

# IgG/IgM anti-HEV EIA 96テスト用

EIA法によるIgG/IgMクラス抗HEV抗体検出用キット

本試薬は、添付文書をよく読んでから使用してください。  
本試薬は研究用試薬であり、臨床診断には使用できません。

人獣共通感染症であるE型肝炎<sup>1)</sup>はE型肝炎ウイルス(HEV)によって引き起こされますが、主に急性肝炎症状を呈し、感染症法において四類感染症に指定され、届出が義務づけられています。

HEVに感染するとHEVに対する抗体が産生されますが、E型肝炎の急性期にはIgM抗HEV抗体が患者血清中に出現し、発症後2~5ヶ月持続します。IgG抗HEV抗体はやや遅れて出現して長期間継続するため、現在または過去の感染の指標となります。

本キットは、リコンビナントHEV抗原タンパク質を固相抗原として使用し、ペルオキシダーゼ標識した抗ヒトIgG若しくは抗ヒトIgMマウスモノクローナル抗体を二次抗体としたEIA法によるIgG/IgMクラス抗HEV抗体測定試薬です。

《特徴》

1. HEVの既往感染を示すIgGクラス抗HEV抗体、及びHEV感染初期に増加するIgMクラス抗HEV抗体を検出できます。
2. リコンビナントHEV抗原を固相抗原に使用し、高い特異性と感度を有します。

【キットの構成】

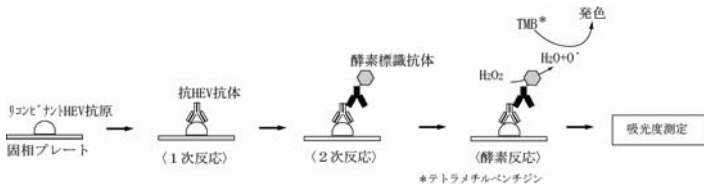
1. HEV抗原固相プレート(8ウェル×12).....1枚  
(リコンビナントHEV抗原)
2. 陰性コントロール(青).....0.5mL×1本
3. IgG陽性コントロール(赤).....0.5mL×1本
4. IgM陽性コントロール(黄).....0.5mL×1本
5. 検体希釈液.....50mL×1本
6. 抗IgG酵素標識モノクローナル抗体.....5mL×1本  
(ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgGマウスモノクローナル抗体)/白キャップ
7. 抗IgM酵素標識モノクローナル抗体.....5mL×1本  
(ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgMマウスモノクローナル抗体)/黒キャップ
8. 酵素基質.....5mL×1本  
(TMB)
9. 反応停止液.....5mL×1本
10. 洗浄原液(20倍濃縮液).....50mL×1本
11. プレートシール(付属品).....3枚

【使用目的】

ヒト血清中のIgGクラス又はIgMクラス抗HEV抗体の検出

【測定原理】

酵素免疫測定法(EIA)を応用した本検出系は、二段階の抗原抗体反応と酵素呈色反応とからなります。1次抗原抗体反応は、プレートに固相されたHEV抗原と被検検体中の抗HEV抗体との間で起こります。2次抗原抗体反応は、固相抗原に結合したIgGクラス或いはIgMクラスの抗HEV抗体と酵素標識抗体(ペルオキシダーゼ標識抗ヒトIgG/IgMマウスモノクローナル抗体)との間で起こります。検体中にIgGクラス或いはIgMクラス抗HEV抗体が存在すれば1次、2次抗原抗体反応が成立し、酵素反応により発色します。検体中の抗HEV抗体量に応じて呈色物質が生成されます。一定時間で反応を停止させて吸光度を測定します。



【測定試料に関する注意】

1. 測定試料の性質、採取法

- (1) 採血は溶血をさけ、速やかに血清分離を行ってください。
- (2) 検体は、採取後できるだけその日のうちに使用してください。もし、保存が必要な場合は凍結して保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。

2. 妨害物質

- (1) 乳白 1,500度(ホルマジン濁度数)、ビリルビン C 15 mg/dL、ビリルビン F 15 mg/dL、溶血ヘモグロビン 400 mg/dL、リウマチ因子 400 IU/mLの濃度までは影響がありません。

【操作方法】

1. 試薬の調製方法

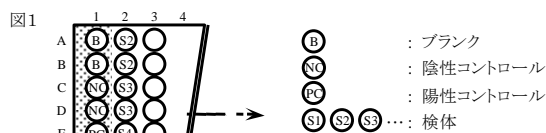
- (1) 洗浄液  
洗浄原液を精製水で20倍希釈します。未使用の洗浄液は2~10℃で保存してください。

2. 必要な器具・器材

- (1) マイクロピペット 10µL, 100µL, 200µL, 1,000µL
- (2) メスシリンダー 1L
- (3) アスピレーター及びポリ洗浄瓶又はマイクロプレートウォッシャー
- (4) 暗箱(暗い戸棚又は引き出しでも可)
- (5) マイクロプレートリーダー(主波長440nm~460nm、副波長620nm以上)

3. 測定操作法

- キットの各試薬を15~30℃に戻してください。
- 測定ごとにブランク用1ウェル以上、陰性コントロール用2ウェル以上及び陽性コントロール用2ウェルを設けてください。(図1:参考例)



- (1) 検体の希釈  
検体希釈液を用いて検体を101倍に希釈します。  
例えば、検体希釈液500µLに血清5µLを加えます。
- (2) 検体の添加  
陰性コントロール、陽性コントロール及び希釈した検体をHEV抗原固相プレートのウェルに50µLずつ加えます。  
IgGクラス抗HEV抗体検出の場合はIgG陽性コントロール、IgMクラス抗HEV抗体検出の場合はIgM陽性コントロールを使用してください。  
(注意)  
プレートは着脱式で12分割が可能ですから、必要数を使用し未使用のものは乾燥剤とともにアルミ袋に密封し、2~10℃で保存してください。
- (3) 1次反応  
プレート上面に添付のプレートシールを貼り、15~30℃で1時間静置します。
- (4) 洗浄  
プレートシールをはがし、ウェル内容物をアスピレーターで吸引除去します。ポリ洗浄瓶を用いてプレートの各ウェルを「1. 試薬の調製方法(1)」で調製した洗浄液で満たし、プレートを逆さにして洗浄液を振り流します。この洗浄操作を5回繰り返します。  
また、マイクロプレートウォッシャーを用いる場合も5回洗浄します。  
(注意)  
洗浄操作中、プレートのウェル内面が乾燥しないように注意し、洗浄終了後は迅速に次の操作を行ってください。
- (5) 酵素標識モノクローナル抗体の添加  
酵素標識モノクローナル抗体を空白ウェル以外の各ウェルに50µLずつ加えます。IgGクラス抗HEV抗体検出の場合は抗IgG酵素標識モノクローナル抗体、IgMクラス抗HEV抗体検出の場合は抗IgM酵素標識モノクローナル抗体を使用してください。
- (6) 2次反応  
プレート上面に添付のプレートシールを貼り、15~30℃で1時間静置します。
- (7) 洗浄  
(4)と同じ手順でプレートを洗浄します。
- (8) 酵素基質の添加  
酵素基質を全ウェルに50µLずつ加えます。
- (9) 酵素反応  
プレート上面に添付のプレートシールを貼り、プレートを暗所に入れて、15~30℃で30分間静置します。

- (10) 反応停止液の添加  
プレートシールをはがし、反応停止液を全ウェルに 50  $\mu$ L ずつ加えてよく混合します。
- (11) 吸光度の測定  
マイクロプレートリーダー(主波長 450 nm(或いは 440 nm~460 nm)、副波長 630 nm)で各ウェルの吸光度を測定します。
- 〔注意〕  
反応停止後 30 分以内に測定してください。

**ウェルの割付と手順**

手順	ブランク	陰性コントロール・陽性コントロール	検体
ウェルの割付	1A, (1B)	1C~1F	1G~12H
1 検体の希釈	—	そのまま使用	検体希釈液で 101 倍に希釈
2 コントロール及び検体の添加 陰性コントロール 陽性コントロール 希釈検体	— — —	50 $\mu$ L 50 $\mu$ L —	— — 50 $\mu$ L
3 1 次反応	15~30°C、1 時間 静置		
4 洗浄	5 回繰り返す		
5 酵素標識モノクローナル抗体の添加	—	50 $\mu$ L	50 $\mu$ L
6 2 次反応	15~30°C、1 時間 静置		
7 洗浄	5 回繰り返す		
8 酵素基質の添加	50 $\mu$ L		
9 酵素反応	15~30°C 30 分間 暗所 静置		
10 反応停止液の添加	50 $\mu$ L		
11 吸光度の測定	主波長 450 nm(440 nm~460 nm)、副波長 630 nm		
12 結果の判定			

**【測定結果の判定法】**

**1. カットオフ値(COV)の算出**

- (1) [各吸光度値-ブランクウェルの吸光度の平均値](Net OD 値)を算出します。
- (2) 次式に当てはめカットオフ値を算出します。

<p><b>IgG 算出カットオフ値</b>  <math>(\text{IgG 陽性コントロールの平均 Net OD 値} - \text{陰性コントロールの平均 Net OD 値}) \times 0.13</math></p> <p><b>IgM 算出カットオフ値</b>  <math>(\text{IgM 陽性コントロールの平均 Net OD 値} - \text{陰性コントロールの平均 Net OD 値}) \times 0.30</math></p>
---

**2. 結果の判定**

- 陰性: 検体の Net OD 値 < 算出カットオフ値  
 陽性: 検体の Net OD 値  $\geq$  算出カットオフ値  
 ※算出カットオフ値(COV)を基にカットオフインデックス(COI)を算出し、判定することもできます。  
 COI = 検体の Net OD 値 / COV  
 陰性: COI < 1  
 陽性: COI  $\geq$  1

**3. 判定上の注意**

- (1) 測定結果が陰性であっても、ウイルス関連抗体が検出されない空白期間である場合や免疫機能低下により抗体産生能が低下している場合があります。
- (2) 自己免疫性疾患患者の血清の場合、非特異反応が起こります。

**【使用上又は取扱い上の注意事項】**

本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。記載された使用目的及び操作方法以外での使用につきましては測定結果の信頼性を保証しかねます。

**1. 一般的注意**

- (1) キットの試薬は使用前に必ず 15~30°C に戻してください。
- (2) 製造番号の異なるキットの試薬を組み合わせ使用しないでください。また、プレートの再利用はできません。
- (3) 操作は手順通り正確に行ってください。
- (4) 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
- (5) 試薬が微生物に汚染されないよう注意してください。

- (6) 検査に用いる器具は、よく洗浄し、精製水でよく濯いだものを使用してください。
- (7) 検体ごと及び試薬ごとにマイクロペットのチップを替えてください。
- (8) キットの構成試薬は、いずれも個別の補充が可能です。補充に関しては、問い合わせ先までご連絡ください。

**2. 操作上の注意**

- (1) ブランク用及び陰性、陽性コントロール用ウェルは、測定ごとに設けてください。
- (2) 操作開始後は定められた時間で速やかに全操作を行い、各検体の反応時間が一定になるように留意してください。
- (3) 各反応は 15~30°C の範囲の温度で行ってください。
- (4) 酵素反応の停止後、30 分以内に吸光度を測定してください。
- (5) 操作中、プレートを強くこすったり、底面に触れたりしないでください。又、ウェル内面が乾燥しないように注意してください。

**3. 取扱い上の注意**

- (1) 陰性コントロール及び陽性コントロールは HBs 抗原、HCV 抗体、HIV-1 抗体及び HIV-2 抗体が陰性であることを確認していますが、感染性を完全に否定できるものではありません。従って、本品の取扱いに際しては、検体と同様に感染の危険性を考慮し、十分に注意してください。
- (2) 検体は HBV、HCV、HIV などの感染の危険性があるものとして注意して取り扱ってください。
- (3) 試薬は皮膚や粘膜に接触させないでください。もし皮膚にかかったときは多量の水で洗い流してください。(酵素基質及び反応停止液は毒性、刺激性で火傷のおそれがあります。) 必要があれば医師の手当等を受けてください。
- (4) 使用後の検体、試薬、検体に使用した器具類は廃棄前に下記のいずれかの方法で処理を行ってください。  
 ① 0.05%ホルマリン溶液に 37°C、72 時間以上浸す。  
 ② 2 w/v%グルタルアルデヒド溶液に 1 時間以上浸す。  
 ③ 次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度 1,000 ppm 以上)に 1 時間以上浸す。  
 ④ 121°C、20 分間以上オートクレーブにかける。
- (5) 検体希釈液、陰性コントロール及び陽性コントロールにはアジ化ナトリウムが添加されていますので、廃棄する時は爆発性の金属アジドが発生しないように多量の水を流しながら行ってください。
- (6) 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制に従って処理してください。
- (7) 検体、廃液等が飛散した場合には、次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度 1,000 ppm 以上、1 時間以上浸漬)、グルタルアルデヒド(2 w/v%、1 時間以上浸漬)等による拭き取りと消毒を行ってください。

**【貯法及び有効期間】**

凍結を避け、2~10°C で保存。  
 製造後 1 年間有効(包装に表示の使用期限内に使用してください。)

**【包装単位】**

1 キット: 96 テスト用 CODE: 1Z23

**【参考文献】**

1) Mikhail S, Balayan MD: Type E Hepatitis: State of the Art. Int J Infect Dis 2 (2): 113-120, 1997.

2) 高橋雅春、岡本宏明: E 型肝炎のウイルス学的診断. 肝胆膵 47 (5): 647-656, 2003.

3) Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, et al: Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. J Clin Microbiol 40: 3209-3218, 2002.

4) Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, et al: Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. J Gen Virol 84: 851-862, 2003.

5) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al: Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. J Clin Microbiol 43: 49-56, 2005.

**【問い合わせ先】**

株式会社 特殊免疫研究所 営業部  
 〒112-0004 東京都文京区後楽一丁目 1 番 10 号  
 日本生命水道橋ビル  
 TEL 03-3814-4081 FAX 03-3814-5957

## Instruction Manual

**IgG/IgM anti-HEV EIA**

IgG/IgM anti-HEV antibody determination kit by EIA

- Thoroughly read this instruction manual before use of this kit.
- This kit is for research use only.

**I. Kit components**

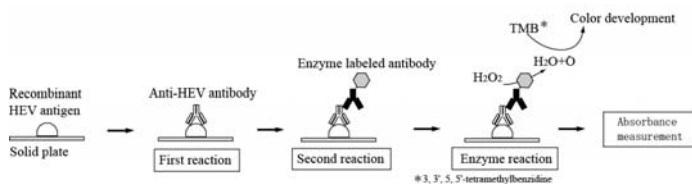
1. Microplate coated with HEV antigen (8 wells/strip x 12)... 1 plate (Recombinant HEV antigen)
2. Negative control (blue) .....0.5 mL x 1 vial
3. IgG positive control (red).....0.5 mL x 1 vial
4. IgM positive control (yellow) .....0.5 mL x 1 vial
5. Sample diluent.....50 mL x 1 vial
6. Anti-IgG enzyme labeled monoclonal antibody.....5 mL x 1 vial (Peroxidase labeled anti-human IgG mouse monoclonal antibody)
7. Anti-IgM enzyme labeled monoclonal antibody .....5 mL x 1 vial (Peroxidase labeled anti-human IgM mouse monoclonal antibody)
8. Enzyme substrate .....5 mL x 1 vial (3, 3', 5, 5'-tetramethylbenzidine)
9. Reaction stopper.....5 mL x 1 vial
10. 20x concentrated washing solution .....50 mL x 1 vial (containing detergent)
11. Plate seal ..... 3 sheets

**II. Application**

Detection of IgG anti-HEV antibody or IgM anti-HEV antibody in human serum

**III. Assay principle**

IgG anti-HEV antibody is detected in sera of patients infected by hepatitis E virus (HEV) in the past, and IgM anti-HEV antibody is detected during the acute stage of infection with HEV. The detection system of this kit is based on the enzyme immuno assay (EIA) and is made up of 2 steps of the antigen-antibody reaction and the enzyme coloring reaction. The first antigen-antibody reaction takes place between the HEV antigen coated on the microplate and the anti-HEV antibody in samples and the second reaction between the IgG/IgM anti-HEV antibody bound to the antigen coated on the microplate and the antibody labeled with enzyme (horseradish peroxidase labeled antibody). When the IgG/IgM anti-HEV antibody is present in samples, the first and the second reactions take place and absorbance by color proportional to the amount of the IgG/IgM anti-HEV antibody in samples developed by enzyme reaction is measured.

**IV. Sampling precautions****1. Sample collection and storage**

- 1) When collecting blood, avoid hemolysis and separate serum immediately.
- 2) It is recommended to determine samples on the day collected. Keep frozen if they are stored and avoid frequent freeze-thaw cycles.

**2. Interference substances**

- 1) Up to 1,500 degree of chylomicron (formazine turbidity), 15 mg/dL of bilirubin C, 15 mg/dL of bilirubin F, 400 mg/dL of hemolytic hemoglobin, and/or 400 IU/mL of rheumatoid factor do not interfere with the determination.

**V. Operation****1. Preparation of reagent**

- 1) Washing solution  
Dilute 20x concentrated washing solution 20 times with purified water. Keep this solution at 2 ~ 10°C.

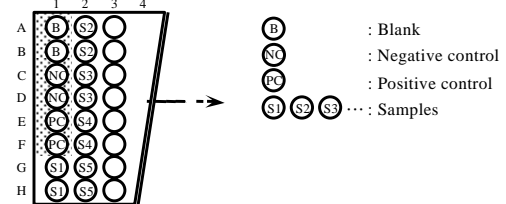
**2. Materials required but not provided**

- 1) Micropipettes, 10 µL, 100 µL, 200 µL, and 1,000 µL
- 2) A measuring cylinder, 1 L
- 3) An aspirator and a polyethylene washing bottle, or a microplate washer
- 4) A dark box (A light tight cupboard or a drawer will do.)
- 5) A dual-wavelength microplate reader (main wavelength 440 ~ 460 nm, sub wavelength 620 nm or longer)

**3. Assay procedure****Note:**

- Return the kit to 15 ~ 30°C before use.
- In each assay, prepare blank in 1 well or more, Positive controls in 2 wells or more, and Negative controls in 2 wells or more as illustrated.

Fig. 1

**1) Dilution of samples**

Add 5 µL of each samples (serum) to 500 µL of Sample diluent and thoroughly mix using pipettes.

**2) Addition of samples**

Add 50 µL of each diluted samples, Positive control, or Negative control into the wells.

Use IgG positive control in the case of determination of IgG anti-HEV, and use IgM positive control in the case of determination of IgM anti-HEV.

**Note**

- Each of the 12 strips can be detached from their holder. Use only required number of strips and keep at 2 ~ 10°C remaining strips in an air tight aluminum pouch with desiccant.

**3) 1st reaction**

Cover the microplate wells with the plate seal provided and leave them to stand at 15 ~ 30°C for 1 hour.

**4) Washing**

Remove the plate seal and suck out the well contents using an aspirator. Fill each well with the washing solution prepared in **1. Preparation of reagent** using a washing bottle and shake out the solution by holding the microplate wells upside down. Repeat this washing 5 times. When the microplate is washed using a microplate washer, wash 5 times.

**Note**

- While washing the microplate wells, care should be taken not to dry inside the wells. After washing, follow the next step below.

**5) Addition of the enzyme labeled monoclonal antibody**

Add 50 µL of the enzyme labeled monoclonal antibody in all wells but not blank well.

Use Anti-IgG enzyme labeled monoclonal antibody in the case of determination of IgG anti-HEV, and use Anti-IgM enzyme labeled monoclonal antibody in the case of determination of IgM anti-HEV.

**6) 2nd reaction**

Cover the microplate wells with the plate seal provided and leave it to stand at 15 ~ 30°C for 1 hour.

**7) Washing**

Wash the microplate wells as in **4)** above.

**8) Addition of Enzyme substrate**

Add 50 µL of Enzyme substrate in all wells.

**9) Enzyme reaction**

Cover the microplate with the plate seal provided. Leave the microplate to stand at 15 ~ 30°C in the dark for 30 min.

- 10) Addition of Reaction stopper  
Remove the plate seal and add 50 µL of Reaction stopper in all wells and thoroughly mix.
- 11) Absorbance measurement  
Measure absorbance of each well (main wavelength 450 nm /or 440 ~ 460 nm, sub wavelength 630 nm).

**Note**

- Measure absorbance within 30 min after stopping the reaction.

**Assay Procedure and Well Arrangement**

Well Arrangement	Blank	Negative control- Positive control	Samples
Wells	1A, (1B)	1C~1F	1G~12H
1 Dilution of samples	—	No dilution needed	101 times dilution
2 Addition of sample or controls	—	50 µL	—
Negative control	—	50 µL	—
Positive control	—	—	50 µL
Diluted sample	—	—	—
3 1st reaction	1 hr at 15 ~ 30°C		
4 Washing	5 times		
5 Addition of the enzyme labeled monoclonal antibody	—	50 µL	50 µL
6 2nd reaction	1 hr at 15 ~ 30°C		
7 Washing	5 times		
8 Addition of Enzyme substrate	50 µL		
9 Enzyme reaction	30 min in the dark at 15 ~ 30°C		
10 Addition of Reaction stopper	50 µL		
11 Absorbance measurement	Main wavelength 450 nm, sub wavelength 630 nm		
12 Interpretation of results			

**VI. Interpretation of results****1. Calculation of cut off value (COV)**

- 1) Calculate the Net OD of positive controls and negative controls, and each sample in accordance with ([absorbance of control or each sample - the mean absorbance of the blank]).
- 2) Determine COV from the Net OD.

$$\text{IgG COV} = \frac{\text{the mean Net OD of IgG positive controls} - \text{the mean Net OD of negative controls}}{\text{the mean Net OD of positive controls}} \times 0.13$$

$$\text{IgM COV} = \frac{\text{the mean Net OD of IgM positive controls} - \text{the mean Net OD of negative controls}}{\text{the mean Net OD of positive controls}} \times 0.30$$

**2. Interpretation of results**

- 1) Interpret regarding the following criteria of Net OD of sample for each assay.
  - A cut off index (COI) also can be used, according to cut off value (COV) for interpretation.

$$\text{COI} = (\text{Net OD of each sample}) / \text{COV}$$

Criteria of Net OD of sample	COI	Interpretation
COV or more	1 or more	Positive
less than COV	less than 1	Negative

**3. Precaution in interpretation**

- 1) If samples are in window period or immunity has decreased, the interpretation may be negative, even though it includes IgG/IgM anti-HEV antibody.
- 2) It may be occurred non-specific reaction in case of sample from autoimmune disease patient.

**VII. Warnings and precautions**

This kit must be used according to the instructions and for the purpose described in this manual. No result is guaranteed in any use or for any purpose other than those described in this manual.

**1. General precautions**

- 1) Make sure to return the kit to the 15 ~ 30°C before use.
- 2) Do not mix up kit components of different production lots. Do not reuse microplate wells.

- 3) Assay strictly as instructed.
- 4) Do not use expired reagents.
- 5) Avoid contamination of the kit reagents with microorganisms.
- 6) Thoroughly wash equipments used for the assay and rinse them with purified water.
- 7) Replace micropipette tips for each sample and reagent.

**2. Operational precautions**

- 1) Measure absorbance of blank, positive control, and negative control in each assay.
- 2) Once assay is started, complete it within the prescribed time. Care should be taken to allow the same reaction time for all samples.
- 3) Make sure that all reactions take place at 15 ~ 30°C.
- 4) Measure absorbance within 30 min after stopping the enzyme reaction.
- 5) Do not scrape the microplate or touch the bottom of wells. Do not dry the surface of the wells during operation.

**3. Handling precautions**

- 1) Although Positive controls and Negative control in this kit are tested negative for HBV, HCV antibody, HIV-1 antibody, and HIV-2 antibody, handle them carefully as if they were infectious with these viruses.
- 2) Samples should be handled as if they were potentially infectious with HBV, HCV, and HIV.
- 3) Avoid contact of reagents. If they contact skin, wash with plenty of water. (They are toxic and irritable and burn skin or mucous membrane.) Get medical care if need.
- 4) Samples, reagents, and materials used for the assay should be treated with either of the followings.
  - a) Immerse in 0.05% formalin solution at 37°C for over 72 hrs.
  - b) Immerse in 2 w/v% glutaraldehyde solution for over 1 hr.
  - c) Immerse in sodium hypochlorite solution (concentration of effective chlorine: 1,000 ppm or more) for over 1 hr.
  - d) Autoclave at 121°C for 20 min.
- 5) Sample diluent, Negative control, and Positive controls contain sodium azide. Flush drains with a sufficient volume of water to prevent forming of explosive metal azide after disposing of them.
- 6) Dispose of container and unused contents in accordance with federal, state and local requirements.
- 7) If sample or used reagent are spilled, wipe by using sodium hypochlorite solution (concentration of effective chlorine: 1,000 ppm or more) or glutaraldehyde (immerse in 2 w/v%, for over 1 hr), and sterilize.

**VIII. Storage and shelf life**

Store the kit at 2 ~ 10°C and avoid freezing. This kit is stable for 1 year after the date of manufacture. Validity of kit is shown in the package.

**IX. Package**

1 kit for 96 tests Code No. 1Z23

**X. Reference**

- 1) Mikhail S, Balayan MD: Type E Hepatitis: State of the Art. Int J Infect Dis 2 (2): 113-120, 1997.
- 2) Mizuo H, Suzuki K, Takikawa Y, et al: Polyphyletic strains of hepatitis E virus are responsible for sporadic cases of acute hepatitis in Japan. J Clin Microbiol 40: 3209-3218, 2002.
- 3) Takahashi M, Nishizawa T, Miyajima H, et al: Swine hepatitis E virus strains in Japan form four phylogenetic clusters comparable with those of Japanese isolates of human hepatitis E virus. J Gen Virol 84: 851-862, 2003.
- 4) Takahashi M, Kusakai S, Mizuo H, et al: Simultaneous detection of immunoglobulin A (IgA) and IgM antibodies against hepatitis E virus (HEV) is highly specific for diagnosis of acute HEV infection. J Clin Microbiol 43: 49-56, 2005.

Manufacturer and sold by;

**Institute of Immunology Co., Ltd.**

1-1-10, Koraku, Bunkyo-Ku,

Tokyo 112-0004, JAPAN

Tel : +81-3-3814-4081

Fax : +81-3-3814-5957

September, 2010