

ヒトメタニューモウイルス(hMPV)の診断

—イムノクロマト法による迅速診断テスト—

山辺こどもクリニック 板垣 勉(山形県)

学会外協力者

山形県衛生研究所 微生物部

須藤亜寿佳 青木洋子 安孫子千恵子 水田克巳

山形大学医学部 臨床看護学講座

松寄葉子

目的と方法

【目的】

- ①ヒトメタニューモウイルス(hMPV)の外來診断にイムノクロマト法を用いたチェック hMPV testの診断率をリアルタイムRT-PCR法(以下リアルタイム法)を用いて検討する。
- ②イムノクロマト法利用時の問題点を検討する。

【方法】

2007年12月より2008年5月までに、気道感染症状をを訴えて山辺こどもクリニック受診した125名(男59名 女66名)より鼻咽腔拭い液を2本採取し、1本は3mlのウイルス検査用輸送用培地に入れ、リアルタイム法により、遺伝子検出を行った。残りの1本は外來でチェックhMPV testに使用した。



感度・特異度・一致率

リアルタイム法

チェック
hMPV test

	+	-	計
+	39	5	44
-	6	75	81
計	45	80	125

感度 : 39/45 86.7%
特異度: 75/80 93.8%
一致率: 114/125 91.2%

チェック hMPV testは臨床診断には問題なく利用できる迅速診断法である。

hMPV量とチェック hMPV test

hMPV量

(copies/ml)

チェックhMPV test

	2+	1+	-
$10^5 \sim$	23/25(92.0%)	2/25(8.0%)	0/25(0.0%)
10^4	6/10(60.0%)	4/10(40.0%)	0/10(0.0%)
10^3	1/8(12.5%)	3/8(37.5%)	4/8(50.0%)
10^2	0/2(0.0%)	0/2(0.0%)	2/2(100%)

2+:5分以内の陽性 1+:5~15分以内の陽性 -:陰性

ウイルス量が多い⇒15分以内に陽転化する

ウイルス量が少ない⇒陽性・陰性の混在(境界域)、陰性のみ(検出限界以下)

hMPV量と検査日

hMPV量 (copies/ml)

検査日	10 ⁵ ~	10 ⁴	10 ³	10 ²	計	10 ⁴ 以上の割合(%)
1日	4	2	3		9/37	6/9(66.7%)
2日	12	5	2	1	20/50	17/20(85.0%)
3日	4	1			5/13	5/5(100%)
4日			2		2/9	0/2(0%)
5日	1	1	1	1	4/7	2/4(50%)
6日					0/3	
無熱者	4	1			5/6	5/5(100%)

検体採取は発熱当日でも陽性率が高いが、第2-3日が一番良いと考えられる。
無熱者でも通常発症者と同じウィルス量を有している。

採取方法(鼻咽腔吸引液・拭い液)とhMPV量

年齢	検査日	体温	迅速診断	吸引液 (copies/ml)	拭い液 (copies/ml)	吸引液/拭い液
1	2日	38.6	2+	2.55×10^6	2.85×10^5	8.95
6	2日	37.4	2+	1.45×10^6	2.22×10^5	6.53
0	2日	37.5	—	2.27×10^4	3.61×10^3	6.29
4	3日	38.4	2+	4.23×10^6	2.19×10^6	1.93
1	2日	39.1	2+	2.09×10^6	2.03×10^6	1.03
2	2日	37.3	2+	8.59×10^4	9.39×10^4	0.91
0	5日	38.8	2+	5.73×10^4	3.68×10^5	0.16
11	1日	37.8	1+	5.01×10^2	4.35×10^3	0.12
0	1日	38.1	1+	1.98×10^3	検出せず	

吸引液 > 拭い液 5 / 9 吸引液 = 拭い液 2 / 9 吸引液 < 拭い液 2 / 9
 吸引液のウィルス量は拭い液とほぼ同じか多い傾向がある。

検査での問題点

キットとウイルスの特性を理解することが大切

A) 経験的問題点

- ① 誰が採取する？……患者さんへの遠慮など
- ② 採取部位は？…鼻咽腔、鼻腔、鼻かみ、鼻前庭、咽頭
- ③ 検体の性状と採取量は？……必要に応じて遠心を

B) 臨床現場での問題点

- ① 判定時間・ウイルス量……境界域と検出限界の存在
- ② 目視判定と心理的因子……流行前と流行後
- ③ 採取タイミング……ウイルスによって異なる可能性

誤判定の原因

- ①検体採取……十分なウイルス量確保(方法と部位)
- ②境界域での目視判定……心理的因子の影響は？
- ③検出限界の存在……キットによって異なる

検査時期と誤判定率

	12月	1月	2月	3月
検体数	26	31	43	25
偽陽性	2(7.7%)	2(6.5%)	1(2.3%)	0(0.0%)
偽陰性	1(3.8%)	1(3.2%)	2(4.7%)	2(8.0%)
誤判定	3(11.5%)	3(9.7%)	3(7.0%)	2(8.0%)
原因				
目視判定	2(1+、1-)	2(1+、1-)	0	2(2-)
T.E.	1	1	1	0
検出限界	0	0	2	0

T.E.:テクニカルエラー、家族内感染でチェックhMPV陽性、リアルタイム法で検出できない。逆のチェックhMPV陰性リアルタイム法での検出あり1例、境界域のため目視誤判定とした。 1+:偽陽性1、 1-:偽陰性1

検査初期は偽陽性が出やすく、流行後は偽陰性が増える？
流行期には【慣れ】が出てくる？2月の目視誤判定が0。

目視判定による誤判定とhMPV量

検査日	チェック hMPV test	hMPV量 (copies/ml)
1日	-	3.36×10^3
1日	-	2.44×10^3
1日	+	検出せず
2日	-	4.57×10^3
2日	+	検出せず
5日	-	3.37×10^3

すべて境界域と考えられる 10^3 (copies/ml)以下のレベルでおきている。

十分なウイルス量を確保する努力を！

デンシトメトリー分析装置値(リーダー値)と目視判定

Kit No.	リーダー値	A	B	C	D	E	F	G	+	±	-
14	53	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
19	53	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
7	51	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
18	25	+	±	+	+	+	+	+	6	1	0
6	23	+	+	+	±	+	+	+	6	1	0
13	23	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
17	20	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
5	19	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
12	19	+	+	+	+	+	+	+	7	0	0
11	16	±	±	+	±	+	+	±	3	4	0
4	14	±	±	+	±	+	+	+	3	4	0
3	12	±	±	+	±	+	+	+	4	3	0
10	12	±	±	+	±	+	±	±	2	5	0
16	6	-	-	±	-	-	-	-	0	1	6
9	5	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
2	3	-	-	-	-	-	±	-	0	1	6
1	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
8	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7
15	0	-	-	-	-	-	-	-	0	0	7

+:誰でもみえる ±:見えるが、他人はどうか不安 ± 誤判定リスク(4/133、3.0%)
 見える限界はほとんど同じと考えられる。規定時間内なら±までが陽性として考える。

hMPV感染の診断には？

年齢による症状の違い

- 6ヶ月未満児 咳・鼻閉・鼻汁・発熱なし
- 6ヶ月以上 咳・発熱あり

RSV流行終焉後に注意、
集団発生通園施設に注意、
迅速診断テストを有効活用

RSVとの違いは？

同胞内感染(発熱を基準とした潜伏期)

RSV 4.0±1.7日

hMPV 5.6±1.6日

まとめ

- ①迅速診断テスト、チェックhMPV testは非常に有効な診断手段。
(感度86.7%、特異度93.8%、全体一致率91.2%)
- ②陽性の境界域は 10^3 (copies/ml)、検出限界は 10^2 (copies/ml)と考えられた。
- ③リアルタイム法との一致率が高い時期は発熱後1-4日(特に2-3日)。
- ④発熱がない場合でも十分なウイルス量があり、迅速診断が可能な場合もある。
- ⑤目視判定では、誰でもほとんど同じレベルで見えている。
- ⑥流行初期には偽陽性、流行終焉期には偽陰性に注意する必要がある。
- ⑦チェックhMPVはチェックRSVと同じ検体で検査できるメリットがある。