

GeneFinder™ HLA-B*58:01 Plus RealAmp Kit

(약물유전체검사시약 N03010.01[3])

본 제품은 [체외진단의료기기] 임.

1. 사용목적

사람의 전혈에서 추출된 유전자(DNA)에서 HLA-B*58:01 대립유전자를 실시간 증합효소 연쇄반응(Real-time PCR)로 정성하여 알로푸리놀에 의한 심각한 피부 이상 반응이 유발될 가능성이 큰 환자를 식별하는데 도움을 주는 체외진단의료기기.

2. 시약의 명칭 및 구성

본 제품은 체외진단용 시약으로 B5801 Plus RM, B5801 Plus PM, B5801 Plus PC 로 구성된다. 1 kit 당 50 회 테스트가 가능하다.

일련 번호	명 칭	세부 구성	외관상 특징	Cap label color	용량
1	B5801 Plus RM	단일 구성	투명한 플라스틱 용기에 담겨있는 무색 투명의 액상시약	연보라색	1 X 500 μ l
2	B5801 Plus PM	단일 구성	암갈색 플라스틱 용기에 담겨있는 연파란색 액상시약	흰색	1 X 250 μ l
3	B5801 Plus PC	단일 구성	투명한 플라스틱 용기에 담겨있는 무색 투명의 액상시약	붉은색	1 X 50 μ l

사용설명서 1 부 (Quick Manual)

3. 사용방법

1) 검체 준비 및 DNA 추출

본 제품에 사용되는 검체는 헤파린(Heparin)을 제외한 항응고제 (K2-EDTA, K3-EDTA, Sodium Citrate)가 포함되어 있는 튜브에 채혈 된 전혈에서 추출한 genomic DNA이다. 혈액 샘플은 반드시 실험실 가이드라인에 따라서 수집해야 한다.

검체 보관

검체(전혈)은 2°C~8°C 에서 냉장 보관하고 3 일 이내의 신선한 혈액에서 DNA 추출해야 하며, -70°C 이하에서 6 개월간 보관이 가능하다. 검체의 불필요한 반복 냉/해동은 동결 침전물 등 DNA 추출에 영향을 미치므로 한번 해동한 검체는 다시 냉동하지 않는다.

추출 장비 및 시약

상용화된 DNA extraction kit 제품을 사용할 것을 권장한다. 본 제품에 사용할 DNA 의 권장 농도는 10-100ng/ μ l이다.

모델명	품목허가번호
MagNA Pure 24	체외수신17-1340호
MagNA Pure 24 Total NA Isolation Kit	체외수신17-1338호
QIAamp DSP DNA Blood Mini Kit	서울체외수신13-2990호
NP968 (LIBEX)	체외수신20-1667호
T146H (Whole Blood Genomic DNA Extraction Kit)	체외수신21-1호

2) 검사 전 준비 과정

(1) 장비의 준비

본 제품에 적용할 수 있는 실시간 유전자 증폭장치는 아래와 같으며, 장비의 매뉴얼을 참고한다.

모델명	품목허가번호
Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR Instrument System	체외수신12-365호
Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR Instrument System	체외수신12-468호
CFX96™ Dx Real-Time PCR Detection System	체외수신10-205호
SLAN-96P Real-Time PCR system	체외수신12-373호
QuantStudio 5 Dx Real-Time PCR Instrument	체외수신18-4532호

(2) 조건 설정

핵산 증폭을 위하여 형광 및 PCR 조건을 아래와 같이 설정한다.

채널 (Channel)	HLA-B*58:01 타겟	Internal Control 타겟
	FAM	Cy5
Reference Dye*	ROX	

비고. *ABI 7500, ABI 7500 Fast, QuantStudio 5 장비의 경우에만 Reference Dye 를 선택한다.

Step	Temperature	Time	Cycle
1	96 °C	5 min	1 cycle
2	96 °C	25 sec	5 cycles
	70 °C	45 sec	
	72 °C	30 sec	
3	96 °C	25 sec	30 cycles
	65 °C*	45 sec	
	72 °C	30 sec	

*3 Step 중 두 번째 단계인 65°C에서 data collection ON 을 하도록 선택한다.

(3) 시약의 준비

실험을 실시하기 직전에 B5801 Plus RM, B5801 Plus PM 및 B5801 Plus PC 시약을 상온에서 완전히 녹이고 5 초간 원심 분리하여 실험에 즉시 사용한다.

3) 검사 과정

- Master mixture 를 제조하기 위하여 필요한 양만큼의 B5801 Plus RM, B5801 Plus PM 시약을 준비한다.

Note. 1 test 용 준비 시 B5801 Plus RM 10 μ l, B5801 Plus PM 5 μ l를 혼합한다.

- Master mixture 를 잘 혼합한 후 96 well plate 또는 8-strips 에 15 μ l씩 분주한다.

- 검사하고자 하는 샘플을 5 μ l씩 분주한다.

- PCR 과정의 오류를 확인하기 위하여 positive control 5 μ l를 분주하고 no template control 로 D.W 5 μ l를 분주한다.

Note. 1 test 당 총 Reaction volume 은 20 μ l 이다.

- Real Time PCR 장비에 넣고 PCR 조건에 따라 증폭 반응을 실시한다.

4) 결과 판정

- 각 장비 별로 다음과 같은 기준을 적용하여 데이터 분석을 실시한다.

장비	Threshold 설정		Baseline 설정
	B*58:01 (FAM)	IC (Cy5)	
ABI 7500	0.1	0.1	6-15
ABI 7500 Fast	0.1	0.1	6-15
Bio-Rad CFX96	500	300	6-15
SLAN-96P	0.05	0.2	1-15
QuantStudio 5	0.1	0.1	6-15

- 장비에서 측정된 샘플의 Ct 값을 확인하여 B58:01 대립유전자 양성 또는 음성으로 판정하는데 다음의 표를 참조하여 결과를 판독한다.

Ct 값		결과	비고
HLA-B*58:01 (FAM)	Internal control (Cy5)		
16-26	≤ 30	B*58:01 양성	높은 양성 결과가 나타날 때 IC 의 증폭이 약하거나 보이지 않을 수 있으나 타겟 Ct 값이 기준 범위에 포함된다면 B*58:01 결과는 양성으로 판정한다.
Undetermined 또는 <16 또는 >26	≤ 30	B*58:01 음성	-
Undetermined 또는 <16 또는 >26	Undetermined	유효하지 않음	핵산추출 과정부터 실험을 다시 실시한다.

5) 정도관리

Positive control 및 No template control (Ultrapure Water)을 이용하여 사용방법에 따라서 실험 시 결과가 다음과 같이 측정되어야 한다.

Positive control (B5801 Plus PC, Kit 에 함께 제공됨)

Ct 값 범위	HLA-B*58:01 (FAM)	Internal Control (Cy5)
Positive control	18±3	18±3

No Template control (Kit 에 포함되지 않음)

Ct 값 범위	HLA-B*58:01 (FAM)	Internal Control (Cy5)
No Template control	U.D*	U.D

Note: U.D*, * Undetermined 약자로 ABI7500, ABI7500 fast, QuantStudio 5 장비의 display 에서 표기된다. 장비에 따라 증폭하지 않은 값을 표기하는 방식이 다르다.

Note: Bio-Rad CFX96 : N/A, Not applicable; SLAN-96P : No

4. 성능

번호	성능 항목	결과
1	분석적 민감도 (LoD)	UCLA Immunogenetics Center (USA)의 UCLA DNA Reference Panel 중 HLA-B*58:01 양성표준물질 3 중을 선정하여 100 ng/ μ l, 10 ng/ μ l, 5 ng/ μ l, 2 ng/ μ l, 1 ng/ μ l, 0.5 ng/ μ l의 6 단계 농도로 희석하여 제품 3 개 로트를 이용하여 총 5 대의 Real-time PCR 장비에서 농도별로 20 회 반복 실험한 결과, 모든 샘플에서 양성으로 나타나는 구간은 2 ng/ μ l로 측정되었다.
2	분석적 특이도 (교차반응)	UCLA Immunogenetics Center (USA)의 UCLA DNA Reference Panel 중 HLA-B*58:01 유전자 외 HLA-A, B, C type 108 종을 대상으로 실험하였다. 제품 3 개 로트와 50ng/ μ l 농도의 표준물질 이용하여 총 5 대의 Real-time PCR 장비에서 2 회 반복 시험한 결과 모든 표준물질에서 음성이나 교차반응이 일어나지 않음을 확인하였다.

3	분석적 특이도 (간섭반응)	음성 전혈 검체와 UCLA DNA Reference panel 을 spiked 한 양성 전혈 검체에 간섭물질을 첨가한 시험 물질은 5 단계의 농도로 1 배지 5 회 반복시험한 결과 다음 최종 농도에서 간섭이 관찰되지 않았습니다. <table><tr><th>Interference</th><th>Non-inhibitory Highest test concentration</th></tr><tr><td>Hemoglobin</td><td>20.0 g/dL</td></tr><tr><td>Bilirubin</td><td>23.7 umol/L</td></tr><tr><td>Triglycerides</td><td>250 mg/dL</td></tr><tr><td>K2 EDTA</td><td>2.0 mg/ml</td></tr><tr><td>K3 EDTA</td><td>2.0 mg/ml</td></tr><tr><td>Sodium citrate</td><td>0.109 mol/L</td></tr></table> 그러나, Li-heparin 간섭 물질은 다음 최대와 최소 농도 모두 간섭을 확인하였습니다. 따라서 본 제품은 헤파린을 포함하고 있는 항응고제 수집 튜브로 처리된 전혈에서 추출된 genomic DNA 을 사용하지 않습니다. <table><tr><th>Interference</th><th>Highest test concentration</th><th>Lowest test concentration</th></tr><tr><td>Li-heparin</td><td>30 IU/ml</td><td>7.5 IU/ml</td></tr></table>	Interference	Non-inhibitory Highest test concentration	Hemoglobin	20.0 g/dL	Bilirubin	23.7 umol/L	Triglycerides	250 mg/dL	K2 EDTA	2.0 mg/ml	K3 EDTA	2.0 mg/ml	Sodium citrate	0.109 mol/L	Interference	Highest test concentration	Lowest test concentration	Li-heparin	30 IU/ml	7.5 IU/ml
Interference	Non-inhibitory Highest test concentration																					
Hemoglobin	20.0 g/dL																					
Bilirubin	23.7 umol/L																					
Triglycerides	250 mg/dL																					
K2 EDTA	2.0 mg/ml																					
K3 EDTA	2.0 mg/ml																					
Sodium citrate	0.109 mol/L																					
Interference	Highest test concentration	Lowest test concentration																				
Li-heparin	30 IU/ml	7.5 IU/ml																				
4	정밀도 (반복성)	UCLA Immunogenetics Center (USA)의 UCLA DNA Reference Panel 중 HLA-B*58:01 양성표준물질 4 종을 선정하여 고농도, 중농도, 저농도 및 LoD 농도와 고농도 음성표준물질로 1개 로트에서 20 일간 하루에 2 회씩, 2 회 반복을 실행하였다. 실험 결과 CV 5% 이내로 확인되었으며 100% 양성 검출하여 반복성을 확인하였다.																				
5	정밀도 (재현성)	UCLA Immunogenetics Center (USA)의 UCLA DNA Reference Panel 중 HLA-B*58:01 양성표준물질 4 종을 선정하여 고농도, 중농도, 저농도 및 LoD 농도와 고농도 음성표준물질로 제조일이 서로 다른 Lot 간, 검사시간, 시험 장소간의 재현성을 5 반복 실행하였다. 실험 결과 CV% 5% 이내로 확인되었으며 100% 양성 검출하여 재현성을 확인하였다.																				
6	임상적 성능시험	본 임상적 성능 시험은 항응고제가 처리된 잔여 혈액 검체를 이용하여 기 허가된 확진 시약으로 HLA-B*58:01 대립유전자의 양성 및 음성을 확인하였고, 시험시약 결과해석에서 invalid 으로 나온 검체 3 건의 경우 재시험을 수행하여 재시험 결과를 최종 결과로 사용하였다. 시험 시약으로 시험한 결과를 확진 결과와 비교하여 임상적 민감도 100.0%와 특이도 100.0%로 확인하였다. 기 허가된 대조시약과 시험기기의 상관성 시험을 수행하였고, 대조 시약 결과해석에서 Retest 로 나온 검체 2 건의 경우 재시험을 수행하여 재시험 결과를 최종 결과로 사용하였다. 시험기기와 대조기기의 상관성 시험결과는 양성 일치도는 100.0%, 음성 일치도 100.0%로 나타나 Cohen's kappa 일치율은 1 로 '완벽한 일치'로 확인하였다.																				

5. 사용시 주의사항 [경고 및 주의사항]

1) 일반적인 주의사항

- (1) 체외진단용(전문가 사용)으로만 사용하십시오.
- (2) 동 제품의 포장 내에 포함된 구성품만 사용하십시오.
- (3) 개봉되었거나 포장에 손상된 제품은 사용하지 마십시오.
- (4) 제품 박스 등이 손상된 경우 사용하지 말고 구입처에 연락하시기 바랍니다.
- (5) 제품의 외부 포장에 인쇄된 사용기간이 지난 제품은 사용하지 마십시오

2) 경고사항

- (1) 모든 환자 검체는 감염성 물질로 간주하여 정해진 실험실 안전 절차에 따라 다루어야 합니다.
- (2) 모든 인체 유래 물질은 잠재적인 감염성 물질로 간주하여 보편적인 예방 조치를 취해야 합니다. 쏟았을 경우, 0.1% v/v 치아염소산나트륨을 이용하거나 또 다른 소독제로 즉시 소독하거나 적절한 현장 절차에 따르십시오.
- (3) Aerosol-resistant tip 을 사용하고 시약 사용 시 매번 새로운 tip 을 사용하시기 바랍니다.
- (4) 모든 실험실 소모품 등은 반드시 멸균된 것을 사용하고, 재사용을 금합니다.
- (5) 검사가 정확히 수행될 수 있도록 제공된 절차 및 지침을 철저히 준수하십시오. 절차 및 지침을 벗어나면 최적의 검사 성능에 영향을 줄 수 있습니다.
- (6) 검체 취급 및 과정에서 검체의 교차오염이 적절하게 통제되지 않는다면 위양성 결과가 나올 수 있습니다.
- (7) 입으로 피펫을 금합니다. 검사실 내에서 식사, 음주, 흡연을 금합니다.
- (8) 검체와 시약을 다룰 때는 실험실용 장갑, 실험복 등의 보호장비를 착용하십시오.
- (9) 실험실용 장갑은 파우더가 없는 라텍스장갑 혹은 니트릴장갑을 착용하십시오.
- (10) 검체 및 시약을 다룬 후, 장갑을 벗은 후에는 손을 철저히 씻으십시오.
- (11) 검체나 시약이 피부나 눈에 닿지 않도록 주의합니다.

3) 검사 시 주의사항

- (1) 본 제품 구성물은 해동 후 실온에 있는 시간을 최소화(30 분 이내)하여 간단히 볼텍싱 및 원심 분리하여 사용하십시오.
- (2) 사용 전에 각 시약을 육안으로 살펴보아 누출 여부를 확인하십시오. 만약 누수 되는 곳이 있으면 사용하지 마십시오.
- (3) 시약이 장비에 유출이 된 경우, 장비설명서에 따라 청소하고 장비표면의 오염을 제거하십시오.
- (4) 모든 기구 및 장비는 주의 깊게 다루며, 캘리브레이션 등에 대해서는 기구 및 장비설명서를 따르시기 바랍니다.
- (5) 검체는 전혈에서 추출한 genomic DNA 로 상용화된 추출 제품을 사용할 것을 권장합니다.
- (6) 헤파린(Heparin)을 제외한 항응고제가 포함된 튜브로 채혈한 전혈에서 추출한 genomic DNA 사용합니다.

- (7) 검체와 본 제품 구성물을 각 well 에 정확하게 분주하십시오.
- (8) Real-time PCR 장비에 사용하는 plate 및 8-strips 에 따른 적절한 film 과 cap 으로 잘 막아야 합니다.
- (9) 검사 진행 전 Plate 혹은 8-strips 를 가법계 원심 분리하여 Real-time PCR 장비에 장착합니다.
- (10) 적용 가능한 Real-time PCR 장비 외 사용을 금합니다.

4) 결과 판정 시 주의사항

- (1) 본 제품을 사용하여 얻어진 검사 결과만으로 질병의 진단 목적으로 사용하지 마십시오. 의료전문의가 본 검사 결과 및 임상 소견, 다른 임상 결과를 바탕으로 진단해야 합니다.
- (2) 검체가 부적절하게 채취, 수송 또는 취급된 경우, 검체내 HLA-B5801 농도가 검출한계 미만이거나 또는 검체 내 증폭 억제제가 포함되어 있는 경우 위음성(false negative) 결과가 나올 수 있으나, 음성 결과만으로 HLA-B5801 진단 여부를 배제 할 수 없습니다.
- (3) 오상헬스케어에서 권장하지 않은 실험 방법에 의한 잘못된 결과는 사용자에게 책임이 있습니다.
- (4) 본 제품은 HLA-B*58:04, B*58:05, B*58:09 등의 희귀한 대립 유전자형을 구별할 수 없습니다.
- (5) 약제에 의한 저해효과에 대한 데이터는 제공하지 않습니다.

5) 제품 폐기 시 주의사항

- (1) 모든 폐기물은 관련 규정에 따라 처리하십시오.

6. 보관 및 사용기간

구성품	구분	보관조건	사용기간*	비고
B5801 Plus RM	미개봉	-25℃ ~ -15℃ (냉동보관)	제조일로부터 12개월	완제품
	개봉		개봉 후 6개월	냉·해동 12 회
B5801 Plus PM	미개봉	-25℃ ~ -15℃ (냉동보관)	제조일로부터 12개월	완제품
	개봉		개봉 후 6개월	냉·해동 12 회
B5801 Plus PC	미개봉	-25℃ ~ -15℃ (냉동보관)	제조일로부터 12개월	완제품
	개봉		개봉 후 6개월	냉·해동 12 회

*사용기간은 용기의 외장 또는 박스를 참조하시기 바랍니다.

7. 기호(Symbol)

	체외진단분석기용 시약 (IN VITRO DIAGNOSTIC MEDICAL DEVICE)
	사용설명서 (CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE)
	온도 상한선 (The upper and lower limits of temperature range)
	경고 (CAUTION)
	사용기한 (EXPIRY DATE)
	제조사 (MANUFACTURER)
	로트(배치)번호 (LOT or BATCH NUMBER)
	카탈로그 번호 (CATALOGUE NUMBER)
	테스트 횟수 (Number of tests)

8. 제조번호 및 사용기한: 제품 외장에 표기

제조업자: ㈜오상헬스케어

14040 경기도 안양시 동안구 안양천동로 132

고객센터: 080-300-8114 / FAX : (031) 460-9933

홈페이지: <http://www.osanghc.com>

제품명: GeneFinder™ HLA-B*58:01 Plus RealAmp Kit

모델명: IFMR-66

제조업허가번호: 체외 제 652호
제조품목허가번호: 체외 제하 24-78호

MSK-66 Rev. 2024-02 (04)