使用の前に本電子化された添付文書をよく読んでください。

**2024年5月改訂（第4版）
*2022年1月改訂（第3版）
認証番号：第302AFEZX00066000号

体外診断用医薬品

免疫グロブリンG型リウマトイド因子キット

スマイテスト™-2「IgG RF」ELISA

[全般的な注意]

1. 本品は体外診断用です。それ以外の目的で使用しないでください。
2. 添付文書以外の使用方法については保証致しません。
3. 本品は、血清中のIgG型リウマトイド因子（IgG RF）を測定する試薬です。被検者の診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。
4. 陽性コントール及び陰性コントロールにはヒト由来成分が含まれています。体外診断用医薬品を用いて、HBs抗原、HCV抗体及びHIV抗体が陰性であることを確認していますが、これらのウイルス及び他のウイルスの存在を完全に否定できる試験方法ではありませんので、検体同様、感染の危険性があるものとして注意して取り扱ってください。
5. 検体希釈液、操作方法に従って調製した陽性コントロール及び陰性コントロールには、0.09%のアジ化ナトリウムが含まれています。目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

[形状・構造等（キットの構成）]

構成試薬	包装	数量
Fc固相プレート ヒトIgG　Fc	8連 6本	1
BSA固相プレート	8連 6本	
標識抗体液 ペルオキシダーゼ標識F(ab')2化 抗ヒトFdポリクローナル抗体(ヤギ)	20 mL	1
検体希釈液	50 mL	1
濃縮洗浄液	100 mL	1
基質液 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン	20 mL	1
反応停止液	20 mL	1
陽性コントロール（凍結乾燥品）	0.3 mL	1
陰性コントロール（凍結乾燥品）	0.3 mL	1
付属品：プレートシール	3枚	

[使用目的]

血清中のIgG型リウマトイド因子（IgG RF）の測定

[測定原理]

本品は、ELISA法を原理として血清中のIgG RFを測定する試薬です。抗原としてヒトIgG Fcを固相化したFc固相プレートに検体を添加すると、抗原－抗体反応（一次反応）が生じます。洗浄後、標識抗体液（ペルオキシダーゼ標識F（ab'）2化抗ヒトFdポリクローナル抗体（ヤギ））を添加して反応（二次反応）させ、ヒトIgG Fc－IgG RF－ペルオキシダーゼ標識F（ab'）2化抗ヒトFdポリクローナル抗体（ヤギ）の複合物を形成させます。再び洗浄した後、基質液（3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン）を添加し、酵素（ペルオキシダーゼ）によって発色させます（酵素反応）。反応停止後、吸光度（A450）を測定し、同時に試験したコントロールの吸光度と比較して、検体のIgG RF値を算出します。

[操作上の注意]

1. 検体について
   （1）検体は、定法に従って採取した血清を用いてください。
   （2）希釈した検体は、即日測定してください。
   （3）非働化した検体は用いないでください。

2. 共存物質の影響
   検体における共存物質の影響を試験したところ、ビリルビンF 18.8 mg/dL、ビリルビンC 20.7 mg/dL、溶血ヘモグロビン 480 mg/dL、乳び 1620ホルマジン濁度までの添加においてIgG RF値に影響は見られませんでした。しかし、上記より高い濃度ではIgG RF値に与える影響が確認されていないため、極端な乳びや溶血が認められる検体は使用しないでください。

[用法・用量（操作方法）]

1. 必要な器具類
   標準的な装置や器具に加えて以下が必要です。
   ・マイクロプレートリーダー
   ・マイクロピペット
   ・マルチチャンネルマイクロピペット
   ・自動洗浄機又は洗浄ビン
   ・リザーバー
   ・精製水
   ・インキュベーター
   ※自動EIA機器を使用する場合は、機種によって操作方法が異なる場合がありますので、使用する機種の操作方法に従ってください。対応機種及び操作方法は［問い合わせ先］にお問い合わせください。

2. 試薬の調製
   全ての構成試薬は室温（20～25℃）に戻してから使用してください。
   （1）洗浄液
   必要な量の濃縮洗浄液を精製水で10倍に希釈し、洗浄液とします。
   （2）陽性コントロール及び陰性コントロール
   陽性コントロール及び陰性コントロール（いずれも

凍結乾燥品）のバイアルにそれぞれ精製水300 μLを加えて溶解します。これらを検体希釈液で41倍に希釈し、試験に用います。例えば、検体希釈液400 μLに陽性コントロール10 μLを加えてよく混和します。

(3) その他の構成試薬はそのまま使用します。

3. 検体の調製

検体及び検体希釈液は室温（20～25℃）に戻してから使用してください。

検体を検体希釈液で41倍に希釈します。例えば、検体希釈液400 μLに検体10 μLを加えてよく混和します。

4. 操作方法

(1) 一次反応

1) プレートの奇数列にはFc固相プレートが、偶数列にはBSA固相プレートがあらかじめセットされています（BSA固相プレートには、*橙色のラインが印字されています）。試験に必要な本数のFc固相プレート及びBSA固相プレートを準備します。

2) 調製した洗浄液を各ウェルに入れ（350 μL/ウェル）、2回洗浄します。その後、ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにして、残った液を取り除きます。

3) 希釈した陽性コントロールを、Fc固相プレート及びBSA固相プレートのそれぞれ2ウェルに100 μLずつ分注します。希釈した陰性コントロールも同様に両プレートのそれぞれ2ウェルに100 μLずつ分注します。

4) 希釈した検体を、Fc固相プレート及びBSA固相プレートのそれぞれ1ウェルに100 μLずつ分注します。

5) マイクロプレート振とう器等を用いて軽く混ぜた後、プレートシールを貼り、20～37℃で30分間静置します。

(2) 洗浄

プレートシールを外し、反応液を捨て、洗浄液を各ウェルに入れて（350 μL/ウェル以上）5回洗浄します。その後、ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにして、残った洗浄液を取り除きます。

(3) 二次反応

1) 各ウェルに標識抗体液を100 μL分注します。

2) プレートシールを貼り、20～37℃で30分間静置します。

(4) 洗浄

プレートシールを外し、反応液を捨て、洗浄液を各ウェルに入れて（350 μL/ウェル以上）5回洗浄します。その後、ペーパータオルなどの上でプレートを逆さにして、残った洗浄液を取り除きます。

(5) 酵素反応

1) 各ウェルに基質液を100 μL分注します。

2) プレートシールを貼り、室温（20～25℃）、暗所で15分間静置します。

(6) 反応停止

各ウェルに反応停止液を100 μL分注し、反応液が青色から黄色に変化したことを確認します。

(7) 吸光度測定

マイクロプレート用分光光度計で450 nm（副波長620 nm）での吸光度を測定します。吸光度は反応停止後20分以内に測定してください。

[測定結果の判定法]

検体のIgG RF値を、下記の一次回帰直線式に従って算出します。

$$Y=(P-N)/(Ap-An)X+\{N-(P-N)An/(Ap-An)\}$$

X	検体の吸光度 （Fc固相プレートでの吸光度－BSA固相プレートでの吸光度）
Y	検体のIgG RF値
P	陽性コントロールのIgG RF値（ボトルラベルに記載）
N	陰性コントロールのIgG RF値（ボトルラベルに記載）
Ap	陽性コントロールの平均吸光度 Ap=Fp-Bp Fp：Fc固相プレートでの平均吸光度 Bp：BSA固相プレートでの平均吸光度
An	陰性コントロールの平均吸光度 An=Fn-Bn Fn：Fc固相プレートでの平均吸光度 Bn：BSA固相プレートでの平均吸光度

算出した検体のIgG RF値を、以下に従って判定します。

陰性：IgG RF値＜2.00

陽性：IgG RF値≧2.00

＜例＞

陽性コントロールの平均吸光度（Ap）が0.410、陰性コントロールの平均吸光度（An）が0.100、陽性コントロールのIgG RF値（P）が4.80、陰性コントロールのIgG RF値（N）が1.20、検体の吸光度（X）が0.250の場合、

一次回帰直線式は $Y=(4.80-1.20)/(0.410-0.100)X+\{1.20-(4.80-1.20)0.100/(0.410-0.100)\}$、すなわち$Y=11.61X+0.04$となり、検体のIgG RF値は2.94と算出されます。

「判定上の注意」

1. 吸光度の測定は、事前に、使用する自動分光光度計の性能を確認した上で行ってください。自動分光光度計の性能範囲を超える吸光度を示した場合に、IgG RF値の信頼性はありません。

2. 治療薬が試験結果に与える影響は確認していません。治療中の患者の試験結果に基づく診断は、他の検査結果や臨床症状等とあわせて総合的に判断してください。

[臨床的意義]

スマイテスト-2「IgG RF」ELISAは、血清中のIgG型リウマトイド因子（IgG RF）をCarsonら及びPowellらが発明した方法[1), 3)]に基づいて測定する酵素免疫測定法（ELISA）の試薬です。

リウマトイド因子（RF）は、関節リウマチ患者の血清中に認められるヒトIgGのFc部分に対する抗体で、IgM型、IgG型、IgA型及びIgE型の存在が知られています。従来、RFは凝集法によって主にIgM型を測定し、関節リウマチの診断基準の一つとして用いられてきました[4)]。

一方で、クラス別のRFを測定することが可能になり、特にIgG RFは関節リウマチの臨床像をよく反映するため、疾患活動性や病態を簡便に把握することが可能になりました[2)]。

スマイテスト-2「IgG RF」ELISAは、固相抗原として精製ヒトIgG Fcを使用し、検出用抗体としてペルオキシダーゼ標識F（ab'）2化抗ヒトFdポリクローナル抗体（ヤギ）を使用するELISA法によって、血清中のIgG RFを測定します[5),6)]。

[性能]

1. 性能

(1) 感度試験

陽性コントロールを3重測定したとき、Fc固相プレートの平均吸光度（Fp）とBSA固相プレートの平均吸光度（Bp）の差が、0.300以上、1.000以下です。

陰性コントロールを3重測定したとき、Fc固相プレートの平均吸光度（Fn）とBSA固相プレートの平均吸光度（Bn）の差が、0.050以上、0.150以下です。

陽性コントロールと陰性コントロールの吸光度の差（(Fp－Bp)－(Fn－Bn)）が、0.250以上です。

(2) 正確性試験

既知濃度の陽性管理検体（IgG RF値2.00以上3.75以下、及び、3.80以上）を測定したとき、陽性と判定され、IgG RF値は期待値の±15%以内です。

既知濃度の陰性管理検体（IgG RF値2.00未満）を測定したとき、陰性と判定され、IgG RF値は期待値の±20%以内です。

(3) 同時再現性試験

既知濃度の陽性管理検体（IgG RF値2.00以上）を10回同時に測定したとき、全て陽性と判定されます。また、吸光度の変動係数（CV値）が15%以下です。

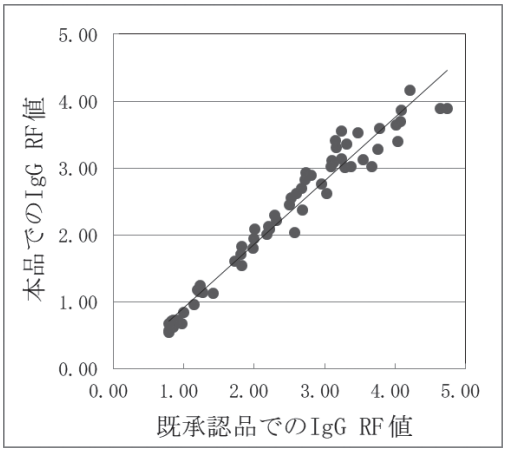
既知濃度の陰性管理検体（IgG RF値2.00未満）を10回同時に測定したとき、全て陰性と判定されます。また、吸光度の変動係数（CV値）が20%以下です。

*(4) 測定範囲

0.53～4.30

2. 相関性試験成績

IgG RF陽性例を含む62例の血清検体を用いて、本品と同じ目的で使用する既承認品を対照として試験した結果は以下でした。



判定一致率　100.0%

回帰式　y = 0.944 x－0.024、相関係数 r = 0.979

x：既承認品でのIgG RF値

y：本品でのIgG RF値

3. 較正用基準物質

自社調製品

[使用上又は取扱い上の注意]

1. 取扱い上の注意

(1) 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の可能性があるものとして扱ってください。検査にあたって、感染の危険を避けるため、使い捨て手袋を着用し、また、口によるピペッティングを行わないでください。

(2) 試薬が目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、水で十分に洗い流すなどの応急措置を行い、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) 貯蔵方法に従って保存し、使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。

(2) 異なるロットの試薬を組み合わせて使用しないでください。

(3) 全ての構成試薬は、室温（20～25℃）に戻してから使用してください。

(4) 保存中や使用中に、試薬に直射日光を当てないでください。

(5) 検体や試薬への微生物の混入や試薬間のコンタミネーションを避けてください。

(6) 反応温度、反応時間、検体の希釈率を厳守してください。

(7) 洗浄が不十分な場合、ばらつきや偽陰性、偽陽性を生じることがありますので、十分に洗浄してください。

(8) ウェル間のコンタミネーションを防ぐため、液の泡立ちや、周囲への付着が起こらないようにしてください。

3. 廃棄上の注意

(1) 検体は感染の可能性があるものとして注意して取り扱ってください。使用した器具は、廃棄又は次のいずれかの方法で処理してください。

・最終濃度2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。

・0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素 約1,000 ppm）に1時間以上浸漬する。

・121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌する。

試薬や器具等を廃棄する場合は、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ください。

(2) 血清等が飛散した場合は、手袋着用の上、ペーパータオル等でふき取り、0.1%次亜塩素酸ナトリウム溶液で清拭してください。また、使用した手袋やペーパータオル等は、廃棄上の注意（1）に従って、処理、廃棄してください。

(3) 検体希釈液、調製後の陽性コントロール及び陰性コントロールには0.09%のアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは、配管中で爆発性のアジ化銅やアジ化鉛を形成することが報告されています。これらの物質の形成を防ぐため、アジ化ナトリウムを含む廃液は十分な量の水で洗い流してください。

[貯蔵方法・有効期間]

貯蔵方法：2～8℃
有効期間：製造後10箇月
（使用期限は外箱に表示されています。）

[包装単位]

製品コード
GS-G0301　　各48ウェル

[主要文献]

1. Carson, D. A. et al. J Immunol. 1977, vol. 119, p. 295-300.
2. Richard, M. et al. Arthritis Rheumatol. 1979, vol. 22. p. 988-998.
3. Powell, R. J. et al. J Rheumatol. 1985, vol. 12, p. 427-431.
4. 小林茂人, 他. 検査と技術. 1988, vol. 16, p. 1422-1426.
5. 栗原夕子, 他. リウマチ科. 1999, vol. 22, p. 499-510.
6. 中園清. 医学と薬学. 2001, vol. 45, p. 481-486.

[問い合わせ先]

株式会社医学生物学研究所　学術部
〒105-0012　東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル
TEL：03-6854-3613　E-mail：kensa@mbl.co.jp

**[製造販売元]

株式会社医学生物学研究所
〒105-0012　東京都港区芝大門二丁目１１番８号
住友不動産芝大門二丁目ビル
TEL：03-6684-6860　FAX：03-6854-3615

「スマイテスト」は、株式会社医学生物学研究所の登録商標です。（登録商標　第4231559号）