

## 症 例

### 市中感染の新型コロナウイルス感染症（COVID-19）患者における 咽頭および鼻咽頭拭い液でのウイルス量の推移に関する報告

<sup>1)</sup>東京慈恵会医科大学附属病院感染症科      <sup>2)</sup>東京慈恵会医科大学附属病院感染対策部

<sup>3)</sup>東京慈恵会医科大学熱帯医学講座

|                     |                     |                       |                     |
|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| 中拂 一彦 <sup>1)</sup> | 保科 斉生 <sup>1)</sup> | 中澤 靖 <sup>1, 2)</sup> | 美島 路恵 <sup>2)</sup> |
| 澤木 賢司 <sup>1)</sup> | 坂本 洋平 <sup>1)</sup> | 宮島真希子 <sup>1)</sup>   | 李 広烈 <sup>1)</sup>  |
| 保阪由美子 <sup>1)</sup> | 堀野 哲也 <sup>1)</sup> | 吉田 正樹 <sup>1)</sup>   | 齊木 選射 <sup>3)</sup> |
| 櫻井 達也 <sup>3)</sup> | 大手 学 <sup>3)</sup>  | 嘉糠 洋陸 <sup>3)</sup>   | 堀 誠治 <sup>1)</sup>  |

## 序 文

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、2019年12月に中国武漢市で初めて報告された新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)による呼吸器感染症である。流行地域は東アジア、中東、ヨーロッパ、北米および南米へと拡大し、2020年3月11日にはCOVID-19がパンデミックの状態にあるとの見解がWHOより発表された<sup>1)</sup>。本邦では、2020年2月の中旬頃より、流行地域からの訪日者やCOVID-19発症者との明らかな接触歴が無い者、直近に流行地域の滞在歴が無い者でのCOVID-19発症の報告が相次いでおり、2020年2月の段階で既に散発的に国内で市中感染が生じていた可能性が示唆されている。今回我々は、倦怠感と食思不振のみを主訴とする国内市中感染型のCOVID-19発症例を経験したため、ここに報告する。本学では、事前にSARS-CoV-2の検査体制(RT-qPCR(以下PCR)を用いた同定・定量)を整備しており、咽頭拭い液と鼻咽頭拭い液の経時的なウイルス量の変化を確認することができたため、この結果も合わせて提示する。本報告を行うことに関しては、個人情報に十分配慮することを条件に、患者本人より了承を得ている。

## 症 例

【患者】40歳代女性。首都圏A県在住。

【生活歴】会社員(非接客業)。COVID-19流行地域への渡航歴、当該地域出身者との接触歴、あるいはCOVID-19患者(疑い例含む)との明らかな接触歴はなし。自宅でのペット飼育なし。喫煙歴なし。

【病歴】2020年X月Y日(day 0)から倦怠感を自覚していた。倦怠感は徐々に増し、次第に食欲も低下したため、X月Y+9日(day 9)に当院内科を受診した。倦怠感出現時から初診時まで発熱はなく、咳嗽や呼吸困難感などの症状も認めなかった。バイタルサインはいずれも正常範囲内であり、呼吸音、心音はともに正常であった。内科初診医の判断により、器質的疾患の除外目的で胸腹部CT検査を施行したところ、左S6に非区域性的スリガラス変化(Fig. 1)、左下葉末梢側に周囲にスリガラス変化を伴う帯状の浸潤影を認めた(Fig. 2)。

Fig.1

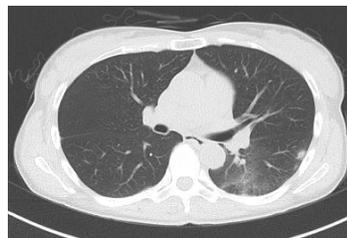
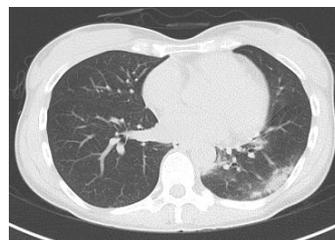


Fig.2



血液検査ではごく軽度のCRP上昇と白血球減少を認めた(Table 1)。インフルエンザ、マイコプラズマ等の迅速検査は陰性であった。渡航歴や接触歴などのリスク要因は乏しかったものの、当時の患者報告状況からCOVID-19の可能性も考えられたため、同日(day 9)当院感染症科へ入院した。

Table 1 Laboratory findings at the admission day.

| Hematology             |                              | Biochemistry  |            |
|------------------------|------------------------------|---------------|------------|
| WBC                    | 2,600 / $\mu$ L              | AST           | 25 U/L     |
| Neut                   | 65 %                         | ALT           | 13 U/L     |
| Lym                    | 24 %                         | LDH           | 191 U/L    |
| Mono                   | 7 %                          | $\gamma$ -GTP | 24 U/L     |
| Eosino                 | 0 %                          | TP            | 7.4 g/dL   |
| Baso                   | 1 %                          | Alb           | 4.1 g/dL   |
| Atypical Lym           | 2 %                          | BUN           | 11 mg/dL   |
| RBC                    | 4.70 $\times 10^6$ / $\mu$ L | Cr            | 0.63 mg/dL |
| Hb                     | 13.1 g/dL                    | Na            | 141 mmol/L |
| Ht                     | 41.0 %                       | K             | 4.2 mmol/L |
| Plt                    | 228 $\times 10^3$ / $\mu$ L  | CL            | 101 mmol/L |
|                        |                              | CRP           | 1.52 mg/dL |
| Rapid tests (specimen) |                              |               |            |
| Flu (NS)               | (-)                          |               |            |
| Mycoplasma (TS)        | (-)                          |               |            |
| Pneumococcus (Urine)   | (-)                          |               |            |
| Legionella (Urine)     | (-)                          |               |            |

NS: Nasal swab TS: Throat swab

【入院時現症】意識清明. 体温 36.6°C, 脈拍 68 回/分, 血圧 117/69mmHg, SpO<sub>2</sub> 97%(室内気).

Review of system (ROS) (+): 倦怠感

ROS (-): 悪寒・頭痛・咽頭痛・咳嗽・鼻汁・喀痰・筋肉痛・下痢

眼瞼結膜貧血なし, 眼球結膜黄疸なし. 項部硬直なし. 呼吸音, 心音ともに正常. 腹部に異常所見を認めず. 皮疹なし.

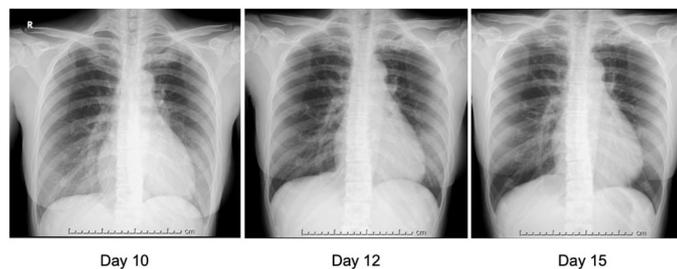
#### 【入院後経過】

入院時点で酸素需要は無く, 状態も安定していた為, 抗菌薬投与は行わずに安静のみで経過をみた.

入院時に採取した咽頭および鼻咽頭拭い液検体を用いて, 施設内で SARS-CoV-2 の PCR を施行したところ, 入院翌日に両者とも陽性と判明した為, COVID-19 と診断した. なお, PCR 検査はドイツの研究グループが発表したプロトコルを一部改変して実施した<sup>2)</sup>. プライマー・プローブは RdRP gene (RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ) 領域と, E gene (エンベロープ) 領域を標的としており, 特に RdRP 領域は SARS-CoV-2 に特異的な設計である. 咽頭拭い液, 鼻咽頭拭い液はフロックスワブを用いて採取し, 検査実施まで-80°Cの冷凍庫内に保管した. RNA 抽出はキットのマニュアルに従った. PCR については two-step method を採用し, 逆転写反応と PCR 反応を別々に実施した. 45 サイクル以内に増幅産物が確認された場合を陽性とした.

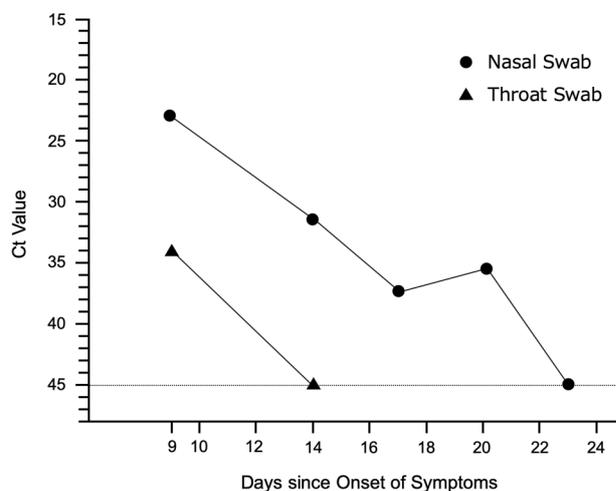
入院 2 日目から徐々に倦怠感や食思不振に改善を認め, 入院 5 日目(day 13)にはほぼこれらは消失した. 入院後呼吸状態の悪化はなく, 胸部単純 X 線画像の経時的な悪化も認めなかった (Fig. 3). 入院 6 日目 (day 14) に採取した咽頭拭い液で SARS-CoV-2 PCR 陰性を, RdRP gene, E gene 共領域で確認したが, 同日採取した鼻咽頭拭い液では依然として PCR 陽性であった. 各検査で得られた cycle threshold (Ct) 値(E gene 領域)の推移を検体別にまとめた (Fig. 4). 最終的に, 入院 15 日目 (day 23) に採取した鼻咽頭拭い液検体で PCR の陰性を確認し, 数日後当院を退院した.

Fig.3



なお本症例では, 入院当日 (day 9) に採取した検体の施設内 PCR が陽性と判明した後, 入院 3 日目 (day 11) に採取した咽頭拭い液を用い行政検査を実施したが, 陰性との報告を受けた. 本症例の入院時点では, 当地域における行政検査では鼻咽頭検体は対象となっておらず, この咽頭拭い液での検査結果をもって陰性と最終判断された.

Fig. 4. Viral Load Detected in Nasal and Throat Swabs.



## 考 察

本症例の症状は倦怠感や食思不振のみであり、当初は呼吸器疾患の存在を疑っていなかったが、器質的疾患の除外目的で撮影された CT で肺炎像が指摘され、結果的に COVID-19 の診断に至った。COVID-19 流行地域の滞在歴、流行地域住民との接触などがない患者であり、国内での市中感染が極めて疑われる症例であった。その後の国内の発生報告や報道、本人への詳細な問診により、本症例は、居住地近辺のレクリエーション施設内でクラスター感染を起こした可能性が極めて高いことが判明した。

本症例では、入院中に複数回の検体採取と PCR を行うことで、発症後のウイルス量の推移を検体別に確認することができた。入院日(day 9)に採取した検体での PCR の結果から、鼻咽頭拭い液のウイルス量は咽頭拭い液と比べ 2,000 倍程度 (211 倍) 多いことが示された。また鼻咽頭拭い液検体では、咽頭拭い液に比べ 10 日間程度陽性を示す期間が長く、部位によりウイルスを排出している期間が異なる可能性が示唆された。同様の結果は、中国・広東省疾病管理予防センターの Lirong Zou らによる、確定症例 (17 例) におけるウイルス量の推移に関する報告でも示されている<sup>3)</sup>。PCR を診断で用いる場合、陽性例を確実に拾い上げるという意味では、咽頭拭い液よりも鼻咽頭拭い液のほうが検査に適している可能性がある。但し、PCR が陽性であることは感染性をもったウイルスを排出していることと同義では無いため、退院基準としてどこまで PCR を用いるべきかには議論の余地がある。本症例のように症状が完全に消失したあとも長期に検査陽性となるケースもあり、この場合、軽症者による入院ベッドの長期占有や検査に関わる人的・物的リソースの逼迫、また患者本人の心身両面での負担増加なども大きな問題となる。今後さらに知見が積み重ねられ、患者や周囲の人間の安全が担保される条件が見出されれば、症状消失から一定期間経過した段階での退院を許容しその後は必要に応じて自宅安静期間を設けるなど、より柔軟な対応も検討されるべきだと考える。

咽頭拭い液を対象とした施設内検査と行政検査で異なる結果が出た要因として、検体採取のタイミングの違い (本症例の場合 2 日間の差) 以外には、実施し

た PCR 検査の感度の違いが考えられる。感度の違いが生まれる主たる要因として、RNA から cDNA を合成する (逆転写反応) 際のプロトコルの違い、標的とする遺伝子領域の違いが考えられる。例えば、逆転写反応に one-step method を採用した場合、cDNA 量の十分な確保が達せられていない可能性がある。また、国立感染症研究所の「新型コロナウイルス感染症 病原体検出マニュアル」では当初 N gene (ヌクレオカプシド) の 2 領域を標的としていたが、RdRP gene や E gene 領域を標的とした PCR と感度を比較した報告はない。いずれのプロトコルも SARS-CoV-2 を特異的に検出可能な検査方法であり、検査が陽性であれば感染の可能性は高いが、陰性の場合に感染を否定することは難しい。本症例で見られた検査結果の解離は、PCR に基づいた診断の限界を表しているとも考えられる。前述したように、検査を実施するタイミングや検査検体の選択によっても結果が左右される可能性があることを踏まえると、症状や経過から COVID-19 が疑われる症例では、PCR が陰性であっても咳エチケットや手指衛生の遵守、不要不急の外出を控え自宅療養すること等を指導し、感染拡大の防止に努めることが重要であると考えられた。

## 謝 辞

未知な疾患に対する不安の中で懸命に患者のケアにあたっていただいている当院スタッフの皆様、また夜間休日を問わず検査や相談に応じていただいた行政の皆様のご尽力に、心から御礼を申し上げます。また自施設内での PCR 検査体制の構築と運用にあたり、東京慈恵会医科大学臨床検査医学講座の松浦知和教授と政木隆博准教授にご協力いただきました。ここに厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) World Health Organization. WHO characterizes COVID-19 as a pandemic. March 11, 2020. (<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/events-as-they-happen>)
- 2) Corman VM, Landt O, Kaiser M, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill.* 2020;25(3):2000045.
- 3) Zou L, Ruan F, Huang M, *et al.* SARS-CoV-2 Viral Load in Upper Respiratory Specimens of Infected Patients. *N Engl J Med.* 2020;10.1056/NEJMc2001737.