

報 告 書 等

フルオランテンの分析法

吉岡敏行

平成22年度化学物質分析法開発調査報告書（環境省環境安全課），148-174，2011

水質試料中のフルオランテンの分析法を開発した。水質試料1Lをヘキサン抽出し，シリカゲルカートリッジカラムでクリーンアップし，GC/MS-SIMで定量した。本法により

水質試料中のフルオランテンを0.18ng/Lで定量可能であった。

オキサミル，フルフェノクスロン，フルアジナムの分析法

浦山豊弘，前田大輔，劔持堅志

平成22年度化学物質分析法開発調査報告書（環境省環境安全課），558-576，2011

水質試料中のオキサミル，フルフェノクスロン，フルアジナムの分析法を開発した。水質試料100mLをpH2に調整し，固相カートリッジカラムで抽出し，アセトニトリルで溶出した後，LC/MS/MS-SRMで定量した。本法により

水質試料中のオキサミル，フルフェノクスロン，フルアジナムをそれぞれ4.4ng/L，2.4ng/L，1.3ng/Lで定量可能であった。

「リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究」 総括研究報告書

岸本壽男

リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)
平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 1-13, 2012

抄録

本研究では、リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症に対して総合的対策を実施することを目指している。具体的には、疫学的研究、臨床的研究、検査・診断的研究、基礎的研究、予防・啓発的研究の5本柱をたてて、総合的に有機的に進めてきた。3年目は(1)疫学的研究としては、リケッチア症に関する疫学の実態解明を、患者、ベクター、病原体、動物の分野でさらに進めた。(2)臨床的研究としては、多医療施設での症例解析をもとにした臨床像や重症化の病態解析、将来の治療指針等の作成や有効薬剤の保険適応に向けた治療のエビデンス蓄積を行った。(3)検

査・診断的研究としては、リケッチア症の診断とレファレンス体制構築における課題の改善に努めた。(4)基礎的研究としては、発症や重症化、複数のダニ媒介性細菌の共感染等のメカニズム解析や、細胞レベルでの宿主の免疫応答。またゲノム情報の応用等をした治療薬のメカニズム解析と新たな治療法の開発を検討した。(5)予防・啓発的研究としては、疫学情報の医療関係者、行政、メディア、一般社会への適切な情報提供と、啓発による感染予防を目指し、HPを作成・公開した。

Q熱コクシエラの生態系における感染リスク評価に関する研究

岸本壽男, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 溝口嘉範, 中嶋 洋, 藤井理津志 他

ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究

(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 11-16, 2012

抄録

本邦におけるQ熱は4類感染症として重要であるが、不明な点が多く、感染経路や実態の解明はほとんどなされていない。特に、*Coxiella burnetii*の生態系での存在様式については全く不明であるため、家畜を含む動物並びに環境、ヒトでの実態について調査を行い、国内における本病原体の存在様式を明らかにすることを目的とした。すなわち①ヒト、ペット、家畜、野生動物、環境におけるQ熱コクシエラ感染の実態調査。②国内における本病原体の存在様式、感染源、感染経路の解明。③過去の疫学データとの比較検証と現在の感染リスクの評価。これまでにヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシを対象に疫学調査を実施している。本年度は、昨年を引き続き、

全国の食用ウシ125頭の全血から抽出したDNAを用いて realtime PCRで遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。追加調査として、平成20年度の調査で未実施であった、ネコ1762頭の全血から同様に遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。また、ベクターと考えられているマダニについて、岡山県全域で捕獲した622個体から遺伝子検出を試みたが、全て陰性であった。これまでの調査で、ヒト、ペットとしてのイヌ、ネコ、家畜としてのウシについては、感染リスクが低いことが明らかとなってきたが、本邦における野生動物への侵淫実体や、ベクターと考えられているマダニ種など、不明な点が多く存在しており、今後の課題である。

食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究 (平成23年度)

中嶋 洋, 大島律子, 石井 学 他

食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究

(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・研究分担報告書及び

平成21～23年度厚生労働科学研究費補助金 総合研究報告書, 87-99, 2012

研究要旨

中四国ブロックでは、平成23年度にパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE法) およびIS-printing System による腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157菌株の精度管理を実施した。ほとんどの施設は、両法による解析結果がほぼ一致し良好であったが、一部施設では、PFGEおよびIS-printing Systemの泳動像が不明瞭であった。精度管理は、事例対応において正確で安定した結果を得るために、今後も継続して実施することが必要である。各県で発生した事

例に分子疫学手法を応用し、IS-printing Systemの解析結果およびPFGE型を含む疫学情報を中四国ブロックの各施設が共有して、中四国地域の発生状況を把握できるよう試みた。本年度は、メールにより情報を回収したのち、それらをまとめてブロック内の各施設に還元した。発生事例をタイムリーに把握するためには、将来的にデータベースによる疫学情報の管理と、それへの個別のアクセスを可能にすることが必要である。

食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究（平成21～23年度）

中嶋 洋, 大島律子, 石井 学 他

食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究

（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・研究分担報告書及び

平成21～23年度厚生労働科学研究費補助金 総合研究報告書, 277-297, 2012

研究要旨

平成21年度は、前年度まで検討してきたIS-printing Systemによる検査法を用いて、中四国地域で分離された腸管出血性大腸菌O157株について迅速な疫学解析を行い、感染予防や感染拡大防止に役立てた。同時に、パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による型別結果やMultiple-locus variable-number tandem repeat analysis（MLVA）法を用いた疫学解析結果とも比較を行った。これらの結果から、IS-printing Systemにより、疫学情報と一致した迅速な疫学解析を行うことが出来た。また、マイクロチップ電気泳動装置を使用したIS-printing Systemの迅速化やMLVA法への応用を検討した結果、IS-printing Systemでの使用は今後さらに検討が必要であり、MLVA法においては現状では、同一施設内での解析に限定すれば使用可能であることが示された。平成22～23年度は、PFGE法およびIS-printing Systemによる腸管出血性大腸菌O157菌株の精度管理と、各県で発生した事例においてこ

れらの分子疫学手法を応用して解析し、その有用性を評価した。精度管理では、各施設とも両方法によりほぼ同様の結果を示し、おおよそ良好であった。IS-printing Systemは、簡単・迅速な疫学解析ツールとして有用性が確認され、特殊な機器も不要なことから、応用の場が広がるものと考えられる。精度管理は、事例対応において正確で安定した結果を得るために、今後も継続して実施することが必要である。各県で発生した事例に分子疫学手法を応用し、IS-printing Systemの解析結果およびPFGE型を含む疫学情報を中四国ブロックの各施設が共有して、中四国地域の発生状況を把握できるよう試みた。将来的にデータベースによる疫学情報の管理と、それへの個別のアクセスを可能にすることが必要である。一部の県で検討しているシーケンサーを用いたMLVA法については、特別な機器が必要であるため、今後機器等の整備ができた県を加えながら、順次検討していく予定である。

感染源不明クラスターに関連した環境，菌株調査について（平成23年度）

中嶋 洋

公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究
（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書，165-170，2012

研究要旨

岡山県内のレジオネラ症散発患者から分離された *L.pneumophila* のうち，血清群 3 の株は 2008 年～2011 年までに 7 株あり，これらすべての株が sequence-based typing (SBT) 法による型別の結果，sequence type (ST) 93 に型別された。このことから，7 名の患者は同一の感染源，あるいは環境中に分布している同一 ST の株から感染した可能性が示唆された。そこで，その感染源を究明するため，平成 23 年度は浴槽水等 49 検体を調査して，レジオネラを分離した。また，保健所の調査で分離されたレジオネラ

菌株を収集した。これらの菌株と患者株を用いて分子疫学的解析を行った結果，パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法を用いた分子疫学解析でも，患者由来の 7 株は同じ PFGE パターンを示した。一方，浴槽水等から分離された *L.pneumophila* 血清群 3 の 11 株は，患者の ST あるいは PFGE パターンと異なっていた。したがって，患者の感染源や感染経路は現状では不明であるが，過去に分離・収集した菌株や，今後多種類の検体についてさらに調査を行い，感染源を究明していく必要がある。

病原性大腸菌血清型と「他の下痢原性大腸菌」の検出報告状況， 2001 年～2011 年 8 月

伊藤健一郎，伊豫田 淳，八柳 潤，甲斐明美，
磯部順子，勢戸和子，中嶋 洋，村上光一

病原微生物検出情報 IASR, Vol.33, 3-4, 2012

病原性大腸菌の分類について見直しを行っており，現在までの病原大腸菌血清型 (EPEC) および「他の下痢原性大腸菌」についてまとめた。2001 年 1 月 1 日～2011 年 8 月

31 日までの病原体検出情報システムへの報告に IASR 掲載の国内情報または速報を加えた。

倉敷市における腸管毒素原性大腸菌O153:H12による集団感染事例

山口紀子, 香川真二, 杉村一彦, 小川芳弘, 中嶋 洋

病原微生物検出情報IASR, Vol.33, 69-70, 2012

2011年9月, 倉敷市内で腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) による感染事例が3事例発生し, これらの事例のすべてからETEC O153:H12 (*STh* 遺伝子陽性) が検出された。3事例は同一菌による感染であることが示唆されたが, 疫学

調査の結果等からは当該菌が検出された食品が共通の感染源である可能性は低く, 感染源, 感染経路の究明には至らなかった。

コリネバクテリウムに関する研究

山本明彦, 中嶋 洋 他

ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 34-43, 2012

今年度, 新たにジフテリア様症状を呈する1名の患者からジフテリア毒素産生性*Corynebacterium ulcerans* (*Culcerans*^{Tox+}) が分離された。患者の環境調査において飼いネコ, イヌ及びヤギから*Corynebacterium*属菌が分離された。

10カ所の地方自治体の動物愛護センターに搬入されたイヌまたはネコの咽頭スワブ等について菌分離調査及び血清ジフテリア抗毒素抗体価測定を実施した結果, 4カ所の愛護センターのネコとイヌ10検体より*Culcerans*^{Tox+}が分離さ

れ, また抗毒素は1カ所2検体が陽性を示した。

今年度までの調査結果では, 野外活動時間の多いイヌやネコは本菌を保菌または本菌に感染している可能性が高い。感染した動物からは動物への菌の伝播がおり, 感染が成立する。感染動物では排菌量が多いために, 免疫力が低下している人はイヌ, ネコからの感染リスクが高いことが考えられる。また, 畜産動物の検体については血清ジフテリア抗毒素価測定を実施した結果, 2検体で陽性を示した。

結膜炎患者からのヒトアデノウイルス56型の分離－岡山県

木田浩司, 濱野雅子, 葛谷光隆, 溝口嘉範, 藤井理津志 他

病原微生物検出情報IASR, Vol.32, No.10, 12-13, 2011

抄録

ヒトアデノウイルス56型 (HAdV-56) は, 2011年 Robinsonらによって新たに提唱された新型HAdVである。2011年2月および3月, 岡山市において流行性角結膜炎

と診断された患者2名 (30歳男性および50歳女性) から HAdV-56を分離したのでその概要を報告した。

山口県における日本紅斑熱初発事例の感染源調査

木田浩司, 岸本壽男, 中本 敦, 溝口嘉範, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志 他

リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 107-111, 2012

抄録

日本紅斑熱は、紅斑熱群リケッチア (spotted fever group rickettsia : SFGR) に属する *Rickettsia japonica* を保有するマダニによって媒介される熱性発疹性疾患である。2010年4月、山口県東部で、県内初めての日本紅斑熱患者が報告された。そこで、患者発生地域における *R. japonica* の感染源を特定することを目的として調査を行った。昨年度、我々は患者の臨床経過と疫学調査の実施について報告したが、今回はその調査の詳細に加え、2011年5月に追加調査した結果について報告する。本調査では、患者居住地含む半径7キロメートルの範囲で4地点を設定し、野ネズミ及びマダニを捕獲した。L929細胞を用い、野ネズミの全血からSFGRの分離を試みた。血清抗体価は、*R. japonica* を含む紅斑熱群リケッチア6種を抗原とした間接蛍光抗体法で測定した。マダニについては、種の同定と同時に、生

存個体の一部について同様に微生物分離を試みた。また、DNAを抽出し、リケッチアの種特異抗原である17kDa領域についてnested PCRによる遺伝子検索を実施した。陽性検体については遺伝子配列を決定し、系統解析を実施した。その結果、患者宅周辺で捕獲したアカネズミ2頭の微生物分離は全て陰性であった。*R. japonica* に対する血清抗体価は、それぞれ320倍及び1280倍と高かった。しかし、6種のリケッチアに対する抗体価の違いは無かった。捕獲したマダニ492匹のうち、検査に供した215匹における微生物分離は全て陰性であったが、PCRについては2地点で捕獲されたキチマダニ4匹が陽性であった。4匹から検出されたりケッチア遺伝子17kDa領域394塩基の相同性は100%であった。系統解析の結果、SFGRであると考えられたが、既知種ではなかった。

ふき取り検体のノロウイルス検査法の改良

溝口嘉範, 木田浩司, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志, 岸本壽男, 安原広己, 上間 匡, 野田 衛

病原微生物検出情報IASR, Vol.32, 358-359, 2011

ノロウイルスによる食中毒の原因究明の一助としてふき取り検査が有用であるため、ふき取り検査法の検討を行った。その結果、カット綿で対象区画をふき取ってウイルスを回収し、その回収液にBeef extractを0.5%になるよう添加してポリエチレングリコール (PEG) によるウイルス濃

縮を行うことで、通常実施されている綿棒によるふき取り検査と比較して高感度なふき取り検査が実施できた。操作的にも簡便であり、またコストも安価であることから、現場でのふき取り検査に利用できると考えられる。

腸管出血性大腸菌感染症O157のアトリビューション算出の検討

八幡裕一郎, 春日文字, 岩渕香織, 戸来小太郎, 大島直子, 竹ヶ原陽一, 松下 愛,
槌田浩明, 溝口嘉範, 小宮 智

食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究
(食品の安全確保推進研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 21-47, 2012

欧米では腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症対策に Attributable risk percent (アトリビューション) を算出し, 対策を行なっている。しかし, 我が国ではアトリビューションを用いたEHEC感染症対策は行われていないため, アトリビューション調査実施の試みと, 適応についての検討を行った。協力の得られた自治体から散发事例のEHEC O157患者の症例の調査とインターネットによる対照群調査を実施した。対照群は年齢および居住地をマッチングさせ, 男女それぞれ10人以上インターネット調査登録されている場合はランダムに10人ずつ抽出し, 10人に満たない場合は全員に調査を実施した。調査内容は環境との接触および食品の喫食とした。解析はConditional logistic regression analysisを実施した。有意な粗のオッズ比 (cOR) は (cOR=0.292, 95% CI: 0.101-0.840), 十分に加熱した豚肉 (cOR=0.310, 95% CI: 0.136-0.709), 十

分に加熱した鶏肉 (cOR=0.427, 95% CI: 0.201-0.909), 牛ホルモン (cOR=0.207, 95% CI: 0.070-0.611), 大根 (cOR=3.458, 95% CI: 1.023-11.686), もやし (cOR=0.347, 95% CI: 0.136-0.883), 漬物 (cOR=3.868, 95% CI: 1.422-10.521) の喫食が関連していた。アトリビューションの算出では肉類の喫食 (aOR [調整オッズ比] =11.354, 95% CI: 1.898-67.926) でアトリビューションが8.0%, もやしの喫食 (aOR=11.955, 95% CI: 2.277-62.778) でアトリビューションが1.2%であった。アトリビューションの算出結果, 肉の喫食やもやしの喫食がアトリビューションの高い食品であると考えられた。今後, 対策に利用が期待できると共に, 実施のために最低限の質問項目で最大限の情報収集が出来るよう検討が必要であると考えられる。

岡山県内の野ネズミにおけるリケッチア侵淫調査

中本 敦, 岸本壽男, 木田浩司, 溝口嘉範, 葛谷光隆, 濱野雅子, 藤井理津志 他

リケッチアを中心としたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究
(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

平成23年度厚生労働科学研究費補助金 総括・分担研究報告書, 93-106, 2012

抄録

岡山県における現在のリケッチアの侵淫状況を把握するとともに、日本紅斑熱の発生メカニズム及び伝播様式を明らかにするために、2010年10月～2011年12月に岡山県全域を対象とした小型哺乳類とマダニ類の生息状況調査、採集されたネズミ類の脾臓及びマダニ類からのPCRによるリケッチアの検出、ネズミ類の全血からのリケッチアの分離及びネズミ類の血清抗体価の測定を行った。遺伝子陽性検体については遺伝子配列の決定後、系統解析を実施した。食虫目2種、齧歯目6種、計135個体を捕獲した。優占種はアカネズミで(61.5%)、その生息密度は年2回の繁殖によって大きく変動していた。マダニ属3種、チマダニ属6種の計1783個体が採集された。マダニ類の生息密度には種ごとに異なった季節的な消長が見られた。マダニ類は山地で多く採集された。小型哺乳類とマダニ類から病原

性リケッチアは検出されなかった。5種の紅斑熱群リケッチアに対する抗体陽性率にはネズミ種による違いが見られた。抗体価の中央値はアカネズミで全ての株に対して1280～2560倍、ヒメネズミで*Rickettsia asiatica*に対して320倍と高い値を示した。アカネズミの成獣は亜成獣よりも高い抗体価を示した。アカネズミ個体群の抗体価は繁殖による新規個体の加入により減少した。今回の調査では病原性リケッチアは検出できなかったが、いくつかのネズミ種は紅斑熱群リケッチアに対する高い抗体価を示した。このことから、岡山県内では広範囲に紅斑熱群リケッチアが侵淫しているが、病原性リケッチアは低い密度で潜在していると思われる。また、アカネズミの生息密度は季節や年によって大きく変動しており、紅斑熱群リケッチアの動態に係わっていると考えられる。