

SIEMENS

B 型肝炎ウイルス表面抗体キット エンザイグノスト® Anti-HBs II Enzygnost® Anti-HBs II

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。
- ・標準血清及び陰性コントロール血清にはヒト由来成分が含まれており、感染の危険があるので感染性のあるものとして取り扱ってください。
- ・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。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. テストプレート Anti-HBs II MTP HBs 抗原結合プレート	96穴 x 1 プレート
2. 酵素標識抗原液 Anti-HBs II Conj ペルオキシダーゼ (POD) 標識 HBs 抗原	6mL x 1 バイアル
3. 標準血清 Anti-HBs II REF P HBs 抗体含有ヒト血清	1.5mL x 1 バイアル
4. 陰性コントロール血清 Anti-HBs II Neg ヒト血清	14mL x 2 バイアル
5. 濃縮洗浄液 Washing Solution POD (Concentrate)	100mL x 1 ボトル
6. 基質液 Buffer/Substrate TMB 尿素・過酸化水素	30mL x 1 ボトル
7. クロモゲン Chromogen TMB テトラメチルベンジジンジヒドロクロリド	3mL x 1 バイアル
8. 反応停止液 Stopping Solution POD	100mL x 1 ボトル

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枚
・バーコード表	1枚

【使用目的】

血清又は血漿中の HBs 抗体の測定

【測定原理】

エンザイムイムノアッセイ (酵素免疫測定法)

本キットはワンステップ・サンドイッチ ELISA 法を原理として HBs 抗体を測定します。固相及び酵素標識抗原液に含まれる抗原はサブタイプ ad 及び ay を含む非動化したヒト HBs 抗原来由です。

検体に含まれる HBs 抗体は、マイクロプレートの穴に固相化されている HBs 抗原及びペルオキシダーゼで標識されている HBs 抗原と反応します。クロモゲン溶液を添加すると、抗体と結合している酵素標識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溶液は黄色を呈します。呈色の強度は検体中の HBs 抗体の濃度に比例します。定量値は α -法より算出されます。

【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。
 - ・血漿 (ヘパリン、クエン酸) 検体は 2 ~ 8℃ で 3 日間、血清及び血漿 (EDTA) 検体は 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 (15 ~ 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 及びクエン酸塩などの抗凝固剤は測定に影響を及ぼしません。
 - ・高脂血、黄疸、溶血検体又はリウマトイド因子を含む検体は測定に影響を及ぼしません。
 - ・抗核抗体、抗 HCV 抗体、抗 HAV 抗体、抗 EB ウイルス抗体及び抗 サイトメガロウイルス抗体を含む検体について検討したところ、試験した検体では測定に影響を及ぼしませんでした。
 - ・妊婦血清を検討したところ、試験した検体では測定に影響を及ぼしませんでした。
 - ・検体の非動化 (56℃、30 分) は測定に影響を及ぼしません。
 - ・凝固の不十分な血清や微生物の混入した検体は使用しないでください。検体中の粒子 (例：フィブリン塊) 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 15 ~ 25℃ に戻します。ただし、テストプレートは保存容器 (パック) から取出さずに 15 ~ 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立てないでください。

(1) 洗浄液

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)。

(2) 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)。

2. 検体の調製法

本品の最小測定範囲は、10 IU/L ~ 100 IU/L です。

HBs 抗体の濃度が 100 IU/L 以上と予測される検体はキットの陰性コントロール血清を用いて次のように調製できます。

1000 IU/L まで	希釈 1 : 9	(例：検体 20 μ L + 陰性コントロール 180 μ L)
10,000 IU/L まで	希釈 1 : 99	(例：希釈 (1 : 9) 検体 20 μ L + 陰性コントロール 180 μ L)
100,000 IU/L まで	希釈 1 : 999	(例：希釈 (1 : 99) 検体 20 μ L + 陰性コントロール 180 μ L)

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
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パックで保存)	4週間
酵素標識抗原液	開封後	2 ~ 8℃	4週間

試料・試薬	状態	保存条件	安定性
標準血清	開封後	2～8℃	4週間
陰性コントロール血清		－20℃以下	3ヶ月
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	(1：10)	2～8℃ (遮光・密封)	5日
	希釈	15～25℃ (遮光・密封)	8時間
濃縮洗浄液	開封後	2～8℃	使用期限内
洗浄液	(1：19)	2～8℃	1週間
	希釈	18～25℃	1日
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

- ・ペーリング ELISA プロセッサⅢ（以下BEPⅢ）：検体分注後の自動測定処理用及び結果判定用
- ・分注ピペット：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
- ・BEPⅢを使用しない場合は、以下の器具が必要です。
- ・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）
- ・定量測定の判定のため、指数と対数処理機能の付いた電卓
- ・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

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)酵素標識抗原液の分注

酵素標識抗原液を各穴25μLずつ分注します。

酵素標識抗原液の分注後直ちに陰性コントロール血清、標準血清及び検体を分注ください。

(3)コントロール/検体の分注

陰性コントロール血清を100μLずつ4穴（テストプレートのA1～D1）に、標準血清100μLを1穴（テストプレートのE1）に、引き続き検体を各穴に100μLずつ分注し、さらに標準血清100μLを最後の1穴に分注します。

重要：標準血清を2つの決められた穴に分注し終えてからその間の穴に検体の分注をしないでください。

分注は迅速に各テストプレート30分以内に行ってください。

各ペア穴に新しいチップを使用ください。

分注後はテストプレートに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±2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

インキュベート後、直ちにカバーシールをはずし各穴の反応液を吸引除去し、約0.3mL/穴の洗浄液で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クロモゲン溶液の分注を行います。

(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

直ちに遮光して15～25℃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。この際各穴に(6)のクロモゲン溶液を加えてから反応停止液を加えるまでの時間的間隔を一定にしてください。

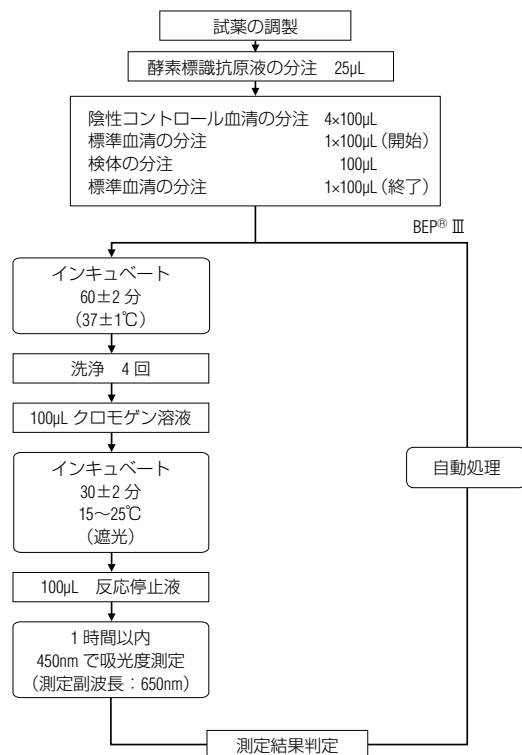
(9)吸光度測定

1時間以内に450nmで吸光度を測定します。副波長は650nm（615～690nm）を使用します。

- ・BEPⅢを使用する場合

BEPⅢを使用する前に、検体分注操作を行います[5.操作法の(1)～(3)]。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い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BEPⅢに搭載します。続く操作はBEPⅢによって全自動で行うことができます（詳しくはBEPⅢの取扱説明書を参照）。BEPⅢ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）により用手法との設定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

陰性コントロール血清 ($A_{\text{Anti-HBs II Neg}}$) と標準血清 ($A_{\text{Anti-HBs II REF P}}$) の吸光度について下記の条件が設定されています。

① 陰性： $-0.010 \leq A_{\text{Anti-HBs II Neg}} \leq 0.120$

② 陽性： $A_{\text{Anti-HBs II REF P}} \geq 0.7$

陰性コントロール血清4穴のうち1穴までは上記の条件を外れても測定は有効とし、残りの3穴の値で結果判定のために陰性コントロール血清の平均値を算出します。標準血清の判定は、2穴共に上記の条件を満たさなければなりません。これらの条件が満たされない場合は、BEPⅢはInvalid Testと表示されます。この場合は、結果が条件を満たさなかった原因を確認し再試験ください。

定量測定の場合には、次の条件を満たしていなければなりません。

- ・個々の標準血清の吸光度が以下の条件を満たしていなければ平均値を算出できません。

下限値 $< A_{\text{Anti-HBs II REF P}} < \text{上限値}$

上限及び下限値はどちらもキットに添付の表（バーコード表）に記載されています。

- ・個々の標準血清の吸光度は、2つの標準血清から算出された平均値±20%に入っていること。これらの条件が満たされない場合は、用手法による定性の判定のみ可能です。

2. 測定結果の判定

BEPⅢ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BEPⅢの取扱説明書を参照してください）。

用手法での結果の算出は次の通りです。

(1)定性測定

測定の有効性を満たす陰性コントロール血清から、平均吸光度 ($\bar{A}_{\text{Anti-HBs II Neg}}$) を算出します。それに0.08を加えた値をカットオフ値とします。

$\bar{A}_{\text{Anti-HBs II Neg}} + 0.08 = \text{カットオフ値}$

試験の基準に基づき、検体は次のように判定されます。

陰性： $A_{\text{Sample}} < \text{カットオフ値}$

陽性： $A_{\text{Sample}} \geq \text{カットオフ値}$

(2)定量測定 (α-法)

1) 測定値の補正

再現性の良い結果を得るためには、吸光度の補正が必要です。まず、標準血清の吸光度の平均値を算出します。次に添付のバーコード表に示されている表示値を、算出した吸光度の平均値で割ります。

$$\text{補正係数} = \frac{\text{標準血清の記載吸光度}}{\text{標準血清の平均吸光度}}$$

検体の吸光度はこの補正係数をかけて補正します。

もしも、複数のテストプレートを同時に測定する場合は補正係数を

テストプレートごとに算出ください。

2) 抗体価の算出

カットオフ値より高い検体は α -法を用いて定量が可能です。

以下の場合、抗体価は算出できません。

- ・検体の吸光度(補正後) < カットオフ値
- ・検体の吸光度(補正前) ≥ 2.5

計算は次式に従います。

$$\log_{10} \text{ mIU/L} = \alpha \cdot A^{\beta}$$

α 、 β の値(数値はロット毎に異なる)はキットに添付の表(バーコード表)に記載されている値を用いてください。IU/Lに換算するには、1000で除してください。

補正前の結果が ≥ 2.5 の検体は、希釈後(例1:9)に結果を評価ください。この場合、結果に10を乗じてください。国際単位で示す抗体価はWHOの(2nd International Standard 2008, NIBSC code 07/164)⁷⁾に準じています。

※【臨床的意義】

HBs抗原と同様に、HBs抗原と反応するHBs抗体はB型肝炎ウイルスによる感染の診断に重要な測定項目です^{1,2)}。B型肝炎ウイルスによる感染の潜伏期間中や急性期では、HBs抗原に対する抗体は検出できません。90%の患者においてHBs抗体は、発症から3～4ヶ月後の回復期の終わり頃までに生じ、その時にはHBs抗原はもはや検出することはできません^{3,4)}。HBs抗体陰性から陽性への転換のようなセロコンバージョンは、過去のB型肝炎ウイルスによる感染の診断に有効なパラメータで、感染初期でHBs抗原が検出できない急性感染症患者の約10%が、後にHBs抗体陽性を示します。HBs抗体測定はB型感染ウイルスによる無症候感染の診断にも有用です^{3,4)}。HBs抗体の陽性結果は、B型肝炎ウイルスによる感染又は予防接種のどちらかによる過去のHBs抗原との接触を示唆しますので、HBs抗体測定の最も重要な適用は次の通りです。

- (1) B型肝炎ウイルス感染者における回復期の評価(経過観察)
- (2) 予防接種に関連した血清学的検討(スクリーニング及び予防接種後のチェック)
- (3) 疫学の研究

HBs抗体の検出に加えて、HBs抗体の定量測定は能動免疫に関する有用性が知られています。WHOの推奨では肝炎ワクチンの予防接種を受けて、血清又は血漿中のHBs抗体濃度が > 10 IU/Lであれば感染に対して防御可能と推測できます。このHBs抗体濃度の限界値が低下しないように適切な追加接種が推奨されています^{5,6)}。基本的な予防接種後にHBs抗体濃度が < 100 IU/Lを示す患者では、1年以内の追加接種が必要です(Recommendations of the Standing Committee on Immunization of the Robert Koch Institute in Germany, October 1995)。定量的評価の必要性は、免疫の持続時間がHBs抗体の到達レベルに比例するという事実によってさらに強まります。

【性能】

本キットは、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

陰性コントロール血清を測定する時吸光度は0.120以下です。また、標準血清を測定する時吸光度は0.700以上です。

2. 正確性

HBs抗体陽性血清及び陰性血清を測定する時それぞれ陽性及び陰性反応を示します。また、濃度既知のHBs抗体陽性血清を測定する時、測定値は既知濃度の80～120%です。

3. 同時再現性

HBs抗体陽性血清を3回同時に測定する時、常に陽性反応を示し、HBs抗体陰性血清を3回同時に測定する時、常に陰性を示します。濃度の異なる2種類のHBs抗体陽性血清を3回同時に測定する時、測定値のCV値は15%以下です。

※4. その他のデータ

・感度

本品の診断感度は755例のHBs抗体を測定し、感度は99.1%でした。本品は他の検査試薬と同等の感度を示しました。

検体の内訳	検体数	陽性
HBs抗体陽性	216	215
HBVの予防接種者の検体	539	533

分析感度はWHO reference preparationに準じた段階希釈を用いて、カットオフ値にて8 IU/L未満と設定しました。

特異性は824例のHBs抗体陰性の供血者検体を用いて検討し、結果は99.8%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。

・再現性

複数の検体を5日間、一度に8回測定し、同時再現性及び日差再現性の検討をしました。

同時再現性

検体	平均吸光度	CV(%)
P1	1.25	4.0
P2	1.65	3.2
P3	0.59	7.7
P4	0.28	3.7

日差再現性

検体	平均吸光度	CV(%)
P1	1.25	3.9
P2	1.65	3.2
P3	0.59	8.3
P4	0.28	12.7

5. 校正用の基準物質(標準物質)

WHO Reference 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、また口によるピベッティングを行わないでください。
- ・供血者又は供血ユニットは、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及びHIV-2、HBV、HCVが陰性であることを確認していますが、感染性物質が存在しないことの証明にはなりませんので、ヒトの血液を原料とする試料・試薬はすべて取扱いに注意し、皮膚に触れたり飲み込んだりしないでください。
- ・テストプレート及び酵素標識抗原液は、HCV抗体陰性、HIV-1及びHIV-2抗体陰性で純度の高い非働化したHBs抗原陽性のヒト血漿から分離されました。
- ・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(テストプレート、酵素標識抗原液、標準血清、陰性コントロール血清)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を組合わせて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、その組み合わせはバーコード表に記載されています)。クロモゲンと基質液も同一のロットの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。
- ・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。
- ・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ず、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水浴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薬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ご注意ください。
- ・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。
- ・本品は、各種自動分析装置で使用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。添付文書に記載されている使用方法の変更の確認は、
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、使用済み器具など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。廃液の吸引に際しては、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
標準血清	18 ヶ月
陰性コントロール血清	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. Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. Nature 1985; 317: 489-95.
2. Lau JY, Wright TL. Molecular virology and pathogenesis of hepatitis B. Lancet 1993; 342:1335-40.
3. Frösner G. Viral hepatitis. In: Thomas L, ed. Clinical Laboratory Diagnostics, Frankfurt/Main:TH Books, 1998: 1260-87.
4. Robson SC, Schoub B, Abdool Karim SS. Viral hepatitis B - an overview. S Afr Med J 1994;84: 530-5.
5. Deinhardt F, Zuckerman AJ. Immunization against hepatitis B: Report on a WHO Meeting on Viral Hepatitis in Europe. J Med Virol 1985; 17: 209-17.
6. Jilg W, Schmidt M, Deinhardt F. Immune responses to late booster doses of Hepatitis B vaccine. J Med Virol 1985; 17: 249-54.
7. Ferguson M, Heath A. Report of the WHO collaborative study to calibrate a candidate replacement for the First International Standard for hepatitis B immunoglobulin. Geneva: World Health Organization. 2008;WHO/BS/08.2084:1-22.

※【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-114-005E
(OQNE G15 C0502)