

感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症（2021年度）

高木 由美香、松本 文昭、中峯 文香、吉川 亮

Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases (2021)

Yumika TAKAKI, Fumiaki MATSUMOTO, Fumika NAKAMINE and Akira YOSHIKAWA

キーワード：サーベイランス、エンテロウイルス、RSウイルス、日本紅斑熱、日本脳炎

Key words: Surveillance, Enterovirus, Human respiratory syncytial virus, Japanese spotted fever, Japanese Encephalitis

はじめに

感染症発生動向調査（サーベイランス）は、1999年4月1日に施行された「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」（以下、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情報還元（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目的に実施されている。その後、鳥インフルエンザ（H7N9）や中東呼吸器症候群（MERS）などの新たな感染症の海外における流行や、デング熱の国内感染例の発生¹⁾など、昨今の感染症の発生状況、国際交流の進展、保健医療を取り巻く環境の変化等を踏まえ、感染症に対応する情報収集体制を一層強化するために、2014年11月21日に改正感染症法が公布され、さらに2015年9月の感染症法施行規則（省令）の改正に伴い、「長崎県感染症発生動向調査実施要綱」¹⁾（以下、県要綱）の一部改正が行なわれた。

長崎県環境保健研究センターには改正された県要綱に基づき、県内の医療機関からウイルス性の感染症と診断された患者の検体が適宜採取、搬入されている。そこで、本調査では2021年度に搬入された検体について、ウイルス遺伝子の検索等を行ったのでその結果について報告する。

調査方法

1 検査材料

検査材料は、2021年度に県内の医療機関においてウイルス性の感染症と診断された167名の患者から採取された合計247検体を対象とした。

これらの医療機関は、県要綱に基づき、政令市保

健所（長崎市、佐世保市）、及び県立保健所管轄の10地域に基幹定点医療機関及び病原体定点医療機関として選定されている。

臨床検体の採取部位の内訳は、咽頭ぬぐい液60検体、鼻咽頭ぬぐい液15検体、鼻腔ぬぐい液3検体、糞便（直腸拭い液を含む）20検体、血液69検体、血清42検体、髄液2検体、尿3検体、痂皮29検体およびその他4検体であった。

2 検査方法

改正された感染症法の施行に伴い、国立感染症研究所が発行した病原体検出マニュアルや参考文献等^{2,3)}に準じて、検体の前処理、遺伝子検出、細胞培養、ウイルス分離・同定等について検査標準作業書を作成し、これらに基づき検査した。

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（インフルエンザ様疾患を含む）

インフルエンザと診断された5名分の患者検体において、遺伝子の検出を実施した結果、インフルエンザウイルスに特異的な遺伝子が1名から検出された。検出されたインフルエンザウイルスの亜型は、A/H1pdm09であった。

2020年1月以降、新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の世界的な流行という特殊な状況下であり、長崎県を含む全国で患者の報告が極めて少なく、搬入検体数も少なかったが、流行を感知した

表1. 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

疾病名	被検者数	検体数	検査材料(内訳)										
			咽頭拭い液	鼻咽頭拭い液	鼻腔拭い液	糞便 (直腸拭い液)	血液	血清	髄液	尿	痂皮	その他	
インフルエンザ	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
手足口病	44	44	42	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
感染性胃腸炎	17	17	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0
RSウイルス感染症	16	16	0	13	3	0	0	0	0	0	0	0	0
風疹	1	3	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0
急性弛緩性麻痺	1	6	1	0	0	2	1	0	1	1	0	0	0
SFTS・リケッチア感染症	66	136	0	0	0	0	66	37	0	0	29	4	0
日本脳炎	1	3	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
A型肝炎	1	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0
その他	15	15	11	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0
計	167	247	60	15	3	20	69	42	2	3	29	4	0

際の迅速な注意喚起情報の提供等、まん延防止に向けた取り組みにつなげるために、引き続き保健所と協力しながら原因ウイルスの監視を継続していく必要がある。

2 手足口病

手足口病と診断された44名分の患者検体が搬入された。それらに対して、エンテロウイルス(Enteroviruses; 以下、EVs)の遺伝子検出を実施した結果、41名からEVsの遺伝子を検出した。検出したEVsの塩基配列の一部をダイレクトシーケンス法により決定し、ウイルス型別のためのウェブツール Enterovirus Genotyping tool⁴⁾により型別した結果、39検体はコクサッキーウイルス(以下、CV) A6、2検体はCV-A16と同定された。

エンテロウイルスが原因である手足口病およびヘルパンギーナは、例年夏頃流行するが、2021年は10月から11月にかけて手足口病の患者報告数の増加が認められ、流行期(採取日:10月20日~12月1日)に検体が搬入された。手足口病やヘルパンギーナは基本的に予後良好な疾患であるが、EV-A71のように中枢神経症状を伴う合併症を起こしやすい原因ウイルスの報告⁵⁾があり、実際に長崎県内でも流行が認められている⁶⁾。そのため、臨床的な診断で終わることなく今回のように遺伝子型別をすることにより危険なウイルス型の迅速な掌握と臨床現場への情報還元が可能となるために引き続き原因ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。

3 感染性胃腸炎

感染性胃腸炎を疑う検体が、17名分17検体搬入された。それらに対し、検出マニュアル²⁾に準じてPCRによる遺伝子の検出を実施したところ、8検体からノロウイルスが検出された。検出されたノロウイルスの増幅産物に対し遺伝子解析を行い、タイピングツール⁴⁾を用いて遺伝子型別を試みた結果、7検体がGII.2、1検体がGII.4に分類された。9検体は、ノロウイルス、ロタウイルス、サポウイルスいずれの遺伝子も検出されなかった。

2021/2022シーズンにおける全国的なノロウイルスの遺伝子型別検出状況は、GII.4が最も多く、次いでGII.2であった⁷⁾。県内の流行状況を把握するためには、検査検体数を増やすとともに、県全域からの検体収集が必須である。

4 RSウイルス感染症

RSウイルス感染症は、県内において例年と異なる春ごろに流行のピークを迎えた(図1)。RSウイルス感染症と診断された16名分の患者検体が搬入され、すべての検体から、subgroupAのRSウイルス遺伝子が検出された。検出された遺伝子について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、近隣結合法による系統樹解析を行った^{8,9)}(図2)。G蛋白の第二可変領域を使った遺伝子型別において、すべてgenotype ON1に分類された。ON1は、2010年に新たに確認された遺伝子型で、2014以降国内で主

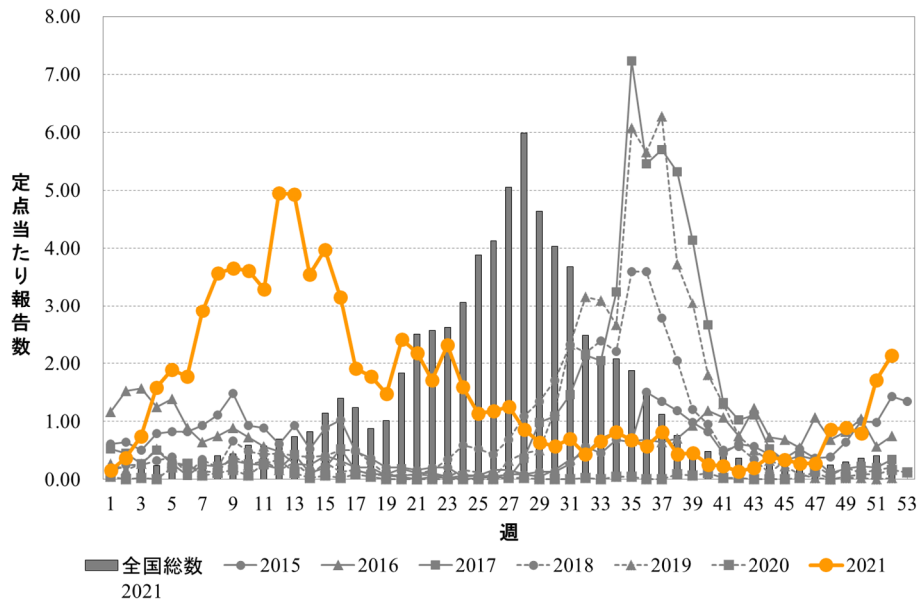


図1. RSウイルス感染症の定点点あたり報告数の推移 (2015～2021年)

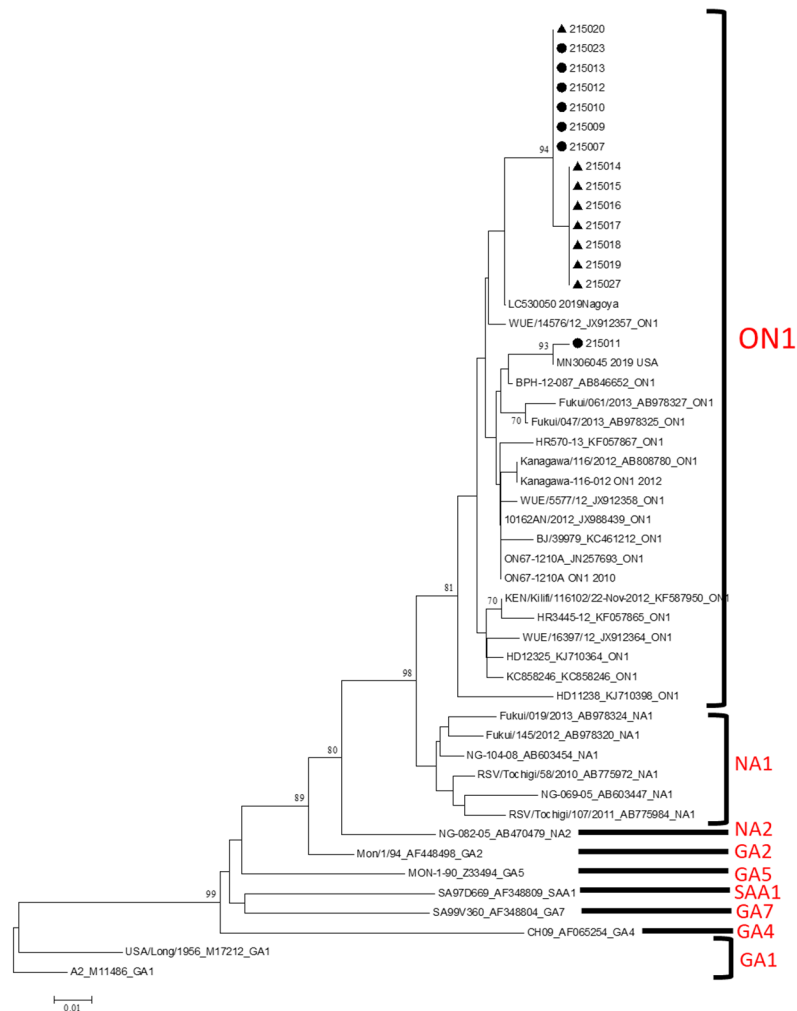


図2. RSウイルス Gタンパク質遺伝子の第2可変領域における系統樹 (近隣結合法)

34株のリファレンス配列 (ON1 : 20、NA1 : 6、NA2 : 1、GA1 : 2、GA2 : 1、GA4 : 1、GA5 : 1、GA7 : 1、SAA : 1)、県内医療機関Aの7検体 () および県内医療機関Bの8検体 () から得た塩基配列を使用し、ブートストラップ値70%以上、p-distance 0.49以下を1つの遺伝子型とした。

流となっている¹⁰⁾。RSウイルス感染症については、近年当センターへの検体搬入がなく、県内の流行状況は解析できていない。今後は検体の確保に努め、ウイルスの流行状況を監視していきたい。

5 麻しん・風しん

麻しん・風しんを疑う患者検体は、1名分3検体(咽頭拭い液、血液、尿)が搬入された。これらの検体に対して麻しんウイルス、風しんウイルスの遺伝子検出を試みたが、いずれの遺伝子も検出されなかった。

2018年から2019年にかけて、全国的に風しんが流行し、県内でも患者の報告があったが、2020年、2021年は県内での患者報告はなかった。しかしながら、COVID-19の流行によるワクチン接種率の低下が懸念されており、患者の発生動向に注視していく必要がある。

6 急性弛緩性麻痺(AFP)

AFPは、ポリオ対策の観点から、世界保健機関より患者の把握と原因病原体の検索が求められている。日本でも2018年からAFP(急性灰白髄炎をのぞく)が5類感染症全数届出疾患となり、AFPの届出があった際、地方衛生研究所では、エンテロウイルスD68、A71等ポリオ以外の検査の実施およびポリオ検査のための感染研への便検体の送付する必要がある。

2021年は、AFPと診断された患者1名6検体の搬入があった。EVsの遺伝子検出を試みたが、いずれの検体からも遺伝子は検出されなかった。また、感染研に送付した便検体について、ポリオの分離試験は陰性であった。

7 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)、リケッチア感染症

SFTS、リケッチア感染症(つつが虫病および日本紅斑熱)を疑う患者検体は、66名分136検体が搬入された。これらの3疾患は、臨床症状等により区別することが困難であるため、検査項目を限定することができない。そのため長崎県では3疾患のうちいずれか一つの診断名であっても3項目の検査を実施している。遺伝子の検出については、SFTSウイルス、*Orientia tsutsugamushi*、および*Rickettsia japonica*を対象として実施し、ペア血清による抗体価測定は*O. tsutsugamushi*と*R. japonica*を対象として検査を実施している。

遺伝子検出の結果、6名からSFTSウイルス、16名から*R. japonica*、8名から*O. tsutsugamushi*の遺伝子が検出された。*O. tsutsugamushi*については、血清型別のため、ダイレクトシーケンスにより、56 kDa type specific antigen geneの部分配列を決定し、MEGA6.0¹¹⁾を用いて近隣結合法¹²⁾による分子系統樹解析を行った。その結果、Kawasakiが4例、Gilliamが2例、Kurokiが1例、Karpが1例検出された。(図3参照)。

ペア血清による抗体価測定を行った4名のうち2名において*R. japonica*に対するペア血清での抗体価の有意上昇、抗体陽転が認められた。

SFTS及びリケッチア感染症は野外の藪や草むらに潜んでいる、病原体を保有しているマダニ類に咬まれることで感染が成立する。感染予防のためには咬まれないことが重要であり、具体的には長袖・長ズボンの着用や作業後の着替え、昆虫忌避剤の使用等があげられる。また、屋外活動後はシャワーや入浴で、マダニに刺されていないか確認を行なうことも重要である¹³⁾。

また、SFTSおよびリケッチア感染症疑いで搬入され、いずれの遺伝子も検出されなかった1名の患者について、症状から疑われた日本脳炎の検査を追加で実施した。日本脳炎ウイルスの遺伝子および特異的IgM抗体が検出され、2016年以来の県内での患者確認となった。追加で当該患者の3検体(急性期血清、回復期血清、髄液)が搬入され、検査を実施したところ、遺伝子は検出されなかったが、特異的IgM抗体は検出された。

8 A型肝炎

A型肝炎と診断された患者1名2検体の搬入があった。A型肝炎は厚生労働省の通知(平成31年2月6日付け健感発0206第1号および薬生食監発0206第2号 A型肝炎発生届受理時の検体確保等について)により、検体を確保し、分子疫学的手法による解析を実施するよう求められている。搬入された検体を用いて、A型肝炎ウイルスの遺伝子検出を試みたが、2検体とも遺伝子は検出されなかった。

A型肝炎は県内で年に数件しか発生しない希少な感染症であるため、検体の確保に努めるとともに、検査体制を維持していくことが重要である。

そのほか、県要綱に規定されていない診断名(不明熱、急性心筋炎等)の患者検体14名分が搬入

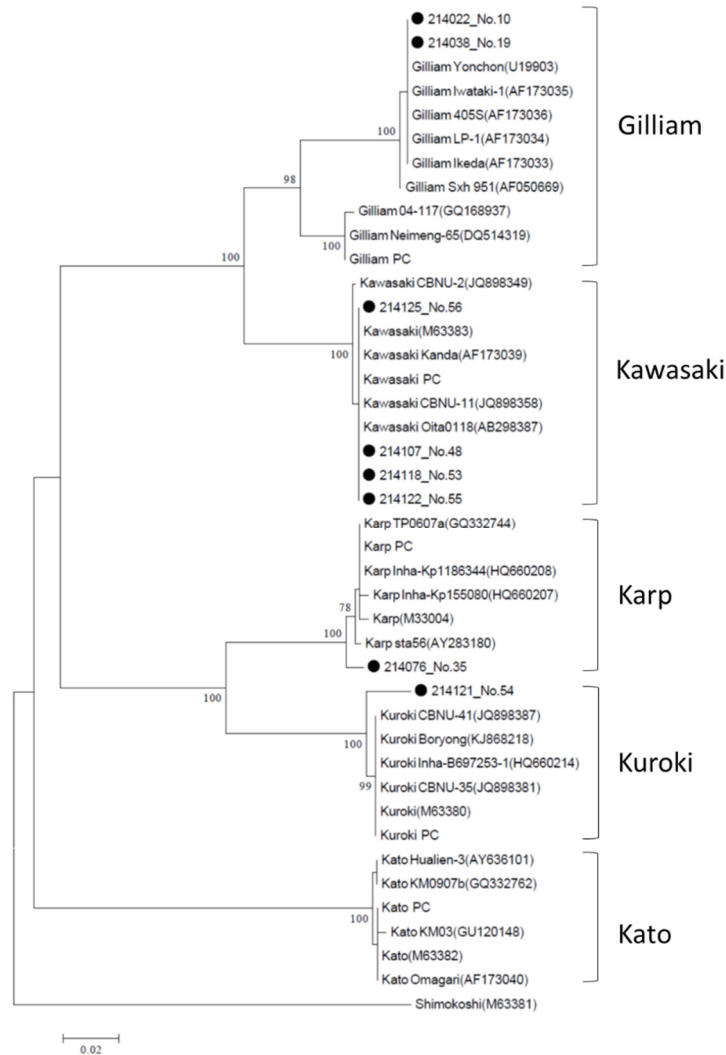


図3 . *O.tsutsugamushi* 56kDa type specific antigen geneの分子系統樹

解析には、34株のリファレンス配列 (Gilliam : 9株、Kawasaki : 6株、Karp : 6株、Kuroki : 6株、Kato : 6株、Shimokoshi : 1株) 県内の陽性となった8検体から得られた塩基配列 () を使用した。

され、それらに対しEVsの遺伝子検出を試みたが、いずれも遺伝子は検出されなかった。

以上のように、病原体サーベイランスにおいては、病原体リスクマネージメントの観点から、臨床症状に基づく診断に加えて、遺伝子検出等による病原体の同定と型別、並びにそれらの解析に基づく病原体発生動向の迅速な把握が重要であることは明らかである。本事業の適切かつ確実な遂行のためには、医療機関、保健所および地方衛生研究所が連携して本事業に取り組む必要があり、それらの達成が特殊な病原体に対する注意喚起等の行政施策、ひいては県民の感染症に対する意識向上につながると考えられる。

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 ・ 脚 注

- 1) 長崎県感染症情報センター: 長崎県感染症発生動向調査実施要綱, <https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/hukushi-hoken/kansensho/kansen-c/hasseidoukou/>
- 2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル,

- <https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>
(2022.4.26)
- 3) 国立感染症研究所 (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): SFTS ウイルス検出マニュアル, (2013).
 - 4) A Kroneman *et al.*: An Automated Genotyping Tool for Enteroviruses and Noroviruses, *J Clin Virol* 2011 Jun; **51**(2):121-5.
 - 5) Huang CC *et al.*: Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection, *N Engl J Med.* **341**, pp936-942 (1999)
 - 6) 松本 文昭 他: 長崎県環境保健研究センター所報 63, (2017) 資料 p.110-115
 - 7) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 感染性胃腸炎 シーズン別ウイルス検出状況 (2022年5月6日作成)
 - 8) Shama Parveen *et al.*: Genetic Variability in the G Protein Gene of Group A and B Respiratory Syncytial Viruses from India, *J Clin Microbiol*, **44**, 3055-64, (2006)
 - 9) Hibino *et al* : Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus among children in Japan during three seasons and hospitalization risk of genotype ON1. *PLoS One* 13(1): e0192085, 2018.
 - 10) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 <特集> RS ウイルス感染症 2018~2021年, *IASR* Vol.43 pp79-81:2022年4月号
 - 11) Tamura K, *et al.*: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0, *Mol Biol Evol*, **30**(12), 2725-29, (2013).
 - 12) Saitou, N, *et al.*: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, **4**, pp406-425 (1987).
 - 13) 国立感染症研究所: マダニ対策、今できること, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/2287-ent/3964-madanitaisaku.html> (2022)