

茨城県衛生研究所年報

第 52 号

Annual report of Ibaraki Prefectural
Institute of Public Health

2014

茨城県衛生研究所

はじめに

茨城県衛生研究所年報第52号ができあがりましたのでご案内いたします。

本県では、昨年度まで県内で食中毒や感染症が発生した際には、水戸保健所及び土浦保健所の検査課において、細菌等の一次スクリーニング検査を実施しておりましたが、本年3月末をもって同検査課が廃止され、本年度から当該業務が当所に集約されました。加えて、本庁が直接所管しておりました感染症情報センターの業務も移管されました。

これに伴い各部(庶務部、企画情報部、細菌部、ウイルス部、理化学部)の業務の見直しを行ったところであり、主なものとして、企画情報部が担当していた放射性物質試験検査などの全ての試験検査を理化学部に移し、感染症情報センターを含む当所業務に係る情報収集・発信業務や試験検査・研究関係調整業務などを企画情報部の担当事務としたことが挙げられます。

職員数は10名増えて32名となりましたが、諸般の事情から施設の整備等も追いつかず、円滑な業務の実施に苦慮している状況にあります。

外を見ますと、今年も、国内では、冷凍食品への農薬混入事件、危険ドラッグの流通問題、ノロウイルスや腸管出血性大腸菌感染症による大規模食中毒、デング熱の国内発生など、健康危機事例が続発しており、世界的にはエボラ出血熱アウトブレイクをはじめとして、収束しない中東呼吸器症候群(MERS)や鳥インフルエンザなど、衛生研究所にも関係する大きな問題が存在しております。

さらに試験検査にあたっては、信頼性確保のための組織的な取り組みの一層の充実が求められており、従来の食品GLPや医薬品のPIC/Sへの対応に加え、感染症発生動向調査などに係る病原微生物の検査においても基準書の整備の動きもあります。

この様に、衛生研究所は、なかなか息のつかない状況にありますが、地域における健康危機事例発生時の科学的・技術的な支援機関としての責務を担っていることから、職員一同、不断の努力及び研鑽が県民の皆様方の「安全・安心」に繋がるものと確信し、業務等に勤しんでいるところです。

関係者の皆様におかれましては、今後ともなお一層のご指導、ご助言をいただきますようお願い申し上げます。

平成26年12月

茨城県衛生研究所長 氣田 利正

目次

第1章 総説

1 沿革.....	1
2 組織と業務内容.....	2

第2章 業務の概要

1 企画情報部.....	4
2 細菌部.....	8
3 ウイルス部.....	11
4 理化学部.....	17

第3章 その他

1 学会・研修会への参加.....	22
-------------------	----

第4章 調査及び研究報告

1 カンピロバクター属菌の PFGE 法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に関する試験研究事業 - 平成 25 年度報告 -	24
2 PCR を用いたマイコプラズマ肺炎 P1 遺伝子の検出とシーケンサーを用いたマクロライド系薬剤耐性遺伝子配列の検出	29
3 茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況(2013/2014 シーズン).....	33
4 平成 25 年度 茨城県流行予測調査事業.....	36
5 医薬品類の安全性に関する調査研究（健康食品）.....	40

第5章 学会発表要旨・抄録

1 2012 年度に発生した腸管出血性大腸菌感染症 O121 の集団感染事例.....	44
2 茨城県において検出された A 群ロタウイルスの遺伝子型別結果.....	46
3 茨城県における風疹検査について	47

第 1 章 総 説

1. 沿革

昭和30年12月	厚生省通達に基づき、それまで衛生部に設置されていた細菌検査所及び衛生試験所（昭和6年警察部衛生課所属設置）の2機関が統合されて、茨城県衛生研究所として、設置された。 （所在地：水戸市三の丸県庁構内、建物構造：鉄筋コンクリート2階建）
昭和34年4月	庶務部、細菌部、化学部、食品衛生部、の4部制が敷かれた。
昭和38年4月	庶務部、微生物部、化学部、食品衛生部、放射能部、の5部制となる。
昭和40年10月	水戸市愛宕町4番1号に庁舎竣工、県庁構内から移転した。
昭和47年6月	放射能部が環境局公害技術センターへ移管され、4部制となる。
昭和53年6月	組織改正により、庶務部、微生物部、環境保健部、食品薬品部、生活環境部、の5部制となる。
平成3年5月	水戸市笠原町993番2に新庁舎竣工、旧庁舎から移転した。
平成13年4月	組織改正により、庶務部、企画情報部、微生物部、理化学部、遺伝子科学部、へ改編される。
平成22年4月	組織改正により、庶務部、企画情報部、細菌部、ウイルス部、理化学部、へ改編される。
平成26年4月	組織改正により、水戸保健所及び土浦保健所の検査課を統合した。

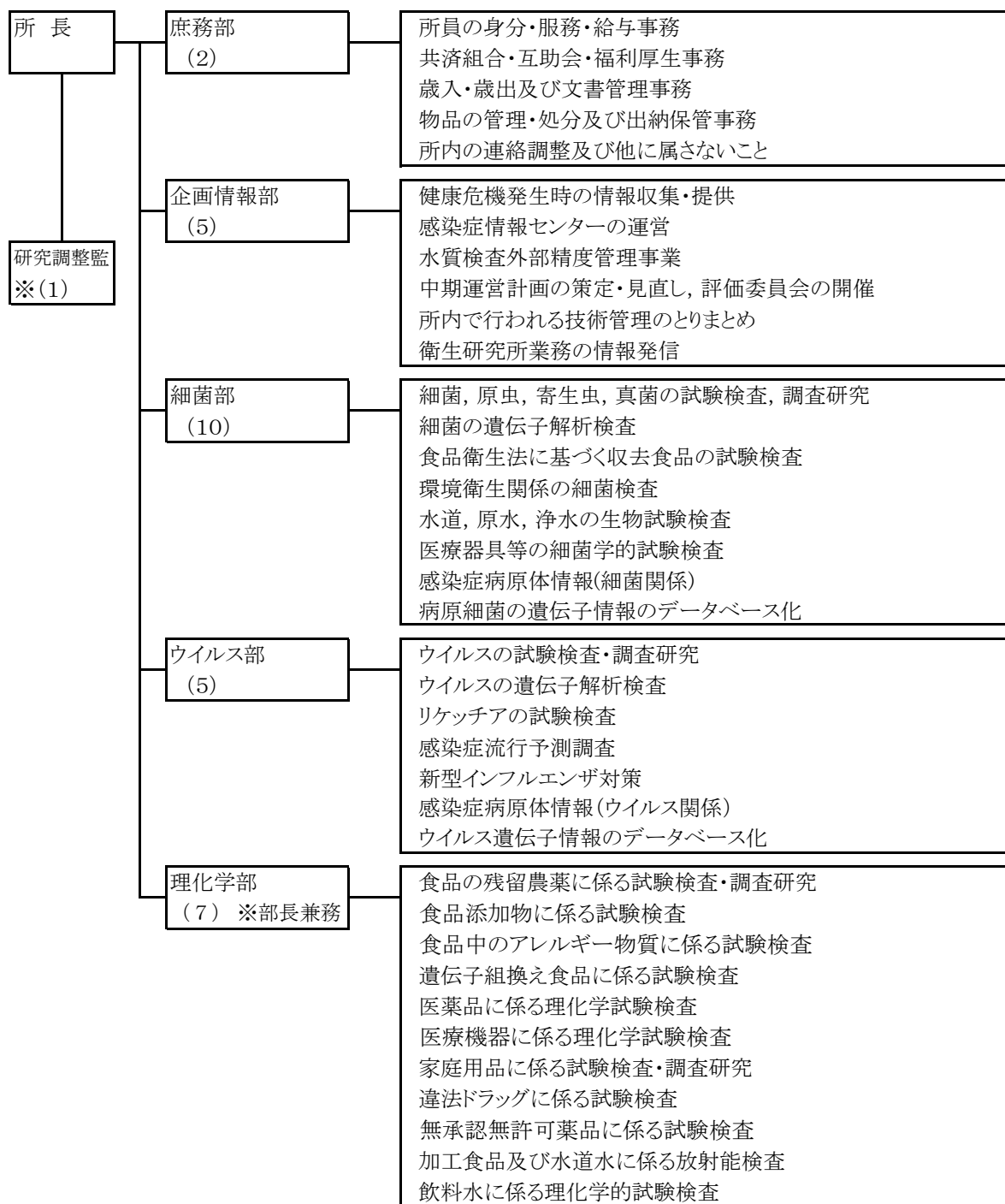
【施設の概要】

所在地	水戸市笠原町993番2
敷地	いばらき予防医学プラザ敷地（22,418㎡）内
建設	平成11年10月26日 着工 ～ 平成13年3月31日 竣工
建物	いばらき予防医学プラザ内庁舎（鉄筋コンクリート3階建） （延べ床面積2,916.73㎡）

【歴代所長】

根津	尚光	（昭30.11～昭37.6）	
斎藤	功	（昭37.7～昭47.5）	
野田	正男	（昭47.6～昭52.5）	
藤崎	米蔵	（昭52.6～昭56.9）	
野田	正男	（昭56.10～昭60.8）	
美譽志	康	（昭60.9～平10.3）	
村田	明	（平10.4～平11.3）	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
土井	幹雄	（平11.4～平19.3）	※平17.4～ひたちなか保健所長を兼務
藤枝	隆	（平19.4～平20.3）	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
真家	則夫	（平20.4～平21.3）	
大和	慎一	（平21.4～平22.3）	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
杉山	昌秀	（平22.4～平25.3）	
氣田	利正	（平25.4～）	

2. 組織と業務内容(平成26年4月1日現在)



※ 配置定数26人(事務2, 技術24)に対し, 現員は30人(事務2, 技術28(再任用4を含む))である。

3. 職員の配置

(1) 部別職員数(平成26年4月1日現在)

所属	内訳 事務	技 術 職					任期付 研究員	技能 労務	計	嘱託及 び臨時 職員	合計
		医師	獣医師	薬剤師	臨床検 査技師	化学農 芸化学					
所長				1				1		1	
庶務部	2							2	1	3	
企画情報部				1	3 (1)	1		5 (1)		5 (1)	
細菌部			1	2	6 (1)	1 (1)		10 (2)		10 (2)	
ウイルス部			2		3			5		5	
理化学部				5		2 (1)		7 (1)	1	8 (1)	
計	2	0	3	9	12 (2)	4 (2)	0	30 (4)	2	32 (4)	

※()は再任用職員で内数

第 2 章 業 務 の 概 要

1. 企画情報部

1 機関評価委員会及び調査研究企画・評価委員会の開催

平成 25 年 6 月 21 日（金）に中期運営計画（五カ年計画）及び年度実施計画の取組状況や目標の達成度についての評価を受けるため、また、当研究所が行う調査研究事業についての評価を受けるため実施した。機関評価委員会は、地域保健・公衆衛生分野の専門家・有識者 5 名、内部委員 2 名及び共通委員 2 名、計 9 名により構成され、調査研究企画・評価委員会は、機関評価委員から共通委員を除いた計 7 名により構成される。

(1) 機関評価委員会

ア 評価対象

i) 県民に対して提供する業務

調査研究，試験検査，研修指導，公衆衛生情報等の収集・解析・提供

ii) 業務の質的向上，効率化のために実施する方策

全体マネジメント，他機関との連携，内部人材育成

イ 評価基準

評価については、達成度と難易度を考慮して判断を行う。難易度は H（高）・M（中）・L（低）の 3 段階、達成度は 4 段階（AA・A・B・C）の基準を用い、これらを勘案した上で、下表を参考に判断する。

難易度	達成度			
	AA	A	B	C
H	AA	AA	A	C
M	AA	A	B	C
L	A	B	C	C

ウ 評価結果

総合評価：A⁺ 試験研究機関に期待される役割や目標等に照らし合わせて、質・量の両面において着実に取組みを実施していると判断できる。

(2) 調査研究企画・評価委員会

ア 評価対象研究課題

(ア) 中止報告

平成 25 年度に継続困難なため中止した研究課題 2 題

(イ) 事前評価

平成 26 年度から実施予定の研究課題 2 題

(ウ) 中間評価

平成 24 年度から開始した研究課題 3 題

イ 評価項目

(ア) 事前評価

①必要性 ②目的の適合性 ③計画内容等の妥当性 ④目標の達成及び活用の可能性 ⑤総合評価 ⑥計画実施の評価

(イ) 中間評価

- ①必要性 ②進捗状況 ③計画の妥当性 ④目標の達成及び活用の可能性
⑤総合評価 ⑥継続実施の評価

ウ 評価基準

上記①～⑤の評価項目については、5段階評価、⑥については、3段階評価

エ 研究課題及び評価結果

(ア) 事前評価

- a 二枚貝が保有する下痢性ウイルスの把握と疫学解析
総合評価：4.6
- b VNTR を用いた結核菌分子疫学分類確立のための調査研究
総合評価：4.2

(イ) 中間評価

- a カンピロバクター属菌の PFGE 法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に関する調査研究
総合評価：4.6
- b 健康危機管理情報に関する調査研究
総合評価：3.4
- c 医薬品の安全性に関する調査研究①健康食品②家庭用品
総合評価：3.8

2 地方衛生研究所全国協議会の連絡調整

協議会の会員機関として、8件の調査等(表1)に協力するとともに、会員機関同士の情報交換を行った。

3 水道水測定分析外部精度管理

水道水の測定分析に従事する検査機関の検査精度の信頼性を確保するため、11水質検査機関を対象に水道法水質基準項目の有機物(全有機炭素(TOC)の量)について「外部精度管理」を実施した。

各機関の測定値の変動係数は、±20%の範囲内になり良好であった。機関間変動係数は、2.0%であった。Zスコアもすべての機関で $|Z| \leq 2$ となり良好であった。

4 ホームページの運営

研究所全体の概要や各部の業務、試験検査・調査研究の紹介及び最新情報を提供するためホームページを平成15年2月に開設し運営している。

<http://www.pref.ibaraki.jp/bukyoku/hoken/eiseik/>

5 試験検査

平成 25 年度試験検査実施状況を表 2 に示した。

(1) 違法ドラッグ買上検査

違法ドラッグの流通を防止し、健康被害の発生を未然に防止するため、20 検体について、薬事法に規定されている「指定薬物」629 項目の検査を実施した。

(2) 家庭用品試買試験検査

人の健康に被害を及ぼすおそれのある物質を含有する家庭用品を発見し、排除し、県民の健康被害の発生又は拡大を防止するため、150 検体について、有害物質 6 項目の検査を実施した。すべての検体について、基準を満たしていた。

(3) 水道水及び原水中の放射性物質試験検査

県民の水道水放射線汚染に対する不安解消を図るため、737 検体について、放射性ヨウ素 (I-131) 及び放射性セシウム (Cs-134, Cs-136, Cs-137) の検査を実施した。すべての検体について、基準を満たしていた。

(4) 加工食品の放射性物質試験検査

県内事業者が製造した加工食品及び県内に流通する加工食品の安全を確保するため、148 検体について、放射性セシウム (Cs-134 及び Cs-137) の検査を実施した。すべての検体について、基準を満たしていた。

表 1 地方衛生研究所全国協議会の調査等一覧

調査名	実施機関等
地方感染症情報センターにおける感染症発生動向調査機能の実態調査について	群馬県衛生環境衛生研究所 及び埼玉県衛生研究所
食品中の残留農薬試験に使用する機器について	福井県衛生環境研究センター
医学系研究に係る倫理委員会設置状況等のアンケート調査について	地方衛生研究所全国協議会事務局 (群馬県衛生環境研究所)
健康被害危機管理事例(概要情報)の継続調査について	地方衛生研究所全国協議会学術委員会 (岡山県環境保健センター)
人材育成に関するアンケートについて	名古屋市衛生研究所
機械装置(分析機器等)の購入に関する入札方法について	大分県衛生環境研究センター
食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価の実施状況調査について	地方衛生研究所全国協議会理化学部会 (福岡県保健環境研究所)
微生物検査担当者数に係る調査について	地方衛生研究所全国協議会事務局 (群馬県衛生環境研究所)

表 2 平成 25 年度試験検査状況

項目	検体数	検査項目	件数
(1)違法ドラッグ買上検査	20	1,2-Butanediol, 1,3-Butanediol, GHB artifact, 他 626 項目	12,580
(2)家庭用品試買試験検査	150	メタノール	9
		テトラクロロエチレン	9
		トリクロロエチレン	9
		トリフェニル錫化合物	9
		トリブチル錫化合物	9
		ホルムアルデヒド	132
(3)水道水及び原水中の放射性物質 試験検査	737	4 核種 (Cs-134, Cs-136, Cs-137, I-131)	2,948
(4)加工食品の放射性物質試験検査	148	2 核種 (Cs-134, Cs-137)	296

2. 細菌部

1 試験検査の概況

平成 25 年度試験検査実施状況を表 1 に示した。その内容は次のとおりである。

(1) 感染症発生動向調査事業等

ア 細菌の分離同定検査

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により三類感染症として届出のあった患者から分離され、保健所等から送付された菌株について、同定試験、毒素産生試験等を実施した。分離菌株は、腸管出血性大腸菌（EHEC）48 株、

表 1 検査件数

項目	検査件数			
	行政検査	有料検査	計	
感染症細菌の分離同定 細菌血清反応・毒素検査	腸管出血性大腸菌	48	48	
	赤痢菌	3	3	
	コレラ菌	1	1	
	炭疽菌	1	1	
	バンコマイシン耐性腸球菌	1	1	
	レジオネラ属菌	12	12	
	トリコモナス	1	1	
	その他	6	6	
	小計	73	73	
	血清抗体価・血清型別	レプトスピラ症	2	2
ライム病ボレリア		1	1	
劇症型 A 群溶連菌		9	9	
侵襲性髄膜炎菌		1	1	
侵襲性肺炎球菌		2	2	
小計		15	15	
分子疫学解析	結核菌（RFLP, VNTR）	21	21	
	レジオネラ菌	7	7	
	アシネトバクター PFGE	3	3	
	小計	31	31	
食品衛生関連細菌	食中毒細菌等	46	46	
	輸入食品細菌検査	21	21	
	食鳥処理場関連	51	51	
	食肉の試験検査	19	19	
	水道施設（原水・浄水）検査	10	10	
	納豆試験検査		105	105
	医療器具無菌検査	2		2
	小計	149	105	254
総計	268	105	373	

赤痢菌 3 株の計 51 株で、その試験検査結果は以下のとおりである。

EHEC の血清型は O157 38 株、O103 1 株、O111 1 株、O26 3 株、O128 1 株、O18 4 株で、赤痢菌は 1 株が *Shigella sonnei*、2 株が *S.flexneri* であった。

コレラ菌 1 検体の毒素産生試験、炭疽菌 1 検体、バンコマイシン耐性腸球菌 1 検体、レジオネラ菌 12 検体、トリコモナス 1 検体の分離同定検査を実施した。

また、レプトスピラ 2 検体、ライム病ボレリア 1 検体の血清抗体価検査、劇症型 A 群溶連菌 9 検体、侵襲性髄膜炎菌 1 検体、侵襲性肺炎球菌 2 検体の血清型別検査及び菌の同定検査 6 検体を国立感染症研究所に依頼した。

イ 細菌の分子疫学検査

結核・感染症の集団発生時において、集団の感染源特定の見極めをするために結核菌 21 株については RFLP 法及び VNTR 法（12 領域）を用いて解析し、レジオネラ菌 7 株とアシネトバクター菌 3 株については PFGE 法による分子疫学解析を行った。

(2) 食品衛生関連事業

ア 食中毒検査

保健所からの依頼に基づき、食中毒事例（疑いの事例を含む）に係る 46 検体の分離同定等の検査を行った。

内訳は、食品・糞便等 22 検体、カンピロバクター属菌 7 株、サルモネラ属菌 1 株、ウェルシュ菌 7 株、セレウス菌 3 株、クリプトスポリジウム 1 検体、真菌 1 検体で、これらについて分離同定、菌種同定、血清型別、毒素産生試験等を行った。更に、寄生虫のアニサキス同定 2 件、*Kudoa septempunctata* 2 件の検出検査を行った。

イ 食品衛生法の規定の基づく収去食品検査

食品等輸入者取扱食品 21 検体について大腸菌群検査(18 検体)と芽胞数検査 (3 検体)を行った。また、食鳥処理場関連および食肉の試験検査により分離されたカンピロバクター属菌 56 株、サルモネラ属菌 14 株の総計 70 株について菌種同定、血清型別等の試験を行った。

ウ 水道水質調査

病原性微生物等実態調査実施要領に基づき、水道原水及び浄水の病原性微生物による汚染状況を把握するため表 2 のとおり調査を行った。

その結果、クリプトスポリジウム、ジアルジア、大腸菌、嫌気性芽胞菌は不検出で、残留塩素と浄水濁度は基準内（原水濁度は基準なし）であった。

エ 公衆衛生に関する試験検査（納豆検査）

昭和 46 年環第 973 号の部長通知により県内納豆製造業者（茨城県納豆商工業協同組合員）が行う年 3 回の自主検査に係る検査を行った（105 検体）。納豆 3 検体が大腸菌群陽性であった。

表 2 病原性微生物等実態調査件数

検査項目	件数		計
	水道原水	浄水	
気温	5	5	10
水温	5	5	10
pH	5	5	10
濁度	5	5	10
残留塩素濃度	-	5	5
大腸菌	5	-	5
嫌気性芽胞菌	5	-	5
クリプトスポリジウム	5	5	10
ジアルジア	5	5	10
合 計	40	35	75

調査地点	芦野倉浄水場	大子町
	西金浄水場	大子町
	山崎浄水場	鹿嶋市
	宗道浄水場	下妻市
	砂沼浄水場	下妻市

オ 無菌検査

医療器具 2 検体の無菌検査を行った。

2 研修指導

(1) 検査課検査業務に係る試験検査技術研修

実施年月日：平成 25 年 5 月 30 日～31 日

参加者：水戸・土浦保健所職員 5 名

研修内容： ・食中毒細菌検査の流れについて

・代表的な食中毒細菌及び感染症細菌の確認

・基本的な細菌検査の手技について（実習）

(2) 感染症発生動向調査等においてゆうパックにより検体を送付するための研修会

実施年月日： 第 1 回 平成 25 年 5 月 10 日

第 2 回 平成 25 年 9 月 19 日

場所： 第 1 回 県立健康プラザ 3 階大会議室

第 2 回 県庁 保健福祉部会議室

対象： 県内医療機関及び保健所等関係者

参加人数： 第 1 回 39 名

第 2 回 8 名

3. ウイルス部

1 試験検査の概況

(1) 感染症発生動向調査事業等

平成 25 年度感染症発生動向調査事業に係る検査件数を表 1 に示した。

ア インフルエンザ

病原体定点医療機関から提出のあった 101 検体，集団発生事例の 87 検体の合計 188 検体について遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。その結果，AH3 亜型が 54 件，B 型が 65 件，AH1pdm09 が 60 件検出された。

指定感染症に位置づけられたインフルエンザ H7N9 については，中国等に渡航歴のある者 13 名の遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した結果，AH3 亜型が 5 件，AH1pdm09 が 5 件検出された。

イ 感染性胃腸炎

集団感染等 34 事例の 282 検体について検査を行った。

遺伝子検査法によってノロウイルス，サポウイルス，A 群・C 群ロタウイルス，アデノウイルス，アストロウイルスを検査した。ノロウイルスが 218 件 (G1 : 8 件 / G2 : 210 件)，A 群ロタウイルスが 16 件，サポウイルスが 15 件検出された。

ウ 麻疹

麻疹及び風疹（疑い例を含む）患者 40 名について，遺伝子検査及び分離培養検査を行った。

麻疹ウイルスは，海外からの輸入事例及びその関連で 3 件検出された。風疹ウイルスは 6 件検出された。麻疹及び風疹ウイルスが不検出の事例について，ヒトパルボウイルス B19，5 歳未満の小児についてはさらにヘルペスウイルス 6 型 (HHV6) 及びヘルペスウイルス 7 型 (HHV7) を実施した。麻疹ウイルス及び風疹ウイルスについては，血清等及び咽頭拭い液を，その他のウイルスについては血清等を検査材料とした。その結果，HHV6 が 4 件，HHV7 が 1 件検出された。

エ 急性脳炎

急性脳炎・脳症（疑い例を含む）の患者 49 名の血清，髄液，咽頭拭い液，糞便等を用いて，遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。その結果，HHV6 が 13 件，EBV が 1 件，AdV が 6 件，ARV が 1 件，RSV が 1 件，インフルエンザ B 型が 1 件，EV 属が 3 件検出された。

表1 平成25年度 感染症発生动向調査事業に係る検査件数

感染症の類型	疾患名	検体数 (人)	検出病原体名	ウイルス検出件数	
				遺伝子検出	分離培養
4 類感染症 (全数届出疾患)	A 型肝炎	1	HAV	0	
	つつが虫病	1	Karp	0	
	デング熱・ チクングニア熱	5	デングウイルス	2	
	重症熱性血小板 減少症候群	6	SFTS ウイルス	0	
5 類感染症 (全数届出疾患)	急性脳炎・脳症	49	HHV6	13	
			EBV	1	0
			EV 属	3	3
			AdV	6	3
			ARV	1	0
			RS ウイルス	1	0
			インフルエンザ B	2	1
	麻しん等	40	麻しんウイルス	3	0
			Rubella	6	
			HHV6	4	
5 類感染症 (定点把握疾患)	感染性胃腸炎等	13	HHV7	1	
			ARV	11	
	手足口病	42	EV 属	36	1
			AdV	1	0
	インフルエンザ	101	AH1pdm09	35	33
			AH3	22	19
			B	40	36
			AdV-4	1	1
			AdV-56	1	1
	無菌性髄膜炎	34	EV 属	21	14
AdV			1	0	
パレコウイルス 4 型			1	1	
サイトメガロウイルス			1	0	
水痘帯状疱疹ウイルス			1	0	
ヘルパンギーナ	1	1	1	1	
咽頭結膜熱	3	AdV2	1	1	
		AdV4	2	2	
指定感染症	H7N9	13	A(H1N1)2009	5	
			AH3	5	
その他	急性呼吸器感染症 不明熱等	26	RS ウイルス	12	0
			ライノウイルス	2	0
合計 (人)		340		243	
集団感染事例	インフルエンザ	87	A(H1N1)2009	25	18
			AH3	32	7
			B	25	16
	感染性胃腸炎	282	NV(G1)	8	
			NV(G2)	210	
ARV			16		
合計(人)		369		331	

オ その他（無菌性髄膜炎，手足口病，流行性角結膜炎）

無菌性髄膜炎 34 検体，手足口病 42 検体，流行性角結膜炎 5 検体，咽頭結膜熱 3 検体，ヘルパンギーナ 1 検体について遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。無菌性髄膜炎から EV 属 21 件，AdV 1 件，パレコウイルス 4 型 1 件，サイトメガロウイルス 1 件，水痘帯状疱疹ウイルス 1 件が検出又は分離された。手足口病からコクサッキーウイルス A6 型が 33 件，エンテロウイルス 71 型が 2 件，AdV が 1 件検出され，1 件は型別不能であった。流行性角結膜炎から AdV4 型が 1 件，AdV 56 型が 1 件検出又は分離された。

デング熱 5 検体，つつが虫病 1 検体，A 型肝炎 1 検体，重症熱性血小板減少症候群 6 検体について，遺伝子検査を実施した。

デング熱は，海外渡航歴のある者から，デングウイルス 1 型が 1 件，2 型が 1 件検出された。つつが虫病，A 型肝炎，重症熱性血小板減少症候群からはウイルスは検出されなかった。

(2) 性感染症対策に関する試験検査

水戸・土浦保健所で実施しているエイズスクリーニング検査（簡易迅速法）で抗体陽性であった 7 検体について，確認検査（ウエスタンブロット法及び遺伝子検査を実施）を行った。その結果，3 検体が陽性であった。

(3) 食中毒対策に関する試験検査

ア 食中毒（疑い）等

34 事例 246 検体の検査を行った。ウイルスが検出された事例は 14 事例であった。246 検体について，RT-PCR 法により下痢症ウイルスの検査を行ったところ，ノロウイルスが 97 件（G1 が 25 検体，G2 が 72 検体），サポウイルスが 6 件検出された。

イ 食品検査

1 事例の食中毒で原因食品として疑われた食品 3 検体について検査を実施したが，下痢症ウイルスは不検出であった。

ウ 食品衛生試験検査

茨城県産の二枚貝（岩カキ）のノロウイルス検査を実施したところ，50 ロット（1 ロット 10 個）中，2 ロットからノロウイルス G2 が検出された。

(4) 職員の健康管理事業に関する検査

茨城県の「保健所及び衛生研究所に勤務する職員の B 型肝炎検査及びワクチン接種実施要領」に基づき，保健所等職員 100 名について，B 型肝炎の血清学的検査（HBs 抗原及び HBs 抗体検査）を実施した。

2 調査研究

感染症流行予測調査事業として，日本脳炎感染源調査，インフルエンザ感受性調査及び麻疹感受性調査を実施した。

また，県内生息のイノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況について調査を実施した。

(1) 日本脳炎感染源調査

ブタが日本脳炎ウイルスの増幅動物となっていることを利用し、ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体価を測定することでその浸淫度を調査し、日本脳炎の流行を予測するために実施した。

検査材料には、平成 25 年 7 月から 9 月にかけて（株）茨城県中央食肉公社に集荷された生後 6 ヶ月の県内産のブタから 8 回（1 回あたり 10 頭）にわたって採血した。合計 80 検体について、血清中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体（HI 抗体）価を測定した。

その結果、80 検体全て HI 抗体は陰性であり、日本脳炎の県内の侵入は確認できなかった。

(2) インフルエンザ感受性調査

インフルエンザウイルスに対する血清中の抗体を測定することでヒトの免疫状況を把握し、次シーズンの流行予測に役立てるために実施した。

平成 25 年 7 月～10 月に年齢群ごとに採血した 227 名の血清について 4 種の HA 抗原を用いてインフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体（HI 抗体）検査を実施した。

感染防御の指標とされる抗体価は 1:40 以上とされており、その抗体保有状況をみると、A/カリフォルニア/7/2009(H1N1)pdm09 に対する平均抗体保有率は 52.4%であり、各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 22.9%、5～9 歳で 46.7%、10～14 歳で 70.6%、15～19 歳で 100.0%、20～29 歳で 79.6%、30～39 歳で 38.5%、40～49 歳で 55.2%、50～59 歳で 36.0%、60 歳以上で 27.8%であった。

A / テキサス / 50 / 2012 (H3N2) に対する平均抗体保有率は 43.2%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 17.1%、5～9 歳で 60.0%、10～14 歳で 52.9%、15～19 歳で 61.5%、20～29 歳で 59.2%、30～39 歳で 46.2%、40～49 歳で 37.9%、50～59 歳で 32.0%、60 歳以上で 33.3%であった。

B / マサチューセッツ / 102 / 2012 (山形系統) に対する平均抗体保有率は 38.3%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 22.9%、5～9 歳で 40.0%、10～14 歳で 35.3%、15～19 歳で 53.8%、20～29 歳で 51.0%、30～39 歳で 42.3%、40～49 歳で 31.0%、50～59 歳で 32.0%、60 歳以上で 38.9%であった。

B / ブリスベン / 60 / 2008 (ビクトリア系統) に対する平均抗体保有率は 42.3%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 20.0%、5～9 歳で 40.0%、10～14 歳で 35.3%、15～19 歳で 38.5%、20～29 歳で 40.8%、30～39 歳で 57.7%、40～49 歳で 51.7%、50～59 歳で 52.0%、60 歳以上で 50.0%であった。

なお、この調査は、水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

(3) 麻しん感受性調査

麻しんウイルスに対するヒト血清中の抗体保有状況を調査し、麻しんワクチン接種効果を調査するとともに、今後の流行予測を行うことを目的として実施した。

平成 25 年 7 月から 10 月にかけて各年齢群別に採取された 228 名の血清について、「セ

ロディア・麻しん」(富士レビオ)を用い麻疹 PA 抗体価を測定した。抗体陰性者(<16)は 14 名と全体の 6.1%であった。感染防御レベルは 1 : 128 とされているが、抗体陽性者のうち 1 : 128 未満の者は 13 名で全体の 5.7%を占めていた。

なお、この調査は、水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

(4) イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況調査

県内の野生イノシシが保有する E 型肝炎ウイルスの実態を明らかにするとともに、イノシシ肉を安全に取り扱う(解体、喫食等)ための県民への注意喚起の基礎データを得ることを目的として実施した。実施状況は表 2 のとおりである。

県内 3 地域において捕獲された 68 頭のイノシシから血清、肝臓、糞便を採取して E 型肝炎のウイルス遺伝子検査、抗体検査として IgM と IgG の測定を実施した。(抗体検査は、国立感染症研究所が実施)遺伝子検査では合計 6 頭(8.8%)が陽性となり、抗体検査は 28 頭(41.2%)が陽性となった。3 地域の陽性率には地域差が見られた。また、遺伝子型は全て genotype3 であった。

表 2 県内における野生イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況

市町村名	検査件数(頭)	遺伝子検査		抗体検査		
		陽性検体数(頭)	陽性率(%)	検査件数(頭)	陽性検体数(頭)	陽性率(%)
A市	28	2	7.1	28	16	57.1
B市	17	4	23.5	17	10	58.8
C市	23	0	0.0	23	2	8.7
合計	68	6	8.8	68	28	41.2

3 研修指導

(1) 技術指導

保健所職員等公衆衛生にかかわる関係者の検査技術の向上を目的として実施している。実施状況は、表 3 のとおりである。

(2) 講師派遣

高齢者福祉施設や保育園などの社会福祉施設等職員を対象に、感染症の集団感染の予防又は発生時の対応について、正しい知識の普及啓発を図った。実施状況は、表 4 のとおりである。

表 3 技術指導実施状況

対象者	内容	期間	参加人数
保健所新規感染症担当者	検体の取扱いと搬送について	H25.4.26	17 人
水戸・土浦保健所検査課職員	ノロウイルスの遺伝子検査法	H25.5.30~31	5 人

表 4 講師派遣実施状況

対 象 者	内 容	派遣日	参加人数
笠間市教育委員会が実施する講習会 (幼稚園児の保護者等)	ウイルス感染の予防対策 について	H25.7.4	70 人
水戸保健所が実施する感染症予防講習会 (保育士等)	ノロウイルスの予防対策	H26.3.10	50 人

5 情報の発信

国立感染症研究所の病原微生物検出情報（IASR）に，当研究所の積極的な取り組みや集団感染発生事例等について寄稿し，全国の感染症研究者等に情報提供している。

- ・ 高齢者施設における RS ウイルス集団感染事例

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2296-related-articles/related-articles-412/4712-dj4126.html>

4. 理化学部

1 食品試験検査の概況

平成 25 年度食品試験検査実施状況は、表 1 のとおりである。

(1) 輸入加工食品残留農薬試験検査（有機リン系農薬）

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度輸入加工食品の残留農薬試験検査実施要領に沿って、輸入加工食品 50 検体について 42 項目の有機リン系農薬の検査を実施したが、食品衛生法上問題のあるものはなかった。

測定項目

E P N, クロルピリホス, シアノホス, ジクロロボス, ダイアジノン, チオメトン, フェントロチオン, ブタミドホス, マラチオンメタミドホス, 他 32 成分

(2) 遺伝子組換え食品試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度遺伝子組換え食品の試験検査実施要領に沿って、大豆 10 検体（ラウンドアップレディ大豆遺伝子）について遺伝子組換え体の含有検査を実施したが、すべて検出下限値（0.3%）未満であった。

(3) 県外産農産物残留農薬試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度県外産農産物の試験検査実施

表 1 平成 25 年度食品検査実施状況

項目	検体数	項目数	件数
(1) 輸入加工食品残留農薬試験検査（有機リン系農薬）	50	42	2,100
(2) 遺伝子組換え食品試験検査	10	1	10
(3) 県外産農産物残留農薬試験検査	20	125	2,500
(4) 輸入野菜残留農薬試験検査	50	125	6,250
(5) 加工食品中アレルギー物質試験検査	48	2	48
(6) 漬物の添加物試験検査	25	1	25
(7) 輸入食品試験検査			
ア 柑橘類の残留農薬	25	12	300
イ 乾燥果実・煮豆, ワイン, 菓子の食品添加物	85	3	135
ウ 農産物漬物原材料の食品添加物	25	1	25
エ 食品等輸入者取扱い食品検査			
ソルビン酸	12	1	12
指定外酸化防止剤（TBHQ）	12	1	12
(8) 食中毒・苦情食品・違反食品等の行政検査	9		9
合計	371		11,426

要領に沿って、県外で生産された野菜 20 検体（キャベツ、ニンジン各 5 検体、ダイコン 4 検体、レタス 3 検体、キュウリ 2 検体、トマト 1 検体）について農薬 125 項目の検査を実施した。結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、いずれも基準値以下であった。

- ・ニンジンの 1 検体からホスチアゼートが検出された。
- ・ダイコンの 1 検体からシペルメトリンが検出された。
- ・レタスの 1 検体からイミダクロプリド、クロチアニジン及びチアメトキサム、他の 1 検体からフェンバレレートが検出された。
- ・キュウリの 1 検体からプロシミドン及びイミダクロプリドが検出された。

測定項目

E P N, アクナトリン, イミダクロプリド, インドキサカルブ, エトプロホス, エトリムホス, オキシカルボキシシン, カズサホス, クロルフェンソン, シアノホス, 他 115 成分

(4) 輸入野菜残留農薬試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度輸入野菜の試験検査実施要領に沿って、輸入野菜を 2 回に分けて、各 25 検体、計 50 検体について農薬 125 項目の検査を実施した。

検査を行った野菜は、第 1 回は、たけのこ 5 検体、ブロッコリー 4 検体、ニンジン、アスパラガス、パプリカ各 3 検体、未成熟インゲン、ほうれん草各 2 検体、カリフラワー、未成熟エンドウ、かぼちゃ各 1 検体、第 2 回は、サトイモ 5 検体、ブロッコリー、かぼちゃ、カリフラワー各 3 検体、アスパラガス、未成熟インゲン、ほうれん草、たけのこ各 2 検体、ピーマン、パプリカ、ニンジン各 1 検体である。

結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、いずれも基準値以下であった。

(第 1 回の結果)

- ・パプリカの 1 検体からイミダクロプリド、他の 2 検体からインドキサカルブが検出された。

(第 2 回の結果)

- ・アスパラガスの 1 検体からクロルピリホスが検出された。

測定項目

(3) 県外産農産物残留農薬試験検査と同じ。

(5) 加工食品中のアレルギー物質試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度アレルギー物質を含む食品の試験検査実施要領に沿って、加工食品 48 検体について、食品衛生法上表示義務のある特定原材料（卵 24 検体、乳 24 検体）の検査を実施したところ、「卵」の 1 検体及び「乳」の 1 検体から原材料表示がないにもかかわらず当該成分が検出された。

(6) 漬物の添加物試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度農産物漬物の試験検査実施要領に沿って、漬物 25 検体について食品添加物（ソルビン酸）の検査を実施したところ、7 検体からソルビン酸が検出されたが、いずれも基準値以下であった。

(7) 輸入食品試験検査

ア 柑橘類の残留農薬

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度輸入食品の試験検査実施要領に沿って、柑橘類 25 検体（グレープフルーツ 10, オレンジ 8, レモン 7）について有機リン系農薬 12 項目の検査を実施したところ、いずれも基準値以下であった。

測定項目

エトリムホス, キナルホス, クロルピリホス, ジクロロボス, トルクロホスメチル, パラチオンメチル, ピラクロホス, フェニトロチオン, プロチオホス, マラチオン, ピリミホスメチル, クロルフェンビンホス

イ 乾燥果実・煮豆, ワイン, 菓子の食品添加物

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って、輸入食品 85 検体（乾燥果実 10, 煮豆 3, ワイン 22, 菓子類 50）について残存する二酸化硫黄（亜硫酸塩）又は TBHQ, THBP の検査を行ったところ、二酸化硫黄（亜硫酸塩）はすべて基準値以下, TBHQ, THBP はすべて不検出であった。

TBHQ : tert-ブチルヒドロキノン（指定外酸化防止剤）

THBP : テトラヒドロキシブチルフェノール（指定外酸化防止剤）

ウ 農産物漬物原材料の食品添加物

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って、輸入農産物漬物原材料（漬物を含む。）25 検体についてソルビン酸の検査を実施したところ、10 検体からソルビン酸が検出されたが、いずれも基準値以下であった。

エ 食品等輸入者取扱食品試験検査

平成 25 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 25 年度食品等輸入者取扱食品の試験検査実施要領に沿って、輸入食品 24 検体（ワイン 7, ジャム 1, 漬物 2, シロップ 2, 菓子 12）について、ソルビン酸または TBHQ の検査を実施したところ、2 検体からソルビン酸が検出されたが、いずれも基準値以下であった。

(8) 食中毒・苦情・違反食品等の行政検査

保健所等に有症苦情や苦情の届け出のあった食品 9 検体について、以下のとおり原因究明のための検査を実施した。

調理済み食品等 2 検体：有症苦情 ニコチンの検査を実施したところ、2 検体ともニコチンが検出された。（0.01 ppm, 0.03 ppm）

冷凍食品 7 検体：有症苦情 マラチオンの検査を実施したところ、いずれも検出されな

かった。

(9) 外部精度管理

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が行う平成 25 年度食品衛生外部精度管理調査に参加し、重金属検査（玄米中カドミウムの定量）、食品添加物検査（漬物中のソルビン酸の定量）、残留農薬検査（とうもろこしペースト中のクロルピリホス及びフェニトロチオンの定量）を実施したところ、結果はすべて良好であった。

2 医薬品等試験検査の概況

平成 25 年度医薬品等試験検査実施状況は表 2 のとおりである。

表 2 平成 25 年度医薬品等試験検査実施結果

項目	検体数	項目数	件数
ア 県内流通医薬品等試験検査	60	1	60
イ 医薬品等一斉監視指導に係る試験検査	15	1	15
ウ 医療機器一斉監視指導に係る試験検査	2	1	2
エ 無承認無許可医薬品試験検査			
ダイエット食品	25	8	200
強壮食品	29	7	203
合計	131		430

(1) 県内流通医薬品等試験検査

平成 25 年度県内流通医薬品等試験検査実施要領に沿って、以下の医薬品等 60 検体について定量試験を実施した。結果は、すべて適合であった。

日本薬局方医薬品

アムロジピンベシル酸塩口腔内崩壊錠	13 検体
プラバスタチンナトリウム細粒	1 検体
プラバスタチンナトリウム錠	6 検体
ピリドキシン塩酸塩含有製剤	34 検体（内医薬部外品 4 検体）
薬局製剤(アセトアミノフェン含有製剤)	6 検体

(2) 医薬品等一斉監視指導に係る試験検査

平成 25 年度茨城県医薬品等一斉監視指導実施要領（第 3 後発医薬品品質確保対策）に沿って、日本薬局方エバスタチン錠 15 検体について溶出試験を実施した。結果は、すべて適合であった。

(3) 医療機器一斉監視指導に係る試験検査

平成 25 年度医療機器一斉監視指導実施要領に沿って、滅菌済み縫合糸 2 検体について溶出色素試験を実施した。結果は、すべて適合であった。

(4) 無承認無許可医薬品試験検査

平成 25 年度無承認無許可医薬品対策事業実施要領に沿って、ダイエットを目的とする製品 25 検体及び強壯作用を目的とする製品 29 検体について、以下の成分の試験を実施した。結果は、ダイエットを目的とする製品からは、センノシドが検出された製品が 7 検体あったが、薬事法上問題のあるものはなく、他の成分はすべて不検出であった。また、強壯を目的とする製品は、すべて不検出であった。

ダイエット成分：エフェドリン、ノルエフェドリン、シブトラミン、脱 N-ジメチルシブトラミン、フェンフルラミン、N-ニトロソフェンフルラミン、センノシド、甲状腺ホルモン

強壯成分：シルденаフィル、バルденаフィル、タダラフィル、ヒドロキシホモシルденаフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィル

3 学会・論文発表等

いわゆる健康食品からのセンノシドの検出について 第 24 回茨城県薬剤師会学術大会
つくば市(2013 茨城県衛生研究所年報 51 号に内容掲載)

第 3 章 そ の 他

1. 学会・研修会への参加

職員の専門性を向上させるための内部人材育成の一環として、43件(のべ59人)の学会・研修会に参加した。各部における参加状況は、表1から4のとおりである。

表1 企画情報部学会・研修会の出席

学会・研修会の名称	開催地	期日	人数
平成25年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会及び研究発表会	東京都新宿区	H25.6.7	1
第50回全国衛生化学技術協議会年会	富山県富山市	H25.11.6～8	1
平成25年度指定薬物分析研修会議	東京都世田谷区	H25.11.29	1
平成25年度「地域保健総合推進事業」関東甲信静ブロック専門家会議(環境部門)	東京都新宿区	H25.12.9	1
第27回公衆衛生情報研究協議会及び地方感染症情報センターのための感染症疫学研修会	埼玉県和光市	H26.1.24	1
平成25年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部第26回理化学研究部会総会・研究会	茨城県土浦市	H26.2.14	3

表2 細菌部学会・研修会の出席

学会・研修会の名称	開催地	期日	人数
全国衛生微生物技術協議会第34回研究会	愛知県名古屋市	H25.7.11～12	1
平成25年度病原体等の包装・運搬講習会	東京都新宿区	H25.7.17	1
第6回日本カンピロバクター研究会	茨城県つくば市	H25.7.25～26	1
第17回腸管出血性大腸菌感染症研究会	茨城県つくば市	H25.7.25	1
平成25年度全国食品衛生監視員協議会第53回関東ブロック研修大会	神奈川県藤沢市	H25.8.30	1
第34回日本食品微生物学会学術総会	東京都江戸川区	H25.10.3～4	2
平成25年度国立保健医療科学院細菌研修	東京都武蔵村山市	H25.10.2～11.8	1
第106回日本食品衛生学会学術講演会	沖縄県宜野湾市	H25.11.21～23	1
結核菌検査研修	千葉県千葉市	H25.12.18～19	1
平成25年度食肉及び食鳥肉衛生技術研修会並びに衛生発表会	東京都千代田区	H26.1.22	1
第25回日本臨床微生物学会	愛知県名古屋市	H26.1.31～2.2	3
平成25年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会第26回総会・研究会	東京都新宿区	H26.2.6～7	3
平成25年度稀少感染症診断基準技術研修会	東京都新宿区	H26.2.20～21	2

表3 ウイルス部学会・研修会の出席

学会・研究会の名称	開催地	期日	人数
第46回茨城県公衆衛生獣医師協議会業務発表会	茨城県水戸市	H25.6.1	1
全国衛生微生物技術協議会第34回研究会	愛知県名古屋市	H25.7.11~12	2
平成25年度病原体等の包装・運搬講習会	東京都新宿区	H25.7.17	1
東京関東獣医師三学会	群馬県渋川市	H25.9.7~8	1
平成25年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信 静支部ウイルス研究部会第28回研究会	千葉県千葉市	H25.9.26~27	2
平成25年度全国食品衛生監視員研修会	東京都中央区	H25.10.24	1
動物由来感染症対策技術研修会	東京都新宿区	H25.11.1	1
平成25年度地域保健総合推進事業全国疫学情報 ネットワーク構築会議	東京都新宿区	H25.11.19	1
平成25年度地方衛生研究所全国協議会公衆衛生 部会	神奈川県横浜市	H25.11.22	1
動物衛生研究所シンポジウム	東京都中央区	H25.12.6	1
公衆衛生情報研究協議会	埼玉県和光市	H26.1.23	1
麻しん研究班会議	東京都新宿区	H26.2.10	1
平成25年度希少感染症診断技術研修会	東京都新宿区	H26.2.26	2
日本環境感染学会	東京都板橋区	H26.2.26~27	1

表4 理化学部学会・研修会の出席

学会研究会の名称	開催地	期日	人数
トラー・トット LabTour2013	東京都大田区	H25.7.24	1
平成25年度全国食品衛生監視員研修会	東京都中央区	H25.10.24	1
第50回全国衛生化学技術協議会年会	富山県富山市	H25.11.7~8	1
第106回日本食品衛生学会学術講演会	沖縄宜野湾市	H25.11.21~22	1
第24回茨城県薬剤師会学術大会	茨城県つくば市	H25.11.24	1
公的認定試験検査機関(OMCL)業務研修会	東京都文京区	H25.11.27	1
平成25年度地方衛生研究所全国協議会衛生理化 学分野研修会	東京都世田谷区	H26.1.31	1
平成25年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信 静支部第26回理化学研究部会総会・研究会	茨城県土浦市	H26.2.14	5
日本農薬学会第39回大会	京都府京都市	H26.3.13~15	1
日本薬学会第134年会	熊本県熊本市	H26.3.27~29	2

第 4 章

調査及び研究報告

カンピロバクター属菌のPFGE法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に関する試験研究事業 - 平成25年度報告 -

○和田千里，川又祐子，山本和則，高木英

要旨

本研究は平成24年度から平成27年度までの4年間の計画で実施されており、平成25年度は前年度に引き続き、*Campylobacter jejuni* 78株および*Campylobacter coli* 1株の計79株を収集した。また、PFGE法を改良するため、*C.jejuni*を用いたプラグの洗浄方法、制限酵素の種類と反応条件についての検討、および*C.coli*を用いたPFGE法の検討を行った。

結果、プラグのPefabloc SC処理を短縮できること、制限酵素*Kpn I*を40Uまたは50Uで2時間反応させる条件が*C.jejuni*のPFGE法に最も適していることを見出した。また、*C.coli*について制限酵素*Kpn I*を用いたPFGE法を実施した結果、良好な結果が得られた。次年度以降はさらなる条件検討を行い、カンピロバクター属菌のPFGE法のプロトコールを決定するとともに、収集した菌株を用いてデータベースの作成を行う予定である。

キーワード：*C.jejuni*，*C.coli*，PFGE法，分子疫学解析，特別電源所在県科学技術振興事業

はじめに

カンピロバクター食中毒は全国的にも茨城県においても、近年最も発生の多い細菌性食中毒である^{1), 2)}。主な原因食品は生または加熱不十分の食肉で、中でも鶏肉の生食による食中毒が多く報告されている^{1), 2)}。

茨城県は全国有数の畜産県であり、原因食品を提供するリスクが高いといえる。そのため、茨城県の食の安全・安心および食肉のブランドイメージを守るためにも、カンピロバクターの汚染実態を把握し、現場へ還元することで食中毒予防につなげることが重要である。

そこで、本研究では汚染源究明に向けた科学的根拠を明示するため、県内で分離されたカンピロバクター属菌についてPFGE法を用いた分子疫学解析を実施した。

平成25年度における取り組み

1 カンピロバクター属菌の収集

(1)カンピロバクター属菌の同定と保存

平成25年度に衛生研究所細菌部に搬入された*C.jejuni* 78株（食中毒事例由来14株，食肉由来6株，認定小規模食鳥処理場由来58株）および*C.coli* 1株（食肉由来）について、菌種の同定を行った後10%スキムミルクに懸濁して-80℃で保存した。*C.jejuni*，*C.coli*以外のカンピロバクター属菌は搬入されなかった。

菌種の同定は食品衛生検査指針³⁾に従い、馬尿酸加水分解試験で陽性の菌株を*C.jejuni*，陰性または弱陽性の菌株についてはマルチプレックスPCR法⁴⁾により*C.jejuni hipO*，*Campylobacter 23SrRNA*のバンドが確認された場合を*C.jejuni*，*C.coli glyA*，*Campylobacter 23SrRNA*のバンドが確認された場合を*C.coli*と同定した。

(2)*C.jejuni* の血清型別

C.jejuni と同定した 78 株について、カンピロバクター免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて Penner 血清型別を行った。いずれの抗血清にも凝集しない場合を untypable(UT)とした。

その結果、図 1 に示すように、血清型は型別不明を含めて 12 種類になり、前年度⁵⁾と同様に血清型別不明株が全体の 36%を占め、最も多かった。また、C 群、Y 群の株が多い傾向があったものの、多様な血清型が偏りなく収集されたことも前年度と同様であった。このような傾向は全国的にみても同様であるため²⁾、本年度茨城県で分離された *C.jejuni* は、血清型に関して *C.jejuni* に普遍的な特徴がみられた。

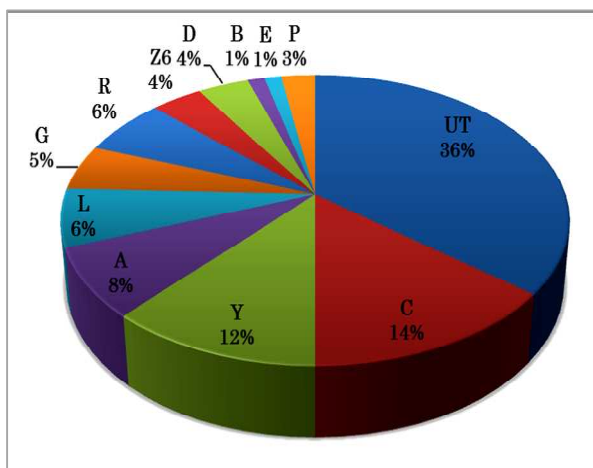


図 1: 平成 25 年度に収集した *C.jejuni* の血清型結果

2 PFGE 法の条件検討

実験には平成 23 年度に収集した食中毒由来 *C.jejuni* 9 株を供した。9 株の内訳は、前年度の実験⁵⁾で制限酵素 *Sma* I および *Kpn* I で同じ PFGE パターンを示した 3 株、*Sma* I で同じパターンを示したが *Kpn* I では異なるパターンを示した 3 株、*Sma* I および *Kpn* I で異なるパターンを示した 3 株である (表 1)。

また、PFGE 法については、これまでの検討

により八尋らの方法⁶⁾がカンピロバクター属菌の解析に適していることを確認しており、この方法をもとにさらなる条件検討を試みた。

表 1: 条件検討に供した *C.jejuni* の基本情報

No.	検体情報		PFGE パターン	
			<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I
1	食中毒事例1	患者便1由来	s1	k1
2		患者便2由来	s1	k1
3		患者便3由来	s1	k2
4	食中毒事例2	食品由来	s2	k3
5		患者便4由来	s2	k3
6		患者便5由来	s2	k3
7	食中毒事例3	患者便6由来	s2	k3
8		患者便7由来	s3	k4
9		患者便8由来	s4	k5

(1) プラグの洗浄方法の検討

Pefabloc SC は高価であり且つ人体に悪影響があると報告されていることから、Pefabloc SC 処理を省略できることは大量の検体を扱う上で望ましいと考えられる。

そこで、溶菌処理後の洗浄を 4mM Pefabloc SC (in TE buffer)を用いる方法から蒸留水に変更し、既存の方法と比較検討した。

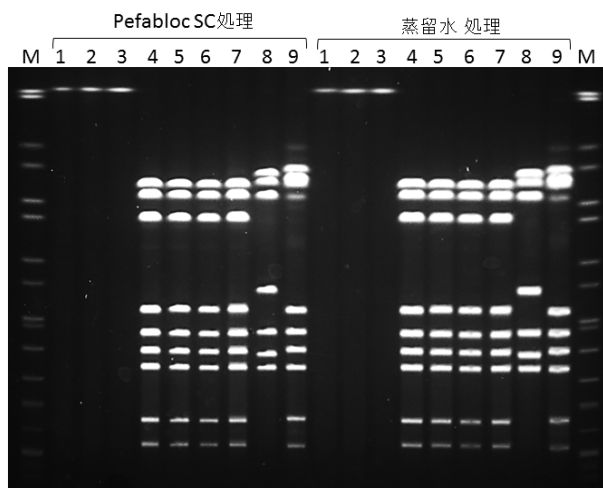


図 2: プラグの洗浄方法を変更した結果
M: *Salmonella* Braenderup H9812
制限酵素 *Sma* I, 30U, 3 時間反応

その結果、図2に示すように、溶菌処理後の洗浄を蒸留水に用いた方法に変更しても、結果に影響しないことが分かり、Pefabloc SC 処理を省略できることが分かった。

(2)制限酵素の比較検討

全ゲノム配列が既知である *C.jejuni* 16 株の遺伝子配列に対し、制限酵素の切断配列の情報をもとに切断パターンをシミュレーションすることで、有効な制限酵素の候補を 20 種類選択した。そのうち、過去に *C.jejuni* の PFGE 法で有用性が実証されているもの⁷⁾、および入手が容易なもの計 12 種類 (*Aat*III, *Acc*III, *Bst*E II, *Bss*HII, *Eam*1105 I, *Fsp*A I, *Kpn* I, *Ksp* I (*Sac* II), *Sal* I, *Sma* I, *Sna*B I) を選択した。また、シミュレーションの結果に関わらず独自に 10 種類 (*Apa* I, *Cla* I, *Dra* I, *Hpa* I, *Not* I, *Psh*A I, *Sfi* I, *Sfu* I, *Xba* I, *Xho* I) の制限酵素を選択した。これら計 22 種類の制限酵素を用いて *C.jejuni* の PFGE 法を実施した。制限酵素の種類を変更した以外は八尋ら⁶⁾の方法に準じた。

結果、14 種類 (*Aat*III, *Acc*III, *Bst*E II, *Bss*H II, *Eam*1105 I, *Fsp*A I, *Kpn* I, *Ksp* I, (*Sac* II), *Nar* I, *Sal* I, *Sma* I, *Sna*B I, *Psh*A I, *Xho*) の制限酵素が使用できることが分かった。このうち、解析をする上で有効な条件、すなわちバンド数が 15~20 ほどで且つ幅広いサイズに分離されるような制限酵素を選択した結果、8 種類 (*Acc*III, *Bst*E II, *Bss*H II, *Kpn* I, *Ksp* I, (*Sac* II), *Sal* I, *Sma* I, *Xho*) の候補に絞られた。

また、有効な結果が得られた制限酵素のうち、同一メーカー製の 6 種類の制限酵素 (*Bss*H II, *Kpn* I, *Ksp* I, *Sal* I, *Sma* I, *Xho* I) を使っ

て 15 の組み合わせを作り、Double digestion 処理を実施した。

Double digestion は 2 種類の制限酵素で同時に遺伝子を切断する方法であり、制限酵素を単独で使用するより多くのバンドを得ることができる。しかし、バンドが多すぎて逆に解析が困難になる場合や、制限酵素の組み合わせによっては倍の反応時間が必要となる場合がある。

今回の実験で Double digestion 処理を実施した結果、全ての組み合わせで良好な結果が得られた。しかし、単独使用でも Double digestion 処理と同等の結果が得られる *Kpn* I と *Ksp* I などの制限酵素が存在したため、作業がより効率的である制限酵素の単独使用の条件を採用することとした。

(3)制限酵素反応条件の検討

有用性が示された *Kpn* I および *Ksp* I を用いて、反応時間とユニット数を変更した条件で PFGE を実施した。反応時間は 2 時間, 4 時間, 16 時間とし、また、それぞれ酵素量を 20U, 30U, 40U, 50U に変更して反応させた。その他は八尋らの方法⁶⁾に準じた。

その結果、*Kpn* I を用いた検討では、2 時間反応、または 40U, 50U で良好な結果が得られた (図 3)。4 時間以上の反応かつ 10U, 20U の少ない酵素量ではエキストラバンドがみられた。一方、*Ksp* I ではスミアが発生し、複数回試行したが再現性のある結果を得ることが出来なかった。

以上より、*C.jejuni* の PFGE 法によるデータベース作成には *Kpn* I を用い、酵素量 40U または 50U で 2 時間反応させる条件が最も安定した結果が得られると考えられた。

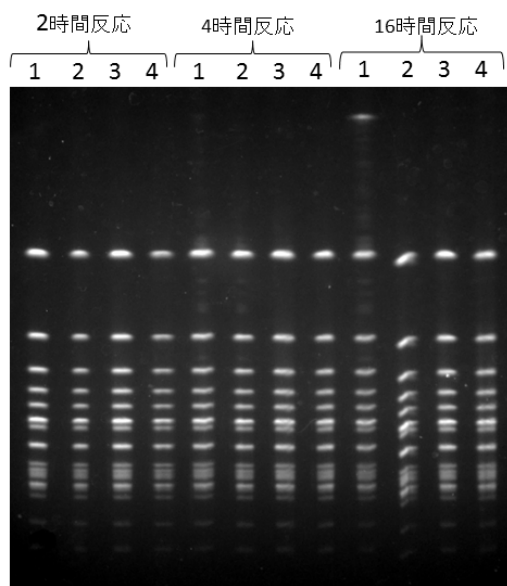


図3 : *Kpn I* を用いた条件検討の結果
 検体は全て No.5 のプラグを使用
 酵素量 1:10U 2:20U 3:40U 4:50U

(4)*C.coli* を用いた PFGE 法の検討

平成 24 年度および平成 25 年度に収集した *C.coli* 16 株について *Kpn I* (2 時間反応, 40U) を用いた PFGE 法を実施した。

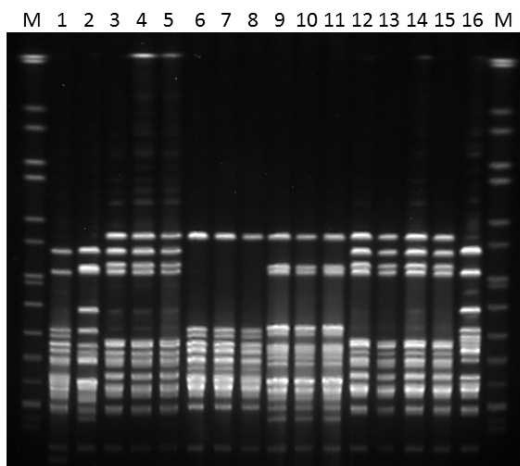


図4 : *C.coli* の PFGE 結果
 M: *Salmonella* Braenderup H9812
 制限酵素 *Kpn I* , 40U, 2 時間反応

その結果, 図4に示すように, 良好な結果が得られ, *C.coli* についても PFGE 法が有効であることが分かった。しかし, *Kpn I* で得られたバンドはサイズが低分子側にやや偏っているため, 引き続き *C.coli* により有効な制限酵素や反応条件, 泳動条件を検討する必要がある。

結論

以上のように, 今年度においては *C. jejuni* 78 株および *C. coli* 1 株の計 79 株を新たに収集した。また, PFGE 法の条件検討を行った結果, プラグの洗浄方法について Pefabloc SC 処理を省略できることが分かった。さらに, 制限酵素の種類と反応条件についての検討を行った結果, 制限酵素 *Kpn I* を 40U または 50U で 2 時間反応させる条件が *C. jejuni* の PFGE 法に最も適していることが分かった。一方で, *C.coli* についても制限酵素 *Kpn I* を用いた PFGE 法を実施し, 良好な結果が得られることを見出した。

次年度以降はさらなる条件検討を行うとともに, 収集した菌株を用いてデータベースの作成を行う予定である。

参考文献

- 1)中馬猛久:カンピロバクター食中毒予防の現状と展望
 食品衛生研究 Vol.6.2, No.3 (2012):7-15
- 2)仲西寿男ほか:食品由来感染症と食品微生物
 中央法規(株)(2009):347-364
- 3)食品衛生検査指針 微生物編 2004
 社団法人日本食品衛生協会:225-235
- 4)Wang, G. et al.:Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, *C.upsaliensis* and *C.fetus* subsp.*fetus*
 : *J.Clin.Microbiol.* (2002):40, 4744 -4747
- 5)茨城県衛生研究所年報 No.51(2013):27-31

6)八尋俊輔ほか:厚生労働科学研究費補助金

新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」18年度総括・分担研究報告書 (2007):219-230

7)Trudy M. Wassenaar *et al.*: Genotyping of *Campylobacter* spp.

Appl. Environ. Microbiol.(2000):66, 1-9

PCRを用いたマイコプラズマ肺炎 *P1* 遺伝子の検出とシーケンサーを用いたマクロライド系薬剤耐性遺伝子配列の検出

○高木 英¹, 川又 竜², 川又祐子¹, 和田千里¹, 山本和則¹

¹茨城県衛生研究所, ²常陸大宮済生会病院

要旨

マイコプラズマ肺炎についてシーケンサーを用いた遺伝子配列解析を行い、薬剤耐性遺伝子の配列変異の有無を調査した。その結果、マクロライド系抗菌薬の効果が低いと思われるマイコプラズマ肺炎が、茨城県の市中に近年流行している実態が明らかになった。

キーワード マイコプラズマ肺炎 マクロライド系抗菌薬 *pl* 遺伝子 シーケンサー 23SrRNA ドメインV領域

はじめに

マイコプラズマ肺炎は *Mycoplasma pneumoniae* という細菌が起こす呼吸器感染症で、若年齢層に多く発生し、異形肺炎の30~40%が原因とされている。¹⁾ 日本では1970年代後半から80年代に4年周期で大流行があったので、オリンピック肺炎と呼ばれたことがあった。²⁾ 最近では2010年秋から患者の増加が見られ、2011年冬期には前年と比較し2倍以上の流行があった。³⁾

日本においては治療にマクロライド系の抗菌薬が使用されているが、2000年に臨床分離株よりマクロライド系の抗菌薬耐性菌の報告がされて以来アジアを中心に増加傾向を示している。⁴⁾ 現在日本の分離株の50%はマクロライド耐性菌であり、マクロライド耐性菌治療にはキノロン系やテトラサイクリン系の抗菌薬が有効である。現在マクロライド以外の抗菌薬に耐性を示す *M.pneumoniae* の報告はない。⁵⁾

M.pneumoniae はゲノムのサイズが約800kbと小さく、人工培地で培養が可能な最小クラスの生物である。ヒトの呼吸器上皮細胞に付着し病原性を発揮するための接着器官を有し、その表面には分子量170kDaの細胞接着タンパク質 *PI* が集まっていることが知られている。この細胞接着タンパク質 *PI* の配列に相補的な配列のプライマーを用いることにより、*M.pneumoniae* の検出が可能である。⁶⁾

目的

近年茨城県においても、マクロライド系薬剤が効きづらい *M.pneumoniae* の流行と思われる症例が多く見られることから、市中に流行するマイコプラズマ肺炎について耐性遺伝子の検出を行い、

変異の状況を確認すると伴にその流行状況を把握する。

なお、この研究は常陸大宮済生会病院小児科川又竜先生との共同研究(技術援助)として実施した。

材料と方法

材 料

平成25年4月から平成26年3月に常陸大宮済生会病院小児科に外来受診、あるいは入院して、①37.5℃以上の発熱と乾性咳嗽(がいそう)を認め、②胸部X線写真で気管支肺周囲間質病変または小葉中心性粒状陰影を認め、③PA法による肺炎マイコプラズマ血清抗体価において、単血清で640倍以上又はペア血清で4倍以上の上昇を認めた以上の3項目を満たした15歳以下の35例について、採取された咽頭ぬぐいスワブを用いた。但し血清抗体価は参考データとした。

方 法

1 咽頭ぬぐいスワブ(保存液入り)は搬入後直ちに-80℃超低温冷凍庫に保管し、数件まとまったのちQIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)によりDNAを抽出した。

2 *M.pneumoniae pl* 遺伝子の検出は、感染研病原微生物検出マニュアル(マイコプラズマ肺炎)に順じて、抽出したDNAをtemplateとし、*M.pneumoniae pl* 遺伝子をターゲットにしたプライマー(表1)を用いてnested PCRにて増幅した。1%アガロースゲルで電気泳動し、エチジウムブロマイド(EtBr)で染色した後、302nmUVトランスイルミネーターで1323bpのバンドを確認した。(図1)

3 上記でバンドを確認した検体について、抽出した DNA を template とし、23SrRNA ドメインV領域をコードするプライマー (表2) を用いて nested PCR を行い、同様にゲル電気泳動で 767bp のバンドを確認した。(図2)

4 302nmUV トランスイルミネーター上で、ゲルより 767bp のバンドを切り出し GFX PCR DNA Gel Purification Kit により DNA 増幅産物を精製した。

5 サイクルシーケンス反応 2nd PCR で使用した Primer F と R を 6 倍希釈したものを用い、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit によるシーケンス反応を行った。 BigDye X

Terminator purification kit により反応産物の精製を行った後、ABI 3500xL ジェネティックアナライザーにより Forward と Reverse の配列で PCR 産物の塩基配列を決定した。(図3) 塩基配列の解析は DDBJ (日本 DNA データバンク) の BLAST により *M.pneumoniae* M129 株の塩基配列 (accession no.X68422) と比較し、遺伝子変異部位 A2063C (2063 位の adenin が cytosine に置換), A2063G, A2064G, C2617G のいずれかが見られるものを薬剤耐性株とした。

表1 (*M.pneumoniae* *pI* 遺伝子の検出 primer)

1st.PCR	primer ADH2F	5'-GGC AGT GGC AGT CAA CAA ACC ACG TAT-3'
	primer ADH2R	5'-GAA CTT AGC GCC AGC AAC TGC CAT-3'
2ndPCR	primer ADH/3F	5'-GAA CTT AGC GCC AGC AAC TGC CAT-3'
	primer ADH/3R	5'-GTT GAC CAT GCC TGA GAA CAG TAA-3'
95°C 5min (95°C 1min, 55°C 1min, 72°C 1min) 35cycle, 72°C 5min		
1%アガロース S, 0.5X TBE * 1324bp の産物 (バンド)		

表2 (23SrRNA ドメインV領域検出 primer)

1st.PCR	Primer MN23SDVF	5'-GCA GTG AAG AAC GAG GGG-3'
	Primer MN23SDVR	5'-GTC CTC GCT TCG GTC CTC TCG-3'
2ndPCR	Primer MN23SF1937	5'-ACT ATA ACG GTC CTA AGG TA-3'
	Primer MN23SR2664	5'-GTC CTC GCT TCG GTC CTC TCG-3'
95°C 5min (95°C 1min, 55°C 1min, 72°C 1min) 35cycle, 72°C 5min		
2%アガロース S, 0.5X TBE * 767 bp の産物 (バンド)		

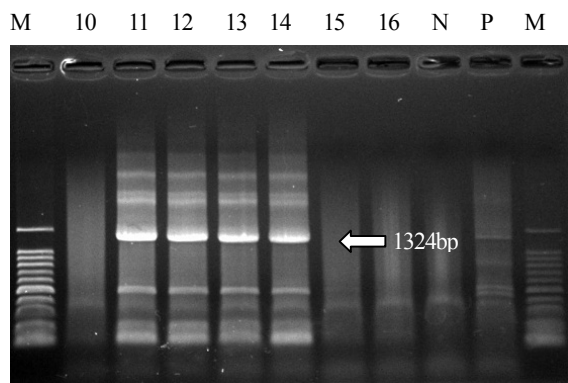


図1 *M.pneumoniae* *pI* 遺伝子電気泳動

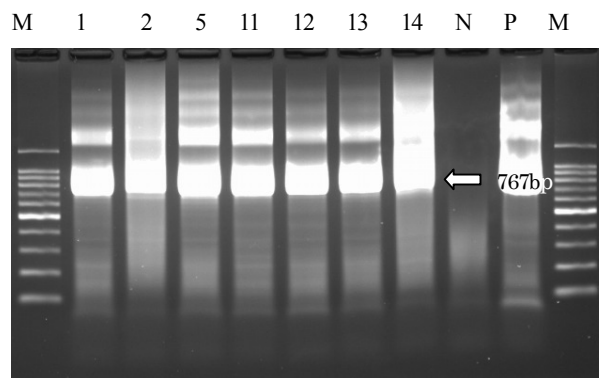


図2 23SrRNA ドメインV領域遺伝子電気泳動

表3 結果 (年齢別)

歳	Sample	P1 陽性	遺伝子変異
1~3	8	2	1
4~6	15	6	4
7~9	2	2	1
10~12	6	6	1
13~15	4	3	3
計	35	19	13

結果

結果を表3にまとめた。郵送された検体35例の男女比は、男が16例(46%)、女が19例(54%)で、年齢構成は1~3歳が8例(23%)、4~6歳が15例(43%)、7~9歳が2例(6%)、10~12歳が6例(17%)、13~15歳が4例(11%)。平均6.6歳であった。

M.pneumoniae *pl* 遺伝子陽性は全体で19例(54%(19/35))で、年齢別に見ると1~3歳が2例(25%(2/8))、4~6歳が6例(40%(6/15))、7~9歳が2例(100%(2/2))、10~12歳が6例(100%(6/6))、13~15歳が3例(75%(3/4))と7歳~12歳の全てが陽性であった。

更に*pl* 遺伝子陽性例19例についてシーケンスを実施し遺伝子配列の変異(2063位のadeninがcytosineに置換)が見られたのは、13例(68%)であった。その他の部位での変異は見られなかった。年齢別に見ると1~3歳が1例(50%(1/2))、4~6歳が4例(67%(4/6))、7~9歳が1例(50%(1/2))、10~12歳が4例(67%(4/6))、13~15歳が3例(100%(3/3))と各年齢で50%以上の変異を確認した。

考察

臨床的の症状等からマイコプラズマ肺炎を疑った症例は、6歳以下(23例(66%))が多かったが*M.pneumoniae pl* 遺伝子PCRにより陽性となったものは圧倒的に7歳以上が多い結果となった。

この理由として、低年齢ではウイルス性の呼吸器感染症を含め臨床的にマイコプラズマ肺炎と類似した疾病に感染する機会が多いものと思われた。また、サンプルの採取が、年長者に比べ低年齢患者では検体採取困難事例が多くなったものではないかと考えられた。更に検体採取前の抗菌薬投

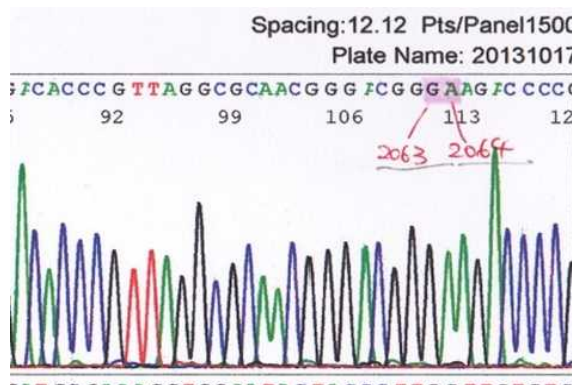


図3 シーケンス結果

与の有無によっても検出率に差が生じることも考えられる。

遺伝子配列の変異については全ての事例で2063位のadeninがcytosineに置換しており、全年齢において高い陽性率を示したが、低年齢よりも年長者の方がより高い陽性を示した。

以上の結果より、茨城県においても、近年市中で流行しているマイコプラズマ肺炎の半数以上がマクロライド系薬剤に耐性を獲得しているものであることが分かった。

症例定義におけるマイコプラズマ抗体価、あるいは市販されているマイコプラズマ血清抗体検出用キットによる結果は、過去に感染したことのある者についても検出してしまう可能性が多くあり現在の感染状態を正確に表すものではないと考えられた。

平成25年8月からマイコプラズマ抗原検出のための迅速診断キットが発売されている。現時点でのデータでは感度が約58%程度となっているものの、検体の採取時期や採取方法を検討することにより、検出率が向上するものと思われ、全国の臨床の場で活用が期待される。

今後、迅速診断キットの成績と、PCRやLump法との比較、更には検出されたマイコプラズマの薬剤耐性遺伝子配列変異について臨床現場と共同研究を計画していくことが必要と思われた。

参考文献

- 1) 病原微生物検出情報 (IASR) Vol. 33 No. 10 (No. 392) 2012年10月
- 2) マイコプラズマ肺炎とは NIID2011-08-29 国立感染症研究所
- 3) 小児におけるマクロライド高度耐性・肺炎マイ

コプラズマの大流行. IASR 32:337-9, 2011.

4) 小児呼吸器感染症診療ガイドライン作成委員会.
小児呼吸器感染症診療ガイドライン 2011. 協和
企画 20111 ; 2949.

5) 1次医療機関における肺炎マイコプラズマのマ
クロライド耐性(IASR Vol. 33 p. 267-268: 2012
年10月号)

6) 肺炎マイコプラズマ検査マニュアル (病原体検
出マニュアル, 国立感染症研究所)

茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況（2013/2014シーズン）

○土井 育子, 渡邊 美樹, 本谷 匠, 小森 はるみ, 永田 紀子

要旨

茨城県内の 2013/14 シーズンのインフルエンザの発生動向は、全国と同様 2013 年第 51 週に定点あたりの報告数が 1.00 を超え、流行が始まった。流行の主流が AH3 ウイルスであった昨シーズンとは異なり、AH3 に加えて AH1pdm09, B 型が流行したシーズンであった。感染症発生動向調査に基づくウイルスサーベイランスとして、県内発生例から採取された検体についてリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検出、ウイルス分離・同定および抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを行ったので、報告する。

キーワード インフルエンザ 感染症発生動向調査 リアルタイム RT-PCR ウイルス分離 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

1. まえがき

2013/14 シーズンは全国で 2013 年第 51 週に定点あたりの報告数が 1.39 となり、全国的な流行の指標である 1.00 を上回った。流行開始当初は AH3 ウイルスが主流であったが 2014 年第 1 週以降は AH1pdm09 が主流となった。その後第 5 週からは AH1pdm09 に次いで B 型ウイルスの検出割合が AH3 ウイルスより増加した¹⁾。

県内の流行状況については、2013 年第 51 週にインフルエンザ流行指数が 1.04 となり、インフルエンザの流行が始まった。その後 2014 年第 5 週には流行のピークとなり、県全体のインフルエンザ流行指数が 27.51 となった。2014 年第 14 週には流行指数は 4.78 となり、注意報は解除された²⁾ (図 1.)。

昨シーズンと比べると、流行の開始は第 51 週と同じであったが、流行のピークは 1 週遅れであり、ピークの流行指数は昨シーズンの 38.96 よりも小さかった。しかしその後の流行指数の減少は昨シーズンよりも緩やかであり、第 9 週には再び流行指数の増加が見られた。こ

の傾向は、全国と同様であった。流行指数が終息基準値となる 10.00 を下回ったのは昨シーズンよりも 6 週遅かった。

衛生研究所では感染症発生動向調査におけるウイルスサーベイランスとして病原体定点医療機関で採取された検体、重症例及び集団サーベイランスで採取された検体について遺伝子検査、ウイルス分離、血清型別等の検査を行っている。また、県内での AH1pdm09 分離株について抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施しており、2013/14 シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

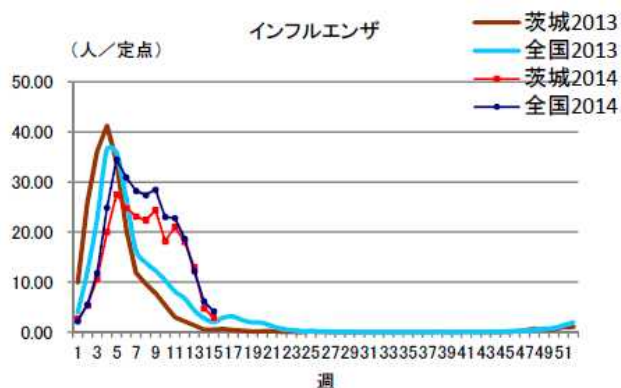
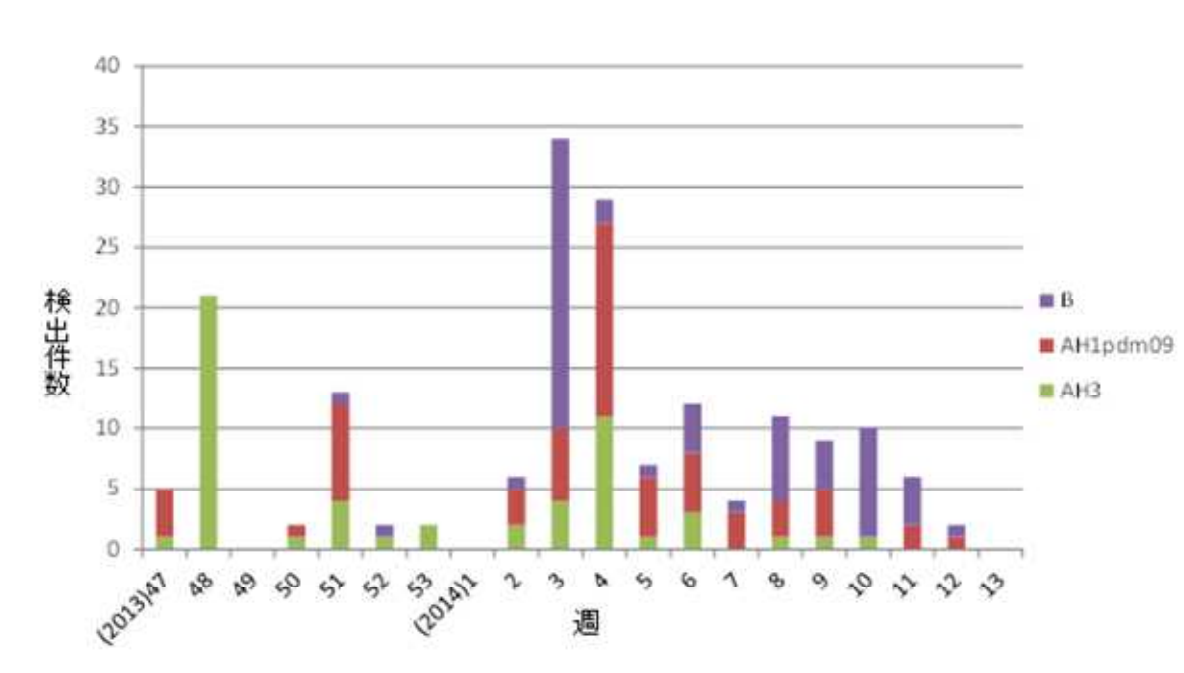


図 1. 定点あたり患者数 (茨城県・全国)

表1.インフルエンザウイルス検出状況



2. 実験・調査方法

2-1 材料

2013年9月1日から2014年3月31日までの間、県内の病原体定点医療機関で採取された91検体、重症・入院例で採取された7検体、学校等集団発生例で採取された80検体(12事例)、病院・介護施設等集団発生例で採取された7検体(2事例)の計185検体(185名分)を検査材料とした。

2-2 方法

-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検索

衛生研究所に搬入された臨床検体からQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いてRNAを抽出し、リアルタイムRT-PCR法によるA型ウイルス共通のM遺伝子, AH1pdm09, AH1, AH3, B型のHA遺伝子の検索を行った。方法は国立感染症研究所の「インフルエンザ診断マニュアル(第2版)(平成24年3月)」に従って行った。

-2. インフルエンザウイルスの分離

搬入された検体を48穴マイクロプレートに

培養したMDCK細胞に接種し、トリプシンを添加した維持培地を用いて5%CO₂, 35°Cで7日間培養した。このうち細胞変性効果(CPE)のみられたものについて培養液を回収し、遠心した上清を用いて赤血球凝集(HA)試験を行った。

赤血球凝集試験には0.75%モルモット赤血球を用いた。細胞変性効果がみられなかったものについては3代目まで継代培養を行った。

-3. ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたウイルスは0.75%モルモット血球を用いた赤血球凝集抑制(HI)試験を行い同定した。HI試験には国立感染症研究所配布の2012/2013シーズン用インフルエンザウイルス同定キット, A/California/7/2009(H1N1pdm2009) A/Texas/50/2012(H3N2) B/Massachusetts/02/2012(Yamagata系統) B/Brisbane/60/2008(Victoria系統)の各抗原および抗血清(ウサギ免疫血清)を用いた。分離されたウイルスのうち、HA価が十分に得られなかったウイルス株についてはリアルタイムRT-PCR法により同定を行った。

4. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

分離された AH1pdm09 について、「A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株検出法実験プロトコール ver.2 (国立感染症研究所)」にしたがい、One-step RT-PCR(TaqMan Probe 法)により、NA 阻害薬耐性変異である NA 遺伝子上の H275Y 変異の有無について調べた。

3. 結果と考察

3-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検出

検査を行った 187 検体のうち、179 検体 (95.7%)からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。その内訳は、AH3 が 54 検体、AH1pdm09 が 61 検体、B 型が 64 検体(Yamagata 系統 54 検体、Victoria 系統 9 検体、血清型別不明 1 検体)であった。これらウイルスの検出状況を週別に表 1. に示した。

県内ではシーズン初めに AH1pdm09 による集団発生が起き、昨シーズンの流行の主流が AH3 であったことからその後の発生の動向が注目された。次週には AH3 の集団発生が起きたが AH1pdm09 も引き続き検出され、年明けには流行の主流は AH1pdm と B 型となった。今シーズンは B 型の検出割合が比較的早い時期から大きかったことも特徴的であった。

3-2. ウイルス分離

搬入された 185 検体を分離培養した結果、129 検体よりウイルスが分離された。

3-3. 分離株の血清型別および同定

分離されたウイルス 129 株について、赤血球凝集抑制試験(HI)およびリアルタイム RT-PCR により血清型別を行ったところ、AH3 が 27 株、AH1pdm09 が 51 株、B 型 Yamagata 系統が 46 株、B 型 Victoria 系統が 5 株であった。

3-4. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイラン

ス

分離された AH1pdm09 51 株について、One-step RT-PCR(TaqMan Probe 法)により H275Y の耐性マーカーの検索を行った結果、H275Y mix 株が 1 株検出された。この 1 株について、国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターにおいて薬剤感受性試験を行った結果、オセルタミビルおよびペラミビルに対して感受性の低下が認められた。一方、ザナミビルおよびラニナミビルに対しては感受性を保持していた。

県内では耐性変異獲得株はこの 1 株のみであった。患者は医療機関において抗インフルエンザ薬を処方されており、またこの事例以外に耐性変異獲得株が検出されなかったことなどから、今シーズン県内では北海道を中心に起こったような変異株の流行³⁾は、なかったものと考えられた。

昨シーズン日本国内では H275Y 耐性変異に加えて I223R 耐性変異を持つ AH1pdm09 の検出も報告されており⁴⁾、今後耐性株の発生の動向には注意が必要である。

文献

- 1) 国立感染症研究所, 今冬のインフルエンザの発生動向(2013/14 シーズン)
<http://www.nih.go.jp/niid/images/idsc/disease/nflu/fludoco1314.pdf>
- 2) 茨城県感染症流行情報 (週報), 茨城県保健福祉部保健予防課・茨城県衛生研究所, 茨城県感染症情報センター, いばらきの感染症情報 <http://www.pref.ibaraki.jp/bukyoku/hoken/yobo/kansen/idwr/index.html>
- 3) 国立感染症研究所, 感染症疫学センター, 病原微生物検出情報, Vol35 No2
- 4) 国立感染症研究所, 感染症疫学センター, 病原微生物検出情報, Vol35 No7

平成25年度 茨城県流行予測調査事業

○小森はるみ, 土井育子, 黒澤美穂, 渡邊美樹, 本谷匠, 永田紀子

要旨

平成25年度の感染症流行予測調査については、日本脳炎、インフルエンザ、麻しんを対象疾患として行った。その結果、以下のとおりの知見を得たので報告する。日本脳炎については、県内のブタ80頭から採血し感染源調査を行ったが、HI抗原及び2-ME感受性抗体は検出されなかった。インフルエンザについては、2013/14シーズンのインフルエンザワクチンの接種を受けていない227名の血清を対象とし、A/California/7/2009 (H1N1) pdm09, A/Texas/50/2012 (H3N2), B/Massachusetts/02/2012 (山形系統), B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) の計4株を抗原としてHI抗体価を測定した。4株の抗原の中ではA/California/7/2009 (H1N1) pdm09に対する抗体保有率が全体で52.4%と最も高かった。麻しんについては、228名の血清を対象とし、麻疹PA抗体価を測定した。抗体陽性者(16≧)は214名で全体の93.9%であった。感染防御レベルの1:128以上の者は201名で全体の88.2%であり、抗体陰性者(<16)は14名で全体の6.1%であった。

キーワード： 感染症流行予測調査, 日本脳炎, インフルエンザ, 麻しん

はじめに

感染症流行予測調査事業は、集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い、各種疫学資料と合わせて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的とし、厚生労働省、国立感染症研究所、都道府県・都道府県衛生研究所等が協力して実施している調査事業である。

以下に平成25年度に当衛生研究所で行った、日本脳炎感染源調査、インフルエンザ感受性調査、麻しん感受性調査について報告する。

1 日本脳炎感染源調査

1-1 目的

ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体を測定して、本ウイルスの浸淫度を追跡し流行を推定する資料とする。

1-2 対象及び検査方法

6ヶ月齢のブタを対象に、平成25年7月16日から9月24日の期間に1カ所のと畜場から10頭ずつ、8回に渡り、計80頭から採血を行った。ブタの飼育地は全て県内で、南西部の結城市・下妻市が40頭、中東部の鉾田市・小美玉市が40頭であった。

検査は通知に従って、ブタ血清中の血球凝集抑制(HI)抗体と2-ME感受性抗体を測定した。

1-3 結果及び考察

測定の結果、HI抗体及び2-ME感受性抗体は検出されなかった。

当衛生研究所の調査では、平成23年度以降3年連続で、HI抗体及び2-ME感受性抗体が検出されていないため、本ウイルスの浸淫度は近年低い状態で推移していると思われる。

しかし、西日本を中心にブタの日本脳炎HI抗体保有率が高い地域が有り、茨城県周辺の県

でも HI 抗体保有が確認されていることから、茨城県でも感染のリスクが充分に有り、今後も調査結果を注視していく必要があると考える。

2 インフルエンザ感受性調査

2-1 目的

当該シーズンにおける本格的な流行開始前かつインフルエンザワクチン接種前に、インフルエンザウイルスに対する健常者の血清抗体価を測定することにより抗体保有状況を把握し、今後の流行予測および感受性者に対して注意を喚起する等の資料とする。

2-2 対象

2013年7月～10月の間に採血され、2013/14シーズンのインフルエンザワクチンの接種を受けていない人を対象とした。年齢区分別の対象者の内訳は、0～4歳群 35名、5～9歳群 15名、10～14歳群 17名、15～19歳群 13名、20～29歳群 49名、30～39歳群 26名、40～49歳群 29名、50～59歳群 25名、60歳以上群 18名、計 227名であった。

2-3 方法

「感染症流行予測調査事業検査術式」および「平成 25 年度感染症流行予測調査実施要領」に準じ、赤血球凝集抑制試験 (HI 試験) により抗体価を測定した。

A/California/7/2009 (H1N1) pdm09, A/Texas/50/2012 (H3N2), B/Massachusetts/02/2012 (山形系統) (以上3株は2013/14シーズンワクチン株), B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) (2012/13シーズンワクチン株) の計4株を抗原として用いた。

2-4結果および考察

各抗原に対する各年齢区分の抗体保有者数および保有率を表1. に示した。感染のリスクを50%に抑える目安と考えられているHI抗体価 1:40以上を抗体保有者とし、抗体保有率を算出した。

A/California/7/2009 (H1N1) pdm09

4つの抗原に対する各HI抗体価の中で、全体として一番高い抗体保有率であった。特

表 1.年齢区分別抗体保有者数および保有率

年齢区分	人数(人)	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09		A/Texas/50/2012 (H3N2)		B/Massachusetts/02/2012 (Yamagata系統)		B/Brisbane/60/2008 (Victoria系統)	
		抗体保有者数(人)	抗体保有率(%)	抗体保有者数(人)	抗体保有率(%)	抗体保有者数(人)	抗体保有率(%)	抗体保有者数(人)	抗体保有率(%)
0-4	35	8	22.9	6	17.1	8	22.9	7	20.0
5-9	15	7	46.7	9	60.0	6	40.0	6	40.0
10-14	17	12	70.6	9	52.9	6	35.3	6	35.3
15-19	13	13	100.0	8	61.5	7	53.8	5	38.5
20-29	49	39	79.6	29	59.2	25	51.0	20	40.8
30-39	26	10	38.5	12	46.2	11	42.3	15	57.7
40-49	29	16	55.2	11	37.9	9	31.0	15	51.7
50-59	25	9	36.0	8	32.0	8	32.0	13	52.0
60-	18	5	27.8	6	33.3	7	38.9	9	50.0
合計人数/全体の保有率	227	119人/52.4%		98人/43.2%		87人/38.3%		96人/42.3%	

に10-14歳の区分で70.5%，15-19歳で100%，20-29歳で79.6%と高い保有率であった。

A/Texas/50/2012 (H3N2)

全体としては2番目に抗体保有率が高かった。特に5-9歳と15-19歳の年齢群では60%以上と高い保有率であった。

B/Massachusetts/02/2012 (山形系統)

全体として38.3%と一番低い抗体保有率であったが、15-19歳の区分で53.8%，20-29歳の区分で51.0%と比較的高い保有率であった。

B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)

全体としては42.3%の抗体保有率であった。30-39歳の区分で57.7%，40-49歳の区分で51.7%，50-59歳の区分で52%と、B/Massachusetts/02/2012とは異なる年齢区分において比較的高い抗体保有率であった。

平成25年度のインフルエンザ感受性調査では、A/California/7/2009 (H1N1) pdm09株に対する抗体保有率は52.4%と比較的高く、ワクチン効果及び2009年のパンデミックの影響により抗体が獲得されている状況がうかがえた。今後も引き続き各抗体保有状況について調査を継続し、インフルエンザの流行予測の一助としたい。

3 麻しん感受性調査

3-1 目的

ヒトの麻しんに対する抗体保有状況を確認し、麻しん含有ワクチンの摂取効率を追跡するとともに今後の流行の推移と予防接種計画の資料とする。

3-2 対象・方法

平成25年7月から10月にかけて各年齢群別に採取された228名の血清について、「セロディア・麻疹」(富士レビオ)を用い麻疹PA抗体価を測定した。

なお、この調査は、水戸市内の7医療機関の協力を得て実施した。

3-3 結果

年齢区分別のPA抗体価及び抗体保有率を表2に示す。抗体陽性者(16≧)は214名で全体の93.9%であった。感染防御レベルは1:128とされているが、1:128以上の者は201名で全体の88.2%であった。抗体陰性者(<16)は14名で全体の6.1%であった。年齢区分別の抗体保有率は、0歳が11.1%で最も低く、次いで7-9歳、1歳の群がそれぞれ77.8%、80%であった。これら以外の年齢群はいずれも90%以上の保有率であった。

平成25年度の抗体保有率(93.9%)は、前

表2.年齢区分別PA抗体価及び抗体保有率

年齢区分	PA抗体価											総計	抗体陽性者数(人)	
	<16	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192-		16≧	128≧
0	8			1								9	1 (11.1%)	0 (0%)
1	2				1	1	4		1		1	10	8 (80.0%)	8 (80.0%)
2-3	1				2	1	2	3	4	2	1	16	15 (93.8%)	15 (93.8%)
4-6				1				1	3	1	1	7	7 (100%)	6 (85.7%)
7-9	2			1				1	3	1	1	9	7 (77.8%)	6 (66.7%)
10-14			1	1	3	7	3				1	16	16 (100%)	14 (87.5%)
15-19						3	4	3	1	1	1	13	13 (100%)	13 (100%)
20-24	1			1	3	4	8	5			2	24	23 (95.8%)	22 (91.7%)
25-29				1	3	3	12	4	1	1		25	25 (100%)	24 (96.0%)
30-34					2	1	4	4	2			13	13 (100%)	13 (100%)
35-39						3	2	4	2	2		13	13 (100%)	13 (100%)
40-		2	1	3	6	14	14	15	9	4	5	73	73 (100%)	67 (91.8%)
総計	14	2	2	9	20	37	55	44	22	13	10	228	214 (93.9%)	201 (88.2%)

年度の 95.5%から 1.6%減少したが、128 倍以上の抗体保有率（88.2%）は前年度の 85.2%から 3.0%上昇した。

3-4 考察

平成 25 年度の麻しん抗体保有率は、0 歳で低い値を示したが、ワクチン接種が始まる 1 歳以上では 97.3%（213/219 人）であった。このことから、第 1 期のワクチン接種による抗体の獲得がうかがえるが、感染防御レベルの 128 倍以上の抗体保有率は 91.8%（201/219 人）であった。麻しん排除には、予防接種対象者の 95 パーセントが 2 回以上の接種を完了することが望ましいとされており、今後もワクチン接種による麻しん対策を継続して行っていくことが重要である。

医薬品類の安全性に関する調査研究（健康食品）

○小島 健一，萩原 彩子，石井 崇司，佐藤 真由美，小室 道彦，大曾根 圭子

要旨

強壯系と謳ういわゆる健康食品（以下健康食品）に違法に含有する医薬品成分（医薬品類似成分を含む）について、LC/MS/MS による一斉分析法を検討した。対象成分は、シルデナフィル、バルデナフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、ヒドロキシホモシルデナフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィルの7成分とした。検量線は、0.05～1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で良好な直線性を示し、検出限界、定量限界はともに 0.005mg/g であった。添加回収試験を行った結果、回収率は75%以上、変動係数は10%以内であり、医薬品成分7種を同時に分析することが可能となった。多成分を同時に分析できることで、強壯系と謳う健康食品に違法に含有する医薬品成分についての健康被害発生時や違反発見時における迅速な対応が可能となった。

キーワード：LC/MS/MS，健康食品，強壯系，無承認無許可医薬品，シルデナフィル類

はじめに

健康志向の高まりにともない健康食品による健康被害や、違法な医薬品成分が含有する事例が報告されている。原因究明や安全性確認のためには、分析を迅速化する必要がある。

強壯系と謳う健康食品中に違法に含有する医薬品成分について LC/MS/MS による一斉分析法を検討したので報告する。

実験方法

1. 試料

平成 25 年度に当研究所に搬入され、強壯成分が検出されないことを確認した健康食品を使用した。

2. 検討対象成分

対象成分は、強壯系と謳う健康食品に違法に含有するシルデナフィル、バルデナフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、ヒドロキシホモ

シルデナフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィルの7成分とした。各成分の構造式を図1に示した。

3. 試薬等

1) 標準品

シルデナフィル、バルデナフィル、ホンデナフィル、タダラフィルは国立医薬品食品衛生研究所から提供を受けたもの、ヒドロキシホモシルデナフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィルは関東化学(株)製を使用した。

2) 試薬

酢酸エチルは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用、メタノール、アセトニトリルは和光純薬工業(株)製 LC/MS 用、その他試薬は、特級品を使用した。

4. 標準溶液

各標準品を 0.5mg/mL になるようにメタノー

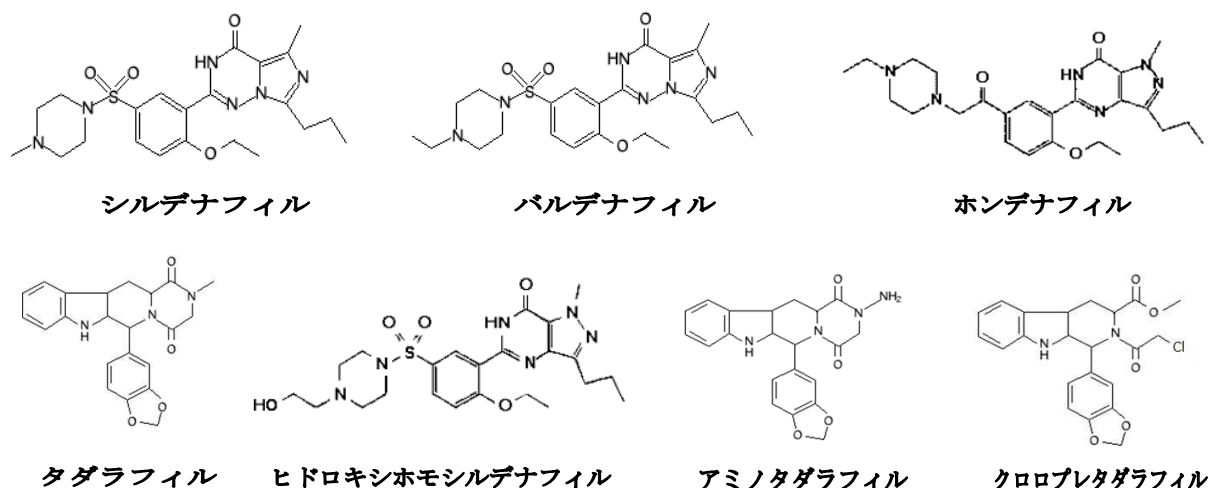


図1 各成分の構造式

ルに溶解して各標準原液を調整した。これらをメタノールで段階的に希釈して使用した。

5. 測定条件

1) 添加濃度, 検量線

添加濃度は, 医薬品として承認されているバルデナフィル, タダラフィルの1回量と健康食品の1回量の重量差を考慮して1gあたり0.025mgとなるように標準溶液を添加した。

検量線は, 添加濃度の試験溶液あたりの0.25 μg/mLを中心として0.05~1 μg/mLの濃度範囲で作成した。

2) 試験溶液の調整法

粉碎した試料 200mg をアンモニア水と酢酸エチルを加えて混和, 遠心分離し, 酢酸エチル層を分取する。溶媒を除去し, 残留物をメタノールに溶かして, 正確に20mLにしたものを試験溶液とした。

3) 装置条件

装置: 高速液体クロマトグラフ質量分析計

LC: 島津製作所製 Prominence

MS: ABSciex 社製 API2000

カラム: Inertsil Ph-3(2.1×150mm, 5 μm)

カラム恒温槽温度: 40℃

流速: 0.2mL/min

移動相 A 液: 5mM ギ酸アンモニウム

移動相 B 液: 50mM ギ酸アンモニウム: アセトニトリル= 1: 9

グラジエント条件(A 液/B 液): 0分(60/40)

- 2分(60/40) - 20分(40/60) - 23分(40/60) -

23.1分(60/40) - 30分(60/40)

イオン化法: ESI positive

イオンスプレー電圧: 0分 (5000V)

- 8.4分 (4500V) - 15.8分 (5000V)

イオン源温度: 450℃

表1 MRM トランジション

成分	Q1/Q3(m/z)	DP(V)	CE(V)
シルデナフィル	475.1/58.2	91.0	83.0
バルデナフィル	489.1/151.1	101.0	61.0
ホンデナフィル	467.2/111.2	76.0	43.0
タダラフィル	390.0/268.0	51.0	21.0
ヒドロキシホモシルデナフィル	505.1/99.1	86.0	57.0
アミノタダラフィル	391.2/269.0	101.0	21.0
クロプロレタダラフィル	427.1/135.1	96.0	29.0

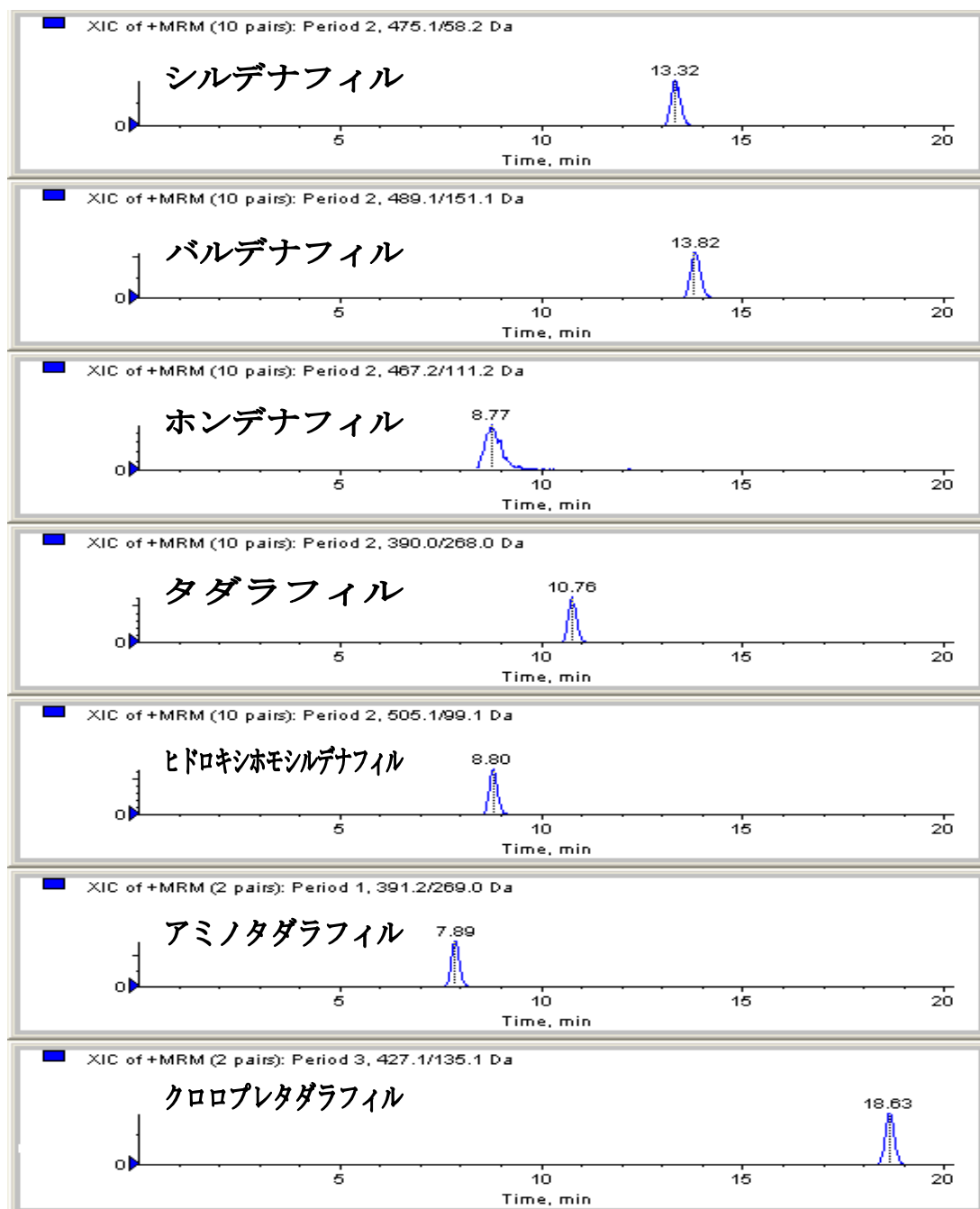


図2 各標準溶液 (1 µg/mL) のクロマトグラム

実験結果

1) 検量線, 検出下限値, 定量下限値

標準溶液を用いて検量線を作成した。その結果 0.05~1 µg/mL の範囲内で相関係数 0.9980 以上と良好な直線性を示した。検出限界, 定量限界はどちらも 0.005mg/g であった。各標準溶液 (1 µg/mL) のクロマトグラムを図2に示した。

2) 添加回収試験

添加回収試験の結果を表2に示した。回収率は全ての成分において 75%以上, 変動係数は 10%以内であった。

表2 添加回収試験結果

成分	回収率(%)	CV(%)
シルденаフィル	93.7	1.62
バルденаフィル	92.1	5.03
ホンденаフィル	86.9	5.39
タダラフィル	108.7	5.16
ヒドロキシホモシルденаフィル	80.9	7.73
アミノタダラフィル	102.5	0.45
クロロプレタダラフィル	79.1	2.50

結論

強壯系と謳う健康食品に違法に含有される医薬品成分(シルденаフィル, バルденаフィル, ホンденаフィル, タダラフィル, ヒドロキシホモシルденаフィル, アミノタダラフィル, クロロプレタダラフィル)について, LC/MS/MSによる一斉分析法について検討した結果, 医薬品成分7種を同時に分析することが可能となった。

多成分を同時に分析できることで, 強壯系と謳う健康食品に違法に含有する医薬品成分についての健康被害発生時や違反発見時における迅速な対応が可能となった。

文献

- 1) 厚生労働省 健康被害情報・無承認無許可医薬品情報

第 5 章 学会発表要旨・抄録

2012年度に発生した腸管出血性大腸菌感染症 O121 の集団感染事例

茨城県衛生研究所 細菌部

○和田 千里, 川又 祐子, 山本 和則, 高木 英,
笠井 潔 (現 県西食肉衛生検査所)

【はじめに】

茨城県で発生する腸管出血性大腸菌感染症は多くの場合 O157 の散発事例で、年間およそ 40～50 株ほどの菌株が分離されている。しかし、2012 年度は O121:H19 の報告が 7 事例、合計 20 株あり、うち 2 事例の集団感染が確認されたので報告する。

【集団感染事例の概要】

第 1 事例：2012 年 7 月 29 日 KS 市に在住する 3 歳男児が泥状便の症状で近医（診療所）を受診するも、腸炎と診断され帰宅。夕方になり、血便と粘液便のため T 総合病院救急外来を受診した。8 月 1 日に検便を実施し、8 月 6 日に腸管出血性大腸菌 O121, VT2 (+) が検出され、管轄保健所に届け出があった。同日、管轄保健所は患者家族の調査並びに検便を実施し、8 月 9 日全員の陰性を確認した。また、8 月 10 日に患者の通う保育園の調査並びに接触者の検便を実施したところ、8 月 14 日から 18 日にかけて園児 4 名から腸管出血性大腸菌 O121 を検出した。園児らは腹痛、軟便や下痢の症状を有したが、重篤な症状を呈したものはいなかった。

第 2 事例：第 1 事例が終息した後、8 月 28 日 I 市に在住する 11 ヶ月女児から腸管出血性大腸菌 O121, VT2 (+) を検出したと病院管轄の保健所に届け出があった。患者住所地保健所により患者家族の調査並びに検便を実施し、家族 4 名から腸管出血性大腸菌 O121 が検出された。さらに患者および姉 (O121 陽性) の通う保育園の調査並びに接触者の検便を実施したところ、園児 2 名とその家族 1 名の感染が確認された。

【材料・方法】

2012 年 6 月から 9 月に集中して発生した腸管出血性大腸菌 O121 感染症 7 事例から分離された 20 株 (全て O121:H19 VT2 (+)) に対し、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を実施した。制限酵素: *Xba* I, マーカー: *Salmonella* Braenderup H9812 を用い、泳動条件はパルスネット研究班 (感染研 New Protocol) に準拠した。

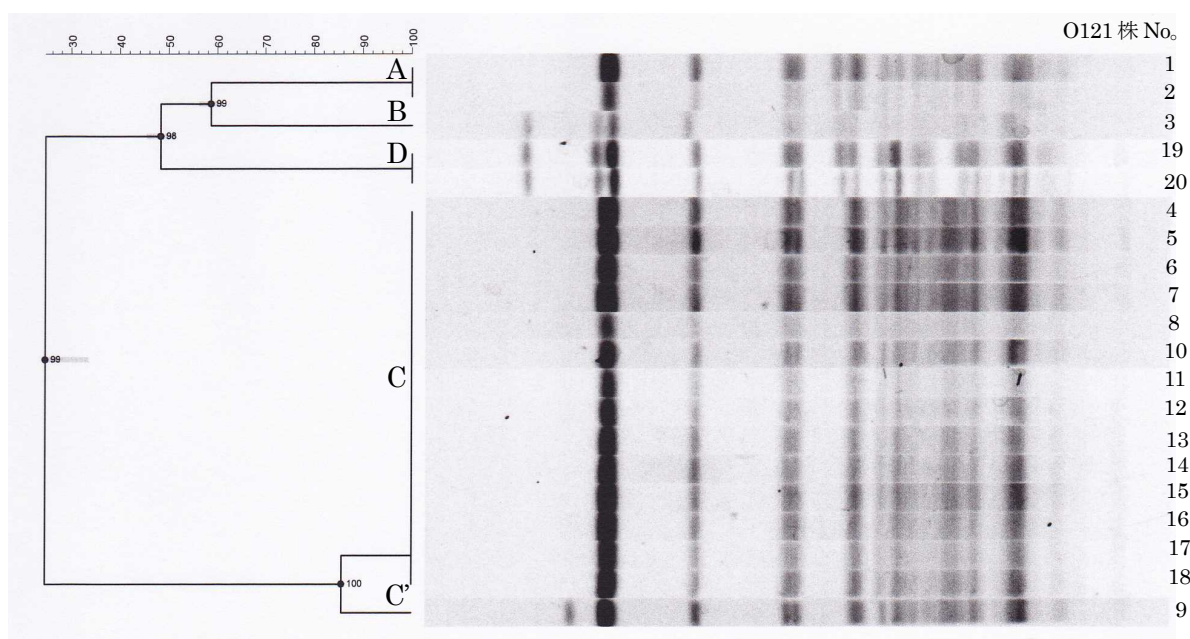
【結果と考察】

PFGE の結果、A~D の 4 パターンに分類された (表, 図)。6 月に発生した事例 I, II および 9 月に発生した事例 VII の 3 つの散発事例由来株はそれぞれ別の泳動パターンを示した (表, 図)。また、8 月に発生した散発事例 III, IV と、集団感染した事例 V, VI 由来株の泳動パターンは一致した (表, 図)。

同一の泳動パターンを示す O121 株が短期間内に発生した別の事例から分離されたことにより、同一の感染源が存在する可能性が示唆された。しかし、聞き取り調査などの疫学調査の結果、事例間での患者の共通点や共通食を見いだすには至らなかった。

表：菌株の情報および PFGE 結果

事例No.	O121株 No.	発生日	患者等の住所	症状等	PFGE結果	備考
I	1	6月15日	N市	無症状	A	} 家族a
	2	6月12日	N市	無症状	A	
II	3	6月25日	H市	下痢、血便	B	
III	4	8月1日	O市	腹痛、下痢、血便	C	
IV	5	8月7日	H市	腹痛、下痢	C	
V	6	8月6日	KS市	腹痛、下痢、血便	C	} 保育園a
	7	8月14日	KS市	腹痛、軟便	C	
	8	8月18日	T市	無症状	C	
	9	8月18日	KM市	腹痛、発熱、下痢	C'	
	10	8月18日	R市	発熱、下痢	C	
VI	11	8月28日	I市	下痢、血便	C	} 保育園b
	12	8月31日	I市	無症状	C	
	13	8月31日	I市	無症状	C	} 家族b
	14	8月31日	I市	無症状	C	
	15	8月31日	I市	下痢	C	} 保育園b
	16	9月5日	I市	無症状	C	
	17	9月9日	I市	無症状	C	} 家族c
	18	9月6日	I市	無症状	C	
VII	19	9月20日	KG市	腹痛、軟便	D	} 家族d
	20	9月20日	KG市	無症状	D	



図：PFGE 解析の結果

A~D：4つの泳動パターンをそれぞれA~Dとした。

C'：菌株9はパターンCとバンドが1本異なっていたためパターンC'とした。

茨城県において検出された A 群ロタウイルスの遺伝子型別結果

○本谷 匠¹⁾ 渡邊 美樹¹⁾ 土井 育子¹⁾
増子 京子²⁾ 原 孝³⁾

1)茨城県衛研 2)水戸保健所 3)退職

1. 背景

我が国のロタウイルス検出例はほとんどが A 群ロタウイルスであるが、全国的にも遺伝子型別が積極的に調べられていないことや、ロタウイルスワクチンの流通が開始されたことから、その状況を把握することは重要となっている。

今回、2009 年度から 2012 年度までの 4 年間に当所において検出された A 群ロタウイルスについて、抗原性を担う VP7 及び VP4 遺伝子を解析し、遺伝子型別を調べたので報告する。

2. 材料及び方法

2009 年 4 月から 2013 年 3 月までに行政検査のために採取され、茨城県衛生研究所において A 群ロタウイルスと同定された糞便 71 検体を供使した。

糞便検体を PBS(-)で 10%乳剤に調整し、10,000rpm, 20 分間遠心分離した上清を抽出キットで抽出し、逆転写反応を行い、c-DNA を作成した。型別を把握するために、VP7 領域および VP4 領域で PCR 産物のサイズから遺伝子型を決定する方法および増幅産物をダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、ClustalW 解析を実施する方法を併用した。

3. 結果

検出時期のピークは 4 月にあった。検出された遺伝型は G1P[8]が 41 検体、G2P[4]が 7 検体、G3P[8]が 19 検体、G9P[8]が 4 検体であった。検出された施設については保育園が 16 ヶ所、小学校が 3 ヶ所、老人ホームおよび養護学校が各 1 ヶ所、入院事例などを含む散発例が 6 ヶ所であった。茨城県では平成 24 年度から小児科定点で検出されたロタウイルスの遺伝子型別を調べているが、2012-2013 シーズンは G1P[8]が 12 検体、G2P[4]が 1 検体であった。

4. 考察

検査結果から、茨城県における A 群ロタウイルスによる感染性胃腸炎の半数は G1P[8]によるものであると考えられる。G2P[4]も 2010-2011 シーズン以降、毎シーズン検出されているが、G1P[8]と比較するとその数は少ない傾向にある。また、そのほかの遺伝子型の流行には波があることが推察され、全体の 90%以上が小児の関与する施設であり、ロタウイルスが小児で流行・重症化しやすいことが伺えた。また、小児科定点の結果から、2012-2013 シーズンの流行は、G1P[8]が主流であることが推察された。

ロタウイルスワクチンは販売が開始されてからまだ日が浅く、一般的に浸透していないが、今後ワクチンが浸透していけばロタウイルスの重症事例及び流行が減少する可能性、遺伝子型が大きく推移していく可能性が推察されるため、今後も調査を継続したいと考えている。

(平成 25 年度関東・東京合同地区獣医師大会(渋川市))

茨城県における風疹検査について

茨城県衛生研究所

○渡邊美樹 土井育子 本谷匠 小森はるみ 永田紀子 氣田利正

【はじめに】

昨年夏以降風疹が全国的に大流行し、今年本県においても昨年の約6倍の届出数（7月末現在、117名）である。届出数の約7割は検査診断、3割が臨床診断となっている。また、本県で2010年度から実施している麻疹の全数検査の検体から風疹が検出されている症例があること等から、風疹についても2013年5月から臨床診断例にあつては、可能な限り当所で遺伝子検査を実施する体制を整備した。今回は2012年7月から2013年7月末までの風疹検査状況を報告する。

【材料と方法】

2012年7月から2013年7月末までに風疹疑い例または臨床診断例で搬入された検体について遺伝子検査を実施した。病原体検出マニュアルの風疹（第二版）に従い、E1蛋白質領域およびNS領域について遺伝子検査を実施し、E1蛋白質領域陽性検体については、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、相同性解析および系統樹解析を行った。

【結果】

26症例のうち8症例で遺伝子検査陽性となり、18症例は陰性であった。風疹陽性者は10代女性が3例、1歳男児、30代および40代男性、20代および50代女性が各1例であった。ワクチン接種歴は10代女性1名のみ接種歴が有るが、残りの7名は無しまたは不明であった。風疹陽性検体は、咽頭ぬぐい液8検体、血液6検体の計14検体であり、咽頭ぬぐい液は全ての陽性症例から検出された。また、14検体中13検体は発疹出現後3日以内に採取された検体であり、残る1検体も1週間以内の採取であった。

一方、風疹陰性の18症例は咽頭ぬぐい液が16検体、血液が18検体であった。発疹出現後3日以内に検体が採取されたのは14症例25検体、4日から7日以内に検体が採取されたのは3症例7検体であり、検体採取時期としては多くが適切であった。

陽性症例について遺伝子解析を実施したところ、8症例全てが遺伝子型1Eに分類された。1Eは2012年に関西地域からの報告が多く、2013年には関東や東海地域での報告が増加している。

【考察】

26症例（風疹疑い例または臨床診断例）のうち陽性は8症例（31%）であったことから、風疹についても全数検査診断が必要であると思われる。また、全ての陽性症例で咽頭ぬぐい液からウイルスが検出されており、検体としては咽頭ぬぐい液が一番適切と思われる。

風疹の全数検査診断を実施することは、繁雑な一方誤った風疹の罹患歴の防止のみならず、適切なワクチン接種勧奨にもつながり、非常に有効と考えられる。

平成25年度 地方衛生研究所全国協議会 第28回関東甲信静支部ウイルス研究部会（千葉市）

茨城県衛生研究所年報 第52号

平成26年12月発行
編集兼発行 茨城県衛生研究所
水戸市笠原町993-2
電話 029-241-6652
FAX 029-243-9550