

LeaDEA VIASURE SARS-CoV-2 PCR キット

【重要な基本的注意】

1. 本製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、本製品による検査結果のみで行わず、厚生労働省の最新の症例定義を参照し、臨床症状も含め総合的に判断してください。
3. 検体採取及び取扱いの際には、感染の危険があるものとして注意して取扱い、必要なバイオハザード対策を実施してください。
4. 検査に用いる検体について、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しないでください。
2. 添付文書に記載された使用目的及び用法・用量に従って使用してください。添付文書に記載された以外の使用については保証いたしかねます。
3. 使用する機器の添付文書及び取扱説明書をよく読み、記載に従って使用してください。
4. 試薬及び消耗品は専用のものを使用してください。

【形状・構造等（キットの構成）】

名称	形状	色	数量
マスターミックス試薬 (SARS-CoV-2 reagent tubes)	凍結乾燥粉末状	白アルミシール	24本×2袋
再溶解液 (Rehydration Buffer tubes)	液体	青アルミシール	24本×2袋
抽出コントロール (IC) (Extraction Control)	凍結乾燥粉末状	銀アルミシール	24本×2袋
LeaDEA Base	—	—	50個×1袋
RNase/DNaseフリー水 (Water RNase/DNase free)	液体	白バイアル	2本
陽性コントロール (PC) (SARS-CoV-2 Positive Control)	凍結乾燥粉末状	赤バイアル	2本
陰性コントロール (NC) (Negative Control)	液体	紫バイアル	2本

【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】

【操作上の注意】、【臨床的意義】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】

本製品は蛍光標識プローブを組み合わせたリアルタイム RT-PCR試薬であり、プライマー及び蛍光標識プローブは、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の特定遺伝子領域（ORF1ab遺伝子、N遺伝子）を標的とした特異的な配列に設計されています。また、抽出コントロール（Extraction Control）は外因性インターナルコントロール（IC）として核酸抽出工程に自動で供与され、測定が正しく機能したことを確認します。

検体から抽出したRNAは逆転写酵素により相補的DNAを生成し、プライマー及びDNAポリメラーゼにより特定の標的遺伝子配列の増幅が起こります。この時、DNAポリメラーゼの5' エキソヌクレアーゼ活性により相補的DNA配列に結合したプローブを切断し、蛍光色素からクエンチャーを分離します。これにより、標的DNA量に比例する蛍光シグナルの増加が生じます。この蛍光強度の変化をリアルタイムPCR装置で測定します。

なお、本製品は定性検出キットであり、定量測定目的で開発されたものではありません。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

患者検体の採取・輸送・保管方法に関しては、「2019-nCoV（新型コロナウイルス）感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル」（国立感染症研究所ホームページ）最新版をご参照ください。

2. 交差反応性

最も一般的な呼吸器に感染が認められるウイルス及び細菌を測定したところ、交差反応は検出されませんでした。

ウイルス

Adenovirus Type 2, 3, 5, 15, 31
Bocavirus
Coronavirus 229E, OC43, NL63, MERS, SARS
Influenza A virus H1N1, H3N2, H5N8, H7N9
Influenza B virus
Respiratory Syncytial Virus A, B
Rhinovirus Type C

細菌

<i>Bordetella parapertussis</i>
<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i> MinnA
<i>Legionella bozemanii</i>
<i>Legionella dumoffii</i>
<i>Legionella micdadei</i>
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Pneumocystis jirovecii</i>
Type A1, g885652
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i> Z022
<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>

【用法・用量（操作方法）】

1. 必要な器具・器材・試薬等

- 1) リアルタイム PCR 装置：ジーンリード エイト (PSS 製 製品コード：A2710)
- 2) 核酸抽出試薬キット：MagDEA Dx SV (PSS製 製品コード：E1300)
- 3) geneLEAD VIII Consumable Set (PSS製 製品コード：F8900)
 - Tip cassette
 - Sample Tube
 - Elution Tube
- 4) geneLEAD VIII PCR Reaction Cassette Set (PSS製 製品コード：F8840)
- 5) ウイルス不活化バッファー：Prep Buffer A (PSS製 製品コード：F1400)
- 6) 卓上小型遠心機
- 7) ボルテックスミキサー
- 8) マイクロピペット（各容量）及びフィルター付きチップ

2. 試薬・コントロールおよび検体の準備

1) 試薬の準備

LeaDEA Baseのバーコード表示側を手前とし、前から抽出コントロール (IC) (銀)、再溶解液(青)、マスターミックス試薬(白)の順番でセットをします。

2) 陽性コントロール (PC) の準備

- ① PC (赤パイアル) にキット付属の RNase/DNase フリー水 (白パイアル) を 950 μL 添加し、ボルテックスミキサーで攪拌、完全に溶解してください。溶解が確認出来たら、軽くスピンドウンします。
- ② ①を Sample Tube 3 本に 300 μL ずつ分注してください。
すぐに使用しない場合は蓋をしっかりと閉め-20℃以下で凍結保存します。凍結した PC を用いる場合は、室温で融解後、スピンドウンしてください。
- ③ ②に Prep Buffer A を 100 μL 添加し、キャップを閉めスピンドウンします。

注：PCの調製は、試薬などを扱う場所とは別のエリアで行うことを推奨します。

注：凍結保存する際には、Lotと有効期限を必ず控えてください。測定時にこれらの情報の入力が必要となります。

注：PCの凍結融解は1回までとしてください。

3) 陰性コントロール (NC) の準備

- ① NC (紫パイアル) をボルテックスミキサーで攪拌し、スピンドウンします。
- ② Sample Tube に NC を 300 μL 分注し、Prep Buffer A を 100 μL 添加します。キャップを閉めてスピンドウンします。

4) 検体の準備

- ① Sample Tube に Prep Buffer A を 100 μL 分注し、検体を 300 μL 加えます。キャップをしっかりと閉め、ボルテックスミキサーで攪拌後、スピンドウンします。最後に室温で5分間静置してください。

注：静置後は速やかに測定してください。

注：誤判定を防ぐため、コンタミネーションには十分注意し行ってください。

3. 測定方法

ジーンリード エイトの取扱説明書に従って測定してください。

- 1) 測定条件および検体IDなどを入力し、ランオーダーを作成します。
- 2) 画面の指示に従い、試薬および消耗品をセットします。
- 3) 画面の指示に従い、検体、PCおよびNC の入ったSample Tube をセットします。
- 4) 装置のドアを閉じ、測定を開始します。

<PCRプロトコル>

ステップ	サイクル数	温度	時間
1	1	45 °C	15 分
2	1	95 °C	2 分
3	45	95 °C	10 秒
		60 °C	50 秒

* 【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定

検体の測定前に、PCおよびNCを測定し、結果が承認されている必要があります。各コントロールの結果が「Fail」であった場合、承認することができませんので再度測定してください。各コントロールの承認有効期限は7日間です。

検体の測定結果は、以下の判定表に従って判定されます。

<SARS-CoV-2判定表>

Ct値			判定
ORF1ab gene	N gene	IC	
≤ 40	≤ 40	≤ 40 > 40 または 非検出	Positive
≤ 40	> 40 または 非検出		Positive ^{※1}
> 40 または 非検出	≤ 40		
> 40 または 非検出	> 40 または 非検出	≤ 30	Negative
> 40 または 非検出	> 40 または 非検出	> 30 または 非検出	Invalid

※1 ORF1ab gene又はN geneの一方のみが検出された場合は、再検査を行うことを推奨します。

注：検体と同一ランで行ったPCまたはNC の結果が無効だった場合は、このラン全体が無効になるため、全ての検体の測定を再度行う必要があります。

注：増幅産物によるコンタミネーションを防ぐため、測定後にPCR Reaction Cassette のキャップを絶対に開けないでください。

2. 判定結果に係わる注意

測定結果に基づく臨床診断は、病歴・臨床症状及びその他の検査結果と併せて担当医師が総合的に判断してください。

測定結果は検体の質に左右されます。検体の不適切な採取、保管および輸送により結果が偽陰性となる恐れがあります。また、コンタミネーションにより結果が偽陽性となる場合があります。検体中の SARS-CoV-2 ウイルス量が本製品の最小検出感度以下の場合、結果が陰性となることがあります。偽陰性が疑われる場合は、適切な検体を再度採取し測定を行ってください。

* 【臨床的意義】

COVID-19は、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、2019年12月に中国湖北省武漢市で確認されて以降、世界的流行をもたらしています。国内においては2020年2月1日に指定感染症及び検疫感染症に指定されました。

本製品は、核酸抽出から増幅、PCR測定まで全自動化されたリアルタイムPCR装置「ジーンリード エイト」により測定を行うことができます。核酸抽出作業においては、手技が煩雑で時間を要し、精度に影響を与えます。「ジーンリード エイト」での核酸抽出は、独自の技術である「Magtration® Technology」により、高純度の核酸精製を実現します。また、全自動化により、サンプルセット後のクロスコンタミネーション及び検査技師の感染を防ぐことができます。

<臨床性能試験成績>

本製品の臨床性能評価として感染研法に基づくPCR 検査法との比較試験を行った結果は以下の通りです。

UTM保存鼻咽頭ぬぐい液由来の既知陽性検体38例および陰性検体139例を用いて実施したところ、陽性一致率 100%、陰性一致率 99.28%であり、感染研法と本製

品の測定結果に相関関係があることが示されました(表1)。

表1

UTM保存 鼻咽頭ぬぐい液		感染研法		合計
		陽性	陰性	
本製品	陽性	38	1※2	39
	陰性	0	138	138
合計		38	139	177

※2 感染研法で再検査を実施した結果、陽性であった。

唾液検体由来の既知陽性検体31例および陰性検体161例を用いて実施したところ、陽性一致率、陰性一致率ともに100%であり、感染研法と本製品の測定結果が一致することが示されました(表2)。

表2

唾液		感染研法		合計
		陽性	陰性	
本製品	陽性	31	0	31
	陰性	0	161	161
合計		31	161	192

鼻腔ぬぐい液検体由来の既知陽性検体20例および陰性検体40例を用いて実施したところ、陽性一致率、陰性一致率ともに100%であり、感染研法と本製品の測定結果が一致することが示されました(表3)。

表3

鼻腔ぬぐい液		感染研法		合計
		陽性	陰性	
本製品	陽性	20	0	20
	陰性	0	40	40
合計		20	40	60

*【性能】

1. 品質管理の方法および規格

<感度試験および正確性試験>

陰性コントロールはN=2以上、陽性コントロールはN=1、陽性管理検体はN=1で測定し、下記試験規格を満たしたものを合格としています。

- ① 陰性コントロールは、すべてNegativeと判定されること。
- ② 陽性コントロールは、Positiveと判定されること。
- ③ 陽性管理検体0.8コピー/μL及び8コピー/μLは、すべてPositiveと判定されること。

<同時再現性試験>

陽性臨床検体(ORF1ab 遺伝子およびN 遺伝子のどちらもCt 30以下、30<Ct<35、及びCt35以上で陽性と分かっている検体のいずれも含む4検体)を各々2回測定し、下記試験規格を満たしたものを合格としています。

すべての測定の判定結果がPositiveと判定されること。

<最小検出感度>

0.16コピー/μL(9.6コピー/テスト)

2. 校正用基準物質に関する情報

既知濃度のSARS-CoV-2 ORF1ab 遺伝子+N 遺伝子をクローニングしたプラスミドDNAを使用し確認しています。

*【使用上又は取扱い上の注意】

1. 取扱い(危険防止)上の注意

- 1)検体および本製品の取扱いに際しては、適切な個人用防護具(防護服、使い捨て手袋、ゴーグルおよびマスク等)を着用し、使用後は手をよく洗ってください。
- 2)試薬が誤って目や口、皮膚に付着した場合には、直ちに水で十分に洗い流すなど応急処置を行い、必要があれば医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

- 1)本製品は必ず貯蔵方法に従って保存し、有効期限が過ぎた試薬は使用しないでください。
- 2)異なるロットや他社の試薬を組み合わせ使用しないでください。
- 3)開封時に容器に破損があった場合や、アルミパウチに乾燥剤が入っていない場合は、使用しないでください。
- 4)凍結乾燥粉状試薬は吸湿しやすいため、アルミパウチから取り出した後は、速やかに使用してください。また、保存する際はアルミパウチに戻し、ジッパーをしっかりと閉めてください。
- 5)本製品は湿気の少ない場所に保存してください。長時間湿気にさらされると、製品の性能に影響を及ぼすことがあります。
- 6)ウイルスRNAの測定結果は、検体の採取方法や感染の進行度などの患者因子の影響を受ける場合があります。
- 7)本製品を取扱う際にはコンタミネーションに十分注意してください。汗や唾液に含まれるRNaseやDNaseが少量でも検体に混入しますと、RNAやDNAが分解され測定結果に誤りが生じる可能性があります。
- 8)Prep Buffer Aは、SARS-CoV-2において不活化の効果を確認済みですが、完全な不活化を保証するものではありません。

3. 廃棄上の注意

- 1)検体および本製品を取扱う際に使用した容器・器具類や試薬残液は、感染性があるものとみなし取扱い、処理してください。
- 2)飛沫や飛散が発生しないように注意してください。
- 3)検体に接触した容器、器具等は、3%次亜塩素酸ナトリウム溶液に30分以上浸漬するか、オートクレーブして廃棄してください。
- 4)残った試薬や廃棄物は、廃棄物の処理および清掃に関する法律に従って廃棄してください。

*【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法

2~30℃

注：湿気・日光を避け、暗所に保存してください。特に、凍結乾燥粉状の試薬は、乾燥剤とともにアルミパウチのジッパーをしっかりと閉めた状態で保存してください。

注：PCは、溶解後小分け分注し、-20℃以下で保存してください。

2. 有効期間

12ヶ月(有効期限は外箱に表示されています。)

【包装単位】

48テスト分(製品コード：E4011)

別売品

LeaDEA VIASURE SARS-CoV-2 Control キット 6テスト分(製品コード：E4012)

陽性コントロール(凍結乾燥粉状).....2本

陰性コントロール.....2本

RNase/DNaseフリー水.....2本

【主要文献】

- 1. Corman V.M. et al. 「Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR.」 European communicable disease bulletin 2020;25(3).
- 2. Chu D.K.W. et al. 「Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia.」 Clinical Chemistry 2020;66(4): 549-555.
- 3. Lv D.F. et al. 「Dynamic change process of target genes by RT-PCR testing of SARS-Cov-2 during the course of a Coronavirus Disease 2019 patient.」 Clinica Chimica Acta 2020; 506: 172-175.
- 4. 東條百合子,小幡公道「磁性粒子を用いた小型自動核酸抽出装置」 Medical Science Digest, Vo.28(5), 48-51, 2002
- 5. K.Obata, O.Segawa, M.Yakabe, Y.Ishida, T.Kuroita, K.Ikeda, B.Kawakami,

Y.Kawamura, M.Yohda, T.Matsunaga, and H.Tajima 「Development of a Novel Method for Operation Magnetic Particles, Magtration Technology, and Its Use for Automating Nucleic Acid Purification 」 Jornal of Bioscience and Bioengineering, Vol.91, No.5, 500-503, 2001

* **【承認条件】**

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】

プレシジョン・システム・サイエンス株式会社

〒271-0064 千葉県松戸市上本郷88番地

電話番号：047-303-4801

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所等】

製造販売元：プレシジョン・システム・サイエンス株式会社

〒271-0064 千葉県松戸市上本郷88番地

【製造元】

CERTEST BIOTEC S.L.

Pol. Industrial Río Gállego II Calle J, Nº1 50840, San Mateo de Gállego Zaragoza,
Spain