

マイコプラズマ核酸キット

ジーンスペクト Mpn

【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。

【形状・構造等（キットの構成）】

①処理液

デオキシアデノシン三リン酸 [略名: dATP]
デオキシシチジン三リン酸 [略名: dCTP]
デオキシチミジン三リン酸 [略名: dTTP]
デオキシグアノシン三リン酸 [略名: dGTP]

②反応液 A

DNA Polymerase

③反応液 B

Mpn 特異的プライマーF
Mpn 特異的プライマーR
Mpn 特異的プローブ

【使用目的】

咽頭ぬぐい液又は鼻咽頭ぬぐい液中のマイコプラズマ・ニューモニエのデオキシリボ核酸 (DNA) の検出 (マイコプラズマ・ニューモニエ感染の診断の補助)

【測定原理】

本品はリアルタイムポリメラーゼ連鎖反応法 (リアルタイム PCR 法) を測定原理として、マイコプラズマ・ニューモニエ (Mpn) 由来の DNA を特異的に検出する試薬です。検体中にマイコプラズマ・ニューモニエ由来の DNA を有する場合、Mpn 特異的プライマーF、Mpn 特異的プライマーR、デオキシアデノシン三リン酸 (dATP)、デオキシシチジン三リン酸 (dCTP)、デオキシチミジン三リン酸 (dTTP)、デオキシグアノシン三リン酸 (dGTP)、DNA Polymerase を混合し反応させると、マイコプラズマ・ニューモニエ由来の DNA に特異的な核酸増幅反応が起こります。マイコプラズマ・ニューモニエ由来の DNA 増幅の検出は Mpn 特異的プローブに標識された 6-FAM の蛍光検出によって行います。

【操作上の注意】

測定試料の性質、採取法

1. 検体は咽頭 (鼻咽頭含む) ぬぐい液を使用します。
 2. 検体の採取方法
スワブを口腔 (鼻孔) に挿入し、スワブの先端を咽頭後壁 (鼻腔の奥) に数回こすりつけてぬぐい液を採取してください。
 3. 検体の調製方法
2. にて採取したぬぐい液を 1 mL の滅菌生理食塩液又は Tris-EDTA 緩衝液 (pH8.0) に浸し、検体としてください。
- (注) 滅菌生理食塩液ご使用の場合は、調製後直ちに測定を行ってください。長期保存は避けてください。
BD E スワブ (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社製)、ユニットランズ RT トランスポート・システム (株式会社スギヤマゲン製) を使用することも可能です。

* 抽出 DNA を検体とすることも可能です。DNA の抽出は各核酸抽出試薬の使用説明書に従って行ってください。各核酸抽出試薬から抽出した DNA の性能を確認した上で使用してください。

妨害物質・妨害薬剤^{※1)}

薬剤の影響については、クラリスロマイシン 200 µg/mL、セフトアジム 200 µg/mL、レボフロキサシン 200 µg/mL、アセトアミノフェン 200 µg/mL、ロキソプロフェン 200 µg/mL、チペピジン 200 µg/mL まで測定に影響ありません。

交差反応性

マイコプラズマ・ニューモニエ以外のマイコプラズマ属を含む下記 29 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。

細菌名	
<i>Mycoplasma amphoriforme</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Mycoplasma orale</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
<i>Mycoplasma salivarium</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Group B
<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Group C
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Group F
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus</i> sp. Group G
<i>Listeria monocytogenes</i>	

【用法・用量（操作方法）】

試薬の調製方法

- ①処理液
そのまま使用します。
- ②反応液 A
そのまま使用します。
- ③反応液 B
そのまま使用します。

必要な器具・器材・試料等

1. リアルタイム PCR 装置
2. 恒温装置 (90℃設定が可能なもの)
3. マイクロピペット及びフィルター付チップ
4. 小型遠心機 (スピンドウン用)
5. ボルテックスミキサー
6. 氷 (クラッシュアイス) 又はそれに相当するもの
7. PCR 反応容器
8. 反応容器冷却用のアルミブロック
9. 前処理用容器 (0.5~2 mL)
10. 反応液調製用容器 (0.5~2 mL)

リアルタイム PCR 装置の設定

使用するリアルタイム PCR 装置の手順書に従い、下記の通りに設定してください。

- 検出チャンネル
マイコプラズマ・ニューモニエ (Mpn) : 6-FAM
(励起波長 470 nm、蛍光波長 520 nm)
インターナルコントロール (IC) : Cy5
(励起波長 640 nm、蛍光波長 682 nm)
- PCR 反応液量 25 μ L
- PCR サイクル
アブライドバイオシステムズ QuantStudio™ 5 Dx リアルタイム PCR 装置 (ライフテクノロジー・ジャパン株式会社) での例

ステップ	温度	時間	サイクル数	蛍光検出
1	95℃	1 分	1	なし
2	95℃	5 秒	45	なし
3	60℃	30 秒		あり

各装置の設定条件詳細については、弊社担当者にお問い合わせください。

測定 (操作) 法

試薬は室温で融解し、ボルテックスミキサーにてよく混和後、スピンドアウンして、使用時まで氷上で保管してください。

アブライドバイオシステムズ QuantStudio™ 5 Dx リアルタイム PCR 装置での使用例

1. 前処理

操作は全て氷上 (クラッシュアイスなどで冷却したアルミブロック上) で実施してください。

- 検体をボルテックスミキサーでよく撹拌してください。
- 前処理用容器に処理液 6.5 μ L 及び検体 6.5 μ L を添加し、ボルテックスミキサーでよく混合してください。
- 90℃の恒温装置で 5 分間の加熱処理を行い、スピンドアウンした後、氷冷してください。
- 前処理後は、速やかに測定を行ってください。

2. PCR 反応液調製

操作はすべて氷上 (クラッシュアイスなどで冷却したアルミブロック上) で実施してください。

- 反応液調製用容器に PCR 反応液を調製してください。
試薬必要量

構成成分	必要量 (1 テスト分)
反応液 A	8.4 μ L
反応液 B	9.6 μ L
総量	18 μ L

- 各試薬を混ぜた後、ボルテックスミキサーでよく混合し、スピンドアウンした後、氷冷してください。

3. PCR 反応

PCR 反応容器に、上記で調製した PCR 反応液 15 μ L、前処理済み検体 10 μ L を添加し、ボルテックスミキサーでよく混合し、スピンドアウンしてください。調製後は、直ちに測定を始めてください。

【測定結果の判定法】

下記に従い判定してください。

1. 各ブローブの判定

Mpn、IC 共に反応時間内に増幅曲線の立ち上がりが見られた場合は (+)、反応時間内に増幅曲線の立ち上がりが見られない場合は (-) と判定してください。

2. 検査結果の判定

各ブローブの判定結果を元に、以下の判定方法に従い、判定してください。

Mpn	IC	判定
(+)	(+)	陽性
(+)	(-)	陽性
(-)	(+)	陰性
(-)	(-)	無効

無効の場合は検査をやり直してください。

判定上の注意

- 必ず増幅曲線の形状を確認してください。増幅曲線のベースラインの乱れを増幅曲線の立ち上がりで誤判定しないように注意してください。
- 検体中の菌量が最小検出感度未満の場合や、プライマーまたはブローブ設定部位に変異がある場合には、本品で陰性を示すことがあります。本品の判定結果が陰性であっても症状が持続する場合は、必要に応じて、再検査などを実施する必要があります。

【性能】

性能

1. 感度・正確性・同時再現性

(1) 感度試験

陰性管理試料 (0 コピー/テスト) を測定するとき、陰性と判定されます。
陽性管理試料 (70 コピー/テスト) を測定するとき、陽性と判定されます。

(2) 正確性試験

陰性管理試料を測定するとき、陰性と判定されます。
陽性管理検体 1 及び陽性管理検体 2 を測定するとき、陽性と判定されます。

(3) 同時再現性試験

同一検体を 3 回同時に測定する時、陰性管理試料は陰性、陽性管理検体 1 及び陽性管理検体 2 は陽性と判定されます。

2. 最小検出感度^{注 1)}

15 コピー/テスト

相関性試験成績

マイコプラズマ・ニューモニエによる呼吸器感染症が疑われる患者 255 人の咽頭 (鼻咽頭含む) ぬぐい液を用いて、本品と既承認品の判定結果の評価を行いました。その結果、本品と既承認品 (LAMP 法) の判定結果の全体一致率は 94.1% (240/255)、本品と既承認品 (PCR 法) の判定結果の全体一致率は 99.6% (254/255) でした。

全検体：既承認品 (LAMP 法) との相関性

全検体		既承認品 (LAMP 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	64	15	79
	陰性	0	176	176
計		64	191	255

陽性一致率：100% (64/64)

陰性一致率：92.1% (176/191)

全体一致率：94.1% (240/255)

全検体：既承認品 (PCR 法) との相関性

全検体		既承認品 (PCR 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	78	1	79
	陰性	0	176	176
計		78	177	255

陽性一致率：100% (78/78)

陰性一致率：99.4% (176/177)

全体一致率：99.6% (254/255)

咽頭ぬぐい液検体：既承認品 (LAMP 法) との相関性

咽頭ぬぐい液検体		既承認品 (LAMP 法)		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	39	14	53
	陰性	0	104	104
計		39	118	157

陽性一致率：100% (39/39)

陰性一致率：88.1% (104/118)

全体一致率：91.1% (143/157)

咽頭ぬぐい液検体：既承認品（PCR 法）との相関性

咽頭ぬぐい液検体		既承認品（PCR 法）		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	52	1	53
	陰性	0	104	104
計		52	105	157

陽性一致率：100%（52/52）

陰性一致率：99.0%（104/105）

全体一致率：99.4%（156/157）

鼻咽頭ぬぐい液検体：既承認品（LAMP 法）との相関性

鼻咽頭ぬぐい液検体		既承認品（LAMP 法）		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	25	1	26
	陰性	0	72	72
計		25	73	98

陽性一致率：100%（25/25）

陰性一致率：98.6%（72/73）

全体一致率：99.0%（97/98）

鼻咽頭ぬぐい液検体：既承認品（PCR 法）との相関性

鼻咽頭ぬぐい液検体		既承認品（PCR 法）		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	26	0	26
	陰性	0	72	72
計		26	72	98

陽性一致率：100%（26/26）

陰性一致率：100%（72/72）

全体一致率：100%（98/98）

校正用基準物質

マイコプラズマ・ニューモニエの配列の一部を組み込んだプラスミド DNA

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 HIV、HBV、HCV 等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。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、また口によるピベッティングを行わないでください。
2. 試薬が誤って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. 本品は貯蔵方法に従い保存してください。
2. 使用期限を過ぎた試薬は使用しないでください。
3. 本品の凍結融解は 12 回まで可能です。
4. 製造番号の異なる試薬を組み合わせ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。
5. 構成試薬を取り扱う際は、核酸分解酵素（DNase）のコンタミネーションに注意してください。汗や唾液に含まれる DNase が混入すると、DNA が分解され、測定結果に影響する場合があります。
6. 検査区域は次亜塩素酸ナトリウム溶液（有効塩素濃度 0.5% 以上）等により器具、実験台の清掃等を徹底してください。
7. 容器を再利用したり他の目的に転用しないでください。

廃棄上の注意

1. 検体中には HIV、HBV、HCV 等の感染性のものが存在する場合がありますので、廃液、使用済み器具などは次亜塩素酸ナトリウム（有効塩素濃度 1000 ppm、1 時間以上浸漬）又はグルタルアルデヒド（2%、1 時間以上浸漬）による消毒処理を行ってください。
2. 試薬及び器具類を廃棄する場合には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律等に従って処理してください。
3. PCR 後の反応容器は蓋を開けないで廃棄してください。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でください。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法

−60～−20℃ 遮光保存

有効期間

12 ヶ月間

【包装単位】

統一商品コード

品名	規格
326094110	
ジンスペクト M p n	12 回
①処理液	10 μL × 12
②反応液 A	12 μL × 12
③反応液 B	13 μL × 12
他に包装がありますので、お問い合わせください。	
・別売：「M p n 陽性コントロール」	
(1 mL × 3、統一商品コード 326094141)	

【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

(260209)