

respiratory infection, this study will investigate the distribution of respiratory virus, and try to find involvement of novel virus in influenza like illness with influenza negative in mainland China.

II. Methods:

Collection of clinical specimen

In mainland China, a national wide influenza surveillance network including 411 influenza laboratories and 556 sentinel hospitals have been established and operated smoothly. In this study, based on Chinese influenza surveillance network, we will collect swab samples with influenza negative detection by network from patient of influenza-like illness (ILI). At present, 365 swabs were taken from the networking laboratories in Jiangsu, Anhui, Hubei and Hunan province China, and involved into investigation of generally respiratory viruses. The samples were collected from the sentinel hospitals of influenza surveillance network in the four provinces respectively, and they are all the throat swabs. In the incidence of patients within 3 days, throat swabs were collected from the individuals who had influenza symptoms and did not take antiviral drugs (amantadine, rimantadine, Tamiflu, etc.). All specimens involved were performed viral isolation to be negative.

RNA Extraction

Total viral RNA was extracted from all of the specimens by using a commercial kit (QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN Inc., Valencia, CA, USA) according to manufacturer's instructions and eluted in a final volume of 40 μ l of RNase-free water.

RT-PCR Amplification of Respiratory Viral RNA

QIAGEN OneStep RT-PCR Kit was used for the RT-PCR amplification. Thaw template RNA, dNTP Mix, 5x QIAGEN OneStep RT-PCR Buffer, and RNase-free water, and place them on ice. Mix ResPlex II SuperPrimers by vortexing briefly. Prepare a master mix according to manufacturer's instructions. The master mix typically contains all the components required for RT-PCR except the template RNA. Mix the master mix thoroughly, and dispense appropriate volumes into PCR tubes. Add template RNA to the individual PCR tubes. Program the thermal cycles according to manufacturer's instructions. Start the RT-PCR program while PCR tubes are still on ice. Wait until the thermal cycler has reached 50°C. Then place the PCR tubes in the thermal cycler. After amplification, proceed with Detection of Amplified Respiratory Viral RNA.

Detection of Amplified Respiratory Viral RNA

Heat Stopping Buffer to 52°C, and keep it at 52°C until use. Mix the ResPlex II Bead Mix by vortexing for at least 15 s. Prepare a detection mix including 35µl Detection Buffer and 10µl ResPlex II Bead Mix. Vortex the reaction mix thoroughly. Dispense 45 µl into each well of a 96-well, flat-bottom plate. For each assay, add 5 µl of the RT-PCR reaction amplification product to a sample well. Mix thoroughly by pipetting up and down. Incubate samples at 52°C in the dark for 10 min. Make a fresh 1:1 mixture of Detection Buffer:Streptavidin-PE at room temperature. Make enough to use 10 µl of the mixture per assay. After incubation, add 10 µl Detection Buffer:Streptavidin-PE to each sample. Keep the samples at 52°C, and mix briefly by

pipetting up and down. Incubate at 52°C in the dark for 5 min. Keeping the samples at 52°C, add 120 µl Stopping Buffer (prewarmed to 52°C) to each reaction. Analyze the samples on the LiquiChip 200 Workstation using QIAplex MDD Software. The cutoff value was determined as the ten times the value of the negative controls. The data were analyzed by STATA software.

III. Results:

1) The characteristics of the patients collected.

As table.1 showed, the throat swabs were collected from Anhui, Hubei, Hunan or Jiangsu province China during Sep 2006-Jul 2007. Among 365 patients from whom the specimens were collected, 272 (74.52%) were <18 years old, and 93 (25.48%) were ≥ 18 years old. And 51-63% patient were female.

Table 1. Characteristics of patients with influenza like symptoms

	Anhui	Hubei	Hunan	Jiangsu	Total
Number of patients (%)	92(25)	94(26)	91(25)	88(24)	365
Male/female: number (%)	58/34(63)	47/47(50)	55/36(60)	45/43(51)	205/160(56)
Age (year) mean ± SD	4±4	20±19	13±16	12±14	12±16
Specimen collection time	09/2006-07 /2007	01-06/2007	01-06/2007	01-05/2007	

2) The investigation of virus in the swabs

To investigate the distribution of generally respiratory viral, we performed detection of respiratory virus using Qiagene MDD kit. The results showed that 14.25% samples with negative isolation for influenza virus may be detected for CVEV, hMPV, FluA, FluB, PIV or RHV. And most positive detections were CVEV (7.12%), then PIV(3.01%) and influenza which was missed in viral isolation (2.74%). Additionally, distribution of virus is different although similar ratio of viral identification among the 4 provinces. The pathogens identified are relative simple in Jiangsu province, just CVEV was found excluding influenza virus.

Table 2. Virus detection results of all specimens from four province

	Anhui	Hubei	Hunan	Jiangsu	Ratio
CVEV	7	5	3	11	7.12%
hMPV	2	0	0	0	0.55%
FluA	1	4	1	1	1.92%
FluB	0	3	0	0	0.82%
PIV	3	1	7	0	3.01%
RHV	1	2	0	0	0.82%
Ratio	15.22% (14/92)	15.96% (15/94)	12.09% (11/91)	13.64% (12/88)	14.25%

* CVEV, coxsackie viruses/echovirus; hMPV, human metapneumovirus; FluA, influenza A virus;

FluB, influenza B virus; PIV, parainfluenza virus; RHV, rhinovirus; RSV, respiratory syncytial

virus.

IV. Discussion:

Upper respiratory tract infection (URI) represents the most common acute illness evaluated in the outpatient setting. URIs range from the common cold--typically a mild, self-limited, catarrhal syndrome of the nasopharynx--to life-threatening illnesses such as epiglottitis. Viruses account for most URIs. In this study, we investigated 365 clinical specimens collected from ILI cases with negative isolation for influenza virus. Almost 15% samples were identified to be positive for CVEV, RHV, PIV, hMPV, Flu, PIV or RHV. And the results suggested that the distribution of the viruses is different in different regions.

Some limitation should be involved into this study. Firstly, the collection of samples could not cover all ages or years since we cannot exclude the possibility of outbreak samples. Furthermore, molecular investigation could miss some mutated pathogens. Additionally, to improve control and prevention for respiratory virus infection, the molecular investigation is far away of enough since novel pathogens is always a concern in public health. So the next step for this study, we will make a guideline for systematic collection of samples, and perform viral isolation for those negative samples with a random ratio to identify mutated or novel viruses using a mixed cells fitting for most of respiratory viruses as mentioned in the summary.

V. Reference list (if have):

1. Mulholland K. Global burden of acute respiratory infections in children: implications for interventions. *Pediatr Pulmonol.* 2003;36:469-474.
2. van Woensel JB, van Aalderen WM, Kimpen JL. Viral lower respiratory tract infection in infants and young children. *BMJ.* 2003;327:36-40.
3. Denny FW Jr. The clinical impact of human respiratory virus infections. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;152(suppl, pt 2):S4-S12.
4. Taylor, L. et al. (2001). Risk factors for human disease emergence *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 356(1411):983-9.

VI.Publication list for this work: None

Title: Investigation on prevalence and epidemiological characteristics of inpatients of severe acute respiratory infection with *Streptococcus pneumoniae* and *Legionella pneumophila* in China

Name of researcher: Hong-Jie Yu

Affiliation: Division for Infectious Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention

Summary:

A surveillance program has been implemented in Jingzhou City, Hubei province based on existing hospital-based SARI surveillance platform, targeting on detection of severe acute respiratory infection (SARI) inpatients with *Streptococcus pneumoniae* (S.p). The main surveillance activities include case enrollment and investigation, specimen collection and laboratory testing. The whole blood culture and urine antigen test for S.p was conducted on patient matching case definition. The preliminary analysis result indicated that almost 90% of enrolled SARI cases were from the pediatric wards; male cases accounted for 58%; the median age was 2.2 years old with range from 1 month to 108 years old; the most common complication among both adult cases (31%) and children cases (12%); there was low proportion of blood cultures obtained (20%) and low yield of blood cultures of SP (0.5%), which might be related with the wide self-usage of antibiotics by the patients before hospitalization or the contamination during the process of blood collection. Inpatient-based surveillance program on S.p and its related diseases should be redesigned and adapted to the

current clinical practice in China's hospital settings and health-related behavior among population.

I. Background

China CDC have been conducting a population-based surveillance program in hospitalized patients with severe acute respiratory infection (SARI) caused by influenza virus for more than one year in Jingzhou city, Hubei province. The previous surveillance activities include enrollment and investigation of inpatients matching the SARI case definition, collection of nasopharyngeal swab, PCR testing for influenza and non-influenza virus. Considering that the *Streptococcus pneumoniae* is the most common pathogen causing bacterial pneumonia, the laboratory identification with whole blood culture and urine antigen test was added into the current surveillance program under the financial support from Japan NIID.

II. Purpose:

1. To understand the prevalence of *Streptococcus pneumoniae* (S.p) infection among inpatients cases with SARI in sentinel hospitals;
2. To figure out the pathogenic characteristics of S.p strain isolated from whole blood culture of inpatients with SARI.
3. To address the epidemiological and clinical features of inpatients with SARI caused by S.p infection.

II. Methods:

1. Case enrollment and investigation

The case definition for SARI had been identified as follows:

(1) *Fever*: Documented rectal or axillary temperature $\geq 38^{\circ}\text{C}$

AND

(2) *Signs or symptoms of respiratory illness*. At least one of the following:

- a. Documented tachypnea
 - i. Age < 2 months: > 60 breaths/minute
 - ii. Age 2 months to < 12 months: >50 breaths/minute
 - iii. Age 12 months to <5 years: >40 breaths/minute
 - iv. Age greater than or equal to 5 years: > 25 breaths/minute
- b. Cough
- c. Difficulty breathing or shortness of breath
- d. Abnormal breath sounds on auscultation (e.g., rales, rhonchi, wheezing, dullness)
- e. Sputum production
- f. Hemoptysis
- g. Chest pain
- h. Sore throat
- i. Chest radiograph consistent with pneumonia

Physicians in the pediatric and internal medicine ward of sentinel hospitals should enroll every inpatient matching the above case definition. Specimens such as the

whole blood and urine should be collected before the antibiotic drugs were prescribed. A case report form (CRF) including the information such as demographic, clinical manifestation, treatment, vaccination history, clinical lab test, etc would be completed after the case was discharged or died.

2. Lab testing for blood and urine

The whole blood samples were collected by nurses and were sent to the clinical laboratory to be cultured and the urine would be conducted with a rapid antigen test for S.p.

III. Results: (if necessary, figures and tables will be included)

This is preliminary analysis results of SARI surveillance during the period from January, 2010 to November, 2011.

1. The total number of hospitalized patients within the surveillance wards was 60,176 and enrolled SARI inpatients accounted for 22.2% (13368/60176). Near to 90% of enrolled SARI cases were reported from the pediatric ward.

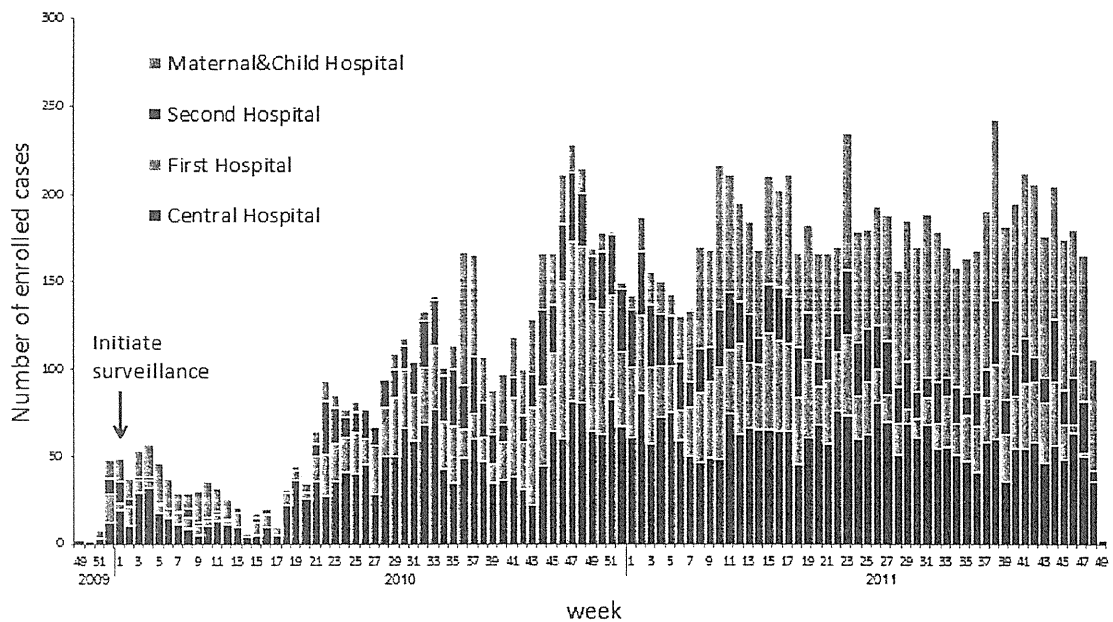


Figure 1 Epidemic curve of illness onset of enrolled SARI cases by week (n=13,368)

2. 12,701 CRFs had been completed.

(1) Adult (age>14 Ys): 1,518; Male: 57.5%; the median age: 2.2 Ys (1 month – 108 Ys).

(2) Pneumonia was the most common complication among both adult cases (30.9%) and children cases (11.8%).

(3) 18.2% of adult cases and 27.2% of children cases had undertaken X-ray photographing. Among them, 31.0% had been diagnosed as pneumonia.

(4) 0.2% of adult cases and 8.5% of children cases had received influenza vaccination within one year before symptom onset. Very few cases had ever been inoculated with Hib vaccine and 23-Valent Pneumococcal polysaccharide vaccine and no case had ever got 7-Valent Pneumococcal conjugate vaccine.

3. 2,507 (19.8%) blood samples had been collected and tested, 87.3% in adult cases and 10.5% in Children cases respectively. Among those samples, only 13 (0.5%)

samples had been cultured positive for S.p and 166 (6.6%) samples positive for other bacteria.

4. 1,117 (73.6%) urine samples had been conducted with S.p antigen test. Among those samples, 42 (3.3%) were found S.p positive.

IV. Discussion:

Streptococcus pneumoniae (S.p) is a major cause of childhood and adult disease throughout the world, especially in developing countries. In 2000, pneumonia was the leading single cause of death in children under 5 years old worldwide, with S.p — one of the three most common pneumonia etiologies identified. Although there have been many publications about SP in China, our understanding of SP in China remains limited. Virtually all of the SP studies conducted were generated from short-term, hospital-based studies or cross-sectional surveys conducted in selected facilities. Studies were conducted at different time periods, in different locations, under different epidemiological conditions. Most studies of circulating strains relied only on those isolated from sputum or nasopharyngeal specimens, rather than from normally sterile sites, such as blood or CSF; isolates from sterile sites are needed, because these are the strains most likely to cause vaccine-preventable disease. In contrast to the United States and other Western countries, China lacks a geographically representative, continuous, high quality SP surveillance system, which is needed to characterize the burden, distribution, trends, clinical outcomes, and subtypes of SP invasive disease in China. SP surveillance systems in the U.S. have had a major

impact on public health policy, particularly related with vaccination strategy of children and adults. This is why we are trying to establish a S.p surveillance program based on the population-based SARI surveillance system platform.

However, to date the yield of bacterial confirmation through blood cultures has been much lower than expected. While antibiotic treatment prior to and during hospitalization may be partially responsible for the low yield in blood cultures, we believe that the timing of blood culture collection in the hospital, the method of blood collection, and the way blood cultures are processed are still the important factors contributing to the low yield. Blood cultures are obtained from a relatively low percentage (lower than 20%) of cases for which the protocol calls for blood cultures. The SARI case definition, developed primarily for detection of influenza cases, is very broad and includes many patients in whom bacterial pneumonia would not be highly suspected. One option would be to revise the protocol to call for collection of blood cultures in a well-defined subset of SARI patients in whom bacterial pneumonia is more likely. When blood cultures are taken, there has been a low yield of positive cultures (0.5%). Moreover, a high proportion of the blood cultures that do show the growth of bacteria are more likely to indicate the possible contamination by organisms colonizing the skin than they are to represent the etiology of bacterial pneumonia. Therefore, a time-limited, intensive effort to optimize the laboratory confirmation of bacterial infection among patients identified through surveillance should be tried in one sentinel hospital. Also, A time-limited, carefully performed, nasopharyngeal carriage study could help to measure the prevalence of carriage of S.p,

identify the distribution of circulating serogroups/serotypes, and perhaps help to clarify the contribution of prior antibiotic use to the low yield in the project cases.

V. List of Reference(if have):

1. Rudan I, Boschi-Pinto C, Biloglav Z, Mulholland K, Cambell H. Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bull World Health Org.* 2008;86:408–416.
2. Mulholland Ek, Adegbola RA. Bacterial infections – a major cause of death among children in Africa. *N Engl J Med* 2005;352-75-77.
3. World Health Organization. Pneumococcal conjugate vaccine for childhood immunization --- WHO position paper. *Wkly Epidemiol Rec.* 2007;82:93-104.
4. K Yao, YH Yang. *Streptococcus pneumoniae* diseases in Chinese children: Past, present and future. *Vaccine.* 2008;26:4425–4433.
5. CDC. Progress in Introduction of Pneumococcal Conjugate Vaccine - Worldwide, 2000—2008. *MMWR.* 2008;57:1148-1151.
6. Yang YH, Fu SG, Peng H, Shen AD, Yue SJ, Go YF, Yuan L, Jiang ZF. Abuse of antibiotics in China and its potential interference in determining the etiology of pediatric bacterial diseases. *Pediatr Infect Dis J.* 1993;12:986–988.

プロジェクト 2 : 台湾

別紙3

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症 研究事業） 分担研究報告書

アジアの感染症担当研究機関とのラボラトリーネットワークの促進と 共同研究体制の強化に関する研究（H23－新興－指定－020）

赤痢アメーバに関する研究

研究分担者 津久井久美子 国立感染症研究所 主任研究官

研究要旨

赤痢アメーバ (*Entamoeba histolytica*) 感染により起こるアメーバ症は近年日本においても報告が増加している重要な原虫感染症である。本研究では日本と感染様式が類似している台湾と共同研究を行うことで、東アジアにおけるアメーバ症の分子疫学調査方法の確立と病原性を規定する遺伝子の発見を目指す。

A 研究目的

赤痢アメーバにより発症するアメーバ症は毎年10万人の死者を出す、マラリアに次ぐ重要な原虫感染症である。アメーバ症は飲食物の衛生管理が行き届かない発展途上国においては下痢の主要原因の一つであるが、日本を含めた先進国では渡航者の他、自己の衛生環境を保てない障害者や老人施設、糞口感染の可能性のある男性同性愛者 (man sew with man: MSM) や commercial sex worker の女性が主なリスク群となる。また、*E. histolytica* 感染を疑う場合、形態学的に見分けられない、非病原性の *E. dispar* 感染との鑑別が問題となる。*E. dispar* であれば便中に栄養体やシストが検出されても治療の必要はないとされるが、無症候性の *E. histolytica* 感染者も多く存在するため確実な鑑別と適正な治療が必要である。欧米では MSM におけるアメーバ感染は *E.*

histolytica と *E. dispar* の両方が同定されるため特に鑑別が重要とされている。しかし日本においては *E. dispar* が同定されることは非常にまれである。この事実は日本に独特な要因が存在することを示唆しているが、研究対象とすることが可能な症例数が限られる状況では研究を進めることが困難であった。また、現在の日本では症状のある患者が来院した場合にアメーバ症と診断され、検体を得る機会が生じるが、無症候性のキャリアからの検体を募るのは非常に難しくなっている。一方同じ東アジアに存在する台湾ではアメーバ症のリスク群は日本と同じであり、*E. dispar* 感染がほとんど見られないという状況も一致している。しかし台湾では外国人労働者に寄生虫検査を課していることから検査対象が非常に広く、多様な遺伝子型や株の取得が可能である。

本研究では台湾 CDC と共同で日本と台湾から得られた臨床株の遺伝子型の特定と系統解析、さらに病原性に関与する遺伝子の同定と解析を行い、アジアにおけるアメーバ症の特徴を理解することを目指した。

B 研究方法

日本、台湾で得られた臨床株について6種類の tRNA sort tandem repeat (STR) を指標とした方法により遺伝子型別を行う。さらに系統解析を行い日本株、台湾株の特徴、病原性との関連を明らかにした。

また、日本の臨床分離株を使った比較ゲノミクスで見出された病原性と関与すると予想される ORF について、台湾株についても病原性との関与が見出されるか、評価を行った。

C 研究結果

1) 臨床株の遺伝子型別

台湾株 132、日本株 37 に関して6つの tRNA STR を指標とした遺伝子型別を行い、系統解析を行った。大きく3つのグループに分類されたことからこれをクラス A, B, C とした。クラス A には52株(うち日本株6)、クラス B には62株(うち日本株17)、クラス C には18株(うち日本株14)が含まれた。また臨床症状はクラス A では無症候42、下痢症状2、肝膿瘍3、下痢と肝膿瘍2、その他3、クラス B では無症候36、下痢症状13、肝膿瘍11、その他2、クラス C では無症候1、下痢症状7、肝膿瘍7、下痢と肝膿瘍1、その他2であった。

2) 病原性関連 ORF の解析

日本国内で分離された非病原性株と病原性株との比較ゲノミクスにより以前我々の研究室で見出した、AIG1 family protein (EHI_176590) : 以降 AIG17、の ORF が台湾

株にどの程度存在するのか、ゲノム DNA を鋳型にした PCR により検討した。AIG17 は非病原性株に存在していない ORF として同定されたため、台湾株でも無症候性株には存在せず、患者由来の株に存在がみられることが期待された。クラス A, B, C それぞれから DNA サンプルが残っているものを優先に14、20、4 サンプルから PCR を行ったところ、各クラスで1、5、2の陽性クローンが確認された。この結果を症状別に整理すると無症候29、下痢症状5、肝膿瘍2、その他2のサンプルのうち、陽性であったのは無症候4、下痢症状2、肝膿瘍0、その他2であり、%で見ると無症候14、下痢症状40、肝膿瘍0、その他100であった。

D 考察

1) 臨床株の遺伝子型別

クラス A, B, C を比較するとクラス C は日本株が大半を占め、さらに無症候は1しかないことから、日本に多い病原性の高い遺伝子型が存在することが示唆された。また日本由来の非病原性株はクラス A に分類され、このクラスは無症候株が一番多いことから、日本の無症候株はアジアに広く存在する無症候株の一つであることが示唆された。

2) 病原性関連 ORF の解析

以前無症候株で欠損しているとして同定された AIG17 の ORF を PCR にて確認したところ、台湾の無症候株から14%検出された。よってすべての無症候株に共通の特徴ではないと考えられた。しかしクラス A に関しては PCR を行った14サンプル中1サンプルのみポジティブであり、20サンプル中5サンプルがポジティブだったクラス B とは差があると考えられた。よって AIG17 の存在

が赤痢アメーバの系統に依存する可能性が示唆された。今後サンプル数を増やし、検討を重ねる必要がある。

E 結論

日本または台湾由来臨床株の遺伝子型の系統解析から、日本で見出された非病原性株は台湾で多く見出された非病原性株と系統が似ていること、AIG1 family protein (EHI_176590) は病原性に関与する可能性が示された。日本と環境が似る台湾との共同研究は東アジアのアメーバ症疫学研究に有益であり、協力して臨床株の解析を行うことで日本だけでは不可能な精度の良い疫学調査と研究を発展させることができる。

G 研究発表

1 論文発表

該当なし

2 学会発表

Kumiko Tsukui: Unique genomic features of an avirulent *Entamoeba histolytica* strain found in Japan

The eighth Japan-Taiwan symposium on Antibiotics resistance and foodborne diseases、2011年10月

H 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

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）
分担研究報告書（H23 年度）

日本および台湾におけるデング熱輸入症例からのデングウイルス遺伝子解析

分担研究者 高崎智彦（国立感染症研究所ウイルス第一部・室長）

協力研究者 小滝徹、モイ メンリン、田島茂

（国立感染症研究所ウイルス第一部）

倉根一郎

（国立感染症研究所・副所長）

舒佩芸、黄 智雄、鄧華眞

（台湾行政院衛生署疾病管制局）

研究要旨 デング熱の流行地域および流行は年々拡大増加する傾向にある。台湾では毎年、デング熱が流行しているが、わが国同様海外からの輸入症例も多い。我が国の 2010 年のデング熱輸入症例数は 245 であり、台湾では 300 例を超えた。そこで、フィリピンおよびインドネシアからの輸入症例から、ウイルスを分離し、配列を決定したウイルス遺伝子情報を交換し解析した。日本の分離株は 9 株、台湾の分離株は 23 株であった。その結果、デングウイルス 1 型では構造遺伝子領域が 100%一致したウイルス株が確認された。デングウイルス 1、2、3 型ではフィリピンからの日台の分離株で近似なグループを形成した。これらは各型の主流株であると考えられた。それ以外のはなれた分離株に関しては、今後旅行歴などを確認する予定である。4 型ウイルスは、わが国では分離されなかったが、台湾では各 3 株がフィリピン、インドネシアからの輸入症例から分離されていた。このように日本と台湾のデングウイルス遺伝子情報の共有の結果、フィリピンで 4 型ウイルスの流行が存在したことが明らかとなり、本研究の有用性が明らかとなった。

A. 研究目的

台湾と日本における主たる昆虫媒介性ウイルスは日本脳炎ウイルスとデングウイルスである。輸入症例を含めた患者報告数としては、デング熱が日本脳炎より多いため本年度はデング熱を対象とした。台湾ではデング熱が毎年流行しているが、日本では国内発生がない。そこで、デング熱輸入症例を対象を絞った。デング熱の輸入症例のなかでも、島国を対象にすることによって各島で

異なるウイルスによる流行が存在する可能性が高いと考え、島国であるインドネシア、フィリピンからの輸入症例に関してウイルス遺伝子情報を交換した。

B. 研究方法

フィリピン、インドネシアからの発熱患者をウイルス遺伝子検査、デングウイルス抗原（NS1）検査をし、デングウイルス IgM 抗体検査（ELISA

法)を実施し、デング熱であることが確認された症例に関して、ウイルス分離を実施した。ウイルス遺伝子解析は、患者血清からのダイレクトシーケンスと分離ウイルスからのシーケンスを実施し、患者血清からのシーケンスが得られた場合はその配列を優先して採用した。遺伝子解析は、E領域をダイレクトシーケンスにより、ABI prism Avant 7100(ABI社)によりプロトコールに従い塩基配列を決定した。決定した塩基配列はそれぞれデングウイルス型別にソフトウェア(MEGA4)により系統樹解析を行った。

C. 研究結果

2011年のフィリピン、インドネシア輸入症例から日本側9株、台湾側23株のデングウイルス遺伝子解析データが得られた。インドネシアからはデングウイルス1型;6株(台湾:3株、日本:3株)、2型は1株(日本:1株)、3型は2株(台湾:2株)、4型は3株(台湾:3株)であった(表1)。フィリピンからはデングウイルス1型:9株(台湾:6株、日本:3株)、2型は4株(台湾:3株、日本:1株)、3型は4株(台湾:3株、日本:1株)、4型は3株(台湾:3株)であった(表1)。

デングウイルス1型を系統樹解析したところ、フィリピンの1型ウイルスはいずれも相同性が高かった。一方、インドネシアの1型ウイルスは3つのグループに分かれた。日本の分離株11-09_Indonesiaと台湾のD1/Indonesia/1105aTW/2011は100%遺伝子配列が一致した。デングウイルス2型についてもフィリピンの株は高い相同性を示した。インドネシアのウイルス株は、日本の分離株1株のみであるので傾向は不明であるがフィリピンの株と比較すると異なるウイルスであった。デングウイルス3型に関しても解析数は少ないが、インドネシア

とフィリピンで1型ウイルスと同様の傾向を示した。しかし、4型ウイルスに関しては、インドネシア株が高い相同性を示し、日本の2008年の分離株とも近縁であった。一方、フィリピンの分離株は異なるウイルスであった。

D. 考察

日本と台湾のデング熱輸入症例報告数は、例年台湾の方がやや多い。これは検疫所が台湾CDCに属し、空港におけるフィーバーサーベイランス体制が厳しいことによると考えられている。本研究のフィリピンおよびインドネシアからの輸入デング熱症例からのウイルス遺伝子解析数が、日本側9株に対し台湾側23株であることも、台湾では空港で急性期のデング熱患者はより高率に捉えられていることが反映していると思われる。しかし、日台間で情報を共有することによって、日本では検出されなかったデングウイルス4型が、フィリピン、インドネシア両国で流行していることが台湾からの情報で明らかとなった。また、フィリピンのデングウイルス1型、2型株は極めて近縁であったことから、これらのフィリピンでの2011年の流行株の起源は単一のウイルスであった可能性が示唆された。4型ウイルスに関しては、1型、2型と異なり、インドネシア株が高い相同性を示したが、4型ウイルスはアジアではまだ大きな流行を起こしておらず、4型感染の台湾への輸入症例がフィリピン、インドネシアからそれぞれ3例あったことが重要であり、今後大きな流行を起こす可能性がある。

D. 結論

日本および台湾のフィリピン、インドネシアからのデング熱輸入症例からの分離ウイルスは、近似なウイルスであることが多く、構造遺伝子部分で100%一致した株も存在した。しかし、近似で