

この添付文書をよく読んでから使用してください。
また、必要時に読めるように保管しておいてください。

体外診断用医薬品

** 2022年 3月改訂(第7版)

* 2021年 2月改訂(第6版)

製造販売承認番号:30200EZ00020000

SARS コロナウイルス核酸キッド コバス® SARS-CoV-2

【重要な基本的注意】

1. 本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してください。
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。記載された使用目的及び用法・用量以外での使用については、測定結果の信頼性を保証しかねます。
3. 下気道由来検体(喀痰もしくは肺胞洗浄液)に対する分析性能を担保する試験成績は取得していません。
4. 唾液に対する試験成績は限られたものであり、分析性能を担保する目的の検証はされていません。
5. 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。また、試薬ごとに設定された反応時間及び温度などは厳守してください。
6. 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
7. キットの試薬を取り扱う際には保護眼鏡、実験着及び使い捨てゴム手袋を着用し、試薬が皮膚、目、粘膜などに触れないように注意してください。もし、このようなことが起きた場合は、大量の水でじゅうぶんに洗い流し、必要に応じて医師の診察を受けてください。

【形状・構造等(キットの構成)】

コバス SARS-CoV-2	480 テスト用 1カセット
1. プロテアーゼ試液 [PASE]	1 × 38 mL
2. 内部コントロール [RNA-IC]	1 × 38 mL
3. 溶出試液 [EB]	1 × 38 mL
4. マスターミックス 1 [MMX-R1]	1 × 14.5 mL
5. マスターミックス 2 [SARS-CoV-2 MMX-R2]	1 × 17.5 mL
プライマー-NCOV-1F.A	
プライマー-NCOV-1R.A	
プライマー-SARBV-1F.2.A	
プライマー-SARBV-1R.A	
2'-デオキシアデニン-5'-三リン酸(dATP)	
2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸(dCTP)	
2'-デオキシグアノシン-5'-三リン酸(dGTP)	
2'-デオキシウリジン-5'-三リン酸(dUTP)	
プローブ WUHAN-4P.P	
プローブ SARBV-P1.6Q.P	
Z05-D DNA ポリメラーゼ	

【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】、【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】

**1. 本キットの測定は以下の3つのステップからなります。試料の調製から増幅及び測定までは「コバス 5800 システム」、「コバス 6800 システム」又は「コバス 8800 システム」が自動で行います。

(1) 試料の調製

コバス OMNI 検体希釈液を加えた検体又はコントロールにプロテアーゼ試液(PASE)、内部コントロール RNA(IC RNA)を含む内部コントロール(RNA-IC)、コバス OMNI MGP 試薬及びコバス OMNI ライシス試薬を添加してインキュベーションします。これによりウイルスが溶解し、検体中の核酸は磁性粒子に吸着します。核酸が吸着した磁性粒子は、磁石により捕らえられて固定され、溶解したウイルスのたん白などの不要な成分は洗浄により除去されます(B/F 分離)。これに溶出試液を加えて核酸を遊離させ試料とし、マスターミックス 1 とマスターミックス 2 を加えて逆転写反応、増幅及び測定を行います。

(2) 逆転写反応による標的 RNA から逆転写 DNA の合成

Mn²⁺の存在下、逆転写活性と DNA ポリメラーゼ活性を併せ持つ耐熱性 Z05-D DNA ポリメラーゼにより逆転写反応を行い、Target1 (SARS-CoV-2 特異的

RNA、Target2(サルベコウイルス亜属共通)RNA 及び IC RNA に相補的な逆転写 DNA(cDNA)が合成されます。

(3) 増幅及び測定

リアルタイム PCR(Polymerase Chain Reaction)法^{1,2)}を応用し、(2)に引き続き、自動で行います。測定には蛍光色素(レポーター)及び消光物質(クエンチャー)で標識した Target1 RNA、Target2 RNA 及び IC RNA 用 DNA プローブを用います。このプローブの蛍光色素は、レポーターとクエンチャーが近くに存在する場合は、クエンチャーにより蛍光が消光され強い蛍光を発することはありませんが、レポーターとクエンチャーが切り離された場合は、レポーターが遊離するために強い蛍光を発するようになります。(2)で合成された cDNA を高温で 1 本鎖に変性させます(2 サイクル目以後は、増幅した 2 本鎖 DNA を同様に高温で 1 本鎖に変性させます)。温度を下げると Target1 RNA、Target2 RNA 及び IC RNA 用 DNA プローブが標的配列とハイブリダイズします。

また、プライマーが標的配列の 3' 末端側へアニールし、Mn²⁺及びデオキシヌクレオチド三リン酸(dNTP)存在下、耐熱性 Z05-D DNA ポリメラーゼの働きにより標的配列に相補的な DNA 鎖が伸長されます。DNA 鎖の伸長と同時に既に標的配列とハイブリダイズしている Target1 RNA、Target2 RNA 及び IC RNA 用 DNA プローブは Z05-D DNA ポリメラーゼの 5'→3' エキソヌクレアーゼ活性により分解され蛍光を発します。この蛍光強度を Target1 RNA、Target2 RNA 及び IC RNA 用蛍光色素それぞれに固有の異なる波長で測定します。この「熱変性」、「DNA プローブと標的配列のハイブリダイズ」、「プライマーのアニール」、「耐熱性 Z05-D DNA ポリメラーゼによる相補鎖の伸長と DNA プローブの分解による蛍光発光」、「蛍光強度の測定」を所定のサイクルで連続的に繰り返し、各サイクルの PCR 産物をリアルタイムにモニターしながら増幅曲線を作成します。作成した増幅曲線より蛍光強度が一定量以上となるサイクル数を求め、Ct 値(Cycle-to-threshold value)とします Target1 及び Target2 について、Ct 値が求められた場合をそれぞれ陽性、求められなかった場合をそれぞれ陰性としします。

2. キャリーオーバーコンタミネーションの防止

本キットでは、以下の方法により増幅された DNA 産物のキャリーオーバーコンタミネーションによる誤測定を最小限に抑制しています。DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて増幅反応を行うため、増幅された DNA の塩基配列はチミン(T)がウラシル(U)に全て置き換わっています。また、この系で増幅された DNA が新たに試験する試料中へ混入した場合、マスターミックスに含まれているウラシル N-グリコシルラーゼ(UNG)が作用し DNA 中の U 塩基は除去されます。塩基を失った DNA は構造上極めて不安定な分子であり、増幅反応の最初の加熱により核酸結合が切断され、新たな増幅の鋳型とはなり得ません。UNG は高温で失活するため、それ以後に増幅されてくる U 塩基を含む増幅 DNA は影響を受けません。また、UNG は 6 塩基以上の DNA 上のウラシルのみに反応し、モノマーの dUTP や RNA 上のウラシルには作用しません³⁾。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質、採取法

検体の採取には、コバン UTM (別売)、BD UVT (別売)、コバス PCR メディアキット (別売)、もしくは 0.9%生理食塩水(別売)などを用いることができます。その他、検体の採取/輸送方法、保存方法、前処理は、国立感染症研究所の「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」、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」及び採取用キットの添付文書を参照してください。

2. 交差反応性

(1) NCBI 及び GISAID データベースからダウンロードした各微生物の遺伝子配列に対し、本品のプライマー4 種をそれぞれマッピングする *in silico* 解析により交差反応の可能性を検討しました。いずれか 2 つのプライマーが、短い距離を隔て相対する鎖上の塩基配列にマッピングされた場合を増幅の可能性があるとしましたが、この *in silico* 解析においては潜在的な意図しない交差反応は認められませんでした。

Strain	Target1(SARS-CoV-2)に対する%Identity	Target2(サルベコウイルス)に対する%Identity
Human coronavirus 229E	74.47	No alignment was found ^{**}
Human coronavirus OC43	72.26	No alignment was found ^{**}
Human coronavirus HKU1	76.52	No alignment was found ^{**}
Human coronavirus NL63	71.32	No alignment was found ^{**}
SARS coronavirus	95.04	100
MERS coronavirus	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Adenovirus B (Type 34)	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Human Metapneumovirus (hMPV)	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Parainfluenza virus Type 1	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Parainfluenza virus Type 2	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Parainfluenza virus Type 3	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Parainfluenza virus Type 4	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Influenza A (H1N1)	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Influenza B	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Enterovirus E (Type 1)	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Respiratory syncytial virus	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Rhinovirus	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Chlamydia pneumoniae	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Haemophilus influenzae	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Legionella pneumophila	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
MTB <i>Mycobacterium bovis subsp. Bovis</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Streptococcus pneumoniae	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Streptococcus pyogenes	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Bordetella pertussis	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}

Strain	Target1(SARS-CoV-2)に対する%Identity	Target2(サルベコウイルス)に対する%Identity
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Influenza C	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
Parechovirus	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Candida albicans</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Legionella non-pneumophila</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Bacillus anthracis (Anthrax)</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Moraxella catarrhalis</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Neisseria elongate and meningitidis</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Staphylococcus salivarius</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Leptospira</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Chlamydia psittaci</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Coxiella burnetii (Q-Fever)</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}
<i>Staphylococcus aureus</i>	No alignment was found ^{**}	No alignment was found ^{**}

※ 非常に穏やかな検索条件(カットオフ:50%および100bp)において、アンブリコンの配列との相同性をブラスト検索したところ、類似した配列はなく、交差反応の可能性は認められませんでした。

- (2) 25種の微生物及び鼻腔洗浄液について下表の濃度まで検討した結果、いずれも偽陽性の結果は得られず、交差反応は認められませんでした。

微生物の名称	濃度	測定結果	
		Target1 (SARS-CoV-2)	Target2 (サルベコウイルス)
Human coronavirus 229E	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Human coronavirus OC43	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Human coronavirus HKU1	1.0E+05 cp/mL	陰性	陰性
Human coronavirus NL63	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
MERS coronavirus	1.0E+05 genomic equivalent/mL	陰性	陰性
SARS coronavirus	1.0E+05 PFU/mL	陰性	陽性
Adenovirus B (Type 34)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Human Metapneumovirus (hMPV)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Parainfluenza virus Type 1	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Parainfluenza virus Type 2	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Parainfluenza virus Type 3	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Parainfluenza virus Type 4	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Influenza A (H1N1)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Influenza B	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Enterovirus E (Type 1)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
Respiratory syncytial virus	1.0E+05 PFU/mL	陰性	陰性
Rhinovirus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	1.0E+06 TCID ₅₀ /mL	陰性	陰性
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
<i>Legionella pneumophila</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	1.0E+06 cells/mL	陰性	陰性
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
<i>Bordetella pertussis</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.0E+06 CFU/mL	陰性	陰性
Pooled human nasal wash	5~50%	陰性	陰性

3. 検体種による測定結果の比較

鼻咽頭拭い液と咽頭拭い液の陰性臨床検体ペア(プールされていない個々の検体)を用意し、米国の患者から分離された培養ウイルス(USA-WA1/2020, catalog number NR-52281, lot number 70033175, 2.8E+05 TCID₅₀/mL)¹⁰を添加することで、低濃度域陽性(約 1.5×LoD)、中濃度域陽性(約 4×LoD)検体を作製し、ウイルスを添加していない陰性検体と合わせて測定しました。どちらの拭い液でも陽性検体はすべて陽性、陰性検体はすべて陰性の結果が得られました。

検体種	濃度	検体数	陽性率(%)	
			Target1 (SARS-CoV-2)	Target2 (サルベコウイルス)
鼻咽頭	~1.5 x LoD	21	100	100
咽頭			100	100
鼻咽頭	~4 x LoD	11	100	100
咽頭			100	100
鼻咽頭	陰性	11	0	0
咽頭			0	0

4. 採取容器による測定結果の比較

コパン UTM と 0.9%生理食塩水に採取した鼻腔拭い液の陰性臨床検体ペア(プールされていない個々の検体)を用意し、米国の患者から分離された培養ウイルス(USA-WA1/2020, catalog number NR-52281, lot number 70033175, 2.8E+05 TCID₅₀/mL)¹⁰を添加することで、低濃度域陽性(約 1.5×LoD)、中濃度域陽性(約 4×LoD)検体を作製し、ウイルスを添加していない陰性検体と合わせて測定しました。UTM、0.9%生理食塩水ともに陽性検体はすべて陽性、陰性検体はすべて陰性の結果が得られました。

採取容器	濃度	検体数	陽性率(%)	
			Target1 (SARS-CoV-2)	Target2 (サルベコウイルス)
UTM (Flocked Swab)	~1.5 x LoD	17	100	100
UTM (Woven Swab)		16	100	100
0.9%生食 (Woven Swab)		17	100	100
UTM (Flocked Swab)	~4 x LoD	11	100	100
UTM (Woven Swab)			100	100
0.9%生食 (Woven Swab)			100	100
UTM (Flocked Swab)	陰性	45	0	0
UTM (Woven Swab)			0	0
0.9%生食 (Woven Swab)			0	0

5. コンタミネーションに関して

本キットではマスターミックス 2 にウラシル N-グリコシラーゼ(UNG)が添加されており、また、Taq DNA ポリメラーゼによる DNA 合成に必要な基質の一つである dTTP の代わりに dUTP を用いて PCR を行います。したがって、本キットにて増幅された DNA のキャリアオーバーコンタミネーションによる偽陽性を防止することはできますが、検体間で発生するクロスコンタミネーションを防止することはできません。クロスコンタミネーションは、主に検体を扱ったピペットなどで発生するエアロゾルやピペット本体の汚染が原因となりますので、検査区域の分割やピペットの専用化及び二次塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm, 0.5%)による器具、実験台の清掃を徹底することで、クロスコンタミネーションを最小限に防止することができます。したがって、本キットの測定に当たっては次の事項を徹底するようにしてください。

- 検体をサンプルチューブに分注する際は、安全キャビネットを利用するなどバイオセーフティー/バイオハザードに準拠した環境で実施してください。専用のピペットとチップなどを用意し、ほかの場所との共用は避けてください。ここで使用する器具や保護衣をほかの場所に持ち込まないでください。また、分注時には、すべて静かに操作してエアロゾルの発生をできる限り防止してください。
- 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる RNase や DNase が少量でも検体に混入すると、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。
- 実験台及び使用器具などが検体や増幅 DNA で汚染された場合は、用時調製した次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm, 0.5%)でよく拭き取るか、紫外線照射をじゅうぶん行ってください。なお、ピペットなどの内部が汚染されたと判断された場合は、直ちにその使用を中止して新しい器具に交換してください。

以上の事項に従っても、クロスコンタミネーションが起こる可能性がありますので、結果の判定にはじゅうぶん注意してください。

6. その他留意事項

試料中に PCR の妨害物質が存在すると正しい判定結果が得られないので注意してください。また、試料中に標的 RNA が存在しても最小検出感度以下である場合には Negative(陰性)と判定されることがありますので注意してください。

【用法・用量(操作方法)】

1. 試液の調製方法及び安定性

すべての試薬はそのまま用います。

2. 別途必要な器具・器材・試料等

**コバス 5800 システム、コバス 6800 システム及びコバス 8800 システム共通

- コバス SARS-CoV-2 コントロールキット^{**1}
- コバス 6800/8800 システム バッファ陰性コントロールキット^{**1}
- コバス OMNI 廃液タンク^{**2}
- コバス OMNI バイオハザードバッグ^{**2}
- コバス OMNI ライス試薬^{**1}
- コバス OMNI MGP 試薬^{**1}
- コバス OMNI 検体希釈液^{**1}
- コバス OMNI 洗浄試薬^{**1}
- サンプルチューブ
- 安全キャビネット(陰圧)
- ゴム手袋(パウダーフリー)
- コバス PCR メディアキット^{**2}、コパン UTM(コバンジャパン株式会社)又は BD UVT(日本ベクトン ディッキンソン株式会社)、0.9%生理食塩水など

**コバス 5800 システムに用いる器具・器材

- コバス OMNI P プレート 24^{**2}
- コバス OMNI A プレート 24^{**2}
- CORE チップ 300µL^{**2}
- CORE チップ 1000µL^{**2}
- コバス 5800 システム
- コバス 5800 システムソフトウェア
- データマネージャー
- 検体架設用ラック(用途に応じてコバス 5800 システム 5-ポジションラックキャリア、コバス 5800 システム 16-ポジションサンプルラックキャリア、コバス 5800 システム Cell Collection Media キャリアを用いる)

**コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムに用いる器具・器材

- コバス OMNI P プレート^{**2}
- コバス OMNI A プレート^{**2}
- コバス OMNI ピペットチップ^{**2}
- コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム
- コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムソフトウェア

- (6) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム IG サーバー
 - (7) 検体架設用ラック(MPA ラック)
 - (8) コラブシブルトレイ
 - ※1 別売りの専用試液を使用してください。
 - ※2 別売りの専用消耗品を使用してください。
- 検体分注専用として下記を用意してください(安全キャビネット内で使用します)。
- (1) 試験管ミキサー
 - (2) マイクロピペット(1,000 μL)及びチップ
(チップは疎水性フィルター付きで、1,000 μL 用)
 - (3) ゴム手袋(パウダーフリー)

3. 操作方法

測定に必要な検体量は 600 μL(デッドボリウム 200 μL+検体使用量 400 μL)又は 1mL(デッドボリウム 600 μL+検体使用量 400 μL)です。1 測定につきコントロールとして SARS-CoV-2 コントロール[SARS-COV-2 (+)C]、内部[RNA-IC]及びバッファ陰性コントロール[BUF(-)C]を測定し、精度管理を行います。

*コバス 5800 システム

(1) 試料の準備

チューブの種類によって必要検体量が異なります。使用するチューブに応じてソフトウェア上での選択を行ってください。

チューブの種類	必要検体量	ソフトウェア上での選択
コバス omni セカンダリーチューブ(13mm 径)	600 μL	Swab
16mm 径サンプルチューブ	1mL	cobas® PCR media swab

(2) コバス 5800 システムの準備

- ① 装置右側面スイッチを押し本体の電源を入れます。
- ② ユーザーインターフェースにログインします。
- ③ 必要に応じ保守点検を実施します。

(3) 試薬のロード(セット)

- ① コバス SARS-CoV-2 を試薬カセットドローにロードします。また、必要に応じてコバス SARS-CoV-2 コントロールキット、コバス 6800/8800 システム バッファ陰性コントロールキットをコントロールミニラックドローにロードします。
- ② コバス OMNI MGP 試薬を MGP カセットドローにロードします。
- ③ コバス OMNI ライシス試薬、コバス OMNI 検体希釈液、コバス OMNI 洗浄試薬をバルク試薬ドローにロードします。

(4) 消耗品のロード(セット)

- ① CORE チップ 300 μL を E チップトレイドローに、CORE チップ 1000 μL を P チップトレイドローにそれぞれロードします。
- ② コバス OMNI P プレート 24 を P プレイトドローに、コバス OMNI A プレート 24 を A プレイトドローにロードします。
- ③ コバス 廃棄プレート 24 を廃棄プレートドローにロードします。

(5) 試料のオーダー(登録)とロード(セット)

測定パラメーターは画面表示から適切なものを選択します。オーダーする方法は、装置ソフトウェアでのマニュアルオーダーとオンラインによるオーダーの二通りあります。オンラインによるオーダーは上位の検査システムからオーダーを受け取る方法です。

- ① 検体架設用のラックにバーコードが付与された検体チューブをのせ、サンプルローディングエリアへロードします。
サンプルチューブに関してはコバス 5800 システムの取扱説明書を参照して下さい。
- ② マニュアルオーダー、又はオンラインによるオーダーにより各検体のテストオーダーが作成されます。
- ③ テストオーダーは同時に測定をする最大 24 テスト(外部コントロールを含む)の組みであるバッチでスケジューリングされます。

(6) コバス 5800 システムによる測定開始

装置操作画面にてバッチが作成されたことを確認し、スタートボタンをクリックして測定を開始します。

(7) 測定の終了

測定が終了したら、結果を確認します。オンラインによるオーダーをしている場合は、上位の検査システムへ送信します。検体チューブを取り出し、固形廃棄物、廃液の廃棄を行います。

コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム

(1) 試料の準備

チューブの種類によって必要検体量が異なります。使用するチューブに応じてソフトウェア上での選択を行ってください。

チューブの種類	必要検体量	ソフトウェア上での選択
コバス omni セカンダリーチューブ(13mm 径)	600 μL	Swab
16mm 径サンプルチューブ	1mL	cobas® PCR media swab

(2) コバス 6800 システム、コバス 8800 システムの準備

- ① タッチスクリーン下部の主電源を押します。
- ② サンプルサブライモジュールの電源を ON にします。
- ③ ユーザーインターフェースにログインします。
- ④ 必要に応じ保守点検を実施します。
- ⑤ ユーザーインターフェース上のスタートボタンをクリックします。

(3) 試薬のロード(セット)

- ① コバス SARS-CoV-2、コバス SARS-CoV-2 コントロールキット、コバス 6800/8800 システム バッファ陰性コントロールキットをトランスファーモジュールのドローから内蔵の冷蔵庫にロードします。
- ② コバス OMNI MGP 試薬をプロセスモジュールのドロー内のマガジンにロードします。
- ③ コバス OMNI ライシス試薬、コバス OMNI 検体希釈液、コバス OMNI 洗浄試薬をプロセスモジュールのバルク試薬ドロー及び洗浄試薬ドローへロードします。

(4) 消耗品のロード(セット)

- ① コバス OMNI ピペットチップをトランスファーモジュールのドロー内のマガジンへロードします。
- ② コバス OMNI P プレート、コバス OMNI A プレートをプロセスモジュールのドロー内のマガジンにロードします。

(5) 試料のオーダー(登録)とロード(セット)

測定パラメーターは画面表示から適切なものを選択します。オーダーする方法は、ラックベースオーダーとオンラインによるオーダーの二とおりあります。ラックベースオーダーはラック ID に対しあらかじめ検査項目を指定する方法で、ソフトウェア上で設定できます。オンラインによるオーダーは上位の検査システムからオーダーを受け取る方法です。

- ① MPA ラックにバーコードが付与された検体チューブをのせ、ラックレイコラブシブル(MPA ラックが最大 15 本搭載可能)に MPA ラックを載せて、サンプルサブライモジュールへロードします。サンプルチューブに関してはコバス 6800 システム、コバス 8800 システムの取扱説明書を参照して下さい。
- ② ラックベースオーダー、またはオンラインによるオーダーにより各検体のテストオーダーが作成されます。
- ③ テストオーダーは同時に測定をする最大 96 テスト(外部コントロールを含む)の組みであるバッチに割り当てられます。

(6) コバス 6800 システム、コバス 8800 システムによる測定開始

バッチ内のテストオーダー数が 96 に到達した場合、機器は自動で測定を開始します。96 に満たない場合は、ソフトウェア上のマニュアルスタートボタンをクリックして測定を開始します。

(7) 測定の終了

測定が終了したら、結果を印刷、またはオンラインで上位の検査システムへ送信します。検体チューブを取り出し、固形廃棄物、廃液の廃棄を行います。

各機器の操作の詳細については、各機器の取扱説明書を参照してください。操作の概略は最終ページの図を参照してください。

【測定結果の判定法】

1. 測定結果の判定

**「コバス 5800 システム」、「コバス 6800 システム」又は「コバス 8800 システム」では検体及びコントロールの測定結果判定を自動で行います。

機器における表示例及び測定結果の解釈については下表を参照してください。

測定結果の解釈

Target1 (SARS-CoV-2)	Target2 (サルベコウイルス)	解釈
Positive	Positive	すべての結果は妥当です。 SARS-CoV-2 RNA が検出されました。
Positive	Negative	すべての結果は妥当です。 SARS-CoV-2 RNA が検出されました。 検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、Target2 の標的領域における突然変異、又はその他の因子を示唆しています。
Negative	Positive	すべての結果は妥当です。 SARS-CoV-2 RNA の結果は推定陽性です。 検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、オリゴ結合部位における Target1 の標的領域における突然変異、又は何らかのサルベコウイルスによる感染、又はその他の因子を示唆しています。 推定陽性の結果となった場合は、SARS-CoV-1、SARS-CoV-2 又はヒトへの感染が確認されていないサルベコウイルスとの鑑別が必要な場合は、追加の確認試験の実施を推奨します。
Negative	Negative	すべての結果は妥当です。 SARS-CoV-2 RNA が検出されませんでした。
Positive	Invalid	すべての結果は妥当というわけではありません。 SARS-CoV-2 RNA が検出されました。
Invalid	Positive	すべての結果は妥当というわけではありません。 SARS-CoV-2 RNA の結果は推定陽性です。 推定陽性の結果となった場合は、SARS-CoV-1、SARS-CoV-2 又はヒトへの感染が確認されていないサルベコウイルスとの鑑別が必要な場合は、追加の確認試験の実施を推奨します。
Negative	Invalid	すべての結果は妥当というわけではありません。 再検査を実施してください。 それでも、結果が無効“Invalid”な場合は、新たに検体を手入してください。
Invalid	Negative	すべての結果は妥当というわけではありません。 再検査を実施してください。 それでも、結果が無効“Invalid”な場合は、新たに検体を手入してください。
Invalid	Invalid	すべての結果は無効です。 再検査を実施してください。 それでも、結果が無効“Invalid”な場合は、新たに検体を手入してください。

2. 結果の判定にかかる注意

- (1) 以下の検体を測定した場合、誤判定となることがありますので注意してください。
 - ① 弊社指定の検体採取キット以外を用いた検体
 - ② 各検体採取キット推奨の保管期間を過ぎた、または条件を逸脱した検体
 - ③ 凍結と融解を 1 回より多く繰り返した検体
 - ④ SARS-CoV-2 RNA のコンタミネーションを受けた検体
 上記のような検体の場合は、適切な検体を再度採取し測定を行ってください。RNA 抽出操作及び測定操作が不適切であると判断された場合は、再度測定してください。
- (2) SARS-CoV-2 感染後、ある程度以上の SARS-CoV-2 濃度となるまで検出することができない場合があります。また、本キットのプライマーやプローブの塩基配列と試料中の SARS-CoV-2 RNA の塩基配列との相違が大きくなると、測定値が低くなるか測定できない可能性もありますので、判定にはじゅうぶん注意してください。そのほかの原因でも“検出せず”となる可能性がありますので、本キットで“検出せず”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。測定結果に基づく臨床診断は、臨床症状やほか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。
- (3) 反応の阻害などにより PCR における増幅効率が低下した場合、増幅曲線に対しソフトウェアの解析アルゴリズムが対応できないケースが稀に発生することがありますので、注意してください。

【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、2019 年 12 月に中国湖北省武漢市で確認されて以降、パンデミック (世界的大流行) をもたらしています。国内では 2020 年 2 月 1 日に指定感染症及び検疫感染症に指定され、感染拡大防止の対策強化が進んでいますが、とりわけ早期診断を目的とした検査ニーズは日々増大しており、検査体制の拡充は急務とされています。本品は、全自動化された工程と高い検査処理能力を有し、リアルタイム PCR 法により SARS-CoV-2 を検出する体外診断用医薬品です。SARS-CoV-2 に特異的な遺伝子領域に加え、SARS-CoV-2 を含むサルベコウイルス亜属に共通の保存領域を標的部位として設計され、SARS-CoV-2 遺伝子配列に対する高い特異性を有しています。本品を用いた臨床性能試験では、公定法である国立感染症研究所 (以下、感研) の検査法に対して 100% の一致率を示し、SARS-CoV-2 感染の診断補助に有用であることが示されました。

臨床性能試験成績

1. 感研臨床検査パネルを用いた評価

感研より配布された陽性、陰性検体を含む「臨床検体パネル」を用いて、本品と感研の検査結果を比較したところ、全体一致率 100% と完全に一致しました。

		感染研法		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	10	0	10
	陰性	0	15	15
計		10	15	25

陽性一致率 100% (10/10)

陰性一致率 100% (15/15)

全体一致率 100% (25/25)

2. 臨床検体を用いた評価

COVID-19 と診断された患者 10 症例を含む臨床検体を用いて、本品と感染研法 (「病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1」に記載の検出法) の結果を比較しました。

鼻咽頭拭い液における本品と感染研法の比較 (試験 1)

COVID-19 と診断された患者 10 症例から経時的に 5 回又は 6 回採取した 57 検体とインフルエンザ様疾患患者 50 症例から採取した 50 検体の計 107 検体を対象に、本品と感染研法の結果を比較したところ、下表の結果が得られました。

		感染研法		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	40	8 ^{※3}	48
	陰性	0	59	59
計		40	67	107

陽性一致率 100% (40/40)

陰性一致率 88.1% (59/67)

全体一致率 92.5% (99/107)

※3 乖離 8 検体は感染研法の Ct 値や同時に採取した鼻腔拭い液、唾液での結果、前後の採取日の結果などから、全て陽性であることが示唆されています。

検体種の比較 (試験 2)

COVID-19 と診断された患者 10 症例の初回採取 10 検体を対象に、本品 (鼻咽頭拭い液・鼻腔拭い液・唾液) と感染研法 (鼻咽頭拭い液) の結果を比較したところ、下表の結果が得られました。

	本品	感染研法 鼻咽頭拭い液		一致率
		陽性	陰性	
鼻咽頭拭い液	陽性	10	0	陽性一致率 100%
	陰性	0	0	全体一致率 100%
鼻腔拭い液	陽性	10	0	陽性一致率 100%
	陰性	0	0	全体一致率 100%
唾液 (UTM)	陽性	6	0	陽性一致率 60.0%
	陰性	4	0	全体一致率 60.0%
唾液 (CPM ^{※4})	陽性	8	0	陽性一致率 80.0%
	陰性	2	0	全体一致率 80.0%
計		10	0	

※4 コバス PCR メディアキット

< 参考 >

米国において、上気道感染症の兆候及び症状のある患者から前向きに収集した鼻咽頭スワブの陰性検体に、培養ウイルス (USA-WA1/2020, catalog number NR-52281, lot number 70033175, 2.8E+05 TCID₅₀/mL) を添加することで低濃度域陽性 (約 1.5×LoD) 25 検体、中濃度域陽性 (約 4×LoD) 25 検体を作製し、陰性 100 検体とあわせて本品で測定しました。期待される結果と本品の結果を比較し、陽性・陰性一致率を算出したところ、陽性一致率: 50/50 = 100% (95% CI: 92.9% - 100%)、陰性一致率: 100/100 = 100% (95% CI: 96.3% - 100%) でした。

【性能】

最小検出感度 (LoD)

米国の患者から分離された培養ウイルス (USA-WA1/2020, catalog number NR-52281, lot number 70033175, 2.8E+05 TCID₅₀/mL) を疑似臨床マトリックスで 3 倍に連続段階希釈することにより、7 濃度の試料からなるパネルを作成しました。パネルの各試料を 21 重測定し、同時にウイルスを添加していない疑似臨床マトリックス (ブランク) を 10 重測定しました。Hit rate (陽性検出数 / 有効測定数 × 100%) が 95% 以上となる最小検出感度 (感染価) は、Target1 (SARS-CoV-2) で 0.009 TCID₅₀/mL、Target2 (サルベコウイルス) で 0.003 TCID₅₀/mL でした。Probit 解析から算出された Hit rate 95% となる最小検出感度 (感染価) は、Target1 で 0.007 TCID₅₀/mL、Target2 で 0.004 TCID₅₀/mL でした。

Strain	[TCID ₅₀ /mL]	有効測定数	Hit rate (%)	
			Target1	Target2
USA-WA1/2020 (stock concentration 2.8E+05 TCID ₅₀ /mL)	0.084	21	100	100
	0.028	21	100	100
	0.009	21	100	100
	0.003	21	38.1	100
	0.001	21	0	52.4
	0.0003	21	0	14.3
	0.0001	21	0	9.5
0 (ブランク)		10	0	0

Strain	Probit 解析から算出された Hit rate 95% となる最小検出感度	
USA-WA1/2020 (stock concentration 2.8E+05 TCID ₅₀ /mL)	Target1	Target2
	0.007 (95% CI: 0.005 - 0.036)	0.004 (95% CI: 0.002 - 0.009)

SARS-CoV-2 ゲノムの標的配列を含む組換えシンドビスウイルス粒子 (AccuPlex™ SARS-CoV-2 Reference material Kit, material number 0505-0126, lot number 105324, 5.0E+03 copies/mL based on digital PCR) を疑似臨床マトリックスで 3 倍 (一部 2 倍) に連続段階希釈することにより、10 濃度の試料からなるパネルを作成しました。パネルの各試料を多重測定し、同時にウイルスを添加していない疑似臨床マトリックス (ブランク) を 8 重測定しました。

Hit rate (陽性検出数 / 有効測定数 × 100%) が 95% 以上となる最小検出感度は、Target1 (SARS-CoV-2)、Target2 (サルベコウイルス) とともに 46 copies/mL でした。Probit 解析から算出された Hit rate 95% となる最小検出感度は、Target1 で 25 copies/mL、Target2 で 32 copies/mL でした。

Stock Material	[copies/mL]	測定数	Hit rate (%)	
			Target1	Target2
AccuPlex™ SARS-CoV-2 positive reference material (stock concentration 5.0E+03 copies/mL)	5000	1	100	100
	1667	3	100	100
	556	3	100	100
	278	3	100	100
	139	3	100	100
	46	20	100	100
	15	20	75	70
	9	20	75	50
	5	22	50	36
	3	20	10	5
	0 (ブランク)	8	0	0

Stock Material	Probit 解析から算出された Hit rate 95% となる最小検出感度	
AccuPlex™ SARS-CoV-2 positive reference material (stock concentration 5.0E+03 copies/mL)	Target1	Target2
	25 (95% CI: 17 - 58)	32 (95% CI: 21 - 73)

【使用上又は取扱上の注意】

1. 取扱上 (危険防止) の注意

- 検体及び本キットの取扱いは、使い捨て手袋、実験着などの保護衣及び保護用眼鏡を着用するなど、人体に直接触れないように注意してください。また、測定終了後はよく手を洗ってください。
- ピペットは口で吸わないでください。
- 試薬が誤って目や口に入った場合には、直ちに水でじゅうぶんに洗い流すなどの応急処置を行い、必要があれば医師の手当てなどを受けてください。
- 試薬が誤って皮膚及び粘膜に付着した場合には、直ちに多量の水で洗い流してください。
- 試薬をこぼした場合には水で希釈してから拭き取ってください。
- 検体をこぼした場合は、次亜塩素酸剤 (有効塩素濃度 5,000 ppm, 0.5%) などの消毒剤を使用してじゅうぶんに拭き取ってください。なお、拭き取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
- 検体及び本キットを取り扱う場所では飲食又は喫煙をしないでください。
- 検体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取り扱ってください。
- 検体を取扱う際に使用した器具類は高圧蒸気滅菌器を用いて 121°C で 20 分以上加熱殺菌するか、次亜塩素酸剤 (有効塩素濃度 5,000 ppm, 0.5%) に 1 時間以上浸すなどにより消毒してください。これらの作業中はじゅうぶんに換気を行ってください。

2. 使用上の注意

- プライム及びプローブは、測定するウイルスの遺伝子の中でも保存性が高く変異が少ない遺伝子領域を反応のターゲットとしておりますが、稀に起こる遺伝子の変異や欠損/挿入などにより、反応性が低下し正確に測定できない場合や検出できない場合があります。
- ウイルスの RNA の測定・検出の結果は、検体採取の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。
- 従来の測定方法から新しい測定方法に変更する場合は、変更前後の測定方法の相関性などを確認のうえご利用ください。
- 試薬及び消耗品は専用のものを使用し、その容器・付属品などはほかの目的に転用しないでください。
- 試薬は必ず貯蔵方法に従って保存し、凍結させるなど指定の条件以外で保存したものや使用期限を過ぎたものは使用しないでください。
- ロットの異なる試薬又は残った試薬を混ぜ合わせて使用しないでください。

- ** (7) コバス OMNI 検体希釈液とコバス OMNI ライシス試薬は、室温に戻してから装置にセットしてください。
- (8) 使用開始後の試薬は微生物の汚染にご注意ください。
- (9) 検査区域の分割やピペットの専用化及び次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000 ppm, 0.5%)による器具、実験台の清掃などを徹底して行ってください。
- (10) 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコンタミネーションを避けてください。汗や唾液に含まれる RNase 又は 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。
- (11) プロテアーゼ試液[PASE]、内部コントロール[RNA-IC]、溶出試液[EB]及びマスターミックス 1[MMX-R1] 及びマスターミックス 2[SARS-COV-2 MMX-R2]について、一度使用した試薬は、90 日又は使用期限のうち、短い日付まで安定と思われる。これらの試薬は測定合計回数 40 回までの使用が可能と思われる。冷蔵以外での機器上では合計 40 時間までの使用が可能と思われる。
- (12) プロテアーゼ試液にはアレルギー反応を起こすおそれのあるサチライシンが含まれていますので、取扱いにはじゅうぶんに注意してください。

3. 廃棄上の注意

- (1) 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理を行ってください。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ってください。
- (2) 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してください。
- (3) 廃棄する際は、水質汚濁法等の規制に留意して処理してください。
- (4) 検体及び試薬をこぼした場合は、次亜塩素酸剤(有効塩素濃度 5,000ppm, 0.5%)などの消毒液を使用してじゅうぶんふきとってください。なお、ふき取る際には、ゴム製の手袋などにより手を保護してください。
- ** (5) コバス OMNI ライシス試薬及び装置から出た廃液はチオシアン化グアニジンを含みます。チオシアン化グアニジンは次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。
- (6) 内部コントロール、マスターミックス 1、マスターミックス 2、コバス 6800/8800 システム バッファ陰性コントロールキット、コバス OMNI MGP 試薬及びコバス OMNI 検体希釈液は 0.1%未満、SARS-CoV-2 コントロールキットには 0.05%未満のアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性のある金属アジドを生成することがあるため、廃棄の際には多量の水で洗い流してください。
- ** (7) 使用済みコバス OMNI P プレート 24 又はコバス OMNI P プレートはチオシアン化グアニジンを含みます。チオシアン化グアニジンは次亜塩素酸剤と反応して有毒ガスを発生することがありますので、次亜塩素酸剤と接触させないでください。

4. その他の注意

本品による測定値は既存製品と高い相関性を示しますが、系統的な誤差を生じる場合がありますので、必要に応じて相関性について検討されることをお勧めします。

《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。

【貯蔵方法・有効期間】

1. 貯蔵方法
2～8℃
2. 有効期間
12 カ月
使用期限(Exp.)は外箱に記載してあります。

【包装単位】

*コバス SARS-CoV-2 増幅・検出用試薬セット 480 **480テスト**
* (各構成試薬の詳細につきましては、【形状・構造等(キットの構成)】を参照してください)

【主要文献】

- 1) Higuchi, R. et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (N Y). 1992, 10, p.413～417.
- 2) Heid, C.A. et al. Real time quantitative PCR. Genome Research. 1996, 6, p.986～994.
- 3) Longo, M.C. et al. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990, 93, p.125～128.

【問い合わせ先】

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
カスタマーソリューションセンター
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル: 0120-600-152

【製造販売業者の氏名又は名称及び住所】

ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社
〒108-0075 東京都港区港南 1-2-70
フリーダイヤル: 0120-600-152

《特許に関連するお知らせ》

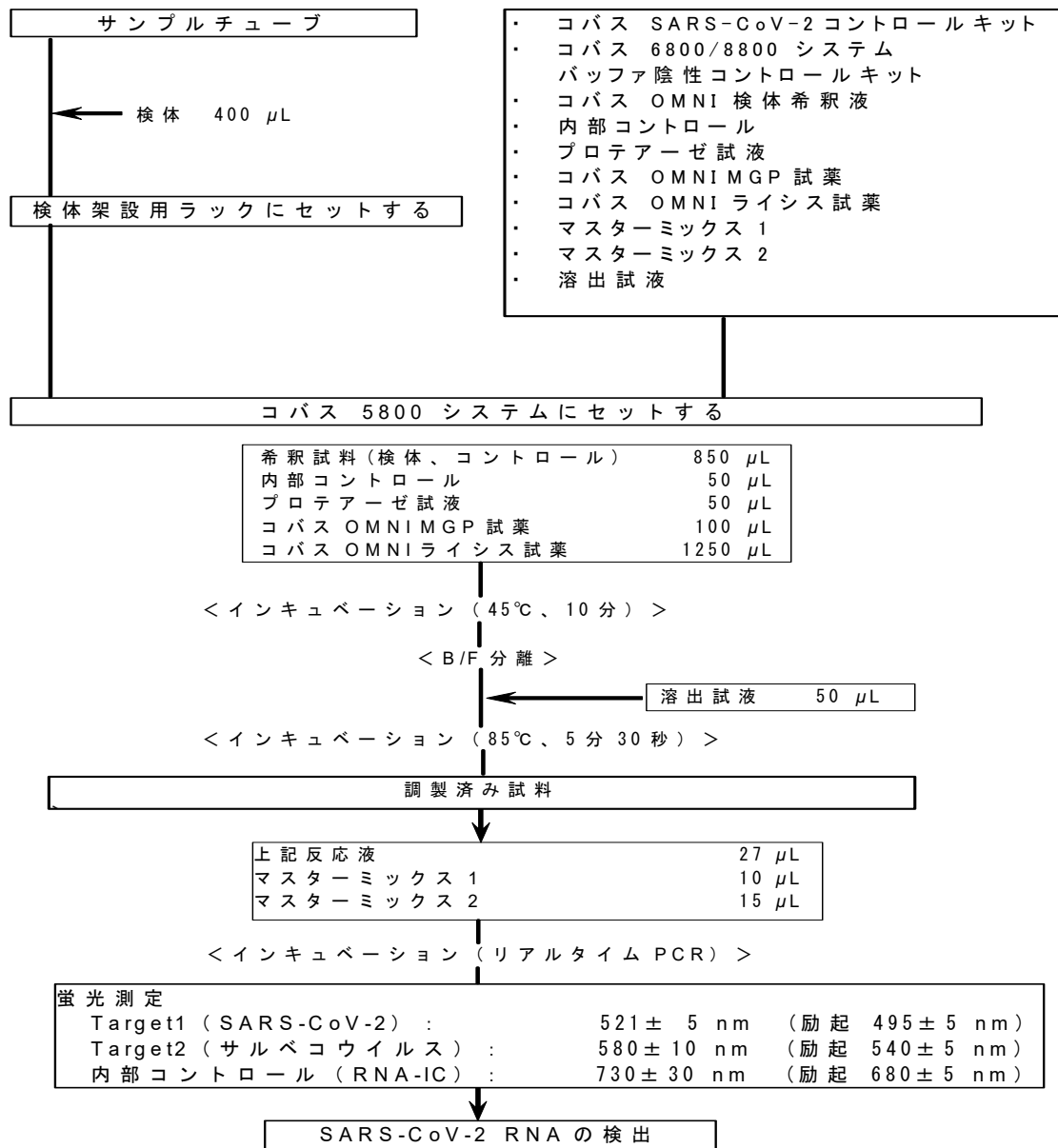
本製品をご購入頂きましたお客様は、これら製品をヒトの体外診断目的における PCR による核酸配列の増幅と検出、及びその関連工程に使用することが許諾されています。この特定された使用許諾権以外には、いかなる種類の特許権又はライセンスも許諾されていないものではありません。

COBAS is a trademark of Roche.

コバスは Roche の商標です。

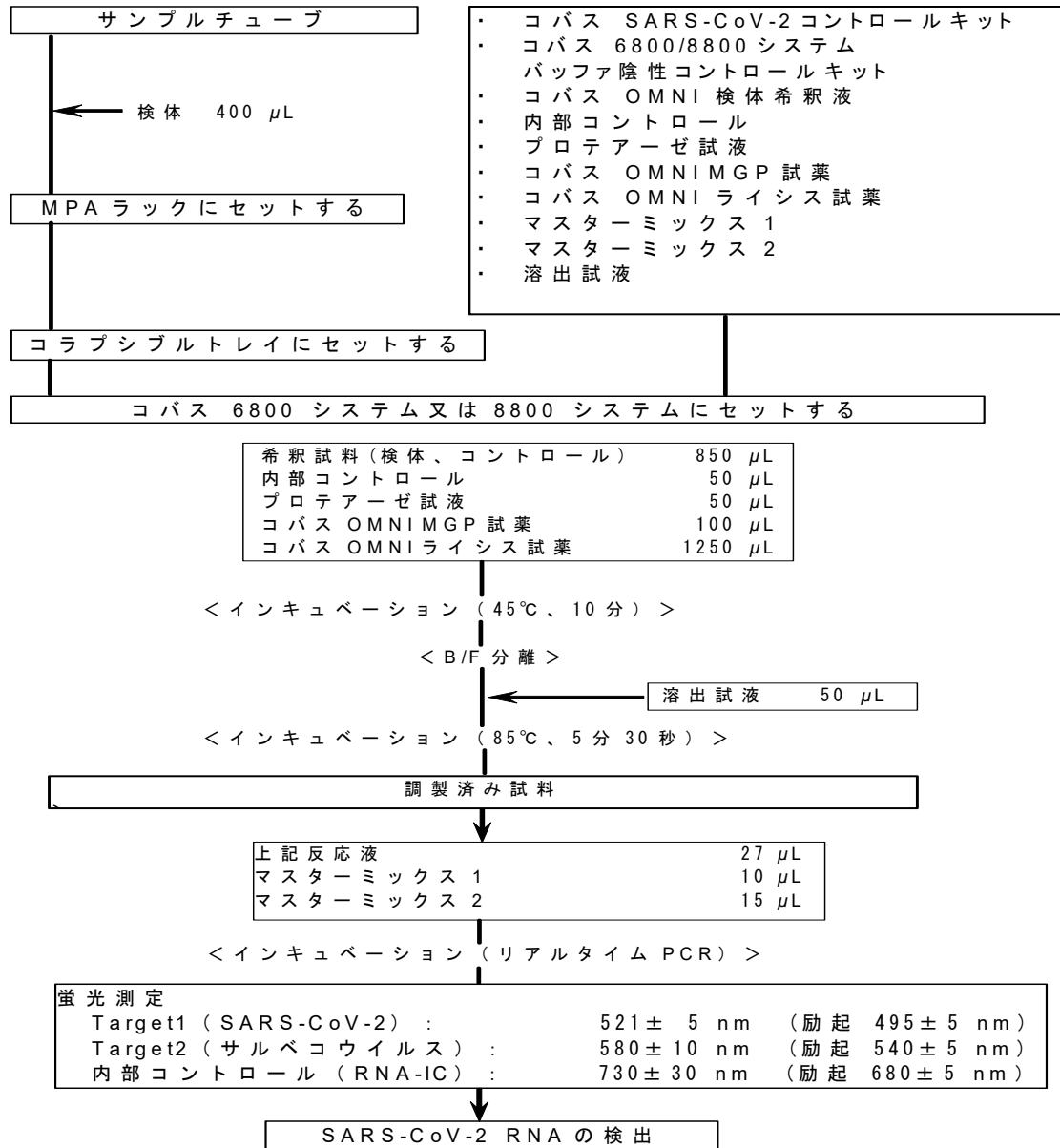
《操作概略》

**コバス 5800 システムの例



《操作概略》

コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムの例



ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社