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 30100EZX00037000　　作成 2021 年 7 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。

核酸同定・ブドウ球菌キット

ジーンキューブ®MRSA

[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.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。
4.測定結果に基づく診断は、他の検査結果などと併せて医師が総合的に判断してください。
5.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。
6.SDSは末尾記載の問い合わせ先に請求し、ご確認ください。

[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[nuc Mix]
nuc primer F
nuc primer R
nuc QProbe
硫酸マグネシウム
3.プライマー・プローブ試薬[mecA Mix]
mecA primer F
mecA primer R
mecA QProbe
硫酸マグネシウム
4.陽性コントロール溶液[MRSA PC]
5.陰性コントロール溶液[MRSA 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]

血液培養試験で陽性となった培養液、又は固形培地上で増殖した血液培養試験陽性の培養液由来のコロニー中の黄色ブドウ球菌の核酸同定及びメチシリン耐性遺伝子(*mecA*)の検出(メチシリン耐性を示すブドウ球菌(MRSA 等)感染の診断補助)

[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※)を用いた標的核酸検出」[1),2)]を利用した黄色ブドウ球菌及びメチシリン耐性遺伝子(*mecA* 遺伝子)を検出する試薬です。
黄色ブドウ球菌特異的遺伝子である *nuc* 遺伝子及び *mecA* 遺伝子をターゲットにプライマー(nuc primer F と nuc primer R、あるいは mecA primer F と mecA primer R)がハイブリダイズし、KOD® DNA ポリメラーゼ [3)]が反応することで標的核酸が増幅されます。増幅した標的核酸に対して、プローブ(nuc QProbe あるいは mecA QProbe)をハイブリダイズさせて蛍光変化を解析することで黄色ブドウ球菌及び *mecA* 遺伝子の検出を行います [4),5)]。
※「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。

[操作上の注意]

1.検体について
(1)本品の試料には、血液培養試験で陽性となった培養液、あるいは固形培地上で増殖した血液培養試験陽性の培養液由来のコロニーを用います。
(2)検体を保存する場合は、-20℃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。

2.試料の調製方法
ジーンキューブ®専用 試料溶解液(別売り)を使用して検体調製液を調製します。なお、具体的な調製方法、使用上又は取扱い上の注意は、ジーンキューブ®専用 試料溶解液に添付してある資料を参照してください。

3.交差反応性
ブドウ球菌属以外の菌 18 種を測定し、すべて陰性であることを確認しました。

4.共存物質の影響
ヒトゲノム存在下でも本品の判定結果に影響しないことを確認しました。また、ダプトマイシン、バンコマイシン、リネゾリド、テイコプラニン存在下でも本品の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、かつ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)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。

[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[nuc Mix] : そのまま用います。
・プライマー・プローブ試薬[mecA Mix] : そのまま用います。

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 試料溶解液
・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
・8,12 連チューブ:株式会社イナ・オプティカ 123015TC,123046TC 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 [nuc Mix]、プライマー・プローブ試薬 [mecA Mix]、各消耗品を機器の所定の位置にセットします。
(2)検体調製液をチューブに分注し、それらを機器の所定の位置にセットします。
(3)検査を開始します。
(4)検査終了後、測定画面上に表示される判定結果に従って判定を行ってください。

精度管理を目的として、付属の陽性コントロール溶液 [MRSA PC]、陰性コントロール溶液 [MRSA NC]を用いる場合、検体調製液と同様に上記の操作を行ってください。陽性コントロール溶液 [MRSA PC]、陰性コントロール溶液 [MRSA NC]はそのまま用いることができます。陽性コントロール溶液 [MRSA PC]について「nuc」、「mecA」のいずれかの測定結果が陰性を示した場合、陰性コントロール溶液 [MRSA NC]について「nuc」、「mecA」のいずれかの測定結果が陽性を示した場合、全ての試薬を入れ替えて再測定を行ってください。

[測定結果の判定法]

1.判定方法
各遺伝子の判定結果は、判定画面上で陽性「＋」、陰性「－」、判定無効「Invalid」とそれぞれ表示されます。これらの判定結果を組み合わせて MRSA の核酸同定を行ってください(下表参照)。判定無効「Invalid」の場合、検体調製から再測定を行ってください。

・判定方法

		mecA	
		陽性	陰性
nuc	陽性	MRSA	MSSA
	陰性	MR CNS	MS CNS 等

「MRSA」：メチシリン耐性黄色ブドウ球菌を示す
「MSSA」：メチシリン感受性黄色ブドウ球菌を示す
「MR CNS」：メチシリン耐性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌を示す
「MS CNS」：メチシリン感受性コアグラーゼ陰性ブドウ球菌を示す

2.判定上の注意
本品で陰性と判定されても必ずしも黄色ブドウ球菌あるいは *mecA* 遺伝子の存在を否定するものではありません。また、試料が混合感染である場合、本品の判定結果は正しくない恐れがあります。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。
(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)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
2)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
3)保存が適切に行われていない検体を使用した場合
(2)試料に含まれるブドウ球菌が死菌である場合、菌から放出された DNA を検出する可能性があります。
(3)黄色ブドウ球菌において *nuc* 遺伝子欠損株が報告されております[6)]。*nuc* 遺伝子欠損株の場合、黄色ブドウ球菌が試料中に存在していても「nuc」は陰性と判定されます。

［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)陰性コントロール溶液を測定するとき、「nuc」、「mecA」ともに陰性を示します。
2)陽性コントロール溶液を測定するとき、「nuc」、「mecA」ともに陽性を示します。
(2)正確性試験
1)自家管理陰性試料 1～3 を測定するとき、「nuc」、「mecA」ともに陰性を示します。
2)自家管理陽性試料 1～3 を測定するとき、「nuc」、「mecA」ともに陽性を示します。
(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、「nuc」、「mecA」ともに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、「nuc」、「mecA」ともにすべて陽性を示します。
(4)最小検出感度（GENECUBE®測定）
50 コピー／テスト（nuc）
50 コピー／テスト（mecA）
(5)較正用基準物質
本品の較正用基準物質には *nuc* 遺伝子及び *mecA* 遺伝子を含む DNA を使用しています。

2.相関性
血液培養試験で陽性となった培養液、又は固形培地上で増殖した血液培養試験陽性の培養液由来のコロニーを試料として、培養同定及び薬剤感受性試験あるいは既存核酸増幅同定法[4) 7)]との相関性を検討しました。培養同定及び薬剤感受性試験では、*mecA* の判定について、オキサシリン及びセフォキシチンの両方に耐性を示した検体を陽性、耐性を示さなかった検体を陰性としました。既存核酸増幅同定法では、増幅産物が得られた検体を陽性、得られなかった検体を陰性としました。血液培養試験で陽性となった培養液検体 205 例、固形培地上で増殖した血液培養試験陽性の培養液由来のコロニー検体 152 例を試料に測定を行ったところ、表 1、2 に示すように良好な相関を示しました。

表 1.培養同定及び薬剤感受性試験との相関性試験成績

		培養同定及び薬剤感受性試験				
		MRSA	MSSA	MR CNS	MS CNS	その他
本品	nuc 陽性 mecA 陽性	115	0	0	0	0
	nuc 陽性 mecA 陰性	0	67	0	0	0
	nuc 陰性 mecA 陽性	0	0	100	0	0
	nuc 陰性 mecA 陰性	0	0	0	47	28
全体一致率		100%（357/357）				

表 2.既存核酸増幅同定法との相関性試験成績

		既存核酸増幅同定法			
		nuc 陽性 mecA 陽性	nuc 陽性 mecA 陰性	nuc 陰性 mecA 陽性	nuc 陰性 mecA 陰性
本品	nuc 陽性 mecA 陽性	115	0	0	0
	nuc 陽性 mecA 陰性	0	67	0	0
	nuc 陰性 mecA 陽性	0	0	99	1*
	nuc 陰性 mecA 陰性	0	0	0	75
全体一致率		99.7%（356/357）			

＊ 薬剤感受性試験の結果、薬剤耐性を示しました。

［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。

2.使用上の注意
(1)機器、試薬および消耗品は専用のものを使用し、それらは他の目的に転用しないでください。
(2)本品に含まれる試薬は必ず保管方法に従って保存し、凍結させたり、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。
(4)本品の構成試薬は異なるロット同士で組み合わせ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
18 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®MRSA	酵素試薬[KOD Mix] 140μL×6 本
	プライマー・プローブ試薬[nuc Mix] 180μL×3 本
	プライマー・プローブ試薬[mecA Mix] 180μL×3 本
	陽性コントロール溶液[MRSA PC] 300μL×1 本
	陰性コントロール溶液[MRSA NC] 300μL×1 本

[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.

4)Brakstad OG. *et al.* Detection of *Staphylococcus aureus* by Polymerase Chain Reaction Amplification of the *nuc* Gene. J Clin Microbiol. 1992 Jul; 30 (7): 1654-1660.

5)Ubukata K. *et al.* Expression and Inducibility in *Staphylococcus aureus* of the *mecA* Gene, Which Encodes a Methicillin-Resistant *S. aureus*-Specific Penicillin-Binding protein. J Bacteriol. 1989; 171(5): 2882-2885.

6)van Leeuwen W. *et al.* A *nuc*-deficient methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain. FEMS Immunol Med Microbiol. 2008 Nov;54(2):157.

7)国立感染症研究所編. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 H24.12 月改訂版

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