

この電子化された添付文書をよく読んでから使用してください。

体外診断用医薬品

2023年9月作成(第1版)

製造販売承認番号:30500EZ00041000

SARSコロナウイルス核酸キット

コバス SARS-CoV-2 Duo

【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。
5. 鼻腔ぬぐい液を検体とした場合、適切な検体採取が行われないと正しい結果が得られない可能性があるため、【操作上の注意】を熟知し、1本のスワブで両鼻孔から採取された十分な量の検体を用いること。

【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. 電子化された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. 唾液及び下気道由来検体(喀痰)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. 使用する機器の電子化された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。
5. 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。
6. 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。
7. ウイルス定量値の臨床的意義は確立しておらず、あくまで参考値です。SARS-CoV-2 感染の診断は、本品の定性結果に基づき、他の検査結果及び臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

【形状・構造等(キットの構成)】

コバス SARS-CoV-2 Duo 192テスト用 1カセット

- | | |
|--------------------------------------|-----------|
| 1. プロテアーゼ試液(PASE) | 1×22.3 mL |
| 2. RNA 定量標準試液(RNA-QS) | 1×21.2 mL |
| 3. 溶出試液(EB) | 1×21.2 mL |
| 4. マスターミックス 1(MMX-R1) | 1×7.5 mL |
| 5. マスターミックス 2(SARS-CoV-2 Duo MMX-R2) | 1×9.7 mL |
| プライマー NCOV-1-FN1.A | |
| プライマー NCOV-1R3.A | |
| プライマー NCOV-N3_F3.A | |
| プライマー NCOV-N3_R1.A | |
| 2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸(dATP) | |
| 2'-デオキシシチジン-5'-三リン酸(dCTP) | |
| 2'-デオキシグアニン-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 NCOV-4P.P | |
| プローブ NCOV_N3_FAM6Q | |
| 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 感染の診断補助)

【使用目的に関連する使用上の注意】

【性能】、【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)、定量標準 RNA(QS RNA)を含む RNA 定量標準試液(RNA-QS)、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(EB)を加えて核酸を遊離させ試料とし、マスターミックス 1(MMX-R1)とマスターミックス 2(SARS-CoV-2 Duo MMX-R2)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、2種類の SARS-CoV-2 特異的遺伝子(Target1 及び Target2)RNA 及び QS 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。測定には蛍光物質(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 QS RNA 用 DNA プローブを用います。このプローブの蛍光物質は、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 QS 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シド三リン酸(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 QS 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 QS RNA 用蛍光物質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リング」、「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、QS RNA の Ct 値と反応液中 SARS-CoV-2 RNA の Ct 値を比較して試料中の SARS-CoV-2 RNA 濃度を算出します。

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リン酸結合が切断され、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

(1) 検体採取容器と検体安定性

検体の採取には、コバン UTM(別売)、BD UVT(別売)を用いてください

い。

コパン UTM 又は BD UVT に採取した鼻咽頭ぬぐい液及び鼻腔ぬぐい液は 2～25℃にて 24 時間保存後、2～8℃にて 3 日間安定です。上記条件で保存後、－70℃以下で 30 日間(凍結融解 2 回まで)安定です。

(2) 鼻腔ぬぐい液の採取方法

スワブを鼻孔から 2cm 挿入し、約 3 秒間鼻粘膜に対してスワブを回転させ、引き出します。同じスワブを使用して、もう一方の鼻腔からも同様の操作を実施し、検体を採取します。

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電子化された添付文書を参照してください。

2. 反応特異性

7 種類の SARS-CoV-2 変異株をそれぞれ連続段階希釈することで各変異株につき 2 濃度(1×LoD 及び 0.5×LoD)の試料からなるパネルを作製しました。パネルの各試料は本品 3 ロットを用いて 1 ロットにつき 21 重測定(計 63 重測定)しました。下表のとおり、1×LoD(24.1 IU/mL)の濃度ですべての変異株にて 95%以上の検出率が得られました。

Strain	濃度	陽性数/ 有効測定数	Hit Rate (%)
SARS-CoV-2 US-WA1/2020	～1×LoD	63/63	100
	～0.5×LoD	57/63	90.5
SARS-CoV-2 Alpha Variant (Lineage B.1.1.7)	～1×LoD	63/63	100
	～0.5×LoD	53/63	84.1
SARS-CoV-2 Beta Variant (Lineage B.1.351)	～1×LoD	61/63	96.8
	～0.5×LoD	44/63	69.8
SARS-CoV-2 Gamma Variant (Lineage P.1)	～1×LoD	63/63	100
	～0.5×LoD	55/63	87.3
SARS-CoV-2 Delta Variant (Lineage B.1.617.2)	～1×LoD	60/63	95.2
	～0.5×LoD	47/63	74.6
SARS-CoV-2 Omicron Variant BA.1 (Lineage B.1.1.529.1)	～1×LoD	63/63	100
	～0.5×LoD	59/63	93.7
SARS-CoV-2 Omicron Variant BA.2 (Lineage B.1.1.529.2)	～1×LoD	61/63	96.8
	～0.5×LoD	61/63	96.8

3. 交差反応性

- (1) 43 種類のウイルス、細菌及び真菌(気道に一般的に認められるものを含む)について下表の濃度で検討した結果、いずれも交差反応は認められませんでした。

微生物の名称	濃度
Adenovirus (AdV-1)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Bordetella pertussis</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Candida albicans</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	7.9E+04 TCID ₅₀ /mL
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1.0E+06 CFU/mL
Cytomegalovirus	1.0E+05 IU/mL
Enterovirus (EV68)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Epstein Barr Virus	1.0E+05 cp/mL
<i>Escherichia coli</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Haemophilus influenzae</i>	1.0E+06 CFU/mL
Human coronavirus 229E	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Human coronavirus HKU1	1.0E+05 genome cp/mL
Human coronavirus NL63	8.50E+03 TCID ₅₀ /mL
Human coronavirus OC43	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Human Metapneumovirus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Human Rhinovirus	1.0E+05 PFU/mL
Influenza A (H3N2)	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Influenza B	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (for <i>Lactobacillus</i> sp.)	1.0E+06 CFU/mL
<i>Legionella longbeachae</i> (for <i>Legionella non-pneumophila</i>)	1.0E+06 CFU/mL
<i>Legionella pneumophila</i>	1.0E+06 CFU/mL
Measles virus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
MERS-coronavirus	1.0E+05 cp/mL
<i>Moraxella catarrhalis</i>	1.0E+06 CFU/mL
Mumps Virus	1.0E+05 U/mL

微生物の名称	濃度
<i>Mycobacterium bovis</i> (for <i>Mycobacterium tuberculosis complex</i>)	1.0E+06 CFU/mL
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	1.0E+06 CCU/mL
<i>Neisseria elongata</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Neisseria meningitidis</i>	1.0E+06 CFU/mL
Parainfluenza virus 1	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Parainfluenza virus 2	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Parainfluenza virus 3	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Parainfluenza virus 4	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Parechovirus	1.0E+05 U/mL
<i>Pneumocystis jirovecii</i>	5.0E+03 organisms/mL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.0E+06 CFU/mL
Respiratory Syncytial Virus	1.0E+05 PFU/mL
SARS-coronavirus (SARS-CoV-1)	1.0E+05 PFU/mL
<i>Staphylococcus aureus</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Streptococcus pneumonia</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1.0E+06 CFU/mL
<i>Streptococcus salivarius</i>	1.0E+06 CFU/mL

4. 妨害物質・妨害薬剤

ムチン、ヒト全血及び薬剤 14 種について下表の濃度で検討した結果、いずれも測定結果への影響は認められませんでした。

名称	濃度
ムチン	0.1%、0.15%
ヒト全血	1%、1.5%
オキシメタゾリン	0.011 mg/mL
ブデソニド	0.039 mg/mL
フルチカゾンプロピオン酸エステル	0.167 mg/mL
トゲヘチマ、キントラノオ	2.99 mg/mL
ヒスタミン、硫黄	1.50 mg/mL
ベンゾカイン	5 mg/mL
グリセリン	10.31 mg/mL
フェノール	0.47 mg/mL
リドカイン	2.68 mg/mL
ムビロシン	0.20 mg/mL
ザナミビル	0.0015 mg/mL
オセルタミビル	0.0073 mg/mL
トブラマイシン	0.018 mg/mL
ワセリン	1% w/v
ニコチン	1% w/v
ユーカリ油・メントール	1% w/v

5. マトリックス・採取容器による測定結果の比較

疑似臨床マトリックス(採取容器:コパン UTM)、鼻咽頭ぬぐい液の陰性検体(採取容器:コパン UTM)及び鼻腔ぬぐい液の陰性検体(採取容器:BD UVT)に、First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC code: 20/146)を添加することで、低濃度域陽性(約 2×LoD)、中濃度域陽性(約 5×LLoQ)検体を作製し、測定しました。SARS-CoV-2 検出率はすべてのマトリックス・採取容器において、低濃度域陽性検体で 100%(21/21)、中濃度域陽性検体で 100%(21/21)でした。

6. 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(SARS-CoV-2 Duo MMX-R2)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 のキャリアー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。

- (1) 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。

- (2) 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。生体由来の 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。
- 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、ビベット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。

7. その他の留意事項

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

- (1) コバス SARS-CoV-2 Duo コントロールキット^{※1}
- (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^{※1}
- (3) コバス OMNI 廃液タンク^{※2}
- (4) コバス OMNI ライシス試薬^{※1}
- (5) コバス OMNI MGP 試薬^{※1}
- (6) コバス OMNI 検体希釈液^{※1}
- (7) コバス OMNI 洗浄試薬^{※1}
- (8) サンプルチューブ
- (9) 安全キャビネット(陰圧)
- (10) ゴム手袋(パウダーフリー)
- (11) コバン 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)

コバス 5800 システムに用いる器具・器材

- (1) コバス OMNI P プレート 24^{※2}
- (2) コバス OMNI A プレート 24^{※2}
- (3) コバス OMNI 廃液プレート 24
- (4) コバス OMNI バイオハザードバッグ インサート付き又はコバス OMNI バイオハザードバッグ^{※2}
- (5) CORE チップ 300 μ L^{※2}
- (6) CORE チップ 1000 μ L^{※2}
- (7) コバス 5800 システム
- (8) コバス 5800 システムソフトウェア
- (9) データマネージャー
- (10) 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

- (1) コバス OMNI P プレート^{※2}
- (2) コバス OMNI A プレート^{※2}
- (3) コバス OMNI ビベットチップ^{※2}
- (4) コバス OMNI バイオハザードバッグ インサート付き^{※2}
- (5) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム
- (6) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムソフトウェア
- (7) コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム IG サーバー
- (8) 検体架設用ラック(MPA ラック)
- (9) 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) マイクロビベット(1,000 μ L)及びチップ
(チップは疎水性フィルター付きで、1,000 μ L 用)
- (3) ゴム手袋(パウダーフリー)

3. 操作方法

コバス 5800 システム

測定に必要な検体量は 600 μ L(デッドボリューム 200 μ L+検体使用量 400 μ L)です。

(1) 試料の準備

下表のとおり、必要量の検体を準備する。

検体種	チューブの種類	検体量	ソフトウェア上での選択
鼻咽頭/ 鼻腔ぬぐい液	コバス omni セカンダリーチューブ (13mm 径)	600 μ L	VTM

(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 Duo を試薬カセットドロワーにロードします。また、必要に応じてコバス SARS-CoV-2 Duo 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ワーにロードします。
- 2) コバス OMNI MGP 試薬を MGP カセットドロワーにロードします。
- 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ワーにロードします。

(4) 消耗品のロード(セット)

- 1) CORE チップ 300 μ L を E チップトレイドロワーに、CORE チップ 1000 μ L を P チップトレイドロワ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 プレートドロワーに、コバス OMNI A プレート 24 を A プレートドロワーにロードします。
- 3) コバス OMNI 廃液プレート 24 を廃液プレートドロワーにロードします。

(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

測定に必要な検体量は 600 μ L(デッドボリューム 200 μ L+検体使用量 400 μ L)です。1 測定につきコントロールとして高値(+)コントロール(SARS-CoV-2 H(+)/C)、低値(+)コントロール(SARS-CoV-2 L(+)/C)、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。

(1) 試料の準備

下表のとおり、必要量の検体を準備する。

検体種	チューブの種類	検体量	ソフトウェア上での選択
鼻咽頭/ 鼻腔ぬぐい液	コバス omni セカンダリーチューブ (13mm 径)	600 μ L	VTM

(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 Duo、コバス SARS-CoV-2 Duo 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ワ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ワ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ワー及び洗浄試薬ドロワーへロードします。

(4) 消耗品のロード(セット)

- 1) コバス OMNI ビベットチップをトランスファーモジュールのドロワ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ワ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つがあります。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、ラックトレイコラプシブル(MPA ラックが最大 15 基搭載可能)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、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 96 テスト(外部コントロールを含む)の組みであるパ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

パ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、又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及び SARS-CoV-2 RNA 濃度算定を自動で行います。SARS-CoV-2 RNA 量は IU/mL で表示されますが、RNA 定量値の臨床的意義は確立しておらず、患者の治療方針決定に用いるべきではありません。SARS-CoV-2 感染の診断は、本品の定性結果に基づき、他の検査結果及び臨床症状を考慮して総合的に判断してください。

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

結果(定量)	結果(定性)	解釈
Target Not Detected	Negative	SARS-CoV-2 RNA が検出されませんでした。
<Titer Min ^{a)}	Positive	SARS-CoV-2 RNA が検出されました。SARS-CoV-2 RNA 量は定量下限未満です。
X.XXe+XXX IU/mL ^{b)}	Positive	SARS-CoV-2 RNA が検出されました。定量値(IU/mL)も表示されますが、あくまで参考値です。
>Titer Max ^{c)}	Positive	SARS-CoV-2 RNA が検出されました。SARS-CoV-2 RNA 量は定量上限を超えています。
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。

- a) 100 IU/mL
 - b) 「1.23e+005 IU/mL」と表示された場合、「1.23×10⁵ IU/mL」を示します。
 - c) 1.0×10⁹ IU/mL
- 測定結果が定量上限(1.0×10⁹ IU/mL)を超えたケースで定量的結果が必要な場合はもとの検体を SARS-CoV-2 陰性輸送媒体(コバン UTM、BD UVT 等)にて希釈して測定を実施してください。測定値は、報告された結果を希釈率で乗じた値となります。

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、又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。

【性能】

1. 最小検出感度(LoD)

First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA(NIBSC code: 20/146)を陰性の疑似臨床マトリックス(採取容器:コバン UTM)で連続段階希釈することにより、6 濃度(3.1~100 IU/mL)の試料及びブランクからなる独立した 3 つのパネルを作製しました。パネルの各試料は本品 3 ロットを用いて 1 ロットにつき 27 重測定(計 81 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及び Probit 解析から算出された Hit rate 95%となる最小検出感度は下表のとおりでした。

Viral Strain	Kit lot	陽性数/ 有効測定数	Hit rate ≥ 95% [IU/mL]	95% LoD Probit [IU/mL]	95% CI [IU/mL]
First WHO International Standard for SARS-CoV-2 RNA (NIBSC code: 20/146)	1~3	77/81	25.0	24.1	19.3~32.8
	1	27/27	25.0	20.3	14.1~39.6
	2	27/27	50.0	25.8	18.0~48.0
	3	27/27	50.0	25.6	18.1~46.0

2. 相関性試験

呼吸器感染症が疑われる患者から採取した 1044 検体(鼻咽頭ぬぐい液 570 検体及び鼻腔ぬぐい液 474 検体)を用いて、本品及び既承認品(リアルタイム PCR 法)の相関性を評価しました。

(1) 鼻咽頭ぬぐい液

本品	既承認品(リアルタイム PCR 法)		
	陽性	陰性	合計
陽性	74	2	76
陰性	2	492	494
合計	76	494	570
陽性一致率(95% CI)		97.4%(90.9~99.3%)	
陰性一致率(95% CI)		99.6%(98.5~99.9%)	

(2) 鼻腔ぬぐい液

本品	既承認品(リアルタイム PCR 法)		
	陽性	陰性	合計
陽性	42	6	48
陰性	1	425	426
合計	43	431	474
陽性一致率(95% CI)		97.7%(87.9~99.6%)	
陰性一致率(95% CI)		98.6%(97.0~99.4%)	

乖離 11 検体中 10 検体は本品又は既承認品の最小検出感度付近の Ct 値を示し、境界域付近の検体であることが解離の原因と考えられました。PCR 増幅産物が保管されていた乖離 7 検体(本品陽性・既承認品陰性)を Nested PCR にて追加解析した結果、すべて陽性となり、既承認品と比較して本品はやや高い感度を持つことが示唆されました。

【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) 検体及び本キットの取扱いには、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。
- (2) ピペットは口で吸わないでください。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) 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。
- (6) 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%)などの消毒液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。
- (7) 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。
- (8) 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いってください。
- (9) 検体を取扱う際に使用した器具類は高压蒸気滅菌器を用いて 121℃で 20 分間以上加熱殺菌をするか、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

- (1) プライマー及びプローブは、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。
- (2) 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。
- (3) 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。
- (4) 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。
- (5) 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。
- (6) 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) 検査区域の分割やビ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。生体由来の 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)、RNA 定量標準試液(RNA-QS)、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 Duo MMX-R2)について、一度使用した試薬は、2～8℃で 90 日又は使用期限のうち、短い日付まで安定です。コバス 6800 システム又はコバス 8800 システムにおいてはこれらの試薬は測定合計回数 40 回まで、機器上では合計 40 時間まで使用可能です。コバス 5800 システムにおいてはこれらの試薬は測定合計回数 40 回まで、機器上では合計 36 日まで使用可能です。
- (12) プロテアーゼ試液(PASE)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グアニジンチオシアン酸塩を含みます。グアニジンチオシアン酸塩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) RNA 定量標準試液(RNA-QS)、マスターミックス 1(MMX-R1)、マスターミックス 2(SARS-CoV-2 Duo MMX-R2)、コバス 6800/8800 システム パッパ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、コバス SARS-CoV-2 Duo 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 プレートはグアニジンチオシアン酸塩を含みます。グアニジンチオシアン酸塩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。

【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 Duo 増幅・検出用試薬セット 192 192 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等】

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

《承認条件》

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。

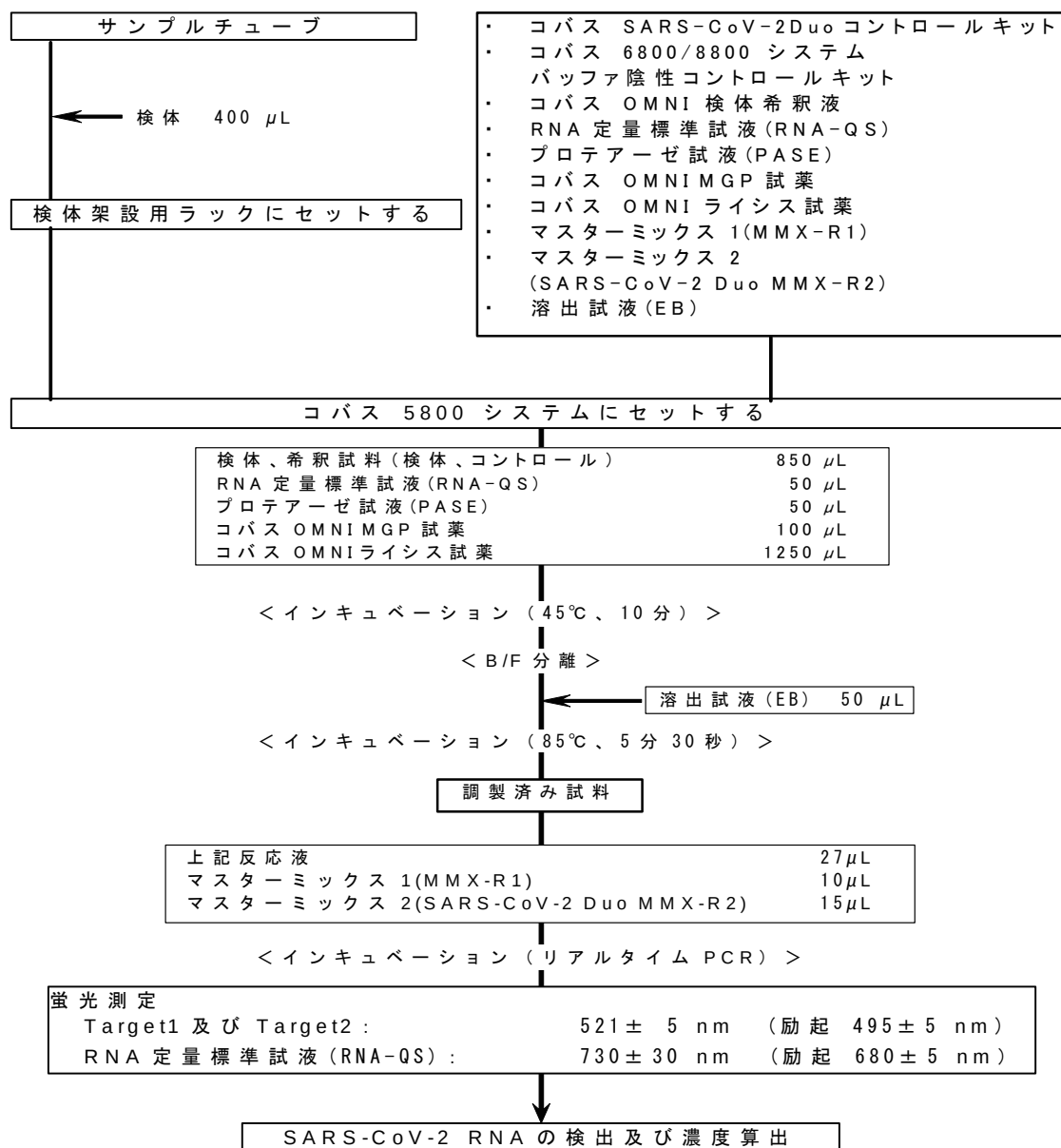
《特許に関連するお知らせ》

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る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。

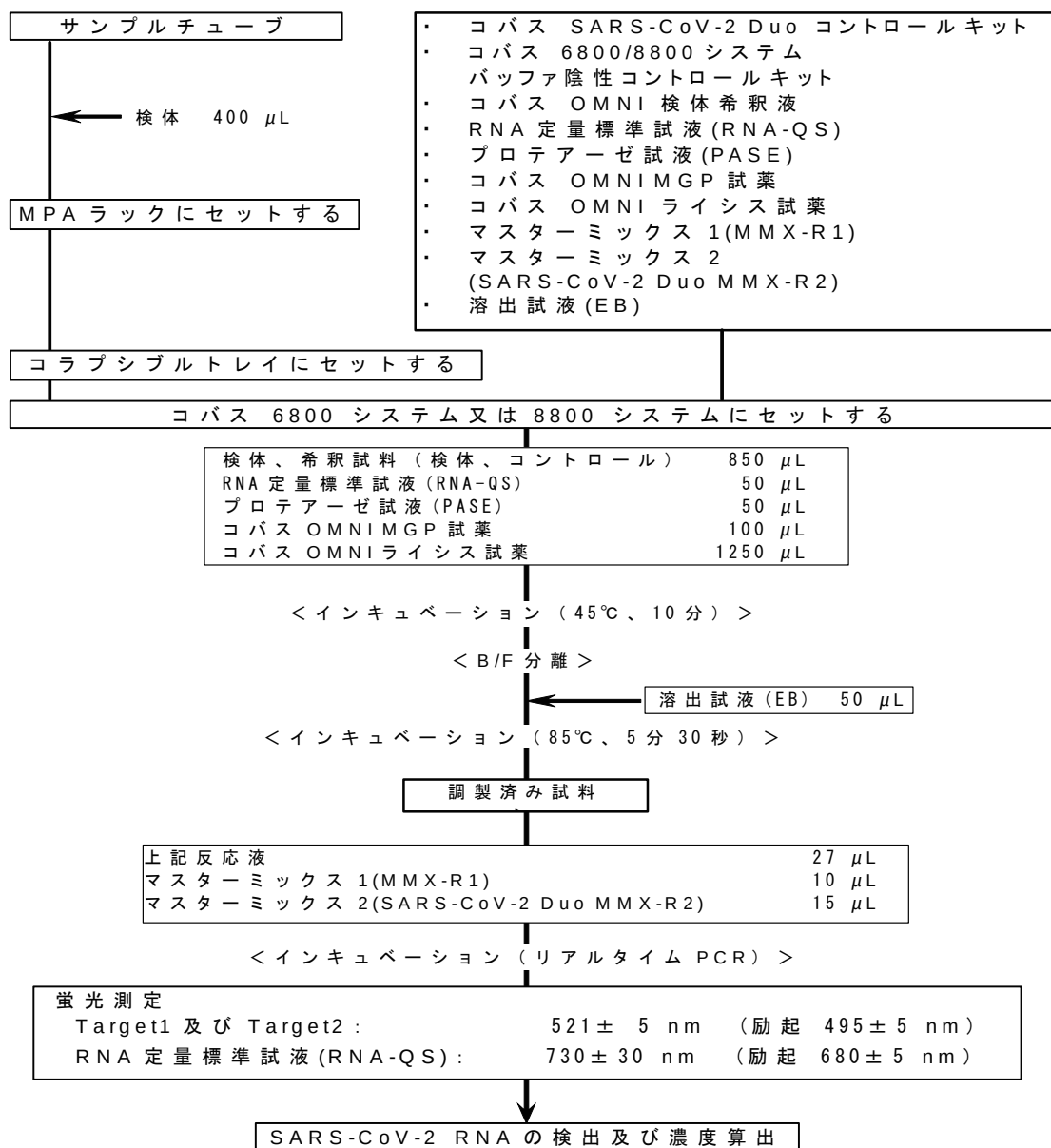
《操作概略》

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