

C型肝炎ウイルス抗体キット

イムチェック・F-HCV C50 Ab 「コサイ」

【重要な基本的注意】

C型肝炎ウイルス(HCV)感染の診断は、本製品による検査結果のみで行わず、HCV-RNA測定等、他の検査結果及び臨床経過を考慮して総合的に判断してください。

【全般的な注意】

- (1) 本品は体外診断用医薬品です。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、感染の危険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
リコンビナントC型肝炎ウイルス(HCV)抗原固定チューブ。
- ② 標識抗体液
ペルオキシダーゼ(POD)標識抗ヒトIgGモノクローナル抗体(マウス)他を含む溶液。
- ③ 緩衝液
- ④ 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。
- ⑤ 反応停止液
- ⑥ 洗浄液
- ⑦ 陰性コントロール
- ⑧ 陽性コントロール

【使用目的】

血清又は血漿中のC型肝炎ウイルス(HCV)抗体の検出。

【測定原理】

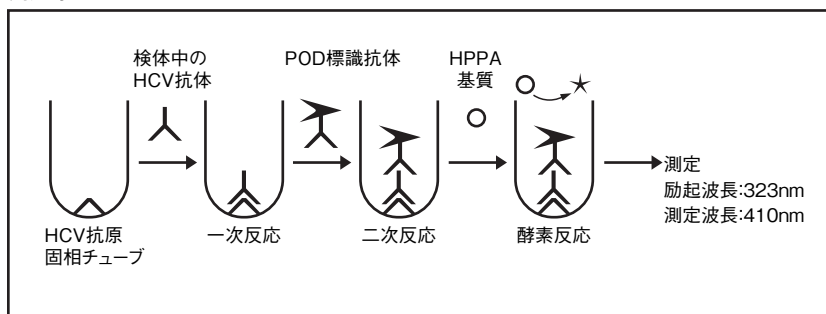
本法はチューブ固相を用いたEIAサンドイッチ法です。

- (1) 一次反応
検体中のHCV抗体がチューブ上のリコンビナント抗原と結合して[リコンビナント抗原-HCV抗体]の複合体を形成します。
 - (2) 二次反応
未反応液を除去後、POD標識抗ヒトIgG抗体を加えると、チューブ上に[リコンビナント抗原-HCV抗体-POD標識抗ヒトIgG抗体]の複合体を形成します。
 - (3) 酵素反応
未反応液を除去後、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
この蛍光物質に323nmの励起光を照射し、生じた蛍光を410nmで測定します。
得られた蛍光強度を用いて、あらかじめ陰性コントロール及び陽性コントロールにより設定したカットオフ値からカットオフインデックス値を求めます。
- (特徴)
- (1) HCVの複数のエピトープを含む領域を組合せ、大腸菌で発現させた単一抗原を使用しています。
 - (2) 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。
 - (3) 検体が20μLと微量です。
 - (4) RIのような特別な設備は不要です。
 - (5) 試薬は液状で、溶解の手間が不要です。
 - (6) 全自動酵素免疫測定装置エルジア・FS1200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。

測定原理



(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ていません。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、乳ビ(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)】

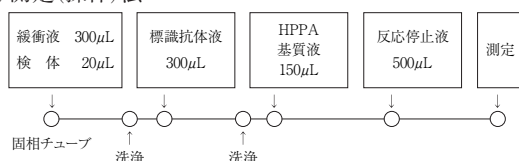
(1) 試薬の調製方法

固相チューブ、標識抗体液、緩衝液、HPPA基質液、反応停止液、洗浄液、陰性コントロール及び陽性コントロールは常温に戻した後、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



- ① 固相チューブ(以下チューブと略す)を常温に戻した後、開封します。
- ② チューブに緩衝液300μLを分注します。
- ③ 陰性コントロール、陽性コントロールまたは検体をそれぞれ20μL分注します。
- ④ 37℃で攪拌しながら6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 チューブ内の洗浄液を吸引除去した後、標識抗体液を300μL分注します。
- ⑦ 37℃で攪拌しながら6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 チューブ内の洗浄液を吸引除去した後、HPPA基質液150μLを分注します。
- ⑩ 37℃で攪拌しながら6分間反応させます。
- ⑪ 反応停止液500μL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。

(4) 結果の算出方法

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) 100 ≤ 陽性コントロールの測定値(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(PC)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。

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

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) 結果の判定

下記の要領で結果を判定します。

カットオフインデックス値(C.O.I.)	結果の判定
1.0未満	陰 性
1.0以上	初回陽性

初回陽性と判定された検体は再試験(2重測定)を行います。

再試験結果	結果の判定
2重測定の全てがC.O.I.値1.0未満	陰 性
2重測定の少なくともいずれか一方がC.O.I.値1.0以上	陽 性

(2) 判定上の注意

免疫測定法においては非特異反応が生じることがあります。本キットを用いてC型肝炎の診断を行う場合には、他の関連検査の結果や患者の症状も併せて判断してください。

【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) 本品を用いて陰性コントロールを試料として操作したとき、相対蛍光強度は15以下です。
- 2) 本品を用いて陰性コントロール及び陽性コントロールを試料として操作したとき、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、キニーネ標準液(2μg/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。

② 正確性試験

- 1) 本品を用いてC型肝炎ウイルス(HCV)抗体陰性ヒト血清を試料として操作した時、陰性を示します。
- 2) 本品を用いてC型肝炎ウイルス(HCV)抗体陽性ヒト血清を試料として操作した時、陽性を示します。

③ 同時再現性試験

本品を用いて同一陽性検体を5回同時に測定する時、カットオフインデックス値のC.V.は10%以下です。

④ 測定範囲

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(EIA法)であるA社製品と血清検体847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。

		本キット	
		陰 性	陽 性
A社製品	陰性	310	3
	陽性	1	533

② 血漿

同一検体の血清と血漿各53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	
		陰 性	陽 性
血 清	陰性	20	0
	陽性	0	33

(3) 国立感染症研究所依頼試験成績

Negative				Low Titer (PHV105)				
No.	data (COI)		判定	No.	data (COI)		判定	
	1回目	2回目			1回目	2回目		
1	0.02	0.02	－	1	3.69	3.77	＋	
2	0.01	0.01	－	2	15.47	15.40	＋	
3	0.00	0.00	－	3	1.11	1.09	＋	
4	0.00	0.01	－	4	6.95	6.69	＋	
5	0.00	0.00	－	5	1.26	1.22	＋	
6	0.15	0.18	－	6	3.59	3.44	＋	
7	0.00	0.00	－	7	0.00	0.00	－	
8	0.00	0.00	－	8	0.00	0.00	－	
9	0.00	0.00	－	9	0.79	0.81	－	
10	0.01	0.01	－	10	0.01	0.00	－	
11	0.00	0.00	－	11	6.16	6.08	＋	
12	0.16	0.17	－	12	1.37	1.43	＋	
13	0.00	0.00	－	13	1.22	1.17	＋	
14	0.01	0.01	－	14	0.14	0.14	－	
15	0.00	0.00	－	15	5.32	5.76	＋	
16	0.00	0.00	－					
17	0.00	0.00	－					
18	0.00	0.00	－					
19	0.01	0.00	－					

Mixed Titer (JIID)				Seroconv. (PHV906)			
No.	data (COI)		判定	No.	data (COI)		判定
	1回目	2回目			1回目	2回目	
1	>52.86	>52.86	+	1	0.04	0.04	-
2	>52.86	>52.86	+	2	0.04	0.04	-
3	>52.86	>52.86	+	3	0.24	0.24	-
4	>52.86	>52.86	+	4	0.66	0.68	-
5	>52.86	>52.86	+	5	2.24	2.21	+
6	>52.86	>52.86	+	6	4.03	3.94	+
7	>52.86	>52.86	+	7	6.71	5.68	+
8	>52.86	>52.86	+				
9	>52.86	>52.86	+				
10	>52.86	>52.86	+				
11	>52.86	>52.86	+				
12	>52.86	>52.86	+				
13	>52.86	>52.86	+				
14	>52.86	>52.86	+				
15	>52.86	>52.86	+				
16	>52.86	>52.86	+				
17	>52.86	>52.86	+				
18	>52.86	>52.86	+				
19	>52.86	>52.86	+				
20	>52.86	>52.86	+				

Seroconv. (PHV907)			
No.	data (COI)		判定
	1回目	2回目	
1	0.00	0.00	-
2	0.00	0.00	-
3	0.00	0.00	-
4	2.28	1.60	+
5	12.46	10.30	+
6	14.12	11.46	+
7	42.18	40.19	+

(4) 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ってください。

(2) 使用上の注意

- ① 本キットはエルジア・FSI200専用試薬であり、他の装置には使用できません。使用に際しては必ずエルジア・FSI200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 陰性コントロール及び陽性コントロールの測定は、測定日毎に行ってください。
- ⑤ 本キットの試薬はバーコードで残量管理を行っていますので、試薬の継ぎ足しは行わないでください。
- ⑥ 本キット中の緩衝液および標識抗体液をエルジア・FSI200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。
- ⑦ 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。
- ⑧ 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。
- ⑨ 適切な環境下(1～30℃、湿度:80%以下)に設置されたエルジア・FSI200内にセットした状態で、固相チューブは開封後7日以内、緩衝液および標識抗体液は開封後14日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 商 品 名	構 成 試 薬		包 装
19760	イムチェック・FS-HCV C50 Ab	固相チューブ 標識抗体液 緩衝液	40本×2 24mL×1 24mL×1	80テスト
19301	HPPA 基質液 (FS)	HPPA 基質液		70mL×2

〔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 商 品 名	内 容		包 装
14801	エルジア・FS反応停止液	反応停止液		300mL×2
15671	プローブ洗浄液1(FS)	プローブ洗浄液		500mL×1
14773	エルジア・FS洗浄液	洗浄液		5L×1
14561	イムチェック・F・キャリブ・HCV C50 Ab	陰性コントロール 陽性コントロール	3mL×1 3mL×1	3mL×2

【主要文献】

- (1) 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.
- (2) Kuo, G., Choo Q-L, Alter HJ, Gitnick GL, Redecker Ag, Purecell RH, Miyamura T, Dienstag JL, Alter MJ, Stecens CE, Tegmer GE, Bonino F, Colombo M, Lee WS, Kuo C, Berger K, Shuster LR, Overby LR, Bradley DW, Houghton M. :An assay for circulating antibodies to major etiologic virus of human non-A non-B hepatitis. Science. 1989. 244:362-364
- (3) 石川榮治, 河合忠, 宮井潔編:酵素免疫測定法, 医学書院, 1982.
- (4) 倉田 満, 他:新しい組み換え遺伝子(C50)を用いたHCV 抗体測定試薬(イムチェック・F-HCV C50 Ab)の性能評価, 医学と薬学, 36(4):829-834, 1996.
- (5) 飯野四郎, 他:新しい組み換え遺伝子(C50)を用いたHCV 抗体測定試薬(イムチェック・F-HCV C50 Ab)の検討, 医学と薬学, 36(4):835-841, 1996.

【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)

(4/4)
23670231D