

Monkeypox virus (MPXV)の検出および Clade 判定のための Multiplex PCR 法の構築

◎今泉 優理¹⁾、石毛 崇之¹⁾、藤川 樹¹⁾、村田 正太¹⁾、川崎 健治¹⁾、松下 一之¹⁾
千葉大学医学部附属病院¹⁾

【背景・目的】Monkeypox virus (MPXV)は2022年5月頃から欧米を中心とした感染流行地域以外での感染拡大を認め、一時はWHOより緊急事態宣言が発令された。MPXVは塩基配列の違いからコンゴ盆地型(Clade I)と西アフリカ型(Clade II)に大別され、それぞれ致死率がClade Iは10%、Clade IIは1%程度と異なるため、検出だけでなくCladeの判定も重要である。世界的流行を受けて、当院でもMPXV検査体制の整備が必要と考え、検出およびClade判定のためのMultiplex PCR法を開発した。

【対象・方法】対象は市販の陽性コントロール(Takara)および当院のエムボックス疑い患者検体3件(痂皮、水疱内液、痂皮のスワブ)を用いた。患者検体からのDNA抽出にはMaxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit (Promega)を用いた。プライマー・プローブは、2010年に米国CDCで開発されたリアルタイムPCR法(J Virol Methods, 2010)を参照し、異なる4つの蛍光色素を用いて設計した(FAM: Clade I特異的配列、SUN: Clade II特異的配列、Cy5: MPXV共通配列、ROX: internal control)。Multiplex PCRには

Cobas z 480 (Roche)を用いた。Cy5とROXの結果からMPXVの陽性陰性判定を、FAMとSUNの結果からClade判定を行った。

【結果】陽性コントロールの測定において、検出およびClade判定の結果は一致した。患者検体の測定においては、3件ともMPXV陽性の判定であり、臨床所見と齟齬の無い結果であった。また、本法でのClade判定はClade IIであり、Whole genome sequenceにより確認すると、いずれも日本で検出されている系統であるClade II B.1.3であった。患者検体はそれぞれ異なる検査材料であったが、いずれも同等の判定が可能であった。

【結語】エムボックスの流行に対応するため、当院でのMPXV検査体制を構築した。4チャンネルを活用することにより、1検体1ウェルで検出とClade判定の同時測定が可能であった。本法は、臨床検査室におけるエムボックスの迅速な診断補助検査として有用であると考えられる。

連絡先 043-222-7171(内線 6221)