

使用の前に本添付文書をよく読むこと。

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：22900EZXX00024000

製品番号：GXCDIFF-JP-10

2017 年 9 月作成（第 1 版）

クロストリジウム・ディフィシル核酸キット

Xpert C. difficile 「セフィエド」

【全般的な注意】

1. 本品は体外診断用医薬品であるので、それ以外の目的には使用しないこと。
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を行うこと。
3. 検査の際は、必ず本添付文書の記載に従うこと。本添付文書の記載以外の使用方法については保証しない。
4. 検査の際は、本品専用遺伝子解析装置「GeneXpert システム」の添付文書及び取扱い説明書等をよく読むこと。
5. 一度検査で使用した試薬カートリッジは、再使用しないこと。

【形状・構造等（キットの構成）】

本品 1 キットには、以下の構成試薬及び付属品が含まれる。

構成試薬及び付属品	入数
1. 試薬カートリッジ	10 個
反応系に関与する成分： - TOXB-F1 フォワードプライマー - TOXB-F2 フォワードプライマー - TOXB-F3 フォワードプライマー - TOXB-R1 リバースプライマー - TOXB-R2 リバースプライマー - TOXB-1 FAM プローブ - TOXB-2 FAM プローブ - TOXB-3 FAM プローブ - BINARY-F1 フォワードプライマー - BINARY-R1 リバースプライマー - BINARY CF3 プローブ - TCDC-F2 フォワードプライマー - TCDC-R2 リバースプライマー - TCDC CF4 プローブ - デオキシリボヌクレオチド三リン酸 - Taq ポリメラーゼ	
2. 検体前処理試薬 成分：チオシアン酸グアニジン他	2mL× 10 本
3. 付属品 - CD（解析ソフトウェアを含む）	1 枚

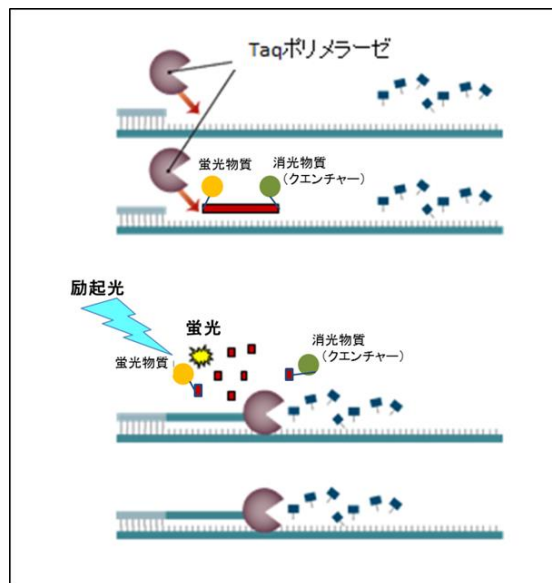
【使用目的】

糞便中のクロストリジウム・ディフィシル DNA のうち、トキシン B、バイナリートキシン及び変異型 *tcdC* の DNA 検出（クロストリジウム・ディフィシル感染症及びクロストリジウム・ディフィシル 027 型株による感染症の診断補助）

【測定原理】

本品は Real-time Polymerase Chain Reaction（ポリメラーゼ連鎖反応、PCR）法によって、糞便に含まれるクロストリジウム・ディフィシル DNA のうち、トキシン B、バイナリートキシン及び変異型 *tcdC* の DNA を検出する体外診断用医薬品である。

（原理図）



本品を用いた Real-time PCR による測定原理は以下のとおり。

1) 検体からの核酸抽出

検体中に含まれる菌体を超音波処理により粉砕し、核酸を抽出する。

2) 標的 DNA の増幅

核酸の中の標的 DNA に対して TaqMan プローブ（以下、「プローブ」）及びプライマーがそれぞれ特異的にハイブリダイズする。ハイブリダイズしたプライマーに対して Taq ポリメラーゼが機能し、プライマーの伸長反応が進行し、標的 DNA が増幅される。

3) 標的 DNA の検出

プローブはプライマー伸長反応の過程で Taq ポリメラーゼにより加水分解される。この際、プローブ末端に修飾されている蛍光性物質及び消光性物質がそれぞれプローブから遊離し、互いに離れることで蛍光性物質が励起光により蛍光シグナルを発することが可能となる。この蛍光シグナルを経時的に測定することで増幅した標的 DNA を測定する。

4) 結果の判定

蛍光測定により得られる Ct 値によるトキシン B、バイナリートキシン及び変異型 *tcdC* の DNA の検出結果を元に自動的に判定結果が示される。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取方法

- (1) 検体は 20～30℃で 24 時間、2～8℃では 5 日間まで保存が可能である。
- (2) 必ず泥状便或いは水様性便を検体として使用すること。固形便は検体として不適切である。
- (3) 検体採取時、検体を滅菌綿棒に完全に吸収させる必要はない。【操作方法】3. 測定（操作）方法（1）検体の採取方法に従って、適量の糞便検体を採取すること。

2. 妨害物質、妨害薬剤

糞便検体に潜在的に共存している可能性のある 25 種の物質の存在下で、本品の検査における妨害物質としての影響の有無を検証したところ、次の 2 つの物質は試験で実施した濃度において本品の検査における反応阻害効果が確認された。

酸化亜鉛、ベンゾカイン／レゾルシノール

3. 反応特異性試験

特異性

毒素非産生性クロストリジウム・ディフィシル及び系統学的にクロストリジウム・ディフィシル菌に近い細菌及び患者の腸内細菌叢に存在しうる細菌群 55 株を検体として、各 3 回の繰り返し試験を行ったところ、全て陰性を示した。

【用法・用量（操作方法）】

本品は専用機器により使用すること。

専用機器の名称：「GeneXpert システム」

1. 試薬の調製方法

- (1) 試薬カートリッジ：そのまま用いる。
- (2) 検体前処理試薬：そのまま用いる。

2. 必要な器具・機械・試料等

- (1) 専用機器
- (2) プリンター
- (3) ボルテックスミキサー
- (4) 検体採取用容器
- (5) 検体採取用綿棒
専用の滅菌綿棒（Cepheid Sample Collection Device 或いは Cepheid Single-Use Disposable Swab）
- (6) 使い捨て滅菌ピペット
- (7) 滅菌ガーゼ

3. 測定（操作）方法

- (1) 検体の採取方法
糞便採取容器に採取済みの糞便検体を専用の滅菌綿棒にて適量を採取する（下図参照）。

【検体（糞便）の採取】



(2) 検体の前処理方法

検体の採取方法検体の採取方法コンタミネーションのリスクを最小限に留めるため、容器や試薬カートリッジの開け閉めは滅菌ガーゼを用いること。

- ① 検体を採取した綿棒を綿棒ごと検体前処理試薬の容器に挿入し、綿棒の柄の所定の部分を折って綿棒の先端綿花部分を容器内に残し、柄部を取り除く。
- ② 検体前処理試薬の容器のふたを閉じ、10 秒間検体前処理試薬をボルテックスミキサーで攪拌混和する。

(3) 操作方法

- ① 本品の構成試薬である試薬カートリッジのカバーのふたを開け、その検体注入口に滅菌ピペットを用いて検体前処理試薬の容器内の液体（前処理済みの検体）をすべて注入する。
- ② 試薬カートリッジのカバーのふたを閉じる。
- ③ 試薬カートリッジを専用機器内の所定の場所に設置する。専用機器の使用法、操作方法については当該機器の添付文書等を参照する。
- ④ 検査を開始する。なお、専用機器内では以下の工程で反応が進行する。
 - a) 熱変性：93℃ 20 秒間
 - b) 40 サイクル：93℃ 2 秒間、64℃ 23 秒間
 - c) 蛍光測定
TOXB-1 FAM プロブ：510～530 nm（励起 450 ～ 495 nm）
TOXB-2 FAM プロブ：510～530 nm（励起 450 ～ 495 nm）
TOXB-3 FAM プロブ：510～530 nm（励起 450 ～ 495 nm）
BINARY CF3 プロブ：565～590 nm（励起 500 ～ 550 nm）
TCDC CF4 プロブ：606～650 nm（励起 555～590 nm）
SPC*：665～685 nm（励起 630～650 nm）
*検体処理コントロール
- ⑤ 検査終了後、以下の結果表示に従って判定する。

【測定結果の判定法】

1. 判定方法

本品の付属品であるソフトウェアの解析アルゴリズムに基づき、自動的に解析が行われる。各標的 DNA の解析条件（Ct 値）と標的 DNA の検出と判定結果及びそれぞれの解釈は、次に示すとおり。
対応するプロブが以下の Ct 値の範囲にある場合に各標的 DNA は検出と判定される。

トキシン B：Ct 値が 5 以上 37 以下

バイナリートキシン：Ct 値が 5 以上 37 以下

変異型 *tcdC*：Ct 値が 5 以上 40 以下

(1) クロストリジウム・ディフィシル トキシン B に関する判定

結果表示	判定
Toxigenic C. diff POSITIVE	トキシン B 陽性
Toxigenic C. diff NEGATIVE	トキシン B 陰性

(2) クロストリジウム・ディフィシル 027 型に関する判定

トキシン B、バイナリートキシン及び変異型 *tcdC* の DNA 全てが検出された場合に 027 型陽性と判定される。

結果表示	判定
027 PRESUMPTIVE POSITIVE	027 型 陽性
027 PRESUMPTIVE NEGATIVE	027 型 陰性

上記判定のほか、以下に掲げる判定不能の結果が表示された場合は可能な限り再試験の実施を考慮すること。

結果表示	解釈及び考えられる原因
INVALID	SPC (※1) の結果不良。検体処理不良、又は PCR 反応阻害等の可能性がある。
ERROR	PCC (※2) の結果不良。プローブ不良等の可能性がある。
NO RESULT	検査中断等により、適切な検査データが得られなかった可能性がある。

※1 検体処理コントロール

※2 プローブチェックコントロール

(再試験の方法)

- (1) 判定不能の結果が得られてから 3 時間以内に再検査を実施する場合、新しい試薬カートリッジ (試薬カートリッジを再使用しないこと) 及び新しい検体前処理試薬を使用し、以下の手順に従って再試験を実施する。
 - 1) 滅菌ピペットを用い、試薬カートリッジに残った内容を検体注入口から新しい検体前処理試薬バイアルに移す。
 - 2) ボルテックスミキサーで混合し、検体前処理試薬の内容物全量を新しい試薬カートリッジの検体注入口に添加する。
 - 3) 試薬カートリッジの蓋を閉め、検査を開始する。
- (2) 判定不能の結果が得られてから 3 時間以上経過後に再検査を実施する場合は、新たに糞便検体を滅菌綿棒に採取し、試験を再度実施する。

2. 判定上の注意

- (1) 本品の各試薬カートリッジには、SPC (検体処理コントロール) が含まれている。SPC は *B.globigii* の非感染性菌胞子を含む凍結乾燥ビーズであり、検体処理が適切に行われていることを確認する。また、検体中の妨害物質に起因する PCR の反応妨害の有無等を確認する。SPC は陰性検体において必ず陽性となることが期待され、規定の基準値を満たす場合に有効と判断される (陽性検体においては、PCR 反応の競合のため、必ずしも SPC 陽性とならない場合がある)。陰性検体において SPC が検出されなかった場合、検査は「INVALID (無効)」と判定される。検査結果として INVALID が表示された場合には、再検査を考慮すること。
- (2) 各検査において、PCR 反応前に専用機器により各プローブの蛍光が測定され、プローブチェックが行われる (プローブチェックコントロール、PCC)。PCC によって試薬の溶解状態、プローブの状態や蛍光色素の安定性、PCR 反応チューブの溶液の充填性が確認される。検査結果として ERROR が表示された場合、PCC の結果不良より検査結果が得られなかったことを意味するので、再検査を考慮すること。
- (3) 使用者が自ら検査を中断したとき、停電等の電源トラブルにより意図せず検査が中断されたとき、判定結果として NO RESULT が表示された場合、再検査が可能な状況であれば再検査の実施を検討すること。

- (4) 検査結果は、専用機器によって測定された蛍光シグナルによって自動的に判定され、View Results ウィンドウ等において表示される。画面確認方法等の詳細については、専用機器の取扱説明書等を参照すること。
- (5) 判定不能結果は、検体採取が不適切であったり、指示された検体採取方法や保管方法の逸脱、操作方法の誤り、検体のコンタミや検体中の菌数が少なかったこと等により生じる可能性がある。判定不能結果を防ぐため、検査は本添付文書の記載に従い適切に行うこと。
- (6) toxinotype V である非 027 型 (078 型に相当) のクロストリジウム・ディフィシル分離株が 027 型 陽性と報告されることがある。
- (7) 本品による測定結果とその判定は、PCR リボタイピング試験の結果を直接提供しているものではない。従って、PCR リボタイピング試験では 027 型以外の型に判定される分離株 (非 027 型分離株) の中には、本品によって 027 型陽性と報告される分離株がある。
- (8) 陽性検体の遺伝子量が本品の最小検出感度近傍の場合、再試験に伴い検体が希釈されることにより、結果が偽陰性となることがある。
- (9) 感染微生物にゲノム突然変異、挿入、欠失あるいは転位が存在する場合、またはクロストリジウム・ディフィシル感染後、非常に早期に検査を実施した場合、偽陰性の結果となることがある。

【臨床的意義】

C. difficile は芽胞を形成する嫌気性のグラム陽性桿菌であり、院内感染における抗菌薬関連下痢症の主要な原因菌としての重要性が認識されている。*C. difficile* は健康成人においても保菌者がいるが、通常は腸内細菌叢の存在により、*C. difficile* の病原性は発現されない¹。しかしながら、抗菌薬の曝露等により腸内細菌叢が攪乱されると、*C. difficile* が異常増殖し、毒素が産生され、*C. difficile* 感染症を発症する²。*C. difficile* 感染症の臨床症状は軽度の下痢から重度の偽膜性大腸炎まであり、重症例では致死的な経過を辿ることもある。*C. difficile* の病原性株にはトキシン A 陽性・トキシン B 陽性株に加えて、トキシン A 陰性・トキシン B 陽性株が知られている^{2,3}。従ってトキシン B は病原性との関与においてその重要性が認識されている。また、2002 年以降に北米を中心にアウトブレイクした強毒株の 027 型の *C.difficile* では、トキシン B の産生に関与するトキシン B 遺伝子が発現している他、毒素産生の抑制遺伝子である *tcdC* 遺伝子に変異があり、トキシン A 及びトキシン B の産生亢進が確認されている。さらに第三の毒素といわれるバイナリートキシンが産生されることが報告されている²。日本ではアウトブレイクの報告はないが、いくつかの感染事例が報告されている⁴。本品はリアルタイム PCR によりトキシン B、バイナリートキシン及び変異型 *tcdC* の DNA を検出する体外診断用医薬品である。本品はこれら標的 DNA の検出により、*C. difficile* の産生する毒素 (トキシン B) 及び 027 型の *C. difficile* の検出を判定するキットであり、*C.difficile* 感染症 (027 型株による *C.difficile* 感染症を含む) の診断補助を目的としている。

＜臨床性能試験成績＞

1. 本邦臨床性能試験成績

- ① クロストリジウム・ディフィシル トキシン B の検出に関する結果

		毒素産生能確認試験		培養陰性	計
		陽性 [†]	陰性		
本品	トキシン B 陽性	55	1 [*]	4 [*]	60
	トキシン B 陰性	2 [*]	6	105	113
計		57	7	109	173

[†]トキシン B が陽性であった検体数

^{*}不一致となった 7 例については、いずれも最終的にクロストリジウム・ディフィシル感染症と診断されていた。本品の偽陰性 2 例については、本品の検査に供した検体量の不足等が原因として考えられる。

陽性一致率：96.5% (55/57)
陰性一致率：95.7% (111/116)
全体一致率：96.0% (166/173)

- ②クロストリジウム・ディフィシル 027 型の検出に関する結果

		Ribotyping 試験		毒素産生能 陰性	培養 陰性	計
		陽性	陰性			
本品	027 型 陽性	1	0	0	1 [*]	2
	027 型 陰性	0	56	7	108	171
計		1	56	7	109	173

^{*}不一致となった 1 例については、治療開始後に検体が採取されているため、培養法による検査で菌が検出できなかったことなどが考えられる。

陽性一致率：100% (1/1)
陰性一致率：99.4% (171/172)
全体一致率：99.4% (172/173)

2. 海外臨床性能試験成績

クロストリジウム・ディフィシル トキシン B 及び 027 型の検出に関する結果

		培養検査・PCR Ribotyping				
		毒素産生性 C.difficile [†]	027 [‡]	陰性 [*]	分類 不能	計
本品	トキシン B 陽性	217	0	86	2 ^{**}	305
	027 型 陰性					
	トキシン B 陽性	5	89	31	0	125
	027 型 陽性					
計		243	90	1958	2	2293

[†]トキシン B 陽性、かつ、PCR Ribotyping で非 027 型であった検体

[‡]トキシン B 陽性、かつ、PCR Ribotyping で 027 型であった検体

^{*}「培養陰性」又は「培養陽性、かつ、トキシン B 陰性」の検体

^{**}PCR Ribotyping の結果、C.difficile ではないと判定された検体 (2 例)

- ① トキシン B 検出に関する成績

陽性一致率：93.4% (311/333)
陰性一致率：94.0% (1841/1958)
一致率：93.9% (2152/2291)
陽性的中率：72.7% (311/428)
陰性的中率：98.8% (1841/1863)

- ② 027 型検出に関する成績

陽性一致率：98.9% (89/90)
陰性一致率：98.4% (2165/2201)
一致率：98.4% (2254/2291)
陽性的中率：71.2% (89/125)
陰性的中率：100.0% (2165/2166)

【性能】

1. 性能

操作方法欄記載の方法に従い、自社管理検体を用いて、感度、正確性、同時再現性試験を行った時、下述の規格に適合する。

- (1) 感度

濃度既知の陽性管理検体を用いて検査を行うとき、いずれの結果においても、トキシン B 陽性、027 型陽性と判定される。

- (2) 正確性

濃度既知の陽性管理検体及び陰性管理検体を用いて検査を行うとき、陽性管理検体はすべてトキシン B 陽性、027 型陽性に、陰性管理検体はすべて陰性に判定される。

- (3) 同時再現性

濃度既知の陽性管理検体及び陰性管理検体を用いて 3 回繰り返し検査を行うとき、陽性管理検体は全てトキシン B 陽性、027 型陽性に、陰性管理検体はすべて陰性に判定される。

2. 最小検出感度（専用機器「GeneXpert システム」使用）

28 コピー/アッセイ（自社管理検体）

3. 自社管理検体

社内標準物質（C.difficile 陽性株（027 株））

【使用上又は取り扱い上の注意】

1. 取扱い上（危険防止）の注意

- 検体、及び使用済みの試薬カートリッジは、感染の危険があるものとして取り扱うこと。
- 検査にあたっては、感染の危険、試薬による皮膚や粘膜への刺激を避けるため、使い捨て手袋や眼鏡、防護服等の保護具を着用すること。また、検体及び試薬の取扱いの後は、よく手を洗うこと。
- 化学薬品及び感染の恐れのある試薬や検体の取扱いについては、各施設の安全手順に従うこと。
- 本品の検体前処理試薬は、チオシアン酸グアニジンを含んでおり、酸との接触や加熱により有毒ガスが発生する恐れがあるため、取扱いには十分に注意すること。
- カートリッジ内の溶液は水酸化ナトリウムを含んでいるため、皮膚や眼等の粘膜に接触したり、飲み込んだりした場合、火傷等の傷害を引き起こすおそれがある。また、溶液及び蒸気ともに可燃性であるため、火気を避け、取扱いに注意すること。皮膚や眼、粘膜等に接触した場合には、接触箇所に応じて石鹼や大量の水で洗い流す等の応急処置を行い、また吸入による呼吸困難等が発生した場合には、ただちに屋外に移動する等の処置を行った上で、医師に相談すること。
- 本品の試薬カートリッジは、米国由来のウシ血清アルブミン（BSA）を含有している（製造国：米国 / 死亡前後に検査済み）。その他の動物性タンパクは含有せず、また製造工程での混入はない。

2. 使用上の注意

- 本品による検査は下痢等の臨床症状を有するクロストリジウム・ディフィシル感染症の疑いのある患者に限り実施すること。
- 本品の結果は、クロストリジウム・ディフィシル感染治療の指針とすることを意図していない。
- 本品は年齢 2 歳未満の患者についての使用については確立されていない。
- 本品によるクロストリジウム・ディフィシル 027 型に関する判定結果を患者管理又は治療方針の決定に適用しようとする場合は、患者の臨床症状及び参照可能なその他の検査結果についても十分に勘案し、慎重にその適用を判断すること。

- (5) 本品は、【貯蔵方法、有効期間】欄の記載に従い保存すること。
- (6) 有効期間を過ぎた製品は使用しないこと。
- (7) 試薬カートリッジが濡れていたり、蓋や反応チューブに破損が見られる等の異常がある場合には、使用せずに別の試薬カートリッジを用いること。
- (8) 試薬カートリッジ及び検体前処理試薬は、同じキット内のものを組み合わせて使用すること。また、同じキット内の試薬であっても、試薬の注ぎ足し等を行わないこと。
- (9) 試薬カートリッジに検体を添加した後は、30 分以内に検査を行うこと。
- (10) 複数の検体の検査を行う際には、先の検査で使用する試薬カートリッジの蓋のみを開け、前処理済み検体を添加後、試薬カートリッジの蓋を閉めた後に、次の試薬カートリッジの操作に移ること。
- (11) 試薬カートリッジに検体を添加した後、落下や振盪等の衝撃を加えた場合には、その試薬カートリッジは使用せずに新しい試薬カートリッジを用いて検査を行うこと。
- (12) 試薬カートリッジの蓋は、検体添加時以外には開けないこと。
- (13) 再検査を行う場合は、新しい試薬カートリッジや検体前処理試薬を使用すること。
- (14) 混濁または変色が認められる検体前処理試薬は使用しないこと。
- (15) 本品中の試薬を他の試薬で代用しないこと。

3. 廃棄上の注意

- (1) 使用済みの試薬カートリッジや、残った検体等については、通常のごみ処理場等への廃棄や、焼却等を行わず、各施設の管理手順に従って、感染性廃棄物として各市町村の規制に従って廃棄すること。
- (2) 試薬及び器具等を廃棄する場合には、医療廃棄物等に関する規定や、水質汚濁防止法等の関連規制に留意すること。
- (3) 検体に接触した器具・試薬及び容器等は、感染の危険があるものとして、オートクレーブを用いて 121℃で 20 分間滅菌処理するか、3～3.5%のグルタルアルデヒドのアルカリ水溶液に 60 分以上、或いは 0.02～0.05%の次亜塩素酸ナトリウムに 5 分以上浸漬して処理すること。また、検体飛散時も同様に対処すること。

【貯蔵方法、有効期間】

貯蔵方法：2～28℃

有効期間：18 ヶ月

【包装単位】

10 テスト

【主要文献】

1. Surawicz CM *et al.*, Guidelines for Diagnosis, Treatment, and Prevention of *Clostridium difficile* Infections. *Am J Gastroenterol* 2013; **108**: 478-98
2. 神谷茂. ディフィシル菌感染症の基礎と臨床. モダンメディア.2010 ; **56**: 233-241
3. A11fa MJ *et al.*, Characterization of a Toxin A-Negative, Toxin B-Positive Strain of *Clostridium difficile* Responsible for Nosocomial Outbreak of *Clostridium difficile*-Associated Diarrhea. *J. Clin. Microbiol.* 2000; **38**: 2706-14
4. Kato H *et al.*, First isolation of *Clostridium difficile* 027 in Japan. *Euro Surveill* 2007; 12(1): E070111.3

【問い合わせ先】

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063

東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー

TEL : 0120-566-730

【製造販売元】

ベックマン・コールター株式会社

〒135-0063

東京都江東区有明三丁目 5 番 7 号 TOC 有明ウエストタワー



【製造元】

Cepheid