体外診断用医薬品

＊＊2023 年 11 月改訂(第 5 版)
＊2015 年 8 月改訂(第 4 版)

BIO-RAD

72841-PI05

承認番号:22200AMX00340000

トキソプラズマ免疫グロブリン M キット

プラテリア トキソ IgM

(PLATELIA™ TOXO IgM)

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

■全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 添付文書に記載の使用方法に従ってください。それ以外の使用で得られたデータについては保証を致しかねます。
3. 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。
4. 陰性コントロール(R3)、キャリブレーター(R4)および陽性コントロール(R5)には、ヒト由来成分が含まれており、感染の危険がありますので感染性のあるものとして取り扱ってください。
5. 使用する機器の添付文書及び取扱い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)

ラベル	試 薬	性 状	規 格	主 要 成 分
R1	固相マイクロプレート	マイクロプレート	1 枚 (96 ウェル)	抗ヒト IgM ヤギポリクローナル抗体
R2	洗浄原液	液 状	70mL×1 本	トリス塩酸緩衝液
R3	陰性コントロール	液 状	0.75mL×1 本	陰性ヒト血清
R4	キャリブレーター	液 状	0.75mL×1 本	抗トキソプラズマ IgM 抗体陽性ヒト血清
R5	陽性コントロール	液 状	0.75mL×1 本	抗トキソプラズマ IgM 抗体陽性ヒト血清
R6a	トキソプラズマ抗原	凍 結 乾燥品	2 本 (14mL 用)	トキソプラズマ抗原
R6b	酵素標識抗体	液 状	0.4mL×1 本	ペルオキシダーゼ標識抗トキソプラズママウスモノクローナル抗体
R7	希釈液	液 状	80mL×1 本	トリス塩酸緩衝液
R9	発色液	液 状	28mL×1 本	テトラメチルベンジジン、過酸化水素
R10	反応停止液	液 状	28mL×1 本	0.5mol/L 硫酸

■使用目的

血清又は血漿中の抗トキソプラズマIgM抗体の検出(トキソプラズマ感染の診断の補助)

■測定原理

本品は、酵素免疫測定法(ELISA法)を原理としています。
抗ヒトIgMヤギポリクローナル抗体を固相として、トキソプラズマ抗原とペルオキシダーゼ標識抗トキソプラズママウスモノクローナル抗体の混合物を酵素標識抗体として用いています。

1) マイクロプレートに検体を加えると、検体中の抗IgM抗体が、固相された抗ヒトIgMヤギポリクローナル抗体に結合します。
2) 抗原−酵素標識抗体液(トキソプラズマ抗原とペルオキシダーゼ標識抗トキソプラズママウスモノクローナル抗体の混合物)を加えると、固相に結合した抗IgM抗体のうちトキソプラズマに特異的な抗IgM抗体に結合し複合体(抗ヒトIgMヤギポリクローナル抗体−抗トキソプラズマIgM抗体−トキソプラズマ抗原−ペルオキシダーゼ標識抗トキソプラズママウスモノクローナル抗体)を形成します。
3) 発色液を加えると過酸化水素を酸化剤としたテトラメチルベンジジンの酸化反応が触媒され発色します。
4) 反応停止液を加え、その吸光度を測定します。
5) キャリブレーターの吸光度から得られたカットオフ値を用いて結果を判定します。

■操作上の注意

1. 測定検体の性質、採取法

1) 本品による測定は、血清又は血漿を使用してください。
2) 加熱により非働化した検体は使用しないでください。
3) 採取した検体は2〜8℃で保存し、7日以内に使用してください。それ以降は−20℃以下で凍結保存してください。凍結・融解を3回以上繰り返した検体は使用しないでください。
4) フィブリン等の凝集塊が著しい検体は、遠心して除去してから使用してください。
5) 検体の微生物汚染、著しい溶血、高脂肪の血清及び血漿は、測定値に影響がみられる場合がありますので、使用しないでください。
6) 冷蔵または凍結保存されていた検体は、室温に戻しよく混和してから使用してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

検体にアルブミン90g/L、ビリルビン100mg/L、トリオレイン36g/L、ヘモグロビン10g/Lを添加して検討したところ、測定値に対する影響は認められませんでした。

3. 操作上の留意事項

1) マイクロプレートの洗浄は非常に大切な操作ですので、確実に行ってください。但し、ウェルの内面をこすらないように注意してください。
2) 希釈液(R7)で溶解したトキソプラズマ抗原液は透明です。
3) 抗原−酵素標識抗体液(R6)は、使用する1時間以上前に調製してください。
4) 発色液(R9)は無色透明です。青色が認められた場合には使用しないでください。

■用法・用量(操作方法)

試薬は18〜30℃に戻してから使用してください。

1. 試薬の調製法

	試 薬	調 製 法	有 効 期 間
	R1 固相マイクロプレート	室温で 30 分以上経過してから開封してください。検体数に応じて必要数を取り出し、残りは袋に戻して密封保存します。	開封後、2〜8℃/8 週間(同封の乾燥剤を使用してください)。
	R2 洗浄原液	洗浄原液(R2)を精製水で20倍に希釈し洗浄液とします。	開封後、バイアルに示した期間。 調製後、2〜30℃/2 週間。
	R3 陰性コントロール R4 キャリブレーター R5 陽性コントロール	各試薬を希釈液(R7)で21倍希釈します。	開封後、2〜8℃/8 週間。
＊＊	R6a+R7 トキソプラズマ抗原液	トキソプラズマ抗原(R6a)1 バイアルにつき希釈液(R7)14mL を加え溶解します。	調製後、2〜8℃/4 週間。
＊＊	R6 抗原−酵素標識抗体液	溶解後のトキソプラズマ抗原液(R6a+R7)1バイアルに酵素標識抗体(R6b)140 μL を加え、抗原−酵素標識抗体液(R6)とします。使用する少なくとも 1 時間前に調製を行ってください。	調製後、18〜30℃/8時間。
	R7 希釈液	そのまま使用します。	開封後、2〜8℃/8 週間。
	R9 発色液	そのまま使用します。	開封後、2〜8℃/8 週間。
	R10 反応停止液	そのまま使用します。	開封後、バイアルに示した期間。

＊2. 必要な器具・試薬
1) 精製水
2) マイクロピペット(10～1000μL、1mL、2mL、10mL)
3) メスシリンダー(25～1000mL)
4) 恒温槽(37±1℃)
5) マイクロプレートウォッシャー
6) マイクロプレートリーダー(主波長450nm、副波長620nm)
7) 吸水紙
8) 使い捨て手袋
9) 廃液処理液／廃液処理容器
10) 粘着フィルム

＊＊3. 測定操作法
1) 洗浄原液(R2)を精製水で20倍に希釈し、洗浄液とします。
2) トキソプラズマ抗原(R6a)1バイアルに希釈液(R7)14mLを加え溶解させ、トキソプラズマ抗原液(R6a+R7)を調製します。溶解させたトキソプラズマ抗原液(R6a+R7)1バイアルに酵素標識抗体(R6b)140μLを加え、抗原−酵素標識抗体液(R6)とします。
3) 検体、陰性コントロール(R3)、キャリブレーター(R4)及び陽性コントロール(R5)を希釈液(R7)で21倍希釈します。
4) 検体数に応じて固相マイクロプレート(R1)を取り出し、各ウェルに希釈した検体、陰性コントロール(R3)、キャリブレーター(R4)及び陽性コントロール(R5)を下記の順序で200μLずつ分注します。キャリブレーター(R4)は2重測定してください。

A1	: 陰性コントロール(R3)	200μL
B1、C1	: キャリブレーター(R4)	200μL
D1	: 陽性コントロール(R5)	200μL
E1、F1…	: 検体	200μL

5) 粘着フィルムでシールし、37±1℃で60±5分間反応させます。
6) 粘着フィルムを取り除き、各ウェルの液を吸引除去し、350μLの洗浄液で4回洗浄します。毎回、吸水紙の上でマイクロプレートを逆さにして叩き、ウェル内に洗浄液を残さないようにします。
7) 調製した抗原−酵素標識抗体液(R6)を各ウェルに200μLずつ加えます。抗原−酵素標識抗体液(R6)は使用前に緩やかに混和してください。
8) 粘着フィルムでシールし、37±1℃で60±5分間反応させます。
9) 粘着フィルムを取り除き、各ウェルの液を吸引除去し、350μLの洗浄液で4回洗浄します。吸水紙の上でマイクロプレートを逆さにして叩き、ウェル内に残った洗浄液を除きます。
10) 光を避け、各ウェルに発色液(R9)を200μLずつ素早く分注します。18～30℃・暗所で30±5分間反応させます。粘着フィルムは不要です。
11) 各ウェルに反応停止液(R10)を100μLずつ加え、反応を停止させます。発色液(R9)を分注した順番、速度と同様に行ってください。
12) 吸光度を主波長450nm/副波長620nmにて測定します。吸光度は反応停止後30分以内に測定してください。また、吸光度測定前は光を避けてください。

4. 測定系の確認
キャリブレーターとコントロール類から得られた吸光度(OD)及びカットオフインデックス(C.O.I.)が次の条件を満たしていない場合には、再測定を行ってください。

吸光度(OD)
- CO($\overline{\text{OD R4}}$) ≧ 0.300
- 0.80×CO ＜ OD R4 ＜ 1.20×CO

カットオフインデックス(C.O.I.)
- C.O.I. R3 ≦ 0.30
- C.O.I. R5 ≧ 1.80

■測定結果の判定法

1. 判定
1) カットオフ値(CO)の算出
キャリブレーター(R4)の2重測定の平均吸光度(OD)をカットオフ値(CO)とします。

CO＝R4の平均吸光度(OD)

2) カットオフインデックス(C.O.I.)の算出
検体の吸光度(OD)をカットオフ値(CO)で割り、カットオフインデックス(C.O.I.)を算出します。

検体のC.O.I.＝検体の吸光度 / CO

3) 結果の判定
検体のカットオフインデックス(C.O.I.)より、次のように判定します。

C.O.I.	判 定	解 釈
C.O.I. ＜ 0.80	陰 性	最近のトキソプラズマ感染のないことが考えられます。
0.80 ≦ C.O.I. ＜ 1.00	判定保留	トキソプラズマ感染の疑いがあります。最初の検査から少なくても3週間以降に再検査及びトキソプラズマIgGなどの別の検査方法による確認が必要です。
C.O.I. ≧ 1.00	陽 性	トキソプラズマ感染があることが考えられます。

2. 判定上の注意
1) トキソプラズマ症感染の診断は、臨床症状や他の検査結果等に基づき行ってください。本品で陽性又は判定保留の場合には、再測定してください。抗トキソプラズマIgM抗体測定の結果のみでは、最近感染したという十分な証拠にはなりません。
2) 最近感染したという診断は、臨床症状や他の検査結果〔抗トキソプラズマIgG抗体価の大幅な上昇(約3週間以上の間隔を空けて採取した2検体を同時測定)、十分な量の抗トキソプラズマIgM抗体の存在など〕を含めた患者情報に基づき行ってください。
3) IgM抗体は数ヶ月間(まれに数年間)血中に存在することがありますので、抗トキソプラズマIgM抗体の存在は、最近感染したという十分な証拠にはなりません。抗トキソプラズマIgM抗体が検出された場合、抗トキソプラズマIgG抗体価の測定及び約3週間以上の間隔を空けて採取した検体を用いて抗体価の推移を確認してください。
4) 感染直後に測定を行った場合、血中に十分な量の抗体が出現していない可能性があります。感染が疑われる場合には、約3週間後に再採血を行い測定を行ってください。
5) 自己免疫疾患患者の血清では、非特異的反応が起こりうるので測定結果に基づく診断は他の検査結果や臨床症状等を加味して総合的に判断してください。

■性能

1. 性能
「測定操作法」に記載の操作方法により、感度、正確性、同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格に適合します。
1) 感度
キャリブレーターを試料として測定したときの吸光度は、0.300以上です。
陰性コントロールを試料として測定したとき、カットオフインデックスは0.30以下です。
陽性コントロールを試料として測定したとき、カットオフインデックスは1.80以上です。
2) 正確性
陰性管理検体を試料として測定した場合、陰性に判定されます。
陽性管理検体を試料として測定した場合、陽性に判定されます。
3) 同時再現性
同一管理検体を同時に3回測定するとき、すべて同一の判定結果を示します。

管理用物質
ここで用いる陰性コントロール、キャリブレーター及び陽性コントロールはキットの構成試薬であり、ヒト血清由来です。また、管理検体もヒト血清由来です。

2. 測定範囲(検出感度)
陰性検体(陰性コントロール)を用いて、平均値＋2SDより求めたトキソプラズマIgM抗体の検出感度は、C.O.I. 0.065でした。

3. 相関性

対照品(既承認品)を用い、相関性の検討を行った。対照品は本品と同じ測定原理(ELISA法)を用いた「トキソプラズマ免疫グロブリンMキット」です。

806検体における相関性の検討結果は次のとおりです。

		対照品			合 計
		陰 性	判定保留	陽 性	
本 品	陰 性	736	0	0	736
	判定保留	1	8	0	9
	陽 性	0	1	60	61
合 計		737	9	60	806

一致率:99.8%(804/806)

陰性一致率:99.9%(736/737)、陽性一致率:100%(60/60)

4. 較正用の基準物質(標準物質)

自社規格

■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) 検体はHBV、HCV、HIVなどの感染の恐れがあるものとして取扱ってください。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、また口によるピペッティングを行わないでください。
2) 陰性コントロール(R3)、キャリブレーター(R4)、陽性コントロール(R5)はHBs抗原、HIV-1/2及びHCV抗体の検査を行い、陰性の結果を得ています。しかしながら、万一の場合を考え感染性のあるものとして、検体同様十分に注意して取扱ってください。
3) 試薬が誤って皮膚に触れたり、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。

2. 使用上の注意

1) 試薬は凍結しないように注意してください。保存する場合は、指定の貯蔵方法に従って保存してください。
2) 有効期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
3) 本品は正確な値が得られるように調製してありますので、ロットの異なる試薬と組み合わせて使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

1) 検体中にはHBV、HCV、HIVなどが存在する場合がありますので、使用した器具(ピペット、試験管など)、廃液などは、次亜塩素酸ナトリウム液(有効塩素濃度1,000ppm以上、1時間以上浸漬)などによる消毒のほか、オートクレーブ処理(121℃、20分)による滅菌や焼却などの処理を行ってください。
2) 検体または検体を含む溶液が飛散した場合は下記の方法を参考にして処理してください。
   - アルカリ性溶液が飛散した場合は、飛散した部分を次亜塩素酸ナトリウム液(有効塩素濃度1,000ppm以上)で消毒した後拭き取り、廃棄バッグにいれて決められた指針に従って廃棄してください。
   - 酸性溶液が飛散した場合は、重炭酸ナトリウムなどを用いて中和させた後、同様に次亜塩素酸ナトリウム液を用いて処理してください。
3) 試薬及び容器等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理してください。

■貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

2～8℃で、凍結を避けて保存してください。

2. 有効期間

12ヵ月間

(使用期限は外箱ラベルに記載されています)

■包装単位

1キット: 96ウェル(1プレート)

■主要文献

1) ANDERSON S.E. and REMINGTON J.S.: The diagnosis of toxoplasmosis. Southern Med. J. 1975; 68, 1433-1443.
2) DECOSTER A. ,DARCY F., CARON A., VINATIER D., HOUZE DE L'AULNOIS D., VITTU G., NIEL G., HEYER F., LECOLIER B., DELCROIX M., MONNIER J.C., DUHAMEL M. and CAPRON A.: Anti-P30 IgA antibodies as prenatal markers of congenital Toxoplasma infection. 1992;87, 310-315.
3) JENUM P.A., STRAY-PEDERSEN B., MELBY K.K., KAPPERUD G., WHITELAW A., ESKILD A. and ENG J.: Incidence of Toxoplasma gondii infection in 35 940 pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J. Clin. Microbiol. 1998; 36, 2900-2906.
4) JENUM P.A. and STRAY-PEDERSEN B.: Development of specific immunoglobin's G, M, and A following Toxo-plasma gondii infection in pregnant women in Norway and pregnancy outcome for infected women. J. Clin. Microbiol. 1998; 36, 2907-2913.
5) JENUM P.A., STRAY-PEDERSEN B. and GUNDERSON A.G.: Improved Diagnosis of primary Toxoplasma gondii infection in early pregnancy by determination of anti-Toxoplasma immunoglobulin G avidity. J. Clin. Microbiol. 1997; 35, 1972-1977.
6) LECOLIER B. and PUCHEU: Usefulness of IgG avidity analysis for the diagnosis of toxoplasmosis . Path. Biol. 1993; 42,2 155-158.
7) REMINGTON J.S. and DESMONTS G.: Toxoplasmosis in infectious disease of the fetes and newborn infant. JS Remington and JO Klein, eds. WB Saunders Co., Philadelphia 1976; 191-332.
8) SULHANIAN A., NUGUES C., GARIN J.F., PELLOUX H., LONGUET P., SLIZEWICZ B. and DEROUIN F.: Serodiagnosis of toxoplasmosis in patients with acquired or reactivating toxoplasmosis and analysis of the specific IgA antibody response by ELISA, agglutination and immunblotting. Immunolo. Infect. Dis. 1993; 3, 63-69.
9) WILSON M., REMINGTON J.S., CLAVET C., VARNEY G., PRESS C., WARE D. and the FDA TOXOPLASMOSIS AD HOC WORKING group: Evaluation of six commercial kits for detection of human immunoglobulin M. antibodies to Toxoplasma gondii J. Clin. Microbiol. 1997; 35,3112-3115.
10) WONG S.Y. and REMINGTON J.S.: Biology of Toxoplasma gondii AIDS 1993; 7, 299-316.

*■問い合わせ先

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
〒140-0002
東京都品川区東品川2-2-24 天王洲セントラルタワー
TEL:0120-925-046
FAX:03-5463-8481

製造販売元
BIO-RAD バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
東京都品川区東品川 2-2-24 天王洲セントラルタワー
TEL:03-6361-7070