

体外診断用医薬品

承認番号 23000EZ00010000

クラスⅢ免疫検査用シリーズ

*エプスタイン・バーウイルス抗体キット

FAカラー・EBNAテスト

(間接蛍光抗体補体法)

*【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品です。それ以外の目的には使用しないで下さい。
2. 疾病の診断は、本品の試験成績と併せて、他の関連する検査や臨床症状等の総合的な所見から、最終的には医師により診断されるものです。
3. 電子添文に記載された操作方法以外については保証致しません。
4. 使用に際しましては、必ず測定装置の電子添文または取扱説明書をお読み下さい。また、詳細は機器メーカーにお問い合わせ下さい。測定装置は使用前に十分に調整して下さい。
5. 補体原液には、ヒト血清由来成分を使用しております。原料については、ドナーレベルでHBs抗原、HCV抗体、HIV抗体陰性であることが確認されていますが、患者検体と同様に感染の可能性があるものとして十分注意して取扱って下さい。
6. 標識抗体希釈液及び補体希釈液には、防腐剤としてアジ化ナトリウムが0.1%含まれていますので、測定後の廃液は大量の水で希釈して排水して下さい。また、誤って飲み込んだりしないように十分注意して下さい。万一、飲み込んでしまった場合、すぐに吐き出して水でうがいをして下さい。体に異常がみられた場合、医師に相談して下さい。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. 基質スライド
EBウイルス核抗原発現ヒト培養細胞
2. 標識抗体原液
5-イソチオシアン酸フルオレセイン (FITC) 標識抗ヒト補体 C3c・ウサギポリクローナル抗体
3. 補体原液
ヒト血清
4. 標識抗体希釈液
5. 補体希釈液

*【使用目的】

血清中のEBウイルス核抗原(EBNA)に対する抗体価の測定(エプスタイン・バーウイルス感染の診断補助)

【測定原理】

スライドガラスに固定したヒト由来のEBNA発現培養細胞と血清中の抗EBNA抗体を反応させます。生じたEBNA-抗EBNA抗体の複合体に補体を反応させ、さらにFITC標識抗ヒト補体C3c・ウサギポリクローナル抗体を反応させます。反応により生じた抗原-抗体-補体-標識抗体複合物中のFITCの蛍光を蛍光顕微鏡で観察することにより、抗EBNA抗体を検出し、検出される検体の希釈倍数による抗体価定量を行い、陽性を示す最高希釈倍数をもって抗体価とします。^{1,2)}

【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) 検体は採取後すみやかに処理し、変質に配慮してできるだけ早期に測定して下さい。やむを得ず保存する場合は、密閉して-20℃以下で冷凍保存して下さい。
 - (3) 検体の凍結融解の繰り返し、抗体価の低下または非特異反応の原因となることが考えられますので避けて下さい。
 - (4) 採血時には溶血等を起こさないように注意して下さい。
2. 妨害物質・妨害薬剤
 - (1) ビリルビン(20mg/dL)、ヘモグロビン(480mg/dL)、乳び(イントラリポス)(1,000mg/dL)の測定値への影響はありません。³⁾
 - (2) 抗核抗体等のヒト細胞成分に対する自己抗体陽性の検体では、ウェルの全細胞が蛍光を発するため、抗EBNA抗体による特異蛍光の判別に干渉します。しかし、抗EBNA抗体のほうが抗体価が高く、希釈倍数測定において希釈倍率が上がるに従って抗核抗体の影響が消え、抗EBNA抗体による特異蛍光が判別できる場合には、抗EBNA抗体の測定が可能です。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製法
 - (1) 基質スライド
そのまま使用して下さい。常温(15~25℃)に戻してから開封して下さい(表面結露に注意)。常温放置は4.5時間以内にして下さい。
 - (2) 標識抗体試薬
標識抗体原液 1本(0.4mL)に標識抗体希釈液(7.6mL)を加えて混和し、標識抗体試薬を調製して下さい(20倍希釈)。調製後は2~10℃、遮光保存で3週間安定です。
 - (3) 補体試薬
補体原液を補体希釈液で20倍に希釈して補体試薬を調製して下さい。補体試薬は氷冷し、すみやかに使用して下さい。
2. 必要な器具・器材・試薬等

品名	備考
PBS	0.01mol/L リン酸緩衝生理食塩水(pH7.2~7.4)、洗浄用、検体希釈用
洗浄ピン	上記PBSを入れたもの
染色カゴ	スライド洗浄時に使用
染色バット	スライド洗浄時に使用
湿潤箱	十分量の水を入れたもの、反応時に使用
蛍光顕微鏡用封入剤	市販品あるいは緩衝化グリセリン(無蛍光グリセリン:PBS=1:1の混合液)を調製して使用
カバーガラス	光学ガラスNo.1、24×60mm程度、封入用
蛍光顕微鏡	励起波長330~380nm、観察光420nm以上または励起波長460~495nm、観察光510nm以上、倍率200倍で使用可能なもの

3. 操作方法
 - (1) 検体の前処理
 - 1) 検体をPBSまたは生理食塩水で5倍希釈して下さい。
 - 2) 上記1)の希釈検体を56℃で30分加温し、非動化して下さい。
 - (2) 検体の希釈
 - 1) 非動化した検体をPBSまたは生理食塩水で2倍希釈し、10倍希釈検体として下さい。
 - 2) 陽性検体は希釈倍数による抗体価定量をするため、10倍希釈検体をPBSまたは生理食塩水で希釈して2倍希釈系列をつくって下さい。
 - (3) 染色・鏡検
 - 1) 基質スライドを湿潤箱に並べ、希釈検体をそれぞれウェルに10μLずつ滴下して下さい。
 - 2) 湿潤箱中で、37℃で30分間反応させて下さい。
 - 3) 湿潤箱より基質スライドを1枚ずつ取り出し、PBSで余分な血清をよく洗い流して下さい(洗浄ピンを用いる場合は細胞剥離が起きることがありますので、細胞にPBSをふきつけないで下さい)。基質スライドを染色カゴに立て、PBSを満した染色バットに15~30℃で浸して下さい。3分後にPBSを交換し、更に7分間浸して下さい。
 - 4) 基質スライドをPBS中より取り出し、水切りは行わず、ウェル外側の水分を拭き取って湿潤箱に並べ置き、ウェル上が乾かずに水分が残っているうちに補体試薬を1ウェルあたり10μLずつ滴下して下さい。この操作はスライド1枚ずつ行して下さい。
※良好な染色像を得るため極めて重要です。ウェル乾燥厳禁。
 - 5) 湿潤箱中で、37℃で45分間反応させて下さい。
 - 6) 上記3)と同様に洗浄して下さい。
 - 7) 基質スライドをPBS中より取り出し、軽く振ってウェル以外の水分を切り、湿潤箱に並べ、ウェルが乾かないうちに標識抗体試薬を1ウェルに10μLずつ滴下して下さい。
 - 8) 湿潤箱中で、37℃で30分間反応させて下さい。
 - 9) 上記3)と同様に洗浄して下さい。

- 10) 基質スライドをPBS中より取り出し、軽く振ってウェル以外の水分を切り、封入剤を基質スライド1枚に対し1～2滴ずつ滴下し(1滴:20～30 μ L)、カバーガラスを被せて封入して下さい。
 - 11) 蛍光顕微鏡を励起波長330～380nm、観察光420nm以上または励起波長460～495nm、観察光510nm以上に合わせ、倍率200倍で蛍光を観察して下さい。
4. 操作上の注意
- (1) 基質スライドのウェル面に触れないように注意して下さい。
 - (2) 検体を滴下するときは、検体が隣のウェルのものと混ざり合わないよう注意して下さい。
 - (3) 反応は必ず湿潤箱で行い、反応中に基質スライドのウェルを乾かさなして下さい。
 - (4) 反応終了後、湿潤箱を室温に戻してから洗浄操作を行って下さい。
 - (5) 洗浄の際、細胞剥離が起こらないよう注意して下さい。特に洗浄ピンを使用する場合、細胞にPBSを直接ふきつけないで下さい。
 - (6) 洗浄後、染色バットから基質スライドを取り出した後、ウェル中に水分が十分に残留状態を保って下さい。ウェル中の水分を吸い取らないで下さい。
 - (7) 特に補体試薬を滴下する操作が重要です。ウェルを乾かさないように注意し、ウェル中に水分が残り、十分に濡れている状態で補体試薬の滴下を行って下さい。補体試薬の滴下はスライド1枚ずつ行って下さい。
 - (8) 標識抗体試薬の保存中及び取り扱い中は、強い光を避けて下さい。
 - (9) 封入から鏡検まではすみやかに行って下さい。

【測定結果の判定法】

1. 判定上の注意
特異蛍光の判別を容易にするために、基質スライドのウェルにはEBNA発現細胞とEBNA非発現細胞を混ぜて固定しています。従って陽性の場合、細胞の一部に緑黄色に光る蛍光が認められます。陰性の場合、このような蛍光は認められません。EBNA非発現細胞を含め全細胞が蛍光を発する場合は、抗核抗体等のヒト細胞成分に対する自己抗体による干渉が考えられ、その希釈倍数で抗EBNA抗体による特異蛍光を判別することはできません(【操作上の注意】2. 妨害物質・妨害薬剤の項を参照)。
2. 判定
 - (1) 10倍希釈の検体を定性試験とし、このとき鏡検陰性であるものは抗EBNA抗体陰性として下さい。
 - (2) 定性試験で陽性であった検体は希釈し、希釈倍数による抗体価定量を行い、陽性を示す最高希釈倍数をもって抗体価として下さい。

*【性能】

- <性能>
弊社において本品を操作方法に従い下記の試験を行った場合、以下の規格に適合します。
1. 感度試験
抗EBNA抗体陰性血清を10倍希釈して測定したとき、特異蛍光が認められません。
抗EBNA抗体陽性血清を10倍希釈して測定したとき、特異蛍光が認められます。
 2. 正確性試験
既知濃度の陽性管理血清を測定したとき、希釈倍数による定量値が期待値 $\pm$ 1管の範囲内にあります。
 3. 同時再現性試験
陽性管理血清を3回同時に測定したとき、希釈倍数による定量値が全て中央値 $\pm$ 1管の範囲内にあります。
 4. 測定範囲
希釈倍数による測定下限は10倍です。希釈倍数を上げることで、希釈倍数による抗体価を定量できます。

<相関性試験成績>

他社間接蛍光抗体補体法との相関(希釈倍数による定量値の相関)^③
スピアマンの順位相関係数 = 0.989 (n = 104)

<較正用基準物質>

抗EBNA陰性血清、抗EBNA陽性血清(社内標準品)

【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) 検体にはHBV、HCV、HIV等の病原体が存在している場合がありますので、感染の危険性があるものとして十分注意して取扱って下さい。
 - (2) 本品を取扱う場合には、必ず白衣、マスク、保護メガネ、手袋等を着用して下さい。誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て

等を受けて下さい。

- (3) 本品を使用する際は、毒性や感染の危険性があるものとして取り扱い、口によるピペット操作はしないで下さい。
- (4) 本品の基質スライドのEBNA発現ヒト培養細胞は、アセトン固定されているため生物学的危険性はないものと考えられますが、念のため、取扱いには注意して下さい。

2. 使用上の注意

- (1) 本品は開封後、できる限り早く使用して下さい。保存する場合は密封し、貯蔵方法に従って下さい。
- (2) 本品中の基質スライドの凍結融解は3回以内として下さい。また、解凍時の常温(15～25℃)放置は4.5時間以内として下さい。
- (3) 容器の破損が認められたもの、または容器内に異物が認められた場合は使用しないで下さい。
- (4) 標識抗体原液及び標識抗体希釈液は凍結を避けて保存して下さい。凍結させた試薬は、品質が劣化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないで下さい。
- (5) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないで下さい。
- (6) 同一ロット番号の試薬であっても試薬の注ぎ足しは行わないで下さい。
- (7) 本品の容器、付属品は他の目的に転用しないで下さい。

3. 廃棄上の注意

- (1) 試薬及び検査に使用した検体や器具等は、感染の危険がありますので、以下のいずれかの処理を行って下さい。
 - a) 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸漬する。
 - b) 0.5%次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸漬する。
 - c) オートクレーブで121℃、30分以上高圧蒸気滅菌する。
- (2) 試薬は、含有するアジ化ナトリウムが金属と反応して爆発性のアジ化金属、酸と反応して有毒かつ爆発性のアジ化水素酸を生成することがありますので、廃棄の際は大量の水で流して下さい。
- (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制に従って処理して下さい。

【貯蔵方法・有効期間】

品名	貯蔵方法	有効期間
基質スライド	-20℃以下で保存	6ヶ月
標識抗体原液	2～10℃で遮光保存	
補体原液	-20℃以下で保存	
標識抗体希釈液	2～10℃で保存	
補体希釈液	2～10℃で保存	

【包装単位】

品名	コードNo.	タイプ名	包装
FAカラー・EBNAテスト	47016	Sタイプ	基質スライド： 18ウェル×10枚
	47017	Sタイプ	標識抗体原液： 0.4mL×1本 標識抗体希釈液： 50mL×1本 補体希釈液： 30mL×1本
	47018	Sタイプ	補体原液： 0.1mL×1本、 0.05mL×1本

【主要文献】

- 1) 今井章介, 他: 臨床と微生物. 1987, 14, p. 19-25
- 2) 脇口 宏: 小児感染免疫. 2008, 20, p. 213-218
- 3) 社内資料.

【問い合わせ先】

極東製薬工業株式会社 営業学術部
〒103-0024 東京都中央区日本橋小舟町7-8
電話 03(5645)5664
FAX 03(5645)5703

製造販売元



極東製薬工業株式会社

茨城県高萩市上手綱朝山3333-26

本 社 住 所

東京都中央区日本橋小舟町7-8