

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。

インフルエンザウイルス核酸キット

ジーンキューブ FluA/B

【重要な基本的注意】

診断は、本品による検査結果のみで行わず、他の検査結果及び臨床症状を考慮して総合的に判断してください。本品はあくまで A 型インフルエンザウイルス感染及び B 型インフルエンザウイルス感染の診断の補助を行うためのものです。

【全般的な注意】

1. 本品は全自動遺伝子解析装置 GENEUCUBE の専用試薬です。
2. 本品は、体外診断用でありそれ以外の目的に使用しないでください。
3. 電子化された添付文書以外の使用目的及び使用方法でご使用されて得られた測定結果については保証を致しかねます。
4. 測定結果に基づく診断は、他の検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。
5. 使用する機器の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。
6. SDS は末尾記載の問い合わせ先に請求し、ご確認ください。

【形状・構造等(キットの構成)】

1. 酵素液 A
KOD DNA ポリメラーゼ
逆転写酵素
 2. 酵素液 B
dNTP*
 3. プライマー・プローブ試薬
FluA primer_F1
FluA primer_F2
FluA primer_R1
FluA primer_R2
FluA QProbe
FluB primer_F
FluB primer_R
FluB QProbe
 4. 陽性コントロール溶液 A
 5. 陽性コントロール溶液 B
 6. 陰性コントロール溶液
- ※「dNTP」はデオキシアデニン三リン酸、デオキシシチジン三リン酸、デオキシグアノシン三リン酸、デオキシチミジン三リン酸の混合物です。

【使用目的】

鼻咽頭ぬぐい液又は鼻腔ぬぐい液中の 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の補助)

【測定原理】

本品は、「Polymerase Chain Reaction (PCR)法による標的核酸増幅」と「蛍光標識プローブ (QProbe)を用いた標的核酸検出」^{1),2)}を利用した A 型又は B 型インフルエンザウイルス RNA 検出試薬です。
本品は、標的核酸にプライマーがハイブリダイズし、RNA の一部を逆転写酵素により cDNA に変換し、続いて KOD DNA ポリメラーゼ³⁾によって PCR 増幅を行う、one-step RT-PCR 法を用いています。増幅した標的核酸に対して、プローブをハイブリダイズさせて、融解曲線解析を行い蛍光のピーク温度を解析することで A 型又は B 型インフルエンザウイルス RNA 検出を行います。

【操作上の注意】

1. 検体について
(1) 本品の試料には、鼻咽頭ぬぐい液又は鼻腔ぬぐい液から抽出した RNA 溶液(検体調製液)を用います。
(2) 血液成分が多量に含まれている検体は避けてください。試料中に多量に残存していると増幅検出反応が阻害されて検出できないことがあります。

2. 試料の調製方法

(1) 臨床検体の採取方法

鼻咽頭ぬぐい液: 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(成人 10cm 程度、小児 5cm 前後が目安)、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、ぬぐい液を採取します。

鼻腔ぬぐい液: 鼻孔の方向で鼻腔に沿って 2cm 程度ぬぐい棒を挿入し、鼻甲介付近をゆっくり 5 回程度回転させ、5 秒程度静置し湿らせませ。

(2) 臨床検体の前処理方法

検体の前処理は、以下の方法で前処理・核酸抽出法を行ってください。核酸抽出にあたって、注意事項など詳細については核酸抽出に用いる製品・試薬の説明書に従って操作してください。各種核酸抽出法の操作方法に従って抽出したものを検体調製液とします。

プロテイナーゼ K 溶液及び加熱を用いる核酸抽出法を用いる場合には、以下の操作に従ってください。

- 1) 1.5mL チューブにプロテイナーゼ K^{*1} 10 μ L を分注します。
 - 2) 検体^{*2} 100 μ L を 1) に加えて、混和を行います。
 - 3) 約 65°C、5min で加熱した後、更に約 95°C、5min で加熱し、十分に冷ました液を溶解液^{*3} と等量混合し検体調製液として使用します。
- ※1 使用するプロテイナーゼ K は、プロテイナーゼ K 溶液(関東化学)を推奨します。
※2 鼻咽頭ぬぐい液又は鼻腔ぬぐい液懸濁液で用いる際の検体保存液として、コパン UTM または同等品、ウイルス輸送液 SGVTM-3R(スギヤマゲン)、eSwab は本処理法で用いることができます。PBS を用いる場合には、PBS に対し Bovine Serum Albumin (BSA) 溶液を 10:1 の割合で加えて使用してください。
使用する BSA は、Bovine Serum Albumin 溶液(20mg/mL、タカラバイオ)又はその同等品を推奨します。
※3 溶解液はジーンキューブ専用 溶解液を用いてください。

3. 交差反応性

病原性コロナウイルス、他の呼吸器疾患原因ウイルス及び菌を含む下記 29 種について測定し、すべて陰性であることを確認しました。

ウイルス名	ウイルス名
Adenovirus	Parainfluenza virus 1
Coronavirus 229E	Parainfluenza virus 2
Coronavirus OC43	Parainfluenza virus 3
SARS-CoV	Parainfluenza virus 4
MERS-CoV	Respiratory syncytial virus subtype A
SARS-CoV-2	Respiratory syncytial virus subtype B
Herpes simplex virus 1	Rhinovirus
Human metapneumovirus	

菌名	菌名
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>

4. 共存物質の影響

妨害物質の影響について、遊離型ビリルビン(7.5mg/dL)、抱合型ビリルビン(8.0mg/dL)、溶血ヘモグロビン(742.4mg/dL)、乳ビ(ホルマジン濁度 3704.5 度)存在下でも本品の判定結果に影響しないことを確認しました。
薬剤の影響について、クラリスロマイシン(1mg/mL)、レボフロキサシン(1mg/mL)、アセトアミノフェン(1mg/mL)、ロキソプロフェン(1mg/mL)、アジスロマイシン(1mg/mL)、ミノサイクリン(1mg/mL)、リトナビル(1mg/mL)、フェビピラビル(1mg/mL)、オセルタミビルリン酸塩(1mg/mL)、ザナミビル(1mg/mL)存在下でも本品の判定結果に影響しないことを確認しました。

5.コンタミネーションの防止

GENECUBEは、試薬の分注から増幅専用容器であるプラスチックキャピラリーへの試薬の充填、増幅検出までを自動で行います。増幅・検出を一つの容器で開封することなしに行うことができ、測定を終了した試薬はそのまま自動で廃棄するため、キャリアオーバーコンタミネーションによる偽陽性を抑えることができます。しかし、GENECUBE では検体の調製段階で発生するクロスコンタミネーションは防止することができませんので、以下の操作法を遵守してください。

(1)個人防護具の着用

人体に付着した微生物や体液（例えば唾液、汗）の混入を防ぐため、また検体からの感染防止の観点からも個人防護具（手袋、マスク、防護衣など）を着用して操作を行ってください。GENECUBE への試薬のセット時には、検体の調製時に使用した手袋は使用せず、新しい手袋を使用してください。

(2)フィルター付ピペットチップの使用

検体の調製時に使用するピペットがエアードイスプレースピペットの場合、サンプルとピストンの間に空気が介在するため、ピペット内部を汚染してしまう可能性があります。ピペット内部の汚染を防止するため、フィルター付のチップを使用してください。

【用法・用量(操作方法)】

1.試薬・試液調製法

- ・酵素試薬：酵素液 A に酵素液 B を 140 μ L 添加し、ボルテックスミキサーにて攪拌し、スピンドアウンして使用してください*。
 - ・プライマー・プローブ試薬：そのまま用います。使用前にボルテックスミキサーにて攪拌し、スピンドアウンして使用してください。
- ※混合した酵素試薬は、2~8℃で保存し 4 週間以内に使用してください。

2.必要な器具、器材など

- ・GENECUBE 及びその付属品、取扱説明書
 - ・マイクロピペット及びチップ
 - ・個人防護具（手袋、マスク、防護衣など）
- <消耗品>
- ・ジーンキューブ専用 プラスチックキャピラリー
 - ・ジーンキューブ専用 分注チップ
 - ・8,12 連チューブ:株式会社イナ・オプティカ 123015TC,123046TC など*
 - ・サンプルチューブ(0.5mL):ザルスタット株式会社 72.699.00003, 72.704.700 など*
- ※上記以外の製品をご使用の場合は、適合の可否をお問い合わせください。

3.操作方法

本品は、全自動遺伝子解析装置 GENECUBE を用いて測定してください。GENECUBE の操作は、GENECUBE の取扱説明書に従って行ってください。

- (1)酵素試薬*、プライマー・プローブ試薬、各消耗品を機器の所定の位置にセットします。
 - (2)検体調製液を分注したチューブを機器の所定の位置にセットします。
 - (3)検査を開始します。
 - (4)検査終了後、測定画面上に表示される判定結果に従って判定を行ってください。
- ※酵素試薬については、ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2 及びジーンキューブ HQ SARS-CoV-2/RSV の酵素試薬と互換できます。

精度管理を目的として、付属の陽性コントロール溶液、陰性コントロール溶液*を用いる場合、検体調製液と同様に上記の操作を行います。陽性コントロール溶液、陰性コントロール溶液はそのまま用いることができます。陽性コントロール溶液について測定結果が陰性を示した場合、陰性コントロール溶液について測定結果が陽性を示した場合、全ての試薬を入れ替えて再測定を行ってください。

※陰性コントロール溶液については、ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2 及びジーンキューブ HQ SARS-CoV-2/RSV の陰性コントロール溶液と互換できます。

【測定結果の判定法】

1.判定方法

判定結果は、判定画面上で A 型インフルエンザウイルス陽性「A」、B 型インフルエンザウイルス陽性「B」、陰性「-」、判定無効「Invalid」の判定が行われます。判定無効「Invalid」の場合、検体調製から再測定を行ってください。

2.判定上の注意

本品で陰性と判定されても必ずしもインフルエンザウイルスの存在を否定するものではありません。検体中に標的となる RNA が存在しても、検体前処理操作で最小検出感度以下になった場合は陰性と判定されますのでご注意ください。

(1)以下の場合、正常に測定できないことがありますのでご注意ください。

- 1)検体調製が不十分で、ウイルスのロス又は RNA の分解が生じている検体を使用した場合
 - 2)保管方法が適切に行われていないもしくは有効期限が過ぎている試薬を使用した場合
 - 3)保管が適切に行われていない検体を使用した場合
- (2)プライマー及びプローブは、比較の変異が少ない遺伝子領域をターゲットにしていますが、インフルエンザウイルスの変異により、本品での検出感度が低下したり、正常に検出できなくなったりする可能性があります。また、同様の理由で A 型インフルエンザウイルスが B 型インフルエンザウイルスと誤判定される、あるいはその逆の事象が発生する可能性があります。
- * (3)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品が陽性反応を示す可能性があります。

【性能】

1.性能

用法・用量(操作方法)欄の操作方法により、感度、正確性、同時再現性の各試験を行った場合、下記の規格に適合します。

(1)感度試験

- 1)陰性コントロール溶液を測定するとき、陰性を示します。
- 2)陽性コントロール溶液 A を測定するとき、A 型陽性を示します。
- 3)陽性コントロール溶液 B を測定するとき、B 型陽性を示します。

(2)正確性試験

- 1)自家管理陰性試料を測定するとき、陰性を示します。
- 2)自家管理陽性試料 1 を測定するとき、A 型陽性を示します。
- 3)自家管理陽性試料 2 を測定するとき、B 型陽性を示します。

(3)同時再現性試験

- 1)自家管理陰性試料を 4 回同時に測定するとき、すべて陰性を示します。
- 2)自家管理陽性試料 1 を 4 回同時に測定するとき、すべて A 型陽性を示します。
- 3)自家管理陽性試料 2 を 4 回同時に測定するとき、すべて B 型陽性を示します。

(4)最小検出感度(GENECUBE 測定)

FluA:50 コピー/テスト

FluB:50 コピー/テスト

(5)較正用基準物質

本品の較正用基準物質には A 型インフルエンザウイルスの Matrix protein 遺伝子塩基配列を含む RNA、B 型インフルエンザウイルスの nonstructural protein 遺伝子塩基配列を含む RNA をそれぞれ使用しています。

2.関連性

鼻咽頭ぬぐい液 166 検体を対象として、本品と対照法との比較を行いました。本品にて A 型陽性と判定された 37 例、B 型陽性と判定された 24 例、陰性と判定された 105 例は、リアルタイム RT-PCR 法でも各々 A 型陽性、B 型陽性、陰性と判定され、全体一致率は 100%となりました。本品と抗原検査法との比較では、本品にて A 型陽性と判定された 37 例の内、抗原検査法では A 型陽性が 30 例、陰性が 7 例でした。本品にて B 型陽性と判定された 24 例の内、抗原検査法では B 型陽性が 21 例、陰性が 3 例でした。一方、本品にて陰性と判定された 105 例は、抗原検査法でも全例陰性であり、本品と抗原検査法との全体一致率は 94.0%でした。以上から、本品はリアルタイム RT-PCR 法、抗原検査法と相関を示しました。

表 1-1.鼻咽頭ぬぐい液 リアルタイム RT-PCR 法との一致率

		リアルタイム RT-PCR 法		
		A 型陽性	B 型陽性	陰性
本品	A 型陽性	37	0	0
	B 型陽性	0	24	0
	陰性	0	0	105
全体一致率		100% (166/166)		

表 1-2.鼻咽頭ぬぐい液 抗原検査法との一致率

		既承認品(抗原検査法)		
		A 型陽性	B 型陽性	陰性
本品	A 型陽性	30	0	7*
	B 型陽性	0	21	3*
	陰性	0	0	105
全体一致率		94.0% (156/166)		

※抗原検査法で陰性の 7 例及び 3 例について、リアルタイム RT-PCR 法では各々全例 A 型陽性、全例 B 型陽性でした。

鼻腔ぬぐい検体については、リアルタイム RT-PCR 法での定量結果から約 100 コピー/テストの濃度になるように調整した陽性スパイク試料 16 例 (A 型 8 例、B 型 8 例)、約 50 コピー/テストの濃度になるように調整した陽性スパイク試料 16 例 (A 型 8 例、B 型 8 例)、及び陰性試料 16 例を本品で測定したところ、陽性試料は全て陽性、陰性試料は全て陰性と判定されました。本品とリアルタイム RT-PCR 法との全体一致率は 100%でした。

表 1-3.鼻腔ぬぐい液 リアルタイム RT-PCR 法との一致率

		リアルタイム RT-PCR 法		
		A 型陽性	B 型陽性	陰性
本品	A 型陽性	16	0	0
	B 型陽性	0	16	0
	陰性	0	0	16
全体一致率		100% (48/48)		

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上の注意

- (1) 検体は感染性を有するものとして、各施設の安全管理規定に従って取扱ってください。
- (2) 検体を取扱う時は、個人防護具(手袋、マスク、防護衣など)を着用し、検体を吸い込んだり体に付着したりすることがないようにご注意ください。
- (3) 試薬が誤って目や口に入った場合は、直ちに水で十分洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の診察・治療などを受けてください。
- (4) 試薬が誤って皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流してください。
- (5) 試薬が飛散した場合は、拭き取ってください。
- (6) 検体を含む溶液が飛散した場合は手袋とマスク着用の上、0.5%次亜塩素酸剤などの消毒液を使用して拭き取ってください。
- (7) 検体の採取には必ず医療器具として承認を受けているスワブをお使いください。

2. 使用上の注意

- (1) 機器、試薬及び消耗品は専用のものを使用してください。
- (2) 本品に含まれる試薬は必ず保管方法に従って保存し、長時間室温に放置したりしないでください。また、保管方法以外の条件で保存した試薬や有効期間が過ぎている試薬は使用しないでください。
- (3) すべての構成試薬は継ぎ足して使用しないでください。
- (4) 検査従事者の汗や唾液に含まれる RNase による RNA 分解を防ぐため、本品を使用する際は必ず手袋、マスクを着用してください。
- (5) グアニジンなど不活化成分を含む検体保存液は、PCR を阻害するため使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 使用済みの試薬及び器具などを廃棄する場合には医療用廃棄物に関する規定に従って廃棄してください。
- (2) 試薬を廃棄する場合は水質汚濁防止法などの規制に留意して処理してください。
- (3) 使用済みの試薬及び消耗品は、溶液を飛散させないように廃棄してください。

【保管方法・有効期間】

保管方法

-30~-15℃で保存: 酵素液 A、陽性コントロール溶液 A、陽性コントロール溶液 B

2~8℃で保存: 酵素液 B、陰性コントロール溶液、プライマー・プローブ試薬

有効期間

12 ヶ月 (期限は外箱に表示)

【包装単位】

商品名	構成試薬名
ジーンキューブ FluA/B (48 テスト)	酵素液 A
	酵素液 B
	プライマー・プローブ試薬
	陽性コントロール溶液 A
	陽性コントロール溶液 B
	陰性コントロール溶液

****【主要文献】**

- 1) Kurata S. *et al.* Fluorescent quenching-based quantitative detection of specific DNA/RNA using a BODIPY((R)) FL-labeled probe or primer. *Nucleic Acids Res.* 2001 Mar 15; 29(6): e34.
- 2) Torimura M. *et al.* Fluorescence-Quenching Phenomenon by Photoinduced Electron Transfer between a Fluorescent Dye and a Nucleotide Base. *Anal Sci.* 2001 Jan; 17(1): 155-160.
- 3) Takagi M. *et al.* Characterization of DNA Polymerase from *Pyrococcus* sp. Strain KOD1 and Its Application to PCR. *Appl Environ Microbiol.* 1997 Nov; 63(11): 4504-4510.

TOYOBO

****【問い合わせ先】**

東洋紡株式会社 バイオ事業総括部
〒530-0001 大阪市北区梅田一丁目13番1号
大阪梅田ツインタワーズ・サウス
TEL 06-6348-3335 FAX 06-6348-3833

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

東洋紡株式会社
〒914-8550 福井県敦賀市東洋町 10 番 24 号