

ヒタザイム® クラミジア Ab-IgM

この添付文書をよく読んでからご使用下さい。

〔はじめに〕

クラミジア トロコマチス (*Chlamydia trachomatis*) 感染症は、性感染症 (STD) の一種で、近年その急激な広がりが問題となっております¹⁾。STDの少なくとも半数はクラミジア トロコマチス感染症であるといわれています。

泌尿器科領域においては、非淋菌性尿道炎の大半がクラミジア トロコマチスによるものであり、精巣上体炎や慢性前立腺炎などの原因となることが知られております¹⁾。産婦人科領域では、子宮頸管炎、子宮内膜炎、骨盤内感染症 (PID)、卵管炎などを惹起するため、流産、子宮外妊娠、不妊症の原因となることが知られております。また、妊婦が感染すると、産道感染により新生児に高率で感染し、封入体結膜炎や肺炎などの重篤な病状が現れる場合があります¹⁾。女性患者の場合、自覚症状を欠くことが多いため感染源を断つことが非常に難しいといわれています。

クラミジア トロコマチス感染症の診断は、患部ぬぐい液を試料とする抗原検査法と、血清を用いる抗体検査法があります^{2), 3), 4)}。この抗体検査法には、検体試料採取の容易さと、患者に苦痛と不快感を与えず治療経過を観察できる利点があります。慢性前立腺炎や、精巣上体炎、骨盤内感染症、不妊症などのような抗原検査実施が不可能であったり、または困難である疾患では抗体検査が有用で便利です。また、無症状で感染部位を特定しにくい場合にも、抗体検査は適しています。

ヘルペスウイルスやサイトメガロウイルスのように持続感染を引き起こすウイルス感染症と同様に、クラミジア感染症でもクラミジアの増殖が活発な時期と一致して血中にIgA抗体の上昇が認められることが報告され⁴⁾、抗体測定の臨床的意義が注目されております。

また、初期抗体といわれるIgM抗体はクラミジア肺炎、特に小児におけるクラミジア肺炎において、その診断的価値は高いとされております。

今回開発致しました「ヒタザイム® クラミジア Ab-IgM」は、血清中の抗クラミジア トロコマチス IgA、IgG抗体測定キット「ヒタザイム® クラミジア Ab-IgA、Ab-IgG」に続き、酵素免疫測定法により血清中の抗クラミジア トロコマチス IgM抗体を迅速、簡便に検出できるキットです。

〔特徴〕

1. 抗クラミジア トロコマチス IgM抗体を検出できます。
2. 96ウエルのマイクロプレートを用いた酵素免疫測定法なので、検出結果がインデックスで示され判定が容易で、また大量検体の検出が可能です。
3. 血清の前処理は、遠心分離を必要としない簡便な方法です。
4. 患部からの検体採取が困難な疾患の診断において有効です。
5. プレートは分割型 (8ウエル×12ストリップ) で経済的な仕様になっています。

※〔一般的な注意〕

- ※1. 本製品は、体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないで下さい。
- ※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して下さい。
- ※3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
- ※4. 陰性及び陽性対照血清には、ヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので感染性のあるものとして取扱って下さい。
- ※5. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用して下さい。
- ※6. 本製品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが、反応停止液には3mol/L NaOHが含まれていますので、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て等を受けて下さい。

※〔形状・構造等 (キットの構成)〕

- | | | |
|-----------------------------------|--|-----------------------|
| ※ (1) クラミジア抗原固定化プレート* | : 不活化クラミジア抗原 | 96ウエル (1枚) |
| ※ (2) 陰性対照血清 (IgM)* | | 1mL (1本) |
| ※ (3) 陽性対照血清 (IgM)* | | 1mL (1本) |
| ※ (4) ラテックス液* | | 3mL (1本) |
| ※ (5) 酵素標識抗ヒトIgM抗体* | : アルカリフォスファターゼ標識抗ヒトIgM抗体 (ヤギ由来ポリクローナル抗体) | 6mL (2本)
を18μg/本含有 |
| ※ (6) 洗浄液原液* | | 100mL (1本) |
| ※ (7) 基質剤: p-ニトロフェニルりん酸二ナトリウム六水和物 | | 5錠 (1本) |
| ※ (8) 基質剤溶解液原液 | | 6mL (1本) |
| ※ (9) ②反応停止液: 3mol/L NaOH | | 5mL (1本) |
- *: アジ化ナトリウム含有

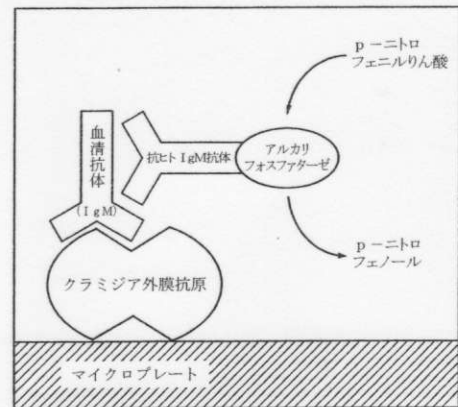
※〔使用目的〕

血清中の抗クラミジア トロコマチス IgM抗体の検出

※〔測定原理〕

ヒタザイム® クラミジア Ab-IgMは酵素免疫測定法 (ELISA) により血清中の抗クラミジア トロコマチス IgM抗体を検出するキットです。

クラミジア トロコマチス L株より精製したクラミジア外膜抗原を固相化したマイクロプレートのウエル内で検体中の抗クラミジア トロコマチス IgM抗体と反応させ、さらにアルカリフォスファターゼを標識した抗ヒト IgM抗体を反応させるとウエル内で抗体量に応じた固相抗原-抗体-標識抗体の免疫複合体が形成されます。これに基質 (p-ニトロフェニルりん酸) を加えると検体中の抗体量に応じてp-ニトロフェニルりん酸が生成します。これを405nmの波長で吸光度を測定し、抗クラミジア トロコマチス IgM抗体の有無を判定します。判定は、陰性対照血清の吸光度から求めたカットオフ値と対比して行います。



検出原理

※〔操作上の注意〕

※1. 測定試料の性質、採取法

- (1) 検体には血清を使用して下さい。
- (2) 検体の非菌化は偽陽性の原因になりますので行わないで下さい。
- (3) 検体は、冷蔵 (2~10℃) または、凍結での保存を厳守して下さい。

※2. 交叉反応性について

- (1) 本キットは抗クラミジア シッタシ抗体との交叉反応性があり、抗クラミジア トロコマチス抗体陰性でも抗クラミジア シッタシ抗体を有する検体の場合、陽性と判定されることがあります。
- (2) 本キットは抗クラミジア ニューモニエ抗体との交叉反応性が若干あり、抗クラミジア トロコマチス抗体陰性でも抗クラミジア ニューモニエ抗体が高値の検体の場合、陽性と判定される可能性があります。

※3. 妨害物質の影響

妨害物質と考えられる乳ビは2,000ホルマジン濁度、非抱合型ビリルビンは25mg/dL、抱合型ビリルビンは25mg/dL、リウマチ因子は500IU/mL、溶血ヘモグロビンは500mg/dL存在下で測定値に影響を与えませんでした。

※〔用法・用量 (操作方法)〕

1. 試薬類の調製法

- (1) 洗浄液
洗浄液原液を精製水で10倍に希釈して洗浄液とします。
もし洗浄液原液に結晶が析出している場合は、37℃に加熱し溶解後希釈して下さい。
- (2) 検体処理液 (用時調製)
ラテックス液1容に洗浄液7容を加え、攪拌混合して検体処理液とします。
(たとえば、ラテックス液2.5mLに洗浄液17.5mLを加え、攪拌混合して検体処理液とします。)
使用前に20~25℃に戻してから調製し、調製後は60分以内に使用して下さい。
なお検体処理液は使用前に攪拌してから使用して下さい。
- (3) 基質液 (用時調製)
基質剤溶解液原液1mLに対し精製水4mLを加えて基質剤溶解液とします。
この基質剤溶解液5mLに対し基質剤1錠を加えて溶解し基質液とします。
使用前に20~25℃に戻してから調製し、調製後は60分以内に使用して下さい。

2. 使用器具

- ヒタザイム® クラミジア Ab-IgMの使用に際し、次の器具類を用意して下さい。
- ① マイクロピペット (10, 20, 25, 100, 200, 1000 μL) 及び使い捨てチップ
 - ② 25~300 μL可変連続分注器またはマルチチャンネルピペット
 - ③ 吸引ピンまたはマイクロプレート用洗浄器
 - ④ マイクロプレートリーダー (405 nm)
 - ⑤ ピーカー (30~50 mL)
 - ⑥ インキュベーター (37℃)
 - ⑦ プレートミキサー
 - ⑧ ボルテックスミキサー

3. 測定操作法

(1) 検体の前処理

- ① 検体は直前に20~25℃に戻し、ボルテックスミキサーでよく攪拌して下さい。
- ② 検体を使用直前に攪拌した検体処理液で21倍に希釈し、20~25℃で10分間反応して下さい。
(たとえば、検体10μLに検体処理液200μLを加えてよく攪拌し、20~25℃で10分間反応して下さい。)

(2) 検体血清との反応

- ① マイクロプレートを袋から取り出し、使用するストリップ分だけシールを剥して内部の保護液を捨て、紙タオルに叩きつけて水分をとって下さい。
- ② ブランク用として洗浄液を1ウエル、陰性対照血清 (IgM) を2ウエル、陽性対照血清 (IgM) を2ウエルに各100μLずつ分注し、以降希釈検体を100μLずつ分注して下さい。
なお陰性対照血清及び陽性対照血清は希釈しないでそのまま使用して下さい。

③ プレートシールを貼り、インキュベーター (37℃) 中に静置し60分間反応させます。

④ 反応後、プレートシールを剥し、各ウエルの試薬を吸引ピンまたはマイクロプレート用洗浄器で除去します。次に、洗浄液を各ウエルに300μL分注し、3回洗浄して下さい。

⑤ 洗浄後、紙タオルに叩きつけて水分をとって下さい。

(3) 抗体液との反応

- ① 酵素標識抗ヒトIgM抗体100μLを各ウエルに加えます。
- ② プレートシールを貼り、インキュベーター (37℃) 中に静置し60分間反応させます。

表1. Micro-IF法との一致率

	一致率 (%)		
	陽性	陰性	全体
本法/Micro-IF	80 (28/35)	83 (20/24)	81 (48/59)

- ③ 反応後、プレートシールを剥し、各ウエルの試薬を吸引ピンまたはマイクロプレート用洗浄器で除去します。次に、洗浄液を各ウエルに300μL分注し、3回洗浄して下さい。
- ④ 洗浄後、紙タオルに叩きつけて水分をとって下さい。
- (4) 基質液との反応
- ① 各ウエルに基質液100μLずつ加えます。
 - ② 20~25℃で10分間反応させます。
 - ③ 反応後、反応停止液を25μLずつ各ウエルに加えます。
 - ④ マイクロプレートをプレートミキサーにのせ、2分間静かに混和して下さい。
- (5) 吸光度測定
- ① マイクロプレートリーダーで405nmでの吸光度を測定します。

〔測定結果の判定法〕

1. ブランクの吸光度をすべての吸光度から差し引いて下さい。

(例)	測定吸光度	ブランクの吸光度を差し引く	ブランク補正吸光度
ブランク	0.085	0.085-0.085	0.000
陰性対照血清	0.087	0.087-0.085	0.002
"	0.089	0.089-0.085	0.004
陽性対照血清	0.803	0.803-0.085	0.718
"	0.789	0.789-0.085	0.704
検体1	0.432	0.432-0.085	0.347

2. 陽性対照血清の平均吸光度を求め、下記の算定式に従って補正係数を求めて下さい。

※※ 陽性対照血清の表示値は、ロットごとに異なりますので、試薬のラベルに記載された表示値を用いて演算して下さい。

$$\text{補正係数 (K)} = \frac{\text{陽性対照血清の表示値}}{\text{陽性対照血清の平均吸光度}}$$

3. カットオフ値を下記の算定式に従って求めて下さい。

$$\text{カットオフ値} = (\text{陰性対照血清の平均吸光度} \times K) + 0.16$$

4. 検体の吸光度を下記の算定式に従って補正して下さい。

$$\text{検体吸光度補正值} = \text{検体の吸光度} \times K$$

5. カットオフインデックスを下記の算定式に従って求めて下さい。

$$\text{インデックス} = \frac{\text{検体吸光度補正值}}{\text{カットオフ値}}$$

6. 下記の判定表に従い、検体を判定して下さい。ただし、カットオフ値の±10%以内のインデックスを示す検体は疑陽性(±)とし、再度新しく採血した血清により再検査するなど注意して判定して下さい。

インデックス	判定
1.10 ~	抗体陽性 (+)
0.90 ~ 1.09	判定保留域 (±)
0.00 ~ 0.89	抗体陰性 (-)

- ※※ 抗体測定においては、ウィンドウ・ピリオド(感染後抗体が検出できる量までになる期間)及び免疫機能低下により抗体産生能が低下している場合は、測定結果が陰性になる場合があります。
- ※※ 自己免疫疾患患者の血清では、免疫反応の場合、非特異的反応が起こりうるので測定結果に基づく診断は、他の検査や臨床症状等を考慮して総合的に判断して下さい。

〔性能〕

- ※※ 1. 感度
 自社施設において、陰性対照血清^{※※}を用いて測定した場合の吸光度は0.00~0.10であり、陽性対照血清^{※※}を用いて測定した場合の吸光度は0.25~0.50を示します。
- ※※ 2. 正確性
 自社施設において、陰性管理血清^{※※}を用いて測定した場合、常に陰性の結果が得られ、また陽性管理血清^{※※}を用いて測定した場合、常に陽性の結果が得られました。
3. 同時再現性
 自社施設において、陽性管理血清^{※※}を5回同時に測定した場合、吸光度の変動係数は20%以下でした。
- 〔脚注〕陰性管理血清の抗体価は標準法Micro-IF法にて8倍未満であり、陽性管理血清の抗体価は64倍である。
- ※※ 4. 測定範囲: 測定値の一例です。
 最小検出感度はMicro-IF法単位で4倍でした。
5. 相関性: 測定値の一例です。
 子宮頸管炎及び尿道炎患者59例の血清を用いて、本品とMicro-IF法によるIgM抗体の測定について相関性を検討した結果を図1及び表1に示します。

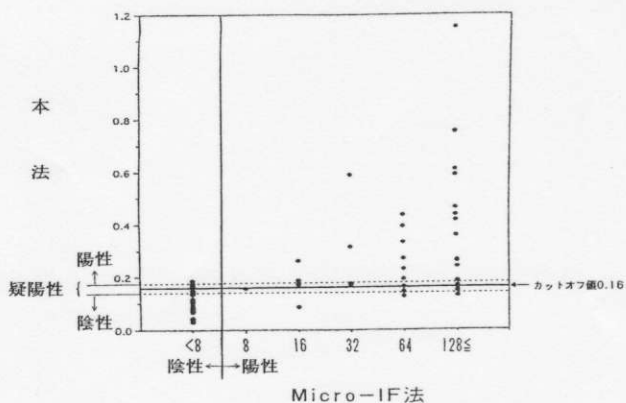


図1. 本法とMicro-IF法との相関 (n=59)

〔使用上または取扱い上の注意〕

- ※ 1. 取扱い上 (危険防止) の注意
- ※ (1) 操作中は、保護具(手術用ゴム手袋、マスク、安全メガネ等)を使用して下さい。
- ※ (2) 検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取扱って下さい。また、本試薬中の陰性及び陽性対照血清は、認可試薬を用いてHBs抗原、HCV抗体及びHIV抗体陰性であることを確認しておりますが、現在の試薬方法では絶対に感染しないという保証はできませんので、検体同様感染の恐れがあるものとして、取扱って下さい。また、口によるビベッティングは行わないで下さい。
- ※ (3) 本製品には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、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て等を受けて下さい。その他試薬の場合にも、同様の措置を行って下さい。
- ※ (4) 反応停止液に3mol/L NaOHを用いておりますので、皮膚などに付着しないよう十分注意して下さい。万一、付着した場合には十分水で洗い流して下さい。
- (5) キット中の容器、付属品等は他の目的に転用しないで下さい。
- ※ 2. 使用上の注意
- ※ (1) 本試薬は凍結すると使用できなくなることがありますので、冷蔵保存(2~10℃)を厳守して下さい。
- (2) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
- (3) 本試薬開封後はなるべく早く使用し、保存する場合は蓋をしめて貯法に従い保存して下さい。
- (4) ロットの異なる試薬を混ぜて使用しないで下さい。
- (5) 試薬は20~25℃に戻してから使用し、直射日光は避けて下さい。
- (6) 検体間の汚染を防ぐため、検体ごとにマイクロビペットのチップを取り替えて下さい。
- (7) クラミジア抗原固定化プレートのシールを使用するストリップ分だけ切り離し、シールを剥し内部保護液を除去した後、直ちに使用して下さい。未使用のストリップは2~10℃で保存して下さい。
- (8) 一度使用したストリップは未使用のウエルがあっても使用しないで下さい。
- (9) プレートのウエル底面に手を触れたり、強く擦りつけたりしないで下さい。
- (10) ウエル洗浄に吸引ピン等の洗浄器を使用する場合、洗浄ノズルの先端がウエル底面に触れないようにして下さい。
- (11) 基質液は調製後必ず60分以内で使用して下さい。
- (12) 基質液との反応時間(10分間)は正確に守って下さい。
- ※ 3. 廃棄上の注意
- ※ (1) 検体や検体に接触した器具、試薬及び試薬容器等にはHIV、HBV、HCV等の感染の危険性がある場合がありますので、廃液、使用済み器具等はオートクレーブ等で滅菌処理するか、又は1%次亜塩素酸ナトリウムなどの消毒液に浸して処理して下さい。また、検体などが飛散して拭き取りの必要性が生じた場合には、消毒用アルコール等を用いて処理して下さい。
- (2) 本試薬中に、アジ化ナトリウムを含む試薬があります。アジ化ナトリウムは鉛または銅と反応し爆発性のアジ化金属を生成することがありますので、廃液を処理する時は、大量の水で希釈して下さい。
- ※ (3) 試薬及び器具等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下さい。

※〔貯蔵方法・有効期間〕

- ※ (1) 貯蔵方法 2~10℃に保存
- ※ (2) 有効期間 1カ年
 *使用期限は、外装に記載してあります。

〔包装単位〕


1キット(96テスト分)

〔主要文献〕

1. 熊本 悦明, 橋爪 壮: クラミジア感染症の基礎と臨床(金原出版) 1988
2. Wang, S.P., et al.: J.Infect.Dis., 130: 388-397, 1974
3. 別所 敏子, 松本 明: 医学のあゆみ, 128: 571-572, 1984
4. Piura, B., et al.: Eur.J.Epidemiol., 1: 110-116, 1985

※※〔問い合わせ先〕

日立化成工業株式会社 機能性材料事業部 ライフサイエンス部門
 〒108-0023 東京都港区芝浦4丁目9番25号 芝浦スクエアビル
 TEL (03) 5446-9220 (ダイヤルイン)
 FAX (03) 5446-9467

※〔製造販売元〕  日立化成工業株式会社

〒108-0023 東京都港区芝浦4丁目9番25号 芝浦スクエアビル
 TEL (03) 5446-9220 (ダイヤルイン)