

ご使用前に必ず本電子添文をよくお読みください。

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：22700AMX01037000

**2023年12月改訂（第4版）

*2023年10月改訂（第3版）

結核菌群リファンピシン耐性遺伝子同定キット

ジェノスカラー[®]・RFP-TB II

【重要な基本的注意】

1. *M. tuberculosis*と同じく結核菌群に属する*M. bovis*、*M. africanum*、*M. microti*の*rpoB*遺伝子配列は、本品の検出領域では*M. tuberculosis*と完全に一致します。そのため、本品ではこれらの菌種を原理上区別することはできません。
2. 本品は結核菌リファンピシン（RFP）耐性遺伝子として*rpoB*遺伝子を検出します。RFP耐性結核菌の約95%は本品で検出する*rpoB*遺伝子領域中に変異を持つ¹⁻⁵とされていますが、残りの約5%はこの領域中に変異がない²ため、野生型と判定されます。

【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. この電子添文に記載された操作方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外の使用については、測定結果の信頼性を保証いたしかねます。
3. 測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状や他の検査結果等と合わせて担当医師が総合的に判断してください。
4. 使用する機器の電子添文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. 構成試薬並びにその成分

構成試薬	主成分	表示
増幅試液R	rpoBプライマーF/rpoBプライマーR	R
ポリメラーゼ溶液	KOD DNAポリメラーゼ	P
プローブ結合ストリップ	プローブTB、rpoBプローブS1、S2、S3、S4、S5、R2、R4a、R4b、R5	1
変性液		2
ハイブリダイズ液		3
濃厚リンス液		4
コンジュゲート液	アルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジン	C1
コンジュゲート希釈液		C2
基質液	プロモクロロインドリルリン酸、ニトロテトラゾリウムブルー	S1
基質希釈液		S2

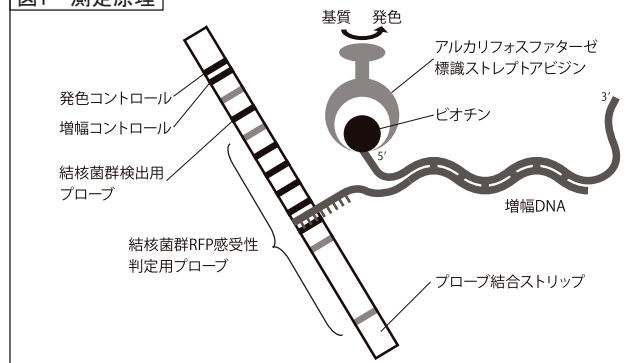
【使用目的】

喀痰又は抗酸菌用培地で培養した培養菌株中の結核菌群の同定並びに結核菌群*rpoB*遺伝子中の変異の検出（結核菌群感染並びにリファンピシン耐性結核菌感染の診断補助等）

【測定原理】

本品では、喀痰や培養菌株から抽出した結核菌群DNAを検体とします。増幅試液R・ポリメラーゼ溶液を用いて抽出した結核菌群DNAを増幅します。増幅された結核菌群*rpoB*遺伝子をプローブ結合ストリップにハイブリダイズさせ、コンジュゲート試液を加えアビジン-ビオチン反応をさせます。ビオチンと結合したアルカリフォスファターゼ標識ストレプトアビジンと基質との反応によりプローブ結合ストリップが発色します（図1）。結核菌群に対してプローブTBが発色します。*rpoB*遺伝子の配列に応じて*rpoB*プローブS1～S5、R2、R4a、R4b、R5が発色します。

図1 測定原理



【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

- 1) 前処理前の検体は感染のおそれがあります。喀痰及び培養菌株の操作は熟練した技術者が行い、ゴム手袋や安全ゴーグルを着用するなど、取扱いには十分注意してください。
- 2) 血液成分が多量に含まれている検体では、増幅反応が阻害されて検出できないことがあるため、使用を避けてください。
- 3) 検体を長期に保存する場合には-80℃以下で凍結してください。また、前処理済みの検体、増幅済みのDNAは凍結保存することができます。この場合、-20℃以下で保存し、凍結融解はできるだけ避けてください。凍結した検体は室温に戻し、よく混ぜてからご使用ください。

2. 菌種特異性

M. tuberculosis、*M. bovis* BCG及び下記に記載した28菌種の培養菌株から抽出したゲノムDNAを試料として操作したところ、本品では*M. tuberculosis*及び*M. bovis* BCGは結核菌（WT）と判定され、他の28菌種では陰性となりました。

〈非結核性抗酸菌〉

M. abscessus、*M. avium*、*M. celatum* II、*M. chelonae*、*M. fortuitum*、*M. gastri*、*M. gordonae*、*M. intracellulare*、*M. kansasii*、*M. marinum*、*M. nonchromogenicum*、*M. peregrinum*、*M. phlei*、*M. rhodesiae*、*M. scrofulaceum*、*M. simiae*、*M. smegmatis*、*M. szulgai*、*M. terrae*

〈その他〉

Escherichia coli、*Haemophilus influenzae*、*Klebsiella pneumoniae*、*Rhodococcus equi*、*Staphylococcus aureus*、*Legionella pneumophila*、*Mycoplasma pneumoniae*、*Pseudomonas aeruginosa*、*Streptococcus pneumoniae*

3. その他

- 1) 増幅DNAによる汚染を避けるため、増幅前のサンプルと増幅後のサンプルは別々の場所に保管してください。増幅試液R及びポリメラーゼ溶液も増幅されたDNAサンプルとは別の場所に保存してください。
- 2) 増幅前の操作と増幅後の操作は別々の場所で行ってください。また、増幅操作に使用するピペットチップ、チューブ等は滅菌したものを使用し、手袋を着用する等DNAの汚染防止に心がけてください。疎水性フィルター付のピペットチップの使用は汚染防止になります。

【用法・用量（操作方法）】

1. 別途必要な器具・器材・試薬

- 1) 安全キャビネット
- 2) DNA増幅装置及び専用の備品・消耗品
- 3) 振とう機能付恒温水槽（62±0.5℃を保持できるもの）
- 4) 振とう機
- 5) 遠心機
- 6) ゴム手袋・安全ゴーグル
- 7) マイクロピペット及び疎水性フィルター付チップ
- 8) メスシリンダー・ピーカー等
- 9) 滅菌精製水
- 10) TE buffer（10mmol/L Tris-HCl、1mmol/L EDTA、pH8.0）
- 11) ピンセット

2. 検体の前処理

本品は喀痰又はその培養菌株から抽出した結核菌群DNAを検体とします。結核菌群DNAの抽出は検体種に応じて以下の方法で行ってください。他の方法で処理された検体では十分な性能が得られないことがあります。

1) 喀痰の場合

- (1) NALC-NaOH処理した検体全量を12,000rpmで15分間遠心します。
- (2) 上清を捨て、100 μ LのTE bufferを加え、よく混和します。
- (3) 12,000rpmで15分間遠心します。
- (4) 上清を捨て、50 μ LのTE bufferを加え、よく混和します。
- (5) 95～100℃で15～30分間加熱します。
- (6) 30分間凍結します。
- (7) 室温に戻し、よく混ぜます。
- (8) 増幅には10 μ Lを使用します。保存する場合には-20℃以下で保存します。

2) 固形培地で培養された菌株の場合

- (1) 1mLのTE bufferを蓋付きのチューブに用意します。
- (2) 培養した菌を白金耳等で採取し、用意したTE buffer中に懸濁します。
(注) 培地上から採取する場合、培地全面から取るようにしてください。また、採取する量は1/2白金耳量（約1mg）を目安としますが、目で確認される量であれば十分です。
- (3) 95～100℃で15～30分間加熱します。
- (4) 30分間凍結します。
- (5) 室温に戻し、よく混ぜます。
- (6) 増幅には5 μ Lを使用します。保存する場合には-20℃以下で保存します。

3) 液体培地で培養された菌株の場合

- (1) 遠心チューブに培地1.0mLを採取します。
- (2) 12,000rpmで15分間遠心し、上清を捨てます。
- (3) 再度(2)同様に遠心し、残っている余分な液を捨てます。
- (4) 残っているペレットにTE buffer 20 μ Lを加え、懸濁します。
- (5) 95～100℃で15～30分間加熱します。
- (6) 30分間凍結します。
- (7) 室温に戻し、よく混ぜます。
- (8) 増幅には10 μ Lを使用します。保存する場合には-20℃以下で保存します。

3. 増幅ステップ

1) 増幅に使用する試薬

増幅試液R [R]：そのまま使用します。

ポリメラーゼ溶液[P]：そのまま使用します。

(注) 本品には滅菌精製水は含まれておりません。別途ご用意ください。

2) 操作方法（PCR）

- (1) N数（テストサンプル数+陰性対照）に応じて、滅菌済みの容器に下記のとおりマスターミックスを調製します。
 - ① 検体を喀痰、又は液体培地で培養された菌株から用意した場合（10 μ Lを増幅に使用する場合）
 - (N+1) × 30 μ L 増幅試液R
 - (N+1) × 1 μ L ポリメラーゼ溶液
 - (N+1) × 9 μ L 滅菌精製水

PCRチューブに40 μ Lずつ分注します。

前処理した検体又は陰性対照としての滅菌精製水を10 μ L添加します。

② 検体を固形培地で培養された菌株から用意した場合

（5 μ Lを増幅に使用する場合）

(N+1) × 30 μ L 増幅試液R

(N+1) × 1 μ L ポリメラーゼ溶液

(N+1) × 14 μ L 滅菌精製水

PCRチューブに45 μ Lずつ分注します。

前処理した検体、又は陰性対照としての滅菌精製水を5 μ L添加します。

- (2) DNA増幅装置のプログラムを下表のとおり設定し、DNAの増幅を行います。

サイクル数	温度	時間
1	94℃	2分間
55	98℃	10秒間
	67℃	1分間
1	65℃	2分間

4. 検出ステップ

1) 検出に使用する試薬

リンス液：

濃厚リンス液 [4] を精製水で5倍希釈します。1テストにつき4mL使用します。

コンジュゲート試液：

コンジュゲート液 [C1] をコンジュゲート希釈液 [C2] で101倍希釈します。1テストにつき1mL使用します。

基質試液：

基質液 [S1] を基質希釈液 [S2] で101倍希釈します。1テストにつき1mL使用します。

ハイブリダイズ液 [3]：

62℃に加温して使用します。

上記の試薬は用時調製してご使用ください。

他の試薬はそのまま使用します。検出の30分以上前に試薬を冷蔵庫から取り出し20～25℃に戻してください。

2) 操作方法

以下の操作には検体前処理装置マルチプロットNS-4800を用いることができます。

62±0.5℃に調節した恒温槽を用意してください。ただし、設定温度はお使いになる環境によって微調整が必要になる場合があります。

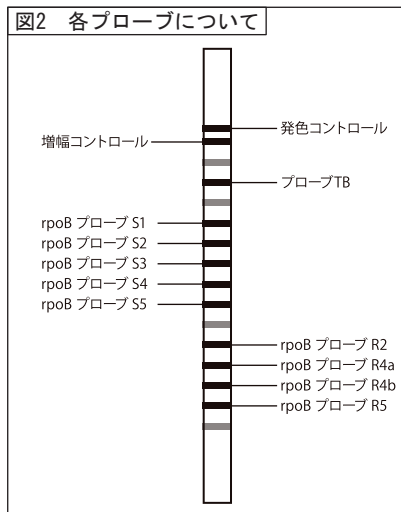
反応温度	試薬量及び操作
20～25℃	変性液：10 μ L ^{注1}
	増幅産物、又は陰性対照品 ^{注2} ：10 μ L ピペッティングにより混合し、5分間静置
62℃ ^{注3}	ハイブリダイズ液：1mL 反応槽を前後に揺らして穏やかに振とう
	プローブ結合ストリップ1枚を完全に浸す ^{注4} 30分間振とう ^{注5}
	ハイブリダイズ液：1mL 反応液を除去し、プローブ結合ストリップをハイブリダイズ液で2回洗浄
20～25℃	ハイブリダイズ液：1mL 10分間振とう
	リンス液：1mL 反応液を除去し、プローブ結合ストリップをリンス液で2回洗浄 ^{注6}
	コンジュゲート試液：1mL 30分間振とう
	リンス液：1mL 反応液を除去し、プローブ結合ストリップをリンス液で2回洗浄 ^{注6}
	精製水：1mL プローブ結合ストリップを精製水で1回洗浄 ^{注6}
	基質試液：1mL 30分間振とう
	精製水：1mL 基質試液を除去後、精製水で5分間洗浄 ^{注6, 7} 乾燥後、結果判定

(注意事項)

- 注1 変性液の蓋を開け放したままにしておいた場合、変性能が低下することがあります。使用後はすぐ蓋をしてください。
- 注2 検体を添加せず増幅操作を行ったものを陰性対照品としてください。
- 注3 ハイブリダイズ及び洗浄時の反応温度は $62 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に設定してください。また、反応中は温度の低下を防ぐため、恒温槽に蓋をしてください。
- 注4 プローブ結合ストリップには素手でさわらず、必ずピンセット等を用いてください。
- 注5 振とう速度は装置に応じて設定する必要があります。反応液が十分に攪拌され、反応槽外へあふれない速度に設定してください。
- 注6 リンス液及び精製水での洗浄は、振とうしながら行ってください。
- 注7 プローブ結合ストリップを精製水に浸したまま放置しないでください。

【測定結果の判定法】

プローブ結合ストリップ上で紫色に発色したラインの本数及び位置から結核菌群の検出／結核菌群RFP耐性遺伝子型の判定を行います(図2、3)。



コントロールライン
発色コントロール
検出時の反応が正常に行われたことを示します。

増幅コントロール
増幅時の反応が正常に行われたことを示します。

結核菌群検出用プローブ
プローブTB
結核菌群の場合に発色します。

** 結核菌群RFP感受性判定用プローブ

rpoB プローブ S1-S5
rpoB 遺伝子が野生型の場合、5本全てが発色します。

rpoB プローブ R2
rpoB 遺伝子にD516V変異を持つ場合に発色します。

rpoB プローブ R4a
rpoB 遺伝子にH526Y変異を持つ場合に発色します。

rpoB プローブ R4b
rpoB 遺伝子にH526D変異を持つ場合に発色します。

rpoB プローブ R5
rpoB 遺伝子にS531L変異を持つ場合に発色します。

1. 発色コントロールの確認

検出操作が正しく行われた場合、発色コントロールが発色します。

2. 増幅コントロールの確認

増幅操作が正しく行われた場合、増幅コントロールが発色します。

3. 結核菌群の検出

結核菌群の場合

→プローブTBが発色します(図3A~E)。

4. RFP耐性遺伝子型の判定

rpoB 遺伝子配列が野生型の場合

→rpoB プローブ S1~S5の5本全てが発色します(図3A)。

rpoB 遺伝子配列が変異型の場合

→rpoB プローブ S1~S5の内の変異を含む部分に対応したプローブは発色しません。また、頻度の高い4種類の変異(D516V、H526Y、H526D、S531L)ではそれぞれrpoB プローブ R2、R4a、R4b、R5が対応し、発色します(図3B~E)。

5. RFP感受性の判定

rpoB 遺伝子配列が野生型の場合はRFP感受性と判定します。rpoB 遺伝子配列が変異型の場合はRFP耐性と判定します。

(注) 多くのRFP耐性結核菌はrpoB 遺伝子に変異を持ちますが、本品が検出するrpoB 遺伝子領域内に変異を持たないRFP耐性菌も存在します。

(注) RFP耐性遺伝子型の判定は結核菌群についてのみです。非結核性抗酸菌の場合、rpoB プローブ S2その他が発色する場合がありますが、RFP感受性は判定できません。

(注) 反応槽、反応液温度が指定されたものと異なる場合、非特異発色や弱発色がみられることがあります。

(注) 各プローブの発色具合は一様ではありません。

図3 本品の発色パターン(例)

A) 結核菌：野生型



プローブTBが発色し、rpoB プローブ S1~S5が発色します。

B) 結核菌：rpoB 変異型 (D516V)



rpoB プローブ S2が発色せず、rpoB プローブ R2が発色します (rpoB R2)。

C) 結核菌：rpoB 変異型 (H526Y)



rpoB プローブ S4が発色せず、rpoB プローブ R4aが発色します (rpoB R4a)。

D) 結核菌：rpoB 変異型 (H526D)



rpoB プローブ S4が発色せず、rpoB プローブ R4bが発色します (rpoB R4b)。

E) 結核菌：rpoB 変異型 (S531L)



rpoB プローブ S5が発色せず、rpoB プローブ R5が発色します (rpoB R5)。

F) 非結核性抗酸菌



rpoB プローブ S2その他が発色する場合がありますが、プローブTBは発色しません。

G) 陰性



発色コントロール、増幅コントロールのみ発色します。

**様々な変異と発色パターン

変異型	発色パターン	変異型	発色パターン
S509R	△S1	M515V	(△S1-2)
Q510H	(△S1)	M515I	(△S2)
L511P	△S1	D516V	R2
L511R	(△S1)	D516Y	△S2
S512T	(△S1)	D516E	△S2
S512R	(△S1)	D516G	(△S2)
Q513L	(△S1)	D516A	△S2
Q513K	(△S1)	D516de1	(△S2)
Q513P	△S1	Q517de1	(△S2)
Q513E	(△S1)	N518de1	(△S2)
F514L	(△S1)	N519K	(△S2)
514insF	(△S1)	P520S	△S2
514insFM	(△S1)	L521M	(△S3)

変異型	発色パターン	変異型	発色パターン
L521de1	(△S3)	H526T	(△S4)
S522L	△S3	H526C	(△S4)
S522N	(△S3)	H526S	△S4
S522Q	(△S3)	K527Q	(△S4)
H526Y	R4a	S531L	R5
H526D	R4b	S531Q	△S5
H526R	△S4	S531W	△S5
H526L	(△S4)	S531C	(△S5)
H526P	△S4	S531N	(△S5)
H526E	(△S4)	S531Y	(△S5)
H526N	(△S4)	S531F	(△S5)
H526Q	(△S4)	L533P	△S5
H526G	(△S4)		

(注) 本キットはrpoBアミノ酸番号509-535の変異を検出します。それ以外の領域に変異を持つ菌株は、本キットではWT(野生型)と判定されます。

(注) いくつかのまれな変異については本キットでの確認はされていません。そのため、かっこで示されたパターンは理論上のパターンです。

〈正常な発色をしなない場合〉

ケース1 コントロールラインを含めたすべてのラインが、弱陽性であるか又は発色をしていない。

原因：コンジュゲート試液／基質試液の反応において、試薬量が不足していたおそれがあります。

対策：コンジュゲート試液／基質試液を再度調製して、もう一度検出を行ってください。

ケース2 コントロールラインは通常の発色をしているが、その他のラインの発色がとても弱い。

原因1：コントロールライン以外のラインの全体的な弱い発色は、ハイブリダイズ時の操作において反応温度が高かったことが原因と考えられます。

対策：ハイブリダイズ時の反応温度は $62 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調節してください。なお、使用する恒温槽や検出環境によって設定温度の微調整が必要になる場合があります。

原因2：変性液が長時間外気にさらされていた場合、この現象が起こることがあります。

対策：変性液の変性能が低下している可能性がありますので、新しい変性液を使用してください。また、変性能の低下を防ぐために使用後はバイアルの蓋を閉めるようにしてください。

原因3：増幅DNAが適切な量添加されていなかった可能性があります。

対策：PCRにおける検体量を増やして、もう一度操作を行ってください。ただし、前処理済み検体添加後の液量は $50 \mu\text{L}$ までとしてください。

DNAの増幅効率に影響を与える原因として以下のようなものがあります。

1. 前処理済み検体の質が悪いため。再度、別のサンプルを使用して検体の前処理を行ってください。

2. 増幅に必要な量のDNAが添加されていなかったため。添加する前処理済み検体の量を増やして、再度増幅操作を行ってください。ただし、前処理済み検体添加後の液量は $50 \mu\text{L}$ までとしてください。

3. 添加した前処理済み検体の量が多すぎたため。電気泳動を行った際に、PCRの増幅産物がスミアとなるほど多量にゲル中に見出されることがあります。このような場合は、前処理済み検体を希釈して再度増幅操作を行ってください。

4. 増幅の際の総液量が $50 \mu\text{L}$ を超えていたため。前処理済み検体又は滅菌精製水の添加量を減らし、総液量を $50 \mu\text{L}$ にして再度増幅操作を行ってください。

5. 増幅時の反応温度が正確でなかったため。このような場合、増幅量が少なくなったり、非特異的な増幅産物ができたりすることがあります。DNA増幅装置の設定等を確認してください。

ケース3 陰性対照品以外のプローブ結合ストリップに非特異発色が見られる(コントロールラインは全てのプローブ結合ストリップで正常に発色)。

原因1：ハイブリダイズ時の温度が低すぎる場合、非特異反応が起こることがあります。

対策：ハイブリダイズ時の反応温度は $62 \pm 0.5^\circ\text{C}$ に調節してください。なお、使用する恒温槽や検出環境によって設定温度の微調整が必要になる場合があります。

原因2：増幅DNAの量や、反応状態によりとても強くまた早く発色する事があります。

対策：例えば30分後ではなく15分後に発色を止める等の処置を行ってください。発色が強すぎる場合、バックグラウンドが高すぎる、又は非特異発色が起こる可能性があります。

ケース4 陰性対照品や、他のプローブ結合ストリップに非特異発色が見られる。

原因：他のDNAの混入が増幅操作中に起こった可能性があります。

対策：再度増幅を行ってください。汚染を防ぐために、増幅試液及びポリメラーゼ溶液は増幅産物とは別の場所に保管してください。汚染を防ぐため操作中は手袋を使用し、使用するチップ(疎水性フィルター付がよい)、チューブ等は滅菌したものを使用してください。

【臨床的意義】

結核治療は通常RFP、イソニアジド、ピラジナミド、ストレプトマイシン(又はエタンブトール)の4剤を併用して行われますが、これらの薬剤感受性検査は培養法で行われており、数週間の時間を要します。そのため、結核患者の治療は、培養による感受性検査の結果が得られるまでは感受性が不明なまま、標準的治療法がなされます。この間、薬剤耐性結核患者では治療効果が期待できないばかりか、感受性のある薬剤に対しても新たな耐性を獲得し得る状況となります。

結核菌のRFP耐性はRNAポリメラーゼに変異があることが原因と考えられています。RFP耐性結核菌の約95%はrpoB遺伝子に変異が認められ、その変異箇所は23個のアミノ酸からなる領域に集中しています¹⁻⁵。

本品は、結核菌群rpoB遺伝子を検出します。この遺伝子配列から①結核菌群の検出、②結核菌群rpoB遺伝子中の変異の検出を行います。結核菌群rpoB遺伝子中の変異の有無はRFP感受性診断の指標として有用です。

【性能】

1. 感度

- 1) 滅菌精製水を試料として操作した場合、判定ラインは検出されません。
- 2) 感度試験用管理DNA[®]15コピーを試料とした場合、判定ラインは偽陰性、偽陽性なく検出でき、野生型(WT)と判定できます。

2. 正確性

正確性試験用管理DNA^{※2}を検出するとき、判定結果が既知の遺伝子型と一致します。

3. 同時再現性

滅菌精製水、感度試験用管理DNA^{※15}コピー及び正確性試験用管理DNA^{※2}を3回同時に検出するとき、判定結果は全て一致します。

※1 感度試験用管理DNA

結核菌標準株 (H37Rv：野生型) より抽出したゲノムDNAを所定濃度に希釈したもの。

※2 正確性試験用管理DNA

塩基配列解析により rpoB 遺伝子配列を確認した結核菌DNA。

4. 最小検出感度

1測定当たり結核菌群DNA 5コピー

5. 相関性試験成績

1) 既承認品との相関

結核菌群の検出に関して、臨床検体441例 (喀痰：108例、培養菌株：333例) から抽出したDNAを試料として本品と既承認品「ジェノスカラー・RifTB」との比較検討を行ったところ、下表のように一致率99.3%と良好な結果が得られました。

		既承認品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	347例	2例	349例
	陰性	1例	91例	92例
計		348例	93例	441例

陽性一致率：99.7% (347/348)

陰性一致率：97.9% (91/93)

一致率：99.3% (438/441)

なお、検体種別の試験成績は以下のようになりました。

(1) 喀痰検体108例

		既承認品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	54例	2例 ^{※3}	56例
	陰性	1例 ^{※4}	51例	52例
計		55例	53例	108例

陽性一致率：98.2% (54/55)

陰性一致率：96.2% (51/53)

一致率：97.2% (105/108)

※3 結核菌DNA濃度が最小検出感度以下の検体と考えられます。培養結果は陽性1例、陰性1例でした。

※4 結核菌DNA濃度が最小検出感度以下の検体と考えられます。培養結果は陽性でした。

(2) 培養菌株 (固形培地) 202例

		既承認品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	182例	0例	182例
	陰性	0例	20例	20例
計		182例	20例	202例

陽性一致率：100% (182/182)

陰性一致率：100% (20/20)

一致率：100% (202/202)

(3) 培養菌株 (液体培地) 131例

		既承認品		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	111例	0例	111例
	陰性	0例	20例	20例
計		111例	20例	131例

陽性一致率：100% (111/111)

陰性一致率：100% (20/20)

一致率：100% (131/131)

また、RFP感受性判定に関して、臨床検体：347例 (喀痰：54例、培養菌株：293例) から抽出したDNAを試料として本品と既承認品との比較検討を行ったところ、下表のように一致率100%と良好な結果が得られました。

なお、耐性の判定結果を陽性、感受性の判定結果を陰性として陽性一致率・陰性一致率を算出しました。

		既承認品		計
		耐性	感受性	
本品	耐性	93例	0例	93例
	感受性	0例	254例	254例
計		93例	254例	347例

陽性一致率：100% (93/93)

陰性一致率：100% (254/254)

一致率：100% (347/347)

なお、検体種別の試験成績は以下のようになりました。

(4) 喀痰検体54例

		既承認品		計
		耐性	感受性	
本品	耐性	5例	0例	5例
	感受性	0例	49例	49例
計		5例	49例	54例

陽性一致率：100% (5/5)

陰性一致率：100% (49/49)

一致率：100% (54/54)

(5) 培養菌株 (固形培地) 182例

		既承認品		計
		耐性	感受性	
本品	耐性	42例	0例	42例
	感受性	0例	140例	140例
計		42例	140例	182例

陽性一致率：100% (42/42)

陰性一致率：100% (140/140)

一致率：100% (182/182)

(6) 培養菌株 (液体培地) 111例

		既承認品		計
		耐性	感受性	
本品	耐性	46例	0例	46例
	感受性	0例	65例	65例
計		46例	65例	111例

陽性一致率：100% (46/46)

陰性一致率：100% (65/65)

一致率：100% (111/111)

2) 薬剤感受性検査との相関

薬剤感受性検査の結果が得られた331例との比較検討を行ったところ、下表のように一致率97.9%と良好な結果が得られました。

なお、耐性の判定結果を陽性、感受性の判定結果を陰性として陽性一致率・陰性一致率を算出しました。

		**薬剤感受性検査		計
		耐性	感受性	
本品	耐性	86例	5例 ^{※5}	91例
	感受性	2例 ^{※6}	238例	240例
計		88例	243例	331例

陽性一致率：97.7% (86/88)

陰性一致率：97.9% (238/243)

一致率：97.9% (324/331)

※5 5例は全て本品の検出領域内に変異を認めました (L511P：1例、D516Y：1例、H526S：3例)。

※6 1例は本品の検出領域外に変異 (I572F) を認め、1例はプローブ端にプローブ配列と同じ配列の挿入変異を認めました。

【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) 基質液中にはプロモクロロインドリルリン酸、ニトロテトラゾリウムブルー、ジメチルホルムアミドが含まれています。これらの物質を吸引、接触した場合人体に害を及ぼすことがありますので、使用に際しては手袋等を着用してください。万一、手などに付着した場合は十分に洗浄してください。
- 2) 試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当等を受けてください。

2. 使用上の注意

- 1) 期限切れの試薬は使用しないでください。また、他の製造番号と組み合わせたり、試薬を注ぎ足したりして使用しないでください。
- 2) 検出の一連の操作は同一温度のもとで、同一順序、同一時間間隔で行い、反応時間を厳守してください。
- 3) 使用後、容器の蓋は閉めるようにし、開放したままにしないでください。特に変性液は長時間の開放で変性能が低下するおそれがあります。
- 4) 検出にはキット付属の反応槽を使用してください。それ以外の容器を反応槽として使用する場合は、プローブ結合ストリップが完全に反応液に浸かるように液量を検討してからご使用ください。

3. 廃棄上の注意

- 1) 核酸試料及び増幅DNAの廃棄は、有効塩素濃度が5,000ppm（0.5%）となるよう次亜塩素酸剤を加えて一晚放置する等、DNAを破壊してから廃棄してください。
- 2) 本品の試薬は防腐剤としてアジ化ナトリウムを含有しています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので廃棄の際は大量の水と共に流してください。
- 3) 試薬及び器具等を廃棄する際には、廃棄物の処理及び清掃に関する法律、水質汚濁防止法等の規定に従って処理してください。
- 4) 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
- 5) 検体をこぼした場合は、次亜塩素酸剤（有効塩素濃度5,000ppm、0.5%）などの消毒液を使用して十分に拭き取ってください。なお、拭き取る際にはゴム製の手袋などにより手を保護してください。

【貯蔵方法、有効期間】

1. 貯蔵方法

2～10℃で保存

2. 有効期間

12ヶ月

【包装単位】

製品銘柄	構成試薬	包装単位
キットセット	①増幅試液R R	0.8mL × 1本
	②ポリメラーゼ溶液 P	0.03mL × 1本
	③プローブ結合ストリップ 1	20枚 × 1本
	④変性液 2	0.5mL × 1本
	⑤ハイブリダイズ液 3	50mL × 2本
	⑥濃厚リンス液 4	50mL × 1本
	⑦コンジュゲート液 C1	0.8mL × 1本
	⑧コンジュゲート希釈液 C2	50mL × 1本
	⑨基質液 S1	0.8mL × 1本
	⑩基質希釈液 S2	50mL × 1本

【主要文献】

1. Zhang Y and Telenti A. Molecular Genetics of Mycobacteria., 235-56. (2000)
2. Abe C, Ogata H et al. Kekkaku., 75, 575-81. (2000)
3. Higuchi T, Fushiwaki T et al. Kekkaku., 79, 525-30. (2004)
4. Sekiguchi J, Miyoshi-Akiyama T et al. J Clin Microbiol., 45, 179-92. (2007)
5. Mitarai S, Kato S et al. J Clin Microbiol., 50, 884-90. (2012)

*【問い合わせ先】

ニプロ株式会社
大阪府摂津市千里丘新町3番26号
フリーダイヤル：0120-226-410
受付時間：9:00～17:15（土・日・祝日を除く）

*【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ニプロ株式会社
大阪府摂津市千里丘新町3番26号



ニプロ株式会社