

OLYMPUS

ヘリコセンサ試薬キット

体外診断用医薬品

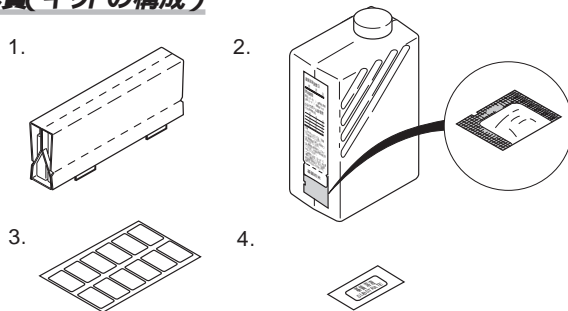
開発の経緯および特徴

現在、*Helicobacter pylori* (ヘリコバクターピロリ/以下*H.pylori*)の検出法としては、①培養法、②組織学的鏡検法、③迅速ウレアゼテスト、④尿素呼気テスト、⑤抗体検出法などがあります。本試薬は、ピロリ菌ウレアゼ測定器「ヘリコセンサ」専用の試薬で抗*H.pylori* ウレアゼマウスモノクローナル抗体を固定化した固相チップによって*H.pylori* ウレアゼのみを特異的に吸着し、それによる基質溶液のpH変化(pH)を「ヘリコセンサ」で測定することにより、*H.pylori*を検出するものです。

Helicobacter pyloriとは

オーストラリアのWarrenとMarshallは、1983年に多核白血球浸潤を伴う胃炎の前庭部粘膜表面に、*H.pylori*の存在をみとめ、さらにその分離培養に成功しました。¹⁾この発見をきっかけとして、消化性潰瘍と*H.pylori*との関連が検討されるようになり、消化性潰瘍症例から高率にこの菌が検出されること、さらに、それを除菌することによって潰瘍再発率が低下することも証明されるようになりました。^{2,3)}

本質(キットの構成)



| | 名称 | 反応関与成分 | 包装単位 |
|---|--------------|---|---------------|
| 1 | 試薬カートリッジ | 抗 <i>H.pylori</i> ウレアゼマウスモノクローナル抗体固相チップ | 10個入り ×2 |
| 2 | 基質溶解液(500mL) | | 1本 |
| | 基質粉末(アルミ袋入り) | 尿素70mg | 1包 |
| 3 | カートリッジラベル | | 12枚1シート ×2 |
| 4 | 基質溶液ラベル | | 1枚 |

2の基質溶解液(500mL)と基質粉末(1包)は、3セット単位で別売りしています。

効果・効能(使用目的)

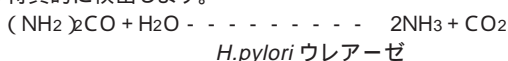
胃粘液中の*H.pylori* ウレアゼの検出

測定方法(測定原理)

固相チップに固相化された抗*H.pylori* ウレアゼ抗体に、胃粘液を希釈した検体希釈液中の*H.pylori*由来のウレアゼのみが特異的に結合します。

尿素を基質とし、*H.pylori* ウレアゼによる酵素反応を行わせるとアンモニアが生成し、基質溶液のpHが上昇します。

そのpHの上昇を測定することにより、*H.pylori* ウレアゼを迅速かつ特異的に検出します。



用法・用量(操作方法)

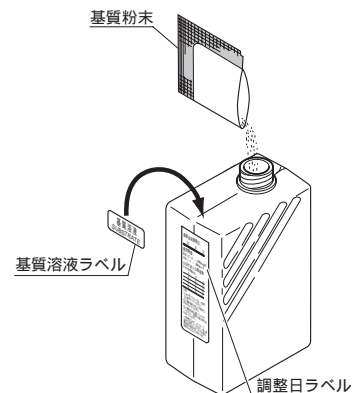
基質溶液の調製方法

基質溶解液に基質粉末を溶解させたものを基質溶液とします。

[注] 基質溶液は、調製後2週間(冷蔵(2~8℃)保存で3カ月)以内に使用してください。基質溶液は、尿素の自然分解により徐々に劣化し、使用期限を過ぎて測定を行うと偽陰性となる可能性があります。

- 基質溶液を補充する際は、排液が溢れ出ることを防ぐために、必ず空の排液ボトルを装置の排液口に取り付けてください。
- 基質粉末は、必ず基質溶解液に入れてから、測定を行ってください。基質粉末をに入らずに測定を行うと、偽陰性が頻発します。

1. 基質溶解液(500mL)に基質粉末(アルミ袋入り)を1袋加え、ボトルの蓋をしめ、よく振ります。
2. 基質溶液ボトルに貼ってある調製日ラベルに、調製日を記入します。測定に適した基質溶液を使用していただくために、基質溶液ボトルに調製日を記入してください。
3. 調製を行った基質溶液のボトルに、基質溶液ラベルを貼ります。
4. 調製された基質溶液のボトルの蓋を取り外し、付属のキャップをはめ込み、装置の基質溶液吸入口に取り付けます。



** <基質溶液を小分けにして使用する>

基質溶液を室温(20~30℃)で保存したときの使用期限は、調製後2週間です。

2週間で500 mLの基質溶液が使い切れそうにない場合は、調製した基質溶液をあらかじめ本装置に付属している小分けボトルに小分けにし、残りを冷蔵(2~8℃)で保存することをお勧めします。基質溶液は、冷蔵で保存することにより、調製後3カ月間保存することができます。

また、小分けして使用する際は、必ず小分けボトル(または基質溶解液ボトル)に貼付されている小分けボトル管理表で、小分けした日付を管理し、以下の注意にしたがって使用してください。

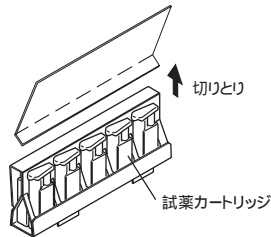
- [注] 小分けボトルとしては、1回限りの使用としてください。
- 古い基質溶液に、新しい溶液をつぎ足さないでください。
 - 古い基質溶液は、液きりして捨ててください。内部を水道水等で洗わないでください。
 - ご使用前に必ず、20~30℃に暖めて使用してください。特に基質溶液の温度が20℃以下の場合、偽陰性となることがあります。

必要な器具・機材

ディスポーザブル細胞診ブラシ

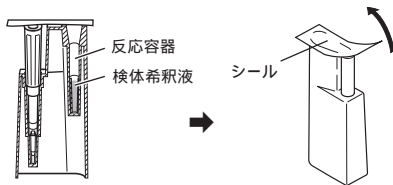
試薬カートリッジの測定操作法

1. 試薬カートリッジのパッケージをミシン目に沿って切り開き、試薬カートリッジを取り出します。



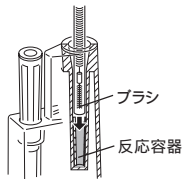
2. 試薬カートリッジを水平に持ち、反応容器に十分な量の検体希釈液が入っていることを目視で確認してから、試薬カートリッジのシールをはがします。

[注] 試薬カートリッジのシールをはがすときは、検体希釈液が飛散しないように注意してください。検体希釈液がシールの裏に付いた状態でシールをはがすと、液が飛散して、正確な検査ができないことがあります。

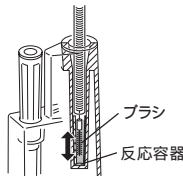


3. 胃粘液を採取し、ブラシを収納したままのディスプレイ細胞診ブラシを試薬カートリッジの反応容器に挿入し、反応容器内でシースからブラシの先端を押し出します。

[注] 反応容器の外で、ブラシをシースから押し出してしまうと、粘液がブラシから落下してしまう可能性があります。必ず、反応容器の中にシースを挿入してから、ブラシを押し出してください。

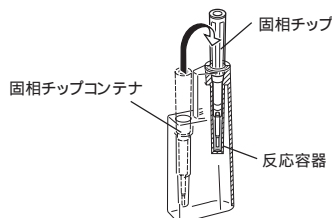


4. ブラシを試薬カートリッジの反応容器の下部で数回ごきまします。ブラシに付いている粘液は、反応容器中の検体希釈液により希釈されます。

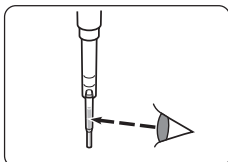


5. 試薬カートリッジの固相チップを固相チップコンテナから抜き、胃粘液を希釈した反応容器内に挿入します。

** 固相チップをコンテナから抜く際は、チップを回しながら抜くと、容易に抜くことができます。

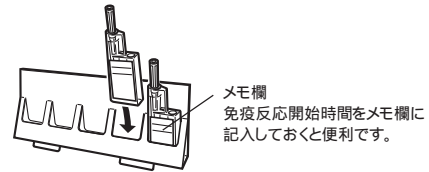


- [注] ● 固相チップは、反応容器が完全に密栓されるように、しっかりと挿入してください。
● 検体希釈液が固相チップの中に、吸引されていることを目視で確認してください。



6. 試薬カートリッジは、倒れないようにカートリッジスタンドに静置し、20～30℃で15分以上放置します。

[注] 検体溶液の測定は、免疫反応開始後24時間以内に行ってください。免疫反応開始後の検体を、20～30℃で24時間以上放置すると、検体が劣化します。また、十分な免疫反応を行うために必ず15分以上放置してください。



7. 6.の免疫反応後の固相チップをピロリ菌ウレアーゼ測定器で測定します。

操作上の留意事項

検体の採取方法

胃の粘液採取には市販の細胞診ブラシを使用してください。ディスプレイ細胞診ブラシ163R(オリンパス)が適しています。胃粘液の採取にあたっては、胃幽門前庭部から胃体部(特にひだの中)にかけて大弯に沿って擦過してください。粘液採取後、ブラシをシースに引き込み、内視鏡から取り出し、粘液の損失を少なくするために試薬カートリッジの反応容器の中にシース先端を入れた状態でブラシを押し出し、ブラシを反応容器の中でしごいて、付着している粘液を検体希釈液で希釈してください。詳細は別途用意されている取扱説明書を参照してください。

*[注] ● ディスプレー細胞診ブラシ163R(オリンパス)以外の細径のブラシを使用すると、採取される胃粘液の量が不足して偽陰性となる可能性があります。

- 検体の採取にあたっては、細胞診ブラシの取扱説明書に従ってください。

検体の性状

① 次のような検体は偽陰性となることがあります。

- 胃にたまっている胃液のみを採取した場合
- 胃超音波内視鏡検査のように大量の水で胃の粘液を希釈した後に、胃粘液を採取した場合
- *H.pylori*菌体が非常に少ない場合
- 除菌後、2～4週間しか経過していない場合

② 胃液のpHが7以上の患者さんから採取した胃粘液を検体とした場合、稀に pHが - 0.010以下になることがあります。

妨害物質

血液やインジゴカルミンは固相チップと*H.pylori* ウレアーゼ間の免疫反応を阻害しません。ただし、インジゴカルミン散布後、多量の水で胃洗滌を行った後に胃粘液を採取すると、偽陰性となることがあります。また、本試薬キットに使用しているモノクローナル抗体は、*H.pylori* ウレアーゼに特異的ですので、*P.vulgaris*、*K.pneumoniae* およびナタマメ由来のウレアーゼは検出しません。

測定結果の判定法

pHが0.010以上であれば*H.pylori*陽性、0.010未満であれば*H.pylori*陰性と判定します。

[注] *H.pylori*感染をより確実に判定するには、培養法、生検組織学的鏡検法などの他法の結果と合わせて判定してください。

性能

感度試験

- ① PBS(pH7)15μLを試料として測定するとき、pHは0.008以下となります。
- ② 6.3、6.3、および630mU/mLの*H.pylori* ウレアーゼ溶液(溶媒としてPBS(pH7)を使用)15μLを試料として測定するとき、pHがそれぞれ0.012以上、0.120以上、および1.000以上となります。

特異性試験

- ① *H.pylori* ウレアーゼを含まない溶液15μLを試料として測定するとき、*H.pylori*陰性と判定されます。
- ② *H.pylori* ウレアーゼの濃度が6.3mU/mL以上の溶液15μLを試料として測定するとき、*H.pylori*陽性と判定されます。

同時再現性試験

- ① *H. pylori* ウレアーゼを含まない溶液15 µLを試料として3回同時に測定するとき、pHの値はいずれも0.008以下となります。
- ② *H. pylori* ウレアーゼの濃度が6.3、63、および630mU/mLの溶液15 µLを試料として3回同時に測定するとき、各濃度でのpHが3回ともそれぞれ0.012以上、0.120以上、および1.000以上となります。
mU 26 で1分間に1 µmoleの尿素を分解するウレアーゼの量

相関性

臨床検体を用いた基準法と本法との相関性は次のとおりです。

| 基準法 | 感度(%) | 特異度(%) | 症例数 | 文献 |
|-------|-------|--------|-----|----|
| C+H+R | 97 | 100.0 | 125 | 4) |
| C | 86.5 | 100.0 | 79 | 5) |
| C+H+R | 98.4 | 98.9 | 155 | 6) |
| U | 92 | 98 | 119 | 7) |

基準法

- C 培養法
- H 組織学的検査
- R 迅速ウレアーゼテスト
- U 尿素呼吸テスト

使用上又は取扱い上の注意

- 誤って飲み込んだ場合は、水を飲んで、医師の診察を受けてください。
- 目や口に入った場合は、多量の水で洗い流し、医師の診察を受けてください。
- 皮膚に付着した場合は、多量の水で洗い流してください。
- 測定後の固相チップおよび試薬カートリッジは、感染性医療廃棄物として適切に廃棄してください。
- 試薬カートリッジを取り扱うときは、感染防止のために必ずゴム手袋を着用してください。
- 純正品以外の試薬を使用した場合は、ピロリ菌ウレアーゼ測定器(HLS-2000)の性能の保証はできません。
- ヘリコセンサ試薬キットは、ピロリ菌ウレアーゼ測定器専用試薬として調製されています。ご使用の際には、機器の取扱説明書をよくお読みになった上で、その指示に従ってください。
- 試薬キットは、0~30 で保存してください。30 以上で長期間保存すると、試薬カートリッジの使用期限が短くなります。使用期限を過ぎたものは、使用しないでください。
また、20 以下で保存した後は、ご使用前に必ず、20~30 に暖めて使用してください。特に基質溶液の温度が20 以下の場合、偽陰性となることがあります。

貯法、有効期間

貯法 0~30
有効期間 18カ月

包装単位

20回分

主要文献及び文献請求先

主要文献

- 1) Warren JR and Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. Lancet 1,1273(1983).
- 2) Marshall BJ, Goodwin CS, Warren JR et al. Prospective double-blind trial of duodenal ulcer relapse after eradication of *Campylobacter pylori*. Lancet 2, 1439 (1988).
- 3) Hentschel E et al. Effect of ranitidine and amoxicillin plus metronidazole on the recurrence of duodenal ulcer. N Engl J Med 328,308(1993).
- 4) T.Sato, M.Fujino, Y.Kojima et al. Immunological Rapid Urease Test for Detecting *Helicobacter pylori*: Comparative Study of Biopsy Specimens and Gastric Mucus. Digestive Endoscopy 11, 42-46(1999).
- 5) 藤野、星原等. 免疫学的ヘリコバクターピロリウレアーゼ測定システムの臨床評価. 臨床検査機器・試薬22, 391(1999).
- 6) T.Sato, M.Fujino, Y.Kojima et al. Evaluation of Immunological Rapid Urease Testing to Detect *Helicobacter pylori*. European J. Clinical Microbiology & Infectious Diseases 19, 438-442(2000).
- 7) T.Sekiguchi, M.Nakamura, M.Kato et al. Immunological *Helicobacter pylori* urease analyser based on ion-sensitive field effect transistor. Sensors & Actuators B67,265-269(2000)

文献請求先

* オリンパスプロマーケティング株式会社

* 医内視鏡部

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台3-4 龍名館ビル
TEL(03)-3251-8959 FAX(03)-3251-8580

* 販売元 : オリンパスプロマーケティング株式会社

〒101-0062 東京都千代田区神田駿河台3-4 龍名館ビル

製造元 : 日本光電富岡株式会社 東京都新宿区西落合1-31-4 〒161-8560