に獣医により検査され、伝染性の疾患は陰性でした。しかし、感染の可能性あるものとして取り扱いください。
   5) こぼした試薬は直ぐに除去してください。廃液を捨てる場合は、廃棄上の注意に従ってください。
2. 使用上の注意
   1) 試薬は保管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）、グルタールアルデヒド溶液（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。アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性のある金属アジ化物を形成します。試薬を廃棄にする場合は、金属アジ化物の形成を防ぐために大量の水と共に洗浄シンクに流してください。
   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。

●保管方法及び有効期間

1. 保管方法　2～8℃
2. 有効期間　18ヶ月

●包装単位

製品番号	品　目　名		包装単位
00020302700	ヒーモスアイエル HIT-Ab (PF4-H)	ラテックス試薬	1.8mL×2バイアル
		安定化剤	3.2mL×2バイアル
		PF4-PVS複合体試薬	0.8mL×2バイアル
		キャリブレーター（凍結乾燥）	1.0mL用×2バイアル

●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 Haemostasis Assays; Approved Guideline - Fifth Edition, CLSI Document H21-A5; Vol. 28 No. 5.
2) Zucker S, Cathey MH, West B. Preparation of Quality Control Specimens for Coagulation, Am J Clin Pathol 1970; 53: 924-927.
3) Westgard JO and Barry PL. Cost-Effective Quality Control: Managing the Quality and Productivity of Analytical Processes, AACC Press, 1986.
4) Warkentin TE, et al. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low molecular-weight heparin or unfractionated heparin. N Eng J Med 1995; 332: 1330-1335.
5) Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia. J Thromb Haemost 2009; 7 (Suppl. 1):9-12.
6) Arepally GM, Ortel TL. Clinical practice. Heparin-induced thrombocytopenia. N Engl J Med 2006; 355: 809-817.
7) Greinacher A, et al. Heparin-associated thrombocytopenia: Isolation of the antibody and characterization of a multimolecular PF4-Heparin complex as the major antigen. Thromb Haemost 1994, 71(2): 247-251.
8) Amiral J, et al. Pathogenicity of IgA and/or IgM antibodies to heparin-PF4 complexes in patients with heparin-induced thrombocytopenia. British Journal of Haematology 1996; 92: 954-959.
9) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, 5th Edition, 2007.

●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
TEL：0120（274）011

キャリブレーター表示値

Lot. No.	使用期限	表示値
B38105	2027.03.31	5.7 U/mL

外国特例承認取得者

インスツルメンテイション　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

東京都港区三田1-3-30

38004511R3JP