

茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況 (2019/20 シーズン)

○齋藤 葵, 大橋 慶子, 大澤 修一, 後藤 慶子, 本谷 匠¹, 岩間 貞樹

¹現:筑西保健所

要旨

茨城県における 2019/20 シーズンのインフルエンザの定点あたりの患者数は、2019 年第 45 週に流行開始の指標である 1.00 を上回った。続いて 2020 年第 1 週に流行のピークとなり、第 11 週に定点当たり報告数が 1.00 を下回り終息した。シーズンを通して AH1pdm09 が多く検出された。

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

全国における 2019/20 シーズンのインフルエンザの定点当たり報告数は、2019 年第 45 週に流行開始の指標である 1.00 を上回り、流行開始となった。この流行開始は前シーズン (2018/19 シーズン) 同様、早い開始であった。ピークは 2019 年第 52 週の定点当たり報告数 23.24 であり、過去 2 シーズンのピークの報告数と比べて約 50%であった。

2019/20 シーズンに検出されたインフルエンザウイルスを亜型別にみると、前半は AH1pdm09 が大部分を占めたが、後半は B 型ビクトリア系統が増加しはじめ、終盤には A 型全体を上回った。シーズンを通して AH3 の検出は少なく、B 型山形系統はほとんど検出されなかった。B 型はビクトリア系統が大部分を占め、2018/19 シーズンから継続してビクトリア系統が優勢であった。2020 年第 17 週以降、インフルエンザの検出は報告されていない (2020 年 7 月 21 日現在)¹⁾。

一方県内では、2019 年第 45 週に定点当たり報告数が 1.13 となり、インフルエンザの流

行が開始した。2019 年第 50 週には定点当たり報告数が 14.96 と増加し、県全域注意報が発令された。2020 年第 1 週に流行はピークを迎えた (24.98)。そして第 11 週には 1.00 を下回り (0.51)、県全域注意報が解除された。シーズンを通して、定点あたり報告数が 30 を超えなかったため、県全域警報は発令されなかった²⁾ (図 1)。

県内の流行状況を前シーズンと比較すると、流行の開始は 1 ヶ月ほど早く (前シーズンの流行入り：2018 年第 49 週)、流行のピークは 2 週ほど早かった (前シーズンピーク：2019 年第 3 週)。ピーク時の定点当たり報告数の値は前シーズンのピーク時の報告数 (68.05) と比べて約 37%であった。定点当たり報告数が 1.00 を下回ったのは、前シーズンより 2 週ほど早かった (前シーズンの県全域注意報解除：2020 年第 13 週)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

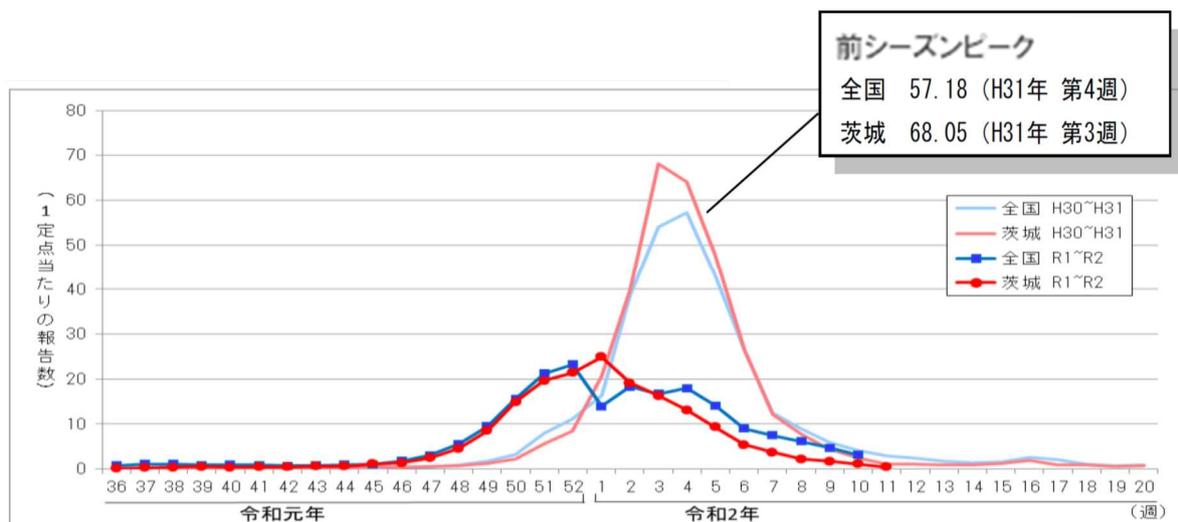


図1 定点あたり患者数(茨城県・全国)

伝子検査，ウイルス分離，分離株の同定等の検査を行っている。また，「2019/2020 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，AH1pdm09 分離株については NA H275Y 耐性マーカーの同定，全ての分離株については PA I38X 耐性マーカーの同定を行っている。2019/20 シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

2 材料と方法

2.1 材料

2019年9月2日から2020年8月30日までの間に，県内のインフルエンザ病原体定点医療機関においてウイルスサーベイランスの一環として採取された50検体(咽頭および鼻腔ぬぐい液47検体，鼻かみ液2検体，気管吸引液1検体)(計50名)，その他の医療機関で重症例として採取された23検体(咽頭および鼻腔ぬぐい液9検体，髄液6検体，血清8検体)(計9名)，学校等集団発生事例(11事例)で採取された75検体(鼻腔ぬぐい液5検体，鼻かみ液49検体，うがい液21検体)(計59名)の計148検体(118名)を検査材料とした。

2.2 方法

2.2.1 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のHA遺伝子，B型ウイルス共通のNS遺伝子，B型山形系統およびB型ビクトリア系統のHA遺伝子の検索を行った。方法は「インフルエンザ診断マニュアル(第4版)(平成30年12月)(国立感染症研究所)」に従った。

2.2.2 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。細胞変性効果が確認されたものは培養液を回収し，遠心分離後，上清を用いて赤血球凝集(HA)試験を行った。HA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。

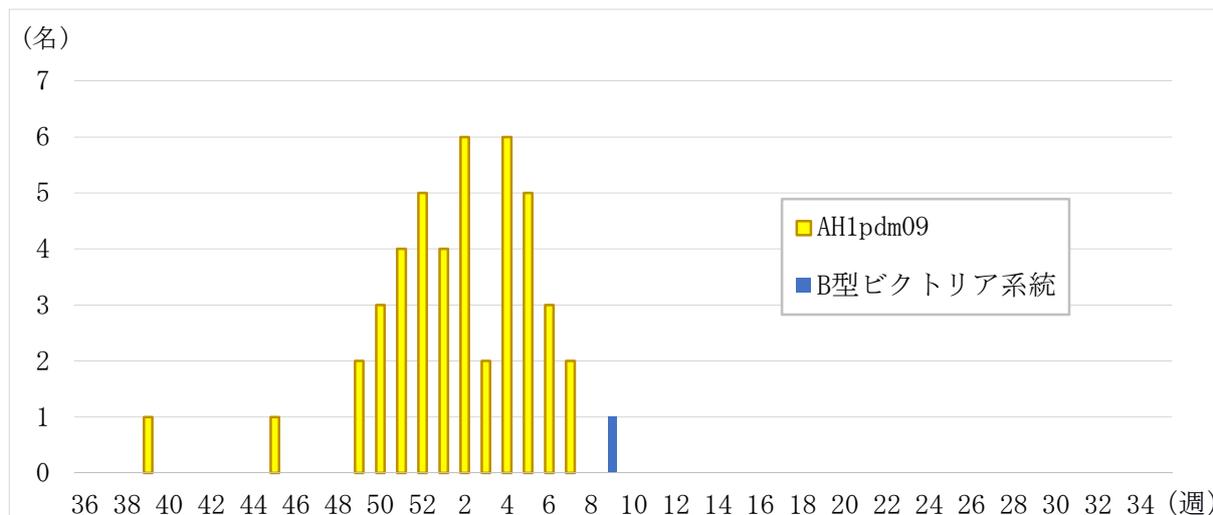


図2 病原体定点等医療機関で採取された検体からのインフルエンザウイルス検出人数 (45名)

2.2.3 分離ウイルス株の同定

HA 価が十分に得られた分離ウイルス株は、0.75%モルモット赤血球浮遊液を用いた赤血球凝集阻止 (HI) 試験を行い、分離されたウイルスの同定を行った。HI 試験には国立感染症研究所配布の 2019/20 シーズン用インフルエンザウイルス同定キット

AH1pdm09: A/ブリズベン/02/2018

AH3: A/カンザス/14/2017

B 型山形系統: B/Phuket/3073/2013

B 型ビクトリア系統: B/Maryland/15/2016

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。HA 価が十分に得られなかった分離ウイルス株は、リアルタイム RT-PCR 法による同定を行った。

2.2.4 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定(NA H275Y)

分離された AH1pdm09 ウイルスは、「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)」に準じ、One-step RT-PCR (TaqMan Probe 法) を用いて、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。

2.2.5 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定(PA I38X)

分離されたインフルエンザウイルスは、「インフルエンザ診断マニュアル (第4版) (平成 30 年 12 月) (国立感染症研究所)」および「PA I38T 耐性変異検出法実験プロトコール (2019 年 9 月 ver.1) (国立感染症研究所)」に準じ、シーケンス法を用いて、バロキサビル耐性マーカーである PA 遺伝子上の I38X 変異の有無を調べた。

3 結果

3.1 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 118 名 (148 検体) のうち、100 名 (84.7%) からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。型・亜型別検出人数は AH1pdm09 が 99 名 (99.0%)、B 型ビクトリア系統が 1 名 (1.0%) 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人数 (45 名) を図 2 に、学校等における集団事例数 (11 事例) を図 3 に示した。

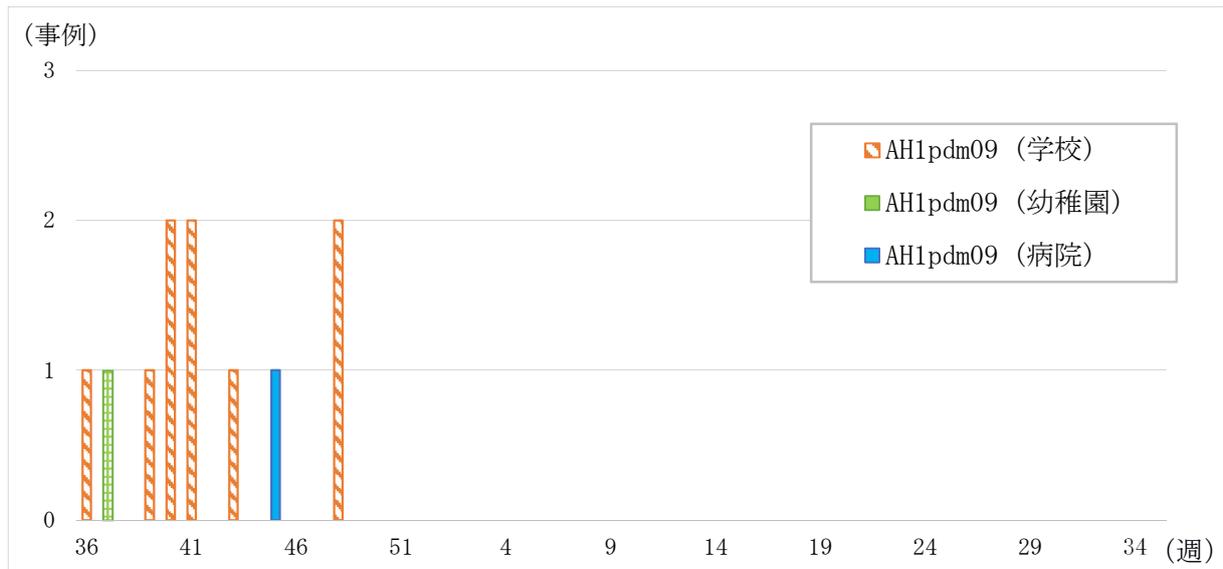


図3 学校および施設におけるインフルエンザウイルス検出集団事例数 (11事例)

3.2 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 法で陽性であった 104 検体 (100 名) についてウイルス分離培養検査を行った結果、79 検体 (79 名) からウイルスが分離された。

検体の種類別の分離陽性率は、咽頭および鼻腔ぬぐい液が 92.9% (56 検体中 52 検体)、鼻かみ液が 76.5% (34 検体中 26 検体)、うがい液が 7.7% (13 検体中 1 検体)、気管吸引液が 0% (1 検体中 0 検体)であった。

3.3 分離ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたインフルエンザウイルス 79 株について、HI 試験およびリアルタイム RT-PCR 法により型・亜型の同定を行ったところ、AH1pdm09 が 78 株 (78 名)、B 型ビクトリア系統が 1 株 (1 名)であった。

3.4 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定 (NA H275Y)

分離された AH1pdm09 78 株 (78 名) について、One-step RT-PCR (TaqMan Probe) 法により H275Y の耐性マーカーの同定を行った

結果、H275Y 耐性変異株が 1 株、H275H/Y 耐性ミックス株が 1 株、Undetermined と判定された株が 2 株であった。

3.5 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定 (PA I38X)

分離されたインフルエンザウイルス 79 株 (79 名) について、PA 遺伝子のシーケンス法により PA I38X 耐性マーカーの同定を行った結果、バロキサビル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

県内の 2019/20 シーズンのインフルエンザの流行開始は、全国と同様に 2019 年第 45 週であった。ピークは全国と比べ 1 週遅かった¹⁾²⁾。

2019/20 シーズンに検出された亜型別のインフルエンザウイルス検出状況を全国と比較すると、全国と同様に前半は AH1pdm09 が大部分を占めたものの、後半は全国にみられたような B 型ビクトリア系統の増加はなく、シーズンを通して AH1pdm09 が多く検出され

た。AH3 および B 型山形系統の検出はなかった。

県内で発生した学校および施設における集団感染 11 事例では、全て AH1pdm09 が検出された。最初の集団感染事例は 2019/20 シーズン開始の直後である 2019 年第 36 週に発生した。

全国における検出状況を前シーズンと比較すると、前シーズンは、前半は AH1pdm09 が、後半は AH3 が大きく増加し、B 型も検出数は少ないもののシーズン終盤にビクトリア系統を中心に検出された。しかし 2019/20 シーズンでは、前半は AH1pdm09 が大部分を占め、後半は B 型ビクトリア系統が増加しはじめ、終盤には A 型全体を上回った。

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は、HA 遺伝子系統樹解析や HI 試験による抗原性解析が行われている。AH1pdm09 の HA 遺伝子系統樹解析の結果、解析株は全てサブクレード 6B.1 より派生した 6B.1A 内の 183P-5 群に分類された。2020 年 1 月以降には、抗原性に影響を与え得る N156K 変異を持つ群が 183P-5A 群内に検出された。さらに HI 試験による抗原性解析では、解析した分離株の 9 割以上が、ワクチン株の A/ブリズベン/02/2018 の類似株と判定されたが、183P-5A 群内の N156K 変異を持つ群では反応性の低下が認められた。

AH3 の HA 遺伝子系統樹解析によると、2019/20 シーズンに解析したほとんどの分離株は、サブクレード 3C.2a1b 群内に派生した群に属していた。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行われた中和試験による抗原性解析の結果、国内外の流行株は、試験した株のほぼ全てが今シーズンのワクチン株 A/カンザス/14/2017 (クレード 3C.3a) の細胞分離株と抗原的に乖離していた。

これは流行株がクレード 3C.2 に属したためである。また、今シーズンの流行株は抗原性の異なる株の混合流行がみられた。

B 型山形系統については、国内分離株 2 株についてのみ抗原性解析が行われた。HI 試験による抗原性解析の結果、1 株は今シーズンのワクチン株 B/プーケット/3073/2013 と抗原性が類似し、もう 1 株は B/プーケット/3073/2013 との反応性が低下していた。HA 遺伝子系統樹解析の結果、いずれも B/プーケット/3073/2013 と同じクレード 3 に属していた。

B 型ビクトリア系統の HA 遺伝子系統樹解析の結果、2019/20 シーズンの流行株は、全てクレード 1A.3 (HA に 3 アミノ酸欠損をもつ群) に属した。流行株と 2019/20 シーズンの B 型ビクトリア系統 WHO ワクチン推奨株 B/コロラド/06/2017 (HA に 2 アミノ酸欠損をもつクレード 1A.1) に対する血清との反応性は、あまりよくなかった。

また、県内事例で分離された AH1pdm09 78 株について抗インフルエンザ薬耐性マーカー (NA H275Y) の検索を行った結果、H275Y 耐性変異株が 1 株、H275H/Y 耐性ミックス株が 1 株、Undetermined と判定された株が 2 株であった。これら 4 株について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おける薬剤感受性試験の結果、この H275Y 耐性変異株と H275H/Y 耐性ミックス株はオセルタミビルおよびペラミビルに対して耐性を示し、ザナミビルおよびラニナミビルに対しては感受性を保持していた。また、Undetermined と判定された株 2 株について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おける薬剤感受性試験および遺伝子解析の結果、すべての薬剤に対して感受性を保持していたものの、H275Y 検出用の

プローブ領域に一塩基置換が入っていた。

全国的には解析された AH1pdm09 2427 株のうち、オセルタミビル・ペラミビルに対する耐性株が 38 例 (1.6%) 検出された。そのうち 26 例はノイラミニダーゼ阻害薬未投与であったが、耐性株の地域への拡がりには観察されていない¹⁾³⁾。

また、県内事例で分離された 79 株について抗インフルエンザ薬耐性マーカー (PA I38X) の検索を行った結果、バロキサビル耐性マーカーを保有する株は検出されなかった。全国的には、AH3 および B 型では耐性株が検出されていないが、解析された AH1pdm09 790 株のうち、バロキサビルに対する耐性変異を有する株が 1 例 (0.13%) から検出された¹⁾³⁾。これらの耐性株が公衆衛生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と考える。

2020 年第 17 週以降、全国でインフルエンザの検出は報告されていない (2020 年 7 月 21 日現在)。新型コロナウイルス感染症の流行そのものや、その流行に対する個人の行動や公衆衛生上の対応により、インフルエンザの発生動向や関連する指標への影響が生じていた可能性もあり、解釈に注意が必要である¹⁾。今後の発生動向に注意が必要と考えられる。

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 (2019/20 シーズン)
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1920.pdf>
- 2) インフルエンザ流行情報(2019-2020 シーズン), 茨城県感染症情報センター
<https://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/idwr/influenza/2019-2020.html>
- 3) 国立感染症研究所ホームページ
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/influr-resist.html>