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

2017 年 7 月作成　（第 1 版）

製造販売承認番号　22900EZX00033000

サイトメガロウイルス核酸キット

ジェネリス　CMV

【重要な基本的注意】

1. 本品は生後 3 週間以内に採取された新生児尿を検体とした先天性サイトメガロウイルス感染の診断補助検査として有用性を確認していますので、この期間を過ぎて採取された尿は使用しないでください。
2. 生後 3 週間以内に採取された新生児尿以外の検体を用いたサイトメガロウイルス感染の診断補助検査には使用しないでください。

【全般的な注意】

1. 本品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的に使用しないでください。
2. 診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて総合的に判断してください。
3. 電子化された添付文書以外の使用方法については保証を致しません。
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んでから使用してください。
5. 陰性コントロール及び陽性コントロールには、防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれていますので、誤って皮膚に付着したり、目や口に入った場合には水で十分に洗い流す等の応急措置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。

【形状・構造等（キットの構成）】

①リアクションミックス（Ｒ１　CMV）

CMV 特異的プライマーTP　[略名：cmvTP]
CMV 特異的プライマーFP　[略名：cmvFP]
CMV 特異的プライマーBP　[略名：cmvBP]
CMV 特異的プライマーFOP　[略名：cmvFOP]
CMV 特異的プライマーROP　[略名：cmvROP]
CMV 特異的 Exciton プライマーBPEx　[略名：cmvBPEx]
デオキシアデノシン 5’－3 リン酸　[略名：dATP]
デオキシシチジン 5’－3 リン酸　[略名：dCTP]
デオキシチミジン 5’－3 リン酸　[略名：dTTP]
デオキシグアノシン 5’－3 リン酸　[略名：dGTP]

②鎖置換型ＤＮＡ合成酵素液（Ｒ２　CMV）

Aac DNA Polymerase　[略名：Aac DNA Pol.]

③検体前処理液

④陰性コントロール（ＮＣ　CMV）

⑤陽性コントロール（ＰＣ　CMV）

【使用目的】

尿中のサイトメガロウイルスＤＮＡの検出（先天性サイトメガロウイルス感染の診断の補助）

【測定原理】

本品は株式会社ダナフォーム及び独立行政法人理化学研究所の共同研究の成果による特許（等温核酸増幅技術 Smart Amp®法[1] 及び Exciton プライマーを用いた蛍光検出法[2]）を測定原理として、サイトメガロウイルス（以下、CMV と略す）遺伝子を特異的に検出するキットです。
検体中に CMV 由来の核酸配列（以下、DNA と略す）を有する場合、CMV 特異的プライマーTP、CMV 特異的プライマーFP、CMV 特異的プライマーBP、CMV 特異的プライマーFOP、CMV 特異的プライマーROP、CMV 特異的 Exciton プライマーBPEx、デオキシアデノシン 5’-3 リン酸、デオキシシチジン 5’-3 リン酸、デオキシチミジン 5’ -3 リン酸、デオキシグアノシン 5’-3 リン酸、Aac DNA Polymerase を混合し反応させると、CMV 由来の DNA に特異的な核酸増幅反応が起こります。CMV 由来の核酸増幅の検出は CMV 特異的 Exciton プライマーBPEx による蛍光を検出することにより行います。

【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

1. 検体は防腐剤などの添加されていない尿を使用してください。防腐剤等の添加された尿では、正常に測定できない場合があります。
2. 採取した尿は室温で 24 時間安定であることを確認しています。長期保存する場合は-20℃以下で凍結保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。
3. 採尿は便のコンタミネーションに注意して行ってください。

妨害物質・妨害薬剤[注 i)]

1. ビリルビン 20mg/dL まで測定に影響ありません。
2. 乳ビ 2000 ホルマジン濁度まで測定に影響ありません。
3. ヘモグロビン 500mg/dL まで測定に影響ありません。
4. 薬剤の影響については、塩化マンガン・硫酸亜鉛水和物配合剤注射液（１）0.2mL/dL、高カロリー輸液用総合ビタミン剤（７）キット 0.2kit/dL、ゲンタマイシン硫酸塩 10mg/dL、アンピシリンナトリウム 100mg/dL、セフェゾリンナトリウム水和物 100mg/dL、エリスロマイシンラクトビオン酸塩 10mg/dL、アシクロビル 10mg/dL、ガンシクロビル 12mg/dL まで測定に影響ありません。

交差反応性

表 1 のとおり、ヒトヘルペスウイルス属（HHV-1、HHV-2、HHV-3、HHV-4、HHV-6A、HHV-6B、HHV-7、HHV-8）について測定した結果、すべて陰性であり、交差反応は認められませんでした。
表 2 のとおり、細菌 14 菌種について測定した結果、すべて陰性であり、交差反応は認められませんでした。（指数表記は「*.*E+**」（例として、100=1.0E+02）と示しました。）

表 1;ヒトヘルペスウイルス属との交差反応性

ウイルス名	コピー数（コピー/テスト）	判定結果
Human herpes virus-1 (Herpes simplex virus-1)	1.0E+04	陰性
Human herpes virus-2 (Herpes simplex virus-2)	1.0E+04	陰性
Human herpes virus-3 (Varicella zoster virus)	1.1E+04	陰性
Human herpes virus-4 (Epstein-Barr virus)	1.2E+04	陰性
Human herpes virus-6A	1.6E+04	陰性
Human herpes virus-6B	1.0E+04	陰性
Human herpes virus-7	1.0E+04	陰性
Human herpes virus-8	1.6E+04	陰性

表 2;細菌との交差反応性

菌名	菌量 (CFU/テスト)	判定結果
Candida albicans	1.0E+05	陰性
Enterococcus faecalis	1.7E+06	陰性
Escherichia coli	2.5E+06	陰性
Klebsiella pneumoniae	2.6E+06	陰性
Legionella pneumophila	7.8E+06	陰性
Listeria monocytogenes	9.5E+06	陰性
Moraxella (Branhamella) catarrhalis	9.0E+06	陰性
Proteus vulgaris	3.3E+06	陰性
Pseudomonas aeruginosa	3.2E+06	陰性
Serratia marcescens	5.5E+06	陰性
Staphylococcus aureus	2.6E+06	陰性
Staphylococcus epidermidis	1.6E+06	陰性
Streptococcus mutans	1.5E+06	陰性
Streptococcus pneumoniae	1.0E+05	陰性

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

①リアクションミックス
室温で解凍して、そのまま使用します(解凍後は氷上保存)。
試薬の劣化を防ぐために、必要時以外は遮光してください。
②鎖置換型ＤＮＡ合成酵素液
そのまま使用します（氷上保存）。
③検体前処理液
そのまま使用します。
④陰性コントロール
室温で解凍して、そのまま使用します。
⑤陽性コントロール
室温で解凍して、そのまま使用します。

必要な器具・器材・試料等

1. 核酸増幅・蛍光検出装置
2. ヒートブロック（前処理時の加熱に使用）
3. マイクロピペット（2～20μL、20～200μL、100～1000μL等）及びフィルター付きチップ
4. クーラーラック及び氷（クラッシュアイス）
5. ボルテックスミキサー
6. 微量簡易遠心機
7. マスターミックス調製用チューブ(市販マイクロチューブ等)
8. 増幅反応用チューブ（各測定装置対応チューブ）

測定（操作）法

1. 前処理済みサンプル溶液の調製

1)検体前処理液の準備
①検体前処理液は１テスト分ずつ 8 連チューブに分注されているので、はさみ等で必要数分切り離した後そのまま使用してください。
②測定検体数＋2 テスト（陰性コントロールと陽性コントロール）分の検体前処理液チューブを用意し、微量簡易遠心機に数秒かけてチューブ管壁やキャップに付着している試薬を落としてください（以下、スピンダウンと呼ぶ）。

2)検体、陰性コントロール、陽性コントロールの準備
①検体が凍結している場合は解凍し、ボルテックスミキサーにてよく混和し氷上で保冷してください。
②陰性コントロール、陽性コントロールも同様に混和し氷上で保冷してください。

3)サンプルの前処理
①検体前処理液に陰性コントロールを 25μL 添加し、全量 50μL としてください。※1
②検体前処理液に検体を各 25μL ずつ添加し、各々全量 50μL としてください。検体は添加直前に再度よく混和し、沈殿も含めた全成分を検体前処理液に添加してください。※1
③検体前処理液に陽性コントロールを 25μL 添加し、全量 50μL としてください。※1
④サンプル添加済みの検体前処理液を、ボルテックスミキサーにてよく混和し、スピンダウンしてください。
⑤スピンダウン後、ヒートブロックにて、95℃、90 秒間加熱処理し、氷上で急冷してください。測定を行うまでそのまま保存してください。※2

※1 検体間のコンタミネーションを避けるために、陰性コントロール、検体、陽性コントロールの順に添加してください。陽性コントロールは高コピーです。陽性コントロールはキャップを開ける前に必ずスピンダウンを行い、キャップを開けている時間も最小限となるようにしてください。
※2 前処理済みサンプル溶液は、すみやかに使用してください。

2. マスターミックスの調製（氷上操作）; 表 3 参照

1)リアクションミックスが凍結している場合は解凍してください。
2)解凍後はボルテックスミキサーにて混和し、スピンダウン後氷上で保冷してください。
3)鎖置換型 DNA 合成酵素液はスピンダウン後氷上で保冷してください。
4)別途用意したマスターミックス調製用チューブに、リアクションミックスを１テストあたり 20μL、鎖置換型 DNA 合成酵素液を１テストあたり１μL の割合で、それぞれ必要な分量（測定検体数＋2 テスト）ずつ添加してボルテックスミキサーによる混和後、スピンダウンしてください。これをマスターミックスとします。
5)調製したマスターミックスは氷上で保冷して、すみやかに使用してください。余ったマスターミックスは次回の測定には使用できません。(保存中に非特異増幅が起こり判定結果に影響を与える場合があります。)

表 3;マスターミックスの調製例

測定数（テスト）	基準比率	3	4	5	6	7	8
リアクション ミックス（μL）	20	60	80	100	120	140	160
鎖置換型 DNA 合成酵素液（μL）	1	3	4	5	6	7	8
マスターミックス [total] （μL）	21	63	84	105	126	147	168

3. 最終反応液の調製（氷上操作）

1)増幅反応用チューブを測定数分準備し、増幅反応用チューブにキズ・ヒビ等がないことを確認してください。※3
2)マスターミックスを各増幅反応用チューブに 20μL ずつ分注してください。
3)調製した前処理済みサンプル溶液（陰性コントロール、検体、陽性コントロール）を 5μL ずつ各増幅反応用チューブに添加して最終反応液とします。※4 このとき、前処理済みサンプル溶液は良く混和後、スピンダウンし添加してください。また、各サンプルを添加するごとに、各増幅反応用チューブのフタを閉じてください。
4)増幅反応用チューブ中の最終反応液を、ボルテックスミキサーにて混和後にスピンダウンし、氷上で保冷してください。

※3 増幅反応用チューブにキズ・ヒビがあると、正しく測定ができないばかりでなくチューブの破損により測定装置を汚染する場合があります。
※4 検体間のコンタミネーションを避けるために、前処理済みサンプル溶液は、陰性コントロール、検体、陽性コントロールの順に添加してください。前処理済みの陽性コントロールはキャップをあける前に必ずスピンダウンを行い、キャップを開けている時間も最小限となるようにしてください。

4. 増幅反応及び判定

ジェネリス　ＧＬ－１１２の使用例(増幅反応 61℃、60 分)
1)機器操作
ジェネリス　ＧＬ－１１２の取扱説明書に従い、機器操作及び増幅反応用チューブの設置、測定を開始してください。
2)検出方法
核酸の増幅による蛍光強度の変化を波長 570nm にて測定してください。

3)判定
測定後の増幅曲線（図 1, 2）より判定してください。
※増幅反応後、85℃、3 分の酵素失活処理が、自動で行われます。

5.測定終了後の操作

検査環境へのコンタミネーションを避けるために増幅反応用チューブは、破損しないように装置から取り出しキャップを開けずに廃棄してください。

6.測定にあたっての注意

1)SmartAmp®反応は非常に鋭敏な反応であり、標的遺伝子や増幅産物の DNA がごく微量でも混入すると誤った結果をもたらす原因となります。検体採取、サンプル調製、試薬調製、増幅反応の各操作を行う区域を分けるなどの対策を行ってください。安全キャビネット等の使用、手袋の着用等でコンタミネーションを防ぐ措置を取ることを推奨します。

2)増幅産物が飛散し、コンタミネーションが発生すると誤判定の原因となるばかりでなく、検査環境そのものを汚染し、汚染を除去しない限り以降の検査で正しい結果が得られなくなる場合があります。試薬及び器具類を廃棄する際には、以下の注意事項を必ず守ってください。
①増幅反応後のチューブは決して開封せず、必ず密閉容器に入れて、焼却処理又は廃棄物の処理及び清掃に関する法律等の規定に従い感染性廃棄物として処理してください。飛散防止のため、廃棄の際にオートクレーブ処理は絶対に行わないでください。
②本品のリアクションミックスと鎖置換型 DNA 合成酵素液を混合すると、非特異増幅が低温下でも起こる場合があります。試薬及び使用したチップ・チューブ類等を廃棄する際も、①と同様に処理してください。

3)検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、0.1%次亜塩素酸ナトリウム水溶液等で拭き取ってください。

【測定結果の判定法】

測定結果の判定法

1.陽性コントロールにおいて 60 分以内に蛍光強度の上昇を確認し、陰性コントロールにおいて 60 分まで蛍光強度が上昇していないことを確認してください（図 1）。それ以外の場合には増幅反応が適切に進行していないことが考えられるため再検査を実施してください。

2.次に各検体の判定を行います。60 分以内に蛍光強度の上昇が認められた場合は「陽性」、蛍光強度の上昇が認められない場合は「陰性」とします（図 2）。

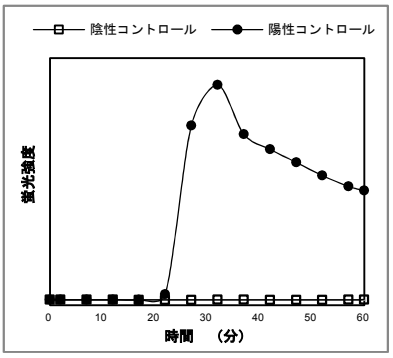

図 1.コントロールの増幅曲線パターン

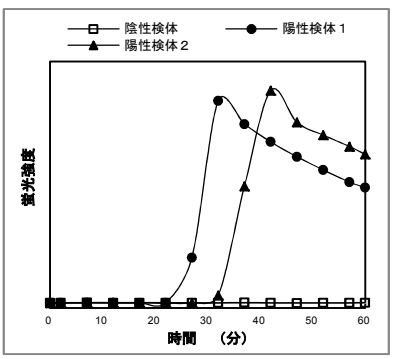

図 2.検体の増幅曲線パターン

判定上の注意

1.検体によっては蛍光強度上昇開始時間や上昇値が陽性コントロールと異なることがあります。
2.本品は検出キットであり、定量測定目的に開発されたキットではありません。従って蛍光強度上昇開始時間でコピー数を特定することはできません。
3.便の混入した尿を測定した場合は、増幅阻害が起こり正常に測定できない場合があります。
4.比較的変異の少ない領域を選んでプライマーが設計されておりますが、CMV が今後この領域内でさらに変異し、本品での検出感度を低下させる可能性があります。
5.本品で陰性と判定されても必ず CMV が存在しないという訳ではありません。測定結果に基づく診断は、他の検査結果等と併せて担当医師が総合的に判断してください。

【臨床的意義】

臨床的意義

日本の年間総出生児の 0.3%(3000 人/100 万人)が先天性 CMV 感染児であるといわれています。米国における研究では、CMV 非感染妊婦のうち、妊娠中に 1～4%が初感染を起こし、うち 33～40%が胎児感染に至りました。胎児感染例の 10～20%が症候性で、80～90%は無症候性で出生し、症候性の先天性 CMV 感染の 90%、無症候性の先天性 CMV 感染の 10～15%が精神発達遅滞、難聴などの後遺症を遅発性に残すと報告されています[3)]。妊婦の抗体保有率が低下傾向にあり[4)]先天性 CMV 感染のリスクが高まる本邦において、診断法の開発が求められていました。
また、尿中のウイルス量が、血中の 100 倍から 1000 倍多く存在すること、ならびに生後の感染ではウイルスが尿に出現するまでに 3 週間程度を要すること[5)]より、先天性 CMV 感染を診断するためには生後 3 週間以内の尿を測定することが推奨されています。

臨床性能試験

本品は、SmartAmp®法を用いた核酸増幅技術法により、先天性 CMV 感染の診断補助に用いるキットであり、以下の臨床性能試験において、臨床現場における検査法としての有用性が確認されました。
生後 3 週間以内に採取された、先天性 CMV 感染と診断された児（陽性群）の尿 32 検体、先天性 CMV 感染が疑われる症状があったが非感染と診断された児（対照疾患群）の尿 107 検体、先天性 CMV 感染が疑われる症状が無く先天性 CMV 非感染と診断された児（無病群）の尿 41 検体を用いて、計 180 例の成績を評価しました。その結果、表 4 のとおり、本キットと臨床診断との一致率は全ての群で 100%[陽性群(32/32)、対照疾患群(107/107)、無病群(41/41)]、全体一致率は 100%(180/180)でした。また、表 5 のとおり、本キットとリアルタイム PCR 法の全体一致率も 100%（180/180）であり非常に高い相関を示しました。

表 4;本品の判定結果と臨床診断との相関性

			本品		合計
			＋	－	
臨床診断	CMV 感染	陽性群	32	0	32
	CMV 非感染	対照疾患群	0	107	107
		無病群	0	41	41
合計			32	148	180

陽性群（CMV 感染）一致率 100%（ 32/ 32）
対照疾患群（CMV 非感染）一致率 100%（107/107）
無病群（CMV 非感染）一致率 100%（ 41/ 41）
全体一致率 100%（180/180）

表 5;本品の判定結果とリアルタイム PCR 法との相関性

		本品		合計
		＋	－	
リアルタイム PCR 法	＋	32	0	32
	－	0	148	148
合計		32	148	180

陽性一致率 100%（ 32/ 32）
陰性一致率 100%（148/148）
全体一致率 100%（180/180）

【性能】

性能

1. 感度試験
   1)陰性標準液（0 コピー／テスト）を測定するとき、陰性と判定される。
   2)陽性標準液（200 コピー／テスト）を測定するとき、陽性と判定される。
2. 正確性試験
   1)管理用陰性検体を測定するとき、陰性と判定される。
   2)管理用陽性検体を測定するとき、陽性と判定される。
3. 同時再現性試験
   同一検体を 3 回同時に測定するとき、陰性検体は陰性、陽性検体は陽性と判定される。

管理用検体：管理用陰性検体は陰性を確認したプール尿、管理用陽性検体は培養したサイトメガロウイルスを陰性プール尿に添加して調製したものです。

最小検出感度[注ii)]

50 コピー／テスト

較正用基準物質

WHO International Standard 1st WHO International Standard for Human Cytomegalovirus for Nucleic Acid Amplification Techniques(NIBSC code:09/162)

注ｉ、ii）特定の機種による試験結果のため、機種によっては同様の結果を得られない場合があります。詳細は、弊社担当者にお問い合わせください。

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

1. 検体は感染の危険があるものとして注意して取扱い、必要なバイオハザード対策を実施してください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペッティングを行わないでください。
2. 検体前処理液はアルカリ性ですので、皮膚に付着したり、目に入らないよう注意してください。
3. 誤って皮膚に付着したり、目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。

使用上の注意

1. リアクションミックスは蛍光物質が含まれます。使用後はすみやかに遮光条件にて保存してください。
2. 検査環境へのコンタミネーションを避けるために、陽性コントロールは電子化された添付文書に記載の操作方法以外での使用（希釈や検体への添加等）は絶対に行わないでください。
3. 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
4. 試薬の調製方法、調製後の保管方法は厳守してください。
5. 検体前処理液の pH が低下した場合、正常に測定ができなくなる場合がありますので、保管環境にご注意ください。特に、開封後の本品をドライアイス等の近くで保管することは避けてください。
6. 製造番号の異なる試薬を組み合わせて使用しないでください。また、同一の製造番号の試薬であっても試薬を注ぎ足すことは行わないでください。
7. 容器の再利用や他の目的への転用はしないでください。

廃棄上の注意

1. 検体前処理液の pH は排水基準の 8.6 を超えています。廃棄にあたっては水質汚濁防止法等の規制に注意して処理してください。
2. 増幅反応後のチューブは決して開封せず、必ず密閉容器に入れて、焼却処理又は廃棄物の処理及び清掃に関する法律等の規定に従い感染性廃棄物として処理してください。飛散防止のため、廃棄の際にオートクレーブ処理は絶対に行わないでください。
3. 本品に感染性はありませんが、検査環境へのコンタミネーション防止のため、本品及び容器類を廃棄する際は、水で流さずに蓋付きの密閉容器に入れ、2. と同様に処理してください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法

-30～-20℃ 遮光

有効期間

1 年間

【包装単位】

統一商品コード

品名	規格
326065431	
ジェネリス　CMV	48 回
①リアクションミックス	0.55mL×2
②鎖置換型ＤＮＡ合成酵素液	55μL×1
③検体前処理液	25μL×48 ウェル
④陰性コントロール	0.45mL×1
⑤陽性コントロール	0.45mL×1

【主要文献】

1. Yasumasa Mitani.,et al.：Nat Methods.4（3）,p.257-262（2007）
2. Lezhava A.,et al.：Hum Mutat.31(2),p.208-217（2010）
3. Stagno & Whitley: New Engl J Med.313,p.1270-1274（1985）
4. 東　寛、他:日本周産期・新生児医学会雑誌 46,p.1273-1279（2010）
5. Hamprecht K.,et al.：Lancet.357（9255）,p.513-518（2001）

【問い合わせ先】

株式会社シノテスト　カスタマーサポート
TEL 0120-66-1141
FAX 042-753-1892
（品質に関するお問い合わせの際は、製造番号を確認の上ご連絡ください。）

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

株式会社シノテスト
神奈川県相模原市南区大野台4-1-93
TEL：0120-66-1141

「SmartAmp」は、株式会社ダナフォームの登録商標です。

(221111)