

COVID-19 検査法および結果の考え方 (2020年10月12日)

1. はじめに

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) とインフルエンザの同時流行の可能性が否定できない中、検査実施キャパシティの増加や新しい検査法の開発・普及が急ピッチで進行中である。感染症の制圧において迅速かつ正確な診断は必須であり、その結果に基づく適切な治療と効果的な感染対策が重要になる。COVID-19 の診断においては、検体採取者にとって感染リスクを伴う鼻咽頭拭い液を使用しなければいけないことが検査実施の高いハードルとなっていた。しかし、本ウイルスが唾液中にも高濃度に存在することが明らかとなり、唾液を用いた検査法の開発が大きな変化をもたらしている。さらに最近では、鼻腔(鼻の入り口)から患者自身が検体を採取する方法も承認された。本提言では、COVID-19 の診断に用いられる検査に関する基本的考え方、検査法の特徴と注意点について現時点の情報について概説する。特に遺伝子検査が陽性であっても感染性が低い症例がかなりの頻度で存在する可能性が指摘されており、各種検査法の結果を用いてどのように感染性を評価していくのが重要な問題としてクローズアップされている。

COVID-19 の検査・診断法に関しては、新しいエビデンスが次々と報告される中、検体の種類や検査適応について頻回に改訂されている。本提言は 2020 年 10 月初めの情報を参考にまとめたものであり、新しいエビデンスの発表や新規検査法の開発により考え方が変わる可能性があることをご理解いただきたい。

2. 検査の適用に関する基本的考え方

新型コロナウイルス感染症対策分科会から、本感染症に対する検査の基本的考え方が示されている(表1)¹⁾。①は COVID-19 を疑う症状がある患者であり、速やかな検査が求められる集団である。②a は無症状者で感染リスク・検査前確率が高い集団、②bは感染リスク・検査前確率が低い集団としている。②a はクラスター発生時の濃厚接触者、医療機関や高齢者施設の入所者や職員などが該当する。②bは、スポーツ選手、文化・芸能などマスク着用などの適切な感染対策を取ることの難しい集団である。ビジネスで海外出張が必要な方や、社会・経済を円滑に維持するため特に症状はないが不安で検査を希望する方などは②bに分類される。

表 1. COVID-19 検査の基本的な考え方¹⁾

① 有症状者
② 無症状者
a 感染リスク及び検査前確率が高い場合
・クラスター発生時, 医療機関や高齢者施設など
b 感染リスク及び検査前確率が低い場合
・海外渡航時, スポーツ選手, 文化・芸能など
・社会・経済を円滑に維持するため, 一般市民の安心のため

表2に厚労省が発表した検査法ごとに使用できる検体及び対象者を示した²⁾。症状があり発症から 9 日以内の方に対しては、遺伝子検査、高感度抗原検査、簡易抗原定性検査が利用でき、検体としても簡易抗原検査の唾液を除き、鼻咽頭、鼻腔(鼻の入り口)、唾液のいずれを用いても良いことになっている。また無症状者においては、鼻咽頭と唾液を用いた遺伝子検査および高感度抗原検査が承認されている。特にインフルエンザ流行の秋冬においては、鼻咽頭あるいは鼻腔検体を用いてインフルエンザと COVID-19 の検査を同時に実施することも想定している。インフルエンザと COVID-19 の流行時期における検査の基本的考え方に関して

は、日本感染症学会が発表している提言³⁾および新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針⁴⁾を参考にしていきたい。

表 2. COVID-19 検査法ごとに使用できる検体及び対象者

検査法・検体 患者状態	遺伝子検査			高感度抗原検査(定量)			簡易抗原検査(定性)		
	鼻咽頭	鼻腔	唾液	鼻咽頭	鼻腔	唾液	鼻咽頭	鼻腔	唾液
有症状者 発症から9日以内	○	○	○	○	○	○	○	○	×
有症状者 発症から10日以降	○	○	—	○	○	—	△	△	×
無症状者	○	—	○	○	—	○	—	—	×

— 推奨されない
△ 使用可能だが陰性の場合には遺伝子検査が必要
× 現在検討中

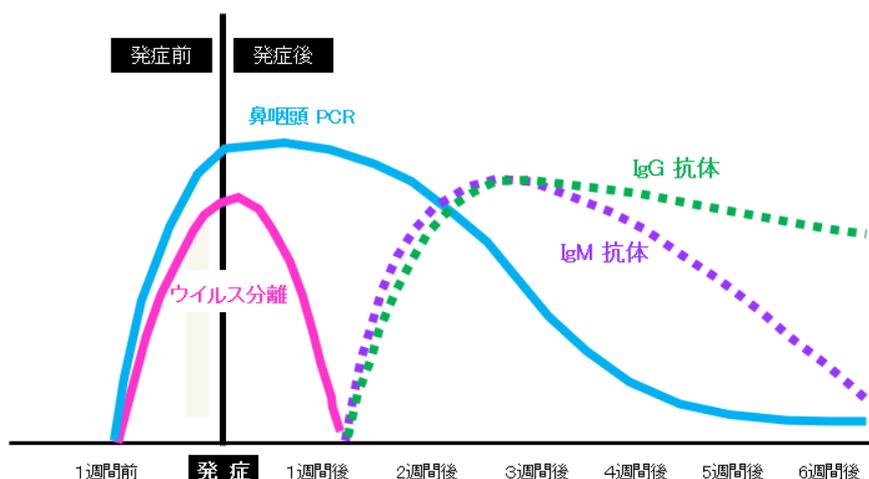
第8回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザーボード(2020年9月10日)資料より一部改変

3. 各種検査法の種類と注意点

(1) 遺伝子検査法

新型コロナウイルスに特異的な RNA 配列を RT-PCR 法などで増幅し、これを検出する方法が用いられる。数十コピーのウイルス遺伝子を検出できるほど感度が高いことが本法の特徴であるが、検査時間が比較的長い(1-5 時間)、専用機器・熟練した人材が必要、高コストなどが普及のハードルとなっている。それぞれの検査法ごとに感度・特異度に差がみられるが、概ね感度 90%以上、特異度はほぼ 100%と考えてよい^{5,6)}。遺伝子検査法では増幅に必要なサイクル数(Ct 値)などをもとに、検体中に存在するウイルス遺伝子数を推定することができる。低い Ct 値で陽性になる場合にはウイルス遺伝子が多く、逆に陽性となるまでに要する Ct 値が高い場合にはウイルス遺伝子数が少ないと判断する。さらに、Ct 値が高い(ウイルス遺伝子数が少ない)場合には、たとえ遺伝子検査が陽性であっても、その検体から感染性を示すウイルスが分離されにくくなることに注意する必要がある。また、Ct 値は検査系(機械・試薬等)によって数値が変動するので、数値の一般化が出来ないことにも留意するべきである。図1に COVID-19 患者の典型的な検査結果をシェーマで示した⁷⁾。鼻咽頭拭い液の遺伝子検査陽性は数週間にわたって持続するものの、ウイルスを分離できるのは図 1 において発症から約1週間後までとなっている。

図 1. COVID-19 発症前後で予測される検査結果



(2) 抗原検査法

新型コロナウイルス特異蛋白を迅速に検出する方法が承認されている。イムノクロマトグラフィー法を用いた定性の簡易検査法(エスプライン:富士レビオ株式会社、クイックナビ-COVID19 Ag:デンカ株式会社)と高感度で定量性を持たせた検査法(ルミパルス:富士レビオ株式会社)が利用可能となっている。イムノクロマトグラフィー法では、検体採取ののち約 30 分で目視による判定が可能である(定性試験)。ただし、イムノクロマトグラフィー法による抗原検出は、遺伝子検査法に比べて感度が低く、唾液の検査は認められていないことに注意しなければならない。また最近になって、イムノクロマトグラフィー法の偽陽性が問題となっており、特に粘稠性の高い検体を用いた場合に偽陽性を示しやすいとされている。一方で、富士レビオが開発したルミパルスは高感度・定量的抗原検出を可能とする検査法であり、遺伝子検査に近い感度が得られるとされている。高感度抗原検出検査は、無症状者の鼻咽頭拭い液および唾液を用いた検査としても承認されている。

(3) 抗体測定法

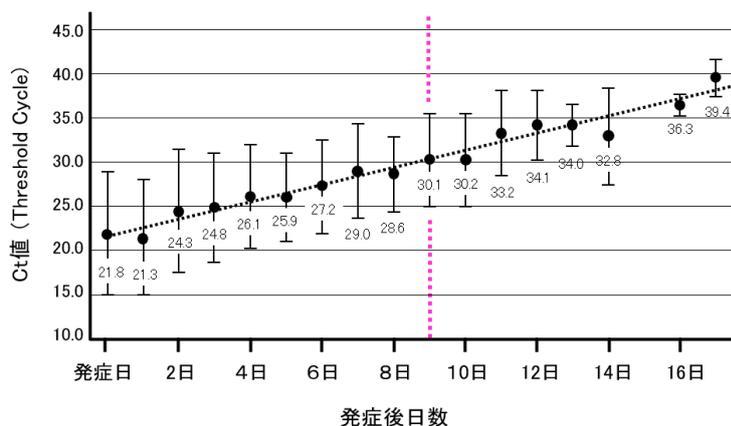
患者血液中の特異抗体を検出する方法が多数開発されている。通常、特異抗体の産生には感染後 2~3 週間が必要であるが、COVID-19 の場合には感染から発症まで、発症から受診までで 2 週間ほど経過している症例もあり、このような場合、患者血液の抗体の検出が診断に役立つと考えられる。ただし、前述した理由により、感染・発症していても抗体検査が陽性にならない症例があることに注意しなければならない。また、WHO は抗体検査結果の解釈は、臨床経過における検査時期、臨床的な重症度、当該地域の疫学や有病率、検査の種類や精度評価の方法などなどに依存するため、抗体検査を単独で診断に用いるべきではないとしている。抗体検査の種類には、(1)イムノクロマトグラフィー法を用いた簡易抗体測定キット(2)ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) (3)CLIA (化学発光免疫測定法)や ECLIA (電気化学発光免疫測定法)、CLEIA (化学発光酵素免疫測定法)など(4)中和試験に大別される。使用目的や(亜急性期・回復期の患者や既感染者等を含めた)予想される検査前確率に応じて、それぞれの特徴を踏まえて使用することが重要である。イムノクロマトグラフィー法を用いた簡易抗体測定キットは多くのキットが市販されているが、感度・特異度ともに他の方法と比較して劣り、製品ごとのばらつきも大きいキットによっては信頼できる結果が得られないものがあることに注意しなければならない。ELISA は、市販のものから各研究室で自家製(in-house)のものまで様々であり、どの抗原を使用するかなどで感度・特異度が大きく変わってくる。CLIA や ECLIA などは、大型の専用測定器が必要であるが、検体処理能力が高く、感度・特異度も一般に高い。使用する機器のメンテナンスコストや価格がかかるが医療機関や臨床検査センターでは、一般的に使用されている機器を用いるものであり、測定環境が整っているのであれば利便性も高い。中和試験は、生きたウイルスを使用するため、日本国内ではバイオセーフティレベル 3 の施設が必要となり、実施可能な施設が限られるが、特異度が高く、ウイルスを不活化する能力のある抗体の有無を評価できる。抗体検査は、急性期の診断に加えて感染の既往者を把握するための疫学調査においても有用である。図1にみられるように、特異抗体の上昇は発症 1 週間前後から観察される。興味深いことに、COVID-19 患者では IgM と IgG の上昇がほぼ同時に進行することが報告されている。新型コロナウイルスに類似したウイルスの先行感染の影響ではないかとする考え方もあるが、詳細は不明である。また、抗体が検出される時期と一致して感染性のあるウイルスが分離されなくなることにも注目する必要がある。中和抗体の出現と感染性との関連に関しては今後詳細に検討していく必要がある。

4. 検査結果から感染性をどのように評価するか？ 感染性を評価するための検査の考え方

(1) 検体中の遺伝子コピー数(Ct 値など)を指標とする考え方

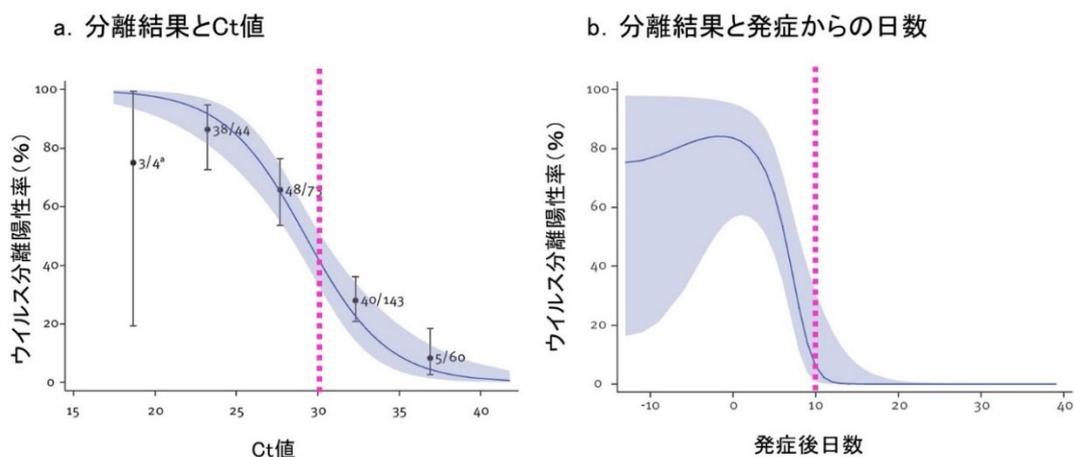
症状が軽快したのちも、数週間にわたって遺伝子検査が陽性を示すことが報告されている。長期間の遺伝子検査陽性を示す患者において、いつまで隔離を行う必要があるのか(感染性はいつまで続いているのか)の判断に苦慮することが多い。図2に COVID-19 発症後の日数とウイルス遺伝子数(Ct 値)の関連を示した(408 症例)。発症時点での Ct 値は 20 前後であったものが、日数が経過するごとに Ct 値は高くなり(ウイルス遺伝子数が減少)、発症 9 日の時点で Ct 値は 30.1 となっている⁸⁾。図3には発症からの日数と Ct 値およびウイルス培養結果の関連を示した。Ct 値が高くなるに従い(ウイルス遺伝子数が減少)、検体からのウイルスの分離率が低下していることがわかる。また、発症からの日数が経つにつれてウイルスの培養率が低下し、約 10 日後にはほとんどウイルスが培養されなくなることが示されている⁹⁾。図4は検体別の発症後日数とウイルス培養の関連および発症後の抗体陽転率との関連を示している¹⁰⁾。図4a に示されているように、ウイルスの分離は発症後 8 日目までであり、その後のウイルスの分離はみられていない。また、ウイルスの分離は喀痰および咽頭拭い検体でみられているものの、糞便からは分離されなかったとされている。興味深いことに、発症後 5 日目頃から抗体価の上昇がみられだし、発症 8 日目には約 80%の症例で抗体が陽性となり、それ以降ではウイルスの分離がみられないという結果になっている(図4b)。これらの成績は、ウイルスの分離(すなわち感染性)は発症からの日数およびウイルス RNA 量に強く依存している可能性を示すものである。

図 2. COVID-19 患者における発症からの日数と PCR 検査 Ct 値との関連(n=408)⁸⁾



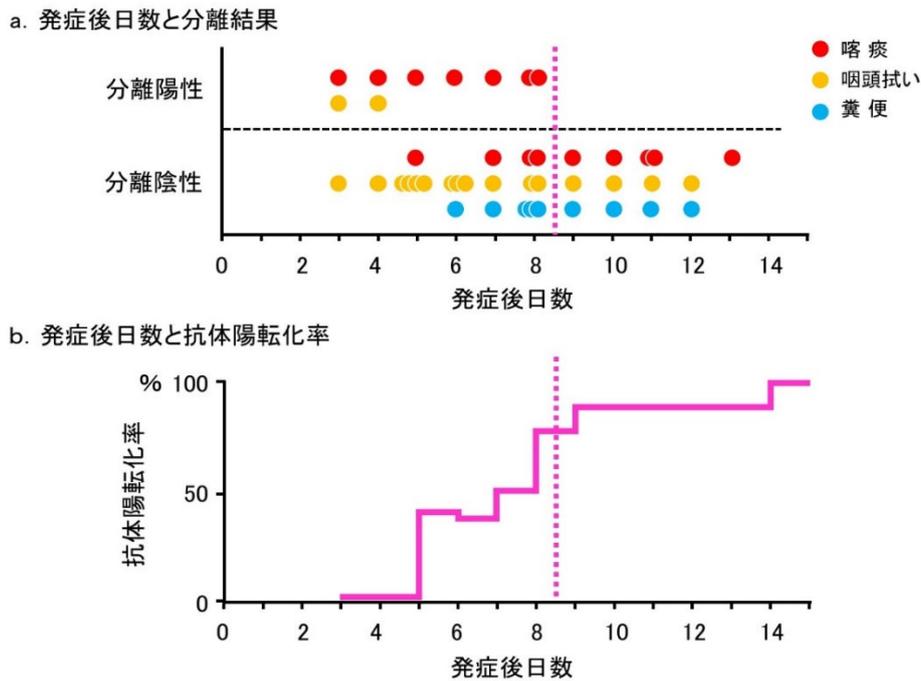
蜂巢友嗣, 他. IASR 2020;41:117-118.より引用

図 3. ウイルス分離結果と Ct 値および発症からの日数との相関



Singanayagam A. et al. Euro Surveill 25:2001483, 2020 より和訳して引用

図 4. SARS-CoV-2 分離結果と抗体陽転化との関連



Wölfel R, *et al.* Nature 581: 465-469,2020 より和訳して引用

(2)退院基準の考え方 Test-based strategy と Symptom-based strategy

前述したように、遺伝子検査がなかなか陰性化しないことで、無症状であっても退院させられない症例の増加が問題となっている。しかし、図1～図4に報告されているように、遺伝子検査陽性が必ずしも感染性ありとはならない可能性が示唆されている。このような背景の中で、遺伝子検査の陰性結果(Test-based strategy)とともに、発症および症状消失からの日数を参考に退院を判断する Symptom-based strategy の導入が検討されている。表4に現在のCOVID-19 患者の退院基準を示した。この基準では、有症状者の場合、発症から10日を経過して3日間無症状の場合には遺伝子検査などを行わずに退院を許可することとなっている(Symptom-based strategy)。さらにもう1つの基準として、症状軽快の24時間後、24時間間隔で2回の遺伝子検査陰性をもって退院可能としている(Symptom/Test-based strategy)。一方で無症状者に対しては、検体採取から10日間経過した場合(Symptom-based strategy)、あるいは6日間経過ののち24時間間隔で2回の遺伝子検査陰性をもって退院可能としている(Symptom/Test-based strategy)。無症状陽性者の感染性を正しく評価することは難しいが、1日でも早く安心して退院させられるようなエビデンスが求められている。

表 4. COVID-19 陽性者の退院基準・解除基準

1. 有症状者の場合
① 発症日から10日間経過し、かつ症状軽快後、72時間経過した場合
② 症状軽快の24時間後、2回のPCR検査(24時間間隔)で陰性確認
2. 無症状者の病原体保有者の場合
① 検体採取日から10日間経過した場合
② 検体採取日から6日間経過後、2回のPCR検査(24時間間隔)で陰性確認

厚生労働省 <https://www.mhlw.go.jp/content/000639696.pdf> より一部改変

5. おわりに

新型病原体として出現した新型コロナウイルス感染症であり、当初はその病原性や感染様式、治療法まで、まったく手探りの中で診療を余儀なくされてきた。しかし全世界で 3000 万人以上の感染者が報告される状況において、その病態、診断、治療および予防に関しても多くの知見が蓄積されている。感染伝播を可能な限り抑えながら、臨床現場が混乱しない診断法の開発とその運用が求められている。迅速、正確、適切な検査の実施によりCOVID-19 の流行が1日でも早く終息するよう、私たちの経験と英知を結集してこの感染症と向き合っていかなければならない。

6. 文献

- 1) 新型コロナウイルス感染症対策分科会(第2回) 2020年7月16日
- 2) 新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード(第8回) 2020年9月10日
- 3) 日本感染症学会提言「今冬のインフルエンザとCOVID-19に備えて」
http://www.kansensho.or.jp/uploads/files/guidelines/2008_teigen_influenza_covid19.pdf
- 4) 国立研感染症研究所、他. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)病原体検査の指針 第1版
<https://www.mhlw.go.jp/content/000678571.pdf>
- 5) Idevaldo Floriano, Antônio Silvinato, Wanderley M. Bernardo, *et al.* Accuracy of the Polymerase Chain Reaction (PCR) test in the diagnosis of acute respiratory syndrome due to coronavirus: a systematic review and meta-analysis. *Rev Assoc Med Bras* 2020; 66(7):880-888
- 6) Beatriz Böger Msc, Mariana M. Fachi Msc, Raquel O. Vilhena, *et al.* Systematic review with meta-analysis of the accuracy of diagnostic tests for COVID-19. *Am J Infect Control.* 2020.
<https://doi.org/10.1016/j.ajic.2020.07.011>
- 7) Sethuraman N, Jeremiah SS, Ryo A.Sethuraman N, *et al.* Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA.* 323:2249-2251, 2020.
- 8) 蜂巢友嗣, 門倉圭佑, 吉田智也、他. 患者病日とリアルタイム PCR Ct 値の相関について. *IASR* 2020;41:117-118.
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2523-related-articles/related-articles-485/9765-485r09.html> (accessed October 5, 2020)
- 9) Singanayagam A, Patel M, Charlett A *et al.* Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Euro Surveill* 25: 2001483, 2020.
- 10) Wölfel R, Corman VM, Guggemos W, *et al.* Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019. *Nature.* 581:465-469, 2020.

2020年10月12日

一般社団法人日本感染症学会
理事長 舘田 一博