

京都府における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の検査状況と SARS-CoV-2陽性例の疫学的特徴 (第3報)

酒井 友里 藤本 恭史 小寺 明 河原 佳幸 岩崎 里菜 浅井 紀夫

Surveillance of Novel Coronavirus Disease-2019 (COVID-19) and Epidemiological Characteristics of SARS-CoV-2 Positive Cases in Kyoto (3rd Report)

Yuri SAKAI Yasushi FUJIMOTO Akira KOTERA
Yoshiyuki KAWAHARA Rina IWASAKI Norio ASAI

要 旨

COVID-19の感染状況を把握し感染拡大を防止するため、京都府では当所及び中丹西保健所にてそれぞれ2020年2月及び2020年5月からリアルタイムRT-PCR法を用いたSARS-CoV-2検査を実施してきた。リアルタイムRT-PCR法は検出感度には優れるが、操作が煩雑で検査時間に長時間を要し、一日あたりの検査数が限られる。これを解決するため、ルミパルスシステム(富士レジオ株式会社)を用いた抗原定量検査法の導入を検討し、リアルタイムRT-PCR法にて検査を行った399検体についてルミパルスシステムによる再評価を行い、その妥当性を検証した。その結果、感染研法にて陽性になった89検体のうち、抗原定量検査によって陽性となった検体は61検体(69%)、再検査となった検体は15検体(17%)、陰性となった検体は13検体(14%)あった。抗原定量検査で陰性となった検体はすべて感染研法によるCt値が36より大きな検体であり、感染性を有していないと推察され、専門家の意見を踏まえて運用上問題はないと判断した。2021年4月よりルミパルスシステムによる検査を開始、京都府におけるSARS-CoV-2検査の主体となった。しかし、鼻咽頭ぬぐい液で高い再検査率を示し、感染拡大の第六波では鼻咽頭ぬぐい液による搬入が増加したことから、リアルタイムRT-PCR法による検査も並行して実施した。本報では2021年4月1日から2022年3月31日の期間に当所及び中丹西保健所に搬入され検査を実施した合計35,275検体(外部委託検査を含む)について被検者の属性ごとに分類し、検体数や陽性率等それぞれの流行の波で観察された傾向について解析を行った。その結果、第四波及び第五波では全体陽性率や検体の搬入地域、地域ごとの陽性率、被検者の年齢等に同様の傾向が観察されたのに対し、第六波では第四波及び第五波とは異なる傾向を示した。第六波では陽性者の顕著な増加により、検査対象者を健康上リスクの大きな集団に限定したため、京都府の行政検査の結果のみから流行の全体像を把握するのは困難であり、今後の疫学情報の収集方法に課題を呈するところとなった。

キーワード：新型コロナウイルス、リアルタイムRT-PCR法、抗原定量検査
Keyword：SARS-CoV-2, Real-time RT-PCR, Quantitative antigen test

はじめに

2019年12月に中華人民共和国湖北省武漢市で発生した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、全世界でパンデミックを引き起こした。わが国でも2020年1月16日に初めての患者が確認されたのち、今日に至るまで莫大な数の感染者が発生し、公衆衛生上・経済上、甚大な被害をもたらしている。COVID-19の感染状況を把握し、感染拡大を防止するため、京都府では当所及び中丹西保健所においてリアルタイムRT-PCR法による検査体制を構築し、令和元年度(2020年2月8日から2020年3月31日)には合計719検体、令和2年度(2020年4月1日から2021年3月31日)には合計19,563検体についてCOVID-19の原因ウイルスであるSARS-CoV-2(Severe Acute Respiratory Syndrome Corona Virus 2)の病原体検査を行ってきた^{1,2)}。

SARS-CoV-2病原体検査では、SARS-CoV-2の特異的な遺

伝子配列を増幅し、これを検出するリアルタイムRT-PCR法が最も検出感度に優れ、現在主流となっている。一方で、検査時間が長時間にわたり、熟練した技術を必要とする。そこで流行の長期化により応援職員の確保等も困難になる中、簡便かつ迅速に検査を行うためルミパルスシステム(富士レジオ株式会社)による抗原定量検査の導入を検討した。本システムでは化学発光酵素免疫測定法によりSARS-CoV-2のヌクレオカプシドタンパク質を抗原とし、これに酵素標識抗体を結合させて基質と反応させることにより得られる発光量を測定して検体中の抗原量を定量することができる³⁾。専用の自動分析装置を用いることで30分~1時間程度で測定ができるため、空港検疫所における入国者検査など迅速性を要する現場で幅広く使用されている(<https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000996096.pdf>)。リアルタイムRT-PCR法により検査を行った検体をルミパルスシステムにて再評価し、本システムの妥当性を検証したのでこの結果を報告する。

本報の調査期間である2021年4月1日から2022年3月31日にはSARS-CoV-2変異株の出現に伴って3回の流行の波(第四波、第五波及び第六波)が観察された。そこで、当所及び中丹西

(令和5年1月23日受理)

保健所に搬入され検査を実施した合計35,275検体について、被検者の属性ごとに分類し、検体数や陽性率等それぞれの流行の波で観察された傾向について解析を行った結果を併せて報告する。

材料及び方法

1. 材料

2021年4月1日から2021年3月31日までに当所に搬入された27,008検体、及び中丹西保健所に搬入された8,267検体の合計35,275検体を検査対象とした。検体種別は鼻咽頭ぬぐい液又は唾液とした。

2. 方法

2-1. リアルタイムRT-PCR法によるSARS-CoV-2検査

既報^{1,2)}と同様に国立感染症研究所が公開する病原体検出マニュアル (<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV20200319.pdf>) に記載の方法に従いリアルタイムRT-PCR法を行った(以下感染研法とする)。感染研法の他に、RNA抽出の不要なAmpdirect™ 2019-nCoV検出キット(株式会社島津製作所製)を用いて、付属の説明書に従い検査を行った。

2-2. 抗原定量によるSARS-CoV-2検査

SARS-CoV-2抗原定量キット「ルミパルスSARS-CoV-2 Ag免疫反応カートリッジ」を用い、全自動化学発光酵素免疫測定システム「ルミパルスG1200 plus」(共に富士レビオ株式会社)にて検査を行った。鼻咽頭検体は振盪混和した後、3,000×gで5分間遠心を行い、上清を回収した。唾液検体はリン酸緩衝生理食塩水で2倍希釈した後、3,000×gで5分間遠心を行い、上清を回収した。各検体より250~500 µLを検査に供した。結果判定はメーカーの添付文書により提示されたカットオフ値を用い、鼻咽頭ぬぐい液については1.0 pg/mL未満を陰性、1.0以上10.0 pg/mL未満を再検査、10.0 pg/mL以上を陽性とした。同様に唾液については0.67 pg/mL未満を陰性、0.67以上4.0 pg/mL未満を再検査、4.0 pg/mL以上を陽性とした。再検査となった検体はリアルタイムRT-PCR法により検査を行い、最終的な判定を行った。

結果及び考察

1. ルミパルスシステムの妥当性検証

感染研法にてSARS-CoV-2検査を行った鼻咽頭ぬぐい液(陽性44検体、陰性197検体)及び唾液(陽性45検体、陰性113検体)の合計399検体について、抗原定量検査を行った結果を表1に示す。感染研法陽性-抗原定量検査陽性が61検体(69%)、感染研法陽性-抗原定量検査再検査が15検体(17%)、感染研法陽性-抗原定量検査陰性が13検体(14%)であった。抗原定量検査で陽性となった検体の感染研法によるCt(Cycle Threshold)値はCt値<31で、再検査となった検体は31<Ct値<36、陰性となった検体はすべてCt値が36より高かった。検

体が有するウイルスの感染性の評価の一助として培養細胞を用いたウイルスの分離が行われている。ウイルスCt値とウイルス分離率には相関が示されており、ウイルス分離が可能となるCt値は34以下であることがLa Scola et al.によって報告されている⁴⁾。また、Young et al.はCt値が30より高い検体ではウイルスが分離されなかったことを報告している⁵⁾。Ct値が36より高い検体は抗原定量検査によって陰性と判定されたが、実際には感染性を有していない可能性が高く、行政検査としての判定には問題がないと判断される。

また、感染研法にて陰性と判定された検体のうち抗原定量検査によって陽性と判定された検体はなかったことから、擬陽性が検出される可能性も極めて低いと考えられる。これらのことから本府の感染症対策専門家の意見を踏まえて当所及び中丹西保健所において抗原定量検査が行政検査として導入されることとなった。

表1. 感染研法と抗原定量検査の結果比較

感染研法結果	抗原定量検査結果		
	陽性	判定保留	陰性
陽性 (89検体)	61 (69%)	15 (17%)	13 (14%)
陰性 (310検体)	0 (0%)	4 (1%)	306 (99%)
合計 (399検体)	61	19	319

2. 各種検査法による検体数の推移

2021年4月から2022年3月までに当所及び中丹西保健所に搬入され、SARS-CoV-2検査を実施した検体(外部委託検査を含まない)について検査方法によって分類し、月ごとの検体数の推移を示した(図1)。抗原定量検査に供した検体数は全体の検査数にほぼ相関した。リアルタイムRT-PCR法による検査数は2021年4月には938検体実施したが、その後減少し7月から8月にかけて起こった第五波の検体数総数の上昇に相関しなかった。一方で、第六波に入るとリアルタイムRT-PCR法による検査数が増加し3月には991検体実施した。続いて、抗原定量検査における検体種別(唾液、鼻咽頭ぬぐい液)による再検査率を表2に示す。当所での検査の結果、鼻咽頭ぬぐい液での再検査率が唾液に比較して高かった。検体の前処理として0.20 µmのフィルター濾過処理を行うと再検査率が減少したため、鼻咽頭ぬぐい液に含まれる夾雑物が非特異的な反応を起こした可能性が予想されるが、原因物質の特定には至らなかった。各月の検体種別による検体数を図2に示す。2022年3月を除きいずれの月でも唾液検体が多く、第四波(4月~6月)や第五波(7月~10月)などの流行期には唾液検体は鼻咽頭ぬぐい液検体の約2倍の搬入があった。しかし、第六波(12月~3月)では高齢者施設等でのクラスター疑い事例が相次ぎ、自力での検体採取が困難な者の検体が増加したため、第四波及び第五波に比較して鼻咽頭ぬぐい液検体の割合が増加した。鼻咽頭ぬぐい液は再検査率が高いため、1月から3月は抗原定量検査を行わず主にリアルタイムRT-PCR法により検査を行った。本年度ではそれぞれの検査法のメリット及びデメリットを考慮しながら適切に検査方法を選択し、効率よく検査を行う体制を整えた。

3. SARS-CoV-2検査の検体数及び陽性率の推移

3-1. 月別検体数及び陽性率の推移

当所及び中丹西保健所に搬入された月別検体数（外部委託検査を含む陽性数及び陰性数）及び陽性率の推移を図3に示す。2021年4月の第四波の始まりから6月の終息にかけて検体数及び陽性率は減少した。7月に入ると第五波の影響を受け検体数と陽性率はともに上昇し、ピークとなる8月には5,000検体を超える検体が搬入された。第五波の終息により10月と11月には検体数は顕著に減少したが、12月にオミクロン株の流入による第六波が始まると搬入検体は大幅に増加した。ピークとなる2月には5,000検体を超える検体数となり、陽性率も過去最高の14.8%に達した。8月と2月ともに検体数は同程度であったが、8月の陽性率は約8.3%であり、2月には新規陽性者数の急激な増加による検査数の頭打ちが起こっていたことが示唆される。

3-2. 地域別の検体数及び陽性率の推移

府内の各地域（京都市を除く）における検体数の推移を月別に示した（図4）。4月から11月にかけては府南部地域（乙訓、山城北、山城南、南丹保健所管内）の検体数が平均して75%を占めていた。12月にはオミクロン株の国外からの流入を阻止するため、帰国者を対象とした検査が強化されたことから一時的に「その他」の割合が上昇した。1月以降では北部地域

（中丹西、中丹東、丹後保健所管内）の検体数が南部地域を上回り、60%以上を占めた。第六波では新規陽性者数の急激な増加により保健所での業務がひっ迫し、人口の多い南部地域ではすべての陽性者の行動履歴等の把握が不可能となったことによる濃厚接触者調査の中止が原因と考えられる。南部及び北部地域における陽性率の推移を図5に示す。4月から9月にかけて、南部地域の方が陽性率は高く推移していたが、10月以降では北部地域の陽性率が南部地域を上回る月があり、陽性率に関しても第六波では第四波及び第五波と比べて異なる傾向が見られた。

3-3. 検体属性ごとの検体数及び陽性率の推移

検体の属性による動向を明らかにするため、症状のある患者検体（「疑似症検体」）、家族等の比較的小規模なコミュニティ間での濃厚接触者検体（「家族等検体」）及び学校・医療・介護施設等における大規模なクラスター発生が疑われる際のス

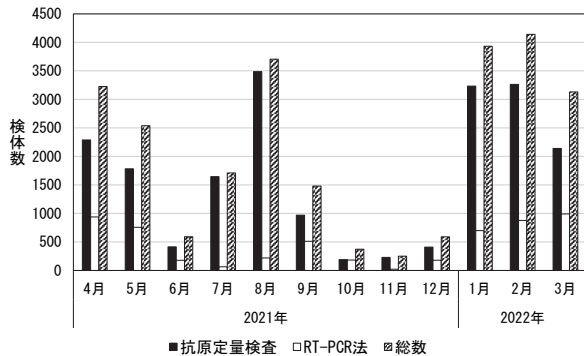


図1. 各SARS-CoV-2検査法による検体数の月別推移

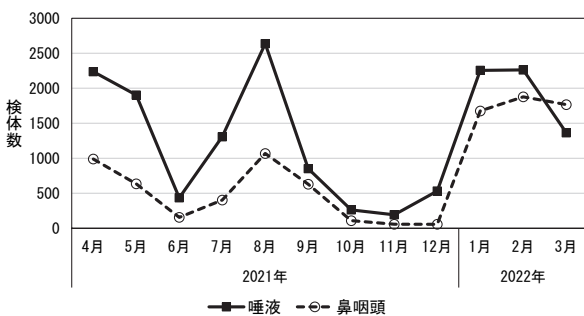


図2. 検体種別による検体数の月別推移

表2. 抗原定量検査における検体種別の再検査率

	保留率 (%)
唾液	2.50
鼻咽頭ぬぐい液	9.96

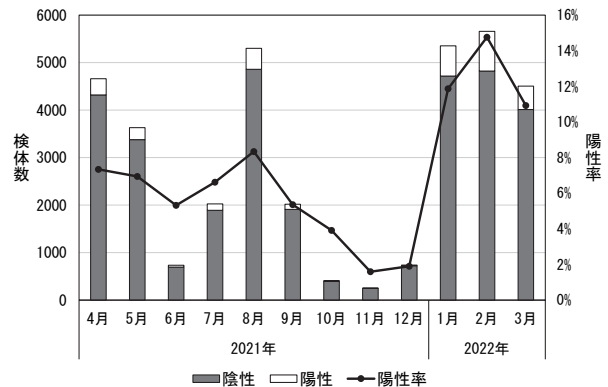


図3. SARS-CoV-2検査検体数及び陽性率の月別推移

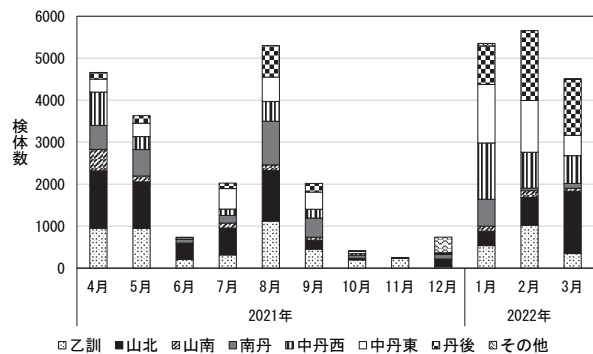


図4. 府内各地域における検体数の月別推移

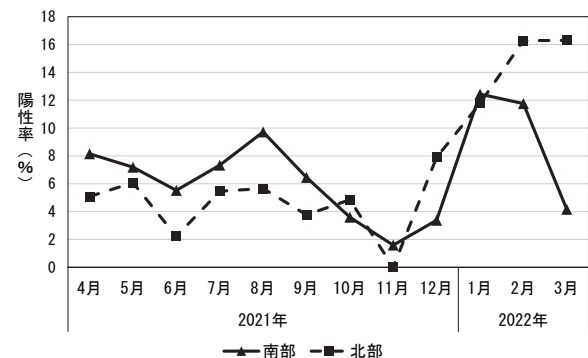


図5. 南部及び北部地域における陽性率の月別推移

クリーニング検体（「クラスター疑い検体」）の3種類に分類し、月ごとの検体数及び陽性率を算出した（図6）。疑似症検体の検体数は全体を通して1%に満たず、前報²⁾にも述べたとおり医療機関や民間検査機関等での受診・検査体制が整備されたことにより有症状者は保健所を通さず検査を受けることが容易になったことによると推察される。「家族等検体」の検体数は4月から10月までは「クラスター疑い検体」の検体数より多かったが、11月以降では「クラスター疑い検体」が多くなった。陽性率に関しては、調査期間を通して常に「家族等検体」が「クラスター疑い検体」を上回っており、マスクを外して長時間濃厚接触する傾向が強い状況の方が感染が広がりやすいことを示す結果となった。

検査対象者の年齢による傾向を明らかにするため、検体を20歳ごとに区分して検体数を示した（図7）。4月から12月にかけては59歳までの検体数が全体の約80%を占め、60歳以上の高齢者の検体数は20%に満たなかったのに対し、1月ごろから高齢者の検体数が徐々に増加し3月には全体の30%以上を占めた。検体の属性を比較するため、年齢ごとに「疑似症検体」「家族等検体」「クラスター疑い検体」に検体を分類した（図8）。80歳以上の検体では「クラスター疑い検体」が約8割を占め、他の世代に比べ多かった。「家族等検体」及び「クラスター疑い検体」での年代ごとの陽性率の推移を図9に示した（「疑似症検体」は検体数が少なく算出不可となった）。「家族等検体」では検体数が少なくばらつきが大きかった11月及び12月を除いて各年代の陽性率に大きな差異は生じなかった。一方、「ク

ラスター疑い検体」では12月までは年代ごとに明らかな陽性率の差異はみられなかったが、1月及び2月では60歳以上の高齢者で陽性率が高くなる傾向があった。以上の結果を総合すると、第六波では高齢者施設等におけるクラスター疑い事例での検体搬入が多く、かつ陽性率が高く、高齢者間で感染が広がりやすい状況にあったことが示唆される。

まとめ

検査陽性率や検体の搬入される地域、年齢や属性について第四波と第五波においては顕著な差異はみられなかったが、第六波においては第四波、第五波と異なっていた。第四波ではアルファ株、第五波ではデルタ株、第六波ではオミクロン株がそれぞれの流行の主体となった。これらの変異株は宿主細胞への感染に必要となるウイルス表面のスパイクタンパク質に変異を有し、より強い感染力と免疫逃避能力を持つとされている。オミクロン株はスパイクタンパク質に30カ所以上もの変異を有しており、感染力の顕著な上昇や武漢株を標的とした既存のワクチン効果の減少が報告されている⁶⁾。第六

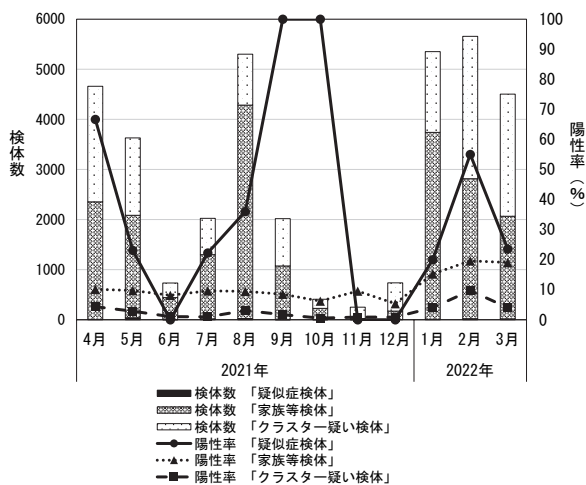


図6. 検体属性による検体数及び陽性率の月別推移

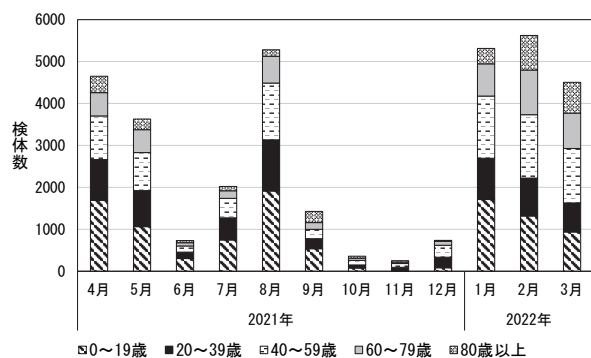


図7. 年代別検体数の月別推移

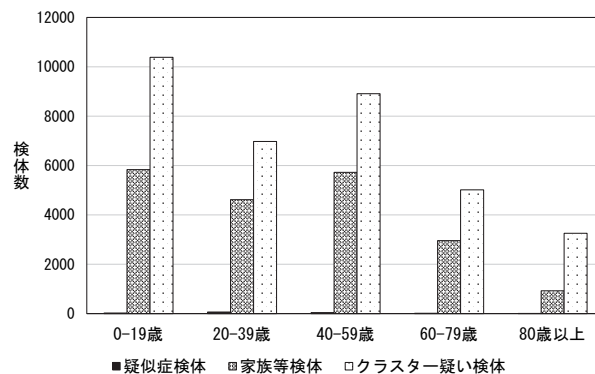


図8. 年代及び属性別の検体数

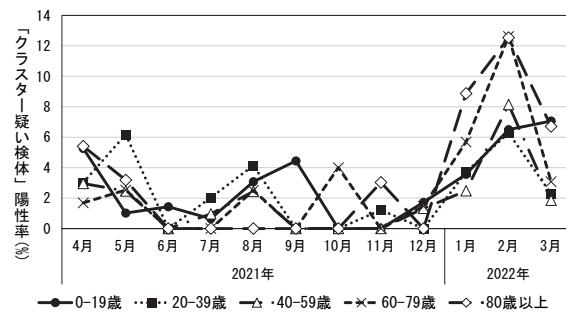
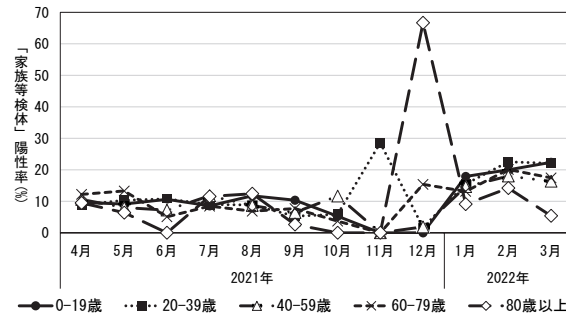


図9. 年代及び属性別陽性率の月別推移

波での疫学的な差異がみられた理由として、上に述べたようなウイルスの性質の変化によるものが可能性の一つとして推察される。

しかし、第六波では感染者の爆発的な増加により検査対象を限定し、高齢者施設等に入所している重症化リスクの高い者を重点的に検査したため京都府の行政検査の結果のみから流行の全体像を把握するのは困難となった。そのため、今後民間検査機関等からの検査疫学情報を統合し京都府内の動向について解析していくことが課題として浮き彫りになった。

謝辞

本稿をまとめるにあたり、検査にご協力いただいた中丹西保健所食肉・試験検査課及び本研究所の理化学課、大気課、水質・環境課の皆様には感謝いたします。

参考文献

- 1) 永田瑞絵, 藤本恭史, 長谷川和宏, 岩崎里菜, 藤本直樹. 2020. 京都府における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のリアルタイムPCR検査状況とSARS-CoV-2陽性例の疫学的特徴 (第1報). 京都府保健環境研究所年報, 65, 1-5.
- 2) 河原佳幸, 藤本恭史, 小寺明, 岩崎里菜, 永田瑞絵, 浅井紀夫. 2021. 京都府における新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) のリアルタイムPCR検査状況とSARS-CoV-2陽性例の疫学的特徴 (第2報). 京都府保健環境研究所年報, 66, 1-7.
- 3) Lippi G., Henry B.M., K., Plebani M. 2022. Fujirebio Lumipulse SARS-CoV-2 antigen immunoassay: pooled analysis of diagnostic accuracy. *Diagnosis*, 9(2), 149-156.
- 4) La Scola B., Le Bideau M., Andreani J., Hoang V.T., Grimaldier C., Colson P., Gautret P., Raoult D. 2020. Viral RNA load as determined by cell culture as a management tool for discharge of SARS-CoV-2 patients from infectious disease wards. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 39(6): 1059-1061.
- 5) Young B.E., Ong S.W.X., Ng L.F.P., Anderson D.E., Chia W.N., Chia P.Y., Ang L.W., Mak T.M., Kalimuddin S., Chai L.Y.A., Pada S., Tan S.Y., Sun L., Parthasarathy P., Fong S.W., Chan Y.H., Tan C.W., Lee B., Röttschke O., Ding Y., Tambyah P., Low J.G.H., Cui L., Barkham T., Lin R.T.P., Leo Y.S., Renia L., Wang L.F. Viral Dynamics and Immune Correlates of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Severity. *Clin. Infect. Dis.* 73(9): e2932-e2942.
- 6) Thekur V., Ratho R.K. 2021.OMICRON (B.1.1.529): A new SARS-CoV-2 variant of concern mounting worldwide fear. *J. Med. Virol.* 94(5):1821-1824.