

迅速診断キット「ポクテム S インフルエンザ」の 新型インフルエンザウイルス・ Pandemic (H1N1) 2009 の検出率

浜本 芳彦*1, 浅井 定三郎*2, 谷村 政典*3

*1 浜本小児科：大阪府大阪市住之江区南港中 2-1-99 (〒 559-0033)

*2 あさいこどもクリニック

*3 谷村医院

SUMMARY

2009/2010 年に流行した新型インフルエンザ・Pandemic (H1N1) 2009 の迅速診断キット「ポクテム S インフルエンザ」(以後、ポクテムと略す；シスメックス社)での検出率を評価した。PCR 陽性 56 検体は、すべて新型インフルエンザウイルスであった。ポクテムと PCR の A 型陽性一致率は 86%であった。ポクテム陽性 48 検体の PCR の平均は 8.6Log コピー数/mL であり、ポクテムの検出限界は 5 ~ 7Log コピー数/mL 付近と推測した。

発症からの経過時間別のポクテム検出率は、6 時間未満で 67%、それ以降は 80%以上となり、従来の季節性インフルエンザウイルスと同様の検出感度が得られ、迅速診断キットとしての有用性が認められた。

Key Words 迅速診断キット ポクテム, 新型インフルエンザ

はじめに

2009 年に流行した新型インフルエンザ・Pandemic (H1N1) 2009 (新型インフルエンザ) は、世界 213 以上の国と地域で流行し、2000 万人以上が医療機関を受診したといわれている。不顕性感染が疑われる報告も少なくなく、それをはるかに超える人数の感染者が考えられる。2010 年 9 月には、WHO により終息宣言がなされたが、今秋以降の第 2 次流行が危惧されている。

2009 年の流行初期は、新型インフルエンザに対す

る迅速診断キットの検出率が比較的悪い (米国 CDC レポート；40 ~ 69%、日本；40 ~ 80%) と報告されたが、2010 年 6 月の臨床ウイルス学会では、通常の季節性インフルエンザウイルス (季節性インフルエンザ) とほぼ同等との報告が散見された。

今回、迅速診断キット「ポクテム S インフルエンザ」(以後、ポクテムと略す；シスメックス社)の新型インフルエンザに対する検出率を確認したので報告する。

材料と方法

1. 検査材料

2009年12月～2010年2月の間に、あさいこどもクリニック、谷村医院、浜本小児科に来院した患者で、インフルエンザウイルス感染が疑われ、本人あるいは保護者によりインフォームドコンセントの承諾が得られた96名から採取した鼻咽頭検体を検査材料とした。

2. 方法

1) ポクテム

今回使用したポクテムは、反応時間が従来の10分から8分間に短縮されたキットを使用した。図1は、判定時間の制限要素であるバックグラウンドの消失までの時間を示す。バックグラウンド消失が8分以内に終了していることを確認した。

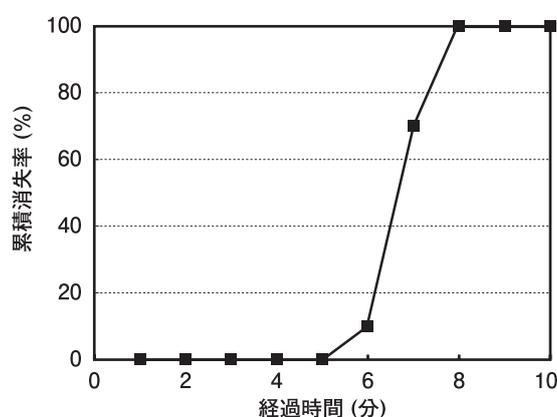


図1. バックグラウンドの累積消失率の経時的変化

2) Real Time RT-PCR 法 (PCR)

PCRは、F. Watzinger らの方法¹⁾を参考にした手法に従って、3種類のプライマー (A型インフルエンザウイルス全体、季節性インフルエンザウイルス、新型インフルエンザウイルス) を使用して、シスメックス社で行った。

結果

1. 検査材料のウイルス型

PCR陽性検体は56検体 (陽性率58.3%) であり、すべてが新型インフルエンザウイルスであった。なお、ポクテムの判定ではB型インフルエンザウイルスの検出例はなかった。

2. PCR法との相関

ポクテムとPCRの相関を表1に示す。A型陽性一致率は86%、陰性一致率は100%であった。

表1. ポクテムSインフルエンザとPCRの相関

		PCR			
		A型	B型	陰性	合計
ポクテム	A型	48	0	0	48
	B型	0	0	0	0
	陰性	8	0	40	48
	合計	56	0	40	96

A型陽性一致率	86%
A型陰性一致率	100%
A型一致率	92%

3. ポクテムの判定結果と PCR 測定値

96 例のポクテムの判定結果と PCR 測定値を図 2 に示す。ポクテム陽性検体は 48 例であり、それらの PCR でのコピー数の平均は 8.6Log コピー数/mL (以後、単位省略)であった。また、ポクテム陰性は 48 例であったが、うち 8 例は PCR 陽性であり、それらの PCR でのコピー数は 5 例が 8 付近に、3 例が 4 付近の値を示した。

4. 発症後経過時間とポクテムの検出率

PCR 陽性検体 56 例のうち、発症から検体採取の経過時間が不明な 3 例を除いた、53 例の経過時間別の PCR 測定値とポクテムの判定結果を図 3 に示す。各群の PCR 測定値 (平均値) には有意差がなかった。

各群のポクテム検出率は、6 時間未満群で 67%、それ以降は 80% 以上を示した (表 2)。

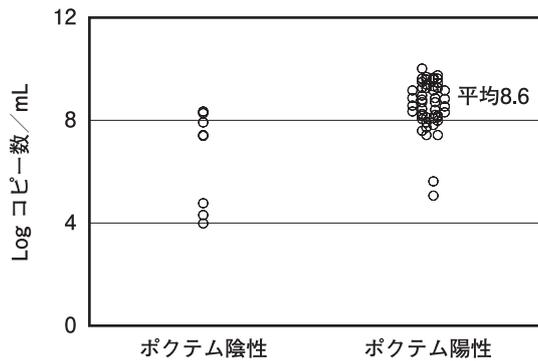


図 2. ポクテムの判定結果とウイルス量 (PCR 陽性検体)

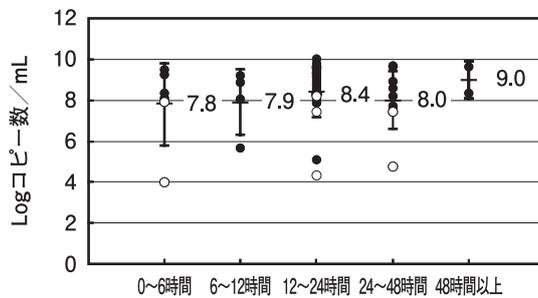


図 3. 発症後経過時間と PCR 測定値

(●ポクテム陽性例：○ポクテム陰性例，図中の数字は平均値を示す)

表 2. 発症後経過時間とポクテムの検出率

発症後時間	陽性	陰性	ポクテム 検出率
6時間未満	4	2	67%
6~12時間	4	0	100%
12~24時間	27	4	87%
24~48時間	8	2	80%
48時間以上	2	0	100%
合計	45	8	85%

考 察

評価期間（2009年10月～2010年2月）に得られた検体のインフルエンザウイルス型は、すべて新型インフルエンザウイルスであり、季節性インフルエンザウイルスは得られなかった。同時期においては他からも同様の報告があり季節性インフルエンザウイルスは駆逐されたと考えられる。

PCRとの関連で、ポクテムの新型インフルエンザの一致率は92%（陽性一致率86%、陰性一致率100%）であった。2004/2006年の検討²⁾では、一致率89.8%（陽性一致率84.7%、陰性一致率96.4%）であり、ほぼ同様な成績が得られた。

2009年初夏の新型インフルエンザの流行初期に、迅速診断キットの検出率が季節性インフルエンザと比べて低いと報告（64.7～75.9%；5/16-19西神戸医療センター，39%；5/19神戸市立医療センター中央市民病院，53.5%；5/20神戸市保健所，40～69%；米国報告）された。

その後、2010年6月の第51回日本臨床ウイルス学会総会で、迅速診断キットの新型インフルエンザに対する判定結果は、検出率は概ねは季節性インフルエンザと変わらないとの報告も散見された。

今回、ポクテムによる新型インフルエンザの検出率の評価では、季節性インフルエンザと同等であったことがわかった。

齋藤ら³⁾は、迅速診断キットの検出率が米国で低い原因として、①新型インフルエンザウイルスが季節性インフルエンザウイルスに比べて体内増殖が遅い、②キットの抗体が新型インフルエンザウイルスの抗原に一致していない、③手技の問題の3つを挙げ、特に検体採取時期や採取部位を含めた手技の問題が大きいことを指摘している。

ポクテムにおいては、新型インフルエンザウイルス3株と季節性インフルエンザウイルス3株を比較した結果、検出感度（HA価）に差が認められなかったとの報告^{4,5)}があることから、先述の②の問題は除外できると思われる。今後の検証を待たなければならないが、流行初期に迅速診断キットの検出感度が悪いと報告されたのは、主に③の問題に起因するものと考えられる。

ポクテムで陽性と判定された新型インフルエンザ48例のPCRでのコピー数の測定値は平均8.6であった。一方、ポクテム陰性と判定した48例のPCRでのコピー数は、40例では検出限界以下であったが、5例が8付近、3例が4付近の値を示した。

原ら⁶⁾は、季節性インフルエンザ（A/H3N2）の鼻腔吸引液36症例のRNA量の平均は8.72コピー数/mLであったと報告している。測定時期・方法が異なるので即断はできないが、新型インフルエンザ患者の鼻腔吸引液中には、季節性インフルエンザとほぼ同じ量のウイルスが存在することが推測できる。したがって、肺深部で増殖するともいわれている新型インフルエンザでも、多くの患者では鼻咽頭検体を迅速診断キットの検体として使用することが可能と考えた。ただ、新型インフルエンザウイルスの気道における増殖部位の個人差や人種差については未解明の課題も少なくなく、迅速検査に関する米国との検出率格差の評価には検討が必要と考えられる。

季節性インフルエンザ（A/H1N1株）の最低検出感度は、徳野ら⁷⁾が、ポクテム他8社のキットで5.68～7.02Logコピー数/mLであると報告している。今回の新型インフルエンザの検出限界も、ほぼ同等の5～7Logコピー数/mL付近と考えられる。

季節性インフルエンザにおいて、発症から検体採取までが6時間未満の場合は、迅速診断キットの検出率が下がると報告されている^{8,9)}。今回の新型インフルエンザにおける評価結果も、6時間未満で67%（4/6）と低く、それ以降は80～100%と高くなった。このことは日本では医療関係者のみならず患者にも広く知られており、このことが日本におけるインフルエンザの迅速診断の精度を高めている要因の一つになっていると考える。ただし、今回の結果では発症からの時間経過の異なる群でのウイルスコピー数に有意な差は見られず、検出対象の違い（ポクテム；コア蛋白質，PCR；RNA）からこのような乖離が起きたものか、今後症例を重ねて検討する必要があると考えられた。

2009年の新型インフルエンザの流行において、日本は世界に例を見ない低死亡率で経過した。これはひとえに、広く普及、定着したインフルエンザの迅速診断と抗ウイルス薬による治療の成果であるとい

われている。

今回、新型インフルエンザに対するポクテム S インフルエンザの陽性率を評価した結果、従来の季節性インフルエンザに対するのと同様の検出感度が得られ迅速診断キットとして有用であることが確認できた。

参考文献

- 1) Watzinger F et al. Real-Time Quantitative PCR Assays for Detection and Monitoring of Pathogenic Human Viruses in Immunosuppressed Pediatric Patients. *J Clin Microbiol.* 2004 ; 42 (11) : 5189-5198.
- 2) 高橋和郎 他. アッセイスティック型インフルエンザ迅速診断キットの評価. *Sysmex J.* 2007 ; 30 : 126-138.
- 3) 齋藤玲子 他. なぜ海外と日本とでは迅速診断キットの信頼性が異なるのか. *インフルエンザ.* 2010 ; 11 (2) : 151-158.
- 4) シスメックス株式会社学術本部. ポクテムインフル
エンザ A/B 及びポクテム S インフルエンザの新型
インフルエンザ A 型ウイルス (H1N1) との反応性に関
して. 技術情報. 2009 年 5 月 11 日.
- 5) シスメックス株式会社学術本部. ポクテムインフル
エンザ及びポクテムインフルエンザ A/B (の) 新型イン
フルエンザウイルス (A/H1N1) との反応性に関して
(第 2 報). 技術情報. 2009 年 11 月 16 日.
- 6) 原三千丸 他. リアルタイム PCR 法との比較による A
型及び B 型インフルエンザ迅速診断キットの評価. *感
染症学会誌.* 2006 ; 80 (5) : 522-526.
- 7) 徳野 治 他. 各種インフルエンザ迅速診断キットの
評価－検出感度の比較検討. *感染症学雑誌.* 2009 ;
83 (5) : 525-533.
- 8) 進藤静生 他. インフルエンザの診断—小児科領域に
おける臨床診断と迅速診断キットによる診断につい
て. *インフルエンザ.* 2004 ; 5 (3) : 227-233.
- 9) 高橋和郎 他. インフルエンザ患者における迅速診断
での陽性率の経時的検討. *Sysmex J.* 2006 ; 29 :
65-68.

The Sensitivity of Rapid Influenza Diagnostic Kit [POCTEM S Influenza] to Detect Pandemic (H1N1) 2009

Yoshihiko HAMAMOTO^{*1}, Sadasaburo ASAI^{*2} and Masanori TANIMURA^{*3}

^{*1} Hamamoto Children's Clinic, 2-1-99 Nankonaka, Suminoe-ku, Osaka 559-0033

^{*2} Asai Children's Clinic

^{*3} Tanimura's Clinic

SUMMARY

Pediatric patients with suspected influenza who visited 3 pediatric clinics in 2009/2010 season were tested with rapid diagnosis kit (POCTEM S Influenza, Sysmex Corporation) and real time RT-PCR. PCR assay detected 56 cases of Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus and none of other types. In the PCR positive cases, 48 cases showed positive for POCTEM (positive ratio 86%) .

The average of virus RNA copy numbers by PCR in 48 POCTEM positive cases was 8.6Log copies/mL, and the detection limit of POCTEM was estimated to be between 5 and 7Log copies/mL. The ratios of rapid diagnoses in 0 to 6hr, 6 to 12hr, 12 to 24hr, 24 to 48hr, and over 48hr after onset of influenza (emergence of fever) were 67% (4/6), 100% (4/4), 87% (27/31), 80% (8/10), and 100% (2/2) respectively.

The result that the sensitivity of POCTEM to detect Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus is equivalent to that of seasonal influenza demonstrates the clinical utility of POCTEM on diagnosis of Pandemic (H1N1) 2009 influenza virus.

Key Words Rapid Detection Kit POCTEM, Pandemic (H1N1) 2009