

Hitachi Chemical

クラミジア免疫グロブリンGキット

血清中の抗クラミジア トロコマチス IgG抗体測定キット

ヒタザイム クラミジア Ab-IgG

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になっております。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。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。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。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法が有用で便利です。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IgG抗体の上昇が認められることが報告され、抗体測定の臨床的意義が注目されております。

【特徴】^{1)~5)}

1. 精製クラミジア外膜抗原を用いているので、宿主細胞由来の核酸に起因する自己抗体に対する非特異的反応性ははありません。
2. 測定結果がインデックスで示されるため、顕微鏡観察のような判定の難しさはありません。
3. 慢性前立腺炎、精巣上体炎、骨盤内感染症や不妊症など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。
4. プレートは1ウエルずつ分割可能で、検体数に合わせて使用できる経済的な仕様になっています。

【全般的な注意】

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 (5枚) |
| (2) 陰性対照血清 (1gG) * | | 3.0mL (1本) |
| (3) 陽性対照血清 (1gG) * | | 3.0mL (1本) |
| (4) 酵素標識抗ヒトIgG抗体 * | : アルカリフォスファターゼ
標識抗ヒトIgG抗体 (ヤギ由来ポリクローナル抗体) を105µg/本含有 | 35mL (2本) |
| (5) 洗浄液原液* | | 300mL (1本) |
| (6) 基質剤: p-ニトロフェニルりん酸 | | 15錠 (1本) |
| (7) 基質剤溶解液原液 | | 16mL (1本) |
| (8) ②反応停止液: 3mol/L NaOH | | 24mL (1本) |
- *アジ化ナトリウム含有

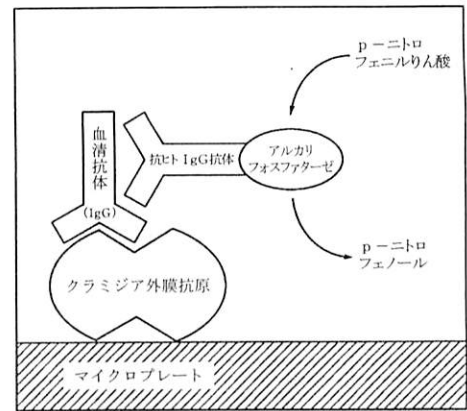
【使用目的】

血清中の抗クラミジア トロコマチス IgG抗体の測定

【測定原理】

ヒタザイム クラミジアAb-IgG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IgG抗体を測定するキットです。

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IgG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IgG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-ニトロフェノールが生成します。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IgG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。



測定原理

【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) 検体の非働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白は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1,000IU/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) 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) 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。

(3) 検体希釈用緩衝液

洗浄液を用いて検体の希釈を行って下さい。

2. 使用器具

ヒタザイム クラミジアAb-IgG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, 1000µL) 及び使い捨てチップ
- ② 25~300µL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 (405nm)
- ⑤ ピーカー (30~50mL)
- 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 検体を検体希釈用緩衝液 (洗浄液) で210倍に希釈します。
(たとえば、検体10µLに検体希釈用緩衝液200µLを加えよく攪拌し、210倍希釈検体とします。さらに、210倍希釈検体20µLに検体希釈用緩衝液180µLを加えよく攪拌し、1gG抗体測定用希釈検体とします)

(2) 検体血清との反応

- ① マイクロプレート入りのアルミバックを室温に戻してから、チャックを開けて使用するウエル分だけ分割し、マイクロプレートの枠に再びセットして下さい。使用しなかったウエルは乾燥剤とともにアルミバックに入れ、チャックを閉めて2~10℃で保存して下さい。
- ② ブランク用として検体希釈用緩衝液を1ウエル、陰性対照血清 (1gG) を2ウエル、陽性対照血清 (1gG) を2ウエルに各100µLずつ分注し、以降希釈検体をそれぞれ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IgG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。
- 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 各ウェルに基質液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ずつ各ウェルに加えます。
- ④ マイクロプレート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。
- *なお、上記の測定系を短時間法にて測定することも可能です。
- 短時間法は、検体血清との反応(3. 測定操作法(3)②)を37℃、30分間、抗体液との反応(3. 測定操作法(3)②)を37℃、30分間、基質液との反応(3. 測定操作法(4)②)を20～25℃、15分間で反応させる方法です。

〔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。

測定吸光度	ブランクの吸光度を差し引く	
	ブランク	ブランク補正吸光度
ブランク	0.085	0.085-0.085
陰性対照血清	0.087	0.087-0.085
"	0.089	0.089-0.085
陽性対照血清	0.803	0.803-0.085
"	0.789	0.789-0.085
検体1	0.432	0.432-0.085

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。

$$\text{カットオフ値} = (\text{陰性対照血清の平均吸光度} \times K) + 0.12$$

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、0.90～1.09のインデックスを示す検体は疑陽性(±)とし、再度7～10日後に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。

カットオフインデックス	測定結果
3.00～	(+)
1.10～2.99	(±)
0.90～1.09	(±)
0.00～0.89	(-)

7. 下記のような判定分類を、クラミジア トラコマチス感染の有無を判断する際の目安として下さい(IgA抗体に関しては、ヒタザイム クラミジアAb-IgAを用いて測定した結果です)。

カテゴリー	IgA	IgG	判定	備考
1	+	+	抗体陽性	クラミジア感染の疑いがある*
2	+	-	抗体陽性	クラミジア感染の疑いがある*
3	-	+	抗体陽性	クラミジア感染既往あるいは感染の疑いがある**
4	-	-	抗体陰性	

* カテゴリー1およびカテゴリー2については抗原検査の実施が望まれる。
 **カテゴリー3については、再度7～10日後に新しく採血した血清による再検査あるいは抗原検査実施などが望まれる。

※ 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では、測定結果が陰性になる場合もあります。

※ 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ため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、陰性管理血清(IgG)を用いて測定した場合の吸光度は、0.00～0.10であり、陽性管理血清(IgG)を用いて測定した場合の吸光度は、0.20～1.50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CV値は2.0%以下でした。

4. 測定範囲: 測定値の一例です。

Micro-I F法による抗体価既知の検体を用いて希釈による検討をしたところ、2倍～128倍まで測定が可能でした。

5. 相関性: 測定値の一例です。

子宮頸管炎患者63例の血清を用いて、本品によるIgG抗体測定と他方法(間接酵素抗体法)によるIgG抗体測定について相関性を検討した結果、以下の結果が得られました。

IgG抗体の一致率

本 法	他 法		
	+	-	
+	41	0	陽性一致率 87% (41/47)
-	6	16	陰性一致率 100% (16/16)
			全体一致率 90% (57/63)

〔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、現在の試験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、口によるピペ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、保存する場合に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ピ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ウェル内に白い結晶が見られる場合がありますが、性能上問題はありませんのでそのままご使用下さい。

※※ (8) マイクロプレート入りのアルミパックを室温に戻してから、チャックを開けて使用するウェルだけ分割し、マイクロプレートの枠に再びセットした後、直ちに使用して下さい。未使用のウェルは乾燥剤とともにアルミパックに入れ、チャックを閉めて2～10℃で保存して下さい。なお、ウェルの分割の際にはウェルの底面が汚れないようにして下さい。

- (9) プレートのウェ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) ウェル洗浄に吸引ビン等の洗浄器を使用する場合、洗浄ノズルの先端がウェ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分以内に使用して下さい。
- (12) 基質液との反応時間は、通常法においては10分間、短時間法においては15分間を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(480テスト分)

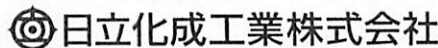
〔主要文献〕

- 1. 田中 正利ほか、西日本泌尿器科、53(7)、943-950(1991)
- 2. 松本 明ほか、感染症学雑誌、66(5)、584-591(1992)
- 3. 熊本 悦明ほか、感染症学雑誌、67(4)、315-330(1993)
- 4. 熊本 悦明ほか、感染症学雑誌、68(1)、116-126(1994)
- 5. 岸本 寿男ほか、日性感染症誌、10(1)、139-146(1999)

※※〔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
 〒163-0449 東京都新宿区西新宿二丁目1番1号
 TEL (03) 5320-9380 (ダイヤルイン)
 FAX (03) 5320-9673

※※〔製造販売元〕



日立化成工業株式会社
 〒163-0449 東京都新宿区西新宿二丁目1番1号
 TEL (03) 5320-9380 (ダイヤルイン)