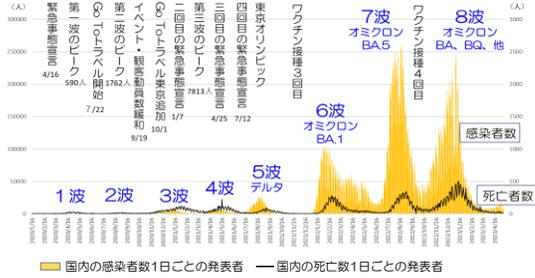


# 「感染症6」 COVID-19の核酸、抗原、抗体検査

H.U.フロンティア株式会社  
商品・サービス開発課  
飯田 慶治

## 日本のSARS-CoV-2感染動向

2023年5月7日まで 感染者：33,802,739 死亡者：74,669



## 新型コロナウイルス感染症は

2023/5/8以降

「2類相当」から  
季節性インフルエンザなどと同じ  
「5類」に移行しました。

### 全数把握

医療機関・自治体  
HER-SYS報告  
自治体  
1日毎に公表  
入院/重症者数  
全国医療機関が報告

### 定点把握

定点医療機関（5000）  
週1回報告  
感染研  
週1回公表  
入院/重症者数  
医療機関（500）  
週1回報告

その他、ゲノム解析、死亡者、病床使用率、クラスター、検査数など

## 日本における新型コロナウイルス感染症の国内発生動向

- 全ての年齢群で第32週および第33週は減少
- 第34週では0-9歳と10-59歳群増加、60歳以上は横ばい
- 第35週では再び全ての年齢群で減少
- 新規入院患者第32～第35週にかけ全ての年齢群で横ばいから減少



出典：各都道府県の上の医療機関を把握可能な自治体（データ範囲：2023年5月8日～2023年10月9日）  
新型コロナウイルス感染症サーベイランス速報・週報、国立感染症研究所（国立感染症研究所）

### 全数把握

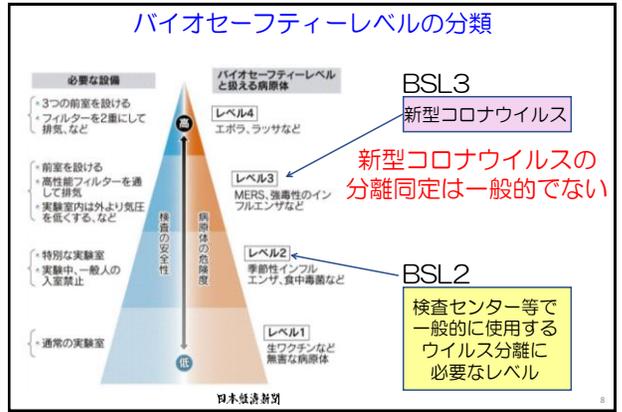
医療機関・自治体  
HER-SYS報告  
自治体  
1日毎に公表  
入院/重症者数  
全国医療機関が報告

### 定点把握

定点医療機関（5000）  
週1回報告  
感染研  
週1回公表  
入院/重症者数  
医療機関（500）  
週1回報告

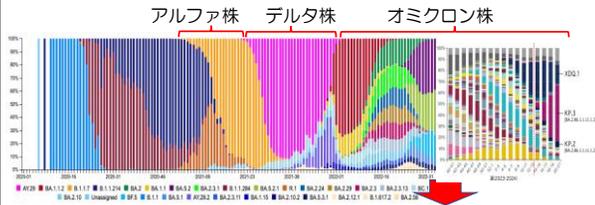
令和7年4月～ 完全移行  
急性呼吸器感染症（ARI）定点 5000→3000か所

「5類」に移行しても  
変わらないこと



今現在、流行している  
新型コロナウイルスのタイプは？

### オミクロン株優位の状況は世界的にみられている



オミクロン株は現在も変異を続け、異なる変異を持つ子孫系統（亜型）を増やしており、その中の特定の系統が公衆衛生上のリスクを獲得する可能性も考えられます。

出典：厚労省 第98回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード

### 世界の新型コロナウイルス変異株流行状況（更新：9月4日）

GISAIDに登録された各国からのゲノムデータ報告数と個別流行株（7月1日～8月31日）

国・地域	期間内ゲノム報告数	各国の流行株				
		主系統	第2系統	第3系統	第4系統	第5系統
世界	54808	KP.3.1.1	KP.2.3	KP.3.3	KP.3.1	KP.2
アメリカ	20108	KP.3.1.1	KP.2.3	KP.3.3	LB.1.7	KP.3.1
カナダ	7966	KP.3.1.1	KP.2.3	KP.3.1	LB.1	KP.3.3
イギリス	4325	KP.3.1.1	KP.3.1	KP.3.3	KP.2.3	KP.3
日本	3639	KP.3.3	KP.3.3.3	KP.3.1	KP.3.1.1	ML.1
スペイン	2677	KP.3.1.1	KP.3.1	KP.3.3	KP.2.3	XDV
フランス	2181	KP.3.1.1	KP.2.2	KP.3.1	KP.2.3	KP.3
オランダ	1577	KP.3.1.1	KP.3.2	KP.2.3	KP.3.1	KP.3.2
オーストラリア	1201	KP.3.1	KP.3.2	KP.3.3	KP.3.1.1	KP.3
デンマーク	1125	KP.3.1.1	KP.3.3	KP.2.3	KP.3.1	LB.1
ドイツ	1054	KP.3.1.1	KP.3.3	KP.3.1	KP.2.3	LB.1

オミクロンBA.2系統の子孫株

### KP.3の症状

今までのオミクロン株と大きく変わりません

- 感染力がかなり強い
- 主にあらわれるのはのどの痛みと発熱
- 抗体が効きにくい  
KP.3株が自然感染の際につくられた抗体やワクチン接種による中和抗体に対して「高い逃避能を有している」と発表した。  
The Lancet Infectious Diseases Volume 24, Issue 8F, 482–E483A, up to 2024
- 風邪なのか熱中症なのか判断できない

新型コロナウイルス感染症で  
問題となっている、もうひとつの疾患

### WHOによる「post COVID-19 condition」の定義

COVID-19患者で、少なくとも2カ月以上持続、他の疾患による症状として説明がつかないものである。



後遺症の症状が、要件を満たせば身体障害者手帳が交付

新型コロナウイルス感染症に感染された方へ

### 症状が長引く？ （後遺症症状）

新型コロナウイルス感染症にかかった後、ほとんどの方は軽微な症状とともに回復が期待されます。一方で一部の患者は、長引く症状（**後遺症症状**、いわゆる後遺症）があることがわかってきました。

**後遺症症状の例**

疲労感・倦怠感	頭痛	筋肉痛	咳
発熱	息切れ	嘔吐	発汗
記憶障害	集中力低下	嗅覚	味覚
嗅覚障害	味覚障害	動悸	下痢
腰痛	関節痛	自力低下	

【参考】WHOによる「post COVID-19 condition」の定義  
（WHO）「COVID-19患者で、少なくとも2か月以上持続、他の疾患による症状として説明がつかないものである。」

症状が改善せず続く場合には…？  
（新たに症状が出現した場合は含みます。）

**かかりつけ医等や地域の医療機関に相談しましょう。**

※ 自治体によっては、相談窓口を開設している場合や相談できる医療機関のリストをホームページで公開している場合があります。

厚生労働省

原因は解明されていないが  
興味深い説がある!!

> HHV-6は小児に突発性発疹を発生  
 →治癒後マクロファージに潜伏感染する。  
 > 再活性化が起ると  
 →唾液中に排出されたHHV-6が嗅球に到達し潜伏感染  
 > 再度、再活性化  
 →嗅球アストロサイトにアポトーシスを誘導、SITH-1  
 蛋白を発現  
 →脳細胞にカルシウムが過剰流入し脳活動の低下、脳の  
 炎症などを生じ、それがうつ病、慢性疲労、ブレイン  
 フォグ、アルツハイマーなどにつながる。

SARS-CoV-2のS1蛋白も細胞内カルシウム濃度を上昇させ、嗅球のアポ  
 トーシスを誘導し、後遺症を起こす。  
 →しかし、SARS-CoV-2は数週間で体内から排除されるため、数か月～数  
 年持続する後遺症をS1蛋白だけで説明できない。  
 > SARS-CoV-2が嗅球系に感染すると、元々潜伏感染していたHHV-6が再  
 活性化し、SITH-1が発現するため、長期化するのでは  
 ないかと考え、COVID-19罹患後患者の  
 血中抗SITH-1抗体価を測定したところ、  
 多くの陽性者が認められた。

**HHV6が後遺症に関与する可能性が!?**  
 近藤一博 東京慈恵会医科大学ウイルス学講座教授

19

# 新型コロナウイルス感染症 を診断する検査

20

### SARS-CoV-2を検出する検査

	核酸検査 (PCR)	抗原検査		抗体検査
		定量検査 (高感度)	定性検査 (迅速)	
目的	今感染しているかを調べる			感染既往の有無、 ワクチン効果など
対象	ウイルス核酸	ウイルス表面の蛋白質 (抗原)		
材料	喀痰、鼻咽頭、鼻腔、唾液など	鼻咽頭、鼻腔など		血液
所用時間	4-6h (迅速1-2h)	30分程度	10~15分程度	数十分~1h程度
感度	高い	核酸増幅検査に 比べやや劣る	抗原定量に比べ 劣る	性能は試薬により 異なる

21

### PCR法の歴史

1962年10月19日付新聞記事  
 ワトソン、クリック、ウィルキンスの3人の  
 ノーベル生理学・医学賞受賞

1985年キャリー・マリスが *Thermus aquaticus*  
 の耐熱性ポリメラーゼを用いたPCR法を発明  
 (1993年ノーベル賞受賞)

Thermus aquaticus  
 (1969年イエローストーン国立公園より発見)

サーマルサイクラーの普及にともない、  
 PCR法は爆発的な飛躍を遂げる

22

### PCR法の測定原理について (DNA)

二本鎖DNA → 熱変性により1本鎖へ  
 ↓ 94°C  
 ↓ アニーリング  
 ↓ 60°C  
 ↓ DNA合成酵素による伸長反応  
 ↓ 72°C

新型コロナウイルスの核酸配列の一部を  
 1時間後に数千万~数億本に増幅して検出

23

### 干し草の山から 1本の針を見つける

24

# ウイルスの構造

25

自己を複製する遺伝情報を  
 蛋白の殻が包む構造で  
 遺伝子はDNAかRNAの一方



DNAウイルス  
 アデノウイルス  
 ヘルペスウイルス など



RNAウイルス  
 インフルエンザウイルス  
 麻疹ウイルス など

26

PCR法=DNAウイルスの  
 遺伝子を増幅して検出する

27

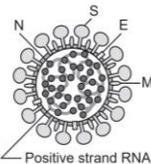
新型コロナウイルス

では、RNAウイルスを  
 検出する方法は？

28

新型コロナウイルスの検出には！

- PCR  
 (Conventional PCR)
- RT-PCR  
 逆転写酵素 (Reverse Transcriptase)



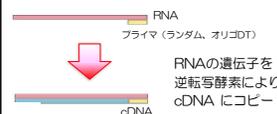
インフルエンザウイルス  
 麻疹ウイルス  
 風疹ウイルス など

29

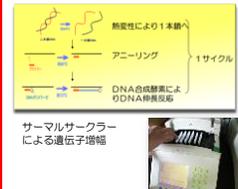
RT-PCR法の測定方法



核酸抽出



通常のPCR法



サーマルサークル  
 による遺伝子増幅



増幅産物を  
 アガロースゲルに注入  
 紫外線照射、  
 撮影、判定

30

核酸増幅法に用いられている検査原理

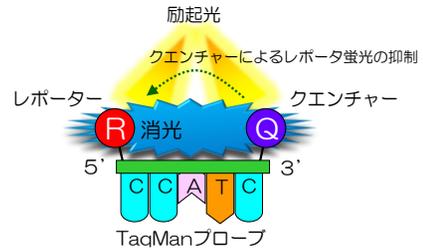
- PCR (Conventional PCR)
- RT-PCR
- リアルタイム (RT-) PCR

RNAウイルスなので RTは必須

31

TaqManプローブ

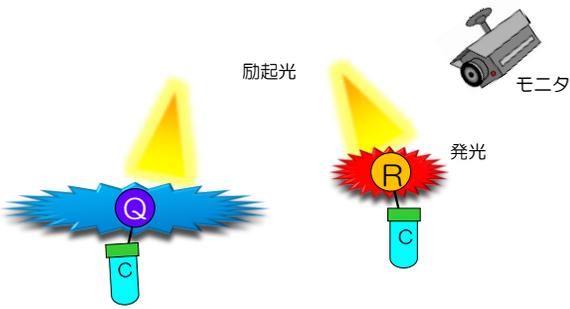
FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer)



32

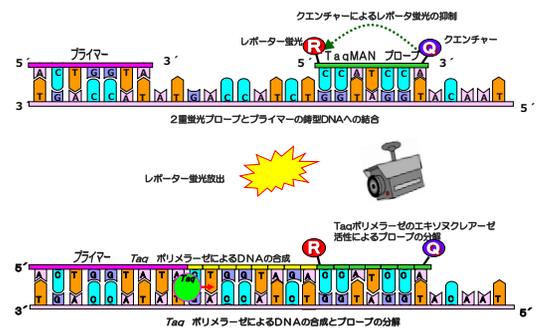
Real-Time PCR : TaqManプローブ

FRET (Fluorescent Resonance Energy Transfer)



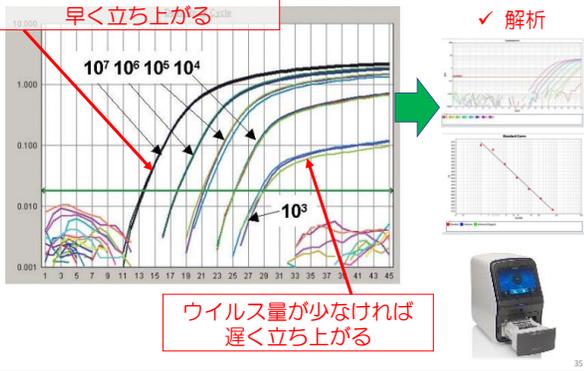
33

Real-Time PCR : TaqMan法の原理



34

ウイルス量が多ければ  
早く立ち上がる



ウイルス量が少なければ  
遅く立ち上がる

35

核酸増幅法に用いられている検査原理

- PCR (Conventional PCR)
- RT-PCR
- リアルタイム (RT-) PCR
- リアルタイム Onestep (RT-) PCR

36

### リアルタイム OneStep RT-PCR法とは

病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.8

✓ 核酸抽出

QIAamp Viral RNA Mini Kit

✓ 逆転写反応

RNA  
プライマ (ランダム、オリゴDT)

↓

cDNA

RNAの遺伝子を逆転写酵素によりcDNA にコピー

✓ 増幅

QuantStudio リアルタイムPCRシステム  
7500リアルタイムPCRシステム

7の DNAポリメラーゼ

✓ 逆転写反応  
✓ 増幅

同チューブ内で継続反応

37

## 自動化、省人化を目的とした 核酸増幅法として

38

### リアルタイム遺伝子解析装置「コバス 8800 システム」

最初の96テスト 3時間半以内  
以降、約30分ごとに96テストを実現。

1時間	96テスト
2時間	192テスト
3時間	288テスト
4時間	384テスト
5時間	480テスト
6時間	576テスト
7時間	672テスト
8時間	768テスト
9時間	864テスト
10時間	960テスト

**コバス® SARS-CoV-2試薬**

- 上気道又は下気道由来検体中の新型コロナウイルス RNAを検出
- 新型コロナウイルスに特異的な遺伝子配列 (Orf1a/b) と、新型コロナウイルスを含むサルベコウイルス亜属のサルベコウイルスに共通した遺伝子配列 (E遺伝子) を同時に検出し、変異などによる陰性リスクを低減
- 抽出から検出までを全自動

引用：ロシュ社リーフレットより

39

## 網羅的に病原体の 核酸を増幅して検出

40

### 多項目核酸検出検査

FilmArray 呼吸器パネル 2.1

区分番号	検出点数	検出方法	検出項目
1023	1,350 点	多重PCR	鼻咽頭試液・痰中のインフルエンザウイルス、コロナウイルス、アデノウイルス、ヒトメタニューモウイルス、クラミジア、マイコプラズマ、百日咳菌及び SARS-CoV-2 の同時検出
病原体多項目同時検出 (SARS-CoV-2 を含む)	(2) 病原体多項目同時検出 (SARS-CoV-2 を含む)	マイクログレイン (定性)	ニューモシシトシス、アデノウイルス、ヒトメタニューモウイルス、クラミジア、マイコプラズマ、百日咳菌及び SARS-CoV-2 の同時検出

全自動遺伝子解析装置・専用試薬 BioFire® FilmArray®

### 複数項目核酸検出検査

- SARS-CoV-2・インフルエンザ核酸同時検出
- SARS-CoV-2・RS ウイルス核酸同時検出

41

## PCR以外の 核酸増幅法

42

**LAMP法**  
(栄研化学)



リアルタイム増幅検出装置 Logamp EXA

陽性一致率：90%  
陰性一致率：100%

**SmartAmp法**  
(理化学研究所/ダナフォーム共同開発)



陽性一致率：90%  
陰性一致率：100%

**TMA法**  
(ホロジックジャパン)



パンサーシステム

陽性一致率：100%  
陰性一致率：100%

43

**ミュータスワコー**  
(富士フイルム和光純薬株式会社)



測定：約75分

陽性一致率：100%  
陰性一致率：100%

採取検体を専用前処理チューブに入れ、試薬、チップを装置にセット。抽出から増幅、検出までの全工程を自動で行う。

**Smart Gene Qプローブ法**  
(ミスホメディー)



陽性一致率：100%  
陰性一致率：100%

抽出から増幅、検出までの全工程を自動で行う。1時間程度で結果が得られる。

44

**核酸増幅法を用いた検査試薬の特徴**

検査法	RT-PCR法	リアルタイム RT-PCR法	リアルタイム Onestep RT-PCR法	LAMP法	Smart Amp法	TMA法
核酸抽出・精製	あり	なし(メーカーオリジナルの前処理液)				
プライマープローブ	N1/N2 感染研法		N1/N2 CDC法		各メーカー設定	
感度	10 コピー/反応~100コピー/反応					
専用測定器	あり(全自動O/X)			なし(LightCycle96/480、CFX96 Touch、QuantStudio、ABI 7500、etc)		
インターナルコントロール	あり			なし		
検査所要時間	約1時間~5時間					
認証制度申請	あり(FDA/EUA、CEマークなど)				なし	

45

**新型コロナウイルス感染症の検査に係る保険収載価格(核酸検出)**

検査項目	現行点数	見直し(案)	適用点数(案)
SARS-CoV-2核酸検出(検査委託)	1800点	700点(※)	D023 微生物核酸検出・定量検査(9) HCV核酸検出(350点) 2回分
SARS-CoV-2核酸検出(検査委託以外)	1350点	700点(※)	D023 微生物核酸検出・定量検査(9) HCV核酸検出(350点) 2回分
SARS-CoV-2・インフルエンザ核酸同時検出(検査委託)	1800点	700点(※)	D023 微生物核酸検出・定量検査(9) HCV核酸検出(350点) 2回分
SARS-CoV-2・インフルエンザ核酸同時検出(検査委託以外)	1350点	700点(※)	D023 微生物核酸検出・定量検査(9) HCV核酸検出(350点) 2回分

※ 激変緩和のための経過措置として、令和3年12月31日から令和4年3月31日まで1350点(D023 微生物核酸検出・定量検査「14」SARSコロナウイルス核酸検出(450点) 3回分)とし、感染状況や医療機関での実施状況を踏まえて、令和4年4月1日に700点とする。

HIV・1定量：520点、HPV核酸検出：347点、HCV定性：330点、HCV定量：412点、HBV定量：256点 など

46

**新型コロナウイルス**  
**核酸増幅検査の注意点**

47

**Ct (Cp) 値と感染性**  
Threshold cycle Crossing Point

48





### PCR法は、高感度ゆえに コンタミネーションのリスクを背負う

50Mプール

100µl  
PCR産物  
40copy/10µl

出典: フリー百科事典『ウィキペディア (Wikipedia)』より

61

### コンタミネーションの原因

- エアロゾル、ターゲット遺伝子を含むサンプルが混入することによる
- PCR産物がサンプル中に混入（エアロゾルに乗ってなど）することによる

Aerosols  
Pipette  
Pipette  
Pipette  
e.g. blood

気泡破裂による  
エアロゾル浮遊

ピペット内への  
吸い込み

62

### コンタミネーション対策

- グローブ着用（こまめに交換）
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解

UV照射中

63

### コンタミネーション対策

- グローブ着用
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解
- 作業毎の部屋の分割（差圧→空気の流れ）

PCR検査室  
試薬調整室  
検出室  
電気泳動室  
前室

試薬調整・分注室  
前処理、抽出室

外部排気：安全キャビネット  
汚液計  
奥の部屋（陽圧）：核酸抽出  
手前（陰圧）：反応液調製  
更に手前（陰圧）：PCR、泳動

室内排気：クリーンベンチ

64

### コンタミネーション対策

- グローブ着用
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解
- 作業毎の部屋の分割（差圧→空気の流れ）
- 作業者の入室制限（汚染区域作業→ 試薬調整）

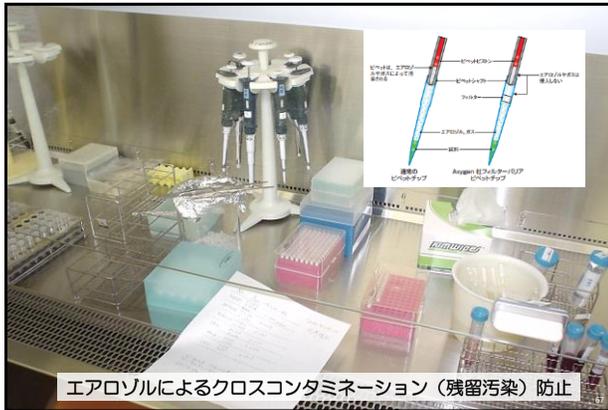
PCR検査室  
試薬調整室  
検出室  
電気泳動室  
前室

65

### コンタミネーション対策

- グローブ着用
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解
- 作業毎の部屋の分割（差圧→空気の流れ）
- 作業者の入室制限（汚染区域作業→ 試薬調整）
- 機械化
- ディスポーザブル器具、フィルター付きピペットチップ

66



67

### コンタミネーション対策

- グローブ着用
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解
- 作業毎の部屋の分割（差圧→空気の流れ）
- 作業者の入室制限（汚染区域作業→ 試薬調整）
- 機械化
- ディスポーザブル器具、フィルター付きピペットチップ
- 検体、試薬等の入った容器はスピンドウン

68

### コンタミネーション対策

- グローブ着用
- 紫外線照射、次亜塩素酸による清掃、分解
- 作業毎の部屋の分割（差圧→空気の流れ）
- 作業者の入室制限（汚染区域作業→ 試薬調整）
- 機械化
- ディスポーザブル器具、フィルター付きピペットチップ
- 検体、試薬等の入った容器はスピンドウン
- 陽性コントロール使用時には注意を払う

69

### PCRは諸刃の剣

コンタミネーションによる偽陽性

高感度  
高特異性

目に見えない恐怖

一方では非常に役に立つが、他方では大きな害を与える危険もある

70

### 感染拡大初期に 多かった問い合わせ

71

院内の検査室に新規導入したいのですが機器は何を揃えれば良いですか？

PCRの経験者がいませんが、検査を実施する上での要点を教えてください。

BSL2とはどのような施設で、満たすための条件や準備する機器があれば教えてください。 . . . etc

メディア、ワイドショーがPCRを安易にあたかも簡単そうにできそうに言うから、 . . .

72

## 知識、技術の習得

核酸抽出

核酸増幅

解析

核酸増幅検査を実施する上での知識と技術をしっかり習得する



73

### 日本遺伝子診療学会 Japanese Society for Gene Diagnosis and Therapy

ホームページ

学会概要  
学術事業  
委員会活動

ELSI委員会  
病原体核酸検査委員会

病原体核酸検査委員会

新型コロナウイルス感染症検査に専事する初心者向けの解説書とQ&A「はじめて新型コロナウイルス検査を行う方のために」を2021年7月に発行しましたが、この度、取り急ぎ増補版を企画して、解説書『病原体核酸増幅検査を行う際にご覧いただきたいこと』として第3版改訂を発行しました。

「病原体核酸増幅検査を行う際にご覧いただきたいこと」第3版  
発行：日本遺伝子診療学会 編集：病原体核酸検査委員会

74

### 日本遺伝子診療学会 新型コロナウイルス感染症検査委員会編 「病原体核酸増幅検査を行う際にご覧いただきたいこと」(一般的な注意点)

各論1: 「新型コロナウイルス検査」

各論2: サル痘、RSウイルス、ヘルパンギーナ(手足口病含む)

担当理事: 宮地勇人 (新渡戸文化短期大学)

委員会委員  
東田修二 (東京医科歯科大学)、前川真人 (浜松医科大学)、中谷 中 (上野総合市民病院)、  
仁井見英樹 (富山大学)、下澤達雄 (国際医療福祉大学)、前島隆浩 (栄研化学株式会社)、谷  
本和仁 (富士フィルム和光純薬株式会社)、八木慎太郎 (富士レボ株式会社)、飯田隆治 (H.U.  
フロンティア株式会社)、大場利治 (タカラバイオ株式会社)、西田美和 (ロシユ・ダイアグ  
ノスティクス株式会社)、吉本倫子 (シスメックス株式会社)、宮家義博 (東洋紡株式会社)、  
小林博幸 (塩野義製薬株式会社)、丸瀬英明 (株式会社島津製作所)、松下一之 (委員長、千  
葉大学)。

作成協力者  
平井那知 (浜松医科大学)、松永 楓 (富山大学)、池尻 誠 (三重大学)、石毛崇之・今泉  
徳理 (千葉大学)、渡辺雄大 (国際医療福祉大学)

75

## Point! 精度管理

76

## 精度の保証

今後、感染拡大状況の変化、実施施設の増加により、遺伝子検査そのものの精度が危ぶまれてきます。

LDTとして承認された新型コロナウイルス核酸検出は精度管理必方法が確率されたものではなく、検査精度を担保すべく検討が必要です。

1. 検体採取から検査開始までの保存等の条件
2. 検体からの核酸抽出時の精度管理
3. 核酸増幅・検出の精度管理

一般社団法人 日本臨床微生物学会

77

### 厚生省委託事業「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」(令和2年度)

事務進捗  
令和3年4月16日

「精度管理 実施調査報告」 衛生主管部(局) 締中

厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策推進本部  
「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」  
について(最終)

新型コロナウイルス感染症の検査については、長年機関においては医療法(昭和23年法律第205号)に、衛生検査所においては臨床検査技師等に關する法律(昭和25年法律第76号)とそれぞれに基づき検査精度に關する検査基準が定められていることである。

全国の医療、検査、研究関連施設で行われている多様な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の調査

- ①精度管理実態調査
- ②外部精度管理調査

これらの調査に基づき

③精度管理マニュアル作成

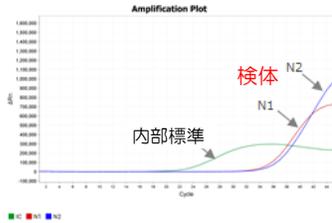
精度確保における課題を整理し、留意すべきポイントについて記述

78



## インターナルコントロールの確認

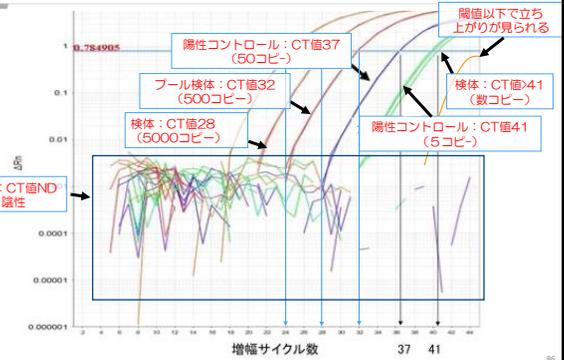
PCRを用いた遺伝子検査を実施する際の  
阻害影響評価等に使用する目的で開発された鋳型DNA



目的：PCR阻害による偽陰性の影響評価

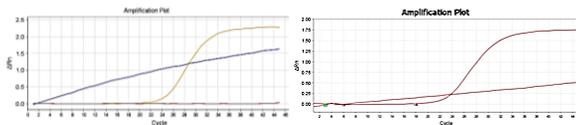
85

## 増幅曲線のパターン確認



86

## 通常とは異なる増幅曲線のパターン



測定に影響を及ぼす要因として

- コントロールの劣化、不良
- 試薬の劣化、不良、調整ミス
- 検査工程、手技のミス
- コンタミネーション

検査結果、増幅パターンなどから  
測定が正確か否かを判断できる知識が重要

87

## 精度管理表への記録

陽性RNA、  
陽性プール検体は  
Ct値で管理

陰性RNA、  
陰性プール検体は  
定性値で管理



88

## 外部精度評価への参加

- 日本医師会 臨床検査精度管理調査
- 日本衛生検査所協会 臨床検査精度管理調査
- 日本臨床衛生検査技師会 臨床検査精度管理調査
- 全国労働衛生団体連合会 臨床検査精度管理調査
- CAP Survey (3試料)
- 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

89



使用する検査材料で  
検出率に差がでる

90

### 下気道由来検体

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

2019-nCoV(新型コロナウイルス)の病原体検査を依頼する際には下記の通りをお願いいたします。

**【必要な検体】**  
 現行の病原体検査(PCR)では下記の2検体を検査します。下気道にウイルス量が多いことが報告されていますので、なるべく喀痰などの下気道由来検体の採取をお願いします。痰が出ないなど、下気道由来検体の採取が難しい場合は咽頭ぬぐい液のみで構いません。

検体採取方法	検体の種類	採取時期	量
1	下気道由来検体 (喀痰もしくは気管吸引液)	できる限り早く(発病後5日以内)	1~2 mL
2	咽頭ぬぐい液	できる限り早く(発病後5日以内)	1本

ウイルス量が多い

喀痰：乾性咳嗽が多く出ないことが多い  
 BAL：危険なのでほとんど行われない

エアロゾル発生リスク

減菌容器

91

### 咽頭ぬぐい液、鼻咽頭ぬぐい液

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

2019-nCoV(新型コロナウイルス)の病原体検査を依頼する際には下記の通りをお願いいたします。

**【必要な検体】**  
 現行の病原体検査(PCR)では下記の2検体を検査します。下気道にウイルス量が多いことが報告されていますので、なるべく喀痰などの下気道由来検体の採取をお願いします。痰が出ないなど、下気道由来検体の採取が難しい場合は咽頭ぬぐい液のみで構いません。

検体採取方法	検体の種類	採取時期	量
1	下気道由来検体 (喀痰もしくは気管吸引液)	できる限り早く(発病後5日以内)	1~2 mL
2	咽頭ぬぐい液	できる限り早く(発病後5日以内)	1本

UTM, VTM Universal/Virus Transport medium

フロックスワブなど鼻腔用の細いもの

咽頭ぬぐい液：鼻咽頭スワブができない場合  
 鼻咽頭ぬぐい液：咽頭に比べ感度が高い

Zou L. et al. : SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. N Engl J Med. 2020.

92

### 唾液

#### 唾液採取の注意点

- 消化酵素の影響やウイルスの物理的除去を避けるため、採取前に歯磨きやうがい、飲食を行わないように指導。
- 容器外壁を汚染する可能性があるため、採取容器は、可能であれば被検者自身が酒精綿で清拭する。

無症状発症者追加

検査で陰性

検体の対象者	PCR検査 (LAMP法含む)		抗原検査 (定価)		抗原検査 (簡便キット)	
	鼻拭液	唾液	鼻拭液	唾液	唾液	唾液
無症状発症者 (PCR検査のみ)	○	○	○	○	○ (※1)	× (※2)
無症状発症者 (抗原検査のみ)	○	×	○	×	△ (※3)	× (※2)
無症状発症者 (両方とも)	○	×	○	×	× (※3)	× (※2)

検体に検出できるコピー数が含まれていない(少な)かった「感染初期の可能性」

必要に応じて適正な追加検査

93

### 唾液からの検出率は？

94

### 唾液中のウイルスロード

気管内吸引物

唾液

唾液中にもウイルスが多量に排出されている

To et al. Lancet Infect Dis. 10.1016/S1473-3099(20)30196-1 2020

95

Point!

### 採取条件、容器について

96

### 適切な検体採取、保存温度

適切に採取できていない

- 適切な部位
- 材料別で適切な採取法

保存状態が悪い

- 採取後の温度
- 採取後の放置時間
- 保管、輸送温度
- 検査開始までの時間

↓

偽陰性になることがあるので注意

97

### 注意!! 試薬により使用できない容器

簡易抽出法を用いている試薬  
(タカラ、東洋紡、島津製作所など)



SARS-CoV-2不活化試薬  
シスメックス



コバス PCR  
メディア



Aptima® Multitest  
Swab採取セット



ウイルス保存/輸送用試薬



ウイルス不活化  
保存/輸送用試薬



Genetics

グアナチジンを含む容器

98



## 検体の前処理が 検出率に影響する

99

### 前処理を適切に行う

同材料でも  
性状が違う

- さらさら
- ねっとり
- カチカチ

材料別に  
処理が異なる

- 鼻咽頭、咽頭
- 喀痰、BAL
- 唾液

↓

各材料の性状にあわせた前処理方法を知り  
状況に応じた判断が必要  
不十分な場合には正しい結果が得られない

100

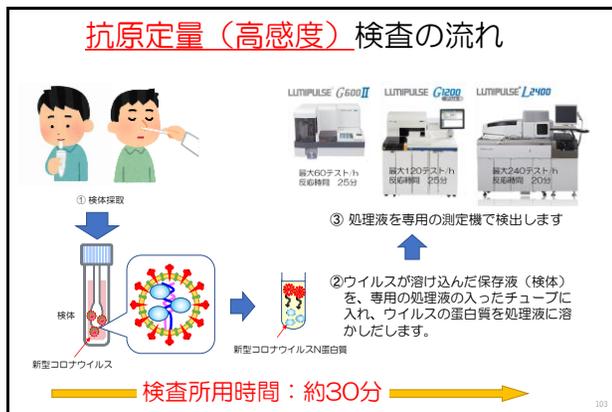


101

### SARS-CoV-2を検出する検査

	核酸検査 (PCR)	抗原検査		抗体検査
		定量検査 (高感度)	定性検査	
目的		今感染しているかを調べる		感染既往の有無、ワクチン効果など
対象	ウイルス核酸	ウイルス表面の蛋白質(抗原)		
材料	喀痰、鼻咽頭、鼻腔、唾液など	鼻咽頭、鼻腔など		血液
所用時間	4-6h (迅速1-2h)	30分程度	10~15分程度	数十分~1h程度
感度	高い	核酸増幅検査に 比べやや劣る	抗原定量に比べ劣る	性能は試薬により異なる

102



103

**Point!** 核酸増幅検査との処理能力の差

104

104

### Cobas8800 vs ルミパルス

#### 自動化核酸増幅

cobas 8800 (Roche社)

● cobas 8800 System  
最初の96テスト 3時間半以内  
以降、約30分ごとに96テストを実現。

検体投入

- 3.5時間：96テスト
- 4時間：192テスト
- 5時間：384テスト
- 6時間：576テスト
- 7時間：768テスト
- 8時間：960テスト

#### 抗原定量

Lumipulse L2400 (富士レビオ社)

最初の1テスト 約25分/以降、約15秒ごと1テスト

- 15分：60テスト
- 30分：120テスト
- 1時間：240テスト
- 2時間：480テスト
- 3時間：720テスト
- 4時間：960テスト
- ...
- 8時間：1920テスト

2倍

105

105

### タカラ vs ルミパルス

#### 汎用核酸増幅

QS5 (サーモ社)+タカラ

検体投入

- 1.5時間：88テスト
- 3時間：176テスト
- 4.5時間：264テスト
- 6時間：352テスト
- 7.5時間：440テスト
- 9時間：528テスト

#### 抗原定量

Lumipulse L2400 (富士レビオ社)

最初の1テスト 約25分/以降、約15秒ごと1テスト

- 15分：60テスト
- 30分：120テスト
- 1時間：240テスト
- 2時間：480テスト
- 3時間：720テスト
- 4時間：960テスト
- ...
- 9時間：2160テスト

4倍以上

106

106

**Point!** 感度の差

107

107

抗原定量はPCRと同じ目的で使用される、、、が

### 鼻腔ぬぐいや唾液に対応

検査法	核酸増幅検査 (PCR、LAMPなど)			抗原定量検査		
	鼻咽喉ぬぐい	鼻腔ぬぐい	唾液	鼻咽喉ぬぐい	鼻腔ぬぐい	唾液
検査する材料						
	発症から9日以内	○	○	○	○	○
	発症から10日以降	○	○	推奨されません	○	○
受検者の状態	症状が無い	○	○	○	△	○

△：確定診断としての使用は推奨されませんが、感染拡大地域の医療機関や高齢者施設等において幅広く検査を実施する際にスクリーニングに使用することは可能。

第47回厚生科学審議会感染症部会 資料2-2 新型コロナウイルス感染症病原体検査の指針の策定  
https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000675465.pdf

108

108

### ルミパルスと核酸検査法との相関性（唾液）

空港検疫および濃厚接触者の唾液検体について、核酸増幅法と比較本試験で算出された本品のカットオフ値：0.67 pg/mL

	陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
空港検疫	100.0%	99.3%	99.3%
濃厚接触者	70.5%	100.0%	91.9%

	RT-PCR法		
	陽性	陰性	計
本品	4	13*1	17
本品	0	1,746	1,746
計	4	1,759	1,763

	RT-PCR法		
	陽性	陰性	計
本品	31	0	31
本品	117	117	130
計	44	117	161

\*1：本品の測定値は4.00pg/mL未満（与抗原量が少ない）  
\*2：核酸増幅法の Ct値は33～35が4例、35以上が9例（与RNA量が少ない）

いずれも乖離例はウイルス量が少ない検体と考えられる

ルミパルス SARS-CoV-2 Ag 添付文書より

109

### 体内のウイルス量が少ない段階では検出できないこともあります

1600コピー以上 : 100%  
400コピー以上 : 93%  
100コピー以上 : 83%

検査の対象者	鼻咽頭（検易キット）		唾液
	陽性	陰性	
検査の対象者	○ (#1)	× (#2)	×
有症状者 (症状未満者含む)	○ (#1)	△ (#3)	×
無症状者	×	×	×

➢ 唾液、鼻前庭不可  
➢ 無症状者 鼻咽頭不可

110

### SARS-CoV-2を検出する検査

	核酸検査 (PCR)	抗原検査		抗体検査
		定量検査 (高感度)	定性検査	
目的		今感染しているかを調べる		感染既往の有無、ワクチン効果など
対象	ウイルス核酸	ウイルス表面の蛋白質（抗原）		
材料	喀痰、鼻咽頭、鼻腔、唾液など	鼻咽頭、鼻腔など		血液
所用時間	4~6h (迅速1~2h)	30分程度	10~15分程度	数十分~1h程度
感度	高い	核酸増幅検査に比べやや劣る	抗原定量に比べ劣る	性能は試薬により異なる

111

### 早期診断で主流の迅速検査、イムクロマト（IC）

迅速免疫測定法 (EIA) を測定原理としたイムクロマト法

1600コピー以上 : 100%  
400コピー以上 : 93%  
100コピー以上 : 83%

20分で検出

- 患者を待たせる時間が少ない
- ウイルス増殖前に処方し発症を軽くする
- 核酸増幅や抗原定量に比べ感度が低い

112

### 迅速抗原検査の有効性

- SARS-CoV-2の感染拡大を防ぐには、比較的低感度の検査を週に2回行う方が、より精度の高い検査(PCRなど)を2週間に1回行うよりも効果的であると考えられる。
- 迅速抗原検査の発症前もしくは無症状の感染者に対する検出感度は63%程度であるが、感染性ウイルス量のカットオフ値を適用すると85%以上になる。
- サーベイランスの効果は、検査の実施頻度と迅速性に大きく依存し、検査感度が高くては改善されるにすぎない。サーベイランスでは、アクセスのしやすさ、検査頻度、サンプルから回答までの時間を優先すべきであり、分析的な検出感度は二の次にすべきである。

Guglielmi G. Nature. 585. 496-498 (2020)  
https://doi.org/10.1101/2020.06.22.20136309  
https://doi.org/10.1101/2021.03.18.21253874

113

### 新型コロナウイルス感染症の検査に係る保険収載価格（抗原検査）

検査項目	現行点数	見直し(案)	適用点数(案)
SARS-CoV-2抗原検出(定性)	600点	300点	D012 感染症免疫学的検査 [25] マイコプラズマ抗原定性(免疫クロマト法) (150点) 2回分
SARS-CoV-2抗原検出(定量)		560点	D012 感染症免疫学的検査 [46] HIV-1抗体(ウエスタンブロット法) (280点) 2回分
SARS-CoV-2・インフルエンザウイルス抗原同時検出(定性)	600点	420点	D012 感染症免疫学的検査 [39] 単純ヘルペスウイルス抗原定性(角膜) (210点) 2回分

114

# 抗体検査

ウイルスに感染したことを回顧的に示す

115

## SARS-CoV-2を検出する検査

	核酸検査 (PCR)	抗原検査		抗体検査
		定量的検査 (高感度)	抗体検査	
目的		過去に感染したことがあるか		感染既往の有無、ワクチン効果など
対象	ウイルス核酸	ウイルス表面の蛋白質 (抗原)		血液
材料	喀痰、鼻咽頭、鼻腔、唾液など	鼻咽頭、鼻腔など		
所用時間		<ul style="list-style-type: none"> <li>過去の感染を証明</li> <li>診断目的として単独では難あり</li> <li>疫学調査に用いることが多い</li> </ul>		数十分~1h程度
感度				性能は試薬により異なる

116

# 新型コロナウイルス

## 抗体検査の特徴

117

## 新型コロナウイルス抗体検査の使い分け

スパイクタンパク質 (S) に対する抗体  
過去の感染、ワクチン接種後

ヌクレオタンパク質 (N) に対する抗体  
過去の感染

	83B4-9 SARS-CoV-2 抗体	OE45 SARS-CoV-2 IgG N	X750-1 SARS-CoV-2 抗体 S	OE68-5 SARS-CoV-2 IgG S	X767-B SARS-CoV-2 IgM
抗体	Nタンパクに対する総抗体	Nタンパクに対するIgG	Sタンパク (RBD) に対する総抗体	Sタンパク (RBD) に対するIgG	Sタンパクに対するIgM
自然感染	○	○	○	○	○
ワクチン	×	×	○	○	△

118

## ワクチン接種後の抗体価はどれだけ上がればいいのか？

Vaccine INJECTION ONLY

119

## ワクチン接種による抗体価の推移

病院職員100名にファイザーワクチン2回接種、抗体価3種の推移を測定 (S-IgG, S-IgM, N-IgG)

① Baseline : 接種前、② 21days : 1回目接種21日後、③ 35days : 2回目接種14日後

S-IgGはAbbott S-IgGも測定、同様に抗体価推移

レビオ社試薬  
ワクチン2回接種後の中央値  
321.6 AU/mL

●: 既往感染者 (n=6)  
●: 免疫抑制剤投与者 (n=3)

Antibody Responses to the BNT162b2 mRNA Vaccine in Healthcare Workers in a General Hospital in Japan: A Comparison of Two Assays for Anti-spike Protein Immunoglobulin G  
[https://www.jstor.org/stable/10.1093/infdis/jiaa096.0.090pub\\_8704-217.pdf?charlen](https://www.jstor.org/stable/10.1093/infdis/jiaa096.0.090pub_8704-217.pdf?charlen)

120

## ワクチン接種による抗体価の推移

● ファイザー社ワクチン接種後の抗体価

1回接種後の抗体価中央値 (U/mL)		
ワクチン	感染歴あり (n=24)	感染歴なし (n=27)
接種前	約100	-
初回	約10,000 (100~100,000に分布)	約100 (10~1,000に分布)

Lancet. 2021; Mar 20;397(10279):1067-1068

● ファイザー社ワクチン2回接種後の抗体価

2回接種後の抗体価中央値 (U/mL)			
ワクチン	感染歴あり	感染歴なし	
有症者 (n=53)	無症者 (n=21)	(n=110)	
初回	30,527	19,367.5	-
2回目	43,073	1,974.5	1,974.5

J Med Virol. 2021;93(4612):4615

● 感染歴ありの初回接種後の抗体価は、感染歴のない人の2回接種後より10倍高いことが確認

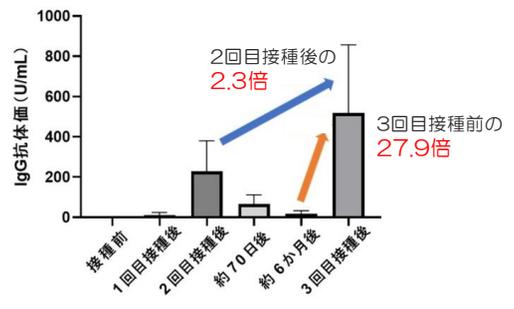
## ロシュ社試薬

ワクチン2回接種後の中央値

43,073 U/mL (感染歴あり)  
1,974.5 U/mL (感染歴なし)

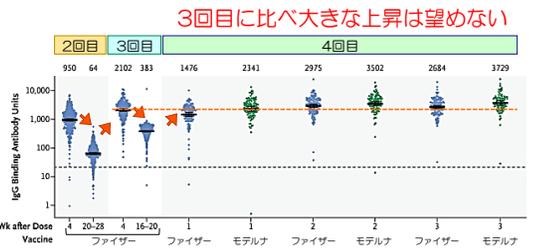
121

## 3回目接種後の抗体価は？



122

## 4回目の接種後に得られる抗体価の報告



123

## 新型コロナウイルス抗体検査試薬キット一覧

### ELISA, CLIAなど

開発/製造企業	商品名
ロシュ・ダイアグノスティクス	Elecsys Anti-SARS-CoV-2
シグマ・アライズ	Accum SARS-CoV-2 IgM
シグマ・アライズ	Accum SARS-CoV-2 IgG
アボット・ラボラトリーズ	SARS-CoV-2 IgM IgA
アボット・ラボラトリーズ	SARS-CoV-2 IgG IgA
BDHier-Gential Diagnostica	DTROCS Immunoassay Products Anti-SARS-CoV-2 IgG/Repeat Only
BDHier-Gential Diagnostica	DTROCS Immunoassay Products Anti-SARS-CoV-2 Total/Repeat Only
ビヤクシン YHLO Biotech	SARS-CoV-2 Neutralization Antibody Detection Kit
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgM IgG ELISA 5-15分速読型
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgA ELISA 5-15分速読型
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgE ELISA 5-15分速読型
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgG ELISA 5-15分速読型
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgA ELISA 5-15分速読型
ビュクス	コロナリーク COVID-19 Human IgE ELISA 5-15分速読型
ELIFORUM JAPAN	Anti-SARS-CoV-2 ELSA IgG
ELIFORUM JAPAN	Anti-SARS-CoV-2 ELSA IgA
ELIFORUM JAPAN	Anti-SARS-CoV-2 ELSA IgE
Abbott	COVID-19 Human IgM IgG Assay Kit
シスメックス	HECL TM SARS-CoV-2 S-IgM 総量
シスメックス	HECL TM SARS-CoV-2 S-IgG 総量
シスメックス	HECL TM SARS-CoV-2 S-IgA 総量
シスメックス	HECL TM SARS-CoV-2 S-IgE 総量
トイソベリヘルス	SARS-CoV-2 Total Assay

### POCT

メーカー	商品名
オリエントエジソン (株)	COVID-19 IgM IgG Combo テスト
シグマ・バイオテック	2019-nCoV Ab Test Cassette
レムナテック (株)	SARS-CoV-2 IgM/IgG Antibody Combo Test
新前製薬 (株)	SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgM)
新前製薬 (株)	SARS-CoV-2 Antibody Detection Kit (IgG)
新前製薬 (株)	Novel Coronavirus SARS-CoV-2 IgM Antibody Detection Kit
新前製薬 (株)	Novel Coronavirus SARS-CoV-2 IgG Antibody Detection Kit
新前製薬 (株)	Novel Coronavirus SARS-CoV-2 IgM & IgG Antibody Detection Kit
シグマ・バイオテック	QuickPOCT/2019-nCoV IgG IgM Test Card
シグマ・バイオテック	SARS-CoV-2 Antibody Test
新前製薬 (株)	新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) IgM (IgG)
SD BIOSENSOR	COVID-19 IgM IgGコンボキット
シグマ・バイオテック	コロナリーク COVID-19 IgG LF
シグマ・バイオテック	QuickPOCTM 2019-nCoV IgM IgG Combo Test Card
シグマ・バイオテック	SARS-CoV-2 Repeat Antibody Test RUO

- 迅速、簡易 15~30分
- 感度、特異度低い
- 偽陽性、偽陰性がやすい

124

## 主に使用されている測定試薬、機器

### Abbott Architect SARS-CoV-2 IgG

Test	Sensitivity PPA	PPA n	Specificity NPA	NPA n	PASS FDA 90-95%	Source
Abbott ARCHITECT SARS-CoV-2 IgG Abbott	100	88/88	99.63	1066/1070	YES	FDA/IEU



### Roch Elecsys Anti-SARS-CoV-2

Test	Sensitivity PPA	PPA n	Specificity NPA	NPA n	PASS FDA 90-95%	Source
Roche Elecsys Anti-SARS-CoV-2	100	29/29	99.8	5262/5272	YES	FDA/IEU



Serology "Shortlist" for EUA SARS-CoV-2 Testing Updated October 14, 2020

125

ご静聴ありがとうございました。

126