

## 茨城県における SARS-CoV-2 の検査状況について（令和 2 年度）

○小室 慶子、松田 葵<sup>1</sup>、大澤 修一、後藤 慶子、櫻村 諒、岩間 貞樹<sup>1</sup>現：こころの医療センター

## 要旨

2019 年 12 月に発生した COVID-19 は、2020 年に世界中でパンデミックを引き起こした。当所では、2020 年 1 月 26 日から SARS-CoV-2 遺伝子検出検査を開始し、2021 年 3 月 31 日までに 23,660 検体（22,750 人）の検査を実施した。そのうち、2,266 検体（2,215 人）から SARS-CoV-2 遺伝子が検出された。新規変異株の出現に伴い、2021 年 2 月から開始した N501Y 変異検出検査については、3 月末までに 502 検体中 5 検体（4 人）から N501Y 変異が検出され、そのうち 1 人は B.1.1.7 であることが判明した。残りの 3 人は全ゲノムの特定には至らなかったが、B.1.1.7 の特徴がみられたこと及び疫学情報から B.1.1.7 であることが推察された。分離培養検査については、2,222 検体中 893 検体から SARS-CoV-2 が分離された。そのうち、Ct 値 27 未満の検体は 84.0% が分離陽性であり、感染性が高いことがわかった。また、分離陽性となった検体の 99.0% が 10 病日までに採取された検体であったことより、発病から 10 日経過すると感染性が低くなることが示された。

キーワード：COVID-19、SARS-CoV-2、リアルタイム RT-PCR、分離培養

## 1. はじめに

COVID-19 は、2019 年 12 月に中華人民共和国湖北省武漢市において発生し、2020 年には世界中でパンデミックを引き起こした。国内では、2020 年 1 月 15 日に初めての感染者が確認され、2 月 1 日、COVID-19 は指定感染症に指定された。県内では、2020 年 3 月 17 日に第一例目の感染者が確認されたのを皮切りに、第 1 波の流行が開始した。

当所では、2020 年 1 月 24 日、国立感染症研究所より配布されたプライマーを受領し、検査体制を整え、2020 年 1 月 26 日から SARS-CoV-2 遺伝子検出検査を開始した。当初は Nested RT-PCR 法により検査を実施していたが、2020 年 2 月中旬からはリアルタイム RT-PCR 法に切り替え、検体処理能力の向上に努めた。その結果、最終的に 1 日あたり 250 検体を処理できる検査体制が整った。

また、感染性・抗原性の変化が懸念される変異株の出現に伴い、2021 年 2 月から N501Y 変異検出リアルタイム RT-PCR を開始した。

その他、次世代シーケンサーによるゲノム解析や分離培養検査等の体制を順次整備し、検査を実施した。

今回、当所で 2021 年 3 月 31 日までに実施した SARS-CoV-2 の遺伝子検出検査、N501Y 変異検出検査及び分離培養検査の結果について報告する。

## 2. SARS-CoV-2 遺伝子検出検査

## 2-1. 材料

2020 年 1 月 26 日から 2021 年 3 月 30 日までに、SARS-CoV-2 検査依頼（疑い例、接触者、陰性確認等）で搬入された延べ 22,750 人の 23,660 検体（鼻咽頭ぬぐい液、唾液、喀痰、鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、気管吸引液、気管支肺胞洗浄液）を対象とした。月別の検査人数及び検査目的の内訳は図 1 のとおりであった。

## 2-2. 方法

病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）に準拠し、Nested RT-PCR 法（ORF 1a セット、S セット）またはリアルタイム RT-PCR 法（N セット、N2 セット）により SARS-CoV-2 遺伝子検出検査を行った。なお、2020 年 3 月 11 日より N2 セットのみを使用した検査系に切り替えた。

### 2-3. 結果と考察

23,660 検体のうち、2,266 検体（延べ 2,215 人）から SARS-CoV-2 遺伝子が検出された。

月別陽性者数（図 2）では、2021 年 1 月が最も多く、次いで 2021 年 3 月、2020 年 4 月の順に多かった。疑い例及び接触者に限ると、2021 年 1 月、2020 年 11 月、2020 年 12 月の順に多かった。流行状況を見ると、2020 年 4 月、8 月、2021 年 1 月をそれぞれピークとする波がみられ、全国と同様であった<sup>2)</sup>。

このうち、当所の検査で陽性と判明した者（以下、新規陽性者という。）は 1,186 人であった。男女別では、男 625 人、女 561 人であり、大きな差はみられなかった。年齢別では、20 歳代が最も多く、次いで 40 歳代、30 歳代であり、全国と同様であった（図 3）<sup>2)</sup>。

新規陽性者数の推移や、新規陽性者の性別及び年齢の分布が全国と同様であったことから、当所で検査を実施した被検者には特段の偏りがなく、適切なサーベイランスを実施できていたと評価できる。

## 3. N501Y 変異検出検査

### 3-1. 材料

2021 年 2 月 1 日から 2021 年 3 月 31 日までに、SARS-CoV-2 リアルタイム RT-PCR において、約 10 コピー/μL 以上の SARS-CoV-2 遺伝子が検出された 502 検体を対象とした。

### 3-2. 方法

N501Y 変異検出マニュアル（国立感染症研究所）に準拠し、リアルタイム RT-PCR 法による N501Y 変異検出検査を行った。N501Y 変異が検出された検体は、国立感染症研究所へ送付し、ゲノム解析により変異株の種類が特定された。

### 3-3. 結果と考察

502 検体のうち、5 検体（4 人）から N501Y 変異が検出された。疫学調査の結果、そのうち 2 人は県外での行動歴が確認され、残り 2 人は N501Y 変異陽性者の同居家族であった。

ゲノム解析の結果、1 人が Pangolin 系統における B.1.1.7（アルファ株）であることが判明した。1 人は全ゲノムの特定には至らなかったが、B.1.1.7 の特徴がみられた。残り 2 人は解析不能であったが、B.1.1.7 の特徴がみられた陽性者の同居家族であったことから、B.1.1.7 と推察された。

N501Y 変異陽性者のうち 1 人は、COVID-19 患者の接触者の同居家族として検査依頼があった事例であった。元患者から N501Y 変異は検出されず、また、元患者の接触者である家族からは SARS-CoV-2 遺伝子が検出されなかった。更なる疫学調査の結果、県外での行動歴が判明したことから、別の感染機会があったことが推察された。本事例より、感染経路を推定する上で、遺伝子検査情報が有用であることが改めて示された。

## 4. 分離培養検査

### 4-1. 材料

SARS-CoV-2 リアルタイム RT-PCR において SARS-CoV-2 遺伝子が検出された検体のうち、残量が十分にあった 2,222 検体を対象とした。細胞は、JCRB 細胞バンクから購入した

VeroE6/TMPRSS2 細胞を用いた。

#### 4-2. 方法

VeroE6/TMPRSS2 細胞 (48 穴プレート) に臨床検体 100  $\mu$ L を接種し、37°C・5%CO<sub>2</sub> で 5 日間培養後、顕微鏡下で細胞変性効果 (CPE) を観察した。CPE が確認された検体は、細胞培養上清を回収し、リアルタイム RT-PCR 法 (N2 セット) により分離判定を行った。

#### 4-3. 結果と考察

2,222 検体のうち、分離陽性は 893 検体 (40.2%)、分離陰性は 1048 検体 (47.2%)、判定不能は 281 検体 (12.6%) であった。年齢別では、分離陽性の割合に大きな差はみられなかった (図 4)。

リアルタイム RT-PCR における Ct 値との相関をみると、Ct 値が小さいほど分離陽性の割合が高く、Ct 値 27 未満の検体では 84.0% (969 検体中 814 検体) が分離陽性であった (図 5)。また、分離陽性となった検体の Ct 値の最大は 33.6 であった。

ウイルスコピー数との相関をみると、分離陽性となった検体の割合は、およそ 10<sup>3</sup>~10<sup>4</sup> コピー/ $\mu$ L では 52.8%、およそ 10<sup>4</sup> コピー/ $\mu$ L 以上では 89.9% であった (図 6)。これより、10<sup>3</sup> コピー/ $\mu$ L 以上の SARS-CoV-2 が検出される検体中には、感染性ウイルス粒子が存在する可能性が高く、特に 10<sup>4</sup> コピー/ $\mu$ L 以上では、二次感染リスクが高いことが示唆された。

分離培養検査を実施した検体のうち、発病日が把握できた 933 検体について、発病から検体採取までの日数を比較すると、図 7 のとおりであった。発病日を第 0 病日とすると、分離陽性となった検体の 99.0% (384 検体中 380 検体) が第 10 病日までに採取された検体であった (図 8)。これより、発病から 10 日経過する

と、感染性が低くなることが示された。また、分離陽性となった検体のうち、8 検体は発病前に採取されたものであった。よって、発病前であっても、感染性を有する可能性が示唆された。

#### 5. 結語

新しい感染症が発生した場合、いち早く検査体制を整備することは、地方衛生研究所が担う役割の一つである。そのためには、情報収集、機器の整備、試薬の確保及び人材育成に日頃から精力的に取り組むことが重要である。今回、1 日あたり最大 250 件の検体処理能力を得られたのは、ウイルス部員だけでなく、細菌部員及び理化学部員にも技術研修を行い、検査人員の確保に努めたことが背景にあった。未曾有の災禍に対し、所全体で対応したことで、地方衛生研究所としての役割を果たすことができた。

また、分離培養検査の意義が改めて認識された。分離培養検査は、検体中の感染性ウイルス粒子の有無を判断できるため、感染性の有無や持続性等について評価できる。今回、分離培養結果と Ct 値や病日との相関について検討し、得られた知見を県疾病対策課及び県内各保健所へ周知した。患者調査や療養・行動制限の解除等の根拠となるエビデンスを示すことで、県の感染症対策に貢献できたと考えられる。

#### 6. 謝辞

疫学調査にご協力いただいた県疾病対策課及び県内各保健所の皆様、ゲノム解析及び情報還元にご尽力くださいました国立感染症研究所の大西真先生に深謝いたします。

#### 7. 参考文献

- 1) 厚生労働省報道発表資料「新型コロナウイルスに関連した肺炎の患者の発生について (1 例目)」(令和 3 年 1 月 16 日)

2) 厚生労働省「データからわかる—新型コロナウィルス感染症情報—」

<https://covid19.mhlw.go.jp/>

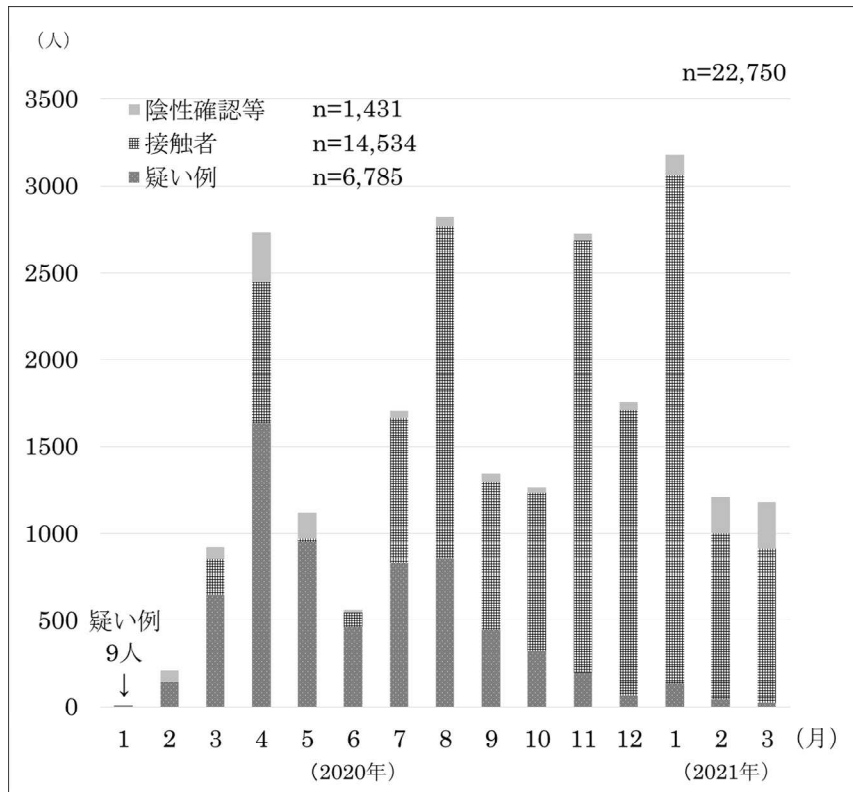


図1 月別検査人数及び検査目的の内訳

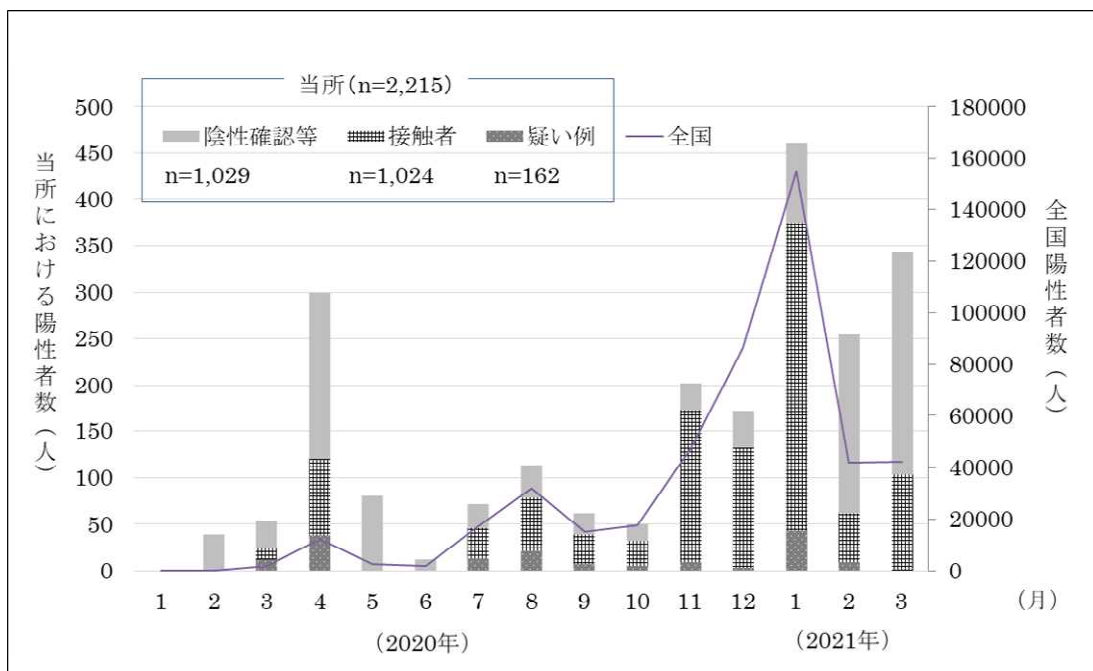


図2 月別陽性者数の推移

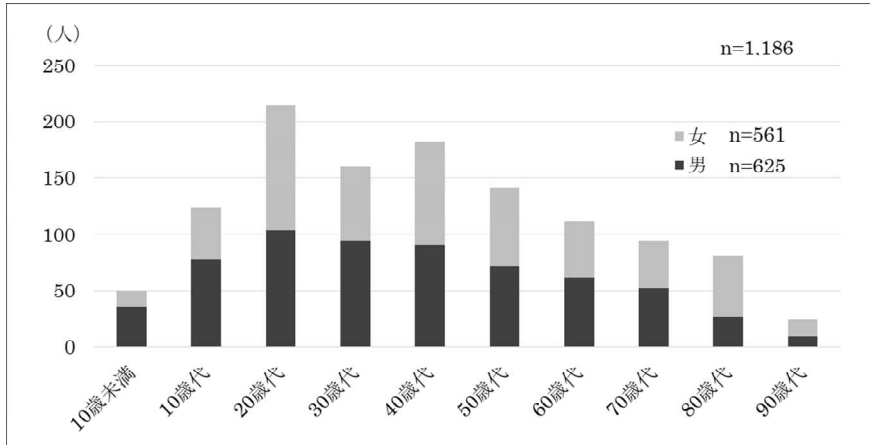


図3 男女別・年齢別新規陽性者数

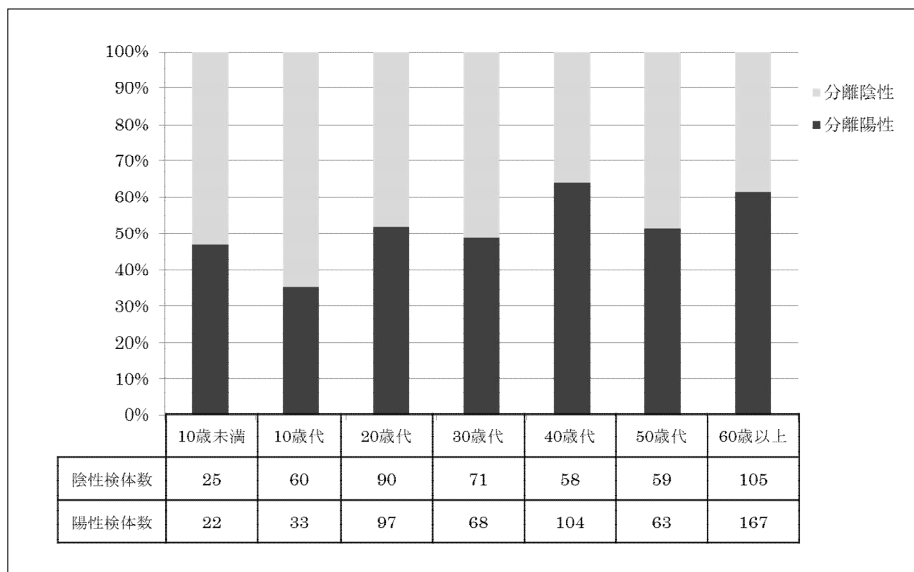


図4 年齢別分離陽性の割合

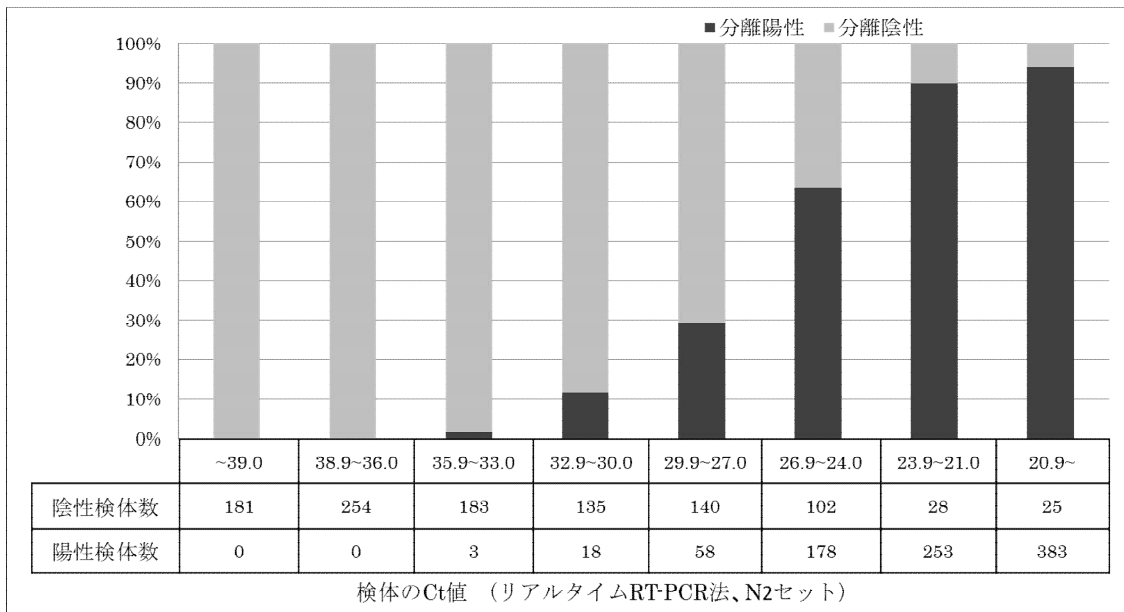


図5 Ct値と分離培養結果の相関

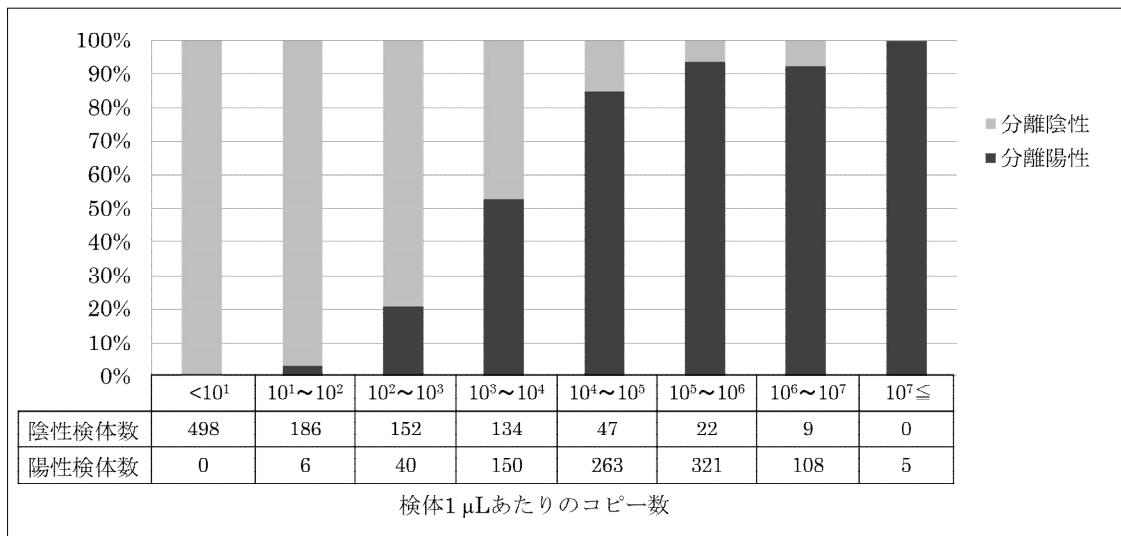


図6 ウイルスコピー数と分離培養結果の相関

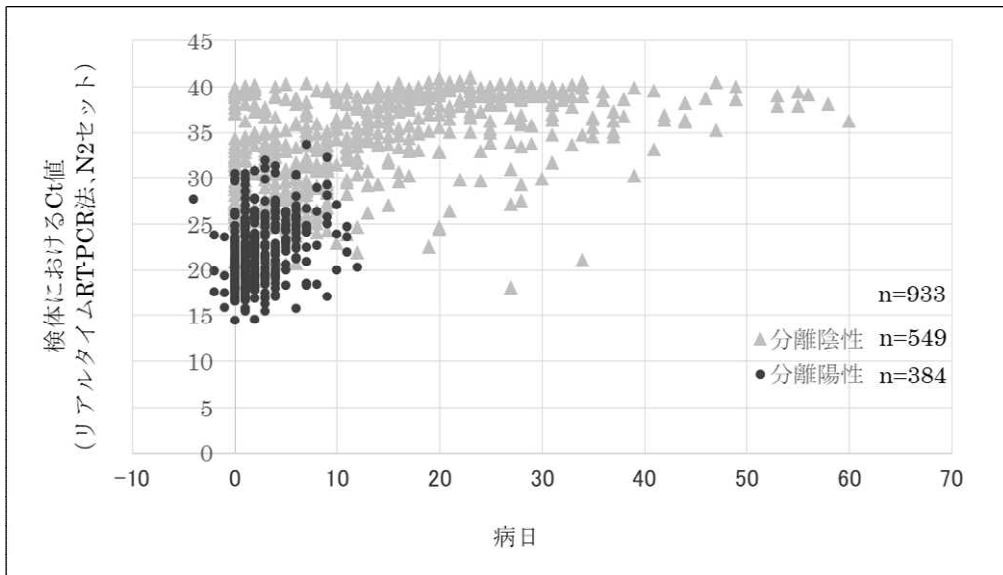


図7 病日と分離培養結果の比較

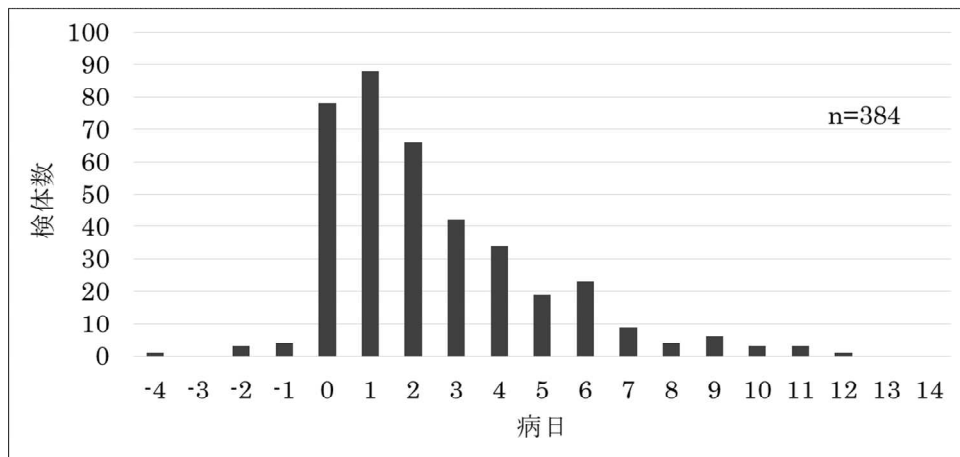


図8 病日ごとの分離陽性検体数