765671－010

＊＊2017年１月改訂（第10版）
＊2008年４月改訂（第９版）

体外診断用医薬品
［届出番号　13A2X00197218081］

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

ヘパリンキット
（分類コード番号：30564000）

テストチーム® ヘパリンS

全般的な注意

1．本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用できません。
2．測定結果に基づく臨床判断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
3．この添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
4．試薬が誤って目や口に入った場合には、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。
5．本品を使用する際は精度管理を実施し、精度が確保されていることを確認してください。

形状・構造等（キットの構成）＊＊

構成試薬名　成分
①基質剤：N－ベンゾイル-L-イソロイシル-L-グルタミル（γ-OR）-グリシル-L-アルギニル-p-ニトロアニリド・塩酸塩（S－2222）
②アンチトロンビンⅢ剤：アンチトロンビンⅢ（ヒト由来）
③ファクターXa剤：ファクターXa（ウシ由来）
④緩衝液：2－アミノ－2－ヒドロキシメチル-1,3-プロパンジオール緩衝液
⑤正常血漿剤：ヒト正常血漿

使用目的

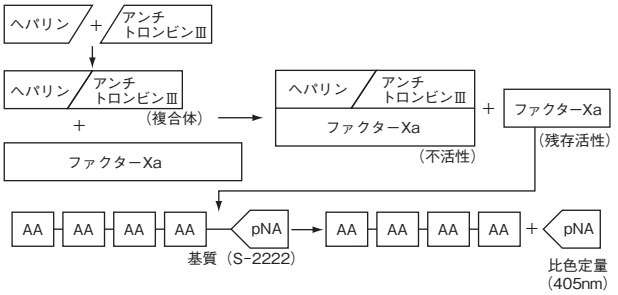
血漿中のヘパリンの測定

ヘパリンは血液中のアンチトロンビンⅢと結合して複合体を形成し、血中のトロンビンやXaなどの活性型凝固因子との結合を促進させ、凝固活性を阻害する作用が知られています。
この生理活性作用により、ヘパリンは播種性血管内凝固症候群（DIC）や血栓症の治療・予防に、また体外循環などの凝固阻止剤として広く臨床で用いられており、ヘパリン測定はヘパリン投与のコントロールの指標として役立ちます。

測定原理

1．測定原理

ヘパリンを含む被検血漿にアンチトロンビンⅢを加え、ヘパリン・アンチトロンビンⅢ複合体とし、これに一定過剰量のファクターXaを加えて反応させると、ヘパリン・アンチトロンビンⅢ複合体は、その量に応じてファクターXaと結合し、活性のないヘパリン・アンチトロンビンⅢ・ファクターXa複合体を形成します。
これに基質（S-2222）を加えると、残存ファクターXa活性に相当するp-ニトロアニリンが遊離します。このファクターXaの残存活性は、被検血漿中のヘパリン濃度を反映しますので、この遊離したp-ニトロアニリンを405nmにて比色定量することによりヘパリン濃度を求めることができます。



2．特長

1）他の凝血因子の影響を受けずにヘパリン濃度を測定できます。
2）操作が簡単で短時間に結果が得られます。
3）定量性に優れ、精度も良好です。

操作上の注意＊＊

1．測定試料の性質、採取法

1）測定試料
① 血漿（クエン酸血漿）が使用できます。
② ヘパリン血漿、EDTA血漿を検体として使用しないでください。

2）測定試料の保存について
① 血漿分離後、当日中に測定できない場合は検体を次のように保存してください。
なお、測定に際しては、検体を室内温度（15～30℃）に戻してから測定してください。
1週間以内に測定する場合　　2～10℃
1ヵ月以内に測定する場合　　－20℃以下
② 凍結融解を繰り返しますと誤差の原因となりますので避けてください。
③ 血漿の保存容器及び希釈に使用する試験管にはプラスチック製品を使用してください。

2．妨害物質

ビリルビン20mg/dLまで、ヘモグロビン500mg/dLまで測定値に影響ありません。

3．その他

1）検量用物質には、ヘパリン（日局）を使用してください。その時、メーカー及びロットにより必ずしも同一の結果が出ないことがありますので注意してください。なお、ヘパリン標準溶液の希釈調製は希釈倍数が高いので正確に行ってください。
2）測定範囲に関する注意
被検血漿のヘパリン濃度が高い場合（0.8IU/mL以上のとき）は検体を正常血漿で希釈して再測定してください。

用法・用量（操作方法）＊＊

1．使用器具

遠心分離機（血漿分離用）
恒温槽
分光光度計
ストップウォッチ
ミキサー
セミミクロキュベット又は10×10mmキュベット
マイクロピペット各種
メスピペット各種
メスシリンダー
プラスチック製試験管
繊維クズの出ないティッシュペーパー（例：キムワイプ）

2．試薬および検体の調製法

1）基　　質　　液：基質剤１バイアルを精製水20mLで溶解して使用します。調製後は２～10℃保存で３ヵ月間安定です。

2）アンチトロンビンⅢ液：アンチトロンビンⅢ剤１バイアルを精製水10mLで溶解して使用します。調製後は２～10℃保存で１ヵ月間安定です。

3）ファクターXa液：ファクターXa剤１バイアルを精製水10mLで溶解して使用します。調製後は２～10℃保存で１ヵ月間安定です。

4）緩　　衝　　液：緩衝液をそのまま使用します。開封後は２～10℃で保存し、できるだけ早く使用してください。

5）正　常　血　漿：正常血漿剤１バイアルを精製水1.0mLで溶解して使用します。調製後は２～10℃で１週間、－20℃で１ヵ月間安定です。

6）反応停止液(自家調製)：氷酢酸20g(20mL)に精製水を加え全量を40mLにして使用します。

7）ヘパリン標準溶液(三次希釈ヘパリン溶液)(自家調製)：

① 一次希釈ヘパリン溶液(10IU/mL)
1,000IU/mLヘパリンナトリウム溶液１mLに生理食塩液を加えて全量を100mLとし、一次希釈ヘパリン溶液とします。

② 二次希釈ヘパリン溶液(0.2IU/mL)
一次希釈ヘパリン溶液(10IU/mL)100μLに緩衝液4.9mLを正確に加え、二次希釈ヘパリン溶液とします。

③ ヘパリン標準溶液(三次希釈ヘパリン溶液)
二次希釈ヘパリン溶液を下表のごとく希釈して混和し、ヘパリン標準溶液希釈系列を調製します。

標準溶液		緩衝液	アンチトロンビンⅢ液	正常血漿	二次希釈ヘパリン溶液
No.	ヘパリン濃度(IU/mL血漿)	(μL)	(μL)	(μL)	(μL)
1	0	800	100	100	0
2	0.2	700	100	100	100
3	0.4	600	100	100	200
4	0.6	500	100	100	300
5	0.8	400	100	100	400

8）検体：

① 約５mLのクエン酸血液(全血：0.1mol/Lクエン酸ナトリウム＝９容：１容)を被検者から２本注射筒法で採血します。

② 採血した血液を４℃、2000Gで20分間遠心分離し、直ちに上清部分をプラスチック試験管に移し、被検血漿とします。

③ 被検血漿100μLにアンチトロンビンⅢ液100μL、緩衝液800μLを加え、泡立てないように混和し、検体とします。(できるだけ早く、次の操作に入ってください)

3．測定(操作)法

1）エンドポイント法

① 測定用及び検体ブランク用試験管に検体200μLを正確に採取して、37℃で２～６分間加温します。

② 測定用試験管にファクターXa液100μLを加えよく混和し、37℃で正確に30秒間加温します。

③ 測定用試験管にあらかじめ37℃に加温した基質液200μLを加えよく混和し、37℃で正確に180秒間加温します。

④ 各試験管に反応停止液300μLを加え、直ちに混和します。

⑤ 検体ブランク用試験管に精製水300μLを加え、混和します。

⑥ 検体ブランクを対照として波長405nmで吸光度を測定します。

⑦ 各濃度のヘパリン標準溶液についても、検体と同様に操作し、吸光度を求めます。

	検　体	標　準	検体ブランク
試　　料	(検体) 200μL	(ヘパリン標準溶液) 200μL	(検体又はヘパリン標準溶液) 200μL
37℃で２～６分間加温			
ファクターXa液	100μL	100μL	—
混和し、37℃で正確に30秒間加温			
(あらかじめ37℃に加温) 基質液	200μL	200μL	—
混和し、37℃で正確に180秒間加温			
反応停止液	300μL	300μL	300μL
直ちに混和			
精製水	—	—	300μL
混和後、波長405nmで吸光度測定			

2）初速度測定法

① 試験管に検体200μLを加え、37℃で２～６分間加温します。

② 試験管にファクターXa液100μLを加え、混和し、37℃で正確に30秒間加温します。

③ 試験管にあらかじめ37℃に加温した基質液200μLを加え混和し、直ちに恒温装置付セミミクロキュベット(37℃)に移します。

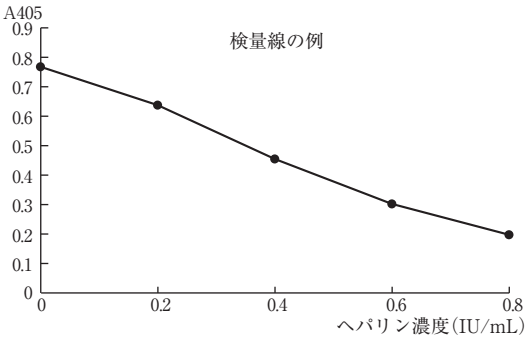
④ 反応開始後10秒から70秒までの１分間当たりの405nmでの吸光度変化(ΔA/min)を求めます。

⑤ 各濃度のヘパリン標準溶液についても検体と同様に操作し、吸光度変化(ΔA/min)を求めます。

	検　体	標　準
試　　料	(検体) 200μL	(ヘパリン標準溶液) 200μL
37℃で２～６分間加温		
ファクターXa液	100μL	100μL
混和し、37℃で正確に30秒間加温		
(あらかじめ37℃に加温) 基質液	200μL	200μL
混和し、直ちに恒温装置付セミミクロキュベット(37℃)に移し、反応開始後10秒から70秒までの１分間当たりの405nmでの吸光度変化(ΔA/min)測定		

3）算出法

グラフ用紙の縦軸に吸光度(又は吸光度変化)を横軸にヘパリン濃度をとり、ヘパリン標準溶液希釈系列のヘパリン濃度と対応する吸光度(又は吸光度変化)をプロットし、各点を通る線を引いて検量線とします。この検量線を用いて検体の吸光度(又は吸光度変化)からヘパリン濃度を求めます。



4）操作上の留意事項
① 被検血漿の調製は採血後できるだけ早く氷冷し、90分以内に行うことが望まれます。血小板が破壊されたり、混入数が多いと測定を妨害します。
② アンチトロンビンⅢ液、ファクターXa液及び正常血漿を調製する際に激しく混和しますと、酵素の劣化や蛋白質の変性の原因となりますので注意してください。
③ 冷蔵庫で保存したファクターXa液はあらかじめ室温に戻してから使用してください。
④ 基質液を冷蔵保存したとき、保存中に内容物が析出することがあります。析出した場合は、50℃で加温、溶解してから使用してください。
⑤ エンドポイント法でセミミクロキュベットのかわりに通常の10×10mmキュベットを使用する場合、反応を停止する際、反応停止液300μLの添加を10%酢酸1,900μL添加に変えることができます。この場合、使用する検量線も10%酢酸1,900μLを添加して作成します。
⑥ 反応停止後の呈色は4時間安定です。

測定結果の判定法

1．参考治療濃度[2)]
0.2～1.2 IU/mL
2．検体により、検体中の目的成分以外の物質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、再検査や希釈再検査、あるいは他の検査方法により確認してください。

性能

1．**感度**
1）検量線の勾配　－0.78～－0.42
2）検量線の切片　0.58～1.00
2．**正確性**　測定期待値の90～110%
3．**同時再現性**　変動係数5%以下
（1.～3.までの試験方法は弊社試験方法による）
4．**測定範囲**[3)]（用手法）
0.15～0.8IU/mL
5．**相関性**[3)]
血漿　N＝50　r＝0.996　$y = 0.986x + 0.00$
対照法：発色性合成基質法
6．**較正用標準物質**
ヘパリン標準品（NIBSC）

使用上又は取扱い上の注意＊＊

1．**取扱い上（危険防止）の注意**
1）検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れが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。
2）アンチトロンビンⅢ剤及び正常血漿剤は、HBs抗原陰性、HIV抗体陰性、HCV抗体陰性を確認したヒト由来成分を含んでおりますが、ご使用の際には感染の危険のあるものとして、検体と同様に十分ご注意の上お取扱いください。
2．**使用上の注意**
1）本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存してください。凍結させた試薬は、品質が劣化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。
2）使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証しかねますので、使用しないでください。
3）試薬を注ぎ足して使用することは避けてください。
4）測定は直射日光を避けて行ってください。
3．**廃棄上の注意**
1）使用済の検体及び検体容器などを廃棄する前に0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸すか、又はオートクレーブ（121℃、20分間）で処理してください。
2）検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、感染を防止するため、0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でよく拭き取ってください。
3）試薬及び処理した検体などを廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従い、医療廃棄物又は産業廃棄物などとして処理してください。
4）試薬の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法等の規制に留意してください。
4．**その他の注意**
容器等は他の目的に転用しないでください。

貯蔵方法・有効期間＊＊

1．貯蔵方法　2～10℃
2．有効期間　製造後2年間
（使用期限は外装に記載してあります）

包装単位

名　称		包　装
テストチーム® ヘパリンS	基質剤	20mL用×1
	アンチトロンビンⅢ剤	10mL用×1
	ファクターXa剤	10mL用×1
	緩衝液	100mL　×1
	正常血漿剤	1mL用×4

主要文献＊

1）Teien A. N. et al.：Thromb. Res. **11**, 107（1977）
2）Hasegawa H. et al：Jap. Heart J. **21**, 367（1980）
3）積水メディカル株式会社　社内データ

お問い合わせ先＊

積水メディカル株式会社　学術担当
電話番号　0120-249-977
FAX番号　0120-247-477

製造販売元＊＊　積水メディカル株式会社
東京都中央区日本橋二丁目1番3号

提携先　CHROMOGENIX
Instrumentation Laboratory SpA