

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

2020年11月作成(第1版)

製造販売承認番号:30200EZK00080000

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

コバス[®] SARS-CoV-2 & Flu A/B

【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、A型インフルエンザウイルス及びB型インフルエンザウイルスの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】をよく読み、1本のスワブで必ず両鼻腔から採取してください。
6. 鼻咽頭ぬぐい液及び鼻腔ぬぐい液のインフルエンザウイルスの検出については、承認時点において、臨床性能試験が実施されておらず、製造販売後に臨床性能試験を実施することが承認条件とされています。そのため、インフルエンザウイルス感染の診断は、本品による検査結果のみで行わず、他の検査結果及び臨床症状を考慮し総合的に判断してください。

【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. SARS-CoV-2 検査における唾液、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. 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。
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る場合は、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 & Flu A/B

384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
[SCoV2-FluA/B MMX-R2] 1×17.5 mL
プライマー-NCOV-1-FN1.A
プライマー-NCOV-1R.A
プライマー-SARBV-1F2.A
プライマー-SARBV-1R.A
プライマー-FLUA_RP4.A
プライマー-FLUAF_M1_121_146
プライマー-FLUBF_NS1_749_770
プライマー-FLUBR_NS1_865_842
2'-デオキシアデノシン-5'-三リン酸(dATP)
2'-デオキシチジン-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-NCOV-4P.P
プローブ-SARBV_P1-N2_6Q.C3
プローブ-FLUAF_HC3M1_212_181.6COU1.C
プローブ-FLUB_PRB2_11Q_JA270.C3
Z05-D DNA ポリメラーゼ

【使用目的】

生体試料中の SARS-CoV-2 RNA、鼻咽頭ぬぐい液又は鼻腔ぬぐい液中の A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA の検出(SARS-CoV-2 感染又はインフルエンザウイルス感染の診断補助)

【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 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 ライセン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

cobas[®]

イルスのたんぱく質などの不要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(A 型インフルエンザウイルス特異的)RNA、Target2(SARS-CoV-2 特異的)RNA、Target3(サルベコウイルス亜属共通)RNA、Target4(B 型インフルエンザウイルス特異的)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、Target3 RNA、Target4 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すが、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、Target3 RNA、Target4 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⁺ 及びデオキシス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、Target3 RNA、Target4 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 及び Target2 RNA、Target3 RNA、Target4 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、Target2、Target3 及び Target4 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) 採取容器と検体安定性

検体の採取には、コバス 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。コバス UTM 及び 0.9%生理食塩水に採取した検体は 2~25°C にて 48 時間保存後 2~8°C にて 3 日間安定です。コバス PCR メディアキットに採取した検体は 2~25°C にて 24 時間保存後 2~8°C にて 3 日間安定です。

(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添付文書を参照してください。

2. 反応特異性

A 型インフルエンザウイルス 10 株、B 型インフルエンザウイルス 5 株及び SARS-CoV-2 3 株をそれぞれ連続段階希釈することで複数濃度からなるパネルを製し、パネルの試料を各 4 重測定したところ、100%(4/4)の検出率が得られた最小濃度は下表のとおりでした。

ウイルス	ウイルス株	濃度
A 型インフルエンザウイルス	A/Canada/6294/09(H1N1)	0.002 TCID ₅₀ /mL
	A/California/07/09(H1N1)	0.026 TCID ₅₀ /mL
	A/Mexico/4108/09(H1N1)	0.0062 TCID ₅₀ /mL
	A/Texas/50/12(H3N2)	0.45 TCID ₅₀ /mL
	A/Singapore/63/04(H1N1)	0.0069 TCID ₅₀ /mL
	A/Perth/16/09(H3N2)	0.014 TCID ₅₀ /mL
	A/Wisconsin/67/05(H3N2)	0.041 TCID ₅₀ /mL
	A/Switzerland/9715293/13(H3N2)	0.0069 TCID ₅₀ /mL
	A/HongKong/4801/14(H3N2)	0.097 TCID ₅₀ /mL
	A/Michigan/45/15(H1N1)	0.013 TCID ₅₀ /mL
B 型インフルエンザウイルス	B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)	0.002 TCID ₅₀ /mL
	B/Utah/9/14(山形系統)	0.017 TCID ₅₀ /mL
	B/Alabama/2/17(ビクトリア系統)	0.0064 TCID ₅₀ /mL

SARS-CoV-2	B/Florida/78/2015 (ビクトリア系統)	0.076 TCID ₅₀ /mL
	B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)	0.070 CEID ₅₀ /mL
	BetaCoV/France/IDF0372/2020	0.038 PFU/mL
	BetaCoV/Munich/BavPat1/2020	0.0036 PFU/mL
	2019-nCoV/Italy-INMI1	0.062 TCID ₅₀ /mL

3. 交差反応性

- (1) 41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)を用いて交差反応性の可能性を検討しました。A型インフルエンザウイルス(A/Kansas/14/2017 (H3N2))、B型インフルエンザウイルス(B/Phuket/3073/2013 (山形系統))及びSARS-CoV-2 (USA-WA1/2020、加熱不活性培養)はそれぞれ約3×LoD(0.42、0.10及び0.36TCID₅₀/mL)での存在下及び非存在下にて検討した結果、いずれも意図しない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
Bordetella pertussis	1.0E+06 CFU/mL
Candida albicans	1.0E+06 CFU/mL
Chlamydia pneumoniae	7.9E+04 TCID ₅₀ /mL
Corynebacterium diphtheriae	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
Escherichia coli	1.0E+06 CFU/mL
Haemophilus influenzae	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	2.5E+04 TCID ₅₀ /mL
Human coronavirus OC43	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Human Metapneumovirus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Lactobacillus acidophilus	1.0E+06 CFU/mL
Legionella pneumophila	1.0E+06 CFU/mL
Legionella longbeachae	1.0E+06 CFU/mL
Measles virus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
MERS-coronavirus	1.0E+05 cp/mL
Moraxella catarrhalis	1.0E+06 CFU/mL
Mumps Virus	1.0E+05 TCID ₅₀ /mL
Mycobacterium tuberculosis	1.0E+06 CFU/mL
Mycoplasma pneumoniae	1.0E+06 CCU/mL
Neisseria elongata	1.0E+06 CFU/mL
Neisseria meningitidis	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 TCID ₅₀ /mL
Pseudomonas aeruginosa	1.0E+06 CFU/mL
Pneumocystis jirovecii	5.0E+03 organisms/mL
Respiratory Syncytial Virus	1.0E+05 PFU/mL
Human Rhinovirus	1.0E+05 PFU/mL
SARS-coronavirus (SARS-CoV-1)	1.0E+05 PFU/mL
Staphylococcus aureus	1.0E+06 CFU/mL
Staphylococcus epidermidis	1.0E+06 CFU/mL
Streptococcus salivarius	1.0E+06 CFU/mL
Streptococcus pneumoniae	1.0E+06 CFU/mL
Streptococcus pyogenes	1.0E+06 CFU/mL

- (2) NCBI データベースからダウンロードした Influenza C、Leptospira interrogans、Chlamydia psittaci、Bacillus anthracis 及び Coxiella burnetii の遺伝子配列に対し、本品のプライマー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ていましたが、この in silico 解析においては意図しない交差反応の可能性は認められませんでした。

4. 重複感染による競合阻害

A型インフルエンザウイルス(A/Kansas/14/2017 (H3N2))、B型インフルエンザウイルス(B/Phuket/3073/2013(山形系統))及びSARS-CoV-2(USA-WA1/2020、加熱不活性培養)を混合し、1ウイルスは高濃度(約1.0E+05TCID₅₀/mL)、2ウイルスは低濃度(約3×LoD)となるよう濃度の異なる3つの試料を作製しました。各試料を5重測定したところ、いずれかのウイルスが非常に高濃度で存在する場合であっても、低濃度の他の2つのウイルス検出を妨げることはなく、競合阻害は認められませんでした。

5. 採取容器による測定結果の比較

コバン UTM、コバス PCR メディア及び0.9%生理食塩水にA型インフルエンザウイルス(A/Kansas/14/2017 (H3N2))、B型インフルエンザウイルス(B/Phuket/3073/2013(山形系統))及びSARS-CoV-2(USA-WA1/2020、加熱不活性培養)を約2×LoDの濃度となるよう混合添加し21重測定を行いました。A型インフルエンザウイルス及びB型インフルエンザウイルス検出率はすべての採取容器で100%(21/21)、SARS-CoV-2 検出率はコバン UTM 及びコバス PCR メディアで100%(21/21)、0.9%生理食塩水で95.2%(20/21)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にウラシル N-グリコシルラーゼ(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dITP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せんが、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。

- 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/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、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。

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ゝ用います。

2. 別途必要な器具・器材・試料等

- コバス SARS-CoV-2 & Flu A/B 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 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 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 廃棄ボックス^{*2}
- コバス OMNI ライシス試薬^{*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}
- 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
- コバス 6800 システム又はコバス 8800 システム IG サーバー
- MPA ラック
- サンプルチューブ
- ラクトレイコラブシブル
- 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}、コバン UTM(コバンジャパン株式会社)又はBD UVT(日本ベクン ディッキンソン株式会社)、0.9%生理食塩水など

※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)。

- 試験管ミキサー
- 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)
- 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(デッドボリューム200 µL+検体使用量400 µL)又は1mL(デッドボリューム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 & Flu A/B コントロール[SCoV2-FluA/B (+C)]、内部コントロール[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。

(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 セカンドゲリーチューブ(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

- タッチスクリーン下部の主電源を押します。
- サンプルサプライモジュールの電源をONにします。
- ユーザーインターフェースにログインします。
- 必要に応じ保守点検を実施します。
- 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)

- コバス SARS-CoV-2 & Flu A/B、コバス SARS-CoV-2 & Flu A/B 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ムジュールのドロワーから内蔵の冷蔵庫にロードします。
- 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。
- 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 ピペ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ごといております。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、ラックレイコラピンブル(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、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、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 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

Target 1 (A 型インフルエンザウイルス)	Target 2 (SARS-CoV-2)	Target 3 (サルベコウイルス)	Target 4 (B 型インフルエンザウイルス)	解釈
Negative	Negative	Negative	Negative	標的 RNA が検出されません
Negative	Negative	Negative	Positive	B 型インフルエンザウイルス RNA 検出
Positive	Negative	Negative	Negative	A 型インフルエンザウイルス RNA 検出
Positive	Negative	Negative	Positive	A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA 検出
Negative	Negative	Positive	Negative	サルベコウイルス RNA 検出(SARS-CoV-2 推定陽性) SARS-CoV-2 の結果が陰性でサルベコウイルスの結果が陽性の場合、1) 試験方法の検出限界付近、又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位の SARS-CoV-2 標的領域の突然変異、3) 何らかの他のサルベコウイルス(例えば、SARS-CoV 又は以前にヒトに感染することが知られていなかった他のサルベコウイルス)による感染、又は4) 他の因子を示唆しています。 SARS-CoV-2、SARS-CoV-1 又は現在ヒトに感染することが知られていない他のサルベコウイルスを鑑別する必要がある場合には、追加の確認試験が実施されることがあります。
Negative	Negative	Positive	Positive	サルベコウイルス RNA 検出(SARS-CoV-2 推定陽性)、B 型インフルエンザウイルス RNA 検出 SARS-CoV-2 の結果が陰性でサルベコウイルスの結果が陽性の場合、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位の SARS-CoV-2 標的領域の突然変異、3) 他の一部のサルベコウイルス(SARS-CoV 又はこれまでヒトに感染することが知られていなかった他のサルベコウイルスなど)による感染、又は4) 他の因子を示唆されます。 SARS-CoV-2、SARS-CoV-1 又は現在ヒトに感染することが知られていない他のサルベコウイルスを鑑別する必要がある場合には、追加の確認試験が実施されることがあります。
Positive	Negative	Positive	Negative	サルベコウイルス RNA 検出(SARS-CoV-2 推定陽性)、A 型インフルエンザウイルス RNA 検出 SARS-CoV-2 が陰性でサルベコウイルス陽性の結果は、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位の SARS-CoV-2 標的領域の突然変異、3) 他の一部のサルベコウイルス(SARS-CoV 又はこれまでヒトに感染することが知られていなかった他のサルベコウイルスなど)による感染、又は4) 他の因子を示唆されます。 SARS-CoV-2、SARS-CoV-1 又は現在ヒトに感染することが知られていない他の

Positive	Negative	Positive	Positive	サルベコウイルスを鑑別する必要がある場合には、追加の確認試験が実施されることがあります。 サルベコウイルス RNA 検出(SARS-CoV-2 推定陽性)、A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA 検出 SARS-CoV-2 が陰性でサルベコウイルス陽性の結果は、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位の SARS-CoV-2 標的領域の突然変異、3) 他の一部のサルベコウイルス(SARS-CoV 又はこれまでヒトに感染することが知られていなかった他のサルベコウイルスなど)による感染、又は4) 他の因子を示唆されます。 SARS-CoV-2、SARS-CoV-1 又は現在ヒトに感染することが知られていない他のサルベコウイルスを鑑別する必要がある場合には、追加の確認試験が実施されることがあります。
Negative	Positive	Negative	Negative	SARS-CoV-2RNA 検出 SARS-CoV-2 が陽性でサルベコウイルスが陰性の場合には、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位のサルベコウイルス標的領域の突然変異、又は3) 他の要因が示唆されます。
Negative	Positive	Negative	Positive	SARS-CoV-2RNA 及び B 型インフルエンザウイルス RNA 検出 SARS-CoV-2 が陽性でサルベコウイルス陰性の結果は、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) オリゴ結合部位のサルベコウイルス標的領域の突然変異、又は3) 他の因子が示唆されます。
Positive	Positive	Negative	Negative	SARS-CoV-2RNA 検出、A 型インフルエンザウイルス RNA 及び SARS-CoV-2 陽性及びサルベコウイルス陰性の結果は、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) 汎サルベコウイルス標的領域の突然変異、又は3) 他の因子が示唆されます。
Positive	Positive	Negative	Positive	SARS-CoV-2RNA 検出、A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA 及び SARS-CoV-2 陽性及びサルベコウイルス陰性の結果は、1) 試験方法の検出限界付近又はそれ以下の濃度の試料、2) サルベコウイルス標的領域における突然変異、又は3) 他の因子が示唆されます。
Negative	Positive	Positive	Negative	SARS-CoV-2RNA 検出
Negative	Positive	Positive	Positive	SARS-CoV-2RNA 及び B 型インフルエンザウイルス RNA 検出
Positive	Positive	Positive	Negative	SARS-CoV-2RNA 検出、A 型インフルエンザウイルス RNA
Positive	Positive	Positive	Positive	SARS-CoV-2RNA 検出、A 型及び B 型インフルエンザウイルス RNA

2. 結果の判定にかかるとの注意

- (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 凍結と融解を繰り返した検体
 - ④ SARS-CoV-2 RNA、A 型インフルエンザウイルス及び B 型インフルエンザウイルス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、A 型インフルエンザウイルス及び B 型インフルエンザウイルス感染後、ある程度以上のウイルス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、A 型インフルエンザウイルス RNA 及び B 型インフルエンザウイルス 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“Negative”となる可能性がありますので、本キットで“Negative”と判定されても必ずしも SARS-CoV-2、A 型インフルエンザウイルス及び B 型インフルエンザウイルス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)

A 型インフルエンザウイルス 2 株、B 型インフルエンザウイルス 2 株及び SARS-CoV-2 1 株の培養ウイルスを疑似臨床マトリックスで 2 倍に連続段階希釈することにより、7~8 濃度の試料からなる混合ウイルスパネル 2 種及び単一ウイルスパネル 3 種を作製しました。混合ウイルスパネルの試料は試薬 1 ロットにつき 21 重測定、3 ロットを用いて計 63 重測定を行い、単一ウイルスパネルの試料は試薬 1 ロットを用いて 21 重測定を行いました。Probit 解析から算出された Hit rate 95% となる最小検出感度、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下表のとおりでした。

A型インフルエンザウイルス最小検出感度

Viral Strain	Kit lot	Panel	95% Probit [TCID ₅₀ /mL]	95% CI of Probit [TCID ₅₀ /mL]	Hit rate ≥95% [TCID ₅₀ /mL]
A/Kansas/14/2017 (H3N2)	1	Single-formulated	0.050	0.034 - 0.098	0.036
	1	co-formulated	0.12	0.073 - 0.28	0.071
	2	co-formulated	0.083	0.054 - 0.17	0.14
	3	co-formulated	0.062	0.040 - 0.14	0.071
	1~3	co-formulated	0.086	0.065 - 0.12	0.071
A/Brisbane/02/2018 (H1N1)	1	co-formulated	0.020	0.013 - 0.048	0.026
	2	co-formulated	0.020	0.013 - 0.064	0.026
	3	co-formulated	0.025	0.016 - 0.059	0.026
	1~3	co-formulated	0.022	0.017 - 0.034	0.026

B型インフルエンザウイルス最小検出感度

Viral Strain	Kit lot	Panel	95% Probit [TCID ₅₀ /mL]	95% CI of Probit [TCID ₅₀ /mL]	Hit rate ≥95% [TCID ₅₀ /mL]
B/Phuket/3073/2013 (山形系統)	1	Single-formulated	0.011	0.0076 - 0.023	0.017
	1	co-formulated	0.019	0.012 - 0.044	0.034
	2	co-formulated	0.016	0.0095 - 0.050	0.017
	3	co-formulated	0.019	0.010 - 0.084	0.017
	1~3	co-formulated	0.017	0.012 - 0.026	0.017
B/Colorado/06/2017 (ビクトリア系統)	1	co-formulated	0.027	0.017 - 0.065	0.026
	2	co-formulated	0.032	0.019 - 0.084	0.053
	3	co-formulated	0.019	0.012 - 0.050	0.026
	1~3	co-formulated	0.026	0.019 - 0.040	0.026

SARS-CoV-2 最小検出感度

Viral Strain	Kit lot	Panel	95% Probit [TCID ₅₀ /mL]	95% CI of Probit [TCID ₅₀ /mL]	Hit rate ≥95% [TCID ₅₀ /mL]
USA-WA1/2020 infectious culture*	1	co-formulated	0.0081	0.0041 - 0.049	0.0079
	2	co-formulated	0.0071	0.0044 - 0.018	0.0079
	3	co-formulated	0.0052	0.0032 - 0.013	0.0079
	1~3	co-formulated	0.0063	0.0046 - 0.010	0.0079

* 供給先からの分析証明書に記載されている情報に基づくと、1TCID₅₀/mL は dPCR による 7,393 ゲノムに相当します。

サルベコウイルス最小検出感度

Viral Strain	Kit lot	Panel	95% Probit [TCID ₅₀ /mL]	95% CI of Probit [TCID ₅₀ /mL]	Hit rate ≥95% [TCID ₅₀ /mL]
USA-WA1/2020 infectious culture*	1	co-formulated	0.0090	0.0057 - 0.020	0.016
	2	co-formulated	0.0076	0.0049 - 0.016	0.016
	3	co-formulated	0.0080	0.0053 - 0.017	0.0079
	1~3	co-formulated	0.0082	0.0062 - 0.012	0.016

* 供給先からの分析証明書に記載されている情報に基づくと、1TCID₅₀/mL は dPCR による 7,393 ゲノムに相当します。

2. 相関性試験成績

上気道感染症の兆候及び症状のある患者から採取した保存鼻咽喉ぬぐい液 348 検体 (COVID-19 と診断された患者から経時的に採取された 57 検体を含む) を本品及び既承認品 (リアルタイム PCR 法) で測定し、SARS-CoV-2 検出における一致率を算出したところ、陽性一致率: 53/55 = 96.4% (95% CI: 87.7% - 99.0%)、陰性一致率: 287/293 = 98.0% (95% CI: 95.6% - 99.1%) でした。

SARS-CoV-2 検出	既承認品 (リアルタイム PCR 法)			
	陽性	陰性	合計	
本品	陽性	53	6	59
	陰性	2	287	289
合計	55	293	348	

乖離8検体はすべて COVID-19 と診断された患者由来であり、いずれも Ct 値の遅延が認められたため、本品及び既承認品の最小検出感度付近までウイルス量が減少している回復期患者の検体と考えられました。アンプリコン (PCR 増幅産物) シーケンス解析の結果、乖離 8 検体すべてで SARS-CoV-2 の存在が認められました。

【使用上又は取扱上の注意】

1. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 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。
- 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。
- 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

- 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。
- 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。
- コパス OMNI 検体希釈液とコパス OMNI ライス試薬は、室温に戻してからコパス 6800 システム又はコパス 8800 システムにセットしてください。
- 使用開始後の試薬は微生物の汚染にご注意ください。
- 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。
- 本キットを取り扱う際には微生物や核酸分解酵素のコ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。
- 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 [SCoV2-FluA/B 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、短い日付まで安定です。これらの試薬は測定合計回数 40 回まで使用できます。冷蔵以外での機器上では合計 40 時間まで使用が可能です。
- 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

- 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。
- 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。
- 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。
- 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にふき取ってください。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。
- コパス OMNI ライス試薬、コパス 6800 システム及びコパス 8800 システム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。
- 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、コパス 6800/8800 システム バッファ陰性コントロールキット、コパス OMNI MGP 試薬及びコパス OMNI 検体希釈液は 0.1% 未満、コパス SARS-CoV-2 & Flu A/B 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。
- 使用済みコパス 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。

《承認条件》

- 承認時の以下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。
 - 鼻腔ぬぐい液中の SARS-CoV-2 核酸検出に係るデータ
 - 鼻咽頭ぬぐい液又は鼻腔ぬぐい液中のインフルエンザウイルス核酸検出に係るデータ
- 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】

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

【包装単位】

コパス SARS-CoV-2 & Flu A/B 384 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】

- Higuchi, R. et al. Simultaneous amplification and detection of specific DNA sequences. Biotechnology (N Y). 1992, 10, p.413~417.
- 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・ダイアグノスティックス株式会社
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・ダイアグノスティックス株式会社
〒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》

