

SIEMENS

B型肝炎ウイルスコア抗体キット

エンザイグノスト® Anti-HBc monoclonal

Enzygnost® Anti-HBc monoclonal

この添付文書をよく読んでから使用ください。

【全般的な注意】

- ・本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
- ・本品の測定結果は、患者の治療歴、臨床症状その他関連する他の検査結果等を考慮して総合的に判断ください。
- ・添付文書に記載されている以外の使用方法については保証しません。
- ・使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用ください。
- ・試薬には、ヒト由来成分が含まれており、感染の危険がありますので感染性のあるものとして取り扱ってください。

【形状・構造等(キットの構成)】

- | | |
|--|--------------|
| 1. テストプレート | 96穴×2プレート |
| Anti-HBc monoclonal (test plate) | |
| HBc抗原コートプレート | |
| 2. POD 標識抗体液 | 1.2mL×2バイアル |
| Anti-HBc/POD Conjugate monoclonal | |
| ペルオキシダーゼ (POD) 標識抗HBc抗体 (マウスモノクローナル) | |
| 3. 標識抗体希釈液 | 12.5mL×4バイアル |
| Conjugate Buffer (anti-HBc monoclonal) | |
| 4. 陽性コントロール | 0.5mL×2バイアル |
| Anti-HBc Control Serum, positive | |
| ヒト血清 | |
| 5. 陰性コントロール | 0.7mL×2バイアル |
| Anti-HBc Control Serum, negative | |
| ヒト血清 | |
| 6. 濃縮洗浄液 | 100mL×1ボトル |
| Washing Solution POD | |
| 7. 基質液 | 30mL×1ボトル |
| Buffer/Substrate TMB | |
| 尿素・過酸化水素 | |
| ※8. クロモゲン | 3mL×1バイアル |
| Chromogen TMB | |
| テトラメチルベンジジンジヒドロクロリド | |
| 9. 反応停止液 | 100mL×1ボトル |
| Stopping Solution POD | |

付属品：

- | | |
|-------------------|----|
| ・カバーシール | 6枚 |
| ・クロモゲン溶液調製用ボトル | 1個 |
| ・プレート保存用ポリエチレンバッグ | 1袋 |
| ・バーコード表 | 1枚 |
| ・添付文書 | 1部 |

【使用目的】

血清中及び血漿中のHBc抗体の測定

※※【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法
 - ・採血後、標準的な方法で調製された個々の血清又は血漿 (EDTA、ヘパリン、クエン酸) を使用します。
 - ・血漿検体 (ヘパリン、クエン酸) は、2～8℃で3日間、血清及びEDTA加血漿は、2～8℃で8日間保存できます。それ以上保存する場合は、凍結融解を繰り返さなければ-20℃以下で1年7ヶ月間保存できます。
 - ・凍結融解した検体を使用する場合、完全に均一化してから使用ください。
 - ・保存検体は室温 (18～25℃) に戻してから使用ください。
2. 妨害物質・妨害薬剤
 - ・アジ化ナトリウムを含む検体は使用しないでください。
 - ・抗凝固剤 (ヘパリン、EDTA及びクエン酸塩) は測定結果に影響を及ぼしません。
 - ・検体の加熱処理 (56℃、60分) による影響は観察されませんでした。
 - ・凝固が不完全な血清及び細菌汚染された検体は使用しないでください。微粒子成分 (フィブリン塊、赤血球等) は、測定前に取り除いてください。
 - ・溶血性及びリウマトイド因子を含む検体は測定結果に影響を及ぼしません。
 - ・サイトメガロウイルス抗体を含む検体及びHBs抗体陽性の検体は測定結果に影響を及ぼしません。
 - ・抗マウスIgGを含む検体のような血中免疫複合体がある患者検体は測定結果に影響を与えません。
 - ・高脂血、黄疸及びA型肝炎ウイルス抗体、EBV抗体、HIV抗体、HCV抗体を含む検体では測定値が上昇することがあります。
 - ・血液透析患者、移植患者、多回輸血患者及びトランスアミナーゼ値が高い患者の検体では測定値が上昇することがあります。

※【用法・用量 (操作法)】

1. 試薬の調製法
 - ・すべての試薬と検体は測定開始前に18～25℃に戻します。ただし、テストプレートは保存容器 (バック) から取り出さずに18～25℃に戻します。処理開始前にホルダーから使用しないストリップを取り除き、次に使用するまで同封のプレート保存用ポリエチレンバッグに入れて保存ください。
 - ・試薬及び調整溶液を混和する場合は泡が立たないようにご注意ください。
 - ・標識抗体溶液：POD標識抗体液0.5mLを標識抗体希釈液12.5mLに加えて (26倍希釈) 気泡を形成しないように穏やかに混和し、標識抗体溶液とします (1プレート分)。
 - ・濃縮洗浄液20mLに精製水又は脱イオン水を加えて全量400mLとし、洗浄液とします (1プレート用)。
 - ・クロモゲン溶液：クロモゲン1mLと基質液10mLを付属のクロモゲン溶液調製用ボトル中で混和し、これをクロモゲン溶液とします (1プレート用)。クロモゲン溶液は、遮光・密封で保存します。使用後のボトルは精製水又は脱イオン水で十分に洗浄ください。クロモゲン溶液調製の際は、クロモゲンと基質液の全量を同時に空のクロモゲン溶液調製用ボトルに移して調製することもできます。

※※2. 保存条件と安定性

未開封の試薬は2～8℃で保存した場合、ラベルに記載されている使用期限まで使用できます。

開封後・調製後の安定性は次の通りです。ただし、各バイアルに記載した使用期限内に使用ください。

試料・試薬	状態	保存条件	安定性
テストプレート (残りのストリップ)	開封後	2～8℃ (乾燥剤を入れて密封バックで保存)	4週間
POD標識抗体液	開封後	2～8℃ -20℃以下	4週間 3ヶ月間
標識抗体希釈液	開封後	2～8℃	4週間
POD標識抗体溶液	26倍希釈	2～8℃ 18～25℃	4週間 1週間

試料・試薬	状態	保存条件	安定性
陽性コントロール	開封後	2～8℃	4週間
陰性コントロール		－20℃以下	3ヶ月間
クロモゲン	開封後	2～8℃	使用期限内
基質液	開封後	2～8℃	使用期限内
クロモゲン溶液	11倍希釈	2～8℃ (遮光・密封)	5日間
		15～25℃ (遮光・密封)	8時間
濃縮洗浄液	未希釈・開封後	2～8℃	使用期限内
濃縮洗浄液	20倍希釈	2～8℃	1週間
		18～25℃	1日間
反応停止液	開封後	2～8℃	使用期限内

3. 必要な器具・器材・試料等

- ・ベーリング ELISA プロセッサー Ⅲ（以下BEP Ⅲ）：検体分注後の自動測定処理及び結果判定用
- ・ピペット：ピストンタイプピペット又は容量可変式のシングル及びマルチチャンネルのピペット
- ・用手法の場合、以下の器具も必要です。
- ・インキュベータ：水浴（37±1℃）又はこれに代わるインキュベータ
- ・洗浄装置：マイクロタイタプレート用洗浄装置
- ・吸光度測定装置：マイクロタイタプレートに適した吸光度測定装置。測定波長は450nm、副波長は650nm（615～690nm）
- ・測定には検証済みの器具・器材を使用ください。

4. 操作法

- ・用手法による場合

(1)測定計画

測定に必要なプレートの穴数（検体数にコントロール用として6を加えた数）を計算します。

(2)コントロール/検体の分注

初めの4穴（A1-D1）に陰性コントロールを25μLずつ、次の1穴（E1）に陽性コントロールを25μL分注します。次に、希釈していない検体を各穴に25μLずつ分注します。そして続く最後の穴に再度陽性コントロール25μLを分注します。
上述の分注順序の他に、陰性コントロールを分注後、陽性コントロールを2度続けて分注することも可能です。
分注計画の代案として、4穴（A1-D1）に陰性コントロールを25μLずつ、2穴（E1-F1）に陽性コントロールを25μLずつ分注し、以下、希釈していない検体を各穴に25μLずつ分注します。

(3)標識抗体溶液の分注

検体分注後15分以内に、標識抗体溶液を各穴に100μLずつ分注します。分注後はテストプレートに新しいカバーシールをして直ちにインキュベータに入れます。

(4)インキュベート

37±1℃で60±5分インキュベートします。終わったら直ちに洗浄操作を行います。

(5)洗浄

カバーシールをはずし各穴の反応液を吸引除去し、各穴につき約0.3mL洗浄液で4回洗浄します。洗浄操作が終わったら、穴が乾燥しないように直ちに次の試薬の分注を行います。

(6)クロモゲン溶液の分注

クロモゲン溶液を各穴100μLずつ分注します。分注後はテストプレートに新しいカバーシールをします。

(7)インキュベート

クロモゲン溶液を分注後、直ちに遮光して18～25℃で30±2分インキュベートします。

(8)反応停止液の分注

カバーシールをはずし反応停止液を各穴に100μLずつ分注します。この際、[(6)クロモゲン溶液の分注]と同じ時間間隔にて分注ください。

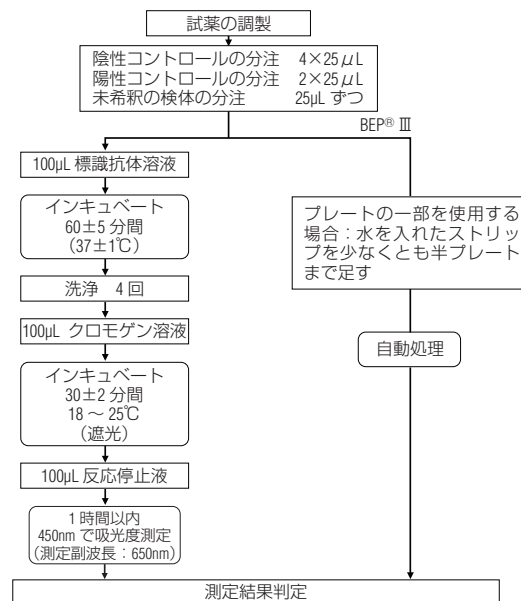
(9)吸光度測定

1時間以内に450nmで吸光度を測定します。
副波長として650nm（615～690nm）が推奨されます。

- ・BEP Ⅲを使用する場合

BEP Ⅲを使用する前に、検体分注操作を行います [4.操作法の(1)～(2)]。テストプレートの一部を使用する場合は、空プレートのストリップに水を入れたものを足して少なくとも半プレート（6ストリップ）ある状態にしてください。検体分注が終わったら、テストプレートにカバーシールをしないで直ちにBEP Ⅲに搭載します。続く操作はBEP Ⅲによって全自動で行うことができます（詳しくはBEP Ⅲの取扱説明書を参照ください）。

BEP Ⅲでのインキュベーション時間の設定は、技術的な理由（システム速度）により用手法の場合とは異なることがありますが、有効であることを確認していますので問題ありません。



【測定結果の判定法】

※※1. 測定の有効性

結果を評価するためには次の基準を満たさなければなりません。

$$0.700 \leq A_{\text{neg}} \leq 2.500$$

$$-0.010 \leq A_{\text{pos}} \leq 0.100$$

4穴の陰性コントロールのうち1穴で吸光度が上記の条件をはずれた場合、その値を除外して平均値を算出します。

陽性コントロールのうち1穴でも上記の条件をはずれた場合はすべての測定をやり直してください。

これらの条件から外れた場合、試験は無効となります。BEP Ⅲを使用していると invalid test というメッセージが出ます。

原因を調べた後に、すべての測定をやり直してください。

2. 測定結果の判定

BEP Ⅲを使用した場合、結果の判定は自動的に算出されます（詳細はBEP Ⅲの取扱説明書を参照ください）。用手法での結果の算出は次の通りです。

- ・陰性コントロールの平均値吸光度 ($\bar{A}_{\text{neg}}$) を算出し、それに0.2を乗じた値をカットオフ値とします。

$$\bar{A}_{\text{neg}} \times 0.2 = \text{カットオフ値}$$

- ・測定基準に基づき、検体は次のように判定されます。

1. $A_{\text{sample}} > \text{カットオフ値} + 10\%$: 陰性
2. $A_{\text{sample}} \leq \text{カットオフ値}$: 陽性
3. $\text{カットオフ値} < A_{\text{sample}} \leq \text{カットオフ値} + 10\%$: 判定保留

もしも、判定保留の結果が出た場合は二重測定で再試験を行います。再試験において、二重測定の結果が一致して陰性又は陽性を示した場合は、それぞれ陰性又は陽性のうち一つです。

しかし、再試験の二重測定のうち一つでも、“判定保留”の場合には、最終判定は今回の試験に使用した検体よりも2～4週間後に採血した検体を用いて測定し判断することが望ましいです。

【臨床的意義】

B型肝炎ウイルスのコア抗原に対する抗体（HBc抗体）は、急性B型肝炎感染で出現する最初の抗体です。この抗体は、HBs抗原やHBe抗原出現後すぐに出現し¹、その後時として生涯出現し続けます²。したがって、血清中のHBc抗体の検出は、B型肝炎感染のマーカーとして使用することが可能です³。さらにHBc抗体は、A型肝炎、B型肝炎及び非A非B型肝炎の鑑別診断のマーカーとしても用いられます。HBc抗体検出がスクリーニングの目的で用いられるならば、この検査が陽性であればHBs抗原やHBs抗体が陰性であっても、過去にB型肝炎ウイルスに感染していたこととなります。すべての感染患者の約10%がHBc抗体の血清学検査によってのみ発見され得ます⁴。

B型肝炎ウイルスワクチンの接種前に、HBc抗体検査によりワクチン接種予定の患者の免疫状態を知ることができます⁵。

疫学的研究において、HBc抗体は、HBs抗体より長期間出現し続けるので貴重なマーカーです²。

【性能】

本品は、操作法に従って試験するとき、次の感度、正確性、同時再現性を有します。

1. 感度

陰性コントロールの吸光度は0.700以上です。また、陽性コントロールの吸光度は0.100以下です。

2. 正確性

HBc抗体陽性の血清及びHBc抗体陰性の血清を試験するとき、それぞれ陽性及び陰性反応を示します。

3. 同時再現性

HBc抗体陽性の血清を同時に3回測定するとき、常に陽性反応を示します。またHBc抗体陰性の血清を同時に3回測定するとき、常に陰性反応を示します。

※※4. その他のデータ

・感度

計413例のHBc抗体陽性の検体を用いて検討した結果、本品の感度は99.0%でした。大規模な検体を用いた試験では、検出を逃れる検体の可能性を否定できません。
分析感度はWHO標準品⁶の希釈系列を使用しカットオフ値<1.2 IU/Lと決定されました。

感度試験は2ヶ所の独立機関(E, M)にて実施されました。

検体パネル	検体数	陽性
(E) 急性HBV感染	26	26
慢性HBV感染	100	100
様々なステージのHBV感染	31	28
(M) 急性HBV感染	194	194
様々なステージのHBV感染	52	51
追跡検体	10	10

・特異性

計31813例のHBc抗体陰性の供血者検体を用いて検討した結果、本品の特異性は99.6%（初回測定）及び99.7%（再測定）でした。母集団、測定状況、及びその他の要因により異なる結果が得られる場合がありますが、Common Technical Specifications(CTS)に準拠しております。
特異性試験は3ヶ所の独立機関(B, L, S)にて実施されました。

検体パネル	検体数	初回陽性	再測定陽性
(B) 陰性血清	17872	65	57
(L) 陰性血清	3949	13	10
(S) 陰性血清	9992	34	29

現在の知見では、HBc抗体の陰性結果がB型肝炎ウイルスの感染を完全に否定することができないのと同様に、陽性の結果は確実にB型肝炎ウイルスの感染を示すものではありません。

・再現性

同時再現性において、変動係数(CV)は3.9～13.6%でした。日差再現性では、変動係数は5.6～15.3%でした。本品は他の検査試薬と同等の再現性を示しました。しかし、測定状況及びその他の要因により異なる結果が得られる場合があります。変動係数(CV)は分散要因モデルを用いて算出しました。

同時再現性に関する試験は2ヶ所の独立機関(T, Tr)にて実施されました。

検体	繰り返し回数	比率	CV(%)
(T) 1	20	3.06	8.7
2	20	2.02	13.6
3	20	1.38	8.0
(Tr) 1	15	3.12	5.9
2	15	2.16	3.9
3	15	1.90	5.4

日差再現性に関する試験は3ヶ所の独立機関(T, J, Tr)にて実施されました。

検体	繰り返し回数	比率	CV(%)
(T) 1	10	3.38	8.5
2	10	2.18	10.7
3	10	1.69	11.2
(J) 1	10	3.76	4.7
2	10	2.66	11.5
3	10	2.22	15.3
(Tr) 1	7	2.75	5.6
2	7	1.88	12.0
3	7	1.41	10.8

比率 = 吸光度 / カットオフ

5. 校正用の基準物質（標準物質）

PEI Standard

【使用上又は取扱い上の注意】

※1. 取扱い上（危険防止）の注意

- ・試料(検体)はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査実施にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
- ・コントロール血清にはヒト由来成分が含まれています。原料は体外診断薬に関するEU指令(In Vitro Diagnostic Directive in the EU)又はFDAにより承認された方法によって検査され、HIV-1、HIV-2、HBV及びHCVに対し陰性が確認されたものを用いていますが、どのような検出法も完全とは言えませんので、使用時は感染の危険があるものとして取扱い上の注意を守り、皮膚に触れたり飲み込んだりしないでください。
- ・試験の全工程で防護手袋を着用ください。手袋及び手袋が接触するものの互換性については、メーカーの推奨に従ってください。

※2. 使用上の注意

- ・本品は個々の検体を試験するもので多人数の検体を混合したプール検体を試験するものではありません。
- ・本品は凍結を避け、貯蔵方法に従い保存ください。
- ・使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- ・キットは適切な試薬ロットの組み合わせになっていますので、異なるロットのキットの試薬(テストプレート、POD標識抗体液、標識抗体希釈液、陽性コントロール、陰性コントロール)を組み合わせで使用しないでください(試薬ロット番号は6桁で表示され、その組み合わせは外箱及びバーコード表に記載されています)。同梱のクロモゲンと基質液を使用する場合は、同一ロットの組み合わせで使用ください。別売の補助試薬のクロモゲンと基質液を使用する場合は、クロモゲン全量をバーコードラベル付き基質液のバイアルに入れてください。
- ・基質液、クロモゲン溶液、反応停止液は重金属イオンや酸化剤に触れないようにしてください(金属部品が直接液体に触れるピペットは使用しないでください)。発色反応は次亜塩素酸塩を含む消毒薬の周辺では実施しないでください。もしもクロモゲン溶液がテストプレートに分注される前に自然に青色を呈した場合には、溶液が汚染されていることを示します。このような場合には清浄な容器で新たにクロモゲン溶液を調製ください。また、基質液、クロモゲン溶液、反応停止液は皮膚に触れないようにしてください。
- ・インキュベーション中は、テストプレートの振動を避けてください(例えば、安定した浮力を得るための適切な補助器具上にテストプレートを置か、循環のない水浴を使用ください)。また、テストプレートの穴は恒温槽の水に接していなければなりません。水浴の水の微生物汚染を防ぐための安定剤を使用している場合、テストプレートの表面や穴に安定剤が混入し、非特異的な反応が生じないように充分注意ください。
- ・検体が強く反応した場合、反応停止の際色素が沈殿することがありますが吸光度測定には影響を及ぼしません。
- ・コントロール血清はヒト血清を原料としていますので濁ることがありますが、結果には影響を及ぼしません。
- ・本品は、各種自動分析装置で最適な性能及び仕様に沿った使用ができることを確認しています。使用者が行った変更は本品の性能や測定結果に影響することがあるので保証できません。添付文書やアプリケーションシートに記載されている以外の操作方法や試薬の使用の変更の確認は、使用者の責任において行ってください。
- ・試薬の注ぎ足しは行わないでください。

※3. 廃棄上の注意

- ・試料(検体)中にはHIV、HBV、HCV等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具等は適切な消毒処理あるいは滅菌処理を行ってください。
- ・廃棄物の処理に関しては、感染の危険性のある固形物は121℃で最低1時間以上オートクレーブにかけてください。吸引された廃液に際しては、ヒトの病原性ウイルスを不活化できる消毒薬を入れた2つの連結した容器に回収します。消毒薬の濃度や消毒時間は消毒薬製造元の指示に従ってください。
- ・残った試薬や検体を破棄する場合には、医療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処理ください。
- ・試薬類や廃液などが飛散した場合には、拭き取りと消毒を行ってください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法：2～8℃
2. 有効期間：(i)キットとしての有効期間 18ヶ月(使用期限は外箱に表示)

(2)各構成試薬の有効期間 (使用期限はラベルに表示)

テストプレート	18 ヶ月
POD 標識抗体液	18 ヶ月
標識抗体希釈液	18 ヶ月
陽性コントロール	18 ヶ月
陰性コントロール	18 ヶ月
濃縮洗浄液	24 ヶ月
基質液	24 ヶ月
クロモゲン	22 ヶ月
反応停止液	60 ヶ月

【包装単位】

192テスト

※※【主要文献】

1. Frösner GG. Die Aussagekraft serologischer Untersuchungsmethoden bei Virushepatitiden. Med Klin 1982; 77: 236-45.
2. Niermeijer P, Gips CH, Huizenga JR, et al. IgM Anti-HBc as a marker of persistent and IgG anti-HBc as a marker of past hepatitis B infection. A longitudinal study over 5 years. Acta Hepato-Gastroenterol 1978; 25: 360-4.
3. McCollum RW, Zuckerman AJ. Viral hepatitis: Report on a WHO informal consultation. J Med Virol 1981; 8: 1-29
4. Grady GF. Hepatitis B immunity in hospital staff targeted for vaccination. Role of screening tests in immunization programs. JAMA 1982; 248: 2266-9
5. Deinhardt F, Weise HJ. Aktive Immunoprophylaxe der Hepatitis B: Kolloquium über den heutigen Stand und die zukünftige Entwicklung der Hepatitis B-Impfung in der Bundesrepublik Deutschland. Bundesgesundheitsbl 1982; 25: 272-3
6. Scheiblaue H, Ferguson M, Volkers P, et al. Report of the WHO collaborative study to establish the First International Standard for detection of antibodies to Hepatitis B core antigen (anti-HBs), human plasma. Geneva: World Health Organization. 2008;WHO/BS/08.2098:1-30.

※【問い合わせ先】

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーケアセンター
TEL : 03-3493-8400

製造販売元

シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社

※東京都品川区大崎 1-11-1
ゲートシティ大崎ウエストタワー

DL-114-003F
(OUWEG 19C11 Rev.08)