

第3章 調査研究・報告

第3節 資 料

フグによる食中毒事件の発生について

折口菜都希・村上友規・安藤尚子・岡山明子

Food Poisoning Caused by Puffer fish

Natsuki ORIGUCHI・Yuki MURAKAMI・Naoko ANDO and Akiko OKAYAMA

緒言

フグ毒による食中毒は全国で毎年30件程度発生している¹⁾。内陸県である奈良県では平成8年～27年の20年間で1件と件数としては多くないが、発生した際には患者が重篤化することが多く、検査には迅速性が求められる。

平成28年1月17日、医療機関から中和保健所へ「フグ食中毒の疑いがある患者を治療している」旨の連絡があった。同保健所の調査によると、県内の家庭で2名が嘔吐、麻痺等の食中毒症状を呈し入院（内1名は大阪市で入院）し、フグによる食中毒が疑われた。

当センターでLC/MS/MSによるフグ毒テトロドトキシンの検査を行ったので報告する。

方法

1. 試料

喫食残品とみられる調理済みの鍋内容物（魚類の臓器、卵巣、肝臓を含む）、鍋汁、調理の下処理工程で発生したと思われる残液、および中毒患者のうち1名の吐瀉物、気管内容物を試料とした。なお、搬入された調理済の鍋内容物の中で卵巣は13個あったが、そのうちの大きいものを3検体選びだして試料とした。

2. 試薬

標準品のテトロドトキシンは和光純薬工業(株)製を使用した。標準品は、水で溶解し50 µg/mLの標準原液を調製した。標準原液を水で希釈して50 ng/mLの標準溶液とした。

アセトニトリル、メタノールは和光純薬工業(株)製LC/MS用を、酢酸、ギ酸は和光純薬工業(株)製試薬特級を使用した。

3. 装置および測定条件

装置：Agilent社製1100シリーズLC、6430トリプル四重極LC/MSシステム

カラム：Waters社製Atlantis HILIC Silica (2.1 mm i.d. ×150 mm, 粒径 5 µm)

移動相：A；0.1%ギ酸、B；アセトニトリル

流速：0.2 mL/min 注入量：5 µL

グラジエント条件：B；0-0.01 min 95%，

0.01 - 10 min 40%

イオン化モード：ESI Positive 測定モード：MRM

プリカーサーイオン：m/z 320.1

プロダクトイオン：m/z 162.1（定量用），

m/z 302.1（定性用）

4. 試験溶液の調製

試験溶液の調製は、公定法²⁾を参考に行った。粉碎した試料10 g（気管内容物は1 g）をビーカーに採取し、0.1%酢酸溶液25 mLを加え、沸騰水浴中でときどき攪拌しながら10分間加熱した。放冷後、遠心管に移し、5,000 rpmで10分間遠心し、上清をNo.2のろ紙でろ過して50 mL比色管にろ液を採取した。遠心管中の残渣を0.1%酢酸溶液約10 mLで洗った後に再度5,000 rpmで10分間遠心を行い、上清をNo.2のろ紙でろ過し、先ほどの50 mL比色管にろ液を合わせて0.1%酢酸溶液で50 mLに定容して試験溶液とした。試験溶液は、LC/MC/MSへの注入前に0.1%酢酸溶液で適宜希釈し、0.2 µmメンブレンフィルターでろ過した（図1）。

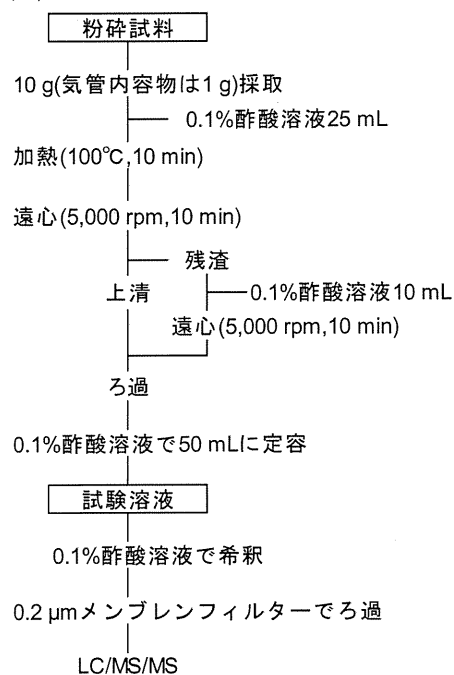


図1 試料溶液の調製フロー

5. LC/MS/MSによる定量測定

LC/MS/MSの条件は秦野らの報告³⁾を参考に設定し、標準溶液のピーク面積法により作成した検量線により定量した。

結 果

テトロドトキシン標準溶液の検量線は5～50 ng/mLの範囲で相関係数は0.999以上であり、良好な直線性を示した。

魚類の卵巣3検体のうちの1検体と患者の気管内容物からテトロドトキシンを検出した。その濃度を表1に示した。

表1 試料のテトロドトキシン濃度

試料	濃度 (μg/g)
	N.D.
魚類の卵巣	N.D. 7.8
魚類の肝臓	N.D.
鍋汁	N.D.
残液	N.D.
患者吐瀉物	N.D.
患者気管内容物	6.3

また、試料マトリックスの影響を調べるため、検出した試料について試験溶液の希釈倍率を変えて測定した。その結果を表2に示した。魚類の卵巣では20倍、気管内容物では希釈しない場合にマトリックスの影響がみられた。フグ卵巣では100倍と200倍、気管内容物では10倍と20倍とではテトロドトキシン濃度に有意差はなかった。

表2 試験溶液の希釈倍率と試料のテトロドトキシン濃度

試料	希釈倍率	濃度 (μg/g)
	20	4.3
魚類の卵巣	100	7.8
	200	7.2
	1	2.4
患者気管内容物	10	6.3
	20	6.4

さらに、矢野らの報告⁴⁾を参考に、Amicon Ultra-0.5mL 10 KDaを用いて試験溶液を限外ろ過する方法を試行した。卵巣の20倍希釈試料溶液で限外ろ過を行った結果、テトロドトキシン濃度は4.2

μg/mLで限外ろ過を行わない場合と差はなかった。

事件発生時に検査しなかった卵巣10検体のうち9検体についても後に検査を行ったが、テトロドトキシンは検出しなかった。

考 察

厚生労働省の通知⁵⁾では毒力が10 MU/g以下の場合には食用に供しても健康を害する恐れがないとされており、これはテトロドトキシン2.2 μg/g以下に相当する。本件で検出したテトロドトキシン濃度はいずれもこの濃度を超過しており、フグの卵巣を喫食したことによるテトロドトキシン中毒であると断定された。

また、試料マトリックスの影響について調査した結果、100倍以上の希釈によって試料マトリックスの影響が十分に軽減されていると考えられた。

さらに試料マトリックスの影響を除去する目的で試験溶液に限外ろ過膜の適用を試みたが、操作が煩雑になり時間がかかる一方で、効果は得られなかった。食中毒のような緊急を要する検査においては、試料溶液の100倍以上の希釈が最も有効な手段であると考えられる。ただし、テトロドトキシン2.2 μg/gを目途に測定する場合、検量線の範囲(5～50 ng/mL)を考慮すると、10 gの試料を用いた時の希釈は88倍までとなる。

フグ毒テトロドトキシンの試験は、公定法ではマウス試験法とされているが、この方法は日頃からマウスを飼育していない当センターではマウスの入手までに時間を要し、マウスの体重管理が必要となるなど管理が煩雑であり、本事例のような緊急を要する検査には不向きである。今回は、LC/MS/MSを使用することで迅速かつ簡便に分析することができた。

食中毒事件では、患者の臨床検体(尿、血清等)から病因物質を検出することが因果関係を立証するために必要なことである。今後は、尿や血清等の検体にも対応できるよう、検査体制の強化に努める必要がある。

文 献

- 1) 厚生労働省：食中毒統計調査
- 2) “食品衛生検査指針(理化学編)”厚生労働省監修、813-820(2015)、(社)日本食品衛生協会
- 3) 秦野真澄、難波江芳子、友岡美千代 他：愛媛県立衛生環境研究所報、8、17-20(2005)
- 4) 矢野昌弘、上田泰人、田中敏嗣：神戸市環境保健研究所報、39、48-53(2011)
- 5) 厚生省環境衛生局長通知：「フグの衛生確保について」、環乳第59号(昭和58年12月2日)

奈良県における食品由来大腸菌の AmpC 型 β ラクタマーゼ産生菌検出状況

吉田孝子・田邊純子・橋田みさを・堀 重俊

Detection of AmpC β -Lactamases in *Escherichia coli* Isolated from Food in Nara Prefecture

Takako YOSHIDA・Sumiko TANABE・Misawo HASHIDA and Shigetoshi HORI

緒言

食用動物の疾病治療や飼料に使用される抗菌性物質により、家畜・家禽の腸内細菌が耐性を獲得し、人の感染症治療に使用される抗菌性物質にも耐性を示す可能性が指摘され、社会的に重要な問題となっている。

抗菌性物質の中でも、 β -ラクタム系抗菌薬は医療現場で感染症治療に広く使用されている。その β -ラクタム系抗菌薬を加水分解する酵素(β -ラクタマーゼ)の一種である AmpC 型 β -ラクタマーゼ(AmpC)は第3世代セフェム系薬剤やセファマイシン系薬剤を分解するため治療への影響が懸念されている。

今回、食品より分離した大腸菌について、薬剤感受性試験及び AmpC 産生性の確認試験を行ったので結果を報告する。

方法

1. 材料

2010年度から2014年度に収去検査等により搬入された食品1,204検体より分離した大腸菌49株を用いた。

2. 薬剤感受性試験

CLSIの抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に準拠し、センシディスク(日本BD)を用い、薬剤感受性試験を実施した。まず、セフトキシム(CTX)について、薬剤感受性を確認し、CTXに耐性若しくは中間型と判定された菌株については、さらに、セフトジジム(CAZ)、セピロム(CPR)、セミノクス(CMNX)、セフメタゾール(CMZ)、ラタモキセフ(LMOX)、イミペネム(IPM)及びメロペネム(MEPM)の計7薬剤について薬剤感受性試験を実施した。

3. AmpC産生性の確認試験

薬剤感受性試験でCTXに耐性と判定された菌株について、ミューラーヒントン寒天培地上に、CTXとCAZの薬剤ディスクと、両ディスクの間に、 β -ラクタマーゼ活性阻害剤である3-アミノフェニルボロン

酸(APB)300 μ gを添加したディスクを配置し、阻止帯の形成を確認した(double disk synergy test(DDST))。また、CAZにAPB300 μ gを添加し、阻止円形の拡張が5mm以上あるかを確認した¹⁾。

4. AmpC遺伝子確認試験

AmpC産生性の確認試験により、 β -ラクタマーゼ活性阻害剤の影響が確認されたものについて、PCR法によるAmpC遺伝子の確認を行った。AmpC遺伝子の検出には、CIT型のプライマー²⁾(表1)を用いた。さらに、CIT型遺伝子を検出した菌株については、プラスミド性AmpC遺伝子である bla_{CMY-2} のORF全長について、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、DNA Data Bank of Japan(DDBJ)のBLAST解析により薬剤耐性遺伝子を決定した。

表1 遺伝子検出用プライマー

遺伝子型	プライマー名	プライマー配列(5'→3')	増幅サイズ(bp)
CIT型	CIT-F	TGGCCAGAAGCTGACAGGCAAA	462
	CIT-R	TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
bla_{CMY-2}	CMY2-F	ATGATGAAAAAATCGTTATGC	1134
	CMY2-R	TTATTGCAGCTTTTCAAGAAT	

結果

1. 菌株由来検体

大腸菌の由来食品を表2に示す。食肉由来が多く、中でも鶏肉由来が33株を占めた。

表2 由来食品及び菌株数

由来食品	菌株数	(内訳:%)
鶏肉	33	(67.4)
牛肉	5	(10.2)
豚肉	3	(6.1)
惣菜類	8	(16.3)
合計	49	(100)

2. 薬剤感受性試験

CTX耐性は49株中4株(8.2%)で、すべて鶏肉由

表3 薬剤感受性試験結果

菌株 No.	CTX	CAZ	CPR	CMNX	CMZ	LMOX	IPM	MEPM	APB
1	R	S	S	S	S	S	S	S	-
2	R	R	S	R	R	S	S	S	+
3	R	R	R	S	S	S	S	S	-
4	R	R	S	R	R	S	S	S	+

来であった。この4株について、さらに7薬剤に対しての薬剤感受性試験を行った結果を表3に示す。

セファマイシン系薬剤であるCMNX, CMZに耐性の菌株は4株中2株(No.2とNo.4)あり、第4世代セフェム系薬剤であるCPRに耐性の菌株が1株あった。オキサセフェム系薬剤であるLMOXに耐性の菌株はなかった。また、カルバペネム系薬剤であるIPM, MEPMについても耐性の菌株はなかった。

3. AmpC産生性の確認試験

CTXに耐性の4株について、DDSTを行った結果、4株中2株(No.2とNo.4)は、阻止円形の拡張や阻止帯の形成が見られたため、AmpC産生菌と判定した(表3, 図1)。

4. AmpC遺伝子確認試験

AmpC産生菌と判定した2株(No.2とNo.4)について、CIT型遺伝子の保有について確認したところ、2株両方から、遺伝子を検出した。そこで、その2株について、塩基配列を決定し、BLASTによる相同性解析の結果、プラスミド性AmpC遺伝子である bla_{CMY-2} と一致した³⁾。

考 察

AmpC遺伝子は所在の違いにより、染色体上に存在する染色体性AmpCと、プラスミド上に存在するプラスミド性AmpCの2つに分類される。*Citrobacter freundii*やエンテロバクター属菌などの多くのグラム陰性菌は染色体上にAmpC遺伝子を保有している。しかし、AmpC遺伝子を保有しないサルモネラ属菌や、保有していても殆ど発現しない大腸菌や赤痢菌のよう

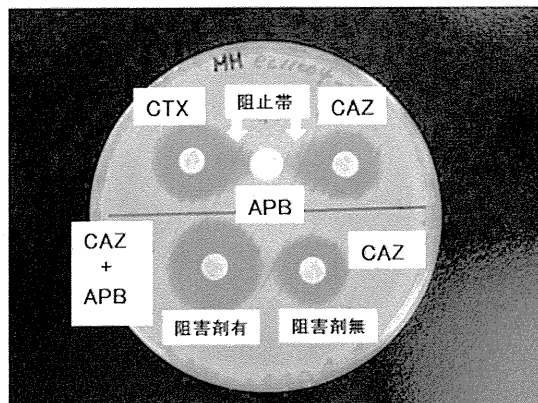


図1 DDST結果

な菌種においても、グラム陰性菌の染色体上に存在した遺伝子がプラスミドに転移したため、AmpCを産生する菌株が散見されている⁴⁾。さらに、AmpC遺伝子を保有するプラスミドは菌種を超えて伝達され、耐性遺伝子が拡散する可能性がある。また、AmpC産生菌の中には、カルバペネム系薬剤に軽度耐性を示すこともある⁵⁾。

今回、県内流通品である鶏肉からプラスミド性AmpC遺伝子の一つである bla_{CMY-2} を2株検出した。この2株(No.2とNo.4)は、セファマイシン系薬剤に耐性であるが、第4世代セフェム系薬剤やオキサセフェム系薬剤には感受性であり、典型的なAmpC産生菌の感受性パターンと一致していた。なお、今回AmpC遺伝子を検出できなかった2株(No.1とNo.3)は、既報⁶⁾のとおり基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生菌の一つであるCTX-M型遺伝子を検出している。今回の結果より、表現型でのAmpC産生菌とESBL産生菌の鑑別には、セファマイシン系薬剤の感受性確認やAPBによるDDSTが有効であった。 bla_{CMY-2} は国内で最も多く検出されているAmpC遺伝子であり、食品由来のサルモネラ属菌や大腸菌からの検出も複数報告されている^{7,8)}。

プラスミド性AmpC産生菌の増加は、他のβ-ラクタマーゼ産生菌であるESBL産生菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)同様、医療に与える影響が懸念される。

今後も公衆衛生上、薬剤耐性菌についてその動向に注視していく必要がある。

文 献

- 1) T. Yagi, W. Jun-ichi, H. Kurokawa, et al.: *J. Clinical Microbiology*, 43, 2551-2558 (2005)
- 2) F. JavierPérez-Pérez, Nancy D. Hanson: *J. Clinical Microbiology*, 40, 2153-2162 (2002)
- 3) A. Bauernfeind, I. Stemplinger, R. Jungwirth: *A. Agents and Chemotherapy*, 40, 221-224 (1996)
- 4) 山崎勝利, 小松方: *臨床と微生物*, 40, 225-231 (2013)
- 5) 中村竜也: *臨床と微生物*, 42, 548-552 (2015)
- 6) 吉田孝子, 阿部剛士, 琴原優輝, 他: *奈良県保健研究センター年報*, 48, 63-64 (2013)
- 7) P. L. Winokur, D. L. Vonstein, L. J. Hoffman, et al.: *A. Agents and Chemotherapy*, 45, 2716-2722 (2001)
- 8) 松本裕子, 泉谷秀昌, 山田三紀子, 他: *Jpn. J. Food Microbiol.*, 27, 27-33 (2010)

奈良県におけるヒトメタニューモウイルスの流行状況：2014-2015

米田正樹・藤谷美沙子・杉本大地・稲田真知・中野 守・北堀吉映

An epidemic of human metapneumovirus in Nara Prefecture: 2014-2015

Masaki YONEDA・Misako FUJITANI・Daichi SUGIMOTO・

Machi INADA・Mamoru NAKANO and Yoshiteru KITAHORI

緒言

ヒトメタニューモウイルス(hMPV)は2001年に発見されたパラミクソウイルス科に属する一本鎖RNAウイルスである。hMPVの遺伝子型は大きくAおよびBの2つのグループに分類され、さらに各々が2つのサブグループ(A1, A2, B1 および B2)に分類される¹⁾。hMPVはほとんどの小児が5歳までに感染するが、成人になってからも再感染を繰り返す。hMPVによる臨床症状は上気道炎、気管支炎等の呼吸器疾患が主で、発熱の持続を伴う。免疫低下状態の者は時として重症化しやすく、まれに脳症なども併発することから、特に乳幼児や高齢者にとっては決して軽視できないウイルスである。近年、簡易迅速診断キットの開発および普及により、臨床現場での診断が容易になったことから臨床的にも注目されるウイルスとなっている。

前回は2010年から2013年の4年間に感染症発生病向調査として医療機関から提出された呼吸器系疾患患者検体から検出したhMPVについて報告した²⁾。今回は2014年および2015年のhMPVを検出した患者検体について調査した結果を報告する。

材料と方法

1. 調査対象

2014年1月から2015年12月の間に県内の病原体定点医療機関から提供された呼吸器疾患（インフルエンザを除く）と診断された患者咽頭ぬぐい液から検出したhMPV 19株(2014年6株, 2015年13株)を対象とした。検体採取日や患者年齢等の患者情報は検査票の記載内容を用いた。

2. ウイルス遺伝子解析

咽頭ぬぐい液からQIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen)を用い添付のプロトコールに従ってウイルスRNAを抽出した。hMPVの検出はPeretら³⁾とTakaoら⁴⁾のhMPV-1f, hMPV-1r, hMPV-2fおよびhMPV-2rプライマーを用いたRT-nested PCRで実施した。そ

の後、アガロースゲル電気泳動の遺伝子増幅産物よりDNAを抽出した。抽出したDNAはBigDye Terminator Ver1.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用い添付のプロトコールに従いPCRを実施した。得られたPCR増幅産物を精製した後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)で塩基配列を解析した。得られた塩基配列とサブグループが既知の株の配列からMEGA6を用いて分子系統樹解析を実施しhMPVのサブグループを決定した。

結果

1. 患者情報

2014年の検体採取月別のhMPVの検出数は3月1例, 4月3例および5月2例であった。2015年は2月2例, 3月6例および4月5例であった。2014年の患者年齢は0歳児1例, 1歳児3例および3歳児2例であった。2015年は0歳児4例, 1歳児2例, 2歳児が4例, 3歳児が2例および6歳児1例であった。hMPVを検出した患者の主な症状は、下気道炎、気管支炎、喘息性気管支炎が主で、わずかではあったが肺炎と診断を受けた患者もあった。また、ほとんどの患者に発熱があり、中には40℃以上の患者も4例あった。

2. 遺伝子型解析

RT-nested PCRおよび分子系統樹解析から19株のhMPVのサブグループを決定し結果を表に示した。

2014年はA2が4株(80.0%), B2が1株(20.0%)であった。2015年はA2が12株(92.3%), B1が1株(7.7%)であった。また分子系統樹を図に示した。

表. hMPVのサブグループ解析結果

	株数	A型		B型	
		A1	A2	B1	B2
2014年	6		4		2
2015年	13		12	1	

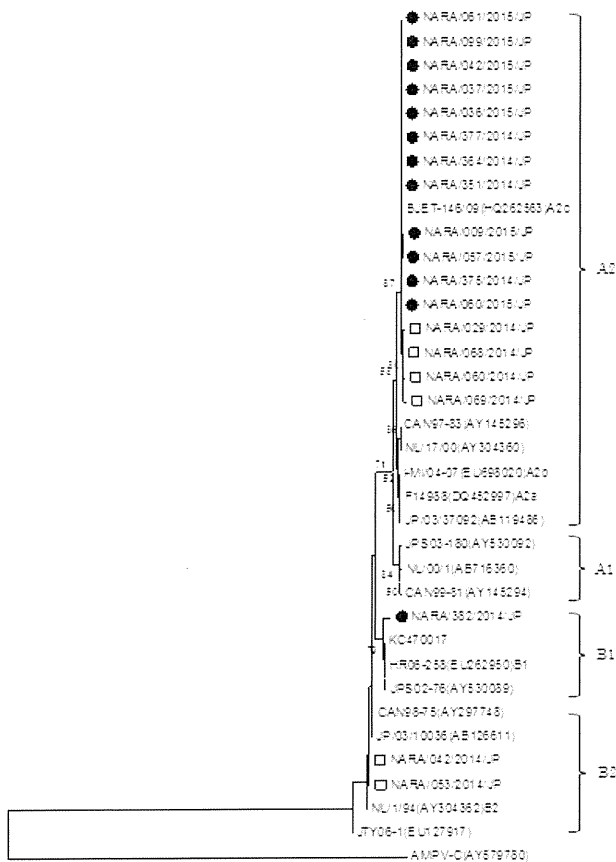


図. F タンパクの一部塩基配列に基づく分子系統樹 (304 bp) □ : 2014 年, ● : 2015 年分離株

考 察

今回の調査により、2014 年および 2015 年の本県における hMPV 患者の疫学情報およびの hMPV の遺伝子型を明らかにした。今回の調査結果は検出時期、患者年齢等においてこれまで報告されてきた調査結果と概ね同様の結果であった⁵⁻⁷⁾。

今回の調査で hMPV を検出した時期は 2 月下旬から 5 月下旬であった。この結果は前回の報告と同様の結果で、hMPV の流行季が春季とする報告と合致した⁵⁻⁷⁾。患者年齢別では、1 歳から 3 歳児で 68.4% を占めた。また 6 歳児からも検出したことから、RS ウイルス患者が生後まもなくから 1 歳までに多くみられるとする報告¹⁾と比較すると、hMPV 患者は前回の報告と同様に RS ウイルス患者よりやや高い年齢層にみられた。臨床症状は、下気道炎、気管支炎といった呼吸器系疾患が主であった。前回の報告²⁾では下痢症状を示した例が 27.3% みられたが、今回の調査では下痢症状を示した患者は 19 名のうち 2 名(10.5%)に留まった。

サブグループ解析の結果から、2014 年は A 型と B 型の両方を確認し A2 が 80.0% を占めた。2015 年も A 型と B 型の両方を確認し A2 が 92.3% を占めた。この結果 2010 年から 2015 年までの本県での hMPV 主流

行株は 2010 年 A2, 2011 年 B2, 2012 年 B1, 2013 年 B2, 2014 年および 2015 年が A2 となった。即ち本県で流行した hMPV は 2010 年から 2014 年までの 5 年間は毎年変化し、その後 2014 年から 2015 年の 2 年間は A2 が主流株であったと考えられた。hMPV の流行は集団免疫効果により主流株が 2~3 年ごとに変化するという報告⁸⁾があり、本県の調査結果も同様の傾向がみられた。遺伝子型別による臨床症状の違いについては、今後、症例を蓄積することで比較検討していきたいと考えている。

hMPV は発見されてからの歴史が 15 年程度と浅く、国内における hMPV の調査報告はインフルエンザウイルスやアデノウイルス等の他の呼吸器系ウイルスと比較すると少ない^{9),10)}。今後も感染症発生動向調査を通じて積極的な疫学調査、遺伝子学的調査を行い、特徴的な臨床症状や遺伝子型の変遷を明らかとするとともに、遺伝子型による臨床症状の差異の有無について検討し、得られた情報を速やかに発信することで流行季を迎える前の注意喚起に繋げていくことが重要であると考えている。

謝 辞

感染症発生動向調査にご協力いただいた奈良県医師会の諸先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 菊田英明：臨床とウイルス, 56, 173-182 (2006)
- 2) 大浦千明, 浦西洋輔, 米田正樹, 他：奈良県保健研究センター年報, 48, 67-68 (2013)
- 3) T. C. Peret, G. Boivin, Y. Li, *et al.*: *J. Infect. Dis.*, 185, 1660-1663 (2002)
- 4) S. Takao, H. Shimozone, H. Kashiwa, *et al.*: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 56, 127-129 (2003)
- 5) 高尾信一, 下菌広行, 柏弘, 他：感染症誌, 78, 129-137 (2004)
- 6) K. Mizuta, C. Abiko, Y. Aoki, *et al.*: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66, 140-145 (2013)
- 7) J. V. Williams, C.K. Wang, C.F. Yang, *et al.*: *J. Infect. Dis.*, 193, 387-395 (2006)
- 8) B. Huck, G. Scharf, D. Neumann-Haefelin, *et al.*: *Emerg. Infect. Dis.*, 12, 147-150 (2006)
- 9) M. Nakamura, E. Hirano, F. Ishiguro, *et al.*: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66, 56-59 (2013)
- 10) M. Nidaira, K. Taira, H. Hamabata, *et al.*: *Jpn. J. Infect. Dis.*, 65, 337-340 (2012)

奈良県におけるRSウイルスの検出状況：2015/1～2015/9

米田正樹・藤谷美沙子・杉本大地・稲田眞知・中野 守・北堀吉映

An epidemic of RS virus in Nara Prefecture:2015/1 to 2015/9

Masaki YONEDA・Misako FUJITANI・Daichi SUGIMOTO・

Machi INADA・Mamoru NAKANO and Yoshiteru KITAHORI

緒言

RSウイルス感染症は乳幼児の代表的な呼吸器感染症である。RSウイルスはA型とB型に大別され、さらにサブグループに細分される¹⁾。わが国で検出されるA型の多くはNA1で、B型の多くはBAである。2011年、Eshaghi Aら²⁾はカナダのオンタリオ州で2010年から2011年の間に収集した検体から、Gタンパク領域のC末端高度可変領域に72塩基の反復配列が挿入された変異株を発見しON1と命名した。その後、ON1類似株は中華人民共和国、ケニア³⁾などから相次いで検出されている。わが国でも2012年頃から横浜市、千葉市、沖縄県などで確認された⁴⁾。

本県では、2013年9月に感染症発生動向調査として医療機関から提出された喘息性気管支炎患者からON1類似株を検出した。その概要は既報⁵⁾で示し、その後も継続的に調査を実施している⁶⁾。今回、本県で2015年1月から9月に検出したRSウイルス遺伝子解析およびRSウイルスを検出した患者の疫学調査を実施したので報告する。

材料と方法

1. 調査対象

2015年1月から9月の間に県内の病原体定点医療機関から提供された呼吸器疾患と診断された患者咽頭ぬぐい液から検出したRSウイルス12株を対象とした。検体採取日や患者年齢等の患者情報は検査票の記載内容を用いた。

2. ウイルス遺伝子解析

咽頭ぬぐい液からQIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen)を用い添付のプロトコールに従ってウイルスRNAを抽出した。RSウイルスの検出はO'Donnellらの22K1, 22K2, 22K3および22K4プライマーを用いたnested PCRで実施した。遺伝子型解析用のプライマーはParveenら⁸⁾のABG490およびF164を用い、さらにA型はAG655およびF164, B型はBG517

およびF164を用いた、Semi-nested PCRで遺伝子型識別を実施した。さらに、アガロースゲル電気泳動の遺伝子産物よりBigDye Terminator Ver1.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems)を用い添付のプロトコールに従いPCRを実施し精製した後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)で解析した。得られた塩基配列よりMEGA6を用いて分子系統樹解析を実施しサブグループを決定した。

結果

1. 患者情報

2015年9月までの検体採取月別のRSウイルス検出数は2月4例、3月2例、4月1例、8月3例および9月2例の計12例であった。患者年齢は0歳児4例、1歳児7例および2歳児1例で3歳児以上からの検出は無かった。RSウイルスを検出した患者の主な症状は、気管支炎、喘息性気管が主で、わずかではあったが肺炎と診断を受けた患者もあった。また、ほとんどの患者に発熱があり、中には40℃以上の患者も2例あった。

2. 遺伝子型解析

A型およびB型のサブグループ分類結果を表に示した。2015年はA型6株(60.0%)、B型4株(40.0%)で2株は型識別できなかった(表)。

A型に分類した株はRT-PCRおよび分子系統樹解析の結果から、全て72塩基の反復配列が挿入されたON1でNA1は確認できなかった(図)。なお、B型は2014年と同様、すべてBAに分類された。

表. RSウイルスのサブグループ解析結果

検体数	A型	B型	N.T.*
	ON1	BA	
12	6	4	2

*Not Typed

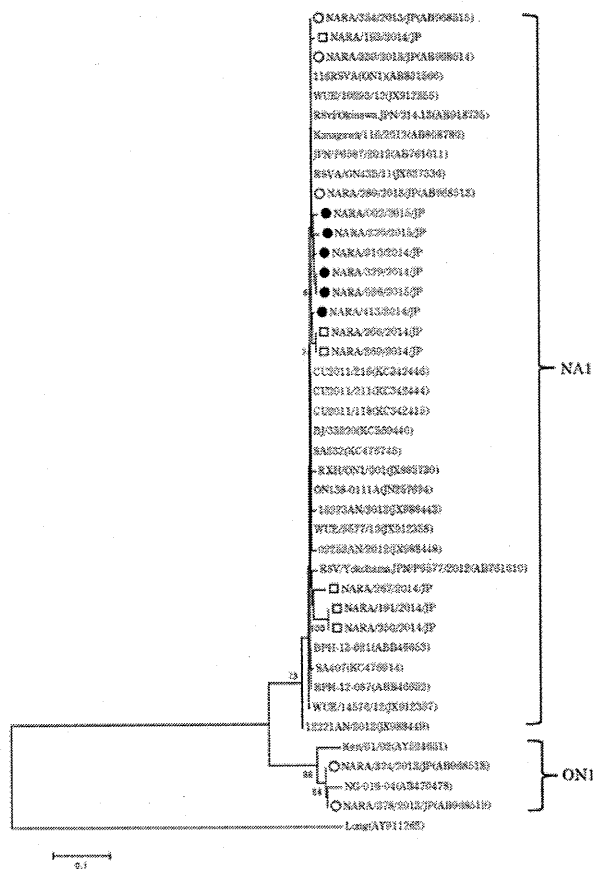


図. G タンパクの C 末端高度可変領域に基づく RSV の分子系統樹(258 bp)

○ : 2013 年, □ : 2014 年, ● : 2015 年分離株

考察

RS ウイルスはインフルエンザと同様に、飛沫および接触感染により伝播する。主な症状は下気道炎や細気管支炎で、乳幼児の肺炎の 50%程度が RS ウイルス感染症と言われており、乳幼児の感染症としては重要な疾患である。

本県では呼吸器系疾患患者検体からのウイルス検索では、インフルエンザウイルスを約 40%, その他ではアデノウイルスやコクサッキーウイルス等を検出してきた。RS ウイルスはこれらの呼吸器系ウイルスと比較すると本県での調査実績が少なく、疫学的な情報の蓄積が課題となっている。

RS ウイルス感染症は 2003 年の感染症法の改正により感染症発生動向調査の対象疾患に加わり、全国の定点医療機関から適時患者報告数が寄せられ本疾患の流行状況や患者情報が徐々に明らかとなってきた。国立感染症研究所感染症疫学センターの IDWR (2015 年第 37 号) では 2015 年は第 1 週から第 37 週までの累積報告数を年齢別にみると、0 歳が最も多く、次に 1 歳と続き、3 歳児以下で全体の 95%と報告されている。今回の我々の結果も、この報告とほぼ同様の年齢分布

を示した。

ON1 は従来の NA1 の亜型で 2010 年にカナダで入院例から検出された新しい遺伝子型である²⁾。本県では 2013 年に始めて ON1 類似株を検出した⁵⁾。その後 2014 年も ON1 類似株を検出し⁶⁾、今回の調査結果から 2015 年に入ってから検出した A 型のウイルスは全て ON1 類似株となり、2014 年まで確認された NA1 株は今回の調査では確認できなかった。ON1 類似株の流行状況を調査したのは、G 蛋白領域は細胞吸着に関係していることから⁹⁾、従来の NA1 に分類されるウイルスとは異なる感染性を有していることが考えられたためである。一方、B 型は 2014 年と同様に全て BA 型であった。結果的に 2015 年に入ってから 2014 年と同様、A 型と B 型の混合流行であったことなどから、ON1 類似株は新たなウイルス抗原として感染性は増したものの、全てが A 型の ON1 類似株が占めるほどの感染力では無かったことが示唆された。

最後に、G タンパク領域のアミノ酸の挿入変異は、過去に B 型でも起こっており世界に拡大した経緯があることから、今回の ON1 類似株の出現も緩やかながら大勢となる可能性があり、注意深い監視が必要である。また、ON1 類似株による RS ウイルス感染症患者の臨床学的特徴についての検証が重要と考える。

謝辞

感染症発生動向調査にご協力いただいた、奈良県医師会の諸先生方に深謝いたします。

文献

- 1) 堤裕幸 : 感染症誌, 79, 857-863 (2005)
- 2) A. Eshaghi, V. R. Duvvuri, R. Lai, *et al.*: *PLoS One* 7, e32807 (2012)
- 3) C. N. Agoti, J. R. Otieno, C. W. Gitahi, *et al.*: *Emerg. Infect. Dis.*, 20, 950-959 (2014)
- 4) H. Tsukagoshi, H. Yokoi, M. Kobayashi, *et al.*: *Microbiol. Immunol.*, 57, 655-659 (2013)
- 5) 川辺千明, 米田正樹, 稲田真知, 他 : 臨床とウイルス, 42, 247-253 (2014)
- 6) 北堀吉映, 川辺千明, 米田正樹, 他 : 奈良県保健研究センター年報, 49, 71-72 (2014)
- 7) D. R. O'Donnell, M. J. McGarvey, J. M. Tully, *et al.*: *J. Pediatr.*, 133, 272-274 (1998)
- 8) S. Parveen, W. M. Sullender, K. Fowler, *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, 44, 3055-3064 (2006)
- 9) S. Levine, R. Klaiber-Franco, P. R. Paradiso: *J. Gen. Virol.*, 68, 2521-2524 (1987)

奈良県におけるノロウイルス GII.17 の検出状況

藤谷美沙子・杉本大地・米田正樹・稲田眞知・中野 守・北堀吉映

Detection of Norovirus GII.17 in Nara Prefecture

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。遺伝子群は GI から GVI の 6 つに分類され、GI と GII が主にヒトに感染する。GI は GI.1 から GI.9 までの 9 種、GII は GII.1 から GII.22 までの 22 種の遺伝子型が存在する。

これまで NoV は、2006 年及び 2012 年の大流行を引き起こす原因にもなった GII.4 が主流の遺伝子型であったが、2014 年 3 月に川崎市が NoV の VP1 領域における遺伝子型解析で、これまでの検出された GII.17 とは異なる配列を持つ GII.17 を発見した。この GII.17 について RdRp 領域の遺伝子型決定を行ったところ、既知の遺伝子型では分類することができず、新たな遺伝子番号「GII.P17」が付与された¹⁻²⁾。これまでとは異なるウイルスであるため、免疫を持つ人が少なく、GII.4 に代わり大きな流行をもたらすのではないかと懸念されていたため、本県でも NoVGII.17 の動向に注視してきた。2015 年の本県における NoVGII.17 の発生状況について報告する。

対象及び方法

1. 検査対象

2015 年 1 月から 12 月の間に奈良県感染症発生動向調査事業で定点医療機関等から提供された検体および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、集団感染事例 (疑い事例を含む) で調査を実施したもののうち NoVGII を検出した 108 例 (集団発生事例は 1 として計上) を調査対象とした。

2. 検査方法

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、VP1 領域のプライマー COG2F/G2-SKR を用いた RT-PCR を行い³⁾、遺伝子増幅産物についてダイレクトシーケンスを実施

し、得られた塩基配列を Norovirus genotyping tool を用い、遺伝子型を判定した。VP1 領域について GII.17 と判明したものについて、RdRp 領域プライマー Yuri22F/G2-SKR を用い、VP1 領域の解析と同様に RT-PCR を行い、シーケンスを実施して RdRp 領域の遺伝子型を判定した。

結果

NoVGII を検出した 108 例の VP1 領域における遺伝子型の内訳は、GII.2 が 23 例 (21%)、GII.3 が 7 例 (6%)、GII.4 が 57 例 (53%)、GII.6 が 1 例 (1% 未満)、GII.13 が 3 例 (3%)、GII.17 が 17 例 (16%) であった。これまでの主流遺伝子型である GII.4 及び検査対象期間に県内の一地域で小流行があったと考えられる GII.2 に次いで GII.17 の検出が多かった。

GII.17 を検出した 17 例について RdRp 領域の遺伝子型解析を実施した結果、解析不能であった 1 例を除き、16 例が新たな遺伝子番号の GII.P17 に分類された。

GII.17 を検出した 17 例は、感染症発生動向調査事業で提供された検体が 9 例、集団発生事例によるものが 8 例あった。集団発生事例の発生施設は、飲食店関係が 4 例、小学校が 2 例、中学校が 1 例、高齢者施設が 1 例であった。保育所や幼稚園からの集団発生はなかった。また、感染症発生動向調査の検体から検出した 9 例の年齢分布は、0 歳、1 歳、2 歳、7 歳、8 歳、10 歳、12 歳、13 歳、14 歳が 1 例ずつであった。

GII.17 による発病月はこれまで検出してきた遺伝子型と変化はなく、また男女差も認められなかった。

考察

本県では GII.17 を 2015 年 1 月に初めて検出し、その後検出数は徐々に増加している。対象期間中に GII.17 を検出したものは 17 例あり、そのうち 16 例が RdRp 領域の遺伝子型解析で新たな遺伝子型の G

表 ノロウイルス GⅡ.17 検出状況

No.	RdRp領域の遺伝子型	VP1領域の遺伝子型	発病月	性別	発症年齢	事例(発生施設)
1	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.1	女	13	散发
2	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.1	男	12	散发
3	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.1	男	75	集団(飲食店関係)
4	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.1	女	13	集団(中学校)
5	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.1	女		集団(飲食店関係)
6	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.2	女	14	散发
7	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.2	女	10	散发
8	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.2	男		集団(飲食店関係)
9	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.2	男	84	集団(高齢者施設)
10	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.2	男	6	集団(小学校)
11	—	GⅡ.17	2015.3	男	1	散发
12	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.4	女		集団(飲食店関係)
13	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.4	女	8	集団(小学校)
14	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.11	女	7	散发
15	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.11	男	8	散发
16	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.11	女	0	散发
17	GⅡ.P17	GⅡ.17	2015.11	男	2	散发
18	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	女	26	集団(飲食店関係)
19	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	男	5	散发
20	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	女	4	散发
21	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	女	6	散发
22	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	女	8	散发
23	—	GⅡ.17	2016.1	男	4	散发
24	GⅡ.P17	GⅡ.17	2016.1	男	35	集団(飲食店関係)

Ⅱ.P17に分類されているため、大流行を引き起こす恐れがあると懸念されている株が本県にも侵入していることを確認することができた。

GⅡ.17の集団発生事例を発生施設別で分類すると、8例中5例が飲食店関係及び高齢者施設からの発生であった。飲食店関係と高齢者施設からの集団発生はいずれも成人間での発生であったため、GⅡ.17による集団発生は成人間で多く起こっていると考えられる。

感染症発生動向調査の検体からGⅡ.17を検出した9例の年齢分布について比較すると、乳幼児からの検出は少なく、小学生以上からの検出が多くなっている。これまでのNoVの主流遺伝子型であるGⅡ.4は保育所や幼稚園など乳幼児から検出が多く、GⅡ.17はGⅡ.4とは異なる年齢層で流行する可能性があると考えられる。

現在のところ、GⅡ.17は懸念されていたほど大きな流行とはなっていないが、徐々に検出数が増えてきていることから、突発的に増加したものではなく、継続的に検出される可能性がある。今後もGⅡ.17の発生動向には注視していく必要がある。

謝 辞

検体提供にご協力いただいた奈良県感染症発生動向調査定点医療機関の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 他: 病原微生物検出情報, 36, 175-178(2015)
- 2) 入谷展弘, 山元誠司, 改田厚, 他: 食品衛生研究, 65, 7-15(2015)
- 3) 国立感染症研究所, ウイルス性下痢症診断マニュアル(第3版)

第3章 調査研究・報告

第4節 他誌掲載論文の要旨

奈良県で 2008/2009 から 2013/2014 シーズンの間に 小児感染性胃腸炎患者から検出した A 群ロタウイルスの特徴

米田正樹・北堀吉映

感染症学雑誌, 89, 609-612, (2015)

奈良県内で 2008/2009 シーズンから 2013/2014 シーズンの 6 シーズン間に検出した A 群ロタウイルス(RVA)について調査した。結果, 247 の検体から RVA を検出し検出率は 26.5%であった。RVA を検出した患者の検体採取月別で見ると 4 月が最も多く, 患者年齢では 1 歳児が最も検出率が高かった。検出した RVA について G および P 遺伝子型を決定した結果, 7 つの遺伝子型に分類でき, 主流行型は 2008/2009, 2009/2010, 2011/2012 および 2012/2013 シーズンの 4 シーズンは G1P[8], 2010/2011 シーズンは G3P[8], 2013/2014 シーズンは G9P[8]であった。今回の我々の報告は, ロタウイルスワクチンの導入が進む我が国にとって, 今後起こるかも知れない疫学的変化に対応するための資料の一助となると考えている。

第3章 調査研究・報告

第5節 報告書の要旨

検査機関の信頼性確保に関する研究

渡辺卓穂（一般財団法人食品薬品安全センター）・尾花裕孝（大阪府立公衆衛生研究所）・並河幹夫（京都市衛生環境研究所）・大久保祥嗣（神戸市環境保健研究所）・角谷直哉（大阪市立環境科学研究所）・山下浩一（奈良県保健研究センター）・神藤正則（堺市衛生研究所）・高井靖智（和歌山県環境衛生研究センター）

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）平成 27 年度分担研究報告書

近畿地区の地方衛生研究所 7 機関による共同研究を行い、GC/MS(MS)測定時における農薬由来のマトリックス効果とその制御方法について検討した。試料として、枝豆マイクロペーストから各機関の前処理方法で調製したブランク試験液を使用した。このブランク試験液に農薬を添加した食品の模擬試験液を調製し、模擬試験液の希釈率、補助マトリックス添加の有無、添加農薬数の違い等による、農薬由来のマトリックス効果が農薬の定量性に及ぼす影響について比較検証を行った。その結果、多数の農薬を含む混合標準溶液使用時に、絶対検量線法において定量値の過小評価が起こることが判明した。過小評価の傾向は、食品マトリックス量が低減する希釈測定時により顕著になり、その対策として内部標準物質による補正や補助マトリックスの添加が有効であった。

奈良県で流行した手足口病：2013

北堀吉映・中野 守・稲田眞知・米田正樹

奈良県小児科医会報，16，16-18(2015)

奈良県感染症発生動向調査で 2013 年 1 月から 12 月の間に 35 定点医療機関で手足口病と診断された届出数を、定点当たりの患者発生数として流行状況の指標として解析したところ、対象期間の患者報告数は 2,092 人で、特に奈良市保健所と葛城保健所管内では大きい流行であったことが判明した。また、原因ウイルスの解析は病原体定点の医療機関から入手した 22 例の咽頭ぬぐい液を検査材料として、遺伝子検査によってウイルス解析を実施し、患者年齢等の疫学を加え解析を試みた。その結果、コクサッキー A 群 (CA) 6 型 14 例、エンテロウイルス (EV) 71 型 7 例を検出した。CA6 型を検出した患者年齢は、1 歳未満が 3 例、1 歳代が 8 例、2 歳代が 3 例及び 5 歳代が 2 例であった。EV71 型を検出した患者年齢は、2 歳代が 1 例、3 歳代が 1 例、4 歳代が 3 例及び 5 歳代が 1 例であった。今後も注意深い発生動向調査が必要であると考えている。

環境水サーベイランスによる腸管系ウイルスの早期動向把握

中野 守

公益財団法人 大同生命厚生事業団 第21回「地域保健福祉研究助成」報告集

流入下水を検査対象とし広くウイルス情報を収集するため、これまでの感染症発生動向調査の補完的検査手法としての展開が可能なのか否かについての基盤的調査を実施した。今回、実施した環境水サーベイランスは、発生動向調査で検出したウイルスと血清型が一致したものが4種と一致率は高いものの、月別の検出状況を見ると大きく異なるものであった。注目すべき結果としてコクサッキーB群5型では連続8か月間に渡り環境水からウイルスが検出され、その内の2か月については発生動向調査でも同一型のウイルスを検出した。この連続的に同一ウイルスが検出されるということは、下水中には不顕性感染から排泄されたウイルスも多く含まれていると推察され、広域的な感染状況を反映する可能性が高く、患者主体の発生動向調査と環境水サーベイランスの両面で検出および解析を行うことが感染症を監視する上で重要であると考えられた。

第3章 調査研究・報告

第6節 研究発表の抄録

奈良県における農作物中の残留農薬検査状況について ～平成 23 年度から平成 25 年度～

山下浩一・西山隆之・北岡洋平・山本雄也・陰地義樹・岡山明子

平成 27 年 5 月 21 日（奈良市） 第 54 回近畿公衆衛生学会

平成 23 年度から 25 年度までの 3 年間に奈良県内で収去された農作物 467 検体の残留農薬検査結果を集計し、検出頻度の高い農薬および違反事例等についてまとめた。検体あたりの農薬検出率は 26.8%で、国産および輸入品ともに、果実類の方が野菜類に比べて検出率が高かった。検査対象農薬 154 項目中、検出された農薬は 29 項目で、その内訳は殺虫剤 18 項目、殺菌剤 11 項目であり、10 件以上の検出が認められた検出頻度の高い農薬は 6 項目であった。また、残留基準値を超過した事例は 1 検体で、全検体数に対する違反検体の割合は 0.2%であった。違反事例は、さといもから殺菌剤のフルトラニルが検出（0.06 ppm）されたもので、一律基準（0.01 ppm）が適用された。

平成 26 年度食品収去検査において違反が疑われた赤色着色料について

安藤尚子・折口菜都希・柚田有加・岡山明子

平成 27 年 6 月 19 日（大和郡山市） 平成 27 年度奈良県衛生関係職員研修会

平成 26 年度食品収去検査において輸入食品に使用した着色料の違反が疑われた。表示は食用赤色 102 号のみであったが、微量の食用赤色 2 号も検出した。成分規格適合の食用赤色 102 号でも、製造過程で副成する食用赤色 2 号をごく微量含有する。当該輸入食品から検出した食用赤色 102 号は、旧「漬物の衛生規範」の着色料の使用量 100 ppm を大きく超過していた。このことから検出した微量の食用赤色 2 号は、添加されたものではなく食用赤色 102 号に伴って検出されたと考えられた。

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（第 2 報）

北岡洋平・陰地義樹・山下浩一・西山隆之・山本雄也・岡山明子

平成 27 年 10 月 30 日（京都市） 第 110 回日本食品衛生学会学術講演会

第 108 回日本食品衛生学会学術講演会で、トリメチルシリルジアゾメタンを用いたオクラトキシン A (OTA) のメチル化について報告した。しかし、ジメチル OTA の検出感度、装置の安定性、副生成物の制御のむずかしさなど様々な課題があった。今回はこれらの問題を解決することを目的としてメチル化の進行を正確に追跡するため、再度反応条件を検討した上で、GC 注入量を増やすと共に MS の最適化によって検出感度の向上をはかり、本法の実用性について検討した。

平成 26 年度食品収去検査において違反が疑われた着色料について

安藤尚子・折口菜都希・岡山明子

平成 27 年 11 月 13 日（神戸市） 平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部理化学部会研修会

平成 26 年度食品収去検査において輸入のしょうが酢漬けの着色料（タール色素）検査を実施した際に、違反が疑われた事例があった。食品表示には食用赤色 102 号しか記載されていないにもかかわらず、微量の食用赤色 2 号も検出した。成分規格に適合する食用赤色 102 号でも、付随色素として食用赤色 2 号を ND~0.279%含有する。しかし、食用赤色 2 号を検出した輸入のしょうが酢漬けでは、旧「漬物の衛生規範」の着色料の使用量 100 ppm を大きく超過していた。そこで食品添加物の成分規格に適合した食用赤色 102 号と食用赤色 102 号で着色された国産のしょうが酢漬け中の食用赤色 2 号を定量したところ、輸入のしょうが酢漬けと同様に食用赤色 102 号の 0.2%程度の食用赤色 2 号を検出した。これらのことから検出した微量の食用赤色 2 号は、添加されたものではなく食用赤色 102 号の付随色素であったと考えられた。

放射線照射された食品の検知方法の検討

西山隆之・山下浩一・北岡洋平・岡山明子

平成 27 年 11 月 19 日（橿原市） 第 36 回奈良県公衆衛生学会

食品に放射線照射を行うことにより、優れた殺菌効果が得られることはよく知られている。脂肪含有食品に放射線を照射した場合、自然界には存在しないアルキルシクロブタノン類が特異的に生成され、これらを検出することにより、放射線照射の有無を判別することができる。厚生労働省が示した方法（通知法）では、試験溶液の作製に時間がかかり操作も煩雑である。そこで、迅速で簡便な検知方法の開発を目的に検討を行った。その結果、超臨界流体抽出装置を使用することによりアルキルシクロブタノン類を迅速に抽出することができた。また、測定についても検討の結果、比較的短時間でピーク形状の良い GC/MS 測定条件を決定した。

ジャガイモによる食中毒について

折口菜都希・村上友規・安藤尚子・岡山明子

平成 27 年 11 月 20 日（和歌山市） 平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会研究発表会

平成 27 年 1 月、小学校において授業で栽培、収穫したジャガイモを調理して喫食した児童がむかつき、腹痛の症状を呈する食中毒事件が発生した。保健所の調査によると、喫食した 2 クラス 51 名（担任 2 名を含む）中 31 名に同様の症状があり、このうち 13 名が医療機関を受診していた。喫食したジャガイモには緑色のものがあり、苦みもあったことから、ソラニン類による食中毒が疑われ、当センターで検査を行った。検査の結果、18.7~48.6 mg/100g のソラニン類を検出し、ジャガイモによるソラニン中毒であると断定された。また、従来法である HPLC に代わり UPLC によるソラニン類の分析についても検討し、HPLC に比べて高感度かつ短時間での測定が可能となった。

散発性下痢症患者から分離された大腸菌の病原因子保有状況

田邊純子・辻本真弓・吉田孝子・田口和子・大前壽子

平成 27 年 5 月 21 日（奈良市） 第 54 回近畿公衆衛生学会

県内の散発性下痢症患者から分離された大腸菌について、病原因子保有の実態を把握する目的で、2011 年 4 月から 2014 年 9 月に県内医療機関で分離されベロ毒素（VT）不検出の散発性下痢症患者由来大腸菌 142 株を収集し、PCR 法により病原因子関連遺伝子を検索して O 血清型との関係を調査した。O 血清型は O18（38 株）、O1（37 株）、O25（8 株）が多く、29 株は型別不能（OUT）であった。病原因子関連遺伝子は 8 株から検出し、*eae* が 2 株（O63, O159）、*aggR* が 3 株（O78, O111, O126）、*astA* が 5 株（O8, O18, O63, O78, O126）であった。分離数の多い O 血清型の病原因子関連遺伝子保有株は O18 の 1 株のみで、残りの遺伝子保有株 7 株の O 血清型は分離数が 2 株以下の少ない血清型であった。

ヒト及び食品から分離された大腸菌、サルモネラ属菌の薬剤感受性について

吉田孝子・阿部剛士・辻本真弓・田邊純子・瀬口修一・田口和子・大前壽子

平成 27 年 5 月 21 日（奈良市） 第 54 回近畿公衆衛生学会

2007 年度から 2014 年度に当センターに搬入された食品及び食中毒患者便などから分離した大腸菌 87 株、2009 年度から 2014 年度に同様の検体から分離したサルモネラ属菌 52 株について、12 薬剤について薬剤感受性試験を行った。大腸菌 87 株のうち、49 株がいずれかの薬剤に耐性を示した。この中には、第 3 世代セフェム系薬剤(CTX)とフルオロキノロン系薬剤(CPFX)の両方に耐性の菌株が 1 株あった。サルモネラ属菌については、52 株のうち、38 株がいずれかの薬剤に耐性で、CTX 耐性の菌株が 2 株あった。また食品由来のサルモネラ属菌は 90%が薬剤耐性菌であった。奈良県においても、食品由来株でのセフェム系薬剤耐性菌が確認され、食品を介しての耐性菌拡大が危惧される。今後も引き続き調査を継続し、状況把握に努める必要がある。

微生物によるうどんの苦味苦情事例について

阿部剛士・吉田孝子・瀬口修一・田口和子・大前壽子

平成 27 年 10 月 29 日（京都市） 第 110 回日本食品衛生学会

平成 26 年 6 月、県内保健所管内でうどんの苦味による苦情事例が発生した。当センターで検査したところ、低温細菌の生育が確認でき、蛍光色素を生成する *Pseudomonas fluorescens* (以下 *P. fluorescens*) が苦味の原因菌であると判明した。さらに検出した *P. fluorescens* を用いて、菌添加後各種保存温度(5℃、25℃及び 35℃)による菌数増加と苦味発生の関連性について再現試験を行った。各保存温度により苦味発生に違いが生じたため、苦味原因と推測される苦味ペプチドの生成に温度が関与していると推察された。

食品から分離した大腸菌の薬剤耐性について

吉田孝子・阿部剛士・田邊純子・橋田みさを・堀 重俊

平成 27 年 11 月 12 日（川崎市） 第 36 回日本食品微生物学会

2010 年度から 2014 年度に当センターに搬入された食品から分離した大腸菌 49 株を対象とし、12 薬剤について薬剤感受性試験を実施した。さらに CTX に耐性、若しくは中間型と判定した菌株については、ESBL 産生菌及び AmpC 産生菌の確認を表現型、PCR 法による遺伝子検査にて行った。今回供試した薬剤の何れかに耐性である菌株は 31 株あった。CTX に耐性、若しくは中間型と判定した 4 株から、CTX-M-2group1 株と CTX-M-1group+TEM-型 1 株を検出した。ESBL 遺伝子を検出しなかった 2 株からは、AmpC 産生菌である CIT 型遺伝子を検出し、2 株ともシーケンス解析の結果 *bla_{CMY-2}* を保有していることが判明した。食品由来大腸菌から、プラスミド性の薬剤耐性遺伝子を検出したことより、プラスミドの伝達による病原性の高い菌種への薬剤耐性遺伝子の伝播、拡散が危惧される。

奈良県における結核菌の分子疫学解析について

阿部剛士・田邊純子・橋田みさを・堀 重俊

平成 27 年 11 月 19 日（橿原市） 第 36 回奈良県公衆衛生学会

国内標準法である 12 か所の VNTR(Variable numbers of tandem repeats)領域を分析する Japan Anti-Tuberculosis Association(JATA) (12)-VNTR 法により、平成 25, 26 年度に当センターに搬入された結核菌 85 株を対象に分子疫学解析の結果をまとめた。JATA(12)-VNTR 型は 11 組(計 31 株)で 12 か所の VNTR 領域が全て一致(クラスター形成)した。保健所による実地疫学情報で接触歴があり型が一致した 4 組(計 10 株)では、感染源の特定に JATA(12)-VNTR 法は有用であり、科学的根拠として使用できることを確認した。また、実地疫学情報で接触歴が疑われても型が一致しない 3 組(計 9 株)では、関連性がないと判断でき、検診範囲の判断材料となるなど、効率的な結核対策が可能となる。一方、接触歴はないがクラスターを形成した 7 組(計 21 株)では、JATA(12)-VNTR 法の結果だけで菌株異同は判定できないといわれており、分析対象である 12 か所に領域を追加し、解析を行うことで、菌株異同の判定精度が向上すると考えられた。

数年にわたり患者が発生した施設のレジオネラ属菌検査について

吉田孝子・北本友理・橋田みさを・堀 重俊

平成 27 年 11 月 27 日（大津市） 平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会

2012 年 4 月，2013 年 6 月，2014 年 11 月の 3 回にわたり，同一施設の利用者からレジオネラ症患者が発生した事例があった。当該施設は，原因施設として特定されなかったが，各々の患者発生時の浴槽水検査でレジオネラ属菌が検出された。そこで，当該施設の配管洗浄の効果を確認するため，洗浄直後の配管等の拭き取り検査を行ったところ，再度レジオネラ属菌が検出された。さらに，患者発生時と配管洗浄直後に検出された計 5 株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)を行ったところ，4 株が一致し，2012 年より同一のレジオネラ属菌による汚染が継続していることが示唆された。そこで，配管洗浄に用いていた次亜塩素酸ナトリウムをアルカリ性の泉質による影響が少ない二酸化塩素に変更し，配管洗浄を実施したところレジオネラ属菌不検出になった。今後も県内保健所と連携し，公衆衛生に寄与する科学的データの提供に努めたい。

奈良県感染症発生動向調査から見た感染症の変遷について

北堀吉映・稲田真知・中野 守・米田正樹・川辺千明・杉本大地

平成 27 年 5 月 21 日（奈良市） 第 54 回近畿公衆衛生学会

感染症発生動向調査において，2006 年以降の 9 年間に奈良県で発生した全数把握対象疾患（85 疾患）について発生動向を集計し，以下の結論を得た。

1. 急激な患者の発生が新型インフルエンザ、風しんであった。いずれも大きな社会問題となり，予防対策の啓発活動などで，複数年の流行は回避された。
2. 患者の増加傾向が見られたものは 4 疾患で，うちチクングニア熱，デング熱は流行地の拡大や人の動向により増加したと推察した。
3. 患者の減少傾向が見られたものは腸管出血性大腸菌で，食品衛生法の規格基準の改訂（2011 年）により，牛の生レバーの禁止が効果を上げたと推察した。

これらの結果から，感染症の増減には気象の変化，人の動向，生活習慣の改善などが左右している可能性が示された。したがって，正確な感染症情報の公開や予防対策法の広報活動が，感染症の予防に重要である。

奈良県におけるオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm09 の発生状況

米田正樹・川辺千明・杉本大地・稲田眞知・中野 守・北堀吉映

平成 27 年 5 月 21 日（奈良市） 第 54 回近畿公衆衛生学会

オセルタミビル耐性 A/H1N1pdm09 の発生状況を長期に渡り調査してきた。A/H1N1pdm09 のオセルタミビル耐性ウイルスの発生頻度は、2008/2009 シーズンは 0% (0/43)，2009/2010 シーズンは 4.1% (3/74)，2010/2011 シーズンは 2.8% (5/180)，2012/2013 シーズンは 0%(0/8)，2013/2014 シーズンは 5.1% (3/59)であった。

2011 年 2 月から 3 月にかけて、奈良県内医療機関で複数の患者検体から検出した耐性ウイルスは、分子系統樹解析の結果、ヘマグルチニン(HA)1, NA 遺伝子とも同一のクレードを形成した。国内でのオセルタミビル耐性インフルエンザ(H1N1)2009 の発生は低頻度であるが、耐性ウイルスのヒト-ヒト感染が示唆された事例が発生している。また、投薬履歴がない患者からの耐性ウイルスが一部地域で流行したことから、耐性ウイルスの流行拡大が危惧される状況にある。継続的に耐性ウイルスの発生動向を把握し、迅速な情報提供に繋げていくことが拡大防止に重要であると考えている。

デング熱の国内外の流行状況について

杉本大地・稲田眞知・藤谷美沙子・米田正樹・中野 守・北堀吉映

平成 27 年 11 月 19 日（橿原市） 第 36 回奈良県公衆衛生学会

デング熱とはデングウイルスに感染したネッタイシマカ (*Aedes aegypti*) やヒトスジシマカ (*Aedes albopictus*) の刺咬により発症する疾患であり、発生率は世界的に数十年で急激に増加しており、世界で毎年 5000 万人から 1 億人がデング熱に感染していると言われている。近年では地球温暖化の影響を受けて流行地のみならず、非流行地でも輸入感染症としてのデング熱が問題となっている。

今回、非流行地としてハワイの事例、流行地として台湾の事例、さらに代々木公園で発生した国内感染事例を紹介し、日本におけるデング熱の流行状況について報告した。

奈良県保健研究センター一年報投稿規定

1. 奈良県保健研究センター一年報は、本研究センターにおいて行った研究・調査の業績を掲載する。
2. 投稿者は、本研究センター職員とする。ただし、共同研究者はこの制限を受けない。
3. 原稿の種類と内容
 - 1) 原著
調査研究などで新知見を含むまとまったものは、原著として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、要旨（200字程度）、緒言、方法、結果、考察、文献とする。
 - 2) 報告
調査研究、事業に係る技術等検討などでまとめておく必要のあるものは、報告として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、緒言、方法、結果、考察、文献とする。
 - 3) 資料
事業に係る技術等検討及び特に記載してまとめておく必要のあるものは、資料として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、本文とする。本文には緒言、方法、結果、考察に相当する内容を含め、体裁にとらわれず自由に記述することができる。資料の長さは刷り上り2ページを超えない。
 - 4) 他誌掲載論文の要旨
他誌に掲載した論文の内容を紹介する。記述の順は、表題、著者名、掲載誌名、要旨（欧文も可）とする。
 - 5) 研究発表の抄録
学会（研究会を含む）に発表した内容を紹介する。記述の順は、表題、発表者名、学会名（研究会名）、抄録（欧文も可）とする。抄録の内容は400字以内（欧文は10行以内）にまとめる。
4. 原稿作成要領
 - 1) 執筆要領
 - (1) 本文は日本語を用いる。
 - (2) すべての原稿はワープロソフトで作成し、句読点は「，」「。」（全角）とする。
 - (3) 原稿はA4版用紙を使用する。表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、要旨は、1行46文字、緒言以下は、1行24文字、1頁46行の2段組とする。表題は12ポイントを用いる。表題（欧文）および著者名（欧文）はTimes New Romanを用いる。
 - (4) 見出しおよび小見出しはゴシック体を用いる。見出しには「1.、2.、・・・」を、小見出しには「1）、2）、・・・」を、さらなる細分見出しには「(1)、(2)・・・」、「①、②・・・」「i）、ii）・・・」等の番号をつける。
 - (5) 単位は国際的に慣用されているものを使用し、数字と単位の間は半角スペースを1つ挿入する（例外として、%、℃などはMS明朝（全角）を用い、記号と数字の間はスペースを入れない）。
 - (6) 本文中の日本語（漢字・ひらがな・カタカナ）はMS明朝（全角）、数字・アルファベットはCentury（半角）を用いる。サイズは10ポイントを用いる。
 - 2) 表題、著者名、所属機関名
 - (1) 表題の和文はゴシック体とし、欧文は冠詞、前置詞・副詞、接続詞以外の単語は第1字目を大文字にする。
 - (2) 著者名の欧文は、名は最初の1文字のみを大文字とし、姓はすべて大文字とする。
 - (3) 本研究センター職員以外の著者名については、その右肩に「*、**」の記号をつけ、それぞれの所属機関名をその頁の最下段に脚注として記載する。
 - 3) 図・表および写真
 - (1) 図・表および写真は原則として白黒とする。
 - (2) 図・写真では下にタイトルと説明を、表では上にタイトル、下に説明を記載する。なお、タイトルと説明は画像貼付しないこととする。

- (3) 図はそのまま写真印刷されるので、線の太さ、文字の大きさなど縮尺を考慮し作成し、本文中に挿入しておく。
- (4) 表の文字は基本的にMS明朝体とCentury, グラフ中の文字はMSゴシック体とArialを用いる。

4) 脚注および引用文献

- (1) 脚注は「*」を用い、欄外に入れる。
- (2) 引用文献は¹⁾, ²⁾, …のように一画をあたえて右肩に示し、最後に一括して番号順に列記する。
- (3) 文献は下記のように著者名(3名まで)、雑誌名、巻、ページ、年号(西暦)の順に記載し、巻数はゴシック体、欧文雑誌名はイタリック体とする。以下に例を示す。
 - 1) 佐藤恭子, 山田隆, 義平邦利, 他: 食衛誌, 27, 619-623 (1986)
 - 2) J. Hine, A. Dowell, J. E. Singley, *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 479-483 (1956)
 - 3) “食品衛生検査指針理化学編” 厚生省生活衛生局監修, 212-216 (1991), (社) 日本食品衛生協会

5. 原稿の提出について

- 1) A4版用紙に印字した原稿1部とする。なお、紙情報にあわせて原稿・図・表の電子情報の形で提出のこと。
- 2) 原稿は所属担当統括主任研究員を経て編集委員に提出する。
- 3) 提出期限は編集委員会で定める。

6. 審査

原稿は編集委員会において審査し、採否を決定する。また編集委員会は必要に応じて、種類・内容の変更を求めることができる。

7. 校正

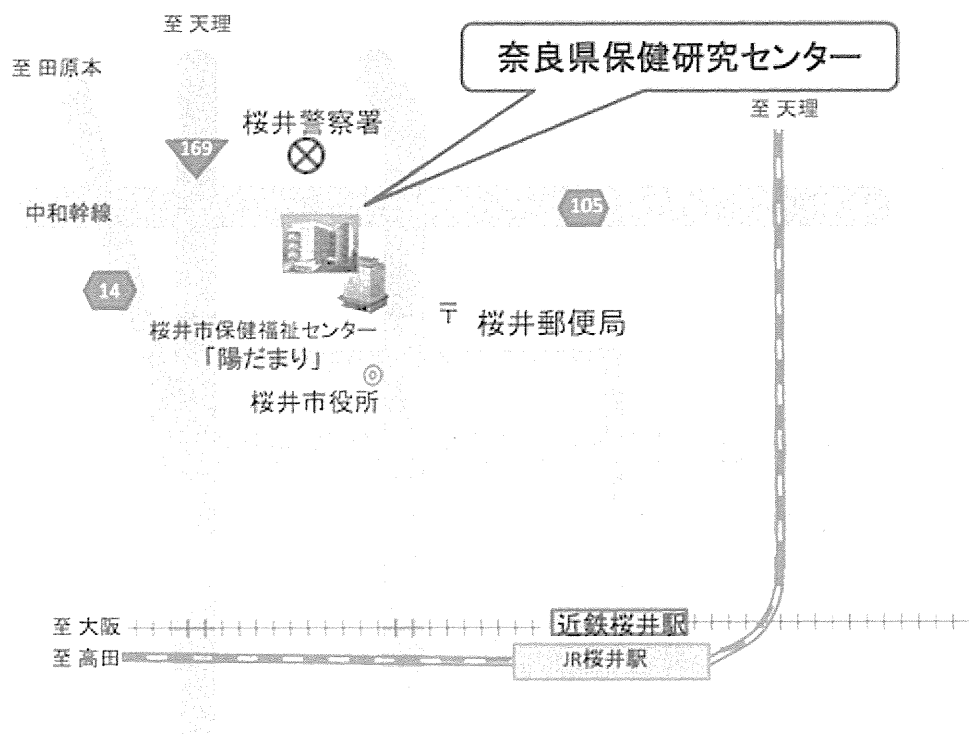
校正はすべて著者の責任とするが、編集委員会は編集の都合上変更を求めることができる。

8. その他

- 1) 年報編集に関し必要な事項は、すべて編集委員会において決定する。なお編集委員会はセンター所長(編集委員長)、副所長及び食品、細菌、ウイルス・疫学情報担当各1名の編集委員で構成する。
- 2) 編集委員の任期は1年とし、業務は年報の発送をもって終了する。
- 3) 本投稿規定は編集委員の決議により、改正することが出来る。

9. 附則

- 1) この奈良県保健研究センター年報投稿規定は、平成19年4月12日から施行(改正)する。
- 2) この規定は、平成25年4月1日に改正する。
- 3) この規定は、平成28年6月1日に改正する。



【編集委員】

福田 忠 明 (委員長)

大 前 壽 子

稲 田 眞 知

米 田 正 樹

辻 本 眞 弓

奈良県保健研究センター年報

第50号 平成27年度(2015年)

編集発行人 奈良県保健研究センター
〒633-0062 奈良県桜井市粟殿1000番地
電話 0744-47-3160
FAX 0744-47-3161

印刷所 株式会社 春日
〒630-8126 奈良市三条栄町9-18
電話 0742-35-7222