

第3章 調査研究・報告

第1節 原 著

放射線照射された食品の検知方法の検討 —超臨界流体抽出 (SFE)・GC/MSによるアルキルシクロブタノンの分析—

西山隆之・山下浩一・岡山明子

Examination of the detective method the irradiated food
Analysis of alkylcyclobutanone by Supercritical fluid extraction・GC/MS

Takayuki NISHIYAMA・Hirokazu YAMASHITA and Akiko OKAYAMA

放射線は照射しても食品中に残らないため、照射の有無を直接測定することができない。従って、放射線照射によって特異的に生成される成分を検出することにより検知を行う。2-アルキルシクロブタノン類 (ACB) は、食品中の脂質から生成し自然界には存在しないため、放射線照射の有無を検知する指標となる。今回、超臨界流体抽出装置を用いることで、食品から脂質抽出工程を経ずに直接 ACB 抽出を行った。さらに、シリカゲルカートリッジを用いて精製を行い、GC/MS で測定した。設定した方法により市販の牛ミンチ肉及びレトルト牛丼について ACB の添加回収 (20 ng/g, n=16) を行ったところ、回収率は 96.8 %~129.3 %であった。

緒言

放射線照射は優れた殺菌効果が得られることに加え、その特徴として、熱の発生が少ない、食品への残留がない、食品内部への処理が可能、などが挙げられる。日本では様々な理由により、放射線を用いた技術は社会的に受け入れられない傾向がある。そのため、食品への放射線照射はばれいしよを除いて禁止されており、照射食品の輸入も認められていない。近年、牛肉の生食による食中毒事件が頻発する中、平成24年7月には牛レバーの生食用としての販売及び提供が禁止された。一方、牛レバーの生食の要望は強く、厚生労働省では研究班を立ち上げ、熱をかけずに殺菌する技術として放射線照射を用いた研究を進めている。照射の有無を判別する検知法として、アルキルシクロブタノン法、熱ルミネッセンス法及び電子スピン共鳴法が通知されている (通知法)¹⁾。アルキルシクロブタノン法は脂肪含有食品に放射線照射した場合、特異的に生じる ACB を検知指標として用いる。検知指標として用いられるのは、食品中に含まれるパルミチン酸由来の2-ドデシルシクロブタノン (DCB)、ステアリン酸由来の2-テトラデシルシクロブタノン (TCB) である。通知法は、操作が煩雑なうえ多量の溶媒を使用し結果判定までに約2日を要する。今回超臨界流体抽出装置 (SFE) を使用し、放射線照射された食品の迅速な検知方法について検討を行ったので報告する。

方法

1. 試料

県内で流通している牛ミンチ肉を小分けし、冷凍保存し使用時に室温にて解冻し使用した。また、加工食品としてレトルト牛丼 (江崎グリコ株式会社 DONBURI 亭 牛丼) を室温にて保管し、使用した。照射レトルト牛丼は、大阪府立公衆衛生研究所より譲渡を受けた。

2. 分析対象物質及び標準品

2-ドデシルシクロブタノン (DCB) 及び2-テトラデシルシクロブタノン (TCB)、内部標準物質である2-シクロヘキシルシクロヘキサノン (IS) は、林純薬工業株式会社製を用いた。アセトン、ヘキサン、ジエチルエーテルは和光純薬工業 (株) 製残留農薬試験用を用いた。珪藻土は、EXtrelut NT MERCK 社製を用いた。精製用ミニカラムは Sep-Pak Vac 6cc (1 g) Silica Cartridges Waters 社製、及び InertSep SI 1000 mg / Slim-J ジーエルサイエンス株式会社製を用いた。

3. 装置

SFE: 残留農薬超臨界流体抽出システム 日本分光株式会社製
GC/MS: QP2010 SE 株式会社 島津製作所製

結果及び考察

1. GC/MS 条件

通知法で示されている GC/MS 測定条件の一部を改変し条件を決定した (表1)。

表1 GC/MS 測定条件

GC条件	
カラム	DB-5ms 長さ 30 m, 内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μ m
ガードカラム	使用せず
昇温条件	60°C (1 min) \rightarrow 20°C/min \rightarrow 160°C \rightarrow 8°C/min \rightarrow 250°C \rightarrow 25°C/min \rightarrow 300°C (5 min) \rightarrow 20°C/min \rightarrow 315°C (5 min) total = 30 min, 平均線速度 46.3 cm/min
流速	1.61 mL/min, ヘリウム
インサート	シングルテーパーライナー, 石英ウール入り
注入量	1 μ L (スプリットレス注入)
注入口温度	250°C
MS条件	
SIM測定	定量イオン m/z 98, 確認イオン m/z 112
スキャン測定	スキャン範囲 m/z 95~115
イオン化電圧	70 eV (EI ⁺)
Transfer line温度	280°C
イオン源温度	230°C
四重極温度	温度制御機能なし

1) MS 条件

2-ドデシルシクロブタノン(DCB)及び2-テトラデシルシクロブタノン(TCB)の主要フラグメントイオンは, m/z 98 及び m/z 112 であること, また内部標準物質 2-シクロヘキシルシクロヘキサノン(IS)のフラグメントイオンは, m/z 98 しか得られないことを確認した (図1)。

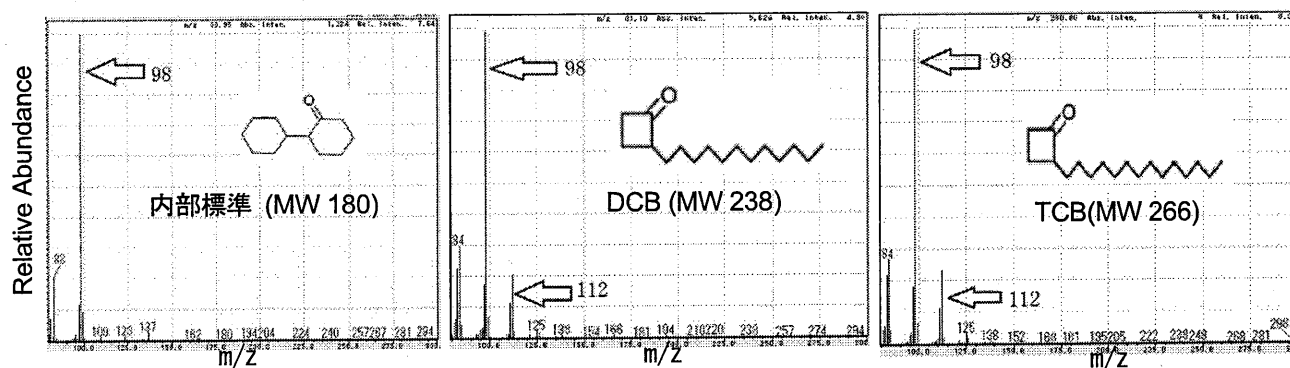


図1 DCB, TCB, 内部標準物質の質量スペクトル

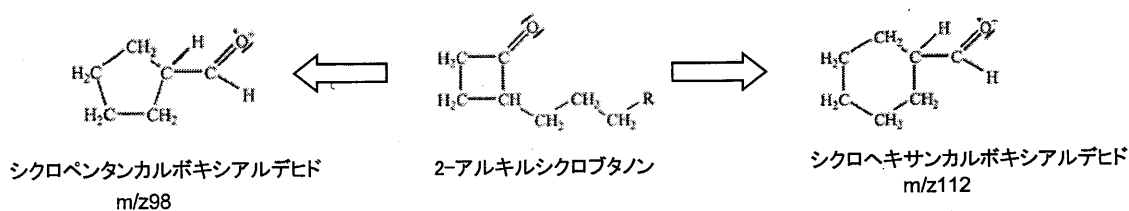


図2 ACB から生成されると考えられる物質

そのため, 通知法どおり定量イオンを m/z 98 とし, 確認イオンを m/z 112 とした. 図1に示したように DCB と TCB の質量スペクトルはほとんど同一であった. Horvatovich ら²⁾によると, アルキルシクロブタノン類は, カルボニル基の隣の炭素原子結合が開裂し, 図2に示すようなフラグメントイオンが生成すると考えられている.

また, ヘリウムガスの平均線速度を 46.3 cm/min に設定し分析時間を 30 分に短縮した. その結果, m/z 98 のクロマトグラムでは, ピーク形状が良好なクロマトグラムが得られた. 内部標準物質は, 8.3 分, DCB は, 11.8 分, TCB は 14.1 分に溶出することを確認した (図3)。

2) 直線性

内部標準法による検量線は DCB 及び TCB とともに, 5 ppb~1000 ppb の間で $R^2 = 0.999$ の良好な直線性を示した.

2. SFE 条件

トラップカラムからの溶出溶媒, 抽出圧力, 試料配合割合について検討した.

まず, SFE 抽出管に脱脂綿を充填し, DCB 及び TCB 標準溶液を浸み込ませ室温に 20 分間放置し SFE にセットした.

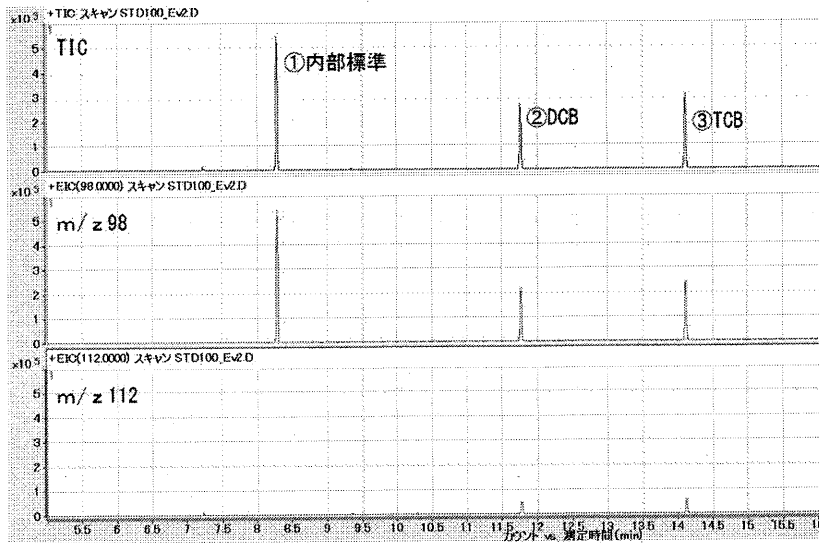


図3 DCB, TCB 及び内部標準物質の質量クロマトグラム(各 100 ppb)

トラップカラムからの溶出溶媒はアセトン及びアセトニトリルを使用した。n-ヘキサン、エーテル、クロロホルムも考慮したが脂肪の溶出、沸点、毒性などの課題があり使用しなかった。その結果、アセトニトリルでは全く溶出されなかったため、溶出溶媒は、アセトンに決定した。

次に、最適な抽出圧力を決定するために牛ミンチ肉を使用し抽出物残渣の重量を測定し評価した。その結果、抽出圧力 12 MPa と 15 MPa で良好な回収率を得ることができた。抽出圧力に比例して夾雑物も多量に抽出されることから抽出圧力は 12 MPa に決定した(図4)。

SFE 抽出管への試料充填に際し、配管の目詰まりを防止する目的で、珪藻土、吸水材を用い、その割合を決定した。配合は、試料 2 g, 珪藻土 2 g, 吸水材 1 g とした。

3. 精製方法

SFE 抽出液は、溶出された時点である程度夾雑物質は除去されている。しかし、精製なしで GC/MS 測定することは不可能であった。そこで夾雑成分を除去するためにミニカラムによる精製を検討した。精製は、シリカゲルを充填した 2 種類のミニカラムについて比較検討を行った。

まず、ミニカラムからの DCB 及び TCB の溶出挙動を確認した。n-ヘキサン 2 mL に DCB 及び TCB をそれぞれ 200 ng 添加したものを試料とし、n-ヘキサン 10 mL でコンディショニングしたミニカラムに負荷し、n-ヘキサン 10 mL で洗浄後、2% ジエチルエーテ

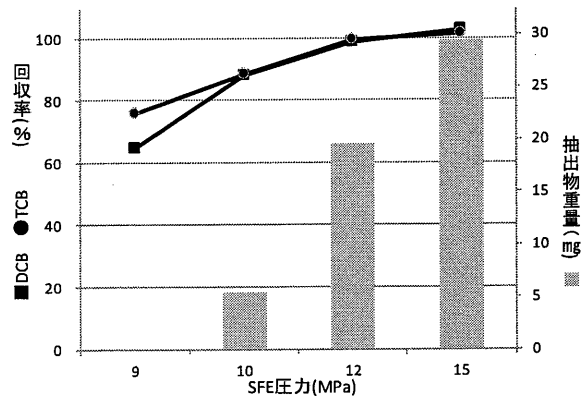


図4 抽出圧力と回収率及び抽出物重量

ル/n-ヘキサン溶液を通液した。各フラクションの DCB 及び TCB を測定したところ、DCB 及び TCB は F4~F8 (2% ジエチルエーテル/n-ヘキサン 6~15 mL) の範囲に溶出した。従って、このフラクションを回収することとした(図5)。

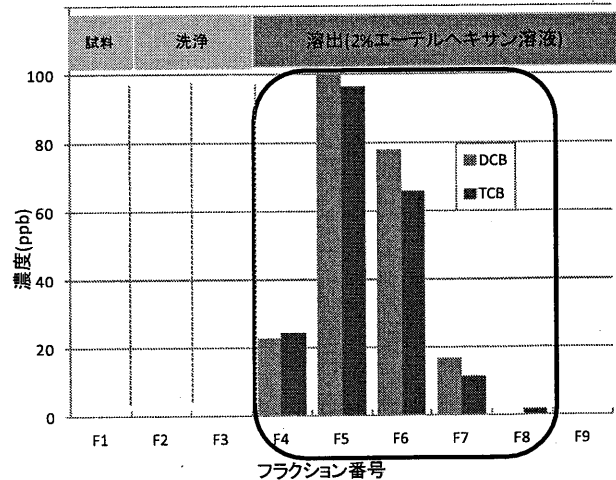


図5 DCB 及び TCB の溶出挙動

次に、牛ミンチ肉のSFE抽出液にDCB及びTCB標準液(1000 ng/mL)を50 µL添加し、それぞれのミニカラムに負荷した時の回収率を算出した。その結果、回収率が良好であったSep-Pak Vac 6cc (1 g) Silica Cartridgesを使用することにした(表2)。

表2 回収率によるミニカラムの比較(n=3)

ミニカラム	回収率(%)	
	DCB	TCB
SepPak Vac 6 cc (1 g) Silica Cartridges	88.4	78.1
InertSep SI 1000 mg/Slim-J	66.6	57.2

添加量: 50 ng

4. 妥当性評価

以上の決定した方法が有効か評価するため、通知法に準じて以下の判定項目を設定した。DCB及びTCBを添加した試料の測定を行って全ての項目を満たし「陽性」となること、さらに未添加の試料を測定して「陰性」となることが確認された場合に本研究で決定した方法が妥当であると判断できる。

判定項目

- ① 標準溶液と同じ保持時間に、m/z 98及びm/z 112にS/N比3以上のピークを認める。
- ② m/z98及びm/z112で観測されるピーク面積比は、m/z98において近似した面積を与える検量線用標準溶液ピークから得られるm/z 98及びm/z 112のピーク面積比の±20%以内である。
- ③ 保持時間付近でm/z 95からm/z 115の範囲でスキャン測定を行うとき、m/z 98及びm/z 112が主要イオンである。
- ④ 上記①から③の項目を満たした場合の定量値が、検量線用標準溶液のS/N比3から求めた濃度以上である(DCB: 0.37 ng/g, TCB: 0.56 ng/g)。

試料は牛ミンチ肉とレトルト牛井を用いた。DCB及びTCBの添加濃度は、実用レベルの照射を検知できることと安定したGC/MS測定が可能な最低濃度という点を考慮し、それぞれ20 ng/gとした³⁾。添加試料を1日4併行4日間、未添加試料を1日2併行2日間分析した。

その結果、添加試料は全ての判定項目の要件を満たし、陽性と判定した。表3に示すように、添加試料の回収率の平均値96.8~129.3%であった。概ね精度管理試験の真度の判定区間である70~120%の範囲で

あり、変動係数は5.5~13.0の範囲であった。未添加試料は、標準溶液と同じ保持時間m/z98及びm/z112のピークは認められず、陰性と判定した。

以上のことから、牛ミンチ肉、レトルト牛井について本試験方法は妥当であると考えられた。

表3 牛ミンチ肉及びレトルト牛井における添加結果

試料	2-ACB	回収率(%)	変動係数(%)
	TCB	110.8	10.5
レトルト牛井	DCB	101.9	12.8
	TCB	129.3	5.5

添加量: 20 ng/g

1日4併行, 4日間 (n=16)

5. 照射試料の分析

放射線照射されたレトルト牛井(照射線量3 kGy)を用いて本試験方法を適用し、5併行で照射履歴の判定を試みた。その結果、DCB及びTCBの平均値はそれぞれ44.1 ng/g, 35.1 ng/gであった(表4)。さらに、上記の判定項目の要件をすべて満たしたことから、陽性と判定でき(表5)、照射履歴の判定を正確に行うことができた。

表4 照射レトルト牛井(3 kGy)の検知結果

2-ACB	測定値 (ng/g)					平均値 (ng/g)	変動係数 (%)
	1	2	3	4	5		
DCB	41.4	47.1	43.7	42.1	46.3	44.1	5.1
TCB	31.1	33.3	38.1	36.2	37.1	35.1	7.3

表5 照射履歴の判定

判定項目	要件	DCB	TCB
S/N比 (m/z98)	3以上	72.2 ~ 109.1	13.1 ~ 14.7
(m/z112)	3以上	13.7 ~ 18.5	3.5 ~ 5.6
ピーク面積値 (注1)	16.9 ~ 25.3	19.6 ~ 21.8	18.2 ~ 22.4
主要イオン% (注2)	50%以上	78.1 ~ 87.8	72.2 ~ 92.0
定量値 (ng/g) (注3)	DCB: 0.37 ng/g以上 TCB: 0.56 ng/g以上	41.4 ~ 47.1	31.1 ~ 38.1
判定結果		陽性	

注1: m/z112の面積値+m/z98の面積値×100

要件の範囲は標準溶液の結果から算出

注2: m/z95 ~ 115の総イオン強度に占めるm/z98とm/z112のイオン強度の割合

注3: 要件は標準溶液のS/N比から算出

まとめ

アルキルシクロブタノンを指標に用いた分析条件を検討し、脂肪含有食品に放射線照射した場合の迅速な検知方法を開発した。SFE抽出を行うことにより、通知法に比べて抽出・精製時間の短縮が可能になった。

照射された試料を検知することができ、当センターにおける放射線照射食品の検知体制を整えることができた。

文 献

- 1) 医薬食品局食品安全部長通知「放射線照射された食品の検知方法について」, 食安発 0910 第 2 号(平成 24 年 9 月 10 日)
- 2) Horvatovich, P. *et al.*, : Determination of 2-alkylcyclobutanones with electronic impact and chemical ionization gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS) in irradiated food. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 1990-1996 (2006)
- 3) 尾花裕孝:食品照射, 43, 37-45(2008)

第3章 調査研究・報告

第2節 報 告

ヒスタミンによる食中毒事例

村上友規・折口菜都希・安藤尚子・岡山明子

Food Poisoning Caused by Histamine

Yuki MURAKAMI・Natsuki ORIGUCHI・Naoko ANDO and Akiko OKAYAMA

緒言

平成27年度、奈良県ではヒスタミンを病因物質とする食中毒事件が2件発生した。1件目は平成27年5月、「うるめいわし丸干し」を喫食し蕁麻疹を発症した事例で、患者が大阪府在住、うるめいわし丸干しの製造施設が和歌山県、販売店舗が奈良県と3府県が関わっていたため、検査も3府県で分担して行った。大阪府は喫食残品、和歌山県は製造施設同ロット品、奈良県は店舗に保管されていた同ロット品と推定される製品の検査をそれぞれ担当した。結果、3府県全ての検体から中毒量を超えるヒスタミンが検出されたため、喫食残品を検査した大阪府の検査結果を以て当該品を病因食品とする食中毒と断定された。2件目は平成28年2月、奈良県内の保育園・幼稚園で学校給食を喫食後に園児及び職員計65名が顔面紅潮や蕁麻疹などの症状を訴え、検査の結果より「鰯のつみれ汁」からヒスタミンが検出された。

1件目の事例については、当センターで行った店舗保管品のヒスタミン検出状況、2件目については給食残品からのヒスタミン検出状況の報告を行う。

調査方法

1. 試料

1) うるめいわし丸干し

当該品は製造施設で製造された後、販売店舗に冷凍搬入され、販売ロットごとに解凍後、冷蔵状態で陳列されていた。そのため、当センターにも冷凍及び冷蔵状態のそれぞれの検体が搬入された。ヒスタミン含有量に個体差があることが懸念されたため、冷凍保管品及び冷蔵陳列品それぞれから3検体ずつ採取し、別々に試験に供した。

2) 鰯のつみれ汁

A 保育園、B 保育園、C 幼稚園の3施設から給食残品が搬入された。給食メニューから鰯のつみれ汁とブロッコリーのおかか和え（以下、おかか和え）を疑い、鰯のつみれ、汁及びおかか和えの3つをそれぞれ試験

に供した。

2. 試薬

標準品：ヒスタミン二塩酸塩（特級）、L-ヒスチジン二塩酸塩（特級）。

標準原液はそれぞれの標準品を蒸留水で塩基として2,000 µg/mLになるように調製した。各標準原液を混合し、蒸留水で希釈して各100 µg/mLの混合標準液とした。

蛍光誘導体化試薬：フルオレスカミン。

フルオレスカミンアセトン溶液（3 mg/mL）。

その他の試薬類：10%トリクロロ酢酸溶液、0.2 M ホウ酸緩衝液（ホウ酸を蒸留水に溶解後、10%水酸化ナトリウム溶液を用いてpH 9.0に調整）、アセトニトリル（高速液体クロマトグラフ用）、ホウ酸、トリクロロ酢酸、水酸化ナトリウム、酢酸ナトリウム、臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム、アセトン。

以上の試薬は全て和光純薬工業(株)製を用いた。また、アセトニトリルを除く全ての試薬は特級グレードを用いた。

3. 試験溶液の調製

試験は玉瀝りの方法で行った。汁はそのまま、鰯のつみれ及びおかか和えは細切りして、それぞれ5gを50 mL比色管に採取し、蒸留水を20~30 mL加えてポリトロンで粉碎・均一化した。それに、10%トリクロロ酢酸溶液を10 mL加えて、蒸留水で全量を50 mLとし、よく混和した。10分間静置後、3000 rpmで10分間遠心分離を行い、上清をNO.2ろ紙でろ過した。得られたろ液50 µLを試験管に分取し0.2 M ホウ酸緩衝液(pH 9.0)を2 mL加えた。試験管ミキサーで攪拌させながらフルオレスカミンアセトン溶液（3 mg/mL）を200 µLを加え、20秒間攪拌反応させることで蛍光誘導体化を行い、0.45 µm フィルターでろ過後、これを試験溶液とした。

4. HPLCによる定量測定

うるめいわし丸干し、鰯のつみれ、汁及びおかか和えの試験溶液を表1の条件にてHPLCで測定した。

表1 HPLC条件

装置	SHIMADZU LC-10A
カラム	Inertsil ODS-2 (150×4.6 mm id, 5 μm)
移動相	50 mM酢酸ナトリウム溶液(pH6.6): アセトニトリル (77:23) + 5 mM臭化テトラ-n-ブチルアンモニウム
カラム温度	40℃
流速	1.0 mL/min
検出器	RF-10A XL (ex. 390, em. 480)
注入量	5 μL
測定時間	35分

5. うるめいわし丸干しの食中毒事件におけるヒスタミン産生時期の推定

1) ヒスタミン量の経時変化

検体を5℃に設定した冷蔵庫及び25℃に設定したインキュベーターに約2日間保管し、ヒスタミンの増減を調査した。

2) 水分活性の測定

コンウェイユニット法²⁾により測定した。

3) 塩分濃度の測定

モール法³⁾により測定した。

結果

1. ヒスタミン検出結果

1) うるめいわし丸干し

表2に店舗保管品のうるめいわし丸干しからのヒスタミン検出結果を示す。うるめいわし丸干しの冷蔵品からは93~440 mg/100g、冷凍品からは230~310 mg/100gと全ての検体から中毒量を超えるヒスタミンを検出した。また、大阪府及び和歌山県の検査結果からも、中毒量のヒスタミンを検出したとの報道発表があった。

表2 ヒスタミン検出結果

検体名	検出量 (mg/100g)	平均 (mg/100g)
店舗保管品 (冷蔵品)	140	220
	440	
	93	
店舗保管品 (冷凍品)	300	280
	230	
	310	
喫食残品 ※大阪府の報道発表資料	---	480
製造施設同ロット品 ※和歌山県の報道発表資料	---	285

2) 鰯のつみれ汁

表3に鰯のつみれ、汁及びおかか和えからのヒスタミン検出結果を示す。鰯のつみれからは76~93 mg/100g、鰯のつみれが入っていた汁からは6~12 mg/100gのヒスタミンを検出した。また、鰯のつみれが入っていなかった汁からヒスタミンは検出されなかった。

表3 ヒスタミン検出結果

検体名	施設	平均 (mg/100g)
鰯のつみれ	A 保育園	76
	B 保育園	93
	C 幼稚園	82
汁	A 保育園	12
	B 保育園	< 5
	C 幼稚園	6
おかか和え	A 保育園	< 5
	B 保育園	< 5
	C 幼稚園	< 5

2. ヒスタミン産生時期の推定

1) ヒスタミン量の経時変化

図1に検査結果を示す。0時間に測定したヒスタミン/ヒスチジン比を1.0とした。約2日間、経時変化を確認したが0℃及び25℃で保管した両検体でヒスタミンの増加は確認できなかった。

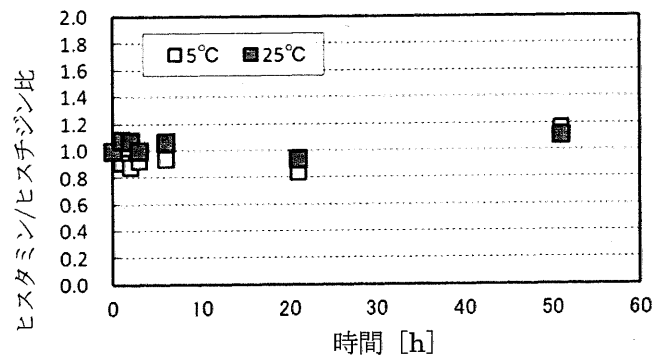


図1 ヒスタミン量の経時変化

2) 水分活性の測定

検査の結果、水分活性は0.86であった。

3) 塩分濃度の測定

検査の結果、塩分濃度は6.4%であった。

考察

1. うるめいわし丸干しによる食中毒

検査を行った3府県全てで中毒量を超えるヒスタミンが検出され、大阪府の実施した喫食残品の検出結果を以て当該品を原因食品とする食中毒と断定された。

主なヒスタミン産生菌として中温・非好塩菌である *Morganella morganii* が広く知られているが⁴⁾、図2にも示すように食中毒発生日直近の奈良の最高気温は

25°C以上であり、平年より気温が高くヒスタミンを産生する好条件が整っていた。

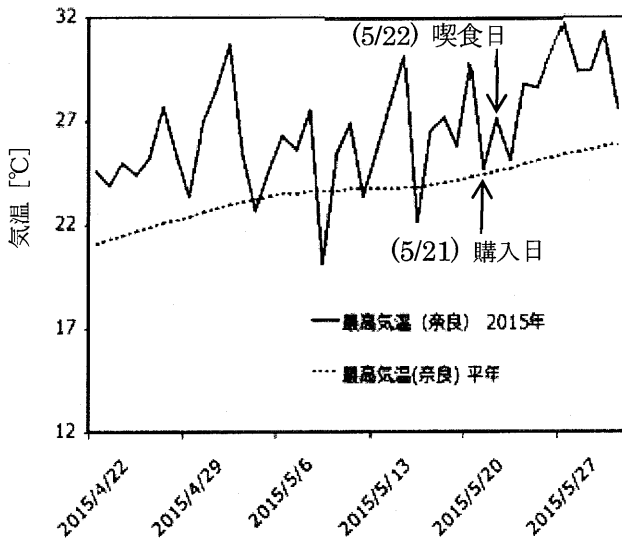


図2 2015年4～5月の気象庁データ

そのことから、患者が奈良の販売店舗で当該品を購入後に大阪の自宅に持ち帰り、翌日喫食するまでにヒスタミンが産生した可能性を考え、「試験方法 5. ヒスタミン産生時期の推定」に記載した検証を行ったが、結果は図1の通り検証条件でのヒスタミン増加は確認できなかった。また、検体は水分活性が0.86及び塩分濃度が6.4%と一般的な細菌が生育できない環境であった。以上のことから、製造施設での製品加工後から喫食の間にヒスタミンが産生された可能性は低いと考えられる。それ故、原料魚の漁獲段階から製造施設までの製造段階でヒスタミンが増加したことが推察される。

2. 鯛のつみれ汁による食中毒

一般的には食品中のヒスタミン濃度が100 mg/100g以上になれば食中毒を発症するといわれているが、実際には摂取量が問題であり、ヒスタミン食中毒事例を基にした調査では成人一人当たりの発症量は22～320 mgと報告されている⁵⁾。今回の事例では目安となる100 mg/100gには達していなかったものの、体重の軽い乳幼児中心に発症し、同様の症状を訴えている患者が多いことからヒスタミンによる食中毒と断定された。

まとめ

ヒスタミンが原因となる食中毒は、学校給食や飲食店で発生する事例が特に多いため、一度発生すると多くの患者を出してしまう。そのため、行政対応としては原料魚等の衛生管理を適切に行うよう業者に対し啓発していくことが望まれる。

文献

- 1) 玉瀬喜久雄, 北田喜三, 溝淵脩彦, 他: 食品衛生学雑誌, 25, 525-529 (1984)
- 2) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2015. 191-192 (2015)
- 3) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2015. 914-915 (2015)
- 4) 藤井建夫: 日本食品微生物学会雑誌, 23(2), 61-71 (2006)
- 5) 井部明広: 食品安全セミナー1 食中毒 第5章, 215-227 (2001)

トリメチルシリルジアゾメタンによるオクラトキシンAのメチル化とGC/NCIMS分析

北岡洋平・陰地義樹・山下浩一・西山隆之・山本雄也・岡山明子

Chemical Derivatization of Ochratoxin A with Trimethylsilyldiazomethane and GC/NCIMS Analysis

Yohei KITAOKA・Yoshiki ONJI・Hirokazu YAMASHITA・Takayuki NISHIYAMA・Yuya YAMAMOTO
and Akiko OKAYAMA

緒言

オクラトキシンA (OTA)は、アスペルギルス属およびペニシリウム属のカビが産生するカビ毒で腎毒性及び肝毒性を有する¹⁾。国内では、飼料、食品ともに規制値は設定されていないが、コーデックス委員会では、小麦、大麦及びライ麦に対して5 ppb (µg/kg)という規制値を設定している²⁾。OTA分析には、ジアゾメタンでメチル化してGC/MSで測定する方法が報告されている³⁾。しかし、ジアゾメタンは有毒で爆発の危険性から取り扱いが難しく普及しなかった。

そこで、新たにトリメチルシリルジアゾメタン(TMSDM)を用いてOTAのメチル化条件の検討を行い、高感度検出が可能な負イオン化学イオン化GC/MS(GC/NCIMS)によるOTAの微量分析方法の開発を試み、その実用性を検証した。

方法

1. 試薬及び試料

OTA (Sigma-Aldrich), 10%TMSDM n-ヘキサン溶液(東京化成工業), その他の試薬は残留農薬試験用を使用した。

測定に供する試料は市販のローストコーヒー豆(コーヒーミルで粉砕), 小麦粉を使用した。

2. 装置

GC/NCIMSはITQ 1100™/ Trace GC Ultra (サーモフィッシャー)を使用した。EIマスペクトルの測定には5973MSD (ヒューレットパッカード)を使用した。

3. OTAの測定条件

1) GC条件

カラムはThermo TR-5MS 25m (EIでは30m) × 0.25 mm I.D.(膜厚0.25 µm)を使用した。

注入口温度240°C, 注入方式サージ(スプリット/スプリットレス)注入(350 kPa), カラムオープン温度は

60°C (1.5min) - 20°C/min - 280°C - 10°C/min - 320°C (3.5 min)とした。

2) MS条件

①CIMS

イオン源温度:180°C, イオン化法:NCI法, フィラメント電流:200 µA, 反応ガス及び流量:メタン 1.5 mL/min, キャリアガス及び流量:ヘリウムガス 1 mL/minとした。

②EIMS

イオン源温度:200°C, イオン化法:EI法, フィラメント電流:100 µA, キャリアガス及び流量:ヘリウムガス 1 mL/minとした。

4. 標準液の調製

OTA 1 mgをアセトニトリル 20 mLに溶解保存したものをアセトンで適宜希釈して使用した。

5. 試料の抽出と試験液の調製

OTA抽出液の精製には衛生試験法⁴⁾に基づいた多機能カラム法, イムノアフィニティーカラム法の2方法に加え, 田端らによって発表されている逆抽出法⁵⁾の計3方法を使用した。それぞれ抽出液の精製後に溶媒を留去してメチル化に供した。

6. メチル化の方法

10 µg/mL OTA 0.1 mLにアセトン 0.5 mL, メタノール 0.2 mL, 10%TMSDM n-ヘキサン溶液 0.2 mLを加えて25°C及び60°Cで反応させた。

結果

1. OTAのメチル誘導体の確認

500 µg/mL OTA 0.1 mLにアセトン 0.2 mL, メタノール 0.1 mL, 10%TMSDM n-ヘキサン溶液 0.6 mLを加えて60°Cで30分反応させて, EIでのGC/MS測定を行った。

図1に示す16.3分と17.7分のピークについてEI

マススペクトルを確認したところ、それぞれトリメチル OTA(図2. A)、ジメチル OTA(図2. B)であることが推測された。次いで、NCIでのGC/MS測定を行ったところ、14.4分と15.7分にOTAのメチル誘導体と推定されるピークが観測された(図3)。そのNCIマススペクトルからトリメチル OTA、ジメチル OTAであることが確認できた(図4)。主生成物であるジメチル OTAの分子イオンピークはEIマススペクトル(図2. B)で m/z 431と確認でき、基準ピークは m/z 253であった。また、NCIの基準ピークは分子イオン m/z 431からメタン1分子が脱離した m/z 416であった(図4)。

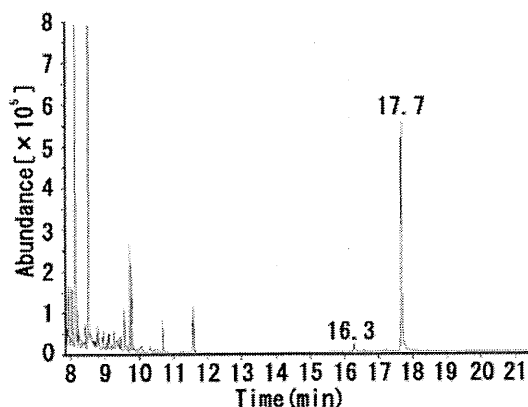


図1 GC/MS クロマトグラム(EI)

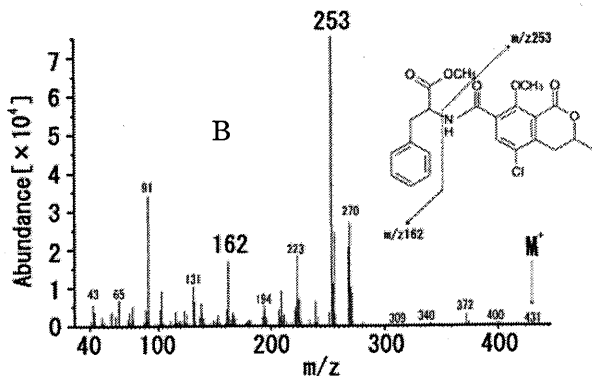
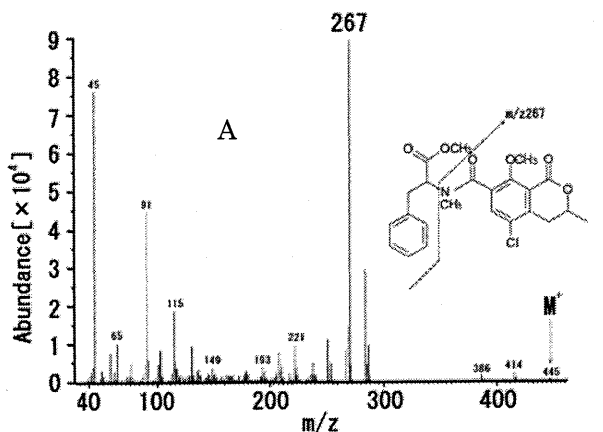


図2 EI マススペクトル
(A:RT16.3min, B:RT17.7min)

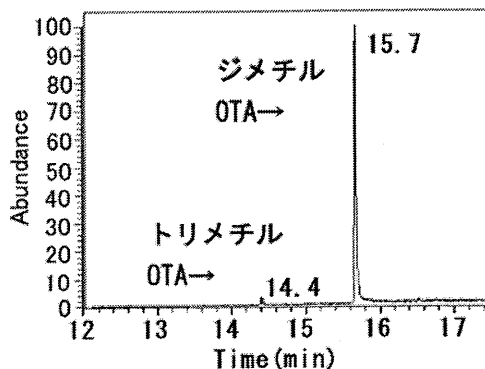


図3 GC/MS クロマトグラム(NCI)

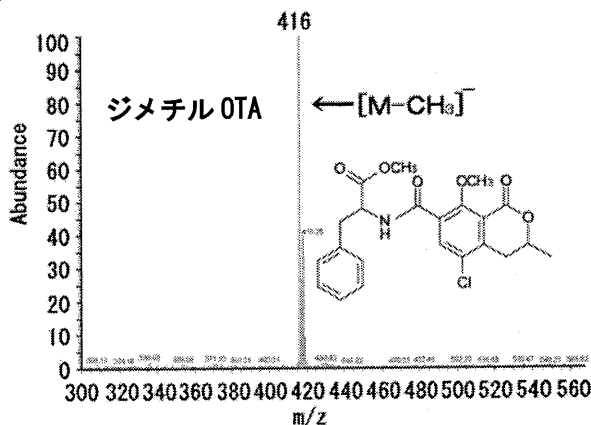
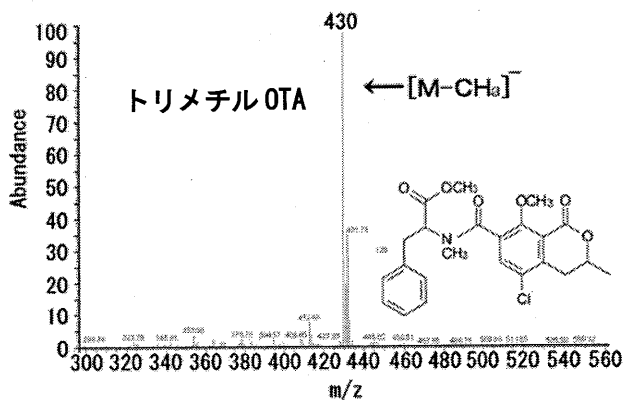


図4 NCI マススペクトル

以上の結果から GC/NCIMS では m/z 416 で高感度に OTA を検出することが可能であることが確認できた。

2. 反応条件の検討

メチル化の反応温度を 25°C及び 60°Cで比較し、その結果をジメチル OTA の生成量で示した(図5)。25°Cでは5分からジメチル OTA のピークが出現し、30分で最大となり、その後ほぼ一定となった。60°Cでは5分が最大で漸次減少したのに対し、トリメチル OTA が微量に生成し経時的に増加した(図6)。主生成物であるジメチル OTA は冷暗所に保存すると2か月後も安定であった。

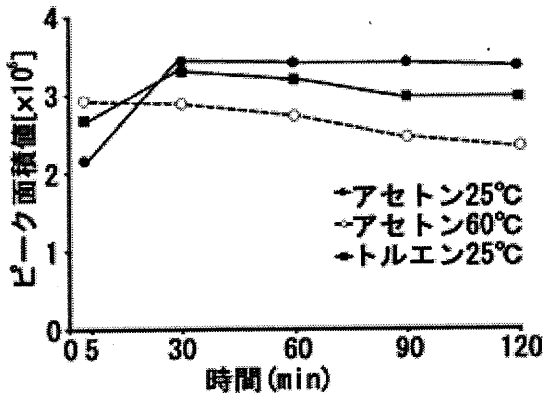


図5 ジメチル OTA 生成量の経時変化

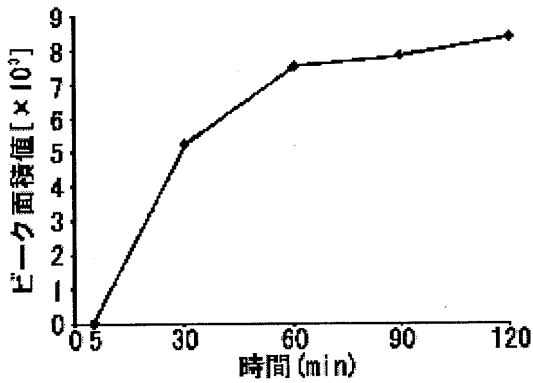


図6 アセトン 60°Cにおけるトリメチル OTA 生成量の経時変化

3. GC 注入量の検討

サージ注入を使用して注入量の増加による高感度検出を検討した。注入時のカラムヘッド圧を 350 kPa に設定し、注入量を 1~8 μL まで 1 μL ずつ変化させた結果、7 μL で応答が最大になった。従って、通常は 2 μL 注入とするが低濃度の場合には 7 μL 注入することで試験液の定量下限が 0.5 ppb となり、十分な感度を得ることができた(図7)。

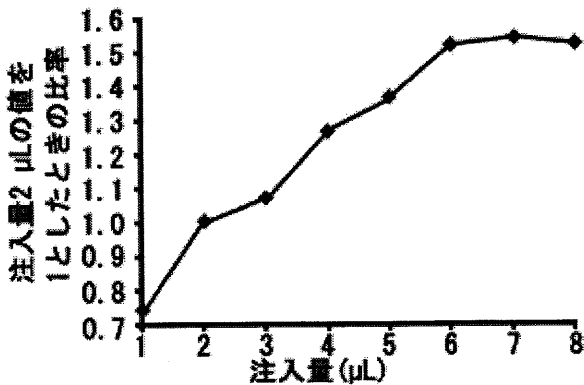


図7 GC 注入量の検討

4. 精製について

OTA 抽出液の精製について逆抽出法, 多機能カラム

法及びイムノアフィニティーカラム法の GC/NCIMS 分析に対するそれぞれの精製効果を比較した。GC/NCIMS での測定結果 TIC(m/z 100-550)をそれぞれ図8~10に示した。

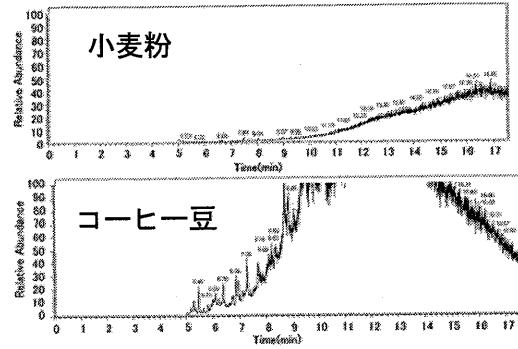


図8 逆抽出法クロマトグラム

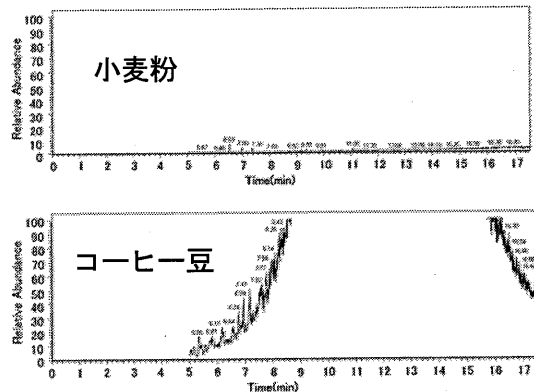


図9 多機能カラム法クロマトグラム

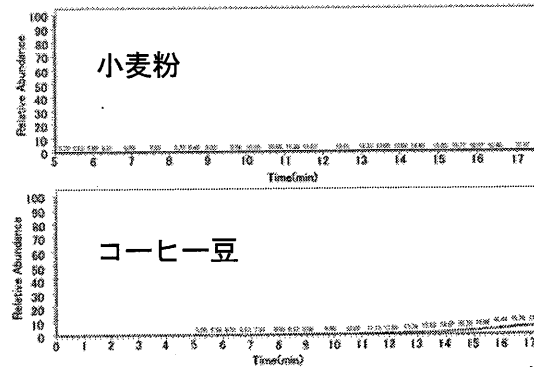


図10 イムノアフィニティーカラム法クロマトグラム

逆抽出法では小麦粉抽出液, コーヒー豆抽出液ともに夾雑物がベースラインを押し上げて測定が不能になるとともに分析カラムの劣化を伴った(図8)。多機能カラム法では小麦粉抽出液では十分に精製されたが, コーヒー豆抽出液では精製が不十分であった(図9)。イムノアフィニティーカラム法はいずれの抽出液も十分に精製された(図10)。

考 察

1. ジメチル OTA の検出感度について

ジメチル OTA は GC/MS において EI ではフラグメンテーションが激しく十分な感度のイオンが得られないが、ソフトなイオン化法である NCI では ppb レベルでの検出が可能であり、さらに、サージ注入法を用いて GC 注入量を増大させることで数倍感度を改善することができた。このことにより LC/MS と同等以上の検出感度が達成できると考えられる。オクラトキシン B(OTB)についても誘導体化を試みた。OTA と同様にジメチル OTB の生成が確認されたものの電子親和力が小さいことから NCI 感度が OTA に比べ 1/10 程度であった。

2. トリメチル OTA について

TMSDM によるメチル化では一般に、N-メチル化も起こることが知られており、先に述べたように 60℃ ではトリメチル OTA が、わずかながら生成されることが観測された(図7)。しかしながら、この反応は反応温度を 90℃ に設定しても立体障害か何らかの阻害要因のため反応が進まず、OTA のメチル化の最終生成物として測定に使用することはできなかったことからジメチル OTA を測定に用いることにした。

3. 前処理方法について

本法で検討した逆抽出法、多機能カラム法、イムノアフィニティーカラム法の 3 方法は広く採用されている方法であり、その精製効果は十分に確認されているものである。しかし、GC/MS では精製が不十分な場合には分析カラムへのダメージが大きいため、今回用いた小麦粉とコーヒー豆ではイムノアフィニティーカラム法が適していると考えられた。さらに、メチル化に際して、実サンプルでは、乾固後の OTA はアセトンよりも低極性であるトルエンに溶解するほうが容易であるが、ジメチル OTA の生成はアセトンとほぼ同等であった(図5)。そのため、健康や環境への影響等を考慮するとアセトンへの溶解でよいと考えられた。

4. GC カラムについて

本法では十分に精製された試験液を測定するものであるが、精製が不十分であったり、注入量を増大したりすると分析カラムの劣化を伴うことが避けられない。従ってその対策としてプレカラムを使用することとした。具体的には内径 0.32 mm(長さ 1 m)のブランクカラムを接続するが、プレスフィットコネクターではパルス注入の急激なヘッド圧に耐えられないため自家製の固定具を使用した。

このこととは別に TMSDM で誘導体化された試料を繰り返し測定するとジメチル OTA のピークが消失

する現象が繰り返し観測された。これは、プレカラムの交換で回避できることから不揮発性の物質がジメチル OTA の分解もしくは不揮発性反応中間体が GC 内で生成しているのではないかと推測された。

最後に

本法はジメチル OTA を最終生成物として GC/NCIMS で検知する。定量下限 0.5 ppb であった。OTA のジアゾメタンを用いたメチル化による分析やその応用は Jiao ら³⁾ 及び Studer ら⁶⁾ の報告以外に見られない。

今後、GC 分析カラムへの影響を考慮し、三フッ化ホウ素メタノールを含むその他の試薬について検討を行い、より操作性の高い前処理法を再構築する必要があると考える。

文 献

- 1) J. I. Pir: *Toxigenic Fungi and Mycotoxins*, British Medical Bulletin, 56, 184-92(2000)
- 2) General Standard for Contaminants and Toxins in Food and Feed (CODEX STAN 193-1995)
- 3) Y. Jiao, W. Blaas, C. Ruhl and R. Weber, *Journal of Chromatography*, 595, 364-367(1992)
- 4) 日本薬学会編, 衛生試験法・注解 2010,(金原出版), 292-293(2010)
- 5) 田端節子, 他: *Mycotoxins*, 57(1), 37-45(2007)
- 6) R.I.Studer, DR Dietrich, J Schlatter, C. Schlatter, *Food Chem Toxicol.* 33(5):341-55(1995)

奈良県における結核菌の分子疫学調査（2013-2015年度）

田邊純子・辻本真弓・阿部剛士・橋田みさを・堀 重俊

Molecular epidemiological research of *Mycobacterium tuberculosis* in Nara Prefecture (2013-2015)

Sumiko TANABE・Mayumi TSUJIMOTO・Koushi ABE・Misawo HASHIDA and Shigetoshi HORI

緒言

結核は国内の患者数および罹患率（人口10万人に対する新登録結核患者数）がともに減少傾向にあり、2014年の新登録結核患者数は初めて2万人を下回ったが、未だ1万9千人以上発生している¹⁾我が国の主要な感染症である。奈良県では2014年の新登録結核患者数は230人が登録され、罹患率は16.7と全国値（15.4）より高くなっている。

結核対策として近年は分子疫学解析の積極的活用が求められ、遺伝子型別手法である Variable numbers of tandem repeats (VNTR) 型別の普及が地方衛生研究所で進んでいる。奈良県では2013年度に奈良県結核菌分子疫学調査事業を開始し、当センターにおいて県内保健所から搬入された結核菌のVNTR型別を実施している。また国内で分離される結核菌の7～8割は、高病原性が示唆されている北京型株であるとされており²⁾、県内における北京型株の検出状況についても調査している。

今回は2013年度から2015年度までに搬入された結核菌について、VNTR型別をはじめとした分子疫学調査の結果をまとめたので報告する。

材料と方法

1. 材料

医療機関等で結核菌と同定され、2013年4月から2016年3月までの間に当センターへ搬入された123株を用いて試験を実施した。患者年齢層及び男女性別の菌株数を表1に示す。

2. 方法

1) 結核菌からのDNA抽出

結核菌をTE緩衝液に懸濁し、95℃で15分加熱した後、凍結融解させ遠心分離した上清を抽出DNA液とした。

2) VNTR型別

国内標準法として提唱されているVNTR領域12か所を対象としたJapan Anti-Tuberculosis Association

(JATA) (12)-VNTR法³⁾を実施した。PCR条件は既報⁴⁾又は95℃で5分加熱後、95℃30秒、60℃30秒、72℃90秒のサイクルを40回実施し、72℃で7分加熱する方法とした。得られたPCR産物は、マイクロチップ電気泳動装置MultiNA (MCE-202; 島津製作所)とアガロースゲルによる電気泳動を実施し、測定値から各領域の反復数を算出した。全12領域の反復数が完全に一致した菌株群は、同一クラスターと判定した。

3) 北京型・非北京型の分類

Warrenら⁵⁾のプライマーを使用したPCRを実施して、北京型および非北京型を分類した。

表1 年齢層・性別の菌株数

年齢層	男	女	計
0～19	1	0	1
20～29	5	5	10
30～39	9	3	12
40～49	15	9	24
50～59	12	6	18
60～69	24	12	36
70～79	12	3	15
80～	5	2	7
計	83	40	123

結果

1. VNTR型別

搬入された123株についてJATA(12)-VNTR法を実施し、各領域の反復数が得られた121株について解析した結果、89種類のJATA(12)-VNTR型を確認し、51株が19組のクラスターを形成した(表2)。クラスター形成率は42.1%であった。高齢となって発病した者(既感染発病者)が多いと考えられる65歳以上¹⁾の年齢層と、64歳以下とでそれぞれのクラスター形成率を見ると、64歳以下の34.9%(30株/86株)に対して65歳以上では22.9%(8株/35株)と低かった。

本報告の対象期間において保健所調査による疫学情報から同一感染源を疑う事例は8件あった。このうち6事例はJATA(12)-VNTR型がそれぞれ一致してクラスターを形成したため、各事例は同一感染源由来菌株と考えられた(表2のNo.1, 6, 9, 12, 17及び19)。一方、2事例は各菌株のJATA(12)-VNTR型が一致し

なかったため、それぞれの症例は感染源の異なる散発例と判断された(表3)。

2. 北京型・非北京型の分類

搬入された123株のうち120株について結果が得られた。北京型は90株(75.0%)、非北京型は30株(25.0%)であり、北京型株が7割以上を占めていた。

表2 JATA(12)-VNTR型におけるクラスター形成

No.	奈良県 クラスター ID	JATA(12)-VNTR												株数	疫学情報
		J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12		
1	12TB13001	4	3	4	3	6	3	7	4	4	7	8	3	5	3株に接触歴
2	12TB13018	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3	5	
3	12TB13005	4	3	4	3	5	3	6	4	5	10	8	3	4	
4	12TB13017	2	3	1	3	4	2	5	4	4	12	4	3	4	
5	12TB14008	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5	4	
6	12TB13008	4	3	3	3	3	3	3	4	5	8	7	2	3	同一施設利用
7	12TB13004	4	3	4	3	6	3	6	4	5	8	8	3	2	
8	12TB13014	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3	2	
9	12TB13019	2	3	1	3	4	2	5	4	3	11	5	3	2	兄弟
10	12TB13021	4	3	2	3	6	3	7	4	5	7	9	3	2	
11	12TB13028	4	3	4	3	6	3	7	4	5	8	8	3	2	
12	12TB13029	4	3	3	3	3	3	7	4	5	5	7	4	2	接触歴あり
13	12TB14017	4	3	3	2	7	3	7	4	5	7	10	5	2	
14	12TB14020	4	3	4	3	6	3	4	4	5	7	8	3	2	
15	12TB14021	4	3	4	3	8	3	7	4	5	7	8	3	2	
16	12TB14038	0	2	1	3	2	2	5	4	3	7	4	3	2	
17	12TB14043	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	9	3	2	夫婦
18	12TB14044	4	3	3	3	3	3	5	4	6	7	9	4	2	
19	12TB15024	4	3	5	3	3	3	6	4	2	4	8	4	2	夫婦

表3 JATA(12)-VNTR型が一致しなかった事例

No.	菌株番号	JATA(12)-VNTR												疫学情報
		J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	
1	tb14016	3	4	2	3	2	7	5	4	3	2	6	4	A病院関連
	tb14017	4	3	3	2	7	3	7	4	5	7	10	5	
	tb14018	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3	
	tb14022	4	3	3	3	3	3	6	4	5	6	8	4	
2	tb14024	4	1	3	2	7	4	7	5	4	7	8	5	B病院関連
	tb14025	4	3	4	3	6	3	7	4	4	7	8	3	
	tb14034	4	3	3	3	3	3	7	4	5	7	8	4	

考 察

奈良県では 2013 年度から結核菌分子疫学調査事業を開始し、これまでの 3 年間で県内患者由来結核菌 121 株の JATA(12)-VNTR 型別結果が得られた。クラスター形成率は 42.1%と高めであったが、要因のひとつに調査対象を原則として 70 歳未満で初回治療の塗抹陽性患者から分離された菌株としていたことが考えられる。県内の結核患者は高齢者が多く、今後は高齢者由来株についても分子疫学解析を進める方針であることから、クラスター形成状況を見て県内の再燃による高齢者結核の発症状況も把握できると思われる。

疫学情報から患者間接触歴があり同一感染源を疑った 8 事例のうち、6 事例は JATA(12)-VNTR 型が完全一致し、2 事例はそれぞれ複数領域の反復数が異なる結果を示した。非集団感染事例では菌株間における JATA(12)-VNTR 型の違いが大きいことから結核患者複数発生時の異同判定に信頼性が高いことが示されている⁶⁾。今回 JATA(12)-VNTR 型が一致しなかった 2 事例は、科学的根拠として集団発生を否定する結果となり、保健所による追加調査などの負担を軽減する効果があったと思われる。

今回の結果では接触情報のないクラスターを 14 組確認した(表 2)が、JATA(12)-VNTR 型別は疫学的関連性の低い菌株間において分解能が十分でないことが指摘されており⁷⁾、分析領域の追加によりさらに型別される可能性があるため、依頼に応じられるよう検討を進めている。また、接触情報のないクラスター 14 組の中に阪神地域で出現頻度が高いと報告されている JATA(12)-VNTR 型⁸⁾が 9 組(表 2 の No.1~5, 8, 11, 13 及び 15)見られた。同地域に接する本県にとって患者疫学情報の追加調査や分析領域追加の必要性を判断する際に有益なため、今後も近隣自治体の情報収集に努めていきたい。さらに県内由来菌株について VNTR 領域の追加分析を実施することで、接触歴は確認されないが県内に多い VNTR 型が見いだされる可能性があるため、県内患者由来結核菌をできるだけ収集して VNTR 型別を実施し、データベースを充実させていくことが必要と考えている。

北京型・非北京型の分類では、北京型株が 7 割以上を占めており、県内においても国内と同様の傾向を示すことが明らかとなった。北京型株には ancient type (祖先型)と、より感染伝播及び発病率が高いと報告のある modern type (新興型)があり、世界では新興型が主流とされるのに対し国内は祖先型が約 8 割をしめることが報告されている²⁾。そのため県内北京型株の傾向を把握する必要があると考え分析を進めている。

今後も結核蔓延防止対策として感染源調査の科学的根拠となる分子疫学解析情報を提供するために、県内の結核菌 VNTR 型別データベースをさらに充実させ、奈良県の結核対策に寄与していきたい。

謝 辞

本報告にあたり、奈良県並びに奈良市結核菌分子疫学調査事業に関して、菌株の分離提供と収集及び疫学情報の提供にご尽力を頂いている関係医療機関と検査機関、そして県内保健所感染症担当者の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省：平成 26 年結核登録者情報調査年報集計結果(概況)、<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou03/14.html>
- 2) 岩本朋忠：結核，84，755-759 (2009)
- 3) 前田伸司，村瀬良朗，御手洗聡，他：結核，83，673-678 (2008)
- 4) 琴原優輝，辻本真弓，田邊純子，他：奈良県保健研究センター年報，48，59-60 (2013)
- 5) R. M. Warren, T. C. Victor, E. M. Streicher, *et al.*: *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.*, 169, 610-614 (2004)
- 6) 田丸亜貴，和田崇之，岩本朋忠，他：結核，88，399-403 (2013)
- 7) 和田崇之，長谷篤：結核，85，845-852 (2010)
- 8) 和田崇之，田丸亜貴，岩本朋忠，他：結核，88，393-398 (2013)

奈良県における腸管出血性大腸菌検出状況：2015年度

阿部剛士・田邊純子・橋田みさを・堀 重俊

Prevalence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* detected in Nara Prefecture, 2015

Koushi ABE・Sumiko TANABE・Misawo HASHIDA and Shigetoshi HORI

緒言

腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染症は、感染症法で三類感染症に指定され、診断した医師の全数届出が義務付けられている。感染者から分離された菌株は、保健所等の協力で当センターに搬入され、性状、血清型及び毒素型等の確認後、厚生労働省通知に基づき国立感染症研究所(以下、感染研)へ送付する。感染研では全国からの菌株についてDNA型別解析を実施し、全国的状況を把握すると共に、結果を地方衛生研究所へ還元する。当センターではその結果を保健所等へ報告している。

本報では、2015年4月から2016年3月の間に奈良県で届出されたEHEC感染症と当センターへ搬入されたEHEC菌株について、患者情報や細菌検査の結果等をまとめたので報告する。

材料と方法

1. 材料

2015年4月から2016年3月の間に奈良県で報告されたEHEC感染者は33例、内10例は当センターの接触者検便で菌を検出した。保健所等から搬入された23株と合わせてEHEC菌株33株を対象として検査を実施した。患者情報は、保健所の調査結果に基づく。

2. 血清型別及びベロ毒素(VT)型別

血清型別は、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を使用した。VT型別は、Cebulaら¹⁾のプライマーでPCRを実施し、またWangら²⁾のプライマーによるPCRで変異型VT2遺伝子(*stx2c*, *stx2d*, *stx2e*及び*stx2f*)の保有状況を調査した。

3. 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、セフトキシム(CTX)、セフポドキシム(CPDX)、ゲンタマイシン(GM)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CPFX)、ナリジクス酸(NA)、ST合剤(ST)、クロラムフェニコール(CP)及びホスホマイシン(FOM)の12薬剤

について、センチ・ディスク(日本BD)を用いた感受性試験をCLSI法に準拠して実施した。

4. 分子疫学解析

O157株はIS-printing system(東洋紡、以下IS)法による遺伝子型別を実施した。また感染研に送付した菌株のうちO157、O26及びO111株は反復配列多型解析(MLVA)法が実施されMLVA type及びMLVA complexが、他のO血清株はパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)解析の結果が情報提供された。

5. VT産生性試験

VT産生性試験は、VTEC-RPLA「生研」(デンカ生研)を使用して実施した。

結果

1. 腸管出血性大腸菌の検出状況

月別では7月が7株(21.2%)と最多で、7~9月に17株(51.5%)と例年通り夏期に多かった(図1)。

1月には保育園児を初発とした家族等の接触者検便から保菌者が確認され、検出数が多くなった。年齢は1歳から79歳まで幅広く見られたが、9歳以下が最も多く9株中5株は初発患者由来であった(図2)。性別で見ると、男性16人、女性17人であった。

2. 血清型・毒素型と臨床症状

O血清群はO157、O26、O121、O145及びO165の5種類見られ、O157が26株(78.8%)と最も多かった。毒素型は、O157ではVT2よりVT1&VT2が多く、O26はVT1とVT1&VT2、O121とO145はVT2のみ、O165はVT1&VT2であった(表1)。

臨床症状は、O157感染者26例中16例が有症で、腹痛(14例)と下痢(14例)が多く、血便は10例で見られた。O26感染者2例とO145感染者及びO165感染者各1例、そしてO121感染者のうち1例は有症で、血便も見られた。溶血性尿毒症症候群(HUS)発症例はなかった。

変異型VT2遺伝子は、O157の13株から*stx2c*遺伝子が検出されたが、他遺伝子の検出はなかった。

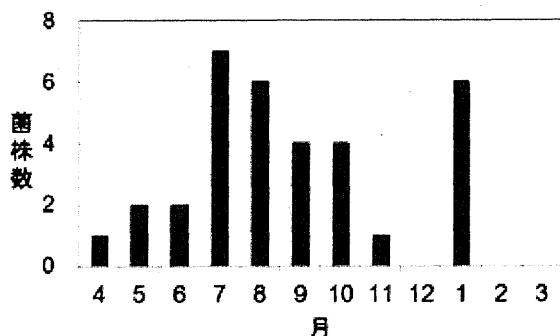


図1 月別検出状況

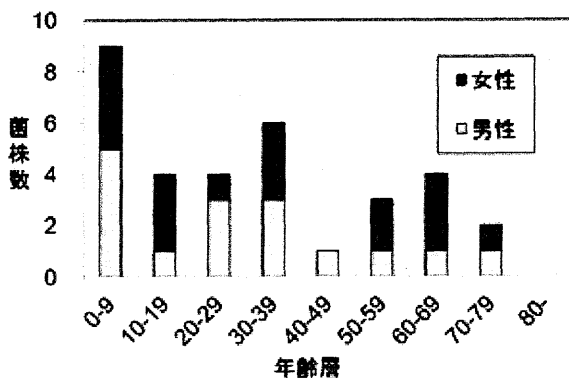


図2 年齢別・性別検出状況

表1 血清型と毒素型

	VT1	VT2 (<i>stx2c</i>)	VT1&VT2(<i>stx2c</i>)	合計
O157:H7	0	3 (2)	12	15
O157:H-	0	0	11(11)	11
O26:H11	1	0	0	1
O26:H-	0	0	1	1
O121:H19	0	3	0	3
O145:H-	0	1	0	1
O165:H-	0	0	1	1
合計	1	7(2)	25(11)	33

表2 薬剤感受性試験

O血清群	耐性	耐性薬剤名	菌株数
O157	3剤	ABPC, SM, TC	1
	1剤	SM	3
	なし	—	22
O121	なし	—	3
O26	なし	—	2
O145	3剤	SM, TC, CP	1
O165	なし	—	1

3. 薬剤感受性試験

1剤以上に耐性の菌株は5株あり, 3剤耐性がO157

とO145で各1株見られた。O26, O121及びO165の菌株は全て12薬剤に感受性を示した(表2)。

4. 分子疫学解析

O157菌株26株についてIS法を実施し, データを近畿ISデータベースに準じてセット毎に十進数の数値に変換した(ISコード)。その数値を比較した結果, 26株は12タイプに分類され, 2株以上で一致したISコードは5タイプあった(表3)。疫学情報から関連性が疑われた株は同一事例としてまとめた。

事例A, D及びEはそれぞれISコードが一致し, 同じMLVA complexに分類された。事例Dは, 初発患者が3歳の保育園児で, 接触者検便によって父親と患者の兄3名及び兄(幼稚園児)の接触者1名からO157が検出された。保健所による疫学調査と126名の接触者検便を実施したが, 感染源は不明であった。

事例BとCはそれぞれISコードが2タイプに分かれた。事例Cでは, 奈良県内の飲食店利用者3名からO157(VT1&VT2)を検出し, 食中毒事例と断定された。患者は牛の炙りレバーを喫食しており, その後, 当該店の近畿圏チェーン店を同時期に利用していた炙りレバー喫食者からもO157が検出され, 分離株(7株)のISコードとMLVAの結果は3タイプに分かれることが判明した³⁾。事例Bも牛の内臓肉を喫食していた事例であった。

またISコード「118143 114891」「216959 84459」及び「249711 116975」は, 過去にも散発で同じISコードの株が検出されたタイプであった。

O121の3株は, 家族内感染事例であり, 感染研によるPFGE解析の結果, 2株はパターンが一致し, 1株は2バンド違いであった。

5. VT産生性試験

O157株による事例Dは, 初発患者以外の5名は無症状病原体保有者であったため, 分離株(VT1&VT2遺伝子保有)についてVT産生性試験を実施した。その結果, 患者由来株も含めた全ての菌株のVT2凝集価が1:8と低い値を示した。これら6株全てからVT2変異型である*stx2c*遺伝子を検出した。

考察

全国における2015年1月から12月までのEHEC感染症報告数は全国で3,565例であり, 昨年より減少していた⁴⁾。奈良県における報告数は33例(2015年4月~2016年3月)で, 前年(24例)より増加した。10例は接触者検便により当センターで菌を検出・分離し, その初発患者は全て6歳以下の子供であった。同居家族である兄や妹, 両親又は祖母から保菌者が確認

表3 分子疫学解析

ISコード		分離日	菌株番号	症例	年齢	性別	情報	血清型	VT型	感染研MLVA	
set1	set2									MLVA Type	MLVA comp
84591	215275	15/7/15	V06	患者	1	女	事例A	O157:H-	1&2	13m0242	15c028
84591	215275	15/7/13	V07	患者	4	女	事例A	O157:H-	1&2	15m0113	15c028
84591	215275	15/7/18	V08	保菌者	62	女	事例B	O157:H-	1&2	14m0426	15c057
84591	215275	15/9/28	V19	患者	37	男	事例C(食中毒)	O157:H-	1&2	14m0426	15c057
118143	114891	15/7/25	V09	保菌者	60	女	事例B	O157:H7	1&2	15m0173	15c036
118143	114891	15/7/17	V10	患者	6	女	事例B	O157:H7	1&2	15m0174	15c036
118143	114891	15/10/2	V20	患者	39	女	事例C(食中毒)	O157:H7	1&2	15m0347	15c036
118143	114891	15/9/29	V24	患者	26	男	事例C(食中毒)	O157:H7	1&2	15m0173	15c036
198767	196719	16/1/26	V28	保菌者	59	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0002	16c001
198767	196719	16/1/26	V29	保菌者	10	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0002	16c001
198767	196719	16/1/26	V30	保菌者	8	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0003	16c001
198767	196719	16/1/26	V31	保菌者	6	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0003	16c001
198767	196719	16/1/21	V32	患者	3	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0002	16c001
198767	196719	16/1/30	V33	保菌者	5	男	事例D	O157:H-	1&2	16m0003	16c001
216959	84459	15/8/1	V12	保菌者	36	女	事例E	O157:H7	1&2	13m0625	15c020
216959	84459	15/7/29	V16	患者	3	男	事例E	O157:H7	1&2	13m0625	15c020
216959	84459	15/8/8	V18	保菌者	38	女		O157:H7	1&2	13m0625	15c020
249711	116975	15/9/24	V21	保菌者	30	男		O157:H7	1&2	13m0694	15c011
249711	116975	15/10/14	V23	患者	41	男		O157:H7	1&2	15m0101	

されており、初発患者が乳幼児や低学年児童であれば接触者検便から検出する可能性が高いと思われた。

9月から10月には炙りレバーの喫食が原因と疑われるO157食中毒事例が県内飲食店で発生し、他にも発症前の数日間に牛内臓の生食や焼肉の喫食歴が散見された。引き続き、生肉や加熱不十分な食肉等を食べないように注意喚起することが、EHEC感染者減少のためには重要であると考えられる。

炙りレバーに関連したO157食中毒事例では、関係する近畿等地方衛生研究所の間で分離株の遺伝子型別結果について情報交換が行われ、各症例の関連性が明らかにされた³⁾。広域的散発事例を疑う症例では、本事例のように自治体間において遺伝子型別結果等を情報交換する必要があるため、精度の高い結果を提供できるよう技術の継承と維持に努めたい。

今後も、EHEC感染症事例における分離株について各検査や分子疫学解析等のデータを蓄積し、科学的側面から県内感染症の予防と拡大防止に寄与していきたいと考えている。

謝辞

菌株収集にご協力を頂いた県内医療機関等と保健

所関係者の皆様、菌株を分与して頂いた青森県環境保健センターの担当者様、そしてDNA型別解析結果を還元して頂いた国立感染症研究所の皆様に、深く御礼申し上げます。

文献

- 1) Cebula TA, Payne WL, Feng P, *et al.* :*J. Clin. Microbiol.*, 33, 248-250 (1995)
- 2) Wang G, Clark CG, Rodgers FG, *et al.* :*J. Clin. Microbiol.*, 40, 3613-3619 (2002)
- 3) 勢戸和子, 原田哲也, 田口真澄, 他: 病原微生物検出情報, 37, 89-90 (2016)
- 4) 病原微生物検出情報, 37, 85-88 (2016)

奈良県における手足口病の流行状況：2013-2015

中野 守・米田正樹・稲田真知・杉本大地・藤谷美沙子・北堀吉映

Epidemic situation of hand-foot-and-mouth disease in Nara Prefecture : 2013-2015

Mamoru NAKANO・Masaki YONEDA・Machi INADA・Daichi SUGIMOTO・Misako FUJITANI
and Yoshiteru KITAHORI

緒言

手足口病は感染症発生動向調査の対象疾患のなかでも流行が大きく、そのため注目される小児の急性ウイルス性疾患の一つである。原因ウイルスは、コクサッキーA群ウイルス（以下、「CA」）16型、10型およびエンテロウイルス71型（以下、「EV71」）などがこれまでの報告であったが、2009年以降、類似疾患であるヘルパンギーナの原因ウイルスとして検出されてきたCA6が、新たな手足口病の原因として世界的に検出されるようになった¹⁻²⁾。しかも臨床症状がこれまでと異なり、水疱は扁平で大きく、回復後に爪脱落が起こる現象（爪甲脱落症）などから、「手足口病とCA6」の動向は特に注視すべき対象疾患となった。今回、手足口病とCA6に照準を合わせ、直近3年間の本県における流行状況の把握を図る目的で調査を行い興味ある結果が得られたので報告する。

材料と方法

1. 調査対象

1) 患者発生状況

奈良県感染症発生動向調査で手足口病と診断された、定点当たりの患者報告数を、手足口病の流行状況の解析の指標とした。

2) 材料

手足口病と診断された患者から採取された、咽頭ぬぐい液および糞便検体：2013年59例、2014年23例、2015年54例の計136例を対象とした。

2. CA6のウイルス検出・臨床疫学および遺伝子解析

1) 培養細胞を用いたウイルス分離および同定

エンテロウイルス属に感受性のあるRD-A細胞およびVero細胞を用い、咽頭ぬぐい液0.2ml、10%糞便懸濁液上清0.1mlを各々細胞に接種し、継代培養を行い細胞変性効果(CPE)の出現の有無でウイルス分離の判定を行い、CPE(+)とした場合は抗CA群単味抗血清を用いた中和試験で血清型を同定した。

2) ウイルス遺伝子検査

臨床検体からの核酸抽出はQIAamp Viral RNA MiniKit (QIAGEN)を用い添付のプロトコールに従ってRNAを抽出・精製した。その後、エンテロウイルス属共通のユニバーサルプライマー（1st PCR, EVP2/OL68-1=748p, 2nd PCR, EVP4/OL68-1=657bp）を用いVP4からVP2領域の遺伝子増幅を実施した。得られた産物はアガロースゲル電気泳動で期待サイズの確認を行い、その後ダイレクトシーケンスによる塩基配列判読を実施した³⁾。解析結果はBLAST解析およびEnterovirus Genotyping Tool Version 0.1(ネットツール)を用い、既知の登録配列と比較することで型種決定と相同性を決定した。

結果

1. 患者発生状況

手足口病の患者発生推移を図1に示した。流行の大きさを評する警報期間(定点当たりの患者報告数が5.0人以上)を比較すると、2015年は25週から32週の8週間、2013年は28週から32週の5週間であった。またピークの週およびその定点当たりの患者数を比較すると、2013年は28週がピークで5.7人、2015年は29週がピークで16.6人であった。2015年は緩やかな流行であった2013年と比較すると、警報期間は

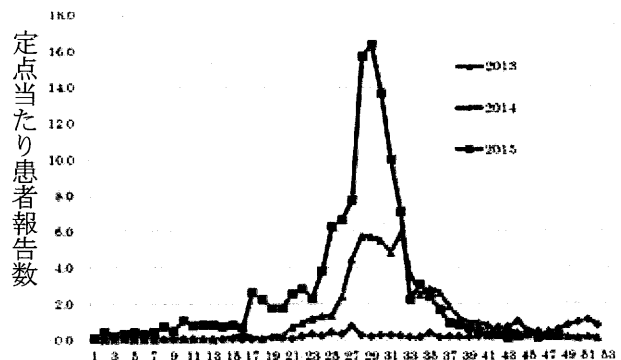


図1 県内の手足口病患者発生状況

1.6 倍、ピーク時の患者発生数は 2.8 倍であった。なお、2014 年は流行が認められなかった。

2. ウイルス検出と流行様式の分析

ウイルスの検出結果を表 1 に示した。検出したウイルス型種は、2013 年は CA6 が 14 例(58%),EV71 が 7 例(29%),2014 年は CA16 が 7 例(50%),パレコウイルスが 5 例(36%)および 2015 年は CA6 が 29 例(64%),CA16 が 9 例(20%)であった。その他に検出したウイルスとしては CA5, CA8, CB5, エコーウイルス 18, アデノウイルスなどを少数検出した。いずれの流行も複数のウイルスにより形成されていたことが明らかとなった。

CA6 を主な原因とした 2013 および 2015 年について、週単位でウイルス種の検出を分析し流行様式の解析を試みたところ(図 2)、2013 年では始め EV71 を 28 週(7/8-14)から 33 週(8/12-18)の間に検出し、CA6 は 29 週(7/15-21)から 40 週(9/30-10/6)まで検出した。2015 年では CA16 を 23 週(6/1-7)から 27 週(6/29-7/5)の間に検出し、CA6 は 24 週(6/8-14)から 34 週(8/17-23)まで検出した。このことから両年は前半に EV71 あるいは CA16 から流行が開始し、後に CA6 が長期に渡り流行したことが判明した。

3. 臨床疫学

患者情報および臨床症状は表 2 に示した。患者年齢は CA6 が平均 2 歳 2 ヶ月、EV71・CA16 が 3 歳 6 ヶ月、男女比は CA6 が 1.7:1、EV71・CA16 が 1.9:1 であった。症状としては CA6 で有熱率(91%)の高さが目立ち、 $P < 0.05$ (Fisher の正確確率検定)で有意なものであった。

また口内炎の発症頻度 51%は、EV71/CA16 の 91%と比較し、有意な減少が観察された。

4. CA6 の分子系統樹解析

本県で流行した CA6 の系統樹解析を図 3 に示した。

系統樹作成は、VP4 領域の解読が可能であった 2013 年の 6 株および 2015 年の 16 株を用いた。結果は 2009 年以前に国内で登録された CA6 株(P-2220/Kanagawa/JPN/2003,3018/Hyogo/JPN/2005,03-10032/Aichi/JPN/2003)とは塩基配列が大きく異なっていた。また、2013 年に国内外で検出・登録された株と本県で検出した株は極めて高い相同性を有する近縁種であった。興味あることは、2013 年と 2015 年の株では異なるクラスターを形成していたことである。そこで、アミノ酸のアライメントを行い原因となる部位の検索を行ったところ、VP4 領域のコドン 21 番のグルタミン酸(GAA)がグリシン(GGA)に置換していることが明らかとなった。

表 1 手足口病患者からのウイルス検出状況

病原体	2013年(n=59)	2014年(n=23)	2015年(n=54)
コクサッキーウイルス A群6型	14(58%)		29(64%)
コクサッキーウイルス A群16型		7(50%)	9(20%)
コクサッキーウイルス A群2型		1(7%)	
コクサッキーウイルス A群8型	1(4%)		
コクサッキーウイルス B群5型	1(4%)		
エンテロウイルス71型	7(29%)		
エコーウイルス18型			2(4%)
パレコウイルス		5(36%)	
ライノウイルス			4(9%)
アデノウイルス1型	1(4%)		1(2%)
ロタウイルス		1(7%)	

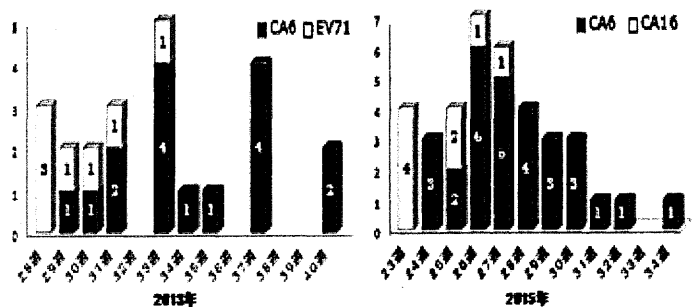


図 2 手足口病患者からの週別ウイルス検出状況

表 2 検出ウイルス別の臨床所見の比較

	CA6(n=43)	EV71・CA16(n=23)
年齢	平均:2歳2ヵ月	平均:3歳6ヵ月
男女比	1.68:1	1.9:1
有熱率	39(91%)	15(65%)
口内炎	22(51%)	21(91%)
発疹	42(98%)	23(100%)
水疱	18(42%)	5(22%)

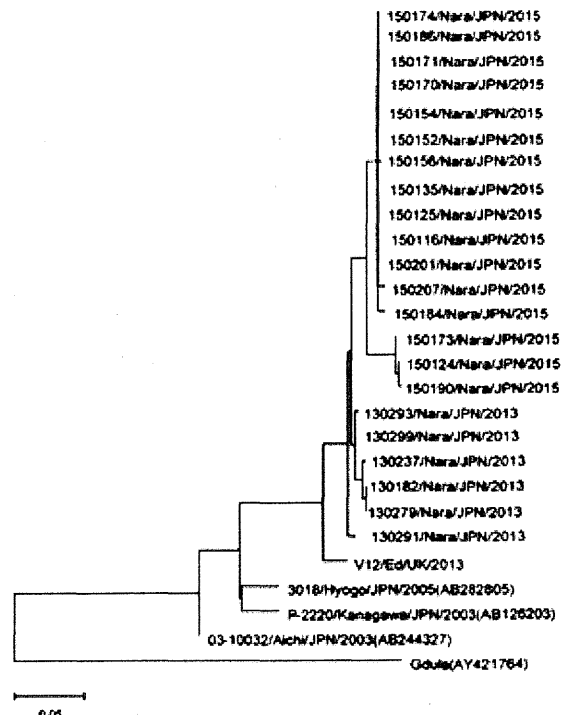


図 3 VP4・VP2 領域塩基配列の分子系統樹

考 察

本調査の目的とした2013-2015年の手足口病の本県における流行把握を検討し以下の結果を得た。①2015年の流行は、警報期間、患者発生から大規模な流行であったことが判明した。②CA6は2013年、2015年と隔年で、流行様式は2種以上のウイルス種から構成されていた。③CA6の患者は平均年齢がこれまでより低年齢で、男児が好発であった。また特徴的な症状は高い有熱率、大きな発疹、扁平な水疱などであった。④遺伝子解析からは、2009年以前のCA6とは大きく異なるものの、近年、国内外で登録されたウイルスとは極めて類似するものであった。これは、「従来のヘルパンギーナの原因ウイルスの配列とは異なる」進化を遺伝子的に捕えたことを意味するのかもしれない。

また20013年と2015年は、クラスターが異なることが判明した。CA6を原因とする手足口病の本県を含め国内での検出は2011年以降である。世界的には、2008年フィンランドの報告例¹⁾が初めて、その後シンガポール(2008)、スペイン(2008)、台湾(2010)、フランス(2010)²⁾、日本(2011)と相次いで流行地域が増加しており、遺伝子学的にも近縁なCA6が広がりを見せている。しかし、従来の主な手足口病の病原体であるCA16やEV71と異なり、なぜヘルパンギーナの主要原因ウイルスが手足口病を誘発するようになったかは不明である。特に臨床症状がこれまでとは異なり、好発年齢の低年齢化および発疹・水疱・爪甲脱落などの症状⁴⁻⁵⁾の違いとCA6の関連性については、今後の臨床ウイルス学の進展による解決と理解が深まることが望まれるところである。最後に、感染症発生動向調査を通じてウイルス検出・分析を行うことは、感染症への深い理解と感染防止対策への有益な情報を得る唯一の手段と考えており、今後の継続的な調査が重要と思われる。

謝 辞

奈良県感染症発生動向調査にご協力いただいた定点医療機関の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) Blomqvist S, Klemola P, Kaijalainen S, *et al*: *J. Clin. Virol.*, 48, 49-54(2010)
- 2) Mirand A, Henquell C, Archimbaud C, *et al*: *Clin. Microbiol. Infect.*, 18, E110-118(2012)
- 3) 石古博昭, 島田康司, 奥那覇麻理, 他: *臨床とウイルス*, 17, 283-93(1999)
- 4) 柏井健作, 仲浩臣, 寺杣文男, 他: *病原微生物検出*

情報, 32, 339-340(2011)

- 5) 小林正明, 藤本嗣人, 花岡 希, 他: *病原微生物検出情報*, 32, 230-231(2011)

奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について -2014/2015 シーズン-

藤谷美沙子・杉本大地・米田正樹・稲田眞知・中野 守・北堀吉映

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norovirus in Nara Prefecture - 2014/2015 Season -

Misako FUJITANI・Daichi SUGIMOTO・Masaki YONEDA・Machi INADA・Mamoru NAKANO
and Yoshiteru KITAHORI

緒言

ノロウイルス (Norovirus, 以下 NoV) は、冬季に多く発生がみられるウイルス性急性胃腸炎の主な原因ウイルスである。当センターにおいても冬季に行政依頼検査が集中し、保育園、小学校、老人福祉施設等で原因病原体として NoV を検出してきた。

NoV は経口感染や飛沫感染によりヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便とともに排泄される。患者から排泄された NoV が、手指やドアノブ等を介してヒトからヒトへ感染する。また、NoV は加熱不十分な二枚貝やウイルスに汚染された食品の喫食により引き起こされる食中毒の原因ウイルスとしても知られている。NoV は遺伝子的多様性に富むことから、その感染予防には幅広い疫学的知見の蓄積が不可欠である。

当センターでは奈良県（奈良市を除く.）における NoV の流行状況を詳細に把握するため、散发事例、食中毒および集団感染事例を対象とし、NoV の遺伝子的、疫学的解析を継続的に実施している¹⁻³⁾。今回、2014/2015 シーズンに発生した事例について解析を行った結果、新たな知見を得たので、2013/2014 シーズンまでの調査結果と併せて報告する。

方法

1. 調査対象事例

2014年9月から2015年8月の間に当センターにおいて県外自治体からの調査依頼事例を除く食中毒（有症苦情を含む）事例および集団感染事例（疑い事例を含む）で調査を実施した35事例のうちNoVを検出した25事例を調査対象事例とした。

2. ウイルス RNA 抽出および NoV 遺伝子解析

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用い添付のプロトコールに従って10%糞便懸濁上清140μL からウイルス RNA を抽出し、プライマー COG1F/G1-SKR および COG2F/G2-SKR を用いた RT-PCR 法⁴⁾により NoV キャプシド領域の増幅を行った。

得られた遺伝子増幅産物について、BigDye Terminator Ver1.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用い添付のプロトコールに従ってダイレクトシーケンスを実施した。塩基配列を決定した後、Norovirus genotyping tool を用いて遺伝子型を判定した。さらに GII.4 に分類された株については NJ 法により標準株を用いてクラスター解析を実施した⁵⁾。

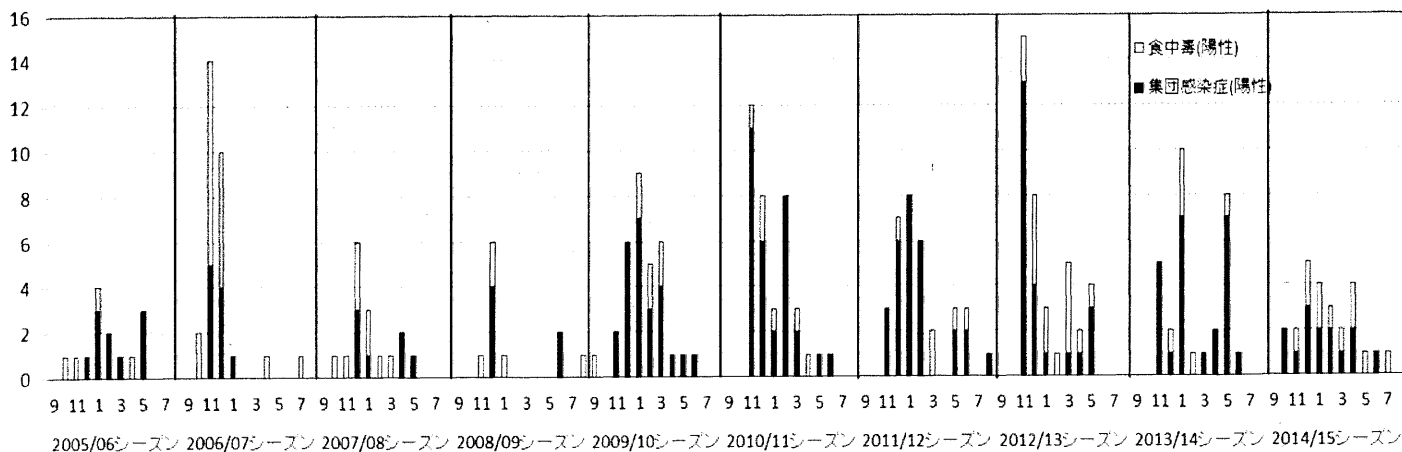


図1 ノロウイルスによる食中毒・集団感染症事例数(当センター検出事例数)

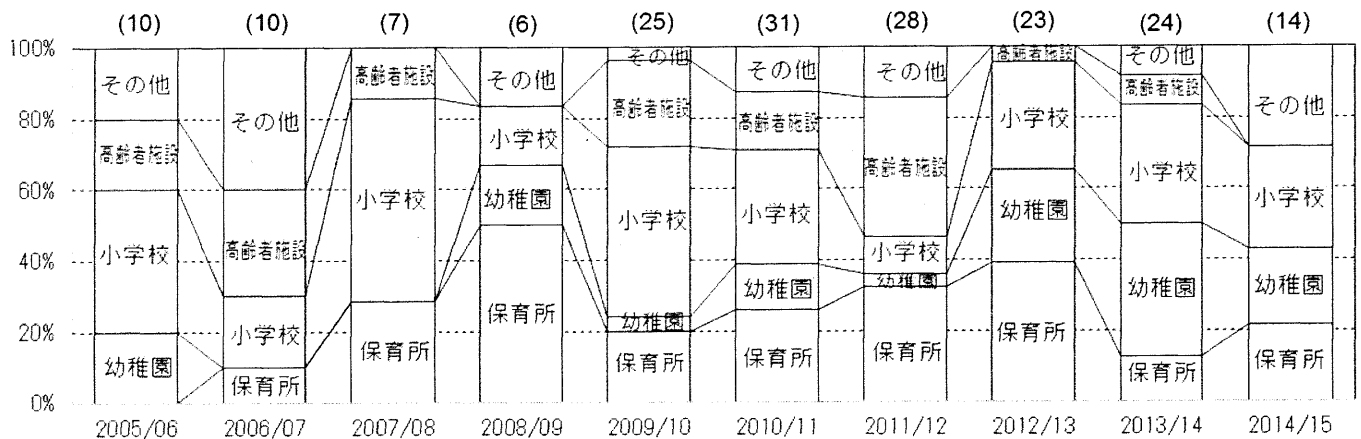


図2 ノロウイルスによる集団感染症事例の発生施設別内訳
 図上段の()内の数字は事例総数を示す

結果

1. NoVによる食中毒・集団感染事例の発生状況

食中毒・集団感染事例の検体採取月別発生状況は、2014年10月：2事例、11月：2事例、12月：5事例、2015年1月：4事例、2月：3事例、3月：2事例、4月：4事例、5月：1事例、6月：1事例、7月：1事例であった(図1)。

食中毒事例数は、昨シーズンの6事例から増加し、2014/2015シーズンは11事例で最近5シーズンの中では最も多かった。

一方、集団感染事例は2009/10シーズン以降、20事例を上回っていたが、2014/15シーズンは14事例と減少した。

集団感染事例14事例について発生施設別に区分すると、保育所：3事例(21%)、幼稚園：3事例(21%)、小学校：4事例(29%)、その他の施設：4事例(29%)であった(図2)。

2005/2006シーズンから2014/2015シーズンまでの10シーズンの間に発生した集団感染事例について発生地域を市町村別に区分した結果を示した(表1)。調査した10シーズンに渡って継続的に発生した地域は存在せず、奈良市内を除く事例については奈良県内での集団事例の発生地が移り変わっているこれまでの傾向に変化はなかった。

2. 遺伝子型解析結果

2014/2015シーズンに検出したNoVの遺伝子型を表2に示した。全25事例の内訳は、GI単独によるものが3事例(12%)、GII単独によるものが19事例(76%)、GIとGIIの複合事例が3事例(12%)と2014/2015シーズンもこれまでのシーズンと同様GIIによるものが圧倒的多数であった。ダイレクトシーケ

ンスによる遺伝子型解析を実施した25事例のうち、GII.4に分類された事例が3事例(12%)と大きく検出頻度が下がった。一方、2014/2015シーズンはGII.3とGII.17が8事例(32%)ずつと検出頻度が増加した。

GII.4に分類された3事例のウイルス株について、キャプシド領域の塩基配列から参照株を用いた分子系統樹解析を実施した(図3)。結果、3株中2株が2012/2013シーズン新たに遺伝子変異を生じ国内でも流行が確認されているSydney/NSW/0514/2012/AUと同じクラスターに分類された。残り1株については2013/2014シーズンには検出されなかったNijmegen115/2006/NLと同じクラスターに分類された。



図3 GII.4株のキャプシド領域の塩基配列を用いた系統樹

表1 ノロウイルスを検出した集団感染症の市町村別発生状況（当センター検出分）

発生地	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	2014/15	合計
生駒市	0	0	1	4	3	0	5	5	1	1	20
広陵町	1	1	1	0	1	6	4	3	0	0	17
宇陀市	3	0	0	0	5	3	0	2	1	0	14
天理市	0	0	1	1	3	2	5	1	0	0	13
大和高田市	0	1	0	0	2	1	3	2	3	0	12
大和郡山市	0	0	0	0	1	3	2	3	2	1	12
葛城市	0	2	0	0	1	5	1	0	2	0	11
橿原市	0	0	0	0	1	1	2	1	5	3	13
その他	6	6	4	1	8	10	6	6	10	9	66
合計	10	10	7	6	25	31	28	23	24	14	178

表2 検出したノロウイルスの遺伝子型（2014/2015 シーズン）

	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	遺伝子型別合計
GI.2							1※	1	1※		1※		4
GI.3							1			1	1		3
GI.4							1※						1
GI.9									1※				1
GII.2									1※				1
GII.3		2	2	4									8
GII.4				1	1			1					3
GII.13							1※				1※		2
GII.17					3	3		2					8
事例数合計	2	2	5	4	3	2	4	1	1	2			26※※

※複数の遺伝子型を検出した混合事例

※※複数の遺伝子型を検出した混合事例3事例含む

考 察

2014/2015 シーズンの奈良県内における NoV による食中毒・集団感染症事例について調査した。今シーズンは特記すべき大規模事例はなかった。過去に大きな流行を起こした GII.4 による事例が全 25 事例中 3 事例（12%）と検出頻度を大きく下げた。遺伝子解析の結果、2014/2015 シーズンは、1 事例のみではあるが再び Nijmegen115/2006/NL と同じクラスターに分類される株を検出した。今後も GII.4 変異株の発生動向に注視することが必要であると考え。

2014/2015 シーズンの特徴としては 10 月から 12 月に GII.3 の小流行があったことがあげられる。主に奈良県北部、中部の保育所・幼稚園・小学校で発生した。

また、もう一つの特徴として GII.17 を検出したことがあげられる。奈良県では 2015 年 1 月に初めて GII.17 による集団発生があり、その後徐々に検出が増加し 2014/2015 シーズンでは 8 例の集団発生があった。方法では述べていないがこの 8 例について RdRp 領域の遺伝子型解析を実施した結果、新たな遺伝子番号の GII.P17 であると判明した。よって、奈良県にも新たな遺伝子型の GII.17 の侵入を確認することができた。検出数は増加してきているがデータが少ないため、今

後継続的に調査し新たな知見を得ることが重要であると考え。

本報告が示すように長期にわたって調査を継続し様々な疫学情報を蓄積することは、NoV の長期的な発生動向を把握するために必要であると考えている。

文 献

- 1) M. Yoneda, A. Okayama, Y. Kitahori: *Intervirology*, 57, 31-35(2014)
- 2) 米田正樹, 大浦千明, 浦西洋輔, 他: 奈良県保健研究センター年報, 48, 45-48(2013)
- 3) 米田正樹, 杉本大地, 川辺千明, 他: 奈良県保健研究センター年報, 49, 54-57(2014)
- 4) 医薬食品安全部監視安全課長通知「ノロウイルスの検出法について」, 食安監発第 1105001 号(平成 15 年 11 月 5 日)
- 5) 片山和彦, 木村博一: ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 (2015 年改訂版), 病原微生物検出情報(IASR)インターネット版(掲載日 2015.9.8)

感染症発生動向調査による患者発生状況：平成27年（2015年）

稲田真知・藤谷美沙子・杉本大地・米田正樹・中野 守・北堀吉映

The Status of Infection Diseases in Nara Prefecture, 2015

Machi INADA・Misako FUJITANI・Daichi SUGIMOTO・Masaki YONEDA・Mamoru NAKANO
and Yoshiteru KITAHORI

緒 言

感染症発生動向調査は、平成11年4月から施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）の大きな柱に位置づけられている。感染症患者発生に関する情報について、正確に把握・分析し、その結果を国民や医療関係者へ的確に提供・公開することにより、感染症発生の予防や蔓延を防止することを目的に、医師等の医療関係者の協力をうけ、全国的に実施されている。奈良県でも、感染症発生動向調査の結果を迅速かつ的確に活用し、事前対応型の感染症予防対策とするため、奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱、同要領に基づき調査を実施している。

今回、本県の平成27年の患者発生状況についてとりまとめたので報告する。

方 法

全数把握対象疾患は、診断した全ての医師が保健所に届出を行い、発生状況を把握している。また、定点把握対象疾患は、知事が指定した定点医療機関（のべ112医療機関）を受診した患者数を把握することで流行状況を調査している。

平成27年に追加等された対象疾患は以下のとおりである。1月にそれまで指定感染症であった中東呼吸器症候群（病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロनावirus であるものに限る）及び鳥インフルエンザ（H7N9）が二類感染症とされた。

また県内では、2月にそれまでの葛城保健所と桜井保健所が統合され中和保健所となり、管轄する人口数が約58万人と国内有数の巨大保健所となった。しかし、感染症発生動向調査ではこれまでのデータを活用するために中和保健所を旧桜井保健所地域（東部）、旧葛城保健所地域（西部）に分けて調査を継続している。

平成27年に届出された全数把握対象疾患及び報告された定点把握対象疾患について、感染症サーベイランスシステム（NESID）より情報を収集・解析した。

結 果

1. 全数把握対象疾患の発生状況

平成27年の患者届出数を表1に示す。なお、現時点（H28年5月時点）では速報値であり、後日変更されることがある。

表1 平成27年 全数把握対象疾患 届出数

類別	疾患名	届出数
二類	結核	306
三類	細菌性赤痢	1
	腸管出血性大腸菌感染症	27
	腸チフス	1
	パラチフス	1
四類	E型肝炎	2
	A型肝炎	2
	デング熱	4
	日本脳炎	1
	マラリア	2
	レジオネラ症	8
五類	アメーバ赤痢	18
	ウイルス性肝炎	2
	カルバペネム耐性腸内細菌感染症	28
	急性脳炎	4
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	2
	後天性免疫不全症候群	14
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	3
	侵襲性髄膜炎菌感染症	1
	侵襲性肺炎球菌感染症	21
	水痘（入院例）	6
	梅毒	19
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1
	風しん	1
	麻しん	1

診断日による集計

1) 一類感染症

届出はなかった。

2) 二類感染症

結核が306例の届出があり、昨年とほぼ同様であった。類型は、患者228例、感染死亡者の死体1例、疑似症患者6例、無症状病原体保有者71例であった。

患者の病型は、肺結核が165例、その他の結核（結核性胸膜炎、リンパ節結核、粟粒結核、結核性髄膜炎等）が50例、肺結核及びその他の結核が13例であった。全届出例の年齢階層は、0歳代10例、1～10歳未満3例、10歳代7例、20歳代15例、30歳代18例、40歳代24例、50歳代23例、60歳代36例、70歳代63例、80歳代78例、90歳代28例、100歳代1例で、80歳代が最も多く、70歳以上が全体の50.1%を占めていた。

3) 三類感染症

細菌性赤痢1例、腸管出血性大腸菌感染症27例、腸チフス1例、パラチフス1例の届出があった。

細菌性赤痢は82歳の女性で、菌種は *S. flexneri* (B群)、推定感染地域は奈良県であった。

腸管出血性大腸菌感染症は、昨年よりわずかに増加した。類型は、患者19例、無症状病原体保有者が8例で、その年齢階層は、10歳未満が5例、10歳代が3例、20歳代4例、30歳代6例、40歳代1例、50歳代2例、60歳代4例、70歳代2例で、昨年に比べると30歳代以上の成人層で増加している。血清型・検出病原体は、O157が19例（VT1&VT2が16例、VT2が3例）、O26が2例（VT1&VT2が1例、VT1が1例）、O121が3例（VT2が3例）、O165が2例（VT1&VT2が1例、VT2が1例）、O145が1例（VT2が1例）であった。感染経路としては、推定ではあるが経口感染が13例、接触感染が4例、不明が10例であった。経口感染が推定されているものには肉類の喫食歴の記載があるものが4例、生肉の喫食に関する記載は無かった。

腸チフスは、県外在住の20歳の外国人男性で、ネパールでの感染により保菌していたと推定されている。所在地の自治体に通報後の詳細は不明である。

パラチフスは本県では2007年以降の届出であった。患者は43歳女性で、ファージ型は不明で、フィリピンでの感染により保菌していたと推定されている。

4) 四類感染症

E型肝炎2例、A型肝炎2例、デング熱4例、日本脳炎1例、マラリア2例、レジオネラ症8例の届出があった。

E型肝炎も2007年以降の届出であった。6月に届出があった73歳女性は、豚レバー（加熱調理済み）を喫食していた。9月に届出があった63歳男性は、届出の約2ヶ月前に北海道で鹿肉を喫食していた。

A型肝炎は、2例届出があった。2月に届出があった56歳男性は、大阪府での飲水が感染経路と推定されている。12月に届出のあった66歳男性は、届出の

約1ヶ月前の地中海方面への渡航歴があった。

デング熱は3月・6月・7月・11月に1例ずつ計4例届出があった。全て海外感染事例である。3月に届出があった34歳男性はインドネシアのスマトラ島、6月の41歳男性はインドネシアのジャカルタ・ブカシ、7月の53歳男性は、マレーシアのクアラルンプール、11月の35歳男性は、インドのベレナス、デリー、アグラが推定感染地域とされている。4例とも病型はデング熱であったが、3月の34歳男性は、日本に居住している外国人で、インドネシアに一時帰国したとされており、血小板が減少していた。他の3例には、血小板減少の記載は無かった。6月以降の届出例には遺伝子検査が実施され、全てデング2型であった。

日本脳炎は、2006年以降としては初めての届出であった。10月に届出された奈良市保健所管内の86歳男性で、発熱、頭痛、項部硬直、意識障害を呈していた。山間部に居住し、農作業に従事しているため、日常的に蚊に刺されるとのことであった。

マラリアは、5月に70歳女性、9月に57歳男性の届出があった。病型は2例とも熱帯熱で、推定感染地域は、70歳女性はウガンダ共和国、57歳男性はモザンビークのペンバとされている。

レジオネラ症8例の病型は全て肺炎型で、男性が6例（50歳代1例、70歳代4例、90歳代1例）、女性が2例（50歳代1例、80歳代2例）となっている。推定感染経路は水系感染が2例、塵埃感染が1例、不明が5例となっている。

5) 五類感染症

アメーバ赤痢18例、ウイルス性肝炎2例、カルバペネム耐性腸内細菌感染症28例、急性脳炎4例、クロイツフェルト・ヤコブ病2例、劇症型溶血性レンサ球菌感染症2例、後天性免疫不全症候群14例、侵襲性インフルエンザ菌感染症3例、侵襲性髄膜炎菌感染症1例、侵襲性肺炎球菌感染症21例、水痘（入院例）6例、梅毒19例、バンコマイシン耐性腸球菌感染症1例、風しん1例、麻しん1例の届出があった。

アメーバ赤痢の病型は、腸管アメーバ症17例、腸管外アメーバ症1例であった。患者は全て男性で、年齢階層は、20歳代1例、30歳代1例、40歳代が1例、50歳代が9例、60歳代5例、70歳代1例であった。感染原因は推定であるが、経口感染が3例、性的接触7例（経口感染と重複）、不明9例であった。推定感染地域は国外が2例あった。

ウイルス性肝炎2例はともにB型肝炎で、45歳及び40歳男性であった。5月に届出のあった45歳男性は遺伝子型B型で推定感染経路は不明、9月に届出の

あった40歳男性は遺伝子型C型で推定感染経路は性的接触であった。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は、男性19例(20歳代1例, 40歳代1例, 60歳代1例, 70歳代9例, 80歳代6例, 90歳代1例), 女性9例(40歳代1例, 50歳代1例, 80歳代5例, 90歳代2例)で、全国での状況と同様に60歳以上が多く全体の85.7%を占めた。病原体検出部位としては、血液6例, 胆汁1例, 創部リンパ液1例, 尿11例, 喀痰6例, その他3例で、推定感染経路は以前からの保菌が7例, 中心静脈カテーテルから2例, 尿路カテーテルから4例, 胆管(胆嚢)ドレナージチューブ1例, 手術部位1例, その他不明等が13例であった。検出された菌種は、血液からの検出では、*Enterobacter aerogenes*が2例, *E.coli*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae*が1例ずつ, 胆汁, 創部リンパ液からともに*E.coli*, 尿から*E.coli*が6例, *Klebsiella pneumoniae*が2例, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *Escherichia* 属菌が1例ずつ, 喀痰からの検出では*E.coli*が2例, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae* complex, *Klebsiella pneumoniae*が1例ずつ, その他からは*Enterobacter cloacae*が2例, *Klebsiella oxytoca*が1例の記載があった。

急性脳炎は、4月に3歳女児, 7月に16歳女性及び30歳男性, 8月に75歳女性の届出があった。原因病原体は、4月の3歳女児がロタウイルス, 7月の届出例はともに不明, 8月の75歳女性は、ヒトヘルペスウイルス1型(単純ヘルペス1型)疑いとされている。7月に届出があった16歳女性については、平成25年11月22日付け事務連絡(厚生労働省健康局結核感染症課)に基づき、「日本脳炎ならびに予防接種後を含む急性脳炎・脳症の実態・病因解明に関する研究班」に原因病原体の詳細な検索を依頼した。結果、病原体は検出されなかったが、後日、軽快していると医療機関から情報提供があった。

クロイツフェルト・ヤコブ病は、2月に75歳女性, 5月に75歳男性の届出があった。それぞれの病型は、医原性(疑い)及び古典型(ほぼ確実)で、医原性の75歳女性は、1985年に使用されたヒト乾燥硬膜が感染経路として推定されている。また、古典型とされている75歳男性は、2013年の初診時に進行性認知症を呈していた。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症については、2月に届出されたのは、82歳男性で血清群はA型, 6月に届出されたのは、85歳女性で血清型はG群で、感染経

路はともに創傷感染(左手背創傷, 白癬症の疑い)と推定されていた。

後天性免疫不全症候群14例の病型は、AIDS4例, 無症候性キャリア10例であった。男性が25歳, 28歳2例, 31歳, 35歳2例, 39歳, 42歳, 54歳, 55歳, 60歳2例, 64歳の13例で、女性が34歳の1例であった。推定感染地は国内12例, 国外(タイ)1例, 不明1例であった。推定感染原因・感染経路は、男性では性的接触10例(同性間9例, 両性間1例), 静注薬物使用1例(両性間性的接触と重複), 不明3例で、女性が異性間性的接触1例であった。AIDSと診断した指標疾患は、ニューモシスティス肺炎2例(42歳, 54歳), HIV脳症1例(28歳), カンジダ症1例(60歳)であった。このHIV脳症を発症している男性は、国籍が不明とされている。

侵襲性インフルエンザ菌感染症は、3月に78歳女性, 5月に87歳女性, 10月に10ヶ月男児の届出があった。血清型は、10ヶ月男児がf型が髄液から検出されており、他の2例は不明であった。10ヶ月男児にはヒブワクチン接種歴が3回有った。78歳女性は接種歴不明, 87歳女性には、ワクチン接種歴は無かった。推定感染経路は、78歳女性が不明, 10ヶ月男児が接触感染, 87歳女性が飛沫・飛沫核感染とされている。

侵襲性髄膜炎菌感染症1例は、8月に届出のあった19歳大学生男性であった。この届出の直前に、世界スカウトジャンボリー(山口県)に関連したスコットランド隊員およびスウェーデン隊員の髄膜炎菌感染症事例が発生しており、関連も調査されたが、本事例については関連がみられなかった。渡航歴もなく、同居家族・友人等にも同症状者はなく、感染源不明とされている。

侵襲性肺炎球菌感染症は、昨年と横ばいの届出数であった。男性17例, 女性4例で、1歳代, 20歳代及び30歳代がそれぞれ1例, 40歳代4例, 60歳代及び70歳代がそれぞれ4例, 80歳代5例, 90歳代1例であった。1歳代の男児はワクチン接種が4回終了していたが敗血症を呈していた。21例のうち、ワクチン接種歴のあるのがこの1代男児以外に、36歳男性, 68歳男性で、接種歴無し12例, 不明6例であった。

水痘(入院例に限る)6例の病型は臨床診断例4例, 検査診断例2例で、性別及び年齢は、男性が9歳, 18歳, 34歳, 56歳, 73歳の5例, 女性が27歳の1例であった。ワクチン接種歴について9歳の事例を除いた5例がワクチン接種歴は不明であった。推定感染経路は接触感染が3例, 院内感染が1例, 不明2例であった。

梅毒は19例届出があった。昨年、平成26年に急増したが、それを上回った。平成26年に全国的にも梅毒の届出が増加し、当初は特に男性同性愛者の中でHIV感染症および梅毒の流行がみられていたが、徐々に女性も拡大している。本県でも、男性13例、女性6例と男性が多く、ともに昨年より増加した。患者の年齢層は、男性19歳、31歳、39歳、42歳、43歳、43歳、51歳、55歳、60歳、64歳、68歳、81歳、83歳の13例、女性が21歳、27歳、28歳、42歳、44歳、79歳の6例で、患者の病型は、早期顕症梅毒13例（Ⅰ期3例、Ⅱ期10例）、無症候（無症状病原体保有者）6例であった。感染経路は性的接触が15例（同性間4例、異性間8例、両性間1例、不明2例）、静注薬物常用による注射器の使い回し1例（両性間性的接触と重複）、不明4例となっている。推定感染地は、奈良県11例、奈良県以外（都道府県不明を含む）5例、国外（タイ）1例、不明2例であった。なお、静注薬物使用の42歳男性の症例は、AIDSと重複している。

バンコマイシン耐性腸球菌感染症は、平成22年以來の届出であった。患者は11月に届出のあった77歳の男性で、肺炎を呈しており、菌種は、喀痰から検出された *Enterococcus faecium* であった。感染経路や感染地域は不明であった。

風しんは11月に届出のあった11歳男性の1例であった。病型は臨床診断例で、ワクチン接種歴は2回（1歳時、5歳時）あった。発病10日後に採取された検体（咽頭ぬぐい及び尿）について保健研究センターで遺伝子検査が実施され、陰性であったが、臨床診断例として届出された。

麻しんは、昨年に引き続き届出があった。麻しんは平成27年3月27日にWHO西太平洋地域事務局（WHO Western Pacific Regional Office：WPRO）より、日本が麻しんの排除状態*にあることが認定された（*質の高いサーベイランスのもとで、特定の地域や国において、地域的な伝播が12カ月以上にわたり起こっていない状態）。日本では、排除達成・維持のために、「麻しんに関する特定感染症予防指針（平成19年21月28日告示）」を定めており、麻しんと診断した医師には、臨床診断をした時点で直ちに臨床診断例として届出を行うとともに、血清抗体価の測定の実施及び地方衛生研究所でのウイルス遺伝子検査等の実施のための検体の提出を求めている。また都道府県に対しては、地方衛生研究所において、原則として全例にウイルス遺伝子検査等を実施するとともに、麻しんウイルスが検出された場合は、可能な限り、麻しんウ

イルスの遺伝子配列の解析を実施することが求められている。このことから、麻しん患者発生について学校欠席者情報収集システム等から情報収集し、検査部門に情報共有するとともに、管轄保健所と連携して、全ての患者の検体確保に努めている。

7月に届出のあった患者は36歳男性で、モンゴルからの帰国者であった。麻しんと診断した医師の協力もあり、診断翌日の17日には検体が提供され、保健研究センターで検査の結果、搬入当日に陽性と判定された。その後、遺伝子型及び塩基配列の確定検査も実施され、H1型と判明した。モンゴルは、日本の前年に排除認定されていたが、中国で流行するH1型の輸入例が多く、モンゴルで検出されている遺伝子型もH1型であり、本症例もモンゴルからの輸入例と考えられている。本症例について、主治医からProMED-mail²⁾に情報提供され、また管轄の保健所長からIASR³⁾に情報提供された。

2. 定点把握対象疾患の流行状況

県内の定点医療機関数を表2に示す。

表2 患者定点医療機関数（平成27年4月現在）

地区 保健所	北部		中部		南部		合計
	奈良市	郡山	中和(東)	中和(西)	内吉野	吉野	
インフルエンザ ⁴⁾ 定点	11(5)	16(2)	11(5)	11(3)	2(1)	3(2)	54(18)
小児科定点	7(4)	10(2)	7(3)	7(3)	1(1)	2(2)	34(15)
眼科定点	1	3	2(1)	2	-	1	9(1)
基幹定点	1(1)	2(2)	1(1)	1(1)	1(1)	-	6(6)
性感染症定点	3	2	2	2	-	-	9

()内は、病原体定点数

1) 週単位報告対象疾患（週報）

週報告対象の19疾患について、週別患者報告数を表3に示す。突発性発しんの定点当たり報告数及び県の出生率（人口千対：2014年）を基に小児科定点把握対象疾患に限り定点当たり報告数を修正し比較すると、修正前の定点あたり報告数と大きな違いは無く、本年は定点あたり報告数として、ほぼ全国と同様のレベルで患者発生状況を把握できていると考えられた。全国での流行状況と把握すると、RSウイルス感染症を除いてほとんどが全国並か低かった。平成27年の年間定点当たり報告数で、上位5疾患の①感染性胃腸炎、②インフルエンザ、③手足口病、④A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、⑤RSウイルス感染症について、以下に発生状況を述べる。

表3 平成27年 週単位報告対象疾患 報告数

疾患名\週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29
※ インフルエンザ	386	1444	1410	1335	876	598	311	225	199	163	217	196	121	113	67	102	95	54	15	18	13	1	1						
RSウイルス感染症	23	41	39	48	43	33	23	19	13	22	15	19	4	9	6	5	4	6	4	4	1	1	3	4	1				
咽頭結核熱	2	11	10	10	1	9	3	10	6	6	8	7	6	7	11	11	13	10	7	19	19	20	45	13	18	11	12	6	4
A群溶連菌咽頭炎	7	38	37	42	41	43	32	32	51	53	63	84	74	34	26	67	76	105	55	122	102	110	97	138	95	71	41	61	47
感染性胃腸炎	42	150	143	153	187	194	155	182	198	223	244	161	196	218	122	166	226	176	111	192	154	194	124	161	111	111	82	92	73
水痘	1	27	6	22	14	28	14	20	7	10	10	3	10	15	9	16	19	10	13	13	9	7	7	9	4	7	5	10	6
手足口病	2	14	7	10	13	10	15	25	16	36	26	27	27	25	27	22	88	75	58	59	86	95	77	129	213	225	263	534	556
伝染性紅斑	1	1	1	7	2	3	10	6	5	6	7	4	2	7	2	3	7	6	4	7	8	8	8	11	9	23	9	23	12
突発性発疹	1	9	13	13	8	24	8	9	16	13	19	12	11	12	19	7	9	19	1	17	15	11	19	19	22	23	18	23	14
百日咳						1											2	1											1
ヘルパンギーナ	1											1																	
流行性耳下腺炎	7	7	3	12	5	9	6	7	4	5	5	1	9	3	3	4	2	1	3	4	7	6	7	23	23	34	76	109	
急性出血性結膜炎												1																	3
流行性角結膜炎	13	8	1	1	1	2	3	6	1	1	1	1	1	2	3	8	5	1	1	4	5	2	2	2	3	2	10	3	
細菌性髄膜炎																	1												
無菌性髄膜炎	1																												
マイコプラズマ肺炎	1	2	1	2							1					1													1
クラミジア肺炎																													
感染性胃腸炎(ロタウイルス)	2	1	1	1	3	2	2	3	2	3	5	8	6	5	6	8	13	8	9	7	2	1	4	1	2	1	1	1	

疾患名\週	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	合計	(県) 定時点	(全国) 定時点	(修正) 定時点*
インフルエンザ	1	3	1	1	2	2	2	3	1	2	3	3	6	5	4	6	11	22	15	19	9	8080	149.63	237.41	—			
RSウイルス感染症	1	7	5	7	3	3	16	22	28	36	22	35	55	46	64	85	126	112	157	180	170	126	53	1815	53.38	38.13	55.34	
咽頭結核熱	4	10	13	6	11	20	19	22	9	6	16	19	8	5	17	6	12	19	31	20	18	25	17	10	658	19.35	22.93	20.06
A群溶連菌咽頭炎	30	26	35	21	25	11	19	31	24	26	27	29	28	36	51	45	52	62	55	84	67	72	57	29	2786	81.94	127.54	84.94
感染性胃腸炎	66	57	62	28	75	51	63	59	74	56	62	82	91	137	120	142	209	276	225	270	357	277	282	119	7781	228.85	313.95	237.23
水痘	4	4	1	4	3	7	8	5	9	7	1	8	8	6	11	11	15	19	12	17	9	15	4	519	15.26	24.66	15.82	
手足口病	464	339	240	75	104	80	55	32	28	21	12	8	8	2	5	11	3	5	5	4	6	2	2	3	4274	125.71	121.33	130.32
伝染性紅斑	13	11	8	4	11	14	7	16	6	7	14	9	10	11	11	7	15	18	20	23	30	23	34	6	529	15.56	31.31	16.13
突発性発疹	13	16	15	15	16	21	20	14	15	13	17	17	19	14	17	20	12	26	15	19	6	13	12	6	775	22.79	27.00	23.63
百日咳	1						2	1						1	1									11	0.32	0.85	0.33	
ヘルパンギーナ	58	90	67	34	40	33	14	12	7	4	6	3	1	1	6	3	1	2	3	1	1	1	1	685	20.15	31.22	20.89	
流行性耳下腺炎	3	2	4	6	2	2	1	8	6	3	9	8	17	10	9	22	7	21	18	16	18	31	16	14	380	11.18	25.76	11.59
急性出血性結膜炎	1																							5	0.56	0.71	—	
流行性角結膜炎	3	3	5	1	1	2	1	1	2	2	2	3	3	1	1	1	5	2	5	4	2	1	1	139	15.44	36.43	—	
細菌性髄膜炎	1									1														9	1.5	0.95	—	
無菌性髄膜炎																								6	1	2.24	—	
マイコプラズマ肺炎	5	1	1	2	3	1	4	3	1	7	2	5	5	4	9	5	6	11	8	11	12	11	3	135	22.5	21.69	—	
クラミジア肺炎																								1	0.17	0.87	—	
感染性胃腸炎(ロタウイルス)																	1	1	1	1	1	6	6	122	20.33	9.12	—	

※ インフルエンザ
 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎はA群溶連菌咽頭炎と表示している
 ※) 人口千対出生数からみた新生児数の全国との比較：全国 8.0、奈良県 7.0 (ともに2014年値)、突発性発疹かんからみた捕捉割合を18.35/27.98として、本県の定時点当たり報告数に、(27.00/22.79) × (7.0/8.0) を乗じて計上してみた。

(1) 感染性胃腸炎

1年をとおして、全国より少なかった。例年と比較しても横ばいの報告数であった。最も多かったのは、50週の定点あたり報告数は10.5であった(図1)。

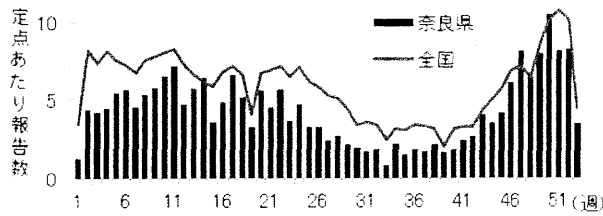


図1 感染性胃腸炎

(2) インフルエンザ

例年12月～1月に流行するが、平成27年初めの流行は前年11月から流行が始まり流行がピークとなる頃に年末年始の休暇があったため、定点あたり報告数(最大値26.74:第2週)が警報開始基準値(30)を超えることはなかった。また、平成27年末からの流行始まりも遅く、平成27年の患者数としては過去5年間で最も低かった(図2)。

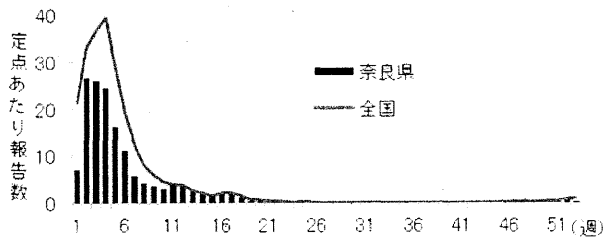


図2 インフルエンザ

(3) 手足口病

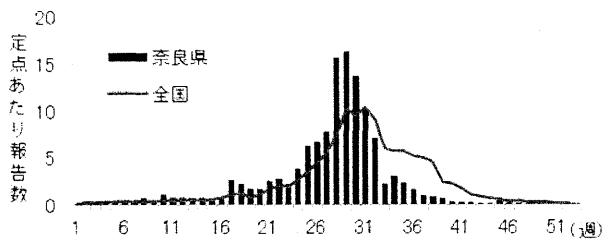


図3 手足口病

患者数としては3番目であるが、平成27年は手足口病が大流行した年と言える。前年末から継続して報告が続き、第25週(6/15～21)には警報開始基準値(5)を超え、第36週(8/31～9/6)に警報終息基準値(2)を下回るまでの11週にわたり警報発令となった。過去10年間でも患者数が最も多く、また患者年齢では1歳代が最も多かった。奈良県感染症情報に寄せられる小児科外来コメントでも、流行が拡大し始めた頃から症状がひどくなってきた(高熱・水疱)との情報もあり、積極的な検体採取・検査を検査担当に依

頼し、結果、コクサッキーA群6型(CA6)が検出され、平成23年、25年に続き、隔年でのCA6の県内流行が確認された。この詳細については、第2節資料で報告している(図3)。

(4) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

概ね、全国と同様の推移であったが、定点あたり報告数は、年間をとおして全国より低かった。

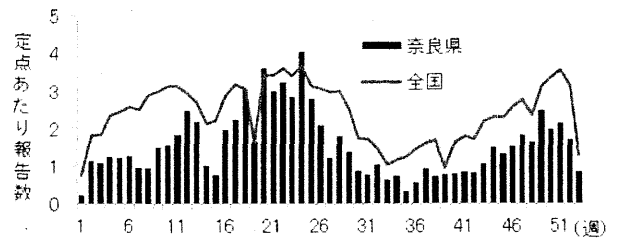


図4 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

(5) RSウイルス感染症

RSウイルス感染症は全国より報告数が多かった。患者報告数は年々増加している。RSウイルス感染症には警報開始基準値等が設定されていないため、警報発令はなかったが、本県での大流行の目安としている定点あたり報告数「5」を第50週と第51週には超えた。RSウイルスは、小児科定点対象疾患では、唯一、患者届出基準に病原体の検出等が要件となっており、平成23年に迅速診断キットの保険適応が乳児に拡大されてからは、全国的にも報告は増加傾向となっている。

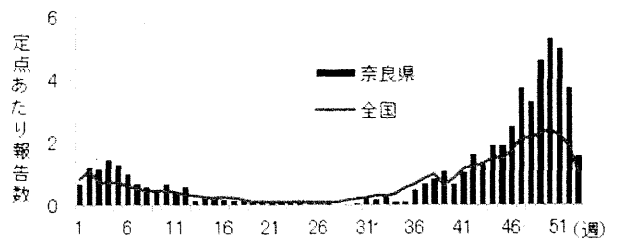


図5 RSウイルス感染症

2) 月単位報告対象疾患(月報)

月報対象の性感染症4疾患及び薬剤耐性菌感染症3疾患について月別の報告数を表4に示す。性感染症では、昨年増加していた尖圭コンジローマがさらに増加した。なお今年性は感染症は、15歳未満の報告がなかった。

薬剤耐性菌感染症については、例年並みの発生状況であった。0歳代及び60歳以上が多かった。

表4 平成27年 月単位報告対象疾患 報告数

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	総数	
性感染症	性器クラミジア感染症	男	6	7	10	8	9	3	9	3	7	8	5	7	82
		女		2	2	3	2	3	3	1	4	3	1	4	28
	性器ヘルペスウイルス感染症	男	4		1		1	1	1						8
		女			1	3	1	1		2	1	2	2	5	18
尖圭コンジローマ	男	3	2	2	1	3	1	3	3	3	4	1	2	28	
	女	2	2	2	2	2	1	1		2	1	3	1	19	
淋菌感染症	男	8	3	4	1	4		5	4	4	4	2	5	44	
	女														
薬剤耐性菌	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	男	22	20	30	15	19	25	12	22	27	27	23	24	266
		女	8	11	10	13	12	12	9	10	15	13	10	12	135
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	男	5	1	3	3	3	9	4	2	3	4	8	9	54
		女	5	4	3	1	3	3			1	6	2	7	35
薬剤耐性緑膿菌感染症	男			1			1			1				3	
	女														

考 察

平成27年の特記すべき感染症として、前年よりアフリカで蔓延していたエボラウイルス病及び6月に韓国で流行した MERS があげられる。結果としてともに、国内侵入はなかったが、MERS については隣国での発生と言うこともあり、正しい予防対策と冷静な対応を呼びかけた。しかし、中東等旅行先でのラクダとの接触事例は無くなることはなく、健康監視事例が平成27年で8例発生するなど、感染症情報センターの現在の周知方法では限界があると痛感した。

今後も感染症に関する情報収集と迅速な情報提供を心がけ、感染症対策の一助となるよう努めたい。

謝 辞

奈良県感染症発生動向調査事業にご協力いただきました奈良県医師会、各医療機関方々及び関係機関の方々に深謝いたします。

参考資料

- 1) 厚生労働省, 国立感染症研究所: 感染症週報
- 2) F. Nakamura-Uchiyama, Y. Ogawa, K. Hirota, *et al.* : ProMED-mail, 3596054 (2015)
- 3) 山田全啓: 病原微生物検出情報, 37, 64-65 (2015)