

# 熊本市における新型インフルエンザ(A/H1N1)検査対応について

前田詠里子 齊藤義治

## 1 はじめに

平成 21 年 4 月、北米で豚インフルエンザのヒトでの発生が多数確認され、4 月 28 日には WHO において、継続的に人から人への感染がみられる状態になったとして、インフルエンザのパンデミック警報レベルをフェーズ 4 に引き上げる宣言が行われた。国内でも、厚生労働省から新型インフルエンザに係る対応について、「地方自治体でも万全な体制をとるように」との通知がなされた。

当所では、国立感染症研究所（以下感染研）から提示されたマニュアル及び配布された検査試薬により 5 月 3 日には検査体制を整え、市内での発生に備えた。

以下では当所の平成 21 年度の新型インフルエンザ検査対応および検査結果について報告する。

## 2 検査対象の変遷

新型インフルエンザの検査の対象となる患者は発生状況に応じて変化していったが、大きく分けると、①全数把握期（～7 月 9 日）、②集団（クラスター）サーベイランス、入院（重症）患者サーベイランス、病原体定点（ウイルスサーベイランス）把握期（7 月 10 日～8 月 24 日）、③入院（重症）患者サーベイランス、病原体定点（ウイルスサーベイランス）把握期（8 月 25 日～）の三期に分けられる。

## 3 検査体制

新型インフルエンザの検査は、微生物班 6 名（職員 4 名、嘱託職員 2 名）が、試薬調製係 1 名、検体前処理係 1 名の 2 名体制で行った。検査にかかる時間は、当初、新型インフルエンザ A/H1N1（以下新型）について 6 時間、季節性インフルエンザ A ソ連型および A 香港型（以下季節性）について 8 時間と設定していたが、実際には新型が 4 時間、季節性が 5 時間程度で報告できるケースが多かった。さらに、季節性もリアルタイム RT-PCR 法で行うようになると、新型も季節性も 4 時間程度で同時に報告できるようになった。

なお、検体数の増加に対応するため、他班の応援要員 4 名を確保し研修を行ったが、実際に応援が必要となるほど検査が集中する状況には至らなかった。

## 4 検査材料

検査材料としては患者から採取された咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液および喀痰を用いた。検査受付総数は 123 検体だった。図 1 に目的別検査検体数を月別にグラフで表した。国内初発が出た 5 月以降、検査数はあまり増加しなかったが、8 月には部活の合宿やスポーツ大会等を通じた集団発生の増加により検査数が急激に増加し、ほぼ毎日検査する日が続いた時期もあった。その後クラスターサーベイランスの原則検査廃止により一度は検査数が減少したものの、気温が低下する 11 月以降に流行警報レベル近くで再びウイルスサーベイランスを中心として検査数が増加した。その後、流行が下火になってくると検査数も減少し、3 月には 1 検体の搬入にとどまった。

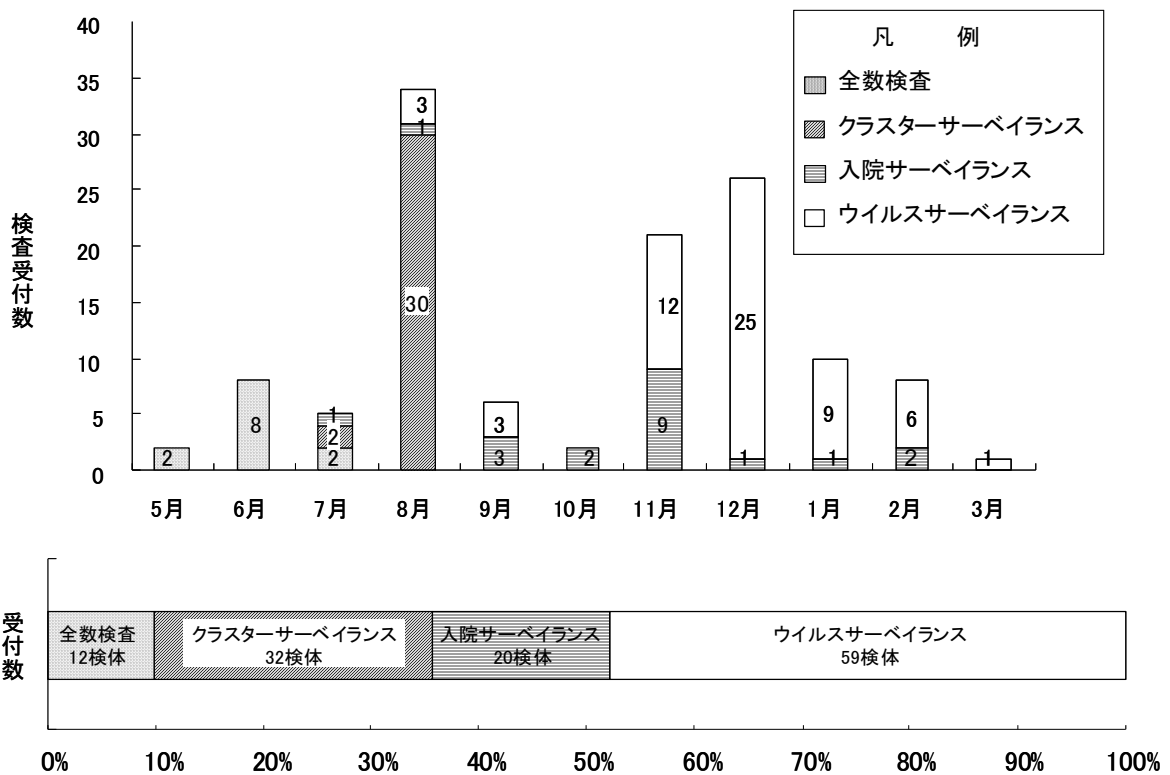


図1 サーベイランス別検体数

## 5 方法

### (1) 遺伝子検査

保健所からの依頼に迅速に対応するために、検査は遺伝子検査を中心に行った。検査方法は、感染研から提示されたマニュアルに準じ、検体からウイルス RNA を抽出し、新型についてはリアルタイム RT-PCR 法を、季節性については 11 月まではコンベンショナル RT-PCR 法、12 月以降は必要に応じてリアルタイム RT-PCR 法で行った。なお、陽性コントロールの RNA は新型については感染研から配布されたもの、季節性インフルエンザについては当所で過去に分離されたものの RNA を抽出し用いた。

また、後日インフルエンザ陰性の検体については、他の呼吸器系ウイルス（RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス、ライノウイルス）の動向を調査する目的で、遺伝子検査による検出を行った。

### (2) ウイルス分離および HI 試験

病原体定点から採取された検体については、感染症発生動向調査の一環として（資料編参照）4 種の細胞（VeroE6, Hep2, RD, Caco2）の継代培養によりインフルエンザウイルスおよびその他のウイルス分離を行った。Caco2 細胞において細胞変性効果（CPE）が観察されたものについては感染研から配布された抗血清を用い、0.75%のモルモット血球で HI 試験を行い、インフルエンザウイルスの型を同定した。今回は、病原体定点以外から搬入された検体で、かつインフルエンザ遺伝子検査陰性の検体についてもウイルス分離を試みた。

## 6 結果

### (1) インフルエンザウイルス検出状況

図2に当所におけるインフルエンザウイルスの検出状況を示した。棒グラフで示したものが月ごとの型別検出数、折れ線グラフが月ごとの新型陽性率を表している。当所での最初の新型検出は6月22日で、A校関連の集団発生4例だった。A香港型は病原体定点以外から8月までは少数ながらも検出されたが、それ以降はすべて新型のみだった。なお、8月には新型とA香港型の混合感染を1件みとめた。新型の陽性率はクラスターサーベイランスの多かった8月が一番高かった。

また、病原体定点由来の分離株43株のHI試験を行った結果、すべてワクチン株(AH1pdm A/California/7/2009pdm)と類似の抗原性を示したことから、抗原性はそれほど変化していないと考えられた。分離株1株についてはCPEは観察されたものの、HA価が上がらずHI試験を行うことができなかったが、遺伝子検査では新型強陽性を示した。遺伝子検査では新型陽性でもCPEが観察されなかった検体が2検体あったが、いずれもリアルタイムRT-PCRでのCt値が他に比べ高く、検出限界付近の検体だった。逆に遺伝子検査で陰性のものからインフルエンザウイルスが分離されるケースはなかった。また、オセルタミビル耐性ウイルスについては、感染研に分与し解析された4株からは検出されなかった。

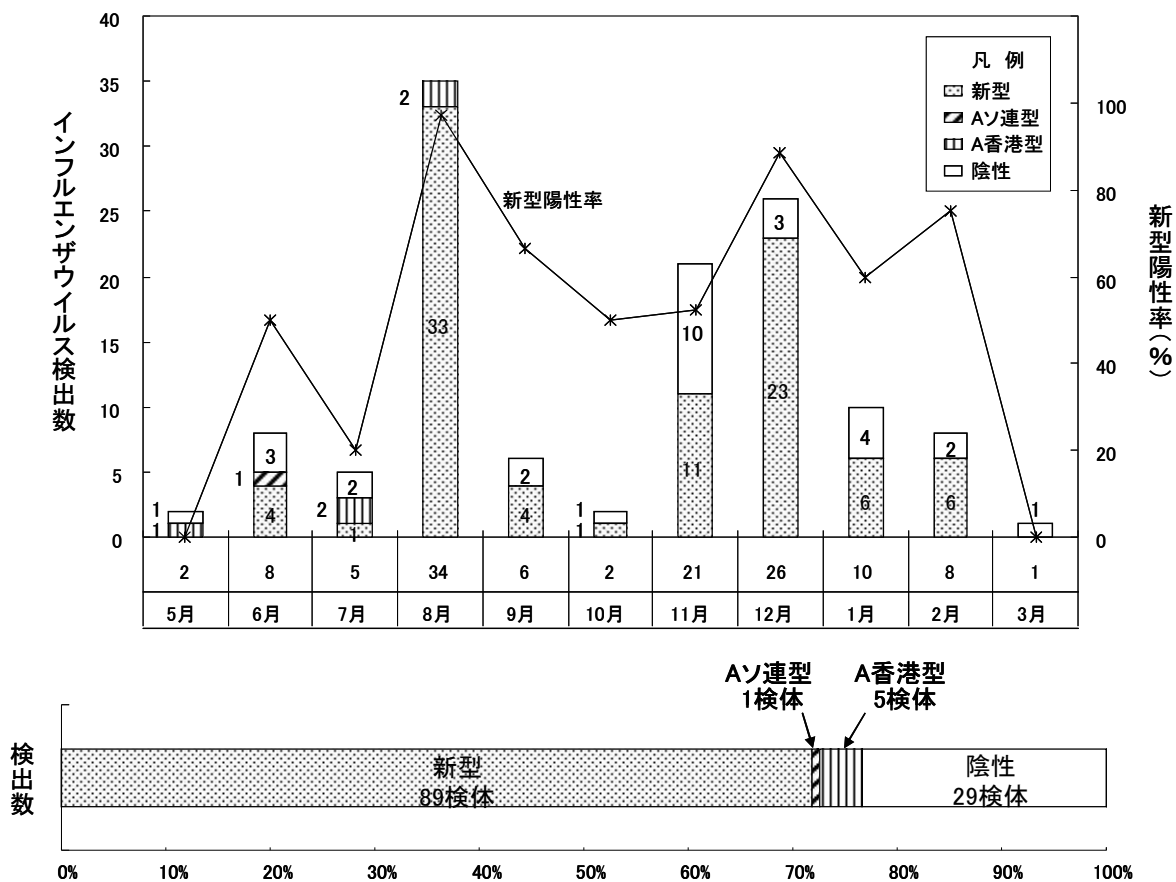


図2 インフルエンザウイルス検出数と新型陽性率

## (2) 迅速診断キットによる検査結果との関連

医療機関でインフルエンザを診断する場合には迅速診断キットを用いる場合が多いが、キットによる診断と当所での検査結果との関連について表1にまとめた。その結果、迅速キットでA型陽性でも1割程度は陰性であった。逆にキットでA型陰性でもインフルエンザウイルスが検出されるケースがあった。

表1 医療機関での迅速検査結果と遺伝子検査結果

迅速キット結果（検体）		遺伝子検査結果（検体）				
		新型	Aソ連型	A香港型	B型	陰性
A+	102	87	1	5	10	
A+ B+	2				2	
B+	1				1	
A- B-	17	2			15	
未実施	1				1	

## (3) インフルエンザウイルス以外のウイルス検出状況

インフルエンザ疑いで搬入された検体でインフルエンザウイルス陰性のものについて、遺伝子検査と細胞培養を行った結果、病原体定点からは資料編で報告のとおり、単純ヘルペスウイルス1型が1検体、ヒトメタニューモウイルスが1検体から検出され、病原体定点以外からはライノウイルスが1検体、パラインフルエンザウイルス3型が1検体から検出された。

## 7 考察

平成21年4月に始まった一連の新型インフルエンザについては、これまで強毒性のトリ型インフルエンザの発生を想定した模擬訓練等を行っていたことや、発生状況に応じて検査対象が絞られたことから、検査が滞ることなく迅速な検査対応をとることができたが、今後のインフルエンザ検査に向けていくつか検討すべき課題も見られた。

- 1) 新型インフルエンザに関して当所で行った検査のなかで一番感度がよかったのは遺伝子検査であった。しかしながら、横浜市の例<sup>1)</sup>では遺伝子検査陰性であっても、MDCK細胞を用いたプラーク培養法でインフルエンザウイルスが検出されるケースがあったことが報告されており、今後もより感度のよい検出法の導入について検討していく必要がある。
- 2) 検体搬入時に提供された医療機関による迅速検査キットの検査結果と当所の遺伝子検査結果に差異があった。その原因にはキットの精度（感度）の問題、キット使用の経験不足の問題、採取場所の問題、採取方法の不徹底、遺伝子検査の精度の問題等考えられるが、はっきりとした原因は判明しなかった。

- 3) インフルエンザ疑いで搬入された検体から他の病原体が検出されるケースが見られた。今回の検査体制では新型インフルエンザか否かということに重点が置かれたが、今後はインフルエンザウイルス以外のさまざまなウイルスについても迅速な検出法の確立が必要である。

今回の経験を生かし、市民の健康を守るため健康危機事例が発生したときに正確かつ迅速な対応ができるように検査体制の拡充に努めたい。

## 8 参考文献

- 1) IASR Vol. 30 No. 9 (No. 355) p. 239-241, September 2009

ウイルス分離により確認された新型インフルエンザの国内初症例について—横浜市