

この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

2020年12月作成（第1版）

## 添付文書

SARSコロナウイルス核酸キット

製造販売承認番号：30200EZ00088000

### TaqPath SARS-CoV-2 リアルタイム PCR 検出キット HT

#### 【重要な基本的注意】

- 本製品での判定が陰性であっても、疾患としての SARS-CoV-2 感染を否定するものではない。
- 診断は厚生労働省の最新の症例定義を参照し、本品の検査結果のみで行わず、臨床症状も含めて総合的に判断すること。
- 検体採取・取り扱いについては必要なバイオハザード対策をとること。
- 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」を参照すること。

#### 【全般的な注意】

- 本製品は、SARS-CoV-2 RNA 検出の臨床診断を目的とした検査のみに使用すること。動物由来検体その他の診断目的には使用できない。
- 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るため、本製品の使用にあたっては、遺伝子検査の知識、経験を有した技術者の指導のもとで検査を実施すること。
- 使用する試薬及び装置の添付文書及び取り扱い説明書をよく読んでから実施すること。
- 添付文書以外の使用方法については保証しない。

#### 【形状・構造等（キットの構成）】

形状・構造

20,000 反応分

- TaqPath COVID-19 Module 1 MS2 Phage Control  
10 mL x 6 本 x 3 キット
- TaqPath COVID-19 Module 2 Assay Kit  
1600 µL x 6 本 x 3 キット
- TaqPath COVID-19 Control (1 x 10<sup>4</sup> copies /µL)  
25 µL x 3 本 x 3 キット
- TaqPath COVID-19 Module 2 Control Dilution Buffer  
750 µL x 3 本 x 3 キット
- TaqPath HT Module 2 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)  
10 mL x 6 本 x 3 キット

#### 【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】

【臨床的意義】、【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、検体種を選択すること。

#### 【測定原理】

本品は、生体試料中の SARS-CoV-2 のゲノミック RNA 検出を目的としたマルチプレックスリアルタイム逆転写ポリメラーゼ連鎖反応法（RT-PCR：Reverse Transcript-Polymerase Chain Reaction）テストである。キットには逆転写酵素、dNTP、及び DNA 合成酵素のマスターミックス：TaqPath HT Module 2 1-Step Multiplex Master Mix、プライマー/プローブミックス：TaqPath COVID-19 Module 2 Assay Kit、陽性コントロール SARS-CoV-2 RNA、MS2 Phage RNA、及びコントロールバッファーが含まれる。プライマー/プローブミックスには SARS-CoV-2 のゲノミック RNA 領域に固有の 3 セットに加えて、内部コントロールとなる MS2 のプライマー/プローブが混合されている。MS2 は各ウェルの RNA 抽出、逆転写、PCR 増幅の陽性コントロールとなる。

3 つのプライマー/プローブセットは、ORF1ab 遺伝子、N Protein 遺伝子、及び S Protein 遺伝子領域内を対象としている。これら 3

種の遺伝子領域は、Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID) と GenBank データベースに 2020 年 9 月 8 日時点で登録されている SARS-CoV-2 のゲノミック RNA においてそれぞれ 99.98%、99.97% の既知系統に 100% 保存（3 種類のうち 2 種類以上が 100% 相同と定義する）されている。一方、NCBI (National Center for Biotechnology Information) に登録されている SARS-CoV-2 以外のコロナウイルスとは相同性が低い領域のため、極めて特異的に SARS-CoV-2 を検出することが期待できる<sup>(1)</sup>。

生体試料から抽出精製された RNA は cDNA に逆転写され、dNTP を材料として MMLV 逆転写酵素により cDNA を生成した後、さらに dNTP を材料として、Taq DNA ポリメラーゼにより増幅が行われる。本キットによるこれらの反応はリアルタイム PCR 装置により行われる。この過程で、プローブは以下の遺伝子の 3 つのユニークなフォワード及びリバースプライマーの間に位置する 3 つの特定の標的配列にアニールし、PCR サイクルの伸長段階で、Taq DNA ポリメラーゼの 5' スクレーアゼ活性によりプローブが分解されることでレポーター色素がクエンチャー色素から分離されて、蛍光シグナルが生成される。各サイクルで、追加のレポーター色素分子がそれぞれのプローブから切断され、蛍光強度が増加する。蛍光強度は、リアルタイム PCR 装置のサイクルとして表示される。

#### 【操作上の注意】

##### 1. 測定試料の性質・採取法

測定試料の性質

採取した患者検体は感染の危険性があるため、必要なバイオハザード対策を実施すること。検体採取、検体の取り扱い場所及び取り扱う装備等については、施設の安全規定に従うこと。国立感染症研究所感染症情報センターでは、SARS 関連の患者検体は Biosafety Level (BSL) 2 以上で扱うこととなっている。また、本品中に MS2 Phage Control が含まれるため BSL2 以上で扱うこと。具体的には、個人防護用具 personal protection equipment; PPE（マスク、ゴーグル、手袋、ガウン、キャップ）を着用することを推奨している。

患者検体の採取/輸送方法については、「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」を参照してください。

なお、本品は実検体では十分に検討されていないことを理解した上で、使用してください。

##### 2. 交差反応性

本品の交差反応性を判定するために、42 種類の生物種に対してプライマー/プローブの反応性に関する *in silico* 解析を行った。

測定原理及びプライマー/プローブ配列が同一の既承認品（TaqPath 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2) リアルタイム PCR 検出キット、承認番号：30200EZ00023000）におけるプライマー/プローブの相同性解析の結果から、非特異的増幅反応が生ないことが確認された。

##### *in silico* 解析に使用した 42 生物種

| 生物種                    |
|------------------------|
| Human coronavirus 229E |
| Human coronavirus OC43 |
| Human coronavirus HKU1 |
| Human coronavirus NL63 |

|  |
|--|
| SARS-coronavirus                                     |
| MERS-coronavirus                                     |
| Adenovirus   |
| Human Metapneumovirus (hMPV)                         |
| Parainfluenza 1                                      |
| Parainfluenza 2                                      |
| Parainfluenza 3                                      |
| Parainfluenza 4                                      |
| Influenza A  |
| Influenza B  |
| Influenza C  |
| Enterovirus  |
| Respiratory Syncytial Virus A                        |
| Respiratory Syncytial Virus B                        |
| Rhinovirus/Enterovirus                               |
| Parechovirus   |
| <i>Candida albicans</i>                              |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i>                   |
| <i>Legionella</i> (non-pneumophila)                  |
| <i>Bacillus anthracis</i> (Anthrax)                  |
| <i>Moraxella catarrhalis</i>                         |
| <i>Neisseria elongata</i> and <i>N. meningitidis</i> |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>                        |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>                    |
| <i>Streptococcus salivarius</i>                      |
| <i>Leptospira</i> sp.                                |
| <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>                     |
| <i>Chlamydomphila psittaci</i>                       |
| <i>Coxiella burnetii</i> (Q-Fever)                   |
| <i>Staphylococcus aureus</i>                         |
| <i>Haemophilus influenzae</i>                        |
| <i>Legionella pneumophila</i>                        |
| <i>Mycobacterium tuberculosis</i>                    |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>                      |
| <i>Streptococcus pyogenes</i>                        |
| <i>Bordetella pertussis</i>                          |
| <i>Mycoplasma pneumoniae</i>                         |

|                                     |
|-------------------------------------|
| <i>Pneumocystis jirovecii</i> (PJP) |
|-------------------------------------|

### 3. 妨害物質・妨害薬剤

#### 妨害物質の影響

生体試料から MagMAX™ Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit 及び MagNa Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit を用いて核酸を抽出した場合、影響は認められない。

測定原理及び反応成分が同一の既承認品 (TaqPath 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2) リアルタイム PCR 検出キット、承認番号: 30200EZ00023000) を使用して試験した場合、可能性のある妨害物質(下記)による測定への影響は認められなかった。

| 妨害物質  | 濃度   |
|---|--|
| Mucin: bovine submaxillary gland, type I-S                    | 0.1 mg/mL                                  |
| Blood (human)   | 1% v/v                                     |
| Nasal sprays or drops – Nasacort                              | 10% v/v                                    |
| Nasal corticosteroids – Dymista                               | 5 µg/mL                                    |
| NeilMed NasoGel   | 1% w/v                                     |
| Influenza A H1N1 Brisbane/59/07                               | 1 × 10 <sup>5</sup> TCID <sub>50</sub> /mL |
| Throat lozenges, oral anesthetic and analgesic – Chloraseptic | 1% w/v                                     |
| Oseltamivir phosphate   | 33 µg/mL                                   |
| Antibiotic, nasal ointment – Bactroban                        | 5 µg/mL                                    |
| Antibacterial, systemic – Tobramycin                          | 0.6 mg/mL                                  |

#### 【用法・用量 (操作方法)】

##### 1. 対象の検体

検体は生体試料とする (内部陽性コントロール MS2 Phage Control を検体に対して 1/40 量を添加して使用する)。

##### 2. 試薬の調製方法

(1) 検体から精製した核酸サンプルを用意し、試薬は室温で解凍する。

(2) 試薬を軽く反転して遠心してチューブの底の液体を集める。

(3) 反応ミックスを調製する。

ランごと、に、テストする反応数に十分となるように表の構成成分に加えて、陽性コントロール 1 回分と陰性コントロール分を組み合わせる。すべての用量には、ピペットエラーの 10% の超過分が含まれている。試薬必要量を以下に示す。

#### 反応ミックスの調製

| 構成成分  | 必要量/検体、又はコントロール | 試験数 (n 検体、y 陰性コントロール、及び 1 陽性コントロール) に対する用量 |
|---|-----------------|--|
| TaqPath HT Module 2 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX) (4X) | 5.00 µL         | 5.50 × (n+y+1) µL                          |
| TaqPath COVID-19 Module 2 Assay Kit                           | 1.00 µL         | 1.10 × (n+y+1) µL                          |
| 脱スクレアーゼ水 <sup>*1</sup>  | 4.00 µL         | 4.40 × (n+y+1) µL                          |
| 総量  | 10.0 µL         |  |

\*1 脱スクレアーゼ水は別途準備が必要な試料となります。

(4) プレートセットアップする。

調製された反応ミックス 10.0 µL を反応プレートの各ウェルへ注入し、以下に示すようにサンプルまたはコントロールと組み合わせる。

#### 各ウェルの用量

| 試薬                                  | 反応あたりの用量 |            |            |
|-------------------------------------|----------|------------|------------|
|                                     | 検体       | 陽性コントロール*2 | 陰性コントロール*3 |
| 反応ミックス                              | 10.0 µL  | 10.0 µL    | 10.0 µL    |
| 精製検体                                | 10.0 µL  | -          | -          |
| 陽性コントロール (TaqPath COVID-19 Control) | -        | 2.0 µL     | -          |
| 脱スクレアーゼ水                            | -        | 8.0 µL     | -          |
| 陰性コントロール                            | -        | -          | 10.0 µL    |
| 総量                                  | 20.0 µL  | 20.0 µL    | 20.0 µL    |

\*2 陽性コントロールの準備として、TaqPath COVID-19 Control Dilution Buffer 98 µL に TaqPath COVID-19 Control 2 µL を追加しよく混ぜ、TaqPath COVID-19 Control Dilution Buffer 87.5 µL に前述の希釈済 TaqPath COVID-19 Control 12.5 µL を追加し最終的に 25 copies/µL に調製する。

\*3 陰性コントロールの準備として、核酸抽出液に内部陽性コントロール MS2 Phage Control を添加して抽出された核酸を精製検体として使用する。

### 3. RT-PCR の実行

リアルタイム PCR 装置でサーマルプロトコールを実行する。

#### RT-PCR 反応条件

| 反応              | 温度   | 時間   | サイクル数 |
|-----------------|------|------|-------|
| UNG インキュベーション   | 25°C | 2 分  | 1     |
| 逆転写反応           | 53°C | 10 分 | 1     |
| プレヒーティング        | 85°C | 10 分 | 1     |
| アクティベーション       | 95°C | 2 分  | 1     |
| ディネーター          | 95°C | 3 秒  | 40    |
| アニール / エクステンション | 60°C | 30 秒 |       |

#### 【測定結果の判定法】

##### 1. 結果の解釈

各サンプルについて、下記 Ct 値をカットオフとして陽性または陰性を評価する。

##### 各サンプルの Ct カットオフ

| サンプル     | Target Ct cutoff  | 結果         |
|----------|-------------------|------------|
| 陽性コントロール | MS2 Ct > 37       | 陽性コントロール有効 |
|          | ウイルスターゲット Ct ≤ 37 |            |
| 陰性コントロール | MS2 Ct ≤ 32       | 陰性コントロール有効 |
|          | ウイルスターゲット Ct > 37 |            |
| 臨床検体     | MS2 Ct ≤ 32       | 臨床検体有効     |
|          | ウイルスターゲット Ct ≤ 37 |            |

##### 2. 測定結果の判定法

| ORF1 ab | N gene | S gene | MS2     | ステータス | 結果      |
|---------|--------|--------|---------|-------|---------|
| 陰性      | 陰性     | 陰性     | 陰性      | 無効    | NA      |
| 陰性      | 陰性     | 陰性     | 陽性      | 有効    | ウイルス未検出 |
| 1 つのみ陽性 |        |        | 陽性または陰性 | 有効    | ウイルス未確定 |
| 2 つ以上陽性 |        |        | 陽性または陰性 | 有効    | ウイルス検出  |

未確定結果を含むサンプルは再検査される。再検査により SARS-CoV-2 が検出または未確定の結果が生成された場合に、サンプル中の SARS-CoV-2 コロナウイルスの存在が決定される。

#### 【臨床的意義】

##### <臨床成績>

##### 1. 臨床評価試験（相関性試験）

###### (1) 相関性試験

9 例の鼻腔拭い液検体及び 191 例の鼻咽頭拭い液 (NP) を用いて、自社製品 (販売名: TaqPath 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2) リアルタイム PCR 検出キット、承認番号: 30200EZX00023000) 及び他社製品との相関性試験を実施した。自社製品との比較では、陽性一致率、陰性一致率ともに 100% を示した。他社製品との比較では、陽性一致率 85.3%、陰性一致率 99.2% を示した。他社製品との陽性一致率が 85.3% であったのは本品で陽性結果が少なかったことによるが、他社製品の方が検出限界 (LoD) の設定が低く検出感度が高いことに起因すると考えられる。

##### 既存製品の測定結果との一致率

|        |       | 自社製品との一致率      | 他社製品 1 との一致率    |
|--------|-------|----------------|-----------------|
| 全体     | 陽性一致率 | 100% (42/42)   | 85.3% (29/34)   |
|        | 陰性一致率 | 100% (151/151) | 99.2% (118/119) |
|        | 全体一致率 | 100% (193/193) | 96.1% (147/153) |
| 内訳     |       |                |                 |
| 鼻腔拭い液  | 陽性一致率 | 100% (3/3)     | 100% (2/2)      |
|        | 陰性一致率 | 100% (6/6)     | 100% (2/2)      |
| 鼻咽頭拭い液 | 陽性一致率 | 100% (39/39)   | 84.4% (27/32)   |
|        | 陰性一致率 | 100% (145/145) | 99.1% (116/117) |

\*本品、自社製品、又は他社製品 1 でウイルス未確定の結果となった場合は除外した。

##### 2. 臨床評価試験（感染研法との相関性）

国立感染症研究所から供与された 10 例の陽性検体、15 例の陰性検体を用いて、SARS-CoV-2 RNA 検出における、本品の性能評価を実施した。

全ての一致率は 100% であり、既存法と本品の測定結果が高い確率で一致していることが示された。

##### 既存法を対照とした測定結果の各一致率

|       | 一致率          |
|-------|--------------|
| 陽性一致率 | 100% (10/10) |
| 陰性一致率 | 100% (15/15) |
| 全体一致率 | 100% (25/25) |

#### 【性能】

##### 1. 品質管理の方法及び規格

1 ロットにつき 3 回以上の実測値の試験成績は 2. 最小検出感度の決定において試験され、感度、正確性、同時再現性の性能の担保を確認している。

出荷時の試験としては、TaqPath COVID-19 Module 1 MS2 Phage Control を使用して MS2 ターゲットに対して実施したリアルタイム PCR の結果が、MS2 Ct 値 22 - 27 の範囲であること。また、陽性コントロール (TaqPath COVID-19 Module 1 MS2

Phage Control 及び TaqPath COVID-19 Control) を使用して、4 ターゲット (ORF1ab、N protein、S protein、MS2) に対して実施したリアルタイム PCR の結果が、ORF1ab Ct 値 27.5–30.5、N protein Ct 値 27.5–31.0、S protein Ct 値 ≤30.5、MS2 Ct 値 ≤27 の範囲である場合に、これに適合する。

## 2. 最小検出感度

本品の検出限界 (LoD) を SARS-CoV-2 RNA を添加した鼻咽頭拭い液 (NP) 検体を用いて判定した。0.33X、1X、3X の LoD 検体を用いて各 3 回反復試験された結果、サンプル 1 mL あたり 250 ゲノムコピー等量 (GCE)、すなわち 10 GCE/反応に相当すると判断された。

### 最小検出感度

| 検体種         | LoD (GCE/mL) | LoD (GCE/反応) |
|-------------|--------------|--------------|
| 鼻咽頭拭い液 (NP) | 250 GCE/mL   | 10 GCE/反応    |

### 【使用上又は取扱い上の注意】

#### <使用方法等に関連する使用上の注意>

- 各試薬は、使用期限内のものを使用してください。
- 酵素以外などの一部の試薬は室温 (15~30°C) に戻して使用してください。
- 粘性のある試薬のピペット操作を行う場合はゆっくりと行ってください。

#### <その他の注意>

##### (1) 反応後の注意

反応後のチューブのキャップは決して開けないこと。他検体の増幅産物によるコンタミネーションは誤判断の原因となるばかりでなく、試験環境そのものを汚染し、汚染を除去しない限り、以後の試験で正しい結果が得られなくなる可能性がある。

##### (2) 廃棄上の注意

- 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置を行ってください。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。
- 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。
- 遺伝子検査後の核酸試料及び増幅された DNA の廃棄は、次亜塩素酸剤を加えて有効塩素濃度 5000 ppm、0.5% になるように混和後一晩放置するなど、DNA を破壊してから廃棄してください。
- DNA を扱ったピペットチップ及びプラスチック容器などは、次亜塩素酸剤 (有効塩素濃度 5000 ppm、0.5%) に一晩浸すなどにより DNA を破壊してから焼却処理または密閉できるビニール袋を 2 重に施し、医療廃棄物として処理してください。

### 【保管方法、有効期間】

#### <保管方法及び有効期間>

TaqPath COVID-19 Module 1 MS2 Phage Control  
 TaqPath COVID-19 Module 2 Assay Kit  
 TaqPath COVID-19 Module 2 Control Dilution Buffer  
 TaqPath HT Module 2 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)  
 -30 °C~-10 °C  
 12 か月

TaqPath COVID-19 Control  
 -70 °C以下  
 12 か月

### 【包装単位】

TaqPath SARS-CoV-2 リアルタイム PCR 検出キット HT  
 20000 反応分

(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)】の項を参照してください)

### 【主要文献】

- 自社データ

### 【製造販売業者及び製造業者の氏名又は名称等】

#### <製造販売業者>

ライフテクノロジーズジャパン株式会社  
 〒108-0023  
 東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号  
 住友不動産三田ツインビル東館

#### <問い合わせ先>

ライフテクノロジーズジャパン株式会社  
 テクニカルサポート  
 〒108-0023  
 東京都港区芝浦四丁目 2 番 8 号  
 住友不動産三田ツインビル東館  
 TEL : 0120-477-392

### 【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、製造販売後臨床性能を評価可能な適切な試験を実施すること。
- 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。