

＊ この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

E テスト「TOSOH」II (HBeAg)

EIA 法による血清又はヘパリン血漿中の HBe 抗原検出用試薬

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
- ＊3. 本電子添文に記載された方法及び目的以外での使用については保証を致しません。
4. 本キットの構成試薬については、HBs 抗原、HIV 抗体及び HCV 抗体が陰性であることが確認されていますが、被検検体と同様に取扱いには注意してください。
5. 全自動エンザイムイムノアッセイ装置をご使用の際には、装置添付の取扱説明書をよく読んでから使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

＊本製品は次に示す試薬を組み合わせて使用してください。

1. E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬
抗 HBe マウスモノクローナル抗体固定化ビーズ
抗 HBe マウスモノクローナル抗体アルカリ性ホスファターゼ結合物
2. E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品セット
E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (1)
E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (2)
3. E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液
4. E テスト「TOSOH」II 基質セット（ラベルに桃色で SUB II と表示）
1) E テスト「TOSOH」II 基質
4-メチルウンベリフェリルりん酸
2) E テスト「TOSOH」II 基質溶解液
5. E テスト「TOSOH」II 洗浄液
6. E テスト「TOSOH」II 分注液

【使用目的】

血清又は血漿中の HBe 抗原の検出

【測定原理】

1. 特徴

- 1) 全自動エンザイムイムノアッセイ装置を用いて、短時間で自動測定できます。（抗原抗体反応時間は 10 分）
- 2) 2 種類の抗 HBe マウスモノクローナル抗体を用いた 1 ステップサンドイッチ EIA (IEMA) 法です。
- 3) 磁性ビーズに固定化された抗体と酵素標識された抗体が試薬カップに凍結乾燥状態で封入されているため、試薬調製の必要がありません。
- 4) 抗原抗体反応から蛍光測定まで専用の試薬カップ内で行われるため、コンタミネーションやキャリーオーバーがありません。
- 5) 全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA シリーズを使用すると、蛍光強度は初速度法により酵素活性値に換算されるため、基質のバックグラウンドによる影響がなく正確な測定値が得られます。
- 6) 放射性同位元素を使用していませんので、そのための特殊な設備を必要としません。

2. 測定原理

本法の原理は、2 種類の抗 HBe モノクローナル抗体を用いた 1 ステップサンドイッチ EIA (IEMA) 法です。磁性ビーズに固定化された抗体とアルカリ性ホスファターゼ標識抗体とが、凍結乾燥体として試薬カップに封入されています。この試薬カップに検体と分注水を入力すると、凍結乾燥試薬が溶解し抗原抗体反応が開始します。一定時間、一定温度でインキュベートした後、洗浄水で未反応の酵素標識抗体を除去します（B・F 分離）。その後、磁性ビーズに結合した酵素活性を測定するために基質として 4-メチルウンベリフェリルりん酸を添加し、蛍光物質（4-メチルウンベリフェロン）の生成速度を測定することにより、検体中の HBe 抗原濃度を知ることができます。

【操作上の注意】

1. 検体には新鮮な血清又はヘパリン血漿を用いてください。血漿はヘパリン血漿以外は用いないでください。検体を取分ける場合は、溶血させないようにご注意ください。検体を保存する場合は、2～8℃で保存し、3 日以内に測定してください。3 日以内に測定しない場合は、-20℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。2～8℃保存又は凍結保存した検体をご使用の際には、15～25℃に戻してから使用してください。
2. 凍結保存検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 検体の希釈には E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液を用い、十分に混和してください。
4. 妨害物質
ヘモグロビンは 440 mg/dL まで、遊離型ビリルビンは 17 mg/dL まで、抱合型ビリルビンは 17 mg/dL まで、イントラリビッドは 1,600 mg/dL まで、アルブミンは 5.0 g/dL まで、アスコルビン酸は 20 mg/dL まで、EDTA・2K は 1 mg/mL まで、クエン酸・3Na は 20 mg/mL まで、ヘパリン・Na は 100 U/mL (日本薬局方定量法による) まで、それぞれ検体に添加しても測定値に影響を与えないことが確認されています。
5. 2～8℃保存されていた試薬をご使用の際には、15～25℃に戻してから使用してください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法及び調製後の貯法・有効期間

- 1) 免疫反応試薬
E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬の防湿袋を開封して使用してください。開封後の免疫反応試薬は、15～25℃での累積時間として 240 時間以内に使用してください。例えば、1 日あたり 15～25℃に 8 時間、2～8℃に 16 時間保存することを毎日繰り返した場合は 30 日に相当します。但し、一度防湿袋を開封した免疫反応試薬は、2～8℃に保存していたとしても、30 日を超えては使用しないでください。

2) 検体希釈液

E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液は液体ですので、開封後、そのまま使用してください。開封後は、15～25℃での累積時間として 72 時間有効です。例えば、15～25℃で 1 日に 8 時間開封して使用し、使用後直ちに密封して 2～8℃で保存した場合は、9 日間有効です。また、全自動エンザイムイムノアッセイ装置に検体希釈液をセットしない場合（自動希釈機能を利用しない場合）に限り、毎回使用後直ちに密封し 2～8℃で保存するならば 90 日間有効です。

＊3) 標準品

E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (1)、(2) はいずれも液体ですので、開封後、それぞれ必要量を検体カップにとり、そのまま使用してください。いずれも開封後は密封するならば、2～8℃保存で 1 日間有効です。E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品の表示濃度は、社内標準品を基準として決めたものです。その値は、びんのラベルに記載されています。

4) 基質液

E テスト「TOSOH」II 基質 1 びんに E テスト「TOSOH」II 基質溶解液 1 びん (100 mL) を加えて基質液を調製してください。調製後は、遮光下、15～25℃で 3 日間、2～8℃保存で 30 日間有効です（直射日光、紫外線に当たらないように注意してください）。

5) 洗浄水

E テスト「TOSOH」II 洗浄液 1 びんを適量の精製水で希釈して 2.5 L とし、濃度勾配を生じないように十分に混和して、洗浄水を調製してください。調製後は 15～25℃放置で 30 日間有効です。

6) 分注水

E テスト「TOSOH」II 分注液 1 びんを適量の精製水で希釈して 5 L とし、濃度勾配を生じないように十分に混和して、分注水を調製してください。調製後は 15～25℃放置で 30 日間有効です。

2. 必要な器具・器材・試薬等

- 1) 検体測定時には精度管理用サンプルを測定し、ご施設での日常の精度管理を実施してください。なお、精度管理用サンプルとしては、別売の弊社コントロールをお薦めします。
- 2) 測定の際には、必要に応じてピペット、サンプルカップ、サンプルチップ等をご用意ください。

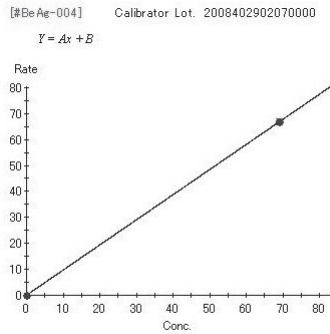
3. 測定（操作）法

- 1) E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬の試薬カップのアルミシールを破ります。
- 2) この試薬カップに分注水 100 μ L と、標準品又は検体 40 μ L を正確に加え、磁石で磁性ビーズを振動させながら攪拌し、37℃で 10 分間、抗原抗体反応を行います。
- 3) 試薬カップを洗浄水で洗浄し、未反応の酵素標識抗体及び検体成分を除去します（B・F 分離）。
- 4) 基質液を 200 μ L 注入した後、磁性ビーズを振動・攪拌させながら、酵素反応により生成した蛍光物質の蛍光強度を落射型蛍光光度計を用いて、励起波長 363 nm、蛍光波長 447 nm で測定し、蛍光物質の生成速度を算出します。
- 5) 標準品に対する蛍光物質の生成速度から検量線を作成し、検体中の HBe 抗原濃度 (CI [注]) を算出します。
なお、検量線は次の場合に作成します。
 - ① 免疫反応試薬のロットの変更時
 - ② 同一の免疫反応試薬ロットにおいて、検量線作成後 90 日を超えた場合
 - ③ 精度管理用サンプルの値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられた場合

[注] CI は、抗原量に比例する単位で、カットオフ値において 1.0 CI となるように設定してあります。

- 6) 測定結果が 140 CI を超えたときは、検体希釈液を用いて、適宜希釈率を変えて検体を希釈し、同様の操作 1)～5) により再測定します。

全自動エンザイムイムノアッセイ装置 AIA-1800 を使用したときに得られる検量線の例を次に示します。



【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定

E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品セットを用いて作成した検量線から検体中のHBe 抗原量を算出します。1.0 CI 未満を示した検体は陰性、1.0 CI 以上を示した検体は陽性と判断されます。ただし、測定結果が2.5 CI 未満の場合、抗HBe 抗体を用いた中和試験を行うことをお薦めします。

2. 判定上の注意

- 1) 本キットは、HBe 抗原を検出するものであり、B 型肝炎ウイルスを直接検出するものではありません。
- 2) 免疫測定法では、非特異反応が生じる場合があります。
- 3) 自己免疫疾患患者では免疫反応の場合、非特異的反応が起こりうるので測定結果に基づく診断は他の検査や臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。

【臨床的意義】

HBe 抗原は、1972 年Magnius らによってB 型肝炎ウイルス(Hepatitis B virus)に関連する抗原として発見されました(1)。HBe 抗原はB 型肝炎ウイルスのコアの内부를構成するポリペプチドで、血中においては遊離あるいは免疫グロブリンなどの血漿タンパクと結合した形で存在すると報告されています。この血中の遊離HBe 抗原は、コアを形成しているHBe 抗原の一部が欠失したポリペプチドであると考えられています。

HBe 抗原陽性の血液は感染性が高く、Dane 粒子(B 型肝炎ウイルス)が多く存在しています。したがって、血中のHBe 抗原を調べることによってB 型肝炎ウイルスの増殖の状態を知ることができます(2-5)。

【性能】

1. 感度

- 1) E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (1) の蛍光単位 (FU) は2 (nmol/ (L・s)) 以下です。
- 2) E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (1) とE テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (2) のFU を測定して、HBe 抗原インデックスに対するFU の比 [注] を求めると、0.2 ～ 2.5 (nmol/ (L・s)) / (CI) です。
[注] FU の比は、下式により計算したものをいいます。
FU の比 = (A - B) / C
A: 標準品 (2) の FU (nmol/ (L・s))
B: 標準品 (1) の FU (nmol/ (L・s))
C: 標準品 (2) のHBe 抗原インデックス (CI)

2. 正確性

コントロール [注] を測定するとき、その測定値は表示値の100±25 % 以内です。
[注] コントロールとは、東ソーHBe 抗原標準品を対照としてE テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬を用いて測定し、表示値を定めたものをいいます。

3. 同時再現性

同一コントロールを10 回同時に測定するとき、測定値の変動係数は15 % 以下です。

4. 測定範囲：1.0 ～ 140 CI

過剰抗原によって誤って低い値が報告される現象は、90,000 CI 以下の濃度では起こりません。

5. 相関性試験成績

本法 とAIA 従来試薬との相関性を検討した結果は以下の通りです。

n = 338	本法	
	陰性	陽性
従来試薬	陰性	279
	陽性	0

なお、本法でヘパリン血漿と血清との相関性を検討した結果は以下の通りです。

n = 70	ヘパリン血漿	
	陰性	陽性
血清	陰性	39
	陽性	0

【使用上又は取扱いの注意】

1. 使用上の注意

- 1) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2) 試薬トレイ間での試薬カップの載せ替えは、試薬の誤った識別につながりますので、絶対に行わないでください。特に、免疫反応試薬を試薬トレイごとセットする機種は、項目名及びロット番号の識別を試薬トレイのバーコード情報でのみ行い、個々の試薬カップのドットコードでは行いませんのでご注意ください。
- 3) 検量線を作成する場合には、新しく防湿袋を開封した免疫反応試薬を使用してください。
- 4) 検量線の有効期間は90 日です。これを過ぎた場合は、新たに検量線を作成してください。また、精度管理用サンプルの測定値が変動するなど検量線の状態が適切でないと考えられる場合には、90 日以内であっても検量線を作成しなおしてください。
- 5) 測定には新鮮な検体を用いてください。検体を保存する場合は、2～8℃で保存し、3 日以内に測定してください。3 日以内に測定しない場合は、-20℃以下で凍結保存し、60 日以内に測定してください。凍結融解の繰り返しは避けてください。
- 6) 試験器具などの汚れは判定を誤らせることがありますので、清浄なものを使用してください。
- 7) 本キットの構成試薬は、HBs 抗原、HIV 抗体及びHCV 抗体が陰性であることが確認されており、また同じく構成試薬のうちE テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品 (2) に含まれているHBe 抗原には感染性はありませんが、万一の場合を考えて構成試薬の取扱いは被検検体の場合と同様に慎重に行ってください。
- 8) 本品は血清又はヘパリン血漿中のHBe 抗原検出試薬ですので、検体には上記以外のものを用いしないでください。なお、血漿にはヘパリン血漿を用いてください。

- 9) 検体にはHAMA (Human Anti-Mouse Antibody) を含むものがありますが、マウスモノクローナル抗体を用いた測定系では正しい測定値が得られないことがあります。また、各種疾患の治療等の目的でご利用になった薬物の影響により、測定値が変動することがあります。疾患の診断には他の検査成績や臨床症状を考慮して総合的に判断してください。
- 10) アスホターゼ アルファ (遺伝子組換え) 製剤を投与されている患者の検体では、測定値が影響を受ける可能性があります。
- 11) 開封後の検体希釈液を保存する際は、密封してください。密封に用いるゴム栓等の汚れは、試薬劣化の原因となりますので、清浄なものを使用してください。
- 12) 検体希釈液の濃縮やコンタミネーションの影響を避けるため、残液は注ぎ足しをしないで廃棄してください。
- 13) 調製後の基質液は、血清、ごみ、金属類、微生物などの混入により酵素基質成分の分解が促進される場合がありますので、清浄な状態で保存してください。

2. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 1) 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。検査にあたっては感染の危険を避けるために使い捨て手袋を着用し、また口によるビベッティングを行わないでください。
- *2) E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬、E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品セット、E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液、E テスト「TOSOH」II 基質セット、E テスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。使用に際しては、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

3. 廃棄上の注意

- *1) E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬、E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品セット、E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液、E テスト「TOSOH」II 基質セット、E テスト「TOSOH」II 分注液には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管・銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがありますので、廃棄する場合は、多量の水で薄めるようにしてください。
- 2) 検体の付着したビベットチップ、手袋などの器具及び測定終了後の試薬カップはオートクレーブ (例えば121℃、20 分以上) などで滅菌後廃棄してください。
- 3) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

- 1. 貯蔵方法 2～8℃保存
- 2. 有効期間 12 ヶ月
※ 使用期限は、各構成試薬の外箱等のラベルに記載されています。

*【包装単位】

品番	品名	包装
0025273	 E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 免疫反応試薬	100 回測定分
0015373	E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 標準品セット	標準品 (1)、(2) : 各1.0 mL 入り×2 本
0015573	E テスト「TOSOH」II (HBeAg) 検体希釈液	4.0 mL 入り ×4 本
0015968	E テスト「TOSOH」II 基質セット E テスト「TOSOH」II 基質 E テスト「TOSOH」II 基質溶解液	100 mL 用 ×2 本 100 mL 入り ×2 本
0015955	E テスト「TOSOH」II 洗浄液	100 mL 入り ×4 本
0015956	E テスト「TOSOH」II 分注液	100 mL 入り ×4 本

【主要文献】

- 1. Magnius, L. O. and Espmark, A. K.: New specificities in Australia antigen positive sera distinct from the Le Bouvier determinants. J. Immunol., **109**, 1017-1021, 1972.
- 2. 三田村圭二: B 型肝炎ウイルス 日本臨床 (春期臨時増刊号), **43**, 627-634, 1985.
- 3. 岡本宏明、真弓忠: B 型肝炎ウイルス・デルタ肝炎ウイルス診断と治療, **76**, 2839-2849, 1978.
- 4. Mushahwer, I. K., Overdy, L. R.: An enzyme immunoassay for hepatitis B e-antigen and antibody, J. Med. virol., **3**, 89-97, 1981.
- 5. David Robbin, Theodore Wright, et al.: Serological detection of HBeAg and anti-HBe using automated microparticle enzyme immunoassay, J. virol. Methods., **38**, 267-281, 1992.

【問い合わせ先】

東ソー株式会社 バイオサイエンス事業部
カスタマーサポートセンター
〒252-1123 神奈川県綾瀬市早川 2743-1
フリーダイヤル® 0120-17-1200
TEL. (0467) 76-5384
FAX. (0467) 79-2550

※※【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

製造販売元



TOSOH

東ソー株式会社

東京都中央区八重洲 2-2-1

製造元



TOSOH

東ソー・エイアイエイ株式会社

富山県富山市岩瀬古志町 2 番地