

体外診断用医薬品

クラスⅢ免疫検査用シリーズ

\*エプスタイン・バーウイルス免疫グロブリン G キット

F A カラー・E A テスト

(間接蛍光抗体法)

\*【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いたしません。
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い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. 標識抗体希釈液には、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 ウイルス早期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)標識抗ヒトイムノグロブリン G・ウサギポリクローナル抗体
3. 標識抗体希釈液

\*【使用目的】

血清中の EB ウイルス早期抗原(EA)に対するイムノグロブリン G (IgG)クラス抗体価の測定(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 EA 発現培養細胞と血清中の抗 EA 抗体を反応させます。生じた EA-抗 EA 抗体の複合体に FITC 標識抗ヒト IgG・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-標識抗体結合物中の FITC の蛍光を蛍光顕微鏡で観察することにより、抗 EA 抗体のうち IgG クラスの抗体(抗 EA-IgG)を選択的に検出し、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は、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。
  - (5) 検体とする血清に対して 56℃で 30 分間の不活性化処理を行っても、測定に影響がないことを確認しています。
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。<sup>3)</sup>
  - (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 EA-IgG による特異蛍光の判別に干渉します。しかし、抗 EA-IgG 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 EA-IgG による特異蛍光が判別できる場合には、抗 EA-IgG 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 3 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(0.1mL)に標識抗体希釈液(1.9mL)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。
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、倍率 200 倍で使用可能なもの    |

3. 操作方法

- (1) 検体の希釈
  - 1) 陽性検体を判別するため、PBS または生理食塩水で 10 倍希釈して下さい。
  - 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。
- (2) 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 を満たした染色バットに 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、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。
  - 5) 湿潤箱中で、37℃で 30 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、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:20~30μL)、カバーガラスを被せて封入して下さい。
  - 8) 蛍光顕微鏡を励起波長 330~380nm、観察光 420nm 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) 反応は必ず湿潤箱中で行い、反応中に基質スライドのウェルを乾かさないで下さい。
- (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、標識抗体試薬を滴下するまでの間にウェルを乾かさないように注意し、ウェル以外の水分を除いた後は、ウェルが濡れている状態で標識抗体試薬の滴下を行って下さい。
- (7) 標識抗体試薬の保存中及び取扱い中は、強い光を避けて下さい。
- (8) 封入から鏡検まではすみやかに行ってください。

#### 【測定結果の判定法】

##### 1. 判定上の注意

陽性の場合、全細胞数の10%程度の細胞に、細胞内が全体的または局所的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。

但し、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EA-IgG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EA-IgG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EA-IgG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EA-IgG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。

##### <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>

他社間接蛍光抗体法との相関(希釈倍数による定量値の相関)<sup>3)</sup>  
スピアマンの順位相関係数 = 0.978(n = 102)

##### <較正用基準物質>

抗EA-IgG陰性血清、抗EA-IgG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EA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3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  | 17ヶ月 |
| 標識抗体原液  | 2~10℃で遮光保存 |      |
| 標識抗体希釈液 | 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・EA テスト | 47019   | S タイプ | 基質スライド:<br>10 ウェル×10 枚                       |
|               | 47020   | S タイプ | 標識抗体原液:<br>0.1mL×1 本<br>標識抗体希釈液:<br>30mL×1 本 |

#### \*\*【主要文献】

- 1) 今井章介ほか、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  
FAX03(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