

## 新型コロナウイルス感染症に対する PCR 検査体制の構築と疑陽性の取扱い

◎吉岡 沙織<sup>1)</sup>、森藤 哲史<sup>1)</sup>、佐藤 晴久<sup>2)</sup>、井上 唯史<sup>3)</sup>  
洛和会音羽病院 臨床検査部<sup>1)</sup>、洛和会音羽病院 感染防止対策室<sup>2)</sup>、洛和会音羽病院 形成外科<sup>3)</sup>

【はじめに】2020年2月末からの新型コロナウイルス感染症の蔓延に伴い、当院では2020年5月20日より院内でのPCR検査を開始した。

【方法】病室にバイオセーフティレベル2の検査室を整備し、リアルタイムPCR装置2台(7500 Fast リアルタイムPCRシステム, QuantStudio 5システム)を設置した。また、検査は臨床検査技師2名で行うこととした。試薬は新型コロナウイルス検出キット(TAKARA)を用い、取扱検体は、鼻咽頭拭い、唾液、喀痰とした。唾液検体の採取はスワブを用いた独自マニュアルを作成し、外来の採血室で患者さん自身による検体採取ができるように整備した。持ち込まれた検体から4 $\mu$ Lのサンプルを採取し、RNA簡易抽出、PCR試薬と混合、PCR装置によるリアルタイムPCR法での測定を行った。プライマーはN遺伝子領域のTaqman法プライマーを用い、サイクル数は47回とした。1検体当たり2ウェルで検定し増幅曲線が2本とも上昇すれば陽性、1本しか上昇しない場合を疑陽性、上昇が見られない場合を陰性とした。疑陽性検体は、同一サンプルから2倍量の

サンプルを用い、4ウェルで再検査した。再検査で4ウェル中、1ウェルでも反応があれば陽性とした。

【結果】頻度は低いものの、再検査で陽性を示さない症例を経験し、原因として陽性サンプルからのコンタミネーションやサンプル中のウィルス濃度が低い事などが考えられた。陽性サンプルからのコンタミネーション対策として、8連チューブの使用、陽性コントロールのウェルを検体サンプルから離れたウェルに置く、陽性遺伝子の濃度を下げる、遺伝子除去スプレーを利用する等の対策を取った。

【考察】疑陽性対策により、コンタミネーションによると思われる疑陽性の頻度は減り、1回目のPCR検査で疑陽性と出たサンプルのほとんどは、2回目のPCRで陽性の反応が出た。Taqman法によるリアルタイムPCRは原理上、1コピーのウィルスから検出できる。当院では、ウィルス量の検定も行っているが、1回目のPCRで疑陽性と出たサンプルのウィルス量は0.5 copies/ $\mu$ lであった。