

ヒト免疫不全症ウイルス p24 抗原・HIV 抗体キット

ジェンスクリーン HIV Ag-Ab ULT

(GENSCREEN® ULTRA HIV Ag-Ab)

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要な時に読めるように保管しておいてください。

■全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 添付文書に記載の使用方法に従ってください。それ以外の使用で得られたデータについては保証を致しかねます。
3. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
4. 陰性コントロール(R3)、抗HIV抗体陽性コントロール(R4)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。
5. 陰性コントロール(R3)には保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。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処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
6. 使用する機器の添付文書及び取扱い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)

ラベル	試薬	性状	規格	
R1	固相マイクロプレート: リコンビナント及び合成HIV抗原、 抗HIV-1 p24 マウスモノクローナル抗体	マイクロプレート	1枚 (96 ウェル)	5枚 (480 ウェル)
R2	洗浄原液: 20 倍希釈用 トリス(ヒドロキシメチル) アミノメタン塩酸塩	液状	70 mL×1本	235 mL×1本
R3	陰性コントロール: 陰性ヒト血清	液状	2.5 mL×1本	2.5 mL×1本
R4	抗HIV抗体陽性コントロール: 抗HIV抗体陽性ヒト血清	液状	1 mL×1本	1 mL×1本
R5	HIV 抗原陽性コントロール: 精製 HIV 抗原	液状	1 mL×1本	1 mL×1本
R6	コンジュゲート1: ビオチン化抗HIV-1 p24 ヒツジポリクローナル抗体	液状	10 mL×1本	10 mL×2本
R7a	コンジュゲート2: ペルオキシダーゼ標識リコンビナント 及び合成 HIV 抗原、 ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン	凍結乾燥品	1本 (12.5 mL用)	2本 (30 mL用)
R7b	コンジュゲート2 溶解液: クエン酸ナトリウム	液状	12.5 mL×1本	30 mL×2本
R8	基質緩衝液: 0.015%過酸化水素水	液状	60 mL×1本	60 mL×2本
R9	発色剤: テトラメチルベンジジン	液状	5 mL×1本	5 mL×2本
R10	反応停止液: 0.5 mol/L 硫酸	液状	28 mL×1本	28 mL×3本

■使用目的

血清又は血漿中の抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体及びHIV-1 p24抗原の検出(HIV感染症の診断の補助)

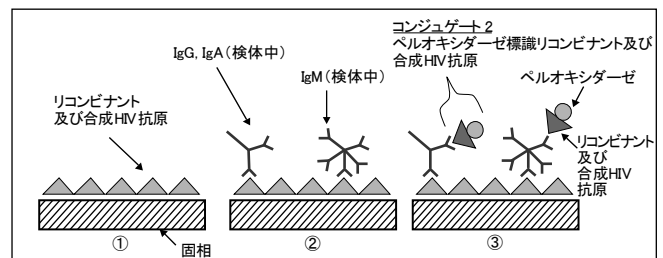
** ■測定原理

本品は、酵素免疫測定法(ELISA法)を原理としている。

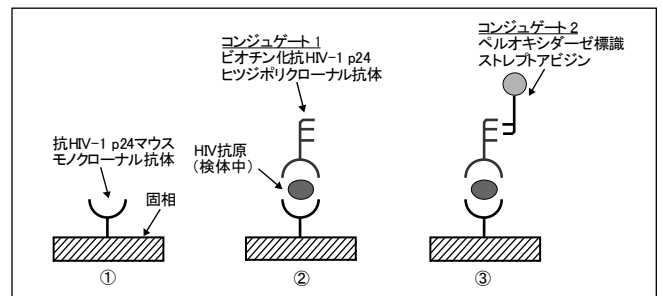
- ① 固相マイクロプレートには、固相抗原としてリコンビナント及び合成HIV抗原、固相抗体として抗HIV-1 p24マウスモノクローナル抗体が固相されている。
- ② コンジュゲート1(ビオチン化抗HIV-1 p24ヒツジポリクローナル抗体)及び検体を加えます。
 - 1) 検体中に抗HIV抗体が存在する場合、固相抗原-抗体(検体中)の結合体が生成します。
 - 2) 検体中にHIV-1抗原が存在する場合、固相抗体-抗原(検体中)-ビオチン化抗HIV-1 p24ヒツジポリクローナル抗体の結合体が生成します。
- ③ 次に、コンジュゲート2溶液(ペルオキシダーゼ標識リコンビナント及び合成HIV抗原、ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン)を加えます。
 - 1) ②-1)で生成した結合体にペルオキシダーゼ標識リコンビナント及び合成HIV抗原が結合し、固相抗原-抗体(検体中)-ペルオキシダーゼ標識リコンビナント及び合成HIV抗原が生成します。
 - 2) ②-2)で生成した結合体にペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンが結合し、固相抗体-抗原(検体中)-ビオチン化抗HIV-1 p24ヒツジポリクローナル抗体-ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンが生成します。
- ④ これに基質緩衝液及び発色剤より調製した基質発色液を加えると、過酸化水素水を酸化剤としたテトラメチルベンジジンの酸化反応が触媒され発色するため、その吸光度を測定します。

測定原理図

抗HIV抗体検出系



HIV抗原検出系



使用している抗原および抗体は以下のとおりである。

試薬	抗原または抗体
固相マイクロプレート	抗体検出: リコンビナント及び合成 HIV 抗原 (HIV-1 gp160 抗原、HIV-1 グループ O gp41 ペプチド抗原、HIV-2 gp36 ペプチド抗原)
	抗原検出: 抗 HIV-1 p24 マウスモノクローナル抗体
コンジュゲート1	抗原検出: ビオチン化抗 HIV-1 p24 ヒツジポリクローナル抗体
コンジュゲート2	抗体検出: ペルオキシダーゼ標識リコンビナント及び合成 HIV 抗原 (ペルオキシダーゼ標識 HIV-1 gp41 抗原、ペルオキシダーゼ標識 HIV-1 グループ O gp41 抗原、ペルオキシダーゼ標識 HIV-2 gp36 抗原、ペルオキシダーゼ標識リコンビナント HIV-1 gp41 抗原)
	抗原検出: ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン

＊ ＊ ■ 操作上の注意

1. 測定検体の性質、採取法

- 1) 本品による測定は、血清又は血漿を使用してください。
- 2) 加熱により非働化した検体は使用しないでください。
- 3) 採取した検体は2～8℃で保存し、7日以内に使用してください。それ以降は-20℃以下で凍結保存してください。凍結・融解を3回以上繰り返さないようにしてください。
- 4) フィブリン等の凝集塊が著しい検体は、遠心して除去してから使用してください。
- 5) 検体の微生物汚染、著しい溶血、高脂肪の血清及び血漿は、測定値に影響がみられる場合がありますので、使用しないでください。
- 6) 冷蔵または凍結保存されていた検体は、室内温度に戻し、よく混和してから使用してください。

2. 妨害物質・妨害薬剤

検体にヘモグロビン10 g/L、ビリルビン100 mg/L、アルブミン90 g/L、トリオレイン36 g/L、ビオチン(ビタミンB₇) 50 μg/Lを添加して検討したところ、測定値に対する影響は認められませんでした。

3. 操作上の留意事項

- 1) マイクロプレートの洗浄は非常に大切な操作ですので、確実に行ってください。但し、ウェルの内面をこすらないように注意してください。
- 2) 調製後の基質発色液(R8+R9)はピンク色です。調製後すぐにこのピンク色に変化が認められた場合には使用せずに再度調製を行ってください。

■ 用法・用量(操作方法)

試薬は18～30℃に戻してから使用してください。

1. 試薬の調製法

試 薬	調 製 法	有 効 期 間
R1 固相マイクロプレート	検体数に応じて必要数を取り出し、残りは袋に戻して密封保存します。前洗浄は不要です。	開封後、2～8℃ 1ヶ月
R2+精製水 洗浄液	洗浄原液(R2)を精製水で20倍に希釈し洗浄液とします。	調製後、2～8℃ 2週間
R3 陰性コントロール R4 抗HIV抗体陽性 コントロール R5 HIV抗原陽性 コントロール	そのまま使用します。	
R6 コンジュゲート1	そのまま使用します。	
R7a+R7b コンジュゲート2 溶液	コンジュゲート2(R7a)にコンジュゲート2溶解液(R7b)1パイアルを加え溶解します。少なくとも10分間静置した後、使用します。	調製後、2～8℃ 1ヶ月
R8+R9 基質発色液	発色剤(R9)を基質緩衝液(R8)で11倍に希釈し、基質発色液とします。	調製後、 18～30℃ 暗所で6時間
R10 反応停止液	そのまま使用します。	

ガラスパイアルは破損することがあるので怪我をしないよう、取扱いは十分注意してください。

2. 必要な器具・試薬

- 1) 精製水
- 2) マイクロピペット(25～100 μL)
- 3) メスシリンダー(25、100、1000 mL)
- 4) 恒温槽(37±1℃)
- 5) マイクロプレートウォッシャー
- 6) マイクロプレートリーダー(主波長450 nm、副波長620 nm)
- 7) 吸水紙
- 8) 使い捨て手袋
- 9) 廃液処理液／廃液処理容器

3. 測定法

- 1) 洗浄原液(R2)を精製水で20倍に希釈し、洗浄液とします。
- 2) コンジュゲート2(R7a)をコンジュゲート2溶解液(R7b)で溶解し、コンジュゲート2溶液を調製します。
- 3) 検体数に応じて固相マイクロプレート(R1)を取り出し、各ウェルにコンジュゲート1(R6)を25 μLずつ分注します。
- 4) 検体及び各コントロールを下記の順序で75 μLずつ加えよく混和します。
A1 : HIV抗原陽性コントロール(R5) 75 μL
B1 : 抗HIV抗体陽性コントロール(R4) 75 μL
C1、D1、E1 : 陰性コントロール(R3) 75 μL
F1、G1・・・ : 検体75 μL
- 5) 37±1℃で60±5分間静置して反応させます。
- 6) 各ウェルの液を吸引除去し、0.37 mL/ウェル以上の洗浄液を分注後、すくなくとも30秒以上静置した後、洗浄液を吸引除去します。この操作をあと2回繰り返します。
- 7) 各ウェルに調製済みのコンジュゲート2溶液を100 μLずつ加え、18～30℃で30±5分間反応させます。
- 8) 各ウェルの液を吸引除去し、洗浄液にて5回洗浄します。
- 9) 発色剤(R9)を基質緩衝液(R8)で11倍に希釈し、基質発色液とします。
- 10) 各ウェルに調製済みの基質発色液を80 μLずつ加え、18～30℃・暗所に静置し、30±5分間反応させます。
- 11) 各ウェルに反応停止液(R10)を100 μLずつ加えて反応を停止させます。
- 12) 反応停止後、各ウェルの吸光度を主波長450 nm/副波長620 nmにて測定します。

■ 測定結果の判定法

1. 判定

- 1) カットオフ値の算出
陰性コントロールの平均吸光度(OD R3)に0.200を加え、カットオフ値(C.O.)とします。
$$C.O. = \overline{OD\ R3} + 0.200$$
- 2) カットオフインデックス(C.O.I.)の算出
カットオフ値(C.O.)と検体の吸光度(X)より次のように算出します。
$$C.O.I. = X \div C.O.$$
- 3) 結果の判定
検体の吸光度(X)またはカットオフインデックス(C.O.I.)より、次のように判定します。

判 定	吸光度(X)	カットオフインデックス(C.O.I.)
陰 性	$X \leq C.O. \times 0.9$	$C.O.I. \leq 0.9$
判定保留	$C.O. \times 0.9 < X < C.O.$	$0.9 < C.O.I. < 1.0$
陽 性	$X \geq C.O.$	$C.O.I. \geq 1.0$

2. 判定上の注意

- 1) 本品で陽性又は判定保留の場合には、再測定してください。その結果、陽性と判定された場合には、確認のために他の検査(遺伝子検査、ウェスタンブロット法、HIV-1 p24抗原検査等)を実施し、また臨床症状を加味して総合的に判断してください。再測定にて判定保留となった場合は、上記確認の検査を実施するか、もしくは感染初期で検出に十分な量の抗原や抗体が血中に出現していない可能性がありますので、数週間後に再び検体採取して検査するようにしてください。
- 2) HIV感染初期では、抗体が産生されなかったり、産生されていても抗体の量が少ない場合があります。また、抗原の発現量・発現時期にも個人差があります。感染のリスクがある場合や、急性感染を疑う症状等がある場合は、本品の判定結果が陰性であっても、遺伝子検査等による再検査を行ってください。また、その結果が陰性の場合でも、感染のリスクがある場合は期間を空けて再度検査を行うことを推奨します。
- 3) 本品は抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体およびHIV-1 p24抗原を検出することができますが、測定結果からだけでは、抗体もしくは、抗原の存在の判断をすることはできません。

- 本品は抗原抗体検出を組合せることにより感染初期の検出を目的とした試薬であり、HIV-1 p24抗原単独の検出を目的としたものではありません。HIV-1 p24抗原の検出を目的とする場合には、本品ではなく、その目的に応じた試薬を使用するようにしてください。
- 自己免疫疾患患者の血清では、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結果や臨床症状等を加味して総合的に判断してください。
- 免疫グロブリンを含む血液製剤を投与されている患者血清では、投与された製剤による陽性反応を呈することがあるので、その判定についてはご注意ください。

■臨床的意義

後天性免疫不全症候群(AIDS:Acquired Immunodeficiency Syndrome)は、HIV(Human Immunodeficiency Virus)による感染症です。HIVに感染すると、通常、先に抗原が血中に出現し、その後抗体が現れます。本品は、血清又は血漿中の抗HIV-1抗体、抗HIV-2抗体及びHIV-1 p24抗原を同時に検出する試薬です。抗体および抗原を同時に検出することにより、HIV感染後早期の診断が可能です。

** ■性能

1. 性能

使用方法欄に従い、感度、正確性、同時再現性の試験を行った場合、下記の規格に適合します。

- 感度

陰性コントロールを試料として測定したときの吸光度は、0.170未満です。

抗HIV抗体陽性コントロールを試料として測定したときの吸光度は、0.900より大です。

HIV抗原陽性コントロールを試料として測定したときの吸光度は、0.900より大です。
- 正確性

陰性コントロールを試料として測定した場合、陰性に判定されます。

抗HIV抗体陽性コントロール及びHIV抗原陽性コントロールを試料として測定した場合、いずれも陽性と判定されます。
- 同時再現性

同一管理検体を同時に3回測定するとき、全て同一の判定結果を示します。

管理用物質

ここで用いる陰性コントロール(吸光度:0.170未満)、抗HIV抗体陽性コントロール(吸光度:0.900より大)及びHIV抗原陽性コントロール(吸光度:0.900より大)はキットの構成試薬です。また、管理検体もこれらのコントロール類です。

2. 検出感度

HIV-1ウイルスの溶解物(フランス国内標準品)を用いて求めたHIV-1抗原の検出感度は25 pg/mL未満です。

抗HIV抗体の検出感度は設定できません。

3. 相関性

臨床検体及び市販セロコンバージョンパネルを用い、本品と対照品との相関性検討を行いました。

用いた対照品は、本品と同じ測定原理(ELISA法)を用いた「ヒト免疫不全症ウイルス1 p24抗原・HIV抗体キット」です。

1) 国内試験成績

日本国内で採取された検体を用い、対照品(既承認品)との相関性を検討した結果は次のとおりです。

		対照品 A			合 計
		陽 性	判定保留	陰 性	
本 品	陽 性	100	0	0	100
	判定保留	0	0	0	0
	陰 性	0	0	200	200
合 計		100	0	200	300

一致率:100%(300/300)
 陽性一致率:100.0%(100/100)
 陰性一致率:100.0%(200/200)

2) 海外試験成績

- 臨床検体における相関性
 フランス国内の臨床検体417検体における相関性の検討結果は、次のとおりです。

		対照品 B			合 計
		陽 性	判定保留	陰 性	
本 品	陽 性	222	0	0	222
	判定保留	0	0	0	0
	陰 性	0	1 ^{a)}	194	195
合 計		222	1	194	417

一致率:99.8%(416/417)
 陽性一致率:100.0%(222/222)
 陰性一致率:100.0%(194/194)

【不一致検体について】

- 他のEIA法によるHIV抗体検査、およびWB法による抗HIV抗体確認検査において陰性と判定されました。

- 市販セロコンバージョンパネルにおける相関性
 市販セロコンバージョンパネル85種から得られた289検体における相関性の検討結果は次のとおりです。

		対照品 C		合 計
		陽 性	陰 性	
本 品	陽 性	190	8 ^{b)}	198
	陰 性	4 ^{c)}	87	91
合 計		194	95	289

一致率:95.8%(277/289)
 陽性一致率:97.9%(190/194)
 陰性一致率:91.6%(87/95)

【不一致検体について】

- これら不一致検体の結果はいずれもセロコンバージョン初期の検体です。本品または対照品において弱陽性と判定されており、先に検出された検体数も同等であることから、その性能も同等であると考えられます。

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上(危険防止)の注意

本キットに含まれる全ての試薬は「体外診断用医薬品」として取扱ってください。

- 検体または試薬を取扱う際には手袋を着用し、使用後はよく手を洗ってください。
- ピペットは口では吸わないでください。
- 陰性コントロール(R3)はHBs抗原、HIV抗原、抗HIV-1/2抗体及びHCV抗体の検査を行い、陰性の結果を得ています。抗HIV抗体陽性コントロール(R4)はHBs抗原、HCV抗体の検査を行い陰性の結果を得ており、及び抗HIV抗体陽性のヒト血清を不活化処理してから使用しています。HIV抗原陽性コントロール(R5)は精製HIV抗原を不活化して使用しています。しかしながら、万一の場合を考え感染性のあるものとして、検体同様十分に注意して取扱ってください。
- 試薬が誤って皮膚に触れたり、目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 試薬は凍結しないように注意してください。保存する場合は、指定の貯蔵方法に従って保存してください。
- 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- 本品は正確な値が得られるように調製してありますので、ロットの異なる試薬と組み合わせて使用しないでください。
- 感染初期における低力価のHIV抗体や抗原は、検出できない場合がありますが、HIV1/HIV2への接触や感染結果を否定するものではありません。
- HIV1(グループMやグループO)の変異型やHIV2では偽陰性の可能性が認められております。どのような試薬であってもHIVウイルスが存在しないことを保証することはできません。

- 6) 反応の特異性を確かめるために、全ての陽性検体は適切な方法（ウェスタンブロット法、核酸増幅法等）により、確認を行ってください。
- 7) 検体の非働化は測定結果に影響を及ぼす場合があります。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検体中にはHBV、HCV、HIVなどが存在する場合がありますので、使用した器具（ピペット、試験管など）、廃液などは、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1,000ppm、1時間以上浸漬）などによる消毒のほか、オートクレープ処理（121℃、20分）による滅菌や焼却などの処理を行ってください。
- 2) 検体または検体を含む溶液が飛散した場合は下記の方法を参考にして処理してください。
 - ・ アルカリ性溶液が飛散した場合は、飛散した部分を次亜塩素酸ナトリウム液（有効塩素濃度10,000ppm）で消毒した後拭き取り、廃棄バッグにいれて決められた指針に従って廃棄してください。
 - ・ 酸性溶液が飛散した場合は、重炭酸ナトリウムなどを用いて中和させた後、同様に次亜塩素酸ナトリウム液を用いて処理してください。
- 3) 陰性コントロール（R3）はアジ化ナトリウム（0.1%未満）を含有しています。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、大量の水と共に流してください。
- 4) 試薬及び容器等を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って、医療廃棄物または産業廃棄物等、区別して処理してください。

** ■ 貯蔵方法・有効期間

1. 貯蔵方法

2～8℃で、凍結を避けて保存してください。

2. 有効期間

18ヵ月間

（使用期限は外箱ラベルに記載されています）

■ 包装単位

1 キット： 96回用（1プレート）
480回用（5プレート）

■ 主要文献

- 1) 日本エイズ学会：
HIV-1/2感染症の診断法2003版（日本エイズ学会推奨法）。日本エイズ学会誌、5（2）、136-140、2003
- 2) Microbiological Diagnostics Assessment Service (MiDAS) :
Evaluation of Genscreen ULTRA HIV Ag-Ab. Report
PER06002.February 2006

** ■ 問い合わせ先

バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
〒140-0002
東京都品川区東品川2-2-24 天王洲セントラルタワー
TEL:0120-925-046
FAX:03-5463-8481

製造販売元



バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社
東京都品川区東品川 2-2-24 天王洲セントラルタワー
TEL:03-6361-7070