

表 9. ワクチン接種歴のない群の ILI 症状と抗体価上昇の一致度 (n=275)

		抗体価		計
		1:40以上	1:20以下	
ILI	あり	28	19	47
	なし	60	168	228
	計	88	187	275

表 10. 既感染者*群の属性 (n=88)

		全体	%	顕性感染者*	%	不顕性感染者*	%	2群間の比較 [†]
		88		28		60		
性別								0.34
	男性	41	46.6	11	39.3	30	50.0	
	女性	47	53.4	17	60.7	30	50.0	
年齢								0.05
	中央値	36		30.5		38.5		
	範囲	21-59		21-56		22-59		
	平均値	37.1		34.0		38.5		
	SD	10.21		10.05		10.03		
年齢群								0.11
	20代	27	30.7	13	46.4	14	23.3	
	30代	27	30.7	8	28.6	19	31.7	
	40代	24	27.3	4	14.3	20	33.3	
	50代	10	11.4	3	10.7	7	11.7	
	60代	0	0.0	0	0.0	0	0.0	
同居家族								0.73
	有	67	76.1	24	85.7	53	88.3	
	無	11	12.5	4	14.3	7	11.7	
抗体価								—
	1:40	40	45.5	10	35.7	30	50.0	
	1:80	23	26.1	9	32.1	14	23.3	
	1:160	17	19.3	6	21.4	11	18.3	
	1:320	3	3.4	0	0	3	5.0	
	1:640	4	4.6	3	10.7	1	1.7	
	1:1280	1	1.1	0	0	1	1.7	

* 定義は本文参照

[†] 年齢の平均についてはt-test、性別、年齢群、同居家族については χ^2 検定。なお、年齢群については50代までの2群間比較。

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)
「国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能およびわが国の感染症サーベイランスシステムの
改善・強化に関する研究」

分担研究報告書

感染症発生動向調査における新型アデノウイルスおよび変異型アデノウイルスへの対応

研究分担者 藤本嗣人(国立感染症研究所感染症情報センター 室長)

研究協力者

花岡 希 国立感染症研究所感染症情報センター

小長谷昌未 同 (協力研究員)

榎本美貴 同 (協力研究員), 兵庫県立健康生活科学研究所

中村雅子 福井県衛生環境研究センター・保健衛生部

清水英明 川崎市衛生研究所

松島勇紀 同

秋吉京子 神戸市環境科学環境保健研究所

岡部信彦 国立感染症研究所感染症情報センター

地区アデノウイルスレファレンスセンター

要 旨

感染症発生動向調査においてアデノウイルスは咽頭結膜熱(PCF)、流行性角結膜炎(EKC)および感染性胃腸炎の起因病原体である。

これまでアデノウイルスは基本としてウイルス分離、およびその後の中和反応によって型別され、新型アデノウイルスは既知の型と 16 倍以上の差が見られることで定義されてきた。しかし全塩基配列を決定して新型アデノウイルスを決定することが世界的に行われるようになりつつあり、日本でも新型アデノウイルスの流行が見られている。そこで、我々はウイルス分離、遺伝子解析法について検討した。そして感染症発生動向調査において新型アデノウイルスの同定法を示して全国からの分離報告がなされるようになることを目標として取り組んだ。その結果、日本で流行する新型アデノウイルス 53 および 54 型の迅速な診断法を開発した。さらに 56 型について塩基配列のバリエーションを検討した。これらの結果を公表し、病原体検出情報において 53、54 および 56 型の NESID への登録ができるように中央感染症情報センターのシステムを改めた。その結果、これらの新型アデノウイルスの検出報告がなされるようになり、日本での流行状況が明らかになりつつある。新型アデノウイルスの新しい型の報告が続き、2012 年 2 月現在 65 型まで把握できた。新型アデノウイルスの発生動向に今後、注視するべきと考える。また、抗原性を決定する部位に変異があるアデノウイルス 3 型を、2010 年冬期の咽頭結膜熱の流行時に分離した。

A. 研究目的

本研究課題を始める前に平成 18 年度～20 年度、厚生労働科学研究補助金 新興・再興感染症研究事業「効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究」(研究代表者: 谷口清州)が実施された。

その結果、疾患毎の戦略をたてて、必要な場合には複数のサーベイランスを並立させ、疾患毎のゴールとその戦略を見据えたサーベイランスデザインを行うべきことが提言された。

ここ数年に新型アデノウイルスが日本国内で流行し、その同定法が従来の血清学的方法から遺伝子的な方法に移ったために同定法の混乱が生じている。また、平成 20 年度に報告した通り、アデノウイルスのヘキソン超可変領域(HVR)におけるアミノ酸変異が 2003～2006 年における咽頭結膜熱(PCF)の全国的流行につながっていたことが強く示唆されている(1)。

そこで、本研究では①新型アデノウイルスを含むアデノウイルスの検出同定法の開発、②アデノウイルス 3 型超可変領域の解析を中心に研究した。

[新型アデノウイルスについて]

新型アデノウイルスは、次のとおり 2007 年以降に報告が続き、現在知る限り 65 型まで報告されている(2)。

新型アデノウイルスが報告されている状況について整理すると次のとおりである。

1) 2007 年以前: 血清学的反応(中和反応による同定)が基本であることで、ほぼコンセンサスが得られ、51 の血清型が知られ、A～F の 6 種類の型に分類されていた。この状況が 10 年以上続いていた。アデノウイルスの血清型はウイルス分離およびその中和反応により

既存の型と 16 倍以上の差があることで定義されている。2006 年までに報告された新型アデノウイルスは、血清学的に既存の型と異なるウイルスであった。

2007 年以前からアデノウイルスの同一血清型の中でも genome type のバリエーションがあることが知られていた。血清型間の組み換え株は、中間株(intermediate strain)と呼ばれていた。

2) 2007 年以降:

現在、中和抗体価が 16 倍以上異なることを理由にする血清学的考え方(9)からアデノウイルスの全塩基配列決定により新型アデノウイルスが国際誌に報告されている。これは中和抗原性を決定している領域がヘキシソンのループ領域であり、アデノウイルス遺伝子 35,000bp のうち 1,800bp 以下(5%以下)のみを代表しているためである。

G 種アデノウイルス 52 型が 2007 年に報告された。G 種アデノウイルスは 52 型のみからなり、全ゲノム配列の決定によりこれまでの種と異なる新型とされた(3)。さらに 2008 年に 53 型が報告された(4, 5)。アデノウイルス 53 型(5)は、青木らが報告した HAdV-15/29/H9(4)と同じである。また、54 型は石古らによって報告され(6)日本でのみ報告されている

また、2011 年に 56 型(7)が報告され、53、54 および 56 型は日本国内において EKC の流行を引き起こしている。56 型は金子らが intermediate strain として先んじて報告した型と同じである(8)。

54 型は 8 型に対する中和抗血清で弱く中和されることが知られている(10)。

また、53 型(中和で 22 型)や 55 型(中和で

11 型)は、中和決定領域以外はほとんど他の型と組み換えを起こしている。Donald Seto らは、血清型から全ゲノム配列の解読による新型同定を主張している(11)。53 型は 22 型に対する抗血清で中和されヘキソン領域で 22 型との相同性が高い(4)ため、中和による同定およびヘキソン配列による同定の場合は 53/22 型とするべきと国立感染症研究所と地方衛生研究所からなるアデノウイルスレファレンス委員会では考えている。

B(C). 研究方法および結果

1. アデノウイルス分離に適した細胞および凍結融解回数のウイルス分離への影響に関する検討

(平成 21 年度報告書)

アデノウイルスはウイルス分離に時間がかかる場合があり、使用する培養細胞の選択が重要である。そこで A549、HeLa、RD および Vero 細胞のアデノウイルス分離効率を比較した。その結果、A549 のウイルス分離率が最も高いことが明らかになり(12)、継代での凍結融解回数は従来言われていた 5 回でなく 3 回で十分な場合があることが分かった(data not shown)。

A549 細胞によって新型アデノウイルスのうち日本国内で EKC の流行を引き起こしている 53、54 および 56 型に対して A549 細胞が十分使用できることも確認している(花岡ら、2011 年投稿中、感染症誌)。

またウイルス分離においては継代をする必要があり、これまでアデノウイルスの継代においては凍結融解を 5 回以上繰り返すことと経験的に言われてきた。そこで、何回の凍結融解が最もウイルス力価が高いかを検討した。その結果、アデノウイルス 2 型において凍結

融解回数は 3 回で十分であることが示唆された(平成 21 年度総括・分担報告書)。

(倫理面への配慮)

本研究において、個人情報等、倫理面での問題が生じるものを取り扱っていない。

2. 新型アデノウイルス等の同定法の研究

2-1 Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)

(平成 22 年度報告書)

アデノウイルス 53 および 54 型の同定のための Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP)法アプリケーションを開発した。開発した手法を 2010 年3月に全国6カ所のアデノウイルス地区レファレンスセンターならびに3カ所の地方衛生研究所(地研)の合計9つの研究所で評価したところほぼすべての地研で陽性コントロールを同一感度で検出することができ、非特異的な増幅は報告されなかった。LAMP 法による同定は、PCR-シーケンシング法より簡便で、手間と時間がかからない利点を持つ。本法は、53 型と 22 型との鑑別はできないので、結果は 53/22 型となる。しかし、EKC の病原体として流行のない 22 型と 53 型との鑑別よりも、37 型および 8 型との鑑別が、アデノウイルスサーベイランス上重要である(13)。

福井県において LAMP 法および PCR-シーケンシング法により 1995～2010 年における D 種アデノウイルスを検討したところ、新型アデノウイルス 53 型が 1996 年から、54 型が 2000 年から流行していることが明らかになった。また、アデノウイルス 56 型も 2010 年に検出された。合計検出株数は D 種全体で 124 件中、新型アデノウイルスの 54 型が 66 件(53%)で最も多く、37 型の 40 件(32%)より多かった(14)。

さらに、我々は 56 型の塩基配列の多様性を検討して報告した。

(倫理面での配慮)

本研究で、個人情報を取り扱うことは基本的になく、倫理面での問題を生ずることはないと考えられた。

2-2 Hyper-PCR によるアデノウイルス等の迅速同定

アデノウイルスを含む呼吸器アデノウイルスを迅速に検出する HyperPCR システム(15)をアデノウイルスおよびそれ以外の他種類の病原体を迅速に検出するシステムとして開発した。この手法により新型アデノウイルスを含む多くのウイルスを検出した。

3. アデノウイルス変異株の研究

アデノウイルス 3 型は咽頭結膜熱の病原体として最も検出数が多い。2003～2006 年に大規模流行をした際に 3 型のヘキソン蛋白の超可変領域(HVR)の検討により、過去に流行していた株と異なることを確認した(1)。

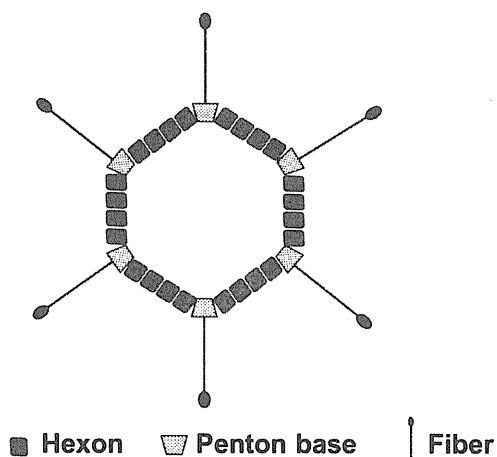


図 1. 3 種類のアデノウイルス表面蛋白

2010～2011 年冬期に咽頭結膜熱が流行した。変異株の流行を疑って同様に HVR を調べたところ HVR4 に変異を認めた。この変異

が冬期流行の原因である可能性も考えられた。同様の変異株は調査した兵庫県および福井県においても検出された。

4. 新型アデノウイルス 56 型の研究

アデノウイルスのうち、型別不能株が多く搬入されてきた。

そこで、Kaneko ら(8)は同定困難株の全塩基配列を決定した。それにより日本で HAdV-15/29/H9 が流行していることを明らかにした。これは Walsh(5)らにより HAdV-56 と報告された株と同じであり、日本における 56 型による流行性角結膜炎の流行が明らかになった。

5. 新型アデノウイルスの NESID への登録

(平成 23 年度研究報告書)

日本において、新型アデノウイルスの 53、54 および 56 型が流行性角結膜炎の流行を引き起こしていることが明らかになった。そこで 2011 年の夏の NESID システム改変により 53/22 型、54 型および 56 型を登録できるように改変して頂いた。その結果、2012 年 2 月 7 日現在で、53/22 型が 6 件、54 型が 7 件、56 型が 24 件登録されている。

6. その他の新型アデノウイルス

アデノウイルスの抗原性を決定するのは主にヘキソン、ファイバーおよびペントンベースと呼ばれる蛋白である(図 1)参照。近年に報告されている新型アデノウイルスにおいては、これらの複雑な組み換えが起こっている。

現在、把握している限り 65 型(2)まで報告されている。

52、55、57～65 型までの 11 種類の型についても日本国内での流行に注視する必要がある。

あると考える。

E. 結 論

全塩基配列を決定して新型アデノウイルスを決定することが世界的に行われるようになりつつあり、日本でも新型アデノウイルスの流行が見られている。そこで、我々はウイルス分離、遺伝子解析法について検討した。そして感染症発生動向調査において新型アデノウイルスの同定法を示して全国からの分離報告がなされるようになることを目標として取り組んだ。その結果、日本で流行する新型アデノウイルス 53 および 54 型の迅速な診断法を開発した。さらに新型アデノウイルスである 56 型について塩基配列のバリエーションを検討した。これらの結果を公表し、病原体検出情報において 53、54 および 56 型の NESID への登録ができるように中央感染症情報センターのシステムを改めた。その結果、これらの新型アデノウイルスの検出報告がなされるようになり、日本での流行状況が明らかになりつつある。また、抗原性を決定する部位での変異がアデノウイルス 3 型を咽頭結膜熱 2010 年冬期の流行時に分離した。

参考文献

1) Fujimoto T, Hamamoto I, Taniguchi K, Chikahira M, Okabe N.: Molecular epidemiology of adenovirus type 3 detected from 1994 to 2006 in Hyogo Prefecture, Japan. *Jpn J Infect Dis.* 2008 Mar; 61(2):143-5.
2) Yuki Matsushima, Hideaki Shimizu, Atsuko Kano, Etsuko Nakajima, Yoko Ishimaru, Shuvra Kanti Dey, Yuki

Watanabe, Fuyuka Adachi, Keiichiro Suzuki, Kohnosuke Mitani, Tsuguto Fujimoto, Tung Gia Phan and Hiroshi Ushijima.: Novel Human Adenovirus (HAdV-65) in Bangladesh. *Emerg Infect Dis.* 2012 in press.

3) Jones MS 2nd, Harrach B, Ganac RD, Gozum MM, Dela Cruz WP, Riedel B, Pan C, Delwart EL, Schnurr DP. New adenovirus species found in a patient presenting with gastroenteritis. *J Virol.* 2007 Jun;81(11):5978-84.

4) Aoki K, Ishiko H, Konno T, Shimada Y, Hayashi A, Kaneko H, Ohguchi T, Tagawa Y, Ohno S, Yamazaki S. Epidemic keratoconjunctivitis due to the novel hexon-chimeric-intermediate 22,37/H8 human adenovirus. *J Clin Microbiol.* 2008 Oct; 46(10):3259-69.

5) Walsh MP, Chintakuntlawar A, Robinson CM, Madisch I, Harrach B, Hudson NR, Schnurr D, Heim A, Chodosh J, Seto D, Jones MS. Evidence of molecular evolution driven by recombination events influencing tropism in a novel human adenovirus that causes epidemic keratoconjunctivitis. *PLoS One.* 2009 Jun 3; 4(6):e5635.

6) Ishiko H, Shimada Y, Konno T, Hayashi A, Ohguchi T, Tagawa Y, Aoki K, Ohno S, Yamazaki S. Novel human adenovirus causing nosocomial epidemic keratoconjunctivitis. *J Clin Microbiol.* 2008 Jun;46(6):2002-8.

7) Robinson CM, Singh G, Henquell C, Walsh MP, Peigue-Lafeuille H, Seto D, Jones MS, Dyer DW, Chodosh J:

Computational analysis and identification of an emergent human adenovirus pathogen implicated in a respiratory fatality. *Virology* 409: 141-7, 2011.

8) Kaneko H, Aoki K, Ohno S, Ishiko H, Fujimoto T, Kikuchi M, Harada S, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T.: Complete genome analysis of a novel intertypic recombinant human adenovirus causing epidemic keratoconjunctivitis in Japan. *J Clin Microbiol.* 2011 49(2):484-90.

9) de Jong JC, Osterhaus AD, Jones MS, Harrach B. Human adenovirus type 52: a type 41 in disguise? *J Virol.* 2008 Apr; 82(7):3809

10) Kaneko H, Suzutani T, Aoki K, Kitaichi N, Ishida S, Ishiko H, Ohashi T, Okamoto S, Nakagawa H, Hinokuma R, Asato Y, Oniki S, Hashimoto T, Iida T, Ohno S. Epidemiological and virological features of epidemic keratoconjunctivitis due to new human adenovirus type 54 in Japan. *Br J Ophthalmol.* 2011 Jan; 95(1):32-6.

11) Seto D, Chodosh J, Brister JR, Jones MS; Members of the Adenovirus Research Community. Using the whole-genome sequence to characterize and name human adenoviruses. *J Virol.* 2011 Jun; 85(11):5701-2.

12) Enomoto M, Fujimoto T, Konagaya M, Hanaoka N, Chikahira M, Taniguchi K, Okabe N.: Cultivation for 21 days should be considered to isolate respiratory adenoviruses from samples containing small numbers of adenoviral genomes. *Jpn*

J Infect Dis. 2010 Sep;63(5):338-41.

13) ○藤本嗣人、花岡希、岡部信彦、渡部 香、五十嵐郁美、長谷川道弥、中村雅子、加瀬哲男、廣井聡、榎本美貴、秋吉京子、須賀知子、阿部勝彦、山本美和子、三浦美穂、山本正悟: 新型アデノウイルス 53 型と 54 型の同定について. 新型アデノウイルス 53 型と 54 型の同定について 31(8) p. 236-237, 2010.

14) Nakamura M, Hirano E, Kowada K, Ishiguro F, Yamagishi Z, Adhikary AK, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, Fujimoto T.: Surveillance of Adenovirus D in patients with epidemic keratoconjunctivitis from Fukui Prefecture, Japan, 1995-2010. *J Med Virol.* 2012 Jan;84(1):81-6.

15) Fujimoto T, Konagaya M, Enomoto M, Tsuboi K, Hashimoto K, Taniguchi K, Kodama T, Okabe N. Novel high-speed real-time PCR method (Hyper-PCR): results from its application to adenovirus diagnosis. *Jpn J Infect Dis.* 2010 Jan;63 (1):31-5.

F. 健康危険情報

特になし

G. 論文発表 (1~27:27 報)

2011 年度

1: ○Fujimoto T, Iizuka S, Enomoto, M, Yamashita K, Abe K, Hanaoka N, Okabe N, Yoshida H, Yasui Y, Kobayashi M, Fujii, Y, Tanaka H, Yamamoto M, Shimizu H. An outbreak of hand, foot, and mouth disease due to coxsackievirus A6 in Japan, 2011. Emerg Infect Dis. 2012; 18(2): 337-9.

2: Adhikary AK, Banik U, Okabe N, ○Fujimoto T. Molecular characterization of human adenovirus type 8 (HAdV-8), including a novel genome type detected in Japan. Jpn J Infect Dis. 2011;64(6):493-8.

3: Adhikary AK, ○Fujimoto T, Okabe N.: Human adenovirus species C (HAdV-C) fiber protein. Virology. 2011 Nov 10.in press.

4: Nakamura M, Hirano E, Kowada K, Ishiguro F, Yamagishi Z, Adhikary AK, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, ○Fujimoto T.: Surveillance of Adenovirus D in patients with epidemic keratoconjunctivitis from Fukui Prefecture, Japan, 1995-2010. J Med Virol. 2012 Jan;84(1):81-6.

5: Akiyoshi K, Suga T, Fukui K, Taniguchi K, Okabe N, ○Fujimoto T.: Outbreak of epidemic keratoconjunctivitis caused by adenovirus type 54 in a nursery school in Kobe City, Japan in 2008. Jpn J Infect Dis. 2011 Jul;64(4):353-5.

6: Konno M, Yoshioka M, Sugie M, Maguchi T, Nakamura T, Kizawa M, Umegaki Y, Yasutake H, Ishikawa Y, Hanaoka N, Okabe N, Taniguchi K, Shimizu H, ○Fujimoto T.: Fourteen years' surveillance of coxsackievirus group A in Kyoto 1996- 2009 using mouse, RD-18S, and Vero cells. Jpn J Infect Dis. 2011;64(2):167-8.

7: Yuki Matsushima, Hideaki Shimizu, Atsuko Kano, Etsuko Nakajima, Yoko Ishimaru , Shuvra Kanti Dey, Yuki Watanabe, Fuyuka Adachi, Keiichiro Suzuki , Kohnosuke Mitani, ○Tsuguto Fujimoto, Tung Gia Phan and Hiroshi Ushijima.: Novel Human Adenovirus (HAdV-65) in Bangladesh. Emerg Infect Dis. 2012 in press.(論文タイトルが EID により変更の可能性あり)

8: 富岡鉄平、島田智恵、○藤本嗣人、松井珠乃、佐藤弘、八幡裕一郎、橘とも子、岡部信彦：日本紅斑熱発生地域および近隣の発生が少ない地域における知識および受診行動。感染症誌 85: 180～183, 2011.

9: ○藤本嗣人、花岡希：アデノウイルス感染症の病原体迅速診断。小児科 52(12): 1923～1929, 2011.

10: 小林正明、○藤本嗣人、岡部信彦：コクサッキーウイルス A6 ウイルス感染が明らかになった手足口病。小児科 52(11): 1443～1444, 2011.

11: ○藤本嗣人、竹田誠、中村雅子、榎本美貴、岡部信彦：RS ウイルスの検査診断。小児科 52(11): 1463～1469、2011.

12: 山口展正、○藤本嗣人、岡部信彦：アデノウイルスを中心に 耳鼻咽喉科領域よりアデ

ノウイルスを診る. 耳鼻咽喉科・頭頸部外科 83(5): 195~200, 2011.

13: ○藤本嗣人、花岡希、谷口清州、岡部信彦:病原体検査のための検体採取 10 原則. 小児科 52(4): 471~475, 2011.

14: 榎本美貴、高井伝仕、○藤本嗣人、岡藤輝夫、飯尾 潤、吉田真策、近平雅嗣:兵庫県の手足口病患者から検出したエンテロウイルス 71 型の分子疫学解析(2008-2010). 兵庫県立健康生活科学研究所研究報告 2: 10~14, 2011.

2010 年度

15: Kaneko H, Aoki K, Ishida S, Ohno S, Kitaichi N, Ishiko H, ○Fujimoto T, Ikeda Y, Nakamura M, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T.:Recombination analysis of intermediate human adenovirus type 53 in Japan by complete genome sequence. J Gen Virol. 2011 Jun;92(Pt 6):1251-9.

16: Kaneko H, Aoki K, Ohno S, Ishiko H, ○Fujimoto T, Kikuchi M, Harada S, Gonzalez G, Koyanagi KO, Watanabe H, Suzutani T.: Complete genome analysis of a novel intertypic recombinant human adenovirus causing epidemic keratoconjunctivitis in Japan. J Clin Microbiol. 2011 49(2):484-90.

17: Enomoto M, ○Fujimoto T, Konagaya M, Hanaoka N, Chikahira M, Taniguchi K, Okabe N.: Cultivation for 21 days should be considered to isolate respiratory adenoviruses from samples containing small numbers of adenoviral genomes. Jpn J Infect Dis. 2010 Sep;63(5):338-41.

18: 青木功喜、○藤本嗣人:感染症サーベイランスの意義と最近の傾向について教えて下さい. 結膜炎オールラウンド. 66~69, 2011.

19: 榎本美貴、高井伝仕、○藤本嗣人、近平雅嗣:兵庫県におけるポリオ感染源調査(2002 年~2009 年)ー健常児の糞便からのウイルス分離ー. 兵庫県立健康生活科学研究所研究報告 1: 5~8, 2010.

2009 年度

20: ○Fujimoto T, Konagaya M, Enomoto M, Tsuboi K, Hashimoto K, Taniguchi K, Kodama T, Okabe N.: Novel high-speed real-time PCR method (Hyper-PCR): results from its application to adenovirus diagnosis. Jpn J Infect Dis. 2010 Jan;63(1):31-5.

21: ○Fujimoto T, Izumi H, Okabe N, Enomoto M, Konagaya M, Chikahira M, Munemura T, Taniguchi K: Usefulness of real-time reverse transcription-polymerase chain reaction for the diagnosis of echovirus aseptic meningitis using cerebrospinal fluid. Jpn J Infect Dis. 2009 Nov;62(6):455-7.

22: Matsui T, Kobayashi J, Satoh H, ○Fujimoto T, Okabe N, Ando S, Kishimoto T, Yamamoto S.: Surveillance, recognition, and reporting of Tsutsugamushi disease (scrub typhus) and Japanese spotted fever by general practice clinics in MiyazakiPrefecture, determined by questionnaire survey in 2007. J Infect Chemother. 2009 Aug;15(4):269-72.

23: Sasaki Y, ○Fujimoto T, Aragane M, Yasuda I, Nagumo S.: Rapid and sensitive

detection of *Lophophora williamsii* by loop-mediated isothermal amplification. Biol Pharm Bull. 2009 May;32(5):887-91.

24: 松井珠乃、○藤本嗣人、佐藤弘、安井良則、岡部信彦: つつが虫病および日本紅斑熱について発生頻度が異なる地域での市民医学講座参加者における認知度比較. 感染症誌 84: 48~51, 2010.

25: ○藤本嗣人: 高速 PCR システムによるアデノウイルス診断. 臨床と微生物 36: 257~262, 2009.

26: ○藤本嗣人, 榎本美貴, 小長谷昌未, 谷口清州: フロックスワブのアデノウイルス検体採取での有用性. 感染症誌 83: 398~400, 2009.

27: 清水英明, 石丸陽子, ○藤本嗣人: 白金-金コロイドイムノクロマトグラフ法を使用したアデノウイルス検査キットの有用性. 感染症誌 83: 64~65, 2009.

病原微生物検出情報として発表(28~35: 8件)

28: ○藤本嗣人、岡部信彦: アデノウイルスレファレンス. 病原微生物検出情報 31(3) p. 77, 2010.

29: ○藤本嗣人、花岡希、安井良則、小長谷昌未、岡部信彦、高崎智彦、清水博之: エンテロウイルス遺伝子が検出され EV71 抗体上昇が確認された急性脳炎(辺縁系脳炎)症例. 31(8) p. 235, 2010.

30: ○藤本嗣人、花岡希、岡部信彦、渡部 香、五十嵐郁美、長谷川道弥、中村雅子、加瀬哲男、廣井聡、榎本美貴、秋吉京子、須賀知子、阿部勝彦、山本美和子、三浦美穂、山本正悟: 新型アデノウイルス 53 型と 54 型の同定について. 新型アデノウイルス 53 型と 54 型の同

定について 31(8) p. 236-237, 2010.

31: 中村雅子、平野映子、小和田和誠、石畝史、望月典郎、○藤本嗣人、花岡希、谷口清州、岡部信彦、山岸善也: 2004~2009 年の 6 年間における流行性角結膜炎患者 113 名からのアデノウイルス検索—福井県. 31(8) p. 237-238, 2010.

32: 近野真由美、吉岡政純、杉江真理子、馬口敏和、中村剛、木澤正人、梅垣康弘、安武廣、木戸毅、三宅健市、石川和弘、藤本嗣人: 14 年間(1996~2009 年)におけるコクサッキー A 群ウイルスの乳のみマウス、RD-18S および Vero 細胞による分離状況—京都市. 32(1) p. 20-21, 2011.

33: 吉富秀亮、前田詠里子、石橋哲也、世良暢之、鬼木隆夫、花岡希、岡部信彦、○藤本嗣人: 眼疾患、角結膜炎の患者からのアデノウイルス 56 型の検出—福岡県. 32(5) p. 148, 2011.

34: 榎本美貴、高井伝仕、近平雅嗣、花岡希、岡部信彦、谷口清州、清水博之、○藤本嗣人、岡藤輝夫、岡藤隆夫、飯尾潤、田中一宏: 2010~2011 年の手足口病患者からのコクサッキーウイルス A6 型の検出状況—兵庫県. 32(7) p. 196, 2011.

35: 小林正明、○藤本嗣人、花岡希、小長谷昌未、安井良則、谷口清州、岡部信彦: 2011 年のコクサッキーウイルス A6 型感染による手足口病の臨床的特徴—静岡県. 32(8) p. 230-231, 2011.

学会発表

1: 藤本嗣人: 感染症の遺伝子診断の進歩と今後の方向性: ウイルス疾患(パネルディスカッション 1) 第 84 回日本感染症学会総会学術集会. 京都市, 2010 年.

2: 藤本嗣人:PCR による呼吸器感染症診断
(シンポジウム市中ウイルス感染症と実験室
診断). 津市、2011 年.

3: Fujimoto, T., Hanaoka, N., Adhikary, AK.,
Okabe, N.: Adenovirus surveillance in
Japan, 2000-2007. IUMS, Sapporo, 2011.

H. 知的財産の出願・登録状況

1. 特許出願

な し

2. 実用新案登録

な し

国際的な感染症情報の収集、分析、提供機能および我が国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究

性感染症発生動向調査強化のための個別動向調査に関する研究

研究分担者 大西 真 国立感染症研究所 細菌第一部

研究協力者 中山周一 国立感染症研究所 細菌第一部

研究協力者 志牟田健 国立感染症研究所 細菌第一部

研究協力者 渡辺 祐子 神奈川県衛生研究所

研究要旨：

淋菌の多剤耐性化は国内のみならず、世界的な公衆衛生上大きな問題となってきた。薬剤耐性淋菌サーベイランスの必要性が高い。本研究では、(1) 淋菌感染症に関して個別動向調査設計のために単一定点を設定し、レトロスペクティブに薬剤耐性度の推移を解析した。その結果、一地域あたり年間50株程度の解析を行うことで、その地域の薬剤耐性動向を把握可能であり、耐性菌の広がりを早期検知することも可能であることが示唆された。(2) 2009年京都市において、セフトリアキソン耐性淋菌が世界で初めて分離された。検体輸送／検査のスキームを策定し、京都市における強化サーベイランスを実施した。また、同様のサーベイランスを大阪府においても実施した。2種類の核酸ベースの検査法を確立した。

A. 研究目的

淋菌感染症の推定新規発生数は世界で年間 6200 万人とされる。国内での性感染症定点からの新規報告数は 1 万件程度であり、年間 3～8 万件の症例があることが推測されている。

淋菌感染症対策の根幹は効果的な治療に基づいた感染サイクルの遮断し、新たな感染の抑止することにある。しかしながら、近年多様な抗生物質に対する耐性化が進み、現在では世界的に治療に用いられる薬剤は限定されてきた。淋菌の多剤耐性化は国内のみならず、世界的に大きな公衆衛生上の問題と認識されてきている。国内外において、事実上治療に用いられる薬剤は 2 種、3 剤に限られている。その中のひとつスペクチノマイシンに対しては、過去に耐性菌が

出現した事実から、使用量が増加に伴い容易に耐性獲得することが予測されている。

そのため、注射用セファロスポリンであるセフトリアキソン耐性淋菌の出現は、世界的な淋菌感染症対策の大きな脅威となっている。

薬剤耐性淋菌対策のために、効果的なサーベイランスが必要であることが提唱されている (WHO consultation on STI management guidelines, Montreux, April 2008, WHO/CDC international consultation, Manila, April 2010)。しかしながら、国内において複数の施設で独立した地域サーベイランスは存在してきたが、体系的なサーベイランスは存在せず、また地域でのサーベイランスを統合したデータの蓄積はない。本研究において薬剤耐性淋菌のサーベイヤ

ンス戦略を提案し、公衆衛生行政への提言に結びつけることを目的とした。

B. 研究方法

1：戦略的なサーベイランスシステム構築

戦略的なサーベイランス構築のためにレトロスペクティブに神奈川県衛生研究所で実施されている淋菌サーベイランスデータを解析利用した。解析対象に用いたのは、経口第3世代セファロスポリン低感受性／耐性淋菌とした。0.25 µg/ml 以上の MIC を示す株を、セフェキシム低感受性／耐性菌とした。

2：強化サーベイランスの構築

2009年京都市において世界で初めてセフトリアキソン耐性淋菌が性風俗産業従事者咽頭より分離され、京都市近郊におけるセフトリアキソン耐性淋菌の拡散が危惧された。京都市、京都市衛生環境研究所、京都府医師会との協議の結果、検体を直接国立感染症研究所に送付し、分離同定後、薬剤感受性試験を行うこととした（図1）。輸送培地等の選定を行った。また、また同様に大阪府の泌尿器科クリニックの参加により範囲を拡大した（図1）。

3：penA-H041を検出するPCR法の開発

セフェキシム耐性淋菌において耐性に関与している *penA-X* allele とセフトリアキソン耐性に関与している *penA-H041* の塩基配列比較から、conventional PCR および Real time PCR 法を用いた検出系を構築した。

C. 研究結果

1：戦略的なサーベイランスシステム構築

そこで神奈川衛生研究所で実施されている淋菌サーベイランスのうち、1995-2001年における分離数とセフェキシム低感受性／耐性株数を調査した。この期間に収集された菌株数は498株であり、年間35株から94株であった。

神奈川衛研で分離されたセフェキシム低感受性／耐性淋菌の初発例は1995年であった。初発例はこれまでの報告より4年近く遡ることを示すことになった。

2：強化サーベイランスの構築

最終的な強化サーベイランスの組織は図2に示した。情報還元は、検体を受け付ける毎に、検体受理報告を行い、淋菌分離／非分離確定時にその結果を報告した。セフトリアキソン感受性試験は、分離直後に実施し耐性株が分離された場合は即時報告する体制を整えた。月末に、分離株全体の薬剤感受性試験結果を報告した。検体ごとの報告は、検体採取施設のみに、薬剤感受性報告は、参加施設の全てに加えて、地方自治体担当者に報告を行った（図1）。

分離菌株の薬剤感受性試験からは、セフトリアキソン耐性淋菌は認められなかったが、低感受性株が約20%分離されており今後の動向に注意すべきであると考えられた。

3：penA-H041を検出するPCR法の開発

セフトリアキソン耐性淋菌(H041)株の耐性機構の解析から、ペニシリン結合タンパ

ク 2 (PBP2) をコードする遺伝子 *penA* (*penA-H041*) がその耐性に関与していることを明らかにしている。*penA-H041* 耐性遺伝子を検出する 2 つの系を確立した。特に real-time PCR 法を利用した検出系では臨床検体を用いても *penA-H041* allele を特異的に検出できる可能性が示された。

D. 考察

薬剤耐性淋菌に関して限られた情報のなかで、独立した地域サーベイランスの情報をレトロスペクティブに統合する試みを行った。それぞれのサーベイランスは比較的少数の検体 ($n=35\sim150$) をあつかったものであるため、サーベイランスデータとしての精度等に関しては不十分である。しかしながら、薬剤耐性菌の早期探知に限れば、十分に意味のあるデータを得ることが出来ていたと考える。

日本で出現し、国内で拡散したケースを取り上げてデータの精査を行った。このようなケースにおいては、年間 50 株の解析を行うことで、(1) 臨床上問題になった時期よりも数年早く耐性菌の出現を早期探知することが可能であったこと、(2) 菌株情報に基づいた複数施設による地域サーベイランスから得られたデータ比較を行うことで国内での拡散の様子をトレースすることの可能性を示唆する結果を得た。

地域性を考慮しながら、複数地域に病原体サーベイランス定点を設定することで新規に出現する薬剤耐性淋菌を早期探知することが可能である。一定点の解析サンプル

数は 50 株程度が妥当であると考えられる。また各地域サーベイランスのデータ比較を行うことが重要である。

複数地域に病原体サーベイランス定点を設定することで新規に出現する薬剤耐性淋菌を早期探知することが可能であると考えている。一定点の解析サンプル数は 50 株/年程度以上であることが妥当であると考えられる。今回の京都、大阪でのサーベイランスシステム構築の結果から、3-4 のクリニックの協力を得ることが可能であれば、十分な菌株数を収集することが可能となることが示された。

各医療機関の実態に合致した検査スキームを確立することが重要である。このようなクリニックでは日常診療に加えて検体の採取を行うことの負担は大きい。さらに、淋菌の細菌学的性状からその保存／輸送には煩雑さが大きいことから、さらに負担が増すと考えられる。出来るだけ速やかに協力医療機関への情報の還元を通じて、医療機関の協力を得ることが、日本における薬剤耐性淋菌サーベイランスの確立に重要となる。そのような視点では、淋菌の分子タイピングを薬剤感受性試験とともに実施することが重要であろう。菌株識別情報を付加する事で、特定の菌株の蔓延を検知する可能性が示唆されている。

研究分担者は、薬剤耐性淋菌の拡散において淋菌の持つ自然形質転換能が重要な役割を果たしていることを示してきた。この知見を基盤として、薬剤耐性パターンと分子タイピング情報を統合した形でより詳細

なデータを提供し、耐性株の拡散抑制に利用可能である。

また、菌株の分離を経ないで直接検体の核酸検査を実施することで薬剤耐性遺伝子の存在を示す系の確立を行った。あくまでも菌株の分離と薬剤感受性試験の実施が標準であり、検体中の薬剤耐性遺伝子の検索は補助的な検査法に過ぎない。しかしながら、クラミジア感染症診断と同時に行うことが可能な核酸検出検査をモニタリングの為にを行う可能性を追求することは今後の検討課題であろう。

E. 結論

淋菌の薬剤耐性化はますます高度化しており、治療困難な耐性株の出現が危惧されている。第3世代経口セファロsporin耐性の出現とその拡散を許してしまった過去の経験から、国内において一刻も早い薬剤耐性淋菌に焦点を当てた病原体サーベイランス体系が必要である。海外で稼働している薬剤耐性サーベイランスシステムを参考に、現在独立して稼働している大学を中心とした地域サーベイランスとの協調的なシステムとして体系化することが重要である(図2)。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

1) Ohnishi, M., Watanabe, Y., Ono, E,

Takahashi, C., Oya, H., Kuroki, T., Shimuta, K., Okazaki, N., Nakayama, S. and Watanabe, H. Spreading of a chromosomal cefixime resistant *penA* gene among different *Neisseria gonorrhoeae* lineages. Antimicrob. Agents Chemother. 2010, 54: 1060-1067.

2) Ohnishi M., Ono E, Shimuta K, Watanabe H, Okamura N. Identification of TEM-135 β -lactamase in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* in Japan. Antimicrob Agents Chemother, 54: 3021-3023, 2010.

3) Ohnishi M., Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Watanabe H, Kitawaki J. Emerging ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. Emerging Infectious Diseases 17: 148-149, 2011.

4) Nakayama S, Tribuddharat C, Prombhul S., Shimuta S, Srifuengfung S, Unemo M, Ohnishi M. Molecular analyses of TEM genes and their corresponding penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Bangkok, Thailand. Antimicrob Agents Chemother 46: 916-920. 2012

5) Ohnishi M., Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Kitawaki J, Unemo M. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea? Detailed characterization of the first high-level ceftriaxone resistant strain. Antimicrob Agents Chemother. 55: 3538-3545, 2011.

6) Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *N. gonorrhoeae* in Europe (France): novel *penA* mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. Antimicrob Agents Chemother (in press)

7) Goire N, Ohnishi M, Limnios A, Lahra M, Lambert S, Nimmo G, Nissen M, Sloots T, Whiley D. Enhanced gonococcal anti-microbial surveillance in the era of ceftriaxone resistance: a real-time PCR assay for direct detection of the *Neisseria gonorrhoeae* H041 strain. J. Antimicrobial Chemotherapy. (in press)

8) Golparian D, Eernandes P, Ohnishi M, Jensen J, Unemo M. In vitro activity of the new fluoroquinolone solithromycin (CEM-101) against a large collection of clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolates and international reference strains including those with various high-level antimicrobial resistance - potential treatment option for gonorrhea? Antimicrob Agents Chemother (in press)

2. 学会発表

1) Ohnishi, M., Watanabe, Y., Shimuta, K. and Watanabe, H.: Horizontal transfer of *penA* allele between two different lineages of *Neisseria gonorrhoeae*.

18th International Society for STD research, London, 2009、7月

2) 大西 真、渡辺祐子、志牟田健、黒木俊郎、岡崎則男、渡邊治雄：染色体性セフェキシム耐性遺伝子*penA*遺伝子の淋菌株間での水平伝播、日本細菌学会関東支部総会、東京、2009 11月

3) 淋菌感染症と分子タイピング：大西 真、第5回 岐阜尿路・性器感染症研究会 岐阜、2010 10月

4) セフトリアキソン高度耐性株の出現とその分子機構：大西 真、第23回 日本性感染症学会 福岡、2010 12月

5) 簡易的な淋菌のスクリーニング系の検討：志牟田健、中山周一、飛田収一、伊東三喜雄、藤原光文、大前利一、石川和弘、上田朋宏、大西真、第23回 日本性感染症学会 福岡、2010 12月
セファロsporin耐性淋菌の出現とその分子機構：大西 真、京滋性感染症研究会 京都、2010 12月

6) 多剤耐性淋菌の出現とその広がり：大西 真、第21回感染研シンポジウム 東京 2011 5月

7) 京都府と大阪府における2010年-2011年に分離された淋菌株のMLST及びNG-MAST型別を用いた系統解析と淋菌株の薬剤耐性の傾向について：志牟田健 飛田収一 伊東三喜雄 藤原光文 石川和弘 上田朋宏 亀岡博 古林敬一 安本亮二 川畑 拓也 中

山周一 大西真、第24回 日本性感染症学会 東京 2011 12月

8) The New Superbug *Neisseria gonorrhoeae* Makes
Gonorrhea Untreatable? First High-Level
Ceftriaxone Resistance Worldwide and Public
Health Importance.

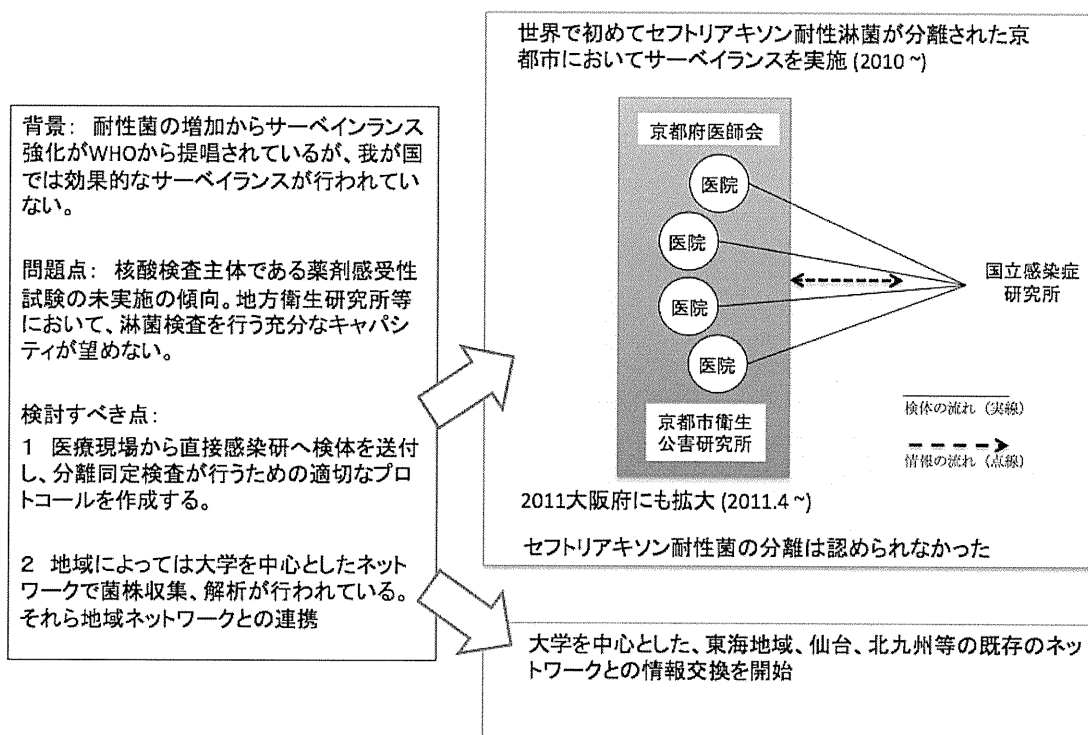
Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T,
Hoshina S, Iwasaku K, Nakayama S, Kitawaki J,
Unemo M.

19th International Society for STD Research ケ
ベック 2011年 7月

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

薬剤耐性淋菌の病原体サーベイランス



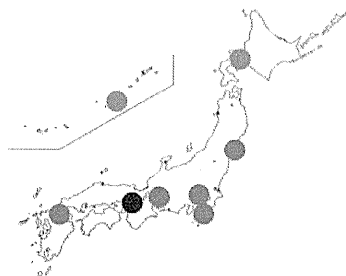
GONOCOCCAL ISOLATE SURVEILLANCE PROGRAM, JAPAN

● 淋菌分離株サーベイランスシステム 2010-2011

- 定点病原体サーベイランス
- 薬剤感受性試験
- 分子タイピング

● 今後の課題

診療所／地方自治体の協力の拡大
新規分子タイピング法の利用
大学等を中心とした既存ネットワークとの連携強化
効率的な治療失敗例サーベイランスの構築



- 本研究プロジェクトで実施
- 大学等の既存の地域ネットワークの活用
- 今後の重点地域

- 定点の設定 (8地域, 毎月24株/1地域 (2~4 クリニック), 7-9月。
- 菌株分離および薬剤感受性試験の標準化とセンター設置。
- サーベイランス情報の効果的なフィードバック戦略の構築。

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）
分担総合研究報告書

インフルエンザ病原体サーベイランスに関するウイルス学的研究

研究分担者	小渕正次	富山県衛生研究所・ウイルス部
研究協力者	安孫子千恵子	山形県衛生研究所・微生物部
	大金映子	栃木県保健環境センター・微生物部
	塚越博之	群馬県衛生環境研究所・保健科学係
	戸田昌一	山口県環境保健センター・保健科学部
	木村博一	国立感染症研究所・感染症情報センター
	野田雅博	国立感染症研究所・ウイルス第三部

研究要旨 2009/10 および 2010/11 シーズンに分離されたインフルエンザ A(H1N1)2009 ウイルスについて、1) 重症死亡例由来株の性状解析、2) オセルタミビル耐性株の検出、3) 低赤血球凝集価株の性状解析を行い、現行のインフルエンザ病原体サーベイランスにおける問題点などを考察した。

A. 研究目的

インフルエンザ病原体サーベイランスの目的は、インフルエンザの発生におけるウイルスの型・亜型を把握し、流行株の性状を迅速に分析することにより、感染拡大の防止やワクチン株の選定等のインフルエンザ対策に資することである。本研究では、病原体サーベイランス業務に携わっている国や地方衛生研究所（地衛研）の研究員や専門家ら、ラボサイドの立場から、現行のサーベイランスシステムをよりよいものにするための参考資料を提供することを目的として、インフルエンザ A(H1N1)2009 [A(H1N1)pdm09] ウイルスに焦点をあてて、ウイルス学的研究を行った。

B. 研究方法

1. 重症死亡例から分離された A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状解析

2009/10 シーズンに山形県、栃木県、群馬県および山口県内で A(H1N1)pdm09 感染による入院患者（死亡例を含む）から臨床検体を採取し、それぞれの地衛研においてウイルス

分離を行った。さらに、それら分離株について、抗原解析および遺伝子解析を行った。

2. オセルタミビル耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの検出

2009/10 から 2 シーズンにわたり、山形県、栃木県、群馬県、富山県および山口県内で分離された A/H1N1pdm09 ウイルスについて、NA 遺伝子のシーケンス解析やリアルタイム RT-PCR 法により 275Y 変異ウイルスの検出を行った。

3. 赤血球凝集 (HA) 価が低い A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状解析

富山県衛生研究所において、2009/10 および 2010/11 シーズンに分離した A(H1N1)pdm09 ウイルスについて、0.75%モルト赤血球浮遊液を用いて HA 価を測定した。さらに、これら分離株の HA 遺伝子を解析した。

C. 研究結果

1. 重症死亡例から分離された A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状

入院患者から分離した A(H1N1)pdm09 分離

株 210 株について抗原解析を行ったところ、ほとんどの株はワクチン株類似であった。さらに、病原性を決定するウイルス遺伝子の変異を検索したところ、特定の遺伝子変異は認められなかったが、死亡患者由来株では PB2、PA 蛋白に多様な変異がみられた。

2. オセルタミビル耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの検出

2009/10 シーズンの A(H1N1)pdm09 分離株 1160 株について NA 遺伝子を解析した結果、275Y 変異ウイルスの検出率は、山形県、栃木県および山口県でそれぞれ 0.9%、0.7%、8.3%であった。一方、群馬県と富山県では検出されなかった。2010/11 シーズン分離株 332 株では、変異ウイルスは富山県で 2 株、山口県で 1 株検出された。検出率は、それぞれ 2.3%、2.1%であった。一方、山形県、栃木県および群馬県では検出されなかった。

これら変異ウイルス 11 株について、患者の抗インフルエンザウイルス薬服用歴を調査した結果、いずれもオセルタミビルの予防投与ないしは治療投与を受けていた（富山県の 1 例はペラミビル）。

3. HA 価が低い A(H1N1)pdm09 ウイルスの性状

2009/10 シーズンの A(H1N1)pdm09 分離株の 31%は 8HA 未満であった。一方、2010/11 シーズン分離株では、8HA 未満の株は 79%に急増した。これら低 HA 価分離株の HA 蛋白には共通して A197T のアミノ酸置換がみられた。この位置はレセプター結合部位近傍に位置することから、HA 蛋白と赤血球表面上に存在するレセプターの結合に何らかの影響を与えることにより、凝集価が低下した可能性が考えられた。

D. 考察

本研究では、インフルエンザウイルスの実験室内診断のなかで、年度ごとにウイルス学的研究課題を設定し、それぞれの研究結果を通して現行のインフルエンザ病原体サーベイランスにおける問題点等を検討してきた。平成 21 年度は A(H1N1)pdm09 ウイルスによる新型インフルエンザのパンデミックが起こった年であったことから、当該ウイルスの病原性に関する調査研究を行った。重症患者からウイルスを分離し、その性状解析を行ったが、抗原性の変化や特定の遺伝子変異は認められなかった。しかし、収集された分離株は限定されており、十分なサンプル数とはいえなかった。A(H1N1)pdm09 ウイルスが季節性インフルエンザとして定着するまでの間、病原性に関わるウイルス因子の検索を継続する必要があると考えられた。

2008/09 シーズンに流行した A ソ連型ウイルスのほとんどがオセルタミビル耐性であったことと、A(H1N1)pdm09 ウイルスも A ソ連型ウイルスと同じ N1 亜型の NA 蛋白を持つことから、平成 22 年度はサーベイランスの分離株より薬剤耐性 A(H1N1)pdm09 ウイルスの検出を行った。調査した 2 シーズンにおける耐性ウイルス検出率はそれぞれ平均 0.7%、0.9%であったが、耐性株はいずれも抗インフルエンザウイルス薬服用患者由来であった。したがって、抗インフルエンザウイルス薬耐性株サーベイランスで市中流行株中の耐性ウイルス浸淫率をみるためには、インフルエンザ病原体定点由来株（薬剤服用前）と薬剤服用患者由来株（服用後）を区別して調査する必要があると考えられた。

平成 23 年度は、病原体サーベイランスを実施しているなかで、分離株の大半が低 HA 価のため、HI 試験による型・亜型の同定ができないという状況に直面したので、それら分離株の性状解析を行った。その結果、HA 蛋白のレセプター結合部位近傍にみられた