

エンドトキシン混入事案前後でのクオンティフェロン® TB ゴールド検査成績比較

瀬戸 順次 鈴木 裕 阿彦 忠之

要旨：〔目的〕2013年に国内で発生したクオンティフェロン®TB ゴールド (QFT-3G) 専用採血管内へのエンドトキシン (ET) 混入による偽陽性事案を受け、事案前後でのQFT-3G検査成績の差異を検討すること。〔方法〕2010年9月～2015年4月、山形県において接触者健康診断の目的で4,258人に実施したQFT-3G検査について、ET混入事案前の2,488検体と事案後（品質改善対策実施後）の1,770検体に分けて成績を比較した。〔結果〕ET混入事案前に比べ事案後の群において陰性コントロール値が有意に低い傾向を示した ($P < 0.0005$)。陽性コントロール値が算出上限 (10 IU/ml) を超えた検体の割合は、ET混入事案前は96.8%であったのに対し、事案後は87.8%と有意に減少した ($P < 0.0005$)。判定保留は、事案前が6.6%であったのに対し、事案後は3.2%と大きく減少した。〔考察〕ET混入事案前後で、採血管へのET混入量の差に起因すると考えられるQFT-3G検査成績の差異が見出された。本検討から、事案後ではQFT専用採血管内のET混入量が低く管理されているものと推察された。

キーワード：QFT-3G, エンドトキシン

はじめに

結核感染の有無を検査する方法として、国内ではインターフェロン- γ (IFN- γ) 遊離試験 (IGRA) が普及しており、接触者健康診断、医療従事者の健康管理、結核発病の危険性が高い患者あるいは免疫抑制状態にある患者の健康管理および活動性結核の補助診断に利用されている¹⁾。国内で利用可能な2種類の市販IGRAキットのうち、クオンティフェロン®TB ゴールド (QFT-3G) において、2013年4月、専用採血管へのエンドトキシン (ET) 混入により偽陽性を生ずる不具合事案が発生し²⁾、該当ロット品の自主回収等が行われた。本研究では、ET混入事案に伴うQFT-3G専用採血管の品質改善対策実施後（同年5月15日からの専用採血管の供給再開以降。以下、事案後という）、陽性コントロール値が算出上限を超える検体が減少したという経験則を端緒に、ET混入事案前後でのQFT-3G検査成績を比較検討した。

対象と方法

〔QFT-3G検査〕

2010年9月から2015年4月までに、接触者健康診断の目的で4,823検体を対象にQFT-3G検査を実施した。同一対象者で複数回（2～4回）検査を実施した検体のうち最終検体以外の460検体のデータを除外し、結核患者との接触後2カ月以上経過した状態の接触者の検体のみとした。さらに、ET混入事案前後の採血管が混在して使用された月の105検体（2保健所の2013年7月の検体および他2保健所の2013年7～8月の検体）を除き、1人あたり1検体として4,258人（男性1,721人、女性2,537人）を解析の対象とした。本対象の一部は、著者らの既報³⁾と同一である。また、検査の方法等についても既報³⁾にしたがった。なお、本研究ではET混入により自主回収された専用採血管は使用していない。

〔ET混入事案前後のQFT-3G検査成績比較〕

研究対象とした4,258人を、ET混入事案前の採血管

が使用された2013年6月までの2,488人と、ET混入事案後の新仕様の採血管が使用された2013年8月以降の1,770人に分けて検査成績を比較した。比較した項目は、両群の陰性コントロール値の分布、陽性コントロール値 (Mitogen 値 - Nil 値) の分布、および QFT-3G 検査成績とした。

〔統計解析〕

ノンパラメトリック検定としてウィルコクソンの順位和検定、カテゴリデータの解析には Fisher の正確確率検定を実施した。統計解析は R version 3.0.2 を用い、P 値 0.05 未満をもって有意差ありとした。

結 果

ET混入事案前後での陰性コントロール値の分布を Fig.

に示す。2群の検定により、ET混入事案前に比べ事案後で陰性コントロール値が有意に低い傾向を示した ($P < 0.0005$)。

陽性コントロール値が算出上限 (10 IU/ml) を超えた検体の割合は、ET混入事案前は2,488検体中2,409検体 (96.8%) であったのに対し、事案後は1,770検体中1,554検体 (87.8%) と有意に減少した ($P < 0.0005$)。ET混入事案後の陽性コントロール値の結果を年齢階級別に示す (Table)。高齢群になるにつれ陽性コントロール値が算出上限を下回る者の割合が増加した。特に、90歳以上では、全体の32%が10 IU/ml以下の陽性コントロール値を示した。また、事案後に陽性コントロール値が算出上限を下回った検体のうち、60歳以上の中央値 (5.6 IU/ml) は60歳未満の中央値 (6.8 IU/ml) に比べて低かった (P

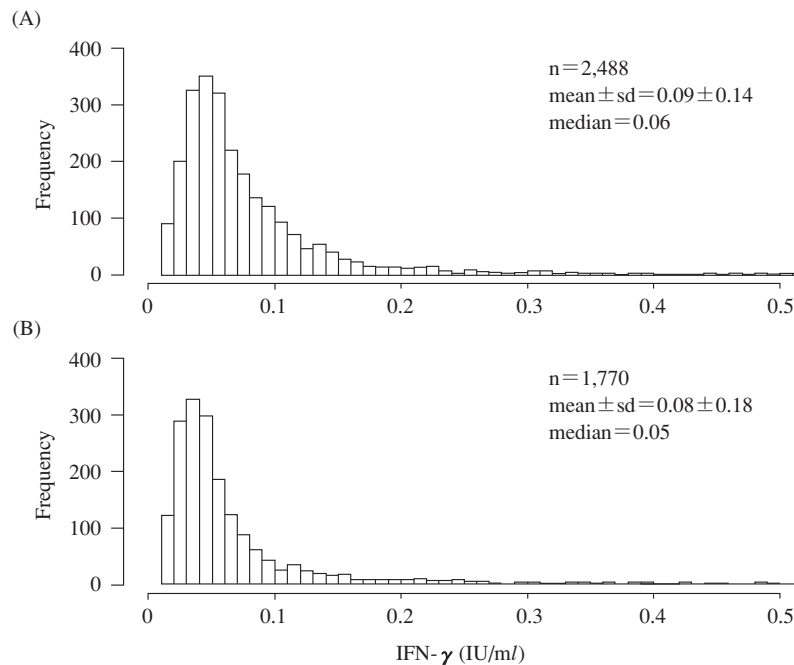


Fig. Distribution of negative control values before and after a case of endotoxin contamination in a QFT-3G kit in Japan. (A) Before the contamination case. (B) After the contamination case. Negative control values in the group tested after the contamination case was significantly lower than those in the group tested before the contamination according to Wilcoxon rank sum test ($P < 0.0005$).

Table IFN- γ values of positive control by age group among QFT-3G tested 1,770 subjects.

Age group	n	Positive control	
		≤ 10 IU/ml (%)	> 10 IU/ml (%)
≤ 19	63	6 (9.5)	57 (90.5)
20-	189	22 (11.6)	167 (88.4)
30-	286	17 (5.9)	269 (94.1)
40-	275	33 (12.0)	242 (88.0)
50-	330	35 (10.6)	295 (89.4)
60-	239	29 (12.1)	210 (87.9)
70-	166	31 (18.7)	135 (81.3)
80-	172	27 (15.7)	145 (84.3)
90 \leq	50	16 (32.0)	34 (68.0)

= 0.11)。

ET混入事案前後でのQFT-3G検査成績は、陰性（事案前 vs 事案後；86.0% vs. 89.9%）、判定保留（6.6% vs. 3.2%）、陽性（7.2% vs. 6.4%）および判定不可（0.2% vs. 0.5%）であり、事案前後の比率に有意差が確認された（ $P < 0.0005$ ）。特に、ET混入事案後では判定保留の割合が顕著に減少していた。

考 察

本研究では、ET混入事案後にQFT-3G専用採血管の品質管理が厳格化された（ET濃度に関する品質管理基準値が事案前の0.5 endotoxin unit (EU)/ml以下から0.1 EU/ml以下に低減された⁴⁾）ことで採血管内のET混入量が減少した結果、QFT-3G検査成績に変化が生じたという仮説の下、ET混入事案前後でのQFT-3G検査成績の比較を行った。

Gaurらは、ETを混和した全血を陰性コントロール採血管に投入してインキュベートすることで、濃度依存的にIFN- γ 産生量が増加したと報告している⁹⁾。本研究においてET混入事案前の群で陰性コントロール値が有意に高かったことは、事案前の陰性コントロール採血管でのET混入濃度が、品質管理上の基準値以下のレベルとはいえ、事案後の採血管に比べて高かったことを示唆している。

ET混入事案前後での陽性コントロール値の比較において、事案前に算出上限を超える検体の割合が多かったことについても、品質管理上の基準値以下のレベルとはいえ、事案前の陽性コントロール採血管でのET混入濃度が事案後に比べて高かったことを示唆する結果と考えられる。事案後は、品質管理上のET混入濃度の基準値をさらに厳しく設定して製造された採血管が供給されたため、接触者の免疫状態をより忠実に反映した検査結果が得られたと推定される状況において、高齢者では陽性コントロール値の低い者が多い傾向を認めた（Table）。このことは、QFT-3Gの検査成立条件である陽性コントロール値0.5 IU/mlは超えていたとしても、若年層に比べて高齢層では相対的に免疫状態が低下している者が多く含まれていたことを示唆している。高齢の対象者では個々の免疫状態に十分に配慮しながらIGRA実施の可否の決定および結果の解釈を行う必要があると考えられた。

ET混入事案前後のQFT-3G検査成績の比較の結果、事案前は「判定保留」の割合が高かった。先行研究において、潜在性結核感染症（LTBI）患者の全血にETを混ぜることでIFN- γ 産生が増強されたとの報告がある⁹⁾。これを踏まえると、結核患者との接触歴からLTBIが強く疑われるものの被検者側の免疫低下などにより事案後のQFT-3Gでは陰性と判定されていた事例の一部が、事

案前には（品質管理の基準値以下とはいえ）事案後よりもET混入濃度の高い採血管を用いて検査されたことでIFN- γ 産生量が増強され、結果的に判定保留の割合が増加した可能性が示唆された。一方で、事案前の群の陰性コントロール値が事案後の群に比べて有意に高かった結果（Fig.）を踏まえると、陰性コントロール値のベースが上昇して誤差が生じやすくなった結果、本来陰性である検体が誤差により偽の判定保留と判定された可能性も否定できない。個々の対象者において両考察のどちらが当てはまるかについては結論が出ないが、いずれにしても、現状のIGRAにおいて不要な物質であるETは可能なかぎり排除されるべきであると考えられる。

本研究における限界として、以下の2点が挙げられる。はじめに、陽性コントロール値に関して、製造者提供の解析ソフトでは10 IU/mlを超える測定値は一律に「>10」と表現されることから、今回、定量的な解析は行わなかった。陽性コントロール値が算出上限以下となることが、必ずしも対象者の免疫状態の低下を示すものではない点は注意が必要と思われる。また、本研究におけるET混入事案前後の両群間には対応がないため、対象者に含まれるLTBI患者や活動性結核患者の割合の偏りにより事案前後のQFT-3G検査成績に差が生じた可能性が考えられる。しかし、事案前後で接触者健康診断対象者の選択基準が不変であったこと、および両群とも約2,000検体を解析に供したことを踏まえると、判定保留に2倍以上の差をもたらすほどの偏りはなかったと推察された。

本研究により、2013年に発生したQFT-3G専用採血管へのET混入事案前後で、採血管中のET混入量の違いに起因すると考えられるQFT-3G検査成績の差異が見出された。このことから、QFT専用採血管内のET混入量は事案前に比べて事案後で低く管理されていると考えられた。製造者から提供される検査キットに対しては、われわれユーザーはその正確度・精密度を信頼して検査を実施するほかない。今後とも、IGRAに関係する全てのキットについて、厳格な製造管理がなされることを期待したい。

〔研究費補助〕

本研究は、平成23～25年度厚生労働省新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「地域における効果的な結核対策の強化に関する研究」（研究代表者：石川信克）および平成26年度厚生労働省新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「地域における結核対策に関する研究」（研究代表者：石川信克）の分担研究（研究分担者：阿彦忠之）の一部として実施した。

謝 辞

山形県内4保健所感染症予防担当のみなさまのデータ精査への御協力に感謝申し上げます。また、検査データを入力いただいた山形県衛生研究所、本田、梅瀬両氏に深謝いたします。

著者のCOI (conflicts of interest) 開示：本論文発表内容に関して特になし。

文 献

- 1) 日本結核病学会予防委員会：インターフェロン γ 遊離試験使用指針. 結核. 2014; 89: 717-725.
- 2) 日本結核病学会：クオンティフェロン®TBゴールド用採血管の不具合への対応について. 2013. <http://www.kekkaku.gr.jp/pdf/aninfo-qft20130430.pdf> (平成27年8月19日閲覧)
- 3) 瀬戸順次, 阿彦忠之：接触者健康診断における高齢者に対するインターフェロン- γ 遊離試験の有用性の検討. 結核. 2014; 89: 503-508.
- 4) 3G採血管 (エンドトキシン混入による新ロット報告) (2013年5月13日). 一般社団法人免疫診断研究所. <http://www.riid.or.jp/information/detail/3.html> (平成27年8月20日閲覧)
- 5) Gaur RL, Suhosk MM, Banaei N: In vitro immunomodulation of a whole blood IFN-gamma release assay enhances T cell responses in subjects with latent tuberculosis infection. PLoS One. 2012; 7: e48027.

Short Report

COMPARISON OF QuantiFERON® TB GOLD TEST RESULTS BEFORE AND AFTER ENDOTOXIN CONTAMINATION

Junji SETO, Yu SUZUKI, and Tadayuki AHIKO

Abstract [Purpose] In response to a case of endotoxin contamination of tubes used in QuantiFERON® TB Gold (QFT-3G) testing in Japan in 2013, the effect of this contamination on QFT-3G test results was investigated.

[Methods] We analyzed QFT-3G results from 4,258 participants in a tuberculosis contact investigation in Yamagata, Japan from September 2010 to April 2015. Of these, 2,488 samples were collected before the endotoxin contamination, while 1,770 samples were collected after the contamination.

[Results] Negative control values in the group tested after the contamination were significantly lower than those in the group tested before the contamination ($P < 0.0005$). The proportion of positive controls that exceeded the calculated limit (10 IU/ml) in the group tested after the contamination (87.8%) was lower than that in the group tested before the contamination (96.8%; $P < 0.0005$). The proportion of intermediate results in the group tested after the contamination

(3.2%) was markedly lower than that in the group tested before the contamination (6.6%).

[Discussion] Differences in QFT-3G test results were found to be related to a difference in blood collection before or after endotoxin contamination of blood collection tubes. Values resulting from QFT-3G testing were lower in blood samples that were collected after the contamination relative to those collected before the contamination.

Key words: QFT-3G, Endotoxin

Yamagata Prefectural Institute of Public Health

Correspondence to: Junji Seto, Department of Microbiology, Yamagata Prefectural Institute of Public Health, 1-6-6, Tokamachi, Yamagata-shi, Yamagata 990-0031 Japan.
(E-mail: setoj@pref.yamagata.jp)