

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年1月20日現在、2019-nCoV(新型コロナウイルス)の病原体診断の確立された方法は報告されていないが、近縁の SARS-CoV(重症急性呼吸器症候群コロナウイルス)や MERS-CoV(中東呼吸器症候群コロナウイルス)に対する病原体診断を参考に、以下のような検体が有用であると推測されている。上気道検体のみを用いた場合の検査の感度は低いことが予想されており、重篤もしくは進行性の病態の場合には、再度の検体採取と検査、下気道由来検体の採取を試みる事が望ましい。

【2019-nCoV 検査に必要な検体】

患者(代諾者)に 2019-nCoV 検査を実施することを説明し、下記のうち出来るだけ多種の検体を確保する。

優先順位	必要性	検体の種類	採取時期	輸送・検査までの保存温度	量
1	できる限り採取する	下気道由来検体(喀痰もしくは気管吸引液)*	できるだけ早く(発病後5日以内)	≤48時間:4℃ >48時間:-80℃以下	1-2 mL
1	必ず必要	上気道由来検体(咽頭拭い液)	できるだけ早く(発病後5日以内)	≤48時間:4℃ >48時間:-80℃以下	咽頭拭い液 1本 (鼻腔拭いも採取した場合は1本にまとめる)
2	できる限り採取する	急性期血清	できるだけ早く(発病後5日以内)	≤5日:4℃ >5日:-80℃以下	2 mL
3	できる限り採取する	回復期血清	発病後14~28日	≤5日:4℃ >5日:-80℃以下	2 mL
3	可能であれば採取する	全血(EDTA加血) *ヘパリン不可	できるだけ早く(発病後5日以内)	≤5日:4℃ >5日:-80℃以下	5 mL
4	可能であれば採取する	尿	発病4日以降	≤5日:4℃ >5日:-80℃以下	2-3 mL
5	可能であれば採取する	剖検組織	剖検時	担当者にご相談ください	担当者にご相談ください。

*2020/1/23 に BioRxiv (<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.01.22.914952v2>) に公開された中国からの報告によると、重症肺炎患者では下気道由来検体(BALF)に含まれるウイルス量は上気道由来検体(口腔スワブ)に含まれるウイルス量よりも多い傾向がある。確実な診断のためには、できる限り下気道由来検体も採取することが望ましい。検査に喀痰を用いる場合は、検体の前処理が必要となる場合がある。前処置の方法については、地方衛生研究所に配布している「インフルエンザウイルス遺伝子検査およびウイルス分離のための喀痰検体の前処理法」もしくは、検疫所に配布している「鳥インフルエンザ A(H5N1, H7N9)に係る検査マニュアル(第4版)」内の記載に準じる。

【検体採取時の留意点】

上気道由来検体・・・滅菌綿棒で後鼻腔あるいは咽頭を十分にぬぐい、綿棒の綿球部分のみ(ハサミで切断する)を1mLのウイルス輸送液(VTM, 入手できない場合は生理食塩水)が入った滅菌スピッツ管に入れ、蓋をし、パラフィルムでシールする。滅菌綿棒は、できればフロックスワブが望ましい。フロックスワブは、先端が柔らかくブラシのようになっていてサンプルの採取効率および試料中への放出効率が良くとされる。検体は複数部位からの採取が望ましい。鼻腔と咽頭の両方を採取できる場合は1本のスピッツに鼻腔と咽頭スワブの2本をまとめて入れる。どちらか一方のみ採取する場合は、咽頭スワブを優先する。

下気道由来検体・・・患者が人工呼吸器管理下にある場合には無菌的な操作のもとに、滅菌されたカテーテルを使って気管吸引液を採取する。挿管されていない場合、喀痰を採取する。臨床的に禁忌とならない場合は気管支肺胞洗浄液の採取も検討する。採集した吸引液または喀痰はスクリューキャップ付きプラスチックチューブに入れ蓋をした後パラフィルムでシールする。

血液・・・全血は血液凝固阻止剤入りの密栓できるプラスチックチューブに1-5mL採取して蓋をした後、パラフィルムでシールする。血清、血漿は常法に従い分離し、スクリューキャップ付きプラスチックチューブに入れ蓋をした後パラフィルムでシールする。血清は1mL程度必要。

尿・・・1-2mlを試験管(ファルコンチューブなど)にいれ、パラフィルムにて蓋の周囲をシールする。

剖検組織・・・患者が死亡し、剖検でサンプルが採取可能な場合は担当者までご連絡ください。

【検体輸送まで】

上気道由来検体、下気道由来検体は検体採取後、可能な限り速やかに氷上または冷蔵庫(4℃)に保管し、輸送まで 48 時間以上かかる場合は-80℃以下で凍結保存する。血清・全血・尿は、検体処理後、冷蔵庫(4℃)に保管し、輸送まで 5 日以上かかる場合は-80℃に凍結保存する。

【検体の輸送】

- (1) 一次保管容器には、血清保管チューブ等(スクリューキャップ付きプラスチックチューブが望ましい)を用い、検体採取日、検体の種類(検体採取部位)、各医療機関にて照合可能な識別番号を容器に記載した上で輸送を行う。その際、検体管理の都合上、輸送する検体のリストを紙媒体にて添付することが望ましい。スクリューキャップ付きプラスチックチューブがない場合は、凍結保存・輸送の際に、蓋が開かないように厳重に密閉すること。
- (2) 全ての検体の輸送に関しては、事前に連絡を行い、その上で、48 時間以内(血清・全血・尿は 5 日以内)に検体を輸送することが可能な場合には、検体採取後 4℃の冷蔵庫に保存し、保冷剤を同梱し冷蔵で輸送する(凍結させない)。48 時間以内(血清・全血・尿は 5 日以内)に輸送することが不可能な場合は、検体採取後-80℃以下の冷凍庫に保存し、ドライアイスを用いて検体を冷凍したまま輸送する。検体の凍結融解を避けることに留意すること。安全性の観点から、ドライアイスは密閉した容器(二次容器)には決して入れないこと。
- (3) 病原体を含む検体は担当者によく相談した上で、基本的に三重梱包を行ない、「病毒を移しやすい物質カテゴリーB」を取り扱う輸送業者を利用して送付すること。輸送容器は国立感染症研究所から貸し出しが可能。行政検査の枠組みで検査を実施する場合の検体輸送については、「感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2013-2014 版」を参照のこと。

【連絡先】

【技術的なこと】

〒208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1
国立感染症研究所 ウイルス第三部
電話 042-561-0771

【検体送付に関すること】

〒208-0011 東京都武蔵村山市学園 4-7-1
国立感染症研究所 総務部業務管理課検定係
電話 042-561-0771

【剖検組織に関すること】

〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1
国立感染症研究所 感染病理部
電話 03-5285-1111