資　　料

岐阜県保健環境研究所における新型コロナウイルス感染症の検査対応　第２報

佐藤容平，葛口 剛，西岡真弘，安田有香，野田万希子，山口智博，古田綾子，
足立知香，水野卓也，岩間英里，松本 清，浦本雄大，越 勝男*，小池紀子**，
桐井久美子***，鈴木崇稔****，亀山芳彦*****

要　　旨

岐阜県保健環境研究所（以下当所）では，新型コロナウイルス感染症（以下 COVID-19，疑いを含む）患者及び検査検体数の増加に対し，2021 年 5 月に全自動 PCR 検査機コバス®8800 システム（以下コバス 8800）を導入することによる検査の省力化を以って対応した．また，次世代シーケンサー（以下 NGS）である iSeq100 を 2021 年 7 月に導入し，全ゲノム解析を開始した．

当所においては，2024 年 3 月 31 日までに，242,347 検体に及ぶ COVID-19 遺伝子検査を行い，5,163 検体の全ゲノム解析を行った．

キーワード：新型コロナウイルス感染症（COVID-19），リアルタイム RT-PCR，コバス 8800，NGS，iSeq100

１　はじめに

2020 年 2 月 6 日から 2021 年 3 月末までの COVID-19 の病原体である新型コロナウイルス（以下 SARS-CoV-2）に対する当所の検査対応は，岐阜県保健環境研究所報第 29 号（2021）の「岐阜県保健環境研究所における新型コロナウイルス感染症の検査対応」により報告した[1)]．

今回はそれ以降，2021 年 4 月 1 日から 2024 年 3 月までの対応状況について報告する．

２　増加する検査への対応

2020 年以降の COVID-19 患者数の増加に伴い，所内で従前から行われていた手作業による検査（検体処理，RNA 抽出及びリアルタイム RT-PCR）では徐々に搬入

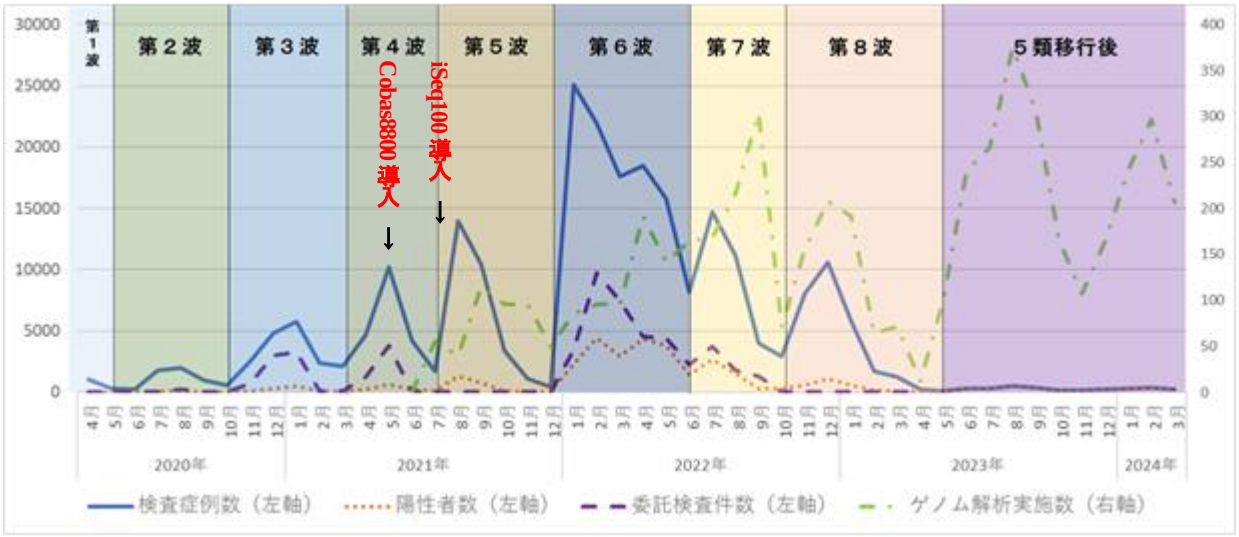

図１　COVID-19 検査及びゲノム解析件数の推移

岐阜県保健環境研究所：504-0838　岐阜県各務原市那加不動丘 1-1
*現　岐阜県飛騨食肉衛生検査所：506-0048　岐阜県高山市前原町 17-1
**現　岐阜県可茂保健所：505-8508　岐阜県美濃加茂市古井町下古井 2610-1
***現　岐阜県飛騨保健所：506-8688　岐阜県高山市上岡本町 7-468
****現　東部広域水道事務所：509-6472　岐阜県瑞浪市釜戸町 2190-12
*****現　岐阜県岐阜保健所本巣・山県センター：500-8384　岐阜県岐阜市薮田南 5-14-53

検体数に対して検査数が追いつかなくなり，8 月からは搬入数が一定数を超えた場合，その分を民間の検査会社や医療機関，岐阜市衛生試験所へ検査を委託することで全数検査を維持した．しかし，委託数増加に伴って委託した検体の検査結果報告までに数日を要するなど新たな問題が生じた．（図 1）

3　全自動 PCR 検査機の導入

速やかな検査結果の報告と，国から求められた更なる検査数増加に対応するため，全国自治体として初めて，Roche 社のコバス 8800 を導入することが 2020 年 9 月に決定された．この決定を受けて，当所一部改装により整備した PCR 実験室に 5 台の安全キャビネット等と共にコバス 8800 が設置され，2021 年 5 月 13 日から当該機器を用いた検査を開始した．

コバス 8800 は，検体の入った専用試薬入りチューブの前処理を行い，蓋を外してサンプルラックにセットしてモジュール内に取り込んだ後，検体分注後のチューブを回収すれば，その後の工程（RNA 抽出，リアルタイム RT-PCR）を自動で行い，外付け PC に検査結果を出力することが出来る．（図 2）

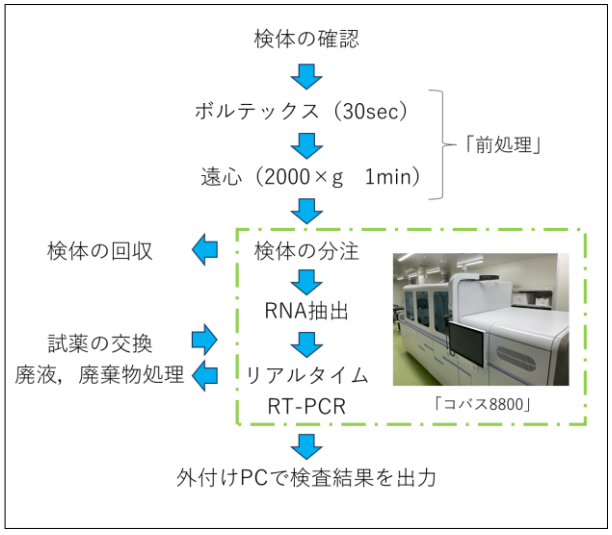

図２　検査の流れ（コバス 8800）

また，検体番号の識別はコバス 8800 のモジュール内でバーコードを読み込むことで可能であるため，各保健所でサンプルチューブと検査依頼書にバーコードを貼付し搬入してもらうことで，検体管理に要する時間を大幅に減らすと共に，検体の取り違えなどの人為的なミスを無くすことも可能となった．

検査体制は，機器を操作する主任と前処理を主に行う副主任の 2 人 1 組で班を組み，平日は 2 班制，土日祝日は 1 班制で休みなく検査を行った．コバス 8800 での検査が始まって以降，しばらくは保健科学部の人員のみで検査を行ってきたが，患者数が劇的に急増した 2022 年 1 月からの COVID-19 第 6 波の際には，所内の他部署から応援職員を動員し、主に前処理を手伝ってもらうなどして対応した．

コバス 8800 の 1 日検査可能検体数は，8 時間稼働で 960 検体との設定であるが，このピーク時には 1 日の検査数が最大で 1,964 検体になり，検査が朝から深夜にまで及んだ．また，検査中にコバス 8800 がトラブルにより停止し，Roche カスタマーサービスによる修理・メンテナンスを待った後，夜を徹して検査を行ったこともあった．

4　ＮＧＳの導入

COVID-19 は発生当初のものから変異したアルファ株，ベータ株，デルタ株やオミクロン株などの多くの変異株が出現し，それに伴って流行が大きく推移した．これらの変異株出現をいち早く掴むことが流行の探知につながることから，厚生労働省は 2021 年 2 月の通知[2)] で全数検査後に，変異株特有の遺伝子を有するウイルスかどうかの検査を行うように自治体に依頼した．当所ではこの検査を，コバス 8800 導入後はスクリーニング専用試薬を用いて， N501Y，E484K，del 69-70 の 3 箇所の変異の有無を確認した．

更に 2021 年 5 月の厚生労働省の通知[2)] で，各地衛研に NGS を導入して COVID-19 の全ゲノム配列を検査することが要請されたため，当所でも illumina 社の NGS である iSeq100 を 2021 年 7 月に導入した．iSeq100 は 1 回の検査のカートリッジデータ容量の上限が 1.2GB であり，illumina 社の NGS の中では一番データ容量が少ないものの，SARS-CoV-2 の全ゲノム配列長は 30,000 塩基程度であり，十分に対応できると考えら

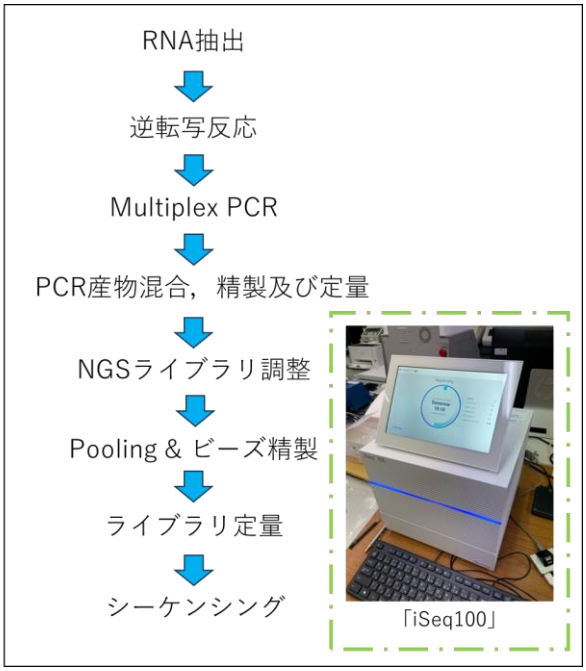

図３　検査の流れ（NGS）

れた. 当所では検査 1 回に対して 48 検体を上限として設定した.

SARS-CoV-2 の全ゲノム解析の検査手順は図 3 の通りである.

検査は週に 1 度を基本として，検体数の多い時には週に 3 度行った．当初は，保健所による（濃厚）接触者の検査が続いており，陽性検体数に対してゲノム解析に掛けられるマンパワーが限られていた．陽性検体全例のゲノム解析は不可能だったため，リアルタイム RT-PCR 実施時の Ct 値に加えて，クラスター対策を行う県庁・保健所の要望や各患者の疫学情報（居住地や行動歴等）を考慮して解析対象検体を抽出, 選別した.

また, 懸念すべき変異株（VOC ; Variants of Concern, 以下 VOC）に指定された新規変異株が，海外から日本国内へ流入する懸念がある時期には，変異株スクリーニングの結果から，デルタ流行期のオミクロン疑い，オミクロン BA.1 流行期の BA.2 疑い及び BA.2 流行期の BA.5 疑い検体を効率的に抽出し，優先的にゲノム解析を行うことで迅速な探知ができるよう体制を整備した.

解析は，QIAamp Viral RNA mini kit（QIAGEN）で RNA 抽出を行った後, 新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル[3]に従って行った．得られたデータは国立感染症研究所ゲノムサーベイランスシステム（COG-jp）に登録し，データのクオリティチェック及び PANGO lineage の判定を行い，結果を県庁に報告した．また，ゲノム全長を決定できた配列を抽出し，PopART[4]を用いた Median-Joining 法[5]によりハプロタイプネットワーク図を作成し，同一クラスター内における変異の状況や県内での感染拡大の状況を可視化し，適時県庁へ情報提供を行った.

５　県内における変異株の推移

全ゲノム解析により得られた県内における変異株の推移について図 4 に示す．2021 年春の流行がアルファ株によるもので, その後 2021 年夏にデルタ株による流行，2021 年冬にオミクロン株による流行が起こっていることが推察できる．2021 年 12 月のオミクロン株については，帰国者かつ濃厚接触者ということで検疫から連絡があったため検査を行ったところ，検疫以外での国内初のオミクロン株の確認事例となった.

また 2022 年 3 月以降は，SARS-CoV-2 が全てオミクロン株に切り替わった後のオミクロン株内での系統の推移を示している．2022 年の春頃は BA.2 系統が優位であったものが同年夏頃に BA.5 系統優位に切り替わり，2023 年春頃には XBB 系統に切り替わっていく様子が確認できる．その後 2023 年冬にかけて BA.2 系統の JN.1 関連株が増加していき, 2024 年 2 月以降に XBB 系統の派生株が増加している.

６　５類移行後及び今後の対応について

2023 年 5 月 8 日以降，COVID-19 が「新型インフルエンザ等感染症（いわゆる 2 類相当）」から「5 類感染症」に移行したため検査対応が大きく変わることになった[6]. 全数把握疾患から定点把握疾患となったため，インフルエンザ/ COVID-19 病原体定点及び小児科病原体定点に指定された医療機関から各保健所を通じて提出される検体についてのみ検査を行うこととなった.

検体数については，2023 年 4 月の厚生労働省の通知[7] により，各都道府県で週 100 検体程度の全ゲノム解

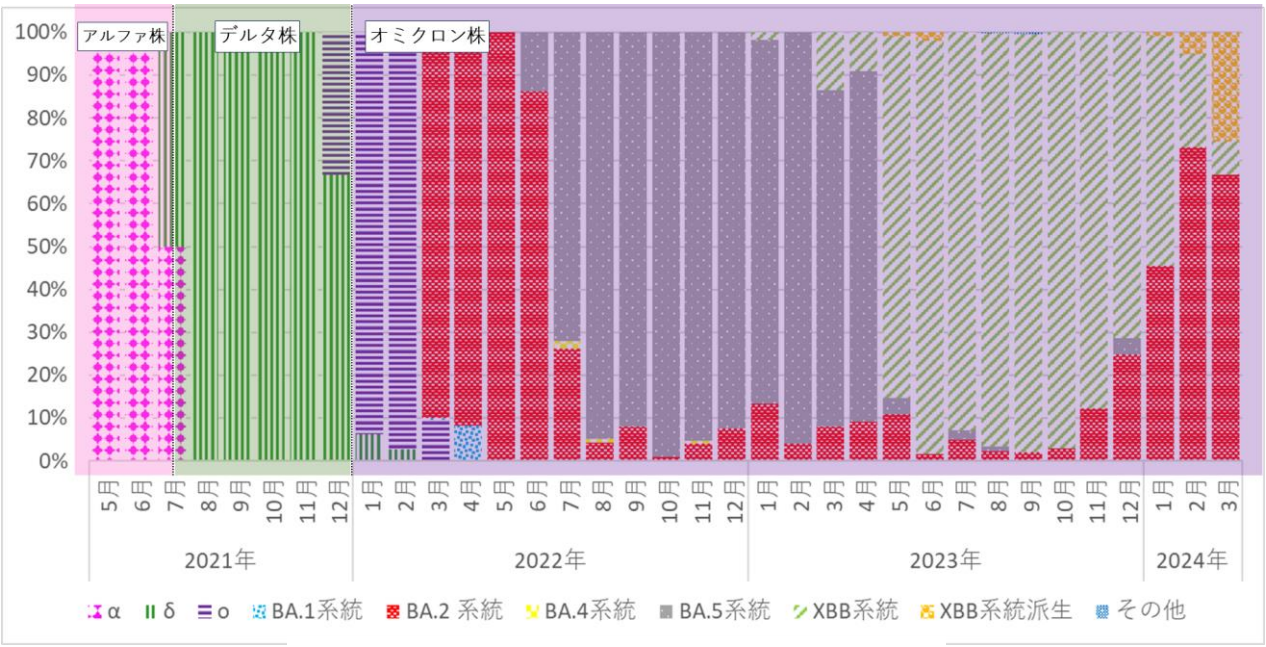

図 4　SARS-CoV-2 変異株の推移

析を行う様に要請されたため，各定点医療機関 5 検体／週を目安として保健所から検体が搬入されることとなった.

5 類感染症移行後の当所での検査方法は，搬入検体のリアルタイム RT-PCR をコバス 8800 で実施，Ct 値が 27 以下の検体について全ゲノム解析を行うこととした．SARS-CoV-2 は変異を繰り返しており，新たな変異株が次々と発見されていることを考えると，このまましばらくは継続した監視が必要と考える．但し，よほどの強毒変異株が出現しない限り，検査数が往時に戻ることは無いと思われる.

コバス 8800 は他の感染症検査備品と比して高額であるが，今回の COVID-19 パンデミック対策で求められた大幅な検査数増加と速やかな検査結果報告に対して少ない人員での対応が可能となった．また，iSeq100 が導入されていないアルファ株流行期に，コバス 8800 で行った N501Y 変異スクリーニングの陽性検体について感染研で全ゲノム解析を行ったところ，疫学的関連性不明の南アフリカ株が数件見つかるという事例があった．この時の南アフリカ株は，検疫などを中心とした国内で見つかっている別の南アフリカ株とは全く独立した一塩基多型（SNP）を共通して持っており，検疫を含めて見逃されている VOC の存在とその岐阜県内での伝播の可能性が示唆された．これはコバス 8800 のスクリーニングキットの性能の高さを示す事例だと言えるだろう．COVID-19 検査の終了後，地方衛生研究所で行う他の検査に活用できないか模索しているところである.

一方， iSeq100 については，SARS-CoV-2 以外のウイルスや細菌等のゲノム解析についても活用できると考えられ，現在様々な検討を行っているところである.

謝　辞

今回の COVID-19 検査に対応いただいた各保健所および各医療機関，検査委託先各検査機関，県庁各課，当所各部の皆様に深謝いたします.

文　献

1） 浦本雄大　他：岐阜県保健環境研究所おける新型コロナウイルス感染症の検査対応，岐阜県保健環境研究所報，29，6-10，2021

2） 厚生労働省健康局結核感染症課長：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），健感発 0205 第 4 号，令和 3 年 2 月 5 日　令和 3 年 5 月 7 日一部改正

3） 糸川健太郎 他：新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編

4） Leigh, JW, Bryant D (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. Methods Ecol Evol 6(9):1110–1116.

5） Bandelt H, Forster P, Röhl A (1999). Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Mol Biol Evol 16(1):37–48.

6） 厚生労働省健康局結核感染症課長：新型コロナウイルス感染症の 5 類感染症移行後に備えた患者の発生動向等の把握の準備について（依頼），健感発 0302 第 1 号，令和 5 年 3 月 2 日　令和 5 年 4 月 27 日一改正

7） 厚生労働省健康局結核感染症課長：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株 PCR 検査について（要請），健感発 0205 第 4 号，令和 3 年 2 月 5 日　令和 5 年 4 月 27 日一部改正

COVID-19 tests in Gifu Prefecture from 2021 to 2024

Yohei SATO, Tsuyoshi KUZUGUCHI, Masahiro NISHIOKA, Yuka YASUDA, Makiko NODA, Tomohiro YAMAGUCHI,
Ayako FURUTA, Chika ADACHI, Takuya MIZUNO, Eri IWAMA, Kiyoshi MATSUMOTO, Yuta URAMOTO, Katsuo KOSHI*, Noriko KOIKE**, Kumiko KIRII***, Takatoshi SUZUKI****,
Yoshihiko KAMEYAMA*****

Gifu Prefectural Research Institute for Health and Environmental Sciences:
1-1, Naka-fudogaoka, Kakamigahara, Gifu 504-0838, Japan
**Hida Meat Inspection Office: 17-1, Maehara, Takayama, Gifu 506-0048, Japan*
***Kamo Region Public Health Center:*
Kamo General Governmnt Building, 2610-1, Shimokobi, Kobi, Minokamo, Gifu 505-8508, Japan
****Hida Region Public Health Center:*
Hida General Government Building,7-468, Kamiokamoto, Takayama, Gifu 506-8688, Japan
*****Eastern Regional Waterworks Office:2190-12, Kamado, Mizunami, Gifu 509-6472, Japan*
******Gifu Region Public Health Center Motosu Yamagata Center:5-14-53, Yabutaminami, Gifu, Gifu 500-8384, Japan*