

新型コロナウイルス PCR 検査プロトコル

PCR 検査件数（5名プールの場合）：480名／1回

【概略図】



1. 検査諸手続き（サンプリング会場）

- エントリー（ICTシステム）
- 検査申込書の記入（日付、名前、学籍番号、確認項目など）

2. 唾液サンプリング（サンプリング会場）

服装：アイソレーションガウン・マスク・フェイスシールド・手袋着用

- サンプリングキットの使用説明
- 唾液サンプリング（スワブ使用）
- サンプル提出（UBS Card in 滅菌パウチ）
- 滅菌パウチ（最大10個）をラミジップ大袋に入れて密封
- サンプリング終了後、机や椅子などをアルコール消毒する。使用済のスワブは被験者自らオートクレーブバッグに捨てる。オートクレーブ処理はPCRセンターで行う。

3. 唾液サンプルの不活化（PCRセンターBSL-2実験室）

服装：アイソレーションガウン・マスク・手袋着用（BSL-2実験室内基準）

- 前室にて上記服装に着替え検体処理室に入室
- 検体の入ったラミジップを乾熱滅菌機で加熱処理（70℃ 20分間以上）

4. 唾液サンプルの乾燥（BSL-2実験室）

- 乾熱滅菌機から大袋を取り出し、ドラフト内で滅菌パウチを取り出す。
- 滅菌パウチからサンプルを取り出し、トレイに5個ずつ並べる。
- サンプルは安全キャビネット内で一昼夜乾燥させる。

5. サンプルの登録（BSL-2実験室及び機器室）

- バーコードリーダーでサンプルID (QRコード) を読み取り、ICT 対応管理用ワークシート (Excel ファイル) を作成する。(BSL-2 実験室)
- 管理用 ICT 対応ワークシート (Excel ファイル) をダウンロードし、PCR 検査用解析プロトコルを作成する。(機器室)

6. PCR 検査用試薬の調製 (BSL-2 実験室)

- 富士フイルム和光純薬製試薬使用
- プール法検査 (50 検体以上) 40 μ L x 検体数/5 (5 検体ミックス)
PCR マスターミックス組成 40 μ L の場合 Probe No.1 and No.2 mix
- 自動パンチ装置を使用し、各ウェルに PVA スポンジ片(1.5mm Φ)を添加。

Reaction Buffer and dNTPs	16
Hot Start Reverse Transcription DNA Polymerase	0.5
Manganese(II) Acetate,	2
Primers and Probe No.1	2
Primers and Probe No.2	2
1000x ROX	1.6
DW	15.9
Sample : PVA 1mm Φ or 1.5mm Φ	5枚
Total	40

7. PCR 検査 (機器室)

- 機器室の QuantStudio 12K を用いて新型コロナウイルス遺伝子の増幅
- 誤判定防止のためインターナルコントロール RPL13A も同時モニタリング
- 反応条件

Pre-denature 1	90°C	5 min.	50 cycles
Reverse transcription	60°C	10 min.	
Pre-denature 2	95°C	1 min.	
Denature	95°C	10 sec.	
Annealing & Extension	65°C	20 sec.	

8. 結果判定 (機器室)

- PCR センター員 3 名が個々に結果を判定し、全員の判定が完全一致することを原則とする。最終判断は特任教授が行う。
- 陽性の疑いありの場合：全数検査を即日実施する。
- 陽性確認検査：Probe No.1 and No.2 個別に検査する。

9. 検査結果の通知 (機器室)

- 陰性の場合：サンプリング翌日午後 8 時以降に ICT システムにて結果通知

- 陽性の疑い有り（検出）の場合：「検出」を通知し、自宅待機を要請する。
- 翌日、東洋紡製新型コロナウイルス PCR 検査キットで同じサンプルを用いて学内確定検査を実施する。

10. 確定検査結果の通知（機器室）

- 陰性の場合：即時に健康サポートセンターより結果を通知する。
- 検出の場合は再び自宅待機を指示し、MSTによる確定検査を行う。

11. サンプルの廃棄処理（機器室）

- 結果返却後1週間保管
- オートクレーブ処理後、一般ゴミとして廃棄

【特徴】

1. プール法を適用した PCR 検査で感度低下は起こらない。
2. 1 ウェルに最大 10 個の検体を同時に PCR 検査が可能。
3. 1 プレート（96 ウェル）で 960 名の同時検体処理が可能。
4. 自動パンチ装置及び分注機を利用すれば、数名のスタッフで 1 日最大約 4000 名検査可能。
5. 地域・企業・大学など数千に規模の一斉同時スクリーニングに最適。