

感染症発生動向調査事業

小児呼吸器疾患由来検体からの病原体検出状況

柴田ちひろ 佐藤由衣子 佐藤寛子 秋野和華子 斎藤博之

感染症発生動向調査事業の一環として、当センターでは病原体定点に指定されている県内の小児科医療機関9施設から提供された検体について、病原体検索を実施している。平成26年度は小児呼吸器疾患患者から採取された咽頭拭い液等の呼吸器由来検体565検体中、重感染例を含め260検体から何らかの病原体が検出された(検出率46.0%)。検出数はライノウイルス(83検体)、RSウイルス(50検体)、パラインフルエンザウイルス(PIV)(44検体)の順に多かった。PIVは7月～9月に検出数の増加が認められ、同時期にはPIVを原因とした高齢者施設における集団感染も2事例報告された。インフルエンザウイルスは県内の患者発生がピークを向かえた1月～2月に採取された検体からはほとんど検出されず、医療現場における迅速診断キット使用による診断確定の有無によって、検体採取に偏りが生じている可能性が示唆された。RSウイルスについても同様に、好発年齢とされる2歳未満と他の年齢群との間で検出率に差は認められず、保険適用による迅速診断キット使用の影響がうかがわれた。このような状況を受け、平成28年4月に施行される改正感染症法では、検体数や検体提供頻度等が厳密に規定されることとなった。これにより、より現状を反映した病原体サーベイランスが可能となることから、今後も医療機関等との連携の下、事業推進に努めていきたい。

1. はじめに

国内で発生・流行している感染症の把握を目的に、昭和56年7月より感染症発生動向調査が実施されている。現在は「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」(平成10年10月成立、平成11年4月施行)に基づき、感染症の発生情報を正確に把握・分析し、的確に情報提供することで感染症のまん延を防止するため、国・地方・医療機関の連携の下、全国的施策として実施されている¹⁾。

この事業の一環として、実際にどのような病原体が流行に関与しているのかを探るため、当センターでは病原体定点医療機関に指定されている県内の小児科医療機関9施設から提供された検体について、病原体の検索を実施している。提供される検体は呼吸器疾患を由来としたものが多く、検出される病原体には季節や患者の年齢等によって特徴がある。今回、平成26年度の実施結果についてまとめたので報告する。

2. 方法

2.1 対象検体

平成26年4月～平成27年3月に病原体定点医療機関から提供された咽頭拭い液等の呼吸器

由来検体のうち、採取時年齢が16歳以上あるいは呼吸器症状を有していない患者由来の検体を除外した565検体を対象とした。

2.2 検査

2.2.1 対象病原体

検出対象とした病原体は次の10種である。インフルエンザウイルス(Flu)、RSウイルス、ライノウイルス、パラインフルエンザウイルス(PIV)、ヒトボカウイルス、ヒトメタニューモウイルス(hMPV)、アデノウイルス、エンテロウイルス、ヒトコロナウイルス(HCoV)、肺炎マイコプラズマ

2.2.2 検査法

MagNA Pure LC 2.0 (Roche Diagnostics)を用いて核酸抽出を行い、SLEK 培地に溶出した検体200 μL から50 μL の核酸抽出液を得た。Flu²⁾、RSウイルス³⁾、ライノウイルス⁴⁾、PIV³⁾、hMPV⁵⁾、エンテロウイルス⁶⁾、HCoV⁷⁾は、LightCycler480 RNA Master Hydrolysis Probes (Roche Diagnostics)と各文献に記載のあるプライマー・プローブセットによるreal-time PCRを行った。同様に、ヒトボカウイルス⁸⁾とマイ

コプラズマ・ニューモニエ⁹⁾は、LightCycler480 Probes Master (Roche Diagnostics) と文献記載のプライマー・プローブセットを用いた real-time PCR を行った。アデノウイルス¹⁰⁾は、文献記載のプライマーを用いた nested PCR とアガロースゲル電気泳動を行った。

3. 結果と考察

3.1 対象検体内訳

検体が採取された患者の内訳について、診断名を表 1、年齢を図 1 に示した。肺炎等の下気道炎が最も多く、6 歳以下の乳幼児が 91.0% (514/565) と大半を占めていた。

表1 診断名内訳

上気道炎	下気道炎	気管支喘息	その他*	計
112	335	23	95	565

※その他；呼吸器疾患以外の診断名であるが、呼吸器症状を有する（熱性けいれん、川崎病、ほか）。

3.2 病原体検出状況

病原体検出結果を表 2 に示す。重感染例を含め、565 検体中 260 検体から何らかの病原体が検出され（検出率 46.0%）、ライノウイルス（83 検体）、RS ウイルス（50 検体）、PIV（44 検体）の順に検出数が多かった。

表 2 病原体検出結果

Flu	RS ウイルス	ライノ ウイルス	PIV	ヒトボカ ウイルス	hMPV	アデノ ウイルス	エンテロ ウイルス	HCoV	肺炎マイコ プラズマ	不検出
18	50	83	44	42	19	19	22	6	1	305

表 3 検体採取月別検出結果

	Flu	RS ウイルス	ライノ ウイルス	PIV	ヒトボカ ウイルス	hMPV	アデノ ウイルス	エンテロ ウイルス	HCoV	肺炎マイコ プラズマ	不検出
4月	6	5	6	1	4	2	2	0	3	1	29
5月	1	2	12	1	5	0	2	0	1	0	34
6月	0	1	5	4	10	0	2	0	0	0	27
7月	0	0	8	9	12	1	2	3	0	0	48
8月	0	3	6	13	7	1	3	12	0	0	22
9月	0	6	10	12	0	3	0	2	0	0	22
10月	0	8	5	1	1	2	1	1	0	0	27
11月	1	9	11	1	0	2	0	3	0	0	18
12月	7	14	15	1	1	4	6	1	1	0	24
1月	1	1	1	1	2	1	0	0	0	0	23
2月	0	0	2	0	0	0	0	0	1	0	20
3月	2	1	2	0	0	3	1	0	0	0	11
計	18	50	83	44	42	19	19	22	6	1	305

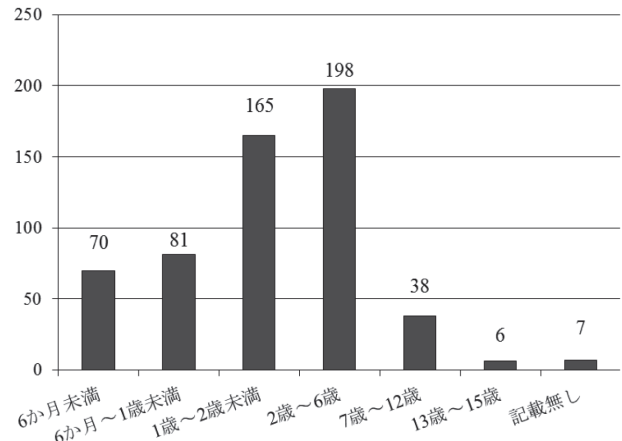


図 1 検体採取患者の年齢区分

3.2.1 季節的特徴

表 3 に病原体検出結果を検体採取月ごとに示した。Flu は流行期である 4 月～5 月および 11 月～3 月に AH1pdm09 型が 1 検体、AH3 型が 10 検体、B 型が 7 検体の計 18 検体から検出された。2014/2015 シーズンを含め、例年県内におけるインフルエンザ患者の発生のピークは 1 月～2 月に認められるが、この時期に採取された検体からはほとんど検出されておらず、2013/2014 シーズン終盤の 4 月と、2014/2015 シーズンの流行が開始した 12 月に検出が集中していた。これは迅速診断キットの普及により、医療現場で容易にインフルエンザとの診断がつくようになったことから、流行期にはすでに診断が確定した患者からの検体採取が抑制され、他の感染症

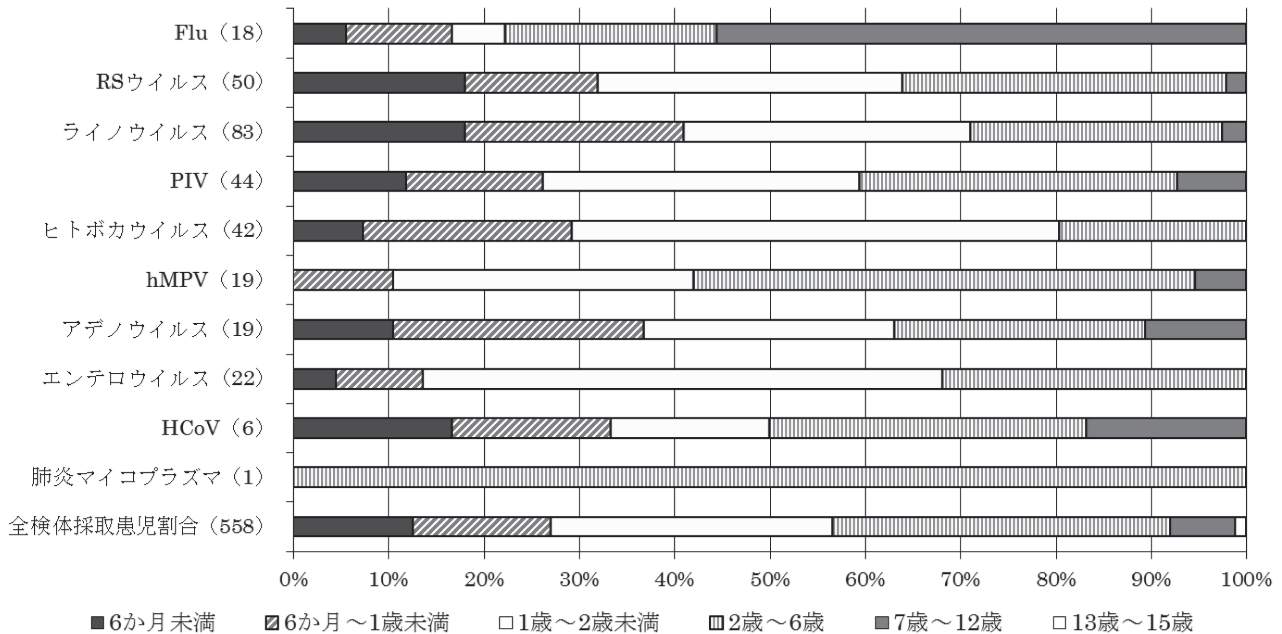


図2 検出病原体別患者年齢割合

患者からの検体採取が優先されている結果と推察された。AH1pdm09型については薬剤耐性獲得に関わる遺伝子変異は確認されなかった。

エンテロウイルスは7月～12月にかけて22検体から検出された。内訳はA群コクサッキーウイルス2型(CA2)が3検体、CA4が11検体、CA5が1検体、CA10が3検体、B群コクサッキーウイルス5型(CB5)が1検体、エコーウイルス3型が2検体、エコーウイルス11型が1検体であった。エンテロウイルスは夏の代表的な感染症である手足口病やヘルパンギーナを起す病原体であるが、通常これらの疾患はエンテロウイルスの中でもCAが主な原因となる^{11),12)}。今回検出された22検体についても、本来の流行期である7月～10月に採取された18検体からは全てCA、11月～12月に採取された4検体からはCB5やエコーウイルスが検出されており、型により検出時期に違いが見られた。

その他の病原体は年間を通じて検出されたが、RSウイルスは10月～12月、ヒトボカウイルスは6月～7月、PIVは7月～9月に検出数の増加が認められた。通常PIVは型による違いはあるものの、初夏あるいは秋に流行しやすいとされている¹³⁾。しかし、2014年は例年と比較して夏季の気温上昇が穏やかで秋の訪れが早かったことなどが影響し、流行期にずれが生じていたと考えられた。また、本調査は小児を対象と

してはいるが、得られる結果には秋田県内における病原体の流行状況が反映される。そのため、この時期には広く県内でPIVが流行していた状況がうかがわれ、小児以外の年齢層でも感染の機会が高まっていたと推察される。実際、9月にPIVを原因とした高齢者施設における集団感染が2事例報告された。

3.2.2 年齢的特徴

検出された病原体ごとに採取した患者の年齢割合を図2に示した(年齢未記載の7検体を除く)。Fluは半数以上が7歳以上からの検出であったのに対し、ヒトボカウイルスは全て6歳以下の乳幼児から検出された。ヒトボカウイルスは発見から10年程度と比較的新しく¹⁴⁾、その疫学情報等が現在集積されつつあるウイルスであるが、本結果では2歳未満がおよそ80%を占めていたことから、この年齢層が好発年齢と推測された。

RSウイルスは乳児の半数以上が1歳までに、ほぼ全ての小児が2歳までに感染を受けるとされているが、検出された年齢区分に特徴的な傾向は認められなかった。1歳未満の乳児については保険適用による迅速診断キットの使用が認められていることから、Flu同様、診断確定の有無により他の年齢群との間で検体採取に偏りが生じている可能性が示唆された。

4. まとめ

今回、平成26年度に病原体定点観測事業として実施した呼吸器感染症検体からの病原体検出状況について報告したが、本結果には実際に秋田県内でどのような病原体が流行していたかが反映されている。対象とする病原体に免疫力の低下した高齢者等が感染した場合、重症化や集団感染へ拡大する可能性もあるため、本事業から得られる結果は感染症対策全体に資する有益な情報といえる。しかし、実際の流行状況をより確実に結果へと反映させるためには、流行状況に即した検体採取のバランスが鍵となるが、FluやRSウイルスのように、医療現場における診断確定の有無が検体採取に影響を及ぼしている状況が、本県だけではなく全国的にも問題となっている。この状況を打開するため、検体数や検体提出頻度等をより厳格に規定化する改正感染症法が平成28年4月に施行される¹⁵⁾。これにより、より現状を反映した病原体サーベイランスが可能となることから、今後も医療機関等関係機関との連携の下、円滑な事業の推進に努めていきたい。

参考文献

- 1) 厚生省保健医療局長通知健医発第458号：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の施行に伴う感染症発生動向調査事業の施行について、平成11年3月19日。
- 2) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル（第3版）、平成26年9月、24-28。
- 3) Templeton K.E., Scheltinga S.A., Beersma M.F.C., et. al.: Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4, *J. Clin. Microbiol.*, **42**, 4, 2004, 1564-1569.
- 4) Lu X., Holloway B., Dare R.K., et. al.: Real-Time Reverse Transcription-PCR Assay for Comprehensive Detection of Human Rhinoviruses, *J. Clin. Microbiol.*, **46**, 2, 2008, 533-539.
- 5) Bouscambert-Duchamp M., Lina B. Trompette A., et. al.: Detection of Human Metapneumovirus RNA Sequences in Nasopharyngeal Aspirates of Young French Children with Acute Bronchiolitis by Real-Time Reverse Transcriptase PCR and Phylogenetic Analysis, *J. Clin. Microbiol.*, **43**, 3, 2005, 1411-1414.
- 6) Nijhuis M., Maarseveen N., Schuurman R., et. al.: Rapid and Sensitive Routine Detection of All Members of the Genus Enterovirus in Different Clinical Specimens by Real-Time PCR, *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 10, 2002, 3666-3670.
- 7) Esposito S., Bosis S., Niesters H.G., et. al.: Impact of Human Coronavirus Infections in Otherwise Healthy Children Who Attended an Emergency Department, *J. Med. Virol.*, **78**, 2006, 1609-1615.
- 8) Lu X., Chittaganpitch M., Olsen S.J., et. al.: Real-Time PCR Assays for Detection of Bocavirus in Human Specimens, *J. Clin. Microbiol.*, **44**, 9, 2006, 3231-3235.
- 9) Winchell J.M., Thurman K.A., Mitchell S.L., et. al.: Evaluation of Three Real-Time PCR Assays for Detection of *Mycoplasma pneumoniae* in an Outbreak Investigation. *J. Clin. Microbiol.*, **46**, 2008, 9, 3116-3118.
- 10) Saito-Inagawa W., Oshima A., Aoki K., et. al.: Rapid Diagnosis of Adenoviral Conjunctivitis by PCR and Restriction Fragment Length Polymorphism Analysis, *J. Clin. Microbiol.*, **34**, 9, 1996, 2113-2116.
- 11) 国立感染症研究所感染症疫学センター：病原微生物検出情報，**26**，9，2006，235-236。
- 12) 国立感染症研究所感染症疫学センター：病原微生物検出情報，**33**，3，2012，55-56。
- 13) 改田 厚，久保英幸，入谷展弘，他：ヒトパラインフルエンザウイルス感染症，臨床とウイルス，**40**，3，2012，142-149。
- 14) Allander T., Tammi M.T., Eriksson M., et al.: Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, **102**, 36, 2005, 12891-12896.
- 15) 厚生労働省健康局長通知健発第0928第1号：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施行規則の一部を改正する省令の公布及び一部施行について（通知），平成27年9月28日。