

分担研究報告書

新型コロナウイルス検査の実施施設における精度管理に関するアンケート調査

研究協力者 東田 修二 国立大学法人東京医科歯科大学 大学院医歯学総合研究科臨床検査医学 教授
研究要旨

新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）に対する核酸検査（PCR法など）と抗原検査（定性、定量）が、急速に実施されるようになったが、その偽陽性・偽陰性の現状や精度管理の実態は明らかではない。これらを明らかにする目的で、核酸検査と抗原検査の両方もしくは一方を施設内で実施している施設という条件のもとに、Google フォーム入力形式のアンケート調査を行った。2020年11月5日から12月1日までに医療機関93施設（大学附属病院81施設、その他の病院12施設）と衛生検査所30施設の合計123施設から回答があった。

核酸検査として主に用いている測定原理として、約3/4の施設がPCR法を用いており、その約半数がRNA精製を省いたRT-PCR法（いわゆるダイレクトPCR法）のキットであった。2020年4月頃は感染研法（国立感染症研究所のマニュアルと分与プライマー等によるRT-PCR法）が過半数であったが、11月時点では約1割に減少しており、多様なキットや装置が用いられている現状がある。核酸検査の結果報告は、約9割が定性（陰性・陽性）結果として報告しており、定量的な結果（Ct値、コピー数/ μL など）を報告している施設は1割未満であった。定量的結果の臨床上的の重要性を考えると、定量的な報告を検討すべきである。精度管理に関しては、陽性コントロールや内部コントロールなしで検査を行なっている施設があった。使用しているキットにこれらが添付されていないためと思われ、対応が必要である。外部精度管理については、参加したことがない施設が半数以上を占めており、アンケート実施時点で受ける機会が不足していた現状がある。国や都道府県、医師会、技師会、学会が外部精度管理の機会を設ける必要がある。核酸検査の「偽陽性」「偽陰性」については、現在、核酸検査の陽性、陰性が感染の有無のゴールドスタンダードであるため、「偽陽性」「偽陰性」と判断すること自体が難しい状況にある。

抗原検査も定性検査を主として、過半数の施設で行われていた。定性検査は検査室で検査技師が行う施設が過半数であるが、約1/4の施設では医師や看護師などが実施しているため、検査の正しい手順と解釈の周知が必要である。抗原定性検査の偽陽性の経験がある施設は約1/4であった。大半が経験していることを予想していたが、実際には少なかった。ただし、本アンケートは大学病院からの回答が大半を占めており、人的資源が限られ、かつ多忙な診療所などにおける抗原定性検査の偽陽性の実態とは異なる可能性はありうる。抗原定性検査で偽陽性が疑われる場合は、核酸検査の追加（もしくは核酸検査を全例で併用）や再検が行われていた。抗原定性検査で偽陽性となる原因として、検体の高粘稠性や綿球の揉み不足などが知られているが、原因は特定できなかつたとする施設が大半であった。

今後は内部精度管理を適切に実施できるよう検査者への啓発や、必要に応じた検査キットの改良が必要である。さらに、外部精度管理調査を十分に受けることのできる体制作りが課題となる。

A. 研究目的 2020年1月以降、新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）感染症（COVID-19）が日本でも猛威を振るっている。その診断に必須となるRT-PCR法による検査体制は、2月の国立感染症研究所（以下、感染研）からのPCRプライマー・陽性コントロールの分与と、感染研による検査マニュアルのWeb公開によって始まり、以降、多数の試薬メーカーからのさまざまな検査キットや検査機器が使用されている現状である。さらに、LAMP（loop-mediated isothermal amplification）法など、PCR法以外の核酸検査も導入されている。そのため、検査法は統一化や標準化がなされておらず、各検査法の感度や特異度も多様であることが推測される。

また、5月にはイムノクロマト法によるキットを用いた抗原定性検査が、6月には化学発光酵素免疫法による検査機器を用いた抗原定量検査が導入された。当初、抗原定性検査は感度は劣るが、特異度は高いため、抗原キットで陽性であればPCR検査をせずとも確定診断してよい、とされていたが、その後、抗原キットでの偽陽性が報告されるようになった。

的確な検査には、高い感度と特異度が求められ、そのためには適切な精度管理が実施される必要がある。しかし、医療施設や衛生検査所における核酸検査と抗原検査の精度管理の実態は不明である。そのため、核酸検査と抗原検査の精度管理の実態を明らかにする目的で、本アンケート調査を行った。

B. 研究方法

新型コロナウイルス検査（核酸検査と抗原検査）の精度管理の実態について、アンケート調査を行った。アンケートは全国検査部長・技師長会議に所属している病院、および、日本衛生検査所協会に所属している衛生検査所に対して、メールで依頼した。新型コロナウイルスの核酸検査と抗原検査の両方もしくは一方を、施設内で実施している施設という条件のもとに回答を求めた。回答はアンケート依頼メールにGoogleフォームのURLを記載し、回答者はURLをクリックすることで回答できる方式とした。記入者名は無記名でも可とした。

精度管理実態調査（アンケート調査）の内容は下記のとおりである。

1. 新型コロナウイルスの核酸検査(PCR法など)に関して（偽陽性/偽陰性、精度管理を中心に）
2. 新型コロナウイルスの抗原検査（定性、定量）に関して（偽陽性/偽陰性、精度管理を中心に）
3. 新型コロナウイルス検査に関する自由意見

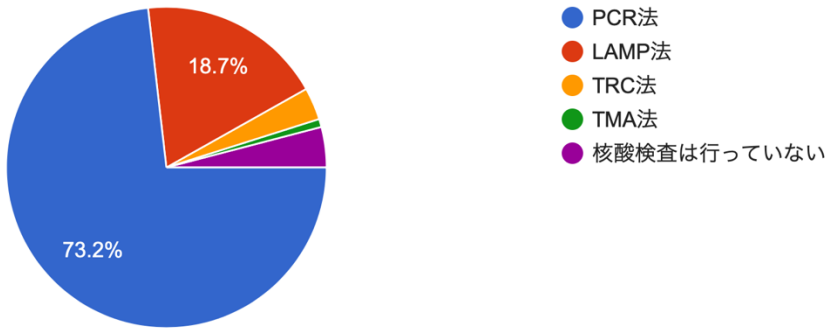
1と2に関する質問の多くは選択式（多肢択一式）で、一部が自由記載による回答形式とした。3については自由記載で意見を求める形式とした。自施設で実施していない検査法に対する質問は、回答せずに先へ進むことができるようにした。

C. 研究結果

2020年11月5日から12月1日までに医療機関93施設（大学附属病院81施設、その他の病院12施設）と衛生検査所30施設の合計123施設から回答があった。回答者は技師長48名(39.0%)、検査部長31名(25.2%)、担当部署の責任者29名(23.6%)、実際の検査担当者7名(5.7%)、その他8名(6.5%)であった。集計結果を以下に示す。

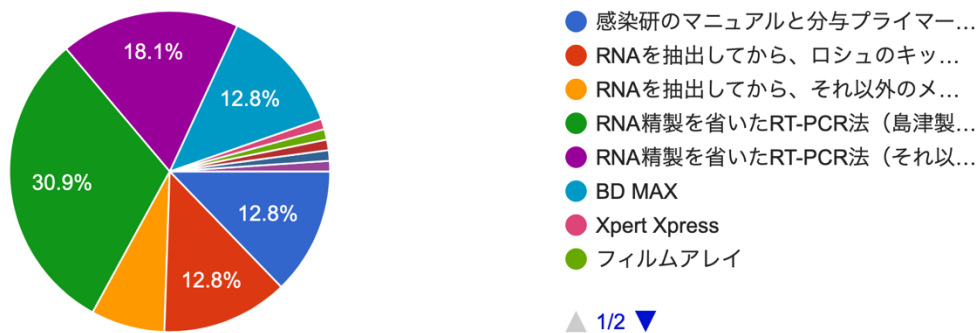
1. 新型コロナウイルスの核酸検査(PCR法など)に関して

1) 核酸検査として主に用いている測定原理（回答123件：うち5件は核酸検査を実施していない）
核酸検査の測定原理は73.2%の施設がPCR法であった。次いで18.7%の施設がLAMP法を用いていた。



2) 1) でPCR法を用いている施設での具体的な検査法 (回答 94 件)

RNA 精製を省いた RT-PCR 法 (いわゆるダイレクト PCR 法) のキットが 49.0%と最多であった。いわゆる感染研法 (国立感染症研究所のマニュアルと分与プライマー等による RT-PCR 法) は 12.8%であった。



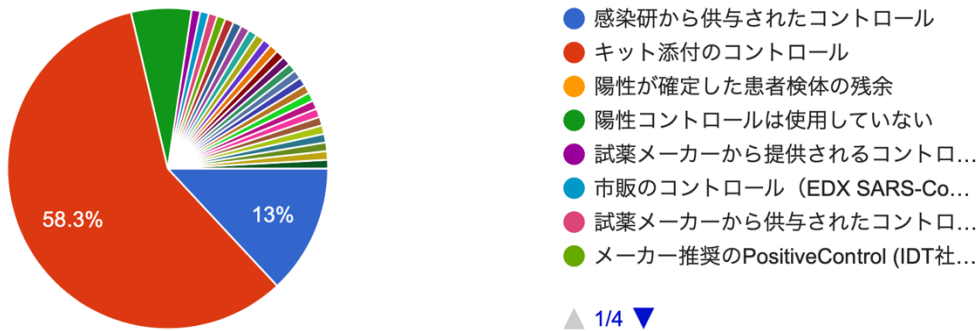
3) 核酸検査の結果報告 (回答 117 件)

87.2%の施設が定性 (陰性/陽性) 結果として報告していた。うち、47.0%の施設では定量的な値も得られているが、定性として報告していた。定量的な結果 (Ct 値、コピー数/ μ L など) を報告している施設は 7.7%であった。



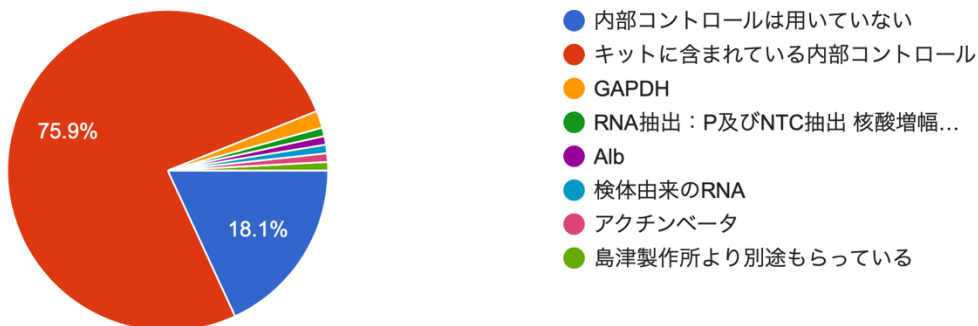
4) 陽性コントロール (回答 115 件)

キット添付のコントロールが 58.3%、感染研から供与されたコントロールが 13.0%であり、陽性コントロールは使用していない施設が 6.1%あった。



5) 内部コントロール (回答 116 件)

キットに含まれている内部コントロールが 75.9%であり、内部コントロールは使用していない施設が 18.1%あった。



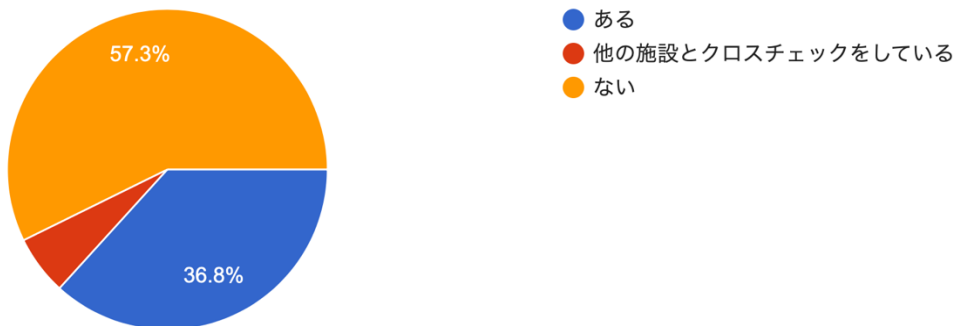
6) 新型コロナウイルス核酸検査の内部精度管理 (回答 117 件)

陰性コントロールと陽性コントロール1つを測定する施設が 73.5%、陰性コントロールと陽性コントロールの希釈系列で陽性の下限濃度を確認する施設が 12.8%、特に行っていない施設が 6.0%であった。



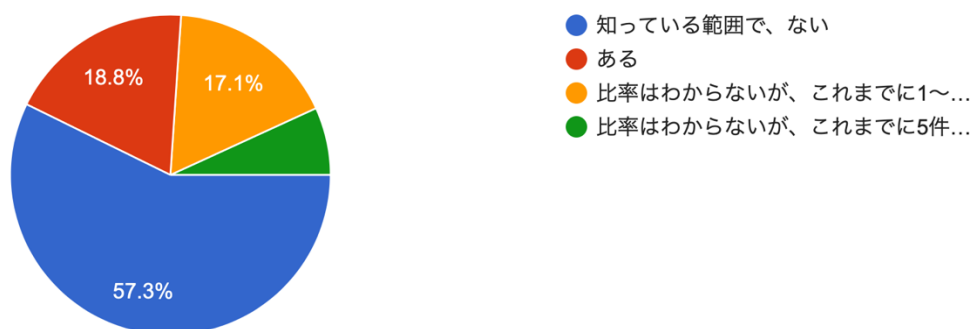
7) 新型コロナウイルス核酸検査の外部精度管理 (回答 117 件)

参加したことがある施設 (実施団体は CAP、東京都、広島 CDC、日衛協など) が 36.8%、他の施設とクロスチェックをしている施設が 6.0%、参加したことがない施設が 57.3%であった。



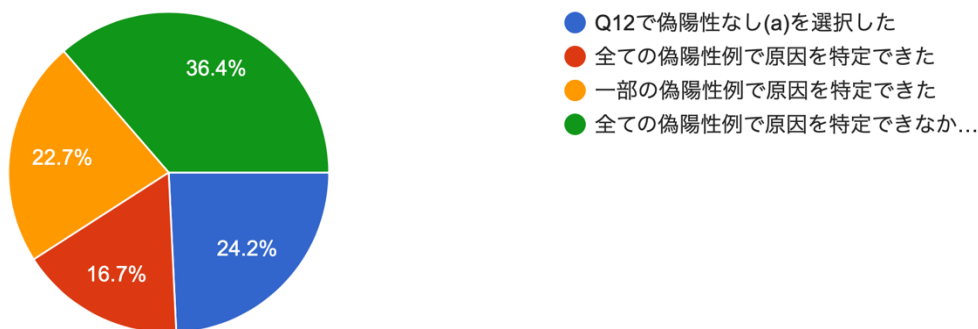
8) 新型コロナウイルス核酸検査での偽陽性であったと考えられる症例の経験 (回答 117 件)

“知っている範囲でない”が 57.3%、“ある”が 18.8% (自由記載した比率は、高い順に 5%が 1 施設、2%が 2 施設、1%が 3 施設、など)、“比率はわからないがこれまでに 1~4 件ある”が 17.1%、“これまでに 5 件以上ある”が 6.8%であった。



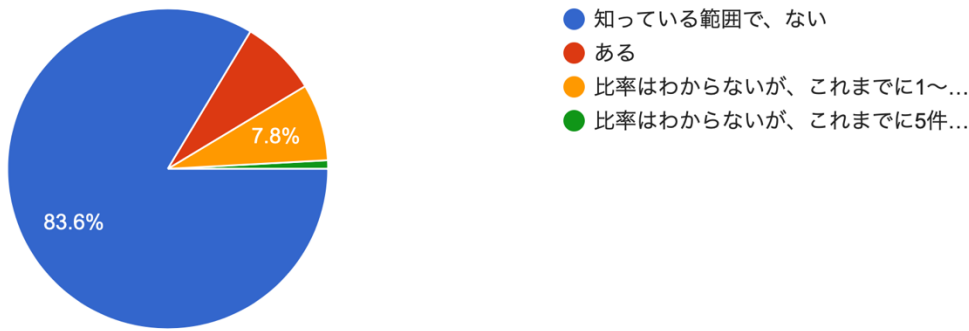
9) 8) で偽陽性であったと考えられる症例の原因 (回答 66 件)

全ての偽陽性例で原因を特定できた (原因：陽性検体のコンタミなど) が 16.7%、一部の偽陽性例で原因を特定できた (原因：陽性検体のコンタミなど) が 22.7%、全ての偽陽性例で原因を特定できなかったが 36.4%であった。なお、偽陽性なしを選択した施設 (24.2%) を含む。なお、偽陽性と判断した根拠として、PCR 産物の電気泳動やシーケンス解析などによる確認が挙げられた。



10) 新型コロナウイルス核酸検査での偽陰性であったと考えられる症例の経験 (回答 116 件)

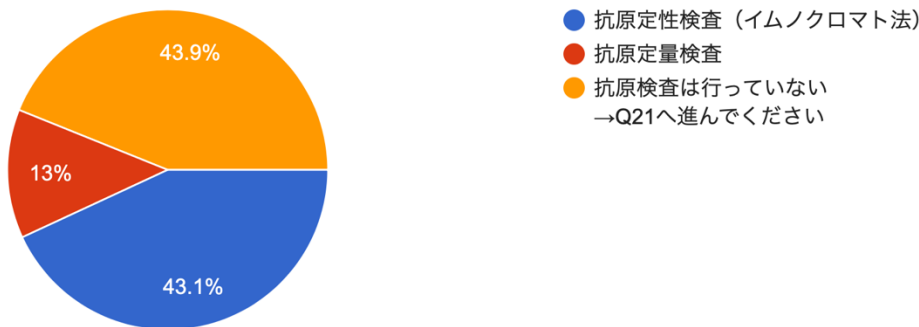
“知っている範囲でがない”が 83.6%、“ある”が 7.8% (自由記載した比率は高い順に、2%が 1 施設、1%が 1 施設、0.2%が 1 施設、など)、“比率はわからないがこれまでに 1~4 件ある”が 7.8%、“5 件以上ある”が 0.9%であった。



2. 新型コロナウイルスの抗原検査（定性、定量）に関して

1) 抗原検査の実施の有無と測定原理（回答 123 件）

抗原検査を行っていない施設が 43.9%と最多であるが、衛生検査所を含んだ数字であるためである。衛生検査所 30 施設中、抗原定性検査を実施している施設なく、抗原定量検査が 5 施設で行われていた。抗原定性検査（イムノクロマト法）は 43.1%で、抗原定量検査は 13%の施設で実施されていた。



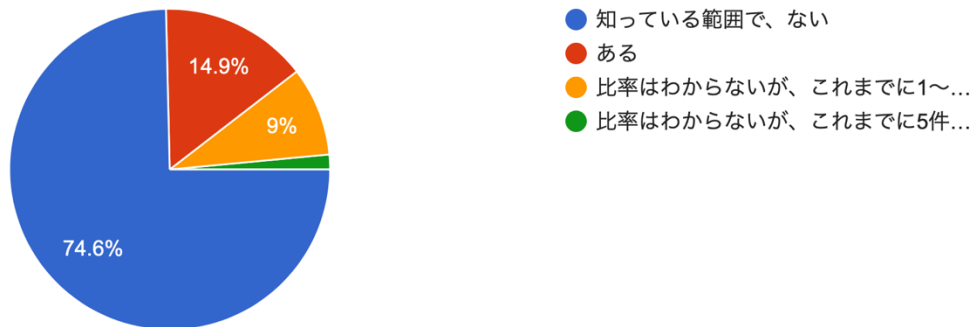
2) 抗原定性検査（イムノクロマト法）を行う場所と職種（回答 66 件：うち 8 件は抗原定性検査は実施していないと回答）

検査室で検査技師が行う施設が 63.6%、診療現場（救急室、外来、病棟など）で医師や看護師などが行う施設が 22.7%であった。



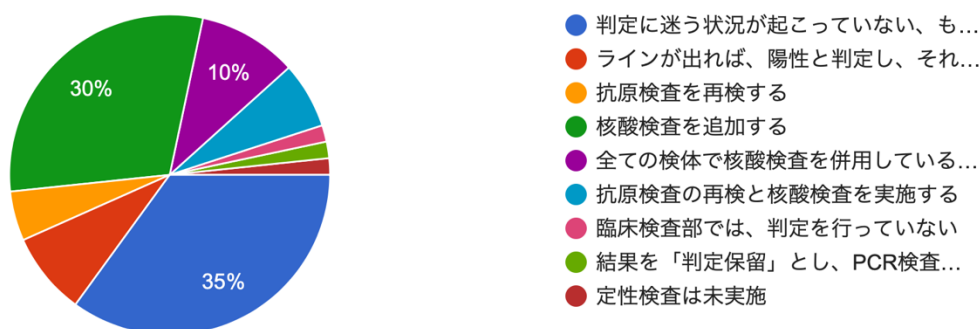
3) 抗原検査（定性、定量）で偽陽性であったと考えられる症例の経験（回答 67 件）

知っている範囲で偽陽性はない施設が 74.6%、残りの施設で経験があった。自由記載した比率は、高い順に 3%が 1 施設、2%が 1 施設、1%が 1 施設であった。



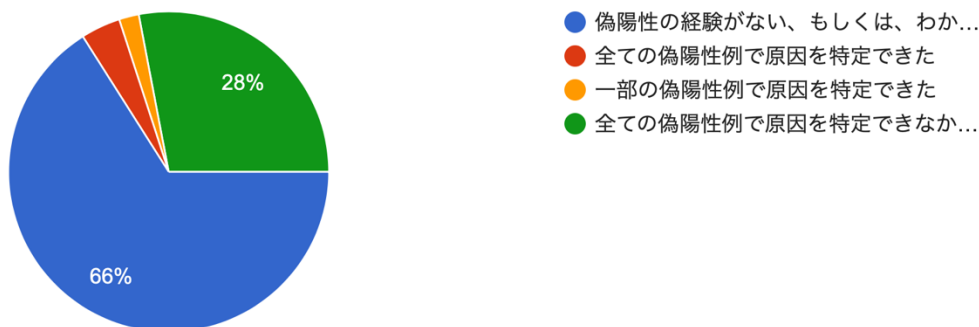
4) 抗原定性検査（イムノクロマト法）で判定に迷った場合の対応（回答 60 件）

核酸検査を追加する施設が 30.0%、全ての検体で核酸検査を併用しているのも特別な対応はしない施設が 10.0%であった。なお、“判定に迷う状況が起こっていない、もしくは、わからない”が 35.0%であった。



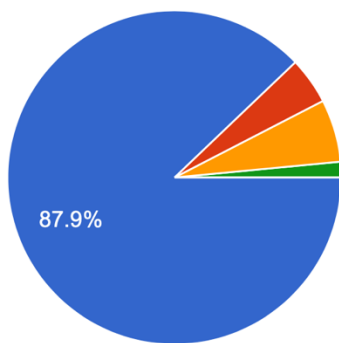
5) 偽陽性となった原因（回答 50 件：うち 33 件は偽陽性の経験がない、もしくは、わからない）

全ての偽陽性例で原因を特定できなかった施設が 28%で、一部でも原因が特定できたのは 3施設 6%であった。



6) 抗原検査（定性、定量）で偽陰性であったと考えられる症例の経験（回答 66 件）

知っている範囲で偽陰性はないとする施設が 87.9%、残りの施設で経験があった。自由記載した比率は、高い順に 3%が 1施設、0.2%が 1施設であった。



- 知っている範囲で、ない
- ある
- 比率はわからないが、これまでに1〜...
- 比率はわからないが、これまでに5件...
- わからない（抗原検査は診療現場で実...

3. 新型コロナウイルス検査に関する自由意見

アンケートに自由記載された意見の主なものをテーマ別に掲載する。基本的に原文のままであるが、意見の一部において、企業名や商品名を隠すなど、語句を修正した。

1) 感度と特異度、偽陽性と偽陰性について

・RNA抽出を行わない時短で検査ができるPCR反応試薬が多くメーカーで販売されている現状がありますが、高感度PCRであるマルチプレックスPCR法を併用した場合、純のRNA産物ではないPCR反応阻害物質を含む検体でのPCR反応は、偽陽性となる頻度が多く見受けられます。また、この方法しか持ち合わせていない施設では、結果を他の検査法で再検査せず陽性として返しているという恐ろしい情報も聞きます。今後、多種の機器、多種の試薬によるPCR検査が全国の各施設で行われる時代となりますので、遺伝子検査領域における精度管理の重要性を周知して頂きたいです。

・PCR検査と併用して抗原検査キットを使用していましたが、偽陽性が多く検出されたため、使用を中止しました。

・現在、抗原検査はAを使用していますが、薄いラインが出るのが度々あり、その場合判定保留としてPCRを追加実施していますが、現在のところ全て陰性となっています。15分で判定できるBが発売されたので、臨床検体を用いてAとの感度比較を実施したところ、Bの感度は明らかにAより劣っていた。それを踏まえ、疑陽性例が多少出現しても、Aの使用を続けるという結論になりました。

2) 精度管理について

・機器のタイプにより精度管理の方法も異なり、メーカーも手探り状態なのでどこまでやればいいのか不安がある。自動機器で高頻度に偽陽性の判定結果が出て困っている。当院はマニュアルタイプの機器で再検して誤報告を防いでいるが、そういう手段がない検査室や経験の浅い検査室での誤報告が起きないか危惧している。

・メーカーには内部コントロールを求めているが、今のところ無い状況で検査している。陰性時の精度保証に不安がある（LAMP法）。

・標準検体等を用いた外部精度管理が実施されることが望ましい。

3) 結果の判定と解釈について

・PCRは感度・特異度ともに極めて高いので確定診断に向いていますが、感度が高すぎるために、すでに感染力が無くなっても“陽性”が持続してしまうジレンマがあります。退院や隔離解除の基準と

なる“感染力を反映する検査（容易に実施できればなお良い）”が望まれます。

4) 唾液検体について

- ・唾液検体での測定数が増える中、共存する人の体細胞由来のRNAや口腔細菌由来のRNAが夾雑物としてウイルスRNAの選択的なRT-PCR効率に影響を与えないような操作手順を考慮する必要があり、その影響度をモニターできる内部標準の設定の仕組み作りが精度管理上重要であると考えます。
- ・初検が陽性で、再検査を行うと（元検体および再抽出）陰性となる場合が多い（増幅産物を電気泳動すると特異的な反応がみられる）。検体中のウイルス量の問題かと思われるが、唾液の安定性に疑問を感じる。

D. 考察

本アンケート調査により、新型コロナウイルスの核酸検査と抗原検査の現状、偽陰性・偽陽性に関わる感度・特異度の問題、精度管理のあり方などが明らかになった。

核酸検査はPCR法が主流で、LAMP法も少なからず用いられていることがわかった。PCRの具体的な方法として、2020年4月頃は感染研法（国立感染症研究所のマニュアルと分与プライマー等によるRT-PCR法）が過半数を占める状況であったが、今回の調査を行った2020年11月には感染研法は1割程度に減少し、ダイレクトPCR法を中心とした多様な検査キットや装置が用いられていた。このアンケートは択一式としたため、補助的に複数の装置やキットを使用している施設があるとすれば、その現状が反映されていない可能性はある。核酸検査の結果報告は、定性のみでの報告が大半であった。キットの添付文書などに「Xサイクル以内に増幅曲線の立ち上がりが見られたら陽性とする」と記載されているためであると思われるが、定量的な結果が臨床上、他者への感染性の判断などで重要であることを考えると、定量的な報告を検討すべきである。陽性コントロールや内部コントロールを置かずに検査を行なっている施設があることがわかり、内部精度管理上、問題である。使用しているキットにこれらが添付されていないためと思われる。外部精度管理はアンケート実施時点で、評価を受ける機会が不足していた現状がある。国や都道府県、医師会、技師会、学会が外部精度管理の機会を設ける必要がある。核酸検査の「偽陽性」「偽陰性」については、現在、核酸検査の陽性/陰性が感染の有無のゴールドスタンダードであるため、「偽陽性」「偽陰性」と判断すること自体が難しい状況にある。

抗原検査も定性検査を主として行われている。定性検査は検査室で検査技師が行う施設が過半数であるが、約1/4の施設では医師や看護師などが行なっているため、検査の正しい手順と解釈の周知が必要である。抗原定性検査の偽陽性の経験がある病院が多数あることを予想していたが、実際には、それほど多くないようである。ただし、本アンケートは大学病院からの回答が大半を占めており、人的資源が限られ、かつ多忙な診療所などにおける抗原定性偽陽性の実態と異なる可能性はありうる。抗原定性検査で偽陽性が疑われる場合は、核酸検査の追加や再検が行われているが、再検に関しては、同一検体での再測定か、検体を取り直しての再検査かは、本アンケートでは区別しなかった。どちらがより適切で現実的かは検討が必要である。抗原定性検査で偽陽性となる原因として、検体の高粘稠性や綿球の揉み不足などが知られているが、その他の、例えば、他のウイルスとの交差反応の有無については、確認する方法（フィルムアレイ法での多種ウイルスの検索など）が限られるため、現実には困難である。

このほか、自由意見として、結果の解釈や精度管理についてのさまざまな問題点や提案が提出された。これらに対する対応も必要である。

E. 結論

新型コロナウイルス感染症に対する核酸検査と抗原検査における精度管理の現状とその問題点が明らかになった。内部精度管理を適切に実施できるよう検査者への啓発や検査キットの改良が必要である。さらに、外部精度管理調査を十分に受けることのできる体制作りが今後の課題となる。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

現時点で本研究に関する発表はない。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし