



核酸同定・ブドウ球菌キット
核酸同定・一般細菌キット
**Xpert MRSA/SA
BC「セフィエド」**

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

一般的な注意

1. 本品は体外診断用であり、それ以外の目的には使用しないでください。
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してください。
3. 添付文書に記載された使用目的及び使用方法以外での使用については測定結果の信頼性を保証いたしかねます。
4. 本品は GeneXpert システムの専用試薬です。専用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)構成試薬

名称	数量	成分
試薬カートリッジ	10 個	SPA2 フォワードプライマー SPA2 リバースプライマー SPA2 プローブ MEC2 フォワードプライマー MEC2 リバースプライマー MEC2 プローブ ORF X フォワードプライマー ORF X リバース A プライマー ORF X リバース B プライマー ORF X リバース C プライマー ORF X リバース D プライマー ORF X リバース E プライマー ORF X リバース F プライマー ORF X リバース G プライマー ORF X 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
検体前処理用試薬	2.0 mLx10 本	塩化グアニジニウム他

(2)付属品

名称	数量	内容等
CD	1 枚	解析ソフトウェア
ディスポーザブルピペット	12 本	検体注入用ディスポーザブルピペット

構成試薬、付属品の外観



使用目的

血液培養陽性となった培養液中の MRSA 及び黄色ブドウ球菌の DNA 検出（MRSA 感染及び黄色ブドウ球菌感染の診断補助）

測定原理

本品はリアルタイム PCR 法によって、血液培養陽性となった培養液中に含まれる MRSA 及び黄色ブドウ球菌の DNA を検出するキットです。本品では、専用機器の GeneXpert システムを使用することで、菌体からの核酸抽出、標的 DNA の増幅・検出及び結果の判定までを自動で行います。

MRSA の標的 DNA として、*mecA*, *SCCmec*, *spa* を検出し、黄色ブドウ球菌の標的 DNA として *spa* を検出します。

操作上の注意

1. 測定試料の性質、採取法

(1) 検体の採取法

- 活性炭を含む培地又は血液培養ボトルから採取された血液培養液は本品の検体として使用することはできません。
- 血液培養液を試料として採取するにあたり、BD バクテック™ F 好気用レズンボトル、バクテアラート®SA 培養ボトル（好気用）及びバーサトレック™ Redox1 好気用以外の血液培養ボトルから採取した場合の本品の性能については確立されていません。
- 血液培養陽性となった血液培養ボトルから試料を採取する際は、各施設の標準法に従ってグラム染色を行ってください。
- 血液培養陽性の培養液のグラム染色の結果、クラスター状又は単一球状のグラム陽性球菌（Gram-positive cocci in clusters 又は Gram-positive cocci in singles）が確認された培養ボトルから、培養液約 1 mL を分取してください。

(2) 検体の輸送と保存

- 試料採取後、24 時間以内に測定を実施する場合、2~28°C の条件で保存した検体を使用してください。試料採取後、24 時間経過後に測定を実施する場合、2~8°C の冷蔵条件で保存した検体を使用してください。また、冷蔵条件保存下でも、採取後 3 日以内に測定を実施してください。

2. 妨害物質、妨害薬剤

血液培養液中に存在する物質（13 種類）について、本品を用いた検査に対する反応阻害作用を評価しました。

- ①ACD（酸性クエン酸塩デキストロース：抗凝固剤）処理血
- ②EDTA（抗凝固剤）処理血
- ③ヘパリン（抗凝固剤）処理血
- ④クエン酸（抗凝固剤）処理血
- ⑤血漿（ヒト）
- ⑥BacT/Alert SA Aerobic 培養液（Tryptic Soy、0.035%ポリアネトール硫酸ナトリウム）
- ⑦VersaTREK REDOX1 Aerobic 培養液（ペプトン強化 Tryptic Soy、固形 BHI（脳心臓浸出物））
- ⑧BACTEC Plus Aerobic/F 培養液（2.75% SCD（ソイビーン・カゼイン・ダイジェスト）液体培地、0.05%ポリアネトール硫酸ナトリウム、17%樹脂）
- ⑨ビリルビン（10 mg/dL）
- ⑩γ-グロブリン（35 mg/dL）
- ⑪ヘモグロビン（180 g/dL）
- ⑫0.5% ポリアネトール硫酸ナトリウム
- ⑬トリグリセリド（トリオレイン 1.63 g/dL）

上記いずれの物質についても本品による測定に対して反応阻害効果は確認されませんでした。

3. 分析反応性／包括性

臨床現場で確認されたことのあるヒト由来の MSSA 菌株 47 株、MRSA 菌株 203 株（合計 250 株）を用いて評価しました。

- (1) MSSA 菌株 47 株について、本品は正しく MRSA 陰性・黄色ブドウ球菌陽性に判定しました。
- (2) MRSA 菌株 203 株のうち、SCCmec type が I, II, III, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII 及び VIII 型の菌株 202 株について、本品は正しく MRSA 陽性に判定しました。
- (3) MRSA 菌株 203 株のうち、SCCmec type XI 型の菌株 1 株、すなわち新型 *mecA* 変異体として知られる *mecA*_{LGA251}（又は *mecC*）を含有する MRSA 菌株（LGA251）については、本品は MRSA 陰性・黄色ブドウ球菌陽性に判定し、偽陰性として報告しました。しかしながら、このことは本品の反応成分中に新型の変異体である SCCmec XI 型の領域を検出、増幅するための適切なプライマーが含有されていないことから予め予想されていました。
- (4) エンブティカセット変異株（SCCmec から *mecA* が脱落し、薬剤感受性検査においてもメチシリン感受性と判定される菌株）については、本品は正しく MRSA 陰性・黄色ブドウ球菌陽性に判定しました。
- (5) オキサリシン耐性に関するヘテロ耐性株については、本品は正しく MRSA 陽性に判定しました。境界値型オキサリシン耐性黄色ブドウ球菌（BORSA）については、本品は正しく MRSA 陰性・黄色ブドウ球菌陽性に判定しました。

4. 交差反応性（分析特異性）

系統的に黄色ブドウ球菌の近縁種である菌、及び医療機関又は血液培養陽性患者において検出される可能性がある菌株、合計 101 株を用いて評価しました。その結果、101 株すべての菌株で陰性に判定され、交差反応は認められませんでした。

- 評価対象 101 株の内訳は、グラム陽性菌 74 株、グラム陰性菌 24 株、酵母 3 株です。また好気性菌 94 株、嫌気性菌 7 株です。
- グラム陽性菌 74 株には、メチシリン感受性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌（MSCNS）27 株、メチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）12 株が含まれます。
- 5. その他の反応性に関する留意事項
- 新型又は未知の MRSA 変異体の検出においては、プライマー又はプローブの結合部位（配列）における変異又は多型がある場合、本品で偽陰性に判定されることがあります。
- *mecA* 発現によるものとは異なる機構（ β -ラクタマーゼ産生量増加など）でオキサリシン耐性を獲得した境界値型オキサリシン耐性黄色ブドウ球菌（BORSA）では、本品で偽陰性に判定されることがあります。
- *mecA* 発現によるものとは異なる機構（ペニシリン結合タンパクのオキサリシンに対する親和性の変化）でオキサリシン耐性を獲得した modified *S.aureus* [MOD-SA]株（変性 *S.aureus* 株）では、本品で偽陰性に判定されることがあります。
- 新型 *mecA* 相同体として知られる *mecA*_{LGA251} (*mecC*) を保有する黄色ブドウ球菌株（LGA251 株等）を測定した場合、本品では偽陰性（MRSA 陰性）に判定されます。
- メチシリン耐性コアグラウゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）及びエンブティカセット変異株（SCCmec から *mecA* が脱落した黄色ブドウ球菌株でメチシリン感受性株）の両方が混在している血液培養液を検体として測定した場合、本品では偽陽性（MRSA 陽性）に判定されます。
- 黄色ブドウ球菌（MRSA を含む）と他の微生物（例：グラム陰性桿菌、酵母菌）が血液培養液中に混在している場合、培養液中の黄色ブドウ球菌（MRSA を含む）の濃度によっては（特にこれらの濃度が最小検出感度近傍の場合）、偽陰性が生じたり、測定結果が安定したりしないことがあります。
- 検体濃度が最小検出感度以下の場合、陰性に判定される可能性があります。

用法・用量（操作方法）

本品は「GeneXpert システム」専用試薬です。

1. 試薬の調製方法
 - 試薬カートリッジ：そのまま使用します。
 - 検体前処理用試薬：そのまま使用します。
2. 必要な器具・機材・試料等
 - 専用機器（GeneXpert システム）
 - ボルテックスミキサー
 - 試料採取用容器
陽性となった血液培養ボトルから試料として採取した約 1 mL の培養液を収容しておく容器。
 - ディスポーザブル滅菌ピペット
本キットの付属品としてのディスポーザブルピペットの他、前処理後の検体を試薬カートリッジに注入する際に必要となるピペット。
3. 測定（操作）方法
 - (1) 検体の前処理
 - 1) 血液培養陽性となった培養液で、グラム陽性球菌（GPC）と判定された培養液を含む血液培養ボトルから培養液を約 1 mL 採取し、試料採取容器に分注後、ゆっくり攪拌混和します。
 - 2) 付属品のディスポーザブルピペット（培養液 50 μ L 分注用）の頭部球状部を強く押しつけたまま、容器中の血液培養液の中にピペット先端部を入れます。
 - 3) 球状部を押し付けていた力を抜き、培養液をピペットに吸入します。
 - 4) 培養液を吸入したピペットを、蓋を開けた検体前処理用試薬の容器の上に移動させます。
 - 5) ピペットの球状部を強く押し、検体を検体前処理用試薬に分注します。ピペット内の液が空になるように滴下します。このとき、50 μ L を越えて分取した余剰培養液はピペット中央の球状部に残存します。
 - 6) 検体前処理用試薬の容器のふたを閉じ、検体前処理用試薬の内容物をボルテックスミキサー等で 10 秒間程度攪拌します。
 - (2) 操作方法
 - 1) 試薬カートリッジのカバーのふたを開け、滅菌ピペットを用いて試薬カートリッジの検体注入口に前処理後の検体（検体前処理用試薬容器の内容物）をすべて注入します。
 - 2) 試薬カートリッジのカバーのふたを閉じます。
 - 3) 試薬カートリッジを専用機器内の所定の場所に設置します。専用機器の使用方法については専用機器の添付文書等を参照してください。
 - 4) 検査を開始します。専用機器内では以下の工程が自動進行します。
 - a) 熱変性：95°C 30 秒間
 - b) 40 サイクル：95°C 5 秒間、65°C 48 秒間
 - c) 蛍光測定
SPA2 プローブ：510~530 nm（励起 450 ~ 495 nm）
MEC2 プローブ：606~650 nm（励起 555~ 590 nm）
ORF X プローブ：665~685 nm（励起 630~ 650 nm）
SPC：565~590 nm（励起 500~550 nm）
 - 5) 検査終了後、表示される結果に従って判定します。

測定結果の判定法

判定方法

検査終了後、蛍光測定から、本品の解析アルゴリズムに基づいて自動的に検出結果が判定され、報告されます。このときの結果判定の解釈は次に示すとおりです。

判定結果	結果の解釈
MRSA POSITIVE SA POSITIVE	MRSA 陽性。MRSA の標的 DNA 及び黄色ブドウ球菌の標的 DNA のすべての標的 DNA が検出された。
MRSA NEGATIVE SA POSITIVE	MRSA 陰性、黄色ブドウ球菌陽性。黄色ブドウ球菌の標的 DNA は検出されたが、MRSA の標的 DNA は検出されなかった。
MRSA NEGATIVE SA NEGATIVE	黄色ブドウ球菌陰性。MRSA の標的 DNA 及び黄色ブドウ球菌の標的 DNA のすべての標的 DNA が検出されなかった。SPC (検体処理コントロール) が検出された。
INVALID	検体処理不良、又は PCR 反応妨害等によって、SPC が検出されず、MRSA の標的 DNA 及び黄色ブドウ球菌の標的 DNA の検出又は未検出について判定することができない。
ERROR	PCC (プローブチェックコントロール) の結果不良。プローブ不良等により、MRSA の標的 DNA 及び黄色ブドウ球菌の標的 DNA の検出又は未検出について判定することができない。
NO RESULT	検査中断等によって、結果を判定するために十分な検査データが得られなかったことにより、MRSA の標的 DNA 及び黄色ブドウ球菌の標的 DNA の検出又は未検出について判定することができない。

※INVALID, ERROR, NO RESULT といった判定不能の結果が表示された場合は、再検査の実施を検討してください。

各標的 DNA に対応するプローブは、それぞれ以下の範囲内の Ct 値にあるとき、標的 DNA は検出されたとみなされます。

spa DNA : 3~36
mecA DNA : 3~36
SCCmec DNA : 3~38

判定上の注意

- 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) が含まれています。SPCは *Bacillus globigii* の無毒化孢子及びこの DNA を検出するためのプライマー、プローブを含む凍結乾燥ビーズです。SPC はカートリッジ内で菌体からの核酸抽出が適切に行われているか、また、PCR 反応阻害等が起らずに核酸増幅工程が適切に進行しているかを確認します。SPC は陰性検体測定時に検出されなければならない、陰性検体で SPC が検出されない場合に INVALID となります。なお、陽性検体測定時は、SPC は検出されない場合があります。
- 本品を用いた検査に際して、PCR 反応前に専用機器により各プローブの蛍光を測定するプローブチェックコントロール (PCC) という機構があり、PCC によって凍結乾燥ビーズの水和・溶解状態、プローブの完全性、蛍光色素の安定性及び PCR 反応チューブの溶液の充填性を確認します。PCC の結果が規格に合致しなかった場合、ERROR となります。
- 本品では INVALID, ERROR, NO RESULT といった判定不能の結果が表示されることがあります。この際、再検査を実施するなどして最終的な判定結果を入手するのが遅くなる場合があります。
- 本品による判定結果は、抗菌薬の感受性試験結果を直接的に示すものではありません。必要に応じて培養検査や薬剤感受性試験を実施してください。
- MRSA 陽性、黄色ブドウ球菌陽性のいずれの陽性判定においても、本品による判定結果は必ずしも生菌が検体中に存在することを指し示すものではありません。

臨床的意義

本品は培養陽性となった血液培養液中から迅速に MRSA 及び黄色ブド

ウ球菌を検出することを目的としたキットです。厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) によると、血液検体から分離された菌のうち、黄色ブドウ球菌 (13.2%) は *E.coli* (15.8%) に次ぐ頻度で検出されており、薬剤耐性菌による新規感染症患者の報告数で、MRSA は 17,756 人 (93.57%) で大部分を占めています。MRSA 感染症名の内訳では、肺炎 6,993 人 (39.4%) に次いで菌血症 2,943 人 (16.6%) が多くなっています^{1,2}。

MRSA や黄色ブドウ球菌を原因菌とする菌血症患者の死亡率は 20~40%程度とされており³、これらを原因菌として迅速かつ正確に同定し、適切な抗菌薬治療をいち早く開始することは患者の予後、病態改善に向けた治療を実施する上で不可欠です。

従来法として標準的に実施されている培養法及び薬剤感受性試験による同定検査では、結果の判明までに 1~2 日を要しますが、本品では検査開始から結果報告までに要する時間は約 1 時間です。MRSA 及び黄色ブドウ球菌に関する菌血症について、本品による迅速診断が可能となることで、原因菌に合った有効かつ適切な抗菌薬による治療の推進 (抗菌薬の適正使用) に繋がります。なお、リアルタイム PCR による迅速な原因菌の同定を取り入れた抗菌薬適正使用プログラムの実践によって、MSSA による菌血症患者において、抗菌薬の変更までに要する期間 (日数) が短縮されることも報告されています⁴。

<臨床性能試験成績>

血液培養陽性となった培養液 (好気性培養ボトル) のうち、グラム陽性球菌と判定された培養液を検体とし、これらの培養液が得られた 230 検体のうち、判定不能の 2 検体を除いた 228 検体を対象として、同定検査 (同定検査及び薬剤感受性検査) を比較対照として一致率を評価しました。

1. MRSA 検出に関する結果

		同定検査結果		
		MRSA	MSSA	非黄色ブドウ球菌
本品 結果	MRSA 陽性	23	0	0
	MRSA 陰性	0	54	151

[95%信頼区間下限値、95%信頼区間上限値]

感度=100% (23/23) [85.18%, 100%]

特異度=100% (205/205) [98.22%, 100%]

一致率=100% (228/228) [98.40%, 100%]

2. 黄色ブドウ球菌検出に関する結果

		同定検査結果	
		黄色ブドウ球菌	非黄色ブドウ球菌
本品 結果	SA 陽性	77	0
	SA 陰性	0	151

[95%信頼区間下限値、95%信頼区間上限値]

感度=100% (77/77) [95.32%, 100%]

特異度=100% (151/151) [97.59%, 100%]

一致率=100% (228/228) [98.40%, 100%]

性能

1. 感度試験

濃度既知の MRSA 検体を用いて試験を行うとき、「MRSA 陽性・SA 陽性」の結果を得る。濃度既知の MSSA 検体を用いて試験を行うとき、「MRSA 陰性・SA 陽性」の結果を得る。

2. 正確性試験

濃度既知の MRSA 検体を用いて試験を行うとき、「MRSA 陽性・SA 陽性」の結果を得る。濃度既知の MSSA 検体を用いて試験を行うとき、「MRSA 陰性・SA 陽性」の結果を得る。陰性管理用検体を用いて試験を行うとき、「MRSA 陰性・SA 陰性」の結果を得る。

3. 同時再現性試験

濃度既知の MRSA 検体及び MSSA 検体並びに陰性管理用検体を用いて同時に 3 回試験を行うとき、MRSA 検体ではすべて「MRSA 陽性・SA 陽性」、MSSA 検体ではすべて「MRSA 陰性・SA 陽性」、陰性管理用検体ではすべて「MRSA 陰性・SA 陰性」の結果を得る。

4. 較正用基準物質

MRSA 菌株(ATCC700699)

MSSA 菌株(C1960)

5. 最小検出感度

MSSA 菌株及び MRSA 菌株のそれぞれについて確認された本品の最小検出感度（試験した検体の 95%で陽性となる最低濃度）は、それぞれ次のとおり。

MSSA : 300 CFU/アッセイ

MRSA : 400 CFU/アッセイ

また、それぞれ菌株ごとに試験で確認された最小検出感度は以下のとおり（例示）。

(1)MSSA

菌株名称	菌株由来	LOD (CFU/assay)
102-04	a	100
29213	b	150
N7129	a	300

菌株由来/入手先:

a : ATCC (American Type Culture Collection)

b : CDC (Centers for Disease Control and Prevention)

(2)MRSA

菌株名称	菌株由来	SCCmec Type	LOD (CFU/assay)
64/4176	a	I	350
N315	b	II	175
11373	b	III	225
MW2	b	IVa	350
ST59	c	V	250
HDE288	d	VI	250
JCSC6082	a	VII	300
WA MRSA-16	c	VIII	400
BK2464	b	II	125
BK2529	b	IVd	200

菌株由来/入手先:

a : Teruyo Ito, Department of Bacteriology, School of Medicine Juntendo University

b : Barry Kreiswirth, Director Public Health Research Institute (PHRI)

c : Geoffrey Coombs, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Royal Perth Hospital

d : Herminia de Lancastre, Laboratory of Molecular Genetics, Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica, Universidade Nova de Lisboa

使用上又は取扱い上の注意

1. 取扱い上の注意

- (1) 検査に用いる検体及び使用済みの試薬カートリッジの取扱いに際しては、感染の危険があるものとしてスタンダードプリコーション（標準予防策）を行ってください。
- (2) 検査に際しては、防護服、マスク、ゴーグル及び使い捨ての手袋等の適切な保護具を着用し、検査後は良く手を洗ってください。また各検査実施施設におけるマニュアル、ガイドライン等に従ってください。
- (3) 口によるピペティングを行わないでください。
- (4) 検体前処理用試薬中の成分には塩化グアニジニウムが含有されており、皮膚や眼に触れると有害であるため、保護具を着用するなど取扱いに注意してください。
- (5) 本品の試薬カートリッジ中には、米国由来の牛血清アルブミン (Bovine Serum Albumin; BSA)を成分として含んでいます。BSA の

原材料となる牛は死亡前後に検査を受けており、また製造工程においてその他の動物成分の混入はなく、牛以外の反芻生物及びその他の動物性タンパクは成分として含まれていません。

2. 使用上の注意

- (1) 本品は貯蔵方法に従って保存してください。
- (2) 有効期限を過ぎたキットは使用しないでください。
- (3) 試薬カートリッジの蓋は、検査開始の準備ができるまで開封しないでください。
- (4) 検体前処理用試薬は他の製品の試薬で代用しないでください。
- (5) 試薬カートリッジから液体の漏れや濡れがある場合、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使用してください。
- (6) 試薬カートリッジに検体を添加した後、カートリッジを落下させたり、振盪させたりした場合には、その試薬カートリッジでは測定を開始せず、新しい試薬カートリッジで測定してください。
- (7) 検体前処理用試薬に混濁又は変色が認められる場合、使用しないでください。
- (8) 試薬カートリッジに検体を注入した後は、そのカートリッジによる検査は、3 時間以内に専用装置で測定を開始してください。
- (9) 再検査を行う場合は、試薬カートリッジ及び検体前処理用試薬は新しいものを使用し、再使用しないでください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 使用済みの試薬カートリッジや、残った検体等については、各施設の廃棄手順、マニュアル及び施設の存在する各地域の規制に従って、感染性廃棄物として廃棄してください。
- (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してください。
- (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°C 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してください。また、検体飛散時と同様に対処してください。

貯蔵方法、有効期間

貯蔵方法 : 2 ~ 28°C

有効期間 : 18 箇月（使用期限は外箱に記載してあります）

包装単位

10 テスト

主要文献

1. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (HP). 公開情報 2015 年 1 月 ~ 12 月年報. 院内感染対策サーベイランス 検査部門【CLSI 2012 版】(公開情報掲載日 : 2016 年 11 月 4 日)
2. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (HP). 公開情報 2015 年 1 月 ~ 12 月年報. 院内感染対策サーベイランス 全入院患者部門 (公開情報掲載日 : 2016 年 9 月 21 日).
3. 大曲貴夫 : 第 16 章 黄色ブドウ球菌感染症 ; レジデントのための感染症診療マニュアル (著 : 青木真) (第 3 版). 医学書院
4. Bauer KA et al. An antimicrobial stewardship program's impact with rapid polymerase chain reaction methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*/S. aureus blood culture test in patients with S. aureus bacteremia. *Clin Infect Dis.* 2010; 51:1074-80

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

製造販売業者及び製造業者の氏名又は名称等

製造販売業者
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

製造業者 Cepheid (米国)