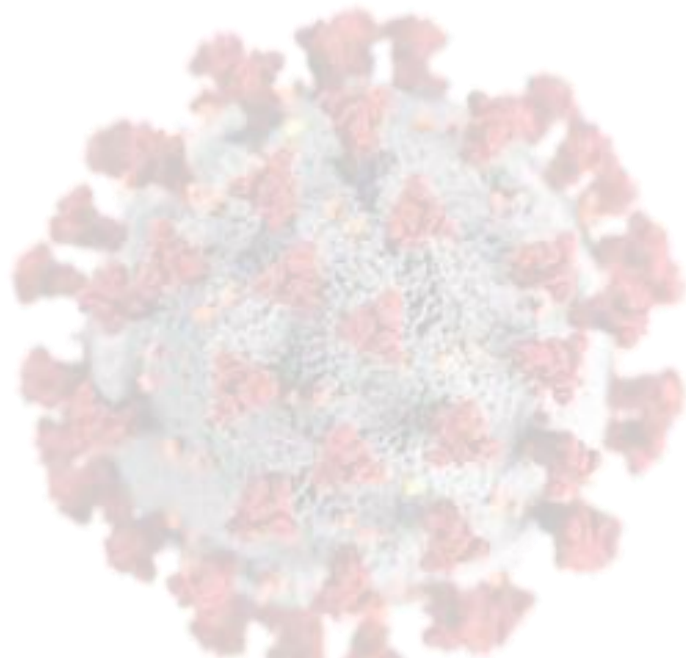


第76回 POCセミナー

「検証！新型コロナウイルス感染症に POCTは活用できたか？」

～診療・検査現場の知られざる裏側～



認定単位：2単位（総論1単位、測定技術論1単位）

開催日時：2020年9月24日（木）13時～17時

オンデマンド配信期間

2020年10月1日（木）～10月31日（土）

【講演プログラム】

1. 学術講演

- ① 新型コロナウイルス感染 ～報道と現場のギャップ～

講師：上岡 樹生 先生（天理よろづ相談所病院）

- ② 神戸大学医学部附属病院検査部での SARS-CoV-2 PCR 検査経験

講師：松本 久幸 先生（神戸大学医学部附属病院）

2. 測定技術講演

- ① これだけは知っておきたい！コロナ診断に求められる検査

講師：福岡 京子 先生（りんくう総合医療センター）

- ② 感染症診断における核酸増幅検査の現状と将来

— LAMP 法を用いた POCT への取組み —

講師：坂元 琴子 先生（栄研化学株式会社）

- ③ 新型コロナウイルス抗原検査の開発及び有用性

講師：山川 賢太郎 先生（富士レビオ株式会社）

【学術講演 ①】

新型コロナウイルス感染 ～報道と現場のギャップ～

公益財団法人 天理よろづ相談所病院

上岡 樹生

新型コロナウイルスが世界を席卷して半年以上が経過した。検査体制の拡充が求められ、臨床検査技師という職名が注目された一方で実際に PCR 検査に従事している検査技師は少なく、早急に育成することを必要とされた。

PCR 検査の十分な数が必要であると、毎日のように報道されたが、日本は世界的に見ても極端に少ない検査数が続き、そのまま第一波は終わったかのように見えた。しかしながら、いまだ感染者の増加は衰えることを知らず、国内では第二波による感染者の増加が大都市を中心に広がり、地方にもその影響は波及している。PCR 検査の構築に必要な機器・設備への国からの援助はあったものの、注文しても機器の設置には数か月待ち、購入できたとしてもパンデミックの影響により海外からの試薬供給の不足が慢性化し、国内メーカーによる安定的な供給体制の構築が重要であった。

何よりマスクが極端に不足していた。N95 マスク、防護服、フェイスガードだけでなく、通常使い捨てのサージカルマスクまでも恒常的に不足し、再利用や長期間同じマスクを使う状況が日常化した。PCR 検査の適応についても当初 37.5℃が 4 日間続くことが推奨とされ、この条件に満たない風邪症状の患者は一般外来を受診することになったが、マスク等の不足も相まって診療拒否が頻発した。PCR 条件が緩和された後でも保健所によるトリアージは続き、有症状患者が発熱外来を受診できるのが 3 日後になる、といった問題は現在も継続しており、保健所に連絡せず直接発熱外来を受診する有症状患者は増加している。PCR の陰性確認が入院の必要な患者の病棟選択に要求されるといった事例が増え、PCR 担当の技師の夜間呼び出しが頻繁となった。夜間だけでなく日勤帯でも PCR 検査の件数は増加し、PCR 検査担当の検査技師は人数増加が必要となった。何より、早く PCR 検査の結果が出ることを期待されたが、陽性検体の増加に伴い再検が必要な検体も増え、短時間で結果を報告するという状態の維持が困難となってきている。抗原検出によるイムノクロマト法を使った検査も続々と認可されてきている。しかし、発売開始時の厚労省による適応病日の指定、価格設定、特定施設のみへの供給体制などから使用は限定され、その後規制が緩和されたものの、必須の検査としての位置づけを得るに至っていない。

8月の今、第二波はまだ治まっておらず、治療薬、ワクチンも開発途中であり、出来るだけ早く診断し隔離するという基本的な方針は今後も継続されると思われる。コロナ禍における報道と現場のギャップの中で、POCT が新型コロナウイルス感染の診断におけるゲームチェンジャーとなり得るか、これからも熱い視線が注がれる。

【略歴】

1991年3月	高知医科大学卒業
1991年4月	高知医科大学附属病院第3内科入局
2001年	高知医科大学臨床検査医学教室 高知大学医学部附属病院検査部副部長・兼検査部講師
2020年1月	天理よろづ相談所病院臨床検査部 部長

【学術講演 ②】

神戸大学医学部附属病院検査部での SARS-CoV-2 PCR 検査経験

神戸大学医学部附属病院
検査部 松本 久幸

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は世界中で拡大し、2020 年 3 月 11 日には世界保健機関 (WHO) より「パンデミックの状態」が宣言された。我が国においても感染者数の増加が見られ、8 月 16 日時点で SARS-CoV-2 PCR 検査陽性者 54,714 例、死亡者 1,088 例と報告されている (厚生労働省)。ウイルスの拡散を防ぐためには、PCR 検査による診断が不可欠である。

神戸大学医学部附属病院における SARS-CoV-2 PCR 検査 (以下 C-PCR 検査) は、検査部が中心となり 4 月 2 日より行っている。検査開始にあたっては、遺伝子検査室において 1 月末より情報収集を、2 月には国立感染症研究所配布のプライマー、プローブを用いた「病原体検出マニュアル 2019-nCoV」に依った方法の導入に向けて妥当性確認、検証や、標準作業手順書の作成などを行った。そして同時に、検体処理などエリアの確認や、検査実施要員を増やすための教育・訓練を検査部員数名に行った。

当院は感染症指定病院ではなく、また C-PCR 検査は大学病院の検査部として通常業務の傍ら行うものであり、現在のところ検体数は限定的である。しかしながら、複数の看護職員に C-PCR 検査陽性が確認されたことから、濃厚接触が疑われる患者および職員に対する C-PCR 検査スクリーニングを経験した。さらに冬に向けては検査件数の増加が見込まれ、病院として PCR センターの設置および遺伝子検査室の整備と、それに伴うハイスループット自動化装置の活用や POCT 遺伝子検査システムの導入などが予定されている。

こうした一連の取り組みと、その中で見えた今後の課題などをお話したい。

【測定技術講演 ①】

これだけは知っておきたい！コロナ診断に求められる検査

独立行政法人 りんくう総合医療センター
中央検査科 福岡 京子

2019年12月末に中国武漢から広まった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、瞬く間に全世界に広がり2020年7月27日現在の感染者数は16,114,449人、死亡者数は646,641人に上っている。日本でも3月末に感染者が増加し、4月16日には緊急事態宣言が出される事態となった。緊急事態宣言解除後は、第二波に向けての対策が急がれたが、7月には、第二波と思われるような感染者数の増加を認める事態となっている。

新型コロナウイルス感染症の確定診断には、当初は遺伝子によりウイルスの存在を確認する方法しかなく、補助診断として胸部CT検査や血液検査が行われ、除外診断としてインフルエンザ等、呼吸器症状を呈する病原体の検査にPOCTが活用された。

当院は、特定感染症指定医療機関として感染症センター10床をもつ総病床数388床の高度急性期病院で、2020年1月から5月までに新型コロナウイルス感染症及び疑い患者を合計151名受け入れてきた。当初院内にRT-PCR機器はなく、確定診断のためには保健所への検体提出が必要であり、院内では補助診断として胸部CT検査や血液検査（血液ガス、生化学、血算、凝固）を実施し、除外診断としてインフルエンザウイルス、マイコプラズマ、アデノウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、A群溶連菌、尿中肺炎球菌莢膜抗原、尿中レジオネラ抗原の合計8項目の迅速検査キットを使用した。これらの迅速検査の病原体と新型コロナウイルスとの重複感染も考えられなくはないが可能性は低く、迅速検査項目で陽性であれば各病原体に対する治療が開始された。一方、迅速検査項目の全てで陰性の場合、胸部CT検査や血液検査の結果から鑑別することになる。胸部CT所見では両側の肺野末梢にガラス陰影が見られるなどの異常所見があるが、時間経過により典型例とは異なることもあり読影には注意が必要である。血液検査では発熱や呼吸器症状を呈する他の疾患に比べ、白血球が低値でリンパ球も少なく、炎症の割にCRPが高くないなどの特徴がある。現在の検査体制は、胸部CT検査、RT-PCRとLAMPによる遺伝子検出、エスプラインによる抗原検出と上記8項目の迅速検査を組み合わせた体制をとっている。

今回のセミナーでは、新型コロナウイルス感染症患者または疑い患者を受け入れた経験から、当院が実施した検査とそのデータの傾向などをお話する。また検査するにあたり我々が実施した対策の良かった点、まずかった点、苦勞した点などを紹介し、今後の感染者の増加や、新型コロナウイルス感染症に続く新たな感染症への対策の一助となれば幸いである。

【測定技術講演 ②】

感染症診断における核酸増幅検査の現状と将来—LAMP法を用いたPOCTへの取り組み—

栄研化学株式会社

営業統括部マーケティング推進室 四部一課 坂元琴子

昨年12月より世界的な流行を見せた新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）により、これまで以上に感染症診断における遺伝子検査は注目を集めた。遺伝子検査では、感染症検査のゴールドスタンダードである培養法よりも迅速に結果を得ることが可能である。また、一般的には抗体検査と比較して感染初期の段階で病原体の有無を確認でき、抗原検査よりも高感度な検査とされている。遺伝子検査に用いる核酸増幅技術としてはPCR法が広く知られており、各社よりPCR法による検出試薬及び測定装置の開発が行われている。しかし、検査にあたっては検体からの核酸抽出が煩雑であることや、反応中の温度を制御する専用装置が必要であることから、POCTとして運用することは現状において難しい。

弊社では、2000年に開発した独自の核酸増幅技術であるLAMP（Loop-mediated Isothermal Amplification）法を活用した感染症項目の試薬開発と販売を行ってきた。LAMP法では一定の温度で核酸増幅反応が進むため恒温装置での測定が可能である。また、LAMP法の特性の一つとして検体由来夾雑物の影響を受けにくいことがあり、検体の前処理を簡略化できる。この特性を活かし、試薬開発と同時に、簡易的な核酸抽出試薬の開発に取り組んできた。

2011年に上市した結核菌群の検出試薬キットでは、前処理にPURE DNA抽出試薬キットを使用する。PURE DNA抽出キットは喀痰検体を直接使用して約10分の抽出操作を行うことで核酸を抽出することができる。また、検出試薬は反応チューブの蓋の内側に乾燥状態で固層化しているため、試薬調製は不要である。この結核菌群の検査試薬は2016年にWHOの推奨を得ており、検査環境が脆弱な発展途上国でも検査試薬として導入されている。

今回の新型コロナウイルス検査において、スタンダードな抽出方法の他に、より簡易的に実施可能なウイルスRNA抽出試薬を開発した。ウイルスRNA抽出試薬では、検体を抽出試薬に懸濁する数分の操作で核酸抽出が可能である。このため、採取後の検体から測定結果を得るまで1時間以内と短時間のTATを実現した。

遺伝子検査のPOCT化の実現には、検査時の感染やコンタミネーションリスクをクリアした上で、簡易かつ短時間で正確な結果を得られることが求められる。LAMP法の特性を活かし、遺伝子検査がより身近な検査方法となるよう今後も製品開発に取り組む。

【略歴】

- 2018年3月 東邦大学大学院 理学研究科 生物分子科学専攻 修了
2018年4月 栄研化学株式会社 入社
2019年4月 同 マーケティング推進室にて遺伝子関連商品を担当

【関連資格】

- 遺伝子分析科学認定士(初級)
臨床検査技師免許

【測定技術講演 ③】

新型コロナウイルス抗原検査の開発及び有用性

富士レビオ株式会社

八王子事務所 試薬開発部 試薬設計 5 課 山川 賢太郎

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、SARS-CoV-2 (Novel Coronavirus) を病原体とする急性の呼吸器疾患である。症状は発熱、呼吸器障害、頭痛、倦怠感などがみられ、肺炎症状を経て重篤となるケースが知られている。初期症状は、インフルエンザや感冒に似ており、臨床症状だけでこれらの疾患と COVID-19 を区別することは困難である。SARS-CoV-2 感染有無の検査方法として、リアルタイム RT-PCR 法 (RT-PCR) が広く使用されているが、RT-PCR は測定結果を得るまで長時間を要するため、SARS-CoV-2 感染患者を迅速に診断し、即座に隔離や治療等の対処することが困難な場合が多い。

富士レビオ株式会社 (以下 富士レビオ) では、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の「新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の診断法開発に資する研究」における「迅速診断キットの基盤的研究開発」に参画し、令和 2 年 5 月 13 日に日本で初めて、SARS-CoV-2 抗原検出試薬である SARS コロナウイルス抗原キット「エスプライン SARS-CoV-2」の薬事承認を取得した。承認後当初は、臨床データの不足および PCR 検査と比較し検出感度が低いことから、「SARS-CoV-2 抗原検出用キットの活用に関するガイドライン (令和 2 年 5 月 13 日)」において「陽性の場合には確定診断できるが、陰性の場合には確定診断のために PCR 検査が必要である」と記載がされ、エスプライン SARS-CoV-2 を用いて陰性の確定診断をすることはできなかった。

しかし、その後「発症日別のウイルス量を踏まえた抗原検査の使用法の研究」および「発症日別の PCR 検査と抗原検査の一致率に関する調査研究」により、COVID-19 発症 2 日目から 9 日以内の症例については SARS-CoV-2 ウイルス量が十分多く、また PCR 検査とエスプライン SARS-CoV-2 を用いた抗原検査の結果の一致率が高いことが明らかとなり、令和 2 年 6 月 16 日に「症状発症後 2 日目以降から 9 日目以内については、エスプライン SARS-CoV-2 で陰性判定となった場合に追加の PCR 検査等は必須としない」とガイドラインが改訂された。本改訂により、発症後の一定期間限定ではあるが、エスプライン SARS-CoV-2 で陽性および陰性の両方について確定診断が可能となった (図)。

一方、令和 2 年 6 月 19 日には SARS-CoV-2 抗原量を定量測定可能な SARS コロナウイルス抗原キット「ルミパルス SARS-CoV-2 Ag (富士レビオ)」が薬事承認を取得した。ルミパルス SARS-CoV-2 は全自動化学発光酵素免疫測定システム「ルミパルス G600II」または「ルミパルス G1200」で使用する専用試薬で、エスプライン SARS-CoV-2 とは異なり SARS-CoV-2 抗原を定量測定可能な試薬である。本試薬について、「無症状者 (都内) の唾液を用いた

PCR 検査、LAMP 法検査、抗原定量検査」の検討として唾液を用いた PCR 検査、LAMP 法検査及び抗原定量検査と、鼻咽頭拭い液の PCR 検査と比較した評価を実施した結果、高い陽性一致率及び陰性一致率が得られたことから、令和 2 年 7 月 15 日の厚生科学審議会感染症部会において、無症状者（空港検疫対象者、濃厚接触者等）に対して、RT-PCR 法や LAMP 法と同様の位置づけで抗原定量検査を行うことが可能となった。

本セミナーでは、これら抗原検査キットの基本的性能や RT-PCR との一致率、また得られた臨床データとガイドライン変遷について議論する。

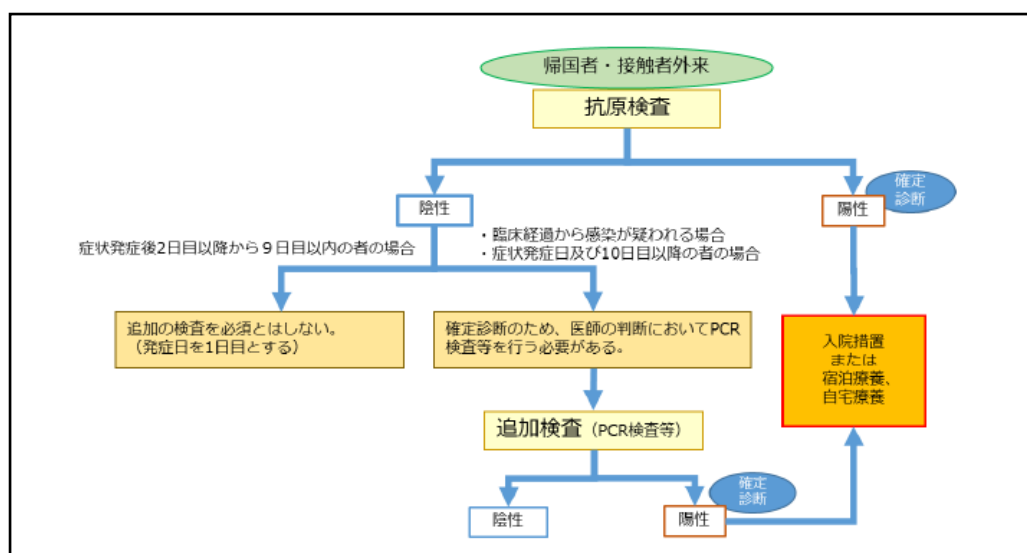


図. 「SARS-CoV-2 抗原検出用キットの活用に関するガイドライン」

令和 2 年 6 月 16 日改訂（厚生労働省 新型コロナウイルス感染症対策本部）より