

抗トリコスポロン・アサヒ抗体キット

トリコ・アサヒ A b チェック

【全般的な注意】

1. 本品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
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ください。
3. 電子化された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. 使用する機器の電子化された添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用してください。
5. 本品には、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ください。

【形状・構造等（キットの構成）】

①抗原固相化プレート

マウス抗トリコスポロン・アサヒモノクローナル抗体 D-8
[略名：抗トリコスポロン・アサヒ抗体 D-8]
トリコスポロン・アサヒ抗原

②検体希釈液

③対照用陽性血清

④酵素標識抗体

ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト IgG-ポリクローナル抗体 [略名：POD 標識抗ヒト IgG 抗体]

⑤発色液

過酸化水素 [略名：H₂O₂]
4-アミノアンチピリン [略名：4-AA]
フェノール

⑥反応停止液

⑦濃縮洗浄液

【使用目的】

血清中の抗トリコスポロン・アサヒ抗体の検出（夏型過敏性肺炎の診断の補助）

【測定原理】

本品は、Antigen-captured ELISA 法により、ヒト血清中の抗トリコスポロン・アサヒ抗体を検出する試薬です。マイクロプレートにマウス抗トリコスポロン・アサヒモノクローナル抗体 D-8（抗トリコスポロン・アサヒ抗体 D-8）¹⁾のみ結合させたウェル（対照ウェル）と、抗トリコスポロン・アサヒ抗体 D-8 を介してトリコスポロン・アサヒ抗原を結合させたウェル（抗原固相化ウェル）、各 1 ウェルを一組として操作します。検体中の抗トリコスポロン・アサヒ抗体をトリコスポロン・アサヒ抗原と反応させ、ペルオキシダーゼ標識ヤギ抗ヒト IgG-ポリクローナル抗体 (POD 標識抗ヒト IgG 抗体) を加えて反応させると、検体中の抗トリコスポロン・アサヒ抗体を介した三者のサンドイッチ複合体が形成されます。未反応の POD 標識抗ヒト IgG 抗体を除去後、発色基質（過酸化水素、4-アミノアンチピリン、フェノール）を加えて酵素反応を行います。トリコスポロン・アサヒ抗原に結合した検体中の抗トリコスポロン・アサヒ抗体はペルオキシダーゼ（POD）と発色基質との反応に伴う発色量が反映されるため、これを測定することにより、抗トリコスポロン・アサヒ抗体の検出を行います。

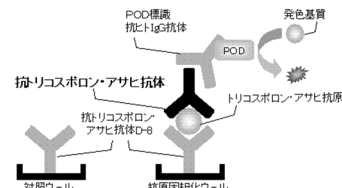


図 1 測定原理図

【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

1. 検体は血清を使用します。
2. 検体は、2～8℃で 7 日間は安定なことを確認しています。7 日間以内に測定を行わない検体は-20℃以下（好ましくは-80℃以下）にて凍結保存してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。

妨害物質・妨害薬剤

1. アスコルビン酸 40mg/dL まで測定値に影響ありません。
2. ビリルビン 40mg/dL まで測定値に影響ありません。
3. ヘモグロビン 1000mg/dL まで測定値に影響ありません。
4. 乳ビ 4000FTU まで測定値に影響ありません。
5. リウマトイド因子 (RF) 550IU/mL まで測定値に影響ありません。

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

1. 抗原固相化プレート
 - ①抗原固相化プレートをそのまま使用します。未使用のウェルは、ビニールパックに戻して密閉し、2～8℃で保存してください。
2. 検体希釈液
 - ②検体希釈液をそのまま使用します。
3. 対照用陽性血清液
 - ③対照用陽性血清 1 瓶に精製水 1.5mL を加えて溶解し、対照用陽性血清液とします。精製水添加後、穏やかに攪拌し、10 分以上静置して完全に溶解してください。濃度はラベルに表示されています。溶解後は密栓し、2～8℃で保存することにより 1 ヶ月間使用できます。
4. 酵素標識抗体液
 - ④酵素標識抗体 1 瓶に精製水 6.0mL を加えて溶解し、酵素標識抗体液とします。精製水添加後、穏やかに攪拌し、10 分以上静置して完全に溶解してください。溶解後は密栓し、2～8℃で保存することにより 1 ヶ月間使用できます。
5. 発色液
 - ⑤発色液をそのまま使用します。経時的に着色しますが、測定への影響はありません。
6. 反応停止液
 - ⑥反応停止液をそのまま使用します。
7. 洗浄液
 - ⑦濃縮洗浄液 1 容量に精製水 4 容量を加え混和し、洗浄液とします。調製後は密栓し、室温で保存することにより 2 週間使用できます。

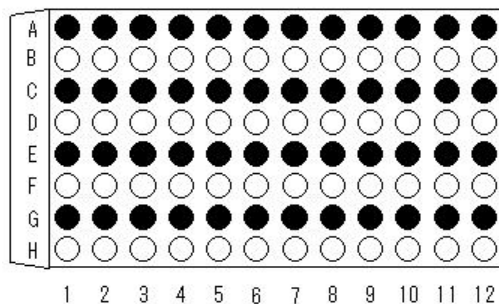
必要な器具・器材・試料等

1. マイクロピペット (10、100、1000 μL 等)
2. マイクロテストチューブまたは試験管 (検体希釈用)
3. メスシリンダー
4. マイクロチューブミキサー (ボルテックスミキサー等)
5. 37℃インキュベーター
6. マイクロプレート洗浄装置
7. マイクロプレートリーダー

測定（操作）法

本品は各種の検査機器で使用されますので、その操作法の一例を示します。

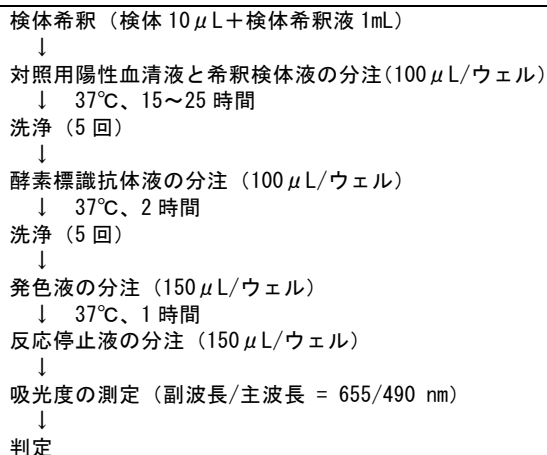
（例：日本バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社製
マイクロプレートリーダー；Model 680 Microplate Reader）



●：抗原固相化ウェル ○：対照ウェル
●と○を一組として、一検体分の測定を行います。

図2 プレート模式図

1. マイクロテストチューブ又は試験管を用いて、検体希釈液 1mL に検体 10 μ L を添加後攪拌し、希釈検体液を調製します。
2. 対照用陽性血清液及び希釈検体液を、抗原固相化ウェル、対照ウェルを一組として、各 100 μ L を添加します。
3. ウェルをプレートシールで覆い、37℃で 15～25 時間反応させます。
4. 洗浄液で 5 回洗浄します（400 μ L/ウェル）。洗浄後、プレート上面を下にし、ペーパータオル上で 4、5 回プレートを軽くたたき、ウェルに残っている水滴を落とします。
5. 酵素標識抗体液を 100 μ L ずつ各ウェルに添加します。
6. ウェルをプレートシールで覆い、37℃で 2 時間反応させます。
7. 洗浄液で 5 回洗浄します（400 μ L/ウェル）。洗浄後、プレート上面を下にし、ペーパータオル上で 4、5 回プレートを軽くたたき、ウェルに残っている水滴を落とします。
8. ウェル裏の測光部分の汚れを、ウェルに傷を付けないようにして丁寧に拭き取ってください。
9. 一定の時間間隔で発色液を 150 μ L ずつ各ウェルに添加します。
10. ウェルをプレートシールで覆い、37℃で 1 時間反応させます。
11. 前々項で発色液を加えたときと同じ順序と時間間隔で、反応停止液を 150 μ L ずつ各ウェルに添加します。
12. マイクロプレートリーダーを用いて、主波長 490nm、副波長 655nm での吸光度を測定します。測定は発色反応停止後 60 分以内に行ってください。



（注）マイクロプレートリーダーの設定条件等詳細については、弊社担当者にお問い合わせください。

【測定結果の判定法】

本キットでは、対照用陽性血清液を基準に各検体の CAI を算出し判定を行います。

（注）CAI は、本キットに用いる単位であり、補正吸光度（Corrected Absorbance Index）の略称です。

1. 対照用陽性血清液の CAI 表示値および吸光度を用いて、次式により CAI 補正係数を求めます。

$$\text{CAI 補正係数} = \frac{(\text{対照用陽性血清液の CAI 表示値})}{\text{Aspc} - \text{Abpc}}$$

Aspc：対照用陽性血清液の抗原固相化ウェルの吸光度

Abpc：対照用陽性血清液の対照ウェルの吸光度

2. 上記の CAI 補正係数および検体の吸光度を用いて、次式により検体の CAI を求めます。

$$\text{検体の CAI} = (\text{As} - \text{Ab}) \times (\text{CAI 補正係数})$$

As：検体の抗原固相化ウェルの吸光度

Ab：検体の対照ウェルの吸光度

3. 求めた検体の CAI を用いて、下記の基準に従って判定を行います。
4. 判定保留の場合、他の検査結果及び臨床症状より診断を行ってください。

CAI	判定
0.15 未満	陰性
0.15 以上 0.30 未満	判定保留
0.30 以上	陽性

【臨床的意義】

本キットは、夏型過敏性肺炎²⁾の診断補助に用いるキットです。

夏型過敏性肺炎は、我が国の過敏性肺炎の 75% を占め、かつ近年増加している重要なアレルギー性疾患ですが、その原因真菌として、トリコスポロン・アサヒ（*Trichosporon asahii*）^{3) 4)} が最も重要と報告されています⁵⁾。

過敏性肺炎は、診断が確定し抗原からの隔離が完全に行われれば再発することなく完全に治癒する疾患で、原因抗原からの隔離が最も重要な治療です。

抗トリコスポロン・アサヒ抗体の検出は、原因抗原がトリコスポロン・アサヒであることを示す、夏型過敏性肺炎の診断に有用な検査法です^{6) 7)}。

臨床性能試験の結果、本キットの有病正診率は 85.0%（125 例/147 例）、無病正診率は 91.3%（179 例/196 例）でした。

【性能】

性能

1. 感度・正確性・同時再現性

(1) 感度試験

管理用陽性血清^注（CAI 表示値 0.30～3.00）を測定するとき、試験により算出された CAI は表示値の ±50% の範囲内にあります。

(2) 正確性試験

1) 管理用陰性血清を用いて測定するとき、陰性と判定されます。

2) 管理用陽性血清を用いて測定するとき、陽性と判定されます。

(3) 同時再現性試験

同一検体を 3 回同時に測定するとき、陰性検体は陰性、陽性検体は陽性と判定されます。

（注）管理用陽性血清は陽性血清と陰性血清を混和して調製したものです。CAI が 0.30～0.60 の範囲内にある検体を管理用陽性血清 1、CAI が 0.60～2.00 の範囲内にある検体を管理用陽性血清 2 としました。

2. 最小検出感度

0.05CAI

較正用基準物質

社内 抗トリコスポロン・アサヒ抗体 一次基準用陽性血清

【使用上又は取扱い上の注意】

** 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取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペティングを行わないでください。
2. 検体希釈液、反応停止液は微量のアジ化ナトリウムを含有していますので皮膚に付着したり、目に入らないよう注意してください。
3. 試薬が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等を受けてください。
4. 対照用陽性血清は、抗トリコスポロン・アサヒ抗体陽性ヒト血清より調製しています。原料用のヒト陽性血清は、弊社 HIV、HBV 及び HCV 否定試験に適合したものをを用いていますが、これらウイルスの感染性を完全に否定することはできません。また、その他の感染性物質については確認していません。対照用陽性血清を扱う際には、検体を扱うのと同様に十分注意してください。

使用上の注意

1. 本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存してください。誤って凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られない場合がありますので使用しないでください。
2. 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
3. 製造番号の異なる試薬を組み合わせ使用しないでください。また、同一の製造番号の試薬であっても試薬を注ぎ足すことは行わないでください。
4. 試薬の調製方法は厳守してください。
5. 対照用陽性血清液は毎回測定してください。
6. 発色液は経時的に着色しますが、測定への影響はありません。
7. 容器を再利用したり他の目的に転用しないでください。

廃棄上の注意

1. 検体中には HIV、HBV、HCV 等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1000ppm、1 時間以上浸漬）またはグルタールアルデヒド（2%、1 時間以上浸漬）による消毒処理あるいはオートクレーブ（121℃、20 分以上）による滅菌処理を行ってください。
2. 検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、80%のアルコールスプレー等で拭き取ってください。
3. 検体希釈液、反応停止液は微量のアジ化ナトリウムを含有しています。アジ化ナトリウムは鉛や銅と接触するとアジ化金属を形成することがあります。本品を廃棄する際には、安全のため大量の水で希釈して流してください。
4. 発色液はフェノールを含有しています。廃棄にあたっては水質汚濁防止法等の規制に注意して処理してください。
5. 試薬及び器具類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等に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法

2～8℃保存

有効期間

2 年 2 ヶ月間

*【包装単位】

統一商品コード

品名	規格
326063000	
トリコ・アサヒ A b チェック	960 回
①抗原固相化プレート	8 ウェル×240
②検体希釈液	100mL×10
③対照用陽性血清	(1.5mL 用)×18
④酵素標識抗体	(6.0mL 用)×40
⑤発色液	105mL×3
⑥反応停止液	105mL×3
⑦濃縮洗浄液	100mL×20

付属品：プレートシール 60 枚

【主要文献】

1. Mizobe T, Yamasaki H, Doi K, Ando M, Onoue K.: Analysis of serotype-specific antibodies to *Trichosporon cutaneum* types I and II in patients with summer-type hypersensitivity pneumonitis with monoclonal antibodies to serotype-related polysaccharide antigens. J Clin Microbiol. 31(7):1949-1951. (1993).
2. 安藤正幸: 過敏性肺炎の病態と治療. 日本内科学会雑誌. 89(1):1717-1727. (2000)
3. Nishiura Y, Nakagawa-Yoshida K, Suga M, Shinoda T, Gueho E, Ando M.: Assignment and serotyping of *Trichosporon* species: the causative agents of summer-type hypersensitivity pneumonitis. J Med Vet Mycol. 35(1):45-52. (1997)
4. Mizobe T, Ando M, Yamasaki H, Onoue K, Misaki A.: Purification and characterization of the serotype-specific polysaccharide antigen of *Trichosporon cutaneum* serotype II: a disease-related antigen of Japanese summer-type hypersensitivity pneumonitis. Clin Exp Allergy. 25(3):265-272. (1995)
5. 新井徹, 井上義一, 北市正則: さまざまな過敏性肺炎 1) 夏型過敏性肺炎. 呼吸器科. 13(5):404-411. (2008)
6. 三宅修司, 浜岡章, 吉澤靖之: マウス抗 *Trichosporon asahii* モノクローナル抗体 D-8 を用いた抗原接合 ELISA 法による夏型過敏性肺炎診断の有用性について. 日呼吸会誌. 39(1):7-11. (2001)
7. 溝部孝則, 足立照士, 浜岡章, 安藤正幸: 夏型過敏性肺炎の Enzyme-Linked Immunosorbent Assay による血清診断の有効性の検討. アレルギー. 51(1):20-23. (2002)

【問い合わせ先】

株式会社シノテスト カスタマーサポート

TEL 0120-66-1141

FAX 042-753-1892

(品質に関するお問い合わせの際は、製造番号を確認の上ご連絡ください。)

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】



株式会社シノテスト

神奈川県相模原市南区大野台4-1-93
TEL : 0120-66-1141

(260528)