

ヘリコバクターピロリ抗原キット

BLEIA[®] ‘栄研’ H. ピロリ抗原

【一般的な注意】

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	標識ストレプトアビジン (PAG 1R2) *1	ホタルルシフェラーゼ標識ストレプトアビジン 酵素量として 1 nmol/L
2	ビオチン標識抗体 (PAG 4R1) *1	ビオチン標識抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体 抗体量として 2.25 nmol/L
3	抗体結合磁性粒子 (PAG 5BE) *1	抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体結合磁性粒子 1 回測定あたり抗体量として 0.09 µg
4	キャリブレータ 1 (PAG CAL1)	緩衝剤
5	キャリブレータ 2 (PAG CAL2)	ヘリコバクターピロリ抗原
6	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 標識ストレプトアビジン、ビオチン標識抗体、抗体結合磁性粒子は、試薬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】

糞便中のヘリコバクターピロリ抗原の検出
(ヘリコバクターピロリ感染の診断の補助)

【測定原理】

本キットは、1 ステップサンドイッチ EIA 法を測定原理とし、固相に磁性粒子を用い、酵素活性の測定に生物発光を利用している。

はじめにビオチン標識抗体（ビオチン標識抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体）とサンプル中のヘリコバクターピロリ抗原と抗体結合磁性粒子（抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体結合磁性粒子）を混合し、抗原抗体反応を行う。洗浄後、標識ストレプトアビジン（ホタルルシフェラーゼ標識ストレプトアビジン）を加え、抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体結合磁性粒子-ヘリコバクターピロリ抗原-ビオチン標識抗ヘリコバクターピロリマウスモノクローナル抗体-ホタルルシフェラーゼ標識ストレプトアビジン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、溶存酸素の存在下で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）は検体中のヘリコバクターピロリ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ヘリコバクターピロリ抗原を検出することができる。

【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。）別売の BL 採便容器に採取した検体の保存は、15～25 ℃のとき 7 日以内、2～8 ℃保存のとき 15 日以内とする。
- 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、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。
- 5) 除菌判定に用いる場合、除菌終了直後は偽陰性になる可能性があるため、一定期間後に採便すること¹⁾²⁾。
- 6) プロトンポンプ阻害剤（PPI）等、ヘリコバクターピロリに対する静菌作用を有する薬剤の使用は偽陰性になる可能性があるため、投与中止後 2 週間以降に採便すること¹⁾²⁾。

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 2,000 FTU）、アスコルビン酸（500 mg/dL）、グルコース（500 mg/dL）、硫酸バリウム（100 mg/dL）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。
Escherichia coli, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides vulgatus*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium breve*, *Bacillus subtilis*, *Helicobacter felis*, *Helicobacter bizzozeronii*, *Helicobacter mustelae*
※3 CFU: Colony Forming Unit（コロニー形成単位）

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) 標識ストレプトアビジン、ビオチン標識抗体、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 1 と 2 をそのまま使用する。
- 5) 洗浄液
BLEIA-1200 専用の洗浄液を使用する。

2. 必要な器具・器材・試薬等

- 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) 精確なマイクロピペット
- 5) ピペットチップ

3. 測定（操作）方法

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 にて表示される測定値の単位は、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) B.L 発光試薬 1 及び B.L 発光基質液 (B.L 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) B.L 反応セル、B.L 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。
- 5) 測定に必要な情報を BLEIA-1200 に入力し、測定を開始する。
- 6) 抗体結合磁性粒子を攪拌し、懸濁する。
- 7) B.L 反応セルをインキュベーションテーブルに 1 つ取る。
- 8) B.L 反応セルにビオチン標識抗体を 80 µL 加える。
- 9) 検体を 50 µL 加えて攪拌する。
- 10) B.L 反応セルに抗体結合磁性粒子を 20 µL 加えて攪拌する。
- 11) 37 °C14 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。
- 12) 標識ストレプトアビジンを 80 µL 加えて攪拌する。
- 13) 37 °C15 分後、洗浄液 0.5 mL で 4 回洗浄し未反応物を除去する。
- 14) B.L 発光試薬 1 を 50 µL 加えて攪拌する。
- 15) B.L 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。
- 16) 得られた発光強度をもとに、検体中のヘリコバクターピロリ抗原の COI を算出する。

上記の 6) ~16) 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) 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、抗体結合磁性粒子の攪拌が不十分となり、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偽陰性や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 °C で保管すること。開封状態が累計 24 時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 °C 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、キャップを開けて 2~8 °C 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 B.L 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 4 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

$$COI = \frac{\text{検体の発光強度} - \text{キャリブレーション 1 の発光強度}}{\text{キャリブレーション 2 の発光強度} - \text{キャリブレーション 1 の発光強度}} \div \text{補正係数}$$

2. 判定

測定結果が 1 COI 未満をヘリコバクターピロリ抗原陰性、1 COI 以上をヘリコバクターピロリ抗原陽性と判定する。

＜判定上の注意＞

- 1) 検出限界未満の場合でも、ヘリコバクターピロリ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限界を超えた場合、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
キャリブレーション 1 とキャリブレーション 2 を 3 回測定したとき、0 COI の発光強度に対する 1 COI の発光強度の比は 3 以上である。
- 2) 正確性
陰性の管理検体を 3 回測定したとき、判定は全て陰性である。陽性の管理検体を 3 回測定したとき判定は全て陽性である。
- 3) 同時再現性
陰性の管理検体を 10 回測定したとき、判定は全て陰性である。陽性の管理検体を 10 回測定したとき判定は全て陽性である。

2. 最小検出感度 (例示)

0.2 COI

3. 相関性試験成績 ³⁾

- 1) ELISA 法との相関

		既承認品 A		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	69	8	77
	陰性	0	95	95
	計	69	103	172

陽性一致率 : 100.0 % (69/69)

陰性一致率 : 92.2 % (95/103)

全体一致率 : 95.3 % (164/172)

乖離した 8 例の感染診断結果は、7 例が現感染、1 例が既感染であった。

- 2) イムノクロマトグラフィー法との相関

		既承認品 B		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	68	9	77
	陰性	2	93	95
	計	70	102	172

陽性一致率 : 97.1 % (68/70)

陰性一致率 : 91.2 % (93/102)

全体一致率 : 93.6 % (161/172)

本製品 陽性、既承認品 B 陰性に乖離した 9 例の感染診断結果は、8 例が現感染、1 例が既感染であった。本製品 陰性、既承認品 B 陽性に乖離した 2 例の感染診断結果は、2 例とも既感染であった。

4. 較正用基準物質に関する情報

本製品は、ヘリコバクターピロリ抗原を一次標準として性能を確認している。COI は、ヘリコバクターピロリ感染診断が陰性 (未感染及び既感染) 便検体およびヘリコバクターピロリ陽性 (現感染) 便検体の測定結果より求めたカットオフ値に相当する測定値を 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) 標識ストレプトアビジン、ビオチン標識抗体、抗体結合磁性粒子、キャリブレーション 1、キャリブレーション 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に注意すること。

- 3) キャリブレータ 2 にはヘリコバクターピロリ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) 口によるピベッ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。

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てあるので、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。
- 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 °C、20 分間以上）による滅菌処理を行うこと。
- 2) 検体、廃液等が飛散した場合は、80 %エタノール等で拭き取りと消毒を行うこと。
- 3) 標識ストレプトアビジン、ビオチン標識抗体、抗体結合磁性粒子、キャリブレータ 1、キャリブレータ 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。

- ★4) 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、ノズル及びキャップはポリエチレン（PE）、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。
- 5) 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 °C

有効期間：12 ヶ月間

＊【包装単位】

製 品 名	包装単位
BLEIA ‘栄研’ H. ピロリ抗原 標識ストレプトアビジン ビオチン標識抗体 抗体結合磁性粒子 キャリブレータ 1 キャリブレータ 2	200回分
BLEIA ‘栄研’ H. ピロリ抗原 標識ストレプトアビジン ビオチン標識抗体 抗体結合磁性粒子 キャリブレータ 1 キャリブレータ 2	1200回分
BLEIA ‘栄研’ H. ピロリ抗原 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

【主要文献】

- 1) 加藤智恵子, 杉山敏郎, 日本消化器病学会雑誌2015 ; 112(6) : 994–999
- 2) 保医発0221第31号
- 3) 社内資料

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