

## 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、原虫等の核酸を検出・解析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。

今年、発生した COVID-19 の診断を目的として、登録衛生検査所や SARS-CoV-2 の病原体核酸検査のみを実施する臨時登録衛生検査所、医療施設における臨床検査室は、SARS-CoV-2 の病原体核酸検査を実施している。マスコミの報道でも PCR 検査の必要性が指摘され、その検査件数に注目が集まっている。SARS-CoV-2 に対する病原体核酸検査は、感度の高い検査であるが、検体採取から核酸抽出、RNA から DNA への逆転写、PCR による DNA 増幅、結果の解釈といった複雑な工程を経なければならない。

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」と定めている。その結果、精度の確保に係る責任者を任命し、内部精度管理の実施、適切な研修の実施が義務化され、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は、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外部精度管理を実施した。なお、今回の精度管理事業には、登録衛生検査所及び臨時登録衛生検査所のほか、希望する病院などの検査部門も参加した。

### 精度管理調査の概要

#### 参加施設

東京都内登録衛生検査所 12 施設、臨時の衛生検査所 4 施設、病院検査室 37 施設が本精度管理調査に参加した。全施設がバイオセーフティーキャビネットを保有していた。参加施設の概要は、表 1 に示した。

#### 検体調製方法

1% 牛胎児血清添加細胞培養用培地を搬送用培地として用い、A 社製の標準品を約 2,500 copies/mL に希釈・調製して陽性コントロール (MB7) とし、陰性コントロール (MB6) とともに鼻咽頭スワブ懸濁液として配付した。

#### 検査内容

調査対象項目は SARS-CoV-2 に対する核酸検査（リアルタイム PCR 法 [RT-PCR 法]、Loop-Mediated Isothermal Amplification [LAMP] 法及びそれ以外）とし、全自動核酸抽出増幅装置（以下「全自動機器」という。）及び全自動機器以外を対象とした。結果は陽性、陰性の判定に加えて、RT-PCR の場合は、Threshold Cycle (Ct) 値、LAMP 法の場合は Threshold time (Tt) 値及び Differential calculation (Df) 値の報告を求めた。結果報告の際は使用した核酸抽出キット名（自動核酸抽出装置を使用した場合は機器名）、全自動機器名、RT-PCR キット名（標識プローブの蛍光物質名、全自動機器でない場合は検出機器名）、及び検出対象遺伝子名も調査した。

#### レファレンス施設

レファレンス施設は、東京都健康安全研究センター及び東邦大学医学部微生物・感染症学講座とし、複数日程、同一検体を検査して日間差を確認した。核酸抽出キットは、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いた。また、核酸精製が不要な簡易検出キットとして SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR kit (タカラバイオ) 及び 2019 新型コロナウイルス検出試薬キット (島津製作所) を用いた。全自動機器として BD Max<sup>TM</sup> (日本ベクトン・ディッキンソン) ではオープン試薬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 領域

を検出対象とした。また、上述のタカラバイオ及び島津製作所の簡易抽出・検出キットは、それぞれ N1/N2 及び N1 領域と N2 領域を検出対象としている (Corman et al. Euro Surveill. 2020 Jan;25(3):2000045)。リアルタイム PCR 機器は、QuantStudio™ 12K Flex (Thermo Fisher Scientific) を用いた。LAMP 法にはリアルタイム濁度測定装置 LoopampEXIA® (栄研化学) を用いた。また、LAMP 法、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ) 及び 2019 新型コロナウイルス検出試薬キット (島津製作所) 以外の SARS-CoV-2 由来遺伝子検出には国立感染症研究所のマニュアルに記載されている N2 セットと QuantiTect Prode RT-PCR Kit (QIAGEN) の組み合わせを用いた。

#### 調査参加施設が使用している試薬及び機器

調査参加施設が使用していた全自動機器は、cobas 8800 (ロシュ・ダイアグノスティックス) が 1 施設、cobas 6800 (ロシュ・ダイアグノスティックス) が 2 施設、BD Max™ (日本ベクトン・ディッキンソン) が 5 施設、GeneXpert (ベックマン・コールター) が 3 施設、Film Array Torch システム (ビオメリュー・ジャパン) が 4 施設、ミュータスワコー g1 (富士フイルム和光純薬) が 1 施設、TRC Ready-80 (東ソー) が 1 施設であった。なお、BD Max™ を使用していた 5 施設のうち、専用試薬とオープン試薬を使用している施設は、それぞれ 3 施設と 2 施設であった。LoopampEXIA® (栄研化学) は 18 施設が採用しており、そのうち 14 施設で Loopamp インフルエンザ抽出用試薬 (栄研化学) が使用され (うち 2 施設は QIAamp Viral RNA Mini Kit も併用)、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) のみ使用していたのは 3 施設であった。35 施設 (3 施設は重複あり) は通常のリアルタイム PCR システムを用いていた。参加施設で使用されていた核酸抽出試薬および核酸増幅試薬は、表 4～6 に示した。

#### **レファレンス施設での測定結果**

レファレンス施設での陽性コントロールの測

定成績を表 2 に示した。なお、陰性コントロールの測定結果は示していないが、正しく陰性の結果を得られた。陽性コントロールにおいては、何れの試薬及び機器のセットにおいて陽性の結果が得られた。Ct 値は、タカラバイオのキットの Ct 値が、他のキットと比較して、若干大きい傾向が認められた。また、島津製作所の N2 を検出対象としたキットの日内変動が他のキットと比較して大きくなる傾向が認められた。それ以外の RT-PCR による検出には大きな問題はなく、測定誤差は許容範囲であることを確認し、この結果をもとにレファレンス値 (感染研の N2 領域で Ct 値 30～35) を設定した。

#### **参加施設の成績**

初めて実施した SARS-CoV-2 に対する病原体核酸検査の外部精度管理の成績を一律に評価することは出来ない。その理由として国立感染症研究所が示している「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」には、逆転写から遺伝子増幅までに要する時間により、3種類の基準が示されている (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/coronavirus/2019-ncov/9482-covid14-15.html>)。すなわち、核酸抽出法が遺伝子検査法に及ぼす影響を加味した性能評価ではない。また、病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1 の別添 2 として「2019-nCoV 検出に利用できることが確認できている反応試薬、機器の組み合わせ」は示されているが、核酸抽出法と遺伝子増幅法の組み合わせについての言及はない。現場では、市販されている様々な核酸抽出キットと遺伝子増幅キットの中でより簡便な試薬を選択するのは当然のことであろう。今回の外部精度管理を通して、簡易抽出キットによっては感度が大幅に低下することが確認された。各施設で病原体核酸検査を導入する際は、検査の目的と検査実施者の力量に合うキットの組み合わせを、自施設で事前に評価・検証することが求められる。

今回の SARS-CoV-2 の病原体核酸検査に対する外部精度管理事業に参加した 53 施設の結果

は、表3に測定法別の正答率（MB6、7ともに判定不能または測定不可と回答してきた施設番号2018及び1003は含まない）、詳細を表4～6に示した。リアルタイムPCR法を採用していた施設の結果は概ね良好だった。

陰性コントロール（MB6）に対しては、施設番号1002（+）及び2018（判定不能）以外は、正しく判定されていた。施設番号1002は、Ct値が記載されておらず、MB6に対する入力が2回なされており、その一方に“+”と記入されていたことから、誤入力の可能性があるものと考えられた。このような誤入力は重大な過失に繋がることから十分な注意が必要である。施設番号1003はSARS-CoV-2 Detection kit-N2 set（東洋紡）を使用しており、ウイルスを搬送用培地に懸濁した検体では感度が大きく低下することを経験していた。その経験をもとに不適切な検体と判断し、「測定不可」と回答した。

MB7に関しては、全自動機器ではミュータスワコー g1を使用していた施設番号2025、全自動機器以外ではMaxwell RSCを使用していた施設番号38、58及び2035、LAMP法を採用していた施設番号2001、2013（複数の方法を実施しており、全ての方法で正しい結果が得られなかったわけではない）、2014、2016、2017、2018、2020、2027、2028、2036、2037、2038（複数の方法を実施しており、全ての方法で正しい結果が得られなかったわけではない）は正しい判定がなされていなかった。それ以外の施設は何れも正しい報告がなされていた。施設番号2035は、Nセット及びN2セットを用いて、それぞれ陰性及び陽性の判定がなされた。しかし、同施設が報告したN2セットのCt値は-4.338であり、この値は誤りであると思われた（表5）。また、施設番号38及び58は何れも同一のプロメガの核酸抽出試薬及びロシュ・ダイアグノスティックスの核酸増幅試薬を用いていたが、N遺伝子を対象とした結果を陰性と報告した。なお、E遺伝子に関しては陽性と報告しておりN遺伝子を対象とした検出系の妥当性の確認が必要である。施設番号2021、1004、2005、及び

2032が報告したCt値は、それぞれ19～20及び40近いCt値を報告しており、目標値（Ct 30～35）から大きく離れていた（表5）。

17施設が全自動検査機器を使用していたが、その内訳は、BD Max™ 5施設、GeneXpert 3施設、cobas 8800 1施設、cobas 6800 2施設、FilmArray Torch 4施設、ミュータスワコー g1 1施設、TRCReady-80 1施設であった（表4）。cobas 8800を使用していたのは衛生検査所であったが、それ以外の自動機器は医療施設で使用されていた。ミュータスワコー g1を除く全自動機器は、MB7を陽性と判定していた。ミュータスワコー g1は、鼻咽頭スワブを輸送用培地に懸濁した検体ではなく、直接スワブ検体を検査材料とする。施設番号2025は自施設で、検査手順と検査試薬の妥当性を確認する必要がある。

参加した病院検査室37施設のうち18施設がLAMP法を採用していた。このうち核酸抽出にQIAamp Viral RNA Mini Kitを採用していた5施設（Loopamp インフルエンザ抽出試薬を同時に使用した施設有り）は何れも適切な結果が得られた。しかし、Loopamp インフルエンザウイルス抽出試薬を用いた14施設のうち、陽性の結果を正しく報告した施設は4施設のみであり、そのうち2施設が報告したTt値は31を超えていた。レファレンス施設で確認したところ、Tt値26の検体においては非特異反応が確認された。さらに、陽性と報告した施設は日常と異なる独自の方法（具体的記載はない）で検査を行っていた。これらのことから、陽性の判定をした施設の結果は擬陽性であることが否定できない。また、施設ごとに独自の手順・方法を採用するのであれば、自施設で検査手順と感度・特異度、検出限界、定量限界などの評価・検証の実施が必要である。以上の結果から、Loopamp インフルエンザウイルス用抽出試薬を用いてSARS-CoV-2の検査をLAMP法で実施した場合、配付した陽性コントロール（MB7）のウイルス量はその検出限界を下回ることから、表3にそのデータを含めなかった。

Loopamp インフルエンザウイルス用抽出試薬を用いる施設は、検査手順ごとに妥当性を評価・検証し、使用目的を明確にする必要がある。なお、陰性と回答してきた施設の中には、コメント欄にインフルエンザ用の簡易核酸抽出キットが、鼻咽頭スワブを搬送用培地に懸濁した検体には検査材料として適していないことや、抽出液に懸濁することに起因して抽出される核酸濃度が低下することについて言及した施設があった。使用する試薬の特性を正しく理解していた施設があったことを付言したい（表6）。

報告された Ct 値がレファレンス施設のものを大幅に超えていたなどの 8 施設（検査所 2 施設、臨時の検査所 2 施設、病院検査室 4 施設）には個別に改善すべき点を連絡した。このうち検査所 2 施設、臨時の検査所 2 施設には改善報告の提出を求めた。施設番号 38 は、full process control の採用と全検査工程における温度管理についての改善が報告された。施設番号 58 は、核酸増幅試薬キットの N-gene 検出用プライマー・プローブセットの作り置きをしていなかったことについて言及していたが、改善すべき点を明らかにできなかった。引き続き、試薬メーカーと連携して原因究明をすることが付言されていた。施設番号 1003 は、検査試薬キットのロットやバージョンの違いによる可能性について改善報告書で言及されていた。しかし、感度のよいキットがあるにもかかわらず、敢えて感度の悪いキットを使い続けることに対する、科学的根拠に基づく理由は述べられていなかった。施設番号 1004 は、自施設の測定手順の妥当性について検討したが、改善すべき点を見出すことはできなかった。このような施設に対しては、是正に対する支援が必要であると考えている。自主的に回答があった医療施設である施設番号 2032 は、精度管理の際に取得したデータの再解析を自主的に実施し、Ct 値が改善したこと、前処理の方法を工夫して感度を上げたことを報告した。しかし、単に Threshold を変更するだけでは、本質的な改善には繋がらない。いつでも、だれでも同じ検査結果を得る

ことができるように具体的な対策を取ることが重要であり、今回指摘された施設は改めて改善策を検討する必要がある。また、良好な成績を得ることができなかった複数の施設（施設番号 1003、1004、2032）が使用していた試薬キットが同一であったことから、メーカーに問い合わせたところ、当該キットに含まれる抽出試薬と A 社製の標準品に使用されているアルファウイルスとの相性が悪いこと、ウイルス搬送液の影響を受けたことなどが原因である可能性が指摘された。なお、既に試薬キットメーカーは、唾液検体に対応すべく、抽出工程に加熱処理を追加し、アルファウイルスの検出に対する問題を解決した新たなキットを発売している。また、他の核酸抽出キット（簡易抽出キットは除く）は、今回用いた搬送液の影響を受けることなく、適正な結果が報告されていたことから、核酸抽出への影響は低かった、あるいはなかったものと考えられる。

病原体核酸検査を実施する施設は、体外診断用医薬品の認可を受けた試薬キットを採用する場合でも、自施設でそのキットの性能と妥当性の評価・検証を行うことができる環境を整備する必要がある。

## まとめ

COVID-19 の原因微生物である SARS-CoV-2 は、一本鎖プラス鎖 RNA を有するコロナウイルスに属している。SARS-CoV-2 粒子の大きさは 50 ~ 200 nm 程度である。そのゲノムは S（スパイク）タンパク質、N（ヌクレオカプシド）タンパク質、M（膜）タンパク質、E（エンベロープ）タンパク質や RdRp（RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ）などをコードする遺伝子で構成されている。ゲノム全長は約 30 Kb であり、RNA ウイルスとしては非常に大きな部類に属している。SARS-CoV-2 の検出用試薬は主としてリアルタイム PCR 法用のものが多いが、それ以外の方法のものも開発されている。検出対象遺伝子は、上述の遺伝子のうち N 蛋白をコードする領域を対象とする CDC や国立感染症研

究所などのマニュアルに準じたものや、Sタンパク質やRdRpをコードする遺伝子を検出対象とする企業独自のものがある。このように検出標的が多様で、採用される核酸抽出法も多様である場合の外部精度管理にはゲノム全長を含む full process control と呼ばれる試薬が必須となる。本外部精度管理調査を計画した当時、このような full process control として入手可能な製品は、単一濃度のみであり、今回はこの試薬を用いて外部精度管理調査を実施した。

SARS-CoV-2 に対する病原体核酸検査試薬は、急遽必要とされたことから、通常の体外診断用医薬品とは異なる審査過程で承認された（米国における緊急使用許可と同様）。そのため、性能にばらつきがあることは容易に想像できる。今回の外部精度管理を通して、検査キットの性能や特性の一端が明らかになったと考えている。すなわち、簡易核酸抽出キットの中には、抽出効率が低いものや核酸分子数を十分に核酸増幅系に持ち込むことができない試薬が存在する。また、試薬においても発売後にプライマー配列などが変更され、性能が向上した試薬も存在する。より質の高い適正な検査を実施するために、常に最新の情報を取り入れ、施設が保有する機器に適した最善の試薬を使用できるように努めなければならない。

適正な結果が報告できなかった施設には、個別に連絡してその改善策の立案を求めたが、十

分に問題点の抽出と改善策の立案ができていなかった。その理由として、我が国では、衛生検査所や病院に病原体核酸検査が十分に浸透していなかったことが考えられる。今回の COVID-19 の蔓延に伴って、急遽病原体核酸検査を導入した施設も少なくないことから、遺伝子検査機器やキットの性能評価や検証の方法が不十分な施設があることは否定できない。遺伝子検査に精通した人材育成は喫緊の課題である。遺伝子検査実施施設は、勉強会などに積極的に参加して人材育成に努めるべきである。

今回の外部精度管理調査を通しての反省点として、(1) full process control の濃度が低かったため、簡易抽出キットを対象とした方法の精度管理には不向きだったこと、(2) 先の理由から単一濃度検体のみの配付となったこと、(3) 抽出試薬と遺伝子増幅試薬の組み合わせが多く、全組み合わせのレファレンスデータの取得が困難なこと、(4) スワブ検体を直接検査しなければならないキットが存在したこと、(5) 模擬ウイルスを使用した際の抽出効率低下が認められたキットが存在したことなどを挙げたい。模擬ウイルスではない不活化ウイルスを用いた複数濃度から成る full process control や高濃度の full process control も市販されており、今後の外部精度管理ではこれらの試薬の使用も考慮したい。

表 1. 参加施設の概要

A BSL 2以上に相当する検査室の整備

	衛生検査所	臨時の衛生検査所	病院
全体（施設数）	12	4	37
1. BSL2で陰圧になる	4	0	19
2. BSL2で陰圧にならない	6	4	13
3. BSL3	1	0	4
9. その他	1	0	1

B 検査目的（複数回答）

	衛生検査所	臨時の衛生検査所	病院
全体（施設数）	12	4	37
1. 外来患者の感染確認	2	3	31
2. 入院患者の感染確認	2	3	37
3. 入院患者の陰性確認	2	3	32
4. 職員の感染又は陰性確認	4	4	30
5. 医療機関からの受託検査	12	1	5
6. 保健所からの受託検査	7	0	9
7. PCRセンターからの受託検査	7	0	1
9. その他*	0	0	2

\*：術前検査

C 受託可能件数

	衛生検査所	臨時の衛生検査所	病院
全体（施設数）	12	4	37
1. 0件	0	0	5
2. 1～50件	0	1	16
3. 51～100件	2	2	11
4. 101～500件	5	1	1
5. 501～2000件	3	0	0
6. 2001件以上	2	0	0
7. 不明	0	0	2
9. その他*	0	0	2

\*：院外からは0  
外部からの依頼は受け付けていない

表2. レファレンス施設での測定結果

方法①	試薬・機器	日付		Tt 値 (秒) または Ct 値		平均値 X	標準偏差 SD	変動係数 CV	範囲 R	Xb 管理図法		R 管理図法		
		測定値1	測定値2	測定値3	CL (Xb)					UCL	LCL	CL (Rb)	UCL	LCL
LAMP 法														
抽出試薬: QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)、抽出機器: QIAcube (キアゲン)、増幅試薬: Loopamp 新型コロナウイルス、2019 (SARS-CoV-2) 検出試薬キット (栄研化学)、増幅機器: Loopamp EXIA (栄研化学)														
1日目		7月30日	1242	1386	1320	1316.0	72.08	0.065	144	1285.3	1381.5	1189.2	94	242.0
2日目		7月31日	1386	1284	1302	1324.0	54.44	0.041	102	1285.3	1381.5	1189.2	94	242.0
3日目		8月2日	1200	1236	1212	1216.0	18.33	0.015	36	1285.3	1381.5	1189.2	94	242.0
方法②														
リアルタイムPCR法 (N2セット領域)														
試薬・機器														
試薬: BD MAX Exk TNA-3、BDMAX カートリッジ (日本BD)、機器: BDMAX (日本BD)														
1日目		7月30日	30.6	30.5	31.0	30.70	0.26	0.009	0.50	31.1	31.91	30.20	0.83	2.15
2日目		7月31日	31.6	30.6	31.0	31.07	0.50	0.016	1.00	31.1	31.91	30.20	0.83	2.15
3日目		8月2日	32.0	31.2	31.0	31.40	0.53	0.017	1.00	31.1	31.91	30.20	0.83	2.15
方法③														
リアルタイムPCR法 (N2セット領域)														
抽出試薬: QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)、抽出機器: QIAcube (キアゲン)、増幅試薬: QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)、増幅機器: QuantiStudio 12K Flex (サーモフィッシュャーサイエンティフィック)														
1日目		7月31日	34.2	34.7	34.8	34.57	0.32	0.009	0.60	34.9	35.80	33.96	0.90	2.32
2日目		8月3日	35.6	34.9	34.1	34.87	0.75	0.022	1.50	34.9	35.80	33.96	0.90	2.32
3日目		8月4日	34.9	35.5	35.2	35.20	0.30	0.009	0.60	34.9	35.80	33.96	0.90	2.32
方法④														
リアルタイムPCR法 (N1/N2 (CDC) 領域)														
試薬: SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ)、機器: QuantiStudio 12K Flex (サーモフィッシュャーサイエンティフィック)														
1日目		7月31日	37.1	37.5	37.1	37.23	0.23	0.006	0.40	37.2	37.58	36.82	0.37	0.94
2日目		8月3日	37.3	37.5	37.5	37.43	0.12	0.003	0.20	37.2	37.58	36.82	0.37	0.94
3日目		8月4日	36.9	37.2	36.7	36.93	0.25	0.007	0.50	37.2	37.58	36.82	0.37	0.94
方法⑤-1														
リアルタイムPCR法 (N1 (CDC) 領域)														
抽出試薬: 2019 新型コロナウイルス検出試薬キット (島津製作所)、機器: QuantiStudio 12K Flex (サーモフィッシュャーサイエンティフィック)														
1日目		7月31日	34.7	34.9	34.2	34.60	0.36	0.010	0.70	34.8	35.29	34.40	0.43	1.12
2日目		8月3日	34.7	35.0	34.9	34.87	0.15	0.004	0.30	34.8	35.29	34.40	0.43	1.12
3日目		8月4日	35.1	34.9	35.2	35.07	0.15	0.004	0.30	34.8	35.29	34.40	0.43	1.12
方法⑤-2														
リアルタイムPCR法 (N2 (CDC) 領域)														
抽出試薬: 2019 新型コロナウイルス検出試薬キット (島津製作所)、機器: QuantiStudio 12K Flex (サーモフィッシュャーサイエンティフィック)														
1日目		7月31日	35.4	33.7	30.8	33.30	2.33	0.070	4.60	34.5	37.19	31.81	2.63	6.78
2日目		8月3日	35.1	35.2	36.0	35.43	0.49	0.014	0.90	34.5	37.19	31.81	2.63	6.78
3日目		8月4日	33.2	35.5	35.6	34.77	1.36	0.039	2.40	34.5	37.19	31.81	2.63	6.78

表3. 測定法別の正答率

測定機器	測定法	核酸抽出工程	施設数	MB6 (陰性)	MB7 (陽性)
全自動核酸抽出増幅装置	リアルタイムPCR法	有	11※	11(100%)	11(100%)
	その他	有	6	6	5
全自動核酸抽出増幅装置以外	リアルタイムPCR法	カラム法/磁気ビーズ法	18※	18(100%)	18(100%)
	ダイレクトPCR	ダイレクトPCR	16	16(100%)	16(100%)
LAMP法	カラム法及び簡易抽出法等	カラム法及び簡易抽出法等	20※	20(100%)	9(45.0%)
	合計	合計	56#	56(100%)	55(98.2%)

※ 重複あり  
 # 配付した陽性試料中のウイルス量がインフルエンザ簡易抽出キットとLAMP法の組み合わせの検出限界を下回るため除外した  
 ( )内は正答率  
 複数の測定法を実施していた施設の結果を集計に含めているため、表中の施設数と調査参加施設数は異なる。

表 4. 全自動機器による検査成績

方法	全自動検査試薬 (メーカー)	全自動検査機器 (メーカー)	MB6						MB7							
			検出対象遺伝子①			検出対象遺伝子②			検出対象遺伝子①			検出対象遺伝子②				
			対象遺伝子	判定	Ct値	対象遺伝子	判定	Ct値	対象遺伝子	判定	Ct値	対象遺伝子	判定	Ct値		
リアルタイムPCR法	BDマックス SARS-CoV-2 (日本BD)	BDマックス (日本BD)	2002	N1 (CDC)	(-)	-1.0	N2 (CDC)	(-)	-1.0	N1 (CDC)	(+)	32.0	N2 (CDC)	(+)	32.1	
			2003	N1 (CDC)	(-)		N2 (CDC)	(-)		N1 (CDC)	(+)	31.4	N2 (CDC)	(+)	31.6	
			2005	N1 (CDC)	(-)		N2 (CDC)	(-)		N1 (CDC)	(+)	31.3	N2 (CDC)	(+)	31.2	
			2030	N2セット	(-)					N2セット	(+)	30.4				
			2016	N1 (CDC)	(-)					N1 (CDC)	(+)	32.7				
			2004	E遺伝子	(-)		N2	(-)		E遺伝子	(+)	32.1	N2	(+)	34.9	
			2017	E遺伝子	(-)	0.0		N2	(-)	0.0	E遺伝子	(+)	32.1	N2	(+)	35.0
			2034	E遺伝子	(-)	0.0		N2	(-)	0.0	E遺伝子	(+)	32.7	N2	(+)	35.7
			0033	ORFlab 遺伝子	(-)	-		E遺伝子	(-)	-	ORFlab 遺伝子	(+)	32.18	E遺伝子	(+)	32.79
			2004	ORFlab 遺伝子	(-)			E遺伝子	(-)		ORFlab 遺伝子	(+)	31.81	E遺伝子	(+)	32.71
その他	FilmArray 呼吸器パネル 2.1 (ピオメリユー・ジャパン)	FilmArray Torch システム (ピオメリユー・ジャパン)	2006	ORFlab 遺伝子	(-)		E遺伝子	(-)		ORFlab 遺伝子	(+)	32.39	E遺伝子	(+)	33.28	
			2004	S gene M gene	(-)					S gene M gene	(+)					
			2013		(-)						(+)					
			2032	S gene M gene	(-)					S gene M gene	(+)					
			2038		(-)						(+)					
			2025		(-)						(-)					
			2026	N2セット	(-)	ND				N2セット	(+)	14.45*				
			2019 新型コロナウイルスRNA 検出試薬 (東ソー)	2019 新型コロナウイルスRNA 検出試薬 (東ソー)	TRCReady-80 (東ソー)											
			2025	ミュータスワコー COVID-19 (富士フイルム和光純薬)	ミュータスワコー g1 (富士フイルム和光純薬)											

\* : Ct値



表5. 全自動機器以外のリアルタイムPCR法による検査成績

抽出試薬 (メーカー)	抽出機器 (メーカー)	増幅試薬 (メーカー)	増幅機器 (メーカー)	MB6		MB7	
				検出対象遺伝子① 対象 遺伝子	検出対象遺伝子② 対象 遺伝子	検出対象遺伝子① 対象 遺伝子	検出対象遺伝子② 対象 遺伝子
QIAamp Viral RNA mini kit (キアンプ)	QIAcube Connect System (キアンプ)	LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	N 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	N 遺伝子 (+)
QIAcube (キアンプ)	QIAcube (キアンプ)	HighMin First Virus 1-Step Master Mix (サモエフイッシュナー)	QuantStudio 5 (サモエフイッシュナー)	N2 セット (-)	N2 セット (+)	N2 セット (+)	N2 セット (+)
的手法	的手法	LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	N 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	N 遺伝子 (+)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	N 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	N 遺伝子 (+)
		Quantifit Probe RT-PCR Kit (キアンプ)	QuantStudio 5 (サモエフイッシュナー)	N セット (-)	N2 セット (-)	N セット (+)	N2 セット (+)
		2019-nCoV 検出検光リアルタイム RT-PCR キット (シスメックス)	Step One (サモエフイッシュナー)	ORF1ab 遺伝子 (-)	ORF1ab 遺伝子 (-)	ORF1ab 遺伝子 (+)	ORF1ab 遺伝子 (+)
		One-Step PrimeScript III RT-PCR Mix (タカラバイオ)	Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サモエフイッシュナー)	N セット (-)	N2 セット (-)	N セット (+)	N2 セット (+)
		UNDERBERD Probe One-step qRT-PCR Kit (東洋紡)	Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サモエフイッシュナー)	N セット (-)	ND	N セット (+)	N2 セット (+)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, RRP-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	RRP 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	RRP 遺伝子 (+)
		HighMin First Advanced Master Mix (サモエフイッシュナー)	StepOne Plus (サモエフイッシュナー)	E 遺伝子 (-)	>45	E 遺伝子 (+)	E 遺伝子 (+)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 480 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	E 遺伝子 (+)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 480 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	N 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	N 遺伝子 (-)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	N 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	N 遺伝子 (-)
		LighMix Modular SARS-CoV (COVID-19) E-gene (ロシュ・ダイアグノスティクス)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	E 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (-)	E 遺伝子 (+)	E 遺伝子 (+)
		新編コロナウイルス (2019-nCoV) 検出用プライマー & フローアミックス (フロムカ)	GFX96 Touch Deep Well Real-Time PCR Detection System (バイオネード)	N2 セット (-)	N2 セット (-)	N セット (-)	N2 セット (+)
		One-Step PrimeScript III RT-PCR Mix (タカラバイオ)	LightCycler 480 II (ロシュ・ダイアグノスティクス)	N2 セット (-)	N1 (CDC) (-)	N2 セット (+)	N1 (CDC) (+)
		One-Step PrimeScript III RT-PCR Mix (タカラバイオ)	StepOne Plus (サモエフイッシュナー)	N2 セット (-)	N2 セット (-)	N2 セット (+)	N2 セット (+)
		HighMin First Virus 1-Step Master Mix (サモエフイッシュナー)	QuantStudio 1 (サモエフイッシュナー)	N2 セット (-)	0	N2 セット (+)	N2 セット (+)
		2019新型コロナウイルス検出試薬キット (東洋薬研)	LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	N1 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N1 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
			LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	N1 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N1 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
			QuantStudio 5 (サモエフイッシュナー)	N2 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N2 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
			Applied Biosystems 7500 Fast Dx Real-Time PCR instrument (サモエフイッシュナー)	N1 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N1 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
		SARS-CoV-2 Detection Kit -N2 set- (NCV-102) (東洋紡)	QuantStudio 3 (サモエフイッシュナー)	測定不可	測定不可	測定不可	測定不可
		SARS-CoV-2 Detection Kit -N2 set- (NCV-302) (東洋紡)	Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サモエフイッシュナー)	N2 (CDC) (-)	Unknown ind	N2 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
		SARS-CoV-2 Detection Kit N1/N2 set (東洋紡)	QuantStudio 5 (サモエフイッシュナー)	N1 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N1 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
		SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ)	StepOne Plus (サモエフイッシュナー)	N1 (CDC) (-)	N2 (CDC) (-)	N1 (CDC) (+)	N2 (CDC) (+)
			QuantStudio 5 (サモエフイッシュナー)	N1/N2 (CDC) (-)	N1/N2 (CDC) (-)	N1/N2 (CDC) (+)	N1/N2 (CDC) (+)
			Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System (サモエフイッシュナー)	N1/N2 (CDC) (-)	ND	N1/N2 (CDC) (+)	N1/N2 (CDC) (+)
			GFX96 Touch Deep Well Real-Time PCR Detection System (バイオネード)	N1/N2 (CDC) (-)		N1/N2 (CDC) (+)	N1/N2 (CDC) (+)
			LightCycler 96 (ロシュ・ダイアグノスティクス)	N1/N2 (CDC) (-)		N1/N2 (CDC) (+)	N1/N2 (CDC) (+)

表6. LAMP 法による検査成績

抽出試薬 (メーカー)	増幅試薬 (メーカー)	増幅機器 (メーカー)	施設 No.	MB6			MB7		
				判定	Tt 値	Df 値	判定	Tt 値	Df 値
QIAamp Viral RNA Mini Kit (キアゲン)	Loopamp 新型コロナウイルス 2019(SARS-CoV-2) 検出試薬キット (栄研化学)	Loopamp EXIA (栄研化学)	2004	(-)			(+)	23:42	0.138
			2013	(-)			(+)	23:05	0.148
			2022	(-)		0.011	(+)	24:18	0.130
			2024	(-)			(+)	20:06	0.108
			2038	(-)			(+)	22:42	0.178
			2001	(-)			(-)		
			2013	(-)			(-)		
			2013	(-)			(+)	31:18	0.158
			2015	(-)			(+)	22:00	0.157
			2016	(-)			(-)		0.001
Loopamp インフルエンザウイルス用抽出試薬 (栄研化学)			2017	(-)		0.000	(-)		0.004
			2018	判定不能		0.006	判定不能		0.005
			2020	(-)		0.000	(-)		0.006
			2027	(-)		0.010	(-)		0.010
			2028	(-)		0.000	(-)		0.006
			2029	(-)		0.010	(+)	31:24	0.123
			2033	(-)			(+)		
			2036	(-)		0.000	(-)		0.001
			2037	(-)		0.001	(-)		0.002
			2038	(-)			(-)		
2014	(-)		0.018	(-)		0.012			