

短報

結核集団感染事例における クオンティフェロン[®]TB-2Gと 結核分離菌株の遺伝子型別

高橋智恵子¹, 近内美乃里², 大屋日登美¹,
渡辺祐子¹, 岡崎則男¹

Use of QuantiFERON[®] TB-2G and Molecular Typing of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates in Tuberculosis Outbreak

Chieko TAKAHASHI¹, Minori KONNAI²,
Hitomi OHYA¹, Yuko WATANABE¹
and Norio OKAZAKI¹

はじめに

わが国における結核患者は年々減少傾向をたどっているが、結核に対する免疫保有率が低下しているため、ひとたび患者が発生すると、集団感染を起し易くなっている。集団感染発生時には、感染範囲を把握し、その拡大を防止する目的で、接触者健診の中で感染者を見つける結核菌特異抗原刺激全血インターフェロン γ 測定(QFT)検査等が実施されている。また、同一菌による感染であることを証明するため、分離結核菌の遺伝子型別が必要となる。

今回我々は、県域で発生した2事例の結核集団感染事例について報告する。

事例概要

1. 職場内感染事例

初発患者は50歳代後半の男性で、2005年6月に職場健診のX線所見から精密検査を勧められ、その頃から咳嗽の症状がみられたがそのまま放置した。約1年後に医療機関を受診し、塗抹検査はG9、PCR検査は陽性で、結核と診断され入院となり、接触者健診が、初発患者の家族および同じ階で働く職場同僚に対して

実施された。職場同僚の接触者健診は、結核感染を疑う例は見られなかった。しかし、4ヶ月後初発患者との接点がほとんど無いと判断され、当初の接触者健診の対象外であった職場同僚から1人目の結核患者が発生し、さらに、1ヶ月後に2人目の患者が発生した。そこで、改めて職場同僚全員を対象とした接触者健診が実施された。

2. 病院内感染事例

県内某病院(310病床、高齢者の長期入院患者が多い)で、2004年~2007年までの4年間に6名の入院患者が結核を発症し、ついで2008年には2名の入院患者が同時期に発症した。病院は院内感染を疑い対策委員会を設置し、入院患者(退院患者も含む)および医療従事者等425名の接触者健診を実施した。QFT検査は院内感染疑いのため病院が民間検査機関で実施し、QFT検査結果(412名)は、陽性64名、判定保留42名、陰性301名、判定不能5名であった。

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(感染症法)第12条第1項に基づく届出¹⁾により結核医療の必要がある潜在性結核感染症を無症状病原体保有者として届けることとなった。本事例が、集団感染として2008年9月厚労省に報告された時点の潜在性結核感染症患者は46名の届出であったが、その後、93名に増加し、治療としての投薬が実施された。健診により7名の要精検者がみつきり、その中から1名が発症し、合計9名の患者が発生した。

方 法

1. QFT 検査

接触者健診で結核感染を疑う被験者より採血し、クオンティフェロン[®]TB-2G(日本ビーシージーサプライ)を用いて所定の方法²⁾に従い実施した。職場内感染事例のQFT検査を家族3名および職場同僚52名について実施した。

2. 遺伝子型別

患者から分離された結核菌株を供試し、Variable Numbers of Tandem Repeats(VNTR)法およびRestriction Fragment Length Polymorphism(RFLP)法による遺伝子型別を実施した。供試菌株は、職場内感染事例の2株および院内感染事例の6株を用いた。

VNTR法による遺伝子解析は、結核菌のDNA抽出をインスタジーンマトリックス(バイオラッド)を用いて行い、解析領域はETRの6領域(A, B, C, D, E, F)、MIRUの10領域(2, 10, 16, 20, 23, 24, 26, 27, 39, 40)および追加解析領域としてMtub21, Mtub31, QUB11a, QUB11b, QUB18, VNTR3232,

1 神奈川県衛生研究所 微生物部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1
chieko.vvme@pref.kanagawa.jp

2 企画情報部

VNTR4156c の 7 領域を加えた計23領域とした³⁾。各領域を PCR 増幅後、増幅産物のアガロースゲル電気泳動を行い、産物サイズの大きさから繰り返し塩基の反復数を求めた⁴⁾。

RFLP 法による遺伝子解析は結核菌の DNA 抽出をアイソプラント (ニッポンジーン) で行い、その後の操作は既法⁵⁾に従った。結核菌 DNA を制限酵素 *Pvu* II で消化後、アガロースゲル電気泳動、ナイロンメンブレンへの転写および UV 固定を行った後、ハイブリダイゼーションを実施した。DNA 断片の検出には IS6110プローブを用いた。

結果および考察

1. 職場内感染事例

1-1 QFT 検査

初発患者の家族3名の QFT 検査結果は、陽性1名、判定保留2名で、初感染結核として取り扱い予防内服 (2006年当時) が実施された。初回の職場同僚の接触者健診 (17名) については、結核感染を疑う例は見られなかったため、QFT 検査は行わなかった。しかし、その後、2名の続発患者が発生した。そこで、改めて職場同僚全員 (52名: 24~61歳) を対象とした接触者健診を実施し、ツベルクリン反応 (ツ反) 最大発赤径が30mm 以上、硬結や2重発赤を指標とし、接触度合いも条件に、16名について QFT 検査を実施した。その結果、陽性4名、判定保留3名、陰性9名であった。陽性率が高かったため、残り36名についても検査し、陽性4名、判定保留2名、陰性30名となり、合計では陽性8名 (35~61歳)、判定保留5名 (50~57歳)、陰性39名であった。

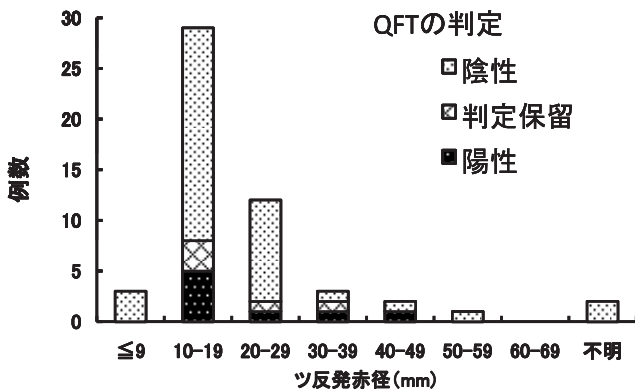


図1 事例1における QFT とツ反発赤径

ツ反発赤径と QFT 検査結果を比較してみると (図1)、従来のツ反の判定では予防内服の対象となるツ反発赤径30mm 以上を示した6名の内3名が QFT 陰

性であった。これらのツ反発赤径30mm 以上 QFT 陰性例は BCG 接種の影響を受けていると判断され不要の予防内服を防ぐことができた。ツ反は BCG 接種の影響を受けるため、結核の感染を正確に反映していないことを示すものと思われる。一方で、ツ反発赤径29mm 以下を示した44名の内 QFT 陽性6名、判定保留4名が含まれており、結核感染を疑うと判定され、ツ反では見逃された予防内服対象者を発見することができた。しかし、QFT 陽性および判定保留であった13名の内9名が50歳以上であり、過去の感染をみている可能性も否定できないが、中高齢者であっても結核発病の高危険因子 (免疫抑制剤使用・糖尿病など) を有する場合は QFT 検査を行い、陽性を示し予防内服となる場合は症状や画像所見の有無等を考慮し総合的に判定する必要があると思われた。今回の事例では、QFT 陽性率が高く、続発患者も発生したことから、QFT 陽性者および判定保留者 (13名) のうち承諾が得られた12名に予防内服が行われた。

感染症法に基づく結核接触者健康診断の手引き (改訂第3版)⁶⁾によると、接触者健診の対象集団が大きい場合はツ反の発赤径20mm 以上の人に QFT 検査を実施し、QFT 陽性率が明らかに高い場合には10mm 以上に枠を拡大して行う方式も考えるべきと記載されている。今回の事例ではツ反が10mm 未満には QFT 陽性者はみられなかった。

1-2 遺伝子型別

初発患者と続発した患者2名の内の1名から分離された結核菌2株について、VNTR 法および RFLP 法による遺伝子型別を実施し、それぞれの解析パターンは一致したため (図2)、同一結核菌による感染であることが確認できた。この結果より、集団感染であることが判明し、厚生労働省に報告された。

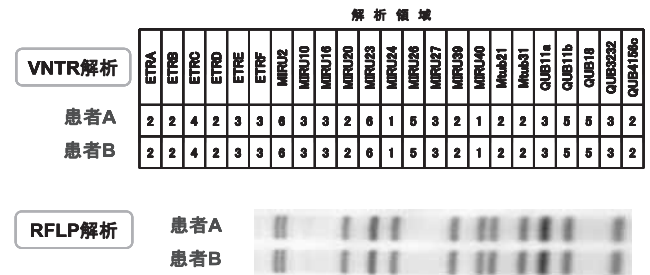


図2 事例1における分離結核菌 (2株) の遺伝子型別結果

続発患者は、当初の健診時には初発患者との接触度合いが低かったことから、対象外となっていたが、初発患者は発症してから長期間治療していなかったこと、

家族全員が予防内服になったことなどを考え合わせると、他にも発見されていない隠れた感染経路がある可能性が考えられた。

2. 病院内感染事例

遺伝子型別

結核を発症した9名のうち、6名から分離された結核菌株について、VNTR法およびRFLP法による遺伝子型別を実施した。その結果、VNTR法では、23解析領域の全ての反復数が一致した。RFLP法での解析パターンは、患者C、E、FおよびG由来の株は同一パターンを示したが、患者DおよびH由来の2株においてバンド1本の違いがみられた(図3)。RFLP法はVNTR法に比べ安定性が低く、短時間でバンドに変異が見られる⁷⁾ため、この2株のRFLP法での1本のバンドの違いは変異によるものと考えられた。この病院は高齢者が多く入院しており、遺伝子型別を行った6名(59~74歳)も中高齢者であり、過去の感染による再発(再燃)ではないかと考えられたが、VNTR法の遺伝子型別により、6名は、同一結核菌による感染であることが確認された。

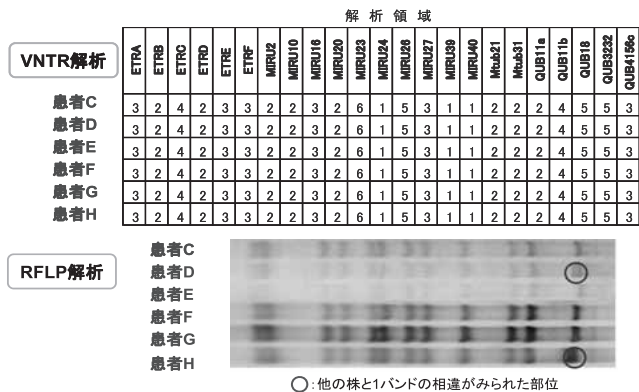


図3 事例2における分離結核菌(6株)の遺伝子型別結果

今回の2事例における患者は、それぞれVNTR法での解析により同一菌による感染であると判断された。一般的にRFLP法はVNTR法に比べ型別能が高い⁸⁾が、変異する時間が速くVNTR法に比べて安定性が低い。加えて、VNTR法は結果が数値化されるので、データベース作成にはVNTR法がRFLP法より有用であると思われた。

結核集団感染事例においては結核感染の広がりや感染経路を迅速かつ正確に把握することが重要で、そのためには、保健福祉事務所、病院および健康増進課など関係機関との密接な連携を図りながら、より効率的な接触者健診を進める必要がある。当所では、迅速・

簡便な遺伝子型別法であるVNTR法を早くから導入し、従来法のRFLP法と比較しながら、型別精度の向上を図ってきた。既に、いくつかの結核感染事例においてVNTR法を利用している。

今後、結核感染事例の接触者健診におけるQFT検査および感染症法で定める積極的疫学調査に基づく結核菌分離株の遺伝子型別を積極的に進める必要があると思われる。その中で、結核感染の実態を迅速かつ正確に把握して、感染拡大を防止し、さらに、結核菌遺伝子型のデータベース構築により、地域における結核伝播状況の把握および隠れた感染経路の発見も可能になるとと思われる。

謝 辞

今回の調査にあたり、ご協力いただきました県健康増進課および関係保健福祉事務所保健予防課の方々に深謝します。

(平成21年8月11日受理)

参考文献

- 1) 日本結核病学会予防委員会：クオンティフェロン[®] TB-2Gの使用指針，結核，81，393-397(2006)
- 2) 高橋智恵子，富岡敏昭，綿貫祐司，西森 敬，岡崎則男：VNTR法を利用した結核菌の遺伝子型別，神奈川衛研報告，36，4-7(2006)
- 3) 西森 敬，内田郁夫，田中 聖，西森知子，今井邦俊，柏崎佳人ほか：VNTR(Variable Number of Tandem Repeats)型別による結核菌群及び鳥型結核菌の分子疫学的解析マニュアル，動衛研研究報告，109，25-32(2003)
- 4) Takahashi, M., Y. Kazumi, Y. Fukasawa, K. Hirano, T. Mori, W. Dale et al.: Restriction fragment length polymorphism analysis of epidemiologically related *Mycobacterium tuberculosis* isolates, Microbiol. Immunol., 37, 289-294 (1993)
- 5) 石川信克：感染症法に基づく結核の接触者健康診断の手引き，改訂第3版，pp. 11-13，東京(2008)
- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知：感染症法の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律第12条第1項に基づく届出の基準等の一部改正について，平成19年6月7日付け健感発第0308001号
- 7) 森 亨：地域分子疫学の結核対策への応用，資料と展望，51，45-57(2004)
- 8) 高橋光良：結核症の分子疫学，呼吸器科，7，76-94(2005)