

京都府における新型インフルエンザの検査

木上 照子 鳥居 潤 塚本 智子 浅井 紀夫
中嶋 智子 石崎 徹 柳瀬 杉夫

Epidemiological Investigation of Influenza Virus (2009 A/H1N1pdm) Outbreak in Kyoto

Teruko KIGAMI Jun TORII Tomoko TSUKAMOTO Norio ASAI Satoko
NAKAJIMA Tohru ISHIZAKI Sugio YANASE

要 旨

2009年5月に新型インフルエンザが国内に侵入し、厚生労働省は新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)の検査を指示した。当所ではすでに2008年以降高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染に備え検査準備を進めており、これを受けて国の検査マニュアル、資材の提供を待って5月4日には検査方法を確立し、保健所等に情報、資材の提供、採材の助言等を行い京都府への侵入に備えることができた。さらに検査機器の新たな導入、検査要員の強化等によって検査態勢の強化を図った。2009年5月～2010年3月までの期間に787症例の咽頭ぬぐい液について新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)の検査を実施した。全数検査、クラスターサーベイランス、入院サーベイランス、重症サーベイランスの検査は、リアルタイムPCR法での判定を要し、475検体中368検体からA/H1N1pdmを検出した。ウイルスサーベイランス等の312検体とあわせて全787検体について実施したウイルス分離は、560検体からA/H1N1pdmを検出・同定した。HI検査を実施したA/H1N1pdm480株のHI価はすべてA/California/7/2009pdmの抗原性と類似していた。A/H1N1pdm陽性の6検体についてNA遺伝子中のH275Yの変異を調べたが、オセルタミビル耐性への変異はなかった。6患者の咽頭ぬぐい液を経時的に検査したところ、感染後10日後もA/H1N1pdm遺伝子を確認した患者、また、2日間陰性を確認したが、その後再び陽性に転じた患者も確認された。検査から、京都府内での新型インフルエンザの発生は、6月13日に海外渡航歴のある患者が第1号症例として確認され、7月4日には海外渡航歴等のない患者の発生を確認した。新型インフルエンザが検出された検体の全年齢層の割合は、全数検査期は5歳～29歳が73.4%、クラスター検査期は5歳～29歳が79.6%、入院患者は14歳以下が85.4%を占めた。

キーワード：新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)、京都府
key words：Influenza (2009 A/H1N1pdm), Kyoto

はじめに

2008年5月感染症の類型に「新型インフルエンザ等感染症」が追加され(同月2日法律第30号)、京都府では新型インフルエンザ行動計画等の作成を開始した。2008年8月「高病原性H5N1鳥インフルエンザウイルス感染診断技術研究会」が開催され、これ以降当所では、H5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスのヒトへの感染に備え、Conventional RT-PCR及びリアルタイムPCR法を用いたH5N1高病原性鳥インフルエンザウイルスの検査¹⁾に対応すべく、検査材料・機材等の準備や詳細な検査方法の検討等の体制の整備を進めていた。

新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)は2009年4月メキシコ及び米国で探知され(CDC:<http://www.cdc.gov/mmwrR/preview/mmwrhtml/mmwrhtml/mm58d0430a2.htm>)、同月28日世界保健機関(WHO)のフェーズ4が宣言されたのにもない、我が国への侵入(平成22年9月1日受理)

と発生が強く懸念された。同4月30日に国立感染症研究所(感染研)は各地方衛生研究所に、新型インフルエンザの検査開始に向けた準備を求める指示を出した。京都府は新型インフルエンザ対策本部会議を設置し、当所では速やかにA/H1N1pdmの検出等の検査体制を構築するとともに関連情報の収集及び提供を図るよう努めた。同5月4日急遽作成されたH1N1新型インフルエンザ検出マニュアル²⁾の提示があり、新型インフルエンザ患者確定診断のための検査が求められた。当所では、感染研からの試薬の提供を受け、5月4日にはインフルエンザウイルス亜型鑑別のリアルタイムPCR法を用いた新たな検査体制を確立した。また、保健所等に情報を提供すると共に、検体採取及び搬送方法の教示と必要な資材(輸送用培地、咽頭擦過様綿棒、輸送用容器等)を提供し、京都府への新型インフルエンザ侵入に備えた。

検査は5月5日に初めて新型インフルエンザを疑う患者が認められて(後述)以降、2010年3月初旬まで続いた。この間のインフルエンザの京都府における流行は、インフルエンザ定点医療機関からの報告に基づく患者発生数(京

都府感染症情報センター：<http://www.pref.kyoto.jp/idsc/>）によると図1のように推移し、患者発生以降全国（国立感染症情報センター：<http://idsc.nih.go.jp/idwr//kanja/weeklygraph/01flu.html>）と同様の流行状況を示した。京都府の2009年のインフルエンザ流行を過去と比較すると、全国と同様、定点医療機関からの患者総数、流行ピーク週の最高患者報告数は2004/2005年シーズンのインフルエンザ流行時の報告数に及ばなかったが、定点医療機関当たりの報告数が10例/週以上であった期間は過去10シーズンと比較して最も長かった。

この間に当所は約800検体の検査に対応し、リアルタイムPCR法による遺伝子検査、ウイルス分離及び同定（HI検査及びPCR法）、薬剤耐性検査、血清の抗体価の保有状況の検査等を順次実施し、情報を国や医療機関に還元することができた。以下にその検査結果について報告する。また、A/H1N1pdmの抗体保有検査及び感染症発生动向調査のインフルエンザ様疾患以外の検体の検査については別稿で述べる^{3,4)}。

なお、検査体制は、5月20日までは検体確保後随時検査を実施したが、緊急に検査を要する検体を除いて5月21日以降は1日2回、6月1日以降は1日1回の検査実施とした。また、検査法を所内研修で教示し、検査可能な人的体制の強化を進めた。患者情報や検査結果の情報は、健康対策課、各保健所、当所を結ぶ連絡網が作成され、関係機関が迅速に入手できるようにした。機材の整備は、5月末に新たにリアルタイムPCR機を1台導入し、2台同時の稼働可能となり、2010年2月末には遺伝子自動抽出装置が2台導入され、迅速かつさらに多くの検体の処理と検査が可能となった。当所の検査対応状況及び機器の整備状況等は表1. に示した。

材料と方法

1. 材料

検体は2009年5月5日～2010年3月7日に京都府内85医療機関（京都市内2病院を含む）から採取された787症例の咽頭ぬぐい液について検査を実施した。咽頭ぬぐい液は、綿棒で咽頭擦過することにより採材され、あらかじめ配布した輸送用培地^{1,4)}（0.5%牛アルブミン添加イーグルMEM培地）に入れた状態で、冷蔵あるいは冷凍で当所に搬入された。検体を混和後、遺伝子検査に供試し、さらに濾過により雑菌を除去しウイルス分離の供試検体とした。検査内容と検体数は表2に示した。

検査対象者は、厚生労働省（厚労省）から指示された方針（新型インフルエンザウイルスの診断検査の方針と手引き⁵⁾、事務連絡7月23日、同8月25日、同12月14日、新型インフルエンザに係る今後のサーベイランス体制について）に従って以下のように変更され、それに合わせた採材となった。①インフルエンザ様症状を呈する症例や濃厚接触者を含め、全例を対象とした全数検査（5月1日～7月23日）に156検体、②学校や社会福祉施設等において、インフルエンザ様症状を呈し、集団的に発生している疑いがあると判断された場合に、集団の抜き取り検査を行なったクラスターサーベイランス検査（7月24日～8月24日）54検体、③インフルエンザ症状を呈する患者であって入院を要する患者全てを対象とした入院サーベイランス検査（7月24日～12月20日）に349検体、④インフルエンザ症状を呈する入院患者のうち、死亡例又は重症化した患者のみを対象とした重症サーベイランス検査（12月21日以降）に11検体が採取されこれ、

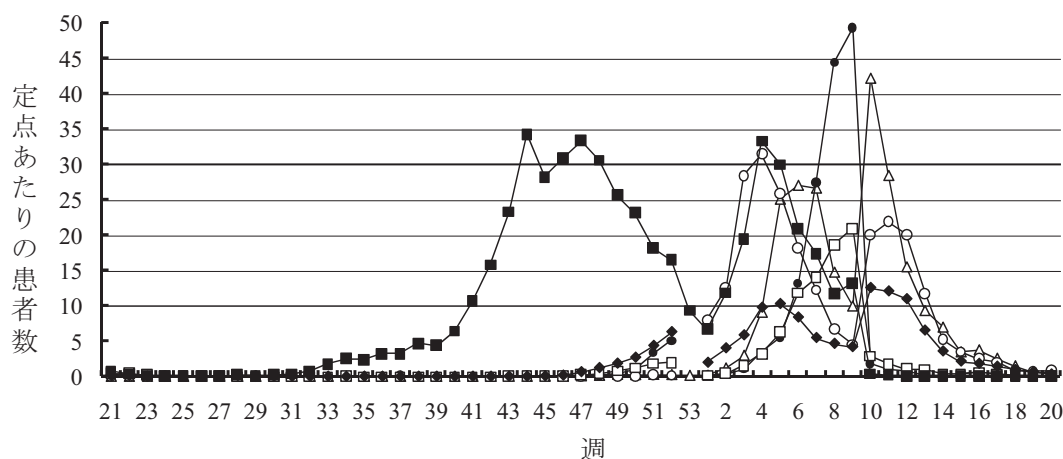


図1. 京都府感染症発生动向調査：最近5年間のインフルエンザの推移

△— 2004-2005年 ●— 2005-2006年 ○— 2006-2007年
 □— 2007-2008年 ◆— 2008-2009年 ■— 2009-2010年

* 1 インフルエンザ注意報とは、インフルエンザ定点医療機関あたりの1週間の患者報告数が、「10」以上の場合、今後4週間以内に大きな流行が発生する可能性があることをいう。
 * 2 インフルエンザ流行発生警報とはインフルエンザ定点医療機関あたりの1週間の患者報告数が、「30」以上の場合、大きな流行が発生していることが疑われることをいう。
 * 3 図は京都府感染症情報センター（<http://www.pref.kyoto.jp/idsc/>）の情報を引用。

表 1. 新型インフルエンザの経過と当所の対応状況

| | 日本の状況 | 京都府の状況 | 当所の対応 | WHO (世界保健機構) の情報 |
|----------------|---|--------------------------------|--|--------------------------------------|
| 2009年 4月24日 | | | 豚インフルエンザ A/ s w H 1 N 1 に関する情報収集開始 | 4月24日 メキシコ及び米国で豚インフルエンザのヒトへの感染を確認 |
| 4月27日 | 「政府対応方針」を公表 | | | |
| 4月28日 | 発生段階を「第一段階海外発生期」に引き上げ機内検疫を開始 | | | 4月28日 フェーズ4を宣言 7カ国112人死者8人 |
| 4月30日 | | 京都府新型インフルエンザ対策本部会議の開催 | PCR検査準備開始 | 4月30日 フェーズ5を宣言 感染者9カ国154人死者8人 |
| 5月1日 | 新たな「基本的対処方針」を決定 | | | |
| 5月4日 | | | 感染研よりPCRプロトコル提示及び試薬受領・PCR検査態勢確立 | |
| 5月5日 | | | 初発疑い例の検査を実施、結果は陰性 以降疑い例の検査情報発生時実施 | |
| 5月9日 | 成田空港検疫所で日本人3人の感染者を確認 | | | 5月9日 感染者29カ国3440人死者48人 |
| 5月16日 | 神戸市内において国内初の感染者を確認 「第二段階国内発生早期」に引き上げ | | | 5月16日 感染者36カ国8451人死者72人 |
| 5月21日 | | | 以降疑い例の検査を2回/日実施 府内検査担当者の研修開始 | |
| 5月22日 | 新たな「基本的対処方針」を決定 | | | |
| 5月26日 | | | リアルタイムPCR検査機器1台追加 | |
| 6月1日 | | | 以降疑い例の検査を原則1回/日実施 (緊急時は随時) | |
| 6月13日 | | 海外渡航者関係者から発生 (南丹地域) | | 6月12日 フェーズ6を宣言 感染者74カ国29669人 |
| 6月14日 | | 入院中の患者の陰性確認検査開始 | | |
| 6月15日 | | 海外渡航者関係者から発生 (乙訓地域) | | |
| 6月18日 | 新型インフルエンザの病原体取り扱いの見直し | 新型インフルエンザウイルス取り扱いレベルの解除 | | |
| 6月19日 | 原則として自宅療養に変更 | 入院中の患者の陰性確認検査終了 | | |
| 6月24日 | | | ~9月18日まで所内でリアルタイムPCR検査担当者の協力を求め、人員の確保を図る | |
| 6月25日 | | 海外渡航者関係者から発生 (中丹地域) | | |
| 7月2日 | | | 合成RNA陽性コントロール作成、検査に供す | 7月4日 感染者89921人 |
| 7月4日 | | 海外渡航歴のない患者から発生 | | |
| 7月24日 | 全数把握→定点、クラスター及び入院把握に変更 | 100例目の発生を確認、クラスター、定点、入院検査開始 | | 7月24日 感染者134503人以死者816人 |
| 8月1日 | | 北部地域検体のリアルタイムPCR検査を中丹保健所で開始 | | |
| 8月15日 | 沖縄県内で国内初の死亡者を確認 | | | |
| 8月19日 | | 丹後地域で感染者発生 | | |
| 8月21日 | 流行宣言 | | | 8月30日 感染者209438人以上 |
| 8月24日 | 定点、入院把握に変更 | 定点、入院検査開始 | | |
| 9月2日 | | 死亡1例目確認 (京都市内分を除く以下同じ) | | |
| 10月8日 | | | 血清抗体価測定用試薬確保、検査開始 | |
| 10月5日 | | 南丹地域で注意報発令 | | |
| 10月11日 | | 府内の定点報告数が注意報レベルに達する | | |
| 10月18日 | | 南丹地域で警報発令 | | |
| 10月19日 | | 医療従事者へのワクチン接種開始 | | |
| 11月1日 | | 府内の定点報告数が警報レベルに達する | | |
| 11月21日 | | | 感染研より新しいプロトコル提示、対応開始 | |
| 11月5日 | | | ウイルスHI試験用試薬確保、検査開始 | 11月13日 感染者503500人以上 |
| 11月16日 | | 府内の定点報告数がピークに達する | | |
| 11月19日 | | 死亡2例目確認 | | |
| 12月1日 | | 死亡3例目確認 | | |
| 12月3日 | | 死亡4例目確認 | | |
| 12月6日 | | 府内の定点報告数が警報レベルを脱する | | |
| 12月19日 | | 死亡5例目確認 | | |
| 12月20日 | | 府内の定点報告数が注意報レベルを脱する | | |
| 12月21日 | 入院検査対象を重症者に変更 | 入院検査を重症者のみに変更 | | |
| 2010年 1月4日 | | 優先接種対象者へのワクチン接種開始 | | |
| 1月18日 | | 死亡6例目確認 優先接種対象者以外へのワクチン接種開始 | | |
| 1月25日 | | 全域で注意報レベルを脱する | | |
| 2月16日 | | 検査での感染者最終発生 (定点検査) | | |
| 2月23日 | | | 遺伝子自動抽出装置の導入 | |

表 2. 検体数と検査内容

| 検査 | 期間 | 当所搬入 | | | 中丹西保健所 搬入(PCR検査 確認済みで 当所へ) | 検査総数 | | |
|---------------------------|--------------|------------|--------|-----|-------------------------------------|------------|--------|------|
| | | リアルタイム PCR | ウイルス分離 | 検体数 | | リアルタイム PCR | ウイルス分離 | 総検体数 |
| 全数検査 | 5/ 5 ~ 7/23 | 156 | 156 | 156 | — | 156 | 156 | 156 |
| クラスター検査 | 7/24 ~ 8/23 | 42 | 42 | 42 | 12 | 42 | 54 | 54 |
| 入院者検査 | 7/24 ~ 12/20 | 268 | 268 | 268 | 81 | 268 | 349 | 349 |
| 重症者検査 | 12/21 ~ | 9 | 9 | 9 | 2 | 9 | 11 | 11 |
| インフルエンザ定点 サーベイランス | 7/24 ~ | NT | 91 | 91 | — | 0 | 91 | 91 |
| 感染症発生動向調査 (インフルエンザ様疾患) | 5/ 5 ~ | NT | 126 | 126 | — | 0 | 126 | 126 |
| 退院検査 | 6/17 ~ 6/22 | 36 | NT | 36 | — | 36 | 0 | 36 |
| 計 | | 511 | 692 | 728 | 95 | 511 | 787 | 823 |

NT: 実施せず - : 対象なし

これらはすべてリアルタイム PCR による検査が必要とされ供試された。⑤インフルエンザウイルスサーベイランス検査 (7月24日～) に91検体が供試された。他に既存の感染症発生動向調査⁴⁾としてインフルエンザ様疾患の126検体が供試された。

なお、インフルエンザウイルスサーベイランスは、流行している新型インフルエンザウイルスの抗原性、抗ウイルス薬の感受性等を調べ、病原性の変化の把握や診断・治療方針の見直し等に役立てる目的で、1 定点医療機関毎週1～2検体をインフルエンザ様症状を呈する患者から採材し検査を行った。京都府内6つの定点医療機関である府立与謝の海病院 (与謝の海病院) から21検体、福知山市民病院から10検体、公立南丹病院 (南丹病院) から8検体、済生会京都府病院から25検体、独立行政法人国立病院機構南京都病院 (南京都病院) から5検体及び公立山城病院 (山城病院) から22検体の搬入があった。さらに感染症発生動向調査として南丹病院から6検体(A/H1N1pdm が分離された上気道炎2検体含む)、南京都病院から117検体、山城病院から3検体の搬入があった。

府全体では、全数、クラスターサーベイランス、入院サーベイランス、重症サーベイランスの各検査対象となった検体は計570検体であり、そのうち当所に搬入された475検体はリアルタイム RT-PCR (リアルタイム PCR) 法でA/H1N1pdm等を判定した後ウイルス分離を実施した。他の95検体は中丹西保健所に搬入され、リアルタイム PCR法でA/H1N1pdm等を判定した (クラスターサーベイランス12検体、入院サーベイランス81検体、重症サーベイランス2検体でA/H1N1pdm85検体陽性)後搬入され、当所ではウイルス分離のみを実施した。インフルエンザウイルスサーベイランス及び感染症発生動向調査の検体はウイルス分離のみを実施した。

さらにA/H1N1pdm陽性で、抗インフルエンザ薬 (オセルタミビル: 商品名タミフル) の使用状況が明白な患者から6検体を選び薬剤耐性株サーベイランスとして遺伝子解析を実施した。

また、上記の検査によって新型インフルエンザ感染が

確定され、措置入院の対象となった6人の患者に対し、退院のためのA/H1N1pdm 遺伝子の陰性確認検査を実施するため、これら患者の咽頭ぬぐい液を6日間連続採材し、計36検体を供試した。

2. 方法

2-1. 遺伝子学的検査

検査方法は、11月24日までの394検体 (退院検査を含む) はA/H1N1pdm 検出マニュアル (2009年5月 ver.1) により²⁾、それ以降の117検体は同マニュアル (2009年11月 ver.2) に従った⁶⁾。

検体からのRNAの抽出は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いた。リアルタイム PCR法にはリアルタイム PCR機のABI7900HT (ABI社製) を使用した。判定は、A型共通M遺伝子が陽性かつA/H1N1pdmのHA (hemagglutinin) 遺伝子が陽性の検体をA/H1N1pdm陽性とした。また同時に季節性のインフルエンザウイルスA/H1N1 (インフルエンザウイルスA/ソ連型)、インフルエンザウイルスA/H3N2 (インフルエンザウイルスA/香港型) の遺伝子のHA遺伝子検査も合わせて行った。

抗インフルエンザ薬剤耐性株の遺伝子解析検査は、国が示したマニュアル^{7,8)}に準拠し、耐性マーカーであるN1NA遺伝子のアミノ酸番号H275Yの配列を確認することにより変異の有無を調べた。PCR機としてABI9700 (ABI社製) 及びシーケンサー機としてABI310 (ABI社製) を使用した。使用キットは遺伝子増幅にSuperScript®One-Step High Fidelity (Invitrogen社製)、PCR産物の精製にQIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN社製)、シーケンシング反応にBigDye terminator v3.1 (Applied Biosystem社製)、その反応産物の精製にDyeEX 2.0 Spin Kit (QIAGEN社製) を使用した。

2-2. ウイルス分離及び同定⁹⁻¹²⁾

ウイルス分離はMDCK (Madin-Darby canine kidney) 細胞を用いた。MDCK細胞を培養した組織培養用24穴プレートに、患者の検体 (鼻咽頭ぬぐい液) を1穴当た

りに、0.1mL 接種し、37℃で1時間静置し、吸着させた後に、トリプシンを添加したダルベッコ変法イーグル MEM 培地を 0.5mL 加えて、37℃の炭酸ガスふ卵器内で 7 日間静置培養し、継代を実施した。

MDCK 細胞で細胞変性効果 (cytopathic effect, CPE) が認められた感染培養液のウイルス力価は、0.5% (V/V) 七面鳥赤血球 (日本バイオテスト社製、ジャパンラム社製) を用いた HA 検査により測定した。同定は同じく 0.5% (V/V) 七面鳥赤血球を用いた赤血球凝集抑制 (Hemagglutination inhibition, HI) 検査により行った。細胞培養は培養液の赤血球凝集 HA 価に応じて、HI 試験が実施可能な HA 価を獲得するまで 2 代から 4 代まで継代した。CPE を確認したが、HA 価が低かった 1 検体については、孵化鶏卵を用いて羊膜腔内接種を行い、34℃で 48 時間培養し分離を試みた。HI 検査の標準株及び同定用抗血清は、感染研から分与された A/California/7/2009pdm 及び同家兎免疫血清を用いた。他に、HA 価が低い検体及び抗血清が不足した時期の検体は、リアルタイム PCR 法で同定した。インフルエンザ定点サーベイランス及び感染症発生動向調査のウイルス分離陽性の検体については、前述の HI 検査の他、インフルエンザウイルス A 型共通遺伝子及びインフルエンザウイルス A/ ソ連型、A/ 香港型の確認をリアルタイム PCR 法で同定した。

インフルエンザ遺伝子検査陰性の検体は、他のウイルスの分離を実施した。方法は感染症動向調査に準じ³⁾、エンテロウイルス、アデノウイルス、ムンプスウイルス、RS ウイルス等を対象とした。

結果と考察

1. A/H1N1pdm 検出について (リアルタイム PCR 法及びウイルス分離)

リアルタイム PCR 法による検査総数は 475 検体で、368 検体から A/H1N1pdm、14 検体から A/H3N2 が検出された。

ウイルス分離検査は、787 検体 (退院検査を除く全ての検体) について実施した。MDCK 細胞で CPE が確認できた 560 株は、480 株を HI 検査により、他の 80 株はリアルタイム PCR 法により、すべて A/H1N1pdm と同定した。

MDCK 細胞の A/H1N1pdm の増殖については、約 67% で初代接種後 2 日目～6 日目で CPE が細胞全体に認められた。このことから、A/H1N1pdm も従来の季節性インフルエンザウイルス同様に MDCK 細胞に対して感受性が高く、細胞を用いたウイルス分離は容易であると考えられた。しかしながら CPE の程度の弱い検体も多く、4 代まで継代を重ねても HA 検査ができない場合も認められ、これらはウイルス量が増加していないことが確認された。そこでウイルスの濃度を高めるため維持培地の添加量を半減したところほとんどの検体で HA 検査が可能となった。また、CPE を確認したが HA 価の弱い検体について、1

例ではあるが、発育鶏卵の羊膜腔内接種でウイルス分離を試みたところ、HA 検査が可能となり A/H1N1pdm と同定され、孵化鶏卵でも分離可能であることが判明した。

あらかじめリアルタイム PCR 法で A/H1N1pdm 陽性を確認した後ウイルス分離を実施した 453 検体は、このうち 418 検体から A/H1N1pdm を分離 (分離率 92.3%) したが、他の 35 検体からウイルスは分離できなかった。検体に含まれるウイルス量、検体の保存状態、患者の免疫状態等によってもウイルスの分離の割合が左右されたのではないかと推察された。

A/H1N1pdm 以外のウイルスが分離された検体は以下のとおりである。インフルエンザウイルス A/ 香港型が 11 検体、RS ウイルス 4 検体、アデノウイルス 3 型 2 検体、パレコウイルス 1 型、アデノウイルス 5 型、コクサッキーウイルス B 群 2 型及びエコーウイルス 6 型の各 1 検体。

2. 各検査時期別の A/H1N1pdm 検出状況と疫学について

以下年齢 (歳) 区分は、感染研の区分に従って¹³⁾ 0～4、5～9、10～14、15～19、20～29、30～39、40～49、50～59、60～69、70 以上とした。また、各検査における A/H1N1pdm 年齢別陽性数の割合、定点当たりの報告数と陽性検体数は図 2、3. のとおりである。

なお、図 2 で示す陽性検体数は PCR 検査を実施したもののみである。

2-1. 全数検査 (5 月 1 日 (第 18 週)～7 月 23 日 (第 30 週) の期間) について

156 検体を検査し、102 検体から A/H1N1pdm が検出された。京都府では、5 月 5 日に海外渡航者で、かつインフルエンザ様症状を呈するとして新型インフルエンザを疑う症例が検体として搬入されたのを第 1 号症例として、以降 6 月 11 日まで検査を実施した 37 検体から A/H1N1pdm は検出されなかった。この期間は新型インフル

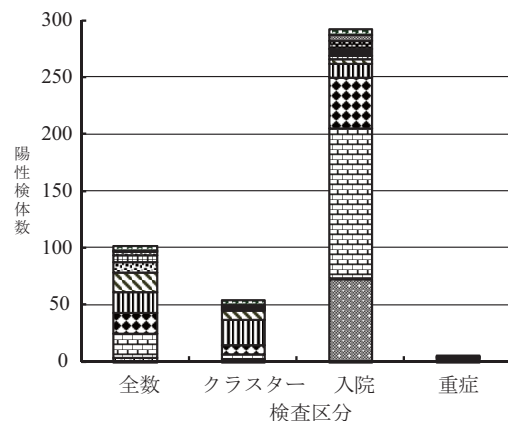


図 2. 新型インフルエンザ陽性者年齢構成

年齢 (歳) : ■ 0～4歳 ■ 5～9歳 ■ 10～14歳 ■ 15～19歳
 ■ 20～29歳 ■ 30～39歳 ■ 40～49歳 ■ 50～59歳
 ■ 60～69歳 ■ 70歳以上 ■ 不明

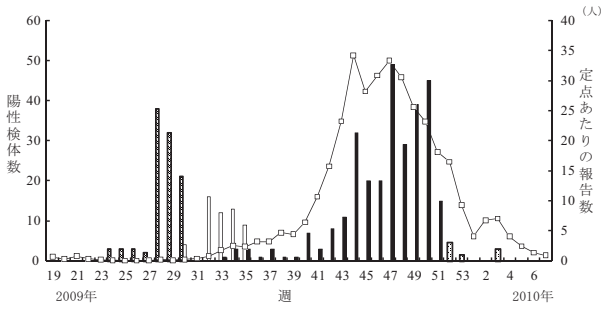


図3. 陽性検体数と定点あたりの報告数

全数検査陽性
 入院サーベイランス検査陽性
 重症サーベイランス者検査陽性
 クラスターサーベイランス検査陽性
 定点あたり報告数

エンザの感染に医療機関が敏感になり(特に5月)、海外渡航歴がある場合など、少しでも呼吸器感染症の疑いがあれば簡易検査陰性であっても除外検査等せず、検体として搬入するケースもしばしば認められた。

初めて検出が確認されたのは6月12日採材の症例であった。7月5日までは、検出は10検体と比較的少なかったが、7月6日～7月23日の3週間には92検体から検出された。患者情報から、7月1日以前に確認された感染者はすべて、海外渡航歴やこれら患者との接触歴がある等感染経路が明確な症例であった。7月4日に海外渡航歴等の感染経路が判明せず、国内で感染したと推察される症例を認めた。以後は海外渡航歴等のない症例からの検出がほとんどとなった(図4)。なお、新型インフルエンザの検出された患者の渡航国は、アメリカ合衆国8人(内同国渡航者との接触者1人)、台湾4人、フィリピン2人、ニュージーランド1人、オーストラリア1人、インドネシア1人の計17人であった。

陽性検体に占める各年齢区分の割合は、0～4歳で3.9%、5～9歳で20.6%、10～14歳で17.6%、15～19歳で17.6%、20～29歳で17.6%、30～39歳で8.8%、40～49歳で5.9%、50～59歳で2.6%、60～69歳で1%、70歳以上の検出はなかった(図2)。地域別には山城地域で51人、南丹地域で23人、中丹地域で28人が検出され、丹後地域では検出されなかった。

検査開始から6月末まで、インフルエンザウイルスA/香港型が14検体から検出され優位であったが、それ以後検出されたインフルエンザウイルスはすべてA/H1N1pdmであった。

2-2. クラスターサーベイランス (7月24日(第30週)～8月23日(34週)の期間)の検査について

54検体すべてA/H1N1pdm陽性であった。検査した集団は保育所、学童、小学校・中学校・大学のクラブ、企業、飲食店、サークル、老人施設、学習塾等であった。感染者の年齢割合陽性検体に占める各年齢区分の割合は、0～4歳で3.7%、5～9歳で9.3%、10～14歳で14.8%、15～19歳で40.7%、20～29歳で14.8%、それ以外の年齢区分では2%以下であった(図2)。地域的には、8月中旬丹

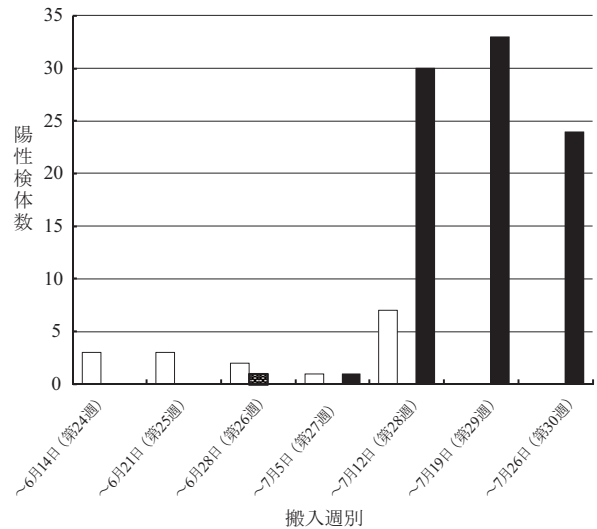


図4. 全数検査の感染経路別陽性検体数

海外渡航者
 海外渡航者と接触
 国内感染と推定される患者*

*国内感染と推定される患者とは、感染経路が海外渡航によるものあるいは海外渡航者と接触した等の事実が無く、感染経路が不明で、国内で感染したと思われる事例を示す。

後地方で初めて患者を確認し、その後府内全域でA/H1N1pdmの感染を認めた。

検査は中学校、高校、大学生が多く、夏休みのある学校等の集団では、部活動等の小集団の感染に限られ、通常時よりも感染が抑えられていたと推察された。

この期間に入院サーベイランスは4検体の搬入があったが、以下の入院サーベイランスで述べる。

2-3. 入院サーベイランス (7月24日(第30週)～12月20日(第51週)の期間)の検査について

検査数349検体中292検体A/H1N1pdm陽性であった。陽性検体に占める各年齢区分の割合は、0～4歳で約25%、5～9歳で約45%、10～14歳で約15%、15～19歳で約4%であった。それ以外の年齢区分では3%以下であった(図2)。

A/H1N1pdmが検出された入院患者は、同じ時期のインフルエンザ定点医療機関報告患者数(京都府感染症情報センター(<http://www.pref.kyoto.jp/idsc/backnumber/index.html>)に基づく)の約0.3%で、各年齢別にみると、0～4歳で1.4%、5～9歳で1.1%、10～14歳で0.5%、50～59歳で1.4%、60～69歳で3.5%、70歳以上で1.6%であった。その他の年齢区分では0.3%以下であった(図5)。

2-4. 重症サーベイランス (12月21日(第52週)～2010年3月7日(第9週)の期間)の検査について

11検体中6検体陽性であった。年齢区分別に見ると、0～4歳で2人、5～9歳で1人、10～14歳で1人、20～29歳で1人、40～49歳で1人であった。(図2)

A/H1N1pdmが検出された重症患者は検査期間内の定点医療機関報告患者数の0.08%であった。(図5)。

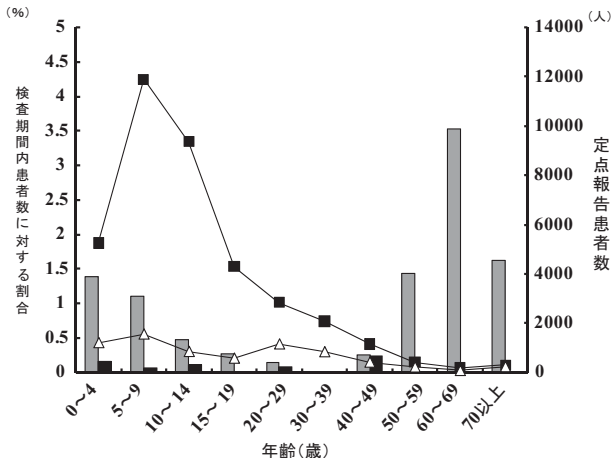


図5. 年齢別患者数に対する入院者及び重症者各サーベイランス検査陽性者割合

■ 患者数に対する入院サーベイランス検査陽性者割合
 ▲ 患者数に対する重症サーベイランス検査陽性者割合
 ● 入院サーベイランス期間の患者数
 ○ 重症サーベイランス期間の患者数

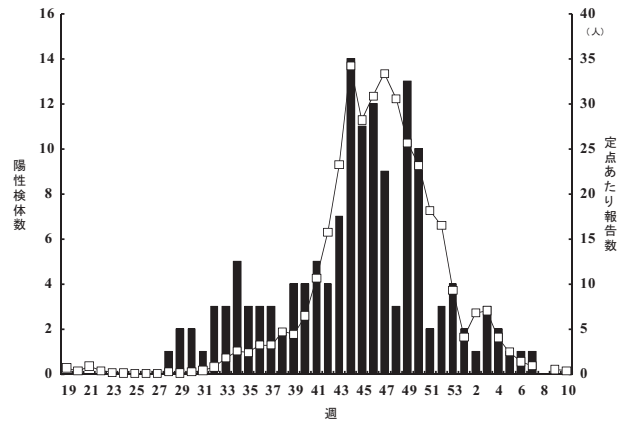


図6. 定点あたりの報告数と陽性数に占めるサーベイランス検査陽性数

■ サーベイランス検査陽性数
 □ 定点あたり報告数

2-5. 感染症発生動向調査及び新型インフルエンザ定点サーベイランス検査について

定点医療機関から217検体搬入され、A/H1N1pdmは141検体陽性であった。これら定点検査によるA/H1N1pdmの把握は、インフルエンザの定点医療機関患者報告数と同様な状況を示し、インフルエンザの流行に合わせA/H1N1pdmの動向を的確に把握していたと判断された。(図6)

なお、動向調査として、インフルエンザ様疾患以外に上気道炎を疑うとして搬入された3検体からA/H1N1pdm陽性を確認した。これらはインフルエンザ疑い例全数検査時期に、インフルエンザ以外の診断が下された患者であるが、A/H1N1pdmが分離された事実から、定期的な病原体のサーベイランスの検査を実施しておくことは非常に重要であると考えられた。

3. HI抗体価について

HI検査を実施しA/H1N1pdmと同定した480株すべてが640~5,120HI価を示した。また、標準株は2,560HI価であった。従って、すべての分離株の抗原性はワクチン株A/California/7/2009pdm抗原性と類似していた。全国的にも耐性株を含めて分離ウイルスの抗原性はワクチン株と類似していた¹⁴⁾。

なお、このうち13株を国立感染症研究所の依頼により分与した。

4. 薬剤耐性検査について

検査を実施した6検体すべてH275Yの変異は検出されず、オセルタミビル耐性を獲得する変異は認められなかった。なお、当所が分離し感染研へ分与した11株を含めると17株について変異は認められなかった¹⁴⁾。

府内では現在までA/H1N1pdm薬剤耐性株は検出されておらず、分離株のA/H1N1pdmはオセルタミビルに感

受性があり、また抗原性もほとんど同一であるため抗ウイルス薬及びワクチンは有効であると考えられた。

5. 措置入院が実施された患者に対する陰性確認検査(退院確認検査)について

京都府では、海外渡航歴のある2グループ6人の患者の措置入院が実施され、これら患者の退院のためのウイルスの陰性確認を目的として遺伝子検査を実施した。検査結果は、表3のとおりである。

感染を確認した日時が異なる6人の患者を一斉に採材したため、感染後の最終確認日も8~11日と差が生じた。本検査により、①感染から10日後にもA/H1N1pdm遺伝子を確認した患者が1人、②最終採材日にもウイルス遺伝子を確認した患者が3人、③一旦は、陰性を確認できたが、翌日の採材では再度ウイルス遺伝子を確認した患者が4人、④2日間連続で遺伝子陰性確認をしても再度陽性が確認された患者が1人であった。

国内患者第1例が発生した時点で「新型インフルエンザ等感染症」は二類感染症相当、すなわち診断の確定した患者は、重症度や重症化リスク等に係わらず全員感染症指定医療機関に入院することとなった。6月19日に措置入院が解除されるまでの期間、原則として退院には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第26条に基づき、「平成11年3月30日健医感発第43号厚生省保健医療局結核感染症課長通知感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」に準じて、「24時間以上の間隔を置いて連続2回採取された検体がいずれもウイルス検査陰性となること(陰性確認)」が求められた。以上のことから、ウイルス遺伝子の陰性の確認には、退院の規定の2日間陰性だけでは不十分で、また最低10日以上長期にわたる検査が必要であると判断された。連続採材検査で陰性を確認後、再度陽性と判定された患者では、採材方法等によって検体に含まれるウイルスの

表 3. 発症後日数とインフルエンザウイルス特異的遺伝子検査結果

| 発症後日数 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
|--------|-----|-----|-----|-----|----|----|----|----|----|----|----|
| 患者A | + | NT | NT | NT | + | - | + | + | - | + | NT |
| 患者B | + | NT | NT | NT | NT | + | - | - | + | - | - |
| 患者D | + | NT | NT | + | + | + | + | + | + | NT | NT |
| 患者C | NT | + | NT | + | + | + | + | + | + | NT | NT |
| 患者E | NT | + | NT | + | - | + | + | - | - | NT | NT |
| 患者F | + | NT | + | + | + | - | + | - | NT | NT | NT |
| 検出率**) | 100 | 100 | 100 | 100 | 80 | 67 | 83 | 50 | 60 | 50 | 0 |

+ : A/H1N1pdm 特異的遺伝子検出
 - : A/H1N1pdm 特異的遺伝子不検出
 NT: 検査実施せず
 * : 発症後の経過日数は発症第1日目を1とし採材日を発症日から換算し示した。
 ** : 検査結果陽性患者 / 検査実施患者 (%)

量の微妙な差が検査結果に影響を与えたと考えられた。
 患者はその後、措置入院の規定が解除されたため、それ以降は医師の判断に任せられ、ウイルスの確認検査は継続されなかった。

謝 辞

本調査にあたり、検体の採取に御協力いただきました京都府の関係医療機関の方すべてに深謝します。

引用文献

- 1) 国立感染症研究所：高病体検査マニュアル高病原性鳥インフルエンザ、2008年8月改訂版 ver.2.1.
- 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、2009年11月 ver.1.
- 3) 石崎徹，鳥居潤，塚本智子，木上照子，柳瀬杉夫. 2010. 感染症流行予測事業(2009～2010). 京都府保健環境研究所年報, 55, 1-6.
- 4) 木上照子，鳥居潤，塚本智子，石崎徹，柳瀬杉夫. 2010. 感染症発生動向調査(2009). 京都府保健環境研究所年報, 55, 36-40.
- 5) 厚生労働省. 新型インフルエンザウイルス診断検査の方針と手引き(平成21年5月1日). 2009.
- 6) 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、2009年11月 ver.2.
- 7) 国立感染症研究所：抗インフルエンザ薬剤耐性サーベイランス H1-N1 遺伝子解析実験プロトコール、2010年.
- 8) 国立感染症研究所：A/H1N1pdm 分離株のオセルタミビル感受性サーベイランス実施要領：9月18日.
- 9) 金山興美，山崎修道. 1987. ウイルス・クラミジア・リケッチア検査－微生物検査必携(第3版). 日本公衆衛生協会, 東京.
- 10) 厚生省保健医療局結核難病感染症課長通知(健医結発第43号・健医感発第68号昭和61年11月19日). 1986. 結核・感染症サーベイランスの実施について.
- 11) 国立感染症研究所. 2002～2009. 病原体検出マニュアル平成15年～21年.
- 12) 厚生労働省健康局結核感染症課：感染症流行予測調査事業検査術式、平成14年6月.
- 13) 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課，感染症情報センター. 2010. 病原微生物検出情報, 31(1), 29-32.
- 14) 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第1室，全国地方衛生研究所，国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター，独立行政法人製品評価技術基盤機構バイオテクノロジー本部生物遺伝資源情報部門. 2010. 新型インフルエンザ(A/H1N1pdm) オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況[第2報]. 病原微生物検出情報, 31(6), 173-178. 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課，感染症情報センター.