

呼吸器疾患におけるウイルスと臨床所見の関連性の検討

微生物部門

○ 伊藤 正寛, 吉岡 政純, 杉江 真理子, 近野 真由美, 木澤 正人, 梅垣 康弘

1 目的

小児の急性呼吸器感染症は上気道炎, 気管支炎, 細気管支炎, クループ, 肺炎など臨床症状は多彩である。時には入院加療を必要とする重症例も認められる。急性呼吸器感染症には多数のウイルスが関与していることが知られている。複数のウイルスが同時に検出され, 季節性や発症年齢, 臨床症状と関連して明らかにされつつある。呼吸器ウイルスの検出は迅速診断法, ウイルス分離, PCR が用いられているが, 最近では複数のウイルスを同時に検出する multiplex PCR が用いられている。呼吸器ウイルスの中ではRSウイルス (A, B) (RSV), human Metapneumovirus (hMPV)は特に細気管支炎, 肺炎, 喘息との関連性が注目されている。今回は呼吸器ウイルスの中でもRSV, hMPVについて京都市の病原体サーベイランス定点における検出時期, 頻度を明らかにし臨床症状との関連性を検討することを目的とした。

2 対象と方法

2011年1月から12月の間に京都市発生动向調査事業の一環として病原体定点医療機関(小児科)において乳幼児のかぜ症候群と臨床診断された患者から採取され, 京都市衛生環境研究所微生物部に供与された鼻咽頭スワブ180検体を用いた。スワブは2mlのEMEMに攪拌しFL, Vero, VeroE6, RD-18S, MDCK細胞を用いて分離・同定を行った。QIAmp Viral RNA mini kit (Qiagen)を用いてRNAを抽出し, PrimeScript RT reagent Kit(TaKaRa)を用いてcDNAを合成後RSV-A(nucleocapsid), RSV-B(nucleocapsid), hMPV(fusion)に特異的な primer, probeを用い triplex PCR (QuantiTect Multiplex PCR Kit, Qiagen)を行なった。

3 結果

180検体中, PCRによりRSV-Aは17検体(9%), RSV-Bは23検体(13%), hMPVは27検体(15%)から検出された。RSVは1-4月, 7-12月に, hMPVは3-9月に検出され, 重複して検出された検体は認められなかった。PCRによりRSV-Aが検出された17検体中10検体(59%), RSV-Bが検出された23検体中2検体(9%)からRSVが分離され, RSV-Aのウイルス分離率はRSV-Bより有意に高かった。PCRによりhMPVが検出された27検体中6検体(22%)からhMPVが分離された。PCR陰性検体からはウイルスは分離されなかった。41検体についてRSVの迅速診断キットが行われ19例が陽性, 22例が陰性であった。キット陽性19例中PCRによりRSV-Aは4検体, RSV-Bは13検体, キット陰性22検体中RSV-Aは2検体, RSV-Bは1検体から検出された。主な臨床診断は上気道炎, 下気道炎, 気管支炎, 肺炎であった。PCRによりRSV-A, RSV-B, hMPVが検出された検体中肺炎の割合はそれぞれ47%, 26%, 11%であり, RSV-Aにおける肺炎の割合はhMPVより有意に高かった。

4 考察

PCRはウイルス分離より感度が高かった。またRSVキット陰性例からもRSVが検出された。このことから今後の疫学的解析にはウイルス分離と平行してPCRによる検出が必要である。今回用いたmultiplex PCRはhMPVに関しては病原体検出マニュアル(感染研)の方法とほぼ同等であった。呼吸器ウイルスの検出方法はウイルスを同時に網羅的に検出する方法が開発されておりmultiplex PCRは今後有用な方法であることが考えられる。今回の結果からはRSV, hMPVの検出に季節性があること, RSV-AはRSV-Bに比較し肺炎の診断例が多くウイルス分離率が高かったことよりRSV-AとRSV-Bの病原性に差異があることが示唆された。病原体サーベイランス事業により採取された検体は統一した基準により検体採取が行われていない。検出ウイルスと臨床所見との関連性を検討するためには症例定義に基づいて検体を採取し, 臨床所見の二次調査が必要である。今後病原体サーベイランス定点の医療機関と衛生環境研究所と協力した調査研究が必要である。

溶血性レンサ球菌検出状況

微生物部門

○ 渡辺 正義, 清水 麻衣, 木澤 正人, 梅垣 康弘

1 目的

溶血性レンサ球菌を分離・同定することで、流行株等、溶血性レンサ球菌研究の基礎データを蓄積するとともに、劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来菌株の収集することで、劇症型溶レン菌感染症等の重篤な症状を引き起こす菌株を推定し、溶レン菌感染症の季節消長等の発生予測を行う。

2 対象と方法

発生動向調査事業で入手した咽頭ぬぐい液等の検体から溶血性レンサ球菌を分離・同定する。

当研究所では、Lancefield 血清群 (A, B, C 及び G)、A 群溶血性レンサ球菌については T 型別試験を行う。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (疑い含む) 患者由来の菌株については、近畿支部レファレンスセンター (大阪府立公衆衛生研究所) に送付し、詳細な解析を行う。

3 結果

平成 23 年度は、感染症発生動向調査により収集された咽頭ぬぐい液 835 検体から、溶血性レンサ球菌 57 株を分離・同定した。

その内訳は、A 群 45 株、B 群 4 株、G 群 8 株であった。

また、劇症型溶血性レンサ球菌感染症の解析のため、京都市で発生した劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来の菌株を 6 株、近畿支部レファレンスセンターへ送付した。

京都市における蚊の病原体保有状況とその分子生物学的解析

微生物部門

○ 杉江 真理子, 木澤 正人, 梅垣 康弘

1 目的

蚊により媒介されるデングウィルス・ウエストナイルウィルス・チクングニアウィルス・ジカウィルス等の病原体は、現在日本国内では存在しないとされている。しかし、地球温暖化に伴い、一度持ち込まれば、いつ流行が起きてもおかしくない状況である。

京都市は国内外からの観光客が多く、海外で流行している感染症が持ち込まれる可能性は高く、その早期探知を目的とする。

2 対象と方法

衛生動物部門が市内4地点から捕集したヒトスジシマカメスのメスについて、約20匹を1プールとして遺伝子検査を行った。検体は、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN社)を用いてRNAを抽出し、2011年はデングウィルス・チクングニアウィルスについて国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに従って、TaqMan RT-PCR法(リアルタイムPCR)を行った。

3 結果

左京サイド435匹(26プール)、伏見サイド627匹(33プール)、離宮二条城北側1417匹(75プール)、衛生環境研究所203匹(14プール)について検査した結果、全て陰性であった。

人おとり法による蚊成虫捕獲調査

衛生動物部門

○ 伊藤 隆起

1 目的

インド洋周辺諸国でチクングニヤ熱が大流行し、現在、いつ日本国内で流行してもおかしくない状態といえる。チクングニヤ熱ウイルスの最も有力な媒介種は、市内で最も普通にみられるヒトスジシマカである。本市では長年、野沢式ライトトラップを使用して市内の蚊成虫生息調査を行っている。ところが、この調査は本来日本脳炎を媒介するコガタアカイエカや吸血被害をもたらすアカイエカが対象であり、これらの種は主に夜間に活動し、光に集まる習性があるのに対し、今回対象のヒトスジシマカは主に昼間に活動することから、ライトトラップではヒトスジシマカは十分捕獲できないと思われる。

昨年、市民からの要請により、市内の数箇所でおとり法による蚊成虫調査を行ったところ、多数のヒトスジシマカが捕獲できた。そこで今回、おとり法による周年調査を行い、ヒトスジシマカの発生消長を把握し、市内で流行が起こった場合の媒介蚊対策の基礎資料とする。

2 方法

調査時刻を昼間（15～16時）と夜間（20～21時）に分け、それぞれ週1回、調査者が京都市内の自宅庭（約4m×8m）の中央に立ち、10分間その場を動かさずに直径36cmの捕虫網を振って近寄ってきた蚊を捕獲した。調査期間は平成23年5月7日（昼間は5月21日）から始め、2週続けて蚊が採集されなくなった11月26日までとした。

3 成績

調査結果を図1に示す。昼間の調査ではヒトスジシマカ242個体（雌134個体、雄108個体）、夜間の調査ではヒトスジシマカ200個体（雌164個体、雄36個体）、アカイエカ19個体（雌のみ）を捕獲した。

ヒトスジシマカの雌は昼間よりも夜間の方が多く採集されている。一般的にヒトスジシマカは主に昼間に活動すると思われていたが、今回の調査で、夜間でも十分吸血活動を行うことが認められた。また、雌雄の割合を見てみると、昼間は雄雌がほぼ同じ比率で捕獲されているのに対し、夜間では雄の捕獲数が極端に少なくなっていた。

次に、ヒトスジシマカの季節的消長をみると、昼間・夜間とも5月中旬から11月下旬までみられ、特に活動が活発になるのは7月上旬から9月中旬にかけてといえる。なお、8月23日から9月10日までの間、急激に捕獲数が減っているが、これは庭師が植木の剪定前に殺虫剤（マラソン乳剤1000倍希釈液）を庭に散布したためと思われる。

なお、アカイエカについては、採集数が少ないため、今回は考察から除外した。

4 考察

人おとり法は、採集機材が不要なことや、調査結果が現場の吸血被害の実態に即していると思われることから、蚊成虫の生息状況を把握するには、便利な調査方法といえる。しかし、調査の場所や時間帯、更にはおとりになる調査者の違いで、結果に差が出る可能性が考えられる。また、調査者が捕虫網を振っている間、蚊に吸血されることが多分あることから、感染症の流行が認められる場合には、十分な配慮が必要といえる。

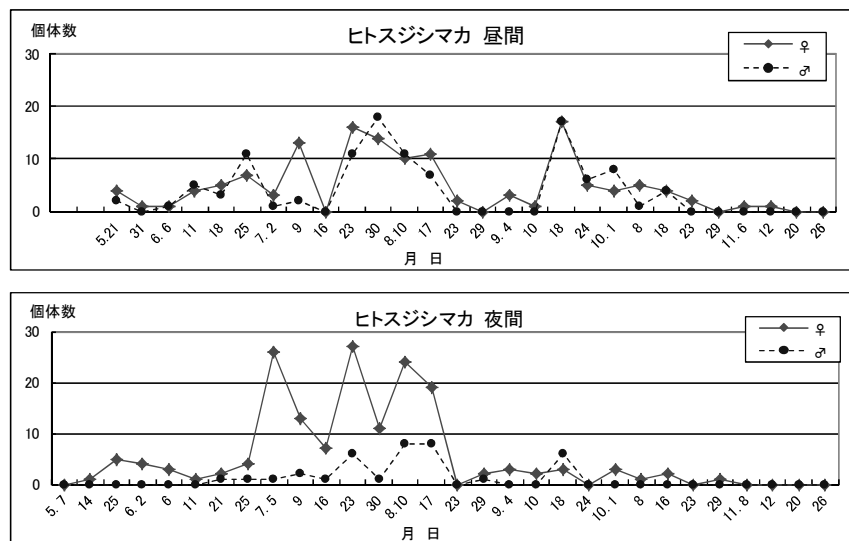


図1 ヒトスジシマカの捕獲成績

と畜場に搬入された病畜牛の搬入状況について

食肉検査部門

○ 田邊 輝雄

1 目的

病畜は生体検査から解体後の処理までを個人で対応するため、技術を要する。以前より症例数の少なくなった現在では、過去の経験やデータは重要な資料となっており、これまでの病畜の検査データ及び病畜の診断書を検討し、まとめることにより、疾病や発生の傾向を把握するとともに、病畜に関する検査技術及び知識の向上を図る。

2 方法

当部門に保管されている過去の病畜台帳及び病畜診断書の記載内容を精査し、搬入状況、薬剤の使用状況、検査結果及び措置等について件数を計上し、分析する。

3 結果

平成14年度から平成23年度までの病畜牛の搬入は374頭。うち平成23年度は42頭である。平成23年度のものについてみると、係留中に異常を認めたのは5頭、出荷時は異常を認めなかったが輸送途中に容体に変化を認め病畜として緊急と畜した事例は3頭あった。搬入の際、診断書のあったものは22頭であり、うち投薬のあったものは4頭であった。開場時間外のと畜は17頭あった。生体所見で最も多かったのは起立不能で29頭。解体所見多く見られたのは骨格筋疾患が34頭、次いで肝疾患が27頭。処置として全部廃棄となったものは高度の黄疸1頭、尿毒症1頭及び敗血症1頭の計3頭あった。

4 考察

平成23年度の病畜搬入頭数は前年度の30頭から12頭もの増加がみられた。病畜は家畜の転倒などの外因的なものだけでなく、肉質向上のための飼料制限等により内臓疾患を原因とするものもある。生産者は病畜となり損失が大きくならないよう、無理な肥育を避け、状態を見極め早めに出荷するなど取り組んでいるとみられるが、病畜として緊急と畜する事例が毎年数十例発生している。病畜の病態は様々であることから、これまでのデータを加えてさらに解析し、特徴や傾向を把握することにより、病畜への対応力や検査技術の向上につながると考えられる。

京都市における酸性雨陸水調査について—近年の「沢の池」の水質と降水の比較—

環境部門

○ 梶 由佳, 齊藤 奈穂, 出口 夫美子, 大竹 秀平, 勝見 潤子, 若林 佳弘

1 目的

酸性雨に感受性が高いことが明らかになっている市内の沢の池について、継続して水質調査を行い、沢の池の最新の動向を探る。

2 方法

沢の池の水質を、市内降水調査の結果他と比較する。

3 結果

池水 pH 推移は、既報のとおり降水量・水位の変動と類似の挙動を示した。また降水 pH 推移とも類似した。降水量・水位の増減と池水 pH・降水 pH の上下の変動パターンも類似していた。池水 pH は近年やや高め値で推移し、イオン類では Ca²⁺濃度のみを上昇傾向が見られた。溶存 Al 濃度は、環境省陸水調査の対象湖沼の中で最も高い値で推移していた。対して市内降水は、pH、イオン類はほぼ一定の水準で推移し、特に傾向はなかった。

4 考察

沢の池は、降水 pH 推移がほぼ正確に反映される希少な池であることが裏付けられた。池水 pH が上昇傾向にあるか否かは、現段階では判断し難い。また、池水の Ca²⁺濃度上昇についても、現段階では原因不明であるが、酸性雨影響の指標の1つである溶存 Al 濃度が高い値で推移していることもあり、今後もこれらの推移を見ていきたい。