

C型肝炎ウイルス群別キット

イムチェック・F-HCV Gr「コクサイ」

【全般的な注意】

- (1) 本品は体外診断用医薬品です。これ以外の目的には使用しないでください。
- (2) 診断の際には、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) 添付文書以外での使用方法については保証をいたしかねます。
- (4) 測定に使用する機器の添付文書および取扱説明書をよく読んでから使用してください。
- (5) 本キット中の陽性コントロール1および陽性コントロール2の原料である血液は、HBs抗原、HIV-1抗体及びHIV-2抗体の検査を行い、陰性の結果を得ていますが、HCV抗体は陽性の結果が得られています。56℃で10時間の加熱処理を行っていますが、感染の可能性を完全に否定できるものではありません。またそれ以外のウイルスに関する試験はしていません。感染の危険性があるものとして、検体と同様に十分注意をして取り扱ってください。

【形状・構造等(キットの構成)】

本キットは次の試薬より構成されています。

- ① 固相チューブ1
リコンビナントC14-1抗原固定チューブ。
- ② 固相チューブ2
リコンビナントC14-2抗原固定チューブ。
- ③ 標識抗体液1
ペルオキシダーゼ(POD)標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体1(マウス)他を含む溶液。
- ④ 標識抗体液2
ペルオキシダーゼ(POD)標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体2(マウス)他を含む溶液。
- ⑤ 緩衝液
- ⑥ HPPA基質液
3-(p-ヒドロキシフェニル)プロピオン酸および過酸化水素水、強 他を含む溶液。
- ⑦ 反応停止液
- ⑧ 洗浄液

- ⑨ 陰性コントロール
- ⑩ 陽性コントロール1
- ⑪ 陽性コントロール2

【使用目的】

血清又は血漿中の抗体によるC型肝炎ウイルス(HCV)の群別。

【測定原理】

本キットはチューブ固相を用いた酵素免疫測定法により、C型肝炎ウイルス(HCV)を群別する試薬です。

(1) 一次反応

C14-1抗原とC14-2抗原をそれぞれ別個に固定したチューブに検体を加えると、[C14-1抗原もしくはC14-2抗原-検体中の各抗原に対する抗体]の複合物を形成します。

(2) 二次反応

未反応液を洗浄除去した後、POD標識抗ヒトIgG抗体液1もしくは2を加えると、チューブ上に[C14-1抗原もしくはC14-2抗原-検体中の各抗原に対する抗体-POD標識抗ヒトIgG抗体1もしくはPOD標識抗ヒトIgG抗体2]の複合物を形成します。

(3) 酵素反応

未反応液を洗浄除去した後、基質液(HPPA)を加えると、チューブ上に結合した酵素(POD)により蛍光物質が生成されます。

(4) 測定

反応停止液を加えて反応を停止させた後、生成した蛍光物質に315~335nmの励起光を照射し、生じた蛍光を390~430nmで測定します。

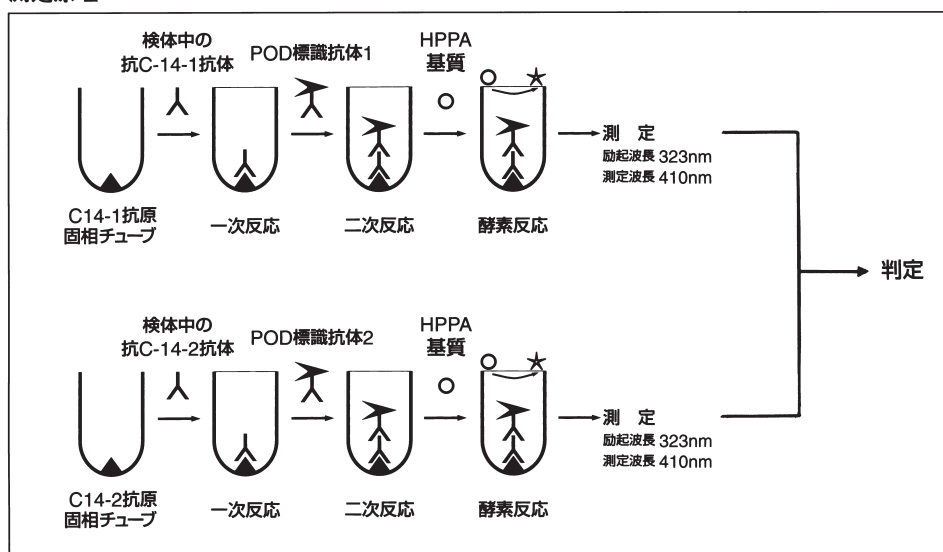
(5) カットオフ値の算出

陰性及び陽性コントロール1および陽性コントロール2についても同様の操作をし、得られた蛍光強度からカットオフ値を算出します。

(6) 結果の判定

検体のグループ1抗体価およびグループ2抗体価測定値の各々のカットオフ値に対する蛍光強度比(カットオフインデックス)を比較してグループ分けを行います。

測定原理



(特徴)

- (1) HCVのグループ判別に最適な領域を選択しているの高い特異性を示します。
- (2) PCR法の結果とよく一致します。
- (3) PCR法に比較して短時間で結果が出ます。
- (4) ペルオキシダーゼ(POD)の酵素活性の測定に蛍光基質を使用しており、短時間で高感度な測定結果を得ることができます。
- (5) 検体が20 μ Lと微量です。
- (6) RIのような特別な設備は不要です。
- (7) 試薬は液状で、溶解の手間が不要です。
- (8) 全自動酵素免疫測定装置エルジア・F300あるいはエルジア・F750の専用ボトルに入っていますので、そのまま装置にセットできます。

【操作上の注意】

(1) 測定試料の性質・採取法

- ① 検体は血清または血漿を用いてください。
- ② 検体は2~8℃保存し、24時間以上保存する場合には-20℃以下で凍結保存してください。ただし、凍結・融解の繰り返しは避けてください。
- ③ フィブリンなどの不溶解物が混在した検体は、検体吸引エラーとなり測定できないことがありますので、測定前に遠心分離を行って除去してください。

(2) 妨害物質

- ① 溶血は溶血ヘモグロビンとして470mg/dLまで影響はありませんが、血球中の他の成分については確認できません。溶血した検体の使用はできるだけ避けてください。
- ② 本キットによる測定は、抗凝固剤であるEDTA・2Na: 2.0mg/mL、ヘパリンナトリウム: 100U/mL、クエン酸ナトリウム: 10.0mg/mL及びフッ化ナトリウム: 20.0mg/mLまで影響を受けません。
- ③ 本キットによる測定は、乳び(ホルマジン濁度数): 1950度、ビリルビン: 21mg/dL及びリウマトイド因子: 510IU/mLまで影響を受けません。

【用法・用量(操作方法)】

(1) 試薬の調製方法

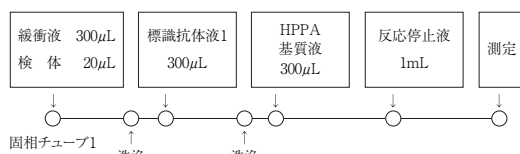
固相チューブ1, 固相チューブ2, 標識抗体液1, 標識抗体液2, 緩衝液, HPPA基質液, 反応停止液, 洗浄液, 陰性コントロール, 陽性コントロール1及び陽性コントロール2は常温に戻した後、そのまま使用してください。

(2) 必要な器具・器材・試料等

包装単位欄をご参照ください。

(3) 測定(操作)法

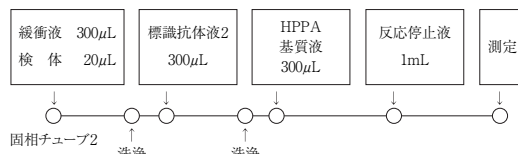
(3)-1 グループ1抗体価測定(一次測定)



- ① 固相チューブ1を常温に戻した後、開封します。
- ② 固相チューブ1に緩衝液300 μ Lを分注します。
- ③ 陰性コントロール, 陽性コントロール1または検体をそれぞれ20 μ L分注します。
- ④ 37℃で攪拌しながら9分間反応させます。
- ⑤ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑥ 固相チューブ1内の洗浄液を吸引除去した後、標識抗体液1を300 μ L分注します。
- ⑦ 37℃で攪拌しながら9分間反応させます。

- ⑧ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑨ 固相チューブ1内の洗浄液を吸引除去した後、HPPA基質液300 μ Lを分注します。
- ⑩ 37℃で攪拌しながら10分間反応させます。
- ⑪ 反応停止液1mLを分注します。
- ⑫ 反応停止後1時間以内に励起波長323nm, 蛍光波長410nmで蛍光強度を測定します。

(3)-2 グループ2抗体価測定(一次測定)



- ① 固相チューブ2を常温に戻した後、開封します。
- ② 固相チューブ2に緩衝液300 μ Lを分注します。
- ③ 陰性コントロール, 陽性コントロール2または検体をそれぞれ20 μ L分注します。
- ④ 37℃で攪拌しながら9分間反応させます。
- ⑤ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑥ 固相チューブ2内の洗浄液を吸引除去した後、標識抗体液2を300 μ L分注します。
- ⑦ 37℃で攪拌しながら9分間反応させます。
- ⑧ 洗浄液で洗浄(1.5mL, 1回)後、洗浄液1.5mLを分注して、37℃で1分間攪拌します。その後、同様の操作で洗浄(1.5mL, 2回)します。
- ⑨ 固相チューブ2内の洗浄液を吸引除去した後、HPPA基質液300 μ Lを分注します。
- ⑩ 37℃で攪拌しながら10分間反応させます。
- ⑪ 反応停止液1mLを分注します。
- ⑫ 反応停止後1時間以内に励起波長323nm, 蛍光波長410nmで蛍光強度を測定します。

(3)-3 二次測定

一次測定で判定できなかった検体を検体希釈液(EIA用)で50倍希釈して上記一次測定と同様の操作によって測定を行います。

(4) 結果の算出方法

(4)-1 グループ1抗体価

① コントロールのチェック

次のチェックを行い、結果が規格をはずれた場合には、測定系に問題がありますので、検査を初めからやり直してください。

- 1) 陰性コントロールの測定値(相対蛍光強度) ≤ 15
- 2) $80 \leq$ 陽性コントロール1の測定値(相対蛍光強度) と 陰性コントロールの測定値(相対蛍光強度) の差 ≤ 220

② カットオフ値の算出

陰性コントロール(NC)及び陽性コントロール1(PC1)の蛍光強度より下記の式に基づきカットオフ値(C.O.)を求めます。

$$C.O. = \frac{(PC1の蛍光強度) - (NCの蛍光強度)}{5} + (NCの蛍光強度)$$

③ カットオフインデックス値の算出

②で求めたカットオフ値及び検体の蛍光強度より下記の式に基づきカットオフインデックス値(C.O.I.)を求めます。

$$C.O.I. = \frac{(検体の蛍光強度) - (NCの蛍光強度)}{C.O. - (NCの蛍光強度)}$$

(4)-2 グループ2抗体価

① コントロールのチェック

次のチェックを行い、結果が規格をはずれた場合には、測定系に問題がありますので、検査を初めからやり直してください。

- 1) 陰性コントロールの測定値(相対蛍光強度) ≤ 15
- 2) $80 \leq$ 陽性コントロール2の測定値(相対蛍光強度)と陰性コントロールの測定値(相対蛍光強度)の差 ≤ 220

② カットオフ値の算出

陰性コントロール(NC)及び陽性コントロール2(PC2)の蛍光強度より下記の式に基づきカットオフ値(C.O.)を求めます。

$$C.O. = \frac{(PC2の蛍光強度) - (NCの蛍光強度)}{5} + (NCの蛍光強度)$$

③ カットオフインデックス値の算出

②で求めたカットオフ値及び検体の蛍光強度より下記の式に基づきカットオフインデックス値(C.O.I.)を求めます。

$$C.O.I. = \frac{(検体の蛍光強度) - (NCの蛍光強度)}{C.O. - (NCの蛍光強度)}$$

【測定結果の判定法】

(1) 結果の分類及び判定(一次測定)

同一検体についてグループ1抗体価測定およびグループ2抗体価測定を実施し、以下の基準に従って判定を行います。

- ① 得られたカットオフインデックス値(C.O.I.)を検体の抗体価とし、1.0以上を陽性、1.0未満を陰性とします。
- ② 各グループ抗体価測定において両方の蛍光強度が1000未満の場合、表Aに従って判定します。
- ③ 各グループ抗体価測定において両方またはどちらか一方の蛍光強度が1000以上となる場合、表Bに従って二次測定の必要性を判断します。

表A. 各グループ抗体価測定の蛍光強度が1000未満の場合

	グループ1抗体価測定 抗体価(C.O.I.) (陽/陰性)	グループ2抗体価測定 抗体価(C.O.I.) (陽/陰性)	抗体価測定 結果の分類	判 定
1	$1 \leq$ (陽性)	$1 >$ (陰性)	1	グループ1
2	$1 \leq$ (陽性)	$1 \leq$ (陽性)	$1 > 2$	グループ1
	$(\text{グループ1抗体価} \div \text{グループ2抗体価}) \geq 2$			
3	$1 \leq$ (陽性)	$1 \leq$ (陽性)	$1 = 2$	判定保留 注1)
	$(\text{高い方のグループ抗体価} \div \text{低い方のグループ抗体価}) < 2$			
4	$1 \leq$ (陽性)	$1 \leq$ (陽性)	$1 < 2$	グループ2
	$(\text{グループ2抗体価} \div \text{グループ1抗体価}) \geq 2$			
5	$1 >$ (陰性)	$1 \leq$ (陽性)	2	グループ2
6	$1 >$ (陰性)	$1 >$ (陰性)	-	判定不能 注2)

注1) 本結果の判定としては、両グループのウイルスの重感染、あるいは過去の異なった時期にそれぞれのウイルスに感染した場合が考えられます。どちらか一方のウイルスが排除されている可能性は否定しきれないので、ウイルスのグループ判定は保留とします。

注2) 本検体については、本試薬に利用している抗原に対する抗体が存在しないため、本法によってウイルスのグループ判定をおこなうことはできません。

表B. 各グループ抗体価測定において両方またはどちらか一方の蛍光強度が1000以上の場合

	グループ1抗体価測定 抗体価(C.O.I.) (陽/陰性)	グループ2抗体価測定 抗体価(C.O.I.) (陽/陰性)	抗体価測定 結果の分類	判 定
1	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	$1 >$ (陰性)	1	グループ1
2	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000未満)	保 留	グループ1 抗体価 二次測定実施 注3)
3	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	保 留	両グループ 抗体価 二次測定実施
4	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000未満)	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	保 留	グループ2 抗体価 二次測定実施 注4)
5	$1 >$ (陰性)	$1 \leq$ (陽性) (測定蛍光強度1000以上)	2	グループ2

注3) グループ2抗体価を2倍してもグループ1抗体価を上回らないことが明瞭である場合、二次測定を省略しても最終判定に支障はありません。

注4) グループ1抗体価を2倍してもグループ2抗体価を上回らないことが明瞭である場合、二次測定を省略しても最終判定に支障はありません。

(2) 二次測定

1) 結果の算出方法

一次測定法と同様にカットオフインデックス値を求めます。蛍光強度15～1000の範囲内の希釈検体のカットオフインデックス値にその希釈倍数を乗じた値を検体の抗体価とします。

2) 結果の分類と判定

分類および判定は一次測定と同様に行います。

(3) 判定上の注意

本キットは、C型肝炎ウイルス(HCV)の抗原抗体反応により群別する試薬です。本キットの結果はPCR法で判定したGenotypeとは良い一致を示しますが、まれに両者で異なる結果を示すことが有ります。

【性能】

(1) 性能

用法・用量欄の操作法により感度・正確性・同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

① 感度試験

- 1) 陰性コントロールを試料としてグループ1抗体価及びグループ2抗体価測定について操作したとき、相対蛍光強度はいずれも15以下です。
- 2) 陰性コントロール及び陽性コントロール1を試料としてグループ1抗体価測定について操作したとき、両者の相対蛍光強度差は80～220です。
- 3) 陰性コントロール及び陽性コントロール2を試料としてグループ2抗体価測定について操作したとき、両者の相対蛍光強度差は80～220です。
尚、蛍光強度は0.1N硫酸の蛍光強度を0、キニーネ液(2 μ g/mL)の蛍光強度を100(励起波長326nm、蛍光波長410nm)として相対値で表します(以下同じ)。

② 正確性試験

- 1) 陽性コントロール1を試料として操作したとき、陽性コントロール1はグループ1と判定されます。
- 2) 陽性コントロール2を試料として操作したとき、陽性コントロール2はグループ2と判定されます。

③ 同時再現性試験

同一検体を試料としてグループ1抗体価測定及びグループ2抗体価測定について同時に5回操作したとき、相対蛍光強度のC.V.は10%以下です。

④ 測定範囲

- 1) グループ1抗体価測定:カットオフインデックス1.0以上
- 2) グループ2抗体価測定:カットオフインデックス1.0以上

(2) 相関性

① 血清

本キットと同一測定法である自社既承認製品と血清検体115例について相関性を検討した結果、下記の通りとなりました。

		自社既承認製品				総数
		グループ1	グループ2	判定保留	判定不能	
本キット	グループ1	64	0	0	0	64
	グループ2	0	19	0	0	19
	判定保留	0	0	5	0	5
	判定不能	0	0	0	27	27
総 数		64	19	5	27	115

② 血漿

同一検体の血清と血漿各58例について相関性を検討した結果、下記の通りとなりました。

		血 漿				総数
		グループ1	グループ2	判定保留	判定不能	
血 清	グループ1	24	0	0	0	24
	グループ2	0	12	0	0	12
	判定保留	0	0	1	0	1
	判定不能	0	0	0	21	21
総 数		24	12	1	21	58

(3) 校正用基準物質に関する情報
社内標準品

【使用上又は取扱い上の注意】

(1) 取扱い上の注意

- ① 本キット中の反応停止液は、皮膚や粘膜に触れないように注意してください。万一、肌に触れた場合は、十分な水で洗い流してください。
- ② 検体は肝炎ウイルス等の感染の危険性を考慮して取り扱いってください。

(2) 使用上の注意

- ① 本キットはエルジア・F300専用試薬あるいはエルジア・F750専用試薬であり、異なる装置には使用できません。使用に際しては必ずエルジア・F300あるいはエルジア・F750の取扱い説明書を参照してください。
- ② すべての試薬はラベルに表示されている使用期限内のものを使用してください。
- ③ 本キットは製造番号(ロット番号)毎に正確な値が得られるように管理されていますので、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。
- ④ 陰性コントロール、陽性コントロール1および陽性コントロール2の測定は、測定日毎に行ってください。
- ⑤ 本キット中の緩衝液および標識抗体液を装置にセットするときは、ボトル内の泡を取り除いてセットしてください。
- ⑥ 試薬及び反応液は、保存中や反応中は直射日光を避けてください。
- ⑦ 試薬の取扱い時には汚染に注意し、濁り等の異常が生じた場合は、使用しないでください。
- ⑧ 本キット中の固相チューブは、開封後は湿気を避けて2～8℃に保存し、4週間以内に使用してください。

- ⑨ 本キット中の緩衝液および標識抗体液は、開封後はキャップをして2～8℃に保存し、4週間以内に使用してください。

- ⑩ 本キット中のHPPA基質液は、ほこり・手指の接触により容易に汚染されブランクが上昇します。従いまして、取扱い時には以下の点をご注意ください。

- 1) 反応時以外は容器にキャップをして保存してください。
- 2) チップやピペットは清浄なものをご使用ください。
- 3) 万一、汚染の可能性が考えられる時は試薬ブランクを確認してください。試薬ブランクが相対蛍光強度で15以上ある場合は使用しないでください。

(3) 廃棄上の注意

- ① 使用後の検体・試薬及び器具はすべて、次のいずれかの方法で処理してください。

- 1) 1%ホルマリン溶液に1時間以上浸すか、0.05%ホルマリン溶液に37℃で72時間以上浸す。
- 2) 2%グルタルアルデヒド溶液に1時間以上浸す。
- 3) 次亜塩素酸剤(1,000ppm)に1時間以上浸す。
- 4) 121℃で1時間以上オートクレーブにかける。

- ② 使用後の容器は、熱処理するか、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又は産業廃棄物等区別してください。

- ③ 試薬の容器等は他の目的に転用しないでください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法: 2～8℃。

有効期間: 12 ヶ月。

【包装単位】

品 番	製 品 名	構 成 試 薬		包 装
16321	イムチェック・F-HCV Gr1 試薬	固相チューブ1 標識抗体液1 緩衝液 HPPA基質液	80本 12mL×2 12mL×2 12mL×2	80テスト
16322	イムチェック・F-HCV Gr2 試薬	固相チューブ2 標識抗体液2 緩衝液 HPPA基質液	80本 12mL×2 12mL×2 12mL×2	80テスト
18321	イムチェック・F-HCV Gr1 試薬	固相チューブ1 標識抗体液1 緩衝液	160本 48mL×1 48mL×1	160テスト
18322	イムチェック・F-HCV Gr2 試薬	固相チューブ2 標識抗体液2 緩衝液	160本 48mL×1 48mL×1	160テスト
19300	HPPA基質液	HPPA基質液		60mL×4

〔本キットは、別容量の包装があります。弊社までお問い合わせください。〕

関連商品

品 番	製 品 名	内 容	包 装
14780	エルジア・F反応停止液	反応停止液	80mL×4
14800			250mL×2
15670	プローブ洗浄液1	プローブ洗浄液	60mL×4
14770	エルジア・F洗浄液	洗浄液	2L×1
17510	検体希釈液 I (EIA用)		50mL×2
16531	イムチェック・F・キャリブ・HCV Gr1	陰性コントロール 陽性コントロール1	3mL×1 3mL×1
16532	イムチェック・F・キャリブ・HCV Gr2	陰性コントロール 陽性コントロール2	3mL×1 3mL×1

〔上記製品には、別容量の包装があります。弊社までお問い合わせください。〕

【主要文献】

- (1) Kuo G., Choo Q-L., Alter H.J., et al.: An assay for circulating antibodies to a major etiologic virus of human non-A, non-B Hepatitis. *Science*. 244:362-364, 1989.
- (2) Choo Q-L., Kuo G., Weiner A.J., et al.: Isolation of cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome. *Science*. 244:359-362, 1989.
- (3) Tsukiyama-Kohara K., Kohara M., Yamaguchi K., et al.: A second group of hepatitis C virus. *Virus genes*. 5. 243-254, 1991.
- (4) 小原道法: C型肝炎ウイルスの抗体によるグループ分類とその生物学的意義, *日本臨床*, 51. (2) 338-343, 1993.
- (5) Tsukiyama-Kohara K., Yamaguchi K., Maki N., et al.: Antigenisities of group I and II hepatitis C virus polypeptides-molecular basis of diagnosis. *Virology*. 192:430-437, 1993.
- (6) 遺伝子型特異的発現蛋白を用いたC14抗体測定系によるC型肝炎ウイルス遺伝子型判定とその臨床応用., *医学と薬学*, 31 (1): 151-157, 1994.

【問合せ先】

主要文献の内容, その他ご質問等は, 下記にお問い合わせください.

シスメックス株式会社 CSセンター

〒651-2241 神戸市西区室谷1丁目3番地の2

TEL 0120-413-034

製造販売元

シスメックス株式会社

神戸市中央区脇浜海岸通1丁目5番1号 〒651-0073 TEL(078)265-0500(代)

(6/6)
23670220D