

体外診断用医薬品
制定 2020年10月(第1版)
日本標準商品分類番号 87749
承認番号 30200EZX00074000

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。
SARS コロナウイルス核酸キット

ジーンキューブ® HQ SARS-CoV-2

【重要な基本的注意】
1. 本品で判定が陰性であっても、SARS-CoV-2感染を否定するものではありません。
2. 診断は、本品による検査結果のみで行わず、厚生労働省より発表されている医療機関・検査機関向けの最新情報を参照し、臨床症状も含めて総合的に判断してください。
3. 検体採取、取扱いについては必要なバイオハザード対策をとってください。
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」を参照してください。

【一般的な注意】

- 本品は全自動遺伝子解析装置GENECUBE[®]の専用試薬です。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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)】

- 酵素液 A
 - KOD[®] DNA ポリメラーゼ
 - 逆転写酵素
- 酵素液 B
 - dNTP^{*}
- プライマー・プローブ試薬
 - CVn1 primer_F
 - CVn1 primer_R
 - CVn1 QProbe
 - CVn2 primer_F
 - CVn2 primer_R
 - CVn2 QProbe
- 陽性コントロール溶液
- 陰性コントロール溶液

※[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】

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】

<臨床性能試験成績>、[操作上の注意]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してください。

【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 SARS-CoV-2 RNA 検出試薬です。

本品は、標的核酸にプライマーがハイブリダイズし、RNA の一部を逆転写酵素により cDNA に変換し、続いて KOD[®] DNA ポリメラーゼ³⁾によって PCR 増幅を行う、one-step RT-PCR 法を用いています。増幅した標的核酸に対して、プローブをハイブリダイズさせて、融解曲線解析を行い蛍光のピーク温度を解析することで SARS-CoV-2 RNA 検出を行います。

※[QProbe]は日鉄環境株式会社の特許実施権を有する消光プローブです。

【操作上の注意】

- 検体について
 - 本品の試料には、検体から抽出した RNA 溶液(検体調製液)を用います。
 - 血液成分が多量に含まれている検体は避けてください。試料中に多量に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。

2. 試料の調製方法

- 臨床検体の採取方法

鼻咽頭拭い液: 鼻孔内にスワブを挿入し、スワブの先を鼻腔の奥にこすりつけて拭い液を採取してください。

喀痰: 十分にうがいをした後、専用容器に喀痰を採取してください。

その他、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」を参照してください。

(2)臨床検体の前処理方法

検体の前処理は、以下の方法で前処理・核酸抽出法を行ってください。

核酸抽出にあたって、注意事項など詳細については核酸抽出に用いる製品・試薬の説明書に従って操作してください。各種核酸抽出法の操作方法に従って抽出したものを検体調製液とします。

喀痰でセミアルカリプロテアーゼ (SAP)を用いる場合は、SAP を添加して懸濁した後、15 分間インキュベーションし、遠心分離(13,000×g、3 分間)した上清を検体として用います。

プロテイナーゼ K 溶液及び加熱を用いる核酸抽出法を用いる場合には、以下の操作に従ってください。

- 1.5mL チューブにプロテイナーゼ K^{*1} 10 μL を分注します。
- 検体^{*2*}100 μL を①に加えて、混和を行います。
- 約 65℃、5min で加熱した後、更に約 95℃、5min で加熱し、十分に冷ました液を溶解液^{*5} と等量混合し検体調製液として使用します。

*1 使用するプロテイナーゼ K は、プロテイナーゼ K 溶液(関東化学)を推奨します。

*2 鼻咽頭拭い懸濁液で用いる際の検体保存液として、コパン UTM または同等品、ウイルス輸送液 SGVTM-3R(スギヤマゲン)、eSwab は本処理法で用いることができます。PBS を用いる場合には、PBS に対し Bovine Serum Albumin (BSA) 溶液を 10:1 の割合で加えて使用してください。

使用する BSA は、Bovine Serum Albumin 溶液(20mg/mL、タカラバイオ)又はその同等品を推奨します。

*3 唾液を用いる場合には、PBS を検体に対して等量から 3 倍量加え十分に混和させた後、卓上遠心機で 10 秒遠心し、上清を用いてください。粘性が強い場合等では遠心前に、PBS を追加した検体に対しプロテイナーゼ K を約 10:1 の割合で先に加え、分取操作を行ってください。プロテイナーゼ K を先に加えた場合、①の操作は省略してください。

*4 喀痰を用いる場合には、PBS に対しプロテイナーゼ K を 10:1 の割合で加えた溶液を喀痰に約 3 倍量加え、ボルテックスミキサーで十分に攪拌し、遠心分離(13,000×g、3 分間)した上清を用いてください。喀痰を用いる場合、①の操作は省略してください。本抽出法では、SAP 処理を行った喀痰を用いることはできません。

*5 溶解液はジーンキューブ[®]専用 溶解液を用いてください。

核酸抽出に関して、SARS-CoV2 遺伝子配列が組み込まれた疑似ウイルス陽性管理検体 (AccuPlex™ SARS-CoV-2、約 5 コピー/μL)を精度管理として用いることができます。

QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)以外の核酸抽出法を用いる場合、管理検体を検体保存液と等量希釈した溶液が確実に検出できることを確認の上、実施してください。管理検体を用いた精度管理で陽性判定が得られない場合には、検体保存液、前処理、核酸抽出法のいずれか不適切である可能性があります。

3. 交差反応性

他のコロナウイルス、他の呼吸器疾患原因ウイルス及び菌を含む下記 39 種について測定し、すべて陰性であることを確認しました。

ウイルス名	ウイルス名
Human coronavirus 229E	Influenza A virus
Human coronavirus HKU1	Influenza B virus
Human coronavirus NL63	MERS coronavirus
Human coronavirus OC43	SARS coronavirus

菌名	菌名
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Mycoplasma fermentans</i>
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mycoplasma genitalium</i>
<i>Bordetella holmesii</i>	<i>Mycoplasma hominis</i>

<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Mycoplasma orale</i>
<i>Bordetella pertussis</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Chlamydophila pneumoniae</i>	<i>Mycoplasma salivarium</i>
<i>Chlamydophila psittaci</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Staphylococcus aureus (MRSA)</i>
<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus (MSSA)</i>
<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Mycobacterium avium</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Mycoplasma bovis</i>	

4. 共存物質の影響

クラリスロマイシン、レボフロキサシン、アセトアミノフェン、ロキソプロフェン、アジスロマイシン、ミノサイクリン、リトナビル、ファビピラビル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、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ドイ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)】

- 試薬・試液調製法
 - 酵素試薬 : 酵素液 A に酵素液 B を 140 μL 添加し、ボルテックスミキサーにて攪拌し、スピンドアウンして使用してください^{*}。
 - プライマー・プローブ試薬 : そのまま用います。使用前にボルテックスミキサーにて攪拌し、スピンドアウンして使用してください。

※混合した酵素試薬は、2～8℃で保存し 4 週間以内に使用してください。

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 T-028
- サンプルチューブ(0.5 mL) ザルスタット株式会社 72.699.00003, 72.704.700

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、プライマー・プローブ試薬、各消耗品を機器の所定の位置にセットします。

(2) 検体調製液を分注したチューブ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、陰性コントロール溶液を用いる場合、検体調製液と同様に上記の操作を行います。陽性コントロール溶液、陰性コントロール溶液はそのまま用いることができます。陽性コントロ

ール溶液について測定結果が陰性を示した場合、陰性コントロール溶液について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。疑似ウイルス陽性管理検体 (AccuPlex™ SARS-CoV-2) 抽出液は陽性コントロールとして用いることができます。

【測定結果の判定法】

- 判定方法

判定結果は、判定画面上で陽性「+」、陰性「-」、判定無効「Invalid」の判定が行われます。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。

2. 判定上の注意

本品で陰性と判定されても必ずしも SARS-CoV-2 の存在を否定するものではありません。検体中に標的となる RNA 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。

- 検体調製が不十分で、ウイルスのロス又は RNA の分解が生じている検体を使用した場合
- 保管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
- 保存が適切に行われていない検体を使用した場合

(2) プライマー及びプローブは、比較的変異が少ない遺伝子領域をターゲットにしていますが、SARS-CoV-2 の変異により、本品での検出感度が低下したり、正常に検出できなくなったりする可能性があります。

【臨床的意義】

本品は SARS-CoV-2 に特異的な遺伝子配列をターゲットとする one step RT-PCR 法により、迅速に SARS-CoV-2 RNA の検出が可能な検査試薬です。本品を用いた臨床性能試験では、「病原体検出マニュアル 2019-nCoV(国立感染症研究所)」に従った検査法と本品との検査結果は 100%一致し、良好な成績を示しました。

<臨床性能試験成績>

鼻咽頭拭い液又は喀痰を含む 25 検体(陽性 10 例、陰性 15 例)から「病原体検出マニュアル 2019-nCoV(国立感染症研究所)」に従って RNA を抽出しました。抽出した RNA を GENECUBE[®]と「病原体検出マニュアル 2019-nCoV(国立感染症研究所)」に従った RT-PCR 法で検出しました。その結果、全体一致率は 100%となりました。使用した検体は「新型コロナウイルスの遺伝子検査法の性能評価について(国立感染症研究所)」に基づき陽性 10 検体のうち RNA 濃度が 10～20 コピーのもの 2 検体、100～200 コピーのもの 1 検体を使用しています。

	RT-PCR 法	
	陽性	陰性
本品	陽性 10	陰性 0
	陰性 0	15
全体一致率	100% (25/25)	

また、SARS-CoV-2 ウイルスを 10～20 コピーとなるようスパイクした唾液検体 12 例、20～40 コピーとなるようスパイクした唾液検体 13 例、陰性唾液検体 15 例から抽出した RNA を GENECUBE[®]と「病原体検出マニュアル 2019-nCoV(国立感染症研究所)」に従った RT-PCR 法で検出しました。その結果、全体一致率は 100%となりました。

	RT-PCR 法	
	陽性	陰性
本品	陽性 25	陰性 0
	陰性 0	15
全体一致率	100% (40/40)	

【性能】

- 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

- 陰性コントロール溶液を測定するとき、陰性を示します。
- 陽性コントロール溶液を測定するとき、陽性を示します。

(2)正確性試験

- 自家管理陰性試料を測定するとき、陰性を示します。
- 自家管理陽性試料 1 を測定するとき、陽性を示します。
- 自家管理陽性試料 2 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。
 - ③自家管理陽性試料2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(GENEUCUBE[®]測定)
 - 10コピー/テスト
- (5)校正用基準物質
 - 本品の校正用基準物質には SARS-CoV-2 の N 遺伝子を含む RNA を使用しています。

【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にご注意ください。
- (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)検体の採取には必ず医療器具として承認を受けているスワブをお使いください。

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。
- (4)検査従事者の汗や唾液に含まれる RNase による RNA 分解を防ぐため、本品を使用する際は必ず手袋、マスクを着用してください。
- (5)グアニジンなど不活化成分を含む検体保存液は、PCR を阻害するため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　−30〜−15℃で保存:酵素液 A、陽性コントロール溶液
2〜8℃で保存:酵素液 B、陰性コントロール溶液、
プライマー・プローブ試薬

有効期間　6ヶ月（期限は外箱に表示）

【包装単位】

商品名	構成試薬名
ジーンキューブ [®] HQ SARS-CoV-2 (96 テスト)	酵素液 A
	酵素液 B
	プライマー・プローブ試薬
	陽性コントロール溶液
	陰性コントロール溶液

【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.

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。

【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。

【お問い合わせ先】

東洋紡株式会社 診断システム事業部
〒530-8230 大阪市北区堂島浜二丁目2番8号
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
福井県敦賀市東洋町10番24号