



SAX03T

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。

SAX03T

*2009年5月改訂 (第2版)
2008年2月作成 (第1版)

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：21900AMX00938000

B型肝炎ウイルスコア関連抗原キット

ルミパルス® HBcrAg

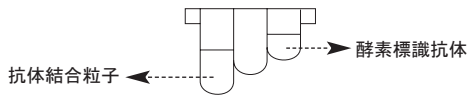
■一般的な注意

1. 本試薬は、体外診断用であるため、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 本試薬でB型肝炎ウイルスコア関連抗原 (HBcrAg) 濃度が実用感度以上であった場合は、経時的に検査し、また他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
3. 添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
4. 本試薬には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が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、医師の手当等を受けてください。
5. 本試薬の使用に際しては、本書とあわせて使用する測定システムの添付文書および取扱説明書をご参照ください。

■形状・構造等 (キットの構成)

1. 抗体結合粒子^{※1)} (使用時液状、230 μ L/免疫反応カートリッジ)
抗HBVコア関連抗原モノクローナル抗体 (HB44、HB61、HB114) (マウス) 結合フェライト粒子を含みます。
2. 酵素標識抗体 (液状、350 μ L/免疫反応カートリッジ)
アルカリホスファターゼ (ALP) 標識抗HBVコア関連抗原モノクローナル抗体 (HB91) (マウス) およびアルカリホスファターゼ (ALP) 標識抗HBVコア関連抗原モノクローナル抗体 (HB110) (マウス) を含みます。

免疫反応カートリッジ



3. HBcrAg用標準液：5濃度 \times 1
 (1) HBcrAg用標準液0kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 (2) HBcrAg用標準液5kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 (3) HBcrAg用標準液250kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 (4) HBcrAg用標準液2500kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 (5) HBcrAg用標準液10000kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 HBcrAg用標準液をご使用の場合にご用意ください。
4. HBcrAg用キャリブレーション：2濃度 \times 1
 (1) HBcrAg用キャリブレーション0kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 (2) HBcrAg用キャリブレーション10000kU/mL (液状、1.5mL \times 1)
 HBcrAg用キャリブレーションをご使用の場合にご用意ください。
5. 基質液 (液状、100mL \times 6、50mL \times 6)
 基質としてAMPPD^{※2)}を含みます。
 ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。
6. 洗浄液 (濃縮液、1000mL \times 1)
7. HBcrAg用検体処理液 (液状、15mL \times 1、8mL \times 1)
 ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。

注1) 15 $^{\circ}$ C以下の温度ではゲル化しています。

注2) AMPPD：3-(2'-spiroadamantane)-4-methoxy-4-(3'-phosphoryloxy)phenyl-1,2-dioxetane disodium salt / 3-(2'-スピロアダマンタン)-4-メトキシ-4-(3'-ホスホリロキシ)フェニル-1,2-ジオキセタン・2ナトリウム塩

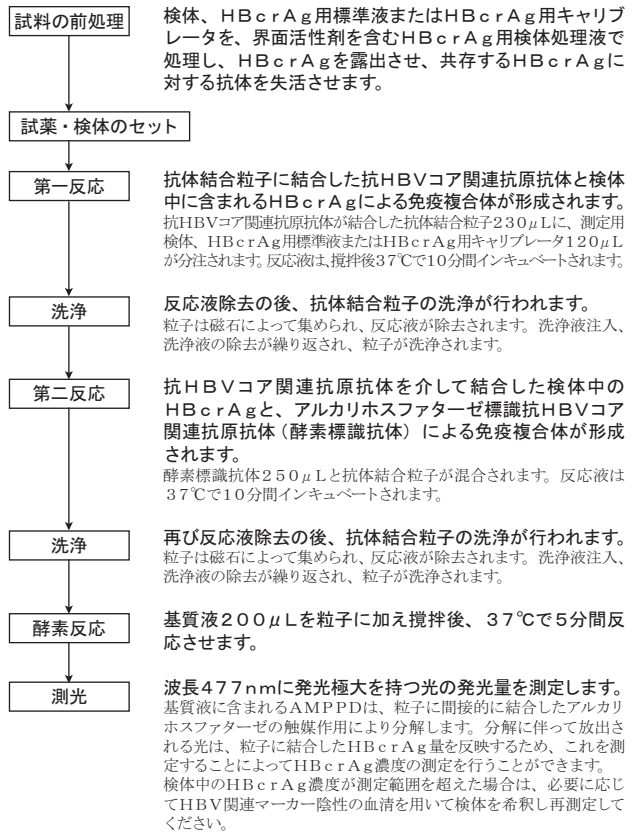
■使用目的

血清又は血漿中のB型肝炎ウイルスコア関連抗原 (HBcrAg) の測定 (B型肝炎ウイルス感染の診断補助および治療効果のモニタリング)

■測定原理

本試薬は2ステップサンドイッチ法に基づいた化学発光酵素免疫測定法によるB型肝炎ウイルスコア関連抗原 (HBcrAg) 測定試薬です。

<反応プロトコール；2ステップモード>



■操作上の注意

1. 測定検体の性質、採取法
 (1) 可能な限り新鮮な検体を用い、保存する場合は-20 $^{\circ}$ C以下で凍結保存してください。
 (2) 検体を繰り返し凍結融解することは避けてください。
 (3) 赤血球・その他の有形成分、沈殿物、浮遊物が含まれている検体では、測定値に影響を与える場合があります。正しい結果が得られるように遠心または除去した後に使用してください。
 (4) 検体間の汚染が生じないように検体は注意して取扱ってください。
 (5) 非働化した検体は使用しないでください。
 (6) 検体に抗凝固剤 (EDTA-二カリウム、クエン酸ナトリウム、ヘパリンナトリウム) を添加して試験した結果、それぞれ10mg/mL、38mg/mL、100IU/mLまで測定値に影響は認められませんでした。液状の抗凝固剤を用いる場合は、検体の希釈率にご注意ください。
2. 妨害物質・妨害薬剤
 検体にビリルビンF、ビリルビンC、ヘモグロビンを添加して試験した結果、それぞれ19.3mg/dL、19.9mg/dL、485mg/dLまで、測定値に影響は認められませんでした。また、乳ビ、リウマチ因子についてもそれぞれ1550ホルマジン濃度、500IU/mLまで測定値に影響は認められませんでした。また、検体にHBs抗原およびHCVコア抗原を添加して試験した結果、それぞれ2.0 μ g/mLまで、交差反応性は認められませんでした。

■用法・用量 (操作方法)

1. 試薬の調製法
 (1) 抗体結合粒子および酵素標識抗体
 免疫反応カートリッジには抗体結合粒子および酵素標識抗体が充填されています。カートリッジカセットの透明フィルムを剥がし、そのまま使用します。
 (2) HBcrAg用標準液、HBcrAg用キャリブレーション
 常温に戻し、HBcrAg用検体処理液による前処理を行ってから使用します。
 デッドボリュームを考慮して、サンプルカップに必要な量を分取します。デッドボリュームはご使用の測定システムによって異なりますので各測定システムの取扱説明書をご覧ください。一例としてルミパルス \mathcal{F} でサンプルカップをご使用の場合、デッドボリュームは100 μ Lとなります。
 (3) 基質液
 冷蔵庫から出してそのまま使用します。

- (4) 洗浄液
濃縮液のため精製水で10倍に希釈し、よく攪拌します。希釈した洗浄液は、常温に戻してから使用します。
- (5) HBc r A g 用検体処理液
HBc r A g 用検体処理液は、常温に戻し、溶液中の析出物（界面活性剤）が完全に溶解した状態でご使用ください。
常温に戻す際、はじめに本試薬を十分に懸濁し、析出物が容器の底に付着していない状態であることをご確認ください。十分に懸濁せず静置したまま常温に戻すと、析出物が容器の底に付着し、常温でもほとんど溶解しない状態になります。この状態のHBc r A g 用検体処理液は、使用できません。
注）常温の温度範囲は15～25℃です。

2. 試料の調製法

プラスチックチューブに、常温に戻した検体、HBc r A g 用標準液またはHBc r A g 用キャリブレーションプレートを150μLを分注し、これにHBc r A g 用検体処理液150μLを加えて攪拌した後、60±4℃、30分間反応させます（前処理）。前処理の終了した試料は、室内に5分程度静置することで常温に戻し、これを測定用試料とします。前処理後に測定用検体を静置する際、決して攪拌等を行わないでください。界面活性剤の影響で大量の泡が生じてしまい、サンプリングミスの原因になります。

3. 必要な器具・器材

- マイクローピペット、サンプリングチップおよびサンプルカップ
- 全自動化学発光酵素免疫測定システム
- プラスチックチューブ（0.3mL以上の容量）
- 前処理用インキュベーター

4. 測定法

- 測定システムの取扱説明書を参照し、検体および測定に必要な試薬を所定の位置にセットしてください。また、HBc r A g 用標準液またはHBc r A g 用キャリブレーションプレートは、ご使用の測定システムに合わせてご用意ください。（サンプルの最少必要量は、使用する容器や測定システムによって異なりますので、各測定システムの取扱説明書をご覧ください。）
- HBc r A g 用標準液またはHBc r A g 用キャリブレーションプレートの測定依頼内容と、検体の測定依頼内容をそれぞれ入力します。
- 測定を開始する前に、カートリッジ、基質液、洗浄液、サンプリングチップの残量を確認します。
- スタートキーを押し、測定を開始します。装置内で自動的に実行される操作については測定原理の「反応プロトコル」の項を参照してください。

5. 濃度の算出方法

- HBc r A g 用標準液をご使用の場合
検体中のHBVコア関連抗原濃度は、HBc r A g 用標準液の発光量をもとに作成された検量線から自動的に算出されます。測定結果はkU/mLで出力されますので、LogU/mLに変換してください。
1kU/mLは3LogU/mLに相当します。
- HBc r A g 用キャリブレーションプレートご使用の場合
マスターキャリブレーションデータは、免疫反応カートリッジケースの2次元バーコードに記録されています。検体中のHBVコア関連抗原濃度は、HBc r A g 用キャリブレーションプレートの発光量をもとに校正された検量線から自動的に算出されます。測定結果はkU/mLで出力されますので、LogU/mLに変換してください。1kU/mLは3LogU/mLに相当します。複数装置をお使いの場合は1台ごとに検量線を作成してください。
キャリブレーションは以下の場合に行います。
・免疫反応カートリッジ、基質液のいずれかが、新しいロットに切り替わった場合。
・キャリブレーションデータを更新後、7日が経過した場合。
上記以外にも必要が生じた場合は、キャリブレーションを測定しキャリブレーションデータを更新してください。

■測定結果の判定法

1. 参考健常値

健常者（98例）の測定値は3.0LogU/mL未満であり、本試薬の測定範囲以下でした。

2. 判定上の注意

- HBV感染初期および薬剤投与の効果によって、B型肝炎ウイルスコア関連抗原（HBc r A g）量が少ない場合（本試薬の実用感度未満）があります。感染が疑われる場合や治療効果の判定にあたっては本試薬の測定結果が実用感度未満であっても、経時的に検査し、また他の検査（肝機能検査、HBV-DNA等）結果、臨床症状等を考慮して総合的に判断してください。
- 検体中に存在する未同定の非特異反応性物質の影響により、まれに測定値が正確に得られない場合がありますので、他の検査結果や臨床症状等もあわせて考慮し、総合的に判断してください。
- 基準値以上の濃度の得られる検体は、検体中のフィブリンクロットや赤血球等の有形成分の存在、検体間の汚染、非特異反応等の可能性もあります。
- 自己免疫疾患患者の血清では非特異的な反応が起こりうるため、本試薬の判定結果に基づく診断は、他の検査結果、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

B型肝炎ウイルス（HBV）の感染によって引き起こされる直接的疾患は、一過性の急性B型肝炎と持続性のB型肝炎慢性肝炎であります。B型肝炎慢性肝炎では、その自然経過においてHBV量が大きく変化することが知られており、さらにHBV量はHBVの感染力や疾患の予後も相関が認められています¹⁾。肝組織中のHBV量を間接的に測定する方法として、血中HBe抗原測定や血中HBV-DNA測定がありますが、これらの測定法は以下に示す問題を有しております。HBe抗原測定はHBe抗原がHBe抗体と複合体を形成している場合には測定できません。HBV-DNA測定は操作が煩雑で、結果の出力までに多くの時間を要します。また、PCR（Polymerase Chain Reaction）やTMA（Transcription-Mediated Amplification）などの遺伝子増幅法が用いられませんが、ラミブジンやアデホビルピボキシルなどの抗ウイルス剤投与の場合はDNA合成が阻害を受け、血中へのHBV-DNAを含む完全粒子の放出が抑制されると考えられています。すなわち、肝組織中にHBVが残存していても、HBV-DNA合成が阻害されるために血中のHBV-DNAが陰性化することがあります²⁾。また、生検（肝組織採取）によるcccDNA（covalently closed circular DNA）の測定は肝組織中のHBV量を直接的に知る方法として有用ですが、侵襲性が高い検査法であることから実施は容易ではありません。
本品は、操作が簡便で且つ広い測定範囲を有する高感度なHBV定量法として開発されました。測定対象となるHBVコア関連抗原は、①HBe抗原（HBeAg）、②Hbc抗原（HbcAg）および③分子量22kDのp22crと呼ばれるHBVプレコア蛋白の3種類であり、ラミブジン等の逆転写酵素阻害作用を有する抗ウイルス剤治療時においても血中に放出されていると推測される³⁻⁷⁾ため、肝組織中のウイルス量を反映し、B型肝炎患者の診断補助および経過観察、抗ウイルス剤治療時の効果判定、薬剤投与中止の可能性判断および病態把握に有用な情報を提供すると期待されます。それに加え、検体が血清および血漿であることから生検に比較して採取および取扱いが容易であり、且つ全自動化学発光酵素免疫測定システムを用いる為、測定操作も簡便であります。

本試薬は、化学発光基質（AMPPD）を用いた化学発光酵素免疫測定法⁸⁾（CLEIA；chemiluminescent enzyme immunoassay）に基づく試薬で、全自動化学発光酵素免疫測定システム（代表例：ルミパルス \mathcal{F} ）用試薬です。

■性能

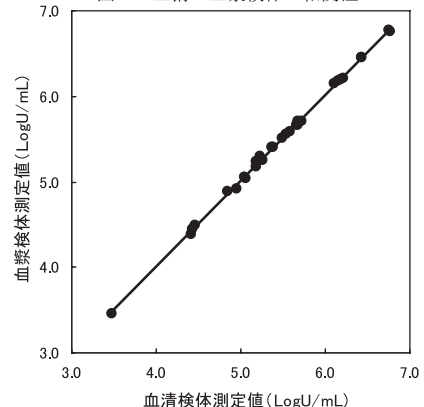
1. 性能

- 感度
HBc r A g 用標準液を所定の操作で測定するとき、HBc r A g 用標準液5kU/mLとHBc r A g 用標準液0kU/mLの発光量の比は2.0以上になります。
- 正確性
自家管理検体3例を所定の操作で測定するとき、測定値（LogU/mL）は各管理値に対して±5.0%以内になります。
- 同時再現性
自家管理検体を所定の操作で6回繰り返し測定するとき、測定値（LogU/mL）の変動係数（CV値）は5.0%以下になります。
- 測定範囲
本試薬の測定範囲は、3.0～7.0LogU/mL（1.0～10000.0kU/mL）です。
全自動化学発光酵素免疫測定システム（代表例：ルミパルス \mathcal{F} ）では0.1kU/mLから出力されます。
- 実用感度
本試薬の実用感度は、3.0LogU/mL（1.0kU/mL）です。

2. 相関性試験成績

- 血清検体と血漿検体の相関性
同一人から採取した血清・血漿ペア検体30例（抗凝固剤：EDTA二カリウム）を使用し、本品にて相関性を検討した結果、以下に示す成績が得られました。また、HBV陰性の血清・血漿ペア検体30例を使用し、本品にて測定した結果、全て本品の測定範囲未満の結果が得られました。
測定例数 n = 30
相関係数 r = 0.999
回帰式 y = 1.0018x + 0.0014 （x；血清、y；血漿）

図2 血清・血漿検体の相関性



■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上（危険防止）の注意

- (1) 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取扱ってください。
- (2) 検査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、また口によるビベティングを行なわないでください。
- (3) 基質液はアルカリ性溶液（pH10）です。使用に際しては、液が皮膚についたり、目に入らないように注意してください。
- (4) 試薬が誤って目や口に入った場合は、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば、医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

- (1) 使用に際しては本書、装置の添付文書ならびに取扱説明書に記載された使用方法に従ってください。
- (2) 免疫反応カートリッジセット（抗体結合粒子・酵素標識抗体・HBc r A g用標準液またはHBc r A g用キャリブレート・HBc r A g用検体処理液）、基質液、洗浄液は個別に包装されていますので、ご使用の測定システムに合わせ、組み合わせで使用してください。免疫反応カートリッジセット、基質液、洗浄液は個別に補充することができます。
- (3) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。各構成試薬外箱および容器の表示をご確認のうえ使用してください。
- (4) サンプリングチップ、サンプルカップは、使用する測定システム指定のものを使用してください。
- (5) サンプリングチップ、サンプルカップは常に新しいものを使用してください。
- * (6) 酵素標識抗体は、低温保存時に界面活性剤の析出が認められることがあります。そのまま使用いたしますと、測定値に影響するおそれがあります。ご使用前に免疫反応カートリッジを確認し、析出が認められた免疫反応カートリッジを含むカセットにつきましては、析出した状態で使用はせず、弊社お客様コールセンターまでご連絡ください。
- (7) HBc r A g用標準液またはHBc r A g用キャリブレートは、常温に戻してから使用してください。
- (8) 試薬は保存条件を守って使用してください。特に凍結しないように注意してください。
- (9) 検体、HBc r A g用標準液およびHBc r A g用キャリブレートは蒸発による濃縮を考慮し、サンプルの準備後は速やかに測定を開始してください。
- (10) HBc r A g用標準液またはHBc r A g用キャリブレート、HBc r A g用検体処理液は、免疫反応カートリッジと同一ロットのものを使用してください。
- (11) 試薬を混ぜ合わせて使用することはできません。
- (12) 正確な測定を行うために、精製水は常に新しいものを使用してください。
- (13) 基質液を装置にセットした後は、基質液交換時まで取外しは避けてください。基質液がアルカリホスファターゼ（ALP）に汚染されますと使用できません。手指が直接基質液に触れた場合は、廃棄してください。
- (14) ソーダライムは交換せずに長期間使用を続けると、二酸化炭素の吸収力が低下します。また基質キャップパッキンも交換せずに長期間使用を続けると密閉性が失われ基質液を劣化させる原因となります。ソーダライムと基質キャップパッキンの交換時期についてはご使用の測定システムの取扱説明書をご覧ください。一例としてルミパルス f の場合は1ヵ月ごとに交換してください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 各試薬には保存剤として以下のとおりアジ化ナトリウムが含まれています。廃棄する際は爆発性の金属アジドが生成されないように多量の水とともに流してください。
洗浄液：1.0%（希釈調製前）、基質液：0.05%
抗体結合粒子、酵素標識抗体、HBc r A g用標準液、HBc r A g用キャリブレート：0.1%
- (2) 試薬および容器等を廃棄する場合は、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分して処理してください。
- (3) 廃液の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法などの規制に従って処理してください。
- (4) 使用した器具（ピペット、試験管等）、廃液、サンプリングチップ等は、次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）等による消毒処理あるいは、オートクレーブ（121℃、20分以上）による滅菌処理を行ってください。
- (5) 検体、廃液等が飛散した場合には次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度1000ppm、1時間以上浸漬）、グルタルアルデヒド（2%、1時間以上浸漬）等によるふき取りと消毒を行ってください。

■貯蔵方法・有効期間

抗体結合粒子	2～10℃に保存	有効期間：1年
酵素標識抗体	2～10℃に保存	有効期間：1年
HBc r A g用標準液	2～10℃に保存	有効期間：1年
HBc r A g用キャリブレート	2～10℃に保存	有効期間：1年
基質液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
洗浄液	2～10℃に保存	有効期間：9ヵ月
HBc r A g用検体処理液	2～10℃に保存	有効期間：1年

使用期限については、各構成試薬の外箱および容器の表示をご参照ください。

■包装単位

個別包装

コードNo.	品名	包装
219881	ルミパルス HBc r A g 免疫反応カートリッジセット (抗体結合粒子・酵素標識抗体・ HBc r A g用標準液・HBc r A g 用検体処理液)	42テスト×2
294109	ルミパルス HBc r A g 免疫反応カートリッジセット (抗体結合粒子・酵素標識抗体・ HBc r A g用キャリブレート・ HBc r A g用検体処理液)	14テスト×3
219973	ルミパルス 基質液（共通試薬）	100mL×6
292600	ルミパルス 基質液（共通試薬）	50mL×6
219942	ルミパルス 洗浄液（共通試薬）	1000mL×1

■主要文献

1. 溝上雅史 他: B型肝炎のgenotypeと母子感染予防 消化器病セミナー・91、ヘルス出版: 1-15, 2003.
2. Sung JY, et al. : Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. Gastroenterology 128: 1890-1897, 2005.
3. Kimura T, et al. : Hepatitis B virus DNA-negative Dane particles lack core protein but contain a 22-kDa precore protein without C-terminal Arginine-rich domain. Journal of Biological Chemistry, 280: 21713-21719, 2005.
4. Kimura T, et al. : Sensitive enzyme immunoassay for hepatitis B virus core-related antigens and their correlation to virus load. Journal of Clinical Microbiology, 40: 439-445, 2002.
5. Kimura T, et al. : New enzyme immunoassay for detection of hepatitis B virus core antigen (HBcAg) and relation between levels of HBcAg and HBV DNA. Journal of Clinical Microbiology, 41: 1901-1906, 2003.
6. Rokuhara A, et al. : Hepatitis B virus core and core-related antigen quantitation in Chinese patients with chronic genotype B and C hepatitis B virus infection. Journal of Gastroenterology and Hepatology, 20: 1726-1730, 2005.
7. Tanaka E, et al. : Measurement of hepatitis B virus core-related antigen is valuable for identifying patients who are at low risk of lamivudine resistance. Liver International, 26: 90-96, 2006.
8. Nishizono I, et al. : Rapid and sensitive chemiluminescent enzyme immunoassay for measuring tumor markers. Clinical Chemistry, 37: 1639-1644, 1991.

■問い合わせ先

富士レビオ株式会社 お客様コールセンター
TEL : 0120-292-832
FAX : 03-5695-9234

本製品は、Applied Biosystemsから導入した技術に基づいて製造したものです。

技術提携



Advanced Life Science
Institute, Inc.

株式会社 先端生命科学研究所

製造販売元



富士レビオ株式会社
東京都中央区日本橋浜町2-62-5