

ウイルス課

平成 23 年度のインフルエンザは、年末から 1 月にかけては AH3 亜型が流行の主流であったが、2-3 月は B 型が流行し、感染症発生動向調査による定点あたり患者数は、過去 10 年で 2 番目に大きな数字となった。

米国において 2002 年より急速な拡大が起こったウエストナイル熱対策として、当課では平成 23 年度も死亡カラスの検査に加えて、府内各地における定点にて捕集された蚊についてウエストナイルウイルスおよびその他のフラビウイルス科のウイルスについての保有状況を調査した。その結果は、全例陰性であった。また、動物愛護畜産課からの要請を受けて、野生アライグマにおける日本紅斑熱と Q 熱の抗体保有状況を調査した。その結果、日本紅斑熱リケッチアに対する抗体の存在を認めた。

我が国では HIV 感染者の増加が問題となっているが、2011 年は大阪府においては、229 人の新規感染者が確認されている。当課においては、診断、感染者の治療支援のための検査、疫学調査などを実施した。

感染症発生動向調査における感染性胃腸炎では、原因ウイルスとしてノロウイルス、A 群ロタウイルスが多かった。感染性胃腸炎の集団発生では保育園・幼稚園での発生が多く報告され、ノロウイルス G II_4, G II_13 が多く検出された。

2012 年に麻疹排除を予定している我が国では、麻しん、風しんは全数把握疾患となっている。麻しんの大阪での国内発生はなく、2 例の陽性例は海外からの持ち込みと考えられた。2011 年 2 月から 7 月まで風しんの発生が続き、先天性風しん症候群 (CRS) の発生が危惧されたが、平成 23 年度大阪では、CRS の届出はなかった。(ウイルス課における検査件数は表 4.1 に示した)

1. ウイルス試験・検査

1) 腸管系ウイルス

(1) エンテロウイルス

平成 23 年度中に大阪府感染症発生動向調査検査定点から分離または検出されたエンテロウイルス (EV) はコクサッキーウイルス (Cox) A6 が 65 株、CoxA16 が 18 株、CoxB4 が 14 株、CoxB5 が 11 株、エコーウイルス (Echo) 6 が 7 株、Echo25 が 6 株、CoxB1 が 5 株、CoxA10 が 4 株、Echo9 が 3 株、CoxB3 が 3 株、Echo7 が 2 株、CoxA9 が 1 株、合計 139 株であった。また、ライノウイルスが 33 株検出された。手足口病の原因ウイルスのほとんどが CoxA6 であり、細胞培養による分離が困難であった。(主担：山崎、中田)

(2) ウイルス性胃腸炎

感染症発生動向調査の感染性胃腸炎におけるウイルスの検出状況は 283 件中 148 件 (52.2%) が陽性であった。内訳はノロウイルス GII が 59 件 (39.9%)、A 群

ロタウイルスが 44 件 (29.7%)、アデノウイルス 15 件 (10.1%)、エンテロウイルス (ポリオ含む) 11 件、次いでサポウイルス 9 件 (6%)、であった。ノロウイルス GII の遺伝子型別は GII_4 が 45 件と最も多くノロウイルスの 76% をしめた。ついで GII_13 が 8 件 (13.6%) であった。昨年流行した GII_3 は 2 件であった。A 群ロタウイルスは 32 件で G 型別を実施し、G1 が 18 件、G3 が 8 件、G9 が 4 件、G2 が 2 件であった。

(主担：左近、山崎、中田)

(3) その他

A 型肝炎 1A が 1 件、脳症の患者便 2 件から A 群ロタウイルスが検出された。(主担：左近)

2) 食中毒

食中毒検査におけるノロウイルスの検査実施件数は 106 事例 502 件で 56 事例 206 件からノロウイルスが検出された。陽性事例中、単独遺伝子型が検出された事例は 49 事例、2 種類以上の遺伝子型が検出された事例は 7 事例であった。単独遺伝子型検出事例では GII_4

表 4.1 ウイルス課検査件数

検査内容		依頼によるもの				依頼によらないもの	計	
項目	検査内容	住民	保健所	保健所以外の行政機関	その他（医療機関、学校、事務所等）			
性病	その他					417	417	
ウイルス リケッチア 等の検査	分離・同定 ・検出	ウイルス		245	1,518	114	3,508	5,385
		リケッチア					3	3
		クラミジア・ マイコプラズマ						
	抗体検査	ウイルス			20	728	738	1,486
		リケッチア			172		27	199
		クラミジア・ マイコプラズマ						
食中毒	病原微生物 検査	ウイルス						
		核酸検査		1,114				1,114
原虫・寄生虫 等	原虫							
	寄生虫							
	そ族・節足動物			4,993		1	4,994	
臨床検査	エイズ検査					361	361	
	肝炎抗原・抗体検査					361	361	
	アレルギー検査抗原・抗体 検査							
	その他（毒性・電顕病理検査）							
合計			1,359	6,703	842	5,416	14,320	

が21事例（42.9%）と最も多く、次いでGII_2が12事例（24.5%）、GII_6が4事例（8.2%）であった。検出されたその他の遺伝子型は、GIが1、3、6、7、8、13、14、GIIが3、5、7、12、13、14であった。GIが検出された10事例中、6事例（60.0%）が1事例中に2種類以上の遺伝子型が検出された事例であった。

（主担：山崎、左近、中田）

3) インフルエンザおよびその他の呼吸器ウイルス

(1) インフルエンザ

平成23年は4月に入ってからB型の流行が見られ、5月上旬までウイルスが分離された。その後8月に1例海外渡航歴（オーストラリア）のある患者からB型インフルエンザウイルスが分離された。10月にも海外渡航者（スペイン）との接触者からAH1N1pdm09亜型のインフルエンザウイルスを検出した。

11月に入ってからAH3亜型が検出され始め、

2012年第5週（1月30日～2月5日）にピークを迎えた。ピーク週の定点あたり患者数は44.8であった。1月下旬に入ってからB型が検出されるようになり、その後4月まで検出された。B型は流行初期は今シーズンのワクチン株と同じVictoria系統が検出されたが、後半はワクチン株と異なるYamagata系統株が検出された。感染症サーベイランスに基づく検査による分離ウイルスは、11月～3月末に当所に搬入された194検体から、AH3亜型102株、B型9株が分離された。

今シーズンはリアルタイムPCR法を用いて同一検体からインフルエンザウイルスの検出と並行し、その他の呼吸器ウイルスとしてRSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトボカウイルス、パラインフルエンザウイルス1型、同3型、ライノウイルス・エンテロウイルス共通領域の6種の検出を試みた。11月～3月末までに、AH3亜型と重複してライノウイルスが5例、ポリオウイルスが1例検出された。また、単独にライノウイルス11株、RSウイルス3株、コクサッキーウイルス1株、

エコーウイルス 1 株を検出した。HEpII 細胞を用いた分離培養にて、アデノウイルスが 3 株分離された。

(主担：森川、廣井、加瀬)

(2) アデノウイルス

平成 23 年度に咽頭結膜熱のサーベイランス検体から検出されたアデノウイルスは、2 型が 9 検体、3 型が 6 検体、4 型が 1 検体、5 型が 1 検体、41 型が 1 検体、リコンビナント型 (D 種) が 1 検体であった。今年度は、7 月までは 2 型が中心に検出されたが、8 月には 3 型が増え検出数もピークとなった。その後、アデノウイルス検出数は減少し、冬季は非常に少なかった。2010 年度よりアデノウイルスの遺伝子解析による型別法の検討を進めてきた結果、新型を含むすべての型をより正確に判別できるようになり、リコンビナントウイルスの検出につながった。

また、アデノウイルスが陰性であった検体から RS ウイルスおよびヒトメタニューモウイルスの遺伝子検出を試みた結果、10 検体から RS ウイルス、4 検体からヒトメタニューモウイルスが検出された。

(主担：廣井、森川、加瀬)

4) エイズ

(1) HIV 感染確認検査

2011 年度に確認検査を行った検体は 166 件であり、昨年度と比較し 14 件減少した。そのうち、HIV-1 陽性と確認されたものは 101 件であり (HIV-2 陽性は 0 件)、陽性件数は前年度に比べ 17 件 (14.4%) 減少した。陽性例を依頼元で分類すると、府内保健所等が 14 件 (9 件増)、火曜夜間検査所が 6 件 (5 件減)、木曜夜間検査所が 8 件 (1 件増)、土曜常設検査所が 6 件 (1 件増)、日曜即日検査所が 16 件 (3 件減)、大阪府内の医療機関からのものが 51 件 (14 件減) であった。府内保健所の陽性件数が急増したが、6 月に検査室のある 4 保健所に即日検査を導入したことにより、受検者数、陽性率共に増加した結果であると考えられる。101 件の陽性例の内訳は、日本人男性が 72 件、外国人男性が 2 件、外国人女性が 1 件、国籍不明男性が 18 件、国籍不明女性が 1 件、国籍も性別もわからないものが 7 件であった。

本年度、抗体価が低く WB 法でも判定保留または陰性となり、RT-PCR 法 (NAT) によって感染が確認された感染初期例と思われる検体は 7 件 (3 件増) であり、ほぼ例年通りであった。

(主担：川畑、小島、森)

(2) HIV 感染者のフォローアップ

HIV 感染者の治療支援を目的として、HIV 診療機関との協同でウイルス分離による感染者体内のウイルス性状解析、および薬剤耐性遺伝子の解析を行った。2011 年度は、27 例の HIV-1 感染者についてウイルス分離を試み、20 例から HIV-1 が分離された (未治療例：17/18 例、治療施行例：1/7 例、治療中断例：2/2 例)。分離株は、外国人女性由来のサブタイプ A が 1 例、日本人女性由来の CRF01_AE が 1 例、残りの 18 例はすべてサブタイプ B であった。病態悪化の指標となる X4/SI (Syncytium-inducing：巨細胞形成) タイプのウイルスが AIDS 発症者 1 名より分離された。また、37 例についてコレセプター指向性・薬剤耐性遺伝子検査を実施したところ、8 例の既治療患者より新薬のインテグラーゼ阻害剤を含む種々の治療薬に対する薬剤耐性変異が検出され、5 例の未治療患者にも耐性関連変異が認められた。さらに、4 例の既治療患者および 5 例の未治療患者において、コレセプターに CXCR4 を使用する X4 タイプの HIV-1 が検出され、新薬である CCR5 阻害剤の効果が期待できないことが示された。

(主担：森、小島、川畑)

5) 麻しん

平成 23 年度に大阪府内で発生した麻しん疑い症例のうち、検査依頼があった 79 例について麻しんウイルスの RT nested PCR を行った結果、2 例で麻しんウイルス遺伝子が増幅された。2 例はいずれも輸入症例で、系統樹解析の結果、東南アジアからの輸入症例は D9 型、ヨーロッパからの輸入症例は D4 型であり、日本各地の流行株と高い相同性がみられた。

(主担：倉田)

6) 衛生動物媒介性ウイルス、リケッチア

(1) ウエストナイルウイルス

ウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス事業及びカラス等の死亡鳥類調査事業において、市街地に生息する蚊及びカラスからフラビウイルスの検出を試みた。蚊のサーベイランスでは総計 369 プール、9 種 5,605 頭の蚊について、カラス等の死亡鳥類調査では計 2 頭について検査を実施した。これらの検査結果はすべて陰性で、ウエストナイルウイルス (WNV) の侵入は確認

されなかった。（主担：弓指、青山）

(2) 節足動物媒介性感染症

患者の診断検査では、海外渡航後、節足動物媒介性感染症が疑われた患者6例について、ウイルス分離、遺伝子検出、抗体測定等の検査を実施し、4例がデング熱であることを確定した。また、国内で脳炎と診断された患者1例、とりケッチア症が疑われた患者（一部渡航歴有り）3例の検査を実施したが、日本脳炎並びにリケッチアは検出されなかった。

大阪府内（主に北摂地域）で捕獲されたアライグマ109頭から採取した血清について、日本紅斑熱およびQ熱の抗体保有調査を実施した。その結果、7頭から日本紅斑熱の抗体を検出した。今回陽性となった検体は北摂地域で捕獲されたアライグマであったが、中・南河内地域及び泉南地域の検体数が少なかったことから、大阪府全域の感染状況を把握するため今後はそれらの地域についても調査を進める予定である。（主担：弓指、青山）

2. 調査、研究

1) 腸管感染性ウイルスに関する研究

(1) エンテロウイルス

平成22年度および平成23年度は手足口病が流行した。特に、平成23年度は通常の原因ウイルスとは異なるCA6が多く検出され、流行の規模も非常に大きかった。平成22年度のEV71は同年に採取された大阪市の株、広島市の株と同じクラスターとなり、全てサブジェノグループC2に分類された。平成23年度のCA6は同年に採取された静岡の株と同じクラスターとなり、2008年に採取されたフィンランドの株および2010年に採取された中国の株とも近縁であることが分かった。

（主担：山崎）

(2) 下痢症ウイルス

2002年からの10年間にわたって感染経路別、年齢別にノロウイルス検出株の遺伝子型別を実施した。特に2006/07の大流行の原因となったGII_4はlineageを変えながら10年間小児下痢症の主要な原因型であった。特に高齢者施設ではGII_4は2006/07シーズン以降、高度に浸淫していた。そのいっぽうで、小児の散発例および集団発生ではGII_4以外のGII_2、GII_3が主要な遺伝子型として検出されるシーズンが存在した。

① 集団胃腸炎における原因調査並びにノロウイルス疫学調査

集団胃腸炎からは68事例でノロウイルスが検出され、A群ロタウイルスとサポウイルスがそれぞれ3事例で検出された。68事例のノロウイルス陽性事例から113検体について遺伝子型を決定した。高齢者施設、社会福祉施設および病院26事例では25事例がGII_4、1事例がGII_2であった。残り40事例は保育園、幼稚園および小学校での発生で、GII_2が15事例、GII_4が6事例、GII_13が9事例とGII_4以外の遺伝子型が昨年に引き続き主要な流行遺伝子型となった。（主担：左近）

② 小児科における感染性胃腸炎の実態調査

小児におけるロタウイルスおよびノロウイルスの流行をより正確に把握するため1小児科に来院した患者からのウイルス検索を実施した。402検体中194件（48.3%）でウイルスが検出された。ノロウイルスGIIが最も多く87件（44.8%）、次いでA群ロタウイルスが45件（23.2%）、アストロウイルス23件（11.9%）、アデノウイルス40/41が21件（11.3%）であった。ノロウイルスGII遺伝子型別の結果はGII_3が38件、GII_4が37件と両遺伝子型が流行していた。

（主担：左近）

③ 大阪府全域におけるノロウイルス流行調査

大阪府全域におけるノロウイルス流行調査として、大阪市・堺市との共同研究を継続実施し、大阪府感染症情報センターのホームページにおいて年12回の更新を実施した。平成23年は2月、12月に集団発生のピークがみられた。（大阪市・堺市共同研究）

（主担：左近、中田、加瀬）

2) ウイルス性呼吸器感染症の研究

(1) 病原体検出

協力体制にある医療機関からインフルエンザ様疾患（38.0℃以上の発熱かつ迅速診断キット陽性、もしくは38.0℃以上の発熱かつ迅速診断キット陰性かつ咽頭発赤）を呈した外来患者から350の上気道由来検体を得た。検体採取期間は2011年11月から2012年3月までとし、患者の年齢は0歳から15歳とした。期間中にAH3亜型インフルエンザウイルスは190検体（全体の54.3%）、うち重複感染は11検体（5.8%）、B型インフルエンザウイルスは99検体（28.3%）、うち重複感染は9検体（9.1%）に認められた。インフルエンザウイ

ルス以外で検出されたのは、重複感染例を含め、ライノウイルスが 25 検体 (7.1%)、ヒトメタニューモウイルス 8 検体 (2.3%)、RS ウイルス 5 検体 (1.4%)、アデノウイルス 4 検体 (1.1%) エコーウイルス 3 検体 (0.8%)、パラインフルエンザウイルス 1 型、ヒトボカウイルス各 1 検体 (0.3%) であった。

ヒトメタニューモウイルスが検出された 8 検体のうち、半数の 4 検体からは B 型インフルエンザウイルスが検出された。これらは両ウイルスの流行期が重なったためと考えられた (2012 年 2 月下旬-3 月中旬)。また、ライノウイルスが検出できた検体から、他のウイルス遺伝子が検出できたのは AH3 亜型インフルエンザウイルス 10 検体、B 型インフルエンザウイルス 4 検体、アデノウイルス 1 検体の計 15 検体で、ライノウイルスが単独で検出された 10 検体を上回った。ライノウイルスの重複感染率は高いことが知られており、今後重複感染による重症度との関連を調査する必要があると考えられる。(一部厚生労働科学研究費) (主担：森川、廣井、加瀬)

(2) ワクチン有効性

2009 年秋、AH1pdm09 の感染発症者を 80 % 強に認めた児童養護施設入所者約 30 名に 2010 年 10 月季節性 3 価不活化ワクチンを接種し、接種前 (S0)、接種約 4 週後 (S1) に採血し、HI 抗体価を測定した。接種前 (S0)、接種後 (S1) の幾何平均値は、AH1pdm09 : A/California/7/2009 株 70 → 108、AH3 : A/Victoria/210/2009 (H3N2) 株 98 → 141、B : B/Brisbane/60/2008 株 45 → 99 であった。AH1pdm09 ワクチン接種により AH1 亜型に対する交差免疫誘導の有無を検討するため、昨シーズンのワクチン株 A/ Brisbane /59/2007 (H1N1) を同時に測定した。今回対象の若年層では同株に対する抗体価は高い値に分布していたが、抗体価上昇即ち交差免疫誘導は認めなかった。(前田：大阪市立大学 との共同研究、厚生労働科学研究費) (主担：森川、廣井、加瀬)

3) HIV およびその他の性感染症に関する研究

(1) 2011 年の HIV 確認検査において、99 名の HIV 陽性者を確定した。抗原・抗体検査の結果より 8 名 (8.1%) が感染初期と診断され、BED アッセイでは 38 名 (38.4%) が感染後半年以内と推定された。その一方で、env-V3 領域の遺伝子解析により 95 例中 13 例 (13.7%)

から感染後期に出現するとされる X4 タイプの HIV-1 が検出された。

(2) 性感染症関連の 6 診療所を定点とした HIV 感染に関してリスクの高い集団の疫学調査で、369 名について HIV 検査を実施し 20 名の陽性者が見つかった。陽性者は、PCR で HIV 遺伝子が増幅できなかった 1 名を除きすべてサブタイプ B に感染している日本人男性であった。

(3) 2011 年の確認検査陽性検体において、7 名の HIV/HBV 重複感染例が認められた。HBV のジェノタイプは Ae が 2 例、Ae/G リコンビナントが 1 例、C が 4 例であった。

(4) 昨年に引き続き、診療所に於ける MSM 向け性感染症検査キャンペーンを実施した。今年度は MSM の受検をより促進する目的で 7ヶ所中 3ヶ所の診療所に迅速検査を導入した。

(5) 108 名の未治療新規 HIV 診断例について薬剤耐性検査を実施したところ、10 名 (9.3%) において薬剤耐性アミノ酸変異が検出された。

(6) HSV の遺伝子検査法の検討を行い、臨床検体のウイルス核酸検出検査を行った。

(7) 府内の診療所と国立感染症研究所との共同で薬剤耐性淋菌のサーベイランスを実施した。

(8) 抗 HIV-1 活性を有するシュードプロテオグリカン PLL-Dex の作用機序について検討した。

(主担：森、川畑、小島、西村* *: 企画調整課)

4) 麻疹・風疹等の発疹を主徴とするウイルス感染症に関する研究

麻疹が否定された発疹症例について、風疹ウイルスとパルボウイルス B19 を対象とした PCR および IgM ELISA を行った。検査した 79 例のうち、IgM または PCR によって感染を確認できた事例は、風疹ウイルスとパルボウイルス B19 のいずれもそれぞれ 18 例であった。風疹 PCR 陽性であった検体のうち、ウイルスの遺伝子型が決定できたのは 3 例で、いずれも遺伝子型 2B であった。遺伝子型 2B ウイルスは、本来は南～東南アジアを中心に全世界で流行しているウイルスであり、昨年までは日本での報告は輸入例を除いてなかったことから、ウイルスの起源は海外に由来していると考えられた。

麻しん IgM EIA キットについて検討した。D 社と S 社との比較では、結果が大きく乖離しており、D 社の製

品では非特異反応が多いことが示唆された。（一部厚生労働省科学研究費）（主担：倉田、加瀬）

5) 衛生動物を介する感染症に関する研究

(1) 蚊が媒介する日本脳炎、デング熱、ウエストナイル熱、チクングニヤ熱等を効率的に検査するため、RT-LAMP 法や GeneCube 法を用いた迅速かつ網羅的な検査方法について検討した。これまでのところ、個々に遺伝子を検出する方法と比較するとまだ検出感度が低く、さらに改良が必要であると考えられた。（一部文部科学研究費および厚生労働省科学研究費）

（主担：青山、弓指）

(2) 新しい日本脳炎ワクチンの成人に対する効果を検証するため、昨年度より併せて成人 272 名にワクチンを接種し、その抗体反応性について調査・解析した。ワクチン接種前に抗体を保有していた例が 38% あったが、全体を通して見ると、ワクチンを 1 回接種することで抗体陽性率が 88% となり、また、抗体の陽転率も 80% となった。さらに 1 回で抗体が陽転しなかった対象の一部に再度ワクチン接種を実施した結果、1、2 回併せたワクチンによる陽転率は 94% まで上昇し、成人に対しても新しい日本脳炎ワクチンは効果的であることが確認できた。（一部厚生労働省科学研究費）

（主担：青山、弓指）

(3) 不明熱患者から蚊の培養細胞で未知のウイルスを分離した。今後これについて解析予定である。

（主担：弓指、青山）

3. 会議、委員会、研修

1) 講演、研修

H23.4.25 「平成 23 年度大阪府保健所検査課 HIV 迅速検査第精度管理」 講師（川畑）

H23.5.19 大阪府健康福祉部環境衛生課、東大阪市及び高槻市新規採用職員技術研修（弓指、青山）

H23.6.23 平成 23 年度防除作業従事者研修会（大

阪ビルメンテナンス協会） 講師（弓指）

H23.8.1 平成 23 年度保健師現任研修「感染症コース（その他感染症）」 講師

（加瀬、弓指）

H23.8.2-6 大阪医療技術学園専門学校臨床検査技師科学生見学 講師（加瀬、弓指、青山）

H23.8.4 平成 23 年度大阪府健康医療部環境衛生課インターンシップ生実習 講師

（青山、弓指）

H23.9.29 「平成 23 年度 HIV 検査相談研修会」（公益財団法人エイズ予防財団主催） 講師

（川畑）

H24.3.5 衛生害虫が媒介する感染症の対策検討会（和泉保健所） 講師（弓指、青山）

H24.3.13 大阪府立消防学校講義（加瀬）

2) 会議、委員会

H23.8.5 大阪府立成人病センター組換え DNA 実験安全委員会（加瀬）

H23.8.25 府 HIV 及び性感染症対策推進会議（川畑）

H23.8.29 府保健所 HIV 即日検査検討ワーキング（川畑）

H23.8.31 大阪府動物由来感染症対策検討委員会（加瀬）

H24.1.13 府保健所 HIV 即日検査検討ワーキング（川畑）

H24.1.18 家畜保健衛生業績発表会（加瀬）

H24.1.19 府 HIV 及び性感染症対策推進会議（川畑）

H24.2.15 府 HIV 及び性感染症対策推進会議（川畑）

H24.2.22 大阪府エイズ対策検討会（川畑）

H24.3.16 大阪府動物由来感染症対策検討委員会（加瀬）

H24.3.29 平成 23 年度大阪府麻しん対策会議（加瀬）