

# 新型コロナウイルスPCR検査について

-導入済み施設、導入検討施設向け-

# 注意事項

- ・ 公開時点での最新情報に基づいていますので資料によっては更新されている可能性があります
- ・ 特定の試薬や検査法を推奨するものではありません
- ・ 本資料においては抗体検査、抗原検査は扱っていません
- ・ 情報共有と提供だけを目的にしておりますので、自施設で採用される場合は検証等を必ず行ってください

# PCR検査は2つに大別できる

## コンベンショナルPCR

PCRによって標的を増幅し、増幅産物を電気泳動し、標的の分子量にバンドが出るかを確認する

## リアルタイムPCR

増幅量をリアルタイムで解析する方法であり、電気泳動が不要で迅速性が高く、定量性もある。

各種PCRの詳細については、正書やweb siteが多くありますのでそちらを参考にしてください。

# 新型コロナウイルスのPCR検査について

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル\*には、

2 step RT-PCR(コンベンショナルPCR)と

リアルタイム one-step RT-PCR(real time PCR)の2つが掲載



今回はリアルタイム one-step RT-PCRに代表される

リアルタイムPCRについて解説

病原体検出マニュアル

<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019->

nCoV20200304v2.pdf#search='%E7%97%85%E5%8E%9F%E4%BD%93%E6%A4%9C%E5%87%BA%E3%83%9E%E3%83%8B%E3%83%A5%E3%82%A2%E3%83%AB'

# リアルタイムPCR検査の流れ

検体採取



RNA抽出(30-60分)



RNA増幅・検出(検査法によって35-150分)

概ね90-240分で結果が得られる

# RNA抽出作業について

**用手法**：市販の抽出キット等を用いて行う

**メリット**：イニシャルコストがほとんどかからない (試薬+付随品のコストのみ)

**デメリット**：コンタミリスクがある、マンパワーの消費

**自動抽出**：市販の自動抽出機器等を用いて行う

**メリット**：コンタミリスク減、マンパワーの効率化

**デメリット**：導入に際してのイニシャルコストがかかる

**抽出不要**：測定装置に抽出操作が組み込まれている

**メリット**：コンタミリスク減、マンパワーの効率化

**デメリット**：専用機器の場合が多く、導入のイニシャルコストが発生

# RNA抽出作業がボトルネック

- 用手法による抽出作業を採用している施設が多い
- RNAはDNAに比べて取り扱いが難しい
- コンタミリスクを極力減らすため、慎重な作業が求められる

抽出作業に多くの労力と時間を要することになる

大量の検体を処理する上でのボトルネックになっている

# 専用機と汎用機について

## 専用機

機器と試薬が1つのセットである

つまり、その機器専用の試薬を用いないと動かない機器

## 汎用機

専用機と違って、1台でさまざまなメーカーの試薬が使える

そのため、さまざまな測定系を持つことが可能



# real time-PCR検査について(専用機必要)

2020年5月8日現在で発売中あるいは発売予定が判明しているもの(50音順)

| メーカー名 | 試薬名称                     | テスト数           | 標的遺伝子             | 抽出作業 | 反応時間  | 内部コントロール<br>有無  | 専用装置      |
|-------|--------------------------|----------------|-------------------|------|-------|-----------------|-----------|
| 栄研化学  | 2019-nCoV検出試薬            | 48テスト          | RdRP              | 必要   | 35分   | なし              | LAMP      |
| 杏林製薬  | SARS-CoV-2 GeneSoC ER 杏林 | 各標的<br>50テストずつ | E-gene<br>RdRP    | 必要   | 15分   | なし              | GeneSoc   |
| セフィエド | Xpert Xpress SARS-CoV-2  | 10テスト          | N2-gene<br>E-gene | 不要   | 45分   | あり<br>(SPC、PCC) | GeneXpert |
| 日本BD  | BD MAX™ ExK™ TNA-3 セット   | 24テスト          | 不明                | 不要   | 2-3時間 | あり<br>(別途購入SPC) | BD MAX    |

# real time-PCR検査について(専用機必要)

2020年5月8日現在で発売中あるいは発売予定が判明しているもの(50音順)

| メーカー名           | 試薬名称              | テスト数 | 標的遺伝子 | 抽出作業 | 反応時間 | 内部コントロール<br>有無 | 専用装置           |
|-----------------|-------------------|------|-------|------|------|----------------|----------------|
| 富士フイルム<br>和光純薬* | ミュータスワコー COVID-19 | 不明   | 不明    | 不要   | 75分  | 不明             | ミュータス<br>ワコーg1 |

\*プレスリリースの情報を基に作成

# real time-PCR検査について(汎用機で実施可能)

2020年5月8日現在で発売中あるいは発売予定が判明しているもの(50音順)

| メーカー名                    | 試薬名称   | テスト数   | 標的遺伝子            | 抽出作業 | 反応時間 | 内部コントロール<br>有無  | 専用装置                          |
|--------------------------|--|--------|------------------|------|------|-----------------|-------------------------------|
| 医学生物学研究所                 | FLUOROSEARCH™ Novel Coronavirus (SARS-CoV-2) Detection Kit | 100テスト | N-gene           | 必要   | 120分 | あり              | なし(汎用機)                       |
| 島津製作所                    | Ampdirect™ Technology<br>2019新型コロナウイルス検出試薬キット              | 100テスト | N-gene<br>(N/N2) | 不要   | 70分  | あり              | なし(汎用機)                       |
| シスメックス<br>(BGI Genomics) | 2019-nCoV検出蛍光リアルタイムRT-PCRキット<br>(体外診断用医薬品製造販売承認)           | 50テスト  | ORF1ab           | 必要   | 90分  | あり<br>(β-actin) | なし(汎用機)<br>ABI 7500 Fast Dx推奨 |
| ダナフォーム                   | SmartAmp 2019 新型コロナウイルス検出試薬                                | 24テスト  | 不明               | 必要   | 30分  | あり              | なし(汎用機)                       |

# real time-PCR検査について(汎用機で実施可能)

2020年5月8日現在で発売中あるいは発売予定が判明しているもの(50音順)

| メーカー名              | 試薬名称  | テスト数   | 標的遺伝子                            | 抽出作業 | 反応時間  | 内部コントロール<br>有無  | 専用装置                   |
|--------------------|---|--------|----------------------------------|------|-------|-----------------|------------------------|
| 東洋紡                | SARS-CoV-2 Detection Kit -N set-              | 100テスト | N-gene                           | 不要   | 60分以内 | なし              | なし(汎用機)                |
| 東洋紡                | SARS-CoV-2 Detection Kit -N2 set-             | 100テスト | N2-gene                          | 不要   | 60分以内 | なし              | なし(汎用機)                |
| ライフテクノロジーズ<br>ジャパン | TaqMan SARS-CoV-2 Assay Kit v2 (Multiplex)    | 50テスト  | ORF1ab<br>N protein<br>S protein | 必要   | —     | あり<br>(Rnase P) | なし(汎用機)<br>但し、ABIの機器推奨 |
| ROCHE              | LightMixR Modular SARS-CoV(COVID19) E-gene    | 50テスト  | E-gene                           | 必要   | 70分   | 別売(EAV)         | なし(汎用機)                |
| ROCHE              | LightMixR Modular SARS-CoV(COVID19) RdRP-gene | 50テスト  | RdRP                             | 必要   | 70分   | 別売(EAV)         | なし(汎用機)                |
| ROCHE              | LightMixR Modular SARS-CoV(COVID19) N-gene    | 50テスト  | N-gene                           | 必要   | 70分   | 別売(EAV)         | なし(汎用機)                |

# real time-PCR検査について(汎用機で実施可能)

2020年5月8日現在で発売中あるいは発売予定が判明しているもの(50音順)

| メーカー名  | 試薬名称                   | テスト数    | 標的遺伝子            | 抽出作業 | 反応時間  | 内部コントロール<br>有無 | 専用装置    |
|--------|------------------------|---------|------------------|------|-------|----------------|---------|
| 各種メーカー | 国立感染研のプライマープローブを使用した方法 | メーカーによる | N-gene<br>(N/N2) | 必要   | 90分以内 | なし             | なし(汎用機) |

# PCR検査試薬の注意点①

- ・陽性コントロールが付属しないことがある(別途購入になる)

⇒陽性コントロールは絶対に必要なので購入する

\*一部の測定装置で毎測定の陽性コントロールは不要としているものもある

- ・内部コントロールを使用することで検査の質は格段に向上

⇒内部コントロールがあれば、PCR反応がきちんと起こっているかを保証できる

必須ではないが内部コントロールが使える測定系は使用することを推奨

# PCR検査試薬の注意点②

- ・測定装置や試薬との相性が存在している

⇒特に専用試薬、装置を使わない系では、添付文書やマニュアルが推奨する組み合わせを使用すること

- ・体外診断薬の承認がない場合は妥当性検証が必要

⇒現在、入手可能な新型コロナ関連試薬はほとんどが研究用である。

つまり、日常検査に落とし込むにあたっては妥当性の検証などが必要

# PCR検査の性能について

一部の試薬および測定装置については国立感染症研究所による性能評価の結果が公表されている

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/9492-2019-ncov-17.html>

試験成績については上記HPを参考にしていただくか、メーカーへお問い合わせください。



# PCR運用の実際

愛知県臨床検査技師会の微生物研究班の中で  
新型コロナウイルスPCR検査を導入している施設の運用を紹介  
自施設で導入される際の参考資料としてご活用ください

# 導入施設で使用している機器

| 使用機器         | 施設数 | 備考             |
|--------------|-----|----------------|
| LAMP(栄研化学)   | 8施設 |                |
| BD MAX(日本BD) | 3施設 |                |
| 汎用機          | 3施設 | COBAS z480 3施設 |
| GeneSoc(杏林)  | 1施設 |                |

回答施設数8施設(研究班班員施設数15施設)  
複数機種を運用している施設もあるため、合計は8を超える

# 実際の運用②

| 項目        | 施設数  | 備考                         |
|-----------|------|----------------------------|
| 複数機種で運用   | 4/10 | 汎用機+専用機：3施設<br>専用機+専用機：1施設 |
| 365日対応    | 7/10 | 平日のみ：2施設<br>緊急時のみ：1施設      |
| 1日2測定以上   | 4/10 | 1日1測定：3施設<br>不定期：3施設       |
| 自動RNA抽出装置 | 6/10 | 測定装置による自動抽出も含める            |

# 機器・試薬以外の消耗品について

PCR検査を行うためには、**PCR装置やPCR試薬以外に消耗品が必要になります。**

機器・試薬以外に必要な消耗品は測定系によって異なるため、メーカー等に必ず確認の上で必要なものをご準備ください。