体外診断用医薬品　　*改訂 2022 年 5 月（第 2 版）
製造販売承認番号 22800AMX00358000　　作成 2016 年 3 月(第 1 版)

ご使用に際しては本添付文書をよく読んでからご使用ください。

淋菌核酸キット

ジーンキューブ®
ナイセリア・ゴノレア

＊[全般的な注意]

1.本品は全自動遺伝子解析装置 GENECUBE®の専用試薬です。
2.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。
3.診断は他の関連する検査結果や臨床症状等に基づいて医師が総合的に判断してください。
4.添付文書以外の使用目的及び使用方法でご使用されて得られた測定結果については保証を致しかねます。
5.SDS は末尾記載の問い合わせ先にご請求し、ご確認ください。
6.使用する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 Mix]
KOD® DNA ポリメラーゼ
dNTP※
2.プライマー・プローブ試薬[SNG Mix]
SNG プライマー F
SNG プライマー R
SNG QProbe
硫酸マグネシウム
3.陽性コントロール溶液[SNG PC]
4.陰性コントロール溶液[SNG NC]
※「dNTP」は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、デオキシグアノシン三リン酸、デオキシチミジン三リン酸の混合物です。

[使用目的]

子宮頸管擦過物又は男性尿中の淋菌 DNA の検出（淋菌感染症診断の補助）

＊[測定原理]

本品は、「Polymerase Chain Reaction (PCR)法による標的核酸増幅」と「蛍光標識プローブ（QProbe※1）を用いた標的核酸検出」を利用した淋菌 DNA 検出試薬です。
淋菌に特有の遺伝子領域をターゲットに SNG※2 プライマーF と SNG プライマーR をアニーリングさせます。KOD® DNA ポリメラーゼによって各プライマーの伸長が起こります。この時 dNTP を基質、マグネシウムイオンを酵素の活性触媒として用います。プライマーのアニーリング、伸長を繰り返し行うことで標的核酸を増幅させます。その後、増幅核酸と淋菌に特異的な配列を持つ SNG QProbe をハイブリダイゼーションさせて蛍光の変化を解析することで淋菌の DNA 検出を行います。
増幅に「高速増幅可能なKOD® DNAポリメラーゼ」[1)]、検出に「シンプルな設計の QProbe」[2),3)]を利用して簡便迅速な検出を可能にします。また、容器を開封せずに増幅検出を行うホモジニアス系のためキャリーオーバーコンタミネーションを防止し、偽陽性の発生を抑えることができます。さらに、内部コントロールを増幅・検出反応系に組み込むことで臨床検体由来の妨害物質による PCR 阻害を知ることができ、淋菌の DNA 検出における偽陰性を防ぐことができます。
※1「QProbe」は日鉄環境株式会社が特許権を有する消光プローブです。
※2「SNG」は「Sexually Transmitted Diseases *Neisseria gonorrhoeae* 」の略称です。

＊[操作上の注意]

1.検体について
(1)本品の試料には、子宮頸管擦過物又は男性尿から抽出した DNA 溶液（検体調製液）を用います。
(2)血液成分が多量に含まれている検体は避けてください。血液成分が多量に含まれている検体またはヘパリンを多く含む検体を用いる場合は、試料調製の段階で十分に血液成分またはヘパリンを取り除いてください。試料中に血液成分やヘパリンが残存していると増幅検出反応が阻害されて検出できないことがあります。
(3)検体を保存する場合は、-80℃以下で保存してください。冷凍保存された検体を使用するときは、必ず室温に戻してから使用してください。
(4)核酸抽出後の検体調製液は早めにご使用ください。保存する場合は、-20℃以下で保存してください。

2.試料の調製方法
(1)検体の前処理法
検体はスワブ検体又は尿検体を用います。
スワブでの検体採取は以下の様に行います。
1)採取用スワブ（別売品）を子宮頸管内に挿入します。
2)スワブを時計回りに 5 回ゆっくり回転させ、擦過物を採取します。
3)スワブを膣粘膜に触れないように注意しながら引き抜きます。

採取したスワブ検体は以下の方法で懸濁してください。
1)検体を採取したスワブを 1mL のスワブ検体懸濁液（別売品）を入れたチューブに浸します。
2)容器中でスワブを振って懸濁し、その後スワブを取り出します。
3)スワブを取り出した後の液を懸濁液とします。

尿検体は濁りがある場合、GENECUBE®を用いて核酸抽出を行うなら後述の核酸抽出方法によって除濁が可能です。それ以外の核酸抽出キットを使用する場合は各製品の説明書に従って処理をしてください。
(2)核酸抽出方法
核酸抽出にあたって GENECUBE®を用いる場合は、GENECUBE®及びジーンキューブ®専用 前処理セットの取扱説明書をご参照ください。
また、他の核酸抽出キットを用いる場合、注意事項など詳細については製品の説明書に従って操作してください。
以下に全自動遺伝子解析装置 GENECUBE®を用いた核酸抽出方法を示します。
＜全自動遺伝子解析装置 GENECUBE®＞
1)スワブの懸濁液又は尿 800μL をジーンキューブ®専用 イージー・ビーズが入ったチューブに分注します。
2)13,000×g で 3 分間遠心を行います。
3)遠心後試料のうち 400μL をマイクロピペットで除去します。試料の液面近くにマイクロピペットのチップが来るようにして 400μL を吸い上げてください。
4)残った試料をビーズ入りチューブごと 80℃で 10 分間加熱します。
5)加熱したチューブを 20 秒間ボルテックスで撹拌します。
6)卓上遠心機で 1～2 秒間遠心し、チューブ壁やキャップについた液を落とします。
7)チューブにジーンキューブ®専用 溶解吸着液 600μL を添加します。
8) 7)のチューブを 1,500×g で 3 分間遠心します。
9)上清 800μL をジーンキューブ®専用 試薬カートリッジの検体添加スポットに添加し、アルミシールを貼付します。
10)GENECUBE®の使用方法に従って核酸抽出を行います。得られた核酸抽出液を検体調製液とします。

3.交差反応
淋菌以外のナイセリア属 10 種（*Neisseria meningitidis*, *Neisseria perflava*, *Neisseria polysaccharea*, *Neisseria sicca*, *Neisseria cinerea*, *Neisseria lactamica*, *Neisseria flavescens*, *Neisseria elongata*, *Neisseria subflava*, *Neisseria mucosa*）、クラミジア属及び類縁のクラミドフィラ属 4 種（*Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia suis*, *Chlamydia muridarum*, *Chlamydophila pneumoniae*）から抽出した DNA 試料（各 1000 コピー／テスト）について測定を行ったところ、交差反応は認められませんでした。
以下 の菌種についてはデータベース（NCBI：National Center for Biotechnology Information）で配列を確認し交差反応を示さないことを確認しました。*Aeromonas hydrophila*, *Agrobacterium radiobacter*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides fragilis*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Campylobacter jejuni*, *Chlamydophila psittaci*, *Chromobacterium violaceum*, *Clostridium*

perfringens, *Deinococcus radiodurans*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Enterococcus faecalis*, *Erysipelothrix rhusiopathiae Fujisawa*, *Escherichia coli*, *Fusobacterium nucleatum*, *Gardnerella vaginalis*, *Haemophilus ducreyi*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Legionella pneumophila*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Mycobacterium smegmatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Paracoccus denitrificans*, *Propionibacterium acnes*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Rhodospirillum rubrum*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptomyces griseus*, *Ureaplasma urealyticum serovar*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Yersinia enterocolitica*

ナイセリア・ゴノレア(*Neisseria gonorrhoeae*)20 株は全て陽性を示しました。

4.共存物質の影響

ヒトゲノム混入における影響については、10 万コピー／テストのヒトゲノムが混入しても本試薬の測定に影響しないことを確認しました。

血液混入における影響については、試料中の血液の含有量が 2.2%(スワブ中の含有量が 22%に相当する量)まで混入しても判定結果に影響しないことを確認しました。

5.コンタミネーションの防止

GENECUBE®は、試薬の分注から増幅専用容器であるプラスチックキャピラリーへの試薬の充填、増幅検出までを自動で行います。増幅・検出を一つの容器で開封することなしに行うことができ、測定を終了した試薬はそのまま自動で廃棄するため、キャリーオーバーコンタミネーションによる偽陽性を抑えることができます。しかし、GENECUBE®では検体の調製段階で発生するクロスコンタミネーションは防止することができませんので、以下の操作法を遵守してください。

(1)個人防護具の着用

人体に付着した微生物や体液(例えば唾液、汗)の混入を防ぐため、また検体からの感染防止の観点からも個人防護具(手袋、マスク、防護衣など)を着用して操作を行ってください。GENECUBE®への試薬のセット時には、検体の調製時に使用した手袋は使用せず、新しい手袋を使用してください。

(2)検体の付着の防止

遠心チューブや検体保存容器の蓋に付着した検体は、蓋を開けるときに手袋へ付着する可能性が高いため、軽く遠心を行うなどして検体が蓋に付着していない状態で開閉してください。複数の検体を同時に取扱う時は、各容器の蓋を開放したまま次の操作を行わず、必ず蓋を閉めてから次の操作へ移ってください。

(3)フィルター付ピペットチップの使用

検体の調製時に使用するピペットがエアーディスプレースピペットの場合、サンプルとピストンの間に空気が介在するため、ピペット内部を汚染してしまう可能性があります。ピペット内部の汚染を防止するため、フィルター付のチップを使用してください。

6.その他留意事項

(1)検体中に標的となるDNA が存在しても検体前処理操作で最小検出感度以下になった場合は陰性と判定されますのでご注意ください。

(2)酵素試薬[KOD Mix]はジーンキューブ®クラミジア・トラコマチスとの間で共通試薬として使用できます。

＊[用法・用量(操作方法)]

1.試薬・試液調製法

・酵素試薬[KOD Mix] : そのまま用います。

・プライマー・プローブ試薬[SNG Mix] : そのまま用います。

・陽性コントロール溶液[SNG PC] : そのまま陽性コントロールとして用います。

・陰性コントロール溶液[SNG NC] : そのまま陰性コントロールとして用います。

2.必要な器具、器材など

・GENECUBE®及びその付属品、取扱説明書

・マイクロピペット及びチップ

・個人防護具 (手袋、マスク、防護衣など)

＜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

・8 連チューブ:株式会社イナ・オプティカ 123015TC など※

・サンプルチューブ(0.5mL):ザルスタット株式会社72.699.00003,72.704.700 など※

※上記以外の製品をご使用の場合は、適合の可否をお問い合わせください。

3.操作方法

本品は、全自動遺伝子解析装置 GENECUBE®を用いて測定してください。GENECUBE®の操作は、GENECUBE®の取扱説明書に従って行ってください。

(1)酵素試薬[KOD Mix]、プライマー・プローブ試薬[SNG Mix]、各消耗品を機器の所定の位置にセットします。

(2)陽性コントロール溶液[SNG PC]、陰性コントロール溶液[SNG NC]及び検体調製液をそれぞれ分注した 0.5mL サンプルチューブを機器の所定の位置にセットします。

(3)検体調製液 4μL、酵素試薬[KOD Mix] 4μL、プライマー・プローブ試薬[SNG Mix] 5.2μL が自動的に混合され、機器内で反応液が調製されます。

(4)反応液はジーンキューブ®専用 プラスチックキャピラリーに充填されます。

(5)GENECUBE®の増幅反応パラメーター※1 で、増幅反応が行われます。

(6)GENECUBE®の検出反応パラメーター※2 で、検出反応が行われます。その後、測定波長 510nm～550nm 及び 573nm～613nm での蛍光値を測定されます。

(7)陽性コントロール溶液[SNG PC]、陰性コントロール溶液 [SNG NC]について検体調製液と同様に(3)～(6)の操作を行います。

(8)測定した蛍光値は専用の解析ソフトにより、蛍光変化量を表す蛍光微分値に変換されます。蛍光微分値を用いて結果の解析が行われ、測定画面上に判定結果が表示されます。

※1 増幅反応パラメーター

	35.0	℃	0.0	sec
	94.0	℃	30.0	sec
①変性	97.0	℃	1.0	sec
②アニーリング	58.0	℃	5.0	sec
③伸長	63.0	℃	5.0	sec
	35.0	℃	0.0	sec
①～③サイクル回数		60.0		

※2 検出反応パラメーター

94.0	℃	30.0	sec
39.0	℃	30.0	sec
40.0～75.0	℃	0.09	℃/sec

[測定結果の判定法]

1.判定方法

GENECUBE®では検体、陽性コントロール及び陰性コントロールの測定結果を自動的に判定します。検体の判定結果は、陽性「＋」、陰性「－」、判定無効「Invalid」で測定画面上に表示されます。

(1)判定無効の場合

「Invalid」と表示された場合、その試験は無効となります。検体の調製から行い、再度測定を実施してください。

(2)以下の場合は、その回の測定は無効になります。全ての試薬を入れかえて、再度測定を実施してください。

・陽性コントロール溶液[SNG PC]の測定結果が、陰性を示した場合。

・陰性コントロール溶液[SNG NC]の測定結果が、陽性を示した場合。

2.判定上の注意

(1)以下の場合、正常に測定できないことがありますのでご注意ください。

1)血液が混入している、粘性が高くピペットで吸引することが難しい、室温で長時間放置した、などの検体を使用した場合

2)100μL 中 100 個以下の菌体数しかない検体を使用した場合

3)検体調製が不十分で、菌体のロスまたは DNA の分解が生じている検体を使用した場合

4)保存方法が適切に行われていないもしくは有効期限が過ぎている試薬を使用した場合

(2)臨床検体中に含まれる淋菌が死菌である場合、放出された DNA を検出する可能性があります。

(3)本品で陰性と判定されても必ずしも淋菌の存在を否定するものではありません。測定結果に基づく診断は、他の検査結果などと併せて担当医師が総合的に判断してください。

［性能］

1.性能

用法・用量（操作方法）欄の操作方法により、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

1)陰性コントロールを所定の操作で測定するとき、陰性を示します。

2)陽性コントロールを所定の操作で測定するとき、陽性を示します。

(2)正確性試験

1)自家管理陰性試料 1～3 を測定するとき、陰性を示します。

2)自家管理陽性試料 1～3 を測定するとき、陽性を示します。

(3)同時再現性試験

1)自家管理陰性試料 1 を 4 回同時に測定するとき、すべて陰性を示します。

2)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。

(4)最小検出感度

20 コピー／テスト（GENECUBE®測定）

(5)較正用基準物質

本品の較正用基準物質には淋菌特有の遺伝子配列の一部を含む DNA 溶液を使用しています。

2.相関性

子宮頸管擦過物 160 例を試料として、本品と既承認品である PCR 法と TMA 法の相関性を検討しました。既承認品（PCR 法）との相関は表 1 に示すように一致率 76.3%、既承認品（TMA 法）との相関は表 2 に示すように全体一致率 100%でした。

表 1 既承認品(PCR 法)との相関性試験成績（子宮頸管擦過物）

		既承認品(PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	13	38※1
	陰性	0	109

※1 38 例で TMA 法陽性と判定されました。

検討例数 160 例
陽性一致率 100% (13/13)
陰性一致率 74.1% (109/147)
全体一致率 76.3% (122/160)

表 2 既承認品(TMA 法)との相関性試験成績（子宮頸管擦過物）

		既承認品（TMA 法）	
		陽性	陰性
本品	陽性	50	0
	陰性	0	109

検討例数 159 例(TMA 法判定保留 1 例除く)
陽性一致率 100% (50/50)
陰性一致率 100% (109/109)
全体一致率 100% (159/159)

男性尿 130 例を試料として 本品と既承認品である PCR 法と TMA 法の相関性を検討しました。既承認品（PCR 法）との相関は表 3 に示すように 全体一致率 95.4%、既承認品（TMA 法）との相関は表 4 に示すように 全体一致率 100%で、良好な相関を示しました。

表 3 既承認品(PCR 法)との相関性試験成績（男性尿）

		既承認品（PCR 法）	
		陽性	陰性
本品	陽性	55	6※2
	陰性	0	69

※2 6 例で TMA 法陽性と判定されました。

検討例数 130 例
陽性一致率 100% (55/55)
陰性一致率 92.0% (69/75)
全体一致率 95.4% (124/130)

表 4 既承認品（TMA 法）との相関性試験成績（男性尿）

		既承認品（TMA 法）	
		陽性	陰性
本品	陽性	61	0
	陰性	0	69

検討例数 130 例
陽性一致率 100% (61/61)
陰性一致率 100% (69/69)
全体一致率 100% (130/130)

*［使用上又は取扱い上の注意］

1.取扱い上の注意

(1)検体は感染性を有するものとして、各施設の安全管理規定に従って取扱ってください。

(2)検体を取扱う時は、個人防護具(手袋、マスク、防護衣など)を着用し、検体を吸い込んだり体に付着したりすることがないようご注意ください。

(3)試薬が誤って目や口に入った場合は、直ちに水で十分洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の診察・治療などを受けてください。

(4)試薬が誤って皮膚に付着した場合は、直ちに多量の水で洗い流してください。

(5)試薬が飛散した場合は、拭き取ってください。

(6)検体を含む溶液が飛散した場合は手袋とマスク着用の上、0.5%次亜塩素酸剤などの消毒液を使用して拭き取ってください。

(7)検体を取扱う際に使用した器具類は、使い捨てのものであれば適切な処理の後廃棄、繰り返し使用するものであれば高圧蒸気滅菌器を用いて 121℃、20 分間以上滅菌処理を行うか、次亜塩素酸剤（有効塩素濃度 0.5%）などに 1 時間以上浸すなどして十分に消毒してからご使用ください。

2.使用上の注意

(1)機器、試薬及び消耗品は専用のものを使用してください。

(2)本品に含まれる試薬は必ず保管方法に従って保存し、長時間室温に放置したりしないでください。また、保管方法以外の条件で保存した試薬や有効期間が過ぎている試薬は使用しないでください。

(3)すべての構成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

(1)使用済みの試薬及び器具などを廃棄する場合には医療用廃棄物に関する規定に従って廃棄してください。

(2)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。

(3)使用済みの試薬及び消耗品は、溶液を飛散させないように廃棄してください。

＊[保管方法・有効期間]

保管方法

2～8℃で保存

有効期間

24ヶ月（期限は外箱に表示）

＊[包装単位]

商品名	構成試薬名、包装内容
ジーンキューブ® ナイセリア・ゴノレア (96 テスト)	酵素試薬[KOD Mix] 140μL×6 本
	プライマー・プローブ試薬[SNG Mix] 140μL×6 本
	陽性コントロール溶液[SNG PC] 300μL×1 本
	陰性コントロール溶液[SNG NC] 300μL×1 本

＊[主要文献]

1)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.

2)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.

3)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.

文献請求先　末尾記載の問い合わせ先までご請求ください。

TOYOBO

＊[問い合わせ先]

東洋紡株式会社　診断システム事業部

〒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

〒914-8550　福井県敦賀市東洋町 10 番 24 号