

nCoV Wipe Test

新型コロナウイルス拭取り検査試薬キットー環境検査用ー
Novel Coronavirus Detection Kit for Wipe Test

P/N:241-20300-91

取扱説明書

この文書をよく読んで正しくご使用ください。
いつでも使用できるように大切に保管してください。

特長

- 専用液を用いることにより、拭取ったコロナウイルスを短時間に濃縮できます。
- 面倒な RNA 精製作業は不要で、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) を加熱処理だけで検出することができます※¹。
- 内部コントロール DNA (I.C.) により偽陰性判定を防止できます。
- 1step RT-PCR 法で新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の N 遺伝子 (Nucleocapsid) の 2 か所 (N1、N2) を検出することができます。

※1: 米国 CDC の「2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes」に記載の「2019-nCoV_N1」および「2019-nCoV_N2」のプライマー・プローブ配列を使用しています。

国立感染症研究所の陽性コントロール RNA を本試薬キットでは使用することが出来ません。

試薬キット構成

No	試薬名称	本数	液量
①	濃縮液	1 本	50 mL
②	検体処理液	1 本	500 µL
③	nCoV Reagent A	1 本	650 µL
④	nCoV Reagent B	1 本	650 µL
⑤	nCoV Reagent C	1 本	200 µL

使用回数:100 tests

使用期限:包装袋のラベルに記載

保存温度:-20 °C

キット以外に必要な機器・消耗品

■機器

- リアルタイム PCR 装置:FAM、ROX、Cy5 蛍光フィルター対応
- 冷却高速遠心機:回転数が 14,000 rpm 以上のもの
- 恒温装置: 90°C に設定可能なもの
- マイクロピペット
- 小型遠心機(スピンドウン用)
- ボルテックスミキサー
- クラッシュアイスや市販の保冷材冷媒
- チューブ冷却用アルミブロック

■消耗品

- 綿棒型拭取り器具※²
- 濃縮用チューブ (1.5~2mL)
- 反応液調製用チューブ (0.5 mL~2 mL)
- リアルタイム PCR 用反応チューブ
- マイクロピペット用フィルター付チップ
- 滅菌蒸留水

※2: 日本 BD 社製『BD ラスパーチェック™ふき取り検査用スワブ』など。

操作方法

使用上の注意

- ・検体は、感染防止のための適切な対策を行った上で取り扱ってください。
- ・同封された試薬 Lot の組み合わせで検査を実施してください。
- ・本試薬キットの内、①濃縮液は**解凍後は冷蔵保存でも可**、それ以外の試薬(②検体処理液、③nCoV Reagent A、④nCoV Reagent B、⑤nCoV Reagent C)は**冷凍 (-20 °C)** で保存してください。
- ・操作は**全て氷冷下** (クラッシュアイスなどの冷媒で冷却したアルミブロック上※³) で実施してください。
- ・①濃縮液、②検体処理液、③nCoV Reagent A、④nCoV Reagent B の各試薬は予め室温にて解凍後、**ボルテックスでしっかり混和・スピンドウン**し、②検体処理液以外は**使用時まで氷冷下**に保持してください。
- ・⑤nCoV Reagent C は冷凍保存下でも凍らないため、室温で解凍する必要はありません。スピンドウンして**使用時まで氷冷下**に保持してください。

※3: クラッシュアイス上の冷却用アルミブロックのイメージ図



1 コロナウイルスの濃縮と検体前処理

- ①濃縮液は解凍しボルテックスで十分に攪拌後、冷却しておきます。
- 検査試料※⁴(~400µL)を濃縮用チューブにいれます。
- (2)のチューブに試料と等量の①濃縮液を添加し、ボルテックスミキサーで 5 秒間しっかり混合します。
- アルミブロック上で 10 分間静置氷冷します。
- 予め 4°C に冷却しておいた高速遠心機で、14,000rpm・20 分間の遠心分離を行います。
- ピペットチップでチューブ底部の沈殿 (目視では見えない場合あり) がある面に触れないよう注意し、上清が残らないように全て吸い取ります。
- (6)のチューブに 4µL の蒸留水と 5µL の②検体処理液を添加し、ボルテックスミキサーで 15 秒間しっかり混合し、スピンドウンします。
- 予め 90°C にセットしておいた恒温槽で、5 分間の加熱処理を行います。
- 再度ボルテックスミキサーで 15 秒間しっかり混合した後、スピンドウンします。
- 全量を PCR 反応チューブに移し、**2**のリアルタイム RT-PCR 反応のサンプルとします。

※4: 検査試料の拭取り法の例は裏面「検体の採取について」を参照下さい。

2 反応液調製

- 反応液調製用チューブでリアルタイム RT-PCR 反応液を調製します※⁵。

【1テスト分】

必要な反応数を掛けて使用量を計算してください。

③ nCoV Reagent A	6.5 µL
④ nCoV Reagent B	6.5 µL
⑤ nCoV Reagent C	2.0 µL
Total	15.0 µL

※5: nCoV Reagent C は微量のため取扱いに注意してください。

各試薬を混ぜた後は、ボルテックスで 5 秒間しっかりと混合してください。ピペッターの分注誤差を考慮し 1 割増の反応数で調製してください。

- 加熱処理済サンプル (約 10 µL) を入れた PCR 反応チューブに、(1)の RT-PCR 反応液: 15 µL を添加します (総液量: 25 µL/ チューブ)。
- ボルテックスミキサーで 5 秒間しっかり混合し、スピンドウンし、リアルタイム PCR 装置にて直ちに反応を開始します。

3 リアルタイム RT-PCR 反応

(1) リアルタイム RT-PCR の設定条件は以下のとおりです^{※6}。

【設定条件】

BioRad 社製 CFX96 Touch Deep Well 使用の場合

温度	時間
42℃	10 分
↓	
95℃	1 分
↓	
[95℃ 5 秒 ⇒ 60℃ 30 秒]	×45 サイクル

※6: 60℃のステップで FAM、ROX および Cy5 蛍光フィルターで測光します。このステップは測光する時間を含めて 30 秒にする必要があります。使用する装置によって、30 秒になるように設定してください。上記、BioRad 社製 CFX96 Touch Deep Well は設定した 15 秒の後に測光するため、合計 30 秒になる装置の一例です。

(2) FAM、ROX および Cy5 蛍光フィルターによる増幅曲線を確認し、判定します。

【判定例】

- 内部コントロール(Cy5)の増幅曲線の立ち上がり が 40 サイクル以内であることを確認してください。但し、N1(ROX)または N2(FAM)の立ち上がり が早い場合に内部コントロールが立ち上がらないことがあります。
- ROX の増幅曲線が反応時間以内に立ち上がった場合は、N1 が陽性と判断します。
- FAM の増幅曲線が反応時間以内に立ち上がった場合は、N2 が陽性と判断します。

判定	ROX: N1 (≤45 サイクル)	FAM: N2 (≤45 サイクル)	Cy5: IC (≤40 サイクル)
陽性	+	+	+ ^{※7} または -
	+	-	+ ^{※7} または -
	-	+	+ ^{※7} または -
検出感度以下	-	-	+
不成立 ^{※8}	-	-	-

+: 増幅曲線の立ち上がり 有り

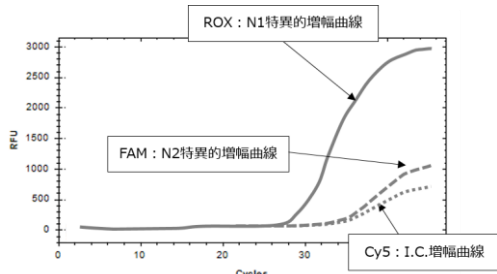
-: 増幅曲線の立ち上がり 無し

※7: コロナウイルスが高濃度の場合、I.C.増幅が抑えられる場合があります。

※8: いずれの増幅曲線も確認できないときは、再解析が必要です。

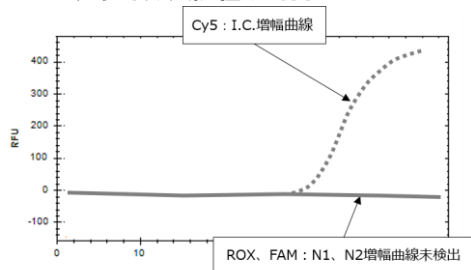
【検出例】 BioRad 社製 CFX96 Touch Deep Well 使用の場合

1. コロナウイルス陽性の場合



コロナウイルスが高濃度の場合、I.C.増幅が抑えられる場合があります。

2. コロナウイルス陰性の場合



検体の採取について

検査試料の拭取り法: 綿棒型拭取り器具使用例

- 器具本体中の溶液(蒸留水、生理食塩水またはリン酸緩衝液など)量が多い場合(例:10mL)は、**予め 1mL まで減量**しておきます。そのままの容量では、綿棒から懸濁したコロナウイルス濃度が低く、リアルタイム RT-PCR での検出感度以下になる場合があります。
- 器具本体から綿棒を抜き、検査対象箇所を拭取ります(目安: 10cm×10cm(100 平方 cm)^{※9})。
- 綿棒を本体に戻し、溶液中に浸漬して 10 秒間攪拌します。
- コロナウイルスを懸濁した溶液を検査試料とし、上述の操作手法 1 コロナウイルスの濃縮と検体前処理工程へ進みます。

※9: 拭取り方法については下記サイトも参照してください。

文部科学省「調理場における洗浄・消毒マニュアル Part2」(P37 第 4 章 洗浄・消毒の評価方法)

注意事項

1. 試薬に関する注意事項

- 本製品は研究用です。医薬品医療機器法に基づく体外診断用医薬品あるいは医療機器として承認・認証等を受けておりません。治療診断目的およびその手続き上での使用はできません。
- 本製品の性能検証は不活化した新型コロナウイルスを用いて実施しました。
- 検査環境が PCR 産物で汚染されている場合、サンプル調製中に環境中の DNA/RNA 断片がコンタミネーションすることで偽陽性の判定が出る可能性があります。再測定用に拭取り器具内に残ったウイルス懸濁液は冷凍保存しておくことを推奨します。
- 本取扱説明書および SDS に従って正しくご使用ください。SDS の入手は当社までお問合せください。
- 本試薬キットはコロナウイルスの完全な検出を保証するものではありません。サンプル中のウイルス量や夾雑物の多寡などによって、検出されない場合があります。

2. 廃棄に関する注意事項

- 増幅産物による汚染を防ぐため、PCR 後の反応チューブはふたを開けないで廃棄してください。廃棄の際にオートクレーブは行わないでください。DNA はオートクレーブでは分解されません。エアロゾルが発生して汚染原因となる可能性があります。
- 廃棄物は法令や自治体等の条例・規制等に従って適切に廃棄してください。

3. その他

- 本取扱説明書の著作権は(株)島津製作所が保有します。当社の許可無く内容の一部または全部を転載・複製することはできません。
- BD およびラスパーチェックは、Becton, Dickinson and Company の商標です。その他、取扱説明書に記載されている会社名、製品名、サービスマーク、およびロゴは、各社の商標および登録商標です。なお、本文中には「TM」、「®」マークを明記していない場合があります。

保証について

1. 保証内容

- 取扱説明書に記載した性能を保証します。使用期限内に品質に異常が生じた場合は、無償で製品を代替します。使用期限は包装袋のラベルに記載しています。使用期限内にご使用ください。

2. 責任の制限

- どのような場合にも、お客様の逸失利益、間接的損害、派生的な損害について、当社は一切責任を負いません。第三者からお客様に対してなされた損害賠償に基づく損害についても、当社は一切責任を負いません。また、お客様の操作方法、計測装置により反応の有無が変わる場合があります。誤判定が発生した場合でも発生した損害についても、当社は一切責任を負いません。如何なる場合にも、当社の損害賠償責任は本製品の代金相当額をもってその上限とします。

3. 保証除外事項

- 使用期限内に品質に異常が生じた場合でも以下の場合は保証対象から除外いたします。(1)誤って使用された場合、(2)保存方法が適切でなかった場合、(3)本製品に因らない理由で異常が生じた場合

技術的な内容に関するお問合せ窓口

株式会社島津製作所

分析計測事業部 バイオ・臨床ビジネスユニット TEL: 075-823-1351
<http://www.an.shimadzu.co.jp/general/contact/contact.htm>

© 2020 Shimadzu Corporation. All rights reserved.