

Q⁵

ノロウイルスや鳥インフルエンザウイルスに対する検査法についてご教示ください。

A

1. 検査

1) ノロウイルスの検査法

ノロウイルス感染患者の糞便や吐物中には大量のノロウイルス粒子が排泄されますが、培養法が確立されていません。このため、1995年頃までのノロウイルス診断は、電子顕微鏡法を用いた糞便からのウイルス粒子の直接検出法により診断されていました。その後、2001年からは厚生労働省よりノロウイルスの検査法としてRT-PCR法（ノーウォーク様ウイルス「NLV」のRT-PCR法について：平成13年11月16日付け食監発第267号）が指定されました。さらに、2003年には食品衛生法等の一部を改正する法律（平成15年法律第55号）の施行と同時に、それまでの「小型球形ウイルス」という名称を「ノロウイルス」に改めたことから検査法も改訂され、「ノロウイルスの検出法について：食安監発第1105001号」としてとりまとめられました。

現在用いられているノロウイルス検査法としては、ノロウイルス遺伝子を対象とする①RT-PCR法、②リアルタイムPCR法、③RT-LAMP法の3法と、ウイルス抗原を対象とする④酵素免疫測定（EIA）法があります。①～③の方法は、いずれも材料中に存在するノロウイルス遺伝子を増幅し検出するものです。①、②の方法は自施設でプライマーおよび試薬類を自家調整し3時間程度で結果が得られますが、大学病院など限られた施設でのみ可能です。一方、③の方法は国内メーカーより検査キットが市販されており、核酸の増幅から検出を1時間程度で行うことが可能で、コストは1検体当たり1,250円です。また、④の方法は糞便中のノロウイルス抗原を分割型マイクロプレートに固相化したモノクローナル抗体を用いて捕捉し、さらにペルオキシダーゼ酵素を標識した抗体を反応させて検出する方法です。この検査キットも国内で市販されており、検体の前処理から測定終了まで約3時間で済みます。現在、膜フィルターを利用した酵素免疫法を原理とする簡便な検査キットが開発されており、間もなく入手可能になると考えられます。

2) 鳥インフルエンザウイルスの検査法

インフルエンザウイルスは、核蛋白の抗原性によりA型、B型、C型の3タイプに分けられ、鳥インフルエンザウイルスはA型に属します。鳥インフルエンザウイルスの検査法としては、①ウイルス分離培養法、②RT-PCR法、および③EIA法の3法があります。

①のウイルス分離培養法は、主にMDCK（Madin-Darby Canine Kidney）細胞を用いて培養し、さらに分離された鳥インフルエンザウイルス（A/H5）の同定には、特異的モノクローナル抗体を用いたIFA法（免疫蛍光抗体法）、HA法（赤血球凝集反応）およびHAI法（赤血球凝集阻止）のいずれかの方法を用いて行います。しかし、結果が得られるまでに通常2～10日間を要することと、鳥インフルエンザウイルス（A/H5）を含む可能性の高い検体のウイルス培養細胞を取り扱う場合には、標準的バイオセーフティ手法と管理施設が必要なため一般病院での実施は困難です。

②のRT-PCR法は、鳥インフルエンザウイルス（A/H5）の遺伝子の塩基配列に特異的なプライマーを用いて検体中の遺伝子を増幅し24時間以内に結果を得ることができですが、一般病院での実施は推奨されません。鳥インフルエンザウイルス（A/H5）を濃厚に疑う患者が受診した場合は、所轄の保健所へ検査を依頼しますと各都道府県の衛生研究所で一次検査が実施されます。さらに、一次検査で疑わしい場合は国立感染症研究所で再検査を行い最終的に報告されます。

③のEIA法は、膜フィルターとA・Bそれぞれのウイルスの各亜型に共通な核蛋白に対する抗体を使用し、A型またはB型インフルエンザウイルス抗原を同時に検出する方法です。A・B型を同時に検出できる簡易検査キットは、現在約10社から市販されており、15～30分で結果を得ることができます。しかし、本検査でB型が陽性の場合には鳥インフルエンザウイルスを否定できますが、A型が陽性または陰性の場合には通常のインフルエンザウイルスと鑑別はできません。このため患者の鳥インフルエンザ流行地への渡航歴や、鳥と濃厚に接触する職業などの患者情報より強く鳥インフルエンザが疑われる場合は、前記②に準じ保健所へ検査を依頼し確認します。

文献

- 1) WHO: Recommended laboratory tests to identify avian influenza A virus in specimens from humans June 2005
http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/labtests/en/

(浅利誠志)