

フラビウイルス感染症

札幌市保健福祉局保健所
感染症担当部長 前木 孝洋

発表内容

1. 日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の抗体の交差反応の解析
2. フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性
3. ペア血清を採取、保管するために必要なこと

発表内容

1. 日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の抗体の交差反応の解析
2. フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性
3. ペア血清を採取、保管するために必要なこと

日本脳炎 (Japanese encephalitis, JE)

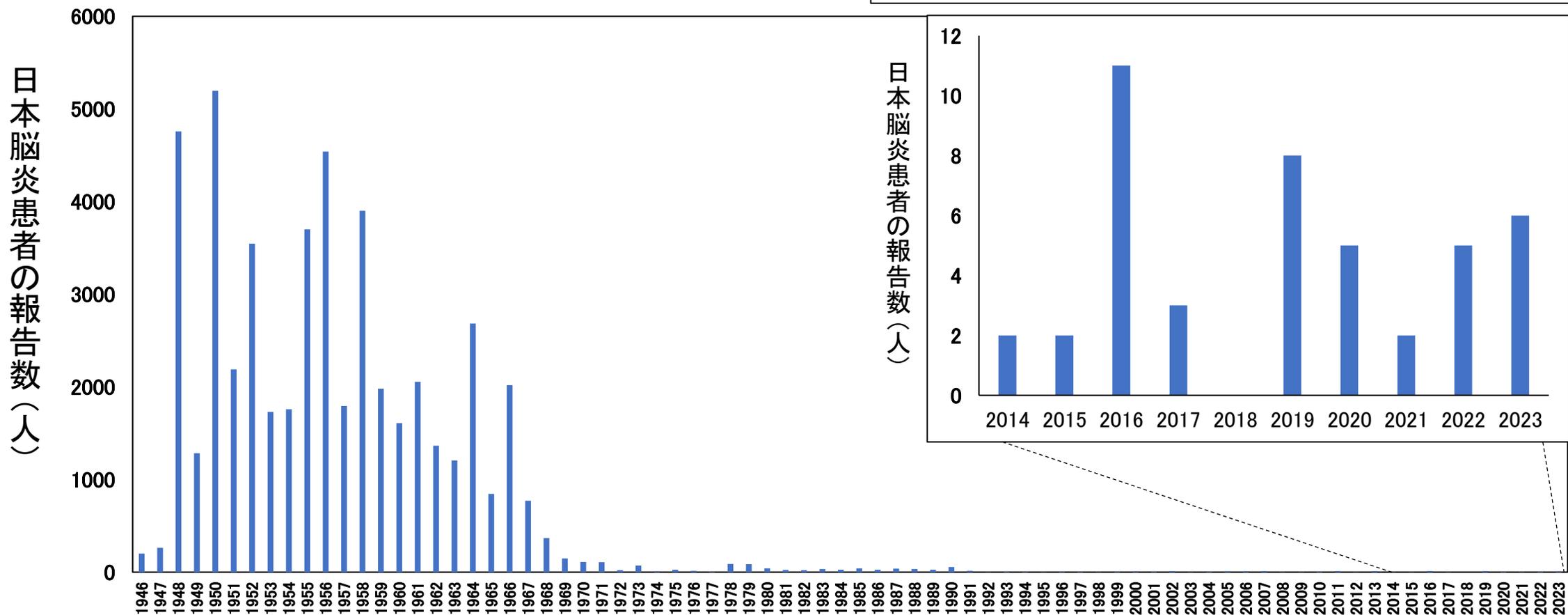
- 原因
 - 日本脳炎ウイルス (Japanese encephalitis virus, JEV)
- 感染経路
 - 主に、コガタアカイエカによる吸血
- 症状
 - 大半は無症状
 - 発症例では、発熱や頭痛などの前駆症状の後に痙攣や意識障害などが出現
- 治療法
 - 特異的な治療薬は存在しない
- 予防
 - 日本ではVero細胞由来の不活化ワクチン

コガタアカイエカ



日本におけるJE患者報告数の年次推移

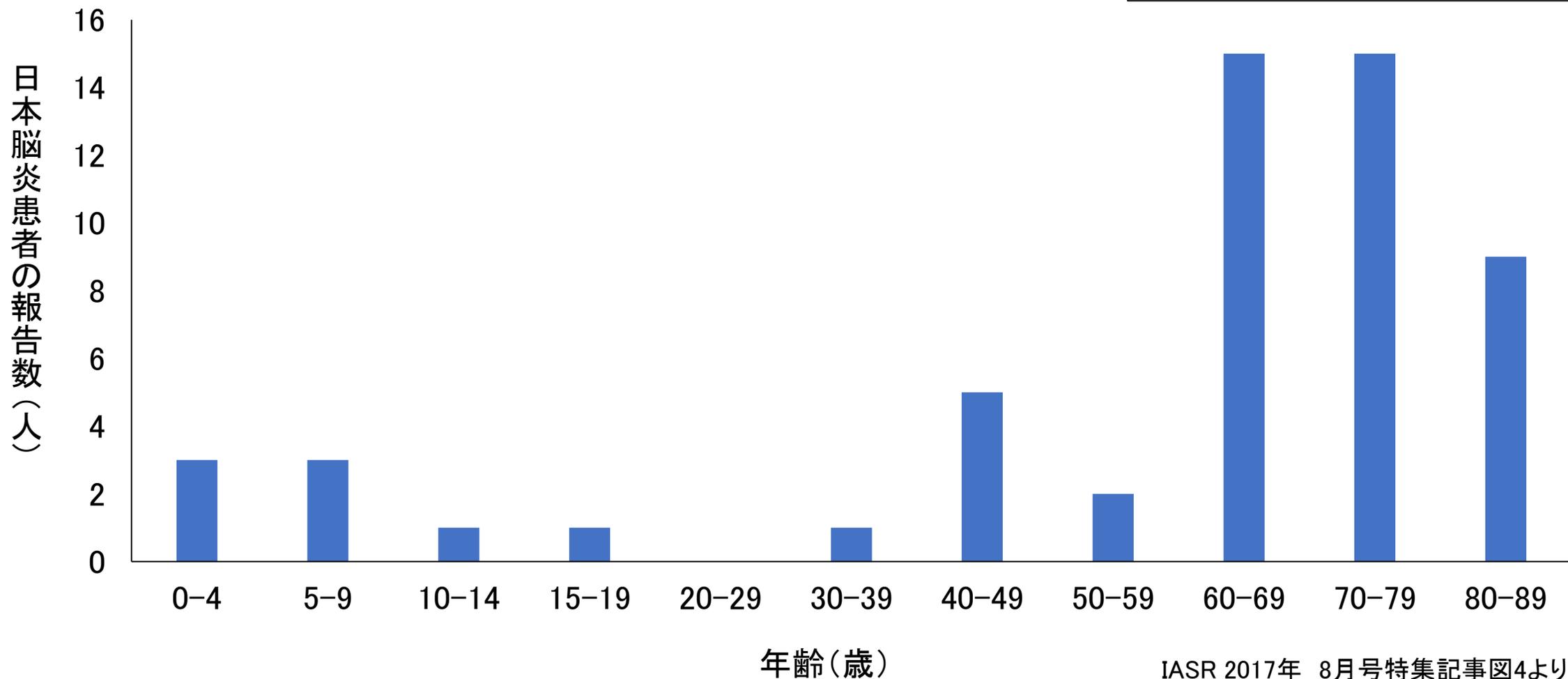
2014年から2023年の10年間で44人 → 4.4人/年



1946～1964年 伝染病統計
1965～1998年 伝染病流行予測調査
1999～2023年 感染症発生動向調査

JE患者の年齢分布（2007～2016年の累計）

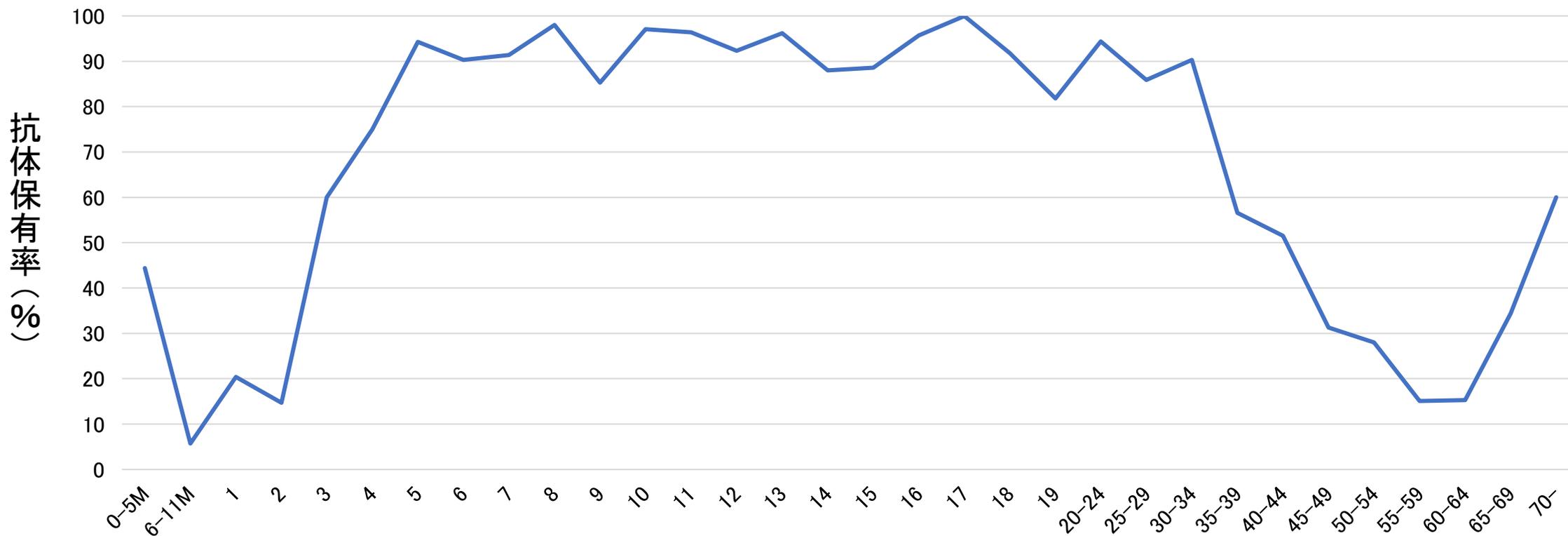
日本脳炎患者の大半は高齢者



日本脳炎ウイルス抗体の保有状況

-年齢/年齢群別の、JEVに対する中和抗体価が10倍以上の人の割合-

30歳代後半より中和抗体保有率が低下



年齢/年齢群

2019年 感染症流行予測調査より

<https://www.niid.go.jp/niid/ja/y-graphs/9677-je-yosoku-serum2019.html>

JEの診断基準

検査方法	検査材料
分離・同定による病原体の検出	血液、髄液
PCR法による病原体の遺伝子の検出	血液、髄液
IgM抗体の検出	血清、髄液
中和試験または赤血球凝集阻止法または補体結合反応による抗体の検出 (ペア血清による抗体陽転又は抗体価の有意上昇)	血清

JEの診断基準

検査方法

検査材料

分離・同定による病原体の検出

血液、髄液

PCR法による病原体の遺伝子の検出

血液、髄液

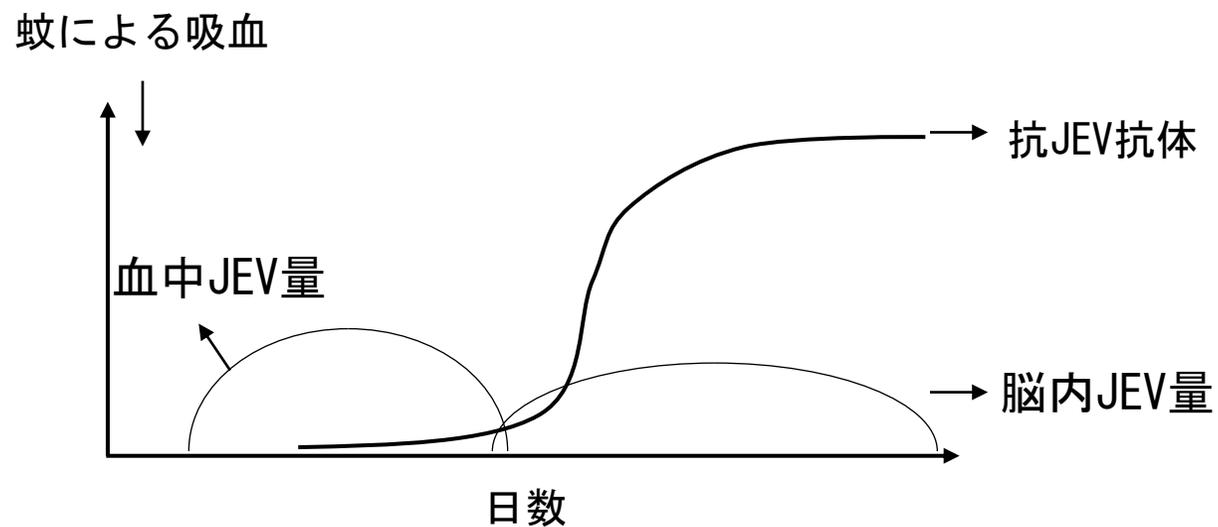
IgM抗体の検出

血清、髄液

中和試験または赤血球凝集阻止法または補体結合反応による抗体の検出
(ペア血清による抗体陽転又は抗体価の有意上昇)

血清

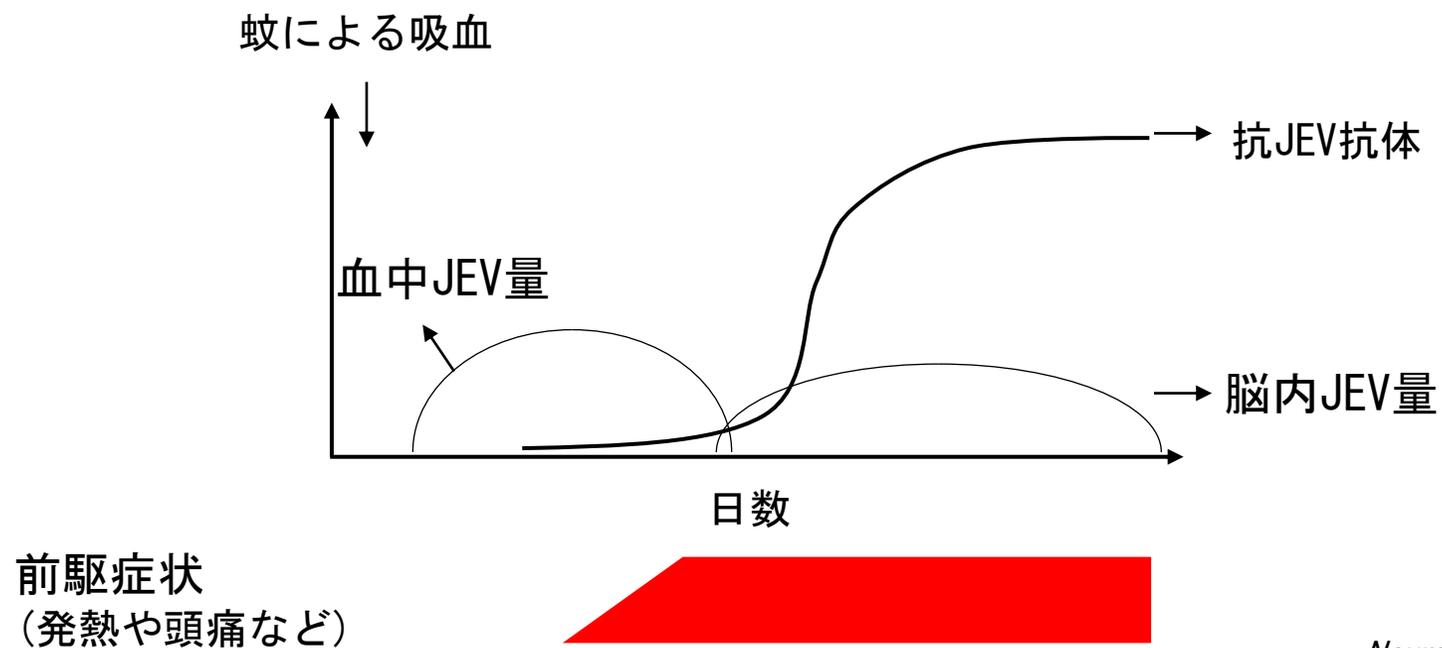
JEの経過と診断



Neurol Clin 2008;26:727-57

綜合臨床 1982. 31 (3) 452-456, 図1
(一部修正)

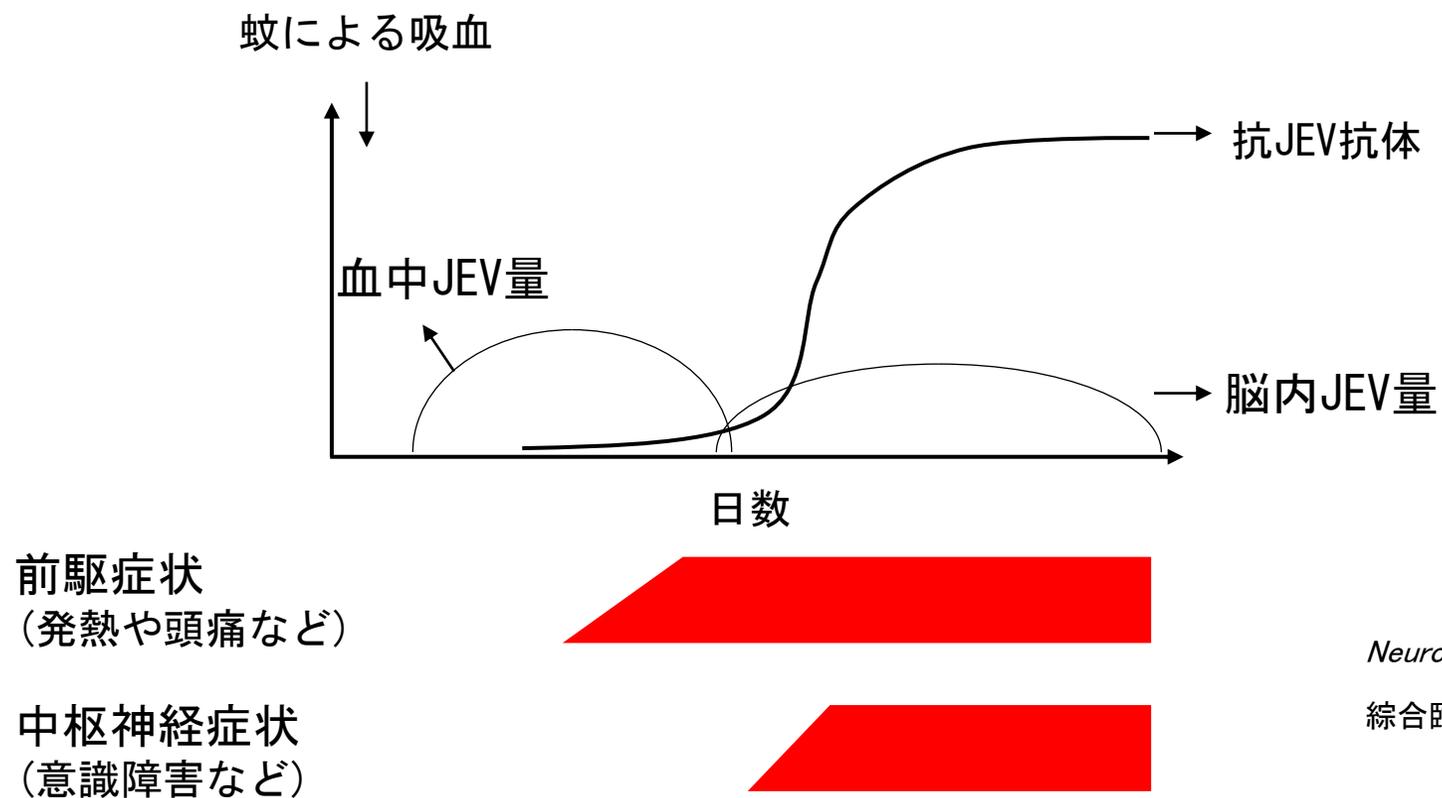
JEの経過と診断



Neurol Clin 2008;26:727-57

綜合臨床 1982. 31 (3) 452-456, 図1
(一部修正)

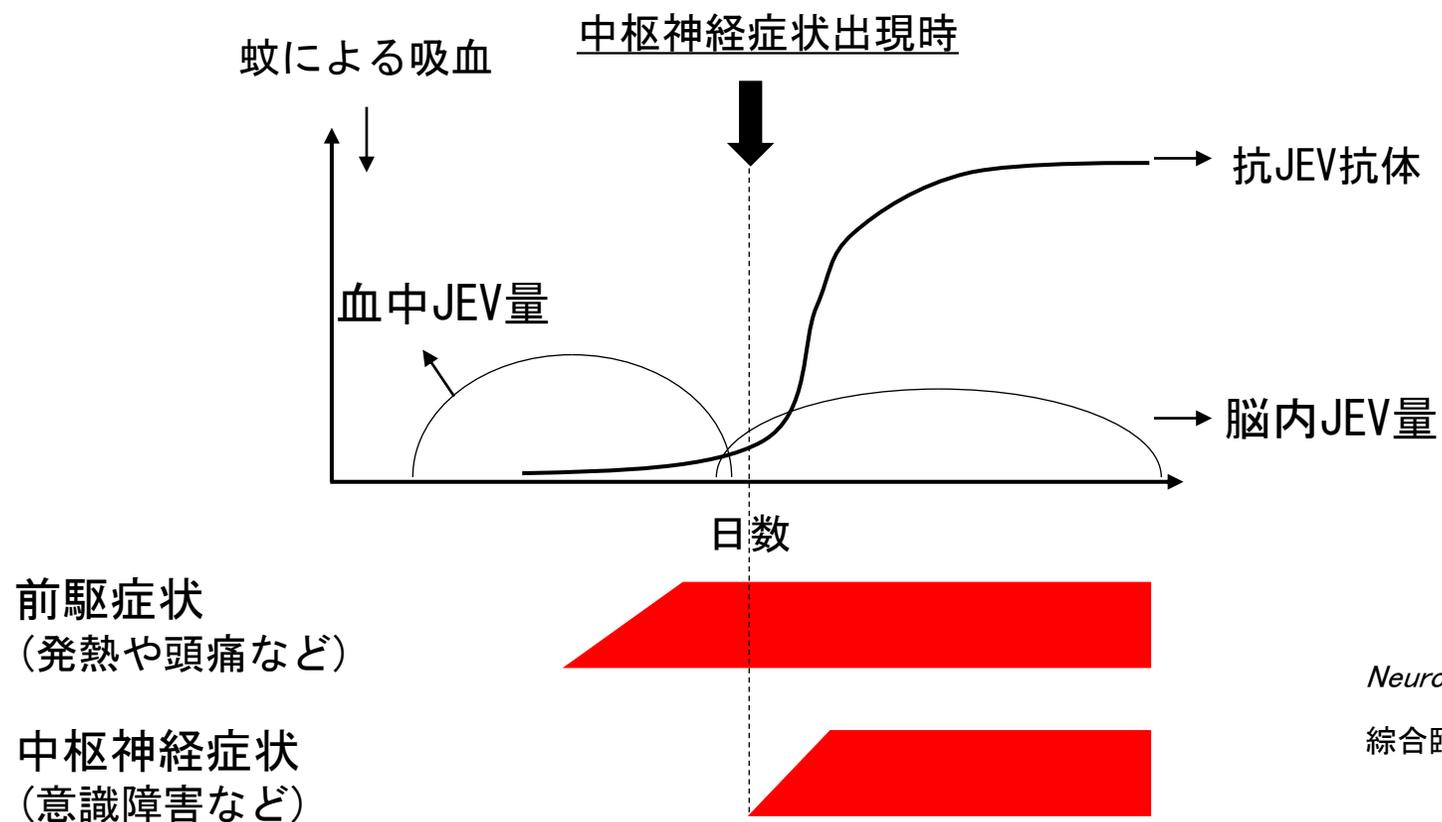
JEの経過と診断



Neurol Clin 2008;26:727-57

綜合臨床 1982. 31 (3) 452-456, 図1
(一部修正)

JEの経過と診断

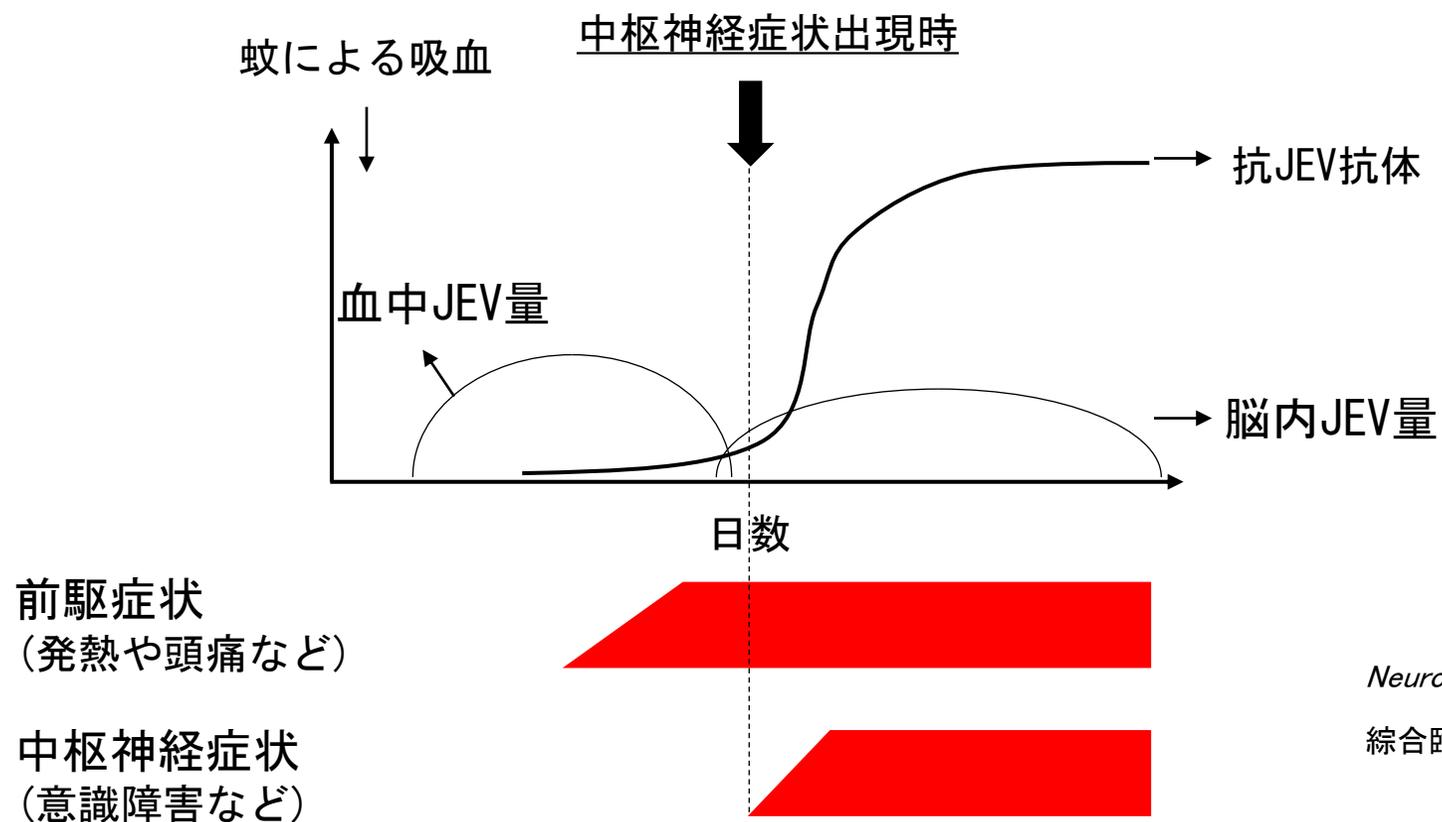


Neurol Clin 2008;26:727-57

総合臨床 1982. 31 (3) 452-456, 図1
(一部修正)

JEの経過と診断

中枢神経症状が出現した時点では
JEV遺伝子は血液や髄液からはほとんど検出されない
↓
JEの診断は主に、抗JEV抗体の検出によってなされる



Neurol Clin 2008;26:727-57

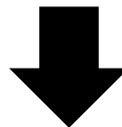
総合臨床 1982. 31 (3) 452-456, 図1
(一部修正)

JEの診断における課題

- フラビウイルス間の抗体の交差反応*のために、抗JEV抗体検出検査の特異性が低い

* フラビウイルス間の抗体の交差反応

- あるフラビウイルスに対する抗体が、別の近縁のフラビウイルスにも反応性を示す現象
(例:ジカウイルス感染症患者の血清がデングウイルス抗体検出検査で陽性となる)



- 特異性の低い抗JEV抗体検出検査で正確に日本脳炎を診断することができるか？

研究の目的と方法

- 目的

- 抗JEV抗体(JE患者血清)が、他のフラビウイルスに交差反応を示すか否かを解析すること

- 方法:

- 日本で2016年に報告されたJE患者11名のうち10名から採取された16血清を用いて、以下の解析を行なった

- IgM ELISA: WNV, DENV, ZIKV, TBEV
- IgG ELISA: DENV, TBEV
- 中和試験: WNV, DENV, ZIKV, TBEV

WNV: ウエストナイルウイルス
DENV: デングウイルス
ZIKV: ジカウイルス
TBEV: ダニ媒介脳炎ウイルス

解析を行った血清の抗JEV抗体検査結果

- ・ 全検体がJEV IgM抗体陽性であった
- ・ 全ての回復期血清がJEVに対して640倍以上の中和抗体価を示した

患者番号	年齢	性別	検体番号	発症後 日数(日)	JEV IgM捕捉 ELISA index ^a	JEVに対する 中和抗体価 ^b
1	86	男	1/1s	21	9.96	2,560
2	78	男	2/1s	32	9.48	1,280
3	80	女	3/1s	21	10.49	10,240
4	77	男	4/1s	6	10.28	10,240
			5/1s	8	9.94	20,480 <
5	85	女	5/2s	24	9.65	10,240
			6/1s	8	9.17	1,280
6	68	女	6/2s	20	7.88	1,280
			7/1s	4	7.22	80
7	67	女	7/2s	19	9.76	2,560
			8/1s	2	4.11	640
8	44	男	8/2s	9	8.22	実施せず
			8/3s	17	9.33	20,480
			9/1s	10	10.08	10,240
9	69	女	9/2s	74	7.85	640
			10/1s	7	9.41	1,280

いずれの検体からもJEV遺伝子は検出されなかった

a ELISA index > 2.0 → 陽性

b 北京株に対する抗体価 (50 % プラーク減少法)

ELISAの結果：交差反応を示す血清が多い

検体番号	発症後日数	IgM				IgG	
		WNV	DENV	ZIKV	TBEV	DENV	TBEV
1/1s	21	2.18	1.21	0.38	0.54	2.03	4.51
2/1s	32	0.52	0.95	0.39	0.25	1.89	1.43
3/1s	21	2.44	1.34	0.43	0.24	1.52	0.76
4/1s	6	1.92	7.57	0.48	3.45	1.23	0.46
5/1s	8	2.09	2.90	0.47	0.37	1.08	0.26
5/2s	24	1.76	2.22	0.46	0.30	0.98	0.20
6/1s	8	1.20	4.33	0.43	0.79	1.77	1.75
6/2s	20	0.60	3.05	0.42	0.57	2.32	4.51
7/1s	4	0.23	0.33	0.46	0.20	0.56	0.14
7/2s	19	1.21	0.91	0.44	0.39	2.65	5.30
8/1s	2	0.16	0.39	0.43	0.22	1.15	0.29
8/2s	9	0.30	0.44	0.44	0.21	1.96	1.37
8/3s	17	0.92	0.57	0.43	0.24	2.43	3.19
9/1s	10	0.76	2.67	0.45	0.26	1.27	0.88
9/2s	74	0.28	0.78	0.48	0.19	1.81	1.82
10/1s	7	0.46	0.80	0.50	0.21	0.68	0.15
陽性を示した血清数		7	8	0	1	12	8
判定保留を示した血清数		1	2	0	0	2	0

各ELISA indexを示す

: 陽性

 : 判定保留

(解析を行った血清数: 16)

中和試験結果

中和抗体価 (50%プラーク減少法)

検体番号	発症後 日数	DENV 1 (10-07)	DENV 2 (TLC-30)	DENV 3 (00-40)	DENV 4 (TVP360)	ZIKV (PRVABC59)	TBEV (RSSEV)	WNV (NY99-6922)	JEV (Beijing-1)	JEVに対する中和抗体価: WNVに対する中和抗体価
1/1s	21	<40	<40	<40	<40	<20	<20	40	2560	64
2/1s	32	<40	<40	<40	<40	<20	<20	40	1280	32
3/1s	21	<40	<40	<40	<40	<20	<20	20	10240	512
4/1s	6	<40	<40	<40	<40	<20	<20	40	10240	256
5/1s	8	<40	<40	<40	<40	<20	<20	20	20480	10240 <
5/2s	24	<40	<40	<40	<40	<20	<20	40	10240	256
6/1s	8	<40	<40	<40	<40	<20	<20	20	1280	64
6/2s	20	<40	<40	<40	<40	<20	<20	<20	1280	1280 ^(*)
7/1s	4	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	<20	80	8 ^(*)
7/2s	19	<40	<40	<40	<40	<20	<20	160	2560	16
8/1s	2	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	40	640	16
8/3s	17	<40	<40	<40	<40	<20	<20	640	20480	32
9/1s	10	<40	<40	<40	<40	<20	<20	20	10240	512
9/2s	74	<40	<40	<40	<40	<20	<20	20	2560	128
10/1s	7	<40	<40	<40	<40	<20	<20	<20	1280	128 ^(*)

n.d.: not done

(*) WNVに対する中和抗体価を10として算出

まとめ

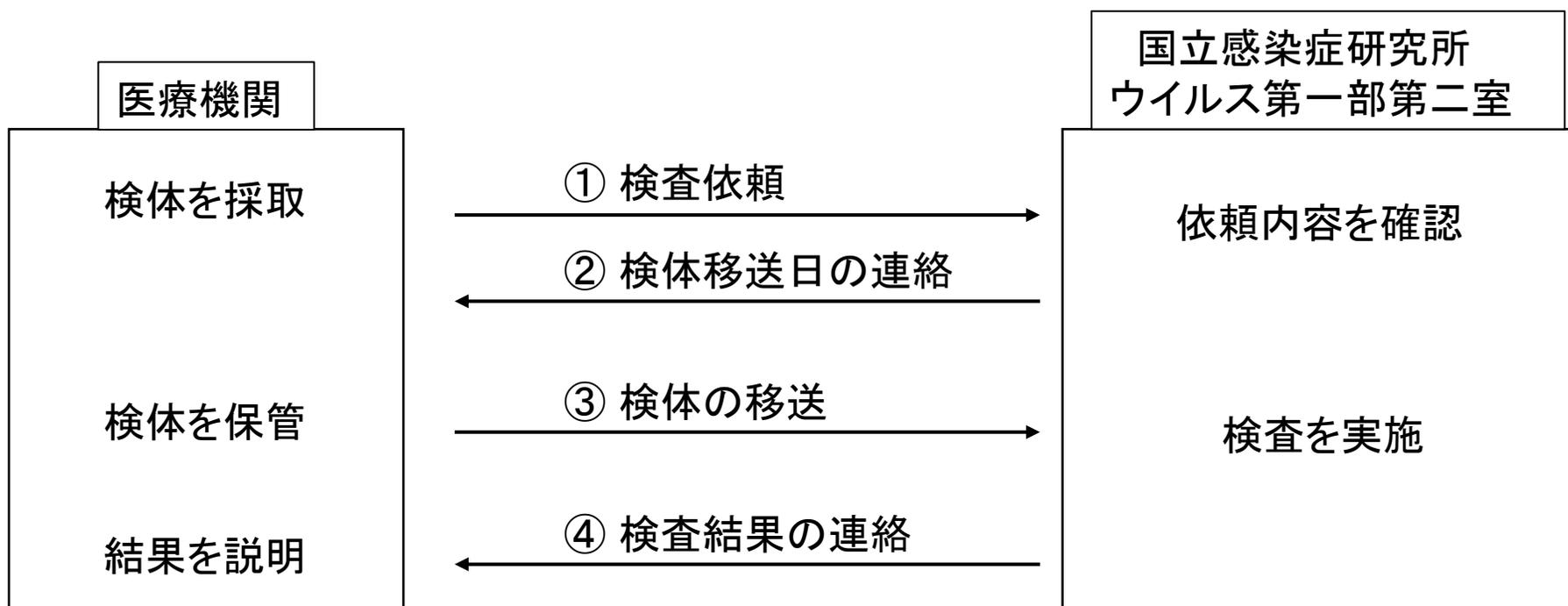
日本脳炎の診断には中和試験が重要であることが示された

- 2016年に報告されたJE患者10人から採取された16血清を用いて、抗JEV抗体が、他のフラビウイルスへ交差反応を示すか否かについての解析を行った。
- IgM ELISAでは、WNV,DENV,TBEVに対してそれぞれ7, 8, 1血清が交差反応を示した。
- IgG ELISAでは、DENV, TBEVに対してそれぞれ12, 8血清が交差反応を示した。
- 中和試験では
 1. DENV, ZIKV, TBEVに対する交差反応は検出されなかった。
 2. WNVに対する交差反応が検出されたものの、中和抗体価はJEVに対する中和抗体価と比べ8分の1以下であった。

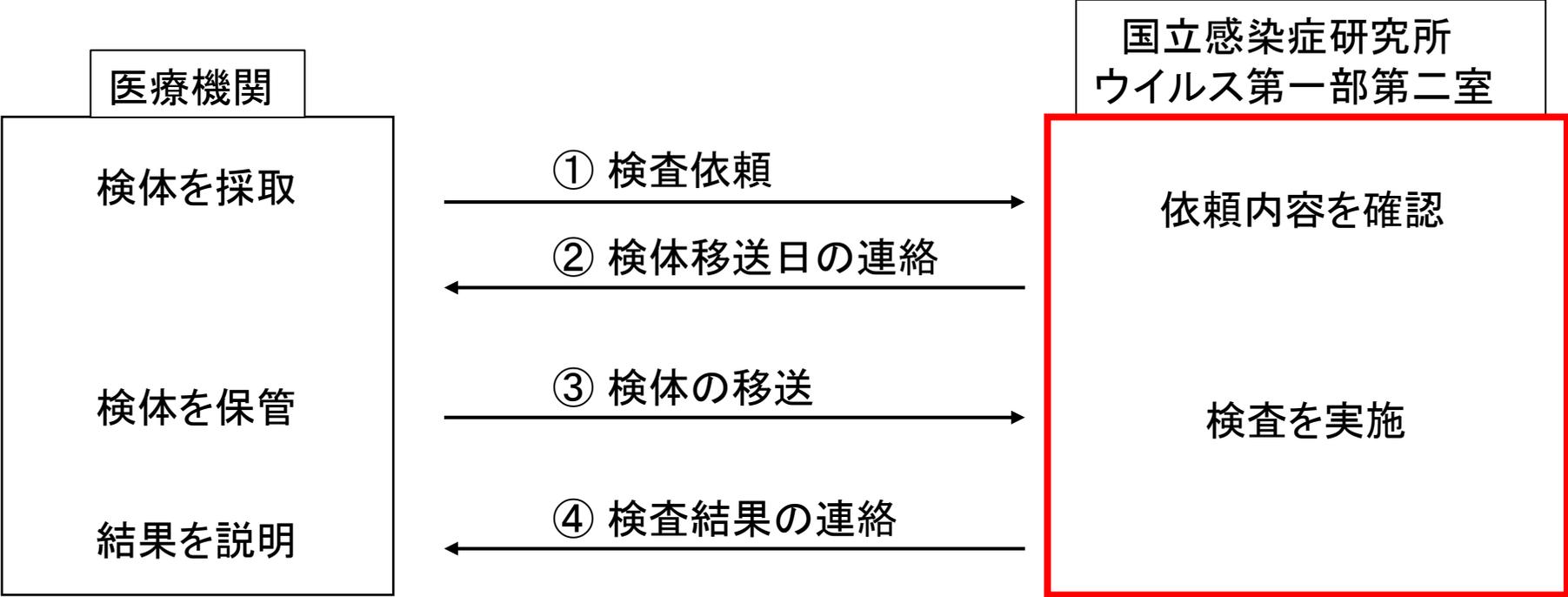
発表内容

1. 日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の抗体の交差反応の解析
2. フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性
3. ペア血清を採取、保管するために必要なこと

医療機関からのフラビウイルス検査の流れ



医療機関からのフラビウイルス検査の流れ



フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性

1. 回復期血清しかない場合
2. 急性期血清しかない場合

フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性

1. 回復期血清しかない場合
2. 急性期血清しかない場合

回復期血清しかない場合の問題点

- 回復期血清を用いて抗体検査を実施し、結果が陽性であった場合、陽性となった理由が、
 1. 過去の感染によるものであるのか、最近の感染によるものであるかを判別できない。
 2. ワクチンの種類および検査系の種類によっては、ワクチン接種によるものであるかを判別できない。

回復期血清しかない場合の問題点

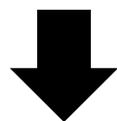
- 回復期血清を用いて抗体検査を実施し、結果が陽性であった場合、陽性となった理由が、

1. 過去の感染によるものであるのか、最近の感染によるものであるかを判別できない。
2. ワクチンの種類および検査系の種類によっては、ワクチン接種によるものであるかを判別できない。

回復期血清しかない場合の問題点

- 回復期血清を用いて抗体検査を実施し、結果が陽性であった場合、陽性となった理由が、

1. 過去の感染によるものであるのか、最近の感染によるものであるかを判別できない。



以下のような事例を想定して説明

- ・チクングニア熱流行国への渡航者が発熱、関節痛で発症した。
- ・回復期血清しかない状況で検査依頼があった。

チクングニア熱疑いの検査依頼（想定例）

- 50歳 男性
- 令和6年9月1日からブラジル（チクングニア熱の流行国）に渡航。
- 9月15日に発熱（体温は測定していない）、関節痛で発症。
- 9月18日より解熱するも関節痛が持続。
- 10月16日に帰国。帰国後も関節痛が持続するため医療機関を受診。
- チクングニア熱が疑われるため、検査依頼があった。

検査に関連する情報

- ブラジルへの渡航期間: 9月1日から10月16日
- ブラジル滞在中に何回か蚊に刺された。
- 発症日: 9月15日
- 検体（血清）採取日: 10月16日（発症後約1か月後）
- 過去の海外渡航歴
 - 令和6年4月3日から約1か月間、ブラジルへ渡航
 - 令和5年の春と秋に、約1か月間ずつ、ブラジルへ渡航

検査に関連する情報

担当医から「検査はできるでしょうか？」

- ブラジルへの渡航期間: 9月1日から10月16日
- ブラジル滞在中に何回か蚊に刺された。
- 発症日: 9月15日
- 検体(血清)採取日: 10月16日(発症後約1か月後)
- 過去の海外渡航歴
 - 令和6年4月3日から約1か月間、ブラジルへ渡航
 - 令和5年の春と秋に、約1か月間ずつ、ブラジルへ渡航

問い合わせに対する回答の概要（私案）

- チクングニアウイルス (chikungunya virus, CHIKV)感染症の検査は可能です。
- 発症から1か月経過しているため、ウイルス遺伝子検出検査は行わず、抗体検査を実施します。
- 結果が陰性の場合、チクングニア熱は否定的と考えられます。
- 一方、抗体検査が陽性になった場合、最終的な結果をお伝えするまで1か月くらい時間をいただきたく思います。また、その場合、過去の感染であるのか、最近の感染であるのかを判別するのが難しいことが多いです。
- 検査結果によっては、結果が出るまで時間がかかる可能性があること、および、解釈が難しい結果になる場合もあるということをご理解いただけるのであれば、検査します。

検査結果と解釈

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

検査結果と解釈

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

検査結果と解釈

急性期血清があったと仮定

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

検査結果と解釈

急性期血清があったと仮定

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染



採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
1	+	+	80倍

検査結果と解釈

急性期血清があったと仮定

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染



採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
1	—	—	—

検査結果と解釈

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

現実的には、過去に遡って急性期血清を採取することはできない

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体		IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
1	+	+	+	1	—	—	—

過去にチクングニア熱流行国への渡航歴がある

検査結果と解釈

抗体検査が陽性となった場合には結果の解釈が困難

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体	
30	—	—	—	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

現実的には、過去に遡って急性期血清を採取することはできない

採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV			採血時点での 発症後日数(日)	CHIKV		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体		IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
1	+	+	+	1	—	—	—

過去にチクングニア熱流行国への渡航歴がある

回復期血清のみで中和試験を実施した時に得られる情報と限界

中和試験を実施してもわからないことはある

• 得られる情報

- 他の検査法（ELISAや間接蛍光抗体法など）で陽性となった場合、その原因が当該ウイルス感染によるものである可能性が高いかどうかの判断材料となる
（つまり、中和試験で陰性であった場合には当該感染症を否定する根拠となる）

• 限界

- 感染した時期（過去か直近か）についての判断材料にならないことが多い

採血時点での 発症後日数（日）	CHIKV			結果の解釈
	IgM抗体	IgG抗体	中和試験	
30	—	—	実施しない	チクングニア熱は否定的
30	+	±	—	チクングニア熱は否定的
30	+	+	160倍	過去の感染または最近の感染

回復期血清しかない場合にはフラビウイルス感染症を診断できない？

解析を行った血清の抗JEV抗体検査結果

- 急性期から回復期にかけての有意な中和抗体価の上昇が確認されたのは2名（患者番号7, 8）だけ
- その他の8名は、回復期血清のみ

患者番号	年齢	性別	検体番号	発症後 日数(日)	JEV IgM捕捉 ELISA index ^a	JEVに対する 中和抗体価 ^b
1	86	男	1/1s	21	9.96	2,560
2	78	男	2/1s	32	9.48	1,280
3	80	女	3/1s	21	10.49	10,240
4	77	男	4/1s	6	10.28	10,240
5	85	女	5/1s	8	9.94	20,480 <
			5/2s	24	9.65	10,240
6	68	女	6/1s	8	9.17	1,280
			6/2s	20	7.88	1,280
7	67	女	7/1s	4	7.22	80
			7/2s	19	9.76	2,560
8	44	男	8/1s	2	4.11	640
			8/2s	9	8.22	実施せず
			8/3s	17	9.33	20,480
9	69	女	9/1s	10	10.08	10,240
			9/2s	74	7.85	640
10	66	女	10/1s	7	9.41	1,280

解析を行った血清の抗JEV抗体検査結果

- 急性期から回復期にかけての有意な中和抗体価の上昇が確認されたのは2名（患者番号7, 8）だけ

- その他の8名は、回復期血清のみ



- 過去の感染ではない根拠は？

患者番号	年齢	性別	検体番号	発症後 日数(日)	JEV IgM捕捉 ELISA index ^a	JEVに対する 中和抗体価 ^b
1	86	男	1/1s	21	9.96	2,560
2	78	男	2/1s	32	9.48	1,280
3	80	女	3/1s	21	10.49	10,240
4	77	男	4/1s	6	10.28	10,240
5	85	女	5/1s	8	9.94	20,480 <
			5/2s	24	9.65	10,240
6	68	女	6/1s	8	9.17	1,280
			6/2s	20	7.88	1,280
7	67	女	7/1s	4	7.22	80
			7/2s	19	9.76	2,560
8	44	男	8/1s	2	4.11	640
			8/2s	9	8.22	実施せず
			8/3s	17	9.33	20,480
9	69	女	9/1s	10	10.08	10,240
			9/2s	74	7.85	640
10	66	女	10/1s	7	9.41	1,280

解析を行った血清の抗JEV抗体検査結果

- 急性期から回復期にかけての有意な中和抗体価の上昇が確認されたのは2名（患者番号7, 8）だけ

- その他の8名は、回復期血清のみ



- 過去の感染ではない根拠は？



- 臨床症状がJEの経過に合致
- JEV IgM抗体が陽性
- JEVに対する中和抗体価が高値

患者番号	年齢	性別	検体番号	発症後 日数(日)	JEV IgM捕捉 ELISA index ^a	JEVに対する 中和抗体価 ^b
1	86	男	1/1s	21	9.96	2,560
2	78	男	2/1s	32	9.48	1,280
3	80	女	3/1s	21	10.49	10,240
4	77	男	4/1s	6	10.28	10,240
5	85	女	5/1s	8	9.94	20,480 <
			5/2s	24	9.65	10,240
6	68	女	6/1s	8	9.17	1,280
			6/2s	20	7.88	1,280
7	67	女	7/1s	4	7.22	80
			7/2s	19	9.76	2,560
8	44	男	8/1s	2	4.11	640
			8/2s	9	8.22	実施せず
			8/3s	17	9.33	20,480
9	69	女	9/1s	10	10.08	10,240
			9/2s	74	7.85	640
10	66	女	10/1s	7	9.41	1,280

解析を行った血清の抗JEV抗体検査結果

- 急性期から回復期にかけての有意な中和抗体価の上昇が確認されたのは2名（患者番号7, 8）だけ

- その他の8名は、回復期血清のみ



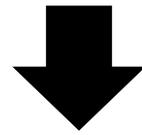
- 過去の感染ではない根拠は？



- 臨床症状がJEの経過に合致
- JEV IgM抗体が陽性
- JEVに対する中和抗体価が高値

患者番号	年齢	性別	検体番号	発症後 日数(日)	JEV IgM捕捉 ELISA index ^a	JEVに対する 中和抗体価 ^b
1	86	男	1/1s	21	9.96	2,560
2	78	男	2/1s	32	9.48	1,280
3	80	女	3/1s	21	10.49	10,240
4	77	男	4/1s	6	10.28	10,240
5	85	女	5/1s	8	9.94	20,480 <
			5/2s	24	9.65	10,240
6	68	女	6/1s	8	9.17	1,280
			6/2s	20	7.88	1,280
7	67	女	7/1s	4	7.22	80
			7/2s	19	9.76	2,560
8	44	男	8/1s	2	4.11	640
			8/2s	9	8.22	実施せず
			8/3s	17	9.33	20,480
9	69	女	9/1s	10	10.08	10,240
			9/2s	74	7.85	640
10	66	女	10/1s	7	9.41	1,280

回復期血清しかない場合にはフラビウイルス感染症を診断できない？



回復期血清だけでも診断できる場合もある。

小括（回復期血清しかない状況でのフラビウイルス感染症の診断）

- 回復期血清しかない状況で抗体検出検査を実施した場合、過去の感染と直近の感染とを区別できないために結果の解釈が困難となることがある。
- 中和試験で判定できるのは、「ELISAなどの他の試験法で陽性を示した場合の結果が当該感染症によるものである可能性が高いかどうか」であり、中和試験の結果から「過去の感染」と「直近の感染」を区別することは一般的に困難である。

フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性

1. 回復期血清しかない場合
2. 急性期血清しかない場合

急性期血清しかない場合の問題点

- フラビウイルス遺伝子が検出されない場合
 - 急性期の血清からウイルス遺伝子が検出されにくいフラビウイルス感染症（JEやダニ媒介脳炎など）の場合には、急性期血清だけで診断することは難しい。
- フラビウイルス遺伝子が検出された場合
 - 陽性コントロールや他の検体などのコンタミネーションの可能性が否定できない。

急性期血清しかない場合の問題点

- フラビウイルス遺伝子が検出されない場合
 - 急性期の血清からウイルス遺伝子が検出されにくいフラビウイルス感染症（JEやダニ媒介脳炎など）の場合には、急性期血清だけで診断することは難しい。
- フラビウイルス遺伝子が検出された場合
 - 陽性コントロールや他の検体などのコンタミネーションの可能性が否定できない。

急性期血清からウイルス遺伝子が検出されにくいフラビウイルス感染症の診断

- 患者の症状に応じて、急性期に血清以外の検体を採取する
 - 髄液
 - 鼻咽頭拭い液
 - 便
- (※) 血清以外の検体からウイルス遺伝子が検出される可能性がある

- 回復期血清を採取する



重要性について、想定例を用いて説明

症例（想定）

- 5歳 男児
- 発育・発達歴：特記すべき事項なし
- 既往歴：特記すべき事項なし
- 海外渡航歴：
 - 父親の出張に伴い、令和6年4月1日から9月30日までアメリカ合衆国へ渡航。
（滞在中、頻回に蚊に刺された）
- 現病歴：
 - 10月7日（帰国後1週間目）より咳嗽、鼻汁
 - 10月9日より軽度の下痢
 - 10月10日より40°Cの発熱、その後、痙攣重積が出現したため緊急搬送

症例（想定）

- 理学所見：
 - 傾眠傾向
 - 咽頭軽度発赤、腹部軽度膨満、グル音軽度減弱の他は特記すべき所見なし
- 検査結果：
 - 血液検査：白血球数の軽度低下、およびCRPの軽度上昇の他に特記すべき所見なし
 - 髄液検査：細胞数、糖、タンパク質 全て基準値範囲内
- ウイルス抗原迅速検査：
 - インフル・コロナ：ともに陰性

症例のウイルス検査

- 血液、髄液、咽頭拭い液、便検体を用いて、小児の発熱の原因となるウイルス遺伝子（ウイルスAからJの10種類）を網羅的に検索

血液、髄液	いずれのウイルス遺伝子も検出されず
咽頭拭い液	ウイルスAの遺伝子が検出された
便	ウイルスDの遺伝子が検出された

- ウイルスAとウイルスDで過去に得られている知見
 - ウイルスAは軽度の風邪症状、ウイルスDは軽度の胃腸炎症状をきたす
 - いずれのウイルスも不顕性感染が多く、重症化することは稀

症例のウイルス検査

- 血液、髄液、咽頭拭い液、便検体を用いて、小児の発熱の原因となるウイルス遺伝子（ウイルスAからJの10種類）を網羅的に検索

血液、髄液 いずれのウイルス遺伝子も検出されず

咽頭拭い液 ウイルスAの遺伝子が検出された

便 ウイルスDの遺伝子が検出された

今回の痙攣重積の原因は
ウイルスA？それともウイルスD？

- ウイルスAとウイルスDで過去に得られている知見
 - ウイルスAは軽度の風邪症状、ウイルスDは軽度の胃腸炎症状をきたす
 - いずれのウイルスも不顕性感染が多く、重症化することは稀

症例のウイルス検査

- 血液、髄液、咽頭拭い液、便検体を用いて、小児の発熱の原因となるウイルス遺伝子（ウイルスAからJの10種類）を網羅的に検索

血液、髄液 いずれのウイルス遺伝子も検出されず

咽頭拭い液 ウイルスAの遺伝子が検出された

便 ウイルスDの遺伝子が検出された

今回の痙攣重積の原因は
ウイルスA？それともウイルスD？

- ペア血清を用いて、ウイルスAおよびウイルスDに対する抗体価を測定

症例のウイルス検査

- 血液、髄液、咽頭拭い液、便検体を用いて、小児の発熱の原因となるウイルス遺伝子（ウイルスAからJの10種類）を網羅的に検索

血液、髄液 いずれのウイルス遺伝子も検出されず

咽頭拭い液 ウイルスAの遺伝子が検出された

便 ウイルスDの遺伝子が検出された

今回の痙攣重積の原因は
ウイルスA？それともウイルスD？

- ペア血清を用いて、ウイルスAおよびウイルスDに対する抗体価を測定

採血時点での 発症後日数（日）	ウイルスA			ウイルスD		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
0	—	+	+	—	—	—
10	—	+	+	+	+	+

症例のウイルス検査

- 血液、髄液、咽頭拭い液、便検体を用いて、小児の発熱の原因となるウイルス遺伝子（ウイルスAからJの10種類）を網羅的に検索

血液、髄液 いずれのウイルス遺伝子も検出されず

咽頭拭い液 ウイルスAの遺伝子が検出された

便 ウイルスDの遺伝子が検出された

今回の痙攣重積の原因はウイルスA？それともウイルスD？

- ペア血清を用いて、ウイルスAおよびウイルスDに対する抗体価を測定

採血時点での 発症後日数（日）	ウイルスA			ウイルスD		
	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体	IgM抗体	IgG抗体	中和抗体
0	—	+	+	—	—	—
10	—	+	+	+	+	+

急性期血清からウイルス遺伝子が検出されにくいフラビウイルス感染症の診断

- 患者の症状に応じて、急性期に血清以外の検体を採取する
 - 髄液
 - 鼻咽頭拭い液
 - 便

(※) 血清以外の検体からウイルス遺伝子が検出される可能性がある
- 回復期血清を採取する

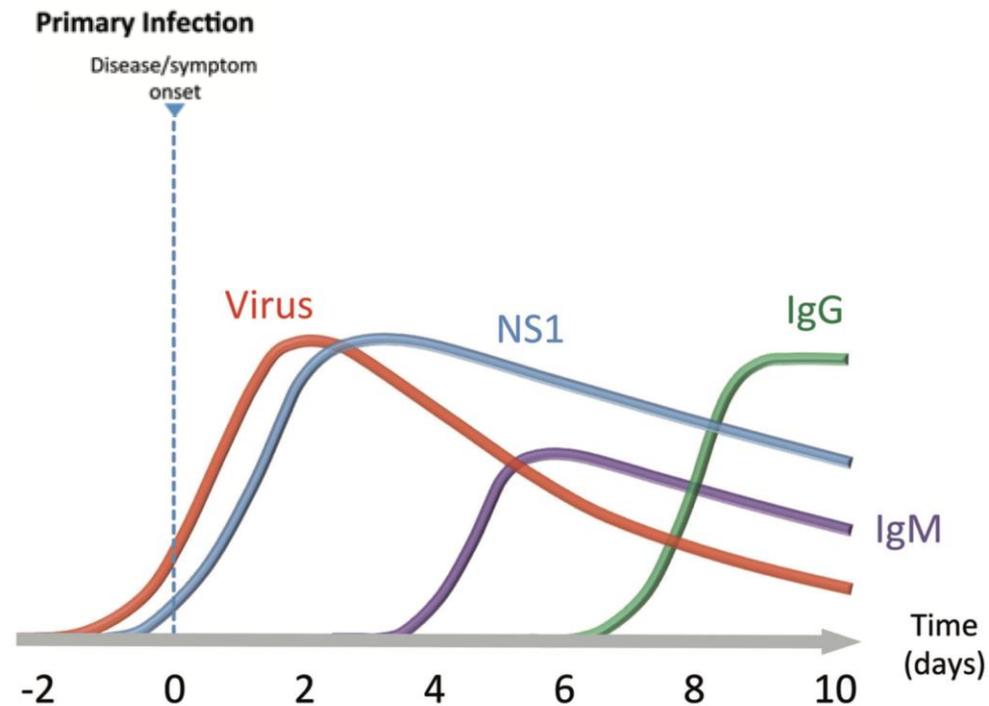
回復期血清の重要性

- 急性期血清からウイルス遺伝子が検出されにくいフラビウイルス感染症を診断するためには、
 - 急性期の血清以外の検体（髄液、鼻咽頭拭い液、便など）
 - 回復期血清
- を採取することが重要である。

急性期血清しかない場合にはフラビウイルス感染症を診断できない？

DENV初感染時の感染指標の推移

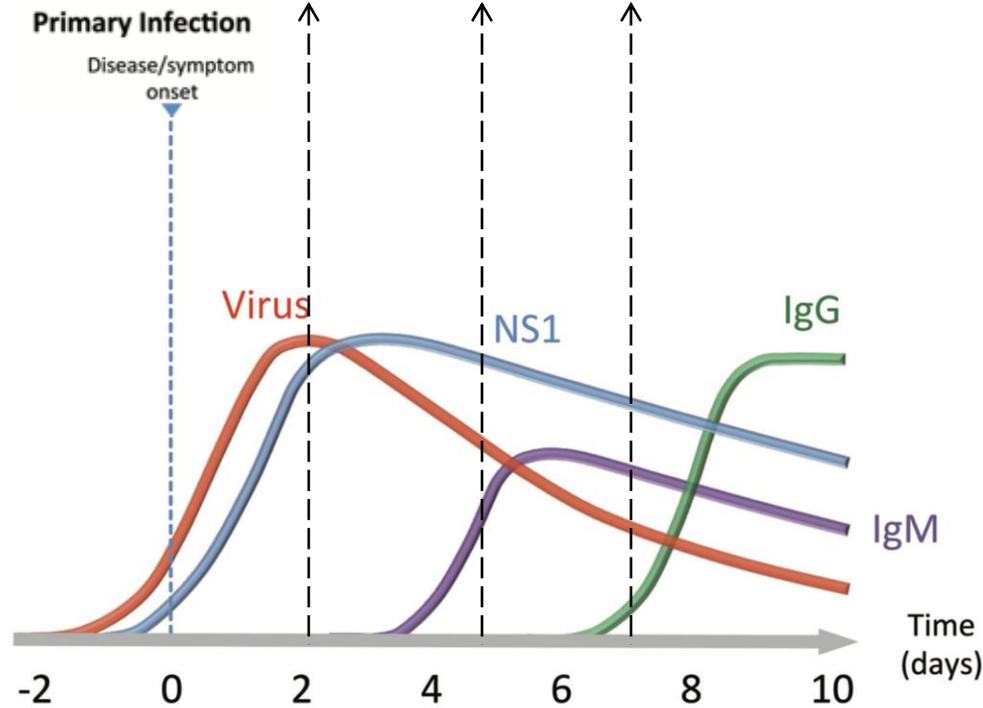
デングは急性期血清のみで診断可能



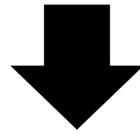
検体採取時期ごとの検査結果

デングは急性期血清のみで診断可能

RT-PCR	+	+	±
NS1抗原	+	+	+
IgM抗体	-	+	+
IgG抗体	-	-	±



急性期血清しかない場合にはフラビウイルス感染症を診断できない？



急性期血清だけでも診断できる場合もある。

小括（急性期血清しかない状況でのフラビウイルス感染症の診断）

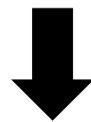
- 急性期血清だけでフラビウイルス感染症を診断できることはある。
 - 急性期血清だけでは診断できない場合には、
 - 急性期の血清以外の検体（髄液、鼻咽頭拭い液、便など）
 - 回復期血清
- を採取することが重要である。

フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性

- 急性期血清だけでフラビウイルス感染症を診断できる場合もあるが、回復期血清が必要な場合もある。
- 回復期血清だけでフラビウイルス感染症を診断できる場合もあるが、急性期血清が必要な場合もある。

フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性

- 急性期血清だけでフラビウイルス感染症を診断できる場合もあるが、回復期血清が必要な場合もある。
- 回復期血清だけでフラビウイルス感染症を診断できる場合もあるが、急性期血清が必要な場合もある。



- 診断のためにペア血清が必要か否かは何で規定されているのか？

フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の必要性

- 当該フラビウイルス感染症を診断するためにペア血清が必要か否かは、
 - 当該疾患で確立されている検査法の種類および普及の程度
 - 当該疾患について得られている知見の量
- で規定される。



まとめ（フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性）

- 急性期血清、あるいは回復期血清だけでフラビウイルス感染症を診断することができる場合はある。
- 急性期血清、あるいは回復期血清だけでは結果の解釈が困難であるため、フラビウイルス感染症を診断するためにはペア血清が必要な場合もある。
- 検査結果を解釈するにあたって、ペア血清が必要であるか否かについては、当該感染症の検査法の種類および普及の程度や当該感染症について得られている知見の量などによって感染症ごとに異なる。

発表内容

1. 日本脳炎患者血清を用いたフラビウイルス間の抗体の交差反応の解析
2. フラビウイルス感染症の診断におけるペア血清の重要性
3. ペア血清を採取、保管するために必要なこと

ペア血清が診断に有用であった場合（想定例）

- 受診前の経過

- 日本でこれまで報告例がないフラビウイルス（Zウイルス）による感染症の流行国に渡航
- 帰国後、Z感染症に合致する症状で発症し医療機関を受診

- 受診後の経過

- 急性期血清および回復期血清を採取

- 検査結果

- 急性期血清からZウイルスの遺伝子が検出された
- ペア血清を用いたZウイルスに対する抗体検査で、
 - 急性期から回復期にかけてのIgM抗体、IgG抗体および中和抗体の陽転化が確認された

ペア血清が診断に有用であった場合（想定例）

Zウイルス感染症の輸入症例

- 受診前の経過
 - 日本でこれまで報告例がないフラビウイルス（Zウイルス）による感染症の流行国に渡航
 - 帰国後、Z感染症に合致する症状で発症し医療機関を受診
- 受診後の経過
 - 急性期血清および回復期血清を採取
- 検査結果
 - 急性期血清からZウイルスの遺伝子が検出された
 - ペア血清を用いたZウイルスに対する抗体検査で
 - 急性期から回復期にかけてのIgM抗体、IgG抗体および中和抗体の陽転化が確認された

ペア血清を採取、保管するための手順

1. 急性期血清を採取する。

- 採取した急性期血清を小分けに分注*して-80°C保存**する。

* 凍結・融解の回数を減らすため。

** ウイルス分離や核酸抽出に使用する場合に重要

2. 回復期血清を採取する。

- 採取した回復期血清を小分けに分注して-80°C (-30°Cでも可) 保存する。

ペア血清を採取、保管するために必要なもの

1. 血清保存用のスクリーキャップチューブ (1.5 mlや2.0 mlチューブ)
2. -80°C のフリーザーおよびフリーザー内の保管場所
3. チューブに貼付するためのラベル (-80°C で使用できるもの)
4. 検体の保存場所および保存状況を確認できるデータシステム
5. 検体を採取してから保管するまでの手順
6. 検体を破棄するにあたっての規則

ペア血清を採取、保管するために必要なもの

1. 血清保存用のスクリーキャップチューブ (1.5 mlや2.0 mlチューブ)
2. -80°C のフリーザーおよびフリーザー内の保管場所
3. チューブに貼付するためのラベル (-80°C で使用できるもの)
4. 検体の保存場所および保存状況を確認できるデータシステム
5. 検体を採取してから保管するまでの手順
6. 検体を破棄するにあたっての規則

検体を保存するために必要な場所の数

- 患者1人からの急性期血清、回復期血清1.0 mlずつを、それぞれ5本ずつに分注 (2.0 ml/本) した場合、必要なチューブの数は、
 - $5\text{本/検体} \times 2\text{検体} = 10\text{本}$
となる。
- そのため、全て保存する場合、チューブ10本分の場所が必要となる。

検体を保存するために必要な場所の数

- さらに、急性期に髄液、咽頭拭い液、便も採取し、それぞれ、5本ずつに分注した場合、追加で必要なチューブの数は、

- $5\text{本}/\text{検体} \times 3\text{検体} = 15\text{本}$

となる。

- つまり、患者1人から、急性期血清、回復期血清、急性期髄液、咽頭拭い液、便検体を採取し、5本ずつに分注し、全て保管する場合には

- $5\text{本}/\text{検体} \times 5\text{検体} = 25\text{本}$

合計25本分のスペースが必要となる。

ペア血清を採取、保管するために必要なもの

1. 血清保存用のスクリーキャップチューブ (1.5 mlや2.0 mlチューブ)
2. -80°C のフリーザーおよびフリーザー内の保管場所
3. チューブに貼付するためのラベル (-80°C で使用できるもの)
4. 検体の保存場所および保存状況を確認できるデータシステム
5. 検体を採取してから保管するまでの手順
6. 検体を破棄するにあたっての規則

検体を採取してから保管するまでの流れ

1. 検体を採取する。
2. 保存用のチューブにラベルを貼る。
3. 採取された検体を保存用のチューブに分注する。
4. 検体を所定の場所に保管する。
5. 追加された検体のデータを更新する。

検体を採取してから保管するまでの流れ

1. 検体を採取する。
2. 保存用のチューブにラベルを貼る。
3. 採取された検体を保存用のチューブに分注する。
4. 検体を所定の場所に保管する。
5. 追加された検体のデータを更新する。

実行するためには、予め、
・作業の動線を確認しておくこと
・共同作業者の協力を得ておくこと
が必要である。

ペア血清を採取、保管するにあたっての注意点

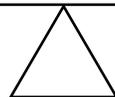
- ウイルスによっては検査系が確立されていないことがある。
 - 検体中のウイルス遺伝子を検出するためには、(RT-)PCR系を構築する必要がある。
 - (RT-)PCR系を構築するためには、プライマー、(プローブ、)陽性コントロールが必要である。
 - 検体中の抗ウイルス抗体を検出するためには、ELISAや間接蛍光抗体法、中和試験を実施する必要がある。
 - ELISAや間接蛍光抗体法を確立するためにはウイルス抗原が必要である。
 - 中和試験を実施するためには感染性のあるウイルスが必要である。

ペア血清を採取、保管するか否かを判断するための要因

- 「ペア血清を採取、保管するために必要な費用や労力」と「ペア血清を採取、保管することで期待できる成果」とを比較検討することが重要

ペア血清を採取、保管するために必要な費用や労力

ペア血清を採取、保管することで期待できる成果



まとめ（ペア血清を採取、保管するために必要なこと）

- ペア血清を採取、保管する理由を十分に理解しておくこと
- 平時より、ペア血清を採取、保管する際の段取りを確認しておくこと
- ペア血清を採取、保管しても当該ウイルス感染症の検査系が確立されていないことがあることを理解しておくこと

全体のまとめ

- フラビウイルス感染症を正確に診断するためには以下の点が重要である。
 - ① ペア血清が必要となる場合があるということを理解しておくこと
 - ② 必要な状況では、ペア血清を採取、保管すること
 - ③ ペア血清を採取、保管するための手順を平時から確認しておくこと