

ご使用に際しては、本電子化された添付文書をよくお読みください。

赤痢アメーバ抗体キット

分類コード番号：30819000

赤痢アメーバ抗体 ELISA-IBL

【全般的な注意】

- 本キットは、体外診断用の検出試薬です。それ以外の目的には使用しないでください。
- 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
- この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および使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
- 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。
- 各コントロールにはヒト由来成分が含まれています。感染性のあるものとして取り扱ってください。

【形状・構造等（キットの構成）】

略号	構成試薬名	主成分	内容量
MTP	抗原プレート	赤痢アメーバ抗原	96 ウェル × 1 枚
CONJ	酵素標識抗体液	ペルオキシダーゼ標識抗ヒト IgG ヤギ抗体	20mL × 1 本
CONTROL +	陽性コントロール	ヒト血清または血漿	2mL × 1 本
CONTROL -	陰性コントロール	ヒト血清または血漿	2mL × 1 本
CUT OFF	カットオフコントロール	ヒト血清または血漿	3mL × 1 本
DIL	希釈用緩衝液	リン酸緩衝液	100mL × 1 本
SUB TMB	TMB 基質液	3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン	15mL × 1 本
SOLN STOP	停止液	硫酸	15mL × 1 本
WASH BUF 20x	濃縮洗浄液	リン酸緩衝液	50mL × 1 本

上記の他に、カバーシール 1 枚が付属します。

【使用目的】

血清中の赤痢アメーバ抗体の検出（赤痢アメーバ感染の診断の補助）

【測定原理】

本品は ELISA (Enzymelinked Immunosorbent Assay、酵素免疫測定) 法により検体（血清）中の赤痢アメーバ抗体を検出するキットです。検体中の赤痢アメーバ抗体は、抗原プレートの各ウェルに固定された固相抗原（赤痢アメーバ抗原）と結合します。酵素標識抗体液を添加することで、HRP 標識抗ヒト IgG ヤギポリクローナル抗体が赤痢アメーバ抗体と結合し、抗原-抗体複合体を形成します。未反応物質を洗浄除去した後、TMB 基質液を加えるとペルオキシダーゼと 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジンが反応し、溶液は青色を呈します。この酵素反応は、反応停止液の添加により停止し、溶液は黄色を呈します。この発色の吸光度をマイクロプレートリーダーを用いて測定することにより、赤痢アメーバ抗体を検出します。

【操作上の注意】

- 検体
検体には、血清を使用してください。
静脈穿刺に関する所定の注意事項を守って採血してください。検体を保存する場合は 2~8℃ で保存し、7 日以内に測定してください。7 日以内に測定しない場合は、分注して -20℃ 以下で凍結保存してください。検体を凍結保存した場合は、融解した検体を測定前によく混和してください。検体の凍結融解の繰り返しは 2 回まで可能です。検体の熱不活化は推奨されません。
- 妨害物質
ヘモグロビン 10mg/mL、トリグリセリド 5mg/mL、ビリルビン 0.5mg/mL、アルブミン 60 mg/mL まで測定に影響ありません。
- その他
・濃縮洗浄液に結晶が見られる場合には水浴で 37℃ まで加温し溶解してから、よく混和して使用してください。
・機械洗浄の場合 1 回あたり 350μL の洗浄液で 5 回洗浄することが推奨されます。
・測定試料によっては非特異反応が生じる場合があります。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ください。

【用法・用量（操作方法）】

- 試薬の調製方法
・全ての試薬および検体は、操作前に室内温度（20~25℃）にもどしてください。
・抗原プレート、酵素標識抗体液、陽性コントロール、陰性コントロール、カットオフコントロール、希釈用緩衝液、TMB 基質液および停止液は、希釈せずにそのまま使用します。
・濃縮洗浄液は必要量を取り、精製水で 20 倍希釈して洗浄液とします（例：濃縮洗浄液 10mL に精製水 190mL を加えて、洗浄液 200mL とする）。
- 必要な器具・器材・試料等
マイクロプレートリーダー [波長 450nm]、マイクロプレートウォッシャー、恒温槽 [20~25℃、37 (±1) °C]、マイクロピペット、精製水（蒸留水または脱イオン水）

3. 測定（操作）法

一般的な測定回数として、2重測定を推奨します。

- (1) 測定に用いる検体を全て希釈用緩衝液で 101 倍に希釈し、よく混和します（例：1000μL の希釈用緩衝液に 10μL の検体を加えて希釈検体とする）。
- (2) 各コントロールおよび希釈検体をそれぞれ 100μL ずつ、抗原プレートに添加します。基質ブランクとして希釈用緩衝液 100μL を添加します。
- (3) カバーシールでウェルを覆い、37±1℃で 60±5 分間放置し、一次反応させます。
- (4) 反応後カバーシールを取り除き、ウェルの反応液を除去したのち、用手法による洗浄の場合は 1 回あたり 300μL/ウェルの洗浄液を用いて 3 回、自動洗浄機を使用する場合は 1 回あたり 350μL/ウェルの洗浄液を用いて 5 回洗浄します。ウェルを洗浄液で満たしてから除去するまでの時間（wait-time）を 5 秒以上としてください。洗浄後、抗原プレートを逆さにしてペーパータオル等に軽く叩きつけ、各ウェル内に残った洗浄液を除去します。
- (5) 基質ブランクを除くそれぞれのウェルに酵素標識抗体液を 100μL ずつ添加します。
- (6) 直射日光を避け、室内温度（20～25℃）で 30 分間放置し、二次反応させます。
- (7) 操作(4)を繰り返します。
- (8) 基質ブランクを含むすべてのウェルに TMB 基質液を 100μL ずつ添加します。
- (9) 遮光して室内温度（20～25℃）で 15 分間放置し、発色反応させます。
- (10) 各ウェルに停止液を 100μL ずつ添加します。
- (11) 停止液添加後 30 分以内に、抗原プレート底面のよごれや水滴を拭き取り液面に気泡がないことを確認した後、波長 450nm における吸光度を測定してください。

測定操作一覧

	操作手順	操作方法
(1)	検体希釈	検体を全て希釈用緩衝液で 101 倍に希釈
(2)	各コントロール、希釈検体、 基質ブランク	100μL/ウェルずつ添加
(3)	一次反応	ウェルをカバーシールで覆い、37±1℃ 60±5 分間放置
(4)	洗浄	用手法による洗浄の場合：300μL の洗浄液で 3 回 自動洗浄機による洗浄の場合：350μL の洗浄液で 5 回
(5)	酵素標識抗体液	100μL/ウェルずつ添加
(6)	二次反応	直射日光を避け、室内温度（20～25℃） 30 分間放置
(7)	洗浄	用手法による洗浄の場合：300μL の洗浄液で 3 回 自動洗浄機による洗浄の場合：350μL の洗浄液で 5 回
(8)	TMB 基質液	100μL/ウェルずつ添加
(9)	発色反応	遮光し、室内温度（20～25℃） 15 分間放置
(10)	停止液	100μL/ウェルずつ添加
(11)	吸光度測定	30 分以内に波長 450nm における吸光度を測定

4. 測定結果の検証

測定が有効であることを確認するため、次の基準に適合していることを確認してください。基準に適合しない場合はその測定を無効とし、再試験を実施してください。

- (1) 基質ブランクの吸光度が 0.100 未満であること。
- (2) 陰性コントロールの吸光度が 0.2 未満であり、なおかつ、カットオフコントロールの吸光度よりも小さいこと。
- (3) 陽性コントロールの吸光度がカットオフコントロールの吸光度よりも大きいこと。
- (4) カットオフコントロールの吸光度が 0.150 以上 1.300 以下であること。

【測定結果の判定法】

1. 判定単位（NTU : NovaTec Unit）の算出

測定によって得られた吸光度を下式に代入し、判定単位（NTU）を求めます。

$$\text{判定単位 (NTU)} = \frac{\text{検体の平均吸光度} \times 10}{\text{カットオフコントロールの平均吸光度}}$$

2. 判定

上記 1. で算出した判定単位（NTU）を下表の判定基準に照らし合わせて、陽性・判定保留・陰性を判定します。

判定	判定基準
陽性	11.5 NTU より大きい
判定保留	8.5 NTU 以上かつ 11.5 NTU 以下
陰性	8.5 NTU より小さい

3. 判定上の注意

判定保留とした場合には 2~4 週間後に新鮮な検体を用いて再測定することを推奨します。再検査によって判定結果が再び判定保留となった場合には陰性としてください。

判定基準値は、様々な要因の影響を受けて各施設で異なる可能性がありますので、各施設で独自に設定してください。

検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、あるいは他の検査方法により確認してください。

【性能】

当社試験法による性能は以下の通りです。

1. 品目仕様

・感度

2 重測定で測定します。

1) 陰性コントロールを測定するとき、その吸光度は 0.200 未満であり、かつ、カットオフコントロールの吸光度より小さいです。

2) 陽性コントロールを測定するとき、その吸光度はカットオフコントロールの吸光度より大きいです。

3) カットオフコントロールを測定するとき、その吸光度は 0.150 以上 1.300 以下です。

・正確性

2 重測定で測定します。

1) 陰性コントロールを測定するとき、判定結果は陰性を示します。

2) 陽性コントロールを測定するとき、判定結果は陽性を示します。

・同時再現性

1) 陰性コントロールを 5 回同時に測定するとき、判定結果はすべて陰性を示します。

2) 陽性コントロールを 5 回同時に測定するとき、判定結果はすべて陽性を示します。

2. 検出感度

カットオフ値 : 10 NTU

3. 日差再現性

CV ≤ 15%

	n	平均値 (NTU)	CV (%)
Sample1	12	21.8	9.2
Sample2	12	10.1	5.0
Sample3	12	6.2	12.9

4. 相関性試験成績 (判定一致率)

・検体 : 保存血清 (N=120)

・対照品 : 既承認体外診断用医薬品 (間接蛍光抗体法)

・全体一致率 : 92.5 %

陽性一致率 : 87.5 %

陰性一致率 : 96.9 %

対照品 本品	陽性判定	陰性判定	合計
陽性	49	2	51
判定保留	3	0	3
陰性	4	62	66
合計	56	64	120

5. 較正用の基準物質に関する情報

陽性コントロール、陰性コントロールおよびカットオフコントロールは、赤痢アメーバ抗体陽性または陰性の、ヒト血清または血漿を由来としています。

6. 交差反応

病原体/疾患名	サンプル数	陽性数
エキノкокクス症	11	0
リーシュマニア	4	0
トキソカラ症	4	0
カンピロバクター	10	0
デニア症	2	0

【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)検体は、HIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして十分に取扱いに注意してください。
 - (2)各コントロールにはヒト由来の物質が含まれます。誤って目や口に入った場合、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おこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
 - (3)試薬には動物由来の物質が含まれます。誤って目や口に入った場合、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おこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
 - (4)停止液には硫酸が含まれておりますので目や皮膚につかないように注意してください。誤って目に入った場合は速やかに流水で洗眼した後、医師の手当てを受けてください。皮膚や衣服についた場合は速やかに洗い流してください。
 - (5)陽性コントロールおよびカットオフコントロールには2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンが、陰性コントロールおよび希釈用緩衝液には5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンおよび2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オンの混合物(3:1)が含まれます。これらはアレルギー性皮膚反応を起こすおそれがあります。誤って目や口に入った場合、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おこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
- * (6)酵素標識抗体液および濃縮洗浄液にはエタノールが含まれておりますので、目や口に入らないように注意してください。誤って目や口に入った場合、水で十分に洗い流す等の応急措置をおこない、必要があれば医師の手当てを受けてください。
2. 使用上の注意
 - (1)使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証しかねますので使用しないでください。
 - (2)凍結した試薬は使用しないでください。
 - (3)試薬の注ぎ足しはおこなわないでください。
 - (4)開封した抗原プレートや試薬は、密閉して2~8℃で保存することでキットの使用期限まで使用可能です。
3. 廃棄上の注意
 - (1)検査に使用した器具類や廃液等は、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸すか、またはオートクレーブ(121℃、20分間以上)で処理してください。
 - (2)試薬や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制に留意して処理してください。
 - (3)コントロール、検体またはこれらを含む溶液が飛散した場合は、感染を防止するために、0.1%以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でよく拭き取ってください。
4. その他の注意
 - (1)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】

1. 貯蔵方法：2~8℃
2. 有効期間：20ヶ月
(使用期限は外箱に記載してあります。)

【包装単位】 製品コード：50200
製品名：赤痢アメーバ抗体 ELISA-IBL
包装：1キット(96テスト)
構成試薬：【形状・構造等(キットの構成)】を参照ください。

**【主要文献】

1. Watanabe, K., Yanagawa, Y., Gatanaga, H., Kikuchi, Y., & Oka, S., (2021). 27 Performance of an enzyme-linked immunosorbent-based serological assay for Entamoeba histolytica: Comparison with an indirect immunofluorescence assay using stored frozen samples, J. Infect. Chemother., 27, 736-739. doi: 10.1016/j.jiac.2020.12.026

【問い合わせ先】

株式会社 免疫生物研究所 営業部
〒375-0005 群馬県藤岡市中 1091-1
電話番号：0274-50-8666
FAX 番号：0274-23-6055
E-mail：do-ibl@ibl-japan.co.jp

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

<製造元>



Gold Standard Diagnostics Frankfurt GmbH

Waldstrasse 23 A6 63128 Dietzenbach Germany



IBL International GmbH (a Tecan Group company)

Flughafenstrasse 52a 22335 Hamburg, Germany

<製造販売元>



株式会社 免疫生物研究所

群馬県藤岡市中 1091-1