

ノロウイルス抗原キット

BLEIA[®] ‘栄研’ NV

【全般的な注意】

1. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
2. 診断は、本製品による検査結果のみで行わず、他の検査結果や臨床症状を考慮して総合的に判断すること。
3. 添付文書に記載された内容に従い使用すること。それ以外の方法についての保証はできない。
4. 使用する全自動生物化学発光免疫測定装置 BLEIA-1200 の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから、使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

	構成試薬名（括弧内略号）	主 な 成 分
1	標識NV抗体希釈液 (NV 1RD) *1	緩衝剤
2	標識NV抗体 (NV 2R2) *1	ホタルルシフェラーゼ標識抗ノロウイルスマウスモノクローナル抗体 酵素量として 6 nmol/L
3	免疫反応液 1 (NV 3R11) *1	緩衝剤
4	④ 免疫反応液 2 (NV 4R12) *1	チアベンダゾール 0.01 % 緩衝剤
5	NV抗体結合磁性粒子 (NV 5BE) *1	抗ノロウイルスマウスモノクローナル抗体結合磁性粒子 1 ピン中抗体量として 49 µg
6	キャリブレータ (NV Cal)	リコンビナントノロウイルス抗原
7	BL発光試薬セット *2	
*	(1) BL発光試薬 1 (BL発光試薬 1)	硫酸マグネシウム 20 mmol/L
	(2) BL発光試薬 2 (BL発光試薬 2)	緩衝剤
	(3) BL発光基質 (BL発光基質)	D-ルシフェリン 0.47 mmol/L アデノシン三リン酸 4 mmol/L
	付属品：アダプター	

*1 標識NV抗体希釈液、標識NV抗体、免疫反応液 1、免疫反応液 2、NV抗体結合磁性粒子は、試薬力セットに組み込まれ一体となっている。

*2 BL発光試薬セットは、以下の BLEIA ‘栄研’ の共通試薬である。
BLEIA ‘栄研’ H、ピロリ抗原
BLEIA ‘栄研’ NV

【使用目的】

糞便中のノロウイルス抗原の検出（ノロウイルス感染の診断の補助）

【測定原理】

本キットは、2 ステップサンドイッチEIA法を測定原理とし、固相に抗体結合磁性粒子を用い、酵素活性の測定に生物発光を利用している。

はじめに検体にNV抗体結合磁性粒子を加えて抗原抗体反応を行う。

洗浄後、標識NV抗体を加え、NV抗体結合磁性粒子ーノロウイルス抗原ー標識NV抗体というサンドイッチ型の結合物を形成させる。

洗浄後、BL発光試薬 1（硫酸マグネシウム）とBL発光基質液（D-ルシフェリン、アデノシン三リン酸）を加えると、溶存酵素の存在下、標識NV抗体中のホタルルシフェラーゼとルシフェリンが反応して光を放出する。放出される光の量（発光強度）は検体中のノロウイルス抗原量に比例して増加することから、この発光強度を測定することにより検体中のノロウイルス抗原が検出できる。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

試料（検体）には 1～3 % の糞便懸濁液の遠心上清、又はろ液を用いる。糞便以外の検体（嘔吐物、食品等）は使用できない。

＜検体採取にあたっての注意＞

- 1) 糞便は新鮮なものを使用する。
- 2) 糞便は 1～3 % の懸濁液とし、遠心分離、又はろ過により便残渣を除去する。
- 3) 遠心上清、又はろ液は低温（2～8 ℃）で保管し、その日の内に検査する。長期保存する場合は、－20 ℃以下で凍結保存する。（凍結融解の繰り返しは避ける。）
- 4) 凍結保存した検体（上清又はろ液）を使用する場合、室温にて融解後、検体を転倒混和してから測定する。尚、凍結融解後に不溶物が確認された場合は、再度遠心分離により上清を回収するか、ろ過器具を用いてろ過して不溶物を除いた後、十分に混和してから検査する。

2. 妨害物質・妨害薬剤・交差反応性

- 1) 遊離型ビリルビン及び抱合型ビリルビン（20 mg/dL）、ヘモグロビン（500 mg/dL）、乳ビ（ホルマジン濁度 3000 FTU）、アスコルビン酸（100 mg/dL）、グルコース（10 mg/dL）、硫酸バリウム（10 %）、イントラファット注 20 %（8vol %）、オムツ吸収材について検討した結果、判定への影響は認められなかった。

2) 細菌

以下の下痢症起因菌、腸内常在菌、院内感染及び日和見感染を引き起こす細菌（ 1.0×10^8 CFU^{※3}/mL）との交差反応性は確認されなかった。

Citrobacter freundii, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*,
Pseudomonas aeruginosa, *Enterococcus faecalis*,
Listeria monocytogenes, *Klebsiella pneumoniae*,
Salmonella Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, *Shigella flexneri*,
Shigella sonnei, *Haemophilus influenzae*,
Proteus mirabilis, *Serratia marcescens*, *Clostridium perfringens*,
Bacillus cereus, *Bacteroides fragilis*, *Campylobacter coli*,
Campylobacter jejuni, *Escherichia coli* O26, *Escherichia coli* O111,
Escherichia coli O157, *Escherichia coli*, *Candida albicans*,
Staphylococcus aureus

※3 CFU ; Colony Forming Unit（コロニー形成単位）

3) ウイルス

以下の胃腸炎を引き起こす原因ウイルスとの交差反応性は、括弧内のウイルス濃度まで確認されなかった。

サボウイルス（ 2.2×10^{11} copies/mL）
A 群ロタウイルス（ 1.3×10^{11} copies/mL）
C 群ロタウイルス（ 8.8×10^7 copies/mL）
アデノウイルス 41 型（ 2.7×10^{11} copies/mL）
アストロウイルス（ 1.6×10^{11} copies/mL）
ポカウイルス（ 1.0×10^7 copies/mL）
パレコウイルス（ 3.6×10^7 copies/mL）

3. その他

本製品は、全自動生物化学発光免疫測定装置 BLEIA-1200 専用の試薬である。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

- *1) 標識NV抗体希釈液、標識NV抗体、免疫反応液 1、免疫反応液 2、NV抗体結合磁性粒子は、そのまま使用する。
- *2) BL発光試薬 1 は、そのまま使用する。BLEIA-1200 の発光試薬架設位置にセットし 4 週間以内に使用すること。
- *3) BL発光基質液は、BL発光基質を全量のBL発光試薬 2 で溶解して使用する。溶解する際は、BL発光基質とBL発光試薬 2 の容器を付属のアダプターで接続し、5、6 回程度ゆっくりと転倒混和する。調製したBL発光基質液は、BLEIA-1200 の発光試薬架設位置にセットし 4 週間以内に使用すること。
- 4) キャリブレータ
キャリブレータは精製水 3 mL を加え溶解する。溶解したキャリブレータは 2～8 ℃ に保管し 1 週間以内に使用すること。長期保存する場合は、－20 ℃ 以下で凍結保存する。（凍結融解の繰り返しは避ける。）
- 5) ブランク
精製水等を使用する。
- 6) 洗浄液
BLEIA-1200 専用の洗浄液を使用する。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 1) BL反応セル（BLEIA-1200 専用）
- 2) サンプルカップ（汎用）
- 3) BLディスポチップ（BLEIA-1200 専用）
- 4) 精密なマイクロピペット
- 5) ピペットチップ

3. 測定（操作）法

- 全自動生物化学発光免疫測定装置 BLEIA-1200 を用いて測定を行う。BLEIA-1200 にて表示される単位は、カットオフインデックス（COI と略）である。
- 1) 試薬が試薬カセットに正しく装着されていることを確認後、試薬容器のキャップを開け、BLEIA-1200 の試薬架設位置に試薬カセットを設置する。
 - 2) BL 発光試薬 1 及び BL 発光基質液（BL 発光試薬 2）の容器に貼付されたバーコードをバーコードリーダーで読み取った後、キャップを外して、ボトルを BLEIA-1200 の発光試薬架設位置にセットする。
 - 3) BL 反応セル、BL ディスポチップを BLEIA-1200 の所定の位置に設置する。
 - 4) キャリブレーション、ブランクはサンプルカップに分注し、検体はサンプルカップ又は各施設で指定した容器に入れ、検体ラックに載せて BLEIA-1200 の所定の位置に設置する。あるいは、別売の採便容器をそのまま検体ラックに載せて BLEIA-1200 の所定の位置に設置する。
 - 5) 測定に必要な情報を BLEIA-1200 に入力し、測定を開始する。
 - 6) NV 抗体結合磁性粒子を撈拌し、懸濁する。
 - 7) BL 反応セルをインキュベーションテーブルに 1 つ取る。
 - 8) BL 反応セルに免疫反応液 1 を 190 μL 加える。
 - 9) BL 反応セルに免疫反応液 2 を 100 μL 加えて撈拌する。
 - 10) 検体を 200 μL 加えて撈拌する。
 - 11) BL 反応セルに NV 抗体結合磁性粒子を 30 μL 加えて撈拌する。
 - 12) 37℃14 分 30 秒後、洗浄液 0.5 mL で 4 回洗浄し未反応物を除去する。
 - 13) 標識 NV 抗体希釈液を 100 μL 加えて撈拌する。
 - 14) 標識 NV 抗体を 20 μL 加えて撈拌する。
 - 15) 37℃15 分後、洗浄液 0.5 mL で 4 回洗浄し未反応物を除去する。
 - 16) BL 発光試薬 1 を 50 μL 加えて撈拌する。
 - 17) BL 発光基質液を 50 μL 加え、ルシフェラーゼによる発光（波長として 480 nm～650 nm（λmax：560 nm））を認識し、それに基づき発光強度を計算する。
 - 18) 得られた発光強度をもとに、検体中のノロウイルス抗原の COI を算出する。
- 上記の 6）～18）の操作は、BLEIA-1200 により自動的に行われる。

＜測定にあたっての注意＞

- 1) NV 抗体結合磁性粒子が容器のキャップに付着していた場合は、測定前に軽く転倒混和を行い、均一にしてから使用すること。
- 2) 試薬容器内に水滴があるときは、測定前に軽く混和してから使用すること。
- 3) 試薬液面に気泡があるときは、ピペットやキムワイプで取り除いてから使用すること。
- 4) 各試薬が試薬カセットに正しく装着されていることを確認すること。万一、試薬容器が外れている場合は、試薬容器を試薬カセットに押し込んで正しく装着してから使用すること。
- 5) 試薬カセットは、BLEIA-1200 の試薬庫内へ正しく設置すること。試薬カセットが傾いた状態で試薬庫へ設置された場合、NV 抗体結合磁性粒子の撈拌が不十分となり、正確な測定値が得られなくなることがある。
- 6) 検体液面に気泡があると測定誤差の原因となるため、測定前に取り除くこと。
- 7) 検体中に便残渣等の不溶物があると BL ディスポチップが詰まったり、偽陽性を引き起こしたりして正確な測定値が得られなくなることがあるため、測定前に取り除くこと。
- 8) 正確な測定値を得るために、使用する直前にキャップを開け、使用後はすぐにキャップを閉め 2～8℃で保管すること。ただし、BL 試薬用内フタ及び BL 粒子用内フタをセットした場合、保冷状態において 2 週間以内であれば試薬庫に設置可能である。BL 試薬用内フタ及び BL 粒子用内フタは、一度セットした後は外さないこと。BL 試薬用内フタ及び BL 粒子用内フタをセットした期間が 2 週間を経過した試薬は使用しないこと。
- 9) キャップをした本製品は、BLEIA-1200 の試薬庫又は 2～8℃で保管すること。キャップを開める際は、キャップ上面の番号（ステンレス部分に印字された数字）と試薬カセット上の番号（試薬ボトル近傍に刻印された数字）を十分確認すること。5 日以上使用しない場合は、キャップを開めて 2～8℃で保管すること。

- 10) キャリブレーションは、以下の場合に 2 重測定すること。
 - ・本製品又は BL 発光試薬セットのロットが切り替わった場合
 - ・キャリブレーションの測定から 1 週間経過した場合
 - ・コントロールの測定値が管理範囲を外れた場合
- 11) 他項目と同時測定する場合は、その相互干渉に十分注意すること。

【測定結果の判定法】

1. COI の計算
- $$COI = \frac{\text{検体の発光強度} - \text{ブランクの発光強度}}{\text{（（キャリブレーションの発光強度} - \text{ブランクの発光強度）/ 補正係数）}}$$
2. 判定
- 測定結果が 1 COI 未満をノロウイルス陰性、1 COI 以上をノロウイルス陽性と判定する。

＜判定上の注意＞

- 1) 検出限界未満の場合でも、ノロウイルス感染を否定するものではなく、臨床診断は、臨床症状やその他の検査結果等と併せて総合的に判断すること。
- 2) 測定結果が装置の検出上限を超えた場合、「OL」又は「OR」と表示される。その場合は陽性と判定する。
- 3) 測定結果が装置の検出上限を超えた場合、検体がキャリーオーバーし、その次の検体の測定に影響を与える場合がある。装置の検出上限を超えた検体の次の検体が陽性になった場合には再検を行う。

【性能】

1. 性能
- 1) 感度
ノロウイルス抗原 1 COI の標準液及び抗原未添加溶液を 10 回測定したとき、1 COI の発光強度の平均値－2.6SD は、抗原未添加溶液の発光強度の平均値＋2.6SD よりも大きい。
 - 2) 正確性
濃度既知の陽性管理検体 2 検体を測定したとき、陽性判定となり、陰性管理検体を測定したとき、陰性判定となる。
 - 3) 同時再現性
濃度既知の陽性管理検体 2 検体を同時に 10 回測定したとき、すべて陽性判定となり、陰性管理検体を同時に 10 回測定したとき、すべて陰性判定となる。
2. 最小検出感度（例示）
- リコンビナント抗原蛋白濃度 1 pg / mL^{※4}
- ※4：ピシニコニ酸法による蛋白濃度
3. Genogroup I 及び II に対する反応性
- ヒトに感染するノロウイルスのうち、胃腸炎の原因となる Genogroup I 及び Genogroup II について、以下のウイルス量^{※5}における反応性を確認した。

Genotype	コピー数 copies/g 便	判定
GI.1	9.1×10 ⁷	陽性
GI.4	2.3×10 ⁵	陽性
GI.8	1.2×10 ⁶	陽性
GII.1	3.1×10 ⁷	陽性
GII.2	9.5×10 ⁷	陽性
GII.3	2.7×10 ⁶	陽性
GII.4	5.3×10 ⁶	陽性
GII.5	2.8×10 ⁶	陽性
GII.6	6.0×10 ⁷	陽性
GII.12	2.9×10 ⁶	陽性
GII.13	5.9×10 ⁶	陽性
GII.16	1.1×10 ¹⁰	陽性
GII.19	5.2×10 ⁸	陽性

※5 リアルタイム RT-PCR 法で測定したウイルス量

4. 相関性試験成績

1) イムノキャッチーノロ（イムノクロマトグラフィー法）との相関性

		イムノキャッチーノロ （イムノクロマトグラフィー法）		
		陽性	陰性	合計
本製品	陽性	44	14 ^{※6}	58
	陰性	0	59	59
	合計	44	73	117

陽性一致率：100.0 % = 44/44

陰性一致率：80.8 % = 59/73

全体一致率：88.0 % = 103/117

※6 本製品：陽性・イムノキャッチーノロ：陰性の 14 検体をリアルタイム RT-PCR 法で確認した結果、すべて陽性であった。

2) 他社 ELISA 法との相関性

		他社製品 （ELISA 法）		
		陽性	陰性	合計
本製品	陽性	28	30 ^{※7}	58
	陰性	0	59	59
	合計	28	89	117

陽性一致率：100.0 % = 28/28

陰性一致率：66.3 % = 59/89

全体一致率：74.4 % = 87/117

※7 本製品：陽性・他社製品（ELISA 法）：陰性の 30 検体をリアルタイム RT-PCR 法で確認した結果、すべて陽性であった。

5. 校正用基準物質に関する情報

本製品は、リコンビナントノロウイルス抗原を一次標準として性能を確認している。COI は、健康人便検体及びノロウイルス陽性便検体の測定結果より求めたカットオフ値に相当する基準便検体の測定値を 1 COI として、当社独自の設定とした。

【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) 試料（検体）は、感染の危険があるものとして注意して取り扱うこと。
- 2) 標識 NV 抗体、免疫反応液 2 には、保存剤として微量のアジ化ナトリウムが含まれる。アジ化ナトリウムには毒性があるので、目や口に入らないよう、また皮膚に付着させないよう注意すること。
- 3) キャリブレータにはバキュロウイルス発現系を用いて作製したリコンビナントノロウイルス抗原を使用している。感染の危険性及びその他の病原体の存在を否定しきれないため、注意して取り扱うこと。
- 4) 感染を避けるため、検査時は使い捨て手袋を着用すること。
- 5) 口によるピペティングはしないこと。
- 6) 試薬が誤って目や口、皮膚に付着したときは、直ちに大量の水で十分に洗い流し、必要があれば医師の手当てを受けること。
- 7) 検体又は試薬を誤って付着させたり、こぼした場合は、使い捨て手袋、マスク、ゴーグルなどの感染防止器具を着用し、ペーパータオル等で静かにふき取ること。
- 8) キャリブレータのフリップキャップを外すときは、手を切らないように注意すること。
- 9) 免疫反応液 2 には 0.01 % チアベンダゾールが含まれている。チアベンダゾールには毒性があるので、目や口に入らないよう、また皮膚に付着させないよう注意すること。

2. 使用上の注意

- 1) 各試薬は指定の貯蔵方法で保存すること。
- 2) 試薬カセットのバーコードは剥がしたり、濡らしたり、傷をつけたりしないこと。バーコード並びにバーコード周辺の空白領域にペン等で記入したり、汚したりしないこと。
- 3) 使用期限を過ぎた試薬は使わないこと。
- 4) 試薬カセット内でセットしてある試薬ボトルを違う位置に移動しないこと。
- 5) キット内の試薬は正確な測定値が得られるように組み合わせるので、製造番号の異なる試薬を組み合わせないこと。

- 6) 開封後の試薬は指定の方法で保存し、なるべく早く使い切ることを。
 - 7) 試薬の継ぎ足しは、たとえ同一の製造番号でも行わないこと。
 - 8) 本製品中の容器等を再利用又は他の目的に転用しないこと。
 - 9) BL 発光試薬セットは補充用別売品である。
- ※10) BL 発光試薬セット付属品のアダプターは繰り返し使用しないこと。

3. 廃棄上の注意

- 1) 試料（検体）に接触した器具や廃液等は、次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 1,000 ppm 以上、1 時間以上浸漬）又はグルタルアルデヒド（2 %、1 時間以上浸漬）による消毒処理、あるいはオートクレーブ（121 ℃、20 分以上）による滅菌処理を行うこと。
 - 2) エタノールは、ノロウイルスに対する不活化作用は不十分であるとされているため、消毒処理には使用しないこと。
 - 3) 検体、廃液等が飛散した場合は、次亜塩素酸ナトリウム溶液等で拭き取りと消毒を行うこと。
 - 4) 標識 NV 抗体、免疫反応液 2 に含まれるアジ化ナトリウムは鉛管や銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるので、廃棄の際は大量の水と共に流すこと。
- ※5) 試薬カセットは ABS 樹脂、各試薬の容器及びキャップはポリエチレン（PE）又はポリプロピレン（PP）及びステンレス、キャリブレータの容器及びゴム栓はガラス又はゴム、フリップキャップはアルミと PP、ケースは紙を主な材質としている。
- BL 発光試薬 1 及び BL 発光試薬 2 の容器は PE、キャップは PP、BL 発光基質の容器はガラス、キャップはゴムと PP、アダプターは PE、ケースは紙を主な材料としている。
- 6) 使用後の試薬や容器及び器具類は、医療廃棄物等に関する規定及び、水質汚濁防止法等の各種規制に従い、各施設の責任において処理すること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：2～8 ℃

有効期間：12 ヶ月間

※【包装単位】

製 品 名	包装単位
BLEIA ‘栄研’ NV 標識 NV 抗体希釈液 標識 NV 抗体 免疫反応液 1 免疫反応液 2 NV 抗体結合磁性粒子 キャリブレータ	600 回分
BLEIA ‘栄研’ NV BL 発光試薬セット（共通試薬） BL 発光試薬 1 BL 発光試薬 2 BL 発光基質 アダプター	105 mL 分×1

BLEIA は栄研化学株式会社の登録商標です。

【問い合わせ先】

栄研化学株式会社 お客様相談窓口
フリーダイヤル ☎ 0120-308-421

【製造販売業者の名称及び住所】

栄研化学株式会社
〒329-0114 栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地

製造販売元  **栄研化学株式会社**
栃木県下都賀郡野木町野木 143 番地