** この電子化された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

** 2022 年 12 月改訂(第 9 版)
＊2021 年 10 月改訂(第 8 版)

製造販売承認番号:22800EZX00052000

B 型肝炎ウイルスコア核酸キット

コバス® 6800/8800 システム HBV

【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. 電子化された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. 使用する機器の電子化された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。また、試薬ごとに設定された反応時間及び温度などは厳守してください。

5. 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。
6. キットの試薬を取り扱う際には保護眼鏡、実験着及び使い捨てゴム手袋を着用し、試薬が皮膚、目、粘膜などに触れないように注意してください。もし、このようなことが起きた場合は、大量の水でじゅうぶんに洗い流し、必要に応じて医師の診察を受けてください。

【形状・構造等(キットの構成)】

*コバス 6800/8800 システム HBV　192 テスト用 1 カセット

*1. プロテアーゼ試薬
〔PASE〕　1×22.3 mL

*2. DNA 定量標準試液
〔DNA-QS〕　1×21.2 mL

*3. 溶出試液
〔EB〕　1×21.2 mL

*4. マスターミックス 1
〔MMX-R1〕　1×7.5 mL

*5. マスターミックス2
〔HBV MMX-R2〕　1×9.7 mL
HBV プライマー1
HBV プライマー2
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'-デオキシウリジン-5'-三リン酸(dUTP)
HBV プローブ
Z05-D DNA ポリメラーゼ

【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】

*1. **本キットの測定は以下の3つのステップからなります。試料の調製から増幅及び測定までは「コバス 5800 システム」又は「コバス 6800 システム」又は「コバス 8800 システム」が自動で行います。**

(1) **試料の調製**
コバス OMNI 検体希釈液を加えた検体又はコントロールにプロテアーゼ試液、既知量の定量標準 DNA(QS DNA)を含む DNA 定量標準試液(DNA-QS)、コバス OMNI MGP 試薬及びコバス OMNI ライシス試薬を添加してインキュベーションします。これによりウイルスが溶解し、試料中の核酸は磁性粒子に吸着します。核酸が吸着した磁性粒子は、磁石により捕らえられて固定され、溶解したウイルスのたん白などの不要な成分は洗浄により除去されます(B/F 分離)。これに溶出試液を加えて核酸を遊離させ試料とし、マスターミックス 1 とマスターミックス 2 を加えて増幅及び測定を行います。

(2) **増幅及び測定**
リアルタイム PCR(Polymerase Chain Reaction)法 [1),2)]を応用し、引き続き、自動で行います。測定には蛍光色素(レポーター)及び消光物質(クエンチャー)で標識した HBV DNA 用及び QS DNA 用 DNA プローブを用います。このプローブの蛍光色素は、レポーターとクエンチャーが近くに存在する場合は、クエンチャーにより蛍光が消光され強い蛍光を発することはありませんが、レポーターとクエンチャーが切り離された場合は、レポーターが遊離するために強い蛍光を発するようになります。
2 本鎖 DNA を高温で 1 本鎖に変性させます。温度を下げると HBV DNA 用及び QS DNA 用 DNA プローブが標的配列とハイブリダイズします。また、プライマーが標的配列の 3'末端側へアニールし、Mn^{2+}及びデオキシヌクレオシド三リン酸(dNTP)存在下、耐熱性 Z05-D DNA ポリメラーゼの働きにより標的配列に相補的な DNA 鎖が伸長されます。DNA 鎖の伸長と同時に既に標的配列とハイブリダイズしている HBV DNA 用及び QS DNA 用 DNA プローブは Z05-D DNA ポリメラーゼの 5'→3'エクソヌクレアーゼ活性により分解され蛍光を発します。この蛍光強度を HBV DNA 用蛍光色素及び QS DNA 用蛍光色素それぞれに固有の異なる波長で測定します。この「熱変性」、「DNA プローブと標的配列のハイブリダイズ」、「プライマーのアニーリング」、「耐熱性 Z05-D DNA ポリメラーゼによる相補鎖の伸長と DNA プローブの分解による蛍光発光」、「蛍光強度の測定」を所定のサイクルで連続的に繰り返し、各サイクルの PCR 産物をリアルタイムにモニターしながら増幅曲線を作成します。作成した増幅曲線より蛍光強度が一定量以上となるサイクル数を求め、Ct 値(Cycle-to-threshold value)とします。
QS DNA の Ct 値と反応液中 HBV DNA の Ct 値を比較して試料中の HBV DNA 濃度を算出します。

2. **キャリーオーバーコンタミネーションの防止**
本キットでは、以下の方法により増幅された DNA 産物のキャリーオーバーコンタミネーションによる誤測定を最小限に抑制しています。
DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて増幅反応を行うため、増幅された DNA の塩基配列はチミン(T)がウラシル(U)に全て置き換わっています。また、この系で増幅された DNA が新たに試験する試料中へ混入した場合、マスターミックスに含まれているウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が作用し DNA 中の U 塩基は除去されます。塩基を失った DNA は構造上極めて不安定な分子であり、増幅反応の最初の加熱によりリン酸結合が切断され、新たな増幅の鋳型とはなり得ません。UNG は高温で失活するため、それ以後に増幅されてくる U 塩基を含む増幅 DNA は影響を受けません。また、UNG は 6 塩基以上の DNA 上のウラシルのみに反応し、モノマーの dUTP や RNA 上のウラシルには作用しません [3)]。

【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、血清又は血漿を用います。抗凝固剤には EDTA を使用してください。ヘパリンは PCR 反応を阻害しますので使用しないでください。採血後、全血を 2～25℃で 24 時間以内に遠心して血清又は血漿を分離してください。血清及び血漿検体は 2～8℃で 6 日間、-18℃で 12 週間保存できますが、それを超えるような長期保存の場合は-60℃以下で保存することをお勧めします。凍結融解は 4 回まで可能です。凍結保存融解後はよく混和してから使用してください。採血管の使用に関しては、採血管の製造元の指示に従ってください。

2. **妨害物質・妨害薬剤**
ヘモグロビン、トリグリセライド、ビリルビン、ヒト血清アルブミン、ヒト DNA 及び自己免疫疾患(抗核抗体(ANA)、全身性エリテマトーデス(SLE)及び慢性関節リウマチ(RA))による影響を検討するため、各妨害物質を添加した HBV 陰性 EDTA 血漿及び血清検体それぞれに、HBV DNA 最終濃度が約 50 IU/mL となるよう調製し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。自己免疫疾患については臨床検体での検討において測定値の影響は認められませんでした。

ヒト血清アルブミン	5,870 mg/dL
ビリルビン	25 mg/dL
ヘモグロビン	2.85 g/L
トリグリセライド	3,450 mg/dL
ヒト DNA	0.2 mg/dL

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 HBV 陰性 EDTA 血漿検体を、HBV DNA 最終濃度が約 50 IU/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。

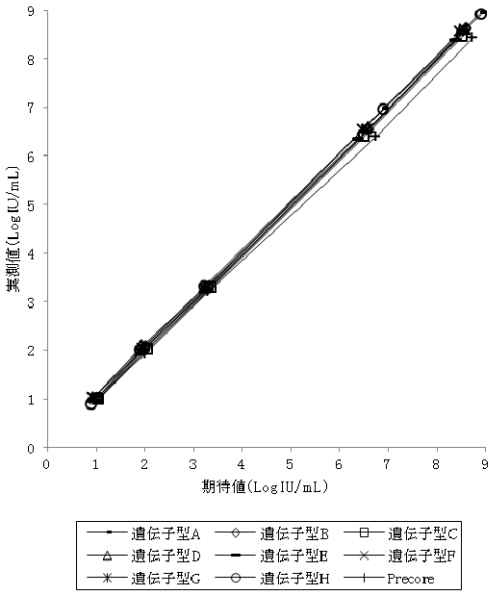
薬剤名	作用機序	最高血漿中濃度(Cmax)
ジドブジン、AZT	逆転写酵素/DNA ポリメラーゼ阻害剤	1.10 μg/mL
ラミブジン、3TC		2.60 μg/mL
硫酸アバカビル		4.30 μg/mL
バルガンシクロビル		5.60 μg/mL
エンテカビル		0.01 μg/mL
フマル酸テノホビルジソプロキシル		0.30 μg/mL
エントリシタビン		1.80 μg/mL
ソフォスブビル		0.58 μg/mL
ガンシクロビル		9.00 μg/mL
ホスカルネットナトリウム		623.00 μmol/L
シドフォビル		20.00 μg/mL
アシクロビル		5.60 μg/mL
アデホビル・ピボキシル		0.02 μg/mL
テルビブジン		3.70 μg/mL
硫酸アタザナビル	プロテアーゼ阻害剤	6.10 μg/mL
サキナビル		4.30 μg/mL
リトナビル		11.20 μg/mL
ロピナビル		9.80 μg/mL
メシル酸ネルフィナビル		4.00 μg/mL
ダルナビル		3.60 μg/mL
チプラナビル		95.00 μmol/L
ホスアンプレナビル		7.90 μg/mL
ボセプレビル		1.70 μg/mL
テラプレビル		3.50 μg/mL
シメプレビル		7.18 μg/mL
エファビレンツ	非核酸系逆転写酵素阻害剤	12.90 μmol/L
ネビラピン		4.50 μg/mL
エトラビリン		0.30 μg/mL
リルピビリン		0.08 μg/mL
マラビロク	CCR5 阻害剤	0.90 μg/mL
ラルテグラビルカリウム	インテグラーゼ阻害剤	2.00 mg/mL
エルビテグラビル		1.70 μg/mL
コビシスタット		1.10 μg/mL

薬剤名	作用機序	最高血漿中濃度（Cmax）
ペグインターフェロン アルファ-2a	免疫調整剤	0.03 μg/mL
ペグインターフェロン アルファ-2b		0.004 μg/mL
リバビリン		2.80 μg/mL
フルコナゾール	抗真菌薬	6.70 μg/mL
ピラジンアミド	抗結核薬	50.00 μg/mL
エタンブトール		2.00 μg/mL
イソニアジド		4.00 μg/mL
リファブチン		0.90 μg/mL
リファンピシン		8.00 μg/mL
アジスロマイシン	抗生物質	0.50 μg/mL
クラリスロマイシン		4.00 μg/mL
スルファメソキサゾール（SMX）		68.00 μg/mL
トリメトプリム（TMP）		2.00 μg/mL

3. 反応特異性

8つの異なる遺伝子型（A、B、C、D、E、F、G及びH）、プレコア突然変異体（G1896A、C1858T）の計9検体を段階希釈し、EDTA血漿及び血清について9.0 Log IU/mL、7.0 Log IU/mL、3.3 Log IU/mL、2.0 Log IU/mL、1.0 Log IU/mLになるよう調製した試料を用いて多重測定を行ったところ、検体使用量500μL、200μL ともに検討した範囲において希釈直線性が確認されました。

血清、検体使用量 500μL にて検討した結果を下図に示します。



4. 交差反応性

Adenovirus type 5、Cytomegalovirus、Hepatitis A Virus, Hepatitis C Virus、Hepatitis D Virus、Human T-Cell Lymphotropic Virus type 1 and 2、Human Herpes Virus Type 6A、Herpes Simplex Virus Type 1 and 2、Varicella-Zoster Virus、West Nile Virus、St.Louis encephalitis Virus、Dengue virus types1, 2, 3 and 4、Influenza Virus A、Zika Virus、Human Papillomavirus、Yellow Fever Virus、Propionibacterium acnes、Staphylococcus aurenes、Candida albicans、FSME Virus(strain HYPR)、Human Immuno-deficiency Virus 1 、Epstein-Barr Virus(EBV)、Murray Valley Encephalitis Virus(Flavi)について HBV 陰性 EDTA 血漿に添加した試料を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。

5. コンタミネーションに関して

本キットではマスターミックス 2 に UNG が添加されており、また、Z05-D 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 のキャリー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すが、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。

(1) 検体をサンプルチューブに分注する際は、安全キャビネットを利用するなどバイオセーフティー/バイオハザードに準拠した環境で実施してください。専用のピペットとチップなどを用意し、ほかの場所との共用は避けてください。ここで使用する器具や保護衣をほかの場所に持ち込まないでください。また、分注時には、すべて静かに操作してエアロゾルの発生をできる限り防止してください。

(2) 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 RNase や DNase が少量でも検体に混入しますと、RNA や 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) 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。

なお、陰性サンプル（正常ヒト EDTA 血漿）及び陽性サンプル（HBV DNA 濃度:9.0 Log IU/mL）を市松模様状に配置した測定を合計 5 ラン実施したところ、この検討では検出数 1/陰性サンプル数 240 であり、クロスコンタミネーション発生率は 0.42%（95%信頼区間:0.01%～2.3%）でした。

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 Target Not Detected（検出せず）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

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

コバス 5800 システム、コバス 6800 システム及びコバス 8800 システム共通

(1) コバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット※1
(2) コバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキット※1
(3) コバス OMNI 廃液タンク※2
(4) コバス OMNI ライシス試薬※1
(5) コバス OMNI MGP 試薬※1
(6) コバス OMNI 検体希釈液※1
(7) コバス OMNI 洗浄試薬※1
(8) サンプルチューブ
(9) 安全キャビネット（陰圧）
(10) ゴム手袋（パウダーフリー）

コバス 5800 システムに用いる器具・器材

*(1) コバス OMNI P プレート 24※2
*(2) コバス OMNI A プレート 24※2
**(3) コバス OMNI 廃液プレート 24※2
**(4) コバス OMNI バイオハザードバッグ インサート付き又はコバス OMNI バイオハザードバッグ※2
*(5) CORE チップ 300μL※2
*(6) CORE チップ 1000μL※2
*(7) コバス 5800 システム
*(8) コバス 5800 システムソフトウエア
*(9) データマネージャー
*(10) 検体架設用ラック（用途に応じてコバス 5800 システム 5-ポジションラックキャリア、コバス 5800 システム 16-ポジションサンプルラックキャリア、コバス 5800 システム Cell Collection Media キャリアを用いる）

コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムに用いる器具・器材

(1) コバス OMNI P プレート※2
(2) コバス OMNI A プレート※2
**(3) コバス OMNI バイオハザードバッグ インサート付き※2
(4) コバス OMNI ピペットチップ※2
(5) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム
(6) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムソフトウエア
(7) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム IG サーバー
*(8) 検体架設用ラック（MPA ラック）※2
(9) コラプシブルトレイ※2

※1 別売品の専用試液を使用してください。
※2 別売品の専用消耗品を使用してください。

検体分注専用として下記を用意してください（安全キャビネット内で使用します）。

(1) 試験管ミキサー
(2) マイクロピペット（1,000μL）及びチップ
（チップは疎水性フィルター付きで、1,000μL 用）
(3) ゴム手袋（パウダーフリー）

3. 操作方法

*コバス 5800 システム

測定に必要な検体量は測定パラメーターにより異なり、350μL（デッドボリューム 150μL＋検体使用量 200μL）又は 650μL（デッドボリューム 150μL＋検体使用量 500μL）です。検体架設用ラックにセットする採血管の形状やサイズによっても推奨検体量が異なりますので、詳細はコバス 5800 システム取扱説明書をご参照ください。

(1) 試料の準備

検体を試験管ミキサーにて 3～5 秒間混和しその後、遠心により検体を振り落とします。また、検体を分取する場合は液面の上方より分取し、分離剤付近からは分取しないでください。

(2) コバス 5800 システムの準備

① 装置右側面スイッチを押し本体の電源を入れます。
② ユーザーインターフェースにログインします。
③ 必要に応じ保守点検を実施します。

(3) 試薬のロード（セット）

① コバス 6800/8800 システム HBV を試薬カセットドロワーにロードします。また、必要に応じてコバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット、コバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキットをコントロールミニラックドロワーにロードします。
② コバス OMNI MGP 試薬を MGP カセットドロワーにロードします。
③ コバス OMNI ライシス試薬、コバス OMNI 検体希釈液、コバス OMNI 洗浄試薬をバルク試薬ドロワーにロードします。

(4) **消耗品のロード(セット)**

① CORE チップ 300μL を E チップトレイドロワーに、CORE チップ 1000μL を P チップトレイドロワーにそれぞれロードします。

② コバス OMNI P プレート 24 を P プレートドロワーに、コバス OMNI A プレート 24 を A プレートドロワーにロードします。

**③ コバス OMNI 廃液プレート 24 を廃液プレートドロワーにロードします。

(5) **試料のオーダー(登録)とロード(セット)**

測定パラメーターは 2 種類(検体使用量 200μL、500μL)から選択することができます。オーダーする方法は、装置ソフトウェアでのマニュアルオーダーとオンラインによるオーダーの二通りあります。オンラインによるオーダーは上位の検査システムからオーダーを受け取る方法です。

① 検体架設用のラックにバーコードが付与された検体チューブをのせ、サンプルローディングエリアへロードします。

サンプルチューブに関してはコバス 5800 システムの取扱説明書を参照して下さい。

② マニュアルオーダー、またはオンラインによるオーダーにより各検体のテストオーダーが作成されます。

③ テストオーダーは同時に測定をする最大 24 テスト(外部コントロールを含む)の組みであるバッチでスケジューリングされます。

(6) **コバス 5800 システムによる測定開始**

装置操作画面にてバッチが作成されたことを確認し、スタートボタンをクリックして測定を開始します。

(7) **測定の終了**

測定が終了したら、結果を確認します。オンラインをしている場合は、上位の検査システムへ送信します。検体チューブを取り出し、固形廃棄物、廃液の廃棄を行います。

*コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム

**測定に必要な検体量は測定パラメーターにより異なり、350μL(デッドボリューム 150μL+検体使用量 200μL)又は 650μL(デッドボリューム 150μL+検体使用量 500μL)です。MPA ラックにセットする採血管の形状やサイズによっても推奨検体量が異なりますので、詳細はコバス 6800 システム、コバス 8800 システムの取扱説明書を参照してください。1 測定につきコントロールとして 高値(+)コントロール〔HBV/HCV/HIV-1 H(+)C〕、低値(+)コントロール〔HBV/HCV/HIV-1 L(+)C〕、及び NHP 陰性 (−)コントロール〔NHP-NC〕を測定し、精度管理を行います。

(1) **試料の準備**

検体を試験管ミキサーにて 3〜5 秒間混和しその後、遠心により検体を振り落とします。また、検体を分取する場合は液面の上方より分取し、分離剤付近からは分取しないでください。

(2) **コバス 6800 システム、コバス 8800 システムの準備**

① タッチスクリーン下部の主電源を押します。

② サンプルサプライモジュールの電源を ON にします。

③ ユーザーインターフェースにログインします。

④ 必要に応じ保守点検を実施します。

⑤ ユーザーインターフェース上のスタートボタンをクリックします。

(3) **試薬のロード(セット)**

① コバス 6800/8800 システム HBV、コバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット、コバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキットをトランスファーモジュールのドロワーから内蔵の冷蔵庫にロードします。

② コバス OMNI MGP 試薬をプロセスモジュールのドロワー内のマガジンにロードします。

③ コバス OMNI ライシス試薬、コバス OMNI 検体希釈液、コバス OMNI 洗浄試薬をプロセスモジュールのバルク試薬ドロワー、及び洗浄試薬ドロワーへロードします。

(4) **消耗品のロード(セット)**

① コバス OMNI ピペットチップをトランスファーモジュールのドロワー内のマガジンへロードします。

② コバス OMNI P プレート、コバス OMNI A プレートをプロセスモジュールのドロワー内のマガジンにロードします。

(5) **試料のオーダー(登録)とロード(セット)**

測定パラメーターは 2 種類(検体使用量 200μL, 500μL)から選択することができます。オーダーする方法は、ラックベースオーダーとオンラインによるオーダーの二通りあります。ラックベースオーダーはラック ID に対しあらかじめ検査項目を指定する方法で、ソフトウェア上で設定できます。オンラインによるオーダーは上位の検査システムからオーダーを受け取る方法です。

**① MPA ラックにバーコードが付与された検体チューブをのせ、コラプシブルトレイ(MPA ラックが最大 15 本搭載可能)に MPA ラックを載せて、サンプルサプライモジュールへロードします。

MPA ラック	サンプルチューブ	
	直径 (mm)	高さ (mm)
13 mm	11.5 - 13.0	75 - 100
16 mm	14.5 - 16.0	75 - 100

サンプルチューブに関してはコバス 6800 システム、コバス 8800 システムの取扱説明書を参照してください。

② ラックベースオーダー、またはオンラインによるオーダーにより検体ごとのテストオーダーが作成されます。

③ テストオーダーは同時に測定をする最大 96 テスト(外部コントロールを含む)の組みであるバッチに割り当てられます。

(6) **コバス 6800 システム、コバス 8800 システムによる測定開始**

バッチ内のテストオーダー数が 96 に到達した場合、機器は自動で測定を開始します。96 に満たない場合は、ソフトウェア上のマニュアルスタートボタンをクリックして測定を開始します。

(7) **測定の終了

測定が終了したら、結果を印刷、又はオンラインで上位の検査システムへ送信します。検体チューブを取り出し、固形廃棄物、廃液の廃棄を行います。

各機器の操作の詳細については、コバス 5800 システム、コバス 6800 システム、コバス 8800 システムの取扱説明書を参照してください。操作の概略は最終ページの図を参照してください。

4. **HBV DNA 濃度の算出**

検体中の HBV DNA は既知量の定量標準 DNA(QS DNA)と共に PCR により増幅されます。この PCR による増幅産物をサイクルごとにリアルタイムにモニターしながら、反応液中の HBV DNA 及び QS DNA の増幅曲線を作成します。作成した増幅曲線より発光強度が一定量以上となるサイクル数を求め、Ct 値(Cycle-to-threshold value)とします。QS DNA の Ct 値と反応液中 HBV DNA の Ct 値を比較して試料中の HBV DNA 濃度を全自動で算出します。HBV DNA 濃度は、WHO 標準品に基づき IU/mL で表示されます。また、1 IU=5.82 コピーの変換係数を用いることにより、コピー/mL へも変換可能です。

【測定結果の判定法】

*1. **測定結果の判定**

コバス 5800 システム又はコバス 6800 システム又はコバス 8800 システムでは検体及びコントロールの HBV DNA 濃度算定を自動で行います。HBV DNA 量は、IU/mL で表示されます。

各コントロールについて、測定画面又は印字用紙に結果とともに記されるフラグ及びコメントをチェックして、測定が正しく行われたことを確認します。コントロールの測定結果のコメントにつきましては下表を参照してください。

機器における表示	フラグ	解 釈
(−)C	Q02	コバス NHP 陰性コントロールにおいて、測定値が陰性として測定されない、又は測定結果無効
HxV L(+)C	Q02	コバス 6800/8800 システム HBV 低値(+)コントロールの測定値が許容範囲から外れている、又は測定無効
HxV H(+)C	Q02	コバス 6800/8800 システム HBV 高値(+)コントロールの測定値が許容範囲から外れている、又は測定無効

各測定検体についても同様にフラグ及びコメントをチェックします。検体の測定結果については以下のとおり表示されます。検体測定結果のフラグにつきましては、各機器の取扱説明書を参照してください。

検体の判定結果

検体使用量	機器における測定結果の“表示”、“印字”	解釈
500μL	Target Not Detected	検出せず
	＜Titer Min[a)]	検出
	X.XXe+XXX IU/mL	HBV DNA 量の測定値
	＞Titer Max[b)]	測定上限を超えた
200μL	Target Not Detected	検出せず
	＜Titer Min[c)]	検出
	X.XXe+XXX IU/mL	HBV DNA 量の測定値
	＞Titer Max[b)]	測定上限を超えた

a) 10 IU/mL

b) 1.00e + 009 IU/mL

c) 25 IU/mL

※ 「X.XXe＋XXX IU/mL」の表示例(「1.23e＋005 IU/mL」と表示された場合):「1.23×10^5 IU/mL」を示します。

※ HBV DNA 量が高濃度の場合、Titer Max のフラグが発生することがあります。

検体使用量が 500μL の場合の報告例については下記のとおりです。

	報告例 ①	報告例 ②	
機器における測定結果の“表示”、“印字”	結果	結果	HBV 増幅反応シグナル
>Titer Max	＞9.0 Log IU/mL [>9.8 Log コピー/mL]※	＞9.0 Log IU/mL [>9.8 Log コピー/mL]※	検出
X.XXe+XXX IU/mL	X.X Log IU/mL [X.X Log コピー/mL]※	X.X Log IU/mL [X.X Log コピー/mL]※	検出
<Titer Min	＜1.0 Log IU/mL [<1.8 Log コピー/mL]※	＜1.0 Log IU/mL [<1.8 Log コピー/mL]※	検出
Target Not Detected	検出せず	＜1.0 Log IU/mL [<1.8 Log コピー/mL]※	検出せず

※ IU/mL で“表示”、“印字”される測定結果に変換係数(1 IU=5.82 コピー/mL)を用いて変換し、さらに対数変換したものです。

測定結果が測定上限(1.0×10^9 IU/mL)を超えたケースで定量的結果が必要な場合はもとの検体をHBV陰性EDTA血漿あるいは血清(もとの検体タイプに準じる)にて希釈して測定を実施してください。測定値は、報告された結果を希釈率で乗じた値となります。

2. **結果の判定にかかる注意**

(1) 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。

① 血清及び EDTA 血漿以外の検体

② −18℃より高い温度で長期間保存された検体

③ 凍結と融解を 4 回より多く繰り返した検体

④ HBV DNA のコンタミネーションを受けた検体

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) HBV 感染後、ある程度以上の HBV DNA 濃度となるまで検出することができない場合があります。また、本キットのプライマーやプローブの塩基配列と試料中の HBV DNA の塩基配列との相違が大きくなると、測定値が低くなるか測定できない可能性もありますので、判定にはじゅうぶん注意してください。そのほかの原因でも“検出せず”となる可能性がありますので、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。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) HBV DNA が 1.0×10^2 IU/mL 付近より低濃度の検体では、測定値のバラツキが大きくなる傾向が認められるため、測定値の判読には注意してください。

(4) 反応の阻害などにより PCR における増幅効率が低下した場合、増幅曲線に対しソフトウェアの解析アルゴリズムが対応できないケースが稀に発生する可能性がありますので、注意してください。

【性能】

1. 性能

【用法・用量(操作方法)】の記載に従い、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 1」を 11 回同時に測定するとき、有効測定数は 10 回以上であり、Hit Rate*は 100%である。ただし、Hit Rate が 90%以上 100%未満の場合は別途定める試験を行い、適合を判断する。

(2) 正確性試験

「管理用試料 2」及び「管理用試料 3」を 11 回同時に測定するとき、有効測定数は 10 回以上であり、対数変換した有効測定値が既知濃度の対数変換値の±0.5 の範囲内となる割合は 100%である。ただし、90%以上 100%未満の場合は別途定める試験を行い、適合を判断する。

「陰性管理用試料」を 11 回同時に測定するとき、有効測定数は 10 回以上であり、Hit Rate*は 0%である。ただし、Hit Rate が 0%より大きく 10%以下の場合は別途定める試験を行い、適合を判断する。

* Hit Rate(%):検出された測定数／有効測定数×100

(3) 同時再現性試験

「管理用試料 2」を 11 回同時に測定するとき、有効測定数は 10 回以上であり、対数変換した有効測定値の SD 値は 0.20 以下である。ただし、SD 値が 0.20 より大きく 0.25 以下の場合は別途定める試験を行い、適合を判断する。

「管理用試料 3」を 11 回同時に測定するとき、有効測定数は 10 回以上であり、対数変換した有効測定値の SD 値は 0.16 以下である。ただし、SD 値が 0.16 より大きく 0.20 以下の場合は別途定める試験を行い、適合を判断する。

管理用試料

管理用試料 1、管理用試料 2 及び管理用試料 3 は HBV 塩基配列含有プラスミド DNA とヒト陰性血漿を用い作成したものです。HBV DNA 濃度は管理用試料 1 が約 50 IU/mL、管理用試料 2 が約 4.10E+07 IU/mL、管理用試料 3 が約 6.40E+03 IU/mL となるよう調製します。

陰性管理用試料はヒト陰性血漿を用い調製したものです。

(4) 測定範囲

検体量 500 μL:10～1.0×10^9 IU/mL (1.0 ～9.0 Log IU/mL)

検体量 200 μL:25～1.0×10^9 IU/mL (1.4 ～9.0 Log IU/mL)

(5) 最小検出感度

NIBSC WHO Int. std. HBV(遺伝子型 A)、HBV 遺伝子型 B、C、D、E、F、G 及び H、プレコア突然変異体(G1896A、C1858T)のすべてでの検体使用量 500 μL における 95%の検出率が得られる濃度(PROBIT 分析)は、血漿 4.1 IU/mL(23.8 コピー/mL)、血清 4.5 IU/mL(26.0 コピー/mL) でした。また、検体使用量 200 μL では、90%以上の検出率が得られる濃度は血漿 16.9 IU/mL(98.4 コピー/mL)、血清 13.8 IU/mL(80.3 コピー/mL)でした。

2. 相関性試験成績

(1) 既存製品との相関-1

本品及び既承認品共に測定範囲内で結果が得られた血清検体 111 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 r = 0.985

回帰式 y = 1.023x - 0.285

y:本品 x:既承認品

(2) 既存製品との相関-2

本品及び既承認品共に測定範囲内で結果が得られた血清検体 125 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 r = 0.973

回帰式 y = 1.066x - 0.456

y:本品 x:既承認品

3. 較正用の基準物質(標準品)

NIBSC WHO Int. std. HBV

【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) 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。

(2) ピペットは口で吸わないでください。

(3) 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。

(4) 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。

(5) 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。

(6) 検体又はヒト血液由来成分を含むコバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット及びコバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキットをこぼした場合は、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。

(7) 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。

(8) 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。コバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット及びコバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキットに使用されているヒト血液由来成分は、HBV 抗体、HIV-1/2 抗体、HBs抗原、HBc抗体、HIV-1 RNA、HIV-2 RNA、HCV RNA、HBV DNA、HEV RNA、WNV RNA、CMV DNA の陰性が確認されていますが、感染性がないことを完全に保証する試験方法はないため、検体と同様に感染性を有するものとして、施設の安全規定に従って取り扱ってください。

(9) 検体及びヒト血液由来成分を含むコバス 6800/8800 システム HBV/HCV/HIV-1 コントロールキット及びコバス 6800/8800 システム NHP 陰性コントロールキットを取り扱う際に使用した器具類は高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱滅菌処理をするか、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

(1) 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。

(2) ウイルス 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。

(3) 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。

(4) 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。

(5) 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のや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。

(6) 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。

*(7) コバス OMNI 検体希釈液とコバス OMINI ライシス試薬は、室温に戻してから装置にセットしてください。

(8) 使用開始後の試薬は微生物の汚染にご注意ください。

(9) 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、実験台の清掃などを徹底して行ってください。

(10) 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 RNase 又は DNase が少量でも検体に混入しますと、RNA や 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。

**(11) プロテアーゼ試液、DNA 定量標準試液、溶出試液及びマスターミックス 1 及びマスターミックス 2 について、一度使用した試薬は、2～8℃で 90 日又は使用期限のうち、短い日付まで安定です。これらの試薬は、「コバス 5800 システム」では測定合計回数 40 回又は機器上で合計 36 日間まで使用が可能です。「コバス 6800 システム」又は「コバス 8800 システム」では測定合計回数 40 回又は機器上で合計 40 時間まで使用が可能です。

3. 廃棄上の注意

(1) 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。

(2) 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。

(3) 廃棄する際は、水質汚濁法等の規制に留意して処理してください。

(4) 検体及び試薬をこぼした場合は、次亜塩素剤(有効塩素濃度 5,000ppm、0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶん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。

**(5) コバス OMNI ライシス試薬及び装置から出た廃液はグアニジンチオシアン酸塩を含みます。グアニジンチオシアン酸塩は次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。

**(6) DNA 定量標準試液、マスターミックス 1、マスターミックス 2、コバス OMNI MGP 試薬及びコバス OMNI 検体希釈液は 0.1%未満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。

**(7) 使用済みコバス OMNI P プレート 24 又はコバス OMNI P プレートはグアニジンチオシアン酸塩を含みます。グアニジンチオシアン酸塩は次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。

4. その他の注意

本品による測定値は既存製品と高い相関性を示しますが、系統的な誤差を生じる場合がありますので、必要に応じて相関性について検討されることをお勧めします。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2～8℃

2. 有効期間

14 ヵ月

使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

**コバス 6800/8800 システム HBV 増幅・検出用試薬セット192 192テスト

※各構成試薬の詳細につきましては、【形状・構造等(キットの構成)】を参照してください。

【主要文献】

1) Higuchi, R. et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (N Y). 1992, 10, p.413～417.

2) Heid, C.A. et al. Real time quantitative PCR. Genome Research. 1996, 6, p.986～994.

3) 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.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティックス株式会社
*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・ダイアグノスティックス株式会社
〒108-0075　東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル：0120-600-152

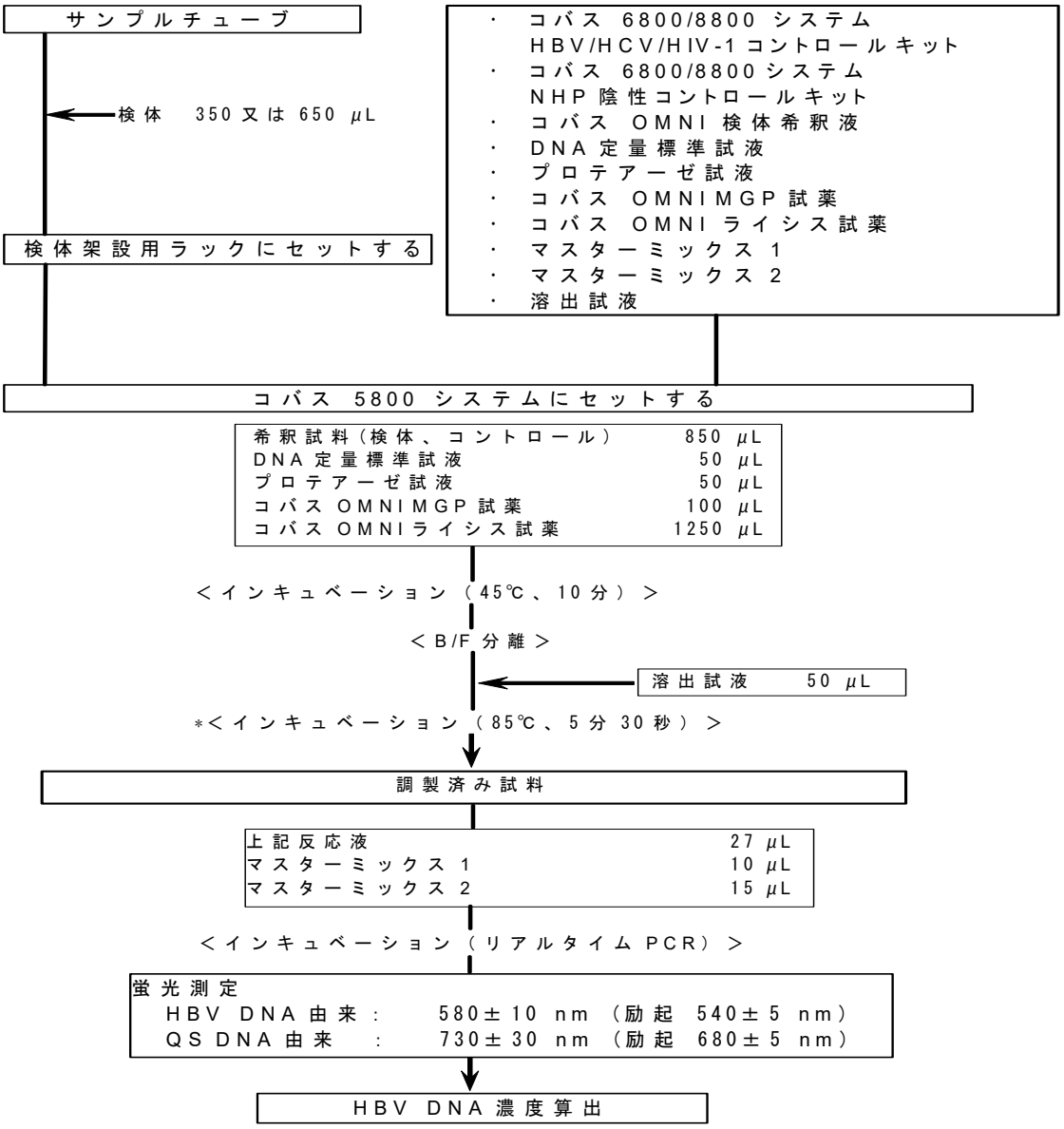
《特許に関連するお知らせ》

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と検出、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。

COBAS is a trademark of Roche.
コバスは Roche の商標です。

《操作概略》

*コバス 5800 システム



《操作概略》

*コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム

