

今回開発したRSV及びHMPVのReal-time RT-PCR法は、従来のConventional RT-PCR法やNested PCR法と比較しても、PCR反応後の電気泳動が不用であり、PCR産物の確認（シーケンス解析等）も不用であることから、簡便で迅速にかつ高感度にRSVとHMPV遺伝子の検出と定量が可能である。従って、svARI集団発生時における行政検査、RSVまたはHMPVの発生状況等に関する疫学調査等に应用できる可能が示唆された。また、Real-time RT-PCR法のアニーリング温度を56°Cに統一したことから、1台の装置でRSVとHMPVを同時に検出可能であり、検査効率の向上にも貢献できるものと思われる。特にRSVのReal-time RT-PCR法は、1 tubeでRSV遺伝子の検出と同時に subgroupの型別も可能であることから、その効果は大きいものと考えられた。

E. 結論

svARI に関与するウイルスの検出法の開発を目的として、Real-time RT-PCR 法による RSV の検出と subgroup 型別、及び HMPV の検出系の構築について検討した。その結果、RSV の N 遺伝子に対する Nested PCR 法を基準とした場合の Real-time RT-PCR 法の検出感度は 100%、特異性も 100%であった。また、Real-time RT-PCR 法と Nested PCR 法による RSV の subgroup 型別の結果の乖離はなく、本法は RSV を対象とした遺伝子診断に有用であることが明らかとなった。

一方、HMPV の F 遺伝子に対する Nested PCR 法を基準とした場合の Real-time RT-PCR 法の検出感度は 55.8%、特異性は 95.5%であり、特に genotype A2 や B1 に対する検出感度が低い傾向が示唆され、更なるプライマーと TaqMan プロブの改良が必要であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1)横井 一、田中俊光、水村綾乃、北橋智子：

Real-time RT-PCR 法による RS ウイルス遺伝子の検出とサブグループ型別、感染症学雑誌、86(5)、569-576、2012

2.学会発表

1)田中俊光、横井 一、野田雅博、木村博一：千葉市における小児下気道炎患者から検出された呼吸器ウイルスの分子疫学、第 60 回日本感染症学会東日本地方会学術集会、2011 年 10 月 26_28 日、山形市

G. 知的所有権の取得状況

なし

表1 RSV の Real-time RT-PCR、Conventional RT-PCR、及び Nested PCR のプライマーと TaqMan MGB プローブの配列

PCR Assay	Primer or Probe	Sequence (5'→3') ^{*a}	Gene position (Polarity) ^{*b}	Location
Real-time RT-PCR	RSVf-F1	CARCAAAGTTAYTCTATCATGTC	F (+)	6460-6482 ^{*c}
	RSVf-R1	GATCCTGCATTRTCACARTACCA	F (-)	6656-6634 ^{*c}
	RSVfA-TPf2 ^{*c}	VIC-TGTAGTACAATTRCCACT-MGB-NFQ	F (+)	6510-6527 ^{*c}
	RSVfB-TPf ^{*d}	FAM-TGTRCAGCTRCCATC-MGB-NFQ ^f	F (+)	6563-6578 ^{*f}
Conventional RT-PCR	RSVAB-F	GTCTTACAGCCGTGATTAGG	N (+)	1628-1647 ^{*c}
	RSVAB-R	GGGCTTTCTTTGGTACTTC	N (-)	2465-2446 ^{*c}
Nested PCR	RSV A-F	GATGTTACGGTGGGGAGTCT	N (+)	1863-1882 ^{*c}
	RSV A-R	GTAACTGTAGTTAATCACA	N (-)	2197-2178 ^{*c}
	RSV B-F	AATGCTAAGATGGGGAGTTC	N (+)	1905-1924 ^{*f}
	RSV B-R	GAAATTGAGTTAATGACAGC	N (-)	2089-2070 ^{*f}

^{*a}Mix bases in degenerated primers and probe are as follows: Y, C or T; R, G or A.

^{*b}(+), Sense; (-), antisense.

^{*c}The MGB probe is labeled with VIC reporter dye at the 5' end, and with minor groove binder (MGB) and a nonfluorescent quencher (NFQ) at the 3' end of the oligonucleotide.

^{*d}The MGB probe is labeled with FAM reporter dye at the 5' end, and with minor groove binder (MGB) and a nonfluorescent quencher (NFQ) at the 3' end of the oligonucleotide.

^{*e}Location is relative to the genome of RSV subgroup A strain A2 (accession number M11486).

^{*f}Location is relative to the genome of RSV subgroup B strain 9320 (accession number AY353550).

表2 HMPV の Real-time RT-PCR、Conventional RT-PCR、及び Nested PCR のプライマーと TaqMan MGB プローブの配列

PCR Assay	Primer or Probe	Sequence (5'→3') ^{*a}	Gene position (Polarity) ^{*b}	Location
Real-time RT-PCR	hMPV-3S	ATGGCYGTYAGCTTCAGTCA	F (+)	3616-3635 ^{*d}
	hMPV-4S	GATGGCTGTCAGYTTTCAGTC	F (+)	3615-3635 ^{*d}
	hMPV-3As	TGYCCTGCAGATGTYGGCATGT	F (-)	3770-3749 ^{*d}
	hMPVa-TPr ^{*c}	FAN-ATTCCAGCRTTGTCTGA-MGB-NFQ	F (-)	3689-3673 ^{*d}
	hMPVb-TPr ^{*c}	FAM-ATCCCTGCATTGTCTGA-MGB-NFQ	F (-)	638-622 ^{*e}
Conventional RT-PCR	hMPV-1f	CTTTGGACTTAATGACAGATG	F (+)	3704-3724 ^{*d}
	hMPV-1r	GTCTTCCTGTGCTAACTTTG	F (-)	4153-4134 ^{*d}
Nested PCR	hMPV-2f	CATGCCGACCTCTGCAGGAC	F (+)	3750-3769 ^{*d}
	hMPV-2r	ATGTTGCAITCYTTGATTG	F (-)	4106-4087 ^{*d}

^{*a}Mix bases in degenerated primers and probe are as follows: Y, C or T; R, G or A.

^{*b}(+), Sense; (-), antisense.

^{*c}The MGB probe is labeled with FAM reporter dye at the 5' end, and with minor groove binder (MGB) and a nonfluorescent quencher (NFQ) at the 3' end of the oligonucleotide.

^{*d}Location is relative to the genome of HMPV genotype A1 strain NL/1/00 (accession number AF371337).

^{*e}Location is relative to the genome of HMPV genotype B2 strain NL/1/94 (accession number AY304362).

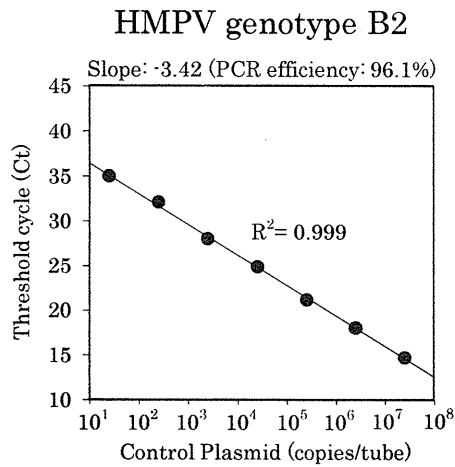
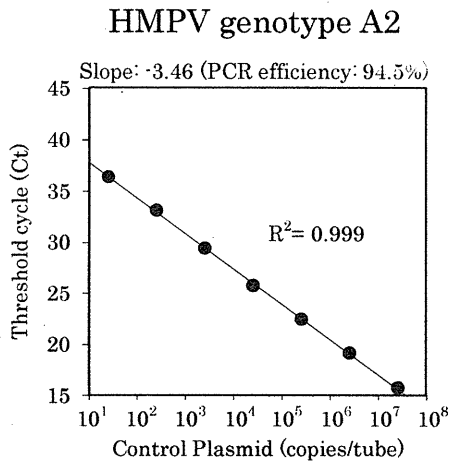
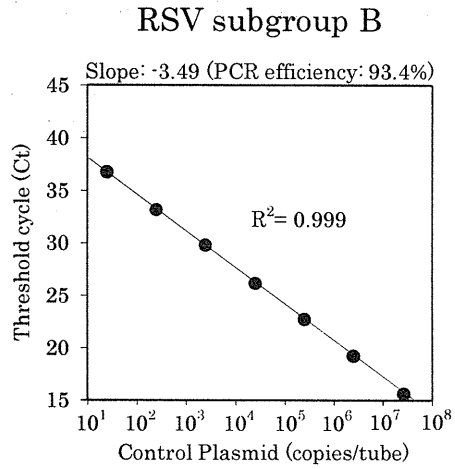
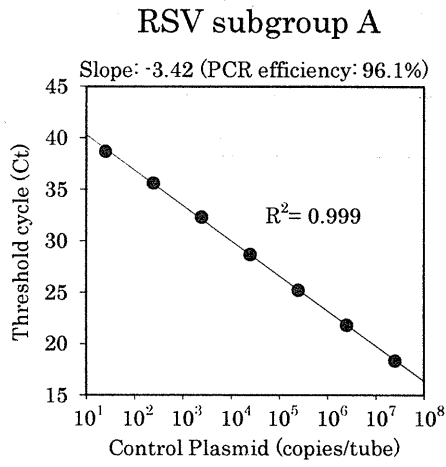


図1 RSV 及び HMPV の各コントロールプラスミドの 10 倍段階希釈系列を用いた Real-time RT-PCR 法による検量線

表 3 Real-time RT-PCR、Conventional RT-PCR、及び Nested PCR による
臨床検体からの RSV 遺伝子の検出感度と特異性の比較

RSV	Real-time RT-PCR		
	Positive	Negative	Total
Conventional RT-PCR			
Positive	31	0	31
Negative	9	114	123
Total	40	114	154
Nested PCR			
Positive	40	0	40
Negative	0	114	114
Total	40	114	154

表 4 Real-time RT-PCR、Conventional RT-PCR、及び Nested PCR による
臨床検体からの HMPV 遺伝子の検出感度と特異性の比較

HMPV	Real-time RT-PCR		
	Positive	Negative	Total
Conventional RT-PCR			
Positive	20	1	21
Negative	9	124	133
Total	29	125	154
Nested PCR			
Positive	24	19	43
Negative	5	106	111
Total	29	125	154

小児急性呼吸器感染症患者におけるウイルス検出状況と遺伝子解析

研究協力者	小林美保	群馬県衛生環境研究所
研究協力者	塚越博之	群馬県衛生環境研究所
研究協力者	菅井和子	国立病院機構横浜医療センター小児科
研究協力者	宮地由美子	国立病院機構横浜医療センター小児科
	小林慈典	国立病院機構横浜医療センター小児科
	鏑木陽一	国立病院機構横浜医療センター小児科
	石岡大成	群馬県衛生環境研究所
	野田雅博	国立感染症研究所
	木村博一	国立感染症研究所

研究要旨

2010年11月から2012年5月にかけて横浜市内の医療機関を受診した急性呼吸器感染症患者から採取された鼻腔拭い液 151 検体について、(RT)-PCR により原因ウイルスの検索を行った。その結果、human rhinovirus が 43 株、respiratory syncytial virus が 21 株、human metapneumovirus が 7 株、human parainfluenza virus が 6 株、adenovirus が 5 株および human bocavirus が 7 株、それぞれ検出された。

A.研究目的

小児における急性呼吸器感染症（ARI）の多くはウイルス感染に由来すると言われており、特に乳幼児期においては重症化が問題となる。また、乳幼児期のウイルス感染が気管支喘息の発症および増悪に関与することが示唆されている[Fujitsuka A, et. al.: BMC Infect Dis, 10; 11: 168, 2011]。

そこで小児急性呼吸器感染症を引き起こす原因ウイルスを特定・解析することを目的として鼻腔ぬぐい液から human rhinovirus (HRV)、respiratory syncytial virus (RSV)、human metapneumovirus (HMPV)、human parainfluenza virus (HPIV)、adenovirus (AdV) および human bocavirus (HBoV) の検出を試みた。

B.研究方法

2010年11月から2012年5月に国立病院機構横浜医療センター小児科を受診した患児から採取された鼻腔ぬぐい液 151 検体を材料とした。検体からウイルス核酸を抽出した後、HRV の VP4/VP2 領域[Ishiko H, et. al.: J Infect Dis, 185: 744-754, 2002]、RSV の G 遺伝子[Parveen S, et. al.: J Clin Microbiol, 44: 3055-3064, 2006]、HMPV の F 遺伝子[Peret T C, et al.: J Infect Dis, 185(11): 1660-1663, 2002]、HPIV の HN 遺伝子(1、2、3 型) および P 遺伝子(4 型) [Bellau-Pujol S, et. al.: J Virol Methods, 126: 53-63, 2005]を対象とした RT-PCR を行った。また、AdV の Hexon 遺伝子[藤本嗣人ら、: 感染症学雑誌、72(11): 1202-1207, 1998]、HBoV の NP1 領域[Allander T, et.al.: Proc Natl Acad Sci, 102:12891-12896, 2005]について PCR を行った。PCR 増幅産物はダイ

レクトシーケンスにより塩基配列を決定し、近隣結合法を用いて系統樹解析を行った。

C. 研究結果

RT-PCR および PCR によるウイルス検出結果を表1に示した。ウイルス検出数は HRV:43 株、RSV:21 株、HMPV:7 株、HPIV:6 株、AdV:5 株および HBoV:7 株であった。

検出された HRV、RSV、HMPV の分子系統樹を図1～3に示す。検出 HRV 計 43 株の VP4/VP2 領域について解析した結果、15 株が species A (HRV-A)、28 株が species C (HRV-C) にそれぞれ分類され、species B は検出されなかった。

検出 RSV 計 21 株は 8 株が subgroup A (RSV-A)、13 株が subgroup B (RSV-B) にそれぞれ分類された。

検出 HMPV 株は A2 型あるいは B1 型のいずれかの型に分類された。

D. 考察

本研究において供試した 151 検体のうち、77 検体(51%)より HRV、RSV、HMPV、HPIV、AdV および/あるいは HBoV などの ARI ウイルスが検出され、このうち 12 検体では複数ウイルス検出例であった。

HRV 検出株のうち、HRV-C は 28 株、HRV-A は 15 株であり、HRV-C が検出株数で優位であった。遺伝子型は多岐にわたり、検出株間の Pairwise distance は HRV-A が 0～0.251、HRV-C が 0～0.349 で、遺伝学的に多様であることが推測された。

検出 RSV の遺伝子型は、RSV-A ではすべて GA2 型、RSV-B ではすべて BA 型に分類された。これらの型は国内外において近年、報告数が多い遺伝子型であり [Rebuffo-Scheer C, et. al.: PLoS One, 6: e25468, 2011; Shobugawa Y, et. al.: J Clin Microbiol, 47: 2475-2482, 2009]、本研究における検出株でも同様の傾向がみられた。検出株

間の相同性は RSV-A、RSV-B 共に 95%以上と非常に高く、遺伝学的に近縁な株が地域で流行していたことが示唆された。

HBoV が検出された 7 検体はいずれも 2012 年 3～5 月に採取されたものであった。このうち 6 検体では HRV、RSV および/あるいは HMPV が同時に検出され、HBoV 単独検出は 1 検体のみであった。HBoV の検出例のうち約 4 割は別のウイルスと共に検出されているとの報告もあり [Neske F, et. al.: J Clin Microbiol, 45:2116-2122, 2007]、臨床像との関連づけにはさらなる検討が必要である。

E. 結論

ARI 患児の鼻腔ぬぐい液から ARI ウイルス検索を試みた結果、高頻度に HRV、RSV、HMPV、HPIV、AdV および HBoV が検出され、多様なウイルスが関与している可能性が示唆された。今後も調査を継続し、検出ウイルスと臨床像との関連を明らかにする必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Yoshida A, Kiyota N, Kobayashi M, Nishimura K, Tsutsui R, Tsukagoshi H, Hirano E, Yamamoto N, Ryo A, Saitoh M, Harada S, Inoue O, Kozawa K, Tanaka R, Noda M, Okabe N, Tashiro M, Mizuta K, Kimura H: Molecular epidemiology of the attachment glycoprotein (G) gene in respiratory syncytial virus in children with acute respiratory infection in Japan in 2009/2010. J Med Microbiol, 61, 820–829, 2012

2) Kobayashi M, Tsukagoshi H, Ishioka T, Mizuta K, Noda M, Morita Y, Ryo A, Kozawa K, Kimura H: Seroepidemiology of Saffold coronavirus (SAFV) genotype 3 in Japan. J Infect. J Infect, 66, 191-193, 2013

2. 学会発表

- 1) 小林美保、吉田綾子、筒井理華、塚越博之、清田直子、西村浩一、平野映子、野田雅博、岡部信彦、木村博一：2009/2010 シーズンに国内で検出されたRSウイルスG遺伝子の分子疫学. 第86回日本感染症学会学術講演、2012年4月、長崎市
- 2) 清田直子、小林美保、塚越博之、西村浩一、

原田誠也、野田雅博、木村博一：本邦におけるヒトライノウイルスCの分子疫学. 第82回日本感染症学会西日本地方会学術集会、2012年11月、福岡市

G.知的財産権の出願・登録状況
なし

表1 ウイルス検出結果

検出ウイルス	検出数 (%)
HRV	35 (23.2)
RSV	16 (10.6)
HMPV	5 (3.3)
HPIV	5 (3.3)
AdV	3 (2.0)
HBoV	1 (0.7)
RSV+HRV	2 (1.3)
RSV+AdV	2 (1.3)
RSV+HBoV	1 (0.7)
HMPV+HRV	1 (0.7)
HMPV+HBoV	1 (0.7)
HPIV+HRV	1 (0.7)
HRV+HBoV	4 (2.6)
計	77 (51.0)

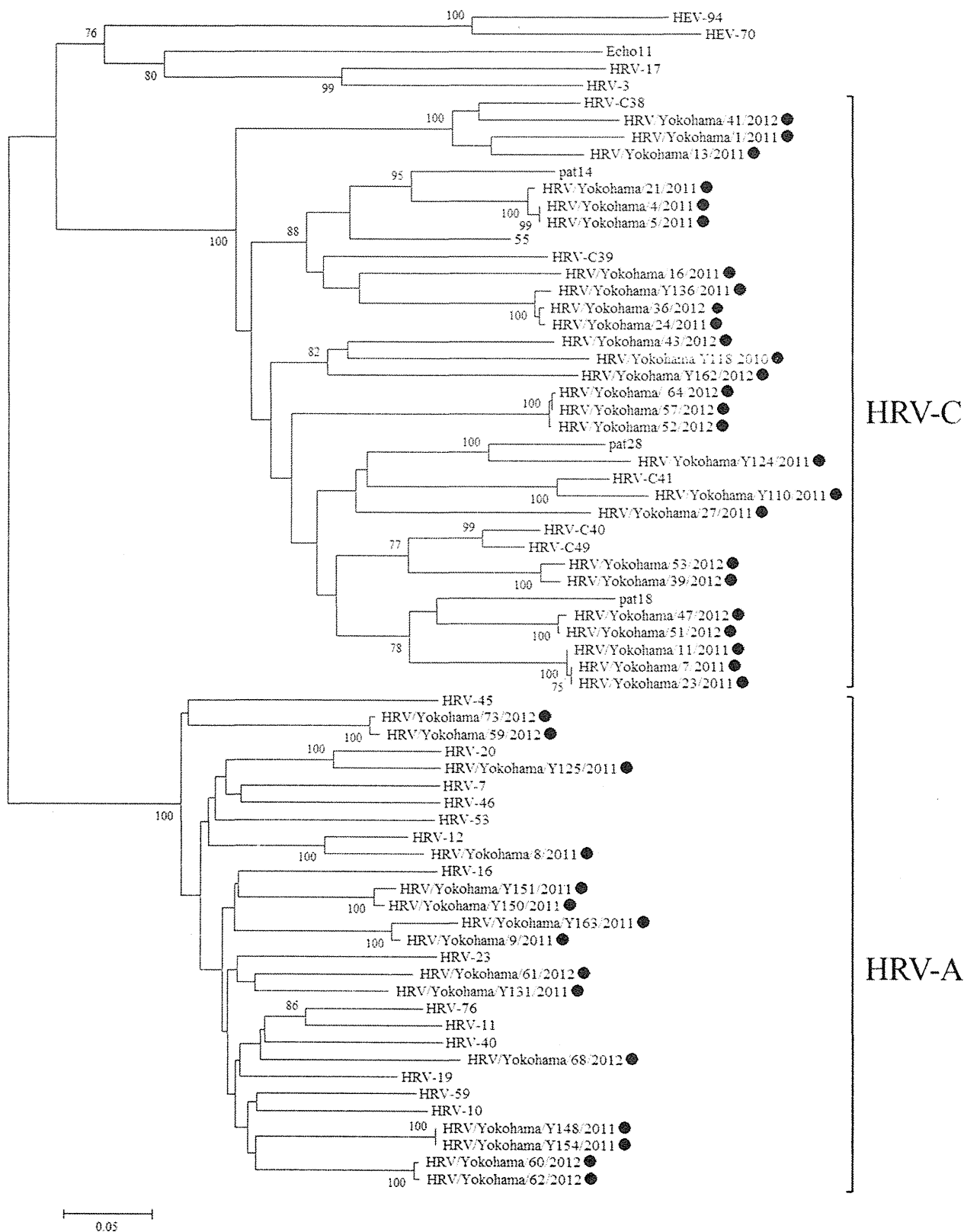


図1 HRV VP4/VP2 領域の塩基配列に基づく分子系統樹 (420nt)
* 検出株を●で示した

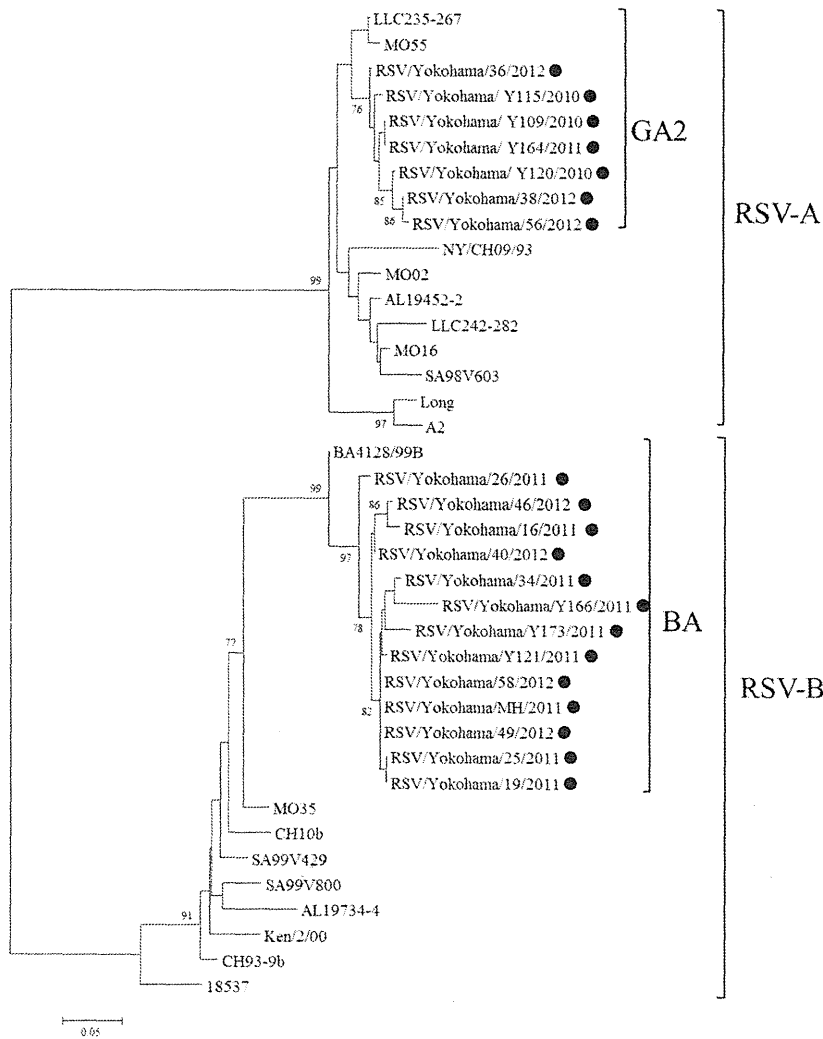


図2 RSV *G* 遺伝子の塩基配列に基づく分子系統樹 (RSV-A:240nt, RSV-B:294nt)
* 検出株を●で示した

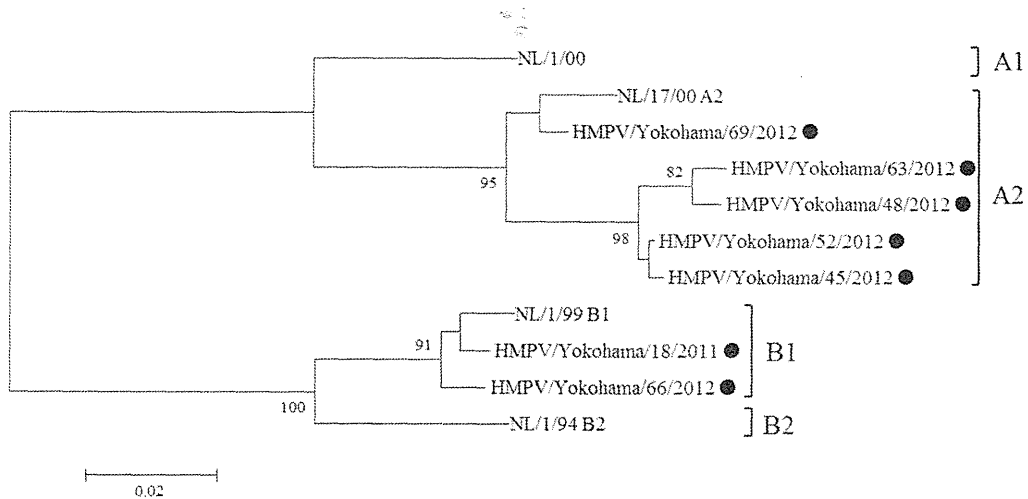


図3 HMPV *F* 遺伝子の塩基配列に基づく分子系統樹 (317nt)
* 検出株を●で示した

重症心身障害児（者）病棟における感染症の流行について

研究協力者	松田俊二	国立病院機構愛媛病院
研究協力者	鈴木由美	国立病院機構下志津病院
研究協力者	小村珠喜	島根県保健環境科学研究所
研究協力者	中村雅子	福井県衛生環境研究センター
研究協力者	平野映子	福井県衛生環境研究センター
研究協力者	清田直子	熊本県保健環境科学研究所
	野田雅博	国立感染症研究所

研究要旨

重症心身障害児（者）施設での感染症の流行は病棟当たり 0.5～1 回/年で、その半数以上が呼吸器感染症（主にウイルス性）と考えられる。2009 年より愛媛病院において原因ウイルスについて調査研究を行っているが、本年度も継続して PCR・シーケエンシングとウイルス分離培養によりウイルスの同定と臨床情報との比較をおこなった（2011 年度からは下志津病院も加わった）。本年度もヒトメタニューモウイルス(HMPV)、ヒトライノウイルス(HRV)の流行が確認され、2009 年 10 月から 2012 年 9 月までの 3 年間で HRV 4 回、HMPV 3 回、ヒトパラインフルエンザウイルス 2 回、エンテロウイルスとヒトコロナウイルスそれぞれ 1 回、合計 11 回の流行が確認された。ボカウイルス、Respiratory Syncytial ウイルスは現在まで確認されていない。また、それぞれのウイルスでは流行経過・臨床症状・検査所見などに特徴がみられた。しかし、なお病原体不明の呼吸器感染症の流行も多く（約 30%）、実態を明らかにして流行防止を図るには、今後も調査研究の継続が必要と考えられる

A.研究目的

国内には重症心身障害児（者）施設（長期滞在型の療養施設）が約 180 あり、施設内での感染症の流行が問題となっている。これら施設内で流行する感染症では、インフルエンザウイルス(FluV)やノロウイルス(NoV)感染の流行は報告されているが、それ以外の感染症（多くは呼吸器感染症）はほとんどが病原体不明のままである。そこで、2007 年より 5 年間の愛媛病院での感染症の流行状況を調査し、全国アンケート調査も行った。その結果、各病棟で平均毎年 0.5～1 回の感染症流行があり、その半数は病原体

不明の呼吸器感染症の流行であることがわかった。この病原体不明の呼吸器感染症について、2007 年からは迅速検査、2009 年 10 月からはウイルス分離・PCR で病原体の検出を試みた。2011 年度よりは下志津病院の同施設でも調査研究を開始した。その結果、数種類の病原ウイルスを同定することができ、流行形態・臨床症状との比較により興味ある結果が得られた。

B.研究方法

愛媛病院の重症心身障害児（者）病棟（入院患者 160 人）では 2007 年から 6 年間感染症流行

について調査を行い、2011年からは下志津病院も加わって、2施設で調査を行った。感染症の病棟内流行は同一症状の患者が5名以上発生した場合とした。愛媛病院の施設内での2007年11月15日から2010年10月末までの感染症発症者について以下の4種類の検査キットを用いて病原体検索を続けて行った。

1. インフルエンザウイルス抗原（ポクテムインフルエンザ A/B、シスメックス社）
2. 咽頭アデノウイルス抗原（イムノカード ST アデノウイルス、TFB 社）
3. 鼻腔 RS ウイルス抗原（イムノカード ST RSV、TFB 社）
4. 咽頭 A 群 β 溶連菌抗原（イムノカード EX ストレプ A、TFB 社）

なお、血中の IgM 抗マイコプラズマ抗体の測定は MBL に依頼した。

2009年10月からは感染者の咽頭 and/or 鼻腔ぬぐい液を採取し、島根県保健環境科学研究所（2009、2010年度）、福井県衛生環境研究センター（2011年度）、熊本県保健環境科学研究所（2012年度）にそれぞれ送付して、PCR・シーケンスとウイルス分離培養によりウイルスの同定を試みた。また2011年からは国立病院機構下志津病院の重心施設でも同様に感染症流行時のウイルス検出を試みた。

C. 研究結果

愛媛病院の重症心身障害児（者）病棟（入院患者160人）での2007年1月1日から2012年11月末日までの6年間の感染症流行は表1のとおりであった。病原体は NoV、FluV、マイコプラズマ、ヘルパンギーナは臨床所見・臨床検査より判明したが、残りの多数は病原体不明の呼吸器感染症であった。

全国アンケート調査の結果でも感染症流行回数は0.5回/病棟/年で、その約半数は病原体不明の呼吸器感染症であった。

4種の迅速検査キットを用いた病原体検索では、咽頭拭い液からストレプトコッカス抗原が74名中8名で陽性であった。その他は Respiratory Syncytial ウイルス(RSV)が鼻腔拭い液1名から検出されただけであった。

2009年10月から島根県保健環境科学研究所・福井県衛生環境研究センター・熊本保健環境科学研究所と共同して呼吸器ウイルスの検出を試みた。その結果を表2にしめす。

ヒトメタニューモウイルス(HMPV)の流行は愛媛病院で3回(2010年3月、2011年9月、2012年6月)あった。ヒトライノウイルス(HRV)の流行は愛媛病院で2回(2010年9-11月、2012年7-8月)、下志津病院で2回(2011年8月、2011年12月)の合計4回見られた。ヒトパラインフルエンザウイルス1型(HPIV-1)の流行は愛媛病院(2012年4月)と下志津病院(2011年10月)でそれぞれ1回ずつ合計2回見られた。他にはエンテロウイルス(EV)の流行が愛媛病院で1回、ヒトコロナウイルス(HCoV)の流行が下志津病院で1回みられた。

合計5種類の呼吸器ウイルスの11回の流行が確認されたが、その流行時期は一定していなかった(表3)。HRVが10月12月の他に8月にも流行し、HMPVは3月の他に6月、8-9月にも流行した。

表4に病原体が検出された呼吸器感染症の流行性・症状・合併症・検査結果の特徴などを示した。ストレプトコッカス感染症は流行性ほとんど無く、比較的高熱が多く、抗生物質が有効であった。マイコプラズマ感染症の流行は限定されていた。HRVは流行性が非常に高く、短期間に感染が拡大したが、一部の肺炎や気管支炎を併発した症例以外は比較的热は低く持続期間も短かった。HCoVは1回の流行だけであるが、同様と考えられる。HPIV-1やEVやHMPV感染症は中程度の流行性を示したが、発熱期間が比較的長く、肺炎の合併例が多く見られた。

D. 考察

重症心身障害者施設では、多種類の病原体による呼吸器感染症の流行がかなり高頻度で起きていることがわかった。全国の他の長期滞在型施設（特に老人施設）でも同様な問題があるかと推察される。

迅速検査が普及（原三千丸：小児科臨床、55(10)、1899-1902,2002；林国樹ら：感染症学会雑誌、79(4)、276-283、2005；山中龍宏ら：医学と薬学、56(5)、785-789、2006）はしているが、今回の調査では病原体検出は困難で、PCR やウイルス分離が必要であることが分かった。しかし、PCR やウイルス分離でも検出困難な病原体の流行も 30%くらいあることが分かった。さらに、詳細な方法で病原体を明らかにする必要がある。

今回の検索では既報どおりの時期にHRV、EV、マイコプラズマ、HMPV の流行（Human metapneumovirus：Lesson learned over the first decade. Clin. Microbiol. Rev. 734-754, 2011）があったが、2011年にはあまり報告されていない時期（8月；HRV、6月と8～9月；HMPV）に流行がみられ、感染症の流行時期が変化してきている可能性が考えられた。

重心病棟での感染症の流行防止には、次の項目が重要と考える。1. 病原体の持ち込みの防止、2. 感染者の早期隔離とスタンダードプレコーションの徹底、3. 非感染者の逆隔離、4. ICTをつうじて病棟閉鎖・解除の決定

今後もさらに詳細な検索の継続と流行に対する防止対策の改善が必要と考える。

E. 研究発表

1. 論文発表

1) 松田俊二、小村珠喜、塚越博之、野田雅博、木村博一：重症心身障害児（者）病棟におけるヒト・メタニューモウイルス感染症の流行. 感染症顎雑誌、86、109-114、2012

2) Matsuda S, Nakamura M, Hirano E, Kiyota N, Omura T, Suzuki Yumi, Noda M, Kimura H: Prevalence of Human Metapneumovirus Infection in Hospital Wards Housing Patients with Severe Motor and Intellectual Disabilities, Jap J Infect Dis. (manuscript submitted)

2. 学会発表

1) 松田俊二、小村珠喜、中村雅子、塚越博之、野田雅博、木村博一：長期入院施設において流行する呼吸器感染症の病原ウイルスの検索. 第86回日本感染症学会、2012年4月、長崎市

2) 松田俊二：重症心身障害児（者）病棟で流行する呼吸器感染症の病原体検索. 第38回日本重症心身障害学会、2012年9月、東京都

3) 松田俊二、若林美代子、鈴木由美、岡崎薫：重症心身障害児（者）病棟におけるヒト・メタニューモウイルス感染症の流行について. 第66回国立病院総合医学会、2012年11月、神戸市

4) S. Matsuda, M. Noda: Prevalence of human metapneumovirus-infection in hospital wards comprising patients with severe motor and intellectual disabilities. international meeting on emerging diseases and surveillance, 16-17. Feb. 2013, Vienna, Austria

表 1. 愛媛病院重心病棟における感染症流行

年	流行感染症	流行状況
2007年	ノロウイルス感染症	22病棟 (3/31-4/8)、患者 11名、職員 4名
		21病棟 (4/8-4/20)、患者 19名 (疑い 12名)、職員 6名
		24病棟 (4/19-5/2)、患者 11名 (疑い 12名)、職員 3名
	インフルエンザ	23病棟 (4/8-4/25)、患者 20名 (疑い 12名)
	ヘルパンギーナ	21病棟 (7/27-8/4)、患者 9名
	病原体不明の発熱	21病棟 (3/11-3/19)、患者 21名
		21病棟 (8/22-9/10)、患者 10名
2008年	病原体不明の発熱	22病棟 (3/2-3/12)、患者 7名
		21病棟 (4/17-4/22)、患者 16名
	ヘルパンギーナ	23病棟 (4/14-5/11) 患者 21名
2009年	病原体不明の発熱	23病棟 (5/9-6/4)、患者 9名
		21病棟 (5/25-6/16)、患者 5名
		22, 23病棟 (10/1-10/27)、患者 51名
		22病棟(11/1-11/12)、患者 9名
2010年	病原体不明の発熱	23病棟 (2/1-2/19)、患者 22名
		21, 22病棟 (3/8-4/12)、患者 32名
		23病棟 (7/8-7/19)、患者 11名
		22, 23, 21病棟 (10/14-11/16)、患者 23名
	マイコプラズマ感染症	22病棟 (10/10-10/31)、患者 9名
2011年	病原体不明の発熱	22病棟 (4月)
		23病棟 (8/22-9/15)、患者 12名
2012年	インフルエンザ	22, 23病棟 (1/16-1/25) 患者 5名 職員 3名
	病原体不明の発熱	23病棟(4/7-5/9) 患者 23名
		22病棟 (7/24-8/11) 患者 27名

表 2. 病棟内での呼吸器感染症の病原体の PCR・ウイルス分離による検索

検索	検体内訳および結果
1	検体採取期間： 2009年7月17日～11月9日（愛媛病院） 検体： 12症例の咽頭・鼻腔ぬぐい液 各12検体 結果： PCR (and 培養) 8症例の咽頭 and/or 鼻腔ぬぐい液より HRV 検出
2	検体採取期間： 2010年3月8日～4月16日（愛媛病院） 検体： 7症例の咽頭・鼻腔ぬぐい液 各7検体 結果： PCR (and 培養) 4症例の咽頭 and/or 鼻腔ぬぐい液より HMPV 検出
3	検体採取期間： 2010年10月14日～11月27日（愛媛病院） 検体： 10症例の咽頭・鼻腔ぬぐい液 各10検体 結果： PCR (and 培養) 10症例の咽頭 and/or 鼻腔ぬぐい液より EV 検出
4	検体採取期間： 2011年8月16日～8月25日（下志津） 検体： 6症例の鼻腔ぬぐい液 6検体 結果： PCR (and 培養) 5症例の鼻腔ぬぐい液より HRV 検出
5	検体採取期間： 2011年8月22日～10月1日（愛媛病院） 検体： 19症例の咽頭ぬぐい液7検体、鼻腔ぬぐい液 各19検体 結果： PCR (and 培養) 13症例の咽頭 and/or 鼻腔ぬぐい液より HMPV 検出
6	検体採取期間： 2011年10月21日（下志津病院） 検体： 7症例の鼻腔ぬぐい液7検体 結果： PCR (and 培養) 4症例の鼻腔ぬぐい液より HPIV-1 検出
7	検体採取期間： 2011年12月4日～12月8日（下志津病院） 検体： 5症例の鼻腔ぬぐい液5検体 結果： PCR (and 培養) 4症例の鼻腔ぬぐい液より HRV 検出
8	検体採取期間： 2012年3月4日～3月17日（下志津病院） 検体： 11症例の鼻腔ぬぐい液11検体 結果： PCR (and 培養) 7症例の鼻腔ぬぐい液より HCoV 検出
9	検体採取期間： 2012年4月7日～5月9日（愛媛病院） 検体： 15症例の鼻腔ぬぐい液15検体 結果： PCR (and 培養) 10症例の鼻腔ぬぐい液より HPIV-1 検出
10	検体採取期間： 2012年6月2日～6月7日（愛媛病院） 検体： 6症例の鼻腔ぬぐい液6検体 結果： PCR (and 培養) 5症例の鼻腔ぬぐい液より HMPV 検出
11	検体採取期間： 2012年7月26日～8月1日（愛媛病院） 検体： 19症例の鼻腔ぬぐい液19検体 結果： PCR (and 培養) 10症例の鼻腔ぬぐい液より HRV 検出

表 3. 呼吸器ウイルスの検出時期

2009 年		2010 年		2011 年		2012 年	
1 月		1 月		1 月		1 月	インフルエンザ
2 月		2 月	(?)	2 月		2 月	
3 月		3 月	HMPV	3 月		3 月	HCoV(下志津)
4 月		4 月		4 月	(?)	4 月	HPIV-1
5 月		5 月		5 月		5 月	
6 月		6 月		6 月		6 月	HMPV
7 月		7 月	(?)	7 月		7 月	
8 月		8 月		8 月	HRV(下志津)	8 月	HRV
9 月		9 月		9 月	HMPV	9 月	
10 月	HRV	10 月	マイコプラズマ	10 月	HPIV-1(下志津)	10 月	
11 月	(?)	11 月	EV	11 月		11 月	
12 月		12 月		12 月	HRV(下志津)	12 月	

表 4. 病原体検出症例の症状

病原体	流行性	症状	合併症	検査	治療
ストレプトコッカス	±	低～高熱 1 週前後持続	気管支炎、肺炎	好中球増加 CRP 上昇	抗生剤
マイコプラズマ	+	低～高熱、咳 持続は種々	気管支炎、肺炎	好中球軽度増加 CRP 軽度上昇	抗生剤
HRV	+++	低熱、鼻汁 数日のみ持続	少ない	—	—
HMPV	++	高熱、咳 1 週以上持続	肺炎の合併が多い	リンパ球の減少 単球の増加	—
EV	+(+)	様々な症状	肺炎の合併が多い	合併例で CRP 上昇、好中球増加	
PIV-1	++	高熱、咳 1 週前後持続	肺炎の合併有り	合併例で CRP 上昇、好中球増加	—
HCoV	++	低熱、鼻汁 数日持続	少ない	—	—

重症心身障害児（者）施設における呼吸器感染症の原因ウイルス検索

研究協力者	清田直子	熊本県保健環境科学研究所
研究協力者	松田俊二	国立病院機構愛媛病院
研究協力者	鈴木由美	国立病院機構下志津病院
	野田雅博	国立感染症研究所
	木村博一	国立感染症研究所

研究要旨

重症心身障害児（者）施設において 2011 年 10 月～2012 年 8 月に発生した急性呼吸器感染症（ARIs）9 事例について、原因ウイルスの探索を試みた。その結果、ヒトライノウイルス（HRV）が 3 事例、パラインフルエンザウイルス（PIV）が 2 事例、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）が 1 事例、ヒトコロナウイルス（HCoV）が 1 事例から検出された。HMPV や HRV はこれまでも当該施設にて流行が確認されており、一定の比率で病棟内流行を引き起こすことが考えられた。また、今年度研究で PIV および HCoV が初めて原因特定された。

A. 研究目的

重症心身障害児（者）施設においては感染症の流行がしばしば見られるが、原因病原体が不明なものも多い。不明なもの多くは呼吸器感染症であるが、原因病原体が特定された例は少なく、流行を防止するためにも病原体を特定することは重要である。

我われは 2009 年から重症心身障害児（者）施設における急性呼吸器感染症（ARIs）の原因ウイルス検索を行っており、これまでにヒトライノウイルス（HRV）、ヒトメタニューモウイルス（HMPV）、エンテロウイルス（EV）の流行が確認されている。今年度も引き続き、ARIs 症例の原因究明をウイルス検索を主に行った。

B. 研究方法

国立病院機構愛媛病院および下志津病院の重症心身障害児（者）施設において、2011 年 10

月から 2012 年 8 月の間に発生した集団 ARIs 事例の患者から採取された鼻咽腔ぬぐい液 72 検体（愛媛病院：49 検体、下志津病院：23 検体）を試験に供した。

検索 ARIs ウイルスは HRV、Respiratory Syncytial ウイルス（RSV）、ヒトパラインフルエンザウイルス（HPIV）、HMPV、ヒトコロナウイルス（HCoV）、ヒトボカウイルス（HBoV）、エンテロウイルス（EV）およびアデノウイルス（AdV）で、PCR を実施した。PCR 増幅産物について塩基配列解析を行い、近隣結合法による系統樹解析を行った。

C. 研究結果

愛媛病院事例 E-I、E-IV、E-V および E-VI、ならびに下志津病院事例 S-I、S-II および S-III から ARIs ウイルスが検出された。以下にそれぞれの事例のウイルス検出状況を記述する。

- 1) 事例 E-I : 2 検体中 1 検体から HRV が検出され、VP4/VP2 領域の系統樹解析の結果、HRV14 (species B) と同定された (図 1)。
- 2) 事例 E-IV : 15 検体中 10 検体から PIV-1 が検出された。PIV-1 が検出された患者の平均年齢は 40.3 ± 9.8 才で、10 名全てが 38 度以上の高熱を示し、8 名が咳漱、4 名が鼻漏を呈した。
- 3) 事例 E-V : 6 検体中 5 検体から HMPV が検出された。F 遺伝子に基づく系統樹解析の結果、subtype B2 と分類された (図 2)。HMPV が検出された患者の平均年齢は 37.4 ± 6.4 才で、5 名全てが 38 度以上の高熱を示し、2 名が肺炎を合併、1 名が咳漱を呈した。
- 4) 事例 E-VI : 19 検体中 10 検体から HRV が検出され、VP4/VP2 領域の系統樹解析の結果、HRV58 (species A) と同定された (図 1)。HRV が検出された患者の平均年齢は 41.7 ± 8.2 才で、10 名全てが 38 度以上の高熱を示し、4 名が肺炎を合併、5 名が咳漱を呈した。
- 5) 事例 S-I : 7 検体中 4 検体から PIV-1 が検出された。PIV-1 が検出された平均年齢は 33.3 ± 16.8 才で、そのうち 3 名が 38 度以上の高熱を示し、1 名が肺炎を合併、2 名が鼻漏を呈した。
- 6) 事例 S-II では 5 検体中 4 検体から HRV が検出され、VP4/VP2 領域の系統樹解析の結果、HRV-C35 (species C) と同定された (図 1)。HRV が検出された平均年齢は 25.0 ± 13.6 才で、そのうち 1 名が 38 度以上の高熱を示し、3 名が鼻漏、1 名が咳漱を呈した。
- 7) 事例 S-III : 11 検体中 7 検体から HCoV HKU1 が検出された。HCoV HKU1 が検出された患者の平均年齢は 37.4 ± 6.4 才で、そのうち 6 名が 38 度以上の高熱を示した。

D. 考察

今回 ARIs ウイルスが検出された事例 E-I、E-IV、E-V、E-VI、S-I、S-II および S-III のうち、ウイルスが高率に検出された事例は E-IV の

PIV-1(66.6%)、E-V の HMPV(83.3%)、S-II の HRV(80.0%)、S-III の HCoV(63.6%)であり、それぞれの ARIs 流行の主因となっていたことが示唆された。事例 E-VI の HRV および事例 S-I の PIV-1 では、ウイルス検出率はいずれも 50 数%であるが、流行の主因となっていた可能性が高いと考えられる。

いっぽう、事例 E-VI では、HRV 不検出の 9 名の臨床所見は高熱が 7 名、肺炎が 4 名と重症化傾向を示しており、HRV のみならず別の病原体の二次感染の可能性もあり得ることも考えられた。

今回、一部の事例では HMPV と HRV の流行が確認されたが、当該施設では過去の集団発生 ARIs 事例で、2009 年に HRV-A、2010 年に HMPV B2、2011 年に HRV-A および HMPV A2 が、それぞれ検出されている。とくに、老人施設での HMPV 流行が報告されているが、重症心身障害児 (者) 施設でも、HMPV と HRV は感染力、伝搬様式等の要因から一定の頻度で病棟内の ARIs 流行に関与している可能性が高いと考えられる。

E. 結論

重症心身障害児 (者) 施設の 2011 年 10 月～2012 年 8 月の間の ARIs 事例から HMPV、HRV、PIV-1 および HCoV が検出され、流行の主たる原因ウイルスであったことを確定した。ARIs 流行の探知と速やかな原因究明特定は、施設内 ARIs 流行の制御や予防対策への一助となると考える。

F. 研究発表

1 論文発表

- 1) 松田俊二、小村珠喜、塚越博之、野田雅博、木村博一：重症心身障害児 (者) 病棟におけるヒト・メタニューモウイルス感染症の流行、感染症学雑誌、86 (2)、109-114、2012

2) Matsuda S, Nakamura M, Hirano E, Kiyota N, Omura T, Suzuki Yumi, Noda M, Kimura H: Prevalence of Human Metapneumovirus Infection in Hospital Wards Housing Patients with Severe Motor and Intellectual Disabilities, Jap J Infect Dis. (received)

2 学会発表

1) 松田俊二、小村珠喜、中村雅子、塚越博之、野田雅博、木村博一：長期入院施設において流

行する呼吸器感染症の病原ウイルスの検索.第 86 回日本感染症学会、2012 年 4 月、長崎市

2) 松田俊二：重症心身障害児（者）病棟で流行する呼吸器感染症の病原体検索. 第 38 回日本重症心身障害学会、2012 年 9 月、東京都

3) 松田俊二、若林美代子、鈴木由美、岡崎薫：重症心身障害児（者）病棟におけるヒト・メタニューモウイルス感染症の流行について.第 66 回国立病院総合医学会、2012 年 11、神戸市

表1 発生事例概要

事例	施設	患者 No.	検体採取日	検体数	検出ウイルス	陽性数
E-I	愛媛病院	E-I-1, 2	2011.12.26	2	HRV14	1
E-II	愛媛病院	E-II-1~4	2012.3.16~3.30	4	-	-
E-III	愛媛病院	E-III-1~3	2012.4.11	3	-	-
E-IV	愛媛病院	E-IV-1~15	2012.4.11~4.20	15	PIV-1	10
E-V	愛媛病院	E-V-1-1~5	2012.6.2~6.7	6	HMPV	5
E-VI	愛媛病院	E-VI-1~19	2012.7.26~8.1	19	HRV58	10
S-I	下志津病院	S-I-1~7	2011.10.21~11.2	7	PIV-1	4
S-II	下志津病院	S-II-1~5	2011.12.8	5	HRV-C35	4
S-III	下志津病院	S-III-1~11	2012.3.7~3.14	11	HCoV HKU1	7
合計				72		41

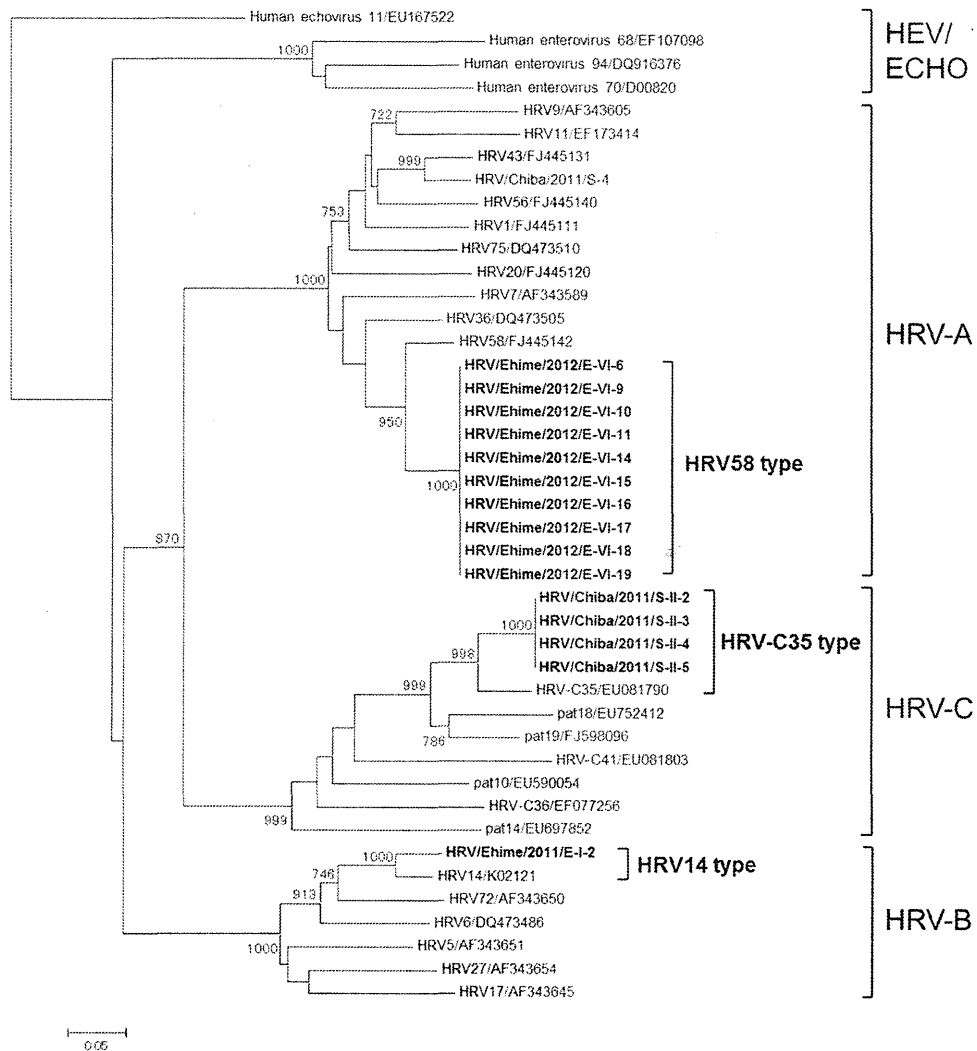


図1 HRV VP4/VP2 領域分子系統樹 (390nt)

太字 : 本事例株、HRV/Chiba/2011/S-4 : 2011年8月下志津病院検出株

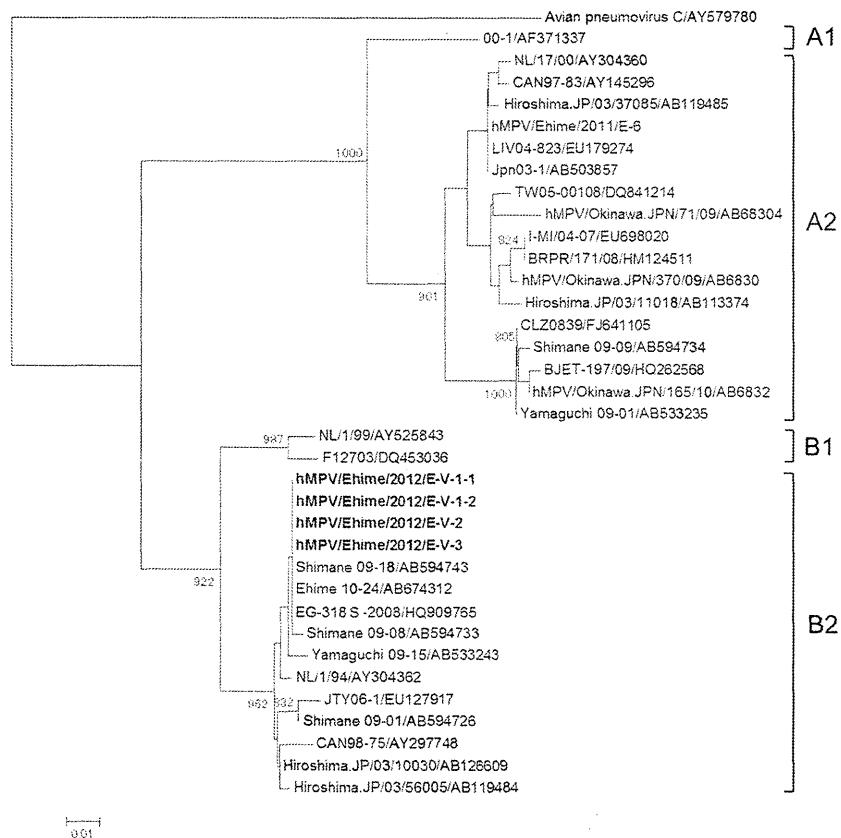


図2 HMPV *F* 遺伝子分子系統樹 (317nt)

太字：本事例株、Ehime 10-24/AB674312：2010年3月愛媛病院検出株
 hMPV/Ehime/2011/E-6：2011年8~9月愛媛病院検出株

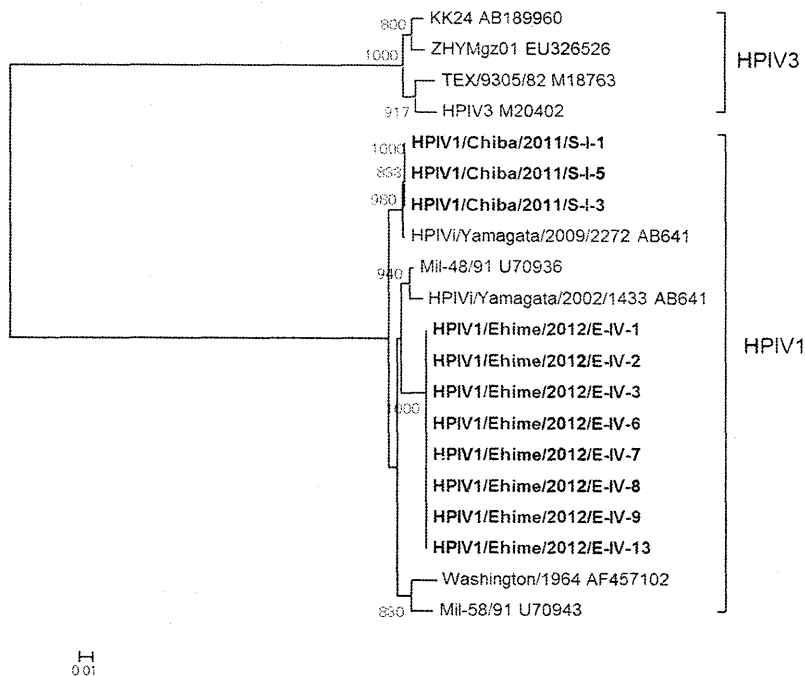


図3 PIV-1 *HN* 遺伝子分子系統樹 (1233nt)

太字：本事例株