

第3章 調査研究・報告

第1節 報 告

奈良県における農産物中の残留農薬検査結果 —平成23年度～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

Investigation of Pesticide Residues in Agricultural Products in Nara Prefecture, Apr. 2011-Mar. 2014

Hirokazu YAMASHITA・Takayuki NISHIYAMA・Yohei KITAOKA・Yuya YAMAMOTO・
Yoshiki ONJI and Akiko OKAYAMA

緒言

当センターでは、食品衛生法第24条に基づき年度ごとに策定した奈良県食品衛生監視指導計画に従い、県内に流通する農産物の残留農薬検査を実施している。平成18年5月29日の食品衛生法改正により、食品に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度が施行され、それまでに規制がなかった農薬と食品の組み合わせについても、0.01 ppmの一律基準等が設定された。この制度に対応するために毎年検査対象項目の見直しを行っているが、一律基準等の設定により、食品衛生法違反食品が増加することが懸念される。今回、平成23年度から平成25年度までの農産物の収去検査結果を集計し、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ので報告する。

方法

1. 使用データ

平成23年4月から平成26年3月の間に奈良県内で収去された農産物467検体(国産品441, 輸入品26)の残留農薬検査結果を集計した。

2. 検査対象農薬

検査対象農薬は毎年度116項目で、年度ごとに約20項目の入れ替えを行っており、3年間であわせて154項目を測定した。これらの項目を表1に示す。検査対象農薬の内訳は、殺虫剤59項目、殺菌剤38項目、除草剤54項目、その他3項目である。

表1 検査対象農薬

用途	農薬名	項目数
殺虫剤	EPN、イサゾホス、イソキサチオン、イソフェンホス、イソプロカルブ、エトキサゾール、エトプロホス、エトリムホス、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェナピル、クロルフェンビンホス、クロルベンジレート、シアノホス、ジクロフェンチオン、シハロトリン、シベルメトリン、ジメチルビンホス、ダイアジノン、チオメトン、テトラジホン、テブフェンピラド、テルブホス、トリアゾホス、トルフェンピラド、パラチオン、パラチオンメチル、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、ピリダベン、ピリプロキシフェン、ピリミホスメチル、フェナミホス、フェントロチオン、フェンクロールホス、フェンスルホチオン、フェンチオン、フェントエート、フェンバレレート、フェンプロバトリン、プロプロフェジン、フルアクリピリム、プロチオホス、プロパホス、プロモプロピレート、プロモホス、プロモホスエチル、ペルメトリン、ベンディメタリン、ホサロン、ホスチアゼート、ホスファミドン、ホレート、マラチオン、メチダチオン、メトキシクロール、メビンホス	59
殺菌剤	イソプロチオラン、イプロベンホス、エディフェンホス、オキサジキシル、キントゼン、クレソキシムメチル、ジエトフェンカルブ、ジクロシメット、ジクロラン、ジフェノコナゾール、チフルザミド、テクナゼン、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、トリアジメホン、トリフロキシストロビン、トルクロホスメチル、ニトロタールイソプロピル、ピテルタノール、ピラゾホス、ピリフェノックス、ピロキロン、ピンクゾリン、フェナリモル、フェナミドン、フェンコナゾール、ピリメート、フルキンコナゾール、フルトラニル、フルトリアホール、プロシミドン、プロピコナゾール、ヘキサコナゾール、ベナラキシル、ペンコナゾール、マイクロブタニル、メプロニル	38
除草剤	アザコナゾール、アセトクロール、アトラジン、アニロホス、アメトリン、アラクロール、エスプロカルブ、エタルフルラリン、エトフメセート、オキサジアゾン、オキシフルオルフェン、カフェンストール、クロマゾン、クロルタールジメチル、クロルブファミン、クロルプロファミン、シアナジン、ジクロホップメチル、シハロホップブチル、ジフェナミド、シマジン、ジメタメトリン、ジメテナミド、シメトリン、ジメピベレート、ターバシル、チオベンカルブ、テニルクロール、テルブトリン、トリアレート、トリフルラリン、ナプロパミド、ノルフルラジン、ピペロホス、ピラフルフェンエチル、ピリプチカルブ、ピリミノバックメチル、ブタクロール、ブタミホス、フルミオキサジン、フルミクロラックベンチル、フルリドン、プレチラクロール、プロパクロール、プロバジン、プロバニル、プロピザミド、プロメトリン、プロモブチド、ヘキサジノン、ベンフルラリン、ベンフレセート、メフェナセツト、レナシル	54
その他	ウニコナゾールP、パクロプロラゾール、メフェンピルジエチル	3
計		154

結果及び考察

1. 残留農薬の検査結果

平成23年度から平成25年度までの3年間の残留農薬検査における検出数と検出項目数、およびその割合を表2に示す。対象農産物467検体のうち、農薬が検出された農産物は125検体で、検体数に対する検出率は26.8%となった。このうち、国内産全体の検出率は26.3%、輸入品全体では34.6%であった。農産物の分類別の検出率は、国内産果実類の50.4%が最も高く、次いで、輸入果実類の45.5%、輸入野菜類の26.7%の順であった。国内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い傾向が見られた。一方、項目検出率は農産物全体で0.33%で、国内産と輸入品の差は見られなかった。項目検出率についても、果実類の方が野菜類に比べて高く、特に、国内産果実類は0.74%と最も高い値となった。また、農産物全体の検出率、項目検出率ともに、前報¹⁾の値（検出率：17.9%、項目検出率：0.22%）に比べて増加したが、これは検査項目の見直しおよび測定機器の更新による感度上昇の結果によるものと考えられた。

この3年間に搬入されたおまな農産物とその検出状況を表3に示す。検体は、なす、いちご、かき、トマトの順に多く搬入された。検出率が比較的高い農産物は、野菜類ではなす、トマト、ピーマン、みずなであり、果実類ではいちご、うめ、なし、ぶどうであった。一方、検体数が10以上の農産物の中で、かぼちゃ、じゃがいも、やまとまなからは対象となった農薬は検出されなかった。

表3 搬入された農産物とその検出状況（5検体以上）

分類	作物名	検体数	検出検体数	検出率 (%)
野菜	なす	43	14	33
果実	いちご	40	26	65
果実	かき	36	10	28
野菜	トマト	29	9	31
野菜	キャベツ	24	3	13
野菜	ねぎ	22	5	23
野菜	かぼちゃ	18	0	0
果実	うめ	15	11	73
野菜	だいこん	15	4	27
野菜	ほうれんそう	14	3	21
野菜	さといも	12	1	8
野菜	じゃがいも	10	0	0
野菜	はくさい	10	2	20
野菜	やまとまな	10	0	0
果実	なし	9	6	67
野菜	きゅうり	9	1	11
野菜	たまねぎ	9	0	0
野菜	ピーマン	9	4	44
野菜	レタス	9	1	11
野菜	とうがらし	8	2	25
野菜	こまつな	7	0	0
野菜	にんじん	6	0	0
果実	ぶどう	5	2	40
野菜	ブロッコリー	5	0	0
野菜	みずな	5	2	40

表2 残留農薬検査における検出数と検出項目数

	検査数	検出数	検出率 (%)	検査項目数	検出項目数	項目検出率 (%)
農産物総数	467	125	26.8	54172	178	0.33
総数	441	116	26.3	51156	168	0.33
国内産						
穀類・種実類	4	0	0.0	464	0	0.00
野菜類	314	54	17.2	36424	63	0.17
果実類	123	62	50.4	14268	105	0.74
総数	26	9	34.6	3016	10	0.33
輸入品						
野菜類	15	4	26.7	1740	5	0.29
果実類	11	5	45.5	1276	5	0.39

表4 検出農薬の検出頻度と作物名

用途	検出農薬	検出総数	野菜類		果実類		作物名	
			国産	輸入	国産	輸入		
殺虫剤	クロルフェナピル	16	12	1	3		なす(7)、トマト(2)、いちじく(2)、チンゲンサイ、白菜、ピーマン、ふき、ぶどう	
	シベルメトリン	9	5	1	3		ねぎ(2)、ほうれんそう(2)、柿(2)、ニンニクの芽、水菜、梨	
	トルフェンピラド	7	5		2		なす(3)、トマト、ねぎ、セミノール、清見	
	メチダチオン	6			5	1	梅(2)、セミノール、清見、グレープフルーツ、はっさく	
	ホスチアゼート	5	4		1		大根(3)、とうがん、いちご	
	クロルピリホス	3	1			2	大根、バナナ、レモン	
	フェンプロパトリン	3			3		セミノール、柿、清見	
	プロチオホス	3			3		柿(3)	
	ダイアジノン	3	1		2		梨(2)、ゴボウ	
	フェンバレレート	3	3				キャベツ、白菜、レタス	
	ピリダベン	3	3				とうがん、トマト、ふき	
	EPN	2	2				ねぎ(2)	
	テブフェンピラド	2		1	1		ピーマン、いちご	
	ベルメトリン	2	1		1		ほうれんそう、ぶどう	
	プロロフェジン	2	1		1		トマト、柿	
	ピリプロキシフェン	2				2	オレンジ(2)	
	フェントロチオン	1			1		梅	
ピリミホスメチル	1		1			ピーマン		
	小計	73						
殺菌剤	クレソキシムメチル	28	2		26		いちご(14)、梅(6)、梨(6)、とうがん、ねぎ	
	プロシミドン	23	10	1	12		いちご(10)、トマト(4)、キャベツ(2)、なす(2)、ピーマン(2)、メロン(2)、キュウリ	
	ミクロブタニル	21	8		13		いちご(13)、とうがらし(2)、なす(2)、ねぎ、ピーマン、ふき、水菜	
	ジフェノコナゾール	13			13		柿(9)、梅(4)	
	ピテルタノール	10			10		梅(9)、いちご	
	フェナリモル	4			4		いちご(4)	
	ジエトフェンカルブ	2	2				トマト(2)	
	オキサジキシル	1	1				春菊	
	フルトラニル	1	1				里芋	
	トリアジメノール	1	1				いんげん	
	テトラコナゾール	1			1		いちご	
		小計	105					
		総計	178					

検査対象農薬154項目中、検出された農薬は29項目(のべ178項目)で、その内訳は殺虫剤18項目、殺菌剤11項目であった。今回、除草剤は検出されなかった。検出された農薬の検出頻度と作物名を表4に示す。殺虫剤はクロルフェナピルが最も多く検出され、以下、シベルメトリン、トルフェンピラド、メチダチオンの順であった。殺虫剤は、なす、トマト等の果菜類や、ねぎ、ほうれんそう等の葉菜類、梅、柑橘類等の果実類から多く検出された。一方、殺菌剤はクレソキシムメチルが最も多く検出され、以下、プロシミドン、ミクロブタニル、ジフェノコナゾールの順であった。殺菌剤は、いちご、梅等の果実類や、トマト、ピーマン等の果菜類から多く検出された。

2. 残留基準値を超過した事例

検出された農薬のうち、残留基準値を超過した事例を表5に示す。この3年間に於ける基準値違反の事例は1検体のみで、全検体数に対する違反検体の割合(違反率)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。フルトラニルの一日許

容摂取量と比較すると、通常の摂取方法では健康に影響が出る量ではないと考えられたが、食品衛生法違反として自主回収の措置がとられた。フルトラニルは農薬取締法上、さといもへの登録がされていない適用外農薬であった。このような一律基準違反では、農産物の生産現場である圃場の管理状況にも調査が及ぶことになる。

今後も、食の安心・安全の確保のため、全国の農薬検出状況や農薬使用状況等をもとに、検査対象農薬の見直しを継続して行っていくことが重要であると考えている。

表5 残留基準値を超過した事例

検査年度	作物	産地	検出項目	検出値 (ppm)	基準値 (ppm)
H25	さといも	国内産	フルトラニル	0.06	0.01(一律基準)

文献

- 1) 山下浩一：奈良県保健環境研究センター年報，46，58-61 (2011)

LC/MS/MSによる植物性自然毒の一斉分析法の開発

杉田有加・折口菜都希・安藤尚子・岡山明子

Simultaneous Methods for Plant Toxin with LC/MS/MS

Yuka SOMADA・Natsuki ORIGUCHI・Naoko ANDO and Akiko OKAYAMA

緒言

自然毒による食中毒は食品製造業者への衛生指導を中心とする通常の食品衛生監視業務では防止することができず、原因施設も家庭であることが多い。加えて、自然毒には猛毒なものが多く存在し、死亡事例も少なくない。

県内では平成7年にチョウセンアサガオの誤食、平成9年にアセタケ中毒、平成19年と平成26年に小学校を原因施設としたジャガイモによる食中毒及び平成25年にはバイケイソウによる食中毒が発生した。今回、高等植物の有毒成分についての一斉分析法の開発を行ったので、その内容について報告する。

方法

1. 試料

有毒植物:トリカブト(葉), ダチュラ(葉), チョウセンアサガオ(根)

鑑賞用植物:キスイセン, ニホンスイセン, ギボウシ

食用植物:ウルイ, ゴボウ, ニラ, ジャガイモ

2. 対象成分及び標準品

アコニチン(シグマアルドリッチ社製), メサコニチン(和光純薬工業株式会社製 生薬試験用), アトロピン(硫酸アトロピン, 日本薬局方標準品), スコポラミン(臭化水素酸アトロピン, 日本薬局方標準品), リコリン(リコリン塩酸塩, シグマアルドリッチ社製), ジェルビン(和光純薬工業株式会社製 細胞生物学用), シクロパミン(和光純薬工業株式会社製 細胞生物学用), ベラトラミン(和光純薬工業株式会社製 細胞生物学用), ソラニン(シグマアルドリッチ社製), チャコニン(シグマアルドリッチ社製)

3. 前処理

久野ら¹⁾の前処理法に準じた。すなわち、細切試料1gにメタノール30mLを加え、15分間超音波抽出した。吸引ろ過後、メタノールで50mLに定容し、抽出溶液とした。抽出溶液を0.2µmフィルターでろ過後、ろ液を適宜

希釈し、LC/MS/MSの試料溶液とした。

4. 測定機器

高速液体クロマトグラフ: Agilent Technologies 1200

質量分析装置: Agilent Technologies 6430

5. MS条件

最適化を行い、表1のようにMS条件を決定した。

表1 MS条件

成分名	プレカーサーイオン (<i>m/z</i>)	プロダクトイオン (<i>m/z</i>)		フラグメンター電圧 (V)	コリジョンエナジー (eV)
		定量	確認		
① リコリン	288.1	119.0	147.0	132	42
② スコポラミン	304.2	138.1	156.1	98	22
③ アトロピン	290.2	124.1	93.1	132	22
④ ソラニン	868.5	98.1	398.4	329	101
⑤ チャコニン	852.5	98.1	398.4	329	101
⑥ メサコニチン	632.3	105.0	572.4	178	74
⑦ アコニチン	646.3	105.0	586.4	178	74
⑧ ベラトラミン	410.3	295.3	84.1	162	30
⑨ ジェルビン	426.3	114.1	67.0	206	38
⑩ シクロパミン	412.3	109.1	67.1	162	34

6. 一斉分析法のLC条件

カラム, 移動相, グラジエント条件を検討し, 表2に測定条件を示した。

表2 一斉分析メソッドにおけるLC条件

機種	: Agilent Technologies 1200series
カラム	: Imtakt Scherzo SM-C18 (150×2 mm i.d., 3 µm)
移動相	: (A)10 mMギ酸アンモニウム溶液 (B)アセトニトリル
グラジエント条件	: (B) 10%(0→2min) - 60%(10min) - 80%(19.9min) - 10%(20min)
流速	: 0.3 mL/min
注入量	: 5 µL
カラム温度	: 40°C

表3 個別分析法における各成分のLC条件及び検出限界

メソッド	A	B	C	D	E
対象成分	ジェルピン シクロパミン ペラトラミン	アコニチン メサコニチン	アトロピン スコボラミン	ソラニン チャコニン	リコリン
カラム	Imtakt Scherzo SM-C18 (150×2mm i.d., 3 μm)			Imtakt Cadenza CD-C18 (150×2mm i.d., 3 μm)	
移動相	10mM ギ酸アンモニウム溶液 アセトニトリル			5mM 酢酸アンモニウム溶液 5mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液	
グラジエント B(%)	90(0min)– 50(13.9min)– 90(14min)	85(0min)–85(3min)– 65(7.9min)– 85(8min)	10(0min)–10(1min)– 80(14min)– 10(15min)	25(0min)–30(6min)– 70(14min)	15(0min)–80(5min)–80(10min)
流速(mL/min)	0.2			0.25	0.2
注入量(μL)	5				
カラム温度(°C)	40				
検出限界 (ng/mL)	0.1	0.05	0.05	0.05	0.1

7. 個別分析法の LC 条件

一斉分析法を補完するため、構造が類似した成分ごとに、より低濃度まで測定が可能な 5 種類の個別メソッドを作成した(表 3)。MS 条件は一斉分析メソッドと同じ設定である。

結果と考察

1. 植物サンプル中の成分含有量と中毒量

個別メソッドにより測定した結果を表 4 に示す。有毒植物であるトリカブト、ダチュラ、チョウセンアサガオ、鑑賞用のスイセンから対象とする自然毒成分を検出した。スイセンの品種によってリコリンの含有量に大きな差が見られた。食用であるウルイ、ゴボウ、ニラ及び観賞用のギボウシからは対象とする自然毒成分は検出しなかった。食材を 50 g 喫食したと仮定し、これらの値をもとに試料溶液としての濃度を算出した結果、表 5 に示すように中毒量・致死量は本検討における測定条件で十分測定可能であることを確認した。

表4 各植物に含まれる成分含有量

メソッド	サンプル名	含有量(μg/g)
A	ウルイ1	ジェルピン(N.D)、シクロパミン(N.D)、ペラトラミン(N.D)
	ウルイ2	ジェルピン(N.D)、シクロパミン(N.D)、ペラトラミン(N.D)
	ギボウシ1	ジェルピン(N.D)、シクロパミン(N.D)、ペラトラミン(N.D)
	ギボウシ2	ジェルピン(N.D)、シクロパミン(N.D)、ペラトラミン(N.D)
B	トリカブト(葉)	アコニチン(11.6)、メサコニチン(43.5)
	ダチュラ(葉)	アトロピン(58.7)、スコボラミン(242.8)
C	チョウセンアサガオ(根)	アトロピン(0.13)、スコボラミン(N.D)
	ゴボウ	アトロピン(N.D)、スコボラミン(N.D)
D	ジャガイモ	ソラニン(4.4)、チャコニン(7.8)
E	キスイセン	リコリン(47.5)
	ニホンスイセン	リコリン(3.5)
	ニラ	リコリン(N.D)

表5 中毒量及び致死量

メソッド	成分又は植物名	中毒量又は致死量	試料溶液としての濃度 (ng/mL)	検出限界 (ng/mL)
A	ジェルピン	約10 mg ²⁾ (ペラトラムアルカロイドの ヒトの致死量)	4,000	0.1
B	アコニチン	2~6 mg ³⁾ (致死量)	800	0.05
C	アトロピン スコボラミン	10 mg ²⁾ (ヒト(小児)経口最小致死量)	4,000	0.05
D	ソラニン	50 mg ³⁾ (成人中毒量:体重50 kgの人)	20,000	0.05
E	スイセン	10 g ³⁾	14 (注)	0.1

(注)表4より、ニホンスイセンを10 g喫食した場合のリコリン摂取量は35 μg

2. 添加回収

添加回収の結果を表 5 に示した。ソラニン、チャコニン、アトロピン、スコボラミンは回収率が低く、抽出効率の低下、イオン化の阻害や前処理過程でのロスなどが原因として考えられる。また、トリカブト(葉)ではアコニチン、メサコニチンともに回収率が 100%を超えており、夾雑物の影響を受けていると考えられる。ジェルピン、シクロパミン、リコリンは回収率が 90%を超えていたが、ペラトラミンが 2 成分に比べて若干低くなった。しかし、バイケイソウはジェルピンの含有率が高いことが知られており、バイケイソウによる食中毒が疑われる際には本方法で対応できる。

表6 添加回収結果

メソッド	サンプル名	添加量(μg)	回収率(%)
A	ウルイ1	100	ジェルピン(92.2)、シクロパミン(91.2)、ペラトラミン(63.5)
	ウルイ2	100	ジェルピン(94.6)、シクロパミン(95.3)、ペラトラミン(66.4)
	ギボウシ1	50	ジェルピン(90.8)、シクロパミン(91.5)、ペラトラミン(88.6)
	ギボウシ2	100	ジェルピン(88.0)、シクロパミン(86.4)、ペラトラミン(62.8)
B	トリカブト(葉)	25	アコニチン(115.4)、メサコニチン(112.1)
	ダチュラ(葉)	50	アトロピン(84.8)、スコボラミン(112.0)
C	チョウセンアサガオ(根)	25	アトロピン(58.3)、スコボラミン(60.6)
	ゴボウ	50	アトロピン(53.8)、スコボラミン(53.4)
D	ジャガイモ	200	ソラニン(13.3)、チャコニン(15.9)
E	キスイセン	50	リコリン(99.5)
	ニホンスイセン	50	リコリン(89.7)
	ニラ	50	リコリン(90.5)

3. 食中毒事例への適用

平成 27 年 1 月にジャガイモを原因とする食中毒が発生した。本検討の前処理方法について、個別メソッド D を用いて比較した。

3-1. 前処理方法

細切した試料 5 g を採り、メタノール 30 mL を加えてホモジナイズし、吸引ろ過後、ろ液にメタノールを加え、全量を 50 mL とした(試験溶液 A)。

3-2. 前処理方法の比較

試験溶液Aと本検討の前処理溶液(試験溶液B)を適宜希釈し、LC/MS/MSで測定した(図)。その結果、試験溶液Aが全体的に高い濃度を示した。特に、生のジャガイモでは試験溶液Bの各成分濃度が試験溶液Aの約1/3となった。対して、ゆでたジャガイモでは大きな濃度差異はなかった。また、ソラニンに対するチャコニンの濃度比率は未調理(試験溶液A: 1.8, 試験溶液B: 1.8), 加熱済1(試験溶液A: 2.1, 試験溶液B: 2.1), 加熱済2(試験溶液A: 2.0, 試験溶液B: 2.1)となり、同一試料内では差がなかった。

以上のことから、サンプルの前処理方法によって濃度差異が生じた原因は、サンプルの粉碎方法(試験溶液A:ホモジナイズ, 試験溶液B:細切り+超音波照射)にある。濃度差異が大きかった生のジャガイモのような堅いサンプルの場合、細切りし、超音波照射しただけでは組織内の有毒成分を十分抽出できなかつたと考えられる。しかし、ゆでたじゃがいものように組織が軟化したサンプルに関しては簡便な超音波抽出で対応できる。従って、前処理方法はサンプルの状態を考慮した上で選択する必要があった。

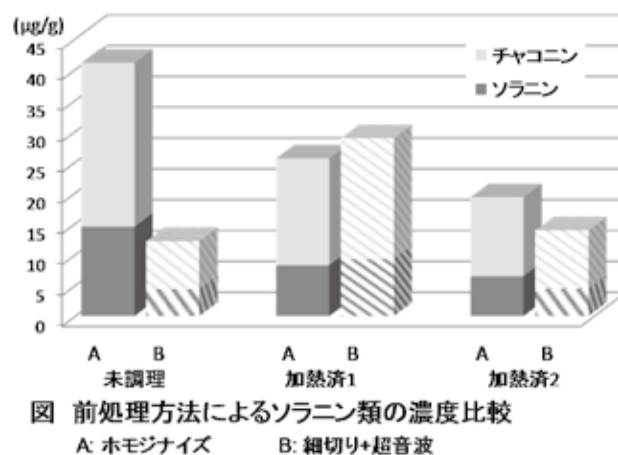


図 前処理方法によるソラニン類の濃度比較
A: ホモジナイズ B: 細切り+超音波

参考文献

- 1) 久野 恵子, 他. 第 48 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 118-119 (2011).
- 2) 公益財団法人 日本中毒センターHP
- 3) 厚生労働省 HP, 自然毒リスクプロファイル

奈良県内でヒトから分離された基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の遺伝子型別 (2012～2014 年度)

辻本真弓・吉田孝子・田邊純子・田口和子・大前壽子

Classification of Extended-Spectrum β-Lactamase Genes Identified in Clinically Isolated *Escherichia coli* in Nara Prefecture (2012～2014)

Mayumi TSUJIMOTO・Takako YOSHIDA・Sumiko TANABE・Kazuko TAGUCHI and Hisako OHMAE

緒言

薬剤耐性菌の一つである基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ (Extended-Spectrum β-Lactamase; ESBL) 産生菌は、医療現場で広く使用されている第三代セフェム系薬剤を分解する能力を持ち、院内感染原因菌として問題視されている。ESBLには多くの遺伝子型が存在し、近年セフトキシム (CTX) やセフトリアキソン (CTRX) に対して高い耐性を示す CTX-M-型 ESBL 産生大腸菌の流行が問題となっている¹⁾。

我々は2011年度から奈良県におけるESBL産生大腸菌について、主なESBL遺伝子型の検出状況を調査している²⁾。本報では、引き続き2012年度から2014年度に県内医療機関から菌株の収集を行い、CTX-M-型を中心にPCR法によるESBL遺伝子型別を実施したので、その結果を報告する。

方法

1. 材料

2012年2月から2015年1月までの間に、県内の4医療機関 (1医療機関は2014年4月から) においてESBL産生大腸菌と判定された524株について、提供を受け試験に供した。

2. 検査方法

1) 薬剤感受性試験

ESBL産生性を確認するため、初めにCTXとセフトジジム (CAZ) について、センシ・ディスク (日本BD) を用いた薬剤感受性試験をCLSIに準拠して実施した。

CTX又はCAZに耐性であることを確認した後、アモキシシリン/クラバン酸 (AMPC/CVA) 及びアンピシリン/スルバクタム (ABPC/SBT) ディスクを用い、Double Disk synergy test (DDST) 法³⁾ を実施してESBL産生菌であることを確認した。

2) PCR法によるESBL遺伝子の検出

ESBL遺伝子の検出は、CTX-M-1 group (CTX-M

-1G), CTX-M-2 group (CTX-M-2G), CTX-M-9 group (CTX-M-9G), TEM-型及びSHV-型の5種類について各プライマー^{4, 5)} を用いてPCR法により実施した。

結果

1. 菌株由来検体

試験に供したESBL産生大腸菌524株について、年度別に収集した菌株数を見ると、2012年度は104株、2013年度は165株、2014年度は255株であった。2014年度には1医療機関 (55株) が増えているが、そのことを含めても検出数の増加が認められた (図1)。

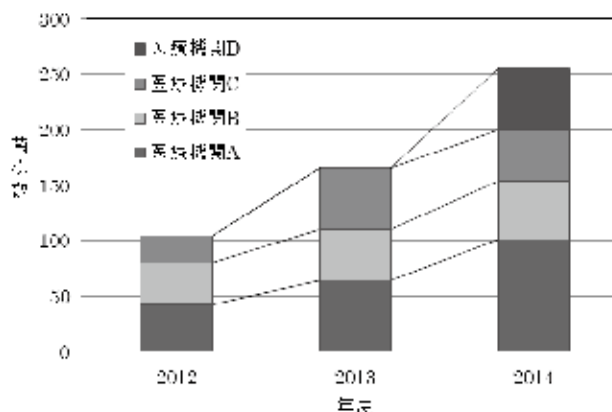


図1 年度別菌株数

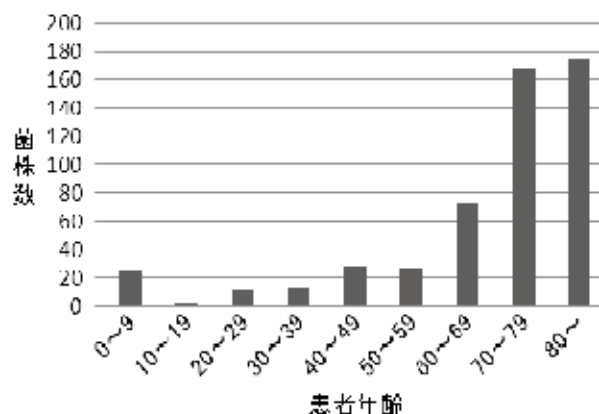


図2 年齢別菌株数

性別で見ると、524 株中、男性 228 株 (43.5%)、女性 296 株 (56.5%) であった。年齢別では、70 歳以上から検出した菌株が 343 株と 65.5% を占め、高齢者の菌株が多かった (図 2)。

菌株を検出した検体を見ると、尿 (カテーテル尿を含む) が 348 株 (66.4%) と最も多く、次いで血液 50 株 (9.5%)、痰 44 株 (8.4%) で、他にも様々な検体から ESBL 産生大腸菌は検出されていた (表 1)。

表 1 検体別菌株数

検体	菌株数	(%)
尿 (カテーテル尿を含む)	348	(66.4)
血液	50	(9.5)
痰	44	(8.4)
膣・子宮分泌物	18	(3.4)
膿・膿瘍	16	(3.1)
その他	48	(9.2)

2. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果、CTX には 517 株が耐性、3 株が中間、4 株が感受性を示したのに対し、CAZ には 85 株が耐性 (全て CTX にも耐性)、185 株が中間、254 株が感受性であった。両薬剤に感受性の株はなかったが、両薬剤のどちらにも耐性を示さない株は 7 株あった。

次に DDST 法を実施したところ、521 株において ESBL 産生性を確認したが、3 株では β -ラクタマーゼ阻害剤 (AMPC/CVA, ABPC/SBT) による阻止帯の形成を認めなかった。そのうち 2 株は CTX と CAZ の両薬剤に耐性を示さない株だったが、1 株は両薬剤に耐性を示した株であった。

3. ESBL 遺伝子型別 (表 2)

PCR 法の結果、524 株のうち 519 株においていずれかの ESBL 遺伝子を検出した。そのうちの 242 株は複数の遺伝子を保持していた。

最も多く検出した遺伝子型は CTX-M-9G で、519 株中 395 株 (76.1%) から検出された。次に多い型から順に、TEM-型が 240 株 (46.2%)、CTX-M-1G が 107 株 (20.6%)、SHV-型が 16 株 (3.1%)、そして CTX-M-2G が 12 株 (2.3%) であった。年度別に見ても、同様の検出傾向を示していた。

遺伝子を検出した 519 株について、単独又は複数検出した遺伝子型の組み合わせを見ると 13 種類認められた。その中で最も多いのは CTX-M-9G 単独検出株で、230 株 (44.3%) であった。次いで多い順に、CTX-M-9G と TEM-型の複数型検出株が 153 株 (29.5%)、CTX-M-1G と TEM-型の複数検出株が 67 株 (12.9%)、CTX-M-1G 単独検出株が 39 株 (7.5%) であり、これらは年度別に見ても、同様に上位 4 つの組み合わせであった。

一方で ESBL 遺伝子を検出しなかった株は 5 株あった。そのうちの 2 株は、CTX と CAZ のどちらにも耐性を示さず、また DDST 法で β -ラクタマーゼ阻害剤による阻止帯の形成を認めず ESBL 産生性が確認されなかった菌株であった。3 株では DDST 法で阻止帯の形成を確認していたが、今回の PCR 法で対象とした遺伝子は検出されなかった。

考 察

薬剤耐性菌の一つである ESBL 産生大腸菌について、2012年 2 月から 2015年 1 月までの間に県内 4 医療機関から 524 株を収集し、奈良県における ESBL 遺伝子型の検出状況を調査した。年度別の収集菌株数を見ると増加傾向にあり、県内において ESBL 産生大腸菌が広く侵淫していることが示された。菌株を検出した検体を見ると、尿からの検出が 66.4% を占めて最も多かった。尿は、院内感染の感染源として重要視されており、今後も院内感染による感染拡大へ警戒が必要であると考える。

収集した 524 株について、PCR 法により 5 種類の ESBL 遺伝子型別を実施した結果、519 株からいずれ

表 2 検出した ESBL 遺伝子型

年度	CTX-M-1G			CTX-M-2G				CTX-M-9G			TEM		SHV	検出なし	合計
	単独	TEM	TEM + CTX-M-9G	単独	CTX-M-9G	TEM	TEM + CTX-M-9G	単独	TEM	TEM + SHV	単独	SHV			
2012	7	20	0	1	1	0	0	34	36	3	0	1	1	0	104
2013	15	19	0	1	1	2	0	78	42	2	0	3	0	2	165
2014	17	28	1	1	1	3	1	118	75	2	1	1	3	3	255
合計	39	67	1	3	3	5	1	230	153	7	1	5	4	5	524

かの ESBL 遺伝子を検出し、242 株では複数の遺伝子検出を確認した。検出した遺伝子の組み合わせは 13 種類認められ、日本で主に臨床的に多く検出されている 5 種類の ESBL 遺伝子 (CTX-M-型 3 種類, TEM-型及び SHV-型) を保有する大腸菌は、奈良県内において多様に存在することが確認された。

今回の調査において ESBL 遺伝子を検出した 519 株のうち、509 株から CTX-M-型遺伝子を検出した。そのうち最も多かったのは CTX-M-9G で、国内の臨床検体において報告されている検出傾向^{6~8)}と同様であった。

CTX-M-型β-ラクタマーゼは CAZ よりも CTX に対してより活性を有しているが、近年、CAZ にも高度耐性を示す CTX-M-15 型 ESBL 産生大腸菌 O25:H4, シークエンスタイプ (ST) 131 の検出が世界各地で増加しており、公衆衛生学的に注目されている⁹⁾。今回の調査において、CTX-M-15 を含む CTX-M-1G を検出した中に大腸菌 O25 の株を確認しているため、今後、H 血清型の確認とシークエンス解析を実施する予定である。

また遺伝子検出株のうち 10 株は、TEM-型又は SHV-型の単独保有株、又は両遺伝子のみを保有する株であった。この両遺伝子は ESBL でなくプロトタイプβ-ラクタマーゼ遺伝子の可能性がある。DDST 法による表現型の確認では ESBL 産生性を示した菌株もあったが、今後 DNA 塩基配列の確認を行い詳細な遺伝子型別を実施する必要がある。

医療機関で ESBL 産生大腸菌と判定され、当センターでも ESBL 産生性を確認したが今回の PCR 検査で遺伝子を検出できなかった菌株は、他の ESBL 遺伝子を保有する可能性がある。又は ESBL 遺伝子以外の CMY 型や FOX 型など第三世代セフェム系薬剤を分解する他の薬剤耐性遺伝子を保有する可能性も考えられるので、より詳細な検査が必要である。

さらに、ESBL 産生大腸菌は家畜等の食肉からも検出されており、特に鶏肉からの検出率が高く、その ESBL 遺伝子型は国産鶏肉と輸入鶏肉で異なる傾向が見られている^{10, 11)}。今回の調査で多く検出した CTX-M-型遺伝子は鶏肉由来株における検出も多く、感染源としての可能性も考えられるので、遺伝子型の検出傾向には今後も注視していきたい。

臨床現場では ESBL 産生菌による院内感染事例¹²⁾や、大腸菌による有症苦情事例患者の症状回復遅延から ESBL 産生性を確認した事例¹³⁾が報告されている。県内において ESBL 産生大腸菌の検出数の増加傾向が見られており、今後も検出動向を監視するため調査を継

続して実施する必要があると考えている。

謝 辞

今回の調査を実施するにあたり、菌株と情報を提供して頂きました県内各医療機関の検査担当者の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 国立感染症研究所, 病原微生物検出情報 (IASR), 32, 3-4 (2011)
- 2) 田邊純子, 琴原優輝, 松井恵梨子, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, 46, 89-90 (2011)
- 3) V. Jarlier, M.-H. Nicolas, G. Fournier, et al.: *Rev. Infect. Dis.*, 10, 867-878 (1988)
- 4) H.-J. Monstein, A. O'stholm-Balkhed, M.V. Nilsson, et al.: *APMIS*, 115, 1400-1408 (2007)
- 5) L. Xu, V. Ensor, S. Gossain, et al.: *J. Medical Microbiology*, 54, 1183-1187 (2005)
- 6) N. Shibata, H. Kurokawa, Y. Doi, et al.: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50, 791-795 (2006)
- 7) S. Suzuki, N. Shibata, K. Yamane, et al.: *J. Antimicrob. Chemother.*, 63, 72-79 (2009)
- 8) 黒崎守人, 岸亮子, 川瀬遵, 他: 島根県保健環境研究所報, 51, 45-47 (2009)
- 9) Nicolas-Chanoine, M.-H. Blanco, J. Leflon-Guibout, et al.: *J. Antimicrob. Chemother.*, 61, 273-281 (2008)
- 10) 下島優香子, 井田美樹, 猪股光司, 他: 東京都健康安全研究センター年報, 62, 145-150 (2011)
- 11) 永井佑樹, 岩出義人, 赤地重宏, 他: 三重県保健環境研究所年報, 58, 37-42 (2013)
- 12) 北橋智子, 吉原純子, 奥島祥美, 他: 千葉県環境保健研究所年報, 21, 43-46 (2014)
- 13) 国立感染症研究所, 病原微生物検出情報 (IASR), 33, 7-8 (2012)

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

Case Study on Complaint against Bitter Wheat Noodle by Microorganism

Koushi ABE・Takako YOSHIDA・Shuichi SEGUCHI・Kazuko TAGUCHI and Hisako OHMAE

緒言

近年、消費者の食の安全・安心への関心が高まっているにも関わらず、食品の安全や信頼を損なう事件もあり、保健所への食に関する様々な苦情や相談が増加している。

本報では、保健所に寄せられた苦情や相談のうち、当センターに検査依頼のあったうどんの苦味に関する事例について報告する。

概要

平成26年6月、うどんが苦味を呈しているとの苦情が、製造施設管轄保健所に寄せられた。保健所による製造施設の調査結果より、消毒剤の残留や潤滑油等の混入がないことが判明し、微生物由来の苦味の可能性が考えられ、原因究明のため当センターに検査依頼するに至った。苦情品は廃棄されていたが、販売業者から返送された苦情品と同一ロットのうどん(同一ロット品)及び対照品として別製造ラインのうどん(別ロット品)が当センターに搬入された。同一ロット品は、臭い、外観とも正常品と変わらなかったが、苦味が確認された。当センターは過去の苦情事例¹⁾より、*Pseudomonas fluorescens* (以下 *P. fluorescens*)を疑い、原因菌の分離及び分離菌の添加による苦味の再現試験を行った。

材料と方法

1. 材料

原因菌の特定には、同一ロット品及び別ロット品を用いた。苦味再現試験には、当該施設で製造されたうどん(当該施設うどん)を用い、添加菌には今回分離した菌を用いた。

2. 方法

1) 原因菌の特定

検査にあたり *P. fluorescens* が、低温細菌かつ蛍光菌であることを考慮し、細菌数、低温細菌数及び紫外線照射による蛍光菌数を測定した。

検査は、食品衛生検査指針²⁾に基づいて行った。すなわち、うどん 10 g を無菌的に採取し、滅菌ストマッカー袋に入れ、90 ml の希釈液(リン酸緩衝液)を加えて均質化し、これを試料原液とした。

試料原液を段階希釈した試料液を、スパイラルプレート法²⁾により標準寒天培地上に塗抹し、5℃、25℃及び35℃で培養した。各種温度で培養後、細菌数を測定し、さらに、培地に紫外線(312 nm)を照射し、蛍光を示す菌を蛍光菌として菌数を測定し、分離した。分離菌株について、下記の同定試験を行った。

① 分離菌の性状確認検査

分離菌株に対して、性状確認試験としてグラム染色、TSI培地、LIM培地、シモンズのクエン酸培地、カタラーゼ試験、オキシダーゼ試験、色素であるピオシアニン(緑色色素)やフルオレセイン(緑黄色の蛍光色素)産生性、5℃における菌の発育試験を行った。また、全自動細菌検査装置 VITEK2 Compact (シスメックス ビオメリュー)による同定を行った。

② 遺伝子検査

普通寒天培地にて純培養した分離菌株について、アルカリ熱抽出法にてDNAを抽出し、第16改正日本薬局方³⁾に記載の10F/800Rプライマーセットを用いてPCRを行い、アガロースゲル電気泳動で増幅サイズ(800 bp)を確認後、FastGene Gel/PCR Extraction Kit(日本ジェネティクス株式会社)で増幅DNAを精製した。精製したDNAはBigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems)を用い、添付のプロトコールに従い、ダイレクトシーケンスを実施した。塩基配列データはDNA Data Bank of Japan (DDBJ)のBLASTによる解析を行った。

2) 苦味再現試験

標準寒天培地で18時間培養した分離菌を滅菌生理食塩水に懸濁し、段階希釈して約5,000 cfu/mlの添加菌液を作成した。添加菌液の菌数は、ミスラ法、もしくはコンラージ法により求めた。滅菌カップに無菌的に採取した

うどん各 20 g に対して、分離菌を 500 cfu/g 相当になるように菌液を各々 2ml 添加した。添加後は、5 °C、25 °C 及び 35 °C で 9 日間保存した。保存時間経過ごとに、菌を添加したうどんの蛍光を確認し同時に 3 名以上により官能試験を行った後、うどんを無菌的に 10 g 採取して滅菌ストマッカー袋に入れ、90 ml の希釈液(リン酸緩衝液)を加えて均質化し、これを試料原液とした。試料原液を段階希釈した試料液を、スパイラルプレート法により標準寒天培地上に塗抹し、25 °C で培養し、培地に紫外線を照射して蛍光を示す菌数を測定した。また、陰性対照として菌液を添加しないうどんについても同様に試験した。

結果及び考察

1. 原因菌の特定

同一ロット品を 5 °C で 9 日、25 °C で 3 日、35 °C で 2 日培養した結果、細菌数は 3.3×10^8 cfu/g、 5.2×10^8 cfu/g、 3.6×10^8 cfu/g であった。紫外線を照射した結果、培養温度が 5 °C の場合 2.9×10^8 cfu/g(88%)、25 °C の場合 1.9×10^8 cfu/g(37%) の細菌が蛍光を示すことを確認した。一方、35 °C の場合、蛍光を示す菌は確認できなかった。

なお、対照として検査した別ロット品では蛍光を示す菌は生育しなかった。

蛍光を示した菌は、グラム陰性桿菌で、性状確認検査結果は、TSI (-/-, -, -), LIM (-, -, +), クエン酸 (+), カタラーゼ (+), オキシダーゼ (+) であり、成書⁴⁾における *Pseudomonas* 属菌のものと一致し、ピオシアニン非産生、フルオレセイン産生であり、5 °C で発育した。また、VITEK2 Compact の GN カードによる 47 種類の生化学性状試験結果、確率 97% で *P. fluorescens* と同定された。さらに、16S rRNA 遺伝子配列は、BLAST 解析により *P. fluorescens* の配列と高い相同性(99%)を示した。これらの結果から、分離菌を *P. fluorescens* と同定した。

今回、35 °C の場合、蛍光を示す菌が確認できなかったのは、検査した同一ロット品が販売業者から返送された品であり、消費期限も切れ、保管状態も悪かったため、35 °C では雑菌の発育が優勢し、低温菌である *P. fluorescens* は発育できなかったためと考えられる。

2. 苦味再現試験

菌液を添加して保存時間経過ごとの蛍光菌数を図1に、味覚試験結果を表1に示した。

保存温度 5 °C では、蛍光菌数は徐々に増加し、7 日保存後に苦味の発生を確認した。その時点でのうどんの外観および食感は正常品と変わらなかったが、うどんに紫外線照射するとうどん自体も蛍光を発生し、蛍光菌数は

3.4×10^8 cfu/g であった。

保存温度 25 °C では、1 日保存後にうどんの外観および食感は正常品と変わらなかったが、うどんに紫外線を照射したところ、うどん自体の蛍光が確認され(図 2)、弱い苦味の発生を確認した。この時点で蛍光菌数は 4.0×10^8 cfu/g であった。3 日保存後に蛍光菌数は 2.4×10^9 cfu/g となり、強い苦味を感じたが、5 日保存後には蛍光菌数がほとんど変化していないにもかかわらず、苦味が低減した。

保存温度 35 °C では、1 日保存後には *P. fluorescens* 菌数が 3.5×10^8 cfu/g に達していたが、苦味を感じず、以後、7 日間の保存期間内に苦味を呈さなかった。なお、陰性対照は、いずれの保存温度においても苦味は発生することなく、培地上に蛍光を示す菌の発育はなかった。

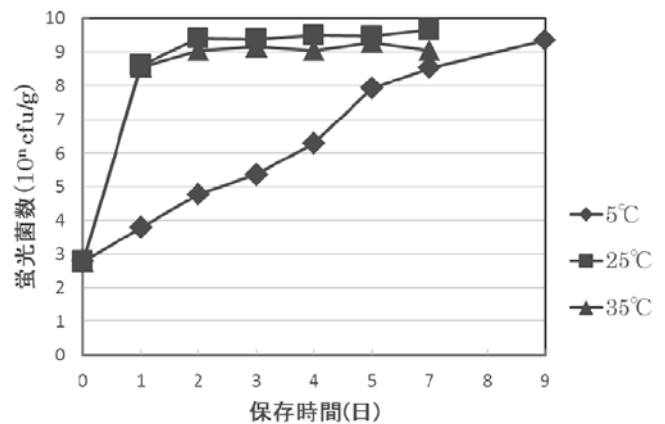


図 1 *P. fluorescens* 添加後の各保存温度における保存時間経過後の蛍光菌数

表 1 各保存時間後の味覚試験結果

保存時間(日)	0	1	2	3	4	5	6	7	9
5°C保存	-	-	-	-	-	-	-	+ _w	+
25°C保存	-	+ _w	+	++	++	+	NT	+	NT
35°C保存	-	-	-	-	-	-	NT	-	NT

- : 苦味なし +_w : 弱い苦味 + : 苦味
++ : 強い苦味 NT : not tested

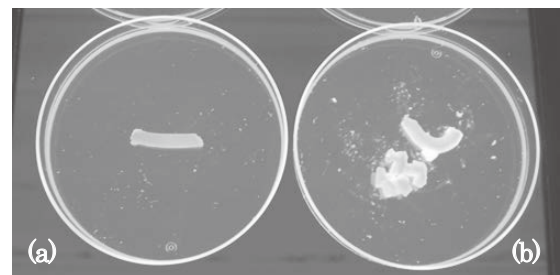


図 2 紫外線照射時の写真
(a) : 陰性対照 (b) : 菌添加品

今回の実験結果から、*P. fluorescens* の菌数増加と苦味発生の関係では、 1×10^8 cfu/g 以上の菌数に達しないと苦味が発生しないことがわかった。

今回検査したうどんの消費期限は冷蔵保管で 5 日であった。再現試験の結果、保存温度 5 °C では消費期限内に苦味を呈さなかったが、25 °C では 1 日で苦味を呈した。これより苦味品は菌が付着した上に、製造されてから喫食するまでの間の保管温度が不適切であった可能性も考えられた。

苦味発生原因について考えてみると、グラム陰性の低温細菌の多くは、プロテアーゼやリパーゼ活性が強く、乳製品などで腐敗臭や苦みなどを生ずることが知られている^{5),6)}。また、うどんにおいても *P. fluorescens* による苦味苦味事例の報告がある⁷⁾。

一般的に苦味の原因成分として疎水性のアミノ酸(ロイシン、イソロイシン、バリン、フェニルアラニン)を多く含むペプチドが知られており、小麦に含まれるたんぱく質(小麦グルテン)に酵素であるプロテアーゼが作用すると、苦味ペプチドが生成する⁷⁾。本事例は、うどんに含まれる小麦グルテンが *P. fluorescens* 由来のプロテアーゼにより分解され、苦味ペプチドが発生したと考えられる。また、M Gobbetti らは、苦味ペプチドは *P. fluorescens* 由来のアミノペプチダーゼによりアミノ酸に加水分解されると報告している⁸⁾。25 °C 保存時にみられた苦味の低減は、苦味ペプチドがアミノペプチダーゼによりアミノ酸に分解されたためと考えられる。

保存温度 35 °C では、25 °C 保存同様、菌数が増加しているにもかかわらず、苦味は発生しなかった。そこで菌液を添加し 35 °C で 4 日保存した *P. fluorescens* 菌数 1×10^8 cfu/g 以上の苦味を呈さないうどんを、さらに 25 °C で 1 日保存する追加試験を行ったところ、苦味の発生を確認した。ROSA MARGESIN らは、*P. fluorescens* は、10 °C 及び 20 °C ではプロテアーゼを産生するが、30 °C では産生しないと報告している⁹⁾。今回の保存温度による苦味発生の違いは、温度に依存したプロテアーゼの産生性に起因していると考えられる。

結 論

本事例の原因菌は、*P. fluorescens* であった。本菌は自然界の水や土壌に広く分布する環境菌であるため、菌が製造施設内に持ち込まれ、混入したと推察された。

近年、低温流通食品が増加している。しかし、本事例のように *P. fluorescens* のような低温細菌については、低温においても増殖し、食品を変質させることを認識し、製造されてから喫食までの温度管理の徹底に加えて製造施設に菌を持ち込まない対策や製造ラインの洗浄・殺菌と

いった衛生管理を徹底する必要がある。

謝 辞

材料の提供にご協力いただいた、葛城保健所(現：中和保健所)の職員の方々に深謝いたします。

文 献

- 1) 食品苦味処理事例集 厚生省生活衛生局監修, 50-51 (1992), 中央法規
- 2) 食品衛生検査指針微生物編 厚生労働省監修, 2004, (社)日本食品衛生協会
- 3) 厚生労働省告示第65号 第十六改正日本薬局方 参考情報 「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」, 平成23年3月24日
- 4) 坂崎利一: 臨床材料にみられる腸内細菌以外のグラム陰性, 好気性および通性嫌気性桿菌の同定, 272-273 (1993), 近代出版
- 5) 坂本美穂, 竹葉和江, 仲真晶子他, 東京衛研年報, 52, 133-137, 2001
- 6) 山内邦男, 横山健吉: ミルク総合辞典, 1992, 朝倉書店
- 7) 小巻利章: 酵素応用の知識, 1986, 幸書房
- 8) M Gobbetti, L Cossignani, MS Simonetti, et al.: *Lait*, 75, 169-179 (1995)
- 9) ROSA MARGESIN, FRANZ SCHINNER: *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 38, 209-225 (1992)

感染症発生動向調査による奈良県の患者発生状況：平成26年（2014年）

稲田眞知・杉本大地・川辺千明・米田正樹・中野守・北堀吉映

The Status of Infection Diseases in Nara Prefecture, 2014

Machi INADA・Daichi SUGIMOTO・Chiaki KAWABE・Masaki YONEDA・Mamoru NAKANO
and Yoshiteru KITAHORI

緒言

感染症発生動向調査は、平成11年4月から施行された「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」（感染症法）の大きな柱に位置づけられている。感染症患者発生の情報について、正確に把握・分析し、その結果を国民や医療関係者への確に提供・公開することにより、感染症発生の予防や蔓延を防止することを目的に、医師等の医療関係者の協力をうけ、全国的に実施されている。奈良県でも、感染症発生動向調査の結果を迅速かつ的確に活用し、事前対応型の感染症予防対策とするため、奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱、同要領に基づき調査を実施している。

今回、本県の平成26年の患者発生状況についてとりまとめたので報告する。

方法

全数把握対象疾患は、診断した全ての医師が保健所に届出を行い、発生状況を把握している。また、定点把握対象疾患は、知事が指定した定点医療機関（78機関）を受診した患者数を把握することで流行状況を調査している。

平成26年に追加等された対象疾患は以下のとおりである。7月に中東呼吸器症候群(MERS)が指定感染症とされた。また9月には5類全数把握対象疾患に、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、水痘(入院例に限る。)及び播種性クリプトコッカス症が新たに加わった。また定点把握対象からの類型変更で、薬剤耐性アシネトバクター感染症が5類全数把握対象に加わった。

平成26年に届出のあった全数把握対象疾患及び報告のあった定点把握対象疾患について、感染症サーベイランスシステム(NESID)より情報を収集・解析した。

結果

1. 全数把握対象疾患の発生状況

平成26年の患者届出数を表1に示す。なお、現時

点(H27年6月時点)では速報値で有り、後日変更されることがある。

表1 奈良県における全数把握対象疾患届出数

類別	疾患名	届出数
二類	結核	301
三類	腸管出血性大腸菌感染症	23
	腸チフス	2
四類	A型肝炎	8
	チクングニア熱	1
	デング熱	3
	日本紅斑熱	1
	マラリア	1
	レジオネラ症	11
五類	アメーバ赤痢	15
	ウイルス性肝炎	1
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	5
	急性脳炎	3
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	3
	後天性免疫不全症候群	14
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	2
	侵襲性肺炎球菌感染症	20
	水痘(入院例)	5
	梅毒	16
	破傷風	1
	風しん	4
	麻しん	1

診日による集計

1) 一類感染症

届出はなかった。

2) 二類感染症

結核301例の届出があり、昨年とほぼ同様であった。類型は、患者226例、無症状病原体保有者64例、疑似症患者11例であった。患者の病型は、肺結核が174例、その他の結核(結核性胸膜炎、リンパ節結核、腸結核、脳結核等)が43例、肺結核及びその他の結核が9例であった。全届出例の年齢階層は、10歳未満7例、10歳代2例、20歳代18例、30歳代19例、40歳代20例、50歳代30例、60歳代48例、70歳代58例、80歳代76例、90歳代17例、100歳代1例で、80歳代が最も多く、70歳以上が全体の50.1%を占めていた。

3) 三類感染症

腸管出血性大腸菌感染症 23 例、腸チフス 1 例の届出があった。

腸管出血性大腸菌感染症は、昨年よりわずかに減少した。類型は、患者 19 例、無症状病原体保有者が 4 例で、その年齢階層は、10 歳未満が 3 例、10 歳代が 4 例、20 歳代 9 例、30 歳代はなく、40 歳代 4 例、50 歳代 1 例、60 歳代 2 例で、昨年に比べると高齢者が少なかった。血清型・検出病原体は、O157 が 19 例 (VT1&VT2 が 8 例、VT2 が 11 例)、O26 が 2 例 (VT1 が 2 例)、O121 が 2 例 (VT2 が 2 例) であった。感染経路としては、推定ではあるが経口感染が 16 例、接触感染が 1 例、不明が 6 例であった。経口感染が推定されているものには焼き肉の喫食歴の記載があるものが 9 例、うち 1 例は生肉を喫食していた。

腸チフスは 2011 年以降報告が無かったが、本年は 2 例報告があった。類型は 2 例とも患者で、30 歳代女性及び 50 歳代女性であった。1 名は医療関係者で、業務上チフス菌を取り扱ったとのこと。また、もう 1 名は、観光で来日した中国人で、感染推定地域はマレーシアとされている。

4) 四類感染症

A 型肝炎 8 例、チクングニア 1 例、デング熱 3 例、日本紅斑熱 1 例、マラリア 1 例、レジオネラ症 11 例の届出があった。

A 型肝炎は、例年 1~3 例の届出であったが、急増した。全国的にも 3 週以降急増し、ここ 10 年で最も多い年となった。奈良県でも 9~10 週だけで 3 例報告があり、例年と違う発生動向のため注視していた。検体が確保できた 17 週の報告患者から、全国で検出されている 2014 年 IA (広域型) が検出された。この 2014 年 IA (広域型) は、宮城県から鹿児島県の広範囲に同時期に検出され、解析領域での遺伝子配列がほぼ完全に同一という、非常に特異な特徴があり、また本株による症例は第 7~11 週をピークとしており、このような流行の特徴から、おそらく限局された地域で同一時期にこの 2014 年 IA (広域型) に汚染された食材などが短期間に全国規模で流通し、同一株による全国的な流行を発生させたものと推察されているが、原因については明らかになっていない²⁾。届出のあった 8 例の性別・年齢層は男性が 30 歳代 1 例、40 歳代 2 例、60 歳代 1 例、女性が 40 歳代 2 例、50 歳代及び 70 歳代 1 例ずつとなっている。黄疸を呈したのは 6 例、うち 3 例が肝肥大を伴っていた。推定感染経路は全員が経口感染で、カキの喫食歴が 2 名、マグロ・イカの塩辛喫食歴が 1 例であった。2014 年 IA (広域型) を検出し

た患者もカキの喫食歴があった。また海外が推定感染地域であるのが 2 例で、ラオスとフィリピンであった。なお、A 型肝炎は 6 歳未満の小児では不顕性感染することが知られており、黄疸を呈するのは 10%程度とされる。患者発生時には周辺の小児の無症状病原体保有者の検索なども必要と思われる。

チクングニア熱は、7 月に 1 例報告があった。患者は、50 歳代男性で、感染推定地域はインドネシアとされている。

デング熱は 8 月・9 月・11 月に 1 例ずつ計 3 例報告があった。全て海外感染事例である。8 月の事例は 40 歳代男性で、推定感染地域はフィリピン、9 月の事例は 30 歳代女性で、同じくフィリピン、11 月の事例は 20 歳代男性で、推定感染地域はインドとされている。3 例とも、病型はデング熱で、2 日以上続く発熱、発疹、血小板減少及び白血球減少を呈しており、特に 8 月の女性は、血小板が $100,000/\text{mm}^3$ 以下と記載されている。

平成 26 年には、約 70 年ぶりにデング熱の国内感染事例が発生した。東京都代々木公園等を感染地として、全国で約 160 名の患者が報告された。デング熱やチクングニア熱は、本来は海外の感染症ではあり、海外で感染した人を吸血した蚊が他の人を刺すことで、感染が広がる疾患である。また、デング熱はヒトなどの霊長類と蚊以外ではウイルスが増殖しないとされる。代々木公園には、イベントなどで海外からも含めて訪問者が多く、吸血対象となる他の動物よりヒトの方が多という都会の公園の特徴から、感染が始まりまた広がったとされている。ただし、本県でも海外渡航歴のあるデング熱患者は、毎年数例報告されており、その人を起点として感染が広がることはあり得ることである。蚊対策 (増やさない・刺されない) や特に感染地からの帰国者に対しての刺されない対策については、今後普及啓発が必要と考えている。

日本紅斑熱は、本県では初めての報告である。60 歳代男性で、発熱・発しん・肝機能異常を呈している。推定感染地域は、高知県とされている。

マラリア 1 例は、50 歳代男性で、病型は熱帯熱であった。推定感染地域は、モザンビークとされている。

レジオネラ症 11 例の病型は肺炎型 10 例と、無症状病原体保有者 1 例で、男性が 7 例 (40 歳代 1 例、50 歳代 1 例、60 歳代 4 例、70 歳代 1 例) 女性が 4 例 (50 歳代 1 例、80 歳代 3 例) となっている。推定感染経路は水系感染が 5 例、塵埃感染が 1 例 (水系感染との重複)、不明が 6 例となっている。

5) 五類感染症

アメーバ赤痢 15 例, ウイルス性肝炎 1 例, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 5 例, 急性脳炎 3 例, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 3 例, 後天性免疫不全症候群 14 例, 侵襲性インフルエンザ菌感染症 2 例, 侵襲性肺炎球菌感染症 20 例, 水痘 (入院例) 5 例, 梅毒 16 例, 破傷風 1 例, 風しん 4 例及び麻しん 1 例の届出があった。

アメーバ赤痢の病型は, 腸管アメーバ症 11 例, 腸管外アメーバ症 4 例であった。その年齢階層は, 男性が 30 歳代 2 例, 40 歳代が 1 例, 50 歳代が 2 例, 60 歳代 5 例, 70 歳代 2 例, 80 歳代が 1 例, 女性が 30 歳代 1 例, 50 歳代 1 例であった。感染原因は推定であるが, 経口感染が 5 名, 性的接触 3 名, 不明 7 例であった。推定感染地域は国外が 8 例あった。

ウイルス性肝炎は, 20 歳代男性 1 例, B 型肝炎で, 推定感染経路は性的接触であった。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は, 9 月から全数把握対象に追加された疾患である。患者は全て男性で, 10 歳代 1 例, 70 歳代 1 例, 80 歳代 3 例であった。病原体検出部位としては, 血液 2 例, 中心静脈カテーテル 1 例, 尿や喀痰が 2 例で, 感染経路は以前からの保菌が 2 例, 医療器具からが 1 例, 不明が 2 例となっている。検出された菌種は, 血液から検出された 2 例は *Enterobacter cloacae* 及び *E-coli*, 尿から検出された 1 例は *E-coli* の記載があった。

急性脳炎は, 1 月に 2 例, 7 月に 1 例報告があった。病型は, 1 月の 10 歳代女性がインフルエンザ A 型, 1 月の 10 歳未満の男性がインフルエンザ B 型, 7 月の 60 歳代男性がその他 (ヘルペス) とされている。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症 3 例報告があった。3 例は, 近年のうちでは多い。1 月に報告があったのは, 60 歳代女性で血清群は A 型, 9 月に報告があったのは, 70 歳代男性で血清群は B 溶血性, 死亡までに到る臨床経過が非常に短かった旨の記載があった。11 月に報告があったのは, 80 歳代男性で, 血清群は A 型であった。

後天性免疫不全症候群 14 例の病型は, AIDS 6 例, 無症候性キャリア 7 例, その他(急性 HIV 感染症) 1 例であった。すべて男性で, 20 歳代 2 例, 30 歳代 8 例, 40 歳代 2 例, 50 歳代及び 60 歳代がそれぞれ 1 例であった。感染原因・感染経路は, 性的接触 11 例 (異性間 3 例, 同性間 9 例 (重複有り)), 不明 3 例であった。無症候性キャリアのうち 1 例は, 梅毒の無症候病原体保有者と重複している。

侵襲性インフルエンザ菌感染症は, 10 歳未満の男性 1 例と 80 歳代男性の 2 例である。10 歳未満男性には

ヒブワクチン接種歴が 4 回有るとのことであった。80 歳代男性には, ワクチン接種歴は無かった。

侵襲性肺炎球菌感染症は, 昨年より増加した。男性 11 例, 女性 9 例で, 10 歳未満 3 例, 40 歳代 2 例, 50 歳代 1 例, 60 歳代 5 例, 70 歳代 4 例, 80 歳代 3 例, 90 歳代 2 例であった。10 歳未満の 2 名には, ワクチン接種歴があった。感染経路は, 飛沫感染 7 例, 垂直感染 1 例, 誤嚥 1 例, 不明が 11 例であった。

水痘 (入院例に限る) は, 9 月から全数把握対象に追加された疾患である。水痘は, 元々小児科定点把握対象疾患であったため, 成人の水痘は把握できず, 院内感染などの重症例も把握できていなかった。このため水痘ワクチンが平成 26 年 10 月から定期接種となるのに先立ち, サーベイランス体制の変更となった。ただし, 初感染例のみが届出対象である。届出のあった病型は全て臨床診断例であった。性別, 年齢階層は, 男性が 10 歳未満 1 例, 40 歳代 1 例, 女性が 10 歳未満 1 例, 30 歳代 1 例, 50 歳代 1 例であった。10 歳未満の 2 例にはワクチン接種歴が無かった。また, 50 歳代と 10 歳未満の女性の 2 例は, 院内感染 (他疾患で入院中の感染) とされている。

梅毒は 16 例報告があった。これは過去最多で急増している。平成 26 年には全国的にも梅毒の報告が増加した。これは特に男性同性愛者の中で, HIV 感染症および梅毒の流行がみられているためとされ, 感染症発生動向調査による国内の流行状況は, 梅毒感染者の約 8 割を男性が占め, 男性感染者の多くが同性間の性交渉による感染であることが明らかにされている。本県でも, 男性 12 例, 女性 4 例と男性が多かった。また患者の年齢層は, 男性 10 歳代 (19 歳) 1 例, 20 歳代 4 例, 30 歳代 5 例, 40 歳代及び 60 歳代 1 例ずつ, 女性が 10 歳代 (16 歳) 1 例, 20 歳代 3 例となっている。患者の病型は, 早期顕症梅毒 12 例 (I 期 3 例, II 期 9 例), 無症候 (無症状病原体保有者) 4 例であった。感染経路は性的接触が 14 例 (同性間 3 例, 異性間 9 例, 不明 2 例), 不明が 2 例となっている。

破傷風は昨年に続きの報告である。60 歳代男性 1 例で, 臨床決定されている。足指を受傷したと記載がある。

風しんは 4 例と前年に比べて大きく減少した。4 月 1 例, 5 月 2 例, 6 月 1 例の報告があった。患者の病型は, 臨床診断例 2 例, 検査診断例 2 例で, 男性が 10 歳代 2 例, 30 歳代 1 例, 女性が 20 歳代 1 例となっている。ワクチン接種歴の有りが 2 例, 無しが 1 例, 不明が 1 例であった。

麻しんは, 平成 23 年以來の報告であった。これは,

平成 23 年度から始まった麻しん対策推進事業やその後の麻しんに関する特定感染症予防指針により遺伝子検査による検査診断が徹底されたため、臨床診断例での報告が無かったためである。平成 26 年に報告があった 1 例は、渡航歴のある 20 歳代の男性で、平成 26 年 3 月 15 日～20 日にフィリピンセブ島に渡航し、3 月 28 日発熱で発病、4 月 2 日に発しんが出現している。保健研究センターに搬入された検体（咽頭ぬぐい液、血液、尿）すべてから B3 型遺伝子が検出された。

2. 定点把握対象疾患の流行状況

県内の定点医療機関数を表 2 に示す。

表 2 患者定点医療機関数（平成 26 年 4 月現在）

地区	北部		中部		南部		合計
	奈良市	郡山	桜井	葛城	内吉野	吉野	
保健所	奈良市	郡山	桜井	葛城	内吉野	吉野	合計
インフルエンザ定点	11(5)	16(2)	11(5)	11(3)	2(1)	3(2)	54(18)
小児科定点	7(4)	10(2)	7(3)	7(3)	1(1)	2(2)	34(15)
眼科定点	1	3	2(1)	2	-	1	9(1)
基幹定点	1(1)	2(2)	1(1)	1(1)	1(1)	-	6(6)
性感染症定点	3	2	2	2	-	-	9

()内は、病原体定点数

1) 週単位報告対象疾患（週報）

週報告対象の 19 疾患について、週別患者報告数を表 3 に示す。定点当たり報告数で見ると、ほとんどが全国より低いように見える。しかし、突発性発しんの定点当たり報告数及び県の出生率（人口千対：2013 年）を基に小児科定点把握対象疾患に限り定点当たり報告数を修正し比較すると、全国レベルより多かったもの、少なかったもの、全国並みであったものに分けられた。全国より多かった疾患が、RS ウイルス感染症、咽頭結膜熱及びヘルパンギーナで、全国より少なかったものが A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、手足口病、伝染性紅斑、百日咳及び流行性耳下腺炎、全国並みであったものが感染性胃腸炎及び水痘であった。

平成 26 年の年間定点当たり報告数で、上位 5 疾患は、①インフルエンザ、②感染性胃腸炎、③A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、④水痘、⑤ヘルパンギーナであった。これら及び全国レベルより多かった RS ウイルス感染症及び咽頭結膜熱について、奈良県と全国の定点当たり報告数の推移を図 1～7 に示し、以下に発生状況を述べる。

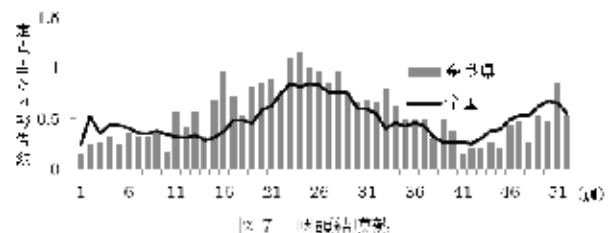
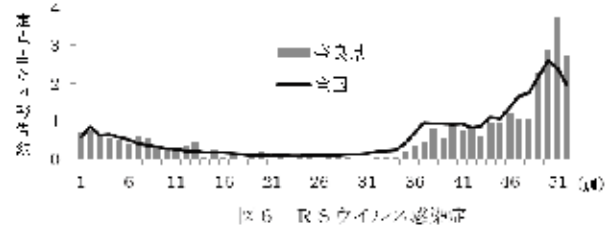
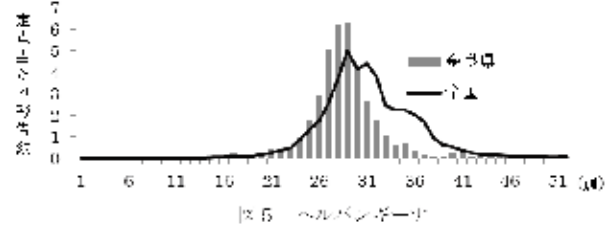
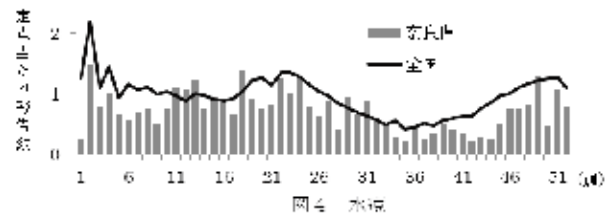
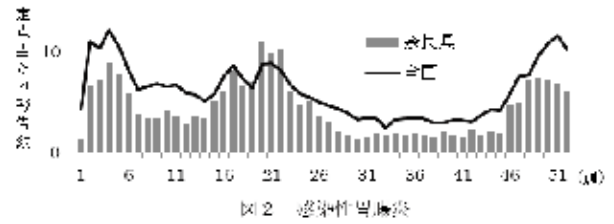
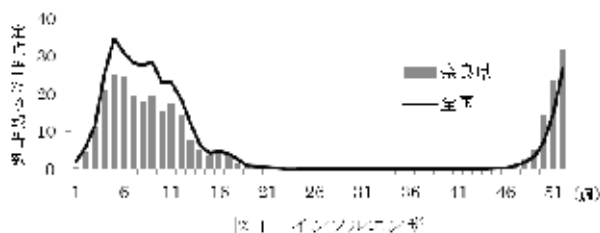


表3 平成26年 週単位報告対象疾患 報告数

定 点	疾患名\週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
※	インフルエンザ	41	254	594	1147	1359	1335	1047	981	1049	834	953	785	406	261	200	247	203	87	61	57	28	15	3							
	RSウイルス感染症	24	26	20	19	17	13	21	19	11	10	11	12	16	2	8	1	4	2	6	2	6	2	2	3	2	3	2	1	1	
	咽頭結膜熱	5	8	9	11	8	12	11	11	12	6	19	14	19	11	23	33	24	18	28	29	30	26	37	39	34	33	29	33	25	
	A群溶連菌咽頭炎	3	21	23	41	28	34	31	33	26	21	25	32	18	14	24	56	45	33	40	75	68	77	78	60	48	44	36	40	39	
	感染性胃腸炎	45	228	244	301	260	197	127	112	115	142	119	95	120	117	171	206	279	223	238	372	336	345	205	161	173	124	104	72	57	
	水痘	8	50	27	34	22	19	24	26	17	25	37	36	42	25	32	29	22	47	31	25	28	43	34	43	27	21	30	14	32	
	手足口病	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	伝染性紅斑	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
	突発性発しん	2	6	8	2	13	5	8	8	5	8	5	8	5	8	15	13	11	11	8	19	16	17	12	17	18	10	13	9	13	15
	百日咳																														
ヘルパンギーナ	1	4	3	3	4	3	4	3	5	1	4	1	1	1	6	2	5	2	3	3	4	2	4	2	3	5	1	8	6	8	
流行性耳下腺炎																															
急性出血性結膜炎																															
流行性角結膜炎	6	7	1	4	3	2	4	3	2	4	2	4	5	2	2	5	5	7	1	2	8	4	4	8	5	3	2	2	7	3	
細菌性髄膜炎	1																														
無菌性髄膜炎																															
マイコプラズマ肺炎																															
クラミジア肺炎																															
感染性胃腸炎(ロタウイルス)	2	1																													

定 点	疾患名\週	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
※	インフルエンザ	1																						
	RSウイルス感染症	22	23	22	27	21	25	29	24	10	20	13	5	7	9	7	15	16	9	18	16	29	18	
	咽頭結膜熱	22	31	21	18	12	19	22	21	19	24	15	29	18	33	38	44	35	61	48	42	40	1787	
	A群溶連菌咽頭炎	44	53	64	54	66	58	62	56	48	70	54	51	80	56	69	65	157	168	243	253	244	233	205
	感染性胃腸炎	22	30	20	17	10	7	16	8	12	17	14	12	7	10	8	17	26	25	28	44	16	36	27
	水痘	8	8	7	4	4	12	4	6	5	4	5	10	22	23	34	15	13	8	18	26	32	36	26
	手足口病	2	1	1	1	4	2	8	7	5	4	2	4	3	5	4	3	5	4	3	2	2	2	
	伝染性紅斑	17	17	7	13	4	22	13	12	19	21	21	11	22	11	17	9	10	17	7	19	14	14	7
	突発性発しん																							
	百日咳																							
ヘルパンギーナ	145	91	60	34	20	24	13	4	3	1	8	7	3	2	1	2	2	2	1	1	1	1	1273	
流行性耳下腺炎	7	7	7	5	9	7	4	6	5	6	3	4	6	7	8	6	3	2	4	2	3	4	11	225
急性出血性結膜炎																								2
流行性角結膜炎	4	3	7	6	7	4	6	5	12	7	8	5	3	3	2	4	4	16	14	12	5	9	254	
細菌性髄膜炎																								8
無菌性髄膜炎																								7
マイコプラズマ肺炎	2																							12
クラミジア肺炎																								1
感染性胃腸炎(ロタウイルス)																								36

※) インフルエンザ
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎はA群溶連菌咽頭炎と表示している
※) 人口千対出生数からみた新生児数の全国との比較：全国 8.2，奈良県 7.4，突発性発しんからみた捕捉割合を 18.35/27.98 として，
本県の定点点たり報告数に，(27.98/18.35) × (7.4/8.2) を乗じて計上してみた。

(1) インフルエンザ

年間の全報告数は16,239件で、平成25年より急増した。例年、インフルエンザの流行は年明けから始まるが、平成26年は年末に次の流行が始まっており、それを含まれると思われる。平成26年の年明けからの流行での報告数は昨年並みであった。例年のようなはっきりしたピークでは無く、だらだらと報告が続いた。最も多かったのが第5週の1,359件（定点当たり25.17）であった。また、年末から始まった流行は第52週に平成26年としては最も多く、1,711件（定点当たり31.69）と警報開始基準値（30）を超えた。インフルエンザシーズン（9月～次年8月）の流行として、年内に警報開始基準値を超えたのは、平成21年以来であった。

(2) 感染性胃腸炎

報告数としては、少なかった昨年並みであった。平成26年は第20週（5月）が最も多く372件（定点当たり10.94）であった。また、例年のように、晩秋から急増することはなかった。

(3) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

概ね、全国と同様の推移であったが、定点当たり報告数は、年間をとおして全国より低かった

(4) 水痘

概ね全国と同様の推移を示し、ほぼ全国並であった。水痘は、平成26年10月から定期接種となった。生後12月～生後36月に至るまでに2回の接種を行う。今後は、小児定点からの報告数は減少するとみられる。

(5) ヘルパンギーナ

夏カゼのひとつで、例年夏にピークがある。平成26年は、ヘルパンギーナの大流行の年で、第28～29週には警報開始基準値である6.0を超えた。ヘルパンギーナが警報基準値を超えるのは平成15年以来である。

流行のピークは第29週で、その後急激に減少した。

(6) RSウイルス感染症

患者報告数としては、年々増加傾向である。ほぼ全国と同様に推移した。

(7) 咽頭結膜熱

プール熱とも呼ばれるため夏の感染症と思われることが多いが、通年報告がある。特に夏には多くなるが、近年は年末年始にも小さなピークがある。春から秋の流行時期には、全国より多く推移した。

2) 月単位報告対象疾患（月報）

月報対象の性感染症4疾患及び薬剤耐性菌感染症4疾患について月別の報告数を表4に示す。なお、薬剤耐性アシネトバクター感染症は、9月19日より全数把握対象疾患となり、月単位報告対象疾患では無くなった。性感染症では、昨年減少していた尖圭コンジローマが増加した。これまで20件程度で推移していたが、1.5倍増で過去最大となっている。また、10～14歳で性器クラミジア感染症が男1例あった。

薬剤耐性菌感染症については、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症が定点当たり60をわずかに下回った。メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症及びペニシリン耐性肺炎球菌感染症は、0歳児の報告が最も多く、年齢が上がると報告数は低下し、60歳代から増加、薬剤耐性緑膿菌感染症は、小児は報告が無く、65歳代以上の9例であった。

表4 平成26年 月単位報告対象疾患 報告数

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計	
性 感 染 症	性器クラミジア感染症	男	5	4	2	9	2	7	5	3	8	9	1	5	60
		女	2	4	2	2	2	2			1	2	3	2	22
	性器ヘルペス	男	1		2	4	2	1	2	2	1	2			17
		女	4	1	1	2	1	4	1	1	3	1	2		21
	尖圭コンジローマ	男	1				2	6	3	2		3	1	3	21
		女			2	2	1	1	1	1	1	2	1	2	14
淋菌感染症	男	3	3	1	6	8	4	5	2	6	6	2	6	52	
	女										1			1	
薬 剤 耐 性 菌 感 染 症	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	男	19	18	13	21	17	18	23	18	25	18	21	21	232
		女	8	14	5	17	6	8	8	9	10	9	15	11	120
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	男	5	7	1	14	11	15	3	8	8	5	8	12	97
		女	2	1	1	13	4	6	2	4	4	3	10	5	55
	薬剤耐性緑膿菌感染症	男					2	2		1			1		6
		女						2			1				3
薬剤耐性アシネトバクター感染症	男													0	
	女													0	

考 察

平成 26 年の特徴は、約 70 年ぶりに国内発生を見たデング熱及びアフリカ地域で拡大を始めたエボラ出血熱である。デング熱は、国内発生当時には週報・ホームページ等に発生状況をわかりやすく掲載し、また予防方法や蚊の駆除等についても注意喚起に努めた。エボラ出血熱は、国内侵入は無かったが、情報収集・提供に努めた。今後も感染症に関する情報収集と迅速な情報提供を心がけたい。

謝 辞

感染症発生動向調査事業にご協力いただきました奈良県医師会及び関係機関の方々に、深謝いたします。

参考資料

- 1) 厚生労働省, 国立感染症研究所: 感染症週報
- 2) 石井孝司, 他: IASR, 36, 3,(2014)

奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について -2013/2014 シーズン-

米田正樹・杉本大地・川辺千明・稲田真知・中野守・北堀吉映

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norovirus in Nara Prefecture
- 2013/2014 Season -

Masaki YONEDA・Daichi Sugimoto・Chiaki Kawabe・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。当センターにおいても冬季に行政依頼検査が集中し、保育園、小学校、老人福祉施設等で原因病原体としてNoVを検出してきた。

NoVは経口感染や飛沫感染によりヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便とともに排泄される。患者から排泄されたNoVが、手指やドアノブ等を介してヒトからヒトへ感染する。また、NoVは加熱不十分な二枚貝やウイルスに汚染された食品の喫食により引き起こされる食中毒の原因ウイルスとしても知られている。NoVは遺伝子学的多様性に富むことから、その感染予防には幅広い疫学的知見の蓄積が不可欠である。

当センターでは奈良県におけるNoVの流行状況を詳細に把握するため、散発事例、食中毒および集団感染事例を対象とし、NoVの遺伝子学的、疫学的解析を継続的に実施している¹⁾⁵⁾。今回、2013/2014シーズンに発生した事例について解析を行った結果、新たな知見について2012/2013シーズンまでの調査結果と併せて報告する。

2013年9月から2014年8月の間に当センターにおいて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)事例および集団感染事例(疑い事例を含む)で調査を実施した37事例のうちNoVを検出した30事例を調査対象事例とした。

2. ウイルスRNA抽出およびNoV遺伝子解析

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、プライマーCOG1F/G1-SKR および COG2F/G2-SKR⁶⁾を用いたRT-PCR法によりNoVキャプシド領域の増幅を行った。

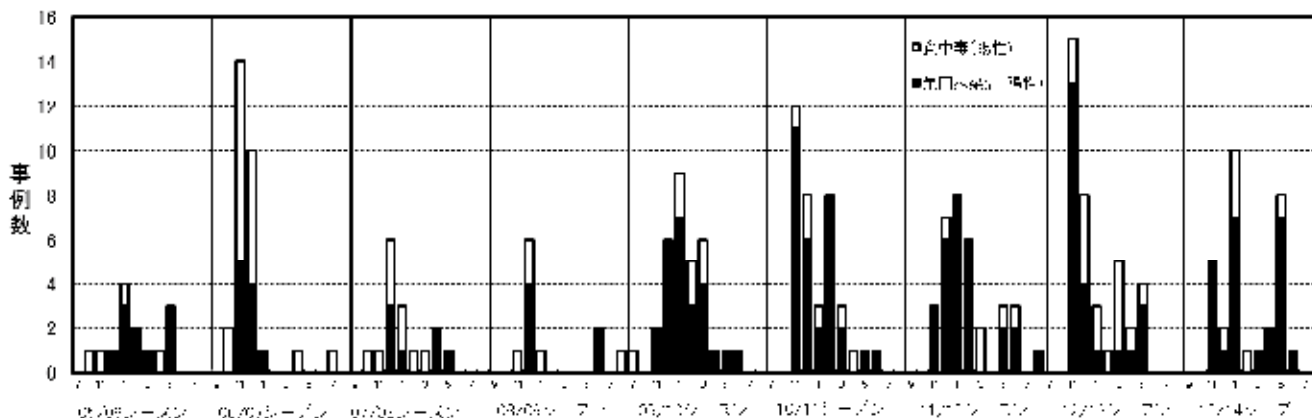
得られた遺伝子増幅産物について、BigDye Terminator Ver1.1 Sequencing Kit(Applied Biosystems)を用い添付のプロトコールに従ってダイレクトシーケンスを実施した。塩基配列を決定した後、Kageyamaら⁷⁾およびKatayamaら⁸⁾の遺伝子型番号に従って遺伝子型分類を行った。さらにGII/4に分類された株についてはNJ法により標準株を用いてクラスタ解析を実施した。

方法

1. 調査対象事例

結果

1. NoVによる食中毒・集団感染事例の発生状況



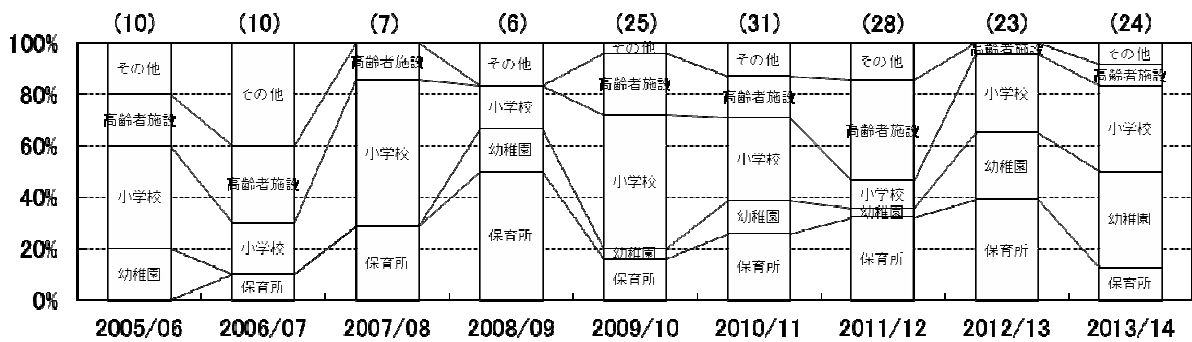


図2 ノロウイルスによる集団感染症事例の発生施設別内訳

図上段の()内の数字は事例総数を示す

食中毒・集団感染事例の検体採取月別発生状況は、2013年11月：5事例、12月：2事例、2014年1月：10事例、2月：1事例、3月：1事例、4月：2事例、5月：8事例、6月：1事例であった。2013/2014シーズンは11月から1月にかけての発生が17事例と56%を占めたが、5月に8事例が発生し、例年にはない春季の小流行が見られた(図1)。

食中毒事例数は、2012/2013シーズンは15事例であったが、2013/2014シーズンは6事例と減少した。

一方、集団感染事例は、2011/2012シーズンの28事例、2012/2013シーズンの23事例と比較すると2013/2014シーズンは24事例でほぼ横ばいであった。しかし、2009/2010シーズン以降、集団感染事例が30事例前後に増加した状態で推移している。

集団感染事例24事例について発生施設別に区分すると、保育園：3事例(13%)、幼稚園：9事例(38%)、小学校：8事例(33%)、介護老人保健施設等の高齢者施設：2事例(8%)、その他の施設：2事例(8%)であった。2013/2014シーズンは幼稚園での事例の割合が増加した。一方で高齢者施設での事例は2事例に留まった(図2)。

2005/2006シーズンから2013/2014シーズンまでの9シーズンの間に発生した集団感染事例について発生地域を市町村別に区分した結果を示した(表1)。調査

した9シーズンに渡って継続的に発生した地域は存在せず、奈良市内を除く事例については奈良県内での集団事例の発生地が移り変わっているこれまでの傾向に変化はなかった。

2. 遺伝子解析結果

2013/2014シーズンに検出したNoVの遺伝子型を表2に示した。全32事例の内訳は、GI単独によるものが2事例(6%)、GII単独によるものが28事例(88%)、GIとGIIの複合事例が2事例(6%)と2013/2014シーズンもこれまでのシーズンと同様GIIによるものが圧倒的多数であった。ダイレクトシーケンスによる遺伝子解析を実施した27事例のうち、GII/4に分類された事例が10事例(37%)と最も検出頻度が高かったが、2012/2013シーズンの91%からは大きく検出頻度が下がった。一方、2013/2014シーズンはGII/6が9事例(33%)と検出頻度がGII/4とほぼ同程度発生した。特に4月から6月にかけての小流行はGII/6による事例が7事例となった。また、2005/2006シーズン調査を開始して以来、初めてGII/11による事例を1事例(4%)確認した。

GII/4に分類された10事例のウイルス株について、9事例のウイルス株から得られたキャピド領域の塩基配列から参照株を用いた分子系統樹解析を実施した

表1 ノロウイルスが検出された集団感染症の市町村別発生状況(当センター検出分)

発生地	2005/06	2006/07	2007/08	2008/09	2009/10	2010/11	2011/12	2012/13	2013/14	合計
生駒市	0	0	1	4	3	0	5	5	1	19
広陵町	1	1	1	0	1	6	4	3	0	17
宇陀市	3	0	0	0	5	3	0	2	1	14
天理市	0	0	1	1	3	2	5	1	0	13
大和高田市	0	1	0	0	2	1	3	2	3	12
大和郡山市	0	0	0	0	1	3	2	3	2	11
葛城市	0	2	0	0	1	5	1	0	2	11
橿原市	0	0	0	0	1	1	2	1	5	10
その他	6	6	4	1	8	10	6	6	10	57
合計	10	10	7	6	25	31	28	23	24	164

表2 検出されたノロウイルスの遺伝子型(2013/2014シーズン)

	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	遺伝子型別合計
G I /5									1				1
G I /6			1*										1
G I (Genotype未同定)					1*				1				2
G II /2			1						1				2
G II /3			1										1
G II /4			2*	2	4				2				10
G II /5					2								2
G II /6					1		1	2	4	1			9
G II /11			1										1
G II /13					1								1
G II (Genotype未同定)					2**	1		1					4
事例数合計			5	2	10	1	1	3	9	1			32**

※: 複数の遺伝子型が検出された混合事例。

※※: 複数の遺伝子型が検出された混合事例2事例を含む。

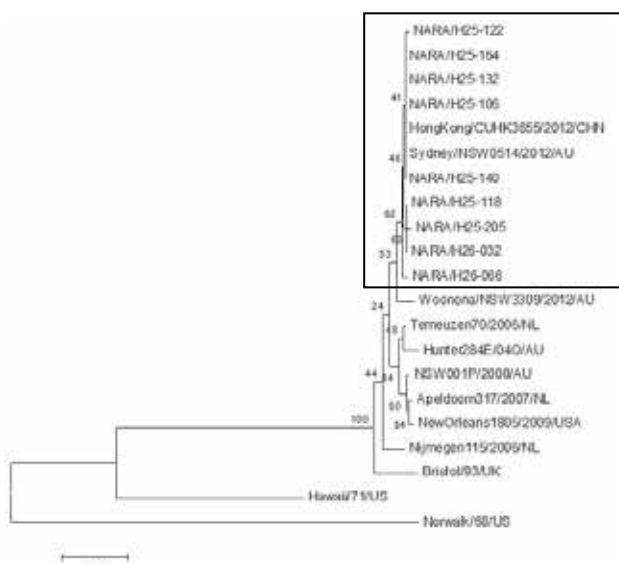


図3 G II /4 のキャプシド領域の塩基配列を用いた系統樹(282bp)

(図3). 結果, 9株全てが2012/2013シーズン新たに遺伝子変異を生じ国内でも流行が確認されている Sydney/NSW/0514/2012/AU⁹⁾と同じクラスター(図中の口部分)に分類された. 一方, 2006/2007シーズン以降流行が継続していた Nijmegen115/2006/NL¹⁰⁾のクレードに分類された株や, 2011/2012シーズン流行していた NSW001P/2008/AU と同じクラスターに分類された株は 2013/2014 シーズンは検出されなかった. 以上のことから 2013/2014 シーズン流行した G II /4 は Sydney/NSW/0514/2012/AU のクレードに属する株による流行が主体であったことが明らかとなった.

考察

2013/2014 シーズンの奈良県内における NoV による食中毒・集団感染症事例について調査した. 今シ

ズンは特記すべき大規模事例はなかった. 過去に大きな流行を起こした G II /4 による事例が全 32 事例中 10 事例 (37%) を占め, 検出頻度を大きく下げたが依然として他の遺伝子型より検出頻度は高い. 遺伝子解析の結果, 2013/2014 シーズンは G II /4 の変異によって 2011/2012 シーズンまで流行していた Nijmegen115/2006/NL や NSW001P/2008/AU のクレードに属する株から Sydney/NSW/0514/2012/AU のクレードに属する株へとほぼシフトしたと考えられた. Sydney/NSW/0514/2012/AU のクレードに属する株は国内各地で確認されており⁹⁾, これらの株の発生によってウイルスの抗原性に変化が生じたと推測されている. この影響もあって 2012/2013 シーズンは国内では 2006/2007 シーズンに次ぐ大きな流行シーズンとなった. 今後も継続的に G II /4 変異株の発生動向に注視することは重要であると考えられる.

発生地域については 2005/2006 シーズンに調査を開始して以降, ノロウイルスによる集団感染事例が奈良県内で長期継続的に発生している地域は存在していない. 大和野野部を中心に市街地での発生がほとんどであることから, ヒト-ヒト感染によると推測されるウイルス特有の発生様式をあらわした結果と考えられる.

2013/2014 シーズンの特徴としては 5 月をピークとした G II /6 の小流行があったことがあげられる. G II /4 以外の NoV については G II /4 と比較すると発生頻度が低いこともあり, 詳細な遺伝子学的調査はあまりされていないため, 今後の解析が待たれる.

本報告が示すように長期にわたって調査を継続し様々な疫学情報を蓄積することは, NoV の長期的な発

生動向を把握するために必要である。今後は NoV の解析に関し、遺伝子型や発生地域だけでなく、患者情報、感染性胃腸炎患者報告数、ロタウイルスやサポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス等の他の胃腸炎ウイルスの発生動向等とあわせて多角的に解析していくことが重要であると考えている。

文 献

- 1) Yoneda M, *et al.*: *Intervirology*, 57, 31-35, (2014)
- 2) 米田正樹, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, 45, 87-88, (2010)
- 3) 米田正樹, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, 46, 65-67, (2011)
- 4) 米田正樹, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, 47, 61-64, (2012)
- 5) 米田正樹, 他: 奈良県保健研究センター年報, 48, 45-48, (2013)
- 6) 厚生労働省医薬食品安全部監視安全課長通知食安監発第 1105001 号「ノロウイルスの検出法について」, 平成 15 年 11 月 5 日
- 7) Kageyama T, *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, 42, 2988-2995, (2004)
- 8) 国立感染症研究所感染症情報センターホームページ: ノロウイルスの遺伝子型 (<http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html>)
- 9) 国立感染症研究所感染症情報センターホームページ: <速報> ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況 (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/norovirus-m/norovirus-iasrs/2957-pr3942.html>)
- 10) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課: 病原微生物検出情報, 31(11), 369, (2010)