体外診断用医薬品　　**改訂 2025 年 4 月(第 6 版)
製造販売承認番号 30300EZX00026000　　*改訂 2023 年 10 月(第 5 版)

**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。

百日咳菌核酸キット

ジーンキューブ 百日咳

[全般的な注意]

1.本品は全自動遺伝子解析装置 GENECUBE 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.酵素試薬[KOD Mix]
KOD DNA ポリメラーゼ
dNTP※
2.プライマー・プローブ試薬[BP Mix]
BP プライマーF
BP プライマーR
BP QProbe
硫酸マグネシウム
3.陽性コントロール溶液 1[BP PC1]
4.陽性コントロール溶液 2[BP PC2]
5.陰性コントロール溶液[NC(呼吸器用)]
※「dNTP」はデオキシアデノシン三リン酸、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]

鼻咽頭拭い液又は咽頭拭い液中の百日咳菌及びパラ百日咳菌ゲノム DNA の検出(百日咳の診断補助)

[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)]を利用して百日咳菌(*Bordetella pertussis*)及びパラ百日咳菌(*Bordetella parapertussis*)DNA 検出試薬です。
標的核酸にプライマーがハイブリダイズし、KOD DNA ポリメラーゼ [3)]が反応することで標的核酸が増幅されます。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百日咳菌及びパラ百日咳菌 の DNA 検出を行います。
※「QProbe」は日鉄環境株式会社が特許権を有する消光プローブです。

[操作上の注意]

1.検体について
(1)本品の試料には、鼻咽頭拭い液又は咽頭拭い液から抽出した DNA 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。
(3)冷凍保存された検体を使用するときは、室温に戻してから使用してください。

2.試料の調製方法
(1)臨床検体の採取方法
鼻咽頭拭い液:鼻孔内にスワブを挿入し、スワブの先を鼻腔の奥にこすりつけて拭い液を採取してください。
咽頭拭い液:口腔にスワブを挿入し、スワブの先を咽頭後壁にこすりつけて拭い液を採取してください。
(2)臨床検体の前処理方法
各拭い液の前処理は、以下の A～C のいずれかの方法で行ってください。
A.検体抽出法
1)鼻咽頭拭い液又は咽頭拭い液を採取したスワブを滅菌精製水又は検体保存溶液※1 に浸漬させます。
2)ボルテックスなどで軽く撹拌して、懸濁させます。(この懸濁液について13,000×g で 3 分間の遠心を行い、上清を全量廃棄して得られた沈査を検体として用いることもできます。)
3)懸濁液に溶解液※2 をチューブに等量(沈査の場合は 50μL)加え、ボルテックスで十分に撹拌(約 15 秒間)し、必要に応じて「ジーンキューブ専用　前処理キット(呼吸器用)」のフィルターでろ過します。
4)この前処理液を検体調製液として使用します。
※1 生理食塩水、カザミノ酸溶液、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)など塩濃度が高いものは、正しく結果が得られない可能性があるため、使用できません。
※2「ジーンキューブ専用　溶解液」もしくは「ジーンキューブ専用　前処理キット(呼吸器用)」の溶解液を用います。

B.ビーズ破砕法
1)鼻咽頭拭い液又は咽頭拭い液を採取したスワブを滅菌精製水又は検体保存溶液に浸漬させ、懸濁します。
2)イージー・ビーズに滅菌精製水 1000μL を分注します。
3)検体懸濁液を 2)に加えて、13,000×g、3 分間の遠心を行います。
4)チューブに残る溶液が 150μL 以下となるように上清を除去します。
5)溶解液 50μL を加えて、ボルテックスミキサー※で 3 分間激しく撹拌します。
6)13,000×g、3 分間の遠心を行います。
7)上清を検体調製液として使用します。
※ボルテックスミキサーは DIGITAL DISRUPTOR GENIE SI-DD88 もしくは同等性能品を用い、回転速度 2,500rpm 以上の設定で実施してください。用手法や破砕効率の低い撹拌機を用いた場合、十分なDNAが得られないことがあります。

C.各種核酸抽出法
核酸抽出にあたって、注意事項など詳細については製品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核酸抽出前処理液から核酸を抽出したものを検体調製液とします。

3.交差反応性
百日咳菌とパラ百日咳菌以外の *Bordetella* 属菌や他の呼吸器疾患原因菌を含む下記 38 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。

菌種	菌種
Acinetobacter baumannii	*Mycoplasma fermentans*
Actinomyces meyeri	*Mycoplasma genitalium*
Bordetella bronchiseptica	*Mycoplasma hominis*
Bordetella holmesii	*Mycoplasma orale*
Candida intermedia	*Mycoplasma pneumoniae*
Chlamydophila pneumoniae	*Mycoplasma salivarium*
Chlamydophila psittaci	*Neisseria meningitidis*
Corynebacterium durum	*Pseudomonas aeruginosa*
Corynebacterium kroppenstedtii	*Pseudomonas fluorescens*
Corynebacterium sp.	*Serratia marcescens*
Enterococcus faecalis	*Staphylococcus aureus (MRSA)*
Escherichia coli	*Staphylococcus aureus (MSSA)*
Haemophilus influenzae	*Staphylococcus epidermidis*
Klebsiella pneumoniae	*Staphylococcus haemolyticus*
Legionella pneumophila	*Streptococcus mitis*
Moraxella catarrhalis	*Streptococcus pneumoniae*
Mycobacterium avium	*Streptococcus pyogenes*
Mycobacterium tuberculosis	*Veillonella montpellierensis*
Mycoplasma bovis	*Veillonella parvula*

4.共存物質の影響
クラリスロマイシン、レボフロキサシン、アセトアミノフェン、ロキソプロフェン、アジスロマイシン、ミノサイクリン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、キャリー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ディ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[KOD Mix] : そのまま用います。
・プライマー・プローブ試薬[BP Mix] : そのまま用います。

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※ [KOD Mix]、プライマー・プローブ試薬 [BP Mix]、各消耗品を機器の所定の位置にセットします。
(2)検体調製液の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、有効期限内のジーンキューブマイコプラズマ・ニューモニエの酵素試薬として互換できます。

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、有効期限内のジーンキューブマイコプラズマ・ニューモニエの陰性コントロール溶液として互換できます。

[測定結果の判定法]
1.判定方法
判定結果は、判定画面上で百日咳菌陽性、パラ百日咳菌陽性、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百日咳菌およびパラ百日咳菌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DNA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、菌体のロス又は DNA 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)保存が適切に行われていない検体を使用した場合
(2)試料に含まれる百日咳菌およびパラ百日咳菌が死菌である場合、菌から放出された DNA を検出する可能性があります。

[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なった場合、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 1 を測定するとき、百日咳菌陽性を示します。
陽性コントロール溶液 2 を測定するとき、パラ百日咳菌陽性を示します。
(2)正確性試験
1)自家管理陰性試料 1 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、百日咳菌陽性を示します。
自家管理陽性試料 2 を測定するとき、パラ百日咳菌陽性を示します。
(3)同時再現性試験
1)自家管理陰性試料 1 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、すべて百日咳菌陽性を示します。
自家管理陽性試料 2 を 4 回同時に測定するとき、すべてパラ百日咳菌陽性を示します。
(4)最小検出感度(GENECUBE 測定)
百日咳菌:5 コピー/テスト
パラ百日咳菌:5 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百日咳菌遺伝子、パラ百日咳菌遺伝子を含む DNA を使用しています。

2.相関性
(1)既存核酸増幅法での百日咳菌検出との相関性評価
鼻咽頭拭い液 219 件、咽頭拭い液 298 件を試料として、本品及び既存核酸増幅法での百日咳菌の測定を行ったところ、表 1-1、1-2 に示す結果となりました。

表 1-1 既存核酸増幅法での百日咳菌検出との相関性試験成績(鼻咽頭拭い液)

鼻咽頭拭い液		既存核酸増幅法(LAMP 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	53	2※1
	陰性	2※2	162
全体一致率		98.2% (215/219)	

※1 2 件のうち 1 件は培養法陽性でリアルタイム PCR 法陰性。
残り 1 件は培養法陰性、リアルタイム PCR 法陰性(同時に採取した咽頭拭い液検体でリアルタイム PCR 法陽性を認めました)。
※2 2 件のうち 1 件は培養法陽性でリアルタイム PCR 法陰性*。残り 1 件は培養法陰性でリアルタイム PCR 法陰性*。
(*LAMP 法で用いた抽出液からの GENECUBE 測定で 2 件とも陽性を認めました)。

表 1-2 既存核酸増幅法での百日咳菌検出との相関性試験成績(咽頭拭い液)

咽頭拭い液		既存核酸増幅法(リアルタイム PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	63	9※1
	陰性	0	226
全体一致率		97.0% (289/298)	

※1 9 件のうち 4 件は培養陰性、2 件は培養陽性、残り 3 件は培養結果なし。
(参考:培養陰性と培養結果なしの 7 件のうち 5 件は LAMP 法陽性、2 件は LAMP 法陰性*。)
(*2 件のうち 1 件はリアルタイム PCR 法の再検で陽性、残り 1 件は同時に採取した鼻咽頭拭い液検体で LAMP 法陽性を認めました。)

(2)既存核酸増幅法でのパラ百日咳菌検出との相関性評価
鼻咽頭拭い液 211 件、咽頭拭い液 298 件を試料として、本品及び既存核酸増幅法でのパラ百日咳菌の測定を行ったところ、表 2-1、2-2 に示す結果となりました。

表 2-1 既存核酸増幅法でのパラ百日咳菌検出との相関性試験成績(鼻咽頭拭い液)

鼻咽頭拭い液		既存核酸増幅法(リアルタイム PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	5	0
	陰性	0	206
全体一致率		100% (211/211)	

表 2-2 既存核酸増幅法でのパラ百日咳菌検出との相関性試験成績(咽頭拭い液)

咽頭拭い液		既存核酸増幅法(リアルタイム PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	16	2※1
	陰性	0	280
全体一致率		99.3% (296/298)	

※1 2 件のうち 1 件は培養陰性。残り 1 件は培養結果なし*。
(*2 件ともリアルタイム PCR 法の再検で陽性を認めました。)

(3)培養法での百日咳菌検出との相関性評価
鼻咽頭拭い液 215 件、咽頭拭い液 261 件を試料として、本品及び培養法での百日咳菌測定を行ったところ、表 3-1、3-2 に示す結果となりました。

表 3-1 培養法での百日咳菌検出との相関性試験成績(鼻咽頭拭い液)

鼻咽頭拭い液		培養法	
		陽性	陰性
本品	陽性	32	18※1
	陰性	1※2	164
全体一致率		91.2% (196/215)	

※1 18 件のうち 17 件は LAMP 法陽性。残り 1 件は LAMP 法陰性、リアルタイム PCR 法陰性*。
(*同時に採取した咽頭拭い液検体でリアルタイム PCR 法陽性を認めました。)
※2 LAMP 法陽性、リアルタイム PCR 法陰性*
(*LAMP 法で用いた抽出液からの GENECUBE 測定で陽性を認めました。)

*表 3-2 培養法での百日咳菌検出との相関性試験成績(咽頭拭い液)

咽頭拭い液		培養法	
		陽性	陰性
本品	陽性	20	26※1
	陰性	1※2	214
全体一致率		89.7% (234/261)	

※1 26 件のうち 22 件はリアルタイム PCR 法陽性。残り 4 件はリアルタイム PCR 法陰性。
(参考:リアルタイム PCR 法陰性の 4 件のうち 3 件は LAMP 法陽性、1 件は LAMP 法陰性*)
(*リアルタイム PCR 法の再検で陽性を認めました。)
※2 リアルタイム PCR 法陰性(参考:LAMP 法陽性*)
(*LAMP 法で用いた抽出液からの GENECUBE 測定で陽性を認めました。)

(4)培養法でのパラ百日咳菌検出との相関性評価
鼻咽頭拭い液 215 件、咽頭拭い液 261 件を試料として、本品及び培養法でのパラ百日咳菌測定を行ったところ、表 4-1、4-2 に示す結果となりました。

表 4-1 培養法でのパラ百日咳菌検出との相関性試験成績(鼻咽頭拭い液)

鼻咽頭拭い液		培養法	
		陽性	陰性
本品	陽性	1	4※1
	陰性	0	210
全体一致率		98.1% (211/215)	

※1 4 件ともリアルタイム PCR 法陽性。

表 4-2 培養法でのパラ百日咳菌検出との相関性試験成績(咽頭拭い液)

咽頭拭い液		培養法	
		陽性	陰性
本品	陽性	5	2※1
	陰性	0	254
全体一致率		99.2% (259/261)	

※1 2 件のうち 1 件はリアルタイム PCR 法陽性。残り 1 件はリアルタイム PCR 法陰性*。
(*リアルタイム PCR 法の再検で陽性を認めました。)

[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機器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、試薬およ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、凍結させたり、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。

3.廃棄上の注意
*(1)使用済みの試薬及び消耗品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
2～8℃で保存
有効期間
18 ヶ月 (期限は外装に表示)

***[包装単位]**

商品名	構成試薬名
ジーンキューブ百日咳 (32 テスト)	酵素試薬[KOD Mix]
	プライマー・プローブ試薬[BP Mix]
	陽性コントロール溶液 1[BP PC1]
	陽性コントロール溶液 2[BP PC2]
	陰性コントロール溶液[NC(呼吸器用)]

****[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