

SIEMENS

B 型肝炎ウイルスコア免疫グロブリン M キット

エンザイグノスト[®] Anti-HBc/IgMEnzygnost[®] Anti-HBc/IgM

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×1プレート |
| Anti-HBc/IgM test plate | |
| ヒトIgM マウスモノクローナル抗体結合プレート | |
| 2. 酵素標識抗原液 | 0.6mL×3バイアル |
| HBcAg/POD-Conjugate | |
| ペルオキシダーゼ (POD) 標識HBc抗原 | |
| 3. 標識抗原希釈液 | 6mL×3バイアル |
| Conjugate Buffer (Anti-HBc/IgM) | |
| 4. 陽性コントロール | 0.3mL×1バイアル |
| Anti-HBc/IgM Control Serum, positive | |
| ヒト血清 | |
| 5. 陰性コントロール | 0.5mL×1バイアル |
| Anti-HBc/IgM Control Serum, negative | |
| ヒト血清 | |
| 6. 検体希釈液 | 40mL×3ボトル |
| Sample Buffer (Anti-HBc/IgM) | |
| 7. 濃縮洗浄液 | 100mL×1ボトル |
| Washing Solution POD (concentrate) | |
| 8. 基質液 | 30mL×1ボトル |
| Buffer/Substrate TMB | |
| 尿素・過酸化水素 | |
| ※9. 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 | |
| 10. 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】

血清中のIgM-HBc抗体の検出

※※【測定原理】

本品は、固相に特異抗原を使用する代わりに、μ鎖特異的抗ヒトIgM抗体を使用したμ鎖キャプチャー法を原理としています。検体を抗ヒトIgGヒツジ抗体（検体希釈液に含まれるRF吸収剤）で前処理した後、検体と酵素標識抗原液をインキュベーションし、テストプレート上で免疫反応が起きます。

本測定では、検体中に含まれるHBcウイルス特異IgM抗体とテストプレートの穴のプラスチック表面に固相化された抗ヒトIgM抗体を反応させます。次に酵素標識抗原液がこれらの特異抗体と結合します。過剰な標識物質

及び結合していない検体成分を洗浄除去した後、クロモゲン溶液を添加すると、抗体と結合しているPOD標識HBc抗原の酵素により青色を呈します。反応は反応停止液の添加により停止し、黄色に呈します。検体中のIgM抗体は穴内に固相化されたウイルス未感作細胞のコントロール抗原に対し同様の方法で測定されます。ウイルス抗原穴とコントロール抗原穴間の吸光度差より、ウイルス抗体の濃度活性を測定します。

【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。
 - ・検体は2～8℃で3日間保存できます。それ以上保存する場合は凍結ください。
 - ・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
 - ・ヘパリン、EDTA及びクエン酸などの抗凝固剤は測定結果に影響を及ぼしません。
 - ・高脂血症、黄疸、溶血検体は測定に影響を及ぼしません。高レベルのHBc抗体を伴う高レベルのリウマトイド因子がみられる検体ではごくまれに測定値が上昇することがあります。
 - ・サイトメガロウイルス抗体、HAV抗体、HIV抗体、HCV抗体、風疹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。
 - ・トランスアミナーゼ値が高い患者の検体及び自己抗体（リウマトイド因子以外）や抗核抗体を含む検体では測定結果への影響は観察されませんでした。
 - ・EBV抗体を含む検体及び血液透析患者の検体では測定値が上昇することがあります。
 - ・凝固が不完全な血清、アジ化ナトリウムを含む検体、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（フィブリン塊等）は、測定前に取り除いてください。

【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（パック）から取り出さずに18～25℃に戻します。使用しないテストストリップはホルダーから外し、プレート保存用ポリエチレンバッグに保存します。
 - ・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をそれぞれのバイアルの中で混和しないでください（実際は表示量以上に充填されています）。
 - ・試薬及び調製試薬を混和する際は、泡がたたないように注意ください。
- ※※2. 検体の調製法
 - ・すべての検体（ただしコントロール血清は除く）を試験管にて検体希釈液で101倍に希釈ください。（例：検体10μL + 検体希釈液1000μL）
 - ・標識抗原溶液：酵素標識抗原液のバイアルから必要な量を抜き取り、標識抗原希釈液で11倍に希釈ください。
 - ・半プレート分の場合、酵素標識抗原液0.6mLを抜き取り、標識抗原希釈液の1バイアル（6mL）に加えてください（11倍希釈）。
- ※※3. 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
希釈検体	101倍希釈 (検体希釈液 で希釈)	2～8℃	24時間
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)	6週間
酵素標識抗原液	開封後	2～8℃	4週間
	11倍希釈	18～25℃	1週間
標識抗原希釈液	開封後	2～8℃	4週間
検体希釈液	開封後	2～8℃	4週間
陽性コントロール	開封後	2～8℃	4週間
陰性コントロール		2～8℃	4週間
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
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

※※4. 必要な器具・器材・試料等

- ・ベアリング ELISA プロセッサ 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
- ・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
用手法の場合は以下の器具が必要です。
 - ・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 (615nm～690nm)。測定には検証済みの器具・器材を使用ください。

※※5. 操作法

- ・用手法による場合

(1)測定計画

検体数に6 (陽性コントロール、陰性コントロール用の穴数) を加えた数が必要なテストプレートの穴数です。

(2)コントロール/検体の分注

初めの4穴 (テストプレートのA1～D1) に陰性コントロールを10μL ずつ、次の1穴 (テストプレートのE1) に陽性コントロールを10μL 分注します。以下、前希釈した検体を各穴に10μL ずつ分注します。検体の分注が終わったら続く1穴又はテストプレートの最後の1穴に陽性コントロールを10μL 分注します。各検体の分注には専用のピペットチップを使用ください。分注は各プレート15分以内に行ってください。希釈検体の分注には、簡素化及び迅速化が可能な8チャンネルピペットの使用をお奨めします。分注操作後、カバーシールをします。

(3)インキュベート

少なくとも15分間 (最長30分まで) 18～25℃でインキュベートします。

(4)標識抗原溶液の分注

カバーシールを外し、**各穴の洗浄はしないで**、標識抗原溶液を必要な各穴に100μL ずつ分注します。新しいカバーシールをし、直ちにインキュベータに入れます。

(5)インキュベート

37±1℃で60±2分間インキュベートします。終わったら直ちに [(6)洗浄] を行います。

(6)洗浄

カバーシールを外し、各穴の反応液を吸引除去し、各穴につき約300μL の洗浄液で4回洗浄します。

(7)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。

(8)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分間インキュベートします。

(9)反応停止

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、[(7)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。

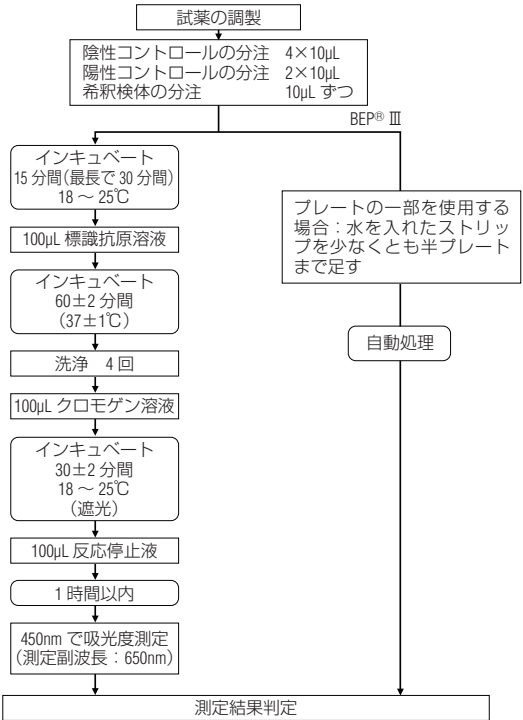
(10)吸光度測定

1時間以内に450nmでテストプレートの吸光度を測定します。
2波長式 (測定波長及び副波長) の吸光度計による測定を推奨します。
波長450nmにてコントロール及び患者検体の吸光度を測定します。副波長として650nm又は615～690nm間の適正值を推奨します。

・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 [5. 操作法の(1)～(2)]。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しないで直ちにBEP Ⅲに搭載します。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。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や試薬用量の設定は、技術的な理由 (システム速度) 又はシステム固有な設定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

平均値を算出するうえで、陰性コントロール (A_{neg}) と陽性コントロール (A_{pos}) の個々の吸光度については下記の条件が設定されています。

$$-0.010 \leq A_{neg} \leq 0.100$$

$$A_{pos} \geq 0.700$$

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。

しかし、もし4穴の陰性コントロール血清のうち2穴以上又は2穴の陽性コントロールのうち1穴でも吸光度が上記の条件を外れた場合は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)。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吸光度 ($\bar{A}_{neg}$) を算出し、それに0.07を加えた値をカットオフ値とします。

$$\bar{A}_{neg} + 0.07 = \text{カットオフ値}$$

- ・測定基準に基づき、検体は次のように判定されます。

$$1. A_{\text{sample}} < \text{カットオフ値} - 10\% \quad \text{: 陰性}$$

$$2. A_{\text{sample}} > \text{カットオフ値} + 10\% \quad \text{: 陽性}$$

$$3. \text{カットオフ値} - 10\% \leq A_{\text{sample}} \leq \text{カットオフ値} + 10\% \quad \text{: 判定保留}$$

もしも、判定保留の結果が出た場合は再試験を行います。再試験後も、検体が陽性、陰性のどちらでもない場合、判定保留とします。

【臨床的意義】

多くの急性B型肝炎において、B型肝炎ウイルスコア抗原（HBc抗原）に対するHBc-IgM抗体は、ウイルス増殖の後、血中に短期間（約7～17週間）だけ出現します。

このため、急性B型肝炎感染の比較的信頼の高い診断法として、単独でこのHBc-IgM抗体が測定されています。一方HBs抗原やHBe抗原は、慢性肝炎患者の血清にも出現するため、鑑別診断を目的として、他のマーカー（HBs抗体、HBe抗体又はHBc抗体）による検査も必要です。

急性B型肝炎感染少数例では、臨床症状の現れる前にHBs抗原やHBe抗原がすでに消滅しており、対応する抗体もまだ検出不可能な場合があります。この様な状況では総HBc抗体の検出のみでは正確な説明はできません（HBc抗体は、おそらく唯一の抗体として、感染後何年も血中に出現し続けます）。しかし、HBc-IgM抗体の検出によって、急性B型肝炎の診断は可能です¹。

【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0.100以下です。また、陽性コントロールの吸光度は0.700以上です。
- 2. 正確性
IgM-HBc抗体陽性の血清及びIgM-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
IgM-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、IgM-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
感度を立証するため、計192例のHBc-IgM抗体陽性の検体について試験を行いました。検査されたすべての検体において、本品の測定基準に従い陽性が認められました。ただし、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。
感度試験により以下の結果が得られました：

検体パネル	検体数	本品	
		初回陽性	再測定陽性
急性HBV感染	192	192	実施なし

- ・特異性
特異性を立証するため、計2559例のHBc-IgM抗体陰性の検体について試験を行いました。その結果、特異性は99.60%から99.91%（初回測定）及び99.91%から100%（再測定結果）でした。母集団や測定手順等が変化することにより、特異性がこれらの結果から逸脱する可能性もありますが、Common Technical Specifications(CTS)に準拠しております。
2ヶ所の独立機関（W, R）にて実施された特異性試験により以下の結果が得られました：

検体パネル	検体数	本品	
		初回陽性	再測定陽性
(W) 正常な陰性血清検体	997	2	0
(W) 正常な陰性血漿検体	501	2	0
(R) 患者パネル	1061	1	1

現在の知見では、HBc-IgM抗体陰性の測定結果をもって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、抗体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
データは代表的な結果を示しています。さまざまな要因（手順等）により異なる結果が得られる場合もあります。
同時再現性試験では、各検体につき測定を20回実施しました（FP2, n=18）。

同時再現性		
検体	平均吸光度	CV(%)
FP1	0.236	4.3
FP2	0.182	6.8
FP3	0.155	6.3
FP4	0.159	5.7

日差再現性に関する試験では、独立した5回の試験のそれぞれにおいて、各検体につき測定を3回実施しました。

日差再現性		
検体	平均吸光度	CV(%)
FP1	0.158	10.9
FP2	0.113	5.9
FP3	0.125	5.8
FP4	0.104	16.9

- 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、また口によるピペティングを行わないでください。
 - ・本品の製造に用いた個々の供血（ドナー又はドナーユニット）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、陰性が確認されています（陽性コントロールは除く）。しかし、これは、感染性物質が存在しないことを証明するものではありません。ヒトの血液を原料とする試料・試薬を取り扱う際は、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可能な物質については、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。
 - ・テストプレート、酵素標識抗原液、標識抗原希釈液、検体希釈液、陽性コントロール、陰性コントロールは外箱及び同封のバーコード表に記載の6桁のロット番号と組み合わせで使用ください。クロモゲン、基質液についても同様に6桁のロット番号と組み合わせで使用ください。
 - ・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。インキュベータにウォーターバスを使用する場合、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くか、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温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薬剤が混入し、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当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：(1)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
酵素標識抗原液	18 ヶ月
標識抗原希釈液	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
検体希釈液	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】

96テスト

【主要文献】

1. Frösner G. Viral hepatitis. In: Thomas L, ed. Clinical Laboratory Diagnostics, Frankfurt/Main: TH Books, 1998: 1260-87.

※【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-114-004E
(OWSE G13 C11)