

10. 遺伝子検査（病原体核酸検査）

調査目的と意義

病原体核酸検査は、ヒトに感染症を引き起こす病原体であるウイルス、細菌、真菌、原虫等に固有の遺伝子断片を検出することで感染症の原因微生物を特定する目的で実施される。

令和元年に発生した COVID-19 の診断を目的として、衛生検査所や SARS-CoV-2 の病原体核酸検査のみを実施する臨時の衛生検査所、医療施設が SARS-CoV-2 の病原体核酸検査を実施している。病原体核酸検査は、高い感度を有する検査法の一つであるが、検体採取から核酸抽出、PCR による DNA 増幅、結果の解釈といった複数の工程を経なければならない。また、SARS-CoV-2 は RNA ウイルスであるため、DNA の増幅の前に RNA から DNA への逆転写が必要となる。

平成 29 年 6 月 14 日に公布された臨床検査技師等に関する法律の一部改正では、第二十条の三第二項に「都道府県知事は、前項の登録（以下「登録」という。）の申請があつた場合において、その申請に係る衛生検査所の構造設備、管理組織、検体検査の精度の確保の方法その他の事項が検体検査の業務を適正に行うために必要な厚生労働省令で定める基準に適合しないと認めるとき、又はその申請者が第二十条の七の規定により登録を取り消され、取消しの日から二年を経過していないものであるときは、登録をしてはならない」と定められた。これに伴い、遺伝子関連・染色体検査を実施するには精度の確保に係る責任者を任命することが明記され、内部精度管理の実施、適切な研修の実施が義務化され、また、外部精度管理の受検が努力義務化された。

そのような背景から、東京都は、令和 2 年度の衛生検査所精度管理事業で国内における外部精度管理実施主体として、初めて SARS-CoV-2 を対象に病原体核酸検査のオープン調査を、令和 3 年度からオープン調査に加えてブラインド調査を継続して実施している。

令和 5 年度も SARS-CoV-2 に対する病原体核酸検査のオープン調査とブラインド調査、そして精度管理の取り組みについての聞き取りを実施した。

(1) 参加施設

衛生検査所 39 施設、臨時の衛生検査所 9 施設、計 48 施設が本精度管理調査に参加した。また、11 施設に対し、ブラインド調査を併せて実施した。

(2) 調査試料

標準品

A 社製 Full process control

試料調製方法

オープン調査では、GE1（陽性、20,000 copies/mL 程度）、GE2（陰性、ヒト RNaseP 遺伝子を含む）、GE3（陽性、10,000 copies/mL 程度）の 3 試料を鼻咽頭スワブ懸濁液として配付した。ブラインド調査では、GE1'（陽性、20,000 copies/mL 程度）を唾液検体として配付した。

(3) オープン調査

検査内容

調査対象項目は SARS-CoV-2 に対する核酸検査とした。陽性、陰性の判定結果に加えて、RT-PCR 法の場合は、Threshold Cycle (Ct) 値の報告を求めた。結果報告の際は使用した核酸抽出試薬名（自動核酸抽出装置を使用した場合は機器名）、測定機器名、核酸増幅試薬名等も調査した。

レファレンス施設の使用機器・試薬および測定結果

レファレンス施設は、東京都健康安全研究センター（感染研法、ダイレクト法、TMA 法）とロシュ・ダイアグノスティックス（全自動 RT-PCR）とし、3 日間、同一検体を検査して日間差を確認した。また、東邦大学医学部微生物・感染症学講座にて、国際単位である IU/mL の値付を行った。

検査室自家開発の検査 (Laboratory development testing: LDT) として、QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン) を用いて QIAcube (キアゲン) で核酸を抽出し、QuantiTect Probe RT-PCR Kit (キアゲン) を用いて国立感染症研究所のマニュアルに記載されている N2 セットを対象として QuantStudio 12K Flex (ライフテクノロジーズジャパン) により検出した。核酸精製が不要な簡易検出キット (核酸増幅試薬) として Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット (タカラバイオ)、Ampdirect 2019-nCoV 検出キット (島津製作所) および SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡) を用いた。これらについて、リアルタイム PCR 機器 (測定機器) は、QuantStudio 12K Flex (ライフテクノロジーズジャパン) を用いた。TMA 法においては、測定試薬としてアプティマ SARS-CoV-2 (ホロジックジャパン) を用い、パンサーシステム (ホロジックジャパン) を用いて測定した。全自動機器としてコバス 5800 (ロシュ・ダイアグノスティックス) では、cobas SARS-CoV-2 (ロシュ・ダイアグノスティックス) を用いた。

国際単位である IU/mL の値付は、核酸抽出試薬として QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン) を用い、測定試薬として Absolute Q 1-step RT-dPCR Master Mix (ライフテクノロジーズジャパン) を、測定装置として QuantStudio Absolute Q デジタル PCR システム (ライフテクノロジーズジャパン) を用いて測定した。

対象領域は、それぞれの方法により、N 領域、N1 領域と N2 領域、N2 領域、ORFlab 領域と異なる領域を検出対象としている。

レファレンス施設での測定成績 (Ct 値、RLU、IU/mL) を表 1 に示した。陰性試料 (GE2) の測定結果は、正しい結果が得られた。陽性試料 (GE1 および GE3) においては、いずれの試薬および機器のセットにおいても陽性の結果が得られた。

検査実施者、データ責任者の資格

検査実施者、データ責任者の資格を表 2、

3 に示した。遺伝子関連検査・染色体検査の責任者の配置が法律上明記され、その中では原則業務経験を有する医師または臨床検査技師と記載されている。ただし、専門性・経験を勘案して他の職種のものが責任者になることを妨げないとされており、適切な研修等を受けた人材を配置することが望ましい。

調査参加施設が使用している各種機器および試薬

衛生検査所のうち RT-PCR 法および Transcription Mediated Amplification (TMA) 法を採用していた施設がそれぞれ、38 施設および 1 施設であった。臨時の衛生検査所 9 施設は全て RT-PCR 法を採用していた (表 5)。

調査参加施設が使用していた機器、試薬、および測定原理を表 4～12 に示した。採用されている試薬および機器は多岐に渡っていた。

昨年度調査時に新型コロナウイルス感染症の体外診断用医薬品 (IVD) として承認されていた核酸増幅法の SARS-CoV-2 検出キットを採用した施設は 54 施設中 28 施設 (52%) であったが、今年度は 48 施設中 24 施設 (50%) であり、昨年度と同程度の割合であった。IVD の検査キットで最も多かったのは Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット (タカラバイオ) で、10 施設が採用していた。一方、研究用試薬 (RUO) で最も多かったのは SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡) で、8 施設が採用していた。これも昨年度と同様の傾向であった。病原体核酸検査に対しても、可能な限り薬事承認済みの装置や試薬を採用することが望ましい。

アンケート調査の結果

検査導入時に妥当性確認または検証を行った施設は、衛生検査所 39 施設中 33 施設、臨時の衛生検査所 9 施設中 9 施設であった (表 13)。基本性能評価を自施設で実施したのは衛生検査所が 33 施設中 26 施設、臨時の衛生検査所は 9 施設中 8 施設であった (表 14)。実施した性能評価項目として検出限界または定量限界を挙げた施設は、衛生検査所が 21 施設、臨時の衛生

検査所が9施設であった(表15)。基本性能の評価は、検出限界を含め、自施設で行うことが重要である。

参加施設における最小検出感度/検出限界(copies/assay)の求め方では、自施設評価を行っている施設は48施設中12施設に留まり、31施設ではメーカー公称値をそのまま使用していた(表16)。最小検出感度/検出限界(copies/assay)は、ほとんどの施設が90 copies/assay以下の値を報告していた。(表17)。しかしながら、1施設のみ401-500 copies/assayであった。当該施設は、試薬としてSARS-CoV-2 Direct Detection RTqPCR kit(タカラバイオ)を使用しており、同じ試薬を使用している他の4施設は50 copies/assay以下であったため、再確認いただきたい。

陽性コントロールを用いた内部精度管理は全施設が実施していた(表18)。また、陰性コントロールを用いた検査も全施設が実施していた(表23)。

陽性コントロール試料の入手方法は市販品を別途調達(31施設)が最も多かったが、測定試薬に含まれる(13施設)、患者試料(2施設)、メーカー提供品(1施設)という回答もあった(表19)。陽性コントロール試料の種類はRNAが48施設中43施設を占めていた(表20)。

統計学的精度管理の実施状況について表21に示した。実施しているとした施設は、衛生検査所が30施設(77%)、臨時の衛生検査所が6施設(67%)であった。実施している施設の統計学的な許容範囲の指標と基準を表22に示した。25%の施設で統計学的精度管理が実施されていない、あるいは回答なしになっている傾向は昨年と比較してほとんど変わっておらず、意識のさらなる向上が求められる。

検査対象の検体種として鼻咽頭ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、喀痰、唾液などが挙げられたが、最も多かったのは唾液であり、鼻咽頭ぬぐい液がそれに続いた結果は昨年度と同様であった(表25)。

各施設における、陽性/陰性の判定指標と具

体的な基準を表26に示した。Ct値のみでの判定や、メーカーの公称値をそのまま利用している施設があったことは昨年度までと同様の傾向であった。試薬や装置の組み合わせで、感度や特異度は異なってくるため、自施設での検証や妥当性の確認を行うことが必要である。さらに、その性能評価に基づく許容範囲、管理限界の設定のもとで再現性を確保するための内部精度管理の実施が必須である。

1日当たりの検査件数を表27に示した。衛生検査所は1000件以下がほとんど、臨時の衛生検査所は全て500件以下で、衛生検査所より少ない傾向にあった。衛生検査所で1施設が2001-3000件、もう1施設が10001以上とかなりの件数を受託していた。適正な検査を実施するためには、適切な人員の確保と継続した人材育成が必須である。

精度確保の目的で測定標準作業書を作成している施設は、衛生検査所および臨時の衛生検査所でそれぞれ、39施設中38施設および9施設中9施設であった(表28)。昨年度も同様であったが、衛生検査所で測定標準作業書を整備していない施設は、早急に対応しなければならない。

測定標準作業書に記載している事項としては、検体の取り扱い、統計的精度管理、結果判定と報告、汚染の防止が多く、検査実施方法、機器操作及び定期メンテナンス、機器の保守管理法などは少なかった(重複回答あり、表29)。

偽陽性の回避方法を表30に、偽陰性の回避方法を表31に示した。病原体核酸検査は、検査の前処理の工程まで専用の検査室で行うことが望ましいとされており、48施設中22施設が検体処理とPCRを実施する部屋が別と回答していたが、26施設はエリアを分ける対応に留まっていた(重複回答あり)。さらに、エリアも分けていない施設もある可能性があり、偽陰性回避策について各施設が状況に応じた対策をとる必要があると考える。また、偽陰性回避方法として内部コントロールの測定と回答した施設は48施設中42施設に留まっていた。

精度確保のために参考としている資料は、厚生労働省やJCCLS、ISO15189のマニュアルやガイダンスをあげた施設が多かったが（重複回答あり、表32）、メーカーの添付文書や精度管理資料と回答した施設も少数あった。

職員の研修の実施状況は、全ての施設が実施していると回答した（表33）。研修の内容について、基本的知識（表34）と基本的技能（表35）の回答結果を示した。

また、参加施設の中でISO15189およびCAP-LAPの認定を取得している施設が衛生検査所で認められた（表36）。これらの第三者認定を取得している施設は精度確保に対する意識の高い施設であると考えられる。

オープン調査の成績

オープン調査に参加した48施設の結果を、表37に示した。陽性・陰性判定は、GE1は全施設が陽性と報告した。GE2は1施設のみが陽性と報告した。GE3は2施設のみ陰性と報告した。

GE2を陽性と報告した施設はGE3を陰性と報告しており、取り違えなどが生じたと考えられる。後日、施設に確認したところ、波形データからサンプルの取り間違いが疑われた。その原因としては、検体識別番号ではなくチューブの色で管理を行っていたためとの回答を得た。

また、GE3を陰性と報告した別の1施設は、備考欄等では陽性と判定していることが確認できたが、最終判定で陰性と回答していた。後日の聞き取り調査では、「陽性」と回答していたつもりが誤入力で「陰性」と報告していたことが判明した。

(4) ブラインド調査

ブラインド調査で配付した検体の症例情報

54歳男性、会社員。昨日より37度台の微熱と咳嗽、悪心が出現した。周囲に同様の症状の者はいないが、自宅で高齢の両親と同居しているため、心配になり当院を受診した。

ブラインド調査の成績

11施設にブラインド調査用検体（唾液の模擬試料）、GE1'を配付した。結果は、全施設が陽性と報告した（表38）。

まとめ

一昨年度からブラインド調査を開始し、今年度は11施設（昨年度は8施設）が参加した。ブラインド調査は医師会および調査試料を配付していただいた医療機関の多大なるご協力がなければ実施することができない。まず、東京都医師会ならびにご協力いただいた医療機関等の皆様に感謝申し上げたい。

アンケート調査の結果で重要なポイントを以下に示す。検査導入時に妥当性確認または検証を行っていない施設があった。基本性能の評価は、検出限界を含め、自施設で行うことが重要である。また、最小検出感度/検出限界の求め方では、自施設評価を行っている施設は多くなかった。

陽性コントロールおよび陰性コントロールを用いた内部精度管理は全施設が実施していたが、統計学的精度管理の実施状況は1/4の施設で統計学的精度管理が実施されていない、あるいは回答なしになっている状況が昨年度と変わっていないことが判明し、意識のさらなる向上が求められる。

試薬や装置の組み合わせに検査結果は影響を受けるため、自施設での検証や妥当性の確認を行うことが必要である。さらに、その性能評価に基づく許容範囲、管理限界の設定のもとで再現性を確保するための内部精度管理の実施が必須である。

第三者認定取得制度も活用しながら、病原体核酸検査の精度確保対策を各施設が今後も継続的に実施することが望まれる。その際に、検査精度の維持向上を図るうえで、病原体核酸検査に精通した人材育成は喫緊の課題である。各施設は、検査担当者が勉強会や学会などに積極的に参加できる環境を整えるなど、その育成に努めるべきである。

表1. レファレンス施設の測定結果

測定原理	核酸抽出試薬	核酸抽出装置	測定試薬	測定機器	ターゲット領域	数値	結果			
							測定日	GE1/GE1'	GE2	GE3
RT-PCR法 (感染研法)	QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)	QIAcube (キアゲン)	Quanti Tect Probe RT-PCR Kit (キアゲン)	QuantStudio 12K Flex (ライフテックノロジーズ ジャパン)	N2セット領域	Ct値	7月12日	陽性 (37.3 ± 0.15)	陰性	陽性 (38.4 ± 0.35)
							7月18日	陽性 (37.6 ± 0.52)	陰性	陽性 (38.3 ± 0.21)
							7月25日	陽性 (37.8 ± 0.35)	陰性	陽性 (38.7 ± 0.60)
							7月12日	陽性 (36.6 ± 0.61)	陰性	陽性 (37.1 ± 0.81)
							7月18日	陽性 (36.4 ± 0.40)	陰性	陽性 (37.6 ± 0.50)
							7月25日	陽性 (36.2 ± 0.90)	陰性	陽性 (37.3 ± 0.46)
RT-PCR法 (ダイレクト PCR)	-	-	Takara SARS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット (タカラバイオ)	QuantStudio 12K Flex (ライフテックノロジーズ ジャパン)	N領域	Ct値	7月12日	陽性 (33.7 ± 0.83/29.2 ± 5.83)	陰性	陽性 (34.0 ± 1.97/29.1 ± 7.92)
							7月18日	陽性 (36.0 ± 1.04/33.0 ± 4.73)	陰性	陽性 (36.8 ± 0.38/34.2 ± 2.38)
							7月25日	陽性 (35.5 ± 1.76/33.1 ± 7.71)	陰性	陽性 (37.2 ± 0.40/39.3 ± 1.80)
							7月12日	陽性 (37.3 ± 0.57/37.2 ± 0.45)	陰性	陽性 (38.2 ± 0.53/38.1 ± 0.78)
							7月18日	陽性 (37.3 ± 0.32/37.7 ± 0.42)	陰性	陽性 (37.8 ± 0.40/38.6 ± 0.70)
							7月25日	陽性 (37.7 ± 0.00/38.3 ± 0.86)	陰性	陽性 (38.4 ± 0.35/38.2 ± 0.29)
TMA法 (全自動)	-	-	アプティマ SARS-CoV-2 (ホロジックジャパン)	QuantStudio 12K Flex (ライフテックノロジーズ ジャパン)	ORF1ab領域	RLU (×1000)	7月12日	陽性 (1213 ± 13)	陰性	陽性 (1229 ± 35)
							7月18日	陽性 (1204 ± 10)	陰性	陽性 (1203 ± 29)
							7月25日	陽性 (1229 ± 14)	陰性	陽性 (1207 ± 20)
							7月18日	陽性 (31.0)	陰性	陽性 (31.7)
							7月19日	陽性 (30.6)	陰性	陽性 (31.6)
							7月20日	陽性 (30.4)	陰性	陽性 (31.9)
デジタル PCR法	QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)	-	Absolute Q 1-step RT-dPCR Master Mix (ライフテックノロジーズ ジャパン)	QuantStudio Absolute Q デジタルPCRシステム (ライフテックノロジーズ ジャパン)	N2領域	IU/mL (copies/mL)	7月18日	3.47 × 10 ⁴ (1.45 × 10 ⁴)	陰性	1.79 × 10 ⁴ (6.98 × 10 ⁴)

表 2. 検査実施者の資格 ※重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
臨床検査技師	31	5
衛生検査技師	1	0
医師	1	0
薬剤師	0	2
遺伝子分析科学認定士	2	0
ジェネティックエキスパート	1	0
医学博士	1	0
微生物 二級臨床検査士	1	0
臨床工学技士	1	0
その他 (不明)	2	0
資格なし	7	2

表 3. データ責任者の資格 ※重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
臨床検査技師	25	5
衛生検査技師	5	0
医師	3	0
薬剤師	0	3
遺伝子分析科学認定士	1	0
認定微生物検査技師	1	0
ジェネティックエキスパート	3	0
医学博士	2	1
インфекションコントロールドクター	0	1
遺伝子関連・染色体検査の精度の確保に係る責任者	2	0
精度管理担当者	1	0
微生物 二級臨床検査士	1	0
臨床工学技士	1	0
その他 (不明)	2	0
資格なし	3	1

表 4. 測定機器

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
	39		9	
全体 (施設数)				
QuantStudio 3 (ライフテクノロジーズジャパン)	0	(0.0%)	2	(22.2%)
QuantStudio 5 (ライフテクノロジーズジャパン)	5	(12.8%)	2	(22.2%)
QuantStudio 5Dx (ライフテクノロジーズジャパン)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
7500 Real-Time PCR System (ライフテクノロジーズジャパン)	2	(5.1%)	0	(0.0%)
StepOne リアルタイム PCR システム (ライフテクノロジーズジャパン)	0	(0.0%)	1	(11.1%)
Amplitude ソリューション (ライフテクノロジーズジャパン)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
コハス Z480 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	3	(7.7%)	0	(0.0%)
コハス 8800 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	2	(5.1%)	0	(0.0%)
LightCycler96 System (ロシュ・ダイアグノスティクス)	2	(5.1%)	1	(11.1%)
LightCycler480System II (ロシュ・ダイアグノスティクス)	2	(5.1%)	0	(0.0%)
CronoSTAR 96 Real-Time PCR System (タカラバイオ)	7	(17.9%)	2	(22.2%)
Thermal Cycler Dice Real Time System III (タカラバイオ)	3	(7.7%)	1	(11.1%)
CFX96 Touch リアルタイム PCR 解析システム (バイオ・ラッド)	6	(15.4%)	0	(0.0%)
ハンサンシステム (ホロジックジャパン)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
ジーンリト エイト (プレジジョン・システム・サイエンス)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
AutoAmp (島津製作所)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
MIC REAL TIME PCR CYCLER (bio molecular systems)	1	(2.6%)	0	(0.0%)
サーマルサイクル光学検出ユニット (シスメックス)	1	(2.6%)	0	(0.0%)

表 5. 測定原理

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	39	9
RT-PCR 法	38 (97.4%)	9 (100.0%)
TMA 法	1 (2.6%)	0 (0.0%)

表 6. 機器の分類

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
医療機器	8 (20.5%)	0 (100.0%)
分析機器	29 (74.4%)	9 (0.0%)
その他	1 (2.6%)	0 (0.0%)
回答なし	1 (2.6%)	0 (0.0%)

表 7. 核酸抽出を実施した施設数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	9	3
Maxwell RSC (プロメカ)	2 (22.2%)	0 (0.0%)
MGISP (MGI)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
KingFisher Flex (ライフテック・ロジ・システムズ)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
Maelstrom8 (TANBead)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
用手法	2 (22.2%)	3 (100.0%)
CyBio Felix (株式会社アナリティクイナ)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
自動 PCR 検査システム (自社製) (川崎重工業株式会社)	1 (11.1%)	0 (0.0%)

表 8. 核酸抽出試薬を使用した施設数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	9	3
QIAamp Viral RNA Mini Kit (キアム)	0 (0.0%)	1 (33.3%)
Maxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (プロメカ)	2 (22.2%)	0 (0.0%)
MGIEasy Nucleic Extraction Kit (MGI)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (サモフィッシャー・サイエンティフィック)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
リホスピレン vRD II (ファストジーン)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
ReliaPrep Viral TNA Miniprep System, Custom (プロメカ)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
Nucleic Acid Extraction Kit (TANBead)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
High Pure Viral RNA Kit (ロシュ・タデアグ・ノスティックス)	0 (0.0%)	1 (33.3%)
Nucleo Spin Virus (タカラバイオ)	0 (0.0%)	1 (33.3%)
innuPREP Virus TS RNA Kit 2.0 (アナリティクイナ)	1 (11.1%)	0 (0.0%)
MGIEasy Nucleic acid Extraction Kit (MGI)	1 (11.1%)	0 (0.0%)

表 9. 1step RT-PCR 試薬を使用した施設数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	3	3
TaqMan FastVirus1-StepMasterMix (サモフィッシャー・サイエンティフィック)	0 (0.0%)	2 (66.7%)
One Step PrimerScript III RT-qPCR Mix (タカラバイオ)	2 (66.7%)	1 (33.3%)
GoTaq Probe 1-Step RT-qPCR System (プロメカ)	1 (33.3%)	0 (0.0%)

表10. SARS-CoV-2 検出キットを使用した施設数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	36	6
LightMix Modular SARS-CoV E-gene,N-gene (ロシュ・タグ・ノスティックス)	2 (5.6%)	0 (0.0%)
DetectAmp SARS-CoV-2 RT-PCR キット (シスメックス)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
TaqPath SARS-CoV-2リアルタイム PCR 検出キット HT (サモフィッシャー・サイエンティフィック)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
TaqPath 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)リアルタイム PCR 検出キット(サモフィッシャー・サイエンティフィック)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
Ampdirect 2019-nCoV 検出キット (島津製作所)	4 (11.1%)	1 (16.7%)
SARS-Cov-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡)	8 (22.2%)	0 (0.0%)
SARS-Cov-2 Detection Kit (東洋紡)	0 (0.0%)	2 (33.3%)
SARS-Cov-2 Direct Detection RTqPCR kit (タカラバイオ)	4 (11.1%)	1 (16.7%)
Takara SARS-CoV-2 タグレクト PCR 検出キット (タカラバイオ)	8 (22.2%)	2 (33.3%)
SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit (富士フイルム和光純薬)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
コハス SARS-CoV2 (ロシュ・タグ・ノスティックス)	2 (5.6%)	0 (0.0%)
アプティマ SARS-CoV-2 (ホジックジャパン)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
エリートMGB SARS-CoV-2 PCR 検出キット (プレジジョン・システム・サイエンス)	1 (2.8%)	0 (0.0%)
KANEKA Direct RT-PCR kit SARS-Cov-2 (株式会社カネカ)	2 (5.6%)	0 (0.0%)

表11. 試薬/キットの分類

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
体外診断用医薬品 (IVD)	21 (53.8%)	3 (33.3%)
研究用試薬 (RUO)	18 (46.2%)	6 (66.7%)

表12. SARS-CoV-2 のターゲット領域 (遺伝子) *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
N	3	0
N1	28	6
N2	31	7
S	2	0
E	5	0
RdRp	1	0
ORF1ab	5	0
ORF8	1	0
β2 マイクログロブリン	1	0
回答なし	0	1

表13. 検査導入時の妥当性確認または検証の有無

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
有り	33 (84.6%)	9 (100.0%)
無し	6 (15.4%)	0 (0.0%)

表14. 表13で「有り」と回答した施設の確認方法について *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	33	9
文献・資料	19	5
自施設で検討	26	8
メーカーで検証	1	0
同一試料を用いて他施設と結果確認	1	0
回答なし	6	0

表15. 表13で「有り」と回答した施設が実施した性能評価の項目 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	33	9
特異性(選択性)	13	4
真度(正確さ)	17	4
精度	26	7
検出限界	17	7
定量限界	4	2
検出感度	24	5
直線性範囲	4	4
頑健性	3	0
トレーサビリティ	3	0
不確かさ	2	0
回答なし	1	0

表16. 最小検出濃度/検出限界の求め方

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	39		9	
自施設評価	6	(15.4%)	6	(66.7%)
メーカー公称値	28	(71.8%)	3	(33.3%)
回答なし	5	(12.8%)	0	(0.0%)

表17. 最小検出濃度/検出限界(copies/assay)

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	39		9	
10以下	15	(38.5%)	3	(33.3%)
11-20	2	(5.1%)	3	(33.3%)
21-30	1	(2.6%)	1	(11.1%)
31-40	1	(2.6%)	0	(0.0%)
41-50	14	(35.9%)	1	(11.1%)
81-90	1	(2.6%)	0	(0.0%)
401-500	0	(0.0%)	1	(11.1%)
回答なし	5	(12.8%)	0	(0.0%)

表18. 陽性コントロール試料を用いた内部精度管理の実施状況

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	39		9	
実施している	39	(100.0%)	9	(100.0%)
実施していない	0	(0.0%)	0	(0.0%)

表19. 陽性コントロール試料の入手方法

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	39		9	
測定試薬に含まれる	12	(30.8%)	1	(33.3%)
市販品を別途調達	23	(59.0%)	8	(88.9%)
患者試料	2	(5.1%)	0	(0.0%)
メーカー提供品	1	(2.6%)	0	(0.0%)
自家調整	1	(2.6%)	0	(0.0%)

表20. 陽性コントロール試料の種類

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
RNA	34 (87.2%)	9 (100.0%)
フルプロセスコントロール	2 (5.1%)	0 (0.0%)
プラスミド DNA	1 (2.6%)	0 (0.0%)
回答なし	2 (5.1%)	0 (0.0%)

表21. 統計学的精度管理の実施状況

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
実施している	30 (76.9%)	6 (66.7%)
実施していない	7 (17.9%)	3 (33.3%)
回答なし	2 (5.1%)	0 (0.0%)

表22. 表 21 で「実施している」と回答した施設の統計学的な許容範囲の指標と基準 (管理限界等)

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	30	6
陽性コントロール Ct 値等の平均値 ± 2SD または 3 SD	18 (60.0%)	1 (16.7%)
陽性コントロール Ct 値等で数値幅を固定してる	10 (33.3%)	3 (50.0%)
メーカーの参考値	1 (3.3%)	1 (16.7%)
SARS-CoV-2 および内部標準の Ct 値を用いた X 管理図の UCL24/LCL20,R 管理図の UCL4	1 (3.3%)	0 (0.0%)
回答なし	0 (0.0%)	1 (16.7%)

表23. 陰性コントロール試料を用いた検査の実施状況

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
実施している	39 (100.0%)	9 (100.0%)
実施していない	0 (0.0%)	0 (0.0%)

表24. 陰性コントロール試料の入手方法

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
測定試薬に含まれる	10 (25.6%)	0 (0.0%)
市販品を別途調達	13 (33.3%)	1 (11.1%)
水	16 (41.0%)	8 (88.9%)

表25. 日常サンプルの検体種 * 重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体 (施設数)	39	9
鼻咽頭ぬぐい液	25	6
咽頭ぬぐい液	11	1
喀痰	8	0
唾液	39	8
気管支肺胞洗浄液	1	0
鼻腔ぬぐい液	2	0
鼻前庭ぬぐい液	2	0

表 26. 陽性 / 陰性の判定指標と具体的な基準

陽性 / 陰性の判定指標と具体的な基準 (一部抜粋)
N1、N2のうち、一方あるいは両方で反応時間内に増幅曲線の立ち上がりが見られた場合は陽性・40サイクル以内にインターナルコントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られかつ、反応時間内にN1、N2のいずれも増幅曲線の立ち上がりが見られない場合は陰性
40サイクル以内に明瞭な増幅曲線およびCp値が得られること
4領域のPCRのうち、2領域以上に増幅が認められた際に陽性。1領域のみに増幅が認められた際は、対象領域を三重測定で再検査を実施して1つ以上増幅が認められた場合は陽性。
Cq値が35cycle以内(メーカー公表値を参考)
Ct ≤ 40で蛍光強度が十分であり、増幅曲線の形状に異常がない場合は陽性。IC (FAM) ≤ 40かつSARS-CoV-2 (Cy5) > 40または不検出の場合陰性。
Ct値 ≤ 40で陽性、Ct値 > 40で陰性
Ct値が39未満かつ指数関数的増幅が観察された場合
Ct値が40以下の場合は陽性と判定する。Ct値が40より大きい場合または不検出の場合は検出限界以下と判定し陰性とする。
Ct値が検出された場合を陽性、検出されなかった場合を陰性としている
Cy6のCt値が40以下→陽性、Cy5のCt値が40以上orCtの表示なし→陰性
E-gene ≤ 36.0 N-gene ≤ 37.0を陽性とする
FAM (N1N2)のCt値が40以下かつリニア波形がシグモイド状で陽性判定とする。併せてROX (IC)のCt値が35かつRFU出力が基準以上である事で陽性 / 陰性を確定する。相互に齟齬が見られた場合、再検査を実施する。
FAM ≤ 40、Cy5 ≤ 40で陽性、FAM ≤ 40、Cy5 > 40又は不検出で陰性、それ以外は再検とする
IC ≤ 40かつCoV ≤ 40およびIC > 40または不検出のとき、CoVが ≤ 40の場合を陽性。IC ≤ 40でCoV > 40または不検出の場合を陰性とする。
N1/N2のどちらか、またはどちらもがCT値30を超えた場合は、増幅曲線を確認した上で臨床検査技師が陽性と判断する
ORF8またはRdRpのいずれかがCt45未満で検出した場合は陽性。ICのCtが35未満かつORF8、RdRpのいずれも未検出の場合は陰性。
コバス8800のアルゴリズム
メーカーの添付文書を参照し、グラフの立ち上がりの有無を確認する
機器による自動判定
使用試薬の取扱説明書に従う(陽性は40サイクル以内に増幅曲線が立ち上がり、陰性は増幅曲線が見られない)反応時間内に増幅曲線の立ち上がりが見られた場合は陽性、見られない場合は陰性とする
陽性: N1、N2(両方もしくは一方)のCT値 < 40かつICのCT値 < 40 陰性: N1、N2のCT値 ≥ 40もしくは未検出かつICのCT値 < 40
陽性: 45サイクル以内でCp値が認めること 陰性: 45サイクル以内でno Ct
陽性: Cov-2Ct値45以下、β2マイクログロブリンCt値36以下、陰性: Cov-2Ct値ND、β2マイクログロブリンCt値36以下
陽性: Cy5のCt値40以下 / 陰性: Ct値不検出または40超かつ内部標準のCt値40以下
陽性: 検体測定波長にてCt値40以下及び、内在性コントロール測定波長にてCt値が40以下もしくはCt値40以上または検出されないこと。陰性: 検体測定波長にて増幅がないこと及び、内在性コントロール測定波長にてCt値が40以下であること。
陽性: 増殖曲線の立ち上がりがあるCT値40未満を陽性として判定(明らかな増殖曲線の立ち上がりが見られない場合は再検査、判定不能とする場合がある)、陰性: 増殖曲線の立ち上がりがないCT値40以上のものを陰性(報告は『検出感度以下』とする)として判定
陽性: 増幅曲線の立ち上がりをもとに認める 陰性: 増幅曲線の立ち上がりをもとに認めず、内部コントロールの増幅曲線が確認できる
陽性 ≤ Ct値37、陰性 > Ct値37
陽性コントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られ、かつ陰性コントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られない状況で、N1およびN2で増幅を確認したら陽性。また、N2のみで増幅を確認した場合も陽性。いずれも増幅曲線が認められない場合は陰性。N1のみ増幅が確認された場合は再検査。
陽性はCT値が40以下であり、且つIC値が40以下のため、陰性はCT値40越え又は不検出であり、且つIC値が40以下。
閾値20000に設定した際にCtが40以下を陽性(+)、増幅が見られないまたはCtが40を超える検体または明らかにS字曲線を示さない検体を陰性(-)と判定する。

表27. 1日あたりの検査件数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
10以下	13 (33.3%)	7 (77.8%)
11-50	12 (30.8%)	1 (11.1%)
50-100	0 (0.0%)	0 (0.0%)
101-200	2 (5.1%)	0 (0.0%)
201-500	6 (15.4%)	1 (11.1%)
501-1000	4 (10.3%)	0 (0.0%)
1001-2000	0 (0.0%)	0 (0.0%)
2001-3000	1 (2.6%)	0 (0.0%)
3001-10000	0 (0.0%)	0 (0.0%)
10001以上	1 (2.6%)	0 (0.0%)

表28. 測定標準作業書の作成状況

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
作成している	38 (97.4%)	9 (100.0%)
作成していない	1 (2.6%)	0 (0.0%)

表29. 測定標準作業書に記載している事項 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	38	9
検体の取り扱い	37	9
統計学的精度管理	32	4
結果判定と報告	36	9
汚染の防止	31	9
検査実施方法	1	0
機器操作及び定期メンテナンス	2	0
機器の保守管理法など	1	0

表30. 偽陽性の回避方法 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
検体処理とPCR(核酸増幅)を行う部屋が別	17	5
検体処理とPCR(核酸増幅)を行うエリアが別	21	5
陰性コントロールの測定	35	8
ウラシルNグリコシラーゼ	13	2
チューブオープナーを使用する	7	1
機器や作業スペースの定期的な消毒	38	8
ユーザー定期メンテナンス後の偽蛍光検出がない事の確認分析実施	2	0

表31. 偽陰性の回避方法 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
病期に適した検体選択	0	2
検体採取タイミングの適正化	6	1
適切な検体採取方法の徹底	22	7
内部コントロールの測定	36	6

表32. 精度確保のために参考としている資料 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
新型コロナウイルス感染症のPCR検査等における精度管理マニュアル(厚生労働省)	34	9
遺伝子関連検査検体品質マニュアル(JCCLS)	15	1
新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイダンス(JCCLS)	11	1
遺伝子版ISO 15189ガイダンス文書	9	2
メーカー添付文書	2	0
メーカーの精度管理資料	1	0
標準作業書	1	0
CAP	1	0

表33. 職員の研修の実施状況

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	39		9	
実施している	39	(100.0%)	9	(100.0%)
実施していない	0	(0.0%)	0	(0.0%)

表34. 表33で「実施している」と回答した施設の研修内容について(基本的知識)
*重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
品質マネジメントシステム	23	5
性能特性の評価	17	6
内部外部精度管理	31	6
バイオリスクマネジメント	21	6
関係法規	10	3
実際の運用に即した説明と討論	1	0
標準作業書	1	0
RNAの取り扱い	1	0
日臨技の研修、講習会の参加	1	0
感染症の基礎知識	1	0
マニュアル徹底	1	0

表35. 表33で「実施している」と回答した施設の研修内容について(基本的技能)
*重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
個人防護具の脱着	37	9
装置の操作	38	9
用手操作	37	8
汚染防止	37	8
入職時や随時の技術確認	2	0
測定データの確認方法	1	0

表36. 施設の第三者認定・認証取得状況 *重複回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	39	9
ISO 15189	7	0
ISO 15189 (SARS-CoV-2)	5	0
CAP-LAP	5	0
ISO/IEC 17025	1	0
ISO 9001	3	0
医療関連サービスマーク	2	0
ISMS (情報セキュリティマネジメントシステム)	1	0
ISO 27001	1	0
なし	2	2
回答なし	23	7

表37. オープン調査の結果

	試料番号		
	GE1	GE2	GE3
正解	陽性	陰性	陽性
回答数	48	48	48
陽性数	48	1	46
陰性数	0	47	2※

※最終判定結果は陰性だが、備考欄等で陽性判定を確認できた1施設を含む

表38. ブラインド調査の結果

	試料番号
	GE1'
正解	陽性
回答数	11
陰性数	0
陽性数	11