

体外診断用医薬品

製造販売承認番号 30800EZ00003000

インフルエンザウイルス核酸キット

GeneSoC® FluA/B 検出キット

【重要な基本的注意】

1. 本製品の A 型及び B 型インフルエンザウイルスの判定がいずれも陰性であっても、A 型インフルエンザウイルス感染又は B 型インフルエンザウイルス感染を否定するものではない。
2. 検体採取及び取扱いについては、必要なバイオハザード対策を講じること。

【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. 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。
4. 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。
5. 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..... 24 Tubes
デオキシリボヌクレオシド三リン酸
DNA Polymerase
RT Enzyme
2. Primer/Probe Mix..... 24 Tubes
FluA フォワードプライマー (FluA FP)
FluA リバースプライマー (FluA RP)
FluA プローブ (FluA Probe)
FluB フォワードプライマー (FluB FP)
FluB リバースプライマー (FluB RP)
FluB プローブ (FluB Probe)

【使用目的】

鼻咽頭ぬぐい液中の A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA の検出（インフルエンザウイルス感染の診断補助）

【測定原理】

本製品は鼻咽頭ぬぐい液から抽出した A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA のうち一部の領域について、逆転写反応（Reverse Transcription: RT）を含む One-Step リアルタイム Polymerase Chain Reaction (PCR) 法により核酸増幅¹⁾、蛍光測定によってリアルタイムに A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA を検出する試薬である。本製品のプライマー及びプロ

ブは A 型インフルエンザウイルス特異的な配列及び B 型インフルエンザウイルス特異的な配列に設計されている。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 RNA 抽出液を用いて、逆転写酵素（RT Enzyme）により A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA のそれぞれに相補的な cDNA を合成する。その後、これらの cDNA 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 A 型インフルエンザウイルス RNA、B 型インフルエンザウイルス RNA 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孔から耳孔を結ぶ線にほぼ平行に鼻腔底に沿ってゆっくり挿入し、抵抗を感じたところで止め、10 秒程度そのままの位置で保ち鼻汁を浸透させ、ゆっくり回転させながら引き抜き、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、RNA が検査環境中に飛散し、コンタミネーションが発生する可能性があるため、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	—
抗ウイルス剤	エンシトレルビル フマル酸	6.4 mg/mL
	モルヌピラビル	3.3 mg/mL
	レムデシビル	25 mg/mL
	ファビピラビル	3.13 mg/mL
	アマンタジン塩酸塩	100 mg/mL
	ザナミビル水和物	25 mg/mL

物質・薬剤		濃度
抗ウイルス剤	オセルタミビルリン酸塩	100 mg/mL
	パロキサビル マルボキシル	100 mg/mL
点鼻薬	フェニレフリン塩酸塩	100 mg/mL
	オキシメタゾリン塩酸塩	100 mg/mL
	塩化ナトリウム	100 mg/mL
解熱剤	イブプロフェン	100 mg/mL
	アセトアミノフェン	100 mg/mL
抗菌剤	レボフロキサシン水和物	6.25 mg/mL

3. 交差反応性

交差反応する可能性のあるウイルス 15 種類、菌 9 種類を下記の濃度にて測定した結果、これらのウイルス及び菌との交差反応は認められなかった。

微生物の名称	濃度 (コピー/テスト)
Coronavirus OC43	4.2×10^4
Coronavirus 229E	6.0×10^4
Coronavirus SARS (2003)	3.9×10^4
MERS Coronavirus	4.2×10^4
SARS-CoV-2 (Wuhan-Hu-1)	3.3×10^5
SARS-CoV-2 (δ)	2.2×10^5
SARS-CoV-2 (σ)	2.3×10^5
Human coronavirus HKU1	1.6×10^5
Human coronavirus NL63	4.5×10^4
Human metapneumovirus (hMPV)	9.9×10^4
Parainfluenza 1	4.8×10^4
Respiratory syncytial virus A	5.4×10^4
Respiratory syncytial virus B	6.0×10^4
Adenovirus	4.5×10^4
Rhinovirus	4.8×10^4
<i>Bordetella pertussis</i>	6.0×10^4
<i>Chlamydomonas pneumoniae</i>	4.2×10^4
<i>Legionella pneumophila</i>	4.2×10^4
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5.4×10^4
<i>Moraxella catarrhalis</i>	5.1×10^4
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4.2×10^4
<i>Candida albicans</i>	5.4×10^4
<i>Haemophilus influenzae</i>	4.2×10^4
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	5.1×10^4

また、A 型及び B 型インフルエンザウイルス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、菌類、バクテリア、ヒト配列のうち、本邦において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。

【用法・用量 (操作方法)】

1. 必要な器具、機材、試薬等

- (1) RNA 抽出用試薬 (推奨: QIAGEN 社 QIAamp Viral RNA Mini Kit 又は同等の性能を有する RNA 抽出用試薬)
- (2) マイクロピペット及びピペットチップ

(3) 冷却用チューブラック

(4) 氷 (クラッシュアイス) 又はそれに相当するもの

(5) 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)

(6) 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) 検出チャンネル

A 型インフルエンザウイルス: FAM (測定波長 490~550 nm)

B 型インフルエンザウイルス: Cy5 (測定波長 630~800 nm)

IC: HEX (測定波長 580~680 nm)

(2) PCR サイクル

ステップ	温度 (°C)	時間 (秒)	サイクル数
1	50	60	1
2	96	10	1
3	96	3	50
	62	7.5	

3. サンプル溶液の調製

RNA 抽出用試薬にて鼻咽頭ぬぐい液から抽出した RNA 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、RNA 抽出操作の詳細は RNA 抽出用試薬の使用方法に従う。

4. 試薬の準備

PCR Reaction Mix (チューブのフタに●印字あり) 及び Primer/Probe Mix (チューブのフタに印字なし) について、測定するテスト数分のみを取り出し、使用しない試薬は速やかに $-20 \pm 5^\circ\text{C}$ で保存する。取り出した試薬を融解後、混合及び溶液をチューブの底に落とし、使用時まで氷冷保存する。

5. 測定 (操作) 法

- (1) 測定直前に氷上にて PCR Reaction Mix のチューブに $3.0 \mu\text{L}$ の Primer/Probe Mix と $3.0 \mu\text{L}$ のサンプル溶液を添加し、混合後、溶液をチューブの底に落とす。
- (2) 専用測定チップ付属の使用方法に従い、 $2 \sim 20 \mu\text{L}$ 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 (1) の溶液を $17.0 \sim 19.0 \mu\text{L}$ 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 ストップまで押し注入し、第 2 ストップまで押し込まないこと。
- (3) 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。
- (4) 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。

【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、又はサンプル溶液を希釈して再測定する。

FluA	FluB	IC	インフルエンザウイルス	
			A型判定	B型判定
+	+	+/-	陽性	陽性
+	-	+/-	陽性	陰性
-	+	+/-	陰性	陽性
-	-	+	陰性	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A型及びB型インフルエンザウイルスがいずれも陰性と判定されても、症状が持続し、インフルエンザウイルス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、ウイルス量が微量な検体、又はRNA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A型及びB型インフルエンザウイルスのそれぞれ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インフルエンザウイルスの感染を否定するものではない。
5. 経鼻弱毒生インフルエンザワクチン接種後一定期間は、ワクチン由来のインフルエンザウイルスで本製品が陽性反応を示す可能性がある。

【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A型及びB型インフルエンザウイルスがいずれも陰性、陽性管理検体1はA型インフルエンザウイルスが陽性かつB型インフルエンザウイルスが陰性、陽性管理検体2はB型インフルエンザウイルスが陽性かつA型インフルエンザウイルスが陰性と判定される。

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A型及びB型インフルエンザウイルスがいずれも陰性、陽性管理検体1は全てA型インフルエンザウイルスが陽性かつB型インフルエンザウイルスが陰性、陽性管理検体2は全てB型インフルエンザウイルスが陽性かつA型インフルエンザウイルスが陰性と判定される。

3. 最小検出感度

A型インフルエンザウイルス：3.75 コピー/テスト

B型インフルエンザウイルス：15 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180例を用いた。

既承認品との相関（A型インフルエンザウイルス）

A型 インフルエンザ ウイルス		既承認品		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	60	0	60
	陰性	0	120	120
	計	60	120	180

陽性一致率 100 % (60/60)

陰性一致率 100 % (120/120)

全体一致率 100 % (180/180)

既存PCR法との相関（A型インフルエンザウイルス）

A型 インフルエンザ ウイルス		既存PCR法		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	60	0	60
	陰性	1	119	120
	計	61	119	180

陽性一致率 98.4 % (60/61)

陰性一致率 100 % (119/119)

全体一致率 99.4 % (179/180)

既承認品との相関（B型インフルエンザウイルス）

B型 インフルエンザ ウイルス		既承認品		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	70	0	70
	陰性	1	109	110
	計	71	109	180

陽性一致率 98.6 % (70/71)

陰性一致率 100 % (109/109)

全体一致率 99.4 % (179/180)

既存PCR法との相関（B型インフルエンザウイルス）

B型 インフルエンザ ウイルス		既存PCR法		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	70	0	70
	陰性	1	109	110
	計	71	109	180

陽性一致率 98.6 % (70/71)

陰性一致率 100 % (109/109)

全体一致率 99.4 % (179/180)

5. 較正用基準物質に関する情報

A型インフルエンザウイルスの配列を含む人工合成RNA及びB型インフルエンザウイルスの配列を含む人工合成RNA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) 有効期間を過ぎた本製品は使用しないこと。
- (3) 本製品は他のロットと組み合わせて使用しないこと。
- (4) 本製品は光への曝露が最小限となるよう注意すること。
- (5) 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 RNase や DNase のコンタミネーションに注意すること。
- (6) 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：12 ヶ月

【包装単位】

製品コード	製品名	包装単位
GSC-IVD-005	GeneSoC® FluA/B 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