

新型コロナウイルス（2019-nCoV）N タンパク質抗原検査キット （蛍光クロマトグラフィー法）非劣性研究報告

1. 前書き

新型コロナウイルス（2019-nCoV）はβ属のコロナウイルスで、膜に覆われ、粒子は円形または楕円形で、直径は60～140nmです。核タンパク質（N）、ウイルスエンベロープ（E）、マトリックスタンパク質（M）、スパイクタンパク質（S）の4種の構造タンパク質とRNA依存性RNAポリメラーゼ（RdRp）の5つの必須遺伝子があります。核タンパク質（N）はRNAゲノムを包み込み、ウイルスエンベロープ（E）に囲まれたヌクレオカプシドを形成します。ウイルスエンベロープには、マトリックスタンパク質（M）やスパイクタンパク質（S）などのタンパク質が含まれています。スパイクタンパク質は、アンジオテンシン変換酵素2（ACE-2）に結合することによって細胞に入ります。試験管での培養時、新型コロナウイルスは96時間以内にヒト呼吸上皮細胞に発現しますが、Vero E6およびHuh-7細胞株で分離および培養するには、約4～6日かかります。

RNAと同様に、構造タンパク質もコロナウイルスの特異的マーカーです。また、患者を刺激して特定の抗体を産生させるウイルス抗原でもあります。ウイルス抗原検出には、抗体検出のすべての利点（早く、簡単、便利、経済的、機器を必要としない、オペレーターや損傷環境等の要求は高くない）だけでなく、核酸検出のすべての利点（早期診断、高信頼性等）も有しています。

コロナウイルス粒子中、抗原含有量が核酸含有量の数千倍に達する可能性があることは注目に値します。文献によると、コロナウイルス粒子には、RNAは1つしか含まれていませんが、S1タンパク質とNタンパク質の平均含有量は222分子と3000分子以上です。これに基づいて計算すると、S1抗原検出の感度（最低検出限界）が6～30 pg / mLに達するか、N抗原検出の感度（最低検出限界）が40～200 pg / mLに達した時、成熟コロナウイルスの検出感度は、核酸検出（200～1000コピー/ mL、つまり3～15pg / mL）に相当します。

また、ウイルス複製の初期段階では、核酸を含まない遊離抗原を大量に放出するため、感染の非常に初期の活発な段階にある核酸陰性サンプルも抗原陽性である可能性があります。例えば、SARS-CoV感染の初期段階（1～10日目）では、70%もの患

者が血中に高レベルの N タンパク質を持っており、血中の核酸含有量はほとんど検出レベルに達しません。

したがって、理論的には、抗原は核酸よりも理想的な検出方法です。

2.研究目的

この研究の目的は、非劣性研究を通じて試験試薬の有効性を評価することです。

3.使用した製品情報

	試験試薬	対照試薬
製品名	新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）N 蛋白質検査キット（金コロイド法）	BD ベリター SARS-CoV-2 コロナウイルス抗原キット
製造販売承認番号	/	30200EZX00084000

4.全体的な設計と計画

試験試薬と対照試薬のそれぞれの陽性/総一致率と信頼区間を計算し、非劣性研究によって試験試薬を評価します。

5.試験データの統計分析法

1) 一致率

試験試薬の試験 結果	市販の核酸検出試薬の結果		
	陽性	陰性	合計
陽性	a	b	a+b
陰性	c	d	c+d
合計	a+c	b+d	a+b+c+d

a. 計 a. 試験に使用した体外診断用試薬の陽性一致率、陰性一致率、および総

一致率を計算します：

$$\text{陽性一致率} = a / (a + c) \times 100\%$$

$$\text{陰性一致率} = d / (b + d) \times 100\%$$

$$\text{総一致率} = (a + d) / (a + b + c + d) \times 100\%$$

b. 一致率の95%信頼区間：

$$95\% \text{信頼区間} = [100\% (Q_1 - Q_2) / Q_3, 100\% (Q_1 + Q_2) / Q_3]$$

陽性一致率：

$$Q_1 = 2a + 1.96^2 = 2a + 3.84$$

$$Q_2 = 1.96 \sqrt{1.96 * 1.96 + 4ac / (a + c)} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4ac / (a + c)}$$

$$Q_3 = 2 (a + c + 1.96^2) = 2(a + c) + 7.68$$

陰性一致率：

$$Q_1 = 2d + 1.96^2 = 2d + 3.84$$

$$Q_2 = 1.96 \sqrt{1.96 * 1.96 + 4bd / (b + d)} = 1.96 \sqrt{3.84 + 4bd / (b + d)}$$

$$Q_3 = 2 (b + d + 1.96^2) = 2(b + d) + 7.68$$

総一致率：

$$Q_1 = 2 (a + d) + 1.96^2$$

$$Q_2 = 1.96 \sqrt{1.96 * 1.96 + 4 (a + d) * (b + c) / (a + b + c + d)}$$

$$Q_3 = 2 (a + b + c + d + 1.96^2)$$

2) 非劣性テスト

試験試薬の正の一致率の95%信頼区間の下限をAとして設定し、対照試薬の正の一致率の95%信頼区間の下限をB、試験試薬の全一致率の95%信頼区間の下限をC、対照試薬の全一致率の95%信頼区間の下限はDと設定し、
95%CI (AB) > 0 および 95%CI (CD) > 0 の場合、試験試薬は、その検出効果において対照試薬より劣っていないと見なされます。

6. 研究結果と分析

1) 試験試薬の結果
核酸検査結果との比較

		核酸検査の結果		
		陽性	陰性	合計
試験試薬	陽性	101	2	103
	陰性	5	271	276
	合計	106	273	379

総一致率 = 98.2% (95%CI:96.2%-99.1%)
陽性一致率 = 95.3% (95%CI:89.4%-98.0%)
陰性一致率 = 99.3% (95%CI:97.4%-99.8%)

2) 対照試薬の結果
発症から 8 日後（発症日を 1 日目とする）までの試験成績

		対照 PCR 法		計
		陽性	陰性	
本品	陽性	29	1	30
	陰性	9	212	221
計		38	213	251

総一致率 : 96.0% (241/251) (95%CI:92.8%-97.8%)
陽性一致率 : 76.3% (29/38) (95%CI:60.8%-87.0%)
陰性一致率 : 99.5% (212/213) (95%CI:97.4%-99.9%)

3) 非劣性テスト

95% CI (A-B) = 28.6% > 0 且つ 95% CI (C-D) = 3.4% > 0, したがって、試験試薬は対照試薬に劣ることはありません。

7. 結論

研究検証により、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）N タンパク質検出キット（蛍光クロマトグラフィー法）の有効性は、BD ベリター SARS-CoV-2 コロナウイルス抗原キットに劣っていません。