

山梨県におけるインフルエンザの検出状況(2009～2011)

大沼正行 三橋加世子 浅川洋美

Isolation of Influenza from Patients in Yamanashi Prefecture (May.2009～Mar.2011)

Masayuki ONUMA, Kayoko MITSUHASHI and Hiroyoshi ASAKAWA

キーワード: インフルエンザ、流行予測調査、オセルタミビル

インフルエンザは、インフルエンザウイルスが原因で発症する冬季の急性呼吸器感染症である。主な症状は、上気道炎や発熱、頭痛、関節炎などであり、高齢者や乳幼児は肺炎や脳症などの重篤な症状を引き起こすこともある注意が必要な疾患である。

インフルエンザウイルスは絶えず抗原変異を起こし毎年流行を繰り返している。2009年4月に、アメリカ、メキシコで確認されたインフルエンザ(H1N1)2009(以下、A/H1pdm)は、その後世界的に大流行した¹⁾。また、家禽に対して高い病原性を持つ鳥インフルエンザウイルスA/H5N1型が、まれにヒトに感染し重篤な症状を呈していることから強毒型の新型インフルエンザの発生も危惧されている。

当所では、厚生労働省感染症流行予測調査の一環として、インフルエンザワクチン株に対するヒトの抗体保有状況調査を行っている。また、流行しているインフルエンザウイルスの特定や、新たなインフルエンザウイルスの早期探知を目指し、県内の病院、クリニック等で採取された検体、および学校での集団かぜ発生時の罹患学童の検体などからウイルス分離を行ってきた。今回、インフルエンザ流行前の県民のインフルエンザワクチン株に対する抗体保有状況と2009年5月～2011年3月の期間に分離されたインフルエンザウイルスの状況について報告する。

材料および方法

1. 抗体保有状況

1-1 対象

抗体保有状況調査の対象は、調査を承諾した県内の健康住民200名(5～9歳:25名、10～14歳:24名、15～19歳:26名、20～29歳、30～39歳、40～49歳、50～59歳、60歳以上:各25名)である。2010/2011シーズン前の2010年7月～9月の期間に採血を行った。

1-2 方法

抗原は、インフルエンザワクチン株3株[A/カリフォルニア/7/2009pdm、A/ビクトリア/210/2009、B/ブリスベン/60/2008]とB/フロリダ/4/2006を加えた計4株を用い、抗体価の測定は「感染症流行予測調査事業検査術式」(平成14年6月)に従って実施した。

2. ウイルス検出状況

2-1 検査材料

2009年5月～2011年3月にかけて県内の病院、クリニック等で患者から採取された咽頭・鼻腔拭液、うがい液等を検体とした。

2-2 方法

インフルエンザ疑い症例については、新型か季節性かの検査結果を迅速に示す必要があったため、すべての検体を「病原体検出マニュアルH1N1新型インフルエンザ」(国立感染症研究所)に従ってリアルタイムPCR法を行い、検体から直接遺伝子検査を実施した。

ウイルス分離は、MDCK および CaCo-2 細胞を用い、細胞変性効果が確認された検体のウイルス培養上清について赤血球凝集(HA)反応を行い、ウイルスを確認した後、赤血球凝集抑制(HI)試験により型別を行った。国立感染症研究所から分与された抗血清を型別試験に用いた。抗原性は、分離株のHI価とHIホモ価を比較した。

3. オセルタミビル耐性検査

遺伝子検査およびウイルス分離によってA/H1pdmと確認された検体についてH275Y遺伝子変異によるオセルタミビル耐性マーカーの検出を行った。

方法は、「新型インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスA/H1N1pdm-NA遺伝子解析実験プロトコール」と「H1N1pdmオセルタミビル耐性株検出法実験プロトコール」(国立感染症研究所)に従った。

結果および考察

1. 抗体保有状況

血清を 10 倍以上希釈しても HI 抗体が検出できたものを抗体陽性、40 倍以上希釈しても HI 抗体が検出できたものを感染防御能があるものとし、年齢層別の抗体陽性率を集計した。

1-1 A/カリフォルニア/7/2009pdm

2009 年 4 月以降に世界的に大流行した A/H1pdm のワクチン株である A/カリフォルニア/7/2009pdm に対し 40 倍以上の抗体を保有していたのは 5～19 歳で 48.0～70.8%と高いものの、30 歳以上の年齢群では 24.0%以下と低かった。このことから 30 歳以上の年齢群に対するワクチン接種の勧奨を行うなど、今後の A/H1pdm の流行に備える必要があると考えられた(表 1)。

1-2 A/ビクトリア/210/2009

A/H3 亜型のワクチン株である A/ビクトリア/210/2009 に 40 倍以上の抗体を保有していたのは、15～19 歳で 34.6%、40 歳以上の年齢群で 36.0～56.0%と高かったが、その他の年齢群では 0～12.0%と低かった。そのため、すべての年齢群における平均抗体保有率は 24.0%と、検査した 4 株中最も低かった。A/H1pdm と同様に、感染防御のためのワクチン接種が必要であると考えられた(表 2)。

1-3 B/ブリスベン/60/2008 および B/フロリダ/4/2006

B 型ウイルスは 1980 年代後半からビクトリア系と山形系の 2 つのグループに分類されている。昨シーズンはビクトリア系が流行したためワクチン株としてビクトリア系の B/ブリスベン/60/2008 が採用された。B/ブリスベン/60/2008 の抗体保有率は、30～39 歳の年齢群で 60.0%程度と高かったが、その他の年齢層では 16.0～32.0%であった。すべての年齢群における平均抗体保有率は 30.0%であった(表 3)。B/フロリダ/4/2006 の抗体保有率は、5～9 歳、15～39 歳の年齢群で、36.0～56.0%と高かったが 50 歳以上の年齢群で 8.0～12.0%と低かった。すべての年齢群における平均抗体保有率は 30.5%であった(表 4)。

2. ウイルス検出状況

2-1 2009 年 5 月～2010 年 3 月

患者から採取された 853 検体を検査したところ 679 検体からインフルエンザウイルスが分離された。内訳は、A/H1pdm が 669 株(98.5%)、季節性 A/H1 亜型が 4 株(0.6%)、A/H3 亜型が 5 株(0.7%)、B 型が 1 株(0.2%)であった。A/H1pdm の流行は過去のインフルエンザウイルスの流行と異なり

2009 年 5 月から分離され始め、同年 11 月にピークを示した。その他の型は 2009 年 5 月に B 型が、2009 年 7 月に季節性 A/H1 亜型、A/H3 亜型がそれぞれ分離されたのち分離されなかった。年間を通して A/H1pdm が主流を占めた(表 5)。

2-2 2010 年 4 月～2011 年 3 月

患者から採取された 517 検体中 468 検体からインフルエンザウイルスが分離された。内訳は、A/H1pdm が 272 株(58.1%)、季節性 A/H1 亜型が 0 株(0%)、A/H3 亜型が 136 株(29.1%)、B 型が 60 株(12.8%)であった。A/H1pdm は前年のように夏期に流行することはなく、2010 年 5 月に分離されたのち同年 11 月まで分離されなかった。それ以降は分離数が増加し 2011 年 1 月にピークを示した。A/H3 亜型は、明確なピークがなくシーズンを通じて分離された。B 型は 2010 年 4 月に先シーズン後半の株が分離されたのち 2011 年 1 月まで分離されなかったが、以降分離株数が上昇しシーズン後半の流行の中心となった。季節性 A/H1 亜型は全国と同様に 2009 年 7 月以降分離されていない(表 6)。

2-3 分離ウイルスの抗原性

今シーズン(2010 年 9 月から 2011 年 3 月)の分離株のうち、A/H1pdm 162 株、A/H3 亜型 111 株、B 型 13 株について、ワクチン株と抗原性の比較を行った(表 7)。ホモ HI 価と比較して 4 倍以内の差であれば類似株、8 倍以上の差であれば変異株とした。

A/H1pdm は 162 株すべてが、A/H3 亜型は 111 株中 100 株が、B 型は 13 株中 13 株がワクチン類似株であった。このことから今シーズンはワクチン株と類似した株が流行したと考えられ、ワクチン接種が感染防御に有効であったと推測された。

3. オセルタミビル耐性検査

2009 年 5 月～2010 年 3 月と 2010 年 4 月～2011 年 3 月のそれぞれの期間中に A/H1pdm と同定された 669 検体中 83 検体、272 検体中 118 検体についてオセルタミビル耐性マーカー H275Y の有無を調べた。2009 年 5 月～2010 年 3 月の 83 検体中 1 検体(1.2%)が耐性マーカー H275Y を保有していたが、2010 年 4 月～2011 年 3 月の 118 検体はすべて保有していなかった。

国内における A/H1pdm オセルタミビル耐性株の検出頻度は 2009/2010 シーズンは 1.0%、2010/2011 シーズンは 2.2%と報告されている²⁾。検出された株の大半はオセルタミビルの予防投与や治療後の患者から検出されており、薬剤による選択圧が原因と考えられている。オセルタミビルはインフルエンザ治療の第一選択薬であるため、今後も県内における耐性株の発生状況を注視する必要がある。

まとめ

平均抗体保有率は、A/H1pdm が最も高く、A/H3 亜型が最も低かった。先シーズン流行した A/H1pdm の年齢群別抗体保有率は、10 代で最も高く 20 代以降は低かった。A/H3 亜型は、15～19 歳、40 代以降が高かったがその他は低かった。5～9 歳、30 代は特に低く 0%であった。B 型のうち、ビクトリア系は 30 代が、山形系は 5～9 歳、15～39 歳が高かったがその他は低かった。

2009 年 5 月～2010 年 3 月は、A/H1pdm が県内でも流行し、夏期から多数分離されるなど、過去のインフルエンザの流行状況とは異なる傾向を示した。患者から分離される株は、ほとんどが A/H1pdm が占め、過去流行した季節性 A/H1 亜型が分離されなかった。

2010 年 4 月～2011 年 3 月は、前年と異なり 2010 年内中は A/H3 亜型が流行の中心となり、2011 年明けから A/H1pdm が流行した。B 型は過去の発生状況と同様、2011 年明けから流行した。分離された株のほとんどがワクチン類似株であり、大きな抗原性の変異はなかった。

県内におけるオセルタミビル耐性株の出現状況は、全国と比べ少数であったが、全国的に耐性株の検出数は微増しているため、今後も注意が必要である。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所: インフルエンザ 2009/2010 シーズン, 病原微生物検出情報, **31**, 248～264 (2010)
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター: インフルエンザウイルス分離・検出速報 2010/11 シーズン(季節性+A/H1pdm), <http://idsc.nih.go.jp/iasr/influ.html>

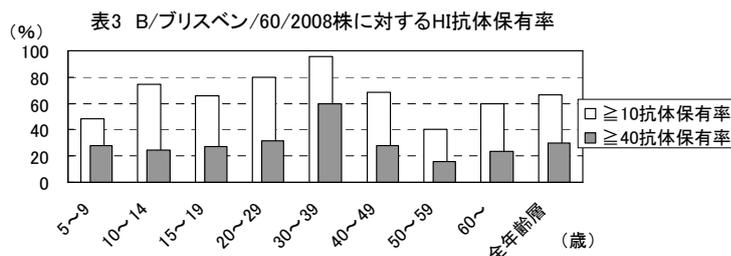
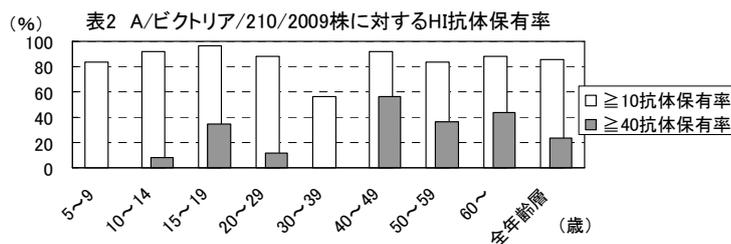
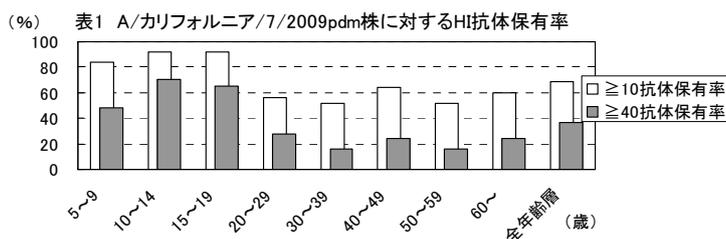


表4 B/フロリダ/4/2006株に対するHI抗体保有率

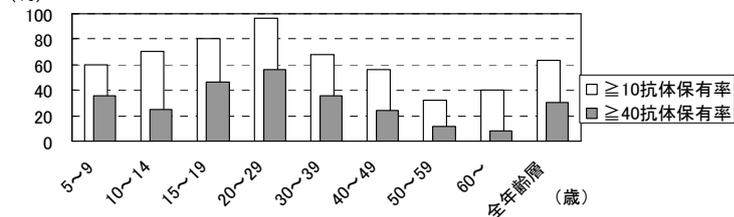


表5 2009(平成21)年度 月別ウイルス検出状況

	2009年												2010年			計
	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月		
AH1pdm	2	10	21	82	27	130	202	98	75	19	3	669				
季節性AH1亜型	3	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	4				
季節性AH3亜型	2	1	2	-	-	-	-	-	-	-	-	5				
B型	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1				
合計	8	11	24	82	27	130	202	98	75	19	3	679				

表6 2010(平成22)年度 月別ウイルス検出状況

	2010年												2011年			計	
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月		
AH1pdm	-	5	-	-	-	-	-	-	9	3	194	54	7	272			
季節性AH1亜型	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0			
季節性AH3亜型	-	-	-	1	-	-	3	37	31	26	31	7	136				
B型	13	-	-	-	-	-	-	-	-	2	13	32	60				
合計	13	5	0	1	0	0	3	46	34	222	98	46	468				

表7 分離ウイルスとワクチン株との抗原性比較

分離ウイルス	株数	抗血清	分離株HI価とホモ価との差異			
			4倍以内	(%)	8倍以上	(%)
AH1pdm	162	A/カリフォルニア/7/2009pdm	162	(100.0)	0	(0.0)
季節性AH3亜型	111	A/ビクトリア/210/2009	100	(90.1)	11	(9.9)
B型	13	B/ブリスベン/60/2008	13	(100.0)	0	(0.0)