

肺サーファクタントアポ蛋白-Aキット SP-Aテスト「コウサイ」・F

【全般的な注意】

- (1) 本品は体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
- (2) 診断の際には、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
- (3) 添付文書以外での使用方法については保証をいたしかねます。
- (4) 測定に使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- (5) 本キット中の標準品(50, 250, 500, 1000ng)のヒト由来原料は、HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体及びHIV-2抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、感染性を完全に否定できるものではありません。またそれ以外のウイルスに関する試験はしていません。感染の危険性があるものとして検体と同様に十分注意をして取り扱ってください。

【形状・構造等(キットの構成)】

本キットは次の試薬より構成されています。

- (1) 固相チューブ
SP-Aモノクローナル抗体(マウス)固定チューブ。
- (2) 標識抗体液
ペルオキシダーゼ標識SP-Aモノクローナル抗体(マウス)を含む溶液。
- (3) 検体希釈液
- (4) HPPA基質液
3-(p-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸、過酸化水素水、強他を含む溶液。
- (5) 反応停止液
- (6) 洗浄液
- (7) 標準品(50, 250, 500, 1000ng)
- (8) 標準液(0ng/mL)

【使用目的】

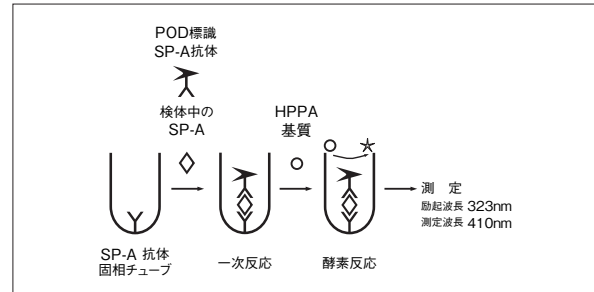
羊水中又は血清中の肺サーファクタントアポ蛋白-A(SP-A)の測定。

【測定原理】

本法はチューブ固相を用いたEIAサンドイッチ法です。

- (1) 一次反応
検体中のSP-Aがチューブ上の抗SP-Aモノクローナル抗体およびPOD標識抗SP-Aモノクローナル抗体に結合して、チューブ上に[抗SP-Aモノクローナル抗体—SP-A—POD標識抗SP-Aモノクローナル抗体]の複合体を形成します。
- (2) 酵素反応
未反応液を除去後、基質液(HPPA)を加えると、チューブ上に結合した酵素(POD)により蛍光物質が生成されます。
- (3) 測定
この蛍光物質に323nmの励起光を照射し生じた蛍光を410nmで測定します。得られた蛍光強度を用いて、あらかじめ濃度既知のSP-A標準液の測定により得られた検量線から、検体中のSP-A濃度を求めます。

測定原理



(特徴)

- (1) ペルオキシダーゼ(POD)の酵素活性の測定に蛍光基質を使用しており、短時間で高感度な測定結果を得ることができます。
- (2) モノクローナル抗体を使用していますので、特異性の高い結果が得られます。
- (3) RIのような特別な設備は不要です。
- (4) 試薬は液状で、溶解の手間が不要です。
- (5) 全自動酵素免疫測定装置エルジア・F750の専用ボトルに入っていますので、そのまま装置にセットできます。

【操作上の注意】

(1) 測定試料の性質・採取法

〔血清検体の場合〕

- ① 通常の条件で採血し1500Gで10分間遠心分離し、得られた血清を検体として直ちに測定してください。
- ② 直ちに測定しない場合、-20℃で保存してください(長期に保存する場合は、-80℃が望ましい)。また、凍結検体を測定する場合は、解凍後速やかに測定してください。
- ③ フィブリンなどの不溶解物が混在した検体は、検体吸引エラーとなり測定できないことがありますので、測定前に遠心分離を行って除去してください。

〔羊水検体の場合〕

- ① 検体は採取後できるだけ早く測定してください。
- ② ただちに測定しない場合、-20℃で保存してください(長期に保存する場合は、-80℃が望ましい)。解凍後、析出物がある場合は、懸濁させてサンプリングしてください。
- ③ 異物のある場合は、検体吸引エラーとなり測定できないことがありますので、測定前に遠心分離(300Gで5分間)を行って除去してください。

(2) 妨害物質

〔血清検体の場合〕

- ① 溶血はやや正の影響(ヘモグロビン値約500mg/dLで7~13%)を受けました。また、血球中の他の成分については確認できていません。溶血した検体の使用はできるだけ避けてください。
- ② 本キットによる測定は、乳ビ(ホルマジン濁度数):2850度、遊離型ビリルビン:18mg/mL、抱合型ビリルビン:20.2mg/mLおよびリウマトイド因子500IU/mLまで影響を受けません。

- ③ 有効血中濃度の10倍まで各薬剤を添加した血清を測定したところ影響は認められませんでした。

薬剤添加の影響

添加薬剤名		有効血中濃度	SP-A測定値(ng/mL)			
商品名	一般名		添加前	×1添加	×5添加	×10添加
ベントリン	ビベラシリンナトリウム	70.8μg/mL	94.5	83.9	89.3	94.4
エボセリン	セフゾキシムナトリウム	124μg/mL	92.6	88.6	88.6	92.1
エンドキサン	シクロホスファミド	10μg/mL	92.6	92.5	94.0	92.7

[羊水検体の場合]

- ① 有効血中濃度の10倍まで各薬剤を添加した羊水を測定したところ影響は認められませんでした。

薬剤添加の影響

添加薬剤名		有効血中濃度	SP-A測定値(ng/mL)			
商品名	一般名		添加前	×1添加	×5添加	×10添加
デカトロン	リネンアキシルナトリウム	26.5μg/mL	463.1	468.9	470.1	446.1
フルマリン	フロモキシセフナトリウム	0.8mg/mL	463.1	475.6	449.5	464.0
ウテミン注	塩酸リトリン	6.0μg/mL	463.1	462.2	470.3	453.7
イスジリン	インスリン	0.32U/mL	468.0	483.4	467.1	495.8
ヒルトニン	酒石酸プロチレリン	0.8μg/mL	459.5	452.5	451.2	462.6
マグネボール	硫酸マグネシウム	0.8ng/mL	459.5	445.9	448.1	454.3
アリカニール	硫酸テレブタリン	80ng/mL	459.5	450.5	449.2	452.2
セフォタックス	セフトキシムナトリウム	0.8mg/mL	453.5	440.0	445.8	438.0
マーキシン	セフトキシムナトリウム	1.2mg/mL	453.5	448.6	444.6	415.6

【用法・用量(操作方法)】

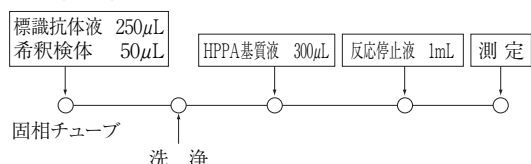
(1) 試薬の調製方法

- ① 標準品(50, 250, 500, 1000ng)各1バイアルに各々1.0mLの精製水を加えて溶解し、標準液(50, 250, 500, 1000ng/mL)とします。溶解した標準液は2~8℃保存で7日以内、-20℃凍結保存で1ヵ月以内に使用してください。標準液(0ng/mL)はそのまま使用してください。
- ② 固相チューブ、標識抗体液、検体希釈液、HPPA基質液、反応停止液及び洗浄液は常温に戻した後、そのまま使用してください。

(2) 必要な器具・器材・試料等

包装単位欄をご参照ください。

(3) 測定(操作)法



- ① 標準液または検体を検体希釈液で2倍希釈します。
(標準液又は検体100μL+検体希釈液100μL)
希釈した標準液および検体は30分から2時間以内に使用してください。
- ② 固相チューブ(以下チューブと略す)を常温に戻した後、開封します。
- ③ チューブに標識抗体液250μLを分注します。
- ④ 希釈標準液(0, 50, 250, 500, 1000ng/mL)または希釈検体をそれぞれ50μL分注します。
- ⑤ 37℃で攪拌しながら19分間反応させます。
- ⑥ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑦ チューブ内の洗浄液を吸引除去した後、HPPA基質液300μLを分注します。
- ⑧ 37℃で攪拌しながら10分間反応させます。
- ⑨ 反応停止液1mLを分注します。
- ⑩ 反応停止後1時間以内に励起波長323nm、蛍光波長410nmで蛍光強度を測定します。

(4) 濃度の算出方法

方眼紙の横軸にSP-A濃度、縦軸に蛍光強度をとり、標準液の各濃度に対応する蛍光強度をプロットして検量線を作成します。この検量線を用い、各検体の蛍光強度からSP-A濃度を求めます。

【測定結果の判定法】

(1) 結果の判定

[血清検体の場合]

- ① 健常人の参考値(平均値±S.D.)は24.6±9.6ng/mLです。
- ② 健常人の血清SP-A濃度は、性差及び30歳代~70歳代での年齢差は認められていません。
- ③ カットオフ参考値(平均値±2S.D.)は43.8ng/mLです。
- ④ 血清SP-A濃度は、特発性間質性肺炎(IIP)と他の肺疾患の鑑別診断の補助に有用で、IIPにおいて高値を示す傾向があります。臨床性能試験においてIIP症例群の血清SP-A値は68.0±42.6ng/mL(N=112)、一方、IIP以外の肺疾患症例群は35.4±26.4ng/mL(N=285)でした。カットオフ参考値を用いた時のIIPの有病正診率は71.4%、無病正診率は78.9%でした。
- ⑤ 血清中のSP-A濃度は、IIPの経過観察における病態把握に有用で、病態の急性増悪に伴い高値を示す傾向にあります。臨床性能試験(N=11)において、病状安定期の血清SP-A濃度は58.2±29.4ng/mL、一方、急性増悪期は124.6±15.6ng/mLでした。

[羊水検体の場合]

- ① RDS発症の判定(カットオフ参考値)は420ng/mLです。
- ② 羊水中のSP-A濃度が420ng/mL以下の時、検体採取後24時間内の出生でRDS発症の可能性が疑われます。
- ③ 正常妊娠の場合、30週を過ぎると羊水中のSP-A濃度は上昇し420ng/mLを超えます。
- ④ 出生後12時間以内の新生児胃内残存羊水のSP-A濃度が420ng/mL以下の時は、RDS発症が考えられます。
- ⑤ 児の肺成熟化の経過に対応して気道吸引液中のSP-A濃度が上昇します。この時人工サーファクタント(サーファクタン)の影響を受けません。

(2) 判定上の注意

免疫測定法には必ず反応性や感度の違いによる他法との結果の不一致があります。本キットでの結果は必ずしも絶対的ではなく、他の関連検査及び臨床症状等により総合的に判断してください。

【性能】

(1) 性能

用法・用量欄の操作法により感度・正確性・同時再現性の各試験を行うとき、下記の規格値に適合します。

① 感度試験

- 1) 標準液(0ng/mL)を試料として操作するとき相対蛍光強度は15以下です。
- 2) 標準液(250ng/mL)を試料として得た相対蛍光強度と上記1)の相対蛍光強度の差はSP-A1ng/mL当たり0.60~1.40です。
尚、蛍光強度は、0.05mol/L硫酸の蛍光強度を0、キニーネ液(2μg/mL)の蛍光強度を100(励起波長326nm、蛍光波長410nm)として相対値で表します。

② 正確性試験

既知濃度の管理用検体を測定するとき既知濃度の±15%以内です。

③ 同時再現性試験

同一検体を5回同時に測定するとき測定値のCV値は10%以下です。

④ 測定範囲

本キットによる血清中及び羊水中のSP-Aの測定範囲は1.0～1000ng/mLです。

(2) 相関性

① 血清

本キットと同一測定法(EIA法)であるA社製品と血清検体103例について相関性を検討した結果、下記の通りとなりました。

$Y(\text{本キット}) = 1.08X(\text{A社製品}) + 0.43$, $n = 103$, $r = 0.984$

② 羊水

本キットと同一測定法(EIA法)であるA社製品と羊水検体58例について相関性を検討した結果、下記の通りとなりました。

$Y(\text{本キット}) = 0.929X(\text{A社製品}) + 26.22$, $n = 58$, $r = 0.971$

(3) 校正用基準物質に関する情報

本キットの標準液は、社内標準品を使用して値付けしました。

【使用上又は取扱い上の注意】

(1) 取扱い上の注意

- ① 本キット中の反応停止液は、皮膚や粘膜に触れないように注意してください。万一、肌に触れた場合は、十分な水で洗い流してください。
- ② 検体は肝炎ウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱いってください。

(2) 使用上の注意

- ① 本キットはエルジア・F300専用試薬あるいはエルジア・F750専用試薬であり、異なる装置には使用できません。使用に際しては必ずエルジア・F300あるいはエルジア・F750の取扱い説明書を参照してください。
- ② すべての試薬はラベルに表示されている使用期限内のものを使用してください。
- ③ 本キットは製造番号(ロット番号)毎に正確な値が得られるように管理されていますので、製造番号の異なる試薬を組み合わせ使用しないでください。
- ④ 検量線は測定日毎に作成してください。
- ⑤ 本キット中の標識抗体液を装置にセットするときは、ボトル内の泡を取り除いてセットしてください。
- ⑥ 試薬及び反応液は、保存中や反応中は直射日光を避けてください。
- ⑦ 試薬の取扱い時には汚染に注意し、濁り等の異常が生じた場合は、使用しないでください。
- ⑧ 本キット中の固相チューブは、開封後は湿気を避けて2～8℃に保存し、4週間以内に使用してください。
- ⑨ 本キット中の標識抗体液は、開封後はキャップをして2～8℃に保存し、4週間以内に使用してください。
- ⑩ 本キット中のHPPA基質液は、ほこり・手指の接触により容易に汚染されブランクが上昇します。従いまして、取扱い時には以下の点をご注意ください。
 - 1) 反応時以外は容器にキャップをして保存してください。
 - 2) チップやピペットは清浄なものをご使用ください。
 - 3) 万一、汚染の可能性が考えられる時は試薬ブランクを確認してください。試薬ブランクが相対蛍光強度で15以上ある場合は使用しないでください。

(3) 廃棄上の注意

- ① 使用後の検体・試薬及び器具はすべて、次のいずれかの方法で処理してください。
 - 1) 1%ホルマリン溶液に1時間以上浸すか、0.05%ホルマリン溶液に37℃で72時間以上浸す。
 - 2) 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸す。
 - 3) 次亜塩素酸剤(1,000ppm)に1時間以上浸す。
 - 4) 121℃で1時間以上オートクレーブにかける。
- ② 使用後の容器は、熱処理するか、廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物等区別してください。
- ③ 試薬の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】

貯蔵方法: 2～8℃。

有効期間: 12ヵ月。

【包装単位】

品番	製商品名	構成試薬	包装
17145	SP-Aテスト「コクサイ」・F	固相チューブ 標識抗体液 検体希釈液	120本 30mL×1 20mL×1
19300	HPPA基質液	HPPA基質液	60mL×4

関連商品

品番	製商品名	内容	包装
14800	エルジア・F反応停止液	反応停止液	250mL×2
15670	ブローブ洗浄液I	ブローブ洗浄液	60mL×4
14770	エルジア・F洗浄液	洗浄液	2L×1
17146	SP-AキャリブI・F	SP-A標準液(0ng/mL) SP-A標準品(50, 250, 500, 1000ng)	1mL×1 1mL分×4
17147	SP-AキャリブII・F	SP-A標準液(0ng/mL) SP-A標準品(250ng)	1mL×2 1mL分×2
17144	SP-Aコントロール・F	SP-Aコントロール	1mL分×4

〔上記製品には別容量の包装があります。弊社までお問い合わせください。〕

【主要文献】

- 1) 秋野豊明:サーファクタントの生化学と今後の臨床展望, 日本未熟児新生児誌 6, 12～19(1994)
- 2) 佐藤和雄, 他:新しく開発された羊水サーファクタント・アポ蛋白A(SP-A)濃度測定による胎児肺成熟度判定法に関する研究, 日産婦学誌 44(10), 1269～1276(1992)
- 3) 長谷川了一, 他:ヒト肺サーファクタント・アポ蛋白A(SP-A)測定キットの開発, 医学と薬学 27(3), 631～638(1992)
- 4) 日野修一郎, 他:高感度ヒト肺サーファクタント蛋白A測定キットの開発, 医学と薬学 32(4):827～836(1994)
- 5) 阿部庄作, 他:各種肺疾患における血清肺サーファクタント蛋白質・Aの臨床的意義, 日本胸部疾患学会雑誌, 33(11) 1219～1225(1995). 日本胸部疾患学会雑誌 35(7). (1997)

【問合せ先】

主要文献の内容、その他ご質問等は、下記にお問い合わせください。

シスメックス株式会社 CSセンター

〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2

TEL 0120-413-034

製造販売元

シスメックス株式会社

神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073 TEL(078)265-0500(代)

(4/4)
23672210C