

感染症サーベイランスにおけるウイルス分離(2009 年度)

平野 学、山口 顕徳、吉川 亮、吾郷 昌信

Virus Isolation on Surveillance of Infectious Disease (2009)

Manabu HIRANO, Akinori YAMAGUCHI, Akira YOSHIKAWA and Masanobu AGOH

Key words: Surveillance, Influenza virus (A/H1N1pdm), Virus isolation and identification

キーワード: サーベイランス、新型インフルエンザ、エンテロ及びエコーウイルス分離及び同定

はじめに

感染症サーベイランスの目的は、医療機関の協力を得て、細菌及びウイルス等による感染症の患者発生状況や病原体の検索結果等により流行実態を早期、且つ的確に把握し、必要な情報を速やかに各地域に還元することで予防接種、衛生教育等の適切な予防処置を講ずることにある。2009 年度当初、厚生労働省からメキシコで死亡例を含むインフルエンザ様疾患の患者が発生し、そのうち、18 例についてはカナダで発生した豚インフルエンザウイルス(H1N1 亜型)と遺伝学的に同一のウイルスであったとの報告があった。また、4月28日にWHOはそのウイルスが継続的にヒトからヒトへの感染がみられるとしてインフルエンザのパンデミック警報レベルを4に、5月1日にはレベル5に、さらに6月12日にはレベル6に引き上げた。これに併せて厚生労働省は健康局結核感染症課長通知により、メキシコやアメリカ等で確認された豚インフルエンザ(A/H1N1 亜型)を「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成10年法律第114号)第6条第7項に規定する新型インフルエンザ等感染症と位置づけ、検疫の強化、発熱相談センターの設置や医療体制の確認などの対策を行った。以上の背景から、当センターにおいても新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)の確定検査体制を整え、積極的疫学調査に伴う患者確定検査を行うと共に、例年の感染症サーベイランスを実施したので、その概要について報告する。

調査方法

1. 検査材料

長崎県感染症発生動向調査事業に基づいた定点医療機関とは、政令市及び県立保健所管轄の10地域で指定された医療機関である。政令市及び県立保健所管轄の

10 地域の病原体定点、基幹定点及び協力医療機関等で採取され、管轄保健所を通じて依頼された検体(咽頭ぬぐい液、髄液、糞便及び眼ぬぐい液他等)について、病原体検索を当センターで実施した。また、A/H1N1 pdm については、発熱相談センターを介して受診した指定医療機関および任意に受診した医療機関等で採取された A/H1N1pdm に感染、若しくは感染疑いのある患者検体(咽頭または鼻腔ぬぐい液)を管轄保健所担当者が行政依頼検査として当センターに直接搬入、若しくは郵送した。A/H1N1pdm 遺伝子検査において陽性と判定された検体は、MDCK 細胞を用いたウイルス分離検査を実施するまで-80℃で保存した。病原体サーベイランスおよび A/H1N1pdm 確定検査のために医療機関等で患者522名から採取された検体数は、総数620検体であった。

2. 検査方法

検体の前処理、細胞培養、ウイルス分離・同定等については既報¹⁾の如く行った。感染性胃腸炎(乳児嘔吐下痢症を含む)、特にノロウイルス感染症を疑った検体は、既報²⁾に従いウイルス遺伝子の検出を試みた。また、A/H1N1pdm の検査は、国立感染症研究所の病原体検出マニュアル「H1N1 新型インフルエンザ(2009年5月 ver.1)」に準じて実施した。

調査結果及び考察

検査結果を検査依頼件数の多い疾病順に示す。

1. A/H1N1pdm

A/H1N1pdm の確定検査体制を5月初旬までに整え、緊急対応ができる体制を構築した。初めて検査依頼があったのは5月11日、アメリカからの帰国者で検査結果は陰性であった。

表 1. 感染症発生動向調査(4類・5類感染症)における疾病別検査数(平成 21 年度)

1. 全数把握の対象疾病における検査数: なし
 2. 定点把握の対象疾病における検査数:

対象疾病名	被験者数	検体数	検体名			
			咽頭ぬぐい液	髄液	糞便	その他
75 RSウイルス感染症						
76 咽頭結膜熱						
77 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎						
78 感染性胃腸炎	11	11			11	
79 水痘						
80 手足口病						
81 伝染性紅斑						
82 突発性発疹						
83 百日咳						
84 ヘルパンギーナ						
85 流行性耳下腺炎						
86 インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く)	13	13				13
87 急性出血性結膜炎						
88 流行性角結膜炎						
89 性器クラミジア感染症						
90 性器ヘルペスウイルス感染症						
91 尖圭コンジローマ						
92 淋菌感染症						
93 クラミジア肺炎(オウム病を除く)						
94 細菌性髄膜炎						
95 ペニシリン耐性肺炎球菌感染症						
96 マイコプラズマ肺炎						
97 無菌性髄膜炎	2	2	1	1		
98 メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症						
99 薬剤耐性緑膿菌感染症						
新型インフルエンザ	478	567	52			515
その他対象外疾病	18	27	6	1		20
合計	522	620	59	2	11	548

その後、39 例の検査を実施し、渡航歴のないインフルエンザ様疾患の患者からは、何れもウイルス遺伝子は検出されなかった。一方、サウジアラビア、マレーシア及びグアム等からの帰国者から季節性インフルエンザ A 香港型(A/H3N2 亜型)が 6 例検出された。この時期、A/H3N2 亜型がこれらの滞在先において流行していたことが示唆された。県内における A/H1N1pdm の初発例は 6 月 16 日に米国ラスベガスからの帰国者であった。その後、帰国者からのみ連続して 3 例、A/H1N1pdm が検出された。しかし、7 月 10 日に A/H1N1pdm が検出された患者は海外渡航歴がなく、県内初の国内接触感染者であったが、保健所に

おいて疫学調査を実施したものの感染経路については明らかにできなかった。7 月 20 日以降は、搬入された検体のほとんどから A/H1N1pdm が検出された。表 1 の疾病別検査数に示すとおり、本年度の A/H1N1pdm の検査依頼患者数は 478 名、検体数は 567 検体であった。そのうち遺伝子検査で検出された A/H1N1pdm は、450 検体であった。遺伝子検査において、A/H1N1pdm 陽性が確認されたこれら 450 検体からのウイルス分離は、現在進行中であるが、これまでに 12 株が分離され、何れも遺伝子レベルで A/H1N1pdm であることが確認された。

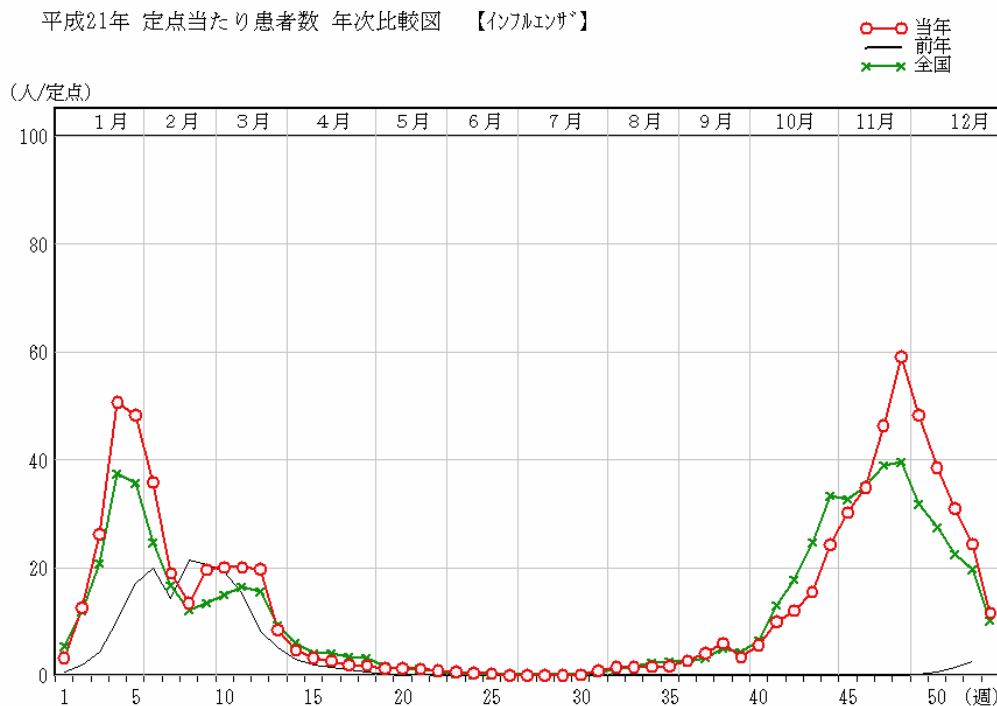
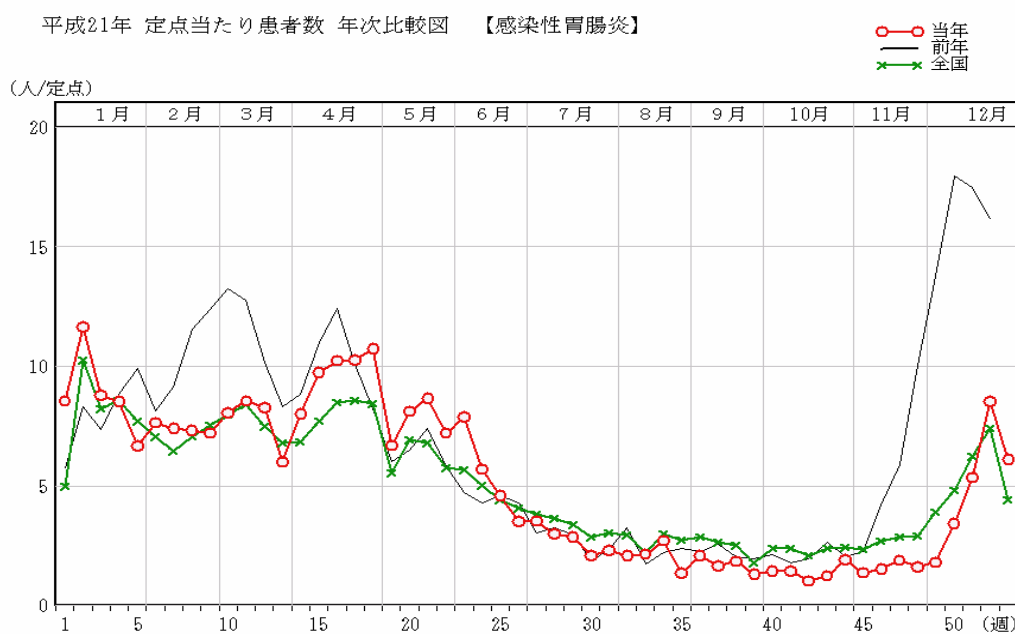


図1. 平成21年 定点当たり患者数(インフルエンザ) (長崎県感染症情報センター資料より)



(長崎県感染症情報センター資料より)

図2 .平成21年 定点当たり患者数(感染性胃腸炎)

A/H1N1pdm 以外では A/H3N2 亜型が 12 検体、B 型が 2 検体からそれぞれ検出された。A/H1N1pdm 流

行前に依頼された検体からは、A ソ連型(A/H1N1 亜型)が8検体検出されたが、A/H1N1pdmが流行して以

降はまったく検出されなかった。

インフルエンザ診断簡易キットを用いた医療機関からの診断結果と当センターの遺伝子検査による確定検査成績を比較したところ、検体が採取された時期を考慮する必要があるものの、簡易診断キットによる擬陽性率は13%、擬陰性率は0.3%であった。使用したキットによる偏りは、特に認められなかった。

今回のA/H1N1pdmの流行により、例年は1月初旬頃から始まるインフルエンザの流行が、8月下旬ごろから始まり11月下旬にピークを迎えるという異例の推移を示した(図1)。シーズン後半の3月には例年どおりインフルエンザシーズンの終焉を告げるB型が2件検出された。

2. 感染性胃腸炎

インフルエンザに次いで患者数が多く認められた疾患は感染性胃腸炎の11名で、検体数は同数の11検体(糞便等)であった。そのうち、10検体からノロウイルス遺伝子(G II)が検出された。定点当たり患者数の立ち上がりは、全国的傾向と同様に長崎県でもほぼ同時期の11月下旬から12月上旬にかけて急速な立ち上がりを見せ、12月下旬にピークとなり、その後、徐々に患者数は減少した。しかしながら、前年より報告数は大幅に減少した(図2)。A/H1N1pdm流行による手洗いの励行、公衆衛生意識の向上が一因しているかもしれない。

2009年度のサーベイランスは、A/H1N1pdmの流行により状況が例年とは一変し、依頼検査のほとんどがA/H1N1pdmの遺伝子検出による確定検査であり、小児科定点からも他のウイルス性疾患の検査依頼は、ほとんどなかった。現在もA/H1N1pdmのサーベイランスは継続しており、これまでに蓄積したA/H1N1pdmの検体をさらに詳細に調査・解析することにより、今後の流行予測の一助となればと考えている。また、2009年度はほとんど依頼がなかった小児ウイルス性感染症についても、今後はウイルス分離に使用する細胞株を整備、充実して分離率の向上を図るとともにエンテロウイルス遺伝子の新規迅速高感度検出法をルーチン検査に導入し、さらに、インフルエンザ以外の風邪の原因ウイルスの遺伝子検査を拡充することにより、小児ウイルス感染症およびウイルス性呼吸器疾患に対する監視及び予防対策の一環として本調査をより強化して継続し、その役割の一端を担っていきたいと考えている。

参 考 文 献

- 1) 平野 学、他: 長崎県衛生公害研究所所報, 47, 95-98, 2001.
- 2) 厚生労働省通知: 平成13年11月「ノーウォーク用ウイルス(NLV)のRT-PCR法について」及び平成15年11月「ノロウイルスの検出法について」