

特集：新型コロナウイルス対策 - 2020年からの振り返りと今後

研究部における新型コロナウイルス対策 - PCR検査の構築 -

Construction of Detection System for SARS-CoV-2 in Our Research Division

川崎 隆 畔上 公子 小出 由紀子 芳賀 博子
Takashi KAWASAKI, Kimiko AZEGAMI, Yukiko KOIDE, Hiroko HAGA

要 旨

2020年1月16日に日本で初めて新型コロナウイルス感染者が確認されてから1年半が経過した。近代化された社会にも関わらずみるみる感染が拡大し、世界中がパニックに陥った。当院も例外ではなく、手指消毒、三密回避や飲食を伴う会合の自粛、移動の制限などを徹底してきた。感染対策が確実に行われたことにより院内でクラスターの発生もなく現在に至っている。遺伝子検査室では第1波がピークアウトする頃、既存のPCR装置を用いて新型コロナウイルスの検出(検査)を可能とし、2020年5月より術前患者を対象に検査を開始した。また、全自動遺伝子解析装置の導入により、2020年10月から疑似症患者を対象にPCR検査の24時間受付を開始した。院内外の新型コロナウイルス感染症の状況にこれまで何とか対応することができていると思われる。今回ほどPCR検査の必要性を言われたことはなく、不足する遺伝子検査の要員の育成が急務であると痛感した。

はじめに

2019年12月に中国で発生した新型肺炎は、重症呼吸器症候群コロナウイルス2 (SARS-CoV-2) によるものと判明し、Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) と命名された(図1)^{1, 2)}。SARS-CoV-2を新型コロナウイルス、COVID-19を新型コロナウイルス感染症と言うことも多い。2020年2月には、武漢からのチャーター機、ダイヤモンド・プリンセス号や屋形船の関係者に行われたPCR検査に長い時間がかかり、国内の検査体制の不備が指摘された。厚生労働省は、これまで国立感染症研究所(感染研)や地方衛生研究所で行っていた検査を大幅に拡充し強化しなければならなくなった³⁾。SARS-CoV-2の検出は、鼻咽頭ぬぐい液から抽出したRNAを用いてcDNAを作製し、PCRでSARS-CoV-2遺伝子の増幅の有無を確認するRT-PCR法により行う。難しい手法ではないが、検査体制の整備には、検体の採取、感染の防御、PCR装置、遺伝子検査の手技、精度管理、保険適用などいくつかのハードルを乗り越えなければならない。

今回県立がんセンター新潟病院医誌の特集「新型コロナウイルス対策」で研究部の取り組みをまとめる機会を得た。研究部では、2020年5月に術前患者を対象とした術前PCR検査を開始し、10月に感染が疑われる(疑似症)患者を対象に迅速PCR検査と抗原検査を開始した。その後2021年5月31日までに患者・スタッフ合わせて延べ883件の検査を行っている(図2)。検査体制の構築は、芳賀博子技師長、小出由紀子副技師長、畔上公子主任検査技師と話合いながら進めたものである。以下時系列にその取り組みを振り返って見た。

新型コロナウイルス感染症の広がり

2020年1月16日に国内初のSARS-CoV-2陽性者が確認された。その頃私は、家族とスキーに行ったりしており、COVID-19をそれほど気にしてはいなかった。2月に入ると国内で感染が広がりクラスターが発生し、学会の開催を延期する動きが出始めた。私も2月下旬に仙台で開催された病理学会の地方会の参加を取りやめている。徐々に感染が広がり、2月29日に県内に初の陽性患者(図2)が確認

新潟県立がんセンター新潟病院 研究部

Key words : 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2), 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19), PCR検査 (PCR test), リアルタイム one-step RT-PCR法 (one-step real-time RT-PCR method), 鼻咽頭ぬぐい液 (Nasopharyngeal swab specimen), 唾液 (Saliva specimen), 保険適用 (Insurance application)

新型コロナウイルスの構造

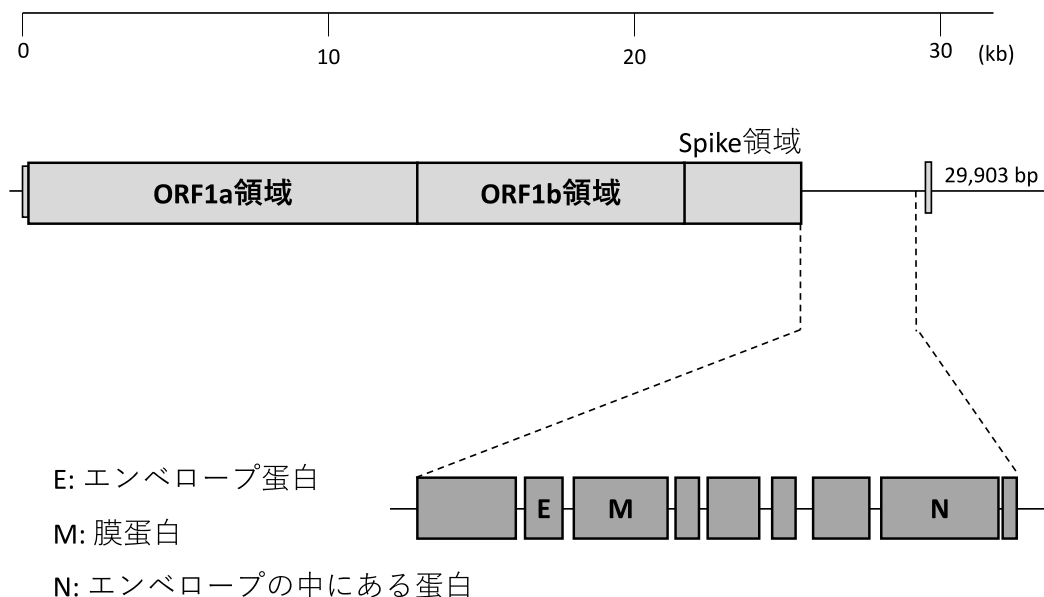


図1 SARS-CoV-2の構造

全長30 kbのRNAウイルスで、スパイクたんぱく質によるウイルス表面の突起が特徴的である^{1, 2)}。感染研の病原体検出マニュアル⁷⁾やTakaraの検出キット¹⁸⁾は、ヌクレオカプシドタンパク質をコードするN遺伝子の検索を行う。

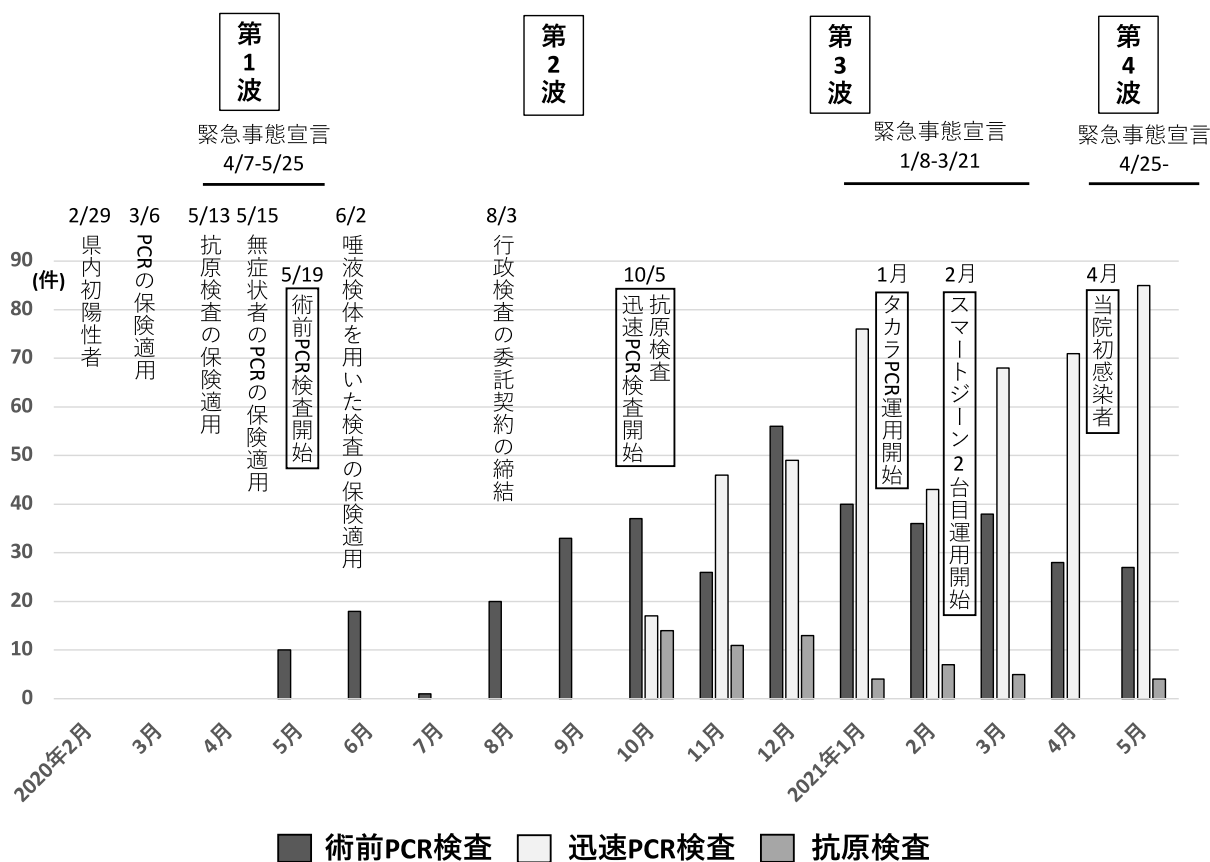


図2 SARS-CoV-2の検出

2020年5月19日より術前PCR検査を開始した。10月5日より迅速PCRと抗原検査を開始した。2021年5月31日までに883件の検査を行っている。そのうちPCR検査は825件である。

されて一気に緊迫度が増した。この時期に国の新型コロナウイルス感染症対策専門家会議が予測した新潟県のピーク時の感染者数は7,771人であった⁴⁾。新潟県で3月4日から10日に行われた検査件数は125件で、陽性率は4.8%であった⁵⁾。3月1日に日本病理学会から「国立感染症研究所が発出している感染予防策を満たしていない条件の下では、特に事前に感染症の検査ができない場合には、病理解剖を行うことは推奨されない」ことが示された⁶⁾。これを受けて病理診断科では、SARS-CoV-2感染関連の可能性のある患者の病理解剖は行わないことにし、3月5日に院内に周知した。

3月6日に新潟県福祉保健部を通して厚生労働省(厚労省)健康局結核感染症課から「新型コロナウイルスに関する検査体制の確保について」の通知が届いた。前出のSARS-CoV-2検出の検査体制不備を受けて、感染研の病原体検出マニュアル⁷⁾に基づく検査で用いられる試薬(プライマー・プローブとポジティブコントロール)を検査体制構築のため感染症指定医療機関などに提供するという内容であった。試薬の提供を受けると保健所から検査を委託されるかもしれず判断に迷った。しかし、院内で検査を行うことを想定し準備をしておくメリットの方が大きいと考え、佐藤院長に了承を得て提供を希望した。3月6日には、COVID-19について患者数がさらに増加することに備えてPCR検査「SARS-CoV-2核酸検出」が保険適用になっている(図2, 3)⁸⁾。

院内PCR検査の開始

第1波は、4～5月で、4月7日に緊急事態宣言が7都府県に発令され、16日には全国に拡大された(図2)。5月25日に全国で解除されるまで学校の休

校や公共施設の利用制限など多くの人が不自由な生活を送った。マスクやアルコールなどが不足し、感染防御が十分でない中日常業務が行われた。この間研究部で行った対策は、技師室のテーブルの向きを変えて、皆が一方向を見て昼食をとるようにしたことである。4月に入り厚労省から感染研の試薬が届いた。感染研の病原体検出マニュアル2019-nCoV Ver.2.9.1に示されたSARS-CoV-2の検出方法の1つにTaqManプローブを用いたリアルタイムone-step RT-PCR法がある⁷⁾。これはリアルタイムPCR装置で、cDNAの作製とPCRを1つの反応系で行う方法のことである。遺伝子検査室では、肺癌EGFR遺伝子解析⁹⁾や大腸癌RAS遺伝子解析¹⁰⁾などでリアルタイムPCR装置LightCycler480 system II(ロシュ・ダイアグノスティック)を使用しており、この検出方法の導入に問題はなかった(図4)。早速、ポジティブコントロールを用いてプロトコルや検出感度の確認を行った。

4月下旬、消化器外科の中川先生から頭頸部領域、肺、食道に対する手術を予定している患者に対して術前にPCR検査を行えないか打診があった。気管や食道の手術では、エアロゾルが発生し飛沫感染のリスクが高まることから¹¹⁾、術前PCR検査の要望が関係科から挙がっていた。毎週水曜日に遺伝子検査室で行っているEUS-FNA(超音波内視鏡下穿刺吸引法)迅速細胞診を病理部で行うことにすれば、週1回5例程度のPCR検査は可能と考えられた。4月28日に手術部会議に出席し話し合った結果、毎週火曜日の午後に検体を採取、水曜日の午前中にPCR検査を実施することになった。消化器内科の塩路先生には、EUS-FNA迅速細胞診の実施場所の変更を承諾していただき5月19日から術前PCR検査を開始

1.PCR検査(術前PCRを含む)

■D023 微生物核酸同定・定量検査

(17) SARS-CoV-2核酸検出(令和2年3月6日適用)

- ・検査を委託した場合：**1,800点**
- ・院内で検査した場合：**1,350点**

2.抗原検査(定性・定量)

■D012 感染症免疫学的検査

(22) SARS-CoV-2：**600点**(令和2年5月13日適用)

図3 令和2年度診療報酬点数

PCR検査は、2020年5月15日無症状者にも医師が必要と判断し実施した場合算定可能となった。2020年6月2日より唾液を用いたPCR検査が保険適用となっている。

術前PCR検査①(LightCycler480 system II)

検体採取(鼻咽頭ぬぐい液*)

*鼻咽頭からスワブ(綿棒)により採取した検体を培養液に入れたもの



RNA抽出(QIAamp Viral RNA Mini Kit) 30分



リアルタイムone step RT-PCR 150分



	サイクル	温度(°C)	時間
RT**	1	50	30分
Denature		95	15分
Quantification	45	95	15秒
		60	60秒
Cooling		40	30秒

**逆転写酵素によるcDNA作製

■検査の成立

陽性対照の増幅が40サイクル以内に見られ、陰性対照の増幅がない場合

図4 RocheのPCR装置での術前PCR検査①

感染研の病原体検出マニュアルに示されたリアルタイム one-step RT-PCR法より行う検査。術前患者を対象に2020年5月19日から開始されたPCR検査であることから、院内では術前PCR検査と呼ばれる。

した。術前の患者に対して行うSARS-CoV-2陰性確認のPCR検査は、以後術前PCR検査と呼ばれる。検体の取り扱いは、安全キャビネット内で行い個人用防護具(PPE)を装着した(図5)。前後するが、5月15日には、SARS-CoV-2核酸検出が無症状者にも保険適用されることが決まった(図2, 3)¹²⁾。

SARS-CoV-2検査の拡充

5月27日に開催された院内の第15回新型コロナウイルス感染症対策本部会議では、緊急事態宣言解除後の対応について話し合われ、術前PCR検査も議題に上がった。対応可能な検査件数の増加と検査を行う検査技師の育成が求められた。研究部からは、1日10件までの対応は可能で、人材育成に努めていることを説明し、SARS-CoV-2検出専用のPCR装置の購入を希望した。6月に入るとCOVID-19は縮小傾向となり、術前PCR検査の依頼も減少した。6月30日の検体採取は1件でその後依頼がなくなり、術前PCR検査は7月中旬に休止となった。しかし、COVID-19が終息した訳ではなく、第2波やインフルエンザが流行する冬場に向けて可能な限りPCR検査の拡充を進める必要があった。術前PCR検査を行う検査技師は畔上さん1人だけであったが、春から遺伝子検査に配置された原君と大学院で実験の経験

がある志賀さんに検査に入ってもらった。疑似症患者の検査が増えることも想定し、検査を行う検査技師を順次増やして行く計画であったが、日常業務の合間のトレーニングだけでは手技の習熟に十分ではなく、その後要員は増加していない。

高い専門性が求められるPCR検査に対して、検体をセットしスイッチを押すだけで結果が出る全自動遺伝子検査装置の導入を模索していたのが芳賀技師長である。トレーニングなしで操作でき、結果が出るまでの時間が短く、しかも値段が手頃な装置を探していた。7月に入るとイメージする全自動遺伝子解析装置Smart Gene 8500(スマートジーン)(ミズホメディー)(図6)の情報が入ってきた¹³⁾。Qプローブを用いたRT-PCR法によりSARS-CoV-2の検出を行う装置で、感染研でリアルタイムone-step RT-PCR法との比較検討を行った後8月に発売予定であった。鼻咽頭より採取した検体をチューブに入れ抽出液と混和し4滴カートリッジに滴下後、カートリッジを解析装置にセットし測定を開始するだけである¹⁴⁾。ピペット操作はなく、試薬の調整は簡単である。測定時間は約60分で、測定の結果が陽性の場合にはサイクル数が表示される。測定可能な検体は1回1件であるが、信用できる会社であること、価格は約30万円であること、操作が簡単であることか

2020.5.18

新型コロナウイルス遺伝子検査に関する 検査室からのお願い

検体専用スピッツ、スワブ、バイオハザードマーク袋は、
水曜日に採取場所に直接届けます

採取について

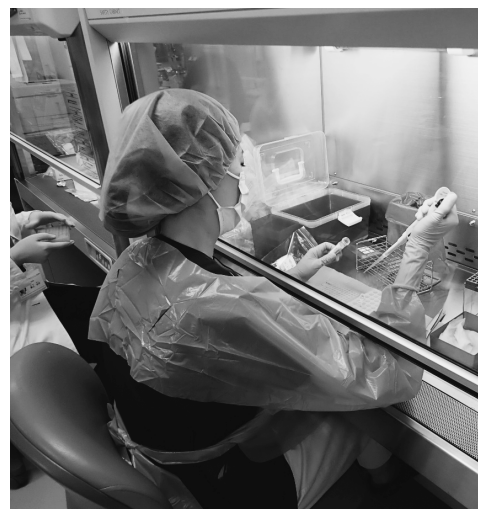
- 採取後、スワブの柄をさみで切り、先端を入れたまま提出します。
- 蓋はスクリュー状になっています。しっかり閉めてください。
- パラフィルムで巻きます。
- バイオハザードマークの袋に入れ、封をします。
- 検体搬送用ケースに蓋を上にして、保管してください。
- 全ての検体採取終了後、下記に連絡してください。

連絡先 遺伝子検査室 内線 2241 または 5182
問い合わせ先 畔上

採取後、スワブの柄をさみで切る先端はスピッツに残す

白い部分をはがす

検体搬送用ケース
蓋が上になるように立てて入れる



PPEを装着し安全キャビネット内で検体処理

図5 術前PCR検査の実際

左は鼻咽頭ぬぐい液採取後の検体の取り扱いに関する注意事項。右はPPEを装着し安全キャビネット内で検体処理をする様子。

迅速PCR検査(Smart Gene 8500)



結果表示	サイクル数	判定
SARS-CoV-2 : +	≤40/45	陽性
	≥41/45	再測定
SARS-CoV-2 : -	表示なし	陰性

図6 スマートジーンによる迅速PCR検査

右上のカートリッジの滴下孔に試料4滴を滴下し、解析装置にセットする。約60分で測定が終了する。サイクル数が40以下は陽性判定で、陰性判定の場合はサイクル数が表示されない。41～44が表示された場合は再測定が必要となる。

ら滝澤事務長補佐にまず1台の購入をお願いした。

話が前後するが、5月19日から開始した術前PCR検査の保険点数1,350点の算定について述べる。PCR検査は、3月6日に症状のある患者⁸⁾、5月15

日に無症状の患者（医師が必要と判断し実施した場合¹²⁾）にそれぞれ保険適用となった（図2，3）。しかし、PCR検査の保険費用は市町村負担となるため、新潟市と委託契約を結ばないと算定できない。

8月3日に委託契約を締結し、7月分から算定できることになった(図2)。5、6月分は病院負担となった。

2020年秋、スマートジーンによるPCR検査と抗原検査の開始

第2波は8～9月で、緊急事態宣言の発令はなく感染は縮小した(図2)。7月22日に始まったGo To トラベルキャンペーンは、10月1日から東京都も含まれることになった。院内では、感染再拡大を受けて8月4日に術前PCR検査が再開された。1回の検査件数は10件に増やした。前出のスマートジーンは補助金(令和2年度新潟県医療機関・薬局等における感染拡大防止等支援事業補助)で購入することになった。抗原検査は5月13日に保険適用となっており(図2, 3)¹⁵⁾、デンカ株式会社が8月13日に新型コロナウイルス抗原迅速診断キット(クイックナビ-COVID19 Ag)¹⁶⁾を販売開始した。内科の広瀬先生の強い希望もあり、予定より早めて10月5日から疑似症患者に対してPCR検査と抗原検査を開始した。スマートジーンによる検査は約60分で結果が出ることから以後迅速PCR検査と呼ばれる。その後の依頼件数は、迅速PCR検査10月:17件, 11月:46件, 12月:49件で、抗原検査10月:14件, 11月:11件, 12月:13件であった(図2)。迅速PCR検査では、依頼が3件重なり待ち時間が長くなることがあった。依頼が重なる場合や故障が起きた場合を考え2台目を購入することになった。スマートジーンの性能や操作性に問題はなく、2021年2月から2台体制

となった(図7)。

第3波到来

年末から年始にかけて感染は一気に拡大した。1月8日に1都3県を対象に緊急事態宣言が発令され、その後11都府県に拡大された。3月21日に解除されるまで宣言は続いた(図2)。新潟県に緊急事態宣言は発令されなかった。12月20日には、日本病理学会の第1回分子病理専門医試験が東京であった。がん遺伝子パネル検査に関わる専門医試験であり、当院から私と本間慶一先生が受験した。日帰りだったが、帰りの新幹線で咳の続く人が同じ車両にいて気になった。試験は2人とも合格した。戻ってから14日間行った健康管理では、発熱や他の症状はなく感染はなかった。この時期東京に緊急事態宣言は発令されていないが、感染が拡大しており、病院に申請書を提出し許可を得た上での上京であった。

話は術前PCR検査に戻るが、2020年8月の再開後は、12月に56件と最も多くなった。スマートジーン同様に、術前PCR検査もSARS-CoV-2検出専用の機種を前出の補助金で購入することになった。2021年1月から導入された機種はThermal Cycler Dice Real Time System III(タカラバイオ)で(図8)¹⁷⁾、Takara SARS-CoV-2ダイレクトPCR検出キット(タカラバイオ)を用いて検査を行うことになった¹⁸⁾。検索対象はSARS-CoV-2のN遺伝子2箇所、LightCycler480 system IIと同様にリアルタイムone-step RT-PCR法によりSARS-CoV-2の検出を行う。これまでの術前PCR法と変わりはない。RNA抽出が熱

迅速PCR検査(Smart Gene 8500)



図7 稼働中のスマートジーン

1台目(右)は2020年10月5日より検査を開始し、2台目は2021年2月より稼働している。両装置は2021年1月27日取得のISO 15189の管理機器として取り扱いに間に合わず管理外となっている。

処理のみの簡易抽出であり，逆転写酵素の反応時間が25分短縮，PCRが18分短縮され，測定時間がこれまでの200分から100分になった（図9）。

鼻咽頭ぬぐい液か唾液か？

スタッフが緊急事態宣言地域から戻った際にPCR検査をすることが義務づけられたのは，2021年2月からである。それ以前に年末年始に東京の実家に帰省したスタッフ2名のPCR検査を実施したことがあ

る。この時の検体はいずれも鼻咽頭ぬぐい液であった。また，検査費用17,000円を徴収している。2月以降院内のPCR検査を利用したスタッフは3名（2月2名，3月1名）である。いずれも検体は唾液で，検査費用は公用のため徴収していない。厚労省が行った唾液を用いたPCR検査結果では，発症から9日以内は鼻咽頭ぬぐい液の結果と高い一致率を認めた¹⁹⁾。同様の結果が報告される一方で²⁰⁾，唾液検体の検出感度がやや劣ると言う報告もある²¹⁾。唾液検

術前PCR検査②(Thermal Cycler Dice Real Time System III)

検体採取(鼻咽頭ぬぐい液、唾液*)

*唾液はリン酸バッファーに溶かし遠心後上清を使用



前処理液と混合(RNA抽出) 95°C, 5分



リアルタイムone step RT-PCR 40分



	サイクル	温度(°C)	時間	SARS-CoV-2	
				≤40	>40・不検出
RT	1	52	5分		
Denature		95	10秒		
Quantification	45	95	5秒	陽性	陰性
		60	30秒	陽性	再測定

図8 TakaraのPCR装置での術前PCR検査②

LightCycler480 system IIと同様にリアルタイム one-step RT-PCR法によりSARS-CoV-2の検出を行う。RNA抽出が簡便で，測定時間が大幅に短縮された。

4つの検査方法の比較

	ピペット操作	RNA抽出	検査件数/回	検査時間	感度
術前PCR①	有	有	10件	240分	◎
術前PCR②	有	-	10件	100分	◎
迅速PCR	-	-	1件	60分	○
抗原検査	-	-	-	15分	△

図9 各検査の比較

4種類の検査方法を5項目について比較した。迅速PCR検査のスマートゾーンは操作が簡単で，24時間対応を可能にした。術前PCR検査のタカラバイオのPCR装置は感度がよく再検が必要な場合にも使用される。

体は患者自身で採取できるため、鼻咽頭ぬぐい液のようにスタッフが感染の危険に曝されることはないが、適切な採取が行われない可能性もある。発症から9日以内の者については、唾液PCR検査が2020年6月2日より保険適用となっている(図2, 3)²²⁾。感染まん延期は疑似症患者自ら唾液を採取、感染縮小期はスタッフが疑似症患者から鼻咽頭ぬぐい液を採取するなど使い分けが考えられる。唾液は粘性があるため希釈や遠心といった操作が必要で、結果が出るまでに多少時間を要することになる。研究部では、スタッフのPCR検査は鼻咽頭ぬぐい液を推奨している。2021年6月現在スタッフが緊急事態宣言地域を訪問した際は、戻った日の翌日以降にPCR検査を行うことになっている。院内で検査をする場合、訪問が公用の場合は無料、私用は17,000円を徴収している。鼻咽頭ぬぐい液で迅速PCR法を行うことにしたが、市中に安価なPCRセンターが開設していることもあり利用者はいない。

PCR検査の実際

術前PCR検査は術前の患者、迅速PCR検査は疑似症患者が対象である。これまでのPCR検査件数は合わせて825件であるが(図2)、その中にはスタッフの検査も含まれる。前出の緊急事態宣言地域から戻ったスタッフのPCR検査では、術前PCR検査の枠で4名、迅速PCR検査の枠で1名検査を行っている。以下スタッフのPCR検査の事例をいくつか紹介する。1つ目は病棟の事例で、病棟の疑似症患者が迅速PCR検査で陽性判定(あとで擬陽性の判断)となった。すぐに同室の患者2名と関係するスタッフ2名に迅速PCR検査を行った。翌日と翌々日、前出の5名と他のスタッフ24名の計29名に対して術前PCR検査を行った。結果は全員陰性であった。2つ目は外来の事例で、患者の家族がSARS-CoV-2陽性となった。濃厚接触者の患者本人もその2日後感染が分かり他院に入院した。外来で接触のあったスタッフ2名に迅速PCR検査を行った。2名とも陰性であった。3つ目は救急外来の事例で、入院予定の患者が発熱で受診し、迅速PCR検査で陽性(あとで転院)であった。対応したスタッフ1名と数日前外来で接触のあったスタッフ2名に迅速PCR検査が行われた。3名とも陰性であった。

COVID-19で他院に入院していた患者が治療のために当院に入院した。発症から22日目に迅速PCR検査を行ったところ41サイクルで陽性判定(再検でも同じ結果)であった。35日目は陰性であった。Ct値が33-35の検体や第9病日以降の患者の上気道検体、症状軽快3日後の検体からウイルスを分離することは難しいとされる²³⁾。Ct値とは、リアルタイムRT-PCR検査におけるthreshold cycleのことで、Crossing

point法に基づき、閾値と増幅曲線の交点として算出される²⁴⁾。この症例は、入院時のCt値が41で、感染のリスクはなかったと考えられる。“迅速”PCR検査で使用した抽出液を精製して“術前”PCR検査を行ったところ、22日目が33サイクル、35日目42サイクルといずれも迅速PCR検査より低いCt値であった。術前PCR検査に使用した検体は精製し直しており、実際のCt値はもう少し高いと推定される。いずれにしてもウイルスの検出感度の機種間差は知っておくべきである。

初めて入院する患者にPCR検査は必要か？

新潟医療センターでは、第1波の終わり頃から新規入院患者とスタッフのPCR検査を行っている。第3波が始まる頃当院でも入院時のPCR検査が話題になったことがある。対象は初めて入院する患者で、当院では1日10名程度である。術前PCR検査は毎週水曜日の午前中に最大10件のアッセイを行っている。これと同じ事を毎日行うことになる。リアルタイムPCR装置の反応部には、96個の小さな溝(96well)があり、最大96個マイクロチューブをセットすることができる。遺伝子検査室では、通常1検体2系列でアッセイし、陽性コントロール2系列と陰性コントロール1系列を置いている(図10)。10検体のアッセイでは、23のwellを使うことになる。日常業務をこなしながら新規入院患者のPCR検査することになった場合、午前中はPCR検査、午後から日常業務を行うことが予想される。これは感染まん延期の話であると思いたい。仮に開始した場合、スタッフの負担を少なくするために検体は唾液になるかもしれない。SARS-CoV-2の検出は限定的、検査費用は病院負担で、費用対効果は決して高くない。幸い初めて入院する患者のPCR検査は実施されていないし、実施を求められる状況になっていない。

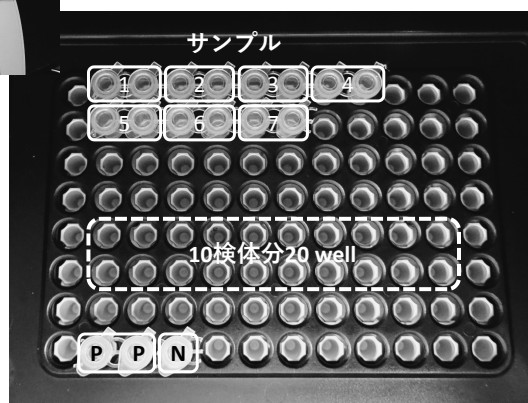
2021年3月院内ワクチン接種開始

第4波は、4月～6月で、4月25日に4都府県に緊急事態宣言が発令された。5月11日に5道県が追加され、5月23日には沖縄県が追加された(図2)。6月20日には、9都道府県で解除されたが、沖縄県は7月11日まで延長された。新型コロナウイルス感染症は終息した訳ではない。新潟県でも4月から5月にかけて新規感染者数の多い状態が続き陽性率も一時期3%を越えた。1年前の3月に新潟県で行われたPCR検査件数は1週間で最大で294件であったが⁵⁾、1年後は1日最大1,200件となっている²⁵⁾。

2月に医療従事者向けのワクチン接種が始まった。4月には65歳以上の高齢者の接種、6月には職域接種が順次開始された。当院は3月12日から5月



PCR反応部(96 well)



P: 陽性コントロール
N: 陰性コントロール

図10 タカラバイオのPCR反応部

写真は7つ検体(1~7)を2系列(2反応), 14 wellを使用して反応を行ったものである。陽性コントロールと陰性コントロールをおいている。点線は新規入院患者10名の検査を毎日行った場合の10検体(20系列)分の20 wellを囲ったものである。

14日の間に希望するスタッフにファイザー社製のワクチン接種を行った。ワクチンはCOVID-19を押さえ込む切り札であるが、SARS-CoV-2変異株が次々に出現している^{26, 27)}。従来型と比較して感染力が強い、重症化しやすい、ワクチンの効果が低下するなどの情報もあり^{26, 27)}、今後のCOVID-19を予測するのは難しい。

おわりに

現在研究部では、遺伝子検査室で術前PCR検査、細菌検査室で迅速PCR検査を行っている。ピペット操作の有無、RNA抽出の有無、同時測定可能件数、測定時間、検出感度などPCR装置によって性能は異なるが、術前患者はタカラバイオのリアルタイムPCR装置、疑似症患者はミズホメディアーのスマートジーンと使い分けている。検査体制の整備を進めて行く際には、検体の採取、感染の防御、PCR装置、遺伝子検査の手技、精度管理、保険適用などいくつかのハードルがあった。遺伝子操作は依然として特殊技能で、臨床検査技師の多くは不慣れなのが実情である。微量の検体、微量の試薬を均質に混ぜ合わせてムラなく反応させることは簡単ではない。近年、遺伝子検査は診断・治療に不可欠となっており、今回の変事のように即対応を求められる場合を想定して人材育成を進めなければならない。

最後に本稿は2020年6月にまとめたものであり、その後のCOVID-19の状況は含まれていないことをご承知いただければ幸いです。

謝 辞

本稿をまとめるに当たり資料を提供していただいた医事の伊東正和様に深謝いたします。また、協力いただいた研究部の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 増田道明：新型コロナウイルスのウイルス学的特徴。[引用2021-6-13] <https://www.eiken.co.jp/uploads/modern-media/literature/P11-18.pdf>
- 2) 宮沢孝幸, 中川 草：新型コロナウイルスSARS-CoV-2の比較ウイルス学と比較ゲノム解析：特集 マルチオミクスを使って得られた最新知見。p1338-1347。実験医学。2020。
- 3) 日本経済新聞：新型コロナ、進まぬ検査 機器の活用や調整に不備。[引用2021-6-26] <https://www.nikkei.com/article/DGXMZO56251360R00C20A3CZ8000/>
- 4) 新型コロナウイルス感染症対策専門家会議(第5回)：新型コロナウイルス感染症の流行シナリオ。[引用2021-6-21] https://www.kantei.go.jp/jp/singi/novel_coronavirus/senmonkakaigi/sidai_r020302.pdf
- 5) 新潟県：PCR検査の体制。[引用2021-6-21] <https://www.pref.niigata.lg.jp/sec/kikitaisaku/pcrkensanotaisei.html>
- 6) 日本病理学会：【重要】新型コロナウイルス感染症患者および原因不明の肺炎患者の病理解剖について。[引用2021-6-25] https://center6.umin.ac.jp/oasis/pathology/news/COVID-19_200227.html
- 7) 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。[引用2021-6-13] <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>
- 8) 厚生労働省：検査料点数の取り扱いについて(D023微生物核酸同定・定量検査)。[引用2021-6-13] <https://www.>

- mhlw.go.jp/content/000604548.pdf
- 9) 畔上公子, 神田真志, 柳原優香 他: 当院における遺伝子検査の取り組み—肺癌におけるEGFR遺伝子解析—. 県立がんセンター新潟病院医誌. 55 (1): 27-35. 2016.
- 10) 神田真志, 畔上公子, 川崎 隆 他: 大腸癌におけるPCR-High Resolution Melting解析を用いたRAS, BRAF遺伝子検査. 県立がんセンター新潟病院医誌. 56 (2): 44-48. 2017.
- 11) 日本外科学会: 新型コロナウイルス陽性および疑い患者に対する外科手術に関する提言 (改訂版). [引用2021-6-26] <https://www.jssoc.or.jp/aboutus/coronavirus/info20200402.pdf>
- 12) 厚生労働省: 疑義解釈資料の送付について (その12). [引用2021-6-26] <https://www.mhlw.go.jp/content/000631003.pdf>
- 13) MZUHO MEDY Co, Ltd.: 全自動遺伝子解析装置 Smart Gene. [引用2021-7-3] https://www.mizuho-m.co.jp/product/product_details/000555.php?iryu=1
- 14) MZUHO MEDY: スマートジーン 新型コロナウイルス検出試薬テストカートリッジ. [引用2021-6-22] <https://www.mizuho-m.co.jp/en/product/files/570825-01.pdf>
- 15) 厚生労働省: 検査料点数の取り扱いについて (D012感染症免疫学的検査). [引用2021-6-13] <https://www.mhlw.go.jp/content/000630289.pdf>
- 16) デンカ株式会社: 新型コロナウイルス抗原迅速診断キットの国内製造販売承認を取得～「クイックナビ™-COVID19 Ag」として8月13日から医療機関へ販売開始～. [引用2021-6-21] https://www.denka.co.jp/storage/news/pdf/758/20200811_denka_quicknavi_covid19ag.pdf
- 17) Takara: Thermal Cycler Dice Real Time System III. [引用2021-7-3] https://catalog.takara-bio.co.jp/product/basic_info.php?unitid=U100009152
- 18) Takara: Takara SRAS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット. [引用2021-6-22] <https://www.takara-bio.co.jp/medical/pcr-kit.htm>
- 19) 厚生労働省: 唾液を用いたPCR検査に係わる厚生労働科学研究の結果について. [引用2021-6-21] <https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000635988.pdf>
- 20) 豊嶋崇徳: コロナウイルス唾液関連データ. 北海道医報1223: 19. 2020.
- 21) Williams E, Bond K, Ahang B et al.: Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2. J Clin Microbiol. Doi:10.1128/JCM.00776-20.
- 22) 日本医師会: 新型コロナウイルス感染症にかかる検査料の点数の取り扱いについて. [引用2021-6-17] http://okinawa.med.or.jp/html/kaigo_iryu/iryu/pdf/r020603-4_i.pdf
- 23) 国立感染症研究所: 患者病日とリアルタイムPCR Ct値の相関について. [引用2021-6-28] <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2523-related-articles/related-articles-485/9765-485r09.html>
- 24) 白戸憲也: SARS-CoV-2 遺伝子検出法について. 臨床とウイルス. 48 (4): 248-256. 2020.
- 25) 新潟県: 新型コロナウイルス感染症検査件数と陽性率. [引用2021-7-3] <https://www.pref.niigata.lg.jp/uploaded/attachment/278629.pdf>
- 26) 厚生労働省: 新型コロナウイルス感染症 (変異株) への対応. [引用2021-7-1] <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000766545.pdf>
- 27) 感染力強い「デルタ株」拡大ほかの変異ウイルスも次々と (6/30). [引用2021-7-1] <https://www3.nhk.or.jp/news/special/coronavirus/newvariant/-mokuji0>