

新型コロナウイルス核酸検査に係わる施設基準
ならびに、検体搬送・精度管理の方針【提言】

2020年3月16日策定

2020年5月12日改訂

2020年6月16日改訂

一般社団法人 日本臨床検査医学会
一般社団法人 日本臨床微生物学会
一般社団法人 日本感染症学会

検査の質の確保や、検査の実施・輸送に関わる方々の安全性の確保については、重要な点である。検査精度の保証のための施設基準、検体搬送、精度管理につきまして、日本臨床検査医学会として下記のように提案する。

【施設基準ならびに、検体搬送・精度管理の方針】

新型コロナウイルス感染症に係る病原体核酸検査については、普段臨床検査を実施していない施設でも行われる可能性がある上、診療で利用している検体検査のように品質が保証された検査体制が整うまでに時間を要する。大学等の研究機関で実施されることもあり、精度管理・精度確保に留意する必要がある。将来的には、精度が保証された臨床検査として、ある一定の認定施設での検査ができる体制へと移行させていくことが必要である。

① 施設基準

(i) 医療機関

「検体検査の精度の確保に関わる医療法等の改正」を満たすことが前提である。第3者認定（ISO 15189, CAP など）を取得している施設が望ましい。

造血器腫瘍遺伝子検査に関する施設基準*を満たした施設にて実施する。

*第18 造血器腫瘍遺伝子検査

1 造血器腫瘍遺伝子検査に関する施設基準

検体検査管理加算(Ⅱ)、(Ⅲ)又は(Ⅳ)の施設基準に準ずる。

2 届出に関する事項

検体検査管理加算(Ⅱ)、(Ⅲ)又は(Ⅳ)の届出を行ってればよく、造血器腫瘍遺伝子検査として特に地方厚生(支)局長に対して、届出を行う必要はないこと。

*この提言では、新型コロナウイルス感染症に係る病原体核酸検査の普及を目的とし、最も緩い造血器腫瘍遺伝子検査の施設基準を採用した。現時点では、検体検査管理加算(Ⅱ)施設において、病原体核酸検査の精度管理が難しいのでは、との意見もある。検査数の増加は極めて重要であることから、多くの施設が施行できる本基準とした。

(ii) 登録衛生検査所

「検体検査の精度の確保に関わる医療法等の改正」を満たすことが前提である。第3者認定（ISO 15189, CAP など）を取得している施設が望ましい。

(iii) その他の施設

「検体検査の精度の確保に関わる医療法等の改正」を満たす病院等を開設する法人の設置する研究施設であることが前提である。原則として、当該研究施設のうち検体検査を行う区域が、都道府県等に申請する当該病院等の建物の構造の中に含まれていること及び当該検体検査について病院等の管理者及び検体検査の精度の確保に係る責任者の権限が及ぶこと等により、病院の組織の一部として位置付けられている必要がある。しかしながら、これを満たさない施設・研究室で検査を実施する場合は、衛生検査所として登録することが望ましい。

② サンプル採取

新型コロナウイルス感染の有無を確認するためにウイルス検査で主に用いる検体として、下気道由来検体（喀痰もしくは気道吸引液）、鼻咽頭ぬぐい液、唾液が示されている^{1) 2) 3)}。鼻咽頭ぬぐい液・咽頭ぬぐい液などスワブを用いて検体採取を行う場合、採取手技・採取容器・保存方法により偽陰性となりうる。検体の回収率は、レーヨン繊維を用いた綿棒よりも、フロックスワブがよい。採取後すみやかに検体処理を行えない場合は、生理食塩水やPBSではなくウイルス輸送培地等の適切な保存液を用いるのが望ましい。フロックスワブとウイルス輸送培地がセットとなった採取キットは、BD ユニバーサルトランスポートコンボセット（BD 製）、ユニットランズーRT トランスポート・システム（ピューリタン社製）、COPAN フロックスワブ付 UTM（コパン社製）などがある。また、症状発症からおおよそ9日間程度は唾液でのウイルス検出率も比較的高いことが報告されている。ただし発症後10日以降の唾液については、ウイルス量が低下することが知られており推奨できないとされている⁴⁾。滅菌容器（50ml 遠沈管等）に1-2mL程度の唾液を患者に自己採取してもらおう。人工呼吸器管理下にある際の気管吸引液や気管支肺胞洗浄液も検体として用いることができる⁵⁾。

③ 検体搬送

輸送搬送に関してはアドホック委員会で示した手順にて実施する⁶⁾。

④ 精度管理

(i) 検査前プロセス

サンプル採取から RNA 抽出工程に関する精度管理は現在のところ確立されておらず、今後の課題である。

RNA 抽出工程に関する精度管理の一例として RNA 抽出を行う際に外来性 RNA を混入し、各アッセイ時にマルチプレックス PCR を用いて検出することで、全てのステップに問題がないことが確認できる。マルチプレックス反応を行った際、ウイルス検出の感度が低下しないよう調製された RNA コントロールとプライマー・プローブのセットが各社より提供されている（ロシュ社 LightMix Modular EAV RNA Extract. Control、Thermo Fisher Scientific 社 VetMAX Xeno Internal Positive Controls など）。前者については、ロシュ社の E, N, RdRP アッセイの際に用いることが可

能と明記されている。「病原体検出マニュアル 2019-nCoV」の N, N2 アッセイとの同時使用も可能であったとの報告もある。

(ii) 検査プロセス

(Nested-PCR 検査成立の基準)

陽性コントロールで目的サイズのバンドが検出され、陰性コントロールで検出されないときに試験成立とする。2nd PCR で目的のサイズに近い大きさのバンドが検出された場合は陽性とする。されなければ陰性とする

(qPCR 検査成立の基準)

薬事承認された IVD 検査試薬が無い現状を鑑み、暫定的に検査成立の基準は国立感染症研究所が作成した病原体検出マニュアル 2019-nCoV に準拠することとする。すなわち陽性コントロール 50 copies/5ul における増幅曲線の立ち上がり (Ct 値) が 40 サイクル以内にみられ、かつ陰性コントロールの増幅曲線の立ち上がりが見られないときに試験を成立とする。

(結果判定基準)

N2 セットの 2 つのウェルのうち、一方あるいは両方で反応時間内に増幅曲線の立ち上がりが見られた場合は陽性とする。

N2 セットが陰性で N セットだけが陽性の場合、コンタミネーションの可能性があり再試験を実施することを推奨する。

N セット、N2 セットのいずれのウェルにおいても、反応時間内に増幅曲線の立ち上がりがない場合は陰性とする。

2nd derivative 法による自動判定などでは曲線が見られなくとも陽性と判断される場合がある。必ず増幅曲線、曲線の立ち上がりについてコントロールのものと比較して確認する。

(iii) 検査後プロセス

使用する機器や検査方法により、検出限界が異なっている。そのため、診断閾値については、各施設で定めるべきである。

核酸検査は国立感染症研究所 病原体検出マニュアル 2019-nCoV Ver2.9.1 を参考に実施する。2020年5月29日時点で、様々なニーズに対応できることを目的として、いくつかの試薬や異なる核酸増幅法である LAMP (Loop-Mediated Isothermal Amplification) 法が厚生労働省の認可を受けている⁷⁾。

病原体検出マニュアルはアップデートされるため最新版を参照できるようにする。

新型コロナウイルスの PCR 検査数の増加を目的とした、車に乗ったまま検査を受けられる「ドライブスルー方式」は、厚生労働省からも推奨されている。行政検査を行う機関である地域外来・検査センターの都道府県医師会・郡市区医師会等への運営委託等に関する事務連絡が厚生労働省より公表されている (2020年4月15日)⁸⁾。

本方式は、疑われる患者を医療機関に集める必要がなく、普及が期待される。検体採取者や検査施行者の感染リスクや検体のコンタミネーションなどに関して、施設内の検査に比べ、より一層の配慮が必要になる。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, 2019-nCoV (新型コロナウイルス)感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル ~2020/06/02更新版~
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2518-lab/9325-manual.html>
- 2) Williams E, Bond K, Zhang B, Putland M, Williamson DA. Saliva as a non-invasive specimen for detection of SARS-CoV-2. *J Clin Microbiol.* 2020 Apr 21. pii: JCM.00776-20. doi: 10.1128/JCM.00776-20. [Epub ahead of print]
- 3) To KK, Tsang OT, Chik-Yan Yip C, Chan KH, Wu TC, Chan JMC, Leung WS, Chik TS, Choi. CY, Kandamby DH, Lung DC, Tam AR, Poon RW, Fung AY, Hung IF, Cheng VC, Chan JF, Yuen KY. Consistent detection of 2019 novel coronavirus in saliva. *Clin Infect Dis.* 2020 Feb 12. pii: ciaa149. doi: 10.1093/cid/ciaa149. [Epub ahead of print]
- 4) Iwasaki S et al. Comparison of SARS-CoV-2 detection in nasopharyngeal swab and saliva. medRxiv 2020.05.13.20100206; doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.13.20100206>
- 5) Kelvin Kai-Wang To et al. Temporal Profiles of Viral Load in Posterior Oropharyngeal Saliva Samples and Serum Antibody Responses During Infection by SARS-CoV-2: An Observational Cohort Study. *Lancet Infect Dis.* 2020 May;20(5):565-574. doi: 10.1016/S1473-3099(20)30196-1. Epub 2020 Mar 23.
- 6) 日本臨床検査医学会, 新型コロナウイルスに関するアドホック委員会からの提言 (第1版 2020年3月1日) <https://www.jslm.org/committees/COVID-19/20200301.pdf>
- 7) 臨床検体を用いた評価結果が取得された2019-nCoV遺伝子検査方法について 厚生労働省健康局結核感染症課 国立感染症研究所
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/2019-nCoV-17-current.pdf>
- 8) 行政検査を行う機関である地域外来・検査センターの都道府県 医師会・郡市区医師会等への運営委託等について 厚生労働省新型コロナウイルス感染症 対策推進本部
https://www.jda.or.jp/dentist/coronavirus/upd/file/20200417_coronavirus_chiikiga_iraityousasenta.pdf (2020年4月15日)

日本臨床検査医学会 新型コロナウイルスに関するアドホック委員会

委員長 柳原 克紀

委員 高橋 聡、飯沼 由嗣、萱場 広之、岡山 昭彦、長尾 美紀、
森永 芳智、佐藤 智明、三澤 成毅、大塚 喜人