

SARS-CoV-2

新型コロナウイルス —変異とPCRアッセイの懸念事項—

- ▶ Oligonucleotide optimisation will be facilitated by global sharing of SARS-CoV-2 genomes and the frequently updated reports on sequence analysis that are available on the GISAID4 website.
- ▶ False-negative laboratory test results allow infected patients with mild clinical symptoms to spread SARS-CoV-2 among susceptible persons, and false-positive test results may lead to placement of non-infected persons in the same isolation rooms with COVID-19 patients.

現状における日本の SARS-CoV-2 検出には、主に下気道由来検体、場合により鼻咽頭ぬぐい液をサンプルとした RT-qPCR が主流となっています。SARS-CoV-2 遺伝子の塩基配列に変異が起こり続けることによる PCR 検査結果への影響は、常に念頭に置いておかなければならない懸念事項であると考えられております。

今回も、新型コロナウイルスの変異に関する二つの文献情報をお伝えしたいと思います。

▶SARS-CoV-2 進化の RT-qPCR 診断アッセイ感度に対する影響

Osório, Nuno Sampaio, and Margarida Correia-Neves. "Implication of SARS-CoV-2 evolution in the sensitivity of RT-qPCR diagnostic assays." *The Lancet. Infectious Diseases* (2020).

インフルエンザウイルスよりも低い確率ではあるものの、SARS-CoV-2 でも変異が起こっており、変異によってプライマーとサンプルのミスマッチが引き起こされる可能性は否めません。各国のプライマーを見ると、79%のプライマー（33 配列のうち 26 配列）に何らかの変異が認められたと報告しています。常に最新の情報と照らし合わせながら、アッセイで使用するプライマー・プローブの最適化を継続的に行う必要があるということを、この文献では強調しています。

▶ルーチンの nested RT-PCR と次に行う DNA シーケンスによる、細胞成分中の SARS-CoV-2 検出

Sin Hang Lee. "Testing for SARS-CoV-2 in cellular components by routine nested RT-PCR followed by DNA sequencing" *International Journal of Geriatrics and Rehabilitation* 2(1):69- 96, July 17, 2020.

偽陰性および偽陽性を生み出さないためには、正確な検査を行うことは極めて重要です。この文献では、RNA サンプル調製時の偽陰性の数を減らすための工夫、検出感度を高めるために nested RT-PCR を使用するルーチンのプロトコル、およびアンプリコンについて直接シーケンスを行うことで偽陽性がないことを確認するプロトコルを構築したことを報告しています。加えて、米国 CDC の RT-qPCR キットを用いて検査した 20 のサンプルから、このプロトコルで 2 つの偽陰性と 3 つの偽陽性が見つかったことが報告されています。

企業が自粛状況から通常運用に戻る際の誤報を回避するため、また、不必要なパニックを起こして経済への悪影響を及ぼさないため、偽陽性がないことを確認する作業は重要であると筆者は述べています。