

# 167 呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出

第59回日本感染症学会東日本地方学術集会

2010. 10. 22 「呼吸器感染症(4)」

## 呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出

○保科 定頼<sup>1,2)</sup>、和田 靖之<sup>3)</sup>、西脇 嘉一<sup>4)</sup>、高木 正道<sup>5)</sup>、吉田 博<sup>2,6)</sup>、  
富永 健司<sup>6)</sup>、杉本 健一<sup>7)</sup>、安藤 隆<sup>7)</sup>、河野 緑<sup>2)</sup>、榎谷 恵美<sup>2)</sup>、杉田 哲佳<sup>8)</sup>

1)慈恵医大臨床医学研究所, 2) 同臨床検査医学講座, 3)慈恵医大柏病院小児科,

4)同腫瘍・血液内科, 5)同呼吸器内科, 6)同中央検査部, 7)慈恵医大青戸病院

中央検査部, 8) 株式会社 島津製作所 分析計測事業部 バイオ臨床ビジネスユニット

**【背景】** 微生物臨床研究にPCR法が応用されて久しいが、臨床検査ルーチンで使用されるケースは少ない。また、イムノクロマト法による迅速検査は診断用として定着しているが、その感度と検査項目には限りがあり、今後検討する必要がある。

**【目的】** インフルエンザの早期診断は迅速な治療を行う上で重要であり、同時に呼吸器感染症起因病原体の検出動向を知る要望が増してきている。前培養なしで呼吸器感染症の代表的な細菌種とウイルス、インフルエンザウイルスタイピングを同時に遺伝子検出する検査システムを用いて、起因病原体の遺伝子検出を試みた。

# 167 呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出

## 【対象】

<患者> 38°C以上の発熱、一部呼吸器症状を呈した症例  
(小児30例、成人患者29例、合計59例\*)

\*全症例で、インフルエンザ迅速検査を行い対照とした。

<サンプル> 鼻腔ぬぐい液迅速検査後の残液を対象材料として  
2倍量RNA保存液を加えて-80°C保存。

## <PCR標的>

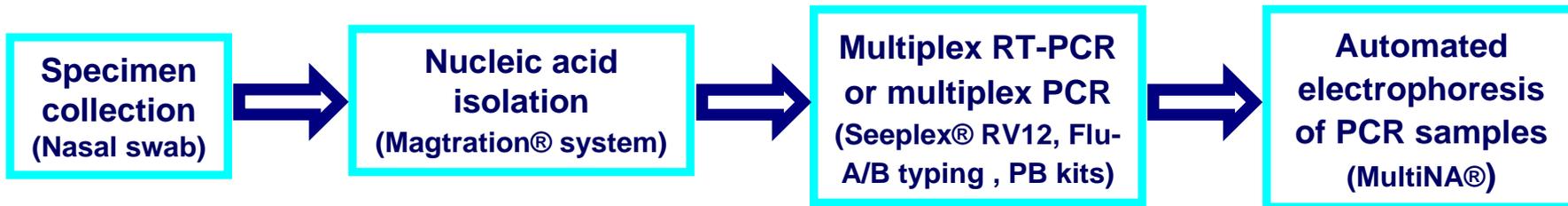
RV12-A (Respiratory virus)
Human metapneumovirus
Human adenovirus
Human coronavirus 229E/NL63
Human parainfluenza virus 1
Human parainfluenza virus 2
Human parainfluenza virus 3

PB (PneumoBacter)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>

RV12-B (Respiratory virus)
Influenza B virus
Influenza A virus
Human coronavirus OC43/HKU1
Human rhinovirus A/B
Human respiratory syncytial virus A
Human respiratory syncytial virus B

Influenza A/B typing
Human influenza A virus subtype H3
Human influenza A virus subtype H1
Human influenza B virus (MP)
Swine influenza A virus subtype H1
Human influenza A virus (MP)

A procedure for molecular detection in nasal swab (1)



Nasal swab were taken from patients for rapid diagnostic influenza test



Magtration® 6GC system  
(Precision System Science co. ltd)

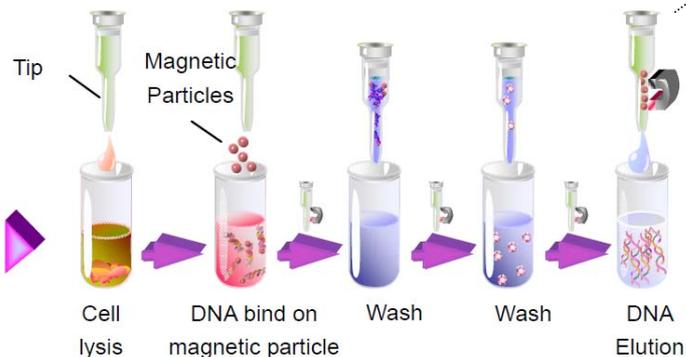
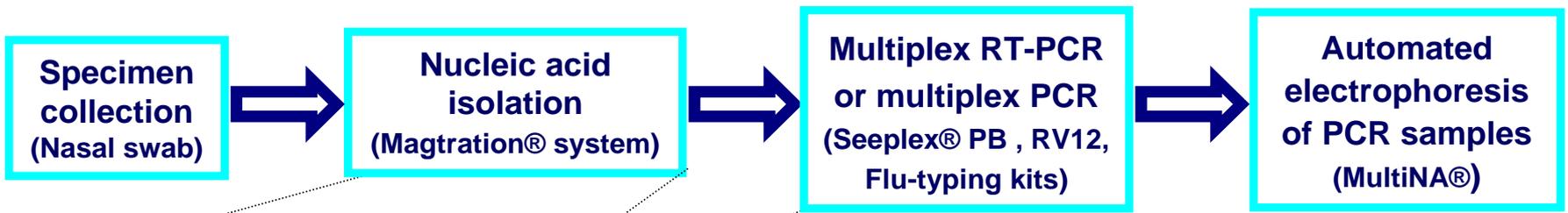


Seeplex® Sepsis Kits (Seegene Inc. )  
Thermal cycler  
(ABI 9700)

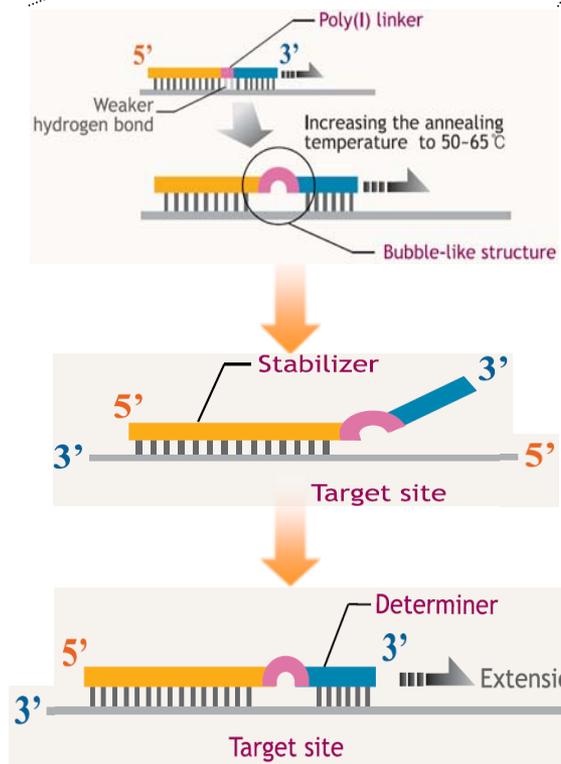


Microchip electrophoresis  
MCE-202 MultiNA®  
(SHIMADZU Corp.)

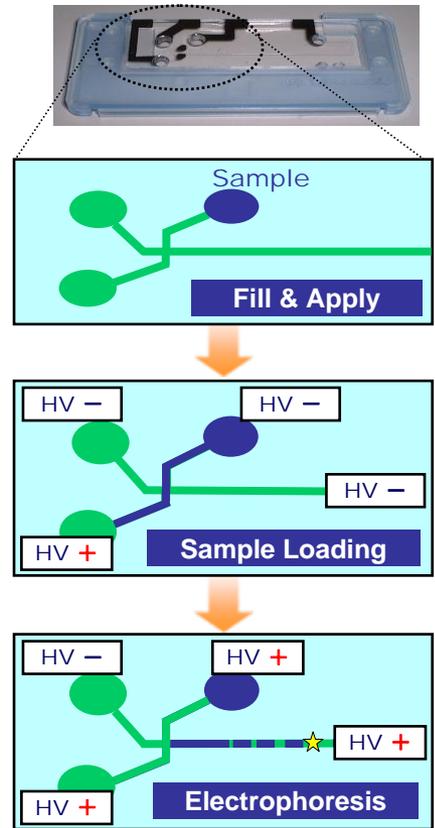
## A procedure for molecular detection in nasal swab (2)



<Magtration system>



<DPO technology>



<Microchip electrophoresis>

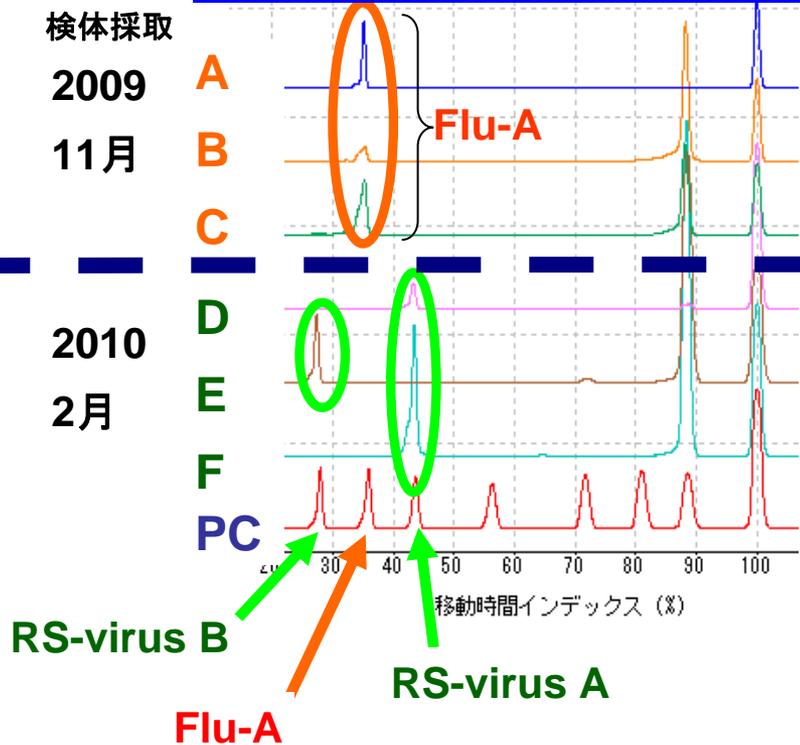
# 167 呼吸器感染症の起因病原体遺伝子同時検出

## A comparison of molecular detection results for 2009 Nov. and 2010 Feb.

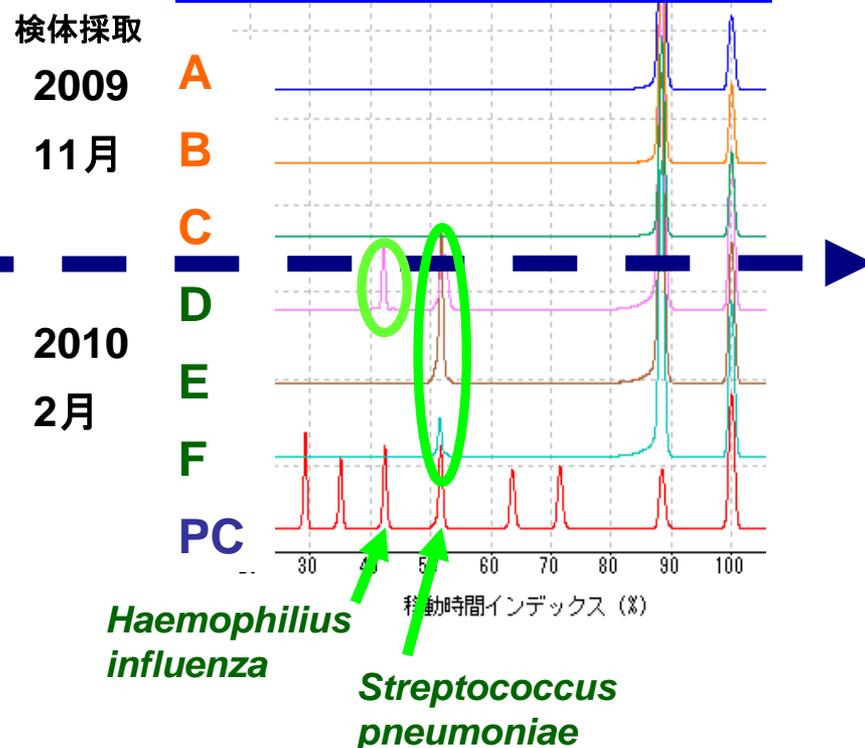
RV12-B (Respiratory virus)
Influenza B virus
Human coronavirus OC43/HKU1
Human rhinovirus A/B
Human respiratory syncytial virus A
Influenza A virus
Human respiratory syncytial virus B

PB (PneumoBacter)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>
<i>Legionella pneumophila</i>
<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>
<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>

Electropherogram (RV)



Electropherogram (PB)



## 結果1: 診療科別検体の遺伝子検出

<u>全検体</u>	<b>59例</b>
(2009年10月～2010年2月)	
陽性	36例
小児患者	25/30例
成人患者	11/29例

\*1 小児: Flu-A検出1例以外は、細菌とウイルス遺伝子の重複検出例多数。【13/16】

\*2 成人: 細菌・ウイルス単独検出例が多くみられた。【6/8】

<小児科 30症例>		
<u>Flu迅速検査</u>	<u>PCR</u>	(症例数: %)
陰性	陰性	(5/30: 16.7%)
陰性*1	陽性	(16/30: 53.3%)
陽性	陽性	(9/30: 30%)
(*RSウイルス迅速検査、肺炎球菌尿中抗原検査実施例はPCR結果と一致)		
<内科系 成人 29症例>		
<u>Flu迅速検査</u>	<u>PCR</u>	(症例数: %)
陰性	陰性	(18/29: 62.1%)
陰性*2	陽性	(8/29: 27.6%)
陽性	陽性	(3/29: 10.3%)

## 結果2: 検出微生物と検体採取時期の関係

全検体	59例
(2009年10月～2010年2月)	
陽性	36例
小児患者	25/30例
成人患者	11/29例

検出微生物(上位5種)	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	18
Influenza virus A (H1N1pdm2009)	14
<i>Haemophilus influenzae</i>	8
Respiratory virus B	7
Respiratory virus A	5

採取時期	迅速検査	小児	成人	Flu-A	SP	HI	RS-A	RS-B	Other	重複例
2009年 10-11月	陰性 8	5	3	1	0	0	0	0	0	0
	陽性 9	9	0	9	1	1	1	0	0	2
2009年 12月	陰性 5	3	2	0	2	0	0	1	1	2
	陽性 1	0	1	1	0	0	0	0	0	0
2010年 2月	陰性 34	13	21	1	14	7	4	5	4	11
	陽性 2	0	2	2	1	0	0	1	0	2
Total	59	30	29	14	18	8	5	7	6	17

### 【まとめ】

- 1) インフルエンザ抗原迅速検査残液を材料として簡便に呼吸器感染症の病原体遺伝子検出が可能であった。
- 2) 小児において、インフルエンザ流行期では新型インフルエンザ検出例が多く、終息後は肺炎球菌とRSウイルス・インフルエンザ菌の重複検出例が多数みられた。
- 3) 一方、成人では細菌あるいはウイルス単独検出例が多く、小児と成人とでは検出状況が大きく異なった。
- 4) 詳細なウイルスおよび細菌の感染実態把握のためには、同一患者における遺伝子検出を継続的に実施することが必要であると思われた。

**【謝辞】**

本研究における検体採取でご協力頂きました、  
慈恵医科大学柏病院 検査部、小児科および臨床  
医学研究所の皆様方に深謝します。

**【共同研究】**

本研究は、慈恵医科大学・Seegene社・(株)島津製  
作所 3者の共同研究として行われたものです。