

【資料】

平成30年度感染症流行予測調査（ポリオ感染源調査）

Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases in Okayama Prefecture (2018-2019)
- Surveillance of Poliovirus in Influent Sewage Water -

松岡保博, 橋本清美, 石井学, 長尾和彦, 濱野雅子, 森重李南, 木田浩司, 村上由美*

*岡山県保健福祉部

MATSUOKA Yasuhiro, HASHIMOTO Kiyomi, ISHII Manabu, NAGAO Kazuhiko,
HAMANO Masako, MORISHIGE Rina, KIDA Kouji, MURAKAMI Yumi*

要 旨

厚生労働省委託事業である感染症流行予測調査のうち、感染源調査の一環として、ポリオウイルス野生株の侵入及びワクチン由来ポリオウイルス株の伝播の監視を目的に、岡山県内の下水処理場1施設の流入下水におけるポリオウイルスサーベイランスを実施した。その結果、調査期間を通じてポリオウイルスは分離されなかった。一方で、ポリオウイルス以外のウイルスが63株分離され、その内訳は、コクサッキーウイルスB4型が4株、コクサッキーウイルスB5型が7株、エコーウイルス7型が1株、エコーウイルス11型が16株、ヒトアデノウイルス2型が2株、ヒトアデノウイルス5型が5株、ヒトアデノウイルス57型が2株、哺乳類オルソレオウイルスが26株であった。今年度の調査は、新規導入した細胞種（Hep2及びVeroE6）により、これまで分離できていなかった2種の腸管系ウイルス（HAdV及びMRV）を分離することができた点が昨年度までと異なる。今後もポリオウイルスの監視を継続するとともに、他種ウイルスについても個々に適した検出方法を検討して調査に活用することで、より有益な情報の収集に努めていきたい。

[キーワード：感染症, サーベイランス, ポリオウイルス, エンテロウイルス, 下水]

[Key words: Infectious disease, Surveillance, Poliovirus, Enterovirus, Sewage water]

1 はじめに

ポリオは急性灰白髄炎とも呼ばれ、エンテロウイルス属のポリオウイルスにより引き起こされる疾患である。免疫を持たないヒトがポリオウイルスに感染すると、多くは不顕性感染又はかぜ様症状を呈した後に回復するが、まれに麻痺性ポリオを発症する。現在のところ、ポリオに対する有効な治療薬は存在しないため、流行制御の基本はワクチンによる予防接種である。

厚生労働省委託事業である感染症流行予測調査は、予防接種が実施されている様々な感染症に対する集団免疫の把握（感受性調査）及び病原体の検索等の調査（感染源調査）を行うことで、総合的に感染症の流行を予測するとともに、予防接種事業の効果的な運用を図ることを目的としている。ポリオウイルスの感染源調査はその一環であり、流行地域からのポリオウイルス野生株の侵入及び国内でのワクチン由来ポリオウイルスの伝播を継続して監視するために実施されている。本調査は、下水処理場への流入下水を対象としていることから、顕性、不顕性感染に関わらず、地域のヒト集団で伝播しているポ

リオウイルスを効率よく検出することが可能である¹⁾。また、付随して検出される他のウイルスについても疫学解析に利用できる。

今回我々は、平成30年（2018年）4月から平成31年（2019年）3月の期間に県内の下水処理場1施設から採取した流入下水を対象に、ポリオウイルスの感染源調査を実施した。

2 材料と方法

2.1 材料

平成30年4月から平成31年3月の期間に、県内のA下水処理場（処理人口約3万6千人）で毎月1回採取した流入下水500 mLを用いた。

2.2 ウイルスの分離及び同定

平成30年度感染症流行予測調査実施要領²⁾及び感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年6月）³⁾に従い、材料の流入下水を陰電荷膜吸着誘出法により100倍濃縮したものを検体とし、試験に供した。24ウェルプレートに培養した4種類の細胞（L20B, RD-A, Hep2, VeroE6）

のそれぞれ4ウェルに検体を0.1 mLずつ接種し、常法どおり培養した。全てのウェルについて1週間ごとに継代し、2週間の観察期間中の細胞変性効果（cytopathic effect；以下「CPE」という。）の出現を指標として、ウイルス検索を行った。CPEが出現したウェルの培養上清液を回収し、CPEの形態からエンテロウイルス属であると推定されたものについて、病原体検出マニュアル「手足口病」⁴⁾に従い、ダイレクトシークエンス法により決定したVP1遺伝子領域の一部の塩基配列を、データベースの既知株と比較してウイルスの種及び遺伝子型を同定した。また、ヒトアデノウイルス（以下「HAdV」という。）であると推定されたものについて、病原体検

出マニュアル「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎」⁵⁾に従い、ダイレクトシークエンス法により決定したヘキソン遺伝子領域の一部の塩基配列を、データベースの既知株と比較して遺伝子型別を実施した。分離された細胞種及びCPEの形態から哺乳類オルソレオウイルス（以下「MRV」という。）であると推定されたものについては、Learyらの方法⁶⁾に従い、RdRp領域の一部を増幅するPCRにより同定した。

3 結果及び考察

調査期間を通じてポリオウイルスが分離されなかったことから、A下水処理場の処理地域におけるポリオウイ

表1 流入下水からの採水月別ウイルス検出状況

検出ウイルス	採水月												合計
	2018.04	2018.05	2018.06	2018.07	2018.08	2018.09	2018.10	2018.11	2018.12	2019.01	2019.02	2019.03	
ポリオウイルス													0
コクサッキーウイルスB4型(CB4)									2	1		1	4
コクサッキーウイルスB5型(CB5)						5	2						7
エコーウイルス7型(E7)												1	1
エコーウイルス11型(E11)					3	1	3	4	4		1		16
ヒトアデノウイルス2型(HAdV2)									2				2
ヒトアデノウイルス5型(HAdV5)			2					1				2	5
ヒトアデノウイルス57型(HAdV57)		2											2
哺乳類オルソレオウイルス(MRV)		2	1		4	4	4			4	4	3	26
合計	0	4	3	0	7	10	9	5	8	5	5	7	63

表2 流入下水及び感染症患者からの月別ウイルス検出状況

検出ウイルス	検体採取月												
	2018.04	2018.05	2018.06	2018.07	2018.08	2018.09	2018.10	2018.11	2018.12	2019.01	2019.02	2019.03	
流入下水からの検出						CB5	CB5		CB4	CB4		CB4	
					E11	E11	E11	E11	E11		E11		
			HAdV5					HAdV5				HAdV5	
		HAdV57											
		MRV	MRV		MRV	MRV	MRV			MRV	MRV	MRV	
	感染症患者からの検出	CA2	CA2		CA2								
				CA4			CA4						
				CA9	CA9		CA6		CA6	CA6			CA6
						CA10	CA10						
					CA16	CA16	CA16	CA16	CA16				
			CB2							CB4			
								E18	E11	E11			
						EV68							
									HAdV1				
							HAdV3					HAdV2	
				HAdV5				HAdV5					
				HAdV31					HAdV31				
	HAdV41												
				HAdV54	HAdV54								
					HAdV56								
					HAdV85								

CA：コクサッキーウイルスA EV：エンテロウイルス ：流入下水、感染症患者双方から同月に検出

ルス野生株の侵入及びワクチン由来ポリオウイルス株の伝播はなかったと考えられる。一方、ポリオウイルス以外のウイルスが63株分離され、その内訳は、エンテロウイルス属については、コクサッキーウイルスB（以下「CB」という。）4型が4株、CB5型が7株、エコーウイルス（以下「E」という。）7型が1株、E11型が16株であり、その他のウイルスについては、HAdV2型が2株、HAdV5型が5株、HAdV57型が2株、MRVが26株であった（表1）。

本調査の分離株を、同期間の感染症発生動向調査の患者分離株と比較したところ、両調査ともに分離されたのはCB4型、E11型、HAdV2型及びHAdV5型であり、このうち同月に分離されたのはCB4型、E11型及びHAdV5型であった（表2）。これらのウイルスが分離された感染症発生動向調査の検体は、全て下水中に排出される可能性の高い感染性胃腸炎患者由来であることから、下水を検体とした本調査により、地域流行の一端を捕捉できたと考えられる。一方、感染症発生動向調査では、手足口病及びヘルパンギーナ患者からエンテロウイルス属の一血清群であるコクサッキーウイルスA（以下「CA」という。）が多く分離されたが、下水からは全く分離されなかった。この傾向は、過去の調査でも同様であり、下水から分離される主要なエンテロウイルス属は、E又はCBに偏っていた^{7), 8)}。CAを分離することができない詳細な原因は不明であるが、株化細胞における分離効率の影響が大きいと考えられる。

本調査では、感染症発生動向調査では検出されなかったウイルスが、エンテロウイルス属以外にも多く検出された。その中でも、県内で初めて分離されたHAdV57型は、2001年にアゼルバイジャンで発見されたが、県内での患者報告例は未だなく、国内でも4例にとどまる。今回の結果は、既に県内に侵淫しているHAdV57型を、患者発生に先んじて探知したことを示唆している。また、MRVについては、ヒトへの病原性は極めて低いとされ、感染症発生動向調査の患者から検出されることは少ないが、今回の結果から、下水中に一年を通して排出されていることが明らかとなった。

今年度の調査は、新規導入した細胞種（Hep2及びVeroE6）により、これまで分離できていなかった2種の腸管系ウイルス（HAdV及びMRV）を分離することができた点が昨年度までと異なる。本事業の目的は、あくまでエンテロウイルス属の一種であるポリオウイルスの監視であるため、例年、付随して分離されたエンテロウイルスについてのみ流行解析を実施してきたが、今回の

結果は、下水中の他種ウイルスに応用することで、県内の感染症流行状況をより詳細に把握・推察できることを示唆するものであった。しかしながら、現段階では分離株の遺伝子型に偏りが見られるなど、改善すべき課題も多い。今後はポリオウイルスの監視を継続するとともに、他種ウイルスについても個々に適した検出方法を検討して調査に活用することで、より有益な情報の収集に努めていきたい。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所感染症疫学センター：平成26年度（2014年度）感染症流行予測調査報告書、8-15、2016
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課：平成30年度感染症流行予測調査実施要領、5-8、2018
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所感染症流行予測事業委員会：感染症流行予測検査術式、2002
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル「手足口病」、17-35、2018
- 5) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎」、12-27、2017
- 6) Leary T P, Erker, J C, Chalmers M L, Cruz A T, Wetzel J D, et al.: Detection of Mammalian Reovirus RNA by Using Reverse transcription-PCR: Sequence Diversity Within the lambda3-encoding L1 Gene, J.Clin.Microbiol., 40, 1368-1375, 2002
- 7) 梶原香代子, 磯田美穂子, 木田浩司, 谷川德行, 松岡保博ら：平成28年度感染症流行予測調査（ポリオ感染源調査）、岡山県環境保健センター年報、42, 63-65, 2018
- 8) 橋本清美, 松岡保博, 野宮加代子, 濱野雅子, 木田浩司ら：平成29年度感染症流行予測調査（ポリオ感染源調査）、岡山県環境保健センター年報、43, 111-113, 2018