200820－002

＊2017年１月改訂（第２版）
2008年４月作成（第１版）

体外診断用医薬品
［承認番号　21900AMZ00070000］

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

MDA-LDL（酸化LDL）キット
（分類コード番号：83018000）

酸化LDLエライザ「第一」

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．投与された薬剤による測定値の影響に関しては、当該薬剤の添付文書に記載されている使用上の注意、特に臨床検査結果に及ぼす影響の項をよくお読みください。
４．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。
５．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。
６．本品の構成試薬であるキャリブレーターは、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。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。
７．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
抗体結合プレート	抗MDA-LDLマウスモノクローナル抗体結合ウエル
酵素標識抗体液	β-ガラクトシダーゼ標識抗アポBマウスモノクローナル抗体
濃厚洗浄液	リン酸緩衝液
基質液	o-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシド
停止液	炭酸ナトリウム液
検体希釈液	HEPES緩衝液
検体保存液	サッカロース
キャリブレーター	ヒト血清

使用目的

血清中のMDA-LDL（酸化LDL）の測定

（冠動脈疾患既往歴のある糖尿病患者における冠動脈疾患のリスクを予見するための診断の補助）

測定原理

１．測定原理

界面活性剤を含んだ検体希釈液で血清を処理して、血清MDA-LDLの構造を変化させます。このMDA-LDLは、プレートに固相化された抗MDA-LDLマウスモノクローナル抗体（ML25）に結合します。次に、β-ガラクトシダーゼ標識抗アポBマウスモノクローナル抗体（AB16）を反応させると、固相化抗体-MDA-LDL-酵素標識抗体の免疫複合体を形成します。更にo-ニトロフェニル-β-D-ガラクトピラノシドを加えて発色させ、吸光度を測定し、MDA-LDL濃度を求めます。

２．特長

１）酸化LDLの代表的な構造の一つであるマロンジアルデヒド修飾LDL（MDA-LDL）を測定します。
２）ML25はMDA修飾蛋白を認識し、AB16はアポBをもつMDA-LDLおよびLDLを認識する抗体です。これらを組み合わせた酵素免疫測定法（ELISA）により、MDA-LDLを特異的に測定します。

操作上の注意＊

１．測定試料の性質、採取法

１）測定試料
（1）検体は必ず血清を使用してください。血漿は使用しないでください。
（2）血液凝固が完全に終了してから血清を分離してください。なお、血清分離は採血後６時間以内に行ってください。

２）測定試料の保存について
（1）新鮮検体
採取した検体は、採血後15～25℃で保存した場合は８時間以内に、２～８℃で保存した場合は３日以内に測定してください。
（2）保存検体
検体を保存する場合は、採血後８時間以内に以下のいずれかの操作を行ってください。
① 検体保存液を添加してから検体を保存します。検体と検体保存液が３：１（例：検体300μL、検体保存液100μL）になるように希釈し、凍結保存します。－80℃保存した場合は５ヵ月以内、－20℃保存した場合は１ヵ月以内に測定してください。
② 検体をそのまま－20℃以下で凍結保存します。この保存中に、わずかな融解再凍結も生じないようにしてください。－20℃保存した場合は１週間以内に次の操作を行ってください。検体を融解後、検体と検体保存液が３：1(例：検体300μL、検体保存液100μL)になるように希釈して測定してください。再び凍結保存する場合は、－80℃保存した場合は５ヵ月以内、－20℃保存した場合は１ヵ月以内に測定してください。
（3）検体希釈に際しては、検体を室内温度(15～30℃)に戻してから測定してください。

２．妨害物質

遊離型ビリルビン20mg/dLまで、抱合型ビリルビン20mg/dLまで、ヘモグロビン500mg/dLまで、ホルマジン濁度数3000度まで測定値に影響はありません。

３．その他

１）検量線は測定ごとに作成してください。
２）多数検体を測定するときは、各ステップでウエルの反応時間が定められた時間に統一できる様に留意してください。
３）洗浄操作では洗浄液は完全に除去してください。

4）操作は直射日光を避けて行ってください。
5）試料、希釈キャリブレーター液及び各試薬はウエルの壁につかないように中央に滴下してください。
6）検体の濃度が測定範囲を超える場合は、試料を検体希釈液でさらに希釈して再測定してください。

用法・用量（操作方法）＊

1．測定に必要な器具及び試薬

1）可変式マイクロピペット(20、200、1000μL)
2）試験管
3）メスシリンダー（1000mL）
4）プレートシールもしくはプレートカバー
5）マイクロプレートリーダー（主波長415nm 副波長600nm、又は415nm単波長）
6）精製水

2．試薬の調製方法

1）抗体結合プレート：そのまま使用します。未使用のウエルは密閉後、２～10℃保存で２週間安定です。
2）酵素標識抗体液　：そのまま使用します。
3）洗浄液　：濃厚洗浄液100mLに精製水400mLを加えて使用してください。
4）基質液　：そのまま使用します。
5）停止液　：そのまま使用します。
6）検体希釈液　：そのまま使用します。
7）検体保存液　：そのまま使用します。
8）キャリブレーター液：キャリブレーターに精製水0.5mLを加えて溶解し、キャリブレーター液とします。その後希釈液で以下の例にしたがって希釈し、室内温度（15～30℃）で１時間静置してから使用してください。

［例］

（キャリブレーターの表示値a U/L）

濃度(U/L)			4a	2a	a	1/2a	1/4a	1/8a
希釈倍数(倍)	1	10	500	1000	2000	4000	8000	16000
キャリブレーター液(μL)	適量	100	20	500	500	500	500	500
検体希釈液(μL)	0	900	980	500	500	500	500	500

濃度U/L)	8a	4a
希釈倍数	250倍	500倍
10倍希釈キャリブレーター液(μL)	40	500
検体希釈液(μL)	960	500

※

以上の例に従って作成した希釈キャリブレーター液とともに、試薬ブランクには検体希釈液をそのまま使用してください。
※キャリブレーターの表示値が83U/L未満の場合、検量範囲に測定上限（330U/L）が含まれるように250倍希釈から検量線を作成してください。

3．測定（操作）法

〈試料の調製方法〉

1）新鮮検体
検体は血清を用い、以下の要領に従って最終希釈率2000倍になるように検体を検体希釈液で希釈し、試料とします。室内温度（15～30℃）で１時間静置してから使用してください。

(1) 検体20μLに検体希釈液980μLを加え、50倍希釈します。
(2) (1) で調製した50倍希釈検体20μLに検体希釈液780μLを加え、更に40倍希釈します。
(3) 室内温度（15～30℃）で１時間静置後、試料とします。

	（50倍希釈）	（40倍希釈）	（最終希釈率2000倍）
検体希釈液	980μL →	780μL	室内温度（15～30℃）で１時間静置後、試料とします。
検体	20μL	20μL	

2）保存検体
検体保存液を添加した保存検体は以下の要領に従って、最終希釈率2000倍となるように検体希釈液で1500倍希釈し、試料とします。室内温度（15～30℃）で１時間静置してから使用してください。
(1) 保存検体20μLに検体希釈液980μLを加え、50倍希釈します。
(2) (1) で調製した50倍希釈保存検体20μLに検体希釈液580μLを加え、30倍希釈します。
(3) 室内温度（15～30℃）で１時間静置後、試料とします。

	（50倍希釈）	（30倍希釈）	（最終希釈率2000倍）
検体希釈液	980μL →	580μL	室内温度（15～30℃）で1時間静置後、試料とします。
検体	20μL	20μL	

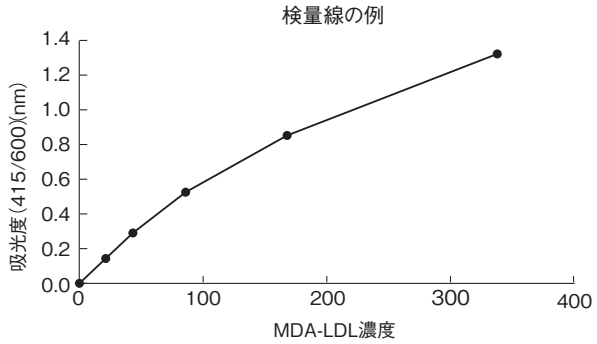
〈測定〉

(1) 全ての試薬を室内温度（15～30℃）に戻します。
(2) 抗体結合プレートの各ウエルに洗浄液を300μLずつ分注後、除去します。この操作を３回行い、ウエルを洗浄します。洗浄液を完全に除去した後、次の操作を行ってください。
(3) 各ウエルに、試料又は希釈キャリブレーター液を各100μL分注し、室内温度（15～30℃）で２時間静置します。各ウエルの反応時間は10分以上異ならないようにしてください。希釈キャリブレーター液は二重測定を行ってください。
(4) ウエル内の液を除去し、各ウエルに洗浄液を各300μLずつ分注後、(2) と同様に３回洗浄します。
(5) 洗浄液を除去し、各ウエルに酵素標識抗体液を各100μL分注し、室内温度（15～30℃）で１時間静置します。
(6) ウエル内の液を除去し、各ウエルに洗浄液を各300μLずつ分注後、(2) と同様に３回洗浄します。
(7) 洗浄液を除去し、各ウエルに基質液を各100μL分注し、室内温度（15～30℃）で２時間静置します。
(8) さらに各ウエルの反応時間が一定になるように停止液を100μL分注し、反応を停止します。
(9) マイクロプレートリーダーで、試薬ブランクを対照に主波長415nm 副波長600nm、又は主波長415nmのみにおける吸光度を測定します。なお、試薬ブランクには、試料の代わりに検体希釈液を用います。

4．MDA-LDL濃度の算出方法

1）グラフ用紙の縦軸に吸光度、横軸にMDA-LDL濃度をとり希釈キャリブレーター液についてプロットし、滑らかな曲線で検量線を作成します。

2）試料の吸光度に対応する濃度を検量線より読み取り、MDA-LDL濃度を求めます。



5．操作上の留意事項

1）全ての試薬は、室内温度（15～30℃）に戻してから使用してください。特に、冷蔵保存中に検体希釈液中に不溶物が生成している場合は、完全に溶解してから使用してください。

2）キャリブレーター1バイアルに精製水0.5mLを正確に加えて再び中栓をして緩やかに混和し、室内温度（15～30℃）で10分間静置してください。内容物が完全に溶解したことを確認し、緩やかに転倒混和してから使用してください。このとき、激しく混和しないでください。

3）検体を検体希釈液で希釈するとき、緩やかに転倒混和してください。ボルテックスミキサーで激しく混和しないでください。

4）測定に際し、抗体結合プレートの各ウエルを静置するときは、プレートシールもしくはプレートカバーでプレートを覆い、反応液の蒸散をなるべく防いでください。

測定結果の判定法＊

1．参考基準範囲[10]

45才未満の男性、あるいは55才未満の女性の場合：
64±18U/L（平均±S.D.）（N=134）

45才以上の男性、あるいは55歳以上の女性の場合：
83±22U/L（平均±S.D.）（N=122）

2．判定上の注意

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、再検査や検体希釈液による希釈再検査により確認してください。

臨床的意義[10]＊

酸化LDLとは酸化的変性を受けたLDLの総称であり、LDL中の脂質過酸化生成物がLDLの主要な蛋白であるアポBを修飾したものが酸化LDLであると考えられています。代表的な脂質過酸化産物としてマロンジアルデヒド（MDA）が同定されており、MDAによりアポBが修飾を受けたLDLがマロンジアルデヒド修飾LDL（MDA-LDL）と呼ばれます。MDA-LDLは酸化LDLの代表的な構造の一つであると考えられています。

経皮的冠動脈再建術（PCI）治療を行った糖尿病（DM）患者において、PCI治療前のMDA-LDL値と、PCI治療後に発生した再狭窄との関連を検討したところ、再狭窄群では非再狭窄群に比べMDA-LDLが高値を示し、MDA-LDL≧110U/Lの場合はMDA-LDL＜110U/Lの場合に比べ、相対危険度5.3で再狭窄のリスクが高い結果を得ました。

冠動脈疾患（CAD）既往歴のあるDM患者において、MDA-LDL値とその後4年間の追跡調査中に発生した心イベント発症との関連を検討したところ、MDA-LDL≧110U/L の場合はMDA-LDL＜110U/Lの場合に比べ、心イベント発症頻度が有意に高い結果を得ました。

以上より、MDA-LDL値は冠動脈疾患既往歴のあるDM患者において、冠動脈疾患に関する予後予測のマーカーとして有用であることが示されました。

性能[10]＊

1．感度

1）検体希釈液を試料として試験するとき、吸光度は0.15以下である。

2）既知濃度検体を試料として試験するとき、MDA-LDL濃度200U/Lあたりの吸光度は0.4～1.8である。

2．正確性

既知濃度の80～120％である。

3．同時再現性

変動係数15％以下である。
（1. ～3. までの試験方法は弊社試験方法による）

4．測定範囲[10]

10～330 U/L

5．較正用基準物質

MDA-LDL（社内標準物質）

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）酵素標識抗体液、濃厚洗浄液、基質液、検体希釈液、検体保存液、キャリブレーターには防腐剤としてプロクリン300が含まれており、皮膚などを刺激する場合があります。もし、皮膚や衣類についたときは速やかに水で洗い流してください。皮膚に炎症が生じた場合は医師の手当てを受けてください。

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）ロットの異なる試薬は、組み合せて使用しないでください。

5）試薬間でキャップを交換しないでください。

6）試薬瓶のキャップは他の試薬や検体に接触しないようにしてください。

7）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の残り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

1）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

96回用

名　称		包　装
酸化LDLエライザ「第一」	抗体結合プレート	96ウエル×1
	酵素標識抗体液	11mL×1
	濃厚洗浄液	500mL用×2
	基質液	11mL×1
	停止液	11mL×1
	検体希釈液	100mL×2
	検体保存液	50mL×1
	キャリブレーター	0.5mL用×1

主要文献＊

1）Kotani K. et al：Biochim. Biophys. Acta 1215, 121（1994）

2）小谷一夫、他：臨床病理　**45**, 47（1997）

3）小谷一夫、他：生物試料分析　**20**, 111（1997）

4）Kondo A. et al：Clin. Chem. **47**, 893（2001）

5）菅野剛史、他：The lipid **9**, 32（1998）

6）Tanaga K. et al：Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. **2**, 662（2002）

7）小谷一夫：酸化ストレスマーカー、p.243、学会出版センター（2005）

8）Shigematsu S. et al：Circ J. **71**, 1697（2007）

9）Kotani K, et al：Clin. Chim. Acta 450, 145（2015）

10）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