

【Oragene/ORAc collect/OMNIgene(採取キット)で採取された検体に含まれる

SARS-CoV-2 の不活化について】

2020年12月2日

はじめに、厚生労働省および国立感染症研究所から公開されている最新版のガイドラインについても合わせてご覧ください。合わせまして、別途資料(MK-01430)についても必ずご覧ください。

[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](#)

[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\(2020年7月17日更新版\)：国立感染症研究所](#)

本サイトは、DNA Genotek からリリースされた “Inactivation of SARS-CoV-2 in samples collected using Oragene, ORAc collect and OMNIgene products from DNA Genotek” の一部を要約したものです。

DNA Genotek は唾液中に含まれる核酸の採取保存キットを販売しております。本製品の利用者の皆様には唾液中に含まれる SARS-CoV-2 の不活化について多くのご質問を頂いておりますので、保存溶液を混合した後のウイルスの不活化や検体の管理、輸送について、これまでのデータを以下のようにまとめました。

一方で、採取キットの外側や表面に付着したウイルスについては検証しておりませんので、感染性の検体の疑いがある場合、採取キットの除染や取り扱い方の防護など適切な対応が求められます。

DNA Genotek 製品に含まれる保存溶液による SARS-CoV-2 ウイルスの不活化

DNA Genotek は Oragene® (DNA、RNA、ONE、DISCOVER および Dx)、ORAc collect® (DNA および RNA)、OMNIgene®•ORAL および OMNIgene®•GUT 製品に含まれる保存溶液について、SARS-CoV-2 に対する不活化を検証した。PBS(リン酸緩衝生理食塩水)もしくは健常者から採取された唾液/糞便(陰性検体：SARSCoV-2 の未感染)に既知量の SARS-CoV-2 を加えた。この SARS-CoV-2 が加えられた PBS、唾液、または糞便に DNA Genotek の保存溶液を混合した。ネガティブコントロール(NC)として SARS-CoV-2 を加えていない PBS、唾液または糞便を使用し、ポジティブコントロール(PC)として SARS-CoV-2 を加えた PBS を使用した。各サンプルに残留する感染力のある SARS-CoV-2 は、希釈アッセイ(エンドポイント法)を使用し、Vero E6 細胞培養で定量され、TCID50 / mL は Reed-Muench 法により測定した。SARS-CoV-2 が加えられた PBS または唾液/便を保存溶液と混合し試験を行った結果、サンプル中の SARS-CoV-2 は 99%以上の減少が観

〒216-0033

神奈川県川崎市宮前区宮崎 2-10-9

株式会社協同インターナショナル

TEL:044-853-2958 FAX:044-854-1979

察された。さらに、ウイルスを含まない NC と DNAGenotek 製の保存溶液を混合したサンプルとの間に大きな違いはみられなかった (Figure1)。

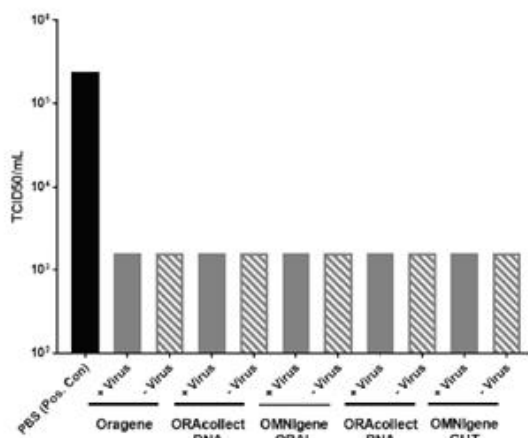


Figure1

Figure1: ウイルスが添加された PBS と DNA Genotek 採取キット各種に含まれる保存液を混合した後の感染力のある SARS-CoV-2 の定量。PBS(Pos.Con): ウイルスを添加した PBS のみ +Virus: ウイルスを添加した PBS に DNAGenotek 各種の保存溶液を混合。-Virus : ウイルスを添加していない PBS に DNAGenotek 各種の保存溶液を混合。保存溶液を混合したすべての検体がウイルスを添加していない検体と同等のウイルス価を示した。(> 99%不活化)。また他の研究においてもウイルスを不活化が裏付けられている。SUNY Upstate Medical University (Syracuse, NY) で行われた研究では、保存溶液によるジカウイルスの完全な不活化が観察された。サンプル処理から 15 分以内の ORAcollect•RNA での保存溶液 (パーソナルコミュニケーション、Figure2)。

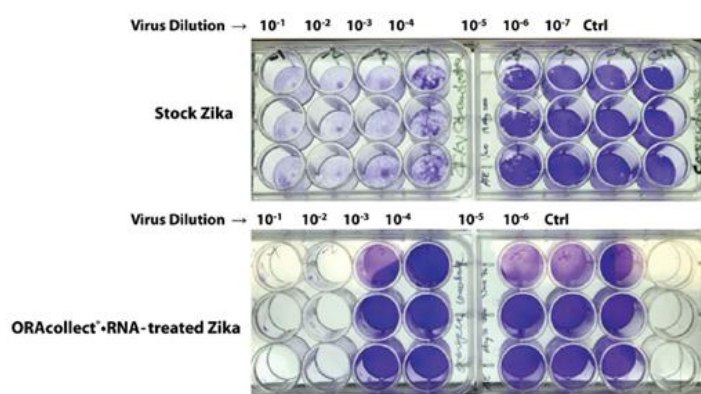


Figure2 : ORAcollect•RNA によって採取されたジカウイルスのプラークアッセイ。

ウイルスによって誘発されたプラーク形成は、複数のウイルス濃度の未処理ウェルではっきりと確認された(上パネル)。ORAcollect で採取されたサンプルではプラーク形成は確認されなかった(下パネル)。特に、Vero 細胞は、最高濃度のサンプル(下のパネルの左側の透明なウェル)での ORAcollect のキャリーオーバーにより完全な細胞死が観察された。さらに DNA Genotek 製品の保存溶液に含まれる特定の成分が SARS-CoV を含むエンベロープウイルス、または MERS-CoV (いずれも SARS-CoV-2 1,2 と類似)を完全に不活化できることを示す重要な文献もある。これらのエンベロープウイルスを不活化する方法は広く研究されており、ウイルスの脂質エンベロープ(外層)は、界面活性剤や溶剤による処理に非常に効果あることが示されている 3,4。DNAgenotek 製品(Oragene,ORAcollect,OMNIgene)に含まれる保存溶液は、エンベロープウイルスを非感染性にすることが期待される界面活性剤(イオン性洗剤)を含んでいる 5,6。SARS-CoV および MERS-CoV は熱処理に敏感である。多くの研究により、コロナウイルスを 56~68°C で 10~60 分間熱処理すると、ウイルス粒子を不活性化するのに効果的であることが示されている 4,7,8。完全なウイルス不活化させるには、温度を上げると減少することが確認されている 9。上述したように DNA Genotek の保存溶液がこの熱処理をしなくても、SARS-CoV2 ウイルスを不活性化することを示しているが、サンプルが感染の疑いがある被検者から採取された場合、またはリスクが高いと考えられる地域から取得された場合、さらなる注意が必要であると研究者が判断した場合は、熱処理されることが望ましい。現状と適用される規制に基づいて、追加の予防措置が必要かどうかは研究者や医療従事者の責任のもと決定されます。Oragene、Oracollect および OMNIgene で採取された検体の輸送について 検体の梱包、運搬、および輸送は、国際航空輸送協会(IATA)の危険物規制の最新版に従う必要があります。感染の可能性がある検体を輸送する場合は、UN3373 生物学的物質、カテゴリ-B の規制に従ってください(IATA DGR Section 3.6.2.2.2)。感染性の認められない検体については、適用外人体標本の規制に従ってください(IATA DGR Section 3.6.2.2.3.8)。感染者の検体が感染性を有する可能性が最小限であるかどうかを判断するには、専門家の判断が必要です。その判断は、既知の病歴、発生源、ヒトまたは動物の症状および個々の状況、および固有の地域の条件に基づくべきであると考えられます。

References

- 1 Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The Species Severe Acute Respiratory Syndrome-Related Coronavirus: Classifying 2019-nCoV and Naming It SARS-CoV-2. Nat Microbiol. Mar 2 2020 (<https://doi.org/10.1038/s41564-020-0695-z>).
- 2 Lai C et al. Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and coronavirus disease-2019 (COVID-19): The epidemic and the challenges. Int J Microb

〒216-0033

神奈川県川崎市宮前区宮崎 2-10-9

株式会社協同インターナショナル

TEL:044-853-2958FAX:044-854-1979

- Agents. Feb 20 2020 (<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.105924>).
- 3 Rabenau HF et al. SARS-coronavirus (SARS-CoV) and the safety of a solvent/detergent (S/D) treated immunoglobulin preparation. *Biologicals*. 33(2):95-99 (2005).
- 4 Darnell MER et al. Evaluation of Inactivation Methods for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus in Noncellular Blood Products. *Transfusion*. 46(10), 1770-7 (2006).
- 5 Howett, MK et al. A Broad-Spectrum Microbicide with Virucidal Activity against Sexually Transmitted Viruses. *Antimicrob Agents Chem*. 43(2):314-321 (1999).
- 6 Piret, J et al. Sodium Lauryl Sulfate, a Microbicide Effective Against Enveloped and Nonenveloped Viruses. *Curr Drug Targets*.3(1):17-30 (2002).
- 7 Rabenau HF et al. Stability and inactivation of SARS coronavirus. *Med Microbiol Immunol*. 194:1-6 (2005).
- 8 Kariwa H et al. Inactivation of SARS coronavirus by means of povidone-iodine, physical conditions, and chemical reagents. *Jpn J Vet Res*. 52(3):105-112 (2004).
- 9 Paget A et al. Evaluation of SARS-Coronavirus Decontamination Procedures. *Applied Biosafety*. 12(2):100-8 (2007).
- 10 International Air Transport Association Dangerous Goods Regulations, 60th Edition. (2019).

™DNA Genotek is a trademark and ®ORAgene, OMNIgene and ORAcollect are registered trademarks of DNA Genotek Inc. ®OraSure is a registered trademark of OraSure Technologies, Inc. Some OraSure Technologies, Inc and DNA Genotek products may not be available in all geographic regions, contact your sales representative for details.

版数	発行日	改訂履歴
第1版	2020年4月14日	初版発行
第2版	2020年10月22日	病原体検査の指針(第1版)に改訂。
第3版	2020年12月2日	病原体検査の指針(第2版)に改訂。

以上