

ノート

1999年度感染症発生動向調査成績の解析

矢野拓弥, 福田美和, 川田一伸, 杉山 明, 櫻井悠郎, 中山治
内山直大¹⁾ 神谷 齊²⁾

The Results of Infectious Disease Surveillance in 1999

Takuya YANO, Miwa FUKUTA, Kazunobu KAWADA, Akira SUGIYAMA, Nakao SAKURAI,
Osamu NAKAYAMA, Naohiro UCHIYAMA and Hitoshi KAMIYA

1999年度感染症発生動向調査定点あたりから報告された疾患のうち、感染性胃腸炎が37.7%を占め最も多く、次いでインフルエンザ疾患が31.7%で以下、ヘルパンギーナ8.9%、水痘7.3%と続いた。ヘルパンギーナ疾患患者は過去5年間で最も多い報告があった。中勢地区において、無菌性髄膜炎患者から、コクサッキーB群ウイルスが分離された。冬季には例年同様インフルエンザ様疾患及び感染性胃腸炎の流行がみられ、Aソ連型とA香港型ウイルスが同時期に分離され両A型インフルエンザウイルスが主流行したシーズンであった。感染性胃腸炎患者からはNorwalk-likeviruses(NLVs)、A群口タウイルスが検出された。

キーワード：感染症発生動向調査、コクサッキーB群、A型インフルエンザ、Norwalk-likeviruses

はじめに

感染症発生動向調査の目的は、感染症に対する予防処置を従来の患者に対する監視から、患者由来の咽頭拭い液、便、髄液、血清等を用いてウイルス、細菌等の病原検索や急性期や回復期における抗体保有状況調査を行うことによって、当該感染症を微生物学的に決定することによって流行の状況を正確に把握し、速やかに関係機関に情報提供することによって未然に感染症の流行を防止するものである。三重県ではこのような目的のために1979年から本事業を開始して以来約20年が経過した。この間に各種検査成績から流行性耳下腺炎など周期性のある疾患⁴⁾⁶⁾⁷⁾⁸⁾、秋から春にかけて流行する麻疹様疾患、風疹¹⁸⁾、冬から春にかけて流行するA型肝炎など季節消長の明らかな疾患、無菌性髄膜炎、上気道炎等同一疾患でありながら原因ウイルスが多種多様で年々変遷する疾患¹⁹⁾²⁰⁾²¹⁾など種々の興味深い事実が判明してきた。最近では、それまで日本ではほとんど流行がみられなかったアデノウイルス7型感染重症例が1995年以降全国的に多数報告されたこと¹²⁾²⁷⁾、県内各地の幼稚園や小学校でNLVsの学童間での水平感染による集団発生事例があったこと等新しい事実も分かってきた。このように微生物感染症の決定には臨床所見は言うに及ばず、総合的な微

生物検査が必要である。そこで1999年度の感染症発生動向調査対象疾患の流行状況と検査定点ウイルスの検査状況について報告する。

材料と方法

1. 発生動向調査定点

感染症発生動向調査患者情報調査は県内医療機関のうち、インフルエンザ定点73(内科28・小児科45)、小児科45、STD15、眼科12、基幹9定点で実施した。また検査情報はインフルエンザ及び基幹定点のうち、国立療養所三重病院、三重県立総合医療センター、三重大学医学部付属病院等12医療機関、基幹定点のうち3医療機関から協力を得た。病原体定点医療機関で採取した咽頭拭い液、便、髄液、尿、血液等の材料からウイルス検索を行うとともに、急性期及び回復期の血清で抗体検査を行った。

2. ウイルス分離法

ウイルス分離には、RD-18s、Veroの各株化細胞を用いた。Vero細胞はEagles' MEM、HEL及びRD-18S細胞は、GIBCO製Eagles' MEMを増殖または維持培地とした。³⁾⁵⁾便は

- 1) 三重県健康福祉部
- 2) 国立療養所三重病院

ペニシリン200IU/mL, ストレプトマイシン200 /mL添加の Eagles' MEM で乳剤を作製し, 遠心上清 0.2mL を接種し, 37 で 1 時間吸着後, 維持培地と交換した. その他の検体は 0.2mL を細胞に接種し, そこに維持培地を加え 36 にて静置培養を行った.³⁾⁵⁾ 検体を接種した培養試験管は毎日, 顕微鏡で観察し, 70%以上に細胞変性効果(CPE)が発現したものを同定に供した. ウイルスの同定は, シュミットのプール抗血清(デンカ生研)及び単一抗血を用いて中和試験法^{1) 15) 14) 16)17)}により行った. A 群口タウイルスは酵素免疫測定法(EIA)を応用したロタクロンを使用した. またインフルエンザウイルスの分離は, MDCK 細胞の単層培養法 と 8 日発育鶏卵羊膜腔内接種法を用いた. MDCK 細胞については CPE が発現したものを, 発育鶏卵については, 接種 2 日後に羊水を採取し, 0.75%モルモット 又は 0.5%鶏赤血球で血球凝集(HA)性を調べた. HA 性が認められたものは, 当該細胞または発育鶏卵羊膜腔内で増殖させ, それを抗原にして既知抗血清との赤血球凝集抑制(HI)反応により同定した.

3. RT-PCR 法

RT-PCR 法による NLVs 遺伝子の検出は, 10%乳剤をトリフルオロエタン処理したものを ISOGEN-LS(ニッポンジーン)を用いて RNA を抽出した. PCR 用プライマーには, Jiang ら⁹⁾ Hayashi ら¹⁰⁾ の 1st:NV35'/36, 2nd:NV81/82SM82¹¹⁾²⁴⁾, Saitoh ら¹²⁾ の 1st: MR3/4, Yuri52F/R, 2nd: Yuri22F/R²³⁾ (増幅サイズ: 470bp, 470bp, 373bp)を用いた. RT-PCR の反応液は 2.5mM dNTPs, 0.33 M プライマーペア 20U/ L MMLV 逆転写酵素(TOYOBO), 40U/ L RNasin(TOYOBO), 5U/ L Taq DNA polymerase(TaKaRa)を含む PCR 用緩衝液(10mM Tris-HCl pH8.3, 1.5mM MgCl₂, 50mM KCl) 45 L に抽出した RNA を 5 L 加えた. 逆転写反応は 42 で 1 時間行い, DNA 増幅条件は Jiang⁹⁾らの方法に従って 94 1 分, 55 1 分 20 秒, 72 1 分のサイクルを 40 回行い, 最後の Extension を 15 分間行った. これを 2%アガロースゲル中で電気泳動後, エチジウムブロマイド染色し, 撮影後 PCR 産物の確認を行った²⁶⁾.

4. 電子顕微鏡によるウイルス粒子の検索

電子顕微鏡によるウイルス粒子の検索は, PBS(+)液にて調製した便の乳剤に, 等量の 1,1,2-トリクロロ 1,2,2-トリフルオロエタンを加えてよく混和した後, 3,600rpm, 30 分間冷却遠心した. 上清を回収して, その 4mL を 30% ショ糖液 1mL 上に重層し, RPS-40T ローターで 45,000rpm, 1.5 時間遠心した. 沈渣を蒸留水 2~3 滴に再浮遊して電子顕微鏡用の試料とした. この試料は, カーボン蒸着した 400 メッシュ上に載せて, 2%リンタンク

ステン酸水溶液(pH7.2)によりネガティブ染色¹⁸⁾を行った. 免疫電子顕微鏡法(IEM)は, 患者の回復期血清を用いて Kapikian らの方法¹⁹⁾で行った.

成 績

1. 定点あたり疾患別患者報告数

対象疾患のうち, 発生数が最も多かったの感染性胃腸炎(乳児嘔吐下痢症含む)で 481.1 であった. 以下インフルエンザ様疾患で 249.6, ヘルパンギーナ 114.3, 水痘 93.7, 突発性発疹 66.5 と続いた. ヘルパンギーナ疾患は 1998 年 45.4, 1999 年 59.8, 本年は 114.3 と昨年の約倍増加し, 過去 5 年間で最も多く, 1986 年から 1987 の流行時患者数とほぼ同数であった. インフルエンザ様疾患患者数は昨シーズンと同程度の報告数であった. また感染性胃腸炎患者数は例年並の流行であった昨年に比べて 2 倍強に増加した.

2. 疾患別分離ウイルス成績

表 1 に 1999 年度の疾患別ウイルスの分離成績を示した. インフルエンザ様疾患, 感染性胃腸炎患者, ヘルパンギーナ, 上気道炎, 無菌性髄膜炎, 不明発疹, 手足口病患者等 445 名中 113 名から何らかのウイルスが分離され, その分離率は 25.4%であった. 主な分離ウイルスは, インフルエンザ様疾患患者 155 名の咽頭拭い液及び鼻腔 36 件, A 香港型(H3N2) 10 件, 感染性胃腸炎患者 127 名の便からアデノウイルス(Ad) 1 型 2 件, コクサッキー(Cox) B 2 型 1 件, ポリオウイルス(Pol) 1 型 1 件, Pol 2 型 2 件, Pol 1,2 型 1 件, A 群口タウイルス(Ro A) 24 件, NLVs 25 件, ヘルパンギーナ患者 31 名から Cox B 2 型 1 件, 上気道炎患者 30 名から Cox B 2 型 1 件, 無菌性髄膜炎患者 15 名から Cox B 1 型 1 件, Cox B 2 型 2 件, Cox B 4 型 1 件, また乳児嘔吐下痢症患者 7 の便から Ad 1 型 1 件, Ro A 3 件を分離検出した.

3. 検査定点別患者数及び分離ウイルス数

表 2 に検査定点別患者数及び分離ウイルスを示した. 月別の検査患者数は北勢地区 337 名, 伊勢・志摩地区 71 名, 中勢地区 28 名の順であった. ウイルスの分離同定された患者数は北勢地区 93 名, 伊勢・志摩地区 6 名, 中勢地区 5 名, 東紀州地区 5 名, 上野・伊賀地区 4 名の順であった. 検査対象者の中でインフルエンザ様疾患は A 香港型の主流行が始まった 96/97, 97/98, 98/99, 99/2000 シーズンの 4 年間ほぼ同数の 160 人前後であった. 感染症胃腸炎は昨年度は前年の 2 倍に増加, 本年度は昨年の 1.7 倍となり例年より 3.4 倍高い増加傾向となった. 患者の多くは主として冬季に集中するが, アデノウイルス, コクサッキー B 群が起因となる胃腸炎が夏季にみられたことも, 通年胃腸炎患者が発生している要因とされる.

表 1. 疾患別分離ウイルス数

疾患名	月別検査患者数													計	分離・検出ウイルス
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
麻疹様疾患		1												1	(-)
水痘	1													1	(-)
流行性耳下腺炎			1											1	(-)
乳児嘔吐下痢症	2									1	3	1	7	Ad 1(1),RoA(3)	
感染性胃腸炎	8	12	9	2	4	4	1	9	27	4	18	29	127	Ad1(2),CB2(1),Po1(1),Po2(2) Po1・2(1),RoA(24),NLVs(25)	
手足口病	2	1	6					3						12	(-)
ヘルパンギーナ	1	6	23	1										31	CB2(1)
無菌性髄膜炎	2	2	3	4	2	2								15	CB1(1),CB2(2),CB4(1)
脳・脊髄炎			1											1	(-)
不明発疹	3	2	5				2			1		1	14	(-)	
熱性けいれん							1		1				2	(-)	
インフルエンザ疾患	13									4	106	30	2	155	H1N1(36),H3N2(10)
川崎病				1										1	(-)
上気道炎	6	4	5		2	4	1		7				1	30	CB2(1)
下気道炎	3						1		1			1		6	(-)
その他	4	1	4	5	4	4	6		1	1			4	34	RoA(1)
不明・記載なし	4	1	1	1										7	(-)
合計	49	30	58	14	12	18	11	11	40	112	52	38	445	Ad1(3),CB1(1),CB2(5),CB4(1) H1N1(36),H3N2(10),Po1(1) Po2(2),Po12(1),RoA(28),NLVs(25)	

Ad :アデノウイルス, CB :コクサッキーB群, H1N1 :インフルエンザAソ連型 H3N2 :インフルエンザA香港型
NLVs :Norwalk-like viruses Po :ポリオウイルス, RoA :A群ロタウイルス

4. 定点, 月別分離ウイルス分離・検出状況

表 3 に定点別及び月別に分離されたウイルスを示した。4月から6月にかけて、北勢地域でAd 1が2件、Ad 2が1件とA群ロタウイルス等が胃腸炎患者から分離・検出された。7月から10月は、伊勢・志摩地域でCox B群によると思われる無菌性髄膜炎の流行がみられ、Cox B2型が3件、1型が1件、中勢地域では4型が1件分離された。北勢地域では、11月頃から胃腸炎患者が増えはじめ12月をピークに一旦下がったが、再び2月下旬にピークに増加し、春以降も患者数が多かった。その主原因となった

ウイルスはNLVsであった。11月から12月にかけて発生した胃腸炎患者から、RT-PCR法によりNLVs遺伝子検出を試みたところ、11月中旬からNLVs遺伝子が検出されるようになり、翌月12月をピークに合わせて17件が検出された。1月から3月に発生のみられた感染性胃腸炎及び乳児嘔吐下痢症患者56名よりA群ロタウイルスが、1月2件、2月から3月のピーク時に24件検出された。1月を境に徐々にNLVsからA群ロタウイルスの流行に推移した。今冬季のインフルエンザウイルスは、2000年1月から3月にかけてH1N1が36件、H3N2が10件分離された。

表 2. 検査定点別分離ウイルス数

検査定点	月別検査患者数													計	分離ウイルス
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
北勢地域	26	27	51	1		6	10	10	39	78	51	38	337	Ad1(3),CB2(2),H1N1(23),H3N2(8),Po1(1) Po1.2(1),Po2(2),RoA(28),NLVs(25)	
中勢地域	1	1	2			1			1	21	1		28	CB4(1)H1N1(2),H3N2(2)	
伊勢・志摩地域	22	2	5	13	12	11	1	1		4			71	CB1(1),CB2(3),H1N1(2)	
上野・伊賀地域										4			4	H1N1(4)	
東紀州地域										5			5	H1N1(5)	
合計	49	30	58	14	12	18	11	11	40	112	52	38	445	Ad1(3),CB1(1),CB2(5),CB4(1) H1N1(36),H3N2(10),Po1(1),Po2(2) Po1.2(1),RoA(28),NLVs(25)	

Ad :アデノウイルス, CB :コクサッキーB群, H1N1 :インフルエンザAソ連型 H3N2 :インフルエンザA香港型
NLVs :Norwalk-like viruses Po :ポリオウイルス, RoA :A群ロタウイルス

表3. 検査定点別分離ウイルス数

検査定点	月別検査患者数											
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3
北勢地域	Ad2(1)	Ad1(1)	Ad1(1)				CB2(1)	NLVs(3)	NLVs(17)	H1N1(16)	H1N1(7)	RoA(14)
	H3N2(1)	Po1・2(1)	Po1(1)							H3N2(7)	RoA(10)	NLVs(2)
		Po2(2)	CB2(1)							RoA(2)	NLVs(2)	
		RoA(2)								NLVs(1)		
中勢地域						CB4(1)				H1N1(2)		
										H3N2(2)		
伊勢・志摩地域				CB2(1)	CB2(1)	CB1(1)				H1N1(2)		
						CB2(1)						
上野・伊賀地域										H1N1(4)		
東紀州地域										H1N1(5)		
合計	2	6	3	1	1	3	1	3	17	41	19	16

Ad:アデノウイルス, CB:コクサキ-B群, H1N1:インフルエンザAソ連型, H3N2:インフルエンザA香港型

NLVs:Norwalk-like viruses, Po:ポリオウイルス, RoA:A群ロタウイルス

考 察

1999年度は初夏にヘルパンギーナの大きな流行があった他は、夏季の感染症に目立った流行は見られず、比較的ウイルスの流行は穏やかであった。しかし感染性胃腸炎やインフルエンザといった季節的な発生傾向の強い感染症はみられた。ヘルパンギーナの流行については過去5年間でも最大となったが、本疾患の検体からはCox2を1例分離したのみで主因ウイルスの特定には至らなかった。全国的にみても本年はヘルパンギーナの流行年であり、原因ウイルスはCA群を中心に多彩であった。97年から98年にかけて全国的にも大流行したE30による無菌性髄膜炎²⁾の発生を本年認めなかったのは、前年までの流行により感受性宿主の抗体保有率が上昇したことが要因と思われる。手足口病については今シーズンは殆ど流行が見られず、全国的には小規模な地域流行が見られるにとどまった。感染性胃腸炎については通年、報告患者数は多かったが、特に11月以降増加し、12月をピークに広い年齢層で嘔吐、下痢症状の患者が見られた。この流行の主因ウイルスはNLVsであったことが確認され、1月下旬以降検出数は減少したものの3月まで流行が続いていた。NLVsの流行が終息に向かうと、これに置き換わってA群ロタウイルスの流行が2月から3月にかけて見られ、近年では比較的大きな流行となった。患者年齢層は乳児に限らず、やや高い年齢にもみられたことから、今後もウイルスの動向に注意をする必要がある。インフルエンザウイルスの1999/2000シーズンの流行はH1N1及びH3N2が主流であった。本県においても全国的な傾向と同じように、H1N1は95/96シーズン以降は流行の主流となっていなかったが、シーズン当初からH1N1の流行が確認された。ここ数年呼吸器疾患が増

加しており、インフルエンザが起因する脳炎脳症を伴う重症化例は全国的に多数報告されており、今シーズンはインフルエンザ脳炎患者からH1N1が分離された。冬季の呼吸器疾患は現在のところインフルエンザ疾患と位置づけられることが多いが、かぜ症状の3歳未満児の40%からRSウイルスが検出される¹³⁾²⁵⁾との報告もある。このように冬季の呼吸器疾患ではインフルエンザ以外のウイルスが関与する場合が多い。臨床領域で非常に重要な疾患の、起因ウイルスの流行状況把握は臨床領域では非常に重要となる。これをよりの確にとらえるためにも、病原体検出体制をさらに強化していく必要がある。

文 献

- 1) Ann. Pub. Hlth Assn(1979): Proceders for Virol and Rickettsial infections. 5th Ed.
- 2) 福田美和, 矢野拓弥, 川田一伸, 他(1998):1998年度感染症発生動向調査成績, 三重保環研年報(衛生), No.1号 29-35.
- 3) 原 稔, 萩原昭夫(1987): エンテロウイルス, ウイルス・クラミジア・リケッチア検査第3版, 148-160, 東京, 日本公衆衛生協会.
- 4) 広森真哉, 石井堅造, 山中葉子, 杉山明 他(1990):1990年感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No.36, 31-37.
- 5) Honma, H. and Ushijima, H.(1990): Evaluation of a New Enzyme Immunoassay (TESTPACKROTAVIRUS) for Diagnosis of Viral Gastroenteritis 感染症誌, 64, 174-177.
- 6) 石井堅造, 広森真哉, 西田直美, 杉山明 他(1987): 昭和62年度感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No.33, 31-35.
- 7) 石井堅造, 山中葉子, 広森真哉, 杉山明 他(1988): 昭和63年度感染症サーベイランス成績, 三重衛研年

- 報, No. 34, 31-35 .
- 8)石井堅造, 山中葉子, 広森真哉, 杉山明 他(1989):1989年度感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No. 35, 31-36 .
- 9)Jiang X, Wang J,Graham DY, Estes MK(1992):Detection of Norwalk Virus in Stool by Polymerase Chain reaction, J Clin Microbiol **30**,2529-2534
- 10)Kapikian,A.Z.,Wayatt,R.G.,Dolin,R. et.al(1972):Visualization by immune electronmicroscopy of a 27nm particle associated with acute infections nonbacterial gastroenteritis,J.Viol.,10. 1075 -1081.
- 11)国立感染症研究所,厚生省保健医療局結核・感染症対策室(1998):ウイルス性胃腸炎, 病原微生物検出情報, **19**, 1 -7 .
- 12)国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核・感染症対策室(1998) :三重県におけるアデノウイルス7型の流行, 病原微生物検出情報, 19, 229-230 .
- 13)国立感染症研究所,厚生省保健医療局結核・感染症対策室(2000): 大阪における今冬のRSウイルスの動向, 病原微生物検出情報, **21**, 30-31 .
- 14)国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局結核・感染症対策室(1996):エコーウイルス7型の流行 - 鳥取県, 病原微生物検出情報, **17**, 49-50 .
- 15)甲野礼作, 石田名香雄, 沼崎義夫(1980):中和抗体測定法, 臨床ウイルス学手技編, 49-59, 東京, 講談社
- 16)黒住剛(1964):ウイルス実験診断法. 栄研学術叢書第集, 23-24 .
- 17)黒住剛(1964):ウイルス実験診断法. 栄研学術叢書第集, 64-65 .
- 18)三重県保健環境部(1990):三重県結核・感染症サーベイランス事業概要 .
- 19)栄賢司, 石原佑式, 森下高行, 西尾治 他(1985):RD細胞からのコクサッキーA群とエコーウイルスに対する感受性及び各種材料からのウイルス分離, 感染症誌, 59, 664-669 .
- 20)櫻井悠郎,北本よね子,一色博,西岡計 他(1983):1980年から 1983 年三重県で流行した無菌性髄膜炎ウイルス について, 三重衛研年報, No.29,37-45.
- 21)櫻井悠郎, 岡田裕明, 西田直美 他(1985):昭和 60 年の感染症サーベイランスにおけるウイルス性疾患について, 三重衛研年報, No.31,4 5-52.
- 22)櫻井悠郎, 岡田裕明, 西田直美 他(1986):昭和 61 年の感染症サーベイランスにおけるウイルス性疾患について, 三重衛研年報, No. 32,3 1-38 .
- 23) Saitoh,H.et al. :(1998) : Application of RT-PCR Designed from the Sequence of the Local SRSV Strain to the Screening in Viral Gastroenteritis Outbreaks.Microbiol. Immunol.,**42**,439-446.
- 24)佐々木由起子, 太田健爾, 林志直, 他(1996):RT-PCR法を用いたウイルス性胃腸炎の検査, **47**, 8-14 .
- 25)武内可尚 著, 茂田土郎, 森 恒雄編,(1997);呼吸器系ウイルス感染症, ウイルス感染症, 128-150, 医薬ジャーナル社
- 26)山崎謙治, 大石功, 奥野良信, 他(1995):急性胃腸炎の集団発生臨床とウイルス, **23**, 251-256.
- 27)矢野拓弥, 福田美和, 川田一伸 他(1997):1997 年度感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No.43,43-48 .