

ぶどう膜炎診断でPCRを上手に活用しよう

Examination of PCR for uveitis

ぶどう膜炎診療においてPCRを利用した診断は欠かせないものとなった。そのため眼局所検体を用いて感染性ぶどう膜炎・眼内炎・角膜炎の肯定・否定を網羅的PCR法にて行い、診断に活用する。現状では、ヘルペスなどのウイルス、細菌、真菌、寄生虫などの感染性眼内炎症性疾患ではPCRが診断に役立つことが多い。眼科特有の微量検体からの複数の微生物を同時に検査できるマルチプレックスPCRの出現から約10年が経過した。2回の前コース(2017, 2018年臨床眼科学会)ではぶどう膜炎診療におけるPCR検査の歴史と意義、検体採取方法、PCRの基礎・応用までを包括的に解説して、また、ディスカッション形式で、PCRが有用な症例、PCR診断の落とし穴等を紹介しながら、PCR初心者から自施設導入を考えている経験者にも有意義な情報を提供した。

3回目となる本コースは、最新の情報も踏まえて提供する。最初にプレゼン形式で、いくつかのStrip PCRキットの紹介(8連Direct Strip PCR感染性ぶどう膜炎、8連Direct Strip PCR感染性角結膜炎、CMV定量Strip PCRなど)、また、8連Direct Strip PCR感染性ぶどう膜炎・眼内炎キットを用いた術中PCR診断の試みを紹介する。後半は、ディスカッション形式で、これらのキットが有効であった症例、無効症例、珍しい症例などを提示しながら討論したい。本コースでは、ぶどう膜炎診療におけるPCR検査を上手に活用するための最新の情報や我々の経験からの診断のコツ等を提供したい。

演者 杉田 直¹⁾、高瀬博²⁾、中野聡子³⁾、外丸靖浩⁴⁾、清水則夫⁴⁾、望月 學²⁾

1) 理研、神戸アイセンター病院 2) 医科歯科大 3) 大分大 4) 医科歯科大 再生医療研究センター

本日の内容

第1部 「Direct Strip PCR」感染性ぶどう膜炎キット基本情報

p2

一部削除

参考資料

感染性ぶどう膜炎網羅的PCR検査・先進医療 全国調査	p11	試薬調製のコツ	p17
PCR推奨疾患と限界	p12	PCR・解析・報告	p18
外注・自施設導入・先進医療届出の流れ	p13	先進医療	p19
事前準備	p14	外注検査	p20
検体採取	p15	情報提供	p20
試薬調製	p16		

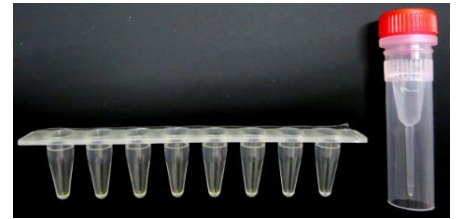
「Direct Strip PCR」 感染性ぶどう膜炎キット 基礎情報

目的

主要病原体を、簡単な操作で網羅的に検出する。

構成

Strip 1本 (小さなチューブが連結)
1.5mLチューブ1本



項目

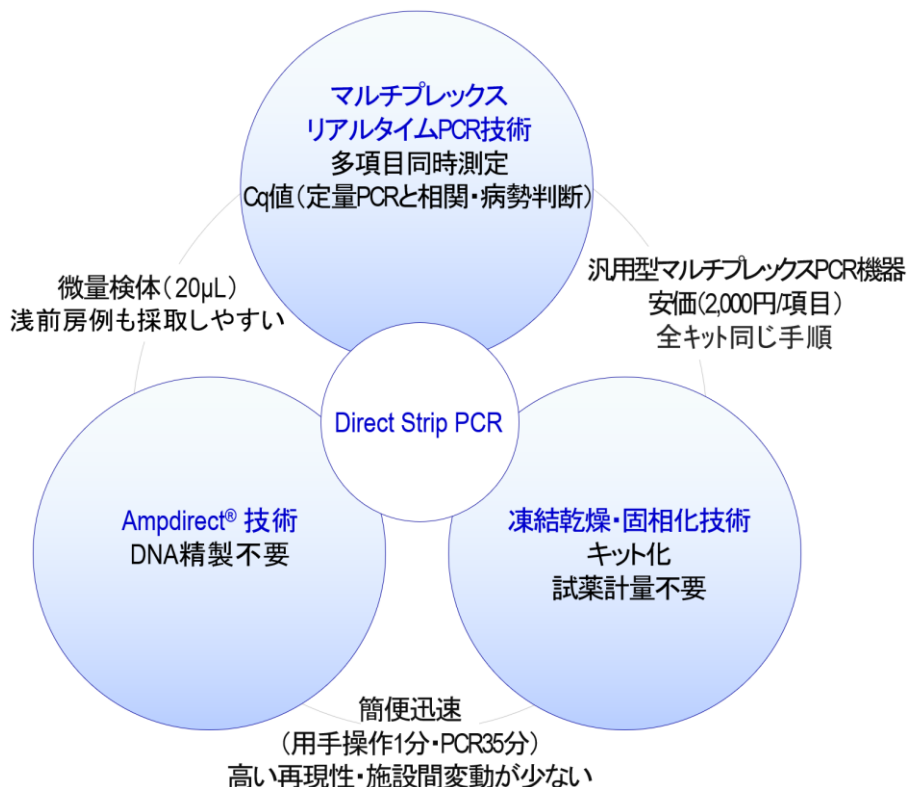
感染性ぶどう膜炎主要病原体9項目

単純ヘルペスウイルス1型・2型(HSV1・2)、水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)、Epstein - Barr ウイルス(EBV)、サイトメガロウイルス(CMV)、ヒトヘルペスウイルス6 (HHV6)、ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-I)、梅毒、トキソプラズマ

6FAM	GAPDH	HSV1	HSV2	EBV	HTLV-1	トキソプラズマ		
ROX	TBP	VZV	HHV6	CMV	梅毒			

※GAPDHはPCRの陽性コントロール、TBPは検体採取のコントロール(細胞数を反映)

特徴



基礎試験(感度・検出率・再現性) スライド供覧

- 変動係数(CV)1.0%以下と再現性良好。※検量線キット併用でコピー数/mLに換算。
- 定量PCR・Direct Strip PCR 間に検出率の差を認めなかった。
- DNA量が少ない場合(4コピー/well)はいずれも検出率が低下したが再検で向上した。(検出機会の影響)

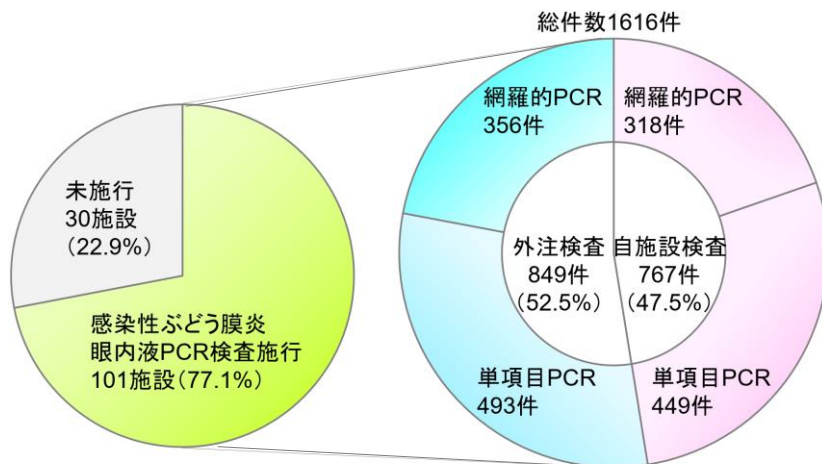
多施設臨床研究

スライド供覧

- 定量PCR $10^1 \sim 10^9$ copies/mL相当の臨床検体で陽性が得られた。
- 定量PCRに対し、Direct Strip PCRの陽性適中率・陰性的中率は良好で、同等の結果が得られた。

感染性ぶどう膜炎網羅的PCR検査

半年間で総件数1616件、77.1%の施設で施行され、外注・自施設検査ともに網羅的PCRが4割。



対象 大学病院・基幹病院・眼炎症学会・眼感染症学会会員施設
 回答率 86.8% (131/151施設、大学病院74、病院・医院57)
 期間 2018.1～6月

先進医療(ウイルス)

承認済17施設 東京医科歯科大学、鳥取大学、大分大学、東北大学、島根大学、九州大学、東京医科大学、東京大学、福井大学、京都府立医科大学、群馬大学、久留米大学、愛媛大学、筑波大学、順天堂大学、富山大学、高知大学、佐賀大学

検討準備中16施設

- ・ サイトメガロウイルスが最も多い。
- ・ 407例(99.5%)が有効評価で、サルコイドーシスなど、感染症除外診断に有効な症例もあった。
- ・ 409例(97.1%)が適応症か、適応症と類似の所見を呈する疾患で正しく使用されていた。

(2014年～実績報告書から抽出。疑い病名・最終病名含む)

診断名	件数	診断名	件数
HSV1虹彩毛様体炎	3	サルコイドーシス	6
VZV虹彩毛様体炎	8	ボスナーシュロスマン症候群	4
VZV急性網膜壊死	3	白内障術後虹彩炎	3
CMV角膜内皮炎・虹彩毛様体炎	76	HTLV-1関連ぶどう膜炎	2
CMV網膜炎	34	風疹性ぶどう膜炎	2
CMV感染症	15	水疱性角膜症	2
急性網膜壊死	26	原田病	1
ヘルペス性ぶどう膜炎	14	眼トキソプラズマ症	1
ヘルペス性虹彩毛様体炎	71	眼内炎	1
ヘルペス性角膜内皮炎	18	感染性眼内炎	1
ヘルペスウイルス感染症	1	遅発性眼内炎	1
眼部帯状疱疹	4	術後眼内炎	1
ウイルス性ぶどう膜炎	9	真菌性眼内炎	1
ウイルス性網膜炎	3	深在性真菌症	1
ウイルス性虹彩炎	29	上強膜炎	1
ぶどう膜炎	39	猫ひっかき病	1
感染性ぶどう膜炎	2		
難治性ぶどう膜炎	2		
肉芽腫性汎ぶどう膜炎	1		
非肉芽腫性ぶどう膜炎	1		
網脈絡膜炎	1		
虹彩毛様体炎	13		
角膜内皮炎	7		

PCR推奨疾患と限界

考え方

PCRは臨床診断や他の検査に基づき狙った病原体を、活動性がある感染部位の検体から検出する病因検査法。検査項目は、そのPCRキットの対象病原体に限られる。

- 無目的に検査して、未知の病原体や過去の感染など、何でも分かる魔法の検査ではない。
- 使うPCRキットの対象病原体を事前に確認し、その病原体を疑う症例・除外診断が必要な症例にのみ使用する。
- 今、そこにある病原体遺伝子を増幅するので、病原体がいない検体からは検出できない。活動性の炎症があることが必須。できるだけ治療開始前に検査を行う。盲目的に様々な治療を行って拗れてからPCR→検体中病原体量が感度以下まで著しく減少→PCR不適。病因診断は治療前が鉄則。
- 前眼部に炎症の主座がある場合は前房水、後眼部疾患は硝子体が検出率が良い。
- 高感度だが、病原体量が少ない検体は単回検査で検出できないことも、感度以下もある。
- 検出病原体が必ずしも起炎病原体ではない。判断に量的情報が参考になる。
- PCRの結果は1つの情報として、臨床所見や他の検査結果と矛盾しないか、医師の総合判断が必要。

推奨疾患

推奨	<ul style="list-style-type: none">• 培養などの既存検査で検出困難な病原体（ウイルスなど）• 眼局所に病変が限局し、採血などの全身検査に反映されにくい疾患。• 前房水・硝子体といった通常病原体が存在しない検体。（真陽性と環境コンタミネーションとの病原体量差が小さい真菌性、角膜炎などは判断に迷う。）• 感度以上の十分な活動性の炎症を有する検体。• 病勢把握のために量的情報が必要な疾患（リアルタイムPCR）
使い方	<ul style="list-style-type: none">• 迅速病因確定診断（いったん拗れても、病因診断ができていると安心して治療継続可能）• 半定量により病勢数値化（治療効果判定）• 混合感染検出• 感染症否定（主要微生物を除外診断でき、安心してステロイド・免疫抑制剤・手術施行）
主な推奨疾患	臨床所見などから下記を強く疑うとき、除外診断するとき。または、治療効果判定が必要なとき。 <ul style="list-style-type: none">• 単純ヘルペスウイルス1型(HSV1)急性網膜壊死、虹彩毛様体炎、角結膜炎• 単純ヘルペスウイルス2型(HSV2)急性網膜壊死、虹彩毛様体炎• 水痘帯状疱疹ウイルス(VZV)急性網膜壊死、虹彩毛様体炎、角結膜炎• サイトメガロウイルス(CMV)角膜内皮炎、虹彩毛様体炎、網膜炎• Epstein - Barr ウイルス(EBV)陽性ぶどう膜炎• ヒトヘルペスウイルス6 (HHV6)関連ぶどう膜炎• ヒトT細胞白血病ウイルス1型(HTLV-I)関連ぶどう膜炎• 梅毒性ぶどう膜炎• 眼トキソプラズマ症• アカントアメーバ角膜炎• クラミジア結膜炎• 淋菌性結膜炎（培養より高感度）• 流行性角結膜炎（免疫クロマト法より高感度、HSV1・クラミジア結膜炎などを含めた鑑別）• 急性細菌性眼内炎（特にウイルス鑑別。但し、塗抹鏡検・培養・薬剤感受性検査併用。）
注意点・限界	<ul style="list-style-type: none">• 眼トキソプラズマ症など後眼部中心の炎症は前房水での検出率が低下する。可能なら硝子体推奨。• ヘルペス性角結膜炎はsheddingがあるため、量的情報が得られるリアルタイムPCRを使用。• トキソカラ・結核菌は、先進国はアレルギー反応が多いため、検出されない場合が多い。• アクネ菌、細菌（軽微な角膜炎などの弱い炎症のとき）、真菌は偽陽性が多い。（真陽性とコンタミネーションのCq値が近似する。一部は連続症例、前房水・硝子体でも検出。）• 薬剤感受性遺伝子を調べるが、厳密には実際の薬剤感受性は不明。• 眼感染症主要病原微生物を”網羅”するが全微生物は網羅しない。未知の病原体は対象ではない。

外注・自施設導入・先進医療届出の流れ

方針

先進医療対象の大学病院・市中病院 —すでに院内・学内でPCR検査体制が整っている場合—

- 多項目同時検査を施行していれば、先進医療は施設側の費用負担がなくなるので、早めの届出推奨。(先進医療の対象は多項目のみなので、単項目検査のみの場合は多項目化をお勧めする。)
- 近年、医療法改正に伴い、管理体制構築のため、眼科研究室から病院検査部に検査を移行する施設が多い(コスト算定・カルテ連携にも有利)。

先進医療対象の大学病院・市中病院—新規導入の場合(今まで外注検査のみの施設含む)—

- 自施設導入・先進医療届出推奨。費用の心配なく使用できるようになるので、開始後、適応症例数が増える。
- PCR機器があれば(検査部・学内にいることが多いので探してみる。)、初期費用は症例集積用キットとピペット・チップのみ(約25万円)。
- 機器がないとき新規購入175万円～。先進医療数年で減価償却、機器は別の遺伝子検査や研究にも使用可。
- 先進医療のための症例集積後に(施設基準15例)、機器・試薬デモを行い、まとめて測定し、先進医療届出を確定させてから、施設に機器購入交渉をして購入に至った施設もある。

先進医療対象外の市中病院・医院

- 病因診断の重要性が再認識されているが、外注検査は保険適応でではなく、HLA検査などと同様の対応。
- 外注困難の場合は、自施設検査施設または外注提出可能な施設に、積極的に紹介をお勧めする。(=治療前病因診断。自施設で治療する場合も、一旦病因診断ができていたら、こじれても安心。)

実際の流れ

感染性ぶどう膜炎キット 保険適応外

検査センター外注

神戸アイセンター病院
LSIメディエンス
SRL(2019年度末～)

- 先進医療適応外
- LSI、SRLは1件から集荷
- 輸送含め数日で結果

自施設導入

- 数時間で結果判明。
- 先進医療は患者負担(先進医療特約付保険給付)
- 検査部・学内・講座内にリアルタイムPCR機器がある。(FAM・ROX マルチプレックス推奨、新規購入175万円～)
- 検査部・講座内に検査担当者確保(初心者可)
先進医療で病院収益になる。多くが検査部導入(遺伝子検査室新設が増加中)
- 症例集積用が必要な場合は、試薬費確保(定価24万円/12検体)
- 先進医療導入に補助金がある施設も多い。
- 検査部説明資料・検査映像・PCRプロトコルは大分大学眼科ホームページ掲載。
- 導入支援あり。中野sanakano@iota-u.ac.jpまでメールをどうぞ♪

先進医療届出 ヘルペス性ぶどう膜炎、細菌・真菌性眼内炎(疑い含む)のみ先進医療

- 内科外来があり、眼科常勤3名以上(1名は経験10年以上の眼科専門医)
- 眼感染症多項目PCR経験 医師:1年・20例以上/施設:15例以上
多項目PCRの手法問わず/PCR結果の陰陽問わず

症例数を満たす・届出

- 届出(約1か月で受理)
- 受理後、IRB開催
- オーダリング連携すると便利
- 第1例開始

症例数不足

- 症例集積研究IRB申請
- 承認後、症例集積
- 測定(機器貸出もあり)

定期報告

- 届出後6ヶ月 or 15例まで毎月、その後毎年地方厚生局に報告、全国統計。
• 先進医療は適応がヘルペス性ぶどう膜炎と細菌・真菌性眼内炎に限られている。
報告書の病名が適切か眼科医の責任で確認すること。

事前準備

機器

検査部・学内リアルタイムPCR機器を確認。購入はTP700が最安(175万円)。いずれも他の遺伝子検査にも使用可。

機器	推奨蛍光	推奨チューブ
Applied Biosystems™ 7500 Fast Dx Real-Time PCR Instrument	FAM/ROX	0.1mL 透明
Applied Biosystems™ 7500 Fast Real-Time PCR Instrument	FAM/ROX	0.1mL 透明
Applied Biosystems™ 7500 Real-Time PCR Instrument	FAM/ROX	0.2mL 透明
Applied Biosystems™ 7900HT Fast Real-Time PCR System	FAM/ROX	96well 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 1 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.2mL 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 3 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.1/0.2mL 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 5 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.1/0.2mL 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 5 Dx Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.2mL 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 6 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.1/0.2mL 透明
Applied Biosystems™ QuantStudio® 7 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.1/0.2mL 透明
Applied Biosystems™ ViiA 7 Real-Time PCR System	FAM/ROX	0.1/0.2mL 透明
LightCycler® 480 System I	FAM/ROX	0.1mL/白
LightCycler® 480 System II	FAM/ROX	0.1mL/白
cobaz z480	FAM/ROX	96well 白
LightCycler® 96 System	FAM/ROX	0.1mL 白
CFX96 Real-Time PCR Detection Systems	FAM/ROX	0.1mL 透明
Mx3000P QPCR System	FAM/ROX	0.1mL 透明
Thermal Cycler Dice® Real Time System II TP900	FAM/ROX	0.2mL 透明
Thermal Cycler Dice® Real Time System Lite TP700	FAM/ROX	0.2mL 透明
Line Gene 9600	FAM/ROX	0.2mL 透明
Applied Biosystems™ 7300 Real-Time PCR System	FAMのみ	0.2mL 透明
Applied Biosystems StepOne™	FAMのみ	0.2mL 透明
Applied Biosystems StepOnePlus™	FAMのみ	0.2mL 透明

試薬購入

ヘルペス・梅毒・トキソプラズマ・HTLV-1病原体検出キット(= 感染性ぶどう膜炎キット)

※HTLV-1 が正式名称から抜けていますが、実際は含みます。

定価24万円/12検体, 使用期限約1年 島津製作所 0120-131691

0.1mL透明 型番241-15400-91, 0.1mL白 型番241-15400-92,

スタンダードDNA 型番241-15420-91, 0.2mL透明も発売予定



あると良いもの

必須は20μLピペットとチップのみ。一部機器は移し替え用機器専用チューブが必要。

	<p>房水ピペット 1ccシリンジ+ 30G針で代用可 ニプロ, NIP-021, 100本, 72,000円 使用期限数年</p>		<p>20μLピペット 例) NEXTY-F20容量固定ピペッター WATSON・深江化成 NT-F20, 4,800円</p>
	<p>検体保存チューブ LSI受託は指定チューブ無償配布 滅菌個包装が、清潔野に出せて便利 例) セーフロックチューブ・ハイオピュア1.5mL エッペンドルフ, 0030 121.589, 100本 定価4,000円, 使用期限数年</p>		<p>スピンドウン遠心機 (Strip・検体1.5mLチューブ用) 例) ミニ遠心機 Mini6000KS BMS,BSR-Mini6000KS, 29,900円</p>
	<p>プレートシェイカー/ボルテックスミキサー 例) コーニング® ボルテックスミキサー/オプションヘッド アズワン, 本体1-2235-01, ヘッド1-2235-12 7,300円</p>		<p>20μLフィルター付チップ ※使用ピペット適合を確認 個包装推奨)20uL個別三重包装Fチップ, T119-20S,100本, 15,000円,期限数年</p>
	<p>プロトコル付専用試薬立て 島津製作所, 型番なし, 18,000円</p>		<p>大箱)プラチナ柔フィルター付チップ20μL ビーエムWF-20RS, 96本x10ラックx5 定価12,500円, 期限数年</p>

検体採取

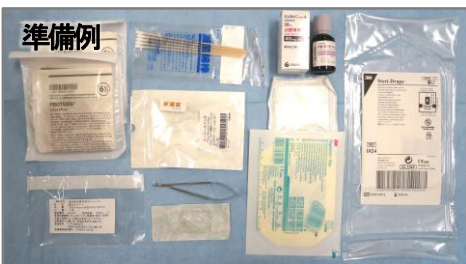
ポイント

PCRが成功するかどうかは、検査に適切な時期に、適切な部位の検体が採取できたかどうかで、ほぼ決定する。PCRの適応と限界を知り、どの疾患・検体に使用すべきかを見極めれば、自ずと良好な陽性・陰性適中率が得られる。予想した結果が出ない場合は、目的病原体の設定が正しいか、十分量の病原体を含む検体を採取できたかを確認。

- ☑ 臨床診断や他の検査に基づき狙った病原体が、検査キットの項目に含まれていること。
- ☑ 病原体を十分含む検体(=今、活動性の炎症がある部位の検体。治療前検体が望ましい。)を採取すること。病因診断前の“ちょっとステロイド”は、確定診断の貴重な材料を永遠に失うことに繋がる。
- ☑ できるだけ炎症の主座がある部位の検体を採取すること。(前眼部疾患は前房水、後眼部疾患は硝子体。)
- ☑ 培養・鏡検など、他の検査に供与する検体も正しく確保する。
(例えば、眼内炎では、検体を冷凍すると培養できなくなるので、あらかじめスライドグラス(滅菌しておく)と便利)、増菌培養チューブ、PCR検体採取容器を手術室に持ち込み、各検査用に取り分けること。)

前房水 房水ピペット推奨

硝子体内注射に準じて、洗眼液(PAヨード20mL+生食80mL)、点眼麻酔、房水ピペット(ニプロ, NIP-021, 100本, 定価72,000円)・ない場合は1ccシリンジ+ 30G針で代用、採取容器(エッペンドルフ, 0030 121.589, 100本, 定価4,000円が便利)、開瞼器、ドレープ、ハサミ、滅菌綿棒(対側で眼球固定)、ガーゼ、手袋などを準備。



- ① 点眼麻酔後、洗眼し、ドレープ・開瞼器をかける。
- ② 房水ピペットをつまむ。



- ③ 綿棒などで眼球を固定、角膜輪部から前房内刺入、ゆっくりと指を緩める。助手に100μL=0.5cmで声掛けしてもらおうと安心。



- ⑤ 針を抜き、出血等の異常が無い確認。
- ⑥ 検体は清潔操作で保存容器に入れる。
- ⑦ 冷凍保存。



硝子体 (東京医科歯科大学 高瀬 博先生)

1. プライミング後、吸引ラインの灌流液を吸引除去。
2. カッターの接続部に三方活栓を接続。
3. 灌流ポート作成、カニューラを接続し、灌流準備。
4. 無灌流下で硝子体切除。
5. チューブ内の硝子体が100μL(約10cm)になれば、カッターを外して灌流開始。
6. 三方活栓にシリンジをつけ、シリンジ内の空気で硝子体をチューブに押し出す。

※ リンパ腫検査もある場合は予め延長チューブを接続、最大2ml採取可能。



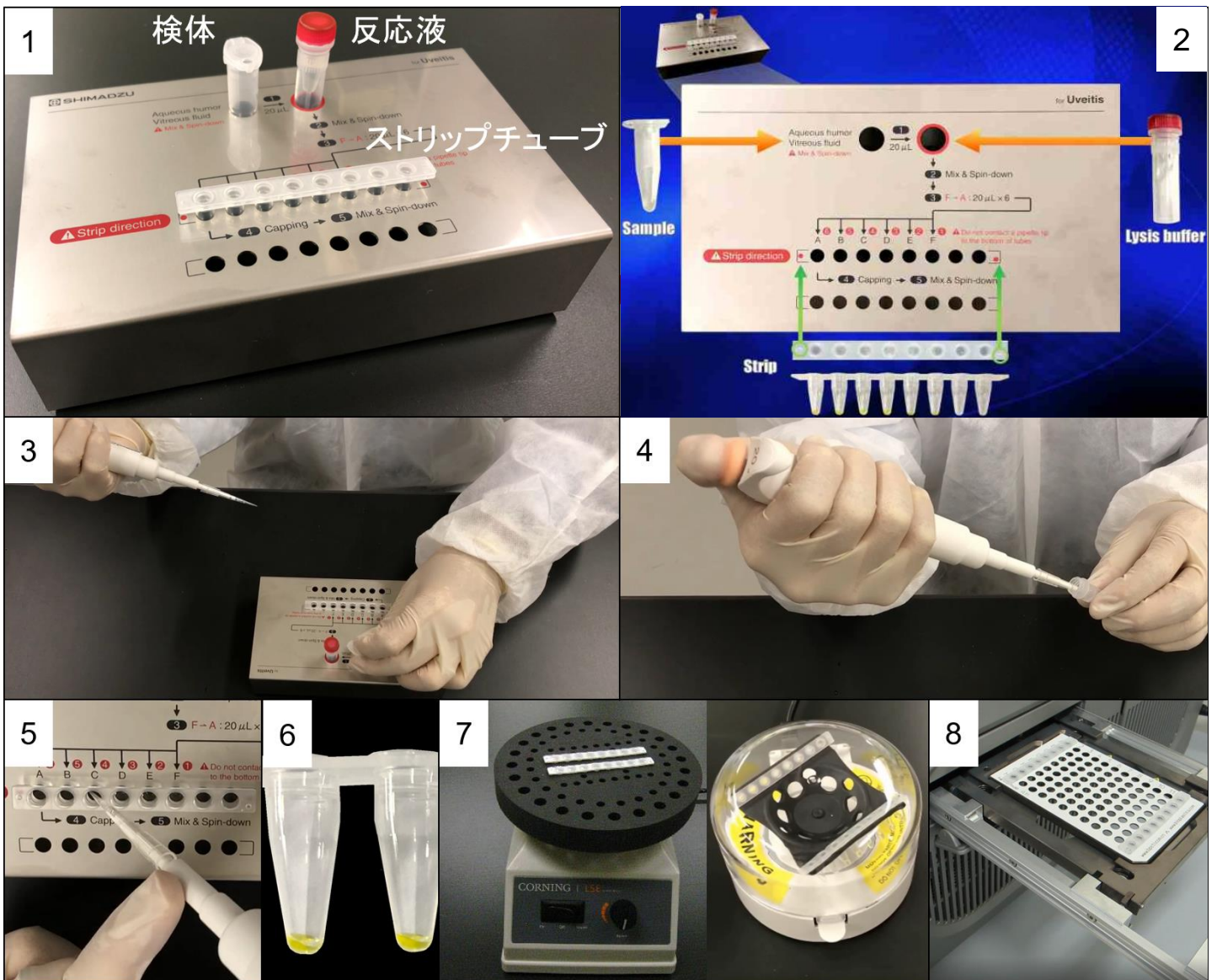
検体保存

冷凍庫保存。凍結融解を繰り返さない。

試薬調製

ピペット1本
用手操作 1分

1. 検体(前房水・硝子体)・反応液・ストリップチューブを試薬立てにセットする。
2. 説明付き試薬立て(島津製作所, 型番なし, 定価18,000円)が使いやすい。
3. 20 μ Lピペット(例: WATSON・深江化成, 型番NT-F20, 定価4,800円)で, 検体20 μ Lを反応液に入れる。
チップは、個包装(20 μ L個別三重包装Fチップ, T119-20S, 100本, 定価15,000円)推奨。
4. 10回ピPETTING。
5. チップを変えず、ストリップチューブのF \rightarrow Aに、混合液を20 μ Lずつ入れる。
6. ストリップチューブの底にコーティングされた試薬に、チップの先が触れないよう注意する。
7. 攪拌はピPETTINGでも良いが、プレートシェイカー(例:アズワン, 型番1-2235-01・1-2235-12, 定価合計37,300円)や小型遠心機(例: BMS, 型番BSR-Mini6000KS, 定価29,900円)を使用すると確実。
8. マルチプレックス・リアルタイムPCR機器にセットし測定する。



中野聡子: 眼感染症主要病原体・多項目迅速PCR検査「Direct Strip PCR」。あたらしい眼科 2019 (印刷中)を改変

試薬調製のコツ

Strip

Buffer Sample

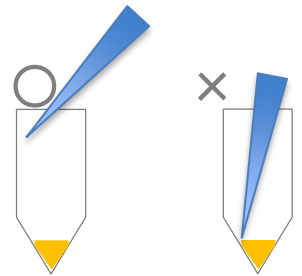
GAPDH	HSV1	HSV2	EBV	HTLV-1	ｷﾞｸﾗｽﾞﾏ		
TBP	VZV	HHV6	CMV	梅毒			

A B C D E F G H

⑥ ⑤ ④ ③ ② ①

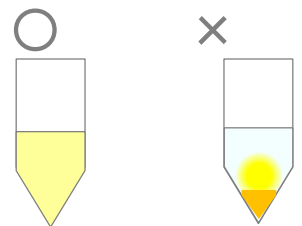
A-Fの6個のStripチューブ底に各々別の試薬(黄色)が固まっている。Aは、陽性コントロールを含むため、コンタミ防止のためF→Aの順に入れる。

- ピペットのチップはStripチューブの入口付近で注ぐ。チップは変えずに全チューブに注ぐ。Stripチューブ底の試薬(黄色)に触れない。

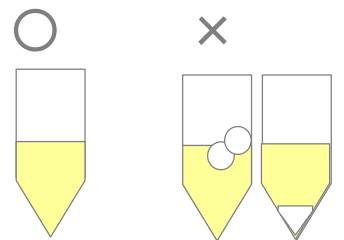


- 全Stripチューブ底の試薬(黄色)を均一溶解

↑
 ピペティングで対応可だが(そのときはチップを変える)
 シェイカー・スピンドウンが簡単
 ↓



- Strip内に気泡を残さない



PCR・解析・報告

PCR条件

[FAM/ROX] 95℃, 10秒
 95℃, 5秒
 60℃, 20-30秒 } 45cycle
 ※機器による

PCR時間 35-65分

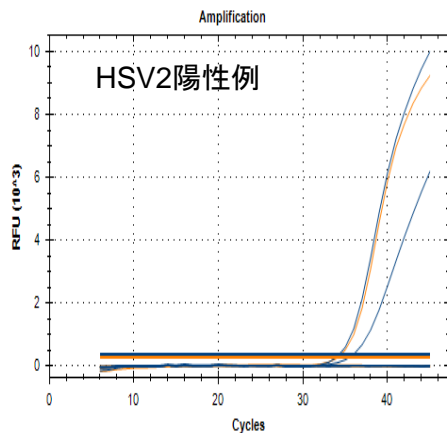


簡単な設定方法

大分大ホームページに主要機器のPCRテンプレート/設定・解析映像 (YouTube) /ポジコン結果を掲載。
 初回検査時に試薬・機器のデモンストレーション可能。

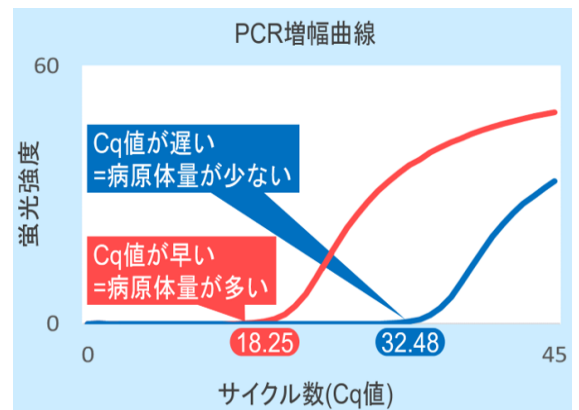
1. 大分大ホームページからポジコン結果をダウンロードし、自施設の機器で開き、流れを確認。
2. PCRテンプレートをダウンロード。
3. PCRテンプレート設定映像を見ながら、自施設の機器を設定。
4. PCR 施行。
5. PCR結果解析映像を見ながら、解析。

実際の結果



GAPDH
 TBP } 内部コントロール

HSV2



- Direct Strip PCRは、リアルタイムPCR。
- Standardを省くが、Cq値は量的情報を反映。(初回に検量線キットを用いることで、コピー数も簡易計算可能。)

オーダーリング

1. 患者説明・先進医療同意書取得。
2. オーダーリングで依頼、自動でコストも入力。
3. 採取。
4. 検体チューブが小さいのでオーダーシールとチューブをジップロックに入れる。
5. すぐに検査部提出。または冷凍庫保存。(常温・冷蔵で放置しない。)
6. 結果は検査部がオーダーリング上にCq値、または簡易計算コピー数で報告。
 (増幅曲線グラフを含む結果希望の施設は、機器からPDF出力→カルテ取込も可能)
7. 医師は、オーダー画面上で確認。電子カルテに貼付可能。
8. 先進医療特約付保険加入者は、後日保険申請の書類記入。

2018/07/02 00:00	
01 HSV-1	(-)
02 HSV-2	(-)
03 EBV	(-)
04 VZV	(-)
05 HHV-6	(-)
06 HHV-7	(-)
07 HHV-8	(-)
08 CMV	36.54
09 GAPDH	33.80
10 TBP	36.80

オーダーリング プログレス ナ

処方 注射 汎用 検査

2018/07/02
 実施済 検査 眼科
 実施済 GP01

- HSV-1
- HSV-2
- EBV
- VZV
- HHV-6
- HHV-7
- HHV-8
- CMV
- GAPDH
- TBP

先進医療とは

- 先進医療部分は患者が全額自己負担、保険診療と共通する部分は保険給付。
- 要件を満たし、届出した施設に限定。
- 外注受託は不可。
- 外来・入院ともに算定可。
- 検体採取費は先進医療に含む。
- 先進医療特約付医療保険あり。
- 医療費控除の対象であるが、高額療養費制度の対象ではない。
- 生活保護医療扶助・実質適用外。

適応症

- **ウイルスに起因する難治性の眼感染疾患に対する迅速診断(PCR法)**
豚脂様KP・眼圧上昇のある片眼性前眼部疾患 (ヘルペス性内皮炎・虹彩炎疑い)
網膜に壊死病巣を有する眼底疾患 (ARN・CMV網膜炎・PORN疑い)
 - **細菌または真菌に起因する難治性の眼感染疾患に対する迅速診断(PCR法)**
前房蓄膿、前房フィブリン、硝子体混濁または網膜病変を有する眼内炎
- ※アメーバ、トキソプラズマ、クラミジア、HTLV-1、角結膜炎などは適応外。
※活動性の炎症がある検体のみが対象。

主な届出要件

眼科単科病院・外注検査は対象外。

[施設] 眼科常勤3人以上・内科標榜・PCR診断経験※15例以上

臨床検査技師・医療機器保守管理体制・倫理委員会・医療安全管理委員会あり。

[主な医師] 眼科10年目以上専門医・PCR診断経験※1年 / 20例以上

※PCR診断経験 [ウイルス]多項目定性PCR [細菌・真菌] 16S/28S領域測定。

経験数を満たさないときは、症例集積研究を行う。(患者に直接接触しない体外診断用医薬品であり、大分大は、特定臨床研究、未承認医薬品等臨床使用審査委員会対象ではないとの判断。)

先進医療を推進している病院は多く、症例集積のための補助金が出ることもある。

届出

- 必要なら症例集積研究を行い、症例数などの要件を満たす。
- 自施設の先進医療申請担当の事務部門に連絡、共同で書類記入 (眼科記載部分はわずか)。
保険診療化の際に先進医療価格が参考にされるため、適切な価格に設定(25,000～35,000円)
- 地方厚生局届出。
- 約1ヶ月で承認。
- 先進医療プロトコルで院内IRB申請。
※症例集積研究でIRB承認済でも、費用などを先進医療の内容に修正して再承認を得る。
※定期報告、集計などのため、厚労省・主幹施設の医科歯科大への情報提供可能なプロトコルにする。
- 患者検査実施。
- 通常の研究と同様、カルテには説明日時・場所・説明相手・内容(費用や採取方法)・患者・家族の反応などを記載し、同意書は適切に保管。※同意書日付が検査後になっていた施設で、監査で指摘があったので注意。

定期報告

- 承認後6か月 / 15例まで毎月と、1年毎(7/1～6/30)地方厚生局に定期報告。
- 診断名が最も重要。事務にまかせず、眼科医が適応上記(例: ヘルペス性虹彩毛様体炎疑いなど)に合致するか確認すること。 ※他科Drが他科疾患に使用していた施設で先進医療停止となったので注意。
- 評価結果はPCR結果の陰陽問わず、除外診断含め役立てば有効評価。

1	ヘルペス性虹彩炎	55	女	H29.9.6	0	1	治療	69,841	有効
---	----------	----	---	---------	---	---	----	--------	----

神戸アイセンター病院

<http://retinastem.jp/kansensyou/src/> 078-381-9876 e_pcrtest@kcho.jp



- **12連Strip PCR** (HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6, HHV7, HHV8, HTLV-1, ADV, トキソプラズマ, トキソカラ, アスペルギルス, アカントアメーバ, 結核, 梅毒, クラミジア, アクネ菌, カンジダ3種(アルビカンス, クルセイ, グラブラータ), フザリウム, 真菌全般28S, 細菌全般16S, 24項目)
- **定量PCR** (上記 + バルトネラ)
- **抗体検査**
- **リンパ腫IgH遺伝子再構成**
- **依頼方法** ホームページに詳しい案内あり。

検査会社LSIメディエンス

<https://www.medience.co.jp/> 03-5994-2111

全国65か所拠点一覧: <http://www.med.oita-u.ac.jp/ganka/pcr/lsi.pdf>

採取容器



- **感染性ぶどう膜炎キット Direct Strip PCR**
9項目 (HSV1, HSV2, VZV, EBV, CMV, HHV6, HTLV-1, 梅毒, トキソプラズマ)
必要検体量 前房水・硝子体75μL(再々検分含む)
約24000円 / 全9項目 (集荷料金・採取容器含む。価格は立地・件数などによる。)
結果は+/-報告 (Cq値は参考値として報告)
- **依頼方法**
 1. 病院医事課・検査部に、LSIメディエンスの保険適応外検査を外注したいと相談する。他科検査で集荷や支払い方法などが確立している病院も多い。
 2. 外注ルートが確立していない場合はLSIメディエンスに電話し、「コード27317 感染性ぶどう膜炎マルチスクリーニング」について担当営業と打合せ希望と伝える。
 3. 担当営業が、集荷方法(検査部・眼科医局集荷など)、当日集荷締切時間、依頼方式(紙伝票・オーダーリング)、支払い方法(病院立替払い・講座徴収など)を眼科医に相談し、病院と調整する。検体保存容器、依頼伝票などが事前配布される。
 4. 検体採取後、採取容器に入れてすぐに冷凍庫(家庭用で可)保存。
 5. 時間内は当日集荷、集荷ルートにない小規模施設は数日以内に集荷。
 6. 東京のセンターに到着後、翌日検査。
 7. 結果は最短で採取翌日にFAXで速報され、後日正式報告書が届く。

検査会社SRL

<https://www.srl-group.co.jp> 2019年度末～開始予定

情報提供

大分大学眼科ホームページ・YouTube・書類提供

<http://www.med.oita-u.ac.jp/ganka/pcr/> sanakano@oita-u.ac.jp (中野聡子)

