

現行の S A R S 診断検査法

1) ウイルス分離

検出時期	急性期～第2週
所要時間	3～7日以上
設備	B L S 3 施設
技術	訓練を受けた経験者

2) ウイルス抗体検査 (ELISA、中和、IF)

検出時期	発症後8日～回復期
所要時間	0.5～3時間
設備	一般検査室
技術	訓練を受けた経験者

3) ウイルス遺伝子検出

検出時期	急性期～第2週
	急性期は検出率低い
所要時間	RT-PCR 6時間
	Real-time PCR 2時間
設備	PCR 装置,電気泳動装置
	高額な特殊機器
技術	訓練を受けた経験者

SARS 診断検査法の問題点

- 1) 急性期の感染患者、疑い患者について
ウイルス遺伝子のコピー数が少ない
検出限界に近いため、検出困難
呼吸器からの検体採取は暴露の危険
- 2) RT-PCR による特異的診断法
性能が不十分
 - ・ 検出感度が低い (0 ~ 20%)
陰性結果でも感染を否定できない
 - ・ 特異性が高くない
偽陽性が出る可能性がある

RNA 抽出法の改良

カラムを 5 回通す 検出感度 ~ 80 %
現場での作業は困難

- 3) Real-PCR による診断キット
検出時間は短縮した 2 時間
感度は RT-PCR よりも少しだけ向上
1 千万円以上の高額機器が必要

要求される診断キット

- 1) 感度 陰性結果であれば感染を否定できる
- 2) 特異性 偽陽性が出ない
- 3) 迅速性 短時間で結果が出る
- 4) 簡便性 特殊な機器を必要としない
一般的な機器を利用できる
- 5) 操作性 操作が簡単
特別な訓練を必要としない
- 6) 低価格 途上国でも使用可能
- 7) 今冬までに実用化

RT-LAMP法（栄研化学）

- 1) RT 反応は基本的には従来と同じ
- 2) 6個の特異的プライマーを用いる
特異性が高い（偽陽性が出にくい）
- 3) 二重鎖 DNA を鋳型にする DNA ポリメラーゼを使用
- 4) 単一の反応温度
サーモサーキュラー(PCR 機器) 不要
- 5) ループを形成しながら無限に反応する
短時間で増幅ができる（15分～）
- 6) 検出は目視（濁度）、蛍光色素で定量、
real-time でのモニター

- ・ 既に E.coli 0157 等の実績がある
実用化、大量生産にも対応可能
- ・ SARS CoV については、
プライマー設計、
RNA 標準品を用いた性能試験段階
今冬までに開発・実用化が期待できる

表1 WHOパネル検体サベランス

パネル番号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
本キット	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+
	(2/2)	(2/2)	(0/2)	(2/2)	(1/2)	(2/2)	(0/2)	(0/2)	(2/2)	(2/2)
	⑥	①		④	⑦	③			②	③
RT-PCR	-	+++	-	+	-	++	-	-	++	-

本キットの下段：(陽性数/陰性数)

①～⑦はコピー数の多い順序を示す。

表2 国立感染症研究所におけるベトナムSARS感染患者との接触者検体での測定結果

—検体数での集計—

Specimen type	Number of sample	RT-LAMP Turbidity		RT-LAMP Visual Fluorescence		RT-PCR		ELISA	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
serum	276	28 (10.1%)	248 (89.9%)	28 (10.8%)	231 (89.2%)	2 (3.1%)	63 (96.9%)	74 (26.8%)	202 (73.2%)

表3 国立感染症研究所におけるベトナムSARS感染患者との接触者検体での測定結果

—患者数での集計—

Specimen type	Number of sample	RT-LAMP Turbidity		RT-LAMP Visual Fluorescence		RT-PCR		ELISA	
		Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative	Positive	Negative
serum	143	15 (10.5%)	128 (89.5%)	16 (11.9%)	118 (88.1%)	2 (5.0%)	38 (95.0%)	31 (21.7%)	112 (78.3%)

表4 検体量を増やした場合の検出率

n	negative_positive	negative_negative
41	15 36.6 %	26 63.4 %

表 5 香港中文大学における測定結果

臨床診断	検体の種類	n	RT-LAMP (リアルタイム濁度)		RT-LAMP (蛍光目視)		RT-PCR	
			陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
SARS	鼻腔スワブ	7	4	3	3	4	3	4
	深部鼻腔スワブ	6	4	2	4	2	5	1
	鼻腔スワブ吸引液	1	0	1	1	0	0	1
	咽頭うがい液	11	5	6	2	9	10	1
	咽頭スワブ	3	1	2	2	1	3	0
	咽頭うがい液吸引液	1	0	1	0	1	1	0
	喀痰	1	1	0	1	0	1	0
	便	68	56	12	55	13	60	8
	便 (大腸スワブ)	1	0	1	0	1	0	1
	大腸スワブ	10	8	2	6	4	7	3
合計		109	79 (72.5)	30 (27.5)	74 (67.9)	35 (32.1)	90 (82.6)	19 (17.4)
不明 (SARS 陽性)	血漿	10	1	9	0	10	1	9
不明 (リアルタイム PCR 陽性)	血漿	10	2	8	1	9	3	7
	血清	11	2	9	1	10	5	6
合計		31	5 (16.1)	26 (83.2)	2 (6.5)	29 (93.5)	9 (29.0)	22 (71.0)
陰性	鼻咽腔吸引液	2	0	2	0	2	0	2
	便	5	0	5	0	5	0	5
	咽頭・鼻腔スワブ	2	0	2	0	2	0	2
	気管吸引液	1	0	1	0	1	0	1
不明 (おそらく陰性)	血漿	10	0	10	0	10	0	10
合計		20	0 (100.0)	20 (100.0)	0 (100.0)	20 (100.0)	0 (100.0)	20 (100.0)

表 6 香港特別行政区衛生署における測定結果

臨床診断	検体の種類	発症日からの日数	n	RT-LAMP (リアルタイム濁度)		RT-LAMP (蛍光目視)		RT-PCR	
				陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
SARS	血清	0	1	0	1	0	1	0	1
		1	4	0	4	0	4	0	4
		2	4	1	3	1	3	1	3
		3	8	1	7	1	7	1	7
		4	2	0	2	0	2	0	2
		5	6	1	5	1	5	1	5
		6	2	0	2	0	2	0	2
		7	9	5	4	1	3	5	5
		8	7	2	5			2	5
		9	4	0	4			0	4
		10	3	1	2			2	1
				合計	50	11	39	4	
非 SARS	血清	合計	30	0	30				