

厚生労働行政推進調査事業費補助金(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)  
分担研究年度終了報告書

SARS-CoV-2 抗原定性検査における唾液検体の検討

研究分担者 中川 種昭 慶應義塾大学医学部歯科・口腔外科学

研究要旨 本年初頭から続いている新型コロナウィルス (COVID-19) の感染拡大は医療機関においても大変深刻な問題として捉えられており、8月末現在も引き続き拡大防止対策を必死に行っている。そのためには、簡便かつ迅速な検査体制が必要とされている。唾液検体は被験者本人による自己採取が可能であり、鼻咽頭ぬぐい液のような採取時の検査担当者の感染リスクを回避することができるため、唾液による COVID-19 の PCR 検査が主流となりつつある。ただし、PCR 検査は結果が判明するまでに最低でも 2 時間程度を要するため、外来での緊急対応等の際には、より迅速な検査が求められる。その意味ではウイルス抗原を特定する簡易抗原測定キットは 15 分で結果が判明するため、その使用拡大が望まれるが、これまででは鼻咽頭ぬぐい液のみが対象であり、唾液による有用性は全く検証されていない。そこで本研究においては、臨床現場に迅速、簡便かつ非侵襲的な唾液を用いた COVID-19 スクリーニング方法を提供するために、唾液サンプルの簡易抗原測定キットへの適応の検証を目的とした臨床研究を立案した。

A. 研究目的

本年初頭から続いている新型コロナウィルス (COVID-19) の感染拡大は医療機関においても大変深刻な問題として捉えられており、8月末現在も引き続き拡大防止対策を必死に行っている。そのためには、簡便かつ迅速な検査体制が必要とされている。特に、若年層においては無症候性感染者が全体の 70% 近くを占めるため、経済活動との両立を図るために簡便かつ非侵襲的なスクリーニング検査の体制構築が必要である。

また従来から、鼻から器具を挿入して行う鼻咽頭ぬぐい液検査がスタンダードとして行われてきているが、飛沫感染を防止するため、採取する際に検査員は PPE などの感染防御服を検査ごとに着用する必要があり、検査者への身体的負担や衛生資材の不足、準備に費用と手間がかかることが問題視されており、スクリーニング検査の拡充に

はより簡便かつ非侵襲的な高感度検査法の導入が求められている。

最近では、唾液によっても COVID-19 の PCR 検査が鼻咽頭ぬぐい液とほぼ同様な感度で行えることが報告されている。唾液の場合は、被験者本人がサンプルを容器に出すこと、術者はそれを受け取るだけで良いため、鼻咽頭ぬぐい液のような採取による感染リスクを回避することができる。しかし、これまでに発表されているデータにおける唾液検査の有用性は、PCR 検査、LAMP 検査では示されているものの、ウイルス抗原の有無を迅速に判定する迅速抗原測定キットでは唾液による有用性は十分な検証はなされていない。

そこで慶應義塾大学医学部では、臨床現場に迅速、簡便かつ非侵襲的な唾液を用いた COVID-19 スクリーニング方法を提供するために、唾液サン

プルの迅速抗原測定キットへの適応の検証を目的とした臨床研究を立案した。

## B. 研究方法

### ① PCR 陽性患者唾液を用いた迅速抗原測定キットの適用方法の検証

- 既に PCR 陽性が確定している患者（20 症例）の保存唾液検体を利用し、迅速抗原測定キットにどのように適用することで確実な陽性反応が得られるかを検証する。
- 検体処理液に直接唾液を添加（量を 10ul, 100ul, 500ul），及び綿球に十分量吸収した唾液を添加し、反応性を比較検討。
- 用いた患者検体の PCR における CT 値から、半定量法にて測定したウイルスコピー数を算出し、ウイルス濃度と上記検体の反応性を比較検討し、検出感度を判定する。
- 用いる迅速抗原測定キットは、下記の二通りとする。
  - 1) エスプライン® SARS-CoV-2 (富士レビオ)
  - 2) クイックナビ-COVID19 Ag (デンカ)

### ② 鼻咽頭ぬぐい液、口腔擦過唾液、自然排出唾液検体、スワブ浸漬唾液検体との比較検証

- 上記①の検討にて唾液検体での迅速抗原測定キットの適用が確認されたのち、より高い検出感度を保つために、唾液検体の採取方法の差異を検討する（30 症例）。
- 唾液サンプルを採取する際に、A)自己排出唾液サンプルと、B)スワブに唾液を吸着させたサンプル、ウイルスの付着するレセプターである ACE2 レセプターを組織内に保有する C)舌粘膜、頬粘膜を綿棒などでこすり取り、唾液と混合するサンプルの両者を比較する。同時に、D)鼻咽頭ぬぐい液も採

取し、4 検体での比較を行う。いずれの検体も、迅速抗原測定キット二種類と、国感研法 (SRL) の PCR 検査 (CT 値) にて測定を行い、その感度、特異度を検討する。尚、唾液採取方法については、別途詳細を定める。

### ③ 無症状者の唾液検体を用いたスクリーニング検査としての検証

- 唾液検体での迅速抗原測定キットを用いて、陰性スクリーニングを行う場合に、偽陽性を極力出さないことが重要である。そのため、PCR 陰性と判断された唾液検査を用いて、陰性スクリーニングを行う。100 症例を予定。
- 無症状者における唾液検体は、被験者への負担低減を考え、上記②の A)-D) のうち、A)-C) の検体を取得して検討する。陽性となった被験者に対しては、D) の検体採取の協力を要請する。
- 上記全ての検体について、PCR での CT 値を確認し、PCR 陰性であるが、検出感度以下の微量ウイルスが認められる検体の可能性を判断する。

#### (倫理面への配慮)

本研究に用いられるヒト検体（唾液、鼻咽頭スワブ）は、痛みを伴わない軽微な侵襲により採取が可能な試料である。従って、研究対象者個人に不利益・危険性が及ぶことはない。しかし、人権擁護の観点から研究開始前までに研究対象者から検体の利用に関わる同意を全例受けるものとし、臨床研究に関する倫理指針に基づき、慶應義塾大学病院倫理委員会の承認の下に研究を遂行する。また、得られたデータは、全て連続可能匿名化して記録する。具体的にはデ

ータは研究対象者の氏名ではなく、本研究に特異的な研究対象者コード(番号、記号、もしくはその組み合わせ)を用いて記録する。研究対象者コードと個人を特定できる情報の間の紐づけは、インターネットに接続していないコンピュータもしくは書類でのみ行い、それらは鍵のかかる保管場所に保管する。なお、研究の性質上必要な項目は匿名化の対象とはしない。他の項目を公開データベースに含めるか否かは、書面をもって、研究対象者の同意を確認する。その他、本学の個人補情報保護規定(個人情報SOP)に従う。尚、本研究に関しては、慶應義塾大学医学部倫理委員会既に承認された研究の範囲内で実施するものであり、以下の研究番号がそれに該当する。

(承認された研究課題： 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の病態解明を目指した多角的解析、承認番号 20200063、承認日：2020年5月29日)

### C. 研究結果

- ① PCR陽性患者唾液を用いた迅速抗原測定キットの適用方法の検証
  - ・保管唾液検体のうち、陽性が確定している7検体を用いて、二つのキットの検出感度の検証を行った。
  - ・以下の通り、概ね両方のキットとともに、CT値30未満で反応することが想定された。

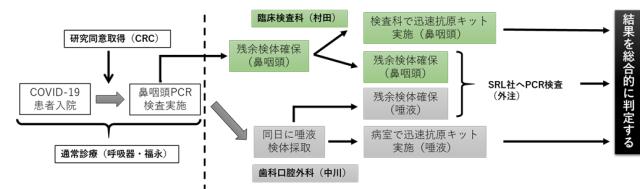
<エスプライン>

SampleName	Sample 内容	検査結果	PCR CT 値
DP-18-S	陽性検体 (100 μl)	陽性 (+)	29.578
DP-22-S	陽性検体 (100 μl)	陽性 (+)	25.156
DP-22-O	陽性検体 (100 μl)	陰性 (-)	29.077
DP-24-S	陽性検体 (100 μl)	陰性 (-)	31.347
DP-24-O	陽性検体 (100 μl)	陰性 (-)	31.710
DP-25-S	陽性検体 (100 μl)	陽性 (+)	16.197
DP-25-O	陽性検体 (100 μl)	陽性 (+)	17.086

<クイックナビ>

Sample Name	Sample 内容	検査結果	PCR CT 値
DP-18-S	陽性検体(100 μl)	陽性(+)	29.578
DP-22-S	陽性検体(100 μl)	陰性(-)	25.156
DP-22-O	陽性検体(100 μl)	陰性(-)	29.077
DP-24-S	陽性検体(100 μl)	陰性(-)	31.347
DP-24-O	陽性検体(100 μl)	陰性(-)	31.710
DP-25-S	陽性検体(100 μl)	陽性(+)	16.197
DP-25-O	陽性検体(100 μl)	陽性(+)	17.086

- ② 鼻咽頭ぬぐい液、口腔擦過唾液、自然排出唾液検体、スワブ浸漬唾液検体との比較検証
  - ・下記のフローを策定し、前向き検討を実施した。



- ・合計39名の病棟入院患者（うち、鼻咽頭または唾液PCRで陽性が31名）から検体を採取して検討
- ・結果の詳細は、別添のExcel表を参照
- ・検出感度は、エスプライン10名(感度32.3%)、クイックナビ1名(感度3.2%)であった。Ct値30未満とした場合、エスプラインは感度50%であった。
- ・詳細データについては、別途提出（別紙1）。

- ③ 無症状者の唾液検体を用いたスクリーニング検査としての検証
  - ・40名の陰性者（PCRにて確認）にて実施
  - ・両キットとともに、1名の偽陽性が認められた（特異度97.5%）

#### D. 考察

- ・ 保管唾液を用いた予備検討では Ct 値 30 以下の検出が予想されたが、実際の患者での実施においては検出感度が低く、スクリーニングとして現状のキットを唾液にて運用することには、技術的な問題があることが示唆された。改善すべき点は、以下の通り。
- ・ 唾液の採取に際して、しっかりと量を取ることに留意が必要⇒綿棒にしっかりと十分量を染み込ませるための量を確保しなければならない。
- ・ 生食や水で水増しすることで、検体量不足を回避する方法が取れるかもしれない。
- ・ エスプレインは濃縮液を用いていることで、検出感度がクイックナビよりも高くなっていると考えられる

#### 3. その他

なし

#### E. 結論

鼻咽頭にて承認されている抗原キット（エスプレイン、クイックナビ）については、予備検討では Ct30 未満で反応するものと考えられたが、実運用では鼻咽頭検査に比して感度が低かったため、検査キットの運用方法の改善が必要だと考えられた。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- ・ なし

##### 2. 学会発表

- ・ なし

#### G. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

なし

##### 2. 実用新案登録

なし

