

感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症 (2015)

松本 文昭、三浦 佳奈、吉川 亮、田栗 利紹

Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases (2015)

Fumiaki MATSUMOTO, Kana MIURA, Akira YOSHIKAWA and Toshitsugu TAGURI

Key word : Surveillance, SFTS, Japanese spotted fever, Adenovirus

キーワード : サーベイランス、重症熱性血小板減少症候群、日本紅斑熱、アデノウイルス

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201名より採取された咽頭ぬぐい液47件、鼻腔ぬぐい液64件、糞便51件、髄液9件、血液15件、血清82件、尿5件、その他14件で総数287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。

エンテロウイルスの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、病原体検出マニュアルに基づき型別同定等を行なった。

表 1 . 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

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	75	76	12	64						
麻しん	5	17	4				4	5	4	
風しん	2	4	1				1	2		
デング熱	2	3						3		
日本脳炎	1	2				1		1		
SFTS	6	6						6		
リケッチア感染症	34	75					6	57		12
無菌性髄膜炎（急性脳炎等含む）	11	34	7		8	8	4	6	1	
手足口病	20	20	14		5			1		
ヘルパンギーナ	3	3	3							
発疹症	3	6	3		3					
感染性胃腸炎	35	36	1		35					
流行性角結膜炎	2	2								2
その他	2	2	2							
計	201	286	47	64	51	9	15	81	5	14

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。流行性角結膜炎については、咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査、診断マニュアル¹¹⁾ に準じて遺伝子検出を行った。感染性胃腸炎については、ノロウイルス検出マニュアル、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 201 名のうちで、最多疾病はインフルエンザ様疾患の 75 名（76 検体）であった。PCR により陽性と判定した結果の内訳は、A/H1pdm09 型が 39 検体（51%）と半数以上を占め、B 型が 24 検体（31%）、A/香港型（H3N2）が 3 検体（4%）A/H1pdm09 型と B 型の混合が 1 検体（1%）と続き、残る 10 件（13%）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。全国的に A/香港型が流行の主流となった 2014 年とは異なり、2015 年は A/H1pdm09 型が主要な流行型であった。

年度当初（2014/2015 シーズン後半）は、A/H1pdm09 型と B 型が混在して検出されたが、2015/2016 シーズンに入ってから、A/H1pdm09 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、全国的な傾向と同じく、2015 年第 52 週（12/21~27）から急激に報告数が増加し、2016 年第 1 週（1/4~10）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。これ以降も報告数は増加し続け、第 6 週（2/8~14）にはピーク（定点当たり報告数 47.6 人 患者報告数 3,235 人）を迎えた。流行の始まりとそ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 5 名分 17 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、いずれの検体からも麻しんウイルスの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

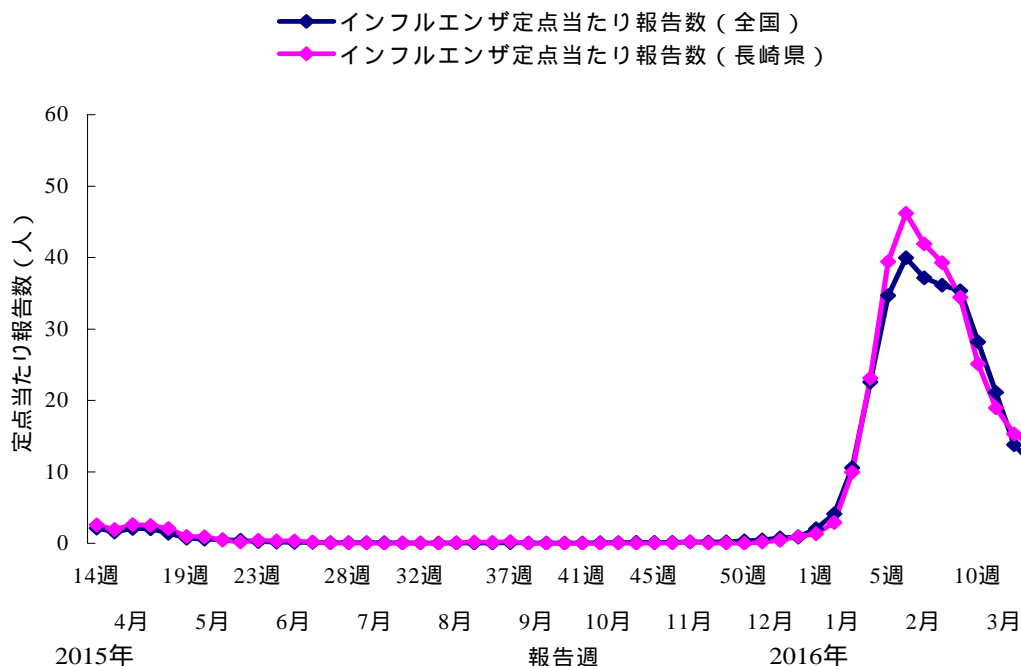


図1. インフルエンザの定点当たり報告数の推移 (2015年度)

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2名分4検体(咽頭ぬぐい液、血清)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としている。麻しんと同様に精度の高い検査体制の維持が求められている。

4 デング熱

デング熱を疑う検体が2名分3検体(血清)搬入され、デングウイルスの遺伝子検出を試みた。その結果、1名分1検体からデングウイルス2型の遺伝子を検出した。デングウイルスNS1抗原はいずれの検体からも検出されなかった。患者は10代の外国人男性で、観光で来日した際、飛行機内で発熱し解熱剤服用するも症状治まらないため病院を受診

した。病院における検査ではNS1抗原、IgM抗体ともに陰性であったが、当センターへデングウイルス遺伝子検査の行政依頼があった。

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。

5 日本脳炎

日本脳炎を疑う検体が、1名分2検体(血清、髄液)搬入され、日本脳炎ウイルスの遺伝子検出を試みた。その結果、いずれの検体からも日本脳炎ウイルスの遺伝子は検出されなかった。

本県においては、2011年に2例、2013年に1例の発生報告があっている。患者発生数は少ないものの発症した場合の症状が重篤であるため、ウイルスを媒介する蚊が活発になる夏季は蚊に刺されないよう注意することが必要である。

6 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

SFTSを疑われた患者6名分6検体(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2名の検体からSFTSウイルスの遺伝子が検出された。

1例目の患者は、70歳代の女性で、ダニの刺し口があり、頭痛、発熱、下痢、関節痛、筋肉痛、

頸部リンパ節腫脹、肝機能障害、腎機能障害および中枢神経症状を呈していた。第 7 病日に採取された血清 1 検体が搬入され、SFTS ウイルス遺伝子が検出された。感染研における確認検査でも SFTS ウイルスの遺伝子が検出された。続く 2 例目の患者は、80 歳代の男性で、ダニの刺し口は無かったものの、38 度以上の発熱があり医療機関を受診した。血液検査の結果白血球および血小板の減少が確認されたため、当センターへ行政検査依頼があった。第 4 病日に採取された血清 1 検体が搬入され、SFTS ウイルス遺伝子が検出された。感染研における確認検査でも SFTS ウイルスの遺伝子が検出された。

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感染予防を心がけることが重要である。

7 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 34 名分 75 検体（血液、急性期及び回復期のペア血清、その他（痂皮、生検材料等））搬入され、それらに対して、抗体価測定または遺伝子検査或いはその両方を実施した。なお、疑い患者のうち 18 名は、抗体検査及び遺伝子検査両方の依頼であった。抗体価測定については、間接蛍光抗体法により日本紅斑熱（*Rickettsia japonica* 以下、*R.j.*）及び、つつが虫病（*Orientia tsutsugamushi* 以下、*O.t.*）に対する抗体価測定を実施した。25 名分 49 検体について検査を行った結果、8 名から *R.j.* に対する抗体を、1 名から *O.t.* に対する抗体を検出した。16 名は、*R.j.* *O.t.* ともに陰性であった。

急性期検体を対象とした遺伝子検査について、27 名分 41 検体の急性期血清（血清 15 検体は抗体検査と併せて実施）急性期血液または刺し口の痂皮等を用いて実施したところ、痂皮提供者 10 名中 6 名の検体から *R.j.* の遺伝子を検出した。急性期血清、血液検体からは、*R.j.* *O.t.* 遺伝子ともに検出されなかった。

最終的に検査結果が陽性となった内訳は、依頼された 34 名のうち 12 名であり、そのうち 3 名は、抗体検査・遺伝子検査ともに陽性であった。

急性期検体を用いた遺伝子検査においては、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¹³⁾。ペア血清

による抗体価測定は、最も確実な検査法であるが、発症から結果判明までに 1 ヶ月ほど時間がかかる。それに対して、遺伝子検査は、抗体価測定より迅速な結果提供が可能となるため、適切な検体の採取に関する情報を臨床の現場に周知することで、より効率的な検査対応が可能となる。

8 無菌性髄膜炎（急性脳炎等を含む）

無菌性髄膜炎や急性脳炎等と診断された患者検体が、11 名分 34 検体（糞便、咽頭ぬぐい液、髄液、血清、尿）搬入された。

搬入された検体に対し、CODEHOP VP1 RT- sn PCR による EVs の遺伝子検索を実施した。その結果、6 名の検体から EVs の遺伝子を検出し、解析の結果 3 名はエコーウイルス 18 型、残る 3 名はコクサッキーウイルス B5 型と同定された。

無菌性髄膜炎の原因の多くを占めるのは EVs であるとされている。2015 年は全国的にエコーウイルス 18 型が多く検出されており、本県においても同様の傾向を示した。しかし、年度末あたりからコクサッキーウイルス B5 型による新生児症例が増加しており、今後の動向に注意する必要がある。そのほか、2015 年 8 月以降、小児を中心にポリオ様麻痺に類似した原因不明の急性弛緩性麻痺（Acute Flaccid Paralysis : AFP）の症例が国内で相次いで発生し、その一部からエンテロウイルス D68 型（EV-D68）が検出されたことを受け、厚生労働省より AFP を認める症例の実態把握に関する協力依頼があった。長崎県内においても AFP 疑い症例の検体が搬入されたが、EV-D68 を含む EVs の遺伝子は検出されなかった。EV-D68 は呼吸器症状を呈した患者からの検出が多く報告されているため、ウイルス性呼吸器疾患疑いの検体搬入時には、積極的な検索を心掛けていきたい。

9 手足口病

手足口病を疑う検体 20 名分 20 検体（咽頭ぬぐい液、糞便、血清）が搬入された。それらに対して、CODEHOP VP1 RT-sn PCR による EVs 遺伝子検索を実施した。その結果、15 名の検体から EVs の遺伝子を検出し、それらを解析したところ 12 名がコクサッキーウイルス A16 型、3 名がコクサッキーウイルス A6 型と同定された。

2015 年の手足口病の流行では、過去 5 年間で 3 番目に多い患者数が報告された。手足口病は、夏

場に流行する感染症というイメージがあるが、2015年は、3月頃から患者数が増加し始め、5月から8月にかけて、明確なピークを示さないものの一定数の患者が継続して発生する形で流行した。手足口病は、基本的に予後良好な疾患であるが、原因ウイルスにはEV71など中枢神経症状を起こしやすいものが含まれるため、継続した病原体サーベイランスと必要に応じた注意喚起が重要である。

10 ヘルパンギーナ

ヘルパンギーナを疑う検体3名分3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 VP1 RT-sn PCRを用いたEVsの遺伝子検索を実施した。その結果、2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コクサッキーウイルスA6型と同定された。

ヘルパンギーナは、発熱と水疱性発疹を主徴とする疾患で、基本的に予後良好であるが、場合によっては髄膜炎や脳炎などの重篤な合併症を併発することがあるので、手足口病同様、流行時には適宜注意喚起を行うなどの対応が必要である。

11 発疹症

発疹症と診断された患者検体が3名分6検体搬入され、それらに対しCODEHOP VP1 RT-sn PCRを用いたEVsの遺伝子検索を実施した。その結果、すべての検体からEVsの遺伝子が検出され、増幅産物の塩基配列からエコーウイルス18型と同定された。同時期に搬入された無菌性髄膜炎からも同型のウイルスが検出されているため、地域において一定の流行があったものと推察された。

12 流行性角結膜炎

流行性角結膜炎を疑う検体2名分2検体（結膜ぬぐい液）が搬入され、それらに対し検出マニュアルに準じて遺伝子検索を実施したところ、アデノウイルスの遺伝子を検出した。遺伝子型別のため、ペントン（P）、ヘキソン（H）、ファイバー（F）の3つの領域の遺伝子を解析した結果、今回検出したアデノウイルスは、2015年の国内流行の主流であるアデノウイルス54型と同定された。流行性角結膜炎は、ここ数年県内では大きな流行は見られなかったが、2015年は比較的多くの患者発生が報告された。アデノウイルスは呼吸器症状から消化器症状まで多彩な臨床症状を示すため、眼疾患以外

の症例からも、積極的な検索を行う必要がある。

13 感染性胃腸炎（ロタウイルス）

感染性胃腸炎を疑う検体が、35名分36検体（糞便）搬入された。遺伝子検索を実施したところ、27検体からウイルスの遺伝子を検出し、その内訳は、20検体からノロウイルス、5検体からロタウイルス、2検体からEVsの遺伝子が検出された。得られた増幅産物を用いて各ウイルスについて遺伝子型別を行ったところ、ノロウイルスはGI.3が2検体、GII.3が14検体、GII.4が4検体であった。EVsは、エコーウイルス3型が1検体、コクサッキーウイルスA10型が1検体であった。ロタウイルスは、マニュアルに基づき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、遺伝子型G9P[8]が3検体、G2P[4]が2検体であった。

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3版 平成27年3月（国立感染症研究所）
- 6) 風しん診断マニュアル第3版 平成27年3月（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) 咽頭結膜熱・流行性角結膜炎検査, 診断マニュアル(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>)