

〈短 報〉

SARS-CoV-2 感染診断のための PCR 検体採取法および診断精度 —口腔からの検体採取法の検討—

高木 律男¹⁾・田邊 嘉也²⁾・須藤 弘二³⁾
山田 瑛子¹⁾・加藤 眞吾^{3,4)}

Diagnostic Accuracy of SARS-CoV-2 Infection According to Sampling of Specimen for PCR —More Useful PCR Sampling from Oral Cavity—

Ritsuo TAKAGI¹⁾, Yoshinari TANABE²⁾, Kouji SUDO³⁾,
Eiko YAMADA¹⁾ and Shingo KATO^{3,4)}

¹⁾Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry & Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University,

²⁾Department of Internal Medicine, Niigata Prefectural Shibata Hospital, ³⁾Hanah MediTech Co. Ltd., ⁴⁾Department of Microbiology, Keio University School of Medicine

(2021 年 10 月 1 日受付・2022 年 4 月 6 日受理)

要 旨

COVID-19 の診断に鼻咽頭拭い液だけでなく唾液を用いた検査も行われるようになったが、採取方法の違いに関する検討が行われてこなかった。そこで、我々は異なる唾液検体採取法による結果を比較検討した。患者 21 名から、鼻咽頭拭い液、舌背拭い液、口底部貯留唾液を採取し、それぞれの陽性率およびウイルス量を調べた。その結果、鼻咽頭拭い液 95.2% (20/21)、舌背拭い液 85.7% (18/21)、貯留唾液 52.4% (11/21) が陽性であった。ウイルス量も鼻咽頭拭い液 > 舌背拭い液 > 貯留唾の順であった。以上より、舌背拭い液を用いることで検出感度が高まることが示唆された。ただし、COVID-19 が疑われる場合、いずれの検査でも常に偽陰性の可能性を念頭に再検査の施行を考慮すべきである。

Key words : 新型コロナウイルス感染症, 鼻咽頭拭い液, 舌背拭い液, 口底部貯留唾液, ウイルス量

2019 年末に中国の武漢で最初に報告された新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、短期間のうちに世界的流行をきたし、現在もなお国際的な公衆衛生上の脅威となっている。COVID-19 の診断には一般的に鼻咽頭拭い液による PCR が用いられているが、侵襲性や安全性の問題から、唾液を用いた検査も行われるようになった¹⁾。唾液検体に関する問題点の一つとして、採取方法が統一されていないことが指摘されており²⁾、これまでに唾液の採取方法の違いによる陽性率やウイルス量を比較した報告はない。そこで本報告では、唾液検体による

検査精度の向上を目的に、異なる検体採取法による結果を定量的に比較検討した。

対象は、2020 年 10 月～2021 年 1 月までに、鼻咽頭拭い液を用いた PCR により SARS-CoV-2 の感染が確認され、新潟県立新発田病院に入院中の患者 21 名および比較対照として感染の可能性の低い健常被検者 3 名である。すべての被検者からインフォームド・コンセントを取得した。検体を以下の三つの方法で採取した。1) 鼻咽頭拭い液：鼻閉感のない側の鼻孔より鼻腔底に沿わせてスワブを挿入し、先端を咽頭後壁に軽く接触した状態で回転させて粘液を採取。2) 舌背拭い液：半開口で舌背部に付着した唾液をスワブにより拭い取り採取。3) 口底部貯留唾液：口底部 (舌下部) に唾液を約 30 秒間貯めてもらいスワブに浸して採取。その後、各検体に 8 M

¹⁾新潟大学大学院医歯学総合研究科顎顔面口腔外科学分野, ²⁾新潟県立新発田病院内科 (呼吸器・感染症), ³⁾株式会社ハナ・メディック, ⁴⁾慶應義塾大学医学部微生物学教室

表1 被験者の属性・ウイルス RNA 量

被験者	性別	年齢	陽性確認後の日数	重症度	ウイルス RNA 量 (log (コピー)/mL)		
					鼻咽頭拭い液	舌背拭い液	貯留唾液
A	女	56	7	軽症	6.9	<LOQ	ND
B	男	57	12	中等症 II	4.6	<LOQ	<LOQ
C	女	35	3	軽症	8.5	<LOQ	ND
D	女	44	6	軽症	7.3	<LOQ	<LOQ
E	女	64	8	中等症 II	5.3	3.0	ND
F	女	94	1	中等症 II	9.5	3.9	<LOQ
G	男	37	7	軽症	7.3	5.7	4.3
H	女	52	5	軽症	9.7	7.3	3.6
I	女	32	3	軽症	9.8	3.2	<LOQ
J	男	31	7	軽症	8.6	3.6	ND
K	男	55	4	中等症 I	8.1	4.3	<LOQ
L	女	63	5	中等症 I	5.3	ND	ND
M	男	58	10	中等症 I	7.6	<LOQ	ND
N	女	93	12	中等症 I	7.0	5.4	4.3
O	女	81	5	中等症 I	ND	ND	ND
P	男	69	4	軽症	8.2	<LOQ	<LOQ
Q	女	19	4	軽症	10.0	ND	ND
R	男	59	12	中等症 II	6.5	<LOQ	ND
S	女	58	11	中等症 I	6.0	3.5	<LOQ
T	男	88	6	軽症	6.9	4.8	3.3
U	女	87	6	中等症 I	7.2	3.4	ND

<LOQ : 定量下限 (500 コピー/mL) 以下 ; ND : 検出下限 (150 コピー/mL) 以下

グアニジン塩酸塩と 130 mM ジチオトレイトールの混合液 0.3 mL を加え, SARS-CoV-2 の感染性を消失させた. SARS-CoV-2 RNA の検出・定量はハナ・メディテック (東京) で実施した. リアルタイム PCR は CFX Connect Real-Time System (Bio-Rad, ハーキュリーズ, 米国) を用いて国立感染症研究所の方法³⁾に従った. SARS-CoV-2 RNA 定量は, ポアソン分布法を用いて定量したウイルス RNA を用いて行った. 本研究は, 新潟大学倫理委員会 (2020-0081) および新潟県立新発田病院倫理委員会 (2020-0181) による承認の上で, すべての参加者から書面によるインフォームド・コンセントを得て行った.

被験者の臨床情報および検査結果を表 1 に示す. 各採取部位における検出率は, 鼻咽頭拭い液 20/21 例 (95.2%), 舌背拭い液 18/21 例 (85.7%), 貯留唾液 11/21 例 (52.4%) であった. 非感染者からの検体ではすべて陰性であった (3 名 9 検体). 採取部位によるウイルス RNA 量の差を図 1 に示す. ウイルス RNA 量は鼻咽頭拭い液, 舌背拭い液, 貯留唾液中の順で有意に少なくなった ($P < 0.001$, ウィルコクソン符号付順位検定). 鼻咽頭拭い液中のウイルス RNA 量と感染確認からの日数を回帰分析したところ, 有意に減少する傾向があり, その減少速度は一日あたり 46% であった. また, 軽症の鼻咽頭拭い液中ウイルス RNA 量は中等症 (中等症 I と中等症 II) のそれより有意に高かった ($P < 0.05$, フィッ

シャーの直接確率計算法及びマン・ホイットニー検定).

舌背拭い液の方が貯留唾液より多くのウイルス RNA を含んでいた. 舌背部には SARS-CoV-2 の受容体である ACE2 受容体を発現している上皮細胞が多いことが報告されている⁴⁾. 舌背部拭い液にはこのような上皮細胞中のウイルス RNA や出芽直後のウイルスが多く含まれている一方, 貯留唾液は舌下線から分泌された唾液を主成分とし, 細胞成分が少ないため, このようなウイルス RNA 量の違いが生じたのではないかと考えられる.

綿棒を使って舌背や口腔粘膜を擦りながら唾液を採取する方法は, 唾液を試験管に吐き出して採取する方法よりも, 所用時間が短く, 唾液で周辺が汚染されるリスクが小さく, 採取器自体も小さいため扱いやすいという利点がある. 唾液の分泌量が少ない人にも適応していると考えられる. 一方, 唾液の採取には試験管を使う方法がすでに一般化している⁵⁾. 本研究の結果は, その場合でも, なるべく口腔内の粘膜 (例えば舌と硬口蓋粘膜や頬粘膜) を擦り合わせてから唾液を吐き出すことにより検出感度が高まることを示唆している.

鼻咽頭拭い液中のウイルス RNA 量は, 二つの採取法による唾液中よりもはるかに多量に存在することが分かった. したがって, 偽陰性の割合を極力低くしなければならぬ場合や, 検査の効率化のためにプール法を採用する場合は, 鼻咽頭拭い液を用いることが望ましいと考えられる.

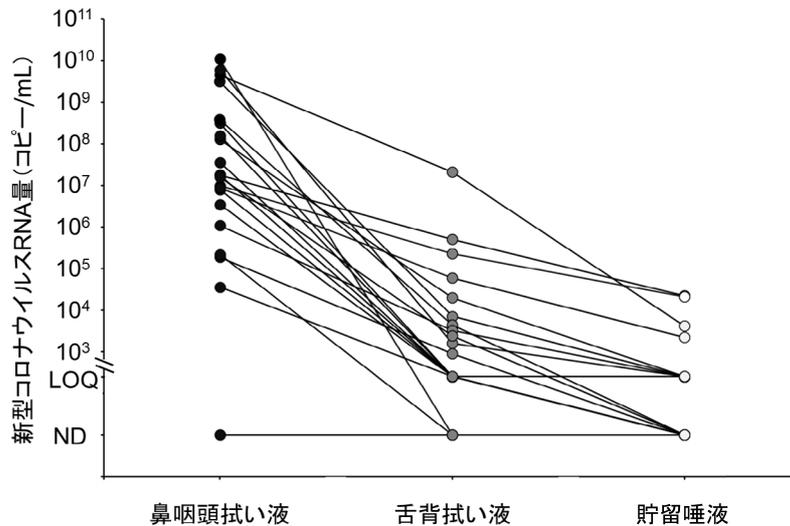


図1 同一患者由来の鼻咽頭拭い液、舌背拭い液および貯留唾液における新型コロナウイルス RNA 量の比較.

ウイルス RNA 量は鼻咽頭拭い液、舌背拭い液、貯留唾液の順で多く、いずれの間にも有意な差が ($P < 0.001$) が認められた (ウィルコクソン符号付順位和検定).

謝 辞：COVID-19 感染拡大中の大変な時期に、十分な感染対策を取ることで検体を採取することを許可いただいた県立新発田病院の塚田芳久病院長および内科・感染症科において感染者の看護にあたっているスタッフの皆様へ深謝する。

利益相反自己申告：著者・加藤真吾は株式会社ハナ・メディックの代表取締役である。

著者・須藤弘二は株式会社ハナ・メディックの社員である。
その他の著者に利益相反として申告するものなし。

文 献

- 1) 厚生労働省・病原体検査の指針検討委員会編：新型コロナ

ウイルス感染症 (COVID-19) 病原体検査の指針 (第 4.1 版).

- 2) 東田修二, 市村直也：新型コロナウイルス RT-PCR 検査の中間総括と第 2 波に備えた問題点の提起. 臨病理 2020; 68: 665-9.
- 3) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver.2.9.1, 2020.
- 4) Huang N, Perez P, Kato T, Mikami Y, Okuda K, Gilmore RC, *et al.*: SARS-CoV 2 infection of the oral cavity and saliva. NATURE MEDICINE 2021; 27: 892-903 doi: 10.1038/s41591-021-01296-8. Epub 2021 Mar 25.

[連絡先：〒951-8514 新潟市中央区学校町通 2-5274
新潟大学大学院医歯学総合研究科顎顔面口腔外科学分野
高木律男
E-mail: takagi@dent.niigata-u.ac.jp]

***Diagnostic Accuracy of SARS-CoV-2 Infection According to Sampling of Specimen for PCR
—More Useful PCR Sampling from Oral Cavity—***

Ritsuo TAKAGI¹⁾, Yoshinari TANABE²⁾, Kouji SUDO³⁾,
Eiko YAMADA¹⁾ and Shingo KATO^{3,4)}

¹⁾*Division of Oral and Maxillofacial Surgery, Faculty of Dentistry & Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata University,*

²⁾*Department of Internal Medicine, Niigata Prefectural Shibata Hospital, ³⁾Hanah MediTech Co. Ltd., ⁴⁾Department of Microbiology, Keio University School of Medicine*

Abstract

Although nasopharyngeal swab is widely used, the use of saliva for the detection of SARS-CoV-2 is also accepted. However, the method of saliva collection has not yet been well investigated. Thus, to make the assay using saliva more reliable, we compared the positivity rates and viral loads in three paired samples of nasopharyngeal and tongue swabs and saliva retained in the floor of the mouth, which were simultaneously obtained from 21 patients with SARS-CoV-2. Viral RNA was detected in 95.2% (20/21) of nasopharyngeal swab, 85.7% (18/21) of tongue swab, and 52.4% (11/21) of retained saliva samples. The viral loads were in the following order: nasopharyngeal swab > tongue swab > retained saliva samples. Our results indicated that a tongue swab is usable and provides more sensitivity for SARS-CoV-2 detection than natural saliva. However, it is important to consider the possibility of a false negative and that re-examination would be required if the result is negative but a SARS-CoV-2 infection is highly suspected.

Key words: COVID-19, nasopharyngeal swab, tongue swab, retained saliva, viral load