

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。

体外診断用医薬品

2019年10月改訂 (第2版)
2015年10月作成 (第1版)

製造販売承認番号 21900AMX01560000

ヘリコバクターピロリ抗原キット

メリディアン HpSA ELISA II

糞便中のヘリコバクター・ピロリ抗原検出用試薬

【全般的な注意】

- 添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された操作法および使用目的以外での使用については、検査結果の信頼性を保証致しかねます。
- 本試薬は体外診断用のみ使用してください。
- 反応停止液には1mol/Lのリン酸を含んでいますので直接皮膚に触れないようにしてください。
- 本試薬および検体は、感染の危険性があるものとして十分に注意して取扱ってください。
- 陽性コントロール、検体希釈液、濃縮洗浄液および酵素標識抗体には保存剤として水銀を含むチメロサルを含んでいますので取扱いには注意してください。また、吸着処理などを行ったあとに廃棄してください。
- 誤って試薬が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等を受けてください。
- 本試薬による検査結果は臨床症状や他の検査結果などと合わせて総合的に判断し、臨床診断するための補助にしてください。

【形状・構造等(キットの構成)】

- 抗体固相化ウェル[Antibody Coated Microwells]・96 ウェル
抗ヘリコバクター・ピロリ モノクローナル抗体(マウス)
固相化ウェル 96 テスト分
- 陽性コントロール [CONTROL+]3mL x 1本
0.02%チメロサルを含む
- 検体希釈液 [DIL|SPE]50mL x 1本
0.02%チメロサルを含む
(検体希釈液は陰性コントロールとしても使用します)
- 濃縮洗浄液 [BUFIWASH|20X] 50mL x 1本
0.2%チメロサルを含む
- 酵素標識抗体 [CONJ|ENZ]
ホースラディッシュペルオキシダーゼ標識抗ヘリコバクター・ピロリモノクローナル抗体(マウス)
0.02%チメロサルを含む
- 基質液 [SUBS|I] 12.5 mL x 1本
テトラメチルベンジジン、過酸化水素
- 反応停止液 [SOLN|STOP|I]13mL x 1本
1mol/L リン酸

<付属品> 検体ピペット(96個)
マイクロウェルストリップホルダー(1個)
マイクロプレート用シール(2枚)
検体採取スティック(96本)

<別売品> 採便容器 V3 (50本)

【使用目的】

糞便中のヘリコバクター・ピロリ抗原の検出
(ヘリコバクター・ピロリ感染又は除菌判定の診断の補助)

【測定原理】

本試薬の測定原理は酵素免疫測定法(ELISA)で、ヘリコバクター・ピロリ抗原に対する複数のモノクローナル抗体をマイクロウェル固相に用いています。希釈した患者検体とホースラディッシュペルオキシダーゼ標識抗ヘリコバクター・ピロリモノクローナル抗体(マウス)をウェルに加え、19~27℃で1時間インキュベートします。検体中にヘリコバクター・ピロリ抗原が存在すると、固相化抗体-抗原-標識抗体の複合体が形成されます。洗浄により未反応の物質を除去後、基質液を加え19~27℃で10分間インキュベートし、呈色反応を行います。反応停止液を加え、吸光度測定により結果を判定します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

- 検体は使用前に19~27℃にもどしてください。
- 確実な希釈検体を作成するために糞便検体は調製時によく混和してください。
- 固形便採取の場合、おおよその直径5~6mm程度を採取してください。多少の差は結果に影響しませんが、少なすぎたり、多すぎた場合は、偽陰性、偽陽性となる可能性がありますので注意してください。
- 検体はできるだけ新鮮な便を使用してください。糞便検体は2~8℃保存で72時間保存可能です。すぐに検査できない場合は-20℃以下で凍結保存してください。
- 採便容器 V3 (希釈液入り)に採取した場合は室温(9~30℃)で3日間、2~8℃で5日間保存可能です。それ以上保存する場合は、-20℃以下で凍結保存してください。
- 検体の凍結融解の繰り返しは避けてください。
- 綿棒での採取、または輸送培地や防腐剤等を含む容器中の糞便検体は、検査には適しません。
- 水様、下痢便検体を用いて本試薬の性能を確認していません。これらの検体で検査を行わないでください。
- 抗菌薬、プロトンポンプ阻害剤およびビスマス製剤はヘリコバクター・ピロリの静菌作用があることが知られています。ヘリコバクター・ピロリ検査(培養、組織学的、迅速ウレアーゼ試験、尿素呼吸気テスト、抗原)前におけるこれらによる治療(除菌治療とは異なる)は偽陰性となる恐れがあります。これら薬剤による治療患者および薬剤投与後2週間以内の検査における陰性結果は、偽陰性の恐れがありますので、薬剤投与後2週間以上経過後、新たに検体を採取して検査を行ってください。除菌前の感染診断の実施にあたっては、上記静菌作用を有する薬剤投与中止、または終了後2週間以上経過後、除菌判定は除菌治療後4週間経過後に検査を行ってください。

*2. 妨害物質・妨害薬剤

次の物質および量が糞500μL中に存在しても、本品の陽性または陰性結果に影響はありませんでした。

シメチジン：1mg

硫酸バリウム：25mg

全血：250μL

ムチン：17mg

ヘモグロビン：62.5mg

脂肪酸(ステアリン酸+パルミチン酸)：7.95mg

3. 交差反応性

交差反応性 下記の細菌およびウイルス株との交差反応性を検討しました。陽性 および陰性の糞便検体のそれぞれに細菌または酵母 1.2×10^9 個 /mL を(ウイルス数は算出せず)添加し、本品で検査を行った結果、すべてで陽性または陰性結果に影響を与えず、交差反応は認められませんでした。

*Adenovirus 41, Aeronomas hydrophilia, Bacillus subtilis, Borrelia burgdorferi, Campylobacter coli, Campylobacter fetus, Campylobacter jejuni, Campylobacter lari, Candida albicans, Citrobacter freundii, Clostridium difficile, Clostridium perfringens, Enterobacter cloacae, Enterobacter faecalis, Escherichia coli O157:H7, Escherichia coli, Escherichia coli 8739, Escherichia coli 9637, Escherichia fergusonii, Escherichia hermannii, Escherichia hermannii EMDI-64, Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Lactococcus lactis, Listeria monocytogenes, Peptostreptococcus anaerobius, Proteus vulgaris, Pseudomonas fluorescens, Rotavirus, Salmonella dublin, Salmonella heldeberg (Group B), Salmonella Minnesota, Salmonella typhimurium, Serratia liquefaciens, Serratia marcescens, Shigella boydii, Shigella dysenteriae, Shigella flexneri, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus (Cowan Strain I), Staphylococcus epidermidis and Yersinia enterocolitica

4. その他

- 濃縮洗浄液には沈殿が生じることがあります。洗浄液の調製(希釈)により、沈殿は溶解します。
- ラベル、製造番号(Lot)または有効期限(Exp)のない試薬バイアルは使用しないでください。
- 万一、試薬中に微生物の混入や沈殿が認められた場合は、その試薬は使用しないでください。
- 未使用の試薬は冷蔵(2-8℃)保存してください。このとき、未使用の抗体固相化ウェルは湿気を防ぐため乾燥剤入り元のホイル袋に戻し、ファスナーをして保存してください。
- 抗体固相化ウェルの再使用はしないでください。
- 測定を開始したら、中断せずに最後まで実施してください。
- 定められた反応時間を守ってください。定められた反応時間から外れる測定操作は、感度および特異性に影響を及ぼす恐れがあります。
- 測定は 19~27℃で行ってください。定められた温度以外での操作は、偽陰性または偽陽性の原因となりますので必ず守ってください。
- 滴下量と滴下位置を適切にするために、試薬は垂直に、ウェルから適度にはなして滴下してください。
- 試薬容器のキャップは元の容器に正確に戻してください。
- 付属の検体ピペットは、各検体毎に新しいピペットを用いてください。
- 検体をウェルに加える際には、ピペットの先をウェルの中間まで入れ、検体をウェルの内壁に沿ってゆっくり流し入れることにより、検体の跳ね返りを防いでください。
- 測定中、ウェルが乾かないように注意してください。
- ウェルの不適切な洗浄は、バックグラウンドの上昇の原因となります。ウェルの洗浄は操作方法に従い正確に実施してください。
- 洗浄後、糞便の色がまだ残っている場合は洗浄が不十分と思われるので色がおちるまで洗浄してください。
- ウェルの底が汚れていると、誤った判定の原因となりますのでウェルの底に触れたり、汚れた所にウェルを置かないように注意してください。
- 吸光度を測定する際は、ウェルの底面の汚れや水滴は柔らかいペーパータオル等で拭き取ってください。また、気泡を取り除き、ごみや沈殿がないことを確認してください。
- 陽性コントロールおよび検体希釈液(陰性コントロール)は、

試薬の品質の確認のために検査毎に測定してください。陽性コントロールは試薬の問題がないかを確認するものです。カットオフを設定するものではありません。

【用法・用量(操作方法)】

1. 試薬の調製方法

- すべての試薬は使用前に 19~27℃に戻して使用します。また、液状試薬は使用前に穏やかに混和してください。
- 濃縮洗浄液を使用量に応じ、精製水で 20 倍希釈し、洗浄液を調製します。
(例:濃縮洗浄液 4.0mL に、精製水 76mL を加えます。これは、1 ストリップ(12 ウェル)の洗浄液量に相当します。) 調製した洗浄液は 19~27℃で 3 ヶ月まで安定です。
- その他の試薬はそのまま用います。

2. 必要な器具・器材・試料等

- 試験管(12×75mm 径)(検体希釈用)
- 蒸留水または脱イオン水(精製水)
- 洗浄液保管用容器(フラスコ、ビーカー等)
- 洗浄液調製用容器(メスシリンダー等)
- 試験管ミキサー
- プレートミキサー
- マイクロプレートリーダー
(測定波長 450nm または 450/630nm)

3. 検体の調製方法

採便容器 V3 を用いた場合は、以下 1)~ 3)の操作は不要です。試験管ミキサーで 15 秒間よく混和してそのまま検査に用いてください。

- 検体希釈液 500 μL を、ピペット等を用いて試験管に加えます。
- 糞便検体を、検体希釈液に添加する前にできるだけよく混和します。
- ①軟便の場合 - 検体ピペットを用い、糞便検体 100 μL(検体ピペットの先端から 2 本目のマークまで)を試験管の検体希釈液に加えます。同じピペットを用い、検体の懸濁液を数回穏やかに吸排した後、15 秒間試験管ミキサーで混和します。検体ピペットは再使用するため、試験管中に入れておきます。
②固形便の場合 - 検体採取スティックを用い、よく混和した直径 5~6mm 程度の塊を、試験管の検体希釈液に加えます。同じスティックを用い、便をよく分散し、15 秒間試験管ミキサーで混和します。
- 希釈した糞便検体を遠心分離することもできます。遠心分離する場合は、約 2,750×G で 5 分間、または固形物が分離されるまで行います。遠心後の上清を検査に用いてください。

検体ピペット図



4. 測定(操作)法

- 検体数、コントロール数に合わせ必要な抗体固相化ウェル(以下ウェル)を取り出し、マイクロウェルストリップホルダー(以下プレート)にセットします。検体の位置を記録します。未使用のウェルは元の袋に戻し、しっかりファスナーをして保存します。
- 検体ピペットを用い、調製した糞便検体 100 μL(検体ピペットの先端から 2 本目のマークまで)を指定されたウェルに加えます(ピペットの先をウェルの中間まで入れ、検体をウ

エルの内壁に沿ってゆっくり流し入れます。) 採便容器 V3 を用いた場合は、先端の水色キャップをはずし、垂直に立てて滴下口から4滴(100 μ L)滴下します。

3)陽性コントロール2滴(100 μ L相当)、検体希釈液(陰性コントロールとして)100 μ L(検体ピペットを使用)を指定されたウェルに加えます。

4)酵素標識抗体を各ウェルに1滴(50 μ L相当)滴下します。
5)プレートを30秒間振とうし、ウェルの内容物を十分に混和します。プレート用シールをウェルのサイズに切り、ウェルにシールします。

6)19~27°Cで1時間インキュベートします。
7)プレートシールを注意深くはがし、ウェルを以下のように洗浄します。

- ①反応液を廃棄容器に捨て、プレートを逆さにしてペーパータオルにたたきつけ、内容液を取り除きます。
- ②各ウェルに洗浄液を満たします。洗浄液をウェルの内壁に沿って流すように加え、泡立ちを避けてください。
- ③①および②の洗浄操作を、さらに4回(合計5回)繰り返します。最後の洗浄液は出来るだけ除去します。ただし、常にウェルが乾かないよう注意してください。
- ④各ウェルの外側の底部をきれいに拭いてください。

8)基質液を各ウェルに2滴(100 μ L相当)滴下します。プレートを30秒間振とうし、十分にウェルの内容を混和します。

9)19~27°Cで10分間インキュベートします。

10)反応停止液を各ウェルに2滴(100 μ L相当)滴下します。プレートを30秒間振とうし、十分にウェルの内容を混和します。

注)陽性反応は青色に発色し、反応停止液の添加で黄色に変化します。

11)マイクロプレートリーダーによる吸光度測定・各ウェルの外側の底部をきれいに拭き、**反応停止液滴下後15分以内**に、吸光度(450nm または 450/630nm)を測定します

注)強陽性の場合、反応の停止数分後に紫色の微小沈殿物を生じ、吸光度が次第に低下することがあります。

(測定法概略)

検体の調製

試験管	試験管(検体調製用)
検体希釈液	500 μ L
糞便検体	100 μ L または 5~6mm塊

操作法

抗体固相化ウェル	検体用	陽性、陰性コントロール※用
調製後の検体	各100 μ L	2滴または100 μ L
酵素標識抗体	各1滴(50 μ L)	
インキュベーション	19~27°C、1時間	
洗浄液による洗浄	反応液除去→洗浄液→洗浄液除去 繰り返し(計5回洗浄)	
基質液	各2滴(100 μ L)	
インキュベーション	19~27°C、10分間	
反応停止液	各2滴(100 μ L)	
結果の測定(判定)	吸光度測定	

※検体希釈液を陰性コントロールとして使用します。

【測定結果の判定法】

吸光度測定による判定

ア 吸光度(450nm)の場合

陰性 OD₄₅₀<0.140

陽性 OD₄₅₀≥0.140

陰性コントロール: OD₄₅₀<0.140

陽性コントロール: OD₄₅₀≥0.640

イ 吸光度(450/630nm)の場合

陰性:OD_{450/630}<0.100

陽性:OD_{450/630}≥0.100

陰性コントロール: OD₄₅₀<0.100

陽性コントロール: OD₄₅₀≥0.600

陰性コントロールが0.000未満のときは、プレートリーダーのエアブランクを取り直して再測定してください。

陽性結果はヘリコバクター・ピロリ抗原の存在を示します。

陰性結果はヘリコバクター・ピロリ抗原が存在しないか、本品の検出感度以下であったことを示します。

陽性結果における吸光度の強弱はヘリコバクター・ピロリ感染の程度等を示すものではありません。

陽性コントロール、陰性コントロールが期待された結果を示さない場合は、その試験は無効です。構成試薬に問題があるか、操作が適切に実施されていないか、試薬または検体が加えられていないこと等が考えられます。コントロールを含め再検査を行ってください。

また、ウェルの洗浄不足が原因と考えられる場合は、洗浄回数を増やすなど原因を取り除いて実施してください。

【性能】

1. 性能

1) 感度試験

- ・ヘリコバクター・ピロリ抗原 9.34 ng/mL 溶液を測定するとき吸光度(450/630nm)は0.200以上を示します。
- ・陽性コントロール及び陰性コントロールを測定するとき吸光度(450/630nm)はそれぞれ0.600以上及び0.050以下を示します

2) 正確性試験

- ・管理用陽性検体、管理用陰性検体を測定するとき、それぞれ陽性及び陰性を示します

3) 最少検出感度(例示)ヘリコバクター・ピロリ抗原 4.66 ng/mL(糞便検体)

2. 相関性試験成績

本品と比較品1(ELISA法)、比較品2(イムノカード ST HpSA、製造販売元 パシフィックブリッジメディカル株式会社)との相関性を検討した結果を下表に示しました。

表 比較品との相関性試験成績

		比較品1			比較品2	
		陽性	陰性	保留	陽性	陰性
本法	陽性	56	0	1	53	4
	陰性	0	81	1	0	82
合計		56	81	2	53	86

比較品1を基準とした場合、本法の陽性一致率は100%(56/56)、陰性一致率は100%(81/81)、全体一致率は98.6%(137/139)でした。

比較品1が判定保留、本法が陽性の1検体は、比較品2で陽性(弱陽性)でした。比較品1が判定保留、本法陰性の1検体は、比較品2で陰性でした。

比較品2を基準とした場合、本法の陽性一致率は100%(53/53)、陰性一致率は95.3%(82/86)、全体一致率は97.1%(135/139)でした。

比較品2が陰性、本法陽性の4検体は、比較品1ではすべて陽性。うち2例は対照品1で吸光度450/630nmで0.126、0.176とカットオフ値近傍の検体でした。

3. 校正用基準物質

製造元製ヘリコバクター・ピロリ抗原標準液

【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、肝炎等の感染のおそれがあるものと見なし、適切な予防措置のもと慎重に取扱ってください。
- 2) 感染の危険を避けるため、操作中は使い捨て手袋、安全メガネ、マスク等を着用してください。また操作後はよく手を洗浄してください。
- 3) 検体または試薬を取扱う際に、直接口でピペット操作を行うことは避けてください。
- 4) 陽性コントロールには不活化ヘリコバクター・ピロリを含んでいます。感染の危険があるものとして取扱ってください。
- 5) 反応停止液には 1mol/L のリン酸を含んでいますので直接皮膚に触れないようにしてください。
- 6) 誤って試薬が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等を受けてください。
- 7) 陽性コントロール、検体希釈液、濃縮洗浄液および酵素標識抗体には 保存剤として水銀を含むチメロサルを含んでいますので取扱いには注意してください。また、吸着処理などを行ったあとに廃棄してください。

2. 使用上の注意

- 1) キットは、入手後直ちに貯法(2～8℃)に従い保管してください。
- 2) キットは凍結しないでください。誤って凍結させた試薬は、品質が変化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。
- 3) 貯蔵や測定の際には、必要以上の熱や光を試薬に与えないでください。
- 4) ロットの異なるキットの抗体固相化ウェル、酵素標識抗体、基質液、陽性コントロールを組み合わせて使用しないでください。
- 5) 使用期限を超過したキットは使用しないでください。
- 6) 各々の検体には、各検体毎に新しい検体ピペットを用いてください。
- 7) ウェルは再使用しないでください。また、他の目的に転用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 検体などが飛び散った場合には、次亜塩素酸ナトリウムなどの消毒液を用いてよく拭き取ってください。拭き取りに使用したものは感染性廃棄物として処理してください。
- 2) 検体に接触した器具・試薬および試薬容器等は感染の危険があるものとし、オートクレーブ処理(121℃、20分)で滅菌処理するか、0.1% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸して処理してください。
- 3) 使用後の容器を破棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物、産業廃棄物または感染性廃棄物として処理してください。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法

2～8℃保存

有効期間

製造日から24ヵ月間

使用期限については、外箱をご参照ください。

【包装単位】

- 1キット（96回用）
- （別売り）採便容器 V3（50本）

【問い合わせ先】

富士レピオ株式会社 お客様コールセンター
〒163-0410 東京都新宿区西新宿 2-1-1
TEL : 0120-292-832 FAX : 03-6279-0204

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

製造販売元

パシフィックブリッジメディカル株式会社
東京都港区東新橋 2-10-10 東新橋ビル



富士レピオ株式会社

製造元

