

ヒト免疫不全症ウイルス 1 核酸キット アキュジーン® m-HIV-1

【一般的な注意】

1. 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないこと。
2. 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すること。
3. 本書に記載された使用方法に従って使用すること。本書に記載された使用方法および使用目的以外での使用については、測定結果の信頼性は保証しない。
4. 本測定で使用する試薬類には、ヒト由来成分が含まれているものがあり、感染の危険があるので感染性のあるものとして取り扱うこと。詳細は、【形状・構造等（キットの構成）】または【用法・用量（操作方法）】を参照のこと。
5. 使用する機器の電子添文および取扱説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. 増幅・検出用試薬パック
 - ・オリゴヌクレオチド試薬
 - HIV PCR フォワードプライマー
 - HIV PCR リバースプライマー
 - HIV PCR プローブ
 - HIV クエンチャープローブ
 - dNTP※1 Mix
 - ※1 dNTP：デオキシリボヌクレオシド三リン酸
 - dNTP Mix は以下の 4 成分を有するヌクレオチド-Na の同濃度の混合物である。
 - 2'-デオキシアデノシン5'-三リン酸（dATP）
 - 2'-デオキシチジン5'-三リン酸（dCTP）
 - 2'-デオキシチミジン5'-三リン酸（dTTP）
 - 2'-デオキシグアノシン5'-三リン酸（dGTP）
 - （他の含有物：緩衝液、色素 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
 - ・酵素試薬
 - 耐熱性 rTth※2 DNAポリメラーゼ
 - （他の含有物：緩衝液）
 - ※2 rTth：recombinant *Thermus thermophilus*
 - ・活性化試薬
 - （主な含有物：塩化マンガン 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
2. 内部コントロール
 - （主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HBV DNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HCV 抗体陰性）、内部コントロール用塩基配列をもつ非感染性 Armored RNA 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）

注：増幅・検出用試薬パックを再使用するには、バーコードの上に 6 桁のシリアル番号が印字されている増幅・検出用試薬パックが必要である。

【使用目的】

血漿中のヒト免疫不全症ウイルス 1（HIV-1）RNA の測定
（ヒト免疫不全症ウイルス感染の診断補助）

【測定原理】

本品は HIV-1 RNA の RT-PCR 法（逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法）による cDNA 合成と増幅¹、及び核酸ハイブリダイゼーションを用いたヒト血漿中の HIV-1 RNA を測定するキットであり、以下の 6 つの主な反応ステップから成り立っている。

- 1) 検体からの HIV-1 RNA の抽出・精製
検体に核酸抽出用緩衝液（内部コントロールの RNA を含む）を加え、核酸抽出装置又は用手法にて、所定の操作を行い、HIV-1 RNA を抽出・精製する。
- 2) 逆転写（RT）反応による HIV-1 RNA からの cDNA の合成
抽出した HIV-1 RNA pol 領域の一部の配列に特異的に結合する HIV PCR リバースプライマーを結合させた後、耐熱性 rTth DNA ポリメラーゼ及び dNTP Mix（dATP、dCTP、dTTP、dGTP）を用いて逆転写反応を行い、HIV-1 RNA に相補的な cDNA を合成する。
- 3) ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による HIV-1 RNA の増幅
逆転写反応後に生じた HIV-1 RNA-cDNA ハイブリッドを熱変性処理することによってそれぞれを一本鎖にする。その後、HIV-1 pol 領域の一部の配列に特異的に結合する HIV PCR フォワードプライマーと HIV PCR リバースプライマーをそれぞれの標的とする配列に結合させ、耐熱性 rTth DNA ポリメラーゼを用いて PCR 反応を行うことにより二本鎖 HIV-1 DNA を増幅する。
- 4) 標識プローブと増幅 DNA とのハイブリダイゼーション
熱変性処理により生じた一本鎖 HIV-1 DNA のうち、HIV-1 cDNA に対して特異的に結合する蛍光標識した HIV PCR プローブが HIV クエンチャープローブから解離し、ハイブリダイズする。

- 5) 蛍光強度の測定
標的に結合した HIV PCR プローブからの蛍光強度を測定波長 505 ～ 535 nm で測定する。
（同時に増幅された内部コントロールの蛍光強度は測定波長 546 ～ 569 nm で測定する。）
- 6) HIV-1 RNA 濃度の算出
検体の CT 値※（Threshold Cycle 値）を 2 濃度のキャリブレーションで作成した検量線にあてはめ、HIV-1 RNA 量（Copies/mL、Log Copies/mL、IU/mL 又は Log IU/mL）を算出する（1 IU = 0.58 Copies、1 Copy = 1.74 IU として換算する）。
※ CT 値：検体の蛍光強度が閾値に達したときのサイクル数

【操作上の注意】

（1）測定試料の性質、採取法

検体の採取と保存

- ・検体には、ヒト血漿（ACD-A、EDTA 入り）を使用すること。採血管の使用に関しては、採血管の製造元の指示に従うこと。
 - ・採血後の新鮮検体（全血）は、遠心分離を行う前に 15 ～ 30℃で 6 時間まで、または 2 ～ 8℃で 24 時間まで保存することができる。
 - ・遠心分離することで、血漿と血球とを分離する。
 - ※ 遠心分離後に、血漿を別の容器に移すこともできる。血漿検体は、15 ～ 30℃で 24 時間まで、2 ～ 8℃で 5 日間まで、-20 ± 10℃で 60 日間まで保存可能である。
 - ・長期保存が必要な場合は、血漿検体は -70℃以下で保存すること^{2,3}。凍結融解の繰り返しは避けること。また、凍結した検体の融解は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で行うこと。一度融解した検体をすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃で 6 時間まで保存することができる。
- 注：分離なしの採血管で採血した血漿検体は、同じ採血管のまま凍結保存しないこと。

検体の輸送

- ・検体は、推奨される保存温度および保存時間（検体の採取と保存 参照）に従い輸送すること。検体を国内または海外に輸送する場合は、臨床検体、診断目的検体、生物学的検体に対する適切な法規等に対応した包装、表示を行うこと。

（2）妨害物質・妨害薬剤

潜在的妨害物質

- ・内因性物質および HIV-1 感染者に投与される一般的な薬剤が本キットに与える影響を検討した。検討には HIV-1 陰性サンプルと HIV-1 RNA 10,000 Copies/mL を含有するサンプルを使用した。
- ・次の濃度の物質を添加したすべての HIV-1 陽性サンプルおよび HIV-1 陰性サンプルにおいて、本キットの測定値への影響は認められなかった。

物質	濃度
ヘモグロビン	500 mg/dL
トリグリセライド	3,000 mg/dL
ビリルビン	20 mg/dL
タンパク質	9 g/dL

- ・血漿または血清のピーク値を超える濃度の薬剤を 5 群に分けて検討した。表 1 の薬剤群を添加したすべての HIV-1 陽性サンプルおよび HIV-1 陰性サンプルにおいて、本キットの測定値に影響は認められなかった※。

表 1 薬剤群

薬剤群 No.	薬剤
1	ジドブジン、サキナビル、リトナビル、クラリスロマイシン、インターフェロン 2a、インターフェロン 2b
2	硫酸アバカビル、アンブレナビル、ペグインターフェロン 2a、ペグインターフェロン 2b、リバビリン
3	フマル酸テノホビルジプロキシル、ラミブジン、硫酸インジナビル、ガンシクロビル、バルガンシクロビル塩酸塩、アシクロビル
4	サニルブジン、エファビレンツ、ロピナビル、Enfuvirtide、シプロフロキサシン
5	ザルシタビン、ネビラピン、ネルフィナビル、アジスロマイシン、パラシクロビル

※ ここに示したデータは代表的な例であり、各施設の結果とは異なる場合がある。

交差反応性

- 表 2 に示したウイルスおよび微生物との交差反応性について検討した。各微生物またはウイルスの精製核酸、またはウイルス溶解液を、HIV-1 RNA 陰性サンプルと HIV-1 RNA 10,000 Copies/mL を含有するサンプルに添加した。

表 2 微生物、ウイルス	
微生物 / ウイルス	微生物 / ウイルス
ヒト免疫不全ウイルス 2 型	ワクシニアウイルス
ヒト T リンパ球指向性ウイルス 1 型	ヒトポリオマウイルス BK
C 型肝炎ウイルス	ヒト乳頭腫ウイルス 16 型
B 型肝炎ウイルス	ヒト乳頭腫ウイルス 18 型
Epstein-Barr ウイルス	淋菌
単純ヘルペスウイルス 1 型	トラコーマクラミジア
単純ヘルペスウイルス 2 型	カンジダアルビカンス
サイトメガロウイルス	黄色ブドウ球菌
ヒトヘルペスウイルス 6B	表皮ブドウ球菌
ヒトヘルペスウイルス 8	<i>Mycobacterium gordonae</i>
水痘・帯状疱疹ウイルス	スメグマ菌

試験したすべての HIV-1 陽性サンプルおよび HIV-1 陰性サンプルにおいて、本キットの測定値への影響は認められなかった。

(3) その他

本キットは、Abbott *m2000rt* アナライザーの試薬である。

【用法・用量（操作方法）】

(1) 試薬の調製方法

- 1) 所定量の内部コントロールと所定量のライシス溶液を混合する。
- 2) 所定量の酵素試薬に所定量のオリゴヌクレオチド試薬及び活性化試薬を加える。この混合溶液をマスターミックスとする。

具体的な試薬の調製方法は、使用する核酸抽出装置または手法で異なる。(3) 測定 (操作) 法を参照のこと。

(2) 必要な器具・器材・試料等

- AccuGene m-HIV-1・キャリブレータ（製品番号：2G31-78）
 - キャリブレータ A（1.8 mL × 12）
（主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HBV DNA 陰性、HCV 抗体陰性）、HIV-1 配列をもつ非感染性 Armored RNA 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
 - キャリブレータ B（1.8 mL × 12）
（主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HBV DNA 陰性、HCV 抗体陰性）、HIV-1 配列をもつ非感染性 Armored RNA 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）

キャリブレータの濃度については、付属のキットカードを参照のこと。
AccuGene m-HIV-1・キャリブレータは本キットに対してのみ使用すること。

- AccuGene m-HIV-1・コントロール（製品番号：2G31-88）
 - 陰性コントロール（1.8 mL × 8）
（主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HBV DNA 陰性、HCV 抗体陰性）保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
 - 陽性コントロール L（1.8 mL × 8）
（主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HBV DNA 陰性、HCV 抗体陰性）、HIV-1 配列をもつ非感染性 Armored RNA 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
 - 陽性コントロール H（1.8 mL × 8）
（主な含有物：ヒト血漿（HBs 抗原陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HBV DNA 陰性、HCV 抗体陰性）、HIV-1 配列をもつ非感染性 Armored RNA 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）

コントロールの濃度については、付属のキットカードを参照のこと。
AccuGene m-HIV-1・コントロールは本キットに対してのみ使用すること。

- 手法については、アキュジーン RNA 測定のためのマニュアルサンプル調製手順書を参照のこと。

検体調製 (Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置)

- Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置（増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、ソフトウェアバージョン 6.0 以上）
- RNA・核酸抽出試薬（Abbott *mSample Preparation System*）
（製品番号：4J70-24）：24 回用 × 4

- ライシス溶液（*mLysis*）
（主な含有物：TRIS 緩衝液、グアニジンチオシアン酸塩、界面活性剤）
- 洗浄液 1（*mWash 1*）
（主な含有物：酢酸緩衝液、グアニジンチオシアン酸塩、界面活性剤）
- 洗浄液 2（*mWash 2*）
（主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水）
- 溶出液（*mElution Buffer*）
（主な含有物：リン酸緩衝液、保存剤）
- 磁性粒子溶液（*mMicroparticles*）
（主な含有物：磁性粒子、TRIS 緩衝液、グアニジンチオシアン酸塩、界面活性剤）
- 反応チューブ 5 mL
- 分注量 20 ～ 1,000 μ L の較正済み精密ピペット
- 分注量 20 ～ 1,000 μ L の精密ピペット用フィルター付きピペットチップ

- 11.5 ～ 16 mm のサンプルチューブ
- 200 μ L と 1,000 μ L の使い捨てピペットチップ
- ボルテックスミキサー
- オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
- 接着カバー アプリケータ
- スプラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）
- マスターミックスチューブ
- m2000sp* 200 mL 試薬容器
- 96 ウェル ディープウェルプレート（製品番号：4J71-30）
- m2000 HIV-1* アプリケーションディスク（製品番号：1L68、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、製品番号：1L68-11 以降）※ 1
- 96 ウェル オプティカル リアクションプレート（製品番号：4J71-70）
- 2,000 g の出力可能な遠心機
- アキュジーン試薬ボトル交換用キャップ（製品番号：3N20-01、オプション）

※※ 検体調製（手法）

- 96 ウェルプレート冷却ブロック、StrataCooler 96 または Eppendorf PCR-Cooler を推奨
- 96 ウェル オプティカル リアクションプレート（製品番号：4J71-70）
- 分注量 20 ～ 1,000 μ L の較正済み精密ピペット
- 分注量 20 ～ 1,000 μ L の精密ピペット用フィルター付きピペットチップ
- 使い捨ての RNase/DNase フリーチューブまたは容器
- ボルテックスミキサー
- オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
- 接着カバー アプリケータ
- スプラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）

増幅 (Abbott *m2000rt* アナライザー)

- m2000 HIV-1* アプリケーションディスク（製品番号：1L68、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、製品番号：1L68-11 以降）※ 1
- m2000rt* オプティカル キャリブレーションキット（製品番号：4J71-93）

その他の器具

- 規格を満たしている安全キャビネット
- チャック付きビニール袋
- RNase フリー水※ 2
- 1.7 mL 分子生物学グレードマイクロチューブ※ 2
- 綿棒※ 2

- ※ 1 下記のアプリケーションディスクも使用することができる。
 - m2000 HIV-1/HCV maxCycle* アプリケーションディスク（製品番号：3N23）
[適用検体量：0.2 mL、0.5 mL、0.6 mL]

詳細は、*m2000 HIV-1/HCV maxCycle* アプリケーションディスクの製品情報を参照のこと。

- ※ 2 注：施設の汚染のモニタリングに使用する。(3) 測定 (操作) 法 7. 汚染のモニタリングを参照のこと。

(3) 測定 (操作) 法

核酸抽出法又は核酸抽出装置として、「Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置」又は弊社の指定した同等品※ 1 を用いること。使用する核酸抽出法又は核酸抽出装置に応じて試薬を別途用意すること。（詳しくは核酸抽出法又は核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。）

- 1) 血漿（1.0 mL、0.6 mL、0.5 mL 又は 0.2 mL）から、使用する核酸抽出法（又は装置）にて所定の操作（内部コントロール 17 μ L を含む混合液を加える）を行い、核酸抽出液を得る。
- 2) 96 ウェル オプティカル リアクションプレートに 1 ウェル当たりマスターミックス 50 μ L 及び核酸抽出液 50 μ L を分注する。
- 3) 専用の遺伝子解析装置「Abbott *m2000rt* アナライザー」に 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをセットし、機器の取扱説明書に従い、RT-PCR 反応を繰り返し、測定波長 505 ～ 535 nm における蛍光強度を測定する。
- 4) HIV-1 RNA の C_T 値（Threshold Cycle 値）を、2 濃度のキャリブレータで作成した検量線にあてはめ、HIV-1 RNA 量（Copies/mL、Log Copies/mL、IU/mL 又は Log IU/mL）を算出する。

(参考) 操作法

1. 増幅・検出用試薬パックの再使用

- 増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は概要図を示す。
- 増幅・検出用試薬パックは必要に応じて再使用することができる。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、キャップを開けて遮光し、-10℃以下で保存した場合、次回使用するまで最大 7 日間保存することができる。内部コントロールについても、バイアルのキャップを開けて -10℃以下で保存した場合、次回使用するまで最大 14 日間保存することができる。
- 増幅・検出用試薬パックの再使用は、サンプル調製を Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置で行う場合にのみ可能である。

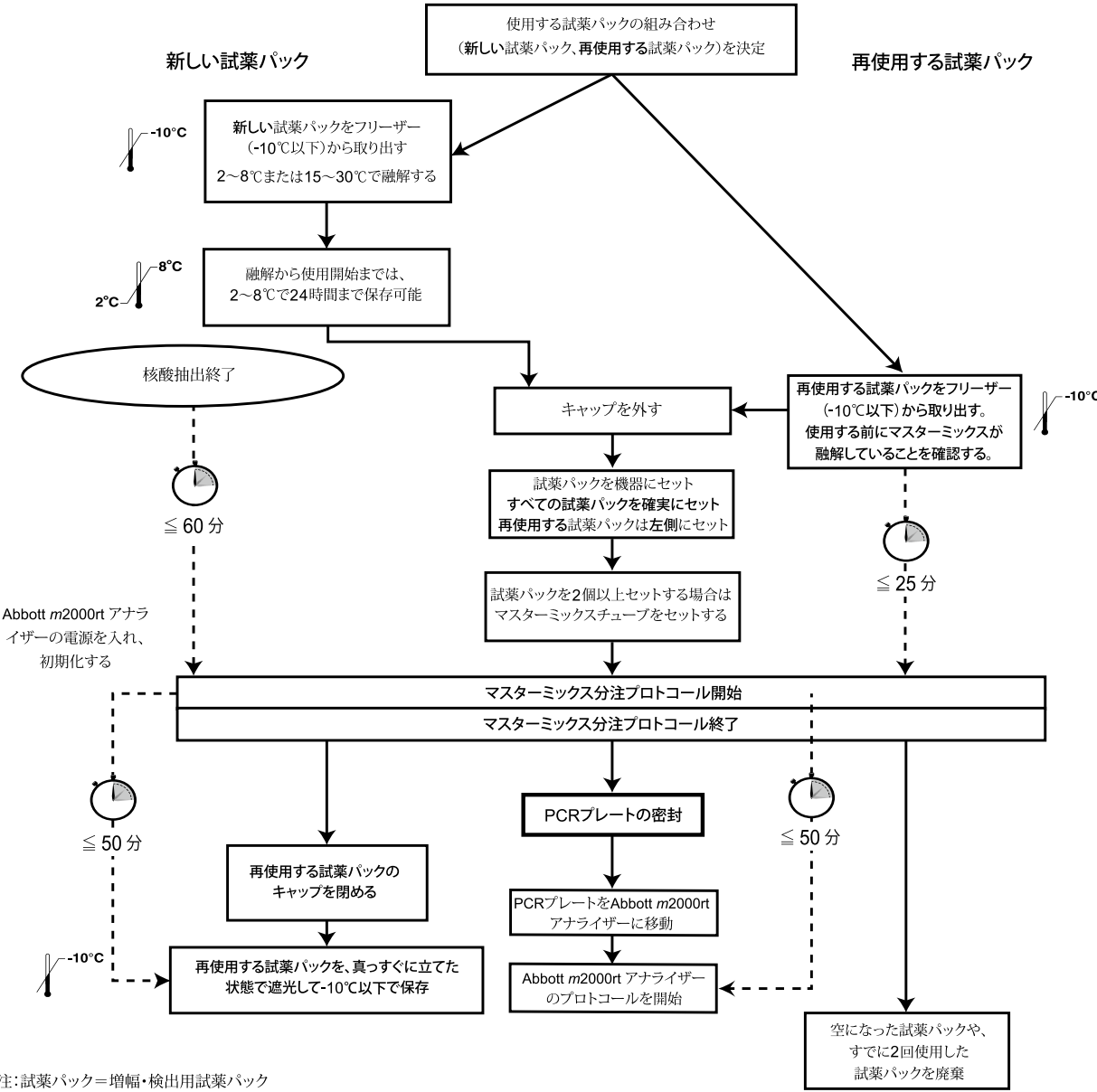
本書で使用する用語の定義

増幅・検出用試薬パックと内部コントロールはそれぞれ 2 回まで使用することができる。本書では、未使用の増幅・検出用試薬パックと内部コントロールを、新しい増幅・検出用試薬パック、新しい内部コントロールと表現する（すなわち使用 1 回目）。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、再使用する増幅・検出用試薬パックと表現する。一度使用した内部コントロールのバイアルは、再使用する内部コントロールバイアルと表現する。

増幅・検出用試薬パックを再使用する場合の概要

増幅・検出用試薬パックと内部コントロールはそれぞれ2回まで使用することができる。マスターミックスを調製していない未使用の増幅・検出用試薬パックは、**新しい増幅・検出用試薬パック**と表現する。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、**再使用する増幅・検出用試薬パック**と表現する。その他の詳細は、本書の指示に従うこと。

保存条件（増幅・検出用試薬パックおよび内部コントロールバイアル）		
対象	保存温度	使用期限
新しい増幅・検出用試薬パック	-10℃以下	試薬キットの使用期限まで
新しい内部コントロール	-10℃以下	試薬キットの使用期限まで
再使用する増幅・検出用試薬パック	-10℃以下（遮光下）	初回使用日から7日間まで
再使用する内部コントロール	-10℃以下	初回使用日から14日間まで



注: 試薬パック=増幅・検出用試薬パック

- 増幅・検出用試薬パックの再使用は、バーコードの上に6桁のシリアル番号が印字されている増幅・検出用試薬パックでのみ可能である。
- 再使用する増幅・検出用試薬パックは、1回目に使用した時と同じ機器でのみ再使用可能である。2回目に違う機器を使用するとエラーになり、結果的にサンプルの調製が遅れる可能性がある。
- 再使用する増幅・検出用試薬パックと新しい増幅・検出用試薬パックは、同時に機器にセットすることができる。ただし、増幅・検出用試薬パックのロット番号が同じでなければならない。

2. 測定手順

- 初めて測定を行う場合、m2000 HIV-1 アプリケーションディスクからアプリケーションファイルを使用する機器にインストールすること。増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、製品番号: 1L68-11以降のm2000 HIV-1 アプリケーションディスクから再使用機能付きのアプリケーションファイルをインストールすること。インストール方法の詳細については、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
- 本書には、2つのアッセイプロトコルが記載されている。
 - 用手法による核酸抽出を行う場合は、**プロトコル I**に従うこと。
 - Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を用いて核酸抽出を行う場合は、**プロトコル II**に従うこと。

本キットの測定では、検体量を4種類（0.2 mL、0.5 mL、0.6 mL、1.0 mL）から選択できる。（プロトコル II のステップ6および【測定結果の判定法】を参照のこと。）

- 核酸抽出を始める前に、本書の指示をよく読むこと。
- 増幅・検出用試薬パックと内部コントロールはそれぞれ2回まで使用することができる。キャリブレーション、陰性コントロール、陽性コントロール L および H のバイアルは使い捨てのため、使用後は廃棄すること。
- 検体、内部コントロールまたは増幅・検出用試薬パックをピペティングする場合、使い捨てのフィルター付きピペットチップまたはピペットを使用すること。ピペティング中のピペットの汚染を防止するため、ピペット本体がサンプルチューブや容器の内側に接触しないように注意すること。また、十分な長さのフィルター付きピペットチップを使用すること。
- 増幅産物のモニタリングについての詳細は、7. 汚染のモニタリングを参照のこと。
- 核酸汚染の危険性を低減するため、検体がこぼれた場合は、1.0%次亜塩素酸ナトリウムやその他の適切な消毒液で拭き取るなどして、清掃および除染すること。
- キャリブレーションとコントロールは、測定する検体と同時に準備すること。本キットの測定には、キャリブレーションとコントロールを必ず使用すること。詳細は、4. キャリブレーションおよび6. 陰性コントロールと陽性コントロールを参照のこと。
- 重要: 再使用する増幅・検出用試薬パックは、マスターミックス分注のプロトコル開始後50分以内に-10℃以下に保存すること。

- (1) プロトコールⅠ
(手法と Abbott *m2000rt* アナライザーを使用する場合)
- 操作方法についての詳細は、Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
 - Abbott *m2000rt* アナライザーの操作は、トレーニングを受けた者が行うこと。オペレータは、アプリケーションについてよく理解し、施設の基準に従うこと。
 - RNA・核酸抽出試薬を用いた手法による核酸抽出の後、Abbott *m2000rt* アナライザーで測定を行う場合は、施設内に3箇所の専用区域を設けること。
- コントロールと内部コントロールを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。キャリブレーションを行う場合は、キャリブプレータを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解すること。詳細は、4. キャリブレーションを参照のこと。
 - 使用前のコントロール、内部コントロールおよびキャリブプレータの融解後は、2 ～ 8℃で 24 時間まで保存することができる。
 - 各キャリブプレータとコントロールは使用前に、ボルテックスミキサーで 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌すること。攪拌後、各バイアルを作業台の上で軽く叩き、内容液をバイアルの底部に移動させる。内容物が底にあることを確認する。
 - 増幅・検出用試薬パックを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。マスターミックスを調製するまでは 2 ～ 8℃で保存すること。
 - 一度融解した増幅・検出用試薬パックをすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃で 24 時間まで保存することができる。

- 検体調製区域**
- 手法についての詳細は、アキュジーン RNA 測定のためのマニュアルサンプル調製手順書を参照のこと。
- ** 3. RNA・核酸抽出試薬のすべてのボトルを穏やかに転倒混和し、溶液が均一になっていることを確認する。各試薬ボトルの開封時に結晶が見られる場合は、結晶がなくなるまで室温で溶解させること。結晶が溶解されるまで試薬を使用しないこと。
- ** 4. 各内部コントロールは使用前に、ボルテックスミキサーで 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌する。
- ** 5. 校正済みの内部コントロール専用ピペットを使用し、内部コントロール 500 μ L をライシス溶液の各ボトルに添加する。泡の生成を抑えるため、容器を穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和すること。
- ** 6. 各測定ごとに陰性コントロール、陽性コントロール L および H を各 1 本測定する。
 - 本キットの手法による測定では、検体量を 3 種類 (0.2 mL、0.5 mL、1.0 mL) から選択できる。
 - 凍結した検体の融解は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で行うこと。一度融解した検体をすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃で 6 時間まで保存することができる。**注：保管されていた検体はすべて、まずボルテックスミキサーを使用して攪拌した後に、次に示した条件で遠心分離すること。攪拌、遠心分離の順に操作を行わなかった場合、正しい測定結果が得られない可能性がある。**
 - 各検体をボルテックスミキサーを使用して 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌すること。
 - 反応チューブに添加する前に、検体を 2,000 g で 5 分間遠心分離すること。必要に応じて、検体を清潔なチューブまたはバイアルに分取すること。チューブを開封する際は、キャップの内側に接触しないこと。
 - 96 ウェル オプティカル リアクションプレートへのマスターミックスと核酸抽出液の分注 (ステップ 13) は、核酸抽出終了後 1 時間以内に開始すること。

- 増幅区域**
- Abbott *m2000rt* アナライザーの電源を入れ、初期化を行う。**注：初期化には 15 分を要する。**
 - テストオーダーを作成する。詳細は、Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。プロトコール画面で、サンプル量に合った適切なアプリケーションファイルを選択する。
 - 正確なキャリブレーションとコントロール値の評価を行うため、キャリブプレータとコントロールのロット固有の値をテストオーダーに入力する。(検量線がすでに Abbott *m2000rt* アナライザーに保存されている場合は、キャリブプレータの値の入力は不要である。) ロット固有の値は、キャリブプレータおよびコントロールのキットカードに記載されている。

- 試薬調製区域**
- すべての試薬の調製は、試薬調製専用区域で行うこと。試薬調製を行う前に、【使用上又は取扱い上の注意】(2) 使用上の注意を参照のこと。

- 注：増幅・検出用試薬パックを取り扱う前に手袋を交換すること。**
- マスターミックスを調製する。
 - 増幅・検出用試薬パック 1 個で、最高 24 サンプルの処理が可能である。
 - 増幅・検出用試薬パックの開封前に、各バイアルが垂直になるように持って作業台の上で軽く叩き、内容液をバイアルの底部に移動させる。内容物が底にあることを確認する。
 - 試薬専用ピペットを使用し、活性化試薬 (試薬 1) 271 μ L とオリゴヌクレオチド試薬 (試薬 2) 949 μ L を酵素試薬 (試薬 3) のボトルに加え、マスターミックスを調製する。
 - 25 ～ 48 サンプルの処理を行う場合は、増幅・検出用試薬パックを 2 個用意し、マスターミックスを 2 個分調製する。
 - Abbott *m2000rt* アナライザーのプロトコール (ステップ 16) は、活性化試薬を 1 個目の酵素試薬ボトルに分注 (ステップ 9) してから、50 分以内に開始すること。
 - 酵素試薬ボトルからマスターミックスを使い捨ての RNase/DNase フリーチューブに分注し、ボルテックスミキサーで混和する。
 - 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを付属の取扱説明書に従って冷却された 96 ウェルプレート冷却ブロック (推奨 StrataCooler 96) にセットする。専用ピペットを使用し、マスターミックス 50 μ L を 96 ウェル オプティカル リアクションプレートへ分注する。校正された連続分注式ピペットを使用することもできる。各ウェルに 50 μ L が分注されていることを目視で確認する。

- 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを 96 ウェルプレート冷却ブロックごと検体調製区域に移動する。

- 検体調製区域**
- 検体調製区域内で、核酸抽出液 50 μ L を 96 ウェルプレート冷却ブロック上の 96 ウェル オプティカル リアクションプレートに分注する。各核酸抽出液の分注には、**別々のピペットチップを使用すること**。各サンプルの分注時に、3 ～ 5 回上下にピペティングし反応液を混合する。各ウェルに 100 μ L が分注されていることを目視で確認する。
 - Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをオプティカル 接着カバー (Abbott Optical Adhesive Cover) で密封する。
 - 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを 96 ウェルプレート冷却ブロックから取り出し、Abbott スブラッシュフリー サポートベースにセットする。Abbott スブラッシュフリー サポートベースにセットされた 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを 5,000 g で 5 分間遠心分離する。増幅区域に移動する。

注：96 ウェルプレート冷却ブロックは、増幅区域に移動しないこと。

- 増幅区域**
- Abbott *m2000rt* アナライザーに 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをセットする。プロトコール画面で、サンプル量に合った適切なアプリケーションファイルを選択する。Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従って測定を開始する。

- 測定後の手順**
- 96 ウェルプレート冷却ブロックを取扱説明書に従って清掃し、試薬調製区域に戻す。
 - Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをプレートを取り扱う際に使用した手袋と共にチャック付きビニール袋に入れ、廃棄する。
 - Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、スブラッシュフリー サポートベースを次回使用前に清掃すること。
 - 核酸抽出を手法で行う場合の清掃については、アキュジーン RNA 測定のためのマニュアルサンプル調製手順書を参照のこと。

- (2) プロトコールⅡ
(Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置と Abbott *m2000rt* アナライザーを使用する場合)

- 操作方法についての詳細は、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
 - 使用する機器の操作は、トレーニングを受けた者が行うこと。オペレータは、アプリケーションについてよく理解し、施設の基準に従うこと。
- コントロールと内部コントロールを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。キャリブレーションを行う場合は、キャリブプレータを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解すること。詳細は、4. キャリブレーションを参照のこと。
 - 使用前のコントロール、新しい内部コントロールおよびキャリブプレータの融解後は、2 ～ 8℃で 24 時間まで保存することができる。
 - 各キャリブプレータとコントロールは使用前に、ボルテックスミキサーで 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌すること。攪拌後、各バイアルを作業台の上で軽く叩き、内容液をバイアルの底部に移動させる。内容物が底にあることを確認する。
 - 機器にセットする新しい増幅・検出用試薬パックや再使用する増幅・検出用試薬パックを選ぶ。増幅・検出用試薬パックの残量管理方法については、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。増幅・検出用試薬パックはロット番号が同じでなければならない。新しい増幅・検出用試薬パックを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。マスターミックスを調製するまでは 2 ～ 8℃で保存すること。一度融解した新しい増幅・検出用試薬パックをすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃で 24 時間まで保存することができる。

注：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2 回目のマスターミックス分注直前で -10℃以下で保存すること。2 ～ 8℃で保存することはできない。-10℃以下の保存場所から取り出した後は、室温での積算時間が 25 分を超えないようにすること。この積算時間には、取り出してから使用するまでの時間も含まれる。増幅・検出用試薬パックを室温に出した後、25 分を超えた場合は廃棄すること。サンプル数に対して、必要な核酸抽出試薬と内部コントロールの数を次の表に示す。

核酸抽出試薬、内部コントロールの必要数				
対象	1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 サンプル	49 ～ 72 サンプル	73 ～ 96 サンプル
磁性粒子溶液	1 本	2 本	2 本	2 本
ライシス溶液	1 本	2 本	3 本	4 本
洗浄液 1	1 本	2 本	3 本	4 本
洗浄液 2	1 本	2 本	3 本	4 本
溶出液	1 本	2 本	3 本	4 本
内部コントロール ^a	新しいバイアル 1 本または再使用するバイアル 1 本	新しいバイアル 1 本または再使用するバイアル 2 本	新しいバイアル 2 本または再使用するバイアル 3 本	新しいバイアル 2 本または再使用するバイアル 4 本

- ^a 内部コントロールは新しいバイアルと再使用するバイアルを一緒に使用することもできる。
- RNA・核酸抽出試薬のすべてのボトルを穏やかに転倒混和し、溶液が均一になっていることを確認する。各試薬ボトルの開封時に結晶が見られる場合は、結晶がなくなるまで室温で溶解させること。結晶が溶解されるまで試薬を使用しないこと。
 - 各内部コントロールは使用前に、ボルテックスミキサーで 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌する。

5. 校正済みの**内部コントロール専用ピペット**を使用し、内部コントロール 500 μ L をライシス溶液の各ボトルに添加する。泡の生成を抑えるため、容器を穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和すること。残った内部コントロールはバイアルのキャップを閉めて -10℃以下で保存し、再使用することができる。
6. 検体量が 1.0 mL の場合を除き、1 回の測定につき、最高 96 サンプルの測定が可能である。各測定ごとに陰性コントロール、陽性コントロール L および H を各 1 本測定するため、1 回の測定につき、最高 93 検体の測定が可能である。検体量が 1.0 mL の場合は、1 回の測定につき最高 48 サンプル、45 検体の測定が可能である。

- ・最少サンプル量と Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のラック要件を次に示す。

ラック	チューブの直径 ^a	アッセイ最少サンプル量 アッセイアプリケーション			
		0.2 mL	0.5 mL	0.6 mL	1.0 mL
13 mm	11.5 ～ 14.0 mm	0.4 ～ 0.8 mL	0.7 ～ 1.2 mL	0.8 ～ 1.3 mL	1.2 ～ 1.7 mL
16 mm	14.5 ～ 16.0 mm	0.4 ～ 1.0 mL	0.8 ～ 1.4 mL	0.9 ～ 1.5 mL	1.3 ～ 1.9 mL

- a サンプルチューブの外径。最少サンプル量は、チューブの形状やサイズにより異なる。推奨サンプル量については、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。
- ・凍結した検体の融解は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で行うこと。一度融解した検体をすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃で 6 時間まで保存することができる。
 - 注：保管されていた検体はすべて、**まずボルテックスミキサーを使用して攪拌した後に、次項に示した条件で遠心分離すること。攪拌、遠心分離の順に操作を行わなかった場合、正しい測定結果が得られない可能性がある。**
 - ・各検体をボルテックスミキサーを使用して 1 回 2 ～ 3 秒間 3 回攪拌すること。
 - ・ワークテーブルにセットする前に、検体を 2,000 g で 5 分間遠心分離すること。必要に応じて、検体を清潔なチューブまたはバイアルに分取すること。チューブのサイズについては、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。チューブを開封する際は、キャップの内側に接触しないこと。
7. 患者検体、陽性コントロール L および H、陰性コントロール、必要に応じてキャリブレーション用の m2000sp サンプルラックにセットする。
 8. m2000sp 用の反応チューブ 5 mL をサブシステムキャリアにセットする。
 9. Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、RNA・核酸抽出試薬と 96 ウェル ディープウェルプレートワークテーブルにセットする。
 10. プロトコル画面で、サンプル量に合った適切なアプリケーションファイルを選択する。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って核酸抽出のプロトコルを開始する。
- ・キャリブレーションとコントロールのロット固有の値を < Sample Extraction : Assay Details > 画面のキャリブレーションとコントロールのフィールドに入力する。（検量線がすでに Abbott m2000rt アナライザーに保存されている場合は、キャリブレーションの値の入力は不要である。）ロット固有の値は、キャリブレーションおよびコントロールのキットカードに記載されている。
 - ・マスターミックス分注のプロトコル（ステップ 12）は、**核酸抽出終了後 1 時間以内に開始すること。**

注：増幅・検出用試薬パックを取り扱う前に、手袋を交換すること。

11. 核酸抽出終了後、増幅・検出用試薬パックとマスターミックスチューブ（必要に応じて）をワークテーブルにセットする。サンプルの数に対して、必要な増幅・検出用試薬パックの数を次の表に示す。
- 増幅・検出用試薬パックを 1 個しか使用しない場合は、マスターミックスチューブは必要ない。

増幅・検出用試薬パックの必要数 ^a			
1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 サンプル	49 ～ 72 サンプル	73 ～ 96 サンプル
新しい増幅・検出用試薬パックの場合 1 個、再使用する増幅・検出用試薬パックの場合最大 4 個	新しい増幅・検出用試薬パックの場合 2 個、再使用する増幅・検出用試薬パックの場合最大 4 個	新しい増幅・検出用試薬パックの場合 3 個、再使用する増幅・検出用試薬パックの場合最大 4 個	新しい増幅・検出用試薬パックまたは再使用する増幅・検出用試薬パックで合計 4 個

- a 増幅・検出用試薬パックの残量を管理し、再使用する増幅・検出用試薬パックで測定できるサンプル数を把握する方法は、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。
- ・再使用する増幅・検出用試薬パックは、1 回目に使用した時と同じ Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置でのみ使用可能である。2 回目に違う機器を使用するとエラーになるため、結果としてサンプルの調製が遅れる可能性がある。
 - ・再使用する増幅・検出用試薬パックと新しい増幅・検出用試薬パックは同時に機器にセットすることができる。
- 重要：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2 回目の使用直前まで -10℃以下で保存すること。増幅・検出用試薬パックを Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のワークテーブルにセットする際は、マスターミックスが融解していることを確認すること。増幅・検出用試薬パックを -10℃以下の保存場所から取り出した後は、室温での積算時間が 25 分を超えないように注意し、25 分を超えた場合は廃棄すること。この積算時間には、取り出してから使用するまでの時間も含まれる。**
- ・新しい増幅・検出用試薬パックを開封する前に、試薬パックを垂直に持って作業台の上で軽く叩き、溶液をバイアルの底に落とす。溶液がバイアルの底にあることを確認すること。
 - ・再使用する増幅・検出用試薬パックは、作業台の上で叩かないこと。叩くことでマスターミックスがキャップに飛んで付着し、液量が減る恐れがある。

- ・キャップを外す。次回使用するために**新しい増幅・検出用試薬パック**を保存したい場合は、各試薬バイアルのキャップを閉める必要がある。試薬バイアルに付いていたキャップを使う場合は、外したキャップを保管しておく。別の新しいキャップを使う場合は、外したキャップを廃棄してよい。
- ・増幅・検出用試薬パックを Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のワークテーブルにセットする際は、**再使用する増幅・検出用試薬パックを新しい増幅・検出用試薬パックの左側にセットすること。**
- ・増幅・検出用試薬パックが機器に確実にセットされていることを確認する。

12. 抽出を終えた核酸抽出液が入っている 96 ウェル ディープウェルプレートを選択する。マスターミックスの分注プロトコルを開始する。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。

- 注：96 ウェル オプティカル リアクションプレートの空ウェルを、手作業により溶液で満たす操作は必要ないので行わないこと。
- ・核酸抽出が終了した後、サンプル数が 48 を超えている場合には、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置によって 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの未使用ウェルに自動的に溶液が分注される。サンプル数が 48 以下の場合は、この自動分注は行われない。
 - ・機器画面に指示が表示された場合は、溶出液の試薬容器をセット（ポジション 6）した試薬容器キャリア 2 を残しておくこと。もし溶出液の試薬容器がセットされていない場合は、新しい試薬容器に溶出液用のバーコードラベルを貼り、試薬容器キャリア 2 のポジション 6 にセットすること。この試薬容器は空の状態でも良い。機器は自動的に試薬容器に溶液を注入し、空ウェルへの分注に使用する。空ウェルへの溶液分注が終了すると、マスターミックスの分注が開始される。

- 注：自動プレート分注機能の使用方法是 Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。
- ・Abbott m2000rt アナライザーのプロトコル（ステップ 16）は、マスターミックス分注のプロトコル（ステップ 12）を開始してから、50 分以内に開始すること。

- 注：ステップ 12 より後に何らかの理由で Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置での処理を中止し、ステップ 12 のマスターミックスの分注を再度行う場合は、**新しい 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを使用すること。**

13. 増幅区域内に設置されている Abbott m2000rt アナライザーの電源を入れ、初期化を行う。

注：初期化には 15 分を要する。

注：検体調製区域に戻る前に、手袋を外すこと。

14. Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置でのサンプルとマスターミックスの分注完了後、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをオプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）で密封する。
15. 密封した 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを Abbott m2000rt アナライザーに移動させるため、スブラッシュフリー サポートベースにセットする。
16. 96 ウェル オプティカル リアクションプレートを Abbott m2000rt アナライザーにセットする。プロトコル画面から、測定するサンプル量に合ったアプリケーションファイルを選択する。Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従って測定を開始する。

- 注：Abbott m2000rt アナライザーのテストオーダーを手動で作成する場合は、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置に表示される < PCR Plate Results > 画面の < Wells for Selected Plate > に従い、該当する 96 ウェル オプティカル リアクションプレートトレイの位置に個々のサンプル ID を入力すること。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。

17. 調製済みのマスターミックスが残っている増幅・検出用試薬パックを次回に再使用する場合は、保管しておいたキャップまたは新しいキャップ（製品番号：3N20-01）で 3 本の試薬バイアルの蓋を開め、直ちに真つすぐに**立てた状態で**遮光して -10℃以下で保存すること。空になった増幅・検出用試薬パックや、2 回使用した増幅・検出用試薬パックはすべて廃棄する。

重要：増幅・検出用試薬パックを次回も使用する場合は、マスターミックス分注プロトコル開始後 50 分以内に -10℃以下で保存すること。

測定後の手順

1. 96 ウェル ディープウェルプレートをワークテーブルから取り外し、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って廃棄する。
2. Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従い、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをプレートを取り扱う際に使用した手袋と共にチャック付きビニール袋に入れ、廃棄する。
3. Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従い、次回使用前にスブラッシュフリー サポートベースを清掃すること。

3. 試薬の劣化判定

陽性または陰性コントロールの測定値が管理範囲を外れている場合、試薬が劣化している可能性がある。得られた測定結果は無効とし、再測定を行うこと。必要に応じて再キャリブレーションを行うこと。

4. キャリブレーション

m2000rt オプティカル キャリブレーション

- ・m2000rt オプティカル キャリブレーションの方法についての詳細は、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
- ・正確な蛍光色素の測定と識別を行うために、本キットの測定には Abbott m2000rt アナライザーのオプティカル キャリブレーションを行う必要がある。

- ・本測定では、次の *m2000rt* オプティカル キャリブレーションプレートを使用して、Abbott *m2000rt* アナライザーを較正する。
- ・FAM プレート（カルボキシフルオレセイン）
- ・ROX プレート（カルボキシ-X-ローダミン）
- ・VIC プレート（情報非公開の色素）

アッセイキャリブレーション

- ・アッセイキャリブレーションの方法についての詳細は、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
- ・検量線は、検体とコントロールの HIV-1 RNA 濃度を定量化するために必要である。検量線（蛍光強度が閾値に達した時の Threshold cycle (C_T) 値に対する HIV-1 濃度）作成では、キャリブプレート A、B を 3 重測定する。検量線の傾きと切片は、機器上で算出された後、保存される。サンプル中の HIV-1 RNA 濃度は、保存されている検量線を基に算出される。測定結果は、自動的に Abbott *m2000rt* アナライザーのシステムコントロールセンター (SCC) に表示される。
- ・核酸抽出、マスターミックス分注、増幅と検出のプロトコルの手順については、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
- ・一度キャリブレーションが保存されると、6 ヶ月間使用することができる。この間、次の場合を除いて、以後処理する検体はキャリブレーションを行わなくても測定することができる。
 - ・新しいロット番号の本キットを使用する場合
 - ・新しいロット番号の RNA・核酸抽出試薬を使用する場合
 - ・異なるサンプル量のアプリケーションファイル（プロトコル）を使用する場合
 - ・新しいアプリケーションファイル（プロトコル）をインストールした場合
 - ・使用する機器の取扱説明書に従い、本キットで使用している色素（FAM、VIC、ROX）のピュアダイキャリブレーションをやり直した場合

5. 阻害の検出

- ・キャリブレーションでは、内部コントロールの Threshold cycle (C_T) アッセイパラメータの規格が設定される。
- ・検体処理の正確さと測定の有効性を評価するため、核酸抽出開始時に、規定量の内部コントロールが検体、キャリブプレート、コントロールへ分注され、測定される。内部コントロールは、HIV-1 標的配列とは無関係の RNA 配列で構成されている。
- ・キャリブレーションサンプル中の内部コントロールの標的配列の蛍光信号が検出される増幅サイクル中央値によって、以後処理する全検体に対する内部コントロール C_T 値の管理範囲が設定される。
- ・検体またはコントロールが規格を外れた場合、エラーフラグが表示される。エラーフラグの対策についての詳細は、Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。内部コントロール C_T 値が管理範囲を超える検体は、核酸抽出のステップから再測定を行うこと。

6. 陰性コントロールと陽性コントロール

- ・各テストオーダーごとに陰性コントロール、陽性コントロール L および H を各 1 本測定して、測定の有効性を評価する。
- ・陽性コントロール L および H のロット固有の値は、コントロールのキットカードに記載されている。測定の際には、アッセイテストオーダーに必ず入力すること。
- ・コントロール値が管理範囲を外れている場合は、エラーフラグが表示される。エラーフラグの対策についての詳細は、Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。陰性または陽性コントロールが管理範囲に入っていない場合、その測定で使用したすべての検体とコントロールは、核酸抽出のステップから再処理を行うこと。
- ・陰性コントロールでは、HIV-1 RNA は検出されない。陰性コントロールで HIV-1 RNA が検出された場合、核酸抽出または 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの調製の過程で、他のサンプルまたは増幅産物によりコントロールが汚染したことを示す。汚染を防ぐためには、機器の清掃を行い、**2. 測定手順**に従って、コントロールと検体を用いて再処理を行うこと。陰性コントロールが一貫して陽性を示す場合は、弊社へご連絡ください。

7. 汚染のモニタリング

増幅産物による作業場所や器具の汚染をモニタリングするため、少なくとも月に 1 回は汚染の有無の確認を行うこと。処理検体、コントロール、キャリブプレートまたは増幅産物にさらされた可能性があるすべての区域を確認すること。日常的に使用するピペット、機器のファンクションキー、作業台表面、マイクロ遠心機およびローターなどの器具も確認すること。

1. RNaseフリー水0.8 mLを1.7 mL 分子生物学グレードマイクロチューブに分注する。
2. マイクロチューブのRNaseフリー水に、綿棒を浸す。
3. RNaseフリー水が染みこんだ綿棒を使用して、モニタリング区域を軽くこするように拭く。綿棒をマイクロチューブに入れる。
4. 綿棒をRNaseフリー水中で10回転させた後、液がマイクロチューブの底に戻るようマイクロチューブの内側に沿って押し付ける。その後、綿棒は廃棄する。
5. 内部コントロール専用のピペットを使用し、洗浄液1：0.5 mLを新しい試験管に分注する。
6. 洗浄液1：20 μLを各マイクロチューブに分注する。
7. マイクロチューブのキャップを閉める。
8. サンプルを測定する。詳細は、**2. 測定手順**を参照のこと。
 - ・マイクロチューブ内の溶液を反応チューブ5 mLへ移す。
 - ・RNaseフリー水を足して、容量を1.5 mLにする。
9. 綿棒の拭き取りサンプルから HIV-1 RNA が検出された場合、汚染が存在していることを示す。
10. 器具から HIV-1 RNA が検出された場合の清掃と除染の方法については、使用する器具の取扱説明書を参照のこと。作業場所から HIV-1 RNA が検出された場合、汚染区域を1.0% (v/v) 次亜塩素酸ナトリウム溶液で拭いた後、70%エタノールまたは水で拭くこと。

注：塩素溶液により器具や金属が腐食する可能性がある。残留している塩素がなくなるまで、70%エタノールまたは水を使用して拭き取ること。

11. ステップ1～10に従って汚染区域の確認を繰り返すこと。

【測定結果の判定法】

(1) 算出

サンプルまたはコントロール中の HIV-1 RNA 濃度は、保存されている検量線を基に計算される。結果は、自動的に Abbott *m2000rt* アナライザーのシステムコントロールセンターに表示される。測定結果の単位は、Copies/mL、Log [Copies/mL]、International Units (IU) /mL、Log [IU/mL] で表示することができる（1 IU = 0.58 Copies、1 Copy = 1.74 IU）。

(2) 測定結果の表示と判定

検体量	結果	判定
1.0 mL または 0.6 mL	Not Detected	検出されず (HIV-1 RNA は検出されなかった)
	< 1.60 Log [Copies/mL] ^a	測定下限（最小検出感度未満:< 1.60 Log Copies/mL）であり、定量値は得られないが、HIV-1 RNA は検出している
	1.60 ~ 7.00 Log [Copies/mL] > 7.00 Log [Copies/mL]	濃度表示される（測定範囲内である） 定量上限（7.00 Log Copies/mL）を超える
0.5 mL	Not Detected	検出されず (HIV-1 RNA は検出されなかった)
	< 1.88 Log [Copies/mL] ^b	測定下限（最小検出感度未満:< 1.88 Log Copies/mL）であり、定量値は得られないが、HIV-1 RNA は検出している
	1.88 ~ 7.00 Log [Copies/mL] > 7.00 Log [Copies/mL]	濃度表示される（測定範囲内である） 定量上限（7.00 Log Copies/mL）を超える
0.2 mL	Not Detected	検出されず (HIV-1 RNA は検出されなかった)
	< 2.18 Log [Copies/mL] ^c	測定下限（最小検出感度未満:< 2.18 Log Copies/mL）であり、定量値は得られないが、HIV-1 RNA は検出している
	2.18 ~ 7.00 Log [Copies/mL] > 7.00 Log [Copies/mL]	濃度表示される（測定範囲内である） 定量上限（7.00 Log Copies/mL）を超える

a 40 Copies/mL

b 75 Copies/mL

c 150 Copies/mL

判定上の注意

- ・検体またはコントロールが規格を外れた場合、エラーフラグが測定結果の画面上に表示される。その場合の対策は、Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
- ・正しい測定結果を得るためには、適切な検体採取、保存、輸送を行う必要がある。（詳細は、**【操作上の注意】(1) 測定試料の性質、採取法**を参照のこと。）
- ・検体は、ヒト血漿 (ACD-A、EDTA 入り) を使用すること。本キットでは、他の抗凝固剤の使用について評価されていない。
- ・本キットの使用は、遺伝子診断と使用する機器の手順についてトレーニングを受けた者に限られる。
- ・使用する機器と測定方法により、増幅産物による汚染の危険性は低減される。しかし、施設の基準と本書に記載された手順を遵守して、キャリブプレート、陽性コントロール、検体による核酸汚染の管理を必ず行うこと。
- ・最小検出感度未満（例：検体量 1.0 mL または 0.6 mL の場合、< 1.60 Log Copies/mL と表示）は、定量値は得られていないが、HIV-1 RNA を検出している。従って、この結果を示した場合には、検出感度以下であるが、HIV-1 RNA を検出している旨を報告すること。
- ・本キットは、HIV スクリーニング検査には使用できない。また、本キット単独で HIV-1 感染の確定診断をすることはできない。
- ・他の診断テストと同様に、測定結果は他の関連する臨床所見や臨床検査結果等と合わせて総合的に判断すること。本キットで「Not Detected（検出されず）」と判定された場合でも、HIV-1 RNA が存在しないことを保証するものではない。
- ※※ HIV-1 を基とするレンチウイルススペクターを用いた再生医療等製品等（キメラ抗原受容体 (CAR) T 細胞製品等）の投与を受けた患者の検体において、レンチウイルススペクターに含まれる HIV-1 保存配列を検出する可能性があり、定量または検出の測定結果に影響を及ぼす場合がある。

【性 能】

本キットを用いて、管理パネル 1 および管理パネル 2 をサンプルとして 8 重測定を行い、少なくとも 7 つの測定値から中央値を計算し、各管理パネルの表示値との差を計算した結果、その差は、-0.17 ~ +0.01 Log Copies/mL [※]であった。

※ ここで示したデータは代表的な例であり、各施設の結果とは異なる場合がある。

次に示す本キットの性能は、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置を使用して検体量 1.0 mL で検討した（特記されている場合を除く）。

(1) 最小検出感度 (LoD)

最小検出感度は、95%以上の確率で検出される HIV-1 RNA 濃度とした。

1. 検体量 1.0 mL の最小検出感度

検体量 1.0 mL の最小検出感度は、40 Copies/mL である。
本キットの最小検出感度は、AIDS Clinical Trial Group、Virology Quality Assurance (VQA) Laboratory のウイルス標準品⁴を、HIV-1 陰性ヒト血漿で希釈したサンプルを用いて検討した。本キット 3 ロットを用いて、3 台の機器で試験を行った。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

表 3 検体量 1.0 mL の検出率

濃度 (Copies/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	57	100
50	57	57	100
40	57	57	100
30	57	55	96
20	57	50	88
10	56 ^a	38	68
5	57	30	53

a 機器のエラーのため、1 サンプルをデータ解析から除外した。

プロビット解析では、95%の確率で検出される HIV-1 RNA 濃度は 25 Copies/mL (95%信頼区間：20 ~ 33 Copies/mL) であった。

2. 検体量 0.6 mL の最小検出感度

検体量 0.6 mL の最小検出感度は、40 Copies/mL である。
検討は、検体量 1.0 mL と同様に行った。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

表 4 検体量 0.6 mL の検出率

濃度 (Copies/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
100	57	57	100
75	57	56	98
60	57	57	100
50	57	54	95
40	57	54	95
30	57	55	96
20	57	44	77
10	57	27	47
5	57	13	23

プロビット解析では、95%の確率で検出される HIV-1 RNA 濃度は 39 Copies/mL (95%信頼区間：33 ~ 49 Copies/mL) であった。

3. 検体量 0.5 mL の最小検出感度

検体量 0.5 mL の最小検出感度は、75 Copies/mL である。
検討は、検体量 1.0 mL と同様に行った。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

表 5 検体量 0.5 mL の検出率

濃度 (Copies/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
100	57	57	100
75	57	57	100
60	57	54	95
50	56 ^a	52	93
40	57	47	82
30	57	46	81
20	57	42	74
10	57	26	46
5	57	21	37

a 機器のエラーのため、1 サンプルをデータ解析から除外した。

プロビット解析では、95%の確率で検出される HIV-1 RNA 濃度は 65 Copies/mL (95%信頼区間：51 ~ 88 Copies/mL) であった。

4. 検体量 0.2 mL の最小検出感度

検体量 0.2 mL の最小検出感度は、150 Copies/mL である。
検討は、検体量 1.0 mL と同様に行った。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

表 6 検体量 0.2 mL の検出率

濃度 (Copies/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
250	57	57	100
200	57	56	98
150	57	56	98
100	57	54	95
75	57	47	82
60	57	38	67
50	57	39	68
40	54 ^a	30	56
30	52 ^a	19	37

a 機器のエラーのため、8 サンプルをデータ解析から除外した。

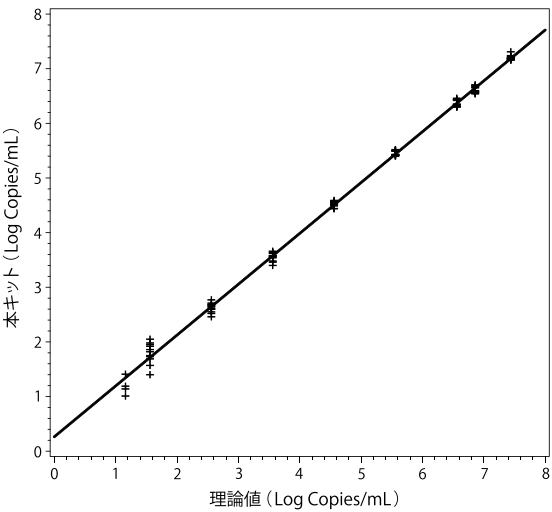
プロビット解析では、95%の確率で検出される HIV-1 RNA 濃度は 119 Copies/mL (95%信頼区間：102 ~ 150 Copies/mL) であった。

(2) 直線性

本キットの定量上限は 10,000,000 Copies/mL であり、定量下限は最小検出感度と同等（検体量 1.0 mL または 0.6 mL：40 Copies/mL、検体量 0.5 mL：75 Copies/mL、検体量 0.2 mL：150 Copies/mL）である。

HIV-1 陰性ヒト血漿で Armored HIV-1 RNA を 7.44 ~ 1.16 Log Copies/mL の範囲で希釈した 9 例のパネルを測定した。検討は、CLSI EP6-A⁵ のガイドラインに従って行った。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

図1 直線性(血漿)



本キットは、検討を行った範囲で直線性を示した (n = 99、r = 0.999、傾き = 0.93、切片 = 0.26)。

(3) 再現性

Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置および手法を用いて、本キットの検体量 1.0 mL の再現性を評価した。本キットの測定間再現性の標準偏差 (SD) は、HIV-1 RNA 濃度が 500 ~ 5,000,000 Copies/mL のサンプルにおいて 0.25 Log Copies/mL 以下である。陰性ヒト血漿を用いて、HIV-1 ウイルスストック（パネル 1 ~ 3）または Armored HIV-1 RNA（パネル 4 ~ 7）を希釈し、7 例の HIV-1 RNA パネルを調製した。Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置を使用した場合の再現性の検討では、各パネルを 3 ロットの試薬および 3 台の機器を用いて、5 重測定で計 15 回測定した。用手法を使用した場合の再現性の検討では、各パネルを 3 ロットの試薬および 3 台の機器を用いて初回は 2 重測定、その後は 3 重測定で計 15 回測定した。CLSI EP10-A2⁶ に従って解析を行い、測定内、測定間、アッセイ間（測定内、測定間）の標準偏差を算出した。結果を次に示す。ここに示したデータは代表的な例である。

表 7 Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置を使用した場合の再現性

パネル	n	平均濃度 (Copies/mL)	平均濃度 (Log Copies/mL)	測定内 SD	測定間 SD	アッセイ間 SD ^a
1	74 ^b	72	1.86	0.18	0.07	0.19
2	75	652	2.81	0.08	0.00	0.08
3	75	5,417	3.73	0.04	0.02	0.05
4	75	39,458	4.60	0.04	0.03	0.05
5	74 ^c	358,587	5.55	0.03	0.03	0.04
6	75	3,102,654	6.49	0.03	0.02	0.04
7	75	5,953,879	6.77	0.04	0.04	0.05

a アッセイ間 SD は、測定内成分と測定間成分を含んでいる。
b 測定 1 回において、HIV-1 RNA が検出されなかった。
c 阻害が発生したため、データ解析から測定 1 回を除外した。

表 8 用手法を使用した場合の再現性

パネル	n	平均濃度 (Copies/mL)	平均濃度 (Log Copies/mL)	測定内 SD	測定間 SD	アッセイ間 SD ^a
1	40 ^b	46	1.66	0.21	0.07	0.22
2	41 ^c	471	2.67	0.11	0.09	0.14
3	42	4,474	3.65	0.05	0.10	0.11
4	42	34,503	4.54	0.02	0.06	0.07
5	42	362,283	5.56	0.04	0.08	0.09
6	42	3,597,099	6.56	0.03	0.04	0.05
7	42	6,552,825	6.82	0.05	0.05	0.07

a アッセイ間 SD は、測定内成分と測定間成分を含んでいる。
b 測定 2 回において、HIV-1 RNA が検出されなかった。
c 阻害が発生したため、データ解析から測定 1 回を除外した。

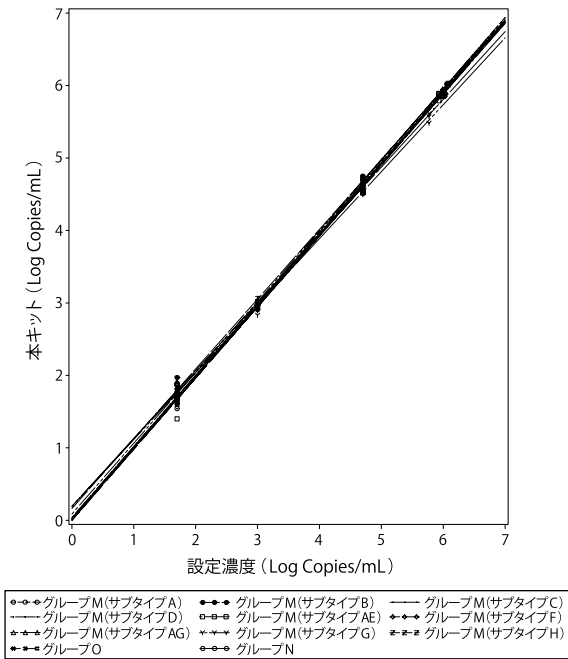
(4) 特異性

本キットにおける特異性は、99.5%以上である。
HIV-1 陰性血漿検体 187 例を測定して特異性を評価した。本キット 3 ロットを使用して、3 台の機器で測定した。HIV-1 RNA は検出されず、特異性は 100% (187/187) であった (95%信頼区間: 98.05 ~ 100.00%)。
さらに、自己免疫性疾患と診断されたかあるいはスクリーニング検査陽性の患者の検体、および次の血清中マーカーが陽性の患者の検体合計 70 例を評価した。: 全身性エリテマトデス (SLE)、抗核抗体 (ANA)、リウマチ因子 (RF)、HBs 抗原、HTLV- I / II 抗体、HCV 抗体、HIV-2 抗体。評価したいずれの検体においても、HIV-1 RNA は検出されず、自己免疫疾患、自己免疫疾患を示すマーカー、HIV-1 以外のウイルス疾患のいずれも、本キットの測定に影響を与えなかったことが示された。

(5) HIV-1 サブタイプと各グループの検出

HIV-1 の各サブタイプと各グループに対する本キットの性能を、グループ M (サブタイプ A、B、C、D、CRF01-AE、F、CRF02-AG、G、H)、グループ O、グループ N の精製 RNA 転写産物、およびグループ M (サブタイプ A、B、C、D、CRF01-AE、F、CRF02-AG、G) 検体各 10 例、グループ O 検体 10 例を用いて評価した。
グループ M (サブタイプ A、B、C、D、CRF01-AE、F、CRF02-AG、G、H)、グループ O、グループ N の RNA 転写産物は設定濃度を約 6.0 Log Copies/mL、4.7 Log Copies/mL、3.0 Log Copies/mL、1.7 Log Copies/mL として測定した。各転写産物の各濃度を 3 重測定した。11 のサブタイプ / グループにおける主な希釈直線性の結果を次に示す。

図2 HIV-1 サブタイプ/グループの希釈直線性



検討を行ったすべてのサブタイプとグループが検出され、さらにすべてのサブタイプとグループで直線性が示された (相関係数: 0.997 ~ 1.000)。
グループ M の各サブタイプ (サブタイプ A、B、C、D、CRF01-AE、F、CRF02-AG、G)、グループ O について各 10 例、計 90 例の検体を本キットおよび他の 2 種類の HIV-1 定量キットを用いて測定した。結果を次に示す。

表 9 HIV-1 サブタイプ / グループの検出

グループ / サブタイプ	n	本キット 検出数	比較キット-1 検出数 ^a	比較キット-2 検出数 ^a
M / サブタイプ A	10	10	10 (1)	10 (1)
M / サブタイプ B	10	10	10 (0)	10 (0)
M / サブタイプ C	10	10	10 (0)	10 (0)
M / サブタイプ D	10	10	10 (0)	10 (0)
M / サブタイプ AE	10	10	10 (0)	10 (0)
M / サブタイプ F	10	10	10 (0)	10 (0)
M / サブタイプ AG	10	10	10 (3)	10 (1)
M / サブタイプ G	10	10	10 (2)	10 (1)
O	10	10	0(NA)	7 (7)

a カッコ内の数字は、本キットより測定値が低く、その差が 1.00 Log Copies/mL を超える検体数を示す。
・本キットは、検討を行ったすべてのサブタイプとグループを検出した。
・比較キット-1 は、すべてのグループ M のサブタイプを検出したが、グループ O の検体 10 例は検出しなかった。
・比較キット-2 は、すべてのグループ M のサブタイプおよびグループ O の検体 10 例の内 7 例を検出した。
・本キットによる測定値が比較キット-1 または比較キット-2 より低く、その差が 1.00 Log Copies/mL を超える検体は存在しなかった。
・比較キット-1 では、測定値が本キットより低く、その差が 1.00 Log Copies/mL を超える検体がグループ M で 6 例存在した。
・比較キット-2 では、測定値が本キットより低く、その差が 1.00 Log Copies/mL を超える検体がグループ M で 3 例、グループ O で 7 例存在した。

(6) 測定範囲

- ・検体量 1.0 mL または 0.6 mL の場合は 40 ~ 10,000,000 Copies/mL (1.60 ~ 7.00 Log Copies/mL)、検体量 0.5 mL の場合は 75 ~ 10,000,000 Copies/mL (1.88 ~ 7.00 Log Copies/mL)、検体量 0.2 mL の場合は 150 ~ 10,000,000 Copies/mL (2.18 ~ 7.00 Log Copies/mL) である。
- ・測定範囲の下限は、最小検出感度である。

(7) 相関性試験成績及び較正用の基準物質

1. 相関性試験成績

1. 本キットと A 社キットとの間の相関性を、141 例の感染患者血漿検体を対象に検討した。両測定間の相関式は、 $y = 0.93x + 0.15$ 、相関係数 $r = 0.958$ と良好なものであった。
2. 本キットと A 社キットとの間の相関性を、35 例の国内検体 (血漿) を対象に検討した。両測定間の相関式は、 $y = 0.93x + 0.30$ 、相関係数 $r = 0.936$ と良好なものであった。

2. 較正用の基準物質

本キットでは、較正用基準物質として Virology Quality Assurance (VQA) Laboratory of the AIDS Clinical Trial Group の標準品⁴ (Group M / Subtype B 由来) 及び World Health Organization (WHO) 1st International Standard for HIV-1 RNA (NIBSC Code 97/656)^{7,8} が用いられており、本キットでの測定結果は Copies/mL、Log Copies/mL、IU/mL 又は Log IU/mL として報告される。

【使用上又は取扱上の注意】

(1) 取扱い上 (危険防止) の注意

- ・本キットの測定では、ヒト検体を取り扱う。検体は、HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱うこと。検査にあたっては、感染の危険を避けるため、専用の着衣、眼鏡、マスクおよび使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングは行わないこと。検体や試薬類を扱う場所では、飲食、喫煙、化粧およびコンタクトレンズの取り扱いをしないこと。
 - ・**注意**：本測定で使用する試薬類には、ヒト由来および / または潜在的に感染性のある物質が含まれている。ヒト血液由来物質は FDA が承認した測定キットにおいて、HCV 抗体陰性、HIV-1 抗体陰性、HIV-2 抗体陰性、HBs 抗原陰性であり、また、FDA が承認した PCR 法において、HIV-1 RNA 陰性および HCV RNA 陰性である。ヒト由来物質または不活化微生物が完全に感染伝播しないことを保証する試験は知られていない。感染性物質を含む、またはその疑いがある物質については、Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁹、OSHA Standards on Bloodborne Pathogens¹⁰、CLSI Document M29-A4¹¹、または他の適切なバイオセーフティ基準¹²に従って取り扱うこと。すべてのヒト由来物質は潜在的に感染性があると考えられること。
 - ・試薬が誤って目や口に入った場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。
 - ・安全上の注意については、使用する機器の取扱説明書またはアキュジーン RNA 測定のためのマニュアルサンプル調製手順書についても参照のこと。
 - ・本キット (製品番号: 2G31-98)、キャリアプレート (製品番号: 2G31-78)、コントロール (製品番号: 2G31-88) には次の物質が含まれている。
 - ・ 2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オン
 - ・ 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン (EC No. 247-500-7) と 2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オン (EC No. 220-239-6) の混合物 (3:1)
 - ・ 5-クロロ-2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン (EC No. 247-500-7) と 2-メチル-4-イソチアゾリン-3-オン (EC No. 220-239-6) の混合物 (3:1)
- 危険有害性情報、注意事項を次に示す。



警告	
H317	アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ
P261	ミスト / 蒸気 / スプレーの吸入を避けること。
P272	汚染された作業衣は作業場から出さないこと。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P302+P352	皮膚に付着した場合: 多量の水で洗うこと。
P333+P313	皮膚刺激または発疹が生じた場合: 医師の診察 / 手当てを受けること。
P362+P364	汚染された衣類を脱ぎ、再使用する場合には洗濯をすること。
P501	内容物 / 容器を適切な方法で廃棄すること。

※・ 次の試薬類に関する危険有害性情報、注意事項を示す。

- ・ RNA・核酸抽出試薬の磁性粒子溶液
- ・ RNA・核酸抽出試薬の洗浄液 1
- ・ RNA・核酸抽出試薬のライシス溶液



警告	グラニンジチオシアン酸塩を含む
H302+H312 +H332	飲み込んだり皮膚に接触したり吸入すると有害
H314	重篤な皮膚の薬傷・眼の損傷
H402	水生生物に有害※
H412	長期継続的影響により水生生物に有害
EUH032	酸との接触により非常に毒性の強いガスが発生する。
P264	取扱後は手をよく洗うこと。
P273	環境への放出を避けること。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P301+P330 +P312	飲み込んだ場合：口をすすぐこと。気分が悪い時は医師に連絡すること。
P301+P330 +P331	飲み込んだ場合：口をすすぐこと。無理に吐かせないこと。
P303+P361 +P353	皮膚（または髪）に付着した場合：直ちに汚染された衣類をすべて脱ぐこと。皮膚を水 / シャワーで洗うこと。
P304+P340	吸入した場合：空気の新鮮な場所に移し、呼吸しやすい姿勢で休息させること。
P305+P351 +P338	眼に入った場合：水で数分間注意深く洗うこと。次にコンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後も洗浄を続けること。
P310	直ちに医師に連絡すること。
P363	汚染された衣類を再使用する場合には洗濯をすること。
P405	施錠して保管すること。
P501	内容物 / 容器を適切な方法で廃棄すること。

※ EC 1272/2008 (CLP) を適用する場合は該当しない。

- ・ RNA・核酸抽出試薬の溶出液
アジ化ナトリウムを含む
EUH032
P501
酸との接触により非常に毒性の強いガスが発生する。
内容物 / 容器を適切な方法で廃棄すること。
- ・ **安全データシート**：試薬類の安全な取り扱い、輸送および廃棄に関する重要な情報が記載されている。

(2) 使用上の注意

- ・ 使用期限を過ぎた試薬類を使用しないこと。
- ・ 同一のロット番号の試薬であっても試薬を注ぎ足すことはしないこと。
- ・ 本キットには、【**操作上の注意**】(1) **測定試料の性質、採取法**に記載されているキャップ付き採血管で取扱いおよび保存された血漿検体のみを使用すること。
- ・ サンプル間交差汚染の危険性や核酸抽出中または抽出後に RNases が誤ってサンプル中に混入することを最小限に抑えるため、サンプル調製中は必ず施設の適切な基準に従うこと。RNA を扱う場合は、常に無菌操作で行うこと。
- ・ PCR などの増幅技術は、過去に行った測定の増幅産物混入による影響を受けやすい。たとえ数分子の増幅産物の混入であっても、増幅過程に使用する検体または試薬が汚染された場合、正しい測定結果が得られない可能性がある。施設の基準に従い、PCR の実施に関わる作業を物理的に分けること等により汚染の危険性が低減される。
- ・ **RNA・核酸抽出試薬を用いた手法による核酸抽出および Abbott m2000rt アナライザーを用いた本キットによる測定を行う場合は、施設内に 3 箇所の専用区域を設けること。**
 - ・ マスターミックスを調製するための増幅・検出用試薬の混合や、マスターミックスの 96 ウェル オプティカル リアクションプレートへの分注は、**試薬調製区域**で行うこと。**試薬調製区域**で使用する白衣、ピペット、ピペットチップ、ボルテックスミキサーは、必ず区域内にとどめ、**検体調製区域**または**増幅区域**に持ち出さないこと。
 - ・ サンプル（検体、コントロール、キャリブレータ）の処理および、処理検体、コントロール、キャリブレータの 96 ウェル オプティカル リアクションプレートへの分注は、**検体調製区域**で行うこと。**検体調製区域**で使用する**すべての試薬は、常に区域内にとどめること**。**検体調製区域で使用する白衣、ピペット、ピペットチップ、ボルテックスミキサーは、必ず区域内にとどめ、試薬調製区域または増幅区域に持ち出さないこと**。**増幅産物を検体調製区域に持ち込まないこと**。
 - ・ 増幅と増幅産物の検出は、**増幅区域**で行うこと。**増幅区域で使用する白衣や器具は、必ず区域内にとどめ、試薬調製区域または検体調製区域に持ち出さないこと**。
- ・ **Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置と Abbott m2000rt アナライザーを使用する場合は、検体調製区域と増幅区域の 2 つの専用区域のみを使用すること。**
- ・ キット内の構成品は、一緒に使用すること。異なるロットのキット構成品を組み合わせ使用しないこと。
例：コントロールキットのロットが X である陰性コントロールと、コントロールキットのロットが Y である陽性コントロールを組み合わせ使用しないこと。
- ・ 作業場所と機器は、潜在的汚染源とみなすこと。潜在的汚染源（検体、核酸抽出液、増幅産物）と接触した場合は、未開封の試薬、陰性コントロール、陽性コントロール、キャリブレータ、または検体を取り扱う前に手袋を交換すること。機器の清掃手順については、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
- ・ **Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の作動が中止された場合は、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、すべての消耗品と試薬を廃棄すること。**

注：増幅・検出用試薬パックは、本書の記載に従って保存および再使用することができる。

- ・ **Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のマスターミックス分注のプロトコールが中止された場合は、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをプレートを取り扱う際に使用した手袋と共にチェック付きビニール袋に入れて密封し廃棄すること。**
- ・ **Abbott m2000rt アナライザーによる測定が中断または中止された場合は、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従い、96 ウェル オプティカル リアクションプレートをプレートを取り扱う際に使用した手袋と共にチェック付きビニール袋に入れて密封し廃棄すること。**
- ・ すべての潜在的生物学的危険物質は、適切な法規等に従い除染および廃棄すること¹²。作業場所を汚染する可能性を最小限に抑える方法で、すべての物質を取り扱うこと。

注：密封した 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをオートクレーブ滅菌しても、増幅産物は分解されず、プレートを密封しているカバーがはがれることにより増幅産物の放出を引き起こす可能性がある。増幅産物により検査室が汚染する可能性があるため、廃棄物は慎重に取扱い密封すること。

- ・ マニュアルピペッティングの際に形成されるエアロゾルによる核酸汚染の危険性を低減するため、マニュアルピペッティングを行う際は必ずフィルター付きピペットチップを使用すること。ピペットチップは、必ず使い捨てにすること。こぼれた検体および試薬類は、使用する機器の取扱説明書に記載されている方法で清掃、除染すること。
- ・ **RNase 汚染、サンプル間交差汚染および反応阻害のリスクを最小限に抑えるため、次の注意事項を遵守すること。**
 - ・ 適切な保護用具を常に着用すること。
 - ・ パウダーフリー手袋を使用すること。
 - ・ 潜在的汚染源（検体、核酸抽出液、増幅産物）に接触した場合は、手袋を交換すること。
 - ・ ピペッティングの際に形成されるエアロゾルによる核酸汚染の危険性を低減するため、ピペッティングを行う際は必ずフィルター付きピペットチップを使用すること。ピペットへの汚染を防ぐため、チップは十分に長い必要がある。ピペッティング中は、ピペットがサンプルチューブや容器の内側に接触しないよう注意すること。十分な長さのフィルター付きピペットチップを使用すること。
 - ・ 液体をマニュアルで分注する場合、**各分注ごとに**フィルター付きピペットチップを交換すること。
 - ・ **RNA・核酸抽出試薬は、使い捨てにすること**。新規測定ごとに、新しい試薬容器、反応チューブ、新規に開封した試薬を使用すること。各測定の後、ワークテーブルに残っている試薬は、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書および RNA・核酸抽出試薬の Product Information に従って廃棄すること。
 - ・ 増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、本書の指示に従ってキャップを閉め、保管すること。
- ・ **新しい、または再使用する増幅・検出用試薬パックと内部コントロールのバイアルは、使用時以外は -10℃以下で保存すること**。使用している増幅・検出用試薬パックは、サンプルやキャリブレータ、およびコントロールに直接接触しないように注意すること。
- ・ 一度使用し、**再使用する増幅・検出用試薬パックおよび内部コントロールは、キャップを閉め、真すぐに立てた状態で遮光して -10℃以下で保存すること**。**調製済みのマスターミックスが残っており、次回再使用する増幅・検出用試薬パックは、このように保存した場合、1 回目の使用日から 7 日以内であれば再使用することができる**。内部コントロールについても、キャップを閉めて -10℃以下で保存した場合、融解後 14 日以内であれば再使用することができる。
- ・ **2 回使用した増幅・検出用試薬パックや内部コントロールは廃棄すること**。
- ・ 陰性および陽性コントロールは、-10℃以下で保存すること。
- ・ キャリブレータ A および B は、-10℃以下で保存すること。
- ・ RNA・核酸抽出試薬は、15 ～ 30℃で保存すること。
- ・ 本キット、コントロール、キャリブレータは、凍結で輸送される。

(3) 廃棄上の注意

- ・ 検体中には HIV、HBV、HCV 等の感染性のものが存在する恐れがあるので、廃液、使用済み器具などは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1,000 ppm、1 時間以上浸漬）またはグルタルアルデヒド（2%、1 時間以上浸漬）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うこと。

注：反応済の 96 ウェル オプティカル リアクションプレートはオートクレーブ処理を行わないこと。密封した 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをオートクレーブ滅菌しても、増幅産物は分解されず、プレートを密封しているカバーがはがれることにより増幅産物の放出を引き起こし、検査室が汚染する可能性がある。96 ウェル オプティカル リアクションプレートはプレートを取り扱う際に使用した手袋と共にチェック付きビニール袋に入れて密封し廃棄すること。

注：RNA・核酸抽出試薬の廃液は、次亜塩素酸ナトリウム溶液などの酸化作用のある物質と混合することにより有毒ガスが発生するため、混合しないこと。

- ・ 試薬、廃液および器具等を廃棄する場合には、廃棄物の処理および清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理すること。
- ・ 試薬類や検体が飛散した場合には、飛散した溶液を吸収剤で吸収し、飛散した場所を洗浄液で拭き取った後、さらに 1.0% 次亜塩素酸ナトリウム溶液などの適切な消毒剤⁹で拭き取ること。作業は適切な保護用具（手袋、安全眼鏡、実験衣など）を着用して行うこと。
- ・ すべての潜在的生物学的危険物質は、適切な法規等に従い除染および廃棄すること¹²。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法： -10℃以下に保存する。

有効期間： 18 箇月

使用期限は、外装に表示されている。

【包装単位】

アキュジーン m-HIV-1 製品番号 2G31-98：96 回用（24 回用 × 4）

○ 増幅・検出用試薬パック

- | | |
|--------------------|--------------|
| ・オリゴヌクレオチド試薬（試薬 2） | 1.10 mL × 4 |
| ・酵素試薬（試薬 3） | 0.141 mL × 4 |
| ・活性化試薬（試薬 1） | 0.40 mL × 4 |

○ 内部コントロール 1.2 mL × 4

【主要文献】

1. Myers TW, Gelfand DH. Reverse transcription and DNA amplification by a *Thermus thermophilus* DNA polymerase. *Biochemistry*. 1991;30(31):7661-7666. doi:10.1021/bi00245a001
2. Ginocchio CC, Wang XP, Kaplan MH, et al. Effects of specimen collection, processing, and storage conditions on stability of human immunodeficiency virus type 1 RNA levels in plasma. *J Clin Microbiol*. 1997;35(11):2886-2893. doi:10.1128/jcm.35.11.2886-2893.1997.
3. Seibre K, McGavin K, Land S, Middleton T, Birch C. Stability of human immunodeficiency virus RNA in blood specimens as measured by a commercial PCR-based assay. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):493-498. doi:10.1128/JCM.36.2.493-498.1998.
4. Yen-Lieberman B, Brambilla D, Jackson B, et al. Evaluation of a quality assurance program for quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in plasma by the AIDS Clinical Trials Group virology laboratories. *J Clin Microbiol*. 1996;34(11):2695-2701. doi:10.1128/jcm.34.11.2695-2701.1996
- ** 5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. CLSI Document EP06-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS): Wayne, PA; 2003.
- ** 6. Clinical Laboratory Standards Institute. *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline – Second Edition*. CLSI Document EP10 A2. CLSI: Wayne, PA, 2006.
7. Holmes H, Davis C, Heath A, Hewlett I, Lelie N. An international collaborative study to establish the 1st international standard for HIV-1 RNA for use in nucleic acid-based techniques. *J Virol Methods*. 2001;92(2):141-150. doi:10.1016/s0166-0934(00)00283-4
8. Davis C, Heath A, Best S, et al. Calibration of HIV-1 working reagents for nucleic acid amplification techniques against the 1st international standard for HIV-1 RNA. *J Virol Methods*. 2003;107(1):37-44. doi:10.1016/s0166-0934(02)00187-8
9. US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 5th ed. Washington, DC: US Government Printing Office; December 2009. [Also available online. Type> www.cdc.gov, search>BMBL5>look up sections III and IV.]
10. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Occupational Exposure to Bloodborne Pathogens.
- ** 11. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Fourth Edition*. CLSI Document M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
12. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. World Health Organization; 2004.

当製品の購入により、購入者がヒト体外診断用の核酸配列の増幅および検出の目的で当製品を使用することを許可致します。前記の購入により許諾した使用目的以外の使用に基本許諾若しくはその他ライセンスを許諾するものではありません。当規定は、当製品の転売を禁止するものではありません。

すべての商標の所有権は、各商標の所有者に帰属します。

【問い合わせ先】

アボットジャパン合同会社

カスタマーサポートセンター

〒270-2214 千葉県松戸市松飛台 278
TEL 0120-031441

【製造販売業者の名称及び住所】

アボットジャパン合同会社

〒270-2214 千葉県松戸市松飛台 278
TEL 047 (385) 2211 (代表)
©ABBOTT JAPAN LLC 2026