

# 感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症(2018年度)

山下 綾香、松本 文昭、小嶋 裕子、田栗 利紹

## Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases in 2018

Ayaka YAMASHITA, Fumiaki MATSUMOTO, Hiroko OJIMA, and Toshitsugu TAGURI

Key word : Surveillance, Enterovirus, Rubella, SFTS, Japanese spotted fever

キーワード: サーベイランス、エンテロウイルス、風しん、重症熱性血小板減少症候群、日本紅斑熱

### はじめに

感染症サーベイランス(発生动向調査)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。その後、鳥インフルエンザ(H7N9)及び中東呼吸器症候群(MERS)などの新たな感染症が海外で発生しており、これらの感染症に対し万全の対策を講じることが必要とされた。また、デング熱の国内感染例の発生<sup>1)</sup>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、感染症に対応する体制を一層強化するために、「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の一部を改正する法律(平成26年法律第115号)」が2014年11月21日に公布され、2015年9月の感染症法施行規則(省令)の改正に伴い、「長崎県感染症発生动向調査実施要綱」<sup>2)</sup>の一部改正が行なわれた。

要綱に基づき、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、2018年度に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行った結果について報告する。

### 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、長崎県感染症発生动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。

そのようにして収集された、376名分の臨床検体(咽頭ぬぐい液241検体、鼻腔ぬぐい液80検体、糞便(直腸拭い液を含む)19検体、血液61検体、血清56検体、髄液14検体、尿28検体、その他23検体)総数522検体を材料とした(表1)。

#### 2 検査方法

改正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<sup>3-14)</sup>に準じて、検体の前処理、細胞培養、ウイルス分離・同定・検出、遺伝子検査等について検査標準作業書を作成し、これらに基づき実施した。

### 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214名分の患者検体が搬入され、そのうち208名からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。遺伝子検査によりインフルエンザウイルスの亜型を判定した結果、A/H3が136名と全体の6割以上を占めてい

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	咽頭拭い液	鼻腔拭い液	糞便 (直腸拭い液)	血液	血清	髄液	尿	その他
インフルエンザ	214	214	135	79						
手足口病	59	62	58		3			1		
ヘルパンギーナ	11	11	11							
感染性胃腸炎	1	1			1					
RSウイルス感染症	1	4	1		1		1	1		
無菌性髄膜炎	12	56	12		12	6	4	12	10	
麻疹・風しん	16	50	16	1		13	4		16	
デング熱	1	1					1			
日本脳炎	1	2	1				1			
SFTS・リケッチア感染症	53	108				40	45			23
その他	7	13	7		2	2			2	
計	376	522	241	80	19	61	56	14	28	23

た。次いでA/H1pdm09が60名、B 亜型が12名であった。残る 6 名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。MDCK (イヌ腎尿細管由来細胞)、Caco2 (ヒト結腸癌由来細胞) を用いたウイルス分離試験の結果61株のインフルエンザウイルスを分離し、臨床検体と同様に亜型判定を実施した結果、A/H3 が24株、A/H1pdm09が29株、そしてB 亜型が 8 株であった。

感染症発生動向調査に基づき報告された長崎県内のインフルエンザ患者数および同時期の全国平均報告数の推移を図 1 に示す。長崎県における流行は、第49週 (12月3日から12月9日) に定点あたり報告数が 1.0 人を上回り、長崎県医療政策課はインフルエンザの流行入りを発表した。その後第52週 (12月24日から12月30日) に注意報レベル (定点あたり10人)、2019年第2週 (1月7日から1月13日) には警報レベル (定点あたり30人) を超え、長崎県のインフルエンザ患者数はいずれも全国平均値とほぼ同じペースで推移した。ウイルス亜型の月別推移を図 2 に示す。12月の流行入り直後はA/H1pdm09が A/H3 をわずかに上回っていたが、年明け後の本格的な流行が始まると

A/H3 が逆転し、その後の流行の主流となった。国立感染症研究所のインフルエンザ分離検出速報<sup>15)</sup>によると全国的な流行亜型も本県と同じ A/H3 であり、陽性数全体に占める検出割合も同程度で

あった。

今後も、迅速な注意喚起情報の提供等のまん延防止に向けた取り組みにつなげるために、各保健所と協力しながら患者発生数の把握および原因ウイルスの監視を継続することが重要と考えられた。

## 2 手足口病

手足口病と診断された59名分の患者検体が搬入された。それらに対して、CODEHOP VP1 RT-sn PCRによるエンテロウイルス (Enteroviruses; 以下、EVs) の遺伝子検索を実施した結果、50名の検体から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シング法により決定し、ウイルス型別のためのウェブツール Enterovirus Genotyping tool<sup>4)</sup>により解析した。検出型の内訳を図 3 に示す。エンテロウイルス A71 (EV-A71) が35名と最も多く全体の 7 割を占めていた。その他、コクサッキーウイルスA6 (CV-A6) が10名、ライノウイルスが 2 名、CV-A4、CV-A16、および Echovirus 11 がそれぞれ 1 名であった。RD-A (ヒト胎児横紋筋由来細胞)、HeLa-4 (ヒト子宮頸部癌由来細胞)、およびVero E6 (アフリカミドリザル腎臓上皮由来細胞) を用いたウイルス分離試験の結果、22株の臨床分離株が得ら

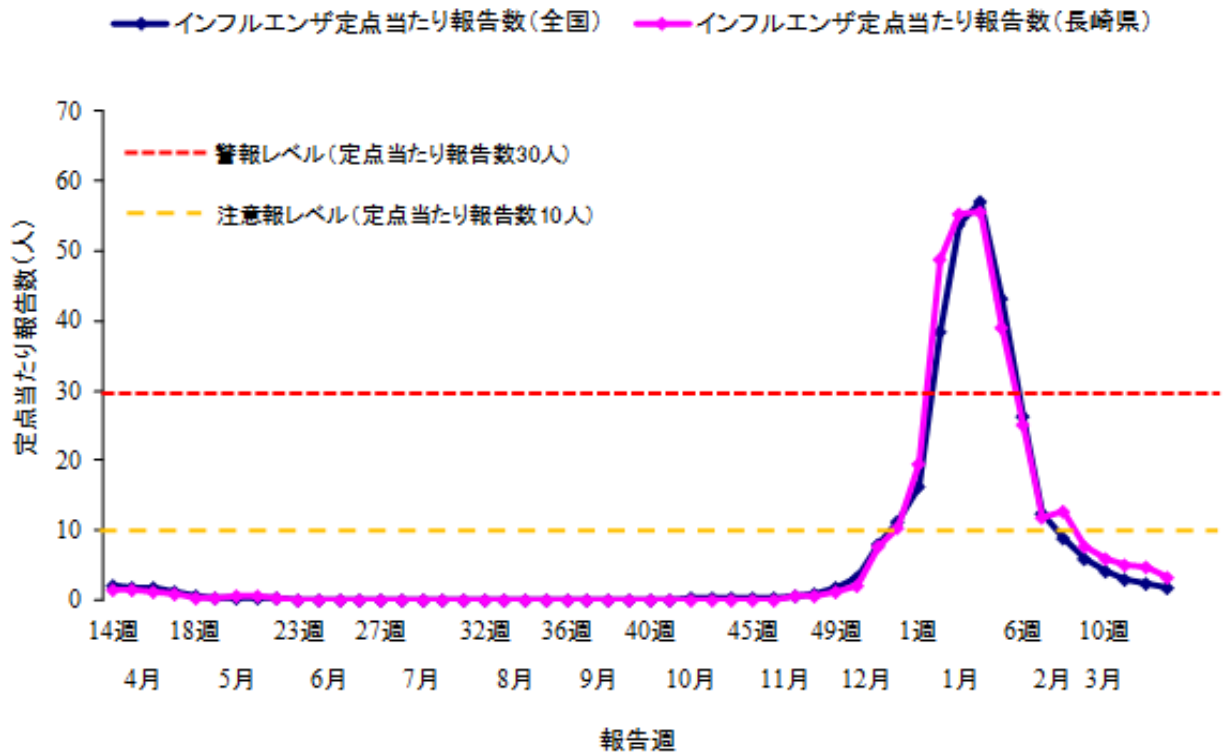


図1. インフルエンザの定点当たり報告数の推移(2018年度)

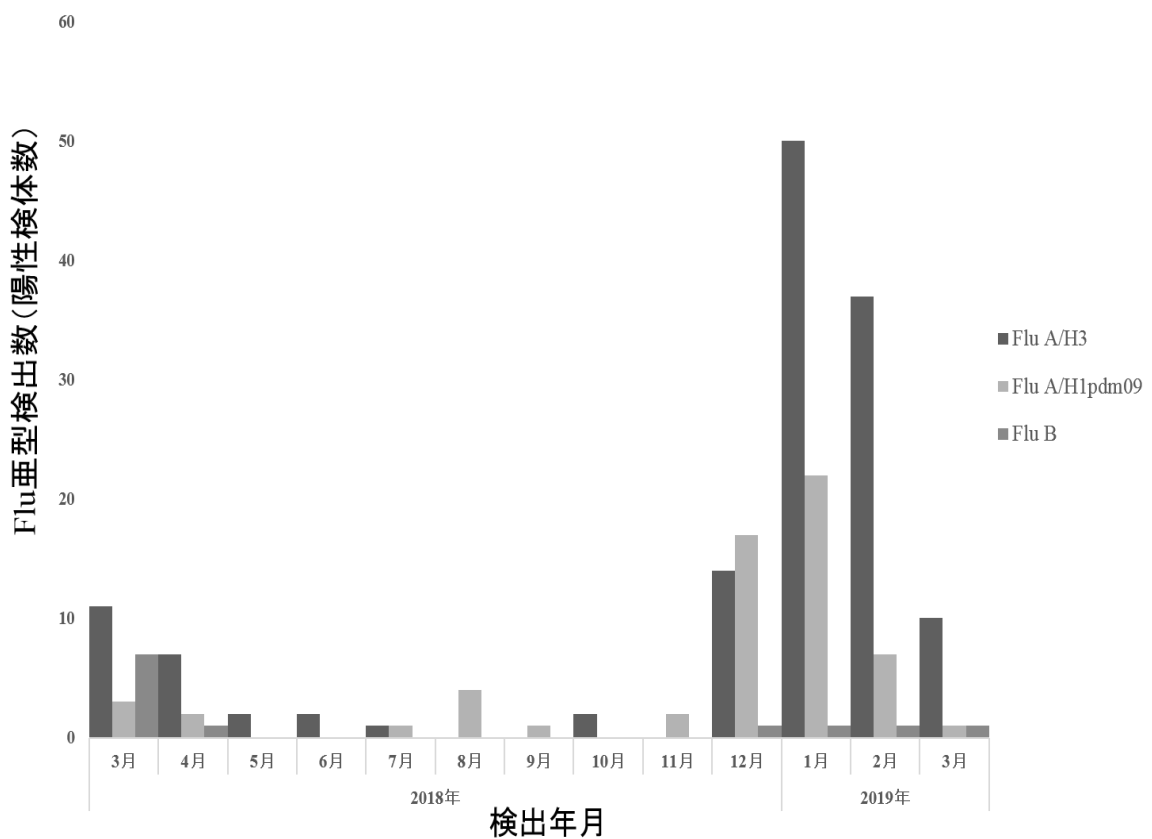


図2. インフルエンザ亜型検出数の推移(2018年度)

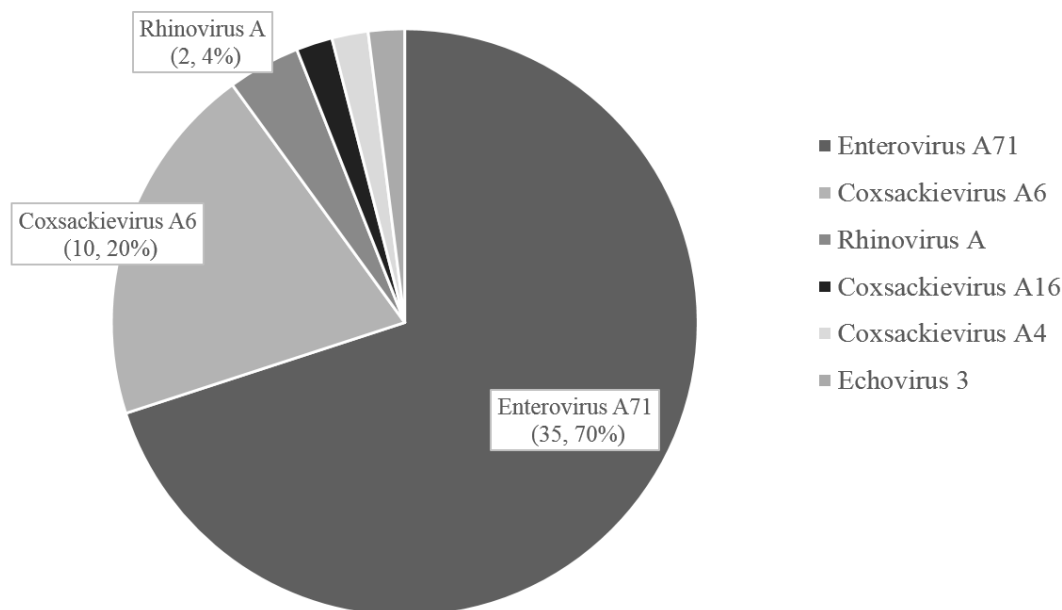


図3．手足口病患者からの検出EVs型内訳 (n=50)

れ、その内訳は EV-A71 が18株、CV-A6が3株、およびCV-A4が1株であった。手足口病は基本的に予後良好な疾患であるが、原因ウイルスのうち EV-A71 は中枢神経症状を伴う合併症を起しやすいため、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と考えられた。

### 3 ヘルパンギーナ

ヘルパンギーナと診断された11名分の患者検体が搬入され、手足口病と同様にEVs網羅的遺伝子検索を実施した。EVsの遺伝子を8名から検出し、それらを解析した結果CV-A4が4名、CV-A2が3名、およびCV-B5が1名であった。手足口病と同様にRD-A, HeLa-4、および Vero E6 細胞を用いたウイルス分離試験の結果、CV-A2が2株、CV-A4が2株、およびCV-B5が1株分離された。

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と考えられた。

### 4 感染性胃腸炎

感染性胃腸炎と診断された1名分の患者検体が搬入され、遺伝子検査を実施した結果、ロタウイ

ルスの遺伝子が検出された。増幅産物の配列を決定し、遺伝子型別用のウェブツール Rota C<sup>17)</sup> による解析を行った結果、遺伝子型 G2 に分類された。

ロタウイルスは、冬季に小児を中心に流行する嘔吐下痢を主徴とする感染性胃腸炎の原因ウイルスの1つである。2歳未満の乳幼児期は容易に脱水を起こすため特に注意が必要である<sup>18)</sup>。今後も県内の発生動向を注視していく必要があると考えられた。

### 5 RS ウイルス感染症

RS ウイルス感染症と診断された1名分の患者検体が搬入され、RS ウイルスのG遺伝子領域を標的としたRT-PCR<sup>7)</sup>を行った結果、咽頭拭い液から subgenogroup B に属する RS ウイルスの遺伝子を検出した。HEp-2 (ヒト喉頭癌由来細胞) を用いたウイルス分離を試みたがウイルスは分離されなかった。

RS ウイルスは、毎年冬季に小児を中心に流行する。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。他のウイルス感染症と異なり母体由来の抗体が豊富に存在する乳幼児期早期にも感染が成立・発症するとされ<sup>19)</sup>、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があり、施設内の集団感染事例も報告されている<sup>20)</sup>。RSウイルス感染症において、本県の病原体サーベイランスでは未だ検体提供数が少ないため、効率的なサーベイランス体制を構築する必要がある。

## 6 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎と診断された12名分の患者検体が搬入された。これらの検体に対し、手足口病と同様の手法でEVsの遺伝子検索を実施した結果、7名の検体からEVsの遺伝子が検出され、検出された遺伝子型はCV-B5が3名、CV-B3が1名、Echovirus 3が1名、およびEchovirus 11が1名であった。手足口病と同様にRD-A、HeLa-4、およびVero E6を用いたウイルス分離試験の結果、CV-B5が5株分離された。国立感染症研究所の病原微生物検出情報<sup>21)</sup>によると、2017年と2018年は全国的にEchovirus 6とEchovirus 11が多く検出され、次いでCV-B4とCV-B5がほぼ同数検出されていた。本県においては、CV-B5が比較的多く検出されたものの、全国的な検出結果と同様の傾向を示していた。

無菌性髄膜炎の原因ウイルスは、その多くをEVsが占めると考えられている<sup>8)</sup>。そのうち

CV-B群は、新生児期の感染では心筋炎や敗血症様疾患等の重篤な症状を惹き起こすことが報告されており<sup>22)</sup>、引き続き本県における流行状況を注視していく必要があると考えられた。

## 7 麻しん・風しん

麻しんまたは風しんを疑う16名分の患者検体が搬入された。これらの検体に対して病原体検出マニュアル<sup>9,10)</sup>に基づきRT-PCRによる遺伝子検出を試みたところ、4名から風しんウイルスの遺伝子が検出された。遺伝子陽性となった検体について、遺伝子型別のためにエンベロープ(E)領域を標的としたRT-PCR<sup>10)</sup>を行い、ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。検出マニュアル<sup>10)</sup>に示された参照配列とともに解析ソフトClustal W<sup>23)</sup>によりアライメントを作成し近隣結合法<sup>24)</sup>による分子系統樹解析を実施した(図4)。その結果、検出された風しんウイルスはいずれも遺伝子型1Eに型別された。Vero E6細胞を用い

たウイルス分離試験の結果、3名分の検体から風しんウイルスが分離された。遺伝子型1Eの風しんウイルスは日本国内で最も多く検出されており<sup>25)</sup>、本県検出ウイルスも同様の傾向を示した。

風しんは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。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」を定め、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。2018年は関東地方を中心に風しんの流行があり、長崎県においても2013年以来の複数症例の発生をみた。風しんウイルスは妊娠中の女性に感染すると胎児に先天的な異常を生じる先天性風しん症候群を引き起こすことが知られており、他県の流行を含めて注視していく必要があると考えられた。

## 8 デング熱

デング熱を疑う1名分の患者検体が搬入され、デングウイルスのイムノクロマトキットによるNS1抗原の検出およびデングウイルスの遺伝子検出を試みたが、いずれの検査結果も陰性であった。

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。具体的には、長袖・長ズボンの着用、昆虫忌避剤の使用などがあげられる。2014年のデング熱国内感染例の発生に伴い、2015年に蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針が施行され、長崎県内では、長崎市および佐世保市内の公園において、蚊のモニタリング調査を実施している。当センターでは捕獲された蚊に対する遺伝子検査を行っており、現在までに長崎県内で捕集された蚊からデング熱、チクングニア熱等の蚊媒介性感染症の原因ウイルス遺伝子が検出された事例はない。海外からのクルーズ客船が多く来航する本県の特性を鑑み、媒介蚊に対するサーベイランスを継続していく必要があると考えられた。

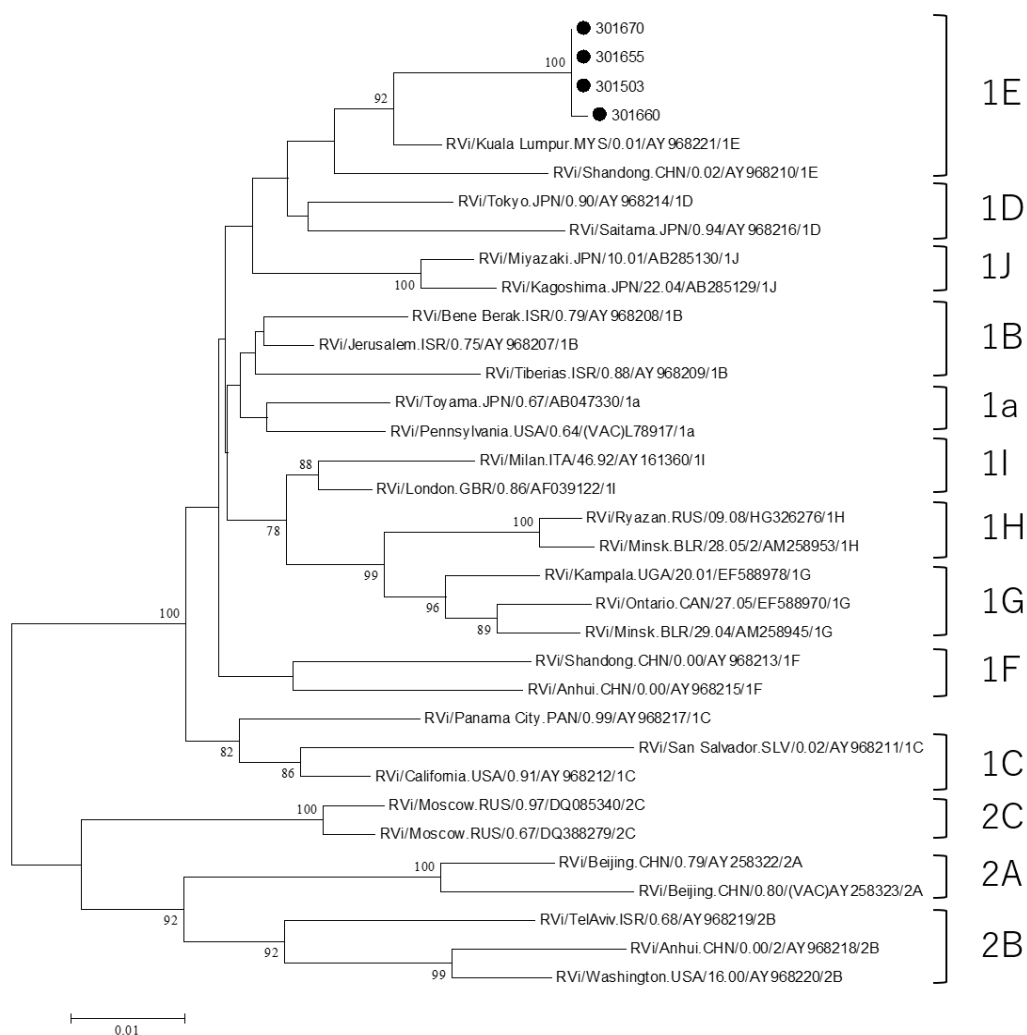


図4. 風しんウイルスE領域配列に基づく遺伝子型別

● : 長崎県検出株

系統樹右側の数字とアルファベットの組み合わせが遺伝子型

### 9 日本脳炎

日本脳炎を疑う1名分の患者検体が搬入され、日本脳炎ウイルス (Japanese Encephalitis virus: 以下、JEV) の遺伝子検出およびELISA法によるIgM抗体の検出<sup>12)</sup>を試みた。また、類症鑑別のためEVsの遺伝子検出も併せて行った。その結果、遺伝子はJEVとEVsは共に検出されず、JEV IgM抗体も検出されなかった。

日本脳炎は、豚等のJEV増幅動物の血液を吸血した蚊がヒトを吸血することで感染が成立するウイルス性急性脳炎である。感染者の大半は不顕性感染であるが、発症すると初期に40°C以上の高熱、頭痛、嘔吐、頸部硬直などの症状が現れ、次いで意識障害、筋硬直、けいれん等の急性脳炎の症状が出現する。致死率は約20~40%で、発症者の半数には重篤な後遺症が残ることから、公衆衛生上

留意すべき、ヒトのウイルス性急性脳炎の一つである<sup>26)</sup>。長崎県では、2010、2013、および2016年に患者が発生しており、患者発生予防のために感染症流行予測調査により県内のJEV流行状況を監視し、適宜注意喚起を行っていくことが必要と考えられた。

### 10 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、リケッチア感染症

マダニが媒介する感染症として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53名分の患者検体が搬入された。上記3疾患は、臨床症状等から区別することが困難であり、検査項目をどちらかに限定することが困難であるため、長崎県ではダニ媒介感染症疑い事例として検査対応している。遺伝子検査については、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、病原体検出マニュアル<sup>13, 14)</sup>に基づき検査を実施している。そのような体制で行われた検査結果を表2に示す。遺伝子検査の結果、1名からSFTS ウイルス、10名から*R. japonica*、5名から*O. tsutsugamushi*の遺伝子が検出された。*O. tsutsugamushi*については、検出された増幅産物からダイレクトシーケンス法による塩基配列決定の後、近隣結合法による分子系統樹解析により血清型別を行った。解析の結果、5名から検出された*O. tsutsugamushi*由来遺伝子は、3名がKawasaki型、2名がGilliam型に分類された。ペア血清による抗体価測定を行った12名中7名に*R. japonica*に対する特異的抗体価の有意上昇(急性期と回復期で4倍以上抗体価の差がある状態)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生息す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マダニに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等を浴びて、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<sup>27)</sup>。

そのほか、発生動向調査において規定されていない診断名(新生児発熱、ウイルス性発疹症等)の検体7名分13検体(咽頭拭い液、便、血液、尿)が搬入され、それらに対しCODEHOP VP1 RT-sn PCRを用いたEVsの遺伝子検査を実施した。その結果、新生児発熱の患者からEVsの遺伝子が検出され、増幅産物の塩基配列からEchovirus 7と同定された。

## 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) 東京都福祉保健局：東京都蚊媒介感染症対策

- 会議報告書, p4, (2014).
- 2) 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/hasseid-oukou/> (2019.7.4).
- 3) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル 第4版, (2018).
- 4) 国立感染症研究所：手足口病 病原体検出マニュアル, (2018).
- 5) 国立感染症研究所：ヘルパンギーナ 病原体検出マニュアル, (2018).
- 6) 国立感染症研究所：ウイルス性下痢症検出マニュアル (第3版), (2004).
- 7) 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).
- 8) 国立感染症研究所：無菌性髄膜炎検出マニュアル, (2018).
- 9) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル麻疹 第3.4版, (2017).
- 10) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル風疹 第3.2版, (2017).
- 11) 国立感染症研究所：デングウイルス感染症診断マニュアル, (2014).
- 12) 国立感染症研究所：日本脳炎, (2013).
- 13) 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).
- 14) 国立感染症研究所：リケッチア感染症診断マニュアル, (2001).
- 15) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 インフルエンザウイルス分離・検出速報, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html> (2019.7.4).
- 16) Huang CC *et al*: Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection, *N Engl J Med*. **341**, 936-42 (1999).
- 17) KU Leuven: RotaC2.0 automated genotyping tool for Group A rotaviruses., <http://rotac.regatools.be/> (2019.7.4).
- 18) 河島尚志ら：ロタウイルスの最近の話題, モダンメディア, **52**, pp371-376(2006).
- 19) 堤 裕幸：RS ウイルス感染症, 感染症学雑誌

- 誌 , 79, 857-863(2005).
- 20) 米田哲也ら：介護老人保健施設におけるヒトRS ウイルスの集団感染事例 - 富山県, *IASR* 39, 126-127 (2018).
- 21) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr/511-surveillance/iasr/tables/1493-iasrtv.html> (2019.7.4)
- 22) M.A. Pallansch: Coxsackievirus B Epidemiology and Public Health Concerns, In: *The Coxsackie B Viruses*, pp13-30 (1997).
- 23) Thompson JD, *et al*: CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, 22, pp4673-80 (1994).
- 24) Saitou, N, *et al*: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, 4, pp406-425 (1987).
- 25) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報 風しんウイルス分離・検出速報, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-rubella.html> (2019.7.4).
- 26) World Health Organization (WHO): Fact sheet No. 386. In: Japanese encephalitis. World Health Organization (WHO). 2015, <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs386/en/>(2019.7.4).
- 27) 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> (2019.7.4).



表 2. ダニ媒介感染症検査結果一覧

症例No.	性別	年齢	遺伝子検査結果	抗体検査結果	検体種別
1	女	64	-	R.j.	血液、ペア血清、痂皮
2	女	21	-	NT	血液、痂皮
3	男	67	R.j.	NT	血液、血清、痂皮
4	男	78	R.j.	NT	血液、血清、痂皮
5	女	72	R.j.	NT	血液、紅斑部生検
6	女	2	-	NT	血液、血清
7	女	74	-	NT	血液、血清
8	女	53	R.j.	NT	血液、血清、痂皮
9	女	82	NT	R.j.	ペア血清
10	男	22	-	NT	血液、血清
11	女	8	-	NT	血液
12	女	78	SFTS	NT	血液、血清
13	女	15	-	NT	血液、血清、紅斑部生検
14	女	57	R.j.	NT	血液、刺し口部生検
15	男	66	O.t. (Gilliam)	NT	血清、痂皮
16	女	67	NT	R.j.	ペア血清
17	女	85	R.j.	-	血液、痂皮
18	女	78	NT	-	ペア血清
19	男	64	NT	R.j.	ペア血清
20	女	84	-	-	血液、ペア血清、痂皮
21	女	38	-	NT	血液
22	男	35	-	NT	血液
23	男	41	-	NT	血液
24	男	46	R.j.	NT	血液、痂皮、その他
25	男	41	NT	-	ペア血清
26	男	68	NT	R.j.	ペア血清
27	男	74	-	-	血液、血清
28	男	81	R.j.	NT	血液、血清、紅斑部生検
29	女	33	O.t. (Gilliam)	NT	血液
30	男	65	-	-	血液、ペア血清
31	男	84	-	NT	血液、血清
32	女	76	R.j.	NT	血液、痂皮
33	女	69	-	NT	血液、血清
34	男	77	-	NT	血液、血清
35	女	71	-	NT	血液、痂皮
36	女	74	NT	R.j.	ペア血清
37	女	71	R.j.	NT	ペア血清、痂皮
38	女	53	-	NT	血液
39	男	62	-	NT	血液、血清
40	男	82	NT	R.j.	ペア血清
41	男	81	-	NT	血液、血清、痂皮
42	男	67	-	-	ペア血清
43	女	79	-	NT	血液、痂皮
44	女	47	O.t. (Kawasaki)	NT	血液、痂皮
45	男	57	-	NT	血液
46	男	70	O.t. (Kawasaki)	NT	血液、痂皮
47	男	32	O.t. (Kawasaki)	NT	血液、痂皮
48	男	32	-	NT	血液
49	男	30	-	NT	血液
50	女	39	-	NT	血液、痂皮
51	女	69	-	NT	血清
52	女	68	-	NT	血清