

* 2020年 1 月改訂（第 2 版）
2009年 5 月作成（第 1 版）

この添付文書をよく読んでから使用すること。

フォスフォリパーゼA2キット

SMLリア腓PLA₂

【 全般的な注意 】

1. 本キットは、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないこと。
2. 診断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すること。
3. 添付文書以外の使用方法については保証できない。
4. RIを使用する場合は、管理区域内で使用する。

【 形状・構造等（キットの構成） 】

1. ヨウ化腓PLA₂（¹²⁵I）試薬（凍結乾燥品）…5.5mL用 1 本
1 パイアル中 ヨウ化ヒト腓ホスホリパーゼA₂（腓PLA₂）
（¹²⁵I）検定日において 42.5kBq
2. 固相抗体試薬（凍結乾燥品）……………11mL用 1 本
1 パイアル中 マウス抗ヒト腓ホスホリパーゼA₂
（腓PLA₂）モノクローナル抗体結合マイ
クロビーズ ヒト腓ホスホリパーゼA₂
（腓PLA₂）5.17ngを結合させる量
3. 標準腓PLA₂試薬O（凍結乾燥品）……………5 mL用 1 本
0ng/dL
4. 標準腓PLA₂試薬A、B、C、D、E（凍結乾燥品）
……………500μL用 各 1 本
100、300、1000、3000、10000ng/dL
5. 沈殿安定剤……………30mL 1 本
リン酸塩緩衝液に不溶性微粒子を含む。
6. 管理血清試薬（凍結乾燥品）……………500μL用 1 本
測定の信頼性を確認するために、日常検査における品
質管理の目的で測定する。

【 使用目的 】

血清、血漿中 腓ホスホリパーゼA₂（腓PLA₂）量の測定

【 測定原理 】

本キットは、ラジオイムノアッセイの固相化一抗体法を利用している。

すなわち、標準腓PLA₂溶液又は未知検体中の腓PLA₂とヨウ素125で標識した腓PLA₂を、ポリアクリルアミドのマイクロビーズに固相化した抗体に競合反応させる。反応後遠心分離し、上清を吸引除去して沈殿物の放射能をカウントする。

結合した標識腓PLA₂の量は、標準腓PLA₂溶液又は未知検体中の腓PLA₂量の増加に伴い減少する。

標準腓PLA₂溶液を用いて作成した標準曲線から未知検体中の腓PLA₂濃度を読み取る。

【 操作上の注意 】

1. 測定試料の性質、採取法¹⁾

- 1) 血清又は血漿を使用する。
- 2) 血漿を用いる場合は、抗凝固剤としてヘパリン、クエン酸ナトリウム、EDTA-2Na、フッ化ナトリウム及びシュウ酸のいずれを用いてもよい。
- 3) 凍結保存した検体を使用する時は、融解して室温に戻してから、泡立たないようによく混和してから測定すること。

2. 影響物質¹⁾

1) 溶血

血清検体にヘモグロビン（0～440mg/dL）を添加して検討したところ、影響は認められなかった。

2) ビリルビン

血清検体にビリルビン（0～21.9mg/dL）を添加して検討したところ、影響は認められなかった。

3) 乳ビ検体

血清検体に乳ビ（ホルマジン濁度0～2340度）を添加して検討したところ、影響は認められなかった。

【 用法・用量（操作方法） 】

1. 試薬の調製方法

- 1) ヨウ化腓PLA₂（¹²⁵I）溶液（黄色）
ヨウ化腓PLA₂（¹²⁵I）試薬に精製水5.5mLを加えて溶解する。
- 2) 抗体懸濁液（青色）
固相抗体試薬に精製水11mLを加える。
- 3) 標準腓PLA₂溶液O
標準腓PLA₂試薬Oに精製水5 mLを加えて溶解する。
- 4) 標準腓PLA₂溶液A、B、C、D、E
標準腓PLA₂試薬A、B、C、D、Eにそれぞれ精製水500μLを加えて溶解する。調製後の濃度は、それぞれ100、300、1000、3000、10000ng/dLとなる。
- 5) 沈殿安定剤
調製済みであり、そのまま用いる。
- 6) 管理血清試薬
管理血清試薬に精製水500μLを加えて溶解する。

2. 試薬の調製及び取扱い上の注意

- 1) 試薬の溶解は、泡立えないよう穏やかに溶解すること。
- 2) ピペット操作は、可能な限り正確に行うこと。
- 3) 固相抗体試薬は、バイアルに精製水11mLを加えた後、使用に際してはよく混和し、均一な懸濁状態にして用いること。
- 4) 沈殿安定剤は調製済みであるが、使用に際してはよく混和し、均一な懸濁状態にして用いること。

3. 必要な器具・器材・試料等

- 1) 必要な器具
 - ホールピペット（5 mL）
 - マイクロピペット（50μL、100μL、200μL、500μL）
 - メスピペット（10mL）
 - 試験管及び試験管立て
 - アスピレーター
- 2) 必要な装置
 - 恒温槽、遠心分離機、ボルテックスミキサー、γ-カウンター

4. 測定（操作）法

- 測定は少なくとも2重測定（Duplicate）で行う。
- 1) 各濃度の標準腓PLA₂溶液、管理血清及び検体50μLずつをそれぞれの試験管に入れる。
 - 2) ヨウ化腓PLA₂（¹²⁵I）溶液100μLずつを各試験管に加える。
 - 3) 別に、添加総放射能測定用として、ヨウ化腓PLA₂（¹²⁵I）溶液100μLを各試験管に入れ、すぐ栓をして放射能測定時まで静置する。
 - 4) 抗体懸濁液200μLずつを各試験管に加え、よく混和する。
 - 5) 37℃で2時間30分インキュベートする。
 - 6) インキュベーション後、沈殿安定剤500μLずつを各試験管に加え、よく混和する。
 - 7) 各試験管を1500×gで10分間遠心分離し、上清をアスピレーションにより除去する。
 - 8) 各試験管の放射能をγ-カウンターを用いて測定し、それぞれのカウント数を求める。

5. 測定（操作）法概略



6. 結果の計算

測定実例：γ-カウンターから次のような成績が得られた。

試験管 No.	試料内容	カウント数 (cpm)	カウント数 (平均)	B/B ₀ (%)
①	添加総放射能	37633	(T)	
②	測定用	37768	37700.5	
③	標準腓PLA ₂	14933	(B ₀)	
④	O (0ng/dL)	14881	14907	
⑤	A (100ng/dL)	13136	}	88.12
⑥		13108		87.93
⑦	B (300ng/dL)	10236		68.67
⑧		10190		68.36
⑨	C (1000ng/dL)	5794	}	38.87
⑩		5823		39.06
⑪	D (3000ng/dL)	2858		19.17
⑫		2859		19.18
⑬	E (10000ng/dL)	1341	}	9.00
⑭		1334		8.95
⑮	管理血清	6980		46.82
⑯		6960		46.69
⑰	未知検体	6750	}	45.28
⑱		6777		45.46

- 1) 次式により各標準腓PLA₂溶液のB/B₀ (%)を求める。

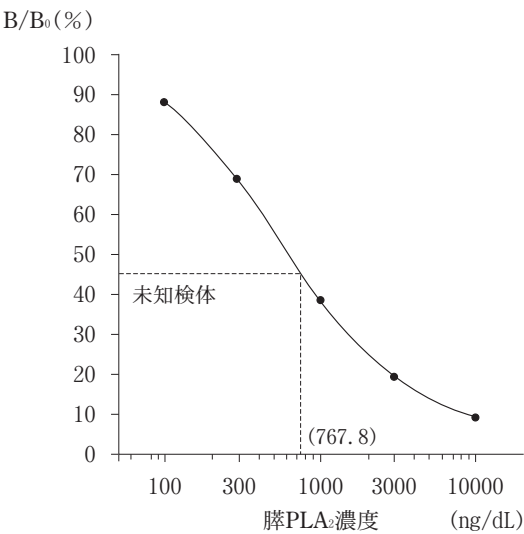
$$B/B_0(\%) = \frac{\text{各標準腓PLA}_2\text{溶液のカウント数}}{\text{標準腓PLA}_2\text{溶液Oのカウント数の平均 (B}_0\text{)}} \times 100$$

- 2) 片対数グラフを用いて、各標準腓PLA₂溶液の濃度を横軸（対数目盛）に、B/B₀ (%)を縦軸にとり、1)で得た各標準腓PLA₂溶液のB/B₀ (%)をプロットして標準曲線を作成する。
- 3) 検体及び管理血清についても同様に、次式によりB/B₀ (%)を求める。

$$B/B_0(\%) = \frac{\text{検体又は管理血清のカウント数}}{\text{標準腓PLA}_2\text{溶液Oのカウント数の平均 (B}_0\text{)}} \times 100$$

- 4) 標準曲線を用いて、検体及び管理血清のB/B₀ (%)から腓PLA₂濃度 (ng/dL)を求める。

7. 標準曲線例



【測定結果の判定法】

基準範囲

基準範囲は各施設において設定されることが望ましいが、便宜上、次の値を用いることができる。²⁾

基準範囲：130～400ng/dL

【臨床的意義】

膾PLA₂は膾外分泌機能の低下を鋭敏に反映し、急性膾炎、慢性膾炎の急性増悪及び膾癌の診断、経過観察に有用である。³⁾⁻¹²⁾

【性能】

1. 感度試験

1) 標準曲線

各標準膾PLA₂溶液について試験した場合、logit [B/B₀ (%)] 対log X回帰直線の切片は5.0～8.0であり、傾きは-2.8～-1.8である。

2) 結合率

結合率：25%以上

$$\text{結合率 } B_0/T(\%) = \frac{\text{標準膾PLA}_2\text{溶液Oのカウント数の平均 (B}_0\text{)}}{\text{添加総放射能測定用試料のカウント数の平均 (T)}} \times 100$$

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±20%以内である。

なお、本キット3ロットについて、下記の管理用血清L、M、Hを繰り返し3回測定したところ、結果は次のとおりであった。

		管 理 用 血 清		
		L (表示値) 289ng/dL	M (表示値) 797ng/dL	H (表示値) 3560ng/dL
範囲	(ng/dL)	262～311	755～841	3368～3971
	(%)	90.7～107.6	94.7～105.5	94.6～110.3

3. 同時再現性試験

同一検体を同時に5回測定するとき、測定値のC.V.値は、10%以下である。

なお、下記の管理用血清L、M、Hを5回同時に測定したところ、結果は次のとおりであった。

		管 理 用 血 清		
		L (表示値) 289ng/dL	M (表示値) 797ng/dL	H (表示値) 3560ng/dL
範囲	C.V. 値 (%)	1.6～6.4	0.7～4.4	1.2～6.4

4. 測定範囲

100～10000ng/dL

5. 較正用の基準物質

1) ヒト膾ホスホリパーゼA₂ (膾PLA₂) 基準物質の分離精製法

ヒト膾液を透析後、遠心分離を行い、上清を疎水クロマトグラフ法及びイオン交換クロマトグラフ法で精製し、凍結乾燥する。これを適当量の溶剤で溶解したものを、膾PLA₂の基準物質とする。

2) ヒト膾ホスホリパーゼA₂ (膾PLA₂) 基準物質の定量

膾PLA₂基準物質について、フェニルアラニンを標準としてアミノ酸分析法により定量する。

【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) 試薬類を飲んだりなめたりしないこと。
- 2) 試薬類が目や皮膚に付着しないよう十分に注意すること。
- 3) 万一、試薬類が口に入ったり、目や皮膚に付着した場合は、直ちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行うこと。異常があれば、医師に相談すること。
- 4) 検体を取扱うときは、感染の危険性を考慮して使い捨ての手袋を着用するなど、慎重に取扱うこと。
- 5) 管理血清試薬に含まれるヒト由来の血清成分は、HIV抗体、HBs抗原及びHCV抗体はいずれも陰性であることを確認しているが、検体と同様に慎重に取扱うこと。

2. 使用上の注意

- 1) 本キットは入荷次第、貯蔵方法に従って冷蔵庫（2～8℃）に保存すること。冷蔵庫（2～8℃）に保存した各構成試薬は、あらかじめ測定室温（20～30℃）に戻した後、測定に用いること。
- 2) 使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証できないので使用しないこと。
- 3) 製造番号が同一のキット中の試薬の組み合わせで正確な反応を示すように調製されているので、異なる製造番号のキット中の試薬と組み合わせたり、混ぜ合わせて使用しないこと。
- 4) 凍結乾燥試薬の瓶中は陰圧になっているので、試薬が飛散しないよう、注意して静かに開栓すること。
該当する構成試薬：
ヨウ化膾PLA₂ (¹²⁵I) 試薬
固相抗体試薬
標準膾PLA₂試薬 (O、A、B、C、D、E)
管理血清試薬
- 5) 標準曲線は測定ごとに作成すること。
- 6) 測定結果は反応条件（インキュベーションの時間や温度等）に影響されるので、標準膾PLA₂溶液と検体は同一の指定された条件で同時に操作すること。
- 7) 容器が放射性物質をはじめ試薬で汚染されている危険性を考慮して、本キット中の容器を他の目的に転用することを避けること。

3. 廃棄上の注意

- 1) すべての構成試薬は、保存剤として約0.1W/V%のアジ化ナトリウムを含むので、使用済みなどによりその溶液を廃棄する場合は、鉛や銅等の金属製の排水管中で爆発性の金属アジ化物が形成されないように、必ず大量の水で十分希釈しながらゆっくり洗い流すこと。
- 2) 検体に接触した器具、試薬、試薬容器及び検体の残りなどは感染の危険があるものとして、オートクレーブ（121℃、20分以上）などで滅菌するか、又は次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度5,000ppm）に1時間以上浸すなどの処理をすること。

- 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、産業廃棄物又は放射性廃棄物など区別して処理すること。

4. 放射性物質取扱い上の注意

本キットの構成試薬であるヨウ化膾PLA₂ (¹²⁵I) 試薬が、ヨウ素125標識放射性化合物を含むので、定められた場所に保管し、その取扱いについては、次の一般的な注意事項のほか、放射性物質の取扱いについて定められた取扱い規則を厳守すること。

- 1) 身体の汚染防止のため、作業室内では使い捨て手袋、専用の保護衣類・保護用具を着用すること。
- 2) 作業中に放射性物質が誤って体内に入るのを防ぐため、ピペット操作を口で行わないこと。また、作業室内で飲食、喫煙及び化粧をしないこと。
- 3) 放射性廃液及び放射性廃棄物物質の廃棄については、所定の規則に従って処理すること。また、他のRI検査の支障にならないこと。更に、無用の被曝を避けるなどの配慮をすること。
- 4) 放射性物質をこぼした場合は、速やかに可燃性の物質で完全に拭き取り、放射性廃棄物として処理すること。処理後は汚染検査を実施すること。

【 貯蔵方法・有効期間 】

貯蔵方法 遮光して、2～8℃（冷蔵庫）で保存

有効期間 製造日から9週間

【 包装単位 】

50テスト用（標準曲線作成用を含む）

【 主要文献 】

- 1) 青野一好ほか：膾ホスホリパーゼA₂－基礎と臨床－，森貞夫，小川道雄編，p. 79-89，医学図書出版（1991）
- 2) 小川道雄ほか：膾ホスホリパーゼA₂－基礎と臨床－，森貞夫，小川道雄編，p. 97-100，医学図書出版（1991）
- 3) 小川道雄ほか：現代医療，**20**(10)，3013（1988）
- 4) 船越顕博ほか：日本消化器病学会雑誌，**86**(5)，1136（1989）
- 5) 山田幸生ほか：膾臓，**5**(1)，30（1990）
- 6) 藤澤貴史ほか：膾臓，**5**(1)，1（1990）
- 7) 山本和子ほか：胆と膾，**11**(8)，961（1990）
- 8) 柴田時宗ほか：カレントセラピー，**7**(8)，1204（1989）
- 9) 竹田昌弘ほか：ホルモンと臨床，**38**(7)，729（1990）
- 10) 船富 等ほか：最新医学，**45**(3)，581（1990）
- 11) 阿部隆志ほか：基礎と臨床，**25**(9)，2737（1991）
- 12) 秋田治邦ほか：胆と膾，**11**(11)，1311（1990）

*【 問い合わせ先 】

DENISファーマ株式会社 営業部

〒100-0013 東京都千代田区霞が関三丁目6番7号

TEL：03-5510-2932 FAX：03-5510-0130

*【 製造販売業者の氏名又は名称及び住所 】

DENISファーマ株式会社

〒285-0802 千葉県佐倉市大作一丁目8番5号

TEL：043-498-2031