

3) 当研究所における新型コロナウイルス検査状況

八尋俊輔 平野孝昭 伊豆一郎 森 美聡 小原敦美 前田莉花 井上祐希江 原田誠也
佐藤磨美*1 梶島翔一郎*2 松本一俊*3 酒井 崇*4 小林将英*3 西島 遥*5 齊藤弘毅*6

はじめに

2019 年末に中国の武漢で発生した急性肺炎の情報を耳にしてから、既に 3 年近くが経過した。後に疾患名 COVID-19 と呼ばれるようになった SARS-CoV-2 を原因ウイルスとするパンデミックは、現在も続いており、ウイルスが変異を繰り返しながら、爆発的に感染者を増加させ続けている。2023 年 1 月現在、世界では 6 億人を超える感染者が報告され、日本国内でも約 3,000 万人、熊本県内では 50 万人を超える感染者が報告されている。死者も世界では 600 万人、国内では、6 万人、県内では 1,000 人を超え、過去に類をみない状況にある。

国内初の感染者は 2020 年 1 月 16 日に報告され、熊本県（熊本市を除く、以下同じ）では、2020 年 2 月 22 日に初めて陽性を確認した。その後、アルファ株、デルタ株、オミクロン株の流行など、一定の流行期間とともに特徴的な流行株が確認された。状況の把握のため、国内では、最初の感染者の発生後からはじまった波が第 1 波と呼び、それ以降感染の流行が来るたびに、その期間を第 2 波、第 3 波と呼称して、対応を行ってきた。執筆時（2023 年 1 月）には第 8 波が到来している。

今回の報告では、過去に例がなかったこのような事例への対応状況を示す貴重な資料として、感染の波ごとに当時の所内の状況や浮上した問題点等を報告する。なお、各波の期間は、第 1 波：～2020 年 5 月 31 日、第 2 波：2020 年 6 月 1 日～2020 年 9 月 26 日、第 3 波：2020 年 9 月 27 日～2021 年 2 月 20 日、第 4 波：2021 年 2 月 21 日～2021 年 7 月 7 日、第 5 波：2021 年 7 月 8 日～2021 年 12 月 31 日、第 6 波：2022 年 1 月 1 日～2022 年 6 月 11 日、第 7 波：2022 年 6 月 12 日～2022 年 10 月 13 日、第 8 波：2022 年 10 月 14 日～とした。

検査方法

1. 通常検査

通常の新型コロナウイルス検出の検査（以下「通常検査」という。）は、国立感染症研究所（以下「感染研」という。）が示したマニュアル（病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1¹⁾（以下「マニュアル」という。）等に準じて作成した当所の手順書に従い実施した。すなわち、鼻咽頭ぬぐい液、唾液等の検体から、QIAamp Viral

RNA Mini Kit（QIAGEN 社）を用いて RNA を抽出後、マニュアルに示された N2 primer 及び One Step PrimeScript™ RT-PCR Kit（Perfect Real Time）（タカラバイオ株式会社）を用いて、One-Step による real-time RT-PCR 法で検査を実施した。機器は、RNA 抽出は、QIACube（QIAGEN 社）、PCR は、LightCycler 480II 及び LightCycler96（ロシュ・ダイアグノスティクス株式会社）を主に使用した。RNA 抽出は、QIACube を使用した自動抽出と人手による抽出を併用して行った。最初の陽性が確認されるまでは、conventional PCR も並行して実施した。また、初期は、マニュアルに示された N1 primer を併用し、その後は、感度や特異度を保つため、必要に応じ、「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²⁾ に示された S2 プライマー等を併用するなどして、検査を実施した。全自動検査機（BD-マックス、日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）が導入された以降は、BD マックス™ SARS-CoV-2 及び BD マックス™ SARS-CoV-2/Flu（ともに日本ベクトン・ディッキンソン株式会社）の試薬を使用して、一部の検査を実施した。

2. 変異検査

各変異株をスクリーニングする目的で実施した real-time RT-PCR 検査（以下「変異検査」という。）は、アルファ株のスクリーニングのための N501Y 変異検査は感染研が示した primer³⁾ を、デルタ株やオミクロン株の L452R 変異検査は、Primer/Probe L452R（SARS-CoV-2）（タカラバイオ株式会社）を主に用いて実施した。そのほか、必要に応じ、E484K、G339D、ins214EPE 等の変異を検出する primer を用いて、変異検査を実施した。

3. ゲノム検査及び MST 解析

次世代シーケンサーを用いたフルゲノム解析（以下「ゲノム検査」という。）は、感染研が示すマニュアル（新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル 2022 年 2 月版⁴⁾）に準じて、Seq 100 Sequencing System（illumina 社）を用いて実施し、SNP に基づいた Minimum Spanning Tree による系統樹解析（以下「MST 解析」という。）は、Ridom SeqSphere+（フィルジェン株式会社）を用いて実施した。

*1 元保健環境科学研究所職員 *2 現健康福祉部健康危機管理課 *3 現食肉衛生検査所

*4 現健康福祉部健康局薬務衛生課 *5 現玉名地域振興局保健福祉環境部 *6 現環境生活部環境局循環社会推進課

各波における対応状況

第 1 波から第 8 波の検査状況を図 1 及び表 1 に、PANGO Lineage の変遷を図 2 に、第 1 波から第 7 波の MST 解析を図 3 に示す。

1. 第 1 波（～2020 年 5 月 31 日）

県での最初の検査は 1 月 30 日であった。検査は陰性であったが、感染研から試薬が配布されたとほぼ同時に検査が行われるなど、過去に例がない異例の速さでの対応となった。その後、10 数件の検査（陰性）の後、県で最初の陽性者が 2 月 21 日採取の検体で確認された。当時の通常検査は、real-time RT-PCR 及び conventional RT-PCR で確認した後、conventional RT-PCR での増幅産物をダイレクトシーケンスで塩基配列を決定し、陽性確定することとしていたため、検査開始から深夜まで続けて検査を行い、翌日の早朝に結果を本庁宛てに報告することとなった。なお、後のゲノム検査の結果、県の最初の事例の Lineage 系統は、B.12 であった。

第 1 波は、国内では緊急事態宣言等で騒然としていたが、県内の感染者発生は稀で、検査の結果陰性と判定される検体が数多く搬入された。第 1 波の検査検体数（2020 年 3～5 月平均：約 700 検体／月）も、コロナ検査開始から現在までのピーク時の検査数（2022 年 2 月：6,333 検体／月）に比べるとかなり少ないが、緊急対応により検査が深夜に及ぶことが多かった。また、検査資材（検体採取用スワブや RNA 抽出キット等）が不足したことや、2020 年 4 月の定期人事異動により人員が大きく入れ替わったこと、多検体の検査に慣れていないことなどもあり、想定外の問題が多く発生した時期であった。検査体制は、新型コロナウイルス検査に関しては通常とは異なり、微生物科学部長（1 人）と部員（6 人）の計 7 人全員で検査を担当した。これに加えて、微生物科学部以外の所内の応援職員として、主に 3 人の職員を割り当て、所の体制としては、10 人での検査を基本とした。これ以降の検査も所内の人数は約 10 人体制で、業務量に応じ、所内及び所外から追加された応援職員とともに検査を実施した。

2. 第 2 波（2020 年 6 月 1 日～9 月 26 日）

県内では、7 月末から 8 月上旬にかけて、大規模クラスターが 2 件発生した。それに先行して、令和 2 年 7 月豪雨に係る避難所関連の検査があり、業務量が一気に増加して、対応が困難な状況に陥った。当時の 1 日に処理できる量の限界以上の検体が持ち込まれ、24 時間体制を取り入れるなど、深夜まで検査して対応した。当時はまだ外部委託の検査がほとんど行われていない状況であったため、当所に検体が集中し、職員の疲労度は高

かった。熊本市環境総合センターへ検査を依頼するなど、所内、所外の多くの応援を借りながらなんとか対応したが、検査に追われながら効率的な検査体制を採することは困難で、苦慮した時期であった。

3. 第 3 波（2020 年 9 月 27 日～2021 年 2 月 20 日）

年明けの検体数増加が激しく、1 月は非常に多くの検体を処理した。外部にも検査を委託することで、県全体として検査能力は大幅にあがっていたため、深夜まで検査をするということは少なくなったが、依然として休みなく検査対応を行った。また、冬場は食中毒疑い事例や他の感染症の原因究明のための検査依頼が多く、その対応にも人員が必要で、慢性的な人員不足に陥っていた。

4. 第 4 波（2021 年 2 月 21 日～7 月 7 日）

アルファ株と呼ばれた英国由来の変異株が、強い感染力とともに全国的に流行した。当県での最初のアルファ株感染者は、3 月 29 日に確認された。既に 1 月中旬からアルファ株の早期発見のための N501Y の変異検査を実施しており、業務がひとつ増加した状態であった。また、感染研に送付して実施していたゲノム検査を各自自治体で実施することとなりつつあり、その整備にも時間を割かれることとなったが、人員は、4 月から 2020 年度に比べ 1 人減となり（部長 1 人、部員 5 人の計 6 人体制）、さらに厳しい検査体制を余儀なくされた。

5. 第 5 波（2021 年 7 月 8 日～12 月 31 日）

第 4 波で流行したアルファ株に比べ、さらに感染性や免疫逃避が高いとされたデルタ株が侵入し、一気に流行株が置き換わった。この時期から感染研で実施されていたゲノム検査を当所で本格的に実施することとなり、業務量がまた増加することとなった。全自動検査機を併用した検査体制が確立できたことで、第 5 波では、検査体制は混乱しなかったが、通常検査、変異検査、ゲノム検査等いつまで続くかわからない検査に、徐々に精神的な疲労が蓄積されていた時期であった。

6. 第 6 波（2022 年 1 月 1 日～2022 年 6 月 11 日）

今までの流行株と違いスパイクタンパクへの変異が多く入ったオミクロン株（B.1.1.529）が侵入し、症状は比較的軽いが感染力が大幅に増大したことから、爆発的に感染が拡大した。デルタ株が県内から姿を消し、感染が比較的落ち着いていた時期での流入であったことも影響し、その感染力は過去の株とは比較にならないほどであった。当所にも今までで想定していない数の

検体が搬入されたため、検査体制の再整備が必要となり、その対応に迫られた。再整備後は、各工程（前処理、RNA 抽出、PCR 等）をほぼ専属にすることにより、迅速に検査が実施できた。これは、現在も続く検査体制であり、当所が採用する現在の検査方法では、これ以上の効率化は難しい状況にある。

7. 第 7 波（2022 年 6 月 12 日～2022 年 10 月 13 日）

第 7 波では、オミクロン派生株 BA.5 が感染をさらに拡大した。通常検査は、衛生研究所がすべて担う状況ではなくなっており、当所に以前のように多くの検体が搬入されている状況ではなく、中心の業務はゲノム検査による変異株等の流行状況の把握へと移行している状況であった。また、BA.5 の感染拡大は速く、抑え込むことが難しいことから、多くの感染者を生み出し、県内の感染経路の足跡を正確にたどることは困難となった。

8. 第 8 波（2022 年 10 月 14 日～）

第 7 波の感染拡大が収束せず、BA.5 系統の派生株（BF.7, BQ.1 等）や BA.2 系統の派生株（BA.2.75）など様々な変異をもった株が流行し、2022 年は、年間を通して流行期が続いている状態にある。保健所が実施する通常検査は、施設や病院等に限定されたが、感染者が多く、当所への検体も多く搬入されている。

課 題

第 1 波から第 8 波を検証すると、当所における課題は、その流行期間ごとに異なることもあったが、検査開始から常に存在した問題を大きく分類すると、人の問題、施設や機器の問題、組織の問題の 3 点である。

(1) 人の問題

当初は経験や技術の不足も問題となったが、多くの検体を処理することで、比較的早い段階で、技術的な問題は解消された。しかし、絶対的な人員不足は最後まで解消されなかった。全庁的な問題でもあるが、検査等の専門的な業務は、急な応援職員では補充・対応できないことから、人員の増員及び教育訓練は今後の大きな課題といえる。また、検査を支える試薬等の消耗品の購入の事務にも人員と時間を多く割かれたことから、人員配置を見直す必要があったと考えられた。

(2) 施設や機器の問題

使用頻度の増加や老朽化により、施設の付属設備や機器の故障が頻繁に発生し、業務を著しく妨害した。施設や機器が使用不可能になるだけでなく、その修理対応に人員が必要となるためである。計画的な機器や施

設の更新や保守は、検査の根幹となりうるものであるため、予算の確保等の措置が必要であると考えられた。

(3) 組織の問題

業務に圧迫され、必ずしも信頼性確保への取組みが十分であったとはいえない。検査における信頼性確保については、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（平成 10 年法律第 114 号）及び感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律施行規則（平成 10 年厚生省令第 99 号）により作成された熊本県保健環境科学研究所における病原体等検査の業務管理要綱を運用するよう定めてあったが、業務過多や人員不足、規定の周知不足等で十分に運用できなかった。検査全体で、信頼性に大きな問題はなかったが、要綱等に規定される各管理者、責任者がその責務を果たすことができるよう、人員の配置や規定の周知が必要であったと考えられた。

また、本庁や保健所との連携にも問題を残した。検査全般の責任を持つ衛生研究所として、当所が何を求められ、どの業務を行うことで最も貢献ができるかを話し合う会議等の機会があれば、通常検査に忙殺されるのみではなく、もっと重要な成果を出すことができたと考えられる。

上記 (1) ～ (3) 以外にも多くの問題が発生したが、再びこのような事態が起こっても対応ができるよう、継続的に課題の改善をしていくことが必要である。

謝 辞

共同執筆者として名前を記載した微生物科学部以外の方々以外にも、所内、所外（特に農林水産部や環境生活部の皆様、熊本市環境総合センターの皆様等）、その他（国立感染症研究所、他県衛生研究所等）の多くの方々に検査の御支援をいただきました。ここに感謝いたします。

当研究所としての検査の沿革

2020 年 1 月末	検査体制確立
2020 年 1 月 30 日	県内初の検査（陰性）
2020 年 2 月 21 日	初の陽性例
2020 年 4 月 24 日	3 回/日の検査体制に移行
2020 年 5 月	保健所から当所への検体搬送の外部委託開始
2020 年 7 月初旬	令和 2 年 7 月豪雨避難所検査対応
2020 年 7 月下旬	大規模クラスター（2 件）対応
2020 年 8 月 1 週	24 時間体制試行
2020 年 8 月～	外部委託業務開始
2020 年 12 月	2 回/日の検査体制に移行

2021年2月 全自動検査機 (BD-MAX) 導入
 2021年3月 アルファ株検出
 2021年7月~ 当所でゲノム検査開始
 2021年7月 デルタ株検出
 2022年1月 BA.1株 (オミクロン株) 検出
 2022年3月 BA.2株検出
 2022年6月 BA.5株検出

- 2) 「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
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/SARS-CoV2_gene_detect_and_isolation_manual_Ver1_1.pdf
- 3) リアルタイム one-step RT-PCR 法による SARS-CoV-2 Spike N501Y 変異の検出 (国立感染症研究所作成)
- 4) 新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル 2022年2月版
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/SARS-CoV2_genome_analysis_manual_QIASEQFX_ver_1_4_220127.pdf

文 献

- 1) 病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>

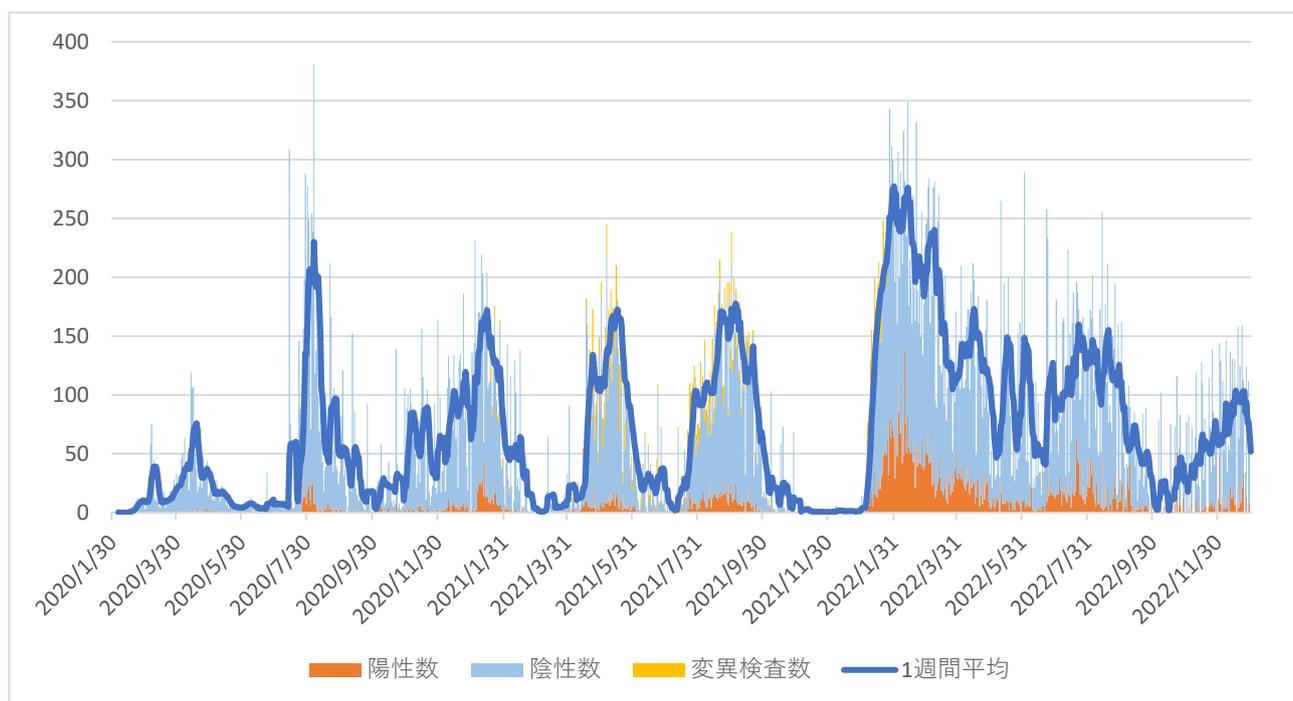


図 1 熊本県保健環境科学研究所における新型コロナウイルス検査数 (2020年1月~2022年12月)

表 1 熊本県保健環境科学研究所における新型コロナウイルス検査数 (2020 年 1 月~2022 年 12 月)

検査月		通常 検査	変異 検査	ゲノム 検査	検査月		通常 検査	変異 検査	ゲノム 検査
2019 年度	1 月	1	0	0	2021 年度	4 月	1,674	257	0
	2 月	108	0	0		5 月	3,319	588	0
	3 月	580	0	0		6 月	771	102	0
	小計	689	0	0		7 月	953	263	96
2020 年度	4 月	1,265	0	0		8 月	3,532	575	116
	5 月	335	0	0		9 月	3,241	257	96
	6 月	193	0	0		10 月	508	15	120
	7 月	1,899	0	0		11 月	35	0	95
	8 月	3,202	0	0		12 月	41	0	92
	9 月	906	0	0		1 月	4,615	589	122
	10 月	720	0	0		2 月	6,333	0	120
	11 月	1,936	0	0		3 月	5,153	0	192
	12 月	2,462	0	0	小計	30,175	2,646	1,049	
	1 月	3,846	59	0	2022 年度	4 月	4,097	0	216
	2 月	950	15	0		5 月	2,802	0	158
	3 月	207	13	0		6 月	2,545	0	97
	小計	17,921	87	0		7 月	3,750	0	228
				8 月		3,726	0	128	
				9 月		1,511	0	76	
				10 月		648	0	36	
				11 月		1,582	0	39	
				12 月		2,562	0	113	
				小計		23,223	0	1,091	
				合計		72,008	2,733	2,140	

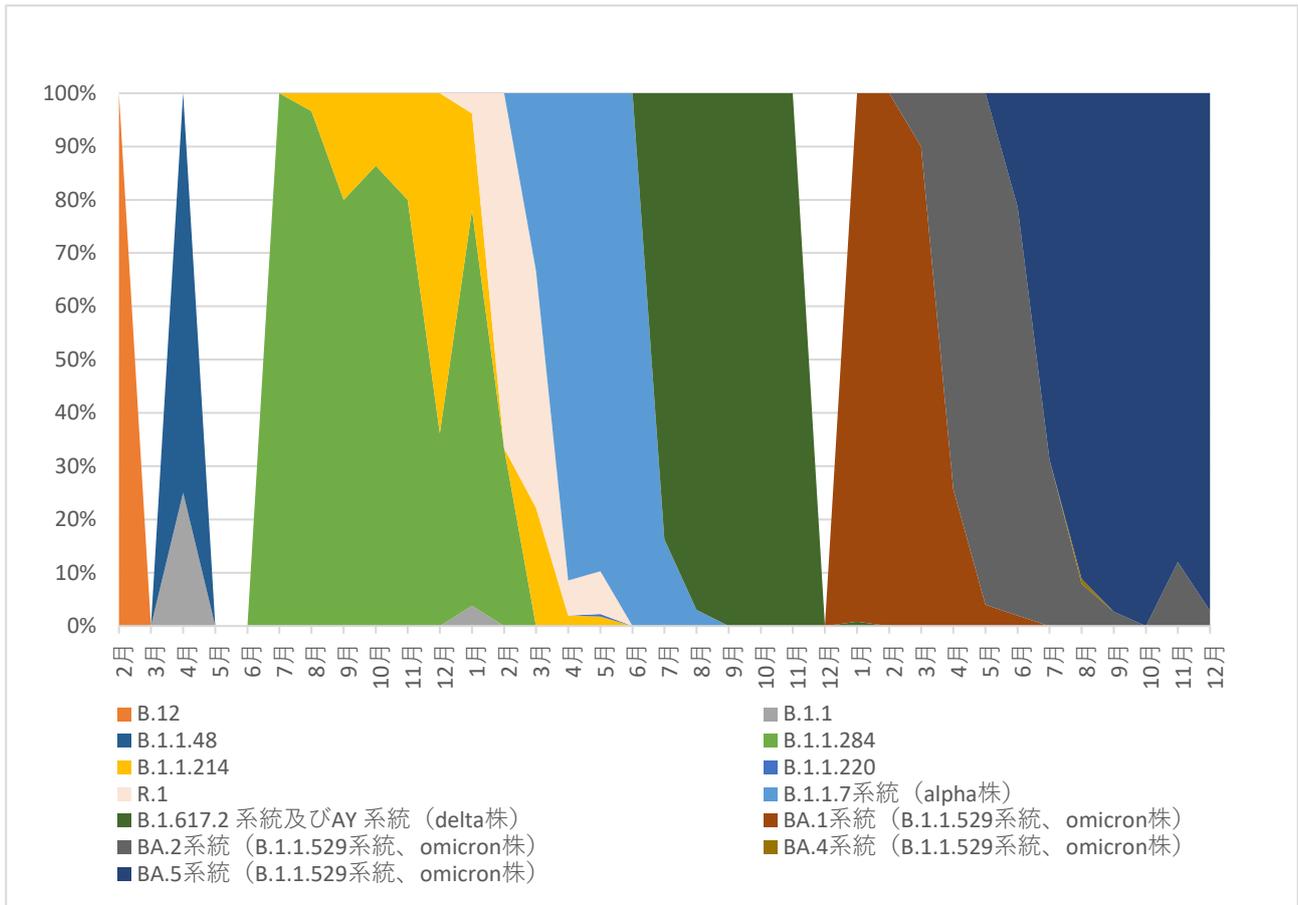


図 2 熊本県で検出された新型コロナウイルスの PANGO lineage の推移 (2020 年 1 月~2022 年 12 月)

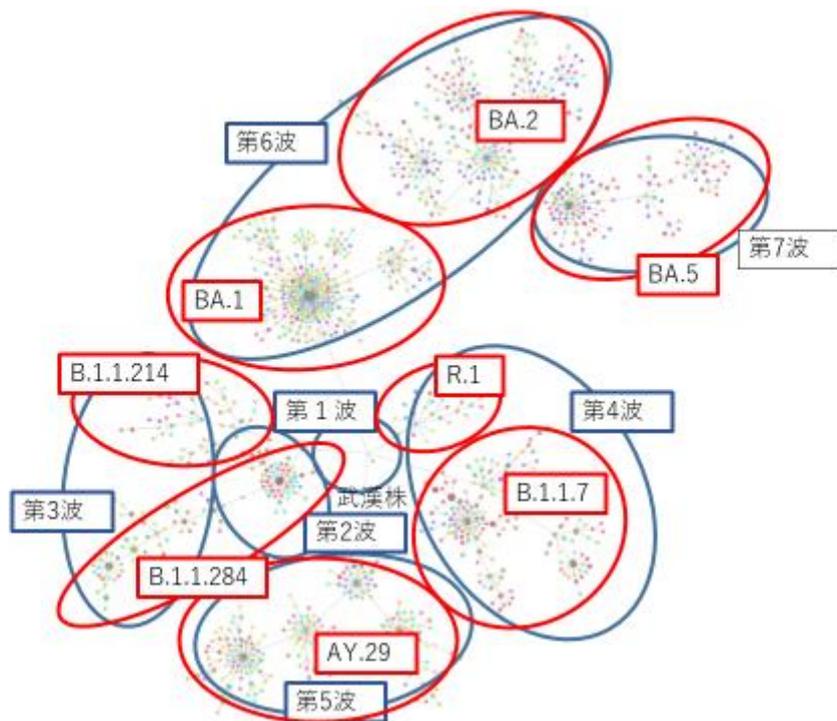


図 3 第 1 波~第 7 波の MST 解析