

2012/13シーズンに大阪市で分離されたインフルエンザウイルスの解析

久保英幸、改田 厚、入谷展弘、山元誠司、長谷 篤

Analysis of Isolated Influenza Viruses in Osaka City, 2012/13 influenza season

Hideyuki KUBO, Atsushi KAIDA, Nobuhiro IRITANI, Seiji P YAMAMOTO and Atsushi HASE

Abstract

We analyzed the distribution of influenza virus types and subtypes detected in Osaka City during the 2012/13 influenza season. Influenza virus subtype AH3 was the most commonly detected virus, and accounted for 75.4%. Type B accounted for 20%, and subtype AH1pdm09, which was not detected in Osaka City during the 2011/12 season, accounted for 4.6%. Hemagglutination-inhibition (HI) titers were measured against isolated influenza virus strains which showed more than 16 hemagglutination titer, using anti-sera for influenza vaccine strains. By the results obtained from HI titer analyses, it is suggested that all these strains have similar antigenicity with vaccine strain of each type and subtype, respectively. Another analysis for avian influenza virus subtype A(H7N9) (AH7), recognized the human infections in China for the first time in the world in March 2013, was performed for 2 suspicious patients of AH7 infection, and did not detect AH7, but AH1pdm09 and AH3, respectively. It is significant to understand the constant situation of influenza virus circulation world-widely, and maintain the influenza virus detected systems for each type and subtype, including AH7.

Key words: seasonal influenza viruses, types and subtypes, vaccination, similar antigenicity

I 緒言

毎年冬季シーズンに世界的な規模での流行を示すインフルエンザ様疾患は、その発症率および死亡率において最も重要な感染症の一つに位置付けられ、その主要な原因ウイルスがヒトインフルエンザウイルスである[1]。近年野外流行を示すヒトの季節性インフルエンザウイルスはAおよびB型に分類され、さらにA型は A(H1N1)pdm2009 (AH1pdm09) および A(H3N2) (AH3) の二つの亜型に分類され、また、B型は Victoria および Yamagata の二つの系統に分類されている[2,3]。温帯地域におけるインフルエンザ様疾患の流行は通常冬季に発生するが、その発生開始の時期および流行の継続期間は、国・地域およびシーズンによって様々な状況を示す。また、流行の主流となるインフルエンザウイルスの型・亜型は各シーズンにおいて異なることから、今回のインフルエンザ流行

シーズンの主流となるウイルスの型・亜型を予測することは不可能となっている[4-7]。

季節性インフルエンザウイルス感染の予防および軽症化には、インフルエンザワクチンの各シーズン前接種が有効とされることから、毎年冬季シーズン直前になるとワクチン接種に対する啓発および勧奨が実施されている。インフルエンザウイルスの特徴として、その主要な抗原タンパク質である HA タンパク質の抗原構造の変化が容易に生じるとされている。この抗原変化を示すインフルエンザウイルス株が新たに出現した場合、ヒトがこれまでに獲得した特異的抗体による免疫効果が十分でないことから、新しいインフルエンザの流行発生に至ることが知られている[8]。このため、次のインフルエンザ流行シーズンに向けたワクチン株の選定に関しては、世界保健機関(WHO)および各国の該当機関においてそれぞれ毎年協議・検討され、その結果を経て次シーズンのワクチンに

使用されるインフルエンザウイルス株(ワクチン株)が選定されている。また、流行するインフルエンザウイルスの型・亜型の予測は不可能であることから、インフルエンザワクチンには各型・亜型に属する株が含まれている[2,3,9]。前述の通り、インフルエンザウイルスの感染を予防・軽減するための有効な方法はインフルエンザワクチンを接種すること、さらにそのワクチンに含有されるウイルス株の抗原性状が野外流行株に類似する必要があることから、各シーズンにおける流行インフルエンザウイルスの型・亜型およびその抗原性状を迅速に把握することは、医療および感染拡大予防対策上の重要な情報提供となる。

当所では、大阪市感染症発生動向調査事業の一環として、インフルエンザ様疾患患者から採取された検体を用いて、野外流行インフルエンザウイルスの分離・型別試験を毎年実施している。これらの試験で得られた分離インフルエンザウイルスの型・亜型および抗原性状に関する結果を、大阪市や国などの各行政機関のインフルエンザ対策関連部署へ情報還元することによって、インフルエンザ予防対策に対する貢献が行われている。

II 実験

1) インフルエンザウイルスの分離

大阪市感染症発生動向調査事業およびインフルエンザ様疾患集団発生事例検査に供与されたインフルエンザ様疾患患者検体(咽頭ぬぐい液、鼻汁、およびうがい液)をイヌ腎上皮細胞由来のMDCK細胞に接種した後、温度を35℃、CO₂濃度を5.0%に設定したインキュベーター(エスベック)内での培養を行った。細胞培養液には、0.2%ウシ血清アルブミンおよび0.25%トリプシンを添加したイーグルMEM培地(ライフテクノロジーズ)を使用した。細胞変性効果(CPE)の出現観察を最長2週間行い、この観察期間内でCPEの認められた検体をインフルエンザウイルス分離陽性と判定し、培養上清を採集してウイルス保存液とした。

2) 分離株の型・亜型同定

各分離株のウイルス保存液および0.75%モルモット血球(アークリソース)を用いて赤血球凝集(HA)試験を行い、HA価を測定した。得られたHA価に基づいて各株のウイルス保存液を一定濃度に希釈し、この希釈液および国立感染症研究所から分与された2012/13シーズンインフルエンザウイルス(AH1pdm09、AH3、B)同定用キット(2012/13シーズンのインフルエンザワクチンに用いたインフルエンザウイルスAH1pdm09、AH3およびB型各株に対するフェレット免疫血清をキット化したもの)を用いて赤血球凝集阻止(HI)試験を行い、分離株の

型・亜型を同定した[10]。また、HI試験を行うための最低限必要なHA価が得られなかったインフルエンザウイルス分離株に対しては、ウイルス保存液からウイルスRNA抽出キット(キアゲン)を用いてRNAを抽出した後にワンステップのコンベンショナルRT-PCRを行い、型・亜型を同定した[11]。なお、2013年4および5月にMDCK細胞を用いて分離された各株の型・亜型同定には、このRT-PCRを用いた。さらに、この期間に分離されたB型株に関しては、増幅された約380bpのHA遺伝子の塩基配列をApplied Biosystems 3130(ライフテクノロジーズ)を用いて解読した後に、遺伝子解析ソフトMEGA5を用いて遺伝子系統樹を作成し、各分離B型株の系統を決定した[12]。

3) 鳥インフルエンザウイルスA(H7N9)、AH1pdm09およびAH3のリアルタイムRT-PCR法を用いた遺伝子検出検査

2013年4月中に、中国渡航後10日以内にインフルエンザ様疾患を発症した大阪市内居住患者2名の各咽頭ぬぐい液検体について、鳥インフルエンザウイルスA(H7N9)(AH7)および季節性インフルエンザウイルスA亜型(AH1pdm09およびAH3)に対するリアルタイムRT-PCR法を用いた遺伝子検出検査を行った[13-15]。なお、これら2検体についてのウイルス分離試験は実施しなかった。

4) 分離・検出AH1pdm09のオセルタミビル耐性化検索

2012/13シーズンに、MDCK細胞で分離された5株および患者咽頭ぬぐい液からリアルタイムRT-PCR法を用いて遺伝子が検出された1例のAH1pdm09について、ウイルスNA遺伝子の275番目のアミノ酸を指標とするオセルタミビル耐性化検索を行った。本検索は、国立感染症研究所発行のプロトコールに従って実施した[16]。

III 結果

1) 2012/13シーズンに分離されたインフルエンザウイルス株の型・亜型

2012/13シーズンに大阪市内で採取されたインフルエンザ様疾患患者の検体数は187であった。本シーズンにおいて初めて患者検体が採取されたのは、2012年9月10日(2012年第36週)であった。また、9月中に計3検体が採取された。その後11月から患者検体数が増加し始め、2013年1月が96検体でピークとなった。その後暫時減少し(2月39検体、3月24検体)、5月に2検体が採取された。本シーズンに分離・検出陽性となったインフルエンザウイルスは計130例で、このうちの128例はMDCK細胞にて分離された

表1 2012/13 シーズンの大阪市におけるインフルエンザウイルス月別採取検体数および分離・検出陽性数

	検体採取月									計
	2012.9	10	11	12	2013.1	2	3	4	5	
採取検体数	3	1	5	11	96	39	24	6	2	187
分離・検出陽性数	2	1	2	9	62	27	20	6	1	130

表2 2012/13 シーズンに大阪市において分離・検出されたインフルエンザウイルスの各型・亜型数

型・亜型	検体採取月									計
	2012.9	10	11	12	2013.1	2	3	4	5	
AH1pdm09	-	-	-	-	4	-	1	1*	-	6*
AH3	2	1	2	8	54	18	9	3*	1	98*
B/Victoria 系統	-	-	-	1	1	5	5	1	-	13
B/Yamagata 系統	-	-	-	-	3	4	5	1	-	13

*: 遺伝子のみ検出 1 例を含む

ウイルス株、残り2例はAH7 感染疑患者の確認検査のために、2013年4月に採取された検体から遺伝子検査のみで検出されたものであった。インフルエンザウイルスの分離は2012年9月採取検体からの2株で始まり、12月以降に増加し2013年1月にピークの62株となった。その後2および3月に、それぞれ27および20株が分離され、4月に4株が分離および2例の遺伝子が検出され、5月に1株が分離された(表1)。各月に採取された検体から分離・検出されたインフルエンザウイルスの各型・亜型数を表2に示した。2011/12シーズンにおいてまったく分離・検出されなかったAH1pdm09は、5株が分離され、1例が遺伝子検出された[17]。また、AH1pdm09の分離・検出された月は、2013年1、3、および4月であった。最も多く分離・検出されたのはAH3で、計97株が分離され、1例が遺伝子検出された。また、AH3の分離・検出された月は、2012年9月から2013年5月であった。B型各系統ウイルスは、それぞれ13株が分離された。このうち、B/Victoriaの分離された月は、2012年12月から2013年4月、また、B/Yamagataの分離された月は、2013年1月から4月であった。

2) 各分離インフルエンザウイルス株のHA価

2012年9月から2013年3月の期間に分離された各インフルエンザウイルス株に対して、0.75%モルモット血球を用いたHA試験を行い、各株のHA価を測定した。分離AH1pdm09 5株のHA価は、4株が16および1株が32であった(表3)。分離AH3株のうち、HA試験を行った94株のHA価は、HI試験実施不可能となる8以下が82株で、HA試験を実施したAH3株の87.2%に達した。また、HA価16を示したものが8株、および同32を示したものが4株であった(表4)。分離B/Victoria 12株の各HA価は、32が1株、64が2株、128が4株、256が4株、および512が1株であった(表5)。分離B/Yamagata 12株のHA価は、32が1株、64が2株、128が5株、256が3株、および512が1株であった(表6)。

表3 分離AH1pdm09株の各HA価を示した株数

HA価	検体採取月*		計
	2013.1	3	
16	4	-	4
32	-	1	1

*: 分離可能となった月のみ記載

表4 分離AH3株の各HA価を示した株数

HA価	検体採取月							計
	2012.9	10	11	12	2013.1	2	3	
8 ≤	1	-	2	7	48	15	9	82
16	1	1	-	1	4	1	-	8
32	-	-	-	-	2	2	-	4

2013年4、5月はHA試験未実施

表5 分離B型Victoria系統株の各HA価を示した株数

HA価	検体採取月*				計
	2012.12	2013.1	2	3	
32	1	-	-	0	1
64	-	-	1	1	2
128	-	1	2	1	4
256	-	-	1	3	4
512	-	-	1	-	1

2013年4月はHA試験未実施

*:分離可能となった月のみ記載

表6 分離B型Yamagata系統株の各HA価を示した株数

HA価	検体採取月*			計
	2013.1	2	3	
32	-	1	-	1
64	1	1	-	2
128	2	-	3	5
256	-	1	2	3
512	-	1	-	1

2013年4月はHA試験未実施

*:分離可能となった月のみ記載

表7 分離AH1pdm09株の各HI価を示した株数

HI価	検体採取月*		計
	2013.1	3	
320	1	-	1
640	3	1	4

ホモ抗原に対するHI価:640

*:HI試験実施可能株の採取された月のみ記載

表8 分離AH3株(HA価16以上)の各HI価を示した株数

HI価	検体採取月*					計
	2012.9	10	12	2013.1	2	
640	1	-	1	1	-	3
2560	-	1	-	5	3	9

ホモ抗原に対するHI価:2560

*:HI試験実施可能株の採取された月のみ記載

表9 分離B型Victoria系統株の各HI価を示した株数

HI価	検体採取月*				計
	2012.12	2013.1	2	3	
640	1	-	4	5	10
1280	-	1	1	-	2

ホモ抗原に対するHI価:640

*:HI試験実施可能株の採取された月のみ記載

表10 分離B型Yamagata系統株の各HI価を示した株数

HI価	検体採取月*			計
	2013.1	2	3	
80	2	4	5	11
160	1	-	-	1

ホモ抗原に対するHI価:320

*:HI試験実施可能株の採取された月のみ記載

3) 各分離インフルエンザウイルス株のHI価

2012年9月から2013年3月の期間に分離された各インフルエンザウイルス株のうち、16以上のHA価を示した株に対しては、2012/13シーズンインフルエンザウイルス(AH1pdm09、AH3、B)同定用キットを用いて、引き続きHI試験を実施して各株のHI価を測定した。

分離可能となったAH1pdm09は、全株がHI試験実施可能となった。このうち320のHI価を示したものが1株、および640のHI価を示したものが4株で、全株がAH1pdm09ホモ抗原(免疫血清の作製に用いたインフルエンザウイルスワクチン株)のHI価(640)の4倍低下以内であった(表7)。HI試験実施可能となったAH3は12株で、上記期間に分離可能となったAH3株の12.8%であった。このうち640のHI価を示したものが3株、および2560のHI価を示したものが9株で、HI試験を行った全株がAH3ホモ抗原のHI価(2560)の4倍低下以内であった(表8)。分離可能となった

B型各系統株は、全株がHI試験実施可能となった。B/Victoriaでは、640のHI価を示したものが10株、および1280のHI価を示したものが2株で、B/Victoriaホモ抗原のHI価(640)と同等または2倍であった(表9)。また、B/Yamagataでは、80のHI価を示したものが11株、および160のHI価を示したものが1株で、全株がB/Yamagataホモ抗原のHI価(320)の4倍低下以内であった(表10)。

4) AH7、AH1pdm09およびAH3のリアルタイムRT-PCR法を用いた遺伝子検出検査

2013年3月31日に、中国においてAH7のヒトへの感染が認められたことが報告されたのを機に[13]、発症前10日以内に中国に渡航または居住していたインフルエンザ様疾患患者の咽頭ぬぐい液を用いて、各A亜型に対するリアルタイムRT-PCR法を用いた迅速遺伝子検出検査を実施することとなった[14]。当所においては、2013年4月16日および2013年4月30日に

各1例について、AH7を含むインフルエンザウイルスA型遺伝子検出検査を実施し、その結果検出されたウイルスは、それぞれAH3およびAH1pdm09であった。

5) 分離・検出AH1pdm09のオセルタミビル耐性化検索

2012/13シーズンに大阪市内で分離された5株のAH1pdm09および遺伝子検出検査でAH1pdm09が陽性となった1検体を用いて、それぞれのオセルタミビル耐性化の検索を行った結果、すべてがオセルタミビル感受性であった。

IV 考察

インフルエンザウイルスは、毎年冬季シーズンになると世界的な規模で流行を示すが、各シーズンの流行の主流となる型・亜型に関しては予測不可能で、また、流行の開始時期および継続期間は、各シーズンおよび各国(地域)によって異なっている[4-7, 18]。なお、日本における各シーズンのインフルエンザウイルス流行状況に関しては、国立感染症研究所をはじめとする各種のホームページにおいて、最新のインフルエンザ流行状況を提供する目的で、シーズン中の週単位での情報発信が行われている[19, 20]。

2012/13シーズンの大阪市内においては、2012年9月の段階でインフルエンザ様疾患患者の発生が認められ、これらの患者から採取された3検体のうちの2検体からAH3が分離された。大阪市内で9月にインフルエンザウイルスの分離が可能となるのは、2009年のAH1pdm09発生・流行時以外では非常にまれなことであるが、2012年夏季における同様のインフルエンザウイルス分離例は、沖縄県、大阪府および横浜市からも報告されている[21-23]。大阪市内を含むこれら夏季(6~9月)に分離されたインフルエンザウイルスはいずれもAH3で、日本における本シーズンの流行の主流となった[7]。なお、沖縄県においては、2005年以降年間を通してのインフルエンザ流行の発生が報告されているが、各年の夏季および冬季シーズンでは、流行株の型・亜型が同一の場合および異なる場合があるとされている[24]。2012/13シーズンに認められた様に、夏季に流行する型・亜型が引き続き冬季シーズンの主流になる可能性もあることから、夏季に認められるインフルエンザ流行の発生動向を注視することは、その後に発生する冬季の本格的なインフルエンザ流行の拡大予防および早期対策を行う上での重要な情報入手になることが考えられる。

2012/13シーズンに大阪市内において最も分離されたインフルエンザウイルスはAH3で全体の75.4%を占め、また、AH3が流行の主流となったのは2シーズン連続であった[17]。同様の結果は全国においても認

められ、また、シーズン終盤においてB型両系統が高い割合で分離された結果も、大阪市を含む全国において2シーズン連続で認められた。さらに、大阪市内において昨シーズンは分離されず、全国においてもわずかな分離例のみ(0.2%)が認められたAH1pdm09は、今シーズンの大阪市内においては分離・検出例が全体の4.6%(6例)となり、また、全国においては2%となった[6,7,17]。直近2シーズン(2011/12および2012/13)の流行インフルエンザウイルスの型・亜型を、報告のある北半球の温帯地域・国と比較してみると、ほとんどの地域・国において各シーズンの主流となった型・亜型は異なることが報告されている。たとえば、地域ではヨーロッパ、北アフリカおよび中東でAH3からAH1pdm09に、また、国ではカナダでBからAH3、メキシコでAH1pdm09からB、韓国でAH3からAH1pdm09およびAH3(混合流行)、モンゴルでBからAH1pdm09およびAH3(混合流行)、および中国北部でBからAH3、などである。なお、2シーズン連続で同じ型・亜型が主流となった国は、米国および日本のAH3のみであった[18, 25]。この点を踏まえて、来シーズンの大阪市を含む日本の主流となる型・亜型の動向に関して注目をしたいと考えている。また、世界的規模でのインフルエンザウイルスの流行状況を常に把握することは、流行状況の予測が不可能な本ウイルスの予防対策上の重要な情報収集の一つになるものと思われる。

インフルエンザの感染予防および軽症化には、ワクチン接種が最も有効とされ、その十分な効果を得るために、各シーズンに対するワクチン株の選定が、世界各国で収集された野外流行株の抗原性状解析、HA遺伝子解析、およびインフルエンザウイルス抗体保有調査などを総合的に評価した上で実施されている[2,3,9]。野外流行インフルエンザウイルス株の抗原性状については、インフルエンザウイルスワクチン株のフェレット免疫血清を用いたHI試験で得られたHI価でその性状を比較している。野外流行株のHI価がワクチン株(ホモ抗原)の値の4倍低下以内の場合、流行株はワクチン株の類似株とされ、ワクチン接種による感染予防・軽症化の効果があるとされている。逆に、野外流行株のHI価がワクチン株の値の8倍低下以上の場合、流行株はワクチン株の変異株とされ、ワクチン接種の効果は低いとされている[6,7,9]。2012/13シーズンに大阪市内で分離され、HI試験で型・亜型の同定が可能となった全41株のHI価は、AH1pdm09、AH3、B/VictoriaおよびB/Yamagataのいずれの株においても、各ホモ抗原のHI価の4倍以内の低下であった(このうち、B/Victoriaでは2株が2倍の上昇を示した)。2011/12シーズンの流行の主流となったAH3株のうち、HI価の測定結果から変異株とされたものは、大阪市内分離株では(HI試験実施可

能となったAH3株の) 14.9%、また、全国では約34%であったが[6, 17]、本シーズンにおいては、AH3以外の型・亜型においても、各ワクチン類似株がほとんどであった[7]。このことから、今シーズンのAおよびB型インフルエンザウイルスの野外流行株は、今シーズンのワクチン株に類似した抗原性状を保有していたこと、および今シーズンのワクチン接種効果は有効であったことが示唆された。

2013年4月1日に、WHOは中国においてAH7のヒトへの感染例が初めて確認されたことを発表した[13]。その後、本ウイルス感染者の発生は、おもに中国東部地域および台湾(中国本土渡航者)において認められたが、5月中旬以降、新規感染者の発生は減少傾向を示した。2013年5月29日の時点で、132人のAH7感染確認例および37人の死亡例が認められている[26]。日本におけるAH7の対応は、国内検査体制に関する情報提供が2013年4月15日に行われ(2013年5月2日に一部改正)[14]、その後AH7に対するリアルタイムRT-PCR法の各地方衛生研究所での実施体制が確立された[15]。さらに、2013年5月6日にAH7を指定感染症とする政令が施行されて現在に至っている[27]。当所においては、中国渡航後10日以内にインフルエンザ様疾患を発症して市内医療機関を受診し、さらにインフルエンザウイルス迅速診断キットにてA型陽性となったインフルエンザウイルス感染患者2名について、AH7を含むA亜型に対する遺伝子検出検査を2013年4月中に実施した。その結果、これらの患者から検出されたインフルエンザウイルスはAH1pdm09またはAH3となり、それ以上のAH7に対応する継続検査を実施する必要はなくなった。今般の世界的規模での交通および流通状況を鑑みれば、世界のある国・地域で発生した感染症が、またたく間に国内に侵入することは十分想定可能な事象である。なお、2009年のAH1pdm09の国内発生・流行時における経験が、今回の当所のAH7検査体制の整備および検査実施に対する明確な信頼となった[28]。今後のAH7の動向を注視すると共に、その他の新興・再興感染症を含めて、世界で発生中の感染症に関する最新情報を把握することは、緊急的な対応を求められる可能性のあるこれらの検査を迅速・確実に実施するためにも、現在の最重要課題であると考えている。

V 結論

2012/13シーズンに大阪市で分離・検出されたインフルエンザウイルスは、AH3が主流で全体の75.4%、次いでB型が20%となった。さらに、昨シーズンは分離されなかったAH1pdm09が4.6%となった。HI試験の実施が可能となった分離株のHI価の解析を行った。その結果、今シーズンの野外流行インフルエンザウ

イルスは、いずれの型・亜型においてもワクチン株に類似した抗原性状を保有することが示唆された。また、2013年3月に中国で新たに発生したAH7の遺伝子検出検査を、本ウイルス感染疑患者2名について実施したところ、これらの患者からAH7が検出されることはなく、それぞれAH1pdm09およびAH3が検出された。今後もAH7を含むインフルエンザウイルスの世界的流行状況の把握を行い、さらにそれらの検査体制を維持することが重要である。

参考文献

- 1) Russell C A, Jones T C, Barr I G, Cox N J, Garten R J, Gregory V, et al. Influenza vaccine strain selection and recent studies on the global migration of seasonal influenza viruses. *Vaccine* 2008; 26(suppl 4): D31-D34.
- 2) World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013 southern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2012; 87: 389-400.
- 3) World Health Organization. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2013-2014 northern hemisphere influenza season. *Wkly Epidemiol Rec* 2013; 88: 101-106.
- 4) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2009/10シーズンの季節性および新型インフルエンザ分離株の解析. *病原微生物検出情報* 2010; 31: 253-260.
- 5) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2010/11シーズンのインフルエンザ分離株の解析. *病原微生物検出情報* 2011; 32: 317-323.
- 6) 国立感染症研究所、独立行政法人製品評価技術基盤機構、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 2011/12シーズンのインフルエンザ分離株の解析. *病原微生物検出情報* 2012; 33: 288-294.
- 7) 国立感染症研究所、地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ. 国内インフルエンザ流行株の抗原性解析および薬剤耐性株の出現状況(途中経過). *病原微生物検出情報* 2013, 34: 141-142.
- 8) Xu R, Ekiert D C, Krause J C, Hai R, Crowe Jr J E, Wilson I A. Structural basis of pre-existing immunity to the 2009 H1N1 pandemic influenza virus. *Science* 2010; 328: 357-360.
- 9) 国立感染症研究所. 平成24年度(2012/13シー

- ズン)インフルエンザワクチン株の選定経過. 病原微生物検出情報 2013; 33: 297-300.
- 10) 小田切孝人, 進藤奈那子, 奥野良信, 河内可尚, 今井正樹, 前田章子, 他. 病原体検出マニュアル: インフルエンザ. 東京: 地方衛生研究所全国協議会、国立感染症研究所; 2003. 853-895頁.
 - 11) 国立感染所研究所. 病原体検出マニュアル H1N1 新型インフルエンザ (2009年11月 ver.2). 東京: 国立感染症研究所; 2009.
 - 12) Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol Evol* 2011; 28: 2731-2739.
 - 13) World Health Organization. Human infection with influenza A(H7N9) virus in China. http://www.who.int/csr/don/2013_04_01/en/index.html, (2013/6/14)
 - 14) 厚生労働省. 中国における鳥インフルエンザ A(H7N9) の国内検査体制について (情報提供). 事務連絡 2013 (平成25) 年4月15日
 - 15) 国立感染症研究所. 鳥インフルエンザ A(H7N9) ウイルス検出マニュアル (第1版) 東京: 国立感染症研究所; 2013.
 - 16) 国立感染症研究所. H1N1pdm オセルタミビル耐性株検出法実験プロトコール (2010年11月 Ver.1) 東京: 国立感染症研究所; 2009.
 - 17) 久保英幸, 改田 厚, 入谷展弘, 関口純一郎. 大阪市における2011/12シーズンのインフルエンザウイルス流行株の解析. *大阪市立環科研報告* 2012; 74: 1-4.
 - 18) World Health Organization. Review of the 2012-2013 winter influenza season, northern hemisphere. *Wkly Epidemiol Rec* 2013; 88: 225-232.
 - 19) 国立感染症研究所. インフルエンザ流行レベルマップ. <http://www.nih.go.jp/niid/flu-map.html>, (2013/6/14)
 - 20) 国立感染症研究所. インフルエンザウイルス分離・検出速報. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/jasr-inf.html>, (2013/6/14)
 - 21) 沖縄県感染症情報センター, 沖縄県衛生環境研究所, 沖縄県福祉保健部. 2011/12シーズン夏季におけるAH3亜型インフルエンザウイルスの流行 - 沖縄県. *病原微生物検出情報* 2012; 33: 242.
 - 22) 大阪府立公衆衛生研究所, 大阪府健康医療部, 大阪府吹田保健所. 8月に見られたAH3亜型インフルエンザウイルスの院内流行 - 大阪府. *病原微生物検出情報* 2012; 33: 270-271.
 - 23) 横浜市衛生研究所, 横浜市保健所, 横浜市立市民病院, 横浜栄共済病院. 2012/13シーズン最初に分離されたA(H1N1)pdm09、A(H3N2)亜型およびB型インフルエンザウイルスの性状 - 横浜市. *病原微生物検出情報* 2012; 33: 300-302.
 - 24) 沖縄県衛生環境研究所, 沖縄県感染症情報センター, 沖縄県福祉保健部. 2006/07シーズン夏季のインフルエンザ流行 - 沖縄県. *病原微生物検出情報* 2007; 28: 322-323.
 - 25) World Health Organization. Review of the 2011-2012 winter influenza season, northern hemisphere. *Wkly Epidemiol Rec* 2012; 87: 233-240.
 - 26) World Health Organization. Human infection with avian influenza A (H7N9) virus - update. http://www.who.int/csr/don/2013_05_29/en/index.html, (2013/6/14)
 - 27) 厚生労働省. 鳥インフルエンザ(H7N9)を指定感染症として定める等の政令の施行等について. 健発0426第19号 2013 (平成25) 年4月26日
 - 28) 久保英幸. 大阪市における新型インフルエンザウイルスA(H1N1)の遺伝子検出検査および流行状況 - 2009年4月～2010年3月. *生活衛生* 2010; 54: 219-228.