

# インフルエンザウイルス検出状況と薬剤耐性調査について (2013/2014 シーズン～2015/2016 シーズン)

鈴木典子 小川泰卓 棚倉雄一郎 富岡恭子 貴洞里美 峯岸俊貴 内田和江 篠原美千代 岸本剛

Detection and drug resistance of influenza virus  
(2013/2014season-2015/2016 season)

Noriko Suzuki, Yasutaka Ogawa, Yuichiro Tanakura, Kyoko Tomioka, Satomi Kando,  
Toshitaka Minegishi, Kazue Uchida, Michiyo Shinohara, Tuyoshi Kishimoto

## はじめに

現在、わが国において抗インフルエンザ薬はインフルエンザの治療には欠かせないものになっている。抗インフルエンザ薬として最も一般的に用いられているのはノイラミニダーゼ (NA) 阻害薬であるオセルタミビルであり、新型インフルエンザ対策としても大量のオセルタミビルが備蓄されている。薬剤耐性株の出現については以前から懸念されていたが、2007年にはAソ連型 (A/H1N1) ウイルスのオセルタミビル耐性株が世界各地で検出され、国内でもその出現頻度が2007/2008シーズンには2.6%であったものが、2008/2009シーズンには99.6%となり<sup>1)</sup>、わずか半年余りで劇的に増加した。わが国は世界一のオセルタミビル使用国であり、流行ウイルスが薬剤耐性を獲得しているか否かは、大きな関心事となっている。

今回は、「抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」実施要綱に基づき実施しているH275Y変異を対象とした「A (H1N1) 2009ウイルス (AH1pdm) の抗インフルエンザ薬耐性サーベイランス」に加え、AH3型、B型の薬剤耐性調査を実施したので、この調査の基礎となるインフルエンザウイルス (Infv) の流行状況と合わせて報告する。

## 対象

### 1 インフルエンザ患者発生動向調査

埼玉県感染症発生動向調査事業として2013年9月から2016年6月までに、収集されたインフルエンザ患者報告数を使用した。

### 2 インフルエンザ検体からのInfv検出と型別

2013年9月から2016年6月までに、県域（埼玉県からさいたま市を除いた地域）において感染症発生動向調査としてインフルエンザと診断された患者から採取された検体を調査対象とした。各シーズン別の検体数は、2013年9月から2014年8月（2013/2014シーズン）の201検体、2014年9月から2015年8月（2014/2015シーズン）の139検体、2015年9月から2016年6月まで（2015/2016シーズン）の245検体で、計

585検体を対象とした。各シーズンの検体の内訳を表1に示した。なお、B型の系統別には一部、検体をMadin-Darby Canine Kidney (MDCK) 細胞に接種し、分離されたInfv株を用いた。

表1 各シーズンの検体内訳

採取時期*1	咽頭ぬぐい液	鼻汁及び 鼻腔ぬぐい液	その他*2	合計
2013/2014	84	112	5	201
2014/2015	31	107	1	139
2015/2016	97	143	5	245

\*1 シーズンを示す。

\*2 喀痰、唾液、血液、気管支吸引液、肺胞洗浄液

### 3 薬剤耐性調査

2013/2014シーズンから2015/2016シーズンに感染症発生動向調査として採取された検体をMDCK細胞に接種し、分離されたInfv株、2013/2014シーズン179株、2014/2015シーズン118株、2015/2016シーズン117株を薬剤耐性調査の対象とした。

## 方法

### 1 Infvの検出と型別

検体からRNAを抽出し、AH1pdm、AH3型、B型についてはリアルタイムRT-PCR法で遺伝子を検出した。なお、リアルタイムRT-PCR法で陽性又は陰性が明白に判断できなかった場合には、conventional RT-PCR法を実施した。conventional RT-PCR法の増幅産物はダイレクトシークエンス法で同定した。B型については、リアルタイムRT-PCR又は赤血球凝集抑制試験 (HI試験) (2013/2014シーズンの一部検体) を用いて、系統を判別した。

#### (1) RNA抽出

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて検体140μl からキットの説明書に従いウイルスRNAを抽出し、60μl のジエチルピロカーボネート (DEPC) 処理水に溶出した。また、一部の検体ではEZ1 Virus Mini Kit v2.0 (QIAGEN) を用いて検体200μl からウイルスRNAを抽出し、キット添付の溶出液60μl に溶出した。

(2) リアルタイムRT-PCR(TaqMan Probe) 法

A型共通のM遺伝子, AH3型HA遺伝子, AH1pdmHA遺伝子及びB型NS遺伝子をインフルエンザ診断マニュアル<sup>2)</sup>に記載されているリアルタイムRT-PCR法に準じて増幅した。また、一部の検体では、平成27年11月9日付で国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターから配布された補足マニュアルに準じて、反応試薬キットをAgPath-ID One-Step RT-PCR Reagents (Thermo Fisher Scientific) に変更して実施した。補足マニュアルによるリアルタイムPCR法は、反応試薬キット添付の2X RT-PCR Buffer12.5μl, 25X RT-PCR Enzyme Mix 1μlに、プライマー1.5μlずつ、プローブ0.5μl, RNase Inhibitor(40U/μl)0.05μl, RNA抽出液5μlを加え、DEPC処理水で25μlとなるように調製し、50°C10分、95°C10分反応させた後、95°C15秒、56°C30秒、72°C15秒のサイクルを45回繰り返した。解析にはViiA7 リアルタイムPCRシステム (Thermo Fisher Scientific) を用い、Ct値が40以下でシグモイドカーブが正常である場合に「陽性」、不検出である場合に「陰性」、それ以外の場合はconventional RT-PCR法を実施した。

(3) conventional RT-PCR法

インフルエンザ診断マニュアル<sup>2)</sup>のconventional RT-PCR法による同定方法に従って、AH3型HA遺伝子, AH1pdmHA遺伝子を増幅した。得られたPCR増幅産物は2%アガロースゲルにて電気泳動を行い、目的サイズ(AH3型1143bp, AH1pdm349bp)のバンドが検出されない場合は「陰性」、検出された場合にはダイレクトシーケンス法により同定した。

(4) ダイレクトシーケンス法と亜型の決定

PCR増幅産物の精製にはQIAquick PCR Purification Kit(QIAGEN)を用いた。また、非特異バンドが確認された場合には、2%アガロースゲルにて電気泳動を行い、目的とするバンドを切り出し後、QIAquick Gel Extraction Kit(QIAGEN)を用いて精製した。

シーケンス反応には、conventional RT-PCRと同じプライマー及びBig Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(Thermo Fisher Scientific)を用いた。

シーケンス反応後の精製には、Centri-SEP Spin Columns(Thermo Fisher Scientific)を用い、キットの添付説明書に従って実施した。Applied Biosystems 3500ジェネティックアナライザ(Thermo Fisher Scientific)で泳動後、SEQUENCHER5.0(日立)で塩基配列を決定し、BLAST解析により得られた塩基配列の相同性を比較して亜型を決定した。

(5) B型系統の同定

B型が検出された検体は、検体から抽出したRNA又は分離株を用い、HA遺伝子をターゲットとしたリアルタイムRT-PCR法で山形系統とビクトリア系統を同定した。なお、分離株から同定する場合には、培養上清35μlをマイクロチューブに採り、80°C5分加熱後氷上で冷却したものをtemplateとして用いた。

(6) HI試験

国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター

より配布された参照用の抗原及び抗血清を用いて、A/California/07/2009(AH1pdm), A/Texas/50/2012(AH3型), B/Massachusetts/02/2012(山形系統), B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)の4株についてHI試験を実施した。0.5%七面鳥血球を用いて、インフルエンザ診断マニュアル<sup>2)</sup>に準じて実施した。

2 薬剤耐性調査

AH1pdmは、分離株を用いてインフルエンザ診断マニュアル<sup>2)</sup>に準じて、リアルタイム RT-PCR(TaqMan Probe)法によりH275Yの変異を調査した。

AH3型及びB型はMDCK培養上清から、MagNa Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit-High Performance(ロシユ・ダイアグノスティックス)又は、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて抽出したRNAを薬剤耐性調査に使用した。インフルエンザ診断マニュアル<sup>2)</sup>に準じてNAタンパク質をコードする領域(NA遺伝子)を増幅後、同マニュアル及び既報<sup>3), 4)</sup>のプライマーを用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。なお、ダイレクトシーケンス法は方法1(4)と同様に実施した。

得られた塩基配列から、GENETYX Ver.10(ゼネティックス)を用いてアミノ酸配列を決定後、文献等でこれまでにNA阻害薬に対して耐性に関与する可能性があるとして報告<sup>5)~16)</sup>のあった変異部位について、変異の有無を調査した。調査対象とした変異は、AH3型が20か所、B型が22か所あり、その詳細は表2に示した。

表2 薬剤耐性調査の対象としたアミノ酸変異

AH3型		B型	
変異	文献等	変異	文献等
E41G	11)	E110K	13)
E119A/D/G/I/V *1	6),10),13),14),16)	E119A/D/G/V	6),13),14)
Q136K	6),13),14)	Q140R	13)
T148K	14)	P141S	13)
D151A/E/G/N/V	5),7),8),9),10),13),14),16)	G142R	13)
R152K	5)	R152K	7),13)
V215I	14)	N153T/S	14)
I222L/V	6),13)	D198E/N	6),7),8),9),13),14)
R224K	13)	A201A/T	13)
Q226H	8),9),10),11)	I222L/T/V	6),7),8),9),13),15)
Del245-248 *2	13)	A246T	13)
G248R	8),9),10),16)	S250G	6),7)
K249E	8),9),10),16)	H274Y	7),13)
H274N/Y	5),7)	R292K	13)
E276D	13)	N294S	13)
R292K	6),7),8),9),10),13)	K358-359E *3	13)
N294S	6),7),10),12),13)	R371K	7),13)
V215I	14)	A390E	13)
S331R	14)	G402S	6),7),13)
R371K	13)	D429G	13)
		G142R+N146K	13)
		Y144H+G147R	13)

\*1 最初のアルファベットが変異前のアミノ酸を、数字はH3N2亜型ウイルスのNAタンパク質のアミノ酸番号をもとにした変異箇所を、数字の後のアルファベットは変異後のアミノ酸を示す。また、/は変異後のアミノ酸の多様性を示す。

\*2 Del: その位置のアミノ酸の欠損を示す。

\*3 H3N2亜型と比較すると、B型のNAタンパク質には、アミノ酸の挿入が口ある場合があり、正確な位置を示せないため、このように表記している。

3 薬剤感受性試験

薬剤耐性変異の確認された株は、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターに送付し、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルに対する薬剤

感受性試験を実施した。

### 結果及び考察

#### 1 定点当たり患者報告数及びInfv検出状況

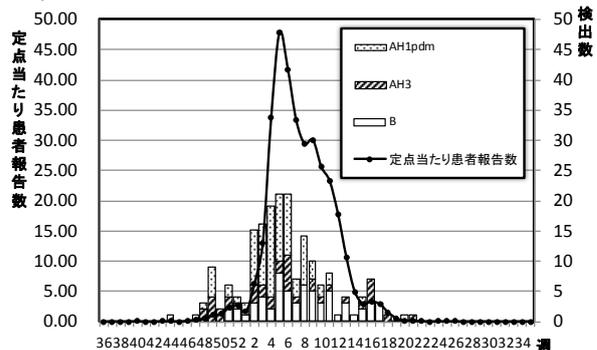
図1にシーズンごとの埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるInfv検出状況を、表3にシーズン別、型・亜型別Infv検出数を、また、図2にシーズン別Infv型・亜型検出割合を示した。

埼玉県の2013/2014シーズンの定点当たり患者報告数は2014年第3週から急上昇し、第5週に47.87に達してピークとなった。第6週以降は報告数が減少し、第19週には0.93となり流行が終息した。Infvの型・亜型別検出状況は、AH1pdmが86検体(42.8%)から、AH3型が39検体(19.4%)から、B型が64検体(31.8%)から検出された。B型は山形系統が54検体から、ビクトリア系統が10検体から検出され、山形系統が優勢であった。AH1pdm、AH3型、B型はともにシーズンを通して検出され、検出時期に偏りはみられず、全国的な感染症発生動向調査の結果と同様の傾向であった<sup>17)</sup>。また、AH1pdmとB型山形系統の重複検出が2症例あり、いずれも医療機関で実施した迅速キットでA型及びB型が検出された症例であった。AH1pdm、AH3型及びB型の検出時期に偏りがなく、図2に示したように、各型の検出割合も比較的差が小さい混合流行であったことから、重複感染が起こりやすい状況であった可能性が考えられた。

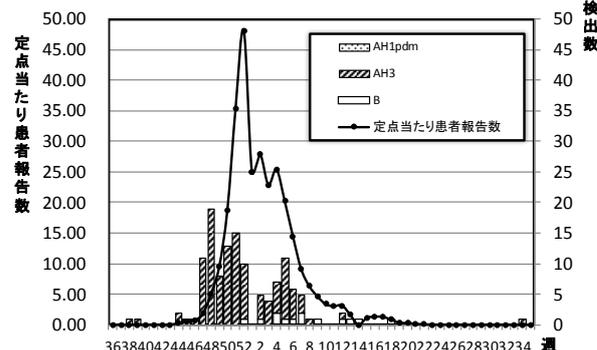
2014/2015シーズンは例年より早く流行が始まり、定点当たり患者報告数は2014年第49週から急上昇し、第52週に48.13に達してピークとなった。2015年第1週以降は報告数が減少し、第18週に0.85となり流行は終息した。Infvの型・亜型別検出状況は、AH3型が115検体(82.7%)から、B型が13検体(9.4%)から検出され、AH1pdmは検出されなかった。B型では山形系統が12検体から、ビクトリア系統が1検体から検出され、山形系統が優勢であった。B型は2014年52週から検出され始めたが、検出数は少なく、図2に示したように流行の主体はAH3型であり、シーズンを通して検出された。全国でも同様の傾向で、検出報告数6165検体中AH1pdmの検出数は63検体(1%)のみであった<sup>17)</sup>。

2015/2016シーズンの定点当たり患者報告数は2016年第3週から急上昇し、第6週に49.13に達してピークとなった。第7週以降は報告数が減少し、第18週には0.43となり、流行が終息しており、2013/2014シーズンと類似した流行パターンであった。Infvの型・亜型別検出状況は、AH1pdmが92検体(38.2%)から、AH3が13検体(5.4%)から、B型が121検体(50.2%)から検出された。B型では、山形系統が68検体から、ビクトリア系統が51検体から検出され、また、2検体については系統が確定できなかった。図2に示したように、B型は山形系統が優勢であったが、過去2シーズンよりもビクトリア系統の検出割合が増加した。B型はシーズンの後半に検出数が多かった。県域では検出されたウイルスの40%がAH1pdm、54%がB型だったのに対し、全国では、AH1pdmが49%、次いで

2013/2014シーズン



2014/2015シーズン



2015/2016シーズン

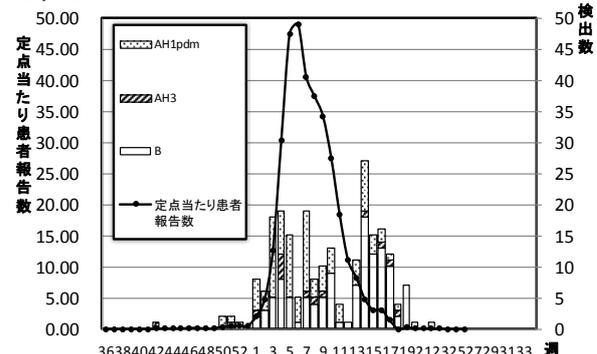


図1 埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるInfv検出状況

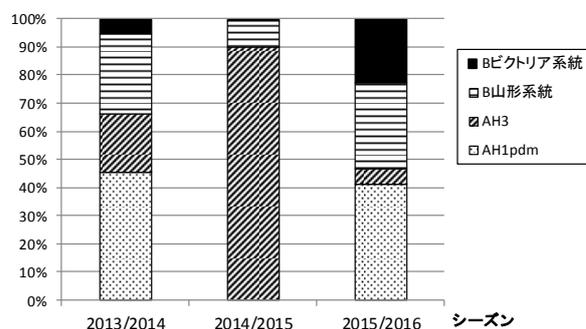


図2 県域におけるシーズン別Infv型・亜型別検出割合

表3 Infv型別実施状況

	2013/2014	2014/2015	2015/2016
検体数	201	139	241
AH1pdm	86	0	92
AH3	39	115	13
B山形系統	54	12	68
Bビクトリア系統	10	1	51

B型が43%の順で検出されており<sup>17)</sup>、県域では、全国に比べB型の検出割合が高かった。これは、2016年4月より感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の改正に伴い、感染症発生動向調査におけるインフルエンザ検査の体制が変更になったことで、B型の検出数の多いシーズン後半である4月、5月に検体数が増加したことが影響したものと考えられた。

2 薬剤耐性調査

シーズン別、型・亜型別NA阻害薬耐性変異検査結果を表4、表5に、また、各変異株の薬剤感受性試験結果を表6に示した。

表4 NA阻害薬耐性変異検査結果

		2013/2014	2014/2015	2015/2016
AH1pdm	検査株数	82	-	86
	耐性変異株数	5 <sup>*1</sup>	-	0
AH3	検査株数	36	106	11
	D151A/E/G/N/V	21	30	9
	耐性変異株数 <sup>*2</sup>	0	1	0
B型山形系統	検査株数	52	11	10
	耐性変異株数	1	0	0
B型ビクトリア系統	検査株数	9	1	10
	耐性変異株数	0	0	0

\*1 1株はH275HYmix

\*2 D151A/E/G/N/V以外の耐性変異

表5 D151A/E/G/N/V変異の内訳

	2013/2014	2014/2015	2015/2016
D151D/N	9	20	5
D151D/G	9	8	3
D151D/G/N/S	3	1	1
D151D/E	0	1	0

(1) AH1pdmのH275Y変異の検出

2013/2014シーズンは82株を解析し、H275Y耐性変異が4株とH275HとH275Yが混合した変異(H275H/Ymix)が1株検出された。H275Y変異株4株のうち、2株は同一症例からの咽頭ぬぐい液と鼻腔ぬぐい液の検体であったため、咽頭ぬぐい液からの分離株のみ薬剤感受性試験を実施した。薬剤感受性試験は、MUNANA基質を用いた蛍光法により実施した。その測定値を、各シーズンに流行した型・亜型別感受性株における測定値の平均値又は中央値と比較することで、各薬剤に対する感受性の度合いを判定した。なお、2013/2014シーズンのAH1pdm No.3の1株は、NA活性が低く、通常の蛍光法では試験ができず、NA-XTD基質を用いた化学発光法に

よる試験を実施した。化学発光法による解析株数が少ないため、当該株のみ、試験に用いた感受性参照株の測定値と比較して判定した。この結果、H275Y変異株が検出された3株は、オセルタミビル及びペラミビルに対して耐性を示したが、ザナミビル及びラニナミビルに対しては感受性を保持していた。また、H275H/Ymixの変異が確認された1株は、オセルタミビル及びペラミビルに対してわずかに感受性が低下していたが、ザナミビル及びラニナミビルに対しては感受性を保持していた。H275Y変異が検出された3症例のうち、1症例(表6のAH1pdm No.2)は検体採取前にタミフル(オセルタミビル)及びイナビル(ラニナミビル)の投与歴が確認された。また、H275H/Ymixの変異が検出された症例(表6のAH1pdm No.1)は、検体採取前にラピアクタ(ペラミビル)の投与歴が確認されており、これらは薬剤投与による影響と考えられた。H275Y変異株の検出された残り2症例は検体採取前に抗インフルエンザ薬の投与歴はなく、市中で薬剤耐性株に感染した可能性があると考えられた。全国では、2531株が解析され、105株(4.1%)からH275Y変異が検出された<sup>17)</sup>。また、2013年11月～2014年2月にかけて札幌市を中心とするH275Y耐性変異ウイルスの地域流行があり、北海道での耐性ウイルス検出率は28%と高率であった<sup>18)</sup>が、埼玉県での地域流行は確認されなかった。

2014/2015シーズンはAH1pdmが検出されなかったため、検査は実施しなかった。全国でも、AH1pdmの解析数は43株と少なく、H275Y変異は検出されなかった<sup>17)</sup>。

2015/2016シーズンは86株を解析し、H275Y変異は検出されなかった。全国では、2399株が解析され、44株(1.8%)からH275Y変異が検出された<sup>17)</sup>。検出地域は散発的で、地域流行は確認されなかった。

(2) AH3型

AH3型については、20か所のアミノ酸変異を調査した。最も多く検出されたのは、D151A/E/G/N/V変異であり、2013/2014シーズンに解析した36株中21株、2014/2015シーズンに解析した106株中30株、2015/2016シーズンに解析した11株中9株で151番目のアミノ酸に変異が認められた。アミノ酸変異の内訳を表5に示したが、完全に異なるアミノ酸に置き換わっている株はなかった。この変異が耐性に関与するとの報告が複数<sup>5),7)~10),13),14)</sup>あることから調査したが、Leeらにより最近のAH3型はMDCK細胞で分離すると151番目

表6 NA阻害薬耐性変異検出株の薬剤感受性試験結果<sup>\*1</sup>

シーズン	ウイルス株	耐性変異	IC <sub>50</sub> (nM)				NA阻害薬の投与 <sup>*2</sup>	感受性試験実施日
			オセルタミビル	ペラミビル	ザナミビル	ラニナミビル		
2013/2014	AH1pdm No.1	H275H/Y	1.14(0.24±0.13)	2.65(0.07±0.05)	0.17(0.23±0.14)	0.29(0.41±0.24)	ラピアクタ	2014/3/4
2013/2014	AH1pdm No.2	H275Y	352.52(0.24±0.13)	29.78(0.07±0.05)	0.17(0.23±0.14)	0.45(0.41±0.24)	タミフル・イナビル	2014/3/4
2013/2014	AH1pdm No.3 <sup>*3</sup>	H275Y	95.50(47.54,0.28)	9.81(11.49,0.08)	0.48(0.34,0.33)	0.76(0.42,0.27)	なし	2014/3/14
2013/2014	AH1pdm No.4	H275Y	173.79(0.19±0.12)	65.24(0.07±0.04)	0.24(0.21±0.13)	0.51(0.38±0.24)	なし	2014/4/30
2014/2015	AH3	G248R	0.21(0.23±0.08)	0.08(0.11±0.05)	0.24(0.29±0.19)	0.32(0.70±0.27)	なし	2015/1/13
2013/2014	B(山形系統)	N153T	23.18(31.20±6.97)	0.45(0.46±0.18)	23.88(7.03±3.43)	5.89(3.17±1.26)	なし	2016/1/20

\*1 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターで実施

\*2 検体採取前の薬剤投与状況

\*3 当該株はNA活性が低かったため、NA-XTD基質を用いた化学発光法による試験を実施

( )内の数値は試験を実施したシーズンの当該ウイルス感受性株のIC<sub>50</sub>平均値又は中央値ただし、AH1pdm No.3は試験に用いた参照株の測定値を(耐性株、感受性株)の順で示した。

のアミノ酸が変異する傾向があるとの報告<sup>19)</sup>もある。そこで、今回変異の認められた株のうち、2013/2014シーズンの2株 (D151D/G及びD151D/N)について、臨床検体から抽出したRNAを用いて、同様の方法で塩基配列を調べたところ、151番目のアミノ酸に変異は認められなかった。このことから、151番目の変異は、MDCK細胞で分離したことによる影響と考えられるため、今回の調査ではD151A/E/G/N/V変異については、薬剤感受性試験は行わなかった。

D151A/E/G/N/V以外の変異を見ると、2013/2014シーズンに解析した36株には耐性に関与する変異は認められなかった。2014/2015シーズンに解析した106株中1株にG248Rの変異が認められた。薬剤感受性試験を実施した結果、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルのすべての薬剤に対して感受性を保持していることが確認された。G248R変異は、K249E変異と共存するとザナミビルに対して軽度耐性を示したと報告<sup>16)</sup>されていることから、今回はG248R変異のみのため、ザナミビルに対する感受性は保持されていたものと考えられた。2015/2016シーズンに解析した11株には耐性に関与する変異は認められなかった。

### (3) B型

B型については、22か所のアミノ酸変異を調査した。この結果、2013/2014シーズンに解析した61株のうち、B型山形系統の1株にN153T変異が認められた。この変異は、2015年に高下らにより薬剤耐性に関与する可能性がある変異として報告<sup>14)</sup>されたため、2015/2016シーズンに追加して薬剤感受性試験を実施した。薬剤感受性試験の結果、オセルタミビル、ペラミビル、ザナミビル、ラニナミビルのすべての薬剤に対して、感受性を保持していたが、ザナミビルに対する感受性がわずかに低下していることが確認された。この結果は、B型山形系統のN153T変異を持つ株で、オセルタミビルに対する感受性がわずかに低下していたとの報告<sup>14)</sup>とは異なるものであった。一方、高下らはN153S変異を持つB型ビクトリア系統がザナミビルに対して感受性が低下していたとも報告<sup>14)</sup>しており、B型における153番目のアミノ酸変異は耐性株になるほどではないが、ある程度薬剤感受性を低下させている可能性が考えられる。153番目のアミノ酸変異が薬剤耐性マーカーになり得るか判断するには、さらなる調査が必要と考えられた。

2014/2015シーズンに解析した12株及び2015/2016シーズンに解析した20株では耐性に関与する変異は認められなかった。

### まとめ

2013/14シーズンから2015/2016シーズン(2016年6月まで)のInfv検出状況と薬剤耐性調査を実施した。

2013/2014シーズンはAH1pdmが最も多く検出され、H275Y耐性変異が4件、H275H/Ymixの変異が1件検出された。また、B型で耐性に関与する可能性のあるN153T変異が1株検出さ

れたが、薬剤耐性株ではなかった。2014/2015シーズンはAH3型が流行の主体であり、G248R変異をもつAH3型が1株確認されたが、薬剤耐性株ではなかった。2015/2016シーズンは感染症法改正の影響で春季の検体数が増加したためB型の検出率が全国に比べ高かった。しかし、B型をはじめすべての型で薬剤耐性変異は検出されなかった。

今回の調査では、AH3型及びB型で薬剤耐性株は検出されなかったが、今後も薬剤耐性株が検出される可能性はあることから、AH1pdmに加え、AH3型及びB型も継続的な調査を実施していくことが必要であると考えられる。また、現在、AH1pdmについては、H275Y変異が検出されれば耐性株であるという、明白なマーカーが判明しており、検査系も構築され全国的な調査が実施できる体制となっている。しかし、AH3とB型については、AH1pdmのようなマーカーが存在せず、最終的には、薬剤感受性試験を実施するしかない状況である。現時点ではAH3型とB型の耐性株はほとんど検出されていないが、今後にも備え、AH1pdm同様全国的な調査を実施していくことも必要になると考えられる。全国的な調査の実施には、遺伝子検査でのスクリーニング法の構築が必要であり、そのためには、AH3型とB型についての情報を集積していく必要がある。今後も、埼玉県内のInfvの薬剤耐性変異株の動向を継続して調査し、情報収集に寄与していきたい。

### 文献

- 1) 国立感染症研究所：2008/09インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ (A/H1N1) オセルタミビル耐性株 (H275Y) の国内発生状況[第2報]. 病原微生物検出情報, 30, 101-106, 2009
- 2) 国立感染症研究所及び地方衛生研究所全国協議会病原体検出マニュアル インフルエンザ診断マニュアル (第3版) 平成26年9月
- 3) K. E. WRIGHT, G. A. R. WILSON, D. NOVOSAD et al. : Typing and subtyping of influenza virus in clinical samples by PCR. J. Clin. Microbiol. 33(5), 1180-1184, 1995
- 4) X. Sherry Chi, Aizhong Hu, Trentice V. Bolar, et al. : Detection and Characterization of New Influenza B Virus Variants in 2002. J. Clin. Microbiol. 43(5), 2345-2349, 2005
- 5) 国立感染症研究所及び地方衛生研究所全国協議会病原体検出マニュアル インフルエンザ診断マニュアル (第2版) 平成24年3月
- 6) Jennifer L. McKimm-Breschkin : Influenza neuraminidase inhibitors: antiviral action and mechanisms of resistance. [www.influenzajournal.com](http://www.influenzajournal.com)
- 7) 畠山修司 : 薬剤耐性インフルエンザウイルスの診断法. インフルエンザ Vol.9 No.4(2008-10)31(293)-35(297)

- 8) 長島真美, 新開敬行, 原田幸子, 他 : インフルエンザウイルスにおけるオセルタミビル耐性変異の検出(2010-2011シーズン). 東京都健康安全研究センター研究年報, 62, 57-63, 2011
- 9) 原田幸子, 新開敬行, 長島真美, 他 : インフルエンザウイルスにおけるオセルタミビル耐性遺伝子変異の検出(2011/2012シーズン). 東京都建国安全研究センター年報, 63, 103-107, 2012
- 10) 川上千春, 百木智子, 七種美和子, 他 : 横浜市内で発生したAH3亜型インフルエンザによる2011/12シーズンの集団かぜ初発事例. 国立感染症研究所, 感染症疫学センター, 厚生労働省建国局結核感染症課 : 病原微生物検出情報, 32, 334-335, 2011
- 11) Arnold S. Monto, Jennifer L. McKimm-Breschkin, Catherine Macken, et al. : Detection of Influenza Viruses Resistant to Neuraminidase Inhibitors in Global Surveillance during the First 3 Years of Their Use. *Antimicrob. Agents chemother.* Vol50, No7, 2395-2402, 2006
- 12) Maki kiso, Keiko Mitamura, Yuko Sakai-Tagawa, et al. : Resistant influenza A viruses in children treated with oseltamivir: descriptive study. *The Lancet*, Vol364, No9436, 759-765, 2004
- 13) Laboratory methodologies for testing the antiviral susceptibility of influenza viruses: Neuraminidase inhibitor (NAI).  
[http://www.who.int/influenza/gisrs\\_laboratory/antiviral\\_susceptibility/nai\\_overview/en/#](http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/antiviral_susceptibility/nai_overview/en/#)
- 14) Emi Takashita, Adam Meijer, Angie Lackenby, et al. : Global update on the susceptibility of human influenza viruses to neuraminidase inhibitors, 2013-2014. *Antiviral Research* 117, 27-38, 2015
- 15) Vanessa Escuret, Patrick J. Collins, Jean-Sébastien Casalegno, et al. : A Novel I221L Substitution in Neuraminidase Confers High-Level Resistance to Oseltamivir in Influenza B Viruses. *J Infect Dis*, 210, 1260-1269, 2014
- 16) Tiffany G. Sheu, Varough M. Deyde, Margaret Okomo-Adhiambo et al. : Surveillance for Neuraminidase Inhibitor Resistance among Human Influenza A and B Viruses Circulating Worldwide from 2004 to 2008. *Antimicrob. Agents chemother.* Vol52, 3284-3292, 2008
- 17) 国立感染症研究所: 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス. 病原微生物検出情報, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html>
- 18) 国立感染症研究所: インフルエンザ2013/14シーズン. 病原微生物検出情報, 35, 251-253 2014
- 19) Hong Kai Lee, Julian Wei -Tze Tang, Debra Han-Lin Kong, et al. : Comparison of Mutation Patterns in Full-Genome A/H3N2 Influenza Sequences Obtained Directly from Clinical Samples and the Same Samples after a Single MDCK Passage. *PLOS ONE* e79252, Issue11, Volume8, November 2013