

原著

地域診療所における SARS-CoV-2 PCR 検査とゲノム解析： 高齢者施設クラスター制御と地域流行株動向の検討

article number e26_002, (2026)

笹井 平¹, 高木 三香子¹

¹西伊豆町田子診療所

連絡先 〒410-3515 静岡県賀茂郡西伊豆町田子 943-2 sasaihei@gmail.com

原稿受付 2026年2月16日/掲載承認 2026年3月26日

目的 高齢者施設における COVID-19 集団感染に対して、PCR 検査とウイルスゲノム解析を組み合わせた感染制御の有用性を検証し、地域診療所が果たす役割を明らかにすることを目的とした。

方法 2023年1～2月に発生した高齢者施設クラスター2件を対象とした。CDC プロトコル準拠の自作 PCR 試薬を用いて入所者・職員全員に数日おきの PCR を実施し、陽性検体は次世代シーケンス (NGS) で解析した。同時期の外来 COVID-19 患者のウイルスゲノム解析データと県内で公開されたデータも比較した。

結果 2回のクラスターで計10名が陽性となり、頻回 PCR で早期に感染者を同定・隔離することで感染拡大を防止できた。ゲノム解析により複数株の同定と感染経路の推定が可能であり、職員由来感染を否定できた。外来患者との比較では、施設株は地域流行株の一部であったが必ずしも優勢株とは一致しなかった。

結論 地域診療所が主導する PCR 検査とゲノム解析は、高齢者施設におけるクラスター制御と地域流行の把握に有用であった。地域レベルでの検査・解析体制整備は、新興感染症対策に有用と考えられた。

キーワード：COVID-19, 高齢者施設クラスター, PCR 検査, ゲノム解析

はじめに

COVID-19 パンデミック期において、高齢者施設は密な居住環境により集団感染が発生しやすく、入所者の重症化や死亡リスクが極めて高いことが課題となった。特に過疎地域では医療資源が限られ、迅速かつ継続的な感染症対策の実施が困難であった。著者が勤務する静岡県西伊豆町の無床診療所は、地域の初期診療機関として、集団感染発生時には即応せざるを得ない立場にある。

感染拡大抑制には、迅速な診断と隔離が不可欠であり、その実現には地域診療所レベルでの柔軟な検査体制の構築が重要である。当診療所では、CDC プロトコルに準拠した自作 PCR 試薬を用いて低コス

トかつ高感度の PCR 検査体制を整備した¹⁾。さらに、地域の高齢者施設でクラスターが発生した際には、頻回の PCR 検査を実施し、早期診断と隔離によって感染拡大を抑制した。

加えて、外来 COVID-19 患者および施設入所者 COVID-19 患者から得られた検体について NGS によるウイルスゲノム解析を実施し、施設内クラスター株と地域流行株との関連を評価することで、診療所が地域流行動向を把握する一助となった。本研究では、地域診療所における PCR 検査とゲノム解析を組み合わせた実践例を報告し、地域医療における感染症対策の可能性について考察する。

方法

1. PCR 検査

CDC プロトコル「2019-novel coronavirus (2019-nCoV) real-time rRT-PCR panel primers and probes」²⁾に準拠し、自作 PCR キットを作製した。SARS-CoV-2 検出用プライマー・プローブセット (N1, N2, RP; IDT 10006713) および内部コントロール用 RNase P プローブ (IDT 10011568) は Integrated DNA Technologies 社から購入した。酵素は One Step PrimeScript™ III RT-qPCR Mix (タカラバイオ RR600A) を使用し、RNase P プライマーは同社に合成を依頼した。RNA 抽出には、Li ら³⁾の報告に基づき調製した Saliva Lysis Buffer (SLB) を使用した。

2. 検体採取および RNA 精製

検体採取は「国立感染症研究所 病原体検査の指針 (第2版)」⁴⁾に準拠した。採取した唾液を SLB に混和後、95°C で 5 分間加熱し、10,000 rpm で 2 分間遠心した。その上清をテンプレートとして PCR を行った。ゲノム解析用の RNA 抽出には QIAamp Viral RNA Kit (Qiagen) を使用した。使用後の資材は高圧蒸気滅菌処理後に廃棄した。

3. PCR 条件と判定基準

陽性コントロールには SARS-CoV-2 Positive Control RNA (タカラバイオ RC351A) を用いた。PCR 条件は 95°C 1 分、52°C 10 分の逆転写反応、続いて 95°C 10 秒と 60°C 30 秒を 1 サイクルとし、これを 45 サイクル繰り返した。N1 および N2 は FAM 蛍光、RNase P は Cy5 蛍光により検出した。

検査成立条件は、①陽性および内部コントロールで Ct 値 30 以下の増幅を確認すること、②陰性コントロールで増幅を認めないこととした。検体については N1 または N2 で Ct 値 40 以下の場合を陽性と判定した。陽性例については、体外診断用 PCR (タカラバイオ) により再確認した。

4. ゲノム解析

ゲノム解析は Oxford Nanopore Technologies 社 MinION Mk1C および NEB 社 ARTIC SARS-CoV-2 Companion Kit (ONT) を用い、国立感染症研究所

の公開プロトコル⁵⁾に準拠して実施した。解析には EPI2ME (Fastq QC + ARTIC + NextClade) および Nextclade (<https://clades.nextstrain.org/>) を用い、得られた配列は DDBJ に登録した。さらに、NCBI Virus を利用して当院外来患者、施設クラスター患者、国立遺伝学研究所から公開された静岡県内患者のゲノムデータを抽出し、比較解析を行った。

5. 法的根拠と倫理配慮

高齢者施設から依頼を受けて実施した自費 PCR 検査 (自作 PCR 検査キット使用) においては、以下の倫理的配慮に基づき対応した。

まず、「CDC が公開する緊急使用 PCR プロトコルに準拠して自作した研究用試薬を用いること」、「当該試薬は市販の体外診断用医薬品と同等の感度を有するが、体外診断用医薬品ではないこと」、「検査は営利を目的とせず、試薬および消耗品の実費により実施されること」について事前に明示し、文書により十分な説明を行い、同意を得て検査を受託した。

対象者の職員個人と利用者 (意思決定のできない利用者は家族) に対しては、倫理的配慮として「説明・同意書」を交付し、以下の事項について明確に記載・説明した：①検査の目的、②使用する検査手法、③陽性判定の場合には保健所への報告が義務付けられていること、④個人情報保護と漏洩防止措置、⑤同意は強制されるものではなく、いつでも撤回可能であること。これらを理解し、署名による同意が確認された者のみを対象に検査を実施した。検査結果は、個人情報保護に最大限配慮した上で、高齢者施設に対して報告した。

本研究で解析した SARS-CoV-2 ゲノム配列は、感染症法第 15 条に基づく行政検査の一環として得られた検体を対象に、積極的疫学調査の目的で実施されたものである。厚生労働省通知 (令和 3 年 2 月 5 日「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」) において、患者本人からの同意取得は不要とされており、同意取得は行っていない。

本研究で用いたデータは全て匿名化処理を行い、個人が特定されない形で DDBJ に登録し、NCBI (National Center for Biotechnology Information) を

通じて公開した。新たに患者情報を取得・利用することは不可能であり、プライバシー侵害の恐れはない。本研究は行政検査結果の二次利用解析であり、追加的な同意は不要と判断し、倫理審査委員会による審査は受けていない。ただし、本研究はヘルシンキ宣言および国内関連指針に準拠して実施された。

結果

1. 第1回集団感染 (2023年1月)

高齢者施設1階・ショートステイ用フロアの職員1人(S1:表1-1参照)が発熱後に抗原検査でCOVID-19陽性と判明し、発症時より自宅隔離とした。翌日、同職員を含め施設利用者と全職員(合計約50名)を対象にPCR検査を行ったところ、ショートステイ利用者1人(S2)が陽性となり、Ct値15と極めて低値でスーパースプレッダーと判定され、直ちに隔離した。感染した職員(S1)のCt値は28でウイルス量は比較的低かったが、後日ゲノム解析の結果、S1はBQ.1.1株であった。その後も頻回に入所者と職員全員を対象にPCRスクリーニングを行ったところ、2日目にさらに1人(S3)が陽性化した。S2およびS3のゲノム解析結果はBA.5.2で同一であり、利用者間感染が示唆された。なお、滞在中は陰性であった利用者1人(S4)が帰宅後に発症し、近医にて抗原検査で陽性となったが、検体不足のためゲノム解析は行われなかった。その後のモニタリングでは新規感染は認めなかった(図1,表1-1)。

経過:感染者は全員軽症であり、帰宅後に発症したS4

を除く施設内3人は、1週間程度でCt値が35以上に上昇し、隔離を解除した(図2,表1-1)。

2. 第2回集団感染 (2023年2月)

施設2階・特養フロアの入所者1人(L1:表1-2参照)が発熱し、PCRでCOVID-19陽性と診断された。同日、入所者および職員全員を対象にPCRスクリーニングを行ったところ、入所者2人(L2, L4)および職員1人(L3)が陽性となり隔離措置とした。その後も頻回に検査を継続し、2日目に職員1人(L5)、3日目に職員1人(L6)が陽性化し、感染者は合計6人となった。4日目以降、新規感染者は認めなかった(図1)。

ゲノム解析の結果、職員1人(L5)のみがBA.5.2株で、他の5人(L1, L2, L3, L4, L6)はBF.7株であった。最初に発熱したL1は外部接触歴を有し、Ct値17と極めて低値であったことからスーパースプレッダーと判定され、BF.7株による本クラスターの発端者と考えられた(表1-2)。

経過:PCRによる発症前診断で5人を早期隔離し、新規感染は数日で終息した。隔離解除は「Ct値 \geq 35かつ診断日から7日以上経過」を基準とした(表1-2)。高齢入所者3人にはラゲブリオを投与し、うち2例(L2, L5)は早期にCt値が上昇し治癒した。L4はCt値が再度低下しウイルス排出が遷延したが、Day10よりレムデシビルを投与したところ、Day16に陰性化し、重症化は回避された(図2,表1-2)。

表1-1 感染者のゲノム解析結果とCt値の推移(1回目 day1=2023/1/9)

ID	属性	年齢	性別	ゲノム解析	day1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
S1	施設職員	27	M	BQ.1.1	28											40			
S2	ショートステイ利用者 1	91	M	BA.5.2	17	29			25			31		36		30			35
S3	ショートステイ利用者 2	88	F	BA.5.2		40			17			21		40		37			40
S4	ショートステイ利用者 3	90	M	not done		40	40		帰宅	発症				27		30			29

表1-2 感染者のゲノム解析結果とCt値の推移(2回目 day1=2023/2/19)

ID	属性	年齢	性別	ゲノム解析	day1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
L1	特養入所者1	100	F	BF.7	15	22	31			38				40						
L2	特養入所者2	99	F	BF.7	32	35				40										
L3	施設職員1	57	F	BF.7	35	28							31	38						
L4	特養入所者3	94	F	BF.7	40	35				30			28	24		35		32		40
L5	施設職員2	56	F	BA.5.2		33	27							40						
L6	施設職員3	22	F	BF.7	40	40	34						37	40						

* Ct 40 : 40以上 (陰性判定)

** 隔離期間

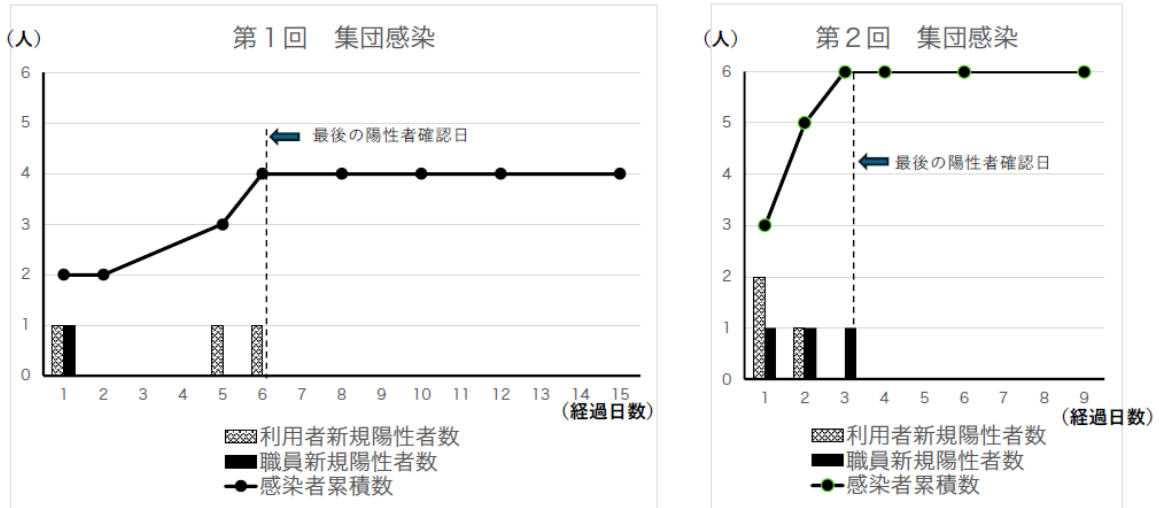


図1 高齢者施設集団感染における新規陽性者数と感染者累積数（日別）

両クラスターとも新規陽性者は数日間に集中して検出され、その後は新規感染が認められなかった。PCRによる頻回の全例（約60名）スクリーニングと早期隔離が、感染連鎖の遮断に寄与した。

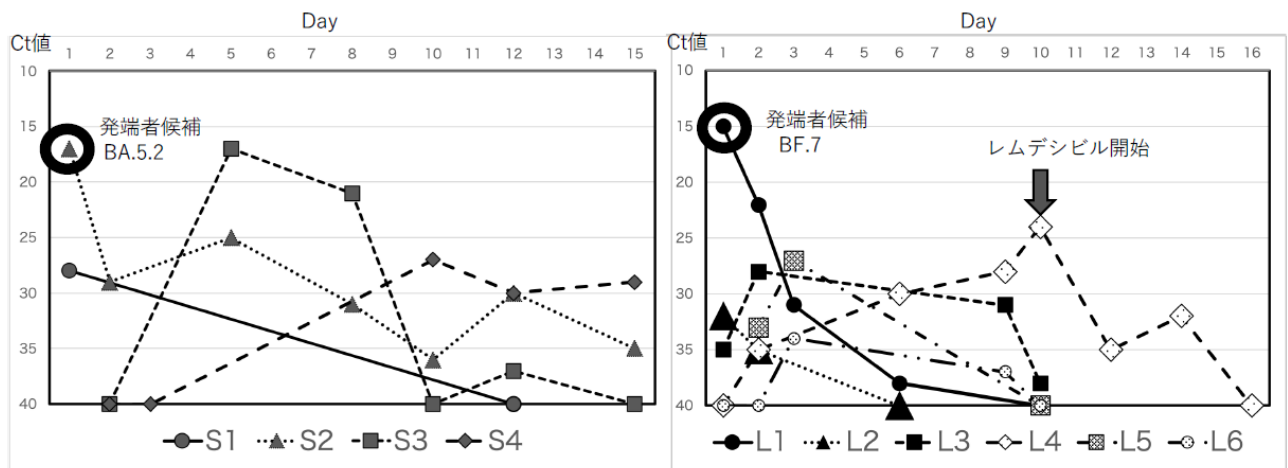


図2 感染者別 Ct 値の推移（左：1回目 右：2回目）

第1回クラスターでは、S2が初回検査から Ct 値 17 と極めて低値を示し、ウイルス排出量が多く発端者と考えられた。他の例は比較的早期に Ct 値が 35 以上へ上昇し、速やかに陰性化した。

第2回クラスターでは、L1 が初回から Ct 値 15 と著明に低値でスーパースプレッダーと推定された。L4 はウイルス排出が遅延し、Day10 より5日間のレムデシビル投与後に陰性化した。

3. 外来患者のゲノム解析と施設クラスターとの比較

同時期（2023年1～2月）に当院外来で COVID-19 と診断され、ゲノム解析が可能であった症例は 46 例であった。全てがオミクロン株であり、Clade 分類は 22B, 22E, 22D に分布した。NCBI に公開されている静岡県内 13 例は 22B および 22E であり、当地域外来の方が多様であった。施設クラスター株は 22B

に限定されていた。

外来患者の系統が最も多様であり、施設クラスターで検出された株は全て、地域外来株および県全体の流行株の一部として位置づけられた。すなわち、施設内クラスターは地域流行株の一部として発生したと考えられた（図3）。

図4は、外来患者株の系統分布に施設クラスター患者をマッピングしたものである（丸印：第1回 S1-

S3, 星印：第2回 L1-L6). 外来株は多様な系統に分類され, 施設株はその一部に収まっていた. 第1回クラスターでは職員 (S1) と利用者 (S2・S3) が異なる系統に属し, 利用者間感染が示唆された. 第2回クラスターでは L1-L4, L6 が BF.7 株に属し, L1 を発端とする二次感染と考えられた一方, L5 は別系統 BA.5.2 であり, 独立した感染経路が推定された.

さらに外来患者の月別系統推移 (図5) では, 12月

に6系統, 1月に16系統, 2月に4系統が確認され, 1月に株多様性が最大化した. 第1回クラスター (1月) は外来で少数派であった BA.5.2 株に属し, 職員 S1 は別系統であった. 第2回クラスター (2月) は地域で優勢であった BF.7 株に属し, 外来流行株と一致していた. これらの結果から, 施設内クラスターは地域の流行株動向を反映して発生していたと考えられた.

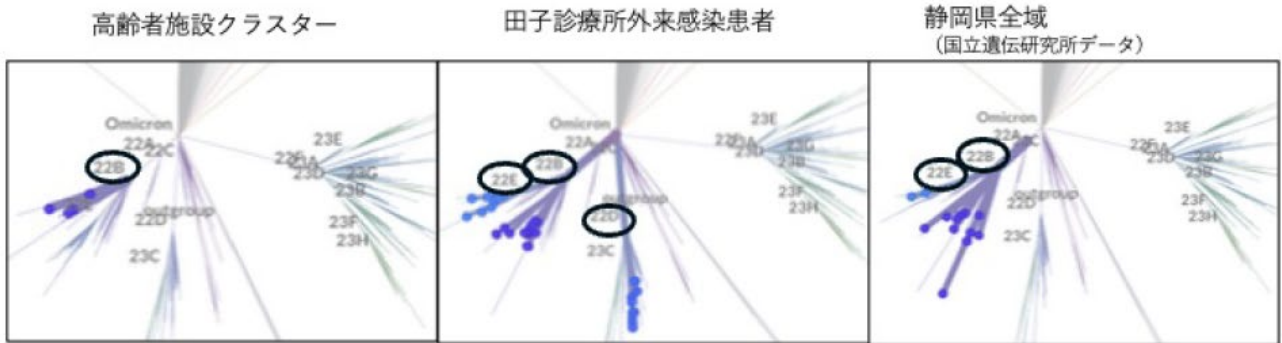
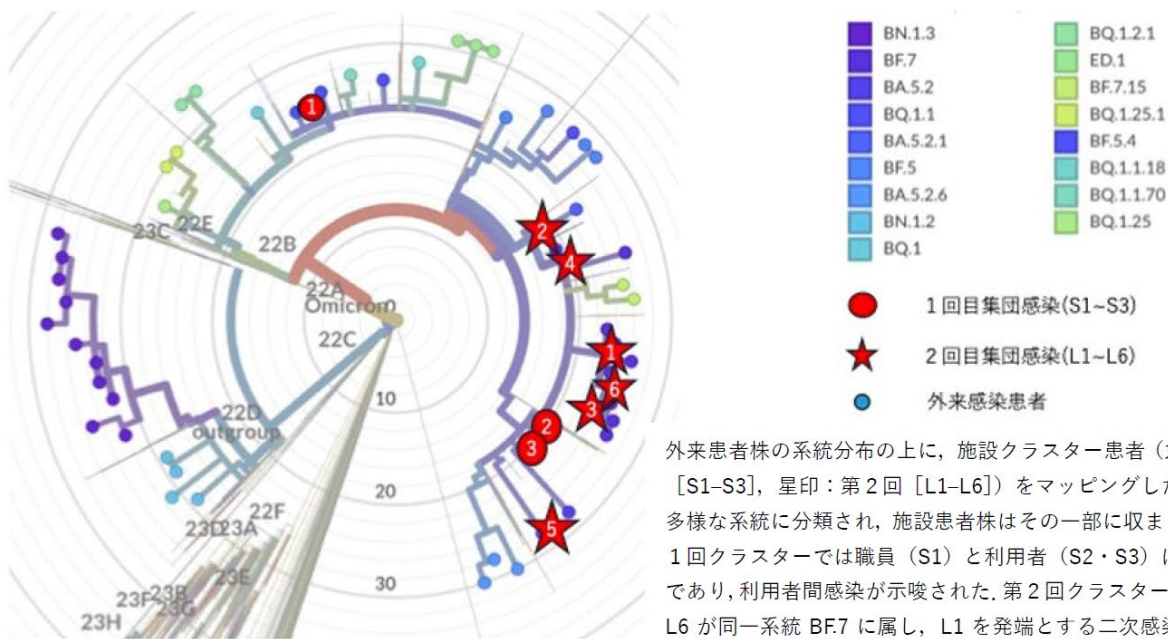


図3 施設クラスター, 診療所外来患者, および静岡県全域における SARS-CoV-2 ゲノム Clade 分類 (2023年1月~2月)

3つの系統樹は, それぞれ高齢者施設クラスター患者, 当診療所外来患者, 国立遺伝学研究所に登録された静岡県全域の患者株を示す. 外来患者の系統が最も多様であり, 施設クラスターで検出された株はすべて, この地域外来株および県全体の流行株に含まれる系統に収まっていた. すなわち, 施設内でのクラスターは地域流行株の一部として発生したことが示唆される.



外来患者株の系統分布の上に, 施設クラスター患者 (丸印: 第1回 [S1-S3], 星印: 第2回 [L1-L6]) をマッピングした. 外来株は多様な系統に分類され, 施設患者株はその一部に収まっていた. 第1回クラスターでは職員 (S1) と利用者 (S2・S3) は異なる系統であり, 利用者間感染が示唆された. 第2回クラスターでは L1-L4, L6 が同一系統 BF.7 に属し, L1 を発端とする二次感染が支持された一方, L5 は別系統 BA.5.2 に位置し独立した感染経路が推定された.

図4 外来患者と施設患者における SARS-CoV-2 の PANGO lineage 分類 (2023年1月~2月)

し、感染経路も複雑であることが明らかになった。第1回目の職員 S1 (BQ.1.1), 第2回目の職員 L5 (BA.5.2)からは感染拡大が起こらず、利用者から感染が拡大した理由としては、職員には感染防御ルール、特にマスクの適正な装着が徹底されていたのに対し、利用者は高齢で認知機能低下もあり、適正なマスク着用が難しかったことが考えられる。特に食事時の居室の換気が感染拡大防止に重要であると考えられた。

また、地域外来患者と施設入所者のウイルス系統を比較することで、施設内クラスターが地域流行株の一部として発生していたことが明らかとなった。特に、西伊豆地区では年末年始に観光や帰省による人口流入が多く、都市部からのウイルス持ち込みにより株の多様化が進み、施設への複数株侵入リスクが高まることが示唆された。逆に、ゲノム解析により地域の流行株をモニタリングし、系統が多様化している場合は、施設への感染拡大の危険性が高まると判断し、面会制限や定期的 PCR 検査の頻度を上げるなどの対策を取ることが望ましい。

Oltean ら⁷⁾も、ワシントン州の高齢者施設における COVID-19 集団感染においてゲノム解析を行い、施設流行株が地域流行株と一致していたことを報告している。これは、地域レベルでの分子的疫学的監視が高齢者施設における感染防御に有用であることを示しており、本研究の知見と合致する。

以上より、本研究は、小規模診療所レベルであっても、PCR 検査とゲノム解析を組み合わせた対応が施設クラスターの制御と地域感染動向の把握に有用であることを示した。このことは、地域診療所が地域流行の「監視拠点」として果たせる役割を裏付けるものであり、今後の新興感染症対策にも応用可能である。総じて、地域診療所が中心となった PCR 体制とゲノム解析の活用は、高齢者施設クラスター制御にとどまらず、地域全体の感染症監視と対策強化に資するものと考えられる。

結論

本研究では、PCR による全例スクリーニングとウイルスゲノム解析を組み合わせることで、高齢者施設における COVID-19 クラスターを迅速に制御し、

感染経路を推定できることを示した。特に、頻回の PCR 検査は感染拡大を抑制し、ゲノム解析は発端者や感染経路の同定、さらには職員由来感染の否定に寄与し、関係者の心理的負担を軽減した。

また、外来症例との比較解析により、施設クラスター株は地域流行株の一部に含まれるが、必ずしも地域で優勢な株と一致しないことが明らかとなった。地域における株多様化が進む時期には、施設への複数導入リスクが高まることが示唆され、地域診療所が地域流行を監視し、施設感染対策へ迅速にフィードバックする意義が確認された。

今後の新興感染症対策においては、地域診療所や中小医療機関における PCR 検査・ゲノム解析体制の整備が求められる。教育体制の充実やコスト低減を支える公的支援も不可欠である。こうした体制は高齢者施設のみならず、病院や学校など集団生活の場における感染制御にも応用可能であり、地域診療所が中核となることで地域全体の感染症対応力を高められると考えられる。

謝辞

高齢者施設での全例 PCR 検査と感染拡大防御に貢献して下さった、社会福祉法人梓友会・特別養護老人ホーム・太陽の里の大石良江看護主任(現 アットケア訪問看護ステーション)、小笠原栄子看護師、石田勝生活相談員、谷田部香介護福祉士をはじめ施設スタッフの皆様、渡辺サチ子施設長、川島優幸理事長に深謝いたします。SARS-CoV2 ゲノムデータの DDBJ の登録にあたり、ご指導頂きました DDBJ データベース部門・青野英雄氏に心からお礼申し上げます。

また、本論文の文法および表現の明瞭性向上のために、ChatGPT(OpenAI 社)を使用した。最終的な内容については著者らが責任を負います。

文献

- 1) 笹井平, 高木三香子:へき地無床診療所における自施設内 PCR 検査体制の構築と初期運用:COVID-19 パンデミック初期の実践報告. 月刊地域医学 2025;39:1070-1078.

- 2) CDC. “2019-novel coronavirus (2019-nCoV) real-time rRT-PCR panel primers and probes” <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/84525> (accessed 2025 Sep 30)
- 3) Li Z, Bruce JL, Cohen B, et al: Development and Implementation of a Simple and Rapid Extraction-Free Saliva SARS-CoV-2 RT-LAMP Workflow for Workplace Surveillance. *PLoS One* 2022; 26; 17(5):e0268692.
- 4) 国立感染症研究所. 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 第2版. <https://www.mhlw.go.jp/content/000693595.pdf> (accessed 2025 Sep 30)
- 5) 糸川健太郎. 新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル Oxford Nanopore Mk1c & NEB ARTIC SARS-CoV-2 Companion Kit (ONT) 編 - version 1.6 (2022/01/27) https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/SARS-CoV2_genome_analysis_manual_Nanopore_NEB_ver_1_6_220127.pdf (accessed 2025 Sep 30)
- 6) Arons MM, Hatfield KM, Reddy SC, et al: Presymptomatic SARS-CoV-2 Infections and Transmission in a Skilled Nursing Facility. *N Engl J Med* 2020; 382(22): 2081–2090.
- 7) Oltean HN, Black A, Lunn SM, et al: Changing Genomic Epidemiology of COVID-19 in Long-Term Care Facilities during the 2020-2022 Pandemic, Washington State. *BMC Public Health* 2024; 24(1): 182.

=====

Original Article

SARS-CoV-2 PCR Testing and Viral Genome Sequencing in a Rural Primary Care Setting: Control of Outbreaks in a Long-Term Care Facility

Hitoshi Sasai¹, Mikako Takaki¹

¹Nishiizuchou-Tago Clinic

943-2, Tago, Nishiizuchou, Kamogun, Shizuoka, 410-3515, Japan sasaihei@gmail.com

Received 2026 Feb 16 / Accepted 2026 Mar 26

Abstract

Background: This study aimed to evaluate the effectiveness of combining SARS-CoV-2 PCR testing and viral genome analysis for controlling COVID-19 outbreaks in a long-term care facility and to clarify the role of a rural primary care clinic in outbreak management.

Methods: Two COVID-19 cluster outbreaks that occurred in a long-term care facility between January and February 2023 were investigated. All residents and staff underwent repeated PCR screening using an in-house assay based on the CDC protocol. Positive samples were subjected to next-generation sequencing (NGS). Viral genomes were compared with those obtained from contemporaneous outpatient COVID-19 cases at our clinic and publicly available sequences from Shizuoka prefecture.

Results: A total of 10 individuals tested positive across the two outbreaks. Frequent PCR screening enabled early identification and isolation of infected individuals, preventing further transmission. Genome sequencing identified multiple viral lineages and allowed inference of transmission routes, excluding staff-origin transmission in one cluster. Comparison with community cases showed that facility strains were part of circulating regional lineages but did not necessarily correspond to the predominant strains at that time.

Conclusions: PCR screening combined with genome analysis led by a rural primary care clinic was effective for outbreak control in a long-term care facility and for monitoring local viral trends. Establishing local diagnostic and genomic surveillance capacity may strengthen preparedness for future emerging infectious diseases.

Keyword: COVID-19, Long-term care facility outbreak, PCR screening, Viral genome sequencing