

クラミジア核酸キット / 淋菌核酸キット
ジーンキューブ CT/NG

【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. 酵素試薬
 - ・ KOD DNA ポリメラーゼ
 - ・ 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。
2. プライマー・プローブ試薬
 - ・ CT primer_F1
 - ・ CT primer_R1
 - ・ CT QProbe1
 - ・ CT primer_F2
 - ・ CT primer_R2
 - ・ CT QProbe2
 - ・ NG primer_F
 - ・ NG primer_R
 - ・ NG QProbe
3. 陽性コントロール溶液
4. 陰性コントロール溶液

【使用目的】

尿又は陰擦過物中のクラミジア・トラコマチス DNA 及び淋菌 DNA の検出 (クラミジア・トラコマチス感染又は淋菌感染の診断の補助)

【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)}を用いたクラミジア・トラコマチス (CT) DNA 及び淋菌 (NG) DNA の検出試薬です。
対象 DNA の特異的な塩基配列をターゲットに、KOD DNA ポリメラーゼ³⁾、primer、dNTP を用いて、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
 - 1) 陰擦過物
採取用スワブを検体採取部位に挿入し、陰擦過物検体を採取してください。採取したスワブは滅菌精製水又は検体保存溶液※に浸漬させます。
※検体保存溶液は eSwab、コパン UTM 及びその同等品を推奨します。
グアニジンなど不活化成分を含む保存溶液を使用した場合は、【用法・用量(操作方法)】の「1. 測定試料の調製方法」において「(2)検体抽出法」は使用できません。
 - 2) 尿検体
初尿を採取してください。
 - (2) 測定試料を取り扱う上での注意
 - ・ 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。
 - ・ 冷凍された検体は、【用法・用量(操作方法)】の「1. 測定試料の調製方法」において「(2) 検体抽出法」を使用した場合、判定結果が陰性となる可能性があります。
2. 妨害物質・妨害薬剤
 - (1) 交差反応性
下記 34 種から抽出された DNA (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>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Neisseria cinerea</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Neisseria elongata</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Neisseria flava</i>
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Neisseria perflava</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Neisseria sicca</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Neisseria subflava</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA)
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (MSSA)
<i>Mycobacterium intracellulare</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Mycoplasma fermentans</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Mycoplasma genitalium</i>	<i>Trichomonas vaginalis</i>
<i>Mycoplasma hominis</i>	<i>Treponema pallidum</i>

- (2) 共存物質の影響
生体成分・薬剤 20 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	8 mg/dL
抱合型ビリルビン	8 mg/dL
溶血ヘモグロビン	625 mg/dL
乳び	ホルマジン濁度数 3000 度
全血	2.4 v/v%
アジスロマイシン	1.5 µg/mL
クラリスロマイシン	1.6 µg/mL
ミノサイクリン	2.9 µg/mL
ドキシサイクリン	6.0 µg/mL
レボフロキサシン	12.1 µg/mL
トスフロキサシン	1.12 µg/mL
セフトリアキソン	400 µg/mL
スペクチノマイシン	183 µg/mL
メトロニダゾール	8.0 µg/mL
チニダゾール	24.4 µg/mL
ミコナゾール	7.0 µg/mL
イソコナゾール	0.48 µg/mL
オキシコナゾール	0.072 µg/mL
フルコナゾール	4.8 µg/mL
クロトリマゾール	670 µg/mL

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、キャリア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
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。ただし、グアニジンなど不活化成分を含むものは、「(2) 検体抽出法」で使用できません。
 - (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) 検体抽出法
「ジーンキューブ専用 溶解液」を用いる場合は①～⑤の順で操作してください。
 - ① 1.5 mL チューブに検体を分注します。
 - ② 13,000×g、3 分間の遠心分離を行います。
 - ③ 上清を全量除去します。
 - ④ 沈渣に溶解液を 50 µL 加えます。
 - ⑤ ボルテックスミキサーで軽く攪拌したものを検体調製液とします。

2. 試薬の調製方法

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、スピンドアウンしてから GENEUCUBE 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・オブティカ 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

- GENEUCUBE 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CT 陽性かつ NG 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

画面表示	判定結果
CT	CT 陽性
NG	NG 陽性
CTNG	CT 陽性かつ NG 陽性
—	陰性
Invalid	判定無効

2. 判定上の注意

- 以下の場合には、測定できない又は正しい判定結果にならないことがあるので注意してください。
- ・菌量が微量な検体を使用した場合
 - ・菌が死滅し、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、「検体抽出法」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

【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、CT 陽性かつ NG 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、NG 陽性を示します。
 - ・自家管理陽性試料 2 を測定するとき、CT 陽性を示します。
- (3) 同時再現性
- ・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 NG 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 CT 陽性を示します。
- (4) 最小検出感度(GENEUCUBE 測定)
- CT:4 コピー/テスト
- NG:9 コピー/テスト

2. 相関性試験成績

(1) CT 試験成績

臨床検体 341 例(尿 181 例、腔擦過物 160 例)を対象に既承認品(TMA 法、RT-PCR/PCR 法、リアルタイム PCR 法)との相関性試験を実施したところ、いずれの検体種も本品による測定において、既承認品と 90%以上の一致率を示した。

表 1-1. 尿検体の試験成績

CT		TMA 法		リアルタイム PCR 法	
		陽性	陰性	陽性	陰性
本品	陽性	63	0	62	1※2
	陰性	1※1	117	0	118
陽性一致率		98.4%(63/64)		100%(62/62)	
陰性一致率		100%(117/117)		99.2%(118/119)	
全体一致率		99.4%(180/181)		99.4%(180/181)	

※1 リアルタイム PCR 法で陰性

※2 TMA 法で CT 陽性

表 1-2. 腔擦過物の試験成績

CT		RT-PCR/PCR 法	
		陽性	陰性
本品	陽性	57	0
	陰性	1※3	102
陽性一致率		98.3%(57/58)	
陰性一致率		100%(102/102)	
全体一致率		99.4%(159/160)	

※3 RT-PCR/PCR 法再測定で陰性、本品再測定で陰性

(2) NG 試験成績

臨床検体 341 例(尿 181 例、腔擦過物 160 例)を対象に既承認品(TMA 法、RT-PCR/PCR 法、リアルタイム PCR 法)との相関性試験を実施したところ、いずれの検体種も本品による測定において、既承認品と 90%以上の一致率を示した。

表 2-1. 尿検体の試験成績

NG		TMA 法		リアルタイム PCR 法	
		陽性	陰性	陽性	陰性
本品	陽性	63	0	62	1※4
	陰性	0	118	0	118
陽性一致率		100%(63/63)		100%(62/62)	
陰性一致率		100%(118/118)		99.2%(118/119)	
全体一致率		100%(181/181)		99.4%(180/181)	

※4 TMA 法で NG 陽性

表 2-2. 腔擦過物の試験成績

NG		RT-PCR/PCR 法	
		陽性	陰性
本品	陽性	51	1※5
	陰性	0	108
陽性一致率		100%(51/51)	
陰性一致率		99.1%(108/109)	
全体一致率		99.4%(159/160)	

※5 RT-PCR/PCR 法再測定で陰性、本品再測定で陰性

【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、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
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 CT/NG (48 テスト)	酵素試薬
	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.



【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