

新型コロナウイルス感染症 *Up-to-date* 23

POCT型遺伝子検査の進歩と活用について

Progress and utilization of POCT molecular testing for infectious diseases

の たけ しげ ゆき
野 竹 重 幸
Shigeyuki NOTAKE

はじめに

2019年12月頃より中国湖北省武漢市を起点として瞬く間に世界中に広がり、パンデミックとなった新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、わが国においては2023年5月8日より指定感染症から5類感染症定点把握となった。2020年2月頃より1か月程当院に入院していたダイヤモンドプリンセス号の乗組員1名の当時の状況を鮮明に記憶している。感染症内科医が定期的に診察し、採取された検体 (鼻咽頭拭い液) は茨城県衛生研究所に送付していた。当時は、国立感染症研究所が主体となり各都道府県の衛生研究所が新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の遺伝子検査を担当し、その後検査センターや病院でも検査ができるようになっていった。当院の新型コロナウイルス遺伝子検査は2020年4月以降から始まり、現在に至っているが、現場で遺伝子検査に従事したわれわれ検査技師にとっては、変異株の変遷も印象深い。武漢株からアルファ株 (英国株) へ、そしてデルタ株 (インド株) へ、感染力が大幅に拡大し病原性が低下したとされるオミクロン株へと変遷し、それに伴い検査件数も陽性者数も増加した。オミクロン株の流行時には当院の1日の陽性者が100名を超える日もあり、現場ではこの先どうなるのか不安を覚えたものである。2020年当初はわが国の検査件数が少ないことが報道されていたが、現在では病院は元より多くのクリニックでも遺伝子検査が実施される状況となった。以前のクリニックでは抗原検査が中心であり、新型コロナウイルスの感染拡大によって感染症遺伝子

検査地図が塗り替えられたとも言える。

1990年代中盤に登場した遺伝子検査装置 cobas Amplicor (ロシュ) は今までの検査の概念を打ち破るもので、結核の診断 (抗酸菌検査) においてはターニングポイントになった¹⁾。抗酸菌検査における結核菌の同定は今から30年以上前は発育したコロニーを用いて行っていた。ナイアシン産生試験から DDH 法 (DNA-DNA hybridization) や、アキュプローブ法 (DNA-RNA hybridization) へと同定方法が変遷したが、検体から直接結核の診断が可能な遺伝子検査の登場は画期的なものであった。しかしながら、当時はこの解析装置を導入できる施設は検査センター、結核療養所や病床数の多い病院などに限定され、また検査に4~5時間を要するため当日に結果を報告することは厳しい状況で、検査センターに外注している場合には、集荷などを考慮すると、報告が翌日以降になることが多かった。検出感度が高く診断を確定するものではあるが、抗原検査に比べると時間が掛かるためリアルタイムでの運用が困難であった。一方、現在の感染症遺伝子検査の多くは検査時間が1時間程度のもので多く、最速のものでは15分程で、抗原検査並みである。感染症遺伝子検査が POCT (point of care testing) の範疇に入る時代となった。

本稿では感染症の診断・治療に活用される遺伝子検査を感染症遺伝子検査と定義し、当院の新型コロナウイルス遺伝子検査の運用を中心に、他の病原体も含めた感染症遺伝子検査の運用も紹介し、今後の感染症遺伝子検査について皆様と一考できれば幸いである。

I. POCTとPOCT 型遺伝子検査 (POCT型感染症遺伝子検査)

POCT または POC (point of care) とは臨床現場即時検査ともいわれ、日本医療検査科学会 (旧日本臨床検査自動化学会) の記述では、「POCTとは、被検者の傍らで医療従事者 (医師や看護師等) 自らが行う簡便な検査である。医療従事者が検査の必要性を決定してから、その結果によって行動するまでの時間の短縮および被験者が検査を身近に感ずるといった利点を活かして、迅速かつ適切な診療・看護、疾病の予防、健康増進等に寄与し、ひいては医療の質、被検者の QOL および満足度の向上に資する検査である。」と定義されている²⁾。患者の傍らで行う簡便な検査ではあるが、迅速かつ適切に診断等に寄与し、更には患者の QOL や満足度の向上に繋がらなくてはならない検査といえよう。また ISO にも POCT に関する規格があり規格番号は 22870 であったが、現在は 2022 年 12 月に発行された 15189 第 4 版に組み込まれた。その内容は Point-of-Care Testing (POCT) – Requirements for quality and competence によれば、POCT の同義語として near-patient testing という言葉が示されており、定義としては「testing that is performed near or at patient with the result leading to possible change in the care of the patient.」となっている。患者の近くまたは患者のそばで行われる検査で、その結果が患者のケアを変更する可能性に繋がるものとされる^{3~5)}。

POCT の具体的な検査としては、尿沈渣を含む尿

一般検査、血算、生化学検査や免疫検査の多くの項目、検体検査全般が含まれると考えられる。感染症検査においては、以前はグラム染色や抗原検査が該当していたが、現在では感染症遺伝子検査の多くが POCT の範疇に含まれる。そのため POCT 型遺伝子検査 (POCT 型感染症遺伝子検査) と呼称されている。迅速に検査結果が判明するため外来患者にも対応可能で、(感染症) 診断支援 (diagnostic stewardship, DS) に貢献でき、また主要な薬剤耐性遺伝子の検出が可能な試薬においては抗菌薬の選択に繋がり、抗菌薬適正使用支援 (antimicrobial stewardship, AS) に貢献可能である。

感染症遺伝子検査の種類としては、大きく 3 つに大別できると考えられる。新型コロナウイルスなどターゲットが単項目のもの、抗酸菌遺伝子検査で行われている結核菌群と MAC (*Mycobacterium avium* complex) のようにターゲットが 2~3 項目のもの、主要な病原微生物や薬剤耐性遺伝子など多項目をターゲットにしているマルチプレックスタイプである (表 1)。

II. 当院および当院微生物検査室の紹介

当院は茨城県県南地区における 3 次救急を担保、筑波大学附属病院に隣接し救命救急センターを有する診療科 27 科、病床数 453 床の急性期病院である。屋上にはヘリポートを有する。微生物検査室は 2016 年 4 月より稼働し、一般細菌検査、抗酸菌検査 (集菌蛍光法、PCR 検査、液体培地 MGIT に接

表 1 ターゲット数による感染症遺伝子検査の種類

ターゲット数	ターゲットまたは検体	遺伝子解析装置および専用試薬 (試薬の組み合わせを含む) の例
1項目 (単項目)	SARS-CoV-2	GENECUBE + ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2 GeneXpert + Xpert Xpress SARS-CoV-2 「セフィエド」
2~3項目	SARS-CoV-2 + Influenza A/B	cobas Liat + cobas Liat SARS-CoV-2 & Flu A/B GENECUBE + ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2 + ジーンキューブ FluA/B
	SARS-CoV-2 + Influenza A/B + RSV*1	Gene Xpert + Xpert Xpress CoV-2/Flu/RSV plus 「セフィエド」 GENECUBE + ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2/RSV + ジーンキューブ FluA/B
	結核菌群 + MAC*2	コバス TaqMan48 + コバス TaqMan MTB + コバス TaqMan MAI GENECUBE + ジーンキューブ MTB + ジーンキューブ MAI
多項目	血液培養陽性ボトル	FilmArray + BCID2 panel Verigene + BC-GP または BC-GN カートリッジ
	下痢便	FilmArray + GI panel Verigene + VERIGENE Enteric Pathogens Test

*1Respiratory syncytial virus *2MAC: *Mycobacterium avium* complex

種までを実施し、培養、同定・感受性試験は検査センターに委託している)、*Clostridioides difficile*の抗原・毒度検査、ノロウイルス、ロタウイルスの抗原検査などの特殊検査を実施している。表2に検体数の推移を、表3に抗酸菌検査における抗酸菌PCR(結核菌群+MAC)の検査件数を示す。

Ⅲ. 当院所有の遺伝子解析装置と使用方法

当院所有の遺伝子解析装置と使用方法を説明する。遺伝子解析装置ではないが、新型コロナウイルス遺伝子検査のための全自動核酸抽出装置magLEAD6gC(プレジジョン・システム・サイエンス)を4台所有している。新型コロナウイルス遺伝子検査としては、Light Cycler 96(ロシュ)にて、当時ゼロコロナ政策を講じていた中国への渡航者(中国政府がリアルタイムRT-PCR法での検査結果でないと認めなかったため)のためにドライブスルー検査にて対応していたが、途中からは使用されなくなった。新型コロナウイルス遺伝子検査の主体は、magLEAD6gCにて検体から核酸の抽出・精製を行い、抽出液をGENECUBE(東洋紡)3台でのアッセイに移行、再検査やCt値(cycle threshold value)測定のためのバックアップ用としてGeneXpert(ベックマン・コールター)を用いた。cobas Liat(ロシュ)2台は検体検査室に設置され、急な手術や画像診断等、急を要する患者のための新型コロナウイルスのスクリーニング検査、緊急検査として運用、24時間体制、日勤帯は検体検査担当者が、夜間は当直者が、休日は日直者が対応し現在に至っている。

新型コロナウイルス遺伝子検査以外では、

表2 微生物検査室の検体数

Year	2017	2018	2019	2020	2021	2022
一般	11540	10535	12108	11676	11356	11023
抗酸菌	1143	1235	1288	1041	1015	1040
特殊	519	470	573	544	606	482
合計	13202	12240	13969	13261	12977	12545

表3 抗酸菌検査における抗酸菌PCRの件数

Year	2017	2018	2019	2020	2021	2022
抗酸菌	1143	1235	1288	1041	1015	1040
抗酸菌PCR	604	664	692	580	582	669
割合(%)	52.8	53.8	53.7	55.7	57.3	64.3

Verigeneシステム(日立ハイテック)を使用し血液培養陽性検体を用いた検査を実施していたが、現在はFilmArrayシステム(バイオメリュー・ジャパン)にて実施しているため、現場スペースの関係上倉庫に保管されている。FilmArrayには6つのパネルがラインアップされているが、肺炎パネルと関節感染症パネルを除く、呼吸器パネル2.1、血液培養パネル2、消化管パネルおよび髄膜炎・脳炎パネルの4パネルを所有し、感染症内科医の指示に基づき使用している。血液培養が陽性でグラム染色から酵母様真菌が推定される際には、全陽性検体をFilmArray血液培養パネル2にて菌種の同定を試みている。このパネルはカンジダ6菌種、クリプトコッカス2菌種の計8菌種の酵母用真菌の同定が可能で、PK-PD(pharmacokinetics, pharmacodynamics)からは菌種により抗真菌薬のレスポンスが異なるため、菌種同定が要望されている⁶⁾。その他には、2016年からGENECUBEを用いて以下の遺伝子検査を実施している。*Mycoplasma pneumoniae*、抗酸菌(結核菌群+MAC)および血液培養陽性時にブドウ球菌が推定される場合にはVerigeneやFilmArrayを使用せずに耐熱性ヌクレアーゼ遺伝子*nuc*(黄色ブドウ球菌鑑別用)およびメチシリン耐性遺伝子*mecA*の有無について血液培養陽性ボトルから直接検査を実施している。

Ⅳ. コロナ禍前の感染症遺伝子検査(2016年~2020年)

新型コロナウイルスの遺伝子検査が最大のルーチン業務になる以前の感染症遺伝子検査は、GENECUBEおよびジーンキューブ専用試薬を用いた*M. pneumoniae*、抗酸菌(結核菌群およびMAC)および血液培養陽性時のブドウ球菌が推定された際、すべてのブドウ球菌推定検体の*nuc*と*mecA*の有無についての検査であった。黄色ブドウ球菌の鑑別用として専用試薬のジーンキューブMRSAでは*nuc*が採用されているが、GeneXpertでは*spa*(Staphylococcal protein A)遺伝子が採用されている。ターゲットとジーンキューブ専用試薬を表4に示した。また、血液培養陽性検体において、ブドウ球菌以外の細菌が推定された場合には感染症内科医からの指示に基づき、グラム陰性菌が検出さ

表4 当院使用のジーンキューブ専用試薬
(新型コロナウイルス以外)

ターゲット	ジーンキューブ専用試薬名
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	ジーンキューブマイコプラズマ・ニューモニエ
抗酸菌 (結核菌群 + MAC ^{*1})	ジーンキューブ MTB ジーンキューブ MAI
<i>nuc</i> and <i>mecA</i> ^{*2}	ジーンキューブ MRSA

^{*1}*Mycobacterium avium* complex

^{*2}*nuc*: 耐熱性ヌクレアーゼ遺伝子, *mecA*: メチシリン耐性遺伝子

れた際は Verigene BC-GN カートリッジを、グラム陽性菌が検出された際は Verigene BC-GP カートリッジを用いて検査を実施し、主要な細菌と主な薬剤耐性遺伝子の検索を行った。

2016年はリオデジャネイロオリンピックが開催された年で、4年周期で流行が認められる事が多いためオリンピック肺炎(病)と呼ばれているマイコプラズマがわが国において流行した。表5に*M. pneumoniae*の遺伝子検査件数の年別推移を、また表6および図1に2016年5月から2018年3月ま

での月別検査件数、陽性数および陽性率を示した。2016年7月から2017年1月まで高い陽性率を維持している。2017年では6月と9月は2桁の陽性率を示したが、これ以外の陽性率は1桁であった。2016年から2017年初めにかけては当院のデータからもマイコプラズマの流行が伺える。国立感染症研究所が発行している週報 IDWR Japan 2016年の51週および52週のマイコプラズマのデータを図2に示した⁷⁾。

日本を含めたアジア諸国では*M. pneumoniae*のマクロライド耐性が問題となっている。マクロライドの耐性化には23S rRNAの構造変化に関する遺伝子変異が関与することが知られており、主なものとして23S rRNAドメインVの1塩基変異(点変異、point mutation)が知られている。2063番目のA(アデニン)がG(グアニン)に置き換わる変異がほとんどで、A2063Gと表記される⁸⁾。Tanakaらは2008年から2015年までの8年間に日本で分離された1,448株の23S rRNAドメインVの点変異を調査し

表5 *Mycoplasma pneumoniae* 遺伝子検査件数

Year	2016*	2017	2018	2019	2020	2021	2022
検査件数	1035	1001	791	851	546	223	197

*5月～

表6 *Mycoplasma pneumoniae* 遺伝子検査の月別検査件数、陽性数および陽性率 (2016-2018)

Year	2016*			2017												2018							
Month	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
検査件数	65	97	87	109	129	220	194	134	109	64	76	61	75	84	82	89	79	104	93	85	90	53	66
陽性数	13	15	23	46	50	72	83	52	26	6	5	5	3	10	9	8	12	5	9	7	4	1	2
陽性率(%)	20	15.5	26.4	42.2	38.8	32.7	42.8	38.8	23.9	9.4	6.6	8.2	4	11.9	11	9	15.2	4.8	9.7	8.2	4.4	1.9	3

*5月～

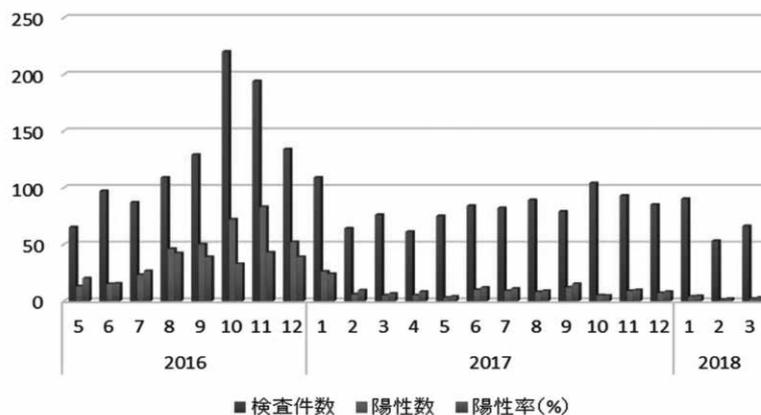


図1 *Mycoplasma pneumoniae* 遺伝子検査の月別検査件数、陽性数および陽性率 (2016-2018)

(図1は巻末にカラーで掲載しています)

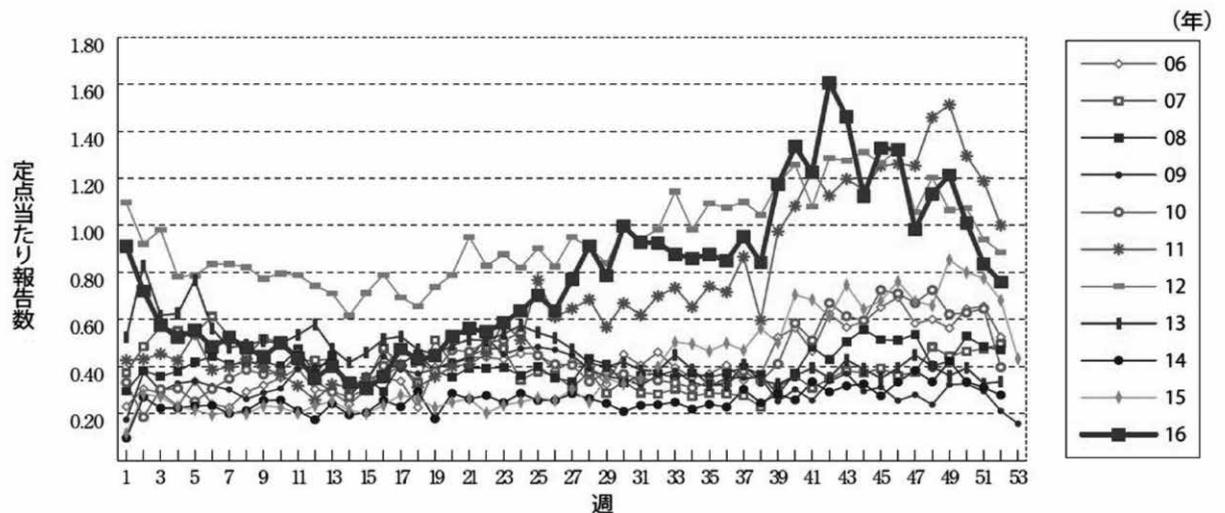


図2 マイコプラズマ肺炎の発生動向

出典:IDWR (Infectious Diseases Weekly Report Japan) 2016年第51週(12月19日～12月25日)、
第52週(12月26日～1月1日):通巻第18巻第51・52合併号より一部抜粋、転載

(図2は巻末にカラーで掲載しています)

た。点変異の認められた株は1,016株(70.2%)で、A2063Gが973株(95.8%)であったと報告している。その他の変異は、A2063C(シトシン)が3株(0.3%)、A2063T(チミン)が31株(3.1%)、A2064Gが6株(0.6%)、C2617Gが2株(0.2%)、C2617Tが1株(0.1%)であった⁹⁾。僅かではあるが、2617番目の変異も存在している。

GENECUBEの検出原理はPCRを行った後、Q(Quenching)プローブを用いた融解曲線解析を行うPCR-QProbe法である。検体中にターゲットが存在すると、放物線の陽性波形が形成されるが、野生株に比べると変異株の波形はピーク温度が低温域にシフトする。*M. pneumoniae*の場合は野生株のピーク温度がおおよそ57℃であるのに対し、変異株はおおよそ47℃で10℃程低い。川嶋らが当院のデータを解析し報告している。2016年9月26日から2017年3月31日までの期間に提出された832例の咽頭拭い液をGENECUBEで測定したところ、*M. pneumoniae*陽性は261例(31.4%)、陰性は571例であった。*M. pneumoniae*陽性例の内、検体抽出液の保管が可能であった217例を対象にダイレクトシーケンスによる23S rRNA遺伝子の変異解析を行った。シーケンス解析が可能であった173例の内、野生株であると確認された82例についてGENECUBEで得られた融解曲線の検出ピーク温度は $57.5 \pm 1.16^\circ\text{C}$ 、一方、変異株91例の検出ピーク温度は $47.8 \pm 1.85^\circ\text{C}$ であっ

た。91例の変異株はシーケンス解析の結果、A2063Gは90例(98.9%)、A2064Gは1例(1.1%)であった¹⁰⁾。この結果はTanakaらの報告と一致しており、わが国を含めた東アジア諸国においてはA2063Gが最も頻度の高い変異といえる。陽性173例の内、91例(52.6%)はマクロライド耐性株であった。ただし、GENECUBE検出系に使用されているQProbeの配列には2617位周辺の配列が含まれていないため、2617位が変異した*M. pneumoniae*は、GENECUBEでは野生型と判定される^{10,11)}。当院の検体では2617の変異は検出されなかったが、GENECUBEにおける*M. pneumoniae*検出系において、変異株は23S rRNAドメインVの変異が認められる株であり、主要なマクロライド耐性(A2063G、A2064等)に関わる変異として検出されるが、一部の変異株は野生株と判定されるため注意が必要である。わが国において、*M. pneumoniae*の検出と同時に23S rRNAドメインVの点変異の鑑別が可能な試薬は、GENECUBEの他にはSmart Geneおよび専用試薬のスマートジーンMyco(ミズホメディイ)があるが、GENECUBEと同様PCR-QProbe法を採用している。*M. pneumoniae*の陽性と同時に点変異の有無(変異株)を報告することによって、抗菌薬の適正使用に繋げることが可能である。

*M. pneumoniae*の検査所要時間(TAT, turnaround time)についても調査を行った。調査を行った際の

検査方法はピオキューブ法と言い、フロックスワブで採取された咽頭拭い液を抽出液に振り落とし、これを測定検体とした。遺伝子検査としての検査時間は約 50 分である。2016 年 5 月から 2016 年 11 月までの 901 検体を対象とした TAT は、電子カルテにおけるオーダーリングから結果報告までの時間とし集計、中央値として検査開始までは 41 分、結果報告までは 93 分であった。現在の GENECUBE での *M. pneumoniae* の検査方法はピオキューブ法ではなく、e スワブ(コパン)に採取された咽頭拭い液検体(200 μ L)と等量の抽出液をミックスし、15 秒間ボルテックスミキシングを行って核酸抽出をし、これを測定検体として検査を行うダイレクト法に変更されているため検査時間は約 30 分に短縮されている。

2018 年よりいわゆる迅速遺伝子加算 100 点が認められている。D023 に次の記載がある。「注 6、7、12 (百日咳菌核酸検出に限る。) 又は 13 (結核菌群核酸検出に限る。) に掲げる検査の結果について、検査実施日のうちに説明した上で文書により情報を提供した場合は、迅速微生物核酸同定・定量検査加算として、100 点を所定点数に加算する。」具体的には、マイコプラズマ、レジオネラ、百日咳菌および結核菌群の 4 つの病原体が該当する¹²⁾。当院も 2018 年より *M. pneumoniae* の遺伝子検査について加算請求を行っている。

V. 新型コロナウイルス遺伝子検査 (2020年~2023年5月7日)

ここからは 3 年間に渡る新型コロナウイルスの遺伝子検査について説明する。当院の遺伝子検査は 2020 年 4 月頃より実施された。国立感染症研究所で使用されたプライマーを用いたリアルタイム RT-PCR 法で Light Cycler 96 にて実施したのが最初である。その後検査の要望が相次ぎ、各メーカーが試薬を発売し始めたため、主検査を GENECUBE へと移行した。材料は鼻咽頭拭い液については UTM (Universal Transport Medium、コパン) に、唾液についてはストロー付きの唾液採取容器に採取された。提出された唾液検体には SPF (Sample Processing Fluid、日本ジェネティクス) を添加し、ボルテックスミキシングをした後、遠心をして上清を検査に供した。当時は指定感染症であったため、患者は入院

時に必ずスクリーニングが行われた。近隣クリニックや所轄保健所からの要望(濃厚接触者の検査が中心)もあり、病院屋根付き駐車場を利用したドライブスルー検査を実施した。医療スタッフがガウン・キャップを着用し、フェイスシールドを付けて待機、被検者や患者が車で来院し車に乗ったまま検体を採取、当日中に事務から結果が届くシステムであった。海外渡航目的(陰性証明書)での検査もドライブスルー検査に組み込んだ。特に中国は陰性証明書の結果はリアルタイム RT-PCR 法での検査結果でなければならなかったため、中国を含む海外渡航者はすべてリアルタイム RT-PCR 法、Light Cycler 96 にて実施した。その後、中国のゼロコロナ政策が終了したため、Light Cycler 96 は使用しなくなった。結果の集計については、1. cobas List を用いた緊急検査、2. 入院時の患者のスクリーニング、入院患者の発熱時の検査、有症状の職員および職員の家族の検査を院内検査として、3. ドライブスルー検査の 3 つに分けて集計した。2023 年の結果は 1 月から 4 月までの 4 か月間の集計とした。図 3 に当院の新型コロナウイルスおよび関連項目の遺伝子検査の概要を示した。

1. 緊急検査の集計結果

専用試薬は cobas Liat SARS-CoV-2 & Flu A/B、集計結果を表 7 に示した。新型コロナウイルスについては年毎に陽性率が増加した。一方、インフルエンザウイルスについては 2021 および 2022 年は陽性者が 1 名もおらず、マスクの着用、外出の控え、手洗いやうがいなどの感染対策の効果と思われた。2023 年は A 型が 26 名、B 型が 1 名の計 27 名が陽性(陽性率: 1.7%)となった。

2. 院内検査の集計結果

専用試薬はジーンキューブ HQ SARS-CoV-2、集計結果を表 8 に示した。医療スタッフが検体採取を行わなければならない鼻咽頭検体は 2021 年から減少し、患者や被検者自らが採取可能な唾液が検査の中心となった。陽性率は 2020、2021 年よりは 2022 および 2023 年の方が高かった。一番の高値を示したのは 2022 年の 7% であった。

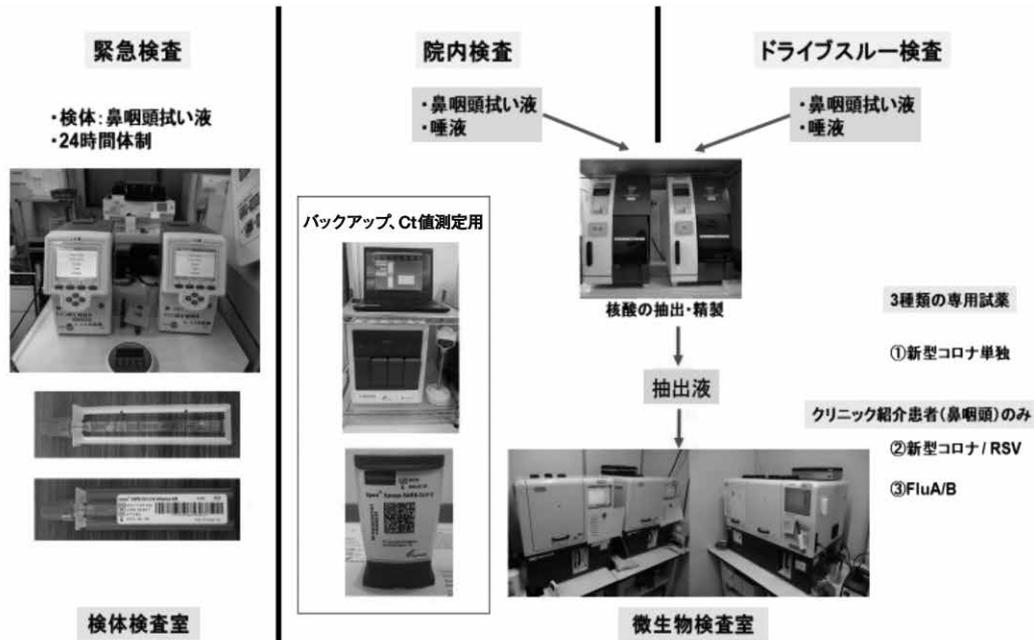


図3 当院の新型コロナウイルスおよび関連項目の遺伝子検査の概要

(図3は巻末にカラーで掲載しています)

表7 緊急検査の集計結果

Year	2021	2022	2023
SARS-CoV-2			
検査数	1653	4249	1577
陽性数	27	377	178
陽性率(%)	1.6	9.1	11.3
Influenza			
検査数	1653	4249	1577
陽性数	0	0	27(A:26, B:1)
陽性率(%)	0	0	1.7 (A:1.6, B:0.1)

表8 院内検査の集計結果

Year	2020	2021	2022	2023
鼻咽頭				
検査数	2131	3429	682	31
陽性数	50	91	38	2
陽性率(%)	2.3	2.7	5.6	6.5
唾液				
検査数	1500	7671	14034	3607
陽性数	0	3	999	195
陽性率(%)	0	0	7.1	5.4
鼻咽頭+唾液				
検査数	3631	11100	14716	3638
陽性数	50	94	1037	197
陽性率(%)	1.4	0.8	7.0	5.4

3. ドライブスルー検査の集計結果

鼻咽頭拭い液および唾液検体の新型コロナウイルスに加え、クリニックからの紹介患者に対しては、主治医が同時検査を希望する場合は2021年途中から鼻咽頭検体のみインフルエンザウイルスを追加、さらに2022年6月よりRSV (respiratory syncytial virus) も追加し、最大で3項目の同時アッセイを行った。表9にジーンキューブ専用試薬を、表10に集計結果を示した。インフルエンザウイルスおよび新型コロナウイルスとRSVの同時アッセイ試薬は、検体としては唾液が検査対象外であり、クリニックからの紹介患者は有症状患者が多いため上記の対応とした。患者や被検者の立場からすると、採取1回の検体にて複数項目が同時に検査できることは臨床的に有用である。

新型コロナウイルスについては鼻咽頭および唾液検体の2022年からの2年間の陽性率が高く、特に2022年の唾液検体の陽性率が5割に迫る勢いであった。高値の原因はオミクロン株の流行によるものと考えられた。

インフルエンザウイルスについては、緊急検査では2021年には陽性者が0名であったが、ドライブスルー検査でも同様に陽性者が0名であった。2022年は陽性率にすると1%にも満たないが、陽性者は44

表9 ドライブスルー検査で使用したジーンキューブ専用試薬

ターゲット	検体	試薬名	検査対象
SARS-CoV-2	鼻咽頭拭い液	ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2	保健所・クリニック
	唾液	ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2	保健所・クリニック
SARS-CoV-2 + RSV* + Influenza	鼻咽頭拭い液	ジーンキューブ HQ SARS-CoV-2/RSV ジーンキューブ FluA/B	クリニックのみ

*Respiratory syncytial virus

名であった。2023年の陽性者は273名であったが、A型が優位に多かった。2022年の44名と2023年の273名の計317名の内、新型コロナウイルスとの同時陽性者（2項目陽性者）は7名（2.2%）存在し、電子カルテによる調査では6名は過去に新型コロナウイルスの感染履歴があり、検体中の核酸断片を検出している可能性が示唆された。残りの1名については症状の増悪や罹患歴等については不明であった。

RSVについては、2022年は275名（3.6%）、2023年は8名（0.4%）が陽性となった。RSV感染者は周

知のとおり小児が優位に多いが、成人にも陽性者が存在した。表11に2年間の陽性者283名の年齢構成を示した。高齢者の範疇に入る60、70および80代にも陽性者が存在した。陽性者283名の内、新型コロナウイルスとの同時陽性者は36名（12.7%）であった。同時陽性者の年齢構成を表12に示した。10歳未満26名の内、姉妹が1組（2名）あり、家族内感染が疑われた。1名はドライブスルー検査以前にRSVに罹患しており、核酸断片を検出している可能性が示唆された。同時陽性36名中35名は医師によるメディカルチェックを受けているが、新型コロナウイルス感染症の重症度分類では全員軽症と判定された。また、新型コロナウイルス、インフルエンザウイルスおよびRSVの3項目同時陽性者は0名であった。

表10 ドライブスルー検査の集計結果

Year	2020	2021	2022	2023
鼻咽頭				
検査数	7829	23397	17488	2143
陽性数	336	1443	7027	699
陽性率(%)	4.3	6.2	40.2	32.6
唾液				
検査数	21	409	9688	339
陽性数	0	14	4767	161
陽性率(%)	0	3.4	49.2	47.5
鼻咽頭+唾液				
検査数	7850	23806	27176	2482
陽性数	336	1457	11794	860
陽性率(%)	4.3	6.1	43.4	34.6
Influenza				
検査数	-	3436	6815	1966
陽性	-	0	44(A:41, B:3)	273(A:267, B:6)
陽性率(%)	-	0	0.6(A:0.6, B:0)	13.9(A:13.6, B:0.3)
RSV				
検査数	-	-	7576	1999
陽性	-	-	275	8
陽性率(%)	-	-	3.6	0.4

表11 RSV陽性者の年齢構成

年代	陽性者(283名)	割合(%)
10歳未満	199	70.3
10代	16	5.7
20代	22	7.8
30代	12	4.2
40代	8	2.8
50代	7	2.5
60代	9	3.2
70代	8	2.8
80代	2	0.7

表12 SARS-CoV-2とRSV同時陽性者の年齢構成

年代	陽性者(36名)	割合(%)
10歳未満	26	72.2
10代	3	8.3
20代	4	11.1
30代	0	0
40代	1	2.8
50代	2	5.6

ドライブスルー検査における検査所要時間 (TAT) について調査を行った。TAT は微生物検査室への検体到着から結果報告までの時間として集計した。2022 年の 22,990 件、2023 年の 2,482 件を対象とした集計結果は、平均値および中央値はそれぞれ、2022 年は 114.5 分、104.3 分、2023 年は 105 分、97.3 分であった。

緊急検査、院内検査およびドライブスルー検査の検査件数を合計すると 10 万件を超え、新型コロナウイルスの陽性者の合計は 16,000 名を超えた。

新型コロナウイルス感染症が指定感染症に認定されていた期間の微生物検査室は、日勤帯は終日新型コロナウイルス遺伝子検査を実施していた。そのため、安全キャビネットが空かず抗酸菌検査については院内実施が難しいため、検査センターに全面外注として委託した。*M. pneumoniae* の検査については通常通り検査を実施したが、ブドウ球菌が推定された血液培養陽性ボトルについては、主治医または感染症内科医から要望された時のみの対応とした。新型コロナウイルス遺伝子検査のため 3 台の GENECUBE に余裕がないためであった。

VI. 5類感染症移行後の感染症遺伝子検査 (2023年5月8日～)

2023 年 5 月 8 日以降のドライブスルー検査は無くなったが、新型コロナウイルス遺伝子検査は cobas Liat および GENECUBE にて実施している。Liat を用いた緊急検査の件数はコロナ禍と同様に検体が提出されており、減少傾向が認められない。この背景には、一旦陽性患者が院内で発生すると医療スタッフを含めたクラスターが発生し、医療体制に支障を生じるのを防止するためと思われる。Liat の依頼診療科は救急診療科が圧倒的に多い。GENECUBE での検査件数は減少したが、365 日体制で対応している。オミクロン株流行時の 2022 ～ 2023 年は、GENECUBE での検査件数が 1 日 300 検体を超える日もあったが、現在は 1 日数十検体で多い時は 70 ～ 80 検体に上る日もある。手術や気管支鏡等の実施日が決定されている患者に対しては、事前に GENECUBE にてスクリーニング検査を実施している。また、転院の判断や感染力の指標とされている Ct 値の測定依頼は、特に入院患者や医療

スタッフが陽性となった場合に、主治医や感染対策委員会からの指示を受けて GeneXpert にて実施している。この対応は以前(指定感染症時)から変わっていない。

抗酸菌検査は 2023 年 7 月より院内実施に戻した。結核菌群のためのバックアップ試薬として、GeneXpert 専用試薬の Xpert MTB/RIF 「セフィエド」を導入した。ブドウ球菌が推定される血液培養陽性ボトルについては、感染症内科医の指示に従い *nuc* と *mecA* の有無について実施しているが、実施率はかなり高い。マルチプレックスタイプの Verigene システムでの対応についてはすでにコメントした通りであるが、2024 年 3 月 31 日を持って機器本体および専用カートリッジの発売が、わが国において中止されるため Verigene ユーザーは注意が必要である。

最後に、海外渡航者下痢症患者の症例を提示する。30 代男性、中米のグアテマラとアメリカに旅行、グアテマラ滞在中より下痢症状出現、帰国後も慢性的に下痢が出現したためクリニックを受診、クリニックからの紹介で当院感染症内科を受診した。主治医からの指示で Bristol score 5 の便を FilmArray 消化管パネルにて遺伝子検査を実施した。サイクロスポーラ (*Cyclospora cayetanensis*) と腸管凝集性大腸菌 (enteroaggregative *Escherichia coli*, EAEC) が検出され、海外渡航によるサイクロスポーラ症と診断された。受診当日に ST 合剤が処方されその後軽快した。FilmArray 消化管パネルは腸管病原性の細菌、ウイルスおよび寄生虫の検出が可能で、寄生虫はサイクロスポーラを含め、クリプトスポリジウム (*Cryptosporidium*)、赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) およびランブル鞭毛虫 (*Giardia lamblia*) の 4 種類が検出可能である。主要な腸管寄生虫の検出を 1 時間程度で検査できるのは、正に遺伝子検査の強み、POCT 型感染症遺伝子検査の活躍の場である。

おわりに

新型コロナウイルス感染症は 5 類感染症へと移行したが、新たな変異株の出現も少なからず危惧され、今後も抗原検査や遺伝子検査は続くと思われ。2024 年 1 月下旬において、現在は第 10 波であると

の一部報道もある。

ウイルス感染症は症状が似ているため、濃厚接触者を除けば有症状の患者に対してはターゲットを単項目に絞るよりは、採取1回の検体で2～3項目のウイルスを同時に検査することは患者の負担が軽減し、臨床的に有用であると考えられている¹³⁾。すでに数社からは新型コロナウイルスとインフルエンザウイルス(A/B)の抗原検査キットが発売されている。中には新型コロナウイルス、インフルエンザウイルス(A/B)とRSVの3ウイルスが検出可能な抗原検査キットもある。抗原検査よりは検出感度の高い遺伝子検査においてはわれわれがドライブスルー検査で実施してきたように、複数の試薬を組み合わせることで可能な場合もあるが、表1に示したようにGeneXpertでは新型コロナウイルス、インフルエンザウイルス(A/B)およびRSVの3ウイルスを1つのカートリッジで検出可能な試薬が発売しており、検査時間は約37分である。同時アッセイは1度で複数項目の検査が可能、病原ウイルスの鑑別ができるメリットがある一方、複数項目が検出された際の解釈・評価には難しい側面も存在していると思われる。

各施設には施設それぞれの規模や使命があり、感染症遺伝子検査が院内実施可能な施設においては費用対効果も考慮しつつ自施設に一番フィットする解析装置・試薬を選択し、POCT型感染症遺伝子検査の威力を十分に発揮して臨床に貢献できる姿勢を継続したいと考える。

文 献

- 1) DiDomenico N, LINK H, KNOBEL R, et al. COBAS AMPLICOR: fully automated RNA and DNA amplification and detection system for routine diagnostic PCR. *Clinical Chemistry*, 1996; 42(12): 1915-1923.
- 2) 日本医療検査科学会. POCTガイドライン第4版2018年6月1日. 日本臨床検査自動化学会会誌.
- 3) POINT-OF-CARE TESTING AND THE NEW ISO 15189:2022, <https://thebiomedicalscientist.net/science/point-care-testing-and-new-iso-151892022> (引用 2024/1/28)
- 4) 古田耕. 世界の臨床検査通信シリーズ-79. ISOの活動内容. ISO 22870-1. モダンメディア. 2023; 69 表3.
- 5) 古田耕. 世界の臨床検査通信シリーズ-80. ISOの活動内容. ISO 22870-2. モダンメディア. 2023; 69 表3.
- 6) 時松一成. 深在性真菌症に対する抗真菌薬療法. *Jpn. J. Med. Mycol.* 2008; 49: 137-141.
- 7) IDWR Infectious Diseases Weekly Report Japan. <https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/idwr/IDWR2016/idwr2016-51-52.pdf> (引用 2024/1/28)
- 8) Chen YC, Hsu WY, Chang TH. Macrolide-Resistant *Mycoplasma pneumoniae* Infections in Pediatric Community-Acquired Pneumonia. *Emerg Infect Dis.* 2020; 26(7): 1382-1391.
- 9) Tanaka T, Oishi T, Miyata I, et al. Macrolide-Resistant *Mycoplasma pneumoniae* Infection, Japan, 2008-2015. *Emerg Infect Dis.* 2017; 23(10): 1703-1706.
- 10) 川嶋洋介, 上倉佳子, 山下計太, 他. 全自動遺伝子解析装置GENECUBEを利用した *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異検出法の構築および評価. *日本臨床微生物学雑誌.* 2018; 28(2): 22-29.
- 11) 田中裕士. 迅速マクロライド耐性マイコプラズマ遺伝子診断が外来治療に及ぼすインパクト. *日本化学療法学会雑誌.* 2020; 68(3): 371-375.
- 12) D023 微生物核酸同定 定量検査, https://clinicalsup.jp/jpoc/shinryou.aspx?file=ika_2_3_1_1_6/d023.html (引用 2024/1/28)
- 13) 鈴木広道. SARS-CoV-2・RSウイルス核酸および抗原同時検出について. *モダンメディア. 臨床検査アップデート* 82. 2023; 69(3): 73-78.

新型コロナウイルス感染症 Up-to-date 23
 POCT 型遺伝子検査の進歩と活用について 野竹重幸

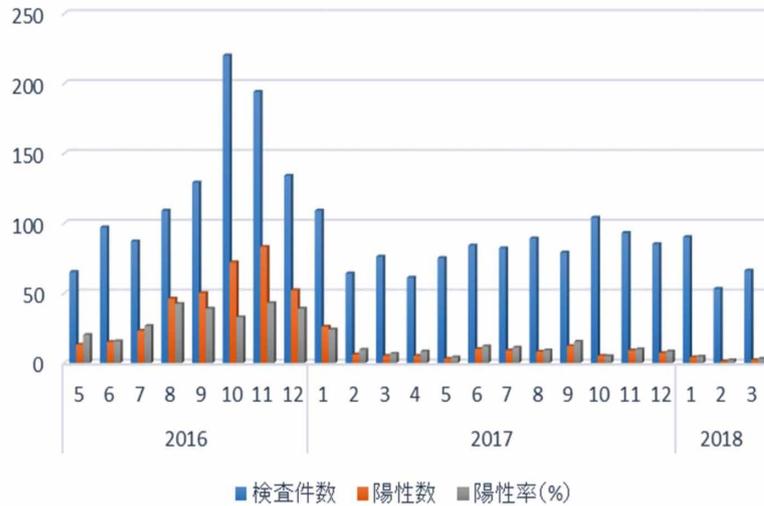


図1 *Mycoplasma pneumoniae* 遺伝子検査の月別検査件数、陽性数および陽性率 (2016 - 2018)

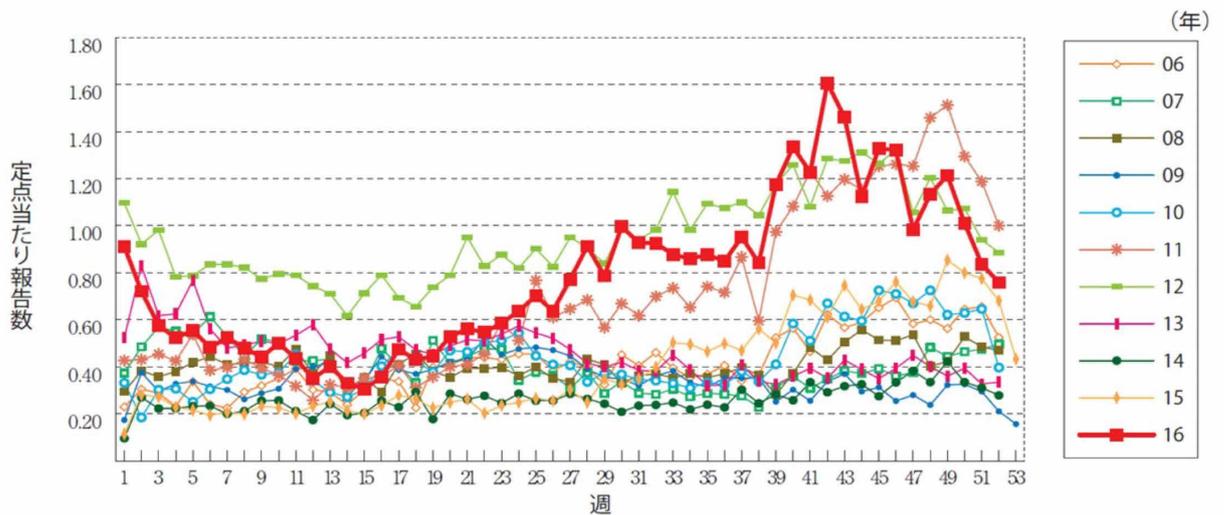


図2 マイコプラズマ肺炎の発生動向

出典 :IDWR (Infectious Diseases Weekly Report Japan) 2016年第51週 (12月19日～12月25日)、
 第52週 (12月26日～1月1日) : 通巻第18巻第51・52合併号より一部抜粋、転載

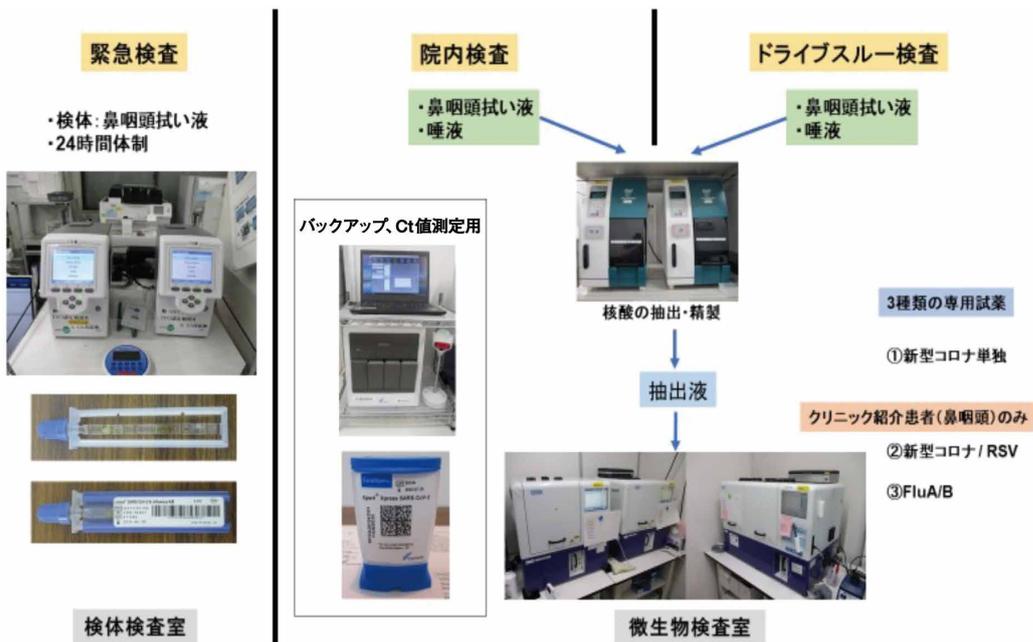


図3 当院の新型コロナウイルスおよび関連項目の遺伝子検査の概要