

使用に際してはこの添付文書をよくお読みください。
また、必要なときに読めるように保管しておいてください。

PI-AHBV_01
体外診断用医薬品 令和 2 年 10 月作成(第1版)
製造販売承認番号:30200EZ00028000

B 型肝炎ウイルス表面核酸キット
アプティマ HBV

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品ですので、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 HBV DNA の測定（定量キット）であり、ウイルス感染症の診断の補助に使用してください。HBV DNA の検出（定性）には使用しないでください。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。
8. 本品は、パンサーシステム専用の試薬です。

【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 ATP、CTP、GTP、UTP、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、 非 T7 プライマー2、非 T7 プライマー3、 非 T7 プライマー4	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 ATP、CTP、GTP、UTP、dATP、dCTP、dGTP、dTTP、 T7 プロモータープライマー2、標識オリゴヌクレオチド 2 T7 プロモータープライマー6、標識オリゴヌクレオチド 3	1 バイアル
TCR	ターゲットキャプチャー試薬 DNA 捕捉プローブ 2、DNA 捕捉プローブ 3、DNA 捕捉 プローブ 4、DNA 捕捉プローブ 5、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、T7 プロモータ ープライマー5、T7 プロモータープライマー7、非 T7 プ ライマー5、オリゴ dT 結合磁性粒子	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
TER	標的エンハンサー試薬	1 x 46mL
PCAL	キャリブレーター	5 x 2.5 mL
NC	陰性コントロール	5 x 0.8mL
LPC	低陽性コントロール	5 x 0.8 mL
HPC	高陽性コントロール	5 x 0.8 mL
〈付属品〉 凍結乾燥品溶解用ジョイント、マスターロットバーコードシート、増幅産物処理試薬		

【使用目的】

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

【測定原理】

アプティマ HBV 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
ープを用いた増幅産物の測定からなり、反応は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、HBV DNA を遊離させます。検体中に HBV DNA 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 HBV は、この TMA 法により、HBV DNA の2領域（ポリメラーゼ遺伝子と表
面抗原遺伝子）を増幅します。HBV の遺伝子型 A、B、C、D、E、F、G および H
を認識するようデザインされたプライマーにより、これら特異的領域の増幅を
可能にしています。プライマーのデザインと、特異的2領域の認識により、HBV
の正確な特異的定量を確実なものとしています。

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すると、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 HBV 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 HBV 濃度
は、キャリブレータの情報と各反応における HBV と IC シグナルの比較に基づ
き、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) 検体には患者の血清、或いは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。検体を手袋等に付
着した場合は、直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
血漿又は血清を分取してください。血漿及び血清は 2～8℃で 5 日間まで、
-70℃あるいは-20℃で 60 日間まで保存が可能です。

2. 妨害物質、妨害薬剤

HBV 濃度約 1.48 及び 4.30 log IU/mL を、高濃度の内因性物質、蛋白アル
ブミン(90 mg/mL)、ヘモグロビン(5 mg/mL)、トリグリセライド(30mg /mL)、及び
ビリルビン(非結合型、0.2 mg/mL)を含む HBV 陰性血漿検体に添加し、測定
系への影響を調べたところ、本品の性能への影響は認められませんでした。
また、内因性物質濃度が上昇した下記疾患を有する患者から採取したHBV
陰性血漿に同濃度の HBV を添加した検体を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	
アルコール性肝硬変（AC）	多発性骨髄腫（MM）
アルコール性肝炎（AH）	多発性硬化症（MS）
ALT 上昇	非アルコール性脂肪肝炎（NASH）
抗核抗体（ANA）	高蛋白アルブミン
自己免疫性肝炎	関節リウマチ（RA）
肝細胞がん（HC）	リウマチ因子（RF）
溶血（高ヘモグロビン）	全身性エリテマトーデス（SLE）
黄疸（高ビリルビン）	HBV 抗体
高グロブリン血症	HCV 抗体
Jo-1 抗体（JO-1）	HIV-1/2 抗体
高脂血症（高トリグリセライド）	

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 倍以上になる様添加した HBV 陰性血漿を、HBV 濃度が
1.48LogIU/mL 及び 4.3 Log IU/mL となる様調製した検体を本キットで測定
したところ、以下の濃度まで測定値への影響は認められませんでした。

カテゴリー（作用機序）		薬剤名	試験濃度 (3x Cmax) μg/mL
プロテアーゼ 阻害剤		ロビナビル	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	19.20

抗 HIV 薬		アンブレナビル	51.85
	非ヌクレオシド ／ヌクレオチド 系逆転写酵素 阻害剤	ネビラピン	30.60
		エファビレンツ	21.79
		ヌクレオシド／ ヌクレオチド系 逆転写酵素阻 害剤	アバカビル塩酸塩
		ジダノシン	6.71
		ジドブジン	6.00
		ラミブジン	8.88
		その他	スタブジン
	エンフビルチド		30.30
B型肝炎治療薬		エンテカビル	0.02
		テノホビルジソプロキシ ルフマル酸塩	3.51
		アデホビル ジビボキシル	0.11
C型肝炎治療薬		リバビリン	15.88
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	0.02
		インターフェロン α -2b	0.01
抗ウイルス薬		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
抗サイトメガロウィルス薬		バルガンシクロビル 塩酸塩水和物	46.56
抗菌生物質		シプロフロキサシン	10.00
		アジスロマイシン	12.01
		ザルシタピン	0.08
その他感染症		クラリスロマイシン	19.97
抗うつ薬		パロキセチン 塩酸塩水和物	1.00
		フルオキセチン	3.46
		セルトラリン	0.60

3. 検出下限

臨床検体の HBV ジェノタイプ A、B、C、D、E、F、G、H を HBV 陰性ヒト血漿及び血清で希釈し、0.2, 0.5, 1.5, 3, 6, 7, 8, 9 IU/mL に調製した各検体につき計 36 回の繰り返し測定を行ったところ、以下の濃度まで検出が可能でした。

HBV ジェノタイプ	血漿		血清	
	(IU/mL)	(log IU/mL)	(IU/mL)	(log IU/mL)
A	3.25	0.51	4.14	0.62
B	2.87	0.46	3.92	0.59
C	4.90	0.69	5.17	0.71
D	5.67	0.75	5.36	0.73
E	5.82	0.76	5.80	0.76
F	2.98	0.47	4.04	0.61
G	2.80	0.45	7.41	0.87
H	5.49	0.74	6.26	0.80

4. 交差反応性

HBV 陰性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
Adenovirus type 5	100,000 TCID ₅₀ /mL ¹ HCV と単位が違うので要確認
BK human polyomavirus	1,000 TCID ₅₀ /mL
Cytomegalovirus	100,000 TCID ₅₀ /mL
Dengue virus 1	10,000 TCID ₅₀ /mL
Dengue virus 2	10,000 TCID ₅₀ /mL
Dengue virus 3	10,000 TCID ₅₀ /mL
Dengue virus 4	100,000 TCID ₅₀ /mL
Epstein-Barr virus	100,000 copies/mL ²
Flu H1N1	100,000 TCID ₅₀ /mL
Hepatitis A	100,000 TCID ₅₀ /mL
Hepatitis C	100,000 IU/mL ³
Hepatitis G virus	100,000 copies/mL
Human Herpesvirus Type 6B	100,000 copies/mL
Human Herpesvirus Type 8	100,000 copies/mL
HIV-1	100,000 IU/mL

HIV-2	10,000 TCID ₅₀ /mL
Human Papillomavirus	100,000 copies/mL
Herpes Simplex Virus Type 1	100,000 TCID ₅₀ /mL
Herpes Simplex Virus Type 2	100,000 TCID ₅₀ /mL
Human T-lymphotropic virus 1	100,000 vp/mL ⁴
Human T-lymphotropic virus 2	100,000 vp/mL
Japanese encephalitis virus	N/A
Murray Valley Encephalitis virus	2,000 LD/mL ⁵
Parvo B19	100,000 IU/mL
Rubella virus	10,000 TCID ₅₀ /mL
St. Louis Encephalitis virus	100,000 TCID ₅₀ /mL
Vaccinia virus	1,000 TCID ₅₀ /mL
West Nile Virus	100,000 TCID ₅₀ /mL
Yellow Fever Virus	100,000 TCID ₅₀ /mL
<i>Candida albicans</i>	1,000,000 CFU/mL ⁶
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1,000,000 IFU/mL ⁷
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Mycobacterium gordonae</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Mycobacterium smegmatis</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Propionibacterium acnes</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1,000,000 CFU/mL
<i>Trichomonas vaginalis</i>	1,000,000 CFU/mL

1. TCID₅₀/mL: Tissue Culture Infectious Dose Units / mL (組織培養感染濃度単位)

2. Copies / mL (コピー数)

3. IU/mL: International Unit / mL (国際単位)

4. Vp/mL: Viral Particles/mL (ウイルス粒子数)

5. LD/mL: Lethal Dose / mL (致死量)

6. CFU/mL: Colony Forming Unit / mL (コロニー形成単位)

7. IFU / mL: Inclusion Forming Units / mL (介在物形成単位)

操作上の留意事項

1) 実験操作

- (1) アプティマ HBV 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。
- (2) 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。
- (3) 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。検体およ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。
- (4) 作業台の表面、ピペットおよびその他の器具は 2.5～3.5%の次亜塩素酸ナトリウム溶液で定期的に除染してください。
- (5) 検体、試薬が付着した容器類は都道府県の規定に従って廃棄してください。作業台の上は清掃と除染を徹底してください。
- (6) 管理物質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配管システムに捨てる時は、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。
- (7) 標的エンハンサー試薬には、水酸化リチウムが含まれています。本試薬が皮膚、眼、粘膜に接触しないようにしてください。接触した場合は、十分な水で洗浄してください。

2) 検体関連

- (1) 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。
- (2) 検体の輸送時は、本添付文書の [用法・用量(操作方法)] 2. 検体保存条件に記載された保存環境を維持してください。
- (3) 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、およ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

- (1) 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。
- (2) 試薬への細菌およびヌクレアーゼの混入を避けてください。
- (3) 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。試薬あるいは溶液を補充してチューブの上まで満たしてしまわないよう注意して下さい。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. 試薬および器具

準備する試薬および器具

- (1) パンサーシステム
パンサーランキット
- (2) アプティマ アッセイ溶液キット(ユニバーサル溶液キット)
アプティマ洗浄溶液、不活性化溶液のためのアプティマ緩衝液、アプティマ
オイル試薬が含まれる
- (3) マルチチューブユニット (MTUs)
- (4) パンサー廃棄バッグキット
- (5) パンサー廃棄ビンカバー
- (6) チップ(伝導性、液体感知能付)
- (7) 漂白剤、5～7%(0.7M～1M)次亜塩素酸ナトリウム
- (8) 使い捨てパウダーフリー手袋
- (9) 取替え非貫通型キャップ
- (10) 取替え試薬用キャップ
増幅試薬、酵素試薬、プロモーター試薬再構成ビン、ターゲットキャプ
チャー試薬ビン
- (11) 背部がプラスチックのベンチカバー
- (12) リントフリー洗浄綿
- (13) ピペッター
- (14) チップ
- (15) 1次採血チューブ(EDTA ACD, PPT)
サイズ: 13mm x 100mm, 13mm x 75mm, 16mm x 100 mm
- (16) 遠心分離機
- (17) ボルテックスミキサー
- (18) 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 Tubes (SAT) (100 パック)
- (2) Transport Tube Cap (100 パック) SAT 向け
- (3) Aptima Specimen Diluent
検体希釈液、100 SAT と 100 キャップを含む
- (4) 移送ピペット
- (5) 綿先スワップ
- (6) チューブ攪拌機

2. 検体

血液検体は、以下のガラス、或いはプラスチックチューブで採取します。

- ・抗凝固剤 EDTA、或いはクエン酸デキストロース(ACD)を含むチューブ、
 - ・プラスチック血漿調製チューブ(PPT)
 - ・血清チューブ
 - ・血清分離チューブ (SST)を用いて採取する。
- 血清は、凝固塊が出来るのを待ってから次の作業を行う

(1) 検体採取

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次チューブの Aptima Specimen Aliquot Tube (SAT)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、プライマリー採血チューブでの最低血漿量は 1,200 μ L で、SAT 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、或いは血清を保存します。SAT に移した場合は-20℃か-70℃に凍らせませす。凍結溶解は 3 回を超えないようにしてください。EDTA あるいは ACD でプライマリーチューブに採取した血漿、或いは血清は凍らせないでください。

(2) 検体保存条件

全血は 2～30℃で保存が可能です。試料採取から 24 時間以内に遠心分離する必要があります。

a) 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。

- i. 2～8℃でプライマリーチューブあるいは SAT で 5 日間まで
- ii. -20℃で SAT で 60 日間まで

b) 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。

- i. 2～8℃で PPT あるいは SAT で 5 日間まで
- ii. -20℃で PPT あるいは SAT で 60 日間まで

c) 血清チューブ (レッドトップ)検体

分離血清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。

- i. 2～8℃でプライマリーチューブあるいは SAT で 5 日間まで
- ii. -20℃で SAT で 60 日間まで

d) 分離剤入り血清チューブ (SST)検体

分離血清が入った SST 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。

- i. 2～8℃で SST あるいは SAT で 5 日間まで
- ii. -20℃で SST あるいは SAT で 60 日間まで

(3) 血漿、或いは血清検体の希釈

パンサーシステムでの試験では、血漿、或いは血清検体は、SAT で希釈して用いてください。希釈した検体は、希釈後直ちに測定を実施してください。また、希釈した検体は凍結させないで下さい。詳細は、パンサーシステム試験手順を参照ください。

3. パンサー試験法

1) 測定場所の整備

- i) 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取ってください。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ボベンチカバーで覆っておいてください。
- ii) サンプルを調製する場所の表面を掃除する。i)の手順に順じてください。
- iii) ピペット器具の掃除。i)の手順に順じてください。

2) キャリブレータ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

- i) キャリブレータとコントロールを-15℃～-35℃の貯蔵庫から取り出し、15℃～30℃に移動してください。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、完全に溶けたことを確認してください。

オプション: キャリブレータ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、完全に溶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判断します。

- ii) 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。

- iii) 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) 試薬の溶解／試薬の準備

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してください。TCR ビン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 ビンを 10 回激しく振り、TCR ビンが 15℃～30℃を保てる様に、最短 45 分は暖めてください。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 ビン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 ビンをチューブ攪拌機上にセットし、暖めるために 15℃～30℃で最短 45 分放置してください。

- 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、およびプロモーター試薬の溶解

- a) 凍結乾燥試薬と相当する溶解液を 2℃～8℃の貯蔵庫から取り出してください。溶解液とその凍結試薬をペアリングしてください。

- 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、正しくペアリングできている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乾燥品バイアルを開けてください。

- ii) 凍結乾燥品溶解ジョイント(黒)の先の窪みをバイアルにしっかりと挿入してください。

- iii) 相当する溶解液ボトルを開け、清潔で覆わ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場所(ベンチ)に置く。乾燥試薬バイアルを溶解液の上側に反転させ、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) その液をガラスバイアルに排出させるために、ゆっくりと合体したビン(溶液ビンへの結合部を介して)を反転させてください。

- vi) 合体ビンを持ち上げ、最短 10 秒間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、最低 30 分待ってください。

- viii) 凍結乾燥試薬が完全に溶解したら、合体ビンを最低 10 秒間振り混ぜ、溶液をガラスバイアル中で攪拌し全体的に混ぜ合わせてください。

- c) ゆっくりと合体ビンを傾け、全ての溶液を溶解液ボトルに戻します。

- d) 注意深く溶解用ジョイントとガラスバイアルを分離してください。
- 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) 溶解ジョイントとガラスバイアルを廃棄してください。
- 注** 試薬溶解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判断する可能性があります。

4) 事前に調製された試薬を用いる場合

- 事前に調製してあった試薬を貯蔵庫(2℃～8℃)から取り出してください。
- 事前に調製してあった増幅、酵素、プロモーターおよび TCR 試薬はアクセスの開始前に 15℃～30℃にしてください。
- 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。
- 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。
- 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したボトルを認識し受け付けません。

5) 凍結検体の取り扱い

- 凍結検体が完全に溶けていることを確認する。溶解した検体を完全に混合するために 3～5 秒攪拌してください。
- 測定前に 15℃～30℃になるよう放置してください。
参考: パンサーシステムサンプル搭載情報
- 検体採取チューブに最低 1200 μL の血漿が入っていることを確認してください。各アプティマ分画チューブ(SAT)に最低 700 μL の検体が入っていることを確認してください。検体の希釈が必要であれば、下記 5) (6) の情報を参照ください。
- SAT 検体を完全に混合するために 3～5 秒攪拌してください
- サンプルラックに載せる前に、1000g～3000g で 10 分遠心分離してください。キャップ外さないでください。チューブ内の泡の生成はパンサーの液面センサーの判断を乱します。下記 6) (2) ラックへの搭載とキャプ除去情報参照ください。
- SAT での血漿検体の希釈
パンサーシステムでの試験で、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

- アプティマ検体希釈液で、血漿検体を最低必要量の 700 μL まで増量してください。血漿最低量 240 μL を 2 倍の希釈液で以下のように実施してください。
- 240 μL の検体を SAT に準備してください。
 - 480 μL の検体希釈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 回反転させてください。

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参照ください)。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旗で表示されます。

b) 高濃度検体の希釈

検体の濃度が上限を超えていた場合、99 倍の希釈液で以下の様に希釈してください。

- 30 μL の検体を SAT に準備してください。
- 2970 μL の検体希釈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 回反転させてください。

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参照ください)。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旗で表示されます。

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および手順／注の記載に従いシステムをセットアップしてください。
- サンプルラックにサンプルを搭載してください。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してください。
 - 一つのサンプルチューブのキャップを緩めますが、まだ外さないでください。
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搭載してください。
 - 上記(2) a)と(2) b)を残りのサンプルで繰り返してください。
 - サンプルをラックに載せた後は、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。

- f) 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に移動してください。

注: 同時に他の測定を行う場合、サンプルラックをサンプルベイに移動する前に保持装置をしっかりと固定してください。

- 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

1) 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およ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可能です。検体のピペッティングは、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ます。
 - 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ます。
 - 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ペッティングされ、アプティマ HBV 試薬キットによる反応が進行すると、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可能です。但し、以下を除きます。
 - キャリブレーションとコントロールの結果が無効であった場合
 - 関連する試薬キットがシステムから除去された場合
 - 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。二回以降の使用はプロセスエラーになります。
- 2) 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。

以下の操作を全自動機器パンサーシステムで行う。

- 検体又はコントロール 500 μL と内部コントロールを含むターゲットキャプチャー試薬液 400 μL、標的エンハンサー試薬 100 μL を混和し、64℃で 28 分間処理した後、18℃で 8 分間インキュベーションする。
- 混合液から磁石により磁性粒子を分離し洗浄する。
- 洗浄後、オイル 200 μL と増幅試薬 50 μL を添加し混和する。
- 64℃で 10 分間インキュベーションした後、45℃の温度下、酵素試薬 25 μL を添加し 5 分間インキュベーションする。
- プロモーター試薬 25 μL を添加し混和する。
- 上記5)混合液をインキュベーションしながら放出される FAM(520nm)、HEX(560nm)の蛍光シグナルをリアルタイムで測定する。
- 検体及びコントロールの蛍光シグナルを比較することにより、パンサーシステムソフトウェアが検体中の HBV DNA 濃度を決定する。

【測定結果】

1. 測定結果の解釈

キャリブレーションカーブを用いて、検体とコントロールを比較することでパンサーシステムは自動的に検体中の HBV DNA 濃度を決定します。HBV DNA 濃度は IU/mL、及び log₁₀ IU/mL で表示されます。結果の解釈方法を下表に示します。1:3、或いは 1:100 に希釈された検体の場合、希釈率を元に、パンサーシステムが自動的に正味の検体濃度を計算し、濃度と共に、“希釈検体”の旗を表示します。

注: 希釈検体で、“Not Detected”或いは“<10 detected”となった場合、検出下限(LoD)、或いは定量下限(LLoQ)に近い濃度と考えられます。定量値が得られない場合は、検体を再度採取し、希釈しない検体で再測定することを推奨します。パンサーシステムは診断目的で“Detected”或いは“Not Detected”の定性結果は表示しません。“Not Detected”は HBV DNA が検出下限未満の濃度の検体です。“<10 detected”、直線性を示す濃度内、及び>1,000,000,000 (定量上限より多い)の場合は HBV DNA が検出された検体です。

測定結果		HBV DNA 濃度の解釈
IU/mL	Log ₁₀ 値*	
Not Detected	Not Detected	HBV DNA 検出せず
<10 detected	<1.00	HBV DNA は検出されるが、定量下限(LLoQ)未満
10～1,000,000,000	1.00～9.00	HBV DNA 濃度は 10～1,000,000,000 IU/mL の測定範囲内
>1,000,000,000	>9.00	HBV DNA 濃度は定量上限(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

*: 値は小数点以下二桁で示されます。

** : Invalid は青字で示されます。

2. 解釈上の注意

- 指定されたチューブ以外で採取された血漿または血清を使用した場合は、誤判定となることがあります。
- 本試験はトレーニングを受けた者に限られます。

- (3) 本添付文書のおりに操作を行わなかった場合、誤った結果が生じる可能性があります。
- (4) 適切な検体採取、輸送、保管、および処理を行った場合に信頼できる結果が得られます。
- HBV 感染後、ある程度以上の HBV DNA 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 HBV の存在を否定するものではありません。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。

【臨床的意義】

HBV 感染者において HBV ウイルス量を測定することは、病態の進行予測や抗 HBV 薬の薬効を知る上で重要です。血中 HBV ウイルス量は核酸増幅法による HBV DNA 測定などにより定量することが出来ます。

アプティマ HBV は、HBV 感染患者血漿または血清中の HBV DNA を全自動機器パンス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、HBV DNA の遺伝子タイプ A、B、C、D、E、F、G、および H を 10 から 1,000,000,000 IU/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。

1) 感度試験

「管理用試料 S (HBV DNA 濃度約 1.17 Log IU/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。

2) 正確性試験

「低陽性コントロール (HBV DNA 濃度約 2.78 Log IU/mL)」及び「高陽性コントロール (HBV DNA 濃度約 4.38 Log IU/mL)」をそれぞれ 6 回同時に測定するとき、測定値は、既知濃度の対数変換値の±0.5 Log IU/mL の範囲である。

3) 同時再現性試験

「管理用キャリブレータ (HBV DNA 濃度約 8.48 Log IU/mL)」を 3 回同時に測定するとき、測定値は、既知濃度の±0.5 Log IU/mL の範囲である。また、「管理用試料 A (HBV DNA 濃度 0 Log IU/mL)」を 3 回同時に測定するとき、3 回とも Not Detected となる。

4) 測定範囲

1.0～9.0log IU/mL

2. 相関試験成績

相関性試験 1

血漿検体 112 検体 (保存検体 80 検体と新規検体 32 検体)において、本品及び既承認品 A の測定範囲内で測定値が得られた検体について比較検討を行ったところ、回帰式 $y=0.9528x + 0.1746$ 、相関係数 $r=0.987$ の良好な結果が得られました。

相関性試験 2

血漿検体 112 検体 (保存検体 80 検体と新規検体 32 検体)において、本品及び既承認品 B の測定範囲内で測定値が得られた検体について比較検討を行ったところ、回帰式 $y=1.0358x - 0.2658$ 、相関係数 $r=0.992$ の良好な結果が得られました。

3. 校正用基準物質（標準品）

HBV 3rd WHO International Standard (NIBSC code: 10/264)

【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。
- HBV DNA 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 DNA の廃棄は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 0.5%になるように混和後一晩放置するなど、DNA 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。
- DNA 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（有効塩素濃度 0.5%）に一晩浸すなどにより DNA 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。
- DNA を含む溶液は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度が 0.5%になるように混和後一晩放置するなど、DNA 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配管システムに捨てる時は、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 HBV 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 HBV 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 HBV 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

アプティマ 標的エンハンサー試薬	貯蔵方法	有効期間
標的エンハンサー試薬	15～30℃	2 年

使用期限は外箱に記載されています。

【包装単位】

- ・アプティマ HBV キット 100 テスト
- ・アプティマ HBV キャリブレータ 100 テスト
- ・アプティマ HBV コントロール 100 テスト
- ・アプティマ C セット
- ・アプティマ 標的エンハンサー試薬

【主要文献】

- Gill, P. & Ghaemi, A. Nucleic acid isothermal amplification technologies: a review. Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids. 27(3): 224-43. (2008)
- 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