

# 環境保健研究所における新型コロナウイルス遺伝子の検査体制について (2020 年 1 月～2022 年 3 月)

水村 綾乃<sup>1</sup>、神谷 美里<sup>1</sup>、瀬野 智史<sup>1</sup>、吉田 茜<sup>2</sup>、西川 和佳子<sup>2</sup>、坂本 美砂子<sup>2</sup>、近藤 文<sup>1</sup>、  
佐々木 彩華<sup>3</sup>、本宮 恵子<sup>1</sup>、野本 さとみ<sup>1</sup>、吉原 純子<sup>1</sup>、茨城 萌<sup>1</sup>、中村 芙美<sup>1</sup>、  
益満 友哉梨<sup>1</sup>、野口 彩<sup>1</sup>、小川 さやか<sup>1</sup>、酒井 綾子<sup>1</sup>、山口 玲子<sup>1</sup>、大竹 正芳<sup>1</sup>、  
清田 智子<sup>1</sup>、石橋 恵美子<sup>1</sup>、横井 一<sup>1</sup>、山本 一重<sup>1</sup>、大塚 正毅<sup>1</sup>、山口 淳一<sup>4</sup>

(1 環境保健研究所 健康科学課 2 現 保健所 食品安全課 3 現 医療政策課 4 現 保健所)

**要 旨** 環境保健研究所では、2020 年 1 月 30 日から新型コロナウイルス遺伝子の検査を開始した。その後、検査機器の増設、検査員の増員、新たな検査方法の導入により、第 6 波までの感染拡大に対応し、2022 年 3 月末現在で 53,434 検体の検査を実施した。今回、検査開始から 2022 年 3 月末までの当所の検査対応について報告する。

**Key Words** : 新型コロナウイルス、リアルタイム RT-PCR 法、変異スクリーニング検査

## 1. はじめに

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、2019 年 12 月に中国武漢市で初めて確認された新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) によって引き起こされる急性呼吸器疾患である。<sup>1),2)</sup> 日本では 2020 年 1 月 15 日に初めて確認された後、症例数は増加した。その後、新規感染者数の増減を繰り返しながら 2022 年 3 月現在もいまだ流行が続いており、第 6 波までの感染拡大を経験した。

当所では、2020 年 1 月 30 日に初の検査依頼があり、翌日、陽性が確認され、その後も現在まで新型コロナウイルス遺伝子の検査を行ってきた。今回、2020 年 1 月～2022 年 3 月までの当所における COVID-19 の検査対応について報告する。

## 2. 経過

### 2.1 遺伝子検査の導入

国立感染症研究所 (感染研) の病原体検出マニュアル<sup>3),4),5)</sup> (感染研法) に基づき、鼻咽頭ぬぐい液およ

び喀痰等から High Pure Viral RNA Kit (Roche 社) を用いてウイルス RNA を抽出後、conventional RT-PCR 法とシーケンス解析、またはリアルタイム RT-PCR 法を実施した。conventional RT-PCR 法とシーケンス解析は、2020 年 1 月 30 日から、リアルタイム RT-PCR 法は同年 2 月 6 日からそれぞれ検査可能となった。

なお、陽性コントロールは、感染研から分与された合成 RNA を用いた。

また、市内の大学病院における SARS-CoV-2 の遺伝子検査の立ち上げにも協力した。

### 2.2 市内初の陽性確定例

2020 年 1 月 30 日に、武漢滞在歴のある患者と接触したという COVID-19 疑い症例の検査依頼があり、conventional RT-PCR 法とシーケンス解析を実施した。その結果、陽性が確認され、感染研と検査データの検証を行い、1 月 31 日に市内初の陽性を確定した。

### 2.3 検査機器の増設

2 症例目からの新型コロナウイルス遺伝子の検査は、

感染研法に基づき、conventional RT-PCR 法及びリアルタイム RT-PCR 法により実施したが、2020 年 2 月 6 日からは、検査の効率化を図るためリアルタイム RT-PCR 法により行った。また、新型コロナウイルスの検査数増加に伴い、同年 3 月および 8 月にリアルタイム PCR 装置である QuantStudio5 (Applied Biosystems 社) を 1 台ずつ増設した。

## 2. 4 検査員の増員

2020 年 3 月末頃から新型コロナウイルスの検査数が急増したことから、ウイルス検査担当者 4 名のみの対応が困難となった。そこで、ウイルス検査担当者に加え、細菌検査担当者 4 名および理化学検査担当者 1 名 (ウイルス検査経験者) の応援体制を整備した。さらに、検査結果書作成等の検査に関連した業務については、理化学検査担当者 8 名の協力体制を整備し、全ての検査担当職員が連携して対応に当たった。

## 2. 5 新たな検査試薬の導入

COVID-19 の発生状況を踏まえ、厚生労働省から発出された 2020 年 3 月 18 日付け事務連絡<sup>6)</sup>にて、感染研法以外の検査方法の普及が進められたことおよび民間の試薬メーカーで新たな検査試薬の開発が進んだことから、新たな検査試薬の比較検討を行った。その結果、2020 年 7 月 14 日から RNA 抽出が不要なダイレクト PCR 法の 1 つである SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit (タカラバイオ社) を導入した。

このことにより、検査反応時間を約 3 時間から約 1 時間に短縮することが可能となったため、1 日の検査可能検体数を検査開始当初の 32 検体から 376 検体に引き上げた。

## 2. 6 変異スクリーニング検査の導入

2021 年 2 月 5 日、ウイルスの感染性や抗原性の変化が懸念される変異株の早期探知を目的として、当時の変異株に共通してみられた N501Y 変異 (Spike 領域) のスクリーニング検査について、厚生労働省から要請<sup>7)</sup>があった。そこで、当所では、感染研の N501Y 変異検出マニュアル<sup>8)</sup>に基づき、2021 年 2 月 8 日から N501Y 変異スクリーニング検査を開始した。その後、変異株の流行状況に合わせ、L452R、G339D、T547K 変異 (全て Spike 領域) のスクリーニング検査を適宜実施した。<sup>9), 10), 11)</sup>

## 2. 7 次世代シーケンサーによる全ゲノム解析の導入

2020 年 3 月 16 日付けで厚生労働省から発出された協力依頼<sup>12)</sup>を受け、当所で陽性となった一部の検体から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN 社) により抽出したウイルス RNA を感染研へ送付し、全ゲノム

解析を依頼した。また、2021 年 2 月 5 日付けで厚生労働省から発出された要請<sup>7)</sup>により、陽性検体の 5~10% について、変異スクリーニング検査を実施した後、検体から抽出した RNA を感染研または千葉県衛生研究所あてに送付し、全ゲノム解析を依頼した。

なお、当所においても、次世代シーケンサーによる全ゲノム解析を可能とするため、2021 年 10 月および 2022 年 1 月に、感染研病原体ゲノム解析研究センター主催の次世代シーケンサー技術研修に参加した。それと並行し、検査に必要な器具や試薬の準備等を行い、2022 年 3 月下旬に次世代シーケンサーである iSeq 100 (イルミナ社) を導入した。同年 4 月から、感染研の新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル<sup>13)</sup>に基づき、全ゲノム解析を当所にて実施している。

## 3. 問題点および課題

今回の COVID-19 の世界的な流行により生じた問題点として、試薬や消耗品および人員の不足が挙げられる。

試薬や消耗品の不足については、世界的な供給不足が生じたことや、諸外国のロックダウンにより物品の流通が止まったことによる影響が大きかったと考えられた。当所では、検査に支障が生じないよう通常使用している試薬や消耗品とは異なるメーカーの代替品で対応した。また、他の地方衛生研究所 (東京都) から試薬の貸与および感染研から試薬の配布を受けることで試薬と消耗品を切らすことなく検査に対応することができた。

検査員の増員については、ウイルス検査の経験者が少なく、経験者の増員が難しかったため、日々の検査業務と並行して、当所所属の細菌検査担当者の育成を行った。

今後の課題としては、今回のパンデミックのような有事に備えた試薬や消耗品の計画的な備蓄を検討することに加え、限られた人員で対応していくために、様々な検査試薬や検査方法に関する情報収集、検査機器の導入等、より有用な新たな検査方法を柔軟に取り入れる姿勢が必要である。また、並行して継続的な人材育成の対策が必須であると考えられる。

さらに、感染研や他の地方衛生研究所との情報共有および連携も重要であることから、メーリングリスト等を活用し、有事には迅速に連携できる体制を整備することが必要であると考えられた。

## 4. まとめ

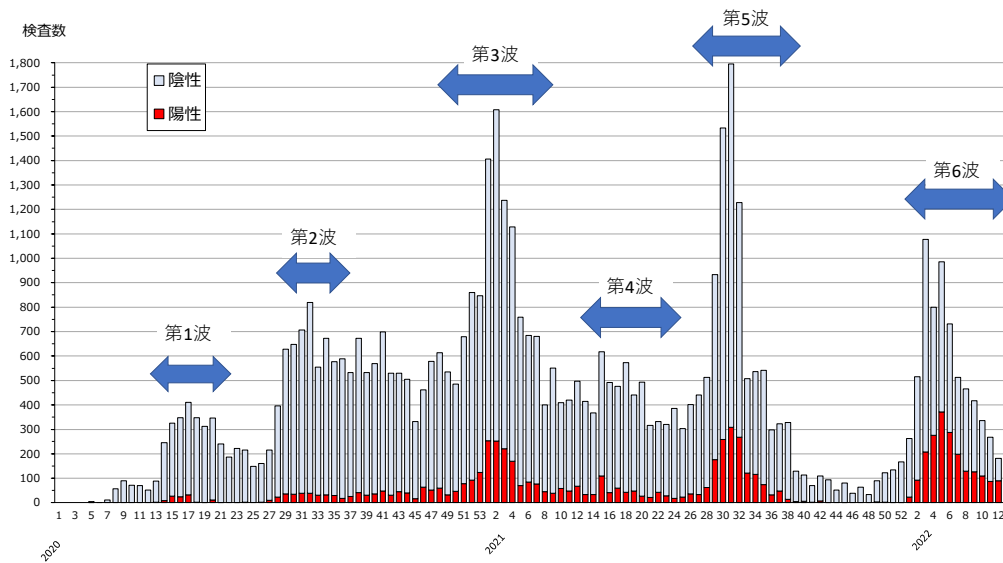


図 検査数（2020年1週～2022年13週判明分）

当所では、2020年1月から2022年3月末までに53,434検体の検査を実施した（図）。

当所の検査は、COVID-19疑い症例の新型コロナウイルス遺伝子の検査に加え、陽性者の陰性化確認検査、変異スクリーニング検査および次世代シーケンサーによる全ゲノム解析と検査業務は増加し、かつ複雑化している。そのような状況下でも限られた人員で対応していく必要があることから、リアルタイムPCR装置の増設やRNA抽出が不要なダイレクトPCR法という新たな検査方法の導入を行った結果、より多くの検体を効率よく検査することが可能となった。これにより、一日の検査可能検体数を32検体から376検体まで引き上げることができ、第6波までの感染拡大に対応することができた。

今後も、新型コロナウイルスに関する検査業務が増加する可能性があり、地方衛生研究所としての役割を果たすために、新たな検査機器や検査方法の導入および人材の育成等、現在までの経験を活かした柔軟な対応により検査体制の強化を図る必要がある。また、検査によって得られたCt値やゲノム解析結果等のデータは、発症日、採取日、症状等の疫学情報と併せて解析および検討することにより、新型コロナウイルスの各変異株の特徴について新たな知見が得られる可能性が高く、今後の研究課題である。

## 文献

- 1) Zhanwei Du, et al. Risk for Transportation of Coronavirus Disease from Wuhan to Other Cities in China, *Emerg Infect Dis*, 26, 2020, pp.1049-1052.
- 2) Isaac I Bogoch, et al. Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: potential for international spread via commercial air travel, *J Travel Med*, 27, 2020, pp.1-3.
- 3) Kazuya Shirato, et al. Development of genetic diagnostic methods for novel coronavirus 2019 (nCoV-2019) in Japan. *Jpn J Infect Dis*, 2020 Jul 22;73(4), pp.304-307.
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル2019-nCoV Ver.2.9.1, 令和2年3月19日
- 5) 国立感染症研究所：「感染研・地衛研専用」SARS-CoV-2 遺伝子検出・ウイルス分離マニュアル Ver.1.1, 令和3年2月8日
- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課：新型コロナウイルスに関する行政検査の遺伝子検査方法について，事務連絡，令和2年3月18日
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課長：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等について（要請），健感発0205第4号，令和3年2月5日
- 8) 国立感染症研究所：リアルタイム one-step RT-PCR法によるSARS-CoV-2 Spike N501Y変異の検出（暫定版v2），2021年1月21日
- 9) 国立感染症研究所：リアルタイム one-step RT-PCR法によるSARS-CoV-2 Spike L452R変異の検出（暫定版v1.1），2021年5月20日

- 10) 国立感染症研究所：リアルタイム one-step RT-PCR 法による SARS-CoV-2 Spike G339D 変異識別法, 2021 年 12 月 23 日
- 11) Nobuhiro Takemae, et al. Development of New SNP Genotyping Assays to Discriminate the Omicron Variant of SARS-CoV-2, *Jpn J Infect Dis*, 2022 Jul 22;75(4) : pp.411-414.
- 12) 厚生労働省健康局結核感染症課長：新型コロナウイルス感染症における積極的疫学調査について（協力依頼），健感発 0316 第 3 号, 令和 2 年 3 月 16 日
- 13) 国立感染症研究所：新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル（Qiagen 社 QiaSEQ FX 編）v1.4, 2022 年 1 月 27 日