

**今週の話題：**

<A型インフルエンザウイルス亜型検出のためのポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プロトコルに関するWHOワーキンググループの会議—2010年6月、ジェノバ>

A型インフルエンザウイルス亜型検出のためのポリメラーゼ連鎖反応（PCR）プロトコルに関するWHOワーキンググループは、2010年6月に第三回会議を開催した。本会議の目的は、調査活動、研究室の外部精度評価、A型インフルエンザに対する抗ウイルス抵抗性とヒト血清研究の他に、プロトコルの情報更新、PCRテストキットの供給、および新しい診断方法について討議することであった。

**\* プロトコル、プライマー・プローブキット、診断技術の更新：**

新PCRプロトコルは米国疾病管理予防センター（以下CDC）で使用されているものである。キットはリアルタイム逆転写PCR（RT-PCR）法を利用してウイルスを検出・特定できるものである。5ターゲットキットは、ユニバーサルA型インフルエンザ、B型インフルエンザ、季節性（A）H1型ヒトインフルエンザ、（A）H3型ヒトインフルエンザ、（A）H5型アジアトリインフルエンザ（2キット）、およびヒトRNasePなど7つのプライマー・プローブセットを含む。陽性対照キットはヒト季節性インフルエンザコントロールと、（A）H5N1型トリインフルエンザコントロールで構成されている。キットが導入されて以来、抗体分析は、2009年パンデミックインフルエンザウイルスA（H1N1）型に対する感度、特異度が改善されてきた。そして最新パネルは、上気道検査サンプルに対して96%超の感度、96%超の特異度を有している。

2010年から2011年の間、CDCは、RT-PCRキットと改良されたコントロール試薬を国立インフルエンザセンターに無償提供し続ける。他の数施設は、インフルエンザウイルスの分子生物学的検出のために、コントロール試薬を提供する予定である。

ヒトにおけるパンデミックA（H1N1）型ウイルス2009の検査室診断に関するWHO公式文書内に記載されているPCR法は、刷新し簡略化されるべきであり、各プロトコル作成に貢献した施設に対してリンクを設けるべきである。

H5レファレンス研究所からの参加者たちは、遺伝子交雑インフルエンザウイルスを検出するために改良されてきた新しいプロトコルを発表した。

世界インフルエンザ監視ネットワークにおける大多数の研究所では、まず分子生物学的検査を行い、その次にウイルス分離が行われる。国立インフルエンザセンターにおいては、培養を通して診断確認テストを実施できるようにし、亜型分類が不可能なウイルスサンプルは直ちにWHO協力センターに送付すべきである。ウイルス分離の必要性が着目されているのは、循環ウイルスと密接にマッチさせるための、抗原性連続変異のモニタリングや、インフルエンザワクチン組成の更新を行うために、分離ウイルスの抗原性解析が必須であるためである。

インフルエンザ診断のためのRT-PCR技術トレーニングは、無駄な労力を避けるためWHOを通して連係されなければならない。さらに、良い検体収集トレーニングは非常に重要である。

**\* （A）H5N1型、ブタインフルエンザ、および他動物のインフルエンザウイルスの検出分析：**

Network of Expertise on Animal Influenza（動物インフルエンザ専門知識ネットワーク）の代表は、PCR法関連活動を述べた。ブタインフルエンザの検出技術は進歩してきており、妥当性のある方法論のリストも利用可能である。現在、世界インフルエンザ監視ネットワーク内では、各研究所独自のレファレンスウイルスを保存しているため、全ウイルスタイプ、および塩基配列のリストが有用である。（A）H5型ウイルスの塩基配列の多様性を考慮すると、WHOによる（A）H5型RT-PCR検出プロトコルの妥当性の検証、および情報更新を行うためのレファレンスとして、2010Egyptian（A）H5N1ウイルスが利用されるべきであると考えられている。

**\* 外部精度評価プロジェクト：**

A型インフルエンザウイルスのPCR検出に関するWHOによる外部精度評価プロジェクトは、世界のインフルエンザ研究所の検査結果の質、および研究所の診断能力の信頼性を大幅に向上させてきた。精度評価パネルは、核酸抽出の評価が可能な物質（乾燥RNA）を含むものが望ましい。

**\* ウイルス抵抗性の検査：**

ワーキンググループは、インフルエンザノイラミニダーゼ、およびM2を標的とした薬物のウイルス抵抗性を検査するための方法について再検討を行い、分析タイプが解釈に影響を与えることを強調した。ウイルス抵抗性検査のゴールドスタンダードは、表現型分析である。PCR法を含めた遺伝子型分析は、抗ウイルス薬剤感受性の監視のためのスクリーニング法として使用される。

遺伝子型分析のみを使用している研究所は、抵抗性の強い検体をWHO協力センターに持ち込むべきである。それにより、表現型分析を使用した結果を評価することになる。世界インフルエンザ監視ネットワークの研究所によるテスト結果の解釈を支援するため、ガイドラインが必要である。世界インフルエンザ監視ネットワークは、国立インフルエンザセンターのFluNetへの報告の一部として抗ウイルス薬剤感受性に関するデータを報告することを推奨している。

抗ウイルス抵抗性検査に関して、いくつかの実践トレーニングコースが行われてきた。数機関では、2010年・2011年にコースの実施を計画している。

\* (A) H1 型インフルエンザウイルスに対する血清学的応答に関する分析：

2009年パンデミック A (H1N1) 型ウイルス感染に関するヒト血清学研究からのデータ、およびウイルス抗体検出に英国健康保健局と CDC が使用している検査方法について、会議で情報交換を行った。

インフルエンザの検査室診断、およびインフルエンザのウイルス学的監視のための WHO の手引書はほぼ完成しつつあり、近日中に WHO ウェブ上で公開されるように、手引書はできるだけ最新版の検査室プロトコルを用いて電子的に更新されるべきである。

<第 4 回 WHO 西太平洋地域における国立インフルエンザセンター会議、2010 年 5 月>

第 4 回の WHO 西太平洋地域における国立インフルエンザセンター (NIC) 会議が、2010 年 5 月にフィリピンのマニラにて開催された。本会議は、米国疾病管理予防センターのインフルエンザ局の会議と合わせて開催された。

\* 背景：

2010 年 NIC 会議は、西太平洋地域単独で開催された。準備計画、および不測事態時の計画を改良するため、および国内計画を策定できていない国を援助するために、参加者間で、2009 年パンデミックにおける経験の共有を推進した。

2009 年パンデミックは、インフルエンザ監視データのテストおよび解析を担当する研究所において、多大な負担となった。NIC 会議からの勧告では、政府による継続性のある準備計画の必要性、および研究所による不測事態時の計画の必要性が強調された。

パンデミックインフルエンザに加えて、A (H5N1) 型インフルエンザは、ヒトの健康に脅威を与え続け、他のインフルエンザとの遺伝子再集合 (遺伝子交雑) により、新しいウイルスのパンデミックを引き起こす可能性がある。人口密度の高さ、家畜の集合密度の高さは、パンデミックを引き起こすインフルエンザウイルスの感染を容易にしているため、潜在的なパンデミックインフルエンザウイルスの発症原因である。それゆえに、パンデミックに対する準備は継続される必要がある。

\* 目的：

2010 年会議の目的は (i) 保健局によるパンデミック計画および NIC による不測事態時の計画の進展状況やそれらから学んだ教訓の再検討、(ii) インフルエンザの疾病負担研究に関する、進展状況の評価および次のステップの議論、(iii) パンデミックインフルエンザ、季節性インフルエンザに関する新たな研究報告の提供、(iv) インフルエンザワクチンの選択・生成の手順におけるトレーニングの必要性調査およびワクチン計画の作成である。

\* 活動のまとめ：

4 つの全体会議が行われた。議論されたトピックは、2009 年 (H1N1) 型パンデミックウイルス・トリインフルエンザに関する地域および世界の更新情報、研究所および監視施設の増加、2009 年パンデミックの経験である。

ポスターセッションは、NIC が、自国の監視システム開発、および 2009 年 (H1N1) 型パンデミックインフルエンザに焦点をあてた監視結果に関する情報を公開する機会となった。

ワークショップでは、インフルエンザワクチンとワクチン計画の進行状況が議論された。WHO 協力センターの代表も参加し、その役割や NIC の援助方法を議論した。

多くの血清学的研究からの知見が発表された。予防接種基準の予測、ワクチン計画の情報提供、感染者の割合の評価に対する血清学的研究の貢献が明らかにされた。

参加者は、2009 年パンデミックに対する対応を再検討したか否か質問を受けた。15 のうち 14 の国と地域からの参加者が回答した。8 の国と地域は、現在再検討が進行している、もしくはすでに完了したと回答し、残り 6 の国と地域は近い将来に再検討を行う予定であると回答した。

\* まとめと勧告：

参加者は以下の勧告に同意した。

(1) たとえ国、もしくは地域がパンデミックに対応中であっても、パンデミックに対する準備計画は継続されるべきである。パンデミックは長期にわたって引き続くものである。パンデミックが起きている期間中の対応計画の作成・見直しは、パンデミックに対する対応を促進するだろう。国際保健規則 (2005 年) に基づく報告は引き続き行うべきである。

(2) 加盟している機関内および機関の間の協力は推進されるべきである。たとえば、動物保健部門とヒト保健部門の間で、情報や標本を交換するということである。

(3) 必要であれば、自国のパンデミック準備計画を見直すために、加盟している機関は、自国の 2009 年パンデミックに対する対応、および世界的教訓を再検討すべきである。

(4) ウイルス学的監視、およびワクチン改良をタイムリーに支援するため、NIC は代表的なインフル

エンザウイルス、および稀なインフルエンザウイルスの最近の標本を共有すべきである。ウイルス分離能力の育成が推奨される。

(5) NICは迅速に、亜型分類不可能なインフルエンザウイルスをWHO協力センターと共有すべきである。

(6) NICは、NIC内の能力向上に努めることで自国のインフルエンザ監視システム向上を継続し、伝染病学的プログラムの強化を継続することが推奨される。

(堤本広大、平田総一郎、川又敏男)