

・花岡希¹⁾，松谷峰之介²⁾，川端寛樹¹⁾，山本正悟³⁾，藤田博己⁴⁾，坂田明子¹⁾，東慶直²⁾，小河基彦¹⁾，岸本壽男^{1,5)}，白井睦訓²⁾，倉根一郎¹⁾，安藤秀二¹⁾

○病原性 *Rickettsia japonica* グループにおける特異的 ORF の同定と検出系への応用

第 16 回リケッチア研究会(2009 年 11 月 7 日 東京都)

国立感染症研究所¹⁾ 山口大学医学部²⁾ 宮崎県衛生環境研究所³⁾ 大原研究所⁴⁾ 岡山県環境保健センター⁵⁾

近年の *Rickettsia japonica* (Rj) のゲノム解析によって、Rj にはいくつかの特異的な ORF が存在していることが明らかとなった。この Rj 特異的領域に着目し、TaqMANMGBprobe を使用した検出系を開発した。

Real-time PCR の酵素には Perfect Real-time PCR(TAKARA)を用い、ABI 7500 system で 20 μ l の反応系で行った。また、様々な *Rickettsia* 菌種の DNA と血清学的に日本紅斑熱と診断された患者検体(血餅から抽出した DNA) を使用して、検出系の評価を行った。

病原性の Rj グループ (*R. japonica* および *R. heilongjiangensis*) のみが保有する 216bp の ORF に着目し、この DNA 配列を検出するように設計した TaqMANMGBprobe は、高感度かつ特異性が高かった。また、通常の PCR 法では検出できなかった日本紅斑熱患者由来の DNA サンプルから、50%の回復率で病原性 Rj グループの DNA を検出できた。以上の結果から、新たに開発した Real-time PCR 検出系は、日本紅斑熱診断系への応用が期待される。

・田原研司¹⁾，山本正悟²⁾

○リケッチア症例に高齢者が多い理由を考えるー島根県と宮崎県の場合ー

第 64 回日本衛生動物学会西日本支部大会(2009 年 10 月 31 日 滋賀県)

島根県保健環境科学研究所¹⁾ 宮崎県衛生環境研究所²⁾

平成 20 年度の厚生科研報告書「リケッチア感染症の国内実態調査および早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築」で、「三重県志摩半島に多発する紅斑熱、その感染環と環境要

因」という項目で高田伸弘(福井大・医)が記載した中に「…一方、発症に性差は見ないが、多くが高齢であった。もとより高齢人口が増えた昨今ゆえという理由もあるだろうが、やはり高齢者で症状が強くて顕在化し易いということはある。ただ、自然環境に近く住んで立ち入る頻度が高いのも高齢の住民であるから、おそらく両方が理由になると思われる。」とあった。今回は、上記の下線部の事実確認を目的として、年齢別の患者発生状況と年齢別の罹患率を調べたところ、おおむね三重県での観察と一致した結果ではあった。ただ、島根県の場合、同一の地域住民を対象に、10 年を隔てて抗 *Rickettsia japonica* 抗体の保有率の推移をみたデータがあり、それを整理したところ、60 歳以降の年代では大きな変動が無かったのに対し、40~50 歳代では 10 年後に相当の抗体価上昇を見ていた。この解釈の一つとしては、40 歳代以降に地元の農林業に回帰した住民が暴露されて抗体が上昇したものと考えられる。このことから、やはり、高齢者が耕作地や周辺の自然環境に立ち入る頻度が高い故と言える。

・深江弘恵，堀田剛，大浦裕子，河野喜美子，都城保健所広域指導検査課検査担当，延岡保健所広域指導検査課検査担当

○カンピロバクター属菌による生食用食肉の汚染実態について

平成 21 年度九州地区食品衛生監視員協議会研修会

(2009 年 9 月 3 日，4 日 長崎県長崎市)

カンピロバクター属菌が食中毒の病因物質として毎年上位を占めているなか、本県における鶏肉やその内臓(肝，砂肝)を生食する慣習は、食の安全安心という観点から問題視されている。この状況を受け、カンピロバクター属菌による汚染の実態調査を実施し、食中毒及び散発下痢症との関連について検討を行った。

[対象及び方法]食肉処理施設，及び食肉販売業，飲食店から収去した生食用の処理肉，刺身，たたきを調査対象とした。これは、カンピロバクター属菌の生存環境の特殊性(微好気性)を考慮し、食鶏の処理後、経過日数の違う環境から採取したものである。また検査方法についてはサンプル量を 0.1g から 25g に増やすことで検出感度を高め

た。菌が検出された検体については定量試験（MPN）を行い、その分離株について制限酵素 *Sma* I、*Kpn* I を用いたパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）による遺伝子解析を実施し、2007年6月から2009年4月に発生した食中毒及び散発下痢症8件とPFGEパターンを比較した。[結果]カンピロバクター属菌は全検体56件中44.6%（25/56）で検出され、食肉処理施設から食肉販売業、さらに飲食店へと流通経過を辿ることで検出率が低下した。また、たたきでは生肉や刺身に比べ加熱等が加えられたことにより明らかな検出率の低下が認められた。

定性試験陽性であった25件におけるMPN値は、68%（17/25）で100以下であった。また最高値は5,500で食肉販売業から収去された検体であった。

PFGEによる遺伝子解析の結果、食肉処理施設と食肉販売業でそれぞれロットの異なる鶏肉2検体から分離された株が同じ切断パターンを示した。また県中央部での散発下痢症の患者便からの分離株と、県西地区の食肉販売業でサンプリングされた鶏肉からの分離株が同じ切断パターンを示した。

[考察] 収去された施設による検出率は、食肉処理施設で最も高く、食肉販売業、飲食店への流通過程において減少していったが、その原因として、日数の経過および凍結・融解の影響、食肉中の生存環境（微好気状態）、並びに各施設で加えられる加熱等の処理による要因が考えられる。

カンピロバクター属菌による食中毒は、100個程度の菌数で発症すると言われているため、汚染菌数を減少させる為の対策が必要となってくる。

また、今後さらにサンプル数を増やして、ヒト下痢症事例と生食用食肉からの分離菌との関連を検討し、併せてサンプルの流通過程等も考慮することにより、汚染の発生源やヒトへの感染経路を明らかにし、リスクコントロールに結びつけたい。

・河野喜美子¹⁾、小野英俊²⁾、岩下 修³⁾、黒木麻衣³⁾

○ヒト及び牛から分離された腸管出血性大腸菌について

第35回九州衛生環境技術協議会（2009年10月

8日～9日 大分県）

宮崎県衛生環境研究所¹⁾、宮崎県日向食肉衛生検査所²⁾、宮崎県都農食肉衛生検査所³⁾

宮崎県で分離されたヒト及び牛由来腸管出血性大腸菌（EHEC）0157株について、その分離状況、ベロ毒素（*stx*）型の分布状況、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE）による遺伝子型比較解析を行った。

材料は、2000～2008年にヒトから分離されたEHEC0157 211株（2000-2004年：80株、2005-2008年：131株）、及び2008年5月～2009年5月に、宮崎県内の食肉衛生検査所に搬入され検査された1,727頭のうち36頭の牛糞便から分離された36株（検査頭数の2.1%）を用いた。

ヒトからの分離は、5月頃から始まり、7～9月にピークとなったが、1～3月には減少した。牛についても、7～8月に分離数が多くなり、1月～3月には減少した。

ヒト由来0157株が産生するベロ毒素の型は、*stx2*、*stx2c*、*stx1/stx2*、*stx1/stx2c*、*stx2/stx2c*の5型であった。HUSや血便等の重い症状を起こす頻度は、*stx1/stx2*、*stx2*、*stx2/stx2c*型が高く、これらの型が強毒型と推定された。また、2000-2004年には*stx2c*型が優勢であった（56%）のに対し、2005-2008年には、*stx1/stx2*（50%）、*stx2*（22%）、*stx2c*（19%）と強毒型の割合が増加してきた。

牛由来株36株が産生するベロ毒素は、ヒトから分離された上記5毒素型に*stx1*型を加えた6毒素型に型別された。そのうち、主要な型は*stx2c*（43%）、*stx1/stx2*（31%）、*stx2*（12%）であった。

ヒト及び牛由来株の関連性を検討するため、2007年～2008年に分離されたヒト由来株40株、及び2008年5月～2009年5月に分離された牛由来株36株についてPFGEを実施した。その結果、ヒト由来株と牛由来株ですべてのバンドが一致する株はなかったが、1-3本異なる株が2グループみられた。また、牛株間で、全てのバンドが一致する株が7グループあったが、そのうち6グループはそれぞれ同一農場由来株であり、農場での頻繁な同居感染が推