

肺結核症例における結核菌群核酸検出検査のための LAMP法 (Direct TB-LAMP) の有用性の検討

¹吉多 仁子 ¹小野原健一 ¹田澤 友美 ¹河原 邦光
²釣永 雄希 ²韓 由紀 ²田村 嘉孝 ²永井 崇之
²橋本 章司 ²川瀬 一郎

要旨：〔目的〕結核の核酸増幅検査Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP法)を、喀痰から集菌せずに直接行い (Direct TB-LAMP)、塗抹検査とMGIT培養と比較し、迅速診断の有用性について検討した。〔期間・方法〕2013年6月から2014年2月に肺結核と診断され治療開始から5日以内に提出された喀痰111検体を対象とした。Direct TB-LAMPは喀痰60 μ lを採取し、核酸抽出はPURE法、試薬はLoopamp[®]結核菌群検出キットを用い、リアルタイム濁度測定装置Loopamp[®] EXIAで測定した。その後、塗抹検査とMGIT培養を行った。〔結果〕111検体中、塗抹陽性46検体はMGITとDirect TB-LAMPが陽性で、Direct TB-LAMPの平均陽性検出時間は13分55秒。塗抹陰性・MGIT陽性56検体のうちDirect TB-LAMP陽性は44検体 (陽性率78.6%) で、平均陽性検出時間は15分59秒。〔考察〕喀痰から直接行うDirect TB-LAMPは、陽性率が高く、操作が簡便で陽性検出時間も短く、多くの施設での活用が期待できる方法と思われる。

キーワード：塗抹陰性・MGIT陽性検体、結核迅速診断、核酸増幅法、Direct TB-LAMP

序 文

近年の結核菌の遺伝子検査の普及は、結核患者発見率の向上と「診断の遅れ」の改善に寄与することになった¹⁾。これらの遺伝子検査の1つであるポリメラーゼ連鎖反応 (polymerase chain reaction: PCR)^{2)~4)}法が、結核の迅速診断に主に用いられている。従来のアンプリコア[™]マイコバクテリウム (ロシユ・ダイアグノスティックス)⁵⁾⁶⁾はかなり手作業の部分が多かったが、核酸の増幅と測定の自動化されたコバス アンプリコア (ロシユ・ダイアグノスティックス)⁷⁾が、多数検体の迅速処理を可能にしたため広く普及し、さらに現在はリアルタイムPCR法を用いたコバス TaqMan MTB (ロシユ・ダイアグノスティックス)⁸⁾⁹⁾がより迅速性が高いため多くの施設で用いられている。

近年開発された核酸増幅法Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP法) (栄研化学) は、結核菌由来の

核酸の6つの領域に対し4種類のプライマーを設定し、鎖置換反応を利用して65℃付近の一定温度で反応させる方法で、1ステップで検出可能である¹⁰⁾。Loopamp[®]結核菌群検出キット (栄研化学) は、Loopamp[®] PURE DNA抽出キット (PURE法, 栄研化学) と組み合わせることにより喀痰中のLAMP反応を阻害する成分が取り除かれ、増幅阻害物質を多く含む喀痰そのものを検体として用いることが可能となった (TB-LAMP)¹¹⁾¹²⁾。われわれは、Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT, 日本ベクトン・ディッキンソン) 培養で陽性の同一検体を用い、集菌塗抹陰性・MGIT陽性検体のTB-LAMPの陽性率が80%で、TaqMan MTBの陽性率68%より高いことを2013年に報告した¹³⁾。今回、より迅速な結核の診断を目的として喀痰を集菌せず直接用いたTB-LAMP (Direct TB-LAMP) を行い、塗抹検査とMGIT培養で比較を行い有用性について検討したので報告する。

地方独立行政法人大阪府立病院機構大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター¹臨床検査科、²感染症内科

連絡先：吉多仁子，大阪府立呼吸器・アレルギー医療センター臨床検査科，〒583-8588 大阪府羽曳野市はびきの3-7-1 (E-mail: yoshidahi@opho.jp)

(Received 29 Aug. 2014/Accepted 16 Feb. 2015)

対象と方法

(1) 対象

2013年6月より2014年2月の間に肺結核と診断され、当院の臨床研究倫理委員会で承認され、同意の得られた111症例から提出された喀痰を対象として用いた。

(2) 方法

喀痰の品質評価にMiller & Jones分類 (Table 1) を用いた¹⁴⁾。

提出された喀痰で、まずDirect TB-LAMPを行った。直接塗抹 (塗抹) 検査を実施し、前処理にプレソルブ (日水製薬) と抗酸菌検出用キット “ニチビー” (日本BCG製造) を用いた処理後検体でMGITを行った¹⁴⁾。

① Direct TB-LAMP

核酸抽出はPURE法を用い、平らな容器で真上から吸引し円を描きながら粘性を切り取るように採取した喀痰の膿性または粘液部分と陰性コントロールの各60 μ lを検体処理チューブに添加した。検体処理チューブは3~5回転倒混和、ヒートブロックで90 $^{\circ}$ C 5分間加熱後、2分間室温で静置し、3~5回の転倒混和後、吸着剤チューブに装着し、直ちに上下と左右に10回激しく振り十分混和し、水平に静置した。滴下注入キャップを吸着剤チューブの滴下側にねじり固定し、中央部を押し出した溶液をDNA溶液として用いた。

Loopamp[®]結核菌群検出キットは、LAMP試薬が蓋の内側に固着した反応チューブを用いた。作成したDNA溶液と陽性コントロールの30 μ lを反応チューブに滴下し、蓋を閉め反応チューブを転倒させDNA溶液と陽性コントロールを蓋に移動し2分間倒立させ静置した。反応チューブを5回転倒混和後スピンドウンし、リアルタイム濁度測定装置Loopamp[®] EXIA (栄研化学) で測定した¹⁴⁾。

② 塗抹検査

塗抹検査はチール・ネールゼン法で行った¹⁴⁾。0.05 mlを塗抹標本に1 \times 2 cmの大きさに塗布し火炎固定した。Ziehl-Neelsen石炭酸フクシン溶液 (シグマアルドリッチジャパン) を満載し10分間加温染色後水洗、3%塩酸アルコールで脱色後水洗、後染色に30秒間レフレアルカリメチレンブルー液 (武藤化学) を満載し水洗後、生物顕微鏡1,000倍拡大にて観察した¹⁴⁾。

③ MGIT培養

検体の前処理は、喀痰をプレソルブで均質化後融解し、3000 \times G、15分間遠心した。集菌後の沈渣0.5~1 mlを15 ml滅菌試験管に採取し、CC-E液等量とCC-E助剤1滴を加え攪拌し、8分間静置後pH6.8のリン酸緩衝液を15 ml滅菌試験管の上から約1 cmまで加え攪拌し、3000 \times Gで15分間遠心した。上清を捨てリン酸緩衝液1.8 mlを加え再懸濁し、混和後の0.5 mlをMGITに接種しBACTEC MGIT 960システムで培養した¹⁴⁾。

結果

(1) Direct TB-LAMPとMGITが共に陽性例の検討

111検体のうちDirect TB-LAMPとMGITが共に陽性は90検体あり、結果を塗抹結果別にTable 2-1とTable 2-2に示した。

① 対象の治療歴

肺結核90検体の治療歴は、初回治療が87例、再治療が3例。結核治療開始後の喀痰提出は、初回治療の9例のみあり、治療開始1日目が5例、2日目が2例、3日目が1例、5日目が1例、残りの78例は治療前であった。

② 塗抹結果

塗抹陰性は44検体、塗抹陽性は46検体であった。

③ 検体の品質評価

喀痰の品質評価でP1以上の良質と確認された検体群では、塗抹陰性が13例、塗抹陽性が26例、塗抹陽性率が66.7% (26/39)、また喀痰の品質が良質でないM1、M2の検体群では、塗抹陰性が21例、塗抹陽性が8例、塗抹陽性率が27.6% (8/29)であった。

④ MGITの結果

MGITの陽性検出日数は、塗抹陰性がNo. 28の5日からNo. 10の52日の間で、平均陽性検出日数は15.5日であった。塗抹陽性がNo. 75の4日からNo. 53の24日の間で、平均陽性検出日数は9.5日であった。

⑤ Direct TB-LAMPの結果

Direct TB-LAMP陽性検出時間は、塗抹陰性44検体がNo. 9の12分36秒からNo. 16の25分00秒の間で平均陽性検出時間は15分59秒、塗抹陽性46検体がNo. 89の11分12秒からNo. 68の18分06秒の間で平均陽性検出時間は13分55秒であった。

(2) Direct TB-LAMPとMGITの2法が不一致例の検討

Table 1 The visual classification of sputum purulence presents (Miller and Jones classification)

M1	Pure mucoid specimen with no suspicion of pus
M2	Predominantly mucoid specimen with a suspicion of pus
P1	Purulent, grade 1 – pus amounting to less than one-third of the specimen
P2	Purulent, grade 2 – pus amounting to less than two-thirds of the specimen
P3	Purulent, grade 3 – pus amounting to more than two-thirds of the specimen

Direct TB-LAMPとMGITの結果が一致しない21検体の結果をTable 3-1とTable 3-2に示した。

①対象の治療歴

肺結核21検体の治療歴はすべて初回治療で、治療開始3日目が1例で、残りの20例は治療前であった。

②塗抹結果

対象の21検体は、すべて塗抹陰性であった。

③検体の品質評価

対象の21検体のなかで、膿性部分がP1以上は3検体のみであった。

Table 2-1 Result of smear negative samples both Direct TB-LAMP positive and MGIT positive

No. of case	Grade of sputum	Tt	Days to detection MGIT	Comment
1	M1	16:48	12	
2	M1	24:30	21	
3	M1	16:36	15	
4	M1	14:36	18	TB treatment in 2010
5	M1	17:06	18	
6	M1	13:36	13	
7	M1	14:12	16	
8	M1	12:54	13	
9	M1	12:36	14	
10	M1	19:30	52	
11	M1	15:48	9	
12	M1	16:36	20	
13	M1	12:36	11	
14	M2	13:36	20	
15	M2	16:00	17	
16	M2	25:00	32	
17	M2	14:06	17	
18	M2	13:00	20	
19	M2	22:30	14	
20	M2	14:06	13	
21	M2	13:06	20	
22	P1	14:12	19	
23	P1	19:00	9	
24	P1	16:06	13	
25	P1	13:54	12	
26	P1	16:18	14	
27	P1	19:24	11	
28	P1	14:18	5	
29	P2	14:48	16	
30	P2	18:42	28	
31	P2	14:12	17	
32	P2	18:24	16	
33	P2	16:24	11	
34	P2	13:54	8	
35	A	22:30	20	
36	A	14:30	11	
37	A	12:42	8	
38	A	13:48	10	
39	A	17:24	12	
40	A	13:24	10	
41	A	15:12	11	
42	A	14:00	12	
43	A	13:24	12	
44	B	18:00	13	
Mean		15:59	15.5	

Grade=Classification of Miller & Jones

A=Aspirated sputum

B=Blood sputum

MGIT=Mycobacterium growth indicator tube

Tt=the threshold time=time detected TB-LAMP positive

Table 2-2 Result of smear positive samples both Direct TB-LAMP positive and MGIT positive

No. of case	Grade of sputum	Tt	Days to detection MGIT	Comment
45	M1	14:06	12	
46	M1	14:00	20	
47	M1	13:12	6	
48	M1	12:30	11	
49	M2	12:24	16	
50	M2	11:54	7	
51	M2	17:06	19	
52	M2	13:36		TB+NTM
53	P1	16:42	24	
54	P1	14:30	8	
55	P1	14:12	13	
56	P1	17:18	5	
57	P1	13:36	8	
58	P1	12:24	9	
59	P1	16:06	10	
60	P1	12:06	5	
61	P1	11:24	8	
62	P1	12:00	9	
63	P2	12:42	7	
64	P2	12:54	14	
65	P2	13:36	7	
66	P2	13:12	5	
67	P2	11:54	5	
68	P2	18:06	7	
69	P2	13:42	5	
70	P2	15:12	7	
71	P2	15:12	6	
72	P2	12:12	7	
73	P3	15:24	13	
74	P3	16:30	7	
75	P3	17:12	4	
76	P3	15:18	7	
77	P3	12:06	11	
78	P3	15:24	6	
79	A	12:54	9	
80	A	14:48	11	
81	A	16:18	13	TB treatment in 2011
82	A	11:18	4	
83	A	13:42	7	
84	A	11:54	17	
85	A	13:48		TB+NTM
86	A	16:30	12	
87	A	14:36	8	
88	A	12:42	12	TB treatment in 2011
89	A	11:12	11	
90	A	11:24	5	
Mean		13:55	9.5	

NTM=nontuberculous mycobacterium

④ Direct TB-LAMP陰性・MGIT陽性例の結果 (Table 3-1)

MGIT陽性でDirect TB-LAMP陰性の12検体は、MGITの陽性検出日数はNo. 99の9日からNo. 98の26日の間で、平均陽性検出日数は18.6日であった。

⑤ Direct TB-LAMP陽性・MGIT陰性例の結果 (Table 3-2)

Direct TB-LAMP陽性でMGIT陰性の9検体は、Direct TB-LAMPの陽性検出時間がNo. 111の12分12秒からNo. 109の22分24秒の間で、平均陽性検出時間は16分47秒であった。

(3) Direct TB-LAMPとMGITの比較

111検体のうち、塗抹陽性46検体は、Direct TB-LAMPとMGITの2法が共に陽性であった。塗抹陰性65検体の結果をTable 4に示した。65検体のうちMGIT陽性は56検体であった。MGIT陽性56検体中Direct TB-LAMP陽性は44検体(陽性率78.6%)であった。一致率は67.7%であった。

Table 3 Discrepancy of Direct TB-LAMP and MGIT
Table 3-1 Result of Direct TB-LAMP negative and MGIT positive

No. of case	Grade of sputum	Tt	Days to detection MGIT	Comment
91	M1	—	14	
92	M1	—	16	
93	M1	—	21	
94	M2	—	22	
95	M2	—	20	
96	M2	—	17	
97	M2	—	20	
98	M2	—	26	
99	P2	—	9	
100	A	—	22	
101	A	—	18	
102	A	—	18	
Mean			18.6	

Table 3-2 Result of Direct TB-LAMP positive and MGIT negative

No. of case	Grade of sputum	Tt	Days to detection MGIT	Comment
103	M1	16:48	—	*
104	M1	18:54	—	*
105	M1	18:12	—	*
106	M2	15:30	—	*
107	P1	12:42	—	*
108	P2	17:42	—	**
109	A	22:24	—	PCR-TB positive
110	A	16:42	—	*
111	A	12:12	—	**
Mean		16:47		

*MGIT positive in other sample culture tested within 3 days

**Culture positive tested in the referring hospital

考 察

(1) Direct TB-LAMPとMGITが共に陽性例の検討

1. 喀痰の性状と塗抹結果について

Direct TB-LAMPとMGITが共に陽性例の対象検体で、品質評価でP1以上の良質検体群の塗抹陽性率は66.7%、M1やM2などの良質でない検体群の塗抹陽性率は27.6%で、良質検体群の陽性率が3倍以上高く($P < 0.05$)、その差は明らかなことから、患者に対して、喀痰採取方法を丁寧に説明し、検査を実施する必要があると考えられた。

2. Direct TB-LAMPとMGITの結果について

本報の対象111例のうち、90検体がDirect TB-LAMPとMGITで共に陽性であった。本報の塗抹検査は直接法であり、集菌塗抹検査で陽性となった検体もあったが、塗抹の結果別にMGIT培養の平均陽性検出日数をみると、三浦ら¹⁶⁾、露口ら¹⁷⁾、伊藤ら¹⁸⁾による報告と同じような傾向があり、塗抹陰性検体15.5日と塗抹陽性検体9.5日で平均陽性検出日数の差が6.0日($P < 0.05$)認められた。また、Direct TB-LAMPの平均陽性検出時間も、塗抹陰性検体15分59秒と塗抹陽性検体13分55秒で平均陽性検出時間の差が2分04秒($P < 0.05$)認められた。よって、前述のように、良質な喀痰を採取することで、Direct TB-LAMPとMGITの良い結果にもつながることが示された。

(2) Direct TB-LAMPとMGITの2法が不一致例の検討

1. Direct TB-LAMP陰性・MGIT陽性例の検討

Direct TB-LAMPが陰性の12例は、塗抹は陰性でMGIT陽性検出日数が平均18.6日と、塗抹陰性・Direct TB-LAMP陽性検体の平均15.5日に比べ2.9日遅く($P > 0.05$)、検体中の菌量がやや少ない検体であったと考えられた。

2. Direct TB-LAMP陽性・MGIT陰性例の検討

MGIT陰性9例は全例塗抹が陰性であるが、X線検査等で肺結核と臨床診断されており、このうち6例は院内の3日以内の他の検体でMGITが陽性であった。2例は紹介時の他院の検査で培養陽性、1例はPCR-TB陽性と、全例で結核菌が確認されており、Direct TB-LAMPが陽性であっても問題のない症例であった。これらの検体の

Table 4 The comparison of Direct TB-LAMP and MGIT in smear negative samples

		Direct TB-LAMP		Total
		Positive	Negative	
MGIT	Positive	44	12	56
	Negative	9	0	9
		53	12	65

Direct TB-LAMP positive rate in smear negative and MGIT positive samples = 78.6% (44/56)

Direct TB-LAMP平均陽性検出時間は16分47秒と、塗抹陰性・MGIT陽性検体の平均15分59秒に比べ48秒遅く ($P > 0.05$)、塗抹陰性検体のなかでもやや菌量が少ない検体と考えられた。MGITによる培養は抗酸菌検査で最も感度が高いとされるが¹⁸⁾¹⁹⁾、本報のDirect TB-LAMP陽性・MGIT陰性例は塗抹陰性検体であり、本報の操作手順で最後に検査が実施されたことや、MGITの複雑な前処理過程で菌が消失し陰性となったのではないかと考えられた。

(3) Direct TB-LAMPの有用性について

直接塗抹陽性46検体は、Direct TB-LAMPとMGITの2法が共に陽性(陽性率100%)であった。塗抹陰性でMGIT陽性56検体は、Direct TB-LAMP陽性が78.6%と、集菌せず直接喀痰でDirect TB-LAMPを実施することで、簡便でありながら前報の集菌による塗抹陰性・MGIT陽性検体のIndirect TB-LAMP法の結果(陽性率80%)とほぼ同じ感度が得られた¹³⁾。

TB-LAMP法は世界の結核制圧のため、開発途上国で喀痰検体を直接検査するという設計で開発された方法である¹²⁾。日本の細菌検査室を有する施設でも、多くは抗酸菌検査が外部委託されている。しかし、結核が中等度蔓延国の日本では院内感染対策上、特に、呼吸器疾患を有する高齢者の入院時に、喀痰検査による早期診断が必要とされ^{19)~21)}、結核菌検査は菌の多く存在する膿性痰を採取し、膿性部分で検査することが重要である。Direct TB-LAMPは、安全キャビネットの使用を前提とするが、細菌検査室をもたない施設でも検査が可能であり、特に結核専門病院以外での結核迅速診断に有用と考えられる。

利益相反：本論文の研究内容、結論、意義あるいは意見について他者との利益相反 (conflict of interest) はありません。

文 献

- Ohmori M, Ozasa K, Mori T, et al.: Trends delays in tuberculosis case finding in Japan and associated factors. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2005; 9: 999-1005.
- Saiki R, Gelfand D, Stoffel S: Poimer-direct enzymatic amplification of DNA with a thermostable DNA polymerase. *Science.* 1988; 239: 487-491.
- Kolk AHJ, Schuitema ARJ, KuUper S, et al.: Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical samples by using polymerase chain reaction and nonradioactive detection system. *J Clin Microbiol.* 1992; 30: 2567-2575.
- Abe C, Hirano K, Wada M, et al.: Detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens by polymerase chain reaction and Gen-Probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct Test. *J Clin Microbiol.* 1993; 31: 3270-3274.
- 青木正和, 片山 透, 山岸文雄, 他: PCR法を利用した抗酸菌DNA検出キット (アンプリコア マイコバクテリウム) による臨床例からの抗酸菌迅速検出. *結核.* 1994; 69: 593-605.
- 阿部千代治, 齊藤由美子, 山本貞二, 他: アンプリコア マイコバクテリウムキットの評価に関する共同研究. *結核.* 1997; 72: 201-206.
- 大島利夫, 宮地勇人, 増川敦子, 他: 全自動遺伝子検査装置コバスアンプリコア™による結核菌検査の評価. *臨床検査機器・試薬.* 1996; 19: 483-490.
- 渡邊あゆみ, 林 英子, 長田智美, 他: 結核菌群核酸増幅同定試薬コバスTaqMan MTBの基礎的検討及びアンプリコア マイコバクテリウムとの比較検討. *医学と試薬.* 2007; 58: 331-337.
- 吉多仁子, 松本智成: 結核菌検出におけるTaqMan MTB法とコバス アンプリコア法の比較検討. *日本臨床微生物学会雑誌.* 2008; 4: 252-258.
- Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, et al.: Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research.* 2000; 28: e63.
- 御手洗聡: LAMPを使った結核迅速診断キット. *複十字.* 2011; 339: 11-13.
- Mitarai S, Okumura M, Toyota E, et al.: Evaluation of a simple loop-mediated isothermal amplification test kit for the diagnosis of tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2011; 15: 1211-1217.
- 吉多仁子, 小野原健一, 田澤友美, 他: 塗抹陰性・MGIT法陽性検体での結核菌群核酸増幅迅速診断におけるコバス®TaqMan法とLAMP法の有用性の比較検討. *結核.* 2013; 88: 727-733.
- 日本結核病学会抗酸菌検査法検討委員会編: 結核菌検査指針2007. 結核予防会.
- Miller DL, Jones R: A study of technique for the examination of sputum in a field survey of chronic bronchitis. *Am Rev Respir Dis.* 1963; 88: 473-483.
- 三浦隆雄, 長谷川直樹, 鈴木喜久雄, 他: MGIT® (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 抗酸菌検査システムの検出と迅速性の評価. *日本臨床微生物学会誌.* 2000; 10: 125-131.
- 露口一成, 池田雄史, 中谷光一, 他: Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT) 法による臨床検体からの抗酸菌培養成績の検討. *結核.* 2003; 78: 389-393.
- 伊藤邦彦, 青野昭男: 肺結核診断時の結核菌検出率から見た液体培地/小川培地併用の意義. *結核.* 2006; 81: 401-405.
- 結核予防会結核研究所疫学情報センター: 結核の統計, 年報. <http://www.jata.or.jp/rit/ekigaku/toukei/nenpou/> (アクセス日/2015. 4. 14)
- 西村知泰, 長谷川直樹: 高齢者と結核. *臨床と微生物.* 2013; 40: 655-659.
- 長谷川直樹: 院内感染対策. *臨床と微生物.* 2012; 39: 165-169.

Original Article

STUDY OF DIRECT TB-LAMP USING NON-CENTRIFUGAL SPUTUMS
ABOUT EFFICIENCY FOR RAPID DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

¹Hiroko YOSHIDA, ¹Kenichi ONOHARA, ¹Tomomi TAZAWA, ¹Kunimitsu KAWAHARA,
²Yuki TSURINAGA, ²Yuki HAN, ²Yoshitaka TAMURA, ²Takayuki NAGAI,
²Shoji HASHIMOTO, and ²Ichirou KAWASE

Abstract [Objective] To evaluate the efficiency of the direct tuberculosis–loop-mediated isothermal amplification (TB-LAMP) assay by using non-centrifuged sputum samples.

[Study Period and Methods] The study was conducted between June 2013 and February 2014. We collected 111 sputum samples from patients who had been radiographically diagnosed with tuberculosis and had not received any treatments for longer than 5 days. In the direct TB-LAMP assay, a loop-mediated isothermal amplification kit and 60- μ L sputum samples were used. A direct smear microscopy test was used as the smear test. Then, the same sputum samples were processed with a CCE pretreatment reagent, and 100 μ L of the solution samples were cultured by using the mycobacterial growth indicator tube (MGIT) culture method.

[Results] Forty-six of the 111 samples were positive in the smear microscopy tests. All the smear-positive samples were positive in both the MGIT and direct TB-LAMP assay (100%). The mean positive detection time with the direct TB-LAMP assay was 13 minutes 55 seconds. Of 56 smear-negative and MGIT positive samples, 44 (78.6%) were judged to be positive

using the direct TB-LAMP assay, with a mean positive detection time of 15 minutes 59 seconds.

[Discussion] The direct TB-LAMP assay using non-centrifuged sputum samples was demonstrated to have a high detection rate and thus may be considered useful for rapid and effective tuberculosis diagnosis.

Key words: Smear negative, MGIT positive, Rapid diagnosis of tuberculosis, Molecular-based diagnostic test, Direct TB-LAMP

¹Division of Laboratory, ²Division of Infection Diseases, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases, Osaka Prefectural Hospital Organization

Correspondence to: Hiroko Yoshida, Osaka Prefectural Medical Center for Respiratory and Allergic Diseases, 3-7-1, Habikino, Habikino-shi, Osaka 583-8588 Japan.
(E-mail: yoshidahi@opho.jp)