

インフルエンザウイルス陰性検体からの他の呼吸器感染症ウイルスの 検出について

五十嵐郁美 北川和寛 門馬直太 柏原尚子 平澤恭子 大竹俊秀
微生物課

要 旨

2009年8月から12月に採取されたインフルエンザ、インフルエンザ様症例の検体うち、インフルエンザウイルス陰性と確認された52検体について、インフルエンザウイルス以外の呼吸器感染症ウイルスの遺伝子検索を行った。

8検体からウイルスが検出された。内訳はライノウイルスが3検体、RSウイルスAが2検体、パラインフルエンザウイルス1型、2型が各1検体、アデノウイルスが1検体であった。

検索したウイルスは重症な下気道炎や、喘息などの原因ウイルスとなることも知られているため、今後はRSウイルス、ライノウイルスなどの遺伝子検索の導入も検討していきたい。

キーワード：インフルエンザウイルス、インフルエンザ様症例、呼吸器感染症ウイルス

はじめに

2009年4月に新型インフルエンザウイルスA(H1pdm)の発生に伴い、当所では新型インフルエンザウイルスの遺伝子検査を行っている。

7月に搬入された疑似症10検体について遺伝子検査を行ったところ、2検体のみ新型インフルエンザウイルスが陽性であり、8検体は陰性であった。この疑似症10検体は集団発生の検体であったため、さらにエンテロウイルスとアデノウイルスについて遺伝子検索を行い、コクサッキーウイルスA9型が2検体から検出された。

以上のようにインフルエンザ様症例検体うちインフルエンザウイルス陰性となった検体から他の病原ウイルスが検出されることがあるため、原因追求を目的として、インフルエンザウイルス陰性検体について、インフルエンザ以外の呼吸器感染症ウイルスの検索を行った。

症 例

2009年8月から12月に採取されたインフルエンザ、インフルエンザ様症例の検体うちインフルエンザウイルス陰性と確認された52検体を用いた。内訳は入院サーベイラン

スのうち遺伝子検査陰性15検体、インフルエンザサーベイランスのうち細胞培養陰性37検体である。

方 法

検体(咽頭拭い液・鼻腔拭い液・喀痰)から遺伝子抽出(RNA DNA)を行い、アデノウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、RSウイルス、パラインフルエンザウイルス、ボカウイルスについて遺伝子検索を行った。

1 アデノウイルス

Elnifro らのプライマー¹⁾を用い、PCR反応を行った。増幅産物は電気泳動し、特異バンドの確認を行った。制限酵素Mnl Iで37℃1時間反応後電気泳動し、バンドの位置を確認し、サブグループに分類した。

2 エンテロウイルスとライノウイルス

Olive らのプライマー²⁾を用いRT-PCR反応を行った。目的とする増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、DDBJのBLASTにより相同性解析を行った。

3 RSウイルス

感染症病原体マニュアルによるプライマーを用いRT-PCR反応を行った。増幅産物は電気泳動してバンドの位置を確認し、サブグル

表1 ウイルスが検出された症例

No.	検出ウイルス	採取月日	診断名	年齢	性別	検査材料	迅速診断キット
1	RS	H21. 8. 14	インフルエンザ A	1歳	男	鼻腔	A (+)
2	Rhino sp.	H21. 8. 18	インフルエンザ A	59歳	男	咽頭	A (+)
3	Rhino sp.	H21. 9. 29	インフルエンザ A	95歳	女	鼻腔	A (+)
4	Rhino sp.	H21. 10. 5	インフルエンザ A	13歳	男	鼻汁	A (+)
5	Parainfluenza 2	H21. 10. 27	インフルエンザ	1歳	男	咽頭	(±)
6	Adeno sp.	H21. 11. 9	インフルエンザ A	1歳	男	鼻汁	A (+)
7	Parainfluenza 1	H21. 11. 20	インフルエンザ A	10歳	男	咽頭	A (+)
8	RS	H21. 12. 5	インフルエンザ A	1歳	男	鼻汁	A (+)

ープに分類した。

4 パラインフルエンザウイルス

Echevarria らのプライマー³⁾を用い RT-PCR 反応を行った。増幅産物は電気泳動してバンドの位置を確認し、型別を行った。

5 ボカウイルス

Allander らのプライマー⁴⁾を用い PCR 反応を行った。目的とする増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、DDBJ の BLAST により相同性解析を行った。

結 果

結果を表 1 に示す。

52 検体中 8 検体 (15 %) から呼吸器感染症ウイルスが検出された。ライノウイルスが 3 検体、RS ウイルス A が 2 検体、パラインフルエンザウイルス 1 型、2 型が各 1 検体、アデノウイルスが 1 検体から検出された。ボカウイルスは検出されなかった。

考 察

インフルエンザ流行期に検出される呼吸器感染症ウイルスとして、RS ウイルス、アデノウイルス、ライノウイルスなどがあげられる。本県における過去 5 年間のインフルエンザ様疾患検体からの細胞培養法による呼吸器感染症ウイルスの検出状況は、アデノウイルスが最も多く、パラインフルエンザウイルスやエンテロウイルスなどがインフルエンザウイルスと共に、または単独で検出されていた。インフルエンザの流行時期は、その他の呼吸器感染症ウイルスが原因であっても症状が類

似しているためインフルエンザと診断されることも起こっている。したがって、他のウイルスの流行をインフルエンザの流行と見誤り、対策が後手に回ることも憂慮される。

現在当所での呼吸器感染症ウイルスは細胞培養法での検出が主であるが、細胞培養法は結果の判明までに日数を要し、インフルエンザウイルス以外の流行と分かった時には、流行が終息してしまっている可能性も危惧される。今後は今回実施したように RS ウイルスなど遺伝子検査の導入も検討し、県の感染症対策に寄与したいと考えている。

引用文献

- 1) Elnifro E M , Cooper R J , et al. PCR and Restriction Endonuclease Analysis for Rapid Identification of Human Adenovirus Subgenera. *Journal of Clinical Microbiology* 2000 ; 38 : 2055-2061.
- 2) Olive D M, Al-Mufti S, et al. Detection of picornaviruses in clinical samples following genomic amplification. *Journal of General Virology* 1990 ; 71 : 2141-2147.
- 3) Echevarria J E, Erdman D D, et al. Simultaneous Detection and Identification of Human Parainfluenza Viruses 1,2,and 3 from Clinical Samples by Multiplex PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 1998 ; 36 : 1388-1391.
- 4) Allander T et al. Cloning if human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples. *Medical Sciences* 2005 ; 102 : 12891-12896.
- 5) Chieochansin T, et al. Complete coding

sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus(HBoV).Virus Research 2007 ; 129 : 54-57.

6) Catalano-Pons C, et al. Detection of human bocavirus in children with Kawasaki disease.clinical Microbiology and Infection 2007 ; 13 : 1199-1222 .

7) White D O, Fenner F J, 北村敬. 医学ウイルス学〈第四版〉. 東京：近代出版(株), 1998 ; 340-362.