

1 保健科学課
(1) 微生物係

調査研究名	研究の概要
<p>結核菌の遺伝子型別について</p> <p>研究担当者：山口 温</p> <p>研究期間：平成 11～26 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>結核菌の遺伝子型別を行うことにより、集団発生時における同一感染源の特定など疫学調査および接触者健診の充実が図られるとともに、本市における現状把握と今後の結核対策に役立てる。</p> <p>なお、本調査は平成 11 年 3 月から保健所と「札幌市結核菌分子疫学調査事業」による共同研究として行われている。</p> <p>【方法】</p> <p>PCR を用いた、VNTR（反復配列多型分析）により、JATA12 の 12Locus と追加の 6Locus について、遺伝子型別を行った。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>平成 26 年度は、128 検体検査を行った。10 検体が、過去に検査した菌株と 18Locus 全てが一致した。1～4Locus 違いの 79 検体と合わせて 89 検体について、過去の菌株との関連性が疑われる旨、保健所に報告した。</p>
<p>ライム病及び回帰熱の検査について</p> <p>研究担当者：坂本裕美子</p> <p>研究期間：平成 26 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>ライム病及び回帰熱は本州の標高 1000m 以上の山岳地帯と北海道全域に生息するスピロヘータの一種である <i>Borrelia burgdorferi sensu lato</i> を保有する <i>Ixodes persulcatus</i>（シュルツェマダニ）の刺咬により感染する疾患である。北海道に生息するシュルツェマダニがボレリアを保有していることは報告されているにも関わらず、ライム病の届け出は非常に少ない。その理由には、ライム病検査が可能な医療機関が少ないこと、検査機関へ依頼してから結果報告までに時間がかかることなどから確定診断がなされないまま治療、治癒している場合があることなどが考えられる。そこで、臨床症状からライム病を疑う札幌市内の患者検体を用いて抗体検査と病原体遺伝子検査を実施した。</p> <p>【方法】</p> <p>ライム病を疑う患者血清または髄液を検体とする</p> <ul style="list-style-type: none"> ・PCR 法による病原体遺伝子検査 ・ボレリア IgM 抗体検査、IgG 抗体検査 <p>を実施した。</p> <p>病原体遺伝子検査、抗体検査ともに国立感染症研究所が現在実施している検査法と同一の検査法で実施することとした。</p> <p>【結果】</p> <p>平成 26 年度は札幌市内 3 病院の神経内科から血清 3 検体、髄液 1 検体の検査依頼があった。すべての検体において遺伝子検査、抗体検査共に陰性の結果であった。</p> <p>【考察】</p> <p>平成 26 年度の当所への検査依頼は 3 件あったが検査結果はすべて陰性であった。陽性検体が多かったことは、検査総数が少なかったことも一因であるが、検査依頼がすべて神経内科からの依頼であったことも原因と考えられる。皮膚科領域における紅斑を認める患者検体の検査依頼があれば、陽性結果が得られた可能性もあったと考える。</p>
<p>札幌市における抗インフルエンザ薬耐性株のサーベイランス</p> <p>研究担当者：大西麻実</p> <p>研究期間：平成 26～28 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>インフルエンザは毎年冬季シーズンを中心に、世界的に流行する感染症である。抗インフルエンザ薬のオセルタミビル（商品名：タミフル）はインフルエンザの治療薬として世界的に使用されており、その使用拡大によるオセルタミビル耐性株の出現が懸念されている。このため、WHO では抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス強化のため、加盟国にサーベイランスの要請を行っており、日本では国立感染症研究所を中心に地方衛生研究所が協力し、抗インフルエンザ薬サーベイランスを行っている。</p>

	<p>札幌市では、2013/2014 シーズンに A(H1)pdm09 型ウイルスのオセルタミビル耐性株が高頻度に発生した。このため、抗インフルエンザ薬サーベイランスにおいて、耐性株の発生状況を把握し、速やかに医療現場へ情報を提供することは重要である。</p> <p>本研究では、札幌市におけるオセルタミビル耐性株のサーベイランス強化を目的として、A(H1)pdm09 型ウイルスの遺伝子解析を行うことで、耐性株の発生状況を把握する。また、A(H3)型ウイルス、B 型ウイルスについても耐性株の発生状況を把握する。</p> <p>【方法】</p> <p>平成 26 年度感染症発生動向調査病原体検査定点から搬入された咽頭ぬぐい液から分離された A(H1)pdm09 型ウイルス 8 株について遺伝子解析を行った。A(H1)pdm09 型ウイルス分離株の遺伝子解析は、「インフルエンザ診断マニュアル（平成 24 年 3 月第 2 版）」（国立感染症研究所）に基づき One-step RT-PCR（TaqMan Probe 法）により実施し、耐性株が検出された場合には塩基配列を決定し、H275Y 変異の有無を確認する。A(H3)型ウイルス、B 型ウイルスについては、国立感染症研究所（感染研）が実施した薬剤感受性試験の還元データより耐性株の発生状況を把握する。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>平成 26 年度、A(H1)pdm09 型ウイルス分離株 8 株は H275Y 変異をもつウイルスは検出されなかった。また、A(H3)型ウイルス 3 株、B 型ウイルス 3 株は感染研が実施した薬剤感受性試験の結果、抗インフルエンザ薬に対する感受性を保持していた。全国的にも、オセルタミビル耐性株は検出されていない（平成 27 年 3 月 16 現在）。以上より、平成 26 年度に流行しているインフルエンザウイルスは、抗インフルエンザ薬に対する耐性を獲得していない、またはその耐性ウイルスは非常に少ないと考えられる。</p>
<p>札幌市において検出されたエンテロウイルスの分子疫学的解析</p> <p>研究担当者：古舘大樹</p> <p>研究期間：平成 26 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>エンテロウイルスは、小児感染症の主要な病原体である。感染・発症した際は、手足口病・ヘルパンギーナ等の感染症や発熱・上気道炎・発疹等多様な臨床症状を示す。通常は予後良好であるが、まれに脳炎や心筋症など重篤な症状を引き起こすことがある。近年では、エンテロウイルス 71 型による重症例、コクサッキーウイルス A6 型による手足口病の流行などが報告されている。したがって、エンテロウイルスの発生動向・流行特性を把握しておくことは、感染症の流行予防とまん延防止のために重要である。</p> <p>そこで本研究では、ウイルス分離法に加えて遺伝子検査を併用して、札幌市におけるエンテロウイルスの検出状況を把握し、手足口病・ヘルパンギーナの定点あたり患者数と比較しながら、遺伝子型及び系統樹解析など分子疫学的な解析を行うこととする。</p> <p>【方法】</p> <p>感染症発生動向調査において、2010 年から 2014 年の間に小児科定点にて採取された咽頭ぬぐい液等 1988 検体について、ウイルス分離を行った。分離陰性だった検体のうち 307 検体については、PCR 法によりエンテロウイルス VP1 遺伝子を増幅した。型の同定は、中和試験及び遺伝子解析によった。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>分離法により、エンテロウイルス 69 株が分離された。また、PCR 法により、エンテロウイルス 99 件及びライノウイルス 12 件が検出された。両方法合わせ 168 件のエンテロウイルスは、18 の型に同定された。特に、コクサッキーウイルス A6 型、B 群コクサッキーウイルス等は、ほとんど PCR 法によってのみ検出された。検出された時期について夏季（6 月～10 月）に多く、手足口病・ヘルパンギーナの患者報告数と相関がみられた。</p>

	以上のことから、分離法に加え PCR 法を併用することで分離が難しいエンテロウイルスも検出できるようになり、より正確な発生動向を把握できると考えられる。
--	--