

感染症発生動向調査 (2007) —ウイルス検査—

木上 照子 石崎 徹 柳瀬 杉夫

キーワード：感染症発生動向調査、ウイルス、病原体

はじめに

感染症発生動向調査事業は、京都府内及び全国における感染症の動向を患者情報及び検査情報の両面から把握し、そのデータをこれら疾患の予防対策に活用するために、国からの委託を受けて実施するものである。ここでは検査情報の面から、2007年1月から12月にかけて府内で採取された検体を当研究所で検査し、分離検出されたウイルスについて報告する。インフルエンザの詳細については別稿¹⁾に記載した。

材料と方法

1. 材料

2007年1月から12月までに、京都府内6定点の医療機関のうち、府立与謝の海病院 (与謝の海病院) から9検体、公立南丹病院から143検体、独立行政法人国立病院機構南京都病院 (南京都病院) から37検体、公立山城病院から3検体及び済生会京都府病院から1検体の合計193検体が送付された。市立福知山市民病院からの検体はなかった (表1)。

検体の内訳は、咽頭ぬぐい液 (うがい液及び鼻汁等を含む) 64検体 (33.2%)、糞便95検体 (49.2%)、髄液33検体 (17.1%) 及び喀痰1検体 (0.5%) である。

2. 方法

エンテロウイルス、アデノウイルス(40、41型を除く) 及びムンプスウイルスの分離には、HeLa、Vero、Hep2

及びRD-18S細胞を使用し、RSウイルスの分離にはHep2及びVero細胞を、ポリオウイルスの分離にはさらにL20B細胞を使用した。また、ヒトメタニューモウイルスの分離を目的にVeroE6およびLLCMK2細胞を使用した。アデノウイルス及びロタウイルスA群の抗原の検出にはロタ-アデノライ (第一化学) あるいはラピッドテストロタ・アデノ (第一化学) を、ロタウイルスC群の検出にはロタウイルスC群検出キット (デンカ生研) を用いた。また、RSウイルスの抗原検出には、ディレクティジェンEZ RSV (日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた。

検査方法はマニュアル^{2,4)}及びキット添付の取扱説明書に準じた。ウイルス分離については、用いた細胞それぞれの細胞変性効果(cytopathic effect、CPE) が認められたものについて同定を試みた。これら分離されたウイルスの同定は中和試験法により行った。中和用抗血清として、市販のデンカ生研製又は国立感染症研究所 (感染研) から分与されたものを用いた。また、エンテロウイルスの同定には地方衛生研究所全国協議会から配布されたBrCr-A、C-7A及びエコーウイルス混合血清 (EP95) を用いた。

ノロウイルス (Genogroup I (G I) 及びGenogroup II (G II))、アデノウイルス40、41型、アデノウイルス、RSウイルス、パルボウイルス、単純ヘルペスウイルス、サイトメガロウイルス、HHV-7、HHV-6についてはそれぞれRT-PCR法で特異的遺伝子の検出を行い、さらに、ノロウイルスの確認にはリアルタイムPCR法⁵⁾を実施した。

結果と考察

1. 医療機関別検体数

表1に医療機関別の採取検体数を示した。

例年とほぼ同様に、公立南丹病院が約75%、南京都病院が約19%とこれら2病院からの搬入検体が大部分を占めた。

昨年と比較して搬入数は公立南丹病院約53%、南京都病院においても約40%であった。搬入数は少ないながらも、与謝の海病院は増加し、公立山城病院は減少した。昨年搬入の無かった済生会京都府病院からは1検体の搬入があった。一方、市立福知山市民病院からの検体搬入は無かった。全体的には昨年⁶⁾より176検体減少した (図1)。

表1 医療機関別の採取検体の種類

検体の種類 医療機関名	咽頭ぬぐい液	糞便	髄液	血清	計
府立与謝の海病院			2		2
公立南丹病院	38	191	36	3	268
国立病院機構南京都病院	89	1	2		92
公立山城病院		3	4		7
計	127	195	44	3	369

(平成20年9月1日受理)

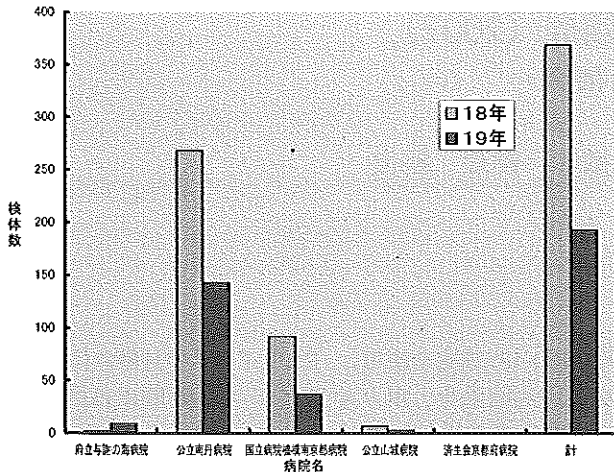


図1 平成18年・19年医療機関別検体数

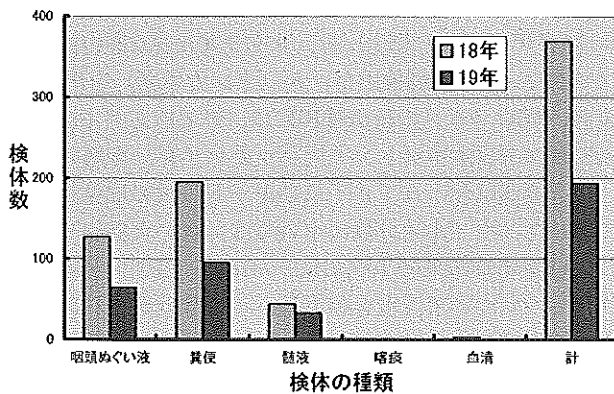


図2 平成18・19年種類別検体数

2. 検体の種類

表1に医療機関別の採取検体を示した。

昨年同様糞便が95検体と全搬入検体数の約半数を占めた。次に咽頭ぬぐい液64検体、髄液33検体の順に多かった。喀痰が1検体搬入された。昨年⁹⁾と比較して全体的な搬入件数が減少したこともあり、糞便、咽頭ぬぐい液は約半数、髄液が約25%減少した(図2)。

3. 臨床診断名別ウイルス検出状況

表2に臨床診断名別ウイルス検出状況を示した。調査期間中に63株のウイルスを分離同定した。このうち検体数の最も多かった感染性胃腸炎57検体中40検体からウイルスが検出され(内6検体で複数のウイルスが検出)、無菌性髄膜炎46検体中30検体からウイルスが検出された。インフルエンザ様疾患として搬入された31検体からインフルエンザウイルスが20株分離された。また、その他の疾患でウイルス分離されたものの同定困難株が1株あった。インフルエンザ様疾患検体を除くウイルス検出率は50.9%で昨年の約42%⁹⁾より上昇した。

【感染性胃腸炎】最も多く搬入された感染性胃腸炎の57検体からは、コクサッキーウイルスB群5型1株、エコーウイルス30型3株が分離され、他に抗原として、17検体からロタウイルスA群が検出された。ウイルス特異的遺伝子としてノロウイルスGIIが12検体から、アデノウイルス

(not typed) が1検体から検出された。また、この他にノロウイルスGII・ポリオウイルス2型、ノロウイルスGII・アデノウイルス6型、ロタウイルスA群・ポリオウイルス2型、アデノウイルス5型・アデノウイルス40,41型及びロタウイルスA群・アデノウイルス2型と複数のウイルス分離及びウイルス抗原あるいは特異的遺伝子が検出された検体が6検体あったが、これらのウイルスについてどちらが主因であったかは不明である。以上感染性胃腸炎からのウイルス検出率は70.1%(昨年約47%)であった。なお、ロタウイルスC群抗原、ノロウイルスGI遺伝子は検出されなかった。

ロタウイルスA群は京都府では昨年17検体(診断名別分離率は約13%)、本年は20検体(複数ウイルス分離された3検体含む)(診断名別検出率は約35%)から検出された。ロタウイルスA群の検出がノロウイルスの検出数を上回ったことは、感染性胃腸炎からノロウイルスの検出が最も多かった全国の傾向とは一致しなかった^{7,9)}。一方、ノロウイルスも14検体(複数ウイルス分離された2検体含む)(診断名別検出率は約25%)検出され、ロタウイルスA群に次いで多く分離された。なお、ノロウイルスGIは昨年4検体から検出されたが、本年は検出されていない。

ポリオウイルス2型、3型は感染性胃腸炎を示す0歳児から各1株分離されたが、ワクチン接種後に分離されたため、ワクチン由来によるものと推察された。

アデノウイルスは昨年6種類の疾患から、1型、2型、3型、4型、5型及び40,41型が19株分離されたが、本年は感染性胃腸炎でアデノウイルス2型が2検体、6型1検体、40,41型1検体、not typed1検体検出された。ただし、アデノウイルスが、複数のウイルスが検出された3検体の感染性胃腸炎の主因であるかは不明である。なお、他3疾患からアデノウイルス1型1株、2型3株、5型1株が分離されており、感染性胃腸炎、咽頭結膜熱などを含むアデノウイルスの検出状況を見ると、全国では2型、3型、1型の順に多く検出されているが^{7,9)}、府内において2型は5株検出されたが、3型は検出されなかった。

【上気道炎】上気道炎の13検体からは、エコーウイルス30型及びアデノウイルス2型各1株が分離され診断名別検出率は15.4%であった。下気道炎7検体からはインフルエンザウイルス、アデノウイルス1型が各1株分離され、診断名別検出率は28.6%であった。気道炎からのウイルス分離は、従前から他の疾患に比べて分離率は低い状況にある。

【無菌性髄膜炎】無菌性髄膜炎の46検体からは、コクサッキーウイルスB群4型2株、エコーウイルス30型28株の計30株が検出された。なかでもエコーウイルス30型が分離ウイルスの大部分を占め、これを主因とする無菌性髄膜炎が流行したと考えられた。診断名別検出率も65.2%と、診断された疾病中最も高い割合で無菌性髄膜炎の原因が特定された。分離数は全国のエコーウイルス30型の約1/4を京都府が占め^{7,9)}、突出していた。全国ではコクサッキーウイルスB群5型の分離数がエコーウイルス30型よりも

多く認められたが京都府での分離は1株にとどまった^{7, 8)}。

無菌性髄膜炎の原因ウイルスとして、昨年はエコーウイルス18型が分離の半数を占めたが、本年はエコーウイルス30型が大部分を占め、昨年に引き続き特定のウイルスが分離される傾向が認められた。平成16年にエコーウイルス30型が比較的多く分離されたが、現在本年の分離ウイルスと併せて遺伝子学的な関連を調査中である。

【手足口病】手足口病と診断された検体は全国的にも多かったが^{7, 8)}、府内では手足口病と診断された検体の搬入が1検体と少なく、同検体から原因ウイルスであるエンテロウイルス71型が1株分離されたのみであった。

【RSウイルス感染症】RSウイルスは、保存や熱変化に弱くウイルス分離が難しいために、イムノクロマト法による抗原検出とVero細胞、HEp2細胞による分離、RT-

PCR法による遺伝子検出を併用した。この結果9検体中3検体からRSウイルスを確認した。

【その他】発疹症からエコーウイルス30型1株、不明熱、ウイルス性肝炎からアデノウイルス2型が各1株、伝染性紅斑からムンプスウイルス1株が検出された。ヘルペス性口内炎、伝染性紅斑など原因が判明している疾病でウイルスが分離されなかった検体は、さらに対象ウイルスを検出するためにRT-PCR法で遺伝子検出を試みたが検出されなかった。また、口内炎として搬入された検体で、ウイルスは分離されたが、PCR法等を実施しても同定困難株が1株あった。

その他に急性脳炎、ヘルパンギーナ、川崎病、熱性痙攣、流行性角結膜炎の患者から、ウイルスは検出されなかった。

表2 診断名別ウイルス検出状況

検出方法	分離ウイルス	臨床診断名																計			
		インフルエンザ	RSウイルス感染症	上気道炎	下気道炎	ヘルパンギーナ	手足口病	腸炎	髄膜炎	急性脳炎	発疹症	不明熱	川崎病	ヘルペス性口内炎	伝染性紅斑	熱性痙攣	流行性角結膜炎		ウイルス性肺炎	その他	
分離培養法	エンテロウイルス71型						1													1	
	コクサッキーウイルスB群4型									2										2	
	コクサッキーウイルスB群5型								1											1	
	エコーウイルス30型			1				3	28		1									33	
	アデノウイルス1型					1														1	
	アデノウイルス2型			1									1						1	3	
	アデノウイルス5型	1																		1	
	ムンプスウイルス														1					1	
	インフルエンザウイルスA/ソ連型	3																		3	
	インフルエンザウイルスA/香港型	8			1															9	
	インフルエンザウイルスB型	8																		8	
計		20	0	2	2	0	1	4	30	0	1	1	0	0	1	0	0	1	0	63	
抗原検出	ロタウイルスA群							17												17	
	計	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	17	
遺伝子検出	アデノウイルス(not typed)							1												1	
	RSウイルス		3																	3	
	ノロウイルスGⅡ							12												12	
	計	0	3	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	
複数検出	ノロウイルスGⅡ・ポリオウイルス2型 ¹⁾							1												1	
	ノロウイルスGⅡ・アデノウイルス6型 ¹⁾							1												1	
	ロタウイルスA群・アデノウイルス2型 ¹⁾							2												2	
	ロタウイルスA群・ポリオウイルス3型 ¹⁾							1												1	
	アデノウイルス5型・アデノウイルス40/41型 ¹⁾							1												1	
計		0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
同定困難																				1	1
検出検体数		20	3	2	2	0	1	40	30	0	1	1	0	0	1	0	0	1	1	103	
検体数		31	9	13	7	1	1	57	46	6	4	5	1	1	1	1	1	1	7	193	
検出率(%) ²⁾		64.5	33.3	15.4	28.6	0.0	100.0	70.2	65.2	0.0	25.0	20.0	0.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	14.3	53.4	

注 1) アデノウイルス6型、ポリオウイルス2型、3型は分離培養法による。

アデノウイルス40/41型は遺伝子検出による。

注 2) 検出率(%)は検出検体数/検体数×100

呼吸器疾患としてヒトメタニューモウイルスが全国で検出・報告がされているため、当該ウイルスの培養細胞による分離を試みたが分離検出されなかった。今後RT-PCR法により、府下の浸潤状況を詳細に調査する予定である。

【まとめ】以上のことから2007年の特徴は、エコーウイルス30型による無菌性髄膜炎及びロタウイルスA群及びノロウイルスGⅡによる感染性胃腸炎の発生が多かったと考えられた。

4. 月別ウイルス検出状況

表3に月別ウイルス検出状況を示した。

コクサッキーウイルス及びエコーウイルスは、従来から全国的に夏期(6月～8月)から秋期(9月～11月)にか

けて多く検出される傾向がある⁹⁾。京都府における両ウイルスの検出状況もまさにその典型を示し7月～11月の間に多く検出された。特に8～9月かけて36株のうち32株と約9割がこの期間に分離されている。そのうちエコーウイルス30型がこの2ヶ月で29株分離されたことから、府内で夏期～秋期に発生した無菌性髄膜炎の流行の主な原因ウイルスであると考えられた。なお、無菌性髄膜炎の医療機関からの患者数の報告数とエンテロウイルスの分離状況は図3に示したとおりである。

年間を通して最も患者数の報告が多いのが感染性胃腸炎で、感染性胃腸炎からのウイルスの検出は特にロタウイルスA群とノロウイルスGⅡがその85%を占めた。府内の感染性胃腸炎の患者報告数とこの2種類の分離状況

表3 月別ウイルス検出状況

検出方法	分離ウイルス	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計	
分離培養法	エンテロウイルス71型									1				1	
	コクサッキーウイルスB群4型									2				2	
	コクサッキーウイルスB群5型								1					1	
	エコーウイルス30型							2	18	11	1	1		33	
	アデノウイルス1型			1										1	
	アデノウイルス2型			1				1					1	3	
	アデノウイルス5型				1									1	
	ムンプスウイルス							1						1	
	インフルエンザウイルスA/ソ連型					1							2	3	
	インフルエンザウイルスA/香港型	1	7				1							9	
	インフルエンザウイルスB型		5	2	1									8	
	計		1	14	3	2	1	2	2	19	14	1	1	3	63
	抗原検出	ロタウイルスA群			1	5	5						4	2	17
計		0	0	1	5	5	0	0	0	0	0	4	2	17	
遺伝子検出	アデノウイルス(not typed)												1	1	
	RSウイルス		1	1									1	3	
	ノロウイルスGⅡ	3			1								8	12	
	計	3	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	10	16	
複数検出	ノロウイルスGⅡ・ポリオウイルス2型 ¹⁾												1	1	
	ノロウイルスGⅡ・アデノウイルス6型 ¹⁾				1									1	
	ロタウイルスA群・アデノウイルス2型 ¹⁾					2								2	
	ロタウイルスA群・ポリオウイルス3型 ¹⁾					1								1	
	アデノウイルス5型・アデノウイルス40.41型 ¹⁾	1												1	
計	1	0	1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	1	6	
同定困難						1								1	
検出検体数		5	15	6	8	10	2	2	19	14	1	5	16	103	
検体数		28	30	12	12	14	5	8	25	18	3	13	25	193	
検出率(%) ²⁾		17.9	50.0	50.0	66.7	71.4	40.0	25.0	76.0	77.8	33.3	38.5	64.0	53.4	

注 1) アデノウイルス6型、ポリオウイルス2型、3型は分離培養法による。アデノウイルス40.41型は遺伝子検出による。

注 2) 検出率(%)は検出検体数/検体数×100

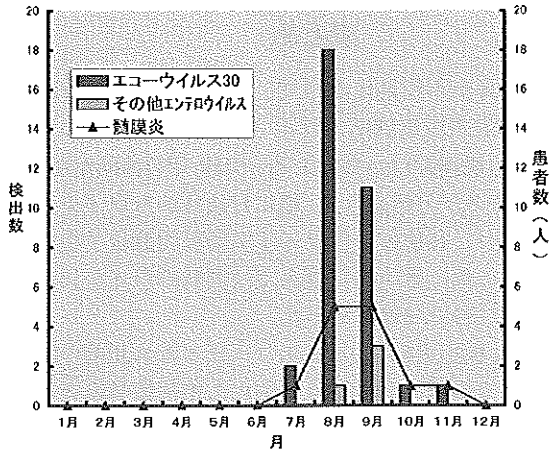


図3 エンテロウイルスの分離数及び府内無菌性髄膜炎患者報告数

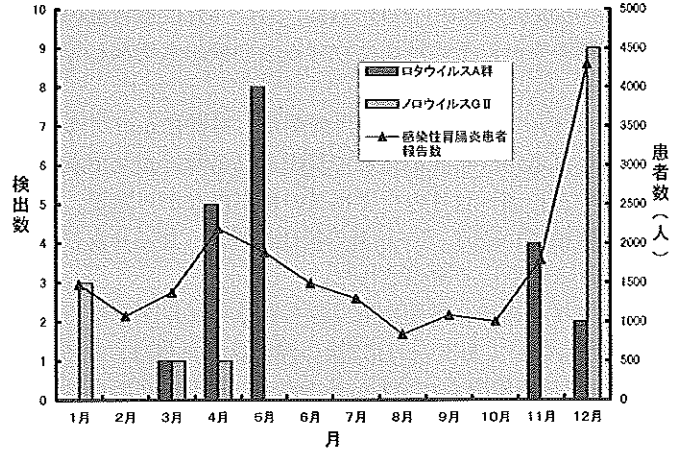


図4 感染性胃腸炎検体からのロタウイルスA群とノロウイルスの分離数及び府内感染性胃腸炎患者報告数

表4 年齢別ウイルス検出状況

検出方法	分離ウイルス	年齢										計			
		0~4	5~9	10~14	15~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70以上		不明		
分離培養法	エンテロウイルス71型	1													1
	コクサッキーウイルスB群4型		2												2
	コクサッキーウイルスB群5型	1													1
	エコーウイルス30型	15	14	2	2										33
	アデノウイルス1型	1													1
	アデノウイルス2型	3													3
	アデノウイルス5型	1													1
	ムンプスウイルス		1												1
	インフルエンザウイルスA/ソ連型	1	2												3
	インフルエンザウイルスA/香港型	3	3	2	1										9
	インフルエンザウイルスB型	2	4	2											8
	計		28	26	6	3	0	0	0	0	0	0	0	0	63
抗原検出	ロタウイルスA群	15	1	0	0	1	0								17
	計	15	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	17	
遺伝子検出	アデノウイルス(not typed)	1													1
	RSウイルス	3													3
	ノロウイルスGII	11	1												12
	計	15	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	16	
複数検出	ノロウイルスGII・ポリオウイルス2型 ¹⁾	1													1
	ノロウイルスGII・アデノウイルス6型 ¹⁾	1													1
	ロタウイルスA群・アデノウイルス2型 ¹⁾	2													2
	ロタウイルスA群・ポリオウイルス3型 ¹⁾	1													1
	アデノウイルス5型・アデノウイルス40/41型 ¹⁾	1													1
計	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	
同定困難		1													1
検出検体数		65	28	6	3	1	0	0	0	0	0	0	0	103	
検体数		117	48	19	6	2	1	0	0	0	0	0	0	193	
検出率(%) ²⁾		55.6	58.3	31.6	50.0	50.0	0.0							53.4	

注 1) アデノウイルス6型、ポリオウイルス2型、3型は分離培養法による。

アデノウイルス40/41型は遺伝子検出による。

注 2) 検出率(%)は検出検体数/検体数×100

は図4のとおりであり、11月～1月、3月～6月に患者数の増加が認められ、その時期にウイルスの検出も増加している。

ロタウイルスA群は一般的に晩冬から春期にかけて多く検出されるが、年間を通して検出されるウイルスである。昨年2月、6～11月のウイルスの検出はなかったが、本年も同様に1～2月、6～10月の検出はなく、3～5月及び11～12月に集中して検出された。

ノロウイルスは、冬期に多くみられるウイルスであるが、府内においても3～4月に2検体検出された他は、すべて1月、12月に検出され全てGⅡであり、GⅠは検出されなかった。全国ではノロウイルスGⅡはGⅠの約10倍の検出数があり、ノロウイルスGⅡの検出状況は12月が年度の1/4を占め、11月～1月の3ヶ月で全体の約半数が検出されている。

アデノウイルスは、昨年は年間（7月8月除く）を通じて検出されたが、本年は7月～11月の期間は全く検出されなかった。

ポリオウイルスは、春期及び秋期ワクチン接種後に分離されたこと及び麻痺などの症状を呈していないことから、ワクチン由来であると考えられた。現在我国におけるポリオは根絶されたと考えられているが、一方毎年ワクチン接種後の時期にワクチン由来のポリオウイルスが分離されている。

RSウイルスは、12月に分離されており、インフルエンザが流行を始める前に分離数の増加が認められるとされる時期とほぼ一致した。

5. 年齢別ウイルス検出状況

表4に年齢別ウイルス検出状況を示した。年齢の区分は感染研⁹⁾と同様である。

小児科を中心とした検体採取が多いため、検体の内訳は60.6%が0～4歳で、次いで5～9歳が24.9%、10～14歳が9.8%であった。15～19歳3.1%、20～30歳代の検体は約1.6%で、40歳以上の検体はなかった。10～14歳検体からのウイルスの年齢別検出率は約31.6%、30歳代の1検体からウイルスは検出できなかったが、これを除く年齢区分では半数以上の検体からウイルスが検出された。

ロタウイルスA群は小児に多く、全国的にも成人では散見される程度であるが京都府でも20検体中0～4歳で18検体、5～9歳で1検体が検出され、他には20代の検体から1検体確認された。

まとめ

1. 2007年1月から12月にかけて、府内6定点の医療機関のうち5定点医療機関で採取された193検体についてウイルス検査を行ったところ、64株（内1株同定困難）のウイルスが分離された。他に17検体からウイルス抗原を検出し、16検体からウイルス特異的遺伝子を検出した。この他に感染性胃腸炎では複数のウイルスが検出された検体が6検体あった。
2. 最も多く検出されたのは、エコーウイルス30型の33株であり、その多くが夏期に発生した無菌性髄膜炎の患者から分離された。次に多かったのはロタウイルスA群が20検体、ノロウイルスGⅡが14検体の感染性胃腸炎患者から検出された。
3. 検体の95%以上が14歳以下であり、40歳以上の検体はなかった。
4. 2007年の府内におけるそれぞれのウイルスの分離検出時期は、全国の傾向とおおむね一致していたと考えられたが、京都府のエコーウイルス30型の分離数は全国的にも突出していた。

謝 辞

本調査に当たり、検体の採取に御協力いただきました府立与謝の海病院、公立南丹病院、独立行政法人国立病院機構南京都病院、公立山城病院及び済生会京都府病院の諸先生方に深謝します。

引用文献

- 1) 石崎徹ほか：本誌、53、(2008)
- 2) 厚生省監修：微生物検査必携 ウイルス・クラミジア・リケッチア検査、第3版、日本公衆衛生協会、東京(1987)
- 3) 厚生省保健医療局結核難病感染症課長通知、結核・感染症サーベイランスの実施について：昭和61年11月
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル、平成15年
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知(食監発第0514004号)：ノロウイルスの検出法について
- 6) 木上照子ほか：本誌、52、1 (2007)
- 7) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報、28、No.7(2007)
- 8) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報、29、No.1(2008)
- 9) 国立感染症研究所：Japanese Journal of Infectious Diseases、55Supplement (2002)