

cobas[®] HEV

体外診断用



cobas[®] HEV – 192

P/N: 09040986190

cobas[®] HEV コントロールキット

P/N: 09040889190

cobas[®] NHP 陰性コントロールキット

P/N: 09051554190

cobas[®] omni MGP 試薬

P/N: 06997546190

cobas[®] omni 検体希釈液

P/N: 06997511190

cobas[®] omni ライシス試薬

P/N: 06997538190

cobas[®] omni 洗浄試薬

P/N: 06997503190

目次

使用目的	5
概要と検査に関する説明	5
試薬および材料	9
cobas® HEV の試薬およびコントロール	9
試料調製のための cobas® omni 試薬	12
試薬の保管および取扱いの要件	14
cobas® 5800 システムにおける試薬の取扱い要件	15
cobas® 6800/8800 システムにおける試薬の取扱い要件	16
cobas® 5800 システムに追加で必要な材料	17
cobas® 6800/8800 システムに追加で必要な材料	18
必要な器具類およびソフトウェア	19
使用上の注意および取扱いの要件	20
警告および使用上の注意	20
試薬の取扱い	21
医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準	21
検体の採取、輸送、保管、およびプーリング	22
生体ドナー検体	22

取扱いに関する説明	26
自動化によるピペッティングおよびプーリング (オプション)	26
手技に関する注意:	26
cobas® 5800 システムでの cobas® HEV テストの実施	27
cobas® 6800/8800 システムでの cobas® HEV テストの実施	28
結果	29
cobas® 5800 システムの品質管理および結果の妥当性	29
cobas® 5800 システムでのコントロールの結果	29
cobas® 6800/8800 システムの品質管理および結果の妥当性	30
cobas® 6800/8800 システムでのコントロールフラグ	30
結果の解釈	31
cobas® 5800 システムの結果を解釈するための追加情報	31
個別検体の再検査	32
手技の限界	32
システムの同等性／システムの比較	33
cobas® 6800/8800 システムで実行される非臨床性能評価	34
主な性能特性—生体ドナー検体	34
検出限界 (LoD)	34
再現性	35
ジェノタイプの検証	37
分析特異性	38
分析の特異性—妨害物質	39
相関性	41
全システム不具合	41

追加情報.....	42
主な検査特性	42
図記号	43
テクニカルサポート	44
製造販売業者および輸入業者	44
商標および特許	44
Copyright.....	44
参考文献	45
文書改訂	48

使用目的

cobas® 5800/6800/8800 システムで使用する cobas® HEV テストは、ヒト血漿中の E 型肝炎ウイルス (HEV) RNA (ジェノタイプ 1~4) を直接検出するための定性的体外核酸増幅検査です。

この検査は、個別のヒトドナーから得られた血漿検体中の HEV RNA のスクリーニングを目的としており、ドナーには全血、血液成分 (赤血球、血小板、血漿)、その他の生体ドナーを含みます。すべてのドナーの血漿を個別検体としてスクリーニングできます。全血および血液成分の献血の場合、血漿検体を個別に検査することも、個別検体のアリコートから成るプール血漿で検査することもできます。

この検査は、臍帯血検体への使用を意図していません。

この検査は、HEV の診断補助としての使用を意図していません。

概要と検査に関する説明

背景: 輸血によって伝播するウイルス感染症の血液スクリーニング

E 型肝炎ウイルス (HEV) は、Hepevirus 属 (Hepeviridae 科) に属しエンベロープをもたない小型の RNA ウイルスで、世界中に分布しているヒト病原体です。¹ 正二十面体の粒子で構成され、7.2 kb のプラス 1 本鎖 RNA ゲノムが封入されています²。HEV の血清型は 1 種類で、4 種類の主なジェノタイプがヒトや動物 (飼育ブタ、野生のイノシシ、シカ、げっ歯類など) で確認されています^{1, 3, 4}。

ヒトや動物の間で広まっている様々な HEV 株の分子的特徴から、4 種類の主なジェノタイプが認められています。¹ 主にアジアにみられるジェノタイプ 1、およびアフリカやメキシコにみられるジェノタイプ 2 は、ヒトに限定されており、発展途上国で汚染された水を介して感染します^{1, 5}。ジェノタイプ 3 および 4 は、ヒト、豚、その他の哺乳類に感染し、発展途上国と先進国の両方において自所性に散発的に HEV 症例を発生させています。⁶ ジェノタイプ 3 は、米国で自所性感染の原因として現在特定されている唯一のジェノタイプで⁷、欧州、ニュージーランド、北米における感染の大部分の原因となっています^{1, 8-12}。ジェノタイプ 3 と 4 のいずれも日本で認められています。¹ HEV ジェノタイプ 1、3、4 は、中国での局地的な感染がみられています¹。中国、フランス、英国、日本では、E 型急性肝炎が A 型肝炎よりも多くみられます¹。

HEV の主な伝播機序は汚染された飲用水からの糞口経路で¹、加熱不十分なまたは生の豚肉、内臓肉、貝類の摂取による食物由来感染や、感染した豚、家畜、野生動物との接触による動物由来感染も報告されています^{7, 13-16}。HEV の宿主の範囲は完全にはわかっていません¹。

HEV 感染症は通常、軽症または不顕性感染で、4～6 週間持続して自然治癒します^{1, 8-11, 17, 18}。症状はほかのウイルス性肝炎感染症、特に A 型肝炎と極めて類似しており、疲労、黄疸、発熱、倦怠感、悪心、嘔吐、食欲不振、腹痛がみられます。¹ 患者は、アラニントランスアミナーゼ値が上昇 (約 1,500 IU/L) していることが多く、患者の多くは黄疸を呈します。¹ HEV 感染症はときに重症化して劇症肝不全となることがあり、特に妊娠女性では死亡率が 10～25% に達することがあるほか、2 未満の乳幼児、肝臓に基礎疾患 (肝硬変など) のある人、免疫不全の人で顕著です^{1, 19-23}。HEV 感染によって世界で毎年 300 万を超える症候性急性 E 型肝炎症例が発生しており、年間約 70,000 人が死亡するに至っています。²⁴ 全死亡率は 0.2～4.0% の範囲です¹。ジェノタイプ 3 (HEV3) の感染による死亡の大部分は、すでにアルコール関連肝疾患などの肝疾患が存在していた患者における急性または亜急性の肝不全が原因です^{1, 22, 25, 26}。

HEV3 は慢性感染を引き起こし、免疫不全患者の感染は 60% にのぼり、そのうち約 10% が肝硬変を発症します。¹ 慢性感染は、HEV RNA が 6 ヶ月以上血清または便中に存在し続けることと定義します。¹ ほとんどの場合、固形臓器移植を受けた人に発生しますが、輸血や化学療法を受けている血液疾患の人、少数ですが HIV 感染者でも感染が報告されています²⁷⁻³³。HEV1 や HEV2 では慢性感染は報告されていません¹。

HEV 感染症には、ギラン・バレー症候群、ベル麻痺、急性横断性脊髄炎、急性髄膜脳炎、運動失調、脳炎などの神経学的症候群との関連も認められていますが、経学的症候群は通常、ウイルスが排除された患者では回復します。¹ 急性 HEV 感染の際に、膜性増殖性糸球体腎炎、急性膵炎、重症血小板減少症が報告されていますが、その病態生理学的機序および因果関係 (あれば) は確立されていません¹。リバビリン療法は重症の急性 HEV3 感染に有効な治療であることが示されており、慢性 HEV 感染を有する移植レシピエントは通常、免疫抑制薬 (特に T 細胞を標的とする薬剤) の減量、インターフェロンα およびリバビリンによる治療を受けます¹。

NAT 検査実施の根拠

ほかの肝炎と同様、HEV も輸血や血液製剤を介して伝播することがあります。多くの国で輸血後の E 型肝炎が報告されています^{1, 33-38}。世界の献血者の HEV 血清陽性率は、0.4% から 20.6% までさまざまな報告があります。³⁹⁻⁴⁷ 世界での不顕性 HEV 感染症の発生率は高く、ウイルスの蔓延ゆえに、多くの献血者が感染している血液製剤の投与を受ける人にウイルスを伝播している可能性があります。例えば、英国人献血者を対象とした近年の研究では、ドナー血清の 11% が HEV IgG 反応性であること、すなわち感染歴があることが示されており、ドナー血清の 0.7% が IgM 反応性、すなわち急性感染であることが示されています。⁴⁵ さらに、英国人献血者から得られた血漿ミニプールの 0.7% に HEV RNA が含まれていました。⁴⁶ 中国人献血者を対象とした研究でも同様の結果が得られており、ドナー血清の 32.6% が IgG 反応性、ドナー血清の 0.94% が IgM 反応性で、献血の 0.07% に HEV ウイルス血症が認められました⁴⁷。血漿分画プールの世界的検討では、検査したプールの 10% が HEV-RNA 陽性であったと報告されています^{47, 48}。

検査に関する説明

cobas® HEV テストは、HEV RNA を検出するための定性 PCR 検査で、**cobas® 5800/6800/8800** システムで実施します。**cobas® HEV** テストでは、感染した個別の献血または個別の献血から得られたプール血漿を用いて、1 回の検査で HEV RNA と内部コントロールの検出を同時に行うことができます。

検査手技の原理

cobas® HEV テストは、完全自動化での試料調製 (核酸の抽出と増幅) とその後の PCR 増幅および検出システムによるリアルタイム PCR 技術に基づいています。**cobas® 5800** システムは、統合された単一の装置で構成されています。**cobas® 6800/8800** システムは、サンプルサプライモジュール、トランスファーモジュール、プロセッシングモジュール、分析モジュールで構成されています。**cobas® 5800** または **6800/8800** システムソフトウェアによって全ての検査結果が非反応性、反応性、無効に割り当てられ、データ管理が自動化されます。**cobas® 5800** システムを使用する場合は、結果の確認およびレポートの出力には **cobas® Synergy** ソフトウェアが推奨されており、臨床検査情報システム (LIMS) またはその他の結果管理システムに結果を送信する必要があります。**cobas® 6800/8800** を使用する場合は、システムのスクリーンで直接結果を確認し、レポートとして出力するか、LIMS またはその他の結果管理システムに送信することができます。

検体は個別に検査することもできますし、複数の検体をプールして検査することもできます。

cobas® 5800 システムで検査する場合は、プーリングを行わなくとも **cobas® Synergy** ソフトウェアを使用する必要があります。分析前の段階でプーリングを行うのであれば、**cobas® Synergy** ソフトウェアと併せて Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD を使用します。

cobas® 6800/8800 システムで検査する場合は、プーリングを行うのであれば、分析前の段階でオプションで **cobas® p 680** 装置を使用するか、**cobas® Synergy** ソフトウェアと併せて Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD を使用します。

試料および添加された armored RNA 内部コントロール (IC) 分子 (検体の調製および増幅/検出プロセスのコントロールとして機能) から同時に核酸が抽出されます。さらにこの検査では、陽性と陰性の 2 種類のキットコントロールを使用します。サンプルにプロテイナーゼとライシス試薬を添加すると、ウイルス核酸が遊離します。遊離した核酸は、添加された磁性ガラス粒子のシリカ表面に結合します。結合していない物質や不純物、例えば変性タンパク質、細胞の破片、潜在的な PCR 阻害物質 (ヘモグロビンなど) は、その後の洗浄試薬の段階で除去され、精製された核酸が溶出緩衝液の温度上昇でガラス粒子から溶出されます。

ドナー試料からの標的核酸の選択的増幅は、ウイルス核酸中の高度に保存された領域から選択されたウイルス特異的なフォワードプライマーとリバースプライマーを用いて行うことができます。逆転写および増幅には、耐熱性 DNA ポリメラーゼ酵素を使用します。マスターミックスには、デオキシチミジン三リン酸 (dTTP) の代わりにデオキシウリジン三リン酸 (dUTP) が含まれており、これが新たに合成された DNA に取り込まれます (増幅)^{49,51}。前回の PCR 実施時の増幅物が混入しているも、最初の熱サイクルの段階で加熱すると PCR マスターミックス中の AmpErase 酵素 (ウラシル-N-グリコシラーゼ) によって破壊されます。ただし、AmpErase 酵素は 55°C を超える温度に曝露すると失活するため、新たに形成された増幅物は破壊されません。

cobas® HEV マスターミックスには、HEV および IC の核酸に特異的な検出プローブが含まれています。HEV および IC に特異的な検出プローブは、それぞれレポーターとして作用する 2 つの固有の蛍光色素のうちの 1 つで標識されています。各プローブにはクエンチャーとして作用する第 2 の色素もあります。2 つのレポーター色素は定められた波長で測定されるため、増幅された HEV 標的と IC を同時に検出し識別することができます^{52, 53}。無変化のプローブの蛍光シグナルはクエンチャー色素によって抑制されます。PCR 増幅段階では、プローブが特定の 1 本鎖 DNA 鋳型にハイブリダイズすることで、DNA ポリメラーゼの 5'→3' ヌクレアーゼ活性による切断が起こり、レポーター色素とクエンチャー色素が分離して蛍光シグナルが生成されます。各 PCR サイクルを繰り返す度に、切断されたプローブの量が増えていき、それに伴ってレポーター色素の累積シグナルも増強します。2 つの特異的なレポーター色素は定められた波長で測定されるため、増幅された HEV 標的と IC を同時に検出し識別することができます。

試薬および材料

cobas® HEV の試薬およびコントロール

未開封の試薬およびコントロールはすべて 表 1～表 4 の推奨に従って保管してください。

表 1 cobas® HEV テスト

(HEV)

2～8°C で保管

テストカセット 192 個 (P/N 09040986190)

キットの構成	試薬の成分	1 キット当たりの数量 192 テスト分
プロテイナーゼ溶液 (PASE)	トリス緩衝液、<0.05% EDTA、塩化カルシウム、酢酸カルシウム、8% (w/v) プロテイナーゼ、グリセロール EUH210: 依頼により安全性データシート提供可 EUH208: 枯草菌由来のスプチリシンを含む。アレルギー反応を引き起こす可能性がある。	22.3 mL
内部コントロール (IC)	トリス緩衝液、<0.05% EDTA、<0.001% 内部コントロール Armored RNA 構成物 (MS2 バクテリオファージに被包された非感染性 RNA)、<0.002% ポリ rA RNA (合成)、<0.1% アジ化ナトリウム	21.2 mL
エリューションバッファ (EB)	トリス緩衝液、0.2% 4-ヒドロキシ安息香酸メチル	21.2 mL
マスターミックス試薬 1 (MMX-R1)	酢酸マンガン、水酸化カリウム、<0.1% アジ化ナトリウム	7.5 mL
HEV マスターミックス試薬 2 (HEV MMX-R2)	トリシン緩衝液、酢酸カリウム、グリセロール、18% ジメチルスルホキシド、Tween 20、EDTA、<0.06% dATP、dGTP、dCTP、<0.14% dUTP、<0.01% HEV と内部コントロールの上流／下流プライマー、<0.01% HEV 蛍光標識プローブ、<0.01% 内部コントロール蛍光標識プローブ、<0.01% オリゴヌクレオチドアプタマー、<0.01% Z05D DNA ポリメラーゼ、<0.01% AmpErase (ウラシル N-グリコシラーゼ) 酵素 (微生物)、<0.1% アジ化ナトリウム	9.7 mL

表2 cobas® HEV コントロールキット

(HEV (+) C)

2～8℃ で保管

(P/N 09040889190)

キットの構成	試薬の成分	1 キット当 たりの数量	安全に関する図記号および警告*
HEV 陽性コントロ ール (HEV (+) C)	< 0.001% MS2 バクテリオファージ被覆タンパク質に被包された合成 (armored) HEV RNA、 正常ヒト血漿、PCR 法で検出されない HEV RNA 0.1% ProClin® 300 防腐剤**	16 mL (16 × 1 mL)	  警告 H317: アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ。 H412: 長期的影響により水生生物に有害。 P261: ミストまたは蒸気の吸入を避けること。 P273: 環境への放出を避けること。 P280: 防護手袋を着用すること。 P333 + P313: 皮膚刺激または発疹が生じた場合: 医師の診察／手当てを受けること。 P362 + P364: 汚染された衣類を脱ぎ、再使用する場合には洗濯をすること。 P501: 内容物／容器を承認された廃棄物処理場に 廃棄すること。 55965-84-9 5-クロロ-2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンおよび 2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オン (3:1) の反応生成物

* 製品の安全に関するラベル表示は主に EU GHS ガイドラインに従います。

** 有害物質

表3 cobas® NHP 陰性コントロールキット

(NHP-NC)

2～8℃ で保管

(P/N 09051554190)

キットの構成	試薬の成分	1 キット当 たりの数量	安全に関する図記号および警告*
正常ヒト血漿陰 性コントロール (NHP-NC)	正常ヒト血漿、PCR 法で検出されない HEV RNA < 0.1% ProClin® 300 防腐剤**	16 mL (16 × 1 mL)	  警告 H317: アレルギー性皮膚反応を起こすおそれ。 P261: ミストまたは蒸気の吸入を避けること。 P272: 汚染された作業衣は作業場から出さないこと。 P280: 防護手袋を着用すること。 P333 + P313: 皮膚刺激または発疹が生じた場合: 医師の診察／手当てを受けること。 P362 + P364: 汚染された衣類を脱ぎ、再使用する場合には洗濯をすること。 P501: 内容物／容器を承認された廃棄物処理場に廃棄すること。 55965-84-9 5-クロロ-2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オンおよび 2-メチル-2H-イソチアゾール-3-オン (3:1) の反応生成物

* 製品の安全に関するラベル表示は主に EU GHS ガイドラインに従います。

** 有害物質

試料調製のための cobas® omni 試薬

表 4 試料調製のための cobas® omni 試薬*

試薬	試薬の成分	1 キット当たりの数量	安全に関する図記号および警告**
cobas® omni MGP 試薬 (MGP) 2～8℃ で保管 (P/N 06997546190)	磁性ガラス粒子、トリス緩衝液、0.1% 4-ヒドロキシ安息香酸メチル、<0.1% アジ化ナトリウム	480 テスト分	該当せず
cobas® omni 検体希釈液 (SPEC DIL) 2～8℃ で保管 (P/N 06997511190)	トリス緩衝液、0.1% 4-ヒドロキシ安息香酸メチル、<0.1% アジ化ナトリウム	4 × 875 mL	該当せず
cobas® omni ライシス試薬 (LYS) 2～8℃ で保管 (P/N 06997538190)	42.56% (w/w) グアニジンチオシアナート***、5% (w/v) ポリドカノール***、2% (w/v) ジチオトレイトール、クエン酸二水素ナトリウム	4 × 875 mL	 危険 H302: 飲み込むと有害。 H314: 重篤な皮膚の薬傷・眼の損傷。 H411: 長期継続的影響により水生生物に毒性。 EUH032: 酸との接触により、毒性の強いガスを放出。 EUH071: 気道に対して腐食性。 P273: 環境への放出を避けること。 P280: 保護手袋／保護衣／保護眼鏡／保護面／聴覚保護具を着用すること。 P303 + P361 + P353: 皮膚 (または髪) に付着した場合: 直ちに汚染された衣類をすべて脱ぐこと。皮膚を水で洗うこと。 P304 + P340 + P310: 吸入した場合: 空気の新鮮な場所に移し、呼吸しやすい姿勢で休息させること。直ちに POISON CENTER (毒物センター)／医師に連絡すること。

試薬	試薬の成分	1 キット当たりの数量	安全に関する図記号および警告**
			P305 + P351 + P338 + P310: 眼に入った場合: 水で数分間注意深く洗うこと。コンタクトレンズを着用していて容易に外せる場合は外すこと。その後も洗浄を続けること。直ちに POISON CENTER (毒物センター)／医師に連絡すること。 P391: 漏出物を回収すること。 593-84-0 グアニジニウムイソチオシアナート 9002-92-0 ポリドカノール 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ジメルカプトブタン-2,3-ジオール
cobas® omni 洗浄試薬 (WASH) 15～30℃ で保管 (P/N 06997503190)	クエン酸二水和ナトリウム、 0.1% 4-ヒドロキシ安息香酸メ チル	4.2 L	該当せず

* これらの試薬は **cobas® HEV** テストキットには含まれません。追加で必要な材料のリストをご参照ください (表 8、表 9)。

** 製品の安全に関するラベル表示は主に EU GHS ガイドラインに従います。

***有害物質

試薬の保管および取扱いの要件

試薬は表 5、表 6、および表 7 に明記するとおりに保管してください。

試薬を cobas® 5800/6800/8800 システムにローディングしない場合は、表 5 に明記する対応する温度で保管してください。

表 5 試薬の保管 (試薬をシステムにローディングしない場合)

試薬	保管温度
cobas® HEV – 192	2～8°C
cobas® HEV コントロールキット	2～8°C
cobas® NHP 陰性コントロールキット	2～8°C
cobas® omni ライシス試薬	2～8°C
cobas® omni MGP 試薬	2～8°C
cobas® omni 検体希釈液	2～8°C
cobas® omni 洗浄試薬	15～30°C

cobas® 5800 システムにおける試薬の取扱い要件

cobas® 5800 システムにローディングする試薬は、適切な温度で保管し、システムで期限をモニタリングします。このシステムでは、表 6 に示す条件がすべて満たされた場合のみ試薬を使用できます。システムでは自動的に期限切れの試薬の使用を防ぎます。表 6 に、cobas® 5800 システムで実行される試薬の取扱いの条件を示します。

表 6 cobas® 5800 システムで実行される試薬の期限の条件

試薬	キットの使用期限	開封したキットの安定性	キットを使用できるラン回数	搭載中の安定性 (冷蔵庫から出して 搭載中の累積時間)
cobas® HEV – 192	期限を過ぎていない	初回使用から 90 日間	最大 40 ラン	最長 36 日
cobas® HEV コントロールキット	期限を過ぎていない	該当せず*	該当せず	最長 10 時間
cobas® NHP 陰性コントロールキット	期限を過ぎていない	該当せず*	該当せず	最長 10 時間
cobas® omni ライシス試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni MGP 試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni 検体希釈液	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni 洗浄試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず

* 単回使用の試薬

** cobas® 5800 システムに試薬を最初にローディングした時点から時間を計測します。

cobas® 6800/8800 システムにおける試薬の取扱い要件

cobas® 6800/8800 システムにローディングする試薬は、適切な温度で保管し、システムで期限をモニタリングします。このシステムでは、表 7 に示す条件がすべて満たされた場合のみ試薬を使用できます。システムでは自動的に期限切れの試薬の使用を防ぎます。表 7 に、cobas® 6800/8800 システムで実行される試薬の取扱いの条件を示します。

表 7 cobas® 6800/8800 システムで実行される試薬の期限の条件

試薬	キットの使用期限	開封したキットの安定性	キットを使用できるラン回数	搭載中の安定性 (冷蔵庫から出して 搭載中の累積時間)
cobas® HEV – 192	期限を過ぎていない	初回使用から 90 日間	最大 40 ラン	最長 40 時間
cobas® HEV コントロールキット	期限を過ぎていない	該当せず*	該当せず	最長 10 時間
cobas® NHP 陰性コントロールキット	期限を過ぎていない	該当せず*	該当せず	最長 10 時間
cobas® omni ライシス試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni MGP 試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni 検体希釈液	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず
cobas® omni 洗浄試薬	期限を過ぎていない	ローディングから 30 日間**	該当せず	該当せず

* 単回使用の試薬

** cobas® 6800/8800 システムに試薬を最初にローディングした時点から時間を計測します。

cobas® 5800 システムに追加で必要な材料

表 8 cobas® 5800 システムで使用する材料および消耗品

材料	P/N
cobas® omni プロセッシングプレート 24	08413975001
cobas® omni 増幅プレート 24	08499853001
cobas® omni 廃液プレート 24	08413983001
フィルター付き CORE チップ 1 mL	04639642001
フィルター付き CORE チップ 300 µL	07345607001
cobas® omni 廃液タンク	07094388001
cobas® omni ライシス試薬	06997538190
cobas® omni MGP 試薬	06997546190
cobas® omni 検体希釈液	06997511190
cobas® omni 洗浄試薬	06997503190
固形廃棄物バッグ	07435967001
または	または
内袋付き固形廃棄物バッグ	08030073001

cobas® 6800/8800 システムに追加で必要な材料

表 9 cobas® 6800/8800 システムで使用する材料および消耗品

材料	P/N
cobas® omni プロセッシングプレート	05534917001
cobas® omni 増幅プレート	05534941001
cobas® omni ピペットチップ	05534925001
cobas® omni 廃液タンク	07094388001
cobas® omni ライシス試薬	06997538190
cobas® omni MGP 試薬	06997546190
cobas® omni 検体希釈液	06997511190
cobas® omni 洗浄試薬	06997503190
固形廃棄物バッグ	07435967001
固形廃棄物容器	07094361001
または	または
内袋付き固形廃棄物バッグ	08030073001

必要な器具類およびソフトウェア

cobas® 5800 システム用の **cobas® HEV** 解析パッケージを **cobas® 5800** システムにインストールします。
cobas® 5800 システム用の **x800 Data Manager** ソフトウェアはシステムと一緒に提供されます。
cobas® Synergy ソフトウェアをインストールします。

cobas® 6800/8800 ソフトウェアおよび **cobas® HEV** 解析パッケージを装置にインストールします。
Instrument Gateway (IG) サーバーはシステムと一緒に提供されます。必要時、**cobas® Synergy** ソフトウェアをインストールします。

表 10 装置類

cobas® 6800/8800 システム	P/N
cobas® 6800 システム (可動オプション)	05524245001、06379672001
cobas® 6800 システム (固定)	05524245001、06379664001
cobas® 8800 システム	05412722001
cobas® 6800/8800 システム用サンプルサプライモジュール	06301037001
cobas® Synergy ソフトウェア電子ライセンス (cobas® 5800 システムのみ)	09311246001
ピペッティングおよびプーリングのためのオプション	P/N
cobas® p 680 装置	06570577001
cobas® Synergy ソフトウェア電子ライセンス (cobas® 6800/8800 システム) (オプション)	09311238001
Hamilton MICROLAB® STAR IVD	04640535001
Hamilton MICROLAB® STAR/let IVD	04872649001

詳細は **cobas® 5800** システムユーザーアシスタンスまたは **cobas® 6800/8800** システムユーザーアシスタンスをご参照ください。
装置に対応するプライマリーチューブとセカンダリーチューブの詳細については **cobas® p 680** 装置のユーザーアシスタンスまたは **cobas® Synergy** ソフトウェアのユーザーアシスタンスをご参照ください。

注: 装置に対応するサンプルラック、凝血チップ用ラック、ラックトレイの詳細な注文リストについては、お近くのロシュサービス担当者にご連絡ください。

使用上の注意および取扱いの要件

警告および使用上の注意

ほかの検査手技と同様、この検査を適切に実施するためには、医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準が不可欠です。この検査は感度が高いため、試薬や増幅混合物が汚染されないように注意する必要があります。

- 体外診断専用。
- Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories および CLSI Document M29-A4 に概説する正しい実験室手技に従い、すべての検体を感染性として取り扱う必要があります^{54, 55}。感染性医療廃棄物の取扱い、ならびに **cobas® HEV** 検査、**cobas® 5800/6800/8800** システム、**cobas® p 680** 装置 (**cobas® 6800/8800** システムの場合)、または Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD+**cobas® Synergy** ソフトウェアの使用に熟達した担当者のみがこの手技を実施してください。
- ヒト由来の物質はすべて感染の可能性があるとし、普遍的予防策をもって取り扱う必要があります。こぼれた場合は、蒸留水または脱イオン水で用事調製した 0.6% 次亜塩素酸ナトリウム溶液で直ちに消毒するか、適切な施設手順に従ってください。
- **cobas® HEV** コントロールキットおよび **cobas® NHP** 陰性コントロールキットにはヒト血液由来の血漿が含まれています。PCR 法で正常ヒト血漿を検査したところ、HEV RNA は検出されませんでした。ヒト血液由来の製品が感染性物質を伝播しないことを完全に保証する試験方法はわかっていません。
- 全血は凍結しないで下さい。
- 滅菌済み使い捨てピペットおよびヌクレアーゼフリーピペットチップの使用が推奨されます。最適な検査性能を確保するために、必要な消耗品は付属または指定のもののみを使用してください。
- 検査が正しく行われるように、示された手順やガイドラインに注意深く従ってください。手順やガイドラインから逸脱すると、最適な検査性能に影響を及ぼす可能性があります。
- 細胞－血漿界面の破壊や遠心分離後の物質の拡散により、無効率が高くなることがあります。
- 試料の取扱いや処理の最中に試料のキャリーオーバーが適切に制御されないと、偽陽性の結果が生じる可能性があります。
- このアッセイを使用して重大なインシデントが発生した場合は、最寄りの所轄官庁およびメーカーに連絡してください。

試薬の取扱い

- 検体やコントロールのキャリーオーバーを防ぐため、すべての試薬、コントロール、検体を医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準に従って取り扱ってください。
- 使用前に、各試薬カセット、希釈液、ライシス試薬、洗浄試薬を目視で点検し、漏出の形跡がないことを確認してください。漏出が認められる場合は、その材料を検査に使用しないでください。
- **cobas® omni** ライシス試薬には、潜在的に有害な化学物質であるグアニジンチオシアナートが含まれています。試薬が皮膚や眼、粘膜に触れないようにしてください。もしも触れた場合は、直ちに多量の水で洗い流してください。放置すると熱傷となることがあります。
- **cobas® HEV** テストキット、**cobas® omni** MGP 試薬、および **cobas® omni** 検体希釈液には、防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。試薬が皮膚や眼、粘膜に触れないようにしてください。もしも触れた場合は、直ちに多量の水で洗い流してください。放置すると熱傷となることがあります。これらの試薬をこぼした場合は水で希釈してから拭き取ってください。
- **cobas® omni** ライシス試薬にはグアニジンチオシアナートが含まれているため、次亜塩素酸ナトリウム (漂白) 液と接触させないでください。混合することによって毒性の高いガスが発生することがあります。
- お近くのロシュ担当者にご依頼いただければ安全性データシート (SDS) を提供いたします。
- 試料および試薬に接触した材料はすべて、国、州、地域の規制に従って廃棄してください。

医薬品の安全性に関する非臨床試験の実施の基準

- 口でピペット操作を行わないでください。
- 指定の作業場所では飲食または喫煙をしないでください。
- 試料および試薬を取り扱う際には、実験用手袋、実験着、保護眼鏡を着用してください。コンタミネーションを避けるため、試料、**cobas® HEV** テストキット、**cobas® omni** 試薬を取り扱う際にはそれぞれ手袋を交換してください。試料およびコントロールを取り扱う際は、手袋の汚染を避けてください。
- 検体やキット試薬を取り扱った後、および手袋を外した後はよく手を洗ってください。
- **cobas® 5800** 装置に何かがこぼれた場合、**cobas® 5800** システムのユーザーアシスタンスの説明に従って装置の表面を適切に洗浄し汚れを除去してください。
- 検査室の作業面すべてを蒸留水または脱イオン水で用事調製した 0.6% 次亜塩素酸ナトリウム溶液でよく洗浄、消毒してください。その後、70% エタノールで表面を拭いてください。

- **cobas® 6800/8800** 装置に何かがこぼれた場合、**cobas® 6800/8800** システムのユーザーアシスタンスの説明に従って装置の表面を適切に洗浄し汚れを除去してください。

検体の採取、輸送、保管、およびプーリング

注: 検体およびコントロールはすべて、感染性物質を伝播する可能性があるものとして取り扱ってください。

ドナー検体は全て規定の温度で保管してください。

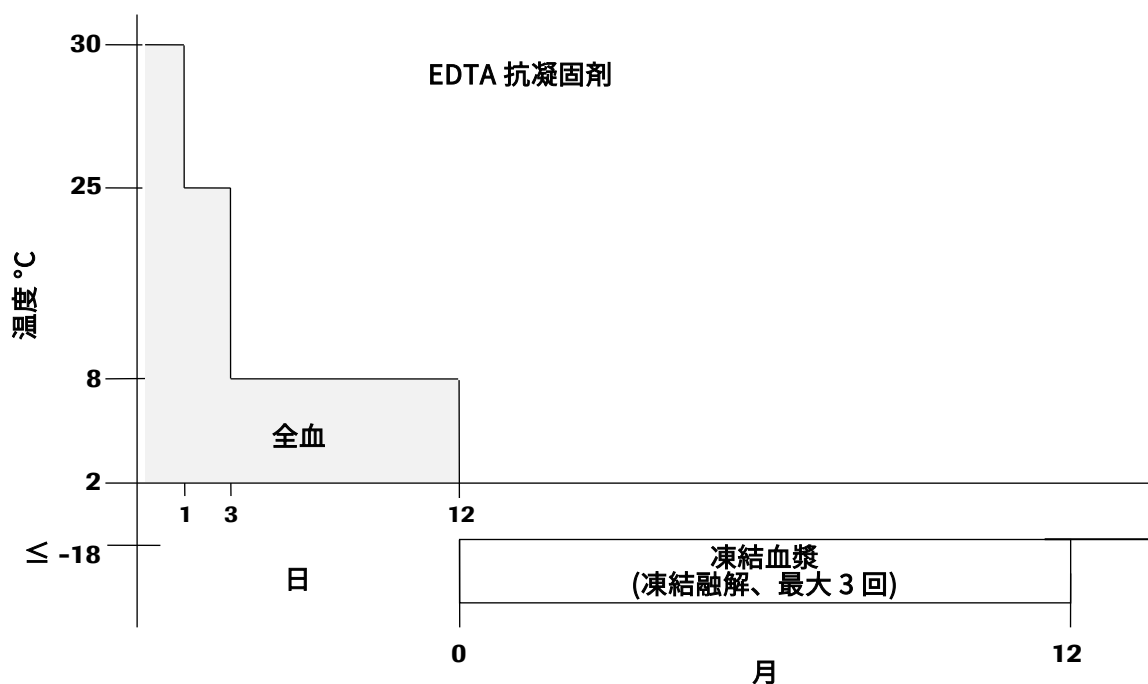
検体の安定性は温度上昇の影響を受けます。

生体ドナー検体

- EDTA、CPD、CPDA1、CP2D、4% クエン酸ナトリウムの抗凝固剤を使用して採取した血漿は、**cobas® HEV** テストに使用できます。取扱いと遠心分離については、検体採取用チューブ／バッグの製造業者の説明に従ってください。
- EDTA 抗凝固剤、ベクトン・ディッキンソン EDTA Plasma Preparation Tube (BD PPT™) または Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tube を使用して採取した検体は、ローディング、任意のプーリングまたは再検査の前に、さらに 600 x g で 5 分間遠心分離することがあります。
- EDTA 抗凝固剤を使用して採取した血液は、以下の条件下で最長 12 日間保管できます。
 - 採取後 72 時間以内に検体を遠心分離すること。
 - 8°C を超える温度で保管する場合、検体は 25°C 以下で 72 間保管可能で、72 時間のうち 24 時間は最高 30°C までで保管可能。

上記以外の場合、検体は 2~8°C で保管してください。また、細胞から分離した血漿は、凍結／融解サイクル 3 回、-18°C 以下で最長 12 ヶ月間保管できます。図 1 をご参照ください。

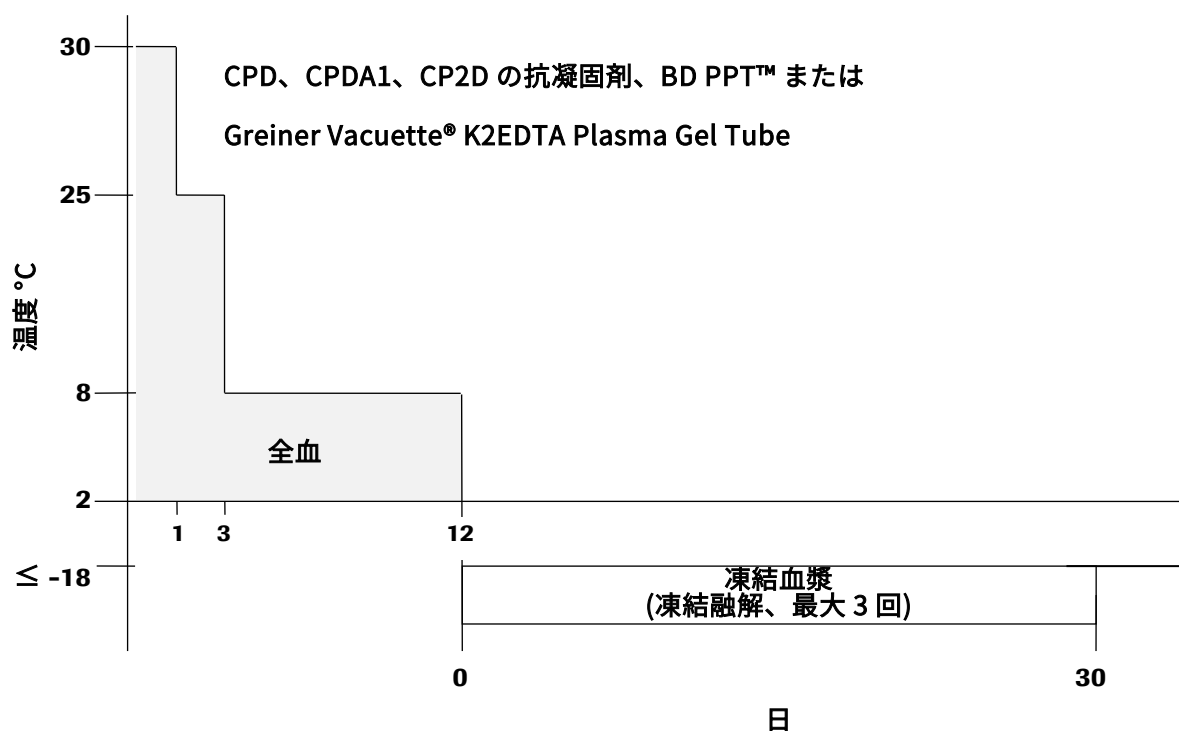
図 1 EDTA 抗凝固剤での検体保管条件



- CPD、CPDA1、CP2D の抗凝固剤、ベクトン・ディッキンソン EDTA Plasma Preparation Tube (BD PPT™) または Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tube を使用して採取した検体は、以下の条件下で最長 12 日間保管できます。
 - 採取後 72 時間以内に検体を遠心分離すること。
 - 8°C を超える温度で保管する場合、検体は 25°C 以下で 72 時間保管可能で、72 時間のうち 24 時間は最高 30°C までで保管可能。

上記以外の場合、検体は 2～8°C で保管してください。また、細胞から分離した血漿は、凍結／融解サイクル 3 回、-18°C 以下で最長 30 日間保管できます。図 2 をご参照ください。

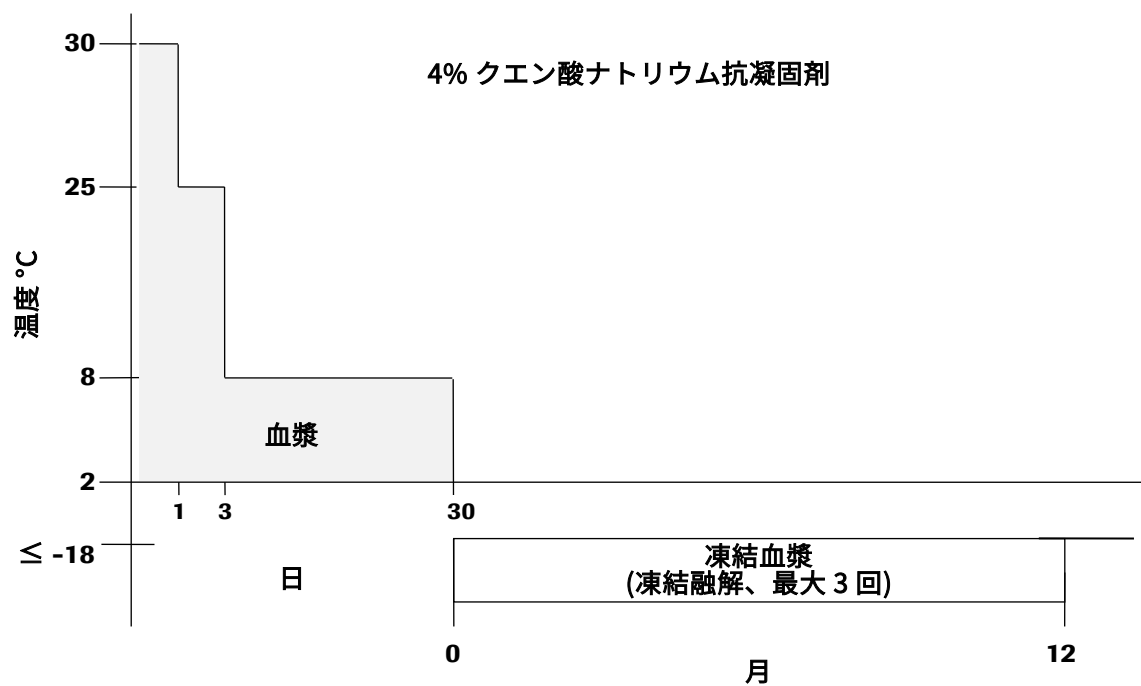
図2 検体保管条件



- 4% クエン酸ナトリウム抗凝固剤を使用して採取した血漿は、2～8°C で最長 30 日間保管できます。
 - 8°C を超える温度で保管する場合、検体は 25°C 以下で 72 時間保管可能で、72 時間のうち 24 時間は最高 30°C までで保管可能。

上記以外の場合、検体は 2～8°C で保管してください。また、細胞から分離した血漿は、凍結／融解サイクル 3 回、-18°C 以下で最長 12 ヶ月間保管できます。図 3 をご参照ください。

図3 4% クエン酸ナトリウム抗凝固剤での検体保管条件



- 検体を輸送する場合、検体および病原体の輸送に関する、国のおよび／または国際的な関係規制に従って梱包、ラベル表示する必要があります。

取扱いに関する説明

自動化によるピペッティングおよびプーリング (オプション)

cobas® p 680 装置と、**cobas® Synergy** ソフトウェア + Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet は、いずれも複数の一次検体のアリコートをもつプールの血漿にするピペッティングおよびプーリングを自動で行うオプションの装置として **cobas® 6800/8800** システムと共に使用できます。

cobas® Synergy ソフトウェア + Hamilton MICROLAB® STAR/STARlet IVD は、**cobas® 5800** システムの付属品として、複数の一次検体のアリコートをもつプールの血漿にするピペッティングおよびプーリングを自動で行う目的で使われます。

詳細については **cobas® p 680** 装置のユーザーアシスタンスまたは **cobas® Synergy** ソフトウェアのユーザーアシスタンスをご参照ください。

手技に関する注意

- 使用期限の切れた **cobas® HEV** テストの試薬、**cobas® HEV** コントロールキット、**cobas® NHP** 陰性コントロールキット、**cobas® omni** 試薬を使用しないでください。
- 消耗品は再使用しないでください。いずれも単回使用のみを目的としています。
- 装置に適したメンテナンスについては **cobas® 5800** システムのユーザーアシスタンスをご参照ください。
- 装置に適したメンテナンスについては **cobas® 6800/8800** システムのユーザーアシスタンスをご参照ください。

cobas® 5800 システムでの cobas® HEV テストの実施

検査手順の詳細は、cobas® 5800 システムのユーザーアシスタンスに記載されています。以下、図 4 に手順をまとめます。オプションのプーリングの手順の詳細については必要に応じて cobas® Synergy ソフトウェアのユーザーアシスタンスをご参照ください。

図 4 cobas® 5800 システムでの cobas® HEV テストの手順

1	ピペッティングおよびプーリング
2	システムへの検体ラックのローディング: - システムに検体ラックをローディングします - LIS オーダーが使用できない場合は手動で検査をオーダーします
3	システムの表示に従い試薬と消耗品の補充 - 検査固有の試薬カセットをローディングします - コントロール用ミニラックをローディングします - プロセッシングチップをローディングします - 溶出チップをローディングします - プロセッシングプレートでローディングします - 液体廃棄物プレートをローディングします - 増幅プレートをローディングします - MGP カセットをローディングします - 検体希釈液を補充します - ライシス試薬を補充します - 洗浄試薬を補充します
4	ユーザーインターフェース上のスタートボタンを選択して測定を開始します。 その後の測定は、手動で延期しなければ自動で開始されます。
5	結果の確認
6	検体チューブの取外し 装置の清掃: - 試薬カセットを空にします - コントロール用ミニラックを空にします - 増幅プレートドローを空にします - 液体廃棄物を空にします - 固形廃棄物を空にします

cobas® 6800/8800 システムでの cobas® HEV テストの実施

検査手順の詳細は、cobas® 6800/8800 システムのユーザーアシスタンスに記載されています。オプションのプーリングの詳細については必要に応じて cobas® p 680 装置のユーザーアシスタンスまたは cobas® Synergy ソフトウェアのユーザーアシスタンスをご参照ください。以下、図 5 に手順をまとめます。

図 5 cobas® 6800/8800 システムでの cobas® HEV テストの手順

1	ピペッティングおよびプーリング
2	オーダーの作成
3	システムの表示に従い試薬と消耗品の補充 • 洗浄試薬、ライシス試薬、希釈液を補充します • プロセッシングプレートおよび増幅プレートを補充します • 磁性ガラス粒子を補充します • 検査固有の試薬を補充します • コントロールカセットを補充します • チップラックを補充します • 凝血チップ用ラックを取り外します
4	測定開始: • 検体の入ったラックをローディングします • インターフェース上のスタートボタンを選択します
5	結果の確認とエクスポート
6	消耗品のアンローディング • 分析モジュールから増幅プレートを取り外します • 空のコントロールカセットをアンローディングします • 固形廃棄物を空にします • 液体廃棄物を空にします

結果

cobas® 5800 および cobas® 6800/8800 システムは自動で、検体とコントロールの HEV RNA を同時に検出します。

cobas® 5800 システムの品質管理および結果の妥当性

cobas® 5800 システムは、デフォルトでランごとにコントロール (陽性および陰性) をスケジュールする設定で納品されますが、ロシュのサービスエンジニアが、またはロシュのカスタマーテクニカルサポートに連絡して、検査室の手順および／または地域の規制に基づいて、コントロールスケジュールの回数を少なく設定することができます。

- 陰性コントロール 1 回 [(-) C] および陽性コントロール 1 回 [HEV (+) C] が少なくとも 24 時間ごと、またはキットのロットが新しくなるたびに処理されます。
- cobas® 5800 システムおよび／またはレポートで、フラグとそれに関連する結果をチェックしてコントロールの妥当性を確認してください。
- どのコントロールにもフラグが表示されていなければ、関連する検体は有効です。

結果の無効化は、陰性または陽性のコントロールの不具合に基づき、cobas® 5800 システムによって自動的に行われます。

cobas® 5800 システムでのコントロールの結果

コントロールの結果は、cobas® 5800 ソフトウェアの「Controls」アプリに表示されます。

- コントロールの標的がすべて有効と報告された場合、「コントロールの結果」欄に「有効」と表示されます。コントロールの標的がすべてまたは一部無効と報告された場合、「コントロールの結果」欄に「無効」と表示されます。
- 「無効」としてマークされたコントロールは、「フラグ」欄にフラグが表示されます。フラグ情報を含め、コントロールが無効と報告された理由の詳細に関する情報は、詳細ビューに表示されます。
- 陽性コントロールが無効な場合、陽性コントロールと関連するすべての検体の再検査を行ってください。陰性コントロールが無効な場合、すべてのコントロールと関連するすべての検体の再検査を行ってください。

表 11 cobas® 5800 システムでの陰性および陽性コントロールのコントロールフラグ

陰性コントロール	フラグ	コントロールの結果	解釈
(-) C	フラグが表示されます	無効	(-) C の結果が無効の場合、バッチ全体が無効となります
陽性コントロール	フラグ	コントロールの結果	解釈
HEV (+) C	フラグが表示されます	無効	HEV (+) C の結果が無効の場合、バッチ全体が無効となります

cobas® 6800/8800 システムの品質管理および結果の妥当性

- 各バッチにつき陰性コントロール 1 回 [(-) C] および陽性コントロール 1 回 [HEV (+) C] が処理される。
- cobas® 6800/8800 ソフトウェアおよび／またはレポートで、フラグとそれに関連する結果をチェックしてバッチの妥当性を確認してください。
- いずれのコントロールにもフラグが表示されていなければ、そのバッチは有効です。

結果の無効化は、陰性または陽性のコントロールの不具合に基づき、cobas® 6800/8800 ソフトウェアによって自動的に行われます。

cobas® 6800/8800 システムでのコントロールフラグ

表 12 陰性および陽性コントロールのコントロールフラグ

陰性コントロール	フラグ	結果	解釈
(-) C	Q02	無効	(-) C の結果が無効の場合、バッチ全体が無効となります
陽性コントロール	フラグ	結果	解釈
HEV (+) C	Q02	無効	HEV (+) C の結果が無効の場合、バッチ全体が無効となります

バッチが無効の場合、検体とコントロールを含め、バッチ全体の再検査を行ってください。

結果の解釈

有効なバッチについては、cobas® 5800/6800/8800 システムソフトウェアおよび／またはレポートで、個別の検体のフラグを確認してください。結果の解釈は以下のとおりです。

- 有効なバッチには、個別の検体から得られたフラグによって、有効と無効のドナー検体の結果が含まれます。
- 対応するバッチの陽性コントロールと陰性コントロールがそれぞれ有効な場合のみ、検体の結果が有効となります。

各検体で、HEV と内部コントロールという 2 つのパラメータを同時に測定します。cobas® HEV テストの最終的な検体の結果は、ソフトウェアで報告されます。全体の結果に加えて個別のターゲット結果が cobas® 5800/6800/8800 システムソフトウェアに表示され、解釈は以下のとおりです。

表 13 個別の標的結果の解釈のための標的結果

標的結果	解釈
HEV 非反応性	HEV の標的シグナルは検出されず、IC のシグナルは検出されました。
HEV 反応性	HEV の標的シグナルは検出され、IC のシグナルは検出される場合とされない場合があります。
無効	標的シグナルおよび内部コントロールシグナルが検出されませんでした。

cobas® Synergy ソフトウェアを使用する場合、最終結果の算出の確認は cobas® Synergy ソフトウェアで行う必要があります。

cobas® 5800 システムの結果を解釈するための追加情報

検体の結果は、cobas® 5800 システムに表示されます。cobas® Synergy ソフトウェアで結果を確認することが推奨されます。

- 有効なコントロールバッチ (システムのコントロール設定で定義される) に関連する検体は、「コントロール結果」欄に「有効」と表示されます。不具合なコントロールバッチに関連する検体は、「コントロール結果」欄に「無効」と表示されます。
- 検体の結果に関連するコントロールが無効であれば、検体の結果に以下のような特定のフラグが追加されます。
 - Q05D: 陽性コントロールが無効なため、結果の妥当性が確認できませんでした。
 - Q06D: 陰性コントロールが無効なため、結果のが確認できませんでした。

- 個別検体の標的結果についての「結果」欄の値は、上記表 13 に示す通りの解釈となります。
 - **cobas® 5800** システムには個別の標的結果が表示されます。全体の結果は、**cobas® Synergy** ソフトウェアの結果ビューにのみ表示されます。
 - 検体の結果およびフラグに関する詳細な情報については **cobas® 5800** システムのユーザーアシスタンスをご参照ください。

個別検体の再検査

標的について最終結果が無効であった検体チューブは再検査が必要です。

EDTA 抗凝固剤、ベクトン・ディッキンソン EDTA Plasma Preparation Tube (BD PPT™) または Greiner Vacuette® K2EDTA Plasma Gel Tube を使用して採取した検体は、さらに 600 x g で 5 分間遠心分離することで無効な結果の繰り返しを減らすのに役立つことがあります。

手技の限界

- **cobas® HEV** テストは、**cobas® HEV** コントロールキット、**cobas® NHP** 陰性コントロールキット、**cobas® omni MGP** 試薬、**cobas® omni** ライシス試薬、**cobas® omni** 検体希釈液、および **cobas® omni** 洗浄試薬を併用して、**cobas® 6800/8800** システムで使用した場合のみで評価を実施しています。
- 結果の信頼性は、検体の採取、保管、取扱い手技の適切性に依存しています。
- ヘパリンは PCR を阻害することが示されているため、この検査にヘパリン化血漿を使用しないでください。
- HEV RNA の検出は、検体中に存在するウイルス粒子の数に依存し、検体の採取、保管、取扱い、患者の要因 (すなわち年齢、症状の有無) や感染の段階、プールサイズに影響を受ける可能性があります。
- 稀ではありますが、**cobas® HEV** テストの対象となるウイルスゲノムの高度に保存された領域内に変異があると、プライマーやプローブの結合に影響を受け、ウイルスの存在を検出できなくなることがあります。
- 各技術に固有の差があるため、ある技術から別の技術に切り替える前に、ユーザーが各自の検査室で検査法の相関性に関する試験を行い、技術の差を確認することが推奨されます。ユーザーは各自の方針／手順に従う必要があります。

システムの同等性／システムの比較

cobas® 5800 システムと cobas® 6800/8800 システムの同等性は、同等性試験で示されました。

これらの取扱い説明書に示す結果は、すべてのシステムの性能が同等であるに基づいています。

cobas® 6800/8800 システムで実行される非臨床性能評価

主な性能特性－生体ドナー検体

検出限界 (LoD)

WHO 国際標準品

cobas® HEV テストにおける HEV RNA の検出限界 (LoD) は、WHO HEV 国際標準品 (PEI コード 6329/10) を用いて決定しました。

WHO 国際標準品について、正常なウイルス陰性 (HEV) ヒト EDTA 血漿を用いて、ウイルス標準の 3 種類の独立した希釈系列を調製しました。各希釈系列を、cobas® HEV テストキットの 3 つの異なるロットを用いて、1 ロット当たり約 63 回、1 濃度当たり計約 189 回反復して検査しました。HEV ウイルスについては、希釈系列と試薬ロットで組み合わせたデータの 95% PROBIT 解析 (表 14) および 50% PROBIT 解析 (表 15) を用いて、LoD ならびに 95% 信頼区間の下限と上限を推定しました。HEV の LoD 試験で観察された反応率を表 16 に要約します。

表 14 EDTA 血漿中のウイルス標準で収集した LoD データの 95 パーセント PROBIT 解析の結果

解析項目	測定単位	LoD	95% 信頼限界の下限	95% 信頼限界の上限
HEV	IU/mL	18.6	15.9	22.6

表 15 EDTA 血漿中のウイルス標準で収集した LoD データの 50 パーセント PROBIT 解析の結果

解析項目	測定単位	LoD	95% 信頼限界の下限	95% 信頼限界の上限
HEV	IU/mL	3.9	3.4	4.3

表 16 EDTA 血漿中の HEV の反応率の要約

HEV RNA 濃度 (IU/mL)	反応性の数	有効な反復回数	反応率 (%)	95% 信頼区間の下限 (片側)
40	187	187	100.0%	98.4パーセント
20	179	188	95.2パーセント	91.8パーセント
10	165	189	87.3パーセント	82.6パーセント
6	113	187	60.4パーセント	54.2パーセント
2	52	189	27.5パーセント	22.2パーセント

再現性

cobas® 6800/8800 システムにおける cobas® HEV テストの再現性を WHO HEV 国際標準品 (PEI コード 6329/10) を用いて検討しました。この試験では、cobas® HEV テストの LoD の約 0.5 倍、1 倍、2 倍の濃度の HEV 3 パネルを検査しました。以下の変動要素について検査を実施しました。

- 3 日間の日間変動
- cobas® HEV テストの 3 つの異なる試薬ロットを用いたロット間変動
- 3 つの異なる cobas® 8800 システムを用いた装置間変動

3 つのパネルそれぞれで約 21 回、各試薬ロットで計 63 回反復して検査しました。有効な再現性データをすべて、すべての変動要素にわたって、各濃度レベルの反応性の検査結果の割合を算出して評価しました。

3 日間、3 つの試薬ロット、3 台の cobas® 8800 システムで検査した 3 レベルの HEV それぞれについて、各反応率の両側 95% 信頼区間の限界を算出しました。cobas® HEV テストには、複数日、複数試薬、複数装置で再現性が認められた。試薬のロット間変動を表 17 に要約します。

表 17 cobas® HEV テスト試薬のロット間の再現性の要約

解析項目	濃度	試薬のロット	反応率 (%) (反応性／有効な反復)	95% 信頼区間の下限	95% 信頼区間の上限
HEV	2 × LoD	1	100.0% (61/61)	94.1パーセント	100.0%
HEV	2 × LoD	2	100.0パーセント (63/63)	94.3パーセント	100.0%
HEV	2 × LoD	3	100.0パーセント (63/63)	94.3パーセント	100.0%
HEV	1 × LoD	1	88.9% (56/63)	78.4パーセント	95.4パーセント
HEV	1 × LoD	2	96.8パーセント (60/62)	88.8パーセント	99.6パーセント
HEV	1 × LoD	3	100.0パーセント (63/63)	94.3パーセント	100.0%
HEV	0.5 × LoD	1	82.5パーセント (52/63)	70.9パーセント	90.9パーセント
HEV	0.5 × LoD	2	95.2パーセント (60/63)	86.7パーセント	99.0パーセント
HEV	0.5 × LoD	3	84.1パーセント (53/63)	72.7パーセント	92.1パーセント

ジェノタイプの検証

cobas® HEV テストによる 4 つのジェノタイプの検出性能を、計 16 の固有な臨床検体とジェノタイプがわかっている 7 つの HEV 培養分離株を検査して検討しました。すべての検体は、HEV WHO 標準品までさかのぼれる定量を行いました。16 の臨床検体はすべて、正常なウイルス陰性 (HEV) ヒト EDTA 血漿で cobas® HEV テストの LoD の 5 倍まで希釈してから検査し、そのうち 10 検体は希釈なしでも検査しました。7 つの分離株はすべて、正常なウイルス陰性 (HEV) ヒト EDTA 血漿で cobas® HEV テストの LoD の 5 倍まで希釈してから検査しました。臨床検体と培養分離株はすべて、希釈なしおよび／または LoD の 5 倍で検出されました (表 18)。

表 18 HEV の臨床検体および培養分離株

ジェノタイプ	臨床検体	臨床検体	培養分離株
	反応率 (%) (反応性／検査した検体) 希釈なし	反応率 (%) (反応性／検査した検体) LoD の 5 倍まで希釈	反応率 (%) (反応性／検査した検体) LoD の 5 倍まで希釈
1	検査未実施*	検査未実施*	100.0% (3/3)
2	検査未実施*	検査未実施*	100.0% (1/1)
3	100.0% (10/10)	100.0% (10/10)	検査未実施*
4	検査未実施*	100.0% (6/6)	100.0% (3/3)

*希釈なし／ありで検査するのに十分な量が得られなかった。

分析特異性

cobas® HEV テストの分析特異性を、28 種の微生物 (ウイルス 21 株、細菌 6 株、酵母 1 株) との 10^6 粒子、コピー、PFU/mL での交差反応性について評価しました (表 19)。微生物は正常なウイルス陰性ヒト EDTA 血漿に添加し、cobas® HEV テストの LoD の約 3 倍の濃度に HEV を添加したものと添加しないものとで検査しました。検査した微生物は、cobas® HEV テストと交差反応や干渉を生じません。

表 19 分析特異性を検査した微生物

ウイルス	フラビウイルス	細菌	酵母
アデノウイルス 5	ウエストナイルウイルス	大腸菌	カンジダ・アルビカンス
サイトメガロウイルス	デングウイルス 1 型	アクネ菌	-
エプスタイン・バーウイルス	Usutu ウイルス	黄色ブドウ球菌	-
単純ヘルペスウイルス 1 型	-	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	-
単純ヘルペスウイルス 2 型	-	緑色連鎖球菌	-
A 型肝炎ウイルス	-	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	-
B 型肝炎ウイルス	-	-	-
C 型肝炎ウイルス	-	-	-
G 型肝炎ウイルス	-	-	-
ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1 グループ M)	-	-	-
ヒト免疫不全ウイルス (HIV-2)	-	-	-
ヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型	-	-	-
ヒト T リンパ球向性ウイルス 2 型	-	-	-
ヒトヘルペスウイルス 6	-	-	-
インフルエンザウイルス A	-	-	-
パルボウイルス B19	-	-	-
チクングニアウイルス	-	-	-
水痘帯状疱疹ウイルス	-	-	-

それぞれの疾患状態の血漿検体 (表 20) を、cobas® HEV テストの LoD の約 3 倍の濃度に HEV を添加したものと添加しないものとで検査しました。検査した疾患状態は、cobas® HEV テストと交差反応や干渉を生じません。

表 20 分析特異性を検査した疾患状態の検体

疾患の状態	疾患の状態	疾患の状態
アデノウイルス 5 型	B 型肝炎ウイルス	ヒト T リンパ球向性ウイルス 1 型
サイトメガロウイルス	C 型肝炎ウイルス	ヒト T リンパ球向性ウイルス 2 型
デングウイルス	単純ヘルペスウイルス 1 型	パルボウイルス B19
エプスタイン・バーウイルス	単純ヘルペスウイルス 2 型	ウエストナイルウイルス
A 型肝炎ウイルス	ヒト免疫不全ウイルス (HIV-1)	-

分析の特異性－妨害物質

内因性妨害物質

トリグリセリド (最大 33.2 g/L)、ヘモグロビン (最大 4.7 g/L)、非抱合型ビリルビン (最大 0.28 g/L)、アルブミン (最大 60 g/L)、ヒト DNA (最大 0.004 g/L) が異常に高値の血漿検体を、cobas® HEV テストの LoD の約 3 倍の濃度に HEV を添加したものと添加しないものとで検査しました。これらの内因性妨害物質を含有する検体は、cobas® HEV テストの感度と特異度に干渉しませんでした。

外因性妨害物質

薬剤 (表 21) 濃度が異常に高い、正常なウイルス陰性 (HEV) ヒト EDTA 血漿検体を、cobas® HEV テストの LoD の約 3 倍の濃度に HEV を添加したものと添加しないものとで検査しました。これらの外因性妨害物質は、cobas® HEV テストの感度と特異度に干渉しませんでした。

表 21 薬剤と検査した臨床検体

検査した薬剤名	濃度
アセトアミノフェン	1324 µmol/L
アセチルサリチル酸	3620 µmol/L
アスコルビン酸	342 µmol/L
アトルバスタチン	600 µg Eq/L
フルオキセチン	11.2 µmol/L
イブプロフェン	2425 µmol/L
ロラタジン	0.78 µmol/L
ナドロール	3.88 µmol/L
ナプロキセン	2170 µmol/L
パロキセチン	3.04 µmol/L
フェニレフリン塩酸塩	491 µmol/L
セルトラリン	1.96 µmol/L

相関性

Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 テストと比較した cobas® HEV テストの性能評価

cobas® HEV テストと Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 テスト (Altona Diagnostics 社) の性能を個別の HEV NAT 陽性血漿検体 100 件を用いて比較しました。陽性検体 100 件を希釈せずに検査し、陽性検体 67 件を 1:6 希釈で検査しました。さらに、HEV 陰性血漿検体 100 件を希釈せず 2 つの方法で検査しました。

血清陰性検体は 100% の特異度を示し、いずれの方法でも非反応性の結果が 100 件中 100 件でした。

陽性検体については、McNemar 検定で 2 つの方法が一致し、cobas® HEV テストと Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 テストの性能が同等であることが示されました (表 22)。

表 22 陽性検体の相関性 (希釈なし)

方法	方法	HEV の結果	HEV の結果
Realstar® HEV RT-PCR Kit 1.0 テスト	cobas® HEV	希釈なし	1:6 希釈
非反応性	非反応性	0	3
反応性	非反応性	0	3
非反応性	反応性	1	9
反応性	反応性	99	52
計	計	100	67
McNemar 検定、p 値 (両側、 $\alpha = 0.05$)	McNemar 検定、p 値 (両側、 $\alpha = 0.05$)	1.00	0.09

全システム不具合

cobas® HEV テストの全システム不具合率を、HEV をスパイクした EDTA 血漿を 100 回反復検査して検討しました。これらの検体の検査は、LoD の約 3 倍の標的濃度で行い、1 プール (未希釈) で測定しました。試験は cobas® 8800 システムと cobas® p 680 装置 (ピペッティングおよびプーリング) を併用して実施しました。

この試験の結果、すべての反復が HEV に対して反応性で、全システム不具合率は 0% と決定しました。両側 95% 正確信頼区間は、下限 0%、上限 3.62% [0%: 3.62%] でした。

追加情報

主な検査特性

検体種	血漿
検体必要量	1000 µL *
検体処理量	850 µL

* 検査に用いるチューブによってデッドボリュームが異なり、最少量が上下する場合があります。詳細についてはお近くのロシュサービス担当者にご連絡ください。

図記号

ロシュ PCR 診断製品のラベル表示では以下の図記号を使用しています。

表 23 ロシュ PCR 診断製品のラベル表示で使用する図記号

Age/DOB 年齢または生年月日	 患者近傍検査用機器ではない	QS IU/PCR PCR 反応に QS IU、PCR 反応の結果の算出に QS 国際単位 (IU) を使用
 付属ソフトウェア	 自己検査用機器ではない	
Assigned Range [copies/mL] 規定範囲 (コピー/mL)	 代理店 (注: 図記号の下に、該当する国/地域を記載)	SN シリアル番号
Assigned Range [IU/mL] 規定範囲 (IU/mL)	 再使用禁止	Site 施設
EC REP 欧州共同体での指定代理人	 女性	Procedure Standard 標準手順
BARCODE バーコードデータシート	 IVD 性能評価専用	STERILE EO エチレンオキไซด์を使用して滅菌済み
LOT バッチコード	GTIN 国際商品識別番号	 暗所で保管
 生物学的リスク	 輸入業者	 温度制限
REF カタログ番号	IVD 体外診断用医療機器	 検査定義ファイル
 CE 適合マーク: 本機器は体外診断医療機器の CE マークの該当要件に適合しています	LLR 規定範囲下限	 天地無用
Collect Date 採取日	 男性	Procedure UltraSensitive 極めて繊細な手技
 取扱説明書を参照	 製造業者	UDI 一意の装置識別子
 検査 <n> 回分に十分な量	CONTROL - 陰性コントロール	ULR 規定範囲上限
CONTENT キットの構成	 未滅菌	Urine Fill Line 尿採取ライン
CONTROL コントロール	 患者氏名	Rx Only 米国のみ: 連邦法により、本機器の販売は医師の注文に限られます
 製造年月日	 患者番号	
 患者近傍検査用機器	 ここからはがす	 使用期限
 ではない	CONTROL + 陽性コントロール	
	QS copies / PCR PCR 反応に QS コピー、PCR 反応の結果の算出に QS コピーを使用	

テクニカルサポート

テクニカルサポート (アシスタンス) が必要な場合は、お近くの支社までご連絡ください:

https://www. Roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

製造販売業者および輸入業者

表 24 製造業者および輸入業者



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www. Roche.com

米国製



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

商標および特許

<https://diagnostics. Roche.com/us/en/about-us/patents> をご参照ください。

Copyright

©2023 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



参考文献

1. Kamar N, Bendall R, Legrand-Abravanel F, et al. Hepatitis E. *Lancet*. 2012;379:2477-88.
2. Ahmad I, Holla RP, Jameel S. Molecular virology of hepatitis E virus. *Virus Res*. 2011;161:47-58.
3. Meng XJ, Purcell RH, Halbur PG, et al. A novel virus in swine is closely related to the human hepatitis E virus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997;94:9860-5.
4. Yugo DM, Meng XJ. Hepatitis E virus: foodborne, waterborne and zoonotic transmission. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10:4507-33.
5. Balayan MS, Andjaparidze AG, Savinskaya SS, et al. Evidence for a virus in non-A, non-B hepatitis transmitted via the fecal-oral route. *Intervirology*. 1983;20:23-31.
6. Dalton HR, Bendall R, Ijaz S, Banks M. Hepatitis E: an emerging infection in developed countries. *Lancet Infect Dis*. 2008;8:698-709.
7. Meng XJ. Hepatitis E as a zoonotic disease in the United States. Oral presentation at: National Institutes of Health Research Workshop: Hepatitis E in the United States; 7-8 March 2012; Bethesda, Maryland.
8. Mansuy JM, Peron JM, Abravanel F, et al. Hepatitis E in the south west of France in individuals who have never visited an endemic area. *J Med Virol*. 2004;74:419-24.
9. Dalton HR, Stableforth W, Thuraiarah P, et al. Autochthonous hepatitis E in Southwest England: natural history, complications and seasonal variation, and hepatitis E virus IgG seroprevalence in blood donors, the elderly and patients with chronic liver disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20:784-90.
10. Wichmann O, Schimanski S, Koch J, et al. Phylogenetic and case-control study on hepatitis E virus infection in Germany. *J Infect Dis*. 2008;198:1732-41.
11. Dalton HR, Fellows HJ, Gane EJ, et al. Hepatitis E in New Zealand. *J Gastroenterol Hepatol*. 2007;22:1236-40.
12. Tsang TH, Denison EK, Williams HV, et al. Acute hepatitis E infection acquired in California. *Clin Infect Dis*. 2000;30:618-9.
13. Teo CG. Much meat, much malady: changing perceptions of the epidemiology of hepatitis E. *Clin Microbiol Infect*. 2010;16:24-32.
14. Colson P, Borentain P, Queyriaux B, et al. Pig liver sausage as a source of hepatitis E virus transmission to humans. *J Infect Dis*. 2010;202:825-34.
15. Matsuda H, Okada K, Takahashi K, Mishiro S. Severe hepatitis E virus infection after ingestion of uncooked liver from a wild boar. *J Infect Dis*. 2003;188:944.
16. Tei S, Kitajima N, Takahashi K, Mishiro S. Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. *Lancet*. 2003;362:371-3.
17. Gotanda Y, Iwata A, Ohnuma H, et al. Ongoing subclinical infection of hepatitis E virus among blood donors with an elevated alanine aminotransferase level in Japan. *J Med Virol*. 2007;79:734-42.
18. Mitsui T, Tsukamoto Y, Suzuki S, et al. Serological and molecular studies on subclinical hepatitis E virus infection using periodic serum samples obtained from healthy individuals. *J Med Virol*. 2005;76:526-33.

19. Nelson KE, Kmush B, Labrique AB. The epidemiology of hepatitis E virus infections in developed countries and among immunocompromised patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2011;9:1133-48.
20. Navaneethan U, Al Mohajer M, Shata MT. Hepatitis E and pregnancy: understanding the pathogenesis. *Liver Int.* 2008;28:1190-9.
21. Jilani N, Das BC, Husain SA, et al. Hepatitis E virus infection and fulminant hepatic failure during pregnancy. *J Gastroenterol Hepatol.* 2007;22:676-82.
22. Peron JM, Bureau C, Poirson H, et al. Fulminant liver failure from acute autochthonous hepatitis E in France: description of seven patients with acute hepatitis E and encephalopathy. *J Viral Hepat.* 2007;14:298-303.
23. Ramachandran J, Eapen CE, Kang G, et al. Hepatitis E superinfection produces severe decompensation in patients with chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol.* 2004;19:134-8.
24. Rein DB, Stevens GA, Theaker J, Wittenborn JS, Wiersma ST. The global burden of hepatitis E virus genotypes 1 and 2 in 2005. *Hepatology.* 2012;55:988-97.
25. Dalton HR, Bendall RP, Rashid M, et al. Host risk factors and autochthonous hepatitis E infection. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2011;23:1200-5.
26. Dalton HR, Hazeldine S, Banks M, Ijaz S, Bendall R. Locally acquired hepatitis E in chronic liver disease. *Lancet.* 2007;369:1260.
27. Kamar N, Selves J, Mansuy JM, et al. Hepatitis E virus and chronic hepatitis in organ-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2008;358:811-7.
28. Gerolami R, Moal V, Colson P. Chronic hepatitis E with cirrhosis in a kidney-transplant recipient. *N Engl J Med.* 2008;358:859-60.
29. Haagsma EB, van den Berg AP, Porte RJ, et al. Chronic hepatitis E virus infection in liver transplant recipients. *Liver Transpl.* 2008;14:547-53.
30. Kamar N, Garrouste C, Haagsma EB, et al. Factors associated with chronic hepatitis in patients with hepatitis E virus infection who have received solid organ transplants. *Gastroenterology.* 2011;140:1481-9.
31. Colson P, Kaba M, Moreau J, Brouqui P. Hepatitis E in an HIV-infected patient. *J Clin Virol.* 2009;45:269-71.
32. Peron JM, Mansuy JM, Recher C, et al. Prolonged hepatitis E in an immunocompromised patient. *J Gastroenterol Hepatol.* 2006;21:1223-4.
33. Tamura A, Shimizu YK, Tanaka T, et al. Persistent infection of hepatitis E virus transmitted by blood transfusion in a patient with T-cell lymphoma. *Hepatol Res.* 2007;37:113-20.
34. Matsubayashi K, Nagaoka Y, Sakata H, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E caused by apparently indigenous hepatitis E virus strain in Hokkaido, Japan. *Transfusion.* 2004;44:934-40.
35. Mitsui T, Tsukamoto Y, Yamazaki C, et al. Prevalence of hepatitis E virus infection among hemodialysis patients in Japan: evidence for infection with a genotype 3 HEV by blood transfusion. *J Med Virol.* 2004;74:563-72.
36. Boxall E, Herborn A, Kochethu G, et al. Transfusion-transmitted hepatitis E in a 'nonhyperendemic' country. *Transfus Med.* 2006;16:79-83.
37. Colson P, Coze C, Gallian P, et al. Transfusion-associated hepatitis E, France. *Emerg Infect Dis.* 2007;13:648-9.

38. Khuroo MS, Kamili S, Yattoo GN. Hepatitis E virus infection may be transmitted through blood transfusions in an endemic area. *J Gastroenterol Hepatol*. 2004;19:778-84.
39. Zaaijer HL, Kok M, Lelie PN, et al. Hepatitis E in the Netherlands: imported and endemic. *Lancet*. 1993;341:826.
40. Christensen PB, Engle RE, Hjort C, et al. Time trend of the prevalence of hepatitis E antibodies among farmers and blood donors: a potential zoonosis in Denmark. *Clin Infect Dis*. 2008;47:1026-31.
41. Boutrouille A, Bakkali-Kassimi L, Cruciere C, Pavio N. Prevalence of anti-hepatitis E virus antibodies in French blood donors. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2009-10.
42. Kaufmann A, Kenfak-Foguena A, Andre C, et al. Hepatitis E virus seroprevalence among blood donors in southwest Switzerland. *PLoS One*. 2011;6:e21150.
43. Vollmer T, Diekmann J, Johne R, et al. Novel approach for detection of hepatitis E virus infection in German blood donors. *J Clin Microbiol*. 2012;50:2708-13.
44. Takeda H, Matsubayashi K, Sakata H, et al. A nationwide survey for prevalence of hepatitis E virus antibody in qualified blood donors in Japan. *Vox Sang*. 2010;99:307-13.
45. Beale MA, Tettmar K, Szypulska R, Tedder RS, Ijaz S. Is there evidence of recent hepatitis E virus infection in English and North Welsh blood donors? *Vox Sang*. 2011;100:340-2.
46. Ijaz S, Szypulska R, Tettmar KI, Kitchen A, Tedder RS. Detection of hepatitis E virus RNA in plasma mini-pools from blood donors in England. *Vox Sang*. 2012;102:272.
47. Guo QS, Yan Q, Xiong JH, et al. Prevalence of hepatitis E virus in Chinese blood donors. *J Clin Microbiol*. 2010;48:317-8.
48. Baylis SA, Hanschmann KM, Blumel J, Nubling CM, HEV Collaborative Study Group. Standardization of hepatitis E virus (HEV) nucleic acid amplification technique-based assays: an initial study to evaluate a panel of HEV strains and investigate laboratory performance. *J Clin Microbiol*. 2011;49:1234-9.
49. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. *Gene*. 1990;93:125-8.
50. Savva R, McAuley-Hecht K, Brown T, Pearl L. The structural basis of specific base-excision repair by uracil-DNA glycosylase. *Nature*. 1995;373:487-93.
51. Mol CD, Arvai AS, Slupphaug G, et al. Crystal structure and mutational analysis of human uracil-DNA glycosylase: structural basis for specificity and catalysis. *Cell*. 1995;80:869-78.
52. Higuchi R, Dollinger G, Walsh PS, Griffith R. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. *Biotechnology (N Y)*. 1992;10:413-7.
53. Heid CA, Stevens J, Livak KJ, Williams PM. Real time quantitative PCR. *Genome Res*. 1996;6:986-94.
54. Chosewood LC, Wilson DE, eds. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. US Department of Health and Human Services; 2009.
55. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*. 4th ed. M29-A4. Clinical and Laboratory Standards Institute: Wayne, PA; 2014.

文書改訂

文書改訂情報	
Doc Rev. 2.0 2023 年 09 月	全体での cobas® 5800 装置の追加。 「検査手技の原理」セクションを更新した。 「cobas® 5800 システムにおける試薬の取扱い要件」セクションを追加した。 「cobas® 5800 システムに追加で必要な材料」セクションを追加した。 「必要な器具類およびソフトウェア」セクションを更新した。 「使用上の注意および取扱いの要件」セクションを更新した。 「取扱いに関する説明」セクションを更新した。 「結果」セクションを更新し、「システムの同等性／システムの比較」セクションを追加した。 cobas® ブランディングを更新した。 お尋ねになりたい点がある場合は、お近くのロシュ担当者までお問い合わせください。

安全と性能レポートの概要は、次のリンクからご覧ください。

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>