

ノロウイルス核酸キット

ジーンキューブ ノロウイルス

【全般的な注意】

1. 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。
2. 本品の判定が陰性であっても、本品が対象とする病原体の感染を否定するものではありません。診断は本品による判定のみで行わず、臨床症状も含めて総合的に判断してください。
3. 本電子添文に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、結果の信頼性を保証しません。
4. 本品は全自動遺伝子解析装置 GENECUBE の専用試薬です。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。

【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※
 - ※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、デオキシグアニシン三リン酸、デオキシチミジン三リン酸の混合物です。
3. プライマー・プローブ試薬
 - ・ COG1F primer
 - ・ COG1R primer
 - ・ COG1 QProbe
 - ・ COG2F primer
 - ・ COG2F-2 primer
 - ・ ALPF primer
 - ・ COG2R primer
 - ・ COG2 QProbe
4. 陽性コントロール溶液
5. 陰性コントロール溶液

【使用目的】

糞便中のノロウイルス RNA の検出(ノロウイルス感染の診断の補助)

【測定原理】

本品は、Polymerase Chain Reaction (PCR)法による核酸増幅と蛍光標識プローブ (QProbe)¹⁾²⁾を用いたノロウイルス RNA の検出試薬です。対象 RNA の特異的な塩基配列をターゲットに、逆転写酵素、KOD DNA ポリメラーゼ³⁾、primer、dNTPを用いて、RNA の一部を cDNA に変換し PCR 増幅を行います。増幅した標的核酸に QProbe がハイブリダイズすることで消光します。その後、GENECUBE 反応部の昇温に伴って QProbe が解離し、蛍光を発します。その蛍光変化(融解曲線)を検出します。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法
 - (1) 測定試料の採取法
採取容器の取扱説明書に従ってください。
 - (2) 測定試料を扱う上での注意
 - ・ 検体は採取後なるべく早く【用法・用量(操作方法)】の「1.測定試料の調製方法」に従い調製してください。
2. 妨害物質・妨害薬剤
 - (1) 交差反応性
下記 24 種から抽出された DNA や RNA (40,000 コピー/テスト)について試験を行ったところ、いずれも判定結果への影響は認められませんでした。

菌名	菌名
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Clostridioides difficile</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>
<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>

ウイルス名	ウイルス名
Adenovirus	Rotavirus
Astrovirus	Sapovirus

- (2) 共存物質の影響
生体成分・薬剤 6 種について添加試験を行ったところ、いずれも判定結果への影響は認められませんでした。

共存物質	濃度
遊離型ビリルビン	23.1mg/dL
抱合型ビリルビン	15.2mg/dL
溶血ヘモグロビン	787.9mg/dL
乳ビ	ホルマジン濁度数 2393.9 度
イントラリポス輸液	1.14%
グリセリン浣腸液	5.68%
3. コンタミネーションの防止
試薬及び検体調製液の分注、核酸の増幅及び蛍光の検出はすべて GENECUBE によって自動的に行われます。反応容器及び分注チップなどの消耗品は、使い始めから廃棄まで人の手が触れることがないため、キャリーオーバーコンタミネーションは防止できますが、クロスコンタミネーションを防止するため、以下を遵守してください。
 - ・ 検体の飛散によるマイクロピペット内部の汚染を防ぐため、フィルター付きチップを使用してください。
 - ・ 保護手袋による菌やウイルスの持ち越しを防ぐため、本品の試薬や消耗品を扱う際には、新しい手袋を着用してください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 測定試料の調製方法
糞便を滅菌綿棒等で適量を採取します(図参照)。便量過多の場合、阻害が生じ判定結果に影響を及ぼす可能性があります。

適量例



滅菌チューブに約 1〜3mL の精製水を分取し、糞便を懸濁します。精製水の他に、コパン UTM、コパン eSwab、オプティスワブトランスポート・システム、ユニットランズ RT トランスポート・システム、トランスワブキャリャーブレア、エコ採便管、フィーカルオプティスワブは使用できます。コパン FecalSwab やグアネジニンなど不活化成分を含むものは、「(2)加熱抽出法」で使用できません。

- 下記のいずれかの方法で核酸を抽出し、検体調製液とします。
- (1) 市販品を用いた核酸抽出法
各製品の説明書に従ってください。
 - (2) 加熱抽出法
「ジーンキューブ専用 溶解液」及び「ジーンキューブ専用 プロテイナーゼ K 溶液」を用いる場合は①〜⑤の順で操作してください。
 - ① マイクロチューブにプロテイナーゼ K 溶液 10μL を分取します。
 - ② 糞便懸濁液 200μL を①に加え、卓上遠心機で 10 秒スピンドウンします。
 - ③ 新しいマイクロチューブに遠心上清 100μL を分取します。
 - ④ 遠心上清を 65℃で 5 分、95℃で 5 分の加熱をします。
 - ⑤ 加熱後の液に溶解液を等量混合し、検体調製液とします。
 2. 試薬の調製方法
酵素試薬: 酵素液 A に酵素液 B 140μL を添加し、混合してください。
酵素試薬及びプライマー・プローブ試薬をボルテックスミキサーで攪拌し、スピンドウンしてから GENECUBE にセットして使用してください。
 3. 必要な器具・器材・試料等
 - (1) 専用消耗品
 - ・ 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
 - (2) 一般消耗品
 - ・ マイクロピペット及びフィルター付チップ
 - ・ マイクロチューブ
 - ・ 8 連チューブ又は 12 連チューブ推奨品: 株式会社イナ・オプティカ 123015TC、123046TC※

- ・ 0.5mL サンプルチューブ
推奨品: ザルスタット株式会社 72.699.00003、72.704.700※
※上記以外の製品を使用する場合は、適用の可否についてお問い合わせください。
4. 測定 (操作) 法
GENECUBE 付属の取扱説明書をよく読んでから、操作してください。
① 酵素試薬、プライマー・プローブ試薬、各消耗品を機器にセットします。
② 検体調製液を分注したサンプルチューブを機器にセットします。
③ 機器の測定画面の表示に従い、測定を開始させます。
④ 測定画面上に判定結果が表示され、測定終了します。
5. 精度管理の方法
精度管理は、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、検体調製液と同様に「4. 測定 (操作) 法」の手順で行います。
陽性コントロール溶液の判定結果が陽性、陰性コントロール溶液の判定結果が陰性となることを確認してください。

【測定結果の判定法】

1. 判定方法
判定結果は GENECUBE の測定画面上に自動的に表示されます。
- | 画面表示 | 判定結果 |
|---------|------|
| + | 陽性 |
| — | 陰性 |
| Invalid | 判定無効 |
2. 判定上の注意
以下の場合には、測定できない又は誤判定となることがありますので注意してください。
- ・ ウイルス量が微量な検体を使用した場合
 - ・ ウイルスが死滅し、核酸が残存している検体を使用した場合
 - ・ グアニジンなどの不活化成分を含む液で検体を懸濁し、「加熱抽出法」で調製した場合
 - ・ 検体中の病原体が、プライマー、プローブの結合部位の塩基配列に変異を有している場合
 - ・ コンタミネーションがある検体又は試薬、消耗品を使用した場合

【臨床的意義】

本品はノロウイルスに特異的な遺伝子配列をターゲットとし、one-step RT-PCR 法により、迅速にノロウイルス RNA の検出が可能な検査試薬です。臨床性能試験では、以下の成績を示しました。

1. 臨床性能試験成績
臨床検体 271 例を対象に対照法 (リアルタイム PCR 法、EIA 法) との臨床性能試験を実施したところ、本品による測定において、対照法と 90% 以上の一致率を示しました。

		リアルタイム PCR 法		EIA 法	
		陽性	陰性	陽性	陰性
本品	陽性	74	1※1	56	19※3
	陰性	2※2	194	0	196
陽性一致率		97.4% (74/76)		100% (56/56)	
陰性一致率		99.5% (194/195)		91.2% (196/215)	
全体一致率		98.9% (268/271)		93.0% (252/271)	

※1 EIA 法で陰性、本品及びリアルタイム PCR 法の再測定で陽性

※2 EIA 法で陰性、本品及びリアルタイム PCR 法の再測定で陰性

※3 18 例はリアルタイム PCR 法で陽性。1 例はリアルタイム PCR 法で陰性だが、本品及びリアルタイム PCR 法の再測定で陽性

【性能】

1. 性能
【用法・用量 (操作方法)】に従い、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
- ・ 陰性コントロール溶液を測定するとき、陰性を示します。
 - ・ 陽性コントロール溶液を測定するとき、陽性を示します。
- (2) 正確性試験
- ・ 自家管理陰性試料を測定するとき、陰性を示します。
 - ・ 自家管理陽性試料 1 を測定するとき、陽性を示します。
 - ・ 自家管理陽性試料 2 を測定するとき、陽性を示します。
- (3) 同時再現性試験
- ・ 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。
 - ・ 自家管理陽性試料 1 を 4 回同時に測定するとき、すべて陽性を示します。
 - ・ 自家管理陽性試料 2 を 4 回同時に測定するとき、すべて陽性を示します。

- (4) 最小検出感度
50 コピー/テスト

【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意
- ・ すべての検体は感染性を有するものとし、適切な防護具 (保護服、マスク、手袋等) を着用して、各施設の安全管理規定に従って取扱ってください。
 - ・ 試薬が誤って皮膚に付着したり、目や口に入ったりした場合には、直ちに多量の水で十分洗い流すなどの応急処置を行った上で、医師の手当を受けてください。
2. 使用上の注意
- ・ 本品に含まれる試薬は【貯蔵方法、有効期間】に従って保存し、長時間室温下に放置しないでください。貯蔵方法以外の条件で保存/放置した試薬又は、有効期限が過ぎた試薬は使用しないでください。
 - ・ 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
- ・ 使用済みの試薬、検体及び検体が付着した消耗品については、溶液が飛散することがないように注意し、医療用廃棄物に関する規定に従って廃棄してください。
 - ・ 反応終了後の反応容器は開封せずに廃棄してください。増幅産物による汚染を防ぐため、廃棄の際オートクレーブは行わないでください。
 - ・ 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。

【貯蔵方法、有効期間】

1. 貯蔵方法
2~8℃で保存: 酵素液 B、プライマー・プローブ試薬、陰性コントロール溶液
-30~-15℃で保存: 酵素液 A、陽性コントロール溶液
2. 有効期間
12 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 ノロウイルス (16 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
	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
福井県敦賀市東洋町 10 番 24 号