

## 市内病院におけるパラインフルエンザウイルス感染症集団発生事例について

田中 俊光<sup>1</sup>、水村 綾乃<sup>1</sup>、土井 妙子<sup>1</sup>、小林 圭子<sup>2</sup>、横井 一<sup>3</sup>

(1 環境保健研究所 健康科学課 2 現 保健所 食品安全課 3 現 動物保護指導センター)

**要 旨** 2013年10月下旬から11月下旬にかけて市内A病院で入院患者30名および職員22名の計52名が発熱あるいは何らかの呼吸器症状を呈し、発症者11名について検査を実施したところ、7名からヒトパラインフルエンザ(HPIV)3型、2名からHPIV4b型を検出した。職員(健康成人)の臨床症状は軽度であったが、基礎疾患を有する入院患者の中には重篤な症状を示す者が見られた。

**Key Words** : ヒトパラインフルエンザウイルス3型, ヒトパラインフルエンザウイルス4b型, 集団発生事例

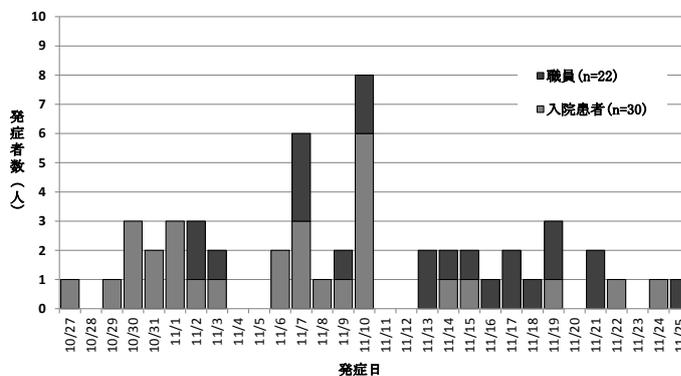
## 1. はじめに

ヒトパラインフルエンザウイルス(Human Parainfluenza virus)はParamyxovirus科のParamyxovirus亜科に属するマイナス一本鎖のRNAウイルスで、Respirovirus属に含まれるHPIV1型および3型と、Rubulavirus属に含まれるHPIV2型および4型の4つの型が存在する<sup>1)</sup>。いずれも乳幼児を中心とした呼吸器感染症の原因ウイルスあり、2011年1月から2013年8月までの全国での検出報告では、HPIV1型が490例、2型が176例、3型が1,012例、4型が107例と、3型が最も多く検出されている<sup>2)</sup>。一般にHPIV3型は毎年5月から8月の期間に流行し、老人施設や福祉・養護施設などにおける集団発生事例も夏季に報告されている。また、HPIV4型については検出報告例が少なく、これまで国内での集団発生事例の報告はみられない。今回我々は10月下旬から11月下旬にかけて、HPIV3型および4b型が原因と考えられる集団発生事例を経験したので、その概要について報告する。

## 2. 集団発生の概要

2013年11月7日、市内A病院の医師から、院内で発熱等の集団発生があるとの連絡を保健所が受け現地調査を行った。その結果、10月27日から11月6日までにB病棟(入院患者60名、職員47名)の入院患者14名、職員3名の計17名が、発熱、鼻汁・鼻閉、咽頭痛などの呼吸器症状を示していた。また、発症者はB病棟の入院患者と職員に限られ、入院患者

の発症者14名のうち7名は発熱のみで呼吸器症状がなく、職員の発症者は咽頭痛のみの軽度症状を呈する者が多かった。なお、A病院にて入院患者の発症者に対してインフルエンザウイルス、アデノウイルスおよびA群β溶連菌について検査を実施したがすべて陰性であった。さらに、11月25日まで上記症状を示す患者が発生し、最終的にB病棟の入院患者30名および職員22名の計52名が発熱あるいは何らかの呼吸器症状を呈した(図1)。入院患者の発症者の年齢は4~50歳(平均25.6歳)で、臨床症状は発熱(93.3%)、鼻汁・鼻閉(36.7%)、咳嗽(33.3%)、喀痰(30%)および喘鳴(10%)であった。また、発熱日数は1~18日(平均4.0日)で最高体温は37.5~40.7℃(平均38.8℃)であった。職員の発症者の臨床症状は咽頭痛(72.7%)、鼻汁・鼻閉(31.8%)、発咳(18.2%)および発熱(9.1%)



で、発熱日数は1日、最高体温は37.6℃であった。

図1 発症者数の推移

### 3. 材料と方法

A病院で採取された11症例(入院患者8名、職員3名)から採取された鼻咽頭ぬぐい液を検査材料とした。フロックスワブ R100 (COPAN FLOCK TECHNOLOGIES 社製)を用いて患者の鼻咽頭をぬぐい、ユニバーサルバイラルトランスポート検体輸送用培地(Becton,Dickinson 社製)にスワブを浸漬して、冷蔵状態で当研究所まで搬送した。

搬入後、速やかに遠心分離を行い、その上清を分取して呼吸器症ウイルスの遺伝子検出および分離を実施した。High Pure Viral RNA Kit (Roche 社製)を用いてウイルス核酸を抽出し、一部については Super ScriptIII (Invitrogen 社製)により cDNA を作成して、それぞれウイルス遺伝子検査に供した。

HPIV (1~3型)、ヒトRSウイルス (HRSV)<sup>3)</sup>、ヒトボカウイルス (HBoV) については、当所で設計したプライマーおよびプローブを用い、Real-time(RT-)PCR法を実施した(表1)。反応量は1 tubeあたり25.0μLとし、20.0μLのReal-time PCR反応液(QuantiTect Probe PCR Master Mix (Qiagen 社製)、400nMプライマー、100nM TaqMan MGB プローブおよびRNase-free滅菌蒸留水を混合)に5.0μLのcDNA溶液を加えた後、ABI 7300 Real-time PCR system (ABI 社製)を使用して増幅反応を行った。反応条件は、95°Cで15分(DNA polymeraseの活性化)の後、94°Cで15秒(熱変性)と56°Cで75秒(アニーリングと伸長反応)の反応を45回繰り返した。

ヒトライノウイルス (HRV)<sup>4)</sup>、ヒトエンテロウイルス<sup>4)</sup>、ヒトメタニューモウイルス<sup>5)</sup>、ヒトコロナウイルス<sup>6)</sup>については既報に従いRT-PCR法を実施した。さらにTongらによるパラミクソウイルス亜科のL蛋白を標的としたRT-PCR法<sup>7)</sup>を実施した。

ウイルス分離はRD-A、VeroE6、HEp-2、CaCo-2およびMDCK細胞を用いて、検査材料の遠心上清を接種し、RD-A、VeroE6、HEp-2、CaCo-2細胞は35.0°C、MDCK細胞は33.0°Cで1週間培養を2代にわたり行った。

### 4. 結果

Real-time RT-PCR法により7症例からHPIV3型、RT-PCR法により1症例からHRV、9症例からパラミクソウイルス亜科の遺伝子が検出された。

RD-A、VeroE6、HEp-2、CaCo-2およびMDCK細胞からはウイルスは分離されなかった。

RT-PCR法により得られた増幅産物について、ダイレクトシーケンスを実施し、塩基配列解析を行ったところ、パラミクソウイルス亜科ウイルス陽性9症例のうち、7症例がHPIV3型、2症例がHPIV4b型であった。また、職員1症例から検出されたHRVはHRV-Aであった(表2)。検出されたHPIV3型(429bp)とHPIV4b型(463bp)のそれぞれの塩基配列はすべて一致し、BLAST検索の結果、HPIV3型はHPIV3/MEX/2841/2006 (KF687326)株と99%、HPIV4b型はHPIV4b/strain04-13 (JQ241176)株と98%の相同性を示した。

なお、Real-time RT-PCR法でHPIV3型が陽性であった7症例すべてが、RT-PCR法によるシーケンスでもHPIV3型であることが確認された。

表1 Real-time (RT-)PCR法のプライマーとプローブ

Organism	Primers Probes	Sequence (5' to 3')	Polarity	Target gene	Reference
HPIV1	PIV1-F6	ATCCAHTATCYCCYGATGC	+	HN	This study
	PIV1-R5	GTRGGATTRACACGYGATGT	-		
	PIV1-TPf	VIC-TGCTACAACCACACTGT-MGB	+		
HPIV2	PIV2-F9	ATGAAAACAYATTACCTAAGTGATGGA	+	HN	This study
	PIV2-R10	CCTCCYGGTATRGCATGACTGAAC	-		
	PIV2-TPf2	FAM-TCAAATCGSAAAAGC-MGB	+		
HPIV3	PIV3-Fy	CTAGCACTCCTAAAACAGATG	+	HN	This study
	PIV3-R2	CTTCTATGCCTGATGATGCA	-		
	PIV3-TPf2	NED-ACTGTGTCTRACTCC-MGB	+		
HRSV	RSVf-F1	CARCAAAGTTATCTATCATGTC	+	F protein	3
	RSVf-R1	GATCCTGCATTRTCACARTACCA	-		
	RSVfA-TPf2	VIC-TGTAGTACAATTRCCACT-MGB	+		
	RSVfB-TPf	FAM-TGTRCAGCTRCCTATC-MGB	+		
HBoV	HBoV-Fa3	CTCGGGCTCATATCACAG	+	NP-1	This study
	HBoV-Ra	CACCTGGTCTGAGGTCTTCGA	-		
	HBoV-TPf2	FAM-ATCARCCACCTATYGTCTTGACTGC-TAMRA	+		

表 2 検査症例と検出ウイルス

発症日	種別	年齢(歳)	基礎疾患名	病室	症状	検出ウイルス	コピー数/5 $\mu$ L
10/29	入院患者	8	運動機能障害	C	発熱 (40.3℃)、気管支炎	HPIV 3型	2.15 $\times$ 10 <sup>6</sup>
10/31	入院患者	24	運動機能障害	C	発熱 (39.4℃)、気管支炎	HPIV 3型	2.98 $\times$ 10 <sup>5</sup>
11/2	入院患者	25	運動機能障害	D	発熱 (39.9℃)、気管支炎	HPIV 3型	1.17 $\times$ 10 <sup>4</sup>
11/3	入院患者	20	運動機能障害	E	発熱 (39.6℃)、気管支炎、酸素吸入	HPIV 4b型	-
11/6	入院患者	24	運動機能障害	F	発熱 (38.5℃)、気管支炎	HPIV 3型	8.81 $\times$ 10 <sup>1</sup>
11/6	入院患者	12	運動機能障害	G	発熱 (40.2℃)、喀痰、発咳、酸素吸入	HPIV 3型	3.11 $\times$ 10 <sup>4</sup>
11/7	職員	43	-		咽頭痛	不検出	-
11/7	職員	55	-		咽頭痛、発咳	HPIV 3型	1.01 $\times$ 10 <sup>4</sup>
11/8	入院患者	50	運動機能障害	D	発熱 (39.1℃)、喀痰、人工呼吸器	HPIV 3型	8.56 $\times$ 10 <sup>2</sup>
11/10	入院患者	22	運動機能障害	H	発熱 (40.7℃)、発咳、酸素吸入	HPIV 4b型	-
11/13	職員	34	-		咽頭痛、鼻汁	HRV-A	-

## 5. 考察

発症者が B 病棟の入院患者と当該病棟職員に限られており、病室の異なる (C~H) 入院患者の発症者 8 名中 6 名から HPIV3 型、2 名から HPIV4b 型が検出されたこと、職員の発症者 3 名中 1 名から HPIV3 型が検出されたことから、本事例は HPIV3 型および 4b 型を主な原因とする呼吸器感染症の集団発生事例であることが判明した。また、本事例においては、B 病棟の患者は運動機能障害などの基礎疾患を有しており、自立歩行が困難であったことから、職員などを介して HPIV の感染が拡大した事例であることが示唆された。

HPIV3 型は通常初夏に流行し<sup>2)</sup>、集団発生事例も夏季に報告されているものが多い<sup>8,9)</sup>。2013 年の千葉県感染症発生動向調査における HPIV 検出状況でも、HPIV3 型は 6 月に最も多く検出されているが(図 2)、本事例は自立歩行ができず、かつ基礎疾患を有する集団に HPIV が侵入したため秋季に集団発生を引き起こした事例であったと考えられる。

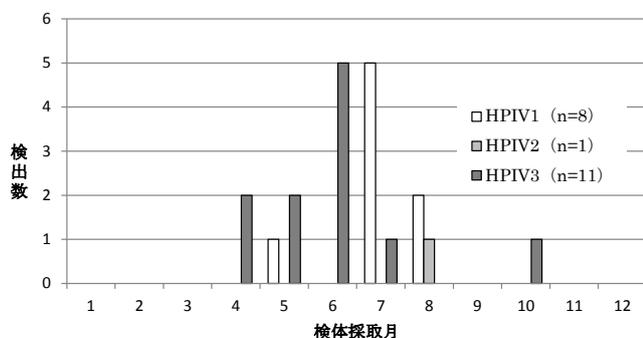


図 2 千葉県感染症発生動向調査事業における HPIV 検出数 (2013 年)

また、感染者のうち職員 (健康成人) の臨床症状は咽頭痛のみが最も多く、発熱も最高体温が平均 37.6℃で発熱日数は 1 日と比較的軽度であったが、基礎疾患を有する入院患者では発熱を主徴とし、最高体温が平均 38.8℃で発熱日数も 4 日であり、人工呼吸器管理が必要な者もみられるなど、職員と入院患者の間で臨床所見や重症度に大きな差が認められた。HPIV 感染症は、乳児の場合は肺炎や気管支炎などの重篤な症状を示す場合もあるが、一般に幼児期までに初感染を経験した後は、症状も軽度であることが多い<sup>8-10)</sup>。しかし、本事例のような基礎疾患を有する成人や高齢者の場合、呼吸障害を引き起こし、重症化することもあるので医療機関や老人施設などでの発生には注意が必要であると思われる。

## 文 献

- 1) Ruth A.Karron, Peter L.Collins, Parainfluenza Viruses, Fields VIROLOGY FIFTH EDITION (David M.Knipe, Peter M.Howley), LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS, USA, 2007, 1497-1526
- 2) 国立感染症研究所, パラインフルエンザウイルス 1 型, 2 型, 3 型, 4 型 2011~2013 年, 感染症発生動向調査週報 (IDWR) 第 15 巻, 第 33 号, 14-15, 2013
- 3) 横井一, 田中俊光, 水村綾乃 他, Real-time RT-PCR 法による RS ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別, 感染症誌 86, 569-576, 2012
- 4) 石古博昭, 島田康司, 與那覇麻理 他, 遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定, 臨床とウイルス 27, 283-293, 1999

- 5) Peret TC, Boivin G, Li Y. *et al.*,  
Characterization of human  
metapneumoviruses isolated from patient  
in North America, *J Infect Dis* 185,  
1660-1663, 2002
- 6) Vijgen L, Moes E, Kayaerts E *et al.*,  
A pancoronavirus RT-PCR assay for  
detection of all known coronaviruses,  
*Methods Mol Biol* 454, 3-12, 2008
- 7) Tong S, Chern SW, Li Y *et al.*, Sensitive and  
Broadly Reactive Transcription-PCR Assays  
To Detect Novel Paramyxoviruses, *J Clin  
Microbiol* 46, 2652-2658, 2008
- 8) 山腰雅宏, 鈴木幹三, 山本俊信 他, 病棟内で流  
行した高齢者パラインフルエンザ 3 型感染症  
の検討, *感染症誌* 73, 298-304, 1999
- 9) 尾西一, 大矢英紀, 川島栄吉 他, 中学校でのパ  
ラインフルエンザウイルス 3 型による集団か  
ぜ, *病原微生物検出情報 (IASR)*  
20, 223-224, 1999
- 10) 矢野拓弥, 前田千恵, 楠原一 他, 呼吸器症状  
(気管支炎等) を呈した小児から検出された  
パラインフルエンザウイルスの動向, *病原微  
生物検出情報 (IASR)* 33, 244-245, 2012