

# 感染症サーベイランスにおけるウイルス分離(2003年度)

平野 学・中村 まき子・吉川 亮・原 健志

## Virus Isolation on Surveillance of Infection Disease (2003)

Manabu HIRANO, Makiko NAKAMURA, Akira YOSIKAWA, Kenshi HARA

key word : Surveillance, Virus isolation and identification

キーワード: サーベイランス、ウイルス分離及び同定

### はじめに

感染症サーベイランスの目的は、医療機関の協力を得て、細菌及びウイルス等による感染症の患者発生状況、病原体検索結果等の流行実態を早期且つ的確に把握することにより、必要な情報を速やかに各地域に還元するとともに、予防接種、衛生教育等の適切な予防処置を講ずることにある。小児におけるウイルス感染症は、主にエンテロウイルスに起因するものが多く、毎年、夏季を中心に幾つかのウイルスが同時に流行する。しかも、その流行となるウイルスは年ごとに異なる型が出現して様々な流行を引き起こし、その規模や消長はウイルスあるいは宿主側の要因に左右される。

1984年度より小児を中心としたウイルス感染症の実態究明を目的として、エンテロウイルスを中心とした原因ウイルスの検索を実施してきたが、感染症発生動向調査事業の一環として今年度も引き続き調査を実施したのでその概要を報告する。

### 調査方法

#### 1. 定点医療機関からの検査材料

長崎県の感染症発生動向調査事業における患者定点は西彼、県南、県央、県北及び離島と長崎、佐世保の政令市を含む保健所管轄の10地区に分けられ、これら10地区に設置された定点医療機関から患者発生状況を収集し、同10地区の検査定点及び基幹定点の医療機関で採取・依頼された検体(咽頭ぬぐい液、髄液、糞便及び眼ぬぐい液他等)について病原体検索を当所で実施している。

今年度は、長崎市3定点、県央地区3定点、県南地区1定点、佐世保市3定点の各検査定点、患者定点及び基幹定点の医療機関で採取され、検査依頼のあった患者150

名分の総数181検体についてウイルス検索を実施した。

#### 2. 調査方法

患者材料、細胞培養、ウイルス分離・同定等については既報<sup>1)</sup>に従って実施した。また、感染性胃腸炎(乳児嘔吐下痢症を含む)患者由来便における小型球形ウイルス(SRSV)の検出については、RT-PCR法<sup>2)</sup>を用いて実施した。

なお、小型球形ウイルス(SRSV)については、2002年の夏、国際ウイルス命名委員会によって、「ノロウイルス」という正式名称が決定され、世界で統一されて用いられるようになったため、本稿でも「ノロウイルス」を使用した。

### 調査結果及び考察

#### 1. 月別サーベイランス患者数

表1にウイルス検査対象疾病別による月別検査患者数を示す。依頼検査の患者数は150名であり、搬入された総数は181検体であった。疾病別月別患者数が最も多かったは、無菌性髄膜炎患者(以下、「髄膜炎」と略す)の67名で、全検体数の約半数を占め、検体のそのほとんどが7~10月の夏季に採取・搬入され、特に7月に入ってから検体数は増加した。しかし、髄膜炎では、図1に示すとおり定点あたりによる長崎県と全国での比較では、目立った流行は認められなかった。次に患者数の多かったのがインフルエンザ様疾患の26名で、昨年の73名より大幅な減少がみられたが、患者発生は例年より早く、9月初旬に長崎市内で4名の幼稚園児が発症して近医を受診した。診察医は長崎市保健所を通じて衛生公害研究所へ検査依頼を行った。患児4名は、同じ幼稚園に通園しており集団感染の可能性もあった。さらに、調査した結果、患児4

表1 ウイルス検査対象疾病別による月別検査患者数

疾病コード	4類及び5類定点把握対象疾病名	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計											
		患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数	患者数	陽性数								
47	急性脳炎(クリプトウイルス脳炎・日本脳炎を除く)				1										1										
59	RSウイルス感染症																								
60	咽頭結膜熱					5	5								5	5									
61	インフルエンザ様疾患						4	4	2		1	13	9	5	4	1	1	26	18						
63	感染性胃腸炎(乳幼児嘔吐下痢症を含む)				1				2	1	11	10	1	1			2	17	12						
64	急性出血性結膜炎																								
65	クラミジア肺炎																								
67	水痘																								
70	成人麻疹																								
72	手足口病	1	1	1		1	1									1		4	2						
73	伝染性紅斑																								
74	突発性発疹						1												1						
76	風疹																								
78	ヘルパンギーナ							1											1						
79	マイコプラズマ肺炎																								
80	麻疹																								
81	無菌性髄膜炎	1		3	3	7	1	19	10	15	7	10	4	1		4	2	2	2	67	24				
84	流行性角結膜炎																								
85	流行性耳下腺炎																								
	その他対象外疾病	4	1		1	11	9	5	2	1		1		1		2	1			2	28	13			
	総合計	6	2	4	4	21	11	30	17	21	11	15	5	13	10	2	1	19	12	7	4	8	1	150	74

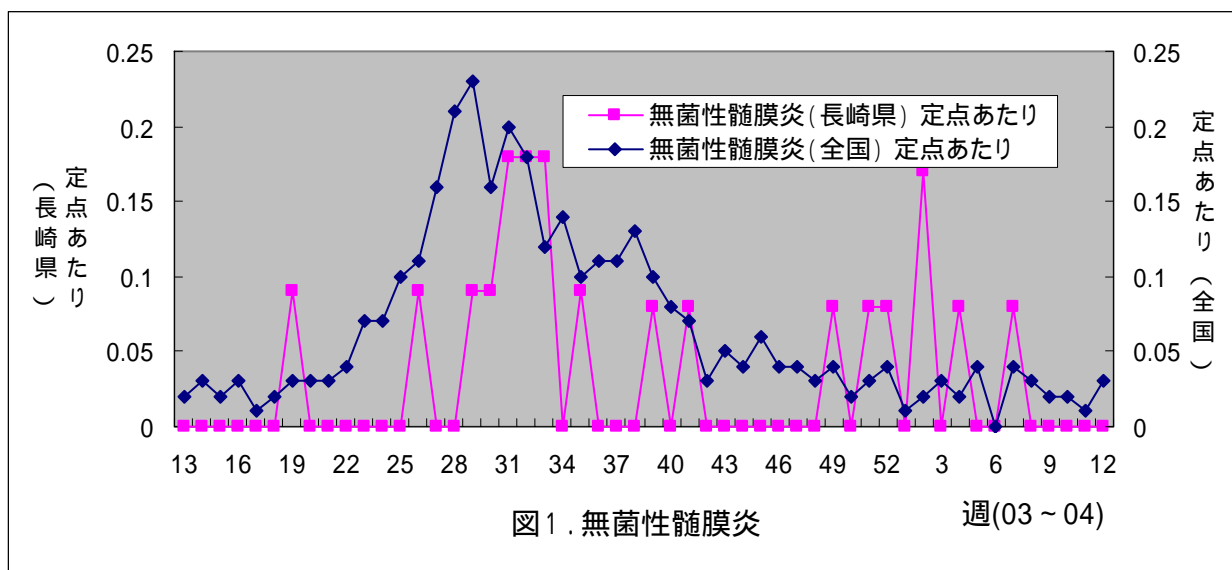
名の居住地区は同じであったが、本人もしくは、その家族の海外渡航歴はなかった。(IDWR 2003 . 11 月号掲載)<sup>3)</sup>その後、流行時期までは、患者発生の報告はなかった。例年の流行と比較した場合、定点あたりの全国との比較でも小規模な流行に留まり、また、図2に示すとおり流行のピークは全国に比べ少し遅れて立ち上がっていた。

3番目に患者数が多かったのは、感染性胃腸炎(含乳幼児嘔吐下痢症)(以下、感染性胃腸炎と略す)の17名であり、秋～冬季に検体搬入があった。県内での依頼件数は少なかったが、罹患数では図3に示すとおり

り長崎県及び全国ともに冬季に急増していた。

その他には、手足口病及びヘルパンギーナでは、昨年と比べて検体依頼の患者数がさらに減少しており、罹患数において今年度も散発的な流行に留まったことが推測された。

表2に疾病別・血清型別ウイルス分離成績を、表3に血清別・月別ウイルス分離数を示す。全依頼検査の患者数150名中74名からウイルスが分離されており、その分離率は49.3%であった。疾病別で最も多かった疾患名は髄膜炎であり、67名中24名からウイルスが分離され、分離率は35.8%であった。



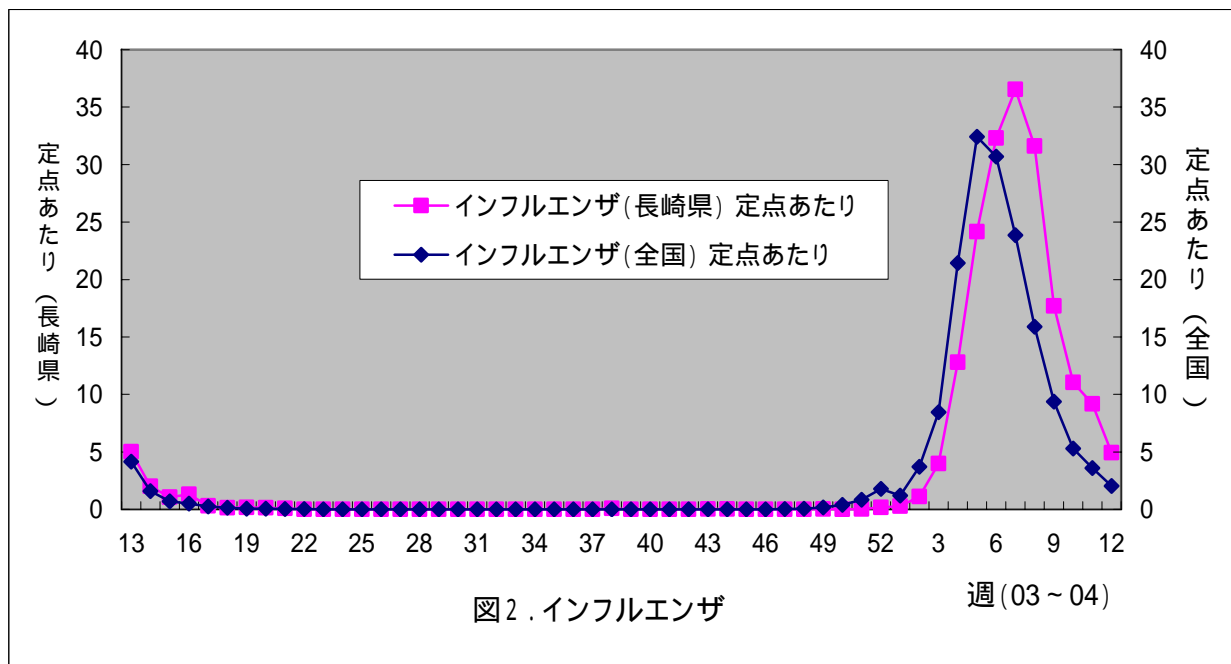


図2 . インフルエンザ

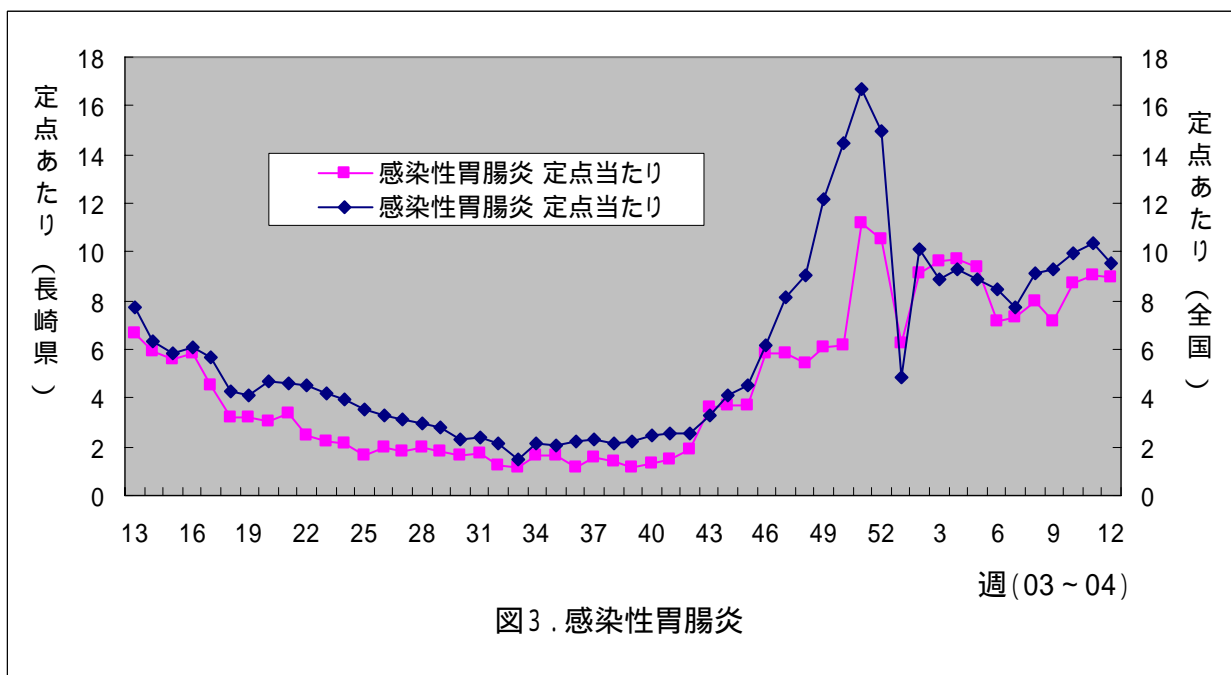


図3 . 感染性胃腸炎

髄膜炎で分離されたウイルスは、エコーウイルス7型(以下、E - 7と略す)2株、コクサッキーA群及びB群(以下、それぞれにCA、CBと略す)15株とムンプスウイルス1株であった。その中で、特に、多く分離されているのがCB - 1、5型であった。7月頃からCA - 1、3、9、10型が分離されるようになり、それから10月までにCB - 1、2、5型が分離された。コクサッキーウイルスの分離率は33.3%であった。このような結果から長崎県における無菌性髄膜炎の主因となる病原体は、種々のエンテロウイルス型が混在しながら初夏頃から各地域において流行していたことが示唆された。

次に多かった疾患は、インフルエンザ様疾患であり、分離されたウイルス株の血清型別では、インフルエンザA香港型(H3N2)(以下、A香港型と略す)17株とインフルエンザB型(以下、B型と略す)の1株であった。それぞれのウイルス分離率は、65.4%、3.8%であった。インフルエンザAソ連型(H1N1)(以下、Aソ連型と略す)は、県内では分離されなかったため、A香港型が昨年と同様にインフルエンザ流行の主流であったと推定された。また、B型については、2月後半に1株分離されたが、その後、3月末までは分離されなかった。これは、インフルエンザ流行予測事業でインフルエンザ検査を行っている

表2 疾病別・血清型別ウイルス分離成績

4類及び5類定点把握対象疾病名	検査 分離		Inf-A	Inf-A	Inf-B	PA-Inf	Ad	Ad	Ad	Ad	E	E	E	E	Enterol	CA	CA	CA	CA	CA	CB	CB	CB	Mumps	Noro	型別不明	
	患者数	患者数	ソ連型	香港型	B型	3型	1型	2型	3型	5型	19型	6型	7型	16型	30型	71型	1型	2型	3型	9型	10型	1型	2型	5型			
急性脳炎(ウイルス性脳炎・日本脳炎を除く)	1																										
RSウイルス感染症																											
咽頭結膜熱	5	5					1	1	1													1				1	
インフルエンザ様疾患	26	18		17	1									1													
感染性胃腸炎(乳幼児腸下痢症を含む)	17	12											1												11		
急性出血性結膜炎																											
クラミジア肺炎																											
水痘																											
成人麻疹																											
手足口病	4	2														2											
伝染性紅斑																											
突発性発疹	1																										
風疹																											
ヘルパンギーナ	1																										
マイコプラズマ肺炎																											
麻疹																											
無菌性髄膜炎	67	24					1				1		2			1		1	3	2	3	1	4	1	1	3	
流行性角結膜炎																											
流行性耳下腺炎																											
その他対象外疾病	28	13				5			1	1				1	1				1	1						2	
総合計	150	74		17	1	5	2	1	2	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	4	2	3	2	4	1	12	6

Inf-Aソ連型:インフルエンザAソ連型 Inf-A香港型:インフルエンザA香港型 Inf-B型:インフルエンザB型 PA-Inf:パラインフルエンザ Ad:アデノウイルス E:エコーウイルス  
 CA:コクサッキーA群ウイルス CB:コクサッキーB群ウイルス Mumps:ムンプスウイルス Noro:ノロウイルス

表3 ウイルスの血清型別・月別ウイルス分離数

4類及び5類定点把握対象疾病名		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	
型別数	アデノウイルス1型						2							2	
	アデノウイルス2型						1							1	
	アデノウイルス3型						3							3	
	アデノウイルス4型														
	アデノウイルス5型		1											1	
	アデノウイルス8型														
	アデノウイルス19型						1							1	
	エコーウイルス6型								1	1					2
	エコーウイルス7型							2							2
	エコーウイルス9型														
	エコーウイルス11型														
	エコーウイルス16型														
	エコーウイルス18型														
	エコーウイルス30型						1								1
	エンテロウイルス71型		1				1								2
	コクサッキーA群ウイルス1型							1							1
	コクサッキーA群ウイルス2型							1							1
	コクサッキーA群ウイルス3型							1							1
	コクサッキーA群ウイルス9型						1	2	1						4
	コクサッキーA群ウイルス10型								2						2
	コクサッキーA群ウイルス16型						1								1
	コクサッキーB群ウイルス1型						1		1			1			4
	コクサッキーB群ウイルス2型							2							2
	コクサッキーB群ウイルス3型														
	コクサッキーB群ウイルス4型														
	コクサッキーB群ウイルス5型						1	2	1						4
ムンプスウイルス								1						1	
ノロウイルス									2	9	1			12	
インフルエンザ Aソ連型															
インフルエンザ A香港型								4					9	3	
インフルエンザ B型													1	1	
型別不明								1					2	3	
パラインフルエンザ(RT-PCR)						5								5	
総合計		2			11	17	11	5	10	1	12	4	1	74	

ためと検査を依頼する定点医療機関の地域的な偏りがあるためと示唆された。次に多く検出されたのが、感染性胃腸炎であり、RT-PCR法によるノロウイルスの検出では、17名中12名が陽性であり、検出率は70.6%であった。集

団感染の可能性もあったが、確認することはできなかった。流行時期については、やはり秋から冬季にかけて多く検出された。咽頭結膜熱では、アデノウイルスが3株分離され、その他にはCB-3型が1株分離されている。手足口

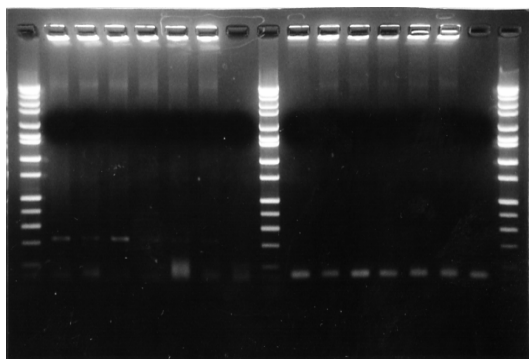
病では、E - 71型が2株分離された。ヘルパンギーナでは、ウイルスは何も分離されなかった。

その他の対象外疾患についても数種類のウイルスが分離されているが、特異的に流行するものはなかった。

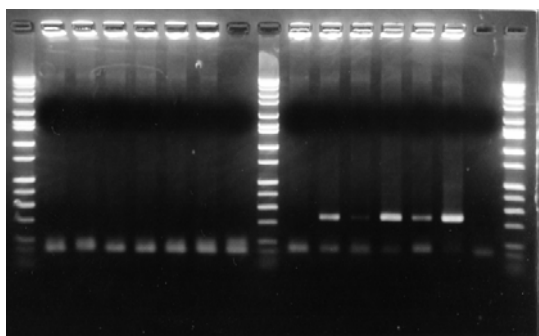
ただ、施設内感染を疑わせるものとして、7月下旬に、ある老人施設において夏風邪症状を呈して肺炎を併発し、重症化する老人が増えたため、管轄保健所を通じて当所に検査依頼があった。患者の症状から呼吸器疾患を引き起こすウイルス検出を目的に検査を開始した。検査については、早急に原因ウイルスを検出し特定するため、迅速診断用キットやPCR法を使用して検出することとし、項目については、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、RSウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルスとした。検査の結果、図4で示すように検査依頼があった6名中5名の咽頭ぬぐい液からRT - PCR法によりパラインフルエンザウイルス3型の遺伝子が検出された。RT - PCR法は、ノロウイルス検出法の平成13年11月厚生労働省通知「ノーワーク用ウイルス(NLV)のRT - PCR法について」に準じておこなった。プライマーに関しては、Journal of Clinical Microbiology November 1998Vol.36.No.11<sup>4)</sup>に掲載されたプライマーを使用した。

図4 . パラインフルエンザウイルス(Para-Inf と略す)

M 1 2 3 4 5 6 7 M 1 2 3 4 5 6 7 M



RT 確認のためのポリオ Para-Inf 1型  
(DNA fragments by RT-PCR)



Para-Inf 2型 Para-Inf 3型  
(DNA fragments by RT-PCR)

M	: マーカー (50 ~ 10,000bp)
レーン	: 1 ~ 6 まで患者咽頭ぬぐい液
	7 蒸留水(陰性対象)
	(No.2 ~ 6までの5検体陽性)
Polio	220 bp
Para-Inf 1 型	84 bp
Para-Inf 2 型	164 bp
Para-Inf 3 型	234 bp

この老人施設において、パラインフルエンザが流行していたことが示唆された。施設では、ショート・ステイなどを実施しており、外部者との接触が多く感染経路については不明であった。今後、このような緊急性を要する感染症対策には、迅速診断キットや PCR 法を活用することは不可欠であることが分かった。

このようなことから、今年度のサーベイランスにおけるウイルスの検索結果としては、小児における感染症は、様々な血清型のエンテロウイルスによって引き起こされており、症例によっては髄膜炎を併発したものと推定される。しかし、その流行規模は、検体数及びウイルス分離数の状況から小規模で散発的なものであったことが推定された。

小児ウイルス感染症の起因ウイルスは、年毎に変化しており、様々なエンテロウイルスがウイルス感染症の原因ウイルスとして分離されていることから、感染症発生動向調査によるウイルスの流行状況を継続して調査・解析することは、困難な流行予測の一助となる。

今後も小児ウイルス感染症に対する監視及び予防対策の一環として本調査を継続し、その役割の一端を担っていきたいと考えている。

#### 参考文献

- 1) 平野 学, 他 : 長崎県衛生公害研究所所報, 47, 95 - 98, 2001
- 2) 厚生労働省通知 : 平成13年11月「ノーワーク用ウイルス(NLV)のRT - PCR法について」及び平成15年11月「ノロウイルスの検出法について」
- 3) 国立感染症研究所 感染症情報センター : IDWR 2003 . 11月号掲載
- 4) Journal of Clinical Microbiology November 1998, p.3149-3154, Vol.36.No.11