

体外診断用医薬品

抗カルジオリピン抗体キット

MESACUP™-2 テスト カルジオリピン IgM

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的で使用しないでください。
2. 本品は、血清中の抗カルジオリピン抗体 IgM を測定するものです。血清中の抗カルジオリピン抗体 IgG を測定する場合は、別売の MESACUP™-2 テスト カルジオリピン IgG を使用してください。
3. 被検者の診断は、下記の（1）及び（2）を参考に、他の関連する検査結果や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。
 - （1）感染症が疑われる場合に、本品で陽性となる場合があります。その場合は、他の検査結果を参考に、半年後を目処に再度測定することを推奨します。
 - （2）健常人でも低値陽性となる場合があること、偽陰性となる検体も存在することが知られています。
4. 添付文書以外の使用方法については保証いたしません。
5. 抗カルジオリピン抗体標準液 (M)、抗カルジオリピン抗体陽性コントロール (M) 及び陰性コントロール (M) にはヒト由来成分が含まれています。体外診断用医薬品を用いて、HBs 抗原、HCV 抗体及び HIV 抗体が陰性であることを確認していますが、これらのウイルス及び他のウイルスを完全に否定できる試験方法ではありませんので、検体同様、感染の可能性があるものとして注意して取り扱いしてください。
6. 反应用緩衝液 (M) 及び陰性コントロール (M) には 0.09% アジ化ナトリウムが添加されています。目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

[形状・構造等（キットの構成）]

構成試薬	包装	数量
カルジオリピン感作マイクロカップ (M) カルジオリピン	8 連12本	1
抗カルジオリピン抗体標準液 (M)	1.0 mL	3
酵素標識抗体 (M) ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgM ポリクローナル抗体（ヤギ）	0.3 mL	1
酵素標識抗体希釈液	24 mL	1
反应用緩衝液 (M)	50 mL	2
洗浄用緩衝液	100 mL	1
酵素基質液 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン、 過酸化水素	20 mL	1
反応停止液	20 mL	1
抗カルジオリピン抗体陽性コントロール (M)	0.5 mL	3
陰性コントロール (M)	1.5 mL	1

付属品：酵素標識抗体溶液調製用ビン 1

抗カルジオリピン抗体標準液 (M) 及び抗カルジオリピン抗体陽性コントロール (M) は凍結乾燥品です。

[使用目的]

血清中の抗カルジオリピン抗体 IgG の測定（抗リン脂質抗体症候群の診断の補助）

血清中の抗カルジオリピン抗体 IgM の測定（抗リン脂質抗体症候群の診断の補助）

[測定原理]

本品は ELISA 法によって血清中の抗カルジオリピン抗体 IgM を測定する試薬です。抗原としてカルジオリピンを均一に固相化したマイクロカップに検体を添加し、抗原-抗体反応（一次反応）をさせます。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgM ポリクローナル抗体（ヤギ）（酵素標識抗体）を添加して反応（二次反応）させ、抗原-抗体-酵素標識抗体の複合物を形成させます。再び洗浄した後、3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンと過酸化水素の溶解液（酵素基質液）を添加し、酵素（ペルオキシダーゼ）により発色させ（酵素反応）、反応停止後、吸光度（A₄₅₀）を測定して血清中の抗カルジオリピン抗体 IgM を測定します。

[操作上の注意]

1. 検体について

（1）検体は血清を用います。

血清は、定法に従って採血し、30分程度室温に放置して凝固させた後、2～8℃、2,500～3,000 rpm で5～10分間遠心して血餅と分離します。血清の分離後は出来るだけ速やかに測定し、血清を保存する場合は、小分けして-20℃以下で凍結してください。4℃での長期保存や凍結融解の繰り返しは検体の反応性を低下させる可能性がありますので避けてください。なお、-20℃以下での保存は1箇月以内にしてください。

（2）希釈した検体は、即日測定してください。

2. 共存物質の影響

検体における共存物質の影響を試験したところ、

ビリルビンF	19.0 mg/dL
ビリルビンC	21.0 mg/dL
溶血ヘモグロビン	500 mg/dL
乳び	1840 ホルマジン濁度
トリグリセリド	2.0% w/v
アスコルビン酸	50.0 mg/dL

までの添加において測定値に影響は見られませんでした。しかし、トリグリセリドは上記より高い濃度で測定値に影響を与えることが確認されています。また、その他の共存物質については上記より高い濃度では測定値に影響が確認されていないため、極端な乳びや溶血等が認められる検体は使用しないでください。

3. 検体の非働化の影響

非働化した検体は用いないでください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 準備するもの

標準的な実験装置に加えて、以下が必要です。

- ・マイクロプレートリーダー
- ・マイクロピペット
- ・マルチチャンネルマイクロピペット
- ・自動洗浄機又は洗浄ビン
- ・一次反応準備用マイクロプレート
- ・リザーバー
- ・精製水

2. 試薬の調製

測定を開始する前に、全ての構成試薬を室温（20～25℃）に戻してください。

（1）洗浄液の調製

必要な量の洗浄用緩衝液を精製水で10倍希釈し、洗浄液とします。洗浄液は2～8℃で2週間安定です。

例）洗浄用緩衝液100 mLに精製水900 mLを加えて10倍希釈します。

（2）酵素標識抗体溶液(M)の調製

酵素標識抗体(M)を酵素標識抗体希釈液で以下のように希釈し、酵素標識抗体溶液(M)とします。

1) 自動分析機を用いて測定する場合：101倍希釈

2) 手法で測定する場合：76倍希釈

酵素標識抗体溶液(M)は、必要な量を用時調製して即日使用してください。

（3）抗カルジオリピン抗体標準溶液(M)の調製

1) 抗カルジオリピン抗体標準液(M)を1.0 mLの反応用緩衝液(M)で溶解し、抗カルジオリピン抗体標準溶液6(M)とします。

2) 溶解した抗カルジオリピン抗体標準溶液6(M)を最高濃度として、反応用緩衝液(M)を用いて倍々希釈し、抗カルジオリピン抗体標準溶液2(M)～5(M)とします。また、反応用緩衝液(M)を抗カルジオリピン抗体標準溶液1(M)とします。

溶解後の抗カルジオリピン抗体標準溶液(M)は保存できないため、必要な量を用時調製して即日使用してください。

（4）抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)の調製

1) 抗カルジオリピン抗体陽性コントロール(M)を0.5 mLの反応用緩衝液(M)で溶解し、抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)とします。

2) 溶解後はそのまま使用してください。

溶解後の抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)は保存できないため、必要な量を用時調製して即日使用してください。

※ 操作方法に従って調製した際の濃度をラベルに記載してあります。

（5）その他の構成試薬はそのまま使用します。

3. 操作方法

（1）検体の希釈

検体を反応用緩衝液(M)で101倍希釈します。

例）検体10 μ Lを反応用緩衝液(M) 1,000 μ Lに加えて101倍希釈します。

一次反応準備用マイクロプレートに抗カルジオリピン抗体標準溶液1(M)～抗カルジオリピン抗体標準溶液6(M)、抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)、陰性コントロール(M)及び希釈した検体を150 μ Lずつ、実際と同じように添加します。

（2）一次反応

1) カルジオリピン感作マイクロカップ(M)をアルミ袋から取り出し、一次反応準備用マイクロプレートに準備した抗カルジオリピン抗体標準溶液1(M)～抗カ

ルジオリピン抗体標準溶液6(M)、抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)、陰性コントロール(M)及び希釈した検体を、カルジオリピン感作マイクロカップ(M)にマルチチャンネルマイクロピペットで100 μ Lずつ移します。カルジオリピン感作マイクロカップ(M)に検体を添加した時点で反応が始まりますので、操作は短時間のうちに行ってください。

2) 室温（20～25℃）で1時間静置します。

（3）洗浄

自動洗浄機又は洗浄ビンを用いて洗浄液でカルジオリピン感作マイクロカップ(M)を洗浄します。洗浄液は必ず室温（20～25℃）のものを使用してください。

洗浄回数：自動洗浄機……4回 洗浄ビン……4回

自動洗浄機によって設置方法及び最適な洗浄回数が異なる場合があります。あらかじめ各施設で用いる自動洗浄機の設定方法及び最適な洗浄回数を確認することを推奨します。

（4）二次反応

1) カルジオリピン感作マイクロカップ(M)に残った洗浄液を完全に除去した後、リザーバーに移した酵素標識抗体溶液(M)をマルチチャンネルマイクロピペットで100 μ Lずつ添加します。

2) 室温（20～25℃）で1時間静置します。

（5）洗浄

（3）と同様にカルジオリピン感作マイクロカップ(M)を洗浄します。

（6）酵素反応

1) カルジオリピン感作マイクロカップ(M)に残った洗浄液を完全に除去した後、酵素基質液をリザーバーに移し、マルチチャンネルマイクロピペットで100 μ Lずつ添加します。酵素標識抗体溶液(M)を入れるリザーバーと酵素基質液を入れるリザーバーは、必ず別のものを使用してください。

2) 室温（20～25℃）で30分間静置します。

（7）反応停止

リザーバーに移した反応停止液をマルチチャンネルマイクロピペットで100 μ Lずつ添加します。

（8）吸光度測定

自動分光光度計（マイクロプレート専用機：垂直透過型）にカルジオリピン感作マイクロカップ(M)をセットして、波長450 nmの吸光度（副波長620 nm）を測定します。吸光度は反応停止後20分以内に測定してください。

（9）濃度の算出

1) 自動濃度算出法を用いる場合

専用のプログラムを使用して、吸光度から抗カルジオリピン抗体 IgM の濃度を算出します。

2) 自動濃度算出法を用いない場合

片対数グラフの横軸に抗カルジオリピン抗体標準溶液1(M)～抗カルジオリピン抗体標準溶液6(M)の濃度(U/mL)、縦軸に吸光度をプロットし、標準曲線を作成します。この標準曲線を用いて、検体の吸光度に対応する抗カルジオリピン抗体 IgM の濃度を読みとります。

※ 測定値が80.0 U/mLを超えた検体は、「80.0 U/mL以上」とするか、検体を希釈して再測定してください。この場合の測定値は参考値となります。

【測定結果の判定法】

以下の値を参考にしてください。

陽性：>20.8 U/mL

陰性：≤20.8 U/mL

この値は、健常人検体150例を測定した際の99パーセントイル値に基づいて設定しました。

「判定上の注意」

1. 上記の値はあくまでも参考であり、正常値は、母集団等種々の要因によって変動します。施設ごとに、目的に応じて基準となる数値を設定することを推奨します。
2. 抗カルジオリピン抗体陽性コントロール溶液(M)は陽性、陰性コントロール(M)は陰性と判定されることを確認してください。
3. 健常人においても低値陽性となる場合があります、また、偽陰性となる検体が存在することも知られています。測定結果に基づく診断は、他の検査結果や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。
4. 検体によって、非特異的反応が起こる可能性があります。また、測定結果が陰性であっても免疫機能の低下によって抗体産生能が低下している場合がありますので、測定結果に基づく診断は、他の検査結果や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。

【臨床的意義】

本品は、ELISA 法によってヒト血清中の抗カルジオリピン抗体 IgM を測定する試薬です。

抗リン脂質抗体症候群 (antiphospholipid syndrome; APS) は、動・静脈血栓症や習慣流産・不育症・妊娠高血圧症候群などの妊娠合併症を臨床所見とし、抗リン脂質抗体が検出されることによって診断される疾患です¹⁾。この抗リン脂質抗体の一種である抗カルジオリピン抗体 (IgG) 及び抗カルジオリピン抗体 (IgM) は、2006年に提示された APS 国際分類基準 (サッポロクライテリア・シドニー改変)²⁾ の検査項目にも含まれており、血清中の抗カルジオリピン抗体 (IgG) 及び抗カルジオリピン抗体 (IgM) を測定することは、抗リン脂質抗体症候群の診断の補助に有用です。また、全身性エリテマトーデス (systemic lupus erythematosus; SLE) の分類基準 (アメリカリウマチ学会、1997年改訂³⁾、2019年改訂⁴⁾) においても、免疫学的異常の一項目として抗カルジオリピン抗体が採用されています。

【性能】

1. 性能

(1) 感度試験

抗カルジオリピン抗体標準溶液1(M) (0.0 U/mL) を測定したとき、波長450 nm における吸光度が0.09以下です。

抗カルジオリピン抗体標準溶液6(M) (80.0 U/mL) を測定したとき、波長450 nm における吸光度が1.0以上です。

(2) 正確性試験

既知濃度の管理検体3例 (低値検体1例 [2.5 U/mL 以上 20.0 U/mL 以下]、中値検体1例 [21.0 U/mL 以上 40.0 U/mL 以下]、高値検体1例 [41.0 U/mL 以上 80.0 U/mL 以下]) を測定したとき、測定値がいずれも期待値の ±20% の範囲内です。

(3) 同時再現性試験

既知濃度の管理検体3例 (低値検体1例 [2.5 U/mL 以上 20.0 U/mL 以下]、中値検体1例 [21.0 U/mL 以上 40.0 U/mL 以下]、高値検体1例 [41.0 U/mL 以上 80.0 U/mL 以下]) を6回同時に測定したとき、測定値の変動係数

(CV) が15%以内です。

(4) 測定範囲

2.5 U/mL～80.0 U/mL

2. 臨床性能試験成績

APS 患者の血清61例、APS 患者以外の自己免疫疾患患者の血清95例、合計156例の血清検体を用いて、APS 及びコントロール疾患に対する有病正診率・無病正診率・陽性的中率・陰性的中率・正診率を算出し、以下の結果を得ました。

(1) コントロール疾患を APS 以外の自己免疫疾患とした場合

有病正診率	8% (5/ 61)
無病正診率	98% (93/ 95)
陽性的中率	71% (5/ 7)
陰性的中率	62% (93/ 149)
正診率	63% (98/ 156)

(2) コントロール疾患を APS 及び SLE 以外の自己免疫疾患とした場合

有病正診率	8% (5/ 61)
無病正診率	99% (68/ 69)
陽性的中率	83% (5/ 6)
陰性的中率	55% (68/ 124)
正診率	56% (73/ 130)

なお、購入検体等を用いた試験において、抗カルジオリピン抗体 IgM が単独で陽性となる臨床検体が存在することを確認しました。

3. 抗カルジオリピン抗体濃度単位 (U/mL) の設定

本品の標準血清の濃度は、Harris らの ELISA 法の標準品 (単位: MPL)⁵⁾ をもとに設定しました。

4. 校正用基準物質の設定

自社調製品

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- (1) 検体は HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして扱ってください。検査にあたって、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) 試薬が目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、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) 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) カルジオリピン感作マイクロカップ(M)、抗カルジオリピン抗体標準液(M)、酵素標識抗体(M)、抗カルジオリピン抗体陽性コントロール(M)及び陰性コントロール(M)は、異なる製品ロットの試薬を組み合わせ使用しないでください。
- (3) 全ての構成試薬は、室温 (20～25℃) に戻してから使用してください。
- (4) 保存中や使用中に、試薬に直射日光を当てないでください。
- (5) 検体、試薬への微生物の混入や試薬間のコンタミネーションを避けてください。
- (6) 反応温度、反応時間、検体の希釈率を厳守してください。

- (7) 洗浄が不十分な場合、ばらつきや偽陰性、偽陽性を生じることがありますので、十分に洗浄してください。
- (8) マイクロカップの間のコンタミネーションを防ぐため、液の泡立ちや、周囲への付着が起らないようにしてください。
- (9) カルジオリピン感作マイクロカップ(M)は湿気を嫌いますので開封後はアルミ袋のチャックを確実に閉めて保存してください。
- (10) 洗浄用緩衝液は、2～8℃で保存したとき、白濁を認める場合がありますが、試薬性能に影響はありません。洗浄液の調製時、十分に溶解してから使用してください。
- (11) 酵素基質液は金属イオンによって酸化されやすいので、デイスポーザブルの新しい器具を使用し、試薬ボトルからリザーバーに酵素基質液を移す際にもデイスポーザブルのピペットを使用してください。また、一度リザーバーへ移した酵素基質液は試薬ボトルに戻さないでください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。検査に使用した器具は、廃棄又は次のいずれかの方法で処理してください。
 - ・最終濃度2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。
 - ・0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 約1,000 ppm）に1時間以上浸漬する。
 - ・121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。
 試薬や器具等を廃棄する場合は、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従ってください。
- (2) 血液等が飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオル等でふき取り、0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液で清拭してください。また、使用した手袋やペーパータオル等は、廃棄上の注意（1）に従って、処理、廃棄してください。
- (3) 反应用緩衝液 (M) 及び陰性コントロール (M) には0.09%アジ化ナトリウムが添加されています。アジ化ナトリウムは、配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含む廃液は十分な量の水で洗い流してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8℃

有効期間：製造後12箇月

（使用期限は外箱に表示されています。）

【包装単位】

CODE 7360 96ウェル

関連製品

製品コード	品 名
7350	MESACUP-2 テスト カルジオリピン IgG
2415	ステイシア MEBLux™ テスト β2GPI IgG
2415-201	ステイシア MEBLux™ テスト用 β2GPI 抗体 標準液 (G)
2415-211	ステイシア MEBLux™ テスト用 β2GPI 抗体 陽性コントロール (G)
2310-212	ステイシア MEBLux™ テスト用 陰性コントロール

2420	ステイシア MEBLux™ テスト β2GPI IgM
2420-201	ステイシア MEBLux™ テスト用 β2GPI 抗体 標準液 (M)
2420-211	ステイシア MEBLux™ テスト用 β2GPI 抗体 陽性コントロール (M)

【主要文献】

- 1) Hughes, G. R. V. et al. J Rheumatol. 1986, vol. 13, p. 486-489.
- 2) Miyakis, S. et al. J Thromb Haemost. 2006, vol. 4, p. 295-306.
- 3) Hochberg, M. C. Arthritis & Rheumatism. 1997, vol. 40, no. 9, p. 1725.
- 4) Aringer, M., et al. Arthritis & Rheumatology. 2019, vol. 71, no. 9, p. 1400-1412.
- 5) Harris, E. N. et al. Clin Exp Immunol. 1987, vol. 68, p. 215-222.

【問い合わせ先】

株式会社医学生物学研究所 学術部

〒105-0012 東京都港区芝大門二丁目1 1 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL：03-6854-3613 E-mail：kensa@mbi.co.jp

*【製造販売元】

株式会社医学生物学研究所

〒105-0012 東京都港区芝大門二丁目1 1 番 8 号

住友不動産芝大門二丁目ビル

TEL：03-6684-6860 FAX：03-6854-3615

「MESACUP」は株式会社医学生物学研究所の登録商標です。
（登録商標 第2422835号）

「MEBLux」は株式会社医学生物学研究所の登録商標です。
（登録商標 第5228246号）