

SARS コロナウイルス核酸キット

GeneSoC® SARS-CoV-2 N2 検出キット

【重要な基本的注意】

1. 本製品の判定が陰性であっても、SARS-CoV-2 感染を否定するものではない。
2. 診断は本製品による測定結果のみで行わず、厚生労働省より公表されている最新情報を参照し、臨床症状も含め総合的に判断すること。
3. 検体採取及び取扱いについては、必要なバイオハザード対策を講じること。
4. 検査に用いる検体については、厚生労働省より公表されている「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. 本製品は専用機器 GeneSoC® の専用試薬である。
2. 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。
3. 臨床診断は本製品での測定結果だけでなく、他の検査結果や臨床症状などに基づいて総合的に判断すること。
4. 添付文書の内容に従い使用すること。添付文書以外の使用目的及び使用方法で取得した測定結果については保証できない。
5. 使用する試薬及び装置の添付文書及び取扱説明書をよく読んでから使用すること。

【形状・構造等（キットの構成）】

1. PCR Buffer 278.4 μ L \times 1
デオキシリボヌクレオシド三リン酸
2. Enzyme Mix 39.2 μ L \times 1
DNA Polymerase
RT Enzyme Mix
3. Primer/Probe Mix 52.0 μ L \times 1
SCoV-2 N2 フォワードプライマー（SCoV-2 N2 FP）
SCoV-2 N2 リバースプライマー（SCoV-2 N2 RP）
SCoV-2 N2 プローブ（SCoV-2 N2 Probe）

【使用目的】

生体試料中の SARS-CoV-2 RNA の検出（SARS-CoV-2 感染の診断の補助）

【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】の内容を熟知し、本製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】

本製品はヒト由来検体中から抽出した SARS-CoV-2 RNA のうち一部の領域について、逆転写反応（Reverse Transcription: RT）を含む One-Step リアルタイム Polymerase Chain Reaction (PCR) 法によ

り核酸増幅^{1)~3)}、蛍光測定によってリアルタイムに SARS-CoV-2 の RNA を検出する試薬である。本製品のプライマー及びプローブは SARS-CoV-2 特異的な配列（N 遺伝子 N2 領域）に設計されている。はじめにヒト由来検体から抽出した RNA 抽出液を用いて、逆転写酵素（RT Enzyme Mix）により SARS-CoV-2 の RNA に相補的な cDNA を合成する。その後、この cDNA に本製品のプライマーが結合し、DNA 合成酵素（DNA Polymerase）により DNA が増幅合成される。本製品のプローブは蛍光物質及びクエンチャー物質により標識されており、プローブが増幅合成された DNA に結合すると、DNA 合成酵素の 5' \rightarrow 3' エキソヌクレアーゼ活性によりプローブが分解される。この分解により、蛍光物質とクエンチャー物質の分子間距離が離れ、蛍光物質が蛍光を発するようになる。この蛍光強度を経時的に測定することにより、検体中の SARS-CoV-2 RNA を検出する。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

(1) 対象検体

「新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針」（厚生労働省）記載の生体試料

(2) 検体の採取法

- 1) 患者検体の採取/輸送方法については、「新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針」（厚生労働省）を参照すること。
- 2) 採取した検体は速やかに使用すること。
- 3) 検体採取の際に発生するエアロゾル等によって、RNA が検査環境中に飛散し、コンタミネーションが発生する可能性があるため、検体採取と本製品の使用は別の部屋で行うこと。

*2. 妨害物質・妨害薬剤

検体に含まれる可能性のある以下の物質及び薬剤について、表中の濃度における本製品の判定への影響は認められなかった。

	物質・薬剤	濃度
内因性物質	鼻咽頭ぬぐい液	—
	唾液	—
	血液	—
抗ウイルス剤	レムデシビル	25 mg/mL
	ファビピラビル	3.13 mg/mL
点鼻薬	フェニレフリン塩酸塩	100 mg/mL
	オキシメタゾリン塩酸塩	100 mg/mL
	塩化ナトリウム	100 mg/mL
解熱剤	イブプロフェン	100 mg/mL
ステロイド剤	デキサメタゾン	100 mg/mL
抗菌剤	レボフロキサシン水和物	6.25 mg/mL

3. 交差反応性

交差反応する可能性のある下記ウイルス 13 種類、菌 9 種類について測定した結果、これらのウイルス及び菌との交差反応は認められなかった。

微生物の名称	
Coronavirus OC43	Coronavirus 229E
Coronavirus SARS (2003)	MERS Coronavirus
Influenza A H3	Influenza B
Human coronavirus HKU1	Human coronavirus NL63
Human metapneumovirus (hMPV)	Parainfluenza 1
Respiratory syncytial virus A	Adenovirus
Rhinovirus	<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Chlamydomydia pneumoniae</i>	<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>

また、SARS-CoV-2 以外への交差反応の可能性について *in silico* 解析により検討した結果、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) のデータベースに登録されているウイルス 14,720 配列、真菌類 91,724 配列、バクテリア 22,855,834 配列、ヒト 3,668 配列に対して交差反応する可能性は低いと予測された。

【用法・用量 (操作方法)】

1. 必要な器具、機材、試薬等

- (1) RNA 抽出用試薬 (推奨: QIAGEN 社 QIAamp Viral RNA Mini Kit 又は同等の性能を有する RNA 抽出用試薬)
- (2) 反応液調製用チューブ (0.2~1.5 mL)
- (3) マイクロピペット及びフィルター付きピペットチップ
- (4) 冷却用チューブラック
- (5) 氷 (クラッシュアイス) 又はそれに相当するもの
- (6) 微量簡易遠心機
- (7) ボルテックスミキサー
- (8) GeneSoC®専用測定チップ (杏林製薬 別売品、以下、専用測定チップ)
- (9) 専用機器 GeneSoC® (杏林製薬 別売品)

2. 専用機器 GeneSoC® の設定

専用機器 GeneSoC® の取扱説明書に従い、下記のとおりプロトコルを設定する。

(1) 検出チャンネル

SARS-CoV-2 : FAM (測定波長 490~550 nm)

(2) PCR サイクル

ステップ	温度 (°C)	時間 (秒)	サイクル数
1	42	60	1
2	96	10	1
3	96	4	50
	58	8	

3. サンプル溶液の調製

RNA 抽出用試薬にて生体試料から抽出した RNA をサンプル溶液とし、使用時まで氷冷保存する。サンプル溶液は原則として直ちに使用すること。なお、RNA 抽出操作の詳細は RNA 抽出用試薬の使用方法に従う。

4. 試薬の調製

(1) PCR Buffer

融解後、ボルテックスし、スピンドウンしてから使用する。使用時まで氷冷保存し、使用後は速やかに-20±5°Cで保存する。

(2) Enzyme Mix

ボルテックスはせず、スピンドウンしてから使用する。使用時まで氷冷保存し、使用後は速やかに-20±5°Cで保存する。

(3) Primer/Probe Mix

融解後、ボルテックスし、スピンドウンしてから使用する。使用時まで氷冷保存し、使用後は速やかに-20±5°Cで保存する。

5. 測定 (操作) 法

- (1) 下記のとおり、氷上にて PCR Buffer、Enzyme Mix、Primer/Probe Mix を反応液調製用チューブに添加し、混合後、スピンドウンする。

反応液 1 テスト分の試薬量

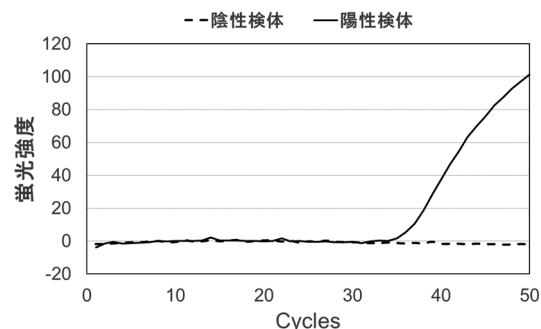
チューブ番号 (識別色)	試薬	使用量 (μL)
1 (白)	PCR Buffer	11.6
2 (青)	Enzyme Mix	1.4
3 (赤)	Primer/Probe Mix	2.0
	合計	15.0

- (2) 測定直前に氷上にて(1)の溶液に 5.0 μL のサンプル溶液を添加し、混合後、スピンドウンする。
- (3) 専用測定チップ付属の使用方法に従い、2~20 μL 用マイクロピペットを用いて、専用測定チップの試料導入口から(2)の溶液を 17.0~19.0 μL 注入する。この時、専用測定チップへの気泡の混入を防ぐため、マイクロピペットのプッシュボタンは第 1 ストップまで押し注入し、第 2 ストップまで押し込まないこと。
- (4) 専用測定チップを専用機器 GeneSoC® にセットし、2. で設定した条件で測定を開始する。
- (5) 測定終了後、専用機器 GeneSoC® の表示画面上で増幅曲線の立ち上がりの有無を確認する。

【測定結果の判定法】

50 サイクル以内に増幅曲線の立ち上がりが見られた場合は「陽性」、立ち上がりが見られなかった場合は「陰性」と判定する。増幅曲線に著しい異常が認められ、結果判定が困難である場合はサンプル溶液を再測定する。

<増幅曲線の典型例>



<判定上の注意>

1. 得られた増幅曲線の形状を典型例と比較し、判定を行うこと。
2. 本製品で陰性と判定されても、症状が持続し、SARS-CoV-2 の感染が否定できない状況では再度検査を実施する必要がある。

3. 検体採取、輸送、保存が不適当な検体、ウイルス量が微量な検体、又は RNA 抽出が不適当なサンプル溶液を測定した場合は、偽陰性となる可能性がある。
4. 本製品のプライマー及びプローブは SARS-CoV-2 において保存性が高い領域に設計されているが、この領域に変異が生じた場合は検出感度を低下させる可能性が考えられるため、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。

*【臨床的意義】

国立感染症研究所より公開されている「新型コロナウイルス (2019-nCoV) の遺伝子検査法の性能評価について」に基づき、本製品と国立感染症研究所「病原体検出マニュアル 2019-nCoV ver. 2.9.1」記載のリアルタイム one-step RT-PCR (以下、既存 PCR 法) の測定結果を比較し、本製品の性能を評価した。比較試験には SARS-CoV-2 感染又は感染の疑い患者から採取した鼻咽頭ぬぐい液及び唾液各 100 例を使用した。その結果、陽性一致率、陰性一致率、全体一致率は鼻咽頭ぬぐい液で 96.0 % (48/50)、100 % (50/50)、98.0 % (98/100)、唾液で 97.8 % (44/45)、96.4 % (53/55)、97.0 % (97/100) であった。

鼻咽頭ぬぐい液		既存 PCR 法		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	48	0	48
	陰性	2	50	52
	計	50	50	100

陽性一致率 96.0 % (48/50)
陰性一致率 100 % (50/50)
全体一致率 98.0 % (98/100)

唾液		既存 PCR 法		
		陽性	陰性	計
本製品	陽性	44	2	46
	陰性	1	53	54
	計	45	55	100

陽性一致率 97.8 % (44/45)
陰性一致率 96.4 % (53/55)
全体一致率 97.0 % (97/100)

【性能】

1. 感度・正確性

管理検体を測定したとき、50 サイクル以内に陰性管理検体は陰性、陽性管理検体は陽性と判定される。

2. 同時再現性

管理検体を 3 回同時に測定したとき、50 サイクル以内に陰性管理検体はすべて陰性、陽性管理検体はすべて陽性と判定される。

3. 最小検出感度

3.13 コピー/テスト

4. 較正用基準物質に関する情報

SARS-CoV-2 の N 遺伝子の配列を含む人工合成 RNA を用いている。

【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) 検体は感染の恐れがあるものとして取り扱いに注意し、必要なバイオハザード対策を実施すること。
- (2) 検体及び本製品を取り扱うときは保護眼鏡、使い捨て手袋、マ

スク、作業着等の防護具を着用し、測定終了後はよく手を洗うこと。作業過程ごとに手袋を変えるなど、操作には細心の注意を払うこと。

- (3) 試薬が誤って皮膚・目・粘膜に付着した場合は、直ちに大量の水で十分に洗い流し、必要に応じて医師の手当てを受けること。

2. 使用上の注意

- (1) 本製品は指定の貯蔵方法で保存すること。
- (2) 本製品の凍結融解の回数は必要最低限とすること。
- (3) 有効期間を過ぎた本製品は使用しないこと。
- (4) 本製品は他のロットと組み合わせて使用しないこと。また、同一のロットであっても試薬の注ぎ足しは行わないこと。
- (5) 本製品は光への曝露が最小限となるよう注意すること。
- (6) 本製品を取り扱う際は核酸の分解を防ぐため、汗や唾液に含まれる RNase や DNase のコンタミネーションに注意すること。
- (7) 機器や器具は適切に点検・校正されたものを使用すること。

3. 廃棄上の注意

- (1) 検体及び検体が接触したピペットチップや容器は感染性のあるものとして、各施設のバイオハザード取扱規定に従い、医療廃棄物として処理すること。
- (2) 測定に使用した専用測定チップは注入孔を覆っているシールを剥がさずに、焼却処理又はビニール袋を二重に覆って医療廃棄物として処理する。増幅産物による汚染を防ぐため、廃棄の際にオートクレーブは行わないこと。
- (3) 試薬及び器具等を廃棄する場合は、医療用廃棄物に関する規定、水質汚濁防止法などの法令や自治体等の規定に従って処理すること。
- (4) 検体の取扱い時に検体が飛散したりこぼれたりした場合は、直ちに次亜塩素酸ナトリウム又は消毒用アルコール等によりふき取ること。

【貯蔵方法・有効期間】

貯蔵方法：-20±5℃

有効期間：8 ヶ月

【包装単位】

製品コード	製品名	包装単位
GSC-IVD-001	GeneSoC® SARS-CoV-2 N2 検出キット	20 Tests

【主要文献】

- 1) 岩浪哲, Precision Medicine 2(10), 928-931, 2019-09
- 2) Sakai J. *et al.*, Journal of Hospital Infection 105, 615-618, 2020
- 3) Watanabe R. *et al.*, PLoS One 16(3): e0248397, 2021

【承認条件】

1. 承認時のデータが極めて限られていることから、製造販売後に臨床性能を評価可能な適切な試験を実施すること。
2. 製造販売後に実保存条件での安定性試験を実施すること。

【問い合わせ先】

杏林製薬株式会社 くすり情報センター

電話：0120-952956

受付時間：9:00~17:00 (土・日・祝日を除く)

【製造販売業者の名称及び住所】

杏林製薬株式会社

〒101-8311 東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

杏林製薬株式会社
東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地