GSC-IVD-003 4_A

使用の前に本電子化された添付文書をよく読むこと。

** 2025 年 5 月 改訂（第 4 版）

* 2024 年 10 月 改訂（第 3 版）

体外診断用医薬品

製造販売承認番号 30500EZX00053000

百日咳菌核酸キット

GeneSoC® 百日咳菌検出キット

【全般的な注意】

* 1. 本製品は遺伝子解析装置 GeneSoC® mini 及び遺伝子解析装置 GeneSoC® mini 2 の専用試薬である。
2. 本製品は体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。
3. 本製品の判定が陰性であっても、百日咳菌感染を否定するものではない。
4. 臨床診断は本製品での検査結果だけでなく、他の検査結果や臨床症状などに基づいて総合的に判断すること。
5. 電子添文の内容に従い使用すること。電子添文以外の使用目的及び使用方法で取得した検査結果については保証できない。
6. 使用する試薬・装置の電子添文及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. PCR Reaction Mix..... 1 本
   デオキシリボヌクレオシド三リン酸
   DNA Polymerase
2. Primer/Probe Mix (Bp)..... 1 本
   Bp フォワードプライマー (Bp FP)
   Bp リバースプライマー (Bp RP)
   Bp プローブ (Bp Probe)
3. Positive Control DNA (Bp)..... 1 本
4. RNase-free Water..... 1 本

【使用目的】

鼻咽頭ぬぐい液中の百日咳菌ゲノム DNA の検出（百日咳菌感染の診断補助）

【測定原理】

本製品は鼻咽頭ぬぐい液から抽出した百日咳菌 DNA のうち一部の領域について、リアルタイム Polymerase Chain Reaction (PCR) 法により核酸増幅し [1]、蛍光測定によってリアルタイムに百日咳菌 DNA を検出する試薬である。本製品のプライマー及びプローブは百日咳菌特異的な配列（IS*481* 遺伝子）に設計されている。また、核酸増幅の工程に問題がないことを確認するための内部コントロール（以下、IC）の DNA 並びにそれに相補的な配列をもつプライマー及びプローブも含んでいる。はじめに鼻咽頭ぬぐい液から抽出した百日咳菌 DNA 及び試薬中の IC DNA を高温により 2 本鎖から 1 本鎖に変性させる。1 本鎖になった百日咳菌 DNA 及び IC DNA に本製品のプライマーが結合し、DNA 合成酵素（DNA Polymerase）により DNA が増幅合成される。本製品のプローブは蛍光物質及びクエンチャー物質により標識されており、プローブが増幅合成された DNA に結合すると、DNA 合成酵素の 5’→3’エキソヌクレアーゼ活性によりプローブが分解される。この分解により、蛍光物質とクエンチャー物質の分子間距離が離れ、蛍光物質が蛍光を発するようになる。この蛍光強度を経時的に測定することにより、検体中の百日咳菌 DNA 及び IC DNA を検出する。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

(1) 対象検体

鼻咽頭ぬぐい液

(2) 検体の採取法

1) 鼻咽頭ぬぐい液は、滅菌ぬぐい棒を鼻腔内にゆっくり挿入し、鼻腔の奥にあてた後に数回回転させ、ぬぐい液を採取する。
2) 採取した検体は速やかに使用すること。
3) 検体採取の際に発生するエアロゾル等によって、DNA が検査環境中に飛散し、コンタミネーションが発生する場合があるため、検体採取と本製品の使用は別の部屋で行うこと。

2. 妨害物質・妨害薬剤

検体に含まれる可能性のある以下の物質及び薬剤について、表中の濃度における本製品の判定への影響は認められなかった。

物質・薬剤		濃度
内因性物質	鼻咽頭ぬぐい液	－
	血液	－
抗菌剤	クラリスロマイシン	6.25 mg/mL
	エリスロマイシン	100 mg/mL
	アジスロマイシン水和物	100 mg/mL
	レボフロキサシン水和物	6.25 mg/mL
	ミノサイクリン塩酸塩	12.5 mg/mL

3. 交差反応性

交差反応する可能性のある下記の菌 12 種類について測定した結果、*Bordetella holmesii* 及び *Bordetella bronchiseptica* との交差反応が認められたが、それ以外の菌との交差反応は認められなかった。

微生物の名称	
Bordetella parapertussis	*Streptococcus pneumoniae*
Bordetella holmesii	*Moraxella catarrhalis*
Bordetella bronchiseptica	*Mycobacterium tuberculosis*
Mycoplasma pneumoniae	*Staphylococcus aureus*
Chlamydophila pneumoniae	*Haemophilus influenzae*
Legionella pneumophila	*Klebsiella pneumoniae*

また、百日咳菌以外への交差反応の可能性について *in silico* 解析により検討した結果、アメリカ国立生物工学情報センター（NCBI）のデータベースに登録されているウイルス 14,743 配列、真菌類 4,533,288 配列、バクテリア 26,307,191 配列、Human Genome and Transcript Database に登録されているヒト 204,921 配列のうち、ウイルス、真菌類、ヒトについては交差反応が起こる可能性のある配列は認められなかった。バクテリアについては、上記の *Bordetella holmesii* 及び

Bordetella bronchiseptica に加えて、*Staphylococcus aureus* Lr12 株で交差反応が起こる可能性が認められた。

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要な器具、機材、試薬等

(1) DNA 抽出用試薬（推奨：プレシジョン・システム・サイエンス社 MagDEA® Dx SV 又は同等の性能を有する DNA 抽出用試薬）
(2) 反応液調製用チューブ（0.2～1.5 mL）
** (3) マイクロピペット及びピペットチップ
(4) 冷却用チューブラック
(5) 氷（クラッシュアイス）又はそれに相当するもの
(6) 微量簡易遠心機
(7) ボルテックスミキサー
(8) GeneSoC® mini 専用測定チップ（杏林製薬 別売品、以下、専用測定チップ）
* (9) 遺伝子解析装置 GeneSoC® mini 又は遺伝子解析装置 GeneSoC® mini 2（杏林製薬 別売品、以下、専用機器）

2. 専用機器の設定

専用機器の取扱説明書に従い、下記のとおりプロトコルを設定する。

(1) 検出チャネル

百日咳菌：Cy5（測定波長 630 nm 以上）
IC：HEX（測定波長 580～680 nm）

(2) PCR サイクル

ステップ	温度（℃）	時間（秒）	サイクル数
1	96	10	1
2	96	5	50
	64	6	

3. サンプル溶液の調製

DNA 抽出用試薬にて鼻咽頭ぬぐい液から抽出した DNA をサンプル溶液とし、使用時まで氷冷保存する。サンプル溶液は原則として直ちに使用すること。なお、DNA 抽出操作の詳細は DNA 抽出用試薬の使用方法に従う。

4. 試薬の調製

(1) PCR Reaction Mix 及び Primer/Probe Mix (Bp)

融解後、ボルテックスし、スピンダウンしてから使用する。使用時まで氷冷保存し、使用後は速やかに-20±5℃で保存する。

(2) Positive Control DNA (Bp)及び RNase-free Water

精度管理を行う際に融解し、ボルテックス、スピンダウンしてから使用する。使用時まで氷冷保存し、使用後は速やかに-20±5℃で保存する。

5. 測定（操作）法

(1) 下記のとおり、氷上にて PCR Reaction Mix、Primer/Probe Mix (Bp) を反応液調製用チューブに添加し、混合後、スピンダウンする。

反応液 1 テスト分の試薬量

チューブ識別色	試薬	使用量（μL）
青	PCR Reaction Mix	12.0
緑	Primer/Probe Mix (Bp)	6.0
	合計	18.0

(2) 測定直前に氷上にて(1)の溶液に 2.0μL のサンプル溶液を添加し、混合後、スピンダウンする。
(3) 専用測定チップ付属の使用方法に従い、2～20μL 用マイクロピペットを用いて、専用測定チップの試料導入口から(2)の溶液を 17.0～19.0μL 注入する。この時、専用測定チップへの気泡の混入を防ぐため、マイクロピペットのプッシュボタンは第 1 ストップまで押して注入し、第 2 ストップまで押し込まないこと。
(4) 専用測定チップを専用機器にセットし、2. で設定した条件で測定を開始する。
(5) 測定終了後、専用機器の表示画面上で測定結果を確認する。

精度管理を目的として測定を行う場合、陽性コントロールとして Positive Control DNA (Bp)、陰性コントロールとして RNase-free Water を用いてサンプル溶液と同様に上記(1)～(5)の操作を行う。

【測定結果の判定法】

専用機器の画面上に表示された測定結果について以下の判定方法に従い、判定する。無効となった場合はサンプル溶液を用いて再測定する。

百日咳菌	IC	判定
＋	＋	陽性
＋	－	陽性
－	＋	陰性
－	－	無効

＜判定上の注意＞

1. 増幅曲線の形状は必ず確認すること。著しい増幅曲線の乱れがある場合は、同じサンプル溶液を用いて再測定するか、又はサンプル溶液を希釈して再測定すること。
2. 本製品で陰性と判定されても、症状が持続し、百日咳菌の感染が否定できない状況では再度検査を実施する必要がある。
3. 検体採取、輸送、保存が不適当な検体、菌量が微量な検体、又は DNA 抽出が不適当なサンプル溶液を測定した場合は、偽陰性となる可能性がある。
4. 本製品のプライマー及びプローブは百日咳菌において保存性が高い領域に設計されているが、この領域に変異が生じた場合は検出感度を低下させる可能性が考えられるため、判定が陰性であっても百日咳菌の感染を否定するものではない。
5. 本製品は *Bordetella holmesii* 及び *Bordetella bronchiseptica* との交差反応が認められるため、感染リスクの高い免疫抑制状態にある患者、慢性肺疾患に罹患している患者、動物接触者においては、本製品における判定に留意すること。

【性能】

1. 感度・正確性

管理検体を測定したとき、陰性管理検体は陰性、陽性管理検体は陽性と判定される。

2. 同時再現性

管理検体を 3 回同時に測定したとき、陰性管理検体は全て陰性、陽性管理検体は全て陽性と判定される。

3. 最小検出感度

20 コピー/テスト

4. 相関性試験成績

本製品と既承認品及び既存リアルタイム PCR 法（以下、既存 PCR 法）の検査結果を比較し、本製品の性能を評価した。試験には鼻咽頭ぬぐい液 125 例を用いた。

既承認品との相関

		既承認品		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	52	13	65
	陰性	0	60	60
	計	52	73	125

陽性一致率　100% (52/52)
陰性一致率　82.2% (60/73)
全体一致率　89.6% (112/125)

既存 PCR 法との相関

		既存 PCR 法		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	62	3	65
	陰性	0	60	60
	計	62	63	125

陽性一致率　100% (62/62)
陰性一致率　95.2% (60/63)
全体一致率　97.6% (122/125)

5. 較正用基準物質に関する情報

百日咳菌の IS*481* 遺伝子の配列を含む人工合成 DNA を用いている。

【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) 検体は感染の恐れがあるものとして取り扱いに注意し、必要なバイオハザード対策を実施すること。

(2) 検体及び本製品を取り扱うときは保護眼鏡、使い捨て手袋、マスク、作業着等の防護具を着用し、測定終了後はよく手を洗うこと。作業過程ごとに手袋を変えるなど、操作には細心の注意を払うこと。

(3) 試薬が誤って皮膚・目・粘膜に付着した場合は、直ちに大量の水で十分に洗い流し、必要に応じて医師の手当てを受けること。

2. 使用上の注意

(1) 本製品は指定の貯蔵方法で保存すること。

(2) 本製品の凍結融解の回数は必要最低限とすること。

(3) 有効期間を過ぎた本製品は使用しないこと。

** (4) 本製品は PCR Reaction Mix 及び Primer/Probe Mix (Bp)から複数テスト分調製した反応液をチューブに小分け分注し、-20±5℃で 180 日間保存することが可能である。その場合、反応液の調製後は速やかに小分け分注し、保存すること。ただし、小分け保存中に有効期間を迎える場合は、有効期間までが小分け保存可能期間となる。また、小分け保存した反応液の融解後は再凍結しないこと。

(5) 本製品は他のロットと組み合わせて使用しないこと。また、同一のロットであっても試薬の注ぎ足しは行わないこと。

(6) 本製品は光への曝露が最小限となるよう注意すること。

(7) 本製品を取り扱う際は核酸の分解を防ぐため、汗や唾液に含まれる DNase のコンタミネーションに注意すること。

(8) 機器や器具は適切に点検・校正されたものを使用すること。

3. 廃棄上の注意

(1) 検体及び検体が接触したピペットチップや容器は感染性のあるものとして、各施設のバイオハザード取扱規定に従い、医療廃棄物として処理すること。

(2) 測定に使用した専用測定チップは注入孔を覆っているシールを剥がさずに、焼却処理又はビニール袋を二重に覆って医療廃棄物として処理する。増幅産物による汚染を防ぐため、廃棄の際にオートクレーブは行わないこと。

(3) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、医療用廃棄物に関する規定、水質汚濁防止法などの法令や自治体等の規定に従って処理すること。

(4) 検体の取扱い時に検体が飛散したりこぼれたりした場合は、直ちに次亜塩素酸ナトリウム又は消毒用アルコール等によりふき取ること。

**【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：-20±5℃
有効期間：24 ヵ月

**【包装単位】

製品コード	製品名	包装単位
GSC-IVD-003	GeneSoC® 百日咳菌検出キット	24 Tests

【主要文献】

1) 岩浪哲, Precision Medicine 2(10), 928-931 (2019)

【問い合わせ先】

杏林製薬株式会社　くすり情報センター
電話　0120-952-956
受付時間　9：00～17：00　（土・日・祝日・会社休日を除く）

【製造販売業者の名称及び住所】

杏林製薬株式会社
〒100-0004 東京都千代田区大手町一丁目 3 番 7 号