

## 茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況 (2018/19 シーズン)

○齋藤 葵, 川隅 綾子, 後藤 慶子, 石川 加奈子, 本谷 匠, 深谷 節子

### 要旨

茨城県における 2018/19 シーズンのインフルエンザの定点あたりの患者数は、2018 年第 49 週に流行開始の指標である 1.00 を上回った。続いて 2019 年第 3 週に流行のピークとなり、第 13 週に定点当たり報告数が 1.00 を下回り終息した。シーズンの前半は AH1pdm09 が中心であり、後半は AH3 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 2018/19 シーズンのインフルエンザの定点当たり報告数は、2018 年第 49 週に流行開始の指標である 1.00 を上回り (1.70)、前シーズン同様、例年より早い流行入りとなった。ピークは 2019 年第 4 週の定点当たり報告数 57.09 であり、現行の監視体制が開始された 1999 年 4 月以降、最高であった。2018/19 シーズンに検出されたインフルエンザウイルスは、シーズン前半は AH1pdm09 が中心であり、後半に AH3 が大きく増加した。B 型は検出数が少なく、シーズン終盤にビクトリア系統が中心に検出された<sup>1)</sup>。

一方県内では、2018 年第 49 週に定点当たり報告数が 1.21 となり、インフルエンザの流行が始まった。2019 年第 1 週には定点当たり報告数が 20.65 となり注意報が、同第 2 週には 39.41 となり警報が発令された。第 3 週に流行はピークを迎え (68.05)、第 8 週に警報解除 (7.77)、第 13 週には定点当たり報告数が 1.00 を下回り (0.91)、終息した<sup>2)3)</sup>(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 週ほど遅く、流行のピークは 2 週早かった。ピーク時の定点当たり報告数の値は前シーズン (51.71) よりも高く、全国同様、1999 年 4 月以降最高であった。定点当たり報告数が 10.00 を下回ったのは、前シーズンよりも 3 週早く、1.00 を下回ったのは 2 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「2018/2019 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。2018/19 シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

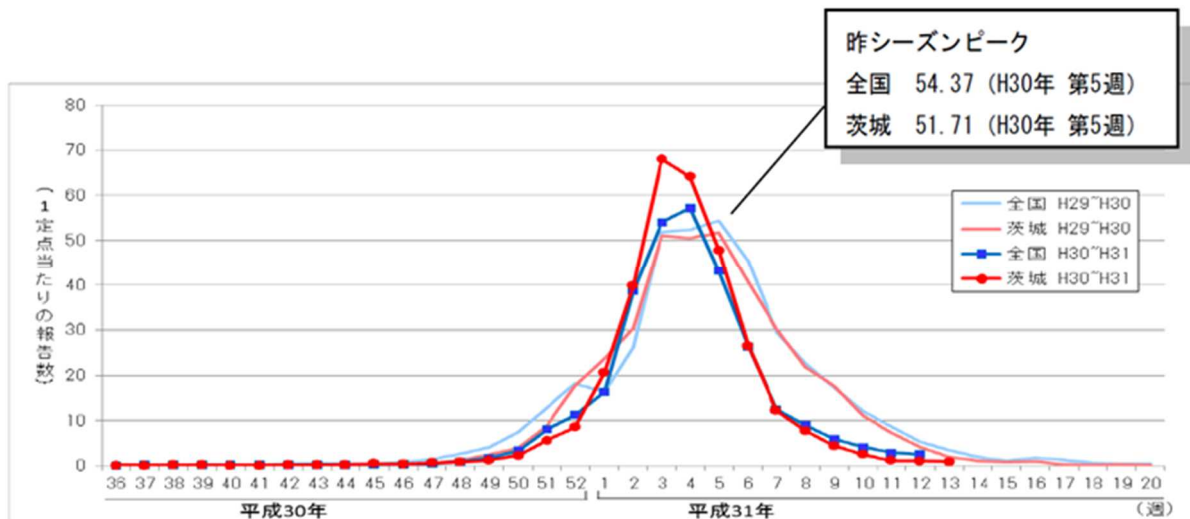


図1 定点あたり患者数 (茨城県・全国)

## 2 材料と方法

### 2.1 材料

2018年9月1日から2019年8月31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101検体(咽頭および鼻腔ぬぐい液98検体, 鼻かみ液3検体(計101名)), その他の医療機関で重症例や抗インフルエンザ薬耐性変異インフルエンザウイルス疑い例として採取された31検体(咽頭および鼻腔ぬぐい液13検体, 髄液8検体, 血清8検体, 血液1検体, 尿1検体(計13名)), 学校等集団発生事例(15事例)で採取された84検体(鼻腔ぬぐい液9検体, 鼻かみ液51検体, うがい液24検体(計72名))の計216検体(186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4版)(平成30年12月)」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%CO<sub>2</sub>, 35°C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。

#### 2.2.3 分離ウイルス株の血清型別および同定

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抑制(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2018/19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/シンガポール/INFIMH-16-0019/2016 (H3

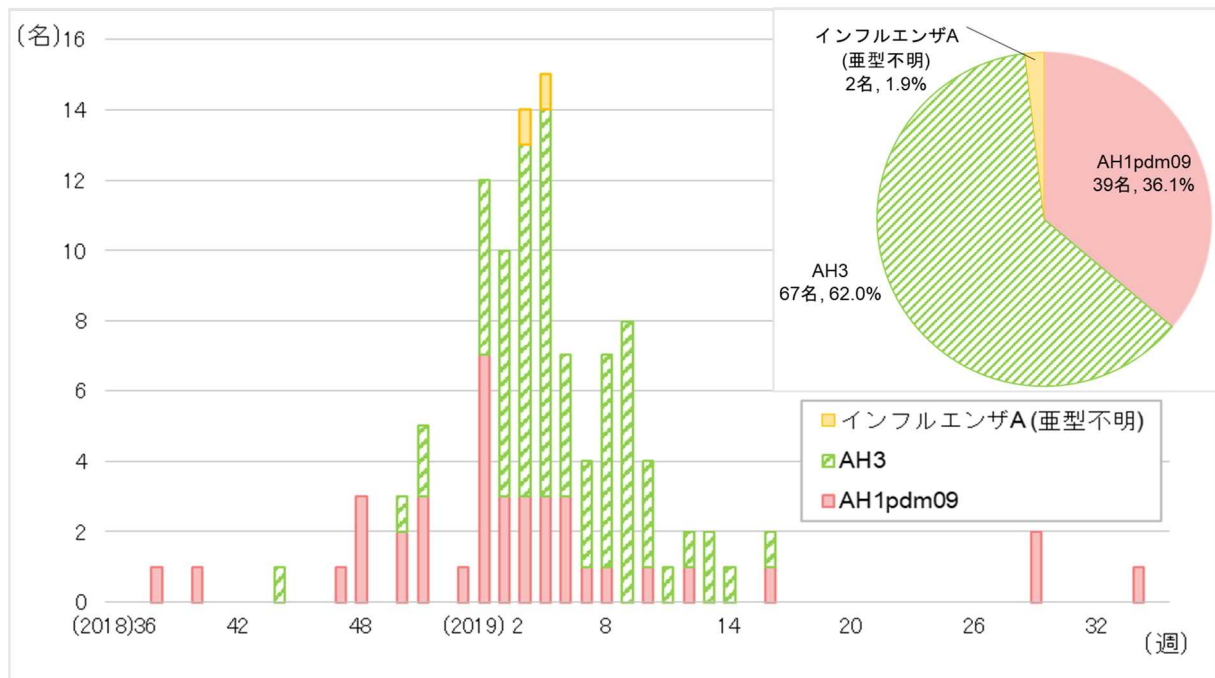


図2 病原体定点等医療機関で採取された検体からのインフルエンザウイルス検出状況  
(108名)

N2)

B/プーケット/3073/2013 (山形系統)

B/メリーランド/15/2016 (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。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

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。

### 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186名(216検体)のうち、167名(89.8%)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84名(50.3%)、AH3が81名(48.5%)、インフルエンザA(亜型不明)が2名(1.2%)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(108名)を図2に、学校等における集団事例数(15事例(59名))を図3に示した。

#### 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173検体(167名)についてウイルス分離培養検査を行った結果、115検体(115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87.7%(114検体中100検体)、鼻かみ液が34.1%(44検体中15検体)、うがい液が0%(15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

分離されたウイルス115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

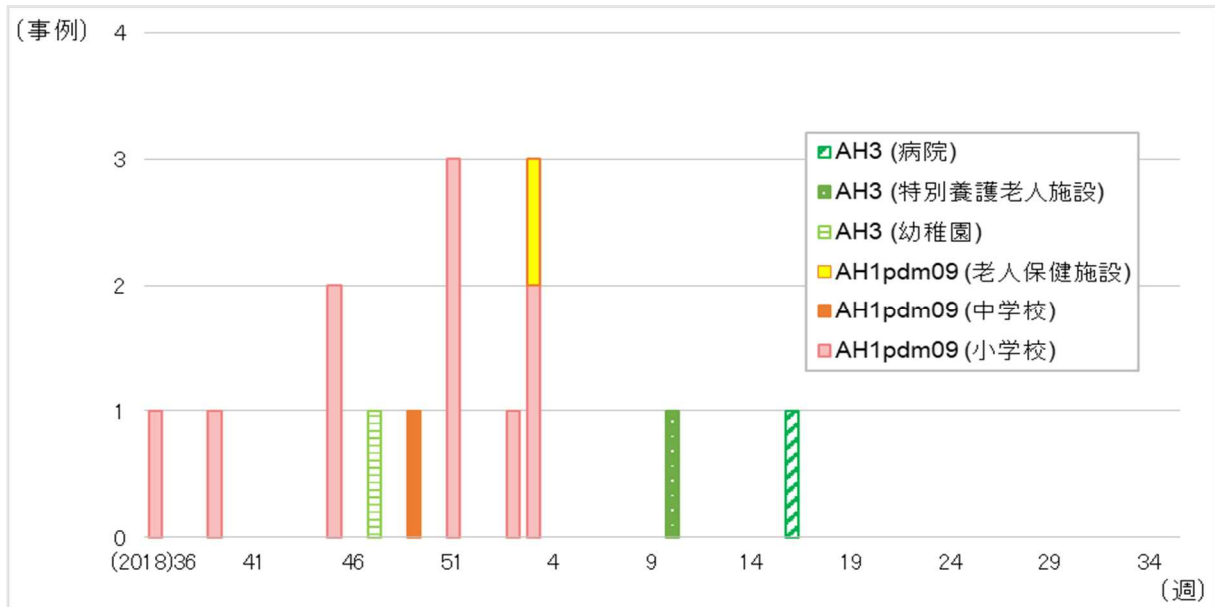


図3 学校および施設におけるインフルエンザウイルス検出集団事例数 (15事例)

49株 (49名), AH3が66株 (66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

分離されたAH1pdm09 49株 (49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1株検出された。

## 4 まとめと考察

県内の2018/19シーズンのインフルエンザの流行は、全国と同様に2018年第49週から始まった。ピークは全国と比べ1週早かった。ピーク時の定点あたり報告数(68.05)は、1999年4月以降最高であった2017/18シーズン(51.71)を超え、現行の監視体制では過去最高であった。その後、全国と同様に第5週、第6週と急速に減少した<sup>12)</sup>。

2018年第36週から第45週にかけて、県内で発生した小中学校における集団感染4事例からは、全てAH1pdm09が検出された。このことから、2018/19シーズンはAH1pdm09が中心となる流行が予想されたが、徐々に病原体定点等医療機関において採取された検体からのAH3検出割合が増加し、第47週には

AH3の集団感染事例も発生した。また、最初の集団感染事例は2018/19シーズン開始の直後である2018年第36週に発生し、その後の流行状況が注目された。最終的には1999年4月以降最大のピークを迎えたものの、シーズン初めに爆発的な流行が起きることはなく終息した。

2018/19シーズンの前半はAH1pdm09が主流であり、後半にはAH3が多く検出された。過去5シーズンと比較すると、シーズン前半にAH1pdm09が多く検出される傾向はAH1pdm09が流行した2017/18シーズンや2015/16シーズンにもみられ、後半にAH3が多く検出される傾向は、2017/18シーズンにもみられた。

また、当所に搬入され検査を行った186名のうち、B型が検出された検体は0検体であった。これは過去5シーズンの中でも初めてである。2018/19シーズンは全国におけるB型の検出数も少なく、B型山形系統とビクトリア系統の検出比をみると、約1:9とビクトリア系統が上回り、2017/18シーズンとは異なった傾向であった<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 内の 6B.1A に分類された。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/シンガポール/GP1908/2015 の類似株と判定されている<sup>1)</sup>。

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がサブクレード 3C.2a に属しており、そのなかでも多くが 3C.2a1 および 3C.2a2 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 9 割以上が今シーズンのワクチン株 A/シンガポール/INFIMH-16-0019/2016 (H3N2) と抗原的に類似していたものの、ワクチン製造用に用いられる高増殖性株との反応性は低下し、流行株と高増殖性株の抗原性が乖離する傾向が認められた<sup>1)</sup>。

B 型山形系統の HA 遺伝子系統樹解析の結果、流行株は全てワクチン株の B/プーケット/3073/2013 と同じクレード 3 に属し、HI 試験による抗原性解析の結果、国内外で流行した B 型山形系統株のほとんどが当該ワクチン株に抗原性が類似していると判定されている<sup>1)</sup>。

B 型ビクトリア系統の HA 遺伝子系統樹解析の結果、2018/19 シーズンの流行株は、全てクレード 1A に属すると判定されたものの、HA に欠損をもたない群、2 アミノ酸欠損をもつ群、3 アミノ酸欠損をもつ群に分かれた。2018/19 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 に対する血清との反応性は、HA に 2 アミノ酸欠損をもつ流行株はよく反応したものの、欠損をもた

ない流行株と 3 アミノ酸欠損流行株は反応性があまりよくなかった<sup>1)</sup>。

また、県内事例で分離された 49 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 1 株検出された。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において薬剤感受性試験を行った結果、この 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、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。本事例はオセルタミビルの予防投与中における発症であった。病院内での感染が疑われる事例であり、当該患者が発症した前後に 10 名の患者発生があった。そのうち当該患者を除いた 7 名がインフルエンザ A と診断され、当所には 4 名の鼻腔ぬぐい液が搬入された。インフルエンザウイルス遺伝子の検索、分離、分離ウイルス株の血清型別・同定、および抗インフルエンザ薬耐性マーカーの同定を行った結果、4 名のうち 2 名はインフルエンザ不検出、2 名は AH1pdm09 が検出され、このうち 1 名から H275Y 耐性変異株が検出された。全国的には解析された AH1pdm09 1762 株のうち、オセルタミビル・ペラミビルに対する耐性株が 15 例 (0.9%) 検出されたが、地域への拡がりには観察されていない<sup>14)</sup>。以上のことから、本事例における H275Y 耐性変異は、薬剤感受性の AH1pdm09 流行株が、オセルタミビルの予防投与の過程で耐性変異を獲得したものと推察された。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。

「平成 30 年度 茨城県感染症流行予測調査事業」の結果から 2018/19 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 46.7%, 10-14 歳群 60.0% であり, 約半数は抗体を保有していなかった。全国では 5-9 歳群約 55.0%, 10-14 歳群約 68.0% の抗体保有率であり, 茨城県は 5-9 歳群および 10-14 歳群の A/シンガポール/GP1908/2015 (H1N1) pdm09 に対する抗体保有率が, 全国と比較してやや低いことが分かった。さらに, 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<sup>1)</sup>。以上のことから, 県内の小中学校における AH1pdm09 の集団感染は, 5-9 歳群および 10-14 歳群の抗体保有率が低いことが関与している可能性がある。

2018/19 シーズンは, 2017/18 シーズンとは異なる流行状況がみられた。県内で H275Y 耐性変異株も検出されたことから, 今後の発生動向に注意が必要である。

## 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 (2018/19 シーズン)  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1819.pdf>
- 2) インフルエンザ流行情報(2018-2019 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/2018-2019.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  
<https://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/idwr/weekly/index.html>
- 4) 国立感染症研究所ホームページ  
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/influ->

resist.html