

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

＊ 2020 年 6 月改訂（第 2 版）
2020 年 4 月作成（第 1 版）

製造販売承認番号 30200EZ00022000

エプスタイン・バーウイルス核酸キット
アキュジーン[®]m - EBV

【一般的な注意】

- 1. 本製品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないこと。
- 2. 診断は、他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断すること。
- 3. 添付文書に記載された使用方法に従って使用すること。本添付文書に記載された使用方法および使用目的以外での使用については、測定結果の信頼性は保証しない。
- 4. 本測定で使用する試薬類には、ヒト由来成分が含まれているものがあり、感染の危険があるので感染性のあるものとして取り扱うこと。詳細は、【形状・構造等（キットの構成）】または【用法・用量（操作方法）】を参照すること。
- 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）】

○ 試薬キット

1. 増幅・検出用試薬パック

- ・ オリゴヌクレオチド試薬
EBV フォワードプライマー
EBV リバースプライマー
EBV プローブ
（他の含有物：緩衝液）
ポジション 1 にセットされている。
- ・ 酵素・活性化試薬

- AptaTaq[®] 1 DNA ポリメラーゼ
- dNTP[®] 2 Mix
- ※ 1 AptaTaq：Recombinant *Thermus aquaticus*
- ※ 2 dNTP：デオキシリボヌクレオチド三リン酸
dNTP Mix は以下の 4 成分を有するヌクレオチドの混合物である。
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'-デオキシウリジン 5'-三リン酸（dUTP）
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、塩化マグネシウム）
ポジション 3 にセットされている。

注：増幅・検出用試薬パックは試薬ボトルを 3 本までセットできるが、本キットの試薬ボトルは計 2 本であり、ポジション 1 とポジション 3 にセットされている。中央のポジション 2 にはボトルはセットされていない。

2. 内部コントロール

（主な含有物：緩衝液、合成プラスミド DNA 保存剤：ProClin 950、アジ化ナトリウム）

○ コントロール

・ 陰性コントロール

（主な含有物：緩衝液、EBV DNA フリー）

・ 陽性コントロール L

（主な含有物：緩衝液、低濃度不活化 EBV、ヒト血清アルブミン 保存剤：ProClin 300）

・ 陽性コントロール H

（主な含有物：緩衝液、高濃度 EBV プラスミド DNA、DNA 保存剤：ProClin 300）

【使用目的】

血漿又は全血中の EB ウイルス（EBV）DNA の測定（EB 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 EBV 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。EBV フォワードプライマー及び EBV リバースプライマーを標的とする配列に結合させ、dNTP Mix（dATP、dCTP、dUTP、dGTP）存在下で AptaTaq 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 EBV 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 EBV 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 EBV プローブ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 EBV プローブ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. EBV DNA 濃度の算出
検体の CN[®]（Cycle Number）を 2 濃度のキャリブレーションで作成した検量線にあてはめ、EBV DNA 量（IU/mL 又は log IU/mL）を算出する。
※ CN：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

重要：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。全血は採取後直ちに測定すること。直ちに測定しない場合は、以下の条件で保存すること。
 - ・ 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。血漿検体は以下の条件で保存することができる。
 - ・ 2 ～ 30℃で 24 時間まで（血漿分離前）
 - ・ 15 ～ 30℃で 24 時間まで（血漿分離後）
 - ・ 2 ～ 8℃で 5 日間まで（血漿分離後）
 - ・ -70℃以下で長期間（血漿分離後）
- ・ 3 回を超える凍結融解は行わないこと。血漿検体は 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。

検体の輸送

- ・ 検体を輸送する場合は、臨床検体および病原体 / 感染性物質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や外因性薬剤が本キットに与える影響を検討した。EBV DNA 約 3.3 ± 0.3 log IU/mL を含む血漿および全血サンプルに、以下に示した濃度になるよう各物質を添加して対応する測定法で測定したところ、本キットの測定値に影響は認められなかった。

表 1 内因性物質

物質	濃度
トリグリセライド	37 mM
タンパク質	120 g/L
ビリルビン	342 μM
ヘモグロビン	2 g/L

- ・ 表 2 に示した通り、40 種類の薬剤を 9 群に分けて検討した。うち 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。以下の薬剤を添加したすべての EBV 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 2 薬剤および薬剤群

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
2	硫酸アバカビル、アムプレナビル、インターフェロン 2a、インターフェロン 2b、リバビリン
3	テノホビルジソプロキシルフマル酸塩、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、パラシクロビル
6	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、ラベプラゾール、バルサルタン
10	Lymphocyte immune globulin

交差反応性

- ウイルス、微生物と本キットとの交差反応性について検討した。検討を行った株を表3に示す。希釈液にリン酸緩衝生理食塩水を用いて、ウイルスは濃度1×10⁵ TCID50/mL以上、バクテリアは濃度1×10⁶ CFU/mL以上になるように希釈した。本キットの測定結果が陽性を示した株はなかった。添加した微生物の供給元はATCC (American Type Culture Collection)、Life Technologies、ZeptoMetrix Corpである。

微生物の干渉

- 表3に示した微生物を含むパネルを使用して、本キットに対する微生物の影響を評価した。微生物または精製核酸(表3参照)をEBV濃度約2,000 IU/mLの血漿および全血に添加した。ウイルスは濃度1×10⁵ TCID50/mL以上、バクテリアは濃度1×10⁶ CFU/mL以上になるように添加した。本キットの測定値に影響は認められなかった。

表3 分析特異性 / 交差反応性

微生物 / ウイルス	供給元 / 株
アデノウイルス 2 型	Zeptomatrix 0810110CF
ヒトポリオーマウイルス BK	Zeptomatrix 0810065CF
サイトメガロウイルス	Zeptomatrix 0810003CF
B 型肝炎ウイルス	Life Technologies 960603
C 型肝炎ウイルス	Life Technologies 960203
ヒトヘルペスウイルス 6	Zeptomatrix 0810072CF
ヒトヘルペスウイルス 7	Zeptomatrix 0810071CF
ヒトヘルペスウイルス 8	Zeptomatrix 0810104CF
ヒト免疫不全ウイルス 1 型 IIIB 株	Zeptomatrix 0801032CF
ヒト免疫不全ウイルス 2 型 NIH-Z 株	Zeptomatrix 0810029CF
ヒトパピローマウイルス 16 型※	ATCC 45113D
ヒトパピローマウイルス 18 型※	ATCC 45152D
単純ヘルペスウイルス 1 型	Zeptomatrix 0810005CF
単純ヘルペスウイルス 2 型	Zeptomatrix 0810006CF
ヒト T 細胞白血病ウイルス 1 型	Zeptomatrix 0801033CF
ポリオーマウイルス JC	Zeptomatrix VPL-030
ポリオーマウイルス SV-40 ※	ATCC VRMC-2
ワクチニアウイルス※	ATCC VR-1354D
水痘 - 帯状疱疹ウイルス	Zeptomatrix VPL-030
<i>Actinomyces israelii</i>	ATCC 12102
<i>Aspergillus niger</i> ※	ATCC 1015D-2
カンジダ・アルビカンス	ATCC 10231
クラミジア・トラコマチス	Zeptomatrix 0801775
<i>Escherichia coli</i>	ATCC 23511
<i>Mycobacterium gordonae</i>	ATCC 14470
スメグマ菌	ATCC 23037
淋菌	ATCC 19424
黄色ブドウ球菌	ATCC BAA-1721
表皮ブドウ球菌	ATCC 51625
※ 精製核酸	

(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

- 内部コントロールとライシス溶液（0.125 mL：70 mL）を混合する。
- 酵素・活性化試薬（418 μL）にオリゴヌクレオチド試薬（477 μL）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-EBV・キャリブレータ（製品番号：8N54-71）
 - キャリブレータ A（0.90 mL × 12）
（主な含有物：緩衝液、低濃度プラスミド DNA、DNA 保存剤：ProClin 300）
 - キャリブレータ B（0.90 mL × 12）
（主な含有物：緩衝液、高濃度プラスミド DNA、DNA 保存剤：ProClin 300）
- キャリブレータの濃度については、付属のキットカードを参照すること。
AccuGene m-EBV・キャリブレータ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（ソフトウェアバージョン 6.0 以降）
- m2000 EBV アプリケーションディスク（製品番号：8N54-02 以降）※ 1
- DNA・核酸抽出試薬（Abbott mSample Preparation System_{DNA}）
（製品番号：6K12-24）：24 回用 × 4
- ライシス溶液（mLysis_{DNA}）
（主な含有物：TRIS 緩衝液、グアニジンチオシアン酸塩、界面活性剤）
- 洗浄液 1（mWash 1_{DNA}）
（主な含有物：TRIS 緩衝液、グアニジンチオシアン酸塩、界面活性剤）
- 洗浄液 2（mWash 2_{DNA}）
（主な含有物：ヌクレアーゼフリー水）
- 溶出液（mElution Buffer_{DNA}）
（主な含有物：ヌクレアーゼフリー水）
- 磁性粒子溶液（mMicroparticles_{DNA}）
（主な含有物：磁性粒子、グアニジン塩酸塩）

注：1 キットで 4 × 24 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 × 4（2.45 mL × 4）
（主な含有物：プロテアーゼ K）
血漿測定でのみ使用する。
- オプティカル 接着カバー（Abbott Optical Adhesive Cover）（製品番号：4J71-75）
- 接着カバーアプリケータ（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）
- 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）
- 反応チューブ 5 mL（製品番号：4J71-20）
- インプットサンプルラック 13 mm（製品番号：4J72-82）
- 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）
- アキュジーン試薬ボトル交換用キャップ（製品番号：3N20-01、オプション）
- 分子生物学グレード水
- 95 ～ 100%エタノール
注：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）
- 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
- ボルテックスミキサー
- 血清用ピペット
- メスシリンダー（100 mL）

増幅区域

- Abbott m2000rt アナライザー（ソフトウェアバージョン 6.0 以降）
- m2000rt オプティカル キャリブレーションキット（製品番号：4J71-93）

その他

- 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ポーザブル手袋
- 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水※ 2
- 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. 増幅産物汚染のモニタリングの操作手順で使用すること。

(3) 測定（操作）法

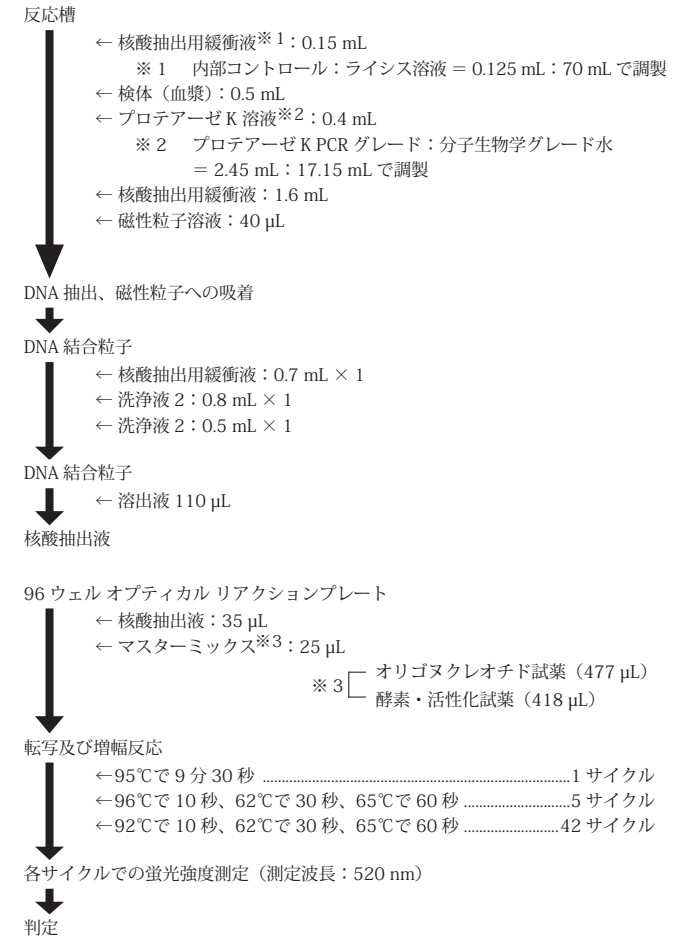
核酸抽出装置として「Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置」又は同等品を用いること。
使用する核酸抽出装置に応じて試薬を別途用意すること。

- 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 35 μL 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。
- EBV DNA の CN（サイクル数）を、2 濃度のキャリブレータで作成した検量線にあてはめ、EBV DNA 量 (IU/mL 又は log IU/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

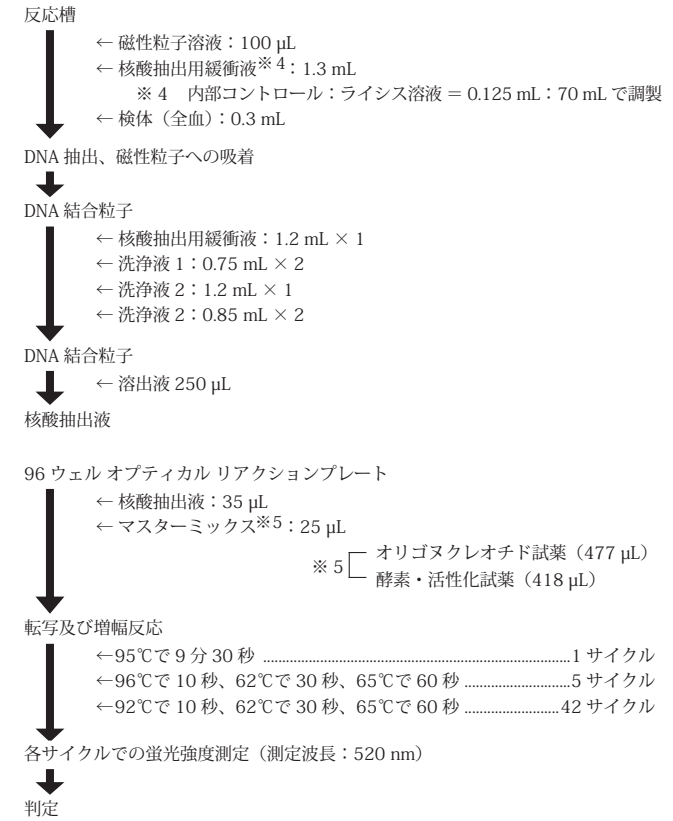
血漿検体

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・検出用試薬パックおよび内部コントロールの再使用

本章では増幅・検出用試薬パックを再使用する場合の手順を示す。
増幅・検出用試薬パックは必要に応じて再使用することができる。一度使用したマスターミックス調製済みの増幅・検出用試薬パックは、キャップを開けて遮光し、立てた状態で -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。
増幅・検出用試薬パックの再使用については、Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書でも説明されている。

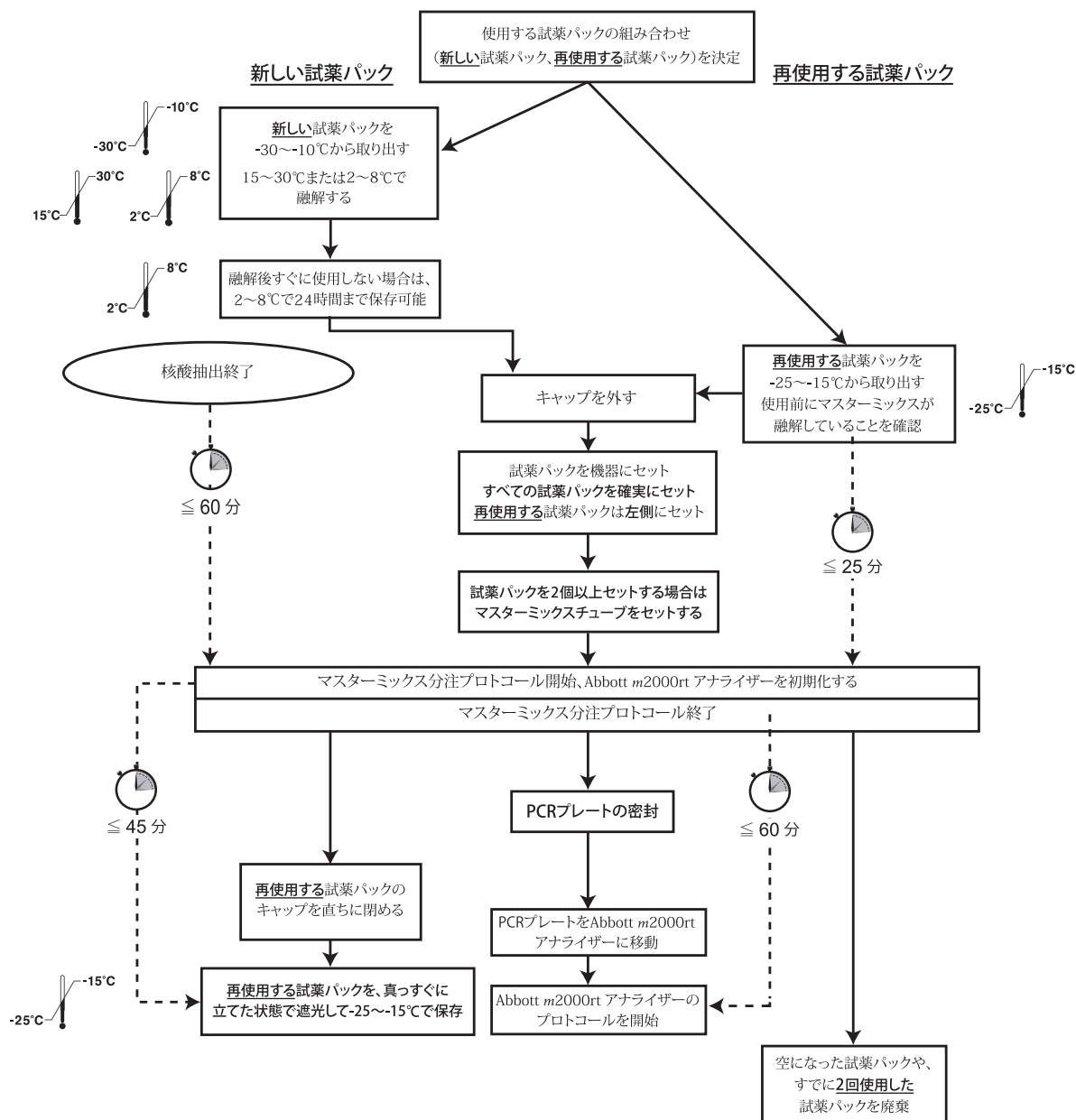
本添付文書で使用する用語の定義

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

増幅・検出用試薬パックを再使用する場合の概要

増幅・検出用試薬パックと内部コントロールはそれぞれ 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、本添付文書の指示に従うこと。

保存条件（増幅・検出用試薬パックおよび内部コントロールバイアル）		
対象	保存温度	使用期限
新しい増幅・検出用試薬パック	-30 ～ -10℃	試薬キットの使用期限まで
新しい内部コントロール	-30 ～ -10℃	試薬キットの使用期限まで
再使用する増幅・検出用試薬パック	-25 ～ -15℃（遮光下）	初回使用日から 14 日間まで
再使用する内部コントロール	-25 ～ -15℃	初回使用日から 14 日間まで



注：試薬パック＝増幅・検出用試薬パック

- ・再使用する増幅・検出用試薬パックは、1 回目を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

- ・本キットは 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、本添付文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。
- ・測定の前に、製品番号 8N54-02 以降の m2000 EBV アプリケーションディスクから、試薬の再使用が可能な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。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。
- ・本添付文書には 2 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
 - ・プロトコルⅡ：全血測定
- ・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。
- ・本キットは 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。
- ・使用期限を過ぎた試薬類を使用しないこと。
- ・増幅・検出用試薬パックと内部コントロールはそれぞれ 2 回まで使用することができる。一度使用した増幅・検出用試薬パックを再使用する場合は、本添付文書の指示に従ってキャップを開けて保存すること。
- 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終了後 45 分以内に -25 ~ -15℃ で保存すること。

- ・m2000sp 自動核酸抽出装置による核酸抽出に使用する陽性コントロール L、陽性コントロール H、陰性コントロール、キャリブレータ A、キャリブレータ B、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添付文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、コントロールは最大 3 回まで凍結融解を行うことができる。ただしこれは一度使用し、再使用するのために -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。
- ・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。
- ・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タ、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。
- ・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. 増幅産物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、キャリブプレート、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。

プロトコール1：血漿測定

Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置、Abbott *m*2000rt 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【使用上又は取扱い上の注意】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 H、陽性コントロール L を各 1 本測定するため、1 回につき、最大 93 検体の測定が可能である。
- サンプル量を確認する。平底チューブは使用しないこと。Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置における必要サンプル量とラック等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 *m*2000sp 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。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、必要な試薬類の数を次の表に示す。

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
増幅・検出用試薬パック (新)	1 個	2 個	3 個	4 個
増幅・検出用試薬パック (再使用) ※ 1	最大 4 個	最大 4 個	最大 4 個	最大 4 個
内部コントロール	1 本	1 本	1 本	1 本
内部コントロール (再使用)	1 本	最大 2 本	最大 3 本	最大 4 本
陽性コントロール L	1 本	1 本	1 本	1 本
陽性コントロール H	1 本	1 本	1 本	1 本
陰性コントロール	1 本	1 本	1 本	1 本
プロテアーゼ K PCR グレード	1 本	2 本	2 本	3 本
DNA・核酸抽出試薬	1 セット	2 セット	3 セット	4 セット
キャリブプレート A ※ 2	3 本	3 本	3 本	3 本
キャリブプレート B ※ 2	3 本	3 本	3 本	3 本

- ※ 1 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。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 *m*2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。
- ※ 2 キャリブプレートはキャリブレーションを行う場合にのみ必要である。
- コントロールを 15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。キャリブレーションを行う場合は、キャリブプレートを 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。新しい内部コントロールを使用する場合は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。
 - 一度融解した新しい試薬類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。再使用する増幅・検出用試薬パックは、融解から 25 分以内に使用すること。
 - コントロール (および必要に応じてキャリブプレート) 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・検出用試薬パックはロット番号が同じでなければならない。増幅・検出用試薬パックの残量管理方法については、Abbott *m*2000sp 自動核酸抽出装置の取扱説明書を参照すること。サンプルの数に対して、必要な増幅・検出用試薬パックの数は前述の表に示した。

- 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 *m*2000sp 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。これらを同時に機器にセットする場合は、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。
 - 同時に機器にセットする増幅・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。本ステップは核酸抽出が完了する前に開始することができる。一度融解した新しい試薬類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。

注：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2 回目の使用直前まで -25 ～ -15℃で保存すること。14 日間まで保存可能である。

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。
 - 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。
 - DNA・核酸抽出試薬を開封する。各試薬ボトルの開封時に結晶が見られる場合は、結晶がなくなるまで室温で溶解させること。結晶が溶解されるまで試薬を使用しないこと。
 - 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。
 - 校正済みの内部コントロール専用ピペット**を使用し、内部コントロール 125 μL をライシス溶液の各ボトルに添加する。泡が生じないよう注意しながら、容器を穏やかに 5 ～ 10 回転倒混和すること。残った内部コントロールはバイアルのキャップを閉めて -25 ～ -15℃で保存し、再使用することができる。14 日間まで保存可能である。
 - 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。

DNA・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

- 核酸抽出プロトコール開始直前に、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、試薬容器に注ぐ。**サンプル数が 1 ～ 96 のいずれであっても、必要な磁性粒子溶液は 1 本である。**
- 陰性コントロール、陽性コントロール H、陽性コントロール L、キャリブプレート A およびキャリブプレート B (必要な場合)、検体を *m*2000sp サンプルラックにセットする。
 - 検体、コントロール、キャリブプレート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、キャリブプレートを、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。
- 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 *m*2000sp 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、続くサンプルラックはその左側に順にセットする。
- Abbott *m*2000sp 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ールを開始する。
- コントロールとキャリブプレート (キャリブレーションを行う場合のみ必要) のロット固有の値を Sample Extraction: Assay Details 画面に入力する。ロット固有の値は、キャリブプレート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

マスターミックス分注のプロトコール開始前に、増幅区域内に設置されている Abbott *m*2000rt 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 *m*2000rt 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

核酸抽出プロトコル終了後 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。
15. 核酸抽出終了後、新しい増幅・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（必要な場合）、再使用する増幅・検出用試薬パック、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。

注：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2 回目の使用直前まで -25 ～ -15℃で保存すること。14 日間まで保存可能である。-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。

16. 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。
17. 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。
18. 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。
19. 新しい増幅・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。
20. 各試薬バイアルのキャップを外し、廃棄する。次回使用するために新しい増幅・検出用試薬パックを保存したい場合は、分注プロトコル終了後に各試薬バイアルのキャップを閉める必要がある。試薬バイアルに付いていたキャップを使う場合は、外したキャップを保存しておく。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。
21. 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。
22. 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。
23. 新しい増幅・検出用試薬パックは Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置に 60 分までセットしておくことができる。再使用する増幅・検出用試薬パックは -25 ～ -15℃の保存場所から取り出した後、25 分以内に使用を開始すること。
24. 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は、マスターミックス分注のプロトコル終了後 60 分以内に開始すること。

25. 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。
26. 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、スプラッシュフリー サポートベースにセットする。

増幅区域

27. 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。
28. 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 2 本の試薬バイアルの蓋を閉め、直ちに真すぐに立てた状態で遮光して -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。

重要：調製済みで、かつ再使用する増幅・検出用試薬パックは、マスターミックス分注のプロトコル終了後 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、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【使用上又は取扱い上の注意】を読むこと。

検体調製区域

- 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 H、陽性コントロール L を各 1 本測定するため、1 回につき、最大 45 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。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。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、必要な試薬類の数を次の表に示す。

対象	1 ～ 24 サンプル	25 ～ 48 サンプル
増幅・検出用試薬パック（新）	1 個	2 個
増幅・検出用試薬パック（再使用）※ 1	最大 4 個	最大 4 個
内部コントロール（新）	1 本	1 本
内部コントロール（再使用）	1 本	最大 2 本
陽性コントロール L	1 本	1 本
陽性コントロール H	1 本	1 本
陰性コントロール	1 本	1 本
DNA・核酸抽出試薬	1 セット	2 セット
キャリブレータ A ※ 2	3 本	3 本
キャリブレータ B ※ 2	3 本	3 本

- ※ 1 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。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 キャリブレータはキャリブレーションを行う場合にのみ必要である。

- 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℃で融解すること。4. キャリブレーションを参照すること。新しい内部コントロールを使用する場合は、15 ～ 30℃または 2 ～ 8℃で融解する。
 - 一度融解した新しい試薬類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。再使用する増幅・検出用試薬パックは、融解から 25 分以内に使用すること。
- コントロール（および必要に応じてキャリブレータ）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・検出用試薬パックはロット番号が同じでなければならない。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。サンプルの数に対して、必要な増幅・検出用試薬パックの数は前述の表に示した。
 - 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。これらを同時に機器にセットする場合は、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。
- 同時に機器にセットする増幅・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。本ステップは、核酸抽出が完了する前に開始することができる。一度融解した新しい試薬類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。

注：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2 回目の使用直前まで -25 ～ -15℃で保存すること。14 日間まで保存可能である。

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。

6. DNA・核酸抽出試薬を開封する。各試薬ボトルの開封時に結晶が見られる場合は、結晶がなくなるまで室温で溶解させること。結晶が溶解されるまで試薬を使用しないこと。
7. 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。
8. 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 µL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回転倒混和すること。残った内部コントロールはバイアルのキャップを閉めて-25～-15℃で保存し、再使用することができる。14日間まで保存可能である。
9. 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。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。
DNA・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

10. 核酸抽出プロトコル開始直前に、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、試薬容器に注ぐ。
11. 陰性コントロール、陽性コントロールH、陽性コントロールL、キャリブレータAおよびキャリブレータB（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。
12. 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、続くサンプルラックはその左側に順にセットする。
13. 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。
14. コントロールとキャリブレータ（キャリブレーションを行う場合のみ必要）のロット固有の値を Sample Extraction: Assay Details 画面に入力する。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

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

核酸抽出プロトコル終了後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。

15. 核酸抽出終了後、新しい増幅・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（必要な場合）、再使用する増幅・検出用試薬パック、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。
- 注：再使用する増幅・検出用試薬パックは、2回目の使用直前まで-25～-15℃で保存すること。14日間まで保存可能である。-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。
16. 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。
17. 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。
18. 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。
19. 新しい増幅・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。
20. 各試薬バイアルのキャップを外し、廃棄する。次回使用するために新しい増幅・検出用試薬パックを保存したい場合は、分注プロトコル終了後に各試薬バイアルのキャップを閉める必要がある。試薬バイアルに付いていたキャップを使う場合は、外したキャップを保存しておく。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。

21. 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。
22. 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。
23. 新しい増幅・検出用試薬パックは Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置に60分までセットしておくことができる。再使用する増幅・検出用試薬パックは-25～-15℃の保存場所から取り出した後、25分以内に使用を開始すること。
24. 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は、マスターミックス分注のプロトコル終了後60分以内に開始すること。

25. 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。
26. 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。

増幅区域

27. 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。
28. 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2本の試薬バイアルの蓋を閉め、直ちに真すぐに立てた状態で遮光して-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。

重要：調製済みで、かつ再使用する増幅・検出用試薬パックは、マスターミックス分注のプロトコル終了後45分以内に-25～-15℃で保存すること。

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付けて清掃する。
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置は、取扱説明書に従ってワークテーブルを清掃する。
- 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、コントロール、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。^{1,2}
- Abbott m2000sp 自動核酸抽出装置で使用したDNA・核酸抽出試薬は再使用できない。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。^{1,2}
- 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。^{1,2}

3. 試薬の劣化

- 陽性コントロール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EBV 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サイクル数（CN）に対するEBV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（log copies/mL）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。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EBV 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2例（H、L）と陰性コントロール1例を測定すること。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

- ・内部コントロールは、EBV DNA 配列とは無関係の DNA 配列で構成されている。検体処理の正確さと測定の有効性を評価するため、核酸抽出開始前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、キャリブプレート、コントロールへ分注され、測定される。
- ・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。キャリブプレート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、陽性コントロール、陰性コントロールのいずれか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。元検体を使用して再度核酸抽出を行う。

6. 陽性コントロールと陰性コントロール

- ・各測定ごとに陽性コントロール 2 例と陰性コントロール 1 例を測定して、測定の有効性を評価する。陽性コントロール L は核酸抽出が適切に行われたことを確認するために測定する。これらのコントロールは融解した後核酸抽出を始める前に、十分に混和することが重要である。
- ・陽性コントロール H および陽性コントロール L のロット固有の値（log copies/mL）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。陽性コントロール H、陽性コントロール L、陰性コントロールのいずれか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 EBV DNA は検出されない。陰性コントロールで EBV 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、サンプルラック、ヒートブロック、Abbott m2000rt アナライザーの清掃を行い、**2. 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。清掃を行っても問題が解決しない場合は、カスタマーサポートセンターに連絡する。

7. 増幅産物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 回は以下の確認作業を行うこと。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。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、サンプルラック、ヒートブロック、作業台表面、マイクロ遠心機、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、綿棒はバイオハザード物資として廃棄する。
- 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 μ L の洗浄液 1 を分注する。
- マイクロチューブの蓋を閉める。
- このサンプルを本添付文書の測定手順に従って測定する。
- 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 EBV 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 EBV 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 EBV 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こと。
- 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 EBV DNA 濃度は、機器に保存されている検量線かあるいは同時に測定したキャリブプレート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 International Units (IU)/mL、log IU/mL である。

(2) 測定結果の表示と判定

コントロールの測定結果が規格内の場合は測定結果と判定に進む。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。測定結果と判定の例を以下に示す。

検体種	結果	判定	フラグ ^f	エラー ^f
血漿	Not detected	検出されず ^a		
	< 1.60 log IU/mL ^a	検出（最小検出感度未満） ^b		
	1.60 ～ 8.30 log IU/mL	c		
	> 8.30 log IU/mL	定量上限を超える ^e		
-QC（例） 1234（例）				
全血	Not detected	検出されず ^a		
	< 2.18 log IU/mL ^d	検出（最小検出感度未満） ^b		
	2.18 ～ 8.30 log IU/mL	c		
	> 8.30 log IU/mL	定量上限を超える ^e		
-QC（例） 1234（例）				

^a 40 IU/mL

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

^c 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。

^d 150 IU/mL

^e ULQ（定量上限）を超えている。log IU/mL または IU/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 ">8.30 log IU/mL"、">200,000,000 IU/mL" が表示される。

^f 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すること。

陽性コントロール L、陽性コントロール H、陰性コントロールのいずれか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。他の抗凝固剤が本キットで使用できることは確認していない。
- ・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、施設の基準と本添付文書に記載された手順を遵守して、陽性コントロールや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 EBV 陰性を保証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 EBV DNA 濃度約 1000 IU/mL（3 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。
- ・交差反応性の検討の一部は核酸（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。
- ・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、EBV 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 EBV 感染の確定診断を行うことはできない。

【臨床的意義】

本品は EB ウイルス感染を疑う患者のヒト血漿又は全血中の EBV 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治療開始及び治療モニタリングの補助として使用する。

< 臨床性能試験 >

EBV 感染モニタリングにおける本キットの臨床的有用性を評価するため、以下の試験を実施した。

EIA および PCR の検査を受けた患者の全血検体と血漿検体をレトロスペクティブに収集し、相関性の検討を行った。検体の濃度分布を広げるため、測定対象に WHO EBV 標準品を使用して調製したサンプルを追加した。各サンプルは本キットおよび他社キットで測定し、CLSI ガイドライン EP9-A2³ に従って解析を行った。

両方のキットで定量的な結果が得られた血漿検体の相関図を図 1 に示す。両方のキットで検出されなかった検体を除外し、決定係数を算出したところ 0.9416 であった。

両方のキットで定量的な結果が得られた全血検体の相関図を図 2 に示す。両方のキットで検出されなかった検体を除外し、決定係数を算出したところ 0.9632 であった。

図 1 血漿検体の相関図

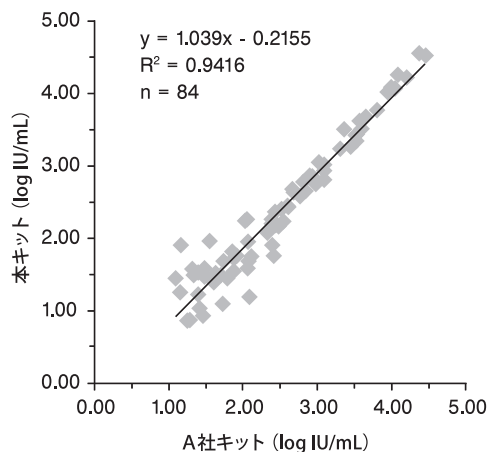
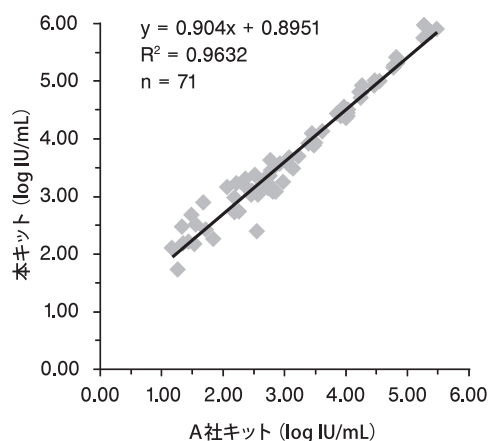


図 2 全血検体の相関図



【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)

分析感度あるいは LoD は、検出率が 95% 以上となる EBV DNA 濃度とした。

最小検出感度 (血漿)

血漿での LoD は 40 IU/mL である。LoD の検討は、WHO EBV International Standard をプールした血漿で希釈したサンプルを用いて行った。本キット 2 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 4 に示す。解析は一般的なガイドラインに従って行った。⁴

表 4 本キットの LoD (血漿)

IU/mL	検出数	測定数	検出率 (%)
100	60	60	100
60	60	60	100
50	60	60	100
40	60	60	100
30	58	60	96.7
20	58	60	96.7
10	49	60	81.7
5	32	60	53.3

プロビット解析を行ったところ、血漿検体の検出率が 95% となる EBV DNA 濃度は 21.5 IU/mL (95% 信頼区間 18.1 ~ 27.7 IU/mL) であった。

最小検出感度 (全血)

全血での LoD は 150 IU/mL である。LoD の検討は、WHO EBV International Standard をプールした全血で希釈したサンプルを用いて行った。本キット 2 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 5 に示す。解析は一般的なガイドラインに従って行った。⁴

表 5 本キットの LoD (全血)

IU/mL	検出数	測定数	検出率 (%)
500	62	62	100
400	62	62	100
300	62	62	100
275	62	62	100
250	62	62	100
225	62	62	100
200	62	62	100
150	62	62	100
75	44	60	73.3
37.5	30	60	50

プロビット解析を行ったところ、全血検体の検出率が 95% となる EBV DNA 濃度は 115.2 IU/mL (95% 信頼区間 97.6 ~ 150.5 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 2×10^8 IU/mL で、下限は血漿測定の LoQ (40 IU/mL) と同等である。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 2×10^8 IU/mL で、下限は血漿測定の LoQ (150 IU/mL) と同等である。

EBV DNA をプールしたヒト血漿で希釈し、1.30 ~ 8.30 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 3 に示す。最も低濃度のパネルは LoQ 未満であった。

EBV DNA をプールしたヒト全血で希釈し、2.00 ~ 8.30 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 4 に示す。最も低濃度のパネルは LoQ 未満であった。

図 3 血漿測定における本キットの直線性

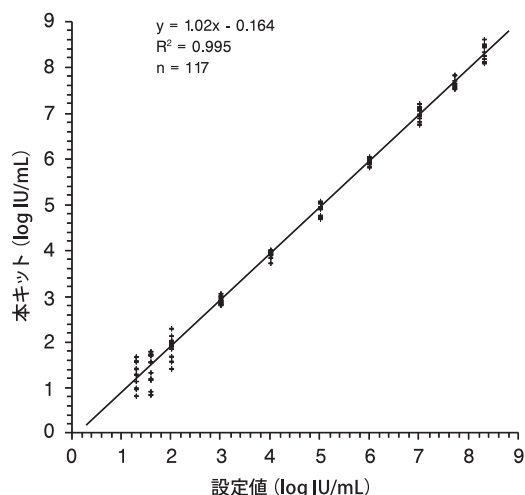
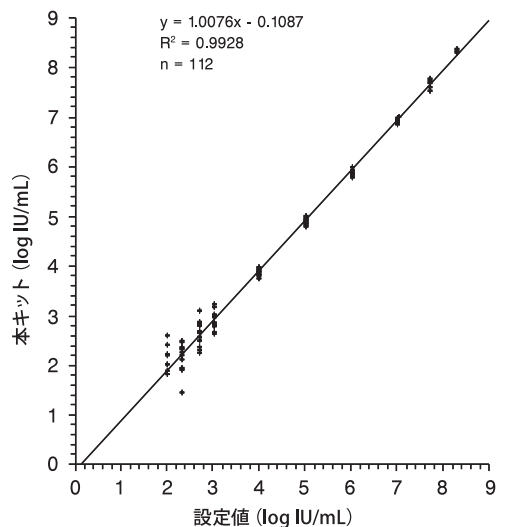


図 4 全血測定における本キットの直線性



直線性の解析を CLSI ガイドライン EP6-A⁵ に従って行った。

本キットは、ヒト血漿測定およびヒト全血測定ともに、検討を行った EBV DNA 濃度の範囲で直線性を示した。

(3) 再現性

血漿測定での再現性を検討した。EBV プラスミド（設定値 5.00 log IU/mL 以上の場合）またはインタクト EBV（設定値 5.00 log IU/mL 未満の場合）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。再現性パネル 3 例はそれぞれ 5 重測定で 15 回測定し、測定内、測定間、アッセイ間（測定内と測定間）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、EBV DNA 濃度が $40 \sim 2 \times 10^8$ IU/mL の血漿サンプルにおいて 0.50 log IU/mL 以下である。代表的な結果の例を表 6 に示す。

全血測定での再現性を検討した。EBV プラスミド（設定値 5.00 log IU/mL 以上の場合）または EBV（設定値 5.00 log IU/mL 未満の場合）を、プールしたヒト全血に添加し、3 例の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。再現性パネルはそれぞれ 5 重測定で 15 回測定し、測定内、測定間、アッセイ間（測定内と測定間）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、EBV DNA 濃度が $150 \sim 2 \times 10^8$ IU/mL の全血サンプルにおいて 0.50 log IU/mL 以下である。代表的な結果の例を表 7 に示す。

表 6 本キットの再現性（血漿）

パネル	測定数	平均 (IU/mL)	平均 (log IU/mL)	測定内 SD (log IU/mL)	測定間 SD (log IU/mL)	アッセイ間 SD (log IU/mL) ^a
1	75	1,165,875	6.07	0.067	0.062	0.091
2	75	6,724	3.83	0.051	0.090	0.103
3	74 ^b	52	1.71	0.271	0.211	0.343

^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 1 テストは EBV DNA が検出されなかった。

表 7 本キットの再現性（全血）

パネル	測定数	平均 (IU/mL)	平均 (log IU/mL)	測定内 SD (log IU/mL)	測定間 SD (log IU/mL)	アッセイ間 SD (log IU/mL) ^a
1	75	13,818,495	7.14	0.058	0.132	0.144
2	75	45,541	4.66	0.032	0.077	0.083
3	75	457	2.66	0.171	0.088	0.192

^a アッセイ間 SD は、測定内と測定間の結果を含む。

(4) 定量限界

血漿測定における本キットの定量上限（ULQ）は 2×10^8 IU/mL で、定量下限（LLQ）は血漿測定の LoD（40 IU/mL）と同等である。全血測定における、本キットの定量上限は 2×10^8 IU/mL であり、定量下限は全血測定の LoD（150 IU/mL）と同等である。

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 8 に示す。濃度が LoD 付近の全血パネルの TAE を表 9 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 EBV DNA 濃度は、血漿測定で 40 IU/mL（1.60 log IU/mL）、全血測定で 150 IU/mL（2.18 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 8 本キットの定量限界（血漿における TAE の評価）

IU/mL	平均 CN	実測値 (log IU/mL)	期待値 (log IU/mL)	バイアス (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	TAE Bias + (2 × SD) ^a	TAE (SQRT(2) × 2SD) ^b
100	29.53	2.06	2.00	0.06	0.24	0.53	0.68
60	30.36	1.78	1.78	0.00	0.34	0.69	0.96
50	30.73	1.69	1.70	0.01	0.30	0.62	0.86
40	31.30	1.51	1.60	0.09	0.29	0.67	0.82
30 ^c	31.75	1.34	1.48	0.14	0.42	0.98	1.19
20 ^c	32.16	1.23	1.30	0.07	0.44	0.96	1.26
10 ^c	32.85	1.04	1.00	0.04	0.40	0.84	1.13
5 ^c	33.15	0.96	0.70	0.26	0.38	1.01	1.06

^a CLSI ガイドライン EP17-A⁴、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 LoQ（40 IU/mL）未満であるため、TAE は参考値である。

表 9 本キットの定量限界（全血における TAE の評価）

IU/mL	平均 CN	実測値 (log IU/mL)	期待値 (log IU/mL)	バイアス (log IU/mL)	SD (log IU/mL)	TAE Bias + (2 × SD) ^a	TAE (SQRT(2) × 2SD) ^b
500	29.55	2.99	2.70	0.29	0.14	0.57	0.39
400	29.85	2.90	2.60	0.30	0.15	0.61	0.43
300	30.42	2.78	2.44	0.34	0.19	0.71	0.53
275	30.28	2.74	2.48	0.26	0.13	0.53	0.38
250	30.53	2.70	2.40	0.31	0.18	0.66	0.50
225	30.73	2.64	2.35	0.29	0.20	0.69	0.56
200	30.77	2.63	2.30	0.33	0.24	0.80	0.66
150	31.52	2.41	2.18	0.23	0.33	0.89	0.93
75 ^c	33.01	2.09	1.88	0.21	0.36	0.93	1.02
37.5 ^c	33.55	1.94	1.57	0.36	0.35	1.07	0.99

^a CLSI ガイドライン EP17-A⁴、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 LoQ（150 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 EBV 陽性血漿サンプルまたは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 EBV DNA 濃度は血漿、全血ともに 10^6 IU/mL とした。陰性サンプルの総数に対し、LLQ 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、血漿サンプルと全血サンプルそれぞれについて、核酸抽出と測定を 5 回行ったところ、血漿サンプルのキャリーオーバー率は 0.0% (0/225)、全血サンプルのキャリーオーバー率は 0.8% (1/120) であった。

(6) 測定範囲

血漿測定は $40 \sim 2 \times 10^8$ IU/mL、全血測定は $150 \sim 2 \times 10^8$ IU/mL である。

(7) 校正用の基準物質

本キットでは、校正用基準物質として 1st WHO International Standard for Epstein-Barr Virus for Nucleic Acid Amplification Techniques (NIBSC 09/260) ⁶ 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、また口によるピペッティングは行わないこと。検体や試薬類を扱う場所では、飲食、喫煙、化粧およびコンタクトレンズの取り扱いをしないこと。
- 注意：**陽性コントロール L 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 Laboratories⁷、OSHA Standards on Bloodborne Pathogens⁸、CLSI Document M29-A3⁹、他の適切なバイオセーフティ基準¹⁰ に従って取り扱うこと。すべてのヒト由来物質は潜在的に感染性があると考えられること。
- 試薬が誤って目や口に入った場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けること。
- 本測定で使用する試薬類には、保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれているものがある。詳細は、【形状・構造等（キットの構成）】または【用法・用量（操作方法）】を参照すること。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。
- キャリブレーション、コントロール、試薬キットの構成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)



警告

H317	アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ
EUHO32	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。
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

	グアニジンチオシアン酸塩を含む
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
EUHO32	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。

- 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、注意事項に次に示す。



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

取扱い上の注意

- 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 H、陽性コントロール L、内部コントロール、キャリブレーション A、キャリブレーション B、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、および本添付文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、および本添付文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。
- 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。

作業区域

- Abbott *m2000sp* 自動核酸抽出装置および Abbott *m2000rt* アナライザーは同じ部屋に設置することも可能である。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。各区域の定義については本章の説明を参照すること。

- 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、ビペット、ビペットチップ、ボルテックスミキサーは必ず区域内にとどめ、増幅区域に持ち出さないこと。増幅産物を検体調製区域に持ち込まないこと。
 - 増幅区域では、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。
 - 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。
 - 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ールが中止された場合は、96 ウェル オプティカル リアクションプレートを密封し、チェック付きビニール袋に入れて廃棄する。
 - 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。
- 注：増幅・検出用試薬パックは、本添付文書の増幅・検出用試薬パックおよび内部コントロールの再使用に従って保存および再使用することができる。**
- 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。
 - 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。^{1,2} 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。

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。
- アキュジーン m-EBV
 - 本キットは-30～-10℃で保存すること。ドライアイス中で保存して輸送される。
 - 本キットは、試薬キットとコントロールで構成されている。
- 試薬キット
 - 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、-30～-10℃で保存すること。使用している増幅・検出用試薬パックは、検体やコントロールに直接接触しないように注意すること。ドライアイス中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、真っ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。
 - 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
 - 陽性コントロール H、陽性コントロール L、陰性コントロールは-30～-10℃で保存すること。ドライアイス中で保存して輸送される。
- キャリブレーション（別売品）
 - キャリブレーション A、キャリブレーション B は-30～-10℃で保存すること。別売品である。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。
- プロテアーゼ K PCR グレードは、2～8℃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ェ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^{1,2}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：-30～-10℃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-EBV 製品番号 8N54-86：96 回用（24 回用×4）

○ 試薬キット

- | | |
|----------------|-------------|
| 1. 増幅・検出用試薬パック | |
| ・オリゴヌクレオチド試薬 | 0.56 mL × 4 |
| ・酵素・活性化試薬 | 0.41 mL × 4 |
| 2. 内部コントロール | 0.53 mL × 4 |
| ○ コントロール | |
| ・陰性コントロール | 0.90 mL × 8 |
| ・陽性コントロール L | 0.90 mL × 8 |
| ・陽性コントロール H | 0.90 mL × 8 |

【主要文献】

- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guideline - Second Edition*. CLSI Document. GP5-A3 Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2011;22(3):1-23,32-44.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Method Comparison and Bias Estimation Using Patient Samples; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI Document EP9-A2. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2010.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protocols for Determination of Limits of Detection and Limits of Quantitation; Approved Guideline*. CLSI Document EP17-A. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2004.
- 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: Wayne, PA; 2003.
- Fryer JF, et al. Collaborative Study to Evaluate the Proposed 1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (HCMV) for Nucleic Acid Amplification (NAT)-Based assays. WHO Expert Committee on Biological Standardization: Geneva, Switzerland; 2010: WHO/BS/10.2138.
- US Department of Health and Human Services. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition. Washington, DC: US Government Printing Office, December 2009.
- US Department of Labor, Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR, 1910.1030, Occupational Safety and Health Standards: Bloodborne Pathogens.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline—Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; CLSI, 2005.
- World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual. Geneva: 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 2020