体外診断用医薬品　　＊＊2022年8月改訂（第3版）

製造販売承認番号:30300EZX00047000　　＊2022年4月改訂（第2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。

SARS コロナウイルス核酸キット

TRexGene® SARS-CoV-2 検出キット

［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、本品による検査結果のみで行わず、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。

［全般的な注意］

1.本品は、体外診断用です。それ以外の目的に使用しないでください。
2.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。
3.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。
4.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ます。遺伝子検査の知識や経験を有した技術者の指導の下で検査を実施してください。
5.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。
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.前処理液
2.反応液
　dNTP※
3.酵素液
　DNA ポリメラーゼ
　逆転写酵素
4.プライマー・プローブ液
　2019-nCoV_N1-F、 2019-nCoV_N1-R、2019-nCoV_N1-P、NIID_2019-nCOV_N_F2、2019-nCoV_N2-R、2019-nCoV_N2-P、IC-F、IC-R、IC-P
※「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、デオキシウリ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（加水分解プローブ）を用いた標的核酸検出」を利用した SARS-CoV-2 RNA 検出試薬です。
本品は、SARS-CoV-2のN遺伝子領域2箇所（N1及びN2）をターゲットに、RNA の一部を逆転写酵素により cDNA に変換し、続いて DNA ポリメラーゼによって PCR 増幅を行う、one-step RT-PCR 法を用いています。本品に用いる蛍光標識プローブは 5’側を蛍光物質で、3’側をクエンチャーで修飾されており、通常、蛍光標識プローブの蛍光はクエンチャーによって抑制されています。増幅工程において、DNA ポリメラーゼの持つ 5’-3’エキソヌクレアーゼ活性により相補的な配列に結合した蛍光標識プローブが分解され、クエンチャーによる抑制が解除されることで蛍光が発せられます。この蛍光量の変化を利用して、SARS-CoV-2 遺伝子の検出を行います。
本品は検体由来の阻害物質による影響を受けにくい反応組成を採用し、核酸の簡易抽出（RNA 精製なし）で SARS-CoV-2 の検出が可能です。また本品には内部コントロール（IC）が含まれており、PCR の増幅工程が正常に実施されたことを確認できます。

［操作上の注意］

1.検体の採取法
患者検体の採取、輸送方法については、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。不適切な保存や凍結融解により測定結果に影響が生じる可能性があります。

2.測定試料の調製法
本品による測定は、検体から抽出精製した RNA（精製 RNA）、検体と本品の「前処理液」を混合後、熱処理を行った簡易抽出試料（前処理済み試料）を用います。
(1)粘性の低い検体はそのまま使用し、粘性の高い検体は粘性を低減させるため、以下のような処理を行った後に、核酸の抽出精製、もしくは、本品の「前処理液」で処理することをお薦めします。測定試料の調製方法は、これに限定されるものではありません。ただし、他の調製法を用いる場合は、性能を確認した上で使用してください。
　1)鼻咽頭ぬぐい液や鼻腔ぬぐい液は、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」に従って採取した検体をそのまま使用してください。
　2)唾液検体は、約 3 倍量のスプタザイム酵素液（極東製薬工業）を添加し、撹拌した後、室温で約15分間静置したもの、もしくは1～3 倍量の PBS を加えボルテックスミキサーおよび激しい転倒混和により懸濁し、遠心後の上清を検体として使用してください。
　3)喀痰検体は、約 3 倍量のスプタザイム酵素液（極東製薬工業）を添加し、撹拌した後、室温で約 15 分間静置したものを検体として使用してください。
(2)核酸の抽出精製を行う場合、注意事項など詳細は核酸精製に用いる製品・試薬の説明書に従って操作してください。各種核酸精製法に従って精製したものを精製 RNA とします。例えば、Qiagen Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて、国立感染症研究所の「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver. 2.9.1」に記載された方法で RNA 精製を行います。

3.妨害物質・妨害薬剤
(1)クラリスロマイシン（1mg/mL）、レボフロキサシン（1mg/mL）、アセトアミノフェン（1mg/mL）、ロキソプロフェン（1mg/mL）、アジスロマイシン（1mg/mL）、ミノサイクリン（1mg/mL）、リトナビル（1mg/mL）、ファビピラビル（1mg/mL）を含む検体を測定しても本品の判定結果に影響しないことを確認しました。
(2)核酸精製を行わない場合、タンパク質変性剤（グアニジン等）やエタノール等を含む溶液に検体を懸濁した場合、PCR 反応に影響を及ぼす可能性があります。また、国立感染症研究所の「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver. 2.9.1」の別添 1「喀痰検体の前処理法 ver.1」に記載の 10% DTT で喀痰を溶解する方法は、本品ではご使用になれません。検体の懸濁液の成分については必要に応じて、本品との適合性（PCR阻害の有無など）を事前に確認した上でご使用ください。
(3)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。
※グアニジン、エタノール、高濃度の DTT、血液等を含む場合は、RNA の精製を推奨します。

4.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 26 種について測定し、すべて陰性を示すことを確認しました。

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

菌名	菌名
Bordetella bronchiseptica	*Moraxella catarrhalis*
Bordetella holmesii	*Mycobacterium avium*
Bordetella parapertussis	*Mycobacterium tuberculosis*
Bordetella pertussis	*Mycoplasma pneumoniae*
Chlamydophila pneumoniae	*Neisseria meningitidis*
Chlamydophila psittaci	*Pseudomonas aeruginosa*
Escherichia coli	*Pseudomonas fluorescens*
Haemophilus influenzae	*Serratia marcescens*
Klebsiella pneumoniae	*Staphylococcus aureus* (MSSA)

Legionella pneumophila	*Streptococcus pneumoniae*

5.コンタミネーションの防止
本品は、ウラシル-N-グリコシラーゼ(UNG)が酵素液に含まれており、 PCR 増幅産物のキャリーオーバーによる偽陽性判定を抑止することができます。しかし、大量の PCR 増幅産物による汚染やクロスコンタミネーションは防止できませんので、以下の事項を遵守してください。
(1)個人防護具を着用してください。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。作業過程ごとの手袋着脱など、操作には細心の注意を払ってください。
(2)検体の調製時に使用するマイクロピペットには、内部の汚染を防止するため、フィルター付きのチップを使用してください。
(3)反応終了後の PCR 用容器の開閉は避けてください。
(4)実験台や使用器具は次亜塩素酸ナトリウム溶液(有効塩素濃度 0.5%以上)等でよく清掃してください。
さらに、コンタミネーション防止のために、試料調製、試薬調製、リアルタイム PCR はエリア分けをして、物理的に隔離することをお薦めします。

[用法・用量(操作方法)]
1.必要な器具、器材など
・個人防護具 (手袋、マスク、防護衣など)
・ボルテックスミキサー
・小型遠心機(スピンダウン用)
・マイクロピペット及びフィルター付きチップ
・マイクロチューブ
・リアルタイム PCR 用容器(8 連チューブ、96 穴プレートなど)
・加熱処理用サーマルサイクラーまたはヒートブロック
・リアルタイム PCR 装置(QuantStudio 5 Dx Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific 製)など)
・陽性コントロール(SARS-CoV-2 RNA など)
・陰性コントロール(滅菌蒸留水など)

2.リアルタイム PCR 装置の設定
リアルタイム PCR 装置の添付文書及び取扱説明書に従い、以下の通り、設定します。
・検出チャネル
N1:Cy5
N2:ROX
IC:FAM
・PCR 反応液量
50μL
・RT-PCR サイクル

ステップ	温度	時間	サイクル数	蛍光検出
1	42℃	5 分	1	なし
2	95℃	10 秒	1	なし
3	95℃	5 秒	45	なし
	60℃	30 秒		あり

3.試薬の調製方法・操作方法
(1)反応試薬の準備
・前処理液、反応液、プライマー・プローブ液:室温にて解凍し、ボルテックスミキサーにて撹拌後、スピンダウンして使用する。
・酵素液:そのまま用います。使用前にボルテックスミキサーにて撹拌し、スピンダウンして使用する。
(2)前処理方法
1)精製 RNA の場合
・前処理は不要です。精製 RNA 10μL を次工程で使用してください。
2)簡易抽出を行う場合
・リアルタイム PCR 用容器に 3μL の前処理液と 8μL の検体を添加し、蓋をする。その後、室温で 5 分程度放置する。
・サーマルサイクラーまたはヒートブロックで95℃、5分加熱処理を行う(前処理済み試料)。
※加熱処理後は室温まで冷却し、速やかに次工程に移ってください。前処理済み試料を一時保存する場合は、氷上または 4℃で保存してください。
(3)リアルタイム RT-PCR マスターミックスの調製
・以下の組成で、マスターミックスを調製し、ボルテックスミキサーでよく混合する。

	1反応あたりの調製量
反応液	30μL
酵素液	5μL
プライマー・プローブ液	5μL
合計	40μL

・精製 RNA 10μL もしくは、前処理済み試料 11μL が入ったリアルタイム PCR 用容器に上記で調製したマスターミックス 40μL を添加し、蓋をする。
・ボルテックスミキサーでよく混合後、スピンダウンする。
※マスターミックス 40μL に前処理済み試料 11μL、もしくは精製 RNA 10μL を添加する方法でも調製は可能です。
(4)リアルタイム RT-PCR
・リアルタイム PCR 用容器をリアルタイム PCR 機器にセットし、測定を開始する。

精度管理のため、陽性コントロール、陰性コントロールを同時に測定してください。例えば、Twist Synthetic SARS-CoV-2 RNA Control1(MT007544.1) (Twist Bioscience 社, Code. 102019)を陽性コントロールとして、滅菌蒸留水を陰性コントロールとして用いることができます。陽性コントロールは例えば、上記 RNA を滅菌蒸留水で 2500 倍希釈したもの(400 コピー/μL)10μL、陰性コントロールは滅菌蒸留水 10μL を、2.(3)のマスターミックス 40μL と混合し、リアルタイム RT-PCR を実施します。陽性コントロールが陰性を示した場合、陰性コントロールが陽性を示した場合、再測定を行ってください。

[測定結果の判定法]
1.判定方法
使用したリアルタイム PCR 装置の添付文書及び取扱説明書に従い解析を実施し、Ct を算出します。算出された Ct 値を用いて、以下の判定方法に従って、陽性/陰性を判定します。判定無効の場合、再測定を行ってください。

N1(Cy5)	N2(ROX)	IC(FAM)	判定※
Ct≦40	Ct≦40	Ct≦40	陽性
Ct≦40	Ct≦40	Ct＞40、または検出されず	陽性
Ct≦40	Ct＞40、または検出されず	Ct≦40	陽性
Ct＞40、または検出されず	Ct≦40	Ct≦40	陽性
Ct＞40、または検出されず	Ct＞40、または検出されず	Ct≦40	陰性
上記以外			判定無効

※判定はリアルタイム PCR 装置上では表示されません

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、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、ウイルスのロスまたは RNA の分解が生じている検体を使用した場合
2)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
3)保存が適切に行われていない検体を使用した場合
(2)プライマーおよびプローブは、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、正常に検出できなくなる可能性があります。
(3)必ず増幅曲線の形状を確認してください。増幅曲線のベースラインの乱れを増幅曲線の立ち上がりと誤判定しないように注意してください。PCR 反応阻害等により増幅曲線の形状に異常が生じた場合、解析ソフトウェアのアルゴリズムが対応できないケースが稀に発生します。ソフトウェアの Auto 機能で適切な解析ができない場合には、ソフトウェアの手順書に従い Manual で解析パラメータの設定を行ってください。

[臨床的意義]
新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、 SARS コロナウイルス 2 (SARS-CoV-2)によって引き起こされるウイルス性呼吸器疾患です。本品は、リアルタイム RT-PCR 法により SARS-CoV-2 遺伝子を検出する体外診断用医薬品で、簡易抽出法の採用により RNA の精製をすることなく、SARS-CoV-2 遺伝子の検出が可能です。標準的な PCR 検査法に比べて検査時間が大幅に短縮されます。また、内部コントロールを同時検出するため PCR 阻害による偽陰性判定を防止することができ、 COVID-19 の診断の補助に有用と考えられます。

＜臨床性能試験成績＞

＊1.臨床性能試験（精製 RNA）

鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、唾液又は鼻腔ぬぐい液を含む 302 検体(陽性 150 例、陰性 152 例)から「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1（国立感染症研究所）」に従って RNA を抽出精製しました。精製した RNA を本品と「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1（国立感染症研究所）」に従った RT-PCR 法で測定しました。その結果、鼻咽頭ぬぐい液の陽性一致率は 100%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 100%、喀痰の陽性一致率は 83.3%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 93.2%、唾液の陽性一致率は 100%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 100%、鼻腔ぬぐい液の陽性一致率は 100%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 100%となりました。使用した検体は RNA 濃度が 20 コピー以下のもの 22 検体、21～200 コピーのもの 21 検体を含んでいます。なお、判定が異なった検体については、いずれもウイルス量の少ない陽性検体で、検体の品質、及び最小検出感度付近の測定による影響が考えられます。

＊表 1. 鼻咽頭ぬぐい液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（精製 RNA の測定時）

鼻咽頭ぬぐい液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	38	0
	陰性	0	49
陽性一致率		100% (38/38)	
陰性一致率		100% (49/49)	
全体一致率		100% (87/87)	

＊表 2. 喀痰 既存法(RT-PCR 法)との一致率（精製 RNA の測定時）

喀痰		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	15	0
	陰性	3	26
陽性一致率		83.3% (15/18)	
陰性一致率		100% (26/26)	
全体一致率		93.2% (41/44)	

＊表 3. 唾液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（精製 RNA の測定時）

唾液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	26	0
	陰性	0	27
陽性一致率		100% (26/26)	
陰性一致率		100% (27/27)	
全体一致率		100% (53/53)	

＊表 4. 鼻腔ぬぐい液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（精製 RNA の測定時）

鼻腔ぬぐい液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	68	0
	陰性	0	50
陽性一致率		100% (68/68)	
陰性一致率		100% (50/50)	
全体一致率		100% (118/118)	

＊2.臨床性能試験（前処理済み試料）

鼻咽頭ぬぐい液、喀痰、唾液又は鼻腔ぬぐい液を含む 304 検体(陽性 152 例、陰性 152 例)を本品の前処理液で処理し、測定を行いました。本測定と、「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1（国立感染症研究所）」に従った、RNA 精製及び RT-PCR 法による測定を比較しました。その結果、鼻咽頭ぬぐい液の陽性一致率は 100%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 100%、喀痰の陽性一致率は 83.3%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 93.2%、唾液の陽性一致率は 100%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 100%、鼻腔ぬぐい液の陽性一致率は 98.5%、陰性一致率は 100%、全体一致率は 99.2%となりました。使用した検体は RNA 濃度が 20 コピー以下のもの 24 検体、21～200 コピーのもの 21 検体を含んでいます。なお、判定が異なった検体については、いずれもウイルス量の少ない陽性検体で、検体の品質、及び LOD 付近の測定による影響が考えられます。

＊表 5. 鼻咽頭ぬぐい液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（前処理済み試料の測定時）

鼻咽頭ぬぐい液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	40	0
	陰性	0	49
陽性一致率		100% (40/40)	
陰性一致率		100% (49/49)	
全体一致率		100% (89/89)	

＊表 6. 喀痰 既存法(RT-PCR 法)との一致率（前処理済み試料の測定時）

喀痰		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	15	0
	陰性	3	26
陽性一致率		83.3% (15/18)	
陰性一致率		100% (26/26)	
全体一致率		93.2% (41/44)	

＊表 7. 唾液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（前処理済み試料の測定時）

唾液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	26	0
	陰性	0	27
陽性一致率		100% (26/26)	
陰性一致率		100% (27/27)	
全体一致率		100% (53/53)	

＊表 8. 鼻腔ぬぐい液 既存法(RT-PCR 法)との一致率（前処理済み試料の測定時）

鼻腔ぬぐい液		既存法(RT-PCR 法)	
		陽性	陰性
本品	陽性	67	0
	陰性	1	50
陽性一致率		98.5% (67/68)	
陰性一致率		100% (50/50)	
全体一致率		99.2% (117/118)	

［性能］

1.性能

(1)感度試験

自家管理陽性試料を測定したとき、陽性を示す。

(2)正確性試験

1)自家管理陰性試料を測定するとき、陰性を示す。

2)自家管理陽性試料を測定するとき、陽性を示す。

(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、すべて陰性を示す。

2)自家管理陽性試料を 4 回同時に測定するとき、すべて陽性を示す。

(4)最小検出感度（QuantStudio 5 Dx Real-Time PCR System 測定）

25 コピー/テスト

2.較正用基準物質

本品の較正用基準物質には SARS-CoV-2 RNA 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ご注意ください。

(3)前処理液にはタンパク質分解酵素が含まれており、吸入するとアレルギー、喘息または呼吸困難を起こすおそれがあります。十分、注意して取扱ってください。

(4)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。

(5)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。

(6)試薬が飛散した場合は、拭き取ってください。

(7)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)本品に含まれる試薬は必ず保管方法に従って保存してください。使用時

の蓋の開放は最小限にし、長時間室温に放置しないでください。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。
(2)Lot の異なる構成試薬は継ぎ足して使用しないでください。
(3)試薬の凍結融解は 10 回までとしてください。
(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)機器や器具類は、適切に点検・較正されたものを使用してください。

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)反応終了後の PCR 用容器は開封せずに廃棄してください。増幅産物による汚染を防ぐため、廃棄の際、オートクレーブは行わないでください。

[保管方法・有効期間]
保管方法　−35～−15℃
有効期間　18 ヶ月 （期限は外装に表示）

[包装単位]

商品名	構成試薬名（包装内容）
TRexGene® SARS-CoV-2 検出キット	前処理液 （660 μL×1 本）
	反応液 （1650 μL×2 本）
	酵素液 （550 μL×1 本）
	プライマー・プローブ液 （550 μL×1 本）

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