

感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症 (2014)

松本 文昭、三浦 佳奈、吉川 亮、田栗 利紹

Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases in 2014

Fumiaki MATSUMOTO, Kana MIURA, Akira YOSHIKAWA and Toshitsugu TAGURI

Key word : Surveillance, Dengue fever, SFTS, Japanese spotted fever, Mumps virus

キーワード : サーベイランス、デング熱、重症熱性血小板減少症候群、日本紅斑熱、ムンプスウイルス

はじめに

感染症サーベイランス(発生動向調査)は、1999年4月1日施行された「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」、いわゆる「感染症法」に基づき、県内の患者発生状況、病原体の検索等感染症に関する情報をITの活用により早期かつ的確に把握し、その情報を速やかに地域に還元(情報提供・公開)することにより、医療機関における適切な初期診断を推進することを旨とする。さらに、予防接種、集団生活の管理、衛生教育など、適切な予防措置を講じ、多様な感染症の発生及びまん延の未然防止、有効かつ確かな感染症対策の確立に役立てることを目的としている。¹⁻³⁾

当センターにおいても、「長崎県感染症発生動向調査実施要綱」等に基づき、県内の医療機関からウイルス性の感染症が疑われた患者の検体が適宜採取、搬入されている。

そこで、今年度搬入された検体について、ウイルス分離及びウイルス遺伝子の検索等を試みたので、その概要について報告する。

調査方法

1 検査材料

政令市(長崎市、佐世保市)及び県立保健所管轄の10地域において、長崎県感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき選定された基幹定点医療機関及び病原体定点医療機関または協力医療機関等から採取された検体(咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい

液、糞便(直腸ぬぐい液)、髄液、血液、血清、尿、その他)について、医療機関の最寄りの管轄保健所を通じて搬入された検体を検査材料とした。検査のために搬入された検査材料の内訳は、患者138名より採取された咽頭ぬぐい液26件、鼻腔ぬぐい液78件、糞便2件、髄液1件、血液8件、血清60件、尿8件、その他7件で総数190件であった。

2 検査方法

基本的に、検体の前処理、細胞培養、ウイルス分離・同定・検出等については、既報¹⁻³⁾及び病原体検出マニュアル⁴⁾に準じて実施した。

重症熱性血小板減少症候群(Severe fever with thrombocytopenia syndrome: SFTS)については、2013年3月13日付SFTSウイルス検査マニュアル⁷⁾に準じて遺伝子検出を行い、SFTSウイルス陽性と判定された場合には、確定診断のため感染研へ検体を送付した。リケッチア感染症については、病原体検出マニュアルに準じた遺伝子検査を当センターで実施し、抗体検査については、感染研へ検査を依頼した。

エンテロウイルス感染を疑う疾患については、Nixら⁸⁻⁹⁾の方法によるエンテロウイルス属(Enteroviruses: EVs)を網羅的に検出するPCR(Consensus Degenerate Hybrid Oligonucleotide Primer: CODEHOP VP1 RT-snPCR)を実施した後、増幅が認められたものについて、増幅産物の塩基配列を決定し、Basic Local Alignment Search Tool (BLAST)検索により型別同定等を行なった。

表 1 . 疾病別の被検者数及び兼帯件数内訳 (2014 年度)

疾病名	検査材料 (内訳)									
	被検者数 (人)	検体数 (件)	咽頭 ぬぐい液	鼻腔 ぬぐい液	糞便	髄液	血液	血清	尿	その他
インフルエンザ様疾患	86	88	8	78						2
麻しん	8	23	8				2	7	5	1
風しん	1	3	1					1	1	
デング熱	4	6						6		
SFTS	5	9					3	6		
リケッチア感染症	22	43					3	38		2
無菌性髄膜炎	2	5	1			1		1	1	1
手足口病	2	5	2					1	1	1
ヘルパンギーナ	5	5	5							
下気道炎 (気管支肺炎含む)	1	1	1							
感染性胃腸炎 (ロタウイルス)	2	2			2					
計	138	190	26	78	2	1	8	60	8	7

デング熱については、デングウイルス感染症診断マニュアル¹⁰⁾ に準じて遺伝子検出を行い、感染研より配布された NS1 抗原検出キットを用いて抗原検査を実施した。下気道炎 (気管支肺炎含む)¹¹⁾ については、RS ウイルス検出マニュアルに準じて遺伝子検出を行った。感染性胃腸炎 (ロタウイルス) については、ロタウイルスの検出法¹²⁾ に準じて遺伝子検出を行った。

調査結果及び考察

表 1 に疾病別の被検者数及び検体件数の内訳を示す。

1 インフルエンザ様疾患

検査した患者 138 名のうちで、最多疾病はインフルエンザ様疾患の 86 名 (88 検体) であった。PCR により陽性と判定した結果の内訳は、A/香港型 (H3N2) が 60 件 (68.2%) と半数以上を占め、B 型が 11 件 (12.5%)、A/H1pdm09 型が 6 件 (6.8%) と続き、残る 11 件 (12.5%) からはインフルエンザウイルスの遺伝子は検出されなかった。2009 年以降の A/H1pdm09 型の流行が認められた 2013 年とは異なり、2014 年は 2011 年、2012 年と同様に

A/香港型 (H3N2) が流行の主流であった。年度当初 (2013/2014 シーズン後半) は、A/H1pdm09 型が混在して検出されたが、2014/2015 シーズンに入ってからからは、A/香港型が大勢を占めた。長崎県における今シーズンのインフルエンザの流行は、2014 年第 44 週 (10/27~11/2) から急激に報告数が増加し、第 45 週 (11/3~9) には国の流行入りの目安となる定点あたり 1.00 人を超えた。翌週には、患者数が一旦減少したものの、第 47 週 (11/17~23) には再び 1.00 人を超え、これ以降本格的な流行が始まり、第 4 週 (1/19~25) にピーク (定点当たり報告数 57.6 人、患者報告数 4,035 人) を迎えた。全国的な流行入りは 2014 年第 48 週 (11/24~30) であり、本県は全国に先駆けて流行が始まった形となったが、その後の流行の推移は全国と同様の経過をたどった (図 1)。

2 麻しん

麻しんを疑う検体が 8 名分 23 検体 (咽頭ぬぐい液、血液、血清、尿) 搬入され、ウイルス遺伝子の検出を試みたが、麻しんウイルス遺伝子は検出されなかった。

2013 年 4 月に一部改正された「麻しんに関する

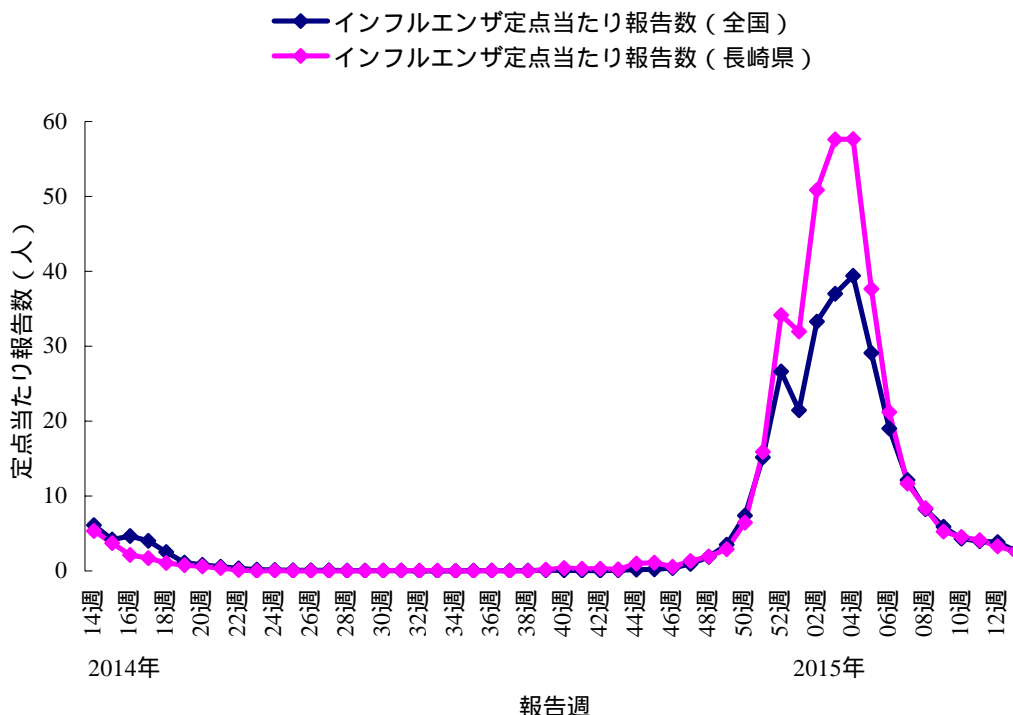


図 1 . インフルエンザの定点当たり報告数の推移 (2014 年度)

特定感染症予防指針」の中で、2015 年度までの麻しん排除を目標に掲げ、取り組みが進められてきたところであるが、2015 年 3 月 27 日に、日本を含む 3 カ国が新たに麻しんの排除状態にあることが認定された。今後も排除状態を維持するため、予防指針に基づき、原則として麻しん疑い全例に遺伝子検査が求められていることから、精度の高い検査体制の維持が求められている。

3 風しん

風しんを疑う検体が 1 名分 3 検体 (咽頭ぬぐい液、血清、尿) 搬入され、風しんウイルス遺伝子の検出を試みた。いずれの検体からも風しんウイルスの遺伝子は検出されなかった。

2014 年 4 月 1 日付で「風しんに関する特定感染症予防指針」が策定され、2020 年度までに風しんを国内から排除することが目標として掲げられた。これを受け、本県においても 2015 年 2 月 16 日に新たに「長崎県麻しん風しん検査診断実施要領」が定められ、原則として麻しんまたは風しんと診断された全症例に対して遺伝子検査を実施することが求められている。麻しんと同様に遺伝子検査の重要性が示されたことから今後の検査数の増加が予想される。

4 デング熱

デング熱を疑う検体が 4 名分 6 検体 (血清) 搬入され、デングウイルス遺伝子の検出を試みた。その結果、1 名分 2 検体からデングウイルス 2 型遺伝子及びデングウイルス NS1 抗原蛋白質を検出した。患者は、10 代の女性で、発熱、頭痛、発疹、小出血斑があり、症状出現前にシンガポール・マレーシアへの渡航歴があったことからデング熱疑いで行政検査依頼があった。

デング熱、デング出血熱は、有効な抗ウイルス薬はなく対症療法が基本となる。予防のためのワクチンは未だ実用化されていないため、ウイルスを媒介するヒトスジシマカとの接触を避け、刺されないようにすることが重要である。

2014 年 8 月には、約 70 年ぶりとなる、国内でデング熱に感染したと考えられる症例が発生し、感染経路と考えられた公園に対しては、デング熱媒介蚊の調査や駆除等の対策が実施された。このような事例を受けて、2015 年には蚊媒介性感染症に関する特定感染症予防指針が施行される予定である。今後、蚊媒介感染症の検査依頼数増加が予想される。

5 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)

本疾患は、2013 年 3 月 4 日から感染症法上の 4 類感染症に指定されたブニヤウイルス科フレボウイルス属に分類される新しいウイルスによるダ

二媒介性感染症である。

2013年度は、SFTSを疑われた患者5名分9検体(血液、血清)が搬入された。SFTSウイルス検出マニュアルに準じて検査を実施した結果、患者1名の検体からSFTSウイルス遺伝子が検出された。

患者は、60歳代の男性で、発熱、下痢、腹痛、リンパ節腫脹、全身倦怠感があり、医療機関を受診した。ダニの刺し口は無かったが、発熱、血小板減少、血清酵素の上昇等からSFTS疑いで行政検査依頼があった。第8病日目に採取された血清1検体が搬入され、SFTSウイルス遺伝子が検出された。感染研における遺伝子検査でもSFTSウイルスが検出された。

現段階では本疾患に対する確立された治療法はなく、対症療法のみであることから、野外の藪や草むらに生息するマダニ類に咬まれないよう予防啓発をしていくことが重要である。

6 リケッチア感染症

つつが虫病及び日本紅斑熱を疑う検体が22名分43検体(血液、急性期及び回復期のペア血清、その他(痂皮))搬入された。感染研での間接蛍光抗体法による抗体価(IgM及びIgG)の測定の結果、10名が日本紅斑熱、1名がつつが虫病と診断された。11名は、つつが虫病、日本紅斑熱ともに陰性であった。

当センターで検査体制を整備していた遺伝子検査について、5名分5検体の急性期血液または刺し口の痂皮を用いて試行したところ、1名の痂皮検体から日本紅斑熱の原因である *Rickettsia japonica* の遺伝子を検出した。急性期検体を用いた遺伝子検査にあたっては、刺し口の痂皮>紅斑部生検>急性期血液(抗生物質投与前)の順に検出率が高いとされている¹²⁾。急性期検体の遺伝子検査で病原因子を確定出来れば、ペア血清による抗体価測定に比べて、結果判明までに要する時間が大幅に短縮される。最も確実な診断法であるペア血清による抗体価測定と迅速性に優れる遺伝子検査を選択もしくは併用出来るように、検査に必要な検体等に関する情報を臨床の現場に周知することで、効率的な検査対応が可能になると考える。

7 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎と診断された患者検体は、2名分5検体(咽頭ぬぐい液、髄液、血清、尿、その他(直

腸ぬぐい液))が搬入された。いずれの患者も無菌性髄膜炎の典型的な症状である発熱、頭痛、髄膜刺激症状(項部硬直、嘔吐等)を呈していた。

2名中1名の4検体について、手足の発疹等から手足口病も疑われたため、CODEHOP VP1RT-snPCRによるEVsの遺伝子検索を実施したが、EVsの遺伝子は検出されなかった。他1名については、医療機関における検査でムンプスウイルスの感染が強く疑われたことから、ウイルス遺伝子の検出を試みたところ、髄液検体からムンプスウイルス遺伝子を検出した。検出した遺伝子について、検出マニュアルに基づき、SH遺伝子領域の配列を用いた分子系統樹解析により遺伝子型別を実施した。その結果、検出したムンプスウイルスSH領域遺伝子の配列は、国内流行の主流¹⁴⁾となっている遺伝子型Gに分類された(図2)。

無菌性髄膜炎の原因となるウイルスのうち大部分を占めるのはEVsであるが、ムンプスウイルスが原因となる場合もあるため、耳下腺腫脹等のムンプスウイルス感染を疑うような症状があった場合等には、当該ウイルスも視野に入れた検査対応が必要となる。

8 手足口病

手足口病を疑う検体が2名分5検体(咽頭ぬぐい液、血清、尿、その他(直腸ぬぐい液))が搬入された。それらに対して、CODEHOP VP1RT-snPCRによるEVs遺伝子の検出を試みたが、EVs遺伝子は検出されなかった。

9 ヘルパンギーナ

ヘルパンギーナを疑う検体が5名分5検体(咽頭ぬぐい液)が搬入され、いずれの検体についてもCODEHOP VP1RT-snPCRを用いたEVsの遺伝子検索を実施した。その結果、4検体からEVsの遺伝子が検出され、増幅産物の塩基配列から2検体がCV-A4、残り2検体がCV-A10と同定された。

10 下気道炎(気管支肺炎含む)

RSウイルスによる気管支肺炎を疑う検体が、1名分1検体(咽頭ぬぐい液)搬入された。患者は、80歳代の基礎疾患(糖尿病)を有する女性で、気管支肺炎症状を呈しRSウイルス迅速検査で陽性のため当センターに遺伝子検査が依頼された。遺伝子検査を実施したところ、RSウイルスサブグ

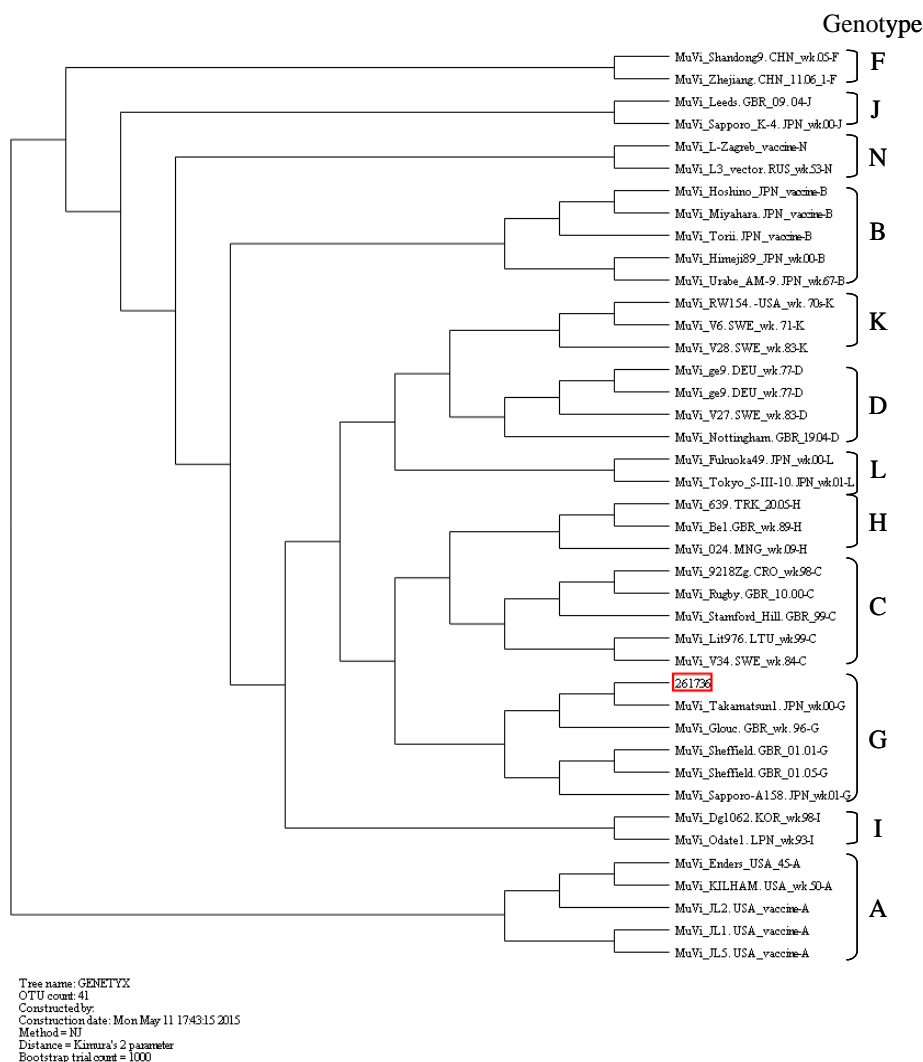


図 2. 分子系統樹解析によるムンプスウイルスの遺伝子型別

グループ A の遺伝子を検出した。検出した塩基配列の G 蛋白領域の塩基配列を用いて遺伝子型別を行ったところ、国内流行の主流¹⁵⁾である遺伝子型 NA1 に分類された。RS ウイルスは、毎年冬季に流行し、乳幼児及び小児の重要なウイルス性呼吸器感染症の原因ウイルスである。臨床症状は発熱性の上気道炎を主徴とするが、一部の罹患児では細気管支肺炎や肺炎などを引き起こす。年長児や成人においては、部分的な免疫を有するものの、普遍的に再感染がみられ、発熱を伴う上気道炎を発症する。いずれの年齢層においても予後は比較的良好であるが、生後 6 ヶ月以内の乳幼児や高齢者では重症化する例もある。

今回は、高齢者の比較的重症な症例から検出されたが、主要な患者層である乳幼児や小児の症例に対しても検査・解析を行うことで、県内の流行状況をより正確に把握出来るようになると思われる。

11 感染性胃腸炎（ロタウイルス）

ロタウイルスによる感染性胃腸炎を疑う検体が、2 名分 2 検体（糞便）搬入された。遺伝子検査を実施したところ、両名の検体から A 群ロタウイルスの遺伝子を検出した。検出された増幅産物を用いて VP7 領域の塩基配列に基づく遺伝子型別を行った。その結果、検出された A 群ロタウイルスはいずれも遺伝子型 G1P[8] に分類された。

ロタウイルスによる胃腸炎は、冬季乳児下痢症とも称されるように 11 月から 2 月の冬季に集中して発生する。ヒトの間で流行するロタウイルスの大部分は A 群ロタウイルスであり、5 歳未満の小児の重症急性胃腸炎の約半数はそれらによるものと考えられている。ロタウイルス感染症に対しては、2011 年、2012 年にワクチンが認可されており予防が可能な疾患となった。

感染性胃腸炎の病原体には、多くのウイルスが含まれるため、今後とも県内の発生動向を注視していく必要がある。

謝 辞

感染症発生動向調査にご協力頂いた各定点医療機関及び協力医療機関の諸先生、検体の収集及び搬入にご協力頂きました長崎市、佐世保市、県立各保健所の関係諸氏に深謝する。

参 考 文 献

- 1) 山口 顕徳 他：感染症サーベイランスにおけるウイルス分離（2010年度）長崎県環境保健研究センター所報 56、99-104 (2010)
- 2) 山口 顕徳 他：感染症サーベイランスにおけるウイルス分離（2011年度）長崎県環境保健研究センター所報 57、104-110 (2011)
- 3) 北川 由美香 他：感染症サーベイランスにおけるウイルス分離（2012年度）長崎県環境保健研究センター所報 58、119-125 (2012)
- 4) 病原体検出マニュアル（国立感染症研究所）
- 5) 麻しん診断マニュアル第2版 平成20年7月（国立感染症研究所）
- 6) 風しん診断マニュアル第2版 平成24年（国立感染症研究所）
- 7) SFTSウイルス検出マニュアル 平成25年3月13日（厚生労働科学研究 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究」班）
- 8) Nix WA, Oberste MP, Pallansch MA. Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens. *J Clin Microbiol* **2006**; 44:2698-704.
- 9) CDC Enterovirus Laboratories Procedure EV010-10, VP1RT-snPCR for Clinical Specimens 2005 (CDC, USA)
- 10) 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)
- 11) RS ウイルス検出マニュアル（国立感染症研究所）
- 12) ロタウイルスの検出法（国立感染症研究所）
- 13) 衛生微生物技術協議会第35回研究会
レファレンスセンター等報告

(<http://www.nih.go.jp/niid/ja/reference/4820-reference-report35.html>)

- 14) 北里生命科学研究所 中山哲夫 IASR Vol. 34 p. 222-224: 2013年8月号 ムンプスの病原診断とワクチン株・野生株との鑑別
- 15) 新潟大学大学院医歯学総合研究科国際保健学分野 齋藤玲子 他 IASR Vol. 35 p. 136: 2014年6月号 わが国のRSVの分子疫学