

福岡市におけるデング熱の検査状況

松藤貴久・古川英臣・宮代守

福岡市保健環境研究所保健科学課

The Situation of Dengue Fever Laboratory Diagnosis in Fukuoka City

Takahisa MATSUFUJI, Hideomi FURUKAWA
and Mamoru MIYASHIRO

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

要約

平成 22 年度から平成 26 年度までの福岡市におけるデング熱疑い事例の検査を行い、50 件中 19 件が陽性であった。抗原検査または抗体検査単独では、陽性であるにもかかわらず陰性と判定される事例があったことから、確実な検査診断を行うためにも抗原検査と抗体検査を併用する必要がある。また、ウイルスの塩基配列情報を得ることができる PCR は特に重要であり、国内感染の発生が懸念される今後はさらに重要な検査法となると思われる。

Key Words : デングウイルス *Dengue virus*, リアルタイム RT-PCR Real-time RT-PCR,
非構造蛋白 1 NS1

1 はじめに

デング熱は、デングウイルスにより引き起こされる感染症であり、感染症法では四類感染症（全数把握）に規定されている。

デング熱は熱帯・亜熱帯地方を中心に全世界で年間約 1 億人が感染しているとされる感染症である¹⁾。日本において、昭和 17 年～昭和 20 年に西日本を中心にデング熱の流行が確認されたが、その後は日本での感染はなく近年は輸入感染症例が年間 200 件ほど報告されていた。

しかし、平成 26 年には約 70 年ぶりにデング熱の国内感染が確認された。今回、福岡市における平成 22 年度から平成 26 年度までのデング熱の検査状況について報告する。

2 材料および方法

平成 22 年 4 月から平成 27 年 3 月までの 5 年間に福岡市内の医療機関においてデング熱疑いと診断された患者の血清 50 件を使用した。

採取された血清はデングウイルスの抗原検査および抗体検査に供した。抗原の検査は、リアルタイム RT-PCR 法による E 遺伝子の検出 (PCR) およびイムノクロマト

(IC) 法による NS1 抗原の検出 (IC (NS1)) を実施した。抗体の検査は、ELISA 法による IgM 抗体の検出 (ELISA (IgM)) および IC 法による IgM 抗体の検出 (IC (IgM)) を実施した。表 1 に IC 法と ELISA 法で使用した検査キットを示す。IC 法および ELISA 法の検査方法は、検査キットの添付文書に従った。PCR は「デングウイルス感染症診断マニュアル」(国立感染症研究所)に従った。なお、デング熱陽性とは、1 つ以上の検査法で陽性となった場合とした。

表 1 IC と ELISA で使用したキット

検査項目	使用キット
IC (NS1)	DENGUE NS1 Ag Rapid Test Kit (BIONOTE)
	または, Dengue NS1 Detect™ Rapid Test (InBios)
ELISA (IgM)	DENGUE IgM CAPTURE ELISA (panbio)
IC (IgM)	Dengue Dx IgG/IgM (Focus)
	または, On Site Dengue IgG/IgM Combo Rapid Test (CTK BIOTECH)

3 実験結果および考察

3.1 事例の概要

検体 50 件のうち 42 件は海外渡航歴のある輸入感染疑いの検体であった。海外渡航歴のない 8 件は、すべて平成 26 年に東京都で国内感染が確認された後の検体であった。年度別の検査状況を表 2 に示す。毎年陽性が確認されており、検体 50 件中 19 件が陽性であった。海外渡航歴のない 8 件はすべて陰性であった。

陽性者の渡航先をみると、インドネシア 7 件、フィリピン 5 件、タイ 3 件など東南アジアが多かった (表 3)。

月別の検査数および陽性数を表 4 に示す。検査数は 9 月が 14 件、7 月が 10 件など夏に多く、陽性は季節に関係なく確認された。

表 2 年度別の検査状況

年度	H22	H23	H24	H25	H26	計
検査数	9	6	9	13	13	50
陽性数	2	1	4	11	1	19

陽性 19 件は、男性が 12 件、女性が 7 件で男性が多く、30 歳代が 8 件、次いで 20 歳代が 4 件と多かった (表 5)。

3.2 主な臨床症状

検体 50 件の主な臨床症状を表 6 に示す。発熱、発疹、関節痛、胃腸炎、筋肉痛、頭痛などの症状がみられたが、発疹の割合は陽性者では高く (84%)、陰性者では低かった (39%)。

表 3 陽性者の渡航先

渡航先	患者数*
インドネシア	7
フィリピン	5
タイ	3
シンガポール	2
スリランカ	2
カンボジア	1
バングラディシュ	1
ベトナム	1
ラオス	1

*重複含む

表 4 月別の検査状況

月	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
検査数	1	1	3	0	4	2	10	5	14	2	5	3	50
陽性数	0	1	1	0	3	1	5	2	2	1	2	1	19

表 5 陽性者の年齢と性別

年齢	デング熱陽性数		
	男	女	計
0~9	0	1	1
10~19	1	0	1
20~29	3	1	4
30~39	5	3	8
40~49	1	1	2
50~59	2	1	3
計	12	7	19

表 6 陽性および陰性での臨床症状

臨床症状	陽性 (19 件)	陰性 (31 件)
発熱	19/19 (100%)	30/31 (97%)
発疹	16/19 (84%)	12/31 (39%)
関節痛	7/19 (37%)	17/31 (52%)
胃腸炎	5/19 (26%)	9/31 (29%)
筋肉痛	7/19 (37%)	5/31 (16%)
頭痛	2/19 (11%)	11/31 (35%)

3.3 病日別の結果

病日別の検査状況を表7に示す。病日とは発症日から検体を採取するまでの日数のことである。検体は病日2～6日で採取されたものが多く、全体の70%であった。病日6日の採取検体が11件と最も多く、陽性も8件と最も多かった。

表7 病日別の検査状況

病日	検査数	陽性数	陽性率 (%)
1	1	0	0
2	7	1	14
3	8	0	0
4	6	2	33
5	3	0	0
6	11	8	73
7	4	3	75
8	2	1	50
9	2	2	100
10以上	2	2	100
不明	4	0	0
計	50	19	38

3.4 検査法による結果

次に、陽性19件について、検査法による結果を表8に示す。PCRでは病日2～8日の10件から、IC(NS1)では、病日は2～11日の14件から抗原が検出された。つまり、IC(NS1)ではPCRよりも長期間検出された。これは、IC(NS1)で検出されるタンパク質NS1は、ウイルスがPCRで検出されなくなる時期よりも長く血液中に存在するためとされている^{2, 3)}。この結果からデング熱の陽性か陰性を判定するだけであれば、IC(NS1)は検査が簡便で、短時間に結果を得ることができるため有用と考えられた。

PCRはIC(NS1)に比べ操作が複雑で時間がかかるが、遺伝子解析と組み合わせることが可能でウイルスの塩基配列情報を獲得できる。塩基配列情報はIC(NS1)や抗体検査では得られない重要な情報であり、他のウイルスと相同性を比較することができる。さらに、患者の行動調査を併用することで感染経路の推定につなげることができるため、国内感染の発生が危惧される今後は、PCRがますます重要な検査になると考えられる。

一方、抗体検査であるELISA(IgM)およびIC(IgM)での検出数はそれぞれ14件、11件であった。IC(IgM)で陽性であった検体はELISA(IgM)でも陽性であった。

陽性19件のうち、抗原検査で陽性となった検体の病日は2～11日、抗体検査では6～22日であった。今回、病日6日以内のすべての陽性者で抗原が検出され、病日7日以降のすべての陽性者で抗体を検出した。抗原検査のみで陽性となったのは5件、抗体検査のみで陽性となったのは4件であった。従って、正確な検査を行うには抗原検査と抗体検査を併用する必要があると考えられた。

4 まとめ

感染症法におけるデング熱の届出基準には、ウイルス分離、PCR、NS1の検出、IgM抗体の検出、ペア血清による抗体価上昇などが記載されており、中でもICによるNS1の検出は、簡便且つ迅速に検査結果を出すことができるため、今後は医療機関においてIC(NS1)での診断が増加すると考えられる。しかし、確実な検査診断を行うためには、3つの検査(PCR、IC(NS1)、抗体検査)を併用する必要があり、感染経路の推定につながるPCRは特に重要である。したがって、PCRで検出するためにもできるだけ発症日に近い検体を採取することが望ましいと考えられた。

謝辞

本調査を実施するにあたりご協力を頂きました各区保健福祉センター健康課の皆様へ深謝いたします。

文献

- 1) Xu H, Di B, Pan YX, *et al.* : Serotype1-specific monoclonal antibody-based antigen capture immunoassay for detection of circulating nonstructural protein NS1: Implications for early diagnosis and serotyping of dengue virus infections. *J Clin Microbiol.*, 44, 2872-2878, 2006
- 2) 国立感染症研究所感染症疫学センター：デング熱・デング出血熱 2011～2014年、病原微生物検出情報、Vol.36 No. 3, 2015
- 3) Moi ML, Omatsu T, Tajima S, *et al.* : Detection of dengue virus nonstructural protein 1 (NS1) by using ELISA as a useful laboratory diagnostic method for dengue virus infection of international travelers. *J Travel Med.*, 20:185-193, 2013

表 8 検査法による結果

No.	病日	抗原検査		抗体検査		
		PCR	IC (NS1)	ELISA (IgM)	IC (IgM)	
A	2	+	(1 型) *	+	—	—
B	4	+	(2 型)	+	—	—
C	4	+	(3 型)	+	—	—
D	6	+	(1 型)	+	+	+
E	6	+	(2 型)	+	+	+
F	6	—	+	+	+	+
G	6	+	(1 型)	+	—	—
H	6	—	+	+	+	+
I	6	—	+	+	+	+
J	6	+	(2 型)	+	+	+
K	6	+	(3 型)	+	—	—
L	7	—	—	+	—	—
M	7	—	—	+	+	+
N	7	+	(3 型)	+	+	+
O	8	+	(2 型)	—	+	—
P	9	—	—	+	—	—
Q	9	—	+	+	+	+
R	11	—	+	+	+	+
S	22	—	—	+	+	+
計		10	14	14	11	

* () 内はデングウイルスの遺伝子型を示す