

いる。2015年は、2013年より続いて3年連続で増加し、2009年の報告数とほぼ同じであった。

各年齢群でインフルエンザウイルスが多く報告されていたが、0-4歳ではHHV6の報告も同様に多くこの年齢群の特徴をよく表していた。5-19歳ではマイコプラズマ、60歳以上では単純ヘルペスウイルスが多いなどの特徴もみられた。

一方、予防接種法に基づく予防接種後副反応として2013年4月から2014年9月までに報告された34例の急性脳炎・脳症およびADEM症例について検討した結果、ワクチンの標準的な接種年齢や季節的な接種状況との関連が考えられた。今後は分母情報とともに検討することが重要であり、そのためには正確な被接種者数の情報が必要である。また、報告された症例については十分な原因究明を行い、他の要因による紛れ込みの鑑別等を行う必要がある。

しかし、原因を究明するためには、適切な臨床検体の採取・保管・搬送と、搬送後の検査診断体制の充実が必要である。病原体検索のためには、採取される検体の質が極めて重要であること今回作成した検体採取・保存・搬送のためのガイドラインが急性期検体を用いた適切な病原体検索の浸透に資することが期待される。

医療機関への情報提供を徹底して、一人でも多くの急性脳炎・脳症の原因究明に繋がられるよう、検討を続ける必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto S, Takahashi S, Tanaka R, Okayama A, Araki A, Katano H, Tanaka-Taya K, Azuma H: Human herpesvirus-6 infection-associated acute encephalopathy without skin rash. *Brain Dev.* 37:829-832, 2015.
- 2) Masanori Sato, Makoto Kuroda, Masashi Kasai, Hikoro Matsui, Tetsuhiro Fukuyama, Harutaka Katano, Keiko Tanaka-Taya: Acute encephalopathy in an immunocompromised boy with astrovirus-MLB1 infection detected by next generation sequencing. *Journal of Clinical Virology.* 78: 66-70, 2016

- 3) 多屋馨子: 急性脳炎・脳症の原因究明 医療機関・保健所・地研・感染研の連携の重要性. *臨床とウイルス.* 43 (4): 198-205, 2015

- 4) 奥野英雄、多屋馨子: わが国の急性脳炎(脳症を含む)の発生動向と今後の課題. *小児科.* 56(6): 831-837, 2015

2. 学会発表

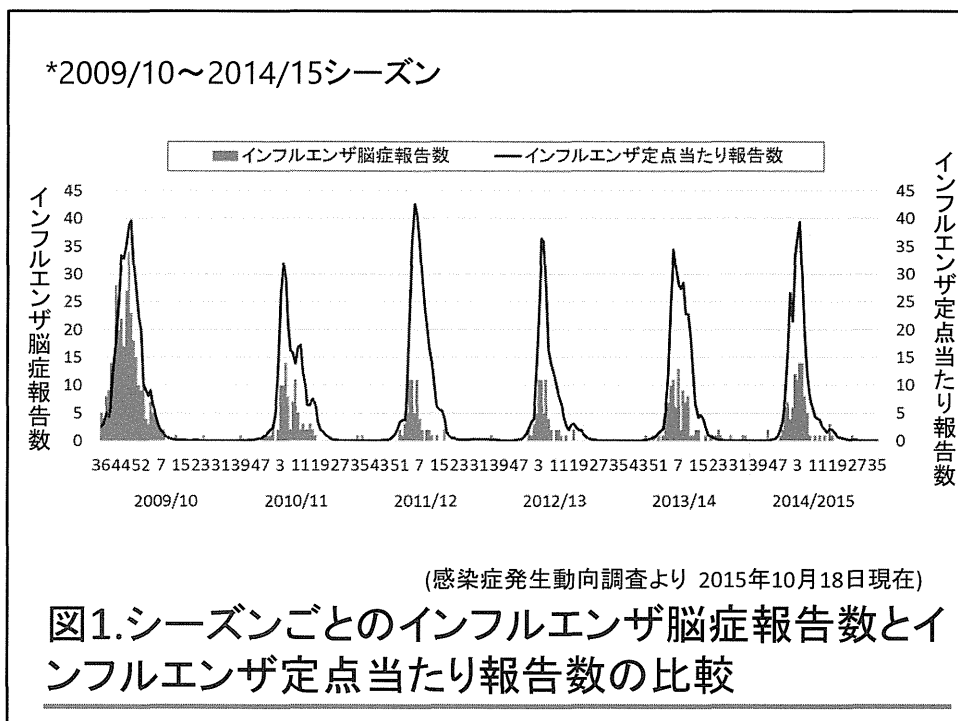
- 1) 多屋馨子: シンポジウム1 感染研・地衛研の連携: その時その場の使命. 急性脳炎・脳症の原因究明~医療機関・保健所・地研・感染研の連携の重要性~. 第56回日本臨床ウイルス学会(岡山、2015年6月)
- 2) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、木下一美、砂川富正、大石和徳、多屋馨子: わが国の急性脳炎(脳症を含む)の発生動向と今後の検討課題. 第55回日本臨床ウイルス学会(札幌、2014年6月)
- 3) 奥野英雄、佐藤弘、新井智、砂川富正、大石和徳、多屋馨子: 国内で使用可能なワクチンが存在する疾患に合併した急性脳炎(脳症を含む)の発生動向. 第46回日本小児感染症学会総会・学術集会(東京、2014年10月)
- 4) H. Okuno, T. Sunagawa, S. Morino, H. Satoh, S. Arai, K. Oishi, and K. Tanaka-Taya. Acute encephalitis and encephalopathy associated with vaccine preventable diseases in children, Japan, 2006-2013. 9th Vaccine & ISV Congress. Korea, Oct., 2015.
- 5) 奥野英雄、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、高橋琢理、砂川富正、大石和徳、多屋馨子: 成人のインフルエンザ脳症報告例の検討(感染症発生動向調査より). 第20回日本神経感染症学会総会学術集会(長野、2015年10月)
- 6) 奥野英雄、新井智、森野紗衣子、佐藤弘、砂川富正、大石和徳、多屋馨子: 感染症発生動向調査における、急性脳炎(脳症を含む)の小児例のまとめ. 第47回日本小児感染症学会総会・学術集会(福島、2015年10月)
- 7) 奥野英雄、砂川富正、森野紗衣子、佐藤弘、新井智、大石和徳、多屋馨子: 日本国内での、小児における、ワクチンにより予防可能な疾患に関連

した急性脳炎(脳症を含む)の検討～2006年から2014年までの発生動向調査より～. 第19回日本ワクチン学会学術集会 (名古屋、2015年11月)

G. 知的所有権の取得状況
特になし

総数（例）		3,156		届け出られた症状		
2007年	228	発熱	2850	90.3%		
2008年	192	けいれん	2037	64.5%		
2009年	526	髄液細胞数増加	801	25.4%		
2010年	242	嘔吐	639	20.3%		
2011年	258	頭痛	579	18.4%		
2012年	371	項部硬直	366	11.6%		
2013年	369					
2014年	459					
2015年	511					
男女比	1.3 : 1					
年齢中央値	5歳 (範囲:0~98)					

表1.急性脳炎の届出まとめ | 2007~2015年



*2009/10～2014/15シーズン

年齢群(歳)	総計	発熱		頭痛		嘔吐		けいれん		項部硬直	
		あり	(%)	あり	(%)	あり	(%)	あり	(%)	あり	(%)
0-4	202	189	93.6	6	3.0	18	8.9	162	80.2	2	1.0
5-19	408	367	90.0	54	13.2	74	18.1	193	47.3	12	2.9
20-59	72	64	88.9	23	31.9	13	18.1	20	27.8	7	11.9
60-	66	63	95.5	5	7.6	8	12.1	27	40.9	11	15.2

年齢群(歳)	総計	髄液細胞数の増加		届出時死亡報告	
		あり	(%)	あり	(%)
0-4	202	4	2.0	14	6.9
5-19	408	10	2.5	20	4.9
20-59	72	13	18.1	7	9.7
60-	66	5	7.6	10	15.2

(感染症発生動向調査より 2015年10月18日現在)

表2. インフルエンザ脳症の年齢群別届出症状割合

合計 100症例 (人)	便	咽頭ぬぐい液	血液検体 (血清、血漿、全血)	髄液	尿	その他 (生検材料 など)
症例数 (人)	66	65	91	94	61	2
検体搬 送割合 (%)	66.0	65.0	91.0	94.0	61.0	2.0

検体1種類のみ送付: 9症例(9.0%)

検体3種類以上送付: 73症例(73.0%)

検体5種類すべて送付: 52症例(52.0%)

内因性コントロール RNA陰性: 23症例(23.0%)

表3. 送付された検体の種類と送付割合(多屋脳炎班: 2016年3月16日現在)

髄液：最低必要量は0.2mL

脳生検検体であれば米粒大で十分だが、確実に病変部を含んでいること

血清：最低必要量は0.2mL

回復期にペア血清も採取されていれば抗体検査も可能

呼吸器由来検体：後鼻腔ぬぐい液

咽頭ぬぐい液

後鼻腔吸引液

下気道由来検体

可能であれば複数採取

綿棒の場合は乾燥予防に、最小限度(1mL弱)の生食に浸すのが望ましい

便：最低必要量は0.5g程度

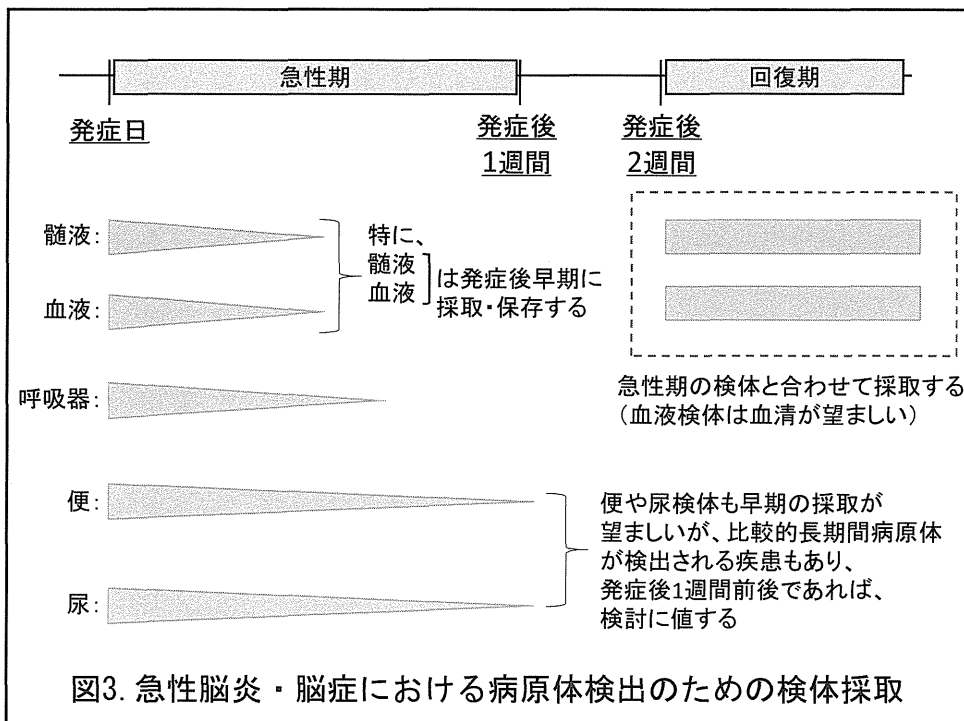
乳剤でも可

➤ 採取後、なるべく早くに-70℃(少なくとも-20℃以下)に保存

尿：最低必要量は0.2mL

➤ 複数のチューブに小分けに保存されているのが望ましい

図2.急性期検体採取(5点セット)+ペア血清について



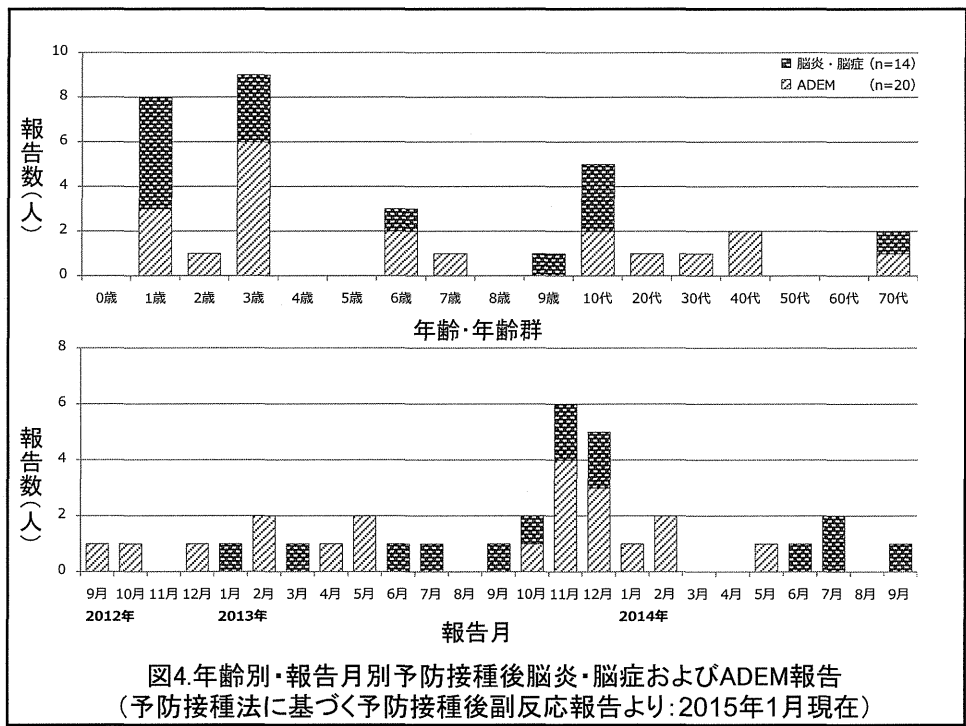


図4.年齢別・報告月別予防接種後脳炎・脳症およびADEM報告
 (予防接種法に基づく予防接種後副反応報告より:2015年1月現在)

急性脳炎・脳症～検体採取・保管に関するガイドライン～

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業

「日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究」

- ・ 急性脳炎・脳症の原因病原体を検索するには、急性期検体の採取・保管が不可欠である
- ・ 検体は、原則として、5点セット（髄液、血液、呼吸器由来検体、便、尿）を採取する
- ・ 検体は、 -70°C 以下（少なくとも -20°C 以下）に凍結保管する
- ・ 検体は、凍結融解を避けるため、小分けにして保管することが望ましい

はじめに

急性脳炎・脳症は様々な病原体によって引きこされる。インフルエンザは小児を中心に「インフルエンザ脳症」を合併することがよく知られているが、インフルエンザウイルス以外に、突発性発疹の原因ウイルスである HHV-6B,7 (Human herpesvirus 6B,7)、ロタウイルス、RS ウイルス、ムンプスウイルス、アデノウイルス、HSV1,2 (Herpes simplex virus 1,2)、ノロウイルス、EB ウイルス、水痘-帯状疱疹ウイルス、ヒトパレコウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルスなどのウイルスが原因病原体として報告されている[1, 2]。また、その他、日本国内では日本脳炎ウイルスも忘れてはならない重要な病原体である。ウイルス以外にも、細菌やリケッチアによる発症例の報告もあるが、感染症発生動向調査に届け出られた急性脳炎（脳症を含む）の原因病原体では各年代ともにウイルスが原因となることが多い[3]。鑑別すべき病原体に関しては、「インフルエンザ脳症ガイドライン 改訂版（厚生労働省 インフルエンザ脳症研究班）」にまとめられており、急性脳炎・脳症の病原体診断の際に参考になる（参照：

http://www.okayama-u.ac.jp/user/pedhome/download/IAE_guideline_2009.pdf）。

急性脳炎・脳症は、ともに、急速に進行する意識障害を特徴とするため、髄液検査は病態の解明に重要であるが、特に急性脳症に関しては、髄液検体中に原因病原体が特定できないことが多い。また、前述の通り、急性脳炎・脳症を引き起こす病原体は多岐にわたっており、それぞれの病原体を検索するのに適した臨床検体は異なる。そのため、複数の臨床検体を確保した上で病原体検索を行うことが重要である。

臨床検体に関しては、発症後、なるべく早期（早ければ早いほどよく、少なくとも発症後 1 週間以内）に採取し -70°C 以下に凍結保管しておくことがきわめて重要である。

また、抗体価の動きを確認するためには、急性期血清と回復期血清のペアを同時に測定してその動きを確認することが重要である（抗体陽転あるいは有意上昇）。急性期検体は採取のタイミングを逃すと遑って採取することはできないため、急性期の治療と並行し検体採取を遅滞なく行えることが望ましい。治療のために免疫グロブリン製剤を投与する場合は、投与前の検体の確保が重要である。また、採取後、検体からの RNA 抽出のためには、-70°C以下（少なくとも-20°C以下）で保存しておくことも重要である（ただし、全血検体の場合、凍結を行うと溶血するため、遠心後血漿成分と血球成分に分けて保管することが望ましい）。

一般的に、凍結融解を繰り返すことで、検体中からのゲノム（特に RNA）抽出効率が低下することが知られている。急性期の臨床検体を採取後、あらかじめ複数のサンプルチューブに小分けにして凍結保管しておくと、一つの検体を対象として複数の病原体検索を行う際に有用である。

入院施設を持った国内医療機関の場合、多くが臨床検査部門を持っており、その施設内で細菌培養検査が実施されていることが多い。しかし、急性脳炎・脳症の主要な原因病原体はウイルスであることから、ウイルス分離や多岐にわたるウイルスを網羅した PCR 検査等のウイルス遺伝子検索は一部の医療機関で実施されているのみである。感染症法に基づく感染症発生動向調査対象疾患では、保健所を通して全国の地方衛生研究所でウイルス分離や、PCR 法等によるウイルス遺伝子検出が実施されている場合もあるが、急性脳炎・脳症の検体がすべて検査対象になっていないことも多い。

本ガイドラインでは、詳細なウイルス学的検討を行う際に重要となる検体採取・保管方法を中心に記載した。

採取が推奨される検体

臨床検体は、5点セット（髄液、血液(全血および血清)、呼吸器由来検体、便、尿) + 回復期血清検体を基本として考える。下記に各種検体を採取する上での注意点を述べるが、検体の採取量などはあくまで参考である。また、臨床検体中からの RNA の抽出効率を高めるために、できる限りベッドサイドで採取後すぐに氷上に置いて保冷し、常温に保管される時間をなくすることが重要である。

採取した検体を保管する容器には、患者を特定できる情報（名前、患者 ID など）、検体の種類、採取年月日などを採取後すぐに記載する。

➤ 髄液（脳生検検体を含む）

- ✓ 成人の場合、1～3mL 程度、小児の場合、1mL 程度を滅菌スピッツにて採取する。最低必要量は 0.2mL。
- ✓ 採取時に複数の容器に小分けにしておくことが望ましい。
- ✓ 細菌培養検査のためには、抗菌薬投与前に検体を採取する。しかし、ウイルス分

離や PCR 検査のためには抗菌薬投与後の検体であっても特に支障はない。

- ✓ 脳生検検体の場合、採取量は米粒大で十分だが、確実に病変部を含んでいる必要がある。

➤ 血液検体（血清、血漿、全血）

- ✓ 必要量は血清、血漿の場合、0.5～1mL（最低必要量 0.2mL）。全血であれば 2mL あればウイルス分離、ウイルス遺伝子検出、抗体価測定などが可能である。
- ✓ 急性期と回復期のペア血清を採取しておく、抗体検査の際に有用である。
- ✓ 全血の場合、凍結により溶血するため、結果の解釈が困難になる場合があるが、最近では全血から DNA あるいは RNA の抽出が可能でキットが市販されているため、これらを活用する。ヘパリンは PCR 反応を阻害するため、抗凝固剤としては適していない。EDTA 加血で採取して、遠心後血漿成分と血球成分にわけて保管しておくことができれば、より有用である。また、血球成分から単核球成分を分離しておくことで更に詳細な解析が可能となる。

➤ 呼吸器由来検体（後鼻腔ぬぐい液、咽頭ぬぐい液、後鼻腔吸引液、下気道由来検体（気管支吸引液、喀痰など））

- ✓ 病原体あるいは疾患によっては、後鼻腔ぬぐい液と咽頭ぬぐい液で検出率が異なる場合がある。また、上気道由来検体と下気道由来検体で検出率が異なる場合がある。呼吸器由来検体に関しては、可能であれば複数の部位から採取することが望ましい。
- ✓ ぬぐい液を採取する場合、綿棒を用いる際には、必ず滅菌済みの医療用綿棒を用いる。フロックドスワブも市販されているが、乾燥には十分に注意が必要である（乾燥すると、綿棒より検出効率が下がる場合がある）。
- ✓ 綿棒により検体を採取した場合は乾燥予防に、最大 1mL 程度の VTM（ウイルス搬送用培地）に浸しよく攪拌する。VTM（ウイルス搬送用培地）を医療機関に保管しておくことが望ましい。もし VTM（ウイルス搬送用培地）が医療機関になかった場合は、生理食塩水を用いる場合があるが、保管により pH が変化することから、速やかに検査(研究)機関に搬送する必要がある。綿棒を細菌培養用の寒天培地に入れると、ウイルス分離やウイルス遺伝子検出に困難を来すことから注意する。
- ✓ 気管吸引液の場合も、検体採取後にチューブ内に残った検体を吸引する生理食塩水に関しては 1mL 程度にとどめるのが望ましい。
- ✓ 抗菌薬や BSA（ウシ血清）などのキャリア蛋白が入った VTM（ウイルス搬送用培地）に保存しておく方がウイルス分離や PCR 法等によるウイルス遺伝子の検出には適している。しかし、その場合、細菌培養検査や次世代シーケンサーに

よる遺伝子解析には不適當となる。

- ✓ 各年齢群で、インフルエンザウイルスは最も頻度の高い病原体の一つである。呼吸器由来検体を採取しておく意義は大きい。

➤ 便

- ✓ 最低必要量は 0.5g 程度。10%乳剤でも検体として有用である。便採取時には、尿が混入しないように注意する。
- ✓ 便が採取できない時などは、直腸ぬぐい液も検体として有用である。綿棒を肛門より 2.5~4.0cm 挿入し優しく回転させる。その際、綿棒は 2 本分採取するのがよい。採取後、乾燥防止目的で生理的食塩水を 1mL 程度いれる場合もある[4]。
- ✓ エンテロウイルス属（エンテロウイルス D68 を除く：便からの検出率は極めて低い）やノロウイルス、ロタウイルス、アデノウイルスなどは、便検体からの検出率が高い。便検体は病原体検索に非常に重要である。

➤ 尿

- ✓ 必要量は 1mL 程度（最低必要量 0.2mL）。便が混入しないように採取する。尿道カテーテルなどを用いて、無菌的に採取する場合もある。
- ✓ 採取、保管の重要性が認識されにくいだが、他の部位の検体と比較して、尿検体で比較的長期に排泄される病原体（麻疹ウイルス、ジカウイルスなど）もあるため、尿検体の保管も重要である。

おわりに

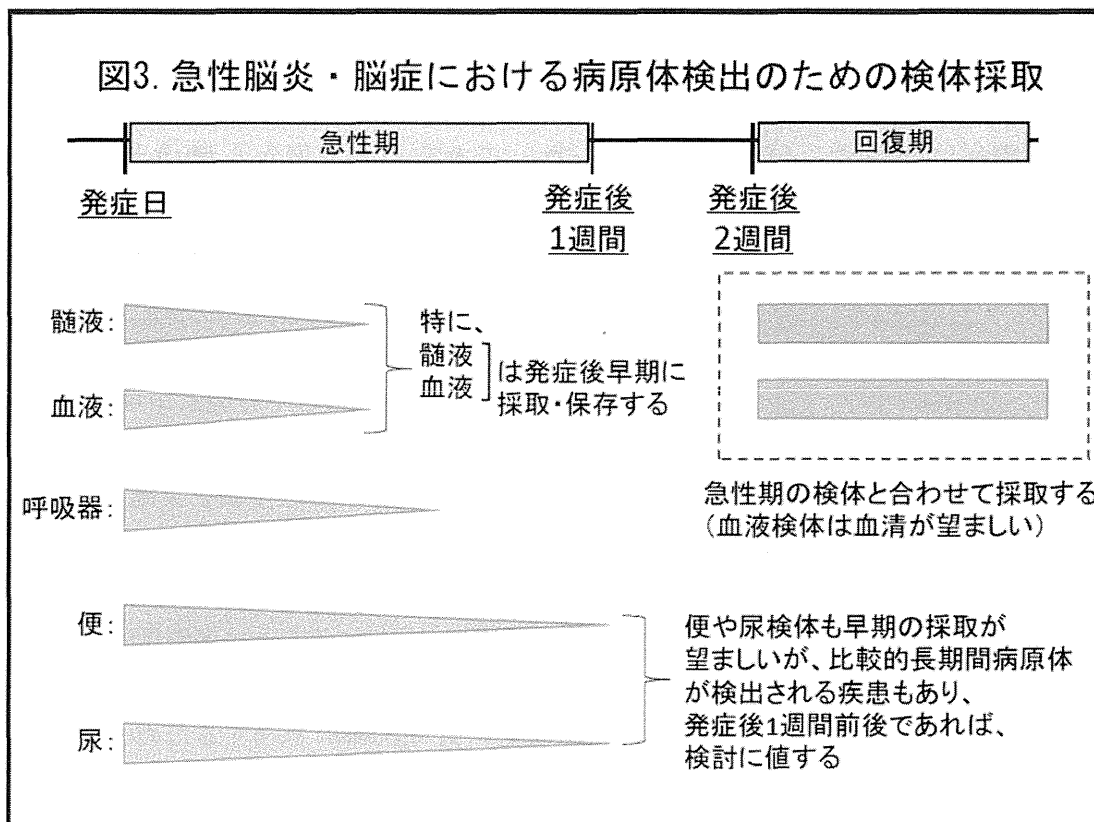
急性脳炎・急性脳症は、急激な意識障害の進行を特徴とし、症状も重篤であることから、実際の臨床現場では検体の確保以外に求められる医療的処置や治療なども多い。

忙しい臨床現場でも、円滑に、適切な時期での検体採取、適切な検体保管が実現できるよう、医療機関内での検体確保・保存のマニュアルを作成しておくなど、平常時より保管用容器や VTM（ウイルス搬送用培地）などの準備を整えておくことが重要である。

参考文献

1. Hoshino, A., et al., *Epidemiology of acute encephalopathy in Japan, with emphasis on the association of viruses and syndromes*. Brain Dev, 2012. 34(5): p. 337-43.
2. Morishima, T., et al., *Encephalitis and encephalopathy associated with an influenza epidemic in Japan*. Clin Infect Dis, 2002. 35(5): p. 512-7.
3. 奥野英雄, 他. わが国の急性脳炎(脳症を含む)の発生動向と今後の課題. 小児科 2015; 56(6): 831-7.

4. CDC. Guidelines for Specimen Collection.
<http://www.cdc.gov/foodsafety/outbreaks/investigating-outbreaks/specimen-collection.html>
5. 多屋馨子. 感染研・地衛研の連携：その時その場の使命 急性脳炎・脳症の原因究明～医療機関・保健所・地研・感染研の連携の重要性～. 臨床とウイルス, 2015. 43:198-205



急性脳炎・脳症～検体搬送に関するガイドライン～

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
「日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究」

- ・臨床検体は、バイオセーフティに留意した取り扱いと搬送が必要である
- ・臨床検体を、一般的に使用されている宅配便や郵便などで送付してはならない
- ・検体搬送に使用する包装容器は、一次～三次容器の三層から構成されている
- ・ドライアイスと同封する場合は、二次容器内に入れてはならない

はじめに

近年、感染症の診断や病原体検査のために、臨床検体を搬送する機会が増えてきた。特に、病原体診断がなされていない臨床検体については、常に、荷送人(発送者)および荷受人(受取者)が十分に感染リスクを理解して、検体梱包、搬送作業を実施することが必要である。

以前は、バイオセーフティを念頭に置いた検体搬送が徹底されてこなかったことから、臨床検体等を一般的に使用されている宅配便や郵便等で送付することが多数見受けられてきた。しかしながら、宅配業者等では約款の中やホームページ上で危険物は搬送しないと明記している。臨床検体等、感染性が疑われる検体は、危険物に該当するためバイオセーフティに留意した取扱いと搬送の徹底が必要である。

サンプル輸送に使用する包装容器は以下の三層から構成されていなければならない。

- 一次容器：防漏型(液体の漏れない密閉容器)
- 二次容器：防漏型二次容器
- 三次容器：用量、重量、用途に適した強度があり、少なくとも1面の寸法が100 mm × 100 mm 以上の外装容器

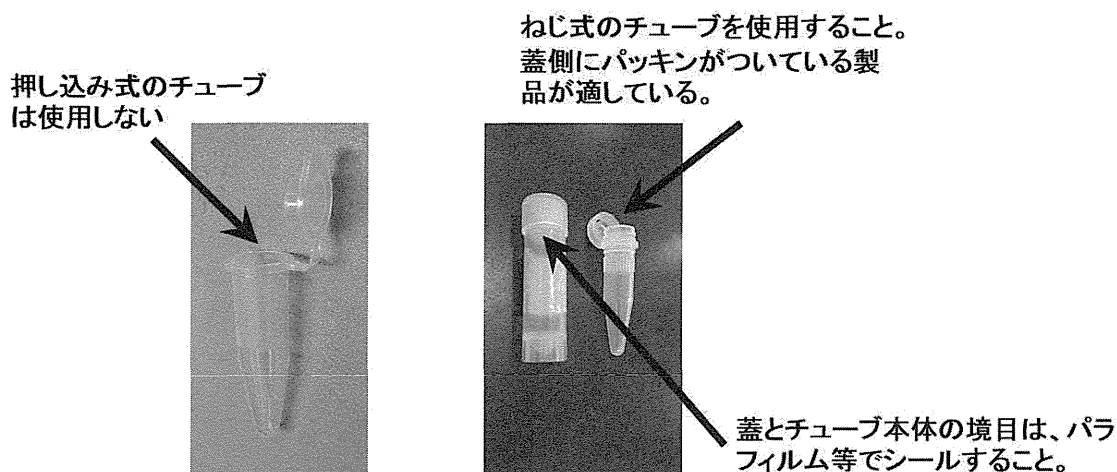
一次容器

WHO のガイドラインでは、一次容器は防水性で防漏型の容器を用いることとされており、容器が破損された場合や内容物が漏れた場合を想定し、検体全てを吸収するのに十分な吸収剤を同封することとしている。具体的には、一次容器はスクリュウキャップ式のチューブを用いることが推奨され、-70～80℃の凍結保存に耐えられる製品を使用しなければな

らない。

ドライアイス等を用いた凍結輸送を行う場合には、低温耐性のチューブを用いなければならない。ポリスチレン製の製品は耐熱性や強度の点に問題があるため用いるべきでない。

一次容器には必ず被験者の情報、検体の種類、検体の採取年月日等、サンプルラベルを添付し、サンプルの取り間違えを防止しなければならない。



二次容器

一次容器を入れ保護するための耐久性があつて防水性で防漏型の二番目の容器を示す。国連規格を満たした容器については、二次容器と三次容器がセットで規格を満たしている。その為、異なるメーカーの二次容器と三次容器を組み合わせて利用することはできない。

クッション材を入れ、一次容器同士が接触しないようにすることで複数の一次容器を一つの二次容器に入れることができるが、破損した場合や漏れた場合に液体全部を吸収するために十分な吸収剤を追加しなければならない。同封する検体のバイオセーフティレベルにより、カテゴリ-A もしくはカテゴリ-B に分類され、カテゴリ-A 検体なら検体の種類により UN 規格の UN2814 もしくは UN2900、カテゴリ-B 検体なら UN 規格の UN3373 を満たした容器を使用しなければならない。

三次容器

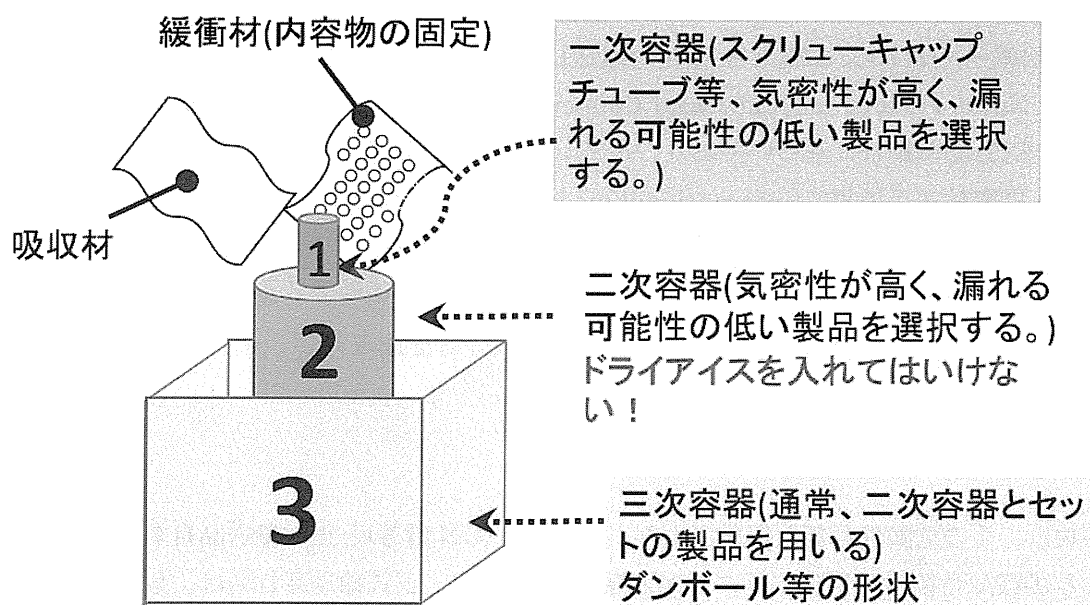
通常、二次容器とセットになっている三次容器を利用する。三次容器の表面には、サンプル量、荷送人および荷受人の住所、氏名、電話番号、緊急時の問い合わせ先を記載し、二次容器と三次容器の間に必ずサンプル一覧表を同封しなければならない。このサンプル一覧は、事故等で輸送容器が破損等した場合に内容物を確認するために必要なため、一次容器の数、検体詳細、荷送人、荷受人の情報を記載すること。



発送

通常臨床検体は、国連規格のカテゴリーB(UN3373 規格)に相当するため、カテゴリーB 荷物を取り扱う業者に搬送を依頼しなければならない。ジュラルミンケースを用いた四重梱包容器でゆうパックにより搬送することも可能であるが、事前に「包装責任者」の資格を取得する必要がある、安全性適正包装確認済みシールの添付が義務付けられている。

検体の梱包の構成



用語説明(感染性物質の輸送規則に関するガイダンス 2013-2014 版日本語版より抜粋)

国際規則

あらゆる輸送手段による感染性物質の輸送に関する国際規則は、国連経済社会理事会(United Nations Economic and Social Council)の委員会である国連危険物輸送専門家委員会(UNCETDG)の勧告に基づいており、モデル規則という形で発表されている。国連モデル規則は、国際輸送手段規定(international model agreements)を通じて国際法に反映されている。

IATA (International Air Transport Association) 国際航空運送協会

カテゴリー分類

危険物は、その危険性分類と組成により、国連番号(UN 番号)と正式輸送品目名が割り当てられる(IATA 危険物規則書にリストが記載されている)。正式輸送品目名は、危険物品あるいは危険物質を明確に識別するために用いられる。

感染性物質

輸送でいう「感染性物質」とは、病原体を含むことが分かっているか、またはそれが合理的に予測できる物質と定義される。病原体とは、ヒトあるいは動物に疾病を引き起こすことができる微生物(細菌、ウイルス、リケッチア、寄生虫、真菌を含む)およびその他の物質(例えばプリオン)と定義される。この定義は、明らかに適用免除されている物を除くあらゆる検体に適用される。

カテゴリーA

その物質の曝露によって、健康なヒトまたは動物に恒久的な障害や、生命を脅かすようなあるいは致死的な疾病を引き起こす可能性のある状態で輸送される感染性物質をいう。

- この基準に該当し、ヒトの疾病またはヒトと動物両方の疾病の原因となる感染性物質には国際連合による番号 UN2814 を適用することとする。動物だけの疾病原因となる感染性物質には、UN2900 という番号を適用することとする。
- UN2814 または UN2900 の番号指定は、検体を採取したヒトまたは動物の既知の病歴や症状、その地方特有の状況、あるいは検体を採取したヒトまたは動物を取り巻く個別の環境に関する専門的な判断に基づいていなければならない。
- UN2814 の正式輸送品目名は「感染性物質(Infectious substance, affecting humans)」、UN2900 の正式輸送品目名は「動物感染性物質(Infectious substance, affecting animals)」

animals only)」が用いられる。

カテゴリーB

カテゴリーA の基準に該当しない感染性物質をいう。カテゴリーB の感染性物質には UN3373 を適用することとする。

- UN3373 の正式な輸送品目名は「カテゴリーB の生物学的物質(Biological substance, category B)」である。

例外

- 感染性物質を含まない物質、またはヒトや動物の疾病原因とならない物質は、他の危険物の分類基準に合致しなければ、危険物規則の適用対象とならない。
- ヒトや動物に対して非病原性の微生物を含む物質は、他の危険物の分類基準に合致しなければ、危険物規則の適用対象とならない。
- 中に含まれる病原体が中和または不活性化され、健康へのリスクを喪失した状態にある物質は、他の危険物分類基準に合致しなければ、危険物規則の適用対象にならない。
- 大きな感染リスクがあるとは考えられない環境検体(食品や水の試料を含む)は、他の危険物の分類基準に合致しなければ、危険物規則の適用対象とならない。
- ろ紙などの吸収剤へ血液を 1 滴たらしめて採取した乾燥ろ紙血液や、便潜血検査の資料は、危険物規則の適用対象とならない。
- 輸血用に採取した血液および血液成分、輸血あるいは移植に用いるための血液製剤の製造用に集められた血液および血液成分、そして移植用の組織や臓器は危険物規則の適用対象とならない。
- ヒトや動物からの検体のうち、病原体を含む可能性がほとんどないものは、それが全く漏れない密封の包装容器で輸送され、かつ、適切に「適用免除 ヒト由来検体」または「適用免除 動物由来検体」と明記されている場合には、危険物規則の適用対象とならない。

2015年秋に多発した急性弛緩性麻痺症例に関する臨床・疫学研究

研究分担者	多屋馨子	国立感染症研究所 感染症疫学センター 第三室 室長
研究協力者	吉良龍太郎	福岡市立こども病院 小児神経科 科長
	チョンピンフイー	福岡市立こども病院 総合診療科 医員
	奥村彰久	愛知医科大学医学部 小児科 教授
	森 壘	東京大学医学部附属病院 放射線科 専任講師
	鳥巢浩幸	福岡歯科大学 総合医学講座小児科学分野 准教授
	安元佐和	福岡大学医学部 医学教育推進講座 教授
	清水博之	国立感染症研究所 ウイルス第二部 第二室 室長

研究要旨 2015年秋に国内で急性弛緩性麻痺（AFP）症例が多発した。感染症法に基づく積極的疫学調査の枠組みで一次調査が実施された。その結果を集計すると、全国31都府県から100例のAFP症例が報告された。2015年9月に麻痺発症のピークがあり、年齢中央値は5歳（0歳1か月～71歳）で、男女比はほぼ同等であった。単麻痺が37件と最も多く、対麻痺31件、四肢麻痺も多く認められた（23件）。顔面（神経）麻痺（6件）や膀胱直腸障害（4件）を認めた症例も散見された。一次調査では麻痺発症後に髄液細胞数増加、脊髄MRIで異常所見を認めた症例がそれぞれ44%、54%存在したが、検査の時期等も勘案した詳細な解析が必要である。麻痺発症前に発熱や呼吸器症状を認めた者がそれぞれ66%、45%存在したがこれらについても二次調査の結果を詳細に解析する必要がある。二次調査結果が得られた症例の神経学的な解析から（暫定値）、急性弛緩性脊髄炎（AFM）症例が多く認められた。AFM症例では、呼吸器症状合併が80%、発熱の合併が90%（発熱から麻痺発症まで約3日）とAFP全体での集計より合併率が高く、髄液細胞増多も85%の症例に認められた。約80%の症例が単麻痺と対麻痺であったが、2～3日以内に麻痺が完成し、約90%の症例に後遺症を残した。MRI画像では、脳幹・脊髄に病変が認められた。脊髄広範にわたる病変が見られるものが多く、灰白質優位に障害されていた（白質の障害もあり）。その後脊髄が萎縮する症例があり、造影効果は馬尾に多く見られた。AFM症例の神経生理検査所見の特徴は、運動神経においてM波の振幅低下を74%に認め、顕著な左右差を多数例に認めること、前角細胞の機能を反映するF波の異常を79%に認めること、感覚神経検査で異常を認めないことであった。脊髄前角細胞が傷害を受け、末梢運動神経障害が起こるには1～2週間の時間を要するが、2015年に多発したAFM症例は、ほぼ同時期に両部位に異常を認めた症例が多かった。

病原体検索は、感染症法に基づく積極的疫学調査の枠組みで現在進行中であり、今後は病原体との関連についての解析が必要である。一部の症例の呼吸器由来検体からエンテロウイルスD68（EVD68）が検出されており、その他のエンテロウイルス、ライノウイルス等も検出された。原因病原体の究明には急性期の5点セット（血液、髄液、呼吸器由来検体、便、尿）の凍結保管が極めて重要であり、今後の課題である。

中南米を中心としたジカウイルス感染症の流行（AFP症状を認めるギラン・バレー症候群との関連が示唆）、海外にはまだポリオが流行している国があること等から、ポリオウイルスやジカウイルスの国内侵入の監視、エンテロウイルスD68感染症の次の流行に向けて、AFP症例の早期探知、病原体診断に繋げるためには、感染症法に基づくAFPサーベイランスの導入について検討する必要があると考えられた。

A. 研究目的

2014年に米国でエンテロウイルス D68(以下、EVD68)による呼吸器感染症が多発し、それと同時期に急性弛緩性麻痺 (Acute Flaccid Paralysis:AFP) を認める小児例が急増した。一方、わが国では2014年にはEVD68感染症の流行は見られず、AFPの増加も見られなかった。

2015年9月中旬に、九州地方のA保健所を通して、2例の原因不明の急性脳炎(脳症)の原因検索依頼が、本研究班にあった。1例は、軽度の意識障害と左上肢の脱力。急性脳脊髄炎と診断されていた。検体の搬送準備中に検討依頼症例が4例となり、うち3例は、上肢脱力、下肢の筋力低下で歩行不能など、急性脳脊髄炎と診断されていた。1例は症状がポリオ様麻痺であった。ほぼ同時期に関東地方のB医療機関からEV-D68が検出されたAFP症例の情報提供があった(IASR寄稿)。また、小児神経専門医が1,000人規模で加入しているMLに情報提供がなされた結果、全国から多数の患者情報が寄せられ、日本小児神経学会から中間報告がなされた。これを受けて、厚生労働省は感染症法に基づく積極的疫学調査として、2015年8月～12月に急性弛緩性麻痺を認めて入院した症例について調査を開始した。本研究班では、その結果をまとめるとともに、厚生労働省の了解を得て詳しい臨床情報・疫学情報を収集するための二次調査を実施し、2015年8月以降に多発したAFP症例について詳細に検討し、患者の予後を含めた病態解明を行うことで、早期診断、効果的な治療方法の導入に資することを目的とした。

なお、AFPを認める患者の病原体検索については、厚生労働省事務連絡(「急性弛緩性麻痺(AFP)を認める症例の実態把握について(協力依頼)」)に基づき、感染症法に基づく積極的疫学調査の枠組みで、全国の地方衛生研究所と国立感染症研究所(以下、感染研)で検討が実施されている最中のため、本研究班ではAFP症状を認める症例のうち、厚生労働省事務連絡(「急性弛緩性麻痺(AFP)を認める症例の実態把握について(協力依頼)」)の最後の頁にある医療機関記入様式が感染研に送付された症例について、疫学情報・臨床情報について解析することを目的とした。

B. 研究方法

【症例定義】2015年8月1日以降、同年12月31日までに、急性弛緩性麻痺を認めて、24時間以上入院した者。ただし、血管障害、腫瘍、外傷などの確定診断がなされ、明らかに感染性とは異なる症例は除外する。

感染症法に基づく積極的疫学調査として実施されたAFPの症例調査(資料1:一次調査:医療機関記入様式(厚生労働省健康局結核感染症課事務連絡:平成27年10月21日))について集計するとともに、届けられたAFP症例の臨床・疫学情報については、国立感染症研究所の倫理委員会で承認後、詳細な二次調査を実施した(資料2:急性弛緩性麻痺症例二次調査用紙)。

(倫理面への配慮)

一次調査は法律に基づく調査であり、二次調査は国立感染症研究所ヒトを対象とする医学研究倫理委員会の承認を受けた(受付番号:655,平成27年12月24日)。

C. 研究結果

一次調査により、2016年3月22日現在(暫定値)、31都府県から100例のAFP症例が報告された(図1、表1)。

9月に麻痺症状を発症した者が47例とピークを示し、10月以降は発症者数が減少した(8月9例、9月47例、10月21例、11月10例、12月10例)。症例定義以外の期間に3例(6月1例、7月2例)が報告された(図2)。

年齢中央値は5歳(0歳1か月～71歳)、男性51例、女性48例、性別不明1例であった(図3)。

ピーク時の麻痺の部位は単麻痺が最も多く(37件)、次いで対麻痺(31件)、四肢麻痺(23件)であった。その他、片麻痺(4件)、顔面(神経)麻痺(6件)、膀胱直腸障害(4件)が認められた(表2)。

一次調査によると、髄液細胞数増加が報告された44%に認められ、脊髄MRIでは54%に何らかの異常所見が認められた(図4)。麻痺発症前に45%が何らかの呼吸器症状を認め、66%に発熱を認めた(図5)。麻痺発症後一次調査の時点では17%に筋萎縮が認められた(図6)。

2016年3月時点で二次調査結果が得られた症例についての神経学的な解析から、46例については急性弛緩性脊髄炎(AFM)と診断した(暫定値)。AFM症例に特化し

た解析では、10歳未満に多く、呼吸器症状合併が80%、発熱の合併が90%（発熱から麻痺発症まで約3日）、85%の症例に髄液細胞増多があり、AFP症例全体のまとめに比較して、これらの合併割合は高かった。80%の症例が単麻痺と対麻痺であったが、2～3日以内に麻痺が完成し、約90%の症例に後遺症を残した。

二次調査で得られたAFP症例の画像所見の特徴についてまとめると（暫定値）、小脳に異常は認められなかったが、脳幹・脊髄に病変が認められた。脊髄広範に病変が見られるものが多く、脊髄は灰白質優位に障害されていた（白質にも病変が及ぶ例が多い）。その後は、脊髄が萎縮することがあり、造影効果は馬尾に多く認められた。

同じく二次調査で得られたAFP症例のうちAFM症例の神経生理検査所見（発症2週間以内の検査）の特徴についてまとめると、①運動神経伝導検査において、M波の振幅低下を74%に認め、多数例で著明な左右差を認めた。②運動神経伝導速度の低下を認めたのは21%であった。③感覚神経検査では異常を認めなかった。④脊髄前角細胞機能と関連するF波の異常を79%に認めた。前角細胞が傷害を受け、末梢運動神経障害が生ずるには1～2週間を要すると考えられるが、2015年に多発したAFM症例は、ほぼ同時期に両部位の障害を認める例が多かった。

感染症法に基づく積極的疫学調査の枠組みで実施されている病原体検索は2016年3月現在検査中のため、二次調査実施時に、地方衛生研究所等で既に検出がなされていた病原体のみを示す（表3）。エンテロウイルスD68（EVD68）が咽頭あるいは後鼻腔ぬぐい液からPCR法あるいはウイルス分離により5件検出されていた。その他エンテロウイルス（3件）、ライノウイルス（2件）、エンテロウイルス/ライノウイルス（1件）、エコーウイルス3、16、18、25（各1件）、コクサッキー（Cox）A9ウイルス（1件）、CoxB3ウイルス（1件）、ポツリヌス毒素（1件）、肺炎球菌（1件）、マイコプラズマ（1件）が検出された。

D. 考察

世界保健機関（WHO）西太平洋地域では唯一日本のみがAFPサーベイランスを実施していない。急性脳炎（脳症）は5類感染症全数届出疾患で、診断した医療機関は診断

後7日以内に最寄りの保健所に届出の義務がある。一方、AFPは感染症法に基づく対象疾患に含まれていないことから、2015年秋のAFP症例の多発を迅速に探知することが困難であった。小児神経を専門とする臨床医のネットワークにより20数例のAFP症例の探知が可能となり、この数は明らかに2014年、2013年に比べて多いという結果が得られたことから、厚生労働省は感染症法に基づく積極的疫学調査の実施を決定した（資料1）。

今回のAFP症例については、ポリオの鑑別（便のウイルス検査）が速やかに実施されていた症例は少なく、病原体診断が実施されていない例も多かった。また、急性期の呼吸器検体、便検体が凍結保管されている症例は少なく、病原体診断が困難な症例が多かった。

現在中南米を中心に急増しているジカウイルス感染症とギラン・バレー症候群（AFP症状を認める）との関連が示唆されているが、これに加えて海外ではポリオが流行している国（アフガニスタンとパキスタンの2カ国）が未だ存在していること、AFPとEVD68との関連が明確に証明されていないが、2015年のわが国の発生动向を見ると、EVD68の検出時期とAFP症例の多発時期は一致していたことから、AFP症例の迅速な探知と全貌の把握、適切な時期での病原体診断を実施するためには、わが国もAFPサーベイランスを導入して、迅速な症例探知と、原因病原体の検索を実施する体制の整備が必要であると考えられた。

詳細な二次調査の結果は現在収集・解析中であることから、今後の解析が必要であるが、脊髄前角より末梢側の障害が示唆されている。ステロイドパルス療法、γグロブリン投与、血漿交換等様々な治療が行われているが、麻痺残存症例も多い。今後は、効果的な治療法の検討が必要であり、二次調査結果の詳細な解析が必要である。

2015年10月21日に厚生労働省健康局結核感染症課から発出された事務連絡により保健所（自治体）には情報提供されていたが、国立感染症研究所では把握ができていなかった症例が多かったことから、2016年2月5日に再度、厚生労働省から事務連絡が出された。これにより、自治体から多数の症例についての情報提供がなされ、現在、二次調査に向けて準備を進めているところである。