### 抄 録

### 1) 他誌掲載論文

## 接触者健康診断における高齢者に対するインターフェロン-γ遊離試験の 有用性の検討

瀬戸 順次, 阿彦 忠之

結核 89:503-508, 2014

[目的] 接触者健診における高齢者に対するQFT-3G 検査の有用性を検討すること. [方法] 2010 年9 月~2013 年5 月,山形県での結核患者の濃厚接触者等2,420 人に対して実施したQFT-3G 検査成績を分析し,QFT-3G 陽性者のLTBI 届出の有無および結核発病状況を調査した. [結果] QFT-3G陽性率は7.3% (95% CI 6.2 ~ 8.3%) であり,年齢階級の上昇とともに陽性率が高くなる傾向が確認された(P<0.001). [考察] QFT-3G陽性率は高齢者(60 歳以上)で高い傾向を認めたものの,結核推定既感染率に対して大きく下回っており,過去の古い結核感染歴があっても必ずしもQFT-3G 陽性にはならないと考えられた. さらに,QFT-3G 陽性者の分析から,60 歳代の2 分の1 ,70 歳代の3 分の1 ,80 歳以上の4分の1 程度は最近の結核感染と推定された. 結論として,高齢者のQFT-3G 検査結果の解釈は結核患者との接触状況等を踏まえ慎重に行う必要があるものの,結核患者との濃厚接触歴のある高齢者に対してQFT-3G 検査を実施することは,潜在性結核感染症のスクリーニングとしては意義があると考えられた.

Epidemiological information regarding the periodic epidemics of influenza C virus in Japan (1996-2013) and the seroprevalence of antibodies to different antigenic groups.

Matsuzaki Y., Sugawara K., <u>Abiko C</u>, <u>Ikeda T.</u>, <u>Aoki Y.</u>, <u>Mizuta K.</u>, Katsushima N., Katsushima F., Katsushima Y., Itagaki T., Shimotai Y., Hongo S., Muraki Y. and Nishimura H.

J.Clin.Virol. 61(1):87-93,2014.

### BACKGROUND:

Although influenza C virus is widely distributed throughout the world, epidemiological information, based on long-term surveillance, has not yet been acquired.

#### **OBJECTIVES:**

To clarify the epidemiological features of influenza C virus infection, and to examine whether the prevalence of the antibodies against the influenza C virus is associated with the epidemics.

#### STUDY DESIGN:

Between 1996 and 2013, 36,973 respiratory specimens were collected from two pediatric outpatient clinics in Yamagata, Japan. The specimens were examined for the presence of influenza C virus using cell culture methods. Isolated viruses were antigenically analyzed. The differences in seropositivity, with respect to the different antigenic groups, were examined using serum samples collected in 2001 and 2011 by a hemagglutination inhibition assay.

### RESULTS:

Influenza C viruses were isolated from 190 specimens during an 18-year period. Most influenza C viruses were isolated from winter to early summer in even-numbered years, and the frequency of virus isolation per year ranged from 0.43% to 1.73%. An antigenic analysis revealed that the dominant antigenic groups were the C/Yamagata/26/81 from 1996 to 2000, the C/Kanagawa/1/76 in 2002 and 2004, and the C/Sao Paulo/378/82 from 2006 to 2012. When compared to the other antigenic groups, the seroprevalence of the C/Sao Paulo/378/82 group was lower in 2001 for individuals older than 5 years and was higher in 2011 in individuals younger than 40 years.

#### CONCLUSIONS:

The results from our study suggest that epidemics of influenza C virus infection periodically occur and the replacement of the dominant antigenic group may be caused by immune selection within older children and/or adults in the community.

# Molecular epidemiology of enterovirus 71 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1990 and 2013.

<u>Mizuta K., Aoki Y., Matoba Y., Yahagi K</u>, Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Ito S., Hongo S., and Matsuzaki Y.

J.Med.Microbiol. 63:1356-1362,2014.

Enterovirus 71 infections have become a major public issue in the Asia-Pacific region due to the large number of fatal cases. To clarify the longitudinal molecular epidemiology of enterovirus 71 (EV71) in a community, we isolated 240 strains from children, mainly with hand-foot-and-mouth diseases, between 1990 and 2013 in Yamagata, Japan. We carried out a sequence analysis of the VP1 region (891 bp) using 223 isolates and identified six subgenogroups (B2, B4, B5, C1, C2 and C4) during the study period. Subgenogroups C1 and B2 were found only between 1990 and 1993 and have not reappeared since. In contrast, strains in subgenogroups C2, C4 and B5 appeared repeatedly with genomic variations. Recent reports from several local communities in Japan have suggested that identical predominant subgenogroup strains, which have also been found in the Asia-Pacific region, have been circulating in a wide area in Japan. However, it is likely that there is a discrepancy between the major subgenogroups circulating in the Asia-Pacific region and those in Europe. It is necessary to continue the analysis of the longitudinal epidemiology of EV71 in local communities, as well as on regional and global levels, to develop strategies against severe EV71 infections.

## Detection of the human coronavirus 229E, HKU1, NL63 and 0C43 between 2010 and 2013 in Yamagata, Japan.

<u>Matoba Y., Abiko C., Ikeda T., Aoki Y., Suzuki Y., Yahagi K., Matsuzaki Y., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., and Mizuta K.</u>

Jpn.J.Infect.Dis. 68:138-141,2015.

The available literature on human coronaviruses (HCoVs) in Japan is limited to epidemiological studies conducted over a maximum of 1 year. We conducted a 4-year study of HCoVs by analyzing 4,342 respiratory specimens obtained in Yamagata, Japan, between January 2010 and December 2013. A pan-coronavirus reverse transcription-PCR screening assay was performed, and all HCoV-positive specimens were subsequently confirmed by sequencing of the PCR products. We detected in 332 (7.6%) HCoV strains during the study period, comprising 133 (3.1%) HCoV-NL63, 83 (1.9%) HCoV-HKU1, 78 (1.8%) HCoV-OC43, and 38 (0.9%) HCoV-229E strains. HCoV detection per year ranged from 3.5% to 9.7%. HCoVs were detected mainly in winter, with January (28.5%) and February (25.3%) 2011 and December 2012 (14.6%) being the only months in which HCoV-NL63 detection per month exceeded 10.0%. HCoV-HKU1 displayed clear biennial peaks in January (18.3%) and February (10.7%) 2010 and in February (18.8%) and March (14.7%) 2012. The peak detection of HCoV-OC43 was 13.6% in November 2010, while that of HCoV-229E was 10.8% in March 2013. Our results indicated that there may be annual variations in the circulation of individual HCoV strains. Further long-term surveillance is necessary to clarify HCoV prevalence and circulation patterns in Japan.

# Picornavirus-like cytopathic effects on RD-18S cell lines were induced by human coronavirus 229E not picornaviruses.

Matoba Y., Aoki Y., Tanaka S., Yahagi K., Itagaki T., Matsuzaki Y., and Mizuta K..

Jpn.J.Infect.Dis. 68:78-79,2015.

抄録なし

## Analysis of the population genetics of clades of enterohaemorrhagic Escherichia coli 0157:H7/H- isolated in three areas in Japan.

Hirai S, Yokoyama E, Etoh Y, <u>Seto J</u>, Ichihara S, <u>Suzuki Y</u>, Maeda E, Sera N, Horikawa K, and Yamamoto T.

J Appl Microbiol. 117:1191-7,2014

#### AIMS:

The genetic differences of enterohaemorrhagic Escherichia coli O157 (O157) strains isolated from humans in three widely-separated areas in Japan were analysed to provide information on possible geographic aspects of O157 pathogenicity.

### METHODS AND RESULTS:

Epidemiologically unlinked O157 strains were isolated in Chiba (300 strains), Fukuoka (260 strains) and Yamagata (81 strains) prefectures. These strains were classified in clades by single nucleotide polymorphism in seven loci and lineage specific polymorphism assay-6, and differences between the strains in each clade were compared by population genetic analyses using the IS-printing system. Analysis of the clades from the three areas showed linkage disequilibrium of the strains in each clade. Comparison of the genetic differences of strains from the three areas in each clade, from calculated ΦPT values, indicated that the strains in each clade were the same population in all three areas, except possibly the clade 12 strains.

#### CONCLUSIONS:

Population genetics analyses confirmed that the distribution of O157 strains in the clades isolated in three areas in Japan were similar and stable.

#### SIGNIFICANCE AND IMPACT OF THE STUDY:

The pathogenicity of O157 strains infecting humans was comparable due to the similar, stable geographic distribution of O157 clades.

# Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1) pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutnats.

Matsuzaki Y., Sugawara K., Nakauchi M., Takahashi Y., Onodera T., Tsunetsugau-Yokota Y., Matsumura T., Ato M., Kobayashi K., Shimotai Y., <u>Mizuta K.</u>, Hongo S., Tashiro M., and Nobusawa E.

J.Virol.88:12364-12373,2014.

### Abstract

We determined the antigenic structure of pandemic influenza A(H1N1)pdm09 virus hemagglutinin (HA) using 599 escape mutants that were selected using 16 anti-HA monoclonal antibodies (MAbs) against A/Narita/1/2009. The sequencing of mutant HA genes revealed 43 amino acid substitutions at 24 positions in three antigenic sites, Sa, Sb, and Ca2, which were previously mapped onto A/Puerto Rico/8/34 (A/PR/8/34) HA (A. J. Caton, G. G. Brownlee, J. W. Yewdell, and W. Gerhard, Cell 31:417-427, 1982), and an undesignated site, i.e., amino acid residues 141, 142, 143, 171, 172, 174, 177, and 180 in the Sa site, residues 170, 173, 202, 206, 210, 211, and 212 in the Sb site, residues 151, 154, 156, 157, 158, 159, 200, and 238 in the Ca2 site, and residue 147 in the undesignated site (numbering

begins at the first methionine). Sixteen MAbs were classified into four groups based on their cross-reactivity with the panel of escape mutants in the hemagglutination inhibition test. Among them, six MAbs targeting the Sa and Sb sites recognized both residues at positions 172 and 173. MAb n2 lost reactivity when mutations were introduced at positions 147, 159 (site Ca2), 170 (site Sb), and 172 (site Sa). We designated the site consisting of these residues as site Pa. From 2009 to 2013, no antigenic drift was detected for the A(H1N1)pdm09 viruses. However, if a novel variant carrying a mutation at a position involved in the epitopes of several MAbs, such as 172, appeared, such a virus would have the advantage of becoming a drift strain.

#### IMPORTANCE:

The first influenza pandemic of the 21st century occurred in 2009 with the emergence of a novel virus originating with swine influenza, A(H1N1)pdm09. Although HA of A(H1N1)pdm09 has a common origin (1918 H1N1) with seasonal H1N1, the antigenic divergence of HA between the seasonal H1N1 and A(H1N1)pdm09 viruses gave rise to the influenza pandemic in 2009. To take precautions against the antigenic drift of the A(H1N1)pdm09 virus in the near future, it is important to identify its precise antigenic structure. To obtain various mutants that are not neutralized by MAbs, it is important to neutralize several plaque-cloned parent viruses rather than only a single parent virus. We characterized 599 escape mutants that were obtained by neutralizing four parent viruses of A(H1N1)pdm09 in the presence of 16 MAbs. Consequently, we were able to determine the details of the antigenic structure of HA, including a novel epitope.

The dominant antigenic group of influenza C infections changed from C/SaoPaulo/378/82-lineage to C/Kanagawa/1/76-lineage in Yamagata, Japan in 2014.

<u>Tanaka S., Aoki Y., Matoba Y., Yahagi K., Mizuta K.,</u> Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., and Matsuzaki Y.

Jpn.J.Infect.Dis. 68:166-168,2015.

抄録なし

山形県における飼い猫のジフテリア毒素原性 Corynebacterium ulcerans 感染状況調査

瀬戸 順次, 安孫子 千恵子, 小宮 貴子, 山本 明彦

日獣会誌 67:613-616,2014

人におけるジフテリア毒素原性Corynebacterium ulcerans (C. ulcerans<sup>cox+</sup>) 感染の可能性の有無を把握することを目的として、2012 年5~7 月に山形県全域の飼い猫を対象にC. ulcerans<sup>cox+</sup>感染状況調査を実

施した. 血清ジフテリア抗毒素価測定の結果,猫187 匹中2 匹 (1.1%) から抗毒素を検出した  $(0.651 \text{IU/m} I \ \text{及び0.230 IU/m} I)$ . 結論として,山形県内の一般家庭に飼育されている猫の中にジフテリア抗毒素が検出される猫が存在することが明らかとなり、われわれに身近な「飼い猫」から人へのC. ulcerans<sup> $\infty$ +</sup>感染の可能性が示唆された.

## 山形県で 2004 年から 2013 年の 10 年間に分離した Mycoplasma pneumoniae のマクロライド耐性遺伝子変異および p1 遺伝子型解析

鈴木 裕, 瀬戸 順次, 板垣 勉, 青木 敏也, 安孫子 千恵子, 松嵜 葉子

感染症学雑誌 89:16-22, 2015.

山形県で 2004 年から 2013 年の 10 年間に分離された M. pneumoniae 358 株を対象として、マクロライド 系抗菌薬(以下、マクロライド)耐性遺伝子変異および p1 遺伝子型解析を実施した。その結果、M. pneumoniae にマクロライド耐性をもたらす 23S リボゾーマル RNA(以下、rRNA)ドメインVの点変異を 6 種類検出した(A2063G 変異 81 株、A2063T 変異 43 株、A2063C 変異 1 株、A2064C 変異 1 株、C2617G 変異 4 株および C2617A 変異 1 株).変異株は 2009 年以前には 2 株のみであったが、2009 年は A2063T 変異を多く検出し、2010 年以降は A2063G 変異が増加した。2009 年以降の年間の変異検出率は 20.4%(2011 年)から 76.4%(2009 年)の間で推移した.

また、本県で分離された M. pneumoniae の p1 遺伝子型は、1型(278 株)および 3 種類の 2 型亜種(2a 型〈10 株〉、2b 型〈5 株〉および 2c 型〈65 株〉)に分けられた。2012 年以前は 1 型菌が多く、年間の 1 型菌の割合は 85.2%(2004 年)から 100%(2008 年、2009 年)で推移したが、2012 年以降 2 型菌亜種の割合が増加し、(2012 年;26.5%,2013 年;66.1%)、本県において流行の主流を成す M. pneumoniae の p1 遺伝子型が 1 型から 2 型亜種に置き換わっている可能性が示された。

さらに、2012 年以降に本県で分離された M. pneumoniae のうち、p1 遺伝子 1 型菌は高率にマクロライド耐性遺伝子変異を保有していた(2012 年;65.1%,2013 年;95.2%)のに対して、2 型菌亜種からは遺伝子変異が検出されず、本県では2 型菌亜種のマクロライド耐性遺伝子変異の獲得が進んでいないことが示唆された.

## A case of pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroup 12 and treated successfully with imipenem.

Nishizuka M, Suzuki H, Ara T, Watanabe M, Morita M, Sato C, Tsuchida F, Seto J, Amemura-Maekawa J, Kura F, Takeda H.

J Infect Chemother. 20:390-3, 2014

The patient was an 83-year-old man hospitalized for Haemophilus influenzae pneumonia, who developed recurrent pneumonia after improvement of the initial episode. Legionella pneumophila serogroup 12 was isolated from the sputum, accompanied by increased serum antibody titers to L.

pneumophila serogroup 12. Therefore, the patient was diagnosed as having Legionella pneumonia caused by L. pneumophila serogroup 12. Case reports of pneumonia caused by L. pneumophila serogroup 12 are rare, and the case described herein is the first report of clinical isolation of this organism in Japan. When the genotype was determined by the protocol of The European Working Group for Legionella Infections (Sequence-Based Typing [SBT] for epidemiological typing of L. pneumophila, Version 3.1), the sequence type was ST68. Imipenem/cilastatin therapy was found to be effective for the treatment of Legionella pneumonia in this patient.

## Clonality and Micro-Diversity of a Nationwide Spreading Genotype of Mycobacterium tuberculosis in Japan.

Wada T., Iwamoto T., Tamaru A., <u>Seto J</u>. <u>Ahiko T</u>., Yamamoto K., Hase A., Maeda S. and Yamamo T.

PLoS One. 10: e0118495. 2015

Mycobacterium tuberculosis transmission routes can be estimated from genotypic analysis of clinical isolates from patients. In Japan, still a middle-incidence country of TB, a unique genotype strain designated as 'M-strain' has been isolated nationwide recently. To ascertain the history of the wide spread of the strain, 10 clinical isolates from different areas were subjected to genome-wide analysis based on deep sequencers. Results show that all isolates possessed common mutations to those of referential strains. The greatest number of accumulated single nucleotide variants (SNVs) from the oldest coalescence was 13 nucleotides, indicating high clonality of these isolates. When an SNV common to the isolates was used as a surrogate marker of the clone, authentic clonal isolates with variation in a reliable subset of variable number of tandem repeat (VNTR) genotyping method can be selected successfully from clinical isolates populations of M. tuberculosis. When the authentic clones can also be assigned to sub-clonal groups by SNVs derived from the genomic comparison, they are classifiable into three sub-clonal groups with a bias of geographical origins. Feedback from genomic analysis of clinical isolates of M. tuberculosis to genotypic markers will be an efficient strategy for the big data in various settings for public health actions against TB.

### 2) 学会発表

### 山形におけるエンテロウイルス 71 型の分子疫学(1990~2013年)

水田 克巳, 松嵜 葉子, 本郷 誠治

第55回臨床ウイルス学会,2014年6月14-15日,於札幌

### 【目的】

エンテロウイルス 7 1型 (EV 7 1)は、小児の夏かぜ、手足口病の病原体であり、予後の良い疾患であった。しかし、2 0世紀終盤から、主にアジア地域で、脳炎などの合併症による多数の死者がでるなど、公衆衛生上重要な課題の 1 つとなっている。 我々は、EV 7 1 山形分離株を多数保有しているため、これらを用いた疫学研究を実施することで、EV 7 1 感染症対策に貢献することを目指している。 本学会では、1 9 9 0  $\sim$  2 0 1 3 年の分離株解析結果について発表する。

### 【材料と方法】

手足口病等の検体からマイクロプレート法により、 1990~2013年に225株のEV71を分離した. うち147株について、既報告の方法によりVP1の配列(891bps)を解析、遺伝子型を決定した.

### 【結果と考察】

調査期間にB2, B5, B5, C1, C2, C4の6つの遺伝子型を確認した。山形という1つのコミュニティで経時的変化をみると、1つまたは2つの遺伝子型が入れ替わりながら変遷していた。C2, C4, B5は進化しながら、繰り返し出現した。

 $2009\sim2010$ 年に山形で観察したC2の配列は、大阪市や横浜市で検出した株や2008年のシンガポール株に近く、EV71が広く国内・アジア地域で広がっていることを示唆していると考えられる。その一方、21世紀のアジア地域で主体となっている遺伝子型の1つにC4があるが、ヨーロッパ地域ではC1またはC2の報告がほとんどであり、またB5はアジア地域のみから報告されるなど、両者で主流となっている遺伝子型に違いがあることが明らかになりつつある。

なお, 本研究は, 東北乳酸菌研究会から補助を受けて実施した.

[非会員研究協力者:板垣勉(山辺こどもクリニック), 勝島史夫・勝島由利子(勝島小児科医院), 青木洋子・的場洋平・矢作一枝・阿彦忠之(山形衛研)]

## 宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は、急性呼吸器感染症ウイルスの 生体内活性化酵素である

竹田 誠, 中島 典子, 水田 克巳

第55回臨床ウイルス学会,2014年6月14-15日,於札幌

多くの呼吸器ウイルスは、プロテアーゼによってウイルス膜タンパクが開裂することによって、はじ

めて感染力を持つ. 呼吸器上皮に発現している II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 の遺伝子をノックアウトしたマウス (TMPRSS2 KO マウス) の肺内ではインフルエンザウイルスの増殖性は非常に低く、病原性がほとんど無くなっていた. 中国で発生している H7N9 インフルエンザウイルスも, TMPRSS2 KO マウスの肺内では、増殖性が極端に低下していた. このことは、TMPRSS2 がインフルエンザウイルスの病原性発現に必須の宿主因子であることを示している. インフルエンザウイルスの膜タンパク (HA タンパク) の他に、パラインフルエンザウイルスの F タンパク, ヒトメタニューモウイルスの F タンパク, コロナウイルスの S タンパクなどが、TMPRSS2 で開裂を受け、活性化することをわれわれは明らかにした. 中東呼吸器症候群 (MERS) コロナウイルスも、TMPRSS2 で活性化することが示されている. これらの結果は、急性呼吸器感染症ウイルスの多くのものが、増殖のために TMPRSS2 を利用していることを示しており、TMPRSS2 の活性阻害剤が、新興呼吸器感染症ウイルスを含む広範囲の呼吸器ウイルスに効く抗ウイルス剤になる可能性を示している.

## IS-printing を用いた腸管出血性大腸菌 0157 の clade 推定法の確立

平井 晋一郎,横山 栄二, 江藤 良樹, <u>瀬戸 順次</u>, 市原 祥子, <u>鈴木 裕</u>, 前田 詠里子, 堀川 和美

第 35 回日本食品微生物学会, 2014 年 9 月 18-19 日, 於大阪

【目的】腸管出血性大腸菌 0157 (0157) は、食中毒の原因菌として、感染者数及び症状の重篤性から重要な地位を占めている。0157 は進化系統群の clade に型別され、clade 間では病原性の強さに差があると考えられている。従って、特定の地域における clade の分布状況を把握することは、食中毒対策に有効だと思われる。しかしながら、clade の型別には、ゲノム上の 32 領域での一塩基多型の解析が必要であり、容易に行えない。一方、我々は、clade と Insertion Sequence (IS) 629 保有パターンに関連性があることを報告した。そこで、本研究では、その関連性を利用して、0157 菌株の IS629 保有パターンから clade を推定する方法の確立を目指す。

【方法】1996~2013年に、千葉県で分離された感染者由来 0157 菌株の内、疫学的関連性が確認されなかった 1064株を用いて、IS-printing (IS法)及び clade 型別を行い、各 clade の IS629保有パターンのデータベースを作成する。このデータベースを基に相対的相似度(J.~Gen.~Microbiol.~1973.~77.317-330)の算出式を得る。次に、1996~2012年に福岡県で、2002~2007年に山形県で発生した 0157 感染症の内、疫学的関連性がない 0157 菌株について、IS 法を行う。IS629保有パターンから相対的相似度を算出して clade を推定する。この推定の結果と clade 型別の結果の一致率から推定精度を求める。

【結果】千葉県、福岡県及び山形県の全ての地域で、clade 2、3、6、7、8 及び 12 が優勢に分布しており、これらの合計は全体の 90%以上であった。相対的相似度の算出式を利用し、福岡県及び山形県で分離された 0157 菌株の clade を推定すると、どちらの地域においても、clade 3、6 及び 8 の推定精度は、ほぼ 100%であり、clade 7 の推定精度は、88%であった。一方で、clade 2 及び 12 の 0157 菌株に対する推定精度は、福岡県では 95%程度であったのに対して、山形県では 80%程度と低かった。しかし、推定を誤った山形県の 0157 菌株は、clade 2 が 17 株中 3 株であり、clade 12 が 5 株中 1 株と少なかった。これら菌株の IS629保有パターンは、clade 特有の保有パターンとは異なっていた。

【考察】IS629 の保有パターンによる clad 推定法は,確率的な手法であるため, clade 特有の保有パ

ターンを持たない 0157 菌株に対しては、推定は誤る可能性がある. しかしながら、この様な菌株の全体に占める割合は小かった. 従って、本研究により IS 法による clade 推定法の有効性が示された.

地方衛生研究所では 0157 による散発的集団食集毒の早期探知のために, IS 法が広く用いられている. IS 法を利用した clade の推定法を, 他自治体の地方衛生研究所でも実施することで, 日本各地の clade の分布状況の把握が可能になり, 0157 の食中毒対策に活用できると思われる.

## 新興病原体 Escherichia albertii のゲノムおよび疫学解析

大岡 唯祐, 勢戸 和子, 小野 英俊, 河野 喜美子, 小林 秀樹, 吉野 修司, 瀬戸 順次, 山口 敬治, 古川 真斗, 徳岡 英亮, 井口 純, 藺牟田 直子, 原田 誠也, 西順 一郎, 桂 啓介, 小椋 義俊, 林 哲也

第 35 回日本食品微生物学会, 2014 年 9 月 18-19 日, 於大阪

【目的】 Escherichia albertii (E. albertii)は、近年同定された大腸菌近縁の腸管感染症起因菌である.我々は、国内外で発生した食中毒の検査において非典型的な大腸菌として分離された株の中に本菌が数多く存在し、本菌がヒトでも重要な下痢症起因菌であることを示した.また、本菌に"志賀毒素産生菌"が含まれ、食品衛生法だけでなく、感染症法でも注意すべき菌種であることを示した(1、2).本菌の病原因子については、 LEE 領域にコードされる 3 型分泌系(T3SS)が唯一同定されているが、その病原機構は未だ不明な点が多い.また本菌は、分離例が少なく、基本的な性状が未確定であるため、大腸菌と識別できる確実な診断疫学マーカーも確立されていない.その上、感染源や自然宿主に関する研究もほとんど進んでいない.本研究では、下痢患者及び動物から分離した E. albertii 29株のゲノム解析を行い、本菌のゲノムの特徴を明らかにするとともに、診断疫学マーカーを作製して、家畜等の保菌状況を調査した.

【方法】ゲノム解析及びゲノム比較解析:E. albertii 29 株について,次世代シーケンサを用いて概要配列を取得した.そのうちの3 株は,全ゲノム配列を取得し,本菌種内及び大腸菌属の各菌種間の比較解析を行った.E. albertii 種特異的プライマーの作製:E. albertii 29 株のゲノム情報を基に,種特異的なprimer pairを設計した.家畜及び野鳥での E. albertiiの保菌調査:食鳥及び食肉処理場に持ち込まれた家畜の糞便,さらに野鳥の糞便について PCR 法によるスクリーニングを実施した.陽性検体から菌を分離し,系統や病原因子を調べた.

【結果と考察】 $E.\ albertii\ 29$ 株の平均ゲノムサイズは約 4.7 Mb であり、病原性大腸菌と比べて小さいこと、かつゲノム全体での相同性からも他の大腸菌属と明らかに別菌種であることを示した。また、本菌のゲノムの特徴として、T3SS の他に線毛や Cdt 毒素などの病原因子や代謝系など、多くの診断疫学マーカー候補を同定した。また、大腸菌 0 血清との凝集反応及び大腸菌 0 抗原コード領域との比較から、0 抗原についても赤痢菌などと同様、独自の進化を遂げてことが推測され、各種 $E.\ albertii$  株に対する 0 抗原血清を作製することで、検査にも応用できる可能性が示唆された。保菌状況に関しては、ウシでは105 検体 (21 農場各 $1^{\circ}10$  検体)中1 検体のみ、ブタでは100 検体 (10 農場各10 検体)中 12 検体 (5 農場)が陽性となり、特にブタでの保菌率が高かった。また、ニワトリは、ブロイラー200 検体 (20 農場各10 検体),地鶏80 検体 (4 農場各20 検体)の検査を行い、ブロイラーでは

1 検体,地鶏では 26 検体 (4 農場)が陽性となり、屋外飼育での汚染の可能性が示唆された. さらに、汚染源の可能性として、現在までに、野鳥糞便約 70 検体を検査したが、陽性検体は得られていない. 今後は、野鳥・野生動物など解析対象を増やし、自然宿主や感染源の解明を行う.

【参考文献】1.T.Ooka et al. Emerg. Infect. Dis., 18(3):488-492, 2012.2. T. Ooka et al. Emerg. Infect. Dis., 19(1):144-146, 2013.

## 地域での集団感染事例から学ぶ

山田 敬子, 稲毛 稔, 平間 紀行, 小坂 太祐, 中野 寛之, 武田 宰, <u>瀬戸 順次</u>, 阿彦 忠之

第90回日本結核病学会総会,2015年3月27-28日,於長崎

<u>はじめに</u>:山形県では平成21年度から、原則として菌陽性結核患者全例の結核菌株に対してVNTR(24領域)分析を実施している。既に阿彦らは当学会にて、その有用性や活用について報告しているが、今回、同分析の結果から、約2年前に「肺がん」で死亡したと診断された事例が結核の院内感染源と推定され、地域での感染拡大防止策を実施できたので報告する。

経過:平成25年6月,A病院から90代女性(bII2,吸引痰G2)<事例1>の届け出があった.当初か ら主治医が結核を疑っていたため、事例1と接触した看護師等は N95 マスクを装着して対応していたが、 接触者健診を実施したところ 3 名が QFT-3G(以下, QFT)陽性であった. 主治医が念のために, 同じ病棟 で事例 1 に接触していない看護師等にも順次 QFT を実施したところ, 新たな陽性者が出たため保健所に 一報を入れ、院内感染対策委員会での検討を依頼した、その矢先、平成26年1月の定期健康診断の胸部 X線検査で、事例 1 が入院していた病棟に勤務する 2 名の看護助手<事例 2・3>に異常影が認められ、 紹介先のB病院で肺結核と診断された. 但し, 事例2は1Ⅲ1気管支洗浄液集菌法1+, 事例3はrⅢ1喀 痰培養陽性で、ともに咳症状は全くなく、両者の間での感染は考えにくい状況であった. 事例 2 は平成 25年9月に実施したQFTが陰性で、平成26年1月に陽性となったため、保健所では、A病院に対し、平 成25年9月前後に同病院の当該病棟に入院した患者(死亡例を含む)の中から結核が疑われる事例のリ ストアップを依頼した. 一方, 定期健診で異常なしとされた職員を含め, 新たな陰影が出現した者が他 にいないかを確認するため、全職員の胸部 X 線フイルムの再読影を行った. また、直ちに A 病院の院内 感染対策委員会に出席し対策の説明を行うとともに,全職員への講話や QFT 陽性職員 11 名への個別説明 を実施した. その後, 同年2月末に確定した VNTR 分析結果から, 事例1~3の他に, 同地域に居住し平 成 25 年 8 月に肺結核(b II 2, G2 号)と診断された 60 代女性<事例 4>の VNTR 一致が明らかになった. 事 例 4 は A 病院の通院歴が全くないうえに地域での接点も見いだせなかったが、担当保健師の聞き取りに より、事例4の母(80代女性)<事例5>が平成24年に同病院で死亡していた事実が判明したため、事例 4 の了解のもと、A 病院に保管されていた事例 5 の胸部 X 線写真やカルテを過去に遡って確認した. その 結果、約60年前に結核の治療歴があったこと、および胸部 X線画像の特徴と経過から、肺結核で死亡し たものと推察された.

事例 5(推定感染源)の状況: 本例は、平成 22 年 6 月に胸部の結節影が増大したとのことで、A 病院から C 総合病院に紹介され、気管支鏡検査と腫瘍マーカー(シフラ)の上昇から肺がん疑いとの診断を受けていた。約半年間 C 病院で経過観察ののち、高齢のため積極的な治療は行わないという希望から A 病院に定期通院を続けていたが、平成 24 年 8 月、自宅で倒れているところを家人に発見され救急入院となっ

た. 入院時の胸部 X 線写真と CT 所見をもとに,放射線科の専門医が「末期の肺がん」と診断したため,当時の主治医がターミナルケアの目的でステロイドを投与したところ,急激に病状が悪化し死亡していた. 頻回な吸引が必要であったことや,夏場であったため吸引時のマスク装着が徹底していなかったこと,看護助手は口腔ケアを担当していたこと等が疫学調査から明らかになった. なお,事例 1 は同時期に同病棟に入院していたが,病状が重く部屋を出ておらず,また,病棟内の各部屋が独立換気だったこと,唯一入院期間中に実施した CT 検査室での接点が疑われたが,事例 1 が先に検査を行っており,検査室内での 2 次感染は否定的で感染状況は不明であった.

地域での接触者健診等:既に事例 5 の死亡後 2 年近くが経過していたが、その娘<事例 4>の協力を得て、事例 5 の友人・よく通った店の店員等を対象に接触者健診を実施した。その後、LTBI 治療中の看護師 1 名が新たに肺結核と診断され VNTR が一致したが、一般住民への感染拡大は確認されていない。

<u>まとめ</u>: VNTR 分析と保健師の疫学調査の突合に加えて、地域の医療機関と患者家族の協力により、過去の死亡事例からの院内感染対策および地域での感染拡大防止策を実施できた.

## 低罹患率地域における結核菌臨床分離株の伝播経路追跡

和田 崇之,<u>瀬戸 順次</u>,山本 太郎,<u>阿彦 忠之</u>

第90回日本結核病学会総会,2015年3月27-28日,於長崎

[目的] 結核患者由来菌株の遺伝多型によって伝搬経路を推定する結核分子疫学では,現在 VNTR 型別法 が導入され、感染源究明に役立てられている、VNTR 型別は容易に分析可能である反面、偶発的な型別一 致・変化による誤判定や,実地疫学調査との齟齬など,個々の事例についてはなお詳細な検証が必要で ある. 本研究では, 次世代シーケンサーを活用した菌株ゲノム比較によって高精度な菌株多型情報を獲 得し、正確な伝搬経路の解明を目指すと共に、VNTR型別の精度に関する知見を得ることを目的とした. [方法] 2009~2011 年に山形県内で新規登録された菌陽性肺結核患者(266人)のうち, VNTR型別解析 が可能であった 184 株(69.2%)を対象とした.VNTR 型別は多変領域を含む 24 領域を解析し,23 領域以 上の一致株をクラスターと定義した. その結果、クラスターは17組(49株)となり、本研究ではこれ らをすべて Illumina HiSeq 2000 によるショートリード解析に供した. H37Rv を対照配列としたマッピ ング解析を行い,各株の点変異 (SNV: Single Nuclear Variation) をゲノムワイドに検出した.解析に は CLC Genomics Workbench を用い, SNV 検出領域は遺伝子コード領域(相同遺伝子を除く)に限局して 解析した. [結果および考察] SNV 数 5 bp 以下を同一株として解析したところ, 17 クラスターのうち 7 クラスターのみが同一株による事例であることが明らかとなった. VNTR 型別実施前に実地疫学調査に よって既に関連性が判明していた6クラスターは、すべてゲノム比較によっても各々同一株による感染 であったことが確認された. VNTR 型別一致後の調査から共通感染源の可能性が示唆された 4 クラスター では,1 クラスターのみが同一株であった.また,患者間の関連が認められなかった 8 クラスターでは, 1クラスターのみが同一株であった、ゲノム比較によって異なる菌株と判定された VNTR クラスターは、 菌株系統的には非北京型, 北京型 ST3 群, 北京型 ST25/19 群に集中しており, これらの系統株における 過去の流行や、VNTR 型別における低分解能に起因する可能性が示唆された. 非会員共同研究者: 小椋義 俊, 林哲也(宮崎大)

## サフォードカルディオウイルス 2型の RD-18S 細胞による分離

水田 克巳, 青木 洋子, 的場 洋平, 田中 静佳, 矢作 一枝, 板垣 勉, 松嵜 葉子

第68回日本細菌学会東北支部総会,2014年8月22-23日,於仙台

【目的】我々は、2009年の8-11月にサフォードカルディオウイルス2型(SAFV2)による小児の急性気道感染症の流行を経験し、公表した(Saffold cardiovirus infection in children associated with respiratory disease and its similarity to coxsackievirus infection, Pediatr. Infect. Dis. J. 30: 680-683, 2011). この研究では SAFV2 のスクリーニング検出は、Reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR)法及びシークエンス配列で陽性を確認した。その際、我々が通常使用している細胞での分離も試みたが、失敗に終わった。一方、新潟県保健環境科学研究所の広川らは、RD-18S 細胞により SAFV2(2013年の5株)および SAFV3(2007~2008年の4株)の分離に成功している(第55回日本臨床ウイルス学会;2B-12). 我々は、新潟県保健環境科学研究所からこの RD-18S 細胞の分与を受け、2009年に SAFV2 が陽性であった検体を接種、分離を試みた。

【方法】54 例の RT-PCR 陽性例のうち 49 例について、検体を新潟県由来の RD-18S 細胞に接種し、4 代目まで継代し、cytopathic effect (CPE) の有無を観察した。CPE があったものについては、virus protein 1 (VP1)について PCR 法で増幅、シークエンスにより SAFV2 であることを確認した。

【結果及び考察】スクリーニング検出で1stPCR 陽性であった検体33 例中18 例でCPE を認め,SAFV2 が分離された.Nested PCR 陽性であった16 例からは分離できなかった.これらのことから,新潟県から分与を受けたRD-18S 細胞はSAFV2 の感受性に優れていることが確認された.今後は,2010 年以降についても,スクリーニング陽性例について分離を進め,また血清疫学を実施するなど,疫学解析を発展させていきたい.

RD-18S 細胞を分与して下さいました,新潟県保健環境科学研究所ウイルス科,田村務先生,広川智香 先生に深謝いたします.

## 山形県で分離された Mycoplasma pneumoniae の p1 遺伝子型解析

<u>鈴木 裕</u>, <u>瀬戸 順次</u>, 板垣 勉, 勝島 由利子, 勝島 史夫, <u>青木 敏也</u>, <u>安孫子 千恵子</u>, <u>矢作 一枝</u>, <u>水田 克巳</u>, 松嵜 葉子, 本郷 誠治

第68回日本細菌学会東北支部総会,2014年8月22-23日,於仙台

【目的】 Mycop1asma pneumoniae (以下, Mp) は,若年者に多く,発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起因菌である. Mp のヒト粘膜上皮細胞への接着性を担う中心的な接着分子である P1 蛋白をコードする p1 遺伝子は,塩基配列の違いにより 1 型,2 型および 2 型亜種(2a, 2b, 2c 型)の計 5 種類に分類される.本研究は,山形県で流行する Mp の p1 遺伝子型の動向把握を目的として,本県で過去 10 年間に分離された Mp の p1 遺伝子型解析を実施した.

【方法】 2004 年から 2013 年の 10 年間に山形県で分離された Mp 358 株を対象とし、PCR-RFLP 法により p1 遺伝子型を解析した。 Mp ゲノムの p1 遺伝子領域を PCR で増幅し、増幅産物を制限酵素 HaeIII で切断した。 得られた PCR-RFLP パターンを先行研究の報告と比較し、1 型、2 型、2a 型および 2b 型を同定し

た. 一方、2c 型は PCR-RFLP パターンの報告がないため、既報の 2c 型の塩基配列から予想される PCR-RFLP パターンを示した菌株について、PCR ダイレクトシークエンスにより 2c 型に特有の塩基配列を検出することで同定した.

【結果】 山形県で分離された Mp 358 株は, 278 株 (77.7%) が p1 遺伝子型 1 型, 80 株 (22.3%) が 2 型亜種 (2a 型; 10 株, 2b 型; 5 株, 2c 型; 65 株) と同定され, 2 型菌は検出されなかった。本県では 2012 年以前は 1 型菌が多かったが  $(85.2\%^{^2}100\%)$ , 2012 年以降 2 型菌亜種の割合が増加した (2012年; 26.5%, 2013 年; 66.1%).

【考察】 わが国で流行の主流を成す Mp の pI 遺伝子型は 8 年から 10 年毎に 1 型菌と 2 型菌で置き換わると推定されている。 先行研究によれば、1 型菌が流行の主流となった 2005 年以降現在にいたるまで、pI 遺伝子型が置き換わる兆候は報告されていない。 しかし本研究において、2 型菌亜種の割合が 2012 年以降増加していることが示された。 このことは、少なくとも山形県という国内の一地域においては、流行の主流を成す Mp の pI 遺伝子型が 1 型から 2 型亜種に置き換わっている可能性を示している。

# 山形県で分離された Mycoplasma pneumoniae のマクロライド耐性遺伝子変異解析

鈴木 裕, 瀬戸 順次, 板垣 勉, 安孫子 千恵子, 矢作 一枝, 水田 克巳, 松嵜 葉子

第35回山形県医学検査学会, 平成26年10月25日-26日, 於長井

【はじめに】 Mycoplasma pneumoniae (以下, Mp) は、若年者に多く、発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起因菌である. Mp 感染症の第一選択薬であるマクロライド系抗菌薬 (以下, マクロライド) に耐性を示す Mp は 2001 年に初めて報告されて以降増加傾向にあり、問題視されている. Mp のマクロライド耐性機序として、マクロライドの作用標的である 23S リボゾーマル RNA (以下, rRNA) ドメインVの 2063 位、2064 位および 2617 位の点変異が示されているが、山形県におけるマクロライド耐性 Mp の動向は明らかではない. そこで今回、本県におけるマクロライド耐性 Mp の動向把握を目的として、山形県衛生研究所で分離した Mp のマクロライド耐性遺伝子変異保有状況を解析した.

【対象及び方法】2004年から2013年(10年間)に山形県内の診療所を中心とする6医療機関で、Mp感染症が疑われた患者より採取された咽頭拭い検体1、391検体から分離したMp358株を対象とした.供試菌株の培養液からDNAを抽出し、23SrRNA遺伝子ドメインV領域をPCRで増幅した.PCR産物の塩基配列をダイレクトシークエンスにより決定してマクロライド耐性遺伝子変異の有無を解析した.

【結果】対象とした Mp 358 株中 131 株 (36.6%) にマクロライド耐性遺伝子変異を検出した (A2063G; 81 株, A2063T; 43 株, A2063C; 1 株, A2064C; 1 株, C2617G; 4 株, C2617A; 1 株). 年次推移は, 2006年に A2063G変異株, 2007年に A2064C変異株を各 1 株ずつ検出した後, 2009年7月から 2010年1月にかけて A2063T変異株を 43 株検出した. 以降, A2063G変異株を中心に A2063C, C2617G および C2617A変異株の 4 種類を検出した. 2009年以降の変異検出率は 2009年; 76.4%(42/55), 2010年; 37.5%(3/8株), 2011年; 20.4%(10/49株), 2012年; 48.2%(54/112株), 2013年; 32.3%(20/62株)だった. 【考察】わが国のマクロライド耐性遺伝子変異検出率は,諸角らの報告 1)では年々増加しており 2006年に 30.6%, 2011年に 89.5%に達したとされる. また Kawai ら 2)も, A2063G変異を中心とする変異株が 2008年に 50%を, 2012年に 80%を超えたことを報告している.

我々の解析では、2008 年以前に分離された変異株は 2 株のみであり、2009 年は A2063T 変異株を多数検出した(変異検出率; 76.4%)ものの、その全てが同一地域の 3 施設(中学校 1 校および小学校 2 校)に

限局した集団発生事例<sup>3)</sup>の分離株であった. 2010 年以降は A2063G 変異を中心とした変異株が継続的に検出され,変異検出率は 20-50%で推移した. 以上のことから,2010 年以降,全国的な Mp のマクロライド耐性化が本県にも波及したこと,変異検出率には地域差や年による変動があり継続的な監視が必要であることが明らかになった.

- 1) 諸角美由紀ら. 臨床とウイルス 2013; 41: 273-9.
- 2) Kawai et al. Antimicrob Agents Chemother 2013; 57: 4046-9.
- 3) Suzuki et al. Pediatr Infect Dis 2013; 32: 237-40.

## 山形県における気象データを用いたつつが虫病患者数予測モデルの構築

### 瀬戸 順次

第21回リケッチア研究会,2014年12月20日,於東京

【はじめに】山形県では春のつつが虫病が多いが、その患者数は年によって大きなばらつきがある.本研究では、越冬性のツツガムシ(夏~秋にかけて産卵・孵化後、幼虫が一部越冬して春にヒトへ吸着する)の数が気象の影響を受けて増減することで、春のつつが虫病患者数のばらつきをもたらしていると考え、気象因子から春のつつが虫病患者数を予測するモデルを構築することを目的とした.

【方法】1984~2014 年 (31 年間) の本県における 4~7 月のつつが虫病患者数を応答変数とした. 説明変数は,前年7月~当年6月の月平均気温,前年12月~当年3月の月降雪量および月最深積雪量,ならびに前年12月~当年3月の総降雪量(計21項目)とした. 気象データは,気象庁観測地点のうち,本県でつつが虫病患者が集中している最上川周辺の4地点の平均値を用いた.負の二項回帰単変量モデルで有意(p<0.01)となった説明変数を抽出後,AIC(赤池情報量基準)を指標に最適な負の二項回帰多変量モデルを選択した.解析にはR ver. 3.0.2を用いた.

【結果】前年 7 月・8 月平均気温,当年 1 月・2 月最深積雪量,および前年 12 月~当年 3 月の総降雪量(5 項目)と春のつつが虫病患者数との間にそれぞれ有意な正の関連性を認めた。これら 5 項目による多変量モデルを検討した結果,以下の患者数予測式を得た;  $y_i = e^{-6.48+0.12*x_1+0.23*x_2+0.0008*x_3}$ ,  $x_1$ ;前年 7 月平均気温,  $x_2$ ;前年 8 月平均気温,  $x_3$ ;前年 12 月~当年 3 月の総降雪量。

【考察】本研究により、前年の夏が暑く、冬の降雪量が多いほど翌春のつつが虫病患者数が増えることが示され、具体的な患者数を予測するモデルの構築に成功した。今後、春の患者数が多くなると予測された年には、事前に県民に警戒情報を流すことで、つつが虫病予防の徹底を促すことが可能になる.

### 2014年山形県における C型インフルエンザウイルスの分離状況

<u>田中 静佳</u>, <u>的場 洋平</u>, <u>青木 洋子</u>, <u>矢作 一枝</u>, <u>水田 克巳</u>, 勝島 史夫, 勝島 由利子, 板垣 勉, 松嵜 葉子

第41回山形県公衆衛生学会,2015年3月5日,於山形

【はじめに】インフルエンザウイルスには, A型, B型, C型がある. C型インフルエンザウイルスは一般的に

小児の上気道炎をおこす原因の1つとされているが、気管支炎や肺炎などの下気道炎を引き起こすことも知られている. 我々は、山形県感染症発生動向調査事業に基づき、急性ウイルス性呼吸器疾患の発生状況を把握することを目的にウイルスの分離を実施している. 今回、2014年の調査において、C型インフルエンザの流行が確認された.

【対象と方法】 2014 年 1 月から 12 月までに県内医療機関を受診した患者から採取された鼻咽頭ぬぐい 液および鼻汁 1960 検体を対象とし、培養細胞を用いたマイクロプレート法によるウイルスの分離を行った. C 型インフルエンザウイルスの分離は MDCK 細胞における細胞変性効果の確認およびモルモット血球、ニワトリ血球を用いた血球凝集試験により行い、RT-PCR 法による遺伝子の検出で同定した. さらに、分離したウイルスについて C 型インフルエンザの表面抗原であるヘマグルチニンエステラーゼ (HE) に対するモノクローナル抗体を用いた血球凝集抑制試験による抗原解析を実施した.

【結果】2014年1月から12月までに21検体からC型インフルエンザウイルスが分離された.分離は全て4月~8月の期間に集中し、分離数が11検体と最も多かった5月においては、当月の総検体数145検体の約8%に及んだ.分離された患者の17例(80%)が5歳以下の小児で、38℃以上の発熱が18例(85%)、咽頭炎、鼻炎等の上気道炎が18例(85%)に認められ、下気道炎も3例あった.

分離された C 型インフルエンザウイルス 21 株について行った抗原解析では、抗 HE モノクローナル抗体 に対する反応パターンが Kanagawa/76 系統と一致する 13 株と、Sao Paulo/82 系統と一致する 8 株に大別 され、2 つの系統が同時に流行していることがわかった.

【考察】C型インフルエンザの流行は 1 年おきの偶数年に発生し, A 型, B 型インフルエンザのシーズンが終息した春に発生する傾向にある。今回の流行も既報の予測どおり 2014 年の春に確認された。また,C 型インフルエンザウイルスは E の抗原性により E 6 つの系統(Taylor/47,Kanagawa/76,Mississippi/80,Yamagata /81,Aichi/81,Sao Paulo/82)に分類される。山形県においては E 2006 年から E 2012 年まで Sao Paulo/82 系統が流行の主流であったが,E 2014 年は E Kanagawa/76 系統の分離が優勢となった。山形県におけるこのような流行株の交代は E 2002 年と E 2006 年に起こっており,特に E 2002 年とそれに続く E 2004 年にはKanagawa/76 系統による大きな流行が確認されていることから,今後も調査を継続し発生動向を注視する必要がある。

## ツキヨタケの有毒成分 illudin S の含有量および特性

大河原 龍馬, 和田 章伸, 笠原 義正, 水田 克巳 (山形県衛生研究所)

第41回山形県公衆衛生学会,2015年3月5日,於山形

ツキョタケによる食中毒は平成 12 年~25 年の 14 年間に全国で 281 件発生しており、山形県はその件数が全国で最多である. これを防止するためには毒キノコを良く知ることが必要であり、その研究は公衆衛生学上きわめて重要である. 今回は野生のツキョタケ中の illudin S 含有量について、部位に違いによる差について検討を行ったが、傘の部分に最も多く含まれていることが分かった. また、塩蔵による毒抜きを検討したところ、1ヶ月間塩蔵した場合でも illudin S は残存することが分かった.

## 中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発

笠原 翔悟, 和田 章伸, 笠原 義正, 水田 克巳 (山形県衛生研究所)

第41回山形県公衆衛生学会,2015年3月5日,於山形

植物性自然毒による食中毒が全国で 2 番目に多い山形県において、中毒発生時に迅速にその原因となった植物を特定する方法を開発することは非常に重要である。本研究では、同一の方法で複数の毒成分を同時に分析できる LC-MS/MS による一斉分析法について検討した。 ODS とイオン交換の性質を併せ持つマルチモードカラムを用いることにより、極性の異なる 5 種類の植物の 14 毒成分分析可能な条件を確立した。 また、試料の抽出、精製などの前処理方法についても検討を行った。