

宮崎県の感染症発生動向調査事業におけるウイルス検出報告（2024年）

新田真依子 水流奈己 成田翼 鬼塚咲良 矢野浩司 山口凌¹⁾

Infectious Agents (viruses) Surveillance Report in Miyazaki Prefecture, 2024

Shinden Maiko, Tsuru Nami, Narita Tsubasa, Onitsuka Sakura,
Yano Kouji, Yamaguchi Ryo

要旨

2024年に県内の医療機関等より感染症発生動向調査の検体が135件搬入され、79件のウイルスが分離・検出された。新型コロナウイルスのゲノム解析の検体が486件搬入され、311件が系統分類された。2024/2025シーズンに検出されたインフルエンザウイルスは、AH1pdm09が21件、AH3亜型が5件、B型が11件の計37件であった。

キーワード：新型コロナウイルス、インフルエンザウイルス

はじめに

本県では1981年7月から感染症発生動向調査事業を開始し、感染症の発生状況の正確な把握と解析を行い、その結果を速やかに県民や医療関係者に提供・公表するなど、感染症の発生及びまん延の防止に努めている。当研究所は、感染症発生動向調査事業実施要領に基づき搬入された検体について、ウイルスの検索を行っており、2024年の病原体検出状況を取りまとめたので報告する。

材料と方法

2024年1月から12月にウイルスの検索を目的として搬入された135検体、新型コロナウイルスのゲノム解析を目的として搬入された486検体を検査材料とした。

1 分離材料

1) 髄液、血漿及び血清検体は、そのまま分離材料とした。
2) 咽頭ぬぐい液、鼻咽頭ぬぐい液、鼻汁、気管内吸引液、喀痰及び唾液は、細胞培養用維持培地

[1%牛胎児血清加 Eagle's MEM（日水製薬）にペニシリン及びストレプトマイシンをそれぞれ100単位、100 γ /mLの割合で加えたもの]に浮遊させ3,000rpm 10分間遠心した上清を分離材料とした。

3) 尿は1,500rpm 10分間遠心した沈渣細胞を、2~3mLの細胞培養用維持培地に再浮遊させたものを分離材料とした。

4) 便は、細胞培養用維持培地で10%乳剤とした後、3,000rpm 20分間遠心し、遠心上清をさらに12,000rpm 10分間遠心した後、必要に応じてフィルター（ポアサイズ0.45 μ m）を通し分離材料とした。

5) 唾液（サリベット：ザルスタット）は、1,000g 2分間遠心したものを分離材料とした。

なお、検体は接種時まで-80 $^{\circ}$ Cで保存した。

2 細胞

Caco-2, Vero, HEp-2, RD-18S及びRD-A細胞の5種類を常時使い、麻疹が疑われる場合にはVero/hSLAM細胞を、インフルエンザウイルスが疑われる場合にはMDCK細胞を、パレコウイルスが疑われる場合にはLLC-MK2細胞をそ

れぞれ併用した。

3 分離

細胞培養によるウイルス分離は 96 穴マイクロプレート法で行った。単層培養した Caco-2, Vero, HEp-2, RD-18S 及び RD-A 細胞に検体を 1 穴あたり 30 μ L ずつ接種して 35°C 約 30 分間吸着後、維持培地を 100 μ L ずつ加え、CO₂ インキュベーターで 1 週間培養した。1 週間培養しても細胞変性効果 (CPE) が出現しなかった検体については、3 回凍結融解を行い、新しい細胞に継代した。4 代継代しても CPE が出現しなかったものはウイルス分離陰性とした。CPE が出現した検体については 3 回凍結融解後、3,000rpm 10 分間遠心した上清をウイルス液として同定を行った。

4 同定および検出

分離ウイルスの同定は、遺伝子検査、中和試験及び直接蛍光抗体法で行った。ウイルス分離出来なかった検体は、検査材料より遺伝子検査を行った。

インフルエンザウイルスについては、国立感染症研究所のインフルエンザ診断マニュアル (第 5 版, 令和 5 年 8 月) に従いリアルタイム RT-PCR 法で型別を行った。

ノロウイルスについては、ノロウイルス病原体検出マニュアル (第 1 版, 令和元年 6 月) に従いリアルタイム PCR 法で検査を行った。

サポウイルスについては、岡らのリアルタイム PCR 法¹⁾で検査を行った。

麻疹ウイルスの同定と遺伝子型別は麻疹診断マニュアル (第 4 版, 令和 4 年 10 月) に従い、N 遺伝子をターゲットとしたリアルタイム RT-PCR 法で行った。

検査材料からのエンテロウイルスの遺伝子検査は、篠原らの報告²⁾に従い RT-PCR 法で行った。分離されたエンテロウイルスについては、国立感染症研究所の手足口病病原体検査マニュアルに従って RT-PCR 法を行った。

パレコウイルスについては、吉富らの報告³⁾に従い RT-PCR 法で行った。

ヒト RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトライノウイルス、パラインフルエンザウイルス 1 型~4 型、ヒトコロナウイルス OC43

及び 229E の 9 種類の呼吸器 RNA ウイルスの遺伝子検査は、Bellau-Pujol らの方法⁴⁾を参考に、multiplex RT-PCR 法で行った。

ヘルペスウイルスについては、VanDevanter らの方法⁵⁾を参考に、nested PCR 法で行った。

分離・検出されたウイルスの一部について、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、NCBI の BLAST を用いて相同性検索を行い、MEGA を利用して系統樹解析を実施した。

新型コロナウイルスは、国立感染症研究所の新型コロナウイルス検出・分離マニュアル (令和 3 年 2 月 8 日版) に従い、リアルタイム one-step RT-PCR 法で SARS-CoV-2 遺伝子検出を行った。ゲノム解析は、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター作成の新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル (Qiagen 社 QiaSEQ FX 編 version 1.4(2022/01/27, NEB 社 ARTIC SARS-CoV-2 Companion Kit(ONT) 編 version 1.6(2022/01/27)で実施した。

結果および考察

搬入された 135 検体について検査した結果、79 件のウイルスが分離・検出された (表 1)。

このうち、インフルエンザウイルスが 38 件と最も多く、次いでライノウイルス、コクサッキーウイルス A6 型、ヘルペスウイルス 6 型及びパラインフルエンザウイルス 3 型が多かった。

1 インフルエンザウイルス

インフルエンザウイルスについては、流行期間の関係で 2024/2025 シーズンについて、解析を行った。

定点あたり患者報告数とウイルス検出数の推移を図 1 に示す。なお、2024 年第 15 週 (4 月 7 日) から急性呼吸器感染症 (ARI) サーベイランス開始に伴いこれまでのインフルエンザ/COVID-19 定点 (58 定点) から急性呼吸器感染症定点 (28 定点) へ変更され、同時に病原体定点及び調査の実施方法が変更になったため、単純に比較できない点に注意が必要である。

患者報告数は、2024 年第 45 週 (11 月初旬) から増え始め、2024 年第 50 週 (12 月中旬) に流行発生注意報基準値 (10.0) を超えた。その後、

第52週（12月下旬）と2025年第2週（1月初旬）に2峰生のピークとなった。第5週（1月下旬）には注意報基準値未満となった。

2024年9月から2025年6月までに分離・検

出されたインフルエンザウイルスはAH1pdmが21件、AH3が5件、B型が11件の計37件であった。B型は全てビクトリア系統であった。

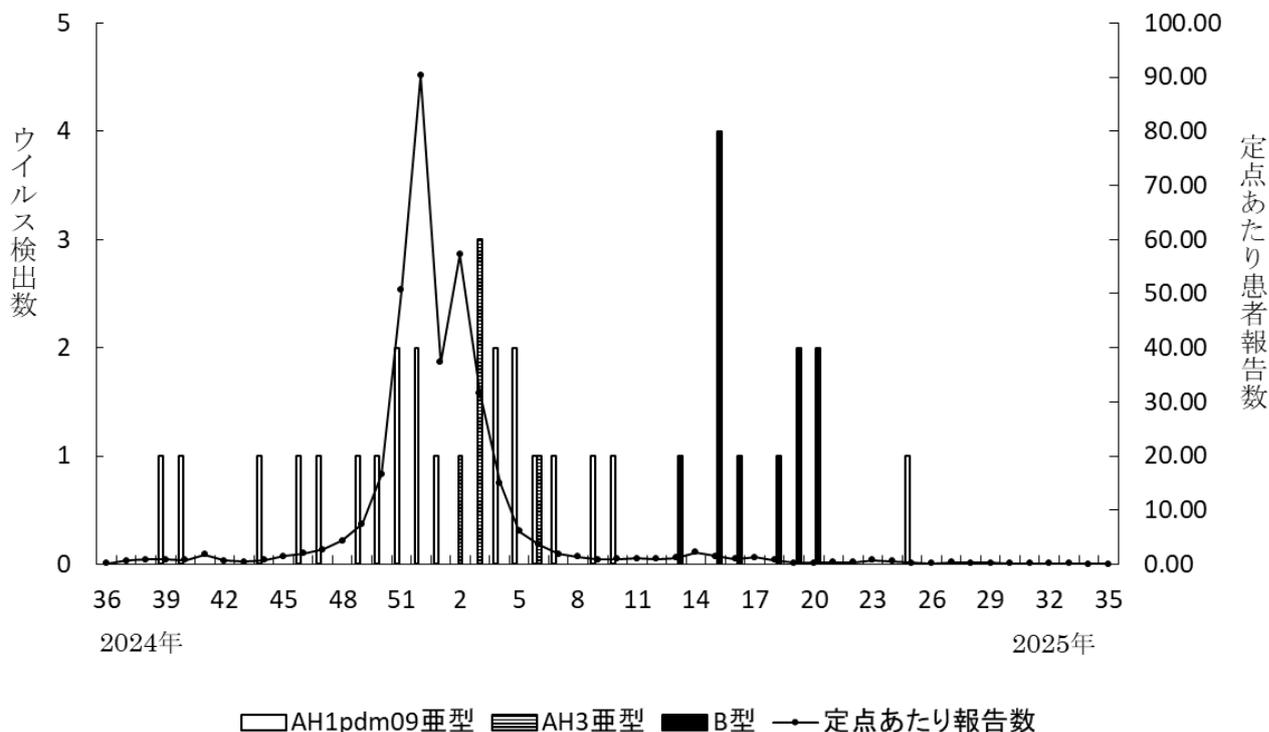


図1 インフルエンザのウイルス分離・検出数と定点あたり患者報告数の推移

2 ヒトライノウイルス

3月、6月、7月、11月及び12月に1例ずつ検出された。検出された5例のうち2例に上下気道炎の呼吸器症状があった。残りの3例は肝機能障害2例、弛緩性麻痺1例であった。また、1例はヒトヘルペス6型との重複感染であった。

3 エンテロウイルス

2月から10月にかけてコクサッキーウイルスが7例分離・検出された。A6型が5例6件、A16型が1例、B2型が1例2件であった。

A6型は、全て発疹性疾患で2歳2例、3歳、5歳、42歳がそれぞれ1例であった。A16型は発疹性疾患で5歳であった。B2型は髄膜炎で0歳であった。

4 新型コロナウイルス（全ゲノム解析）

2024年に検出された株は全てオミクロン株であった。1月から3月までは、BA.2.86系統、及びXBB系統のEG.5.1系統が多く検出された。6月から8月までは、BA.2.86系統のKP.3系統（BA.2.86.1系統）が主流となり感染が拡大した。（表3）

謝辞

2024年の感染症発生動向調査事業において検査材料を提供して下さった、感染症発生動向調査事業定点医療機関並びに検体採取にご協力いただいた医療機関の先生方に深謝いたします。

参考文献

- 1) Oka T, Katayama K, Hansman GS, et al. Detection of Human Sapovirus by Real-Time Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction . Journal of Medical Virology 2006;78:1347-1353.
- 2) 篠原美千代, 内田和江, 島田慎一, 他. コクサッキーウイルス A16 型及びエンテロウイルス 71 型の検査法の検討. 感染症学雑誌 1999;73:749-757.
- 3) 吉富秀亮, 石橋哲也, 世良暢之. 福岡県におけるヒトパレコウイルス検出状況. 福岡県保健環境研究所年報 2012;39:99-100.
- 4) Bellau-Pujol S, Vabret A, Legrand L, et al. Development of three multiplex RT-PCR assays for the detection of 12 respiratory RNA viruses . Journal of Virological Methods 2005;126:53-63.
- 5) VanDevanter D.R, Warrenner P, Bennett L, et al. Detection and Analysis of Diverse Herpesviral Species by Consensus Primer PCR . Journal of Clinical Microbiology 1996;34:1666-1671.

表 1 宮崎県における月別ウイルス検出数 (2024 年)

ウイルス名	月												計
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
Adenovirus 1						1							1
Adenovirus 3	1												1
Adeno virus 31											2		2
Coxsackievirus A6		1	2	1	2								6
Coxsackievirus A16										1			1
Coxsackievirus B2							2						2
Rhinovirus			1			2	1				1	1	6
Cytomegalovirus				2									2
Human herpes virus 6				1		2			2		1		6
Human herpes virus 7			1								1		2
Parvovirus B19										1			1
Influenza virus A H1pdm09	3	2				1			1	2	1	6	16
Influenza virus A H3	3		1										4
Influenza virus B	2	6	5	5									18
Parainfluenza virus 1				1									1
Parainfluenza virus 3				1	1	4							6
RS virus							1						1
Human metapneumovirus	1												1
SARS-CoV-2	1							1					2
Total	11	9	10	11	3	10	2	3	3	4	6	7	79

表 2 宮崎県における新型コロナウイルス系統別ゲノム解析数 (2024 年)

系統名	月												計												
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月													
BA.2																									
BA.2.86 (JN.1系統を除く)													13	16	7	3	39								
JN.1系統 (JN.1.11.1系統を除く)													23	13	3	3	6	1	1	50					
JN.1.11.1系統 (KP.3系統を除く)																	3	4	1	8					
KP.3系統 (KP.3.1.1系統を除く)															2		13	71	26	1	1	1	115		
KP.3.1.1系統																		2	1	2	2	1	2	10	
オミクロン株																									
XBB.1																	4							4	
XBB.1.5系統 (XBB.1.5.70系統を除く)																	2							2	
XBB.1.5.70																	2							2	
XBB.1.9系統																	17	2	11					30	
EG.5.1系統 (HK.3系統を除く)																	12	3						15	
HK.3系統																	12	3						15	
XBB.2	XBB.2.3												5									5			
JE.1.1																								4	
XDA															3	1								4	
XDD																1								1	
XDP																	1							1	
XDQ系統																	1	6	3	8		1		19	
XDR																	1	2						3	
XEC																							2	3	5
Total													79	38	32	9	17	18	76	27	3	3	3	6	311

表3 宮崎県におけるウイルス検出数の推移（2015年～2024年）

ウイルス名											計
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	
Adenovirus 1	1		5	2	2		1	1	1	1	14
Adenovirus 2	2	1	4	2	2		1				12
Adenovirus 3	2	1	1		2	2			1	1	10
Adenovirus 5		1	2								3
Adenovirus 6			1		1		5				7
Adenovirus 31		1								2	3
Adenovirus 35				1							1
Adenovirus 54	2										2
Adenovirus NT		1			3						4
Coxsackievirus A2	1		3								4
Coxsackievirus A4				1	2	1					4
Coxsackievirus A5		1			1						2
Coxsackievirus A6	31	5	36	5	20			2	2	6	107
Coxsackievirus A9	25			2					2		29
Coxsackievirus A10	5		9		3				1		18
Coxsackievirus A16	5	22		2						1	30
Coxsackievirus B1			5								5
Coxsackievirus B2			1							2	3
Coxsackievirus B3				4	1						5
Coxsackievirus B4	7				4						11
Coxsackievirus B5		13			12				6		31
Echovirus 3	16								3		19
Echovirus 5			2								2
Echovirus 6		5	1				17				23
Echovirus 7			1								1
Echovirus 9		6	2	5		5					18
Echovirus 11				4							4
Echovirus 16	8	7									15
Echovirus 18	3	29	4	13							49
Echovirus 25	2	9	2								13
Echovirus 30					3	2					5
Parechovirus 1	3	4	2	1				1			11
Parechovirus 3		29	2	3	11			10			55
Parechovirus 6			1								1
Parechovirus NT					3						3
Enterovirus D68	7			2							9
Enterovirus 71			3	12							15
Rhinovirus	32	29	35	13	13	3	2	5	8	6	146
Herpes simplex virus 1	5	2	9	6	2	1	1				26
Herpes simplex virus 2			1								1
Varicella-zoster virus	3	3	2								8
Cytomegalovirus	4	3	1	1	1	1		2	1	2	16
Epstein-Barr virus				1							1
Human herpes virus 6	13	8	9	12	8	10	1	5	3	6	75
Human herpes virus 7	1	1	3	1		2		1		2	11
Hepatitis A virus			1	19		6					26
Parvovirus B19	1	7		6						1	15
Influenza virus A H1pdm09	1	26	36	18	55	32			19	16	203
Influenza virus A H3	25	17	84	32	31			2	80	4	275
Influenza virus B	1	20	50	42	2	7			3	18	143
Parainfluenza virus 1	1	9	4		4	1				1	20
Parainfluenza virus 3	3	13	7	4	4		1		2	6	40
Parainfluenza virus 4			1						1		2
RS virus	30	18	6	6	2	1	1	1	2	1	68
Human metapneumovirus	29	4	8	2	2	1			1	1	48
Human coronavirus	2		2	4							8
Measles virus			5		2						7
Mumps virus		4	2				1				7
Rubella virus				6	2						8
Rotavirus			2								2
Norovirus	5	6	4		1	1					17
Dengue virus 1	2				1						3
Dengue virus 3		2			1						3
Dengue virus NT					2						2
Chikungunya virus		1			2						3
SARS-CoV-2						362	1,260	3,836	5	2	5,465
Total	278	308	359	232	205	438	1,291	3,866	141	79	7,197