

この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

体外診断用医薬品

** 2021年11月改訂(第8版)

* 2018年10月改訂(第7版)

製造販売承認番号:22400AMX01429000

パピローマウイルス核酸キット

コバス® 4800 システム HPV

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用であり、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. 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。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。
4. 構成試薬には、保存剤として微量のアジ化ナトリウムが含まれています。誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合には水でじゅうぶん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。
5. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

コバス 4800 システム HPV

1. コバス 4800 システム HPV マスターミックス[HPV MMX]

プライマー--TMUPV16B
 プライマー--TMUPV18B
 プライマー--TMUPV3X5XB
 プライマー--TMUPV35B
 プライマー--TMUPV45B
 プライマー--TMUPV51B
 プライマー--TMUPV56B
 プライマー--TMUPV59B
 プライマー--TMDPV1659B
 プライマー--TMDPV18B
 プライマー--TMDPV3XB_3
 プライマー--TMDPV33B
 プライマー--TMDPV39B
 プライマー--TMDPV5XSTB1
 プライマー--TMDPV58B
 プライマー--TMDPV68B

蛍光標識DNAプローブ-HQA16A4
 蛍光標識DNAプローブ-JQS18A13-TH
 蛍光標識DNAプローブ-FQA31A4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA33A5
 蛍光標識DNAプローブ-FQIA3X5XY5S
 蛍光標識DNAプローブ-FQA39B4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA45B4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA51A4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA56A4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA59A4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA66J4
 蛍光標識DNAプローブ-FQA68LG4
 2'-デオキシアデノシン-5' 三リン酸 (dATP)
 2'-デオキシチジン-5' 三リン酸 (dCTP)
 2'-デオキシグアノシン-5' 三リン酸 (dGTP)
 2'-デオキシウリジン-5' 三リン酸 (dUTP)
 Eagle Z05 DNA ポリメラーゼ
 (ウラシル N-グリコシルラーゼ (UNG) を含む)

2. コバス 4800 システム HPV Mg/Mn 試薬[HPV Mg/Mn]

【使用目的】

子宮頸部細胞中のヒトパピローマウイルス (HPV) 16 型、18 型及びその他 12 種類の高リスク型 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 及び 68 型) DNA の検出 (パピローマウイルス感染の診断の補助)

【測定原理】

本品は、リアルタイムPCR (Polymerase Chain Reaction) 法を測定原理として、検体中の HPV16 型、18 型及びその他 12 種類の高リスク型 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 及び 68 型) DNA を同時に検出するキットです。検体から DNA を抽出し、高温で 1 本鎖に変性させます。14 種類の高リスク型 HPV の標的配列に、各標的配列と相補的な蛍光標識 DNA プローブ (蛍光標識 DNA プローブ

ブ-HQA16A4、蛍光標識 DNA プローブ-JQS18A13-TH、蛍光標識 DNA プローブ-FQA31A4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA33A5、蛍光標識 DNA プローブ-FQIA3X5XY5S、蛍光標識 DNA プローブ-FQA39B4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA45B4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA51A4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA56A4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA59A4、蛍光標識 DNA プローブ-FQA66J4 及び蛍光標識 DNA プローブ-FQA68LG4) をハイブリダイズさせます。続いて、HPV DN A 用プライマー (プライマー--TMUPV16B、プライマー--TMUPV18B、プライマー--TMUPV3X5XB、プライマー--TMUPV35B、プライマー--TMUPV45B、プライマー--TMUPV51B、プライマー--TMUPV56B、プライマー--TMUPV59B、プライマー--TMDPV1659B、プライマー--TMDPV18B、プライマー--TMDPV3XB_3、プライマー--TMDPV33B、プライマー--TMDPV39B、プライマー--TMDPV5XSTB1、プライマー--TMDPV58B 及びプライマー--TMDPV68B) を標的配列に結合させ、dATP、dCTP、dGTP、dUTP を用いて、Eagle Z05 DNA ポリメラーゼの働きにより標的配列に相補的な DNA 鎖を合成します。その際、Eagle Z05 DNA ポリメラーゼにより既に標的配列とハイブリダイズしている蛍光標識 DNA プローブが分解され、蛍光を発します。これらの反応を所定サイクル連続的に繰り返して発光強度をリアルタイムに測定し、それぞれの増幅曲線を作成します。それぞれの増幅曲線から発光強度が一定以上となるときのサイクル数を求め、これを Ct 値とします。HPV16 型、18 型及びその他 12 種類の高リスク型 DNA をそれぞれについて、規定値以下の Ct 値が求められた場合を陽性、求められなかった場合を陰性と判定することで、HPV16 型、18 型及びその他 12 種類の高リスク型をそれぞれ同時に検出します。なお、HPV16 型、18 型及びその他 12 種類の高リスク型 DNA がすべて陰性となった場合に、それが充分量の細胞を採取できなかったことによるものでないことを、β-グロブリン DNA の結果から確認することができます。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

本キットの測定試料には、細胞固定液に採取された子宮頸部細胞を用いてください。

(1) 検体の採取法

検体の採取には「PreservCyt」(Hologic 社) などを使用します。採取方法は使用する製品の説明書に従ってください。

(2) 検体の輸送と保存

PreservCyt に採取された検体は、採取後 2~30℃ の条件で輸送及び保存可能であり、採取から 6 ヶ月間安定です。

2. 検体の調製法

検体からの DNA の抽出及び測定試料の調製は、「コバス 4800 システム 検体抽出セット」(別売)、「コバス 4800 システム 液状細胞用抽出セット」(別売) 及び「コバス 4800 システム 洗浄試薬」(別売) と核酸抽出装置「コバス x 480」(別売) を用います。抽出及び測定試料の調製法は【用法・用量(操作方法)】3. 操作方法 (2) 測定試料の準備を参照してください。

注意) 検体を取り扱う際には、クロスコンタミネーションにじゅうぶん注意し、エアロゾルの飛散や手袋の汚染などを避ける特別の注意を払ってください。

3. 妨害物質・妨害薬剤

(1) 内因性妨害物質における検討結果

全血、末梢血単核球濃度及び子宮頸管粘液について、本品の性能への影響を検討した結果、全血は 2% まで、末梢血単核球濃度は 10⁶ cells/mL まで、本品の性能への影響は認められませんでした。また、子宮頸管粘液についても、本品の性能への影響は認められませんでした。

(2) 外因性妨害物質における検討結果

下表に示す 18 種の一般的な市販薬 (OTC 薬) について、本品の性能への影響を検討した結果、検討したすべての薬剤については本品の性能への影響は認められませんでした。

薬剤名称	有効成分
Prodiem	Phenazopyridine
Vaginal Contraceptive Foam	Nonoxonyl-9
Clotrimazole 7	Clotrimazole
Gyne-Lotrimin 7	Clotrimazole
Gynecort	Hydrocortisone
Vaginex	Hydrocortisone
Vagi-Gard (Douche)	Povidone iodine
Miconazole	Miconazole nitrate
Monistat 3 Cream	Miconazole nitrate
Equate tioconazole 1	Tioconazole
Vagi-Gard Medicated Cream	Benzocaine
Vagicaïne Anti-Itch Cream	Benzocaine
Yeast Gard	Pulsatilla, Candida Parapsilosis, Candida Albicans
Norforms	PEG-32, PEG-18, PEG-20 stearate
KY Jelly	Chlorhexidine Gluconate, Hydroxyethylcellulose
Vagisil Moisturizer	DMDM Hydantoin, Diazolidinyl urea

薬剤名称	有効成分
Replens	Polycarbophil
Vagi-Gard (Lube Gel)	Glucano Delta Lactone, Chlorhexidine Gluconate

4. 交差反応性

検討した 75 種の微生物、8 種のウイルス及び 25 種の低リスク型 HPV プラスミドについては、いずれも本品の検出結果への影響は確認されませんでした。また、HPV16 型/18 型以外の 12 種類の高リスク型 HPV DNA が高濃度に存在した場合に、本品の HPV16 型及び 18 型の検出結果への影響は確認されませんでした。

更に、HPV16 型 DNA が高濃度に存在した場合に、本品の HPV18 型の検出結果への影響は確認されませんでした。

同様に、HPV18 型 DNA が高濃度に存在した場合に、本品の HPV16 型の検出結果への影響は確認されませんでした。なお、検討に使用した微生物の種類についての情報は、弊社にお問い合わせください。

5. コンタミネーションの防止法

本キットではコバス 4800 システム HPV マスターミックスにウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が添加されており、また、DNA ポリメラーゼによる DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて PCR を行います。したがって、本キットにて増幅された DNA のキャリアオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止することはできませんが、検体間で発生するクロスコンタミネーションを防止することはできません。クロスコンタミネーションは、主に検体を扱ったピペットなどで発生するエアロゾルやピペット本体の汚染が原因となりますので、検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃を徹底することで、クロスコンタミネーションを最小限に防止することができます。したがって、本キットの測定に当たっては次の事項を徹底するようにしてください。

- 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる DNase が少量でも検体に混入しますと、DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。
- 実験台及び使用器具などが検体や増幅 DNA で汚染された場合は、用時調製した次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)でよく拭き取るか、紫外線照射をじゅうぶん行ってください。なお、ピペットなどの内部が汚染されたと判断された場合は、直ちにその使用を中止して新しい器具に交換してください。

以上の事項に従っても、クロスコンタミネーションが起こる可能性がありますので、結果の判定にはじゅうぶん注意してください。

6. その他の留意事項

試料中に PCR の妨害物質が存在すると正しい判定結果が得られないので注意してください。また、試料中に標的 DNA が存在しても最小検出感度以下である場合には陰性と判定されることがありますので注意してください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 試液の調製方法及び安定性

HPV MMX と HPV Mg/Mn を除く全ての試薬は 2~8℃保存から取り出して必ず室内温度に戻した後、「コバス x 480」にセットします。HPV MMX と HPV Mg/Mn は 2~8℃保存から取り出して直接「コバス x 480」にセットすることができます。

すべての試薬はそのまま用います。

2. 別途必要な器具・器材・試料等

- **① CORE チップ 1000ul^{※1}
- コバス x 480 用試薬リザーバー 50 mL^{※1}
 - コバス x 480 用試薬リザーバー 200 mL^{※1}
 - コバス x 480 用反応プレート 2.0^{※1}
 - コバス z 480 用 AD プレート^{※1}
 - コバス x 480/s401 用廃棄バッグ^{※1}
 - コバス x 480 用廃棄シュート^{※1}
 - 13 mL サンプルチューブ^{※1}
 - 13 mL サンプルチューブキャップ^{※1}
 - 試験管ミキサー
 - ゴム手袋(パウダーフリー)
 - マイクロピペット(1,000 µL)及びチップ
(チップは疎水性フィルター付きで、1,000 µL 用)
 - 検体前処理装置「コバス x 480」
 - 全自動 PCR 測定装置「コバス z 480」
 - コバス 4800 システムコントロールユニット
(システムソフトウェア v1.1、又はそれ以降)
 - コバス 4800 ワークオーダーエディット(v0.2.9.0912、又はそれ以降)
 - 遠心機
 - 安全キャビネット(陰圧)
 - PreservCyt(Hologic 社)などの液体検体採取容器
 - コバス 4800 システム 検体抽出セット^{※2}
 - コバス 4800 システム 磁性粒子懸濁液 [MGP]
 - コバス 4800 システム 溶出試液 [EB]
 - コバス 4800 システム 洗浄試薬 [WB]^{※2}
 - コバス 4800 システム 液状細胞抽出セット^{※2}
 - コバス 4800 プロテナーゼ K [PK]
 - コバス 4800 システム SDS 溶液 [SDS]
 - コバス 4800 システム 溶解試液 [LYS]
 - コバス 4800 システム HPV コントロールセット^{※2}
 - コバス 4800 システム HPV (+)コントロール [HPV (+)C]
 - コバス 4800 システム (-)コントロール [(-)C]

*②(24) コバス HPV 前処理試薬^{※2}

※1 「コバス 4800 システム」専用の消耗品を使用してください。

※2 別売品の専用試液を使用してください。

3. 操作方法

測定ごとに、コバス 4800 システム HPV (+)コントロール[HPV(+)]C]とコバス 4800 システム (-)コントロール[(-)C]を 1 テストずつ測定してください。操作の概略は最終ページの図を参照してください。

コバス x 480 における操作

- 下記の消耗品を所定の位置にセットします。
コバス x 480 / s 401 用 廃棄バッグ
コバス x 480 用 廃棄シュート
- 試薬と検体を保管場所から取り出します。
- コバス 4800 システムの取扱説明書に従って、システムのスタート及びメンテナンスを実施します。
- コバス 4800 システムの取扱説明書に従って、Full Run 用のオーダーファイルを作成します。
- ウィザードガイドに従って、New Run を開始します。Test Type は“HPV workflow”を選択してください。
- 検体とオーダーファイルのロードのため、ウィザードガイドに従ってください。
注) コバス 4800 システム HPV (+)コントロール[HPV(+)]C]、コバス 4800 システム (-)コントロール[(-)C]は検体と一緒にロードしないでください。これらの試薬は、試薬をロードする際に同様に試薬リザーバーラックにのせてロードします。
注) 検体はバーコードのついたプライマリー又はセカンダリーチューブを用いてのみロードできます。
- ウィザードガイドに従って下記の消耗品をロードしてください。
コバス x 480 用 CO-RE チップ
コバス x 480 用 試薬リザーバー 50 mL
コバス x 480 用 試薬リザーバー 200 mL
コバス x 480 用 反応プレート 2.0
コバス z 480 用 AD プレート
- ウィザードガイドに従って下記の試薬をロードしてください。
 - コバス 4800 システム HPV 増幅・検出用試薬セット
 - コバス 4800 システム HPV マスターミックス [HPV MMX]
 - コバス 4800 システム HPV Mg/Mn 試薬 [HPV Mg/Mn]
 - コバス 4800 システム HPV コントロールセット
 - コバス 4800 システム HPV (+)コントロール [HPV (+)C]
 - コバス 4800 システム (-)コントロール [(-)C]
- コバス 4800 洗浄液のバーコードをスキャンしたら、1 時間以内に検体、試薬及び消耗品のロードの完了と測定の開始を行ってください。コバス 4800 システムの Workplace タブに残り時間が表示されます。
- コバス 4800 システム 検体抽出セットの各試薬 [MGP、EB]及びコバス 4800 システム 洗浄試薬 [WB]をバーコード付の試薬リザーバーに次の手順で入れます。
 - 試薬ボトルのバーコードをスキャンする
 - 試薬リザーバーのバーコードをスキャンする
 - 下記の試薬を試薬リザーバーに注ぐ
 - 試薬の入った試薬リザーバーを試薬リザーバーラックに設置する
 - コバス 4800 システム 検体抽出セット
 - コバス 4800 システム 磁性粒子懸濁液 [MGP]
 - コバス 4800 システム 溶出試液 [EB]
 - コバス 4800 システム 洗浄試薬 [WB]
- 注) コバス 4800 システム磁性粒子懸濁液 [MGP]はよく攪拌してから試薬リザーバーに注いでください。
- 試薬リザーバーは 200 mL と 50 mL の 2 サイズがあります。ウィザードガイドに従って、適切なサイズを選んでください。試薬リザーバーのバーコードはラックの右側になるようにしてください。
- 注) コバス 4800 システム HPV 増幅・検出用試薬セット ([HPV MMX]、[HPV Mg/Mn])とコバス 4800 システム HPV コントロールセット ([HPV (+)C]、[(-)C])を試薬ラックに直接セットします。各バーコードは「コバス x 480」により自動的にスキャンされます。
- 注) 全ての試薬と試薬リザーバーはバーコードが貼付され、1 回限りの使用に設計されています。コバス 4800 のソフトウェアは試薬と試薬リザーバーの使用を追跡し、既に使用された試薬と試薬リザーバーの使用を拒否します。また、ソフトウェアは適切なサイズのキットが機器にセットされているかも判断します。
- “Start Run”をクリックして、検体調製を開始します。
- 検体調製が完了したら、“Unload”をクリックして反応プレート/AD プレートキャリアを取り出します。

コバス z 480 における操作

- 機器の取扱説明書に従って、コバス z 480 用 AD プレートにシールをした後、プレートを「コバス z 480」にセットして増幅・検出を開始します。
注) コバス 4800 システムは搭載した内部時計により、調製済み検体とアンブリックスの安定性をモニターしています。増幅・検出は検体調製後速やかに、遅くとも「コバス x 480」での調製が終了後 90 分以内に開始してください。Workplace タブにカウントダウンのタイマーが表示されます。
- 増幅・検出が終了したら、コバス z 480 用 AD プレートを「コバス z 480」から取り出します。
- 結果の Review 及び Accept は機器の取扱説明書に従って操作します。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定

判定法

コパス 4800 システムでは検体及びコントロールの結果の判定を自動で行います。

- (1) 各コントロールが正しく測定され、判定が可能な場合、コントロール及び検体の判定結果は次のように表示されます。

コントロールの判定結果

コパス 4800 システム HPV コントロールセット	結果表示
コパス 4800 システム HPV (+)コントロール [HPV(+)]	Valid
コパス 4800 システム (-)コントロール [(-)C]	Valid

検体の判定結果

結果表示	結果の解釈 ^{*1}
Other HR HPV POS, HPV16 POS, HPV18 POS	その他12種類の高リスク型HPV：陽性 HPV16型：陽性 HPV18型：陽性
Other HR HPV POS, HPV16 POS, HPV18 NEG	その他12種類の高リスク型HPV：陽性 HPV16型：陽性 HPV18型：陰性
Other HR HPV POS, HPV16 NEG, HPV18 POS	その他12種類の高リスク型HPV：陽性 HPV16型：陰性 HPV18型：陽性
Other HR HPV POS, HPV16 NEG, HPV18 NEG	その他12種類の高リスク型HPV：陽性 HPV16型：陰性 HPV18型：陰性
Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 POS	その他12種類の高リスク型HPV：陰性 HPV16型：陽性 HPV18型：陽性
Other HR HPV NEG, HPV16 NEG, HPV18 POS	その他12種類の高リスク型HPV：陰性 HPV16型：陰性 HPV18型：陽性
Other HR HPV NEG, HPV16 POS, HPV18 NEG	その他12種類の高リスク型HPV：陰性 HPV16型：陽性 HPV18型：陰性
Other HR HPV NEG, HPV16 NEG, HPV18 NEG	その他12種類の高リスク型HPV：陰性 HPV16型：陰性 HPV18型：陰性
Invalid ^{*2}	判定不能(要再検)
Failed ^{*3}	測定未完了(要再検)

※1 “陰性”とは HPV 感染を否定するものではありません。結果は適切な検体の採取が行われているか、検出にじゅうぶんな DNA が存在するか、またPCR反応を阻害する物質が含まれていないかなども依存します。

※2 “Invalid”とは、測定は最後まで終了しているが、判定ができなかった場合に表示されます。また、再検は 2 回までとし、有効な結果が得られなかった場合は、検体を採取しなおしてください。

※3 “Failed”とは、測定が未完了のため、結果が得られていない場合に表示されます。再検を実施する前に結果画面に表示されているフラグを確認し、対処方法については機器の取扱説明書を参照してください。

- (2) 各コントロールが正しく測定されず、測定ができなかった場合、コントロール及び検体の判定結果は次のように表示されます。

コントロールの判定結果

コパス 4800 システム HPV コントロールセット	結果表示
コパス 4800 システム HPV (+)コントロール [HPV(+)]	Invalid
コパス 4800 システム (-)コントロール [(-)C]	Invalid

検体の判定結果

結果表示	結果の解釈
Invalid	判定不能(要再検)

2. 結果の判定にかかるとの注意

- (1) 以下の検体では、偽陰性又は有効な結果が得られない可能性がありますので、注意してください。
- ① 血液が大量に混入している検体
 - ② 子宮頸管部細胞検体で局所の分泌物が多量に混入した場合
 - ③ PCR 反応を抑制する物質が含まれる検体
- 上記のような検体の場合は、適切な検体を再度採取し測定を行ってください。DNA 抽出操作及び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。
- (2) 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】

子宮頸癌は、近年の分子生物学的手法を用いた解析から、子宮頸部粘膜に高リスク型 HPV が持続感染し、子宮頸部上皮内腫瘍 (CIN: cervical intraepithelial neoplasia) 又は異形成と称される前駆病変が進行した結果、浸潤癌に至る自然史が明らかになっています。これまでの疫学解析から、HPV16型及び18型に加え、HPV 31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、68、73及び82型が子宮頸癌との関連性が高い「高リスク型HPV」であり、HPV 26、53及び66型は子宮頸癌との関連性が高いと推測されるジェノタイプであるとされています²⁾。本品は、このうち HPV 16、18、31、33、35、39、45、51、52、56、58、59、66及び68型の14種類を検出対象とし、臨床的に非常に子宮頸癌との関連が強いとされている16型及び18型については、個別に検出を行う

ことができます。

【性能】

1. 性能

- (1) 「コパス 4800 システム (-)コントロール [(-)C]」を 1 重測定するとき、以下の結果を得ます。
- ① HPV16 型 DNA の Ct 値は得られず、判定結果は陰性です。
 - ② HPV18 型 DNA の Ct 値は得られず、判定結果は陰性です。
 - ③ その他 12 種類の高リスク型 HPV DNA の Ct 値は得られず、判定結果は陰性です。
 - ④ β-グロビン DNA の Ct 値は得られない、もしくは 41.0 より大きい値であり、判定結果は陰性です。
- (2) 「コパス 4800 システム HPV (+)コントロール [HPV(+)]」を 5 回同時に測定するとき、以下の結果を得ます。
- ① HPV16 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 34.3~39.3 の範囲内です。
 - ② HPV18 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 34.7~39.7 の範囲内です。
 - ③ その他 12 種類の高リスク型 HPV DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 34.0~39.0 の範囲内です。
 - ④ β-グロビン DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 33.2~39.2 の範囲内です。
- (3) 「管理用試料 1」を 6 回同時に測定するとき、以下の結果を得ます。
- ① HPV16 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 31.0~36.0 の範囲内です。
 - ② HPV18 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 30.9~35.9 の範囲内です。
 - ③ その他 12 種類の高リスク型 HPV DNA の Ct 値は得られず、判定結果はすべて陰性です。
 - ④ β-グロビン DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 28.5~35.5 の範囲内です。
- (4) 「管理用試料 2」を 6 回同時に測定するとき、以下の結果を得ます。
- ① HPV16 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 33.1~39.1 の範囲内です。
 - ② HPV18 型 DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 32.5~39.5 の範囲内です。
 - ③ その他 12 種類の高リスク型 HPV DNA の Ct 値は得られず、判定結果はすべて陰性です。
 - ④ β-グロビン DNA の判定結果はすべて陽性であり、Ct 値の平均は 31.0~39.0 の範囲内です。

なお、「管理用試料 1」及び「管理用試料 2」は、いずれも HPV16 型感染細胞、HPV18 型感染細胞及び HPV 非感染細胞を含む液です。

2. 最小検出感度

検出対象である 14 種類の HPV について、プラスミド及び感染細胞を用いてそれぞれの希釈系列試料を作製し、本品を用いて多重測定しました。各試料において、95%以上の陽性率(陽性と判定された測定数/有効であった測定数×100)を示す最小検出濃度は、以下のとおりです。

HPV プラスミド:

ジェノタイプ	最小検出濃度 (コピー/mL)	陽性数/テスト数	陽性率 %	信頼区間(95%)	
				下限%	上限%
16	600	60/60	100	94	100
18	600	60/60	100	94	100
31	300	59/61	97	89	100
33	190	46/48	96	86	99
35	480	48/48	100	93	100
39	80	48/48	100	93	100
45	190	46/48	96	86	99
51	100	46/48	96	86	99
52	2,400	48/48	100	93	100
56	1,400	48/48	100	93	100
58	480	47/48	98	89	100
59	190	46/48	96	86	99
66	640	48/48	100	93	100
68	450	48/48	100	93	100

HPV 感染細胞:

細胞名	最小濃度 (cells/mL)	陽性数/テスト数	陽性率 %	信頼区間(95%)	
				下限%	上限%
SiHa (HPV 16)	100	64/65	98	92	100
HeLa (HPV 18)	40	60/60	100	94	100

3. 関連性試験成績

1000 例の臨床検体を用いて、本品と既承認品との一致率を検討しました。

その結果、1000 例のうち 987 例において本品及び既承認品で有効な測定結果が得られ、一致率は 91.4%を示しました³⁾。

高リスク型 HPV		既承認品(他社 HC 法)		
		陽性	陰性	合計
コバス 4800	陽性	277	44*	321
	陰性	41*	625	666
	合計	318	669	987

全体一致率 : 91.4% (902/987)、95% CI: 89.5%–93.1%
 陽性一致率 : 87.1% (277/318)、95% CI: 82.9%–90.6%
 陰性一致率 : 93.4% (625/669)、95% CI: 91.3%–95.3%

※ 乖離検体について

本品及び既承認品で結果が乖離した検体は、高リスク型 HPV にコンセンサスな配列に対するプライマーを用いた PCR により検出を行いました。その結果、本品で陽性、既承認品で陰性を示した 44 検体については、15 検体が陽性、28 検体が陰性、1 検体が測定無効でした。一方、本品で陰性、既承認品で陽性を示した 41 検体については、6 検体が陽性、35 検体が陰性でした。本品と PCR との結果が乖離した検体についてはいずれもカットオフ付近の検体であり、製品によって結果にばらつきが生じる範囲の検体であると考えられました。

4. 臨床試験

(1) 海外臨床試験

① 組織診断別の高リスク HPV 陽性・陰性数

米国において 21 歳以上の子宮頸癌検診受診者 47,208 名を対象として実施された ATHENA study において、細胞診で ASC-US と判定され、本品による HPV 検査及び組織診の結果が有効であった 1,578 名を対象に、本品にて高リスク HPV の検出を行いました。各組織診断別の高リスク HPV 陽性・陰性数は以下のとおりでした。

HPV 結果	n	組織診			
		正常	CIN1	CIN2	≥CIN3
HR-HPV 陽性	514	351	91	29	43
HR-HPV 陰性	1,064	989	67	5	3
合計	1,578	1,340	158	34	46

② 本品により判定された陽性・陰性各群における病変を有する割合
 本品により高リスク型 HPV 陽性と判定された症例、HPV16 型陽性あるいは HPV18 型陽性と判定された症例、その他 12 種類の高リスク型 HPV 陽性と判定された症例、また、高リスク型 HPV 陰性と判定された症例のそれぞれについて、組織診の結果が CIN2 以上又は CIN3 以上であった割合は以下のとおりでした。

	≥CIN2	≥CIN3
高リスク型 HPV 陽性	14.0%	8.4%
HPV16 型陽性あるいは HPV18 型陽性	24.4%	15.9%
その他 12 種類の高リスク型 HPV 陽性	8.6%	4.4%
高リスク型 HPV 陰性	0.75%	0.28%

(2) 国内臨床試験

① 組織診断別の高リスク HPV 陽性・陰性数

日本国内において、細胞診で ASC-US と診断された 20 歳以上 50 歳以下の女性を対象として実施された臨床試験において、本品による HPV 検査及び組織診の結果が有効であった 153 名を対象に、本品にて高リスク HPV の検出を行いました。各組織診断別の高リスク HPV 陽性・陰性数は以下のとおりでした。

HPV 結果	n	組織診			
		正常	CIN1	CIN2	≥CIN3
HR-HPV 陽性	88	33	33	18	4
HR-HPV 陰性	65	53	10	1	1
合計	153	86	43	19	5

② 本品により判定された陽性・陰性各群における病変を有する割合
 本品により高リスク型 HPV 陽性と判定された症例、HPV16 型陽性あるいは HPV18 型陽性と判定された症例、その他 12 種類の高リスク型 HPV 陽性と判定された症例、また、高リスク型 HPV 陰性と判定された症例のそれぞれについて、組織診の結果が CIN2 以上又は CIN3 以上であった割合は以下のとおりでした。

	≥CIN2	≥CIN3
高リスク型 HPV 陽性	25.0%	4.5%
HPV16 型陽性あるいは HPV18 型陽性	48.3%	10.3%
その他 12 種類の高リスク型 HPV 陽性	13.6%	1.7%
高リスク型 HPV 陰性	3.1%	1.5%

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上(危険防止)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。
- ピペットは口で吸わないでください。
- 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水でじゅうぶん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。
- 検体をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
- 検体及び本キットを取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。
- 検体は感染性を有するものとして、各施設の安全規定に従って取り扱ってください。
- 検体を取り扱う際に使用した器具類は高压蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分以上加熱滅菌処理するか、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)に 1 時間以上浸すなどにより消毒してください。これらの作業中はじゅうぶんに換気を行ってください。

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、稀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 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うえご利用ください。
- 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
- 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したもや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
- ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。
- バーコードをぬらしたり、ペンで記入するなど汚したりしないでください。
- HPV MMX と HPV Mg/Mn を除くすべての構成試薬は使用前に室内温度に戻してから使用してください。
- すべての試薬は保存又は反応中に強い光を当てないでください。
- すべての試薬は開封又は分注時に微生物の汚染を避けてください。
- 検体を取り扱う際は安全キャビネット内で行ってください。また、検体の分注には疎水性フィルター付きピペットと使い捨てチップを使用してください。
- ピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)による器具、実験台の清掃などを徹底して行ってください。
- 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる DNase が少量でも検体に混入しますと、DNA が分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。

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又は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。
- 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理してください。
- 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 5,000 ppm (0.5%) になるように混和後、一晚放置するなど、DNA を破壊してから廃棄してください。
- 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 5,000 ppm、0.5%)に一晚浸すなどにより 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 2 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 5,000 ppm (0.5%) になるように混和後、一晚放置するなど、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液処理してください。
- 廃棄の際に、検体及び試薬をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
- 構成試薬には保存剤として微量のアジ化ナトリウムを含みます。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがあるため、廃棄の際には多量の水で洗い流してください。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2～8℃で保存してください。

2. 有効期間

18 ヶ月

使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

コバス 4800システム HPV 増幅・検出用試薬セット	240テスト
コバス 4800システム HPV マスターミックス[HPV MMX]	10×0.5 mL
コバス 4800システム HPV Mg/Mn試薬[HPV Mg/Mn]	10×1.0 mL
コバス 4800システム HPV 増幅・検出用試薬セット	960 テスト
コバス 4800システム HPV マスターミックス[HPV MMX]	20×1.0 mL
コバス 4800システム HPV Mg/Mn試薬[HPV Mg/Mn]	10×1.0 mL

【主要文献】

- 1) Longo, M.C. et al. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990, 93, p.125～128.
- 2) Munoz, N. et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *The New England Journal of Medicine*. 2003, 348(6), p.518～527.
- 3) 自社データ

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社

*カスタマーソリューションセンター

〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70

フリーダイヤル: 0120-600-152

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社

〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70

フリーダイヤル: 0120-600-152

《特許に関連するお知らせ》

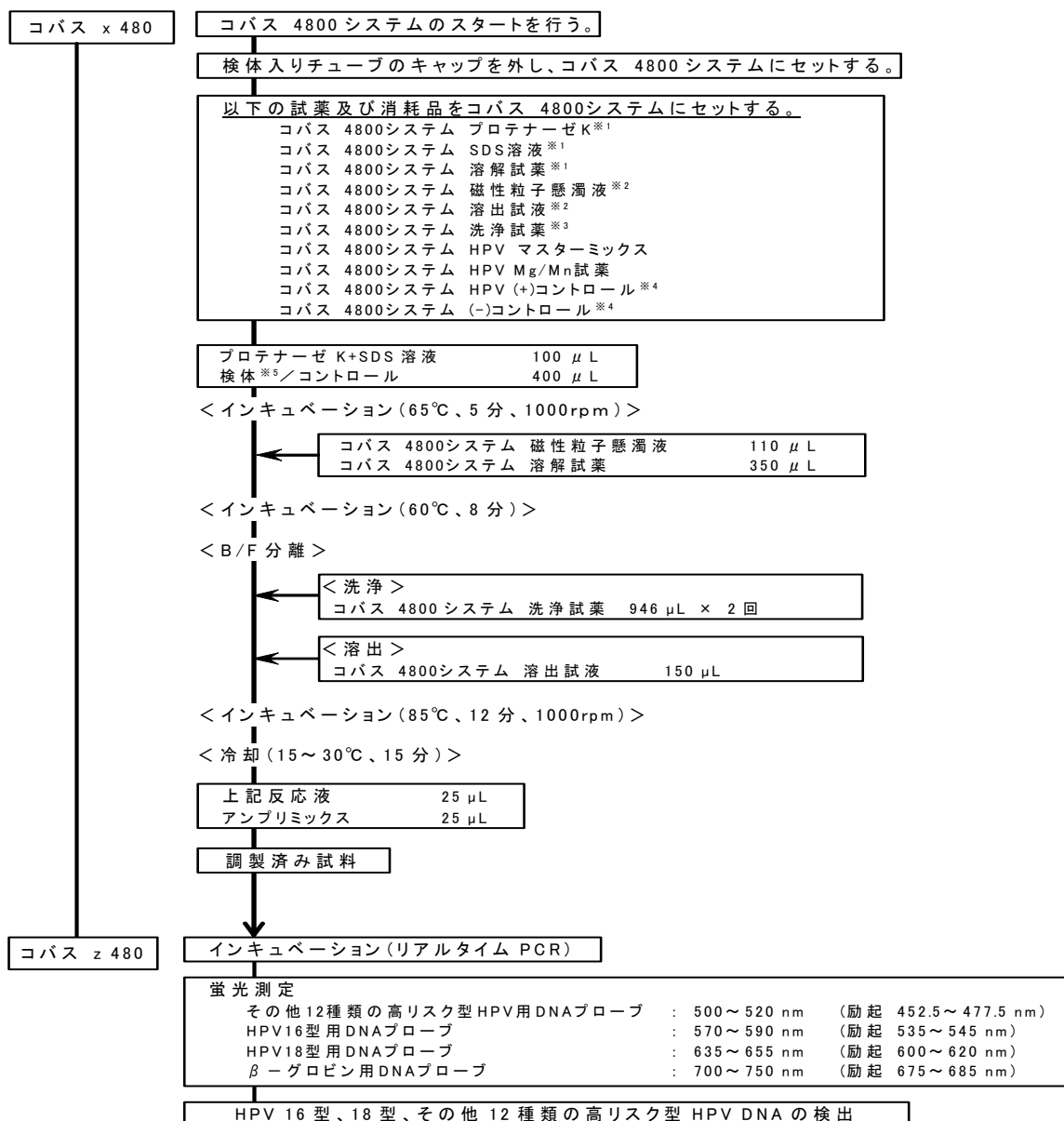
本製品をご購入頂きましたお客様は、これら製品をヒトの体外診断目的におけるPCRによる核酸配列の増幅、検出及びその関連工程に使用することが許諾されています。この特定された使用許諾権以外には、いかなる種類の特許権又はライセンスも許諾されているものではありません。

本製品に含まれるシアニン染料に関する特許権は、GE Healthcare Bio-Sciences Corp.及びCarnegie Mellon Universityにより所有されており、ロシュは同特許権の実施について、研究用及び体外診断用キットの構成試薬として用いることのみ許諾されています。同キットを研究又は体外診断以外の目的に使用する場合は、GE Healthcare Bio-Sciences Corp.(米国、ニュージャージー州ビスカタウェイ)及びCarnegie Mellon University(米国、ペンシルバニア州ピッツバーグ)からのサブライセンスが別途必要になります。

COBAS is a trademark of Roche.

コバスはRocheの商標です。

《操作概略》



※1:「コバス 4800 システム 液状細胞抽出セット」(別売)の構成試薬
 ※2:「コバス 4800 システム 検体抽出セット」(別売)の構成試薬
 ※3:「コバス 4800 システム」専用別売品
 ※4:「コバス 4800 システム HPV コントロールセット」(別売)の構成試薬
 ※5: 検体の採取方法
 Hologic 社の「PreservCyt」(別売)などの液体検体採取容器を用いて採取する。

