

この添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

※ 2019 年 12 月改訂（第 6 版）
※ 2015 年 7 月改訂（第 5 版）

製造販売承認番号 22200AMX00291000

B 型肝炎ウイルス表面核酸キット
アキュジーン[®] m - HBV

【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. 添付文書に記載された使用方法に従って使用すること。本添付文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. 本測定で使用する試薬類には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがある。誤って目や口に入れ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措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。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。
- 6. 使用する機器の添付文書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
 - HBV PCR フォワードプライマー
 - HBV PCR リバースプライマー
 - HBV PCR プローブ 1
 - HBV PCR プローブ 2
 - 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：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
 - ・酵素試薬
 - AmpliTaq Gold ※ 2 DNA ポリメラーゼ
 - ※ 2 AmpliTaq Gold : recombinant *Thermus aquaticus*
 - （他の含有物：緩衝液、安定化剤）
 - ・活性化試薬
 - （主な含有物：緩衝液、塩化マグネシウム 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
- 2. 内部コントロール
 - （主な含有物：緩衝液、非感染性リニアプラスミド DNA
 - 保存剤：アジ化ナトリウム、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】

血清又は血漿中の B 型肝炎ウイルス（HBV）DNA の測定
（B 型肝炎ウイルス感染の診断補助）

【測定原理】

本品は HBV DNA の PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応法）による DNA 合成と増幅、及び核酸ハイブリダイゼーションを用いたヒト血清又は血漿中の HBV DNA を測定するキットであり、以下の 5 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 HBV DNA 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 DNA を含む）を加え、核酸抽出装置にて、所定の操作を行い、HBV DNA を抽出・精製する。
- 2) ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による HBV DNA の増幅
 - 標的 DNA を dNTP Mix（dATP、dCTP、dTTP、dGTP）と、HBV PCR フォワードプライマーと HBV 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、AmpliTaq Gold 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 HBV DNA を増幅する。
- 3) 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二本鎖 HBV DNA の鋳型（アンチセンス）DNA に特異的に結合する蛍光標識した HBV PCR プローブ 1 又は HBV PCR プローブ 2 をハイブリダイズさせる。
- 4) 蛍光強度の測定
 - 標的に結合した HBV PCR プローブ 1 又は HBV PCR プローブ 2 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。）

5) HBV DNA 濃度の算出

検体の Ct 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、HBV DNA 量（IU/mL、Log IU/mL、Copies/mL 又は Log Copies/mL）を算出する（1 IU = 3.41 Copies、1 Copy = 0.29 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、ヒト血清（血清分離剤入り採血管で採取した血清を含む）またはヒト血漿（EDTA、ACD 入り）を使用すること。シリカ以外の凝固促進剤またはトロンビン入りの血清用採血管を使用しないこと。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 2 ～ 30℃ で 6 時間まで保存することができる。
- ・遠心分離後は血球を除去すること。血清または血漿検体は、15 ～ 30℃ で 24 時間まで、2 ～ 8℃ で 3 日間まで、-20℃ 以下で長期保存することができる。
- ・検体の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。

検体の輸送

- ・検体は凍結し、ドライアイス中で保存して輸送すること。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

- ・内因性物質が本キットに与える影響を検討した。検討には HBV 陰性サンプルと HBV DNA 2,933 IU/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 HBV 陽性サンプルおよび HBV 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。
- | 物質 | 濃度 |
|---------|-------------|
| ヘモグロビン | 500 mg/dL |
| トリグリセリド | 3,000 mg/dL |
| ビリルビン | 20 mg/dL |
| タンパク質 | 9 g/dL |
- ・血漿および血清のピーク値以上の濃度の抗ウイルス剤および抗生物質を 5 群に分けて検討した。次の薬剤群を添加したすべての HBV 陽性サンプルおよび HBV 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※。

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、ジダノシン
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、リパビル、エンテカビル、アデホビル
3	テノホビル、ラミブジン、インジナビル、ガンシクロビル、 バルガンシクロビル、アシクロビル、パロキセチン
4	サニルブジン、エファビレンツ、ロビナビル、Enfuvirtide、 シプロフロキサシン、Fluoxetine
5	ザルシタピン、ネビラピン、ネルフィナビル、アジスロマイシン、 バラシクロビル、セルトラリン

※ 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。

- ・次の DNA ウイルスマーカーが 2 つ以上陽性である患者検体計 15 例を評価した。
 - Epstein-barr ウイルス
 - 単純ヘルペスウイルス 1 型
 - 単純ヘルペスウイルス 2 型
 - サイトメガロウイルス
- 評価した 15 検体すべてにおいて、本キットの測定結果は「Not Detected（検出されず）」であった。

交差反応性

- ・次の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、HBV DNA 陰性サンプルおよび HBV DNA 2,933 IU/mL を含有するサンプルに添加した。

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

試験したすべての HBV 陽性サンプルおよび HBV 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。

(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-HBV・キャリブレーション（製品番号：2G34-78）
 - キャリブレーション A (1.3 mL × 12)
(主な含有物：緩衝液、非感染性 HBV リニアプラスミド DNA
保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950)
 - キャリブレーション B (1.3 mL × 12)
(主な含有物：緩衝液、非感染性 HBV リニアプラスミド DNA
保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950)

キャリブレーションの濃度については、付属のキットカードを参照のこと。

AccuGene m-HBV・キャリブレーションは本キットに対してのみ使用すること。

- AccuGene m-HBV・コントロール（製品番号：2G34-88）
 - 陰性コントロール (1.3 mL × 8)
(主な含有物：陰性ヒト血漿 (HBs 抗原陰性、HBV DNA 陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HCV 抗体陰性) 保存剤:ProClin 300、ProClin 950)
 - 陽性コントロール L (1.3 mL × 8)
(主な含有物：陰性ヒト血漿 (HBs 抗原陰性、HBV DNA 陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HCV 抗体陰性)、熱不活化処理済み HBV DNA 陽性血漿 保存剤：ProClin 300、ProClin 950)
 - 陽性コントロール H (1.3 mL × 8)
(主な含有物：陰性ヒト血漿 (HBs 抗原陰性、HBV DNA 陰性、HIV RNA 陰性、HCV RNA 陰性、HIV-1/HIV-2 抗体陰性、HCV 抗体陰性)、熱不活化処理済み HBV DNA 陽性血漿 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-HBV・コントロールは本キットに対してのみ使用すること。

検体調製

- 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）
- DNA・核酸抽出試薬 (Abbott *mSample Preparation System_{DNA}*)
(製品番号：6K12-24)：24 回用 × 4

- ライシス溶液 (*mLysis_{DNA}*)
(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_{DNA}*)
(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 2 (*mWash 2_{DNA}*)
(主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水)
- 溶出液 (*mElution Buffer_{DNA}*)
(主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水)
- 磁性粒子溶液 (*mMicroparticles_{DNA}*)
(主な含有物：磁性粒子、グアニジン塩酸塩)

- プロテアーゼ K PCR グレード (Proteinase K, Recombinant, PCR Grade)
(製品番号：3L78-60)：24 回用 × 4 (2.45 mL × 4)
(主な含有物：プロテアーゼ K)

- *m2000* HBV アプリケーションディスク（製品番号：8L35、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、製品番号：8L35-04 以降）
- サンプルラック
- 反応チューブ 5 mL
- *m2000sp* 200 mL 試薬容器
- マスターミックスチューブ（製品番号：4J71-80）
- 96 ウェル オプティカル リアクションプレート
- 96 ウェル ディープウェルプレート
- スプラッシュフリー サポートベース
- オプティカル 接着カバー (Abbott Optical Adhesive Cover)
- 接着カバー アプリケータ
- 12.5 × 75 mm 丸底サンプルチューブ
- ボルテックスミキサー
- ポリプロピレン製遠心チューブ 50 mL
- 2,000 g の出力可能な遠心機
- 分注量 10 ～ 1,000 μ L の較正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1,000 μ L のピペット用フィルター付きピペットチップ
- 95 ～ 100% エタノール

変性剤を含有するエタノールは、使用しないこと。

- アキュジェン試薬ボトル交換用キャップ（製品番号：3N20-01）
- メスピペット
- メスシリンダー 100 mL
- 分子生物学グレード水
- 1.7 mL 分子生物学グレード マイクロチューブ※
- 綿棒※

※ 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。

増幅

- *m2000* HBV アプリケーションディスク（製品番号：8L35、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、製品番号：8L35-04 以降）
- *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

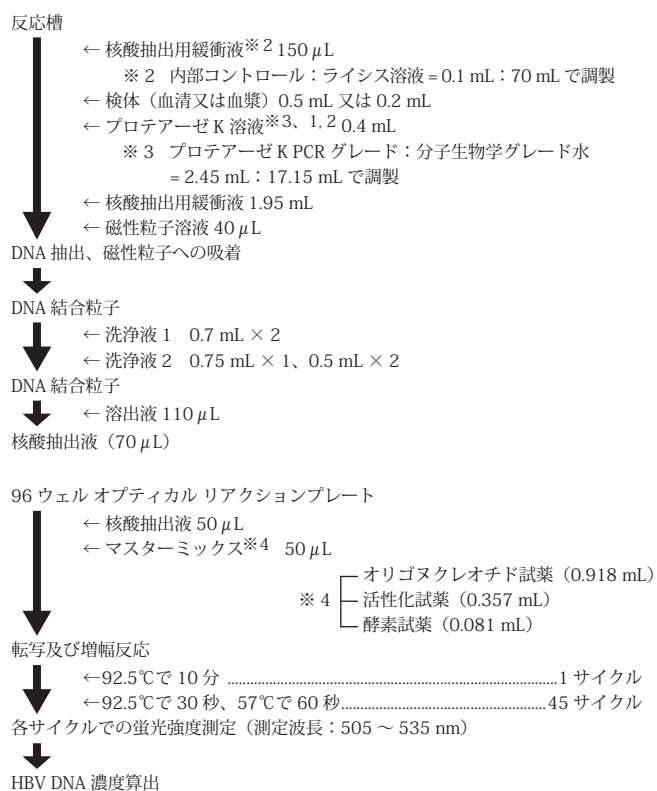
- 規格を満たしている安全キャビネット
- チェック付きビニール袋

(3) 測定（操作）法

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。使用する核酸抽出装置に応じた試薬を別途用意すること。

- 1) 血清又は血漿 (0.5 mL 又は 0.2 mL) から、使用する核酸抽出装置にて所定の操作（内部コントロール 3 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、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) HBV DNA 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、HBV DNA 量 (IU/mL、Log IU/mL、Copies/mL 又は Log Copies/mL) を算出する。

核酸抽出装置「Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置」、DNA・核酸抽出試薬と遺伝子解析装置「Abbott *m2000rt* アナライザー」を用いた場合の手順を示す。



※¹ 同等品の核酸抽出装置を使用する場合は、使用する機器の取扱説明書等を参照すること。

(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。

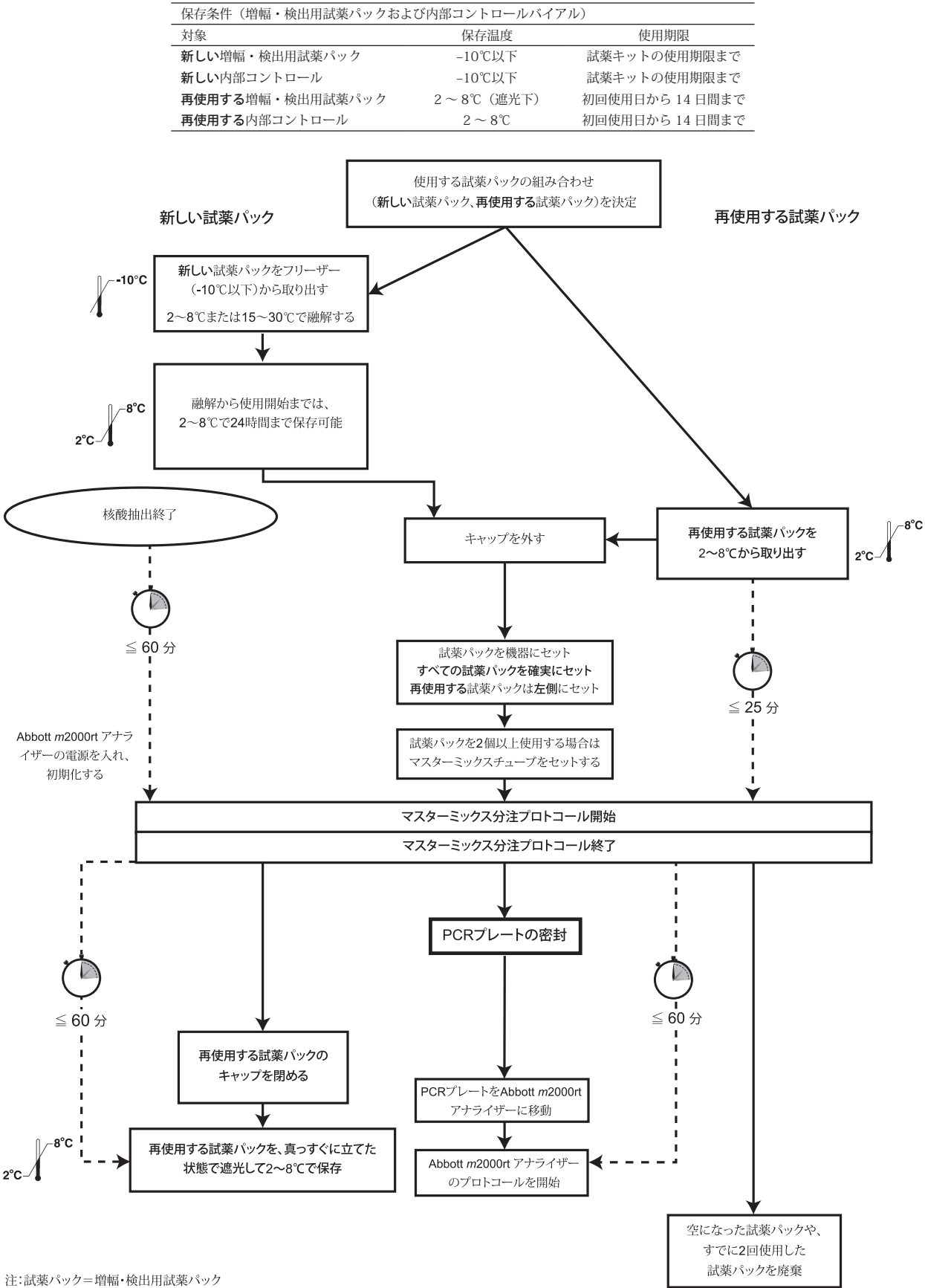
- 増幅・検出用試薬パックは必要に応じて再使用することができる。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、キャップを開けて遮光し、2 ～ 8℃で保存した場合、次回使用するまで最大 14 日間保存することができる。内部コントロールについても、バイアルのキャップを開けて 2 ～ 8℃で保存した場合、次回使用するまで最大 14 日間保存することができる。
- 増幅・検出用試薬パックの再使用については、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書でも説明されている。
- 増幅・検出用試薬パックの再使用は、サンプル調製を Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置で行う場合にのみ可能である。

本添付文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。本添付文書では、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計2回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、本添付文書の指示に従うこと。



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 HBV 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:8L35-04 以降の m2000 HBV 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。
- 核酸抽出を始める前に、本添付文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。
- サンプルチューブ内の泡の有無を確認すること。泡がある場合、滅菌ピペットチップで取り除くこと。試薬の泡は、試薬容器内での正確な試薬量の検知を妨げる可能性がある。その結果、試薬が十分に吸引されず、測定結果に影響を与える可能性がある。チューブごとに新しい滅菌ピペットチップを使用して、サンプル間の交差汚染をおこなないように注意すること。
- ピペッティングの際は、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。ピペッ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。
- 検量線は、検体の測定前に作成すること。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ール終了後 60 分以内に 2 ～ 8℃に保存すること。

プロトコール

検体調製区域

- すべての検体の保存と調製は、検体調製区域内で行うこと。検体調製を行う前に、【使用上又は取扱上の注意】(2) 使用上の注意を参照のこと。
- 機器の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。

1. 1 回の測定につき、最高 48 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 45 検体の測定が可能である。

注：24 サンプル以上の処理を行う場合、廃棄物があれば測定前に固形廃棄物容器を空にし、新しいバイオハザードバッグに交換すること。

- サンプル量を確認する。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。

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

※ 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。
 - 検体は使用前に、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。泡が生成されていないことを確認すること。泡があるときは、チューブごとに新しい滅菌ピペットチップで取り除くこと。不溶物または濁りがある検体は、測定前に 2,000 g で 5 分間遠心分離し、上清を使用すること。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注すること。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。
2. 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、キャリブレーションを 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。新しい内部コントロールを使用する場合は、バイアル 1 本を 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。
- 一度融解したキャリブレーション、コントロール、新しい内部コントロール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。
 - キャリブレーションとコントロールは、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。泡が生成されていないことを確認すること。泡があるときは、チューブごとに新しい滅菌ピペットチップで取り除くこと。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。
3. 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。

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・検出用試薬パックの必要数※	
1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 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

※ 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すること。

- 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。ただし、増幅・検出用試薬パックのロット番号はすべて同じでなければならない。

マスターミックスを調製するまでに、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。本ステップ (ステップ 3) は、核酸抽出手順の終了前に開始することができる。

注：増幅・検出用試薬パックをボルテックスミキサーで攪拌しないこと。

- 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、キャップを閉めた状態で、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 回目の使用直前まで 2 ～ 8℃で保存しておくこと。2 ～ 8℃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。

4. プロテアーゼ K PCR グレードを開封する。分子生物学グレード水 17.15 mL を 50 mL ポリプロピレン製遠心チューブに分注する。プロテアーゼ K PCR グレード 2.45 mL を分子生物学グレード水が入った容器に分注する。穏やかに 10 ～ 15 回転倒混和する。プロテアーゼ K PCR グレードのバーコードラベルを貼付した試薬容器に、すべての内溶液を移す。試薬容器を試薬容器キャリア #1 のポジション 2 にセットする。

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		
試薬 / コントロール	1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 サンプル
プロテアーゼ K PCR グレード	1 本	2 本
磁性粒子溶液	1 本	1 本
ライシス溶液	1 本	2 本
洗浄液 1	1 本	2 本
洗浄液 2	1 本	2 本
溶出液	1 本	2 本
内部コントロール※	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

※ 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と一緒に使用することもできる。

5. DNA・核酸抽出試薬を開封する。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。
6. DNA・核酸抽出試薬の Product Information に従って、95 ～ 100% エタノール 70 mL を洗浄液 2 のボトルに分注し、洗浄液 2 を調製する。変性剤を含有するエタノールは使用しないこと。
7. 内部コントロールのバイアルは、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。
8. 校正済みの内部コントロール専用ピペットのみを使用し、内部コントロール 100 μL をライシス溶液のボトルに添加する。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 2 ～ 8℃で保存し、再使用することができる。
9. DNA・核酸抽出試薬のすべてのボトルを穏やかに転倒混和する。溶液が均一になっていることを確認し、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って溶液を適切な試薬容器に注ぐ。
10. 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を m2000sp サンプルラックにセットする。
11. 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。
12. Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、DNA・核酸抽出試薬およびプロテアーゼ K 溶液をセットした試薬容器キャリアと 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。
13. < Run Sample Extraction > 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ールを開始する。
- 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。

注：入力した値と、キットカードに記載されている値が一致していることを確認する。

- ・マスターミックス分注のプロトコル（ステップ 14）は、核酸抽出のプロトコル終了後 60 分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。

- 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。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。
 - ・新しい増幅・検出用試薬パックは、使用前に完全に融解していることを確認する。
 - ・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、分注プロトコル終了後に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。
- 適切な 96 ウェル ディープウェルプレートと、該当する核酸抽出と一致する＜Run Master Mix Addition＞画面から選択する。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。
 - ・Abbott *m2000rt* アナライザーのプロトコル（ステップ 20）は、マスターミックス分注のプロトコル（ステップ 15）終了後 60 分以内に開始すること。

増幅区域

- 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。
 - ・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。

検体調製区域

- 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。
- 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。
- 終了した 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの結果を CD またはネットワーク・ドライブに保存する。

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。Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、CD またはネットワーク・ドライブから、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置で作成したテストオーダーを取り込む。

検体調製区域

- 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閉め、直ちに真すぐに立てた状態で遮光して 2～8℃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終了後 1 時間以内に 2～8℃で保存すること。

測定後の手順

- 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。
- 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。

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* アナライザーを校正する。

- ・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

- ・検量線は、検体とコントロールの HBV DNA 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 (Ct) 値に対する HBV 濃度 [Log IU /mL]）作成では、キャリブプレート A、B を 3 重測定する。キャリブプレート A およびキャリブプレート B のロット固有の値は、キャリブプレートのキットカードに記載されている。キャリブレーションを行う際には、テストオーダーに必ず入力すること。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 HBV DNA 濃度は、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。
- ・キャリブレーションを行う際は、陽性コントロール L および H、陰性コントロールを測定すること。
- ・核酸抽出、試薬分注、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。最終的なコントロールの測定値が、コントロールのキットカードに記載されている管理範囲に入っていることを確認する。
- ・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 DNA・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

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 (Ct) 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、HBV DNA 配列とは無関係の DNA 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 Ct 値の管理範囲が検量線により設定される。
- ・検体またはコントロールが規格を外れた場合、エラーが表示される。エラーコード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。内部コントロールの Ct 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、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、エラーが表示される。エラーコード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、その測定で利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、HBV DNA は検出されない。陰性コントロールで HBV DNA 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。調製した検体、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. 分子生物学グレード水 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分子生物学グレード水に、綿棒を浸す。
3. 分子生物学グレード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. 綿棒を分子生物学グレード水中で 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 を新しいチューブに分注する。
6. 洗浄液 1：20 μ L 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。
9. マイクロチューブ内の溶液を反応チューブ 5 mL へ移す。
10. 分子生物学グレード水を足して、容量を 1.5 mL にする。
11. 綿棒の拭き取りサンプルから HBV DNA が検出された場合、汚染が存在していることを示す。

12. 器具から HBV DNA 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 HBV DNA が検出された場合、汚染区域を 1.0%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。
13. 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 HBV DNA 濃度は、保存されている検量線または同一測定内で作成された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、IU/mL または Log IU/mL で表示される。また、結果は換算係数 3.41 を用いて Copies/mL または Log Copies/mL でも表示することができる (1 IU = 3.41 Copies)。

注：本キットは、WHO International Standard for HBV DNA³ で校正されている。換算係数 3.41 は、測定範囲における換算係数の平均値に基づいている。

(2) 測定結果の表示と判定

検体量	結果	判定
0.5 mL	Not Detected	検出されず
	< 1.00 Log IU/mL ^a	検出 (最小検出感度未満) ^c
	1.00 ～ 9.00 Log IU/mL	濃度表示される ^d
	> 9.00 Log IU/mL	定量上限を超える ^e
0.2 mL	Not Detected	検出されず
	< 1.18 Log IU/mL ^b	検出 (最小検出感度未満) ^c
	1.18 ～ 9.00 Log IU/mL	濃度表示される ^d
	> 9.00 Log IU/mL	定量上限を超える ^e

- a 10 IU/mL
b 15 IU/mL
c HBV DNA は定量化できない。
d 算出された測定結果は測定範囲内である。測定結果が数値で得られた場合、Interpretation 欄は空欄である。
e 測定単位が IU/mL の場合には、"> 1,000,000,000 IU/mL HBV DNA." と表示される。

判定上の注意

- 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、ヒト血清 (血清分離剤入り採血管で採取した血清を含む) または血漿 (EDTA、ACD 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。
- シリカ以外の凝固促進剤またはトロンビン入りの血清用採血管で採取した検体を使用した場合、正しい結果が得られない可能性がある。そのため、シリカ以外の凝固促進剤またはトロンビン入りの血清用採血管を使用しないこと。本キットには、シリカ以外の凝固促進剤またはトロンビンの入っていない血清用採血管および血清分離剤入り採血管、または血漿 (EDTA、ACD 入り) を使用すること。
- 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、施設の基準と本添付文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。
- 非常に高値の検体を測定した場合、交差汚染により、まれに他の検体が極低値の陽性結果を示すおそれがあるので、取扱いに注意すること。主な検討結果では、キャリーオーバーは 0 ～ 2% の範囲内であった。海外の治療ガイドラインによると、患者の管理に影響を及ぼすには 1 log の測定値上昇が必要である^{4, 5}。さらに、ガイドラインでは患者管理の変更条件として、2 度の連続した測定値上昇が求められている⁶。
- 本キットで「Not Detected (検出されず)」と判定された場合でも、HBV DNA が存在しないことを保証するものではない。
- 本キットは、血液、血漿または組織提供者の HBV 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 HBV 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、測定結果は他の関連する臨床所見や臨床検査等と合わせて総合的に判断すること。

【性能】

本キットを用いて、管理パネルを試料として 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、パネルの表示値との差を計算した結果、その差は -0.11 ～ 0.15 Log IU/mL の範囲内[※]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。

次に示す本キットの性能は、検体量 0.5 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

最小検出感度は、95%以上の確率で検出される HBV DNA 濃度とした。

1. 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、10 IU/mL である。
本キットの最小検出感度は、WHO International Standard for Hepatitis B Virus DNA (NIBSC code 97/746)³ を、HBV 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、Abbott m2000sp 核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー各 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 1

濃度 (IU/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
20.00	26	26	100
10.00	26	25	96
5.00	26	26	100
2.50	26	23	88
1.00	26	12	46
0.50	26	7	27
0.25	26	7	27
0.10	26	4	15

プロビット解析⁷では、95%の確率で検出される HBV DNA 濃度は 6.40 IU/mL (95%信頼区間: 3.97 ～ 13.03 IU/mL) であった。

2. 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、15 IU/mL である。検討は、検体量 0.5 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。

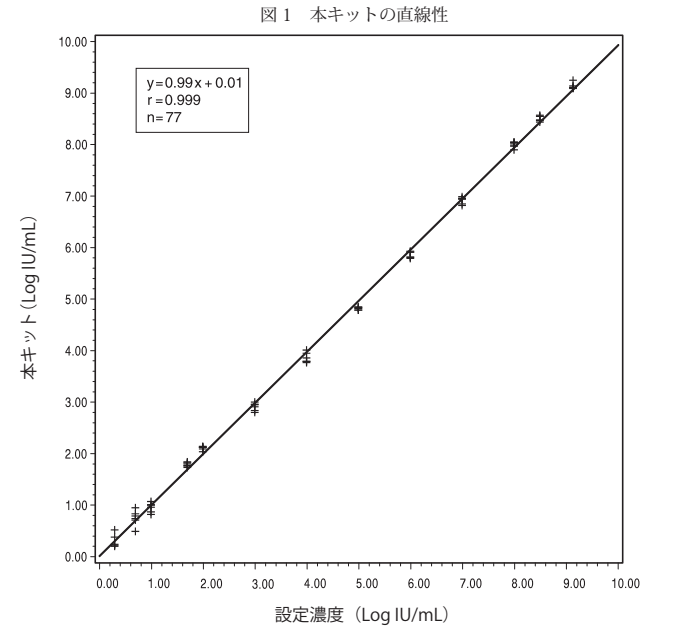
表 2

濃度 (IU/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
40.00	27	27	100
20.00	27	27	100
10.00	27	26	96
5.00	27	23	85
2.50	27	12	44
1.00	27	11	41
0.50	27	6	22
0.20	27	0	0

プロビット解析では、95%の確率で検出される HBV DNA 濃度は 10.66 IU/mL (95%信頼区間: 7.11 ～ 19.38 IU/mL) であった。

(2) 直線性

本キットの定量上限は 1,000,000,000 IU/mL であり、定量下限は最小検出感度と同等 (検体量 0.5 mL : 10 IU/mL、検体量 0.2 mL : 15 IU/mL) である。
HBV 陰性ヒト血漿で HBV 陽性検体を 9.13 ～ 0.29 Log IU/mL の範囲で希釈した 13 例のパネルを測定した。各パネルは 6 重測定 (3 重測定を計 2 回) した。0.29 Log IU/mL のパネルでは HBV が検出されなかった測定が 1 回あり、この測定はデータ解析から除外した。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。
CLSI EP6-A⁸に従って、最小二乗直線回帰分析を行った。本キットは、検討を行った血漿 HBV DNA 濃度の範囲で直線性を示した。



(3) 再現性

8 例の HBV DNA パネルを調製し、本キットの検体量 0.5 mL の再現性を評価した。高値の患者検体を陰性ヒト血漿で希釈し、パネル 1, 4, 6, 8 を調製した。高値の患者検体を陰性ヒト血清で希釈し、パネル 2, 3, 5, 7 を調製した。本キット 3 ロットを使用して、Abbott m2000sp 核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー各 3 台で測定した。パネルは、5 日間にわたり、3 重測定で計 15 回測定した。CLSI EP10-A2⁹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。
本キットのアッセイ間の標準偏差 (SD) は、HBV 濃度が 26 ～ 278,000,000 IU/mL のサンプルにおいて HBV DNA が 0.25 Log IU/mL 以下である。

表3 本キットの再現性

パネル	n	平均濃度 (IU/mL)	平均濃度 (Log IU/mL)	測定内 SD ^a	測定間 SD ^a	アッセイ間 SD ^{a,b}
1	45	26	1.41	0.19	0.00	0.19
2	45	210	2.32	0.07	0.04	0.08
3	45	3,017	3.48	0.06	0.05	0.08
4	45	24,198	4.38	0.06	0.06	0.08
5	45	298,157	5.47	0.09	0.00	0.09
6	45	2,425,989	6.38	0.06	0.07	0.09
7	45	34,815,912	7.54	0.05	0.08	0.09
8	45	277,687,004	8.44	0.04	0.05	0.06

a 標準偏差を Log IU/mL で示す。

b アッセイ間 SD は、測定内成分と測定間成分を含んでいる。

(4) 特異性

本キットにおける特異性は、99.5%以上である。HBV 陰性血清検体 59 例および HBV 陰性血漿検体 58 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、Abbott m2000sp 核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー各 1 台で測定した。HBV DNA は検出されず、特異性は 100% (117/117) であった (二項分布に基づく 95%信頼区間: 96.90 ~ 100.00%)。

(5) キャリーオーバー

陰性サンプルと陰性サンプルの間に高コピー HBV 陽性サンプルを測定し、キャリーオーバーの検討を 3 回行なった。検討で使用した高コピー HBV 陽性サンプルは 8 log IU/mL を超えていた。これらの検討結果では、キャリーオーバーは 0 ~ 2% の範囲内であった。LoD 以上のみをキャリーオーバーとした場合には、全体のキャリーオーバーの割合は 0.63% (95% 信頼区間 0.08 ~ 2.24%) であった。これら 3 回の検討の結果を次に示す。

表4 本キットのキャリーオーバー

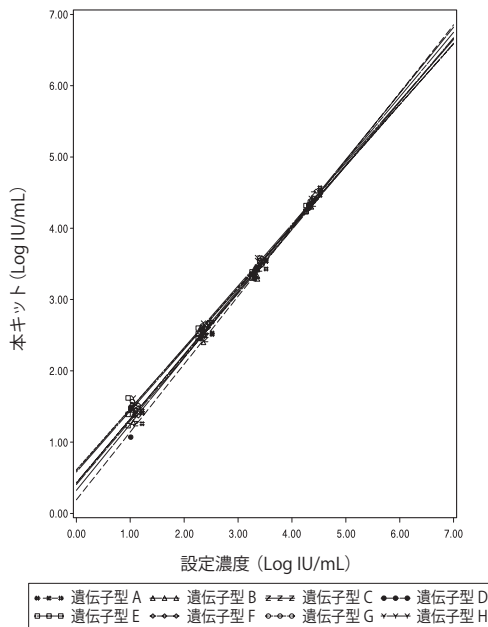
検討	測定 回数	陰性 サンプル数	検出数	検出率 (%)	検出数 (>LoD)	検出率 (%) (>LoD)	検出率の 95%信頼区間
1	5	100	1	1.00	0	0.00	(0.00, 3.62)
2	5	100	2	2.00	2	2.00	(0.24, 7.04)
3	6	120	2	1.67	0	0.00	(0.00, 3.03)
全体	16	320	5	1.56	2	0.63	(0.08, 2.24)

(6) 各 HBV 遺伝子型検体の評価

HBV 遺伝子型判定済み検体を用いた本キットの性能を、2 種類の試験で評価した。

- 1 つ目の試験では、遺伝子型 A ~ H 各 1 検体の合計 8 検体を、4.47 Log IU/mL、3.47 Log IU/mL、2.47 Log IU/mL、1.17 Log IU/mL になるように希釈し、希釈直線性試験を行なった。各遺伝子型、各濃度について 3 重測定を行なった。主な結果の最小二乗直線回帰分析を次に示す。相関係数は、0.995 ~ 0.999 であった。

図2 本キットの各遺伝子型の評価 (希釈直線性)

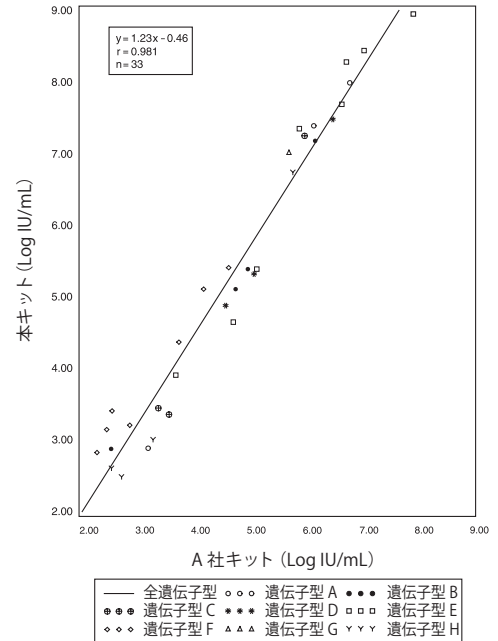


- 2 つ目の試験では、各遺伝子型を含む合計 33 検体を測定した。結果を次に示す。また、最小二乗回帰分析を用いた本キットと A 社キットの測定結果の相関を示す。検討は、CLSI EP9-A2¹⁰ に従って行った。

表5

HBV 遺伝子型	検体数	検出数	検出率 (%)
A	3	3	100
B	4	4	100
C	3	3	100
D	3	3	100
E	8	8	100
F	7	7	100
G	1	1	100
H	4	4	100
合計	33	33	100

図3 本キットの各遺伝子型の評価



(7) 測定範囲

検体量 0.5 mL の場合は、10 ~ 1,000,000,000 IU/mL (1.00 ~ 9.00 Log IU/mL)、検体量 0.2 mL の場合は、15 ~ 1,000,000,000 IU/mL (1.18 ~ 9.00 Log IU/mL) である。測定範囲の下限は、最小検出感度である。

(8) 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

- 本キットと A 社キットとの間の相関性を、103 例の陽性患者検体を対象に検討した。両測定間の相関式は、 $y = 0.96x - 0.04$ 、相関係数 $r = 0.966$ と良好なものであった。
- 本キットと B 社キットとの間の相関性を、83 例の国内検体を対象に検討した。両測定間の相関式は、 $y = 0.99x - 0.76$ 、相関係数 $r = 0.916$ と良好なものであった。
- 本キットと C 社キットとの間の相関性を、33 例の国内検体を対象に検討した。両測定間の相関式は、 $y = 0.93x - 0.08$ 、相関係数 $r = 0.916$ 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 WHO International Standard for HBV DNA (NIBSC code 97/746)³ を用いている。測定結果は IU/mL 又は Copies/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、また口によるピベ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 Laboratories¹¹、OSHA Standards on Bloodborne Pathogens¹²、CLSI Document M29-A3¹³、または他の適切なバイオセーフティ基準¹⁴ 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。
- ・本測定で使用する試薬類には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがある。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。酸との接触により非常に毒性の強いガスが発生する。内容物および容器は適切な方法で廃棄すること。
- ・洗浄液 2 の調製には、95 ～ 100% エタノールのみを使用すること。変性剤を含有するエタノールは使用しないこと。
- ・安全上の注意については、使用する機器の取扱説明書を参照のこと。
- * ・本キット（製品番号:2G34-98）、キャリブレーション（製品番号:2G34-78）、コントロール（製品番号:2G34-88）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
 - ・ アジ化ナトリウム
 - ・ 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）



警告

H317	アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ
H332	酸との接触により非常に毒性の強いガスが発生する。
P261	ミスト / 蒸気 / スプレーの吸入を避けること。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P272	汚染された作業衣は作業場から出さないこと。
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。
P302+P352	皮膚に付着した場合：多量の水で洗うこと。
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。
 - ・ DNA ・核酸抽出試薬のライシス溶液
 - ・ DNA ・核酸抽出試薬の洗浄液 1



警告

H302+H332	グアニジンチオシアン酸塩を含む 飲み込んだり吸入すると有害
H412	長期継続的影響により水生生物に有害
H302	酸との接触により非常に毒性の強いガスが発生する。
P261	ミスト / 蒸気 / スプレーの吸入を避けること。
P264	取扱後は手をよく洗うこと。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P271	屋外または換気の良い場所でのみ使用すること。
P273	環境への放出を避けること。
P301+P312	飲み込んだ場合：気分が悪い時は医師に連絡すること。
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。
P312	気分が悪い時は医師に連絡すること。
P330	口をすすぐこと。
P501	内容物 / 容器を適切な方法で廃棄すること。

- ・ DNA ・核酸抽出試薬の磁性粒子溶液



警告

H302	グアニジン塩酸塩を含む 飲み込むと有害
H315	皮膚刺激
H319	強い眼刺激
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P264	取扱後は手をよく洗うこと。
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。
P301+P312	飲み込んだ場合：気分が悪い時は医師に連絡すること。
P302+P352	皮膚に付着した場合：多量の水で洗うこと。
P332+P313	皮膚刺激が生じた場合：医師の診断 / 手当てを受けること。
P330	口をすすぐこと。
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。

- * ・プロテアーゼ K PCR グレード（製品番号:3L78-60）には次の物質が含まれている。
 - ・ プロテアーゼ K（CAS：39450-01-6）



危険

H334	吸入するとアレルギー、喘息または呼吸困難を起こすおそれ
H317	アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ
P284	[換気が不十分な場合] 呼吸用保護具を着用すること。
P261	ミスト / 蒸気 / スプレーの吸入を避けること。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡を着用すること。
P272	汚染された作業衣は作業場から出さないこと。
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。
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。
P302+P352	皮膚に付着した場合：多量の水で洗うこと。
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。
P342+P311	呼吸に関する症状が出た場合：医師に連絡すること。
P501	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および保存されたヒト血清または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ヌクレアーゼ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。DNA を扱う場合は、常に無菌操作で行うこと。
- ・PCR などの増幅反応は、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、偽陽性となる可能性がある。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。
- ・本キットの測定には、施設内に 2 箇所の専用区域を設けること。
 - ・サンプル（検体、コントロール、キャリブレーション）の調製、および調製された検体、コントロール、キャリブレーションの 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。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置は、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、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の分注を行う。**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、ビペット、ビペットチップ、ボルテックスミキサーは、必ず区域内にとどめ、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、検体調製区域に持ち出さないこと。**
- ・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、キャリブレーション、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、本添付文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。
- ・すべての検体、試薬類、および他の潜在的生物学的危険物質は、適切な法規等に準い除染および廃棄すること^{15,16}。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。
- ・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。

- ・DNase 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に注意すること。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。
 - ・完全に、または一部使用した 200 μ L および 1,000 μ L の使い捨てピペットチップトレイは、各測定前にチップがすべて充填されたトレイと交換すること。
 - ・DNA・核酸抽出試薬またはプロテアーゼ K PCR グレードは、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 DNA・核酸抽出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、DNA・核酸抽出試薬の Product Information およびプロテアーゼ K PCR グレードの Package insert に従って廃棄すること。
- ・新しい増幅・検出用試薬パックと内部コントロールのバイアルは、使用するまで -10℃以下で保存すること。
- ・一度使用し、**再使用する増幅・検出用試薬パック**は、キャップを閉め、真つすぐに**立てた状態で**遮光して 2～8℃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 14 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 2～8℃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。**
- ・新しい増幅・検出用試薬パックあるいは**再使用する増幅・検出用試薬パック**を使用する際は、増幅・検出用試薬パックがサンプルやコントロールに直接接触しないように注意すること。
- ・陰性および陽性コントロールは、-10℃以下で保存すること。
- ・キャリブプレート A および B は、-10℃以下で保存すること。
- ・DNA・核酸抽出試薬は、15～30℃で保存すること。
- ・プロテアーゼ K PCR グレードは、2～8℃で保存すること。
- ・本キット、コントロール、キャリブプレートは、ドライアイス中で保存して輸送される。

(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す可能性がある。増幅産物により検査室が汚染される可能性があるため、各工程の前後には、廃棄物を慎重に取り扱い密封すること。96 ウェル オプティカル リアクションプレートはチャック付きビニール袋に入れて密封し廃棄すること。
注：DNA・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¹¹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。
- ・本測定で使用する試薬類には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがある。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。アジ化ナトリウムは、鉛管、銅管と反応して爆発性の金属アジドを生成することがあるので、廃棄する場合には、大量の水と共に流すこと。
- ・すべての検体、試薬類、他の潜在的汚染源および潜在的感染性物質は、適切な法規等¹⁴に従い除染および廃棄すること。

【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】

アキュゼン m-HBV	製品番号 2G34-98 : 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	0.918 mL × 4
・ 酵素試薬	0.078 mL × 4
・ 活性化試薬	0.778 mL × 4
○ 内部コントロール	0.2 mL × 4

*【主要文献】

1. Boom R, Sol CJA, Heijntink R, et al. Rapid purification of hepatitis B virus DNA from serum. *J Clin Microbiol* 1991;29(9):1804–11.
2. Read SJ. Recovery efficiencies of nucleic acid extraction kits as measured by quantitative LightCycler PCR. *J Clin Pathol: Mol Pathol* 2001;54:86–90.
3. Saldanha J, Gerlich W, Lelie N, et al. An International Collaborative Study to Establish a WHO International Standard for HBV DNA Nucleic Acid Amplification Technology Assay. WHO Expert Committee on Biological Standardization: Fiftieth Report, Geneva, Switzerland; 1999. WHO Technical Report Series No. 904;BS/99.1917.
4. American Association for the Study of Liver Diseases Practice Guideline: Chronic Hepatitis B. *Hepatology*. 2007;45(2):507–39.
5. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: Management of Hepatitis B. *Ann Intern Med*. 2009;150(2):104–10.
6. Virologic Monitoring of Hepatitis B Virus Therapy in Clinical Trials and Practice: Recommendations for a Standard Approach. *Gastroenterology*. 2008;134:405–15.
7. Agresti A. *Categorical Data Analysis*. New York, NY: John Wiley and Sons; 1990.
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline - NCCLS Document EP6-A, NCCLS:Wayne, PA, 2002.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods; Approved Guideline - Second Edition. NCCLS Document EP10-A2. NCCLS: Wayne, PA, 2002.
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition. NCCLS Document EP9-A2, NCCLS Wayne, PA, 2002.
- * 11. 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.]
12. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline - Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
14. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2004.

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 2019