

この電子化された添付文書をよく読んでからご使用下さい。

## 体外診断用医薬品

### 膵島関連自己抗体キット

# 膵島関連自己抗体 ELISA「コスミック」

## 重要な基本的注意

本製品は血清中の膵島関連自己抗体のうち、抗GAD抗体、抗IA-2抗体、抗ZnT8抗体の3種類の自己抗体の総和を検出する試薬です。3種類をあわせて検出するため、個々の自己抗体についての情報を得ることはできないことから、本製品はスクリーニング目的として使用し、個々の自己抗体の結果については必要に応じて別途検査を実施してください。

## 全般的な注意

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
2. 疾病の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて担当医師が総合的に判断して下さい。
3. 添付文書に記載された使用方法以外の使用については、測定値の信頼性を保証致しません。
4. 陰性コントロール、抗GAD抗体陽性コントロール、抗IA-2抗体陽性コントロール、抗ZnT8抗体陽性コントロール、標準液にはヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので、感染性のあるものとして取り扱いして下さい。
5. 操作上で機器を使用する際は、機器の添付文書または取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。

## 形状・構造等(キットの構成)

| No. | 構成試薬                                         | 96テスト用                     |
|-----|----------------------------------------------|----------------------------|
| 1   | 固相化ウエル<br>[ヒトリコンビナントGAD65抗原、IA-2抗原、ZnT8抗原固相] | 96ウエル×1包<br>(8ウエル×12ストリップ) |
| 2   | 陰性コントロール                                     | 0.3mL×1本                   |
| 3   | 抗GAD抗体陽性コントロール                               | 0.3mL×1本                   |
| 4   | 抗IA-2抗体陽性コントロール                              | 0.3mL×1本                   |
| 5   | 抗ZnT8抗体陽性コントロール                              | 0.3mL×1本                   |

| No. | 構成試薬                                                              | 96テスト用    |
|-----|-------------------------------------------------------------------|-----------|
| 6   | 標準液                                                               | 0.3mL×1本  |
| 7   | 濃縮洗浄液                                                             | 125mL×1本  |
| 8   | ビオチン化抗原（凍結乾燥品）<br>[ビオチン化ヒトリコンビナント<br>GAD65抗原、IA-2抗原、ZnT8<br>抗原含有] | 5.5mL分×3本 |
| 9   | ビオチン溶解液                                                           | 15mL×2本   |
| 10  | SA-POD<br>[ストレプトアビジン化ペルオキシダーゼ含有]                                  | 0.7mL×1本  |
| 11  | SA-POD希釈液                                                         | 15mL×1本   |
| 12  | 基質液<br>[テトラメチルベンチジン含有]                                            | 15mL×1本   |
| 13  | 停止液                                                               | 12mL×1本   |

## \*使用目的

血清中の膵島関連自己抗体（抗GAD抗体、抗IA-2抗体及び抗ZnT8抗体の総和）の検出  
(1型糖尿病の診断補助)

## 測定原理

本製品は、ELISA法による血清中の膵島関連自己抗体(抗GAD抗体、抗IA-2抗体、抗ZnT8抗体)の検出キットである。ヒトリコンビナントGAD65抗原、IA-2抗原、ZnT8抗原が予め固相化されたウエルに検体を入れ、検体中の膵島関連自己抗体と反応させる。ウエルを洗浄後、ビオチン化抗原(ビオチン化ヒトリコンビナントGAD65抗原、IA-2抗原、ZnT8抗原)を加え、固相化された各ヒトリコンビナント抗原に結合している検体中の膵島関連自己抗体と反応させる。洗浄後、SA-POD(ストレプトアビジン化ペルオキシダーゼ)を加え、ビオチン化抗原と結合させる。洗浄後、基質液(テトラメチルベンチジン)を加えて発色させ、吸光度を測定することにより検体中の膵島関連自己抗体を検出する。

## 操作上の注意

### 1. 検体

- ① 検体は、血清を用いること。
- ② 検体は、分離後直ちに冷蔵保存（2～8℃）すること。分離後すぐに測定しない場合は凍結保存（-20℃以下）すること。
- ③ 冷蔵または冷凍保存されていた検体は、室内温度（17～28℃）に戻してから使用すること。
- ④ 検体の凍結融解の繰り返しは避けること。
- ⑤ 高脂血清、溶血血清の使用は避けることが望ましい。

### 2. 妨害物質の影響<sup>1)</sup>

- \* ① ヘモグロビンは510mg/dL、ビリルビンC（抱合型）は19.8mg/dL、ビリルビンF（遊離型）は20.0mg/dL、乳ピ（脂質）は1700度数、リウマチ因子は500IU/mLまで影響は受けない。
- ② ビオチン（ビタミンB<sub>7</sub>）は1200ng/mLまで影響は受けない。

## 用法・用量（操作方法）

### 1. 必要な機器類

メスシリンダー、攪拌機、精製水、マイクロピペット（25μL）、チップ、連続分注器（100μL、300μL）、プレートシェーカー、インキュベーター、ELISA用プレートリーダー（測定波長450nm）

### 2. 試薬の調製

試薬は室内温度（17～28℃）に戻してから使用する。ビオチン化抗原及びビオチン溶解液は、室内温度に戻さずに使用する。

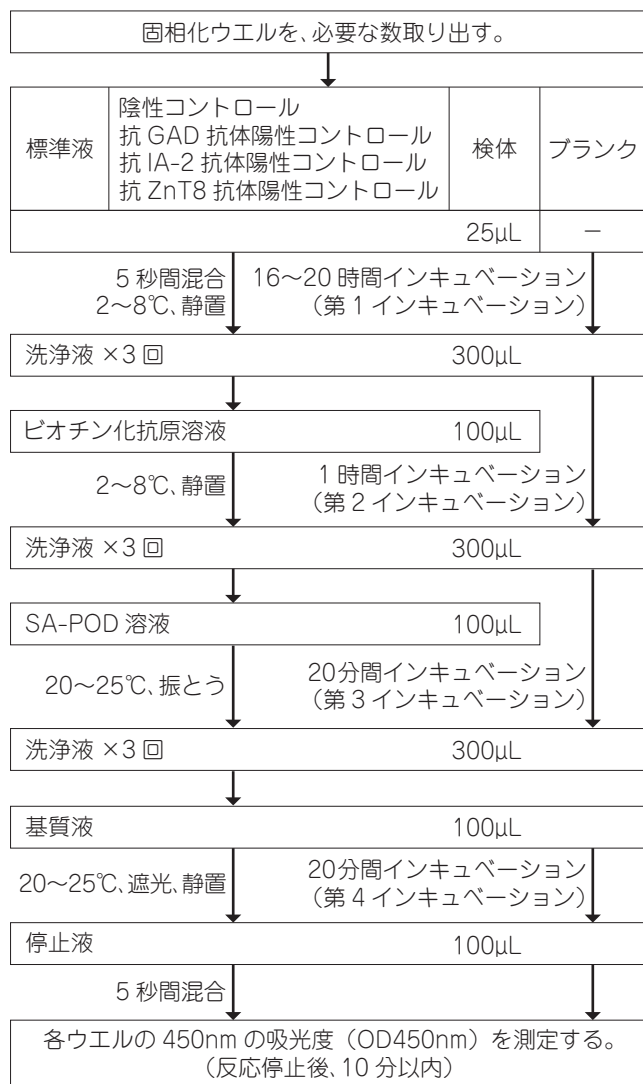
- ① 固相化ウエル  
必要な数（ブランク用ウエルを含む）だけ固相化ウエルを取り出して使用する。開封後は、アルミバッグに入れて封をして2～8℃で4週間保存できる。
- ② ビオチン化抗原溶液  
室内温度に戻さずに、ビオチン化抗原1本につき、ビオチン溶解液5.5mLを加えて溶解し、ビオチン化抗原溶液とする。調製は、使用前に行い、冷えた状態で使用する。溶解後は使い切りとし、保存できない。
- ③ SA-POD溶液  
SA-POD 0.5mLにつきSA-POD希釈液9.5mLを加えて希釈し、SA-POD溶液とする。希釈後は栓をして2～8℃で4週間保存できる。
- ④ 洗浄液  
濃縮洗浄液10mLにつき精製水90mLを加えて希釈し、洗浄液とする。希釈後は栓をして2～8℃で4週間保存できる。
- ⑤ その他の試薬  
調製済みであるので、そのまま穏やかに混和して均一な溶液とし、使用する。開封後は使用期限内でなるべく早く使用し、保存する場合は、蓋を閉め

て2～8℃で保存すること。

### \*3. 測定法

- ① 検体、陰性コントロール、抗GAD抗体陽性コントロール、抗IA-2抗体陽性コントロール、抗ZnT8抗体陽性コントロール、標準液を25μLずつ各ウエル（ブランク用ウエルを除く）に分注する。
- ② プレート側面を軽く叩くかプレートシェーカーで混合する。
- ③ 2～8℃で16～20時間静置にてインキュベーションする。（第1インキュベーション）
- ④ 内容液を除去後、洗浄液を300μLずつ各ウエルに分注する。洗浄液を除去した後は、清潔で乾燥した吸収紙上で軽くたたき、水滴が残らないようにする。
- ⑤ ④の操作を2回繰り返す。（合計3回）
- ⑥ 冷えた状態のビオチン化抗原溶液を100μLずつ各ウエル（ブランク用ウエルを除く）に分注し、2～8℃で1時間静置にてインキュベーションする。（第2インキュベーション）
- ⑦ ④及び⑤の操作を繰り返す。
- ⑧ SA-POD溶液を100μLずつ各ウエル（ブランク用ウエルを除く）に分注し、20～25℃で20分間、振とうする。（第3インキュベーション）
- ⑨ ④及び⑤の操作を繰り返す。
- ⑩ 基質液を100μLずつ各ウエル（ブランク用ウエルを含む）に分注し、遮光し、20～25℃で20分間静置にて発色させる。（第4インキュベーション）
- ⑪ 基質液を捨てずに、停止液を100μLずつ各ウエル（ブランク用ウエルを含む）に分注する。この際、基質液を加えた順番と速度にならって分注する。
- ⑫ プレート側面を軽く叩くかプレートシェーカーで混合する。
- ⑬ ELISA用プレートリーダーで各ウエル450nmの吸光度を測定する。  
※反応停止後は10分以内に測定すること。
- ⑭ 各ウエルの吸光度を記録し、ブランクの吸光度を引く。
- ⑮ 下記の式により検体のIndex値を算出する。

$$\text{Index値} = \frac{\text{検体の吸光度}}{\text{標準液の吸光度}} \times 100$$



## 測定結果の判定法<sup>1)</sup>

カットオフ値は、健康成人159人の99パーセンタイルの結果をもとに、Index値20と設定した。

Index値20未満：陰性

Index値20以上：陽性

測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果と合わせて担当医師が総合的に判断すること。

## 臨床的意義<sup>1)</sup>

### \*1. 膵島関連自己抗体の臨床的意義

1型糖尿病は、膵β細胞の破壊により発症し、インスリンの絶対的欠乏に至る糖尿病で、本邦では、発症経過により、劇症1型糖尿病、急性発症1型糖尿病ならびに緩徐進行1型糖尿病の3病型に分類される。1型糖尿病の診断には、抗GAD抗体、抗IA-2抗体、抗ZnT8抗体、インスリン自己抗体(IAA)及び膵島細胞抗体(ICA)の測定が、単独あるいは複数の組み合わせで使用されている。本製品は一度の測定で複数の膵島関連自己抗体(抗GAD抗体、抗IA-2抗体、抗ZnT8抗体)の存在の有無が判明することから、1型糖尿病の診断の補助に有用である。

### \*2. 本製品の疾患別陽性率

独立した2つの臨床性能試験において、1型糖尿病及び健康成人の陽性率は下表の通りであった。

#### 臨床性能試験 その1

| 疾患名       | 陽性率            |
|-----------|----------------|
| 急性発症1型糖尿病 | 67.4%(294/436) |
| 緩徐進行1型糖尿病 | 71.8%(130/181) |
| 劇症1型糖尿病   | 0.0%( 0/ 21)   |
| 健康成人      | 1.3%( 2/159)   |

#### 臨床性能試験 その2

| 疾患名       | 陽性率           |
|-----------|---------------|
| 急性発症1型糖尿病 | 69.8%(67/ 96) |
| 緩徐進行1型糖尿病 | 94.0%(47/ 50) |
| 劇症1型糖尿病   | 0.0%( 0/ 11)  |
| 健康成人      | 2.0%( 2/100)  |

### \*3. 急性発症1型糖尿病患者と緩徐進行1型糖尿病における本製品と膵島関連自己抗体の一致率は下表の通りで、急性発症1型糖尿病において陽性一致率98.6%、陰性一致率90.8%、全体一致率95.9%、また緩徐進行1型糖尿病においては、陽性一致率96.9%、陰性一致率90.4%、全体一致率95.0%であった。

#### 急性発症1型糖尿病

|       |   | 膵島関連自己抗体 |     |       |
|-------|---|----------|-----|-------|
|       |   | +        | -   | total |
| 本製品   | + | 280      | 14  | 294   |
|       | - | 4        | 138 | 142   |
| total |   | 284      | 152 | 436   |

陽性一致率 98.6%  
陰性一致率 90.8%  
全体一致率 95.9%

#### 緩徐進行1型糖尿病

|       |   | 膵島関連自己抗体 |    |       |
|-------|---|----------|----|-------|
|       |   | +        | -  | total |
| 本製品   | + | 125      | 5  | 130   |
|       | - | 4        | 47 | 51    |
| total |   | 129      | 52 | 181   |

陽性一致率 96.9%  
陰性一致率 90.4%  
全体一致率 95.0%

(表中の膵島関連自己抗体とは、抗GAD抗体、抗IA-2抗体、抗ZnT8抗体での判定結果を表しており、いずれかが陽性的場合、膵島関連自己抗体を陽性とした。)

## 性能<sup>1)</sup>

### 1. 感度試験

- ① 陰性コントロールを測定するとき、その吸光度は0.08以下である。
- ② 標準液を測定するとき、その吸光度は0.4以上である。

### 2. 正確性試験

- ① 陽性管理検体1(Index値40～90)、陽性管理検体2(Index値40～90)、陽性管理検体3(Index値40～90)を測定するとき、陽性管理検体は全て陽性と判定される。

- ② 陰性管理検体2例を測定するとき、陰性管理検体は全て陰性と判定される。
3. 同時再現性試験
- ① 陽性管理検体1 (Index値40～90)、陽性管理検体2 (Index値40～90)、陽性管理検体3 (Index値40～90) を5回同時に測定するとき、陽性管理検体は全て陽性と判定される。
- ② 陰性管理検体2例を5回同時に測定するとき、陰性管理検体は全て陰性と判定される。
- なお、陽性管理検体の詳細は下記の通りである。
- 陽性管理検体1：抗GAD抗体陽性、抗IA-2抗体及び抗ZnT8抗体陰性
- 陽性管理検体2：抗IA-2抗体陽性、抗GAD抗体及び抗ZnT8抗体陰性
- 陽性管理検体3：抗ZnT8抗体陽性、抗GAD抗体及び抗IA-2抗体陰性
4. 最小検出感度  
Index値10.9
5. 校正用基準物質  
RSR Limited社内標準品

## 使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意事項
- ① 本試薬には、HBV、HIV及びHCVが存在しないことを確認しているが、感染の恐れがあるものとして検体と同様に取扱うこと。
- ② 検体は感染の恐れがあるので、取扱いには十分に注意すること。検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブで121℃、15分間、高圧蒸気滅菌処理するか、または1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を調製して、1時間浸した後、多量の水で洗い流すこと。次亜塩素酸ナトリウム溶液を多量に廃棄する際、酸性下で有毒の塩素ガスを発生するので、廃液は中和した後、多量の水で流す等の配慮をすること。
- ③ 本試薬には防腐剤としてアジ化ナトリウム、また停止液には硫酸が含まれており、皮膚等を刺激する恐れがある。これらの試薬を含め、すべての試薬が誤って目や口に入った場合、または身体に付着した場合は、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ること。
- ④ 身体の汚染及び感染防止のため、作業室内では使い捨て手袋、専用の実験衣を着用すること。また、口によるピペティングを行わないこと。
- ⑤ 試薬、血清等が誤って体内に入るのを防ぐため、作業室内では飲食、喫煙等はしないこと。
- ⑥ 容器が破損し怪我をする恐れがあるため、取り扱いには注意すること。
2. 使用上の注意事項
- ① キット内の試薬は正確な反応が得られるように組み

合わせてあるので、ロット番号の異なる試薬を組み合わせて使用しないこと。また、同一ロット番号の試薬であっても試薬の注ぎ足しは行わないこと。

- ② 検体、陰性・陽性コントロール等を分注する際、同じチップは使用しないこと。
- ③ 試薬の開封後は使用期限内でなるべく早く使用し、保存する場合は、蓋を開けて2～8℃で保存すること。
- ④ 使用期限を過ぎた試薬は使用しないこと。
3. 廃棄上の注意事項
- ① キット内の試薬、容器を他の目的に使用しないこと。使用後の容器は、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理すること。余った試薬を廃棄する場合には、水質汚濁防止法等の規定に従って処理すること。
- ② 検体、試薬、廃液等が飛散した場合、飛散箇所に1%の次亜塩素酸ナトリウム溶液を塗布し、1時間経過後ふき取りを行うこと。
- ③ 本試薬は、微量 (0.1%以下) のアジ化ナトリウムを含んでいる。排水管等に用いられている銅や鉛と反応して爆発性の金属アジドを形成する恐れがあるため、多量の水で流す等の配慮をすること。

## 貯蔵方法

2～8℃で保存すること。

## 有効期間

12ヶ月間

(使用期限については製品包装上面に記載している。)

## 包装単位

| 商品コード    | 包装単位   |
|----------|--------|
| F0012411 | 96テスト用 |

## 主要文献

- 1) 社内資料

## 問い合わせ先

株式会社コスミック コーポレーション 営業部  
〒112-0002 東京都文京区小石川2丁目7番3号  
電話 03 (5802) 5971  
FAX 03 (5802) 5974

## 製造元

RSR Limited  
Parc Ty Glas, Llanishen, Cardiff, CF14 5DU, UK

## 製造販売元

株式会社コスミック コーポレーション  
〒112-0002 東京都文京区小石川2丁目7番3号 富坂ビル  
電話 03 (5802) 5880 (代)