

茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況（2016/17シーズン）

○土井 育子, 黒澤 美穂, 梅澤 昌弘, 後藤 慶子, 本谷 匠, 永田 紀子

要旨

2016/17シーズンにおけるインフルエンザの茨城県内の発生動向は、2016年第46週に流行指数が1.33となり流行が始まった。第4週に流行のピークとなり、第19週に流行指数が1.00を下回り終息した。2016/17シーズンはAH3が流行の主流であった。感染症発生動向調査に基づくインフルエンザウイルスサーベイランス等に基づき採取された検体について、リアルタイムRT-PCR法による遺伝子検出、細胞培養によるウイルス分離、分離株の同定および抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを行ったので、報告する。

キーワード：インフルエンザ 感染症発生動向調査 リアルタイムRT-PCR法 ウイルス分離 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

1. まえがき（序文）

全国における2016/17シーズンの流行状況は、2016年第46週に定点当たりの報告数（流行指数）が流行開始の指標である1.00を上回り（1.38）、平年より1カ月程度早い立ち上がりであった。2016/17シーズンは、2シーズンぶりにAH3が流行の主流であった¹⁾。

一方県内では、全国と同じく2016年第46週に流行指数が1.33となり、インフルエンザの流行が始まった。第51週には流行指数が10.08となり注意報が、第4週には31.85となり警報が発令された。同第4週に流行はピークを迎え、第12週に警報解除（8.35）、第19週には流行指数が1.00を下回り（0.58）、終息した²⁾（図1）。

県内の状況を前シーズンと比べると、流行の開始は7週早く、流行のピークも2週早かった。ピーク時の流行指数は前シーズン（39.44）よりも小さく、過去3シーズンでは最小であった。流行指数が10.00を下回ったのは前シーズンよりも1週早かった²⁾。

衛生研究所では感染症発生動向調査におけるウイルスサーベイランスに基づき病原体定点医療機関で採取された検体および重症例や

集団発生事例で採取された検体等について遺伝子検査、ウイルス分離、血清型別等の検査を行っている。また、AH1pdm09分離株については「2016/2017シーズン抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス実施要綱」に基づき耐性マーカーの同定を行っている。2016/17シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

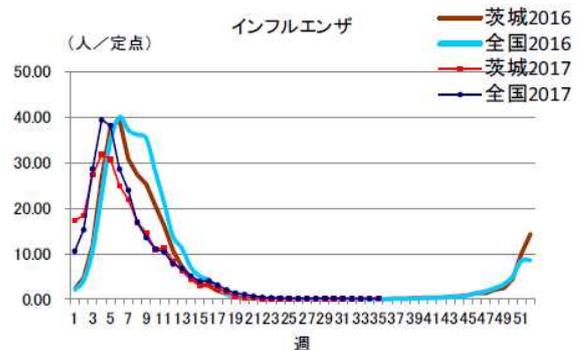


図1 定点あたり患者数（茨城県・全国）

2. 実験（調査）方法

2-1材料

2016年9月1日から2017年8月31日までの間、県内のインフルエンザ病原体定点医療機関でウイルスサーベイランスの一環として採取さ

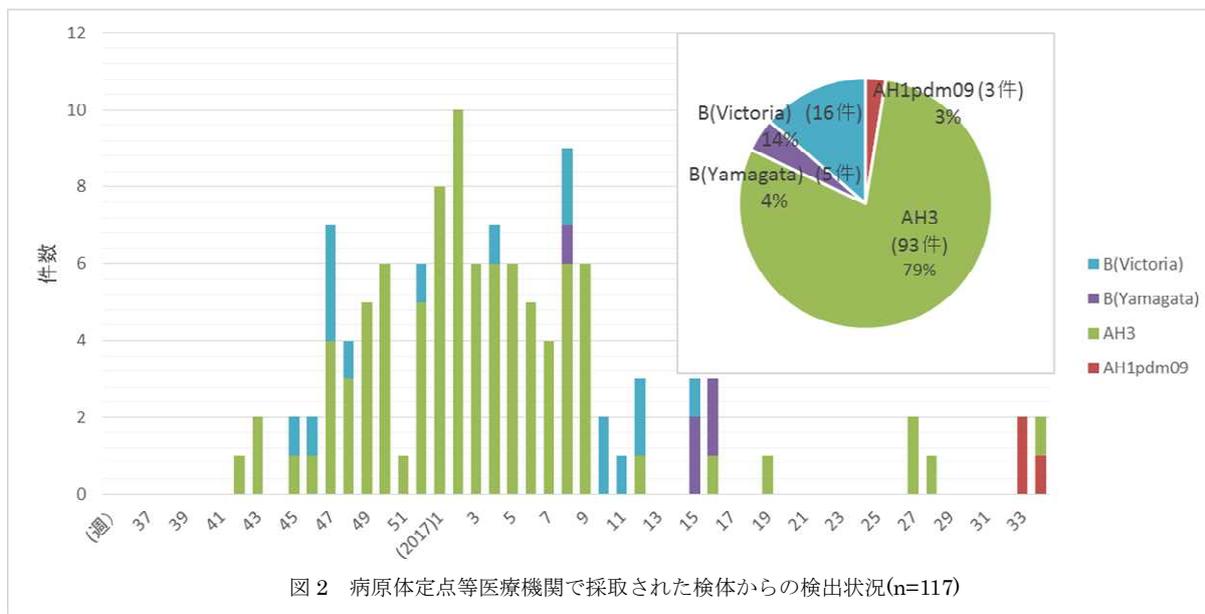


図2 病原体定点等医療機関で採取された検体からの検出状況(n=117)

れた咽頭または鼻腔ぬぐい液112検体(112件(名)分), その他の医療機関で入院・重症例または海外渡航例として採取された7検体(咽頭及び鼻腔ぬぐい液3検体, うがい液1検体, 喀痰2検体および血清1検体(計5件(名)分)), 学校等集団発生事例(15事例)で採取された103検体(鼻かみ液71検体およびうがい液32検体(計80件(名)分)), 病院・介護施設等における集団発生例(8事例)で採取された29検体(鼻かみ液4検体, 咽頭および鼻腔ぬぐい液25検体(計26件(名)分))の計251検体(223件(名)分)を検査材料とした。

2-2方法

-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検索

衛生研究所に搬入された臨床検体を, QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いてRNAを抽出し, リアルタイムRT-PCR法によるA型ウイルス共通のM遺伝子, AH1pdm09, AH3, B型, B型ビクトリア系統およびB型山形系統のHA遺伝子の検索を行った。方法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3版)(平成24年9月)」に従って行った。

-2. インフルエンザウイルスの分離

搬入された検体を, 48穴マイクロプレートに培養したMDCK細胞に接種し, トリプシンを添加した維持培地を用いて5%CO₂, 35℃で7日間培養した。このうち, 細胞変性効果(CPE)が確認されたものについて培養液を回収し, 遠心した上清を用いて赤血球凝集(HA)試験を行った。

赤血球凝集試験には0.75%モルモット赤血球浮遊液を用いた。細胞変性効果がみられなかったものについては3代目まで継代培養を行った。

-3. 分離ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたウイルスについて0.75%モルモット赤血球浮遊液を用いた赤血球凝集抑制(HI)試験を行い, 同定を行った。HI試験には国立感染症研究所配布の2016/17シーズン用インフルエンザウイルス同定キット, A/California/07/2009((H1N1)pdm09) A/Hong Kong/4801/2014(H3N2) B/Phuket/3073/2013(Yamagata系統) B/Texas/2/2013(Victoria系統)の各不活化ウイルス抗原および抗血清(ウサギ免疫血清)を用いた。分離されたウイルスのう

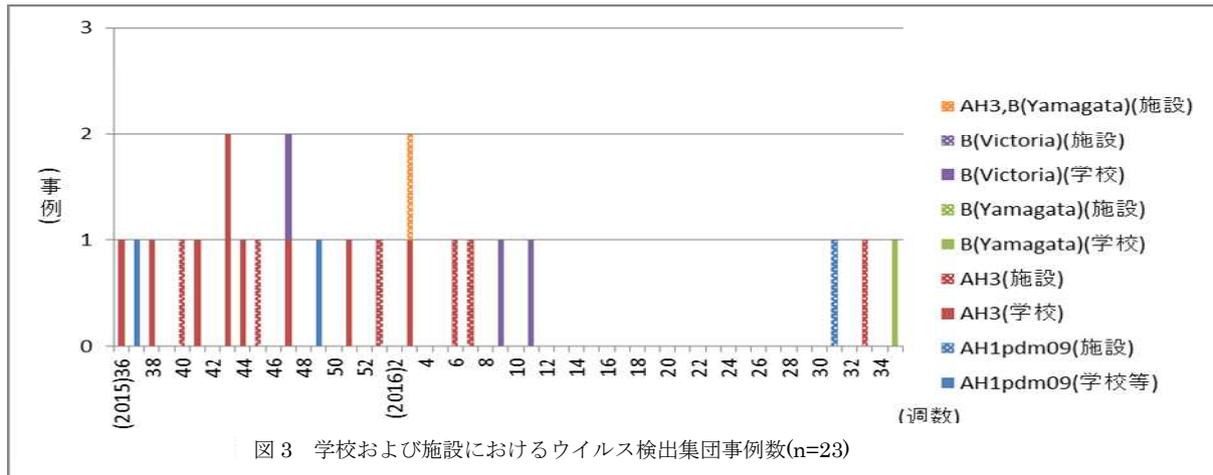


図3 学校および施設におけるウイルス検出集団事例数(n=23)

ち、HA価が十分に得られなかったウイルス株についてはリアルタイムRT-PCR法による同定を行った。

- 4. 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定
分離されたAH1pdm09ウイルスについては、「A/H1N1pdm09 H275Y耐性株検出法実験プロトコールver.2 (国立感染症研究所)」にしたがい、One-step RT-PCR(TaqMan Probe法)により、NA阻害薬耐性マーカーであるNA遺伝子上のH275Y変異の有無を調べた。

3. 結果

-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検索

検査を行った223件のうち、209件(93.7%)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、AH1pdm09が17件(8.1%)、AH3が158件(75.6%)、B型Yamagata系統が13件(6.2%)、B型Victoria系統が21件(10.0%)であった。

また週別の検出状況について、病原体定点等医療機関で採取された検体からの検出件数(n=117)を図2に、学校および施設における集団事例数(n=23(92件分))を図3に示した。

-2. インフルエンザウイルスの分離

搬入された検体のうち、リアルタイムRT-PCRで陽性であった228検体(203件)につ

いてウイルス分離培養した結果、161検体(159件)よりウイルスが分離された。

検体の種類ごとに分離陽性率をみると、咽頭および鼻腔ぬぐい液が93.4%(136検体中127検体で分離)、鼻かみ液が44.8%(67検体中30検体で分離)、うがい液が13.0%(23検体中3検体で分離)、喀痰が50.0%(2検体中1検体で分離)であった。

-3. 分離ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたウイルス161株について、赤血球凝集抑制試験(HI)およびリアルタイムRT-PCRにより血清型別を行ったところ、AH1pdm09が5株(5件)、AH3が125株(123件)、B型Yamagata系統が12株(12件)、B型Victoria系統が19株(19件)であった。

-4. 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定

分離されたAH1pdm09 5株(5件分)について、One-step RT-PCR(TaqMan Probe法)によりH275Yの耐性マーカーの検索を行った結果、耐性マーカーを保有する株は検出されなかった。

4. まとめと考察

2016/17シーズンは、流行の開始が前シーズンと比べ7週早かった(第46週)。またピークを迎えたのは2週、終息は1週早かった。ピークの高さは、全国では過去3シーズンと同程度

であったが¹⁾、県内では最小であった。

シーズンはじめの2016年第36週から41週にかけて、県内では幼稚園や小中学校、病院における集団感染が5事例相次いで発生した。検査の結果、推定原因ウイルスはAH1pdm09が1事例、AH3が4事例であった³⁾。このことから、2013/14シーズンに見られたような混合流行⁴⁾となることも予想されたが、その後は前述のとおり、AH3が流行の主流となったシーズンであった。B型については、病原体定点等医療機関から提出された検体からはシーズンを通して主にVictoria系統が検出され、第9週および終息間際の時期（第15週および16週）にはYamagata系統も検出された。しかし、2017年第3週には北部の高齢者施設でYamagata系統とAH3の混合感染事例が発生し、期間中に少なからずYamagata系統も流行していた可能性がうかがえた。

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された、今シーズンのAH3のHA遺伝子系統樹解析によると、全国で分離されたすべての株はサブクレード3C.2aに属していた¹⁾。また近年、サブクレード3C.2aから派生したサブクレード3C.2a1に属する株の増加傾向が認められている。本県において分離されたAH3のうち4株についても解析が行われた結果、1株はサブクレード3C.2a、3株はサブクレード3C.2a1に分類され⁵⁾、県内においても3C.2a1に属する株の流行が認められた。さらに、これら4株について行われた中和試験による抗原性解析では4株すべてがワクチン株のA/Hong Kong/4801/2014の類似株と判定されているが⁵⁾、全国の傾向と同様ワクチン製造株A/Hong Kong/4801/2014(X-263)とは抗原性の相違がみられた⁶⁾。

また、県内事例からは5株のAH1pdm09が分離された。これらについて抗インフルエンザ薬

耐性マーカの検索を行った結果、県内分離株から耐性マーカ獲得株は検出されず、その流行は認められなかった。全国的には解析359株中3株にオセルタミビルおよびペラミビルに対する耐性が認められているが、地域への拡がりは見られなかった⁶⁾。またAH3およびB型の耐性株は検出されなかった⁶⁾。しかし2015/16シーズンは県内でも2株の耐性獲得AH1pdm09が検出されており⁷⁾、それらが公衆衛生上に与える影響を考慮すると、今後も引き続きサーベイランスを継続する必要があるものと考えられる。

県内では2016/17シーズンの終盤となる2017年第31週から35週にかけて、施設や学校で集団感染が3事例発生し、AH1pdm09、AH3、およびB型Yamagata系統がそれぞれ検出されている（図3）。また、第35週には病原体定点医療機関から提出された2検体からAH1pdmとAH3が1件ずつ検出されるなどウイルスが混在している様子がうかがえる（図2）。引き続き今後もその発生の動向には注意していきたい。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, 今冬のインフルエンザ
について (2016/17シーズン)
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1617.pdf>
- 2) 茨城県感染症流行情報 (週報), 茨城県感
染症情報センター
<http://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/idwr/index.html>
- 3) 土井育子, 他,
IASR Vol. 37:231-233, 2016
- 4) 土井育子, 他,
茨城県衛生研究所年報 第52号
http://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/kikaku/documents/annualreport_2014_1.pdf
- 5) NESID 「病原体検出情報システム」
- 6) 国立感染症研究所ホームページ
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>
- 7) 土井育子, 他,
茨城県衛生研究所年報 第54号
http://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/kikaku/annualreport/documents/no54_2016.pdf