

札幌市における新型コロナウイルス検査対応について

菊地正幸 大西麻実 島崎梨絵 尾口裕介
細海伸仁 山口 亮

1. 緒 言

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) を原因とする感染症であり、2019 年末に中国湖北省武漢市において発生が確認された。その後、世界中に感染が拡大し、2020 年 3 月には WHO がパンデミック (世界的大流行) に相当すると発表した。日本では 2020 年 1 月 16 日に武漢市に滞在歴のある 1 例目の患者が確認されて以降、感染者が増加し、2 月末には全国に先駆けて北海道が独自の緊急事態宣言を行い、4 月には政府が緊急事態宣言を発出することとなった。その後も様々な施策がとられてきたが、2021 年 6 月現在でも収束に至っていない。

本稿では当所における SARS-CoV-2 検査対応の概要について報告する。

2. 方 法

2-1 検査方法

(1) リアルタイムPCR法 (感染研法)

2020年1月下旬に国立感染症研究所 (以下、感染研) から分与された新型コロナウイルス (2019-nCoV) 検出用プライマープローブセット、新型コロナウイルス (2019-nCoV) 検出用リアルタイムPCR試薬及び陽性コントロールを用い、感染研から示された「2019-nCoV検査マニュアルVer. 2.1」に基づくTaqManプローブを用いたリアルタイムone-step RT-PCR法 (感染研法) による検査が可能となった。

感染研法では、必要な前処理を行った喀痰や咽頭拭い液等の検体から、スピンカラムを用いたキットによりウイルス遺伝子を抽出した後にリアルタイム

one-step RT-PCR法により新型コロナウイルス遺伝子を検出した。

ウイルス遺伝子の抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて、スピンプロトコールにより、または自動核酸抽出装置QIAcube (QIAGEN) を使用して行った。

(2) リアルタイムPCR法 (市販キット)

感染研法以外に簡易抽出を用いたリアルタイムPCR試薬やPCR法以外の核酸増幅法を用いた試薬など多くの市販検査試薬が開発・販売され、検査時間の短縮や効率化が図れるようになった。検出感度や特性を評価検討した後、2020年7月より、国内メーカーが開発販売した簡易抽出を用いた試薬を使用することとした。

検査工程としては、感染研法におけるスピンカラムによるウイルス遺伝子の抽出に代わり、検体を簡便な前処理操作した後、感染研法と同様のリアルタイムone-step RT-PCR法を実施するものである。反応条件等は添付文書に従い検査を実施した。

(3) 変異株スクリーニング検査

2021年1月にN501Y変異株のリアルタイムPCR検出系が感染研で開発され、検出マニュアル及び運用文書が送付された。これに記載されているプライマー及びプローブを購入し、陽性コントロールを感染研から分与された後、変異株スクリーニング検査が実施可能となった。

2-2 検体採取及び搬送

2020年2月の検査開始当初は、感染が疑われる患者の報告があり、要検査と保健所が判断した検体を、

時間を問わず保健所職員が当所に搬送した。その後、感染者の発生やそれに伴う接触者の検査、陰性確認の検査依頼が増加したため、午前と午後衛生研究所職員を含む複数の職員が検査依頼のあった医療機関から回収して搬入した。

保健所において検体回収・搬送業務について民間運送業者と委託契約が完了した2020年6月以降は、運送業者が午前と午後回収、搬入をすることとなった。

3. 結 果

3-1 札幌市の初期対策と経緯

札幌市の感染症対策主管部局である保健所は2020年1月16日に札幌市医師会、疑似症定点医療機関に対し疑い事例の報告依頼等を通知し、市民に対してホームページ等で情報提供、注意喚起するなど対応した。1月30日には当所における検査が可能となり、また、第1回感染症対策本部会議が開催され、感染症のまん延を防止するためより一層の対策を実施することとなった。2月7日には帰国者・接触者相談センターを、同月14日には一般電話相談窓口設置し、相談体制を拡充した。

3-2 市内感染確認までの初期対応

(1) 検査（図1、2）

感染研法による検査体制を構築した翌週の2020年2月4日に、1月28日に確認された北海道内で初めての新型コロナウイルス感染者（武漢市からの旅行者）の陰性確認の検査検体が搬入された。当時の感染者への対応としては、すべての感染者が入院し、症状の消失とPCR検査で2回連続陰性であることが退院の条件であったため、当該感染者の検体が2回連続陰性となる2月13日まで合計5回搬入された。その間に疑い患者2名について6検体が搬入されたが陰性であった。

市内で初めて感染者が確認されたのは、2月14日に搬入された疑い患者の咽頭ぬぐい液及び気管吸引痰（2検体）から新型コロナウイルス遺伝子が検出され

た事例であった。当時は、検体搬入は計画的にされるものではなく、各疑い事例について医療機関との調整後に都度搬入されており、検体搬入後ただちに検査を実施した。また、検体については喀痰と咽頭ぬぐい液など疑い患者1名に対して複数の検体が搬入されており、検体前処理や遺伝子抽出など煩雑かつ複雑な作業となるため、検査が夜間に及ぶことも多々あった。

(2) 検査体制

検査はウイルス担当者3名で夜間、休日も対応し、検査結果については判明後速やかに保健所担当者あて速報として連絡した。

ウイルス検査用として使用していたリアルタイムPCR装置は2台（Applied Biosystems 7500Fast リアルタイムPCR システム及びApplied Biosystems 7900HT Fast リアルタイムPCR システム）あり、感染症や食中毒事例における検査に使用していた。新型コロナウイルス検査についても陽性コントロールを用いて検出感度等を確認した後、当該機器を使用して対応することとした。

3-3 市内感染確認以降の対応

(1) 検査（図1、2）

市内で初めて感染者が確認された2020年2月14日以降、疑い事例と併せて家族や職場の同僚などの接触者、感染者が入院している医療機関関係者の検体が継続的に搬入され、2月18日には2例目の陽性者（咽頭ぬぐい液及び喀痰で陽性）が確認された。その後、2月末までに246検体搬入され、32検体が陽性であった（陰性確認検査含む）。

3月以降も土日祝日を含め毎日検体が搬入された。3月は、47検体搬入された日が最高であり、月平均の陽性率は約23%であった。4月に入って一週間程度は3月と同様の傾向であったが、複数の医療機関等におけるクラスターの発生により4月9日には106検体搬入され、初めて一日100検体を超えた。これ以降5月中旬まで一日の搬入検体数が100検体

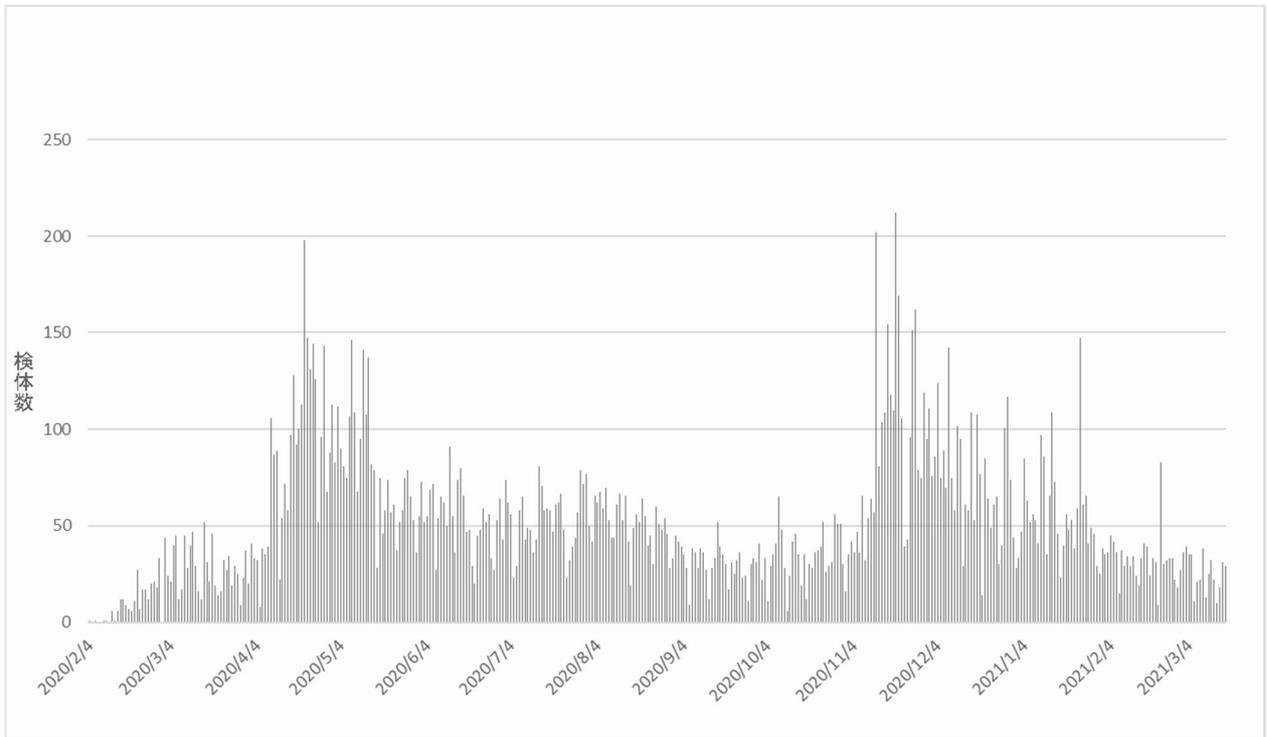


図1 新型コロナウイルス検査検体数（2020/2/4～2021/3/17）

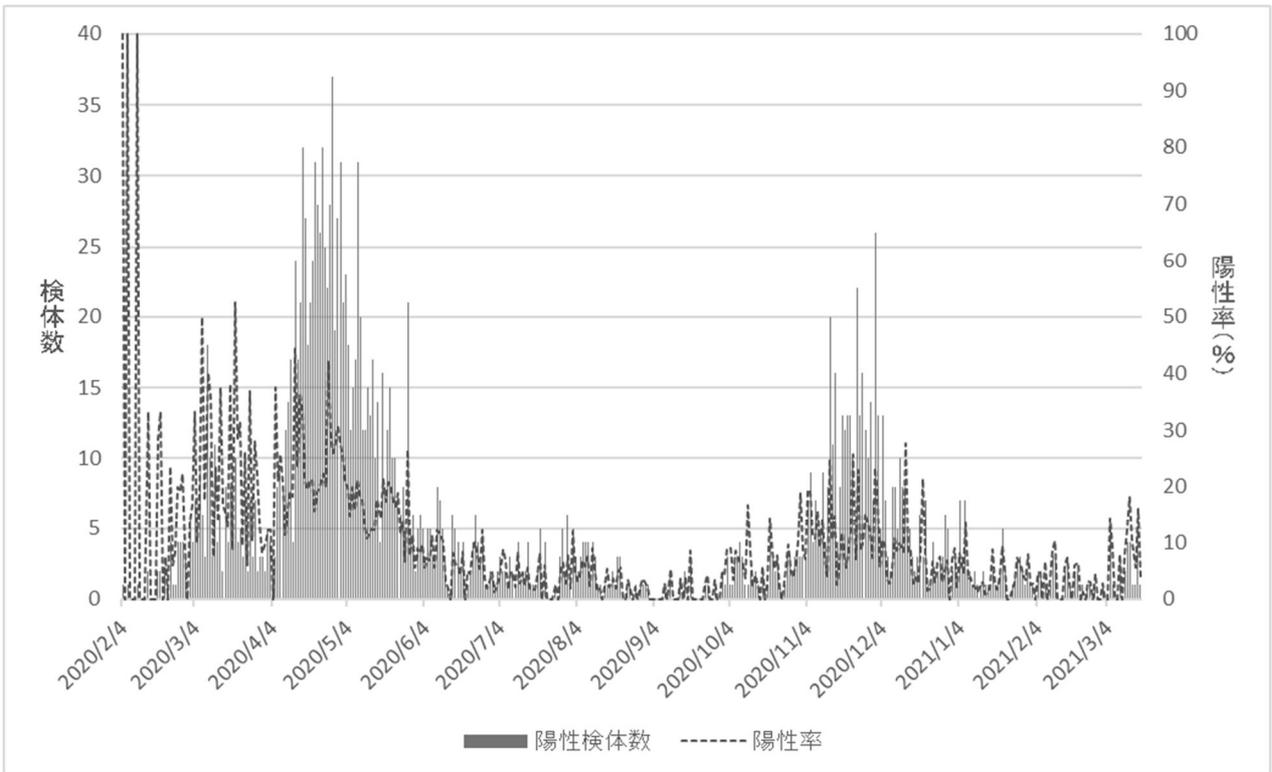


図2 新型コロナウイルス陽性検体数及び陽性率（2020/2/4～2021/3/17）

程度（最大 198 検体、4 月 21 日）、陽性検体数についても 37 検体（4 月 28 日）を最高に 2 桁台で推移した。

6 月以降には民間検査機関への委託等が進められたこともあり、8 月末まで一日平均 50 検体程度の搬入数であり、陽性検体数は一日平均 2.5 検体であった。

9、10 月の検査数は一日平均 32 検体であり、陽性検体数は一日平均 1.2 検体と散発的であった。11 月初旬までは同様の傾向であったが、中旬に入ると医療機関、介護施設及び保育園等で感染者が発生し、クラスター（疑い）事例として接触者等の検査数が急増した。11 月 12 日に 202 検体が搬入されて以降、100 検体以上が搬入されることが多くなり 2021 年 3 月にかけて漸減した。搬入検体数が最大となったのは、11 月 19 日の 212 検体であった。

(2) 検査体制

検査に従事するウイルス担当者 3 名に加え、微生物係細菌班 3 名が検体のデータの整理等の事務処理の応援に入った。検査結果の報告に関しては、一覧表を作成し、少なくとも担当者及び係長職の確認後に保健所関係者（部署）あて報告することとした。そのため、土日祝日の結果を報告する際には担当者に加え係長職の確認が必要となり、所内係長職に応援を依頼して土日祝日に勤務するシフト体制を組むこととした。

2019 年度には当初から自動核酸抽出装置を更新する計画があり、当該機器が 2020 年 3 月に納品されて 2 台体制となった。また、2020 年 2 月に、都道府県、保健所設置市における感染症の検査体制を充実させるためにリアルタイム PCR 装置が国庫補助金の補助対象に加えられ、これを活用して 3 月にリアルタイム PCR 装置を 1 台増設し 3 台体制とした。

3-4 変異株スクリーニング（図 3）

(1) N501Y 変異株検査対応

2021 年 3 月より、当所において新型コロナウイルス陽性となった検体と保健所から依頼のあった市内

民間検査機関等において陽性となった検体について N501Y 変異株スクリーニング検査を開始した。その後、ゲノム解析により N501Y 変異株（B. 1. 1. 7 系統、アルファ株）によるクラスターが発生したことが判明したため、3 月 16 日から市内陽性検体について実施可能なものについてはすべて N501Y 変異株スクリーニング検査を実施することとなった。診断検査は市内民間検査機関等が実施し、陽性検体について運送委託業者が当所に搬入し、当所は搬入された陽性検体について N501Y 変異株スクリーニング検査を実施する体制を整えて対応した。5 月 7 日の国からの通知により、感染拡大地域であって N501Y 変異株の陽性割合が高い自治体については、感染拡大防止策に対応を重点化できるよう、当初求めていた陽性検体の 40%程度の検査実施を必須としない運用が可能となった。札幌市内では急速な感染拡大が進み、N501Y 変異株の陽性割合も高いことが確認されており、また診断検査の需要も高まっていることから、当所における集中的な N501Y 変異株スクリーニング検査体制から診断検査を優先して実施する体制となった。

(2) 検査結果

2021 年 3 月 1 日から 5 月 8 日までの検査件数は図 3 に示す。民間検査機関等の陽性検体が搬入されることとなった 3 月 17 日以降、N501Y 変異の陽性率は 30%を超えており、その後漸増して N501Y 変異株が 90%を占めるようになり、N501Y 変異株にほぼ置き換わったことが判明した。

2021 年 6 月末までに、2648 検体について N501Y 変異株スクリーニング検査を実施し、N501Y 変異陽性は 1784 検体、ウイルス量が少なく検出限界以下となった検体は 204 検体であった。

4. 考 察

4-1 事前準備体制

2020 年 1 月中旬に新型コロナウイルスの全ゲノム配列が公開され、下旬には感染研が PCR 法に基づ

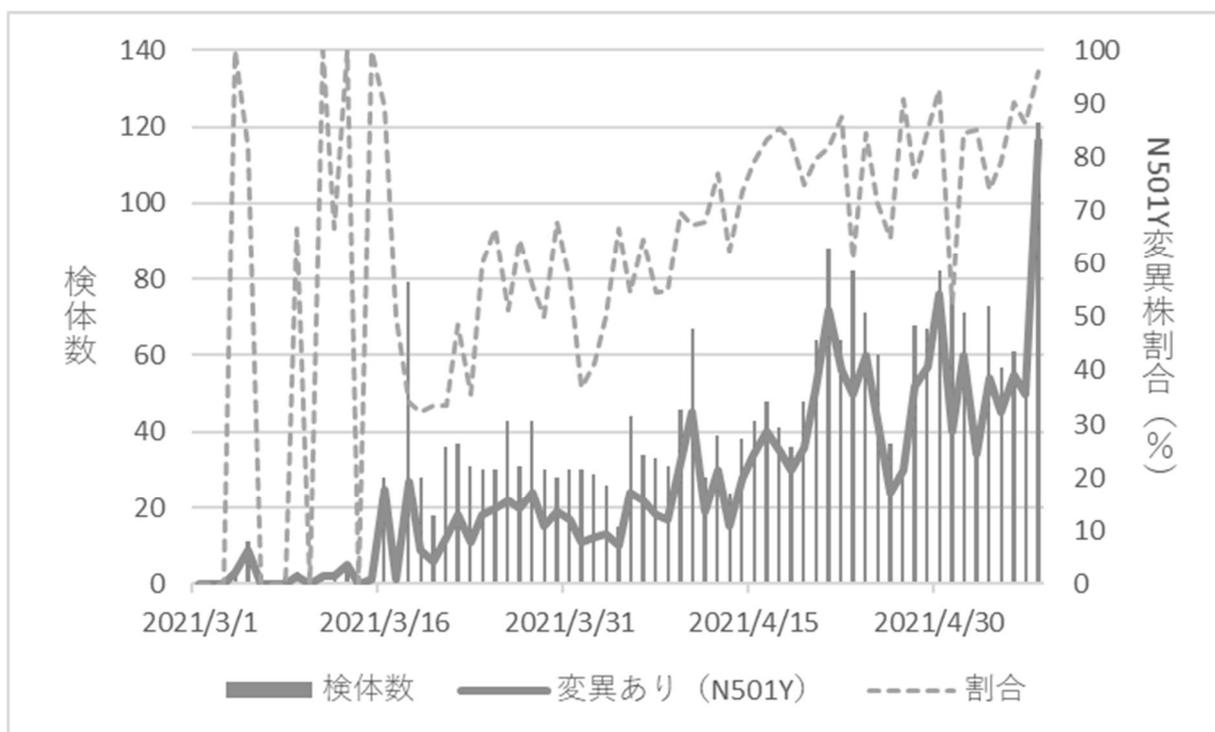


図3 N501Y変異株スクリーニング検査

く検査法を開発し、地方衛生研究所あて検査マニュアル及び必要試薬が配付された。当所を含む地方衛生研究所では日常的に様々な病原体についてPCR法による検査を実施しており検査機器とともに必要な知識や手技等が備わっていること、また、平常時から地方衛生研究所と感染研の連携が取れていることから迅速に検査対応が可能となった。新型コロナウイルスについても試薬等の到着後速やかに条件等の検討、確認を行い、検査の受け入れ態勢を整備することができた。

4-2 検査体制と課題

発生当初から検体搬入後速やかに検査を行い、結果について報告することになっており、24時間休日もなく対応する状況であった。2020年2～3月頃は、疑い患者の増加に加え、感染者が発生すると搬送先の医療従事者や接触者の検査や陰性確認のための検査が依頼されることになり検体数が急増した。同時期には検体の種類が被験者一人につき複数（喀痰と咽頭拭い液など）持ち込まれ、前処理工程が異なる

ため複雑な作業となった。さらに、感染研ではスピカラムによる遺伝子抽出の工程があり、検体数が増えるほど単純な増分以上の作業量となるため担当者の負担が大きくなった。また、いつ検査依頼があるかも不明であり精神的な疲労も蓄積されていた。

現在でも課題として残るのは、採取容器やラベリングが統一されておらず採取医療機関により異なり、さらにラック等で順に並べるなどの整理がされておらず無秩序に搬入されるため、採取容器の破損や検体の漏れなどの確認作業や、検査依頼のあったリストの名前と採取容器に記載された名前との照合などの確認作業が多大な負荷となっていることである。検査の効率化を図るためにも、検体持ち込みまでの手順、採取容器の統一化や検体リスト作成ルール等を取り決めて実施することが有用であると思われる。

次に、それまでの想定や経験を超える数の検体が毎日搬入されたため、検査試薬やチップ等の消耗品の消費が激しく、緊急に調達するなどの対策をとつ

たが、全国的、世界的にも検査数が増加するにつれ、特に海外メーカーの物品が入手困難となった。よって、必要な量の見積もりは困難ではあるが、それらの消耗品をどの程度備蓄しておくべきか、他のメーカーや製品への切り替えが可能かなどを検討しておく必要がある。

当初ウイルス検査用として使用していたリアルタイム PCR 装置は 2 台 (Applied Biosystems 7500Fast リアルタイム PCR システムおよび Applied Biosystems 7900HT Fast リアルタイム PCR システム) あり、緊急に対応すべき時期に検体が五月雨式に搬入されると、1 回 (検体) の検査に 1 台使用することになり迅速に対応できなくなる可能性があった。リアルタイム PCR 装置を使用するその他の検査項目の依頼があった場合にも、装置が占有されている時間は対応不可となる。今回は、同時並行検査やバックアップ用に、また、検査処理能力の強化のために、事務方や財政担当部局等の協力により国庫補助金を活用して 2020 年 3 月に 1 台を迅速に増設することができた。機器の整備は危機管理の一環として計画的に行うべきではあるが、緊急時には機器の購入等による検査体制の整備・強化の必要性についての判断力がその後の検査能力に影響することを理解しておかねばならない。

精度の高い PCR 検査を実施するためには、適切な施設や設備、機器とともに高い技術や知識を習得した検査員が必要である。当所では日常的に病原体を取り扱い、PCR 検査のような遺伝子検査を実施している他部署がなく、また過去に所属していた経験者もほとんどいないため、即戦力あるいは検査担当者の負担、業務の停滞を招かない程度の研修で検査に従事できる職員がいない。そのため、データ処理や連絡調整などの応援に限られ、処理能力を向上するため検査を分担する、あるいは長期的に持続可能とするために交代可能な人員体制を整備することができなかった。遺伝子関連検査に関する経験と知識を有し、適切に患者検体や遺伝子の取り扱い、精度の

高い検査を実施できる人材の増員や育成の必要性がこれまで以上に明らかになった。

また、検査を実施するには専用の検査室が必要であり、検査可能な検体数の向上や検査時間の短縮などのためには、現状の検査室のみでは不可能である。リアルタイム PCR 装置や遠心機などの機器類のほか、安全キャビネットが必要であるが、現状の体制下では条件を満たす検査室がないため物理的な限界がある。

5. 結 語

今回の新型コロナウイルス検査対応においては、様々な検査試薬や全自動 PCR 装置などの開発が進み、病院検査室や民間検査機関での検査が実施可能となった。2021 年 6 月現在では民間検査機関における検査が大多数を占めている。今後新しい感染症が発生した際には、国内未発生時から発生初期についてはキット化された試薬が市販されて、直ちに民間検査機関等が検査対応可能となるかは不透明である。これまでの経験上、同時期には感染研が検査法を開発し、各地方衛生研究所で対応することになると思われる。元来、地方衛生研究所では、希少な感染症の診断、あるいは食中毒、感染症法で規定された感染症の微生物診断などを行政検査として実施している。また、遺伝子解析などの詳細な検査についても地方衛生研究所は平常時から実施していることが多く、保健所における疫学調査の情報を補完し、感染症対策に寄与している。このように新たな感染症への検査や詳細な性状解析の対応能力は高いが、パンデミッククラスの発生になった場合に全て検査するだけの体制は整備されていない。

以上のことから、衛生研究所としては新しい感染症への迅速な検査対応、発生初期からの緊急検査対応、遺伝子解析等の高度な検査等への対応が求められると考えられ、さらなる技術や知識の向上を目指す必要がある。大量の検体を処理する体制については、民間検査機関等との連携を含め、想定される場

面（新種の病原体、発生初期、パンデミック時等）における対応としてどの程度の検査処理能力が必要であるのかを総合的に検討しておく必要がある。その結果により、衛生研究所として整備すべき検査体制が明らかとなると思われる。

今回の新型コロナウイルス感染症への対応が、今後新たに発生するであろう様々な健康危機に活かされていくことを望む。