

インフルエンザウイルス検出状況（2018/2019 シーズン）

鈴木典子 篠原美千代 富岡恭子 峯岸俊貴* 小川泰卓 青沼えり 宮下広大 内田和江

Detection of influenza virus
(2018/2019 season)

Noriko Suzuki, Michiyo Shinohara, Kyoko Tomioka, Toshitaka Minegishi,
Yasutaka Ogawa, Eri Aonuma, Kodai Miyashita, Kazue Uchida

はじめに

埼玉県感染症発生動向調査事業¹⁾の一環として、インフルエンザウイルス (IFV) の型別を実施している。また、「抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」実施要綱²⁾に基づき H275Y 変異を対象とした「A(H1N1)2009 ウイルス (AH1pdm) の抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス」を実施している。今回は、この結果に加え、2018年9月から2019年3月まで (2018/2019シーズン) の IFV の流行状況に、AH3 亜型 (AH3)、B型の薬剤耐性調査、系統樹解析の結果を合わせて報告する。

対象

1 インフルエンザ患者発生動向調査

埼玉県感染症発生動向調査事業として2018/2019シーズンに、収集されたインフルエンザ患者報告数を対象とした。

2 インフルエンザ検体からのIFV検出と型別

2018/2019シーズンに、県域 (埼玉県からさいたま市を除いた地域) において感染症発生動向調査としてインフルエンザと診断された患者から採取された462検体 (鼻汁253検体、鼻腔ぬぐい液138検体、咽頭ぬぐい液70検体、鼻腔吸引液1検体) を調査対象とした。

3 薬剤耐性調査

2018/2019シーズンに感染症発生動向調査として採取された検体をMDCK細胞に接種し、分離されたIFV株から73株 (AH1pdm50株、AH3 17株、B型ビクトリア系統 (Bvic) 6株) を調査の対象とした。

4 系統樹解析

2018/2019シーズンに感染症発生動向調査として採取された検体をMDCK細胞に接種し、分離されたIFV株のうち、各亜型・系統別に各月約3株を採取地域が偏らないように選定し、41株 (AH1pdm18株、AH3 17株、Bvic6株) を調査の対象とした (表1)。

表1 亜型・系統別系統樹解析株数

| | AH1pdm | AH3 | Bvic |
|-----|--------|-----|------|
| 9月 | 1 | 0 | 0 |
| 10月 | 2 | 3 | 1 |
| 11月 | 3 | 2 | 0 |
| 12月 | 3 | 3 | 1 |
| 1月 | 3 | 3 | 0 |
| 2月 | 3 | 3 | 1 |
| 3月 | 3 | 3 | 3 |
| 合計 | 18 | 17 | 6 |

方法

1 インフルエンザ患者発生動向調査

埼玉県感染症発生動向調査事業として埼玉県感染症情報センターのホームページに公開³⁾された埼玉県におけるインフルエンザ患者の定点当たり報告数を使用した。

2 IFV検出と型別

検体からRNAを抽出し、AH1pdm、AH3、B型についてはインフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じて、リアルタイムRT-PCR法で遺伝子を検出した。

3 薬剤耐性調査

AH1pdmは、分離株を用いてインフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じて、リアルタイム RT-PCR (TaqMan Probe) 法によりH275Yの変異を調査した。

AH3及びB型はMDCK細胞培養上清から抽出したRNAを使用し、インフルエンザ診断マニュアル⁴⁾に準じてノイラミダーゼ (NA) タンパク質をコードする領域を増幅後、同マニュアル及び既報^{5)、6)}のプライマーを用いダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定した。

得られた塩基配列から、GENETYX Ver. 10 (ゼネティックス) を用いてアミノ酸配列を決定後、NA阻害薬に対して耐性に関与する可能性があるとして報告⁷⁾のあった変異部位につ

* 現 本庄保健所

いて、変異の有無を調査した。

4 系統樹解析

MDCK細胞培養上清から抽出したRNAを使用し、インフルエンザ診断マニュアル⁹⁾に準じてHAタンパク質をコードする領域(HA遺伝子)を増幅後、同マニュアルのプライマーを用いダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

得られた塩基配列とGISAID(Global Initiative on Sharing All Influenza Data)⁸⁾に登録されている全国、世界各国で解析された株を含めて、NJ法による系統樹解析を実施した。

結果及び考察

1 インフルエンザ患者発生動向調査

図1に埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるIFV検出状況を示した。

埼玉県の2018/2019シーズンの定点当たり患者報告数は2018年第48週に1.00を超えて流行期に入り、2019年第4週に84.09に達してピークとなった。2018/2019シーズンは、過去のシーズンと比較すると急激に患者報告数が増加し、ピーク値の84.09は1999年の集計開始以降、過去最高値であった。第5週以降は報告数が減少し、第13週には1.62となり流行が終息へと向かった。

2 FV検出と型別

過去4シーズンの主たる流行ウイルスをみると、2014/2015シーズン及び2016/2017シーズンがAH3、2015/2016シーズンがAH1pdmと、2つのA型が交互に主流となっており、B型は年明け以降に流行する傾向であったが、2017/2018シーズンはシーズン初めからB形山形系統(Byam)が検出され、Byam、AH1pdm、AH3の混合流行であった。また、A型はシーズンのはじめはAH1pdmが多く、年明け以降はAH3の検出が優位になった⁹⁾。

2018/2019シーズンは、2017/2018シーズンと異なりB型の検出は少なく、A型が主流となった。A型は、2017/2018シーズン同様、シーズン初めはAH1pdmが多く、第3週以降はAH3の検出が優位になった。また、年明け以降のB型の流行は第13週までにはみられなかった。

IFVの型・亜型別検出状況は、表2に示すとおりで、AH3が260件(56.2%)と最も多く、次いでAH1pdmが159件、Bvicが11件であり、2017/2018シーズンに最も多く検出されたByamの検出は1件のみであった。また、AH1pdmとAH3の重複検出が1症例あった。重複検出は第4週の症例で、AH1pdmとAH3の2つの亜型が検出されている時期であることから重感染の起こりやすい状況であった可能性が考えられた。2018/2019シーズン全体では、AH3が多く検出され、全国と同様の傾向であった⁹⁾。

検体の種類別のIFV検出数は、表3に示すとおりで、鼻腔由来検体(鼻汁、鼻腔ぬぐい液及び鼻腔吸引液)と咽頭ぬ

ぐい液を比較すると、ウイルス不検出数(インフルエンザ以外のウイルスも含む)は鼻腔由来検体392検体のうち6検体(3%)、咽頭ぬぐい液70検体のうち5検体(7%)であった。また、A型の亜型が決定できなかった4検体はすべて咽頭ぬぐい液であった。さらに、リアルタイムRT-PCR法におけるA型共通M遺伝子の検出Ct値の平均値を比較すると鼻腔由来検体24(標準偏差3.6)に対し、咽頭ぬぐい液は30(標準偏差4.5)であった。以上の結果から鼻腔由来検体のほうが咽頭ぬぐい液に比べ検出され易い傾向がみられた。

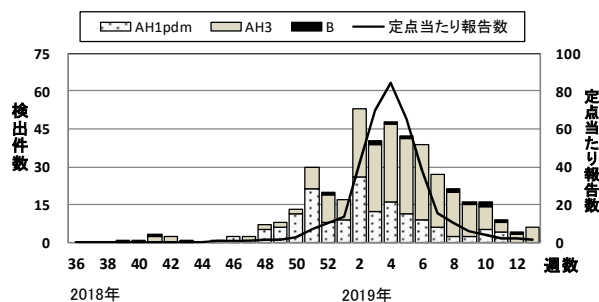


図1 埼玉県における定点当たり患者報告数及び県域におけるIFV検出状況

表2 亜型・系統別IFV検出数と検出割合(検体数:462)

| | 検出数(件) | 検出割合 |
|--------|--------|-------|
| AH1pdm | 159 | 34.3% |
| AH3 | 260 | 56.2% |
| Bvic | 11 | 2.4% |
| Byam | 1 | 0.2% |
| A | 4 | 0.9% |
| IFV不検出 | 28 | 6.0% |

表3 検体の種類別検体数とIFV検出数

| | 検体数 | 不検出 | A | AH1pdm | AH3 | B |
|--------|-----|-----|---|--------|-----|----|
| 鼻腔由来検体 | 392 | 6 | 0 | 135 | 229 | 7 |
| 咽頭ぬぐい液 | 70 | 5 | 4 | 24 | 31 | 5 |
| 合計 | 462 | 11 | 4 | 159 | 260 | 12 |

3 薬剤耐性調査

型・亜型別NA阻害薬耐性変異検査結果を表4に示した。

(1) AH1pdmのH275Y変異の検出

50株を解析し、H275Y耐性変異は検出されなかった。全国では、2073株が解析され、17株(0.8%)からH275Y変異が検出された⁹⁾。

(2) AH3

10か所の変異部位を調査した。17株を解析し、変異は認められなかった。全国では、304株が解析され、耐性株は検出されなかった⁹⁾。

(3) B型

30か所の変異部位を調査した。6株を解析し、変異は認められなかった。全国では、38株が解析され、耐性株は検出されなかった⁹⁾。

表4 NA阻害薬耐性変異検査結果

| | 検査数 | 耐性変異株数 |
|--------|-----|--------|
| AH1pdm | 50 | 0 |
| AH3 | 17 | 0 |
| B | 6 | 0 |

4 系統樹解析

HA遺伝子の系統樹解析の結果を図2 (AH1pdm), 図3 (AH3) 及び図4 (Bvic) に示した。

(1) AH1pdm

18株はすべて2018/2019シーズンのワクチン株Singapore/GP1908/15E IVR-180と同じクレード6B.1に属した。6B.1内には、S183Pを含む7個のサブクレード(183P-1~183P-7)が存在している⁹⁾。最も多く検出されたサブクレードは183P-5で11株(61.1%)、次いで183P-2及び183P-7が3株(16.7%)であった。全国での検出割合は183P-5が49.5%と最も多く、次いで183P-2が22.3%、183P-7が11.7%の順に検出されており、県域における検出割合は、全国と同様の傾向であった⁹⁾。

(2) AH3

サブクレード3C.2a内には特定のアミノ酸変異を持った群が4つ(3C.2a1~3c.2a4)存在している⁹⁾。17株のうち16株(94.1%)が2018/2019シーズンのワクチン株A/Singapore/INFIMH-16-0019/16と同じ3c.2a1に属し、12月に採取された1株(5.9%)はワクチン株とは異なる3c.2a2に属した。3C.2aとは抗原性の異なる3c.3aに属する株はなかった。全国での検出割合は、3C.2a1が86.7%、3C.2a2が12.7%、3C.3aが1株のみ検出されており、県域における検出状況は、全国と同様の傾向であった⁹⁾。

(3) Bvic

クレード1A内には、2018/2019シーズンのワクチン株B/Maryland/15/16に代表されるサブクレード1A.1,3アミノ酸欠損群(図4①)、アミノ酸欠損を持たない群(図4②)が存在している⁹⁾。ワクチン株と同じサブクレード1A.1に属する株は10月に採取された1株のみであった。12月に採取された1株はアミノ酸欠損なしの群に、2月及び3月に採取された4株は3アミノ酸欠損群に属した。全国でも解析株数は少ないが、3群のウイルスが検出されており、シーズン後半は3アミノ酸欠損群が検出される傾向は、県域と同様であった⁹⁾。

今回の調査では、薬剤耐性株は検出されなかった。また、系統樹解析からは、複数の群のウイルスが検出された。今後も薬剤耐性株や抗原性変異株が検出される可能性はあることから、継続的な調査を実施していくことが必要であると考え。

文献

1) 埼玉県：埼玉県感染症発生動向調査事業実施要綱，

<http://www.pref.saitama.lg.jp/a0701/kansen/kansensensyouhasseitodoke.html> (2019年7月29日現在)

2) 国立感染症研究所：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平成30年8月

3) 埼玉県感染症情報センター発生動向調査
<http://www.pref.saitama.lg.jp/b0714/surveillance/index.html> (2019年7月29日現在)

4) 国立感染症研究所及び地方衛生研究所全国協議会病原体検出マニュアル インフルエンザ診断マニュアル(第3版)平成26年9月

5) K. E. wright, G. A. R. Wilson, D. Novosad et al. : Typing and subtyping of influenza virus in clinical samples by PCR. J.Clin.Microbiol. 33(5), 1180-1184, 1995

6) X. Sherry Chi, Aizhong Hu, Trentice V. Bolar, et al. : Detection and characterization of new influenza B virus variants in 2002. J.Clin.Microbiol. 43(5), 2345-2349, 2005

7) Summary of neuraminidase amino acid substitutions associated with reduced inhibition by neuraminidase inhibitors (NAI),
http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/antiviral_susceptibility/nai_overview/en/ (2019年7月29日現在)

8) GISAIID,
<http://platform.gisaid.org/> (2019年7月29日現在)

9) 国立感染症研究所：インフルエンザウイルス分離検出速報. 病原微生物検出情報,
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html> (2019年7月29日現在)

□ ワクチン株

● 埼玉株 (解析株, 株名の最後に採取月を記載)

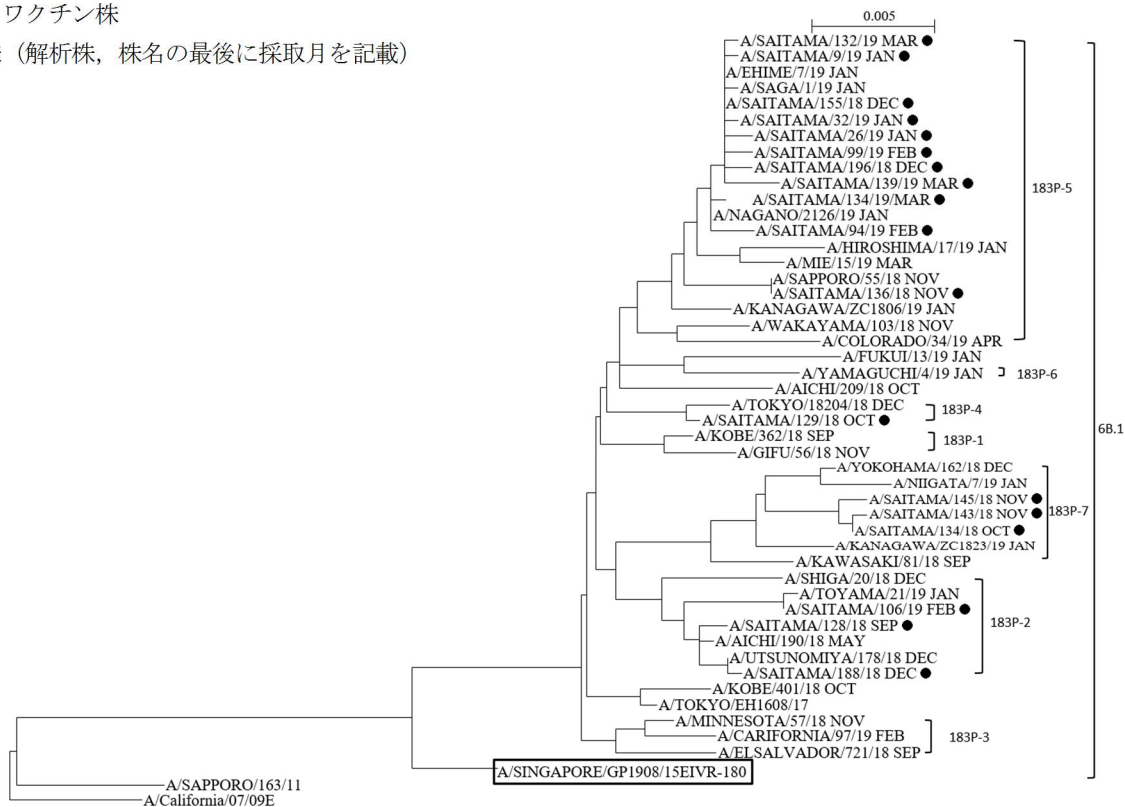


図2 HA遺伝子系統樹解析 (AH1pdm)

□ ワクチン株

● 埼玉株 (解析株, 株名の最後に採取月を記載)

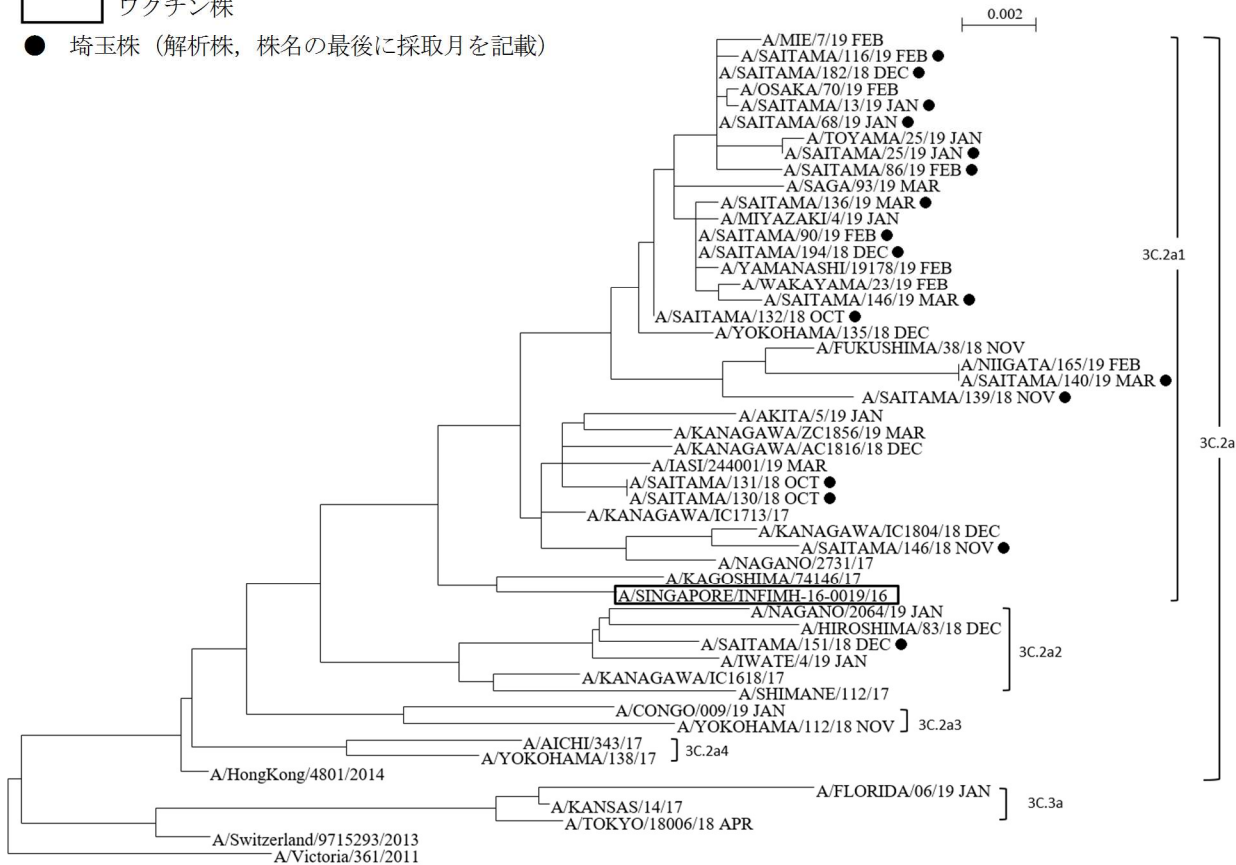


図3 HA遺伝子系統樹解析 (AH3)

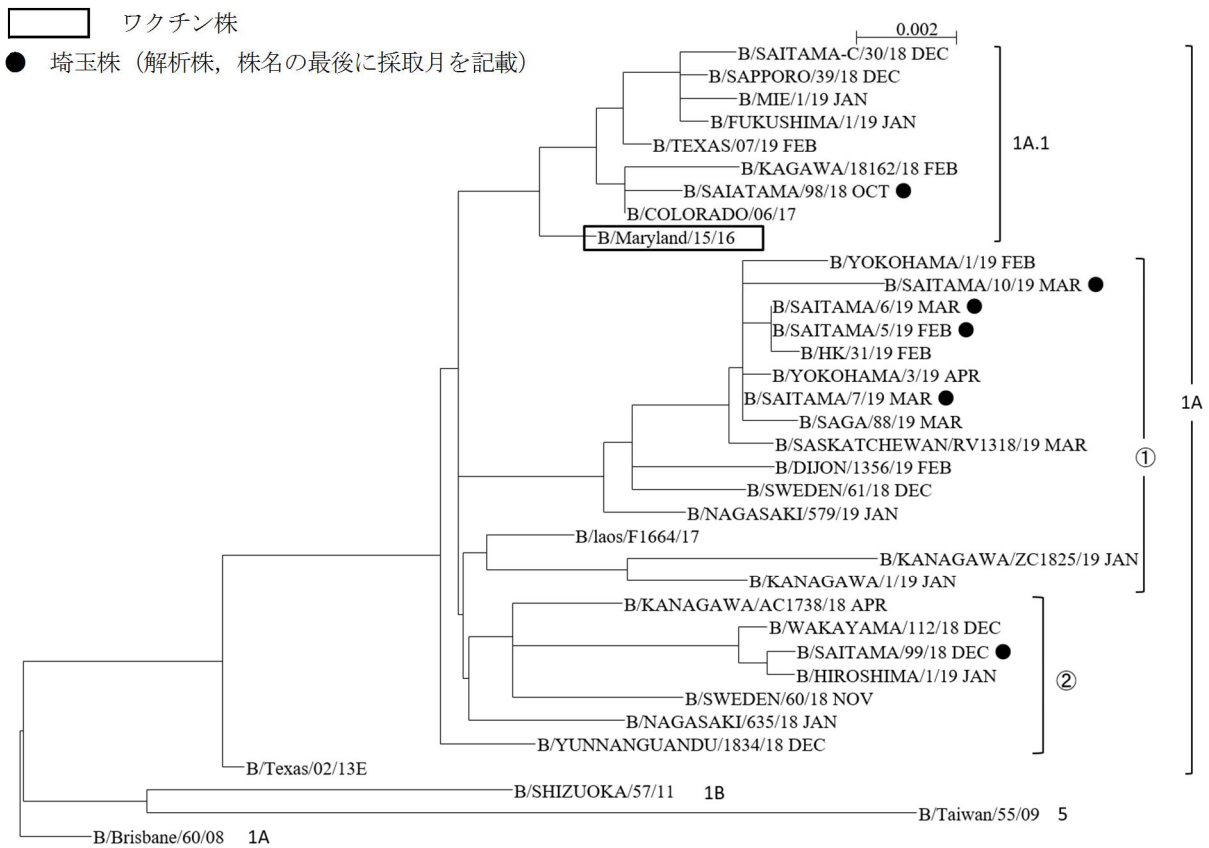


図4 HA遺伝子系統樹解析 (Bvic)