

## 茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況(2017/18シーズン)

○齋藤 葵, 梅澤 昌弘, 後藤 慶子, 土井 育子, 本谷 匠, 深谷 節子

### 要旨

茨城県における2017/18シーズンのインフルエンザの定点あたりの患者数は、2017年第48週に流行開始の指標である1.00を上回った。続いて2018年第5週に流行のピークとなり、第15週に流行指数が1.00を下回り終息した。2017/18シーズンはB型山形系統、AH3、AH1pdm09の混合流行であった。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

全国における2017/18シーズンの流行状況は、2017年第47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(1.47)、前シーズン同様、例年より早い立ち上がりであった。2017/18シーズンのピークは1999年4月以降、最高であった。2017/18シーズンは、B型山形系統、AH3、AH1pdm09の混合流行であった<sup>1)</sup>。

一方県内では、2017年第48週に流行指数が1.28となり、インフルエンザの流行が始まった。第52週には流行指数が17.33となり注意報が、2018年第2週には30.40となり警報が発令された。同第5週に流行はピークを迎え(51.71)、第11週に警報解除(7.31)、第15週には流行指数が1.00を下回り(0.70)、終息した<sup>2)3)</sup>(図1)。

県内の状況を前シーズンと比べると、流行の開始は2週ほど遅く、流行のピークも1週遅かった。ピーク時の流行指数は前シーズン(31.85)よりも大きく、全国同様、1999年4月以降最大の流行指数であった。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<sup>2)</sup>。

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「2017/2018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。2017/18シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

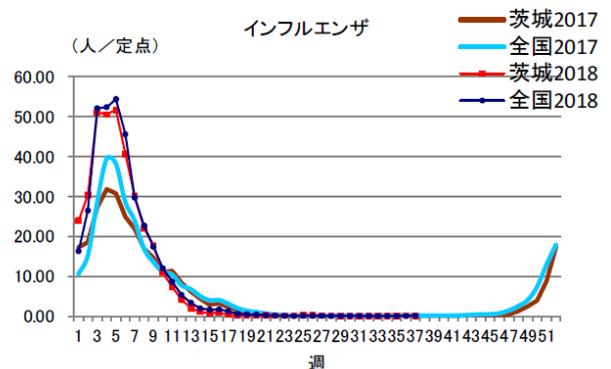


図1 定点あたり患者数(茨城県・全国)

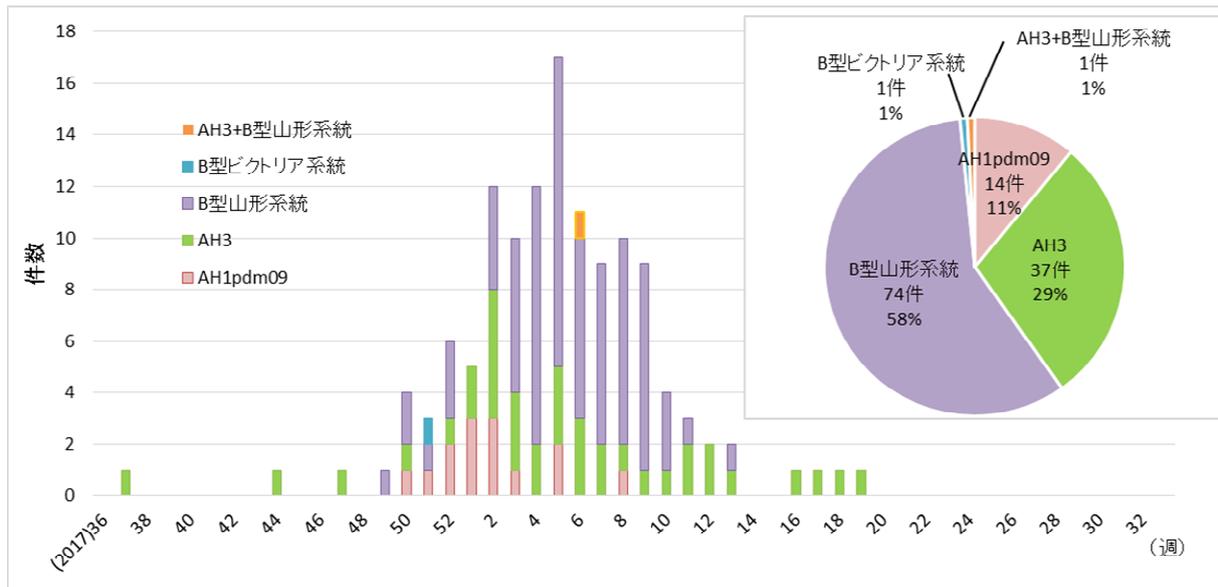


図2 病原体定点等医療機関で採取された検体からの検出状況(n=127)

## 2. 材料と方法

### 2-1材料

2017年9月1日から2018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れた130検体(咽頭および鼻腔ぬぐい液119検体, 鼻かみ液7検体, 髄液2検体, 喀痰1検体, 血清1検体(計127名)), その他の医療機関で入院・重症例として採取された3検体(咽頭及び鼻腔ぬぐい液2検体, 気管支洗浄液1検体(計2名)), 学校等集団発生事例(14事例)で採取された90検体(鼻かみ液67検体およびうがい液23検体(計75名))の計223検体(204名)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のHA遺伝子, B型ウイルス共通のNS遺伝子, 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%CO<sub>2</sub>, 35°C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。

#### -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2017/18シーズン用インフルエンザウイルス同定キット, A/シンガポール/GP1908/2015(H1N1)pdm09 A/香港/4801/2014(H3N2) B/プーケット/3073/2013(山形系統)

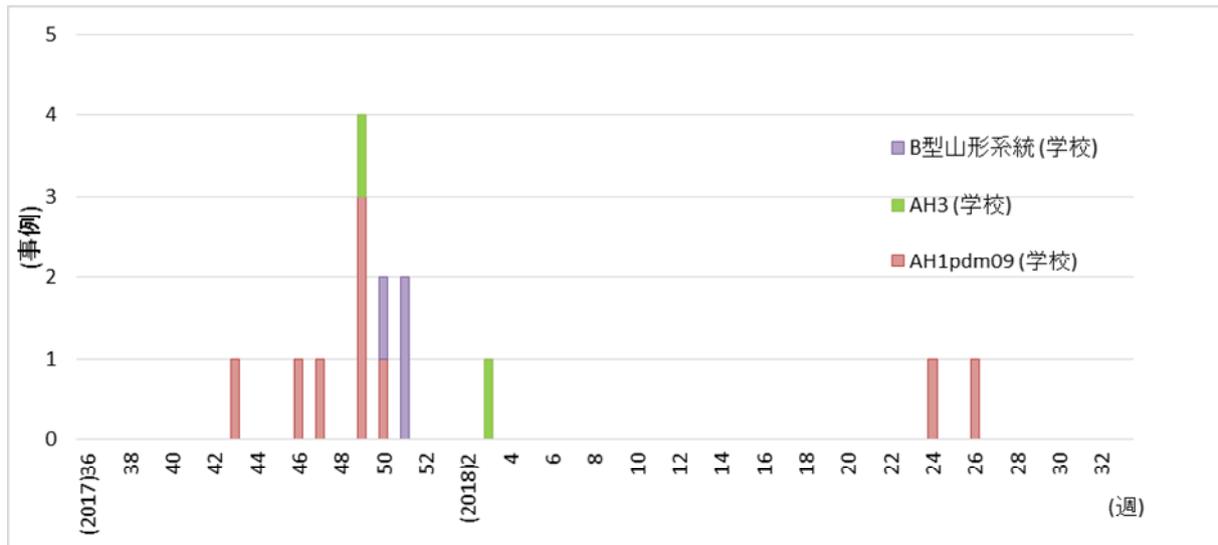


図3 学校および施設におけるウイルス検出集団事例数(n=14)

B/テキサス/02/2013(ビクトリア系統)

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)」に準じ、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204名(223検体)のうち、194名(95.1%)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57名(29.4%)、AH3が47名(24.2%)、B型山形系統が88名(45.4%)、B型ビクトリア系統が1名(0.5%)、AH3およびB型山形系統が1名(0.5%)

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(n=127)を図2に、学校および施設における集団事例数(n=14(75名))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206検体(194名)についてウイルス分離培養した結果、148検体(144名)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84.2%(120検体中101検体で分離)、鼻かみ液が59.7%(67検体中40検体で分離)、うがい液が33.3%(18検体中6検体で分離)、喀痰が100.0%(1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148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44株(40名)、AH3が22株(22名)、B型山形系統が81株(81名)、B型ビクトリア系統が1株(1名)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 44株(40名)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、H275Y耐性変異株が2株、H275H/Y耐性mix株が1株検出された。

#### 4. まとめと考察

茨城県内において、2017/18シーズンの流行の開始は、前シーズンと比べ2週遅かった。ピークを迎えたのは1週遅く、1999年4月以降最大の流行指数であった。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<sup>12)</sup>。

2017年第43週から51週にかけて、県内では小中学校における集団感染が11事例相次いで発生した。検査の結果、AH1pdm09が7事例、AH3が1事例、B型山形系統が3事例であった<sup>3)</sup>。

2017/18シーズンは、2013/14シーズンに見られたような混合流行となったが、流行の主流がAH3から年明けにAH1pdm09とB型山形系統となった2013/14シーズンとは異なり<sup>4)</sup>、2017年第50週から2018年第2週にかけてはAH1pdm09、AH3、B型山形系統が混在し、年明け以降はB型山形系統が流行の主流となった。AH1pdm09は2018年第3週から減少し、AH3はインフルエンザの流行が終息した2018年第15週以降も検出された(図1)。

B型については、病原体定点等医療機関および集団発生事例で提出された検体ではシーズンを通して主に山形系統が検出されており、全国同様、2シーズンぶりに山形系統がビクトリア系統の検出数を上回った<sup>1)</sup>。

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、解析されたほとんどの株はサブクレード3C.2aに属しており、そのなかでも

3C.2a1および3C.2a2に属していた<sup>1)</sup>。

県内事例で分離されたAH1pdm09株の2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で遺伝子系統樹解析が行われた結果、いずれもサブクレード6B.1に分類された<sup>5)</sup>。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AH1pdm09のHA遺伝子系統樹解析によると、全国で分離され、解析されたほぼ全ての株はサブクレード6B.1に属していた<sup>1)</sup>。さらにHI試験による抗原性解析では、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で実施されたすべての株で、ワクチン株のA/シンガポール/GP1908/2015の類似株と判定されている<sup>1)</sup>。

また、県内事例で分離された44株のAH1pdm09株について抗インフルエンザ薬耐性マーカーの検索を行った結果、H275Y耐性変異株が2株、H275H/Y耐性mix株が1株検出された。うちH275Y耐性変異株1株、H275H/Y耐性mix株1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いて薬剤感受性試験を行った結果、H275Y耐性変異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、H275H/Y耐性mix株はオセルタミビルおよびペラミビルに対して感受性の低下が認められた。一方、いずれの株も、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。全国的には解析1542株中24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、地域への拡がりは認められなかった<sup>16)</sup>。またAH3およびB型の耐性株は検出されなかった<sup>1)</sup>。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ものと考えられる。

また、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HI試験による抗原性解析が行われた結果、県内事例で分離されたB型山形系統株の1株は、ワクチン株のB/プーケット/3073/2013の類似株であり、国内外で流行したB型山形系統株の大半が当該株に抗原性が類似していると判定されている。さらに、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遺伝子系統樹解析が行われた結果、2017/18シーズンの流行株は、全てワクチン株のB/プーケット/3073/2013と同じグレード3に属すると判定された<sup>15)</sup>。

県内では2017/18シーズンの終盤となる2018年第16週から19週にかけて、県内のインフルエンザ病原体定点医療機関から搬入された検体からは全てAH3が検出されており、全国の傾向と同様に2017/18シーズン終盤はAH3の割合が多くなったと推察された(図2)。しかし、2018年第24週から第26週にかけて発生した小中学校における集団感染2事例では、いずれもAH1pdm09が検出された(図3)。AH1pdm09は2018年第9週以降、県内のインフルエンザ病原体定点医療機関から搬入された検体からは検出されていなかった。2017年第43週から第51週においても、学校等集団発生事例のうち11事例中7事例がAH1pdm09であった。「平成29年度 茨城県感染症流行予測調査事業」の結果から2017/18シーズンにおけるワクチン接種前の抗体保有状況をみると、A/シンガポール/GP1908/2015(H1N1)pdm09に対しては5-9歳群17.6%、10-14歳群46.7%、15-19歳群81.8%であり、5-9歳群の抗体保有率が低かった。全国における調査では、5-9歳群約50%、10-14歳群約65%、15-19歳群約70%であり、茨城県の5-9歳群は全国と比較しても、A/シンガポール/GP1908/2015(H1N1)pdm09に対する抗体保有率が低かった<sup>1)</sup>。AH1pdm09のHI試験による抗原性解析では、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で実施されたすべての株で、ワクチン株のA/シンガポール/GP1908/2015の類似株と判定されていることから、茨城県の学校におけるAH1pdm09の集団感染は、5-9歳群の抗体保有率が低かったことが関係している可能性があると考ええる。2018/19シーズンも学校等集団発生事例でのAH1pdm09の流行が懸念される。引き続き発生の動向に注意していきたい。

### 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(2017/18シーズン)  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1718.pdf>
- 2) インフルエンザ流行情報(2017-2018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/2017-2018.html>
- 3) 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/weekly/2018.html>
- 4) 土井育子, 他,  
茨城県衛生研究所年報 第52号  
<https://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/kikaku/annualreport.html>
- 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>