

平成16年京都市感染症発生動向調査事業における 病原体検査成績

梅垣康弘¹，福味節子¹，宇野典子¹，平野隆¹，近野真由美¹，渡辺正義¹，三上信彦¹

Isolation of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2004

Yasuhiro UMEGAKI, Setsuko FUKUMI, Noriko UNO, Takashi HIRANO,
Mayumi KONNO, Masayoshi WATANABE, Yoshihiko MIKAMI

Abstract : Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2004. Of 315 patients, 126 were positive for viral and/or bacterial agents. A total of 61 strains of viruses and 93 strains of bacteria were isolated. Yearly isolation rate of the agents per patient was 40.0%. *Influenza viruses* were isolated from January to February, mainly from the patients with flu-like symptoms, while *enteroviruses* were isolated from early summer to late fall mainly from the patients with acute infections of upper respiratory tract, herpangina or aseptic meningitis. *Coxsackie B virus* type 5 was isolated from April to August, mainly from the patients with aseptic meningitis or acute infections of upper respiratory tract or fever of unknown origin. Various types of viruses were mostly isolated in the 2 age groups of 0 - 4 years and 5 - 9 years. Some mixed infections of bacteria, such as *Haemophilus influenzae*, and virus, such as *coxsackie B virus* type 5, were observed.

Key Words : 感染症発生動向調査 infectious disease surveillance, インフルエンザウイルス *influenza virus*, エンテロウイルス *enterovirus*, コクサッキーウイルス *coxsackie virus*, インフルエンザ菌 *Haemophilus influenzae*

はじめに

京都市は昭和57年度から京都市感染症発生動向調査事業を行っている。当所では本事業のうち、流行性疾患の病原体検索を行い、検査情報の作成と還元を行うとともに、各種疾病と検出病原体との関連について解析を行っている。

本報告では、平成16年1月から12月までに実施したインフルエンザ定点、小児科定点、基幹定点の病原体定点についての検査成績を述べる。

材料と方法

1. 検査対象感染症

平成16年1月から12月までに病原体検査を行った疾病は感染性胃腸炎、インフルエンザ、急性上気道炎、急性咽頭炎、扁桃炎、気管支炎・肺炎、異型肺炎、クループ、手足口病、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、発しん症、感染性髄膜炎、脳・脊髄炎、口内炎、不明熱、溶血性連鎖球菌感染症、リンパ節炎、伝染性単核球症、百日せき様疾患、けいれん及びその他7疾病の計28疾病であった。

2. 検査材料

検査材料は、市内3箇所の病原体定点（インフルエンザ、小児科、基幹定点）医療機関の協力により採取されたもので、患者315人から糞便69検体、咽頭ぬぐい液199検体、髄液72体、尿2検体、膈分泌物1検体の計343検体である。

ウイルス検査には全検体を、また、細菌検査にはこれらのうち、患者258人から糞便59検体、咽頭ぬぐい液183検体、髄液25検体、尿2検体、膈分泌物1検体の計270検体を供した。

3. 検査方法

1) ウイルス検査

検査材料の前処理は、糞便についてはイーグル MEM 培地 5 ml を加え10%乳剤とし、遠心分離後その上清をマイクロフィルターでろ過した。咽頭ぬぐい液等はイーグル MEM 培地 3 ml を加えてマイクロフィルターでろ過した。

このようにして得られた試料を各種の培養細胞に接種して培養を行い、ウイルスによる細胞変性効果を顕微鏡下で観察した。培養細胞として FL（ヒト羊膜由来）、RD-18S（ヒト胎児横紋筋腫由来）、Vero（アフリカモドリザル腎由来）を用いた。また、同試料を1～2日齢の ddY 系ほ乳マウスの脳内及び皮下に接種し、発症の有無を観察した。

¹ 京都市衛生公害研究所 微生物部門

インフルエンザの分離には MDCK細胞（イヌ腎由来）を
通年用いた。

検出したウイルスの同定は中和反応，補体結合反応，赤
血球凝集抑制反応，蛍光抗体法及び PCR 法のうち適切な
方法を用いた。ロタウイルス，アデノウイルスの抗原検出
は免疫クロマト法，腸管系アデノウイルス(40/41型)の抗
原検出は酵素免疫法(EIA)により行った。

2) 細菌検査

病原細菌の分離，同定は以下のとおりである。糞便から
の病原細菌は，検体を分離培地に直接塗抹し分離した。使
用した培地は，卵黄加食塩マンニット寒天培地（黄色ブド
ウ球菌），SS 寒天培地（サルモネラ・赤痢菌），TCBS
寒天培地（コレラ菌，腸炎ピブリオ），ドリガルスキー改
良培地（その他の腸内細菌）である。咽頭ぬぐい液は，チ
ョコレート寒天培地（肺炎球菌・インフルエンザ菌），
SEB 増菌培地及び血液寒天平板培地（溶血連鎖球菌・黄
色ブドウ球菌），PPLO 二層培地（肺炎マイコプラズマ）
を用いた。髄液は検体を遠心分離して得られた沈渣を血液
寒天培地，チョコレート寒天培地に塗抹し分離した。尿は
スライドカルチャーU（栄研化学）に直接塗抹し，グラム
陰性桿菌と総生菌数を測定した。

分離された菌は鏡検，確認培地等による生化学的性状検
査，血清凝集反応，PCR 法等により同定した。

成績及び考察

1. 月別病原体検出状況

各月の受付患者数をみると，1月，12月が40人以上で，
その他の月は15～28人であった。月平均受付患者数は26.3
人であった。年間の被検患者315人のうち126人（40.0%）
から154株の病原微生物を検出した。検出率は2月，8月
が50%台と高率であり，これに次いで3月～5月，9月～
11月が40%台で，1月，6月，7月が30%台，12月は20%
台であった。

ウイルス検査では，被検患者315人中60人から計61株の
ウイルスを検出した。患者当たりのウイルス検出率は19.0
%であった。ウイルス検出率をみると，2月，8月が30%
台，これに次いで3月，7月，11月が20%台，1月，4月
～6月，9月，10月が10%台，12月は10%未満であった。

内訳はエコーが3型1株，6型1株の計2株，コクサッ
キーA群が4型8株，16型1株の計9株，コクサッキーB
群が3型1株，5型5株の計6株，アデノが1型3株，2
型9株，3型2株，5型3株，40/41型1株の計18株，単
純ヘルペス1型が3株，ロタが8株，ムンプスが2株，

RSが5株，インフルエンザA(H3N2)型（以下A香港型）
が8株であった。

検出ウイルスの季節推移をみると，インフルエンザA香
港型は1月に3株，2月に5株検出した。インフルエンザ
Aソ連型，インフルエンザB型は検出しなかった。ロタは
1月～3月に1～4株を検出した。エコー3型は11月，6
型は10月に各1株ずつを検出した。コクサッキーA群は4
型が5月，6月，8月に1～5株，16型は12月に1株を検
出した。コクサッキーB群は3型が9月に1株，5型は4
月，7月，8月に1～3株を検出したエコー，コクサッキ
ーA群，コクサッキーB群などのエンテロウイルスは夏季
を中心に検出する傾向が本年も認められた。アデノは1型
が1月，4月，11月に各1株ずつ，2型は6月，7月，9
月～11月に1～5株，3型は1月，8月に1株ずつ，5
型は3月，7月，11月に各1株ずつ，40/41型は9月に1
株検出した。

病原細菌検査では，被検患者258人中78人から計93株の
病原細菌を検出し，患者当たり検出率は30.2%であった。

内訳は，主なものではA群溶血性連鎖球菌11株，インフ
ルエンザ菌33株，黄色ブドウ球菌18株，肺炎球菌18株，病
原性大腸菌4株であった。

最多検出のインフルエンザ菌は年中検出し，特に5月，
9月，10月が5株と最多の検出であった。黄色ブドウ球菌
は5月を除く月に検出し，特に2月に4株と多かった。A
群溶血性連鎖球菌は1月～3月，5月，6月，10月，11月，
肺炎球菌は3月，10月を除く月にそれぞれ検出した(表1)。

2. 疾病別病原体検出状況

受付患者数の多かった上位5疾病は急性上気道炎の76人，
感染性胃腸炎の64人，気管支炎・肺炎の50人，インフル
エンザ及び感染性髄膜炎の25人であった。

急性上気道炎，インフルエンザ，急性咽頭炎，扁桃炎，
気管支炎・肺炎，異型肺炎，クループ，手足口病，ヘルパ
ンギーナ，咽頭結膜熱，口内炎等を加えた呼吸器疾患が，
本年の受付患者数の約60%を占めた。

主な疾病別のウイルス検出率は，ヘルパンギーナが100
%，扁桃炎が50%と高率であり，次いで口内炎の30%台，
感染性胃腸炎，インフルエンザ，急性上気道炎，異型肺炎
の20%台となっている。

主な疾病についてウイルス検出状況をみると，インフル
エンザからインフルエンザA香港型，RSの計2種7株，
急性上気道炎からエコー2種，コクサッキーA群1種，コ
クサッキーB群1種，アデノ3種，単純ヘルペス1型の計
8種19株，感染性胃腸炎からエコー1種，コクサッキーA

群2種、コクサッキーB群1種、アデノ1種、単純ヘルペス1型、ロタの計7種14株、ヘルパンギーナからコクサッキーA群3種、単純ヘルペス1型の計4種11株、感染性髄膜炎からエコー4種、コクサッキーA群1種の計5種16株、不明熱からエコー2種、コクサッキーA群1種、アデノ1種、ロタの計5種5株を分離した。

また、主な疾病からの病原細菌検出状況をみると、急性上気道炎からA群、B群、C群及びG群溶血性連鎖球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌の計7種35株、感染性胃腸炎からA群溶血性連鎖球菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、病原性大腸菌の計4種12株、インフルエンザからインフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌の計2種4株、気管支肺炎からA群及びB群溶血性連鎖球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌の計5種21株、異型肺炎からインフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、肺炎マイコプラズマの計3種4株を分離した(表2)。インフルエンザ菌と肺炎球菌が急性上気道炎患者から同時に検出される事例が多くみられた。

3. 年齢階級別病原体検出状況

被検患者の年齢階級別分布をみると、0～4歳で217人と最も多く、次いで5～9歳の58人、10～14歳の31人で、15歳以上では9人と少なかった。

病原体検出率を年齢層別にみると、0歳で32.9%、1～4歳で48.9%、5～9歳で34.5%、10～14歳で35.5%、15歳以上では11.1%であった。

ウイルス検出率は、0歳で10.5%、1～4歳で24.8%、5～9歳で19.0%、10～14歳で16.1%、15歳以上では11.1%であった。

検出病原体の種類は、1～4歳で21種84株と圧倒的に多く、多様であった。0歳で10種29株、5～9歳で13種26株、10～14歳で8種14株、15歳以上では1種1株を検出した。

エンテロウイルス群は0歳で3種4株、1～4歳で4種8株、5～9歳で3種5株、10～14歳、15歳以上での検出はなかった。検出率は0歳(5.3%)、1～4歳(5.7%)、5～9歳(8.6%)、10～14歳及び15歳以上(0%)で5～9歳が最も高かった。ロタウイルスは1～4歳から6株(4.3%)、10～14歳から2株(6.5%)、0歳、5～9歳、15歳以上では検出しなかった。また、アデノウイルスは1～4歳で11株、0歳、5～9歳、10歳～14歳で各2株を検出し、15歳以上で1株検出した。インフルエンザA香港型の検出率は1～4歳で4株(2.8%)、5～9歳で3株(5.2%)、10歳～14歳で1株(3.2%)を検出し、0歳、15歳以上での検出はなかった。インフルエンザAソ連型、インフルエンザ

B型はすべての年齢層で検出しなかった。

また、細菌検出率は、0歳で29.5%、1～4歳で33.9%、5～9歳で26.1%、10～14歳で28.0%、15歳以上では0%であった。

検出病原細菌の種類は0歳で5種21株、1～4歳で7種48株、5～9歳で7種15株、10～14歳で4種9株、15歳以上での検出はなかった(表3)。

4. 主な疾病と病原体検出状況

1) 本市感染症発生動向調査患者情報によれば、インフルエンザは、平成16年1月第2週に定点当たりの患者数が1.0人を超え流行期に入り、平成16年2月の第6週にピークとなり、その後すみやかに減少し、3月の第12週辺りで1.0人を下回り終息した。

1～3月の流行盛期に主としてインフルエンザ患者から、インフルエンザウイルスA香港型を8株を検出した。

ウイルスの検出状況は、A香港型のみが検出される流行であった。Aソ連型、B型は検出しなかった。また、検出したA香港型ウイルスはワクチン株(A/パナマ/2007/99)からHI値で4倍以上抗原変異したA/福建/441/2002株と類似していた。

表2に示したように、ウイルスは主に臨床診断名インフルエンザ患者から検出したが、異型肺炎、溶血性連鎖球菌感染症の患者からも検出している。

全国の流行状況は、平成15年12月第52週に定点当たりの患者数が1.0人を超え流行期に入り、平成16年1月第5週をピークに減少し、3月第14週辺りで1.0人を下回り終息した(Fig.1)。

ウイルスの検出状況は、報告されたウイルスの大部分はA香港型で、B型はわずかにみられた。Aソ連型はほとんどみられなかった。ウイルスはA/福建/441/2002類似株が9割以上占めていた。B型は山形系統に属する株が8割であった^{1,2)}。

平成13年11月からは、インフルエンザは予防接種法の2類疾病に分類され、定期予防接種の対象者(65才以上の方及び60歳以上64歳以下の方で心臓やじん臓、呼吸器等に重い病気のある方)以外の方は任意接種で、本人の希望により予防接種が行われている。ワクチン接種率は上昇しつつあるものの現状は低い状態にあり、厚生労働省の感染症流行予測事業における抗体調査の結果からみても、各流行型に対する市民の乳幼児や成人層での抗体保有率は低いものと考えられる。このようななか、インフルエンザウイルスに起因する脳症や、インフルエンザが引き金となる肺炎等の重篤な疾患の発生が報道され、インフルエンザが危険な

表3 年齢階級別病原体検出状況（インフルエンザ定点，小児科定点，基幹定点分）

平成16年1月～12月

年齢		0歳	1～4歳	5～9歳	10～14歳	15歳以上	計	病原体 検出 比率 (%)
受付患者数		76	141	58	31	9	315	
検査 材料	糞便	16	27	13	9	4	69	
	咽頭ぬぐい液	48	96	36	17	2	199	
	髄液	25	28	11	7	3	72	
	尿					2	2	
	膿分泌物					1	1	
病原体検出患者数		25	69	20	11	1	126	
患者あたりの検出率 (%)		32.9	48.9	34.5	35.5	11.1	40.0	
ウ イ ル ス	被検患者数	76	141	58	31	9	315	
	検出患者数	8	35	11	5	1	60	
	患者あたりの検出率 (%)	10.5	24.8	19.0	16.1	11.1	19.0	
	エコー3型		1 W				1	0.6
	エコー6型			1 S			1	0.6
	コクサッキーA4型	2 J	4	2			8	5.2
	コクサッキーA16型		1				1	0.6
	コクサッキーB3型	1					1	0.6
	コクサッキーB5型	1	2 F	2			5	3.2
	アデノ1型		2 E			1	3	1.9
	アデノ2型	2	4 W	2 V	1 T		9	5.8
	アデノ3型		1 M		1		2	1.3
	アデノ5型		3 LU				3	1.9
	アデノ40/41型		1				1	0.6
	単純ヘルペス1型		2	1			3	1.9
	ロタ		6		2		8	5.2
	ムンプス		2				2	1.3
	RS	2	3 NY				5	3.2
	インフルエンザA(H3N2)型		4	3 C	1		8	5.2
	小計	8	36	11	5	1	61	39.6
細 菌	被検患者数	61	121	46	25	5	258	
	検出患者数	18	41	12	7	0	78	
	患者あたりの検出率 (%)	29.5	33.9	26.1	28.0	0.0	30.2	
	A群溶血性連鎖球菌		5 RU	3 C	3		11	7.1
	B群溶血性連鎖球菌	1	2 E	1			4	2.6
	C群溶血性連鎖球菌			1 H			1	0.6
	G群溶血性連鎖球菌		2 O				2	1.3
	インフルエンザ菌	4	23 FIKLMNPQRXY	4 GHS	2 T		33	21.4
	黄色ブドウ球菌	9 ADO	3	3 V	3 BT		18	11.7
	肺炎球菌	5 ADJ	11 FIKPX	2 GH			18	11.7
	サルモネラ			1			1	0.6
	病原性大腸菌	2 O	2				4	2.6
	肺炎マイコプラズマ				1 B		1	0.6
小計	21	48	15	9	0	93	60.4	
合計	29	84	26	14	1	154	100.0	

注) A～Y：同一被検者

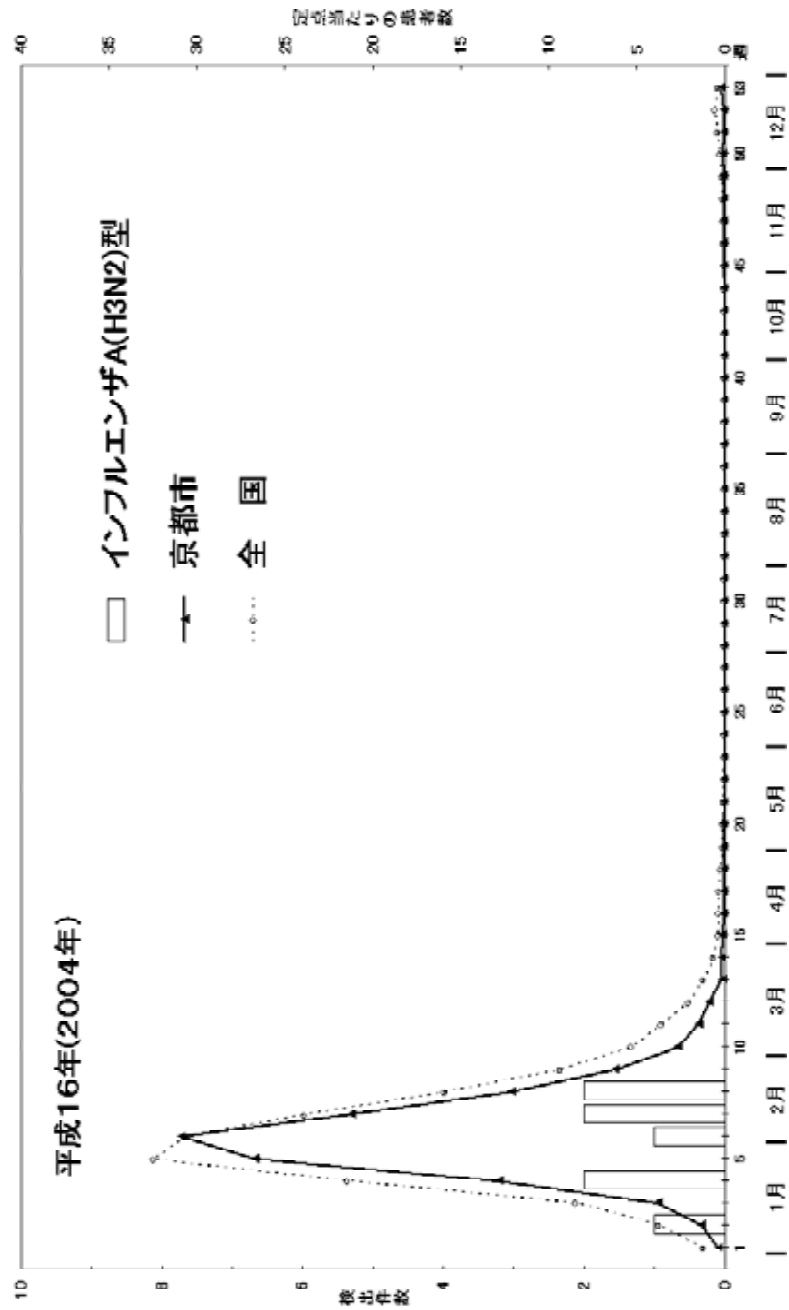


Fig.1. Seasonal prevalence of patients with influenza, and weekly isolation of influenza virus.

感染症であるという認識がようやく一般に定着してきた。更に、新型インフルエンザウイルスの出現に対する危惧は、平成15年2月にA(H1N2)型が国内で初めて検出された事例や、香港における高病原性鳥インフルエンザウイルスA(H5N1)型、オランダにおけるA(H7N7)型の出現とヒトへの感染(死亡例を含む)により現実となった。これらのことから、インフルエンザ患者発生と流行ウイルスの型別とを、迅速かつ的確に把握する感染症発生動向調査事業は、インフルエンザの流行の予防対策のためにも、今後ますます重要になると思われる。

2) 感染性胃腸炎は冬季に流行のピークがあるものの、患者発生は通年にわたっている。感染症発生動向調査においても、感染性胃腸炎患者数は例年とほぼ同数であった。患者数を全国と比較すると1月についてはこれを下まわり、2月、3月は上まわるが、4月~12月についてはほぼ一致している。糞便からのウイルスの検出状況は、ロタを1月~3月に、アデノ1型を1月に、2型及び5型を11月に、40/41型を9月に、コクサッキーA16型を12月に検出している(Fig. 2)。

細菌ではA群溶血性連鎖球菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ、病原性大腸菌を検出した。感染症発生動向調査において下痢症患者は例年と比較して特に多くはなかったが、病原性大腸菌検査の重要性を考慮するならば、今後、より多くの下痢症患者検体を入手できるよう努めたい。

3) 本市におけるヘルパンギーナの流行は、今年は第24週(6月)をピークとし5月から9月の長期にわたったが、被検患者数が少なく検出病原体はコクサッキーA4型を2株のみ検出するにとどまった(Fig. 3)。全国の本疾患からの病原体検出状況を見ると、コクサッキーA2型、4型、コクサッキーB群の報告例が上位を占め²⁾、複数のウイルスによる流行が起こったことをうかがわせる。

4) 本市における本年の感染性髄膜炎患者からは合計3種のウイルスを検出した。ウイルスは、7月にムンプス、8月にコクサッキーB5型、9月にコクサッキーB3型を患者髄液より分離した。本年の感染性髄膜炎は主としてムンプス並びにコクサッキーB群による小流行が起こったものと思われる(Fig. 4)。

全国レベルでは髄膜炎患者からはエコー6型の分離数が最も多く、次いでコクサッキーB1型、エコー18型、コクサッキーB5型、3型の報告が多かった²⁾。

5) 急性上気道炎(かぜ症候群)患者における病原体の検出は、エコー3型、6型、コクサッキーA4型、コクサッキーB5型、アデノ1型、2型、3型、単純ヘルペス1型といった多種類のウイルスを検出し、かぜ症候群の起因病原体が多様であることをうかがわせている(Fig. 5)。

病原性の高いウイルスの場合は、髄膜炎など重症の疾患に至る可能性もあり、流行時のウイルス学的検索は治療や予防に重要な情報を与えてくれる。

5. 検体別・検出方法別病原ウイルス検出状況

エコー3型、6型の2例はRD-18Sで分離した。コクサッキーA4型、16型は9例中すべてがほ乳 Maus からの分離であり、A4型は一部RD-18Sからも分離した。コクサッキーB群は6例中1例を除きFLでの分離であるが、一部Veroからも分離した。アデノは40/41型を除き、全例FLで分離したが、一部RD-18S、Veroでも分離した。単純ヘルペスはFL、RD-18S、Vero、ほ乳 Maus で分離した。ムンプスは全て髄液からVeroで分離した。RSはFLとVeroで分離した。インフルエンザA香港型は1例遺伝子検査で同定したものを除きMDCKでの分離である。ロタは免疫クロマト法により抗原を検出した(表4)。

培養細胞法などによるウイルス検査体制はほぼ確立されているが、これらの方法では検出感度の低いウイルスや検出困難なウイルスもある。また、感染症発生動向調査においても、迅速な実験室診断が要請される傾向は年々ますます強まっている。本年は検出率と迅速性の向上をめざして、一部の病原体についてPCR法による病原体遺伝子検出技術を導入し検査を行った。患者あたりの病原体検出率は40.0%で前年(44.7%)をやや下回っている。従来法に比べて分離率が極端に向上した検査や迅速性の向上した検査もあり、治療や防疫に寄与できるものと思われるため、PCR法をはじめとした技術的検討を更に推進する必要がある。