

### 3・4 調査，研究報告抄録

熊本県における日本脳炎ウイルスの活動とヒトの自然感染率に関する研究

原田誠也，西村浩一，清田直子，郷博臣<sup>1)</sup>，大迫英夫<sup>1)\*</sup>，小西英二<sup>2)</sup>，北井陽子<sup>2)</sup>，高崎智彦<sup>3)</sup>，小滝徹<sup>3)</sup>，林昌宏<sup>3)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防対策に関する研究」

（平成 22 年度 総括・分担研究報告書）

熊本県における日本脳炎ウイルス（JEV）の活動状況を把握するため，2010 年にブタ血清からの JEV 分離，ブタ血清中 HI 抗体価，リアルタイム PCR 法による冬場のブタ血清中の JEV 遺伝子，中和抗体と NS1 抗体保有率から算定した年間自然感染率を調査した。また，中和抗体測定法として，50% プラーク減少法と 50% フォーカス減少法を比較した結果，フォーカス法の抗体価の方が多少低い傾向が見られたものの，両者は強い正の相関を示した。よって，フォーカス法は迅速簡便法として有効であろうと思われた。

<sup>1)</sup>熊本県食肉衛生検査所，<sup>1)\*</sup>熊本県食肉衛生検査所(現熊本県保健環境科学研究所)，

<sup>2)</sup>神戸大学大学院 保健学研究科，<sup>3)</sup>国立感染症研究所 ウイルス第一部

ヒト血清中の日本脳炎ウイルス NS1 抗体を測定する ELISA 法：プロトコルの作成と地方衛生研究所への技術移転

小西英二<sup>1)</sup>，原田誠也，西村浩一，青山幾子<sup>2)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防対策に関する研究」

（平成 22 年度 総括・分担研究報告書）

ヒトにおける日本脳炎ウイルス（JEV）自然感染率を求めるため，ヒト血清中の JEV NS1 抗体を測定する ELISA 法を確立し，NS1 抗体陽性率から求められる年間自然感染率が中和抗体陽性率から求められる年間自然感染率とほぼ同等であることを示した。本年度は，この ELISA 法の技術を地方衛生研究所に移転するための検討を行った。本技術には必要試薬（抗原や抗体）の調製を含む付随技術が必要となるが，移転には ELISA 法のみが適すると考えられた。

<sup>1)</sup>神戸大学大学院，<sup>2)</sup>大阪府立公衆衛生研究所

熊本県における日本脳炎ウイルスの活動とヒトの自然感染率に関する研究

原田誠也，西村浩一，清田直子，郷博臣<sup>1)</sup>，大迫英夫<sup>1)\*</sup>，小西英二<sup>2)</sup>，北井陽子<sup>2)</sup>，高崎智彦<sup>3)</sup>，小滝徹<sup>3)</sup>，林昌宏<sup>3)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防対策に関する研究」

（平成 20 年度～平成 22 年度 総合研究報告書）

熊本県における日本脳炎ウイルス（JEV）の活動状況を把握するため，2008 年度～2010 年度の 3 年間，JEV 調査を強化した。その結果，JEV の活動はブタの飼育地域によって異なっており，時宜を得た JE 注意報を発令するためには，検査対象を JEV 高活動地域のブタに限定し，かつ発令基準を 2 ME 感受性抗体検出時点等に変更する必要性が感じられた。さらに，この 3 年間に 11 株の遺伝子型 JEV が分離された。また，中和抗体保有率と NS1 抗体保有率から算定した 2004 年度～2010 年度の年間自然感染率は 2.2% と 1.5% であった。熊本県では，まだ JEV 自然感染の可能性があり，ワクチン接種の必要性が示唆された。

<sup>1)</sup>熊本県食肉衛生検査所，<sup>1)\*</sup>熊本県食肉衛生検査所(現熊本県保健環境科学研究所)，

<sup>2)</sup>神戸大学大学院 保健学研究科，<sup>3)</sup>国立感染症研究所 ウイルス第一部

ヒト血清中の日本脳炎ウイルス NS1 抗体を測定する ELISA 法

小西英二<sup>1)</sup>, 原田誠也, 西村浩一, 田部井由紀子<sup>2)</sup>, 青山幾子<sup>3)</sup>

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

「我が国における日本脳炎の現状と今後の予防対策に関する研究」

(平成 20 年度～平成 22 年度 総合研究報告書)

ヒトにおける日本脳炎ウイルス(JEV)自然感染率の調査は、JEV の自然界における活動状況の把握及び今後の予防戦略に重要である。本研究における初年度は、ヒト血清中の NS1 を測定する ELISA 法の基礎的条件を確立して評価した。2 年目はこの第一バージョンの改良を行うとともに、NS1 抗体陽性率から求めた年間自然感染率が中和抗体陽性率から求められる年間自然感染率とほぼ同等であることを示した。最終年度は、この ELISA 技術を地方衛生研究所に移転するためのプロトコルを作成して評価した。

<sup>1)</sup>神戸大学大学院 保健学研究科,<sup>2)</sup>東京都健康安全研究センター,<sup>3)</sup>大阪府立公衆衛生研究所

レプトスピラ症のサーベイランスとリスク管理に関する研究

小泉信夫<sup>1)</sup>, 武藤麻紀<sup>1)</sup>, 大西真<sup>1)</sup>, 赤地重宏<sup>2)</sup>, 濱崎光宏<sup>3)</sup>, 堀川和美<sup>3)</sup>, 松本一俊\*, 原田誠也, 岡野祥<sup>4)</sup>, 平良勝也<sup>4)</sup>, 山本正悟<sup>5)</sup>, 谷川力<sup>6)</sup>, 春成常仁<sup>6)</sup>, 小松謙之<sup>7)</sup>, 宗村佳子<sup>8)</sup>

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

「動物由来感染症のリスク分析等手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究」

(平成 22 年度 総括・分担研究報告書)

イヌのレプトスピラ症の発生実態を明らかにするため、10 県で検査定点サーベイランスを行い、すべての県でレプトスピラ感染のイヌが認められた。福岡、熊本、宮崎および鹿児島県のイヌの血液からレプトスピラが分離され、flaB 遺伝子の部分塩基配列から分離株はすべて *L. interrogans* と推定された。分離株の血清群は Australis, Autumnalis, Hebdomadis であった。また、これまで国内で報告された血清群に対する抗血清のいずれとも反応がみられないレプトスピラが、鹿児島県で分離された。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 細菌第一部,<sup>2)</sup>三重県保健環境研究所,<sup>3)</sup>福岡県保健環境研究所,<sup>4)</sup>沖縄県衛生環境研究所,<sup>5)</sup>宮崎県衛生環境研究所,<sup>6)</sup>イカリ消毒技術研究所,<sup>7)</sup>シー・アイ・シー,<sup>8)</sup>東京都動物愛護相談センター城南島出張所,\*現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

獣医師に対するイヌのレプトスピラ症 KAP 調査

小泉信夫<sup>1)</sup>, 武藤麻紀<sup>1)</sup>, 鈴木智之<sup>2)</sup>, 土橋西紀<sup>3)</sup>, 大山卓昭<sup>3)</sup>, 坂本晃子<sup>4)</sup>, 船津丸貞幸<sup>4)</sup>\*, 松本一俊\*, 八尋俊輔\*\*\*, 原田誠也, 岡野祥<sup>5)</sup>, 平良勝也<sup>5)</sup>, 中村正治<sup>5)</sup>\*, 森田幸雄<sup>6)</sup>

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

「動物由来感染症のリスク分析等手法等に基づくリスク管理のあり方に関する研究」

(平成 22 年度 総括・分担研究報告書)

各地域の獣医師のレプトスピラ症に関する知識の保有状況・診断状況の把握、サーベイランス方法等における改善点の特定を目的として KAP 調査を実施した。獣医師の知識保有率は概して高いが、自治体や地域と知識保有状況が関連する項目が特定された。また、本症に対する診断・検査・流行状況等に関する態度は前向きであるが、検査体制の整備が不十分であることなどがサーベイランスの質の低下を招く可能性があると考えられた。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 細菌第一部,<sup>2)</sup>群馬県衛生環境研究所,<sup>3)</sup>国立感染症研究所感染症情報センター,<sup>4)</sup>佐賀県衛生薬業センター,<sup>4)</sup>\*佐賀県食肉衛生検査所,<sup>5)</sup>沖縄県衛生環境研究所,<sup>5)</sup>\*沖縄県中央食肉衛生検査所,<sup>6)</sup>東京家政大学家政学部,\*現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部,\*\*熊本県健康福祉部健康危機管理課

#### サポウイルスの分子疫学的解析手法の確立

岡智一郎<sup>1)</sup>、吉澄志磨<sup>2)</sup>、石田勢津子<sup>2)</sup>、斎藤博之<sup>3)</sup>、植木洋<sup>4)</sup>、岡田峰幸<sup>5)</sup>、林志直<sup>6)</sup>、森功次<sup>6)</sup>、吉田徹也<sup>7)</sup>、入谷展弘<sup>8)</sup>、山下育孝<sup>9)</sup>、飯塚節子<sup>10)</sup>、原田誠也、岩切章<sup>11)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「食品由来感染症調査における分子疫学的手法に関する研究」

（平成22年度 総括・研究分担報告書）

高精度なサポウイルス (Sapovirus; SaV)核酸検出系の確立にともない、SaV が急性胃腸炎患の重要な病原因子であること、SaV の構造タンパク質コード領域の塩基配列が極めて多様であることが明らかになってきた。本研究では SaV の遺伝子タイピング法確立を目指し、国内で検出された SaV のうち、従来報告されている SaV 株と遺伝的クラスターが異なると考えられる株を含めた合計 21 株を選択し、構造タンパク質全長領域の塩基配列の決定を行った。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 ウイルス第2部、<sup>2)</sup>北海道立衛生研究所、<sup>3)</sup>秋田県健康環境センター、<sup>4)</sup>宮城県保健環境センター、<sup>5)</sup>千葉県衛生研究所、<sup>6)</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>7)</sup>長野県環境保全研究所、<sup>8)</sup>大阪市立環境科学研究所、<sup>9)</sup>愛媛県立衛生環境研究所、<sup>10)</sup>島根県保健環境科学研究所、<sup>11)</sup>宮崎県衛生環境研究所(現宮崎県日向食肉衛生検査所)

#### パキキュロウイルスタンパク質発現系を用いたサポウイルス様中空粒子の作成

岡智一郎<sup>1)</sup>、李天成<sup>1)</sup>、片山和彦<sup>1)</sup>、北元憲利<sup>2)</sup>、田中智之<sup>3)</sup>、原田誠也、飯塚節子<sup>4)</sup>、岩切章<sup>5)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」

（平成22年度 総括・研究分担報告書）

近年、急性胃腸炎の原因ウイルスとしてクローズアップされてきたサポウイルスは、いまだに培養細胞での増殖ができない。ウイルス様中空粒子を用いた我々の研究により、サポウイルスはノロウイルスと同様、多様な抗原性を有することが明らかになってきた。実用的なサポウイルス抗原検出系の開発および性能評価のためには、網羅的な抗原パネルの作成が鍵になる。そこで、本研究では、パキキュロウイルスタンパク質発現系を用いて新たなサポウイルス株についてウイルス様中空粒子の作成を試みた。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 ウイルス第2部、<sup>2)</sup>兵庫県立大学、<sup>3)</sup>堺市衛生研究、<sup>4)</sup>島根県保健環境科学研究所、<sup>5)</sup>宮崎県衛生環境研究所(現宮崎県日向食肉衛生検査所)

#### ブタ、シカ及びイノシシのE型肝炎ウイルス保有状況調査

原田誠也、西村浩一

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）

「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」

（平成22年度 総括・研究分担報告書）

ブタ、イノシシ及びシカ肉のE型肝炎ウイルス保有状況調査を行った。その結果、ブタ626頭のうち2頭からE型肝炎ウイルス遺伝子が検出された。また、イノシシの9.4%がE型肝炎ウイルスに感染していたが、シカの感染は確認できなかった。ブタ及びイノシシ肉からのE型肝炎感染防止のためには、十分な加熱調理はもちろんであるが、調理時の二次汚染の可能性もあることから他の食品との調理器具（包丁、まな板等）の共用を避けることも大切である。

#### 生鮮獣肉中の危害因子に関する研究

鎌田洋一<sup>1)</sup>、渡辺麻衣子<sup>1)</sup>、入倉大祐<sup>1)</sup>、斉藤守弘<sup>2)</sup>、田中成幸<sup>2)</sup>、原田誠也、古川真斗

厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）

「生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒に対する食品衛生上の予防対策」

（平成 22 年度 総括・分担研究報告書）

共通食の一つに生食用馬肉が提供されていた食中毒の原因を分析するとともに、その制御を目的に実験を行った。住肉胞子虫 (*Sarcocystis fayeri*) のシストを含んだ馬肉のホモジネートは、ウサギ腸管ループ試験陽性であった。ホモジネートろ液中及びシスト内のプラディゾイトに、蛋白分解酵素で失活する可溶性毒性物質を認めた。シスト含有馬肉を種々の冷凍条件で処理し、安定性を調べた結果、-20 や -30 では 48 時間、-30 急速凍結や -35 では 24 時間、-40 では 18 時間、-60 では 12 時間でプラディゾイトが死滅した。この結果は、冷凍処理により *S. fayeri* の危害を制御できる可能性を示唆している。

<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所

<sup>2)</sup>埼玉県食肉衛生検査センター

#### 九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組み

IS-printing System の精度管理

堀川和美<sup>1)</sup>、麻生嶋七美<sup>2)</sup>、寺西泰司<sup>3)</sup>、西 桂子<sup>4)</sup>、右田雄二<sup>5)</sup>、江原裕子<sup>6)</sup>、松本一俊\*、杉谷和加奈<sup>7)</sup>、緒方喜久代<sup>8)</sup>、吉野修司<sup>9)</sup>、浜田まどか<sup>10)</sup>、久高 潤<sup>11)</sup>、大岡唯祐<sup>12)</sup>、林 哲也<sup>13)</sup>、江藤良樹<sup>1)</sup>、市原祥子<sup>1)</sup>、濱崎光宏<sup>1)</sup>、小野塚大介<sup>1)</sup>、村上光一<sup>1)</sup>、竹中成幸<sup>1)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「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 22 年度総括・分担研究報告書）

ISPS の九州ブロック 12 施設間の精度管理は、4 株の DNA を参加施設に配布し、各施設で得られた ISPS 解析結果について検討した。その結果、精度管理に使用した 4 株の ISPS 型別は、4 施設が期待される結果と異なっていた。原因は、PCR エラー、Extra band による誤判定および単純入力ミスの 3 項目であった。

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所、<sup>2)</sup>福岡市保健環境研究所、<sup>3)</sup>北九州市環境科学研究所、<sup>4)</sup>佐賀県衛生薬業センター、<sup>5)</sup>長崎県環境保健研究センター、<sup>6)</sup>長崎市保健環境試験所、<sup>7)</sup>熊本市環境総合研究所、<sup>8)</sup>大分県衛生環境研究センター、<sup>9)</sup>宮崎県衛生環境研究所、<sup>10)</sup>鹿児島県環境保健センター、<sup>11)</sup>沖縄県衛生環境研究所、<sup>12)</sup>宮崎大学医学部、<sup>13)</sup>宮崎大学フロンティア、\*現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

#### 食水系細菌感染症と環境モニタリングに関する研究

泉谷秀昌<sup>1)</sup>、松本一俊<sup>2)</sup>、森田昌知<sup>1)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法の確立に関する研究」

（平成 22 年度 総括・分担研究報告書）

地球温暖化に伴い細菌感染症のリスクも影響を受ける。温暖化に付随する現象の一つである海水温の上昇は、食水系細菌感染症のリスク変化をもたらすことが予想される。平成 22 年度も、熊本県で採取した海水を用いて、上記細菌感染症に関連したコレラ菌、腸炎ビブリオ、ピブリオ バルニフィカスを含むピブリオ属菌の環境分布調査を行った。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 細菌第一部

<sup>2)</sup>現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

### 食水系細菌感染症と環境モニタリングに関する研究

泉谷秀昌<sup>1)</sup>，八尋俊輔<sup>2)</sup>，松本一俊<sup>3)</sup>，森田昌知<sup>1)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法の確立に関する研究」

（平成 20 - 22 年度 総合研究報告書）

地球温暖化に伴い細菌感染症のリスクも影響を受ける。温暖化に付随する現象の一つである海水温の上昇は，食水系細菌感染症のリスク変化をもたらすことが予想される。本研究では，熊本県で平成 20 年度～22 年の年度に採取した海水を用いて，コレラ菌，腸炎ピブリオ，ピブリオ バルニフィカスを含むピブリオ属菌の環境分布調査を行った。その結果，上記 3 菌種が環境因子によって分布が変化することが示された。また，今回が開発した *aptA*-PCR が上記菌種の同定に有効であることを確認した。

<sup>1)</sup>国立感染症研究所 細菌第一部

<sup>2)</sup>現熊本県健康福祉部健康危機管理課

<sup>3)</sup>現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

### 保育園で発生した 2 種類の腸管出血性大腸菌 O157 による集団感染事例

徳岡英亮，古川真斗，松本一俊<sup>1)</sup>，原田誠也

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

（平成 22 年度総括・分担研究報告書）

2010 年 9 月に熊本県南部の A 保育園において，EHEC O157:H7(O157)による集団感染事例が発生した。園児，職員，O157 陽性者家族及び保存食等 184 検体の検査を行い，初発患者以外に園児と園児家族及び職員を含む 11 人から O157 を検出した。初発園児の VT 型は VT1+VT2 であったが，検査を進めるうちに，VT2 単独保有 O157 も検出された。これらの菌株について IS-printing System によるパターン解析を試みたところ，それぞれの株で同じ IS パターンを示した。このことから今回の集団事例は，2 種類の O157 によるヒト-ヒト感染事例であることが判明した。

<sup>1)</sup>現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

### 九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組み

九州地区で分離された O157 菌株の IS-printing System による比較検討

江藤良樹<sup>1)</sup>，市原祥子<sup>1)</sup>，小野塚大介<sup>1)</sup>，堀川和美<sup>1)</sup>，麻生嶋七美<sup>2)</sup>，寺西泰司<sup>3)</sup>，西 桂子<sup>4)</sup>，右田雄二<sup>5)</sup>，江原裕子<sup>6)</sup>，松本一俊\*，杉谷和加奈<sup>7)</sup>，緒方喜久代<sup>8)</sup>，吉野修司<sup>9)</sup>，浜田まどか<sup>10)</sup>，久高 潤<sup>11)</sup>

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

「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 22 年度総括・分担研究報告書）

九州地区の各地方衛生研究所にて IS-printing system (ISPS) を用いて，遺伝子解析した結果情報をリアルタイムに共有することを目的として，特定のウェブサーバーに共有データベースを設置し，運用を開始した。今年度データベースに登録された ISPS の遺伝子型と，その菌株の分離日などの疫学情報を元に解析し，相互の関連性についての検討を試みた。

<sup>1)</sup>福岡県保健環境研究所，<sup>2)</sup>福岡市保健環境研究所，<sup>3)</sup>北九州市環境科学研究所，<sup>4)</sup>佐賀県衛生薬業センター，<sup>5)</sup>長崎県環境保健研究センター，<sup>6)</sup>長崎市保健環境試験所，<sup>7)</sup>熊本市環境総合研究所，<sup>8)</sup>大分県衛生環境研究センター，<sup>9)</sup>宮崎県衛生環境研究所，<sup>10)</sup>鹿児島県環境保健センター，<sup>11)</sup>沖縄県衛生環境研究所，\*現熊本県菊池地域振興局保健福祉環境部

熊本県における放射能調査

豊永悟史，松本依子<sup>1)</sup>，上野一憲，今村修，北岡宏道

文部科学省：第 52 回環境放射能調査研究成果論文抄録集（平成 21 年度）

文部科学省委託として平成 21 年度に実施した環境放射能水準調査結果について報告した。降水，大気浮遊じん，降下物，降水（蛇口水），土壌，精米，茶，牛乳，野菜（大根及びホウレン草）及び空間放射線量率について調査した結果，環境試料中の放射能及び空間線量率ともに前年度と同程度のレベル内にあり，特に異常値は認められなかった。

<sup>1)</sup>現熊本県環境生活部環境保全課