

ご使用の前に本電子化された添付文書をよく読んでください。

体外診断用医薬品
2023年5月作成（第1版）

添付文書

製造販売承認番号：30500EZ00021000

SARSコロナウイルス核酸キット
インフルエンザウイルス核酸キット
RS ウイルス核酸キット

TaqPath SARS-CoV-2 & Flu & RSV リアルタイム PCR 検出キット

【重要な基本的注意】

- 本品での判定が陰性であっても、疾患としての SARS-CoV-2、A 型及び B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス感染を否定するものではありません。
- 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してください。
- 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講じてください。
- 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」⁽¹⁾に従い、鼻咽頭ぬぐい液を使用してください。

【全般的な注意】

- 本品は体外診断用であり、それ以外の目的に使用しないでください。
- 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りうるので、本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してください。
- 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してください。
- 添付文書以外の使用方法については保証しません。

【形状・構造等（キットの構成）】

形状・構造

1. TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Assay Kit（1,000 反応分）

1) TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Multiplex Assay

1500 µL x 1 本

COVID N protein Fwd プライマー
COVID N protein Rev プライマー
COVID N protein プローブ
COVID S protein Fwd プライマー
COVID S protein Rev プライマー
COVID S protein プローブ
Flu A Fwd プライマー
Flu A Rev プライマー
Flu A プローブ
Flu B Fwd プライマー v2
Flu B Rev プライマー
Flu B プローブ
RSV-A Fwd プライマー
RSV-A Rev プライマー
RSV-A プローブ
RSV-B Fwd プライマー v2
RSV-B Rev プライマー
RSV-B プローブ

2) MS2 Phage Control

1000 µL x 10 本

2. TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Control

10 µL x 10 本

3. TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Control Dilution Buffer

250 µL x 10 本

4. TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)

10 mL x 1 本

デオキシアデノシン三リン酸（dATP）

デオキシシチジン三リン酸（dCTP）

デオキシグアノシン三リン酸（dGTP）

デオキシチミジン三リン酸（dTTP）

デオキシウリジン三リン酸（dUTP）

AmpliTaq UP Polymerase

Thermostable MMLV-RT

MgCl₂

【使用目的】

鼻咽頭ぬぐい液中の SARS-CoV-2 RNA、A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA、並びに RS ウイルス RNA の検出（SARS-CoV-2 感染、インフルエンザウイルス感染又は RS ウイルス感染の診断補助）

【測定原理】

本品は、鼻咽頭ぬぐい液中の SARS-CoV-2、A 型及び B 型インフルエンザウイルス（Flu A、Flu B）RNA、並びに A 型及び B 型 RS ウイルス（RSV-A、RSV-B）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）テストです。本品には、SARS-CoV-2、Flu A/B 及び RSV-A/B のゲノミック RNA 領域に固有の 6 つのプライマー/プローブセットに加え、テストの各ウェルの抽出、逆転写及び PCR 増幅の陽性コントロールとして機能する内部コントロールである MS2 Phage Control のプライマー/プローブセットの他、逆転写酵素及び DNA 合成酵素を含むマスターミックスが含まれます。

6 つのプライマー/プローブセットは、SARS-CoV-2 の N Protein 及び S Protein 遺伝子領域、Flu A/B の Matrix Protein 遺伝子領域、RSV-A の Nucleoprotein 遺伝子領域及び RSV-B の Matrix Protein 遺伝子領域を対象としています。

鼻咽頭ぬぐい液から抽出された RNA はデオキシヌクレオシド三リン酸（dNTP）を材料として MMLV 逆転写酵素により cDNA に逆転写された後、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ます。本品によるこれらの反応は、リアルタイム PCR 装置（Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR

System、Applied Biosystems QuantStudio 5 Real-Time PCR System 及び Applied Biosystems QuantStudio 7 Flex Real-Time PCR System) により行われます。この過程で、プローブは各標的遺伝子特異的なフォワード及びリバースプライマーの間に位置する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'ヌクレアーゼ活性によりプローブが分解されることで各ウイルス特異的な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ます。蛍光シグナルは、各 PCR サイクルにおいてリアルタイムに表示され、各ターゲットの増幅曲線が作成されます。作成した各増幅曲線より Ct 値 (蛍光強度が一定となるサイクル数) を求め、これらをもとに検出の結果を得ます。

【操作上の注意】

1. 測定試料の性質・採取法

採取した患者検体は感染の危険性があるので、必要なバイオハザード対策を実施してください。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ってください。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ます。また、本品中に MS2 Phage Control が含まれるため BSL2 以上で扱ってください。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ます。

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」⁽²⁾を参照してください。

検体の凍結融解により結果に影響が生じる可能性があります。

2. 交差反応性

本品の交差反応性を判定するために、32 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検討を行った結果、下記の微生物由来の RNA または DNA と交差反応性を示さないことが確認されました。

検討した 32 生物種

生物種	
<i>Bordetella pertussis</i>	Enterovirus
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Human Coronavirus 229E
<i>Haemophilus influenzae</i>	Human Coronavirus HKU1
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Human Coronavirus NL63
<i>Legionella pneumophila</i>	Human Coronavirus OC43
<i>Moraxella catarrhalis</i>	Human Metapneumovirus
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	Measles virus
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	MERS Coronavirus
<i>Neisseria meningitidis</i>	Parainfluenza 1 virus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Parainfluenza 2 virus
<i>Staphylococcus aureus</i> MRSA	Parainfluenza 3 virus
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Parainfluenza 4 virus
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Rhinovirus
<i>Streptococcus pyogenes</i>	SARS Coronavirus
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Adenovirus</i>	<i>Pneumocystis jirovecii</i>

3. 反応特異性

本品で使用するプライマー及びプローブの配列を用いた *in silico* 解析により、以下の反応特異性が確認されています。

(1) SARS-CoV-2

対象領域のいずれかについて、GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data、2022 年 6 月 10 日時点) に登録されている 108,046 株の SARS-CoV-2 に対し 99.7%保存されています。

(2) Flu A/B

GISAID 及び GenBank (2022 年 6 月 10 日時点) に登録されている 11,588 株及び 15,593 株に対しそれぞれ 84.6%及び 33.7%の保存性を示す一方、融解温度 (Tm) に基づく解析ではそれぞれ 98.1%及び 99.3%の反応性が予測されています。

(3) RSV-A/B

GenBank (2020 年 9 月時点) に登録されている 463 株及び 334 株に対しそれぞれ 93.7%及び 94.0%保存されています。

4. 妨害物質

鼻咽頭ぬぐい液に含まれる可能性のある下記物質について、表示した濃度で測定試料に添加した場合、測定への影響は認められませんでした。

妨害物質の影響

物質名	主成分	濃度
Mucin, bovine submaxillary gland	ムチン	0.1 mg/mL
血液	-	1% v/v
Afrin Original	オキシメタゾリン塩酸塩	0.63% v/v
Neo-Synephrine	フェニレフリン塩酸塩	10% v/v
Flonase	コルチコステロイド	5 µg/mL
Oseltamivir phosphate	オセルタミビルリン酸塩	33 µg/mL
Aciclovir Ointment 5% "TEVA"	アシクロビル軟膏	5 µg/mL
Tobramycin	トブラマイシン	0.6 mg/mL
NasoGel	生理食塩水	1% w/v
Allergy Relief	抗アレルギー天然成分	10% v/v
のど飴	糖類	1% w/v

5. 重複感染 (競合的干渉) の影響

陰性鼻咽頭ぬぐい液のプール検体に対し、SARS-CoV-2、Flu A、Flu B、RSV-A 及び RSV-B のうちの任意の 2 種類について、一方のウイルスを低濃度 (3×LoD (最小検出感度))、他方を高濃度 (2.5×10⁴ TCID₅₀/mL) となるようスパイクしました。全ての組み合わせについて試験を行った結果、低濃度 Flu A と高濃度 RSV-A の組み合わせを除き、競合的干渉は検出されませんでした。なお、Flu A (4×LoD) と RSV-A (2.5×10⁴ TCID₅₀/mL) の組み合わせでは競合的干渉は検出されませんでした。

【用法・用量 (操作方法)】

1. 検体の準備

本品の測定試料には鼻咽頭ぬぐい液検体から抽出した抽出 RNA 検体を用います。RNA の抽出は、予め鼻咽頭ぬぐい液検体 400 µL に MS2 Phage Control 10 µL を添加して行います。

2. 試薬の調製方法

1) 試薬は氷上で融解してください。

2) 抽出 RNA 検体と試薬を軽くボルテックスして遠心してチューブの底に液体を集めます。

3) 反応ミックスを調製します。

使用するプレートの種類に応じ、ランゴとに、テストする反応数に十分となるように表の構成品に加えて、陽性コントロール 1 回分と陰性コントロール 1 回分を組み合わせます。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ます。
試薬必要量を以下に示します。

反応ミックスの調製 (96 ウェルプレートを使用する場合)

構成品	必要量/検体、またはコントロール	必要量/n 検体、及び 2 コントロール
TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)	6.25 µL	$6.875 \times (n+2)$ µL
TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex Assay	1.25 µL	$1.375 \times (n+2)$ µL
総量	7.5 µL	

反応ミックスの調製 (384 ウェルプレートを使用する場合)

構成品	必要量/検体、またはコントロール	必要量/n 検体、y 陰性コントロール*1 及び 1 陽性コントロール
TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)	5.0 µL	$5.5 \times (n+y+1)$ µL
TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Multiplex Assay	1.0 µL	$1.1 \times (n+y+1)$ µL
総量	6.0 µL	

*1 y は抽出回数と同数

4) プレートをセットアップします。

調製した反応ミックスを反応プレートの各ウェルにピペットで分注し、以下に示すように抽出 RNA 検体またはコントロールと組み合わせます。

各ウェルの用量 (96 ウェルプレートを使用する場合)

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
反応ミックス	7.5 µL	7.5 µL	7.5 µL
抽出 RNA 検体	17.5 µL	—	—
陽性コントロール	—	17.5 µL	—
陰性コントロール	—	—	17.5 µL
総量	25.0 µL	25.0 µL	25.0 µL

*2 陽性コントロールの準備として、TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control Dilution Buffer 98.0 µL に TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control 2.0 µL を添加しよく混ぜ、TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control Dilution Buffer 138.0 µL に前述の希釈済 TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control 2.0 µL を添加し調製します。

各ウェルの用量 (384 ウェルプレートを使用する場合)

試薬	反応あたりの用量		
	検体	陽性コントロール*3	陰性コントロール
反応ミックス	6.0 µL	6.0 µL	6.0 µL
抽出 RNA 検体	14.0 µL	—	—
陽性コントロール	—	14.0 µL	—
陰性コントロール	—	—	14.0 µL
総量	20.0 µL	20.0 µL	20.0 µL

*3 陽性コントロールの準備として、TaqPath COVID-19, Flu A/B,

RSV Control Dilution Buffer 98.0 µL に TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control 2.0 µL を添加しよく混ぜ、TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control Dilution Buffer 110.0 µL に前述の希釈済 TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control 2.0 µL を添加し調製します。

3. RT-PCR の実行

リアルタイム PCR 装置で以下のサーマルプロトコルを実行します。

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
ブレインキュベーション	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	46
アニーリング/エクステンション	60°C	30 秒	

4. 結果の解釈

以下のカットオフ Ct 値を用いて陽性もしくは陰性の評価を行います。

カットオフ Ct 値

検体/コントロール	ターゲット	検出シグナル	カットオフ
陽性コントロール	MS2	JUN	Ct >37
	SARS-CoV-2	VIC	Ct ≤37
	Flu A, Flu B	FAM	Ct ≤45
	RSV-A, RSV-B	ABY	Ct ≤45
陰性コントロール	MS2	JUN	Ct ≤32
	SARS-CoV-2	VIC	Ct >37
	Flu A, Flu B	FAM	Ct >45
	RSV-A, RSV-B	ABY	Ct >45
臨床検体	MS2	JUN	Ct ≤32*4
	SARS-CoV-2	VIC	Ct ≤37
	Flu A, Flu B	FAM	Ct ≤45
	RSV-A, RSV-B	ABY	Ct ≤45

*4 ターゲットが全て陰性の場合。ターゲットのいずれかが陽性の場合、MS2 が Ct 値 32 を超えて陰性となっても、判定には影響しません。

5. 測定結果の判定法

測定結果の判定は専用の解析ソフトウェアにより自動で行います。

コントロールの判定

陰性コントロール				陽性コントロール				判定
SARS-CoV-2	Flu A/B	RSV -A/B	MS2	SARS-CoV-2	Flu A/B	RSV -A/B	MS2	
陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	陽性	陽性	陰性	有効
その他全て								無効

コントロールが有効の場合、以下の基準により検体の判定を行います。

検体の判定

検体				コール	判定
SARS-CoV-2	Flu A/B	RSV-A/B	MS2		
陽性	陽性	陽性	陽性/陰性	ウイルス陽性	SARS-CoV-2、Flu A/B、RSV-A/B 陽性
陽性	陽性	陰性	陽性/陰性	ウイルス陽性	SARS-CoV-2、Flu A/B 陽性
陽性	陰性	陽性	陽性/陰性	ウイルス陽性	SARS-CoV-2、RSV-A/B 陽性
陽性	陰性	陰性	陽性/陰性	ウイルス陽性	SARS-CoV-2 陽性
陰性	陰性	陰性	陽性	ウイルス陰性	SARS-CoV-2、Flu A/B、RSV-A/B 陰性
陰性	陰性	陰性	陰性	無効	再検*5
陰性	陽性	陽性	陽性/陰性	ウイルス陽性	Flu A/B、RSV-A/B 陽性
陰性	陽性	陰性	陽性/陰性	ウイルス陽性	Flu A/B 陽性
陰性	陰性	陽性	陽性/陰性	ウイルス陽性	RSV-A/B 陽性

*5 再検は検体の再抽出から行います。再検の結果が無効となった場合には、新たな検体採取からのやり直しを検討してください。

【臨床的意義】

<臨床成績>

SARS-CoV-2 に関し、鼻咽頭ぬぐい液検体を用いた本品と既承認品（PCR 法）との相関性を検討したところ、結果の得られた 197 例について以下の結果が得られました。

一致率の基準	一致率
陽性一致率	94.37% (67/71)
陰性一致率	100% (126/126)
全体一致率	97.97% (193/197)

Flu A/B 及び RSV に関し、鼻咽頭ぬぐい液検体を用いた本品と既承認品（PCR 法）との相関性を検討したところ、238 例について以下の結果が得られました。

一致率の基準	一致率	
	Flu A/B	RSV
陽性一致率	98.72% (77/78)	92.59% (75/81)
陰性一致率	98.13% (157/160)	96.82% (152/157)
全体一致率	98.32% (234/238)	95.38% (227/238)

【性能】

最小検出感度（LoD）

下表に示す各ウイルス株を鼻咽頭ぬぐい液検体で段階希釈したパネル試料を調製し、Hit Rate 法を用いて本品の LoD を求めました。最終的な LoD はパネル試料を 20 重測定し、Hit Rate が 95% 以上となる濃度としました。結果は下表のとおりです。

最小検出感度

ウイルス	株	LoD	
		GCE/mL	TCID ₅₀ /mL
SARS-CoV-2	USA-WA1/2020	50	8.24×10^{-3}
Flu A	Perth/16/2009	350	2.21×10^{-2}
Flu A	Brisbane/59/2007	384	1.23×10^{-3}

Flu B	Florida/04/2006	1250	1.47×10^{-1}
Flu B	Wisconsin/01/2010	350	4.24×10^{-3}
RSV-A	2006	200	1.36×10^{-2}
RSV-B	3/2015 Isolate #2	200	1.31×10^{-2}

変異株に対する検出性能

以下に示す変異株に対し、WHO 標準法と同等以上の検出性能が認められています⁽³⁾。

ウイルス	株
SARS-CoV-2	アルファ (2021)、オミクロン BA.2 (2022)
Flu A	H1N1 (pdm, 2019)、H3N2 (2019, 2022)
Flu B	ビクトリア系統、山形系統 (2016-2019)

【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。
- ・試薬を融解する際は氷上で行ってください。
- ・粘性のある試薬のピペット操作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でください。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するため、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ります。

(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また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また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。

【貯蔵方法・有効期間】

TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Assay Kit、TaqPath COVID-19, FluA/B, RSV Control Dilution Buffer 及び TaqPath 1-Step Multiplex Master Mix (No ROX)

貯蔵方法：-30 °C～-10 °C

有効期間：12 か月

TaqPath COVID-19, Flu A/B, RSV Control

貯蔵方法：-70℃以下

有効期間：12 か月

【包装単位】

1000 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】

- (1) 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針, 厚生労働省
- (2) 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
- (3) Boukli, N. et al. medRxiv. 2023.01.19.23284806

【製造販売業者及び製造業者の氏名または名称等】

＜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