日本標準商品分類番号 87744
製造販売承認番号 20500AMZ00254000

抗カルジオリピンベータ2グリコプロテインⅠ複合体抗体キット

抗ＣＬ・β_2ＧＰⅠキット「ヤマサ」ＥＩＡ

【全般的な注意】
1）本品は、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ください。
2）測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と併せ担当医師が総合的に判断してください。
*3）電子化された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はしないでください。
*4）使用する機器の取扱説明書及び電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。
5）本品の β_2GPⅠ液及び標準液にはヒト血清成分が含まれています。万一の場合を考えて、感染性があるものとして検体と同様注意して取扱ってください。
6）本品の β_2GPⅠ液、標準液及びサンプル希釈液には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分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。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. 固相化プレート（カルジオリピン）	2枚
2. 酵素抗体原液（ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体(マウス)）	1バイアル（0.5 mL）
3. 酵素抗体希釈液	1バイアル（ 24 mL）
4. β_2GPⅠ液（β_2グリコプロテインⅠ）	1バイアル（ 7 mL）
5. 標準液 0 unit/mL	1バイアル（ 1 mL）
6. 標準液 1.3 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
7. 標準液 3.2 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
8. 標準液 8.0 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
9. 標準液 20 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
10. 標準液 50 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
11. 標準液 125 unit/mL	1バイアル（0.5 mL）
**12. 発色A液（テトラメチルベンジジン二塩酸）	1バイアル（ 12 mL）
**13. 発色B液	1バイアル（ 12 mL）
14. 反応停止液	1バイアル（ 24 mL）
15. 洗浄原液	1バイアル（ 50 mL）
16. サンプル希釈液	1バイアル（ 50 mL）

【使用目的】
血清中の抗カルジオリピン β_2グリコプロテインⅠ複合体抗体の測定

【測定原理】
本品は、固相酵素免疫測定法（ELISA）の原理に基づく血清中の抗カルジオリピン(CL)･β_2 グリコプロテインⅠ(β_2GPⅠ)複合体抗体を測定するキットです。抗 CL 抗体は、CL に結合した β_2GPⅠに反応する抗 CL･β_2GPⅠ複合体抗体と、CL に直接結合する抗 CL 抗体に大別されます。固相化された CL にヒト β_2GPⅠを添加し、CL･β_2GPⅠ複合体を形成させた後、検体と反応させると、CL･β_2GPⅠ複合体－抗 CL･β_2GPⅠ複合体抗体の結合物が形成されます。洗浄後、ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG モノクローナル抗体を加え反応させると、抗原－抗体－標識抗体複合体が形成されます。洗浄後、酵素－基質反応（発色反応）による 450 nm の吸光度から検体中の抗 CL･β_2GPⅠ複合体抗体量を定量します。患者検体については、β_2GPⅠ添加と同時に β_2GPⅠ非添加の測定も行い、β_2GPⅠ依存性を確認します。

【操作上の注意】
1．測定試料の性質、採取法
1）検体は血清を使用してください。
2）非動化（56℃、30 分）した検体は使用しないでください。
3）血清検体を長期保存する場合は、-20℃以下で保存してください。
4）検体を室温（10～30℃）に戻してから、測定を実施してください。
5）凍結融解を繰り返した検体は使用しないでください。

2．妨害物質・妨害薬剤
以下の成分は本品の測定値に影響を与えません。

1）血清成分

コレステロール	25 mg/mL 以下
ビリルビン	50 mg/mL 以下
ヘモグロビン	10 mg/mL 以下
グルコース	5 mg/mL 以下
トリグリセライド	10 mg/mL 以下

2）薬剤

アスピリン	0.5 mg/mL 以下
シクロホスファミド	0.25 mg/mL 以下
コハク酸メチルプレドニゾロンナトリウム	100 μg/mL 以下
ヘパリンナトリウム	500 unit/mL 以下
エデト酸ナトリウム	50 mM 以下

3．その他
1）洗浄液の温度が 25℃を超えると、吸光度が減少したり、測定値がばらついたりすることがあるので、洗浄液の温度に注意してください。
2）標準曲線は、プレート毎に作成してください。

【用法・用量（操作方法）】
1．試薬の調製
試薬は、室温（10～30℃）に戻してから使用します。
**1）洗浄液
洗浄原液 50 mL に精製水を加え、全量 500 mL にして、調製済み洗浄液として使用します。結晶が析出している場合には、溶かして使用します。調製後は、2～8℃で保存し、28 日以内に使用してください。
**2）酵素抗体液（用時調製）
酵素抗体原液 200 μL に対して酵素抗体希釈液 10 mL を加え希釈後、調製済み酵素抗体液として使用します。
**3）発色液（用時調製）
発色 A 液 及び発色 B 液を 1：1 の割合で混合して、調製済み発色液として使用します。本操作は使用直前に行ってください。
4）その他の試薬
そのまま使用します。

2．必要な器具、装置
マイクロピペットまたはマルチチャンネルピペット（10、50、100、200 μL）、ボルテックスミキサー、メスシリンダーまたはメスピペット、マイクロプレートリーダー、紙タオルなど

3．検体の調製
1）検体は血清 10 μL にサンプル希釈液 1 mL を加え希釈した後、使用します。
2）測定範囲を越えた検体は、サンプル希釈液で適宜希釈して測定します。
3）検体は室温（10～30℃）に戻してから使用します。

4．操作方法
測定は、原則として 2 重測定で行います。
1）調製済み洗浄液 200 μL を固相化プレートの所定のウェルに分注した後、内容物をできる限り除きます。この操作をさらに 2 回行います。
2）β_2GPⅠ液 50 μL（β_2GPⅠ(+)：標準液 125～0 unit/mL 及び検体）またはサンプル希釈液（β_2GPⅠ(-)：標準液 0 unit/mL 及び検体）50 μL を固相化プレートの所定のウェルに分注します（表 1 参照）。
3）10～30℃で 10 分間静置します。
4）各標準液（125～0 unit/mL）50 μL を β_2GPⅠ(+)ウェルへ、標準液 0 unit/mL 50 μL を β_2GPⅠ(-)ウェルに分注します。また、検体 50 μL を β_2GPⅠ(+)及び β_2GPⅠ(-)ウェルに分注し、軽く攪拌します。
5）10～30℃で 30 分間静置します。
6）各ウェルの内容物を除去し、1)と同様の洗浄操作を行います。
7）調製済み酵素抗体液 100 μL を所定のウェルに分注します。
8）10～30℃で 30 分間静置します。
9）6）と同様の洗浄操作を行います。
10）調製済み発色液 100 μL を所定のウェルに分注します。
11）10～30℃で 10 分間静置します。
12）反応停止液 100 μL を所定のウェルに分注します。
13）全てのウェルの 450 nm における吸光度を測定します。

表１　測定プレートの配置例

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	標準液 125	標準液 3.2	検体 1 (+)	検体 3 (+)	検体 5 (+)	検体 7 (+)	検体 9 (+)	検体 11 (+)	検体 13 (+)	検体 15 (+)	検体 17 (+)	検体 19 (+)
B												
C	標準液 50	標準液 1.3	検体 1 (−)	検体 3 (−)	検体 5 (−)	検体 7 (−)	検体 9 (−)	検体 11 (−)	検体 13 (−)	検体 15 (−)	検体 17 (−)	検体 19 (−)
D												
E	標準液 20	標準液 0 (+)	検体 2 (+)	検体 4 (+)	検体 6 (+)	検体 8 (+)	検体 10 (+)	検体 12 (+)	検体 14 (+)	検体 16 (+)	検体 18 (+)	検体 20 (+)
F												
G	標準液 8.0	標準液 0 (−)	検体 2 (−)	検体 4 (−)	検体 6 (−)	検体 8 (−)	検体 10 (−)	検体 12 (−)	検体 14 (−)	検体 16 (−)	検体 18 (−)	検体 20 (−)
H												

β_2GPI(+)　　β_2GPI(−)

５．濃度の算出

1）標準曲線は β_2GP I (+)ウェル群を用いて作成します。

2）片対数グラフ用紙を用意し、横軸に 1.3～125 unit/mL の各標準液の濃度(unit/mL)を、縦軸には各標準液の吸光度の平均値から標準液 0 unit/mL(β_2GP I (+))の吸光度の平均値を引いた値をプロットし、標準曲線を作成します。

3）β_2GP I (+)ウェル群の検体は、検体の吸光度の平均値−標準液 0 unit/mL（β_2GP I (+)）の吸光度の平均値を用いて、標準曲線から検体中の抗 CL･β_2GP I 複合体抗体価（unit/mL）を求めます。

4）β_2GP I (−)ウェル群の検体は、抗体特異性を判定する目的で、検体の吸光度の平均値－標準液 0 unit/mL（β_2GP I (−)）の吸光度の平均値を用いて、標準曲線から検体中の抗体価を求めます。

5）求めた濃度と希釈倍率から検体中の抗 CL･β_2GP I 複合体抗体価（unit/mL）を算出します。

測定法の概略図

調製済み洗浄液200 µLで固相化プレートの
ウェルを3回洗浄します。

↓

β_2GP I 液（β_2GP I (+)）、またはサンプル希釈液
（β_2GP I (−)）50 µLをウェルに分注します。

↓

10～30℃で10分間静置します。

↓

標準液または検体50 µLをウェルに分注し、軽く攪拌します。

↓

10～30℃で30分間静置します。

↓

調製済み洗浄液200 µLでウェルを3回洗浄します。

↓

調製済み酵素抗体液100 µLをウェルに分注します。

↓

10～30℃で30分間静置します。

↓

調製済み洗浄液200 µLでウェルを3回洗浄します。

↓

調製済み発色液100 µLをウェルに分注します。

↓

10～30℃で10分間静置します。

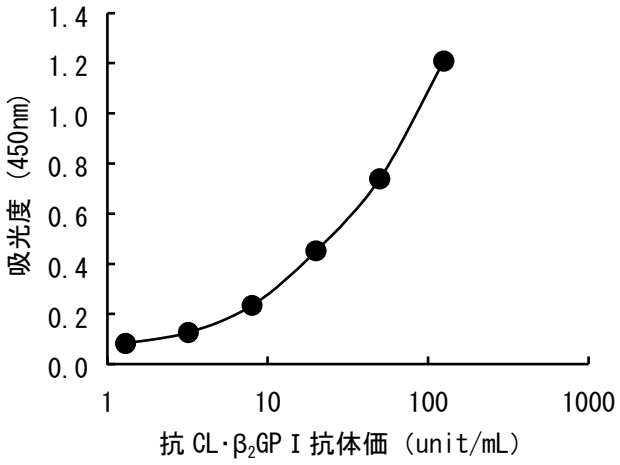
↓

反応停止液100 µLをウェルに分注します。

↓

ウェルの吸光度（450 nm）を測定します。

標準曲線例



【測定結果の判定法】

カットオフ値

3.5 unit/mL

これら基準値は各施設毎に設定してください。

【臨床的意義】

1）カットオフ値を 3.5 unit/mL と設定したところ、全身性エリテマトーデス（SLE）患者の抗 CL･β_2GP I 抗体陽性率は 32.9%でした。

2）β_2GP I 依存性の違いにより、自己免疫疾患患者の血清中に存在する抗 CL･β_2GP I 抗体と、抗カルジオリピン抗体との識別が可能でした。

3）SLE 患者において、血栓症及び流死産発症群で有意（$p<0.01$）に抗 CL･β_2GP I 抗体の出現が認められました。また、非定型 SLE においても、抗 CL･β_2GP I 抗体陽性例が認められました。

4）習慣流産患者で抗 CL･β_2GP I 抗体価の推移を定量的に知ることは、治療指針として有用であると考えられます。

以上のことから、本品による抗 CL･β_2GP I 抗体価の測定は、抗リン脂質抗体症候群の臨床診断及び経過観察に有用であると考えられます。

【性能】

１．性能

1）感度

標準液 0 unit/mL を試料として操作した場合の吸光度は 0.1 以下、標準液 125 unit/mL の場合は 0.8 以上です。

2）正確性

既知濃度の管理用血清を測定するとき、既知濃度の±20%以内です。

3）同時再現性

既知濃度の管理用血清を 5 回同時測定するとき、その濃度の変動係数は 20%以下です。

4）測定範囲

1.3～125 unit/mL

２．較正用基準物質

製造元製基準物質

【使用上または取扱上の注意】

１．取扱上の注意

1）検体は、HIV、HBV、HCV 等の感染性のものを含んでいる場合がありますので、感染性のあるものとして取扱には十分注意してください。

2)本品の β_2GP I 液及び標準液には、ヒト血清成分が含まれています。万一の場合を考えて、感染性があるものとして検体と同様注意して取扱ってください。

3）本品の反応停止液は 1 M 硫酸のため、皮膚との接触を避ける等取扱に注意してください。

4）試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には、水で十分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。

２．使用上の注意

1）調製した試薬は、定められた方法で保存し、定められた期間内に使用してください。

2）異なるロットの構成試薬を組み合わせて使用しないでください。

3）使用期限を過ぎたキットは、使用しないでください。

4）試薬の注ぎ足しは行わないでください。

３．廃棄上の注意

1）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してください。

2）検体等に接触した器具、試薬及び試薬容器等は、感染の危険性があるものとして、オートクレーブ等で滅菌処理するか、1%次亜塩素酸などの消毒薬に浸して処理してください。

3）本品の β_2GPⅠ液、標準液及びサンプル希釈液には、保存剤として0.1%以下のアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際には、爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水で流してください。

4）試薬を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

１．貯蔵方法:2～8℃で遮光して保存

２．有効期間:製造日から 12 箇月（使用期限は外箱に表示）

【包装単位】

1 キット（192 テスト用）

製品コード　YSE-7731

【主要文献】

1）Hughes, G.R.V. et al. J. Rheumatol.13:486,1986.

2）池田康夫　血栓止血誌 2:112,1991.

3）小池隆夫　蛋白質・核酸・酵素 36:506,1991.

4）橋本博史　他　厚生省特定疾患系統的脈管障害調査研究班、自己免疫疾患調査研究班　平成元年度合同シンポジウム報告書 p.26,1989.

5）小池隆夫　厚生省特定疾患難治性血管炎調査研究班　平成 2 年度第 1 回公開シンポジウム報告書 p.17,1990.

6）Harris, E.N.et al. Lancet 2:1211,1983.

7）Koike, T. et al. Clin. Exp.Immunol. 56:193,1984.

8）McNeil, H.P. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 87: 4120,1990.

9）Galli, M. et al. Lancet 335:1544,1990.

10）Matsuura, E. et al. Lancet 336:177,1990.

11）Matsuura, E. et al. J. Immunol. 148:3885,1992.

12）Koike, T. et al. Lancet 337:671,1991.

13）松浦栄次　他　臨床免疫 22:170,1990.

14）松浦栄次　他　臨床免疫 23:748,1991.

15）松浦栄次　他　リウマチ科 5:408,1991.

16）Matsuura, E. et al. Int. Immunol. 3 :1217,1991.

17）松浦栄次　他　臨床免疫 24:207,1992.

18）松浦栄次　他　Chronic Dis. 3:399,1992.

19）松浦栄次　他　現代医療 24：1475,1992.

20）小池隆夫　他　医学と薬学 26:535,1991.

【問い合わせ先】

ヤマサ醤油株式会社　診断薬事業部

〒103-0014 東京都中央区日本橋蛎殻町 1-23-8

TEL 03-3668-8558　FAX 03-3668-8407

【製造販売業者の名称及び住所】

ヤマサ醤油株式会社

千葉県銚子市新生町 2-10-1