

IgG RF測定試薬キット トキワ (EIA)

【警告】

該当なし

【重要な基本的注意】

該当なし

【全般的な注意】

- (1)本製品は体外診断用であり、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に基づいて総合的に判断して下さい。
- (3)添付文書以外の使用方法については保証致しません。
- (4)使用する機器の添付文書及び取り扱い説明書をよく読んでからご使用下さい。
- (5)本製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は水で十分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。

【形状・構造等（キットの構成）】

(1)Fc/BSA 固相化プレート	各 48 ウエル	1 包装
(2)検体希釈液	50mL	1 本
(3)洗浄用濃縮緩衝液(10 倍濃縮液)	55mL	1 本
(4)ウシ血清アルブミン液	2.75mL	1 本
(5)酵素標識抗体(凍結乾燥品)	12.0mL 用	1 本
(6)酵素標識抗体溶解液	12.5mL	1 本
(7)酵素基質(錠剤)	12.0mL 用	1 個
(8)酵素基質溶解液	12.5mL	1 本
(9)反応停止液	12.5mL	1 本
(10)陽性コントロール(凍結乾燥品)	0.2mL 用	1 本
(11)正常コントロール(凍結乾燥品)	0.2mL 用	1 本

【使用目的】

血清中リウマトイド因子 (IgG) 型の測定

【測定原理】

検体中の RF と固相化ヒト IgG/Fc を反応させ、次に固相に結合した RF のうち IgG 型 RF と反応する酵素標識抗ヒト IgG/Fd 抗体を反応させる。その結果生じた抗原抗体結合物中の酵素量を測定し、IgG RF 量を求める酵素免疫測定法を原理とする。(文献-1)

【操作上の注意】

- (1)検体は新鮮な血清を使用し、加熱非働化検体は使用しないで下さい。やむを得ず保存する場合は凍結保存とし、凍結融解の繰り返しは避けて下さい。測定に際しては、融解後よく混和し使用して下さい。
- (2)濁り、沈殿物のある検体は、遠心分離・濾過などによりこれらを取り除いてから測定して下さい。

- (3)分注操作は精度に影響しますので正確に行い、検体相互間の汚染による誤差を防ぐために各検体ごとに新しいチップを使用して下さい。
- (4)洗浄用濃縮緩衝液は 10℃以下の保存で結晶が析出することがあります。そのような場合には調製時に溶解している事を確認してから使用して下さい。
- (5)分注操作等に際して、Fc/BSA 固相化ウエルの内側をチップ等で擦らないよう注意して下さい。
- (6)各々の反応の温度及び時間は厳守して下さい。
- (7)ウエル内の洗浄液を吸引後、キムタオル等の上でウエルを逆さにしてタッピングを数回行い、ウエル内に水分が残らないようにして下さい。また、当操作終了後すみやかに酵素標識抗体液及び酵素基質液の添加を行い、ウエル内面の乾燥をできるだけ避けて下さい。
- (8)酵素基質液及び反応停止液の使用の際、これらの試薬が金属に触れないよう注意して下さい。
- (9)酵素基質液の調製は使用 30 分以内に行って下さい。
- (10)反応停止液は目や手などに付着しないよう注意して下さい。
- (11)妨害物質
次の物質は記載の濃度まで影響を受けません。
乳ビ 1000mg/dL
ヘモグロビン 500mg/dL
ビリルビン 62.5mg/dL

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製法

- (1)陽性コントロール液及び正常コントロール液
陽性コントロール及び正常コントロールに精製水 200 μ L を加えて溶解します。
- (2)洗浄用溶液
洗浄用濃縮緩衝液 1 容(例えば 50mL)に精製水 9 容(例えば 450mL)を加えて混合し、ウシ血清アルブミン液 1/20 容(例えば 2.5mL)を加えてよく攪拌します。
- (3)酵素標識抗体液
酵素標識抗体に酵素標識抗体溶解液 12mL を加えて溶解します。
- (4)酵素基質液
酵素基質溶解液 12mL に酵素基質 1 錠を加えて溶解します。
- (5)Fc/BSA 固相化プレート、検体希釈液及び反応停止液はそのまま用います。

2. 測定方法

- (1)陽性コントロール、正常コントロール及び検体(血清)を検体希釈液でそれぞれ 41 倍に希釈します。
- (2)希釈陽性コントロール、希釈正常コントロール及び希釈検体 100 μ L を各々Fc 固相化ウエルと BSA 固相化ウエルに添加します。陽性コントロール及び正常コントロールは 2 重測定とします。また、奇数列に Fc ウエル、偶数列に BSA ウエルを配列しています。
- (3)ウエルにプレートシールを張り、37℃で 1 時間静置反応を行います。
- (4)反応終了後、ウエル内液を吸引除去し、洗浄用溶液で各ウエルを 5 回洗浄します。
- (5)最終洗浄液を吸引除去後、酵素標識抗体液 100 μ L を全てのウエルに添加します。
- (6)ウエルにプレートシールを張り、37℃で 1 時間静置反応を行います。

- (7)反応終了後、ウエル内液を吸引除去し、洗浄用溶液で各ウエルを5回洗浄します。
- (8)最終洗浄液を吸引除去後、酵素基質液 100 μL を全てのウエルに添加します。
- (9)常温(15~25℃)で30分間静置して反応させます。
- (10)反応終了後、全てのウエルに反応停止液 100 μL を加え、反応を停止します。
- (11)EIA マイクロプレートリーダーを用い、ウエル内反応溶液の吸光度を測定します。
 - 1 波長測定：波長 492nm 又は 490nm
 - 2 波長測定：(波長 492nm 又は 490nm) - (波長 590nm 又は 600nm)

【測定結果の判定法】

(1)IgGRF Index の算出法
陽性コントロール及び検体中のリウマトイド因子(IgG 型)は次の計算式により IgGRF Index として算出します。

$$\text{IgGRF Index} = \frac{\text{FcS OD} - \text{BSAS OD}}{\text{FcC OD} - \text{BSAC OD}}$$

FcS OD=陽性コントロール及び検体の Fc 固相化ウエルの吸光度(陽性コントロールについては平均吸光度)
BSAS OD=陽性コントロール及び検体の BSA 固相化ウエルの吸光度(陽性コントロールについては平均吸光度)
FcC OD=正常コントロールの Fc 固相化ウエルの平均吸光度
BSAC OD=正常コントロールの BSA 固相化ウエルの平均吸光度

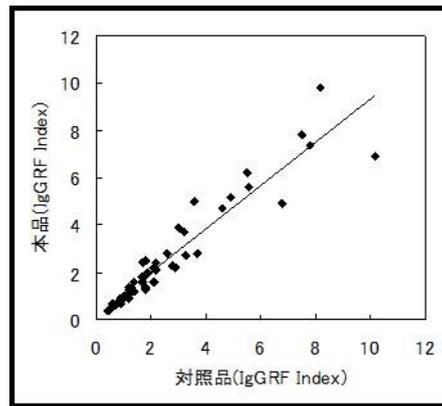
- (2)判定基準
IgGRF Index=2.0 以上の場合を陽性と判定する。
IgGRF Index=2.0 未満の場合を陰性と判定する。

【臨床的意義】

リウマトイド因子 (RF) は、IgG の Fc 部分にある抗原決定基と反応する自己抗体であり、免疫複合体を形成し、関節障害、炎症を惹起すると考えられています。RF と臨床像との関係では、RF 値が高力価な慢性関節リウマチ (RA) 患者は関節外病変を有することが多く、また、疾患活動性の高い RA 患者では RF 値が高値を示すことが多いといわれています。(*文献-2)

【性能】

- (1)感度
IgGRF を含まない試料として検体希釈液を、また自家管理血清(IgGRF Index=0.6~0.9 の範囲にあるもの)の試料を8回測定するとき、両者の Index 値の差は使用した自家管理血清の既知 Index 値の±25%の範囲です。
- (2)特異性
自家管理血清3例(陰性1例、陽性2例)を測定するとき、その測定値は既知 Index 値の±25%の範囲です。
- (3)同時再現性
同一検体を繰り返し8回測定するとき、測定値の CV は15%以下です。
- (4)測定範囲
IgGRF Index=0~8.0
- (5)相関性
本品と同一の測定法を採用している他社製品との間でそれぞれ所定の方法により検体を測定したところ、下記のような相関が得られました。
一次回帰式：y=0.9132X+0.1947
相関係数：r=0.948
検体数：n=50



		本品		
		陰性	陽性	計
他社製品	陰性	25	4	29
	陽性	1	20	21
	計	26	24	50

本品と他社製品の間に於いて 10%の不一致率を認めました。ヒト血清中の RF の測定は自己抗体という特殊な性質を持つため、精度管理上問題の多い項目であります。(文献-3) RFIgG 型の測定も self association による IgG 免疫複合体や IgG の Fc 部分と反応した RFIgM 免疫複合体等の様々な免疫複合体が存在し、抗原に対する親和力も個々の検体で異なり、通常の EIA 測定項目に比べ変動係数も大きくなっています。この様な事からカットオフ値付近では不一致例が生じる事がありますので、検体の取り扱い及び測定上の注意事項等を厳守して測定して下さい。尚、関連性が高いとされる循環性免疫複合体の検討では、本品並びに他社製品ともに相関性は全体で認められたものの、不一致検体においては関連性は見られませんでした。また、RFIgM の測定も行いましたが、相関性はなく、不一致検体との関連性も認められませんでした。(文献-4)

【使用上又は取扱い上の注意】

以下の点に注意して操作を行って下さい。

使用上の注意

- (1)異なったキット製造番号の試薬の組み合わせによる測定は行わないで下さい。
- (2)本キットは用時調製を原則としております。
- (3)測定に際して構成試薬は常温(15~25℃)に戻してから開封調製してご使用下さい。
- (4)被検血清中には感染性の細菌、ウイルス等が存在する場合がありますので、取り扱いには注意して下さい。
- (5)本キットの陽性コントロール及び正常コントロールは HBs 抗原、HIV 抗体陰性を確認していますが、その取り扱いには感染の危険性があるものとして十分にご注意下さい。
- (6)検体希釈液には保存剤として 0.1%のアジ化ナトリウムを添加してあります。アジ化ナトリウムは鉛管、鋼管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は大量の水と共に流して下さい。
- (7)酵素基質及び酵素基質液には O-フェニレンジアミン・2 塩酸が含まれていますので、手に触れたり、吸い込んだりしないように注意して下さい。
- (8)反応停止液は 2N 硫酸を用いています。当溶液を含む廃液は、中和処理を行って下さい。

(9)測定に際して用いた検体、キット内の試薬及び器具は感染の危険性があるものとして適切な処理を行った後に廃棄処分もしくは再使用して下さい。>

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法、有効期間は以下の通りです。

貯蔵方法

貯蔵方法 2～10℃に保存

有効期間

有効期間 製造から6カ月間

※使用期間は外装に記載しています。

【包装単位】

IgGRF 測定試薬キット トキワ (EIA)

1セット 48回用

【主要文献】

主要文献は、以下の通りです。

主要文献

- 1.DENNIS A. CARSON et al., : Journal of Immunology
Vol.119 295～300 (1977)
- 2.*稲富敏伸ら：東医大誌 53(3)；369～380、1995
- 3.血清検査研究班事業報告：衛生検査 Vol.38 834～845
(1989)
- 4.神宮雅男ら：リウマチ科 Vol.2 135～138 (1989)

【問い合わせ先】

常盤化学工業株式会社

〒170-0012 東京都豊島区上池袋 4-16-22

TEL 03-3940-7768

FAX 03-3940-7689

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

常盤化学工業株式会社

〒170-0012 東京都豊島区上池袋 4-16-22

【その他の安全性情報】

常盤化学工業株式会社

<http://tokiwa-chemical.com/>