

サイトメガロウイルス核酸キット アキュジーン[®] m - CMV

【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）】を参照すること。
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）】を参照すること。
6. 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
 - CMV フォワードプライマー A
 - CMV リバースプライマー A
 - CMV プローブ A
 - CMV フォワードプライマー B
 - CMV リバースプライマー B
 - CMV プローブ B
 - 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、DNA 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）

【使用目的】

血漿又は全血中のサイトメガロウイルス（CMV）DNA の測定（サイトメガロウイルス感染の診断補助）

【測定原理】

本品は、PCR 法（ポリメラーゼ連鎖反応法）による増幅および核酸ハイブリダイゼーションを用いたヒト血漿又は全血中の CMV 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 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。2 種類の CMV フォワードプライマー A 又は B 及び 2 種類の CMV リバースプライマー A 又は B をそれぞれの標的とする配列に結合させ、dNTP Mix（dATP、dCTP、dTTP、dGTP）存在下で 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 CMV 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 CMV 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 CMV プローブ A 又は CMV プローブ B 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 CMV プローブ A 又は CMV プローブ B からの蛍光強度を測定波長 520 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 586 nm で測定する。）
5. CMV 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ションプレートで作成した検量線にあてはめ、CMV DNA 量（IU/mL、log IU/mL、copies/mL 又は log copies/mL）を算出する（copies/mL $\times$ 1.56 = IU/mL、log copies/mL + 0.19 = log IU/mL 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

検体は、ヒト血漿（EDTA 入り）またはヒト全血（EDTA 入り）を使用すること。

全血検体の採取と保存

- ・全血の採取については、採血管の製造元の取扱説明書に従うこと。採取後の全血は以下の条件で保存することができる。
 - ・15 ～ 30℃で 36 時間まで
 - ・2 ～ 8℃で 5 日間まで
 - ・-70℃以下で長期間
- ・3 回を超える凍結融解は行わないこと。全血検体は 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。一度融解した全血検体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。

血漿検体の採取と保存

- ・血漿の採取については、採血管の製造元の取扱説明書に従うこと。採取した検体（全血）は、遠心分離処理までの間 2 ～ 30℃で 24 時間まで保存することができる。
- ・遠心分離後に、血漿と血球を分離する。血漿検体は以下の条件で保存することができる。
 - ・15 ～ 30℃で 24 時間まで
 - ・2 ～ 8℃で 5 日間まで
 - ・-70℃以下で長期間
- ・3 回を超える凍結融解は行わないこと。15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。一度融解した血漿検体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。

検体の輸送

- ・採取後の全血は保冷箱に入れて保冷剤とともに輸送する。輸送時間の合計が 24 時間を超えないようにすること。血漿検体は凍結で輸送する。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

干渉物質

- ・高濃度の内因性物質が本キットに与える影響を検討した。CMV DNA 約 3,120 IU/mL を含む血漿および全血サンプルを対応する測定法で測定した。以下の濃度の物質を添加したすべてのサンプルにおいて、本キットの測定値に影響は認められなかった。

・ヘモグロビン	2 g/L
・トリグリセリド	37 mM
・ビリルビン	342 μ M
・タンパク質	120 g/L
- ・42 種類の薬剤は 9 群に分けて検討し、1 種類は薬剤単体で検討を行った。薬剤の濃度は血漿中や血清中のピーク値を超える値、ピーク値が不明の場合は投与量を超える値とした。表 1 の薬剤を添加したすべての CMV 陽性の血漿サンプルおよび全血サンプルにおいて、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 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	テノホビルゾプロキシル fumarate、ラミブジン、インジナビル硫酸塩、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	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
6	アデホビル、ジダノシン、エンテカビル、Cidofovir、ミコフェノール酸 モフェチル
7	ファモチジン、シクロスポリン
8	ブレドニゾン、シロリムス、タクロリムス、アザチオプリン
9	アテノロール、ベシル酸アムロジピン、リシノプリル、ラベプラザール、バルサルタン
10	Lymphocyte immune globulin

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、CMV 陰性コントロールおよび CMV DNA 約 3,120 IU/mL を含む血漿または全血サンプルに添加した。微生物またはウイルスの核酸はサンプル中の濃度が 1×10^5 copies/mL となるよう添加し、試験した。

表 2 ウイルスおよび微生物

ヒト免疫不全ウイルス 1 型	水痘・帯状疱疹ウイルス
ヒト免疫不全ウイルス 2 型	ワクチニアウイルス
ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型	ヒトポリオマウイルス BK
C 型肝炎ウイルス	ヒトパピローマウイルス 16 型
B 型肝炎ウイルス	ヒトパピローマウイルス 18 型
Epstein-Barr ウイルス	淋菌
単純ヘルペスウイルス 1 型	クラミジア・トラコマチス
単純ヘルペスウイルス 2 型	カンジダ・アルビカンス
ヒトヘルペスウイルス 6A	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 7	<i>Mycobacterium gordonae</i>
ヒトヘルペスウイルス 8	スメグマ菌

検討したすべての CMV 陽性サンプルおよび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) 内部コントロールとライシス溶液（4.82 μ L；2.7 mL）を混合する。
- 2) 酵素試薬（70 μ L）にオリゴヌクレオチド試薬（433 μ L）及び活性化試薬（316 μ L）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）法を参照すること。

(2) 必要な器具・器材・試料等

- ・ AccuGene m-CMV・キャリブレーション（製品番号：5N23-71）
 - ・ キャリブレーション A（0.9 mL $\times$ 12）
 - （主な含有物：緩衝液、非感染性 CMV リニアプラスミド DNA、DNA 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
 - ・ キャリブレーション B（0.9 mL $\times$ 12）
 - （主な含有物：緩衝液、非感染性 CMV リニアプラスミド DNA、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すること。
- AccuGene m-CMV・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-CMV・コントロール（製品番号：5N23-81）
 - ・ 陰性コントロール（0.9 mL $\times$ 8）
 - （主な含有物：緩衝液、DNA 保存剤：アジ化ナトリウム、ProClin 950）
 - ・ 陽性コントロール（0.9 mL $\times$ 8）
 - （主な含有物：ヒト血漿、不活化 CMV 保存剤：ProClin 300、ProClin 950）
- 陽性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すること。
- AccuGene m-CMV・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（プロトコール I、II）

- ・ Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置（ソフトウェアバージョン 3.0 以降、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 以降）
- ・ m2000 CMV アプリケーションディスク（製品番号：5N23-02 以降、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、5N23-03 以降）※ 1
- ・ DNA・核酸抽出試薬（Abbott mSample Preparation System_{DNA}）
 - （製品番号：6K12-24）：24 回用 $\times$ 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）
- 注：1 キットで 96 サンプルの処理が可能である。
- ・ 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 $\times$ 4
 - （主な含有物：プロテアーゼ K）
- ・ プロトコール I でのみ使用する。
- ・ 反応チューブ 5 mL（製品番号：4J71-20）
- ・ 分注量 20 ～ 1000 μ L の較正済みピペット
- ・ 分注量 20 ～ 1000 μ L のピペット用フィルター付きピペットチップ
- ※ ディスポーザブルチップ 1 mL
- ※ ディスポーザブルチップ 200 μ L
- ・ 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。
- ・ ポリプロピレン製遠心チューブ（50 mL）
- ・ 血清用ピペット
- ・ メスシリンダー（100 mL）
- ・ 分子生物学グレード水
- ・ 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ション（製品番号：9K32-01）
- ・ 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（製品番号：4J71-80）
- ・ インプットサンプルラック 13 mm（製品番号：4J72-82）またはインプットサンプルラック 16 mm（製品番号：4J72-86）
- ・ m2000sp 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）
- ・ アクジュン試薬ボトル交換用キャップ（製品番号：3N20-01、オプション）

用手法による検体調製（プロトコール III）

- ・ DNA・核酸抽出試薬（Abbott mSample Preparation System_{DNA}）
 - （製品番号：6K12-24）：24 回用 $\times$ 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）
 - 注：1 キットで 96 サンプルの処理が可能である。
 - ・ 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 $\times$ 4
 - （主な含有物：プロテアーゼ K）
 - ・ 分注量 10 ～ 1000 μ L の較正済みピペット
 - ・ 分注量 10 ～ 1000 μ L のピペット用フィルター付きピペットチップ
 - ・ 血清用ピペット
 - ・ メスシリンダー（100 mL）
 - ・ 分子生物学グレード水
 - ・ 反応チューブ 5 mL（製品番号：4J71-20）
 - ・ スクリューキャップチューブ（1.5 mL）
 - ・ m2000 mSample Preparation System Start Up Kit（製品番号：2N28-03）
 - ・ 反応チューブ 5 mL 用非磁性スタンド
 - ・ 1.5 mL チューブ用非磁性スタンド
 - ・ 反応チューブ 5 mL 用ドライヒートブロック（58℃に設定可能なもの）
 - ・ 1.5 mL チューブ用ドライヒートブロック（80℃に設定可能なもの）
 - ・ 温度計
 - ・ タイマー
 - ・ 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。
 - ・ 廃液用容器（次亜塩素酸は添加しないこと）
 - 測定後の手順の注意事項を参照すること。
 - ・ オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
 - ・ 接着カバーアプリケーション（製品番号：9K32-01）
 - ・ スプラッシュフリー サポートベース（製品番号：9K31-01）
 - ・ 遠心分離機（5,000 g、96 ウェル オプティカル リアクションプレートに使用する）
 - ・ ポリプロピレン製遠心チューブ（50 mL）
 - ・ 分注量 25 ～ 50 μ L の連続分注ピペット（オプション）
 - ・ 分注量 25 ～ 50 μ L の滅菌済み連続分注ピペット用ピペットチップ（オプション）
 - ・ ディスポーザブルチップ（オプション）
 - ・ ポリプロピレン製 96 ウェルプレート（オプション）

試薬調製区域

用手法による検体調製（プロトコールⅢ）

- 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 ～ 1000 μ L の校正済みピペット
- 分注量 20 ～ 1000 μ L のピペット用フィルター付きピペットチップ
- RNase/DNase フリーの使い捨てチューブまたは使い捨て容器

増幅区域

Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、用手法による検体調製（プロトコールⅠ、Ⅱ、Ⅲ）

- Abbott m2000rt アナライザー（ソフトウェアバージョン 2.0 以降、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 5.0 以降）
- * m2000 CMV アプリケーションディスク（製品番号：5N23-02 以降、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、5N23-03 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（プロトコールⅠ、Ⅱ、Ⅲ）

- 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）
- ラボコート
- パウダーフリーディスプレイザブル手袋
- 保護眼鏡
- 固形廃棄物用容器
- チャック付きビニール袋
- 分子生物学グレードマイクロチューブ（1.7 mL）※ 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 CMV/EBV maxCycle アプリケーションディスク（製品番号：9N04）詳細は、m2000 CMV/EBV maxCycle アプリケーションディスクの製品情報を参照すること。

※ 2 これらは 7. 汚染のモニタリングの操作手順で使用する。

(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」又は同等品を用いること。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。

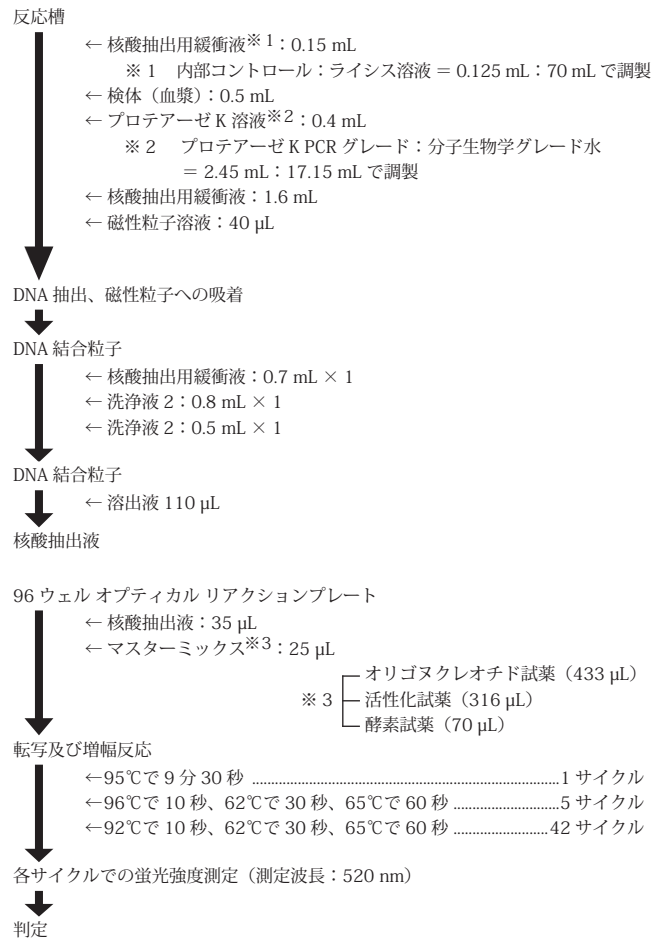
- 血漿又は全血（0.5 mL 又は 0.3 mL）から、使用する核酸抽出法（又は装置）にて、所定の操作（内部コントロール 4.82 μ L を含む混合液を加える）を行い、核酸抽出液を得る。
- 96 ウェル オプティカル リアクションプレートに 1 ウェル当たりマスターミックス 25 μ L 及び核酸抽出液 35 μ L を分注する。
- 専用の遺伝子解析装置「Abbott m2000rt アナライザー」に 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをセットし、PCR 反応を繰り返し、測定波長 520 nm における蛍光強度を測定する。
- 既知濃度のキャリブレーション（2 濃度）を測定し、X 軸に濃度、Y 軸に Ct 値（Threshold Cycle 値）をプロットし、検量線を作成する。各検体の測定結果より CMV DNA の Ct 値を算出し、作成した検量線に当てはめることで、CMV DNA 量（IU/mL、log IU/mL、copies/mL 又は log copies/mL）を算出する。

PCR 反応条件

95℃で 9 分 30 秒1 サイクル
96℃で 10 秒、62℃で 30 秒、65℃で 60 秒5 サイクル
92℃で 10 秒、62℃で 30 秒、65℃で 60 秒42 サイクル

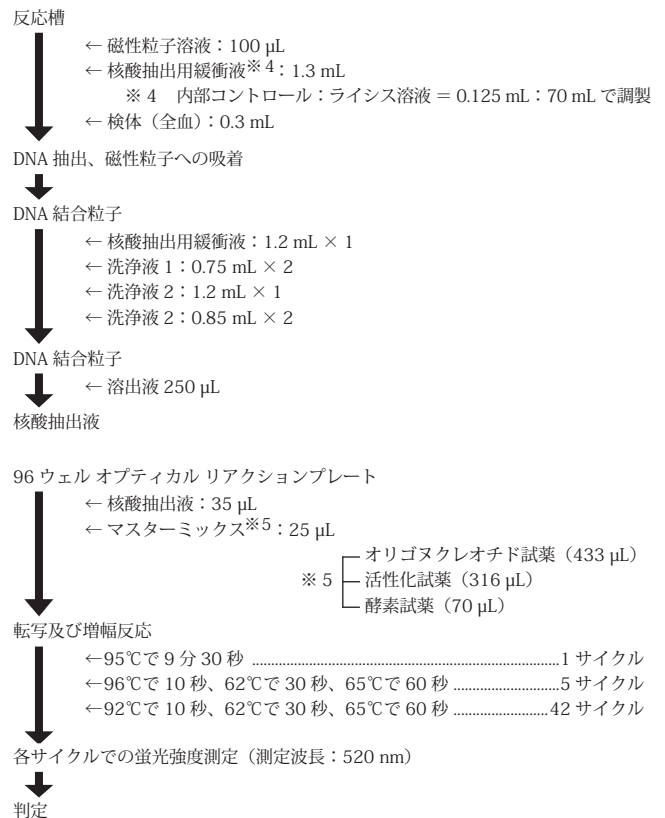
血漿検体

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。



全血検体

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. 増幅・検出用試薬パックの再使用（Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置使用時）

Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用してサンプル調製を行う際に、増幅・検出用試薬パックを再使用する場合の概要図を以下に示す。

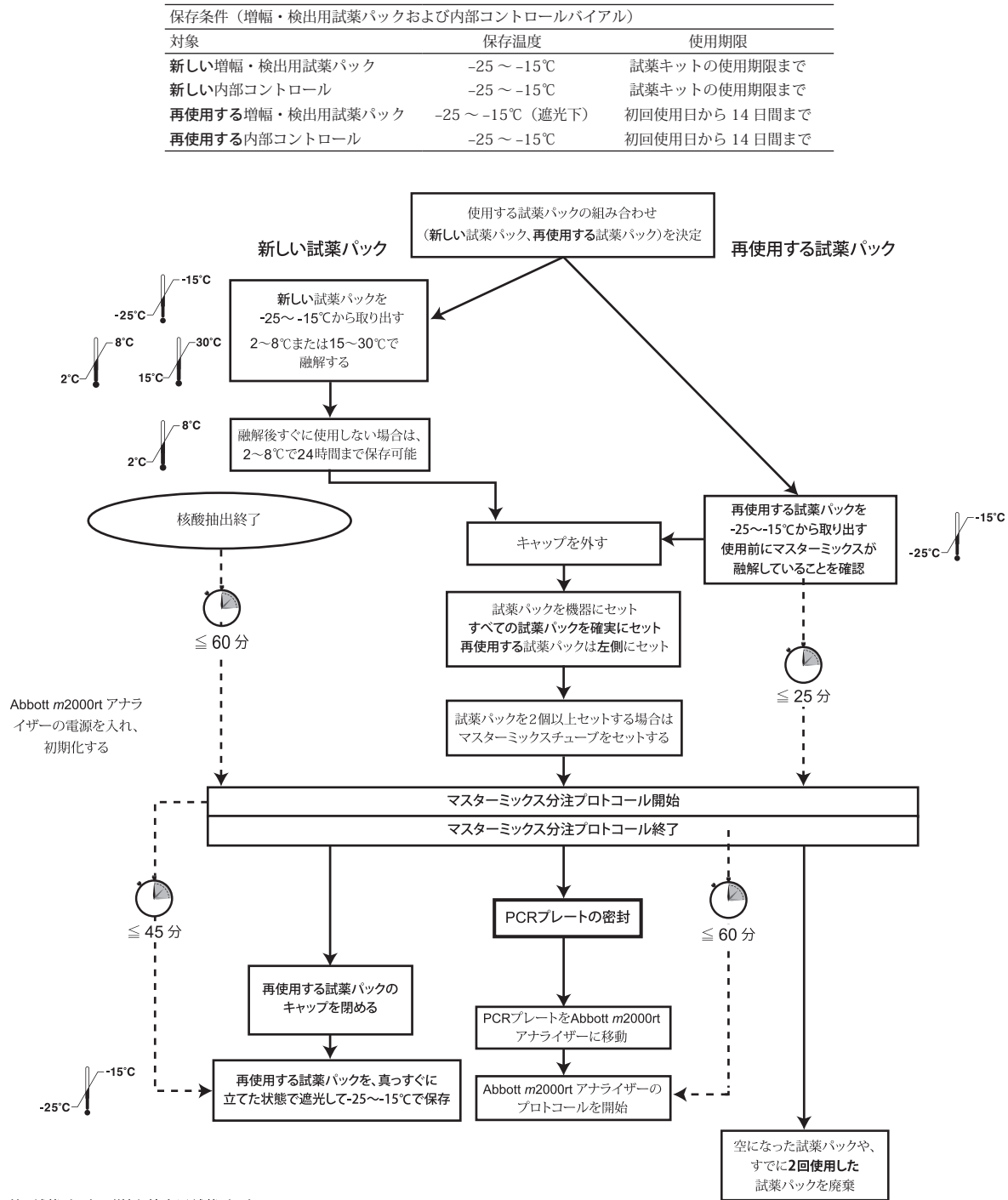
- ・増幅・検出用試薬パックは必要に応じて再使用することができる。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、キャップを閉めて遮光し、-25 ～ -15℃で保存した場合、次回使用するまで最大 14 日間保存することができる。内部コントロールについても、バイアルのキャップを開けて -25 ～ -15℃で保存した場合、次回使用するまで最大 14 日間保存することができる。

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。



注：試薬パック＝増幅・検出用試薬パック

- ・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

- 本測定では、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、用手法のいずれかで核酸抽出を行い、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、本書の該当するアッセイプロトコルまたは使用する 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すること。初めて測定を行う場合、m2000 CMV 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（増幅・検出用試薬パックと内部コントロールを再使用する場合は、製品番号 5N23-03 以降のアプリケーションディスクを使用すること）。アプリケーションファイルの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すること。
- 本書には 3 つのプロトコルが記載されている。
 - ・プロトコルⅠ：血漿測定（Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出）
 - ・プロトコルⅡ：全血測定（Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出）
 - ・プロトコルⅢ：血漿測定（用手法による核酸抽出）
- 核酸抽出を始める前に、本書の指示をよく読むこと。
- 本測定では、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、用手法のいずれかで核酸抽出を行い、Abbott m2000rt アナライザーで増幅および検出を行う。
- 使用期限を過ぎた試薬類を使用しないこと。
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用する場合（プロトコルⅠ、Ⅱ）、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、活性化試薬）は本書の手順に従って 2 回まで使用することができる。
- 重要：増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、マスターミックス分注のプロトコル完了後 45 分以内に -25 ～ -15℃ で保存すること。**
- コントロール、キャリブレーション、DNA・核酸抽出試薬は使い捨てのため、使用した後は廃棄すること。新たに検体の処理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、残っているこれらの試薬類を Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書および本書の**測定後の手順**に従ってすべて廃棄すること。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て保存すること。
- 用手法により核酸抽出を行う場合（プロトコルⅢ）、コントロール、キャリブレーションは使い捨てのため、使用した後は廃棄すること。増幅・検出用試薬パックおよび DNA・核酸抽出試薬はプロトコルⅢの手順に従って再使用することができる。新たに本キットの測定を行う際には新しい反応チューブを使用すること。残った試薬類は**測定後の手順**に従って廃棄すること。
- 新しい増幅・検出用試薬パック、内部コントロール、キャリブレーション**は、使用前の場合最大 3 回まで凍結融解を行うことができる。ただし、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置で使用了後、-25 ～ -15℃ で保存している増幅・検出用試薬パックには**当てはまらない**。調製済みのマスターミックスは 2 回しか使用できない。
- 検体を測定する前にキャリブレーションを行うこと。本キットの測定では、専用のキャリブレーション、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**、**6. 陽性コントロールと陰性コントロール**を参照すること。
- 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。**
- すべてのチップまたは一部のチップを使用した 200 μL と 1000 μL の使い捨てチップトレイは、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の操作開始前に、チップがすべて充填されているトレイと交換すること。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**を参照すること。
- 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液で拭き取り、清掃および除染すること。
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による自動核酸抽出では、サンプルに泡がないことを確認し、泡がある場合は滅菌済みピペットチップで取り除くこと。試薬類に泡がある場合、試薬の液面検知が正しく行われずに吸引量が不足し、正しい測定結果を得られなくなる可能性がある。**サンプル間の交差汚染を防ぐため、検体チューブごとに新しい滅菌済みピペットチップを使用すること。**
- 検体、コントロール、キャリブレーション、増幅・検出用試薬のピペッティングを行う際は、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。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。

プロトコルⅠ：血漿測定（Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出）
Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、Abbott m2000rt アナライザーの操作方法についての詳細は、機器の取扱説明書を参照すること。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。
検体調製を行う前に【**使用上又は取扱上の注意**】を読むこと。

検体調製区域

- 1 回につき、最大 96 サンプルの処理が可能である。各測定ごとに陰性コントロール、陽性コントロールを各 1 本測定するため、1 回につき、最大 94 検体の処理が可能である。
 - ・サンプル量を確認する。平底チューブは使用しないこと。使用するサンプル量は 0.5 mL であるが、チューブにはそれ以上の量が入っている必要がある。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置における必要サンプル量およびラックと使用可能なチューブの関係を以下に示す。

ラック	チューブ内径	必要サンプル量（mL）
13 mm	10.0 mm	0.60
	10.5 mm	0.66
	11.0 mm	0.72
	11.5 mm	0.78
	12.0 mm	0.84
	12.5 mm	0.90
16 mm	13.0 mm	0.97
	13.5 mm	1.03
	14.0 mm	1.10
	14.5 mm	1.20

- チューブの高さと使用できるインプットサンプルラックについては、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。
 - 凍結検体は、15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解すること。一度融解した検体をすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃ で 24 時間まで保存することができる。
 - 検体は使用前にボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間 × 3 回攪拌する。**泡が生じていないことを確認し**、必要に応じて新しい滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。ピペットチップはチューブごとに交換すること。チューブを開封する際は、キャップの内側に接触しないよう注意すること。
- サンプル数に対して、必要な核酸抽出試薬、コントロール、キャリブレーション、内部コントロールの数を以下の表に示す。

核酸抽出試薬、内部コントロール等の必要数				
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
陽性コントロール	1 本	1 本	1 本	1 本
陰性コントロール	1 本	1 本	1 本	1 本
キャリブレーション ^a	各 3 本	各 3 本	各 3 本	各 3 本
増幅・検出用試薬パック ^b	新しい試薬パック 1 個 または 再使用する試薬パック最大 4 個	新しい試薬パック 2 個 または 再使用する試薬パック最大 4 個	新しい試薬パック 3 個 または 再使用する試薬パック最大 4 個	新しい試薬パック 4 個 または 再使用する試薬パック 4 個
DNA・核酸抽出試薬	1 セット	2 セット	3 セット	4 セット
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最大 2 本	新しいバイアル 1 本 または 再使用するバイアル最大 3 本	新しいバイアル 1 本 または 再使用するバイアル最大 4 本

- ^a キャリブレーションは必要に応じて使用する。
- ^b 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。
- 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、キャリブレーションを 15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解すること。**4. キャリブレーション**を参照すること。
 - 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、コントロール、内部コントロールは使用前にボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間 × 3 回攪拌する。攪拌後、バイアルを作業台の上で軽く叩き、溶液をバイアルの底に落とす。泡が生じていないことを確認し、必要に応じて新しい滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。ピペットチップはバイアルごとに交換する。
 - 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。

注：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まで -25 ～ -15℃ で保存すること。2 ～ 8℃ で保存することはできない。-25 ～ -15℃ 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。

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。

注：増幅・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。

4. プロテアーゼ K PCR グレード（以下、プロテアーゼ K）を開封する。必要な本数のプロテアーゼ K を取り出し、17.15 mL の分子生物学グレード水と 2.45 mL のプロテアーゼ K を、ポリプロピレン製遠心チューブ（50 mL）に分注する。10 ～ 15 回穏やかに転倒混和する。
5. DNA・核酸抽出試薬パックを開封する。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. 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。**転倒混和する。
7. 較正済みの**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 125 μ L をライシス溶液の各ボトルに添加する。泡が生じないように注意しながら、容器を穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和する。**再使用する内部コントロール**はバイアルのキャップを閉めて -25 ～ -15℃ で保存し、次の使用まで 14 日間保存することができる。
8. 磁性粒子溶液と洗浄液 1 を除く DNA・核酸抽出試薬の各ボトルを穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和し、溶液が均一になっていることを確認する。以下の表に従って、試薬を該当する試薬容器に注ぐ。このプロトコルでは洗浄液 1 は使用しない。試薬容器内に泡が生じていないことを確認し、必要に応じて滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。各試薬容器ごとに新しい滅菌済みピペットチップを使用すること。
- 注：下表に従って試薬容器にラベルを貼っておくこと。**

核酸抽出試薬の各試薬は以下の通りにセットする。

試薬容器ポジション						
サンプル数	1	2	3	4	5	6
1 ～ 24	ライシス溶液 1 本	なし	磁性粒子溶液 1 本	プロテアーゼ K 1 本	洗浄液 2 1 本	溶出液 1 本
25 ～ 48	ライシス溶液 2 本	なし	磁性粒子溶液 1 本	プロテアーゼ K 2 本	洗浄液 2 1 本	溶出液 1 本
49 ～ 72	ライシス溶液 2 本	ライシス溶液 1 本	磁性粒子溶液 1 本	プロテアーゼ K 2 本	洗浄液 2 2 本	溶出液 2 本
73 ～ 96	ライシス溶液 2 本	ライシス溶液 2 本	磁性粒子溶液 1 本	プロテアーゼ K 3 本	洗浄液 2 2 本	溶出液 2 本

9. 核酸抽出開始直前に、磁性粒子溶液を勢よく混ぜるかあるいはボルテックスミキサーで攪拌し、磁性粒子を完全に再懸濁した後、表に示した試薬容器に注ぐ。
10. 陰性コントロール、陽性コントロール、キャリブレータ（必要な場合）、検体を m2000sp サンプルラックにセットする。
- 検体、コントロール、キャリブレータのすべてのチューブキャップを外す。
 - キャップを外した検体、コントロール、キャリブレータを、中の溶液が飛散しないように注意しながらサンプルラックにセットする。サンプルラックにチューブをセットする際は、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てから次のサンプルラックに移り、間隔を空けないようにする。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。
 - 反応チューブ 5 mL を m2000sp サブシステムキャリアにセットする。
 - 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。
11. Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って**血漿検体用の核酸抽出プロトコル**を開始する。
- キャリブレータ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タ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、キャリブレータ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。
- 注：入力した値がキットカードの値と一致していることを確認すること。**

増幅区域

12. マスターミックス分注のプロトコル開始前に、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、初期化を行うこと。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すること。
- 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

13. 核酸抽出終了後 60 分以内に、マスターミックス分注のプロトコルを開始すること。
- 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。**
14. 核酸抽出終了後、増幅・検出用試薬パック、キャップを外したマスターミックスチューブ、96 ウェル オプティカル リアクションプレートに 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・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。
 - 新しい増幅・検出用試薬パック 1 個につき、24 サンプルの処理が可能である。
 - 使用前に、増幅・検出用試薬パックが完全に融解していることを確認する。

- 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 -25 ～ -15℃ 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 -25 ～ -15℃ 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。
- 増幅・検出用試薬パックを開封する前に、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、溶液をバイアルの底に落とす。
 - 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存しておく。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。

15. 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すること。

注：Abbott m2000rt アナライザーのプロトコル（ステップ 18）は、マスターミックス分注のプロトコル完了後 60 分以内に開始すること。

16. Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置での溶出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（Optical Adhesive Cover）で密封する。
17. 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。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、保存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、直ちに真すぐに立てた状態で遮光して -25 ～ -15℃ 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。

増幅区域

18. 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】を参照すること。

重要：調製済みのマスターミックスを次回も使用する場合は（再使用する増幅・検出用試薬パックとして）、マスターミックス分注プロトコル終了後 45 分以内に -25 ～ -15℃ で保存すること。

プロトコル II：全血測定（Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出）
Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置、Abbott m2000rt アナライザーの操作方法についての詳細は、機器の取扱説明書を参照すること。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。

検体調製を行う前に【使用上又は取扱上の注意】を読むこと。

検体調製区域

1. 1 回につき、最大 48 サンプルの処理が可能である。各測定ごとに陰性コントロール、陽性コントロールを各 1 本測定するため、1 回につき、最大 46 検体の処理が可能である。
- サンプル量を確認する。平底チューブは使用しないこと。使用するサンプル量は 0.3 mL であるが、チューブにはそれ以上の量が入っている必要がある。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置における必要サンプル量およびラックと使用可能なチューブの関係を以下に示す。

ラック	チューブ内径	必要サンプル量 (mL)
13 mm	10.0 mm	0.50
	10.5 mm	0.54
	11.0 mm	0.59
	11.5 mm	0.64
	12.0 mm	0.69
16 mm	12.5 mm	0.74
	13.0 mm	0.76
	13.5 mm	0.80
	14.0 mm	0.85
	14.5 mm	0.90

- チューブの高さと使用できるインプットサンプルラックについては、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。
- 凍結検体は、15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解すること。一度融解した検体をすぐに使用しない場合は、2 ～ 8℃ で 24 時間まで保存することができる。
- 検体は使用前にボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間 × 3 回攪拌する。泡が生じていないことを確認し、必要に応じて新しい滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。ピペットチップはチューブごとに交換すること。チューブを開封する際は、キャップの内側に接触しないよう注意する。

サンプル数に対して、必要な核酸抽出試薬、コントロール、キャリブレータ、内部コントロールの数を以下の表に示す。

核酸抽出試薬、内部コントロール等の必要数		
対象	1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 サンプル
陽性コントロール	1 本	1 本
陰性コントロール	1 本	1 本
キャリブレータ ^a	各 3 本	各 3 本
増幅・検出用試薬パック ^b	新しい試薬パック 1 個 または 再使用する試薬パック 最大 4 個	新しい試薬パック 2 個 または 再使用する試薬パック 最大 4 個
DNA・核酸抽出試薬	1 セット	2 セット
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最大 2 本

^a キャリブレータは必要に応じて使用する。

^b 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。

2. 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、キャリブレータを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。**4. キャリブレーション**を参照すること。

・融解したキャリブレータ、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。

・キャリブレータ、コントロール、内部コントロールは使用前にボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間× 3 回攪拌する。攪拌後、バイアルを作業台の上で軽く叩き、溶液をバイアルの底に落とす。泡が生じていないことを確認し、必要に応じて新しい滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。ピペットチップはバイアルごとに交換する。

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。**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まで -25 ～ -15℃で保存すること。2 ～ 8℃で保存することはできない。-25 ～ -15℃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。

・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。

注：増幅・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。

4. DNA・核酸抽出試薬パックを開封する。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。

5. 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。転倒混和する。**

6. 較正済みの**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 125 μ L をライシス溶液の各ボトルに添加する。泡が生じないように注意しながら、容器を穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和する。**再使用する**内部コントロールはバイアルのキャップを閉めて -25 ～ -15℃で保存し、次の使用まで 14 日間保存することができる。

7. 磁性粒子溶液を除く DNA・核酸抽出試薬の各ボトルを穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和し、溶液が均一になっていることを確認する。以下の表に従って、試薬を該当する試薬容器に注ぐ。試薬容器内に泡が生じていないことを確認し、必要に応じて各試薬容器ごとに新しい滅菌済みピペットチップを使用して泡を取り除く。

注：下表に従って試薬容器にラベルを貼っておくこと。

核酸抽出試薬の各試薬は以下の通りにセットする。

試薬容器ポジション						
サンプル数	1	2	3	4	5	6
1 ～ 24	ライシス溶液 1 本	なし	磁性粒子溶液 1 本	洗浄液 1 1 本	洗浄液 2 1 本	溶出液 1 本
25 ～ 48	ライシス溶液 2 本	なし	磁性粒子溶液 1 本	洗浄液 1 2 本	洗浄液 2 2 本	溶出液 2 本

8. 核酸抽出開始直前に、磁性粒子溶液を勢いよく混ぜるかあるいはボルテックスミキサーで攪拌し、磁性粒子を完全に再懸濁した後、表に示した試薬容器に注ぐ。

9. 陰性コントロール、陽性コントロール、キャリブレータ（必要な場合）、検体を *m2000sp* サンプルラックにセットする。

・検体、コントロール、キャリブレータのすべてのチューブキャップを外す。

・キャップを外した検体、コントロールは、キャリブレータを、中の溶液が飛散しないように注意してサンプルラックにセットする。サンプルラックにチューブをセットする際は、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てから次のサンプルラックを使用し、間隔を空けないようにする。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。

・反応チューブ 5 mL を *m2000sp* サブシステムキャリアにセットする。

10. Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従って**全血検体用の核酸抽出プロトコル**を開始する。

・キャリブレータ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タ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、キャリブレータ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。

注：入力した値がキットカードの値と一致していることを確認すること。

増幅区域

11. マスターミックス分注のプロトコル開始前に、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、初期化を行うこと。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すること。

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

12. **核酸抽出終了後 60 分以内に、マスターミックス分注のプロトコルを開始すること。**

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。

13. 核酸抽出終了後、増幅・検出用試薬パック、キャップを外したマスターミックスチューブ、96 ウェル オプティカル リアクションプレートに 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・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。

・**新しい**増幅・検出用試薬パック 1 個につき、24 サンプルの処理が可能である。

・使用前に、増幅・検出用試薬パックが完全に融解していることを確認する。

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 -25 ～ -15℃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 -25 ～ -15℃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。

・増幅・検出用試薬パックを開封する前に、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、溶液をバイアルの底に落とす。

・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存しておく。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。

14. 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すること。

注：Abbott *m2000rt* アナライザーのプロトコル（ステップ 17）は、マスターミックス分注のプロトコル完了後 60 分以内に開始すること。

15. Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置での溶出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（Optical Adhesive Cover）で密封する。

16. 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。

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、保存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、直ちに真っすぐに立てた状態で遮光して -25 ～ -15℃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。

増幅区域

17. 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設定し、Abbott *m*2000rt 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 *m*2000rt アナライザー上に報告される。詳細は【測定結果の判定法】を参照すること。

重要：調製済みのマスターミックスを次回も使用する場合は（再使用する増幅・検出用試薬パックとして）、マスターミックス分注プロトコル終了後 45 分以内に -25 ～ -15℃ で保存すること。

プロトコルⅢ：血漿測定（用手法による核酸抽出）

Abbott *m*2000rt アナライザーの操作方法の詳細については、機器の取扱説明書を参照すること。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。検体調製を行う前に【使用上又は取扱上の注意】を読むこと。

注：

- ・1 回につき、最大 24 サンプルの処理が可能である。
- ・24 サンプル以下の場合、内部コントロール 1 本、プロテアーゼ K 1 本、DNA・核酸抽出試薬 1 セットを使用する。
- ・内部コントロールは、キャップを固く締めて 2 ～ 8℃ で保存した場合、14 日間以内に 3 回まで、合計 24 サンプルに使用することができる。
- ・水を加えて調製したプロテアーゼ K 溶液は、キャップを固く締めて 2 ～ 8℃ で保存した場合、14 日間以内に 3 回まで使用することができる。
- ・開封後の DNA・核酸抽出試薬はキャップを固く締めて 15 ～ 30℃ で保存した場合、14 日間以内に 3 回まで、合計 24 サンプルに使用することができる。

試薬調製区域

準備

1. 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・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。**
- ・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℃ で保存し、24 時間以内に使用すること。

検体調製区域

準備

2. 1 回につき、最大 24 サンプルの処理が可能である。各測定ごとに陰性コントロール、陽性コントロールを各 1 本測定するため、1 回につき、最大 22 例の血漿検体の処理が可能である。
- 以下に従って血漿検体を処理する。
- ・凍結検体は、15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解する。一度融解した検体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。
 - ・各検体をボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間×3 回攪拌する。
3. 陰性コントロール 1 本、陽性コントロール 1 本、内部コントロール 1 本を 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、各キャリブレーション 3 本を、15 ～ 30℃ または 2 ～ 8℃ で融解する。**4. キャリブレーションを参照すること。**
- ・融解したキャリブレーション、コントロール、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、コントロール、内部コントロールは使用前にボルテックスミキサーで 2 ～ 3 秒間×3 回攪拌する。攪拌後、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に落とす。泡が生じていないことを確認し、必要に応じて新しい滅菌済みピペットチップで泡を取り除く。ピペットチップはバイアルごとに交換する。
4. プロテアーゼ K を開封する。分子生物学グレード水 17.15 mL をポリプロピレン製遠心チューブ（50 mL）に分注する。プロテアーゼ K 2.45 mL を水の入ったチューブに分注する。10 ～ 15 回穏やかに転倒混和する。
5. DNA・核酸抽出試薬パックを開封する。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. 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。転倒混和する。**
- 注：DNA・核酸抽出試薬を次回再使用する場合は、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。**
7. 必要なライシス溶液の量を計算する（2.70 mL × サンプル数）。計算したライシス溶液の必要量を十分なサイズのポリプロピレン製チューブに分注する。必要な内部コントロールの量を計算する（4.82 μ L × サンプル数）。**内部コントロール専用の精密ピペット**を使用し、計算した内部コントロールの必要量をライシス溶液の入ったチューブに添加する。ライシス溶液と内部コントロールを、10 ～ 15 回穏やかに転倒混和する。泡が生じないように注意する。
8. 磁性粒子溶液と洗浄液 1 を除く DNA・核酸抽出試薬の各ボトルを穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和し、溶液が均一になっていることを確認する。磁性粒子溶液はステップ 16 で攪拌する。洗浄液 1 はこのプロトコルでは使用しない。
9. ドライヒートブロックの電源を入れる。
- ・1 目目のドライヒートブロックを 58℃ に設定する。
 - ・2 目目のドライヒートブロックを 80℃ に設定する。
- 注：ドライヒートブロックの温度を確認する。ドライヒートブロックの温度が設定温度に達するまで操作を始めないこと。**
- 注意：安全のため、ドライヒートブロックの製造元の取扱説明書に従って取り扱うこと。火傷の可能性があるため、ドライヒートブロックを取り扱う場合は電源を切り、35℃ 以下になるまで待つこと。**

10. 必要なすべてのチューブにラベルを貼る。

- ・**溶解（ライシス溶液 / プロテアーゼ K）とライシス洗浄**のステップでは、1 サンプルにつき 1 本の反応チューブ 5 mL が必要である。
- ・**70% エタノール洗浄 1、70% エタノール洗浄 2、溶出**のステップでは、1 サンプルにつき 1 本のスクリュキャップチューブ 1.5 mL が必要である。
- ・溶出した溶液用に、1 サンプルにつき 1 本のスクリュキャップチューブ 1.5 mL、または 96 ウェルプレート（ポリプロピレン製）1 枚が必要である。

溶解（ライシス溶液 / プロテアーゼ K）

11. 反応チューブ 5 mL を 58℃ のドライヒートブロックにセットする。精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 μ L）を使用して、58℃ のドライヒートブロックにセットした各反応チューブにライシス溶液を 150 μ L 分注する。
12. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して、各反応チューブに 0.5 mL のコントロール、キャリブレーション（キャリブレーションを行う場合）、検体を分注する。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。サンプルを分注するごとに上下にピペッティングを繰り返し、サンプルとライシス溶液が均一になるまで混和する。
- 注：泡が生じないように、ピペッティングは穏やかに行うこと。**
13. 精密ピペットと新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して各反応チューブに**プロテアーゼ K を 0.4 mL 分注する**。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。サンプルごとに上下にピペッティングを繰り返し、サンプル、ライシス溶液、プロテアーゼ K が均一になるまで混和する。
- 注：泡が生じないように、ピペッティングは穏やかに行うこと。**
14. タイマーをスタートさせ、15 分間インキュベーションする。
15. 滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して各反応チューブに**ライシス溶液を 1.6 mL（800 μ L × 2）分注する**。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。
16. 磁性粒子溶液を勢いよく混ぜるかあるいはボルテックスミキサーで攪拌し、ボトルの底に沈んだ磁性粒子がなくなるまで再懸濁する。磁性粒子を再懸濁した後、精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 μ L）を使用して、各反応チューブに磁性粒子溶液を 40 μ L 分注する。サンプルごとに 700 μ L にセットしたピペットで上下にピペッティングを 10 回繰り返し、サンプル、ライシス溶液、プロテアーゼ K、磁性粒子溶液が均一になるまで混和する。
- 注：泡が生じないように、ピペッティングは穏やかに行うこと。**
17. タイマーをスタートさせ、15 分間インキュベーションする。
18. 700 μ L にセットしたピペットでピペッティングを上下に 5 回繰り返し、溶液を混和する。サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用すること。
19. タイマーをスタートさせ、5 分間インキュベーションする。
20. インキュベーション後、反応チューブを磁性スタンドに立てて 2 分間放置し、チューブの側面に磁性粒子を集める。
21. サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）またはディスポーザブルピペットを使用して、磁性スタンドの反応チューブの溶解液を注意深く吸引し、廃液容器に捨てる。できるだけ溶液が残らないように吸引する。**チューブ側面の磁性粒子に触れたり吸引したりしないよう注意すること。**
22. 反応チューブを磁性スタンドから取り出し、58℃ に設定したヒートブロックに移す。

ライシス洗浄

23. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して、各サンプルにライシス溶液を 700 μ L 分注する。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。反応チューブの側面に磁性粒子が付着している場合は懸濁する。
- 注：ライシス溶液を分注する際は、溶液が飛散しないようゆっくりと分注する。**
24. タイマーをスタートさせ、10 分間インキュベーションする。
25. 400 μ L にセットしたピペットで上下にピペッティングを 10 回繰り返し、サンプルとライシス溶液を混和する。サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用すること。
26. 反応チューブを磁性スタンドに立てて 1 分間放置し、チューブの側面に磁性粒子を集める。
27. サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）またはディスポーザブルピペットを使用して、磁性スタンドに立てた反応チューブのライシス溶液を注意深く吸引し、廃液容器に捨てる。できるだけ溶液が残らないように吸引する。**チューブ側面の磁性粒子に触れたり吸引したりしないよう注意すること。**
28. 反応チューブを磁性スタンドから取り出し、非磁性のチューブラックに移す。

70% エタノール洗浄 1

29. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して、各サンプルに洗浄液 2 を 750 μ L 分注する。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。ピペッティングを上下に 10 回穏やかに繰り返し、磁性粒子を洗浄液に再懸濁する。反応チューブの側面に磁性粒子が付着している場合は懸濁する。
- 注：洗浄液 2 を分注する際は、溶液が飛散しないようゆっくりと分注する。**
30. 洗浄液と磁性粒子の溶液を、識別用のラベルを貼ったスクリュキャップチューブ 1.5 mL に移す。
31. チューブを磁性スタンドに立てて 1 分間放置し、チューブの側面に磁性粒子を集める。
32. サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 μ L）を使用して、磁性スタンドに立てたチューブの洗浄液 2 を注意深く吸引し、廃液容器に廃棄する。できるだけ溶液が残らないように吸引する。**磁性粒子に触れたり吸引したりしないよう注意すること。**
33. チューブを磁性スタンドから取り出し、非磁性のチューブラックに移す。

70%エタノール洗浄 2

34. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 µL）を使用して、各サンプルに洗浄液 2 を 500 µL 分注する。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。ピペッティングを上下に 10 回穏やかに繰り返し、磁性粒子を洗浄液に再懸濁する。チューブの壁面に磁性粒子が付着している場合は懸濁する。
注：洗浄液 2 を分注する際は、溶液が飛散しないようゆっくりと分注する。
35. チューブを磁性スタンドに立てて 1 分間放置し、チューブの側面に磁性粒子を集める。
36. サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（1000 µL）を使用して、磁性スタンドに立てたチューブの洗浄液 2 を注意深く吸引し、廃液容器に廃棄する。できるだけ溶液が残らないように吸引する。**磁性粒子に触れたり吸引したりしないよう注意すること。**
37. チューブを磁性スタンドから取り出し、80℃に設定したヒートブロックに移した後、15 分間インキュベーションしてエタノールを蒸発させる。

溶出

38. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 µL）を使用して、各サンプルに溶出液を 110 µL 分注する。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。ピペッティングを上下に繰り返し、磁性粒子を溶液に再懸濁する。チューブの壁面に磁性粒子が付着している場合は懸濁する。
39. チューブを 80℃にセットしたヒートブロックに移して、タイマーをスタートさせ、4 分間インキュベーションする。
40. チューブを 80℃のヒートブロックから取り出す。40 µL にセットしたピペットでピペッティングを上下に 4 回繰り返し、サンプルと溶出液を混和する。サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 µL）を使用すること。
41. チューブを 80℃のヒートブロックに戻す。タイマーをスタートさせ、4 分間インキュベーションする。
42. チューブを 80℃のヒートブロックから取り出した後、磁性スタンドに立てて 1 分間放置し、チューブの側面に磁性粒子を集める。
43. サンプルごとに新しい滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 µL）を使用して、磁性スタンドに立てたチューブの溶出サンプル液を注意深く吸引する。**磁性粒子に触れたり吸引したりしないよう注意すること。**溶出サンプル液は、識別用のラベルを貼った新しいスクリュウキャップチューブ 1.5 mL または 96 ウェルプレート（ポリプロピレン製）に分注する。
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 49 と 50）は、核酸抽出終了後 1 時間以内に開始すること。

増幅区域

44. 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。
45. テストオーダーを作成する。Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照すること。プロトコルの画面で、**本キット血漿用のアプリケーションファイル**を選択する。
注：試薬調製区域に戻る前に、手袋を外すこと。

試薬調製区域

- 注：増幅・検出用試薬パック 1 個で、最大 24 サンプルの処理が可能である。調製済みのマスターミックスは、残量が十分にある場合、遮光して -25 ～ -15℃で保存すること、14 日間に渡り最大 3 回まで使用することができる。調製済みのマスターミックスを再使用する場合は、融解後 1 時間以内に使用して冷凍庫に戻すこと。**
46. マスターミックスを調製する。
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、【使用上又は取扱上の注意】（2）使用上の注意 汚染防止に関する注意を参照すること。
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。
- 増幅・検出用試薬パックはボルテックスミキサーで攪拌したり、転倒混和したりしないこと。
 - 増幅・検出用試薬パック 1 個につき、最大 24 サンプルの処理が可能である。
 - 使用前に、増幅・検出用試薬パックが完全に融解していることを確認する。
 - 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、試薬をバイアルの底に落とす。試薬がバイアルの底にあることを確認する。
 - 以下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。校正された**試薬専用精密ピペット**を使用し、活性化試薬（試薬 1）316 µL とオリゴヌクレオチド試薬（試薬 2）433 µL を、酵素試薬（試薬 3）のボトルに加えてマスターミックスを調製する。上下に 6 回穏やかにピペッティングし、混和する。泡が生じないよう注意する。
47. ピペットを使用し、マスターミックスを酵素試薬ボトルからスクリュウキャップチューブ（1.5 mL）に移す。上下に 5 回穏やかにピペッティングし、混和する。泡が生じないよう注意する。
48. 汚染を防ぐため、スブラッシュフリーサポートベースに新しい 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。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。
49. **試薬専用精密ピペット**を使用し、マスターミックス 25 µL 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、サンプル、コントロール、キャリブレータ（必要な場合のみ）の測定数分だけ分注する。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。

- マスターミックスはウェルの左端の列から縦方向（上から下）に、また左の列から右の列に向かって分注する。
- 各ウェルに 25 µL 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

50. 精密ピペットと滅菌済フィルター付きピペットチップ（200 µL）を使用して、溶出サンプル 35 µL を 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。ピペットチップはサンプルごとに交換すること。各サンプルを分注するごとに、上下に 3 ～ 5 回ピペッティングして反応液を混和する。各ウェルに計 60 µL が分注されていることを目視で確認する。
51. 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。
52. 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをスブラッシュフリーサポートベースにセットしたまま、5,000 g で 5 分間遠心分離する。
53. 残ったマスターミックスを再使用する場合は、調製後または融解後 1 時間以内に冷凍庫に戻すこと。調製済みのマスターミックスは、遮光して -25 ～ -15℃で保存することで、14 日間に渡り最大 3 回まで使用することができる。
54. 96 ウェル オプティカル リアクションプレートをスブラッシュフリーサポートベースごと増幅区域に移動する。
注：Abbott m2000rt アナライザーのプロトコル（ステップ 55）は、マスターミックス分注および PCR プレート調製（ステップ 50）の完了後 60 分以内に開始すること。

増幅区域

55. 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、作成したオーダー（ステップ 45）を選択した後、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。**血漿用のアプリケーション**を使用すること。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】を参照すること。

測定後の手順

- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書に従い、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出して廃棄する。
- 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。
- 各測定が終了するごとにすべての区域を片づけて清掃する。
 - Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用した場合（プロトコル I と II）は、取扱説明書に従ってワークテーブルを清掃する。
 - 用手法によるサンプル調製を行った場合は（プロトコル III）、サンプルラック、ヒートブロック、磁性スタンドを 0.5% 次亜塩素酸ナトリウム溶液に約 10 分間漬けた後、水でよくすすぎ、完全に乾くまで放置して清掃する。施設のガイドラインに従い、作業区域を除染、清掃する。
- Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書に従い、機器とスブラッシュフリーサポートベースを清掃する。
- 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、適切な法律等に基づいて、除染および廃棄すること。
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用した場合（プロトコル I、II）、DNA・核酸抽出試薬は再使用できない。用手法によるサンプル調製を行った場合（プロトコル III）は、DNA・核酸抽出試薬を再使用することができる。再使用する場合は、プロトコル III の手順に従うこと。その他の試薬類、廃液は、適切な法規等に従って廃棄すること。
注意：次亜塩素酸ナトリウムをはじめとする酸化剤を DNA・核酸抽出試薬の構成成分であるライシス溶液、磁性粒子溶液、洗浄液 1 と混ぜないこと。また次亜塩素酸ナトリウムをはじめとする酸化剤を廃液と混ぜないこと。これらを混ぜると有毒なガスが発生する可能性がある。混合液を密閉容器に入れると容器内の圧力が高まる可能性がある。廃棄物の特性を把握し、適切な法規等に従って取り扱い、廃棄すること。
- 全ての消耗品、廃棄物は適切な法規等に従って廃棄すること。

3. 試薬の劣化

- 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。詳細は、**4. キャリブレーション**を参照すること。
- 受領した試薬キット、キャリブレータ、コントロールがラベルに表示されている保存条件に従って取り扱われていなかった場合や破損が認められる場合は弊社にご連絡ください。

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詳細については、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照すること。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。
 - FAMTM プレート（カルボキシフルオレセイン）
 - ROXTM プレート（カルボキシ-X-ローダミン）
 - NEDTM 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 CMV 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 CMV 濃度 [log copies/mL]）の作成では、2 濃度のキャリブレータを 3 重測定する。キャリブレータ A およびキャリブレータ B のロット固有の値は、キャリブレータ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。キャリブレータのキットカードに記載されている値を正確に入力することが重要である。値の単位は log copies/mL である。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 CMV DNA 濃度は、検量線をもとに算出される。測定結果は、自動的に Abbott m2000rt アナライザーの画面に表示される。
- キャリブレーションを行う際は、陽性コントロールと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すること。
- 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、新たな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（24 サンプル× 4）を使用する場合
 - 検体種の異なるアプリケーションファイル（プロトコル）を使用する場合
 - 新しいバージョンの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、アッセイパラメータの規格として内部コントロールのサイクル数（CN）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、核酸抽出開始時にライシス溶液に添加された規定量の内部コントロールが検体、キャリブレータ、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、CMV DNA 配列とは無関係の DNA 配列で構成されている。
- キャリブレータ中の内部コントロールのサイクル数中央値から、以後この検量線を使用する検体に対する内部コントロールのサイクル数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、エラーが表示される。エラーコードの内容や対応についての詳細は、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照すること。内部コントロールのサイクル数が管理範囲を外れた検体は、核酸抽出のステップに戻り再測定を行うこと。

6. 陽性コントロールと陰性コントロール

- 各測定ごとに陰性コントロールと陽性コントロールを各 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。コントロールのキットカードに記載されている値を正確に入力することが重要である。陽性コントロールの値の単位は log copies/mL である。
- コントロールの結果が規格を外れるとエラーが表示される。エラーコードの内容や対応についての詳細は、Abbott m2000rt アナライザーの取扱説明書を参照すること。もし陰性コントロールあるいは陽性コントロールが規格を外れた場合、その測定で使っ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 CMV DNA は検出されない。陰性コントロールで CMV DNA が検出された場合、核酸抽出中かまたは 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。汚染を防ぐためには、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置（自動核酸抽出を行う場合）、サンプルラック、ヒートブロック、磁性スタンド（用手用による核酸抽出を行う場合）、Abbott m2000rt アナライザーの清掃を行い、測定手順に従って、コントロールと検体の再処理を行うこと。陰性コントロールが一貫して陽性を示す場合は、弊社にご連絡ください。

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 回は次の確認作業を行うこと。調製した検体、コントロール、キャリブレータ、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。ピペット、Abbott m2000rt アナライザーのファンクションキー、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のファンクションキー（自動核酸抽出を行う場合）、サンプルラック、ヒートブロック、磁性スタンド（用手用による核酸抽出を行う場合）、作業台表面、マイクログリッド、遠心機のアダプターなど、日常的に取り扱う器具類も確認すること。

- 分子生物学グレード水 0.8 mL を DNase フリーマイクロチューブ（1.7 mL）に分注する。
- 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。
- 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。
- 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。
- 内部コントロール専用ピペットを使用して、0.5 mL の洗浄液 1 を新しいチューブに分注する。
- 各マイクロチューブに 20 µL の洗浄液 1 を分注する。
- マイクロチューブの蓋を閉める。
- 本書の測定手順に従って、このサンプルを測定する。
- マイクロチューブの溶液を反応チューブ 5 mL に移す。
- 綿棒のサンプルで CMV 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。

- 器具から CMV が検出された場合の清掃と除染の方法については、該当する器具の取扱説明書を参照すること。作業台から CMV が検出された場合は、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%エタノールまたは水を使用して拭き取る。
- ステップ 1 ～ 9 に従って再度該当箇所の汚染を確認する。

【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 CMV DNA 濃度は、機器に保存されている検量線があるいは同時に測定したキャリブレータによる検量線をもとに算出される。測定結果は、自動的に Abbott m2000rt アナライザーの画面に表示される。単位は IU/mL、log IU/mL、copies/mL、log copies/mL である。

- copies/mL と IU/mL の変換式は以下のとおりである。
 $\text{copies/mL} \times 1.56 = \text{IU/mL}$
- log copies/mL と log IU/mL の変換式は以下のとおりである。
 $\log \text{copies/mL} + 0.19 = \log \text{IU/mL}$

判定については、(2) 測定結果の表示と判定を参照すること。

(2) 測定結果の表示と判定

検体種	結果	判定
血漿	Not detected	検出されず ^a
	< 1.49 log IU/mL ^a	検出（最小検出感度未満） ^c
	1.49 ～ 8.19 log IU/mL	濃度表示される ^d
	> 8.19 log IU/mL	定量上限を超える ^e
全血	Not detected	検出されず ^a
	< 1.80 log IU/mL ^b	検出（最小検出感度未満） ^c
	1.80 ～ 8.19 log IU/mL	濃度表示される ^d
	> 8.19 log IU/mL	定量上限を超える ^e

^a 31.20 IU/mL

^b 62.40 IU/mL

^c LLoQ（定量下限または LLQ）未満。CMV DNA 濃度は定量できない。

^d 算出された結果は定量範囲内である。値が算出できた場合、Interpretation 欄は空欄となる。

^e ULQ（定量上限または ULQ）を超えている。log IU/mL または log copies/mL で示される値が定量上限を超えている場合は、それぞれ ">8.19 log IU/mL"、">8.00 log copies/mL" が表示される。IU/mL または copies/mL で示される値が定量上限を超えている場合は、それぞれ >156,000,000 IU/mL、>100,000,000 copies/mL が表示される。

陰性コントロールあるいは陽性コントロールが規格を外れた場合、その測定で使っ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。

判定上の注意

- 正しい測定結果を得るためには、検体を適切に採取、保存し、検査施設に輸送する必要がある（詳細は、【操作上の注意】（1）測定資料の性質、採取法を参照すること）。
- 検体は、ヒト血漿（EDTA 入り）またはヒト全血（EDTA 入り）を使用すること。他の抗凝固剤は本キットで使用できることを確認していない。
- 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、キャリブレータ、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。
- 結果が "Not detected" であっても CMV DNA の存在を否定することはできない。
- 薬剤の影響は各種薬剤をブールして検討した。Lymphocyte immune globulinを除き、個々の薬剤による影響は評価していない。
- 干渉物質の検討は CMV DNA 濃度約 3,120 IU/mL（3.49 log IU/mL）のサンプルを使用して行った。定量下限付近の濃度では行っていない。
- 交差反応性の検討は核酸（DNA と RNA）に対してのみ行った。詳細は【操作上の注意】（2）妨害物質・妨害薬剤を参照すること。
- 患者のウイルス量をモニタリングする際は、モニタリング期間を通して同じ種類の検体を使用すること。必要に応じて学会等のガイドラインに従うこと。
- 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。
- 本キットは、血液、血漿または組織提供者の CMV 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 CMV 感染の確定診断をすることはできない。

【臨床的意義】

本品は移植患者やヒト免疫不全ウイルス（HIV）感染者のような免疫不全者のヒト血漿又は全血中のサイトメガロウイルス（CMV）DNA 定量のための PCR キットである。本品は、臨床所見及び他の検査マーカーとともに使用され、DNA レベルの変化による CMV 感染の診断及び治療効果モニタリングの補助として使用する。

<国内臨床性能試験>

国内 3 施設において、造血幹細胞移植後の患者、腎移植後の患者及び HIV 感染者（保存検体を含む）の CMV 感染モニタリングを行い、本品の臨床的有用性を検討した。本試験では、造血幹細胞移植 40 症例 300 検体、腎移植 50 症例 437 検体、及びヒト免疫不全症ウイルス（HIV）感染患者 22 症例 124 検体の血漿検体を対象とした。本試験では、本品を用いた測定と同時に、既承認品のアンチジェネミア法（AG 法）による白血球中の CMV 抗原の検出を行った（表 3 ～ 5）。

表3 患者背景一覧

造血幹細胞移植			腎移植		HIV		
		歳		歳		歳	
年齢	中央値	53.0	中央値	51.0	中央値	43.5	
	範囲	22-67	範囲	26-69	範囲	29-72	
		回		回		回	
測定回数	中央値	8	中央値	8	中央値	4	
	(範囲)	(1-8)	(範囲)	(3-16)	(範囲)	(1-19)	
		例		例		例	
性別	男性	26	男性	34	男性	21	
	女性	14	女性	16	女性	1	
移植ドナー	—		生体腎	50	—		
原疾患名	急性リンパ性白血病	4	糸球体腎炎	20	HIV 感染症	6	
	急性骨髄性白血病	15	糖尿病性腎症	13	AIDS	16	
	再生不良性貧血	1	遺伝性疾患・先天性疾患	6			
	悪性リンパ腫	7	腎硬化症	5			
	骨髄異形成症候群	5	間質性腎炎	2			
	その他血液疾患	8	その他疾患	4			
CMV 抗体保有※ 1	D ※ 2(-) / R ※ 2(-)	3	D(-) / R(-)	1	(-)	0	
	D(-) / R(+)	16	D(-) / R(+)	2	(+)	19	
	D(+) / R(-)	2	D(+) / R(-)	7	不明	3	
	D(+) / R(+)	19	D(+) / R(+)	38			
			D(+) / R (不明※ 3)	2			
ABO 血液型	—		適合	25	—		
			不適合	25			
移植前処置	全身放射線照射を含む骨髄破壊的前処置	33	—		—		
	その他骨髄破壊的前処置	2					
	強度減弱前処置	5					
ATG ※4 使用	なし	31	—		—		
	あり	9					
感染症	—	—		なし	18		
				CMV 肺炎	1		
				CMV 網膜炎	1		
				CMV 以外の感染症	2		
合併症	—	—		なし	7		
				ニューモシス	6		
				ティス肺炎			
				その他	9		

※1 造血幹細胞移植及び腎移植では移植前 CMV 抗体保有を示す

※2 D：ドナー、R：レシピエント

※3 判定保留（±）を含む

※4 抗胸腺細胞グロブリン

表4 本品の感度・特異度※1

	造血幹細胞移植	腎移植	HIV	全体
n	300	437	124	861
感度	97.5% (78/80)	95.5% (42/44)	100.0% (52/52)	97.7% (172/176)
特異度	44.1% (97/220)	62.6% (246/393)	25.0% (18/72)	52.7% (361/685)
全体※2	58.3% (175/300)	65.9% (288/437)	56.5% (70/124)	61.9% (533/861)

※1 本品は CMV DNA が検出された検体を、AG 法は陽性細胞 1 個以上と判定された検体を陽性とした。

※2 各々の乖離検体（造血：125 検体、腎：149 検体、HIV 臨床：54 検体）のうち、第三法としてのリアルタイム PCR 法（定量）で測定可能な検体（造血：46 検体、腎：15 検体、HIV 臨床：4 検体）の再検査をしたところ、第三法で陽性の検体は何れも本品陽性であった。

表5 本品と AG 法の相関性

	造血幹細胞移植	腎移植	HIV	全体
n	78	36	51	165
回帰式	y = 294.22x + 1134.1	y = 1843.2x - 4322.6	y = 207.26x + 1349.2	y = 1024.8x - 4488.2
相関係数	R = 0.7519	R = 0.9390	R = 0.7422	R = 0.7242

以上の結果より、本品は AG 法を対照法とした際、高い感度を示し、本品と AG 法の定量値には良好な相関が認められたため、AG 法と同等あるいはそれ以上の性能を有することが示された。AG 法の陽性細胞 1 個に相当する CMV DNA 量は 102 IU/mL (2.01 log IU/mL) であった（本品の CMV DNA 量 102 IU/mL 以上を陽性とした場合、本品の感度 89.8% (158/176)、特異度 85.1% (583/685)、全体一致率 86.1% (741/861) であった）。

・造血幹細胞移植後の患者で抗 CMV 治療を開始した症例は全 40 例中 24 例、未治療症例は 40 例中 16 例であった。治療 24 例について、モニタリング中の本品及び AG 法の定量値の推移を確認したところ、AG 法と同時に又は AG 陽性化に先行して本品の定量値が上昇し、治療による AG 陰性化又は AG 陽性細胞数の減少に伴って、本品の定量値が低下した。未治療 16 例中 12 例は、モニタリング中に本品では未検出又は 2.0 log IU/mL 未満で検出された。16 例中 4 例は、モニタリング中に本品で連続して検出された。

・腎移植後の患者で治療を開始した症例は全 50 例中 23 例、未治療症例は 50 例中 27 例であった。治療 23 例中 14 例は、AG 法にて CMV 感染が確認されるより前に予防的に治療が開始され、23 例中 9 例は CMV 感染確認後に治療が開始された。予防治療 14 例中 9 例は、モニタリング中に本品及び AG 法で未検出又は検出下限未満であった。予防治療 14 例中 5 例及び CMV 感染確認後に治療を開始した 9 例では、AG 法と同時に又は AG 陽性化に先行して本品の定量値が上昇し、治療による AG 陰性化又は AG 陽性細胞数の減少に伴って、本品の定量値が低下した。未治療 27 例中 19 例は本品で未検出又は検出下限未満であった。27 例中 8 例はモニタリング中に本品で連続して検出された。

・HIV 感染者で治療を開始した症例は全 22 例中 9 例、未治療症例は 22 例中 13 例であった。治療 9 例中 8 例は、AG 法と同時に本品の定量値が得られ、治療による AG 陰性化又は AG 陽性細胞数の減少に伴って、本品の定量値が低下した。治療 9 例中 1 例は、1 ポイントの測定結果のみ得られた。未治療 13 例中 3 例は、本品で 2.5 log IU/mL 未満の濃度で検出された。13 例中 2 例は、本品及び AG 法でモニタリング中に連続して検出され、本品及び AG 法で同様な定量値の推移を示した。13 例中 8 例は、1 又は 2 ポイントの測定結果のみ得られた。

以上の結果より、本品は AG 法と同様に、対象となる患者の病態を反映して変動することから、CMV 感染モニタリングのマーカーとして臨床的に有用であると考ええる。

【性能】

以下に示す本キットの性能は、特に示していない限り Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用して核酸抽出を行った。

(1) 最小検出感度 (LoD)

LoD は、検出率が 95% 以上となる CMV DNA 濃度とした。

最小検出感度 (血漿)

血漿での LoD は 31.20 IU/mL である。LoD の検討は、不活化 CMV をプールヒト血漿で希釈したサンプルを用いて行った。本キット 3 ロットを用いて、3 台の機器で試験を行った。代表的な結果の例を表 6 に示す。

表6 本キットの LoD (血漿)			
CMV 濃度 (IU/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
46.80	66	66	100
31.20	66	62	94
23.40	66	64	97
18.72	66	64	97
15.60	66	62	94
12.48	66	56	85
9.36	66	54	82
6.24	66	49	74

プロビット解析を行ったところ、検出率が 95% となる CMV DNA 濃度は 21.08 IU/mL (95%信頼区間 17.01 ~ 30.10 IU/mL) であった。

最小検出感度 (全血)

全血での LoD は 62.40 IU/mL である。LoD の検討は、不活化 CMV をプールヒト全血で希釈したサンプルを用いて行った。本キット 3 ロットを用いて、3 台の機器で試験を行った。代表的な結果の例を表 7 に示す。

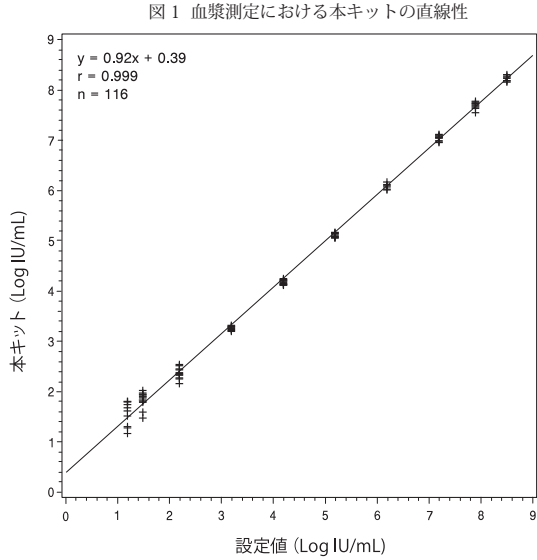
表7 本キットの LoD (全血)			
CMV 濃度 (IU/mL)	測定数	検出数	検出率 (%)
70.20	60	60	100
62.40	60	60	100
56.16	60	59	98
49.92	60	59	98
43.68	60	57	95
37.44	60	54	90
31.20	60	51	85
18.72	60	35	58

プロビット解析を行ったところ、検出率が 95% となる CMV DNA 濃度は 41.99 IU/mL (95%信頼区間 37.61 ~ 48.72 IU/mL) であった。

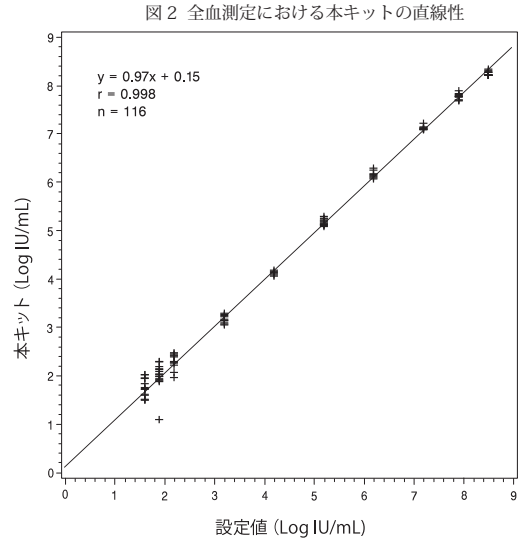
(2) 直線性

血漿測定において、本キットの測定値が直線性を示す上限は 156,000,000 IU/mL で、下限は血漿測定の LoD と同等 (31.20 IU/mL) である。全血測定において、本キットの測定値が直線性を示す上限は 156,000,000 IU/mL で、下限は全血測定の LoD と同等 (62.40 IU/mL) である。

CMV DNA をプールしたヒト血漿で希釈し、1.19 ～ 8.49 Log IU/mL の濃度範囲に調製した 10 例のパネルを測定した。結果を図 1 に示す。



CMV DNA をプールしたヒト全血で希釈し、1.59 ～ 8.49 Log IU/mL の濃度範囲に調製した 10 例のパネルを測定した。結果を図 2 に示す。



直線性の解析を CLSI ガイドライン EP6-A¹ に従って行った。本キットは、血漿測定および全血測定ともに、検討を行った CMV DNA 濃度の範囲で直線性を示した。

**(3) 再現性

血漿測定について、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置と手法による核酸抽出を行い、再現性を検討した。CMV プラスミド (設定値が 1,560,000 IU/mL を超える高濃度の場合) または不活化 CMV ウイルス (設定値が 1,560,000 IU/mL 以下の中～低濃度の場合) をプールしたヒト血漿に添加し、再現性パネルを調製した。これらを本キット 3 ロット、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー各 3 台を使用して測定した。核酸抽出を Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置で行う方法では、10 例のパネルをそれぞれ 4 重測定で 15 回測定した。核酸抽出を的手法で行う方法では、6 例のパネル (10 例のパネルの一部) をそれぞれ少なくとも 2 重測定で 15 回測定した。CLSI ガイドライン EP10-A3² に従って解析を行い、測定内、測定間、アッセイ間 (測定内と測定間)、ロット / 機器間および全体の標準偏差を算出した。本キットのアッセイ間の標準偏差 (SD) は、CMV DNA 濃度が 780 ～ 15,600,000 IU/mL の血漿サンプルにおいて 0.500 log IU/mL 以下である。代表的な結果の例を表 8、表 9 に示す。

全血測定について、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出を行い、再現性を検討した。CMV プラスミド (設定値が 1,560,000 IU/mL を超える高濃度の場合) または不活化 CMV ウイルス (設定値が 1,560,000 IU/mL 以下の中～低濃度の場合) をプールしたヒト全血に添加し、再現性パネルを 10 例調製した。3 ロットの本キット、3 台の機器で測定して行った。10 例のパネルはそれぞれ 4 重測定で 15 回測定した。CLSI ガイドライン EP10-A3² に従って解析を行い、測定内、測定間、アッセイ間 (測定内と測定間)、ロット / 機器間および全体の標準偏差を算出した。本キットのアッセイ間の標準偏差 (SD) は、CMV DNA 濃度が 1,560 ～ 15,600,000 IU/mL の全血サンプルにおいて 0.500 log IU/mL 以下である。代表的な結果の例を表 10 に示す。

表 8 本キットの再現性 (血漿)
Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー使用

パネル	n	濃度 (Log IU/mL)		測定内 SD (Log IU/mL)	測定間 SD (Log IU/mL)	アッセイ間 SD ^a (Log IU/mL)	ロット / 機器間 SD (Log IU/mL)	総 SD (Log IU/mL)
		設定値	平均					
1	40 ^b	1.11	1.23	0.232	0.055	0.239	0.000	0.239
2	53 ^c	1.41	1.41	0.269	0.173	0.320	0.000	0.320
3	60	2.11	1.99	0.134	0.020	0.136	0.024	0.138
4	60	3.11	2.92	0.058	0.067	0.088	0.024	0.092
5	60	4.11	3.83	0.053	0.035	0.063	0.011	0.064
6	60	5.11	4.83	0.046	0.042	0.062	0.065	0.090
7	60	6.11	6.07	0.036	0.017	0.039	0.052	0.065
8	60	7.19	7.08	0.050	0.028	0.057	0.054	0.079
9	59 ^d	7.89	7.77	0.036	0.026	0.044	0.079	0.091
10	59 ^d	8.49	8.26	0.042	0.020	0.047	0.079	0.091

- a アッセイ間 SD は、測定内と測定間の結果を含む。
b 測定結果のうち 20 テストは CMV DNA が検出されなかった。
c 測定結果のうち 6 テストは CMV DNA が検出されなかった。パネル 2 の測定結果のうち 1 テストが外れ値と特定されたため、解析から除外した。
d 機器エラーにより 1 テストの測定結果が得られなかった。

表 9 本キットの再現性 (血漿)
手法による核酸抽出および Abbott m2000rt アナライザー使用

パネル	n	濃度 (Log IU/mL)		測定内 SD (Log IU/mL)	測定間 SD (Log IU/mL)	アッセイ間 SD ^a (Log IU/mL)	ロット / 機器間 SD (Log IU/mL)	総 SD (Log IU/mL)
		設定値	平均					
1	42	1.41	1.51	0.225	0.065	0.235	0.000	0.235
2	42	2.11	2.18	0.114	0.136	0.178	0.104	0.206
3	41 ^b	3.11	3.08	0.047	0.052	0.070	0.000	0.070
4	42	5.11	5.01	0.032	0.068	0.075	0.000	0.075
5	42	7.19	7.18	0.102	0.046	0.112	0.027	0.115
6	42	8.49	8.39	0.051	0.037	0.063	0.000	0.063

- a アッセイ間 SD は、測定内と測定間の結果を含む。
b パネル 3 の測定結果のうち 1 テストが外れ値と特定されたため、解析から除外した。

表 10 本キットの再現性（全血）
Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置および Abbott m2000rt アナライザー使用

パネル	n	濃度 (Log IU/mL)		測定内 SD (Log IU/mL)	測定間 SD (Log IU/mL)	アッセイ間 SD ^a (Log IU/mL)	ロット / 機器間 SD (Log IU/mL)	総 SD (Log IU/mL)
		設定値	平均					
1	54 ^b	1.59	1.68	0.235	0.045	0.239	0.078	0.251
2	59 ^c	1.89	1.93	0.233	0.082	0.247	0.002	0.247
3	60	2.19	2.24	0.153	0.000	0.153	0.082	0.174
4	60	3.19	3.17	0.063	0.012	0.064	0.073	0.097
5	60	4.19	4.12	0.036	0.000	0.036	0.054	0.064
6	60	5.19	5.11	0.050	0.000	0.050	0.055	0.074
7	60	6.19	6.11	0.030	0.012	0.032	0.014	0.035
8	60	7.19	7.12	0.074	0.027	0.079	0.023	0.082
9	60	7.89	7.81	0.060	0.000	0.060	0.034	0.069
10	60	8.49	8.30	0.031	0.019	0.036	0.024	0.044

^a アッセイ間 SD は、測定内と測定間の結果を含む。

^b 測定結果のうち 6 テストは CMV DNA が検出されなかった。

^c 測定結果のうち 1 テストは CMV DNA が検出されなかった。

(4) 定量限界

血漿測定における本キットの定量上限 (ULoQ) は 156,000,000 IU/mL で、定量下限 (LLoQ) は LoD と同等 (31.20 IU/mL) である。全血測定における本キットの定量上限は 156,000,000 IU/mL であり、定量下限は LoD と同等 (62.40 IU/mL) である。

血漿測定および全血測定における検出限界の検討結果から TAE (Total analytical error) を算出した。濃度が LoD 付近の血漿パネルの TAE を表 11 に示す。濃度が LoD 付近の全血パネルの TAE を表 12 に示す。TAE は 2 種類の方法で算出した (表注参照)。

TAE 解析の結果、許容レベルの正確さ (TAE < 1.00 log IU/mL) で測定可能な CMV DNA 濃度は、血漿測定で 31.20 IU/mL (1.49 log IU/mL)、全血測定で 62.40 IU/mL (1.80 log IU/mL) であった。真値が定量下限と同じサンプルを複数回測定した場合、測定間差は 95% の確率で 1.00 log IU/mL 未満である。

表 11 本キットの定量限界 (血漿における TAE の評価)
(Log IU/mL)

パネル	n	期待値	実測値	バイアス	SD	TAE ^a	TAE ^b
						バイアス + (2 × SD)	SQRT(2) × 2 × SD
G	54	0.97	1.34 ^c	0.37	0.24	0.84	0.67
F	56	1.10	1.42 ^c	0.32	0.28	0.89	0.80
E	62	1.19	1.53	0.34	0.27	0.88	0.77
D	64	1.27	1.51	0.24	0.25	0.74	0.70
C	64	1.37	1.60	0.23	0.27	0.78	0.78
B	62	1.49	1.73	0.24	0.22	0.67	0.62
A	66	1.67	1.89	0.22	0.17	0.56	0.48

^a CLSI ガイドライン EP17-A³、セクション 5.1 による。

^b 2 つの測定間の差異に基づいている。

^c パネル濃度が LoD (1.49 log IU/mL) 未満であるため、TAE は参考値である。

表 12 本キットの定量限界 (全血における TAE の評価)
(Log IU/mL)

パネル	n	期待値	実測値	バイアス	SD	TAE ^a	TAE ^b
						バイアス + (2 × SD)	SQRT(2) × 2 × SD
F	54	1.57	1.71 ^c	0.14	0.24	0.62	0.68
E	57	1.64	1.82	0.18	0.25	0.69	0.72
D	59	1.70	1.78 ^c	0.08	0.24	0.56	0.67
C	59	1.75	1.81	0.06	0.22	0.50	0.62
B	60	1.80	1.93	0.13	0.23	0.59	0.65
A	60	1.85	1.96	0.11	0.21	0.53	0.59

^a CLSI ガイドライン EP17-A³、セクション 5.1 による。

^b 2 つの測定間の差異に基づいている。

^c パネル濃度が LoD (1.80 log IU/mL) 未満であるため、TAE は参考値である。

(5) キャリーオーバー

Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置のキャリーオーバーの検討を行うため、陰性サンプルと高濃度の CMV 陽性血漿サンプルおよび全血サンプルを交互に繰り返し測定した。陽性サンプルの CMV DNA 濃度は 15,600,000 IU/mL とした。陰性サンプルの総数に対し、LoD を超える値を示した陰性サンプル数の割合を、キャリーオーバー率とした。Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置を使用して核酸抽出を行い、血漿サンプルと全血サンプルを測定した。各組み合わせに対し、測定を 5 回行った。血漿サンプルのキャリーオーバー率は 0.0% (0/220) であった。全血サンプルのキャリーオーバー率は 0.0% (0/100) であった。

(6) 測定範囲

血漿測定は 31.20 ~ 156,000,000 IU/mL、全血測定は 62.40 ~ 156,000,000 IU/mL である。

(7) 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 HCMV (NIBSC 09/162)⁴ を用いている。

【使用上又は取扱い上の注意】

(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、また口によるビ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。これらの試薬類およびヒト検体は、Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories⁵、OSHA Standards on Bloodborne Pathogens⁶、CLSI Document M29-A4⁷、他の適切なバイオセーフティ基準⁸ 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ること。
 - 陽性コントロールに含まれるヒト血漿は、HCV 抗体陰性、HIV-1 抗体陰性、HIV-2 抗体陰性、HBs 抗原陰性である。
 - 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)】を参照すること。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 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すること。
 - 本キット、キャリアプレート、コントロールの構成品は以下の成分を含む。
 - アジ化ナトリウム
 - 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
EUH032	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	グアニジン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。

- ・ DNA・核酸抽出試薬の磁性粒子溶液



警告	グアニジン塩酸塩を含む
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。

- ・ 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)
- 危険有害性情報、注意事項を次に示す。



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。

(2) 使用上の注意

検体採取および取扱い上の注意

本測定では血漿検体または全血検体のみを使用できる。検体は (1) 測定試料の性質、採取法に従って取り扱い、キャップ付きチューブに保存すること。

検査室に関する注意

- ・ 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、キャリブレーション、検体を取り扱う前に手袋を交換すること。清掃、除染方法については、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、および本書の測定後の手順を参照すること。
- ・ 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。
- ・ ピペッ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またはディスポーザブルピペットを使用すること。ピペットの汚染を防ぐには、チップの長さも重要である。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。
- ・ 液体を手作業で分注する場合、**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 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、および本書の測定後の手順に記載されている方法で清掃、除染すること。

汚染防止に関する注意

- ・ PCR などの増幅反応は、過去に行った測定の増幅産物混入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 m2000sp 自動核酸抽出装置および 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 2 箇所の専用区域を設けること。
 - ・ **検体調製区域**では、サンプル (検体、キャリブレーション、コントロール) の調製および、調製した検体、キャリブレーション、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、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、検体調製区域に持ち出さないこと。
- ・ 手法による核酸抽出と Abbott m2000rt アナライザー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、および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、キャリブレーション、コントロール) の調製および、調製した検体、キャリブレーション、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。**
- ・ 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、**測定後の手順**に従ってすべての消耗品と試薬を廃棄すること。
- ・ 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密封し、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。
- ・ 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ャ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ャ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は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。
- ・すべての検体、試薬類、その他潜在的バイオハザード物質または汚染されている可能性のあるものは、適切な法律等に従い除染および廃棄すること。⁷ 除染や廃棄の際は、作業場所が汚染される可能性を最小限に抑えること。
- ・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て保存すること。

試薬の保存および取扱い

- ・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。
- ・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、使用時以外は -25 ～ -15℃ で保存すること。使用している増幅・検出用試薬パックは、検体やキャリブレータ、およびコントロールに直接触れないように注意すること。凍結で保存して輸送される。
- ・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、真すぐに立てた状態で遮光して -25 ～ -15℃ 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 -25 ～ -15℃ 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。
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置でサンプル調製を行う場合、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。
- ・コントロールは、-25 ～ -15℃ で保存すること。凍結で保存して輸送される。
- ・キャリブレータは、-25 ～ -15℃ で保存すること。凍結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。
- ・プロテアーゼ K PCR グレードは、2 ～ 8℃ で保存すること。
- ・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。

(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⁴ で拭き取る。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）】を参照すること。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⁷ 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： -25 ～ -15℃ 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-CMV	製品番号 5N23-91：96 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	0.600 mL × 4
・ 酵素試薬	0.070 mL × 4
・ 活性化試薬	0.778 mL × 4
○ 内部コントロール	0.53 mL × 4

【主要文献】

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. CLSI Document EP6-A. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS): Wayne, PA; 2003.
- ** 2. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Preliminary Evaluation of Quantitative Clinical Laboratory Methods Approved Guideline* – Third Edition. CLSI Guideline EP10-A3, Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA, 2014.
- ** 3. Clinical Laboratory Standards Institute. *Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures* – Second Edition. CLSI Document EP17-A2. CLSI: Wayne, PA, 2012.
- ** 4. Fryer JF, Heath AB, Anderson R, Minor PD, Collaborative Study Group. Collaborative Study to Evaluate the Proposed 1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification (NAT)-Based Assays. World Health Organization; 2010. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/70521>
5. 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.*]
6. US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.1030. *Bloodborne Pathogens*.
- ** 7. 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.
8. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. 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 2024