

の決定は、組織としてなされる必要がある。特に臓器移植を行う施設や制がん剤やステロイド剤などを多用するがん患者や自己免疫疾患患者を多く取り扱う施設について、欧米では臓器移植学会など学術団体やCDCなどが学術論文を根拠としてだしている勧告やマニュアルで規定している。たとえば、水痘の既往のない、または予防接種をしていない、あるいは水痘の予防接種をしていても接種後6週間経過していない職員の移植病棟への配属禁止は、移植患者が水痘に罹患した場合の死亡率および死亡しなくても軽快するまでの患者の苦痛・負担と医療経済学などの論文を根拠としている<sup>1)</sup>。日本では老健施設などでの患者および職員に対するインフルエンザ予防接種は、日本では条例にはないが、厚生労働省および地方自治体から接種奨励の通達がでている。

手術室の下足履き替え問題、内視鏡検査の消毒方法、デスポ製品の採用なども施設として、どの根拠を用いるのか、どのように対処するのかは組織の方針を決める必要がある。

面会者の制限、盲導犬の導入、ペット、切花・植木などの植物、食べ物などの許可も施設および組織として方針を決める必要がある。CDCはこれらの問題に関して、たとえば盲導犬など動物は禁止するのではなく、そのようにすれば許可できるという条件をあげている<sup>2)</sup>。

## 設 備

空気感染によって感染伝播する疾患の対応は、その施設の構造および運営方針が大きな要素になる。結核、麻疹、水痘、アスペルギルス症など空気感染する疾患管理は、施設の構造と空調システムによるところが大きい。特に多剤耐性結核には陰圧病室管理が好ましい。また、小児病棟やがん病棟には陰圧・陽圧を調整できる病室設置が好ま

## 文 献

- 1) CDC/DHHS, Infectious Disease Society of America, American Society of Blood and Marrow Transplantation. Guidelines for preventing opportunistic infections among hematopoietic stem

しいが、経費がかかるため、施設としての方針により決定される。欧米では、建築学会などと共同研究を行い、医療施設における構造や扉・窓の位置の基準を決めている。

洗浄水、透析室、空調の冷却塔の管理も施設としてモニターし管理する必要がある。

## ゾーニングと人や物の動線に対する理解と協力

清潔・不潔（汚染）区域の設定と、それをもとにした手順の決定は、感染伝播の防止に大きな役割を果たす。ことに飛沫感染、接触感染の感染伝播経路の遮断の観点から、1つの病棟内での患者のベッド配置、病室の決定、診療・看護者の行動順番、清掃順番は、その病棟に勤務する全員が十分に理解し、動線と手順を統一しなければ効果を発揮しない。MRSAやVRE感染症の場合は特に重要である。

## 廃棄物の分別と種類に対する理解と協力

医療施設の廃棄物は、一般廃棄物（可燃性、不燃性）の他に、医療廃棄物、感染性廃棄物、鋭利廃棄物などに分類され、それを職員全員が十分に理解しなければならない。廃棄物は一次貯蔵場所の管理（欧米では虫や動物が入り込めない構造と管理を規定している国もある）、委託業者への周知徹底も問題になることがある。

## ●おわりに

病院感染は、安全な医療の提供の観点から、科学的な根拠に基づく防止対策が重要であるが、絶対という方法はないため、施設としてどのように対処するか、また医療経済学的な観点からも妥当な方法を施設・組織として理解し、実施していく必要がある。

cell transplant recipients. MMWR. 2000; 49: RR-10.

2) HICPAC/CDC/DHHS. Guidelines for environmental infection control. MMWR. 2003; 52: RR-10.

日本臨牀 63 卷 増刊号 7 (2005 年 7 月 28 日発行) 別刷

# 広範囲 血液・尿化学検査 免疫学的検査

—その数値をどう読むか—

[第 6 版]

(3)

VIII. 免疫学的検査

F. ウイルス感染症関連検査(抗原および抗体を含む)

## SARS コロナウイルス

倉辻忠俊 切替照雄

## VIII 免疫学的検査 F. ウイルス感染症関連検査(抗原および抗体を含む)

## SARS コロナウイルス

SARS-Corona virus

倉辻忠俊 切替照雄

Key words: SARS, 呼吸器感染症, 血清抗体, 診断, バイオセーフティー

## 1. 概 説

重症急性呼吸器症候群(severe acute respiratory syndrome: SARS)は, 2003年2月末から(発端は2002年11月)東アジアを中心に, 短期間に全世界へと流行拡散した, SARS コロナウイルスによる急性呼吸器感染症である。感染者の20%前後が発症後数日以内に乾性咳嗽, 呼吸困難, 低酸素血症へと急速に重症化する進行性肺炎(呼吸窮迫症候群)で, 死亡率は10%前後である。飛沫感染, 接触感染によりヒト-ヒト感染が主であるが, まれに糞口感染, 空気感染の可能性を示唆する例もある。20-50%が病院感染で, 早期診断, 院内感染対策が重要である。

診断はウイルス分離, RT-PCR, LAMP法などによる遺伝子診断, 血清抗体検査などによる。

ウイルスのレザボアはハクビシンなど野生の動物が考えられているが, まだ確定していない。

## 2. 検査の目的

ウイルス分離および遺伝子診断は治療および疫学的対策, 鑑別診断のために行う。ペア血清の抗体検査は確認のために行う。

## 3. 試料の採取方法

飛沫感染するので, 試料採取の際はN95マスク, ゴーグル, 手袋などの个人防护具を必ず着用する。

ウイルス分離, 遺伝子診断のための試料は, 鼻咽頭拭い液, 喀痰などの気道分泌液, 便, 尿などが用いられる。ウイルス分泌は発症後10

日頃が最大となるので, 発症初期の診断が陰性でも, 10日余り後にもう一度採取することが望ましい。

血清抗体価検査は急性期(10病日以内)および20病日以降のペアとして採取する。20病日前後の血清が陰性の場合, 30病日以降の血清を採取して確認することが望ましい。

## 4. 測定法

日本におけるSARS コロナウイルスの標準的確定診断は確立されていない。また, 施設内感染が多いため, 患者(疑いを含む)の診療, 試料の取り扱いの際は原則としてN95マスク, ゴーグル, 手袋など个人防护具の着用ばかりでなく, バイオセーフティレベル2以上の部屋で, 安全キャビネット内で, 十分な準備と細心の注意をもって実施する。

## a. ウイルス分離

BSL3対応の施設が必要で, 通常の病院検査室では行ってはならない。したがって, 試料は保健所に連絡のうえ, 指定の地方衛生研究所あるいは国立感染症研究所へ, 万国郵便条約に則って送付する。すなわち, 試料の入ったスクリーキャップで密閉できる第1次容器を吸収性の良い布あるいは紙タオルで包み, WHOの基準を満たす耐圧の第2次容器に入れる。第3次容器に試料の内容, 患者情報, 依頼元を記した封筒, 第2次容器, 保冷剤を入れて封をし, 外側に宛先, 依頼元を記し, 更にバイオハザードのシールを貼る。発送の前に受け入れ先(地方衛生研究所あるいは国立感染症研究所)に連絡をしておく。

Tadatoshi Kuratsuji, Teruo Kirikae: Research Institute, International Medical Center of Japan 国立国際医療センター研究所

### b. ウイルスの遺伝子検出(LAMP 法)<sup>1,2)</sup>

現在のところ、日本で臨床診断薬として承認されているものは、栄研化学の Loopamp SARS コロナウイルス検出試薬キットのみである。SARS コロナウイルスの replicase 領域内に設定した6種類のプライマーを使用しているため、他のヒトコロナウイルスなどと交差反応を起こさず、特異性が高い。

汚染を防ぐために安全キャビネット内で操作、またマイクロ遠心機もバイオシールドのローターを使用する(バイオセーフティレベルBSL2)。また、他試料とのコンタミネーションを防ぐための注意は、他の遺伝子検査と同様である。

直前にバッファーをエタノールなどで調整しておく。

1.5ml チューブに buffer AVL/carrier RNA 540  $\mu$ l, 試料 140  $\mu$ l を入れ、キャップを閉めボルテックス攪拌混和, 10 分間室温孵置後, 遠心, エタノール, バッファーなど添加, 遠心など繰り返し, RNA を抽出する。

以下の操作は循環型クリーンベンチを使用, 手袋を着用する。

試料, 陽性, 陰性コントロール分のマスターミックスを調整し, 使用まで氷上保存する。試料, マスターミックスを混合し, 遠心する。チューブを 62–63°C, 45 分間反応させ, 次に 80°C, 5 分間加温して反応を停止させる。

LA-320C 制御ソフトを起動し, 測定条件を設定し, 濁度を測定する。簡易にチューブ底面から紫外線(254–366 nm)を照射し, 目視してもよい。

### c. 血清 IgG 抗体価(ELISA 法)<sup>3)</sup>

血清を熱非動化した後はBSL2で施行してよい。血清を段階希釈してリコンビナントのSARS-CoV ウイルス N 蛋白と U274 でコートしたマイクロプレートに蒔いて 37°C に孵置する。抗ヒト IgG および基質(3,3',5,5'-tetramethylbenzidine)を加えて反応させた後, 450 nm, 620 nm の吸光度を測定する。我が国では臨床診断用には販売されていないが, Generalabs Diagnostics Pte. Ltd.(Singapore)社製の診断キットは, 抗原としてリコンビナント SARS-CoV 蛋白 N,

U274 を用いている。本キットは, 同患者の急性期ウイルス分離, RT-PCR による遺伝子診断の結果および著者らの 6 カ月後の血清抗体価の結果と一致し, 特異性, 感度とも十分に診断に堪える。

## 5. 基準値

正常: ウイルス分離陰性, RT-PCR によるウイルス検出陰性, 血清抗体価陰性。

動物のコロナウイルスには交差反応はないとされている。

## 6. 生理的変動(測定に影響を及ぼす因子)

試料の採取時期がキーポイントである。潜伏期(無症状期)にはウイルスは分泌されない。発熱, 筋肉痛, 全身倦怠などの前駆期もウイルス分泌は微量で, これらの時期のウイルス分離や RT-PCR が陰性でも, SARS は否定できない。

## 7. 臨床的意義(異常値を示す疾患)

当初は通常 SARS の保因者はないと考えられていた。したがって陽性の場合には SARS の確定診断となる。

LAMP 法の場合, 上述のように他のヒトコロナウイルス, 腸コロナウイルス, ネコ, イヌ, ウシ, ウサギ, ラットなど他種のコロナウイルス, マウス肝炎ウイルス, ブタ伝染性胃腸炎ウイルスなどとも交差反応は起こさず, また陽性反応的中率(positive predictive value)も高いため, 陽性と判定された場合は確定診断である。しかし, negative predictive value は低いため, 陰性であっても SARS は否定できない。したがって, Loopamp SARS コロナウイルス検出試薬キットは SARS を否定するための鑑別診断に用いてはならない。WHO の定義による SARS 患者の糞便では 81.0%, 鼻咽頭拭い液で 56.3% の陽性率であった。

ELISA による抗体検査の場合は, 特異性, 感度の点から, ペア血清の場合, 否定診断にも用いられる。抗体は長期にわたる持続が確認されているので, 回復期以降の血清であれば, 1 ポイントでも診断し得る。また 1 シーズン前の呼

吸器疾患の鑑別にも用いることができる。著者らの調査では、濃厚接触で感染予防策を講じた場合でも6.3%程度の不顕性感染を認めた<sup>3)</sup>(表1)。また不顕性感染は濃厚接触しなくてもあり得るが、その場合の血清抗体価は低い。

## 8. 関連検査項目

10日以内の流行地の渡航歴，検査室・研究室勤務歴，発熱，乾性咳嗽，呼吸困難など主要症状，胸部X線写真などが診断の基本である。

急性呼吸器症状を呈するマイコプラズマ，インフルエンザ，RSウイルスなど他の病原微生物の抗原あるいは抗体検査を行う。

表1 ELISAによる血清抗SARS-IgG抗体<sup>3)</sup>

施設(注)	検査人数	陽性人数	陽性率
A病院	148	60	40.5%
(発症者)	44	44	100%
B病院	127	8	6.3%
C病院	50	1	2.0%
合計	325	69	21.2%

注：A病院は輸入SARS患者1人に端を発し，職員は濃厚接触あり，病院感染が多発した。B病院はA病院から転送されたSARS患者を除く。職員は濃厚接触あるも，感染予防策を講じた。C病院はB病院と同じ敷地内であるが，SARS患者の入院はない。

## ■ 文献

- 1) Loopamp SARS コロナウイルス検出試薬キット説明書，栄研化学，2003.
- 2) 田代真人：迅速診断法の開発，科学技術振興調整費「SARSの診断及び検査手法等に関する緊急調査研究」成果報告書，2004.3.
- 3) Kirikae T, et al: Detection of antibodies against SARS-associated coronavirus in patients and healthcare workers at three hospitals following the 2003 Hanoi outbreak. FEMS Microbiology letters, 2004.

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業

院内感染の発症リスクの評価及び  
効果的な対策システムの開発に関する研究

平成17年度 総括研究報告書

発行日 平成18年4月10日

発行者 倉辻 忠俊

〒157-8535 東京都世田谷区大蔵2丁目10-1

国立成育医療センター研究所 ☎(03) 3416-0181

製作 株式会社メテカルフレンド社