

## 「重症急性呼吸器症候群(SARS)」の検査法について

SARS の病原体である SARS コロナウイルス(SARS-CoV)に関する検査法としては、遺伝子検査法、細胞培養法、抗体検査法の3つの方法がある。

しかしながら現時点(平成15年12月26日)では、WHO(世界保健機関)も再三強調しているように、あくまで SARS 診断の補助的方法という段階の検査法でしかない。

その理由としては、いずれの方法にも未だ多くの問題点が存在することがある。現在、世界中の多くの研究所で、より迅速・正確な検査法の確立が試みられており、近日中に世界標準の検査法が確立することが期待される。

以下に、愛知県衛生研究所(以下、衛生研究所とする。)で実施可能な検査法及び検査に関する検体採取等の条件などについて述べる。

先ず、上に述べたような理由で、SARS の診断は引き続き、臨床的、疫学的所見によってなされるものであり、現在の SARS 検査の結果が陰性であっても SARS を否定するものではないことに留意こと。なお、SARS に関する検査は衛生研究所と国立感染症研究所(以下、感染研とする。)において同時に実施する。

衛生研究所では SARS の除外診断を中心として検査を実施するが、SARS-CoV も検出できる体制を取っている。

検査対象者は SARS の患者及び「疑い例」の全てであり、患者あるいは医療機関から直接検査依頼を受けることはできない。検査の必要があると考えられた場合には、必ず保健所に連絡して実施の可否を含めその詳細を相談すること。

当所で実施する検査の内容、及び検査の対象となる検体は以下の通り。

なお、SARS 除外診断のための肺炎起因菌(クラミジア等を含む)検査及びインフルエンザウイルス感染の迅速診断は、医療機関で実施する。

### 1. 検査内容

#### (1) 臨床検査キット(検査時間約 30 分)

RS ウイルス、アデノウイルスについては臨床診断用キットを用いて SARS 除外診断を実施する。

#### (2) 遺伝子検査(検査日数約1週間)

WHO 推奨プライマー(NPconS2/As1, SARIs/as)を用いて RT-PCR 法による検査を実施する。RT-PCR 法によって目的とする遺伝子増幅産物と思われるものが検出された段階(1~2日)で、衛生研究所より健康対策課及び保健所に連絡する。

増幅産物はシーケンスによって遺伝子の確認を行うと共に、感染研に結果確認を依頼し、その結果を衛生研究所より健康対策課及び保健所に連絡する。また現時点では、WHO、CDC も指示しているように、検査結果の確認(陽性、陰性いずれの場合も)のためにも検体採取は経時的に実施することが望ましいと考えられるので、留意されたい。

衛生研究所ではリアルタイム PCR(衛生研究所が所有している従来型の PCR と比較し、格段に迅

速な遺伝子検査が可能となる)を7月に配備したところである。また、衛生研究所に配備した機器用の SARS 検出キットも近日中に市販される予定となっているので、準備が整い次第リアルタイム PCR を用いた検査に切り替えていく予定である。リアルタイム PCR の導入により遺伝子の迅速検査が可能となったが、(検体中にウイルスが多量に含まれる場合には3時間程度)、現時点で擬陽性(10~20%)が否定できないので、RT-PCR 法で得られた遺伝子増幅産物の塩基配列を決定することによって、SARS-CoV の遺伝子であるか否かの確認を実施するものとする。

### (3) 組織培養検査(検査日数 2~4 週間)

Vero - E6、MDCK、Vero 細胞等を使用し SARS-CoV 及びその他のウイルスの分離を実施する。

患者からウイルスが検出された場合は、直ちに感染研にウイルスを送付し同定を依頼する。「疑い例」の患者からウイルスが検出された場合には、当所で先ず既知のウイルスに関する同定試験を行い、既知のウイルスが否定された場合はその時点で直ちに、感染研にウイルスを送付し同定を依頼する。

また、ウイルスが検出された場合には、直ちに当所で SARS-CoV の PCR 検査を実施する。

衛生研究所でウイルスが分離され感染研にその同定を依頼する場合には、その旨を健康対策課及び保健所に連絡するので、関連医療機関へは管轄保健所(または、健康対策課)から連絡することになる。

また、2週間の培養でウイルスが分離されなかった場合には、使用した培養液の上清を再度それぞれの細胞に接種し、更に2週間培養を試みる。最終的に計4週間の培養でもウイルスが分離されない場合には陰性として連絡するが、冒頭に述べたように SARS 検査陰性は SARS を否定するものではないことに注意されたい。

### (4) 抗体検査

SARS-Cov に対する抗体検査は感染研で実施する。この際必ずペア血清を採取すること。

各医療機関で急性期血清を採血し、他の検体と一緒に保健所経由で衛生研究所へ搬送すること。その後は、毎週1回採血し、3週目の採血が出来た段階で保健所を経由して衛生研究所へ搬送する。感染研には衛生研究所から送付する。

## 2. 検体採取方法

採取検体は基本的には喀痰または咽頭ぬぐい液、糞便、尿、ペア血清である。

血清、喀痰採取容器以外の容器は衛生研究所が準備したものをご使用すること。

また、各検体の採取については感染研のホームページを参考にすること。

アドレス (<http://idsc.nih.go.jp/others/urgent/update41-ss.html>)

喀痰(2本)	密閉式の喀痰用容器に採取する。
咽頭ぬぐい液(2本)	咽頭を綿棒でよくぬぐってから保存液入り容器(写真1)の中に入れ(写真2)、容器からはみ出した余分な部分をハサミで切って(写真3)から蓋をする。
糞便(2本)	採便容器の蓋についた棒で糞便を採取し容器に入れる(写真4)。 直採の場合には、採取した便を綿棒ごと咽頭ぬぐい液用容器に入れること。細菌検査用キャリブレアーは使用しないこと。
尿(2本)	滅菌容器(滅菌スピッツ等)に50ml程度採取すること。
急性期血清 回復期血清 (各1本)	血清は少なくとも急性期と回復期(発病後約3週間)の2回採血すること。 血清分離用採血管を用い、5ml以上採血すること。 可能であれば採血管を室温に1時間以上静置後、遠心すること。

採取容器はふたを密閉し、ビニールテープを巻いて(写真5)固定する。検体はペーパータオルでくるみ(写真6)、一次容器内へ入れ(写真7)70%以上のアルコールで消毒した後、表に検体の種類、本数を書いたラベルを貼る。病室から外へ出してから、一次容器を二次容器に入れ(写真8)、二次容器を70%以上のアルコールで消毒する。

### 3. 検体搬入方法

検体搬入の際はクーラーボックスを使用し(写真9)、必ず保冷剤を入れ(0度~4度)、原則として48時間以内に搬入すること。48時間以内に搬入する事が不可能である場合には、施設内で-70以下の冷凍庫に保存し、冷凍(ドライアイス)にて輸送すること。

当面は土日、休日も受け付けることとするが、検査の都合上出来るだけ9時~17時までに搬入すること。ただし、緊急の場合にはこの限りではない。

写真1



写真2



写真3



写真4



写真5



写真6



写真7



写真8



写真9

