

## 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 6 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 32 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

B 社製 Full process control

#### 検体調製方法

オープン調査では、GE1（陰性、ヒト RNaseP 遺伝子を含む）、GE2（陽性、10,000 copies/mL 程度）、GE3（陽性、5,000 copies/mL 程度）の 3 試料を鼻咽頭スワブ混濁液として配布した。ブラインド調査では、GE1'（陽性、10,000 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、全自動 TMA 法）とロシユ・ダイアグノスティックス（全自動 RT-PCR 法）とし、3 日間、同一検体を検査して日間差を確認した。

検査室自家開発の検査（Laboratory development testing: LDT）として、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。

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、ORFlab/E 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)を表1に示した。陰性試料(GE1)の測定結果は、正しい結果が得られた。陽性試料(GE2、GE1'、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。

#### **検査実施者の資格**

検査実施者の資格を表2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**

RT-PCR 法を採用していた施設が31施設、TRC 法(Transcription Reverse-transcription Concerted reaction)を採用していた施設が1施設

であった(表3)。

調査参加施設が使用していた機器および試薬を表4～10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48施設中24施設(50%)であったが、今年度は32施設中17施設(53%)であり、昨年度とほぼ同程度であった。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、7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、4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。一方で、「診療報酬の算定方法の一部改正に伴う実施上の留意事項について」(令和6年3月5日付け保医発0305第4号)では、検査における算定から、「国立感染症研究所が作成した「病原体検出マニュアル2019-nCoV」に記載されたもの若しくはそれに準じたもの」という記載が削除されている。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、32施設中28施設であった(表11)。うち、基本性能評価を自施設で実施したのは22施設であった(表12)。実施した性能評価項目として検出限界、定量限界を挙げた施設は、それぞれ19施設、5施設であった(表13)。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濃度/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10施設に留まり、19施設ではメーカー公称値をそのまま使用していた(表14)。最小検出濃度/検出限界(copies/assay)は、ほとんどの施設が50 copies/assay以下の値を報告していた(表15)。回答なしとした施設は、自

施設の状況を再確認いただきたい。

陽性コントロール試料を用いた内部精度管理は全施設が実施していた（表 16）。陽性コントロール試料の測定頻度は、測定ごとが 25 施設、測定ごと及びロット交換時が 1 施設であった（表 17）。その他の頻度の施設は、再確認いただきたい。陽性コントロール試料の入手方法は市販品を別途調達（21 施設）が最も多かったが、測定試薬に同梱されている（6 施設）、患者試料（3 施設）、メーカー提供品（1 施設）、合成 RNA（1 施設）という回答もあった（表 18）。陽性コントロール試料の種類は RNA が 32 施設中 26 施設を占めており（表 19）、その陽性コントロール試料の濃度はばらつきが大きかった（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、32 施設中 28 施設であった。3 施設が実施していない、1 施設が回答なしであり、実施していない理由として陽性、陰性で管理しているためとの回答があった。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。昨年までと比較して、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施設の比率は減少しているものの、意識のさらなる向上が求められる。

陰性コントロール試料測定を用いた検査も全施設が実施していた（表 23）が、陽性コントロール試料と同様に、その測定頻度として測定ごと以外との回答も散見された（表 24）。表 25 に陰性コントロール試料の入手方法を記載した。

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、鼻腔ぬぐい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 26）。

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 27 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 28 に示した。回答なしの 1 施設を除いて全てが 500 件以下であった。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と回答した施設が、全 32 施設であった（表 29）。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、統計学的内部精度管理、結果判定と報告、汚染の防止が多かった（重複回答あり、表 30）。

偽陽性の回避方法を表 31 に、偽陰性の回避方法を表 32 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、32 施設中 13 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、18 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がある可能性があり、偽陽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 32 施設中 25 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 33）、メーカーの添付文書や精度管理資料と回答した施設も 21 施設あった（重複回答あり）。

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 35）が、研修計画の作成状況は、作成していない施設が 2 施設あった（表 34）。研修の内容について、基本的知識（表 36）と基本的技能（表 37）の回答結果を示した。

第三者認定・認証の取得状況を表 38 に示した。ISO15189 および CAP-LAP といった第三者

の認定を取得している施設は精度確保に対する意識が高いと考えられる。

#### **オープン調査の成績**

オープン調査に参加した32施設の結果を表39に示した。陽性・陰性判定は、GE1（陰性）は全施設が陰性と報告した。GE2（陽性、10,000 copies/mL程度）は全施設が陽性と報告した。GE3（陽性、5,000 copies/mL程度）は30施設が陽性、1施設が陰性、1施設がその他と報告した。陰性、その他と報告した2施設は、Ct値が自施設のカットオフ値を超えたため、そのように報告していた。これら2施設はいずれも1step RT-PCR用のプレミックス試薬を使用していた。国立感染症研究所の「新型コロナウイルス（2019-nCoV）の遺伝子検査法の性能評価について」で基準としている50コピー（あるいは100コピー）/アッセイを検出できるように検査系やカットオフ値、SOPを見直すことが求められる。

#### **(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**

42歳女性、会社員。受診4日前に喉の違和感と37度台の発熱が出現した。その後解熱したが、咽頭痛が持続し、咳嗽も出現したため、救急外来を受診した。

##### **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、10,000 copies/mL程度）、GE1'を配付した。結果は、全施設が陽性と報告した（表40）。

#### **まとめ**

令和3年度からブラインド調査を開始し、今年度も11施設（昨年度と同数）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。

オープン調査でGE3（陽性、5,000 copies/mL程度）について、Ct値が自施設のカットオフ値を超えたため、陰性、その他と報告した施設がみられた。国の基準である50コピー（あるいは100コピー）/アッセイを検出できるように検査系やカットオフ値、SOPを見直すことが求められる。

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。また最小検出濃度/検出限界の求め方では、自施設評価を行っている施設は10施設に留まった。陽性コントロール試料および陰性コントロール試料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、昨年までと比較して良好となっているものの、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、検査担当者を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<br>試薬  | 核酸抽出<br>装置        | 測定試薬  | 測定装置  | ターゲット<br>領域 | 数値             | 測定日   | 結果  |                              |                              |
|-------------------|---|-------------------|---|---|-------------|----------------|-------|-----|------------------------------|------------------------------|
|                   |   |                   |   |   |             |                |       | GE1 | GE2/GE1                      | GE3                          |
| RT-PCR法<br>(感薬研法) | QIAGEN<br>QIAamp<br>Viral RNA<br>mini kit<br>(キアゲン) | QIAcube<br>(キアゲン) | Quanti Tect Probe<br>RT-PCR Kit<br>(キアゲン)       | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N2セット領域     | Ct値            | 7月12日 | 陰性  | 陽性 (35.7 ± 0.26)             | 陽性 (36.8 ± 0.20)             |
|                   | -   | -                 | Takara SARS-CoV-2<br>ダイレクトPCR検出キット<br>(タカラバイオ)  | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N領域         | Ct値            | 7月10日 | 陰性  | 陽性 (35.7 ± 0.42)             | 陽性 (36.9 ± 0.60)             |
|                   | -   | -                 | Ampdirect 2019-nCoV<br>検出キット<br>(島津製作所)         | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N1/N2領域     | Ct値            | 7月17日 | 陰性  | 陽性 (35.3 ± 0.17/35.5 ± 0.23) | 陽性 (36.9 ± 1.06/36.8 ± 0.61) |
|                   | -   | -                 | SARS-CoV-2<br>Detection Kit<br>-Multi-<br>(東洋紡) | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N1/N2領域     | Ct値            | 7月23日 | 陰性  | 陽性 (34.8 ± 0.25/34.6 ± 0.35) | 陽性 (35.8 ± 0.67/36.2 ± 1.01) |
|                   | -   | -                 | アプテイマ<br>SARS-CoV-2<br>(ホロシックジャパン)              | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N1/N2領域     | Ct値            | 7月10日 | 陰性  | 陽性 (36.1 ± 0.52/37.7 ± 0.72) | 陽性 (36.5 ± 0.21/38.6 ± 2.35) |
|                   | -   | -                 | アプテイマ<br>SARS-CoV-2<br>(ホロシックジャパン)              | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N1/N2領域     | Ct値            | 7月17日 | 陰性  | 陽性 (36.3 ± 0.56/38.4 ± 0.93) | 陽性 (36.3 ± 0.29/37.3 ± 0.38) |
|                   | -   | -                 | アプテイマ<br>SARS-CoV-2<br>(ホロシックジャパン)              | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | N1/N2領域     | Ct値            | 7月23日 | 陰性  | 陽性 (36.1 ± 0.23/37.8 ± 0.55) | 陽性 (36.0 ± 0.47/38.0 ± 0.32) |
|                   | -   | -                 | アプテイマ<br>SARS-CoV-2<br>(ホロシックジャパン)              | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | ORF1ab領域    | RLU<br>(×1000) | 7月10日 | 陰性  | 陽性 (1267 ± 34)               | 陽性 (1253 ± 41)               |
|                   | -   | -                 | アプテイマ<br>SARS-CoV-2<br>(ホロシックジャパン)              | QuantStudio 12K Flex<br>(ライフテックノロジーズ<br>ジャパン) | ORF1ab領域    | RLU<br>(×1000) | 7月17日 | 陰性  | 陽性 (1250 ± 33)               | 陽性 (1117 ± 229)              |
| RT-PCR法<br>(全自動)  | -   | -                 | cobas SARS-CoV-2<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)       | コバス5800<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)              | ORF1ab/E領域  | Ct値            | 7月23日 | 陰性  | 陽性 (1218 ± 12)               | 陽性 (1221 ± 36)               |
|                   | -   | -                 | cobas SARS-CoV-2<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)       | コバス5800<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)              | ORF1ab/E領域  | Ct値            | 7月18日 | 陰性  | 陽性 (33.4 ± 0.21/34.4 ± 0.26) | 陽性 (34.2 ± 0.00/35.3 ± 0.25) |
|                   | -   | -                 | cobas SARS-CoV-2<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)       | コバス5800<br>(ロシユ・<br>ダイアグノスティックス)              | ORF1ab/E領域  | Ct値            | 7月19日 | 陰性  | 陽性 (33.8 ± 0.17/34.8 ± 0.36) | 陽性 (34.4 ± 0.17/35.5 ± 0.10) |
| -                 | -   | -                 | -   | -   | -           | -              | 7月20日 | 陰性  | 陽性 (33.6 ± 0.12/34.5 ± 0.42) | 陽性 (34.5 ± 0.12/35.6 ± 0.12) |

表 2. 検査実施者の資格 ※重複回答あり

|               |    |
|---------------|----|
| 全体 (施設数)      | 32 |
| 臨床検査技師        | 21 |
| 衛生検査技師        | 3  |
| 遺伝子分析科学認定士    | 3  |
| ジェネティックエキスパート | 1  |
| 理学部応用生物学 修士号  | 1  |
| バイオサイエンス博士    | 1  |
| 微生物 二級臨床検査士   | 1  |
| 資格なし          | 6  |
| 回答なし          | 4  |

表 3. 測定原理

|          |            |
|----------|------------|
| 全体 (施設数) | 32         |
| RT-PCR 法 | 31 (96.9%) |
| TRC 法    | 1 (3.1%)   |

表 4. 測定機器の分類

|          |            |
|----------|------------|
| 全体 (施設数) | 32         |
| 医療機器     | 8 (25.0%)  |
| 分析機器     | 24 (75.0%) |

表 5. 測定機器

|   |           |
|---|-----------|
| 全体 (施設数)  | 32        |
| QuantStudio 5 (ライフテクノロジーズジャパン)                    | 4 (12.5%) |
| 7500 Real-Time PCR System (ライフテクノロジーズジャパン)        | 2 (6.3%)  |
| Amplitude ソリューション (ライフテクノロジーズジャパン)                | 1 (3.1%)  |
| コバス Z480 (ロシュ・ダイアグノスティックス)                        | 2 (6.3%)  |
| コバス 8800 (ロシュ・ダイアグノスティックス)                        | 1 (3.1%)  |
| コバス 5800 (ロシュ・ダイアグノスティックス)                        | 2 (6.3%)  |
| LightCycler480System II (ロシュ・ダイアグノスティックス)         | 2 (6.3%)  |
| コバス Liat (ロシュ・ダイアグノスティックス)                        | 1 (3.1%)  |
| CronoSTAR 96 Real-Time PCR System (タカラバイオ)        | 5 (3.6%)  |
| Thermal Cycler Dice Real Time System III (タカラバイオ) | 4 (12.5%) |
| CFX96 Touch リアルタイム PCR 解析システム (バイオ・ラッド)           | 5 (15.6%) |
| CFX Connect (バイオ・ラッド)                             | 1 (3.1%)  |
| ジーンリードエイト (プレジジョン・システム・サイエンス)                     | 1 (3.1%)  |
| TRCReady80 (東ソー株式会社)                              | 1 (3.1%)  |

表 6. 核酸抽出を実施した施設数

|                                  |           |
|----------------------------------|-----------|
| 全体 (施設数)                         | 9         |
| MGISP (MGI)                      | 1 (11.1%) |
| KingFisher Flex (ライフテクノロジーズジャパン) | 1 (11.1%) |
| Maelstrom8 (TANBead)             | 1 (11.1%) |
| CyBio Felix (アナリティクイエナ)          | 1 (11.1%) |
| GeneRotex96 (TIANLONG)           | 1 (11.1%) |
| Quick Gene-Mini 480 (倉敷紡績株式会社)   | 1 (11.1%) |
| 用手法                              | 3 (33.3%) |

表 7. 核酸抽出試薬を使用した施設数

|   |           |
|---|-----------|
| 全体 (施設数)  | 9         |
| QIAamp Minelute Virus Spin Kit (キアゲン)                             | 1 (11.1%) |
| MGIEasy Nucleic Extraction Kit (MGI)                              | 1 (11.1%) |
| MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (ライフテクノロジーズジャパン) | 1 (11.1%) |
| ReliaPrep Viral TNA Miniprep System, Custom (プロメガ)                | 1 (11.1%) |
| Nucleic Acid Extraction Kit (TANBead)                             | 1 (11.1%) |
| High Pure Viral RNA Kit (ロシュ・ダイアグノスティックス)                         | 1 (11.1%) |
| innuPREP Virus TS RNA Kit 2.0 (アナリティクイエナ)                         | 1 (11.1%) |
| Pre-filled 6strip tube (TIANLONG)                                 | 1 (11.1%) |
| Quick Gene RNA tissue kit II RT-S2 (倉敷紡績株式会社)                     | 1 (11.1%) |

表 8. 測定試薬の分類

|                |            |
|----------------|------------|
| 全体 (施設数)       | 32         |
| 体外診断用医薬品 (IVD) | 17 (53.1%) |
| 研究用試薬 (RUO)    | 9 (28.1%)  |
| 自家調製試薬 (LDT)   | 6 (18.8%)  |

表 9. SARS-CoV-2 検出キットを使用した施設数

|  |           |
|--|-----------|
| 全体 (施設数)   | 26        |
| TaqPath SARS-CoV-2 リアルタイム PCR 検出キット HT (ライフテクノロジーズジャパン)                    | 1 (3.8%)  |
| 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 (ライフテクノロジーズジャパン)           | 1 (3.8%)  |
| Ampdirect 2019-nCoV 検出キット (鳥津製作所)  | 2 (7.7%)  |
| SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡)                                     | 4 (15.4%) |
| TRex Gene SARS-CoV-2 検出キット (東洋紡)   | 1 (3.8%)  |
| SARS-CoV-2 Detection Kit (東洋紡)   | 1 (3.8%)  |
| SARS-CoV-2 Direct Detection RTqPCR kit (タカラバイオ)                            | 3 (11.5%) |
| Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット (タカラバイオ)                                 | 7 (26.9%) |
| コバス SARS-CoV2 (ロシュ・ダイアグノスティックス)  | 3 (11.5%) |
| コバス Liat SARS-CoV-2&Flu A/B (ロシュ・ダイアグノスティックス)                              | 1 (3.8%)  |
| SARS-CoV-2 Nucleic Acid Detection Kit (Real-time RT-PCR Method) (TIANLONG) | 1 (3.8%)  |
| 不明   | 1 (3.8%)  |

表10. 1step RT-PCR 試薬を使用した施設数

|   |          |
|---|----------|
| 全体（施設数）                                       | 6        |
| One Step PrimerScript III RT-qPCR Mix（タカラバイオ） | 4（66.7%） |
| Go Taq Probe 1-Step RT-qPCR System（プロメガ）      | 1（16.7%） |
| 病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）に則って調製                    | 1（16.7%） |

表11. 自施設における検査導入時の性能評価（検証・妥当性確認）の実施状況

|         |           |
|---------|-----------|
| 全体（施設数） | 32        |
| 実施している  | 28（87.5%） |
| 実施していない | 4（12.5%）  |

表12. 表11で「実施している」と回答した施設の確認方法 \*重複回答あり

|         |    |
|---------|----|
| 全体（施設数） | 28 |
| 文献・資料   | 14 |
| 自施設での検討 | 22 |
| 簡易な検証のみ | 1  |

表13. 表11で「実施している」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

|              |    |
|--------------|----|
| 全体（施設数）      | 28 |
| 特異性（選択性）     | 16 |
| 真度（正確さ）      | 16 |
| 精度           | 20 |
| 検出限界         | 19 |
| 定量限界         | 5  |
| 検出感度         | 20 |
| 直線性範囲        | 6  |
| 頑健性          | 5  |
| トレーサビリティ     | 2  |
| 不確かさ         | 1  |
| 再現性          | 1  |
| 現行機器結果との比較   | 1  |
| 2023～2024 追試 | 1  |
| 回答なし         | 1  |

表14. 最小検出濃度/検出限界の求め方

|         |           |
|---------|-----------|
| 全体（施設数） | 32        |
| 自施設評価   | 10（31.3%） |
| メーカー公称値 | 19（59.4%） |
| 回答なし    | 3（9.4%）   |

表15. 最小検出濃度/ 検出限界 (copies/assay)

|          |            |
|----------|------------|
| 全体 (施設数) | 32         |
| 10 以下    | 15 (46.9%) |
| 11-20    | 2 (6.3%)   |
| 21-30    | 1 (3.1%)   |
| 41-50    | 9 (28.1%)  |
| 91-100   | 1 (3.1%)   |
| 回答なし     | 4 (12.5%)  |

表16. 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

|          |             |
|----------|-------------|
| 全体 (施設数) | 32          |
| 実施している   | 32 (100.0%) |
| 実施していない  | 0 (0.0%)    |

表17. 陽性コントロール試料の測定頻度

|              |            |
|--------------|------------|
| 全体 (施設数)     | 32         |
| 測定ごと         | 25 (78.1%) |
| 毎日           | 3 (9.4%)   |
| 72時間ごと       | 2 (6.3%)   |
| 1週間に1度       | 1 (3.1%)   |
| 測定ごと及びロット交換時 | 1 (3.1%)   |

表18. 陽性コントロール試料の入手方法

|              |            |
|--------------|------------|
| 全体 (施設数)     | 32         |
| 測定試薬に同梱されている | 6 (18.8%)  |
| 市販品を別途調達     | 21 (65.6%) |
| 患者試料         | 3 (9.4%)   |
| メーカー提供品      | 1 (3.1%)   |
| 合成 RNA       | 1 (3.1%)   |

表19. 陽性コントロール試料の種類

|              |            |
|--------------|------------|
| 全体 (施設数)     | 32         |
| RNA          | 26 (81.3%) |
| フルプロセスコントロール | 2 (6.3%)   |
| 患者試料         | 3 (9.4%)   |
| 回答なし         | 1 (3.1%)   |

表20. 陽性コントロール試料の濃度

|                                    |           |
|------------------------------------|-----------|
| 全体（施設数）                            | 32        |
| 10 copies/ $\mu$ L                 | 2 (6.3%)  |
| 50 copies/ $\mu$ L                 | 1 (3.1%)  |
| $1 \times 10^2$ copies/ $\mu$ L    | 5 (15.6%) |
| $2 \times 10^2$ copies/ $\mu$ L    | 2 (6.3%)  |
| $1 \times 10^3$ copies/ $\mu$ L    | 1 (3.1%)  |
| $2 \times 10^3$ copies/ $\mu$ L    | 1 (3.1%)  |
| $5 \times 10^3$ copies/ $\mu$ L    | 1 (3.1%)  |
| $3.16 \times 10^4$ copies/ $\mu$ L | 1 (3.1%)  |
| $1 \times 10^5$ copies/ $\mu$ L    | 3 (9.4%)  |
| $5 \times 10^5$ copies/ $\mu$ L    | 1 (3.1%)  |
| $1 \times 10^7$ copies/ $\mu$ L    | 2 (6.3%)  |
| 666.7 IU/mL                        | 1 (3.1%)  |
| $6 \times 10^5$ IU/mL              | 1 (3.1%)  |
| Ct 値 27～30                         | 1 (3.1%)  |
| Ct 値 32.1～34.9                     | 1 (3.1%)  |
| 不明                                 | 2 (6.3%)  |
| 回答なし                               | 6 (18.8%) |

表21. 統計学的精度管理の実施状況

|         |            |
|---------|------------|
| 全体（施設数） | 32         |
| 実施している  | 28 (87.5%) |
| 実施していない | 3 (9.4%)   |
| 回答なし    | 1 (3.1%)   |

表22. 表 21 で「実施している」を選択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）

|  |            |
|--|------------|
| 全体（施設数）                                | 28         |
| 陽性コントロール Ct 値等の平均値 $\pm 2$ または $3 SD$  | 19 (97.9%) |
| 陽性コントロール Ct 値等で数値幅を固定                  | 3 (10.7%)  |
| メーカーの参考値                               | 3 (10.7%)  |
| 内部標準に基づく                               | 1 (3.6%)   |
| 陽性コントロール Ct 値の平均値 $\pm 2\sigma$ or $3$ | 1 (3.6%)   |
| 回答なし                                   | 1 (3.6%)   |

表23. 陰性コントロール試料を用いた検査の実施状況

|         |             |
|---------|-------------|
| 全体（施設数） | 32          |
| 実施している  | 32 (100.0%) |
| 実施していない | 0 (0.0%)    |

表24. 陰性コントロール試料の測定頻度

|              |            |
|--------------|------------|
| 全体（施設数）      | 32         |
| 測定ごと         | 27 (84.4%) |
| 毎日           | 2 (6.3%)   |
| 72時間ごと       | 1 (3.1%)   |
| 毎バッチ         | 1 (3.1%)   |
| 測定ごと及びロット交換時 | 1 (3.1%)   |

表25. 陰性コントロール試料の入手方法

|                    |            |
|--------------------|------------|
| 全体（施設数）            | 32         |
| 測定試薬に同梱されている       | 8 (25.0%)  |
| 市販品を別途調達           | 11 (34.4%) |
| 水                  | 11 (34.4%) |
| PCR メディア溶液         | 1 (3.1%)   |
| RNA 抽出キット内の Buffer | 1 (3.1%)   |

表26. 日常サンプルの検体種 \*重複回答あり

|          |    |
|----------|----|
| 全体（施設数）  | 32 |
| 鼻咽頭ぬぐい液  | 20 |
| 咽頭ぬぐい液   | 7  |
| 喀痰       | 4  |
| 唾液       | 31 |
| 気管支肺胞洗浄液 | 1  |
| 鼻腔ぬぐい液   | 13 |
| 鼻前庭ぬぐい液  | 2  |
| 回答なし     | 1  |

表 27. 陽性 / 陰性の判定指標と具体的な基準 \* 抜粋

|   |
|---|
| 機器判定  |
| コバス 5800 のアルゴリズム  |
| Ct 値が 40 未満の場合を陽性とし、Ct 値 40 以上または不検出の場合を陰性と判定   |
| 陽性：N1,N2 (両方もしくは一方)の Ct 値<40 かつ IC の Ct 値<40<br>陰性：N1,N2 の Ct 値 $\geq$ 40 もしくは未検出かつ IC の Ct 値<40  |
| 出力された値を採用   |
| 陽性：N-gene Ct 値 $\leq$ 40<br>陰性：N-gene Ct 値>40、または検出せず   |
| 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  |
| CT 値 $\leq$ 40 で陽性、CT 値>40 で陰性  |
| 陽性：45 サイクル以内に増幅曲線が立ち上がる<br>陰性：45 サイクル以内に増幅曲線が立ち上がらない  |
| 陰性：SARS-CoV-2 が Ct >40 または 不検出 かつ IC が Ct $\leq$ 40<br>陽性：SARS-CoV-2 が Ct $\leq$ 40   |
| 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。<br>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。   |
| Ct 値が>50 であり、100cps の陽性対照の Ct 値が 30 ~ 35 の間であるとき陽性とする   |
| 陽性コントロールにて許容範囲内で増幅が見られ、陰性コントロールにて増幅が見られないこと。  |
| 判定指標は機器の自動解析結果 (仮判定)、具体的な基準として複数機器での確認を実施。  |
| 陽性は Ct 値 42 までに増幅曲線の立上りが出現、陰性は立上りが見られない   |
| 試薬の取扱説明書どおり   |
| Ct 値 35 以下陽性  |
| 陽性：Ct $\leq$ 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。<br>陰性：IC (FAM) $\leq$ 40 かつ SARS-CoV-2 (Cy5) >40 または不検出  |
| A) ~ E) すべての事項が適合した場合に検査結果報告可とする。2 領域以上に増幅が認められた場合は CP 値に関わらず陽性反応と判定とする。<br>A) 陰性コントロール (H <sub>2</sub> O) に増幅が見られないこと。<br>B) External コントロールが管理幅以内であり、RNA 精製が適正に実施されていること。<br>C) 陽性コントロールが管理幅以内であり、リアルタイム PCR が適正に実施されていること。<br>D) コンタミネーションの傾向が見られないこと。増幅が見られたウエルの隣接ウエルに増幅が見られたときに確認すること。また、著しく陽性検体が多い場合も確認すること。<br>E) CP 値が得られた検体はシグモイドカーブを描いていることを確認すること。ただし、微量もしくはプローブ領域の変異の可能性があるので、必ずしも不適合とはならないことに留意する。 |
| 陽性判定基準：ウイルスターゲット Ct $\leq$ 37 IC : Ct $\leq$ 32   |
| ・ 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<br>・ 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  |

表28. 1日あたりの検査件数

|         |           |
|---------|-----------|
| 全体（施設数） | 32        |
| 10以下    | 18（56.3%） |
| 11-50   | 8（25.0%）  |
| 51-100  | 2（6.3%）   |
| 101-200 | 1（3.1%）   |
| 201-500 | 2（6.3%）   |
| 回答なし    | 1（3.1%）   |

表29. 測定標準作業書の作成状況

|         |            |
|---------|------------|
| 全体（施設数） | 32         |
| 作成している  | 32（100.0%） |
| 作成していない | 0（0.0%）    |

表30. 表29で「作成している」を選択した施設が記載している事項 \*重複回答あり

|                |    |
|----------------|----|
| 全体（施設数）        | 32 |
| 検体の取り扱い        | 30 |
| 統計学的内部精度管理     | 25 |
| 結果判定と報告        | 28 |
| 汚染の防止          | 29 |
| 異常値を示した検体の取扱方法 | 19 |
| 検査実施方法         | 1  |
| 回答なし           | 2  |

表31. 偽陽性の回避方法 \*重複回答あり

|                        |    |
|------------------------|----|
| 全体（施設数）                | 32 |
| 検体処理とPCR(核酸増幅)を行う部屋が別  | 13 |
| 検体処理とPCR(核酸増幅)を行うエリアが別 | 18 |
| 陰性コントロールの測定            | 29 |
| ウラシルNグリコシラーゼ処理         | 14 |
| チューブオープナーの使用           | 5  |
| 機器や作業スペースの定期的な消毒       | 30 |
| 回答なし                   | 1  |

表32. 偽陰性の回避方法 \*重複回答あり

|                  |    |
|------------------|----|
| 全体（施設数）          | 32 |
| 病期に適した検体選択       | 2  |
| 検体採取タイミングの適正化    | 4  |
| 適切な検体採取方法の徹底     | 16 |
| 内部コントロールの測定      | 25 |
| ウイルス量の異なる患者検体の測定 | 1  |
| 回答なし             | 3  |

表33. 精度確保のために参考としている資料 \*重複回答あり

|   |    |
|---|----|
| 全体（施設数）                                 | 32 |
| 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） | 23 |
| 遺伝子関連検査検体管理品質マニュアル（JCCLS）               | 12 |
| 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）        | 9  |
| 遺伝子版 ISO 15189 ガイダンス文書                  | 4  |
| メーカーの添付文書や精度管理資料                        | 21 |
| 回答なし                                    | 1  |

表34. 職員の研修計画の作成状況

|            |            |
|------------|------------|
| 全体（施設数）    | 32         |
| 実施している     | 30 (93.8%) |
| 実施していない    | 2 (6.3%)   |
| 作成していない理由： | 適宜実施しているため |

表35. 研修の実施状況

|         |             |
|---------|-------------|
| 全体（施設数） | 32          |
| 実施している  | 32 (100.0%) |
| 実施していない | 0 (0.0%)    |

表 36. 「実施している」を選択した施設の研修内容について（基本的知識） \*重複回答あり

|                            |    |
|----------------------------|----|
| 全体（施設数）                    | 32 |
| 品質マネジメントシステム               | 16 |
| 文書管理                       | 17 |
| 測定システムの性能特性の評価（検証・妥当性確認など） | 16 |
| 内部精度管理・外部精度管理              | 31 |
| 業務プロセスおよび手順                | 25 |
| 検査室情報システム                  | 11 |
| バイオリスク・マネジメント              | 17 |
| 有害インシデントの影響の回避を含む安全衛生      | 14 |
| 倫理・守秘義務                    | 17 |
| 関連法規                       | 12 |
| 日臨技の研修、講習会の参加              | 1  |
| 自主学習、学会参加等                 | 1  |
| 回答なし                       | 1  |

表37. 「実施している」を選択した施設の研修内容について（基本的技能） \* 重複回答あり

|              |    |
|--------------|----|
| 全体（施設数）      | 32 |
| 個人防護具の脱着     | 28 |
| 装置の操作        | 30 |
| 用手操作（ビペット操作） | 29 |
| 汚染防止         | 28 |
| 回答なし         | 2  |

表38. 第三者認定・認証の取得状況 \* 重複回答あり

|                       |    |
|-----------------------|----|
| 全体（施設数）               | 32 |
| ISO 15189             | 7  |
| ISO 15189（SARS-CoV-2） | 6  |
| ISO 9001              | 4  |
| ISO 27001             | 2  |
| CAP-LAP               | 5  |
| ISO/IEC 17025         | 1  |
| 医療関連サービスマーク           | 9  |
| 日臨技品質保証施設認証           | 4  |
| 回答なし                  | 15 |

表39. オープン調査の結果

|     | 試料番号   |                       |                      |
|-----|--------|-----------------------|----------------------|
|     | GE1（-） | GE2（10,000 copies/mL） | GE3（5,000 copies/mL） |
| 正解  | 陰性     | 陽性                    | 陽性                   |
| 回答数 | 32     | 32                    | 32                   |
| 陽性数 | 0      | 32                    | 30                   |
| 陰性数 | 32     | 0                     | 1※                   |
| その他 | 0      | 0                     | 1※                   |

※ Ct 値が自施設のカットオフ値を超えたため、陰性またはその他与判定

表40. ブラインド調査の結果

|     | 試料番号                   |
|-----|------------------------|
|     | GE1'（10,000 copies/mL） |
| 正解  | 陽性                     |
| 回答数 | 11                     |
| 陽性数 | 11                     |
| 陰性数 | 0                      |