

厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
分担研究報告書

2020年度における SARS-CoV-2 陰性検体からの呼吸器ウイルス検出

研究分担者 森川佐依子 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 ウイルス課
研究協力者 中田 恵子 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 ウイルス課
研究協力者 廣井 聡 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所 ウイルス課
研究協力者 加瀬 哲男 大阪市立大学大学院医学研究科 公衆衛生学

研究要旨

2020/2021 インフルエンザシーズンは全国的にインフルエンザの流行が見られず、大阪府においても患者定点からの報告が少数報告されたのみで、ウイルス分離検出のための患者検体の搬入はなかった。当該期間は新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の第3波に当たり、COVID-19を疑う患者の中にインフルエンザ患者が紛れ込む可能性が示唆された。そこで、2020年度に当所に搬入された新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）検査検体のうち、SARS-CoV-2 感染が否定された上気道由来検体を用いて A,B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス OC43、パラインフルエンザウイルス 3 型の遺伝子検出を試みた。上気道由来検体 265 検体のうち、アデノウイルスは 2 検体から検出された。エンテロウイルス/ライノウイルス共通領域は 12 検体から検出された。VP 4 / 2 領域のシーケンスによる型別を実施した結果、解析可能であった 9 株は全てライノウイルスであった。インフルエンザウイルス、RS ウイルス、コロナウイルス OC43、パラインフルエンザウイルス 3 型は全ての検体で陰性であった。

A. 研究目的

我々は、インフルエンザワクチンの有効性評価の基礎資料となるインフルエンザの流行状況を把握することを目的として、年間を通じ大阪府内のインフルエンザウイルス株の検出、分離・型別を行い、さらに流行期には流行株や流行規模の解析を行っている。さらにワクチンの有効性を低下させる原因である、インフルエンザウイルス以外の原因ウイルスによる「臨床的インフルエンザ」を検出する目的で、陰性検体から他の呼吸器ウイルスを網羅的に検出している。2020/2021 インフルエンザシーズンはインフルエンザの流行が見られず、ウイルス検出のための検体搬入もなかった。本シーズンは SARS-CoV-2 第3波の流行と重複したため、推測される理由として、重い呼吸器症状を呈した患者の多くが COVID-19 疑い例となり SARS-CoV-2 検査が実施されている事、また軽症者ではクリニックへの受診控えが起こっていた事が挙げられる。そこで COVID-19 を疑う患者の中にインフルエンザ患者が紛れ込む可能性を考慮し、SARS-CoV-2 感染が否定された上気道由来検体を用いてインフルエンザウ

イルスを含めた主な呼吸器ウイルスの検出を試みた。

B. 研究方法

2020年4月1日から2021年3月31日までに大阪健康安全基盤研究所 森ノ宮センター（以下 当センター）にて SARS-CoV-2 遺伝子検査が陰性であった検体から対象を選出した。同一集団発生事例の複数検体からは 1 検体のみを選択した。また、上気道由来検体に該当しない唾液検体は除外し、265 検体を対象とした。

A, B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、エンテロウイルス、ライノウイルス、アデノウイルス、コロナウイルス OC43、パラインフルエンザウイルス 3 型の遺伝子検出を試みた。A, B 型インフルエンザウイルス遺伝子の検出は国立感染症研究所のマニュアルに従いリアルタイム RT-PCR 法を実施した。他のウイルスについては RNA 検体をランダムプライマーにて逆転写し、cDNA を作成後、それぞれのウイルス特異的なプライマーセットを用いたリアルタイム PCR 法を実施した。エンテロウイルスとライノウイルスについてはリアルタイム

PCRにて両ウイルスのもつ共通領域を検出し、陽性だった検体についてはVP4/2領域をシーケンスし、塩基配列を決定後、各ウイルス型の代表株の塩基配列とともに系統樹解析を行い、型別を実施した。

(倫理面への配慮)

本研究は地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所倫理審査会にて承認を受け実施した。(承認番号2107-02)

C. 研究結果

大阪では2020年2月よりSARS-CoV-2陽性者が増加し、4月の中旬をピークとした第1波、8月の上旬をピークとした第2波の後、2021年1月の中旬をピークとした第3波を経験した(図1)。

アデノウイルスは2検体(0.75%)から、エンテロウイルス/ライノウイルス共通領域は12検体(4.53%)から検出された。インフルエンザウイルス、RSウイルス、コロナウイルスOC43、パラインフルエンザウイルス3型は全ての検体で陰性であった。

アデノウイルス陽性の検体はいずれも採取時期が12月であった。エンテロウイルス/ライノウイルス共通領域が検出された12検体についてVP4/2領域のシーケンスによる型別を実施した結果、解析可能であった9株は全てライノウイルスで、A61型2株(5,7月)、A60型2株(8,1月)、A82型(10月)、A103型(11月)、B6型(2月)、C43型(10月)、C群(型不明、11月)であった。8,2,3月の各1株はウイルス量が少なく型別できなかった(図2)。11月の検体から検出されたC群ライノウイルスはC群であることは明らかなものの、いずれの型代表株の遺伝子とも相同性が低く、型別に至らなかった。

D. 考察

COVID-19については当初は「指定感染症」に指定され、その後「新型インフルエンザ等感染症」に分類されているため、医師は患者の臨床症状や疫学情報からCOVID-19を疑う場合は、検査にて診断後、直ちに発生届を提出しなければならない。呼吸器ウイルス感染症の臨床症状のみからの原因ウイルスの特定は困難で、COVID-19の市中発生以降は、患者に何らかの呼吸器症状が認められた場合はCOVID-19を疑い、検査を実施する流れとなっている。従って、SARS-CoV-2以外を原因とする呼吸

器感染症の流行像は把握しづらく、感染症発生動向調査事業に基づく病原体定点からの検体搬入数も激減している。そこでSARS-CoV-2以外の呼吸器ウイルスの流行状況を把握することを目的とし、SARS-CoV-2が陰性であった上気道由来検体より他の呼吸器ウイルスを検索したが、いずれのウイルスにおいても陰性か、陽性であっても検出率は低いことが明らかとなった。

従って、COVID-19流行前に実施されてきた以上に、冬季の呼吸器疾患対策以上にマスクの着用、エタノールによる手指消毒等の予防策が徹底された事、さらに、海外からの感染者の流入を抑える目的で出入国者の制限が実施、継続されている事が他の呼吸器ウイルスの流行抑制に効果を発揮していると考えられた。本研究で検出されたアデノウイルス、ライノウイルスはいずれもエンベロープを持たないウイルスであり、アルコール消毒に対し抵抗性を持つことから、インフルエンザウイルス、RSウイルス、コロナウイルスOC43、パラインフルエンザウイルス3型については予防策が流行の抑制に一定の効果をもたらしたと考えられた。

しかしながら、これらの流行抑制により感受性個体が増加するため、次年度以降にウイルスが流入する事で通常よりも大きな流行となる可能性がある。今後も引き続き、流行の把握につとめたい。

E. 結論

2020年度におけるSARS-CoV-2の流行により、その他の呼吸器ウイルス感染症の流行は低く抑えられた。理由としてマスクの着用、エタノールによる手指消毒等の一般的な呼吸器感染書の予防策が徹底された事、さらに、出入国者の制限が実施、継続されている事が効果を発揮していると考えられた。呼吸器ウイルスの一時期の流行抑制は、感受性個体の増加を引き起こす。次年度以降にウイルスが流入する事で通常よりも大きな流行となる可能性があるため、引き続き、陰性検体からのウイルス検索を行い流行の把握につとめたい。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表(発表雑誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. 論文発表

なし

2. 学会発表
なし

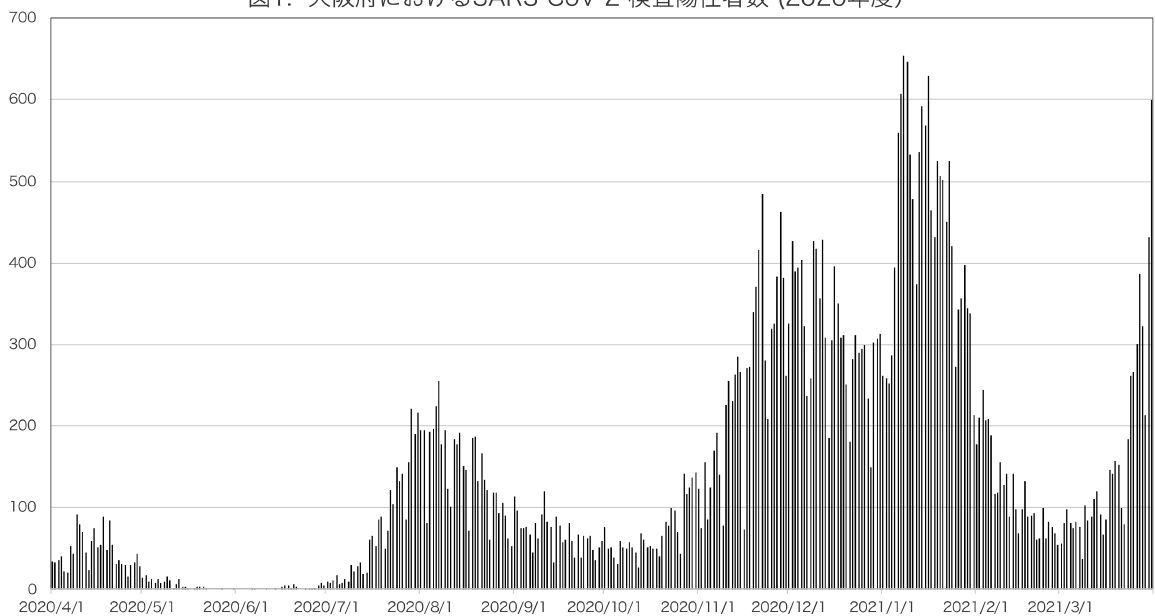
2. 実用新案登録
なし

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）

3. その他
なし

1. 特許取得
なし

図1. 大阪府におけるSARS-CoV-2 検査陽性者数 (2020年度)



大阪府 新型コロナウイルス感染症対策サイト
<https://covid19-osaka.info/> 陽性者数オープンデータより作成

図2. 月別検出ウイルス

