

* 使用に際してはこの電子化された添付文書をよくお読みください。

PI-AHIV_02

* 2025 年 8 月改訂(第 2 版)
2019 年 7 月作成(第 1 版)

体外診断用医薬品

製造販売承認番号: 23100EZ00011000

ヒト免疫不全症ウイルス 1 核酸キット

アプティマ HIV-1

■全般的な注意

1. 本品は体外診断用ですので、それ以外の目的には使用しないでください。
2. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて、担当医師が総合的に判断してください。
3. 人体への投与とはできません。
4. 添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。本キットは HIV-1 RNA の測定キットで、ウイルス感染症の診断の補助に使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
5. キットは、必ず指定の温度で保存し、凍結しないでください。また、使用期限が過ぎたものは使用しないでください。
6. 使用前にはいずれの試薬も室内温度 (15~30℃) に戻してください。
7. 検体の採取に際しては、添付文書の記載に従って行ってください。

■形状・構造等 (キットの構成)

記号	構成試薬名	容量
A	増幅試薬 非-T7 プライマー2、非-T7 プライマー3、dATP、 dCTP、dGTP、dTTP、ATP、CTP、GTP、UTP、	1 バイアル
E	酵素試薬 逆転写酵素 (MMLV)、T7 RNA ポリメラーゼ	1 バイアル
PRO	プロモーター試薬 T7 プロモータープライマー3、T7 プロモータープ ライマー4、標識プローブ 2、標識プローブ 3、標 識プローブ 4、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、 ATP、CTP、GTP、UTP、	1 バイアル
TCR	ターゲットキャプチャー試薬 RNA 捕捉プローブ 2、RNA 捕捉プローブ 3、オリ ゴ dT 結合磁性微粒子、T7 プロモータープライマ ー2、T7 プロモータープライマー4	1 x 72.0mL
AR	増幅試薬溶解液	1 x 7.2mL
ER	酵素試薬溶解液	1 x 5.8mL
PROR	プロモーター試薬溶解液	1 x 4.5mL
W	洗浄液	1 x 2.9 L
O	オイル	1 x 260 mL
PCAL	キャリブレータ	5 x 2.5 mL
NC	陰性コントロール	5 x 1.5 mL
LPC	低陽性コントロール	5 x 1.5 mL
HPC	高陽性コントロール	5 x 1.5 mL

■使用目的

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

■測定原理

アプティマ HIV-1 は 3 段階のステップ; 標的捕捉 (Target Capture)、
転写増幅 (Transcription Mediated Amplification, TMA)^{1), 2)} による標
的増幅及び蛍光標識プローブを用いた増幅産物の測定からなり、パン
サーシステムにより全て 1 本の試験管の中で行われます。

1. 標的捕捉 (ターゲットキャプチャー法) ステップ

このステップでは、検体中のウイルス核酸を分離します。検体中のウ
イルス外被を界面活性試薬により可溶化し、除蛋白し、ゲノム RNA を
遊離させます。検体中に HIV-1 ゲノムが存在すると、ゲノムの高度に
保存された領域に、ターゲットキャプチャー試薬中の捕捉オリゴヌク
レオチドがハイブリダイズします。ハイブリダイズされた標的分子は

ターゲットキャプチャー試薬中の磁性粒子に捕捉され検体の中から分
離されます。洗浄により反応チューブ中の他成分が除去されます。

2. 標的増幅 (TMA 法) ステップ

このステップでは、酵素試薬中の MMLV (Moloney Murine Leukemia
Virus) 逆転写酵素、及び T7 RNA ポリメラーゼの 2 つの酵素により、
転写を介した核酸増幅が行われます。逆転写酵素により、増幅試薬およ
びプロモーター試薬中のプライマーおよび dNTP が用いられ、標的シ
ーケンスの DNA コピー (T7 RNA ポリメラーゼのプロモーターシーケ
ンスを含む) を生成します。更に、T7 RNA ポリメラーゼにより、増
幅試薬およびプロモーター試薬中の NTP が用いられ、DNA コピー
をテンプレートに多数の RNA アンプリコンを生成します。アプティ
マ HIV-1 は、この TMA 法により、HIV-1 RNA の 2 領域 (pol と LTR)
を増幅します。HIV-1 のグループ M、N 及び O を増幅するようデザイン
されたプライマーを用いることにより、これら特異的領域の増幅が可
能となります。プライマーのデザインと、この 2 領域を標的にするこ
とにより、HIV-1 の正確で特異的な定量が確実なものになります。

3. 測定

プロモーター試薬中の一本鎖核酸トーチを反応に添加しておくこと
で、標的増幅時に、アンプリコンと特異的にハイブリダイズするため
リアルタイムの検出が可能となります。各トーチは蛍光体とクエンチ
ャーを含んでいます。トーチがアンプリコンとハイブリダイズしてい
ない時は、クエンチャーは、蛍光体の近くに存在し、発光を抑制して
います。トーチがアンプリコンに結合しますと、クエンチャーは蛍光
体から遠くへ離れ、光源に励起され特異的波長シグナルを発します。
トーチがアンプリコンに多くハイブリダイズされるほど、より多くの
シグナルを発します。蛍光シグナル量がある threshold に到達するま
での時間と、初期の HIV-1 濃度は比例します。各反応には、内部コン
トロール (IC) が入っていて、検体の処理、増幅及び検出を管理して
います。サンプル中の HIV-1 濃度は、キャリブレータの情報と各反応
における HIV-1 と IC シグナルの比較により、パンサーシステムソフト
ウェアにより決定されます。

■操作上の注意

1. 測定試料の性質、採取法

- 1) 検体には患者の血漿を用いますので、感染の恐れがあるものとし
て取り扱い、測定操作には使い捨て手袋や保護メガネ等を着用し、
必要に応じてキャビネット内で操作してください。検体が手袋等
に付着した場合はただちに新しいものに取り替えてください。また
、検体や試薬を扱った後は手をよく洗浄してください。
- 2) 採取した全血は 2~30℃で保存し、採取後 24 時間以内に遠心分離
して血漿を分取してください。血漿は 2~8℃で 5 日間まで、-70℃
あるいは -20℃で 90 日間まで保存が可能です。

2. 妨害物質、妨害薬剤

高濃度の内因性物質、蛋白アルブミン (90mg/mL)、ヘモグロビン
(5mg/mL)、トリグリセリド (30 mg/mL)、及びビリルビン (非結合
型) (0. 2mg/mL) による妨害の影響を調べたところ、本品の性能に対
する妨害は認められませんでした。
また、下記疾患を有する患者から採取した HIV-1 陰性 EDTA 血漿検
体に、HIV-1 濃度が約 1,000 コピー/mL となるよう調製し本キットで
測定したところ、測定値への影響は認められませんでした。

臨床試料	
リウマチ因子 (RF)	多発性骨髄腫 (MM)
抗核抗体 (ANA)	高脂血症 (高トリグリセリド)
抗 Jo-1 抗体 (JO-1)	黄疸 (高ビリルビン)
全身性エリトマトーデス (SLE)	溶血 (高ヘモグロビン)
関節リウマチ (RA)	高蛋白アルブミン
多発性硬化症 (MS)	HCV 抗体
高グロブリン血症 (IgG, IgM など)	HBV 抗体
ALT 上昇	HIV-2 抗体
アルコール性肝硬変 (AC)	

以下の測定に影響を及ぼす可能性のある薬剤について、それぞれ最高
血漿中濃度の 3 倍になるよう添加した HIV-1 陰性 EDTA 血漿検体に、
HIV-1 を約 1,000 コピー/mL となるよう添加し、本キットで測定した
ところ、以下の濃度までの薬剤は、測定に影響しませんでした。

妨害物質 グループ	薬剤名	試験濃度 (3 X Cmax) μ g/mL
グループ 1 抗 HIV プロテ アーゼ阻害剤	ロピナビル	62.70
	インジナビル	29.53
	サキナビル	1.87
	リトナビル	66.00
	ネルフィナビルメシル酸塩	19.20
	ダルナビル	30.88
	アンブレナビル	51.85
	アタザナビル	9.10

妨害物質 プール	薬剤名	試験濃度 (3 X Cmax) μ g/mL
プール 2 抗 HIV 逆転写 酵素阻害剤、抗 生物質	ネビラピン	30.60
	エファビレンツ	21.79
	リルピビル	0.55
	クラリスロマイシン	19.97
	アンフォテリシン B	565.80
プール 3 抗 HBV 剤、抗 HCV 剤、抗 HIV インテグラーゼ 阻害剤他	テノホビルジソプロキシルフ マル酸塩	3.51
	アデホビルジボキシル	0.11
	リバビリン	15.88
	エンファチド	30.30
	マラビロク	2.66
	ラルテグラビル	0.48
	ドルテグラビル	12.45
プール 4 核酸系逆転写 酵素阻害剤	アバカビル硫酸塩	23.49
	ジダノシン	6.71
	ジドブジン	6.00
	ラミブジン	8.88
	スタブジン	2.92
	エンテカビル	0.02
	テルビブジン	22.32
	エムトリシタピン	11.70
プール 5 抗うつ剤	パロキセチン塩酸塩	1.00
	フルオキセチン	3.46
	セルトラリン	0.60
プール 6 抗ヘルペス薬、 抗菌剤	ガンシクロビル	39.60
	バラシクロビル	38.28
	アシクロビル	4.83
	リファンピシン	64.27
	エタンブトール	11.97
プール 7 抗生物質	シプロフロキサシン	10.00
	アジスロマイシン	12.01
	アモキシシリン	75.19
	セファレキシ	116.94
	アンピシリン	53.05
	トリメソプリム	40.02
プール 8 抗 HCV 剤他	バルガンシクロビル塩酸塩	46.56
	ボセプレビル	5.17
	テラプレビル	22.05
	シメプレビル	29.57
	ソフオスブビル	1.75
プール 9 インターフェロン	ペグインターフェロン α -2b	0.001
	インターフェロン α -2a	0.023
	インターフェロン α -2b	0.008
プール 10 抗凝固剤	ヘパリン	6.00
	EDTA	0.99
	クエン酸ナトリウム	32,000.00
プール 11 抗 HIV プロテ アーゼ阻害剤	チプラナビル	295.08
プール 12 抗結核薬	イソニアジド	40.00

3. 測定下限

臨床検体の HIV-1 グループ M サブタイプ A、CRF01_AE、CRF 02_AG、B、C、D、F、G あるいは患者分離検体（グループ O 及び N）を HIV-1 陰性ヒト血漿で希釈し、10、15、20、30 及び 40 コピー/mL に調製した各検体につき計 30 回の繰り返し測定を行ったところ、以下の濃度まで測定が可能でした。

HIV-1 サブタイプ/グループ M	測定下限濃度(コピー/mL)
サブタイプ A /グループ M	30
CRF01_AE /グループ M	10
CRF02_AG /グループ M	30
サブタイプ B /グループ M	10
サブタイプ C /グループ M	30
サブタイプ D /グループ M	15
サブタイプ F /グループ M	15

HIV-1 サブタイプ/グループ M	測定下限濃度(コピー/mL)
サブタイプ G /グループ M	30
グループ N	10
グループ O	15

4. 交差反応性

HIV-1 陰性 EDTA 血漿に以下の濃度の病原体を添加し本キットで測定したところ、交差反応性は認められませんでした。

病原体	濃度
Hepatitis A virus	100,000 PFU/mL
Hepatitis B virus	100,000 IU/mL
Hepatitis C virus	100,000 IU/mL
Hepatitis G virus	100,000 copies/mL
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	100,000 PFU/mL
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	75,000 PFU/mL
Human herpes virus 6	100,000 copies/mL
Human herpes virus 8	42,000 PFU/mL
HIV-2	5,500 PFU/mL
Human T-cell lymphotropic virus (HTLV)	100,000 vp/mL
West Nile virus	100,000 copies/mL
Parvovirus B19	100,000 IU/mL
Cytomegalovirus	100,000 copies/mL
Epstein-Barr virus	100,000 copies/mL
Adenovirus type 5	100,000 PFU/mL
Dengue virus	100,000 copies/mL
Influenza A virus	100,000 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Propionibacterium acnes</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Chlamydia trachomatis</i>	300,000 IFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1,000,000 CFU/mL

PFU/mL = Plaque forming units per mL IU/mL = International units per mL

vp/mL = Viral particles per mL CFU/mL = Colony forming units per mL

IFU/mL = Inclusion forming units per mL

5. 操作上の留意事項

1) 実験操作

- アプティマ HIV-1 の使用に関して十分な訓練を受け、また、病原性を有する可能性のある物質の取り扱いに熟練した担当者のみがこの行程を実施してください。
- 試験に使用する容器は、[用法・用量（操作方法）] 1. 試薬及び器具に記載のもの、あるいは指定された使い捨てのものを使用してください。
- ピペットを口で吸わないでください。作業場所で、飲食あるいは喫煙はしないでください。検体及びキット試薬の取り扱い時は、使い捨てのパウダーフリー手袋、防護メガネ、実験着を着用してください。また、取り扱い後は、手を良く洗ってください。
- 作業台の表面、ピペット及びその他の器具は 2.5～3.5% の次亜塩素酸ナトリウム溶液で定期的に除菌してください。
- 陰性コントロール、低陽性コントロール及び高陽性コントロールには保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬は金属性のチューブに入れないでください。アジ化ナトリウムを含んだ溶液を廃棄管に捨てる時は、希釈して、多量の水で洗い流してください。金属パイプにそれらの廃棄物が蓄積すると爆発の可能性があるので注意してください。

2) 検体関連

- 感染を引き起こす可能性があるため、取り扱いには気を付けて下さい。
- 検体の輸送時は、能書に記載された検体の保存環境を維持してください。
- 検体取り扱い時のクロスコンタミを避けてください。検体チューブのキャップが緩んだ状態あるいは開いたときの検体の飛散に注意してください。検体は極めて高濃度の病原体を含んでいる可能性があります。検体容器どうしを接触させないこと、及び使用済みの器材を捨てる時は、開いた容器の上を通過させないことを守ってください。検体に触った手袋は取り替えてください。

3) 測定関連

- 使用期限が切れたキット試薬、キャリブレータ、コントロールは使用しないでください。
- 試薬への細菌及びヌクレアーゼの混入を避けてください。
- 特別な指示なしで測定試薬や溶液を混ぜないでください。試薬あるいは溶液のキャップを開けないでください。パンサーシステムは試薬量を確認します。

■用法・用量（操作方法）

1. 試薬及び器具

準備する試薬及び器具

- (1) パンサーシステム
- (2) マルチチューブユニット (MTUs)
- (3) パンサー廃棄バッグキット
- (4) パンサー廃棄カバー
- (5) チップ (伝導性、液体感知能付)
- * (6) 漂白剤、5～8.25%次亜塩素酸ナトリウム
- (7) パウダーフリー使い捨て手袋
- (8) 取替え非貫通型キャップ
- (9) 取替え試薬用キャップ
増幅試薬、酵素試薬、プロモーター試薬、溶解液ボトル、ターゲットキャプチャー試薬ボトル
- (10) 背面プラスチックの吸収性ラポベンチカバー
- (11) リントフリー洗浄綿
- (12) ピペッター
- (13) チップ
- (14) プライマリーチューブ (EDTA ACD, PPT)
サイズ: 13mm x 100mm, 13mm x 75mm, 16mm x 100 mm
- (15) 遠心分離機
- (16) ボルテックスミキサー
- (17) 凍結乾燥品溶解用ジョイント (試薬箱に同梱)

オプションの試薬、器具

- (1) Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT) (100 パック)
- (2) Aptima Specimen Aliquot Tube キャップ (100 パック) SAT 向け
- (3) Aptima Specimen Diluent
- (4) Aptima Specimen Diluent キット
Aptima Specimen Diluent, SAT (100 パック)、SAT キャップ (100 パック) を含む
- (5) 移送ピペット
- (6) 綿先スワブ
- (7) チューブ攪拌機

2. 検体

血液は、抗凝固剤 EDTA あるいはクエン酸デキストロース (ACD) を含むチューブ、あるいはプラスチック血漿調製チューブ (PPT) を用いて採取します。

1) 採取

採取した全血は 2～30℃で保存し、採取後 24 時間以内に遠心分離します。パンサーシステムでは、血漿は、プライマリーチューブあるいは 2 次チューブ (Aptima Specimen Aliquot Tube: SAT 等) に入った状態で試験されます。反応に必要な 500 μ L の血漿量を得るため、プライマリーチューブでの最低血漿量は 1,200 μ L で、2 次チューブ (SAT 等) では 700 μ L です。プライマリーチューブ内の血漿量が 1200 μ L 未満の場合、測定機器の検体量の液面検知により「検体量不足」でエラーになります。検体量不足の場合は再度検体を採取してください。直ぐに試験しない場合は、下記の規定に従い血漿を保存します。SAT に移した場合は -70℃あるいは -20℃に凍らせず。凍結溶解は 3 回を超えないようにします。EDTA あるいは ACD でプライマリーチューブに採取した血漿は凍らせないでください。

2) 検体保存条件

- (1) EDTA 及び ACD 血漿検体
分離血漿が入ったプライマリーチューブは、2～30℃で検体採取 24 時間後まで保存可能です。24 時間以降では、以下の条件のうちの 1 つで保存が可能です。
 - ・プライマリーチューブで 2～8℃で 3 日間まで
 - ・SAT で 2～8℃で 5 日間まで
 - ・SAT で -70℃あるいは -20℃で 90 日間まで
- (2) プラスチック血漿チューブ (PPT) 検体
分離血漿が入った PPT は、2～30℃で検体採取 24 時間後まで保存可能です。
24 時間以降では、以下の条件のうちの 1 つで保存が可能です。
 - ・PPT で 2～8℃で 3 日間まで
 - ・SAT で 2～8℃で 5 日間まで
 - ・PPT あるいは SAT で -20℃あるいは -70℃で 90 日間まで
- (3) 希釈検体
希釈した検体は、希釈後直ちに測定を実施します。希釈検体を凍結しないでください。

3. パンサー試験法

1) 測定場所の整備

- (1) 試薬を調製する場所を掃除してください。作業する場所の表面を 2.5～3.5% (0.35M～0.5M) 次亜塩素酸ナトリウムで拭いてください。次亜塩素酸ナトリウム溶液を作業表面に接触させ、最短 1 分経ってから脱イオン水で洗い流してください。次亜塩素酸ナトリウムの乾燥を避けてください。試薬、検体を取り扱うベンチの表面は、背面プラスチックの吸収性ラポベンチカバーで覆っておいてください。
- (2) サンプルを調製する場所の表面を掃除してください。以下、(1)の手順に順じてください。
- (3) ピペッターの掃除は、(1)に順じて実施してください。
- 2) キャリブレーションとコントロールの準備
以下の手順の前に 15～30℃に戻してください。
- (1) キャリブレーションとコントロールを -35～-15℃の貯蔵庫から取り出し、15～30℃に戻してください。融解操作では、使用するまでにゆっくり全体的に混ぜ合わせ、完全に融けたことを確認し

てください。

オプション: キャリブレーションとコントロールのチューブをチューブ攪拌機上で全体的に混ぜ合わせ、完全に解けたことを確認してください。

注: 攪拌時に過剰の泡ができることを避けてください。パンサーシステムの液面センサーが誤検知する可能性があります。

- (2) 中身が融けたら、チューブの外側をきれいな使い捨て綿で拭い、乾かしてください。
- (3) この時点では、コンタミ防止のためキャップを開けないでください。

3) キットの準備/試薬の溶解

注: 試薬の溶解は、パンサーシステム操作の前に実施してください。

- (1) ターゲットキャプチャー試薬 (TCR) の準備
 - a) TCR を 2～8℃の貯蔵庫から取り出す。TCR ボトルのロット番号をチェックして、マスターロットバーコードシートのロット番号と一致していることを確認してください。
 - b) TCR ボトルを 10 回激しく振り、TCR ボトルが 15～30℃を保てるように、45 分以上待ってください。45 分の間、少なくとも 10 分毎に転倒混和してください。

オプション: TCR は以下の指示に従い、チューブ攪拌機上で調製してください。TCR を 2～8℃の貯蔵庫から取り出し、10 回激しく振ってください。TCR をチューブ攪拌機上にセットし、15～30℃になるように 45 分間以上放置してください。

- c) 使用前に、溶液中の全ての沈殿物と磁性粒子が懸濁されていることを確認してください。

(2) 増幅、酵素、及びプロモーター試薬の溶解

- a) 凍結乾燥試薬と対応する溶解液を 2～8℃の貯蔵庫から取り出してください。溶解液とその凍結乾燥試薬を組み合わせてください。
- b) 溶解液と凍結乾燥品のラベルの色が合っていることを確認してください。マスターロットバーコードシートのロット番号を確認し、組み合わせが正しいことを確認してください。
- i) 金属シールとゴムストッパーを取り除いて凍結乾燥品バイアルを開けてください。
- ii) 凍結乾燥品溶解用ジョイント (黒) のノッチのある端をバイアルにしっかりと挿入してください。
- iii) 対応する溶解液ボトルを開け、清潔に保たれた作業場所でキャップをセットしてください。
- iv) 溶解液ボトルを安定した平面 (ベンチ) に置く。凍結乾燥試薬バイアルを溶解液ボトルの上側に反転させ、しっかりとカラーを溶解液ボトルに装着してください。
- v) 合体したボトル (溶解液ボトル) を反転させゆっくりと溶液をガラスバイアルに流してください。
- vi) 合体したボトルを持ち上げ、10 秒以上渦巻き状に振り混ぜてください。
- vii) 凍結乾燥試薬が完全に溶解するまで、30 分以上待ってください。
- viii) 凍結乾燥試薬が完全に溶解したら、合体したボトルを 10 秒以上渦巻き状に振り混ぜ、ガラスバイアルの中の溶液を軽く前後にゆすって完全に混合させてください。
- c) ゆっくりと合体ボトルを傾け、全ての溶液を溶解液ボトルに戻してください。
- d) 注意深く溶解用ジョイントとガラスバイアルをボトルから取り外してください。
- e) ボトルにキャップをしてください。オペレーターは、ラベルにイニシャルと溶解日を記録してください。
- f) 溶解用ジョイントとガラスバイアルを廃棄してください。

4) 事前に調製された試薬を用いる場合

- (1) 事前に調製された試薬を貯蔵庫 (2～8℃) から取り出してください。
- (2) 前もって調製した増幅、酵素、プロモーター及び TCR 試薬はアッセイの開始前に 15～30℃に戻してください。
- (3) TCR に関しては、システムに載せる前に上記 3) (1) を実施してください。
- (4) 増幅、酵素とプロモーター試薬はシステムに載せる前に攪拌、上下反転振り混ぜにより十分に混ぜ合わせてください。上下反転操作時には、過剰の泡の生成を避けてください。
- (5) 試薬ボトルは継ぎ足さないでください。パンサーシステムは継ぎ足されたボトルを認識し却下します。

5) 凍結検体の取り扱い

- (1) 凍結検体が完全に溶けていることを確認してください。溶解した検体を 3～5 秒攪拌し完全に混合させてください。
- (2) 測定前に 15～30℃になるよう放置してください。
- (3) 検体採取チューブに 1200 μ L 以上の血漿が入っていることを確認してください。各アプティマ分注チューブ (SAT) に 700 μ L 以上の検体が入っていることを確認してください。検体の希釈が必要な場合、下記 5) (6) 情報を参照してください。
- (4) SAT 内の検体を完全に混合するために 3～5 秒間攪拌してください。
- (5) サンプルラックに載せる前に、1000g～3000g で 10 分間遠心分離してください。キャップは外さないでください。チューブ内の泡はパンサーの液面センサーの誤検知の原因となります。下記 6) (2) ラックへの装填とキャップ除去情報を参照してください。
- (6) SAT 内での血漿検体の希釈
パンサーシステムでの試験にあたり、血漿検体を希釈することがあります。

注：検体が希釈されたら、希釈後直ちに測定を実施してください。

a) 少量検体の希釈

Aptima Specimen Diluent で、血漿検体を最低必要量の 700 μ L まで増量してください。血漿最低量 240 μ L を 2 倍の希釈液で以下のように実施してください。

- 240 μ L の検体を SAT に入れてください。
- 480 μ L の Aptima Specimen Diluent を添加してください。
- チューブにキャップをしてください。
- 混合のため、ゆっくり 5 回回転させてください。
1:3 に希釈された検体はパンサーシステムの 1:3 オプションで試験されます(パンサーシステムオペレーターマニュアルを参照してください)。ソフトウェアが自動的に希釈係数を適用し正しい結果を表示します。それらの検体は希釈検体としてフラグ表示されます。

b) 高濃度検体の希釈

検体の濃度が上限を超えた場合、99 倍の Aptima Specimen Diluent で以下に希釈してください。

- 30 μ L の検体を SAT に入れてください。
- 2,970 μ L の Aptima Specimen Diluent 検体希液を添加してください。
- チューブにキャップをしてください。
- 混合のため、ゆっくり 5 回回転混和してください。
1:100 に希釈された検体はパンサーシステムの 1:100 オプションで試験されます(パンサーシステムオペレーターマニュアルを参照してください)。ソフトウェアが自動的に希釈係数を適用し正しい結果を表示します。それらの検体は希釈検体としてフラグ表示されます。

注：測定可能上限を超えた濃度の希釈検体の結果は注釈を付けて表示されます。

6) システムの準備

パンサーシステムの取り扱い説明書をご覧ください。

- パンサーシステムオペレーターマニュアル及び手順／注の記載に従いシステムをセットアップする。
 - サンプルラックにサンプルを装填する。各サンプルチューブ(検体と、必要に応じ、キャリブレーション、コントロール)について以下を実施する。
 - 一つのサンプルチューブのキャップを緩めるが、この時点ではまだ外してはならない。
- 注：**拡散したエアゾルのコンタミに注意してください。サンプルキャップはゆっくりと緩めてください。
- サンプルラックにサンプルチューブを装填してください。
 - 上記(2)a)と(2)b)を残りのサンプルで繰り返ししてください。
 - サンプルをラックに載せた後、一つのサンプルラックのチューブキャップを外して廃棄してください。コンタミを避けるため、キャップは他のサンプルラック又はサンプルチューブの上を移動させないでください。
 - 必要に応じ、マイクロピペットを使って気泡を取り除いてください。クロスコンタミネーションを防ぐため、チップは検体ごとに交換してください。
 - 最後のキャップを外したら、サンプルベイにサンプルラックを移動してください。

注：同時に他の測定を実施する場合、サンプルラックをサンプルベイに移動する前に、サンプルリテーナーをしっかりと装着してください。
g) 引き続き新しいサンプルを測定する場合、次のサンプルラックで上記(2)a)から(2)f)の操作を繰り返してください。

4. 手順に関する注意

- キャリブレーションとコントロール
 - パンサーシステムでは、キャリブレーション、低陽性コントロール、高陽性コントロール及び陰性コントロールは、どのサンプルベイレーン、サンプルラックのどの位置に載せることもできます。検体のピベッティングは、以下の2条件のうち一つが満たされた場合に開始されます。
 - キャリブレーションとコントロールがシステムにより処理されている。
 - キャリブレーションとコントロールの有効な結果がシステムに登録される。
 - 一度キャリブレーションとコントロールのチューブがピベッティングされ、アプティマ HIV-1 アッセイが進行すると、検体は、関連する試薬キットと共に 24 時間まで試験することができます。但し、以下の場合を除きます。
 - キャリブレーションとコントロールの結果が Invalid の場合
 - 関連する試薬キットがシステムから取り除かれた場合
 - 関連する試薬キットが安定性を保証された期間を超えている場合
 - キャリブレーションと各コントロールチューブの使用は一回限りです。二回目以降の使用はプロセスエラーになります。
- 手袋の粉
手袋のパウダーは測定結果に影響を及ぼす可能性がありますので、パウダーフリーの手袋を使用してください。

■測定結果の判定法

* 1. 測定結果の判定

パンサーシステムのソフトウェアが全てのキャリブレーションとコントロールの有効性を評価します。キャリブレーションの繰り返し測定で最低2つの有効値があれば、パンサーシステムはキャリブレーションカーブ

を作り、そこからコントロールの HIV-1 濃度を推定します。コントロール濃度が測定範囲内であればそのキャリブレーションカーブは有効となります。そして、そのキャリブレーションカーブにより患者検体の濃度を計算します。

測定結果		HIV-1 RNA 濃度の解釈
コピー/mL*	Log ₁₀ 値	
Not Detected	Not Detected	HIV-1 RNA 検出せず
<30	<1.47	HIV-1 RNA は検出されるが、測定下限(LLoQ)未満
30~10,000,000	1.47~7.00	HIV-1 RNA 濃度は 30~10,000,000 コピー/mL の測定範囲内
>10,000,000	>7.00	HIV-1 RNA 濃度は測定上限(ULoQ)を超える
Invalid**	Invalid**	測定結果の生成でエラーあり 検体の検査を再度行う必要あり

※: 国際標準単位 (IU)に変換すると 0.35 コピー/IU となります

※※: "Invalid"は青字で表示されます

* 2. 判定上の注意

- 以下の検体を測定した場合、誤判定となることがありますので注意してください。
 - EDTA, クエン酸ナトリウム血漿以外の検体
 - 20℃より高い温度で長期間保存された検体
 - 凍結融解を 4 回以上繰り返した検体
 - HIV-1 RNA のコンタミネーションを受けた検体
上記のような場合は、適切な検体を再度採取し測定を行ってください。測定操作が不適切であると判断された場合は、再度測定してください。
- HIV-1 感染後、ある程度以上の HIV-1 RNA 濃度となるまで検出できないことがあります。また、本キットで検出せずと判定されても必ずしも HIV-1 の存在を否定するものではありません。測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほかの検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。
- HIV-1 を基に開発されたレンチウイルスベクターを使用して製造された再生医療等製品等 (CAR-T 細胞製品等) の投与を受けた患者の検体において、レンチウイルスベクターに含まれる HIV-1 配列を検出する可能性があります。

■臨床的意義

HIV 感染者において HIV ウイルス量を測定することは、病態の進行予測や抗 HIV 薬の薬効を知る上で重要です。血中 HIV ウイルス量は核酸増幅法による HIV RNA 測定などにより定量することが出来ます。アプティマ HIV は、HIV-1 感染患者血漿中の HIV-1 RNA を、全自動機器パンサーシステムにより定量的に測定するキットです。本キットは、HIV-1 RNA のグループ M,N 及び O を 30 から 10,000,000 コピー/mL の範囲で測定します。

■性能

1. 性能

[用法・用量 (操作方法)] に従い、感度、正確性、同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格値に適合します。

- 感度試験
「管理用試料 S (HIV-1 RNA 濃度 約 40 コピー/mL)」を 20 回同時に測定するとき、検出される測定数は 18 回以上である。
- 正確性試験
「低陽性コントロール (HIV-1 RNA 濃度 約 800 コピー/mL)」、「高陽性コントロール (HIV-1 RNA 濃度 約 1×10^5 コピー/mL)」及び「管理用試料 V (HIV-1 RNA 濃度 約 1×10^4 コピー/mL)」をそれぞれ 6 回同時に測定するとき、対数変換した測定値は、既知濃度の対数変換値の ± 0.5 の範囲である。
- 同時再現性試験
「管理用試料 P (HIV-1 RNA 濃度 約 1×10^4 コピー/mL)」を 6 回同時に測定するとき、対数変換した測定値の SD は、0.25 以下である。
「管理用試料 A (HIV-1 RNA を含まない)」を 3 回同時に測定するとき、3 回とも Not Detected (検出せず) となる。
- 測定範囲
30~ 1.0×10^7 コピー/mL。測定範囲の最小値は測定下限。

2. 相関性試験成績

1) 国内試験

本品及び既承認品共に測定範囲内で結果が得られた検体 106 例（臨床検体 100 例、人工希釈検体 6 例）を試料として、本品と既承認品の比較検討を行ったところ良好な結果が得られました。

相関係数 0.965
回帰式 $y=1.053x-0.536$
y：本品 x：既承認品

2) 海外試験

本品及び既承認品共に測定範囲内で結果が得られた検体 636 例（臨床検体 489 例、人工希釈検体 147 例）を試料として、本品と既承認品の比較検討を行ったところ良好な結果が得られました。

相関係数 0.984
回帰式 $y=1.010x+0.071$
y：本品 x：既承認品

3. 校正用基準物質（標準品）

3rd HIV-1 WHO International Standard (subtype B, NIBSC code: 10/152)

■使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意

- 検体及び本キットの取扱いには、使い捨て手袋、実験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用するなど、人体に直接触れないように注意してください。また、測定終了後はよく手を洗ってください。
- 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
- 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合には、直ちに多量の水で洗い流してください。
- 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
- 検体及び本キットを取扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。

2. 使用上の注意

- プライマー及びプローブは、測定するウイルスの遺伝子の中でも保存性が高く変異が少ない遺伝子領域を反応のターゲットとしておりますが、まれに起こる遺伝子の変異や欠損／挿入などにより、反応性が低下し正確に測定できない場合や、検出できない場合があります。
- ウイルスの RNA の測定・検出の結果は、検体採取の方法や感染の進行度などの患者因子の影響を受ける場合があります。
- 従来の測定方法から新しい測定方法に変更する場合は、変更前後の測定方法の相関性などを確認の上ご利用してください。
- バーコードをぬらしたり、ペンで記入するなどして汚したりしないでください。

3. 廃棄上の注意

- 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌と消毒の処理を行ってください。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従ってください。
- 検体や試薬が付着した容器類は、感染の危険があるものとして廃棄物に関する規定に従って適切に処理してください。
- 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅された核酸の廃棄は、次亜塩素酸剤（5～7%）を加えて混和後一晩放置するなど、核酸を破壊してから廃棄してください。なお、次亜塩素酸剤及び増幅産物処理試薬は測定機器内部にて自動的に使用され、増幅産物処理試薬は次亜塩素酸剤の補助として使われます。
- 核酸を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤（2.5～3.5%）に一晩浸すなどにより核酸を破壊してから、焼却処理又は密閉できるビニール袋を二重に施し、医療廃棄物として処理してください。
- 核酸を含む溶液は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 2.5～3.5%になるように混和後一晩放置するなど、核酸を破壊してから各都道府県によって定められた規定に従って廃棄処理してください。
- 陰性コントロール、低陽性コントロール及び高陽性コントロールには保存剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムを含んだ溶液を廃棄管に捨てる時は、希釈して、多量の水で洗い流してください。金属パイプにそれらの廃棄物が蓄積すると爆発の可能性があるので注意してください。

■貯蔵方法・有効期間

アプティマ HIV-1 キット	貯蔵方法	有効期間
増幅試薬	2～8℃	2 年
酵素試薬	2～8℃	2 年
プロモーター試薬	2～8℃	2 年
ターゲットキャプチャー試薬	2～8℃	2 年
増幅試薬溶解液	2～8℃	2 年
酵素試薬溶解液	2～8℃	2 年
プロモーター試薬溶解液	2～8℃	2 年

アプティマ HIV-1 キャリブレータ	貯蔵方法	有効期間
キャリブレータ	-35～-15℃	2 年

アプティマ HIV-1 コントロール	貯蔵方法	有効期間
陰性コントロール	-35～-15℃	2 年
低陽性コントロール	-35～-15℃	2 年
高陽性コントロール	-35～-15℃	2 年

アプティマ C セット	貯蔵方法	有効期間
洗浄液	15～30℃	2 年
オイル	15～30℃	2 年

使用期限は外箱に記載してあります。

■包装単位

- ・アプティマ HIV-1 100 テスト
- ・アプティマ HIV-1 キャリブレータ 100 テスト
- ・アプティマ HIV-1 コントロール 100 テスト
- ・アプティマ C セット（増幅産物処理試薬 1×1.4L を含む）

（別売品）

- ・Aptima Specimen Diluent キット 4 x 30 mL

■主要文献

- 1) Gill, P. & Ghaemi, A. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 27(3): 224-43.(2008)
- 2) Hill C. Molecular diagnostic testing for infectious diseases using TMA technology. Expert Rev. Mol Diagn. 1 (4): 445-455 (2001).

■問い合わせ先

ホロジックジャパン株式会社
〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル
TEL: 03-5804-2340
FAX: 03-5804-2321

■製造販売業者の氏名又は名称及び住所

ホロジックジャパン株式会社
〒112-0004 東京都文京区後楽 1-4-25 日教販ビル
TEL: 03-5804-2340
FAX: 03-5804-2321