体外診断用医薬品　　2019 年 11 月作成（第 1 版）
製品番号 GXSACOMP-JP-10　　製造販売承認番号 30100EZX00022000

BECKMAN COULTER

核酸同定・ブドウ球菌キット
Xpert MRSA／SA Nasal「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。

重要な基本的注意

メチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌（MRCNS）と*mecA*遺伝子が欠落した黄色ブドウ球菌の双方に感染した検体を試験した場合は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）陽性となり、偽陽性の結果を示します。

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. 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. 検査の際は、必ず本添付文書の記載に従ってください。本添付文書の記載以外の使用方法については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。
5. 一度検査で使用した試薬カートリッジは、再使用しないでください。

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ています。

構成試薬及び付属品	数量
1.試薬カートリッジ 反応系に関与する成分： - 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（dNTPs） - Taq ポリメラーゼ	10 個
2.検体前処理用試薬 成分：チオシアン酸グアニジン他	2 mL × 10 本
3.付属品 - CD（解析ソフトウェアを含む）	1 枚

使用目的

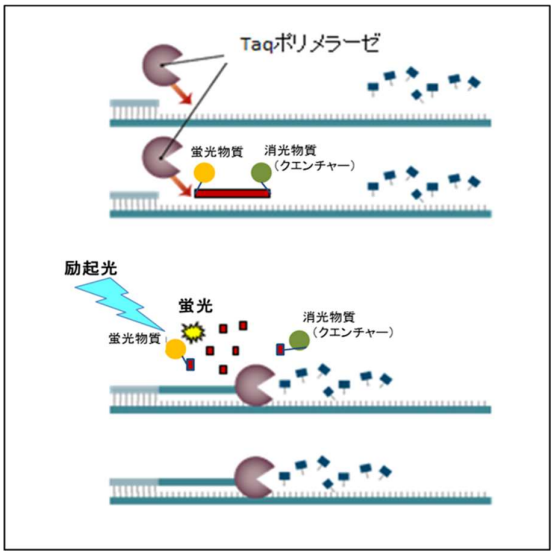
鼻腔ぬぐい液中の黄色ブドウ球菌DNA及びメチシリン耐性黄色ブドウ球菌DNAの検出（鼻腔内のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染の判定の補助）

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、鼻腔ぬぐい液中に含まれるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌DNA及び黄色ブドウ球菌DNAを検出する体外診断用医薬品です。

本品を用いたReal-time PCRによる測定原理は以下のとおりです。

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. 標的遺伝子の増幅
   核酸の中の標的遺伝子に対して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、標的遺伝子が増幅される。
3. 標的遺伝子の検出
   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遺伝子を測定する。
4. 結果の判定
   蛍光測定により得られるCt値（Cycle to threshold value）を基にメチシリン耐性黄色ブドウ球菌及び黄色ブドウ球菌の検出結果が自動的に判定される。



操作上の注意

1.測定試料の性質、採取法

1）採取した検体を24時間以内に試験する場合は15～28℃で保存してください。検体は2～8℃で保存すれば5日間まで保管が可能です。
2）MRSA及び黄色ブドウ球菌の検出は検体中の菌量に依存しています。信頼のおける結果を得るために、検体に対する適切な採取、取扱い及び保管を行ってください。
3）本品の性能は、本添付文書に記載のある検体以外については確認されていません。鼻腔ぬぐい液以外の検体では検査を行わないでください。

2.妨害物質、妨害薬剤

本品を用いた検査で潜在的に妨害物質の可能性のある以下の10種類の物質を対象に評価を実施しました。

共存物質の影響

有効成分名	濃度（%）
0.05%オキシメタゾリン塩酸塩 （鼻用充血緩和薬）	100%（v/v）
血液	100%（v/v）
0.05%フルチカゾンプロピオン酸 エステル（点鼻ステロイド薬）	100%（v/v） 50%（v/v） 25%（v/v） 10%（v/v） 5%（v/v） 1%（v/v）
ムチン	5%（w/v）
5.2 mg クロモグリク酸ナトリウム （鼻用アレルギー症状緩和薬）	100%（v/v）
0.05%モメタゾンフランカルボン酸エステル （点鼻ステロイド薬）	100%（v/v） 50%（v/v） 25%（v/v） 10%（v/v） 5%（v/v）
0.5%塩酸フェニレフリン （鼻用充血緩和薬）	100%（v/v）
0.1%塩酸アゼラスチン （抗ヒスタミン薬）	100%（v/v）

0.65%塩化ナトリウム （鼻湿潤スプレー）	100%（v/v）
以下の植物抽出成分が入ったホメオパシー製品 4x, 12x, 30x Luffa operculate 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x, 200x Histaminum hydrochloricum 12x, 30x, 200x Sulphur （上気道アレルギー症状除去目的）	100%（v/v）

評価の結果、以下の物質について反応阻害効果と思われる結果を得ました。

1）MRSAに関する陽性検体において、次に示す物質（及び濃度）の存在下で反応阻害効果によると思われる偽陰性結果が得られました。
- ・1%（v/v）を超える濃度のフルチカゾンプロピオン酸エステル（点鼻ステロイド薬）
- ・5%（v/v）を超える濃度のモメタゾンフランカルボン酸エステル（点鼻ステロイド薬）

2）陰性検体について、次に示す物質（及び濃度）の存在下で反応阻害効果によると思われる”INVALID”判定が得られました。
- ・5%（v/v）を超える濃度のフルチカゾンプロピオン酸エステル（点鼻ステロイド薬）
- ・10%（v/v）を超える濃度のモメタゾンフランカルボン酸エステル（点鼻ステロイド薬）

3.反応特異性

1）分析反応性：
既知のメチシリン感受性の黄色ブドウ球菌株49株、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌199株を検体として、各3回の繰り返し検査を行ったところ、メチシリン感受性の黄色ブドウ球菌株では、MRSA陰性、黄色ブドウ球菌陽性、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌では、MRSA 陽性、黄色ブドウ球菌陽性の結果となり、いずれも正しく結果判定されました。試験対象には以下の構成・分類（背景）の菌株を含みます。
- Cooper and Feilグループの1A, 1B, 2
- SCC*mec* typeとsubtypeによる分類では、I, II, III, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII及びVIII
- 24種類のSequence types（STs）
- 75種類の*spa*-types
- 13種類のPFGE types
- 18種類のClonal complexes（CC）

2）特異度
系統学的に黄色ブドウ球菌と関連性のある菌株又は鼻腔内に潜在的に存在する可能性のある114種類の菌株を検体として、各3回の繰り返し検査を行ったところ、114株すべてがMRSA陰性、黄色ブドウ球菌陰性の結果となり、偽陽性は確認されませんでした。

3）BORSA（Borderline oxacillin-resistant Staphylococcus aureus）株試験
7つの既知BORSA株を高濃度と低濃度の二つに調整した懸濁液を用いて、三重測定を行ったところ、MRSA陰性、黄色ブドウ球菌陽性と判定され、偽陽性（MRSA陽性）と結果が報告されることはありませんでした。
※BORSA株とは、オキサリシンの最小発育阻止濃度（MIC値）が1～8 μg/mLを示しながらも、*mecA*が欠落している変異株を指します。

4）Empty Cassette 変異株試験
22株の黄色ブドウ球菌Empty Cassette変異株を検体として試験を実施したところ、22検体すべてにおいてMRSA 陰性、黄色ブドウ球菌 陽性の結果が得られました。また、PCR反応において、*mecA*のシグナルは確認されませんでした。
※Empty Cassette変異株とは、*mecA*遺伝子を運搬しているSCC*mec*の一部が*mecA*遺伝子ごと脱落した変異株であり、メチシリン感受性を示します。SCC*mec*の一部は脱落せずに残存しているために、SCC*mec*遺伝子のPCR反応上のシグナルは陽性となります。

4.その他
本品は遺伝子解析装置「GeneXpert システム」の専用試薬です。

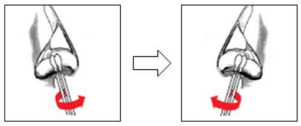
用法・用量（操作方法）

1. 試薬の調製方法
1）試薬カートリッジ：そのまま使用します。
2）検体前処理用試薬：そのまま使用します。

2. 必要な器具・機械・試料等
1）専用機器（GeneXpertシステム）
2）ボルテックスミキサー
3）専用の検体採取容器（Cepheidサンプル採取スワブ：Cepheid Sample Collection Device）：2本の滅菌綿棒が専用容器にセットされたもの
4）使い捨て滅菌ピペット

3. 測定（操作）方法
1）検体の採取方法
以下の手順に従い、患者から鼻腔ぬぐい液を採取します。検体の採取には必ず専用の滅菌綿棒を使用してください。
採取した検体は15～28℃で24時間、2～8℃で5日間まで保管が可能です。
①患者の鼻孔から1～2 cmの部分に専用の滅菌綿棒を2本同時に挿入し、3秒程度綿棒を片方の鼻腔内で回転させるとともに、外から鼻腔部分を軽く押し、鼻腔ぬぐい液が綿棒に十分接触するようにして検体（鼻腔ぬぐい液）を採取してください。
②同じ滅菌綿棒で、もう片方の鼻腔についても①と同様に操作して、検体を採取します（図1参照）。

【図 1　検体（鼻腔ぬぐい液）の採取方法】



2) 検体の前処理方法
①2本の綿棒のうち、1本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、柄部を取り除きます。
②残るもう1本の綿棒は、判定不能等の結果が得られた場合の再試験用の検体として検査終了までの間保管してください。
③検体前処理用試薬の容器のふたを閉じ、10秒間検体前処理用試薬を攪拌混和します。

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用試薬の容器内の液体（前処理済みの検体）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、操作方法については当該装置の添付文書等を参照してください。
④検査が開始されます。なお、専用機器内では以下の工程で反応が進行します。
a）熱変性：95℃ 30秒間
b）40サイクル：95℃ 5秒間、65℃ 48秒間
c）蛍光測定
SPA2プローブ：510～530 nm
MEC2プローブ：606～650 nm
ORF Xプローブ：665～685 nm
SPC（検体処理コントロール）：565～590 nm
⑤検査終了後、以下の結果表示に従って判定します。

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ます。各標的遺伝子の解析条件（Ct値）と標的遺伝子の検出と判定結果及びそれぞれの解釈は、次に示すとおりです。

対応するプローブが以下のCt値の範囲にある場合に各標的遺伝子は検出と判定されます。
spa 遺伝子：Ct 値が 10 以上 35 以下
mecA 遺伝子：Ct 値が 10 以上 36 以下
SCC*mec*：Ct 値が 10 以上 38 以下

MRSA に関する判定

判定結果	標的遺伝子の検出	判定結果の解釈
MRSA POSITIVE	すべての標的遺伝子が検出	MRSA 陽性
MRSA NEGATIVE	上記以外	MRSA 陰性

黄色ブドウ球菌に関する判定

判定結果	標的遺伝子の検出	判定結果の解釈
SA POSITIVE	*spa* 遺伝子が検出	黄色ブドウ球菌 陽性
SA NEGATIVE	上記以外	黄色ブドウ球菌 陰性

上記判定のほか、次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してください。

結果表示	解釈及び考えらえる原因
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

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）が含まれています。SPCは*Bacillus.globigii*の無毒化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、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します。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ます（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ります）。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）」と判定されます。検査結果としてINVALIDが表示された場合には、再検査を考慮してください。

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ます（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ます。検査結果としてERRORが表示された場合、PCCの結果不良により検査結果が得られなかったことを意味しますので、再検査を考慮してください。

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など、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してください。

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ます。画面確認方法等の詳細については、専用機器の取扱い説明書等を参照してください。

5）判定不能結果は、検体採取が不適切である、あるいは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ります。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ってください。

6）本品により陽性結果が得られた場合、MRSAや黄色ブドウ球菌の存在が示唆されますが、必ずしも生菌が存在することを示すものではありません。

7）MRSAと黄色ブドウ球菌が混在している検体では、MRSAが検出されない場合があります。

8）混合培養でMRSAや黄色ブドウ球菌と他の微生物（グラム陰性桿菌や酵母菌など）が検出されるような検体では、MRSAや黄色ブドウ球菌の濃度によっては偽陰性結果となったり、結果にばらつきが生じたりすることがあります。特にMRSAや黄色ブドウ球菌の濃度が最小検出感度近辺の場合はその傾向があります。

9）プライマー又はプロ―ブ結合部位において変異又は多型が存在する場合、本品の検査結果に影響を与え、偽陰性結果となる可能性があります。

10）検査結果は薬剤感受性試験結果を提供しているものではありません。必要に応じて培養や薬剤感受性試験を行ってください。

臨床的意義

本品の臨床診断上の意義は、術後感染リスクの低減を目的とした鼻腔内のMRSA検出です。鼻腔内MRSA保菌そのものは感染症の発症には該当しませんが、術後感染リスクの高い患者に対して、MRSA鼻腔内保菌者を特定し予め除菌することにより、術後感染予防を目的としている[2]ものです。対象群としては、「術後感染予防抗菌薬適正使用のための実践ガイドライン」（日本化学療法学会／日本外科感染症学会：2016年第1版）に記載されている心臓外科手術、胸部大血管手術、人口関節置換術及び脊椎インストゥルメンテーション手術などが挙げられます[2]。

MRSAの検出は標準的方法として培養法に基づいた細菌同定や薬剤感受性試験が行われますが、検査結果が出るまでに1～2日を要するため、迅速な検査法が求められていました。本品は、Real-time PCR法による核酸増幅検査によりMRSA及び黄色ブドウ球菌それぞれに特異的な遺伝子を検出し、MRSA及び黄色ブドウ球菌の関連する感染症の診断の指標として有用です。また、本品は検査前の用手法工程も1分程度であり、検査開始から結果判定まで1時間以内に終了することから迅速検査が可能です。迅速検査によって早期に黄色ブドウ球菌又はMRSAを検出できれば、起炎菌に応じた適切な薬剤による治療、医療機関内における感染制御措置についてもより早い段階から実施することが可能となります[3]。

【培養検査との比較】

1）本邦における臨床性能試験成績

		培養検査			
		MRSA	MSSA	黄色ブドウ球菌陰性	合計
本品	MRSA 陽性 SA 陽性	7	0	1	8
	MRSA 陰性 SA 陽性	0	32	5	37
	MRSA 陰性 SA 陰性	0	0	111	111
	判定不能	0	0	1	1
	合計	7	32	118	157

・MRSAに関する検出精度
感度：100%　特異度：99.3%　全体一致率：99.4%
・黄色ブドウ球菌（培養検査でMRSA又はMSSAと判定された検体）に関する検出精度
感度：100%　特異度：94.9%　一致率　：96.2%
・判定不能率：0.6%（1/157）
不一致となった6例については、検体の増菌培養を行い、再度培養検査を実施したところ、5例は本品の結果と一致した。結果が一致しなかった1例は抗菌薬を14日間服用しており、抗菌薬の効果により死菌となった黄色ブドウ球菌由来のDNAを本品が検出した可能性が考えられる。

2）米国における試験成績

		MRSA 陽性	MRSA 陰性 SA 陽性	SA 陰性	合計
本品	MRSA 陽性	159	24	25	208
	SA 陽性	9	393	152	554
	陰性	5	37	1683	1725
	合計	173	454	1860	2487
試験成果		**MRSA**		**SA**	
		感度	91.9%	感度	93.3%
		特異度	97.9%	特異度	90.5%
		正確度	97.5%	正確度	91.2%
		陽性的中率	76.4%	陽性的中率	76.8%
		陰性的中率	99.4%	陰性的中率	97.6%

性能

1. 性能

「用法・用量（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とき、以下の規格に適合します。

【感度】

濃度既知の陽性管理検体（MRSA（H）、MRSA（M）、MRSA（L））を用いて検査を行うとき、MRSA 陽性に判定される。

【正確性】

濃度既知の陽性管理検体（MRSA（H）、MRSA（M）、MRSA（L））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MRSA陽性に、陰性管理検体は陰性に判定される。

【同時再現性】

濃度既知の陽性管理検体（MRSA（H）、MRSA（M）、MRSA（L））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、陽性管理検体はすべてMRSA 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

175 CFU/テスト（黄色ブドウ球菌株）
300 CFU/テスト（MRSA 菌株）
※CFU：コロニー形成単位

3. 管理用物質

社内標準物質（MRSA Type II 培養細胞）

使用上又は取扱い上の注意

1.取扱い上（危険防止）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、スタンダードプリコーション（標準的予防策）を行ってください。

2）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してください。また、検体及び試薬の取扱いの後は、よく手を洗ってください。

3）感染を避けるため、口によるピペッティングを行わないでください。

4）化学薬品及び感染のおそ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ってください。

5）本品の検体前処理用試薬は、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おそれがあることから、取扱いには十分に注意してください。

6）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ります。また、溶液及び蒸気ともに可燃性であるため、火気を避け、取扱いに注意してください。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鹸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、医師に相談してください。
7）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）を含有しています（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ありません。

2.使用上の注意

1）本品は、「貯蔵方法、有効期間」欄の記載に従い保存してください。
2）有効期間を過ぎた製品は使用しないでください。
3）変色、濁りのある試薬は使用しないでください。
4）試薬カートリッジが濡れていたり、ふたや反応チューブに破損が見られたりす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てください。
5）試薬カートリッジ及び検体前処理用試薬は、同じキット内のものを組み合わせて使用してください。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でください。
6）試薬やカートリッジは開封後30分以内に使用してください。
7）試薬カートリッジに検体を添加した後は、15分以内に検査を行ってください。

8）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ふたのみを開け、前処理済み検体を添加後、試薬カートリッジのふたを閉めた後に、次の試薬カートリッジの操作に移ってください。
9）試薬カートリッジのふたは、検体添加時以外には開けないでください。
10）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ってください。
11）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用試薬を使用してください。

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、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℃で20分間滅菌処理するか、3～3.5%のグルタールアルデヒドのアルカリ水溶液に60分以上、又は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、検体飛散時も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℃
有効期間：12 箇月（使用期限：外箱に記載してあります）

包装単位

10 テスト

主要文献

1. 国立感染症研究所 感染症情報センター IDWR 感染症発生動向調査 感染症週報 「感染症の話」メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）. 通巻第 4 巻 第 18・19 合併号（2002）:10-12.
2. 術後感染予防抗菌薬適正使用のための実践ガイドライン」日本化学療法学会／日本外科感染症学会：2016 年第 1 版
3. Wassenberg M, Kluytmans J, Erdkamp S et al. Costs and benefits of rapid screening of methicillin-resistant Staphylococcus aureus carriage in intensive care units: a prospective multicenter study. Crit Care, 2012;16（1）:R22

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

製造販売業者の氏名又は名称及び住所

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 AB