

新型コロナウイルス感染症疑い検体における 他の呼吸器ウイルス検出状況について

高橋美帆・小和田和誠・坂井伸成・永田暁洋・岩崎理美・横山孝治・東方美保

Detection of Other Respiratory Viruses in Suspected COVID-19 Specimens

Miho TAKAHASHI, Kazuaki KOWADA, Nobushige SAKAI,
Akihiro NAGATA, Satomi IWASAKI, Koji YOKOYAMA, Miho TOHO

1. はじめに

2019年12月に中国武漢市を中心に流行が広がった新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、現在も変異を繰り返しながら流行を繰り返している。2020年1月28日に日本では指定感染症に定められ、全数届出対象疾患とされた。福井県衛生環境研究センター（以下、「当センター」）においても、COVID-19疑い検体が初めて搬入された2020年2月17日から新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の検査を実施してきた。2022年3月31日時点で4,485件の陽性を確認しているが、発熱や呼吸器疾患様症状を呈しているにもかかわらず陰性と判定された患者検体は数多く存在していた。また、人々の感染予防対策の徹底や軽症者の受診控え、重い呼吸器症状を呈した患者の多くがCOVID-19疑い例となったために、当センターに搬入されたインフルエンザやインフルエンザ様疾患の検体は著しく減少した^{1,2)}。そのため、コロナ禍における県内のCOVID-19以外の呼吸器感染症の流行状況は不明瞭であった。

COVID-19が疑われた患者の中に他の呼吸器感染症ウイルスによる患者が紛れ込む可能性が考えられたため、発熱や呼吸器疾患様症状を呈しているが、2020年2月から2022年3月までに当センターで実施したSARS-CoV-2遺伝子検査では陰性となった検体について、代表的な呼吸器ウイルスの検出を試みたので報告する。また、同期間中の感染症発生動向調査事業において、本県で報告された呼吸器感染症の検出状況と比較をしたので併せて報告する。

2. 方法

2.1 検査対象

2020年2月17日から2022年3月21日までに、COVID-19疑いとして採取された唾液もしくは鼻咽頭拭い液検体のうち、SARS-CoV-2遺伝子検査が陰性かつ肺炎症状を呈した患者もしくは発熱、鼻症状、喉症状、頭痛、倦怠感のうち2つ以上の症状を呈した患者の検体を対象とした。また、疫学情報から同居と推測された患者の検体は、代表として1検体を選択した。さらに、COVID-19の流行状況によって搬入検体数や陰性検体数の変動が大きかったため、毎月の上限を45検体とした。計561例の検体を供試した。年別の検体数は、2020年は362検体、2021年は147検体、2022年は52検体であった。

感染症発生動向調査事業においては、2020年2月4日から2022年3月31日までに、インフルエンザまたはインフルエンザ様疾患疑いとして採取された鼻咽頭拭い液、

63検体を供試した。年別の検体数は、2020年は32検体、2021年は27検体、2022年は4検体であった。

2.2 対象ウイルス

A, B型インフルエンザウイルス（FluA型、FluB型）、AH1pdm インフルエンザウイルス（Flu A(H1N1)pdm）、RSウイルス（RSV）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）、ライノウイルス（HRV）、パレコウイルス（HPeV）、ヒトボカウイルス（HBoV）、アデノウイルス（HAdV）、パラインフルエンザウイルス1~4型（HPIV1~4型）、エンテロウイルス（EV）、コロナウイルス（HCoV）229E・OC43・NL63・HKU1の18種類を対象とした。

また、発生動向調査事業においてはFlu4種（AH1pdm、AH3、B型山形系統、B型ビクトリア系統）、RSV、HMPV、HBoV、HRV/EV、HAdV、HPIV1~4型、HCoV4種（229E、OC43、NL63、HKU1）を対象とした。

2.3 検査方法

検査はMalhotraらの方法³⁾に従い、マルチプレックスリアルタイムRT-PCR法で行った。

発生動向調査事業においては、Fluの検出は国立感染症研究所のマニュアル⁴⁾に従い、リアルタイムRT-PCR法で行った。またRSVおよびHCoV4種は既報⁵⁾に従い、それ以外のウイルスについては国立感染症研究所のマニュアル⁶⁻¹⁰⁾に従い、RT-PCR法で検査を実施した。

3. 結果および考察

3.1 供試検体の年代別割合

供試検体の患者年齢は0歳2か月から98歳までの幅広い年齢層（中央値：39歳）であり、10歳未満の検体数が52検体（9%）、10代が53検体（9%）、20代が94検体（17%）、30代が89検体（16%）、40代が68検体（12%）、50代が62検体（11%）、60代が59検体（11%）、70代が38検体（7%）、80代以上が46検体（8%）であった（図1）。成人の検体は全検体の8割以上を占めていた。

3.2 呼吸器感染症ウイルスの検出結果

供試した561検体のうち、82検体から13種のウイルスが検出され、検出率は14.6%であった。HRVは25例（検出率：4.5%）、HPIVは15例（2.7%）検出され、その内訳は2型が1例、3型が10例、4型が4例であった。HMPVは11例（2.0%）、HCoVは11例（2.0%）で、その内訳は、NL63が2例、OC43が9例であった。HAdVは10例（1.8%）、HBoVは9例（1.6%）、

RSVは3例(0.5%)、FluとEVは2例ずつ(0.4%)検出され、FluはどちらもB型(ビクトリア系統)であった(表1)。また、重複感染例が5例あり、その内訳は、HPIV2型とHMPV、HCoV OC43とHCoV NL63とHAdV、HAdVとHBoV、HAdVとRSV、HAdVとHPIV3型であった。

年代別検出率は、10歳未満の小児や10代において高く、20代および50代以上で低い傾向がみられた(表2)。

多検体(n>5)から検出されたウイルスについて、患者の年齢層で比較すると、HRVやHMPVは10歳未満から80代まで幅広い年齢層で検出されていた。一方で、HPIVやHAdVは10歳未満から40代で検出され、50代以上の検出はなかった。また、HMPVやHRV、HPIV、HAdVの年代別検出率は成人が半数以上の割合を占めていた(図2)。HMPVでは11症例中5症例において肺炎等の下気道症状がみられ、その年代内訳は10歳未満、30代、40代、70代、80代に1症例ずつであった。

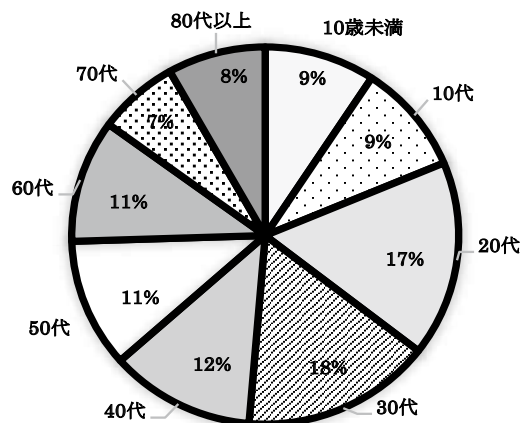


図1 供試検体の患者年代別割合

表1 検体採取月別・ウイルス別検出結果

検体採取月	対象検体数	検出数	検出ウイルス内訳									
			Flu	RSV	HMPV	HRV	HPIV	HPeV	HBoV	HAdV	EV	HCoV
2020年 2月	24	11	1	1	4	1	-	-	-	1	-	3
3月	42	11	1	-	4	1	2	-	2	-	-	2
4月	45	5	-	-	3	-	-	-	-	1	-	3
5月	45	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
6月	39	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7月	39	3	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-
8月	41	4	-	-	-	3	-	-	-	1	-	-
9月	34	4	-	-	-	3	-	-	-	1	-	-
10月	32	5	-	-	-	4	-	-	-	-	1	-
11月	15	4	-	-	-	3	-	-	-	-	1	-
12月	6	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2021年 1月	6	1	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
2月	5	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
3月	3	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
4月	8	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5月	22	4	-	-	-	-	-	-	2	1	-	1
6月	10	4	-	1	-	-	1	-	1	3	-	-
7月	22	10	-	1	-	-	9	-	-	-	-	-
8月	19	3	-	-	-	2	1	-	-	1	-	-
9月	25	4	-	-	-	2	1	-	-	1	-	-
10月	16	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11月	8	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
12月	3	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2022年 1月	21	3	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-
2月	15	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3月	16	2	-	-	-	-	-	-	1	-	-	1
計	561	82	2	3	11	25	15	0	9	10	2	11

※2020年3月1例(HPIVとHMPV)、4月1例(2種類のHCoVとHAdV)、2021年6月2例(HAdVとHBoV、HAdVとRSV)、8月1例(HPIVとHAdV)の重複感染例を含む

※検出型内訳 Flu:B型(ビクトリア系統)2例、HPIV:2型1例3型10例4型4例、HCoV:NL632例OC439例

表2 年代別検出率

	10歳未満	10代	20代	30代	40代	50代	60代	70代	80代以上	全体
対象数(例)	52	53	94	89	68	62	59	38	46	561
検出数(例)	23	12	7	17	9	6	2	4	2	82
検出率(%)	44.2	22.6	7.4	19.1	13.2	9.7	3.4	10.5	4.3	14.6

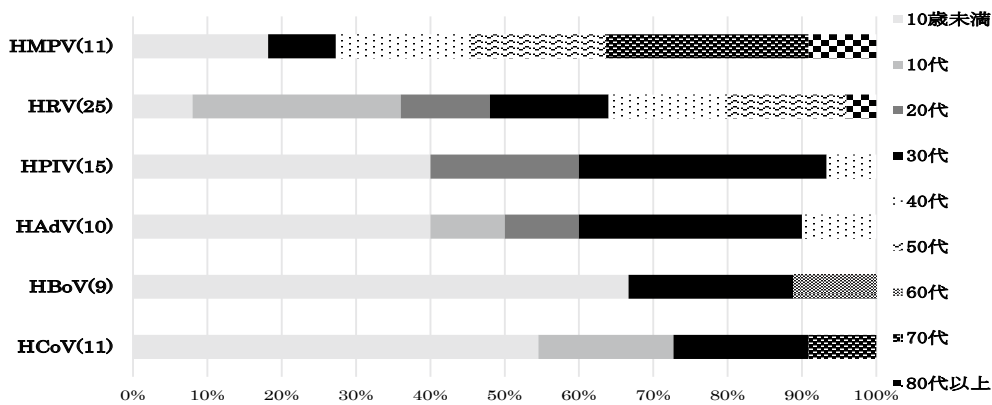


図2 検出ウイルス別患者年代内

3. 3 感染症発生動向調査事業における呼吸器感染症ウイルスの検出状況

2020年2月から2022年3月までの間に、インフルエンザまたはインフルエンザ様疾患疑いで当センターに搬入された検体は63検体あり、そのうち45検体において呼吸器感染症ウイルスが検出された。患者の年齢は、0歳4か月から44歳までで、主に小児（中央値：3歳）であった（図3）。検出された呼吸器ウイルスは、HRVが12例（検出率：19.0%）、FluBとRSVが9例ずつ（14.3%）、HPIVが8例（12.7%）、Flu A(H1N1)pdmが6例（9.5%）、HAdVとHBoVが2例（3.2%）、HMPVが1例（1.6%）であり、FluBは全てB型（ビクトリア系統）、HPIVは全て3型であった。また、重複感染例は5例あり、その内訳は、RSVとHMPV、RSVとHPIV3型、RSVとHBoVが1例ずつ、RSVとHRVが2例であった。

検出されたウイルスについて検体採取月別にまとめた結果、インフルエンザウイルスは2020年3月の検出を最後に、2022年3月まで一度も検出されなかった。一方で、HRVは年間を通して様々な時期に検出されており、RSV A/BやHPIV3型は2021年6-8月の期間に複数の検出がみられた（図4）。

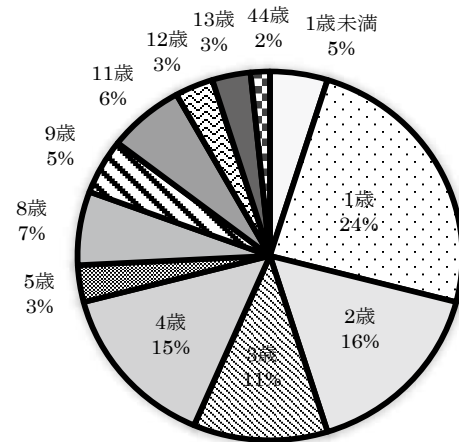


図3 感染症発生動向調査検体の患者年代別割合

(検出数)

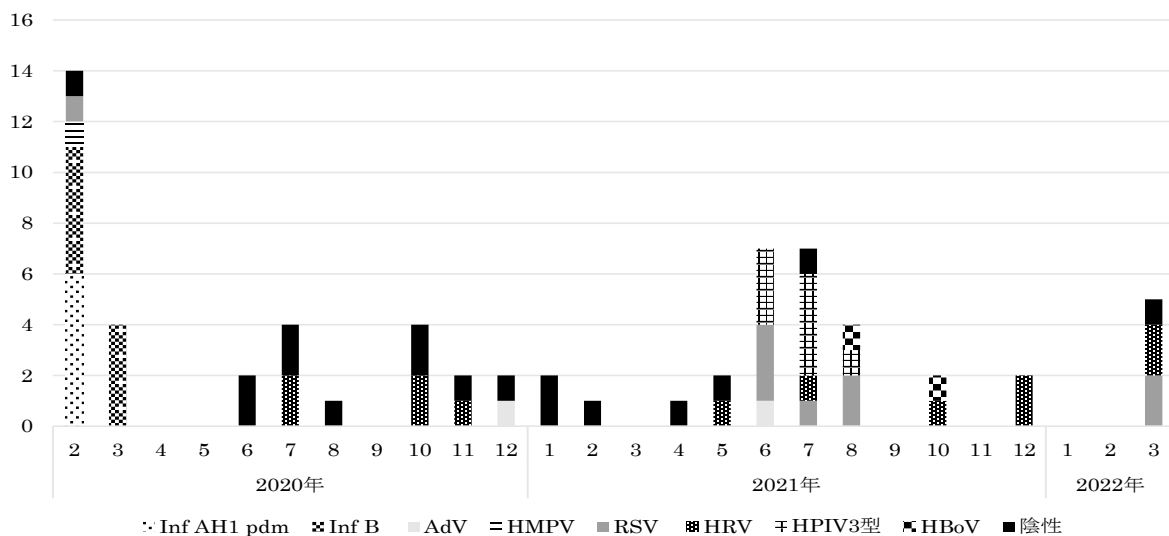


図4 感染症発生動向調査事業における検体採取月別の呼吸器ウイルスの検出状況

3. 4 考察

3. 4. 1 調査対象期間中の呼吸器感染症ウイルスの検出状況等

8割以上の成人検体を含む供試検体から検出された82検体のうち、主流を占めていたのは、HRVやHPIV、HMPV、HCoVであった。一方で、9割以上の小児検体を含む感染症発生動向調査での主流はHRVやRSV、HPIVであった。なおHRVは、コロナ禍以前と比べ検出数は減少したが、季節を問わずに検出されていた。

HPIV3型に着目すると、2021年の7月から8月にかけて、供試検体から10検体検出され、半数は5歳以下の検体で、その発症日は6月末から7月上旬に集中していた。感染症発生動向調査においても、同年6月中旬から8月中旬にかけて2歳以下の検体からHPIV3型が8検体検出されたことから、こども園等での集団感染が起きていた可能性が考えられる。同様にRSVについても感染症発生動向調査では2021年の6月から8月に6検体、供試検体では同年6月から7月にかけて2検体検出され、計8検体中7検体が10代以下の検体であり、小児における流行の可能性が考えられた。また、成人における検出状況を見ると、HPIV3型は7月の中旬ごろから検出されていること、RSVの唯一の成人症例については孫の先行発症を確認できていることから、小児の流行が先行して、成人への流行に繋がる可能性が考えられた。森川らの報告¹⁴⁾においても、HPIV3型とRSVの成人の流行は、小児の流行に先行して検出する結果ではなかったと報告されている。感染症発生動向調査における全国状況では、2021年の5-8月にRSVの検出¹²⁾および6-7月にHPIV3型の検出¹³⁾が集中していたことが報告されている。

3. 4. 2 調査対象期間中に検出されたウイルスと不検出であったウイルスの特徴

インフルエンザウイルスやHMPVはCOVID-19が流行し始めた2020年2月から4月の検体からは検出されたが、5月以降の検体からは検出されなかった。これは、COVID-19の流行により、マスクの着用やアルコール等による手指消毒、人との物理的距離をとることなどの予防策が徹底されたこと、海外からの感染者の流入を抑えるための厳しい措置を実施されたことなどが、呼吸器感染症ウイルスの流行抑制に寄与したことに起因すると推察される。一方で、コロナ禍においても複数検出がみられたHRVやHAdVなどはいずれもエンベロープを持たないウイルスで、アルコール消毒に対して抵抗性を持つため、厳しい感染予防策が実施されている中でも一定程度検出されたのではないかと推測している。加えて、全国における感染症発生動向調査の結果では、特に厳しい感染対策が行われた2020年において、他の呼吸器ウイルスがほとんど検出されていない中、HRVとHAdVは一定の検出があり、同様の傾向であったことが示唆された^{14,15)}。また、2021年に小児での流行が認められたHPIV3型やRSV A/Bは2020年では同ウイルスの流行が抑制していた^{16,17)}ことから感受性者が多く、加えてマスクの着用や手指消毒の徹底が難しい年齢のため、感染が引き起こされ流行に繋がったのではないかと推測している。

3. 4. 3 呼吸器感染症ウイルスに罹患した患者の年代的特徴

年代別検出率の結果に着目すると、10歳未満や10代の

検出率が非常に高いことがわかる。呼吸器感染症を引き起こすウイルスのほとんどが乳幼児時期に1度は罹患すると考えられており、成長と共に免疫を獲得していき症状が軽くなっていく。そのために検出率は乳幼児の時期に高くなる傾向にある¹⁸⁾。一方で成人の呼吸器感染症については小児と比べて疫学や臨床像など未だ明らかになっていないことが多い。Brancheらの報告¹⁹⁾によると、高齢者ではウイルス排出量自体が小児に比べ少ないと報告されており、本研究においても高齢者での検出率の低値の一因になった可能性が考えられる。また、ウイルス別に患者年齢層をみると、10代未満の小児が感染の主体となっているウイルスが複数あるが、HRVやHMPVでは成人でも多数検出されており、HMPVでは肺炎等の下気道症状がみられた患者は1-2歳の乳幼児にとどまらず、30-40代や70-80代でも肺炎を引き起こしていたことが本研究で明らかになった。HMPVは乳幼児や高齢者では下気道感染症となるが、年長児や健康成人では上気道感染症が主とされ、成人への肺炎症例は稀であると考えられていたが、本研究では比較的若い30代、40代の成人においても肺炎症状を引き起こしていたことが明らかになり、成人において注視していく必要がある呼吸器ウイルスの一つであることが示唆された。また、呼吸器感染症ウイルスの多くが、免疫不全の患者やCOPD等の肺疾患や心疾患をもつ高齢者で重症化を引き起こし、慢性疾患の増悪に繋がった例も多数報告されている²⁰⁾。健康な成人においても、米空軍内でHAdV14型による大規模なアウトブレイク²⁰⁾が起り得たことから、いまや呼吸器感染症ウイルスは小児のみの注視にとどまることなく、リスク因子を抱える人や高齢者にも重点を置く必要があると考えられる。

4. まとめ

本研究において、県内のCOVID-19流行期における他の呼吸器感染症ウイルスの動向が明らかになった。コロナ禍において複数検出が認められたウイルスはアルコールに対し抵抗性をもつウイルスが多く、呼吸器感染症の予防には場所を選ばずに使用できるアルコール消毒に加え、手洗いの重要性があらためて確認された。また、県内での成人における呼吸器感染症の実態把握に繋がるまたとない機会になり、HMPV A/Bが成人において注視していくべきウイルスの一つであることが明らかになった。2023年3月13日からマスクの着用が個人の判断に委ねられ、同年5月8日にCOVID-19は2類相当から5類感染症へと位置づけが移行したことにより、コロナ禍以前の生活様式に戻りつつある。そのため、今まで流行が見られなかったウイルスについても感受性者の増加が考えられることから、大流行となる可能性がある。保育園や幼稚園、老健施設等でのアウトブレイクに繋がる恐れもあることから、今後も呼吸器感染症ウイルスについての動態把握が重要と考えられる。

謝辞

検体の採取および搬入、情報提供等に御協力いただきました健康福祉センターおよび医療機関の皆様へ深謝いたします。

参考文献

- 1) 感染症発生動向調査ウイルス検査結果（患者数），福井県衛生環境研究センター年報, **19**, 14(2020)
- 2) 感染症発生動向調査ウイルス検査結果（患者数），福井県衛生環境研究センター年報, **20**, 16(2021)
- 3) Malhotra B, Swamy MA, Reddy PV, et al.:Evaluation of custom multiplex real-time RT-PCR in comparison to fast-track diagnostics respiratory 21 pathogens kit for detection of multiple respiratory viruses, *Virology Journal*, **13**(2016)
- 4) 国立感染症研究所：インフルエンザウイルス診断マニュアル（第4版），25-28(2018)
- 5) 五十嵐映子 他：福井県におけるコロナウイルスの検出, 福井県衛生環境研究センター年報, **16**, 50-52 (2017)
- 6) 国立感染症研究所：ヒトメタニューモウイルス, 18-24(2008)
- 7) 国立感染症研究所：ボカウイルス検査マニュアル, 4-8(2009)
- 8) 国立感染症研究所：ライノウイルス検査マニュアル, 14-21(2009)
- 9) 国立感染症研究所：咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査、診断マニュアル（第3版），16-20(2018)
- 10) 国立感染症研究所：パラインフルエンザウイルス検査マニュアル, 8-21(2009)
- 11) 森川佐依子 他：SARS-CoV-2 陰性検体からの呼吸器ウイルスの検出-COVID-19 流行時の呼吸器ウイルスの動向 2020 および 2021 年度-, 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所年報, **6**, 37-43(2022)
- 12) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別診断名別 Respiratory syncytial virus 分離・検出報告数, 2021&2022 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2022/data2022101j.pdf>
- 13) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別診断名別 Parainfluenza virus 3 分離・検出報告数, 2021&2022 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2022/data2022105j.pdf>
- 14) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別病原体別下気道炎由来ウイルス, 2020&2021 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2021/data2021119j.pdf>
- 15) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別病原体別上気道炎由来ウイルス, 2020&2021 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2021/data2021121j.pdf>
- 16) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別診断名別 Respiratory syncytial virus 分離・検出報告数, 2020&2021 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2021/data2021101j.pdf>
- 17) 国立感染症研究所感染症疫学センター：週別診断名別 Parainfluenza virus 3 分離・検出報告数, 2020&2021 年
<https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/arc/ot/2021/data2021105j.pdf>
- 18) Li ZJ, Zhang HY, Ren LL, et al. :Etiological and epidemiological features of acute respiratory infections in China, *Nature Communications*, **12**(2021)
- 19) Branche AR, Walsh EE, Formica MA, et al.: Detection of respiratory viruses in sputum from adults by use of automated multiplex PCR, *Journal of Clinical Microbiology*, **52**, 3590-3596(2014)
- 20) Walter JM, Wunderink RG.: Severe Respiratory Viral Infections: New Evidence and Changing Paradigms, *Infectious Disease Clinics of North America*, **31**, 455-474(2017)