

NoV Wipe Test

Ampdirect® Technology

ノロウイルス拭取り検査用試薬キット

Norovirus Detection Kit for Wipe Test

P/N:241-09260-91

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

- 専用液の使用で、拭取ったノロウイルスを短時間に濃縮できます。
- 濃縮ノロウイルスは加熱処理だけで面倒な RNA 精製作業は不要です。
- 厚生労働省通知法と同じ原理で検出します(G1 型と G2 型の識別はできません)。
- 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。

試薬キット構成

No	試薬名称	本数	液量
①	濃縮液	1 本	44 mL
②	検体処理液	1 本	1.0 mL
③	反応液 A	1 本	1.4 mL
④	反応液 B	1 本	280 μ L
⑤	反応液 C	1 本	28 μ L

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 $^{\circ}$ 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 および ROX 蛍光フィルター対応
- 冷却高速遠心機:回転数が 14,000 rpm 程度のもの
- 恒温装置: 90 $^{\circ}$ C に設定可能なもの
- マイクロピペット
- 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

※2: 日本 BD 社製『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

- ・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、③反応液 A、④反応液 B、⑤反応液 C)は冷凍(-20 $^{\circ}$ 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、③反応液 A、④反応液 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。
- ・⑤反応液 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 ノロウイルスの濃縮と検体前処理

- (1) 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。
- (2) ノロウイルスを懸濁させた試料^{※4}(~400 μ L)を濃縮用チューブにいれます。
- (3) (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。
- (4) アルミブロック上で10分間静置氷冷します。
- (5) 予め4 $^{\circ}$ 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。
- (6) 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。
- (7) (6)のチューブに9 μ L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。
- (8) 予め90 $^{\circ}$ 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。
- (9) 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。
- (10) 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

- (1) 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 反応液 A	12.5 μ L
④ 反応液 B	2.5 μ L
⑤ 反応液 C	0.25 μ L
Total	15.25 μ L

※5: 反応液 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。

- (2) 加熱処理済サンプル(約10 μ L)を入れたPCR反応チューブに、(1)のRT-PCR反応液: 15 μ Lを添加します(総液量: 25 μ L/チューブ)。
- (3) 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】

島津製作所製 遺伝子検出装置 GVP-9600 使用の場合

温度	時間
50℃	15分
↓	
95℃	5分
↓	
95℃	1秒 ×45 サイクル
56℃	30秒

※6: 56℃のステップで FAM および ROX 蛍光フィルターで測光します。使用する装置によって、RT-PCR 増幅条件や光学設定（ゲインなど）の最適化が必要な場合があります。十分な検証を行ってからご使用ください。装置は製品に付属する取扱説明書に従って、正しくご使用ください。

(2) FAM および ROX 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】

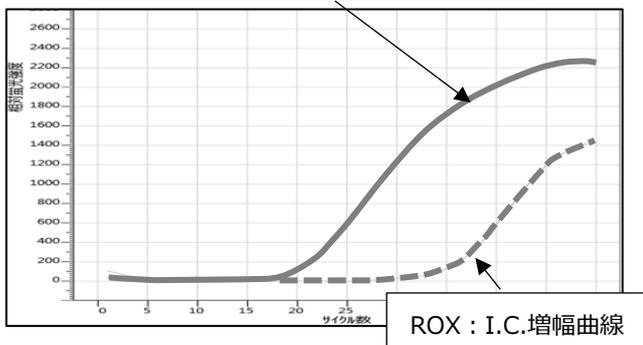
ノロウイルス		I.C.	ROX 蛍光フィルター 増幅曲線	
			○	×
FAM 蛍光フィルター 増幅曲線	○	陽性	陽性	
	×	陰性	判定不能 ^{※7}	

※7: 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】 島津製作所製 遺伝子検出装置 GVP-9600 使用

1. ノロウイルス陽性 (G1 または G2) の場合

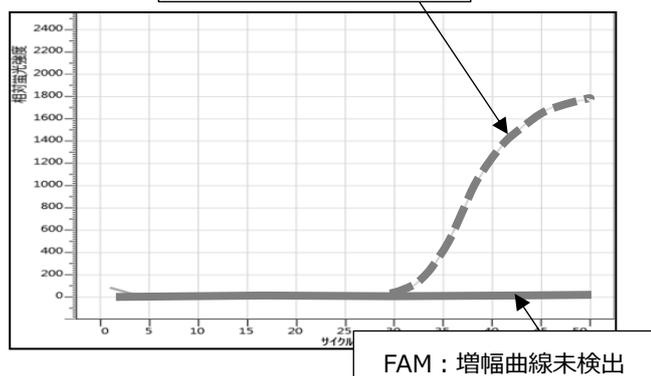
FAM : G1 または G2 特異的増幅曲線



ノロ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. ノロウイルス陰性の場合

ROX : I.C.増幅曲線のみ



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

- (1) 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、綿棒から懸濁したノロ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。
- (2) 器具本体から綿棒を抜き、検査対象箇所を 10cm×10cm(100 平方 cm)で拭取ります^{※8}。
- (3) 綿棒を本体に戻し、溶液中に浸漬してよく攪拌します。
- (4) ノロウイルスを懸濁した溶液を試料とし、上述の操作方法 1 ノロウイルスの濃縮と検体前処理工程へ進みます。

※8: 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。
- ・本試薬キットはノロ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。
- ・本取扱説明書に記載の会社名・商品名は各社の商標の場合があります。本文中では一部®・TM を省略しています。
- ・Ampdirect®は(株)島津製作所の登録商標です。

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>