

SARS-CoV-2 RT-PCR試薬 性能比較

京都大学医学部附属病院検査部・感染制御部

2020/7/15

背景

- COVID-19診断に必須となるSARS-CoV-2の検出には、RNA抽出とRT-PCRがゴールドスタンダードである
- 当初本邦では、国立感染症研究所のN/N2アッセイが用いられていたが、現在多くの検出試薬キットが開発・発売されている
- 体外診断用医薬品(IVD)に加え研究用試薬(RUO)も保険算定可能となり臨床で利用されているが、その臨床性能比較はなされておらずその優劣は不明である

方法

- 京都大学医学附属病院および共同研究施設
- COVID-19疑い患者から診断目的で採取された155検体
- RNA抽出：Qiagen QIAamp Viral RNA mini kit
- リファレンス法：感染研N2アッセイ、米国CDC N1/N2アッセイ
- PCR装置：LightCycler 480 System II, ABI 7500 Fast, QuantStudio5
- 陽性コントロールを用いたLOD解析

材料	リファレンス PCR陽性	リファレンス PCR陰性
鼻咽頭スワブ	30	35
咽頭スワブ	15	30
喀痰	18	27
計	68	87

検討試薬の基礎性能

アッセイ名 (試薬提供元)	保険算定	LOD, copies/mL検体 (95%CI)	PCR反応時間	Internal control
感染研N2 (感染研)	RUO	220 (153–759)	68	なし
感染研N (感染研)	RUO	649 (404–6,300)	68	なし
感染研N2+EAV (Roche)	(RUO)	271 (184–1,470)	68	あり ^{1,2}
CDC N1 kit (IDT)	×	191 (116–2,490)	88	あり ^{3,4}
CDC N2 kit (IDT)	×	136 (86–1,910)	88	あり ^{3,4}
Corman E (in-house)	×	228 (126–1,900)	68	なし
LightMix [®] E kit (Roche)	RUO	1,630 (891–30,900)	65	あり ^{1,2}
LightMix [®] RdRp kit (Roche)	×	>5,000	65	あり ^{1,2}
LightMix [®] N kit (Roche)	RUO	7,610	65	あり ^{1,2}
TaqPath kit (Thermo)	IVD	298 (199–1,540)	67	あり ^{1,2}
BGI kit (シスメックス)	IVD	424 (184–11,600)	90	あり ^{1,3}
LAMP kit (栄研)	IVD	178	35	なし

¹マルチプレックス ²抽出から外部コントロール使用 ³ヒト遺伝子 ⁴別反応

結果

アッセイ名 (試薬提供元)	感度 (95% CI)	特異度 (95% CI)	再検率
感染研N2 (感染研)	Reference	Reference	-
感染研N (感染研)	69.1% (56.7-79.8)	100% (95.8-100)	-
感染研N2+EAV (Roche)	95.6% (87.6-99.1)	100% (95.8-100)	0%
CDC N1 kit (IDT)	98.5% (92.1-100)	100% (95.8-100)	1.3%
CDC N2 kit (IDT)	100% (94.7-100)	100% (95.8-100)	1.3%
Corman E (in-house)	98.5% (92.1-100)	100% (95.8-100)	-
LightMix® E kit (Roche)	86.8% (76.3-93.8)	100% (95.8-100)	0%
LightMix® RdRp kit (Roche)	42.6% (30.7-55.3)	100% (95.8-100)	0%
LightMix® N kit (Roche)	67.6% (55.2-78.5)	100% (95.8-100)	0%
TaqPath kit (Thermo)	85.3% (74.6-92.8)	100% (95.8-100)	4.5%
BGI kit (シスメックス)	88.2% (78.1-94.8)	100% (95.8-100)	2.6%
LAMP kit (栄研)	80.9% (69.5-89.5)	100% (95.8-100)	-

赤字：リファレンスと比較しP < 0.05

※コントロール反応は全て陽性

考察

- 特異度は全てのアッセイで100%であったが、感度は感染研N2, CDC N1/N2, Corman Eアッセイが有意に優れており、他のキットではばらつきがあった
- これら高感度のアッセイにコントロール反応を組み合わせたものが、リファレンス法として有用と考えられた
- 検討した試薬の中には、高感度、低い再検率、コンパクト化を実現している、あたり算理的な条件を満たすアッセイはなかった
- 臨床検査としては、術者のスキルに依存せず正確・大量・迅速な検査が可能な全自動検査法が望まれる