

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 年度にはオープン調査に加えてブラインド調査も実施した。

令和 4 年度は 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を継続して実施した。令和 3 年度はオープン調査における陽性試料のウイルス量について高濃度と低濃度の 2 段階を設定していたが、令和 4 年度は 1 濃度のみとした。

（1）参加施設

東京都内衛生検査所 43 施設（うち都内施設 38 施設、都外施設 5 施設）、臨時の衛生検査所 11 施設が本精度管理調査に参加した。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、41 施設および 2 施設であった。臨時の衛生検査所 11 施設は全て RT-PCR 法を採用していた（表 5）。また、8 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

試料調製方法

オープン調査で用いた試料 MB6（陽性）は、B 社製 Full process control、MB7（陰性）は RNase Free 脱ヌクレアーゼ水を鼻咽頭スワブ懸濁液として配付した。ブラインド調査で用いた MB6' は MB6 と同じものを唾液検体として配付した。

オープン調査

MB6：10,000 copies/mL 程度

MB7：陰性

ブラインド調査

MB6'：10,000 copies/mL 程度

(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および慶応大学病院臨床検査科微生物検査室とし、複数日程、同一試料を検査して日間差を確認した。

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（サーモフィッシュャー・サイエンティフィック）を用いた。全自動機器の BD マックス（日本ベクトン・ディッキンソン）では、BD MAX SARS-CoV-2/Flu（日本ベクトン・ディッキンソン）を用いた。上述のタカラバイオの簡易検出キットは N 領域を、島津製作所および東洋紡の簡易検出キットならびに日本ベクトン・ディッキンソンの全自動機器試薬は N1 領域と N2 領域を検出対象としている。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 (キアゲン) により検出した (表 2)。

レファレンス施設での測定成績 (Ct 値) を表 2 に示した。陰性コントロール (MB7) の測定結果は、正しい結果が得られた。陽性コントロールにおいては、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。それぞれの試薬の Ct 値に大きな差異は認められず、この結果をもとにレファレンス値（国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに記載の N2 領域で MB6 は Ct 値 35～38）を設定した。

調査参加施設が使用している各種機器および試薬

調査参加施設が使用していた機器および試薬を表 4、表 6、表 7 から表 9 に示した。採用されている機器および試薬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 検出キットは 34 種類だったが、今年度調査時は 42 種類に増加していた。本調査においても、昨年度、IVD の SARS-CoV-2 検出キットを採用した施設は 41 施設中 16 施設（39%）であったが、今年度は 54 施設中 28 施設（52%）と増加していた。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、13 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、11 施設が採用していた。これは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

今回のアンケートにおいて、基本性能評価を自施設で実施したのは衛生検査所が 43 施設中 9 施設に留まり、臨時の衛生検査所は 11 施設中 8 施設であった（表 11）。衛生検査所および臨時の衛生検査所の、それぞれ 33 施設および 3 施設がメーカーの公称値等を基に機器・試薬を導入していた。

参加施設における最小検出感度（copies/assay）は、ほとんどの施設が 100 copies/assay 以下の値を報告していた（表 12）。しかしながら、1 施設のみ 200 copies/assay であった。当該施設は、試薬として SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi-（東洋紡）を使用しており、同じ試薬を使用している他の 10 施設は 50 copies/assay 以下であった。再確認いただきたい。

導入時に妥当性確認または検証を実施した施設は、54 施設中 47 施設であった（表 13）。また、基本性能の評価方法として文献・資料調査を挙げた施設があった（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 17 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。

陽性コントロールを用いた内部精度管理を毎回実施していると回答した衛生検査所および臨時の衛生検査所は、それぞれ 43 施設中 39 施設および 11 施設中 9 施設に留まっていた（表 17）。また、陰性コントロールを毎回用いていた施設は 54 施設中 45 施設であった。（表 19）。陽性コントロールおよび陰性コントロールの実施頻度において、「その他」として、「15 日に 1 回」、「24 時間毎」や「不定期」と回答した施設は、病原体核酸検査の内部精度

管理に対する意識の向上が求められる。

統計学的精度管理の実施状況について表 26 に示した。実施しているとした施設は、衛生検査所が 32 施設（74%）、臨時の衛生検査所が 8 施設（73%）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についての回答の一部を表 27 に示した。また、表 28 に実施していないと回答した理由を記載した。1/4 程度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おり、意識のさらなる向上が求められる。今年度新たに追加した設問であり、来年度以降の推移を見守りたい。

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（表 29）。

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 3 3 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。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。

参加施設で実施しているコンタミネーション防止策の内訳を表 34 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、54 施設中 30 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、13 施設はエリアを分ける対応に留まっていた。さらに、エリアも分けていない施設もある可能性があり、コンタミネーション防止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。

精度確保の目的で標準作業手順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、43 施設中 41 施設および 11 施設中 8 施設であった（表 35）。衛生検査所で標準作業手順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。一方、臨時の衛生検査所では標準作業手順書の作成は必須ではないが、8 施設が整備しており、精度確保に対する意識の高さが示されたものと考えられる。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 9 施設および 7 施設あり、臨時の衛生検査所の中にも 1 施設が ISO15189 の認定を取得していた（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。

検査受託件数において、衛生検査所は 51～500 件程度の施設が多かった（表 37）。臨時の衛生検査所は 50 件以下の施設が半数程度であり、衛生検査所よりも少なかった。しかし、1 施設のみ 7,001-10,000 件と回答していた。臨時の衛生検査所は、衛生検査所のように継続的に検体を受け付けることを想定してないため、要求事項が限られている。また、臨時の衛生検査所に限らず、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は急務であると考えられた。

オープン調査の成績

オープン調査に参加した 54 施設の結果を、表 38 に示した。MB6 は全施設が陽性と判定

し、MB7 は「判定不能」と回答した施設があった。「判定不能」という検査結果を報告した施設は、内部コントロールが検出できなかったためとコメント欄に記載していた。

参加施設の中には、Ct 値がレファレンス値の範囲に収まっていない施設も見受けられたが、検出対象遺伝子や各種試薬の性能の影響も受けるため、全ての施設がこの範囲の結果を得られる訳ではない。本調査において、Ct 値は参考値として報告を求めたため、評価対象とはしなかったが、陽性を陰性あるいは陰性を陽性と判定するなど大きな問題が認められた施設はなかった。しかし、MB6 の Ct 値をレファレンス値より 10 以上低い「24.1」と回答した施設があり、正確に判定できていない可能性がある。また、併せて推定コピー数の報告を求めたところ、約 4 分の 1 の施設から回答が得られた。先に述べた通り、増幅効率を示す Ct 値は対象遺伝子や試薬などの影響を受けるため、正確な値を求めることはできない。しかし、RT-PCR 法等の場合、日々の内部精度管理で得られた Ct 値をプロットし、それを精度管理指標として活用することは可能と考える。各施設で運用上、毎回検量線を引き確認することが難しい場合は、少なくとも Ct 値が許容範囲内にあることを確認していただきたい。

(4) ブラインド調査

ブラインド調査で配付した試料の症例情報

38 歳女性、会社員。2 日前より咽頭痛が出現。4 日前に飲食を共にした友人も同様の症状があり、昨日 COVID-19 と診断されたとの連絡があったため、当院を受診した。

ブラインド調査の成績

8 施設にブラインド調査用試料、MB6'を配付した。1 施設を除き、正しく陽性と判定した(表 39)。陰性と回答した施設は、オープン調査では正しい結果を報告していたが、ブラインド調査では昨年度も唾液の陽性試料を陰性と判定していた。この施設では検体種により前処理が異なっており、今回の調査の検体種は、ブラインド調査を唾液、オープン調査を鼻咽頭拭い懸濁液としていたため、検体種の違いにより、結果が異なったものと判明した。唾液の前処理では、粘度の高い検体に対応するため、検出限界を検討することなく一律にリン酸緩衝液を用いて検体を 4 倍希釈していたことから、過程を見直すよう求めた。見直しの報告を受けた後、医療機関を通じてブラインド方式で唾液の陽性試料を再送付したところ、正しく結果が報告された。

まとめ

昨年度からブラインド調査を開始し、今年度は 8 施設が参加した。病原体核酸検査のブラインド調査、特に SARS-CoV-2 の外部精度管理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。

今回、オープン調査とブラインド調査の結果に乖離を認めた施設において、その原因を明らかにし、是正につなげることができた。病原体核酸検査においても、ブラインド調査を実施すること

の意義は大きいため、今後も引き続き実施していきたい。

昨年度と同様に、内部精度管理のための陽性コントロールおよび陰性コントロールを検査実施毎に測定していない施設が認められた。陽性コントロールおよび陰性コントロールは正確な判定を実施するための内部精度管理に欠くことができない。全ての施設が両コントロールを置いて、正しく内部精度管理を実施することが求められる。

本年度から統計学的精度管理の実施状況もアンケート調査に追加した。1/4 程度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おり、意識のさらなる向上が求められる。

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. 検査実施者の資格 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
遺伝子分析科学認定士	2	0
認定臨床染色体遺伝子検査師	0	0
ジェネティックエキスパート	2	1
認定微生物検査技師	0	0
その他		
臨床検査技師	25	2
微生物 二級臨床検査士	1	0
薬剤師	1	2
衛生検査技師	1	0
資格なし又は不明	9	2
回答なし	6	4

表2. レファレンス施設が使用した機器及び試薬とその測定結果

測定原理	核酸抽出試薬	核酸抽出装置	増幅試薬	測定機器	ターゲット領域	測定日	Ct値	
							MB6/MB6'	MB7
RT-PCR法 (全自動)	-	-	BD MAX SARS-CoV-2/Flu (日本ベクトン・ディッキンソン)	BD マックス™ (日本ベクトン・ディッキンソン)	N2領域	7月13日	33.4±0.872	
						7月15日	34.9±0.321	(-)
						7月19日	34.2±0.751	
RT-PCR法 (感染研法)	QIAGEN QIAamp Viral RNA mini kit (キアゲン)	QIAcube (キアゲン)	Quanti Tecth Probe RT-PCR Kit (キアゲン)	QuantStudio 12K Flex (サーモフィッシャー サイエンティフィック)	N2セット領域	7月13日	36.8±0.907	
						7月15日	36.6±1.31	(-)
						7月19日	39.2±0.551	
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 (サーモフィッシャー サイエンティフィック)	N領域	7月13日	37.9±2.10	
						7月15日	36.8±0.551	(-)
						7月19日	39.8±0.208	
	-	-	Ampdirect 2019-nCoV 検出キット (島津製作所)	QuantStudio 12K Flex (サーモフィッシャー サイエンティフィック)	N1/N2領域	7月13日	36.2±0.850/35.4±4.25	
						7月15日	35.5±0.404/31.8±5.44	(-)/(-)
						7月19日	36.6±1.34/36.1±1.31	
-	-	SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡)	QuantStudio 12K Flex (サーモフィッシャー サイエンティフィック)	N1/N2領域	7月13日	37.5±0.351/37.6±0.436		
					7月15日	36.5±0.666/37.1±0.458	(-)/(-)	
					7月19日	37.2±0.351/38.3±0.451		

表3. データ責任者の資格 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
遺伝子分析科学認定士	2	1
認定臨床染色体遺伝子検査師	1	0
ジェネティックエキスパート	1	1
認定微生物検査技師	0	0
その他		
臨床検査技師	27	3
微生物 二級臨床検査士	1	0
薬剤師	0	2
医師	1	0
衛生検査技師	1	0
資格なし又は不明	10	1
回答なし	6	4

表4. 測定機器

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
QuantStudio5Dx (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
QuantStudio1/3/5 (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	6	(14.0%)	5	(45.5%)
7500/7500 Fast Real-Time PCR System (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
StepOne/StepOnePlus (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	1	(2.3%)	2	(18.2%)
コバスZ480 (ロシュ・ダイアグノスティックス)	3	(7.0%)	0	(0.0%)
コバス6800/8800 (ロシュ・ダイアグノスティックス)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
LightCycler96/TaqMan48 (ロシュ・ダイアグノスティックス)	3	(7.0%)	1	(9.1%)
LightCycler 480 System II (ロシュ・ダイアグノスティックス)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
CronoSTAR 96 Real-Time PCR System (タカラバイオ)	7	(16.3%)	2	(18.2%)
CronoSTAR Portable Real-Time PCR System (タカラバイオ)	1	(2.3%)	0	(0.0%)
Takara Dice/System II/III (タカラバイオ)	2	(4.7%)	1	(9.1%)
	9			

BioRad CFX96 (ハイオ・ラット)	5	(11.6%)	0	(0.0%)
BioRad CFX96 Touch/Connect (ハイオ・ラット)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
パンサーシステム (ホロジックジャパン)	2	(4.7%)	0	(0.0%)
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	(2.3%)	0	(0.0%)
その他	2	(4.7%)	0	(0.0%)

表5. 測定原理

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
	数	割合	数	割合
全体	43		11	
RT-PCR法	41	(95.3%)	11	(100.0%)
TMA法	2	(4.7%)	0	(0.0%)

表6. 核酸抽出装置等を使用した参加施設数とその内訳

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
	数	割合	数	割合
全体	13		3	
QIACUBE (キアケン)	0	(0.0%)	1	(33.3%)
Maxwell RSC (プロメガ)	2	(15.4%)	0	(0.0%)
MGISP (MGI)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
KingFisher Flex (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	2	(15.4%)	0	(0.0%)
Maelstrom8 (TANBead)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
用手法	4	(30.8%)	1	(33.3%)
その他	2	(15.4%)	0	(0.0%)
不明	1	(7.7%)	1	(11.1%)

表7. 核酸抽出試薬を使用した参加施設数とその内訳

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
	数	割合	数	割合
全体	13		3	
QIAamp Viral RNA Mini Kit (キアケン)	0	(0.0%)	1	(33.3%)
Maxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (プロメガ)	2	(15.4%)	0	(0.0%)
MGIEasy Nucleic Extraction Kit (MGI)	1	(2.5%)	0	(0.0%)
MagMAX Viral/Pathogen Nucleic Acid Isolation Kit (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
リボスピン vRD II (ファストジーン)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
ReliaPrep Viral TNA Miniprep System, Custom (プロメガ)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
Sera-Xtracta Virus/Pathogen Kit (サイティバ)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
Nucleic Acid Extraction Kit (TANBead)	1	(7.7%)	0	(0.0%)
High Pure Viral RNA Kit (ロシュ・タライグノスティックス)	0	(0.0%)	1	(33.3%)
Nucleo Spin Virus (タカラバイオ)	1	(2.5%)	0	(0.0%)
innuPREP Virus TS RNA Kit 2.0 (アナリティクイエナ)	1	(7.7%)	0	(0.0%)

不明	3	(23.1%)	1	(33.3%)
----	---	---------	---	---------

表8. PCRマスターミックスを使用した参加施設数とその内訳

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	5		2	
TaqMan Fast Virus 1-Step Master Mix (サーモフィッシャー・サイエンティフィック)	0	(0.0%)	1	(50.0%)
Light Cycler Multiplex RNA Virus Master (ロシュ・ダイアグノスティックス)	1	(20.0%)	0	(0.0%)
One Step PrimerScript III RT-qPCR Mix (タカラバイオ)	2	(40.0%)	1	(50.0%)
THUNDER BIRD Probe One-step qPCR kit (東洋紡)	1	(20.0%)	0	(0.0%)
不明	1	(20.0%)	0	(0.0%)

表9. SARS-CoV-2検出キットを使用した参加施設数とその内訳

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	40		9	
LightMix Modular SARS-CoV E-gene, N-gene (ロシュ・ダイアグノスティックス)	1	(2.5%)	0	(0.0%)
LightMix Modular E-gene (ロシュ・ダイアグノスティックス)	1	(2.5%)	0	(0.0%)
2019-nCoV検出蛍光リアルタイムRT-PCRキット (シスメックス) *	0	(0.0%)	1	(11.1%)
MEBRIGHT SARS-CoV-2キット (医学生物学研究所) *	1	(2.5%)	0	(0.0%)
TaqPath SARS-CoV-2 リアルタイムPCR検出キット HT (サーモフィッシャー・サイエンティフィック) *	2	(5.0%)	0	(0.0%)
Ampdirect 2019-nCoV検出キット (島津製作所) *	4	(10.0%)	1	(11.1%)
SARS-Cov-2 Detection Kit -Multi- (東洋紡)	10	(25.0%)	1	(11.1%)
SARS-Cov-2 Detection Kit Code No.NCV-301/302 (東洋紡)	2	(5.0%)	2	(22.2%)
SARS-Cov-2 Detection Kit Code No.NCV-102 (東洋紡)	0	(0.0%)	1	(11.1%)
SARS-Cov-2 Direct Detection RTqPCR kit (タカラバイオ)	3	(7.5%)	0	(0.0%)
Takara SARS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット (タカラバイオ) *	10	(25.0%)	3	(33.3%)
コバスSARS-CoV2 (ロシュ・ダイアグノスティックス) *	1	(2.5%)	0	(0.0%)
コバス SARS-CoV-2 & Flu A/B (ロシュ・ダイアグノスティックス) *	1	(2.5%)	0	(0.0%)
アプティマ SARS-CoV-2 (ホロシックジャパン) *	2	(5.0%)	0	(0.0%)
エリートMGB SARS-CoV-2 PCR検出キット (プレゼンション・システム・サイエンス) *	1	(2.5%)	0	(0.0%)
DetectAmp SARS-CoV-2 RT-PCRキット (シスメックス) *	1	(2.5%)	0	(0.0%)

* : 体外診断用医薬品 (IVD)

表10. SARS-CoV-2のターゲット領域(遺伝子)※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
N	30	9
S	2	1
E	6	0
RdRp	1	0
ORF1ab	7	1
その他	1	0
回答なし	7	1

その他(一部抜粋):

ORF8

表11. 参加施設における基本性能評価の実施状況

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
自施設評価	9	(20.9%)	8	(72.7%)
メーカー公称値	33	(76.7%)	3	(27.3%)
回答なし	1	(2.3%)	0	(0.0%)

表12. 参加施設における最小検出感度(copies/assay)

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
10以下	18	(41.9%)	5	(45.5%)
11-50	18	(41.9%)	4	(36.4%)
51-100	1	(2.3%)	0	(0.0%)
101-150	0	(0.0%)	0	(0.0%)
151-200	1	(2.3%)	0	(0.0%)
回答なし	5	(11.6%)	2	(18.2%)

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	43		11	
有	36	(83.7%)	11	(100.0%)
無	7	(16.3%)	0	(0.0%)

表14. 表13で「有」と回答した施設の確認方法※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	36	11
文献・資料	20	7
自施設での検討	24	7
その他	2	1
回答なし	1	0

その他(一部抜粋):

同一試料を用いて他施設との結果確認
納品時にメーカーにて実施

表15. 表14で「自施設での検討」と回答した施設の性能評価項目※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	24	7
特異性(選択性)	11	5
真度(正確さ)	10	4
精度	17	4
検出限界	16	6
定量限界	1	3
検出感度	16	4
直線性範囲	4	2
頑健性	4	0
トレーサビリティ	4	0
不確かさ	2	0

表16. 陽性コントロールの試料入手方法

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
キット内に同梱	11	(25.6%)	2	(18.2%)
市販品を別途調達	27	(62.8%)	8	(72.7%)
患者試料	2	(4.7%)	1	(9.1%)
メーカーより供与	2	(4.7%)	0	(0.0%)
その他	1	(2.3%)	0	(0.0%)

表17. 陽性コントロール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	43		11	
毎回	39	(90.7%)	9	(81.8%)
日	1	(2.3%)	0	(0.0%)
その他	2	(4.7%)	1	(9.1%)
回答なし	1	(2.3%)	1	(9.1%)

その他:

15日に1回

24h

不定期

表18. 陰性コントロールの入手方法

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
キット内に同梱	13	(30.2%)	1	(9.1%)
市販品を別途調達	26	(60.5%)	8	(72.7%)
患者試料	0	(0.0%)	1	(9.1%)
メーカーより供与	2	(15.4%)	0	(0.0%)
未実施	1	(2.3%)	0	(0.0%)
その他	1	(2.3%)	0	(0.0%)
回答なし	0	(0.0%)	1	(9.1%)

表19. 陰性コントロール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	43		11	
毎回	38	(88.4%)	7	(63.6%)
日	1	(2.3%)	0	(0.0%)
その他	2	(4.7%)	1	(9.1%)
回答なし	2	(4.7%)	3	(27.3%)

その他:

15日に1回

24h

不定期

表20. ブランク試料の入手方法

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
キット内に同梱	2	(4.7%)	2	(18.2%)
市販品を別途調達	5	(11.6%)	1	(9.1%)
未実施	25	(58.1%)	3	(27.3%)
回答なし	11	(25.6%)	5	(45.5%)

表21. ブランク試料の測定頻度(未実施以外を選択した施設)

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	18		8	
毎回	4	(22.2%)	3	(37.5%)
日	1	(5.6%)	0	(0.0%)
月1回	1	(5.6%)	0	(0.0%)
回答なし	12	(66.7%)	5	(62.5%)

表22. 内部(インターナル)コントロール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	43		11	
キット内に同梱	28	(65.1%)	5	(45.5%)
市販品を別途調達	4	(9.3%)	1	(9.1%)
患者試料	0	(0.0%)	0	(0.0%)
未実施	8	(18.6%)	3	(27.3%)
その他	1	(2.3%)	0	(0.0%)
回答なし	2	(4.7%)	2	(18.2%)

表23. 内部(インターナル)コントロールの検出対象遺伝子

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	35		8	
検体由来の内在性遺伝子	7	(20.0%)	3	(37.5%)
スパイクインの遺伝子	19	(54.3%)	1	(12.5%)
その他	2	(5.7%)	0	(0.0%)
回答なし	7	(20.0%)	4	(50.0%)

表24. 内部(インターナル)コントロールの使用目的 ※複数回答あり

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	35		8	
検体品質の評価	18		0	
測定品質の評価	21		2	
回答なし	10		6	

表25. 内部(インターナル)コントロールの測定頻度

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	35		8	
全テスト	28	(80.0%)	5	(62.5%)
毎回	5	(14.3%)	1	(12.5%)
回答なし	2	(5.7%)	2	(25.0%)

表26. 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)	43		11	
実施している	32	(74.4%)	8	(72.7%)
実施していない	7	(16.3%)	3	(27.3%)
回答なし	4	(9.3%)	0	(0.0%)

表27. 表26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)

統計学的な許容範囲の指標と基準(管理限界等)(一部抜粋)
<ul style="list-style-type: none"> ・インターナルコントロールが40サイクル以内で検出されること。 ・統計学的精度管理図を用いて±2SDを許容範囲としている。
陰性コントロールは増幅曲線の立ち上がりがないこと、陽性コントロールはx管理図にて±3SDを指標とする
PBS 200 μL+ PC 5 μLを検体とし、Target遺伝子がCt 34以内であること
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
希釈系列のうち100 copies (~102)までがCt<40であり、10 copies (101)についても少なくともCt<41で測定されている
陽性コントロールのCt値が±2程度に収まること
ソフトウェアでの自動判定
メーカー参考値参照
現在データ収集中

表28. 表26で「実施していない」と回答した理由

理由
以前は実施していたが多忙の為未実施
許容範囲メーカー非公開の為
今後行う予定
定性報告検査のため
陽性率やCt値の変動が大きく、統計学的な管理が困難なため、検査毎の陽性陰性管理にて実施

表29. 参加施設において扱っている検体種 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
鼻咽頭ぬぐい液	22	5
咽頭ぬぐい液	11	3
鼻腔ぬぐい液	2	0
喀痰	9	2
唾液	39	9
気管支肺胞洗浄液	2	0

表30. 参加施設で採用している検体容器の内訳 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
BD社製	5	2
ピューリタン社製	4	1
コパン社製	6	1
その他	35	8
回答なし	4	1

その他(一部抜粋):

スギヤマゲン社製

日本ジェネティクス社製

ホロジックジャパン社製

表31. 参加施設で採用している検体輸送試薬の内訳 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
ウイルス輸送培地	12	2
不活化液	27	3
PBS	2	0
滅菌生理食塩水	1	0
その他	1	0
回答なしまたは使用していない	6	7

その他:

RNA保存液

表32. 日常サンプルの測定回数

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体	43		11	
単回測定	42	(97.7%)	9	(81.8%)
二重測定	1	(2.3%)	2	(18.2%)

表33. 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ない場合は陰性。
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。
Threshold Line 0.1におけるCt値40未満を陽性とする
Cq値が35cycle以内(メーカー公称値を参考)
CT40未満を検出限界以下とする(判定時は増幅曲線の立ち上がりを確認し、CT値40付近でも立ち上がりがあれば検体再採取による検査を依頼)
Ct値40以下で明らかな指数関数的増幅が認められる場合を陽性とし、増幅が認められないまたはCt値40以上の増幅が認められた場合には陰性と判断する。
Ct値が39未満かつ指数関数的増幅が観察された場合
Ct値検出の有無
Cy5 ROXが40未満で、1回目陽性となった検体については、2回目測定を実施
E-gene:Cp値<36.0、N-gene:Cp値<37.0
ICがCt値40未満で検出され、かつN1/N2両方またはどちらかで、Ct値40未満で検出された場合を陽性とする。但し、Ct≤35の立ち上がりが認められない場合や陰性コントロールで立ち上がりが認められる場合は、再測定とする。
ORF8またはRdRpの何れかがCt 45未満で検出した場合は陽性。ICのCtが35未満かつORF8、RdRpの何れも未検出の場合は陰性。
Takaraの場合は・陽性コントロールCt>40もしくはUndetermined・プラトー付近になって増幅曲線が線形性を保っているか・サンプルの内部標準(Cy5:IC)が35を越えるものばかりではないか・すべての陰性判定の試料でCt>40に軽微な増幅の開始が認められないか・陽性コントロールのCt値が週の中で高すぎ低すぎがないか
陽性:45サイクル以内でCp値が認められること 陰性:45サイクル以内でCp値が認められないこと
陽性:FAMのCt値が38以下であること。陰性:FAMのCt値がUndeterminedであること。
増幅曲線の立ち上がりが明瞭でかつ判定基準値以内でみられる場合は陽性、増幅曲線の立ち上がりが判定基準値より遅い場合は判定保留、増幅曲線の立ち上がりが見られない場合は陰性とする。判定基準値は弊社全施設で求めたサイクル数
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:増幅曲線の立ち上がりを認める 陰性:増幅曲線の立ち上がりを認めず、内部コントロールの増幅曲線が確認できる
陽性は560 kRLU以上且つ発光強度曲線が有効な場合、インターナルコントロールの発光強度曲線が有効な場合。陰性は250 kRLU以上560 kRLU未満インターナルコントロールRLUが100 kRLU以上でインターナルコントロールの発光強度曲線が有効な場合。
結果が「Valid」でCt値が表示されている
使用試薬の取扱説明書に従う
ソフトウェアでの自動判定

表34. 参加施設で実施しているコンタミネーション防止策の内訳 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
検体処理とPCR(核酸増幅)を行う部屋が別	25	5
検体処理とPCR(核酸増幅)を行うエリアが別	10	3
消毒液等による清掃	8	1
その他	5	2
回答なし	3	1

その他(一部抜粋):

- ウラシルDNA グリコシラーゼ(UNG)処理
- フィルターチップの使用
- 検体処理を全てバイオセーフティキャビネットの中で行っている
- 増幅後のチューブ処理方法徹底

表35. 参加施設が実施する精度確保の内訳 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体	43	11
SOPまたは標準作業手順書	41	8
JCCLS検体管理マニュアル	9	1
遺伝子版ISO 15189ガイダンス文書	6	1
その他	2	1
回答なし	1	2

表36. 参加施設の第三者認定・認証取得状況 ※複数回答あり

	衛生検査所	臨時の衛生検査所
全体(施設数)	43	11
ISO 15189	9	1
CAP-LAP	7	0
ISO 9001	6	0
医療関連サービスマーク制度	4	0
日本臨床検査技師会精度保証施設	1	0
回答なしまたは取得無し	25	10

表37. 参加施設が1日に実施している検査の検体数

	衛生検査所		臨時の衛生検査所	
全体(施設数)	43		11	
10以下	4	(9.3%)	3	(27.3%)
11-50	4	(9.3%)	2	(18.2%)
51-100	6	(14.0%)	0	(0.0%)
101-200	5	(11.6%)	2	(18.2%)
201-500	6	(14.0%)	1	(9.1%)
501-1000	4	(9.3%)	1	(9.1%)
1001-2000	3	(7.0%)	1	(9.1%)
2001-3000	4	(9.3%)	0	(0.0%)
3001-4000	1	(2.3%)	0	(0.0%)
4001-5000	1	(2.3%)	0	(0.0%)
5001-7000	1	(2.3%)	0	(0.0%)
7001-10000	2	(4.7%)	1	(9.1%)
10001以上	2	(4.7%)	0	(0.0%)

表38. オープン調査の結果

	試料番号	
	MB6	MB7
正解	陽性	陰性
回答数	54	54
陰性数	0	53
陽性数	54	0
判定不能	0	1*

*:内部コントロールが検出できなかったため

表39. ブラインド調査の結果

	試料番号	
	MB6'	
正解	陽性	
回答数	8	
陰性数	1*	
陽性数	7	

*:再度検体を送付し、その結果は陽性