体外診断用医薬品

＊＊2023年 4月改訂(第4版)
＊2020年 4月改訂(第3版)

承認番号　16300EZZ01786000

** ご使用の際は，電子化された添付文書をよくお読みください

クラスⅢ免疫検査用シリーズ
ツツガムシ病抗体キット

ＦＡ標本Ｒ．ツツガムシ「生研」

Gilliam株・Karp株・Kato株

【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，結果の信頼性を保証致しません。
**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。

【形状・構造等(キットの構成)】

ＦＡ標本Ｒ．ツツガムシ「生研」　各10ウェル　5枚
(各株別の製品です。)

・Gilliam株
つつが虫病リケッチア(Gilliam株)を塗抹固定したものです。
・Karp株
つつが虫病リケッチア(Karp株)を塗抹固定したものです。
・Kato株
つつが虫病リケッチア(Kato株)を塗抹固定したものです。

【使用目的】

血清中のつつが虫病リケッチア抗体価の測定(IF法※1)
※1：IF法；間接蛍光抗体法(Indirect fluorescent antibody techniquesの略)

【測定原理】

無蛍光スライドグラスに塗抹固定されたつつが虫病リケッチアと検体を反応させて洗浄します。次に，目的に応じた市販のFITC標識抗ヒト免疫グロブリン抗体と反応させて洗浄し，封入液で封入後，蛍光顕微鏡で観察します[1) 2) 3)]。

【操作上の注意】

１．測定試料の性質，採取法
分離した血清は分離当日中に試験を行ってください。試験が翌日以降になる場合は血清を-20℃以下で凍結保存し，試験時に常温(15～25℃)で融解して使用してください。-20℃の凍結保存では凍結後1箇月まで，安定な成績が得られることが確認されています。また，凍結した血清は凍結融解を2回以上繰り返さないでください。凍結融解を繰り返すと抗体価が変動し，試験結果に影響を与える可能性があります。

２．妨害物質・妨害薬剤
妨害物質は確認されていません。

３．その他
1) IgM抗体を測定する場合，一次反応の時間は4時間が適当とする文献[1)]があります。
2) 一次反応及び二次反応中はリケッチア塗抹標本を乾燥させないように注意してください。
3) 検体やFITC標識抗ヒト免疫グロブリン抗体をスライドグラスの各ウェルにのせる際は，塗抹した標本をキズつけないように注意してください。
4) 次の場合，塗抹した標本が剥げる恐れがあるので注意してください。
(1)反応したスライドグラスを洗浄する際，振盪が激しすぎた場合。
(2)定められた貯蔵方法に従わず，凍結・融解を繰り返した場合。

【用法・用量(操作方法)】

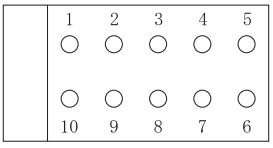
１．準備する器具
1) マイクロピペット 5μL用
2) 小試験管(容量5～7mL)
3) メスピペット(希釈用)
4) カバーグラス(無蛍光)
5) 染色バット
6) 金枠(洗浄用)
7) 蛍光抗体用標本洗浄器
8) インキュベーター(37℃)
9) 湿潤箱
10) ドライヤー等の冷風発生装置
11) 蛍光顕微鏡
12) ろ紙

２．試薬の調製
1) PBS(－)
調製例

NaCl	8.0g
KCl	0.2g
Na_2HPO_4(無水)	1.15g
KH_2PO_4	0.2g

精製水に溶解し，1L(pH 7.4)に調製します。
2) FITC標識抗体液(4単位蛍光抗体液)
測定したい抗体のクラスに応じたFITC標識抗ヒト免疫グロブリン抗体を用意します。つつが虫病リケッチア抗体陽性検体と2倍階段希釈した蛍光抗体を反応させ，蛍光陽性を示す最終希釈倍数を1単位とし，4単位となる使用希釈倍数を決め，4単位蛍光抗体液を調製します。
3) 封入液
0.5mol/L炭酸・重炭酸緩衝液※2 1容と，無蛍光グリセリン9容を十分に混和します。
※2：0.5mol/L炭酸・重炭酸緩衝液；0.5mol/L Na_2CO_3と0.5mol/L $NaHCO_3$を1:3の割合で混和します(pH9.5)。

３．操作法
＜スクリーニングの場合＞
試験操作は抗体価の測定の場合と同様ですが，検体をPBS(－)で10倍に希釈して行います。
＜抗体価の測定の場合＞
1) 検体の希釈
PBS(－)で10倍から2倍階段希釈し，1280倍まで希釈します。
2) リケッチア塗抹標本の準備
標本を冷蔵庫から取り出し，室温に戻してから開封し，リケッチア塗抹面を上にして水平におきます。
3) 一次反応
(1)図のように希釈検体，陽性及び陰性血清をマイクロピペットで5μLずつ各ウェルのリケッチア塗抹面にのせて広げます。



No.1～8のウェルに希釈検体
No.9　のウェルに陰性血清
No.10　のウェルに陽性血清

(2)検体をのせ終ったスライドグラスを，直ちに湿潤箱に入れフタをして，37℃で40～60分間反応させます。
4) 洗浄
(1)反応が終ったスライドグラスを取り出し，その表面をPBS(－)で静かに洗い流します。
(2)PBS(－)を入れた染色バットにスライドグラスを入れ，3分間，5分間，7分間と3回振盪洗浄を行います。PBS(－)は各回ごとに新しいものを使用してください。
(3)洗い終えたスライドグラスの水を切り，さらに，ろ紙などの上にスライドグラスを立て，ドライヤーなどで冷風をあてて十分に乾燥させます。

5) 二次反応
(1)乾燥したスライドグラスの各ウェルに4単位蛍光抗体液を5μLのせます。
(2)湿潤箱に入れてフタをし,37℃で40分間反応させます。
6) 洗浄
4)洗浄の(1)～(3)と同様の操作を繰り返します。
7) 封入
封入液を各ウェルに少量のせ,カバーグラスをかぶせます。
8) 観察及び判定
蛍光顕微鏡の200～500倍率で観察します。対照血清の蛍光染色所見を参考にしながら観察し，下記の基準により陽性と判定した最高希釈倍数を検体の抗体価とします。

【測定結果の判定法】

判定基準

まったくリケッチア粒子が観察されず細胞の自己蛍光のみ観察される場合	－	陰　性
リケッチア粒子がわずかに蛍光色を示し，ぼんやりと不完全ながら観察される場合	±	
リケッチア粒子がよく蛍光色を示し，明らかにリケッチア粒子が観察される場合	＋	陽　性
リケッチア粒子が明らかに粒子状に観察され，蛍光色の輝度が中程度を示す場合	2+	
(2+)よりも輝度が強く，ハレーションによりリケッチア粒子が明瞭でない場合	3+	

「判定上の注意」
判定し易くするため，リケッチア粒子の他に微量の細胞破片を加えて塗抹してあります。判定基準に従って判定してください。

【性能】

1．感度
つつが虫病リケッチア抗体陽性・陰性のパネル血清を用いて試験を行ったとき,陽性血清は160～640倍の抗体価を示し,陰性血清は10倍以下を示します。
2．正確性
Gilliam, Karp, Kato各株のモルモット免疫血清を用いて試験を行ったとき，対応する株の免疫血清では640～2560倍の抗体価を示し，対応しない他の2株の免疫血清では320倍以下を示します。
3．同時再現性
つつが虫病リケッチア抗体陽性パネル血清を用いて同時に3回の試験を行ったとき，いずれも160～640倍の抗体価を示します。

【使用上又は取扱い上の注意】

1．取扱い上(危険防止)の注意
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保護具(眼鏡,手袋,マスク等)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．使用上の注意
1) 本品は凍結をさけ，貯蔵方法に従い保存してください。
2) 検体相互間の汚染を防ぐため,検体をサンプリングする際,同一チップの使用は避けてください。
3) 使用期限を過ぎた製品は使用しないでください。
4) 製造番号の異なる試薬を組み合わせたり，混ぜ合わせて使用しないでください。また，同一製造番号の試薬であっても試薬間の注ぎ足しは測定誤差を生じる原因となりますので避けてください。

3．廃棄上の注意
1) 検体中には感染性物質が存在する可能性がありますので,廃液，使用済み器具などは，次のいずれかの方法で滅菌処理を行ってください。
(1)最終濃度3.5vol%グルタルアルデヒド溶液に，30分間以上浸漬する。
(2)0.5w/v%次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素5 000ppm)に，1時間以上浸漬する。
(3)121℃で20分間以上高圧蒸気滅菌をする。
2) 本品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定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℃に保存
有効期間　6箇月
(外箱に表示の使用期限内にご使用ください。)

【包装単位】

各株別

コードNo.	製品名	包装
320674	ＦＡ標本Ｒ．ツツガムシ「生研」Gilliam株	10ウェル×5枚
320681	ＦＡ標本Ｒ．ツツガムシ「生研」Karp株	10ウェル×5枚
320698	ＦＡ標本Ｒ．ツツガムシ「生研」Kato株	10ウェル×5枚

【主要文献】

1) 厚生省レファレンスシステム研究班：恙虫病検査法，6(昭60).
2) 国立予防衛生研究所学友会編：けい光抗体法,ウイルス実験学,総論,改訂2版,丸善,297(1973).
3) 後藤　敦：蛍光抗体法によるつつが虫病リケッチアの型特異抗原の研究，日本細菌学雑誌，23(6)，437(1968).

*****【問い合わせ先】**

デンカ株式会社　試薬学術担当
〒103-8338　東京都中央区日本橋室町二丁目1番1号
フリーダイヤル　0120-206-072
受付時間　9:00～17:00　(土日祝日・弊社休業日を除く)

＊製造販売元
デンカ株式会社
新潟県五泉市木越字鏡田１３５９番地１

F3-11K/R05