

原著

小児科領域におけるノロウイルス抗原迅速診断薬 「クイックナビTM-ノロ」の使用経験および 臨床的有用性に関する検討

市川 万邦¹⁾ 沼崎 啓¹⁾

要旨 ノロウイルス感染症の迅速診断として迅速抗原検出キットが開発され、有用な手段となっている。本試験では乳幼児の直腸拭い液検体による「クイックナビTM-ノロ」の測定結果を real time RT-PCR 法での結果と比較し感度 91.7%，特異度 57.1%，全体一致率 69.7%の成績を得て臨床的有用性が確認された。しかし本診断薬の適用検体種は糞便のみであり、乳幼児では経直腸的な採取しできない場合も多く、直腸拭い液検体を対象とする迅速診断薬の開発が望まれる。

はじめに

主に冬季に流行するウイルス性胃腸炎は、診断を臨床症状のみによって行うことは困難である。ノロウイルスの実験室内確定診断は、分子生物学的手法である逆転写 (RT)-PCR 法であり、その増幅産物の塩基配列を決定して遺伝子型を決定するか、real time RT-PCR 法による検出によるものである。最近、迅速抗原検出キット (免疫クロマト法、酵素免疫測定法など) が開発・市販され、安価でかつ簡便であり診療の場で広く使用されている。ノロウイルスはしばしば院内感染を引き起こし、臨床現場では迅速診断法の確立が課題とされている。

今回、乳幼児の直腸拭い液検体による「クイックナビTM-ノロ」の使用経験、および臨床的有用性に関する検討を行ったので報告する。

I. 対 象

2009 年 12 月～2010 年 2 月までの期間に栃木県那須塩原市の国際医療福祉大学病院を受診し、保護者より検体採取の同意の得られた急性胃腸炎小児患者 33 例 (0～8 歳、平均 1.7 歳、男児 20 例、女児 13 例) を対象とした。臨床材料採取にあたっては、ノロウイルス感染症の迅速診断の臨床的意義を保護者に説明し、同意書を得た。直腸拭い液は市販のスワブにて採取し、速やかに処理できない場合は -20℃にて保存した。

なお、本研究は国際医療福祉大学大学院、国際医療福祉大学病院の研究倫理審査委員会の承認を得て実施された。

II. 方 法

乳幼児で自身の便採取が困難な小児患者 33 例の直腸拭い液検体を経直腸的に綿棒にて採取し、

Key words : ノロウイルス, 迅速抗原検出キット, イムノクロマト法, 直腸拭い液, 急性胃腸炎

1) 国際医療福祉大学大学院医療福祉学研究科医療福祉国際協力学分野国際感染症学領域

[〒329-3763 那須塩原市井口 537-3]

表 1 ノロウイルス感染症例の概要

症例番号	年齢	性別	結果	PCR	入院	合併症	症例番号	年齢	性別	結果	PCR	入院	合併症	症例番号	年齢	性別	結果	PCR	入院	合併症		
1	1	女	+	+	○	けいれん	12	2	男	+		○		23	0	女	+					
2	0	男					13	1	女	+	+			24	1	女	+					
3	3	女	+		○		14	4	女	+				25	1	男			○			
4	0	男	+	+	○	RS	15	0	女	+				26	3	男	+	+				
5	1	男	+		○	RS	16	3	女					27	8	男			○		マイコ	
6	0	男	+	+	○		17	3	男					28	1	女	+	+				
7	8	男			○		18	0	女					29	0	男	+		○		RS	
8	1	女	+	+	○		19	1	男	+	+			30	3	男			○		○	ロタ
9	1	男	+	+	○		20	1	男					31	0	男	+		○		○	
10	1	男	+	+	○		21	5	女			○	けいれん	32	1	男			○		○	ロタ
11	0	男	+	+			22	2	男			○		33	1	女	+	+	○		○	

結果：クイックナビTM-ノロ結果，PCR：real-time RT-PCR 結果

RS：RS ウイルス感染症，マイコ：マイコプラズマ感染症，ロタ，ロタウイルス感染症

デンカ生研社製ノロウイルス抗原迅速診断薬「クイックナビTM-ノロ」（以下、本診断薬）の目視による結果判定と、厚生労働省医薬品食品局食品安全全部監視安全課長通知（2003年11月5日付け）の方法に準じた real-time RT-PCR 法¹⁾による結果判定を行い、対象症例の臨床所見を検討した。また、現病歴、既往歴、医薬品の服用、食物アレルギーの有無、現在の症状について問診票に記入してもらい、診療担当医師により問診を行った。担当医師によって記載された理学的所見、および検査成績も参考とした。

本診断薬は着色ラテックス粒子を用いたイムノクロマト法を原理とし、検体処理が簡便であるとともに15分の短時間で判定する。前処理を含めると20分弱で判定が可能であるが、実際には陽性の場合5～10分でコントロールラインが出現し、テストラインの発色が認められた時点で判定が可能となり、非常に簡便かつスピーディな診断薬である。しかし、糞便採取には綿球を軽く覆う程度（約25～45mg）の糞便が必要とされ、直腸拭い液検体は適応外となっている²⁾。また、以前より保険適用はなかったが2012年4月1日から、①3歳未満の患者、②65歳以上の患者、③悪性腫瘍の診断が確定している患者、④臓器移植後の患者、⑤抗悪性腫瘍剤、免疫抑制剤、または免疫抑制効果のある薬剤を投与中の患者に対し保

険適用（実施料150点、判断料144点）となった。

III. 結 果

1. ノロウイルス感染症例の概要

本診断薬陽性症例は33例中20症例で、real-time RT-PCR 陽性症例は33例中12例であった（表1）。33例中19例が入院した。なお、入院の判断は嘔吐、下痢、発熱などの臨床症状の重症度を基準とした。本診断薬で陽性と判定し入院となった症例は11例で、そのうち5例はreal-time RT-PCR 法では陰性であった。合併症はけいれん1例、RS ウイルス感染3例であった。本診断薬陽性例でロタウイルス感染は認めなかったが、陰性例で2例のロタウイルス感染を認めた。その2症例ともreal-time RT-PCR でもノロウイルスは陰性だった。

2. 迅速診断薬と real-time RT-PCR 法の相関性の検討

本診断薬と real-time RT-PCR 法との相関性試験結果では、感度（陽性一致率）は91.7%、特異度（陰性一致率）は57.1%、全体一致率は69.7%であった（McNemar 検定： $p < 0.05$ ）（表2）。

3. 迅速診断試薬および real-time RT-PCR 法陽性例の解析

本診断試薬陽性症例では年齢（0～4歳、平均1.1歳）、性別（男：女=10例：10例）、real-time

表 2 相関性試験結果

		real-time RT-PCR		
		陽性	陰性	合計
クイックナビ™-ノロ	陽性	11	9	20
	陰性	1	12	13
	合計	12	21	33

感度 (陽性一致率) 91.7% (11/12)

特異度 (陰性一致率) 57.1% (12/21)

全体一致率 69.7% (23/33)

RT-PCR 判定結果 (陽性:陰性=12 例:8 例) および入院の有無 (有:無=11 例:9 例) であった (表 3). Real-time RT-PCR 陽性症例ではウイルス量による本診断薬の判定および入院の有無に差異は認めなかった (Mann-Whitney-U 検定: $p=0.638$). また, ノロウイルスの遺伝子型はすべて genogroup II であった (表 4).

IV. 考 察

ノロウイルス感染症は通常 11~3 月の冬季に流行し, ヒトに経口感染し, 十二指腸から小腸上部で増殖し, 小腸上皮を脱落させ伝染性の消化器感染症を発症する³⁾. 死に至る重篤な例はまれであるが, ときに十二指腸潰瘍を併発することもある. 感染から発病までの潜伏期間は数時間~数日 (平均 1~2 日) で, 消化器症状軽快後も便からのウイルスの排出は 1 週間程度続く.

ノロウイルスは直径 27~38 nm の小型 RNA ウイルスで, 遺伝子型は大きく 2 つの遺伝子群 genogroup I (G I) と genogroup II (G II) に分けられ, それぞれの遺伝子型は G I, G II あわせて 30 種類以上が確認されている. 新たな variant の報告もあり, 今後も遺伝子型の増加が考えられる. わが国における流行の主流株は大部分が G II genotype 4 (G II/4) に属している. 一般に RNA ウイルスの変異をきたしやすく, ノロウイルスの場合は遺伝子内での組換え (リコンビネーション) が新しい流行の要因になっている. 現在, ノロウイルスの臨床類型は健康成人におけるノロウイルス感染症 (散発例, 集団発生例), 医療関連施設における高齢者のノロウイルス感染症, 乳幼児期の嘔吐下痢症の 3 つに大別される⁴⁾.

表 3 本診断試薬陽性症例のまとめ

年齢	性別	PCR	入院	年齢	性別	PCR	入院
1	女	陽性	有	4	女	陰性	無
3	女	陰性	有	0	女	陰性	無
0	男	陽性	有	1	男	陽性	無
1	男	陰性	有	0	女	陰性	無
0	男	陽性	有	1	女	陰性	無
1	女	陽性	有	3	男	陽性	無
1	男	陽性	有	1	女	陽性	無
0	男	陽性	無	0	男	陰性	有
2	男	陰性	有	0	男	陰性	有
1	女	陽性	無	1	女	陽性	有

PCR: real-time RT-PCR

表 4 Real time RT-PCR 法陽性症例のまとめ

クイックナビ™-ノロ	ウイルス量 (copy/g 便)	入院の有無
陽性	3.27×10^7	有
陽性	9.16×10^6	有
陽性	8.73×10^5	有
陽性	2.09×10^9	有
陰性	2.48×10^5	有
陽性	1.14×10^5	有
陽性	1.21×10^6	無
陽性	8.75×10^4	無
陽性	1.54×10^6	無
陽性	3.73×10^6	無
陽性	1.94×10^7	無
陽性	3.93×10^6	有

すべて genogroup II (G II)

ノロウイルスの感染制御の原則は標準予防策と厳重な手洗いであり, 接触予防策, 場合によっては飛沫予防策も追加する. 医療関連施設内でノロウイルス胃腸炎の患者が発生した場合, 便や嘔吐物が感染源となるので, この処理を適切に行うことが重要で, 飛沫感染対策も必要である. このように感染の診断のみでなく, 院内感染の蔓延防止の指標として迅速抗原検出キットは広く使用されている^{5~7)}.

本診断薬は G I, G II を広範囲に認識するモノクローナル抗体および免疫血清を用いる. 唯一体外診断薬として厚生労働省より認可され, 経済的であるが G I と G II を識別できない欠点を有する. ヒトに感染するノロウイルスは G I, G II,

GIVであるが、特に GII は大きな流行の原因となる GII はさらにカプシッド遺伝子配列の違いを基に細かく分類され、そのなかでも GII の 4 型は近年の感染性胃腸炎の世界的な流行を起こすウイルスとして注目されている^{8,9)}。本試験でも GII のみが検出された。

本試験薬は糞便中のノロウイルス抗原の検出で real-time PCR 法との相関性試験において感度(陽性一致率) 81.6%, 特異度(陰性一致率) 96.9%, 全体一致率 89.3% (いずれもメーカー発表) との結果である。標準的 RT-PCR 法との比較においても特異性は高いものの、感度は低いとされている。また、従来より直腸拭い液検体および嘔吐物、浣腸液を用いた糞便(浣腸便)は対象外となっている。

直腸拭い液検体による本試験では real-time PCR 法との相関性試験において高い感度が得られ、その臨床的有用性が確認された。特異度が低かった背景としてはっきりとした原因は明らかにならなかったが、高橋らによる新生児便検体による偽陽性の報告¹⁰⁾もあるが、便中の何らかの物質、インヒビターによる交差反応の影響などいくつかの要因が示唆された。本診断薬において直腸拭い液検体は検査対象外であり、偽陽性と考えられるケースがかなりの割合で存在し注意が必要であるが、そのことを念頭に置いたうえで外来診療においては迅速診断の補助として用いることが可能であり、入院症例では院内感染の蔓延防止のためのベッドコントロールなどにも有用と判断した。

以上の結果より、直腸拭い液検体を用いた本診断薬の結果は、小児科臨床の現場において外来、入院を問わず有用性が高いと判断された。本診断薬の本来の適用検体種は糞便のみであり、経直腸的に採取した直腸拭い液検体は適用外となってい

るが、乳幼児の場合には経直腸的な採取しかできない場合も多く、直腸拭い液検体での適応拡大、もしくは新たな診断薬の開発が望まれる。

日本小児感染症学会の定める利益相反に関する開示事項はありません。

文 献

- 1) Beuret C : Simultaneous detection of enteric viruses by multiplex real-time RT-PCR. *J Virol Methods* 115 : 1-8, 2004
- 2) 田中智之, 他 : ノロウイルス抗原迅速診断薬クイックナビTM-ノロの評価. *医学と薬学* 61 : 779-785, 2009
- 3) 田中智之, 他 : ノロウイルス感染と予防指針. *臨床とウイルス* 39 : 155-160, 2011
- 4) 中込とよ子, 他 : ノロウイルス・ロタウイルス. *臨床検査* 53 : 1418-1422, 2009
- 5) 倉本早苗, 他 : ヒトふん便からのノロウイルス検出法に関する検討. *日本食品微生物学会雑誌* 27 : 86-89, 2010
- 6) 田尻 仁, 他 : 小児ウイルス胃腸炎におけるイムノクロマト法によるノロウイルス迅速キットの有用性. *小児診療* 71 : 2244-2247, 2008
- 7) 田中智之, 他 : ノロウイルス迅速診断法. *診断と治療* 97 : 1728-1731, 2009
- 8) 牛島廣治 : ウイルス性胃腸炎の診断法と疫学の過去, 現在と今後の展望. *ウイルス* 59 : 75-90, 2009
- 9) 本村和嗣, 他 : ノロウイルス感染症. *臨床とウイルス* 39 : 115-122, 2011
- 10) 高橋伸方, 他 : NICU におけるノロウイルスの pseudo-outbreak—新生児便検体におけるノロウイルス迅速診断キットの高頻度の偽陽性—. *小児感染免疫* 22 : 223-226, 2010

**Evaluation of the clinical value of Norovirus antigen rapid diagnostic kit,
Quicknavi™-Norovirus in pediatric patients**

Maho ICHIKAWA, Kei NUMAZAKI

Division of International Infectious Diseases, Graduate School of Health and Welfare, International University of Health and Welfare

To diagnose Norovirus infection, Norovirus antigen rapid diagnostic kits were developed for practical use in clinics. Quicknavi™ is one of the Norovirus antigen rapid diagnostic kits by immune chromatography. Results can be obtained within 20 minutes using this diagnostic kit. We examined Quicknavi™ using rectal swabs from children with acute gastroenterocolitis and compared the results with the real-time RT-PCR assay. Clinical specimens were obtained from 33 patients (male 20, female 13), 0 to 8 years (average 1.7), from December 2009 to February 2010 at the Department of Pediatrics of the International University of Health and Welfare Hospital, Nasu-shiobara Tochigi, Japan. Sensitivity results were 91.7%, those of specificity were 57.1% and the positive predictive value was 69.7%. There were no differences in the results from age, sex, quality of illness, and quantity of viral amount. Only the type 2 geno-group was found by real-time RT-PCR assay. Judging from these results, this kit was considered to be useful in pediatric clinics. It seems to be especially useful in the detection of the virus in the outpatient setting and in prevention of the spread of infections. Officially this kit is licensed only for fecal specimens but not for rectal swabs. However, fecal specimens can not be easily obtained from small children. Expanding the license for rectal swabs or developing a new diagnostic kit is recommended.

(受付：2012年1月18日，受理：2012年8月7日)

* * *