

病原微生物検出情報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>



Vol.24 No.9(No.283)
2003年9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

(禁
無断転載)

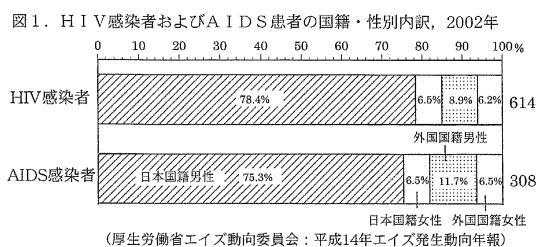
エイズ予防教育のエビデンス3、保健所における性感染症検査導入による効果：岡山市4、HIV感染症診断検査手順の見直し5、赤痢菌の検査法の問題点と解決策6～11、diffuse outbreakの可能性が疑われたO157事例：埼玉県12、S. Enteritidis集団食中毒事例：京都府13、平成15年度インフルエンザワクチン製造株13、インフルエンザワクチン製造株選定経過13、AH3型インフルエンザウイルス継代による七面鳥赤血球凝集性の変化15、今夏のウイルス分離速報：EV71、エコー、CA、アデノ16～23、HIVの早期検査と後期検査：米国24、HIV感染者の急激な増加：ロシア24、エコー9&30型関連無菌性髄膜炎の流行：米国24、A型肝炎集団発生：英国25、WNV感染者累計報告：米国25、日本のAIDS患者・HIV感染者の状況25、チフス菌・パラチフス菌のファージ型別成績2

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、厚生労働省食品安全部、検疫所、感染性腸炎研究会。

<特集> HIV/AIDS 2002年

エイズ発生動向調査は1984年に開始され、1989年～1999年3月までは「後天性免疫不全症候群の予防に関する法律（エイズ予防法）」に基づいて実施されていた。1999年4月からは、「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（全数把握4類感染症）として行われている（報告システムおよび報告基準は本月報 Vol.19・No.4、Vol.20・No.4、Vol.21・No.7、Vol.22・No.5参照）。本特集のHIV感染者*（AIDS未発症者、以下HIV）数とAIDS患者*（以下AIDS）数はエイズ動向委員会による2002（平成14）年年報（2003年2月27日確定）に基づく。なお、同年報は厚生労働省疾患対策課より公表されている（http://www.acc.go.jp/mlhw/mlhw_frame.htm）。

1. 1985～2002年までのHIV/AIDS報告数の推移：



* (1) AIDS患者報告：診断時点で既にAIDS指標疾患を発症しているHIV感染者の報告である。つまり、これらの者は、AIDSが発症するまでHIV感染に気付いていなかったと考えられる。

(2) HIV感染者報告：HIVに感染後AIDS指標疾患を発症する前の期間（平均10年）内に、何らかの機会（血液検査、病院受診、献血等）に感染が判明した者の報告である（本月報 Vol.23, No.5, 111参照）。いったんHIV感染者として報告されると、AIDS指標疾患を発症してもAIDS患者としては報告されない（この場合には「病変報告」として別途任意の報告となる）。

従って、HIV/AIDS報告数は過去約10年間の感染状況とHIV検査機会を反映し、リアルタイムの感染状況を示すものではない（HIVとAIDSの区分についてはIDWR2001年第36週号参照）。

2002年に新たに報告されたHIVは614（男536、女78）、AIDSは308（男268、女40）である。国籍・性別では日本国籍男性の占める割合はさらに高くなり、HIVの78%（2001年76%）、AIDSの75%（2001年67%）であった（図1）。HIV報告数は2000年にいたん減少したが、2001年は再び増加し過去最高となり、2002年は2001年を7人下回ったものの、過去2番目に多い。AIDS報告数も2001年、2000年をやや下回ったものの、減少傾向にあるとはいえない（図2）。

1985年～2002年12月31日までの累積報告数（凝固因子製剤による感染例を除く）はHIV 5,140、AIDS 2,556で、人口10万対ではHIV 4.050（2001年までは3.566）、AIDS 2.014（同1.770）となった。なお、本発生動向調査とは別の「血液凝固異常症全国調査」で血液凝固因子製剤によるHIV 1,431（生存中のAIDS 167および死者536を含む）が報告されている（2001年5月31

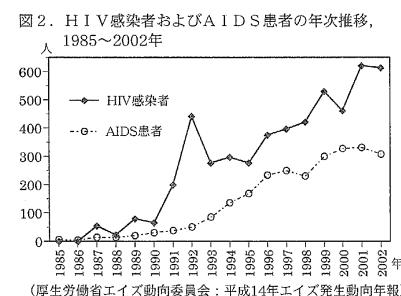
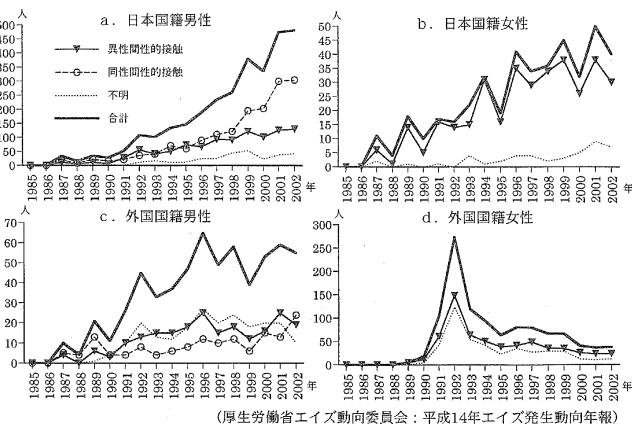


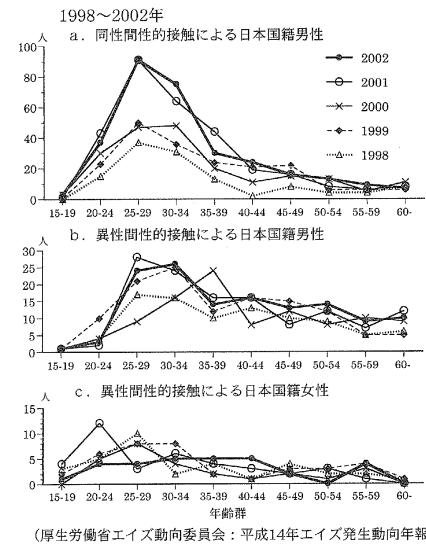
図3. HIV感染者の国籍・性・感染経路別年次推移、1985～2002年



(2ページにつづく)

(特集つづき)

図4. 日本国籍HIV感染者の感染経路別年齢分布、1998~2002年



日現在)。

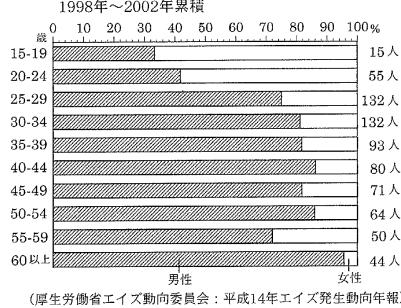
国籍・性別: 近年のHIVの増加は、主に日本国籍男性の増加によるものであるが、日本国籍女性も依然緩やかな増加傾向にある。外国国籍例では男性は横ばいないし漸増傾向にあるが、女性は漸減傾向にある(前ページ図3)。AIDSも日本国籍男性の増加が著しく、2001年はやや減少したが2002年は再び増加傾向となっている。

感染経路と年齢分布: 感染経路は、HIV, AIDSとともに性的接觸による感染が大半であり、静注薬物濫用や母子感染によるものはいずれも1%以下である。日本国籍男性のHIVでは、同性間性的接觸によるものの増加傾向が著しく(前ページ図3)、2002年は同性間性的接觸が63%、異性間性的接觸が27%であった。日本国籍男性の同性間性的接觸によるHIVの年齢のピークは、累積でみると25~29歳であるが、2000~2001年における20代での報告増が注目される(図4a)。異性間性的接觸によるHIVの年齢のピークは日本国籍男性では2001年には25~29歳、2002年には30~34歳にあり、以前に比較してこの年齢の者が増加傾向にある(図4b)。日本国籍女性も1998~2000年は25~29歳であったが2001年は20~24歳であり、若年化の傾向にあるものの、2002年はピークが明瞭ではない(図4c)。

1998~2002年に報告された異性間性的接觸による日本国籍のHIVの性別内訳を年齢別にみると、女性は全体数では少ないものの、15~19歳(67%)、20~24歳(58%)では男性を上回っており、他の年齢層とは大きく異なる(図5)。

感染地: 2002年の日本国籍例の大半が国内感染(HIV 84%, AIDS 71%)である。HIVは、日本国籍男性例における国内感染例が増加傾向にあり、日本国籍女性および外国籍男性例の国内感染が横ばいなし漸増傾向にある。AIDSでは、日本国籍男性の国内感染例が増加していたが、この3年間は横ばいで推移している。

図5. 日本国籍異性間HIV感染者の年齢別・性別内訳、1998年~2002年累積



2. 病変死亡の動向: 1999年

年3月31日までに報告された病変死亡例は596例で、内訳は日本国籍が485(男445, 女40), 外国国籍が111(男77, 女34)であった。1999年4月~2002年12月31日までに任意の病変報告により厚生労働省疾病対策課に報告された死亡例は日本国籍例124(男115, 女9), 外国国籍例27(男16, 女11), 計151例で、うち2002年中の報告は日本国籍例23(男23, 女0), 外国国籍例2(男1, 女1), 計25例であった。

3. 献血者のHIV抗体陽性率: 献血者のHIV抗体陽性率は年々増加を続け、2002年は献血件数5,784,101中82(男77, 女5), 献血10万件当たり1.418(男2.215, 女0.217)と、2001年(献血10万件当たり1.368)をさらに上回り過去最高であった(図6)。献血者に対しHIV検査の目的で献血をしないよう、さらに注意を促す必要がある。

まとめ: 2002年のHIV/AIDSはともに過去最高であった2001年をわずかに下回る報告数であったが、全体の傾向としては性的接觸によるものを中心として依然増加傾向にあると考えられ、今後の動向にはさらなる注意が必要である。特に男性での同性間性的接觸によるHIVが増加していることに注目すべきであり、今後の積極的な対策が必要である。

「HIV感染症の動向と予防介入に関する社会疫学的研究(主任研究者・木原正博)」平成14年度報告中の「HIV感染者数とAIDS患者数の近未来予測(グループ長・橋本修二)」によれば、日本国籍者においてHIV感染者はいずれの感染経路でも急激に増加し、2006年末までに未発症者が2万2千人(2001年末までの推計値の2.1倍), AIDS患者累積数が5千人(2001年末までの推計値の2.9倍)になることが予測されている。また、「HIV/AIDS医療費に関する研究(グループ長・橋本修二)」によれば、わが国における2000年のHIV/AIDSの年間医療費は112億円と試算されている。今後、患者の増加とともに医療費の増大も十分予想されるところであり、予防対策はますます重要である。

HIV/AIDS予防のためには、HIV/AIDSの理解、不特定多数の人との性的接觸を避けること、性感染症予防のためのコンドーム使用等、HIV/AIDSおよび性感染症に関する基本知識の啓発をここに若者に対して行う必要がある(本号3~4ページ参照)。

<特集関連情報>

エイズ予防教育のエビデンス——長崎プロジェクト

周知のように、1990年代に入って、性感染症(STD)と妊娠中絶が若者の間で急増を始めた。エイズ予防逆行する事態が進行している。我々が実施した種々の性行動調査によても、性交の若年化、パートナーの多数化、予防意識・コンドーム使用の低さが明らかになり、これまでのエイズ予防教育の限界が示唆された。10年以内に近隣諸国で何千万人規模のHIV流行が生じ、その影響がわが国に及ぶことを考えれば、効果あるエイズ予防教育の開発と普及は、国家的に急務の課題である。

しかし、驚くべきことに、わが国にはエイズ予防教育のエビデンスが存在しない。ライフスキル、ピアエデュケーションなど様々な予防教育が輸入されてきたが、これまでに行動変容効果が確認されたものではなく、そのため、効果の有無もわからない教育が、延々と続けられる状況が続いている。今わが国に必要なことは、エイズ予防教育についてエビデンスの蓄積を急ぐことである。

こうした認識に基づいて、我々は、若者に対する科学的予防 science-based prevention 開発に着手し、幸いその最初の取り組みで行動変容効果を確認することができた。2002年に長崎県全域を舞台として行われたこのプロジェクト（長崎プロジェクト）は発展途上であるが、わが国最初のエイズ予防教育のエビデンスとして紹介する。

長崎プロジェクトの概要：このプロジェクトは、わが国で初めて community-based social marketing (以下、CBSM) の手法を取り入れたプロジェクトである。予防教育は2001年に我々が実施した長崎県下の高校生の大規模性行動調査と、2002年までに実施した多くのフォーカスグループ(FG) インタビューのデータに

基づいて設計された。そして、同年10月に県下92の高校中44校が参加して事前調査（高校2年生対象）が、次いで10月～12月にかけて予防教育が実施され、その効果が、翌年1月に事後調査（高校2年生対象、42校）によって評価された。予防教育は、社会（地域）、集団（学校）、個人の3レベルで行われ、社会レベルでは、県との共同事業として、全保健所が、管内各所（コンビニ、カラオケ等）に大小のポスターと名刺大パンフレットを配布し、集団レベルでは、50分モデル授業を9校で、個人レベルでは、実質13校で保健室来室者に情報提供を行った。

このプロジェクトの結果、集団レベルの教育（モデル授業）によって、「寝た子を起こす」ことなく、セイファーセックスやSTD受診行動の促進効果が認められ、また社会レベルの教育によって高校生の知識向上が確認され、実効あるエイズ予防教育のエビデンスが獲得された（図）。

このプロジェクトの特徴は、CBSMの手法や行動理論および準実験的设计に基づいて、科学的に企画・実施されたことである。まず質的・量的手法による綿密な調査（形成調査）を行い、得られた若者の行動段階、ニーズ、ライフスタイルに関する情報に基づいて、メッセージ・教材・資材を開発した。その結果、大小サイズのポスターと名刺大のパンフレットが作成された。パンフレットの内容は、エイズより身近な中絶、クラミジアを中心に扱い、地元データを盛り込むことで、リスク認知の向上を図り、また、普及の遅れた知識に限定することで簡潔なものとした。ポスターはパンフレット内容の想起効果（プロンプト効果）を意図して、パンフレットと共にデザインとし、コンビニ、カラオケなど若者の利用頻度の高い場所（チャネル）に貼付したが、小サイズのポスターは広く普及し、コンビニは名刺サイズパンフレットの普及に大きく貢献した。期間中に、ポスター約4,000枚、パンフレット37,000部

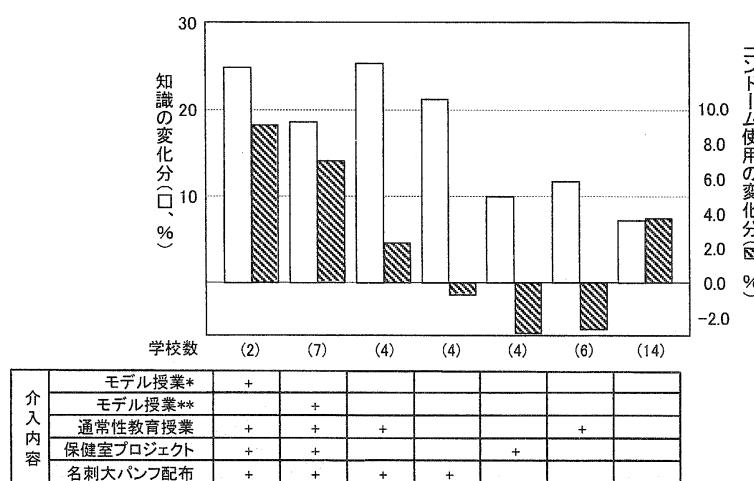


図. 予防介入3ヶ月後の知識正解者及びコンドーム多使用者の割合の変化(差)

*研究班が実施、**研究班の研修を受けた教師が実施

が配布された。モデル授業は、50分で最大限の効果を得るために、開発に半年をかけ、パワーポイントの講義、ビデオ上映、トークで構成した。講義内容はパンフレットに準じ、ビデオは既存の様々な画像情報から、中絶とクラミジアに関し最もビジュアル効果の高い部分を抽出して作成した。トーク（オプション）は、調査で判明した避妊やSTD予防に関する誤解などの解消を意図し、コンドーム実演も行った。保健室プロジェクトは、性的に活発な生徒の来室が多いことから着想され、来室者に、上述のビデオ、パンフレットなどを提供した。

これらの取り組みは、数量的に把握され（プロセス評価）、またモデル授業の効果は、量的のみならず、FGインタビューによって質的にも評価した。

今後の課題：長崎プロジェクトは、進化途上にあり、改善すべき余地を残している。ひとつは、発達段階や性別に応じた教育内容の多様化であり、現在その開発を進めている。また、予防は“行動”という社会的構築への介入であり、その構築に関わる若者、メディア、教育、保健医療、家庭、政治の問題解決に向けたパートナーシップの確立が不可欠である。しかし、それは瞬時には実現しない。ひとつの介入が社会を揺さぶり、問題（実例：避妊具配布禁止条例の発覚、根強い「寝た子」論）と可能性（実例：保健所や保護者の意欲）が顕れ、社会的構築が少し変化し、予防が新たな段階へとシフトする。予防は、このような変化の連鎖の末に完成する時間をするプロセスである。長崎プロジェクトはそのプロセスの第一歩を踏み出したに過ぎない。

京都大学大学院医学研究科社会疫学分野
木原雅子 木原正博

<特集関連情報>

保健所における性感染症検査の導入による効果——岡山市

岡山市では、2002年6月よりHIV検査の機会に併せて無料匿名の性感染症検査を行うこととした。この目的の一つは、医療機関を受診しにくい若年者等に、早期発見と性行動におけるリスクを振り返る機会を提供することである。近年増加が懸念される性器クラミジア感染症や、女性における淋菌感染症は症状も少なく、若年者では疑った際の受診も少ない¹⁾。もう一つの目的は、本検査利用者の性感染症やリスクの現状を学校、医療機関、企業に提供し、学校教育や診察の場での患者指導に活用していただくことである。検査開始の案内は、広報誌、広報ラジオ、新聞などとともにポスターを作成し、学校、医療機関に掲示を依頼した。

岡山市保健所でHIV検査に加えて行った性感染症検査の項目は、クラミジア抗原検査（女性は膣分泌物自己採取検体、男性は尿検体をPCR検査）、クラミジ

ア抗体検査（女性のみ、血清IgM、IgG）、淋菌抗原検査（女性のみ、膣分泌物自己採取検体をPCR検査）、梅毒検査である。

受検者の概要：検査を開始した2002年度のHIVおよび性感染症検査受検者406名について報告する。受検者数は図1に示したように、性感染症検査の導入後増加した。前年比で増加が大きかったのは、女性10代144%，20代205%，男性30歳以上134%であった。

HIV検査陽性の者はいなかった。性感染症検査の結果、クラミジア抗原陽性率は女性13%，男性4.7%，女性の抗体陽性率は34%，また、淋菌抗原陽性率（女性のみ）は3.6%，梅毒陽性率は0.7%であった。年代別に見ると、クラミジア抗原陽性率は年代が低いほど高く、10代18%，20代12%，30代7%であり、過去の罹患状況を反映するクラミジア抗体陽性率は10代～30代まではほぼ同じで、順に30%，33%，27%であった。淋菌抗原陽性率も、10代7%，20代2%，30代0%，40代14%（1/7、陽性者1名）と、いずれも若年者における性感染症罹患率の高さを示していた。

一方、利用者に結果説明後に検査への感想や性行動に関するアンケートを依頼しており、有効回答率は91%であった。岡山市保健所で受けた理由で多かったのは、匿名42%（男39%，女45%），職場学校から近い40%（男48%，女32%），人に勧められた25%（男13%，女37%），無料24%（男21%，女28%）などであった。人に勧められたという理由は、女性では3分の1にのぼるが、男性では少ない。岡山市保健所では、利用者に、性交渉の相手や知人友人へ、この検査の利用を勧めるように依頼しており、勧める、話してみたいとの回答が、性交渉の相手には64%，知人/友人には74%と高率であるが、女性では実際に依頼の効果があったと思われる。

このアンケート結果から、受検者の性行動でのリスクを検討した。過去1年間の性交渉の相手数が2人以上は、男で52%，女で46%とおよそ半数、10人以上が男5%，女6%であった。淋菌あるいはクラミジア抗原陽性の女性22名では、過去1年の性交渉の相手数が2人以上が73%，10人以上が9%と、性行動が活発であった。また、受検者におけるコンドームの使用状況

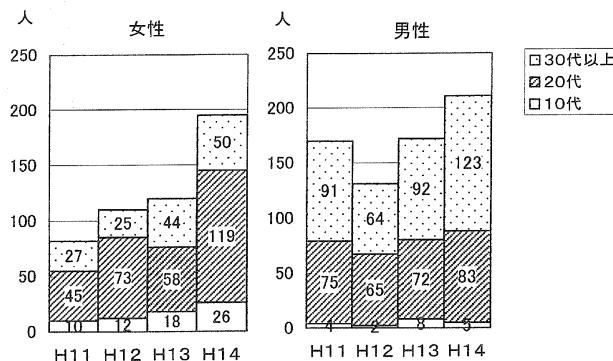


図1. HIV、性感染症受検者数の推移-岡山市

は、全く使用しないが20%，時々使用が48%で、いつも使用しているとの回答は26%に留まった。さらに、過去の性感染症の罹患経験を聞くと、28%があると答え、女性で35%と3分の1以上に、男性で21%と約5分の1に罹患経験があった。そして、これら罹患経験のある者におけるコンドームの使用状況は、全く使用しないが29%と、むしろ受検者全体より高率であり、性感染症の罹患経験はリスク低減に充分活かされていないと推定される。岡山市保健所では、男性用および女性用コンドームの使用指導や、試用を目的とした配布を行うとともに、検査結果説明後のカウンセリングの充実を行っている。

結論：HIV 検査に併せた性感染症検査の導入により、若年女性の利用者が増え、感染リスクの高い利用者も増加したと考えられる。また、これら利用者の性感染症早期発見と、今後の感染予防に役立つ技術/知識を得る機会を提供できた。さらに、以上のような検査結果や性行動リスクのまとめを、A4版4ページのパンフレットとして作成し、学校、医療機関、企業等に配付しており、この活用によってそれぞれの場での性感染症、HIV 感染症の予防活動の進展を勧めている。

文 獻

1) 中瀬克己ら、性感染症発生動向調査の評価、「効果的な感染症発生動向調査のための国および県の発生動向調査の方法論の開発に関する研究」平成14年度報告書

岡山市保健所 中瀬克己

<特集関連情報>

HIV 感染症診断の検査手順の見直し

従来、HIV 感染症の診断には、スクリーニング検査で陽性検体については必ずウエスタンプロット (WB) 法、またはごくまれではあるが IFA 法で確認検査を実施して、陽性の場合は感染、陰性の場合は非感染と診断している。なお、判定保留および陰性でもハイリスクグループの最終診断は1~3ヵ月後に再検査をする。しかし、HIV 感染症は検査法のみならず、治療に関しても日進月歩であり、検査結果が出るまでの日数や感度など、問題の指摘があり、従来の検査手順では現状にそぐわくなつたため、新しい検査手順が必要になった。

1. 高感度なスクリーニング法が採用されるようになり、WB の感度が追いつかない。すなわち、スクリーニング検査で陽性の感染初期検体が WB 法で陰性または判定保留になる。

2. P24抗原と抗体を同時に検出するスクリーニング検査法（一般的に第4世代キットと呼ぶ）が市販された。

3. HIV-1 RNA 定量法であるアンプリコア HIV-

表1. Sensitivity of HIV Test among Different Methods

- PRB936 -

Panel ID	Days since 1st Bleed	EIA(3rd Gen)	EIA(4th Gen)	NAT	WB
PRB936	1 0	-	-	-	-
	2 5	-	-	+	-
	3 7	-	-	+	-
	4 12	-	+	+	-
	5 14	-	+	+	-
	6 19	+	+	+	-
	7 21	+	+	+	+

表2. Sensitivity of HIV Test among Different Methods

- PRB937 -

Panel ID	Days Since 1st Bleed	ICA	PA	EIA (3rd Gen)	EIA (4th Gen)	NAT	WB
PRB937	1 0	-	-	-	-	-	-
	2 7	-	-	-	-	+	-
	3 9	-	-	-	-	+	-
	4 14	-	-	-	+	+	-
	5 16	-	-	-	+	+	-
	6 21	-	+	+	+	+	-

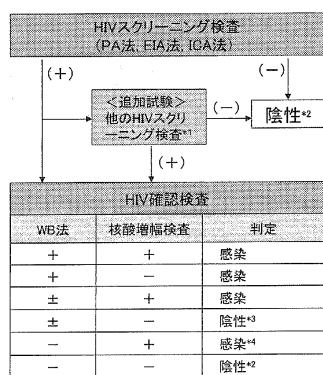
1 モニターv1.5が、2002（平成14）年度からは感染診断（確認検査）にも保険適応できるようになった（保険点数620点）。これまでアンプリコア HIV-1 モニターv1.5は HIV-1 RNA 定量法として HIV 感染者の経過観察のみの適応であった。

4. HIV-1 RNA 定量法は WB 法と併せて実施した場合には、それぞれを保険に算定することができる（WB 法の保険点数370点）。

スクリーニング検査法と確認検査法の感度の比較：同一感染者を最初に採血した日を 0 日とし、数日間隔で採血したシリーズ血清数本からなる市販のセロコンバーションパネルを用いた感度比較によれば、PRB936 は EIA など HIV 抗体検査キット（第3世代キット）では19日目から、第4世代キットでは12日目から抗体が検出でき、両方法には1週間の検出日の違いが見られる（表1）。核酸增幅法（NAT）は第4世代キットよりも1週間早く、最初の採血日から5日目に検出している。一方、WB は第3世代よりも数日遅れて21日目から陽性となる。PRB937 でも同様な結果であり（表2）、NAT は第4世代キットよりも1週間早く、第4世代キットは ELISA（EIA）や凝集法（PA）よりも1週間早く検出する。簡易法のイムノクロマト（ICA）は EIA や PA よりもやや感度が低く、21日目の検体は検出しない。WB は21日目の検体も陰性である。したがって、高感度なスクリーニング法を採用しても確認検査の WB で陰性になり、感染者を見逃してしまうことになる。

「病原体検査マニュアル」推奨 HIV 検査手順：核酸增幅定量法が保険適応されたことにより、現行の検査

図1. HIVスクリーニング検査実施フローチャート

¹⁾ 1回目のスクリーニング検査と同等以上の感度の検査²⁾ 感染のリスクが高く感染初期の可能性が考えられる場合は数週間後に採血し、再検査を実施する。³⁾ 感染の疑いがあるので、数週間後に採血し、再検査を実施する。⁴⁾ 感染初期の可能性が高いので、数週間後に採血し、再検査を実施する。

手順の一部を改良し、エイズ専門病院だけでなく、一般の病院や診療所でも通用する検査手順を作成した(図1)。第4世代でスクリーニングすることを考慮し、NATとWBで確認する方法である。国立感染症研究所、都道府県の衛生研究所などで使用している「病原体検査マニュアル」(近日中に改訂版の出版予定)に掲載した。作成に当たっては従来の手順を大幅に変更せず、検査手順がシンプルでエイズの専門家以外の医療関係者にも理解しやすいことを心がけた。スクリーニング検査は感度が十分高い検査法を使うことは当然である。スクリーニングで拾えなければ確認検査は行われないので、当然NATは実施されることになる。

確認検査法としてのWBと核酸増幅法にはそれぞれ長短がある。WBは特異性は高いが感度が低い。核酸増幅法は高感度であるがコンタミネーション、プライマーのミスマッチやウイルス量が少ない場合などで偽陽性や偽陰性が起きる。核酸増幅法を用いればWBは不必要ではないとの意見もある。しかし、WBは各ウイルス遺伝子構成成分の抗体に対して反応するので、多数の情報によって判断できる利点がある。両者の特徴を理解して採用することが肝心である。従来、WBによる確認検体を少なくする目的でスクリーニング試薬を2つ以上準備して、最初のスクリーニングで陽性の場合、他のスクリーニング試薬で検査する方法が行われてきたが、この場合2つの試薬が同等の感度でなければならない。第4世代などの高感度なキットで同等の感度の試薬を2つ以上準備できない場合は、確認法として核酸増幅法が保険適応されたので、省くのもやむを得ない。なお、アンプリコアHIV-1モニターv1.5には標準法と高感度法があるが、かつて標準法は感度が低いために確認検査として保険が認められなかった理由を考えると、高感度法の方が安全であろう。しかし、抗体出現前の感染初期はウイルス量が多いので、標準法でも良いとの考えもある。

なお、核酸増幅法にはコンタミネーションや劣化を

避けるためにスクリーニングで陽性になった検体を使わずに、再採血するか、あらかじめ小分けにして冷蔵または冷凍保存した検体が望ましい。

国立感染症研究所
エイズ研究センター 吉原なみ子

<ミニ特集>

赤痢菌の検査法の問題点と解決策

本年7月11日に開催された衛生微生物技術協議会第24回研究会で、シンポジウム「輸入感染症：赤痢菌の検査法について」が行われた。そこでは、赤痢菌と誤同定される事例が最近目立つようになってきている現状が報告された。

病院検査室や民間検査所で簡易同定キットや自動同定機器を用いて赤痢菌と判定された菌を衛生研究所で再検査すると、性状等が赤痢菌に類似している大腸菌やモルガネラであったというものである。赤痢菌と判定されると2類感染症としての対応が取られるため、誤判定された場合の社会的および人権的な問題は大きい。

そこで、編集委員会として、問題となった具体的事例の紹介と、その問題点解決のための対応策を専門家にまとめてもらい、それらのミニ特集を当誌面で組むことにした。現場における対応の参考にしていただきたい。

同定キットや自動器機使用時には、取り扱い方やその結果の解釈には十分に注意を払う必要があるが、行政上重要な疾患の判定は、地方衛生研究所あるいは国立感染症研究所に相談することが望ましい。病原体のサーベイランスという観点からも、地方衛生研究所等における病原体の収集および解析は重要である。

IASR 編集委員会

<ミニ特集>

赤痢菌の同定に関する問題事例——沖縄県

2003(平成15)年2月4日、医療機関より1名の細菌性赤痢患者(103歳・女性)の届け出があった。患者は1月中旬頃に下痢症状が2日間続き、1月28日に医療機関を受診後、老健施設内の個室にて療養。1月30日にA検査センターに検便を依頼し、その後2月4日 *Shigella sonnei* が検出されたことから、同日、感染症法に基づき担当医から所轄保健所へ2類感染症(細菌性赤痢)の届け出がなされた。

届け出のあった2月4日に、所轄保健所は感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、老健施設内有症者の5名を含む、入所者、職員30名の検便調査と、施設内の消毒指導、喫食状況調査および食品・環境調査を実施した。

当所での検査：2月5日，A検査センターから提出された菌株を入手し，当所にて赤痢菌の確認試験を開始した。

2月6日，SSおよびDHL寒天培地で再分離したコロニーは，無色～桃色，1～2mmの赤痢様集落であり，生化学的性状試験としてTSI，LIM，オキシダーゼ，同定キットアピ20Eを実施した。

2月7日，TSI/LIM，オキシダーゼの反応は*S. sonnei*の性状を示し，赤痢菌診断用免疫血清では生菌でD多価および*S. sonnei*II相に特異的凝集が認められた。しかしながら，アピ20Eの結果ではコード1004512で同定不能であり，オルニチンおよびソルビトール性状が一致しなかった（表）。そのため，赤痢菌およびEIEC保有遺伝子の`invE`, `ipaH`の試験を実施したが，両遺伝子は検出されなかった。その後，所轄保健所検査室へその旨を連絡し，保健所に保管されている同一菌株による再試験の依頼と，琉球大学へ他の赤痢菌のPCR（KL-1/KL-2, `ipaIII/ipaIV`, `ial1/ial2`）の検査を依頼した。また，当所では同定のため，CLIG培地とアピ50CHEにて追加試験を実施した。

2月8日，アピ50CHEの結果は*Escherichia coli*2（ID 98.9%, T=0.88）であり，保健所検査室で実施したバイオテスト1号は赤痢菌と一致せず，琉球大学の赤痢菌関連遺伝子の検査は「すべて陰性」であったため，週明けの2月10日，所轄保健所に対し「赤痢菌陰性」の報告をした。

A検査センターでの対応：1月30日の検査では，自動同定機器（ディド社；ウォーカウェイ）による結果は

表 生化学的検査結果（アピ20Eその他）一覧				
検査項目	患者分離株	<i>S. sonnei</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. coli</i> (inactive)
TSI(斜/高,H ₂ S,Gas)	-/+--	-/+--	+/-+-	±/+--
LIM(Lys,Ind,Mot)	- - -	- - -	+++	-+-
アピ20E ONPG	+	+ 96	± 26	+ 90
ADH	-	- 0	- 1	- 1
LDH	-	- 0	± 45	± 74
ODC	-	+ 93	- 20	± 70
CIT	-	- 0	- 0	- 0
H ₂ S	-	- 0	- 1	- 1
URE	-	- 0	- 1	- 3
TDA	-	- 0	- 0	- 0
IND	-	- 0	± 50	+ 89
VP	-	- 0	- 0	- 0
GEL	-	- 0	- 0	- 0
GLU	+	+ 99	+ 99	+ 99
MAN	+	+ 99	+ 90	± 98
INO	-	- 0	- 1	- 1
SOR	+	- 1	+ 42	+ 91
RHA	+	+ 75	± 30	+ 82
SAC	-	- 1	- 3	± 36
MEL	-	- 1	- 3	+ 75
AMI	-	- 0	- 1	- 3
ARA	+	+ 99	± 70	+ 99
OXI	-	- 0	- 0	- 0
GLU Gas	-	- 2	+ 95	- 5
LAC	-	- 2	+ 95	- 2
XYL	+	- 2	+ 95	+ 70
赤痢菌PCR法				
<code>invE</code> (TaKaRa)	-	+	-0	-0
<code>ipaH</code> ②)	-	+	-0	-0
230-kbp plasmid ③)	-	+	-0	-0
<code>ial</code> (<code>ial1/ial2</code>)	-	+	-0	-0

数字は陽性となる確率%（アピ20E取扱説明書より抜粋）、□：*S. sonnei*の反応と異なる

1) 組織侵入性大腸菌(EIEC)を除く。2) Primers: TaKaRa, `ipaIII/ipaIV`, `ipaV/ipaIV`

3) Primers: KL1/KL2

*S. sonnei*で、腸内細菌用手法での生化学的性状(TSI, LIM, オキシダーゼ, IPA, SC, VP, LDH, ORN)では赤痢様反応を示した。また、同定キット(BD社; BBLクリスタルE/NF)の結果では、*S. sonnei*, *E. coli*いずれかの可能性が示され、免疫血清学的検査で*S. sonnei*のII相に特異的な凝集が認められたことから、総合判定により*S. sonnei*と同定した。

その後、県からの「赤痢陰性」報告で、2月10日に再検査が行われ、上記同様の試験では再度*S. sonnei*に一致したが、腸内細菌同定キット(日水IDテスト, EB-20: コード0001033)で*E. coli*inactiveであった。これらの結果より、「赤痢菌陰性」の最終報告を医療機関に対して結果回答した。その結果を受け、2月12日、医療機関担当医師は、2類感染症「細菌性赤痢」の報告を取り下げた。

今後の対応：このような状況を踏まえ、2月24日にA検査センター、所轄保健所、本府健康増進課および当所の参加による調整会議により、再発防止のため以下の手順による取り決めがなされた。疑似症を含む2類感染症等の起因菌が疑われる場合は、依頼元（担当医）への第1報を入れると同時に、速やかな再検査、さらに高度な検査を他検査機関へ依頼して最終判定を行うこととする。例外として、公衆衛生上緊急を要する場合、検査センターは、依頼元担当医に情報を提供し、その医師は感染症発生動向調査実施要領の別記様式2を所轄保健所に提出して、当所にて精査を行うことになった。

分類学的に赤痢菌は大腸菌と非常に近縁であり、同定の際、組織侵入性大腸菌(EIEC)との鑑別を含め難しい点も多く、経済的、時間的理由、あるいは使用している同定キットの特性等により同定を誤ることもある。*S. sonnei*と大腸菌の鑑別には、インドール、運動性、グルコース・ガス、オルニチン、ソルビトール、キシロース、酢酸塩、粘液酸の生化学的性状に加え、`ipaH`遺伝子の検出が重要であり、今回の事例に関しては、同定キットを用いた場合でも、コード検索に加え、キットを構成する個々の生化学的性状も参照し、判断すること、大腸菌との鑑別試験を個別に実施すること、血清凝集試験の結果は生化学的性状が赤痢菌に一致した場合のみ採用すること、が重要であった。

今後の再発防止のため「赤痢菌に関する迅速・簡便な同定のための最小定義」の統一も必要と思われる。

沖縄県衛生環境研究所

久高 潤 中村正治 系数清正

平良勝也 安里龍二

沖縄県中部保健所 安富祖忠章

沖縄県北部保健所 比嘉政昭

沖縄県中央保健所 上原真理子

琉球大学病原因子解析学

トーマ・クラウディア

<ミニ特集>

医療機関で大腸菌が赤痢菌 (*Shigella boydii*) と誤同定された事例——滋賀県

2003年5月、滋賀県内の某医療機関の医師から、「女児患者から赤痢菌 (*S. boydii*) が分離されたことから赤痢患者と診断した」旨、所管保健所に届けられた。当所では、感染症法に基づく2・3類感染症が発生した場合、患者との接触者にかかる疫学解析や細菌学的疫学解析に供試するため、従来から医療機関で協力が得られる範囲で分離株の収集に努めてきているところであり、今回も濃厚接触者である家族の検便とともに分離株が搬入された。

当所では、搬入後直ちに提供株の確認検査を進めたところ、一次鑑別 (TSI, LIM等)において赤痢菌の一般的性状とは異なる、「TSIではガス産生、LIMでは運動性陽性」という所見(ただし、*S. flexneri*は5%の頻度でガス産生株あり、坂崎利一、田村和満著：*Shigella*属、腸内細菌、下巻、p.232、1992)が認められたので、速やかにその旨を所管保健所に連絡した。さらに同定をすすめた結果、当該菌株は生化学的性状から大腸菌と同定された。一方、当該菌株は病原大腸菌診断用抗血清には凝集を示さなかつたが、赤痢菌診断用抗血清に対する凝集反応では *S. boydii* 2型に凝集を示した。赤痢菌は、抗原的に大腸菌、とくに組織侵入性大腸菌と密接な類縁関係にあることが知られているので、このことが起りえると考えられたが、念のためPCR法によって組織侵入性遺伝子(*invE*)についても調べたが、陰性であった。これらの結果から、通常の大腸菌と同定した。当所で確認した性状を表1に示す。

今回の誤同定を招いた原因としては、当該医療機関ではTSI, LIM等の一次鑑別をしていなかったことから、ガス産生性および運動性の性状が確認されていなかつたこと、さらに分離株は赤痢菌の診断血清に凝集を示したことから、市販同定キットの可能性の高い菌種名が赤痢菌であったという所見に依存し過ぎてしまつたこと、などが推測された。一次鑑別(運動性、ガス産生の確認)や、可能性のある菌種の追加鑑別を行つていれば誤同定は避けられたことと考えられる。

表1. 医療機関から提供された菌株の性状

項目	赤痢菌				大腸菌	提供株
	<i> dysenteriae</i>	<i> flexneri</i>	<i> boydii</i>	<i> sonnei</i>		
TSI	-/+	-/+	-/+	-/+	d/+	-/+
GAS	-	d	-	-	d	+
H ₂ S	-	-	-	-	-	-
LYS	-	-	-	-	+	-
LIM	IND	d	d	-	+	-
	MOT	-	-	-	d	+w
VP	-	-	-	-	-	-
シモンズケン酸塩	-	-	-	-	-	-
オキシトーネ	-	-	-	-	-	-
酢酸ナトリウム	-	-(5%+)	-	-	+	+
ガス産生(ブドウ糖)	-	-(5%+)	-	-	+	+
ブドウ糖	+	+	+	+	+	+
糖分解性	乳糖	-	-	-	+	-
	白糖	-	-	-	d	-
	キシロース	d	-	-	+	+
赤痢菌診断用抗血清	群別因子血清				C多価	<i> boydii</i> 2型
API20E CODE No.					0004502	大腸菌
同定菌種						

現在、種々の簡易同定キットが市販され、そのことが菌種同定の迅速化につながっており、我々も使用してきている。しかし、一方で、簡易同定キットの結果に頼り切ってしまう恐れは今後も起こりえないことでもない。今回の事例は、我々関係者に対して、再度基本を大事にすることを教えられた教訓であると考えている。

滋賀県立衛生環境センター

林 賢一 石川和彦 辻 元宏

<ミニ特集>

下痢症患者から分離された *Morganella morganii* が赤痢菌と誤同定された事例——千葉県

赤痢は「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」で2類感染症として規定されており、発生時には、関係法令に基づき蔓延防止措置がとられ、感染者は就業制限がかけられるなど、社会的影響の大きい感染症である。今回、下痢症患者から分離された *Morganella morganii* が赤痢菌と誤同定された事例に遭遇したので概要を報告する。

患者は、腹痛を発症した翌日から水溶性下痢(10回程度)および血便(1回)、38°C台の発熱を呈したため医療機関を受診した。医療機関での細菌検査において、SS培地上に無色透明のコロニーが出現し、グラム染色、SIM培地での運動性試験、簡易同定キットにより同定が行われた。当該菌はグラム陰性桿菌で、簡易同定キットで *Shigella* spp. と同定されたが、SIM培地で若干の運動性が認められ、赤痢菌と同定するには疑わしい結果であったにもかかわらず、赤痢菌型別用免疫血清のB多価に凝集が認められたため、*S. flexneri*と決定され、管轄保健所に対し発生届けがなされた。発生届けを受けた保健所では、菌株を当所に搬入するとともに、蔓延防止措置を開始した。

搬入された菌株を当所で検査したところ、LIM培地の一液培養で穿刺線周辺部に発育が認められ、運動性陽性が確認されたため、至急保健所に連絡を取るとともに、アピ20EおよびBBLクリスタルを使用して同定したところ、いずれでも *Morganella morganii* (アピでの%id=99.6, BBLクリスタルでのconfidence value=0.99303) と同定された。また、赤痢菌型別用免疫血清のB多価には凝集が認められたが、型血清のI~VIには凝集が認められず、群血清の(3)4群に凝集が認められた。当所での簡易同定キットによる性状と医療機関での性状を比較してみると、オルニチン・デカルボシキラーゼ、ウレアーゼ、フェニルアラニン・デアミナーゼといった *M. morganii* を同定するために重要な性状が医療機関の結果ではすべて陰性となっていた。医療機関で使用している同定キットは、キットに付属の接種針で被検菌を接種するようになっており、

被検菌が均一に接種できていなかったことが疑われた。

今回の誤同定は、細菌の同定は生化学性状により行う、という大原則を、医療機関の検査担当が熟知しておらずに血清反応の結果で同定してしまったことが要因であった。また、同定キットの取り扱いの習熟不足も誘因としてあげられる。感染症の原因菌の誤同定は、今回の事例のように本来不要であるはずの保健所による蔓延防止措置が行われるため、人権侵害に当たる恐れもある。確実な同定の実施、および疑わしい場合は疑似患者として扱う、といった慎重な対応が今後望まれる。また、*M. morganii* は重篤な下痢症患者から検出された報告が他にもあり (Senior BW ら, J. Med. Microbiol. 21: 139-144), 今後同様の事例が起らないように、検査関係者に注意喚起が必要だと思われる。

千葉県衛生研究所 横山栄二 内村真佐子

<ミニ特集>

赤痢菌同定の問題点——東京都

最近経験した赤痢菌の誤同定あるいは同定困難事例について紹介し、問題点について考えてみたい。

事例 1 : 都内の某病院細菌検査室は、ある患者（海外渡航歴なし）から検出した菌を *Shigella flexneri* (B 群赤痢菌) と同定し、担当医師は患者にその旨を伝えていた。その後、菌株が当研究センター腸内細菌研究室に搬入された。その菌株の性状は、TSI 寒天で微量のガス産生性を示し、LIM 培地でわずかに運動性も認められた。その他の鑑別性状においても、酢酸塩 (+), 粘液酸 (+) であり、B 群診断用血清に対する凝集も非常に弱いものであった。また、PCR 法でも, *invE*, *ipaH* ともに陰性で、大腸菌であった。

本菌を赤痢菌と同定した検査室に問い合わせてみると、赤痢菌の同定は以下の手順で行われていた。赤痢菌が疑われる集落から、直接、自動同定機器および簡易キット 2 種類で調べた結果、いずれの場合でも赤痢菌と同定された。凝集反応を行うと、B 多価血清、型血清 IV, 群血清 (3) 4 のいずれにも凝集したため、B 群赤痢菌と同定した。赤痢菌の検出は初めてだったので、多くのキットを使い、かなり慎重に行ったとのことであった。しかし、菌の同定に、TSI 寒天や LIM 培地は使わず、分離寒天平板上の集落から直接同定機器やキットで調べていた。

菌の同定に際し、最初に TSI 寒天や LIM 培地を使つていれば、ガス産生性や運動性も非常に弱いが陽性という典型的な赤痢菌の性状とはやや異なることに気がついたのではないかと思われた。しかし、私共で簡易キット 4 種類を使って調べてみた結果、3 種類のキットで赤痢菌と同定された。簡易キットの多くは、その同定に運動性の項目がないため、誤同定の一因となっ

ていると考えられた。

事例 2 : 都内の某病院細菌検査室は、ある患者から検出した菌を *S. boydii* (C 群赤痢菌) と同定したため、担当医から保健所に届け出がなされた。患者は海外渡航歴がないため、喫食調査等が開始されるとともに、分離菌株が当センターに搬入された。当所で検査した結果、本菌株も事例 1 と同様に、TSI 寒天で微量のガス産生性を示し、LIM 培地でわずかに運動性も認められた。また、酢酸塩 (+), 粘液酸 (+), B 多価血清 (++) および C 多価血清 (++) と複数の多価血清に凝集を示した。PCR 法でも *invE*, *ipaH* とともに陰性で、大腸菌であった。私共で簡易キット 4 種類を使って調べてみた結果、やはり 3 種類のキットで赤痢菌と同定された。

これら 2 事例の分離株は、いずれも以下の点で共通していた。

- 1) ガス産生性が非常に弱いが陽性、運動性もわずかであるが認められた。
- 2) 自動同定機器や簡易同定キットで、赤痢菌と同定された。
- 3) 赤痢菌診断用血清による凝集反応では、非常に弱い陽性反応を示す、あるいは複数の多価血清に凝集するものであった。

事例 3 : 都内の某病院細菌検査室は、ソンネ赤痢菌と同定された菌株が搬入された。当所で調べてみると、*Morganella morganii* であった。本菌株は、TSI 寒天の斜面部が *Morganella* に見られる程黒変しておらず、TSI 寒天および LIM 培地で通常の赤痢菌とほぼ同様の性状を示した。また、ソンネ赤痢菌を同定する D 多価血清にも明瞭な凝集が認められたために、ソンネ赤痢菌と同定されていた。しかし、D 多価血清と凝集反応を行っただけで、I 相および II 相の抗血清での確認はされていなかった。当所で試験した結果、それら抗血清のいずれにも凝集しないことが確認された。

問題点

1) 菌の同定に際し、TSI 寒天や LIM 培地を使わず、分離寒天平板上の集落から直接、自動同定機器や簡易同定キットで調べていた。これらの自動キットは、同定率 100% ではなく、特に異常性状株の場合には同定できないこともある。また、多くのキットが赤痢菌を同定するのに重要なガス産生性や運動性試験を確認性状の対象としているので、同定できないこともあるのではないかと推定された。

- 2) 菌同定の基本操作を行わず、自動同定機器や簡易同定キットに依存する傾向が強まっている。
- 3) 自動同定機器や簡易同定キットに依存した検査の場合、分離寒天平板上に出現した集落のうち、1 集落のみを検査し、複数の集落を検査することはほとんどない。
- 4) 赤痢菌同定の経験がなく、本物の赤痢菌を見た

ことがない。また、病院の検査室で、細菌検査の外部精度管理を受けているところはそれほど多くはないようである。

- 5) 診断用血清の特徴を把握していない。
- 6) 十分な経験と検証なしに、自己流にアレンジして同定を行っている。

7) これらの背景には、細菌検査は保険点数が低く、多くの検査を実施すればそれだけ赤字になるという、検査室の悩みもあった。

東京都では、海外渡航歴のない人から赤痢菌が検出された場合には、食品媒介感染症を疑い、その分離菌株が当研究センターに搬入されるとともに、喫食調査が行われ、関連食品の検査が行われるようになった。そのために、このような一面が明らかになったという事情もあるが、これらの問題点は至急解決しなければならない課題である。

東京都健康安全研究センター・微生物部
甲斐明美 河村真保 横山敬子 高橋正樹

<ミニ特集>

赤痢菌同定における留意点

最近、海外渡航歴のない赤痢様患者の原因菌としてA群赤痢菌 (*Shigella dysenteriae*) およびC群赤痢菌 (*S. boydii*) という報告が散見される。A群およびC群赤痢菌は、これまでそのほとんどが輸入例から分離され、国内例からの分離は稀である。両群赤痢菌は大腸菌と血清学的に関係のあるものが多く、その確実な同定には大腸菌との区別が重要かつ必須である。ここでは赤痢菌同定の際の留意点について紹介し、実務者の参考に供したい。

赤痢菌と大腸菌は、DNA間の相同性から見ると同一グループに分類される。実際、両者の中間的性状を持つ菌株が認められるだけでなく、O抗原的にも密接な関連がある。赤痢菌の同定の際はこの点に十分留意

表1 赤痢菌と組織侵入性大腸菌の
O抗原関係

赤痢菌 血清型	EIEC血清型	
	同一	交叉
A群2	0112ac	
A群3	0124	0136, 0164
A群7		0121
A群10		0144
A群11		029
A群12	0152	
C群1		0112ac, 0136
C群3		0167
C群8	0143	
C群13		028ac
C群15		0112ac
C群17		0124

することが必要である。

TSI寒天培地とLIM培地等を用いた一次鑑別試験、ならびに各種生化学的性状試験において、赤痢菌を疑う性状を示し、赤痢菌診断用血清に凝集した菌株の場合でも、菌群・血清型によっては赤痢菌なのか、それとも赤痢菌類似の大腸菌なのかの鑑別が必須となる。赤痢菌様の大腸菌の多くは、組織侵入性大腸菌 (EIEC) と呼ばれる赤痢菌と同様の病原性を有する菌群に属する。これらの中にはO抗原が赤痢菌と同一、あるいは一部共通のものがあり、抗血清による血清学的検査(スライド凝集反応試験)では、赤痢菌とEIECの区別ができない場合が多い。これまで知られている赤痢菌とEIECの抗原関係を表1にまとめた。A群赤痢菌で6種血清型、C群赤痢菌で6種血清型がEIEC血清型と同一、あるいは交叉の抗原関係にある。

このような場合、表2に示した生化学的性状のうち、それぞれの菌群・血清型における有用な性状により赤痢菌か否かを判定する。

表3に一部の血清型における確定鑑別性状の要点を示したが、若干の生化学的性状試験を追加することで正確に赤痢菌の同定ができる。

なお、表1に示した以外のA群あるいはC群の各血清型抗血清に凝集した菌株の場合も、表2に示した生化学的性状のうち有用なものを追加試験し、性状を

表3 抗原関係のある赤痢菌と
組織侵入性大腸菌の鑑別性状

菌種・血清型	鑑別性状		
	マンニトール	インドール	ガス
A群2	-	+	-
EIEC 0112ac	+	+	d
A群3	-	-	-
EIEC 0124	+	+	d
EIEC 0136	+	+	d
EIEC 0164	+	+	d
A群12	-	-	-
EIEC 0152	+	+	d
C群8	+	-	-
EIEC 0143	+	+	d

表2 赤痢菌と組織侵入性大腸菌の鑑別に有用な生化学的性状

性状	A群	B群	C群	D群	EIEC
グルコース：ガス	- (0%) ¹⁾	- ²⁾ ³⁾	- ²⁾ ⁴⁾	- (0%)	d (43%)
インドール	d ³⁾	d ⁴⁾	d ⁵⁾	- (0%)	+ (100%)
酢酸塩	- (0%)	- ⁶⁾	- (0%)	- (0%)	d (44%)
粘液酸	- (0%)	- (0%)	- (0%)	d ⁷⁾	d (19%)
オルニチン	- (0%)	- (0%)	- ⁸⁾	+	d (37%)
マンニトール	- (0%)	+	+	+	+ (94%)

¹⁾ 血清型6に陽性がある。²⁾ 血清型13, 14に陽性がある。

³⁾ 血清型2, 7, 8は陽性、他は陰性。⁴⁾ 血清型6は陰性、他は両者ある。

⁵⁾ 血清型5, 7, 9, 11, 13, 15, 16, 17は陽性、他は陰性。

⁶⁾ 血清型4aに陽性がある。⁷⁾ 血清型13は陽性。

⁸⁾ 近年陰性株が増えている。血清型4aで陰性株が多い。

確認して当該血清型と判定すべきである。

典型的な A 群、B 群あるいは C 群赤痢菌の性状を有するが、市販の診断用血清に非凝集の菌株は、新血清型赤痢菌（本月報 Vol. 24, No. 1, 7-8 参照）の可能性がある。著者は、これまで報告された新血清型赤痢菌の抗血清を準備しているので、このような場合は連絡いただきたい。

東京都健康安全研究センター
多摩支所 松下 秀

<ミニ特集>

赤痢菌同定検査の問題点と現場からの提案

細菌性赤痢は赤痢菌属によって起因する感染症であり、感染症法では 2 類感染症に指定されている。二次感染を起こしやすく、ときに集団感染や水系感染を起こすことから、その検査には迅速性と正確性が要求され、その診断には糞便中からの病原体診断（赤痢菌の培養同定）が必須である。神奈川県では、県衛生部の委託を受けて県臨床衛生検査技師会が毎年検査技師を対象に 2, 3 類感染症について菌検索技術講習会を実施している。

しかし最近、医療機関から「赤痢菌」として届け出される一部の株が *Escherichia coli* であるという指摘を受けたため、その原因について考察を行い、問題点解決の対策と提案を述べてみたい。

1. 検査方法の問題点（培地、検査試薬など）

1) 過信される同定キットの機能：現在の医療機関での検査方法の主流は、簡易同定キットや自動化機器によるものが大部分を占めている。これらの手法は「数値同定原理」に基づく「確率法」であるため、生物化学的性状が近似している菌種間では、しばしば誤同定されることが指摘されている。特に陰性反応が多い *Shigella* 属の菌では、発育性の悪い菌が誤同定される確率が他の菌種に比べて高い。もちろん、同定キットにも近似する菌種が同一コードに判定された場合、

表1. 抗原関係のある EIEC と赤痢菌の鑑別に有用な生化学性状

血清型	マンド	乳糖	イントール	ブドウ糖からのガス	酢酸塩
EIEC O112ac	+	d	+		
<i>S. dysenteriae</i> 2	-	-	-		
<i>S. boydii</i> 1	-	-	-		
EIEC O124	+		+	d	+
<i>S. dysenteriae</i> 3	-		-	-	-
<i>S. boydii</i> 17					
EIEC O164	+		+		
<i>S. dysenteriae</i> 3	-		-		
EIEC O152	+		+		
<i>S. dysenteriae</i> 12	-		-		
EIEC O143	+	+			
<i>S. boydii</i> 8	-	-			

表2. *Shigella* 属と *E. coli* との主要鑑別性状

	斜面 / 高層 TSI	ガス TSI	イントール SIM	運動性 SIM	リジン 脱炭酸	ソルビット
<i>Shigella</i> spp.	- / A	(-)	d	-	-	+
EIEC	d / A	-	+	(-)	-	+
VTEC O157	A / A	+	+	+	+	-

d : 菌株によって異なる (-) : 大部分が陰性

追加試験を行う旨の指示があるが、追加試験の実施よりも相対確率を重視してしまうことが少なくない。

2) 血清型別の注意点：周知の通り、赤痢菌と大腸菌では一部の抗原構造が共通しているため、誤同定された菌株でも凝集反応を起こすケースも少なくない。特に *Shigella dysenteriae*, *S. boydii* は組織侵入性大腸菌 (EIEC) と交叉するため注意が必要である（表1）。しかし、表1 のように追加試験を実施することによって両者の鑑別は容易となる。

2. 検査担当者の問題点（基礎知識、学術的考証など）

1) 基本操作、基礎知識の不足：菌種同定の第一歩は分離培地でのコロニー選別から始まるが、慎重に観察することなく、また、グラム染色・オキシダーゼテスト・ブドウ糖発酵試験などの未実施や、選択培地から直接同定キットへの接種など、基本操作が欠落しているケースが少くない。

2) 検査体制の現状（同定キット普及要因）：人員削減や検査外注対策として、いわゆるローテーション（担当交替）が日常化している現状では、スムーズな検査業務遂行のため、基本的な知識・操作よりも、特別な技術がなくとも菌種同定が可能な同定キット・自動化機器に頼らざるを得ない現実がある。また、こうした現状が繰り返されることによって指導者の資質や認識不足という事態も憂慮しなければならない。

3. 問題点解決の対策と提案

1) 現場での対策：以上のような現状を踏まえ、赤痢菌の誤同定（大腸菌の誤同定）を解決するための対策として、同定キットで *S. dysenteriae*, *S. boydii* と同定された場合、以下の項目のチェックを提案する。

①コロニー観察：選択培地上でのコロニー観察を慎重に行う。コントロール菌株があれば比較する。

②基本試験の実施（同定キット接種前実施が望ましい）：グラム染色、オキシダーゼテストなど。

③追加試験の実施：EIEC との鑑別は表1, 2 に示す通りであるが、このうち TSI 培地でのガス産生、SIM 培地での運動性の観察は、他の *E. coli* との鑑別に際しても重要となる。

④血清型別試験の判定：共通抗原を有する血清型の場合は、生化学的性状を優先（追加試験）する。

⑤臨床との連携：患者情報を得るだけでなく、臨床医との連携を図り、「疑わしきはクロ」よりも、患者の不利益の回避を優先する意識を持つことが重要である。

2) 病原体サーベイランスの提案：現在、2 類感染症原因菌であるチフス菌、パラチフス A 菌については、国立感染症研究所において病原体サーベイランスが実施されている。2 類感染症として正確な情報を得るために、赤痢菌の正しい同定が基本となる。赤痢

菌についてもレファレンス・センターを定めて病原体サーベイランスを実施するよう、制度の見直しを提案したい。

参考資料：「平成15年度菌検索技術講習会テキスト」
神奈川県臨床衛生検査技師会

現状調査は同講習会参加者に対する簡易アンケートによる

聖マリアンナ医科大学病院臨床検査部 宮本豊一
（[社] 神奈川県臨床衛生検査技師会
・微生物検査研究班班長）
横浜市立市民病院感染症部 相染裕子
(感染性腸炎研究会会長)

<速報>

ユッケによる diffuse outbreak の可能性が疑われた O157 事例——埼玉県

埼玉県では、2002（平成14）年度から腸管出血性大腸菌（EHEC）による diffuse outbreak の早期探知を目的とした疫学調査事業を展開している。EHEC 患者発生時に患者等に記入依頼した喫食歴を中心とする調査票の解析結果とパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）パターンの解析結果から、患者間の共通性を探るものである。

2003（平成15）年7月14日、県内保健所に1名の EHEC O157 : H7 Stx1&2（以下 O157）患者発生報告があった。喫食調査の結果、患者は東京都内の焼肉店で7月5日（発症4日前）にユッケを喫食していたため、東京都へ当該焼肉店への調査が依頼された。東京都の調査では、同日焼肉店を利用した118名（ユッケの提供数9）からは、患者グループ4名を含め他の発症者は確認されなかった。しかし、東京都からの情報として、都内で発生した別のO157患者が、埼玉県の患者とは別の焼肉店（利用者73名）だが、7月5日にユッケを喫食（ユッケの提供数4）しており、2つの店舗のユッケ肉の仕入れ先が埼玉県内の同一食肉販売業者であることが明らかとなった。所轄の保健所で食肉販売業者の調査を実施したところ、当該ユッケ肉と同一ロット材料は既に存在せず、また、生食用として表示、販売されたものではなかった。

細菌検査は、参考品としてユッケ原料肉2検体（モモ、ヒレ各1）、施設のふきとり3検体、および従事者便5検体のO157等を実施したが、すべてO157陰性であった。埼玉県の患者から分離されたO157菌株は、当所において、PFGEが実施され、他の分離菌株との比較解析が行われていた。一方、東京都の患者から分離されたO157菌株も、東京都健康安全研究センターでPFGEが実施されていたため、画像のEメールによる情報交換、および菌株の交換によるDNAパターンの比較解析が行われた。その結果、それぞれの分離

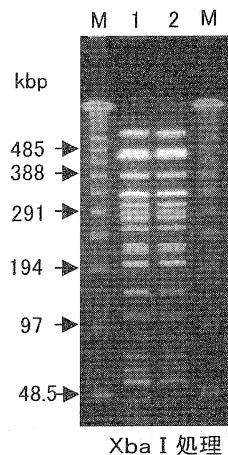


図 分離株のPFGEパターン

M:Lambda Ladder

1:東京都分離株

2:埼玉県分離株

株のXbaI処理による PFGE パターンが一致した（図）。

確認された患者は2名のみであり、食品からはO157は分離されていないが、以上の結果は、ユッケを原因食品とするO157 diffuse outbreak の可能性を示唆するものである。O157 diffuse outbreak の拡大防止や未然防止のためには、複数の患者が発生し、diffuse outbreak として認知される以前、すなわち可能性の段階での対応が重要である。1名の患者発生時の調査として、本事例における段階までは調査を進める必要があると考える。本事例は、行政管轄を越えた協力体制が円滑に進められたものといえる。

埼玉県衛生研究所・感染症疫学情報担当
食品媒介感染症担当
臨床微生物担当

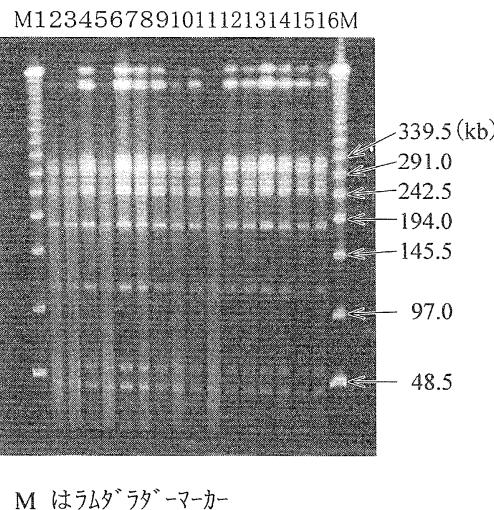
<情報>

Salmonella Enteritidis 集団食中毒事例——京都市

2003年5月21日～24日にかけて下痢、発熱等の症状を訴える寮生が医療機関を受診したとの連絡を受けた。調査の結果、寮生171名中17名が同様の症状を呈し、2名が入院していることが判明した。患者の共通食は寮で提供される食事のみであることから、寮生14名の検便と、寮で提供された食事の残置食18検体（19日～21日までの朝・夕食）、および調理従事者8名の検便と、手指ならびに施設等のふきとり16検体の検査を実施した。

検査の結果、寮生14名中11名の便、調理従事者8名中1名の便、および残置食18検体中4検体から *Salmonella Enteritidis* が検出された。*S. Enteritidis* が検出された残置食は、ご飯、みそ汁の具に使うネギ、焼き魚のサンマ（以上19日の朝食）ならびにピーマン炒め（20日の朝食）の計4検体であった。以上の結果により、寮で提供された食事による食中毒事例と決定

図. 分離株のPFGEパターンとファージ型



レーン番号	検体の種類	ファージ型
1	残置食(ご飯)	36
2	残置食(みそ汁の具・ネギ)	4
3	残置食(焼き魚・サンマ)	36
4	残置食(ピーマン炒め)	36
5	患者自然便	36
6	患者自然便	36
7	患者自然便	36
8	患者自然便	36
9	患者自然便	36
10	患者自然便	36
11	患者自然便	36
12	患者自然便	36
13	患者自然便	36
14	業者自然便	36
15	患者自然便	36
16	患者自然便	36

された。しかし、調理従事者と菌が検出された残置食との関連は不明であった。

また、国立感染症研究所でファージ型別を実施した結果、15検体が36型で、残置食の1検体は4型であった（右上表）。

制限酵素 *Xba*I によるパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) の結果はすべて同じパターンであった（図）。

京都市衛生公害研究所
臨床部門 丸岡捷治 山野親逸 原田 保
伊藤千恵 小石智和
調査研究部門 竹上修平

<通知>

平成15年度インフルエンザ HA ワクチン製造株の決定について

医薬発第0617003号
平成15年6月17日

国立感染症研究所長 殿
厚生労働省医薬局長

生物学的製剤基準（平成5年10月厚生省告示第217号）の規定にかかる平成15年度のインフルエンザ HA ワクチン製造株について、下記のとおり決定したので通知する。

記

A型株

A/ニューカレドニア/20/99 (H1N1)
A/パナマ/2007/99 (H3N2)

B型株

B/山東/7/97

<情報>

平成15年度（2003/04シーズン）インフルエンザワクチン株の選定経過

わが国におけるインフルエンザワクチン製造株の決定過程は、厚生労働省（厚労省）健康局の依頼に応じて国立感染症研究所（感染研）が検討し、これに基づいて厚労省が決定・通達している。感染研では、全国74カ所の地方衛生研究所と感染研、厚労省結核感染症課を結ぶ感染症発生動向調査事業により得られた流行状況、および1万株に及ぶ分離ウイルスについての抗原性や遺伝子解析の成績、感染症流行予測事業による住民の抗体保有状況調査の成績などに基づいて、前年度の11～12月に次年度シーズンの予備的流行予測を行い、これに対するいくつかのワクチン候補株を選択する。さらにこれらについて、発育鶏卵での増殖効率、抗原的安定性、免疫原性、エーテル処理効果などのワクチン製造株としての適格性を検討する。一方、年が明けた1月下旬から数回にわたり所内外のインフルエンザ専門家を中心とする検討委員会が開催され、上記の前シーズンの成績、およびその年のインフルエンザシーズンにおける最新の成績を検討して、次シーズンの流行予測を行う。さらに、WHOにより2月中旬に出される北半球次シーズンに対するワクチン推奨株とその選定過程、その他の外国における諸情報を総合的に検討して、3月下旬～4月上旬に次シーズンのワクチン株を選定する。感染研はこれを厚労省健康局長に報告し、それに基づいて厚労省医薬局長（現医薬食品局長）が決定して6～7月に公布している。

平成15年度（2003/04シーズン）に向けたインフルエンザワクチン株は、

A/ニューカレドニア/20/99(H1N1)
A/パナマ/2007/99(H3N2)
B/山東/7/97

であり、以下にその選定経過を述べる。

1. A/ニューカレドニア/20/99(H1N1)

わが国では、A/H1N1型（ソ連型）ウイルスは1999/2000、2000/01、2001/02の3シーズン連續して流行していたが、2002/03シーズンは1株が分離されたのみで（感染症週報2003年第16週号），この亜型による流行はなかった。のことからA/H1N1ウイルスの流行株については、諸外国の情報に依存することとなつた。

海外においては、A/H1N1型ウイルスはB型ウイルスとともに流行の主流であった。流行ウイルス株の抗原解析および遺伝子塩基配列の解析の結果、2002/03シーズンのワクチン株であるA/ニューカレドニア/20/99類似のウイルスが主流を占め、抗原変異株は非常に少なく、特別な抗原変異株の出現は報告されていない。一方、2001/02シーズンに出現した遺伝子再集合体A/H1N2ウイルスが2002/03シーズンも欧米諸国ではA/H1ウイルスの3～30%の割合で分離されている。しかし、このウイルスの赤血球凝集素（HA）抗原・遺伝子とノイラミニダーゼ（NA）抗原・遺伝子は、ワクチン株であるA/ニューカレドニア/20/99（H1N1）のH1およびA/パナマ/2007/99（H3N2）のN2にそれぞれ類似していることから、2003/04シーズンについても、これら両株を含む現行ワクチンで対応可能であると判断され、WHOでは北半球2003/04シーズンのワクチン株として、昨年に引き続きA/ニューカレドニア/20/99類似株を推奨している。

一方、A/ニューカレドニア/20/99株を含む2002/03シーズン用ワクチンの接種者における血清抗体応答は、ワクチン株のみならず、抗原的に赤血球凝集抑制（HI）試験で4倍程度変異したウイルス株に対しても高い交叉反応を示した。感染症流行予測事業による抗体保有状況調査においては、A/ニューカレドニア/20/99に対する抗体保有状況が10代では中程度の保有率であるが、それ以外の年齢層では依然として低いことから、この株に対する免疫増強の必要性が示唆された。また、A/ニューカレドニア/20/99は4シーズンにわたってワクチン株として用いられており、製造効率・有効性において実績がある。

以上から、2003/04シーズンのH1N1型ワクチン株として、昨年と同様にA/ニューカレドニア/20/99を選定した。

2. A/パナマ/2007/99(H3N2)

わが国ではA/H3N2型（香港型）ウイルスは、4シーズン連續して流行を繰り返しており、2002/03シーズンはB型ウイルスとともに流行の主流であった。国内分離株の50～60%はワクチン株A/パナマ/2007/99様であったが、HI試験で、ワクチン株から4倍以上変異した株も徐々に増える傾向が見られた。これら変異株の特徴は、HA蛋白の155および156番目のアミノ

酸に置換が見られ（155+156変異株）、これらが抗原性の違いに反映されていると考えられた。

諸外国ではA/H3N2型の流行は中程度で、分離ウイルスの多くはわが国と同様に、代表株であるA/モスクワ/10/99や、わが国のワクチン株A/パナマ/2007/99類似株であったが、抗原変異株も30%を占めていた。このことから、次シーズンには抗原変異株の割合が増えることが予想されたため、ワクチン候補株としては、これら変異株の中から孵化鶏卵で分離した株について検討する必要があった。しかし、国内外における大半の流行株は培養細胞で分離されており、ワクチン製造株としては採用できない。そのために、WHOでは株選定を通常より1ヶ月遅らせ、全世界から155+156アミノ酸置換を含む変異株の孵化鶏卵分離株の入手に努めた。当時、A/仙台病院/4952/2002またはA/仙台病院/4962/2002株が世界で唯一の検討候補株であり、WHOを中心に世界各国でワクチン株としての開発を進めたところ、その後、継代歴が不明瞭であることがわかったため、開発を断念せざるを得なかつた。一方、現時点ではA/モスクワ/10/99およびA/パナマ/2007/99類似株が依然として流行の主流であることや、この株を用いたワクチン接種によって獲得される抗体は、155+156変異株にも交叉反応することから、A/モスクワ/10/99またはA/パナマ/2007/99株に対する免疫を高めておけば、変異株にも対応できると考えられた。従って、WHOでは北半球2003/04シーズンのH3N2型ワクチン株として、昨年と同じくA/モスクワ/10/99様ウイルスを推奨した。

ワクチン製造株としては発育鶏卵での増殖効率が重要な条件となるが、A/モスクワ/10/99株自身は増殖性が低いのでワクチン製造には不適である。一方、この株と抗原的にはほぼ同一であるA/パナマ/2007/99株はワクチン製造に適しているので、わが国および諸外国ではA/モスクワ/10/99様ウイルスとしてA/H3N2型ワクチン製造株に採用されている。

各年齢層における抗体保有状況調査の結果から、A/パナマ/2007/99株に対して5～19歳の若年層では比較的高い抗体保有率が見られるが、高齢者を含むそれ以外の年齢層での抗体保有率と抗体価が低いことが示された。従って、A/パナマ/2007/99に対する免疫を十分に誘導しておくことが必要であることが考えられた。さらに、A/パナマ/2007/99株は、これまで4シーズン用のワクチン株としての実績がある。

以上から、2003/04シーズンのH3N2型ワクチン株として、昨年と同様にA/パナマ/2007/99を選定した。

3. B/山東/7/97

国内における2002/03シーズンにおいては、B型インフルエンザの流行は全体の流行の約30%であった。B型インフルエンザウイルスは、1980年代後半から抗原的にも遺伝子的にも区別される2つの系統に分流し

ている。その一つはB/ピクトリア/2/87株を代表とするピクトリア系統で、2000/01シーズンまでは東アジア地区に限定されて流行していたが、2001/02シーズンからは世界的に広がり、B型ウイルスの主流となつたものである。2002/03シーズンもピクトリア系統株がB型ウイルスの流行の97%を占め、分離株の大多数はこの系統の代表株B/香港/330/2001や、昨年度のワクチン株B/山東/7/97に抗原性が類似していた。一方、B/山形/16/88株に代表される山形系統は、2001/02、2002/03シーズンはほとんど分離されなかつた。

海外においては、B型ウイルスは流行全体の30～40%であり、分離株のほとんどがピクトリア系統であつた。さらに、これら分離株の大半はB/香港/330/2001やB/山東/7/97類似株であった。B型ウイルスの流行はここ2シーズンはピクトリア系統株であるが、多くの国においては、若年層を中心にしてこの系統のウイルスに対する抗体保有率が低いことが推定されるので、2003/04シーズンもこの系統のウイルスが大きな流行をもたらすことが予想された。そこで、WHOでは北半球2003/04シーズン用のB型ワクチン株に、B/香港/330/2001類似株を推奨した。

わが国での各年齢層別の抗体保有状況調査の結果からも、多くの人が山形系統のウイルスに対しては、抗体価は低いながらもある程度の免疫を保持している。しかし、ピクトリア系統のウイルスについては、全年齢層のほとんどすべての人が低い抗体価しかもたないこと、国内外でこの系統のウイルス伝播が拡大している傾向から、2003/04シーズンもB/香港/330/2001類似株による流行が懸念された。従って、B型ワクチンとしてはピクトリア系統のウイルス株を選択することが妥当であると判断された。

しかし、B/香港/330/2001株自身は発育鶏卵での増殖性が低く、また卵に馴化させると抗原性が大きく変化してしまい、ワクチン製造には不適当であった。一方、わが国において1999/2000シーズン用のB型ワクチン株として採用された実績を持つB/山東/7/97株は、この株と抗原性がほぼ同一であり、発育鶏卵での増殖性も比較的良好であり、抗原的にも安定であることが示された。そこで、2003/04シーズンのB型ワクチン株として、B/山東/7/97株を選定した。

国立感染症研究所・ウイルス第3部
WHOインフルエンザ協力センター
小田切孝人 田代真人

<速報>

AH3型インフルエンザウイルスで認められた継代による七面鳥赤血球凝集性の変化

赤血球凝集阻止試験（Hemagglutination-Inhibition test; HI試験）はインフルエンザ株サーベイランス活動において、分離されたウイルスの同定、抗原性的解析に広く利用されている。HI試験の再現性、信頼性はHI試験に先立つて行われる赤血球凝集試験（Hemagglutination test; HA試験）によるウイルス抗原量の調整に大きく依存している。HI試験では、ウイルス原液のHA力値に基づき抗原液の力値が4HA/25μlとなるように希釈して、各検体の抗原量を一定にした後、抗体と反応させる。このような試験が成り立つためには、赤血球に対する結合力が株ごとに変化しないことを前提としており、使用する赤血球の種類は重要な要因となっている。従来インフルエンザウイルスの赤血球凝集試験には、ニワトリ赤血球（CRBC）が汎用されていたが、1990年頃を境に、ヒトから分離されるA型インフルエンザウイルスの一部がCRBCを凝集しなくなつたため、現在では主に七面鳥、モルモットならびにO型ヒト赤血球が使用されている。さらに最近では、七面鳥血球（TRBC）に対する反応性の低下した株の存在も報告されている（岡本ら、本月報Vol. 22, No. 11, 289参照）。本報告では、2002/03インフルエンザシーズン中の抗原解析で経験したAH3ウイルスのTRBC低反応性株とその凝集性の継代による変化について報告する。

当研究室ではインフルエンザ株サーベイランスの抗原解析のために、全国の地方衛生研究所や海外の協力研究室から分与された株を最低1代継代して、抗原解析用のウイルス抗原を作製している。2002/03シーズン中に分与されたAH3ウイルスをMDCK細胞で継代した際に、細胞変性効果（CPE）は十分認められているにもかかわらず、培養上清のHA値が低くHI試験が不可能な株が散見された。これらの株の多くは再継代によってHA値が4HA/25μl以上となり、HI試験に供することが可能となった。しかし、1代目の継代時からすでにCPEが認められていたことから、ウイルスが増殖していた可能性があるため、継代ごとのウイルスについて0.5% TRBCと0.75%モルモット赤血球（GPRC）の2種の血球を用いてHA試験を行い、HA値を比較した（次ページ表1）。

表1に示すように、A/Akita(秋田)/14/2003, A/Anhui/77/2003, A/秋田/32/2003は継代1代目ではTRBCによるHA値は2倍以下であったが、GPRCを用いた試験では32倍または16倍のHA値を示した。A/Beijing(北京)/66/2003, A/Hunan/48/2003, A/秋田/20/2003も継代1代目ではTRBCに対する反応性は低く、TRBCとGPRCとの凝集値の差は8倍以上あった。一方、A/Hebei/81/2003, A/Tianjin/23/2003は、TRBCとGPRCとの凝集値の差はほとんど認められなかった。これらの株をMDCK細胞で再継代後、改めてTRBCとGPRCを用いてHA試験を行った。表に示すようにどの株についても継代2代目では、TRBCとGPRCに対するHA値はほぼ同等となり、相

表 1. AH3 ウィルスの継代に伴う血球凝集性の変化

ウィルス*	継代1代目			継代2代目		
	HA with			HA with		
	TRBC	GPRC	TRBC:GPRC	TRBC	GPRC	TRBC:GPRC
A/Otto/14/2003	<2	32	>32	32	64	2
A/Anhui/77/2003	<2	16	>16	32	32	1
A/Otto/32/2003	<2	16	>16	32	64	2
A/Beijing/66/2003	2	32	16	64	128	2
A/Hunan/48/2003	2	16	8	32	64	2
A/Otto/20/2003	2	16	8	64	64	1
A/Hebei/81/2003	32	64	2	64	128	2
A/Tianjin/23/2003	64	64	1	128	128	1

* 細胞での分離初代もしくは2代目のウイルスを分与され、感染研で表に示す継代数

MDCK 細胞で継代した。

対的に TRBC に対する反応性が上昇したと考えられる。A/Otto/14/2003, A/Otto/20/2003, A/Otto/32/2003 の 3 株について、1 代目と 2 代目のウイルス感染価を測定したが、継代による大きな変化は認められなかった。さらに A/Otto/32/2003 の感染研での継代 1 代目と 2 代目の HA1 領域のアミノ酸配列は同一であった。これらのことから A/Otto/14/2003, A/Otto/20/2003, A/Otto/32/2003, A/Beijing/66/2003, A/Hunan/48/2003, A/Anhui/77/2003 で認められた TRBC に対する血球凝集能の増加は、ウイルス増殖能の変化や、HA 分子の構造変化に伴うものではないと考えられる。

このように AH3 ウィルス株の一部で、継代歴が少ない時に TRBC に対する反応性が低く、継代によって TRBC に対する反応性が上昇するという現象が認められた。この現象の原因は現在のところ不明であるが、サーベイランス活動に少なくとも 2 つの大きな影響を与えることが考えられる。一つは、分離初期のウイルスを TRBC を使ってスクリーニングした場合、ウイルス分離に成功しても、TRBC に対する反応性が低いために見落とす可能性があること。二つめは、血球間での HA 価が大きく異なると、HI 試験の際に使用する抗原量を一定にすることが困難になり、使用血球によっては HI 試験の精度が損なわれるという問題が生じる。よって、インフルエンザ株サーベイランス活動において使用する赤血球を TRBC から GPRC に変更するのが適切であると考える。このために、AH1 および B 型インフルエンザウイルスに関する検討を行ったときに、HA, HI 試験に 0.75% モルモット

ト血球を使うプロトコールの作成を検討している。

国立感染症研究所・ウイルス第3部

西藤岳彦 斎藤利憲 中矢陽子
伊東玲子 小田切孝人 田代眞人

＜速報＞

手足口病患者からのエンテロウイルス71型の分離—福島県

2003年4月末～5月にかけて手足口病の患者23症例から採取された臨床材料（咽頭・直腸スワブ）のうち、9症例由来の検体からエンテロウイルス71型（EV71）が検出された。9名中7名は、いわき市南部地区と北茨城市に居住する1歳～7歳の小児であるが、7歳の1名を除き他は5歳以下であった。北茨城市は隣県に位置するが、7症例が居住する県境を挟む地域は、以前から人の往来が活発であり、北茨城市的住民が、小児科定点であるいわき市南部のK病院を受診したため、当所に検体が送付された。

9症例の臨床症状は、本病に特徴的な手掌と足、それに口腔内の水疱が主で、その他に下痢（2名）と上気道炎（1名）がみられた。発熱については、38°C台の1症例と37°C台の2症例以外は平熱であった。特に重篤な合併症はみられず、すべて回復している。

9症例由来の臨床材料（咽頭スワブ9、直腸スワブ1）を細胞に接種したところ、2代培養終了時点（14日目）までに RD-18S 細胞と Vero 細胞に CPE が認められた。CPE については、局所的出現と、それからの派生的拡大がみられた。3代培養したウイルス液

の力値は、 $10^{3.5} \sim 10^5$ TCID₅₀/25 μl の範囲にあった。国立感染症研究所から分与された BrCr-A 抗血清を用いた中和試験では、ブレークスルーを示す株もみられたが、ウイルス増殖阻止の程度において C7-A 抗血清とは差異が認められた。

患者情報によれば、いわき市では第23週から手足口病が増加しているが、時期を同じくして茨城県でも患者が増えていることが確認された。9症例の中には兄と妹、姉妹の2組の家族内感染が疑われるケースがあった。いわき市在住の4症例と北茨城市に居住する3名との間の接点は不明であったが、いわき市内の1症例については、北茨城市内の保育所に通っており、この患者の他に、同じ保育所の北茨城市に居住する手足口病の患者1名の検体（ウイルス分離陰性）も搬入されていた。また、同保育所内で手足口病が流行していたという情報も得られた。

7月25日現在で、6月～7月に38名の手足口病患者から採取された臨床材料（いわき市南部地区26名、北茨城市2名、河東町3名、郡山市2名、相馬市2名、福島市1名、三春町1名、伊南村1名）のうち、17名の検体（いわき市南部14名、北茨城市1名、相馬市1名、福島市1名）から RD-18S 細胞と Vero 細胞に CPE を示すウイルスが分離されてきている。

なお、昨年、手足口病の患者から分離されたウイルスは、A群コクサッキーウィルス16型が主で、EV71 も分離されていたが、年間で4名（7月郡山市2名、8月石川町1名、10月古殿町1名）からのみの分離であった。今年の EV71 分離陽性症例は、昨年同期を上回っていることから、県内版の感染症週報で関係機関に情報を提供し、注意を喚起した。

福島県衛生研究所・微生物部ウイルス科
慶野昌明 金成篤子 水澤丈子 亘理智子
三川正秀 渡部啓司 加藤一夫

<速報>

ミオクロニー様の動きを伴う手足口病患者からのエンテロウイルス71型の検出——大阪市

2003年7月、大阪市感染症サーベイランス検査において、ミオクロニー様の動きを伴う手足口病患者（4歳8カ月）の咽頭ぬぐい液からエンテロウイルス71型（EV71）を検出したので報告する。

現病歴：6月30日、手掌・足底・臀部の発疹と38.5°Cの発熱があり近医にて手足口病と診断。翌日も解熱せず嘔吐も出現。7月2日、一点凝視を頻回に認め、発熱、嘔吐も改善ないため、大阪市立総合医療センターへ入院。

入院時現症：意識清明。後部硬直あり。座位は安定しているが、歩行時はふらつきあり。指鼻試験は揺れがあり、しゃべり方は突発的であった。

検査結果：<髄液>細胞数 212（単球55%，多核球45%），蛋白 19mg/dl，糖 98mg/dl。<血液>WBC 15,170/mm³，RBC 5.13×10⁶/mm³，PLT 20.0×10⁴/mm³，CRP 0.16g/dl，AST 36IU/l，ALT 9IU/l，LDH 517IU/l，CPK 164IU/l，TP 7.6g/dl，フェリチン 60ng/ml。その他異常所見なし。頭部 CT；特記すべき異常なし。

入院後経過：無菌性髄膜炎で嘔吐もあるので輸液のみ施行。入院中も失調様歩行・断続的発語等の小脳症状とミオクロニー様の動きあり。小脳一脳幹脳炎（Rhombencephalitis）の合併も考え、7月9日、頭部MRI 施行するも異常所見なし。7月2日の脳波では全般的に δ 波が混在していた。神経症状は経過観察のみで徐々に改善し、麻痺など残さず退院した。

ウイルス分離：Vero 細胞、RD-18S 細胞を用いてウイルス分離を試みた結果、Vero 細胞にのみエンテロウイルス様の細胞変性効果を示した。抗 EV プール血清（エンテロウイルス NT 試薬「生研」および EP95）、抗 A 群コクサッキーウィルス16型、抗 EV71/BrCr および抗 EV71/C7 血清（国立感染研より分与）を用いてウイルス中和試験を行ったが、いずれも中和不成立であった。一方、奈良県保健環境研究センターより分与された抗 EV71 血清では、中和が成立した。

また、6月には、39°Cの発熱を伴う感染性胃腸炎患者の糞便検体から、同様の手法を用いて EV71 を分離した。系統解析を行う目的で、Vero 細胞の培養上清からウイルス RNA を抽出後、3種のプライマー（EVP2, EVP4 および OL68-1）を用いて VP4 をコードする遺伝子について RT-PCR を行った後、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。その結果、上述の手足口病患者由来と感染性胃腸炎患者由來の EV71 の VP4 領域の塩基配列は、100%一致することが判明した。

大阪市立環境科学研究所
改田 厚 入谷展弘 久保英幸
村上 司 春木孝祐
大阪市立総合医療センター
上田博章 九鬼一郎 天羽清子
外川正生 塩見正司

<速報>

手足口病に脳脊髄炎を合併した10カ月女児からのエンテロウイルス71型の検出——島根県

島根県では2003年第21週から手足口病患者が増加し、現在流行中であるが、脳脊髄炎による右上肢麻痺を合併した1例からエンテロウイルス71型（EV71）を検出したので、県内の無菌性髄膜炎、手足口病の流行状況と併せて報告する。

症例は10カ月女児。6月9日に発病し、39°Cの発熱

表. 手足口病からのウイルス分離状況-島根県

	2月	4月	5月	6月	7月
検体数	2	1	1	26	56
CA5	1	-	-	-	-
CA10	-	-	-	1	1
EV71	-	-	-	10	15
未同定	-	-	-	-	4

と手足口病、右上肢麻痺を伴う脳脊髄炎を起こした。ウイルス感染を疑い、髄液と咽頭ぬぐい液（6月13日採取）および糞便（6月16日採取）の検査依頼があった。培養細胞（AG-1, RD, Vero, FL）によるウイルス分離が陰性であったため、5'NCR-VP2領域のRT-PCRによるエンテロウイルス遺伝子検出を行ったところ、糞便から遺伝子が検出され、ダイレクトシークエンス後 NCBI Blast を利用した相同性検索の結果、EV71 と同定された。患者の症状は軽快したもの、現在も麻痺が残存しており、治療中である。

4月以降、本症例以外に手足口病、ヘルパンギーナあるいは発疹を伴った無菌性髄膜炎例が5例認められており、手足口病に無菌性髄膜炎を併発した2例からEV71を検出した。内訳は、1カ月男児で糞便からVero細胞でEV71を分離、咽頭ぬぐい液からEV71を検出(RT-PCR)した例と、5歳男児で咽頭ぬぐい液からEV71を検出(RT-PCR)した例である。髄液は検査を行ったが、いずれも陰性であった。また、無菌性髄膜炎例は17例あり、1例の咽頭ぬぐい液からEV71が分離されている。

一方、手足口病は2月～7月に75例86検体について培養細胞(AG-1, RD, Vero, FL)と哺乳マウスでウイルス分離を行なった。分離状況は表のようにEV71を中心とした流行である。患者数は第28週をピークに減少傾向であるが、県東部・中部では依然患者の多い状況が続いている。

なお、EV71はVero細胞のみで分離され、1983年分離株抗血清を用いて中和同定を行った。同定はウイルスを代替フロン処理することによって難中和性が回避された。

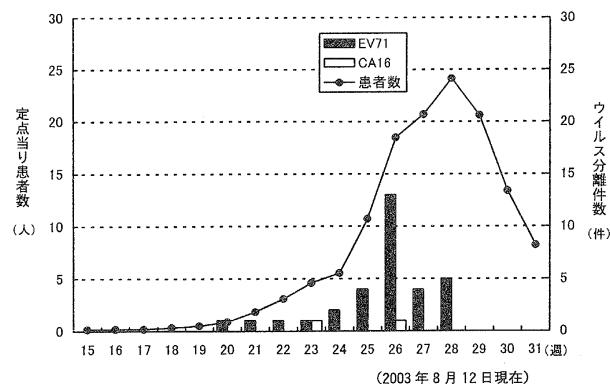
島根県保健環境科学研究所
飯塚節子 田原研司 糸川浩司
川向明美 板垣朝夫

<速報>

エンテロウイルス71型による手足口病の流行——
広島県

感染症発生動向調査事業の報告患者数をみると、広島県における手足口病の定点当たりの患者数は、2003年5月第3週(第20週)から増加し、6月第4週(第25週)以後に急増した。7月第2週(第28週)には定点当たり患者数が24.12人となり、例年の6倍以上の患者数のピークを迎えた。その後の患者数は減少して

図1. 広島県における手足口病の定点当たり患者数推移とEV71, CA16分離件数



いるが、8月12日現在も完全な流行の終息には至っていない(図1)。

本年最初のエンテロウイルス71型(EV71)の分離例は、5月17日(第20週)に検体採取された手足口病患者からで、現在のところ、手足口病患者63名に由来する検体75件(咽頭ぬぐい液、髄液など)から29株のEV71が分離されている(分離陽性患者数は26名)。患者63名の年齢は0歳～8歳までに分布し、そのうちの57名(90%)が1歳～5歳の幼児であった。なお、今回流行している手足口病では、例年に比べて無菌性髄膜炎を併発する症例が多く見られ、患者63名中の14名が髄膜炎症状を呈していた。髄膜炎症状を呈した患者の内訳は1歳が1名、2歳が3名、3歳と4歳が各1名、5歳が5名、6歳、7歳、8歳が各1名で、このうちの5名からEV71が分離された。また、脳炎が疑われた患者(1歳)も1名認めたが、EV71は分離されなかった。なお、手足口病以外に発疹症、口内炎、上気道炎、気管支炎の患者計5名からも、EV71が分離されている。

ウイルスの分離にはRD-18S, Vero, FL, HEp-2, BGM細胞を使用したが、EV71が分離されたのはすべてVero細胞であった。ウイルスの同定は、感染研分与の抗血清(抗BrCr, 抗C7/Osaka97, 抗1095Shiga97)と、広島県で1978年に分離されたEV71株を用いて作製した抗血清(抗78-0345)を使用し、マイクロ中和法で実施した。すべてのEV71株は抗78-0345血清によりCPEの出現が強く抑制されたが、抗1095Shiga97血清ではほとんど抑制されず、抗BrCr, 抗C7/Osaka97血清では全く抑制されなかった。

手足口病の主な原因ウイルスはEV71とA群コクサッキーウィルス16型(CA16)であるが、今までのところ分離されたCA16は、6月の手足口病と咽頭炎の患者各1名からのみである。本県における今回の大規模な手足口病の流行は、EV71に起因するものと考えられる(図1)。

広島県保健環境センター・微生物第二部
島津幸枝 高尾信一 福田伸治
桑山 勝 宮崎佳都夫

<速報>

手足口病患者からのエンテロウイルス71型の分離—高知県

2003年6月に入り、手足口病患者からエンテロウイルス71型(EV71)が散発的に分離されたが、7月以降は同型ウイルスの分離が目立つようになった。6月～7月にかけて検査定点から24名の手足口病患者検体が搬入され、13名からEV71が、無菌性髄膜炎の1名、その他の症状2名から同型ウイルスが分離同定されている。

EV71が分離された16名の患者を年齢別にみると、1歳5名、2歳3名、3歳1名、4歳1名、5歳4名、7歳2名であり、性差は男10名、女6名であった。患者が5歳以下に集中していることと性差は、今年同型ウイルスの流行がみられている香川県と同様の傾向であった。

ウイルス分離にはLLC-MK細胞、Vero細胞、RD-18S細胞、HeLa細胞およびFL細胞を用いたが、LLC-MK細胞、Vero細胞に最も感受性を示した。CPEはVero細胞で3、4日で観察され、LLC-MK細胞ではやや遅れて観察された。中和試験は、国立感染症研究所から分与されたEV71の中和血清では同定できず、愛媛県立衛生環境研究所から分与された血清を用いて行った。

臨床症状については、1検査定点における9症例についてまとめた。手足の小水疱は全例にみられたが、口腔内のアフタ性病変は、認められないものも1例あった。発熱は9例中7例にみられたが、6例は38°C台、1例は39.6°Cに達した。有熱期間はほとんどが2～3日で、1例のみ7日であった。2例に嘔吐、1例に下痢を伴っていた。注目すべきは、この流行中に、無菌性髄膜炎と診断されEV71が分離されながら、手足口病の症状がみられなかった症例が1例存在したことである。

今シーズンの県下における手足口病の定点当たり報告数は、第23週～第27週は0.77人～1.16人の間で、第28週～第31週は1.29人～2.16人の間で推移している。8月に入っても検体が搬入されており、また、近年県下ではEV71の流行はみられておらず、過去の流行状況から推測すると、ある程度の規模の流行が考えられる。今後の動向に注目したい。

高知県衛生研究所

永安聖二 千屋誠造 刈谷陽子
小松照子 大野賢次 上岡英和
はまだ小児科 浜田義文

<速報>

エンテロウイルス71型およびエコーウイルス30型の分離—広島市

広島市感染症発生動向調査事業で、2003年4月～7月までに検体が採取された302名中12名からエンテロウイルス71型(EV71)が、10名からエコーウイルス30型(E30)が分離された。

EV71の分離は5月25日採取の手足口病患者からが最初で、その後6月に6名、7月に5名から分離された。臨床診断名では手足口病8名（そのうち3名は無菌性髄膜炎も併記）、肺炎/気管支炎2名、不明熱2名であった。年齢は0歳5名、2歳、4～7歳、9歳、13歳が各1名ずつであった。男女比はほぼ1:1であった。

2003年の手足口病は第17週から増加を始め、第27週のピークにはこれまで最も多い一定点当たり33.67人が報告され、第32週には2.79人まで急速に減少する一峰性の流行であった。

E30の分離は6月11日採取の手足口病および無菌性髄膜炎と診断された患者からが最初で、6月に6名、7月に4名から分離された。E30分離陽性者の臨床診断名はすべて無菌性髄膜炎で、手足口病またはヘルパンギーナと併記された患者が各1名ずつであった。年齢は0歳1名、5歳と6歳が各3名、7歳、8歳および9歳が各1名ずつであった。男女比は7:3で男性に多かった。

なお、手足口病および無菌性髄膜炎と診断された患者1人からEV71とE30が同時に分離された。

広島市衛生研究所

池田義文 藤井彰人 野田 衛
国井悦子 平崎和孝 萩野武雄

<速報>

無菌性髄膜炎患者からのエコーウイルス30型の分離状況、2003年—滋賀県

2003年6月に検体を採取した無菌性髄膜炎患者34名中13名から、エコーウイルス30型(E30)が分離された。分離された患者の性別は男8名、女5名、年齢分布は3歳～13歳までで、6歳が5名と最も多かった。髄膜炎以外の主な症状は、嘔吐(4名)、頭痛(4名)、下痢(1名)および頸部硬直(1名)であった。最高体温は37.5°C～39.4°Cに分布し、平均は38.5°Cであった。

E30の材料別分離数は、髄液33件中11件、咽頭ぬぐい液16件中6件、および糞便16件中6件であった。

ウイルス分離はRD-18S、HeLa、Vero-E6、FLの各細胞を用いて行ったところ、RD-18S細胞が最も高い感受性を示した。

表 無菌性髄膜炎患者調査数(2003年、滋賀県)

検体採取月	調査数(人)	ウイルス分離数*	
		E30型	CB1型
4	3	0	0
5	3	0	1
6	34	13	0
7	14	0	0
8	1	0	0
合計	55	13	1

*: 2003年8月12日現在

ウイルスの同定は中和反応により行った。中和血清として、EP95（国立感染症研究所分与血清）およびE30単味血清（デンカ生研製血清および感染研分与血清）を用いた。EP95ではすべての株が良好に中和された。さらに確認のため、デンカ生研製単味血清で中和を行ったところ、中和できない株があったため、感染研分与血清を用いたところ、それらの株も良好に中和できた。

滋賀県感染症発生動向調査における無菌性髄膜炎の定点当たり患者数は、2003年第23週に0.57人/定点を示し、第26週に0人/定点となったが、再び急増し、第28週に0.86人/定点とピークを示し、以降減少している（第31週現在）。

また、2003年4月～8月に発症した無菌性髄膜炎患者で、当所に検体が搬入された調査対象患者数を表に示す。これらの患者からは、6月に分離されたE30以外では、5月にB群コクサッキーウィルス1型が1株分離されている。

E30は、滋賀県では1983年、1990～1991年および1997～1998年に多く分離されており、5～8年周期で流行をおこしていると考えられることから、2003年においてもE30の流行が懸念される。

滋賀県立衛生環境センター
大内好美 吉田智子 川端彰範
吉田とも江 林 賢一

<速報>

無菌性髄膜炎患者からのエコーウィルス6型/30型の分離——堺市

堺市感染症発生動向調査の市内3定点病院より、2003年6月1日～8月20日現在までに無菌性髄膜炎62名（男43名、女19名）の患者検体が搬入され、5名からエコーウィルス6型（E6）、30名からエコーウィルス30型（E30）、1名からエコーウィルス18型（E18）、2名からエンテロウイルス71型（EV71）、1名からムンプスウイルスが分離同定された。

ウイルス分離にはRD細胞、LLC-MK2細胞、Vero細胞およびFL細胞を用いたが、RD細胞およびLLC-MK2細胞のみで分離された。ウイルス同定は（株）デンカ生研のエンテロウイルス中和用混合血清を使用し

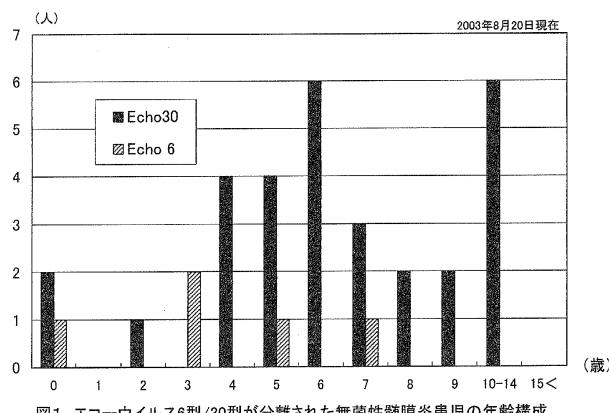


図1. エコーウィルス6型/30型が分離された無菌性髄膜炎患児の年齢構成

た。

患児の主症状は発熱（39.6°C～38°C）、嘔気、嘔吐、頭痛、胃腸炎症状等である。

E6およびE30が分離された患者の年齢構成を図1に示す。E30では6～7歳にピークがみられたが、E6にはみられなかった。E30の男女比は2.5:1、E6は3:2である。E18は3歳男児、EV71は5歳と3ヶ月の男児それぞれ1名、ムンプスウイルスは2歳女児である。

採取された材料からの分離陽性例は、糞便（15検体）、膿液（31検体）、咽頭ぬぐい液（19検体）、鼻汁（1検体）、尿（1検体）であり、2検体以上からの分離例は22名であった。1例の尿からE6が分離されたが、この患者は1ヶ月女児で、粘液便も認められ、この便検体からも同じウイルスが分離された。

堺市衛生研究所

内野清子 岩上泰雄 吉田永祥 三好龍也
園 輝久 前田章子 田中智之
堺病院・小児科 橋爪孝雄 岡田伸太郎
ペルランド総合病院・小児科 松本百合

<速報>

無菌性髄膜炎患者からのエコーウィルス30型の分離状況——奈良県

今シーズンの無菌性髄膜炎患者は、第19週（5月7日、2名）を初発とし、その後散発的にみられ、7月（第27週）に入り急激な増加傾向が観察されている。

初めてのウイルス分離は5月23日に発症した12歳・男子（五条市）の咽頭ぬぐい液からで、RD-18SおよびHep-2細胞でCPEが確認された。その後、単味およびプール血清（デンカ生研）による中和試験を行い、エコーウィルス30型（E30）と同定した。現在までの無菌性髄膜炎と診断された患者からのウイルス分離状況は、E30:16例、E6:2例、アデノウイルス3型:2例、およびB群コクサッキーウィルス4型:1例と多種にわたるが、7月以降の急激な増加の原因ウイルスはすべてがE30であった。

E30が分離された患者は、3歳～12歳児（男13:女

3) で、臨床症状は発熱、嘔吐、嘔気、頭痛などである。患者発生地域は北和地区（斑鳩町、平群町、奈良市）に多い傾向がみられるが、中和および南和地区でも散発的に発生が観察されている。また、E30 が分離された材料は咽頭ぬぐい液（9例）が最も多く、次いで糞便（6例）、髄液（1例）であった。

本県での E30 による無菌性髄膜炎の流行は、1993年、1997年以來である。

奈良県保健環境研究センター

北堀吉映 中野 守 井上ゆみ子
立本行江 足立 修

<速報>

エコーウィルス 9型の流行期間中に侵淫が確認されたエコーウィルス30型の分離状況——香川県

エコーウィルス 9型（E9）の流行期間中の2003年7月に、エコーウィルス30型（E30）による無菌性髄膜炎が確認された。しかし、E30 の分離例は、小豆・西讃の一部地域に限局しており、現在は県下全域への波及はみられない。この E30 の流行は、1989年（分離例54例）、1991/92流行年（同126例）、1997/98流行年（同346例）に確認されており、E9 は1994年（分離例79例）以来の流行となった。

E30 は、7月2日採取の無菌性髄膜炎患者からの初分離以降、8例（分離数9株）が分離され（表）、検体の由来はすべて髄液であった。男女別は男児5例、女児3例で、臨床診断名は、男児は無菌性髄膜炎4例、脊髄炎1例、女児の3例はすべて無菌性髄膜炎からであった。年齢は、男児は0、6、7、8、14歳各1例、女児は0歳2例、5歳1例であった。

また、E9 は、2003年4月25日採取の無菌性髄膜炎患者からの初分離以降、46例（分離数49株）が分離され（表）、検体の由来は髄液46株、咽頭ぬぐい液3株であった。男女比は男児24例、女児22例でほぼ同数で、臨床診断名は、男児は無菌性髄膜炎22例、髄膜脳炎、不明熱各1例、女児は無菌性髄膜炎20例、不明熱、無熱性痙攣各1例と男女ともに無菌性髄膜炎からの分離例が大部分を占めた。年齢は、男児は0歳6例、女児は5歳8例、6歳5例からの分離例が多く、男女間で差がみられた。

月別分離状況(2003年)-香川県

疾患名		4月	5月	6月	7月	計
E9	無菌性髄膜炎	2	5	17	18	42
	髄膜脳炎	-	1	-	-	1
	不明熱	-	-	1	1	2
	無熱性痙攣	-	-	-	1	1
	計	2	6	18	20	46
E30	無菌性髄膜炎	-	-	-	7	7
	脊髄炎	-	-	-	1	1
	計	-	-	-	8	8

E30 の県内での動向は、1991/92、1997/98流行年はいずれも7月に侵淫がみられ、引き続いて冬季流行を示し、翌年の夏季に流行が拡大する傾向を示しており、前回流行より5年を経過していることから、今後の動向を注視したい。

ウイルス分離は、RD-18S、FL、Vero 細胞を使用し、感受性を示したのは RD-18S 細胞で、接種初代で高い感染価が得られた。同定は市販エンテロウイルス混合抗血清、单味抗血清およびエコープール抗血清（EP95）を用い、いずれの抗血清も良好な成績が得られた。

香川県環境保健研究センター

三木一男 亀山妙子 山西重機

<速報>

無菌性髄膜炎患者からのエコーウィルス30型の分離——高知県

2003年7月初め～末にかけて検査定点から27名の無菌性髄膜炎患者検体が搬入され、19名（男16名、女3名）からエコーウィルス30型（E30）が、1名（男性）からエコーウィルス6型が、1名（女性）からエンテロウイルス71型が分離同定された。

E30 が分離された患者の年齢構成は、2歳1名、4歳6名、5歳4名、6歳1名、7歳2名、8歳3名、9歳1名、10歳1名であった。

ウイルス分離には RD-18S、LLC-MK、Vero、HeLa および FL 細胞を用いたが、RD-18S 細胞が最も感受性が良かった。中和試験は、国立感染症研究所から分与されたエコーウィルスプール抗血清（EP95）および单味抗血清、デンカ生研製エンテロウイルス单味抗血清を用いて行った。分離材料別分離率は髄液 3/6 (50%)、咽頭ぬぐい液 19/25 (76%) であった。

本県では昨年、エコーウィルス 9型と 13型による無菌性髄膜炎が流行したが、昨年と比較すると症状は軽く、入院した場合でも1日の入院にとどまっており、数日の入院を必要とする患者はあまりみられていない。しかし、大部分は激しい頭痛と嘔吐を伴っており、また、家族内での感染が多く、大人も多数感染している様子である。

県下における E30 の流行は、1991年と1998年にみられている。前回の流行から5年経過しており、この間、県下ではほとんど同型ウイルスは分離されておらず、低年齢層ではほとんど抗体を保有していないと思われる。8月に入りても検体の搬入が続いていることから、今後の動向が注目される。

高知県衛生研究所

千屋誠造 永安聖二 刈谷陽子
小松照子 大野賢次 上岡英和
吉本小児科皮膚科 吉本辰雄

<速報>

保育所におけるエコーウイルス9型による発疹症の集団発生事例——岩手県

2003年5月～6月にかけて、盛岡保健所管内の保育所において、エコーウイルス9型（E9）による発疹症の集団発生を確認したので、その概要を報告する。

患者発生状況：6月1日A保育所の担当医から、発疹を呈する子が多数いるとの情報が寄せられた。積極的疫学調査として、患者の発生状況を調査するとともに、咽頭ぬぐい液についてウイルス検査を実施した。患者は発疹（丘疹、紅斑）を主症状とし、一部の患者は発熱（37～39°C）および気管支炎を呈していた。発疹以外には症状がない患者もいたため、「発疹を有する者」を調査対象とした。発生は5月19日に始まり、6月10日まで続いた（図1）。初発患者は1歳児クラスで、2歳から4歳児クラスに広がり、兄弟間の感染も認められた。在籍者95名中14名（15%）に発疹が認められた。年齢クラス別の患者数は2歳児、3歳児、4歳児と年齢が進むに従って減る傾向にあった。また、0歳児および5歳児クラスに患者は認められなかった（表1）。

ウイルス分離：患者5名の咽頭ぬぐい液を検体とし、CaCo-2、Vero、RD-18S、HEp-2の4種類の細胞に接種したところ、4検体でCaCo-2細胞にのみCPEが認められた。中和試験は国立感染症研究所から分与されたエコーウイルスプール抗血清（EP95）およびデンカ生研製エンテロウイルス混合抗血清および单味抗血清を用いて行い、E9と同定された。

考 察：岩手県における感染症発生動向調査事業による病原体検査によると、1997年に上気道炎および感染性胃腸炎の検体からE9が多く検出され、流行が確

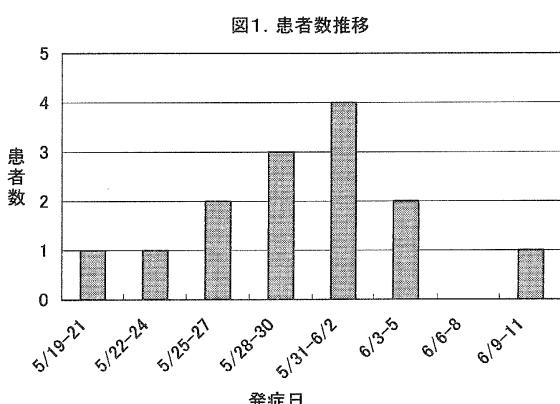


表1. クラス別患者数と罹患率

クラス	在籍者数(人)	患者数(人)	罹患率(%)
0歳児	5	0	0.0
1歳児	16	7	43.8
2歳児	13	3	23.1
3歳児	20	3	15.0
4歳児	20	1	5.0
5歳児	21	0	0.0
計	95	14	14.7

認されたものの、1998年以降、E9はほとんど検出されていない。今後の動向に注目したい。

岩手県環境保健研究センター

高橋朱実 佐藤直人 藤井伸一郎

佐藤 卓 齋藤幸一 田澤光正

山口クリニック 山口淑子

<速報>

A群コクサッキーウィルス10型およびエコーウィルス30型の分離——札幌市

2003年4月～7月までに、札幌市の感染症発生動向調査事業における検査定点から搬入された、急性上気道炎患者の咽頭ぬぐい液4検体からA群コクサッキーウィルス10型（CA10）が分離された。また、無菌性髄膜炎と診断された患者3名、および急性上気道炎と診断された患者2名からの咽頭ぬぐい液5検体、無菌性髄膜炎と診断された患者1名の髄液および鼻汁からエコーウィルス30型（E30）が分離された。現在、さらに無菌性髄膜炎患者7名の髄液について検査中である。

ウイルス分離にはRD-18S、Vero、KB細胞を用い、すべてRD-18S細胞により分離された。中和試験は、国立感染症研究所から分与されたエコーウィルスプール抗血清（EP95）および单味抗血清、デンカ生研製エンテロウイルス混合抗血清、および单味抗血清を用いて行った。

これまで札幌市では、エンテロウイルスの大規模な流行はなかったが、市内医療機関（小児科）からは6月中旬以降、例年に比べ無菌性髄膜炎の患者が多いとの情報があり、今後の動向に注意が必要である。

札幌市衛生研究所

菊地正幸 宮北佳恵 土屋英保

大谷倫子 藤田晃三

市立札幌病院 富樫武弘

<速報>

A群コクサッキーウィルス4型の流行——秋田県

2003年5月中旬から秋田市を中心に分離され始めたA群コクサッキーウィルス4型（CA4）は、その後、男鹿半島地域から県北部にも広がり、7月14日現在までに25株が分離された。ウイルス分離と中和試験による同定には乳飲みマウスを用いた。

疾患別ではヘルパンギーナ（咽頭ぬぐい液）が14株と最も多く、続いて上気道炎（咽頭ぬぐい液）7株、感染性胃腸炎（糞便）4株であった。年齢は15歳（感染性胃腸炎）が1名、他はすべて5歳以下であった。

例年の分離状況を見ると、A群コクサッキーウィルスは複数の型が分離されているが、今年はCA4が集中的に分離されており、他の型は手足口病患者の咽頭ぬぐい液からCA16が2株分離されているのみである。また、当所ではヘルパンギーナに限らず、すべての上

気道疾患と感染性胃腸炎について、乳飲みマウスによるウイルス分離を試みている（ヘルパンギーナ22検体、上気道炎81検体、感染性胃腸炎61検体）。ヘルパンギーナと診断された検体からの分離が高率であることは言うまでもないが、上気道炎（典型的なヘルパンギーナの症状を示していないと思われる）などの一般的な上気道疾患や、感染性胃腸炎の糞便からも分離されている。

マウスによる中和試験は、ウイルスが分離された後比較的短期間（4～5日）で明確な同定成績が得られるが、マウスの供給・飼育体制の充実度に左右され、特に多数の分離株を同定する必要に迫られた場合に問題無く実施できる機関は限られると考えられる。当所では5年前から1本鎖高次構造多型（SSCP）解析による同定支援法を検討しており、今回のケースでは同定すべき25株は3パターンに分けられたため、実際に中和試験を行わなければならぬのは3株だけで、他はパターン照合のみで同定可能であった（上記の分離報告はすべての株について中和試験で確認済み）。この場合の同定効率は25/3で8.3倍となり、今後さらに大規模な流行が起きても対応可能であると考えられる。

秋田県衛生科学研究所

斎藤博之 安部真理子 原田誠三郎 鈴木紀行

<速報>

呼吸器系疾患からのアデノウイルス3型の分離状況—香川県

2003年4月30日以降に呼吸器系疾患患者からアデノウイルス3型（Ad3）が19例分離され、このうち肺炎・気管支炎症状を伴う症例が11例（58%）確認された。また、呼吸器系疾患以外からのAd3の分離は、流行性角結膜炎12例、咽頭結膜熱、不明熱各1例であった。

呼吸器系疾患から分離されたAd3の検体の由来は、すべて咽頭ぬぐい液であり、男女比は男児9例、女児10例とほぼ同数であった。男女別の臨床症状は、男児は咽頭炎5例、気管支炎2例、咽頭扁桃気管支炎、肺炎各1例、女児は咽頭炎、気管支炎各3例、咽頭気管支炎2例、気管支肺炎、肺炎各1例で、気管支炎・肺炎症状を伴う症例は、女児10例中7例（70%）、男児9例中4例（44%）と女児に多い傾向がみられた（表）。年齢は、男児は1歳3例、2、3、5歳各2例で、女児は1歳4例、0歳3例、6、8、9歳各1例と、女児は0、

表 年齢別分離状況(2003年)-香川県

疾患名	男				女			
	1歳	2歳	3歳	5歳	0歳	1歳	6歳	8歳
咽頭炎	1	2	-	2	-	1	1	1
咽頭扁桃気管支炎	-	-	1	-	-	-	-	-
咽頭気管支炎	-	-	-	-	2	-	-	-
気管支炎	1	-	1	-	1	2	-	-
気管支肺炎	-	-	-	-	-	-	-	1
肺炎	1	-	-	-	-	1	-	-
計	3	2	2	2	3	4	1	1

1歳に患児が多い傾向がみられ、この0、1歳に気管支炎・肺炎症状を伴う症例が7例中6例（86%）と集中する傾向がみられた。発熱は、39.0～40.9℃で、平均39.5℃であったが、男女間および臨床症状による最高体温の差は認められなかつた。

検体の臨床症状からみた送付状況では、呼吸器系疾患の流行は現在も継続しているものと推察される。ウイルス分離には、FL、Vero、RD-18S細胞を使用し、感受性を示したのはFL、Vero細胞で、最も高い感受性を示したのはFL細胞であった。

香川県環境保健研究センター
三木一男 亀山妙子 山西重機

<速報>

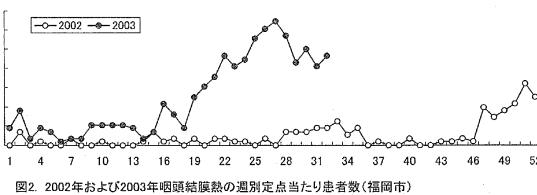
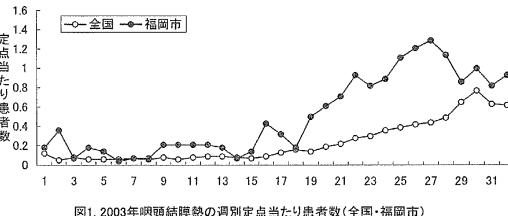
咽頭結膜熱の発生状況およびアデノウイルス3型の分離状況—福岡市

福岡市では、2003年5月（第19週）から定点当たりの咽頭結膜熱の患者数が増加し始め、第27週に定点当たり1.29人とピークを迎えた。その後も定点当たり1.0人前後の高い値で推移している（図1）。昨年の同時期の報告数と比較すると大きな流行であり（図2），今後の発生状況に注意が必要である。

2003年4月～6月の間に感染症発生動向調査事業で搬入された咽頭結膜熱（4例）、ヘルパンギーナ（1例）、急性上気道炎（1例）の患者検体からアデノウイルス3型（Ad3）を6株分離した。Ad3が分離された6検体のうち5検体が咽頭ぬぐい液、1検体が咽頭うがい液であり、これらの患者は1歳（3例）、2歳（1例）、4歳（1例）、6歳（1例）の乳幼児に限られていた。

ウイルス分離はRD-18S、HEp-2、Vero、CaCo-2を用いて行い、6株すべてがHep-2およびCaCo-2で分離された。ウイルス同定はデンカ生研の中和抗血清を用いた中和試験で行った。

福岡市でのAd3の分離は、昨年の2株に対し本年はすでに6株と、分離数が多くなっていることから、咽頭結膜熱と併せてその動向に注意が必要である。



福岡市保健環境研究所
山崎俊治 若月紀代子 真鍋和義

<外国情報>

HIV の早期検査と後期検査、2000～2003年——米国

HIV の抗体保有状況を知るのは予防や治療に重要である。2000年には米国で85万～90万人の HIV 感染者がいると推定され、4分の1が自分の HIV 感染を認識していないと考えられている。

2000年5月～2003年2月の間に、米国内の16カ所で7,584人を対象に、HIV の早期検査群と後期検査群の比較調査が行われた。18歳以上の HIV 感染者あるいは AIDS 患者の中で、初回の HIV 陽性検査から AIDS の診断まで5年以上経過した、あるいは、初回の HIV 陽性検査から5年以上経過しても AIDS と診断されていない群（早期検査群1,573人）と、初回の HIV 陽性検査から1年以内に AIDS と診断された群（後期検査群1,877人）を比較した。早期検査群よりも後期検査群の方に、若年（18～29歳）層であること、黒人かヒスピニックであること、学歴が高卒以下であること、異性間性的接觸で感染したことが多かった。新規の HIV 感染者と HIV 関連の有病者や死者を減らすには、早期に HIV 検査を受けること、また、HIV 感染者に対する予防治療のサービス向上が必要である。

(CDC, MMWR, 52, No. 25, 581-586, 2003)

HIV 感染者の急激な増加、1999～2001年——ロシア

1999年～2001年にかけて、ロシアでは HIV 感染者数が1.1万から17.7万へと16倍の増加を見せた。2001年に HIV 感染者49,434例の感染に関する危険因子が調査され、46,274例（94%）が静注薬物常用者（IDUs）という結果であった。

このような現状は大都市だけでなく周辺地域にも広がる傾向があり、ロシア有数の農業地帯である Orel Oblast では、1997年から2000年に HIV 感染者数が33倍に増加した。これを受けて Orel Oblast AIDS センターはアメリカ CDC と協力し、近年の HIV 感染者の傾向と IDUs の中での HIV 感染の危険行為について調査した。

1987年～1998年には Orel Oblast 居住者中の HIV 感染者数は8例であったが、1999年1月～2001年9月では380例であった。そのうち312例（82%）が男性、341例（90%）が30歳未満、313例（82%）が IDUs であった。女性の HIV 感染者は1999年1月では125例中15例（12%）であったが、2001年9月では190例中42例（22%）に増加していた。1987年1月～2001年9月の女性の HIV 感染者70例中33例（47%）、および男性の HIV 感染者318例中30例（9%）が異性間性的接觸による感染であると思われた。異性間性的接觸で感染したと考えられる63例のうち、31例（49%）が IDUs との性的接觸があった。

HIV に感染していない IDUs 110例に関して、HIV 感染の危険因子を調査した。その結果は、88例（80%）

が男性、97例（88%）が30歳未満、105例（95%）がヘロイン常用者であった。さらに、65例（59%）がときおり針を共有したと答え、68例（62%）が HIV によって汚染された可能性のある静注薬物を使用していた。このうち102例（93%）が、处方なしに合法的に入手できるようになっている未使用の針を手に入れるのは困難でない、と答えていた。

ロシアでは人口の1～2%，30歳未満男性の5～8%が IDUs であるとされている。今後、何らかの介入がなされなければ、ロシア国内で HIV が急速に広がることが懸念される。

(CDC, MMWR, 52, No. 28, 657-660, 2003)

エコーウイルス 9 & 30型関連無菌性髄膜炎の流行とエンテロウイルスサーベイランス、2003年——米国

無菌性（ウイルス性）髄膜炎は髄膜炎の中でもっとも一般的にみられるもので、毎年全米で約26,000～42,000例の入院患者を出している。エンテロウイルスが一般的によく見られる原因ウイルスであるが、エコーウイルス 9型（E9）とエコーウイルス 30型（E30）はしばしば流行と関連してきた。

2003年1月～8月7日までに25州から365件のエンテロウイルス検出報告があった。その中でもっとも多かったのは E9 と E30 で、E30 が132（36%）、E9 が108（30%）であった。E9 が主に東側の州、E30 が主に西側の州にみられる傾向があった。

2003年1月～8月7日までにいくつかの州で、無菌性髄膜炎の流行が報告された。このレポートでは、そのうち5つの州（アリゾナ、カリフォルニア、ジョージア、アイダホ、サウスカロライナ）での流行について概説する。

アリゾナ州：1月～7月31日までに合計465例の無菌性髄膜炎が報告された。そのうち62例からエンテロウイルスが分離され、47例（76%）が E30、1例（2%）が E9 であった。

カリフォルニア州：1月～8月5日までに合計1,753例の無菌性髄膜炎が報告された。ウイルス検出が試みられた148例のうち、82例（55%）が PCR 法または分離培養でエンテロウイルスが確認された。そのうち29例（85%）が E30、4例（12%）が E9 であった。

ジョージア州：3月10日～7月23日までに、50の郡から320例の無菌性髄膜炎が報告された。すでに24例から E9 が分離されている。さらに髄液24検体からエンテロウイルスが分離されており、髄液52検体が PCR でエンテロウイルス陽性を示している。この流行は8月7日現在まだ続いている。

アイダホ州：5月21日～7月17日にかけて、中北部の3つの郡から38例の無菌性髄膜炎が報告された。ウイルス検出を試みた4例中2例から E30 が分離された。

Evidence of the educational effect on AIDS prevention acquired from a project in Nagasaki, 2002	205
Increase in examinees by introduction of STI tests performed with HIV testing at a health center, 2002—Okayama City	206
Improvement of the laboratory steps in screening and confirmatory tests for diagnosis of HIV infection	207
Case reports on misidentification of <i>Escherichia coli</i> and <i>Morganella morganii</i> for <i>Shigella</i> —Okinawa, Shiga, Chiba and Tokyo	208
Important rules of <i>Shigella</i> identification	212
Problems in <i>Shigella</i> identification and proposals from clinical laboratory	213
A probable diffuse outbreak of EHEC O157:H7 infection due to raw minced beef (Yukke), July 2003—Saitama and Tokyo	214
An outbreak of <i>Salmonella</i> Enteritidis food poisoning at a dormitory, May 2003—Kyoto City	214
Composition of the 2003/04 influenza HA vaccine in Japan	215

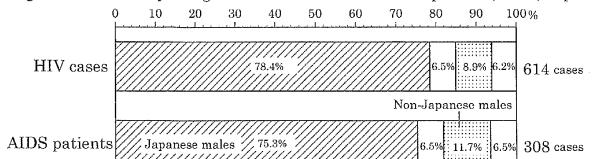
Selection of the 2003/04 influenza HA vaccine strains in Japan	215
Increase in hemagglutination activity against turkey blood cells observed by passages of influenza virus type AH3	217
Reports of enterovirus isolation in different places in Japan, April-August 2003	218-225
1. Hand, foot and mouth disease: Enterovirus 71-Fukushima, Shimane, Hiroshima, Kochi, Osaka City and Hiroshima City;	
2. Meningitis: Echovirus 30-Shiga, Nara, Kagawa, Kochi, Hiroshima City, Sakai City and Sapporo City, Echovirus 6-Sakai City; Echovirus 9-Kagawa; 3. Exanthema: Echovirus 9-Iwate; 4. Upper respiratory disease: Coxsackievirus A10 and Echovirus 30-Sapporo City; 5. Herpangina and upper respiratory disease: Coxsackievirus A4-Akita	
Isolation of adenovirus type 3, April-July 2003: Respiratory disease—Kagawa; Pharyngoconjunctival fever—Fukuoka City	225
AIDS and HIV infections in Japan, April-June 2003	227

<THE TOPIC OF THIS MONTH>
HIV/AIDS in Japan, 2002

The HIV/AIDS Surveillance was started in 1984 and was conducted in compliance with the AIDS Prevention Law from 1989 through March 1999. Since April 1999, it has been conducted as the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) (the category IV notifiable infectious diseases) under the Law Concerning the Prevention of Infectious Diseases and Medical Care for Patients of Infections (see IASR, Vol. 19, No. 4, Vol. 20, No. 4, Vol. 21, No. 7, and Vol. 22, No. 5 for the reporting system and the guideline). The number of HIV-infected persons without AIDS (hereafter abbreviated to HIV cases)* and AIDS patients* in the current article are both based on the 2002 Annual Report by the National AIDS Surveillance Committee (the data were confirmed on February 27, 2003). The 2002 Annual Report has been published by the Specific Disease Control Division, the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW).

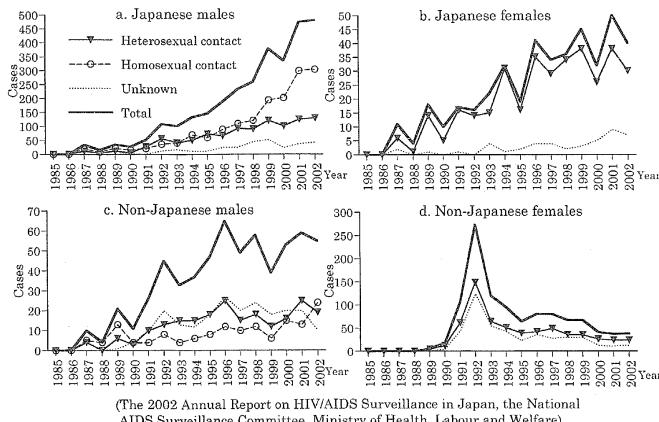
1. The trend of HIV/AIDS incidence 1985-2002: HIV cases newly reported during 2002 counted at 614 (536 males and 78 females) and AIDS patients counted at 308 (268 males and 40 females). Japanese males accounted for as high as 78% of HIV cases (76% in 2001) and 75% of AIDS patients (67% in 2001) (Fig. 1). The reports of HIV cases once decreased in 2000 but increased again in 2001 attaining the largest number ever reported, and in 2002 the number was the second largest, although smaller than 2001 by seven. The number of AIDS patients in 2002 was somewhat less than that in 2000 and 2001, but it did not seem on a decreasing tendency (Fig. 2).

Figure 1. Nationality and gender of HIV cases and AIDS patients, 2002, Japan



(The 2002 Annual Report on HIV/AIDS Surveillance in Japan, the National AIDS Surveillance Committee, Ministry of Health, Labour and Welfare)

Figure 3. Nationality, gender, and mode of infection of HIV cases, 1985-2002, Japan



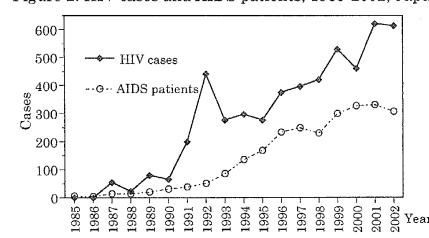
(The 2002 Annual Report on HIV/AIDS Surveillance in Japan, the National AIDS Surveillance Committee, Ministry of Health, Labour and Welfare)

*(1) Report of AIDS patients: These are reports of HIV cases with AIDS-defining diseases already developed at diagnosis. They might not notice their HIV infection before development of AIDS. (2) Report of HIV-infected: Reports of those whose infection became clear by a chance (blood test, consultation of a hospital, or blood donation) during the incubation period (average 10 years) after HIV infection and before developing AIDS-defining disease (see IASR, Vol. 23, No. 5). Once reported as HIV-infected, they may not be reported as AIDS patients even developing AIDS-defining disease later (in this case, reported voluntarily as separate case-follow-up data). HIV/AIDS reports, therefore, reflect the infection status during the past 10 years and the opportunity to receive HIV testing, not indicating the real-time infection status.

The cumulative number of reports from 1985 through December 31, 2002 (excluding those infected by use of coagulation factor products) counted at 5,140 for HIV cases and 2,556 for AIDS patients, corresponding to 4,050 HIV cases (3,566 until 2001) and 2,014 AIDS patients (1,770 until 2001) per 100,000 population. By a national survey independent of NESID, 1,431 HIV cases infected by use of coagulation factor products (including AIDS patients of 167 alive and 536 dead) were reported as of May 31, 2001.

Nationality and gender: The recent increase in HIV cases is ascribable mainly to the increase in Japanese male cases, but Japanese female cases are still continuing the upward tendency. Non-Japanese male cases are being kept on the same level or on a gradual increase but non-Japanese female cases are on a slow decrease (Fig. 3). For AIDS patients, increase in Japanese males is marked, although a slight decrease was noted in 2001, but again an increasing tendency was noted in 2002.

Figure 2. HIV cases and AIDS patients, 1985-2002, Japan



(The 2002 Annual Report on HIV/AIDS Surveillance in Japan, the National AIDS Surveillance Committee, Ministry of Health, Labour and Welfare)

(Continued on page 204')

