

微生物保健担当

1 業務の概要

微生物保健担当は主としてヒトの食中毒及び感染症に関わる細菌、ウイルス、原虫・寄生虫等の病原微生物に関する試験・検査、調査・研究業務を行っている。

(1) 行政依頼検査及び調査・研究

食中毒及び感染症発生時における原因微生物、感染経路の解明及び感染拡大防止のための行政検査、ならびに貸しおしぼりや食品衛生法による各種食品の微生物規格試験等を健康福祉局及び関連部局より依頼を受け、実施している。また、食中毒や感染症の予防対策に寄与するために大阪市保健所感染症対策担当及び健康推進部生活衛生担当からの受託研究を実施している。

(2) 感染症発生動向調査事業

国の感染症発生動向調査事業の一環として、感染症発生時に市内医療機関からの検体を検査し、病原体検出情報を保健所に提供している。

(3) 一般依頼試験

食品等の微生物検査、食品取り扱い者等の保菌検査、及び消毒薬などの殺菌効力試験等を実施している。

(4) 行政依頼以外の調査・研究等

文部科学省科学研究費補助金、厚生労働省科学研究費補助金等の助成研究の他、国立感染症研究所、府立公衆衛生研究所をはじめとする地方衛生研究所、大学等との共同研究に参加し、病原微生物の検出法や解析手法の開発、病原性の解明、疾病発生メカニズムの解明等の課題に取り組んでいる。

2 試験・検査業務

(1) 食中毒事例の原因調査

平成19年1月から12月までに食中毒、有症苦情などで当担当に検体が搬入された事件は139事例であった。これらに関連した検体数は、患者及び関係者の検便及び吐物が1,482件、食品、ふきとりなどが892件で、計2,374件であった。139事例のうち66事例(47.5%)において下痢原生微生物が検出された。図

2-2-1に示すように66事例のうちノロウイルスが検出された事件が29事例(43.9%)、カンピロバクターが19事例(28.8%)、サルモネラ属菌が11事例、黄色ぶどう球菌4事例、腸炎ビブリオ2事例、ウエルシュ菌1事例であった。このうち大阪市内における細菌あるいはウイルス性食中毒事件として厚生労働省に届けられた事件数は33件であった。

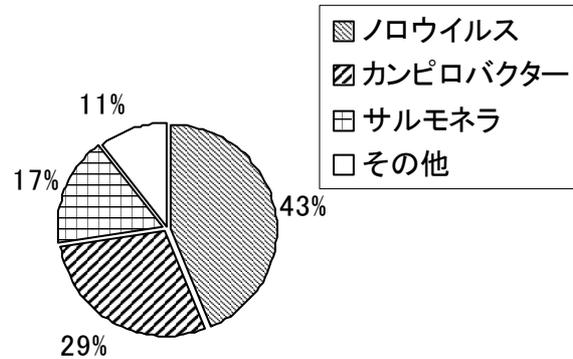


図2-2-1 検出された下痢原生微生物

(2) 三類感染症菌の検査

平成19年に大阪市内で発生した腸管出血性大腸菌感染症は、188件(患者110名、保菌者78名、死者1名)あり、集団事例は3事例あった。医療検査機関及び当担当で分離同定した腸管出血性大腸菌は183株で、血清型はO157が154株、O26が22株、O91が2株、O103が1株、O121が1株、O145が3株であった。発生件数は平成18年(98件)より倍増し、平成12年から3年連続減少後、平成15年から5年連続の増加となった。集団事例発生が件数増加の原因と考え

表2-2-1 平成19年度大阪市内における三類感染症の発生状況

類型	感染症名	発生件数
三類感染症	腸管出血性大腸菌感染症	188 (0) ^{*1}
	細菌性赤痢	10 (10) ^{*2}
	腸チフス	7 (7)
	コレラ	1 (1)
	パラチフス	0

()内は輸入症例。

*1: 分離腸管出血性大腸菌(183株)の血清型別株数
O157:H7; 154株、O26:H11; 22株、
O91:HUT; 2株、O103:HUT; 1株、
O121:HUT; 1株、O145:HUT; 3株

*2: 分離赤痢菌の血清型別株数

S. sonnei phase I; 8株、*S. flexneri* 3a; 1株、
S. flexneri variant Y; 1株

られるが、全国的にも昨年に比べて大きく増加していた。なお、集団事例で1名死者が出た。また、細菌性赤痢10件、腸チフス7件、そしてコレラが1件あった。パラチフスの発生はなかった。赤痢はいずれも散发事例で、すべて輸入例であった。分離赤痢菌の血清型は*S. sonnei*が8株(いずれもphase I)、*S. flexneri*が2株(*S. flexneri* 3a, variant Y)であった。腸チフス7件及びコレラ1件はいずれも輸入事例であった。輸入症例の推定感染地域のほとんどはインド、インドネシア、カンボジアなどの東南アジア地域であったが、ハワイが感染地域と推定された事例が1事例あった。

(3) 衛生行政に関する食品細菌検査

この業務は、健康福祉局健康推進部生活衛生担当からの依頼により、市内保健所管内において収去された試料について、「食品衛生法」に基づいて行われたものである。

検査を実施した食品、件数、検査項目は表2-2-2に

示した。検査を実施した食品のうち、食肉加工品2検体から黄色ブドウ球菌を、1検体からクロストリジウム属菌を、生食用かき3検体から腸炎ビブリオを、8検体からノロウイルスを検出した。

(4) 学校給食用食品に関する業務

学校給食用食品について細菌検査を委託するに当たり、クロスチェックのために以下の54検体について細菌検査を行った。

鶏肉 16 件について、サルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌 O157 の検査を行い、5 検体からサルモネラ属菌を検出した。牛肉 10 件、牛挽肉 7 件、豚肉 7 件、豚挽肉 10 件、豚肉(角) 2 件、豚肉(ヒレ・1口カツ) 1 件及び豚肉(バラ) 1 件について、腸管出血性大腸菌 O157 の検査を行った。また教育委員会の依頼により中学校昼食用弁当 6 件について生菌数、大腸菌群及び黄色ブドウ球菌の検査を行った。

表 2-2-2 検査を実施した食品及び検査項目

食品名	件数	検査項目
牛乳・加工乳	12	生菌数、大腸菌群、低温細菌
乳飲料・乳等を主原料とする食品	6	生菌数、大腸菌群
育児用粉乳	3	生菌数、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、セレウス菌
アイスクリーム類・氷菓	9	生菌数、大腸菌群
ゆでめん	4	生菌数、大腸菌群、黄色ぶどう球菌
生めん等	4	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌
非加熱食肉製品	10	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌、リステリア菌、腸管出血性大腸菌 O157
食肉加工品	8	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌(2 検体陽性)、クロストリジウム属菌(1 検体陽性)、サルモネラ属菌、リステリア菌、腸管出血性大腸菌 O157
特定加熱食肉製品	2	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌、リステリア菌、腸管出血性大腸菌 O157
加熱後包装食肉食品	18	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌
包装後加熱食肉製品	4	生菌数、大腸菌群、黄色ぶどう球菌、クロストリジウム属菌、サルモネラ属菌
液卵・鶏卵・うずら卵	10	生菌数、大腸菌群、黄色ぶどう球菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 O157
生食用魚介類	21	生菌数、腸炎ビブリオ(最確数)、腸管出血性大腸菌 O157
ゆでだこ	1	生菌数、腸炎ビブリオ、腸管出血性大腸菌 O157
発酵乳・乳酸菌飲料	10	乳酸菌数、大腸菌群
魚肉練り製品	20	生菌数、大腸菌群、黄色ぶどう球菌、腸管出血性大腸菌 O157
気密性容器包装食品	3	クロストリジウム属菌
加熱後摂取(直前加熱)冷凍食品	5	生菌数、大腸菌群、黄色ぶどう球菌、腸球菌
加熱後摂取(直前未加熱)冷凍食品	3	生菌数、大腸菌、黄色ぶどう球菌、腸球菌
バター・マーガリン・プロセスチーズ	15	生菌数、大腸菌群
ナチュラルチーズ	8	生菌数、大腸菌群、リステリア菌
生食用かき	24	生菌数、大腸菌最確数、腸炎ビブリオ最確数(3 検体陽性)、腸管出血性大腸菌 O157、ノロウイルス(8 検体陽性)、A型肝炎ウイルス

表2-2-3 学校給食用食品の細菌検査(クロスチェック)

食品名	件数	検査項目	陽性件数
鶏肉	16	腸管出血性大腸菌O157	0
		サルモネラ属菌	5
牛肉	17	腸管出血性大腸菌O157	0
豚肉	21	腸管出血性大腸菌O157	0
計	54		

(5) 貸しおしぼりの衛生基準試験

健康福祉局健康推進部生活衛生担当からの依頼により、市内26ヶ所の施設を対象に10月、2月の2回にわたって計165件について貸しおしぼりの衛生基準に関する試験を行った。1回目(10月)の検査については、7施設32検体が指導基準不適合品であった。1回目の成績に基づいて指導を受けた7施設について2回目(2月)の検査を行い、6施設の製品が適合となったが、1施設4検体が指導基準不適合品であった。

表2-2-4 おしぼりの細菌検査

	一回目(平成18年10月実施)	
	指導基準適合	指導基準不適合
施設数	19	7
	二回目(平成19年2月実施)	
	指導基準適合	指導基準不適合
施設数	6	1

(6) 浴槽水、噴水などのレジオネラ属菌検査

患者発生時の感染源調査などのために、健康福祉局などからの依頼を受け、レジオネラ属菌検査を行った。市内の公衆浴場施設、噴水など16施設より採取した浴槽水、温泉水、噴水など18検体についてレジオネラ属菌検査を行った結果、浴槽水1検体から *Legionella pneumophila* SG1 及び6、噴水から *Legionella pneumophila* SG1 が検出された。

(7) 一般依頼による試験・検査業務

ア 糞便検査

赤痢・腸チフス・パラチフス菌 402件、腸管出血性大腸菌 O157 299件、サルモネラ 297件、カンピロバクター 14件、コレラ菌 19件、腸炎ビブリオ 11件、計1,042件の糞便検査を行った。また、菌株のペロ毒素遺伝子検査(PCR)19件を行った。

イ 殺菌効力試験

消毒薬の殺菌効力試験の依頼はなかった。

ウ その他の検査

食品等の細菌検査15件を行った。

表2-2-5 一般依頼検査の検査項目と検査数

検査項目	検査数
糞便検査	1,042件
赤痢・腸チフス・パラチフス菌	402
腸管出血性大腸菌O157	299
サルモネラ	297
カンピロバクター	14
コレラ菌	19
腸炎ビブリオ	11
寄生虫卵	0
ペロ毒素遺伝子検査	19件
殺菌効力試験	0件
その他の検査	15件
食品等の細菌検査	15
おしぼりの衛生基準試験	0

(8) 感染症サーベイランス事業にもとづくウイルス検査

平成19年1月から12月の間に、検査を行った検体総数は485件であった。ウイルス陽性数は200件で、陽性率は41.2%であった。検体数は昨年の696件より大幅に減少したが、陽性率は昨年の41.1%とほぼ同じであった。分離・検出されたウイルスは203株であり、3件から複数のウイルスが分離・検出された(表2-2-6)。分離・検出されたウイルスの中で、インフルエンザウイルスが最も多く、72株(AH1型32株、AH3型16株、B型24株)で全体の35.5%を占めた。当研究所と大阪府立公衆衛生研究所並びに堺市衛生研究所で検出された結果を併せて解析し、大阪府内のウイルスの動向を感染症発生動向調査事業報告書にまとめているが、検出ウイルスからみた大阪府内の流行の特徴は以下に示す。

①月別・疾患別検体数とウイルス陽性例数を昨年と比較すると、検体総数は156件(9.0%)減少し、ウイルス検出陽性率も3.3%減少した。検体数が減少したのは、平成18年は本事業始まって以来の感染性胃腸炎の大きな流行が認められ、特にノロウイルスの検出事例が多かったことが影響したものと考えられる。また、本年は平成11年以降患者数が減少していた麻しんの流行が認められ、検体数も271件と多かった。陽性検体数は144件で53.1%であった。

②疾患別検体数は感染性胃腸炎(409件、全体の

26.0%) が最も多く、以下、麻しん(271 件、17.3%)、インフルエンザ(254 件、16.2%)、無菌性髄膜炎(177 件、11.3%)の順であった。感染性胃腸炎の月別検体数は、11 月と12 月の2 カ月間で全体の45.7%を占め、この時期の原因ウイルスはノロウイルスがほとんど(90.8%)であった。なお、4 月から6 月までの感染性胃腸炎の原因ウイルスは、ロタウイルス、アデノウイルス、サポウイルス、アストロウイルスなど多彩なウイルスが検出された。麻しんは5 月が102 件、6 月が81 件と初夏に多く見られ、遺伝子型別をされたものでは1 例のA 型を除き、D5 型が検出された。インフルエンザの検体数は、2 月(73 件)が最も多く、次いで12 月(69 件)、3 月(40 件)、11 月(35 件)の順であった。2006/2007 年シーズンは流行の開始が遅く例年検体数の多い1 月は18 件にとどまった。検出ウイルスは、1 月から5 月まではAH3 亜型(A 香港型)、B 型がともに31 件、AH1 亜型(A ソ連型)5 件とAH3 亜型とB 型の混合流行であった。10 月から12 月はAH1 亜型が50 件、AH3 亜型が1 件でAH1 亜型の単独流行であった。無菌性髄膜炎は6 月が26 件、7 月が22 件と夏季に多く見られた。その原因ウイルスとしては、エコーウイルス30 型が16 件と全体の陽性数の53.3%を占めた。下気道炎も121 件と100 件を超える検体が検索された。

③検出ウイルス数はノロウイルスで174 件であった。そのうちG II 型が166 を占めた。次に多かったのは麻

しんウイルスで133 件であった。型別をされている64 件のうち、63 件がD5 型であった。インフルエンザウイルスは121 例検出され、AH1 亜型が最も多く58 例で、AH3 亜型32 例とB 型31 例がほぼ同数であった。エンテロウイルスも58 例検出され、中ではエコー30 型が16 例ともっとも多かった。

④年齢別ウイルス陽性数において、最も多くウイルスが検出されたのは1 歳で119 例であり、最も多かったのはノロウイルスG II 型47 例、次いでRS ウイルス13 例であった。次に多かったのは0 歳の98 例であり、最も多かったのはエンテロウイルス19 例であった。ポリオウイルス1 型5 例、2 型5 例、3 型2 例と12 例のポリオウイルス検出があったが、ワクチン接種の影響と考えられた。ノロウイルスG II 型も13 例から検出された。また麻しんウイルスが13 例検出され、遺伝子型別をされた7 例のうち、6 例はD5 型であったが、1 例からA 型が検出され、ワクチン株と考えられた。10 歳から14 歳の検体では最も多く検出されたのは麻しんウイルスであった。型別をされた12 例すべてがD5 型であった。次に多かったのはインフルエンザウイルスで26 例検出された。B 型が17 例で最も多く、6 例がAH3 亜型、3 例がAH1 亜型であった。15 歳以上においても麻しんウイルスが60 例と最も多く、平成19 年の麻しん流行が比較的年齢の高い層でおこったことを反映している。次いでノロウイルスの検出が53 例と多かった。

表 2-2-6 平成 19 年に大阪市内で分離されたウイルス

ウイルス	分離・検出数	型
インフルエンザウイルス	72	AH1 型-32, AH3 型-16, B 型-24
ノロウイルス	68	GI-2, GII-66
アデノウイルス	16	1 型-4, 2 型-4, 3 型-2, 37 型-2, 40/41 型-2, 未同定-2
麻疹ウイルス	13	
RS ウイルス	7	
ポリオウイルス	7	1 型-2, 2 型-2, 3 型-1, 1+2 型-1, 1+3 型-1
パラインフルエンザウイルス	5	1 型-1, 3 型-4
エコーウイルス	4	5 型-1, 30 型-3
ヒトメタニューモウイルス	3	
アストロウイルス	2	
ムンプスウイルス	2	
ロタウイルス	1	A 群-1
コクサッキーB 群ウイルス	1	2 型-1
HHV6	1	
デングウイルス	1	1 型-1

⑤検体の種類とウイルス陽性例数については、検体数が最も多かったのは糞便(491件、全体の31.3%)、以下、咽頭拭い液(367件、23.4%)、鼻汁・鼻腔拭い液(215件、13.7%)、髄液(197件、12.5%)、が多かった。検体数の多かった糞便、髄液、咽頭拭い液、鼻汁・鼻腔拭い液のウイルス検出陽性率は、糞便が最も高く50.9%(250/491)、次いで鼻汁・鼻腔拭い液の43.7%(94/215)、咽頭拭い液が42.2%(155/367)、であった。一方髄液は9.1%(18/197)であり陽性率は低かった。

(9) 抗HIV抗体確認試験

平成19年1月から12月までに保健衛生検査所にて一次スクリーニング試験でHIV抗体陽性と判定された血清52検体について、HIV抗体の確認試験を行った結果、46検体からHIV-1抗体が認められた。

3 調査・研究業務

(1) 結核菌の分子型別とそれを用いた分子疫学

ア 大阪市におけるホームレス患者由来結核菌の分子疫学的解析

ホームレス患者由来株のVNTR型別及びクラスター解析結果と大阪市内における平成19年度の結核集団感染事例由来株のVNTR解析結果を比較し、共通のクラスターの検出を試みた。ホームレス患者から分離された結核菌株をMIRU12に分解能の高い4つのQUB領域を含めた16領域のVNTR型別を行い、さらにクラスター解析を行って4種類の比較的大きなサイズのクラスターを得た(C42、C31、C32、C38)。大阪市内における結核集団感染事例由来の菌株についてもVNTR型別及びクラスター解析を行い、ホームレス患者由来株で得られたクラスターの形成菌株について検索した。その結果、4種のクラスターの中で、C38クラスターの菌株と同じVNTR型が一般患者の結核集団感染事例7事例の由来菌株に見られた(表2-2-7)。ホームレス患者との接触状況については全く不明であり、また各事例間の関連性については不明だが、接触の可能性は低いと思われた。

イ 結核集団感染事例における結核菌DNA解析

感染源及び感染経路解明のために保健所感染症対策担当より依頼のあった54菌株について、RFLP法(一部の菌株)及びVNTR法により解析した。解析結果は事例ごとに保健所感染症対策担当に口頭及

び文書(結核菌遺伝子解析結果連絡票)で報告し、感染源及び感染経路の解明に役立てた。

表2-2-7 C38クラスター形成株が分離された結核集団発生事例

年度	事例番号	菌株数/解析数	結果	備考
2006	1	6/6	一致	
2007	2	1/6	不一致	事例1の関連
2007	3	2/2	一致	
2007	4	1/2	不一致	
2007	5	1/2	不一致	
2007	6	4/4	一致	
2007	7	2/2	一致	

(2) 感染症発生時における病原菌の分子疫学的調査

保健所感染症対策担当からの依頼を受け、腸管出血性大腸菌についてPFGE解析を実施した。解析菌株は、O157が7事例、61株、O26が2事例、23株、合計9事例、84株であった(表2-2-8)。解析結果は保健所感染症対策担当に報告し、感染源及び感染経路の解明に役立てられた。

表2-2-8 腸管出血性大腸菌のPFGE解析事例

解析事例	解析菌株数
事例1	O157、4株
事例2	O157、2株
事例3	O157、3株
事例4	O157、18株
事例5	O157、27株
事例6	O157、4株
事例7	O26、18株
事例8	O26、5株
事例9	O157、3株

(3) 既製食品の汚染源追跡調査：有機物汚染程度の差によるアルコールスプレーの殺菌効果に関する調査研究

食品製造現場で頻繁に用いられるアルコールスプレーの殺菌効果についてまな板を用いて検討した。方法は、10%卵液及び白菜煮汁に一夜培養した供試菌液(黄色ブドウ球菌及びサルモネラ)を添加し、まな板切片(合成樹脂製、5cm×5cm)に塗布し、汚染まな板切片とした。55℃で乾燥後アルコールスプレー処理し、そのままかペーパータオルでふき取った

後、生菌数を測定し殺菌効果を検討した。アルコールスプレーは市販の 2 種類、すなわちアルコール製剤①(エタノール 67.9 重量%、乳酸 0.1%、精製水 32%) 及びアルコール製剤②(エタノール 58.8W/W%、グリセリン脂肪酸エステル 0.2W/W%、グリセリン 0.2W/W%、乳酸ナトリウム 0.01W/W%) を使用した。

汚染まな板切片にアルコールスプレー処理した場合、卵液、白菜煮汁いずれの場合も供試菌数は著しく減少した。しかし、1回の噴霧では菌が残存する可能性が示され、まな板が汚染源となる可能性が示唆された。一方、生理食塩水で 10 倍希釈した菌液を塗布した汚染まな板切片の場合、アルコールスプレー処理による殺菌効果は、卵液及び白菜煮汁に添加した場合に比べて高く、食品成分によってアルコールスプレーの殺菌効果が減少することが示唆された。

(4) 大阪市内で発生した乳児ボツリヌス症の遺伝子解析

大阪市内で発生した B 型乳児ボツリヌス症から当研究所で分離したボツリヌス菌株(Osaka05 株)の遺伝子解析を実施した。その結果、Osaka05 株が産生する毒素アミノ酸配列は、これまでデータベース上に報告されている配列とは異なっており、新たなサブタイプに分類されることが明らかになった。昨年度に実施した分子疫学解析の結果と合わせて、わが国における B 型乳児ボツリヌス症は、輸入食品もしくは何らかの要因で海外から持ち込まれた B 型菌芽胞によって散発的に引き起こされている可能性が示唆された。

(5) ノロウイルスの分子疫学

ノロウイルス(NV)は、冬季に多発するウイルス性食中毒の主要な病原である。また最近では、保育園、小学校、特別養護老人施設、病院などの施設内において、食品を介さずに直接ヒトからヒト感染が広がる集団胃腸炎事例の発生が目立ってきている。

平成 19 年度に大阪市内で発生届出のあった非細菌性胃腸炎 93 事例、患者糞便材料 378 検体、調理従事者糞便材料 212 検体についてリアルタイム PCR 法を用いて NV 遺伝子の検出を行った。またリアルタイム PCR 法で NV 陽性となった検体は遺伝子型別した。

患者から NV が検出されたのは 55 事例(59.1%)、患者糞便検体 195 検体(51.6%)であり、調理従事者

糞便検体は 11 検体(5.2%)が NV 陽性であった(表 2-2-9)。2007/08 シーズンの NV 胃腸炎事例の発生は 10 月から認められるようになり、11 月から 2 月にかけて多く発生していた。NV が検出された 55 事例のうち、ヒトからヒトへ感染が広がった事例は、少なくとも 20 事例認められ、主に保育園、小学校、知的障害者施設、特別養護老人施設で発生していた。推定原因として、カキの喫食が疑われた事例(4 事例)は少なかった。NV 陽性 55 事例のうち、解析可能であった 52 事例について遺伝子型別を行ったところ、少なくとも 8 種類(GI:2 種類、GII:6 種類)認められ、GII.4 型 NV が検出された事例が最も多かった(48.1%)。平成 19 年度は、1 種類の遺伝子型のみが大流行した昨年度と異なり、同時期に複数の遺伝子型の NV が認められた流行であった。

表2-2-9 平成19年度 胃腸炎事例におけるノロウイルス検査状況

	検査数	NV陽性数	(%)
事例	93	55	(59.1)
患者糞便	378	195	(51.6)
患者嘔吐物	6	3	(50.0)
調理従事者糞便	212	11	(5.2)
食品	0	0	

(6) 輸入デング熱が疑われた症例からのウイルス検出

平成 19 年度にデング熱が疑われた輸入症例について、リアルタイム RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出及び型別を実施した。合計 6 名の患者から採取された 10 検体の血清について検査したところ、4 名の患者から採取された急性期血清 4 検体からデングウイルスが検出され、それぞれ 1 型、2 型、3 型、4 型に分類された。今回、デングウイルス検査に高感度で特異性が高く、簡便なリアルタイム RT-PCR 法を導入し、本検査法の有用性が確認できた。一方で検査には検体採取時期が重要であることがわかり、今後も医療機関及び国立感染症研究所と情報交換しながら連携し、検査精度を高めていく必要があると考えられた。

(7) 乳幼児呼吸器感染症患者におけるヒトボカウイルス感染症の疫学調査

ヒトボカウイルス (human bocavirus; HBoV) は、平成 17 年、スウェーデンにおいて呼吸器感染症患者の鼻咽頭液から発見されたウイルスであり、パルボ

ウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類される。従来、ヒトに病原性を示すパルボウイルスは、パルボウイルス亜科エリスロウイルス属に分類されるパルボウイルス B19(伝染性紅斑の病原体)のみであった。HBoV は、ヒトに疾患を引き起こす 2 番目のパルボウイルスと考えられている。発見後、世界各地で主に乳幼児の呼吸器感染症患者から検出が報告されている。また、患者の血液中からも HBoV が検出されること、他の呼吸器ウイルスとの複数検出率が高いことが明らかとなっている。血清中の抗 HBoV 抗体の調査結果から、5 歳までには、ほとんどの人が HBoV の初感染を受けることが示唆されている。一方、呼吸器疾患を示さない胃腸炎症状の患者の糞便からも検出が報告されており、病原性との関連が注目されている。

平成 19 年 3 月、大阪市内において初めて乳幼児呼吸器感染症患者の検体から HBoV の遺伝子を検出した。検査した 6 検体は、いずれも Vero、RD-18S 細胞を用いたウイルス分離検査は陰性であったため、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス (hMPV)、パラインフルエンザウイルス 1、2、3 型の遺伝子検査を実施した。その結果、1 検体が RS ウイルス陽性、1 検体が hMPV 陽性であった。しかしながら、他の 4 検体は、陰性であったため、HBoV の遺伝子検査を実施した結果、6 検体すべてが HBoV 陽性であった。

以上の結果から検査した 6 検体のうち、HBoV 単独検出が 4 検体、RS ウイルスとの複数検出 1 検体、hMPV との複数検出 1 検体であった。4 検体については、単独検出であるため HBoV が病原体である可能性が高いことが示唆された。今後、市内での流行状況を明らかにするため、継続して調査を実施する予定である。

(8) インフルエンザウイルス AH1N1 分離株のオセルタミビル耐性化に関する検索

当担当において、平成 20 年以降にインフルエンザ様疾患患者検体から分離されたインフルエンザウイルスのうち、AH1N1 型を示した 26 株のノイラミニダーゼタンパク質(NA)遺伝子の塩基配列の一部を解読し、さらに NA の推定アミノ酸番号 275 番目に、インフルエンザ治療薬(NA 阻害薬)であるオセルタミビルに対する耐性化出現の指標となる、ヒスチジンからチロシンへの変異が、存在するか否かの検索を行った。当担当で分離されたインフルエンザウイルス AH1N1 全 26 株の NA の推定アミノ酸番号 275 は、すべてヒスチ

ジンであったことから、当担当で平成 20 年以降に分離されたインフルエンザウイルス AH1N1 株に、オセルタミビル耐性化の変異は生じていないことが明らかとなった。

(9) PCR法による *Anisakis simplex complex* の鑑別の試み

アニサキス症は食中毒届出の対象疾患である。その主要な原因は *Anisakis simplex complex* と称される *A. simplex sensu strict*、*A. pegreffii*、*A. simplex C* の 3 種類である。これらは形態学的に鑑別困難であるが、近年シーケンス解析や PCR-RFLP 法によりこれら sibling species の鑑別が試みられている。しかしながら、それらの手法は操作が煩雑で費用もかかることから、簡便な方法が求められていた。本研究では sibling species のシーケンスデータを元に *A. pegreffii* に特異的な PCR プライマーを設計しその特異性を検討した。3' 末端に変異を持たせたプライマーは、予想した通りに *A. pegreffii* のみで特異サイズの産物が増幅され、他の sibling species やアニサキス亜科幼線虫では増幅を認めなかった。以上のことから、本研究で作製したプライマーは、国内で分布が確認されている *A. simplex sensu strict* と *A. pegreffii* とを PCR 法で鑑別する際に有用と考えられた。

(10) シーケンス解析による孢子虫類の同定の試み

コンパニオンアニマルにはクリプトスポリジウムと形態学的、遺伝子学的に類似した *Eimeria* など他の孢子虫類も感染することが報告されている。このため、ペットが患者の感染源として疑われその検査を依頼された場合、ペットの保有する原虫が人獣共通寄生性なのか否かを鑑別できる検査法が必要である。本研究では、フェレットから分離した *E. furonis* のゲノム DNA を検体として、サイクロスポロ原虫に特異的なプライマーを用いた PCR 法とその産物のシーケンス解析は、形態学的に鑑別困難な孢子虫類の鑑別に有用であることを明らかにした。

(11) 動物由来感染症に関する病原体調査

ウエストナイルウイルス (WNV) は、野鳥に感染し、その野鳥を吸血した蚊の媒介によりヒトが感染することが知られている。ヒトに感染しても多くの場合は不顕性感染であるが、ウエストナイル脳炎を発症した場合、3~15%の致死率を示す。

現在までのところ、日本国内における報告は、米

国からの帰国者の発症 1 例のみであり、国内での患者発生、蚊及び野鳥からの WNV 検出の報告はない。しかしながら、一旦、国内の蚊や鳥類にウイルスが侵入すると、急速な感染の拡大が危惧される。したがって、WNV 早期発見のサーベイランスは、その蔓延防止に大きな役割を果たすことが期待される。

ア 大阪市内における蚊の分布及びウエストナイルウイルス保有状況の調査

平成 17 年度、18 年度に引き続き、19 年度も 6 月から 10 月にかけて大阪市内の公共施設・公園等の

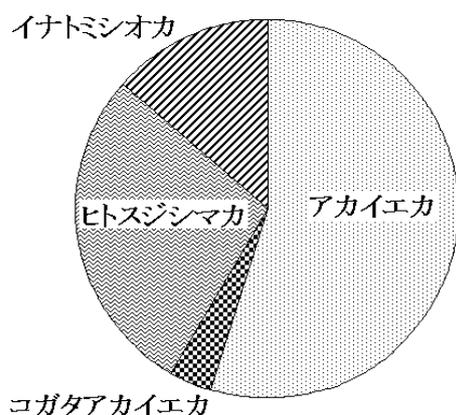


図 2-2-2 捕獲した蚊の種別割合

10 ヶ所において、蚊の分布調査を行うとともに蚊の WNV 遺伝子及びフラビウイルス遺伝子保有状況の調査をおこなった。

今回調査期間中に捕集された雌蚊は、4 種類で合計 3,455 頭であった。種別では、アカイエカが 1,895 頭(54.9 %)と最も多く、次いでヒトスジシマカ 972 頭(28.1 %)、イナトミシオカ 467 頭(13.5 %)、コガタアカイエカ 121 頭(3.5 %)であった。

トウゴウヤブカは、平成 17 年度採集されたが、18 年度と同じく 19 年度も捕獲されなかった。

イ 大阪市内で斃死した野鳥類のウエストナイルウイルス保有状況の調査

今年度、市内において同時に複数羽が斃死した事例は 4 事例であった。これらについて死後 24 時間以内と考えられる腐敗していない死亡野鳥をウエストナイルウイルス保有調査対象とした。調査した野鳥類は、カラス 2 事例で検査実施 1 検体と 4 検体、ハト 2 事例で検査実施 3 検体と 2 検体であった。今年度、WNV は調査した全ての雌蚊及び斃死した野鳥において検出されなかった。現在までのところ、日本の他の地域と同様、大阪市においても WNV は検出されていない。