

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 3 版）
※ 2015 年 9 月改訂（第 2 版）

製造販売承認番号 22400AMX01414000

パピローマウイルス核酸キット
アキュジーン® m-HPV

【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、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。
- 5. 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
 - HPV PCR フォワードプライマー 1
 - HPV PCR フォワードプライマー 2
 - HPV PCR フォワードプライマー 3
 - HPV PCR リバースプライマー 1
 - HPV PCR リバースプライマー 2
 - HPV 16 PCR プローブ
 - HPV 18 PCR プローブ
 - HPV 31 PCR プローブ
 - HPV 33 PCR プローブ
 - HPV 35 PCR プローブ
 - HPV 39 PCR プローブ
 - HPV 45 PCR プローブ
 - HPV 51 PCR プローブ
 - HPV 52 PCR プローブ
 - HPV 56 PCR プローブ
 - HPV 58 PCR プローブ
 - HPV 59 PCR プローブ
 - HPV 66 PCR プローブ
 - HPV 68 PCR プローブ
 - dNTP ※ Mix
 - ※ 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：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
 - ・酵素試薬
 - AmpliTaq Gold ※※ DNA ポリメラーゼ
 - ※※ 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）
- 注：増幅・検出用試薬パックの構成試薬（酵素試薬、オリゴヌクレオチド試薬、活性化試薬）は一度しか使用できない。残った試薬は廃棄すること。

【使用目的】

子宮頸管部細胞中の 14 種類のハイリスク型ヒトパピローマウイルス DNA（HPV DNA）（16 型、18 型、31 型、33 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型、58 型、59 型、66 型及び 68 型）の検出と 16 型、18 型とその他 12 種類のハイリスク型ジェノタイプの判別（パピローマウイルス感染症の診断の補助）

【測定原理】

本品は、PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応法）による増幅及び核酸ハイブリダイゼーションを用いて、検体中の 14 種類のハイリスク型ジェノタイプ（16 型、18 型、31 型、33 型、35 型、39 型、45 型、51 型、52 型、56 型、58 型、59 型、66 型及び 68 型）の HPV DNA を検出するキットであり、以下の 5 つの主な反応ステップから成り立っている。

なお、本品は、16 型、18 型とその他の 12 種類のハイリスク型を判別することが可能である。

- 1) 検体からの標的 DNA の抽出・精製
核酸抽出装置又は用手法にて、所定の操作を行い、検体中の標的 DNA を抽出・精製する。
- 2) ポリメラーゼ連鎖反応（PCR）による標的 DNA の増幅
標的二本鎖 DNA 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、ハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA に特異的に結合する HPV PCR フォワードプライマー 1、2 又は 3 と HPV PCR リバースプライマー 1 又は 2 をそれぞれの標的とする配列に結合させ、dNTP の存在下 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 HPV 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一本鎖の各々のハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA に特異的に結合する蛍光標識した各ジェノタイプに特異的な HPV PCR プローブをハイブリダイズさせる。
- 4) 蛍光強度の測定
ハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA に結合した各プローブからの蛍光強度を、16 型は測定波長 558 nm、18 型は測定波長 586 nm、その他のハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA は測定波長 520 nm で同時に測定する。（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 682 nm で測定する。）
- 5) 判定
標的とする配列に結合したプローブの蛍光が検出されるサイクル数より、検体中のハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA を検出する。

【操作上の注意】

（1）測定試料の性質、採取法

検体の採取

- ・検体は PreservCyt Solution (Cytoc Corporation)、SurePath Preservative Fluid (TriPath Imaging, Inc.) に採取するか、またはアキュジーン HPV 検体採取キット（製品番号：4N73）を使用して採取すること。SurePath に採取した検体については、SurePath バイアルからのオリジナル検体、または細胞診後の沈渣いずれも使用できる。PreservCyt Solution、SurePath Preservative Fluid の使用に関しては、それぞれの製造元の指示に従うこと。アキュジーン HPV 検体採取キットを使用して子宮頸部検体を採取する際は、アキュジーン HPV 検体採取キットの添付文書の指示に従うこと。

検体の輸送と保存

- ・PreservCyt Solution に採取した子宮頸部検体は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で輸送することができ、15 ～ 30℃で採取後 4 ヶ月間まで、2 ～ 8℃または -10℃以下で採取後 6 ヶ月間まで保存することができる。
- ・SurePath Preservative Fluid に採取した子宮頸部検体（SurePath バイアルからのオリジナル検体、または細胞診後の沈渣）は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で輸送することができ、15 ～ 30℃で採取後 2 ヶ月間まで、2 ～ 8℃または -10℃以下で採取後 6 ヶ月間まで保存することができる。
- ・アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した子宮頸部検体は、2 ～ 30℃で輸送することができ、2 ～ 30℃で 14 日間まで、-10℃以下で 90 日間まで保存することができる。凍結した検体の融解は 2 ～ 30℃で行うこと。検体は 4 回を超えて凍結融解しないこと。
- ・輸送に際しては、保存期間と保存温度を順守すること。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

子宮頸部検体中に含まれる可能性のある物質が、本キットの測定に与える影響を検討した。ハイリスク型 HPV 陰性および陽性サンプルに次の表に示す物質を添加した場合と、添加しない場合の測定を行った。血液および粘液については PreservCyt solution に 5%濃度となるよう添加し、表に示したその他の物質については 0.5%となるように添加した。いずれの物質においても測定値への影響は認められなかった。

表 1 検討を行った潜在的妨害物質

血液	Monistat-1 Day or Night Treatment
粘液	Norforms デオドラント座剤
クロトリマゾール膈クリーム（2%）	Terazol-3 膈クリーム
Delfen 避妊用膈発泡剤	Vagi-gard ポビドンヨード薬用灌水
Gynecort 1%ヒドロコルチゾン	Vagisil かゆみ止めクリーム
アセボネートクリーム	Vagisil 潤滑剤
K-Y ゼリー	Yeast Gard ホメオパシー膈座剤
Lubrin	Zovirax クリーム（アキシロビル）5%
MetroGel-Vaginal	
硝酸ミコナゾール座剤	

交差反応性

表 2 に示す細菌、ウイルス、真菌と本キットとの交差反応性について検討した。これらには 15 種類のローリスク型 HPV ジェノタイプと女性の肛門生殖部で見つかる微生物が含まれている。また、ヒト細胞 DNA についても交差反応性を検討した。これらの交差反応性検討対象物を表 2 に示す濃度（サンプル 0.4 mL あたり）となるように HPV 陰性サンプルに添加した。注釈のついているものを除き、精製した核酸を使用している。検討したいずれの微生物および物質においても交差反応性は認められなかった。

表 2 交差反応性を検討した微生物、物質

微生物、物質	濃度	微生物、物質	濃度
<i>Bacteroides fragilis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 6	10 ⁷ genomic copies
<i>Candida albicans</i> ¹	10 ⁷ CFU	HPV 11	10 ⁷ genomic copies
<i>Chlamydia trachomatis</i> ¹	10 ⁷ EBs	HPV 13	10 ⁷ genomic copies
<i>Corynebacterium genitalium</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 26	10 ⁷ genomic copies
<i>Enterobacter cloacae</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 30	10 ⁷ genomic copies
<i>Enterococcus faecalis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 32	10 ⁷ genomic copies
<i>Escherichia coli</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 40	10 ⁷ genomic copies
<i>Gardnerella vaginalis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 42	10 ⁷ genomic copies
<i>Haemophilus ducreyi</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 43	10 ⁷ genomic copies
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 44	10 ⁷ genomic copies
<i>Mycoplasma genitalium</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 53	10 ⁷ genomic copies
<i>Mycoplasma hominis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 54	10 ⁷ genomic copies
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 55	10 ⁷ genomic copies
<i>Neisseria meningitidis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 57	10 ⁷ genomic copies
<i>Proteus mirabilis</i>	10 ⁷ genomic copies	HPV 61	10 ⁷ genomic copies
<i>Staphylococcus aureus</i>	10 ⁷ genomic copies	HSV-1	10 ⁷ genomic copies
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	10 ⁷ genomic copies	HSV-II	10 ⁷ genomic copies
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	10 ⁷ genomic copies	HBV	10 ⁷ genomic copies
<i>Trichomonas vaginalis</i>	10 ⁶ genomic copies	HCV ²	10 ⁶ viral RNA copies
<i>Ureaplasma urealyticum</i>	10 ⁷ genomic copies	HIV-1	10 ⁶ viral RNA copies
ヒト細胞 DNA	10 ⁷ genomic copies		

1 培養した微生物 2 臨床検体

(3) その他

本キットは、Abbott *m*2000rt 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

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、(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-HPV・コントロール（製品番号：2N09-88）
 - 陰性コントロール（0.5 mL × 12）

（主な含有物：緩衝液、β グロブリンの配列を持つ非感染性 DNA、DNA 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
 - 陽性コントロール（0.5 mL × 12）

（主な含有物：緩衝液、HPV および β グロブリンの配列を持つ非感染性 DNA、DNA 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
- AccuGene m-HPV・コントロールは本キットに対してのみ使用すること。
- 注：陰性コントロールおよび陽性コントロールは一度しか使用できない。残ったコントロールは廃棄すること。
- m*2000 HPV アプリケーションディスク（製品番号：4N05）

用法での検体調製（プロトコル I）用

検体調製

- 「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」を参照のこと。
- オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
- 接着カバーアブリケータ（製品番号：9K32-01）

試薬調製

- 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）
- スブラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）
- 分注量 20 ～ 1000 μL の較正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1000 μL のピペット用フィルター付きピペットチップ
- 使い捨てで DNase フリーのチューブあるいは容器

Abbott *m*24sp 自動核酸抽出装置（プロトコル II）用

検体調製

- Abbott *m*24sp 自動核酸抽出装置（アキュジーン m-HPV を測定するために必要なスク립トが入っており、*m*24sp データベース バージョン 3.0 以上のもの）
- DNA・核酸抽出試薬（Abbott *m*Sample Preparation System_{DNA}）（製品番号：6K12）
 - ライシス溶液（*m*Lysis_{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（*m*Wash 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（*m*Wash 2_{DNA}）

（主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水）
 - 溶出液（*m*Elution Buffer_{DNA}）

（主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水）
 - 磁性粒子溶液（*m*Microparticles_{DNA}）

（主な含有物：磁性粒子、グアニジン塩酸塩）
- 注：1 キットで 192 の HPV サンプルを調製することができる。
- 分注量 20 ～ 1000 μL の較正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1000 μL のピペット用フィルター付きピペットチップ
- サンプルチューブ（詳細は (3) 測定（操作）法（参考）操作法 (2) プロトコル II 参照のこと。）

- ディスポーザブルチップ 1 mL（製品番号：4J71-10）
- ディスポーザブルチップ 200 μL（製品番号：4J71-17）
- ボルテックスミキサー
- 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）
- オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
- 接着カバーアブリケータ（製品番号：9K32-01）
- 96 ウェル ディープウェルプレート（製品番号：4J71-30）
- スブラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）
- インプットサンプルラック 13 mm
- 1.5 mL 反応チューブおよびアウトプットチューブ（スクリュキャップチューブ 1.5 mL 製品番号：4J71-50 あるいは同等品）

試薬調製

- 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）
- スブラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）
- 分注量 20 ～ 1000 μL の較正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1000 μL のピペット用フィルター付きピペットチップ
- 使い捨てで DNase フリーのチューブあるいは容器

Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置（プロトコル III）用

検体調製

- Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置（ソフトウェアバージョン 3.0 以上）
- DNA・核酸抽出試薬（Abbott *m*Sample Preparation System_{DNA}）（製品番号：6K12）
 - ライシス溶液（*m*Lysis_{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（*m*Wash 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（*m*Wash 2_{DNA}）

（主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水）
 - 溶出液（*m*Elution Buffer_{DNA}）

（主な含有物：ヌクレアーゼ フリー水）
 - 磁性粒子溶液（*m*Microparticles_{DNA}）

（主な含有物：磁性粒子、グアニジン塩酸塩）
- 注：1 キットで 192 の HPV サンプルを調製することができる。

- 反応チューブ 5 mL（製品番号：4J71-20）
- 分注量 20 ～ 1000 μL の較正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1000 μL のピペット用フィルター付きピペットチップ
- サンプルチューブ（詳細は (3) 測定（操作）法（参考）操作法 (3) プロトコル III 参照のこと。）
- ディスポーザブルチップ 1 mL（製品番号：4J71-10）
- ディスポーザブルチップ 200 μL（製品番号：4J71-17）
- ボルテックスミキサー
- 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）
- 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 アブリケータ（製品番号：9K32-01）
- スブラッシュフリー 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（製品番号：4J71-80）
- m*2000sp 200 mL 試薬容器（製品番号：4J71-60）
- 96 ウェル ディープウェルプレート（製品番号：4J71-30）
- 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）
- インプットサンプルラック 13 mm

Abbott *m*2000rt アナライザー用

- バージョン 3.0 以上の Abbott *m*2000rt アナライザー用システムソフトウェア
- m*2000rt 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

- 安全キャビネット（感染性物質を取り扱うための基準を満たしているもの）
- チャック付きビニール袋
- DNase フリー水※
- マイクロチューブ※
- 綿棒※
- ※ 注：施設汚染のモニタリングに使用する。(3) 測定（操作）法 5. 汚染のモニタリングを参照のこと。

(3) 測定（操作）法

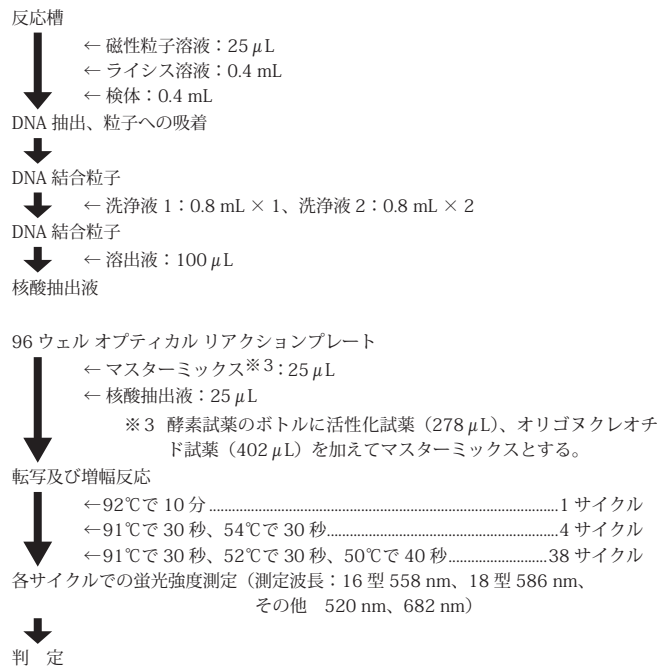
核酸抽出法、又は核酸抽出装置として「Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置」又は弊社の指定した同等品を用いること※ 1。使用する核酸抽出法又は核酸抽出装置に応じて試薬を別途用意すること。

- 検体 0.4 mL から、使用する核酸抽出法（又は装置）にて、所定の操作を行い、核酸抽出液を得る。
- 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 25 μL 及び核酸抽出液 25 μL を分注する。
- 専用の遺伝子解析装置「Abbott *m*2000rt 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、以下の条件で PCR 反応※ 2 を行い、16 型は測定波長 558 nm、18 型は測定波長 586 nm、その他のハイリスク型ジェノタイプ HPV DNA は測定波長 520 nm 及び内部コントロールは測定波長 682 nm における蛍光強度を測定する。
- 標的とする配列に結合したプローブの蛍光が検出されたサイクル数より、検体中のハイリスク型ジェノタイプの HPV DNA 検出結果を判定する。

※ 2 PCR 反応条件

92℃で 10 分.....	1 サイクル
91℃で 30 秒、54℃で 30 秒.....	4 サイクル
91℃で 30 秒、52℃で 30 秒、50℃で 40 秒.....	38 サイクル

核酸抽出装置「Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置」、DNA・核酸抽出試薬、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を参照すること。

(参考) 操作法

1. 測定手順

- 本キットは用手法あるいは Abbott m24sp 自動核酸抽出装置または Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置により核酸抽出を行い、Abbott m2000rt アナライザーで増幅および検出を行う。詳しい操作法は「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」および各機器の取扱説明書を参照のこと。
- 初めて測定を行う場合、サンプル調製プロトコルを含む適切なデータベースを Abbott m24sp 自動核酸抽出装置に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、Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。
- 初めて測定を行う場合、m2000 HPV 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 Abbott m2000rt アナライザーおよび Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置に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 Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
- 本添付文書には 3 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 m24sp 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。
 - 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 III** に従うこと。
- 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。
- コントロールキットのロットと、増幅・検出用試薬パックのロットはロットの組み合わせに関係なく使用できる。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。
- 増幅・検出用試薬パック（酵素試薬、オリゴヌクレオチド試薬および活性化試薬）、およびコントロールは使い捨てのため、使用した後は廃棄すること。新たに本キットの測定を行う際には新しい試薬容器および反応チューブを使用すること。各測定の最後には残っているこれらの試薬類を次に示す取扱説明書に従ってすべて廃棄すること：Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書および「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」。
- 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、コントロールを必ず使用すること。詳細は、**4. 陰性コントロールと陽性コントロール**を参照のこと。
- 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。**
- ピペッティングには、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単回使用すること。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。
- すべてを使用、または一部を使用した 200 μL と 1000 μL の使い捨てチップトレイは、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置あるいは Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の操作開始前に、チップがすべて充填されたトレイと交換すること。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置あるいは Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照のこと。
- 増幅産物のモニタリングについての詳細は、**5. 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、試薬、コントロールがこぼれた場合は、飛散した場所を洗浄液で拭き取った後、1.0% (v/v) 次亜塩素酸ナトリウムやその他の適切な消毒剤で拭き取り、清掃および除染すること。

(1) プロトコル I

(用手法と Abbott m2000rt アナライザーを使用する場合)

- 検体調製を行う前に【使用上又は取扱い上の注意】を参照のこと。
- 各検体をボルテックスミキサーで 15 ～ 20 秒間攪拌する。攪拌後、各バイアルを作業台の上で軽く叩き、内容物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。すぐに各検体 400 μL を反応用のチューブに分注する。
注：SurePath に採取した検体の細胞診後の沈渣が約 2.8 mL であることを確認する。検体の量は攪拌、分注する前に SurePath 保存液で 6 mL に調製すること。
- コントロールを 15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解する。詳細は、**4. 陰性コントロールと陽性コントロール**を参照のこと。
 - 使用前に各コントロールを 15 ～ 20 秒ボルテックスミキサーで攪拌すること。攪拌後、各バイアルを作業台の上で軽く叩き、内容物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。
 - コントロールの融解後は、2 ～ 8℃ で 24 時間まで保存することができる。
- 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。注：1 回の測定につき最高 96 サンプルの処理が可能である。
24 サンプルまでの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 1 個、DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。
25 ～ 48 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 2 個、DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。
49 ～ 72 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 3 個、磁性粒子溶液とライシス溶液各 1 本、洗浄液 1 および洗浄液 2 および溶出液各 2 本を使用する。
73 ～ 96 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 4 個、磁性粒子溶液とライシス溶液各 1 本、洗浄液 1 および洗浄液 2 および溶出液各 2 本を使用する。

検体調製区域

- 検体の調製方法については、「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」の抽出プロトコルの項を参照のこと。
注：DNA・核酸抽出試薬はキャップを固く締めて 15 ～ 30℃ で保管した場合、14 日間以内に 3 回まで、合計 48 サンプルに使用することができる。DNA・核酸抽出試薬を再度使用する場合には、洗浄液 2 のボトルにエタノールが添加済みであることを表示すること。一度調製した後は洗浄液 2 のボトルにエタノールを追加しないこと。DNA・核酸抽出試薬を再度使用する場合には、すべての DNA・核酸抽出試薬の試薬から外したキャップを清潔な吸収剤の上に保管し、測定後に再度キャップを締めること。
注：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および核酸抽出液の分注（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。

増幅区域

- Abbott m2000rt アナライザーの電源を入れ、初期化を行う。測定を開始する前の初期化には 15 分を要する。Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
- Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照し、テストオーダーを作成する。プロトコルの画面で適切なアプリケーションファイルを選択する。

試薬調製区域

- 注：すべての試薬の調製は、試薬調製区域で行うこと。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。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、試薬パックが垂直になるように持って作業台の上で軽く叩き、内容物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。
 - 次の各試薬を確認する。
 - 活性化試薬（試薬 1）：透明ボトル、緑色キャップ。
 - オリゴヌクレオチド試薬（試薬 2）：黒色ボトル、白色キャップ。
 - 酵素試薬（試薬 3）：透明ボトル、白色キャップ。
 - キャップを外し、廃棄する。
 - 試薬専用ピペットを使用し、活性化試薬（試薬 1）278 μL とオリゴヌクレオチド試薬（試薬 2）402 μL 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。ピペットを使い穏やかに 6 回吸引・吐出をくり返し、酵素試薬ボトル内の反応液（マスターミックス）を混和する。泡が生じないように注意する。
 - 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 2 個を使用し、マスターミックスを調製すること。
 - 49 ～ 72 サンプルの処理を行う場合は、増幅・検出用試薬パック 3 個を使用し、マスターミックスを調製すること。
 - 73 ～ 96 サンプルの処理を行う場合は、増幅・検出用試薬パック 4 個を使用し、マスターミックスを調製すること。注：Abbott m2000rt アナライザーのプロトコル（ステップ 14）は、活性化試薬を酵素試薬ボトルに添加（ステップ 7）してから、1 時間以内に開始すること。
- マスターミックスを酵素試薬ボトルから使い捨ての DNase フリーチューブに分注し、ピペットを使い穏やかに 6 回吸引・吐出をくり返して混和する。泡が生じないように注意する。

9. 汚染を避けるため、マスターミックスやサンプルを分注する前に、96 ウェル オプティカル リアクションプレートにスブラッシュフリー サポートベースにセットする。
 - ・96 ウェル オプティカル リアクションプレートの底が蛍光物質で汚染されていると、本キットの測定に影響を及ぼす可能性がある。汚染を最小限に抑えるため、96 ウェル オプティカル リアクションプレートの保持または移動の際はスブラッシュフリー サポートベースを使用すること。
10. 専用ピペットを使用し、マスターミックス 25 μ L を 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの各ウェルに、コントロールを含めた測定数分だけ分注する。較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 25 μ L が分注されていることを目視で確認する。

注：活性化したマスターミックスの残りは、十分量があればキャップを締め -10℃ 以下で保管し、14 日間まで再度使用できる。活性化したマスターミックスは 3 回を超えて凍結融解しないこと。凍結したマスターミックスは Abbott *m2000rt* アナライザーでの増幅と検出の開始前 1 時間以内に室温で融解すること。
11. 96 ウェル オプティカル リアクションプレートにスブラッシュフリー サポートベースごと検体調製区域に移動する。

検体調製区域

12. 検体調製区域内で、核酸抽出液 25 μ L をスブラッシュフリー サポートベース上の 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。**各ウェルに計 50 μ L が分注されていることを目視で確認する。
 13. 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にオプティカル 接着カバー (Abbott Optical Adhesive Cover) で密封する。
- #### 増幅区域
14. 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にセットし、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。測定が完了すると、測定結果が Abbott *m2000rt* アナライザー上に報告される。詳細は【測定結果の判定法】を参照のこと。
 15. Abbott *m2000rt* アナライザーによる増幅と検出のプロトコルが終了した後、96 ウェル オプティカル リアクションプレートを取り外し、【使用上又は取扱い上の注意】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。

測定後の手順

1. 「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」の清掃の項を参照する。
2. Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、次に使用する前にスブラッシュフリー サポートベースを清掃する。

(2) プロトコル II

- (Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置と Abbott *m2000rt* アナライザーを使用する場合)
- ・検体調製を行う前に【使用上又は取扱い上の注意】を参照のこと。
1. 各検体をボルテックスミキサーで 15 ～ 20 秒間攪拌する。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。すぐに各検体を反応用のチューブに移す。

注：SurePath に採取した検体の細胞診後の沈渣が約 2.8 mL であることを確認する。検体の量は攪拌、分注する前に SurePath 保存液で 6 mL に調製すること。

 - ・PreservCyt Solution および SurePath Preservative Fluid に採取した検体は、Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置によって 400 μ L の検体が確実に反応チューブに分注されるようにするため：
 - ・マスターミックスチューブあるいはアキュジーン HPV 検体採取キットの検体チューブをサンプルチューブとして使用する場合、各検体最低 500 μ L を分注する。
 - ・反応チューブ 5 mL あるいは 13 mm の丸底の非自立型（ノンカート）チューブをサンプルチューブとして使用する場合、各検体最低 700 μ L を分注する。 - ・アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体は、キャップを取り直接 Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置にセットする（検体を分注する必要はない）。
2. コントロールを 15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解する。詳細は、4. 陰性コントロールと陽性コントロールを参照のこと。
 - ・使用前に各コントロールを 15 ～ 20 秒ボルテックスミキサーで攪拌すること。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。
 - ・コントロールの融解後は、2 ～ 8℃ で 24 時間まで保存することができる。
3. 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。

注：1 回の測定につき最高 24 サンプルの処理が可能である。24 サンプルまでの測定には陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 1 個、および DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。

検体調製区域

4. Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、コントロールと患者検体を *m24sp* サンプルラックにセットする。

注意：インプットサンプルラックは 13 mm のみを使用すること。サンプルは間隔を空けてセットしないこと。インプットサンプルラック 13 mm に検体とコントロールをセットする際は、1 個目のサンプルラックの 3 番目のポジションから順に間隔を空けずにセットする。サンプルラックのポジションがすべて埋まった後に次のサンプルラックを使用する。検体やコントロールは飛散しないよう注意してサンプルラックにセットす

- る。各チューブの底がサンプルラック内部の底に接しており、サンプルラックに確実にセットされていることを確認する。チューブをセットしたサンプルラックを Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置のワークテーブルの所定の位置の右端に、2 個目のサンプルラックがある場合は 1 番目のラックの左側に間隔を空けずにセットする。
5. DNA・核酸抽出試薬を開封する。DNA・核酸抽出試薬の Product Information に従って、洗浄液 2 のボトルに 95 ～ 100% エタノールを 70 mL 添加して洗浄液 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。DNA・核酸抽出試薬の各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認められた場合は、結晶が消失す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。

注：DNA・核酸抽出試薬はキャップを固く締めて 15 ～ 30℃ で保管した場合、14 日間以内に 3 回まで、合計 48 サンプルに使用することができる。DNA・核酸抽出試薬を再度使用する場合には、洗浄液 2 のボトルにエタノールが添加済みであることを表示すること。一度調製した後は洗浄液 2 のボトルにエタノールを追加しないこと。
 6. Abbott *m24sp* 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。プロトコル画面で、使用するアウトプット容器の種類に応じた HPV 測定のための適切なスク립ト (1.5 mL チューブの場合 *m24sp_HPV_DNA_Tube*、96 ウェル ディープウェルプレートの場合 *m24sp_HPV_DNA_DWP*) を選択する。Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置の画面に指示が表示されたら、磁性粒子溶液を勢いよく混ぜるかボルテックスミキサーで攪拌して、磁性粒子を完全に再懸濁する。Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置のデッキにある所定の位置に磁性粒子溶液ボトルを置く。

注：DNA・核酸抽出試薬を再度使用する場合には、すべての DNA・核酸抽出試薬の試薬から外したキャップを清潔な吸収剤の上に保管し、測定後に再度キャップを締めること。

注：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および核酸抽出液の分注 (ステップ 14) は核酸抽出終了後 1 時間以内に開始すること。

増幅区域

7. Abbott *m2000rt* アナライザーの電源を入れ、初期化を行う。測定を開始する前の初期化には 15 分を要する。Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。
8. Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照し、テストオーダーを作成する。プロトコルの画面で適切なアプリケーションファイルを選択する。

試薬調製区域

- 注：すべての試薬の調製は、試薬調製区域で行うこと。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。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。
9. 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、試薬パック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。
 - ・次の各試薬を確認する。
 - ・活性化試薬 (試薬 1)：透明ボトル、緑色キャップ。
 - ・オリゴヌクレオチド試薬 (試薬 2)：黒色ボトル、白色キャップ。
 - ・酵素試薬 (試薬 3)：透明ボトル、白色キャップ。
 - ・キャップを外し、廃棄する。
 - ・試薬専用ピペットを使用し、活性化試薬 (試薬 1) 278 μ L とオリゴヌクレオチド試薬 (試薬 2) 402 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。ピペットを使い穏やかに 6 回吸引、吐出をくり返し、酵素試薬ボトル内の反応液 (マスターミックス) を混和する。泡が生じないように注意する。

注：Abbott *m2000rt* アナライザーのプロトコル (ステップ 16) は、活性化試薬を酵素試薬ボトルに添加 (ステップ 9) してから、1 時間以内に開始すること。
 10. マスターミックスを酵素試薬ボトルから使い捨ての DNase フリーチューブに分注し、ピペットを使い穏やかに 6 回吸引、吐出をくり返して混和する。泡が生じないように注意する。
 11. 汚染を避けるため、マスターミックスやサンプルを分注する前に、96 ウェル オプティカル リアクションプレートにスブラッシュフリー サポートベースにセットする。
 - ・96 ウェル オプティカル リアクションプレートの底が蛍光物質で汚染されていると、本キットの測定に影響を及ぼす可能性がある。汚染を最小限に抑えるため、96 ウェル オプティカル リアクションプレートの保持または移動の際はスブラッシュフリー サポートベースを使用すること。
 12. 専用ピペットを使用し、マスターミックス 25 μ L を 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの各ウェルに、コントロールを含めた測定数分だけ分注する。較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 25 μ L が分注されていることを目視で確認する。

注：活性化したマスターミックスの残りは、十分量があればキャップを締め -10℃ 以下で保管し、14 日間まで再度使用できる。活性化したマスターミックスは 3 回を超えて凍結融解しないこと。凍結したマスターミックスは Abbott *m2000rt* アナライザーでの増幅と検出の開始前 1 時間以内に室温で融解すること。
 13. 96 ウェル オプティカル リアクションプレートにスブラッシュフリー サポートベースごと検体調製区域に移動する。

検体調製区域

14. 検体調製区域内で、核酸抽出液 25 μ L をスブラッシュフリー サポートベース上の 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。**各ウェルに計 50 μ L が分注されていることを目視で確認する。

15. 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。

増幅区域

16. 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、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。測定が完了すると、測定結果が Abbott *m2000rt* アナライザー上に報告される。詳細は【測定結果の判定法】を参照のこと。
17. Abbott *m2000rt* アナライザーによる増幅と検出のプロトコルが終了した後、96 ウェル オプティカル リアクションプレートを取り外し、【使用上又は取扱上の注意】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ェック付きビニール袋に入れ、廃棄する。

測定後の手順

1. 各測定の後には、Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置のワークテーブルに残っている試薬を取り外して、廃棄する。
2. すべての検体、試薬類 (再利用するマスターミックスを除き)、その他汚染している可能性のあるものは、適切な法規等に従い除染および廃棄すること。
3. Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、次に使用する前にスブラッシュフリー サポートベースを清掃する。

(3) プロトコルⅢ

(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)

- 検体調製を行う前に【使用上又は取扱上の注意】を参照のこと。
1. 各検体をボルテックスミキサーで 15 ～ 20 秒間攪拌する。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。すぐに各検体を反応用のチューブに移す。
- 注：SurePath に採取した検体の細胞診後の沈渣が約 2.8 mL であることを確認する。
- 検体の量は攪拌、分注する前に SurePath 保存液で 6 mL に調製すること。
- PreservCyt Solution および SurePath Preservative Fluid に採取した検体は、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置によって 400 μ L の検体が反応チューブに分注される：
 - マスターミックスチューブあるいはアキュジーン HPV 検体採取キットの検体チューブをサンプルチューブとして使用する場合、各検体最低 500 μ L を分注する。
 - 反応チューブ 5 mL あるいは 13 mm の丸底の非自立型 (ノンスカート) チューブをサンプルチューブとして使用する場合、各検体最低 700 μ L を分注する。
 - アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体は、キャップを取り直接 Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置にセットする (検体を分注する必要はない)。
2. コントロールを 15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解する。詳細は、3. キャリブレーションを参照のこと。
- 使用前に各コントロールを 15 ～ 20 秒ボルテックスミキサーで攪拌すること。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。
 - コントロールの融解後は、2 ～ 8℃ で 24 時間まで保存することができる。
3. 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。

注：1 回の測定につき最高 96 サンプルの処理が可能である。

24 サンプルまでの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 1 個、および DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。

25 ～ 48 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 2 個、および DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。

49 ～ 72 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 3 個、磁性粒子溶液とライシス溶液各 1 本、洗浄液 1 および洗浄液 2 および溶出液を各 2 本を使用する。

73 ～ 96 サンプルの測定：陽性コントロール 1 本、陰性コントロール 1 本、増幅・検出用試薬パック 4 個、磁性粒子溶液とライシス溶液各 1 本、洗浄液 1 および洗浄液 2 および溶出液各 2 本を使用する。

注：DNA・核酸抽出試薬は一度しか使用できない。使用後の試薬は廃棄すること。新規測定ごとに、新規に開封した試薬を使用すること。

4. コントロールと患者検体を Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置のインプットサンプルラックにセットする。

注意：インプットサンプルラックは 13 mm のみを使用すること。サンプルは間隔を空けてセットしないこと。インプットサンプルラック 13 mm に検体とコントロールをセットする際は、1 個目のサンプルラックの 1 番目のポジションから順に間隔を空けずにセットする。サンプルラックのポジションがすべて埋まった後に次のサンプルラックを使用する。

検体やコントロールは飛散しないよう注意してサンプルラックにセットする。バーコードラベルを使用する場合は、機器がバーコードをスキャンできるようラベルを右向きにセットする。各チューブの底がサンプルラック内部の底に接しており、サンプルラックに確実にセットされていることを確認する。

サンプルをセットしたサンプルラックは、間隔を空けずに Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置にセットする。1 個目のサンプルラックはワークテーブル上のサンプルラックセット位置の右端に、その他にもラックがあれば 1 個目のサンプルラックの左側に順にセットする。

5. DNA・核酸抽出試薬パックを開封する。DNA・核酸抽出試薬の Product Information に従って、洗浄液 2 のボトルに 95 ～ 100% エタノールを 70 mL 添加して洗浄液 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。DNA・核酸抽出試薬の各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。Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って、試薬を該当する試薬容器に注ぐ。各試薬ボトルの開封時に結晶が認められた場合は、結晶が消失す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。

注：磁性粒子溶液を *m2000sp* 200 mL 試薬容器に注ぐ前に、勢いよく混ぜるかボルテックスミキサーで攪拌して、磁性粒子を完全に再懸濁する。

6. 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。

7. Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置でサンプルを調製している間に、Abbott *m2000rt* アナライザーの電源を入れ、初期化を行う。測定を開始する前の初期化には 15 分を要する。Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書を参照のこと。

注：核酸抽出終了後 1 時間以内に、マスターミックス分注のプロトコルを開始すること。

8. 増幅・検出用試薬パックとマスターミックスチューブを Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置のワークテーブルにセットする。

- 増幅・検出用試薬パックの開封前に、試薬パック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。

- キャップを外し、廃棄する。

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。

9. 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。

10. Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置でのサンプルと増幅・検出用試薬の分注完了後、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の底が蛍光物質で汚染されていると、本キットの測定に影響を及ぼす可能性がある。汚染を最小限に抑えるため、96 ウェル オプティカル リアクションプレートの保持または移動の際はスブラッシュフリー サポートベースを使用すること。

注：マスターミックス分注のプロトコルを開始してから 1 時間以内に、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して増幅の検出を開始すること。

11. 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、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。測定が完了すると、測定結果が Abbott *m2000rt* アナライザー上に報告される。詳細は本添付文書の【測定結果の判定法】を参照のこと。

12. Abbott *m2000rt* アナライザーによる増幅と検出のプロトコルが終了した後、96 ウェル オプティカル リアクションプレートを取り外し、【使用上又は取扱上の注意】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ェック付きビニール袋に入れ、廃棄する。

測定後の手順

1. サンプル調製終了後、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置のワークテーブルに残っている試薬を取り除き、廃棄する。
2. すべての検体、試薬類、その他汚染している可能性のあるものは、適切な法規等に従い除染および廃棄すること。
3. Abbott *m2000rt* アナライザーの取扱説明書に従い、次に使用する前にスブラッシュフリー サポートベースを清掃する。

2. 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

- 正確な蛍光色素の測定と識別を行うために、本キットの測定では 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* アナライザーのキャリブレーションを行う。
 - FAM プレート (カルボキシフルオレセイン)
 - Cy5 プレート (シアニン)
 - NED プレート (ABI、情報非公開の色素)
 - 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)
- 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。

3. 阻害あるいは不適切な細胞の検出

- 本測定では細胞の適切性、サンプルの核酸抽出と増幅の有効性を評価するため、内部コントロールのシグナルとして内在性のヒト β グロブリン配列を検出する。サンプルあるいはコントロールの内部コントロールのサイクル数 (CN) が規格を外れると、フラグあるいはエラーコードが表示される。

4. 陰性コントロールと陽性コントロール

- 検体の調製、増幅、検出が正常に行われたことを確認するために、各測定ごとに、陰性コントロールおよび陽性コントロールを測定する必要がある。本キットのコントロールは増幅のステップを行う前に、検体と同時に調製すること。
- 陰性コントロールには内部コントロールの配列を含む DNA が入っている。陰性コントロールでは内部コントロールシグナル (Cy5 チャンネル) のみが検出される。陽性コントロールには HPV 16 型、HPV 18 型、HPV 58 型、および内部コントロールの配列を含む DNA が入っている。陽性コントロールでは、4 種類のすべてのシグナ

ル (HPV 16 型の VIC シグナル、HPV 18 型の NED シグナル、HPV 58 型の FAM シグナル、そして内部コントロールの Cy5 シグナル) が検出される。コントロールの結果が規格を外れるとフラグが表示される。もし陰性あるいは陽性コントロールが規格を外れた場合、その測定で使用したすべての検体とコントロールについて、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 HPV DNA は検出されない。陰性コントロールで HPV DNA が検出された場合、サンプル調製中かまたは 96 ウェル オプティカル リアクションプレートの調製中に、他のサンプルあるいは増幅産物が陰性コントロールに混入したことを示している。汚染を除去する為に、Abbott m24sp 自動核酸抽出装置あるいは Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、および Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従って清掃する。用手法でサンプル調製を行った場合は、「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」に従って器具を清掃する。清掃後、本添付文書のサンプル調製方法に従ってコントロールと検体のサンプル調製を再度行うこと。
- 陰性コントロールおよび陽性コントロールで内部コントロールの測定結果が規格を外れた場合、この測定のサンプル調製中か増幅反応中に障害が発生したことを示している。本添付文書のサンプル調製方法に従ってコントロールと検体のサンプル調製を再度行うこと。

5. 汚染のモニタリング

- 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 回は次の作業を行うこと。調製した検体、コントロール、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が非常に重要である。ビベット、機器のファンクションキー、作業台表面、および作業場所にあるその他の器具等の通常使用するものについても確認すること。
- DNase フリー水 0.8 mL を新しいマスターミックスチューブに分注する。
 - マスターミックスチューブの DNase フリー水に、綿棒を浸す。
 - DNase 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。綿棒をマスターミックスチューブに入れる。
 - 綿棒を DNase 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スターミックス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。
 - マスターミックスチューブのキャップを閉め、ボルテックスミキサーで攪拌する。
 - マスターミックスチューブのキャップを外し、サンプルを測定する。詳細は、**1. 測定手順**を参照のこと。
 - 綿棒のサンプルで HPV DNA の増幅が検出された場合、汚染が存在していることを示す。
 - 汚染されている場合、機器に「HR HPV Detected」と表示される（内部コントロールに関するフラグはもし出たとしても無視してよい）。
 - 汚染されていない場合、機器に「Not Detected」と表示されるか、結果は表示されない（エラーコード 4951 または 4952 が表示されても無視してよい）。
 - 器具から汚染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 HPV DNA 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、さらに 70% エタノールあるいは水で拭くこと。
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% エタノールを使用して拭き取ること。
 - ステップ 1～6 に従って汚染区域の確認を繰り返すこと。
 - 汚染の存在が再度検出された場合は、HPV DNA の増幅が検出されなくなるまでステップ 8～9 を繰り返すこと。

【測定結果の判定法】

- 本キットは定性キットである。各測定では、陰性コントロールおよび陽性コントロールを最低各々 1 本ずつ測定する。陰性コントロールは、サンプルの調製中や増幅反応の準備中に、陰性コントロールへの HPV DNA の混入がなかったことを確認するために測定する。陰性コントロールで HPV のシグナルが検出された場合、該当する測定のすべてのサンプルの測定結果の横に -QC フラグが表示される。-QC フラグが表示されているサンプルは、操作過程で HPV によってコントロールと同様に汚染されている可能性がある。陰性コントロールを測定しなかった場合、該当する測定のすべてのサンプルの測定結果の横に -QC フラグが表示される。
- 検体中の内部コントロールシグナルは、各検体中に HPV DNA の正確な検出に十分な細胞が存在しており、かつ操作が正しく行われ、増幅の障害が発生していないことを確認するためのものである。内部コントロールが規格外（内部コントロールのサイクル数が得られなかった、あるいは規定されたカットオフサイクル数以上）で HPV DNA が検出されると、そのサンプルは「HR HPV Detected」（HPV が検出された）と判定され、IC フラグがその結果の横に報告される。内部コントロールが規格外で HPV DNA が検出されないと、結果は報告されず、エラーコードが表示される。エラーコードが表示されたサンプルは、核酸抽出のステップから再測定を行うこと。
- エラーコードとフラグの詳細については、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照のこと。

(1) 判定法

検体のサイクル数 < カットオフサイクル数 (32 サイクル)：検出
検体のサイクル数 ≥ カットオフサイクル数 (32 サイクル)
又は、増幅なし：検出されず

(2) 測定結果の表示

- 各サンプルは、HPV 16 型、HPV 18 型、そしてその他のハイリスク型 HPV に対応した 3 種類の HPV シグナルに対して評価される。サイクル数が規定のカットオフサイクル数未満であった場合、各シグナルは「Detected」（検出された）とされ、サイクル数が得られなかった、あるいは規定されたカットオフサイクル数以上であった場合「Not Detected」（検出されなかった）とされる。検出されたシグナル (HPV

16 型、HPV 18 型、その他のハイリスク型 HPV) はすべて、各々のサイクル数と共に該当サンプルの測定結果として報告される（該当結果の後の括弧内）。3 種類の HPV シグナルのいずれかが検出された検体は「HR HPV Detected」（ハイリスク型 HPV が検出された）と判定される。3 種類すべての HPV シグナルが検出されなかった検体は「Not Detected」（検出されなかった）と判定される。

測定結果と判定の例を次に示す。

サンプル ID	測定結果	判定	説明
1	HPV 16 (20.76)	HR HPV Detected	HPV 16 がサイクル数 20.76 で検出された HPV 18 および他のハイリスク HPV は検出されなかった
2	HPV 18 (21.20)	HR HPV Detected	HPV 18 がサイクル数 21.20 で検出された HPV 16 および他のハイリスク HPV は検出されなかった
3	Other HR HPV (14.48)	HR HPV Detected	他のハイリスク HPV がサイクル数 14.48 で検出された HPV 16 および HPV 18 は検出されなかった
4	HPV 16 (22.20) : Other HR HPV (17.21)	HR HPV Detected	HPV 16 および他のハイリスク HPV が各々サイクル数 22.20 および 17.21 で検出された HPV 18 は検出されなかった
5	HPV 18 (18.67) : Other HR HPV (15.88)	HR HPV Detected	HPV 18 および他のハイリスク HPV が各々サイクル数 18.67 および 15.88 で検出された HPV 16 は検出されなかった
6	HPV 16 (24.51) : HPV 18 (23.11)	HR HPV Detected	HPV 16 および HPV 18 が各々サイクル数 24.51 および 23.11 で検出された他のハイリスク HPV は検出されなかった
7	HPV 16 (21.35) : HPV 18 (22.60) : Other HR HPV (19.45)	HR HPV Detected	HPV 16 および HPV 18 および他のハイリスク HPV が各々サイクル数 21.35、22.60 および 19.45 で検出された
8	Not Detected	Not Detected	ハイリスク HPV は検出されなかった

判定上の注意

- 本キットは臨床で採取された PreservCyt 検体、SurePath liquid pap 検体およびアキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体に対してのみ性能が評価されている。これ以外の種類の検体についての性能は検証されていない。
- 正しい測定結果を得るためには、検体の適切な採取、取り扱い、保存を行う必要がある（詳細は、【操作上の注意】(1) 測定資料の性質、採取法を参照のこと）。
- 本キットの使用は、核酸抽出装置あるいは用手法での核酸抽出操作、および Abbott m2000rt アナライザーでの増幅・検出操作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、施設の基準と本添付文書に記載された手順を遵守して、コントロール、検体、増幅産物による核酸汚染の管理を必ず行うこと。
- 測定結果は検体採取の適切さの影響を受けるため、結果が陰性であっても感染の可能性を否定することはできない。不適切な検体採取や技術的なエラー、サンプルの混入による影響で、正しい測定結果が得られない可能性がある。
- 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。

【性能】

(1) ハイリスク型 HPV の検出および一部ジェノタイプの識別

本キットの 14 種類のハイリスク型 HPV ジェノタイプ (HPV 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66、68 型) の検出能と HPV 16 型および HPV 18 型を他の 12 種類のハイリスク型 HPV ジェノタイプから識別する性能を評価した。14 種類のジェノタイプの HPV DNA を単独で、あるいは複数含む 51 サンプルを測定した。結果を表 3 に示す。単独のジェノタイプを有する 14 サンプル、2 つのジェノタイプを有する 25 サンプル、3 つのジェノタイプを有する 12 サンプルの計 51 サンプルは正確に判定され、各々のサンプルについて HPV 16 型および HPV 18 型の DNA の有無が正確に測定された。

表 3 ハイリスク型 HPV の検出および一部ジェノタイプの識別

サンプル番号	HPV ジェノタイプ	測定結果
1	HPV16	HPV 16
2	HPV18	HPV 18
3	HPV31	Other HR HPV
4	HPV33	Other HR HPV
5	HPV35	Other HR HPV
6	HPV39	Other HR HPV
7	HPV45	Other HR HPV
8	HPV51	Other HR HPV
9	HPV52	Other HR HPV
10	HPV56	Other HR HPV
11	HPV58	Other HR HPV
12	HPV59	Other HR HPV
13	HPV66	Other HR HPV
14	HPV68	Other HR HPV
15	HPV16 and HPV18	HPV 16; HPV 18

サンプル 番号	HPV ジェノタイプ	測定結果
16	HPV16 and HPV31	HPV 16; Other HR HPV
17	HPV16 and HPV33	HPV 16; Other HR HPV
18	HPV16 and HPV35	HPV 16; Other HR HPV
19	HPV16 and HPV39	HPV 16; Other HR HPV
20	HPV16 and HPV45	HPV 16; Other HR HPV
21	HPV16 and HPV51	HPV 16; Other HR HPV
22	HPV16 and HPV52	HPV 16; Other HR HPV
23	HPV16 and HPV56	HPV 16; Other HR HPV
24	HPV16 and HPV58	HPV 16; Other HR HPV
25	HPV16 and HPV59	HPV 16; Other HR HPV
26	HPV16 and HPV66	HPV 16; Other HR HPV
27	HPV16 and HPV68	HPV 16; Other HR HPV
28	HPV18 and HPV31	HPV 18; Other HR HPV
29	HPV18 and HPV33	HPV 18; Other HR HPV
30	HPV18 and HPV35	HPV 18; Other HR HPV
31	HPV18 and HPV39	HPV 18; Other HR HPV
32	HPV18 and HPV45	HPV 18; Other HR HPV
33	HPV18 and HPV51	HPV 18; Other HR HPV
34	HPV18 and HPV52	HPV 18; Other HR HPV
35	HPV18 and HPV56	HPV 18; Other HR HPV
36	HPV18 and HPV58	HPV 18; Other HR HPV
37	HPV18 and HPV59	HPV 18; Other HR HPV
38	HPV18 and HPV66	HPV 18; Other HR HPV
39	HPV18 and HPV68	HPV 18; Other HR HPV
40	HPV16 and HPV18 and HPV31	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
41	HPV16 and HPV18 and HPV33	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
42	HPV16 and HPV18 and HPV35	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
43	HPV16 and HPV18 and HPV39	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
44	HPV16 and HPV18 and HPV45	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
45	HPV16 and HPV18 and HPV51	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
46	HPV16 and HPV18 and HPV52	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
47	HPV16 and HPV18 and HPV56	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
48	HPV16 and HPV18 and HPV58	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
49	HPV16 and HPV18 and HPV59	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
50	HPV16 and HPV18 and HPV66	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV
51	HPV16 and HPV18 and HPV68	HPV 16; HPV 18; Other HR HPV

(2) 専門医に紹介された患者群における臨床的感度および特異性：
疾病の検出

専門医に紹介された患者群の PreservCyt liquid pap 検体 512 例を本キットおよび A 社キットで測定し、両キットについて疾病の検出における臨床的感度および特異性を評価した。子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN) の組織診の結果が 2 以上の場合、疾病ありとし、組織診の結果がない検体についてはコルボスコピークリニック受診時の液状細胞診 (LBC) の結果が高度上皮内病変 (HSIL) 以上の場合を疾病ありとしたところ、この検体群における有病率は 24.6% であった。疾病ありの検体 126 例のうち、本キットでは 121 例、A 社キットでは 119 例でハイリスク型 HPV が検出された。疾病なしの検体 386 例のうち、本キットでは 154 例、A 社キットでは 147 例でハイリスク型 HPV が検出されなかった。疾病の検出における感度は本キットでは 96.0%、A 社キットでは 94.4% であった。この患者群における特異性は本キットで 39.9%、A 社キットでは 38.1% であった (表 4)。

表 4 専門医に紹介された患者群における疾病の検出についての臨床性能				
測定キット	感度 (95%信頼区間)	特異性 (95%信頼区間)	陽性適中率	陰性適中率
本キット	96.0% (91.0 ～ 98.7%)	39.9% (35.0 ～ 45.0%)	34.3%	96.9%
A 社キット	94.4% (88.9 ～ 97.7%)	38.1% (33.2 ～ 43.1%)	33.2%	95.5%

この検体群の 128 例で、細胞診において意義不明な異型扁平上皮細胞 (ASCUS) が認められた。この ASCUS 検体群における臨床的感度は本キットおよび A 社キットいずれも 100% であり、臨床的特異性は本キットで 46.2%、A 社キットで 45.2% であった。

(3) 専門医に紹介された患者群における臨床的感度および特異性：
ハイリスク型 HPV の検出

専門医に紹介された患者群の PreservCyt liquid pap 検体 517 例について、本キットでのハイリスク型 HPV の検出における感度と特異性を評価した。子宮頸部検体のハイリスク型 HPV の有無は本キットおよび A 社キットの一致した測定結果によって決定し、両者の不一致例においては B 社キットを用いて更に分析を行って決定した。いずれのキットでもハイリスク型 HPV が検出された検体は 337 例、いずれのキットでも検出されなかった検体は 136 例であった。不一致例 44 例は B 社キットによって判定を行った。ハイリスク型 HPV 陽性の 363 例中、本キットでは 354 例、A 社キットでは 346 例で

ハイリスク型 HPV が検出された。ハイリスク型 HPV 陰性の 154 例中、本キットでは 153 例、A 社キットでは 137 例で検出されなかった。ハイリスク型 HPV の検出における感度は本キットでは 97.5%、A 社キットでは 95.3% であった。特異性は本キットが 99.4%、A 社キットが 89.0% であった (表 5)。

表 5 ハイリスク型 HPV の検出における感度および特異性		
測定キット	感度 (95%信頼区間)	特異性 (95%信頼区間)
本キット	97.5% (95.3 ～ 98.9%)	99.4% (96.4 ～ 100%)
A 社キット	95.3% (92.6 ～ 97.2%)	89.0% (82.9 ～ 93.4%)

(4) 細胞診正常の一般スクリーニング群 (30 歳以上) における臨床的
特異性

30 歳以上女性の一般スクリーニング群から集められた正常 PreservCyt liquid pap 検体 362 例を本キットおよび A 社キットで測定した。両測定キットについて臨床的特異性を評価した。本キットでは 4.1% の検体でハイリスク型 HPV が検出され、A 社キットでは 3.0% で検出された。この検体群における本キットおよび A 社キットの臨床的特異性はそれぞれ、95.9% と 97.0% であった。

表 6 細胞診正常の一般スクリーニング群 (30 歳以上) における臨床的特異性			
測定キット	検出数 / 測定数	検出率	特異性 (95%信頼区間)
本キット	15/362	4.1%	95.9% (93.3 ～ 97.7%)
A 社キット	11/362	3.0%	97.0% (94.6 ～ 98.5%)

(5) ハイリスク型 HPV ジェノタイプの分析感度 / 最小検出感度

- PreservCyt 溶液中のヒト細胞 DNA の存在下で、14 種類のハイリスク型 HPV ジェノタイプ各々の HPV DNA を測定し、本キットの分析感度を評価した。各測定にはサンプル 400 μ L を使用した。各ジェノタイプについて、最低 4 濃度を各濃度 9 回測定した。各測定は 3 ロットの本キット、3 台の機器を用いて行った。
- プロビット解析により 95% を超える確率で、1 測定あたり HPV16、18、35、39、45、51、59、66、68 型では 500 コピーが、HPV 31、33、52、56 型では 2000 コピーが、HPV 58 型では 5000 コピーが検出できることが確認された。

(6) 再現性

本キットの再現性を、ジェノタイプが明確な 20 の臨床検体プール (10 検体はハイリスク型 HPV 陽性、他の 10 検体はハイリスク型 HPV 陰性) を用いて評価した。この 20 のパネルは 2 人のオペレーターが測定した。各オペレーターは各々異なる組み合わせの試薬ロットと機器を用いて各パネルを 4 日間に渡り 1 日 2 回、計 8 回測定した。各パネルそれぞれについて、また陰性パネルと陽性パネルを総合的に、期待される結果と本キットでの測定結果を比べた一致率を表 7 に示す。陽性サンプルでは、各々の HPV シグナル (HPV 16 型、HPV 18 型、他のハイリスク型 HPV) の測定結果はすべての測定において正確な結果であった。319 個の測定結果と期待される結果の一致率は 100% であった。2 人のオペレーターが 2 つの異なる試薬と 2 台の機器を用いて測定した各々 159 の結果の一致率は 100% であった。

表 7 再現性				
パネル 番号	期待される結果	N	検出率 (%)	一致率 (%)
1	Not Detected	16	0	100
2	Not Detected	16	0	100
3	Not Detected	16	0	100
4	Not Detected	16	0	100
5	Not Detected	16	0	100
6	Not Detected	16	0	100
7	Not Detected	16	0	100
8	Not Detected	16	0	100
9	Not Detected	16	0	100
10	Not Detected	16	0	100
11	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
12	HR HPV Detected (HPV 16; HPV 18)	16	100	100
13	HR HPV Detected (HPV 16)	16	100	100
14	HR HPV Detected (HPV 16; Other HR HPV)	16	100	100
15	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
16	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
17	HR HPV Detected (Other HR HPV)	15※	100	100
18	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
19	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
20	HR HPV Detected (Other HR HPV)	16	100	100
陰性サンプル (パネル 1 ～ 10)		160	0	100
陽性サンプル (パネル 11 ～ 20)		159	100	100

※ 無効な結果は分析から除外した。

(7) 用手法、Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置、Abbott *m2000sp* 自動
核酸抽出装置によるサンプル調製間の再現性

本キットでは 3 種類の異なるサンプル調製 (用手法、Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置) が可能である。同じ子宮頸部検体を分割したサンプルをこれらの異なるサンプル調製方法で測定し、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置と用手法、および、Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置と Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置の間の再現性を確認した。PreservCyt liquid pap 検体 110 例を用いて各々の比較を行った。Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置と用手法の一致率 (表 8)、および Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置と Abbott *m24sp* 自動核酸抽出装置の間の一致率 (表 9) はいずれも 100% であった。

表 8 Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置と用手法の一致率

		用手法	
		検出	検出されず
m2000sp	検出	55	0
	検出されず	0	55

表 9 Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置と Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の一致率

		m24sp	
		検出	検出されず
m2000sp	検出	55	0
	検出されず	0	55

(8) アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体でのハイリスク型 HPV 検出能

アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体を本キットで測定した。同じ患者から PreservCyt Solution に採取した検体を本キットおよび A 社キットで測定した。3 測定すべてに対して十分な量のある 153 対のペア検体で分析を行った。子宮頸部検体のハイリスク型 HPV の有無は本キットおよび A 社キットの一致した測定結果によって決定し、両者の不一致例においては B 社キットを用いて更に分析を行って決定した。ハイリスク型 HPV 陽性の 70 検体の検出率は、本キットおよびアキュジーン HPV 検体採取キットの組み合わせで測定した場合 92.9%、本キットおよび PreservCyt Solution の組み合わせで測定した場合 98.6%、A 社キットおよび PreservCyt Solution の組み合わせで測定した場合 84.3%であった（表 10）。ハイリスク型 HPV 陰性の 83 検体の検出率は、本キットおよびアキュジーン HPV 検体採取キットの組み合わせで測定した場合 3.6%、本キットおよび PreservCyt Solution の組み合わせで測定した場合 2.4%、A 社キットおよび PreservCyt Solution の組み合わせで測定した場合 3.6%であった（表 10）。

表 10 ハイリスク型 HPV 検出能

使用した測定キットと採取キット	ハイリスク型 HPV 陽性 (N=70)		ハイリスク型 HPV 陰性 (N=83)	
	検出数	検出率 (%) (95%信頼区間)	検出数	検出率 (%) (95%信頼区間)
本キットとアキュジーン HPV 検体採取キット	65	92.9 (84.1 ~ 97.6)	3	3.6 (0.8 ~ 10.2)
本キットと PreservCyt Liquid Pap	69	98.6 (92.3 ~ 100)	2	2.4 (0.3 ~ 8.4)
A 社キットと PreservCyt Liquid Pap	59	84.3 (73.6 ~ 91.9)	3	3.6 (0.8 ~ 10.2)

本キットにてアキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体と同じ患者から PreservCyt Solution に採取した検体を測定した場合の一致率は 94.4%であった（表 11）。

表 11 アキュジーン HPV 検体採取キットで採取した検体と PreservCyt Solution に採取した検体の一致率

		本キットとアキュジーン HPV 検体採取キット	
		検出	検出されず
本キットと PreservCyt Liquid Pap	検出	69	6
	検出されず	3	83

一致率 = 94.4% (152/161)

(9) SurePath Preservative Fluid に採取した検体でのハイリスク型 HPV 検出能

SurePath Preservative Fluid に採取した検体を本キットで測定した時の性能を評価するため、SurePath Preservative Fluid に採取した 263 検体を本キットおよび A 社キットで測定した。SurePath バイアルからのオリジナル検体および細胞診後の沈渣の両方を本キットで測定した。沈渣については A 社キットでも製造元の取扱説明書に従って測定した。子宮頸部検体のハイリスク型 HPV の有無は本キットおよび A 社キットの一致した測定結果によって決定し、両者の不一致例においては B 社キットを用いて更に分析を行って決定した。ハイリスク型 HPV 陽性の 138 例の検出率は、本キットおよび SurePath バイアルからのオリジナル検体の組み合わせで測定した場合 98.6%、本キットおよび沈渣の組み合わせで測定した場合 97.1%、A 社キットおよび沈渣の組み合わせで測定した場合 99.3%であった（表 12）。ハイリスク型 HPV 陰性の 125 例の検出率は、本キットおよび SurePath バイアルからのオリジナル検体の組み合わせで測定した場合 0.0%、本キットおよび沈渣の組み合わせで測定した場合 0.0%、A 社キットおよび沈渣の組み合わせで測定した場合 13.6%であった（表 12）。

表 12 ハイリスク型 HPV 検出能

使用した測定キットと採取キット	ハイリスク型 HPV 陽性 (N=138)		ハイリスク型 HPV 陰性 (N=125)	
	検出数	検出率 (%) (95%信頼区間)	検出数	検出率 (%) (95%信頼区間)
本キットと SurePath バイアルからのオリジナル検体	136	98.6 (94.9 ~ 99.8)	0	0 (0.0 ~ 2.9)
本キットと沈渣	134	97.1 (92.7 ~ 99.2)	0	0 (0.0 ~ 2.9)
A 社キットと沈渣	137	99.3 (96.0 ~ 100)	17	13.6 (8.1 ~ 20.9)

本キットにて SurePath バイアルからのオリジナル検体と沈渣を測定した場合の一致率は 99.2%であった（表 13）。

表 13 SurePath バイアルからのオリジナル検体と沈渣の一致率

		本キットと沈渣	
		検出	検出されず
本キットと SurePath バイアルからのオリジナル検体	検出	134	2
	検出されず	0	129

一致率 = 99.2% (263/265)

*【使用上又は取扱上の注意】

(1) 取扱上（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。検体の取り扱い後は十分に手を洗うこと。
- 本キットの測定では、ヒト検体を取り扱う。すべてのヒト由来物質は潜在的に感染性があると考えて、適切なバイオセーフティ基準に従い取り扱うこと。
- 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。
- 安全上の注意については、使用する機器の取扱説明書および「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」を参照のこと。
- 本キットおよび本キットのコントロールには、ヒト由来物質は含まれていない。
- 次の試薬類に関する危険有害性情報、注意事項を示す。
 - オリゴヌクレオチド試薬
 - 活性化試薬
 - コントロール



警告

H317	アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ
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。
P280	保護手袋 / 保護衣 / 保護眼鏡 / 保護面を着用すること。
P272	汚染された作業衣は作業場から出さないこと。
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。
 - 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	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	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。

- 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。
- ・本キットでは PreservCyt Solution (Cytoc Corporation) に採取した検体を使用することができる。PreservCyt Solution (Cytoc Corporation) への子宮頸部検体の採取および取り扱いに関しては製造元の指示に従うこと。
- ・本キットでは SurePath Preservative Fluid (TriPath Imaging, Inc.) に採取した検体を使用することができる。SurePath に採取した検体については、SurePath バイアルからのオリジナル検体、または TriPath Imaging PrepStain Slide Processor でのスライド作成後の沈渣いずれも使用できる。SurePath Preservative Fluid への子宮頸部検体の採取、取り扱い、処理に関しては SurePath Preservative Fluid の製造元の指示に従うこと。
- ・本キットではアキュジーン HPV 検体採取キット (製品番号: 4N73) で採取した検体を使用することができる。アキュジーン HPV 検体採取キットを用いた子宮頸部検体の採取、取り扱いについては、アキュジーン HPV 検体採取キットの添付文書の指示に従うこと。
- ・サンプル調製中にサンプル間で交差汚染が発生する危険性や、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危険性を最小限に抑えるため、施設の適切な基準に必ず従うこと。DNA を扱う場合は、常に無菌操作で行うこと。
- ・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 (DNase、検体、核酸抽出液、増幅産物など) 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、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。
- ・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。
- ・ピペティングの際に生じるエアロゾルによる核酸汚染のリスクを低減するため、ピペ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。
- ・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または「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」に記載されている方法で清掃、除染すること。
- ・PCR などの増幅反応は、過去に行った測定の影響を受けやすい。たとえ数分子の増幅産物の混入であっても、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。
- ・Abbott m24sp 自動核酸抽出装置、または用手法で DNA・核酸抽出試薬と Abbott m2000rt アナライザーを用いて本キットによる測定を行う場合、施設内に 3 箇所の専用区域を設けること。
 - ・試薬調製区域では、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、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のみを行うこと。試薬調製区域で使用する白衣、ピペット、ピペットチップは必ず区域内にとどめ、検体調製区域および増幅区域に持ち出さないこと。サンプルまたは増幅産物を試薬調製区域に持ち込まないこと。
 - ・検体調製区域では、サンプル (検体、コントロール) の調製および、調製した検体、コントロールの 96 ウェル オプティカル リアクションプレートへの分注のみを行うこと。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、試薬調製区域および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。
 - ・増幅区域では、増幅と増幅産物の検出のみを行うこと。増幅区域で使用する白衣や器具は、必ず区域内にとどめ、試薬調製区域および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して測定を行う場合は、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。
- ・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。Abbott m24sp 自動核酸抽出装置の作動が中止された場合は、Abbott m24sp 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 (再使用しない場合) を廃棄すること。用手法によるサンプル調製が正しく行われなかった場合や、いずれかの操作ステップが指定された時間内に終わらなかった場合には、「DNA・核酸抽出試薬を使用したアキュジーン m-HPV のためのマニュアルサンプル調製手順書」に従ってすべての消耗品と試薬 (再使用しない場合) を廃棄すること。
- ・96 ウェル オプティカル リアクションプレートに増幅・検出用試薬が分注された後で、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、廃棄する。Abbott m2000rt アナライザーにテストオーダーをインポートしないこと。用手法によるサンプル調製において、96 ウェル オプティカル リアクションプレートに増幅・検出用試薬を分注した後で、操作を中止する場合は、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、施設の規定に従って廃棄すること。
- ・Abbott m2000rt アナライザーによる測定が終了、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廃棄すること。

- ・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、廃棄物は慎重に取り扱い密封すること。
- ・デオキシウラシルを使用した HPV 核酸増幅キットの増幅産物は、本キットの測定において汚染の原因になり得るため、これら増幅産物による汚染が発生した場合、正しい結果が得られない可能性がある。陰性コントロールが一貫して陽性を示す場合や、dU を含む HPV 増幅産物によって汚染された可能性がある場合は、コンタミネーション管理手順に従うこと。コンタミネーション管理手順は弊社技術員から入手可能である。
- ・使用中の増幅・検出用試薬パックは、サンプル、コントロールと直接触れないように注意すること。
- ・増幅・検出用試薬パックを使用しない場合は、-10℃以下で保存すること。
- ・本キットは、ドライアイス中で保存して輸送される。
- ・コントロール (陰性コントロール、陽性コントロール) は、-10℃以下で保存すること。
- ・コントロールは、ドライアイス中で保存して輸送される。
- ・DNA・核酸抽出試薬は 15 ~ 30℃で保存すること。

(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: 反応済みの 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、廃棄物は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ェック付きビニール袋に入れて廃棄すること。
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、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% (v/v) 次亜塩素酸ナトリウム溶液などの適切な消毒剤で拭き取ること。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、その他汚染された可能性のあるものは、適切な法律等 1.2 に基づいて、除染および廃棄すること。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法: -10℃以下で保存する。

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-HPV	製品番号 2N09-98: 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)	0.502 mL × 4
・酵素試薬 (試薬 3)	0.070 mL × 4
・活性化試薬 (試薬 1)	0.778 mL × 4

【主要文献】

1. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guideline - Second Edition. NCCLS Document GP5-A2. Wayne, PA: NCCLS, 2002;22(3):1-23, 32-44.
2. US Environmental Protection Agency. EPA Guide for Infectious Waste Management Publication No. EPA/530-SW-86-014. Washington, DC: US Environmental Protection Agency, 1986;1-1-5-5, R1-R3, A1-A24.

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