

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

製造販売届出番号 28A2X00030000023

## 乳酸脱水素酵素アイソザイム・LD1キット

# LD-1試薬・B「コウサイ」

**【一般的な注意】**

- (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) 本キット中の標準液(乾燥)の原料血液は、HBs抗原、HCV抗体、HIV-1抗体および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検査法がありません。また、4項目以外の感染性物質については確認していません。従いまして、本品の取扱いにおいては、患者検体と同じように感染の危険性があるものと考え、十分に注意してください。

**【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 分画試薬
- ② 分画試薬溶解液  
L-乳酸リチウム他を含む溶液。
- ③ 補酵素液  
β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型無水(β-NAD)他を含む溶液。
- ④ 標準液(乾燥)

**【使用目的】**

血清及び血漿中の乳酸脱水素酵素・アイソザイム1型の測定。

**【測定原理】**

 本法はプロテアーゼ阻害法により、LD<sub>1</sub>活性を求める方法です。すなわち、一次反応でLD<sub>1</sub>以外の活性を阻害し、二次反応で乳酸を基質としたUV-Rate法でLD<sub>1</sub>活性を求めます。

**① 一次反応**

高度に精製されたα-キモトリプシンはチオシアン酸の存在下で、被検体(血清又は血漿)中のLD<sub>2</sub>、LD<sub>3</sub>、LD<sub>4</sub>及びLD<sub>5</sub>のMサブユニット間の結合を特異的に加水分解しサブユニットを開裂させ、更に酵素活性作用に関与するループ部位を加水分解して活性を阻害します。ただし、LD<sub>1</sub>にはMサブユニットがなく、サブユニットの開裂及び活性の阻害がおこらずLD<sub>1</sub>活性は残存します。

**② 二次反応**

一次反応後、残存したLD<sub>1</sub>は補酵素β-ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド酸化型(β-NAD)の存在下で乳酸をピルビン酸に変換する反応を触媒します。この時のβ-NADHの吸光度の増加速度を、主波長330~350nm(または、主波長330~350nm、副波長405~700nmの2波長差)で測定することにより、LD<sub>1</sub>活性を求めます。


**(特徴)**

- ① α-キモトリプシンの蛋白分解作用を応用したプロテアーゼ阻害法です。
- ② LD<sub>2</sub>~LD<sub>5</sub>をほぼ完全に失活させることによりLD<sub>1</sub>を特異的に測定できます。
- ③ 一般的な生化学用自動分析装置で測定できますので、迅速に多数検体の処理が可能です。
- ④ 本キットのLD活性測定に係わる成分の終濃度は、JSCC報告法に一致しています。

**(測定法関連語句)**

L→P(NAD)UV法、プロテアーゼ

**【操作上の注意】**
**(1) 測定試料の性質・採取法**

- ① 検体は血清または血漿を使用してください。
- ② 検体は溶血させないよう注意して採取し、採取後は速やかに処理してください。
- ③ 検体は0~25℃に保存し、長期保存する場合は凍結保存(-20℃以下)してください。ただし、LD<sub>2</sub>~LD<sub>5</sub>は冷蔵保存で不安定ですので注意してください。
- ④ 凍結保存された検体の融解は速やかに行い、十分に混和してから使用してください。
- ⑤ シュウ酸塩は、LD<sub>1</sub>活性を阻害しますので抗凝固剤にシュウ酸塩を使用した血漿は使用できません。

**(2) 妨害物質**

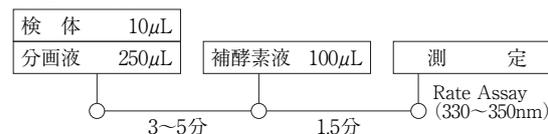
- ① 溶血検体は、大きな正誤差となりますので使用できません。
- ② 強度の乳び検体は測定不能となることがありますので注意してください。

**【用法・用量(操作方法)】**
**(1) 試薬の調製方法**

- ① 分画液  
分画試薬1バイアルに分画試薬溶解液1バイアルを加えて溶解し、分画液とします。  
分画液は2~8℃保存で14日間安定です。
- ② 補酵素液  
補酵素液をそのまま使用します。
- ③ 標準液  
標準液(乾燥)に精製水を加えて溶解し、標準液とします。

**(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 検体10 $\mu$ Lに分画液250 $\mu$ Lを加えて混和し37 $^{\circ}$ Cで3~5分間加温後、更に補酵素液100 $\mu$ Lを加えて混和し、1.5分後より主波長330~350nm(または、主波長330~350nm、副波長405~700nmの2波長差)における1分間当りの吸光度変化量( $E_S$ )を求めます。  
盲検は、検体の代わりに精製水を用いて同様に操作して、1分間当りの吸光度変化量( $E_B$ )を求めます。
- ② 標準液を上記①と同様に操作して、1分間当りの吸光度変化量( $E_T$ )を求めます。
- ③ 次式により活性値(単位/L)を算出します。

1) ファクターを使用する場合

$$\text{活性値 (IU/L)} = \frac{(E_S - E_B) \times \text{総液量}}{(\varepsilon \times \text{検体量})} \times 1000$$

$\varepsilon$ :  $\beta$ -NADHの測定波長におけるモル吸光係数  
( $L \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ )

2) 標準液を使用する場合

$$\text{活性値 (IU/L)} = \frac{(E_S - E_B)}{(E_T - E_B)} \times \text{標準液の活性値 (IU/L)}$$

### 【測定結果の判定法】

参考基準範囲: 38~68 mg/dL

(注) 基準範囲は各種要因により異なる場合がありますので自施設で設定してください。

### 【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った場合、下記の規格値に適合します。

##### 感度

- 1) 精製水を試料として操作した場合の1分間当たりの平均吸光度変化量は0.0030以下です。
- 2) 上記1)を対照に標準液を試料として操作した場合、1単位/Lにつき1分間当たりの平均吸光度変化量は0.00012以上です。

##### 正確性

既知活性の管理用血清を測定するとき、既知活性の $\pm 15\%$ の範囲内です。

##### 同時再現性

同一検体を5回同時に測定するとき、測定値のC.V.値は、5%以下です。

##### 測定範囲

本品の測定範囲は、5~800IU/Lです。

#### 2. 相関性

LD-1試薬・A「コクサイ」とヒト血清60例について相関性を検討した結果は、相関係数 $r=0.999$ 、回帰式 $Y=0.521X-2.80$ となりました。

また、LD-1試薬・A「コクサイ」とヒト血漿60例について相関性を検討した結果は、相関係数 $r=0.996$ 、回帰式 $Y=0.504X-0.80$ となりました。

#### 3. 較正用基準物質に関する情報

常用酵素標準物質(JC・ERM 050413 lot005)

### 【使用上又は取扱い上の注意】

#### (1) 取扱い上の注意

- ① 検体は肝炎ウイルス等の感染の危険性を考慮して取扱ってください。
- ② 本品中の分画試薬溶解液にはアジ化ナトリウムが含まれていますが、法的には毒物として取り扱われません。誤って目や口に入ったり、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等を受けてください。

#### (2) 使用上の注意

- ① 本品の操作は用法・用量欄に従って行ってください。
- ② 使用期限を過ぎた試薬は、使用しないでください。
- ③ 本品は開封後、細菌汚染や濃縮のないように注意してください。保存する場合、フタを閉めて2~8 $^{\circ}$ Cで保存してください。
- ④ 使用後の試薬の残余液を継ぎ足して使用しないでください。
- ⑤ 本品は2~8 $^{\circ}$ Cで保存し、凍結しないよう注意してください。誤って凍結させた試薬は、品質が変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。

#### (3) 廃棄上の注意

- ① 本品中の分画試薬溶解液にはアジ化ナトリウムが含まれていますが、法的には毒物として取り扱われません。アジ化ナトリウムは鉛・銅などの金属と反応して爆発性の化合物を生成する危険性がありますので、本品の廃棄の際には大量の水とともに流してください。
- ② 試料(検体)中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済みの器具等は次亜塩素酸ナトリウム(有効塩素濃度1,000ppm: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 $^{\circ}$ C, 20分以上)による滅菌処理を行ってください。
- ③ 使用後の容器を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処理してください。

#### (4) その他の注意

- ① 定期的な精度管理を実施してください。
- ② 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 $^{\circ}$ C。

有効期間: 12ヵ月。

### 【包装単位】

品番	製商品名	構成試薬名	包装
80110	LD-1分画試薬・B(R1)	分画試薬	20mL分 $\times$ 5
		分画試薬溶解液	
80120	LD-1補酵素試薬・B(R2)	補酵素液	10mL $\times$ 5
80130	LD-1-SB-R1	分画試薬	100mL分 $\times$ 3
		分画試薬溶解液	
80140	LD-1-SB-R2	補酵素液	50mL $\times$ 3
78970	キャリブザイム・LD-1	標準液(乾燥)	2mL分 $\times$ 6

#### 【主要文献】

- (1) David E. Bruns, et al.: Lactate dehydrogenase Isozyme-1: Changes during the First Day after Acute Myocardial Infarction. Clin. Chem., 27: 1821-1823, 1981.
- (2) 菅野剛史: 乳酸脱水素酵素 (LDH). 臨床検査MOOK No.11: 酵素とアイソザイム, 12~23, 1982.
- (3) 前川真人: 乳酸脱水素酵素 (LDH). 臨床検査MOOK No.31: アイソザイム, 18~29, 1988.
- (4) Jhon Adan, et al.: Lactate dehydrogenase Isozyme-1/total ratio: Accurate for determining the existence of myocardial infarction. Clin. Chem., 32: 624-628, 1986.
- (5) 白波瀬泰史 他:  $\alpha$ -キモトリプシンを用いたLDアイソエンザイムの分別定量, 生物試料分析, 15(2): 71-78, 1992.
- (6) Y. Shirahase, et al.: Specific Assay of Serum Lactate Dehydrogenase Isozyme 1 by Proteolysis with  $\alpha$ -Chymotrypsin and Protein Denaturation. Clin. Chem., 38: 2193-2196, 1992.
- (7) 高木康, 他: プロテアーゼ法による乳酸脱水素酵素 (LD)1 アイソザイム分析の評価. 臨床検査機器・試薬15(1): 11~14, 1992.
- (8) 米田孝司, 他: LD-1試薬・A「コクサイ」の基礎的および臨床的検討. 医学と薬学27(2): 331~338, 1992.
- (9) 杉内博幸, 他: 急性心筋梗塞症におけるLD<sub>1</sub>の臨床的評価. 医学と薬学27(2): 339~346, 1992.

#### 【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)  
23650570E