ISSN 0915-5813

病原微生物検出情報 月報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html

北海道釧路保健所管内で発生したエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の多発事例 3，エコーウイルス 9 型による無菌性髄膜炎の臨床的特徴 5，無菌性髄膜炎患者の発生動向とウイルス検出状況：神奈川県 6，高知県 8，熊本県 9，エンテロウイルス実験室診断の現状と課題10，ムンプス髄膜炎と実験室診断11，海外における無菌性髄膜炎等を対象とした病原体サーベイランスの動向13，平成30年度インフルエンザ HA ワクチン製造株の決定(通知)14，RS ウイルス遺伝子型検出状況：広島県14，高齢者福祉施設における呼吸器感染症の集団発生：福岡県15，2017/18シーズンの季節性インフルエンザのワクチン効果の中間評価：欧州における 5 研究のまとめ17，狂犬病ワクチン：WHO ポジションペーパーの更新18

Vol.39 No. 6 (No.460)
2018年 6 月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康局
結核感染症課

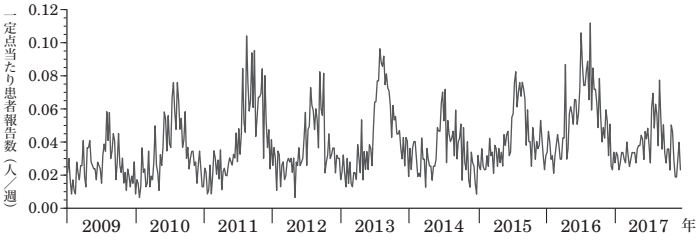
事務局 感染研感染症疫学センター
〒162-8640 新宿区戸山 1-23-1
Tel 03 (5285) 1111

（禁、無断転載）

本誌に掲載された統計資料は，1)「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」に基づく感染症発生動向調査によって報告された，患者発生および病原体検出に関するデータ，2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された：保健所，地方衛生研究所，厚生労働省医薬・生活衛生局，検疫所。

＜特集＞ 無菌性髄膜炎患者からのウイルスの検出，2017年末現在

図1. 週別無菌性髄膜炎患者報告数の推移，2009～2017年



（感染症発生動向調査：2018年4月4日現在報告数）

無菌性髄膜炎は，急性に発症する発熱，頭痛，嘔吐が主な症状として知られるが，項部硬直，ケルニッヒ徴候などの髄膜刺激徴候を認めることもある。ただし，新生児や乳児ではこれらの症状が明らかでないことも多い。細菌性髄膜炎との鑑別は臨床的に極めて重要であり，髄液から細菌が検出されないことに加えて，髄液検査における髄液初圧，細胞数と分画，髄液糖/血糖比，蛋白量等が鑑別に用いられる。無菌性髄膜炎は多様な病原体がその原因となり，ウイルス性ではエンテロウイルスが最も多く，次にムンプスウイルスが多いとされる。ヒトから検出されるエンテロウイルスは 4 つの species（*Enterovirus A*～*D*）に分類されるが，無菌性髄膜炎患者からの検出頻度が高いのは *Enterovirus B*（エコーウイルス，コクサッキーウイルス B 群等）で，次に *Enterovirus A*〔エンテロウイルス A71(EV-A71) 等〕である。

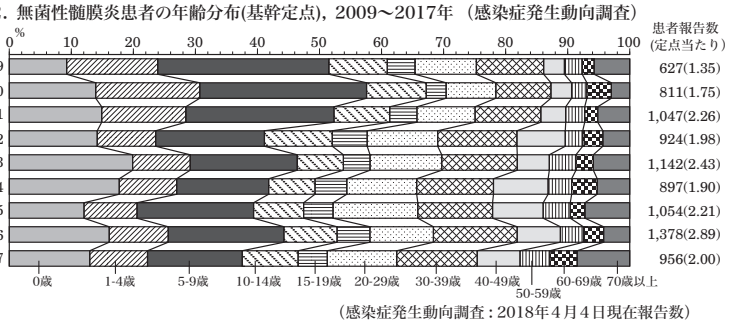
感染症法に基づく感染症発生動向調査（NESID）では，無菌性髄膜炎は 5 類感染症として，全国約500の基幹定点（病床数300以上の医療機関；http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000203400.pdf）が届出に必要な臨床症状や検査所見を持つ患者を毎週報告している（届出基準：http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-40.html）。地方衛生研究所（地衛研）は，定点医療機関等で採取された検体（髄液，便，咽頭ぬぐい液など）からの無菌性髄膜炎の病原体の分離・検出，同定を行い，その陽性結果を報告している。本特集では無菌性髄膜炎患者の発生動向と，エンテロウイルスを中心とするウイルスの動向について述べる。

患者発生状況：図 1 に2009～2017年の週別定点当たりの無菌性髄膜炎報告数を示す。日本では毎年夏を中心に無菌性髄膜炎の流行が報告されている。都道府県別の定点当たりの報告数は地域により差があった。無菌性髄膜炎患者の年齢分布は 0 歳が最も多く，2009～2011年は10歳未満が半数以上を占めたが，2012年以降は10歳以上の報告割合が増加した（図 2）。

エンテロウイルスの分離・検出：2012～2017年にはエコーウイルス（E），コクサッキーウイルス B 群（CV-B）などのエンテロウイルスが，原因病原体の56～84％を占めた（次ページ図 3）。

2009～2017年に無菌性髄膜炎患者から分離・検出されたウイルスの年別分離・検出数を 3 ページ表に示す。これらのうち CV-B5 および E-6 は報告が多く，9 年間にそれぞれ計344例および計548例が分離・検出された（本号 6，8 & 9 ページ）。E-30 による全国規模の無菌性髄膜炎の流行は，1983年〔IASR 4 (10): 1, 1983〕，1989～1991年（IASR 12: 163, 1991 & 13: 155, 1992），1997～1998年（IASR 19: 174-175, 1998）が知られるが，2017年には北海道で，E-30 を原因とする無菌性髄膜炎の地域流行が報告された（本号 3 ページ）。E-9 による地域的な流行も報告された（本号 5 ページ）。手足口病の病原体として 3～4 年ごとに全国的な流行を引き起こ

図2. 無菌性髄膜炎患者の年齢分布(基幹定点)，2009～2017年（感染症発生動向調査）



（感染症発生動向調査：2018年4月4日現在報告数）

（2 ページにつづく）

（特集つづき）

すEV-A71は中枢神経疾患に関与する頻度が高いことが知られており，2013年と2017年にはそれぞれ43例および30例の無菌性髄膜炎患者からEV-A71が検出された。手足口病の流行期にEV-A71が検出された場合には，無菌性髄膜炎を含む中枢神経疾患の発生に注意を払う必要がある（本号6ページ）。

また，病原微生物検出情報に届けられた2012〜2017年のE-30, E-18, E-6, CV-B5, EV-A71検出例の年齢分布およびこれらのウイルスが分離・検出された患者における無菌性髄膜炎患者の占める割合を図4に示す。ウイルスの型によってこれらの分布は異なっていた。E-6およびE-30では小児や成人の髄膜炎患者からも検出され，CV-B5とEV-A71は主に月齢の若い乳児から検出された（IASR 38: 204–205, 2017）。

2009〜2017年に無菌性髄膜炎と診断された患者から分離・検出されたエンテロウイルスは，髄液，糞便，および咽頭ぬぐい液からが多かった。特に分離・検出が多かった*Enterovirus B*に属するE-6, E-18, E-30, およびCV-B5では，髄液が74〜80%，糞便が20〜43%であった。対照的に*Enterovirus A*に属するEV-A71が分離・検出された無菌性髄膜炎患者の検体は，髄液が21%，糞便が63%であった。無菌性髄膜炎では，髄液のみならず，糞便，咽頭ぬぐい液など複数の検体を検査することが重要である。最近，多くのエンテロウイルスが臨床検体からの直接的PCR検出および塩基配列決定により同定されている（本号10ページ）。

エンテロウイルス以外の無菌性髄膜炎起因ウイルス（図3，本号6，8，9＆11ページ）：無菌性髄膜炎患者から検出されるエンテロウイルス以外のウイルスとしては，ムンプスウイルス（12%），ライノウイルス（5.8%），パレコウイルス3型（2.4%）などが多かった（各カッコ内%は2009〜2017年の全報告数に占める割合，3ページ表）。ライノウイルスは主に咽頭ぬぐい液から検出されており，無菌性髄膜炎発症との関連が不明確な症例が多い。ムンプス流行年にはムンプス髄膜炎が多く発生した（IASR 37: 185–186, 2016）〔NESID基幹病院定点に報告された確認可能な2016年ムンプス髄膜炎35例の年齢中央値6歳（範囲2–36歳）〕。ムンプスはワクチンで予防可能な疾患であるが，おたふくかぜワクチンは日本では任意接種であり，接種率は30%程度と低く（感染症流行予測調査事業より：https://www.niid.go.jp/niid/ja/y-graphs/7457-mumps-yosoku-vaccine2016.html），ムンプスのコントロールには不十分であったことが分かる。

おわりに：無菌性髄膜炎には流行性疾患の側面があり，病原体によって対策や注意点が異なることから，病原体の同定は重要である。平時から患者発生動向の把握と病原体サーベイランスの両方を強化しておくことが重要である。すべての基幹定点病院は，感染症発生動向調査における無菌性髄膜炎の病原体定点である。医療機関で髄膜炎の集団発生等が探知された場合には，感染症法に基づいた積極的疫学調査として病原体検索を行うことが望ましい。無菌性髄膜炎の病原体を直接的に検出（PCR，分離等）するために発症早期の髄液，便，咽頭ぬぐい液の検体採取が必要であり，特に新生児では血液検体も合わせて採取することが重要であることを強調したい。

図3．無菌性髄膜炎患者から検出されたウイルス，2012〜2017年
（病原微生物検出情報：2018年4月4日現在報告数）

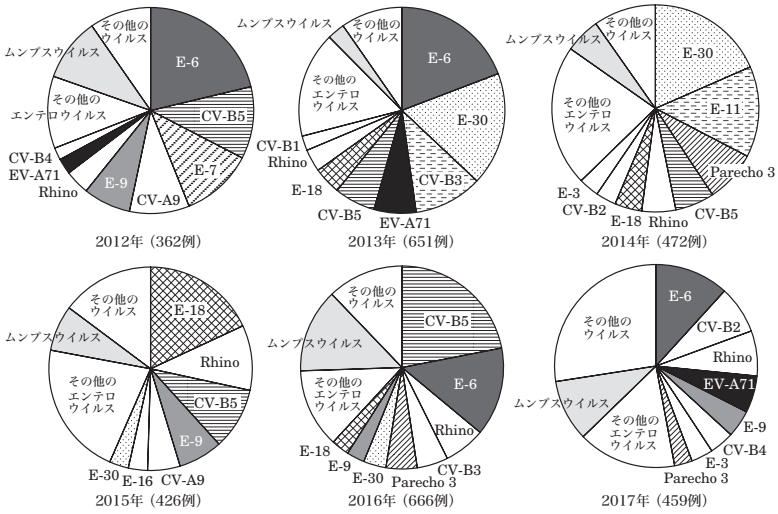
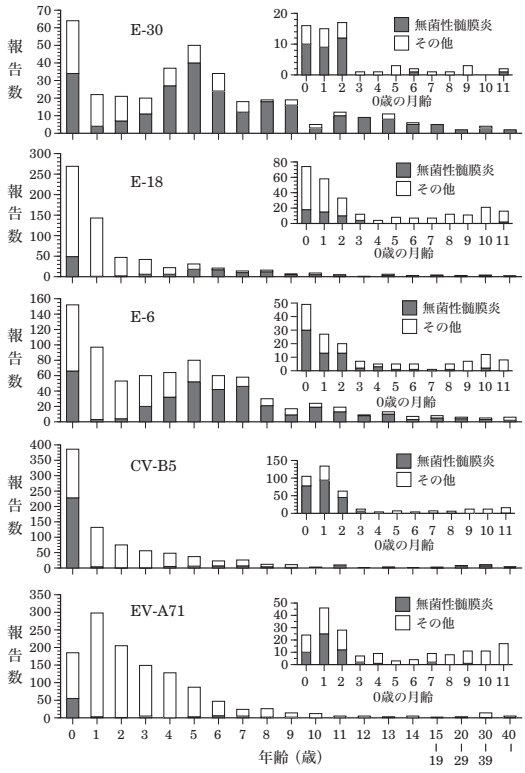


図4．E-30, E-18, E-6, CV-B5, EV-A71検出例の年齢・月齢，2012〜2017年
（病原微生物検出情報：2018年4月4日現在報告数）



＜特集関連情報＞

北海道釧路保健所管内で発生したエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎の多発事例について

2017年８～12月にかけて，北海道釧路保健所管内の定点医療機関から無菌性髄膜炎患者の報告が相次いだ。管内の小児科医から情報提供を受けた同保健所が主な医療機関の協力を得て調査した結果，95人の無菌性髄膜炎による入院患者を把握した。患者の性別は男性53人，女性42人であり，年齢中央値は16歳（範囲：0～61歳）で，世代の内訳は乳幼児が18人，小学生が25人，中学生・高校生が５人，19～29歳が15人，30～39歳が29人，40歳以上が３人であった（図１）。症状は発熱が63人，頭痛が56人，嘔吐・嘔気が43人，項部硬直などの髄膜刺激徴候が41人にみられた。小児の症例

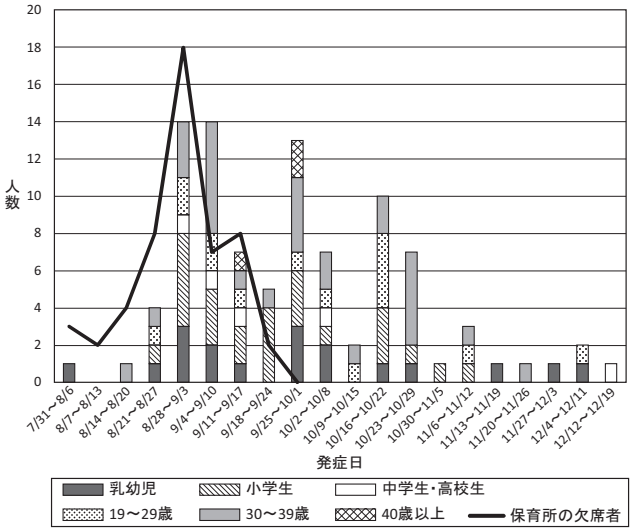


図1. 無菌性髄膜炎による入院患者の発症状況

（特集つづき）（THE TOPIC OF THIS MONTH-Continued）

表. 無菌性髄膜炎患者からのエンテロウイルス、ムンプスウイルスなど検出報告数，2009～2017年
Table. Number of enterovirus and mumps virus isolations/detections from aseptic meningitis cases, 2009-2017, Japan

型 Type	検体採取年 Year of specimen collection									合計 Total
	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	
Enterovirus NT	17	11	33	20	23	18	9	7	2	140
Coxsackievirus A2	−	2	−	1	−	1	2	1	3	10
Coxsackievirus A4	−	2	1	2	−	4	−	3	−	12
Coxsackievirus A5	−	−	−	−	−	3	−	1	−	4
Coxsackievirus A6	1	2	7	−	12	1	4	3	11	41
Coxsackievirus A8	−	−	−	−	4	−	−	−	−	4
Coxsackievirus A9	13	3	6	34	4	5	42	3	9	119
Coxsackievirus A10	−	−	3	−	−	1	1	2	2	9
Coxsackievirus A14	−	−	−	−	2	−	−	1	−	3
Coxsackievirus A16	−	3	−	−	1	1	9	1	−	15
Coxsackievirus B1	5	18	82	2	15	5	1	11	2	141
Coxsackievirus B2	8	25	7	1	12	15	7	15	38	128
Coxsackievirus B3	19	3	3	2	70	12	9	33	1	152
Coxsackievirus B4	13	23	21	7	13	9	6	7	18	117
Coxsackievirus B5	2	2	50	41	42	29	30	146	2	344
Coxsackievirus B6	−	1	−	−	−	−	−	−	−	1
Echovirus 3	1	3	5	1	2	15	9	8	17	61
Echovirus 4	−	−	−	−	−	−	−	2	−	2
Echovirus 5	−	−	−	−	−	−	−	1	−	1
Echovirus 6	17	39	128	77	125	7	6	94	55	548
Echovirus 7	4	−	17	41	2	4	1	−	8	77
Echovirus 9	4	1	51	27	11	8	22	22	20	166
Echovirus 11	12	−	4	−	8	67	3	1	2	97
Echovirus 12	1	−	−	−	−	−	−	−	−	1
Echovirus 14	−	1	2	−	−	1	−	−	−	4
Echovirus 16	−	1	1	−	−	3	13	1	−	19
Echovirus 17	−	−	−	1	1	−	−	−	−	2
Echovirus 18	2	−	−	3	28	20	77	19	3	152
Echovirus 19	−	−	−	2	3	−	−	−	−	5
Echovirus 20	−	−	−	1	−	−	−	−	−	1
Echovirus 21	−	−	1	−	−	−	−	−	−	1
Echovirus 25	−	25	2	1	6	1	5	4	7	51
Echovirus 30	13	6	1	1	116	87	13	24	3	264
Echovirus 33	−	−	−	−	−	−	1	−	−	1
Poliovirus 1	1	−	−	−	−	−	−	−	−	1
Poliovirus 2	1	−	−	−	−	−	−	−	−	1
Poliovirus 3	1	−	−	−	−	−	−	−	−	1
Enterovirus D68	−	−	−	−	2	−	5	−	1	8
Enterovirus A71	4	61	−	9	43	5	−	1	30	153
Parechovirus NT	2	−	−	−	−	10	7	5	7	31
Parechovirus 1	2	1	1	3	1	5	6	3	3	25
Parechovirus 2	−	−	−	−	−	−	−	−	1	1
Parechovirus 3	−	1	3	−	1	38	−	33	13	89
Rhinovirus	3	12	14	14	23	25	44	44	33	212
Mumps virus	45	82	57	36	18	26	31	89	45	429
合計	191	328	500	327	588	426	363	585	336	3,644

NT: 未型別　　NT: Not typed
（病原微生物検出情報：2018年4月4日現在報告数）
[Infectious Agents Surveillance System: as of April 4, 2018 from prefectural and municipal public health institutes (PHIs)]

は予後良好で，平均3日で退院可能となり後遺症も認められていないが，成人症例の平均入院期間は約6日で，中には歩行困難となり退院までに2週間近く要した症例も含まれていた。また，同一保育所に通う園児とその家族とみられる患者が21人（園児5人，家族16人）確認された。この保育所では8～9月にかけて発熱等の症状により52人の園児が欠席し（前ページ図1），このうち5人が無菌性髄膜炎と診断され入院していた。

当所には9～12月にかけて3医療機関から患者24人分の検体が搬入された。検体種別は髄液24検体（24人分），血清22検体（17人分），咽頭ぬぐい液1検体（1人分）であった。発症から検体採取までの日数は平均2日で，最長で8日であった。検体を採取された患者の性別は男性13人，女性11人であり，年齢中央値は11歳（範囲：1～39歳）であった。

エンテロウイルスの検査は，RT-PCR法によるウイルス遺伝子検出および培養細胞を用いたウイルス分離を実施した[1)]。最初にすべての検体に対してVP1領域を増幅するCODEHOP semi-nested RT-PCR法およびVP4-VP2領域を増幅するnested RT-PCR法を行い，エンテロウイルスの遺伝子検出を試みた。この結果，髄液21検体（21人分）および血清8検体（8人分）から当該ウイルスの遺伝子が検出された。VP1領域の遺伝子が検出された髄液21検体および血清6検体について，検出された遺伝子の塩基配列（325bp）を決定してウイルスの型別を行ったところ，すべてエコーウイルス30型（E-30）と同定された。また，25検体から検出されたウイルス遺伝子の塩基配列は完全に一致し，残り2検体から検出されたウイルス遺伝子についても99％以上の相同性が確認された。さらに，遺伝子が検出された髄液21検体についてRD-18S細胞およびCaco-2細胞を用いてウイルス分離を試みたところ，15検体からウイルスが分離された。すべての分離株がエコーウイルス同定用プール血清（EP-95）による中和試験によってE-30と同定された。

E-30による無菌性髄膜炎は1980～1990年代に3度全国的に流行しているが[2)]，その後は地域的な流行が散発的に報告されている[3-5)]。今回検出されたE-30のVP1領域325bpを近隣結合法により系統解析した結果，本事例の患者からの検出遺伝子が同じクラスターを形成する一方，2010～2014年に検出された国内分離株の塩基配列とは異なるクラスターを形成することが示された（図2）。

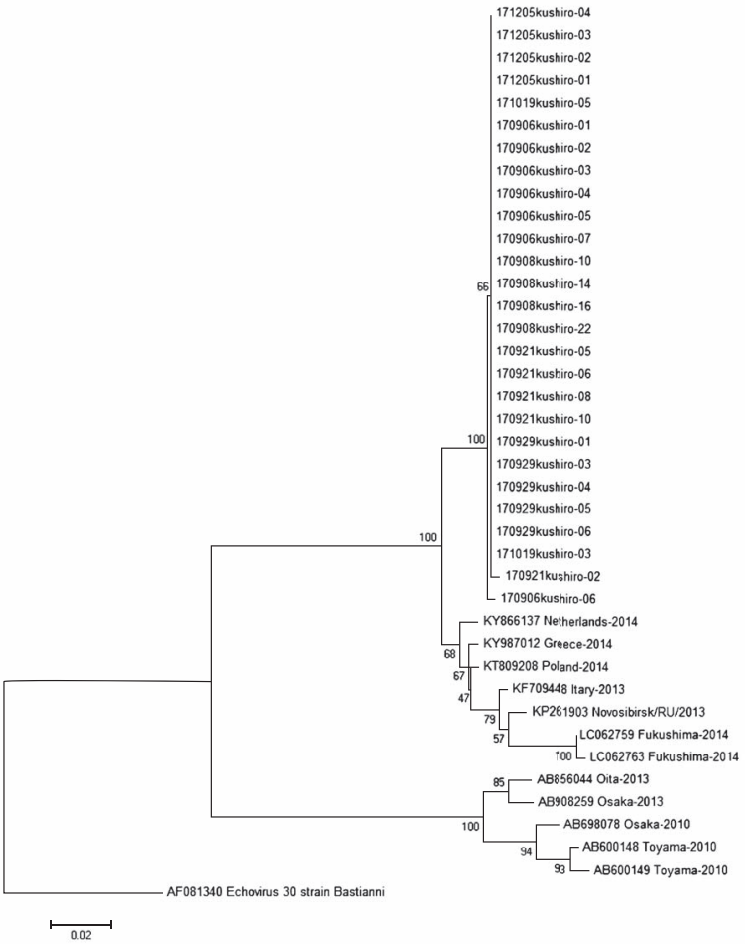


図2．エコーウイルス30型の分子系統樹（VP1領域325bp）

北海道感染症発生動向調査における無菌性髄膜炎患者の報告数は，1週間当たり通常0～3人（0～0.13人/定点）で推移しているが，2017年第35週（8月28日～9月3日）は10人（0.43人/定点），第36週（9月4日～10日）に11人（0.48人/定点），第38週（9月18日～24日）に8人（0.35人/定点）報告されている。しかし，これらの報告のほとんどは釧路保健所管内の定点医療機関からのものであり，他の地域における無菌性髄膜炎の流行は認められなかった。

エンテロウイルスによる無菌性髄膜炎は一般的に小児の感染症とされているが[1)]，今回の事例は親世代にあたる成人の症例が全入院者数の約半数を占めた。また，成人の入院患者の約半数には，家族内にも発熱等の症状を示す者が認められた。そのため本事例は，保育所内や家族間など人の接触する機会が多い中でウイルスが伝播した可能性が示唆された。患者は回復後も2～4週間ウイルスを排泄するため，年齢に関わりなく適切な感染予防策をとることが感染拡大の防止に重要と考えられる。

参考文献

1）国立感染症研究所：無菌性髄膜炎病原体検査マニュアル
2）IASR 30: 1-3, 2009
3）加藤聖紀ら, IASR 34: 308-309, 2013

4）児玉弘美ら, IASR 34: 309-310, 2013
5）筒井理華ら, IASR 35: 242-243, 2014

北海道立衛生研究所
後藤明子　三好正浩　駒込理佳　山口宏樹
石田勢津子　長野秀樹　岡野素彦
北海道釧路総合振興局保健環境部保健行政室
杉澤孝久　宍戸明美　小野富美
市立釧路総合病院小児科　山本　大
釧路赤十字病院小児科　仲西正憲
釧路労災病院神経内科　津坂和文
釧路孝仁会記念病院脳神経外科　入江伸介
北海道保健福祉部健康安全局地域保健課
島田光平

＜特集関連情報＞

エコーウイルス9型による無菌性髄膜炎の臨床的特徴

近年，エンテロウイルスによる無菌性髄膜炎の流行が少なくなっているが，2013年6～9月にかけて東京都荒川区を中心に無菌性髄膜炎の流行を認めた。東京都健康安全研究センターの介入によりエコーウイルス9型（E-9）によるアウトブレイクと判明し，全体像把握のための記述疫学が行われ，2014年1月のIASRに報告された[1]。その後2017年まで散発的な無菌性髄膜炎は認めるものの，当医療圏ではアウトブレイクを認めていない。日本では毎年夏季に無菌性髄膜炎が増加するが，その病原体や流行の程度は年によって異なる。これまでにも数年ごとにE-9によるアウトブレイクがみられている[2, 3]。今後もこのようなアウトブレイクが起こる可能性があり注意を要すると思われる。今回のアウトブレイクで当院に入院した無菌性髄膜炎の臨床像を中心に解析したので報告する。

2013年6～9月に62例の無菌性髄膜炎患者が入院した。例年当院では夏季の無菌性髄膜炎の入院は月数人であり，明らかなアウトブレイクであった。62例すべてに対して病原体診断が行われた。髄液抗原検査（ウイルス分離，PCR）は，まずコマーシャルラボにてウイルス分離を行い，陰性または同定不可とされた検体について我々がエンテロウイルスのPCR検査を行った。ペア血清による血清抗体検査は中和法で行い，急性期と回復期で抗体の陽転化または4倍以上の上昇を陽性とした。E-9について，抗原検査のみ陽性であったのは21例，抗体検査のみ陽性例は18例，両検査ともに陽性であったのは6例となり，アウトブレイクの主な病原体と判明した。他のウイルスが病原体と確定した5例（E-6が1例，E-18が2例，E-25が1例，コクサッキーウイルスB4型が1例）と病原体が同定できなかった12例を除外した。ウイルス学的にE-9感染が確定したこれら45例について臨床像および疫学的背景を検討した。月別入院数は，6月に2例，7月に21例，8月に20例，9月に2例で，男女比は24例：21例（1.1：1）であった。年齢中央値は5歳（範囲：0～13歳）で，幼児から小学校低学年の児が多かった。生活環境としては，保育園が20名，幼稚園が5名，小学校が17名，中学校が1名，集団生活をしていない乳幼児が2名（同胞もE-9陽性例）であった。臨床症状は，全例で発熱を認め，幼少で頭痛の訴えが不明だった4例以外全例で頭痛を認め（41/45：91%），嘔吐も44/45（98%）であった。多くの症例で典型的な髄膜炎の症状が認められ，身体所見では項部硬直も38/45（84%）で認められたが，入院時点では無菌性髄膜炎届出基準の臨床症状を満たさない症例も認めた。有熱期間の中央値は6日（範囲：3～11日）であり，22/45（49%）で二峰性・三峰性発熱が認められた。検査所見ではWBC中央値11,400/μL（範囲：6,200/μL～22,000/μL），CRP中央値2.38 mg/dL（範囲：0.02 mg/dL～11.3 mg/dL）と，ほとんどの症例では炎症反応の上昇は軽度であったが，一部細菌感染を疑わせる炎症反応高値となる症例も認めた。入院時髄液細胞数は中央値265/μL（範囲：12/μL～2,534/μL）であり，37/45例（82%）で多核球優位であった。全例で臨床経過が良好であったため髄液検査の再検は行っていないが，エンテロウイルス感染では病初期に多核球優位になることが知られており[3]，その後単核球優位になったと考えられる。髄液蛋白は中央値26.1 mg/dL（範囲：12.0 mg/dL～80.4 mg/dL）と軽度増加，糖は中央値78.0 mg/dL（範囲：52 mg/dL～113 mg/dL）と低下なく，ウイルス性髄膜炎に典型的な検査所見であった。1例痙攣と傾眠傾向を認めたため脳波を施行したところ，徐波を認め髄膜脳炎と診断したが，後遺症を認めた児はなく，入院期間の中央値は7日であった。細菌感染が否定されるまで抗菌薬による治療が16/45例（36%）で行われていたが，7月中旬以降は5例と，アウトブレイクを認知し始めた頃より抗菌薬の使用は減少していた。全例で髄液培養も陰性であった。

E-9の臨床像としては，発熱期間が中央値6日と長く，二峰性発熱が多く認められる特徴があり，これまでの報告と一致していた[4]。E-9流行の年によって発疹を認める無菌性髄膜炎症例が多いこともあるが，今回の検討では1例も認めなかった。今回のアウトブレイクは一般の夏休み期間を含んで続いたが，保育園は夏休みがないことや，プールや習い事などを介した拡がりがあり，また小学校や中学校で患者が発生した後に家族内感染を経て，再び幼稚園や小学校で流行を繰り返し拡大していった経緯もあった。今回入院した児のほとんどが集団生活をしており，エコーウイルスのような感染力の強いウイルスがいったん流行するとそれを阻止するのは難しく，集団生活の現場での手洗いや排泄物の処理といった感染対策を日頃からしっかり

と行う必要がある。また，当院の医療地域で無菌性髄膜炎の流行が判明したことで，アウトブレイク後半の症例に対しては抗菌薬の投与が減っていた。中には細菌感染を疑わせるような血液検査所見を呈している症例もあり，個々の症例に対する個別の対応が必要になるが，アウトブレイクといった疫学的データを地域病院が把握することは感染拡大防止および適切な治療にも繋がると考えられる。

参考文献

1）杉下由行ら，IASR 35: 19–20, 2014
2）Centers for Disease Control and Prevention, MMWR 32: 761–764, 2003
3）細菌性髄膜炎診療ガイドライン作成委員会（編），細菌性髄膜炎診療ガイドライン 2014, 南江堂, 東京, 2015
4）Akasu Y, Kurume Medical Journal 46: 97–104, 1999

東京女子医科大学東医療センター小児科
高橋健一郎　志田洋子　鈴木葉子
国立感染症研究所感染症疫学センター
藤本嗣人　小長谷昌未　花岡　希

表1. 無菌性髄膜炎患者からのウイルス検出状況（症例数）－神奈川県

	2012年	2013年	2014年	2015年	2016年	2017年	合計
症例数	20	28	27	42	51	36	204
Coxsackievirus A2	−	−	−	−	−	1	1
Coxsackievirus A4	−	−	2	−	1	−	3
Coxsackievirus A6	−	−	−	−	1	1	2
Coxsackievirus A9	1	−	−	9	−	−	10
Coxsackievirus A10	−	−	−	−	1	−	1
Coxsackievirus A16	−	1	−	−	−	−	1
Coxsackievirus B1	−	2	−	−	−	−	2
Coxsackievirus B2	−	−	−	−	−	1	1
Coxsackievirus B3	−	4	−	1	1	−	6
Coxsackievirus B4	1	−	−	−	−	−	1
Coxsackievirus B5	−	1	−	−	5	−	6
Echovirus 3	−	−	−	−	2	1	3
Echovirus 6	4	−	−	−	3	2	9
Echovirus 7	−	1	−	−	−	−	1
Echovirus 9	1	−	−	−	−	−	1
Echovirus 11	−	−	−	−	1	−	1
Echovirus 16	−	−	1	1	−	−	2
Echovirus 18	−	1	−	1	3	−	5
Echovirus 30	−	−	1	−	−	−	1
Enterovirus D68	−	1	−	−	−	−	1
Enterovirus A71	−	1	−	−	−	2	3
Parechovirus 1	−	−	−	1	−	−	1
Parechovirus 3	−	−	11	−	3	1	15
Parechovirus 6	−	−	−	1	−	−	1
Rhinovirus	1	2	2	4	6	3	18
Mumps virus	−	−	−	−	1	−	1
Adenovirus 1	−	1	−	−	−	−	1
Adenovirus 2	−	−	−	1	−	1	2
Adenovirus 3	−	−	−	1	−	−	1
Varicella-zoater virus	1	−	−	1	1	1	4
Epstein-Barr virus	−	1	−	−	1	3	5
Cytomegalovirus	−	−	2	1	3	2	8
Human herpes virus 6	−	3	−	4	2	5	14
Human herpes virus 7	1	7	1	4	2	5	20
検出症例数	10	18(8)*	17(3)	23(7)	32(5)	24(5)	124(28)
不検出症例数	10	10	10	19	19	12	80
検出率	50.0%	64.3%	63.0%	54.8%	62.7%	66.7%	60.8%

＊カッコ内数字は重複してウイルスが検出された数

＜特集関連情報＞

神奈川県における無菌性髄膜炎患者の発生動向とウイルス検出状況，2012〜2017年

神奈川県では，感染症発生動向調査事業において，基幹定点からの臨床診断に基づいた無菌性髄膜炎の週別患者報告数および無菌性髄膜炎患者検体からの起因ウイルスの調査を行っている。今回，2012〜2017年の神奈川県における無菌性髄膜炎の患者発生の推移とウイルス検出状況について報告する。

1．無菌性髄膜炎患者の発生動向

神奈川県域（横浜市，川崎市，相模原市を除く）での過去 6 年間の無菌性髄膜炎の週別患者報告数は，2012年は第37週（9/10〜9/16）に定点当たり0.75人，第51週（12/17〜12/23）には定点当たり1.0人となったが，2013年以降は定点当たり0.5人を下回っており，小規模な流行に留まっている。全国的にみても，過去10年間の無菌性髄膜炎の定点当たり報告数は0.12人を下回っており（https://www.niid.go.jp/niid/ja/10/2096-weeklygraph/1658-17aseptic.html），近年，大きな流行はみられていない。

2．無菌性髄膜炎患者からのウイルス検出状況

神奈川県域の病原体定点医療機関から搬入された無菌性髄膜炎患者検体について，ウイルス分離検査（RD-A，A549，Vero および VeroE6 細胞）およびエンテロウイルス[1-3]核酸増幅検査を実施した。また，エンテロウイルス遺伝子が不検出であった検体については，ヒトパレコウイルス[4]，ムンプスウイルス[5]およびヒトヘルペスウイルス[6]核酸増幅検査を実施した。

2012〜2017年の 6 年間に204症例（男性128例，女性74例，未記載 2 例）516検体の検査依頼があり，124症例（60.8%）から246株のウイルスが検出された。年齢別では，0 歳児が最も多く91例で，その中でも 0 〜 3 か月の乳児が76例（84%）を占めた。以降，年齢が高くなるにつれて症例数は減少したが，成人の患者も散見された（次ページ図）。

検出ウイルスはエンテロウイルス，ヒトパレコウイルス，ライノウイルス，ムンプスウイルス，ヒトアデノウイルスおよびヒトヘルペスウイルスと多岐にわたっていた（表 1）。エンテロウイルスおよびヒトパレコウイルスの血清型を年ごとにみたところ，2012年はエコーウイルス（E）6 型，2013年はコクサッキーウイルス B（CV-B）3 型，2014年はヒトパレコウイルス 3 型（HPeV-3），2015年はコクサッキーウイルス A（CV-A）9 型，2016年は CV-B5，2017年は E-6 とエンテロウイルス A（EV-

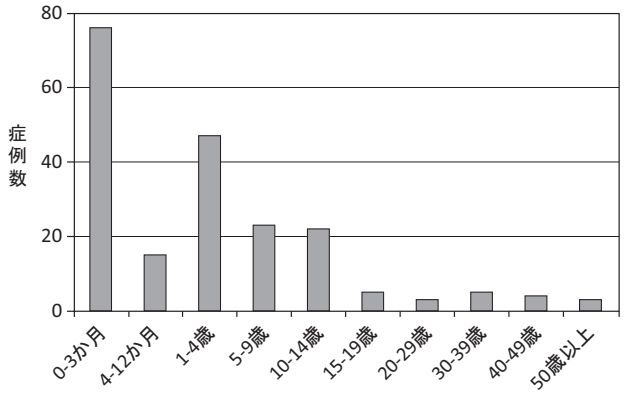


図. 無菌性髄膜炎患者の年齢別症例数－神奈川県

A) 71型が多く検出されていた（前ページ表１）。

患者検体別のウイルス検出状況を表２にまとめた。無菌性髄膜炎は，髄液からウイルスが検出された場合，病原的意義が大きいとされる。当所では，ウイルス検出率を高めるため，急性期の髄液を確保するとともに，咽頭ぬぐい液や糞便等についても同時採取を依頼している。エンテロウイルスの検出率は糞便が一番高く，続いて咽頭ぬぐい液，髄液，血清，尿の順であった（表2-1)。髄液検体からはエンテロウイルス（15血清型)，HPeV-3，水痘帯状疱疹ウイルス（VZV）およびヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）が検出され，ウイルス検出割合はエンテロウイルスが70％，HPeV-3が20％，VZVが5.6％，HHV-6が3.7％であった（表2-1，表2-2)。ライノウイルスが髄液から検出された例はなかった。

３．無菌性髄膜炎症例からのEV-A71の検出

EV-A71は手足口病の原因ウイルスの一つであるが，EV-A71による手足口病の流行時には，無菌性髄膜炎や脳炎等，中枢神経合併症の頻度が高くなり[7]，また，日本においても死亡例が報告されていることから[8]，その動向には注意が必要である。神奈川県では，無菌性髄膜炎患者から2013年に１例，2017年は２例よりEV-A71が検出された。これら症例の年齢は，2013年は０歳２か月，2017年は２例とも０歳１か月の乳児であり，臨床症状は発熱（38℃台）と発疹であった。2017年の１例は手足口病を発症しており，髄液からEV-A71が検出された。2017年の手足口病患者からの検出ウイルスは，８月下旬までCV-A6が主体であったが，第35週（8/28～9/3）以降からEV-A71が検出され始め，2018年１月下旬まで検出が続いた。2017年の２例は10月と11月に無菌性髄膜炎を発症しており，EV-A71による手足口病患者の増加との関連が考えられた。

まとめ

2002年にE-13による全国的な無菌性髄膜炎の流行があったが[9]，それ以降は大きな流行はみられていない。しかし，近年検出されていないウイルスにより再び大流行が起こる可能性もあることから，平時の起因ウイルスの調査は重要である。今後も経年的な流行状況の把握と迅速な情報還元に努めていきたい。

参考文献

1）川俣　治ら，新潟医学会雑誌 111: 633-646, 1997
2）宗村徹也ら，感染症学雑誌 82: 55-57, 2008
3）Nix WA, *et al.*, J Clin Microbiol 44: 2698-2704, 2006
4）Harvala H, *et al.*, J Clin Microbiol 46: 3446-3453, 2008
5）木所　稔，ムンプスウイルス病原体検査マニュアル，平成27年１月
https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Mumps2015.pdf

表2-1. 無菌性髄膜炎患者検体別のウイルス検出状況（エンテロウイルス）－神奈川県

	髄液	咽頭ぬぐい液	糞便	尿	血清	合計
検体数	172	168	151	9	16	516
Coxsackievirus A2	−	1	1	−	−	2
Coxsackievirus A4	1	3	1	−	−	5
Coxsackievirus A6	−	1	2	−	−	3
Coxsackievirus A9	7	8	7	−	−	22
Coxsackievirus A10	1	−	−	−	−	1
Coxsackievirus A16	−	1	−	−	−	1
Coxsackievirus B1	2	−	−	−	−	2
Coxsackievirus B2	1	−	−	−	1	2
Coxsackievirus B3	4	3	5	−	−	12
Coxsackievirus B4	1	1	1	−	−	3
Coxsackievirus B5	3	5	6	1	−	15
Echovirus 3	3	3	2	−	−	8
Echovirus 6	9	5	2	−	−	16
Echovirus 7	−	1	1	−	−	2
Echovirus 9	−	1	1	−	−	2
Echovirus 11	1	1	1	−	−	3
Echovirus 16	2	−	1	−	−	3
Echovirus 18	1	3	4	−	−	8
Echovirus 30	1	1	1	−	−	3
Enterovirus D68	−	1	−	−	−	1
Enterovirus A71	1	2	3	−	1	7
検出株数	38	41	39	1	2	121
検出率	22.1%	24.4%	25.8%	11.1%	12.5%	23.4%

表2-2. 無菌性髄膜炎患者検体別のウイルス検出状況（エンテロウイルス以外）－神奈川県

	髄液	咽頭ぬぐい液	糞便	尿	血清	合計
検体数	172	168	151	9	16	516
Parechovirus 1	−	−	1	−	−	1
Parechovirus 3	11	12	14	1	−	38
Parechovirus 6	−	1	1	−	−	2
Rhinovirus	−	18	6	−	−	24
Mumps virus	−	1	−	−	−	1
Adenovirus 1	−	1	−	−	−	1
Adenovirus 2	−	1	1	−	−	2
Adenovirus 3	−	1	1	−	−	2
Varicella-zoater virus	3	1	−	−	−	4
Epstein-Barr virus	−	5	−	−	−	5
Cytomegalovirus	−	6	1	1	−	8
Human herpes virus 6	2	11	2	−	1	16
Human herpes virus 7	−	19	1	−	1	21
検出株数	16	77	28	2	2	125

6）Johnson G, *et al.*, J Clin Microbiol 38: 3274–3279, 2000
7）清水博之, IASR 30: 9–10, 2009
8）Fujimoto T, *et al.*, Microbiol Immunol 46 (9): 621–627, 2002
9）国立感染症研究所, IASR 30: 1–3, 2009

神奈川県衛生研究所微生物部
佐野貴子　嘉手苅　将　渡邉寿美
近藤真規子　黒木俊郎
神奈川県衛生研究所感染症情報センター
田坂雅子　大塚優子　寺西　大
中村廣志
藤沢市保健所
舟久保麻理子　片山公美　吉村　通
江添　忍　阿南弥生子

＜特集関連情報＞

高知県感染症発生動向調査における無菌性髄膜炎の検出病原体について（2013〜2017年）

高知県衛生研究所では，感染症発生動向調査において，県内基幹病原体定点から無菌性髄膜炎およびその疑いの検体（髄液，咽頭ぬぐい液，便，その他）を年間20〜30件受け入れている。

今回，2013〜2017年における無菌性髄膜炎またはその疑いで当所に搬入された検体の検査結果について検討したので報告する。

無菌性髄膜炎およびその疑いで搬入された検体（脳脊髄液，咽頭ぬぐい液，便，その他）は，病原体検査マニュアルや既報のPCR検査手技に従い，エンテロウイルス属，パレコウイルス，ヘルペスウイルス属，ムンプスウイルスを中心にその遺伝子の有無と塩基配列解析による型別検査を実施している。

2013〜2017年の間，基幹病原体定点から無菌性髄膜炎およびその疑いで搬入された検体数は139検体（患者年齢0〜37歳）あり，そのうち61検体（同0〜18歳）からウイルス遺伝子を検出した。ウイルス別では，41検体（67.2%）がエンテロウイルス属，14検体（23.0%）がヘルペスウイルス属，その他ライノウイルス，パレコウイルスなど6検体（9.8%）であった（表）。

搬入される検体は，疑い症例も含めているため1人の患者から髄液，咽頭ぬぐい液，便が同時に提出されることもある。検査検体の髄液と咽頭等のぬぐい液の2種からウイルスは概ね検出可能と思われるが（表），2014年各地で報告があったパレコウイルス3型は便からの検出が多かった事例もあり，無菌性髄膜炎の原

表．臨床診断名が無菌性髄膜炎またはその疑いの検体から検出されたウイルス（2013〜2017年）

年	臨床診断名が無菌性髄膜炎またはその疑いで提出された検体数	検出されたウイルス	臨床診断名が無菌性髄膜炎またはその疑いで提出された検体のうち病原ウイルスを検出した検体の種類と内訳（件数）					合計
			髄液	咽頭ぬぐい液	便	その他	小計	
2013	28	Coxsackievirus A8		1	1	鼻咽頭口腔ぬぐい液 1	3	14
		Coxsackievirus B4	1				1	
		Coxsackievirus B5	1	1	2		4	
		Echovirus 11			1		1	
		Echovirus 6				不明 2	2	
		Human herpes virus 6	1				1	
		Human herpes virus 7				鼻咽頭口腔ぬぐい液 1	1	
		Rhinovirus			1		1	
2014	37	Coxsackievirus A4		1			1	19
		Coxsackievirus B2	4	1	1	鼻咽頭口腔ぬぐい液 1	7	
		Echovirus 30	2	1	1		4	
		Human herpes virus 7	1				1	
		Parechovirus 3	1		2		3	
		Rhinovirus		1			1	
		Varicella-zoster virus	1				1	
		Echovirus 18	1				1	
2015	25	Echovirus 18	2				2	5
		Echovirus 25		1			1	
		Human herpes virus 6		1			1	
		Respiratory syncytial virus A				鼻腔ぬぐい液 1	1	
2016	29	Coxsackievirus B3	1				1	12
		Cytomegalovirus				尿 1	1	
		Echovirus 30		1			1	
		Echovirus 6	5	1	1		7	
		Human herpes virus 7		2			2	
2017	20	Echovirus 9	2	1	2		5	11
		Human herpes virus 6		1			1	
		Human herpes virus 7	1	2			3	
		Varicella-zoster virus	1	1			2	
	139		25	17	12	7	61	61

因ウイルスをより正確に把握するために，検体受け入れについて病院側との調整を含め再検討する必要がある。

各年，無菌性髄膜炎症状を呈する患者の検体から検出されたウイルスについて，小児科病原体定点からの検体から臨床診断名を検索すると，コクサッキーウイルス B群が検出された感染性胃腸炎やヒトヘルペスウイルス6，同7型，ライノウイルス，エコーウイルス，サイトメガロウイルスが検出された不明発疹症，ヘルパンギーナ，手足口病などが多くあげられた。

エンテロウイルス属を原因とする感染性胃腸炎，不明発疹症，ヘルパンギーナ，手足口病が流行している年には，無菌性髄膜炎もあわせて感染予防の啓発が必要である。

高知県衛生研究所　戸梶彰彦

＜特集関連情報＞

熊本県での無菌性髄膜炎関連患者からの病原体検出状況（2010～2017年）

はじめに

熊本県での感染症発生動向調査（2010～2017年）で病原体定点から無菌性髄膜炎（206名），脳炎・脳症等（65名）で提出された472検体〔髄液263件，咽頭ぬぐい液141件，糞便48件，その他（血清，尿等）20件〕の病原体の検出状況についてとりまとめたので報告する。

ウイルス検出状況

臨床検体から核酸抽出後，エンテロウイルス（EV），ヘルペスウイルス（ユニバーサルプライマーを用いた）のPCR法による遺伝子検査を行った。EV陽性と判断された場合は，CODEHOP法を用いてVP1領域を標的としたシークエンス解析をした。検出されたウイルス遺伝子は，コクサッキーウイルス，エコーウイルス，水痘帯状疱疹ウイルス（VZV），ヒトヘルペスウイルス6（HHV-6）など様々な種類のウイルス遺伝子であった（図1）。2017年にコクサッキーウイルスB2型（CV-B2）の検出（5件），2012年にコクサッキーウイルスB5型（CV-B5）の検出（8件）が多かったことから，CV-B2，CV-B5については，ML法よる系統樹解析（274bp）を行った。CV-B2の系統樹解析の結果，2016

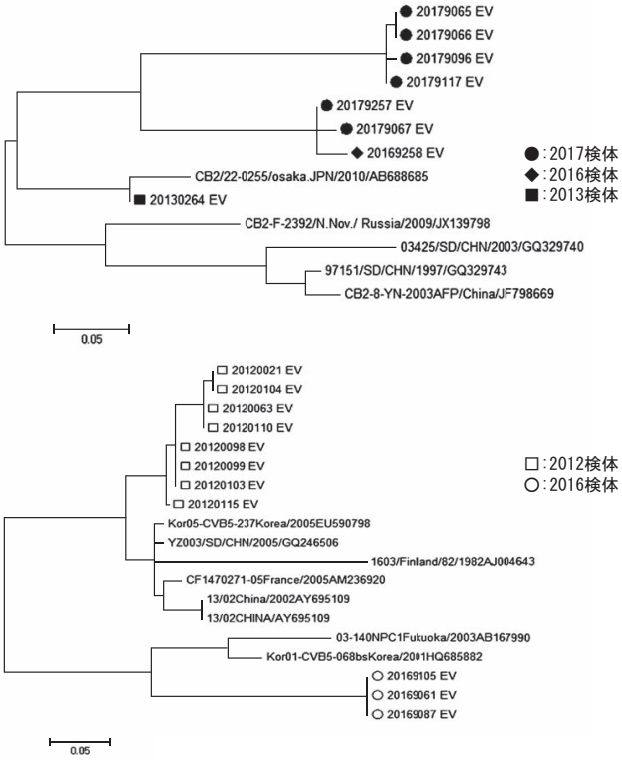


図2．CV-B2（上）およびCV-B5（下）の系統樹

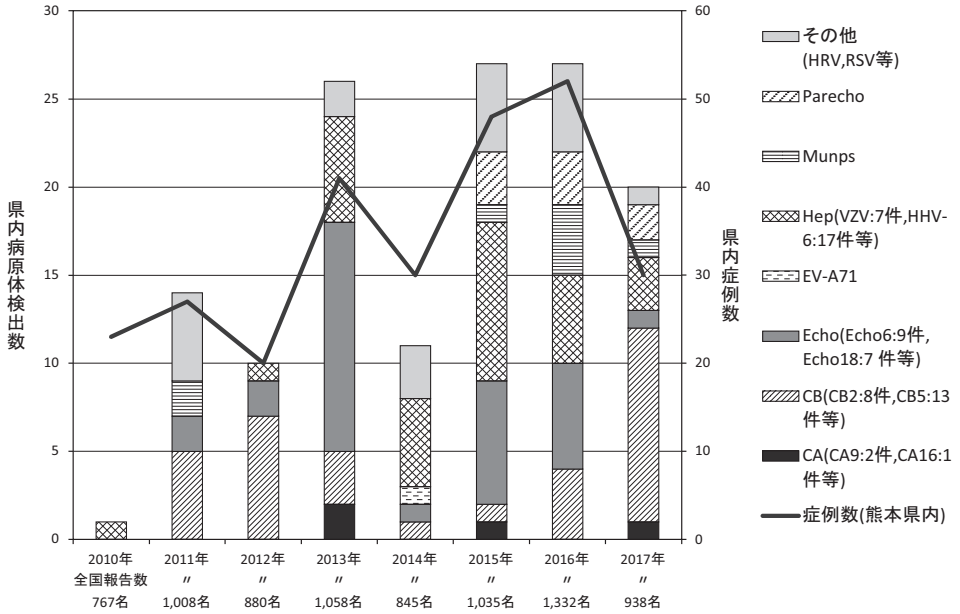


図1．熊本県での感染症発生動向調査（2010～2017年）病原体定点における無菌性髄膜炎、脳炎等患者271名からの病原体の検出状況

～2017年の流行株は2013年に熊本県内で検出された株とは別のクラスターに分類された。またCV-B5についても，2016年株は2012年株とは別のクラスターに分類された（前ページ図2）。これらCV-B2およびCV-B5遺伝子が検出された患者年齢は，0か月～3か月児が9割程度を占めた。

無菌性髄膜炎の流行状況

年間患者数は，20件程度で推移しており，警報レベル（5人/定点）を超える大きな流行はない。全国的にエンテロウイルスの流行があった2016年では，県内の症例数も増える動向があり，患者報告数（週報）のピークは2016年の第28週（7月11日～7月17日）の6名（0.27人/定点）であった。（前ページ図1）。

まとめ

2016～2017年に無菌性髄膜炎関連検体からCV-B2, CV-B5の検出数が増加した。また，手足口病等の原因となる他のEV群の全国的な流行が認められた時期にも熊本県内の無菌性髄膜炎患者が増える傾向が認められていることから，EV流行時には無菌性髄膜炎の発生にも注意する必要がある。CV-B2, CV-B5は生後間もない新生児検体からの検出が多く，母体からの移行抗体がなかったことが強く示唆される。IASRで長崎県での2016年のCV-B2, CV-B5による無菌性髄膜炎の流行が報告されている（IASR 38: 204-205, 2017）。2016～2017年に熊本県内で検出されたCV-B2, CV-B5は，系統樹解析から2012～2013年の遺伝子とは別のクラスターに分類されており，アミノ酸配列の変異もみられた。

今後，さらに長い領域での遺伝子解析，また，臨床症状との関連性等も考慮し，さらに詳細に解析する必要がある。

熊本県保健環境科学研究所
酒井　崇　小原敦美　橋本慎太郎[*1]
吉岡健太[*2]　日高直子[*3]　原田誠也
大迫英夫
[*1]熊本県阿蘇保健所
[*2]熊本県健康危機管理課
[*3]熊本県水俣保健所
国立感染症研究所
感染症疫学センター第四室　藤本嗣人

＜特集関連情報＞
エンテロウイルス実験室診断の現状と課題

エンテロウイルス検査法においては，ウイルス分離培養および分離ウイルスの中和反応による血清型別が基本であった。ところが，ウイルス分離培養において種および型によって細胞による分離率に差がある。また，同じ型であっても流行株によって細胞の感受性が異なることがある。さらに，分離ウイルスが抗原性の変異あるいはウイルスの凝集等により中和できないことがあり難同定株として残る分離株も多かった。

そのため，検査法として臨床検体から直接のゲノム抽出による検査法が広く用いられていなかった1990年代においては，当該年に流行しているエンテロウイルスの細胞感受性および標準抗血清による難中和株に関して地方衛生研究所間で情報共有することが盛んであった。ウイルスによって細胞感受性や中和反応性に差があることは従来法によるエンテロウイルス検査の大きな課題であった。

臨床検体からのエンテロウイルス遺伝子直接検出は，1990年代にエンテロウイルス5'-ノンコーディング（5'-NC）領域のゲノム検出から始まった[1)]。しかし，5'-NC領域の分子系統樹は，血清型を規定するカプシド領域の系統樹と，必ずしも相関しておらず，5'-NC領域の塩基配列によるエンテロウイルス血清型（型）同定の妥当性は低い。5'-NC領域は，汎エンテロウイルス用リアルタイムPCRの増幅領域として使用されている。

VP1部分領域およびVP4-VP2部分領域の塩基配列を用いた解析が型別に使用されている。中でも，多用されているのは中和抗原性に関与するとされるVP1領域の塩基配列を決定するためのPCR法である。もっとも相同性の高いエンテロウイルス標準株のVP1領域の塩基配列が75%以上（アミノ酸に翻訳して88%以上）同じである株は，同じ血清型の株とされている[2, 3)]。

CODEHOP VP1 RT-snPCR（CODEHOP法）はエンテロウイルス型間で高度に保存されたアミノ酸モチーフから縮重プライマーをデザインしてすべてのエンテロウイルス型のゲノムRNAを増幅するために作られたsemi-nested RT-PCRである[4)]。1st-PCRでAMLGTH（I/L/M）をコードするVP3の部位（プライマー224）とVP1中央付近の保存モチーフM（F/Y）（I/V）PPG（A/G）を標的とする（プライマー222）で，すべてのEV血清型の増幅を可能にし，2nd-PCRの鋳型として用いるウイルス特異的産物の絶対濃度を増加させる。これらの1st-PCRで用いるプライマーはイノシン残基をもつのでプライマーの全体的な縮重は減少するが，プライマーと鋳型ヘリックスの熱安定性が減少する。そのため，1st-PCRには 低い厳密性とアニーリング条件が必要である。2nd-PCRで用いるプライマーAN89は，モチーフ［PALTA（A/V）E(I/T)G］をターゲットとし，イソロイシンまたはスレオニンのいずれかをコードするコドンにアニーリングできるように，さらなる縮重を組み込んでいる。プライマーAN88は，モチーフM（F/Y）（I/V）PPGGPVを標的とする。コンセンサスクランプによりプライマーAN89とAN88の熱安定性の増加が図られている。CODEHOP法により350～400bpの増幅産物が得られる。

コクサッキーウイルスB5型（AFA28144）を例とし

てCODEHOP法を説明すると次のとおりである。

①VP1の283個のアミノ酸のうち161-163番目のアミノ酸配列をもとにデザインされたAN32 (33, 35) および195-197番目のAN34のアミノ酸配列によるプライマーを使用してcDNAを合成する。

②VP3の242個のアミノ酸のうち149-155番目のアミノ酸配列によるフォワードプライマー224およびVP1の283個のアミノ酸のうち144-150番目のアミノ酸をもとにしたプライマー222で1st-PCRを行う。

③増幅産物をテンプレートとして，2nd-PCRを実施する。29-37番目のアミノ酸と，144-152番目のアミノ酸によるプライマー（それぞれAN89およびAN88）により2nd-PCRを行う。

④PCR産物が得られた場合は，プライマーAN89およびAN88またはプライマーAN232およびAN233を用いてシークエンスの決定をする。なお，AN232（CCAGCACTGACAGCA）およびAN233（TACTGGACCACCTGG）はそれぞれAN89およびAN88の5'非縮合クランプ配列である。

PCRに用いるプライマーの塩基配列は図1のとおりである。全体の模式図を図2に示した。

課題としては，エンテロウイルスは変異が多く，特にVP1領域は常に抗体の選択圧を受けているので変異が起きやすいことである。VP1領域をターゲットとしてプライマーを設定することには限界があり，VP4-VP2領域を用いたRT-PCRの感度が良いとする報告も多い。手足口病起因ウイルスが含まれる*Enterovirus A*においては，VP1，VP2およびVP4で決定した型がおおむね一致したという報告があるが[5]，それ以外の種においては不一致例もみられる。また，複数のエンテロウイルス株を含む臨床検体の場合，塩基配列解析によるウイルス同定は困難となる。さらなる検査手法の改良が必要であり，ウイルスの変異の影響を受けにくい領域にプライマーを設定し，高感度で簡便な検査系を構築することを目ざしている。

エンテロウイルスにおいてVP1領域を基準とした型別の手法が固まっていることは検査および研究にとって比較的取り組みやすい状況といえる。この流れを受けて，従来の血清型という呼称から型と呼称されることが定着しつつある。近年報告されている新たなエンテロウイルス型の多くは，血清学的に同定されたわけではなく，塩基配列の相同性により同定され，新型と認められているからである。VP1領域の塩基配列において標準株との低い相同性が認められた場合，新型である可能性もある。発症早期に呼吸器，便，髄液，血清，尿の検体を採取しておくことは，その後の適切な検査において重要である[6]。なお，検査の詳細については，国立感染症研究所のホームページに掲載されている病原体検査マニュアルおよび公開されている検査法の解説[7]を参照されたい。

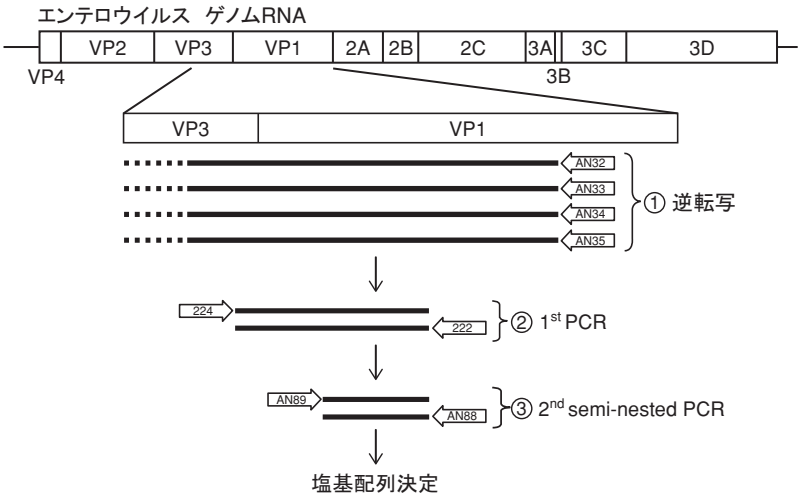


図2. CODEHOP法の模式図（病原体検査マニュアルより転載）

224	5'−GCIATGYTIGGIACICAYRT	(1st-forward primer)
222	5'−CICCIGGIGGIAYRWACAT	(1st-reverse primer)
AN89	5'−CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG	(2nd forward)
AN88	5'−TACTGGACCACCTGGNGGNAYRWACA	(2nd reverse)

＊下線でクランプ配列を示した

図1. PCRに用いるプライマーの塩基配列

参考文献

1) Rotbart HA, J Clin Microbiol 28 (3): 438-442, 1990
2) Oberste MS, *et al.*, J Clin Microbiol 37 (5): 1288-1293, 1999
3) Oberste MS, *et al.*, J Virol 73: 1941-1948, 1999
4) Nix WA, *et al.*, J Clin Microbiol 44 (8): 2698-2704, 2006
5) Perera D, *et al.*, J Med Virol 82 (4): 649-657, 2010
6) Chong PF, *et al.*, Clin Infect Dis 66 (5): 653-664, 2018
7) 清水博之, 臨床とウイルス 増刊号 ウイルス検査法（改訂第2版), 印刷中

国立感染症研究所
感染症疫学センター
藤本嗣人　小長谷昌未　花岡　希
ウイルス第二部第二室　清水博之

＜特集関連情報＞

ムンプス髄膜炎と実験室診断

1．はじめに

国内では無菌性髄膜炎（aseptic meningitis，以下AM）の起因ウイルスに占めるムンプスウイルス（以下MuV）の割合は，エンテロウイルスに次いで2番目

表. ムンプス髄膜炎に用いられる実験室診断法の種類と特徴

	血清学的診断法	ウイルス学的診断法			
	EIA法（IgM抗体）	ウイルス分離	RT-LAMP法	RT-PCR法	Real-time PCR法
原理	感染初期に産生されるIgM抗体をEIA法で検出することによる近時感染の証明	細胞培養による病因ウイルスの特定	LAMP法でMuV遺伝子を増幅し病因ウイルスを特定	RT-PCR法でMuV遺伝子を増幅し病因ウイルスを特定	PCR法で増幅したMuV遺伝子を特異蛍光プローブで検出
特徴	保険収載のため臨床で使いやすい	病因の直接的な証明 MuVの様々な情報が得られる	感度が高く、簡便迅速診断が可能	最も感度が高く、ゲノム解析が可能	感度・特異性が高く、交差汚染のリスクが低い
注意点	ワクチン歴や自然感染歴の有る場合は陰性例が多い	特別な設備が必要 時間がかかる 感度が低い	保険収載されていない	交差汚染のリスク増幅装置が必要	高額な測定装置が必要

に多い。また，おたふくかぜ（流行性耳下腺炎，以下ムンプス）の合併症の中でムンプス髄膜炎（mumps meningitis，以下MM）は，最も頻度が高く（患者の1〜10％），ムンプスによる入院理由の第1位である[1]。ムンプスはワクチンで予防できる疾病であり，ワクチン接種がムンプスの合併症リスクを低減する唯一の手段である。しかし，任意接種のため，ワクチン接種率はいまだに30〜40％に低迷している。それがいまだにムンプスがAMの主因に留まっている原因である。

2．MMの実験室診断

AMの起因病原体には多種多様なウイルスの他に，真菌，リケッチア，マイコプラズマ，寄生虫などが含まれる。また，MMには耳下腺腫脹を伴わないケースもあるため，診断確定には実験室診断が欠かせない。

ムンプスの実験室診断には抗体を調べる血清学的診断と，ウイルスあるいはウイルス遺伝子を検出するウイルス学的診断法がある。実験室診断法の種類と特徴を表にまとめた。正しい診断を下すためにはそれぞれの手技の特徴を理解して，使い分ける必要がある。

血清学的診断には市販の酵素抗体法（EIA法）キットによるIgM抗体の測定が広く用いられる。IgM抗体は感染初期に上昇するため，近時感染の証明になる。EIA法は保険収載されていることもあり，臨床の現場で最も広く用いられている検査法である。AMの場合には，血清に加えて髄液においてもIgM抗体が検出される場合が多いので，診断の参考になる。しかし，過去にワクチン接種歴や自然感染歴があるケースではIgM抗体が陰性となるケースが多いため，IgM抗体が陰性であるからといってムンプス感染を否定することはできない[2]。

ウイルス学的診断法には，細胞培養によってMuVそのものを検出するウイルス分離と，MuV遺伝子を検出する遺伝子検査法とがある。

ウイルス分離はウイルス学的診断法のゴールドスタンダードであるが，検査を行うには安全キャビネットや培養器などの特別な設備が必要であり，大学病院や地方衛生研究所などの限られた施設でしか実施できない。MMの場合，診断材料としては通常髄液を用いる。髄液は無菌的に採取されるので，そのままVero細胞やLLC-MK2細胞などの感受性細胞に接種できる。しかし，MMを発症した時点で髄液からMuVが検出されない場合も有るので，同時に唾液や尿を採取しておくことも重要である。エンテロウイルス感染の可能性も考慮すれば便を採取しておくことも必要である。唾液を検査に用いる際には，抗菌薬を含んだ培地に浮遊し，メンブレンフィルターや遠心によって除菌した後，細胞に接種する。ムンプスの場合，咽頭ぬぐい液よりも，唾液からの検出がより効率が高い。発症直後に採取され，凍結融解されていない新鮮な検体であれば接種して数日でCPEが出現する場合が多い。1週間を過ぎてCPEが出現しない場合でも，細胞を継代培養することによってCPEが出現する場合があるので，最低でも2回の継代培養が望ましい。また，MuVの中には明確なCPEを発現しない株があるため，一見CPEが陰性であっても，蛍光抗体法や遺伝子検査法で確認する必要がある。ウイルス分離の検出感度は，凍結融解された検体では遺伝子検査法に比べてかなり落ちる[3]。

迅速で，信頼性の高い検査法は遺伝子検査法である。現在では主に，RT-PCR法，RT-LAMP法が用いられている。臨床の現場では，迅速で，感度の高いRT-LAMP法が多用されており，保険収載を望む声が多い。RT-PCR法は最も感度が高く，MuVの塩基配列を解析できるため，ワクチン副反応例におけるワクチン株の同定や，流行株の系統解析に有用である。real-time PCRはRT-PCR法と同程度に感度が高く，加えて交差汚染のリスクが低いことから，世界保健機関（WHO）が推奨している。特にRNAから直接1段階の反応で検出できるone-step RT real-time PCRは信頼性，利便性が高い。遺伝子検査法は検出感度が高いが，検体はできるだけ発症直後に採取するのが望ましい。

発症から数日経過すると検出率が大幅に低下する。

3．おわりに

日本におけるMMは特異な状況にある。海外では先進国を含む121の国で定期接種を導入しており，これらの国々ではMMは過去の疾患になりつつある。MMや難聴などのムンプス合併症のリスクを低減するためには，一刻も早いワクチンの接種率向上が求められる。折しも，2020年は東京でオリンピック・パラリンピックが開催されるが，この年は全国的なムンプス流行が予想される年である。国内でのムンプス感受性者の蓄積と，海外からの旅行客の増加が国内流行の増大を招くリスクはもとより，日本から海外への感染の拡散が懸念される。それまでにワクチン接種率の底上げは不可欠であろう。

引用文献

1) 川口将宏ら, 小児臨床免疫 29: 227–233, 2017
2) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課, IASR 37: 185–204, 2016
3) Kidokoro M, *et al.*, J Clin Microbiol 49 (5): 1917–1925, 2011

国立感染症研究所ウイルス第三部
第三室室長　木所　稔

＜特集関連情報＞

海外における無菌性髄膜炎等を対象とした病原体サーベイランスの動向

ポリオ根絶計画の進捗に伴い，エンテロウイルス(EV) サーベイランス (患者, 環境水由来) が重視されるようになっている。例えば，フランスでは患者サーベイランスと環境水サーベイランス (パリ市で実施) をネットワーク化し，ポリオウイルス (PV) の把握とともにウイルス性脳炎・髄膜炎等のEVサーベイランスを強化している。2016年の活動ではネットワークは36検査室で構成，延べ約6.5万検体を検査し，約2.6千検体がEV陽性であることを報告している[1)]。

PV感染の多くは不顕性であり，感染者の1割程度が夏かぜ様症状を呈することが知られている。このため，欧米などのポリオフリー地域では，輸入を想定し，従来から無菌性髄膜炎患者を対象としたEVサーベイランスが行われてきた[2)]。また，PCR法が普及するとともに，病院でも入院期間の短縮，抗菌薬の適正使用の観点で，検査を実施する場合がある。これまでの欧米の調査より無菌性髄膜炎は主にエンテロウイルスB (EV-B) 群に属するエコーウイルス (E) やコクサッキーウイルスB (CV-B) 群が関与し，血清型により重篤度，流行の規模が異なることが明らかにされている[2, 3)]。

他方EV-A群に属するエンテロウイルスA71 (EV-A71) 感染による重篤な手足口病の流行が1990年代後半よりアジア諸国で報告されて以後，国際的な伝播が注視されている[4, 10)]。また，従来呼吸器感染に関与すると考えられていたエンテロウイルスD68 (EV-D68) による急性弛緩性脊髄炎 (AFM) と関連が疑われる症例報告が2014年以降に各国で相次いだ[5)]。さらにEVと近縁のパレコウイルス (HPeV) 3型感染による乳幼児の中枢神経症状を示す症例も各国で報告されている。

このようにPV検出を視野に入れ，無菌性髄膜炎に限らず中枢神経症状を示す症例を対象としたEVサーベイランス (HPeVを含む) 強化の流れがあるといえる[6)]。EV-A71，EV-D68の動向は既報で紹介されているため，本稿ではEV-B群感染による無菌性髄膜炎の動向を紹介する。

米　国

米国ではEV感染症はポリオを除くと届出対象でなく，任意のEVサーベイランスである。EV，HPeVを対象とした病原体サーベイランスには，米国疾病管理予防センター (CDC) を含む17の施設より疫学データとともに型別結果を収集するサーベイランス (NESS) と，型別や患者情報を含まないが種別までの結果を収集する呼吸器/腸管系ウイルスサーベイランス (NREVSS) がある。NESSでは2009〜2013年の間，延べ2,532人の患者の検査報告が登録されており，型別同定されたEVは延べ1,819例だった。この中でCV-A6とHPeV3が多く (ともに12.3%)，E-11 (7.9%)，E-18 (5.6%)，その他の順となっている。NREVSSでは同じ期間，PCRで約15万検体を検査し，約12%が陽性であったことが報告されている。これら2種類のサーベイランスを組み合わせてEV等の動向を解析し情報を発信している[3)]。なお，無菌性髄膜炎に関連する最近の集団発生は，高校生のサッカーチーム内で起きたE-30感染による事例が2014年に報告されている[7)]。

欧　州

無菌性髄膜炎の起因ウイルスとして，2013年のドイツのE-30[8)]，2016年オランダのE-6[9)] 等，主にEV-B群による流行が報告されている。一方，欧州におけるEV-A71，EV-D68の流行を踏まえ，欧州CDC (ECDC) はEU/EEA諸国が情報共有を図るためのシステム (EWRS) にEVクラスターとアウトブレイク報告を推奨しており，中枢神経症状と関連するEV検出のため，髄液，糞便に加え呼吸器検体の採取を奨励している[10)]。加盟30カ国のうち26カ国はEVサーベイランスを実施しているが，検査および報告体制は様々である。EV-D68のような呼吸器感染症患者由来の検体について2014年の流行以降インフルエンザ様疾患 (ILI) 定点などを活用し，新たにサーベイランスの対象とした国もある[11)]。

中　国

中国ではEV感染症のうち，急性弛緩性麻痺 (AFP) と手足口病は届出対象であるが，無菌性髄膜炎は対象

外のため，基本的にはアウトブレイク対応で検査を実施している。中国北部の入院患者（5病院，n=285）を対象とした調査では，ウイルス性の急性脳炎，髄膜炎の髄液を用いて各種ウイルスを検索した結果，約4割がPCR陽性となり，うちEVが他国と同様，最も多いことを報告している[12]。中国では1990年代にAFPサーベイランスと，ポリオ実験室ネットワークが確立されている。このネットワークは無菌性髄膜炎等のウイルス検査に活用されている。

中国でもEV-B群が無菌性髄膜炎の流行と関連することが報告されており，近年では2015年の河北省におけるE-18[13]他，多くの疫学報告が発信されている。特に山東省では無菌性髄膜炎を対象とした定点サーベイランスを独自に構築しており，2006～2012年のEVサーベイランスでは，E-30，EV-A71，CV-B群他様々なEVが検出されたことが明らかにされている[14]。

EV-Bによる大規模な無菌性髄膜炎の流行は欧米ではこの数年報告されていないが，サーベイランスでは検出が続いている。他方，中国ではEV-B群による大規模な流行が各地で報告されている。また，ポリオ根絶計画におけるAFPサーベイランスでは，PV以外は麻痺との関連は明確でないものの，新たな遺伝子型のEVが見出されている。このためウイルス性脳炎，髄膜炎などを対象としたHPeV，EVの病原体サーベイランスは強化の方向にある。

参考文献

1）CNR, Reference des Enterovirus et Parechovirus, RAPPORT D'ACTIVITÉS 2016 http://cnr.chu-clermontferrand.fr/CNR/default.aspx
2）Donoso MO, *et al.*, Euro Surveill 13 (3): pii: 8017, 2008
3）Glen R Abedi, *et al.*, MMWR 64 (34): 940–943, 2015
4）http://www.wpro.who.int/topics/hand_foot_mouth/en/
5）エンテロウイルス D68（EV-D68）感染症に関するQ & A https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/EVD68/EV-D68_QA20151022.pdf
6）WHO-EURO, Enterovirus surveillance guidelines: Guidelines for enterovirus surveillance, Copenhagen: WHO; 2015
7）Croker C, *et al*, MMWR 63 (51): 1228, 2015
8）Rudolph H, *et al.*, Eur J Clin Microbiol Infect Dis 36 (9): 1651–1660, 2017
9）Benschop KS, *et al.*, Euro Surveill 21 (39): pii: 30351, 2016
10）ECDC, Rapid Risk Assessment–Enterovirus detections associated with severe neurological symptoms in children and adults in European countries, 8 August 2016, Stockholm, 2016
11）Harvala H, *et al.*, Euro Surveill 22 (45): pii: 16–00807, 2017
12）Ai J, *et al.*, BMC Infectious Diseases 17: 494, 2017
13）Chen X, *et al*, Emerg Microbes Infect 2017 Jun; 6 (6): e54, 2017
14）Tao Z, *et al.*, PLOS ONE 9 (2): e89766, 2014

国立感染症研究所
ウイルス第二部　吉田　弘

＜**通知**＞

平成30年度インフルエンザHAワクチン製造株の決定について

健発0419第4号
平成30年4月19日

各都道府県知事殿

厚生労働省健康局長

生物学的製剤基準（平成16年3月30日厚生労働省告示第155号）の規定に係る平成30年度のインフルエンザHAワクチン製造株を下記のとおり決定したので通知する。

なお，ワクチンの安定供給について，今後ともご配慮願いたい。

記

A型株
A/シンガポール/GP1908/2015(IVR-180)（H1N1）pdm09
A/シンガポール/INFIMH-16-0019/2016(IVR-186)（H3N2）

B型株
B/プーケット/3073/2013(山形系統)
B/メリーランド/15/2016(NYMC BX-69A)（ビクトリア系統）

＜**国内情報**＞

広島県におけるRSウイルス遺伝子型検出状況（2011～2017年）

RSウイルス（RSV）感染症は乳幼児期に多く感染するウイルス感染症の一つで，生後1歳までに半数以上が，2歳までにほぼ100％が初感染を受ける。また，乳幼児における肺炎の約50％，気管支炎の50～90％がRSV感染症によるものとされている。本ウイルスは，血清型でA（RSV-A）とB（RSV-B）に分かれ，さらに，最近の報告[1)]ではG蛋白の塩基配列により，RSV-Aは14の遺伝子型，RSV-Bは24の遺伝子型に分かれる。

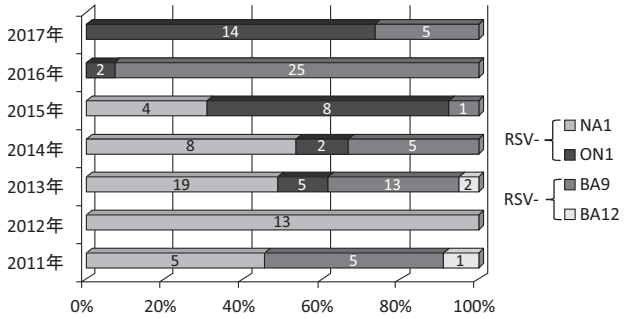


図. 広島県におけるRSVの遺伝子型別状況(2011年1月～2017年10月)

今回, 2011～2017年における広島県で検出されたRSVの流行遺伝子型を明らかにしたので報告する。

供試検体には, 2011年1月～2017年10月に感染症発生動向調査事業で搬入された検体 (咽頭ぬぐい, 鼻腔ぬぐい等) のうち, リアルタイムPCRで陽性となった267検体中137検体を用いて, G遺伝子領域を対象としたダイレクトシークエンスと, MEGA5による近接結合法により遺伝子型を決定した。

過去7年間の変遷 (図) をみると, RSVの検出血清型の割合は毎年変化しており, 2012年, 2015年および2017年はRSV-Aが優勢で, 2016年はRSV-Bが優勢であった。遺伝子型については, RSV-AではNA1とON1が検出された。ON1はNA1のC末端領域に72塩基の繰り返し配列が挿入されている新しい遺伝子型[2]で, 2010年にカナダで初めて検出され, その後世界中で検出が確認されている。今回の我々の調査結果から, 広島県においては2013年にON1の検出が確認され, また, 日本国内においても同様な報告[3, 4]があることから, この時期にはすでに本遺伝子型のRSVが日本の各地に入ってきたものと思われる。また, NA1とON1の検出割合は, 2014年まではNA1が優勢であったが, 2015年にNA1が4件, ON1が8件と割合が逆転し, 2016年以降はNA1が検出されずON1に置き換わっていた。同様の現象は中国でも認められており[5], ON1が2013～2015年にかけて優勢な遺伝子型となっていると思われる。

一方, 広島県におけるRSV-Bについては, BA9とBA12が検出されている。それらの検出割合は総じてBA9が優勢となっており, この傾向はこれまでの報告[1, 3]と同様である。なお, 2016年は前述したようにRSV-Bが流行しており, そのうちBA9が9割を超えていた。

今回の調査でRSVの流行遺伝子型は, 年により変化していることが判明した。2017年は広島県でも全国と同様, 通常よりも早い時期から流行が始まり, その後患者報告数も急激に増加していた。この原因については明らかではないが, 新たな遺伝子型ON1の国内への侵入と拡大が関係しているかもしれない。このことを明らかにするためにも, 今後もRSVの動向については, 注意深く監視していく必要があり, 年ごとの変動について引き続き調査していく予定である。

文　献

1) Song J, *et al.*, Sci Rep 7: 16765, 2017
2) Eshaghi A, *et al.*, PLOS ONE 7: e32807, 2012
3) 齋藤玲子ら, IASR 35: 148-149, 2014
4) 田中俊光ら, IASR 33: 99-100, 2012
5) Song J, *et al.*, Sci Rep 7: 5501, 2017

広島県立総合技術研究所
保健環境センター
池田周平　谷澤由枝　島津幸枝
重本直樹　高尾信一

＜国内情報＞

高齢者福祉施設における呼吸器感染症の集団発生について ── 福岡県

2018年1月に, 福岡県内の高齢者福祉施設 (入所者45名, 職員46名) において, 複数の入所者が発熱または呼吸器症状を呈した。管轄の保健所が施設内の患者の発生状況を調査したところ, 初発有症者の発症日は1月4日で, 1月18日までに計43名 (入所者39名, 職員4名) が発症, 8名が入院, うち2名 (いずれも90代女性) が死亡していた。新規発症者数の推移を図1に示す。有症者の年齢は入所者が66～98歳, 職員が23～63歳であった。主な症状は, 発熱および咳, 痰, 呼吸困難, 喘鳴等の呼吸器症状であった。

保健所は感染症の原因究明およびまん延防止のため, 当施設における健康調査および疫学調査を実施し, 1月12日に有症者10名から咽頭ぬぐい液を採取し, 当研究所に検査を依頼した。当研究所では, 呼吸器マルチプレックスPCR法[1, 2]により, ライノウイルス, メタニューモウイルス, パラインフルエンザウイルス, RSウイルス, コロナウイルス, エンテロウイルス, クラミジア・ニューモニエ, ボカウイルス, マイコプラズマ・ニューモニエ, アデノウイルスの検査を実施したが, 呼吸器ウイルスは検出されなかった。そのため, 検体を国立感染症研究所 (感染研) の病原体ゲノム解析研究センターに送付し, 次世代シークエンサーによるウイルス探索を依頼した。その結果, 10名中1名の咽頭ぬぐい液検体からライノウイルスC (HRV-C)

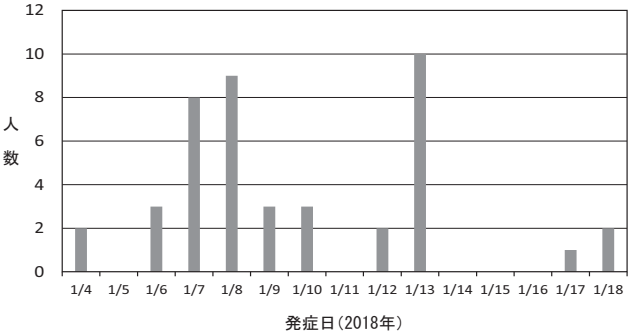


図1. 施設における呼吸器感染症新規発症者数の推移

の3Dpol遺伝子が検出された。この結果を基に，当研究所ではHRVのより高感度な検査として，5'-UTR-VP4/VP2領域におけるnested PCR法を用いて検査したところ，10検体中2検体からHRV-Cが検出され，シークエンスにより塩基配列441bpが決定された（Accession No. LC368821）。配列が判明した441bp領域内で，今回のウイルス株に反応する特異的なプライマーを設計し，新たなnested PCR法を構築して再検査を実施したところ，10検体中8検体からHRV-Cが検出された（表）。HRV-Cが検出された8名のうち4名は入院患者であった。塩基配列を解析した結果，8検体の塩基配列310bpが一致し，最尤法（ML法）を用いた系統樹解析により今回検出された株はHRV-Cに分類された（図2）。

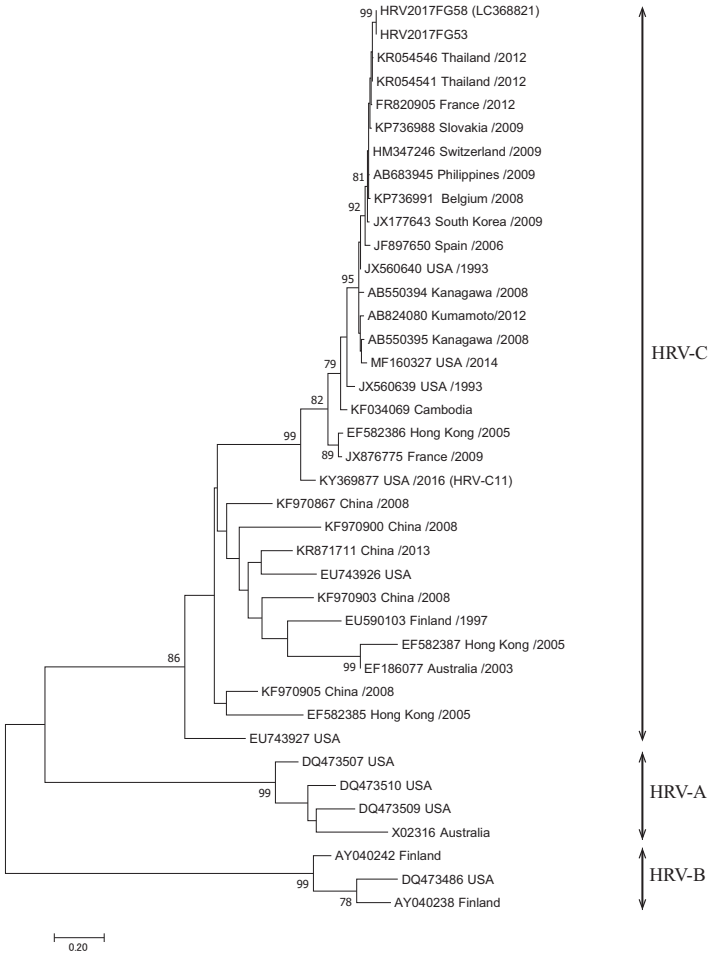


図2. 本事例から検出されたライノウイルスの分子系統樹（ML法）
5'-UTR-VP4/VP2 領域（441bp）を用いた系統樹解析
HRV2017FG53およびHRV2017FG58は本事例から検出された株
（Accession No. LC368821）

今回の事例はHRV-Cを原因とする急性呼吸器感染症集団発生事例であることが推定された。1月31日に症状が長期継続していた2名の患者から咽頭ぬぐい液を採取し，HRVが検出されないことを確認した。前述2名を除き施設内に有症状者がいなくなった1月25日以降1月31日まで新規発症者がおらず，HRVの潜伏期間の2倍を超えたため，2月1日をもって終息したと判断された。なお，死亡した2名については，咽頭ぬぐい液が採取できていないため，HRVに感染していたかは不明である。

HRVはピコルナウイルス科ライノウイルス属に分類されるウイルスで，100種類以上の血清型が存在し，3つの遺伝子群（A, BおよびC群）に分類される[3]。HRVの潜伏期は約1～4日であり，小児を中心に普通感冒（かぜ）や気管支炎，肺炎を引き起こすことが知られている。急性の呼吸器系感染症の半数はHRVによるものと考えられるが，一般には症状は軽く数日で軽快する[3]。

HRV-Cが原因と推定された感染症集団発生事例は珍しく，過去の事例（富山県および茨城県，ともに2016年6月）[4,5]は，いずれも高齢者施設において発生したHRV-Aが原因と推定された事例であった。HRVは小児を中心に幅広い年代層が罹患する上気道炎の主な原因である一方で，高齢者においては集団感染事例の原因となる可能性があり，重症化することも考慮する必要がある。また，HRVの感染により粘膜が傷んだ状態になり，細菌等による二次的な感染も起こしやすくなり，気管支炎や肺炎になることもある。そのため高齢者施設等において集団感染が発生した場合は，速やかに感染拡大防止対策を講じることが重要であると考えられる。HRVの伝播様式は飛沫感染および接触感染と考えられているが，アルコール消毒薬に抵抗性があると言われていることから，集団発生事例におい

表. 検体を採取した有症者の症状およびウイルス検出状況

番号	年齢	性別	発症日	検体採取日	症状	検出ウイルス
1	90代	女	2018/1/6	2018/1/12	発熱38.9℃、喘鳴、肺炎	HRV-C
2	80代	女	2018/1/7	2018/1/12	発熱38℃、喘鳴	HRV-C
3	90代	女	2018/1/7	2018/1/12	発熱37.9℃、誤嚥性肺炎	HRV-C
4	70代	男	2018/1/7	2018/1/12	発熱39.4℃、咳、痰、腹痛、めまい、肺炎	HRV-C
5	80代	女	2018/1/9	2018/1/12	発熱39.3℃、倦怠感	—
6	80代	女	2018/1/8	2018/1/12	発熱37.7℃、咳、肺炎	HRV-C
7	90代	女	2018/1/6	2018/1/12	発熱37.9℃、咳、痰、肺炎	HRV-C
8	90代	女	2018/1/7	2018/1/12	発熱39.8℃、心不全、肺炎	HRV-C
9	90代	女	2018/1/7	2018/1/12	発熱38.0℃、咳、肺炎	HRV-C
10	80代	女	2018/1/7	2018/1/12	発熱38.0℃、咳、痰、肺炎	—

ては飛沫感染対策に加え，消毒に次亜塩素酸ナトリウムを用いることも視野に入れる必要性がある。

HRV 感染症は感染症発生動向調査事業の対象ではないため，流行状況やウイルスの性状の変化の把握が難しい。本事例において当所が用いた呼吸器マルチプレックス PCR 法は2008年頃に開発され，以後，高感度化のための改良を続けてきた。従来から HRV の検出には3セットのプライマーセットが導入されていたが，本事例ではいずれも反応しなかった。この原因としては，ウイルスの変異によりプライマー配列の相同性が低下していること，今回の検体中のウイルス量が検出感度未満であったことが考えられた。今後は nested PCR 法を用いることや，検出プライマー配列の見直しが必要であると考えられた。さらに，施設等の感染症集団発生に対応するための各保健所における検体採取器材（検体をより多く採取できるナイロン製の綿棒）の整備状況の把握や検体採取法の周知等も必要であると考えられた。

最後に，今回の感染症集団発生事例においては，感染研により実施された次世代シークエンサーによる探索検査の結果が原因解明のためのきっかけであった。当研究所では，次世代シークエンサー検査により HRV-C が原因と推定された後，即時に HRV 検出用のより特異的なプライマーセットを設計し，3日以内に再検査の結果を提示することができた。今後，感染症発生時の初動の検査において原因不明となった場合は，できるだけ早い段階で次世代シークエンサーを活用することも有効な手段であることを認識する必要がある。

参考文献

1）調　恒明ら，厚生労働科学研究費補助金「地方衛生研究所における網羅的迅速検査法の確立と，その精度管理の実施，及び疫学機能の強化に関する研究」平成22-24年度総合研究報告書
2）吉冨秀亮ら，福岡県保健環境研究所年報第40号: 94-97, 2013
3）国立感染症研究所，ライノウイルス検査マニュアル（平成21年7月）
4）板持雅恵ら，IASR 37: 179-180, 2016
5）宮﨑彩子ら，IASR 38: 129-130, 2016

福岡県保健環境研究所
芦塚由紀　吉冨秀亮　中村麻子
小林孝行　梶原淳睦　香月　進
福岡県南筑後保健福祉環境事務所
松尾希美　陳内茜希　上野詩歩子
若松倫子　西村京子　畔野征子
梅崎みどり　松尾美智代
国立感染症研究所
病原体ゲノム解析研究センター　黒田　誠

＜外国情報＞

2017/18シーズンの季節性インフルエンザのワクチン効果の中間評価：欧州における5研究のまとめ

欧州では，2017年9月～2018年2月までの2017/18シーズンに，A(H1N1)pdm09，A(H3N2)，Bの3つのインフルエンザが，国ごとに異なるパターンで同時流行した。2017/18シーズンは，3価ワクチンにはA/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09，A/Hong Kong/4801/2014(H3N2)，B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統）が，4価ワクチンには加えてB/Phuket/3073/2013が含まれていた。今回，欧州の5研究による今シーズンの季節性インフルエンザワクチンのワクチン効果（vaccine effectiveness: VE）についての中間評価をまとめた。

5研究のうち3つはスペイン，英国，デンマークの単一国型で，2つ（EU-PC, EU-H）は複数国参加型（前者10カ国，後者6カ国）であった。スペイン，英国，EU-PC の研究はプライマリーケア施設を対象とし，EU-H は病院，デンマークの研究は両者を対象としていた。5研究では，いずれも test negative design が用いられ，65歳以上を対象とした EU-H 以外は全年齢が対象であった。

分離されたウイルス株（6,979株）は，英国を除く4研究では，Bが2/3以上（9割以上が山形系統）を占め，英国では A(H1N1)pdm09 と A(H3N2) が半々であった。A型では，デンマークと EU-PC では A(H1N1)pdm09 が，スペイン，英国，UK-H では A(H3N2) が優位であった。A(H1N1)pdm09 はすべて Clade 6B.1(ミシガン系統)，A(H3N2) は63％が Clade 3C.2a(香港系統)，35％が3C2a1(シンガポール系統）に属していた。全インフルエンザに対する VE は25％〔95％信頼区間(CI): －10～48〕～52％（同29～67）と推定され，65歳以上を対象とした EU-PC では，VE は36％（95％CI: 13～53）と算出された。A(H1N1)pdm09 に対する VE は，55％（95％CI: 23～74)～68％（同42～83）であった。A(H3N2) に対する VE は，いずれの研究でも8％以下と低かった。Bに対する VE は，36％（95％CI: 27～44）～54％（同24～72）であり，65歳以上の高齢者で低く（各研究における VE 15～54％），小児で高かった（同58～83％）。

A(H1N1)pdm09 に対する VE は過去の他の報告同様良好であり，流行株であった Clade 6B.1 がワクチン株に含まれていたことがその理由と考えられた。A(H3N2) に対する VE は低く，これは2016/17シーズンの EU-H や2017シーズンの豪州からの報告と同様であった。A(H3N2) は2018シーズンの南半球，2018/19シーズンの北半球のワクチン株が今シーズン3割を占めていたシンガポール系統になったが，罹患者の多くが高齢者であることと低い VE から，高齢者へのより効

果的な介入が必要である。Bに対するVEは，流行した山形系統はワクチンに含まれていなかったものの例年並みの値であり，Bに対してはcross-lineage protectionがあることを示唆している。4価インフルエンザワクチンのVEは，小児の多くが4価ワクチンを使用している英国のみが推計し，53％（95％CI: −56〜86）であった。これは小児のほとんどが3価ワクチンを接種していたEU-PCのVE 59％とほぼ同等であったが，VEは流行株によって異なるため，4価ワクチンと3価ワクチンのVEの比較は困難である。

今後の最終評価では，より大きなサンプルサイズから結果が正確に得られることが期待される。また，前シーズンのワクチン接種状況別のVE解析が望まれる。

（Euro Surveill. 2018; 23 (9): pii=18-00086）

（抄訳担当：感染研感染症疫学センター・
川上千晶　山岸拓也　砂川富正）

＜外国情報＞

狂犬病ワクチン：WHOポジションペーパーの更新

狂犬病予防接種に関する世界保健機関（WHO）の推奨が，2010年のWHOポジションペーパーから更新された。この更新は，狂犬病と狂犬病ワクチンの新たなエビデンスに基づき，プログラムの実現性，ワクチンスケジュールの単純化，費用対効果の改善に重点を置いている。この推奨は，2017年10月Strategic Advisory Group of Experts on immunization（SAGE）により協議された。

狂犬病はウイルス性人獣共通感染症であり，発症すると急性進行性脳炎を呈し，通常致命的であり，年間59,000人が死亡していると推定されている。症例の多くがアフリカ，アジアで発生し，約40％が15歳未満の小児である。狂犬病ウイルスのヒトへの感染は，常在国では犬によるものが99％までを占める。狂犬病の予防には，犬に対するワクチン接種と，ヒトに対する曝露前または曝露後のワクチン接種がある。近年の細胞培養から作られた狂犬病ワクチンは安定しており禁忌はないとされている。

WHOは曝露前予防（pre-exposure prophylaxis: PrEP）ならびに曝露後予防（post-exposure prophylaxis: PEP）を推奨し，いずれにおいても皮内注または筋注での投与が可能である。筋注投与に比較し，皮内注スケジュールは接種回数・接種期間・費用の面で利点があるとしている。今回の更新では，PEP，PrEPともに，スケジュールの期間が短縮，または接種回数が減少した。また，曝露後の狂犬病免疫グロブリン（rabies immunoglobulins: RIG）の適応についても言及している（2010年のWHOポジションペーパーRabies vaccines: WHO position paperはWER 85 (32): 309−320, 2010; http://www.who.int/wer/2010/wer8532.pdfを参照）。

①曝露後予防（post-exposure prophylaxis: PEP）

PEPには，創部洗浄，狂犬病ワクチンの一連の接種，必要な場合のRIG投与が含まれる。WHOは狂犬病ウイルスへの曝露リスクを次のように分類している。I：触れる，餌付けをする，健康な皮膚を舐められる，II：保護されていない皮膚の甘噛み（原文nibble），出血のない小さな擦り傷，III：単一もしくは複数の皮下におよぶ咬傷・擦過傷，舐められることによる粘膜や損傷皮膚の唾液による汚染，コウモリとの直接的な接触（深刻な曝露）。カテゴリーIには創部洗浄，カテゴリーIIには創部洗浄と迅速な狂犬病ワクチン接種，カテゴリーIIIには創部洗浄，迅速な狂犬病ワクチン接種に加え，必要に応じてRIG投与を推奨している。

狂犬病ワクチン接種の推奨スケジュールは，過去に未接種の場合，2カ所の皮内注3回（0，3，7日）または1カ所の筋注4回（0，3，7，14〜28日）または2カ所の筋注1回（0日）と1カ所の筋注2回（7，21日）である。PrEPのワクチン接種完了後または2回以上のPEPのワクチン接種後の場合，1カ所の皮内注2回（0，3日）または4カ所の皮内注1回（0日）または1カ所の筋注2回（0，3日）が推奨される。

RIG投与はカテゴリーIIIの曝露で，過去に未接種の場合に推奨される。RIGが入手不可能な場合であっても創部洗浄，迅速な狂犬病ワクチン接種とPEPの完遂は狂犬病予防に高い効果があるため，狂犬病ワクチン接種を保留してはならない。RIGは創部内および創部周囲に浸潤させる。かつてWHOは，最大投与量（ウマ由来RIGは40 IU/kg，ヒト由来RIGは20 IU/kg）のRIGの残量を創部から離れた部位に筋注することを推奨していたが，新しい指針ではこれを推奨しない。過去3カ月以内に完全なPEPスケジュールを終了している場合には，狂犬病ワクチン接種，RIG投与ともに推奨されない。

②曝露前予防（pre-exposure prophylaxis: PrEP）

WHOは狂犬病ウイルスへの曝露がハイリスクと考えられる場合にPrEPを推奨している。これには，高度流行地域に居てかつ適切なPEPが受けられない者，曝露のリスクがある職務につく者や渡航者が含まれる。人口全体へのPrEP接種の実施については，その地域の背景や狂犬病の疫学，動物の狂犬病管理の実現性に関するアセスメントに基づいて決定すべきである。PrEPの推奨スケジュールは，2カ所の皮内注2回（0，7日）または1カ所の筋注2回（0，7日）である。

［WHO, WER 93 (16): 201−220, 2018］

（抄訳担当：感染研感染症疫学センター・
上月愛瑠　島田智恵　有馬雄三　砂川富正）

ISSN 0915-5813

IASR

Vol. 39 No. 6 (No. 460) June 2018
Infectious Agents Surveillance Report
https://www.niid.go.jp/niid/en/iasr-e.html

National Institute of Infectious Diseases and
Tuberculosis and Infectious Diseases
Control Division,
Ministry of Health, Labour and Welfare

An outbreak of aseptic meningitis caused by echovirus type 30 in the jurisdiction of the Kushiro Public Health Center in Hokkaido Prefecture, August-December 2017 91
Clinical features of aseptic meningitis associated with echovirus type 9 93
Epidemiologic and virologic surveillance of aseptic meningitis cases in Kanagawa Prefecture, 2012-2017 94
Pathogens detected from aseptic meningitis case samples submitted through the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases system in Kochi Prefecture, 2013-2017 96
Pathogens detected from aseptic meningitis and encephalitis/encephalopathy patients in Kumamoto Prefecture, 2010-2017 97
Laboratory diagnosis of enteroviruses: current practices and challenges 98
Mumps meningitis and laboratory diagnosis 99
Enterovirus surveillance in select countries overseas 101
Notice from the Ministry of Health, Labour and Welfare: influenza virus strains to be included in the influenza HA vaccine in Japan, 2018/19 season 102
Trends in genotypes of RSV detected in Hiroshima Prefecture, 2011-2017 102
Outbreak of respiratory illness in a nursing home for the elderly, January 2018, Fukuoka Prefecture 103

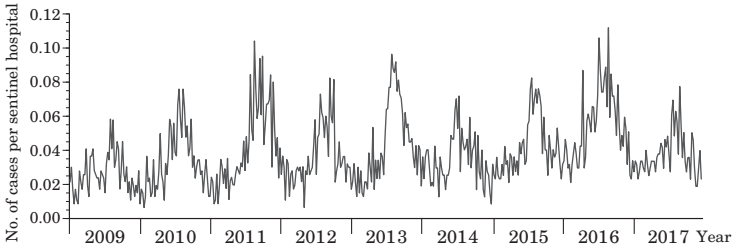
<THE TOPIC OF THIS MONTH>
Viruses detected from aseptic meningitis patients in Japan, through 2017

Aseptic meningitis is often characterized by symptoms of acute onset of fever, headache, and vomiting, but may also present with meningeal signs, such as a stiff neck and Kernig's sign. However, it is often the case that such manifestations may not be apparent in newborns or infants. The differentiation from bacterial meningitis is clinically very important, and, in addition to a negative result of bacterial detection from the cerebrospinal fluid (CSF), the following CSF tests are useful for the differentiation: first pressure, cell count and fractionation, CSF/serum glucose ratio, and protein quantity. Aseptic meningitis is caused by a variety of pathogens, and among viruses, enteroviruses are the most frequent, followed by the mumps virus. Enteroviruses detected in humans are classified into four species (*Enteroviruses A* to *D*), and *Enterovirus B* (echovirus, coxsackievirus group B) is the most frequently detected in patients with aseptic meningitis, followed by *Enterovirus A* [e.g., enterovirus A71 (EV-A71)].

According to the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) system based on the Infectious Diseases Control Law, aseptic meningitis is classified as a category V infectious disease. On a weekly basis, approximately 500 designated sentinel sites (hospitals with 300 or more beds; http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000203400.pdf) nationwide report patients that fulfill the notification criteria, based on clinical symptoms and laboratory findings (notification criteria: http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-40.html). Based on specimens (e.g., CSF, feces, pharyngeal swabs) collected at the designated sentinel sites, prefectural and municipal public health institutes (PHIs) perform isolation/detection and identification of the etiologic agent of aseptic meningitis, and report those results with positive detections. This report describes the occurrence of patients with aseptic meningitis and recent trends in pathogens associated with aseptic meningitis, particularly enteroviruses.

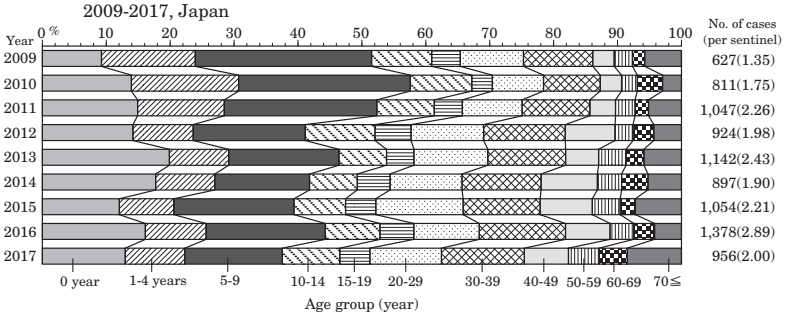
Cases notified under the NESID system: Figure 1 shows the reported number of aseptic meningitis cases per sentinel per week in 2009-2017. In Japan, an increase in aseptic meningitis is reported every year in the summer. The number of reported cases per sentinel site in each prefecture differed by region. With regards to the age distribution of aseptic meningitis patients, those under one year of age were the most frequent age group, and while those under 10 years of age made up more than half the cases in 2009-2011, the proportion of those 10 years or older increased since 2012 (Figure 2).

Figure 1. Weekly number of reported aseptic meningitis cases, 2009-2017, Japan



(National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: as of April 4, 2018)

Figure 2. Age distribution of aseptic meningitis cases reported from sentinel hospitals, 2009-2017, Japan



(National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: as of April 4, 2018)

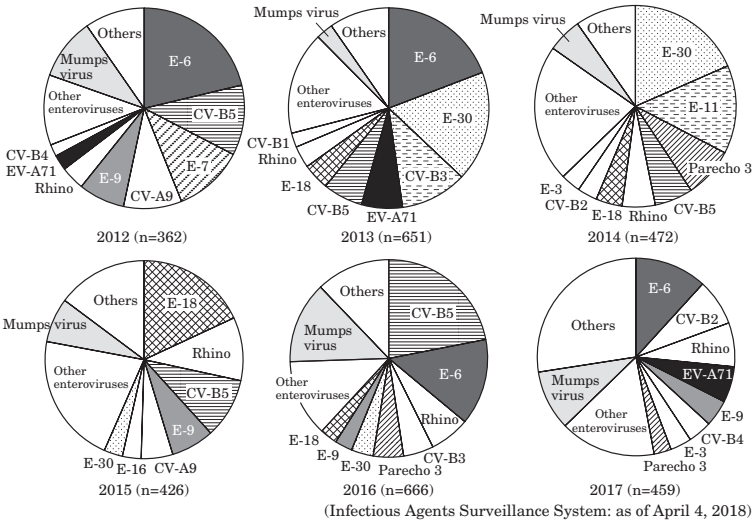
Isolation and detection of enteroviruses: During 2012-2017, enteroviruses, such as echovirus (E) and coxsackievirus group B (CV-B), accounted for 56-84% of the etiologic pathogens (Figure 3 in p. 90).

The annual number of viruses isolated or detected in patients with aseptic meningitis from 2009 to 2017 is shown in the Table in p. 91. Among these viruses, CV-B5 and E-6 were frequently reported, with a total of 344 and 548 cases detected during the 9-year period, respectively (see pp. 94, 96 & 97 of this issue). E-30 aseptic meningitis outbreaks occurred nationwide in 1983 [IASR 4(10): 1, 1983], 1989-1991 (IASR 12: 163, 1991 & 13: 155, 1992), and 1997-1998 (IASR 19: 174-175, 1998). In 2017, a regional outbreak of E-30-

(Continued on page 90′)

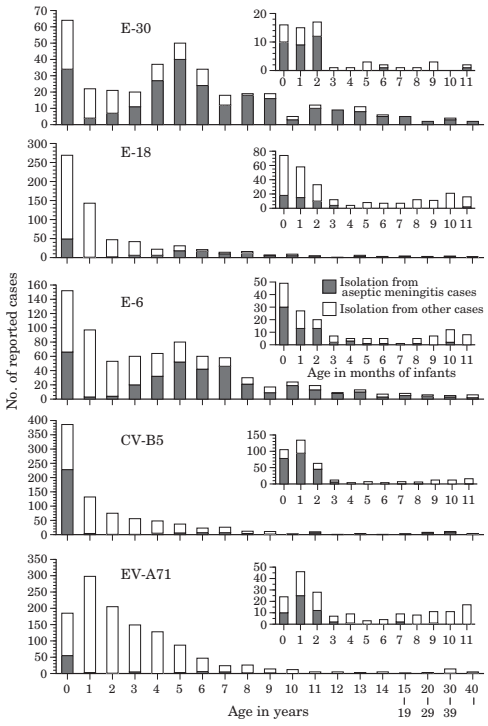
(THE TOPIC OF THIS MONTH-Continued)

Figure 3. Isolation/detection of viruses from aseptic meningitis cases, 2012-2017, Japan



(Infectious Agents Surveillance System: as of April 4, 2018)

Figure 4. Age distribution of cases with isolation/detevtion of E-30, E-18, E-6, CV-B5 or EV-A71, 2012-2017, Japan



(Infectious Agents Surveillance System: as of April 4, 2018)

associated aseptic meningitis was reported in Hokkaido, Japan (see p. 91 of this issue). High circulation of E-9 has also been reported from some localities (see p. 93 of this issue). As an etiologic agent of hand, foot, and mouth disease (HFMD), EV-A71 causes nationwide epidemics every 3-4 years, and is known to be frequently involved in central nervous system diseases; EV-A71 was detected in 43 and 30 patients with aseptic meningitis, respectively, in 2013 and 2017. If EV-A71 is detected when HFMD activity is high, attention should be paid to the occurrence of central nervous system diseases, including aseptic meningitis (see p. 94 of this issue).

In addition, the age distribution of cases with E-30, E-18, E-6, CV-B5, or EV-A71 detections reported through the Infectious Agents Surveillance System during 2012-2017, along with the proportion of these cases that were aseptic meningitis, are shown in Figure 4. These distributions differed by virus type. E-6 and E-30 were also detected in children and adults with meningitis, while CV-B5 and EV-A71 were detected mainly in young infants few months of age (IASR 38: 204-205, 2017).

Enteroviruses isolated or detected in patients diagnosed with aseptic meningitis between 2009 and 2017 were predominantly from CSF, feces, or throat swabs. For those with particularly high isolations/detections, namely E-6, E-18, E-30, and CV-B5 of the *Enterovirus B* family, CSF comprised 74-80% and feces 20-43% of the samples. In contrast, for aseptic meningitis patients from whom EV-A71 (belonging to the *Enterovirus A* family) was isolated/detected, 21% were from CSF and 63% from fecal samples. For aseptic meningitis, it is important to examine multiple samples, not only CSF, but also those such as feces and throat swabs. Recently, many enteroviruses have been identified from clinical samples by direct PCR detection and sequencing (see p. 98 of this issue).

Non-enterovirus aseptic meningitis-associated viruses (Figure 3, see pp. 94, 96, 97 & 99 of this issue): Non-enterovirus viruses detected in patients with aseptic meningitis included the mumps virus (12%), rhinovirus (5.8%), and parechovirus type 3 (2.4%) (% values indicated in parentheses for each virus represent the respective proportions among the total number of reported aseptic meningitis cases with isolations/detections of enteroviruses or the aforementioned viruses in 2009-2017, Table in p. 91). Rhinovirus was detected mostly from throat swabs, and the association with aseptic meningitis was unclear in many cases. Mumps meningitis occurred frequently during mumps epidemic years [IASR 37: 185-186, 2016; median age of 6 years (range, 2-36 years) for 35 verified mumps meningitis cases in 2016 reported from the designated sentinel sites]. Although mumps is a disease that can be prevented by vaccination, the mumps vaccination is voluntary in Japan, and the vaccination coverage is around 30% (according to the National Epidemiological Surveillance of Vaccine-preventable Diseases: https://www.niid.go.jp/niid/ja/y-graphs/7457-mumps-yosoku-vaccine2016.html), a level inadequate for the control of mumps.

Conclusions: Aseptic meningitis is an outbreak-prone disease, and identification of the pathogen is important because measures and precautions differ by pathogen. It is important to strengthen both patient-based surveillance and laboratory-based (pathogen) surveillance on a routine basis. Under the NESID system, all the designated sentinel sites are to conduct laboratory-based surveillance for aseptic meningitis. When an outbreak of meningitis is detected in a medical facility, active epidemiological investigation is warranted, based on the Infectious Diseases Control Law. It should be emphasized that CSF, feces and throat swab samples should be collected at an early stage of aseptic meningitis, in order to enable direct detection of pathogens (e.g. by PCR, isolation), and for neonates, blood samples should also be collected.

The statistics in this report are based on 1) the data concerning patients and laboratory findings obtained by the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases undertaken in compliance with the Act on the Prevention of Infectious Diseases and Medical Care for Patients with Infectious Diseases, and 2) other data covering various aspects of infectious diseases. The prefectural and municipal health centers and public health institutes (PHIs), the Department of Environmental Health and Food Safety, the Ministry of Health, Labour and Welfare, and quarantine stations, have provided the above data.

Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases
Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, JAPAN Tel (+81-3)5285-1111