

【トピックス】

新型コロナウイルス感染症の検査(2020年1月～2021年6月)

1 横浜市衛生研究所での新型コロナウイルス遺伝子検査

ウイルス担当では、食中毒・感染症等でのウイルス検査・研究を行っています。

現在流行中の新型コロナウイルス感染症(以下 COVID-19)においても、国内での検査開始期においては、その新たな検査の早期立ち上げ、実施を担ってきました。また、その後民間検査機関で行う検査数が充実した後は、地域内で実際に流行するウイルスの確保・把握や変異解析等も重点としながら、必要な検査を続けています。

今回は、2020年1月から2021年6月までに当所で実施した COVID-19 に関する検査概要及び実績について報告します。

COVID-19 は2019年12月の中華人民共和国湖北省武漢市での流行が確認された後、国内においては2020年1月28日に指定感染症に指定され、1月30日には、世界保健機関(WHO)が COVID-19 について、「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態(PHEIC)」を宣言しました。

国内検査体制の確保には国立感染症研究所と全国の地方衛生研究所が取り組み、当所においても1月23日厚生労働省通知「新型コロナウイルスに関する検査対応について」を受けた RT-PCR(※1)検査系を立ち上げ、1月30日にはコンベンショナル RT-PCR(※2)を、2月1日にリアルタイム RT-PCR(※3)検査を開始しました。

※1 RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction の略

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)のような RNA ウイルスの際に、一旦 RNA から DNA を合成(逆転写)したのち PCR を行う方法

※2 コンベンショナル RT-PCR: RT-PCR 後にアガロースゲルでの電気泳動、染色をして目的のバンドを検出する方法

※3 リアルタイム RT-PCR: RT-PCR を行いながら同時に増幅をモニタリングする方法

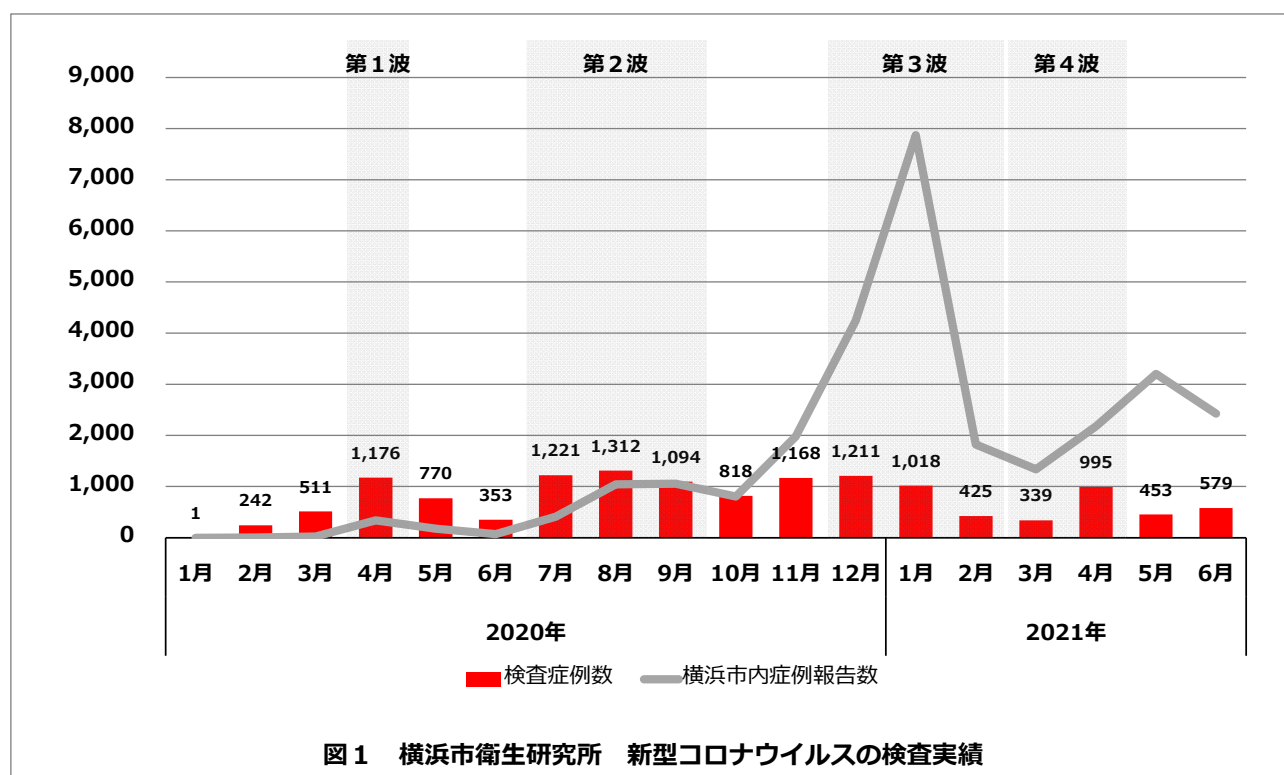
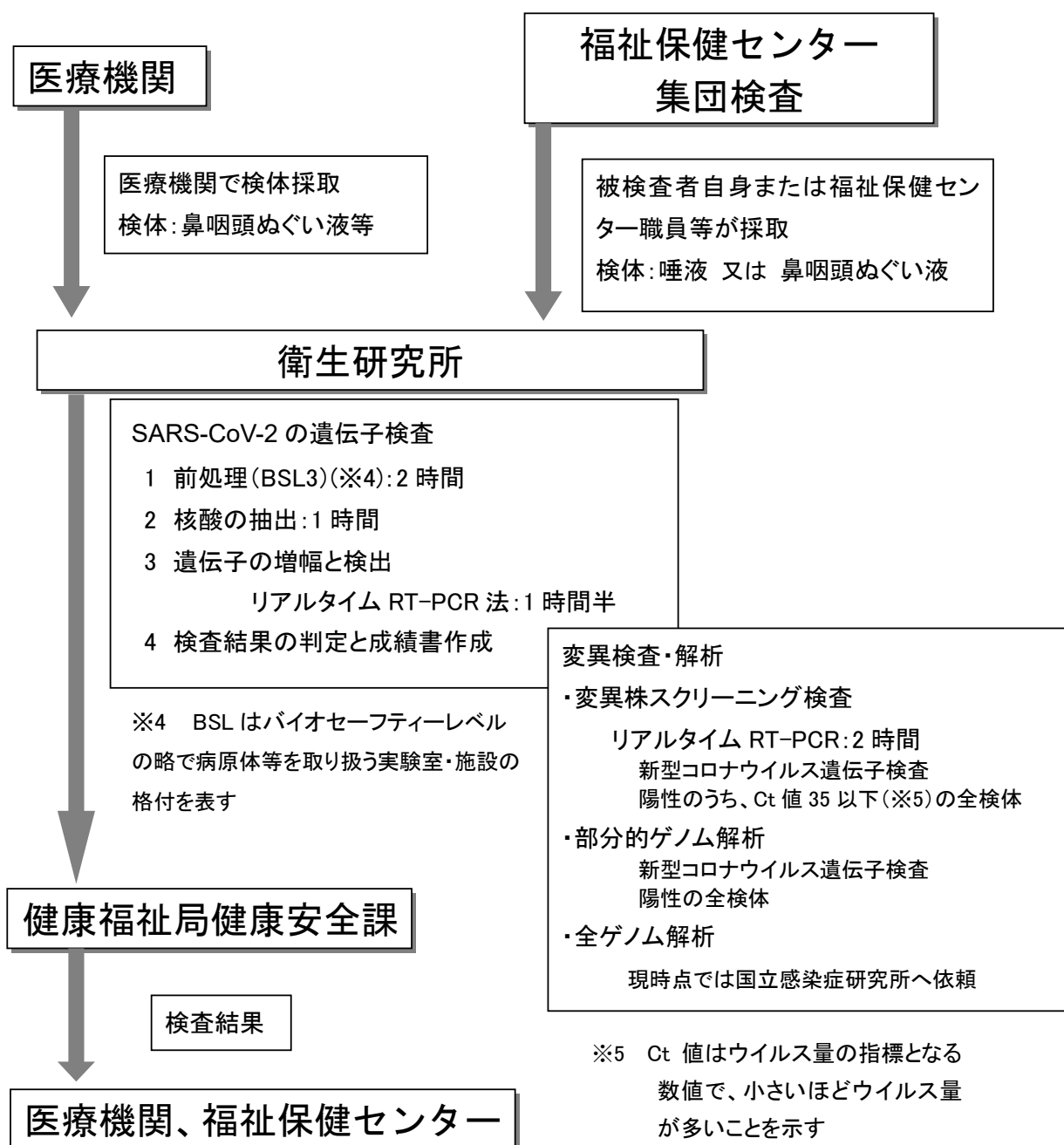


図1 横浜市衛生研究所 新型コロナウイルスの検査実績

2020年1月から2021年6月までの間、当所において、新型コロナウイルス(以下 SARS-CoV-2)遺伝子検出PCR検査は、13,686 症例 14,131 検体について実施し、2,946 症例(21.5%) 3,020 検体から SARS-CoV-2 遺伝子が検出されました。月別の検査症例数の推移を図1に示します。

2020年2月3日に横浜港に到着したクルーズ船「ダイヤモンド・プリンセス号」内での感染蔓延事例では、2月初旬に検疫検査の応援を行いました。当該船での陽性者が横浜市内の医療機関にも多数入院したことから、退院のための陰性確認の検査依頼も増加しました。3月には首都圏を中心に感染が広がり始め、第1波とされる2020年4月には緊急事態宣言が発出され、当所での検査数も増加しました。その後第2波(2020年7月～9月)、第3波(2020年12月～2021年2月)、第4波(2021年3月～4月)と検査数は増加しました。

図2 新型コロナウイルス検査の流れ



2 新型コロナウイルス検査の流れ

図 2 に当所での検査の流れを示します。

横浜市内の帰国者接触者外来設置医療機関等で採取された検体が当所に搬入され検査を実施しています。検体は当初「咽頭ぬぐい液又は喀痰」でしたが「鼻咽頭ぬぐい液又は喀痰」に変更され、現在では主に、1 症例から 1 検体「鼻咽頭ぬぐい液」が採取され検査を実施します。集団検査の場合には、採取が容易な唾液検体が用いられることもあります。検査はまず BSL3 という陰圧等を精密に保った検査室の中で、検査者も自ら感染することがないように防護服を着用して検体を処理します。PCR に進む試料液は、ウイルスを不活化した後 BSL3 から出します。その後、核酸を抽出し、SARS-CoV-2 特異的な塩基配列を増幅していく PCR によって、試料液中の SARS-CoV-2 の有無を判別します。リアルタイム RT-PCR という方法を用いると PCR を行いながら同時に増幅物を検出することが可能であり、1 時間半ほどで結果が得られます。得られた結果に間違いがないかを確認し、健康福祉局健康安全課を通じて医療機関等に返します。

3 変異検査・解析

上述の SARS-CoV-2 遺伝子の有無を確認する PCR 検査以外に、その検査で陽性になった検体については、変異を確認するための検査も行っています。変異株の種類や特徴については、以下 URL をご参照ください。

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2484-idsc/10501-covid19-48.html>

(国立感染症研究所ホームページ)

(1)変異株スクリーニング検査

2020 年 12 月には英国で最初に検出された変異株(B.1.1.7 系統、^{アルファ}株)について感染力が増加していると WHO が表明しました。南アフリカから最初に報告された変異株(B.1.351 系統、^{ベータ}株)、日本においてブラジル渡航者から検出された変異株(P.1 系統、^{ガンマ}株)、いずれもスパイク領域に N501Y 変異を有することから、リアルタイム RT-PCR 検査による N501Y の変異株スクリーニング検査が国立感染症研究所から提示され、当所においても 2021 年 2 月 13 日から検査を開始しました。

2021 年 6 月までに 383 検体の変異株スクリーニング検査を実施し、255 検体が N501Y 陽性でした。(この検査は、2021 年 7 月からは L452R 変異を確認するスクリーニング検査に切り替わっています。)

(2)部分的ゲノム解析

ウイルス遺伝子の塩基配列(シーケンス)を解読する手法の一つにサンガーシーケンス(サンガー法)という方法があります。このサンガー法を用いてスパイク領域のシーケンスを得ることにより、N501Y や L452R といったスパイク領域のキーとなる変異を確認し、これにより英国で最初に検出された変異株(B.1.1.7、^{アルファ}株)なのか、インドで最初に検出された変異株(B.1.617.2 系統、^{デルタ}株)なのか等、(1)の変異株スクリーニングより多くの情報を得ることができます。このサンガー法を用いた解析により得られた各変異株の検出数と割合を図 3 に示します。

2021 年 2 月初旬まで、ほとんどが L452R、T478K、E484K、N501Y の変異の無い「従来型」とされるウイルスでしたが、1 月から E484K の変異を有する R.1 系統の特徴を持つ株が横浜市でも検出され始め、4 月半ばまで変異株の主流でした。その後、2 月に検出され始めた B.1.1.7 系統(^{アルファ}株)の特徴を持つ株が増加し、4 月下旬には主流型となりました。また、B.1.617.2 系統(^{デルタ}株)の特徴を持つ株は、横浜市では 5 月から検出され始めています。

表1 新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のPangolin系統の時系列推移

Lineage (Pangolin ¹)	WHO	2020												2021						合計									
		西暦	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6										
A			1																					1					
B.1																								1	1				
B.12		2																							2				
B.1.1				1	4		1	1	1	3														1	16				
B.1.1.214							7	28	63	59	84	82												111	470				
B.1.1.284				1	23	44	52	24	13	12	6												5	1	181				
B.1.1.317																	1								1				
B.1.1.225											1														1				
B.1.1.7	α																						11	15	54	48	36	164	
B.1.617.2	δ																							1	5	6			
B.1.346											1	1											5	1	8				
R.1																							2	12	17	19	3	53	
None									1														2			3			
解析不能																							4	1		5			
合計		2	1	1	5	23	51	82	87	73	101	89											129	47	46	80	54	41	912

* 2021年7月7日時点のPangolin解析による

* * 横浜市衛研で陽性になった検体のうち、おおむねCt値28以下で同胞を除く代表検体について国立感染症研究所ゲノムセンターで解析

＜2021年第25週(6月27日まで)時点 解析数:525検体＞

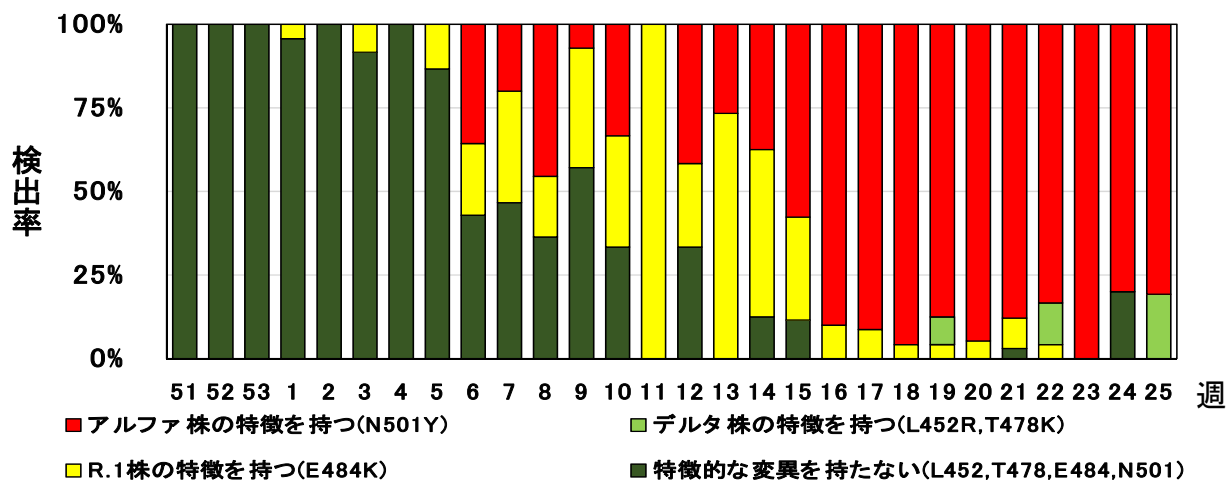
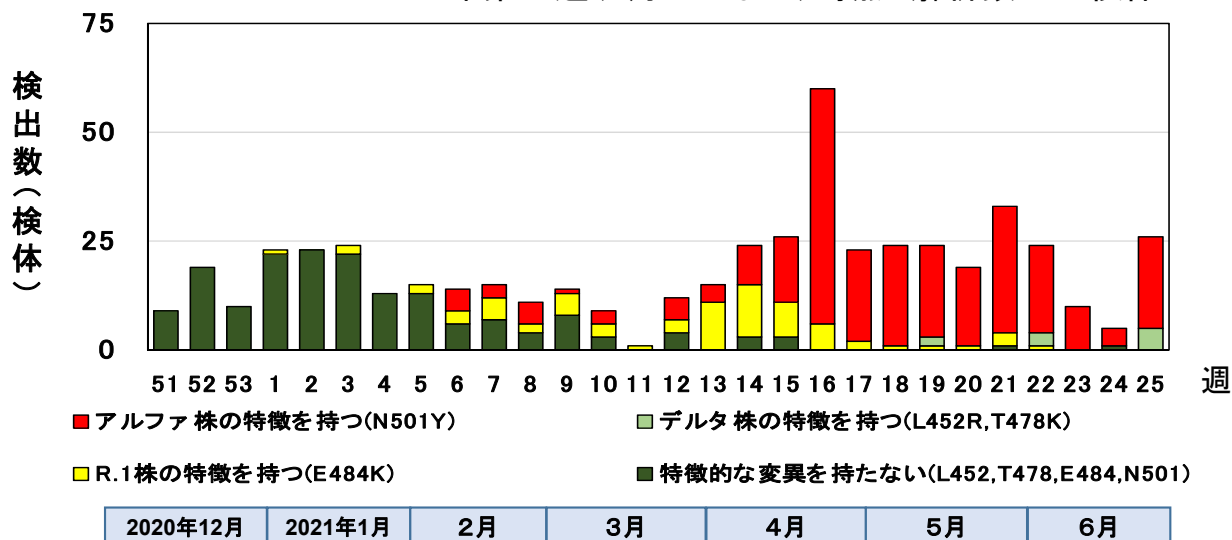


図3 新型コロナウイルスの部分的ゲノム解析(サンガーシーケンス)結果

(3)全ゲノム解析

さらに SARS-CoV-2 のゲノム全体を解析するために、厚生労働省からの 2021 年 2 月 5 日付「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)」を受けて国立感染症研究所へ検体を提供しました。ウイルス(SARS-CoV-2)が検出された検体のうち、次世代シーケンサーで解析可能であった検体について国立感染症研究所による Pangolin 系統の解析を実施した結果を表 1 に示します。英国で最初に検出された変異株(B.1.1.7)の割合が 2021 年 2 月から 6 月にかけて増加していました。

4 結語

COVID-19 は、ワクチン接種が国内でも始まりましたが、2021 年 7 月以降も過去最大の流行拡大(第 5 波)が発生しており、未だ収束を見ません。今後も地域内の流行を適切に捉え、この感染症対策に資するための検査を引き続き実施していきます。

【 微生物検査研究課 ウイルス担当 】