

抄 録

1) 他誌掲載論文

Leptospirosis in the Tohoku Region: Re-emerging Infectious Disease.

Saitoh H., Koizumi N., Seto J., Ajitsu S., Fujii A., Takasaki S., Yamakage S., Aoki S., Nakayama K., Ashino Y., Chagan-Yasutan H., Kiyomoto H., and Hattori T.

Tohoku J.Exp.Med.236:33-37,2015.

Leptospirosis is a zoonotic and disaster-related infectious disease. It is mainly endemic in subtropical or tropical countries and has not been reported since 2009 in the Tohoku region (northern Japan), including the Yamagata and Miyagi Prefectures. However, we experienced four patients with leptospirosis in the Tohoku region from 2012 to 2014; three patients (#1-3) live in the agricultural areas of the Yamagata Prefecture and one patient (#4) was a visitor to the Miyagi Prefecture. Patient 1 (81-year-old female) is a villager, with a rat bite, while Patient 2 (77-year-old male) and Patient 3 (84-year-old female) are farmers and were infected probably during agriculture work. Patient 4 (40-year-old male US citizen) was infected while traveling in Thailand. They had chief complaint of fever, headache, and myalgia and showed manifestations of hyperbilirubinemia (mean, 4.35 mg/dL), thrombocytopenia and acute kidney injury (AKI). All patients were diagnosed by polymerase chain reaction using blood and/or urine samples and a microscopic agglutination test for the anti-*Leptospira* antibody. All the patients were treated with infused antibiotics, including minocycline. The patients underwent hemodialysis due to severe AKI (mean serum creatinine, 4.44 mg/dL), except for Patient 2 with the normal serum creatinine level (1.12 mg/dL). All the patients recovered and were discharged. The presence of the three patients in the Yamagata Prefecture implies that leptospirosis does re-emerge in the Tohoku region. Therefore, careful survey of the pathogen is necessary for febrile patients with AKI who engage in agriculture or have a recent history of travelling in subtropical or tropical countries.

Characteristics of *Mycoplasma pneumoniae* infection identified on culture in a pediatric clinic.

Katsushima Y., Katsushima F., Suzuki Y., Seto J., Mizuta K., Nishimura H., and Matsuzaki Y.

Pediatr.Int.57:247-252, 2015.

BACKGROUND: The appropriate choice of antibiotics against *Mycoplasma pneumoniae* infection has

become difficult, as the prevalence of macrolide-resistant *M. pneumoniae* has increased.

METHODS: Throat swab specimens were collected from children with clinically suspected *M. pneumoniae* infection while visiting an outpatient clinic. Cultures for *M. pneumoniae* were done, and all isolates were sequenced for the presence of a mutation in 23S rRNA.

RESULTS: Of the 80 specimens collected between February 2012 and March 2013, 27 (34%) were positive for *M. pneumoniae* on culture. Macrolide-resistant mutation was detected in 24 isolates (89%): 23 isolates had an A2063G transition, and one had a C2617G mutation. Both the median age and the prevalence of pneumonia were significantly higher in *M. pneumoniae*-positive than in *M. pneumoniae*-negative children (median, 7 years vs 4 years; 88.9% vs 60.4%, respectively). The percentage of serum samples with particle agglutination titer $\geq 1:160$ was 69.6% in *M. pneumoniae*-positive cases and 17.6% in *M. pneumoniae*-negative cases when the serum was collected ≥ 4 days after the onset of fever. Defervescence within 72 h after the initiation of macrolides never occurred in *M. pneumoniae*-positive children and also did not occur in 54% of *M. pneumoniae*-negative children. Switching to either minocycline or tosufloxacin resulted in fever resolution within 48 h in *M. pneumoniae*-positive children.

CONCLUSIONS: The described clinical and laboratory characteristics of *M. pneumoniae* infection may be useful in guiding appropriate treatment in an outpatient clinic.

Isolation of Saffold virus type 2 from children with acute respiratory infections using the RD-18S-Niigata cell line.

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

Jpn.J.Infect.Dis. 68:438-441,2015.

抄録なし

An outbreak of human coronavirus OC43 during the 2014-2015 influenza season in Yamagata, Japan.

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

Jpn.J.Infect.Dis. 68:442-445,2015.

抄録なし

Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing Clinical isolates in Japan by maximum *a posteriori* estimation.

Seto J., Wada T., Iwamoto T., Tamaru A., Maeda S., Yamamoto K., Hase A., Murakami K., Maeda E., Oishi A., Migita Y., Yamamoto T., and Ahiko T.

Infect.Genet.Evol. 35:82-88,2015.

Intra-species phylogeny of *Mycobacterium tuberculosis* has been regarded as a clue to estimate its potential risk to develop drug-resistance and various epidemiological tendencies. Genotypic characterization of variable number of tandem repeats (VNTR), a standard tool to ascertain transmission routes, has been improving as a public health effort, but determining phylogenetic information from those efforts alone is difficult. We present a platform based on maximum a posteriori (MAP) estimation to estimate phylogenetic information for *M. tuberculosis* clinical isolates from individual profiles of VNTR types. This study used 1245 *M. tuberculosis* clinical isolates obtained throughout Japan for construction of an MAP estimation formula. Two MAP estimation formulae, classification of Beijing family and other lineages, and classification of five Beijing sublineages (ST11/26, STK, ST3, and ST25/19 belonging to the ancient Beijing subfamily and modern Beijing subfamily), were created based on 24 loci VNTR (24Beijing-VNTR) profiles and phylogenetic information of the isolates. Recursive estimation based on the formulae showed high concordance with their authentic phylogeny by multi-locus sequence typing (MLST) of the isolates. The formulae might further support phylogenetic estimation of the Beijing lineage *M. tuberculosis* from the VNTR genotype with various geographic backgrounds. These results suggest that MAP estimation can function as a reliable probabilistic process to append phylogenetic information to VNTR genotypes of *M. tuberculosis* independently, which might improve the usage of genotyping data for control, understanding, prevention, and treatment of TB.

Comparative analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains isolated in three remote areas of Japan.

Yokoyama E., Hachisu Y., Iwamoto T., Nakanishi N., Arikawa K., Wada T., Seto J., and Kishida K.

Infect.Genet.Evol.34:444-449,2015.

A quantitative and qualitative comparison was carried out of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains isolated in three remote areas of Japan. A total of 452 strains from Chiba Prefecture, 75 from

Yamagata Prefecture, and 315 from Kobe City were analyzed for 24 loci by variable number of tandem repeats typing (24_{Beijing}-VNTR). All strains were classified in six Beijing subgroups (B_{SUB}), B1 to B5 and T, based on a minimum spanning tree reconstructed using data of a standard set of 15 VNTR loci. No significant difference was found in the distribution of strains in the B_{SUB} in the three areas, with one exception due to a B5 outbreak in Yamagata, indicating no significant quantitative difference in the B_{SUB} in the three areas ($P < 0.01$, Chi-square test). In addition, when strains in each B_{SUB} isolated in the three areas were mixed and standardized index of association (I^S_A) and variance (Φ_{PT}) values were calculated, no significant qualitative difference in the B_{SUB} in the three areas was found. These results suggested that the B_{SUB} diverged prior to the introduction of *M. tuberculosis* Beijing strains into Japan. Differences in the distribution of strains in each B_{SUB} between Japan and continental Asian countries suggested there had been genetic drift in the continental Asian countries in which B4 had been dominant.

Putative classification of clades of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 using an IS-printing system.

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

Lett. Appl. Microbiol. 61:267-273,2015.

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 (O157) strains can be classified in clades by single nucleotide polymorphisms (SNPs), but this analysis requires significant laboratory effort. As the distribution of insertion sequence (IS) 629 insertions has been reported to be biased among different clades, O157 isolates can be putatively classified in clades by comparison with an IS629 distribution database. A database of the IS629 distribution in O157 strains isolated in Chiba Prefecture and their classification in clades was determined by SNP analysis and IS-printing, an easy and quick analytical tool for IS629 in the O157 genome. The IS629 distribution in O157 strains isolated in Fukuoka and Yamagata Prefectures was determined by IS-printing. These strains were putatively classified in clades by Relative Likelihood calculations that compared the IS-printing data and the IS629 distribution database. Concordance Ratios were calculated, which compared the number of strains putatively classified in a clade by Relative Likelihood to the number of strains classified in that clade by SNP analysis. For the Fukuoka and Yamagata strains, the Concordance Ratios for clades 3, 6 and 8 were 97-100%, for clade 7 about 88%, and for clades 2 and 12 over 90%. In conclusion, O157 clade 2, 3, 6, 7, 8 and 12 strains could be putatively classified by IS-printing.

SIGNIFICANCE AND IMPACT OF THE STUDY:

This study demonstrated that enterohemorrhagic *E. coli* O157 (O157) strains could be putatively classified in clades using an IS-printing system. IS-printing was previously developed as a relatively quick and easy tool for analysis of insertion sequence 629 in the O157 genome. Since most local government public health institutes in Japan carry out IS-printing for early detection of O157 outbreaks, these data should be useful for putative classification of O157 strains in each area.

Turtle-associated *Salmonella* infections in Kanagawa, Japan.

Kuroki T., Ito K., Ishihara T., Furukawa I., Kaneko A., Suzuki Y., Seto J., and Kamiyama T.

Jpn.J.Infect.Dis.68:333-337,2015.

In this paper, we examine 2 case reports for different reptile-related *Salmonella* enterica subspecies enterica serotypes. In case 1, a 5-year-old boy presented with gastroenteritis caused by *S. enterica* subspecies enterica serovar Poona. The suspected source of infection was a turtle kept at the patient's home. In case 2, a 4-year-old boy presented with gastroenteritis caused by *S. enterica* subspecies enterica serovar Abony. The Pulsed-field gel electrophoresis analysis suggested that a tortoise kept at the patient's home was the source of infection. This paper presents a review of the literature and an examination of cases regarding turtle-associated salmonellosis in Japan.

Influenza C virus and human metapneumovirus infections in hospitalized children with lower respiratory tract illness.

Shimizu Y., Abiko C., Ikeda T., Mizuta K., and Matsuzaki Y.

Pediatr.Infect.Dis.J. 34:1273-1275,2015.

A 6-month prospective study in a hospital setting detected influenza C virus and human metapneumovirus in 10.0% (29/289) and 16.6% (48/289), respectively, of children hospitalized with lower respiratory tract illness. Influenza C virus infection had a similar rate of pneumonia (53.3% vs. 57.1%), significantly lower frequency of wheezing (13.3% vs. 68.6%) and higher values of white blood cell and C-reactive protein than human metapneumovirus infection.

Defining the genome features of *Escherichia albertii*, an emerging enteropathogen closely related to *Escherichia coli*.

Ooka T., Ogura Y., Katsura K., Seto K., Kobayashi H., Kawano K., Tokuoka E., Furukawa M., Harada S., Yoshino S., Seto J., Ikeda T., Yamaguchi K., Murase K., Gotoh Y., Imuta N., Nishi J., Gomes TA., Beutin L., and Hayashi T.

Genome Biol.Evol.7:3170-3179,2015.

Escherichia albertii is a recently recognized close relative of *Escherichia coli*. This emerging enteropathogen possesses a type III secretion system (T3SS) encoded by the locus of enterocyte effacement, similar to enteropathogenic and enterohemorrhagic *E. coli* (EPEC and EHEC). Shiga toxin-producing strains have also been identified. The genomic features of *E. albertii*, particularly differences from other *Escherichia* species, have not yet been well clarified. Here, we sequenced the genome of 29 *E. albertii* strains (3 complete and 26 draft sequences) isolated from multiple sources and performed intraspecies and intragenus genomic comparisons. The sizes of the *E. albertii* genomes range from 4.5 to 5.1 Mb, smaller than those of *E. coli* strains. Intraspecies genomic comparisons identified five phylogroups of *E. albertii*. Intragenus genomic comparison revealed that the possible core genome of *E. albertii* comprises 3,250 genes, whereas that of the genus *Escherichia* comprises 1,345 genes. Our analysis further revealed several unique or notable genetic features of *E. albertii*, including those responsible for known biochemical features and virulence factors and a possibly active second T3SS known as ETT2 (*E. coli* T3SS 2) that is inactivated in *E. coli*. Although this organism has been observed to be nonmotile in vitro, genes for flagellar biosynthesis are fully conserved; chemotaxis-related genes have been selectively deleted. Based on these results, we have developed a nested polymerase chain reaction system to directly detect *E. albertii*. Our data define the genomic features of *E. albertii* and provide a valuable basis for future studies of this important emerging enteropathogen.

Epidemic myalgia and myositis associated with human parechovirus type 3 infections occur not only among adults but also among children: findings in Yamagata, Japan, in 2014.

Mizuta K., Yamakawa T., Kurokawa K., Chikaoka S., Shimizu Y., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Ito S., Aoki Y., Matoba Y., Tanaka S., and Yahagi K.

Epidemiol.Infect. 144:1286-1290, 2016.

We previously reported an association between human parechovirus type 3 (HPEV3) and epidemic myalgia with myositis in adults during summers in which an HPEV3 outbreak occurred in children. However, this disease association has not yet been reported elsewhere. We have since continued our surveillance to accumulate data on this disease association and to confirm whether myalgia occurs in children as well as adults. Between June and August 2014, we collected 380 specimens from children with infectious diseases. We also collected clinical specimens from two adult and three paediatric patients suspected of myalgia. We then performed virus isolation and reverse-transcription-PCR using the collected specimens. We detected HPEV3 in 26 children with infectious diseases, which we regarded as indicating an outbreak. We also confirmed HPEV3 infection in all patients suspected of myalgia. In particular the symptoms in two boys, complaining of myalgia and fever, closely matched the criteria for adult myalgia. Based on our findings from 2008, 2011 and 2014, we again urge that clinical consideration be given to the relationship between myalgia and HPEV3 infections during HPEV3 outbreaks in children. Furthermore, our observations from 2014 suggest that epidemic myalgia and myositis occur not only in adults but also in children.

Characterization of an A (H1N1)pdm09 virus Imported from India in March 2015.

Takashita E, Fujisaki S, Shirakura M, Nakamura K, Kishida N, Kuwahara T, Ohmiya S, Sato K, Ito H, Chiba F, Nishimura H, Shindo S, Watanabe S, Odagiri T; Influenza Virus Surveillance Group of Japan.

Jpn J Infect Dis. 2016 69(1):83-6.2016.

抄録なし

エンドトキシン混入事案前後でのクオンティフェロン®TB ゴールド検査成績比較

瀬戸順次, 鈴木裕, 阿彦忠之

結核 91:49-52,2016.

〔目的〕 2013年に国内で発生したクオンティフェロン®TB ゴールド (QFT-3G) 専用採血管内へのエンドトキシン (ET) 混入による偽陽性事案を受け、事案前後での QFT-3G 検査成績の差異を検討すること。
〔方法〕 2010年9月～2015年4月、山形県において接触者健康診断の目的で4,258人に実施した QFT-

3G 検査について、ET 混入事案前の 2,488 検体と事案後（品質改善対策実施後）の 1,770 検体に分けて成績を比較した。〔結果〕ET 混入事案前に比べ事案後の群において陰性コントロール値が有意に低い傾向を示した（ $P<0.0005$ ）。陽性コントロール値が算出上限（10 IU/ml）を超えた検体の割合は、ET 混入事案前は 96.8%であったのに対し、事案後は 87.8%と有意に減少した（ $P<0.0005$ ）。判定保留は、事案前が 6.6%であったのに対し、事案後は 3.2%と大きく減少した。〔考察〕ET 混入事案前後で、採血管への ET 混入量の差に起因すると考えられる QFT-3G 検査成績の差異が見出された。本検討から、事案後では QFT 専用採血管内の ET 混入量が低く管理されているものと推察された。

2) 学会発表

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, 瀬戸順次, 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

はじめに: 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(b II 2, 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 III1 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 線フィ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。

まとめ：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, 瀬戸順次, 山本太郎, 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

[目的] 結核患者から分離される結核菌株の遺伝多型によって伝播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、各自自治体における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・型別変化による誤判定や、実地疫学調査との齟齬など、様々な点について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の比較解析を応用し、菌株の異同情報として極めて高精度な多型情報を獲得することにより、より詳細な伝播経路の解明を目指すと共に、VNTR 型別解析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培養陽性肺結核患者 (266 人) のうち、VNTR 型別解析が可能であった 184 人 (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 領域以上で一致した菌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、本課題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 ゲノム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。マッピング解析には 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 塩基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感染例であることが明らかとなった。実地疫学調査によって集団事例と考えられ、かつ VNTR 型別一致が確認された 6 クラスターは、そのうち 5 つがゲノム比較によっても同一株であることが確認された。VNTR 型別一致後の疫学調査から伝播の可能性が示唆された 3 クラスターでは、1 つのみ同一株と判定された。一方、実地疫学情報が得られなかった 8 クラスターでは、1 事例のみが同一株によることが判明した。ゲノム比較によって異なる菌株と判定された VNTR 型別一致株は、菌株系統的に

は非北京型、北京型 ST3 群、北京型 ST19/25 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。

クラリスロマイシン処方後の患者から分離された *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異の検出

鈴木裕, 瀬戸順次, 板垣勉, 松寄葉子, 本郷誠治

第 89 回日本感染症学会学術講演会, 2015 年 4 月 15-17 日, 於京都

【目的】*Mycoplasma pneumoniae* (以下 Mp) 感染症患者にクラリスロマイシン(以下 CAM)を処方後, 再来院時に採取した検体から分離された Mp のマクロライド系抗菌薬(以下 ML)耐性遺伝子変異の有無を調査すること。

【方法】山辺こどもクリニックで Mp 感染症を疑い採取した咽頭拭い検体から, 山形県で ML 耐性株の流行が確認されていない *p1* 遺伝子 2 型亜種 Mp が分離された患者 9 人を対象とした。CAM 処方後 3 日から 39 日後の再来院時に採取した検体から Mp 分離を試み, 分離株の ML 耐性遺伝子変異を PCR ダイレクトシーケンスにより検出した。

【結果】9 人の初回検体から分離された Mp には, ML 耐性遺伝子変異を認めなかった。CAM は 10-15mg/kg を 10 日間(1 例のみ 7 日間)投与され, 解熱日不明の 1 人を除き, CAM 処方後 2 日までに全員解熱した。再来院時検体からの Mp 分離培養により, 9 人中 6 人(66.7%)から 2 型亜種 Mp が分離され, そのうち 5 株(83.3%)に ML 耐性遺伝子変異(A2063G または A2064G 変異)を検出した。

【結論】CAM 処方後の患者検体から分離された Mp から ML 耐性遺伝子変異を高率に検出した。市中での流行が確認されていない ML 耐性 2 型亜種 Mp が CAM 処方後の患者検体から分離されたことは, 処方後の患者咽頭に ML 耐性 Mp が生残していた可能性を示唆している。このような観点に立って 2 次感染を防止することが, ML 耐性 Mp の流行を防ぐために重要と考えられた。

臨床検体からのウイルス分離にもとづいた疫学研究-中長期的なウイルス感染症対策への貢献を目指して-

水田克巳

第 56 回日本臨床ウイルス学会, 2015 年 6 月 13-14 日, 於岡山

第 52 回本学会シンポジウムで“ウイルス分離を未来の患者のために”と題して講演した。その抄録を見るに, 私たちの姿勢は当時と全く変わっていないといえよう。

結果が遅い, 早期診断・治療には役立たないと叱られながらも, ” 地方衛生研究所は Public Health

Laboratory（感染症から民衆を守るための最前線機関）としての役割を果たすべし“と、ウイルス分離にもとづいた研究を続けてきた。唯一早期診断に貢献したといえば、メタニューモウイルス迅速診断キットを世に出すお手伝いをしたことか。

私たちのメインテーマである小児急性ウイルス性気道感染症の疫学研究では、2004-2011年の観察から、RS・インフルエンザ・メタニューモ・パラインフルエンザ3型が毎年ほぼこの順に流行することを明らかにした。2008年の成人筋痛症流行では、病原体パレコウイルス3型の特定に数年を要した。未だに山形以外から論文はないが、2011年、2014年にも症例を観察し、”パレコウイルス3型が小児で流行した夏には成人筋痛症に注意が必要”という考えは、山形ではほぼ確立している。アジアにおけるエンテロウイルス71型合併症による小児重症化の課題関連では、1990-2013年の山形分離株の解析を終了し、ヨーロッパとアジアで流行する遺伝子型の違いが見えてきたところである。

私たちは、臨床検体からウイルスを分離・保存・解析することにより、疫学解明、ワクチン戦略など、中長期的な感染症対策に必要なデータを蓄積することが地方衛生研究所の大きな責務と考えている。臨床現場にあっては、目の前の患者の診断と治療が最優先である。けれども、現場は外国にもあるし、感染症は未来永劫くなることはない。私たちの臨床ウイルス学が、海外や未来の患者にとっても役立つものであって欲しいと願いながら、これからもウイルスを分離し続けて行こうと考えている。

2014/2015 インフルエンザ流行期における山形県の ヒトコロナウイルス OC43 の流行

的場洋平，青木洋子，田中静佳，矢作一枝，下平義隆，松寄葉子，板垣勉，水田克巳

第69回日本細菌学会東北支部総会，2015年8月21-22日，於郡山，

【目的】4種類のヒトコロナウイルス（229E，OC43，NL63 および HKU1）は普通感冒の原因ウイルスとして知られるが，日本国内における疫学情報は限られている。そのため，我々は2010年以降，山形県内におけるヒトコロナウイルスのサーベイランスを実施している。今回，2014/2015 インフルエンザ流行期にOC43の流行をとらえたので，その詳細を報告する。

【方法】2014年12月から2015年3月に山辺こどもクリニックを受診し，感染症発生動向調査の一環として患者もしくは保護者から同意を得て採取した368検体の咽頭拭い液・鼻腔吸引液について，リアルタイムPCR法により，ヒトコロナウイルス遺伝子の検出を行った。

【結果】OC43が88検体（24%）から検出され，そのうち他のウイルスとの混合感染は4例であった。OC43の流行は2014年12月（第52週）から始まり，2015年1月（第5週）をピークに，3月（第13週）まで続いた。1月（第2週）から2月（第8週）には3つの保育所において，2～3週間の間にそれぞれ3人，7人，4人のOC43陽性事例が確認された。

【考察】同医院における1週間あたりのインフルエンザ迅速キットA型陽性症例数が増加した時期は，2014年12月（第50週）から2015年2月（第9週）であったことから，OC43はA型インフルエンザ

と同時期に流行していたことが明らかとなった。また、短期間に 3 つの保育所それぞれで複数の OC43 陽性例が確認されたことから、OC43 は施設内流行を起こしうる可能性が示唆された。OC43 のみが検出された 84 検体中、初診時にインフルエンザの迅速診断キットが使用された症例は 66 検体 (79%) であった。OC43 陽性検体の多くにインフルエンザ迅速キットが使用されたことから、臨床症状のみでインフルエンザと OC43 を鑑別することは困難であったことが推察される。

シンポジウム “使いたくなる結核分子疫学：保健所での活用事例と結核対策の 将来的展望”

低蔓延地域における結核分子疫学の必要性について

瀬戸順次

第 74 回日本公衆衛生学会，2015 年 11 月 4 日，於長崎

国内の結核低蔓延地域である山形県では、2009 年以降、原則菌陽性結核患者全例の結核菌株を収集し、結核菌反復配列多型 (VNTR) 分析を実施している。調査は感染症法第 15 条を根拠として保健所が主体的に実施し、24 領域 VNTR 分析 (24Beijing セット) の役割を衛生研究所が担っている。分析の結果得られた VNTR パターンが既存の県内菌株パターンと一致した場合、保健所で追加の疫学調査を実施し、患者間の関連性の有無を決定している。

2014 年までの 6 年間で菌陽性結核患者 433 人由来 433 株を分析した結果、111 株 (25.6%) が 37 クラスタを形成した。クラスタ形成/非形成を問わず、結核低蔓延という地域特性を活かして各 VNTR 分析結果と実地疫学情報を丁寧に重ね合わせていく中で、結核分子疫学を保健所の結核対策に組み入れる利点として以下の 5 点が実感された：1) VNTR パターン一致株がないこと (≒ 散發事例) の確認、2) 実地疫学調査で見出された患者間の関連性への科学的裏付けの付与、3) 結核集団感染事例の追究、4) 新たな感染リスク集団の探知、および 5) 未知の伝播経路の発見。総じて、結核分子疫学は、これまで経験や勘に頼らざるを得なかった保健所での感染源・感染経路追究の方策に科学的根拠を与え、保健師が自信を持って結核対策に取り組むことを可能にするという利益をもたらすと考えられた。

将来的な結核分子疫学の必要性を考えるうえで、433 株のクラスタ形成率を患者の年齢群別に算出したところ、59 歳以下 (患者数 94 人、クラスタ形成率 46.8%)、60~79 歳 (115 人、27.8%)、80 歳以上 (224 人、15.6%) となった。患者が高齢者に偏在する一方で、高齢群になるにつれクラスタ形成率が低くなった要因として、高齢結核患者には戦中・戦後の高蔓延期に結核に感染し、内因性再燃を起こした者が多いことが示唆された。しかし、高齢者を中心に国内の結核既感染率が漸減していくという推計結果を踏まえると、今後、全結核患者に占める内因性再燃の割合が減る、すなわち直近の感染伝播が相対的に増加して結核分子疫学が保健所の結核対策に貢献し得る度合いが高まると想定された。山形県では、結核分子疫学がより重要度を増すであろう将来を見据えて、結核分子疫学にまつわる各種課題を保健所・衛生研究所・県庁主管課が一体となって克服しながら、結核対策の強化、ひいては公衆衛生の向上を目指してい

きたいと考えている。

山形県の一地域で分離されたサルモネラの疫学的検討

鈴木裕，瀬戸順次，庄司裕亮，清野祐美，北澤俊彦

第36回山形県医学検査学会，2015年11月7-8日，於鶴岡

【はじめに】サルモネラ属菌 (*Salmonella enterica* ; 以下，サルモネラ) は，Kaufmann-White の抗原構造様式に基づいた O 抗原 (菌体抗原) と 2 種類の H 抗原 (鞭毛抗原) の組合せにより 2,500 以上の血清型に分類される。サルモネラのうち，ヒトのみに感染してチフス症を引き起こす *S. Typhi* および *S. Paratyphi A* を除いては，環境中に広く分布するとともに，鳥類，爬虫類等の動物が保菌していることが知られており，食中毒や動物由来感染症の原因として重要である。今回，山形県の一地域で分離されたサルモネラの疫学情報を解析し，その特徴について検討した。

【対象及び方法】2001年9月から2015年8月(15年間)に山形県村山地方3市の医療機関で採取された便検体から，山形市医師会健診センターで分離されたサルモネラ136株を対象とし，分離された患者の年齢，分離された年および月，並びに分離株の血清型について検討した。

【結果】患者年齢階層別のサルモネラ分離数は，1歳～6歳が最多で(49株)，次いで7歳～12歳で多く(32株)，両群で全体の59.6%(81/136)を占めた。年別の分離数は，2002年～2003年にかけて多かったが(2002年;25株，2003年;18株)，2004年以降は横ばいで推移した(5株～12株)。月別の分離数は，8月をピークとして7月～9月にかけて多かった。分離株の血清型は，*S. Enteritidis* が最多で(48株)，次いで*S. Thompson*，*S. Infantis*，*S. Agona*，*S. Bareilly*，*S. Newport*，*S. Saintpaul*，*S. Typhimurium* が続き，上位8血清型で全体の69.1%(94/136)を占めた。対象とした15年間を3年毎に区切った血清型別の分離数の推移は，*S. Enteritidis* が2001年～2003年にかけて多かったが，その他の血清型は全期間を通じて横ばいで推移した。

【考察】本検討で明らかにしたサルモネラ上位8血清型のうち *S. Bareilly* を除く7血清型はすべて，全国で2011年～2015年に分離された上位15血清型に含まれており，本地域で分離される血清型には他地域と大きな違いがないことが示された。本地域の上位8血清型のうち *S. Enteritidis* は，卵を原因とする食中毒の主要な原因菌であり，「家畜の生産段階における衛生管理ガイドライン(2002年9月)」および「鶏卵のサルモネラ総合対策指針(2005年1月26日)」で対策が図られてきた。本検討で *S. Enteritidis* が2004年以降減少したことは，これらの対策の成果である可能性が示唆される。その他の7血清型は食用鶏肉等に関係する食中毒の原因菌として知られる他，河川からの分離例が報告されており，環境由来感染症の原因となる可能性がある。また，7血清型のうち *S. Thompson*，*S. Newport*，*S. Saintpaul*，*S. Typhimurium* はカメ等の爬虫類が保菌することが報告されており，動物由来感染症の原因としても重要である。しかし，本県におけるこれらのサルモネラの実態は依然不明であるため，今後さらなる疫学調査を実施して情報を発信していくことが重要である。

ベーシックレクチャー2：ヒトメタニューモウイルスとボカウイルスの実態

水田克巳

第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術集会，2016 年 1 月 29-31 日，於仙台

呼吸器ウイルス感染症は、私たちにとって最も身近な感染症である。しかし、残念ながらインフルエンザなど一部のウイルスを除いては、あまり研究が進んでいないといえるのではないかと。山形県衛生研究所では、ウイルス分離を基本とした中長期的な呼吸器ウイルス感染症の疫学研究を通じて感染症対策・公衆衛生の向上に寄与することを目的に活動している。

本セッションのテーマであるウイルス、ヒトメタニューモウイルス・ボカウイルスはいずれも呼吸器感染症をおこすウイルスである。特に、両者が 21 世紀に入ってから発見されたという意味で、新しいウイルスであるという点が大きな特徴である。

一般にウイルス検査法としては、ウイルス分離、抗原検出、遺伝子検出などがある。幸いにも山形県衛生研究所では、ヒトメタニューモウイルスについて、2004 年以降ウイルス分離が可能となり疫学研究を進めるとともに、迅速診断キットの開発にも携わってきた。その一方、ボカウイルスについては残念ながらこれまでに検出したことがなく、データはない。

そこで、せっかくの機会なので、初めに山形県衛生研究所のウイルス分離システムについて紹介させていただく。その上でヒトメタニューモウイルスについては山形県のデータを使いながら、ボカウイルスについては成書などを参考にしながら、感染年齢・疾患との関連などのデータを共有することでベーシックレクチャーの任を果たしたいと考えている。

SapphireAmp Fast PCR Master Mix を用いた迅速、安価な 結核菌反復配列多型分析法の確立

瀬戸順次，御手洗聡

第 27 回日本臨床微生物学会総会・学術集会，2016 年 1 月 29-31 日，於仙台

【目的】結核患者の感染源・感染経路の追究を目的として国内で普及が進んでいる結核菌反復配列多型 (VNTR) 分析法について、より迅速、安価な系を構築すること。

【対象および方法】結核菌臨床分離株 28 株を対象に、我々が考案した SapphireAmp Fast PCR Master Mix (SapphireAmp) 系の 24 領域 (24Beijing セット) VNTR 分析用 PCR を実施した (計 672 検体)。PCR 非増幅等の問題があった検体は、国内の標準法である Ex-Taq hotstart version 酵素 (Ex-Taq) 系による PCR を追加実施した。

【結果】SapphireAmp 系の 666 検体 (99.1%) で PCR 産物が得られ、VNTR 分析でコピー数判定が可

能であった。非増幅等の残り 6 検体は、Ex-Taq 系で VNTR 判定がなされた。SapphireAmp 系は、Ex-Taq 系に比べて PCR 増幅量が劣ったものの、3 分の 1 の PCR 時間、8 分の 1 の単価で分析できた他、直ちに使用可能な状態で凍結保管した PCR 反応液を用いることで、反応液調製の効率化を図ることが可能であった。

【考察】SapphireAmp 系を第一優先に実施し、VNTR 判定ができない一部検体に対して Ex-Taq 系を実施することで、国内での VNTR 分析普及の妨げとなっている検査費用の問題や、分析の煩雑さの問題を克服できる可能性がある。

会員外共同研究者：鈴木裕，阿彦忠之（山形県衛生研究所）

自然毒一斉分析法の開発と食中毒への適用

笠原翔悟，大滝麻井子，笠原義正

第 42 回山形県公衆衛生学会，2016 年 3 月 7 日，於山形

自然毒による食中毒が発生した際に迅速に原因を特定することを目的として，自然毒一斉分析法の開発を行った。実際の植物を用いた検討により，中毒の多い植物であるトリカブト，バイケイソウ，スイセン，チョウセンアサガオ，ジャガイモを一度の測定で特定可能であることが示された。また，本研究で開発した分析法を用いて，イヌサフランによる食中毒の原因特定および，イヌサフランに含まれる毒成分コルヒチンの含有量に関する検討を行った。

平成 27 年の山形市等における蚊の発生状況調査

小川直美，太田康介，酒井真紀子，安孫子正敏，水田克巳

第 42 回山形県公衆衛生学会，2016 年 3 月 7 日，於山形

デング熱，チクングニア熱，ウエストナイル熱などの蚊媒介感染症が熱帯，亜熱帯地域を中心とする各国で流行しており，日本国内でも国外感染例が報告されている。これらの感染症を媒介する蚊は山形県内にも普通に生息しており，蚊媒介感染症侵入時の迅速な対応のために，平時から蚊の生息状況をモニタリングする事が重要である。本調査では，山形市周辺に生息する蚊の種別，季節的消長などについて明らかにし，効率よく感染症媒介蚊の生息状況調査を行うための手法を検討する事を目的とし，山形市周辺の市街地 3 地点でトラップ法と人囀法による蚊の捕集を行った。その結果，7 種の蚊の生息が確認された。捕集方法については，蚊の種構成や生息密度を調査するにはトラップ法が適しており，日中に活動する蚊を迅速に数多く捕獲するためには人囀法が適していることが分かった。