体外診断用医薬品

承認番号　20900AMZ00598000

クラスⅢ免疫検査用シリーズ　ペプシノーゲンキット

Eプレート‘栄研’Discペプシノゲン Ⅰ

【重要な基本的注意】

ペプシノゲンⅠ及びペプシノゲンⅡは胃粘膜の萎縮の程度を反映する指標であり、胃癌に特異的なマーカーではない。従って、胃癌以外の胃粘膜に萎縮を伴う疾患においても、高い陽性率を示す。また、本法は現在集団検診において用いられている間接X線投影法に代わりうる検査法としては確立されていない。

【全般的な注意】

1．本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
2．診断は、本製品による検査結果のみで行わず、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断すること。
3．添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
4．Disc 標準PGⅠ−B〜Fはヒト由来成分を含むので、感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。
5．使用する装置の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

	構成試薬名　（括弧内略号）	主　な　成　分
1	ペプシノゲンⅠ抗体固相化プレート（ペプシノゲンⅠ抗体固相化プレート）	抗ペプシノゲンⅠマウスモノクローナル抗体固相化プレート
2	Disc 酵素標識 PGⅠ抗体（Disc 酵素標識PGⅠ抗体）	ペルオキシダーゼ標識抗ペプシノゲンⅠマウスモノクローナル抗体
3	Disc 緩衝液（Disc 緩衝液）	リン酸水素二ナトリウム・12水塩 リン酸二水素カリウム
4	基質剤（基質剤）	o-フェニレンジアミン二塩酸塩（OPD）
5	Disc 溶解液（Disc 溶解液）	過酸化水素水（30 %）
6	洗浄剤（洗浄剤）	モノラウリン酸ポリオキシエチレンソルビタン（20E.O.）
7	劇 反応停止液（反応停止液）	硫酸 1ビン中 1 mL 含有
8	Disc 標準PGⅠ−A（Disc 標準PGⅠ−A）	ペプシノゲンⅠ　0 ng/mL 相当
9	Disc 標準PGⅠ−B（Disc 標準PGⅠ−B）	ペプシノゲンⅠ　2 ng/mL 相当
10	Disc 標準PGⅠ−C（Disc 標準PGⅠ−C）	ペプシノゲンⅠ　6 ng/mL 相当
11	Disc 標準PGⅠ−D（Disc 標準PGⅠ−D）	ペプシノゲンⅠ　20 ng/mL 相当
12	Disc 標準PGⅠ−E（Disc 標準PGⅠ−E）	ペプシノゲンⅠ　60 ng/mL 相当
13	Disc 標準PGⅠ−F（Disc 標準PGⅠ−F）	ペプシノゲンⅠ　200 ng/mL 相当
（付属品）プレートシール		

（標準品の設定根拠）
本製品の国際標準品は設定されていない。よって、Lowry 法によりタンパク濃度を決定した精製ペプシノゲンⅠを基準品として標準を作製した。

【使用目的】

全血中のペプシノゲンⅠの測定

【測定原理】

本製品は、プレート固相による2ステップサンドイッチEIA法である。

【操作上の注意】

1．測定試料の性質・採取方法

1）血液をろ紙に滴下して浸みこませて水平な状態で乾燥させる。
2）乾燥させた検体はビニール袋などに入れ、冷所もしくは−20 ℃にて保存すること。

2．交差反応性

社内で検討した結果、エラスターゼⅠ100 μg/mL，ガストリン 10 μg/mL，CEA10 μg/mL までの濃度で、交差性は認められなかった。またペプシノゲンⅡとの交差性は 0.037 %であった。

【用法・用量（操作方法）】

1．試薬の調製方法

冷蔵庫から出した試薬は、室内温度に戻してから使用する。

1）基質液
基質剤1錠を Disc 溶解液1ビン（12 mL）に加えて溶解し、基質液とする。
使用する15分前に調製し、30分以内に使用すること。
調製後及び反応時は直射日光を避け、使用後の試薬は再使用しないこと。

2）洗浄液
洗浄剤を別の容器にとり、精製水を加えて全量を 2,000 mL とする。
2〜8 ℃に保存し、2ヵ月以内に使用する。

3）ペプシノゲンⅠ抗体固相化プレート
開封した未使用のストリップは乾燥剤の入った密封容器に入れて 2〜8 ℃に保存し、キットの有効期間内に使用すること。

4）Disc 酵素標識 PGⅠ抗体、Disc 緩衝液、反応停止液、Disc 標準PGⅠ−A〜Fは、そのまま使用する。

2．必要な器具・器材・試料等

1）ディスクパンチャー（直径 3 mm 用）
2）試験管
3）試験管立て
4）マイクロピペット（100 μL，200 μL）
5）ボルテックスミキサー
6）連続分注器（300 μL）又はプレート洗浄機
7）メスシリンダー（2,000 mL）
8）プレートミキサー
9）恒温槽
10）マイクロプレート用分光光度計

3．検体の調製方法

1）乾燥血液ろ紙検体を直径 3 mm に打ち抜き、ろ紙検体とする。
2）試験管にろ紙検体 4 枚と Disc 緩衝液 200 μL を加え、1 分間撹拌後 2〜8 ℃で一晩（16〜24時間）抽出する。再び撹拌し、ろ紙が入らないように別の試験管に上清を移したものを抽出検体とする。

4．測定（操作）法

A．用手法による操作方法

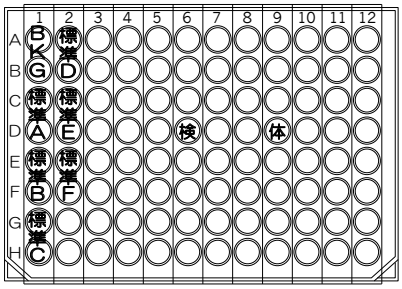
1）検体数に応じて必要な数のペプシノゲンⅠ抗体固相化プレートのストリップを用意する。標準曲線作成にはブランクを含め 14 ウエル（2ストリップ），検体測定用には1検体当たり1ウエルを用意する。
2）ペプシノゲンⅠ抗体固相化プレートのウエルの 1−A，Bをブランク（BKG）として使用する。同じく、1−C〜2−Fを標準曲線作成用に使用し、他のウエルで検体測定を行う。
3）1−C，Dのウエルに Disc 標準PGⅠ−Aを 100 μL ずつ分注する。以下同様に1−E，Fのウエルに Disc 標準PGⅠ−Bを、1−G，Hのウエルに Disc 標準PGⅠ−Cを，2−A，Bのウエルに Disc 標準PGⅠ−Dを，2−C，Dのウエルに Disc 標準PGⅠ−Eを、2−E，Fのウエルに Disc 標準PGⅠ−Fをそれぞれ 100 μL ずつ分注する。
同様に 2−G以降の検体測定用ウエルに抽出検体を 100 μL 分注する。抽出検体はろ紙片によりチップが詰まりやすいので注意して分注する。
4）プレートシールを貼り 5 分間撹拌後、15〜30 ℃で 2 時間インキュベートする。
5）反応液を除去した後、洗浄液を 300 μL ずつ分注し、液を排除する。この操作を3回行う。
6）1−A，B以外のウエルに Disc 酵素標識PGⅠ抗体を 100 μL ずつ分注する。
7）プレートシールを貼り撹拌後、15〜30 ℃で1時間インキュベートする。
8）反応液を除去した後、洗浄液を 300 μL ずつ分注し、液を排除する。この操作を3回行う。
9）全ウエルに基質液を 100 μL ずつ一定の速度で分注する。
10）プレートシールを貼り、遮光し 25 ℃で 30 分間インキュベートする。
11）全ウエルに反応停止液を 100 μL ずつ、基質液を入れた速度で分注し、酵素反応を停止させる。
12）マイクロプレート用分光光度計を用いて、波長 492 nm（480〜500 nm）の吸光度を測定する。
13）ブランク（BKG）の平均を計算し、各ウエルの吸光度からBKGを引いたネットの吸光度を算出する。
14）両対数グラフ用紙の横軸に各 Disc 標準PGⅠ濃度を、縦軸に対応する吸光度をプロットし、標準曲線を作成する。
15）各検体の吸光度を標準曲線にあてはめて検体中のペプシノゲンⅠ濃度を読みとる。

B．機器による操作方法

試薬の調製及び検体の調製は**A．用手法による操作方法**と同様に行う。
使用する機器により操作方法が異なるので、機器の取扱説明書に従い測定を行う。測定の際には機器の調整を十分に行うこと。
操作方法の概要は下記の通り。

1）Disc 標準PGⅠ及び抽出検体を検体ラックにセットする。プレート及び試薬を所定の位置にセットする。
2）機器にパラメータを入力し、**A．用手法による操作方法**と同様の反応を行わせる。
3）各ウエルの吸光度を波長 492 nm（480〜500 nm）で測定し、標準曲線より検体中のペプシノゲンⅠ濃度を求める。

■ ウエル配置参考例



■ 操作手順プロトコール

ろ紙検体	4 枚
Disc 緩衝液	200 μL

↓ 1 分間撹拌後、2～8 ℃で一晩（16～24 時間）放置
撹拌した後、上清を別の試験管に移したものを抽出検体とする

ペプシノゲンⅠ抗体固相化プレート	1 ウエル
Disc 標準PGⅠ又は抽出検体	100 μL

↓ 5 分間撹拌後、15～30 ℃で 2 時間インキュベート
反応液を除去後、洗浄液で 3 回洗浄

Disc 酵素標識PGⅠ抗体	100 μL

↓ 撹拌後、15～30 ℃で 1 時間インキュベート
反応液を除去後、洗浄液で 3 回洗浄

基質液	100 μL

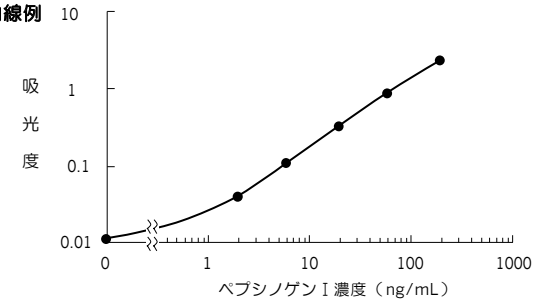
↓ 遮光し 25 ℃で 30 分間インキュベート

反応停止液	100 μL

↓

吸光度測定	（測定波長 492 nm）

■ 標準曲線例



＜測定にあたっての注意＞

1）抽出検体はろ紙片によりチップが詰まりやすいので注意して分注すること。
2）試薬の調製後は速やかに使用すること。
3）測定結果は、反応時間や温度に影響されるので、検体及び標準ともに決められた条件下で同時に操作すること。
4）プレート洗浄操作後、速やかに試薬分注をすること。
5）Disc 緩衝液に保存剤として含まれるアジ化ナトリウムは酵素反応を阻害するので、反応液の吸引除去及び洗浄操作は十分に行うこと。
6）基質剤（錠剤）は直接溶解液容器に移し、手で触れたりしないこと。
7）基質液の調製に際しては基質剤（錠剤）が溶けていることを確認し、撹拌してから使用すること。
8）各反応段階で使用するプレートシールは、交換して使用すること。
9）吸光度を測定する前にウエル内に気泡がないこと、及びプレートの底面に汚れがないことを確認し、反応停止後 1 時間以内（遮光下保存）に測定すること。
10）高値が予想される検体を測定する場合、又は測定値がスケール・オーバーした場合には、抽出検体を Disc 緩衝液を用いて正確に希釈後、操作手順に従って測定すること。

【測定結果の判定法】

ペプシノゲンⅠ，Ⅱ併用測定による判定基準 [1), 2)]
陽　性：ペプシノゲンⅠ値 70 ng/mL 以下かつⅠ／Ⅱ比 3 以下
強陽性：ペプシノゲンⅠ値 30 ng/mL 以下かつⅠ／Ⅱ比 2 以下

【性　能】

1．性 能

1）感度
（1）Disc 標準PGⅠ－F（200 ng/mL）の吸光度（B_{200}）は 1.0～3.0 である。
（2）Disc 標準PGⅠ－F（200 ng/mL）の吸光度（B_{200}）と Disc 標準PGⅠ－B（2 ng/mL）の吸光度（B_2）の比率（B_{200}/B_2）は 20 倍以上である。
2）正確性
濃度既知管理検体を測定するとき、得られた値は表示値の±15 %以内である。
3）同時再現性
同一検体を 8 回同時に測定するとき、得られた値の変動係数（C.V.）は、15 %以下である。

2．測定範囲

2～ 200 ng/mL（血清相当濃度）

3．相関性試験成績

他法との相関

比較対照	例数	相関係数	回帰式
Eプレート‘栄研’ ペプシノゲンⅠ	87	$r = 0.986$	$y = 0.996x - 1.060$

（y：本法，x：他法）

【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 等の感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。
2）感染を避けるため、検査時は使い捨て手袋を着用すること。
3）口によるピペッティングはしないこと。
4）Disc 標準PGⅠ－B～Fは、ヒト由来成分を使用しているので、検体と同様に注意して取り扱うこと。
5）反応停止液には 1.5 mol/L の硫酸が含まれているので注意すること。誤って皮膚に付着したり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を受けること。
6）基質剤に含まれる *o*-フェニレンジアミン（OPD）には、変異原性が報告されている。取扱いの際は、目，皮膚，粘膜への接触を避け、粉末を吸引しないように注意すること。万一皮膚等に付着した場合には、直ちに水で十分に洗い流すこと。
7）Disc緩衝液には、保存剤として微量のアジ化ナトリウムが含まれる。アジ化ナトリウムには毒性があるので、目や口に入らないよう、また皮膚に付着させないよう注意すること。
8）フリップキャップを外すときは、手を切らないように注意すること。

2．使用上の注意

1）各試薬は指定の貯蔵方法で保存すること。
2）使用期限を過ぎた試薬は使わないこと。
3）キット内の試薬は正確な測定値が得られるように組み合わせてあるので、製造番号の異なる試薬を組み合わせないこと。
4）本製品中の容器，付属品等を再利用又は他の目的に転用しないこと。

3．廃棄上の注意

1）試料（検体）に接触した器具や廃液等は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 1,000 ppm 以上，1 時間以上浸漬）又はグルタールアルデヒド（2 %，1 時間以上浸漬）による消毒処理、あるいはオートクレーブ（121 ℃，20 分間以上）による滅菌処理を行うこと。
2）反応停止液には 1.5 mol/L の硫酸が含まれているので、廃棄する場合は中和する等の注意をはらうこと。
3）アジ化ナトリウムは、鉛管や銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に流すこと。
＊ 4）試薬ボトルはガラスとPP，ゴム栓はゴム，キャップは金属とPP・PE，プレートはPS，アルミシートはアルミ，プレートシールはPET，キットケースは紙を主な材質としている。
5）使用後の試薬や容器及び器具類は、医療廃棄物等に関する規定及び、水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理すること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法　：　2～8 ℃
有効期間　：　6ヵ月間

【包装単位】

製　品　名	包装単位	製品コード
Eプレート‘栄研’Discペプシノゲン Ⅰ	96 回分	Ⅰ-DS15

【主要文献】

1）三木　一正：日消集検誌, **32 (4)**：19–30, 1994.
2）三木　一正：医学と薬学, **37 (4)**：1013–1021, 1997.
（その他参考となる文献）
Samaloff I. M.：Gastroenterology, **82**：26–33, 1982.
三木　一正：日健診誌, **20**：369–377, 1993.
Correa P.：Cancer Survey, **2**：438–450, 1983.
西沢　護：日消集検誌, **84**：141–144, 1989.
岡　博，他：臨床成人病, **19**：531–537, 1989.

Eプレート‘栄研’は栄研化学株式会社の登録商標です。

【問い合わせ先】

栄研化学株式会社　お客様相談窓口
フリーダイヤル 0120-308-421

【製造販売業者の名称及び住所】

栄研化学株式会社
〒329-0114　栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

製造販売元　栄研化学株式会社
栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地