

ご使用に際しては、本電子化された添付文書をよくお読みください。

ヒト免疫不全症ウイルス 1 核酸キット

エリートMGB HIV-1 PCR測定キット

【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できません。
- (2) 測定結果に基づく臨床判断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
- (3) この電子化された添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
- (4) 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処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
- (5) 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従いご使用ください。

【形状・構造等（キットの構成）】

構成試薬

1. HIV1 ELITe MGB Mix

HIV1 PCR Mix	4×600μL
HIV1 F プライマー1	
HIV1 F プライマー2	
HIV1 R プライマー1	
HIV1 R プライマー2	
HIV1 R プライマー3	
HIV1 プローブ 1	
HIV1 プローブ 2	
HIV1 プローブ 4	
HIV1 プローブ 7	
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'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸(dGTP)	
2'-デオキシチミジン-5'-三リン酸(dTTP)	
DNA ポリメラーゼ	

RT EnzymeMix	2×20μL
逆転写酵素	

2. HIV1 ELITe Standard

10 ⁵	1×160μL
10 ⁴	1×160μL
10 ³	1×160μL
10 ²	1×160μL

3. HIV1 Internal Control

8×160μL

4. HIV1 Positive Control

2×160μL

【使用目的】

血漿から抽出した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】

本品は RT-PCR 法により、HIV-1 RNA から cDNA を合成及び増幅し、蛍光標識プローブをハイブリダイゼーションさせ、プローブより発生する蛍光により HIV-1 RNA を測定するキットです。反応工程には以下の 5 つのステップが含まれます。

1. 標的 RNA から逆転写 DNA の合成

抽出された HIV-1 RNA の一部の配列に HIV1 R プライマーが特異的に結合し、逆転写酵素及び DNA ポリメラーゼにより HIV-1 RNA に相補的な逆転写 DNA(cDNA)が合成されます。

2. PCR による HIV-1 DNA の増幅

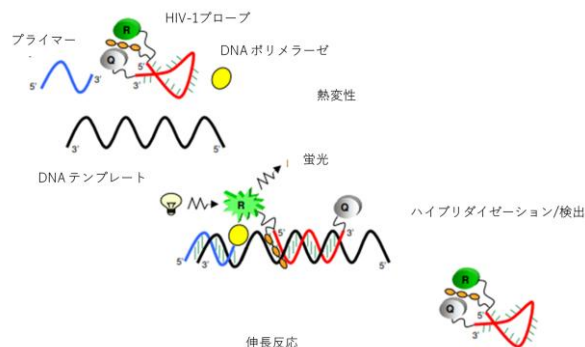
PCR 反応のプライマー及び蛍光標識プローブは HIV-1 RNA の一部の配列に特異的に結合するように設計されています。試薬中のプライマーが、合成された cDNA の標的とする遺伝子配列部分に結合し、dATP、dCTP、dGTP、dTTP と DNA ポリメラーゼによる PCR 反応により DNA 鎖が伸長、増幅します。

3. 蛍光標識プローブとの結合

DNA 鎖の増幅と同時に蛍光(FAM)標識された HIV-1 特異的蛍光標識プローブも一本鎖 DNA にハイブリダイゼーションします。本品に使用される蛍光標識プローブは分子の両端に蛍光色素とクエンチャー(EDQ)が存在しますが、一本鎖 DNA とハイブリダイゼーションすることにより蛍光色素とクエンチャー(EDQ) 間に間隔が生じると蛍光標識プローブが蛍光を発します¹⁾。未反応の場合は両者の間隔がなくクエンチャーにより蛍光を発することはありません。

4. 蛍光強度の測定

一本鎖 DNA にハイブリダイゼーションした蛍光標識プローブは 470 nm の光で励起され、発生する蛍光を 510 nm で計測します。



5. HIV-1 RNA 濃度の算出

リアルタイム PCR 反応による HIV-1 DNA の増幅は所定のサイクルで連続的に繰り返され、蛍光測定により増幅曲線が得られます。HIV1 ELITe Standard の Ct 値より検量線が作成されます。試料中の HIV-1 RNA 量は測定試料を測定した場合の Ct 値から検量線をもとに算出されます。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取の方法

- (1) 本品の測定試料には、血漿から抽出した RNA を用います。RNA の抽出・精製を行う場合は、RNA 抽出・精製キットのプロトコルに従って抽出してください。抽出した RNA は-20℃で、1 ヶ月間保存することができます。

- (2) 不適切な検体の取り扱い、保管、輸送により誤った結果となる可能性が有りますので、検体採取や各工程に関して本品の添付文書の記載に従ってください。

2. 妨害物質

干渉物質

ヘモグロビン、トリグリセライド、ビリルビン、EDTA を以下の濃度で添加し調製した HIV-1 RNA 陽性血漿 (HIV-1 RNA 約 78 copies/mL) を測定した結果、測定値への影響は見られませんでした。

ヘパリン含有検体はポリメラーゼ反応を阻害しますので使用しないでください。

干渉物質	添加濃度
ヘモグロビン	3.3 g/dL
トリグリセライド	964 mg/dL
ビリルビン	24.1 mg/dL
EDTA	24.6 mM

薬剤

測定に影響を及ぼす可能性のある薬剤を以下の濃度で添加し調製した HIV-1 RNA 陽性血漿 (HIV-1 RNA 約 78 copies/mL) を測定した結果、測定値への影響は見られませんでした。

添加薬剤	作用機序	添加濃度
ガンシクロビル	DNA ポリメラーゼ阻害薬	10 µg/mL
アジスロマイシン	タンパク質合成阻害薬	10 µg/mL
アバカビル	逆転写酵素阻害薬	12 µg/mL
エムトリシタビン	逆転写酵素阻害薬	4 µg/mL
ラミブジン	逆転写酵素阻害薬	6 µg/mL
テノホビル	逆転写酵素阻害薬	6 µg/mL
ドラビリン	逆転写酵素阻害薬	2 µg/mL
エファビレンツ	逆転写酵素阻害薬	12 µg/mL
リルピビル	逆転写酵素阻害薬	500 ng/mL
アタザナビル	プロテアーゼ阻害薬	6 µg/mL
ダルナビル	プロテアーゼ阻害薬	24 µg/mL
ビクテグラビル	インテグラーゼ阻害薬	1 µg/mL
エルビテグラビル	インテグラーゼ阻害薬	3 µg/mL
マラビロク	CCR 5 阻害薬	6 µg/mL

3. 反応特異性

本品は Group M, Group O, Group N の主要な HIV-1 Subtype を測定可能です。Group M (Subtype A, B, C, D, F, G, H, CRF01-AE, CRF02-AG), Group O, Group N の Subtype 検討用市販標品を用いて希釈試験を行った結果、直線回帰式の相関係数は $r=0.986\sim0.996$ でした。

4. 交差反応性

HIV-1 陰性血漿及び HIV-1 陽性血漿 (HIV-1 RNA 約 78 copies/mL) に以下の微生物の DNA/RNA を添加した試料を測定した結果、交差反応性及び測定値への干渉は認められませんでした。HIV-2 RNA を測定した結果、弱い反応性 (測定値として約 2000 倍低値) が認められました。

検討した微生物遺伝子	
HTLV-1	Human Herpesvirus 3
HTLV-2	Influenza A(H1N1)
CMV	Influenza B(Florida)
EBV	RSV
Hepatitis A	Adenovirus
Hepatitis B	West Nile Virus

Hepatitis C	Dengue virus Type3
Hepatitis E	Echovirus 4
Human Herpesvirus 1	Parvovirus B19
Human Herpesvirus 2	<i>Staphylococcus aureus</i>
Human Herpesvirus 6	<i>Candida albicans</i>

5. コンタミネーションに関する注意

- (1) 検体に使用するピペットは専用のものをご使用ください。
ピペットを使用する場合にはフィルター付きチップをご使用ください。
- (2) 抽出した RNA は、周囲を汚染しないよう、注意して取り扱いください。抽出した RNA に使用するピペットは専用のものをご使用ください。

** (3) ELITe InGenius PCR Cassette や geneLEAD VIII PCR Reaction Cassette は増幅産物の周囲や検体への飛散及び試薬の汚染を防ぐために使用してください。

6. その他の注意事項

- ** (1) 本品はエリート インジニアスまたはジーンリード エイトでご使用ください。機器の取扱説明書をよく読み、記載に従いご使用ください。また、ジーンリード エイトを使用するとき、以下のモードを組み合わせで試験することは出来ません。
“Extract Only” と “PCR Only” モードの組み合わせ
“Extract Only” と “Extract+PCR” モードの組み合わせ
- (2) 使用する試薬は本品により提供される試薬及び製造業者により推奨されるもののみご使用ください。

【用法・用量（操作方法）】

1. 試薬の調製方法

(1) HIV1 ELITe MGB Mix

*a. HIV1 PCR Mix

使用する 30 分前に試薬を室温 (18~25℃) の暗所に放置して融解します。融解後、ボルテックスで 10 秒間 x 3 回攪拌し 5 秒間スピンドウンして使用します。融解後、チューブの底が氷中に浸かるようにして使用してください。

使用後は -20℃ 以下の暗所に保管し、開封後 60 日以内に使用してください。

凍結融解は 5 回まで可能です。

*b. RT EnzymeMix

試薬を静かに振り、5 秒間スピンドウンして使用します。

-20℃ を超える温度で 10 分以上放置しないでください。融解後、チューブの底が氷中に浸かるようにして使用してください。

使用後は -20℃ 以下の暗所に保管し、開封後 60 日以内に使用してください。

-20℃ を超える温度で 10 回を超えて使用しないでください。

*、**c. 反応液の調製

スクリーキャップ付きの 2ml チューブを用意します。装置毎に下記の表に基づき、測定数 (N) に必要な HIV1 PCR Mix と RT EnzymeMix の量を計算し、2mL チューブに計算した 2 つの試薬を添加します。

低速度のボルテックスミキサーで 10 秒間 x 3 回攪拌し、5 秒間スピンドウンして使用します。

反応液は再使用のための保存はできません。また、光に敏感なため、直接光に当てないでください。

①エリート インジニアスを使用するとき

測定数(N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 5	(N+1) x 20 μL	(N+1) x 0.3 μL
6 ≤ N ≤ 11	(N+2) x 20 μL	(N+2) x 0.3 μL
N=12	290 μL	4.4 μL

調製した反応液は PCR 試薬保管エリアのインベントリーマネージャーブロックに設置したまま 7 時間（抽出+PCR の 2 ラン分と抽出から PCR 試薬セットアップまでの 1 ラン分としての計 3 ラン分相当）まで使用できます。

②ジーンリード エイトを使用するとき

測定数(N)	HIV1 PCR Mix	RT EnzymeMix
1 ≤ N ≤ 3	(N+1) x 20 μL	(N+1) x 0.3 μL
4 ≤ N ≤ 6	(N+2) x 20 μL	(N+2) x 0.3 μL
7 ≤ N ≤ 8	(N+3) x 20 μL	(N+3) x 0.3 μL

調製した反応液は、リアルタイム PCR 試薬容器（PCR Reagent Cassette）に分注後装置に設置します。装置には 1 ラン分のみ設置し、設置後は速やかに測定を開始してください。

** (2) HIV1 ELITE Standard

使用する 30 分前に試薬を室温(18~25℃)に放置して融解します。融解後、静かに攪拌し 5 秒間スピンドウンして使用します。

使用後は-20℃以下に保管し、開封後 60 日以内に使用してください。凍結融解は 2 回まで可能です。

装置内のラックにセットしたまま測定を連続して行うことができます。（最大設置時間 4 時間まで）

** (3) HIV1 Internal Control

使用する 30 分前に試薬を室温(18~25℃)に放置して融解します。融解後、静かに攪拌し、5 秒間スピンドウンして使用します。使用後は-20℃以下に保管し、開封後 60 日以内に使用してください。凍結融解は 12 回まで可能です。

a. エリート インジニアスを使用するとき

装置内 PCR 試薬保管エリアのインベントリーマネージャーブロックに設置したまま 6 ラン分の測定を連続して行うことができます。（最大設置時間 18 時間まで）

注) HIV1 Internal Control の具体的な操作方法についてはユーザーガイド（エリート インジニアス用）をご参照ください。

b. ジーンリード エイトを使用するとき

融解後、使用するまで冷蔵庫やクールブロック等で保管してください。装置への設置は、1 ラン分のみとしてください。

注) HIV1 Internal Control の分注量と具体的な操作方法についてはユーザーガイド（ジーンリード エイト用）をご参照ください。

** (4) HIV1 Positive Control

使用する 30 分前に試薬を室温(18~25℃)に放置して、融解後、静かに攪拌し 5 秒間スピンドウンして使用します。

使用後は-20℃以下に保管し、開封後 60 日以内に使用してください。凍結融解は 4 回まで可能です。

装置内のラックにセットしたまま測定を連続して行うことができます。（最大設置時間 12 時間まで）

** (5) Negative Control

本品には同梱されておりませんので、別途、分子生物学用精製水をご準備ください。

準備した分子生物学用精製水を測定に使用する装置毎に以下容量を分注し、Negative Control として使用します。Negative Control は測定の都度、新しい分子生物学用精製水を分注してご使用ください。

a. エリート インジニアスを使用するとき

ELITE InGenius SP200 Consumable Set 中の Elution tube に少なくとも 50 μL 分注

b. ジーンリード エイトを使用するとき

geneLEAD VIII Consumable Set 中の Elution tube に少なくとも 40 μL

2. 必要な器具・器材・試薬等

(1) エリート インジニアスを使用するとき

	製品コード	必要な器具・器材・試薬等
遺伝子解析装置	—	エリート インジニアス
装置専用消耗品セット	F2119	ELITE InGenius SP200 Consumable Set
リアルタイム PCR カセット	F2122	ELITE InGenius PCR Cassette
2 mL チューブ (自立型スクリューキャップ付)	—	滅菌スクリューキャップ(自立) 2.0 mL ザルスタット(製品番号 72.694.005 又は 72.694.00003)
フィルター付きチップ	F2133	300 μL ユニバーサルフィットマキシムリカバリーフィルター小箱
チップ廃棄用容器	F2102	ELITE InGenius Waste Box
Negative Control (NC)	—	分子生物学精製水 (Molecular biology grade water/Nuclease-Free Water)
その他	—	ボルテックスミキサー 卓上遠心機 (12,000 - 14,000 RPM) マイクロピペット及び滅菌済みエアゾルフィルター付きチップ又はポジティブディスプレイメント式チップ 安全キャビネット 氷浴 各種個人保護用具(PPE)

** (2) ジーンリード エイトを使用するとき

	製品コード	必要な器具・器材・試薬等
遺伝子解析装置	—	ジーンリード エイト
装置専用消耗品セット	F8900	geneLEAD VIII Consumable Set
リアルタイム PCR カセット	F8840	geneLEAD VIII PCR Reaction Cassette Set
リアルタイム PCR 試薬容器	F8820	geneLEAD VIII PCR Reagent Cassette Set
Negative Control (NC)	—	分子生物学用精製水 (Molecular biology grade water/Nuclease-Free Water)
その他	—	ボルテックスミキサー 卓上遠心機(12000 - 14000 RPM) マイクロピペット及び滅菌済みエアゾルフィルター付きチップ又はポジティブディスプレイメント式チップ 安全キャビネット 各種個人保護用具(PPE)

**3. 操作方法

本品の測定には遺伝子解析装置 エリート インジーニアスまたはジーンリード エイトをご使用ください。

検体の定量をする場合は、HIV1 ELITe Standard を用いたキャリブレーションと HIV1 Positive Control 及び Negative Control の登録情報が必要です。これらの登録は、検体の測定と同一ラン内で実施することも可能です。

**a. エリート インジーニアスを使用するとき キャリブレーション

ステップ 1: Assay ファイルの選択

Close モードでログイン後、ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 1000 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

測定するトラックの Assay に「HIV1 ELITe_STD_XX」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV1 ELITe Standard の Lot 番号と使用期限を入力します。

Next ボタンから消耗品設置画面に移行します。

ステップ 2: 試薬、消耗品、検体の設置

PCR 試薬保管エリアの「Load/Unload Inventory」画面で反応液を設置する Block ID を選択します。反応液を設置する位置を選択し、表示されるリストから HIV1 PCR Mix を選択し、続けて試薬 Lot、使用期限、試薬使用可能回数を入力します。(チューブシリアル番号は任意で、各情報の入力とは初回設置のみです。)選択した Block の所定の位置に調製した反応液を設置します。次に Next ボタンから消耗品設置画面に進みます。300 μ L ユニバーサルフィットマキシマムリカバリーフィルター付きチップの「Load/Unload Inventory」画面の指示に従い、フィルター付きチップを設置します。Next ボタンから画面の指示に従い、PCR Reaction Cassette、HIV1 ELITe Standard を装置に設置します。

**ステップ 3: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。

測定結果が規格を満たすと画面の「Approve」から検量線が承認でき、有効になります。検量線の有効期間は 60 日間です。

コントロールの測定

ステップ 1: Assay ファイルの選択

Close モードでログイン後、ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 1000 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

Positive Control の場合は測定するトラックの Assay に「HIV1 ELITe_PC_XX」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV1 Positive Control の Lot 番号、使用期限を入力します。

Negative Control の場合は、測定するトラックの Assay に「HIV1 ELITe_NC_XX」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV1 Positive Control の Lot 番号、使用期限を入力します。

ステップ 2: 試薬、消耗品、検体の設置

PCR 試薬保管エリアの「Load/Unload Inventory」画面で反応液を設置する Block ID を選択します。反応液を設置する位置を選択し、表示されるリストから HIV1 PCR Mix を選択し、続けて試薬 Lot、使用期限、試薬使用可能回数を入力します。(チューブシリアル番号は任意で、各情報の入力とは初回設置のみです。)選択した Block の所定の位置に調製した反応液を設置します。次に Next ボタンから消耗品設置画面に進みます。300 μ L ユニバーサルフィットマキシマムリカバリーフィルター付きチップの「Load/Unload Inventory」画面の指示に従い、フィルター付きチップを設置します。Next ボタンから画面の指示に従い、PCR Reaction Cassette、HIV1 Positive Control と

Negative Control を装置に設置します。

**ステップ 3: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。

測定結果が規格を満たすと画面の「Approve」から Positive 及び Negative Control が承認でき、有効になります。コントロールの有効期間は 15 日間です。

検体の測定(“PCR Only” モード)

ステップ 1: キャリブレーションとコントロール登録情報の確認

Close モードでログイン後、ホーム画面の Calibration、Controls に使用する試薬 Lot に紐づいた登録情報があることを確認します。

ステップ 2: Assay ファイルの選択

Close モードでログイン後、ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 1000 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

血漿から抽出した試料を測定する場合は測定するトラックの Assay に「HIV1 ELITe_PL_600_50_XX」(XX にはバージョンが入ります)を選択します。

Sample ID に患者情報を手入力もしくはバーコードから入力します。

Next ボタンから消耗品設置画面に進みます。

ステップ 3: 試薬、消耗品、検体の設置

PCR 試薬保管エリアの「Load/Unload Inventory」画面で反応液を設置する Block ID を選択します。反応液を設置する位置を選択し、表示されるリストから HIV1 PCR Mix を選択し、続けて試薬 Lot、使用期限、試薬使用可能回数を入力します。

(チューブシリアル番号は任意で、各情報の入力とは初回設置のみです。)

選択した Block の所定の位置に調製した反応液を設置します。

次に、Next ボタンから次の消耗品設置画面に進みます。300 μ L ユニバーサルフィットマキシマムリカバリーフィルター付きチップの「Load/Unload Inventory」画面の指示に従い、フィルター付きチップを設置します。

Next ボタンから画面の指示に従い、PCR Reaction Cassette、抽出試料 20 μ L 以上を入れたチューブを設置します。

注) HIV1 Internal Control を添加した血漿検体から抽出した試料を使用してください。

**ステップ 4: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。測定が終了すると、

事前に承認されている検量線より検体中の HIV-1 RNA 測定値結果を算出します。

**b. ジーンリード エイトを使用するとき キャリブレーション

ステップ 1: Assay ファイルの選択

PC および本体を立ち上げログイン後、ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 600 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

測定するトラックの Assay に「HIV ELITe_STD_XX_gL8_XX(Closed)」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV1 ELITe Standard の Lot 番号と使用期限を入力します。

Elution ID 欄を選択し、チューブ本体の QR コードを読み込みます。

Next ボタンから消耗品設置画面に移行します。

ステップ 2: 試薬、消耗品、検体の設置

ガイドンスに従って、リアルタイム PCR カセット (PCR Reaction Cassette) をセットします。

Next ボタンで進み、ガイドンスに従って事前に調製した HIV-1 PCR の反応液を、リアルタイム PCR 試

薬容器 (PCR Reagent Cassette) に 25 μ L (反応に使用される反応液 20 μ L) 添加し、所定の場所にセットします。

Next ボタンからサンプルセッティングの画面の指示に従い、HIV1 ELITe Standard を装置に設置します。Next ボタンからチップセッティングの画面に従い、チップカセット (Tip cassette) をセットします。

ステップ 3: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。測定結果が規格を満たすと画面の「Approve」から検量線が承認でき、有効になります。検量線の有効期間は 60 日間です。

コントロールの測定

ステップ 1: Assay ファイルの選択

PC および本体を立ち上げログイン後、ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 600 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

Positive Control の場合は測定するトラックの Assay に「HIV1_ELITe_PC_XX_gL8_XX(Closed)」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV1 Positive Control の Lot 番号、使用期限を入力します。Elution ID 欄を選択し、チューブ本体の QR コードを読み込みます。

Negative Control の場合は、測定するトラックの Assay に「HIV1_ELITe_NC_XX_gL8_XX(Closed)」(XX にはバージョンが入ります)を選択して、HIV-1 Positive Control の Lot 番号、使用期限を入力します。Elution ID 欄を選択し、HIV-1 Positive Control の QR コードを読み込みます。

Next ボタンから消耗品設置画面に移行します。

ステップ 2: 試薬、消耗品、検体の設置

ガイドンスに従って、リアルタイム PCR カセット (PCR Reaction Cassette) をセットします。

Next ボタンで進み、ガイドンスに従って事前に調製した HIV-1 PCR の反応液をリアルタイム PCR 試薬容器 (PCR Reagent Cassette) に 25 μ L (反応に使用される反応液 20 μ L) 添加し、所定の場所にセットします。

Next ボタンから画面の指示に従い、HIV-1 ELITe Positive Control および Negative Control を設置します。Next ボタンからチップセッティングの画面に従い、チップカセット (Tip cassette) をセットします。

ステップ 3: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。測定結果が規格を満たすと画面の「Approve」から Positive 及び Negative Control が承認でき、有効になります。コントロールの有効期間は 15 日間です。

検体の測定 (“PCR Only” モード)

ステップ 1: キャリブレーションとコントロール登録情報の確認
PC および本体を立ち上げログイン後、ホーム画面の Calibration、Controls に使用する試薬 Lot に紐づいた登録情報があることを確認します。

ホーム画面の「Perform Run」を押し、Extraction Input Volume 600 μ L、Extracted Elute Volume 50 μ L を選択します。

血漿から抽出した試料を測定する場合は、測定するトラックの Assay に「HIV1_ELITe_PL_600_50_XX_gL8_XX(Closed)」(XX にはバージョンが入ります)を選択し Protocol の選択画面で、「PCR Only」を選択します。

サンプル ID のバーコードを読み取るか、サンプル ID を入力します。

Elution ID 欄を選択し、チューブ本体に貼り付けたデータマトリックスシールを読み込みます。

Next ボタンから消耗品設置画面に移行します。

ステップ 2: 試薬、消耗品、検体の設置

ガイドンスに従って、リアルタイム PCR カセット (PCR Reaction Cassette) をセットします。

Next ボタンで進み、ガイドンスに従って反応液をリアルタイム PCR 試薬容器 (PCR Reagent Cassette) に 25 μ L (反応に使用される反応液 20 μ L) 添加し、所定の場所にセットします。

Next ボタンから画面の指示に従い、抽出した試料を 40 μ L 以上 (反応に使用される試料 20 μ L) 入れた 0.5mL Elution Tube を装置に設置します。Next ボタンからチップセッティングの画面に従い、チップカセット (Tip cassette) をセットします。

注) HIV1 Internal Control を添加した血漿検体から抽出した試料を使用してください。

ステップ 3: 測定の開始、結果の確認

装置のカバーを閉め、「Start」を押すと測定が開始されます。測定が終了すると、事前に承認されている検量線より検体中の HIV-1 RNA 測定値結果を算出します。

使用した試薬類はキャップを閉めて、「1. 試薬の調製方法」に従って保存してください。

キャリブレーション、Positive Control 及び Negative Control の測定、検体の測定は同時に行う事も可能です。

キャリブレーションは試薬 Lot 毎に行ってください。

新しい Lot 番号の試薬を使用する場合はキャリブレーションを行ってください。

キャリブレーション及びコントロールの測定は該当する試薬 Lot 毎にキャリブレーション及びコントロール測定結果が approval されている事が必要です。

精度管理用試料の測定値が一定範囲からはずれた場合は再度、キャリブレーションとコントロールの測定を行ってください。

測定値に影響を及ぼす可能性のある装置のメンテナンスを実施した場合にも再度、キャリブレーションとコントロールの測定を行ってください。

**操作の詳細については、エリート インジニアスまたはジーンリード エイトの取扱説明書を参照してください。

【測定結果の判定法】

1. 判定方法

測定終了後、「Results Display」画面が表示されます。

測定結果とその解釈を以下の表に示します。

測定結果	結果の解釈
HIV1: RNA Detected, quantity equal to “XXX” IU/mL or copies/mL	HIV-1 RNA が測定範囲内の濃度で検出された 測定値は“XXX” IU/mL or copies/mL
HIV1: RNA Detected, quantity below LoD IU/mL or copies/mL	HIV-1 RNA が検出された 測定値は LoD 未満であった
HIV1: RNA Detected, quantity beyond ULoQ IU/mL or copies/mL	HIV-1 RNA が検出された 測定値は測定上限を超えていた
HIV1: RNA Not Detected or below the LoD IU/mL or copies/mL	HIV-1 RNA は検出されなかった または、LoD 未満であった
Invalid – Retest Sample	Internal Control の結果が得られなかったため、測定結果が無効となった (抽出工程の問題、阻害物のキャリーオーバーなどによる) 再測定を行う

2. 判定上の注意

(1) 測定上限を超え希釈が必要な場合、抽出した RNA を希釈して「PCR Only」モードでの測定が可能です。

Invalid となり再測定が必要な場合で抽出した RNA が十分量ある場合は「PCR Only」モードを選択して抽出した RNA 検体からの測定が可能です。

抽出した RNA は-20℃で、1 ヶ月保存することができます。

なお、再測定でも結果が得られなかった場合は血漿の抽出か

ら測定をやり直してください。

- (2) 「HIV-1 RNA が検出されなかった又は LoD 未満であった」と報告された検体は測定に適した検体であったが、この場合、LoD 未満の濃度で HIV-1 RNA が存在する可能性を排除できません。
- (3) LoD 未満の濃度の HIV-1 陽性検体は、「HIV1 RNA Detected, quantity below LoD」として報告されます。
- (4) 本品が検出のターゲットとする遺伝子配列に遺伝子多型、挿入や欠損などの変異が生じた場合、偽陰性又は実際よりも低値となるリスクがあります。
- (5) Internal Control の結果が得られず Invalid となった場合は、抽出又は増幅から再試験してください。
- (6) 本品は偽陽性、偽陰性の可能性を完全には否定できません。臨床診断は、本法を含め関連する他の検査や臨床症状に基づき医師が総合的に判断してください。
- * (7) 本製品は HIV-1 核酸配列を標的としているため、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由来する HIV-1 配列を検出する可能性を否定できません。

3. トラブルシューティング

****キャリブレーション又は HIV1 Positive Control の測定結果が Invalid となった場合／検量線作成が Invalid となった場合**

可能性のある原因	対処方法
試薬の設置場所を間違えてしまった	反応液、HIV1 ELITe Standard、HIV1 Positive Control の設置位置を確認する 反応液、HIV1 ELITe Standard、HIV1 Positive Control が十分量あるか確認する
反応液の調製エラー	反応液調製時の試薬の液量をチェックする
反応液又は PCR Mix/RT EnzymeMix の劣化	反応液は室温に放置しない RT EnzymeMix は-20℃を超えて 10 分以上放置しない 反応液を再調製する PCR Mix/RT EnzymeMix は新しいチューブを使用する エリート インジェニアスを使用するとき 反応液は PCR 試薬保管エリアのインベントリーマネージャブロックにセットし 7 時間を超えて使用していない事を確認する (3 Run 分相当) ジーンリード エイトを使用するとき リアルタイム PCR 試薬容器に分注された反応液が 1 Run を超えて使用していない事を確認する
HIV1 ELITe Standard 又は HIV1 Positive Control の劣化	HIV1 ELITe Standard は 2 回を超えて凍結融解していないことを確認する (1 回の測定時間を 2 時間と想定した場合) HIV1 Positive Control は 4 回を超えて凍結融解していないことを確認する (1 回の測定時間を 3 時間と想定した場合) HIV1 ELITe Standard、HIV1 Positive Control は新しいチューブを使用する
装置エラー	サービス担当者に連絡する

Negative Control の測定結果が Invalid となった場合

可能性のある原因	対処方法
試薬の設置場所を間違えてしまった	反応液、HIV1 Negative Control の設置位置を確認する 反応液、HIV1 Negative Control が十分量あるか確認する
反応液又は PCR Mix/RT EnzymeMix の汚染	PCR Mix/RT EnzymeMix は新しいチューブを使用し、再調製する
Negative Control の汚染	Negative Control は測定ごとに新しく用意した分子生物学用精製水を使用する
作業エリア、ラック、試薬保管エリアの汚染	水溶性界面活性剤で機器の表面を拭く、測定時に着用する作業着は洗濯する、使用するチューブ、チップなどは新しいものに交換する
装置エラー	サービス担当者に連絡する

****試料の測定結果が Invalid となった場合**

可能性のある原因	対処方法
試薬の設置場所を間違えてしまった	反応液、試料の設置位置を確認する 反応液、試料が十分量あるか確認する
反応液の調製エラー	反応液調製時の試薬の液量をチェックする
反応液又は PCR Mix/RT EnzymeMix の劣化	反応液は室温に放置しない RT EnzymeMix は-20℃を超えて 10 分以上放置しない 反応液を再調製する PCR Mix/RT EnzymeMix は新しいチューブを使用する エリート インジェニアスを使用するとき 反応液は PCR 試薬保管エリアのインベントリーマネージャブロックにセットし 7 時間を超えて使用していない事を確認する (3 Run 分相当) ジーンリード エイトを使用するとき リアルタイム PCR 試薬容器に分注された反応液が 1 Run を超えて使用していない事を確認する
Internal Control の劣化	Internal Control を新しいものに交換する
反応阻害物質の影響	抽出試料を分子生物学用精製水で 1:2 に希釈し、「PCR Only」モードで増幅工程から再測定する 血漿を分子生物学用精製水で 1:2 に希釈し、抽出工程から再測定する
装置エラー	サービス担当者に連絡する

Error 30103 となった場合

可能性のある原因	対処方法
試料中のターゲット濃度が濃すぎる	PCR プロットに過大な増幅が見られる場合 ・抽出試料を分子生物学用精製水で 1:10 に希釈し、「PCR Only」モードで増幅工程から再測定する ・血漿を分子生物学用精製水で 1:10 に希釈し、抽出工程から再測定する ・または該当するトラックを選択し、測定上限を超えた値として結果を Approval する PCR プロットに増幅のシグナルが見られない場合 ・HIV-1 RNA は検出されなかったとして結果を Approval する ・または Invalid として再測定する

TH Error、SDM Error、Ct Error の場合

可能性のある原因	対処方法
反応プロットが異常なプロットとなった	PCR プロットにエラーを起こすような過大な増幅が見られる場合 ・抽出試料を分子生物学用精製水で 1:10 に希釈し、「PCR Only」モードで増幅工程から再測定する ・血漿を分子生物学用精製水で 1:10 に希釈し、抽出工程から再測定する

【性能】

1. 感度試験

陽性管理用試料 1 (HIV-1 RNA 濃度 78 copies/mL)を本品の操作方法に従い 3 回同時に測定するとき、3 回とも HIV-1 RNA が検出される。

2. 正確性試験

陽性管理用試料 2 (13,043 copies/mL)、3 (1,304,348 copies/mL)を本品の操作方法に従い 3 回同時に測定するとき、各測定値が既知濃度の対数変換の±0.5 Log copies/mL の範囲である。

3. 同時再現性試験

陽性管理用試料 2, 3 を本品の操作方法に従い 3 回同時に測定するとき、各測定値が既知濃度の対数変換の±0.5 Log copies/mL の範囲である。HIV-1 陰性管理用試料を本品の操作方法に従い 3 回同

時に測定するとき、HIV-1 RNA は検出されない。

*4. 測定範囲

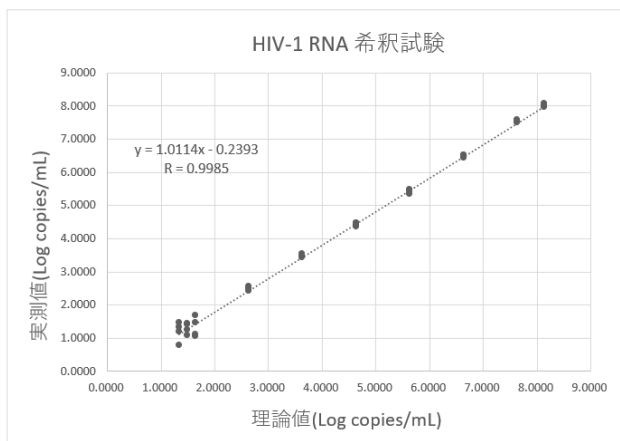
本品の測定範囲は 26 copies/mL～138,826,433 copies/mL です。

5. 最小検出感度

プロビット解析によるクエン酸血漿及び EDTA 血漿での最小検出感度は 26 copies/mL です。

*6. 直線性

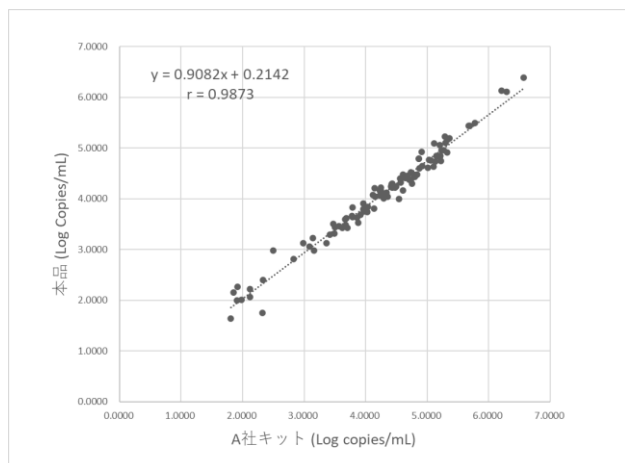
HIV-1 Culture Fluid (Group M, Subtype B)を ACD 血漿に約 1.4×10^8 copies/mL となるように添加し、10 段階希釈した検体を測定試料とした希釈直線性を以下に示します。



7. 相関性試験

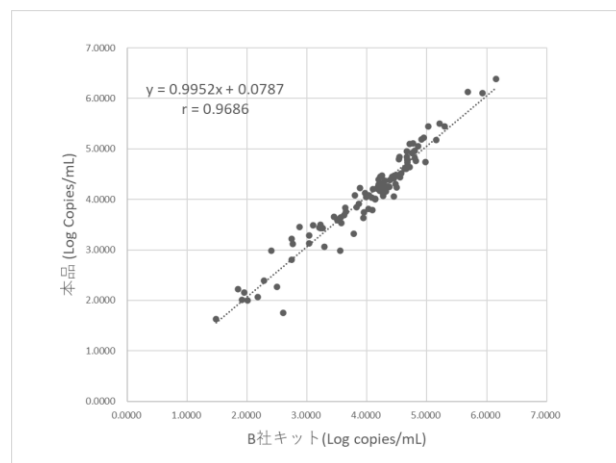
(1) 相関性試験 1

血漿 105 検体を試料とした既存承認品 A との相関性試験の結果は、回帰式 $y = 0.9082x + 0.2142$ 相関係数 $r = 0.9873$ でした。



(2) 相関性試験 2

血漿 105 検体を試料とした既存承認品 B との相関性試験の結果は、回帰式 $y = 0.9952x + 0.0787$ 相関係数 $r = 0.9686$ でした。



8. 較正用基準物質

4th HIV-1 WHO International Standard (NIBSC, UK, code 16/194)

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

- (1) 口によるピペッティングは行わないでください。
- (2) 試薬が誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は、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診断を受けてください。
- (3) 検体、試薬等の取り扱いに際してはパウダーフリーのディスポザブル手袋、白衣等の適切な保護用具を着用してください。
- (4) 作業エリアでは飲食、喫煙、化粧などはしないでください。
- (5) 検体や試薬を取り扱ったあとは十分に手洗いを行ってください。

2. 使用上の注意

- (1) 本品は定められた貯蔵方法で保存してください。
- (2) 使用期限を過ぎた試薬は、使用しないでください。
- (3) Lot の異なる試薬を組み合わせ使用しないでください。
- (4) 破損、亀裂、穴、液漏れ等のある試薬類を使用しないでください。
- (5) 本品は血液又は血液製剤中の HIV-1 のスクリーニング検査、あるいは HIV-1 感染の有無を確認するための検査のために使用するものではありません。
- (6) 血漿以外の臨床検体から抽出した RNA での性能評価は行っていません。
- (7) 本品は HIV-2 RNA と弱い交差反応性 (HIV-1 RNA と比較し、測定値として約 2000 倍低値) があります。HIV-1/2 感染症の診断ガイドラインに従い、鑑別検査を行うことを推奨いたします。また、本品は HIV-1 と HIV-2 の重複感染の管理の診断補助の使用には適していません。
- (8) リアルタイム PCR 法は、非常に高感度のため、陽性検体、Positive Control や PCR 増幅産物からのクロスコンタミネーションによる影響を受けやすくなっておりますが、クロスコンタミネーションは偽陽性の原因となります。本品はクロスコンタミネーションを低減するよう設計されておりますがクロスコンタミネーションを回避するために本添付文書の指示及び施設での適切な手順に従いご使用ください。
- (9) 使用者並びに周囲への危険を回避するために、抽出した RNA を含む試料の取り扱いや危険を伴う試薬調製の訓練を

受けた担当者が使用してください。

- (10) 使用者並びに周囲への危険を回避するために、抽出した RNA を含む試料の取り扱いや危険を伴う試薬調製は適切な作業用の着衣で適切なエリアで本品を使用してください。
- (11) 偽陽性を回避するために測定の設定をする時は専用の着衣と器具を使用してください。
- (12) 誤った結果を回避するために本品は増幅、核酸の検出などの分子生物学の訓練を受けた担当者が本品を使用してください。
- (13) 他法から本品に変更する際には、事前に方法間差を評価するための相関性試験を実施することを推奨いたします。

3. 廃棄上の注意

- (1) 使用済の検体及び検体保存容器等は廃棄する前に 0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に 1 時間以上浸すか、又はオートクレーブ（121℃、20 分間）で処理してください。
- (2) 試薬及び処理した検体などを廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従い、医療廃棄物又は産業廃棄物などとして処理してください。
- (3) 試薬の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法等の規制に留意してください。

【貯法、有効期間】

1. 貯蔵方法

HIV1 PCR Mix	-20℃以下
RT EnzymeMix	-20℃以下
HIV1 ELITe Standard	-20℃以下
HIV1 Internal Control	-20℃以下
HIV1 Positive Control	-20℃以下

2. 有効期間

製造後 19 ヶ月

**【包装単位】

エリートMGB HIV-1 PCR測定キット

* (Reference code : RTK600ING)

HIV1 PCR Mix	4×600 μ L
RT EnzymeMix	2× 20 μ L
HIV1 ELITe Standard	各 1×160 μ L
HIV1 Internal Control	8×160 μ L
HIV1 Positive Control	2×160 μ L

a. エリート インジーニアスを使用するとき・・・96 テスト

構成試薬名	1 本あたりの使用回数
HIV1 PCR Mix	24 回※1
RT EnzymeMix	48 回※1
HIV1 ELITe Standard	2 回
HIV1 Internal Control	12 回※2
HIV1 Positive Control	4 回

※1: 1 回に調製する反応液量によって使用回数を満たせない場合があります。

※2: 1 回の測定において 2 テスト以上で使用した場合の回数です。凍結融解の回数にご注意ください。

b. ジーンリード エイトを使用するとき・・・84 テスト

構成試薬名	1 本あたりの使用回数
HIV1 PCR Mix	21 回※3
RT EnzymeMix	42 回※3
HIV1 ELITe Standard	4 回
HIV1 Internal Control	10 回※4
HIV1 Positive Control	4 回

※3: 1 回に調製する反応液量によって使用回数を満たせない場合があります。

※4: 凍結融解の回数にご注意ください。

【主要文献】

- 1) E. A. Lukhtanov et al. Novel DNA probes with low background and high hybridization-triggered fluorescence, Nucleic Acids Research, 2007, Vol. 35, No.5 e 30

【問い合わせ先】

株式会社日立ハイテク お客様サポートセンタ
TEL : 03-3504-7211

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

株式会社日立ハイテク
〒105-6409 東京都港区虎ノ門一丁目 17 番 1 号
虎ノ門ヒルズ ビジネスタワー

【製造元】

ELITechGroup S.p.A.
Corso Svizzera, 185 10149 Torino, Italy