

「新型インフルエンザ」発生からの検査の実際

Testing system for New Influenza Virus(A/H1N1pdm)

佐藤 由紀 高橋 由理 阿部 美和 植木 洋
菅原 優子 沖村 容子 御代田恭子

Yuki SATO, Yuri TAKAHASHI, Miwa ABE, Yo UEKI
Yuko SUGAWARA, Yoko OKIMURA, Yasuko MIYOTA

2009年4月メキシコで発生した「新型インフルエンザ」は全世界に流行をもたらした。当センターでもリアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法を併用して行い、迅速、正確、安全に検査できる体制のもと6月に1例目を確認して以来、様々なサーベイランスを行い557件中491件の新型インフルエンザを確認した。また、薬剤耐性検査では63件中1件がオセルタミビル耐性株であることを確認した。

キーワード：新型インフルエンザ；サーベイランス；リアルタイム RT-PCR 法；遺伝子解析

Key words : New Influenza(AH1N1pdm) ; Surveillance ; Real-time RT-PCR ; Gene Analysis

1 はじめに

2009年4月24日「メキシコで新型インフルエンザ発生」のニュースが世界中に流れ、翌日厚生労働省が「メキシコ及び米国におけるインフルエンザ様疾患の発生状況について」を発表し、宮城県においても相談窓口設置など「新型インフルエンザ」対策が始まった。発生からこれまでの検査体制について、また、様々なサーベイランスによる検査結果についてまとめたので報告する。

2 検査体制

今回の新型インフルエンザ（ブタ由来）に関する情報を待つ期間に、新型インフルエンザ対応（鳥インフルエンザ対象）として準備していた試薬、検査マニュアルの再確認を実施した。数日後、国立感染症研究所（感染研）から新型インフルエンザ(AH1N1pdm)用の試薬、検査法マニュアル、陽性コントロールが配布され、即日リアルタイム RT-PCR 検査を実施し、良好な結果が得られることを確認した。また、細かい動作確認、器具器材の確認等シミュレーションを行い、担当者全員が迅速、正確、安全に検査できるよう体制を整えた。試薬の準備、保健所へ配布する検体輸送培地の作製、感染性物質輸送容器の手配、感染研への検体輸送体制など多方面の準備に追われた。さらに、膨大なメールや電話の受け付けを一本化し、関係者間で情報を共有できるよう努めた。

3 検査方法

リアルタイム RT-PCR 法とコンベンショナル RT-PCR 法を併用した¹⁾²⁾。リアルタイム RT-PCR 法では A 型と新型(AH1N1pdm)を対象とし、コンベンショナル RT-PCR 法では A 型と季節性の A ソ連型(AH1N1)、A 香港型(AH3N2)を対象とした。ウイルスサーベイランスの検体については9月から細胞培養も行い、分離できたウイルスについて赤血球凝集抑制試験(HI :

hemagglutinin inhibition test)と、一部は薬剤耐性についてシーケンスにより遺伝子解析を行った。

4 サーベイランスの変化

発生初期から7月23日までは発熱外来での疑い症例患者の検査を行い、新型の有無にかかわらず結果のすべてを国へ報告しなければならない全数報告が実施されていた。その後、地域における流行拡大の早期探知のためクラスター（集団）サーベイランスが始まり、8月24日までは2名以上の集団で疑い患者が出た場合1名についての検査を実施していた。続いて、福祉施設等の集団サーベイランスと入院患者すべてを検査する入院サーベイランスが12月20日まで行われ、その後は入院患者の中でも重篤な場合に限っての検査に変わった。これらとは別にウイルスサーベイランスも7月24日から行われ、県内5か所あるインフルエンザ病原体定点からインフルエンザ様疾患を疑うすべての検体を目標数150件まで検査することとなり、目標数達成の11月半ばまで続いた。1月からは、重篤な入院患者のサーベイランスと季節性インフルエンザへの移行などの監視のために新たなウイルスサーベイランスを全保健所管内で行っている。

5 サーベイランスの結果

5月12日に新型インフルエンザ疑いで検体を受付け以来、2010年3月24日までに合計557件の検体を受付け、491件の新型インフルエンザを確認した(表1)。迅速な結果報告のためすべて遺伝子検査を行った。さらに、ウイルスサーベイランスの検体218件について細胞培養を行い108件のウイルスを分離し、103件については血清学的な抗原検査(HI試験)でも新型インフルエンザであることを確認した。ウイルス分離率が低いのは遺伝子検査を優先したことによる。すなわち、臨床検体を凍結保存しておき、ある程度まとめて細胞培養を行った

ことと、数が多かったため1代目のCPE(細胞変性効果)で判定したことによると推測された。

疑い症例から発熱外来、集団サーベイランス、入院サーベイランスの件数と結果を図1に示した。初期の発熱外来では不安を感じて受診した症例が多く、また、まだ例年季節性インフルエンザの感染が残っている時期であることから、Aソ連型やA香港型ウイルスが検出されていた。6月22日(第26週)に宮城県初の新型インフルエンザ感染が米国からの帰国者で確認されてからは、集団サーベイランスの21件すべてが、また、入院サーベイランスでは300件中遺伝子が検出された259件すべてが新型インフルエンザであった。入院サーベイランスの検査件数は、感染症発生動向調査の週報での定点当り患者報告数(折れ線グラフ)と同じような傾向を示し、10月末から大きく増加し、11月から12月にピークを迎えた。第32週から34週の集団サーベイランス患者が多いのは、小規模な集団発生が多かったのではと考える。これら検体数を年齢群別で図2に示した。年齢群別でみると、乳幼児から中学生までが圧倒的に多く、また、年齢が高くなるほど検出率が低くなっていた。

発熱外来以降入院サーベイランスまでの検体について、医療機関での迅速診断簡易キットの結果と当センターでのリアルタイムRT-PCRの結果を比較した(表2)。332検体中、キット、遺伝子検査ともに陽性検体は289件、ともに陰性検体は13件、キットA陽性で遺伝子検査陰性が8件、キット不明で遺伝子検査陰性が18件、キットA、B両方陽性で遺伝子検査陰性が2件、キットA陰性で遺伝子検査陽性が2件あった。キットA陽性で遺伝子が検出されなかった原因の一つとして、キット診断から検体採取までの数日間に投薬がなされウイルス量が減少したと考えられた。キットA、Bともに陽性を示し遺伝子検査陰性だった例は、当センターで行ったキット検査ではすべて陰性であった。A、B二種類同時感染事例はまれであり、キットの種類もしくは判定法に問題があると考えられた。キット陰性で遺伝子検査陽性の2件は、どちらも医師が強く新型インフルエンザを疑ったもので、遺伝子検査の方がキット検査より感度が高いことで検出されたのではと考える。

ウイルスサーベイランスの月別検体数と検査結果を図3に示した。8月から3月までに218検体について検査し207件の新型インフルエンザを確認した。未検出11件中3件はB型を疑った検体だったが、これについては図3に示した。8月から3月までに218検体について検査し207件の新型インフルエンザを確認した。未検出11件中3件はB型を疑った検体だったが、これについてはA型もB型も確認されなかった。

オセルタミビル(タミフル)薬剤耐性については、当センターで新型インフルエンザと確認された最初の4検体について7月に臨床検体から遺伝子解析を行い薬剤耐性でないことを確認した。その後、ウイルス(病原体定

表1 サーベイランス結果

	検体受付日	受付検体数	AH1pdm	AH1(ソ連型)	AH3(香港型)	未検出
新型インフルエンザ疑い	5/12-5/18	7	0	4	1	2
発熱外来	5/21-7/1	11	4	0	4	3
集団(クラスター)サーベイランス	7/22-8/26	21	21	0	0	0
入院サーベイランス	8/28-12/30	300	259	0	0	41
ウイルス(病原体定点)サーベイランス	8/17-11/10 1/13-3/24	218	207	0	0	11
合計		557	491	4	5	57

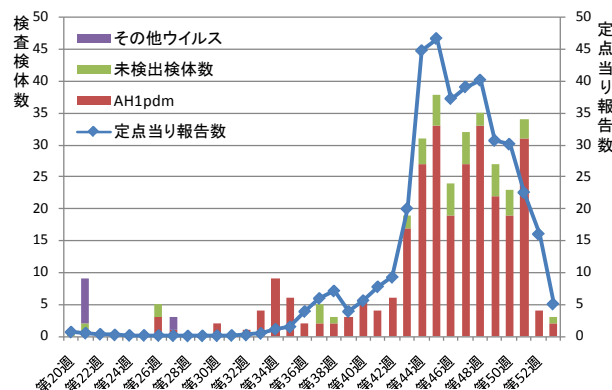


図1 週別検査検体数と定点当り報告数

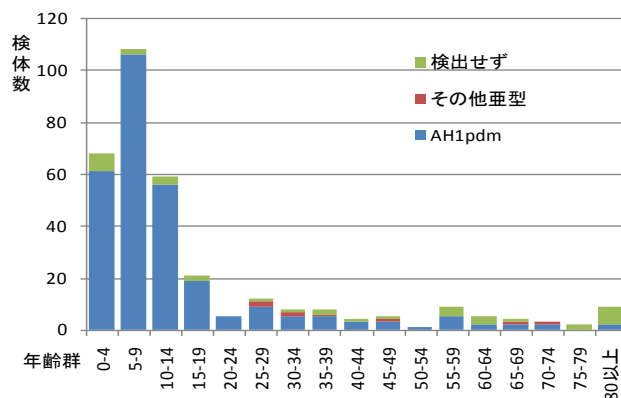


図2 年齢群別検体数

表2 簡易キットとPCR検査結果の比較

迅速簡易診断キット	リアルタイムRT-PCR		件数
	A	AH1pdm	
A(+)	+	+	289
A(+)	-	-	8
A(-)	-	-	13
不明	-	-	18
A(+)/B(+)	-	-	2
A(-)	+	+	2

点)サーベイランスで分離された108件の中から無作為に抽出した59件について薬剤耐性検査を行った。結果1件から耐性株である遺伝子変異を確認し、感染研で感受

性試験を行った結果、耐性株であることが判明した。この事例はリレンザ服用で回復しており、周辺への耐性株による感染拡大は確認されなかった。

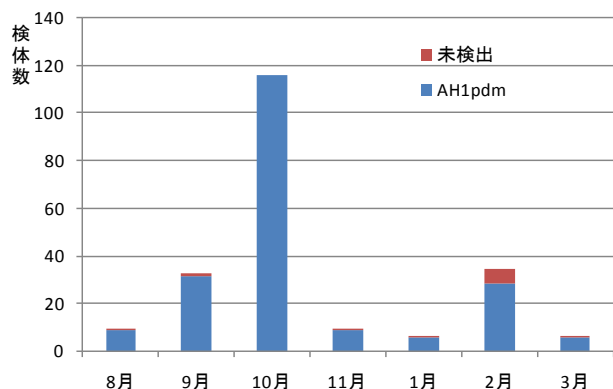


図3 月別検体数

6 まとめ

これまで様々なサーベイランスにより、557件のウイルス検査を実施し、491件から新型インフルエンザを確認した。薬剤耐性について検査を行った結果63件中1

件の耐性株を確認した。今シーズン(2009-2010シーズン)は少なくとも3月までは新型インフルエンザのみの流行だった。今後は一旦落ち着いた状態がこのまま持続するのか、来シーズンの流行が早期に始まるのか、また、季節性インフルエンザの流行に移動するのかなどウイルスサーベイランスにより監視を続け、また、オセルタミビル(タミフル)耐性ウイルス出現の拡大監視も引き続き行っていかなければならない。さらに、今回の新型は幸い毒性の強いものではなかったが強毒性鳥インフルエンザも無くなったわけではなく、新たなパンデミックを起こす可能性のある新型インフルエンザに関心を持ち続け、今後の検査体制を整えていかなければならないと考える。

7 参考文献

- 1) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ,1,(2009)
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ,2,(2009)