使用の前にこの添付文書をよく読むこと

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：30300EZX00045000
2021年5月作成（第1版）
*2023年3月改定（第2版）

一般的名称：SARSコロナウイルス核酸キット

SGNP nCoV PCR検出キット

【重要な基本的注意事項】
1. 本製品での判定が陰性であっても、SARS-CoV-2の感染を否定するものではない。
2. 診断は厚生労働省の最新の症例定義を参照し、本品の検査結果のみで行わず、臨床症状も含めて総合的に判断すること。
3. 検体採取・取り扱いについては必要なバイオハザード対策をとること。
4. 検査に用いる検体については、「新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針」を参照すること。

【全般的な注意】
1. 本製品は、体外診断用医薬品であり、それ以外の目的には使用できない。SARS-CoV-2のRNA検出の臨床診断を目的とした検査のみに使用すること。
2. 遺伝子検査の知識や経験を持たない場合、検査結果の判定を誤る危険性がありうるので、本製品の使用にあたっては、遺伝子検査の知識、経験を有した技術者の指導のもとで検査を実施すること。
3. 使用する試薬及び装置の添付文書及び取り扱い説明書をよく読んでから実施すること。
4. 添付文書以外の使用方法については保証しない。

【形状・構造等（キットの構成）】
50検体検査用を1セットとし、キットI（50個）とキットII（1個）で構成される
キットI(4～24℃、遮光保管）1検体分

①－1	スポイト　唾液採取用	1本　1 mL用
①－2	スポイト　反応溶液混合用	1本　1 mL用
②	サンプル希釈用バッファー入りプラスチックチューブ	1本　×0.5 mL
③	サンプルチューブの蓋 ※または③’	1個　×1.5mLチューブ用
③’	蓋付きサンプルチューブ	1個　×1.5mLチューブ用
④－1	糖鎖固定化ナノ粒子（SMGNP）入りプラスチックチューブ	1本　×10 μL
④－2	磁性マイクロ粒子（MMP）入りプラスチックチューブ	1本　×10 mg
④－3	洗浄用バッファー（PBS）入りプラスチックチューブ	1本　×0.5 mL
④－4	ウイルス溶解用バッファー（SDS入りRNaseフリー水）入りプラスチックチューブ	1本　×20 μL
⑤	分離用マグネット	10検体分に1つ付属品として

キットII（-20℃以下、遮光保管）50検体分

⑥	RT-PCR用試薬入りスクリューチューブ	1本×625μL
⑦	RT酵素、PCR酵素とRNA分解酵素の阻害剤入りスクリューチューブ	1本×60μL
⑧	2種類のプライマー・プローブセット入りスクリューチューブ	1本×65μL
⑨	陽性コントロール(cDNA)入りスクリューチューブ	1本×10μL 付属品

【使用目的】
生体試料中のSARS-CoV-2 RNAの検出（SARS-CoV-2 感染の診断補助）
＜使用目的に関連する使用上の注意＞
【臨床的意義】、【操作上の注意】及び【用法・用量（操作方法）】の内容を熟知し、本品の有用性を理解した上で、検体種を選択すること。

【測定原理】
本品は、キットIに含まれる糖鎖固定化磁性金ナノ粒子(SMGNPと略)と磁性マイクロ粒子（MMPと略）を用いて、生体試料中のSARS-CoV-2を捕捉濃縮精製を行ったあとでウイルス粒子を破壊してRNAを溶出させる。そして、キットIIに含まれるRT-PCR試薬と酵素類、さらにSARS-CoV-2遺伝子に特異的にハイブリダイズするプライマー・プローブセットを用いて、SARS-CoV-2のRNAを検出又は測定するものである。なお、SMGNPにはSARS-CoV-2が吸着する糖鎖を固定化している。
SARS-CoV-2のゲノミックRNA 検出又は測定のために、N蛋白質を対象としている。SARS-CoV-2用には2種のプローブをもちいるが、2種ともFAM(励起波長：495 nm；蛍光波長：520 nm)を蛍光剤として結合させており、蛍光波長を観測できるPCR測定機を用いれば、本品によって、生体試料中のSARS-CoV-2を検出又は測定できる。
RT-PCR反応では、検体から抽出精製されたRNA はdNTP を材料として逆転写酵素によりcDNA を生成した後、さらにdNTP を材料として、Taq DNA ポリメラーゼにより増幅が行われる。この過程で、プローブはそれぞれのフォワード及びリバースプライマーの間に位置する特定の標的配列にアニールし、PCR サイクルの伸長段階で、Taq DNA ポリメラーゼの5’ヌクレアーゼ活性によりプローブが分解されることでレポーター蛍光剤が蛍光吸光分子から分離されて、蛍光が発色される。サイクル毎に、レポーター蛍光剤がそれぞれのプローブから切断されるので、蛍光強度が増加し、PCR サイクルとして表示される。

【操作上の注意】
1. 測定試料の性質・採取法
採取した患者検体は感染の危険性があるので、必要なバイオハザード対策を実施すること。検体採取、検体の取り扱い場所及び取り扱う装備等については、施設の安全規定に従うこと。国立感染症研究所感染症情報センターでは、SARS-CoV-2関連の患者検体はBiosafety Level（BSL）2 以上で扱うこととなっている。患者検体の採取/輸送方法については、「SARS-CoV-2感染症(COVID-19)病原体検査の指針」を参照すること。なお、本品のキットIの②と③または③’を用いれば、4℃保存でSARS-CoV-2は3日間ウイルスが安定に存在することを確かめている。
正確な検査結果を導くために、検体採取と検査までの一時保存については注意すること。

2. 交差反応性
本品に含まれるSARS-CoV-2の2種のプライマー・プローブセットは下表に示した17種類の微生物の遺伝子に対して *in silico* で行った交差反応性は認められなかった。さらに、*in silico*解析で交差反応性はないことが示唆された下表の微生物のうち、＊をつけた微生物に関しては、微生物抽出物を用いた試験を行い、全て交差反応性は認められなかった。

表1　交差反応性の解析に用いた微生物

Streptococcus pneumoniae＊	*Chlamydia pneumoniae*
Staphylococcus aureus＊	*Herpes simplex virus*＊
Haemophilus influenzae＊	*Adenovirus*
Moraxella catarrhalis＊	*Rhinovirus*
Klebsiella pneumoniae＊	*Respiratory syncytial virus*＊
Escherichia coli＊	*Parainfluenza virus*＊
Legionella pneumophila＊	*Human metapneumovirus*
Pseudomonas aeruginosa＊	*Human coronavirus*
Mycoplasma pneumoniae	

3 妨害物質・妨害薬剤
妨害物質の影響
キットIのウイルス溶解用バッファーには0.1%のSDSが含まれる。本製品の使用方法では、RT-PCRは総量16μLでは、テンプレートの

0.1%SDS溶液は1μL加えることになっており、それ以上加えるとRT酵素やポリメラーゼの性能が低下するので、注意すること。

【用法・用量（操作方法）】

1. 本製品の構成と本キット以外に必要な機器または器具

本製品は、キットIとキットIIで構成されており、検体の前処理からRNAの検出までを行うことができる。キットIとキットII以外に以下の機器と器具が必要である。

イ） リアルタイム PCR 測定機
ロ） 専用反応チューブあるいはプレート
ハ） マイクロピペットおよびチップ
ニ） 卓上ミニ遠心分離機
ホ） RNase フリーが確認されている水または緩衝液
ヘ） 200μL および 1.5 mL 用サンプルチューブ

2. 対象の検体

検体は唾液を推奨する。
鼻咽頭ぬぐい液及び鼻腔ぬぐい液を検体とする場合の検体採取方法は以下のとおり。

(1) 鼻腔ぬぐい液は、採取用滅菌綿棒を約3cm鼻腔に入れて採取する。
(2) 鼻咽頭ぬぐい液は、採取用滅菌綿棒を約10cm鼻腔から咽頭へ入れて採取する。

3. RT-PCRに供する溶液（試液）の調製方法（キットIを使用）

(1) ①－1 を使用し、唾液を約 0.3 mL 採取する。
(2) 全量を②に入れ、そのまま①－1 のスポイトで混合し、蓋③をつけ（または③’に全量を入れて蓋をする）、1500rpm 以上で約 20 秒間遠心分離し、不溶物を沈殿させる。（一般には簡易型の卓上遠心機を使用する。）
(3) ①－2 を用いて上澄みをとり（沈殿物をすわないように、少し液を残すぐらい）、④－1 へ全量（通常は 0.5mL 以上）加え、数回出し入れして溶液を混合してから全量を吸い取り④－2 に入れる。
(4) 同じスポイトで混合する（黒色の磁性マイクロ粒子がよく混ざるように、5 回ほど出し入れする。）
(5) チューブの外から⑤をあて、磁気分離する。約１０秒後、スポイトで上澄みを吸い取り、④－１のチューブにいれチューブごと廃棄する。
(6) ⑤を外し、残った黒色残渣に、④－３の溶液を同じスポイトで全量を吸い取って加え、そのままスポイトで混合する（黒色残渣がよく混ざるように 5 回ほど出し入れする）。
(7) チューブの外から⑤をあて、磁気分離する。約１０秒後、スポイトで上澄みを吸い取り④－３のチューブにいれチューブごと廃棄する。
(8) ⑤を外し、残った黒色残渣に、④－４の溶液を全量（20μL）を①－２のスポイトを用いて加え、混合する（黒色残渣がよく混ざるように軽くタッピングする）。チューブの外から⑤をあて、上澄みから 10μL チップを用いて、1μL ずつとり、それらをキット II を用いる RT-PCR に供する。残溶液については、上澄みを別のチューブに入れて保管すれば、再度使用できる。保管は冷蔵庫保管であれば数日、冷凍庫（-20℃以下）であれば 1 ヶ月程度を推奨する。

4. 試薬の調製方法（キットIIを使用）

(1) キット II のチューブを取り出し、室温で溶解させる。溶解した後は、氷上または冷媒上で保存し、15 分以上室温で放置しないようにする。溶解後、3 本のチューブを 1500rpm 以上で約 3 秒間遠心し、チューブ下部に溶液を落とす。（一般には簡易型の卓上遠心機を使用する。）
(2) 表 2 を参考に、測定予定数に応じて、⑥と⑦と⑧から必要量をサンプルチューブに計りとり、ピペッティングでよく混合して RT-PCR 試薬混合液を調製し、その混合液を 15μL ずつ 200μL 用サンプルチューブ（又は PCR 反応チューブ）に分注する。⑥、⑦、⑧の残試薬はキット II の密封の袋に戻し、冷凍（－20℃以下）で保存する。

表 2　RT-PCR 試薬混合液の調製

測定予定数	5	10	15	20	25
⑥ μL	62.5	125	187.5	250	312.5
⑦ μL	6	12	18	24	30
⑧ μL	6.5	13	19.5	26	32.5

(3) 分注した 200μL のチューブ（又は PCR 反応チューブ）の 1 本に、3.(8)で得られた溶液 1μL を入れた後、全量を RT-PCR に供する。溶液の組成は下表 3 のようになる。

表 3　RT-PCR 反応（総量 16μL）あたりの組成

試薬	使用量
反応液（緩衝液など、特注品）	12.5μL
酵素液	1.2μL
プライマー・プローブセット	1.3μL
検体液（前処理（8）の液体）	1μL

注)陽性コントロールとしてキットIIの付属品である⑨をRNase フリーが確認されている溶液（水、またはPBSなど）で10～100倍に希釈して加える。陰性コントールとしてRNase フリーが確認されている溶液（水、またはPBSなど）を1μLまたは、陰性が確認された試液の残りを1μL加える。

5. RT-PCR の実行

RT-PCR にはタカラバイオ社製 Thermal Cycler Dice Real Time System III、または同等の性能を有する機器を用いる。下表は、参考としての Thermal Cycler Dice Real Time System II または III を使用するときの推奨条件である。（ウェル間の蛍光シグナルの補正を行う必要のない機器のため、内部標準は必要ない）

表 4　RT-PCR サイクル

逆転写反応	42℃　5 分	
プレ変性	95℃　10 秒	
変性 会合・伸長	95℃　5 秒 60℃　30 秒	 ×45 サイクル

6. 結果の解釈

Ct値は、Multiplex可能なPCR測定機の性能に依存するため、検査開始時にキャリブレーションを行うことを推奨する。

タカラバイオ社製Thermal Cycler Dice Real Time System IIまたはIIIを用いた場合、カットオフ値は以下のようになり、カットオフ値以下の場合は、定性的に陽性とする。カットオフ値以上でも検査開始時のキャリブレーションカーブに近い値が観測された場合は±とし、再検査を推奨する。Ct値が観測されない場合は陰性とする。

表5　カットオフ値

使用したPCR測定機	SARS-CoV-2 (FAM)
Thermal Cycler Dice Real Time System II またはIII	40

定量の場合は、測定時にキャリブレーションを行い、そのカーブとの比較から各ウイルスの検査又は測定を行う。

【臨床的意義】

臨床性能試験

1. SARS-CoV-2

1-1 鼻咽頭スワブ検体を用いた臨床評価試験

浜松医療センターで COVID-19 感染疑い患者から採取された鼻咽頭スワブ検体(陽性 10 検体、陰性 15 検体)について、本品を用いた RT-PCR 法と国立感染症研究所の病原体検出マニュアル 2019-nCoV（以下、感染研法）との比較が実施された結果を下表に示す。

表 6　鼻咽頭スワブ検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	100 %（10/10）
陰性一致率	100 %（15/15）
全体一致率	100 %（25/25）

1-2 唾液検体を用いた臨床評価試験

同一患者から鼻咽頭スワブと唾液(鼻咽頭スワブ採取日と同日又は翌朝に採取）が採取され、鼻咽頭スワブは感染研法、唾液は本品を用いた RT-PCR 法にて試験が行われた結果を下表に示す。

表 7　鼻咽頭スワブと唾液との検査結果の比較まとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	90 %（9/10）
陰性一致率	100 %（15/15）
全体一致率	96 %（24/25）

使用の前にこの添付文書をよく読むこと

2. 臨床性能試験

社会医療法人天陽会中央病院および社会医療法人社団陽正会寺岡記念病院で COVID-19 感染疑い患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液、及び唾液検体について、SGNP nCoV/Flu PCR 検出キット（本品のキット II に A 型と B 型のインフルエンザのプライマーとプローブを混合したキット）を用いた RT-PCR 法と感染研法との比較が実施された結果を下表に示す。

2-1 全データを用いた結果

表 8　鼻咽頭ぬぐい液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	96 % (116/121)
陰性一致率	100 % (108/108)
全体一致率	98 % (224/229)

表 9　鼻腔ぬぐい液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	94 % (114/121)
陰性一致率	100 % (109/109)
全体一致率	97 % (223/230)

表 10　唾液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	89 % (100/112)
陰性一致率	96 % (113/118)
全体一致率	93 % (213/230)

2-2　検体の採取法と保存法に問題があった 1 データおよび唾液採取直前に、飲水・うがい等が疑われた 5 データを省いた結果

表 11　鼻咽頭ぬぐい液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	96 % (111/116)
陰性一致率	100 % (107/107)
全体一致率	98 % (218/223)

表 12　鼻腔ぬぐい液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	94 % (109/116)
陰性一致率	100 % (108/108)
全体一致率	97 % (217/224)

表 13　唾液検体を用いた比較結果のまとめ

一致率の基準	一致率
陽性一致率	94 % (100/106)
陰性一致率	96 % (113/118)
全体一致率	95 % (213/224)

【性能】

①　感度試験

・ 自家陽性管理検体（不活化したSARS-CoV-2培養細胞上清）を段階希釈して測定した場合、50コピー/μLに相当するウイルス濃度以上で陽性反応を示した。

②　正確性試験

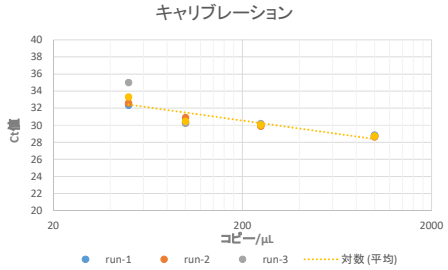
・ 自家陽性管理検体（不活化したSARS-CoV-2培養細胞上清）を段階希釈して測定した場合、50コピー/μLに相当するウイルス濃度以上で陽性反応を示した。
・ 自家陰性管理検体（大塚蒸留水）を測定した場合、陰性反応を示した。

③　同時再現性試験

・ 自家陽性管理検体（不活化したSARS-CoV-2培養上清）を段階希釈して測定した場合、100コピーに相当するウイルス濃度以上で、同時に３回測定した場合、すべて陽性反応を示した。
・ 自家陰性管理検体（大塚蒸留水）を同時に３回測定した場合、すべて陰性反応を示した。

最小検出感度について

以下の較正用の基準物質(標準物質)としてのプラスミドを用いた際のキャリブレーションの図（縦軸は、リアルタイムPCRのCt値、横軸はウイルスのコピー数）である。直線性が50コピー/μLからずれてくる傾向が見られたので、最小検出感度を50コピー/μLと決定した。



参考：使用可能なPCR測定機について

本品を用いて、最小検出感度である50コピー/テストが担保された機器およびその際のRT-PCRサイクルの条件は下表の様である。

機器名	逆転写反応	プレ変性	変性	会合・伸長	サイクル数	カットオフCt値
MuSER（ミューサー）	45℃ 3分	92℃ 8秒	92℃ 15秒	40℃ 9秒 59℃ 24秒	40	37

【使用上又は取扱い上の注意】

取扱い上（危険防止）の注意

・ 施設の取り決めに従い、安全性に留意して検査を行うこと。
・ 検査中は手袋や保護メガネなど保護具を着用すること。
・ 検査中はヌクレアーゼの混入に注意すること。
・ 試料および使用器具は、感染性を有するものとして各施設の安全規定に従って、使用および破棄を行うこと。
・ 製品の特性上、乳製品を食べた直後やひどい虫歯の検体はウイルスが検出されにくくなる可能性があるので、注意すること。
・ 起床直後の検体が唾液中のウイルス量が多いことが先行研究[1)]にて解明されている。

使用上の注意

・ 各試薬は、使用期限内のものを使用すること。
・ 粘性のある試薬のピペット操作はゆっくりと行う。

反応後の注意

反応後のチューブのキャップは決して開けないこと。他検体の増幅産物によるコンタミネーションは誤判断の原因となるばかりでなく、試験環境そのものを汚染し、汚染を除去しない限り、以後の試験で正しい結果が得られなくなる可能性がある。

廃棄上の注意

・ 測定により生じた廃液については、検体などと同様に滅菌又は消毒の処置を行う。また、これらを廃棄する場合には、各都道府県によって定められた規定に従うこと。
・ 使用後の容器を廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従って医療廃棄物又は産業廃棄物など区別して処理する。
・ 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅されたDNA の廃棄は、次亜塩素酸水（有効塩素濃度100～200 ppm）のスプレーや、紫外線露光など、DNA を破壊してから廃棄する。
・ DNA を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸水（有効塩素濃度100～200 ppm）のスプレーや、紫外線露光などによって、DNA を破壊してから焼却処理または密閉できるビニール袋を2 重に施し、医療廃棄物として処理する。

【貯蔵方法、有効期間】

キットI
貯蔵方法：4～24℃
有効期間：12ヶ月間

キットII
貯蔵方法：－20℃以下
有効期間：12ヶ月間

【包装】

包装単位は、キットIは小袋（1検体検査用）が10個入った中袋を5つと、キットIIの小袋（50検体分）1つで構成される。

【主要文献】

1)　Y. Tajima, Y. Suda, K. Yano, Journal of Infection and Chemotherapy, Published: June 13, 2020 DOI: https://doi.org/10.1016/j.jiac.2020.06.011

使用の前にこの添付文書をよく読むこと

【問合せ先】
株式会社スディックスバイオテック
セールスサポート
電話/FAX番号：0798－47－6612

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】
株式会社スディックスバイオテック
〒890-0065
鹿児島県鹿児島市郡元一丁目21番40号
鹿児島大学　VBL内
電話/FAX番号：0798－47－6612
E-mail： sales2@sudxbiotec.jp