



別添

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

厚生労働省事業「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」（2020 年 10 月 6 日—2021 年 3 月 31 日）において実施された精度管理実態調査と外部精度管理調査の結果の分析により、新型コロナウイルス PCR 検査等による誤判定の要因は、測定プロセスに加えて、測定前・測定後プロセスに起因することが考えられ、また、測定プロセスにおける再現性不良の実態と背景が明らかとなった。本マニュアルでは、この調査及び令和 3 年度同調査（2021 年 7 月 21 日—2022 年 3 月 31 日）の結果を踏まえて、新型コロナウイルス PCR 検査等の品質・精度の確保において留意すべきことを以下に記述する。

1. 検査室での留意点

1) 遺伝子関連検査における品質・精度の確保

医療機関や衛生検査所における検体検査の精度の確保は、医療法や臨床検査技師等に関する法律（以下、「医療法等」という。）により定める基準に則りそれぞれ実施する必要がある。この中で、遺伝子関連検査を実施する場合には、以下の対応が義務又は努力義務として求められている。

- ・ 精度の確保に係る責任者の配置
- ・ 標準作業書・日誌の作成
- ・ 内部精度管理の実施
- ・ 外部精度管理調査の受検
- ・ 研修の実施

測定前、測定、測定後の 3 つのプロセスそれぞれにおいて検査室の内部精度管理の一貫として日常的に実施すべき取り組みがあり、これらに関する留意点は以下のとおり。

【偽陽性を防止するための留意点】

- ・ 測定前プロセス：検体の取り違いやクロス汚染を回避する。検体の取り違い防止には、検体取り扱い手順に関する標準作業書への記載と遵守が必要であり、可能であれば検体容器をはじめ、測定プロセスにおけるバーコード管理を行う。クロス汚染の防止には、検体搬送の容器の共有を回避し操作ごと

に別々の装置・器具または使い捨てのものを使用することや、核酸抽出をするエリアと増幅・検出用の試薬調製をするエリアを分けて運用すること、異なるエリアでの装置・器具の共用は回避することが考えられる。RNA 抽出から増幅・検出の全プロセスを自動化した密閉鎖チューブ方式やカートリッジ方式の測定システムを利用することも有用である。

- ・測定プロセス：陰性コントロールとの同時測定を実施する。N-glycosyltransferase の利用により、増幅産物（アンプリコン）のキャリアオーバー汚染の影響最小化も可能であり、測定試薬の選択において考慮する。
- ・測定後プロセス：増幅産物のキャリアオーバー汚染による偽陽性結果の防止には、増副産物の周囲への飛散を防止することが重要であり、特に核酸増幅反応後のチューブの蓋を開けることは可能な限り回避する。また、測定前プロセスと増幅・検出を別の部屋で行い、検体のフローを一方行にする。

このほか、核酸増幅曲線での目視判定にて検出の有無を確認することも必要になる。偽陽性が疑われる場合は、結果を報告する前に、必要に応じて検査室内で実施可能な別の方法（検出標的遺伝子の異なる検出系あるいは抗原定量検査）で再測定した上で、報告することが望ましい。転記ミスの防止には、二重チェックを含めた手順の標準作業書への記載と遵守が必要である。

【偽陰性を防止するための留意点】

- ・測定前プロセス：検体の取り違いの回避や患者病期に適した検体種の選択（初期は鼻咽頭ぬぐい液や唾液、肺炎症状時は喀痰など）、検体採取タイミングの適正化（唾液検体における食事・歯磨きの影響回避など）に留意する。
- ・測定プロセス：増幅検出プロセスあるいは核酸抽出プロセスを含めた全プロセスを反応ごとにモニターすること。内部コントロール（サンプルや反応液に増幅標的を加えたもの）との同時増幅や核酸増幅曲線の波形の確認などがある。

これら誤判定を未然に防止する検査室の取り組みに関する手順は、次項にて述べるプロセス管理のための「測定標準作業書」に記載すること。

2) 測定標準作業書等の作成と遵守

医療法等により検体検査の精度の確保に必要な標準作業書として、プロセス管理のための測定標準作業書、検査機器保守管理の標準作業書の作成等が求められている。このほか医療法等においてそれぞれ定められている作業日

誌・台帳の作成も必要となる。

「測定標準作業書」では、検査項目ごとに、「定義」、「臨床的意義」、「測定方法及び測定原理」、「検査手順（フロー等）」及び「基準範囲及び判定基準」を記載するとともに、以下の事項等、検査法の標準化に必要な事項を可能な限り多く盛り込むことが望ましい。

- ・ 性能特性（測定感度、測定内変動等）
- ・ 検査室の環境条件
- ・ 検査材料（検体量、採取条件等）
- ・ 試薬、機器、器具及び消耗品
- ・ 管理試料及び標準物質の取扱方法
- ・ 検査の変動要因
- ・ 測定上の注意事項
- ・ 異常値を示した検体の取扱方法
- ・ 精度管理の方法及び評価基準
- ・ 参考文献 等

これらを、検査機器等の取扱説明書等で代替する場合もあるが、検査機器等の取扱説明書には、測定前・測定後プロセスにおける運用法について言及されていないことが多いため、測定前・測定後プロセスでの過誤を防止するため、「測定標準作業書」の「検査手順（フロー等）」には、各検査室で構築した測定前・測定後プロセスを含めた作業手順の記載とそれに基づく運用が望ましい。

「測定標準作業書」には、検査導入時の性能特性の評価（妥当性確認・検証）に基づく検出限界を含めた性能特性の確認内容や、内部精度管理に関する作業手順も含めて記載すること。

性能特性のうち、特に、検出限界や精度（再現性）は、核酸抽出・増幅検出の総合した全プロセスにおける評価、判定基準の設定が必要である。

3) 検査導入時の性能特性の評価（妥当性確認・検証）と再評価

使用する試薬が薬事未承認の場合は、検査導入時に、各検査室の責任で、検査目的に合致した性能特性を評価し、必要な性能特性を確保しなくてはならない（妥当性確認）。使用する試薬が薬事承認済の場合においても、特に検査室での導入時に性能特性の評価が必要である（検証）。

検出限界や精度（再現性）を確認しない場合、特に低濃度の検体の測定における結果の再現性に影響し、偽陰性や偽陽性結果の誤判定の背景要因となり

うる。性能特性に関する用語と定義は、巻末の「性能特性の評価に関する用語説明」を参照されたい。

リアルタイムRT-PCRにおける陽性判定の基準としてThreshold Cycle (Ct) 値を用いる場合、精度管理実態調査の結果では、多くの施設でメーカー指定値の40を用いていたが、Ct値は測定試薬の性能のみならず、試薬と測定装置との組み合わせ等により変動することから、検査導入時に検出限界を含めた性能特性の評価を行い、陽性判定の基準となるCt値を定めることが重要である。

検出限界、分析特異性、精度の評価においては、アッセイに用いる臨床検体の種類（上気道スワブ、唾液、喀痰など）と同様な性状（粘度など物理的性状、蛋白質など化学的性状）を有する検体との組み合わせにより測定する必要がある。検出限界の評価は、核酸抽出と増幅・検出を組み合わせた性能特性として評価する。

新型コロナウイルスはDNAウイルスと比較して変異しやすく、プライマー・プローブ結合部位の変異による検出限界の低下の可能性が指摘されている。検査導入時の性能特性の評価で確認した検出限界は、ウイルス進化に応じて再確認する必要がある。再確認のタイミングは、検出限界の低下（あるいは偽陰性）の可能性が示唆される場合で、例えば、外部精度管理調査への参加における低濃度試料の測定での偽陰性の誤判定、測定試薬の製造業者から変異株について分析感度低下の可能性について情報提供があった場合などがある。外部精度管理調査へは定期的な参加が推奨される。

4) 内部精度管理

PCR検査を含めた遺伝子関連検査を実施する場合、医療法等により、内部精度管理の実施は義務として求められている。実施内容として、コントロール測定の頻度はラン毎に行う。内部精度管理は、測定システムの安定性による精度（再現性）を確保する上で必要であり、その際に統計学的に妥当な許容範囲（管理限界）の指標と基準について、あらかじめ定めておく。許容範囲（管理限界）とは、精度管理データのばらつきが許容できる範囲（限界）をいう。精度管理データには、管理試料として陽性コントロールを測定し、そのCt値やThreshold time (Tt) 値を用いることが考えられる。

具体的には、陽性コントロールの測定値の日内・日間の変動を管理するため、代表的な $\bar{x}-R$ 管理図では、検査導入時に評価した測定値の精度（再現性）に基づくばらつきの管理限界（例えば、 $\pm 3SD$ ）を設定し、検査導入後に日常検査の

実施中に測定した管理試料の結果について、その平均(\bar{x})と個々の測定値の最大と最小の差(R)を経時的(例えば、毎日)にプロットしてグラフ化し、モニターする。 \bar{x} とRが管理限界内にある場合は、測定結果が安定的に得られていると見なす。

管理限界を外れた場合、あるいは管理限界内でも偏位の傾向(トレンド、シフトなど)が見られる場合は、測定結果の安定性が確保されていない可能性が考えられ、原因の究明とそれに基づく是正を行う。原因として、測定装置(保守管理)や測定試薬(試薬劣化など)の不具合がないか、試薬管理(遮光、保管温度など)、装置操作手順、測定者の手技・技能(ピペット操作など)、検体管理が不適切でないかの確認を行う。定期的に、また測定試薬のロット変更時など必要時に、患者検体またはフルプロセスコントロールを用いて、各プロセス(検体の前処理、RNA抽出、逆転写、核酸増幅と検出)で患者検体と同じ挙動(反応過程)をモニターすることが望ましい。

外部精度管理調査において定性測定の再現性不良(例えば2回測定の場合、陽性と陰性判定1回ずつ)が認められる場合は、改めて再現性を含めた性能特性の評価を行い、測定者の手技、測定試薬、測定装置などの原因(上述)に基づく是正が必要である。検査導入時に性能特性の評価において精度(再現性)の確認を行うとともに、その後も精度が維持されているか、統計学的な内部精度管理により確認することが望ましい。

5) 要員の研修

医療法等により、遺伝子関連検査を実施する場合、研修の実施は義務として求められている。特に、測定システムの性能評価(妥当性確認、検証)など検査導入と管理における基本的知識と技能の習得は重要である。一部の全自動システムを導入している施設にて、管理試料を用いた内部精度管理の実施率が低く改善が求められる。

基本的知識には下記が含まれる。

- a) 品質マネジメントシステム
- b) 文書管理
- c) 測定システムの性能特性の評価(妥当性確認と検証、検出限界、精度(再現性)、診断感度・診断特異性、偽陽性・偽陰性など)
- d) 内部精度管理・外部精度管理
- e) 業務プロセスおよび手順
- f) 検査室情報システム
- g) バイオリスク・マネジメント
- h) 有害インシデントの影響の回避を含む安全衛生

- i) 検体の利用に関する倫理、患者情報の守秘義務
- j) 関連法規

基本的技能には下記が含まれる。

- a) 個人防護具の脱着
- b) 装置の操作
- c) 用手操作：ピペット操作など。
- d) 汚染防止

基本的知識と技能に関しては、日本臨床検査標準協議会 普及啓発資料「マイクロピペットの正確な操作と注意点」
(<https://www.jccls.org/news/videomicropipette/>)
(2021年3月)が参考となる。

6) プール法

プール法を運用する際は、上記1)-5)の遵守（特に妥当性確認・検証）を確実に行った上で、導入運用することが望ましい。

2. 精度管理実態調査と外部精度管理調査の結果の分析に基づく対応

1. に示した留意点に基づき、使用する全ての測定システムについて、各検査室の責任において、使用目的・用途によって必要な検出限界や精度（再現性）など性能特性を評価・確保する。

表1に、外部精度管理調査の結果に基づく誤判定（偽陽性、偽陰性）の要因と対策のまとめを示すので運営に当たり参考とされたい。

表1. 誤判定の要因と対策

誤判定の要因	考えられる要因	対策
陽性の判定基準の設定	検出限界の再現性不良、 検出限界・分析感度、 分析特異性、判定基準のメーカー指定値の使用 (Ct40 など)	妥当性確認・検証の実施による検出限界の確保に基づく、判定基準の設定
検出限界・分析感度不足	ウイルス進化 核酸抽出効率の低下	ウイルス進化に応じて再評価 患者検体のマトリックス存在下での性能の再評価
検体取り違い、増幅曲線の目視確認不足、結果の転記誤り	検体管理システム課題 測定標準作業書の記載内容不足 測定標準作業書として、 取扱説明書利用	測定前・測定後プロセスの手順の記載（検体取扱い、クロス汚染の回避、増幅曲線の目視確認、結果の転記など）
精度（再現性）不足	内部精度管理において、 コントロール試料頻度不足 管理限界（許容範囲）の 指標項目と基準の設定なし	手技（ピペット操作）、測定試薬、 測定装置など原因と是正 コントロール試料の適切な使用（種類、頻度） 性能特性に基づく管理限界の基準 設定に基づく内部精度管理
偽陽性	増幅産物のキャリーオーバー汚染	陰性コントロールとの同時測定、カートリッジ方式、 <i>N</i> -glycosyltransferaseによる増幅産物のキャリーオーバー汚染の影響回避、疑われる場合は別の方法（検出標的遺伝子の異なる検出系あるいは抗原定量検査）での再検査、

		測定前プロセスと増幅・検出を別の部屋で実施、検体フローの一方通行化
偽陰性	不適切な時期、不適切な検体採取（技術、量、品質）、不適切な時期・検体種、増幅阻害因子の存在（輸送培地に含まれる塩酸グアニジンなど）、ウイルスの熱不活化のプロトコール	患者病期に適した検体種の選択指導（初期は鼻咽頭粘液、唾液、肺炎症状時は喀痰など）、検体採取タイミング（唾液検体での食事・歯磨きや喫煙の影響回避など）、核酸抽出法における阻害因子除去、内部コントロールとの同時増幅や核酸増幅曲線の波形の確認

【資料：性能特性の評価に関する用語説明】

1) 測定性能評価（性能特性の評価）

検査室は、性能特性の評価のため妥当性確認および検証のデザインを確立し、測定手順が意図された用途に適しているか性能特性について妥当性確認、検証をしなければならない。測定手順の性能特性には、一般的に精確さ、真度、併行精度および中間精度を含む測定の精度（再現性）、測定不確かさ、干渉物質を含む分析特異性、頑健性、検出限界および定量限界、測定範囲、診断感度、診断特異性、臨床的パフォーマンスなどがある。以下に、核酸増幅法による SARS-CoV-2 検出において重要と思われる性能特性について WHO 提案事項、FDA ガイダンスを参考に留意すべき用語説明を記述した。

2) 妥当性確認

妥当性確認とは、客観的証拠を提示することによって、特定の意図された用途または適用に関する要求事項が満たされていることを確認することをいう。妥当性確認の目的は、検査室が独自に開発した試薬・装置による検査（LDT）が対応する臨床用途を満たすことができるかどうかを評価することである。薬事承認が未取得の試薬（研究用試薬）を使用する施設では、検査導入時に、検査室の責任により検査目的に合致した性能特性を評価し、必要な性能特性を確保しなくてはならない（妥当性確認）。また、薬事承認済の試薬を使用する施設でも、測定条件の変更や適応外の検体種を用いるなど指定の手順を変更する場合、妥当性確認を改めて行わなければならない。

3) 検証

検証とは、客観的証拠を提示することによって、要求事項が満たされていることを確認することをいう。検査室は、改変なしに使用されている妥当性確認された薬事承認済の試薬が日常検査で使用開始される前に、独自に測定手順の性能仕様要求に合致している客観的証拠（性能特性）を検証する必要がある。検査室の環境と施設の運用に従って、検査室に適した性能特性を検証しなければならない。検証された薬事承認済の試薬が別の検査室に運用される場合、関連する性能特性が環境の変化によって影響を受けていないことを確認しなければならない。

薬事承認済又は製造販売届出済の試薬と医療機器は、試薬添付文書や装置仕様書に記載されている評価指標に従って検証し、それぞれの環境での適合性を証明しなければならない。

4) 精確さ (Accuracy)

精確さとは、測定結果の真度（正確さ）と精度（再現性）を含めた測定量の真の値との一致の度合いをいう。核酸増幅法における定義は、測定に由来する核酸配列と参照配列との一致の程度である。

精確さの評価は、定量範囲内で評価し、理想的には標準物質、認証標準物質を使用して行う必要がある。また、複数の検体種（例：鼻咽頭スワブ、鼻スワブ、唾液、気管支肺胞洗浄液、喀痰、全血、便など）を用いて検出が可能の場合、すべての検体種で精確さを評価する必要がある。臨床検体が得られない場合、その代用には、健常者検体または人工試料を希釈用マトリックスとして選択し、既知の濃度の不活化ウイルスをスパイクして作製する。評価用のサンプルサイズは20以上で、一致率95%以上で評価する。外部精度管理調査への参加も精確さを評価する方法である。

5) 精度 (precision)

精度（再現性）とは、定められた条件のもとで繰り返された独立な測定結果の間の一定の程度をいう。精度評価には、同一施設内において、人、装置、試薬、日時が同一とみなされる条件による検査結果の精度である併行精度。同一施設内において、人、装置、試薬、日時の一部またはすべてが異なる条件による検査結果の精度である室内再現精度（中間精度）。異なる施設で、人、装置、試薬、日時のすべてが異なる条件による検査結果の精度である室間再現精度がある。精度の評価は、核酸抽出から始まる。精度評価に使用されるサンプル（試料）には、管理試料または患者検体がある。サンプル（試料）の選択には、最低1つの陰性検体、1つの低陽性検体（例：約 $2\sim 3\times LoD$ ）、および1つの中程度の陽性検体（例：約 $5\sim 7\times LoD$ ）の少なくとも3つのレベルが含まれる。製品の特性に応じて、適切な精度要件を設定しなければならない。精度は、標準偏差（SD）など統計量で表現しなければならない。

6) 検出限界 (LoD: Limit of detection)

検出限界（LoD）とは、分析対象物質が定量的でないが存在するということが高い信頼度でいえる最小量（値）をいう。検査室は、試料の準備から検出まで、日常のワークフローを利用して検出法のLoD（コピー/ mL）を決定しなければならない。SARS-CoV-2が組み込まれた参照物質がない場合は、適切なマトリックスで希釈した細胞培養ウイルスが使用できる。必要なバイオセーフティーレベルの状況によって細胞培養ウイルスを使用できない場合は、*in vitro*で転写またはウイルス粒子に組み込まれたSARS-CoV-2 RNAを使用して検出法のLoDを確認することができる。暫定的なLoDは、準備した試料の2~3倍の希釈系列を各

濃度 3~5 回の反復測定で確認する。暫定的な LoD が確認できたら、より正確な LoD 推定値は、暫定的な LoD 値の前後の少なくとも 20 種希釈系列を検討して、最小 95% (19 種/20 種) の系列で陽性が検出されることを確認しなければならない。LoD は、検体種ごとに決定する必要がある。なお、LoD は報告結果とともに臨床側へ報告しなければならない。

7) 分析感度 (Analytical sensitivity)

分析感度とは、測定装置における反応変化 (分析物の変化) を対応する分析物で割ったものとして定義される。しばしば、「分析感度」または「感度」は、「LoD」、「下限 LoD」、または「検出限界」と互換性をもって使用される。新型コロナウイルス核酸検査に関する WHO 提案事項、FDA ガイダンス文書において分析感度と LoD が併記されている。

8) 分析特異性 (Analytical specificity)

分析特異性では、干渉物質と交差反応を確認しなければならない。SARS-CoV-2 核酸検出の場合、干渉物質には、サンプリング時に生じた干渉や、検体中の成分自体 (さまざまな潜在的な薬物の干渉を含む) などが含まれる。交差反応は、主に一般的な呼吸器感染症の病原体がこの検査に交差干渉を及ぼすかどうかを考慮しなければならない。1 回のテストで発生するランダムエラーを回避するために、3 回測定することが望ましい。

9) 頑健性 (Robustness)

検査プロセスにおいては、検体や試薬の性状が不適切な場合、あるいは指定された使用条件が満たされていない場合などが、測定パフォーマンスの頑健性に影響を与える可能性がある。

検査室は、影響を与える可能性のある要因を考慮し、それぞれの影響レベルを評価する必要がある。核酸増幅法における検査結果に影響を与える要因の影響レベルを十分に評価する。

10) 臨床的パフォーマンス (Clinical performance)

臨床的パフォーマンスとは、意図された用途 (臨床検査の目的、対象集団および個別患者) に従って、特定の臨床状態と相関する結果が得られる測定試薬、装置の能力をいう。遺伝子関連検査においては、測定の対象となっている疾患が診断できることにより今後の見通しについての情報が得られ、適切な予防法や治療法に結びつけることができるなど臨床上のメリットがある。使用目的に応じて、臨床的パフォーマンスには、既知の臨床状態または個人における生理学的/

病理学的プロセス・状態に基づく、期待値、診断感度および診断特異性ならび疾患の有病率に基づく陰性予測値および陽性予測値を含めることができる。

臨床的パフォーマンスの評価には、検出可能なすべての検体種を含め、検査の使用目的と完全に合致させて結果を説明するために対応する統計解析法を確立しなければならない。

11) 統計学的な内部精度管理における管理限界

管理限界とは、統計学的な内部精度管理データのばらつきとして管理できる限界をいう。統計学的精度管理データには、管理試料として陽性コントロールを測定し、その Ct 値や Threshold time (Tt) 値を用いることが考えられる。具体的には、陽性コントロールの測定値の日内・日間の変動を管理するため、代表的な \bar{x} -R 管理図では検査導入時に評価した測定値の精度（再現性）に基づくばらつきの管理限界を事前に統計学的に設定（例えば、 $\pm 3SD$ ）し、検査導入後に日常検査の実施中に測定した管理試料の結果について、その平均 (\bar{x}) と個々の測定値の最大と最小の差 (R) を経時的（例えば、毎日）にプロットしてグラフ化し、モニターする。 \bar{x} と R が管理限界内にある場合は、測定結果が安定的に得られていると見なす。

管理限界を外れた場合、あるいは管理限界内でも偏位の傾向（トレンド、シフトなど）が見られる場合は、測定結果の安定性が確保されていない可能性が考えられ、原因の究明とそれに基づく是正を行う。

参考文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課. 国立感染症研究所
臨床検体を用いた評価結果が取得された 2019-nCoV 遺伝子検査方法について.
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV-17-current.pdf>
2020 年 10 月 23 日.
- 2) 国立感染症研究所ほか. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 第 5.1 版. 2022 年 3 月 17 日.
- 3) 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
～2021/03/19 更新版～
https://www.niid.go.jp/niid/images/pathol/pdf/2019-nCoV_210319.pdf
- 4) 日本臨床検査標準協議会. 「新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイドダンス」 学術広告社. 東京. 2021 年 6 月
- 5) ISO/TS 5798. In vitro diagnostic test systems – Requirements and recommendations for detection of severe acute respiratory syndrome

coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods.
<https://www.iso.org/standard/81712.html>

6) ISO 15189 Medical laboratories – Requirements for quality and competence, 日本規格協会, 2012.

7) 日本臨床検査標準協議会. 遺伝子関連検査のための ISO 15189 ガイダンス文書. 学術広告社. 東京. 2019 年 11 月.

8) 厚生労働省「医療法等の一部を改正する法律の一部の施行に伴う厚生労働省関係省令の整備に関する省令の施行について」(平成 30 年 8 月 10 日)

<https://www.ajhc.or.jp/siryō/20180810-2.pdf>

9) 宮地勇人. 検体検査の品質・精度確保に係る医療法等の改正の経緯と意義. Medical Technology 臨時増刊 2018 年 12 月; 46(13): 1248-1252.

10) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会: 定量測定法に関するバリデーション指針, 臨床化学, 40:149, 2011.

11) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会: 定量分析法における検出限界および定量限界の評価法, 臨床化学, 35:280, 2006.

12) Instructions for Submission Requirements IVDs Detecting SARS-CoV-2 Nucleic Acid. WHO. PQDx 347 version 2. 23 March 2020

13) Immediately in Effect Guidance for Clinical Laboratories, Commercial Manufacturers, and Food and Drug Administration Staff. FDA. July 28, 2020.

14) 臨床検査法提要 改訂第 35 版. 監修 金井 正光 金原出版. 東京. 2020.

令和3年度厚生労働省委託事業「新型コロナウイルス感染症の
PCR検査等にかかる精度管理調査業務」報告書

2022年4月

東海大学医学部 基盤診療学系臨床検査学 宮地 勇人
(日本臨床検査標準協議会 遺伝子関連検査標準化専門委員会 委員長)

目 次

はじめに	p.3
I. 精度管理実態調査と外部精度管理調査	p.4
1. 調査の方法	p.4
2. 精度管理実態調査の結果	p.11
3. 精度管理実態調査の結果のまとめと考察	p.31
II. 外部精度管理調査	p.36
1. 外部精度管理調査の結果	p.36
2. 判定不一致の施設背景	p.41
3. 定性再現性不良の施設背景	p.47
4. 定量的指標：SDI 分布（全体集計結果）	p.47
5. 外部精度管理調査の結果のまとめと考察	p.48
III. プール法の外部精度管理調査	p.52
1. プール法の外部精度管理調査の結果	p.52
2. プール法の判定不一致の施設背景	p.52
3. プール法の外部精度管理調査の結果のまとめと考察	p.54
IV. 精度管理における留意点	p.56
1. 本外部精度管理調査の課題と対応	p.56
2. 検査室での留意点	p.58
3. 測定装置・試薬の各製造販売業者の留意点	p.64
おわりに	p.68
資料: 測定性能評価に関する用語説明	p.69
参考文献	p.72

はじめに

中国武漢市を発生源とする SARS-CoV-2（新型コロナウイルス）感染（COVID-19）は、WHO にて 2020 年 3 月 11 日にパンデミック宣言がなされた。国は、polymerase chain reaction: PCR 法を含めた核酸増幅法による SARS-CoV-2 RNA 検査（以下、PCR 検査）の実施件数を伸ばすため、様々な方策を導入してきた。疑い患者において SARS-CoV-2 のウイルス RNA を検出する PCR 検査を適切に実施することは、個別患者における早期の診断・治療、安全な医療・介護福祉の施設の確保とともに、リアルタイムに地域の流行状況を把握し、感染拡大防止を行う上で重要である。

新型コロナウイルス感染症の PCR 法等の核酸検査は、地方衛生研究所・保健所、検疫所、民間検査機関、大学、医療機関等と様々な施設において行われている。PCR の検査結果の信頼性の確保として、施設間差に関する状況のモニタリングと是正が重要となる。そこで、多様な PCR 検査における測定性能や施設の能力の違いの実態の把握と改善を目的として、厚生労働省では、令和 2 年度「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」の委託事業を行った。調査結果は、「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」報告書、「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」として 2021 年 4 月に公開された。本調査の対象施設は行政検査を実施する施設を中心とした。その間、自費の検査を含めて検査実施施設数が大幅に増加した。これらの状況変化における、施設間差に関する状況のモニタリングと是正を目的として、令和 3 年度「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」の委託事業を行うこととなった。事業は、①精度管理実態調査、②外部精度管理調査、これらに基づく③精度管理マニュアル作成、④教育用動画作成から構成される。新たに、プール検体を用いた PCR 検査についても調査した。

本報告書では、SARS-CoV-2 のウイルス RNA を検出する PCR 検査等における精度管理の実態調査と外部精度管理調査の結果を踏まえて、精度確保における課題を整理し、留意すべきポイントについて記述した。

なお、この外部精度管理調査は単回の調査であり、継続的にモニタリングしたものではないため、この外部精度管理調査の結果のみで必ずしも参加施設の能力を評価できるものではないこと、また、この外部精度管理調査は、試薬・機器の組み合わせをはじめとした検査システム全体（検査室管理を含む）としての評価であって、この外部精度管理調査の結果のみで必ずしも各試薬・機器自体を評価できるものではないことに留意が必要である。

I. 精度管理実態調査と外部精度管理調査

1. 調査の方法

(1) 実施組織と業務遂行について

本事業は、新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等について精度管理の実態調査を実施するとともに、外部精度管理調査において、統一的な試料を各施設に配布し、その検査結果を集計するなどの調査を実施し、現状把握とともに PCR 検査等の精度の確保を図ることを目的とした。本委託事業は、厚生労働省から東海大学医学部が受託し、日本臨床検査標準協議会 遺伝子関連検査標準化専門委員会と連携して行われた。専門家としての最終評価、精度管理実態調査報告書・精度管理マニュアル作成の具体的な作業は、同委員会内の作業部会 (WG) にて行った。

本委託事業は、一部業務について再委託先と連携しながら進められた。再委託先として、シスメックス株式会社 (国際規格 ISO/IEC 17043 「適合性評価-技能試験に対する一般要求事項」に基づく、技能試験提供者の認定取得) は、試験試料の準備・参加施設への配布およびデータの解析・統計計算、株式会社 KBBM・富士通株式会社は、登録システムの作成と運用および結果の収集を担当した。

「精度管理における留意点」は、精度管理実態調査と外部精度管理調査の結果を踏まえて、日本臨床検査標準協議会 遺伝子関連検査標準化専門委員会にて記載した。その際、同委員会が作成・発行した遺伝子関連検査のため ISO 15189 ガイダンス文書 (2019 年 11 月発行) を参照した。

(2) 外部精度管理調査 (技能試験スキーム) と精度管理実態調査の内容

1) 調整者と技能試験スキーム要員

宮地勇人 東海大学医学部 基盤診療学系臨床検査学
関 顯 東海大学医学部 基盤診療学系臨床検査学
日本臨床検査標準協議会 事務局

2) 参加条件及び参加施設数と種類

地域は日本国内で、参加条件は、新型コロナウイルス核酸検査の実施施設で、行政検査を実施する地方衛生研究所、保健所、検疫所、医療機関、民間検査機関、大学等、さらに行政検査を実施していない施設の参加登録を受け付けた。予測参加施設数は、1200 施設とした。

3) 技能試験試料の予測範囲及び特性範囲

新型コロナウイルス核酸検査の測定項目において、測定試料として、増幅検出プロセスと核酸抽出・増幅検出の全プロセスを評価する2種類（それぞれ、異なる濃度の3試料）を用いた（表1）。また、増幅検出プロセスを評価する3試料については、測定の再現性を見るため2回測定とした（表2-1）。

プール法の試料は、5検体プール(0, 20, 100 Copies/ μ L 1検体を含む)3グループ (X-1,2,3,4,5, Y-1,2,3,4,5, Z-1,2,3,4,5) の各検体 200 μ L 配布した。そこから 30 μ L ずつ分取の上で、各試料の 150 μ L プール検体調整し、プール化検体を測定1回 (n=1)し、陽性の場合、元の試料1~5の個別検体測定(n=1)とした（表2-2）。

表1. 技能試験試料

通常法（表1-1）

測定項目	単位	試料1 予測値範囲 (簡易/カラム抽出用) ラベル名：試料 A	試料2 予測値 範囲 (簡易/カラム抽出用) ラベル名：試料 B	試料3 予測値 範囲 (簡易/カラム抽出用) ラベル名：試料 C
新型コロナウイルス核酸検査 (増幅検出)	定性：なし 定量：Copies/ アッセイ	陽性 100 (20 Copies/ μ L)	陽性 50 (10 Copies/ μ L)	陰性 0

測定項目	単位	試料4 予測値範囲 (ダイレクトPCR用) ラベル名：試料 D	試料5 予測値 範囲 (全方法用) ラベル名：試料 E	試料6 予測値範囲 (全方法用) ラベル名：試料 F
新型コロナウイルス核酸検査 (核酸抽出・増幅検出)	定性：なし 定量：Copies/ アッセイ	陽性 50 (10 Copies/ μ L)	陽性 100 (20 Copies/ μ L)	陰性 0

プール法(表 1-2)

測定項目	単位	試料 1 測値範囲 (全方法用) ラベル名： 試料 X-1,2,3,4,5	試料 2 予測値範囲 (全方法用) ラベル名： 試料 Y-1,2,3,4,5	試料 3 予測値範囲 (全方法用) ラベル名： 試料 Z-1,2,3,4,5
新型コロナウイルス核酸検査 (核酸抽出・増幅検出)	定性：なし 定量：Copies/ アッセイ	陽性 100 (20 Copies/ μ L)	陽性 500 (100 Copies/ μ L)	陰性 0

表 2. 使用している核酸増幅検査の方法と試料の取扱い

通常法用試料(表 2-1)

試料	評価プロセス	用途 (測定方法)	配布試料量 (μ L)	1回使用量 (μ L)	測定回数
A	逆転写・増幅・検出プロセス (核酸抽出後)	1.カラム、2.簡易抽出用	12	5	2
B		1.カラム、2.簡易抽出用	12	5	2
C		1.カラム、2.簡易抽出用	12	5	2
D	核酸抽出、逆転写・増幅・検出プロセス	1.2.3.全方法用	150	140/5	1,2
E		1.2.3.全方法用	150	140/5	1,2
F		1.2.3.全方法用	150	140/5	1,2

プール法用試料(表 2-2)

試料	評価プロセス	用途 (測定方法)	配布試料量 (μ L)	1回使用量 (μ L) ※	測定回数
X- 1,2,3,4,5	核酸抽出 逆転写・増幅・検出プロセス	1.2.3.全方法用	200 μ L (30 μ Lずつ分取し各試料の150 μ L プール検体調製 →陽性のプール検体について元の試料1~5測定)	140/5*	1
Y- 1,2,3,4,5		1.2.3.全方法用		140/5*	1
Z- 1,2,3,4,5		1.2.3.全方法用		140/5*	1

※日常検査の使用量に対して不足する場合は、指定使用量を RNase Free water 等でボリュームアップし使用

*簡易抽出 (ダイレクト PCR 等) の場合は 5 μ L を、カラム精製等の場合は 140 μ L を使用

- 4) 技能試験試料の生産、品質管理、保管および配付に関する必要事項
- ・原料製造元の添付文書に記載の性能が担保されていること
 - ・原料のデジタル PCR 法により付与された値からの理論希釈値を使用すること
- 5) 参加施設同士の談合、結果の改ざんを防ぐための予防策、または談合、改ざんが疑われる場合の対応は以下のとおり。
- ・参加施設は非公開とする。
 - ・集計後のデータ修正は受け付けない。
 - ・施設間での事前結果照合を避けるために、試料①-③、④-⑥の順番を変えたセットを3つの配布グループに分けて配布（下表）
 - ・集計は各施設の A~F データを①~⑥に変換し集計した。

表 3. 試料配布グループ分け

表示	グループ A	グループ B	グループ C
試料 A	試料①	試料②	試料③
試料 B	試料②	試料③	試料①
試料 C	試料③	試料①	試料②
試料 D	試料④	試料⑤	試料⑥
試料 E	試料⑤	試料⑥	試料④
試料 F	試料⑥	試料④	試料⑤

6) 参加施設が選択可能な測定法・手順に関する情報

測定方法に関する情報は、測定指示書として作成した「新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)RNA 外部精度管理調査試料の取扱いについて」に記載した。

多様な測定システムについて、以下の3つのグループに大別して、試料の取扱いを示した（表4）。

1. カラム等による抽出精製を実施している場合（RT-PCR、LAMP 等）、
2. 簡易抽出法（ダイレクト PCR 等）にて RT-PCR を実施している場合、
3. 全自動核酸増幅検査装置を利用し実施している場合

表 4. 日常検査で主に使用の検査方法と測定の実施（まとめ）

日常検査	核酸抽出後のRNA試料と測定実施	核酸抽出前試料と測定実施	測定不要の試料	備考
1. カラム等による抽出精製を実施している場合（RT-PCR、LAMP等）	試料A、B、C マイクロチューブをスピンドウン後、1回測定に5 μ L（日常検査に合わせて増量）を使用し、核酸増幅検査を2回測定施行	試料D、E、F マイクロチューブをスピンドウン後、150 μ L（日常検査に合わせて減量）を抽出精製し、核酸増幅検査を1回測定施行	該当なし	※Loopamp [®] 新型コロナウイルス2019 (SARS-CoV-2)検出試薬キット使用の場合、カラム（自動カラム抽出を含む）又は自動抽出装置での抽出を行う。 （出来ない施設の場合、試料A、B、Cのみ使用）
2. 簡易抽出法（ダイレクトPCR等）にてRT-PCRを実施している場合	試料A、B、C マイクロチューブをスピンドウン後、1回測定に5 μ L（日常検査に合わせて増量）を使用し、核酸増幅検査を2回測定施行	試料D、E、F マイクロチューブをスピンドウン後、5 μ L（日常検査に合わせて減量または増量）を使用し、核酸増幅検査を2回測定施行	該当なし	
3. 全自動核酸増幅検査装置を利用し実施している場合（全自動核酸抽出を含む）	未評価	試料D、E、F マイクロチューブをスピンドウン後、50 μ Lをチューブに移し、スワブ1本で吸着後に漬けたウイルス輸送培地・検体専用チューブから、また残り100 μ L(日常検査に合わせて増量)を抽出精製し、核酸増幅検査をそれぞれ1回測定施行（計2回）	試料A、B、C	※スワブ直接利用の場合（SmartGene、ID NOW等）、試料50 μ Lをチューブに移し、スワブ1本で吸着後に漬けた検体抽出液・測定試薬から、また残り100 μ Lを検体抽出液・測定試薬に加えて、核酸増幅検査をそれぞれ1回測定施行（計2回）

7) 均質性および安定性試験の手順

(1) 安定性について

- ①原料の Certificate または Specification sheet 記載事項確認をもって試験とした。
 - ・ A 社 (ISO 13485 「医療機器－品質マネジメントシステム」 認証取得) 製品：増幅検出評価試料：凍結融解後 2-8°C で 7 日安定
 - ・ B 社 (ISO 13485 認証取得) 製品：核酸抽出・増幅検出評価試料：2-8°C で 2 年間安定
- ②試料配布時および測定期日の計 2 回測定を行い、データが一致することを確認した。

(2) 均質性について

試料配布時に各試料 3 本の測定を行い、データが一致することを確認した。

8) 参加施設が用いる報告書の書式

登録報告入力システムのサイト CRmate (富士通株式会社) に入力するものとした。

9) 参加施設の結果および成果に基づく結論を公表する範囲

1. 中間 (一次) 報告書では、施設カテゴリー別、方法別 (測定装置、測定薬) の集計結果として登録報告入力システムのサイトに掲載した。
2. 最終報告書では、精度管理実態調査として、施設の概要 (検査機関カテゴリー、行政検査の実施の有無、受託件数、試薬・装置の薬事承認 (試薬) 又は製造販売届出 (装置) (以下、「薬事承認等」という。)) の有無など)、精度管理の方法 (第三者認証・認定の有無、測定者として専門資格の有無、導入時妥当性確認・検証と性能評価項目、内部精度管理実施と内容、内部精度管理許容範囲の設定、標準作業書作成の内容、要員研修の内容など) に関して報告書としてまとめた。
3. 精度管理実態調査と外部精度管理調査の結果を踏まえて、精度管理マニュアルを作成し、参加施設に配布した。

10) 調査スケジュール

表 5. 調査スケジュール

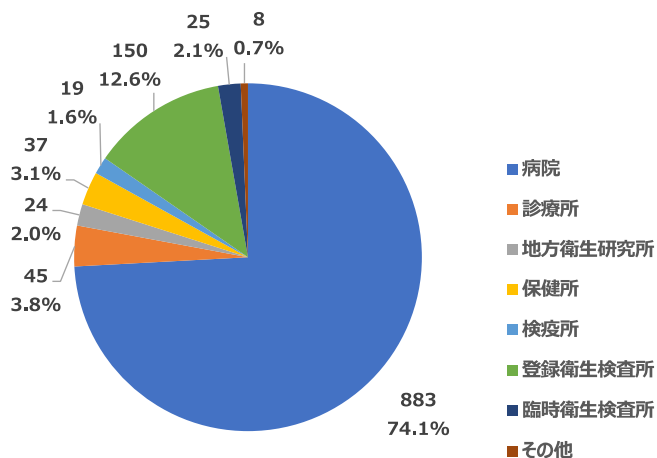
スケジュール	日程
参加登録開始	2021 年 10 月 11 日 (月)
参加登録締切	10 月 29 日 (金)
試料発送	11 月 7 日 (日) -9 日 (火)
測定締切	11 月 19 日 (金)
結果入力締切	11 月 25 日 (木)
集計一次報告 (暫定版) 掲載	2022 年 1 月 8 日 (土)
参加施設用の報告書掲載	1 月 31 日 (月)
精度管理実態調査、外部精度管理調査に基づく精度管理マニュアル配布	4 月中旬 (予定)

11) 集計施設数

調査参加に申し込みがあった 1213 登録施設に対して、試料を送付した。参加辞退 (参加条件外など) や重複登録、測定結果の未入力などの理由にて、最終的に集計対象は 1191 施設となった。プール法の参加施設は、54 施設であった。

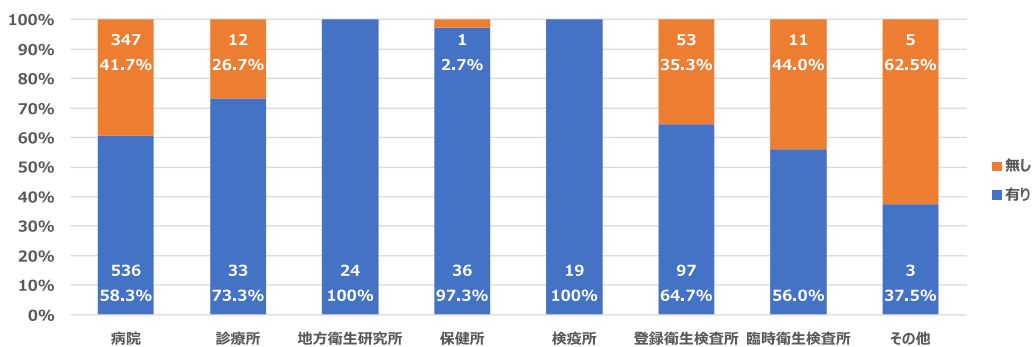
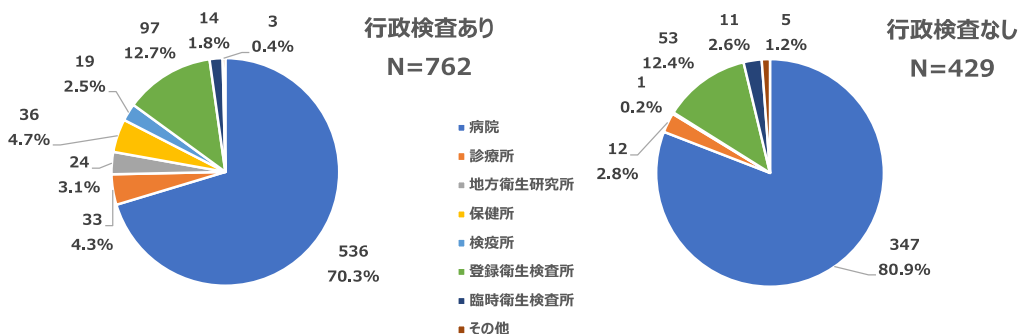
2. 精度管理実態調査の結果

1) 参加施設カテゴリー (図1)

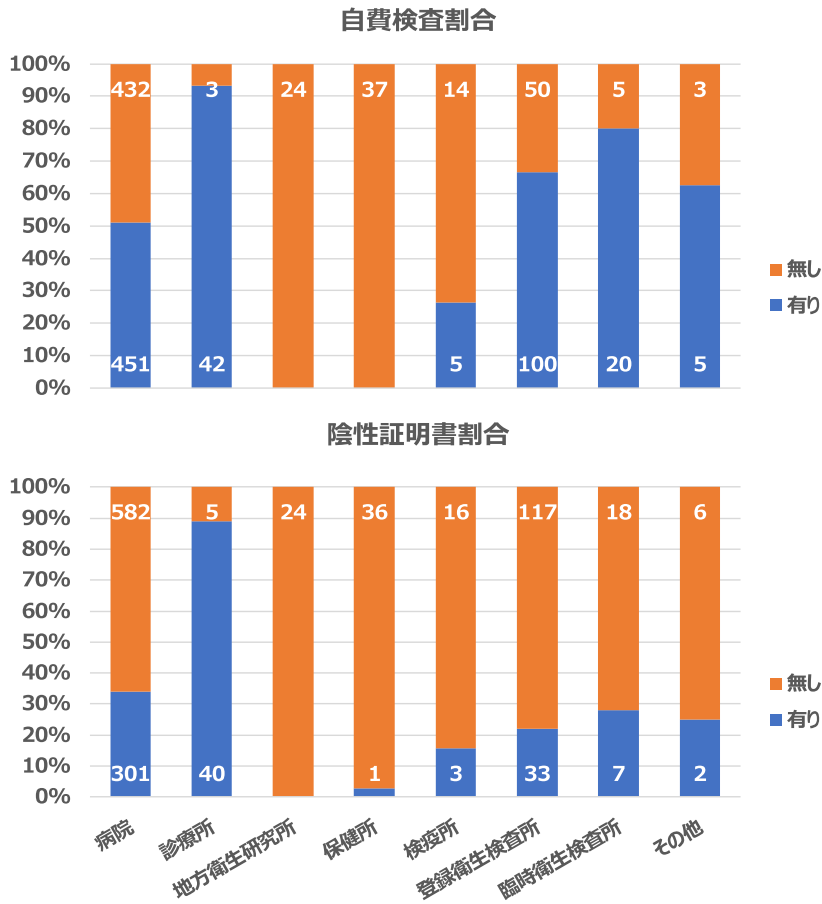


カテゴリー	病院	診療所	地方衛生研究所	保健所	検疫所	(登録)衛生検査所	(臨時)衛生検査所	その他
施設数 N=1191	883	45	24	37	19	150	25	8

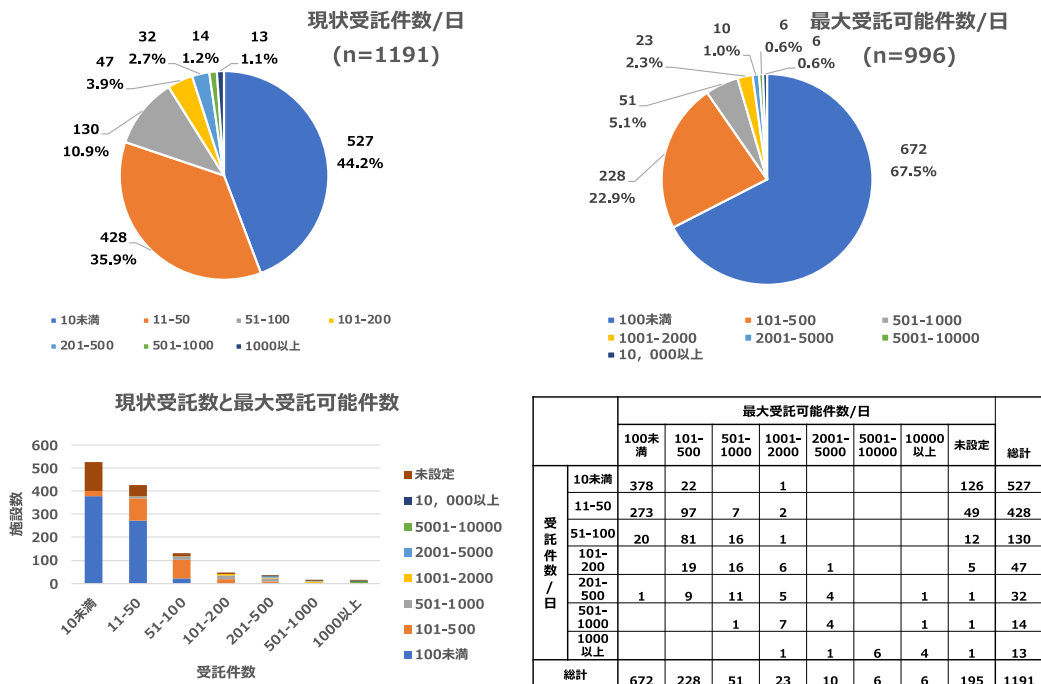
2) 参加施設カテゴリーと行政検査の有無 (図2)



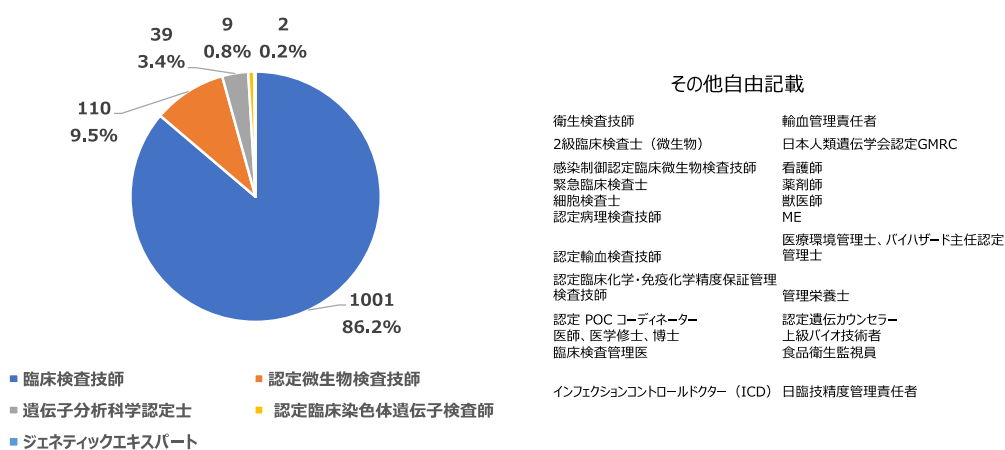
3) 自費検査と陰性証明書（施設カテゴリ別）（図3）



4) 実施（受託）件数（図4）

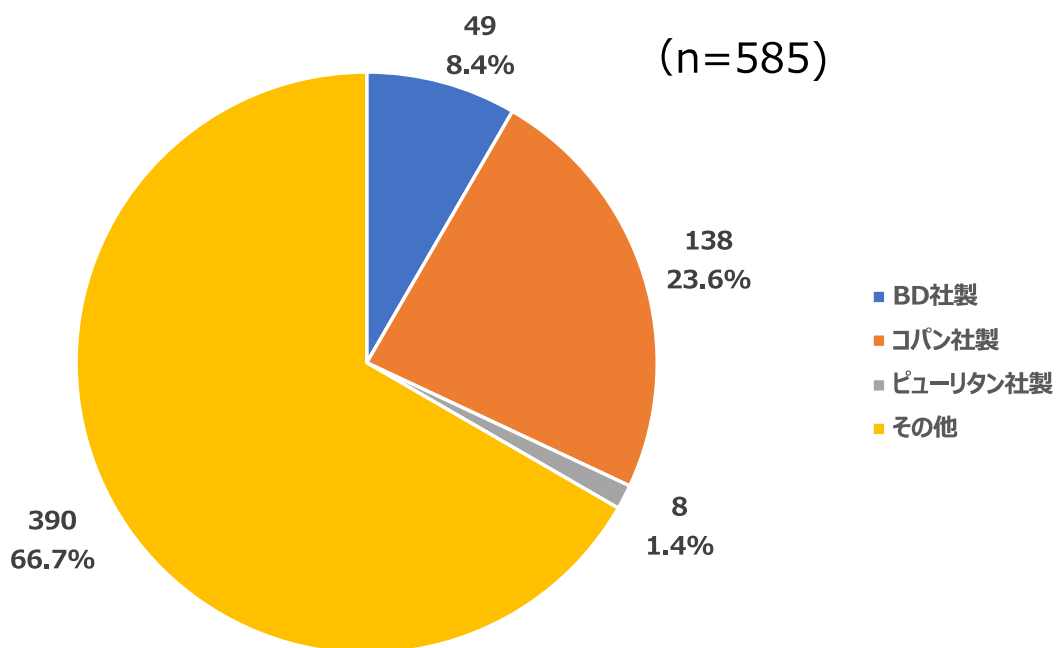


5) 測定者資格 (図5)

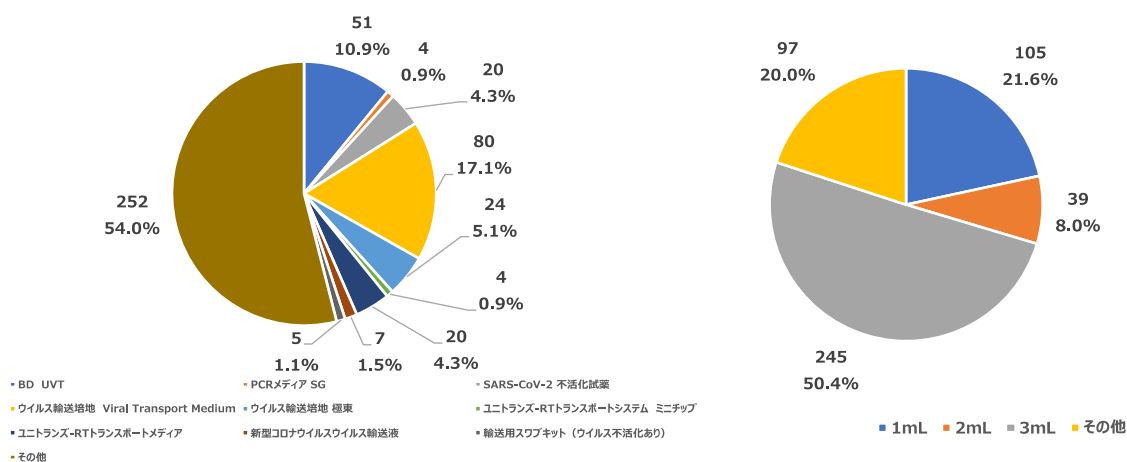


	病院 (n=883)	診療所 (n=45)	地方 衛生研究所 (n=24)	保健所 (n=37)	検疫所 (n=19)	登録 衛生検査所 (N=150)	臨時 衛生検査所 (N=25)	その他 (N=8)
臨床検査技師	823	16	6	22	4	114	11	5
認定微生物検査技師	102	-	1	1	-	6	-	-
遺伝子分析科学 認定士	33	1	-	-	-	5	-	-
認定臨床染色体 遺伝子検査師	9	-	-	-	-	-	-	-
ジェネティック エキスパート	-	-	-	-	-	1	-	1

6) 検体採取容器 (図6)

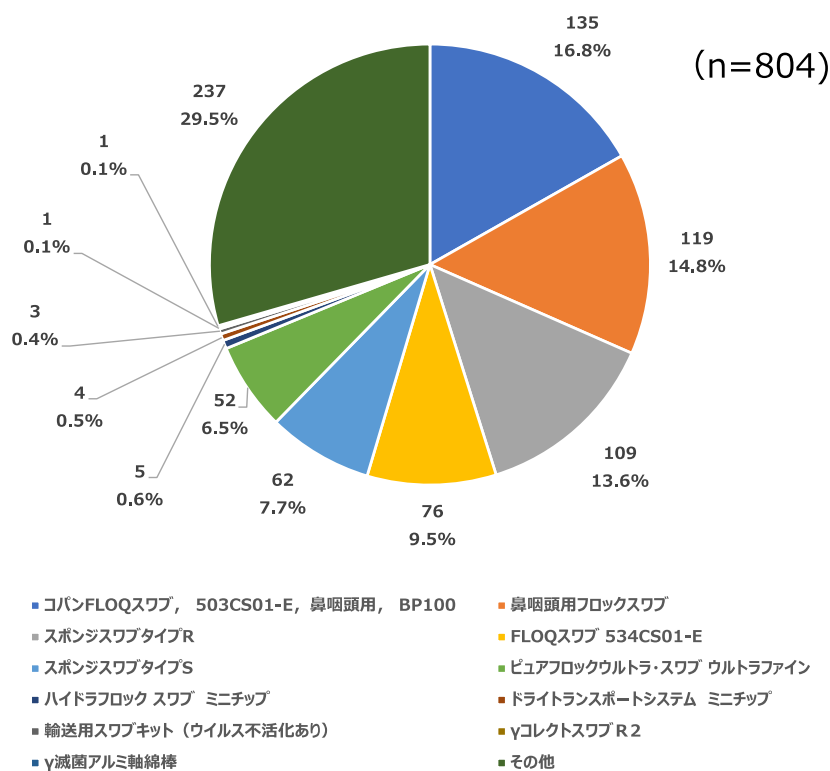


7) 輸送培地と培地液量 (図7)

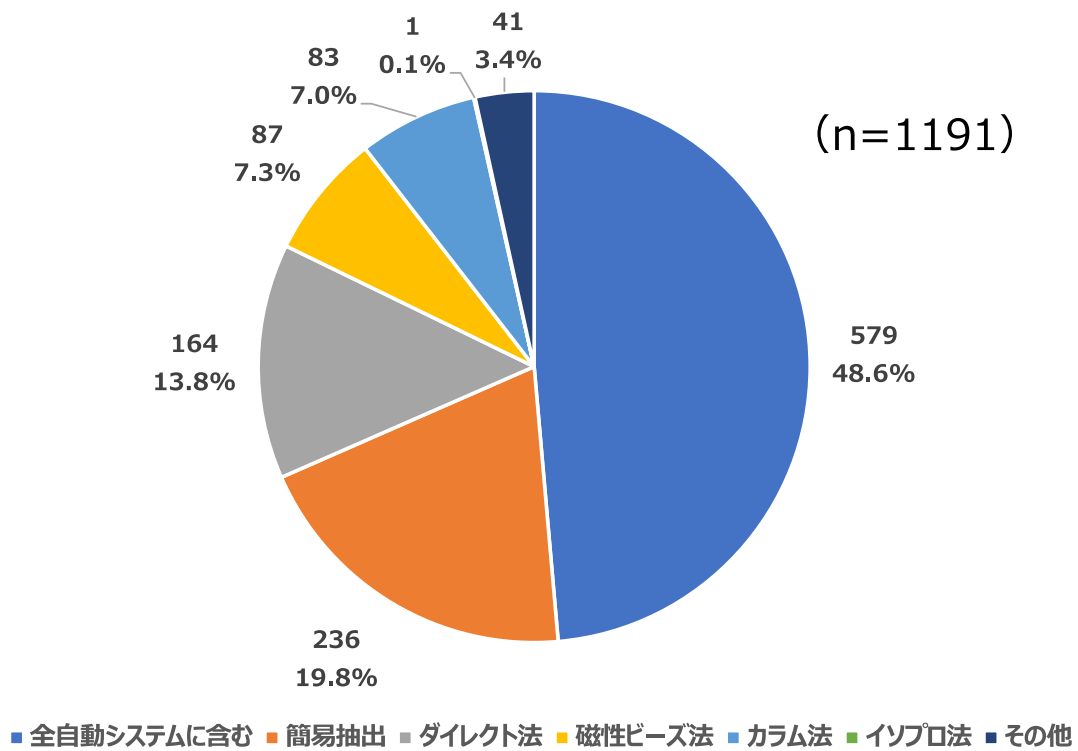


輸送培地製品名	培地液量					総計
	1mL	2mL	3mL	その他	未記入	
BD ユニバーサル バイラルトランスポート(BD UVT)検体輸送用培地	5		45	1	2	53
PCRメディア SG			2	2		4
SARS-CoV-2 不活化試薬	6	4	10			20
ウイルス輸送培地 Viral Transport Medium	10	4	62	4	3	83
ウイルス輸送培地 極東	8		15	1		24
ユニトランス-RTトランスポートシステム ミニチップ	4					4
ユニトランス-RTトランスポートメディア	10		10		1	21
新型コロナウイルス輸送液		1	5	1		7
輸送用スワブキット (ウイルス不活化あり)	1		1	3	1	6
その他	59	28	83	82	22	274
総計	103	37	233	94	29	496

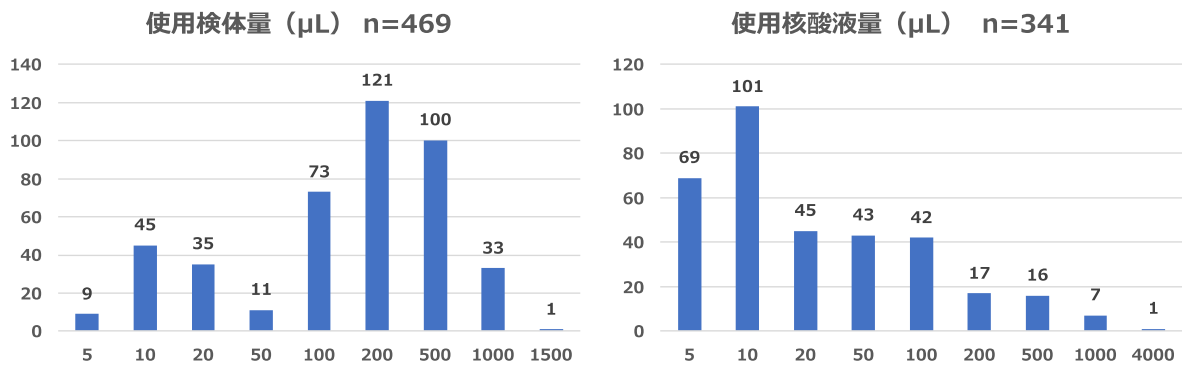
8) 使用スワブ (図8)



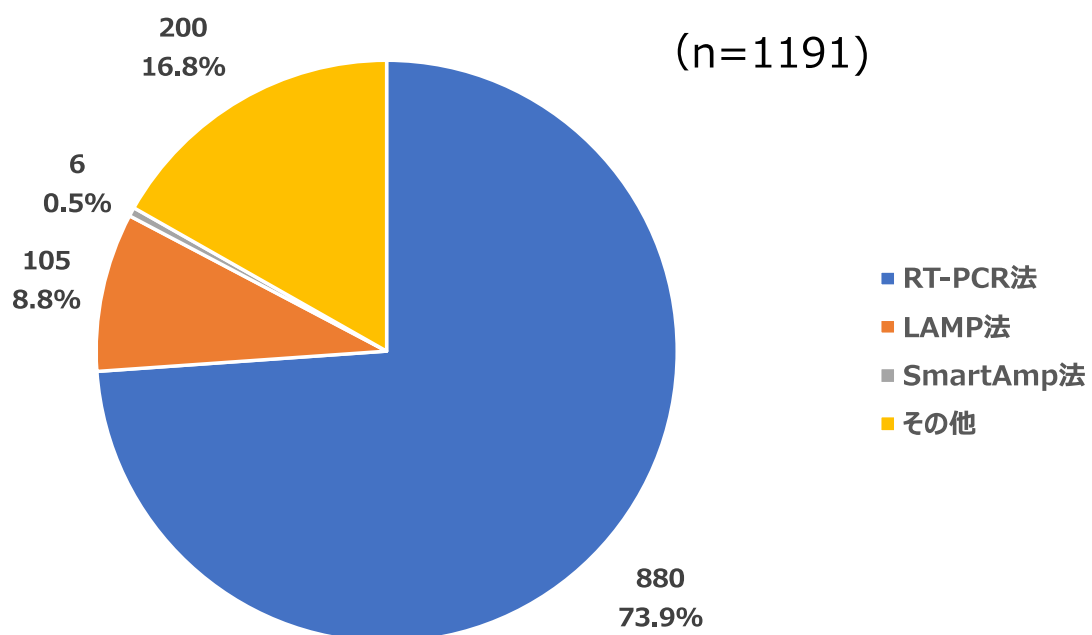
9) 抽出方法 (図9)



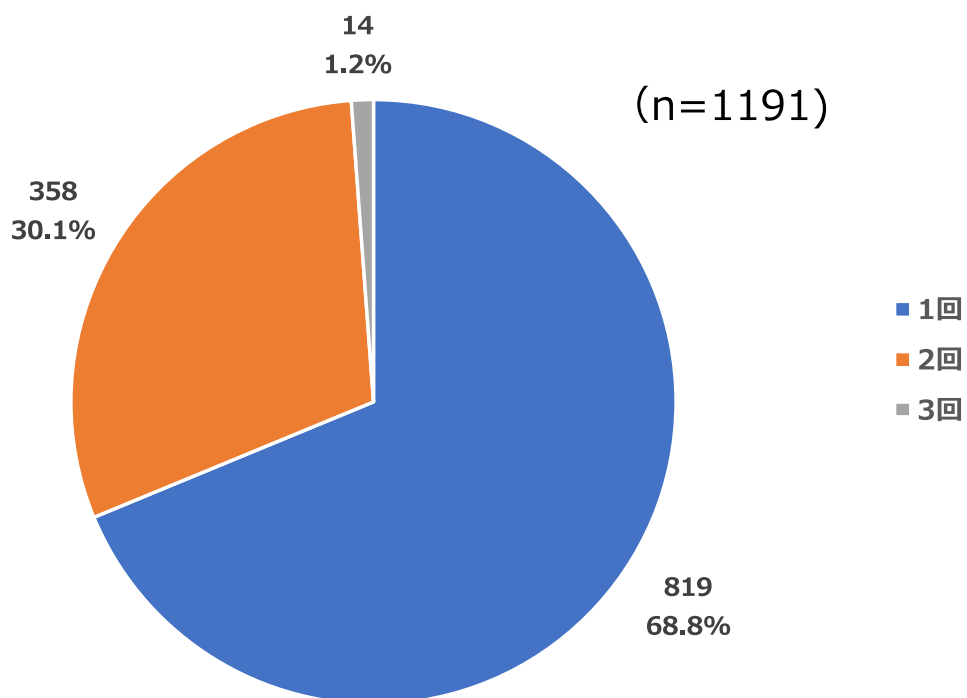
10) 使用検体量と使用核酸液量 (図10)



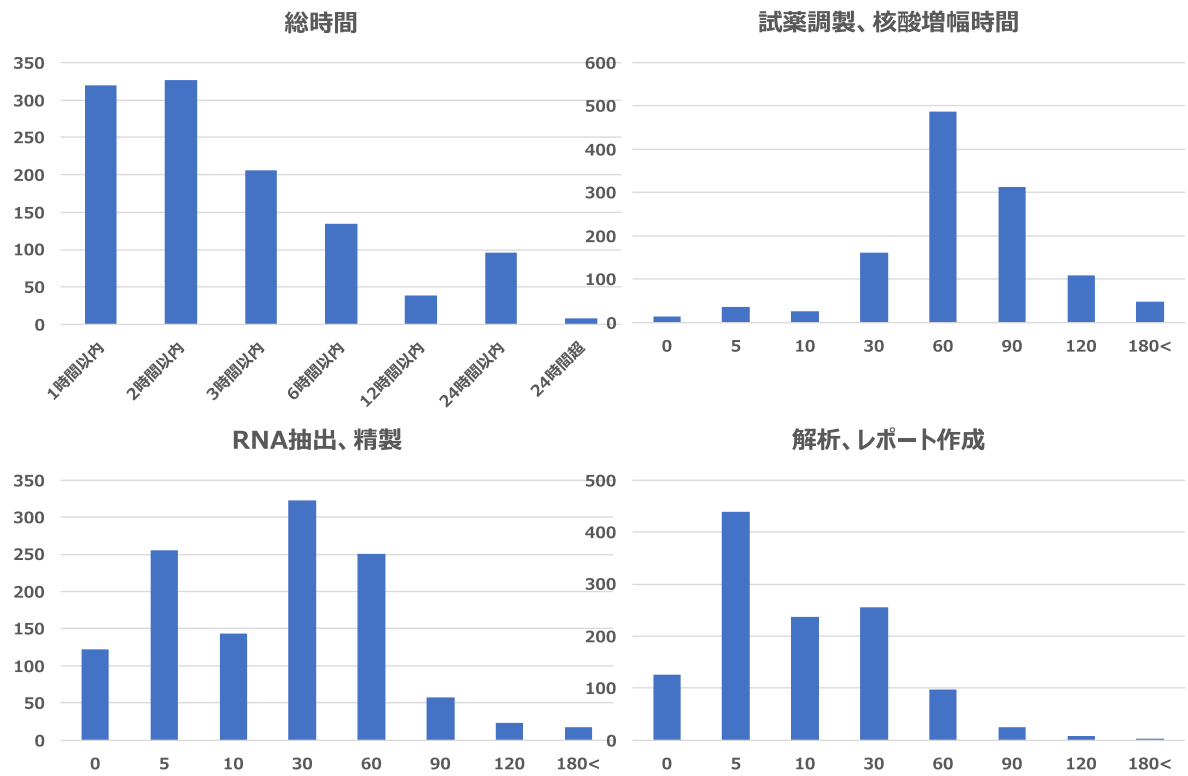
1 1) 測定原理 (図 1 1)



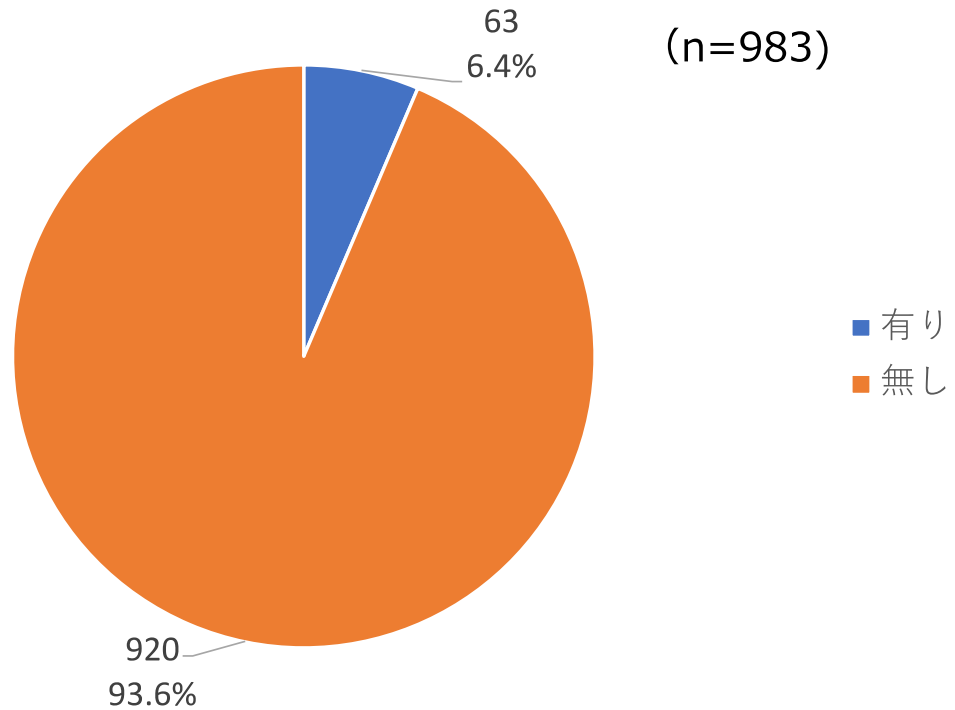
1 2) 測定回数 (図 1 2)



1 3) 各工程の所要時間 (図 1 3)

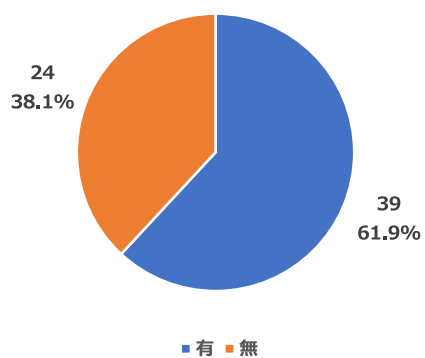


1 4) プール法検査の実施 (図 1 4 - 1)

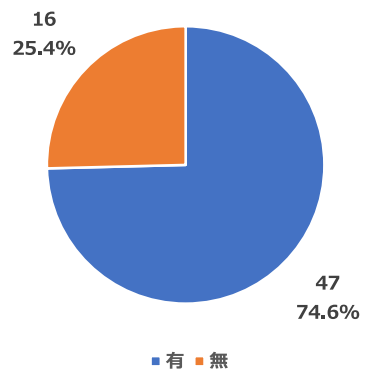


プール法検査の実施施設 (図 1 4 - 2)

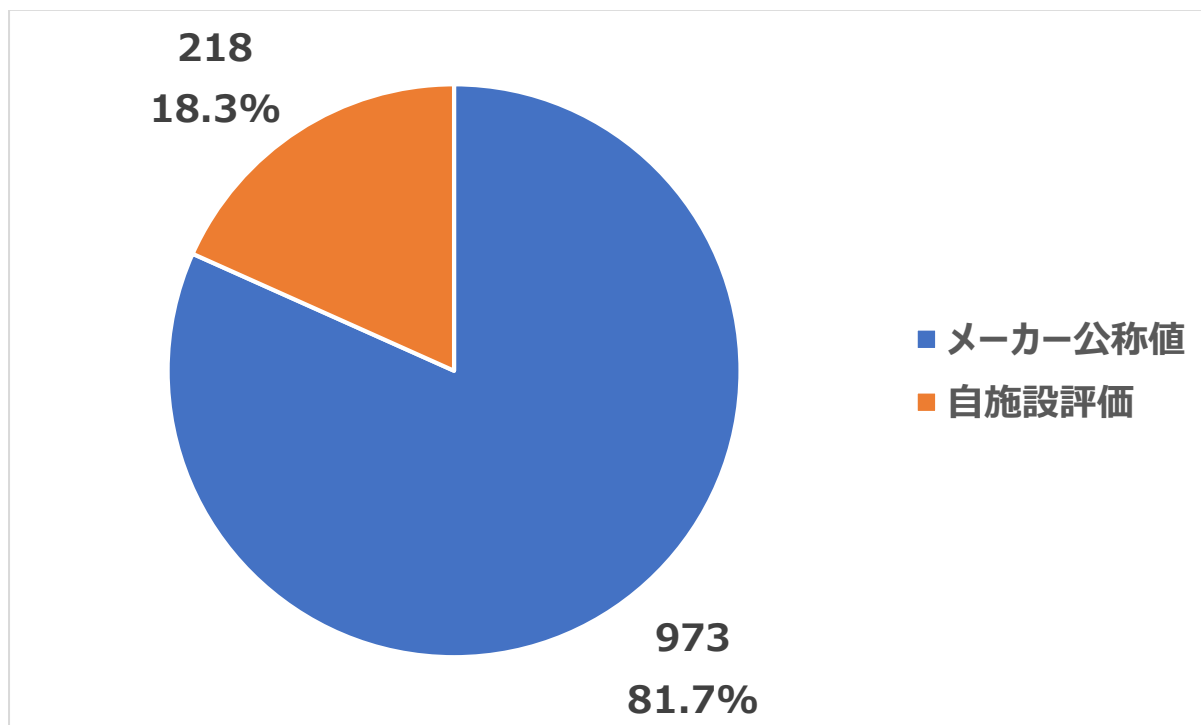
プール法実施施設の自費検査 (n=63)



プール法実施施設の行政検査 (n=63)

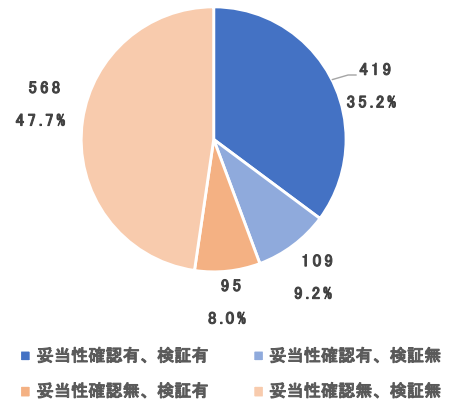


1 5) 基本性能評価 (図 1 5)



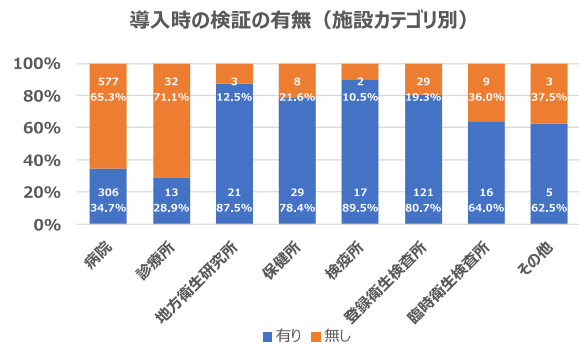
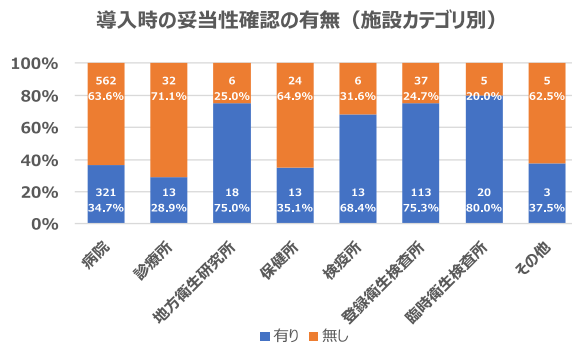
16) 導入時の妥当性確認・検証 (図16-1)

		検証	
		有	無
妥当性確認	有	419	109
	無	95	568

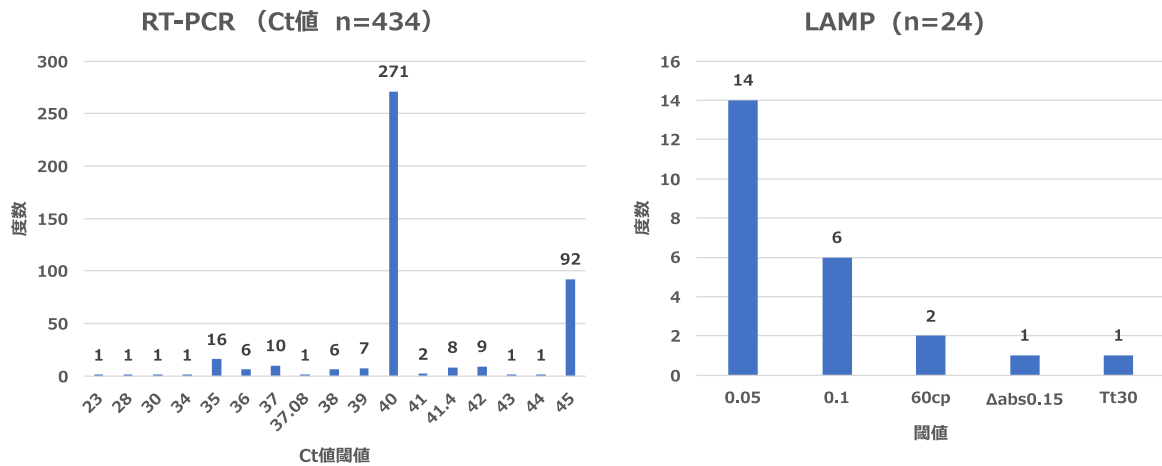


	実施	項目							
		特異性	真度	精度	検出限界	定量限界	検出感度	直線性範囲	頑健性
妥当性確認	528	291	250	348	233	106	307	76	58
	44.3%	24.4%	21.0%	29.2%	19.6%	8.9%	25.8%	6.4%	4.7%
検証	514	255	232	333	222	98	298	80	40
	43.2%	21.4%	19.5%	28.0%	18.6%	8.2%	25.0%	6.7%	3.4%

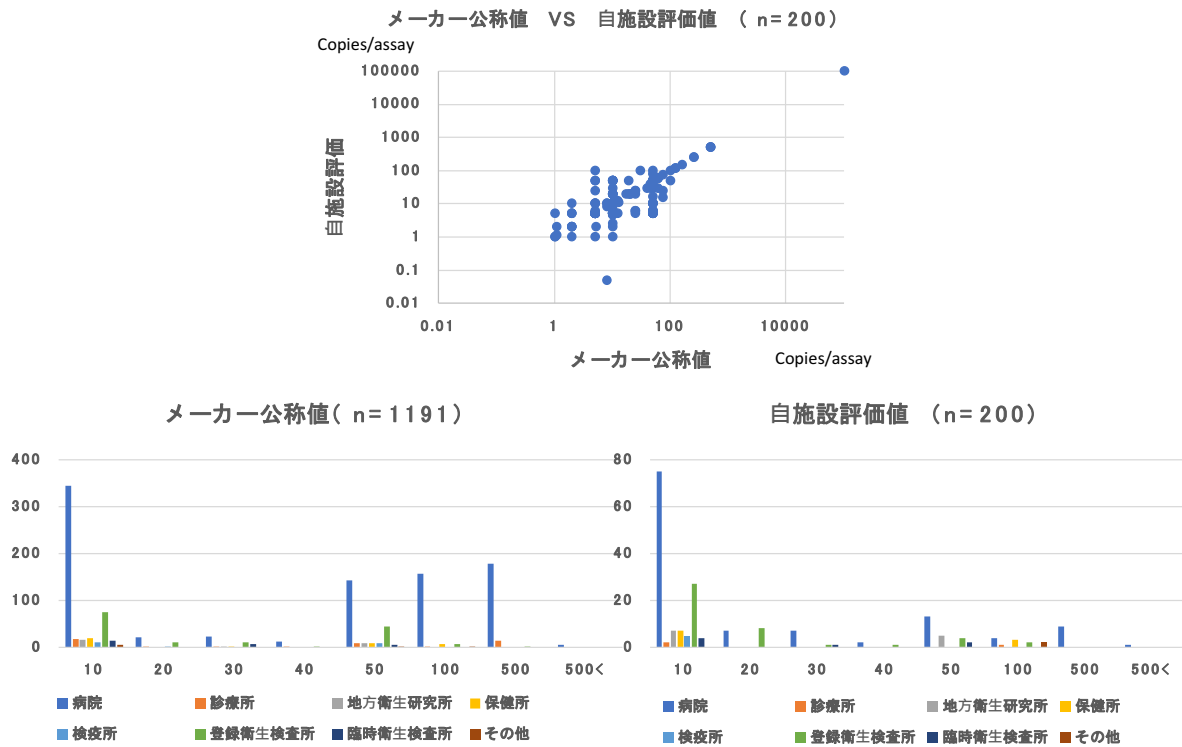
導入時の妥当性確認・検証 (施設カテゴリー別) (図16-2)



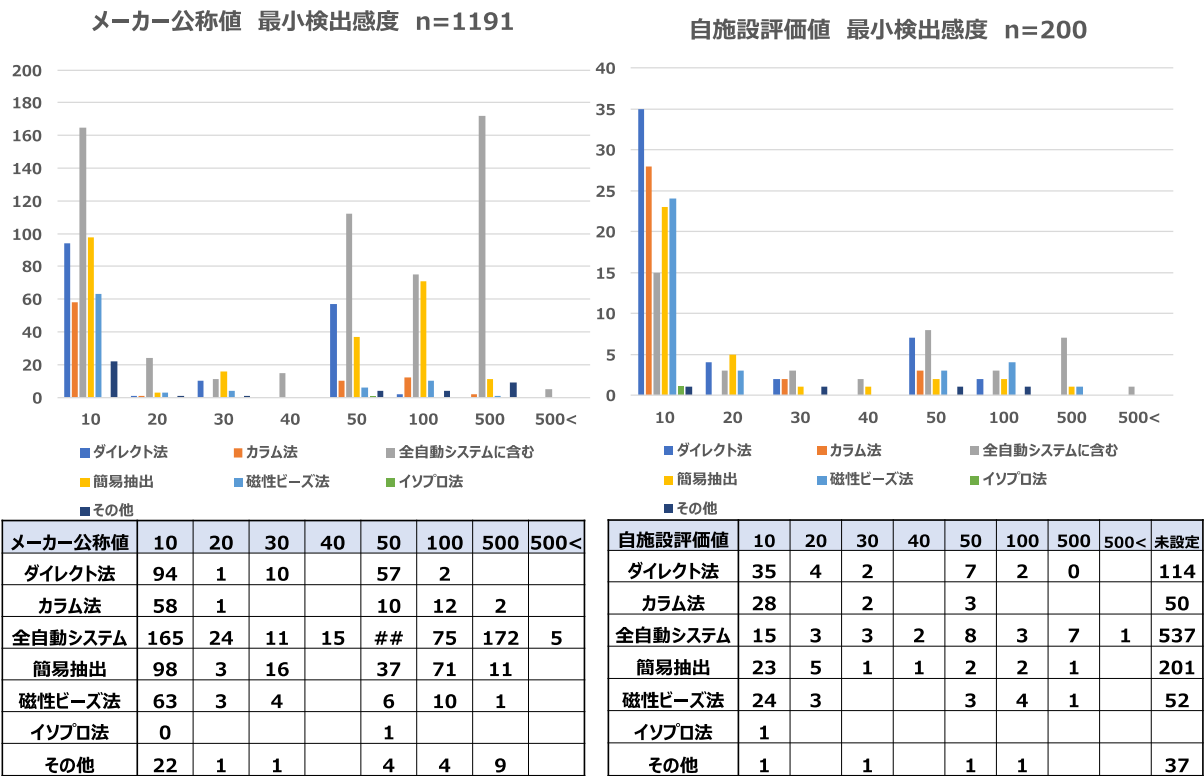
1 7) 陽性/陰性の判定指標 (図 1 7)



1 8) 最小検出感度 (図 1 8)



19) 最小検出感度分布（抽出方法別）（図19）

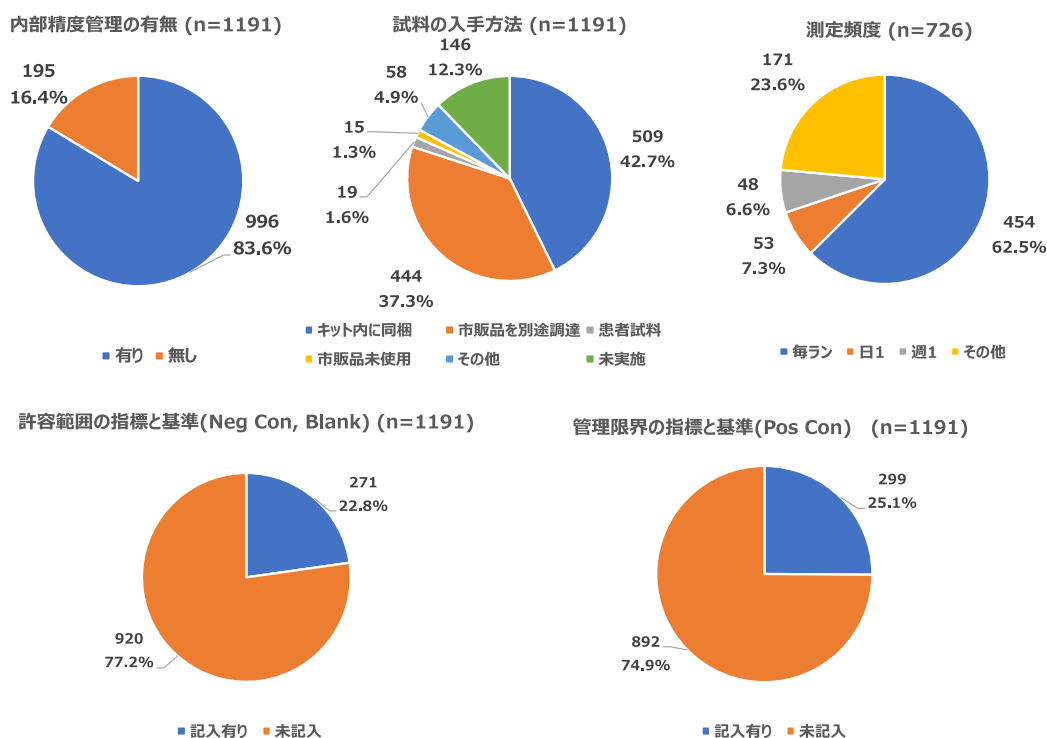


20) 検体種（表6）

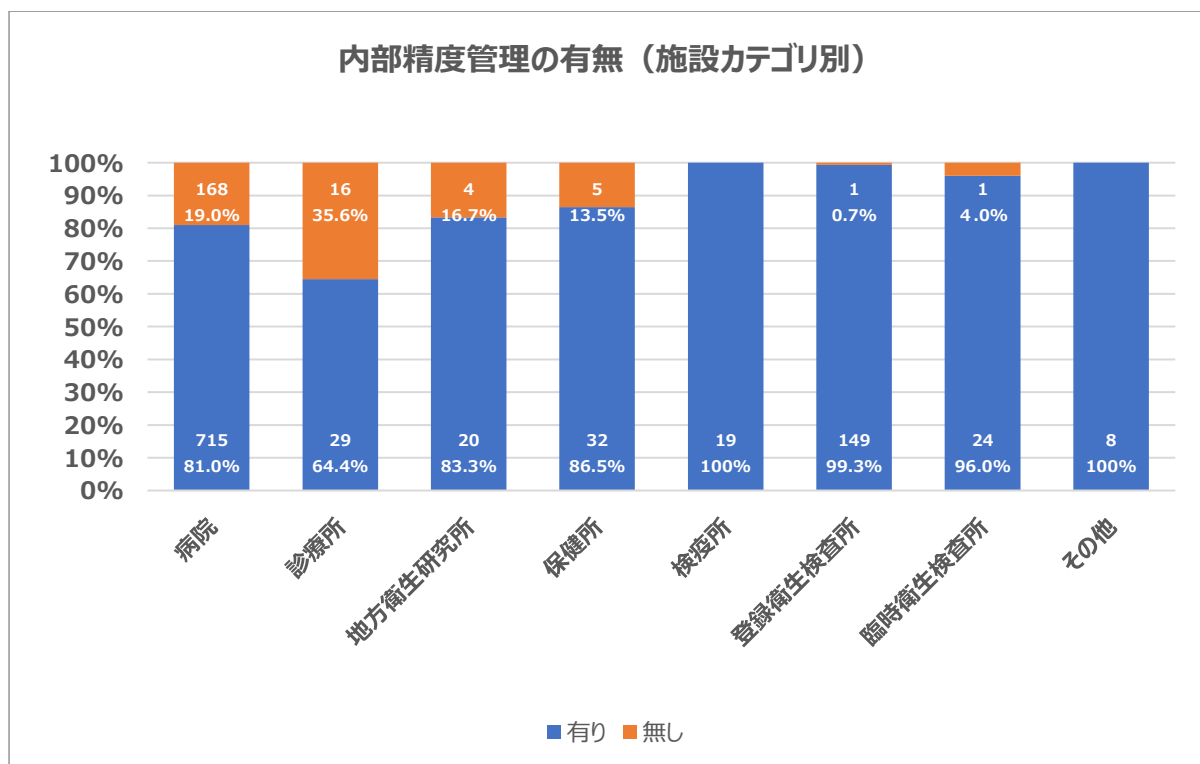
	鼻咽頭 ぬぐい液	咽頭 ぬぐい液	喀痰	唾液	気管支 肺胞洗浄液
実施数	1048	134	155	585	34
割合	88.0%	11.3%	13.0%	49.1%	2.9%

※ 重複回答有り

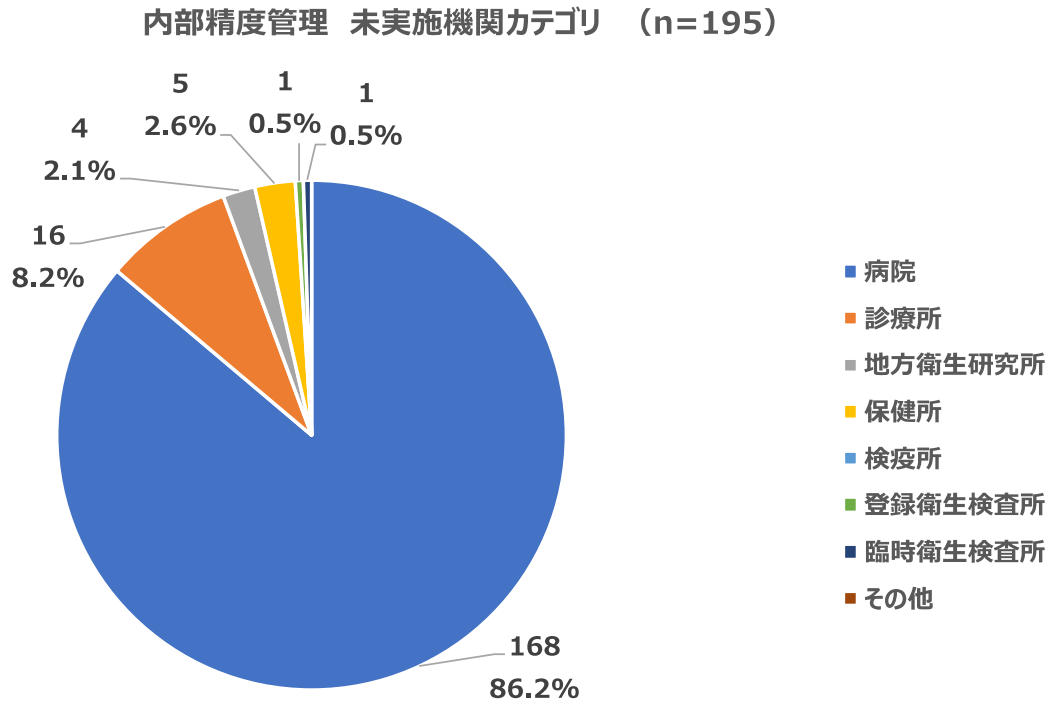
2 1) 内部精度管理の実施内容 (図 2 0 - 1)



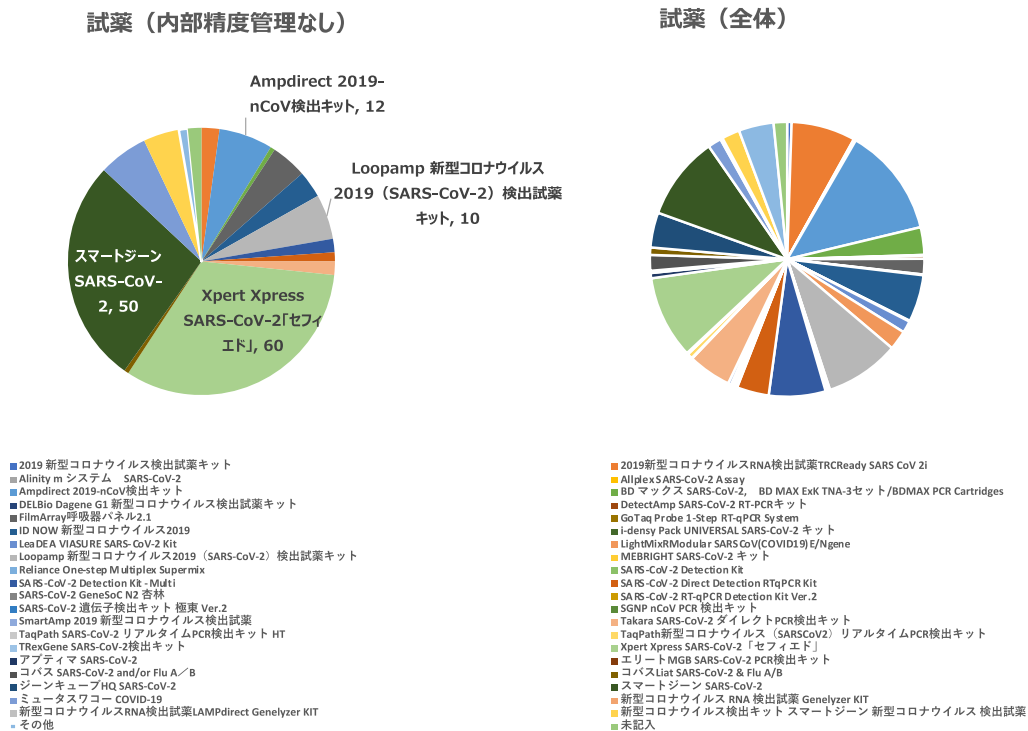
内部精度管理の有無 (施設カテゴリー別) (図 2 0 - 2)



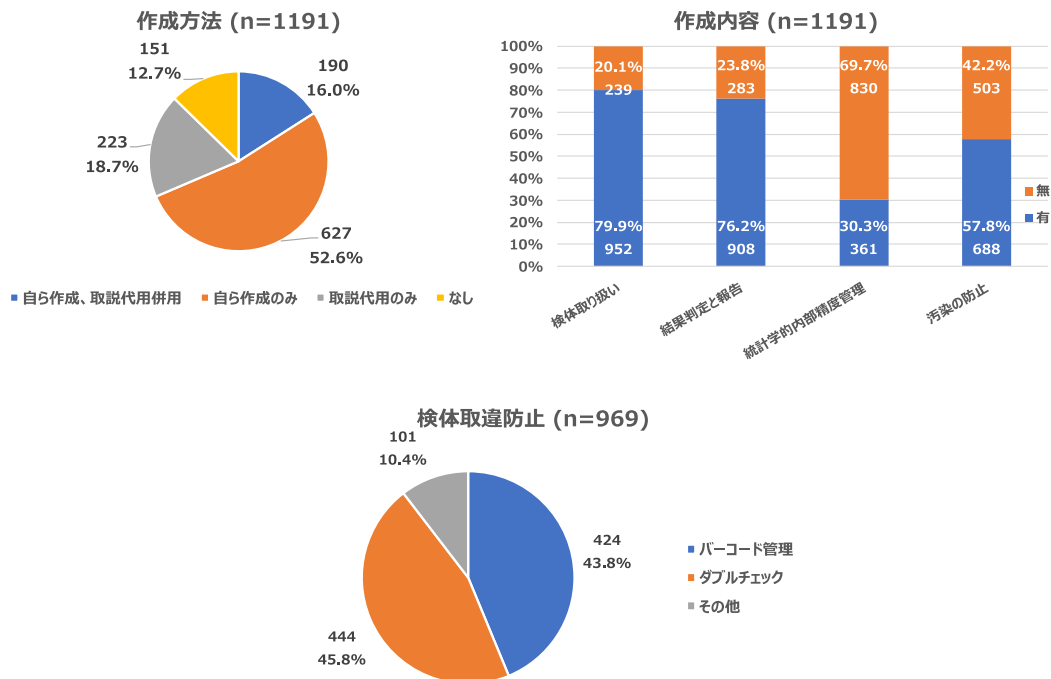
2 2) 管理試料を用いた内部精度管理の実施（機関カテゴリー別）（図 2 1）



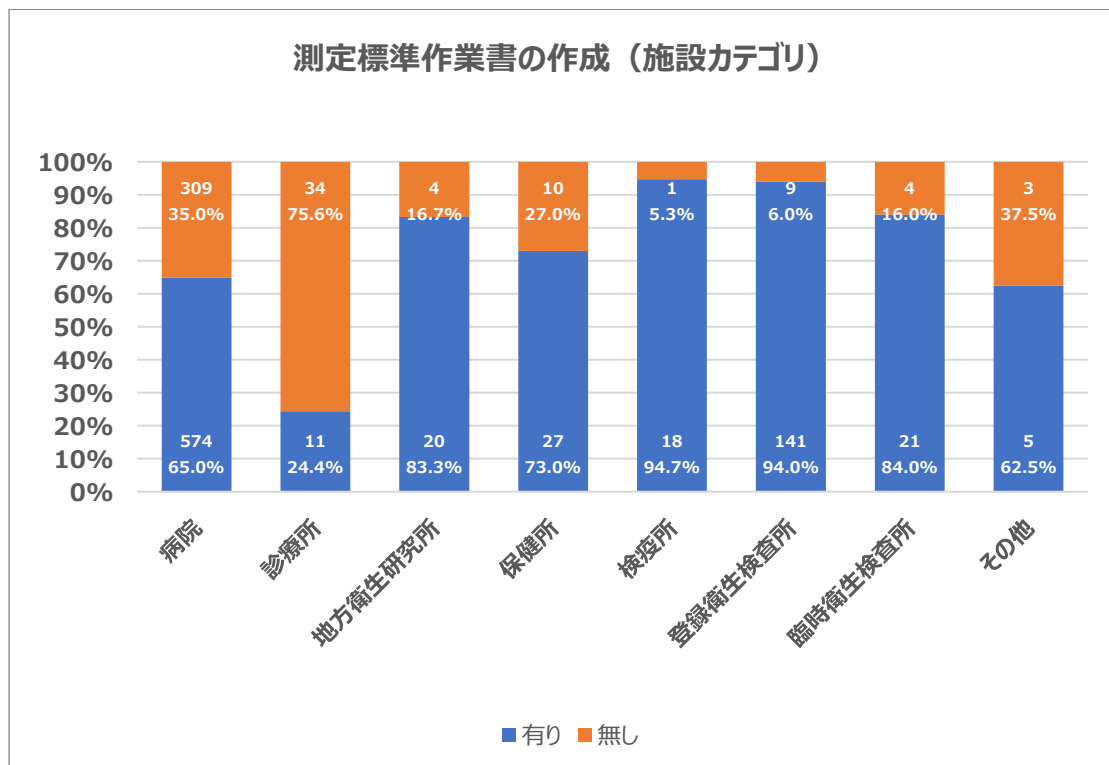
2 3) 管理試料を用いた内部精度管理の実施（試薬別）（図 2 2）



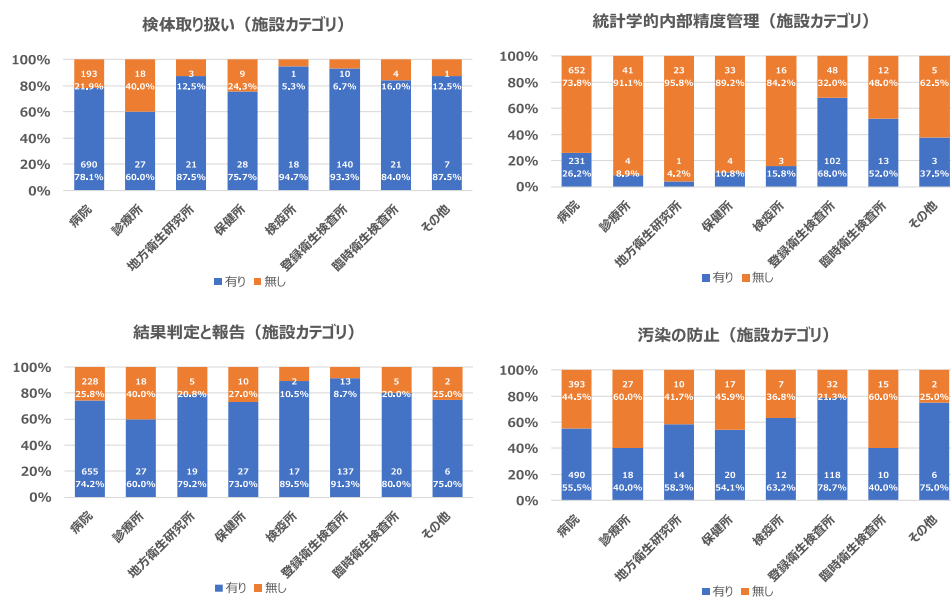
2 4) 測定標準作業書の作成概要 (図 2 3 - 1)



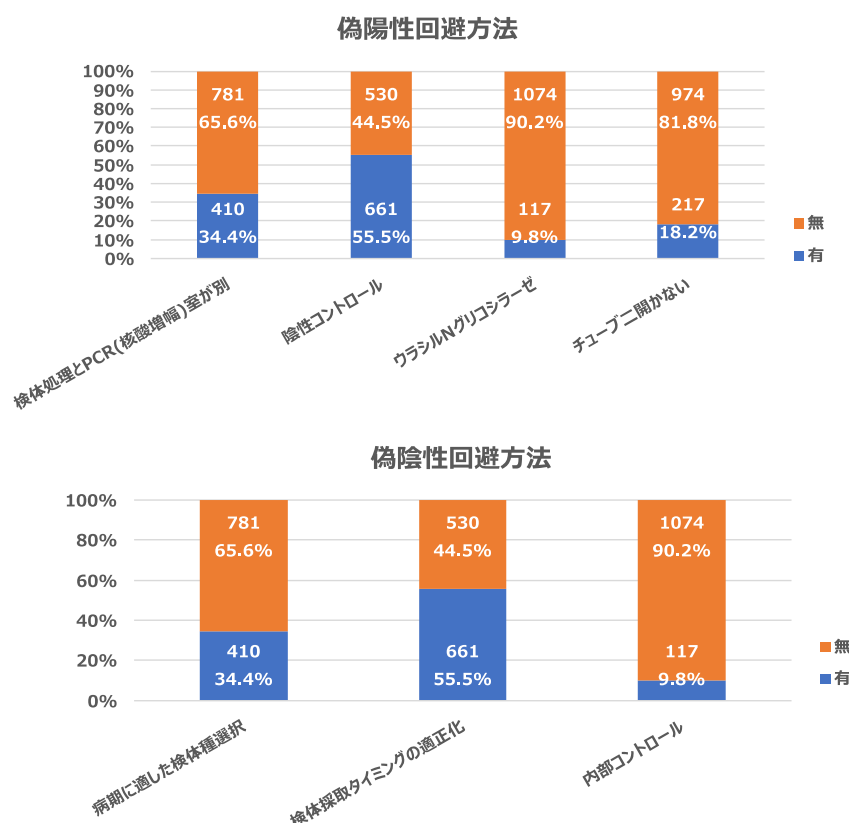
測定標準作業書の作成 (施設カテゴリー別) (図 2 3 - 2)



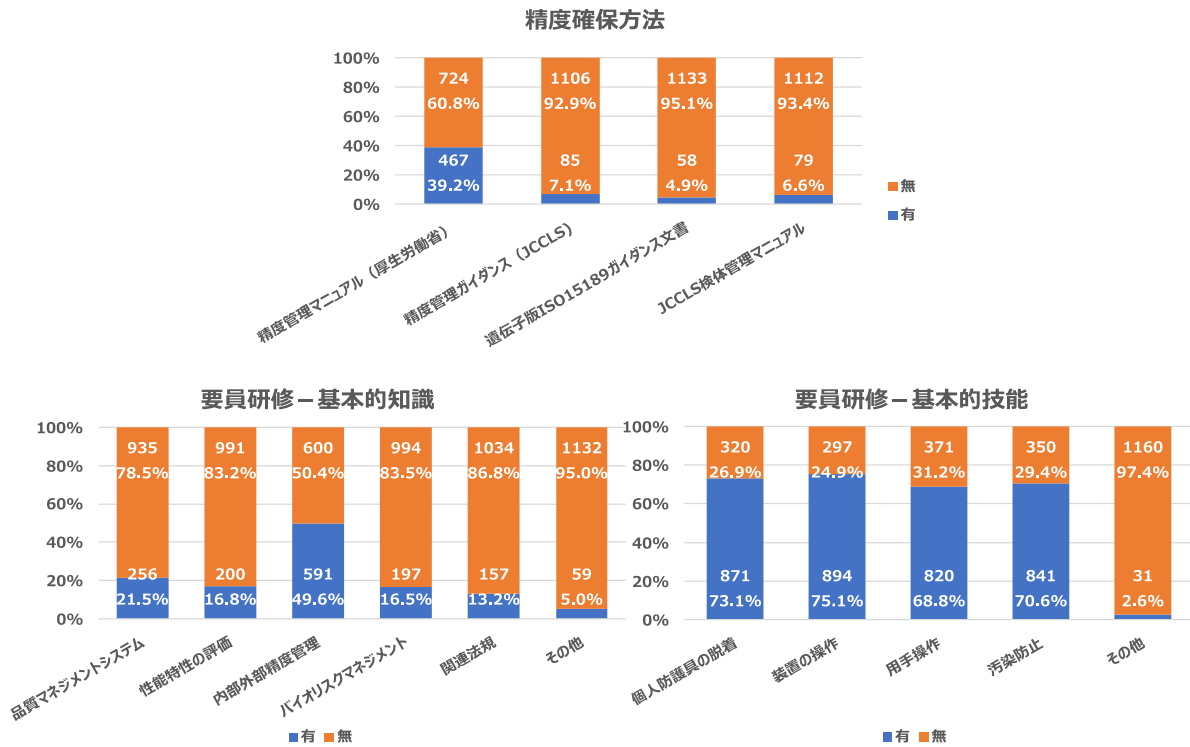
測定標準作業書の作成内容（施設カテゴリー別）（図23-3）



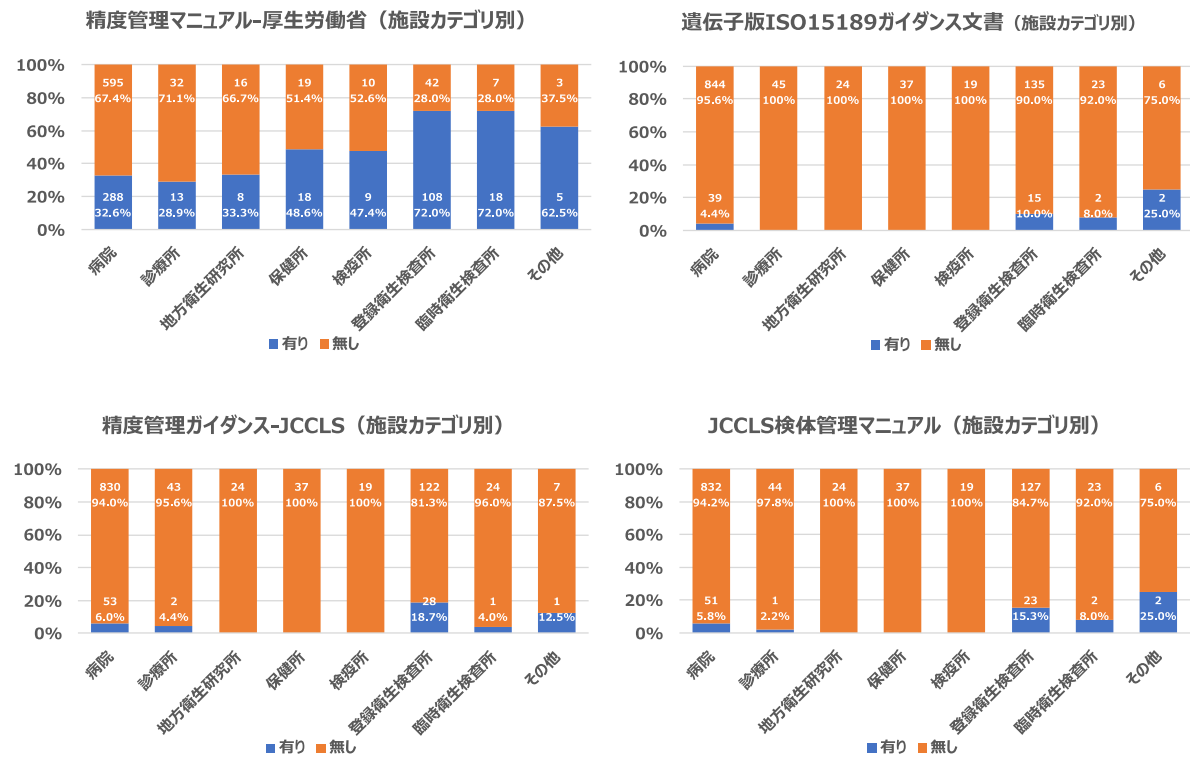
2.5) 偽陽性、偽陰性回避方法（図24）



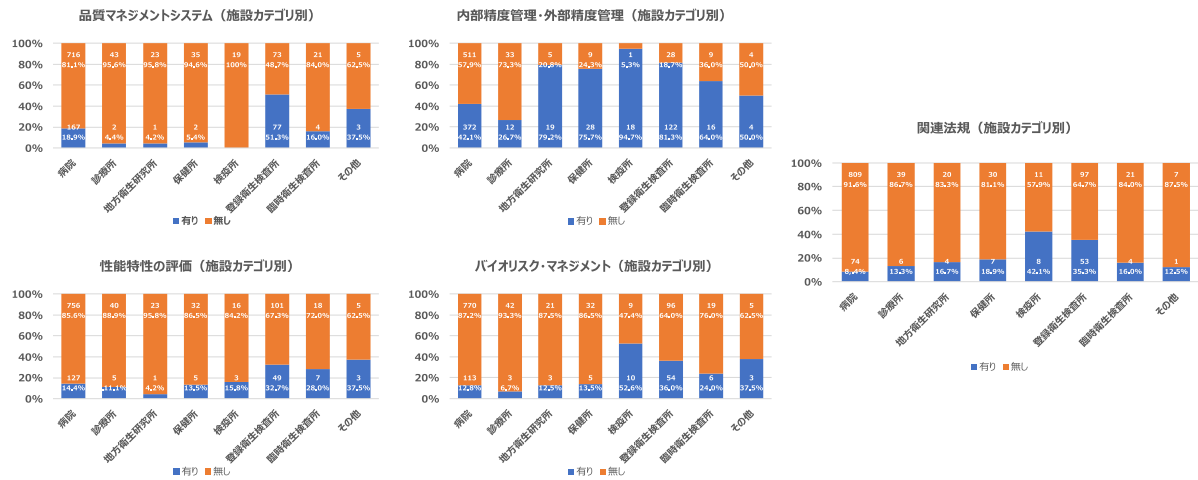
2 6) 精度確保方法と要員研修 (図 2 5 - 1)



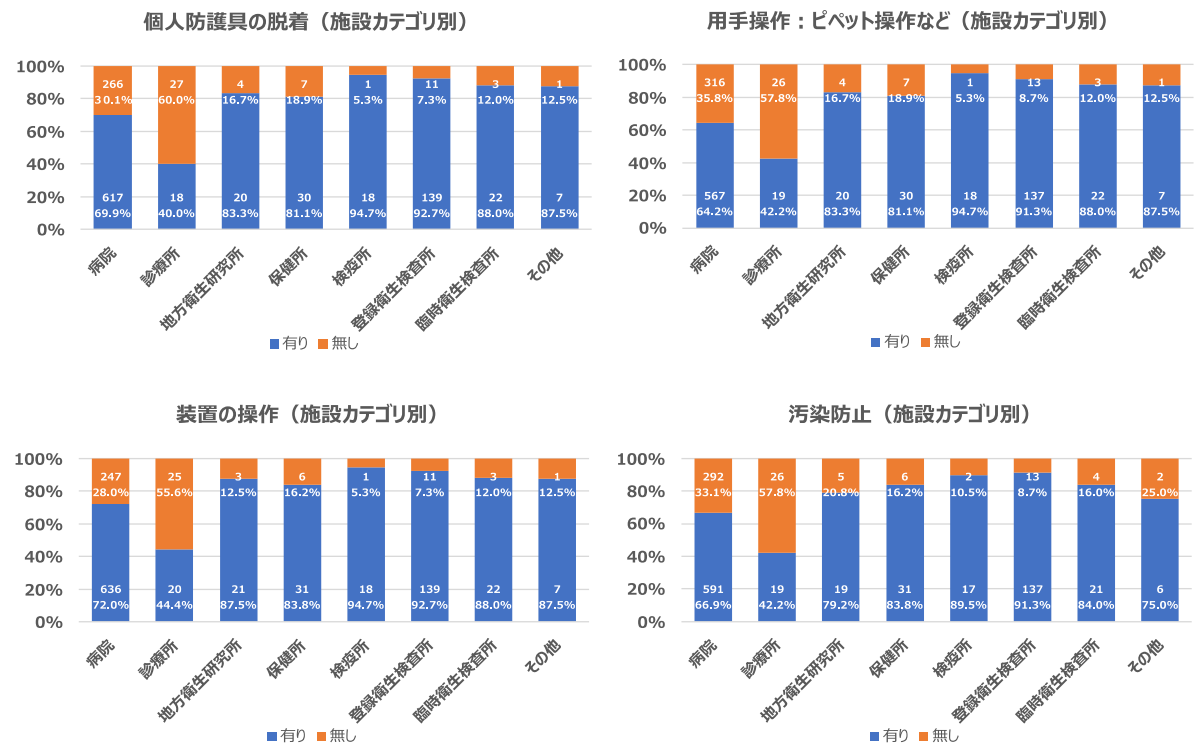
精度確保方法(施設カテゴリー別) (図 2 5 - 2)



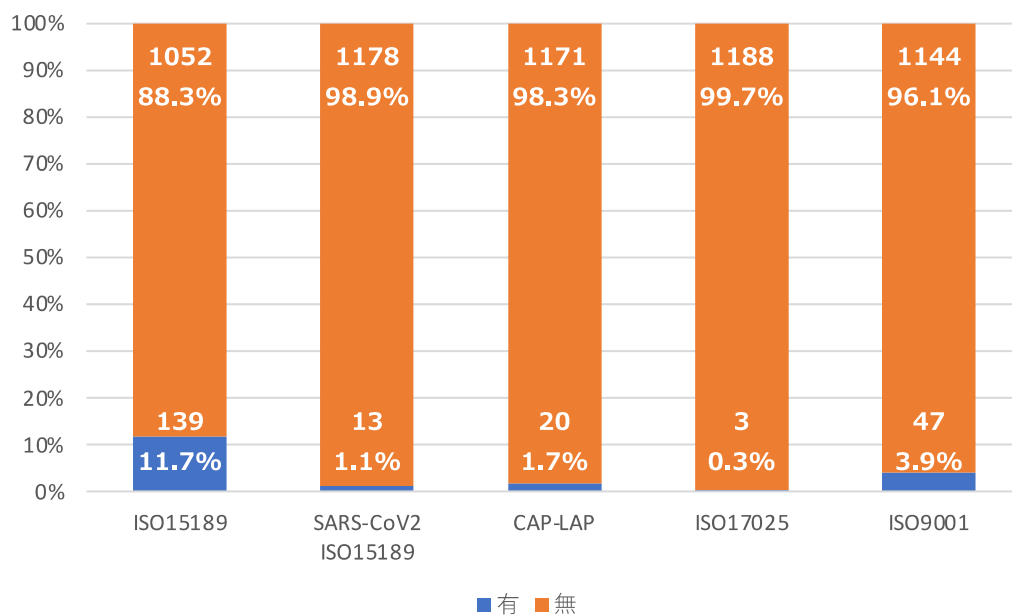
要員研修の内容：基本的知識（施設カテゴリー別）（図25-3）



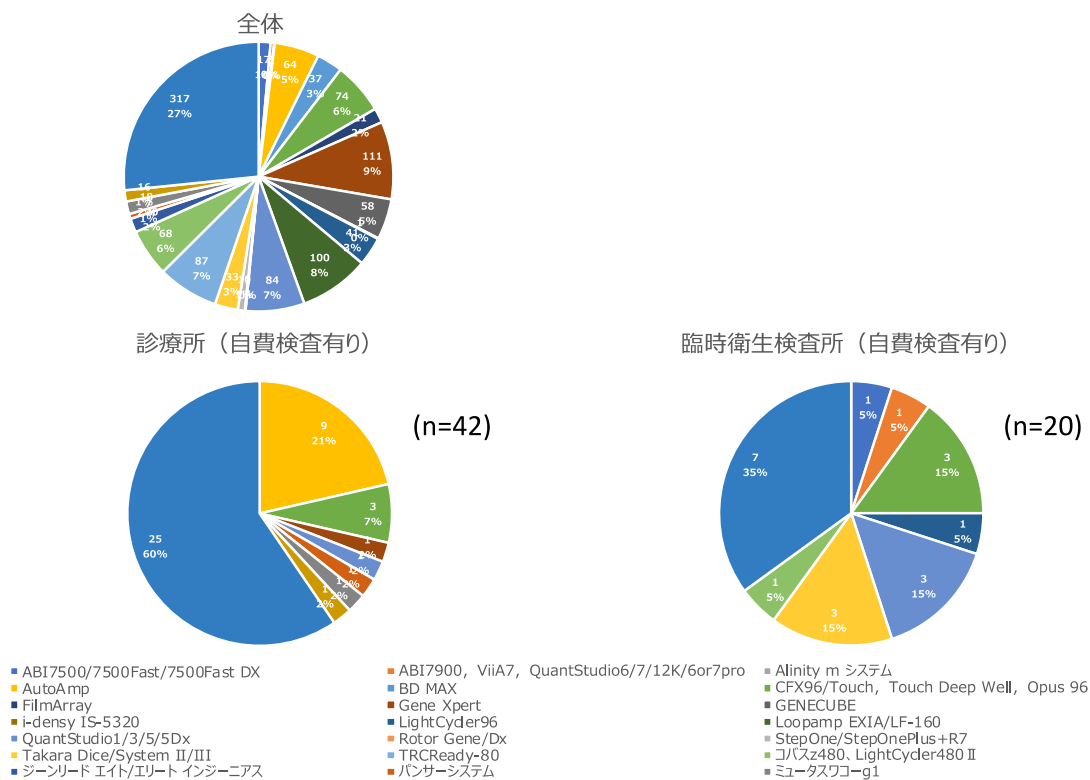
要員研修の内容：基本的技能（施設カテゴリー別）（図25-4）



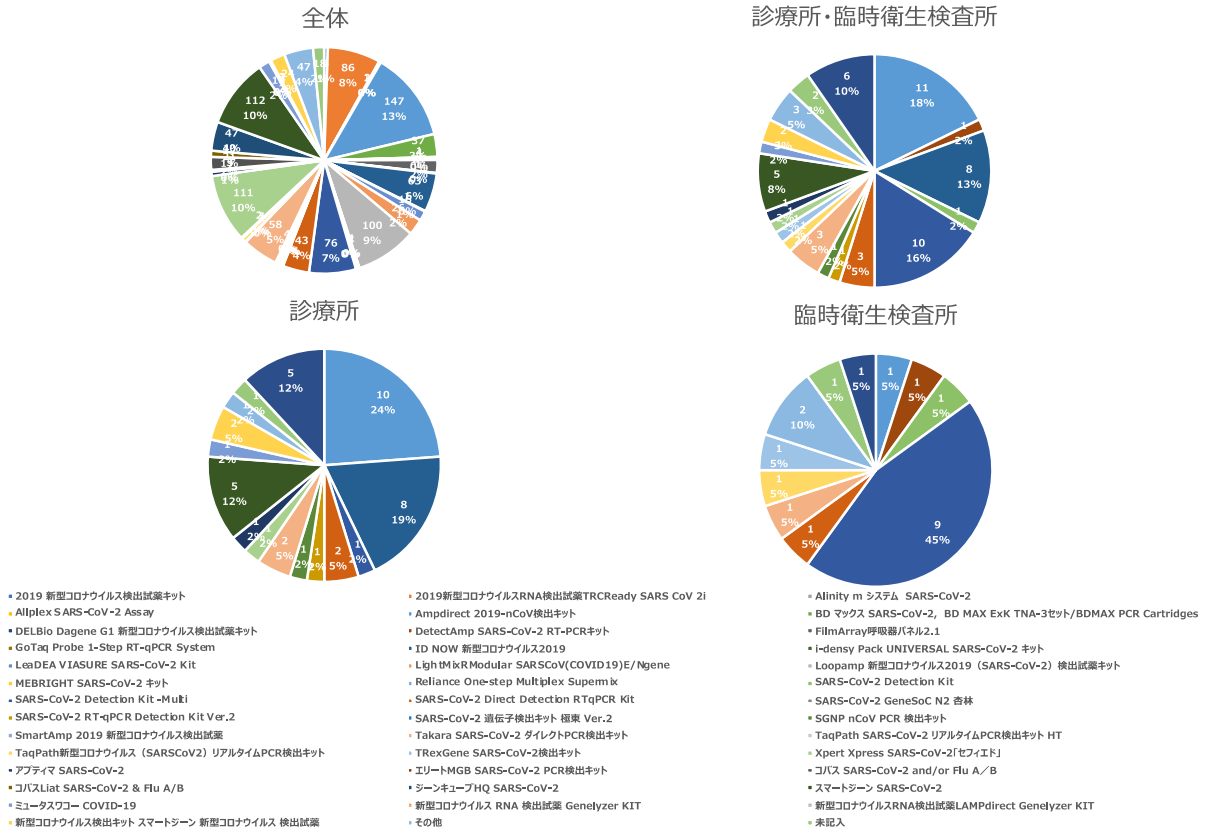
2 7) 三者認証/認定 (図 2 6)



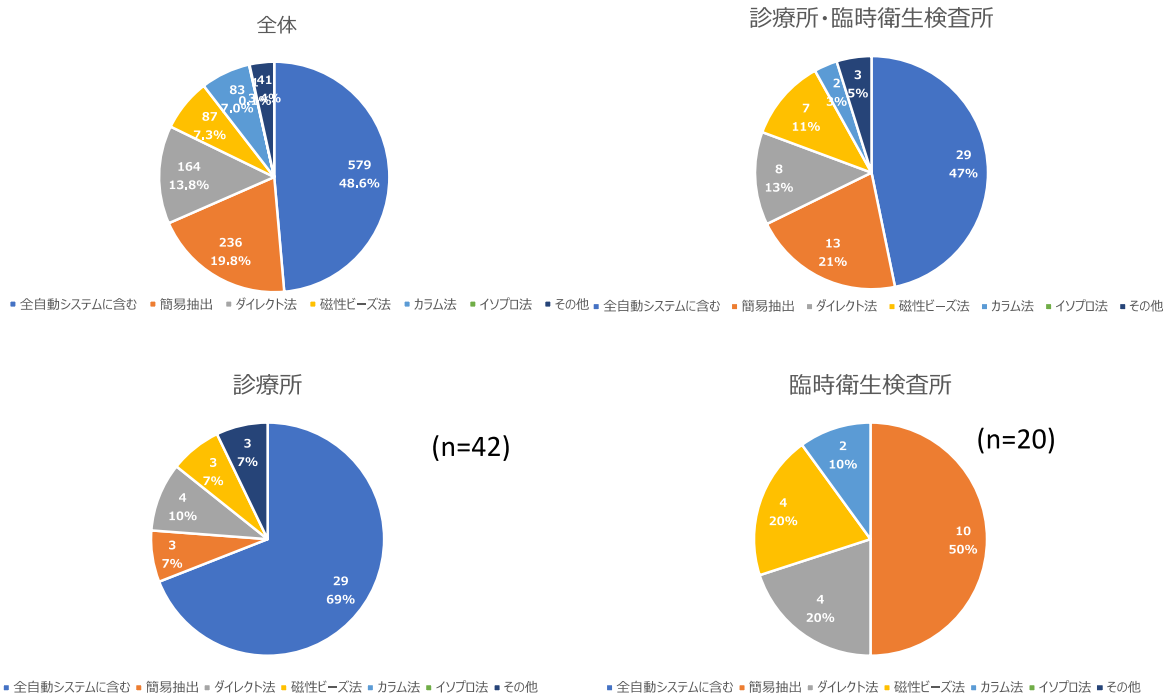
2 8) 自費検査 (装置) (図 2 7)



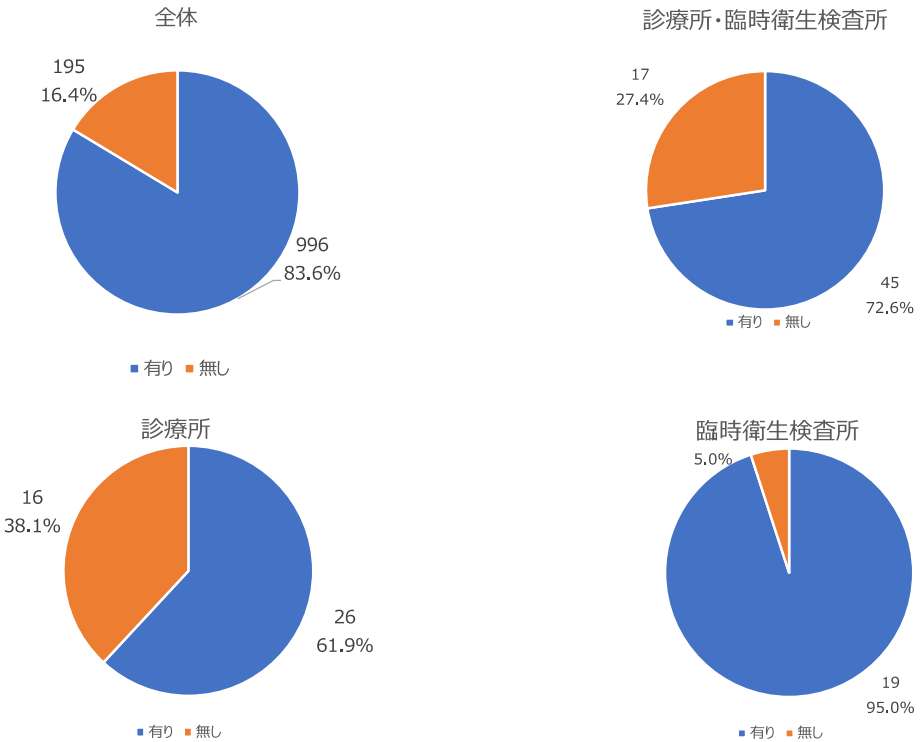
29) 自費検査(試薬) (図28)



30) 自費検査(抽出法) (図29)



3 1) 自費検査 (管理試料を用いた内部精度管理) (図 3 0)



3. 精度管理実態調査の結果のまとめと考察

- 1) 参加施設全体 1193 施設の施設カテゴリーは、多い順に、医療機関 928 (病院 883、診療所 45)、衛生検査所 175 (登録 150、臨時 25)、行政機関 80 (地方衛生研究所 24、保健所 37、検疫所 19)、その他 8 施設であった (図 1)。行政検査の実施は、行政機関の他の施設では 37.5-73.3% で実施されていた。なお、行政検査には医療機関等が自治体と委託契約のもとで実施する行政検査が含まれる。また、行政検査の実施なしの施設は、医療機関や大学等の施設負担での検査実施に加えて、一部自己負担での検査実施 (自費検査) が含まれる (図 2)。自費検査の実施は、診療所 93.3%(42/45 施設)、臨時衛生検査所 80%(20/25 施設) と高い比率であった。陰性証明書有りは、診療所にて高い比率 88.9%(40/45 施設) であった (図 3)。
- 2) 受託件数 (1 日) は、10 件未満 44.2%(527/1191 施設)、11-50 件 35.9%(428/1191 施設)、51-100 件 10.9%(130/1191 施設)、101-200 件 3.9% (47/1191 施設)、201-500 件 2.7%(32/1191 施設)、501-1000 件 1.2% (14/1191 施設) であった (図 4)。
- 3) 測定者の資格は、認定臨床微生物検査技師 (110 名/1161 施設)、遺伝子分析科学認定士 (39 名/1161 施設)、認定臨床染色体遺伝子検査技師 (9 名/1161 施設) の順に多かった。その他、多様な資格者が測定に従事していた (図 5)。
- 4) 検体採取容器は、コバン社製、BD 社製、ピューリタン社製の順に多かった。その他、多様な容器が検査に利用されていた。製品の防漏性の確認と運用 (蓋をしっかりと締め、パラフィルムを使用) が必要である (図 6)。
- 5) 輸送培地は、ウイルス輸送培地 VTM、BD UVT、ウイルス輸送培地極東、SARS-CoV-2 不活化試薬の順に多かった。塩酸グアニジン溶液 5-40% 含有し感染リスクを最小化した製品も利用されていた (SARS-CoV-2 不活化試薬、PCR メディア SG、輸送用スワブキットなど)。培地液量は 80% (399/496 施設) において、推奨の 1-3mL が利用され、その内訳は、3m L、1m L、2 mL の順で多かった。 (図 7)。
- 6) 使用スワブの種類は、コバン FLOQ スワブ 503CS01-E 鼻咽頭用 135 施設、鼻咽頭用フロックスワブ 119 施設、スポンジスワブタイプ R 109 施設の順であった (図 8)。ウイルス量回収が高く最も臨床的感度が高いと報告されているナイロン製の綿球 (コバン FLOQ スワブ 503CS01-E) 以外に、ポリアミド製 (鼻咽頭用フロックスワブ、FLOQ スワブ 534C)、ポリウレタン製 (スポンジスワブタイプ R)、ポリエステル製 (ピュアフロックスワブ) などの多様な素材の綿球が用いられていた (外部精度管理調査の結果を参照)。

- 7) 核酸抽出法は、全自動測定システム（抽出を含む）、簡易抽出、ダイレクト法、磁性ビーズ法、カラム法の順であった。令和2年度調査と比較し、全自動測定システムの比率は上昇し（専用システム 21.3→48.6%）、カラム法の比率が低下した(24.5→7.0%)（図9）。
- 8) 使用検体量は 200, 500, 100 μ L の順で、使用核酸溶液量は 10.5, 20 μ L の順であった（図10）。
- 9) 測定原理は、リアルタイム PCR 法 73.9%(880/1191)と最も多く、その他、LAMP 法、SmartAmp 法など様々な等温核酸増幅法が用いられていた（図11）。
- 10) ルーチンの測定回数は、1回測定が 68.8%(819/1191 施設)、2回測定（再現性確認）が 30.1%(358/1191 施設)であった（図12）。
- 11) プール法の実施施設は、6.4%(63/983 施設)であった。これら施設では、自費検査の実施 61.9%(39/63 施設)、行政検査の実施 74.6%(47/63 施設)であった（図14）。
- 12) 検査導入時における基本性能評価は、自施設評価 18.3%(218/1191 施設)で、81.7%(973/1191 施設)でメーカー公称値を用いていた。検査導入時の妥当性確認・検証の実施比率について、施設カテゴリー別に見ると、医療機関（病院、診療所）において低い傾向が見られた（30%前後）（図15）。
- 13) 検査導入時における評価は、妥当性確認・検証の実施 52.3%（623/1191 施設）、未実施 47.7%（568/1191 施設）であった。導入時の妥当性確認・検証項目は、精度（再現性）、検出感度、特異性について 20-30%の実施率と低かった（図16）。
- 14) 陽性/陰性の判定の基準は、多くの施設で RT-PCR の場合は Threshold Cycle (Ct)値でメーカー指定値の 40、45 を用いていた。LAMP 法の場合は Differential calculation (Df)値でメーカー指定値 0.05 が多く用いられていた（図17）。
- 15) 最小検出感度の分布は、行政検査機関（地方衛生研究所、保健所、検疫所）の多くにおいて、自施設における評価又はメーカー公称値で 10 コピー/アッセイ以下であった。医療機関と衛生検査所（登録、臨時）では、メーカー公称値によれば、10 コピー/アッセイ以下とともに、より高いウイルス量にも分布していた（図18）。

核酸抽出方法別の最小検出感度について、自施設で評価の未設定施設は、全自動システム、簡易抽出、ダイレクト法の順で多く、メーカー公称値を用いていた。核酸抽出方法別の最小検出感度の分布は、自施設評価値・メーカー公称値において、数～数 100 コピー/アッセイと 2 桁のオーダーの違いが見られた。特に、全自動核酸増幅検査装置、簡易抽出、磁性ビーズにおける検出限界の分布の幅が大きい。

い傾向が見られた。自施設評価値は、メーカー公称値との比較で相関が見られる一方、低ウイルス量において広い分布幅の傾向が見られた（図 19）。

1 6) 使用検体種は、鼻咽頭ぬぐい液 1048、唾液 585、喀痰 155、咽頭ぬぐい液 134、気管支肺胞洗浄液 34 施設の順であった(重複回答有り) (表 6)。

1 7) 内部精度管理の実施内容は、管理試料（コントロールまたは患者試料）を用いた内部精度管理の未実施 16.4% (195/1191 施設) であった (図 20-1)。施設カテゴリーの内訳では、病院 86.2%(168/195 施設)、診療所 8.2%(16/195 施設)が未実施であった (図 21)。試薬別では、Xpert Xpress SARS-CoV-2「セフィエド」(ベックマン・コールター) 60 施設、スマートジーン® SARS-CoV-2 (ミズホメディー) 50 施設と管理試料がキット内に同梱されていない試薬が多かった (図 22)。施設カテゴリー別に見ると、内部精度管理の未実施の比率は、診療所 35.6% (16/45 施設)、病院 19.0% (163/883 施設)、地方衛生研究所 16.7% (4/24 施設)、保健所 13.5% (5/37 施設) の順で高かった (図 21)。

内部精度管理用管理試料の入手方法は、キット内に同梱 42.7%(509/1191 施設)、市販品を別途調達 37.3%(444/1191 施設)であった。コントロール測定頻度は、毎ラン 62.5%(454/726 施設)、1 日 1 回 7.3%(53/726 施設)、週 1 回 6.6% (48/726 施設) であった。コントロール使用の頻度が少ない施設が比較的多く見られた。許容範囲（陰性コントロール、ブランクを使用した場合、データのばらつきが容認できる範囲）と管理限界（陽性コントロールを使用した場合、事前のデータのばらつきから統計学的処理で設定した管理できる限界）の指標（Ct 値や、Tt 値など）と基準（数値）は、それぞれ 22.8%(271/1191 施設)、25.1%(299/1191)であり、統計学的な指標を定めた上での内部精度管理を実施している施設は少ない可能性が示唆された (図 20)。

1 8) 測定標準作業書の作成について、独自の標準作業書の作成は自ら作成のみ 52.6%(627/1191 施設)、自ら作成と取扱説明書併用 16.0%(190/1191 施設)、その他 18.7%(223/1191 施設)において取扱説明書にて代用していた。独自の標準作業書の作成について、施設カテゴリー別に見ると、診療所 24.4% (11/45 施設) と低い傾向が見られた。測定標準作業書の記載内容について、検体取り違い防止や結果判定と報告の測定前後のプロセスについての記載は、診療所でそれぞれ 60.0% (27/45 施設)、60.0% (27/45 施設) と低い傾向が見られた (図 23)。

1 9) 偽陽性回避方法として、陰性コントロール使用は 55.5%(661/1191 施設)で、チューブを片手で開かない点の記載は 18.2%(217/1191 施設)と低かった。偽陰性回避方法として、内部コントロール(PCR 工程が適切に進んだことを確認するため

に、サンプルや反応液に増幅標的を加えたもの)使用の記載は 9.8%(117/1191 施設)であった (図 24)。

2 0) 精度確保の方法について、施設カテゴリー別に見ると、厚生労働省の「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」の利用の比率は、病院 32.6%(288/1191 施設)、診療所 28.9%(13/45 施設)、地方衛生研究所 33.3%(8/24 施設)であり、全体 39.2%(467/1191 施設)に比べて低かった (図 25)。

2 1) 要員研修内容は、基本的知識として、性能特性の評価 16.8%(200/1191 施設)、内部外部精度管理 49.6%(591/1191 施設)と低い傾向が見られた。施設カテゴリー別に見ると、研修実施が低い傾向が以下のごとく認められた。品質マネジメントに関する研修については、検疫所 0%(0/19 施設)、地方衛生研究所 4.2%(1/24 施設)、診療所 4.4%(2/45 施設)、保健所 5.4%(2/37 施設)、内部外部精度管理については、診療所 26.7%(12/45 施設)、病院 42.1%(372/883 施設)、性能特性の評価については、地方衛生研究所 4.2%(1/24 施設)、診療所 11.1%(5/45 施設)、保健所 13.5%(5/37 施設)、病院 14.4%(127/883 施設)、検疫所 15.8%(5/19 施設)、バイオリスクマネジメントについては、診療所 6.7%(5/45 施設)、地方衛生研究所 12.5%(3/24 施設)、病院 12.8%(113/883 施設)、保健所 13.5%(5/37 施設)、関連法規は、病院 8.4%(74/883 施設)、診療所 13.3%(6/45 施設)、地方衛生研究所 16.7%(4/24 施設)、臨時衛生検査所 16.0%(4/25 施設)であった (図 25)。

2 2) 第三者認証・認定の取得は、ISO 15189 認定 11.7%(139/1191 施設)、新型コロナウイルス (COVID-19) (ISO 15189) 認定 1.1%(13/1191 施設)、ISO 9001 認証 3.9%(47/1191 施設)であった。重複を除くと第三者認定・認証の取得は 11.8%(140/1191 施設)であった (図 26)。

2 3) 自費検査の測定装置として、AutoAmp (島津製作所) 21%(9/42 施設)、CFX96 /Touch Deep Well/CFX Opus リアルタイム PCR システム (バイオラッド) 7%(3/42 施設)の順で、その他様々な装置が使用されていた。臨時衛生検査所では、TakaraDice/ SystemII/III (タカラバイオ)、QuantStudio 1/3/5/5Dx (サーモフィッシュャーサイエンティフィック)、CFX96 /Touch Deep Well/CFX Opus リアルタイム PCR システムそれぞれ 15%(3/20 施設)であった(図 27)。測定試薬として、診療所では AmpdirectTM 2019-nCoV 検出キット (島津製作所) 24%(10/42 施設)、ID NOW 新型コロナウイルス 2019 (アボット ダイアグノスティクス メディカル) 19%(8/42 施設)、スマートジーン SARS-CoV-2 (ミズホメディー) 12%

(5/42 施設)の順が多かった。臨時衛生検査所では、SARS-CoV-2 Detection Kit - Multi- (東洋紡) 45%(9/20)と半数近くを占め、その他様々であった(図 28)。

2 4) 自費検査の抽出法として、診療所では全自動測定システム 69%(29/42 施設)、臨時衛生検査所では、簡易抽出 50%(10/20 施設)、ダイレクト法 20%(4/20 施設)、磁性ビーズ法 20% (4/20 施設) の順であった(図 29)。

2 5) 自費検査における管理試料を用いた内部精度管理に関して、診療所では 61.9%(26/42 施設)、臨時衛生検査所では 95%(19/20)の実施率であった(図 30)。

II. 外部精度管理調査

1. 外部精度管理調査の結果

1) 全体集計結果（定性）（表 7）

全参加施設にて測定・報告された判定結果は、試料①-⑥について、下表のとおりであった。

表 7-1. 全体集計結果（定性）

	増幅検出プロセス			核酸抽出・増幅検出プロセス		
	試料① 陽性 (100Copies/ アッセイ) (20Copies/ μL)	試料② 陽性 (50Copies/ アッセイ) (10Copies/ μL)	試料③ 陰性	試料④ 陽性 (50Copies/ アッセイ) (10Copies/ μL)	試料⑤ 陽性 (100Copies/ アッセイ) (20Copies/ μL)	試料⑥ 陰性
正解	+	+	-	+	+	-
回答数	518	518	518	1105	1105	1097
正答率	98.8%	99.0%	99.4%	93.0%	96.4%	99.3%
陰性数	6	5	515	77	40	1089
陰性率	1.2%	1.0%	99.4%	7.0%	3.6%	99.3%
陽性数	512	513	3	1028	1065	8
陽性率	98.8%	99.0%	0.6%	93.0%	96.4%	0.7%

表 7-2. 施設カテゴリー別の全体集計結果（定性）

	増幅検出プロセス						核酸抽出・増幅検出プロセス											
	試料① 陽性			試料② 陽性			試料③ 陰性			試料④ 陽性			試料⑤ 陽性			試料⑥ 陰性		
	-	+	正 答 率 %	-	+	正 答 率 %	-	+	正 答 率 %	-	+	正 答 率 %	-	+	正 答 率 %	-	+	正 答 率 %
保健所	0	30	100	1	29	96.7	30	0	100	1	36	97.3	0	37	100	36	1	97.3
地方衛生研究所	0	24	100	0	24	100	24	0	100	0	24	100	0	24	100	24	0	100
検疫所	0	18	100	0	18	100	18	0	100	0	19	100	0	19	100	19	0	100
病院	2	294	99.3	2	294	99.3	295	1	99.7	65	739	91.9	33	769	95.9	792	4	99.5
診療所	0	9	100	0	9	100	9	0	100	7	35	83.3	6	38	86.4	41	1	97.6
登録衛生検査所	2	112	98.2	1	113	99.1	113	1	99.1	2	144	98.6	1	145	99.3	145	1	99.3
臨時衛生検査所	1	23	95.8	1	23	95.8	24	0	100	1	24	96.0	0	25	100	25	0	100
その他 ※参考	1	4	80.0	0	5	100	4	1	80.0	1	7	87.5	0	8	100	7	1	87.5

※その他（大学、研究機関等） n=10 に満たないため施設カテゴリーとして、参考表示とした。

2) 全体集計結果

装置別① (表 8-1)

	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
ABI7500/7500Fast/ 7500Fast DX	0	16	100%	0	16	100%	16	0	100%	0	17	100%	0	17	100%	17	0	100%
ABI7900, ViiA7 QuantStudio6/7/12K/6or7pro	0	4	100%	0	4	100%	4	0	100%	0	5	100%	0	5	100%	5	0	100%
AutoAmp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	61	98.4%	2	60	96.8%	60	2	96.8%
BD MAX	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	36	97.3%	0	37	100%	31	1	96.9%
CFX96/Touch Touch Deep Well Opus 96	0	72	100%	0	72	100%	72	0	100%	0	73	100%	0	73	100%	73	0	100%
FilmArray	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	21	100%	0	21	100%	21	0	100%
Gene Xpert	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	111	100%	0	111	100%	111	0	100%
GENECUBE	0	24	100%	0	24	100%	24	0	100%	3	54	94.7%	1	56	98.2%	57	0	100%
ID NOWインスツルメント	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	60	95.2%	2	60	96.8%	61	1	98.4%
LightCycler96	0	41	100%	0	41	100%	41	0	100%	0	41	100%	0	40	100%	40	0	100%

装置別②(表 8-2)

	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
Loopamp EXIA/LF-160	0	100	100%	0	100	100%	100	0	100%	1	20	95.2%	0	21	100%	21	0	100%
QuantStudio1/3/5/5Dx	0	81	100%	0	81	100%	81	0	100%	1	83	98.8%	0	84	100%	84	0	100%
Smart Gene	-	-	-	-	-	-	-	-	-	14	124	89.9%	5	134	96.4%	137	1	99.3%
StepOne/StepOnePlus+R7	0	10	100%	0	10	100%	10	0	100%	0	10	100%	0	10	100%	10	0	100%
Takara Dice/System II/III	1	31	96.9%	2	30	93.8%	32	0	100%	0	33	100%	0	33	100%	33	0	100%
TRCReady-80	0	1	100%	0	1	100%	1	0	100%	24	63	72.4%	8	79	90.8%	87	0	100%
コバスz480、LightCycler480 II	0	66	100%	0	66	100%	66	0	100%	0	68	100%	0	68	100%	68	0	100%
ジーンリード エイト/ エリート インジニアス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	19	95.0%	0	20	100%	20	0	100%
ミュータスワコーg1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	0	0%	17	1	5.6%	18	0	100%
汎用PCR	1	10	90.9%	0	11	100%	10	1	90.9%	2	10	83.3%	1	11	91.7%	11	1	91.7%
その他	4	54	93.1%	3	55	94.8%	56	2	96.6%	8	109	93.2%	4	114	96.6%	114	2	98.3%

試薬別①(表 9-1)

	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
2019新型コロナウイルスRNA検出試薬 TRCReady SARS-CoV-2 i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	63	73.3 %	8	78	90.7 %	86	0	100 %
Ampdirect 2019-nCoV検出キット	0	80	100 %	0	80	100 %	80	0	100 %	1	144	99.3 %	2	142	98.6 %	142	2	98.6 %
BD マックス SARS-CoV-2, BD MAX ExK TNA-3セット/BDMAX PCR Cartridges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	36	97.3 %	0	37	100 %	31	1	96.9 %
FilmArray呼吸器パネル2.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	21	100 %	0	21	100 %	21	0	100 %
ID NOW 新型コロナウイルス2019	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	60	95.2 %	2	60	96.8 %	61	1	98.4 %
LeaDEA VIASURE SARS-CoV-2 Kit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	16	100 %	0	16	100 %	16	0	100 %
LightMixRModular SARSCoV(COVID19)E/Ngene	0	24	100 %	0	24	100 %	24	0	100 %	0	26	100 %	0	26	100 %	26	0	100 %
Loopamp 新型コロナウイルス2019 (SARS-CoV-2) 検出試薬キット	0	100	100 %	0	100	100 %	100	0	100 %	1	20	95.2 %	0	21	100 %	21	0	100 %
SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi	0	76	100 %	0	76	100 %	75	1	98.7 %	0	76	100 %	0	76	100 %	76	0	100 %
SARS-CoV-2 Direct Detection RTqPCR Kit	1	42	97.7 %	2	41	95.3 %	43	0	100.0 %	0	43	100 %	0	43	100 %	42	1	97.7 %
SARS-CoV-2 RT-qPCR Detection Kit Ver.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	2	100 %	0	2	100 %	2	0	100 %

試薬別②(表 9-2)

	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
Takara SARS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット	3	54	94.7 %	2	55	96.5 %	56	1	98.2 %	2	56	96.6 %	2	56	96.6 %	56	1	98.2 %
Xpert Xpress SARS-CoV-2 「セフィエド」	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	111	100 %	0	111	100 %	111	0	100 %
コバス SARS-CoV-2 and/or Flu A/B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	21	100 %	0	21	100 %	21	0	100 %
コバスLiat SARS-CoV-2 & Flu A/B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	10	100 %	0	10	100 %	10	0	100 %
ジーンキューブHQ SARS-CoV-2	0	22	100 %	0	22	100 %	22	0	100 %	3	43	93.5 %	1	45	97.8 %	46	0	100 %
スマートジーン SARS-CoV-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	102	91.1 %	5	107	95.5 %	111	1	99.1 %
新型コロナウイルス検出キット スマートジーン 新型コロナウイルス 検出試薬	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	20	87.0 %	0	24	100 %	23	0	100 %
ミュータスワコー COVID-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	0	0%	17	1	5.6 %	18	0	100 %
その他	1	42	97.7 %	0	43	100 %	42	1	97.7 %	1	46	97.9 %	0	47	100 %	46	1	97.9 %

装置試薬別①(表 10-1)

装置	試薬	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
		-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
AutoAmp	Ampdirect 2019-nCoV検出キット	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	61	98.4%	2	60	96.8%	60	2	96.8%
BD MAX	BD マックス SARS-CoV-2 BD MAX ExK TNA-3セット BDMAX PCR Cartridges	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	36	97.3%	0	37	100%	31	1	96.9%
CFX96/Touch Touch Deep Well, Opus 96	Ampdirect 2019-nCoV検出キット	0	19	100%	0	19	100%	19	0	100%	0	20	100%	0	20	100%	20	0	100%
	SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi	0	23	100%	0	23	100%	23	0	100%	0	23	100%	0	23	100%	23	0	100%
FilmArray	FilmArray呼吸器パネル2.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	21	100%	0	21	100%	21	0	100%
Gene Xpert	Xpert Xpress SARS-CoV-2「セファイエド」	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	111	100%	0	111	100%	111	0	100%
GENECUBE	ジーンキューブHQ SARS-CoV-2	0	22	100%	0	22	100%	22	0	100%	3	43	93.5%	1	45	97.8%	46	0	100%

装置試薬別②(表 10-2)

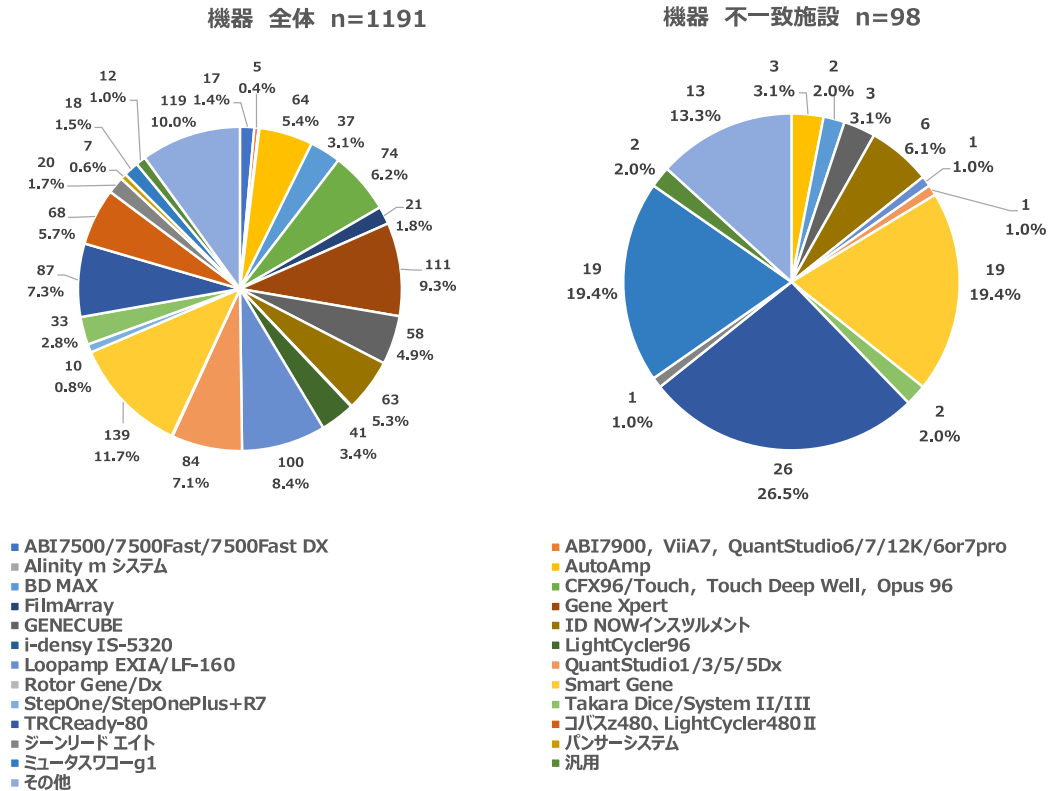
装置	試薬	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
		-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
ID NOWインストゥルメント	ID NOW 新型コロナウイルス2019	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	60	95.2%	2	60	96.8%	61	1	98.4%
LightCycler96	Ampdirect 2019-nCoV検出キット	0	20	100%	0	20	100%	20	0	100%	0	20	100%	0	19	100%	19	0	100%
Loopamp EXIA/LF-160	Loopamp 新型コロナウイルス2019 (SARS-CoV-2) 検出試薬キット	0	100	100%	0	100	100%	100	0	100%	1	20	95.2%	0	21	100%	21	0	100%
QuantStudio1/3/5/5Dx	Ampdirect 2019-nCoV検出キット	0	13	100%	0	13	100%	13	0	100%	0	15	100%	0	15	100%	15	0	100%
QuantStudio1/3/5/5Dx	SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi	0	14	100%	0	14	100%	14	0	100%	0	14	100%	0	14	100%	14	0	100%
QuantStudio1/3/5/5Dx	Takara SARS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット	0	12	100%	0	12	100%	12	0	100%	0	12	100%	0	12	100%	12	0	100%
Smart Gene	スマートジーン SARS-CoV-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10	102	91.1%	5	107	95.5%	111	1	99.1%
Smart Gene	新型コロナウイルス検出キット スマートジーン 新型コロナウイルス 検出試薬	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	20	87.0%	0	24	100%	23	0	100%

装置試薬別③(表 10-3)

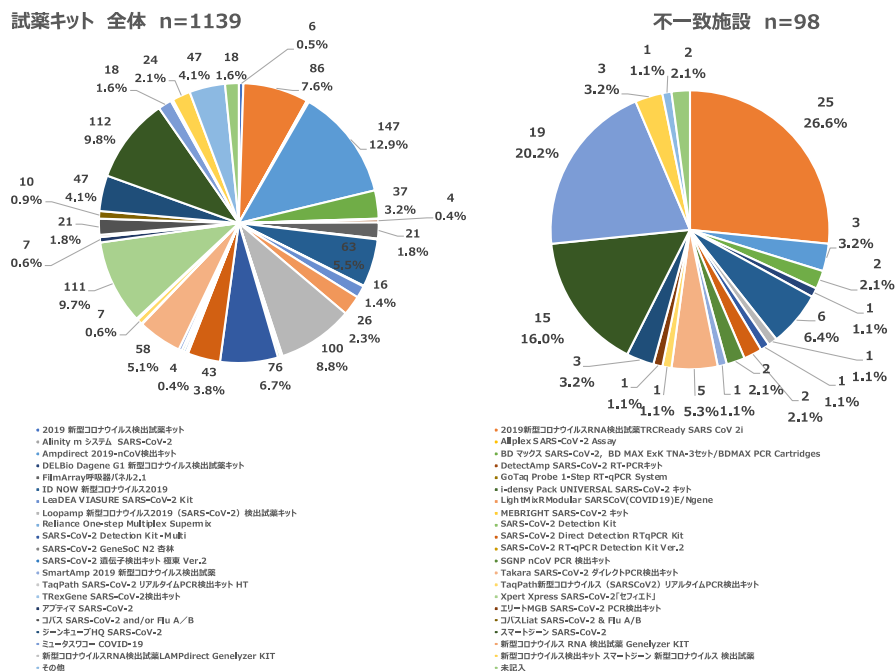
装置	試薬	試料① +			試料② +			試料③ -			試料④ +			試料⑤ +			試料⑥ -		
		-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率	-	+	正答率
Takara Dice/System II/III	Takara SARS-CoV-2 直接PCR検出キット	0	10	100%	1	9	90.0%	10	0	100%	0	11	100%	0	11	100%	11	0	100%
TRCReady-80	2019新型コロナウイルス RNA検出試薬 TRCReady SARS-CoV-2 i	-	-	-	-	-	-	-	-	-	23	63	73.3%	8	78	90.7%	86	0	100%
コバズ480、LightCycler480 II	Ampdirect 2019-nCoV検出キット	0	18	100%	0	18	100%	18	0	100%	0	18	100%	0	18	100%	18	0	100%
コバズ480、LightCycler480 II	LightMixRModular SARSCoV (COVID19) E/Ngene	0	23	100%	0	23	100%	23	0	100%	0	25	100%	0	25	100%	25	0	100%
ジーンリード エイト	LeaDEA VIASURE SARS-CoV-2 Kit	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	15	100%	0	15	100%	15	0	100%
ミュータスクワー-g1	ミュータスクワー COVID-19	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18	0	0%	17	1	5.6%	18	0	100%

2. 判定不一致の施設背景

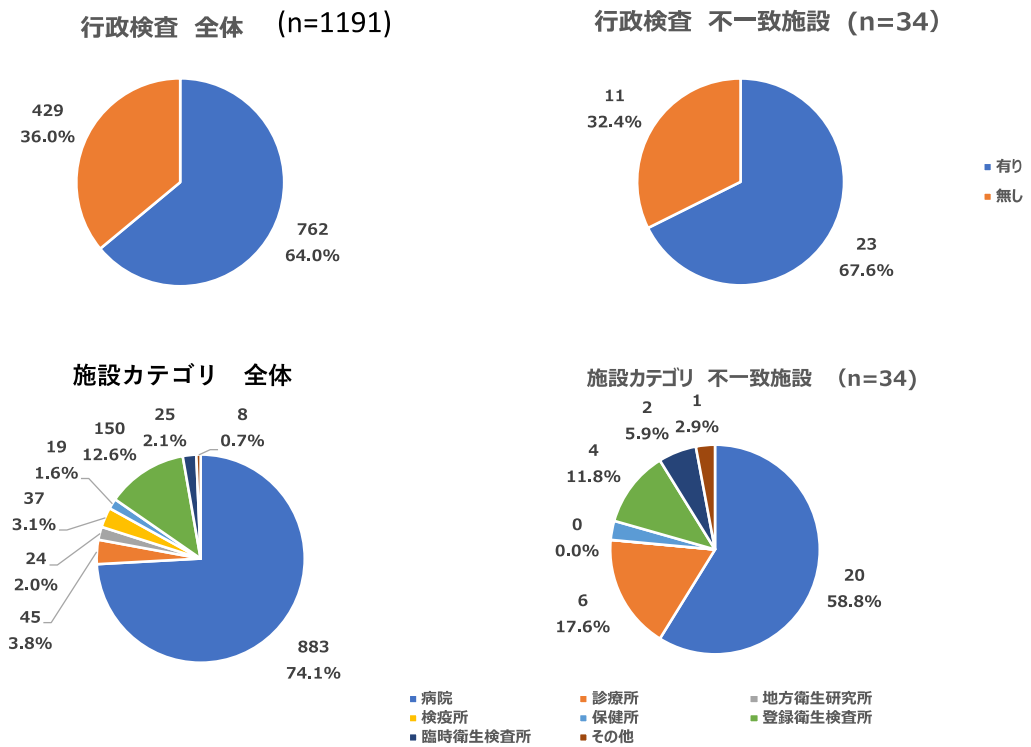
1) 測定機器(図3 1)



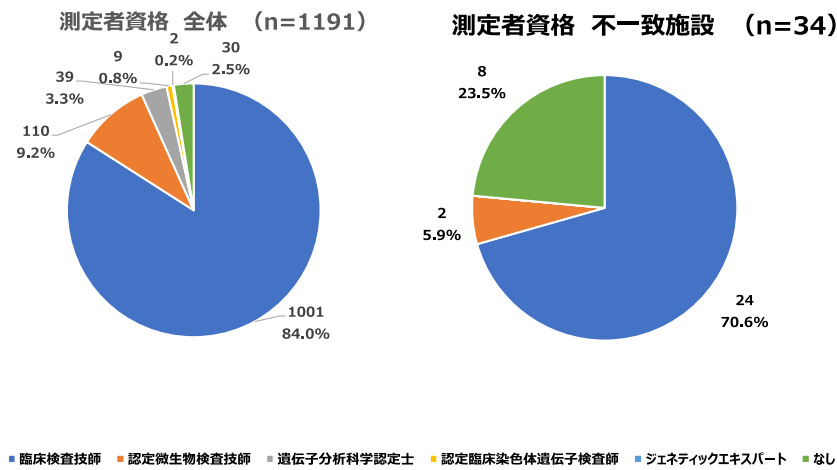
2) 測定試薬キット (図3 2)



3) 施設カテゴリー(図 3 3)

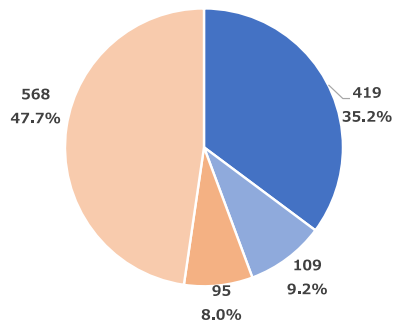


4) 測定者資格(図 3 4)

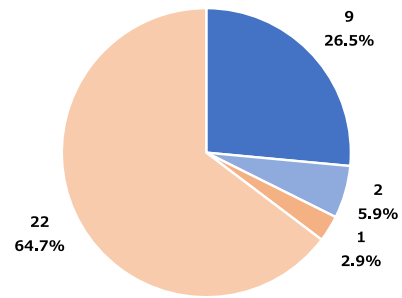


5) 試薬薬事承認の有無と導入時妥当性確認・検証の有無(図3 5)

導入時の妥当性確認・検証 全体 n=1191



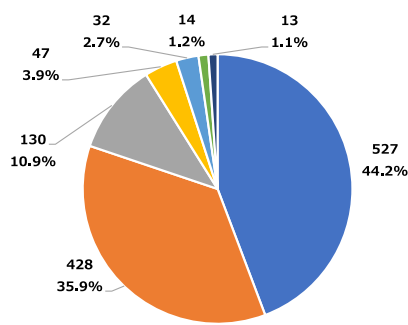
導入時の妥当性確認・検証 不一致施設 (n=34)



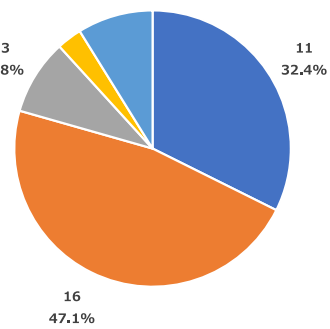
■ 妥当性確認有、検証有 ■ 妥当性確認有、検証無 ■ 妥当性確認無、検証有 ■ 妥当性確認無、検証無

6) 受託件数(図3 6)

現状受託件数/日 全体 n=1191

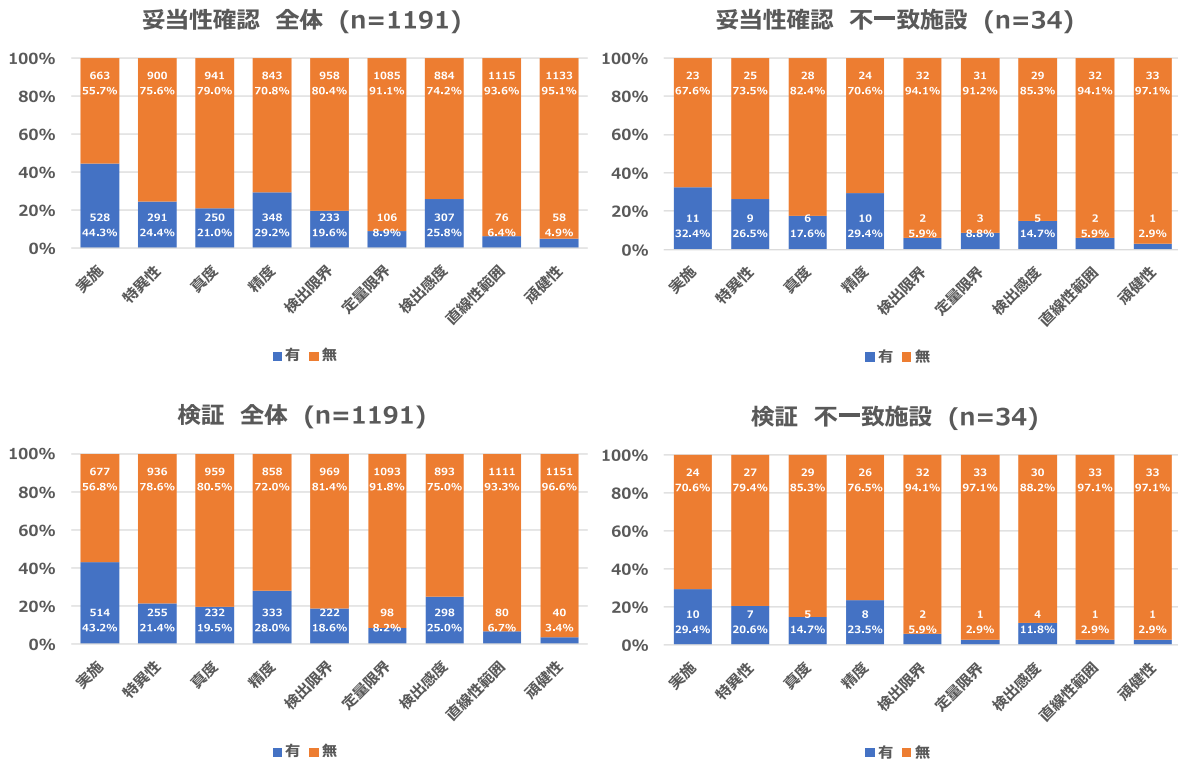


現状受託件数/日 不一致施設 n=34

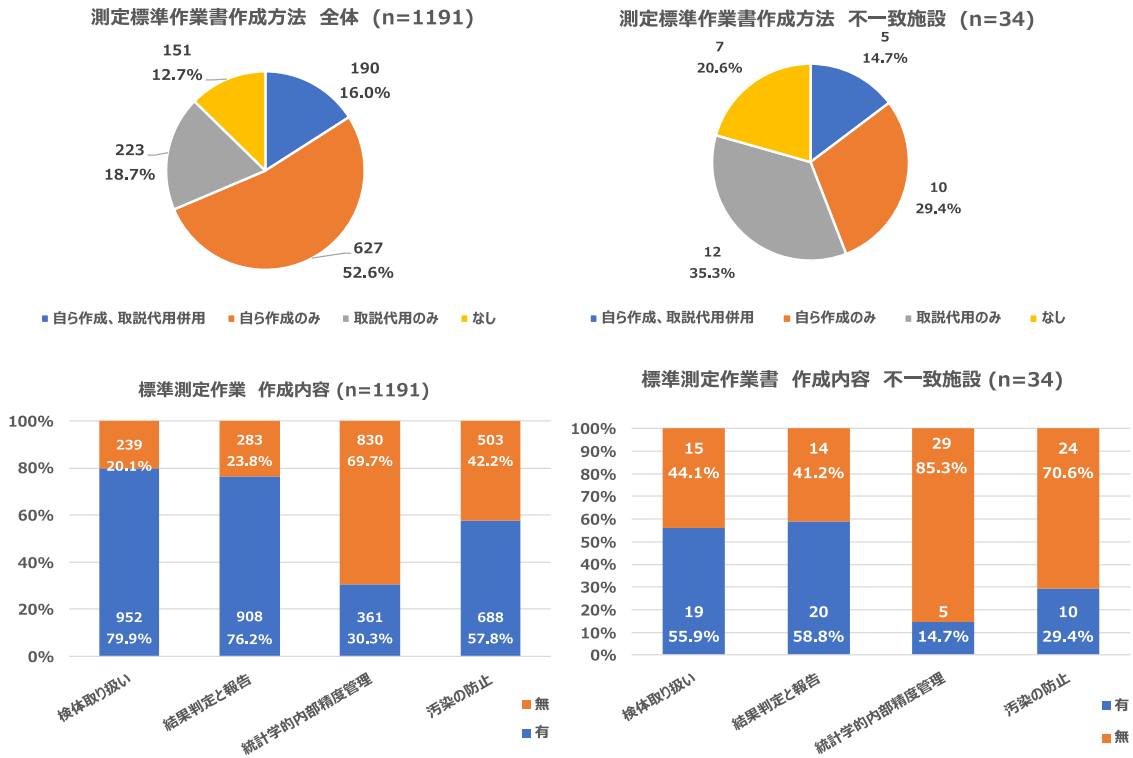


■ 10未満 ■ 11-50 ■ 51-100 ■ 101-200 ■ 201-500 ■ 501-1000 ■ 1000以上

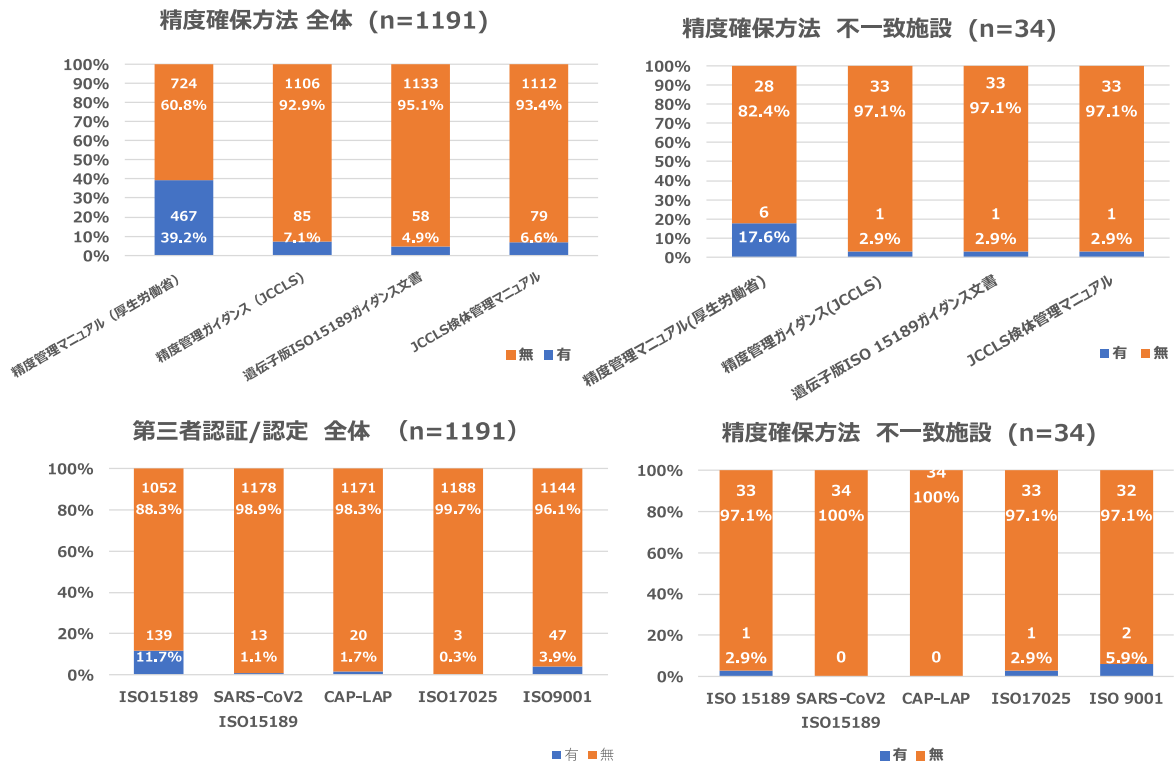
7) 導入時の性能評価項目 (妥当性確認・検証) (図 3 7) (n=34)



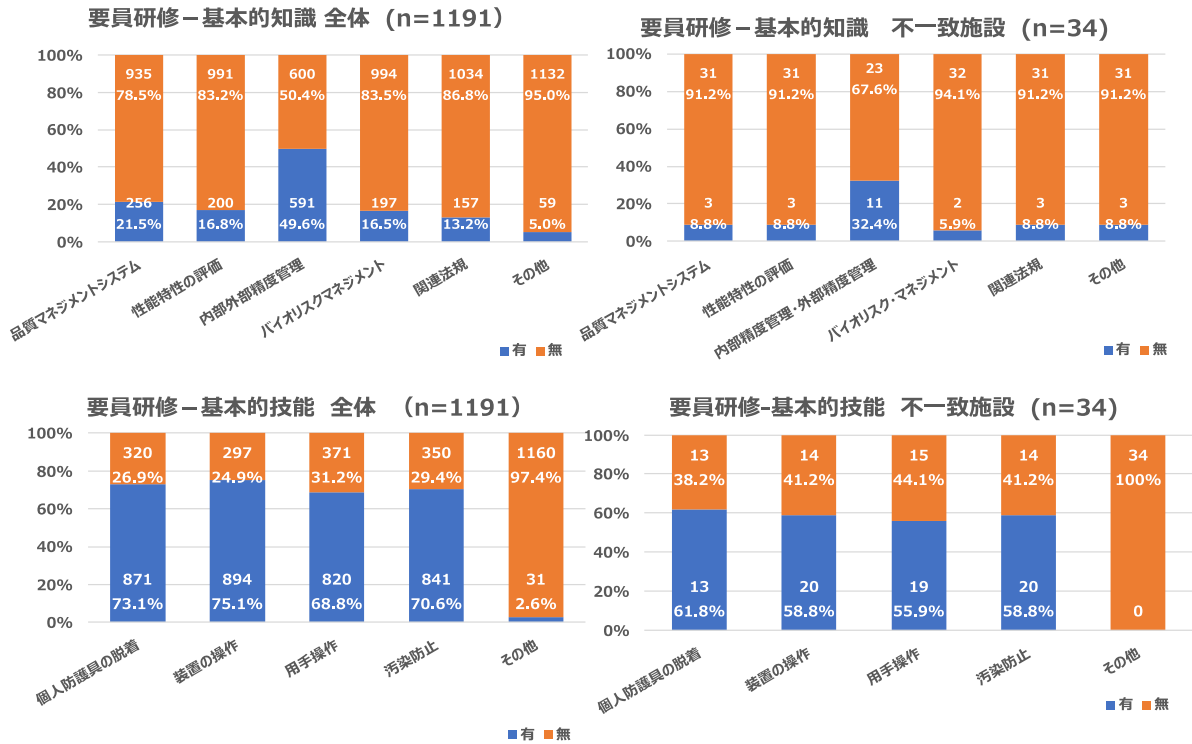
8) 測定標準作業書の作成と内容 (図 3 8)



9) 精度の確保の方法 (図39)

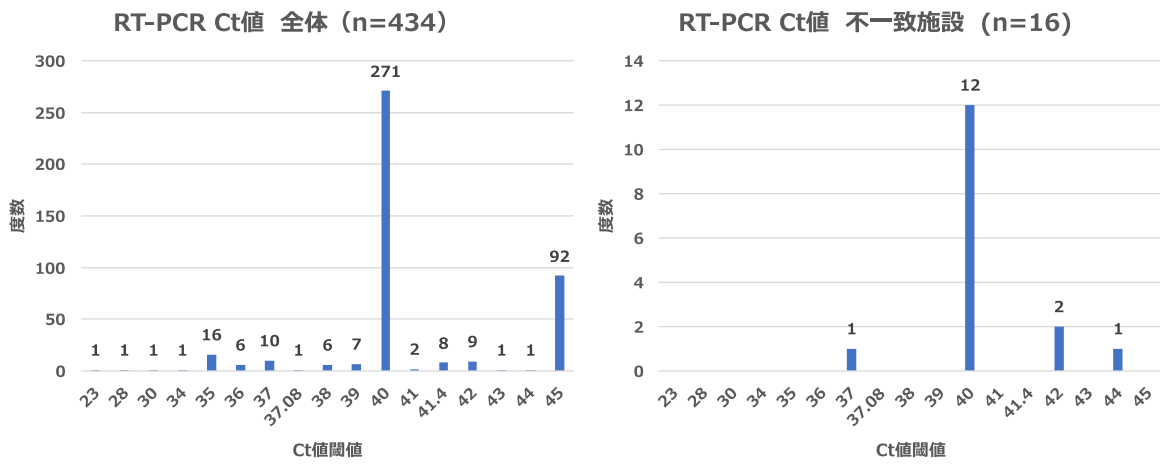


10) 要員の研修 (図40)

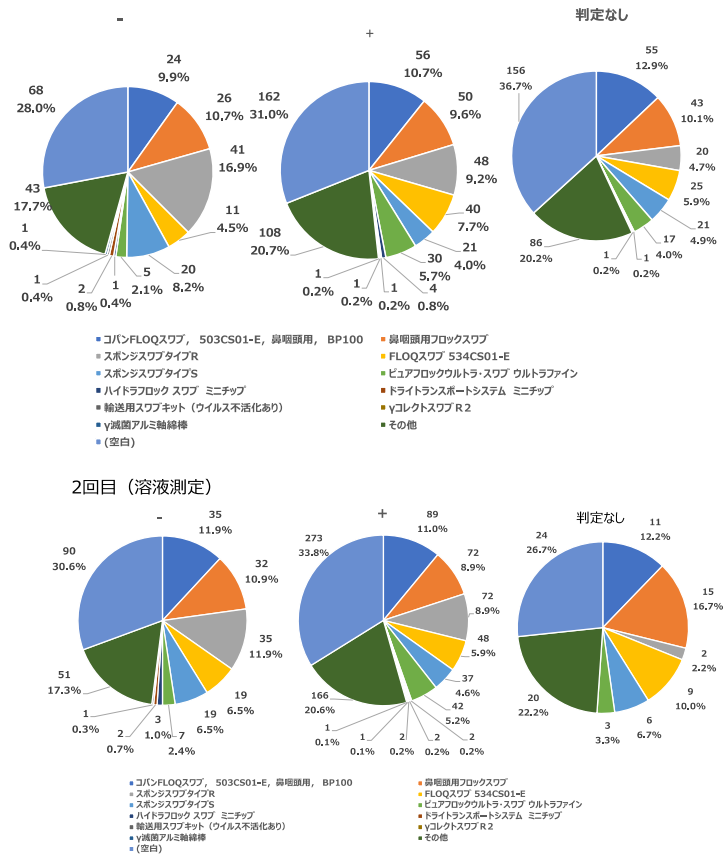


1 1) 陽性/陰性の判定指標(図 4 1)

陽性/陰性の判定指標



1 2) 使用スワブ 試料④1回目 (スワブ測定) と 2回目 (溶液測定) (図 4 2)



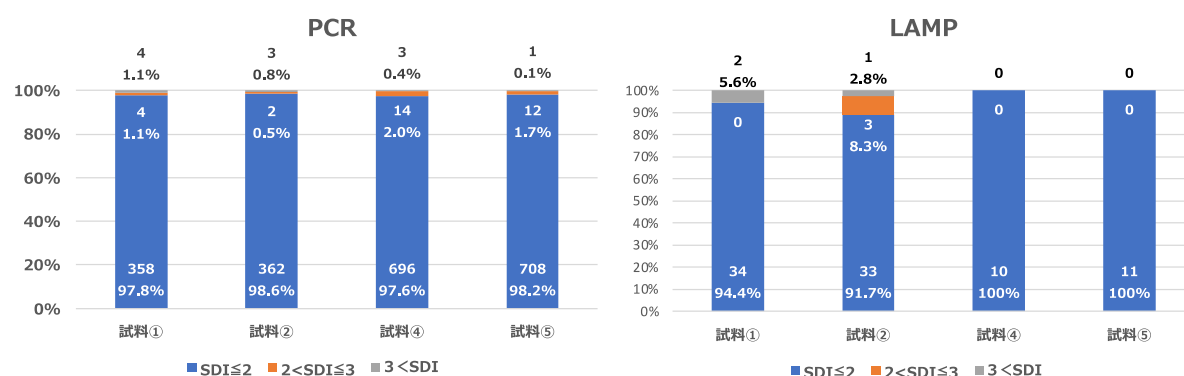
3. 定性再現性不良の施設背景

1) 試薬キット(表 11)

	試料①	試料②	試料③
一致	418	418	418
不一致	3	0	1

機器	試薬
LightCycler96	その他
GENECUBE	ジーンキューブHQ SARS-CoV-2
CFX96/Touch, Touch Deep Well, Opus 96	SmartAmp 2019 新型コロナウイルス検出試薬
その他	SARS-CoV-2 Detection Kit -Multi

4. 定量的指標：SDI 分布（全体集計結果）（図 4 3）



PCR

	試料①	試料②	試料④	試料⑤
n	366	367	713	721
Mean	34.1	35.0	36.4	35.7
SD	2.2	2.3	3.5	3.7
SDI ≤ 2	358	362	696	708
2 < SDI ≤ 3	4	2	14	12
3 < SDI	4	3	3	1

LAMP(分)

	試料①	試料②	試料④	試料⑤
n	36	36	10	11
Mean	18.8	20.8	16.8	16.5
SD	3.2	3.6	0.8	2.0
SDI ≤ 2	34	33	10	11
2 < SDI ≤ 3	0	3	0	0
3 < SDI	2	1	0	0

5. 外部精度管理調査の結果のまとめと考察

1) 新型コロナウイルス核酸検査の測定項目において、多様な測定システムが利用されている状況『1. カラム等による抽出精製を実施している場合 (RT-PCR、LAMP 等)、2. 簡易抽出法 (ダイレクト PCR 等) にて RT-PCR を実施している場合、3. 全自動核酸増幅検査装置を利用し実施している場合』を踏まえて、測定試料として、増幅検出プロセスを評価する試料と核酸抽出・増幅検出の全プロセスを評価する試料の2種類 (それぞれ、異なる濃度の3試料①②③および④⑤⑥) 計6試料セットを準備し、各施設に送付した。試料④⑤⑥に関しては、150 μ L の内、50 μ L はスワブ吸着後に測定 (1回目) し、残100 μ L 溶液は直接に測定 (2回目) とした (計2回の測定)。

その結果、全参加施設にて測定・報告された各測定試料の判定結果は、正答率93.0-99.4%と全体として良好な成績であった。なお、試料④⑤について2回測定の内、何れか陽性結果の場合、正解とした。

試料別の誤判定率は、試料①1.2% (6/518)、試料②1.0%(5/518)、試料③0.6%(3/518)、試料④7.0%(77/1105)、試料⑤3.6%(40/1105)、試料⑥0.7%(8/1097)であった (表7)。(カッコ内の数は施設数)

2) 装置、試薬別に見ると、装置と試薬の組み合わせで、10施設以上の場合を独立して取り扱う測定法群 (peer group ピアグループ) として解析した。その結果、21のピアグループが構成された。

装置と試薬の組み合わせ別に詳細を以下に示す。核酸抽出・増幅検出プロセス評価用の陽性試料④⑤、陰性試料⑥の誤判定は、それぞれ AutoAmp/Ampdirect 2019-nCoV 検出キット (島津製作所) において、1.6%(1/62)、3.2%(2/62)、3.2%(2/62)、BD MAXBD マックス SARS-CoV-2/BD MAX ExK TNA-3 セット BDMAX PCR Cartridges (日本 BD) において、2.7%(1/37)、0%(0/37)、3.1%(1/32)、GENECUBE/ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2 (東洋紡) にて、6.5%(3/46)、2.2%(1/46)、0%(0/46)、ID NOW インスツルメント/ID NOW 新型コロナウイルス 2019 (アボット ダイアグノスティクス メディカル) において、4.8%(3/63)、3.2%(2/62)、1.6%(1/62)、Loopamp EXIA/LF-160/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) において、4.8%(1/21)、0%(0/21)、0%(0/21)、Smart Gene/スマートジーン SARS-CoV-2 (ミズホメディー) にて、8.9%(10/112)、4.5%(5/112)、0.9%(1/112)、Smart Gene/新型コロナウイルス検出キットスマートジーン新型コロナウイルス 検出試薬 (ミズホメディー) において、13.0%(3/23)、0%(0/24)、0%(0/23)、TRCReady-802019 新型コロナウイルス RNA 検出試薬/TRCReady SARS CoV 2

(東ソー)において、26.7%(23/86)、9.3%(8/86)、0%(0/86)、装置ミュータスワコー-g1/試薬ミュータスワコー COVID-19 (富士フイルム和光純薬)にて、100%(18/18)、94.4%(17/18)、0%(0/18)であった(表10)。

3) 不一致施設は98施設に認められた。試料④⑤での不一致(偽陰性結果)は、測定システムに依存する傾向が見られ、SmartGene(19施設)、TRCReady(26施設)、ミュータスワコー-g1(19施設)使用施設に多く認められた(計64施設)(図31)。不一致施設の特性を知るため、これらを除いた34施設について集計した。施設カテゴリー別では診療所の比率17.6%(6/34施設)が参加施設全体での比率3.8%(45/1191施設)に比べて高かった(図33)。測定者資格では資格なしの比率23.5%(8/34施設)が参加施設全体での比率2.5%(30/1191施設)に比べて高かった(図34)。導入時妥当性確認・検証なしの比率64.7%(22/34施設)が参加施設全体での比率47.7%(568/1191施設)に比べて高かった(図35)。

測定標準作業書の作成では、自ら作成のみの比率29.4%(10/34施設)が参加施設全体での比率52.6%(627/1191施設)に比べて低かった。不一致施設における測定標準作業書の記載内容では、検体取り扱いの記載の比率55.9%(19/34施設)が参加施設全体での比率79.9%(952/1191施設)に比べて低かった。結果判定と報告の記載の比率58.8%(20/34施設)が参加施設全体での比率76.2%(908/1191施設)に比べて低かった。汚染防止の記載の比率29.4%(10/34施設)が参加施設全体での比率57.8%(688/1191施設)に比べて低かった(図38)。

精度確保の方法では、厚生労働省の「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」の利用の比率17.6%(6/34施設)が参加施設全体での比率39.2%(467/1191施設)に比べて低かった。

要員研修内容では、内部・外部精度管理の比率32.4%(11/34施設)が参加施設全体での比率49.6%(591/1191施設)に比べて低かった(図39)。

4) 核酸増幅検出プロセス評価用の陽性試料①②において、偽陰性結果の誤判定がそれぞれ6、5施設に見られた(表7-1)。その要因として、当該施設への聞き取りによれば、試料の取り違いが2施設、試料の取扱いエラーの可能性が1施設、測定試薬の管理の不適切さの可能性(凍結融解の繰り返し)が1施設、陽性/陰性の判定指標の設定の不適切さの可能性が2施設で考えられた。その2施設でTakara Dice/System II/IIITakara SARS-CoV-2ダイレクトPCR検出キットが用いられていた。その他の偽陰性結果の誤判定要因は、検出限界の未確認または再現性不良が考えられた。

5) 増幅検出プロセス評価用の陰性試料③において、偽陽性結果の誤判定3件は、その要因として、当該施設への聞き取りによれば、試料の取り違いの可能性が2

施設、陽性/陰性の判定指標の設定の不適切さの可能性が1施設で確認された（表7-1）。核酸抽出・増幅検出プロセス評価用の陰性試料⑥において、偽陽性結果の誤判定8件は、その要因として、当該施設への聞き取りによれば、試料の取り違いの可能性が5施設、キャリアオーバー汚染による偽陽性結果の可能性が2施設、判定結果の転記ミスの可能性が1施設で確認された（表7-1）。

誤判定結果の要因について、施設への聞き取り調査の結果をまとめると、試料の取り違い5施設15件（陽性試料①2件、陰性試料③2件、陽性試料④2件、陽性試料⑤4件、陰性試料⑥5件）、キャリアオーバー汚染2施設2件（陰性試料⑥）、測定試薬の管理の不適切さの可能性1施設2件（陽性試料①、②各1件）、試料の取扱いエラーの可能性1施設1件（陽性試料②）、陽性/陰性の判定指標の設定の不適切さの可能性3施設4件（陽性試料①1件、陽性試料②2件、陰性試料③1件）、判定結果の転記ミスの可能性1施設1件（陰性試料⑥）、その他は検出限界の未確認または再現性不良の可能性となった。

6) スワブの綿球の材質の違いが検出結果に影響することが報告されている。本調査において、多様な材質の綿球が利用されていることが明らかとなった。その影響を知るため、核酸抽出・増幅検出プロセス評価用の試料④⑤⑥に関しては、150 μ Lの内、50 μ Lはスワブ吸着後に測定（1回目）、残100 μ L溶液は直接の測定（2回目）とした（計2回の測定）。1回目と2回目の測定結果において、スワブの綿球の分布を集計した結果、明らかな影響は確認されなかった（図42）。スワブの種類が明記されていない施設が32.5%（387/1191施設）と多く、分析結果の解釈において考慮する必要があるものの、検出への影響に関して、スワブ種類は適正なものが利用されていることが示唆された。この結果は、スワブ供給が枯渇した場合の代用となる製品の選択において参考となる。なお、スワブの種類の影響の詳細を知るには、気道の上皮細胞の吸着性を見るために、本調査で用いたウイルス溶液でなく患者検体を用いた評価が必要と考えられる。

上述のとおり、誤判定結果の要因について、施設への聞き取り調査の結果をまとめると、試料の取り違い5施設15件、キャリアオーバー汚染2施設2件、測定試薬の管理の不適切さの可能性1施設2件、試料の取扱いエラーの可能性1施設1件、陽性/陰性の判定指標の設定の不適切さの可能性3施設4件、判定結果の転記ミスの可能性1施設1件となった。これらに共通する誤判定の要因として、施設において構築した測定前と測定後の手順が測定標準作業書の記載に盛り込まれていない、または遵守出来ていないことが背景要因として考えられた。

偽陽性、偽陰性に共通する誤判定の要因として、施設における妥当性確認・検証が行われていないことや、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十分にされていないことが背景要因として考えられた。偽陰性の誤判定については、十分な検出限界・分析感度が確保できていないことも背景要因として考えられた。また、配布した試料の擬似ウイルスの核酸抽出効率の低下も一因として考えられた。

- 7) 2回測定にて再現性を確認する増幅検出プロセス評価用の陽性試料①、②、陰性試料③において、定性再現性不良（陽性と陰性結果）がそれぞれ、0.7%(3/418)、0% (0/418) 、0.2%(1/418)の施設に認められた（表 11）。これらの施設では、様々な測定装置と試薬の組み合わせが用いられていた。施設カテゴリーの内訳は、病院 2 施設、登録衛生検査所 1 施設、臨時衛生検査所 1 施設であった。
- 8) 定量的指標 Ct の全体集計結果は、SDI（参加施設の値が平均から何倍の SD 標準偏差分ずれているかを表す）分布について、 $SDI \leq 2$ 、 $2 < SDI \leq 3$ 、 $3 < SDI$ の 3 群に分けて、施設個別データとして報告した。PCR 法使用の $3 < SDI$ の施設は、①1.1%(4/358)、②0.8%(3/362)、④0.4%(3/696)、⑤0.1%(1/708)であった（図 43）。

III. プール法の外部精度管理調査

1. プール法の外部精度管理調査結果

1) 全体集計結果（表 12）

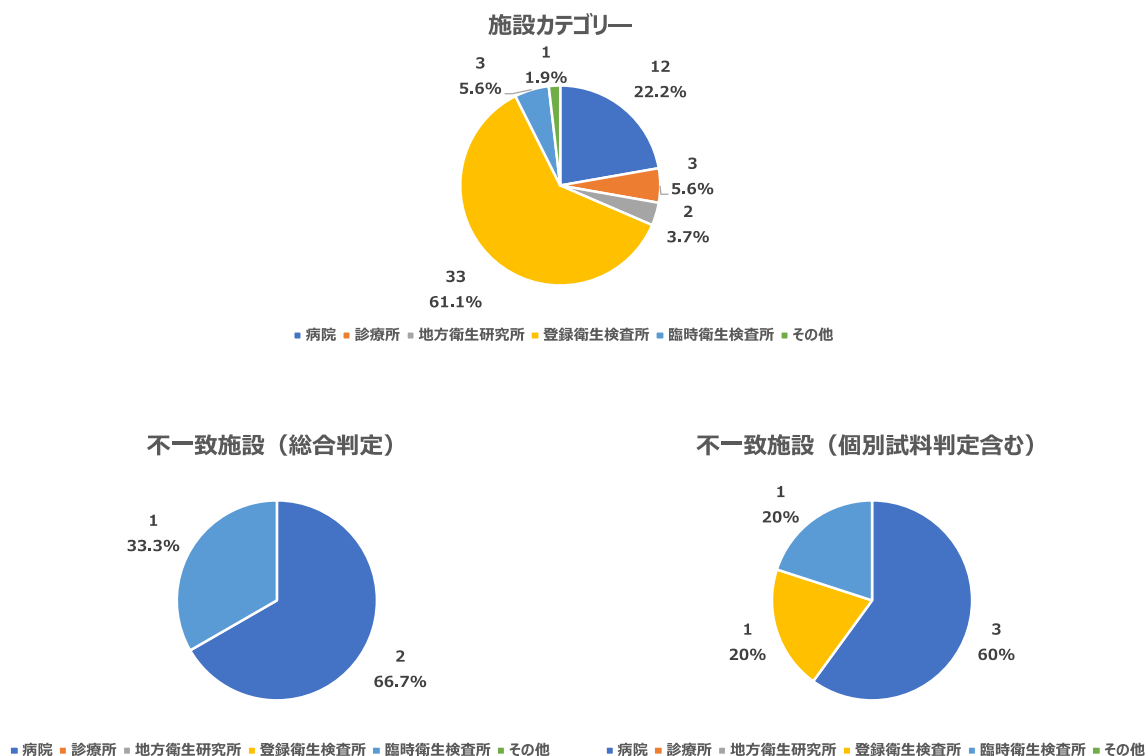
全参加施設にて測定・報告された判定結果は、試料 X-Z について、下表のとおりであった。

プール法全体集計結果

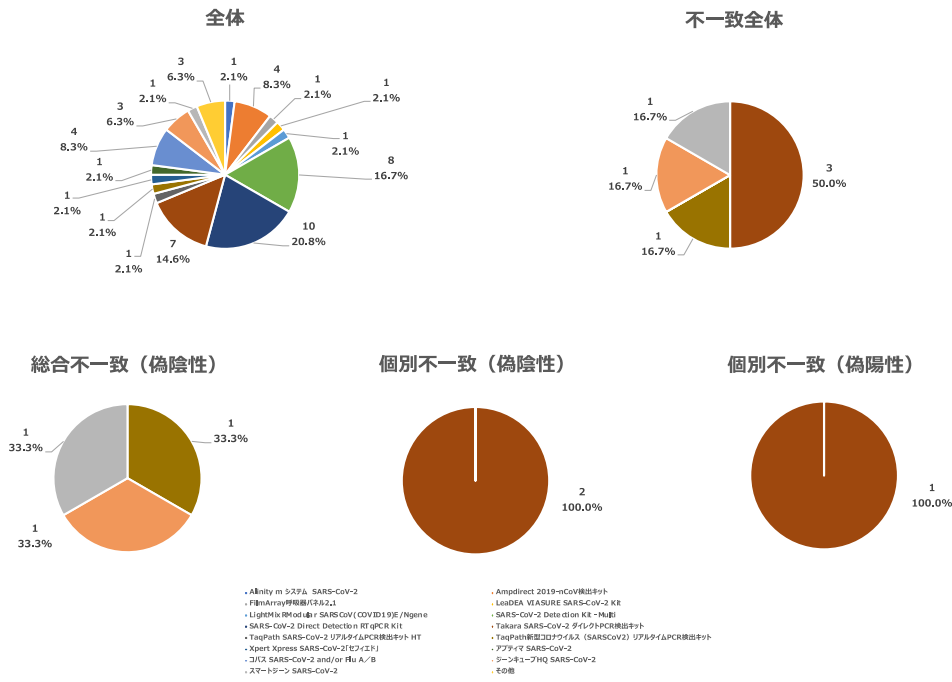
		プールX (超低濃度陽性)			プールY (低濃度陽性)			プールZ (陰性)		
		+	-	正答率	+	-	正答率	+	-	正答率
総合判定		51	3	94.4%	54	0	100%	0	54	100
個別試料 判定	1	0	51	100%	0	54	100%	-	-	-
	2	49	2	96.1%	0	54	100%	-	-	-
	3	1	50	98.0%	0	54	100%	-	-	-
	4	0	51	100%	0	54	100%	-	-	-
	5	0	51	100%	54	0	100%	-	-	-

2. プール法の判定不一致の施設背景

1) プール法の判定不一致（施設カテゴリー別） 図 4 4



2) プール法の誤判定 試薬別 (図45)



3. プール法の外部精度管理調査の結果のまとめと考察

1) プール法について

プール検査法の外部精度管理調査は、「新型コロナウイルス感染症(COVID-19)検体プール検査法の指針」を参考として、試料の準備、測定実施と成績評価を行った。指針では、プール検体の検出限界を 100Copies/アッセイ（目安として Ct35）として、Ct30-35 の陽性検体を偏りなく含むことを推奨している。実際の運用では、5 検体より多い 10 検体プールで運用する場合に検体希釈により高頻度の偽陰性結果が懸念される。そこで本調査では、100Copies/アッセイの 5 検体プール試料に加えて、さらにウイルス量の少ない試料として、20Copies/アッセイのプール検体を配布試料として含めた。

2) 外部精度管理調査の結果のまとめ

その結果、全参加施設にて測定・報告された各測定試料の判定結果は、総合判定（プール検体）において正答率 94.4-100%、個別試料判定において正答率 96.1-100%と全体として良好な成績であった（表 12）。

プール試料別の誤判定率は、プール X（超低濃度陽性）5.6%（3/54）、プール Y（低濃度陽性）0%(0/54)、プール X（陰性）0%(0/54)であった。（カッコ内の数は施設数）

個別試料の別の誤判定率は、プール X の試料 2（陽性）3.9%(2/51)、試料 3（陰性）2.0%(1/51)であった。（カッコ内の数は施設数）

参加施設全体 54 施設の施設カテゴリーは、多い順に、医療機関 15（病院 12、診療所 3）、衛生検査所 36（登録 33、臨時 3）、行政機関 2（衛生研究所 2）、その他 1 施設であった（図 44）。試薬別では、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit（タカラバイオ）19%(10/51)、SARS-CoV-2 Direct Detection Kit -Multi（東洋紡）、8%(10/51)、Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット（タカラバイオ）7%(7/51)の順で高かった（図 45）。（カッコ内の数は施設数）

3) 不一致施設の施設背景

個別試料の誤判定を含めた不一致施設（5 施設）の特性として、医療機関の比率は 60%(3/5 施設)、臨時衛生検査所 20%(1/5 施設)の比率が高かった。総合判定（プール検体）の不一致施設（3 施設）の施設カテゴリーは、医療機関 2 施設、臨時衛生検査所 1 施設であった。

装置、試薬別に見ると、装置と試薬の組み合わせで、総合判定で偽陰性はスマートジーン SARSCoV-2（ミズホメディー）、GEBCUBE/ジーンキューブ HQ

SARSCoV-2（東洋紡）、QuantStudio1/3/5/5Dx と TaqPath 新型コロナウイルス（SARSCoV2）リアルタイム PCR 検出キット（サーモフィッシャーサイエンティフィック）であった。偽陰性結果の誤判定要因は、検出限界の不良、検出限界の未確認または再現性不良が考えられた。個別試料判定で偽陰性 2 施設、偽陽性 1 施設での試薬は、何れも Takara SARS-CoV-2 ダイレクト PCR 検出キット（タカラバイオ）であった。当該施設への聞き取りによれば、偽陽性 1 施設において試料の取り違いの可能性が示唆された。その他偽陰性結果の誤判定要因は、検出限界の未確認または再現性不良が考えられた。

IV. 精度管理における留意点

厚生労働省事業「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」（2021年7月21日—2022年3月31日）において、精度管理実態調査と外部精度管理調査（技能試験スキーム）の集計結果（集計対象は1191施設）について、評価を行なった。誤判定の要因は、測定プロセスに加えて、測定前・測定後プロセスに由来することが考えられた。「IV. 精度管理における留意点」では、その調査結果を踏まえて、新型コロナウイルス PCR 検査等の精度を確保するために留意すべきことを以下に記述する。

1. 本外部精度管理調査の課題と対応

本外部精度管理調査の課題として、きわめて多様な測定システムについて調査と評価をする上での限界がある。測定装置と測定試薬の組み合わせた測定システムの多様性に加えて、核酸抽出方法の選択は、分析感度に大きく影響する。したがって、分析感度が大きく異なる測定システムを対象とした外部精度管理調査において、同一濃度の統一試料を用いた場合、評価対象外の測定システムや施設が多数となる恐れがある。実際に検出限界・分析感度は、精度管理実態調査の結果、自施設評価・メーカー公称値において、数～数100コピー/アッセイと2桁のオーダーの違いが明らかとなった。課題対応として、本外部精度管理調査では、核酸増幅検出プロセスと核酸抽出・増幅検出の全プロセスを評価する2種類（それぞれ、異なる濃度の3試料）を用意し、多様な測定システムの評価を試みた。検出感度が大きく異なる全自動核酸増幅検査装置についての評価は、検出感度の劣る測定システムでも評価可能な十分なウイルス量（総量）の試料配布（試料④、⑤）にて行った。

測定装置と測定試薬の組み合わせで独立して取り扱う測定法群ピアグループは21グループが構築された。ピアグループが構築出来なかった10施設未満での使用装置・試薬を含めて、測定装置、測定試薬別に全体集計を示した。また、不一致判定の施設で使用していた装置と試薬の組み合わせで認められた事象を紹介した。

全自動核酸増幅検査装置を使用している場合、核酸抽出・逆転写・増幅検出の全プロセスを評価できたものの、フローが連続的に自動化されているため、増幅検出プロセス単独の評価を行うことが出来なかった。Loopamp[®] 新型コロナウイルス2019 (SARS-CoV-2) 検出試薬キットを使用している場合、核酸抽出は喀痰検体を想定してカラム抽出法を行うこととした。しかしながら、多くの施設で簡易抽出法のみを使用し、カラム抽出法が実施出来なかった。このため、核酸抽出・逆転写・増幅検出の全プロセスの評価が出来ず、増幅検出プロセスのみの評価に留まった。検出限界・分析感度は核酸抽出と増幅検出の組み合わせに依存するため、全プロセス

での評価が望まれる。この点については、「I.2.精度管理実態調査の結果」における検出限界の分布（核酸抽出方法別）の記述を参照されたい。

カラム等による核酸抽出精製を実施している場合（RT-PCR、LAMP 等）や簡易抽出法（ダイレクト PCR 等）にて RT-PCR を実施している場合において、増幅検出プロセスについて 2 回測定における精度（再現性）の評価を行った。一方、全自動核酸増幅検査装置を利用し実施している場合に関しては、試料は十分なウイルス量を確保するため、その容量は 1 回測定に必要な量に留まり、精度（再現性）の評価は実施しなかった。

全自動核酸増幅検査装置など専用システムを使用し実施している場合に関しては、核酸抽出方法別の検出限界の実態調査結果に示されたように、自施設における妥当性確認・検証にて性能評価している施設は限られていた。この点については、検査室の責任において、導入時の妥当性確認・検証または再確認が必要であるため、「2. 検査室での留意点」の記述を参照されたい。

本外部精度管理調査では、日常検査で主に使用の検査方法を対象として、1 施設に計 6 試料 1 セットを配布した。参加施設によっては、日常検査において複数の測定システムを用いている。大手の登録衛生検査所においては、複数の測定システムによる検査サービスを提供している。また一般に医療機関では、使用目的（感染症患者診療、夜間緊急時、無症状患者の入院時スクリーニング等）によって、異なる最小検出感度の複数の測定システムを用いている。本調査では、診療所、緊急時等にて用いる全自動核酸増幅検査装置など POCT 仕様の測定システムについての評価の実施も目的とした。また、2020 年下半期から急速に拡大した自費検査、陰性証明書発行における検査について実態を明らかとすることを目的とした。

核酸抽出方法別では、POCT 仕様の測定システムとして簡易抽出（LAMP 法）や全自動核酸増幅検査装置が用いられる。しかしながら、自施設で性能評価を行っている比率が低かった。使用する全ての測定システムについて、各検査室の責任において、使用目的・用途によって必要な検出限界・分析感度や精度（再現性）など測定性能を評価（妥当性確認・検証）することが望ましい。

なお、この外部精度管理調査は単回の調査であり、継続的にモニタリングしたものではないため、この外部精度管理調査の結果のみで必ずしも参加施設の能力を評価できるものではないこと、また、この外部精度管理調査は、試薬・機器の組み合わせをはじめとした検査システム全体（検査室管理を含む）としての評価であって、これのみで必ずしも各試薬・機器自体を評価できるものではないことに留意が必要である。

2. 検査室での留意点

1) 遺伝子関連検査における精度の確保

医療機関や衛生検査所における検体検査の精度の確保は、医療法や臨床検査技師等に関する法律（以下、「医療法等」という。）により定める基準に則りそれぞれ実施する必要がある。この中で、遺伝子関連検査を実施する場合には、精度の確保に係る責任者の設置、標準作業書・日誌・台帳の作成、内部精度管理の実施、研修の実施が義務となる。偽陽性の発生リスクを最小限とし、発生した場合には早期に検知して結果の報告を未然に回避する取り組みについては、検査室の内部精度管理の一貫として、日常的に実施することが望ましい。こうした取り組みは、測定前、測定、測定後の3つのプロセス毎にそれぞれ行われる。測定前プロセスにおいては検体の取り違いやクロス汚染の回避の取り組みが、測定プロセスにおいては、陰性コントロールとの同時測定が行われることが一般的である。カートリッジ方式、*N*-glycosyltransferase による増幅産物のキャリーオーバー汚染の影響回避など技術的な対応も可能である。測定後プロセスにおいては、核酸増幅曲線での目視判定、偽陽性が疑われる場合は別の方法（検出標的遺伝子の異なる検出系あるいは抗原定量検査）での再測定、転記ミスの回避を行った上で報告することが望ましい。キャリーオーバー汚染による偽陽性結果の回避には、測定前プロセスと増幅・検出を別の部屋で行い、検体のフローを一方行にすることも重要である。

偽陰性結果の回避についても、3つのプロセスにおける取り組みがそれぞれある。検体の取り違いの回避、回避患者病期に適した検体種の選択指導（初期は鼻咽頭ぬぐい液や唾液、肺炎症状時は喀痰など）、検体採取タイミングの適正化（唾液検体における飲食の影響回避など）、内部コントロールとの同時増幅や核酸増幅曲線の確認などがある。

本調査の結果、測定前・測定後のプロセスに留意した測定標準作業書の作成がなされている実態が明らかとなった（後述）。

2) 検査導入時の性能評価（妥当性確認・検証）と再評価

薬事承認未取得の試薬（研究用試薬）を用いる場合は、検査導入時に、検査室の責任で、検査目的に合致した性能を評価し、必要な性能を確保しなくてはならない（妥当性確認）。薬事承認を取得した試薬を用いる場合においても、特に臨床検査室での導入時に性能評価が重要である（検証）。測定性能の項目として、検出限界・分析感度や精度（再現性）の評価は、低濃度（100 コピー/アッセイ）・超低濃度（50 コピー/アッセイ）の試料測定における測定結果の再

現性に影響し、偽陰性や偽陽性結果の誤判定の背景要因となりうる。測定性能に関する用語と定義は、資料「測定性能評価に関する用語説明」を参照されたい。

陽性判定の基準としては、多くの施設で RT-PCR の場合は Threshold Cycle (Ct) 値でメーカー指定値の 40 (または 45) を用いていた。これらの施設において性能評価を自ら実施していない場合は、改めて検出限界を含めた性能評価を行うことが重要である。

施設検査の導入時の測定性能評価として、妥当性確認・検証の実施にて、配布試料 (50 コピー/アッセイ) を判定できる検出限界 (10、20 コピー/アッセイ) を確認しているものの、偽陰性の誤判定となった施設が認められた。検出限界、分析感度、分析特異性 (分析的特異度)、精度の評価においては、アッセイに用いる臨床検体の種類 (上気道スワブ、唾液、喀痰など) の組み合わせ毎に測定する必要がある。検出限界の評価は、核酸抽出と増幅・検出の組み合わせた性能として評価する。さらに、実際の検出限界は、検体搬送・保存の条件 (温度、時間、輸送培地等) の影響を受ける。したがって、核酸抽出と増幅・検出のプロセスの前に想定される検体管理の条件を踏まえて、検体安定性の評価を行う必要がある。今回の調査で多様な輸送培地の使用の実態が明らかとなった。特に、塩酸グアニジン溶液 5-40% 含有し感染リスクを最小化した製品も利用されていた。塩酸グアニジンは核酸抽出法の原理によって残存し、PCR 反応阻害による偽陰性リスクがある。このため、使用している核酸抽出法がその影響を除外することを確認する必要がある。

新型コロナウイルスは DNA ウイルスと比較して変異しやすい。アッセイデザインとしてプライマー・プローブ結合部位の変異による検出限界・分析感度の低下が指摘されている。検査導入時の性能評価で確認した検出限界は、ウイルスの変異に応じて適時再確認する必要がある。

精度 (再現性) に関して、2 回測定にて再現性を確認する増幅検出プロセス評価用の陽性試料①、②、陰性試料③において、定性再現性不良 (陽性と陰性結果) がそれぞれ、0.7% (3/418)、0% (0/418)、0.2% (1/418) の施設に認められた。これらの施設では、様々な測定装置と試薬の組み合わせが用いられていた。これら施設では、改めて再現性を含めた性能評価を行い、手技 (ピペット操作など)、測定試薬、測定装置などの原因の分析及び是正が必要である。

定量的指標 Ct 値は測定試薬・装置の組み合わせにより異なるため、標準化できるものではないが、SDI > 3 の施設群においては、こうした偏位が誤判定の要因になっていると考えられる場合には、施設で利用する測定システム (核酸抽

出、測定装置、測定試薬など) の特性に基づき、系統的誤差要因について検討する。

表 13. 誤判定の要因と対策

誤判定の要因	要因	対策
陽性の判定基準の設定	検出限界の再現性不良、 検出限界・分析感度、分析 特異性、判定基準のメーカ ー指定値使用 (Ct40 など)	妥当性確認・検証の実施による検出限界・分 析感度の確保に基づく、判定基準の設定
検出限界・分析感度 不足	ウイルス進化 核酸抽出効率の低下	ウイルス進化に応じて再評価 患者検体のマトリックス存在下での性能の再 評価
検体取り違い、増幅 曲線の目視確認不 足、結果の転記誤り	検体管理システム課題 測定標準作業書の記載内容 不足 測定標準作業書として、取 扱説明書利用	検体管理システム構築 (バーコード運用、二 重チェック体制、測定標準作業書への記載と 遵守など) 測定標準作業書に測定前・測定後プロセスの 手順の記載 (検体取扱い、クロス汚染の回 避、増幅曲線の目視確認、結果の転記など)
精度 (再現性) 不足	内部精度管理において、コ ントロール試料使用頻度不 足 管理限界 (許容範囲) の指 標項目と基準の設定なし	手技 (ピペット操作)、測定試薬、測定装置 など原因究明と是正 コントロール試料の適切な使用 (種類、頻 度) 測定性能に基づく許容範囲の基準設定に基づ く内部精度管理
偽陽性結果	増幅産物のキャリーオーバ 汚染	陰性コントロールとの同時測定、カートリッ ジ方式、 <i>N</i> -glycosyltransferase による増幅産 物のキャリーオーバ汚染の影響回避、疑われ る場合は別の方法 (検出標的遺伝子の異なる 検出系あるいは抗原定量検査) での再検査、 測定前プロセスと増幅・検出を別の部屋で実 施、検体フローの一方行化
偽陰性結果	不適切な時期、不適切な検 体採取 (技術、量、品 質)、不適切な時期・検体 種、増幅阻害因子の存在 (輸送培地に含まれる塩酸 グアニジンなど)、ウイル スの熱不活化のプロトコ ール	患者病期に適した検体種の選択指導 (初期は 鼻咽頭粘液、唾液、肺炎症状時は喀痰な ど)、検体採取タイミング (唾液検体での食 事・歯磨きの影響回避など)、核酸抽出法に おける阻害因子除去、内部コントロールとの 同時増幅や核酸増幅曲線の確認

3) 内部精度管理

内部精度管理の実施内容では、コントロール測定は、ラン毎または1日1回の頻度で行う。内部精度管理自体は全ての施設で行われていたが、管理試料を用いた内部精度管理の未実施16.4% (195/1191施設)に認められた。その背景として、管理試料がキットに同梱されていない測定システムを使用する施設が多い。主に医療機関、自費検査・陰性証明有り診療所であった。

許容範囲、管理限界の指標と基準（内部標準）の記載については、それぞれ22.8%(271/1191施設)、25.1%(299/1191施設)のみで、多くの施設で統計学的な範囲を定めた上での内部精度管理が実施されていない可能性が示唆された。統計学的な内部精度管理は、測定システムの安定による精度（再現性）を確保する上で重要である。陽性コントロールのCt値やTt値を用いて、統計学的な内部精度管理を実施することが望まれる。定期的に、また測定試薬のロット変更時など必要時に、患者検体またはフルプロセスコントロールを用いて、各プロセスで患者検体と同じ挙動プロセスをモニターすることが望ましい。

4) 測定標準作業書等の作成と遵守

医療法等により検体検査の精度の確保に必要な標準作業書として、工程（プロセス）管理のための測定標準作業書、検査機器保守管理の標準作業書の作成等が求められている。このほか医療法等においてそれぞれ定められている作業日誌・台帳の作成も必要となる。

外部精度管理調査では、試料の測定自体のみならず、測定前プロセスの試料の取扱いから測定後プロセスの判定・報告まで、日常検査と同じ流れでの一連のプロセスを評価する。偽陽性判定の要因として、試料の取り違い、測定結果の転記ミス、キャリーオーバー汚染が見られた。測定前プロセスにおいても、試料の取り違いに基づく偽陰性判定の報告が見られた。検体確認ミスや転記ミスは、日常検査において、起こりうる事象である。検体確認ミスや報告時の人為的ミスによる誤判定報告を未然に防ぐには、管理システムの構築（バーコード運用、二重チェック体制、測定標準作業書への記載と遵守など）が必要である。キャリーオーバー汚染は、その防止対策とともにモニタリングと早期発見に基づく改善が大切である。その点で、標準作業書の作成と現場での利用は、適正な検査を行う上で必須である。これらに関しては、日本臨床検査標準協議会「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」学術広告社、東京、2021年6月が参考となる。

測定標準作業書では、検査項目ごとに、「定義」、「臨床的意義」、「測定方法及び測定原理」、「検査手順（フロー等）」及び「基準範囲及び判定基準」を盛り込む。並びに、可能な限り検査法の標準化に必要な多くのものを盛り込むことが望ましい。測定標準作業書は、検査機器等の取扱説明書等で代替することとしても差し支えない。しかしながら、検査機器等の取扱説明書には、測定前・測定後プロセスにおける運用法について言及されていないことが多い。測定前・測定後プロセスでの過誤を防止するため、測定標準作業書の「検査手順（フロー等）」には、各検査室で構築した測定前・測定後プロセスを含めた作業手順の記載とそれに基づき運用することが望ましい。

本調査における不一致施設の特性では、自ら作成した測定標準作業書のみの利用の比率が低かった。測定標準作業書の記載内容では、検体取り扱い、結果判定と報告、汚染防止の比率が低かった。

測定標準作業書には、検出限界・分析感度など導入時の妥当性確認・検証に基づく、許容範囲または管理限界の設定と内部精度管理に関する作業手順の記述を含めることが望まれる。測定性能、特に検出限界・分析感度や精度（再現性）は、核酸抽出・増幅検出の全プロセスにおける評価、判定基準の設定が必要である。

5) 要員の研修

医療法等により、遺伝子関連検査を実施する場合、研修の実施は義務として求められている。特に、測定システムの性能評価（妥当性確認、検証）など運用導入における基本的知識の習得は重要である。

不一致施設において、要因として、検体取り違い、キャリアオーバ汚染による偽陽性が複数施設で見られた。その回避には、測定標準作業書の整備と遵守とともに、測定者における研修が重要となる。

不一致施設において、測定者資格では資格なしの比率が高かった。要員研修内容では、内部・外部精度管理、性能特性の評価の比率が低かった。研修の内容として、測定システムの性能評価とともに、精度確保に関する知識と技能の習得が必要である（精度管理、ピペット操作等）。これに関しては、日本臨床検査標準協議会、普及啓発資料「マイクロピペットの精確な操作と注意点」 (<https://www.jccls.org/news/videmicropipette/>)（2022年4月）が参考となる。プール法では個別試料の誤判定を含めた不一致施設（5施設）は、通常的外部精度管理調査での成績が不良の傾向がある。したがって、上記1)-5)の遵守（特に妥当性確認・検証）を確実に行った上で、導入運用することが望ましい。

6) 検査室の能力

本調査の参加施設は、PCR 検査を新たに始めた病院微生物検査室や診療所（自費検査の実施、陰性証明書の発行）が含まれている。調査の結果から、誤判定の施設では、施設カテゴリー別では診療所の比率が多い。検体取り違いによる偽陽性・偽陰性、汚染による偽陽性は、どの施設においても日常検査で起きうる事象であり、また検査依頼が急増した際にその可能性が高まる。用手操作の多いプール法においても同様である。検査室の能力課題として、導入時における測定システムの性能評価、それに基づき構築した精度管理を組み込んだ標準作業書の作成と要員研修の強化が必要である。

測定システムの性能評価（薬事承認済の試薬では検証、薬事未承認の試薬では妥当性確認）は、運用導入を考慮する臨床検査室の責任で行い、また性能評価に基づく内部精度管理と許容範囲（または管理限界）の設定が必要となる。その際、日本臨床検査標準協議会 遺伝子関連検査標準化専門委員会「遺伝子関連検査のための ISO 15189 ガイダンス文書」（2019 年発行）が参考となる。また、薬事承認済の試薬であっても、使用する検体種の変更や拡大など手順の変更においては、臨床検査室の責任で妥当性確認を行う必要がある。薬事承認された体外診断薬においても、結果判定には、その判定域値での再現性（日差を含めた）に基づくことが求められる。特に低いコピー数のウイルス検出の信頼性は、運用導入時（ウイルス進化によって必要時）に検査室の責任で検証する必要がある。

新型コロナウイルス核酸検査は、多項目検査に相当する。検出対象として、遺伝子領域（N, S, E, RdRP, Orf1a 等）の同時検出に加えて、増幅阻害因子をモニターする内部コントロールを組み込んだ測定システムもある。多項目検査の精度の確保は、測定の複雑さ（プライマー同士の干渉や各検出標的の分析感度の違いなど）から、単項目検査と比べて難度がきわめて高くなる。これに関しては、国際規格 ISO 21474「体外診断用医薬品・医療機器-核酸用の多項目分子学的解析」の文書シリーズや ISO/ TS 5798「体外診断検査システム-核酸増幅法を用いた SARS-CoV-2 検出に関する要求事項と推奨事項」が参考となる。

3. 測定装置・試薬の各製造販売業者の留意点

1) 性能評価

装置、試薬別に正答率を見ると、装置と試薬の組み合わせで 21 のピアグループの内、核酸抽出・核酸増幅検出プロセス評価用の超低濃度、低濃度の陽性試料④⑤にて、不一致判定（偽陰性）が多く見られた。試料④⑤で不一致判定（偽陰性）が複数施設で認められた装置、試薬別の組み合わせは以下のごと

く。AutoAmp/Ampdirect 2019-nCoV 検出キット（1, 2/62 施設）、GENECUBE/ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2（3, 1/46 施設）、ID NOW インスツルメント/ID NOW 新型コロナウイルス 2019（3/63, 2/62 施設）、Smart Gene/スマートジーン SARS-CoV-2（10, 5/112 施設）、Smart Gene/新型コロナウイルス検出キット・スマートジーン新型コロナウイルス検出試薬（3/23, 0/24 施設）、TRCReady-802019 新型コロナウイルス RNA 検出試薬/TRCReady SARS CoV 2 i（23, 8/86 施設）、ミュータスワコーg1/ミュータスワコー COVID-19（18, 17/18 施設）

その背景要因として、検出限界・分析感度の未確認、再現性不良あるいは分析感度不足が示唆された。検出限界・分析感度や陽性の判定基準は、使用する測定装置との組み合わせで異なる。このため、検査導入時に、各検査室での責任にて、妥当性確認・検証に基づき、適切に性能評価と判定基準の設定と運用が必要となる。以上の点を踏まえて、各製造業者においては、検出限界・分析感度と精度（再現性）等の性能評価の再確認および性能の安定性確保の検討が必要と考えられる。

核酸増幅検出プロセス評価用の超低濃度、低濃度の陽性試料①②にて、一部に不一致判定（偽陰性）が見られたものの、2回測定（再現性）における不一致施設数は令和2年度の調査と比べて減少し、特定の測定試薬の利用（ダイレクト法）の傾向は明らかではなかった。令和2年度の調査結果に基づき、製造販売業者における試薬の改良の努力や測定者におけるピペット操作の熟練の効果が考えられる。

今回の調査で配布した核酸抽出・増幅検出プロセスを評価する陽性試料は、POCT仕様を含めて、核酸抽出から増幅検出までの全自動測定装置を用いた測定システムの使用施設をも対象とした。ウイルス濃度 20 コピー/ μL の試料 100 μL で、全ウイルス量は 2,000 コピーとなる。ミュータスワコーg1・試薬ミュータスワコー COVID-19（富士フィルム和光純薬）での測定の場合、参加 18 施設で誤判定（偽陰性）の報告となった。誤判定（偽陰性）の報告となった。令和2年度の外部精度管理調査では、ミュータスワコーg1・試薬ミュータスワコー COVID-19（富士フィルム和光純薬）での測定の場合、参加した全施設で誤判定（偽陰性）の報告となった。その後、製造業者において、外部精度管理調査の結果に基づき試薬改良が行われ、同調査条件（ウイルス濃度 20 コピー/ μL の試料 150 μL 、全ウイルス量は 3,000 コピー）での検出が可能となった。誤判定（偽陰性）の要因について、製造業者において後日に試料成分と工程への影響の検討がなされた。その結果、今回の調査で用いた精度管理試料に

おけるマトリックス (“SeraConII”) が精製工程で RNA 回収率を下げるということが明らかとなった。これにより、測定性能としてメーカー公称値(150 コピー/アッセイ)の検出限界を確保できず、誤判定 (偽陰性) の報告となったと考えられた。また、その影響の程度は“SeraConII”を含むロット間差があることが明らかとなった。ロット間差の原因が製品改良としての成分調製か、製品の品質管理の問題か不明であるが、統一試料を配布しての外部精度管理調査の結果は、測定システムによっては解釈に留意する必要がある。実際の患者検体の性状は様々で、そのマトリックス要因は大きく変動することから、相応の性能確保 (頑健性) が必要である。マトリックス差のある試料でも、統一した試料配布による外部精度管理調査において、継続して良い成績になるよう一層の試薬改良が期待される。

TRCReady-80 2019 新型コロナウイルス RNA 検出試薬/TRCReady SARS CoV 2 i (東ソー) に関して、誤判定 (偽陰性) の要因について、製造業者において後日に試料と工程への影響の検討がなされた。その結果、今回の調査で用いた精度管理試料 (全ウイルス量は 2,000 コピー) を前処理試薬 (変性試薬) に直接添加した場合、測定性能としての検出限界付近であった (メーカー公称値 50 コピー/アッセイ)。このため、一部の施設において、誤判定 (偽陰性) の報告となったと考えられた。なお、実検体において、メーカー指定の操作法では、スワブを前処理液へ直接添加しウイルスを多く測定系に持ち込む、あるいはスワブ懸濁バッファー組成が指定されている、など一定の考慮はなされている。参加施設の多くでは、配布試料のスワブ 1 回で吸着した量 (50 μ L) または残る溶液 (100 μ L) は、懸濁液でなく、前処理液に添加していた。原理的には、測定前の RNA 抽出プロセスを評価するためにウイルス骨格 (擬似ウイルス) を用いた試料は、懸濁液でのウイルス溶解と RNA 放出・安定化の操作が必要で、前処理液へ直接添加した場合、RNA 抽出効率が低下する場合が想定される。これについてはメーカーにて継続調査中である。

Smart Gene/スマートジーン SARS-CoV-2、Smart Gene/新型コロナウイルス検出キット・スマートジーン新型コロナウイルス検出試薬 (ミズホメディー) に関して、誤判定 (偽陰性) の要因について、製造業者において後日に検討がなされた。今回の調査で用いた精度管理試料 (全ウイルス量は 1,000、2,000 コピー) を抽出液に直接添加した場合、測定性能としての検出限界付近であった可能性が考えられた (メーカー公称値 121 コピー/アッセイ)。また、Smart Gene/新型コロナウイルス検出キット・スマートジーン新型コロナウイルス検出試薬は、研究用試薬であり、その最終 Lot の有効期限は 2021 年 11 月であった。

試薬ロットによっては、試料測定時に有効期限が切れていた場合も考えられ、その影響があった可能性も考えられた。

これらから、検出限界・検出感度の評価は、核酸抽出と増幅検出を組み合わせた測定のプロセスでの評価が必要である。各製造業者において、患者検体のマトリックス存在や処理工程でのウイルス挙動など RNA 抽出プロセスの影響因子を踏まえた測定性能の再評価が必要と考えられた。

2) 測定試薬等の薬事承認及び利用者への情報提供

新型コロナウイルス核酸検査の需要が高まっている状況において、薬事承認済以外の測定試薬を緊急的に認めている状況であるが、装置と試薬の薬事承認等の有無の組み合わせで見た場合、両者とも薬事承認等済でない場合でも正答率は高く、薬事承認等の有無は、正答率との関係で明らかな傾向は見られなかった（令和2年度事業）。ただし、試薬の品質管理等の観点からは、薬事承認された試薬の使用が望ましい。薬事承認された多くの試薬においても、緊急的措置として、「承認時のデータが極めて限られていることから、製造販売後に臨床性能を評価可能な適切な試験を実施すること」と条件が付けられている。各製造販売業者においては、薬事承認申請に必要な性能評価において、また製造販売後の臨床性能の評価において、1) 「性能評価」に記載された事項を考慮することが望まれるとともに、利用者（検査室）に対して測定性能に関する適切な情報提供に努めることが求められる。

3) 利用者の知識、技能の確認と技術指導

精度管理の実態調査の結果、一部の測定試薬において管理試料を用いた内部精度管理の実施が行われていないことが明らかとなった。特に、POCT 仕様の全自動測定システムの一部において、管理試料を用いた内部精度管理の実施率が低かった（SmartGene、GeneXpert、FilmArray）。これら製品は、添付文書には管理試料の使用について記載があるものの、キットに同梱されておらず、別に市販品の購入が必要である。一方、同じ POCT 仕様の全自動測定システムにおいて、管理試料がキットに同梱されている場合は内部精度管理が実施されていた。

検査室が信頼性ある測定と結果の報告が可能となるように、測定装置・試薬の運用上の必要な情報提供のみならず、特に精度管理に必要な利用者の知識の確認、技能の確認と技術指導、必要に応じて装置の保守管理を含めた技術的支援を行うことが重要と考えられる。

おわりに

新型コロナウイルス感染症の PCR 法等の核酸検査は、様々な施設において、異なる機器・試薬・手技によって行われており、その精度確保への取り組みは、測定結果の信頼性を左右する。本事業において、行政検査を実施する施設に加えて、自費の検査を実施する施設を含めて、またプール法による検査を実施する施設について、その実態は、精度管理実態調査と外部精度管理調査の集計の詳細な分析と評価に基づき明らかとなった。また、本報告書において、今回の調査にて明らかとなった精度の確保における実態に基づき留意すべき点についても記述した。本調査において見られた測定結果の誤判定報告は、成績良好であった参加施設においても日常検査で起きうる事象である。また、誤判定に至らないまでも、定性結果の再現性不良や定量的指標における外れ値を示した施設も少なからず認められた。各検査実施機関においては、本報告書の内容に基づき作成された「精度管理マニュアル」を参考にし、継続的な検査の精度の確保のもとで、正しい検査結果の提供に努めていただきたい。

【資料：測定性能評価に関する用語説明】

1) 測定性能評価（性能特性の確認）

検査室は、測定性能評価のため妥当性確認および検証のデザインを確立し、測定手順が意図された用途に適しているか性能特性について妥当性確認、検証をしなければならない。測定手順の性能特性には、一般的に精確さ、真度、併行精度および中間精度を含む測定の精度（再現性）、測定不確かさ、干渉物質を含む分析特異性、頑健性、検出限界（分析感度）および定量限界、測定範囲、診断感度、診断特異性、臨床的パフォーマンスなどがある。以下に、核酸増幅法による SARS-CoV-2 検出において重要と思われる性能特性について WHO 提案事項、FDA ガイダンスを参考に留意すべき用語説明を記述した。

2) 妥当性確認

妥当性確認とは、客観的証拠を提示することによって、特定の意図された用途または適用に関する要求事項が満たされていることを確認することをいう。妥当性確認の目的は、検査室が独自に開発した試薬・装置による検査（LDT）が対応する臨床用途を満たすことができるかどうかを評価することである。試薬薬事承認未取得（研究用試薬）では、検査導入時に、検査室の責任で、検査目的に合致した測定性能を評価し、必要な性能特性を確保しなくてはならない（妥当性確認）。また、試薬が薬事承認済の場合でも、測定条件の変更や適応外の検体種を用いるなど指定の手順を変更する場合、妥当性確認を改めて行わなければならない。

3) 検証

検証とは、客観的証拠を提示することによって、要求事項が満たされていることを確認することをいう。検査室は、改変なしに使用されている妥当性確認された薬事承認済の試薬が日常検査で使用開始される前に独自に測定手順の性能仕様要求に合致している客観的証拠（性能特性）を検証しなければならない。検査室の環境と施設の運用に従って、検査室に適した性能特性を検証しなければならない。検証された薬事承認済の試薬が別の検査室に運用される場合、関連する性能特性が環境の変化によって影響を受けていないことを確認しなければならない。

薬事承認済の試薬と医療機器は、試薬添付文書や装置仕様書に記載されている評価指標に従って検証し、それぞれの環境での適合性を証明しなければならない。

4) 精確さ (Accuracy)

精確さとは、分析測定結果の真度（正確さ）と精度（再現性）を含めた測定量の真の値との一致の度合いをいう。核酸増幅法における定義は、測定に由来する核酸配列と参照配列との一致の程度である。

精確さの評価は、定量範囲内で評価し、理想的には標準物質、認証標準物質を使用して行う必要がある。また、複数の検体種（例：鼻咽頭スワブ、鼻スワブ、唾液、気管支肺胞洗浄液、喀痰、全血、便など）を用いて検出が可能の場合、すべての検体種で精確さを評価する必要がある。臨床検体が得られない場合、その代用には、健常者検体または人工試料を希釈用マトリックスとして選択し、既知の濃度の不活化ウイルスをスパイクして作製する。評価用のサンプルサイズは20以上で、一致率95%以上で評価する。外部精度管理調査への参加も精確さを評価する方法である。

5) 精度 (precision)

精度（再現性）とは、定められた条件のもとで繰り返された独立な測定結果の間の一定の程度をいう。精度評価には、同一施設内において、人、装置、試薬、日時が同一とみなされる条件による検査結果の精度である併行精度。同一施設内において、人、装置、試薬、日時の一部またはすべてが異なる条件による検査結果の精度である室内再現精度（中間精度）。異なる施設で、人、装置、試薬、日時のすべてが異なる条件による検査結果の精度である室間再現精度がある。精度の評価は、核酸抽出から始まる。精度評価に使用されるサンプル（試料）には、管理試料または患者検体がある。サンプル（試料）の選択には、最低1つの陰性検体、1つの低陽性試料（例：約 $2\sim 3\times LoD$ ）、および1つの中程度の陽性試料（例：約 $5\sim 7\times LoD$ ）の少なくとも3つのレベルが含まれる。製品の特성에応じて、適切な精度要件を設定しなければならない。精度は、標準偏差（SD）など統計量で表現しなければならない。

6) 検出限界 (LoD: Limit of detection)

検出限界（LoD）とは、分析対象物質が定量的でないが存在するということが高い信頼度でいえる最小量(値)をいう。検査室は、試料の準備から検出まで、日常のワークフローを利用して検出法のLoD（コピー/mL）を決定しなければならない。SARS-CoV-2が組み込まれた参照物質がない場合は、適切なマトリックスで希釈した細胞培養ウイルスが使用できる。必要なバイオセーフティーレベルの状況によって細胞培養ウイルスを使用できない場合は、*in vitro*で転写またはウイルス粒子に組

み込まれた SARS-CoV-2 RNA を使用して検出法の LoD を確認することができる。暫定的な LoD は、準備した試料の 2~3 倍の希釈系列を各濃度 3~5 回の反復測定で確認する。暫定的な LoD が確認できたら、より正確な LoD 推定値は、暫定的な LoD 値の前後の少なくとも 20 種希釈系列を検討して、最小 95% (19 種/20 種) の系列で陽性が検出されることを確認する。LoD は、検体種ごとに決定する必要がある。なお、LoD は報告結果とともに臨床側へ報告することが望ましい。

7) 分析感度 (Analytical sensitivity)

分析感度とは、測定装置における反応変化 (分析物の変化) を対応する分析物で割ったものとして定義される。しばしば、「分析感度」または「感度」は、「LoD」、「下限 LoD」、または「検出限界」と互換性をもって使用される。新型コロナウイルス核酸検査に関する WHO 提案事項、FDA ガイダンス文書において分析感度と LoD が併記されている。

8) 分析特異性 (Analytical specificity)

分析特異性では、干渉物質と交差反応を確認しなければならない。SARS-CoV-2 核酸検出の場合、干渉物質には、サンプリング時に生じた干渉や、検体中の成分自体 (さまざまな潜在的な薬物の干渉を含む) などが含まれる。交差反応は、主に一般的な呼吸器感染症の病原体がこの検査に交差干渉を及ぼすかどうかを考慮しなければならない。1 回のテストで発生するランダムエラーを回避するために、3 回測定することが望ましい。

9) 頑健性 (Robustness)

検査工程 (プロセス) においては、検体や試薬の性状が不適切な場合、あるいは指定された使用条件が満たされていない場合などが、測定パフォーマンスの頑健性に影響を与える可能性がある。

検査室は、影響を与える可能性のある要因を考慮し、それぞれの影響レベルを評価する必要がある。核酸増幅法における検査結果に影響を与える要因の影響レベルを十分に評価する。

10) 臨床的パフォーマンス (Clinical performance)

臨床的パフォーマンスとは、意図された用途 (臨床検査の目的、対象集団および個別患者) に従って、特定の臨床状態と相関する結果が得られる測定試薬、装置の能力をいう。遺伝子関連検査においては、検査測定の対象となっている疾患が診断

できることにより今後の見通しについての情報が得られ、適切な予防法や治療法に結びつけることができるなど臨床上のメリットがある。使用目的に応じて、臨床的パフォーマンスには、既知の臨床状態または個人における生理学的/病理学的プロセス・状態に基づく、期待値、診断感度および診断特異性ならび疾患の有病率に基づく陰性予測値および陽性予測値を含めることができる。

臨床的パフォーマンスの評価には、検出可能なすべての検体種を含め、検査の使用目的と完全に合致させて結果を説明するために対応する統計解析法を確立しなければならない。

11) 統計学的な内部精度管理における管理限界

管理限界とは、統計学的精度管理データのばらつきとして管理できる限界をいう。統計学的な内部精度管理データには、管理試料として陽性コントロールを測定し、その Ct 値や Tt 値を用いることが考えられる。具体的には、陽性コントロールの測定値の日内・日間の変動を管理するため、代表的な \bar{x} -R 管理図では検査導入時に評価した測定値の精度（再現性）に基づくばらつきの管理限界（例えば、 $\pm 3SD$ ）を事前に統計学的に設定し、検査導入後に日常検査の実施中に測定した管理試料の結果について、その平均 (\bar{x}) と個々の測定値の最大と最小の差 (R) を経時的（例えば、毎日）にプロットしてグラフ化し、モニターする。 \bar{x} と R が管理限界内にある場合は、測定結果が安定的に得られていると見なす。

管理限界を外れた場合、あるいは管理限界内でも偏位の傾向（トレンド、シフトなど）が見られる場合は、測定結果の安定性が確保されていない可能性が考えられ、原因の究明とそれに基づく是正を行う。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 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. <https://www.mhlw.go.jp/content/000770009.pdf> (2021 年 4 月 16 日)
- 2) 宮地 勇人(日本臨床検査標準協議会). 厚生労働省委託事業「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査業務」報告書 (2021 年 4 月 16 日) <https://www.mhlw.go.jp/content/000769978.pdf>
- 3) 日本臨床検査標準協議会. 遺伝子関連検査のための ISO 15189 ガイダンス文書. 学術広告社. 東京. 2019 年 11 月.
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課. 国立感染症研究所 臨床検体を用いた評価結果が取得された 2019-nCoV 遺伝子検査方法について.

<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV-17-current.pdf> 2020 年 10 月 23 日.

5) 国立感染症研究所ほか.新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針 (第 4.1 版) . (2021 年 10 月 8 日) .

[https://mukaida.or.jp/document/covid-19/wp-content/uploads/2021/10/新型コロナウイルス感染症 \(COVID-19\) 病原体検査の指針 \(第 4.1-版\) .pdf](https://mukaida.or.jp/document/covid-19/wp-content/uploads/2021/10/新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針(第4.1-版).pdf)

6) 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 ~2021/03/19 更新版~

https://www.niid.go.jp/niid/images/pathol/pdf/2019-nCoV_210319.pdf

7) 日本臨床検査標準協議会. 「新型コロナウイルス核酸増幅検査の精度管理ガイドンス」 学術広告社. 東京. 2021 年 6 月

8) 「新型コロナウイルス感染症(COVID-19)検体プール検査法の指針」 (2021 年 1 月 22 日) <https://www.mhlw.go.jp/content/000725744.pdf>

9)ISO/TS 5798. In vitro diagnostic test systems — Requirements and recommendations for detection of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) by nucleic acid amplification methods.

<https://www.iso.org/standard/81712.html>

10) ISO 21474-1:2020In vitro diagnostic medical devices — Multiplex molecular testing for nucleic acids — Part 1: Terminology and general requirements for nucleic acid quality evaluation.

<https://www.iso.org/standard/70960.html>

11) ISO 21474-2In vitro diagnostic medical devices — Multiplex molecular testing for nucleic acids — Part 2: Validation and verification.

<https://www.iso.org/standard/78024.html>

12) 厚生労働省「医療法等の一部を改正する法律の一部の施行に伴う厚生労働省関係省令の整備に関する省令の施行について」 (平成 30 年 8 月 10 日)

<https://www.ajhc.or.jp/siryō/20180810-2.pdf>

13) 宮地勇人. 検体検査の品質・精度確保に係る医療法等の改正の経緯と意義. Medical Technology 臨時増刊 2018 年 12 月; 46(13): 1248-1252.

14) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会: 定量測定法に関するバリデーション指針, 臨床化学, 40:149, 2011.

15) 日本臨床化学会クオリティマネジメント専門委員会: 定量分析法における検出限界および定量限界の評価法, 臨床化学, 35:280, 2006.

- 16) Instructions for Submission Requirements IVDs Detecting SARS_CoV_2 Nucleic Acid. WHO. PQDx 347 version 2. 23 March 2020
- 17) Immediately in Effect Guidance for Clinical Laboratories, Commercial Manufacturers, and Food and Drug Administration Staff. FDA. July 28. 2020.