P0700205
＊＊2024 年　3 月改訂（第 6 版）
＊2022 年　7 月改訂（第 5 版）
〔認証番号　第 223ABAMX00061000 号〕

体外診断用医薬品

＊この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

コレステロール分画キット

HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック®

［全般的な注意］

1. この試薬は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾病の診断には他の検査成績及び臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
3. この試薬は、HDL コレステロール、LDL コレステロール、総コレステロールの単独測定を目的とした検査試薬ではありません。
＊ 4. 本電子添文以外の使用については保証できません。
＊ 5. この試薬は、東ソー自動リポ蛋白分析計 HLC®-729LPⅡと組み合わせてご使用ください。
なお、装置の電子添文並びに取扱説明書をよくお読みのうえご使用ください。

［形状・構造等（キットの構成）］

1. HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液 I
主成分：
コレステロールエステラーゼ
ペルオキシダーゼ
N-(2-ヒドロキシ-3-スルホプロピル)-3,5-ジメトキシアニリンナトリウム (HDAOS)

2. HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱ
主成分：
コレステロールオキシダーゼ
4-アミノアンチピリン（4-AA）

［使用目的］

血清中のコレステロール分画の測定。

［測定原理］

イオン交換カラムによって分離された血清中のリポ蛋白に反応液を加えて加熱します。リポ蛋白中のエステル型コレステロールはコレステロールエステラーゼ（CE）の作用で、結合している脂肪酸を遊離して、遊離コレステロールとなります。このコレステロールと、もともと存在する遊離型コレステロールは、コレステロールオキシダーゼ（COD）の働きにより酸化分解されて過酸化水素（H_2O_2）を生成します。生成した過酸化水素（H_2O_2）にペルオキシダーゼ（POD）が反応すると 4-AA と HDAOS を酸化縮合させ、生じたキノン色素を比色測定します。各リポ蛋白の比色測定の結果から、コレステロール値を知ることができます[1-5]。

エステル型コレステロール ＋ H_2O $\xrightarrow{CE}$ 遊離型コレステロール ＋ 脂肪酸

遊離型コレステロール ＋ O_2 $\xrightarrow{COD}$ Δ^4−コレステノン ＋ H_2O_2

$2H_2O_2$ ＋ 4−AA ＋ HDAOS $\xrightarrow{POD}$ $4H_2O$ ＋ キノン色素

［操作上の注意］

1. 検体には血清のみ使用可能です。血清は冷蔵（2～8 °C）にて 5 日間保存することが可能です。また、2 容の血清に対しての 1 容の保存液（純水 53 g にスクロース 75 g、EDTA・2K・2 水和物 150 mg を加えて溶解したもの）を加えて−40 °C 以下で保存すれば、30 日間の保存が可能です。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 薬物投与を受けた後の検体では、測定値に影響を与えることがあります。
4. 妨害物質として、ヘモグロビンは 400 mg/dL まで、遊離型ビリルビンは 20 mg/dL まで、抱合型ビリルビンは 20 mg/dL まで、アルブミンは 50 mg/mL まで、リウマチ因子は 550 IU/mL まで、EDTA・2K・2 水和物は、10 mg/mL まで、クエン酸・3Na は 20 mg/mL まで、ヘパリンは 100 U/mL まで、アスコルビン酸は 8 mg/dL までそれぞれ測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. 溶血検体の測定はできません。また、溶血検体では、HDL より溶出時間の早い位置に異常ピークの出現を認めることがあります。
6. 沈殿物の見られる検体の場合は、1000×g、5 分間遠心分離を行い、上清を分注してから測定してください。
7. 測定結果が測定範囲を超えてしまった場合には、血清を 5 % BSA 溶液で希釈して測定し、希釈倍率を用いて換算してください。希釈倍率は 5 倍以内を推奨いたします。

［用法・用量（操作方法）］

1. 試薬の調製方法及び調製後の貯法・有効期間
1) 試薬の調製法
HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック 反応液Ⅰに、HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱを全量加え、よく混ぜ合わせてください。混合した溶液は、13～17 °C で 5 日間保存可能です。
また、HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅰ、HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱの各試薬は開封後 2～8 °C で 1 ヶ月間保存可能です。

2) 試料の調製方法の 1 例
・測定試料の調製方法
このキットによる測定には、血清を試料として使用してください。

・標準試料の調製方法
東ソー・リポプロパック用標準品（別売品）を、精製水により溶解させてから使用してください。

2. 必要な器具・器材・試薬など
液体クロマトグラフ
リアクター
可視分光光度計
イオン交換カラム
溶離液

3. 測定（操作）方法
東ソー自動リポ蛋白分析計 HLC-729LP Ⅱ（医療機器）、TSKgel Lipopropak®-AEXⅡ（別売品）、LPⅡ溶離液 第 1 液（別売品）、LPⅡ溶離液 第 2 液（別売品）、LPⅡ溶離液 第 3 液（別売品）を使用した場合の操作方法を次に示します。

① 東ソー自動リポ蛋白分析計 HLC-729LP Ⅱを用いて TSKgel Lipopropak-AEXⅡに試料を 1 µL 注入しリポ蛋白を吸着します。
② LPⅡ溶離液 第 1 液、第 2 液、第 3 液によって段階的に混合比を変えて各リポ蛋白を溶出し分離します。
③ 分離したリポ蛋白溶出液 5 容に対してこのキットの HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅰ及び HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱ液を混合した試薬 2 容と混合します。
④ 45 °C、2.1 分間反応し、キノン色素を生成させます。
⑤ 590 nm の可視光吸収におけるクロマトグラムを作成し、HDL、LDL、VLDL 各リポ蛋白のピーク面積を求めます。
⑥ ⑤の結果から、血清中の各リポ蛋白のコレステロール分画値（面積%）を求めます。また、同様に測定した標準品の総コレステロール（基準値）とトータル面積値から換算式を作成し、血清中の各リポ蛋白分画のコレステロール濃度（換算値）を算出します。

［測定結果の判定法］

1. 参考基準範囲（東ソー自動リポ蛋白分析計 HLC-729LPⅡ（医療機器）による）
成人（20 歳以上）の健常者 79 例の血清について、この試薬によって測定しました。参考基準域（HDL、LDL、VLDL）をノンパラメトリック法により求めた 95 %信頼区間とすると次のとおりとなります。
なお、参考基準範囲は種々の要因で変動することがありますので、各施設において設定してください。

（各リポ蛋白のコレステロール分画値（面積%））

	平均値 (%)	標準偏差 (%)	95 %信頼区間 (%)
HDL コレステロール（HPLC 法）	35.4	6.6	23.6 – 49.8
LDL コレステロール（HPLC 法）	52.8	5.5	42.2 – 63.8
VLDL コレステロール（HPLC 法）	6.3	2.9	2.6 – 13.9

（各リポ蛋白分画のコレステロール濃度（換算値 mg/dL））

	平均値 (mg/dL)	標準偏差 (mg/dL)	95 %信頼区間 (mg/dL)
HDL コレステロール（HPLC 法）	65.4	13.7	40.6 – 91.4
LDL コレステロール（HPLC 法）	98.5	18.6	67.8 – 132.6
VLDL コレステロール（HPLC 法）	11.6	5.1	4.9 – 22.8

2. 判定上の注意
判定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果などとあわせて、総合的に判定してください。

［性　能］

1. 感度
1) 東ソーリポプロパック用標準品を測定したときに、コレステロール 1 mg 当たりのクロマトグラムの面積値が、12.0 Abs・mL 以上です。
2) 5 % BSA 溶液 [1]を測定したときに確認される最大ピークの面積は 1.8×10^{-3} Abs・mL 以下です。
注 [1] 5 % BSA 溶液とは、純水 1 g に牛血清アルブミン 50 mg を加えて溶解したものをいいます。

2. 正確性

3種類の濃度既知の血清試料[2)]を測定したとき、HDLコレステロール、LDLコレステロール、VLDLコレステロールの各測定値が既知濃度に対して100±20 %以内です。

注[2)] 3種類の濃度既知の血清試料とは、あらかじめ、東ソーリポプロパック用標準品を対照としてHLC-テスト「TOSOH」リポプロパックを用いて測定し、表示濃度（HDLコレステロール、LDLコレステロール、VLDLコレステロール）を定めたヒト血清試料をいいます。

（3種類の濃度既知の血清試料の濃度範囲）

	血清試料1 (mg/dL)	血清試料2 (mg/dL)	血清試料3 (mg/dL)
HDLコレステロール（HPLC法）	38～80	20～36	5～18
LDLコレステロール（HPLC法）	100～200	55～100	25～53
VLDLコレステロール（HPLC法）	26～80	13～25	3～12

3. 同時再現性

3種類の濃度既知の血清試料[2)]を3回連続で測定したとき、HDLコレステロール、LDLコレステロール、VLDLコレステロールの各測定値の変動係数が10 %以下です。

4. 測定範囲（東ソー自動リポ蛋白分析計HLC-729LPⅡ（医療機器）による）

	測定範囲（mg/dL）
HDLコレステロール（HPLC法）	1.0 ～ 200
LDLコレステロール（HPLC法）	1.0 ～ 400
VLDLコレステロール（HPLC法）	1.0 ～ 200

5. 相関性（東ソー自動リポ蛋白分析計HLC-729LPⅡ（医療機器）による）

本法（y）とコレステロール分画（他社キット）（x）との相関性（mg/dL）を検討した結果は次のとおりです。

	相関式	相関係数	例数
HDLコレステロール（HPLC法）	y = 0.908x + 1.875	0.974	117
LDLコレステロール（HPLC法）	y = 0.925x – 2.289	0.976	117
VLDLコレステロール（HPLC法）	y = 0.905x – 0.031	0.930	117

6. 校正用の基準物質

コレステロール標準物質（一般社団法人　検査医学標準物質機構）

［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) 試料（検体）はHIV、HBV、HCVなどの感染のおそれがあるものとして取扱ってください。操作に当たっては感染の危険性を避けるために使い捨て手袋を着用してください。また、口によるピペッティングを行わないでください。

2) 誤って試料（検体）、反応液、溶離液、廃液が皮膚に接触した場合には、流水で十分洗い流してください。また、眼や口に入った場合には、流水で15分以上洗い流した後、医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

1) この試薬は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。また、血清用の試薬ですので、血清を用いて測定を行ってください。

2) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

3) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体の保存が必要な場合には凍結融解の繰り返しは避けてください。

4) 試験器具などの汚れは判定を誤らせる場合がありますので、清浄なものを使用してください。

5) 必ず、HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅰに対して、HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱを全量加え、均一に混合し使用ください。HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液ⅠとHLC-テスト「TOSOH」リポプロパック　反応液Ⅱの混合比を間違えると、正しい結果が得られないおそれがあります。

6) 試薬は注ぎ足しをせず、常に新しい試薬を使用時に混合してください。

7) HDLコレステロール、LDLコレステロール、VLDLコレステロールの含量が既知である試料を測定し、測定が良好に行われていることを確認してから、試料（検体）の測定を実施してください。

3. 廃棄上の注意

1) 検体の付着したピペットチップ、手袋などの器具及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ（例えば121 °C、20分以上）などで滅菌処理を行ってから廃棄してください。

2) 廃液が飛散した場合は、紙やウエスでふき取り、その後消毒処理を行ってください。ふき取りや消毒に使用した紙やウエスは、オートクレーブ（例えば121 °C、20分以上）による滅菌処理を行ってから廃棄してください。

3) 試薬、廃液、器具などを廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法などの規定に従って処置してください。

［貯蔵方法・有効期間］

1. 貯蔵方法　2～8 °Cで保存

2. 有効期間　12ヶ月　　※使用期限は箱、ラベルに記載されています。

［包装単位］

品番	品名	包装
0022779	HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック	HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック反応液Ⅰ：300 mL×1本 HLC-テスト「TOSOH」リポプロパック反応液Ⅱ：100 mL×1本

［主要文献］

1. Hirowatari Y, Yoshida H, Kurosawa H, Doumitu K, Tada N. Measurement of cholesterol of major serum lipoprotein classes by anion-exchange HPLC with perchlorate ion-containing eluent. J Lipid Res. 2003;44:1404-1412.
2. Kurosawa H, Doumitu K, Kobayashi M, Hirowatari Y, Yoshida H, Tada N. Relevance of lipoprotein cholesterol levels measured by HPLC method to appearance midband, on electrophoresis and remnant-like particle (RLP)-cholesterol levels. Rinsho Byori. 2004;52:737-741.
3. Kurosawa H, Yoshida H, Yanai H, Ogura Y, Hirowatari Y, Tada N. Comparative study between anion-excange HPLC and homogeneous assay methods in regard to the accuracy of high- and low-density lipoprotein cholesterol measurement. Clin Biochem. 2007;40:1291-1296.
4. Yoshida H, Kurosawa H, Hirowatari Y, Ogura Y, Ikewaki K, Abe I, Saikawa S, Domitsu K, Ito K, Yanai H, Tada N. Characteristic comparison of triglyceride-rich remnant lipoprotein measurement between a new homogenous assay (RemL-C) and a conventional immunoseparation method (RLP-C). Lipids Health Dis. 2008; 7:18-22.
5. 廣渡祐史、吉田博　高速液体クロマトグラフィーによるリポ蛋白定量法　臨床化学　2012; 41:327-335
6. Hubert HB, Eaker ED, Garrison RJ, Castelli WP. Life-style correlates of risk factor change in young adults: an eight-year study of coronary heart disease risk factors in the Framingham offspring. Am J Epidemiol. 1987;125(5):812-31.
7. Wilson PW. High-density lipoprotein, low-density lipoprotein and coronary artery disease. Am J Cardiol. 1990;66(6):7A-10A.
8. Liu J, Sempos CT, Donahue RP, Dorn J, Trevisan M, Grundy SM. Non-high-density lipoprotein and very-low-density lipoprotein cholesterol and their risk predictive values in coronary heart disease. Am J Cardiol. 2006;98(10):1363-8.
9. Imamura T, Doi Y, Arima H, Yonemoto K, Hata J, Kubo M, Tanizaki Y, Ibayashi S, Iida M, Kiyohara Y. LDL cholesterol and the development of stroke subtypes and coronary heart disease in a general Japanese population: the Hisayama study. Stroke. 2009;40(2):382-8.
10. Okamura T, Hayakawa T, Kadowaki T, Kita Y, Okayama A, Ueshima H; NIPPON DATA90 Research Group. The inverse relationship between serum high-density lipoprotein cholesterol level and all-cause mortality in a 9.6-year follow-up study in the Japanese general population. Atherosclerosis. 2006;184(1):143-50.

“HLC”、“TSKgel”、“Lipopropak”は日本及びその他の国における東ソー株式会社の登録商標です。
“リポプロパック”、“HLC-テスト「TOSOH」”は東ソー株式会社の登録商標です。

＊［問い合わせ先］

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

カスタマーサポートセンター
〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1
0120-17-1200
TEL. (0467) 76-5384
FAX. (0467) 79-2550

＊＊［製造販売業者の氏名又は名称及び住所］

製造販売元

東ソー株式会社

東京都中央区八重洲2-2-1
TEL. (03) 6636-3734
FAX. (03) 6636-3627