

## インフルエンザ様疾患における核酸多項目同時検出試薬の有用性の検討

北村 有里恵<sup>a</sup>, 熊谷 遼太<sup>a</sup>, 河上 麻美代<sup>a</sup>, 加來 英美子<sup>a</sup>, 林 真輝<sup>b</sup>, 根岸 あかね<sup>a</sup>, 黒木 絢士郎<sup>a</sup>,  
林 志直<sup>a</sup>, 浅倉 弘幸<sup>a</sup>, 永野 美由紀<sup>a</sup>, 矢尾板 優<sup>a</sup>, 磯貝まや<sup>a</sup>, 藤原 卓士<sup>a</sup>, 鈴木 淳<sup>c</sup>,  
千葉 隆司<sup>d</sup>, 三宅 啓文<sup>e</sup>, 長島 真美<sup>a</sup>, 貞升 健志<sup>e</sup>

2020年1月から2021年8月の期間に感染症発生動向調査事業の一環で東京都健康安全研究センターに搬入されたインフルエンザ様疾患の患者検体（咽頭拭い液）78件を対象に、核酸多項目同時検出試薬の有用性の検討を行った。当センターで実施の核酸増幅検査法（3種類）と結果を比較したところ、陽性検体についてはほぼ結果が一致し、当センター法陰性例62件のうち24件で他の病原体遺伝子が検出された。一般に、核酸増幅検査では検査項目を絞って実施するため、対象の病原体が存在しない場合には陰性と判定されてしまう。当センター法陽性例と核酸多項目同時検出試薬による検査結果は概ね一致していたこと、当センター法検査陰性例から病原体が検出されたことから、インフルエンザ様疾患の調査に核酸多項目同時検出試薬を使用することで、さらに有用な疫学データが得られることが示唆された。

**キーワード：**インフルエンザ様疾患, FilmArray, インフルエンザウイルス, アデノウイルス, エンテロウイルス, 複数の病原体検出

## はじめに

ウイルス性呼吸器感染症の原因ウイルスは、インフルエンザウイルス、RSウイルス、ライノウイルスなど、多岐にわたる。なかでもインフルエンザは、例年冬季に流行し、感染者数も多く、小児のインフルエンザ脳症や高齢者の重症化が問題となる。

当センターでは感染症発生動向調査事業によりインフルエンザ等で搬入された検体の病原ウイルス（インフルエンザウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス）の遺伝子検査を行っている。2019/2020年シーズンではインフルエンザ病原体定点医療機関より519検体が搬入され、インフルエンザウイルス遺伝子検査ではAH1pdm09 343件、AH3亜型 7件、B型 66件の計416件が検出され、その他、エンテロウイルスは5件、ライノウイルスは21件、アデノウイルスは13件が検出された。しかし、COVID-19の流行下の2020/2021シーズンでは、29件が搬入され、エンテロウイルスは1件、ライノウイルスは7件、アデノウイルスは2件検出されたが、インフルエンザウイルスは検出されなかった<sup>1)</sup>。

IASRの報告では<sup>2)</sup>、2020年第19週以降、インフルエンザ報告数は減少しており、2020/2021シーズンは例年の流行期の期間と比較すると、報告数は低いレベルで推移した。例年の流行期に報告数の増加がみられなかった理由としては、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行

とその感染防止対策による影響が考えられている。また、COVID-19禍の規制緩和も段階的に進んだこともあり、流行が抑制されていた他の感染症も、RSウイルスのように流行時期が異なる時期に発生するなど、状況は絶えず変化している<sup>3)</sup>。

このような状況下において、病原体検査を実施するためには、幅広い網羅的な病原体検索が必要とされる。核酸多項目同時検出試薬の一つである、FilmArray呼吸器パネル2.1（バイオメリュー、以下、呼吸器パネル）は一回の測定でインフルエンザウイルスのほか、多種類の呼吸器疾患起因病原体の検出が可能な試薬である（表1）。

今回、感染症発生動向調査事業により搬入されたインフルエンザ様疾患の患者検体を用いて、核酸多項目同時検出試薬の有用性の検討をしたので報告する。

表1. FilmArray呼吸器パネル2.1検出対象微生物

|                |                                 |                       |
|----------------|---------------------------------|-----------------------|
| ウイルス<br>(17種類) | Adenovirus                      | Influenza A H1        |
|                | Coronavirus (hCoV) 229E         | Influenza A H1-2009   |
|                | Coronavirus (hCoV) HKU1         | Influenza A H3        |
|                | Coronavirus (hCoV) NL63         | Influenza B           |
|                | Coronavirus (hCoV) OC43         | Parainfluenza Virus 1 |
|                | SARS-CoV-2                      | Parainfluenza Virus 2 |
|                | Human Metapneumovirus           | Parainfluenza Virus 3 |
|                | Human Rhinovirus/Enterovirus    | Parainfluenza Virus 4 |
|                | Respiratory Syncytial Virus     |                       |
|                |                                 |                       |
| 細菌<br>(3種類)    | <i>Bordetella parapertussis</i> |                       |
|                | <i>Bordetella pertussis</i>     |                       |
|                | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>    |                       |
| クラミジア          | <i>Chlamydia pneumoniae</i>     |                       |

<sup>a</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部ウイルス研究科  
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

<sup>b</sup> 東京都健康安全研究センター食品化学部食品添加物研究科

<sup>c</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部病原細菌研究科

<sup>d</sup> 東京都健康安全研究センター企画調整部健康危機管理情報課

<sup>e</sup> 東京都健康安全研究センター微生物部

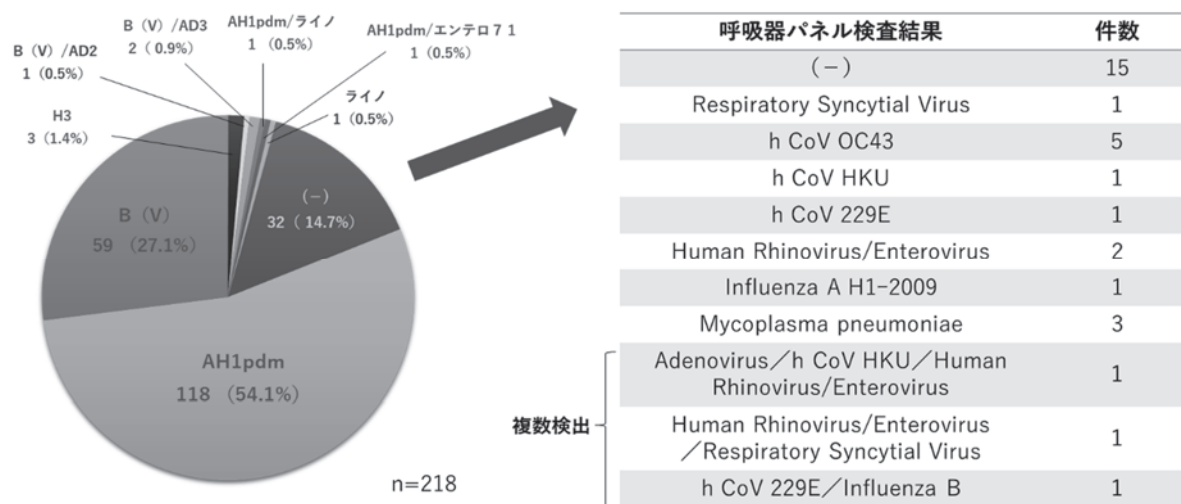


図1. 核酸増幅検査結果（2020年1月から2020年3月）と核酸増幅検査陰性例の呼吸器パネル検査結果の比較

## 実験方法

### 1. 供試材料

2020年1月から2021年8月の期間に、感染症発生動向調査事業の一環で東京都健康安全研究センターに搬入されたインフルエンザ様疾患の患者検体（咽頭拭い液）78検体を対象とした。その内訳は、2020年1月から2020年3月に搬入された139件のうち、インフルエンザウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルスの遺伝子が検出されなかった32検体と2020年4月から2021年8月に搬入された、インフルエンザ様疾患で搬入された全ての46検体である。

### 2. 遺伝子検査

当センターで実施のインフルエンザ様疾患患者検体の核酸増幅検査（以下、当センター法）については、季節性のインフルエンザウイルスはリアルタイムPCR法<sup>4)</sup>を用いた。また、アデノウイルス、エンテロウイルスおよびライノウイルスは既報<sup>5,6)</sup>に従い、コンベンショナルPCR法を行った後、シーケンス解析により、遺伝子型等を決定した。

### 3. 核酸多項目同時検出試薬を用いた検査方法

インフルエンザ様疾患の患者検体の咽頭拭い液150μLを汎用輸送培地UTM（COPAN）の液体培地150μLを用いて混和し、2倍希釈した混合液300μLを試料液として作製した。

作製した試料液を用い、添付文書<sup>7)</sup>に従いFilmArray呼吸器パネル2.1による測定を行った。一回の測定で21種類の病原体（ウイルス17種類、細菌3種類、クラミジア1種類）が同時に検出可能であり、検出対象微生物は表1に示した。なお、ライノウイルス属とエンテロウイルス属は区別できず、ライノウイルス／エンテロウイルスと表示される。

## 結果及び考察

### 1. 核酸増幅検査陰性例と核酸多項目同時検出試薬検査結果の比較（2020年1月から2020年3月）

感染症発生動向調査のうち、インフルエンザ様疾患として搬入された検体218件の核酸増幅検査の結果、85.3%の186件からインフルエンザウイルス等のウイルスが検出された（図1）。病原体遺伝子が検出されなかった32件を対象に呼吸器パネルを実施した結果、呼吸器パネルでも陰性になったのが15件であり、残りの17件（53.1%）から病原体遺伝子が検出された。内訳は、RSウイルスが1件、ヒトコロナウイルスが7件、ライノウイルスもしくはエンテロウイルスが2件、インフルエンザウイルスが1件、マイコプラズマが単独で検出されたのが3件、一度に複数の病原体が検出されたものが3件あった（図1）。

### 2. 核酸増幅検査結果と核酸多項目同時検出試薬検査結果の比較（2020年4月から2021年8月）

#### 1) 核酸増幅検査陽性例の検討

インフルエンザ様疾患として搬入された検体46件のうち、当センター法では16件からウイルス遺伝子が検出され、30件が陰性であった（図2）。これら46件すべてを対象に呼吸器パネルを用いて検査を実施したところ、23件（50.0%）でウイルス遺伝子が検出された。また、当センター法でウイルスが検出された16検体のライノウイルス、アデノウイルスが検出された検体では、呼吸器パネルでも同様に検出結果が一致していた。うち、2検体からはそれぞれ一つの検体から複数の病原体が検出されており、1件はライノウイルス／エンテロウイルスに加えてRSウイルスが、もう1件ではアデノウイルスに加えて、ヒトコロナウイルス229Eが検出された（図2）。

#### 2) 核酸増幅検査陰性例の検討

当センター法で陰性になった30検体については、呼吸器

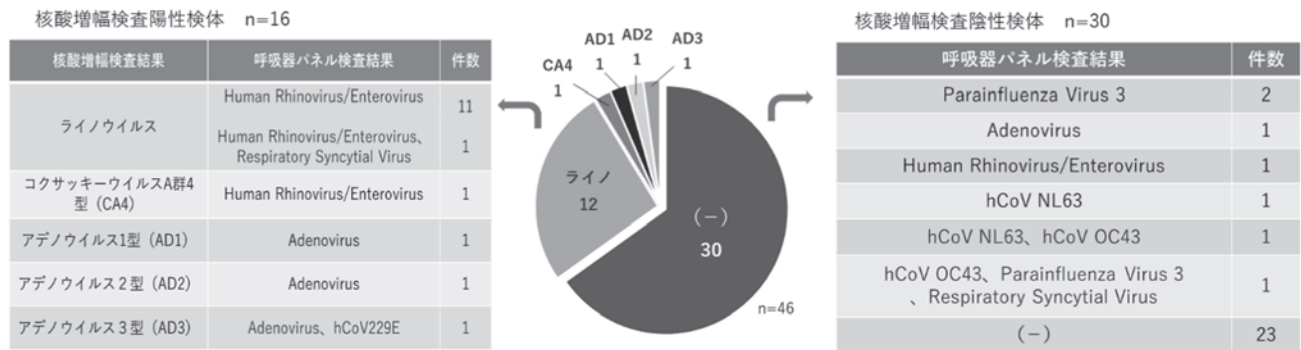


図2. 核酸増幅検査結果（2020年4月から2021年8月）と呼吸器パネル検査結果の比較

パネルでも陰性になった検体は23件で、7件で病原体遺伝子が検出された。内訳は、パラインフルエンザウイルス3型が2件、アデノウイルス、ライノウイルス、ヒトコロナウイルスがそれぞれ1件あった。一つの検体から複数の病原体が検出されたものが2件あり、ヒトコロナウイルスNL63とOC43の2種類と、ヒトコロナウイルスOC43、パラインフルエンザウイルス3型、RSウイルスの3種類が検出されたものがあった（図2）。

今回、核酸増幅検査陽性例で検出された病原体遺伝子と呼吸器パネルの検出結果は概ね一致していた。2020年1月から2020年3月の期間での当センター法陰性例の53.1%で呼吸器パネルでは病原体が検出され、2020年4月から2021年8月の期間ではインフルエンザ様疾患46例中23例（50.0%）から呼吸器パネルで病原体が検出された。

長島ら<sup>8)</sup>は、不明呼吸器感染症において、核酸増幅検査対象の病原体遺伝子が検出されなかった検体を用い、呼吸器パネルの検討を行ったところ、検査陰性例の58.8%から病原体を検出した。柳原ら<sup>9)</sup>は同様に呼吸器パネルを用いて呼吸器症状を呈した患者の呼吸器由来検体の調査を行った結果、50例中28例（56.0%）から病原微生物が検出されたとしている。調査期間が1～4月とインフルエンザ流行期であったにもかかわらず、インフルエンザウイルスの他に、RSウイルス、ライノウイルス、コロナウイルス、ヒトメタニューモウイルスが検出され、今回の我々の結果も同様な結果が得られた。

また、村ら<sup>10)</sup>は、呼吸器パネルを用い、成人の肺炎症例からヒトメタニューモウイルスを検出したと報告をしている。ヒトメタニューモウイルスは小児に多く、乳幼児や高齢者は下気道感染症となるが、年長児や健康成人では上気道感染症が主とされており、成人への肺炎症例で疑うことは稀であるが、呼吸器パネルを使用することにより検出できたとし、西本ら<sup>11)</sup>は、呼吸器パネルは操作が簡便で、検査対象の拡大およびコロナ再流行への対応が可能であるとしている。

FilmArray呼吸器パネル2.1は2020年6月に承認取得され、2020年7月に保険適用がされている。大量検体の検査には向かないが、検体の前処理時間を含めても約1時間程度で、呼吸器感染症病原体21種類の同定が可能である。

呼吸器感染症は咳や発熱、上気道炎、下気道炎、倦怠感など似た症状を持つことが多いため、病原体の特定が容易ではない。また、核酸増幅検査では、核酸量に限りがあるため、検査項目をむやみに増やすことが困難である。呼吸器パネルのような迅速且つ簡便に多項目を網羅的に検査できる全自動遺伝子解析装置を用いることは検査の診断に有用であると考えられ、既存の検査方法と併用することで、検査の精度向上にも繋がり、有益である。

このように多項目同時検出が可能な手法は、医療機関だけでなく、不明疾患発生時への対応など、コロナ流行後の感染症検査に有用と考える。

## ま と め

インフルエンザ様疾患の患者検体で核酸増幅検査によりライノウイルス、アデノウイルスが検出された16件の検体から呼吸器パネルでも同様にウイルスの検出が確認された。

2020年1月から2020年3月の当センター法で実施の核酸増幅検査陰性の32件中17件および、2020年4月から2021年8月に搬入された検体46件中23件から呼吸器パネルで様々な病原体が検出された。

当センター法の核酸増幅検査陽性例と呼吸器パネルによる検査結果は概ね一致し、当センター法陰性例でも呼吸器パネルにより他の病原体が検出された。核酸増幅検査で使用する核酸量には限りがあり、検査項目を多くすることは困難であるが、核酸多項目同時検出試薬は病原体不明の緊急の呼吸器疾患の場合におけるスクリーニング検査等として有用な疫学データが得られることが示唆された。

## 文 献

- 1) 東京都健康安全研究センター：感染症発生動向調査事業報告書。

<http://idsc.tmph.metro.tokyo.lg.jp>（2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性がある）

- 2) 国立感染症研究所：インフルエンザ 2020/2021シーズン、

<http://www.niid.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrtpc/10780-501t.html>（2022年7月15日現在。なお本URLは変更または抹消の可能性はある）

- 3) 糟谷 文：東京都微生物検査情報, **43**, 1-3, 2022.
- 4) 新開敬行：東京健安研セ年報, **66**, 51-64, 2015.
- 5) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 咽頭結膜熱,  
[http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/adeno\\_v3.pdf](http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/adeno_v3.pdf) (2022年7月15日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 6) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 手足口病,  
<http://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HFMdis20180222.pdf> (2022年7月15日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 7) ビオメリユー・ジャパン株式会社：FilmArray呼吸器パネル2.1.  
[http://info.pmdago.jp/downloadfiles/ivd/PDF/530633\\_30200\\_A\\_01\\_02.pdf](http://info.pmdago.jp/downloadfiles/ivd/PDF/530633_30200_A_01_02.pdf) (2022年7月15日現在. なお本URLは変更または抹消の可能性がある)
- 8) 長島真美, 熊谷遼太, 林志直, 他：臨床とウイルス, **48**, S98, 2020.
- 9) 柳原克紀, 森永芳智, 岩永祐季：日化療会誌, **66**, 729-737, 2018.
- 10) 村 竜輝, 西田祥啓, 多賀允俊, 他：感染症誌, **95**, 396-400, 2021.
- 11) 西本絵里奈, 小野原健一, 和田保乃花, 他：医学検査, **71**, 294-300, 2022.

**Investigation of the usefulness of FilmArray Respiratory 2.1 Panel in influenza-like illnesses**

Yurie KITAMURA <sup>a</sup>, Ryota KUMAGAI <sup>a</sup>, Mamiyo KAWAKAMI <sup>a</sup>, Emiko KAKU <sup>a</sup>, Masaki HAYASHI <sup>a</sup>, Akane NEGISHI <sup>a</sup>, Kenshiro KUROKI <sup>a</sup>, Yukinao HAYASHI <sup>a</sup>, Hiroyuki ASAKURA <sup>a</sup>, Miyuki NAGANO <sup>a</sup>, Yu YAOITA <sup>a</sup>, Maya ISOGAI <sup>a</sup>, Takushi FUJIWARA <sup>a</sup>, Jun SUZUKI <sup>a</sup>, Takashi CHIBA <sup>a</sup>, Hirofumi MIYAKE <sup>a</sup>, Mami NAGASHIMA <sup>a</sup>, and Kenji SADAMASU <sup>a</sup>

Between January 2020 and August 2021, 78 specimens (pharyngeal swabs) were gathered from patients, with influenza-like illnesses, who were referred to the Tokyo Metropolitan Institute of Public Health as part of the National Epidemiological Surveillance of Infection Diseases Program. The utility of testing with simultaneous detection of multiple reagents “FilmArray Respiratory 2.1 Panel” was investigated and compared to nucleic acid amplification tests (in-house) performed at our institute. Other pathogen genes were identified in 24 of the 62 negative cases of our method and the results were nearly identical for the positive specimens. Because viral nucleic acid amplification tests use narrowly focused test items, the test is considered negative if the target pathogen is not present. The multiple nucleic acid simultaneous detection reagent “FilmArray Respiratory 2.1 Panel” was useful in investigating influenza-like illness because the test results of our test-positive cases generally agreed with those of FilmArray, and pathogens were detected even in the negative cases. Hence, it was proposed that more useful epidemiological data could be acquired.

**Keywords:** influenza-like illness, FilmArray, influenza virus, adenovirus, enterovirus, multiple pathogen detection

---

<sup>a</sup> Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,  
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan