
東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第45巻 第4号
2024年4月号
月 報

 東京都健康安全研究センター

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

ISSN 1883-2636

2023/2024シーズンの東京都内病原体定点医療機関におけるインフルエンザウイルスおよび新型コロナウイルス検出状況（2024年3月末現在）

1. はじめに

インフルエンザウイルスは、オルトミクソウイルス科に属し、エンベロープを持つ一本鎖RNA（-）のウイルスである。インフルエンザウイルスはA～Dの4つの型に分類されているが、ヒトに主たる流行を起こすのはA型、B型のウイルスである。季節性インフルエンザとしてヒトで流行しているのは、A/H1N1pdm09、A/H3N2とB型の3種類で、B型はさらに、Yamagata系統とVictoria系統の2種類に分類される。新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）は、コロナウイルス科に属し、エンベロープを持つ一本鎖RNA（+）のウイルスで、2019年12月に中国で初めて確認され、これまで変異を繰り返しながら世界各地で流行が継続してきた。2023年5月8日より、5類定点報告感染症として位置づけられた。

インフルエンザは日本では通常冬に流行するため、第36週（8月末～9月初旬）から翌年の第35週を1シーズンとしている。新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の流行以降、インフルエンザの流行はみられなかったが、今年の2022/2023シーズンは3年ぶりにインフルエンザが流行し、流行が収束しないまま2023/2024シーズンへ突入した。今回、2023年9月4日の第36週から2024年3月29日の第13週までに搬入された検体のインフルエンザウイルスおよびSARS-CoV-2の検出状況について報告する。

2. 検査対象・方法

東京都内のインフルエンザ病原体定点医療機関から、感染症発生動向調査事業で搬入された試料（インフルエンザ患者およびインフルエンザ様疾患患者から採取した咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液）を対象に、遺伝子検査とウイルス分離検査を行った。

遺伝子検査は、型別可能なリアルタイムPCR法を用いて検出を行い、さらに、一部の検体についてはRT-nested PCR法で得られたインフルエンザHA遺伝子の一部断片を用いたダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。得られた配列は、ワクチン株ウイルスならびに過去に流行したウイルス株の配列と比較し、分子系統樹解析を行った。

リアルタイムPCR法およびRT-nested PCR法で使用したプライマー等の配列は、表1および表2に示す。あわせてリアルタイムPCR法によるSARS-CoV-2の検出も行った。

インフルエンザウイルス分離検査は、単層培養したMDCK細胞を使用し、5%CO₂下で培養を行った。分離株の性状解析は、インフルエンザ抗原および抗血清を用いたHI試験（1.0%モルモット赤血球浮遊液を使用）により行った。

3. インフルエンザウイルスおよび新型コロナウイルスの検出状況

2024年第13週（3月25日～3月29日）現在、感染症発生動向調査事業において477検体が定点医療機関から搬入された。遺伝子検査では、408件（85.5%）からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。その内訳は、検出数の多い順にAH3亜型179件（37.5%）、B型120件（Victoria系統120件、Yamagata系統0件）（25.2%）、AH1pdm09 109件（22.9%）であった。ウイルス分離検査では、477検体からAH3亜型139株（29.1%）、B型Victoria系統106株（22.2%）、AH1pdm09 95株（19.9%）が分離された。

週ごとに遺伝子検出状況を見ると、2022/2023シーズンの最終週の2023年第35週の検出数（5件）を超え、2023/2024シーズンの第36週以降もインフルエンザウイルスが検出された（図1）。2024年第2週まではAH3亜型およびAH1pdm09が多く検出され、B型Victoria系統は検出されたが数は少なかった。2024年第3週以降はB型Victoria系統の検出が多くなり、主流株となった。

また、インフルエンザまたはインフルエンザ様疾患患者検体からではあるが、SARS-CoV-2は遺伝子検査で33件（6.9%）検出され、そのうち9件でインフルエンザウイルスの遺伝子が同時に検出された。

4. インフルエンザウイルス各亜型の抗原解析

各亜型の流行株について、分子系統樹解析とHI試験を行いワクチン株との比較を行った。その結果、AH1pdm09の流行株は系統樹上でワクチン株（A/Victoria/4897/2022）と同じクレードに属した

(図 2)。HA 価が 8 倍以上あり HI 試験が実施できた 90 株は、88 株 (97.8%) でワクチン株と同等の反応性が見られ、2 株 (2.2%) でワクチン株抗体との反応性の低下が見られた。

AH3 亜型では系統樹上で流行株の多くはワクチン株 (A/Darwin/9/2021) と同じクレードに属していた (図 3)。HA 価が 8 倍以上あり HI 試験が実施できた 131 株は、ワクチン株と同等の反応性が見られた。

B 型 Victoria 系統では、検出株は系統樹上でワクチン株 (B/Austria/1359417/2021) と同じクレードに属した (図 4)。HI 試験による分離株の抗原性状の比較においては、106 株全てでワクチン株と同等の反応性がみられ、抗原性に大きな変異はないと推察された。

5. まとめ

2023/2024 シーズンは例年とは異なり、2022/2023 シーズンから流行が引き続いた状況でシーズンが開始した。都内では 2023 年第 37 週におけるインフルエンザの定点当たり報告数が 11.37 人となり¹⁾、2023 年 9 月 21 日に流行注意報が発令された。1999 年の調査開始以降、最も早い注意報の発令となった。過去 5 年間の都内の患者報告数と比較すると、2023/2024 シーズンはほとんどの週で患者報告数が 10 人 (注意報レベル) を超え、10 月、12 月、2 月にピークがあり、これまで

とは異なる発生状況となった (図 5)。また、患者報告数が 30 人 (警報レベル) を超えることはなく、警報は発令されなかった。

当センターにおける検体搬入数は、2024 年第 13 週までに 477 件であり、昨年同時期の 126 件と比較すると約 4 倍に増加していた。シーズン開始直後から 2024 年第 2 週までは AH3 亜型および AH1pdm09 の検出が続いたが、2024 年第 3 週以降は B 型 Victoria 系統が急増した。2023/2024 シーズンは、AH3 亜型、AH1pdm09、B 型 Victoria 系統の 3 つの型が異なる時期に流行したことが、流行が大規模かつ長期化した一因であると考えられた。

3 月末現在の 2024 年第 13 週の患者報告数は 9.40 人²⁾ でインフルエンザの流行は依然として続いている。また、SARS-CoV-2 はインフルエンザウイルスの検出状況に影響は受けず、2023/2024 シーズンを通して検出され続けた。インフルエンザウイルスと SARS-CoV-2 が同時に検出された事例もあったことから、今後も引き続き両ウイルスの検出状況に注視していく必要がある。

<参考文献>

- 1) 東京都健康安全研究センター：東京都感染症週報 2023 年第 37 週
- 2) 東京都健康安全研究センター：東京都感染症週報 2024 年第 13 週

(ウイルス研究科 根岸あかね)

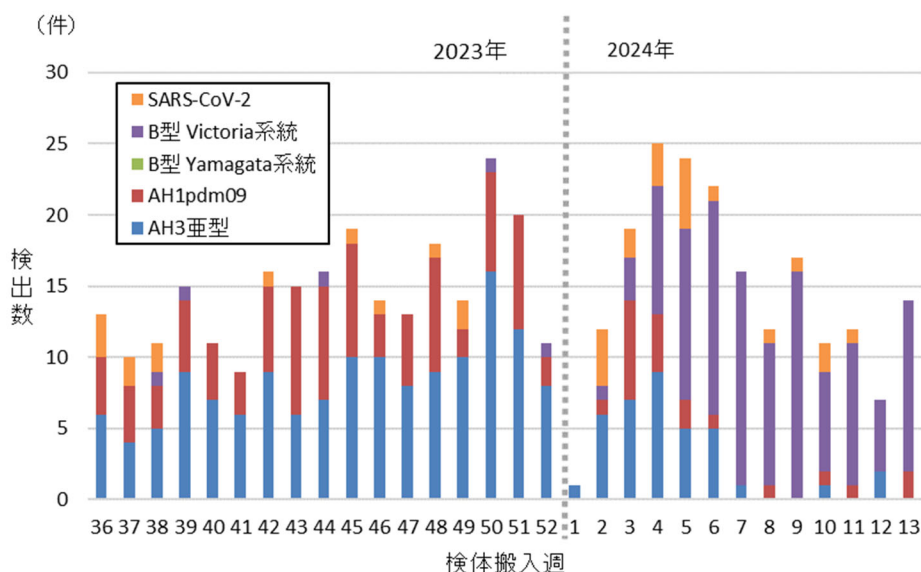


図 1. 都内定点医療機関から搬入されたインフルエンザウイルスおよび新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 検出状況 (2023 年第 36 週から 2024 年第 13 週)

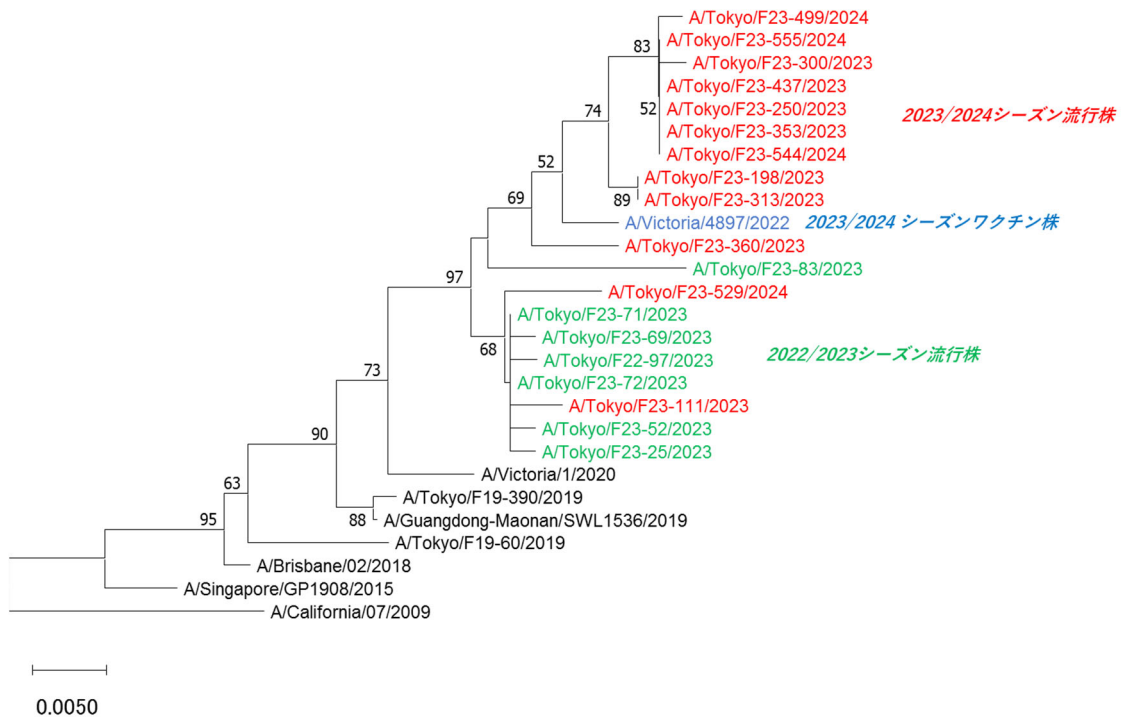


図 2. AH1pdm09 インフルエンザウイルスの HA 遺伝子系統樹

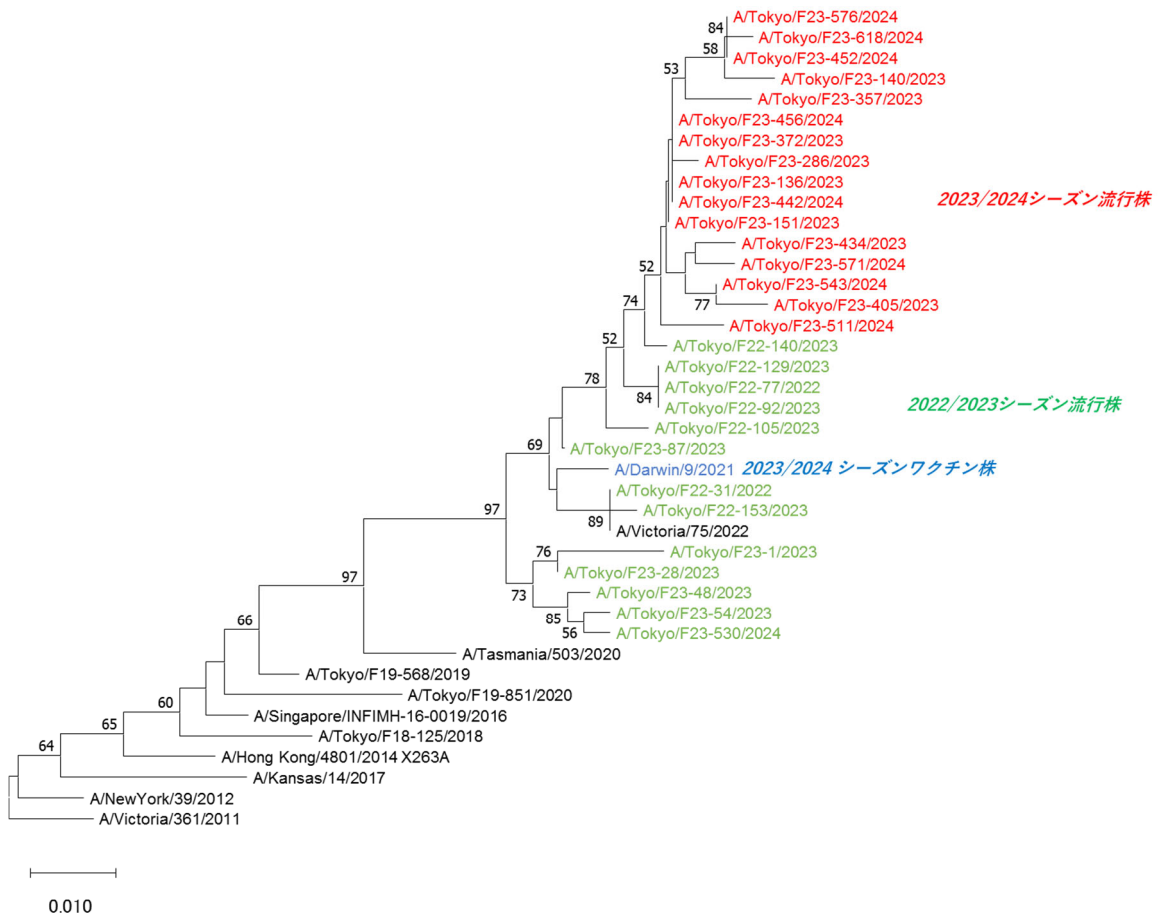


図 3. AH3 亜型インフルエンザウイルスの HA 遺伝子系統樹

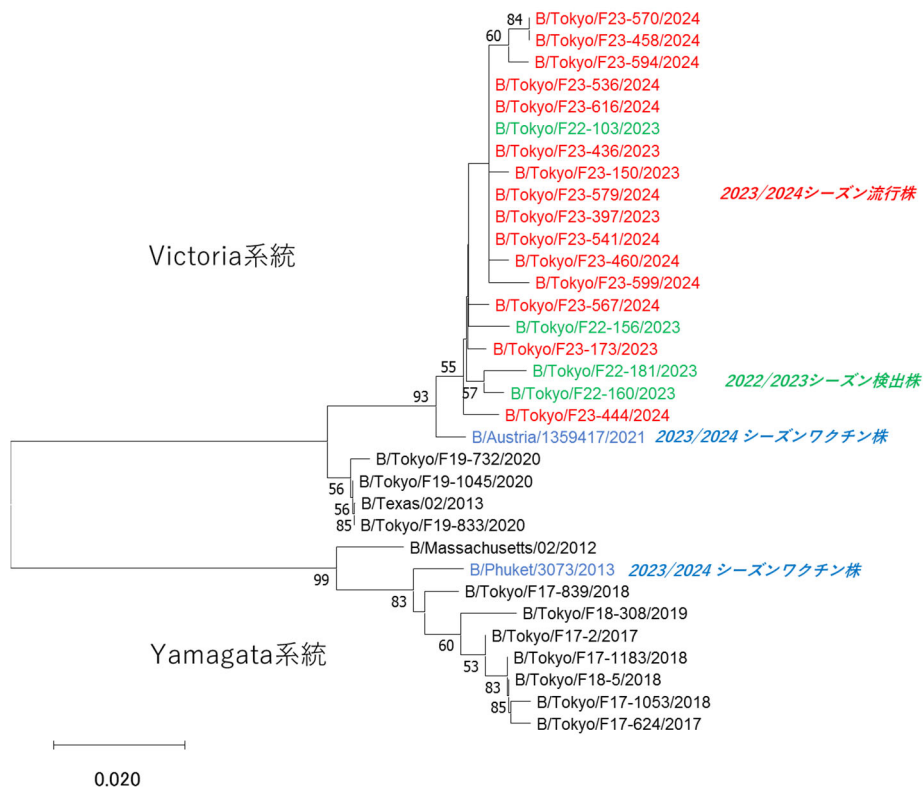


図4. B型インフルエンザウイルスのHA遺伝子系統樹

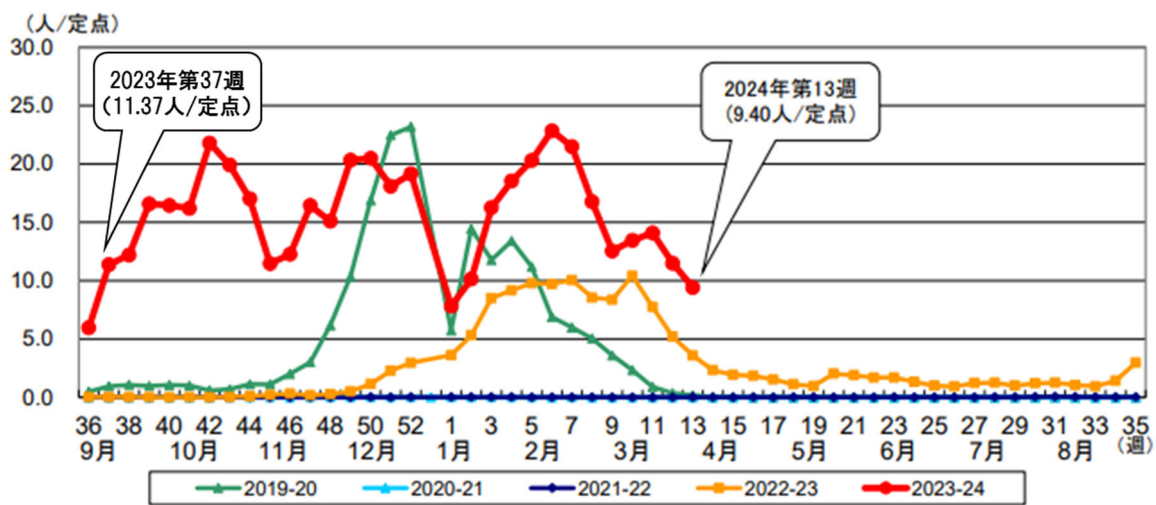


図5. インフルエンザ定点当たり患者報告数の推移
(引用：東京都インフルエンザ情報第29号 2024年4月5日発行)

表 1. インフルエンザのリアルタイム PCR 法で使用したプライマー、プローブ一覧

プライマー、プローブ	配列	ターゲット
H3-F2	CTCAAKCATCAGGAAGAATCACA	HA遺伝子 (H3亜型)
H3-R3-17	CCGATATTYGGGATTACAGYTTG	
H3-P3	VIC-TMTCTACCAAAAAGRAGCCA-MGB	
RT-SW-F	TTGAGCTCWGTGTCATCATTTGA	HA遺伝子 (H1pdm型)
RT-SW-R	TWGGGCCATGAAYTTGYCTT	
Flu-Hsw-P-17	FAM-AGRTTTGARATATTTCC-MGB	
pN1-861F3	AATCACATGTGTGTGCAGGGATA	NA遺伝子 (N1pdm型)
pN1-918R3	GAAAGACACCCACGGTCGAT	
pN1-3P885	FAM-CTGGCATGGCTCG-MGB	
NA2-295-F2	ACATTACRGGRTTTCACCCYTTT	NA遺伝子 (N2亜型)
NA2-351-R2	CACCAGCRGAAAGCCKA	
N2-319TP2	VIC-CTAAGGACAATTCRA-MGB	
MP-39-67For	CCMAGGTCGAAACGTAYGTTCTCTCTATC	M遺伝子
MP-183-153Rev	TGACAGRATYGGTCTTGTCTTTAGCCAYTCCA	
MP-96-75ProbeAs	FAM-ATYTCGGCTTTGAGGGGGCCTG-MGB	
B-210-F2	CAAACKCCYCARAAGTTCACCTCATC	HA遺伝子 (B型)
B-277-R2	AGYCRCCAATCTGWGAAAC	
B-239-P2	VIC-AAYGGAGTRACCACACATT-MGB	
B-type-459F	AACCTCAGGRTCTTGCCCTAA	HA遺伝子 (B型Yamagata系 統、Victoria系統)
B-type-521R	GCCCAAGCCATTGTTGC	
B-vic483	VIC-TACCAATGGAAACGGATT-MGB	
B-yam483-17	FAM-TACCAGTAAAAYGGATTT-MGB	
H1-VAF	CTCTGTAGTGTCTTCACATTATAGCAGAAG	※HA遺伝子 (H1亜型 (ソ連型))
H1-VAR	TGATCTCTTACTTTGGGTCTTTTGG	
H1-MGBVA	FAM-TTCACCCCAGAAATA-MGB	
NA1-681H-F	TGTCTGTGTGAACGGKTCATG	※NA遺伝子 (N1亜型 (ソ連型))
NA1-743H-R	GAGGCGGCCCCATTACTC	
N1-708TP-H	FAM-CATAATGACCGATGGCC-MGB	

※以前は検出されていたが、2009年以降は AH1pdm09 に置き換わった。

表 2. インフルエンザの RT-nested PCR 法で使用したプライマー一覧

	プライマー	配列	ターゲット
RT 1st	Sw-TMF	AGAAAAGAATGTAACAGTAACACACTCTGT	HA遺伝子 (H1pdm型)
	Sw-1R	GCATATCTYGGTACCACTAGAT	
	HN153-15	TTGTGTTGAACGAAGCAAAGCC	HA遺伝子 (H3亜型)
	HN253	CTCCCGGTTTTACTATTGTCC	
	IB-153N-16	GYTTCAATACTCCAYGARGTCA	HA遺伝子 (B型)
	IB-253N-16	GCAYCATGTAATCAACRACA	
	H1-FPAN09	AGGGAGCAMTTGAGTTCAGTA	※HA遺伝子 (H1亜型 (ソ連型))
H1-FPBN	CCATTTGCCTCAAATATTATTG		
2nd	Sw-2R	TCCAGTTGCTTCCAATGTTAT	HA遺伝子 (H1pdm型)
	convF	TGCATTTGGGTAAATGTAACATTG	
	H3-364F	GCCTCCCTTAGGTCAGTGTGC	HA遺伝子 (H3亜型)
	H3-714R	TCTGGGTCTAGATCCGATATTYGG	
	IB-353N	GGAACCTCAGGRTCTTGCC	HA遺伝子 (B型)
	IB-453N	GGTAGYCTCCGTCTTCTG	
	H1-N56F	CAAAGAAAGCTCATGGCCCA	※HA遺伝子 (H1亜型 (ソ連型))
H1-N333R	GGGTGAATTTTCTGCTATAATGTGAAG		

※以前は検出されていたが、2009年以降は AH1pdm09 に置き換わった。

～今号の話題～

ノロウイルス遺伝子型別におけるRNA-Seq NGS解析サイトの活用

1. はじめに

2020年に発生した新型コロナウイルス感染症のパンデミックを機に、全国の地方衛生研究所(地衛研)で次世代シーケンサー(NGS)による全ゲノム解析が実施された。全ゲノム情報に基づく分子疫学解析は、変異株の地域における流行把握や感染経路の推定などに活用され、感染拡大の防止に貢献してきた。今後も新興感染症をはじめとした病原体のゲノムデータを正確かつ迅速に解析するために、NGS解析技術の向上は欠かせないツールの一つとなりつつある。

NGS解析は様々な目的に応じて用いられているが、感染症疑いの原因不明疾患の患者検体中に含まれる病原体を網羅的に探索するには、RNA-Seqによるde novo解析が有用とされている。オズウイルスの事例のように¹⁾、地衛研が原因不明疾患のde novo解析を行う場合には、国立感染症研究所のNGS解析サイトを利用してきたが、近年、それらの利用は困難となり、他の手法が模索され始めている。

今回、無料かつ実用的なNGS解析サイトとして公開されているCZ ID (Chan Zuckerberg ID)²⁾およびGenome Detective³⁾を用いてNGSデータの解析を行ったので、その概要を報告する。

2. CZ ID および Genome Detective の概要

CZ ID および Genome Detective は、Illumina 社および Nanopore 社の FASTQ データに対応したオープンプラットフォームの解析サイトであり、ソフトウェアをインストールする必要はない。2024年3月時点でCZ ID はすべての解析作業を無料で実施でき、一方で、Genome Detective は無料で解析できる検体数が1アカウントにつき10検体までと制限されている。また、メタゲノミクスにおいて、CZ ID は解析後にウイルスや細菌、バクテリオファージなどの病原体種別で探索することができるが、Genome Detective は、ウイルスまたは細菌のいずれかを解析前にターゲットとして設定してから探索するという違いがある。

3. 試料および解析方法

ノロウイルスGⅡ陽性の糞便3検体(A、B、C)を試料とした。試料からQIAamp Viral RNA MiniKit (QIAGEN)によりRNAを抽出し、NEB Next Ultra RNA Library Prep Kit for Illumina (NEB)を用いてRNA-Seqライブラリーを作製し、MiSeq (Illumina)でFASTQデータを取得した。データ解析はCZ ID (Pipeline Version 8) およびGenome Detective (Version 2.13.7)を使用し、解析するターゲットをウイルスに絞って網羅的探索を行った。

4. 解析結果および考察

CZ ID、Genome Detectiveともに、糞便検体AはノロウイルスGⅡ.2 [p16]、BはGⅡ.17 [p17]、CはGⅡ.4 [p16]が検出された。両解析サイトから得られたウイルスのコンティグ配列は一致していた。これらはCLC Genomics Workbench (CLC bio)で得られたコンティグ配列とも一致しており、カバレッジが十分なウイルスの解析データの信頼性は高かった。また、ゲノム長やリード数などは、両解析サイトで数値に有意な差はみられなかったが、カバレッジやrpm (Reads Per Million)はGenome Detectiveの方が高く表示される傾向がみられた(表1)。今回の解析データでは、探索候補にカバレッジが低いウイルスも検出されていたが、それらのウイルスは両解析サイトで一致しなかった。

CZ ID および Genome Detective から得られた解析結果を示した(図1、2)。Genome Detectiveは遺伝子領域ごとの塩基配列データや変異情報などを詳細に得ることができ、情報量としてはCZ IDよりも多かった。しかし、1アカウントにつき10回までしか無料で解析できず、データ保存期間などに制限があるため、NGS解析を無料で継続的に実施する場合は、CZ IDの方が有用とも言える。いずれにしても、これらのサイトの有用性を、倫理面での諸問題を含めて検討していく必要がある。

令和4年12月の地域保健法改正に伴い、地方衛生研究所は感染症の検査・研究を行う専門機関

としての機能をより一層求められている⁴⁾。不明疾患の解析に NGS 解析は重要なツールの1つであり、効率的かつ費用負担の少ない NGS 解析体制の整備を検討することは重要な課題である。

<参考文献>

1) 峰宗太郎ら, IASR, 44, 109-111, 2023
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/route/arthlopod/1771-idsc/iasr-news/12108-521p01.html>

2) CZ-ID :
<https://czid.org/>
 3) GENOME DETECTIVE :
<https://www.genomedetective.com/>
 4) 厚生労働省：感染症法等の改正を踏まえた保健所、地方衛生研究所等の強化について
<https://www.mhlw.go.jp/content/10901000/001025439.pdf>

(ウイルス研究科 黒木 絢士郎)

表 1. CZ ID および Genome Detective を用いた NGS 解析データの比較

検体	解析サイト	Length	contig	Coverage	Number Of Reads	※rpm
A	CZ-ID	7,377	1	23.8	3,128	23,181
	GENOME DETEVTIVE	7402	1	31.8	3,137	28,282
B	CZ-ID	7,505	1	348.7	43,167	295,551
	GENOME DETEVTIVE	7477	1	435.5	43,333	377,064
C	CZ-ID	7,457	1	40.9	5,603	45,597
	GENOME DETEVTIVE	7286	1	57.4	5,607	62,143

※rpm (Read Per Million) : 100 万配列あたりのリード数

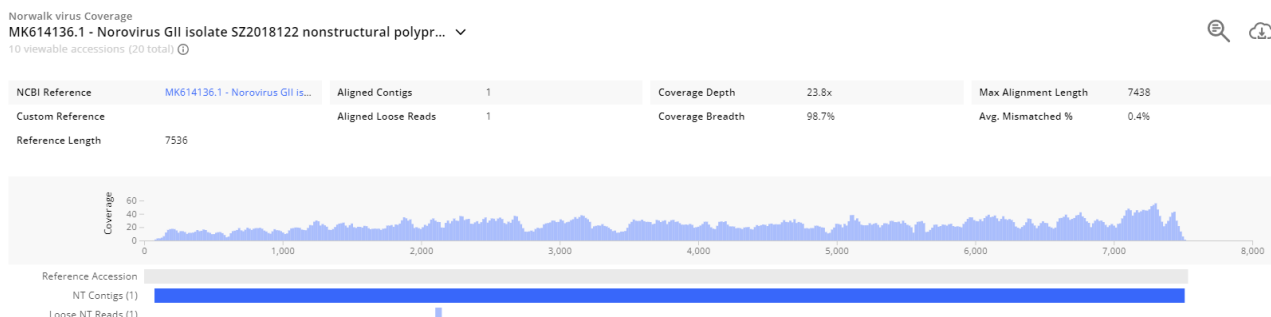
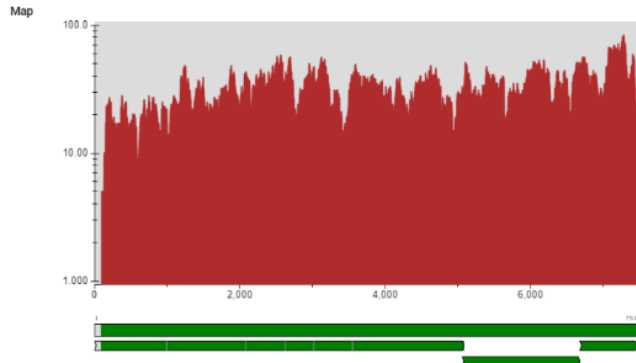


図 1. 1 検体当たりの解析結果 (CZ-ID)

ASSEMBLY

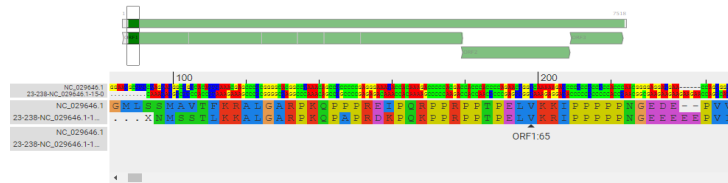
Coverage Length 7402 (1 contig(s))
 Depth Of Coverage 31.8
 Number Of Reads 3137
 Reads Per Million 28282.15 rpm (after QC)
 Ambiguities 0
 Assembly Method de novo + reference guided assembly
 Consensus Caller Bcf Tools

COVERAGE MAP



GENOME REGION

Sequence starts at position 93 and ends at position 7494 relative to NC_029646.1 reference sequence.



ALIGNMENT DETAILED STATISTICS

[SHOW MUTATIONS](#)

	Begin	End	Coverage	Score	Concordance	Matches	Identities	I/D/M/F*	Stop Codons
NT	93	7494	98.5%	7049	48.0%	7381 (99.1%)	5498 (73.8%)	43/2/1	
CDS									
<input type="checkbox"/> ORF1	31	1700	98.2%	10576	91.0%	1668 (99.8%)	1486 (88.9%)	2/2/0/0	1
<input type="checkbox"/> ORF2	1	536	100%	3140	81.7%	536 (98.7%)	416 (76.6%)	7/0/0/0	1
<input type="checkbox"/> ORF3	1	260	100%	1180	72.7%	255 (96.2%)	177 (66.8%)	5/5/0/0	1
Proteins									
<input type="checkbox"/> nonstructural p...	31	1700	98.2%	10576	91.0%	1668 (99.8%)	1486 (88.9%)	2/2/0/0	1
<input type="checkbox"/> p48 (YP_00923...	31	330	90.9%	1921	87.1%	300 (99.3%)	257 (85.1%)	2/0/0/0	0
<input type="checkbox"/> NTPase (YP_00...	1	366	100%	2323	95.7%	366 (100%)	343 (93.7%)	0/0/0/0	0
<input type="checkbox"/> p22 (YP_00923...	1	179	100%	886	73.7%	177 (98.9%)	128 (71.5%)	0/2/0/0	0
<input type="checkbox"/> VPg (YP_00923...	1	133	100%	852	94.4%	133 (100%)	123 (92.5%)	0/0/0/0	0
<input type="checkbox"/> Pro (YP_00923...	1	181	100%	1215	94.3%	181 (100%)	168 (92.8%)	0/0/0/0	0
<input type="checkbox"/> RdRp (VP_0092...	1	510	100%	3378	94.0%	510 (100%)	466 (91.4%)	0/0/0/0	0
<input type="checkbox"/> VP1 (YP_00923...	1	536	100%	3140	81.7%	536 (98.7%)	416 (76.6%)	7/0/0/0	1
<input type="checkbox"/> VP2 (YP_00923...	1	260	100%	1180	72.7%	255 (96.2%)	177 (66.8%)	5/5/0/0	1

* Inserts / Deletions / Misaligned / Frameshifts

図 2. 1 検体当たりの解析結果 (Genome Detective)

表1 病原体搬入・検出状況(4種等)*

2024年4月分

機関名		コレラ菌	赤痢菌	チフス菌	パラチフスA菌	腸管出血性大腸菌	結核菌
区	千代田区		1				
	中央区						1
	港区					4	2
	新宿区				1		
	文京区						1
	台東区						2
	墨田区			1			
	江東区						
	品川区						4
	目黒区					2	
	大田区						4
	世田谷区						2
	渋谷区						2
	中野区						
	杉並区						1
	豊島区						
	北区						
	荒川区						
	板橋区					1	2
	練馬区						4
足立区					4		
葛飾区						1	
江戸川区							
市	町田市					1	4
	八王子市						2
小計			1	1	1	12	32
都	西多摩					4	1
	多摩立川					1	1
	南多摩						4
	多摩府中						2
	多摩小平						9
	島しょ						
小計						5	17
合計			1	1	1	17	49
健康安全研究センター 検出分						4	

※2016年4月より、各保健所から搬入された検体を集計することとした

表2 検体搬入状況(全数把握対象疾患-五類)*

2024年4月分

	検体数	2024年累計
侵襲性インフルエンザ菌感染症(菌)	5	16
侵襲性髄膜炎菌感染症(菌)		1
侵襲性肺炎球菌感染症(菌)	8	34
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症(菌)**	9	40
播種性クリプトコックス症(菌)	1	8
合計	23	99

*2016年4月(第37巻・第4号)から追加 **2023年5月本庁通知による名称変更

表3 病原微生物検出状況(食中毒関連)

2024年4月分

	菌種名	検体数	2024年累計
細菌	大腸菌		
	毒素原性		
	組織侵入性		
	病原血清型		
	腸管出血性		
	その他・不明		
	サルモネラ		
	O4	4	9
	O7	1	2
	O8	1	1
	O9		1
	その他		
	不明		
	腸炎ビブリオ		
	その他のビブリオ		
	エロモナス		
	プレジオモナス・シゲロイデス		
	カンピロバクター	13	34
	黄色ブドウ球菌		
	F型ウエルシュ菌		21
ボツリヌス菌			
F型ボツリヌス毒素産生 クロストリジウム・バラティイ			
リステリア・モノサイトゲネス			
セレウス菌		1	
ウイルス	ノロウイルス(G I)	30	165
	ノロウイルス(G II)	16	592
	ノロウイルス(G I, G II)	3	18
	ロタウイルス		
	サポウイルス		
寄生虫	アニサキス	5	9
	クドア	1	1
合計		74	854

表4 HIV 検査数及び陽性数

2024年4月分

	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
保健所等	117	0	57	0	1	0	175	0
2024年累計※	2,606	15	766	0	6	0	3,378	15

※東京都新宿東口検査・相談室の2024年1月～3月実績を含む

表5 性感染症検査数及び陽性数

2024年4月分

	梅毒検査		クラミジア遺伝子検査		淋菌遺伝子検査	
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
保健所等	139	9	179	8	121	0
2024年累計※	3,202	318	681	32	358	1

※東京都新宿東口検査・相談室の2024年1月～3月実績を含む

表6 定点把握疾患別病原体分離状況（ウイルス）

2024 過去3か月

定点種別	対象疾患名	検出病原体	2月	3月	4月	合計
小児科	流行性耳下腺炎	アデノウイルス	1			1
インフルエンザ	インフルエンザ及びインフルエンザ様疾患 (ILI)	インフルエンザウイルス AH1pdm09	3	4	2	9
		インフルエンザウイルス AH3	6	1	5	12
		インフルエンザウイルス B型 Victoria 系統	51	36	12	99

◆東京都微生物検査情報◆

2024年6月7日（改訂）

編集・発行

東京都健康安全研究センター

東京都感染症情報センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-24-1

TEL:03-3363-3213

FAX:03-5332-7365

S1153803@section.metro.tokyo.jp

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

（2023年7月1日よりURLを変更しました）