

# 近年問題になっている新興・再興感染症・ One Healthとしての感染症

## COVID-19の検査法

札幌医科大学医学部

感染症制御・臨床検査医学講座教授

たか はし さとし  
高 橋 聡

### はじめに

原因微生物の検出は感染症の診断において極めて有効であり、感染症に対する適切な対応を可能にする。新型コロナウイルス感染症（COVID-19）においても、発症した患者の検査、濃厚接触者の広がりや把握するための検査等で新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の検出が大いに役に立った。そこで、本稿では、SARS-CoV-2の検査法について解説し、感染症の原因微生物検出における検査結果の解釈について述べてみたい。

### 核酸増幅法検査

SARS-CoV-2検出法としての核酸増幅法は、主としてリアルタイムRT-PCR法（以下リアルタイムPCR法）であり、原理的には核酸が存在していれば定量的に検出できることになる。リアルタイムPCR法を用いた検査は、高感度であり、流行の早期から広く使用されてきた。有症状者と無症状者で検査が可能だが、発症から10日目以降の唾液検体は推奨されていない<sup>(1)</sup>。

リアルタイムPCR法を用いた検査は、大型から中型で多数の検体を60～90分程度で測定できる機器と、少数の検体を20～45分程度で測定できる小型機器を用いる。大規模検査センター、大きな規模の病院、公的機関では、大量の検体を測定する機会が多いことから、大型から中型のリアルタイムPCR法用の検査機器で検査することが多い。大型から中型のリアルタイムPCR法用検査機器での検査では、実験で用いるような試薬を用いた核酸抽出により、簡易抽出による核酸増幅法検査、抗原定量検査と比較して最も検出感度が高いとされていた。しかし、より簡易的な核酸抽出による核酸増幅法検査においても、検出感度が低下することはない<sup>(2)</sup>。少数の検体を比較的短時間で測定できる小型機器は、測定前の処理が簡便であり、小型であることから置く場所を選ばず、規模の小さい医療機関等で活用できる。短時間で測定が可能な小型機器の検出感度は、大型の

機器に劣らない<sup>(3)</sup>ので、規模の小さい医療機関のみならず、一検体のみ提出されるような夜間の検査などで有効に活用できる。

核酸増幅法検査は、微生物検出において、その有用性は極めて高い。ただし、この検査を理解し、正しく結果を解釈するために知っておきたいことがいくつかある。一つ目は、検出感度である。理論的には核酸が存在していれば陽性という結果が必ず得られる検査法であるが、臨床的には100%の感度とはなっていない。検査には検体採取の過程が必要となるが、採取に用いた綿棒先端にSARS-CoV-2が存在しなければ結果として陰性と判定される。場合によっては、検体誤認や機器の誤操作なども含めて、検出感度が100%ではないことを理解する。COVID-19が疑われる臨床所見が得られているにも関わらず、核酸増幅法検査で陰性と判定されるようであれば、翌日（また、翌々日）も検査をして確率を上げていくような対応が必要になる。二つ目は、偽陽性である。当院でも、他施設の入院時スクリーニング検査や術前スクリーニング検査で陽性となった患者を受け入れた時に、問診の内容から、偽陽性を疑う事例があり、確認検査により偽陽性との結論に至ったことが10件弱あった。核酸増幅法検査では、完全にその過程が機器内で進む場合と、核酸抽出を別の場所で行ってから核酸増幅の過程へ進む場合がある。そのような場合、検体数が多ければ多いほど、陽性検体からの汚染の可能性が生じてしまう。従って、この場合も、臨床的な所見との乖離があれば、陽性という判定が必ずしも100%正確ではないという認識を持ちたい。三つ目は、治癒判定である。治癒後、もしくは、症状改善後の、治癒判定（ウイルス消失判定）には核酸増幅法検査は馴染まない。すでに、以前から核酸増幅法検査での検出が広く行われてきた*Chlamydia trachomatis*では、治療後の治癒判定として、日本性感染症学会<sup>(4)</sup>では投薬開始後2～3週間後の検査を、また、アメリカ疾病予防管理センター<sup>(5)</sup>では治療終了後4週間以内の検査を推奨している。治療直後には、“the continued presence of nonviable organisms can lead to false-positive results.”<sup>(5)</sup>という現象が生じているからである。このように、治癒判定時に偽陽性となってしまう、判定の判断が困難になることは既に知られていたことであり、SARS-CoV-2の検査においても同様のことがいえる。四つ目は偽陰性である。これも、既に*C. trachomatis*で経験してきたことだが、ある時期北欧で性器クラミジア感染症の報告数が低下してきたことがあった。原因を調査したところ、*C. trachomatis*の検出に用いていた核酸増幅法検査で増幅の標的としていた部位の変異が認められ、存在しているにも関わらず検出できていなかったという事実が判明した<sup>(6)</sup>。また、最近も同様の事例が異なった核酸増幅法検査の試薬で判明した<sup>(7)</sup>が、い

ずれも、試薬の改良で解決した<sup>8)</sup>。従って、SARS-CoV-2においても、その変異株が検出されるたびに、試薬メーカーは検出が可能かどうかを迅速に確認している。現状では、検出が不可とはなっていないが、標的部位の変化は偽陰性の原因になることを知っておきたい。

## 抗原検査

抗原検査の原理は、SARS-CoV-2の特定の蛋白部位を抗原に、その抗原に適合する試薬中（もしくはキット中）の抗体を反応させることで抗原抗体複合体を形成させ、その抗原抗体複合体に反応する標識抗体（もしくは金コロイド標識抗体）を作用させることにより、発光度（もしくはキットのバンドの目視）により判定するものである。抗原定量検査は、試薬中の抗体、抗原抗体複合体に反応する標識抗体、判定は発光度であり、抗原定性検査は、キット中の抗体、抗原抗体複合体に反応する金コロイド標識抗体、判定はキットのバンドの目視である。

### ●抗原定量検査

抗原定量検査は、自動分析機器により測定するので、多数の検体の同時、もしくは、連続した測定を可能とする。診断時の検出感度は、リアルタイムPCR法を用いた検査とほぼ同等である<sup>9)</sup>。抗原定量検査の検体処理能力としては、機器の種類にもよるが、大型の機器では理論的には1時間に240検体の処理が可能とされている。さらに、測定時間は25分程度であり、迅速に結果を報告することができる。有症状者と無症状者で検査が可能だが、発症から10日目以降の唾液検体は推奨されず、また、無症状者の鼻腔スワブは検討が必要とされている<sup>1)</sup>。治癒判定としての核酸増幅法検査の結果の解釈については前述した通りであるが、抗原定量検査では、核酸増幅法検査よりも早期に陰性化することが示されている<sup>9)</sup>。

抗原定量検査での結果を解釈する上で必要な知識は、判定保留域の理解である。抗原抗体反応を測定原理とする検査では、抗原類似物質や夾雑物による非特異的反応が生じる可能性である。従って、抗原定量値がある範囲内の値（判定保留域）と判定された場合には、そのような非特異的反応を考慮して、検体の遠心処理（非特異物質を除去するため）をさらに加えること、その後の判定が陰性であればそれを最終判定とする。また、遠心処理後も同様の結果であれば、核酸増幅法検査により確認をするという過程を必要とする<sup>10)</sup>（図1, 2）。このような非特異的反応の発生頻度は高いものではないが、抗原抗体反応を測定原理とする検査では判定保留域が生じることは避けられないことから、より正確な判定のために、このような対応をする必要がある。このような工夫により、当院の検査フローにより検出感度はリアルタイムPCR法を用いた検査と同等となる。

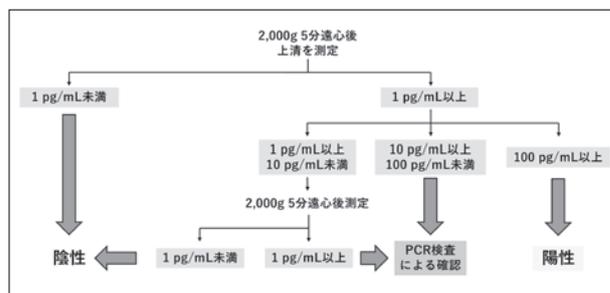


図1：SARS-CoV-2抗原定量検査フローチャート Version 3（鼻咽頭ぬぐい液検体）、札幌医科大学附属病院検査部作成（2021年8月3日改訂）

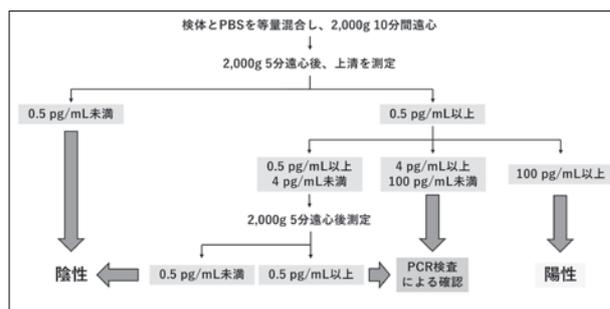


図2：SARS-CoV-2抗原定量検査フローチャート Version 3（唾液検体）、札幌医科大学附属病院検査部作成（2021年8月3日改訂）

### ●抗原定性検査

医療従事者は、従来からインフルエンザウイルスを検出する目的で抗原定性検査（いわゆる簡易キット）を使ってきたので、抗原定性検査には馴染んでおり、COVID-19においても違和感なく活用してきている。抗原定性検査は、特別な検査機器を必要とせず、煩雑な前処理も必要とせず、判定までの時間も15～30分程度、という極めて使い勝手の良い検査法である。また、SARS-CoV-2の検出のみならず、インフルエンザウイルスの同時検出が可能なキットも開発されるなど、その有用性は高い。基本的には、発症から9日目以内の有症状者での検査が推奨されている<sup>1)</sup>。

抗原定性検査の検出感度とリアルタイムPCR法を用いた検査の検出感度を比較すると、リアルタイムPCR法を用いた検査での陽性検体のうち、抗原定性検査では約60%程度で陽性判定となる<sup>11), 12)</sup>。特に、ウイルス量が多い検体では、例えば、ct値が25未満であれば96%程度、ct値が25～30であれば60%程度で、抗原定性検査でも陽性と判定できる。しかし、ct値が30以上であれば、ほぼ陽性と判定はできなくなる<sup>12)</sup>。つまり、これからウイルス量が増えてくるような状況では、ウイルスが存在しているとしても陽性とは判定できない可能性がある。臨床所見からCOVID-19が疑われるにも関わらず抗原定性検査で陰性であってもウイルス量が少なければ正確な判定は困難であり、翌日にも検査するなどの対応が必要になる。また、一時期問題になっていた偽陽性であるが、ある特定のロットによる可能性<sup>13)</sup>、ま

た、粘稠性の高い検体による可能性<sup>(2)</sup>が指摘されているが、バンドが薄いなどはっきりしない場合には、繰り返し抗原定性検査を実施するか、他の方法で再検するかを考慮すべきである。

#### 最後に

COVID-19の流行早期には、PCR検査数を増やすことについて国会で議論されていたようだが、検査機器や検査を実施する施設を増やすことで検査件数を増やすことは可能である。しかし、入院の病床数の議論でも同様であるが、病床数を確保すれば、その分の入院が確約されるわけではない。入院した患者の診療やケアに関わる医療従事者が確保されて、はじめて、入院できる病床数が確保されたということになる。検査機器や検査を実施する施設を増やしたとしても、検査を実行するのは検査技師であり、検体を輸送するのは行政関係者であり、検体を採取するのは医療従事者である。そもそも、検体が検査部に届いた後に、検体と検査リストとの照合、検査の実施、検査結果と検査リストとの照合、という幾つかの段階を経て検査結果は報告される。検査機器や検査を実施する施設が増えて、“検査に関わる人材が確保できれば”検査件数を増やすことはできた。今後は、このような議論の中で、「人」という視点を忘れないでほしいと願っている。

#### 参考文献

1. 状況に応じた適切な検査実施、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）病原体検査の指針 第6版、<https://www.mhlw.go.jp/content/001029252.pdf>
2. Sato Y, et al. Clinical performance and potential of a SARS-CoV-2 detection kit without RNA purification steps. *J Lab Med* 2021, <https://doi.org/10.1515/labmed-2021-0073>
3. Katayama Y, et al. Analytical performance of four rapid molecular testing for SARS-CoV-2. *J Lab Med* 2022, <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0073>
4. 性器クラミジア感染症、一般社団法人日本性感染症学会 編、性感染症 診断・治療ガイドライン 2020、東京、診断と治療社、2020：60-64
5. Chlamydial infection, Centers for Disease Control and Prevention, Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2021; 70: 65-70
6. Ripa T, et al. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. *Euro Surveill* 11; pii=3046, 2006
7. Rantakokko-Jalava K, et al. *Chlamydia trachomatis* samples testing falsely negative in the Aptima Combo 2 test in Finland. 24; pii=1900298, 2019
8. Unemo M, et al. Sensitivity, specificity, inclusivity and exclusivity of the updated Aptima Combo 2 assay, which provides detection coverage of the new diagnostic-escape *Chlamydia trachomatis* variants. *BMC Infect Dis* 20; 419, 2020
9. Kobayashi R, et al. Evaluating a novel, highly sensitive, and quantitative reagent for detecting SARS-CoV-2 antigen. *J Infect Chemother* 27; 800-807, 2021
10. Kobayashi R, et al. Evaluation of false positives in the SARS-CoV-2 quantitative antigen test. *J Infect Chemother* 27; 1477-1481, 2021
11. Murakami M, et al. Sensitivity of rapid antigen tests for COVID-19 during the Omicron variant outbreak among players and staff members of the Japan Professional Football League and clubs: a retrospective observational study. *BMJ Open* 13; e067591, 2023
12. Narumi N, et al. Analysis of diagnostic performance and factors causing nonspecific reactions in SARS-CoV-2 rapid antigen detection tests. *J Infect Chemother* 29; 157-162, 2023
13. Gans JS, et al. False-positive results in rapid antigen tests for SARS-CoV-2. *JAMA* 327; 485-486, 2022