

呼吸器感染症迅速検査キット「ポクテムS」

3 製品の概要

シスメックス株式会社 学術本部 新井 信夫
野口 寛子
シスメックス株式会社 診断薬開発本部 山口 温輝

はじめに

呼吸器感染症とは、風邪、急性気管支炎、肺炎などの総称であり、細菌、マイコプラズマ、クラミジア、ウイルスなどの微生物が原因となる。

この内、ウイルス感染症ではインフルエンザが最もよく知られており、冬から春にかけてA香港型、Aソ連型、B型の流行が見られる¹⁾。

また、RSウイルスも、毎年冬季に流行し、乳幼児に重篤な細気管支炎、肺炎などを引き起こす代表的な呼吸器疾患ウイルスである。RSウイルスは感染力が非常に強く、生後1年の間に乳幼児の約70%が感染し、その約30%が気管支炎、肺炎などを起こし、乳幼児の突然死症候群の原因とも考えられている²⁾。

アデノウイルスは、発熱・咽頭炎および結膜炎を主症状とする急性の咽頭結膜熱の原因ウイルスである。アデノウイルス自体に季節特異性はないが、咽頭結膜熱は夏期に大きな流行が見られ、プールを介して流行することがあることからプール熱とも呼ばれる。5歳以下の小児の80%以上が罹患すると言われている³⁾。

当社では、呼吸器感染症に関連するこれらウイルスの迅速検査キットとして、検出時間を従来品の3分の2に短縮したインフルエンザウイルス検出キットの「ポクテムS インフルエンザ」、RSウイルスを検出する「ポクテムS RSV」、そしてアデノウイルスを検出する「ポクテムS アデノ」の3品目(以下 ポクテムSシリーズ)を発売した。ポクテムSシリーズは、反応デバイスを操作が簡単なスティックタイプに統一し、操作方法もシリーズ間で同じにし

ている。また、全てのキットは10分で結果を判別できることから、一連のウイルス検査をより効率的に迅速に行うことができる。また、鼻腔から採取した検体(吸引液、拭い液)は「ポクテムS インフルエンザ」と「ポクテムS RSV」で共用できることから、インフルエンザウイルスもしくはRSウイルスの感染が疑われる場合、検体採取が1回で済み、患者の苦痛や医療従事者の作業を軽減できるメリットがある⁴⁾。以下にポクテムSシリーズの概要と特長を紹介する。

キット概要

ポクテムSシリーズのキットの構成を表1に示した。ポクテムS インフルエンザは10テスト、ポクテムS RSVとポクテムS アデノは5テストの包装となっている。

特長

ポクテムSシリーズは、イムノクロマト法を測定原理としたスティックタイプの反応デバイスを採用している。イムノクロマト法の特長は、

1. いつでも測定が可能である
2. 誰でも測定できる
3. 迅速に結果が出る
4. 特別な装置を必要としないなどの点である。

表1. ポクテムSシリーズ キット構成

	ポクテムS インフルエンザ	ポクテムS RSV	ポクテムS アデノ
効能効果	鼻腔吸引液，鼻腔拭い液または咽頭拭い液中のA型インフルエンザウイルス抗原およびB型インフルエンザウイルス抗原の検出	鼻腔吸引液および鼻腔拭い液中のRSウイルス抗原の検出	咽頭粘膜上皮細胞中のアデノウイルス抗原の検出
測定原理	イムノクロマト法		
判定時間	10分		
包装数	10テスト包装	5テスト包装	
有効期間	18ヶ月	15ヶ月	18ヶ月
キット構成			
アクセスティック	(10本) ・抗A型インフルエンザウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス) ・抗B型インフルエンザウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス) ・抗A型インフルエンザウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス)感作着色粒子 ・抗B型インフルエンザウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス)感作着色粒子	(5本) ・抗RSウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス) ・抗RSウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス)感作着色粒子	(5本) ・抗アデノウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス) ・抗アデノウイルス抗原モノクローナル抗体(マウス)感作着色粒子
検体抽出試薬	緩衝液他(0.8mL×10)	緩衝液他(0.8mL×5)	
付属品	測定用試験(10本) 試料ろ過フィルター(10個) 滅菌綿棒(10本) 試験管立て(1個)	測定用試験(5本) 試料ろ過フィルター(5個) 滅菌綿棒(5本) 試験管立て(1個)	

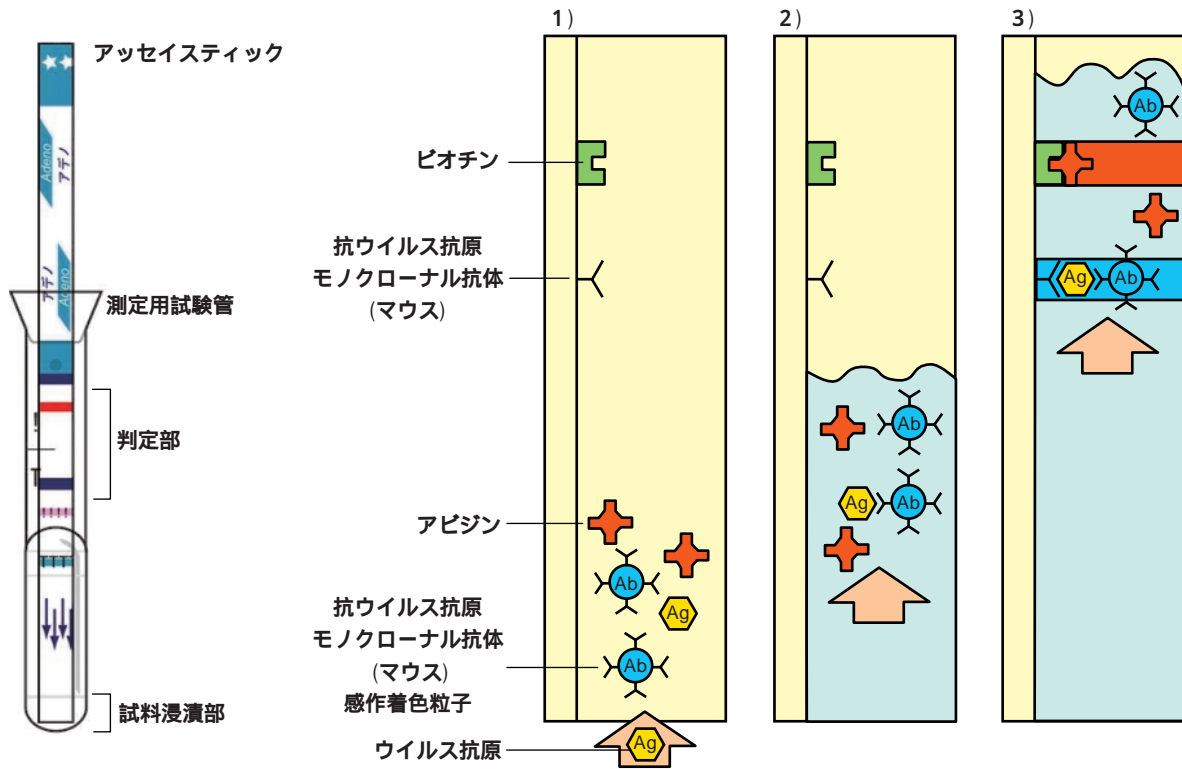
測定原理

ポクテムSシリーズの測定原理は次の通りである(図1)。

- 1) ポクテムSシリーズは，アクセスティック上の判定部に検出抗原に対するウイルス抗原モノクローナル抗体，コントロール部にビオチンを固定化している。
- 2) アクセスティックを試料に浸透させると，ウイルス抗原に対するモノクローナル抗体感作着色粒子(青色)とウイルス抗原が結合して免疫複合体を形成し，毛細管現象によって試料がメンブレン上を移動する。
- 3) この免疫複合体は，判定部に固定化された，目的とするウイルス抗原に対するウイルス抗原モノ

クローナル抗体に補足されて，着色粒子の色である青いラインが出現する。対応ウイルス抗原が存在しないと青いラインが出現しないことから，抗原の有無が目視で判別できる。また，コントロールとして添加されている着色粒子(赤色)に固定化したアビジンも同様にメンブレン上を移動し，コントロール部に固定化したビオチンに補足され，赤いラインが現れる。この赤いラインが現れないときには，試料が正しく展開されていないことを示し，検査は無効となる。

ポクテムS RSVとポクテムS アデノは検出するウイルス抗原が1種類であるので，判定ラインは一つ，ポクテムS インフルエンザはA型およびB型インフルエンザウイルスの2種類を判別するために，二つの判定ラインがある。



* 図のアッセイスティックは、ポクテムS アデノを表示している。
 * ポクテムS インフルエンザの場合は、抗ウイルス抗原モノクローナル抗体感作着色粒子および抗ウイルス抗原モノクローナル抗体は、それぞれA型、B型の2種類となる。

図1. ポクテムSシリーズ 反応原理

性能

1. 希釈感度試験

1) ポクテムS インフルエンザ

A型およびB型インフルエンザウイルスのストックウイルス液を陰性試料で2倍系列希釈した試料を、2種類の他社製品を対照として測定し、測定感度を比較した。A型インフルエンザウイルスはA/New Caledonia/20/99、B型インフルエンザウイルスにはB/Shanghai/361/02を被験ウイルスとして用いた。ポクテムS インフルエンザはA型およびB型インフルエンザウイルスともに対照品1よりも感度が高く、対照品2とは同等の感度を示した(表2)。

2) ポクテムS RSV

Long株およびA2株のRSウイルスのストックウ

イルス液を陰性試料で2倍系列希釈した試料を、2種類の他社製品を対照として測定し、測定感度を比較した。ポクテムS RSVは、Long株およびA2株のRSウイルス株において、対照品1、2と同等またはそれ以上の感度を示した(表3)。

3) ポクテムS アデノ

2型および3型株のアデノウイルスのストックウイルス液を陰性試料で2倍系列希釈した試料を、2種類の他社製品を対照として測定し、測定感度を比較した。ポクテムS アデノは、アデノウイルス血清2型および3型株の両株において、対照品1とは同等であり、対照品2よりも希釈系列で1管の高希釈倍率まで検出が可能であった(表4)。

表2. ポクテムS インフルエンザ希釈感度試験

ウイルス株	A/New Caledonia/20/99 (H1N1)			B/Shandong/7/97		
	ポクテムS インフルエンザ	対照品1	対照品2	ポクテムS インフルエンザ	対照品1	対照品2
×10	+	+	+	+	+	+
×20	+	+	+	+	+	+
×40	+	+	+	+	+	+
×80	+	+	+	+	-	+
×160	+	+	+	+	-	+
×320	+	-	+	+	-	+
×640	-	-	-	-	-	-
×1280	-	-	-	-	-	-

表3. ポクテムS RSV希釈感度試験

ウイルス株	Long株			A2株		
	ポクテムS RSV	対照品1	対照品2	ポクテムS RSV	対照品1	対照品2
×1	+	+	+	+	+	+
×2	+	+	+	+	+	+
×4	+	+	+	+	+	+
×8	+	+	+	+	+	+
×16	+	+	+	+	+	+
×32	+	+	-	+	+	+
×64	-	-	-	+	+	+
×128	-	-	-	+	+	+
×256	-	-	-	-	-	-

表4. ポクテムS アデノ希釈感度試験

ウイルス株	アデノウイルス血清2型			アデノウイルス血清3型		
	ポクテムS アデノ	対照品1	対照品2	ポクテムS アデノ	対照品1	対照品2
×512	+	+	+	+	+	+
×1024	+	+	+	+	+	+
×2048	+	+	+	+	+	+
×4096	+	+	+	+	+	+
×8192	+	+	+	+	+	+
×16384	+	+	+	+	+	-
×32768	+	+	-	-	-	-
×65536	-	-	-	-	-	-
×131072	-	-	-	-	-	-

2. 各種ウイルス株の反応性

1) ポクテムS インフルエンザ

A型インフルエンザウイルスの27株およびB型インフルエンザウイルスの5株をそれぞれ生理食塩液で 2×10^4 FFU/mLに調製し、その150 μ Lを検体抽出試薬0.8mLに加えてよく混和したものをポクテムS インフルエンザで測定し、各ウイルス株に対する反応性を確認した。

ポクテムS インフルエンザは、用いたA型インフルエンザウイルスの27株(表5)およびB型

インフルエンザウイルスの5株(表6)の全てを検出し、A型およびB型を正しく判別した。

2) ポクテムS RSV

RSウイルスサブグループAのLong株とA2株、サブグループBのWild Type株と9320株を生理食塩液で 2×10^4 TCID₅₀/mLに調製し、その150 μ Lを検体抽出試薬0.8mLに加えてよく混和したものをポクテムS RSVで測定し、各ウイルス株に対する反応性を確認した。ポクテムS RSVは、用いた4株のRSウイルスを全て検出した(表7)。

表5 . A型インフルエンザウイルス株に対する反応性

ウイルス株	判定	ウイルス株	判定
A/Beijing/262/95 (H1N1)	A+	A/Budgreiger/Aichi/1/77 (H3N8)	A+
A/New Caledonia/20/99 (H1N1)	A+	A/Duck/Czechoslovakia/1/56 (H4N6)	A+
A/Bangkok/10/83 (H1N1)	A+	A/Turkey/Ontario/7732/66 (H5N9)	A+
A/Yamagata/120/86 (H1N1)	A+	A/Shearwater/Australia/1/72 (H6N5)	A+
A/Yamagata/32/89 (H1N1)	A+	A/Tufted duck/Shimane/124R/80 (H7N7)	A+
A/PR/8/34 (H1N1)	A+	A/Turkey/Ontario/6118/68 (H8N4)	A+
A/Okuda/57 (H2N2)	A+	A/Turkey/Wisconsin/66 (H9N2)	A+
A/Wyoming/3/03 (H3N2)	A+	A/Chicken/Germany/N/49 (H10N7)	A+
A/Aichi/2/68 (H3N2)	A+	A/Duck/England/56 (H11N6)	A+
A/Sydney/5/97 (H3N2)	A+	A/Duck/Alberta/60/76 (H12N5)	A+
A/Panama/2007/99 (H3N2)	A+	A/Gull/Maryland/704/77 (H13N6)	A+
A/Fukuoka/C29/85 (H3N2)	A+	A/Mallard/Astrakhan/263/82 (H14N5)	A+
A/Sichuan/2/87 (H3N2)	A+	A/Duck/Australia/341/83 (H15N8)	A+
A/Kitakyusyu/159/93 (H3N2)	A+		

表6 . B型インフルエンザウイルス株に対する反応性

ウイルス株	判定
B/Lee seed/40	B+
B/Shandong/7/97	B+
B/Yamanashi/166/98	B+
B/Johannesburg/5/99	B+
B/Shanghai/361/02	B+

表7 . RSV株に対する反応性

サブタイプ	株名	判定
サブグループA	Long	+
	A2	+
サブグループB	Wild Type	+
	9320	+

3) ポクテムS アデノ

アデノウイルス血清1～7型, 19, 21, 37, 40型の11株をリン酸緩衝食塩液(pH7.0)で 9.2×10^4 TCID₅₀/mLに調製し, その150 μLを検体抽出試薬0.8mLに加えてよく混和したものをポクテムS アデノで測定し, 各ウイルス株に対する反応性を確認した。ポクテムS アデノは, 用いた11株のアデノウイルスを全て検出した(表8)。

3. 全血および血中成分の影響

検体採取の際に混入する恐れのある全血と溶血ヘモグロビンおよび免疫反応に影響を与える可能性があるリウマチ因子を試料に添加し, 判定に及ぼす影

響を確認した。

A型, B型インフルエンザウイルス, RSウイルスおよびアデノウイルスのそれぞれが陰性, 弱陽性, 強陽性の試料に全血0～25%, 溶血ヘモグロビン480mg/dL, リウマチ因子3.0 IU/mLをそれぞれ添加し, 各キットにて測定した。

1) ポクテムS インフルエンザ

全血では, A型, B型ともに弱陽性試料で3%の添加から, 強陽性試料で6%の添加から判定に影響が見られた。溶血ヘモグロビンおよびリウマチ因子は, 今回試験した濃度では判定に影響を与えなかった(表9)。

表8. アデノウイルス株に対する反応性

アデノウイルス血清型	判定
アデノウイルス血清1型	+
アデノウイルス血清2型	+
アデノウイルス血清3型	+
アデノウイルス血清4型	+
アデノウイルス血清5型	+
アデノウイルス血清6型	+
アデノウイルス血清7型	+
アデノウイルス血清19型	+
アデノウイルス血清21型	+
アデノウイルス血清37型	+
アデノウイルス血清40型	+

表9. ポクテムS インフルエンザに対する全血および血中成分の影響

全血 (%)	陰性試料	A型弱陽性試料	A型強陽性試料	B型弱陽性試料	B型強陽性試料
0	-	A+	A+	B+	B+
1	-	A+	A+	B+	B+
3	-	-	A+	-	B+
6	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-

添加物	陰性試料	A型弱陽性試料	A型強陽性試料	B型弱陽性試料	B型強陽性試料
溶血ヘモグロビン (480mg/dL)	-	A+	A+	B+	B+
リウマチ因子 (3.0IU/mL)	-	A+	A+	B+	B+
生理食塩液 (対照)	-	A+	A+	B+	B+

2) ポクテムS RSV

全血では、弱陽性および強陽性試料で10%の添加から、判定に影響が見られた。溶血ヘモグロビンおよびリウマチ因子は、今回試験した濃度では判定に影響を与えなかった(表10)。

添加から、強陽性試料で25%の添加からバックグラウンドが赤くなり、ラインの有無が確認できず、判定不能となった。溶血ヘモグロビンおよびリウマチ因子は、今回試験した濃度では判定に影響を与えなかった(表11)。

3) ポクテムS アデノ

全血では、陰性試料および弱陽性試料で13%の

表10. ポクテムS RSV に対する全血および血中成分の影響

全血 (%)	陰性試料	弱陽性試料	強陽性試料
0	-	+	+
1	-	+	+
3	-	+	+
6	-	+	+
10	-	-	-

添加物	陰性試料	弱陽性試料	強陽性試料
溶血ヘモグロビン (480mg/dL)	-	+	+
リウマチ因子 (3.0IU/mL)	-	+	+
生理食塩液 (対照)	-	+	+

表11. ポクテムS アデノ に対する全血および血中成分の影響

全血 (%)	陰性試料	弱陽性試料	強陽性試料
0	-	+	+
1	-	+	+
3	-	+	+
6	-	+	+
13	判定不能	判定不能	+
25	判定不能	判定不能	判定不能

血中成分	陰性試料	弱陽性試料	強陽性試料
溶血ヘモグロビン (480mg/dL)	-	+	+
リウマチ因子 (3.0IU/mL)	-	+	+
生理食塩液 (対照)	-	+	+

4. 相関性

ポクテムS インフルエンザ, ポクテムS RSV およびポクテムS アデノの2種類の他社製品に対する相関性を確認した。

1) ポクテムS インフルエンザ

2種類の他社製品を対照として, 対照品1では鼻腔吸引液133検体, 鼻腔拭い液160検体, 対照品2では鼻腔吸引液180検体, 鼻腔拭い液86検体を用いて相関性を検討した。

両対照品に対して鼻腔吸引液および鼻腔拭い液ともに, 全体一致率が97%以上の相関性が得られ

た(表12)。

2) ポクテムS RSV

2種類の他社製品を対照として鼻腔吸引液102検体, 鼻腔拭い液105検体を用いて相関性を検討した。両対照品ともに全体一致率が98%以上の相関性が得られた(表13)。

3) ポクテムS アデノ

2種類の他社製品を対照として咽頭拭い液を用いて相関性を検討した。対照品1では226検体, 対照品2では238検体を測定した。両対照品ともに全体一致率が97%以上の相関性が得られた(表14)。

表12. ポクテムS インフルエンザの相関

対照品1との一致率

検体	A型陽性一致率	A型陰性一致率	B型陽性一致率	B型陰性一致率	全体一致率
鼻腔吸引液	95.5% (63/66)	100% (67/67)	100% (4/4)	100% (129/129)	97.7% (130/133)
鼻腔拭い液	100% (96/96)	96.9% (62/64)	100% (2/2)	100% (158/158)	98.8% (158/160)

対照品2との一致率

検体	A型陽性一致率	A型陰性一致率	B型陽性一致率	B型陰性一致率	全体一致率
鼻腔吸引液	100% (31/31)	100% (149/149)	100% (70/70)	95.5% (105/110)	97.2% (175/180)
鼻腔拭い液	100% (20/20)	100% (66/66)	100% (48/48)	97.4% (37/38)	98.8% (85/86)

表13. ポクテムS RSVの相関

対照品1との一致率

検体	陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
鼻腔吸引液	100% (50/50)	100% (52/52)	100% (102/102)
鼻腔拭い液	100% (51/51)	98.1% (53/54)	99% (104/105)

対照品2との一致率

検体	陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
鼻腔吸引液	96.2% (50/52)	100% (50/50)	98% (100/102)
鼻腔拭い液	100% (50/50)	96.4% (53/55)	98.1% (103/105)

表14. ポクテムS アデノの相関

対照品1との一致率

陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
98.1% (52/53)	98.3% (170/173)	98.2% (222/226)

対照品2との一致率

陽性一致率	陰性一致率	全体一致率
96.9% (63/65)	97.7% (169/173)	97.5% (232/238)

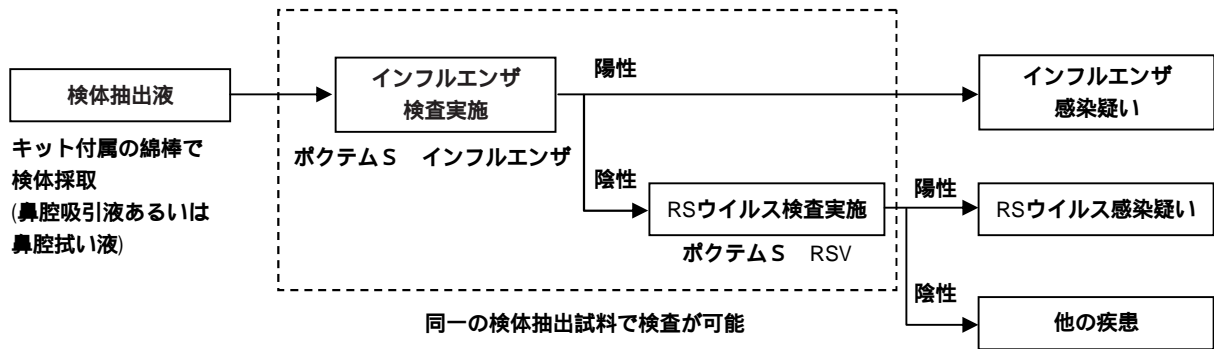


図2. ボクテムS インフルエンザとボクテムS RSVを用いた検査の流れ

おわりに

ボクテムSシリーズは、スティックタイプの反応デバイスを採用し、操作方法もシリーズ間で統一していることから、キット毎の操作方法を習得する必要もなく非常に扱いやすいキットとなっている。

性能においては、検出感度、反応性試験、相関性試験などのデータから、本キットは他社製品と同等以上の性能を有していることが示された。また、検体採取時に混入する恐れのある血液成分に対しては、今回の検討ではボクテムS インフルエンザでは1%まで、ボクテムS RSVおよびボクテムS アデノでは6%程度までの血液混入であれば判定に影響を及ぼさなかったが、それ以上の混入では判定に影響を及ぼすので注意が必要である。

インフルエンザウイルス、RSウイルス、アデノウイルスによる感染症の症状は類似しているが、重症化の度合いあるいはその有効な治療方法は異なり、原因ウイルスの早期鑑別は非常に重要であることから、近年、多くの医療機関でこれらのウイルス迅速検査キットが使用されている⁵⁻⁷⁾。

RSウイルス感染症においては、インフルエンザと症状が類似し、流行時期も重複することから、両者の鑑別は難しいとされている。浜本らによるとインフルエンザ疑いでインフルエンザウイルス陰性の5.4%からRSウイルスが検出され、RSウイルス感染症疑いでRSウイルス陰性の3.5%からインフルエンザ

ウイルスが検出されたと報告している⁴⁾。インフルエンザとRSウイルス感染症は、症状が典型的ではない時には、その鑑別のために両方のウイルス検査が必要な場合があり、植村らは、RSウイルス感染症の患者数はインフルエンザに匹敵するほど多く、インフルエンザウイルスが陰性のときには、RSウイルス感染症を疑うことが重要であると報告している⁸⁾。

ボクテムSシリーズでは検体抽出試薬が共通化されており、鼻腔から採取した検体（鼻腔吸引液、鼻腔拭い液）を使用するボクテムS インフルエンザとボクテムS RSVでは抽出した検体を共用することが可能である⁹⁾。ボクテムS インフルエンザとボクテムS RSVで抽出試料を共用した場合の検査の流れは図2の通りである。両感染を疑う場合には、同じ患者からの検体採取は1回で済み、検体採取の負担を低減するとともに、各ウイルスの鑑別が10分の短時間で可能であり、効率的に検査を実施することができる^{4,9)}。

また、アデノウイルスは極めて感染力が強いウイルスであり、小児の呼吸器感染症の原因ウイルスというだけでなく、医療機関においても医療従事者や医療機器等を介した院内感染がしばしば発生し、問題とされている。ボクテムS アデノは、市販の他社製品と同等以上の感度を有し、短時間で本ウイルスの有無を確認できることから¹⁰⁾、予後管理に非常に有用であると思われる。

参考文献

- 1) 金澤 貴, 他. インフルエンザ 診療マニュアル. 東京: 南江堂; 2001. 115-117.
- 2) 堤 裕幸. RSウイルス感染症. *Sysmex J Web*. 2007; 8 (1), https://members.sysmex.co.jp/scientific/sjw/2007/vol08_1/fulltext05.html
- 3) 西村 章. アデノウイルス感染症. *臨床とウイルス*. 2006; 34 (5): 417.
- 4) 浜本芳彦, 他. インフルエンザウイルス抗原検出試薬 (ポクテムS インフルエンザ)・RSV抗原検出試薬 (ポクテムS RSV) の評価 - 検体抽出試薬共通化の有用性の検証 - . *小児感染免疫*. 2007; 19: 19-25.
- 5) 山口温輝. ポクテムインフルエンザA/Bの概要. *Sysmex J*. 2003; 26: 97-98.
- 6) 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 Web*. 2007; 8 (1), https://members.sysmex.co.jp/scientific/sjw/2007/vol08_1/fulltext02.html
- 7) 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.
- 8) インフルエンザの陰にRSウイルス. 特集 今冬のインフルエンザ. *日経メディカル*. 2005; 11: 56.
- 9) 高橋和郎, 他. Respiratory Syncytial Virus迅速診断キットの評価, *Sysmex J Web*. 2007; 8 (2), https://members.sysmex.co.jp/scientific/sjw/2007/vol08_1/fulltext03.html
- 10) ポクテムSシリーズ 各キット添付文書