

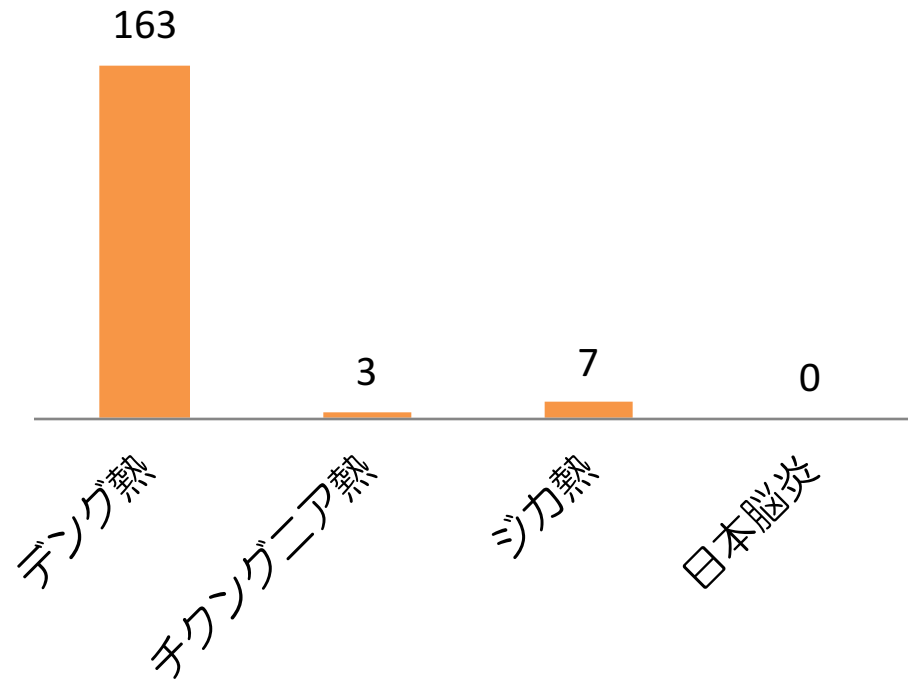
衛生微生物技術協議会第37回研究会

レファレンスセンター報告
「アルボウイルス」

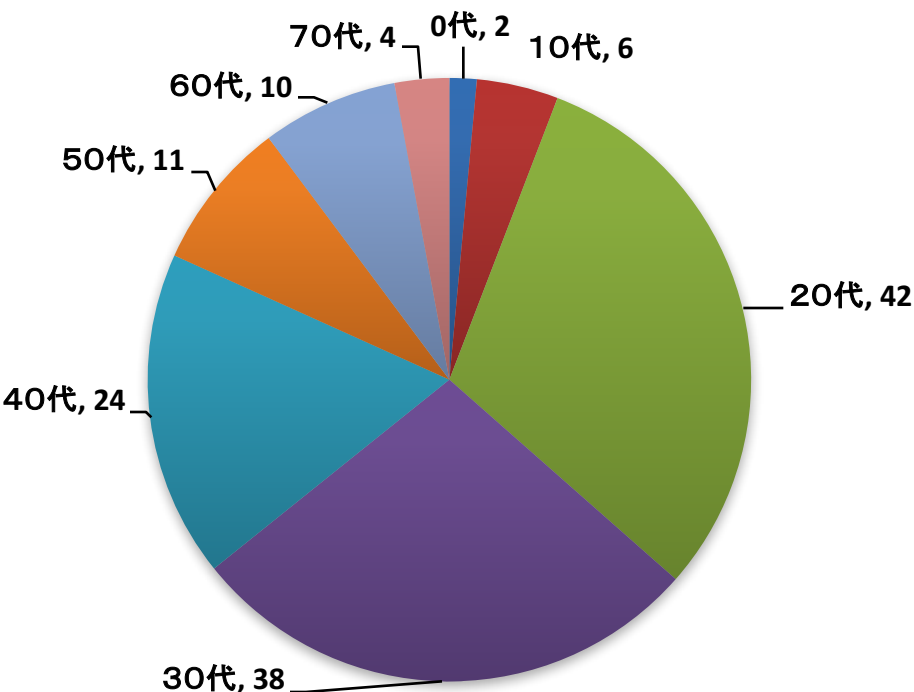
世話人
国立感染症研究所
ウイルス第一部
田島茂

平成28年7月21日

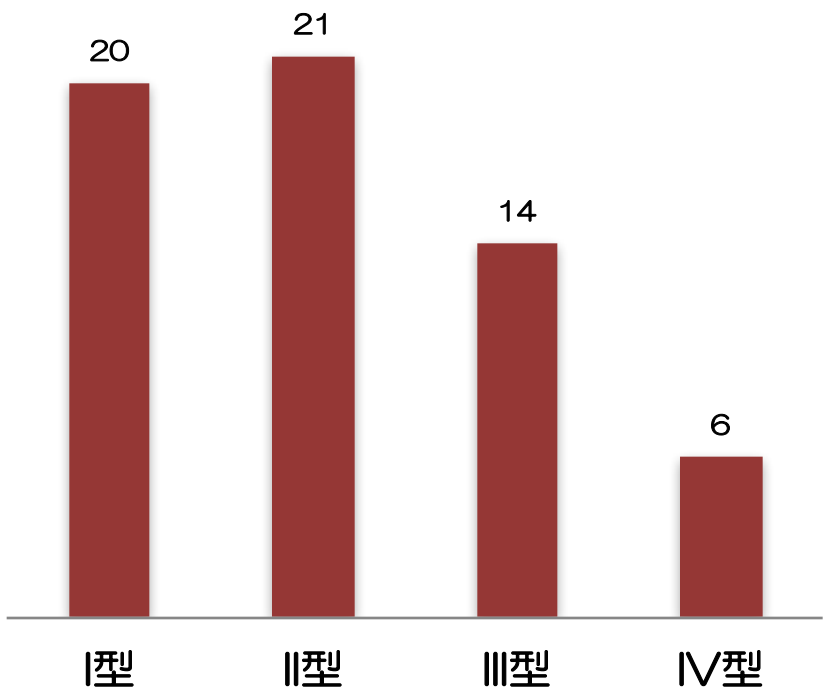
2016 27週



2016 21週までのまとめ（デング熱、137例）①

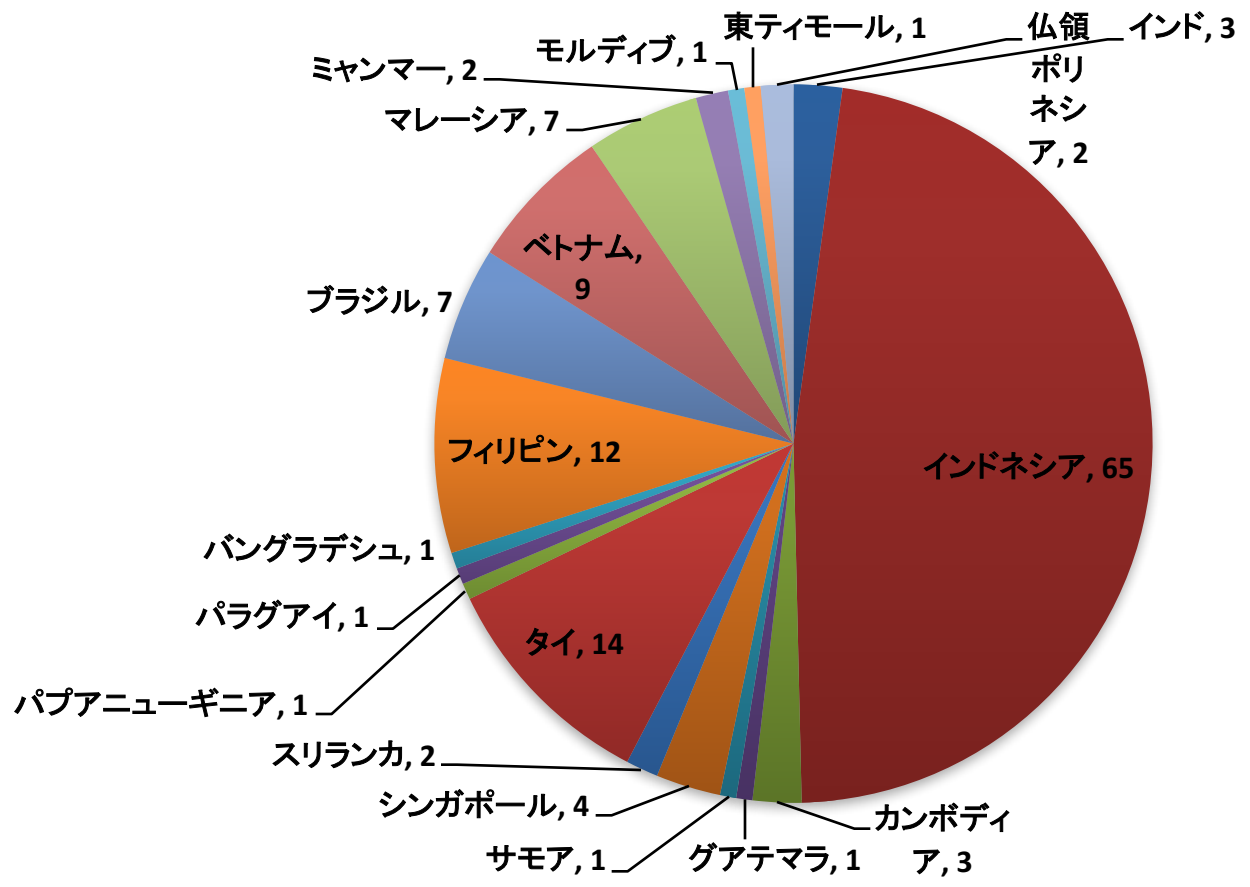


年齢層



血清型

2016 21週までのまとめ（デング熱、137例）②



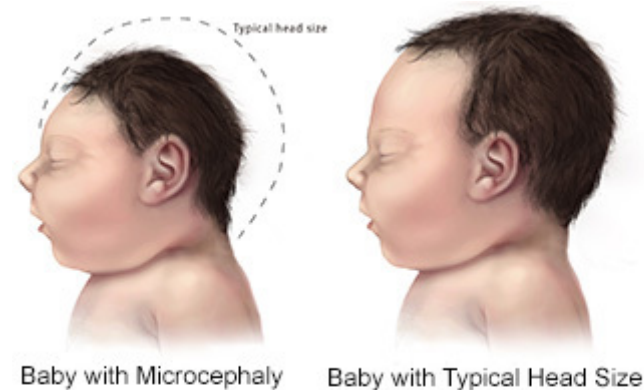
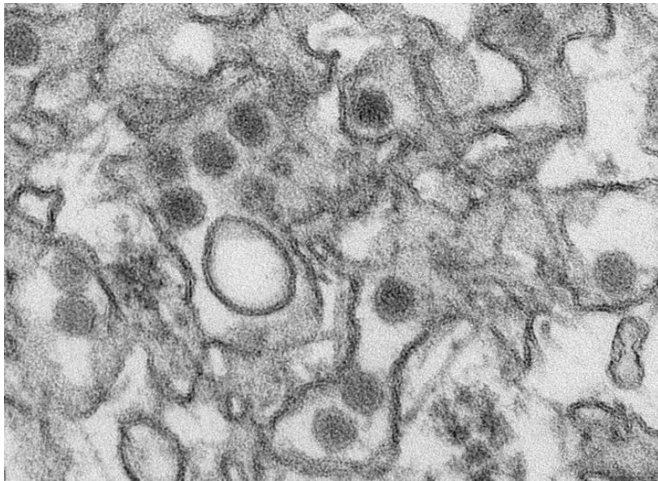
滞在国（推定感染国）

ジカウイルス感染症

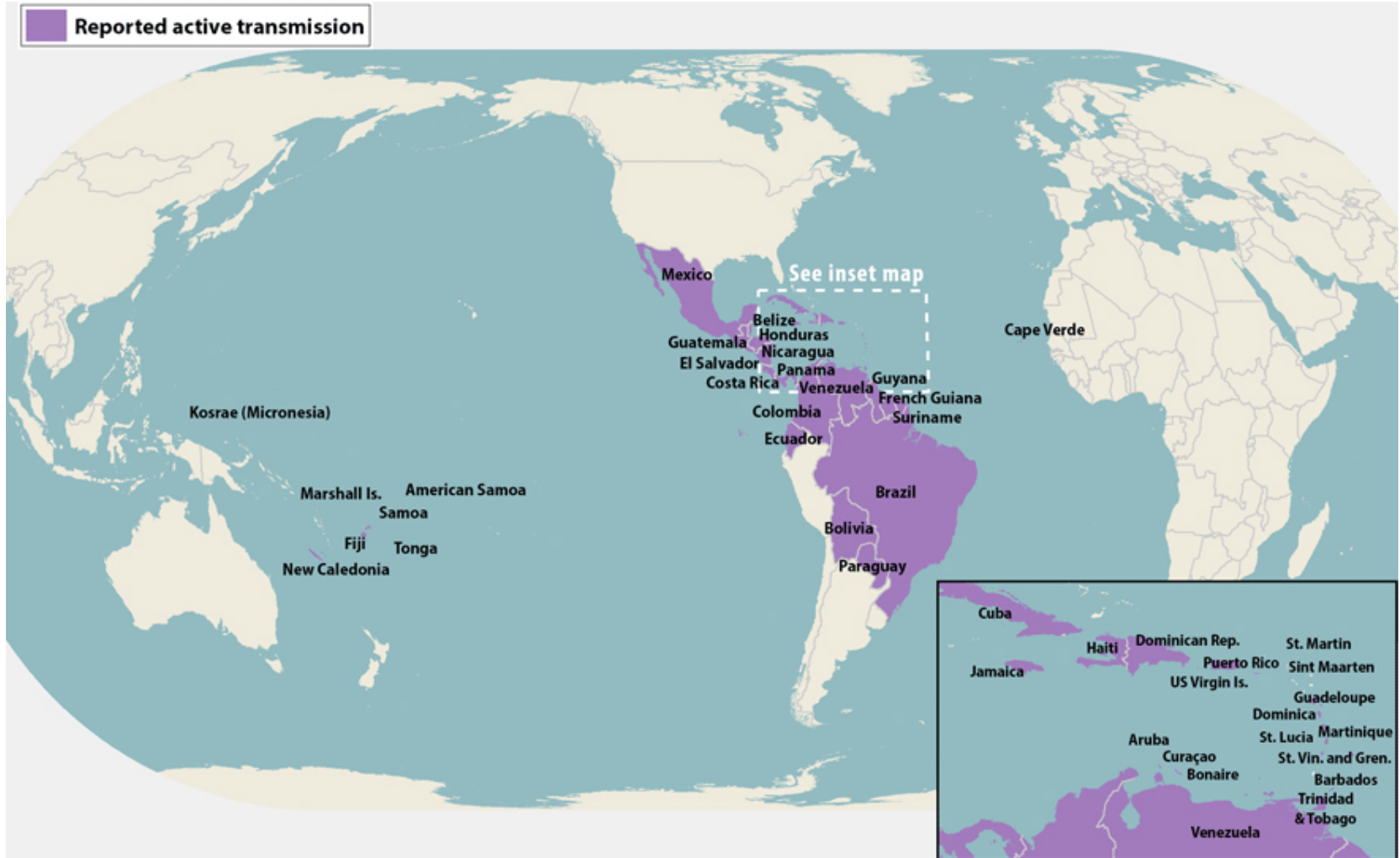
フラビウイルス科フラビウイルス属のジカウイルスによる蚊媒介性感染症。感染症法上の4種感染症に指定。潜伏期は2~12日（多くは2~7日）。症状は軽度の発熱、頭痛、関節痛、斑丘疹、結膜炎等。血小板減少もみられることがあるが、一般的にデングウイルス感染症よりも軽度である。

しかし近年の流行では、ギラン・バレー症候群や急性脊髄炎、髄膜脳炎との関連性も指摘されている。

さらに2015年からのブラジルを中心とする中南米・カリブ海地域での大流行では、妊娠中のジカウイルス感染による胎児の小頭症との関連が疑われ、最近（2016年4月）には、米国CDCがジカウイルス感染が小頭症の原因となることを認めた。

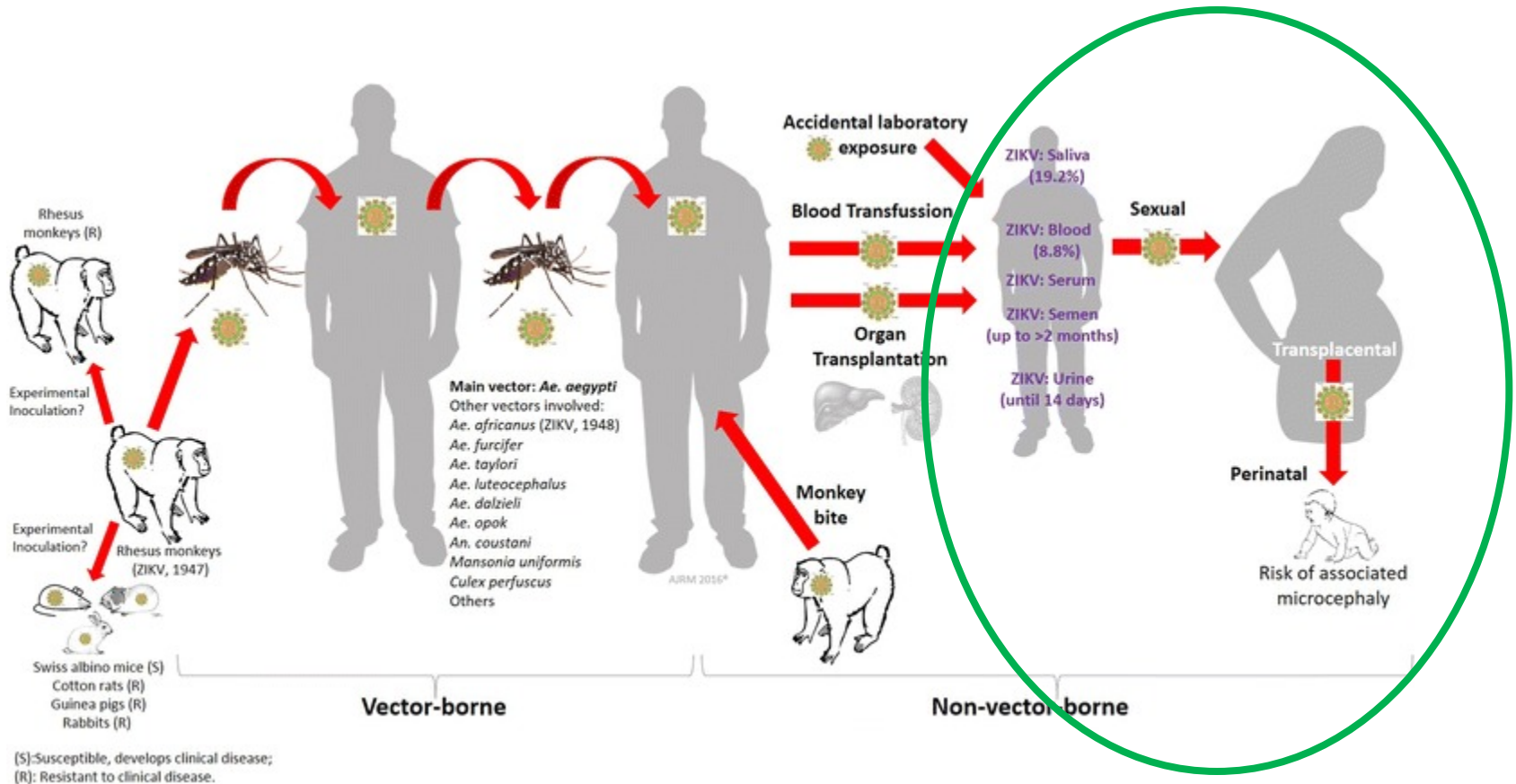


2016年4月現在のジカウイルス感染症流行地域



US CDC Web siteより

ジカウイルスの感染経路



Detection of Zika virus RNA by one-step realtime RT-PCR

Clinical samples (serum and/or urine)



RNA extraction

(High Pure Viral RNA kit (Roche))



One-step realtime RT-PCR

Fast Virus 1-Step Master Mix
(Thermo Fisher)

50°C (RT reaction)	5 min	1 cycle
95°C	20 sec	1 cycle
95°C	3 sec	40 cycles
57°C	30 sec	

*QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix
(QIAGEN) also showed similar results.
(RT reaction: 50°C, 30 min)

Set	Probe	Primer	Region
ZIKV1	ZIKV 860- FAM	ZIKV 835	E
		ZIKV 911	E
ZIKV2	ZIKV 1107- FAM	ZIKV 1086	E
		ZIKV 1162c	E

Lanciotti et al.

EID 14: 1232-1239 (2008)

日本におけるジカウイルス感染症の輸入例 (2016年6月15日現在)

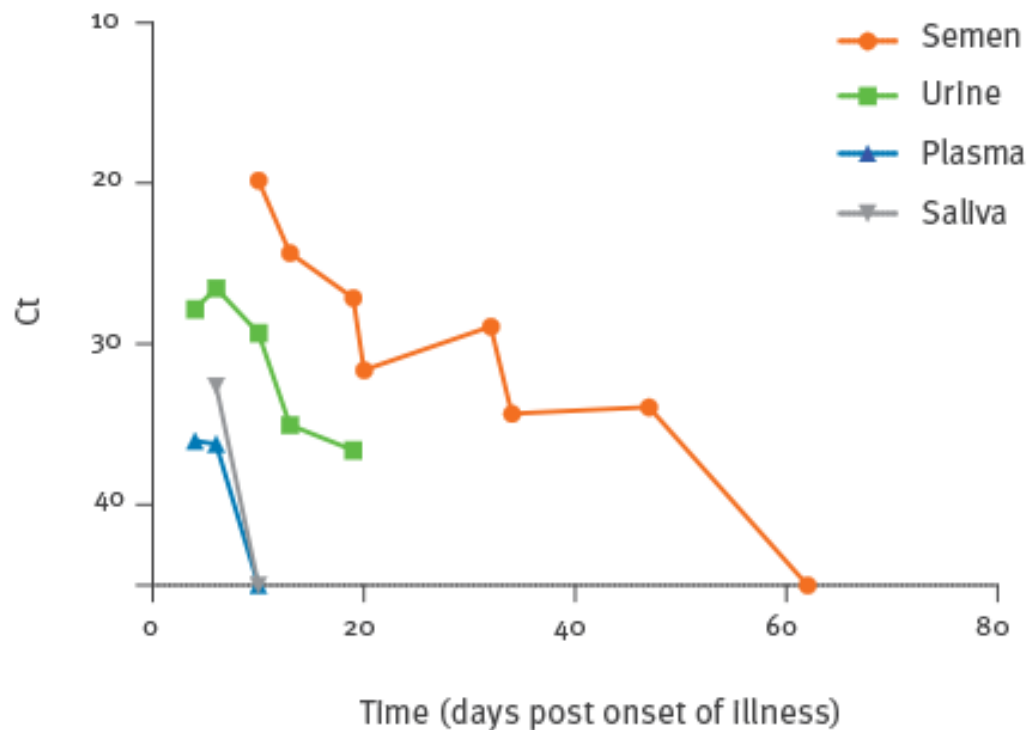
	年代	性別	発症日	感染地域	症候・合併症
1	20代	男	2013年12月09日	仏領ポリネシア	発熱, 発疹, 頭痛, 骨関節痛, 咽頭痛
2	30代	女	2013年12月23日	仏領ポリネシア	発熱, 発疹, 頭痛, 結膜充血, リンパ節腫脹, 白血球・血小板減少
3	40代	男	2014年08月02日	タイ	発熱, 発疹, 頭痛, 結膜充血, リンパ節腫脹
4	10代	男	2016年02月	ブラジル	発熱, 発疹
5	30代	女	2016年03月	ブラジル	発熱, 発疹, 関節痛,
6	-	女	2016年03月	ブラジル	関節痛, 発疹
7	40代	女	2016年03月	ブラジル以外の中南米	発疹, 発熱, 関節痛, 結膜炎等
8	10代	男	2016年04月	オセアニア太平洋諸島	発熱, 発疹
9	20代	女	2016年05月	ブラジル以外の中南米	発熱, 発疹
10	30代	男	2016年06月	ブラジル以外の中南米	発疹

※1 赤線以下が感染症法の4類感染症指定後の症例

※2 症例1, 2: IASR 35:45-6, 2014, 症例3: IASR 35:243-4, 2014

LONGITUDINAL FOLLOW-UP OF ZIKA VIRUS RNA IN SEMEN OF A TRAVELLER RETURNING FROM BARBADOS TO THE NETHERLANDS WITH ZIKA VIRUS DISEASE, MARCH 2016

C Reusken 1 2 , S Pas 1 2 , C GeurtsvanKessel 1 , R Mögling 1 , J van Kampen 1 , T Langerak 1 , M Koopmans 1 , A van der Eijk 1 , E van Gorp 1



*Zika virus RNAを検出。
感染性ウイルスは不明。

The Lancet

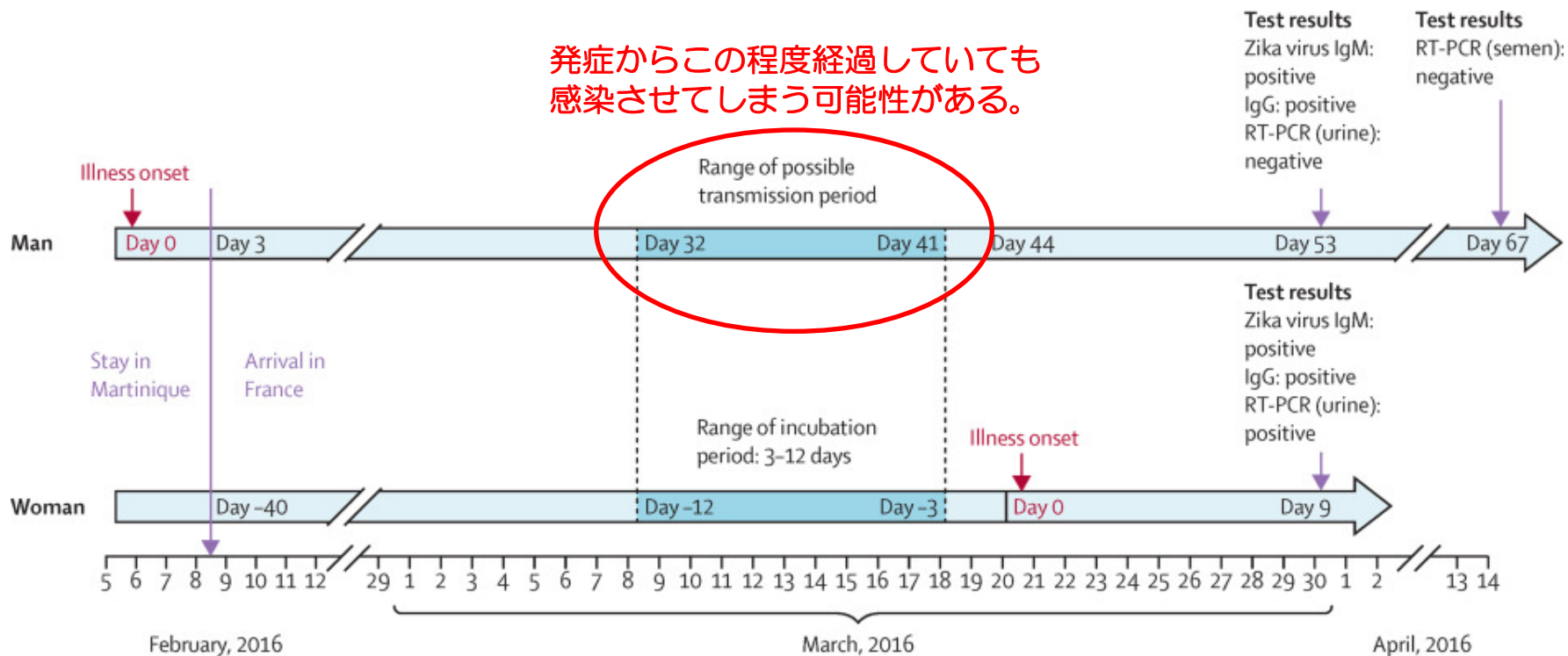
Volume 387, Issue 10037, 18–24 June 2016, Pages 2501

Correspondence

Late sexual transmission of Zika virus related to persistence in the semen

Jean Marie Turmela, Pierre Abgueguena, Bruno Hubertc, Yves Marie Vandammea, Marianne Maquartd, H el ene Le Guillou-Guillemetteb, Isabelle Leparc-Goffartd

発症からこの程度経過していても
感染させてしまう可能性がある。



ジカウイルス同定試験について

ジカウイルスゲノムの検出、ウイルス分離のためには、血清、尿、唾液以外に、**全血**を使用することも考慮すべきである。

全血はEDTA管で採血してもらい、なるべく速やかに検査作業に使用する。

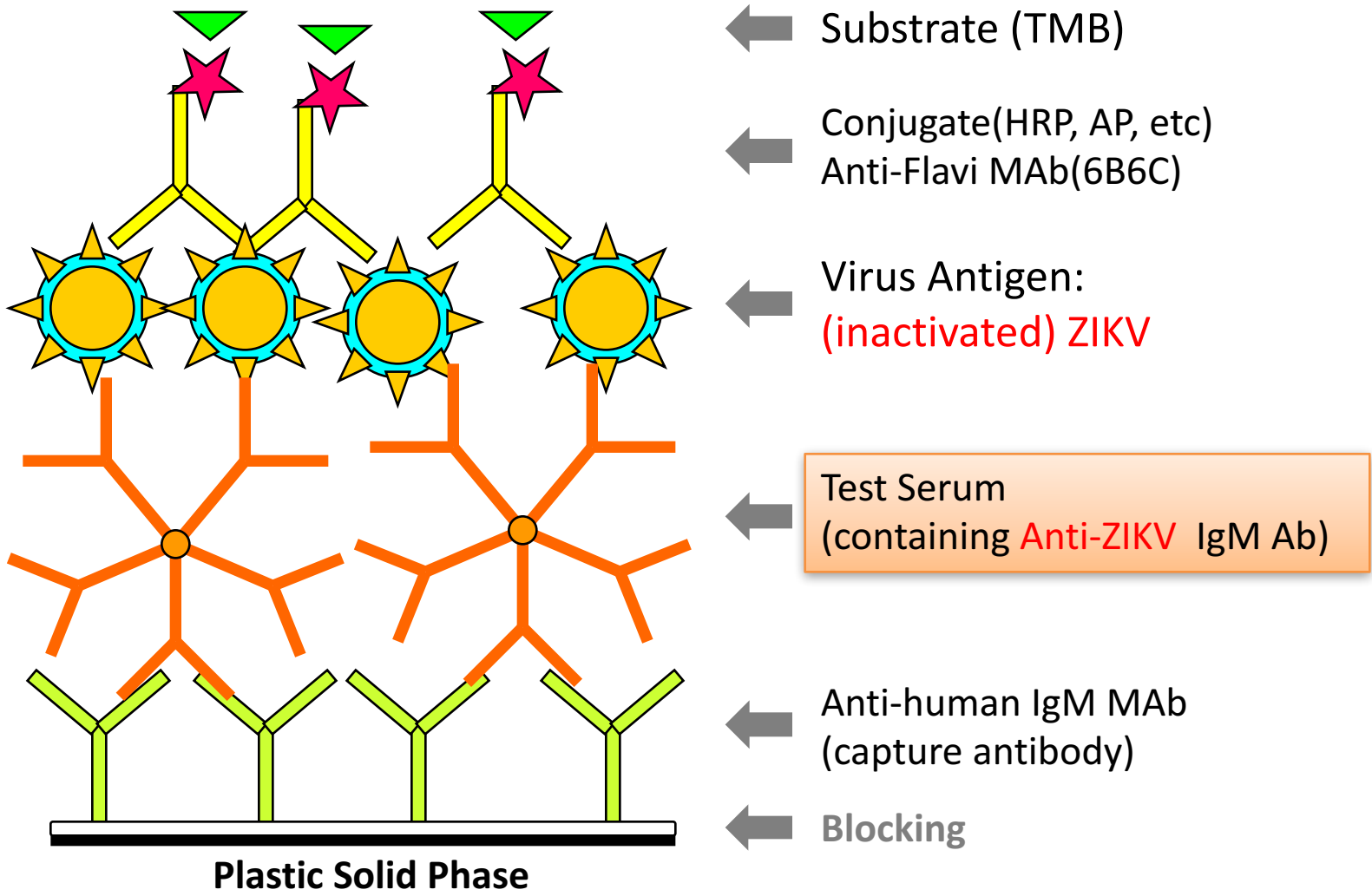
ウイルス分離する際には、細胞培養培地で10～1000倍程度に希釈して行う。
また盲継代を数回繰り返す。

蚊細胞よりもVero細胞を用いた方が良いかもしれない。

NS1抗原検出系の開発が進んでいる。

蚊からジカウイルス（遺伝子）を同定したとの報告がほとんどない。

IgM capture ELISA



*Dengue Virus IgM Capture DxSelect (Focus) がベース

Interim Guidance for Interpretation of Zika Virus Antibody Test Results

Weekly / June 3, 2016 / 65(21)

What is already known about this topic?

Zika virus is a mosquito-borne flavivirus closely related to dengue, West Nile, Japanese encephalitis, and yellow fever viruses. Diagnostic testing for Zika virus infection can be accomplished using both molecular and serologic methods. **However, results of Zika virus antibody testing can be difficult to interpret because of cross-reactivity with related flaviviruses, which can preclude identification of the specific infecting virus, especially when the person previously was infected with or vaccinated against a related flavivirus.**

What is added by this report?

For persons with suspected Zika virus disease, a positive real-time reverse transcription–polymerase chain reaction (rRT-PCR) result confirms Zika virus infection, but a negative result does not exclude infection. In these cases, antibody testing can identify additional recent Zika virus infections. If immunoglobulin (Ig) M test results are positive, equivocal, or inconclusive, performing a plaque reduction neutralization test (PRNT) is needed to confirm the diagnosis. However, recent evidence suggests that **a 4-fold higher titer by PRNT might not discriminate between anti-Zika virus antibodies and cross-reacting antibodies in all persons who have been previously infected with or vaccinated against a related flavivirus.** Thus, a more conservative approach to interpreting PRNT results is now recommended to reduce the possibility of missing the diagnosis of either Zika or dengue virus infection.

他のフラビウイルスとのCross Reactivityが問題となる。

US CDCでは10倍以上の中和抗体価が複数のフラビウイルスでみられる場合、「フラビウイルス感染の既往あり」との判断にとどめている(私信)。

デングウイルス、チクングニアウイルス遺伝子解析とデータベース構築および汎アフリカ、南アフリカ別黄熱ウイルス高感度遺伝子検出法の評価・応用

Science 352(6282) 128, 2016 (8 April)

... Angola has seen 490 confirmed cases and 198 deaths so far, but experts say the real toll may be 10 times as high.....

FORTHホームページより

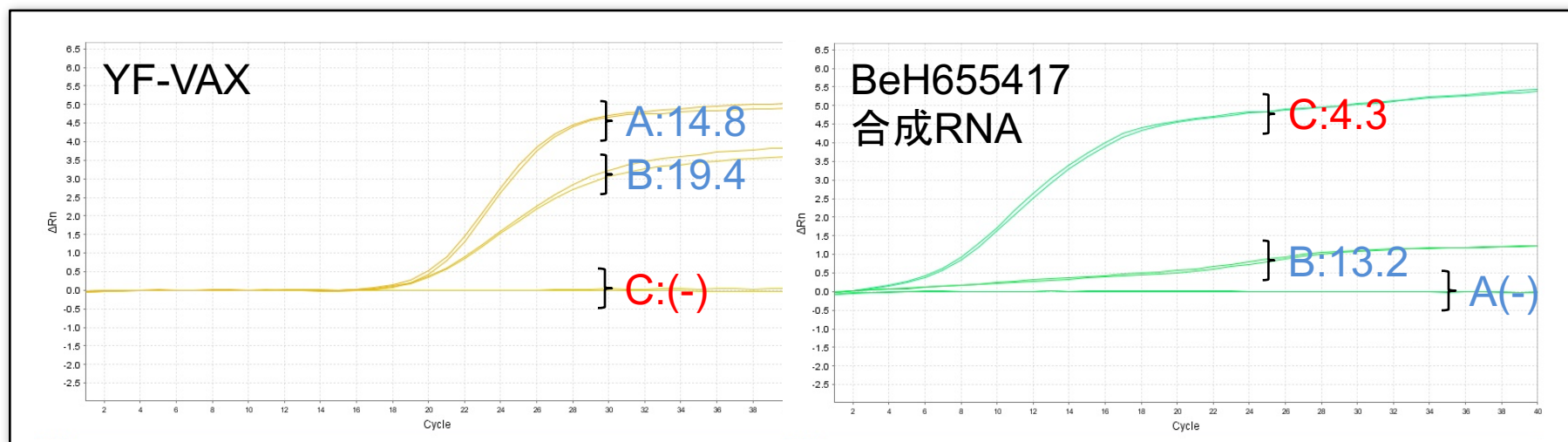
2016年4月22日付けで公表された世界保健機関（WHO）の情報によりますと、中国の国際保健規則(IHR) 国家担当者は、4月4日から4月12日までに、新たに黄熱患者2人をWHOに報告しました。これまでに、合計11人の黄熱確定患者がアンゴラから中国へ感染輸入されたことが報告されています。

黄熱ウイルス検出用TaqManプライマープローブセット

Primer		
	Name	Sequence
Set A (YF17D/W. Africa)	YF-8280F(17D/WAf)	TCCACTCATGAAATGTACTACGTGTCT
	YF-8354C(17D/WAf)	GGAGGCGGGATGTTTGGT
Set B (YF17D/W. Africa)	YF-4769F(17D/WAf)	TTGATTCCATCTTGGGCTTC
	YF-4862C(17D/WAf)	GGACCTCTTCCTCTCCATCC
Set C (S. America)	YF-9393F(SAm)	CAGGTGGGAAAGCTTACATGG
	YF-9453C(SAm)	CACCTGCCCCGGATCCTCT
Probe		
Set A (YF17D/W. Africa)	YF-8308FAM(17D/W.Africa)	AGCCCGCAGCAATGTCACATTTACTGT
Set B (YF17D/W. Africa)	YF-4804FAM(17D/W.Africa)	TGTCGCCTATGGTGGCTCATGGAAG
Set C (S.America)	YF-9415FAM(S.America)	TGTCATAAGCCGGCGGGACCA

中南米株、アフリカ株鑑別黄熱リアルタイムRT-PCRの開発

Primer & Probe		Forward/Probe/Reverse
A	YF 17D/W.Africa	8280/8308FAM/8354c
B	YF 17D/W. Africa	4769/4804FAM/4862c
C	S.America 1&2	9393/9415FAM/9453c



*Toyobo
RNA-direct
Realtime PCR
Master Mix
使用

Ct value	YF-VAX【アフリカ株】	BeH655417【南米株】
A	14.8	Undetermined
B	19.4	13.2
C	Undetermined	4.3