

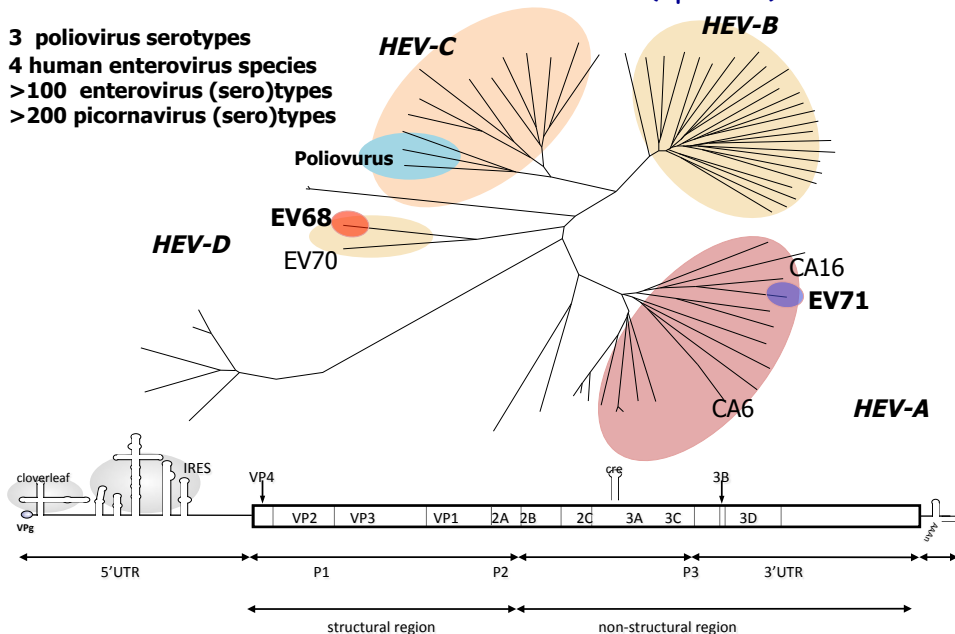
ポリオウイルスのバイオリスク管理 エンテロウイルスD68感染症

平成28年度 感染症危機管理研修会
2016年 10月13日

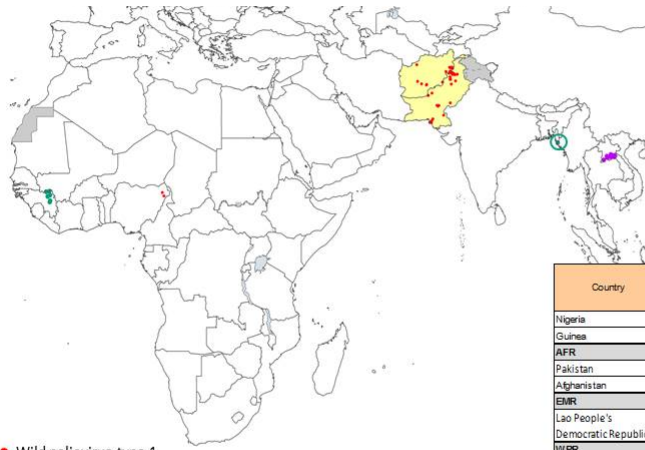
国立感染症研究所 戸山庁舎

国立感染症研究所
ウイルス第二部
清水博之
hshimizu@nih.go.jp

ヒトに感染するエンテロウイルス HEV-A~HEV-D4つのウイルス種(species)



ポリオ確定症例(野生株・VDPV)の分布 Aug 2015 – Aug 2016



- Wild poliovirus type 1
- cVDPV type 1
- cVDPV type 2
- Endemic country

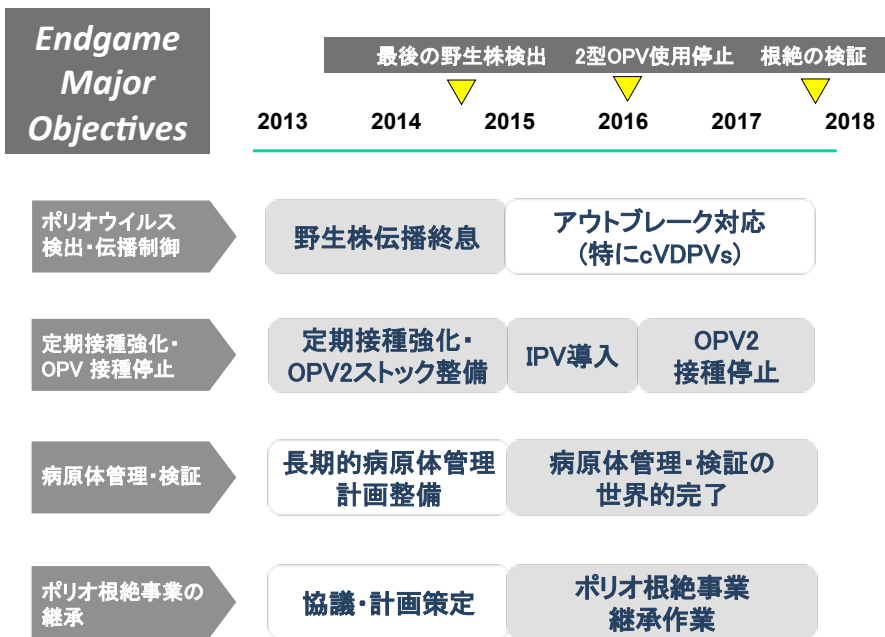
¹Excludes viruses detected from environmental surveillance.
²Onset of paralysis 24 August 2015 – 23 August 2016

Country	Wild poliovirus		cVDPV	
	Onset of most recent case	Total WPV1	Onset of most recent case	Total cVDPV
Nigeria	13-Jul-16	2	NA	0
Guinea	NA	0	14-Dec-15	6
AFR	13-Jul-16	2	14-Dec-15	6
Pakistan	18-Jun-16	34	NA	0
Afghanistan	29-May-16	17	NA	0
EMR	18-Jun-16	51		0
Lao People's Democratic Republic	NA	0	11-Jan-16	11
WPR		0	11-Jan-16	11
Myanmar	NA	0	05-Oct-15	1
SEAR		0	05-Oct-15	1
Global	13-Jul-16	53	11-Jan-16	18

NA: most recent case had onset of paralysis prior to rolling 12 months.
 *cVDPV1 in Madagascar, Ukraine, Laos, cVDPV2 in all other countries. NA: most recent case had onset of paralysis prior to rolling 12 months.

Data in WHO HQ as of 23 August 2016

WHO Strategic Plan 2013-2018



Key Points: Containment of Poliovirus Type 2 Materials 01 April 2016

- 2型野生株ポリオウイルス根絶宣言、2015年9月
- すべての2型ポリオウイルスの廃棄あるいは安全かつ確実な方法での管理が必要
- WHOは、加盟国にワクチン製造等重要な機能として必要とされている以外のすべての2型ポリオウイルスを廃棄することを強く求める
- WHOは、加盟国に、2015年末までに2型野生株・VDPVを保有・使用するpoliovirus-essential facilityの特定と報告を求めた
 - 2016年4月1日現在、165ヶ国・地域が2型株を保有せずと報告、14ヶ国がpoliovirus-essential facilityを有することを報告
 - その他17ヶ国については、より詳細な情報提供を求めている
- 2016年7月末までに、加盟国は、OPV2/Sabin2株を保有・使用する施設を特定、不要な感染性材料を廃棄し、poliovirus-essential facilityを認定する（以下略）
- 認定されたpoliovirus-essential facilityではGAPIIIに示された条件を取り入れることが求められる（以下略）

ポリオウイルス・バイオリスク管理の厳格化 (WHO GAPIII規準)

- ✓ 血清型特異的(2型)ポリオウイルス病原体バイオリスク管理
- ✓ 世界的tOPV接種停止のための条件のひとつ
- ✓ 野生株、VDPVだけでなく2型ワクチン株(Sabin 2株)も対象
- ✓ ウイルス株だけでなく感染性材料(臨床検体)も対象 (リスク評価が必要)
- ✓ 保有施設に応じたバイオリスク管理基準の適用
- ✓ ポリオウイルス保有施設を出来るだけ減らすための活動の一環
- ✓ Poliovirus-essential facilityの特定と国による認定



ポリオウイルス・バイオリスク管理の厳格化 (WHO GAPIIIによるSabin/OPV株の定義)

Sabin株材料は(a) 感染性材料と(b) 感染性ポリオウイルスを含む可能性のある材料に分けられる。

(a) OPV/Sabin株感染性材料: 以下を含む

- OPV/Sabin株の細胞培養分離株と参照株
- OPV生産に必要な種株および感染性材料
- OPV/Sabin株の存在が証明された下水、または環境水サンプル
- 直近のOPV接種者に由来する糞便、あるいは呼吸器分泌物検体
- OPV/Sabin株を感染させたヒトポリオウイルス受容体トランスジェニックマウスを含む動物または感染動物に由来する検体
- OPV/Sabin株由来のカプシドシーケンスを有する感染性実験室材料
- OPV/Sabin株由来のカプシドシーケンスを有する全長RNAまたはcDNA
- OPV/Sabin株由来のカプシドシーケンスを有するポリオウイルス株持続感染細胞

(b) 感染性OPV/Sabin株を含む可能性のある材料: 以下を含む

- 目的の如何に関わらず、OPV使用時期および地域において採取された糞便、あるいは呼吸器分泌物検体
- ポリオウイルス感受性細胞、あるいは感受性動物に由来する上記検体由来材料
- OPV/Sabin株の増殖や混入が起こりえる環境で取扱われた呼吸器あるいは腸管ウイルスストック

ポリオウイルスバイオリスク管理規準 (WHO GAP III Annexes 2 and 3)

- ポリオウイルスバイオリスク管理規準について野生株ポリオウイルス (Annex 2) OPV2/Sabin2 (Annex 3) ごとに記載
 - GAP IIから大幅な改訂
 - WHO Endgame Strategic Plan 2013-1018を反映
 - 欧州標準化委員会による「CEN Workshop Agreement (CWA) 15793」(2008)によるバイオリスク管理を導入
 - ポリオウイルスのウイルス学的性状を考慮した管理基準

Annex 2: Biorisk management standard for essential poliovirus facilities holding wild poliovirus materials

Introduction.....	36
Poliovirus facility-associated risks	37
Management system elements.....	40
Element 1 – Biorisk Management System	40
Element 2 – Risk Assessment.....	60
Element 3 – Poliovirus Inventory and Information.....	68
Element 4 – General Safety	72
Element 5 – Personnel and Competency.....	73
Element 6 – Good Microbiological Technique.....	77
Element 7 – Clothing and Personal Protective Equipment (PPE)	79
Element 8 – Human Factors.....	81
Element 9 – Health Care.....	83
Element 10 – Emergency Response and Contingency Planning	89
Element 11 – Accident/Incident Investigation.....	95
Element 12 – Facility Physical Requirements	98
Element 13 – Equipment and Maintenance	106
Element 14 – Decontamination, Disinfection and Sterilization.....	111
Element 15 – Transport Procedures	116
Element 16 – Security	118

これまでの我が国の対応

(第17回厚生科学審議会感染症部会 2016年6月10日 事務局資料)

○「世界的なポリオ根絶に向けた、不必要なポリオウイルスの廃棄について(周知及び協力依頼)」(健感発1211第1号)において、ワクチン株を含む不要なポリオウイルスの廃棄を依頼するとともに、ポリオウイルスの保有継続を希望する施設については、その旨表明するよう依頼

○「ポリオウイルス保管状況の調査について(協力依頼)」(健感発1217第1号)において、ポリオウイルスを保有する施設に対して調査を実施。現在、国内の10施設で野生株ポリオウイルスを、31施設でワクチン株ポリオウイルス等を保有していることを把握

今後の対応(案)

WHO西太平洋事務局がポリオ根絶計画を遂行するために各国に設置を求めている委員会として日本ポリオ根絶会議を開催しており、本会議において以下の内容について対応

1. GAPIIIを踏まえた、Essential Poliovirus Facilityに望まれる施設要件等の検討
2. 上記(1)を踏まえた、Essential Poliovirus Facilityとして国が認める施設リストの作成
3. 当該リストをWHOポリオ根絶認証地域委員会へ報告

進行中および今後の課題

国内全体

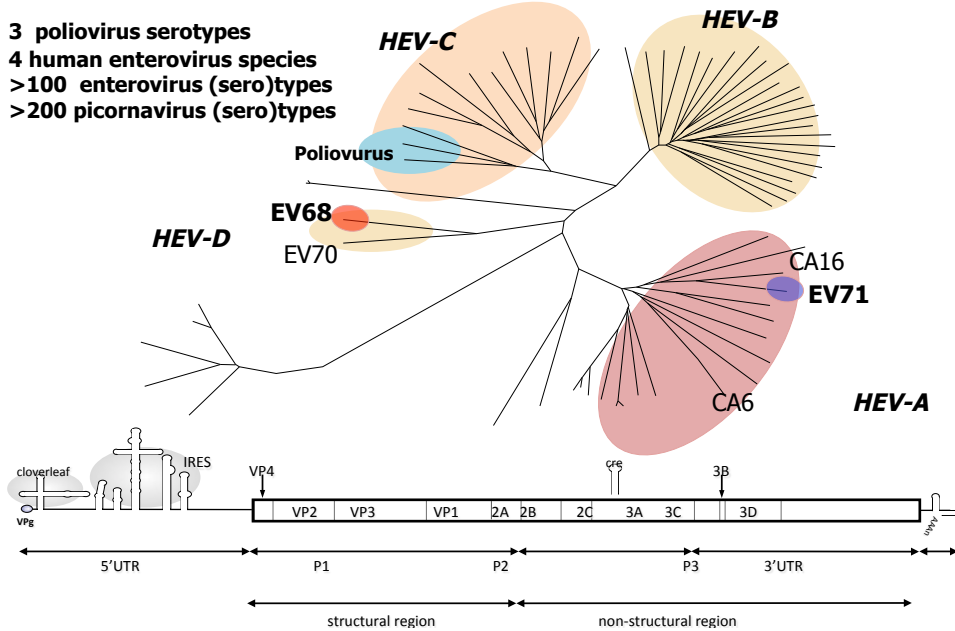
- ・ Poliovirus-essential facilities folding WPV or OPV/Sabinの選定
- ・ Poliovirus-essential facilityリストの作成・WHOポリオ根絶認定委員会(国内/WPRO)への報告
- ・ National regulatory agency for containmentによる Poliovirus-essential facilityの認定
- ・ Poliovirus-essential facilityに望まれる施設要件等の検討
- ・ Poliovirus-essential facilityにおける2型ポリオウイルス病原体バイオリスク管理の徹底
- ・ Poliovirus-essential facility以外の施設では、OPV2/Sabin2株を含む2型ポリオウイルス感染性材料を適切な方法で廃棄あるいは、Poliovirus-essential facilityに輸送

地方衛生研究所・感染研等(ワクチン製造施設については個別対応が必要?)

- ・ Poliovirus-essential facility以外の施設では、OPV2/Sabin2株を含む2型ポリオウイルス感染性材料を適切な方法で廃棄(2016年7月末まで)
- ・ Poliovirus-essential facility以外の施設で2型ポリオウイルスが検出された場合には、Poliovirus-essential facilityに輸送して検査を実施。2型ポリオウイルス検出事例はIHRに基づきWHOに報告
- ・ 流行予測調査(感受性試験)を含む血清疫学試験
 - ・ 1型および3型ポリオウイルスに対する中和抗体価測定は従来通り継続
 - ・ 2型ポリオウイルスに対する中和抗体価測定はPoliovirus-essential facilityにおいて継続
 - ・ 感染性ポリオウイルスを用いない中和抗体価測定の検討(感染研Pseudovirus、海外Hyper-attenuated poliovirus strains等)
- ・ ウイルス分離株(国内外のWPVおよびSabin株)の維持管理、臨床検体、環境検体
- ・ ポリオワクチン検定・品質管理試験

ヒトに感染するエンテロウイルス HEV-A~HEV-D4つのウイルス種(species)

3 poliovirus serotypes
4 human enterovirus species
>100 enterovirus (sero)types
>200 picornavirus (sero)types



代表的なエンテロウイルス感染症 (急性弛緩性麻痺・EV-D68感染症は感染症法による報告の対象外)

急性灰白髄炎(ポリオ)

- 二類感染症、全数報告
- ワクチン由来麻痺(VAPP)症例を含む
- ウィルス学的確定診断が必須
- 発症直後に適切な臨床検体(糞便)を採取することが重要

無菌性髄膜炎

- 五類感染症、内科・外科定点
- 病原体診断には適切な臨床検体(髄液、糞便等)を採取する

手足口病

- 五類感染症、小児科定点
- 病原体診断には適切な臨床検体(咽頭拭い液、糞便等)を採取する

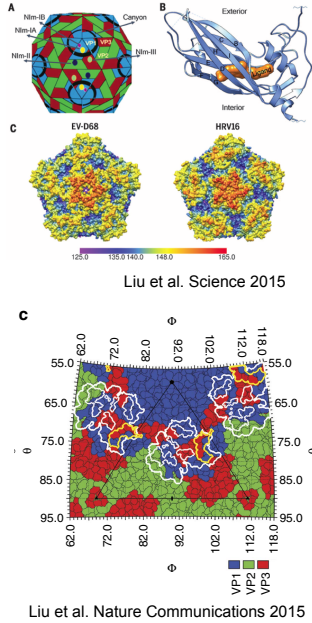
ヘルパンギーナ

- 五類感染症、小児科定点
- 病原体診断には適切な臨床検体(咽頭拭い液等)を採取する

急性出血性結膜炎

- 五類感染症、眼科定点
- 病原体診断には適切な臨床検体(角膜拭い液)を採取する

EV-D68のウイルス学的特徴



- ウイルス分類学的には *Enterovirus D* に属する (VP1遺伝子による系統解析)
- RV-87は遺伝子解析等によりEV-D68に再分類
- 37°Cより33°Cで効率良く増殖 (温度感受性)
- 酸性条件下(pH3.0)で増殖しにくい (酸感受性)
- おもに咽頭拭い液から検出 (糞便からの検出頻度は低い)
- 感受性細胞表面のシアル酸と結合 ($\alpha 2,6$ 結合シアル酸受容体と効率良く結合)
- エンテロウイルス遺伝子検査で検出・同定可能
- EV-D68特異的遺伝子検出法(高感度)

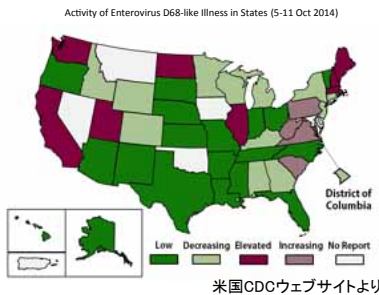
EV-D68のウイルス学的特徴

- 関連ウイルスとの比較 -

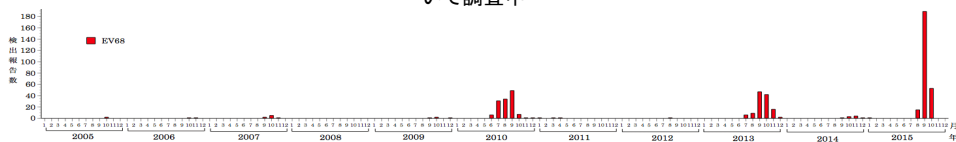
		エンテロウイルス		ライノウイルス	
Species		<i>Enterovirus A~C</i>	<i>Enterovirus D</i>	<i>Rhinovirus A~C</i>	
Serotype/Type		100以上の型 ポリオウイルス コクサッキーA群およびB群ウイルス エコーウイルス エンテロウイルスA71、等	エンテロウイルス D68	エンテロウイルス D70	100以上の型
培養細胞での増殖		多くのヒトおよびサル由来培養細胞で増殖可	ヒトおよびサル由来培養細胞で増殖可	ヒト由来培養細胞で増殖可 (ウイルス株による)	Rhinovirus C以外はヒト由来培養細胞で増殖可
至適増殖温度		37°C	33°C	33°C	33°C
酸耐性		pH3.0で比較的安定	pH3.0で不安定	pH3.0で比較的安定	pH3.0で不安定
おもな宿主受容体		Poliovirus receptor (PVR) Coxsackievirus-adenovirus receptor (CAR) Intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1) Complement decay-accelerating factor (DAF) Scavenger receptor class B, member 2 (SCARB2) P-selection glycoprotein ligand-1 (PSGL-1) Integrin family	シアル酸 ($\alpha 2,6$ -結合 > $\alpha 2,3$ -結合)	DAF シアル酸	ICAM-1 Low-density lipoprotein receptor (LDLR) Human cadherin-related family member 3 (HHR3)
おもな検出部位 (推定伝播経路)		糞便、鼻咽頭拭い液、唾液等 (糞口感染 > 呼吸器感染)	鼻咽頭拭い液 (飛沫・接触による呼吸器感染)	結膜 (接触・飛沫による結膜感染)	鼻咽頭拭い液 (飛沫・接触による呼吸器感染)
病原性	ヒト	異なるエンテロウイルス型による多様な疾患に関与	呼吸器疾患 中枢神経疾患?	急性出血性結膜炎	呼吸器疾患 (上気道炎、気管支炎、気管支喘息)
	感受性	霊長類 乳のみマウス マウス (マウスアダプト株) ヒト受容体発現トランスジェニックマウス	乳のみマウス (ウイルス株による)	ウサギ	ヒト受容体発現トランスジェニックマウス (マウスアダプト株)
	動物	病原性 中枢神経症状 (麻痺、無菌性髄膜炎等)	麻痺	結膜炎	呼吸器症状

エンテロウイルス D68 と類似したウイルス学的性状について網掛けで示した。

米国および日本におけるエンテロウイルスD68 (EV-D68)感染症流行 2014-2015年



- ←2014年8月～2015年1月、米国各地で流行 (1153確定例)
- 重症例・死亡例を含む呼吸器感染症例から多く検出
- 中枢神経疾患症例 (polio-like illness) からの検出も報告
- おもに咽頭拭い液から検出
- ウイルス分類学的にはEnterovirus Dに属するが (VP1遺伝子による系統解析)、pH感受性・増殖温度等ウイルス学的性状がライノウイルスに類似 (呼吸器感染ウイルスの特徴)
- ↓2015年8月以降、日本で急性弛緩性麻痺 (AFP) 症例の増加
- 厚生省事務連絡 (2015年10月) による実態把握
- ほぼ同時期にEV-D68検出例が増加 (2015年9月がピーク)
- EV-D68感染とAFP/急性弛緩性脊髄炎 (AFP) の関連性について調査中



日本における最近のEV-D68検出事例 (病原微生物検出情報、他)

Adult Case of Acute Flaccid Paralysis with Enterovirus D68 Detected in the CSF

Neurology: Clinical Practice (in press)

特集 エンテロウイルスD68と関連疾患

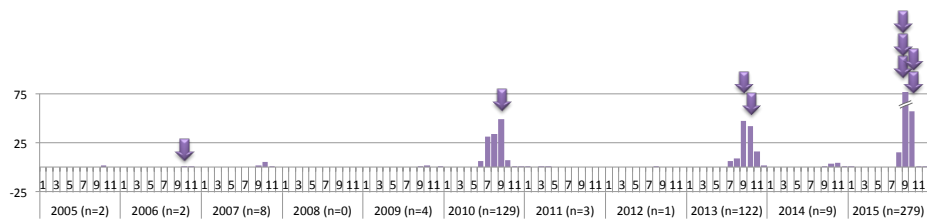
臨床とウイルス 2016年7月

エンテロウイルスD68型 (EV-D68)に関する国内の疫学情報のまとめ (2016年1月20日現在)

IASR 2016年2月

短期間の地域流行が示唆されたエンテロウイルスD68型検出の小児4症例—仙台市
 喘息様症状での入院者数とエンテロウイルスD68型流行との関連—さいたま市
 エンテロウイルスD68型が検出された麻痺症状を呈する小児症例を含む2症例—青森県
 気管支喘息発作の急増とエンテロウイルスD68型陽性—鶴岡市
 エンテロウイルスD68型の再出現と系統樹解析 (2010~2015年)—大阪市
 喘息症状を呈する患者からのエンテロウイルス68型 (EV-D68) の検出—広島市
 エンテロウイルスD68型が検出された、急性弛緩性脊髄炎を含む8症例—さいたま市
 エンテロウイルスD68型が検出された小児4症例—東京都
 エンテロウイルスD-68型が検出された小児・乳児の4症例—広島県

IASR 2015年12月
 IASR 2015年12月
 IASR 2015年12月
 IASR 2015年11月
 IASR 2015年11月
 IASR 2015年10月
 IASR 2015年10月
 IASR 2015年10月
 IASR 2014年12月



急性弛緩性麻痺(AFP)症例の探知

- 2015年9月上旬に、急性弛緩性麻痺 (acute flaccid paralysis: AFP)を認める小児例の相談があった。
- 症状はポリオ様麻痺。
- ポリオウイルスとエンテロウイルスの検索が必要として最寄りの保健所へ相談依頼。
- 地方衛生研究所でポリオ否定。

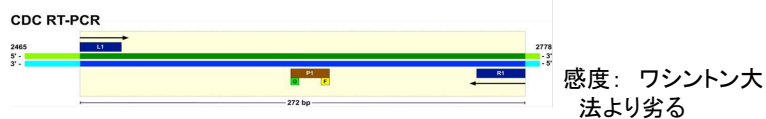
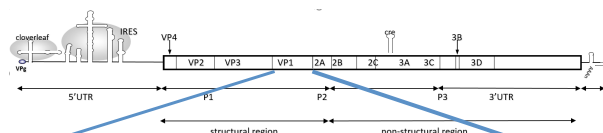
第9回 厚労省健康局記者勉強会(2016年8月29日)資料 (感染研感染症疫学センター 多屋先生提供資料)

急性弛緩性麻痺(AFP)症例 探知から多発の確認

- 急性期の臨床検体(5点セット+ペア血清)の冷凍保管と患者情報の共有依頼
- 小児神経専門医のメーリングリストへの情報提供
- 日本小児神経学会から協力依頼
- 20例以上のAFP症例が全国各地で発症判明
- 急性弛緩性脊髄炎(acute flaccid myelitis: AFM)症例が多い
- 2015年10月12日に、日本小児科学会、厚生労働省による緊急会議開催
- 2015年10月21日に、厚生労働省から「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)」の事務連絡発出
- 感染症法に基づく積極的疫学調査の一環として、AFP症例の症例探査と、地方衛生研究所・国立感染症研究所でポリオを含む病原体検索の実施(一次調査)

第9回 厚労省健康局記者勉強会(2016年8月29日)資料 (感染研感染症疫学センター 多屋先生提供資料)

EV-D68特異的リアルタイムPCR



C _T value range (WashU design 1 defined)	No. of samples tested	No. of positive test results for:	
		WashU design 1	Modified CDC assay
<22	10	10	10
22-27	10	10	10
>27-32	10	10	10
>32	10	10	0
Neg ^a	20	20	20

ウイルスの遺伝子量が少ないとき、ワシントン大法のみ陽性となる

^aNeg, negative.

J Clin Microbiol. 2015 Aug; 53(8): 2641-2647.

第9回 厚労省健康局記者勉強会(2016年8月29日)資料 (感染研感染症疫学センター 藤本先生提供資料)

2015年のAFP症例積極的疫学調査の検査結果まとめ

- 2種類のEV-D68特異的リアルタイムPCRに加えて、すべての型のEVを検出するリアルタイムPCRによって、通知に基づく検査を国立感染症研究所において実施した。
- その結果、2016年3月までに依頼があった患者の約4分の1からEV-D68遺伝子が検出された。
- EV-D68検出感度は ワシントン大法、CDC法、すべての型用の順に高かった。
- 検査は、次の理由により難しいものが多かった。①提出された検体の量が不十分であったり、②検体が髄液のみしかなかったり、③発症から日数が経ってから採取された検体が多く、④検体の質が低下している検体も多かったこと。
- AFP発症とEV-D68検出の関連性は、慎重な評価を要する。

(臨床とウイルス Vol.44 No3 2016)

第9回 厚労省健康局記者勉強会(2016年8月29日)資料 (感染研感染症疫学センター 藤本先生提供資料)

2015年のAFP症例積極的疫学調査と今後の課題

- 現在、急性脳炎(脳症)は感染症法に基づく5類感染症全数把握疾患で、診断後7日以内に最寄りの保健所に届け出ることが医師に義務づけられていますが、急性弛緩性麻痺(AFP)症状を認める症例については、ポリオを除いて感染症法に基づく対象疾患に含まれていないことから、2016年1月以降の患者数は把握できていません。
- 麻痺残存例も多く、予後も決して良好とは言えないことから、今後同様の症例が発生した場合に、迅速な診断・治療に繋げるためには、急性弛緩性麻痺(AFP)症状を認める症例を探知するサーベイランス制度が必要です。
- 原因病原体を検索するためには、急性期の検体の確保が極めて重要です。
- 感染症が疑われるが原因不明の場合で、何らかの神経症状を認めた症例については、急性期の血液、髄液、呼吸器由来検体(咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液あるいは鼻腔吸引液、喀痰、挿管されていたら気管吸引液)、便、尿の5点セットと、急性期と回復期のペア血清(γ グロブリン製剤を投与している場合は、投与前、投与後1, 3, 6か月後の血清保管)を小分けで -70°C 以下に凍結保管し、適切に検査実施機関に搬送することで病原体検出の可能性が出てきます。凍結融解を繰り返したり、家庭用の冷蔵庫の冷凍室や室温保存の場合、その後の原因究明が困難になります。
- 原因病原体が判明することで、診断法・治療法・予防法の開発に繋げられることが期待されます。
- 今回の調査は、全国の医療機関、保健所、地方衛生研究所の先生方の多大なご協力により実施できました。この場をお借りして、厚く御礼申し上げます。

第9回 厚労省健康局記者勉強会(2016年8月29日)資料 (感染研感染症疫学センター 多屋先生提供資料)

エンテロウイルスD68感染症

今後必要とされる研究

- 臨床疫学研究 (AFP/AFM及び呼吸器感染症)
- 分子疫学的研究
- 血清疫学・抗原性解析
- ウイルス学的基礎研究
 - ✓ 細胞および組織トロピズム (α 2,6結合シアル酸受容体と結合 \uparrow)
 - ✓ “呼吸器感染”エンテロ”ウイルス(温度感受性・酸耐性等)としての解析
 - ✓ 感染動物モデル(呼吸器感染症、AFP/AFM)と感染病理
 - ✓ 実験室診断・ワクチン・治療薬開発
- EV-D68感染症・急性弛緩性麻痺のサーベイランス体制