

感染症流行予測調査事業における徳島県の日本脳炎感染源調査結果について (平成 20 年度から平成 24 年度)

徳島県立保健製薬環境センター

西野 泰裕・片山 幸・川上 百美子*・嶋田 啓司

Surveillance of Japanese Encephalitis in Tokushima Prefecture (2008-2012)

Yasuhiro NISHINO, Miyuki KATAYAMA, Yumiko KAWAKAMI and Keiji SHIMADA

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

感染症流行予測調査事業の一環として、徳島県での日本脳炎ウイルスの浸淫度を把握する目的で、ブタ血清中の日本脳炎に対する抗体を測定する感染源調査を実施している。この結果を平成 20 年度から平成 24 年度の 5 年間に ついてまとめた。すべての年において日本脳炎ウイルスの活動が確認されており、日本脳炎について県民への注意喚起が必要である。

Key words : 日本脳炎 Japanese Encephalitis, 流行予測調査 Surveillance of Vaccine-preventable Disease

I はじめに

日本脳炎は、日本脳炎ウイルスによっておこる重篤な急性脳炎で、「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）」に基づく発生動向調査において 4 類感染症に分類され、サーベイランスが実施されている。

日本脳炎ウイルスはフラビウイルス属に属するウイルスで、主にコガタアカイエカによって媒介され、その伝播様式からアルボウイルスにも分類される。ヒトからヒトへの感染はなく、増幅動物の体内で増殖し、血中に出てきたウイルスを蚊が吸血し、その蚊がヒトを刺したときに感染がおこる。主要な増幅動物はブタである。ブタは肥育期間が短く、毎年感受性のある個体が多数供給されること、血液中のウイルス量が多いことから、日本脳炎ウイルスを増幅するのに適している。このため、ブタの日本脳炎ウイルス抗体保有状況から、間接的に日本脳炎ウイルスの活動あるいは蔓延状況を把握することができる¹⁾。

厚生労働省からの委託により、毎年実施している感染症流

行予測調査事業の中で、日本脳炎ウイルスの浸淫度を追跡し、流行を推定する目的でブタを対象とした感染源調査が実施されている。今回、本県における平成20年度から平成24年度の感染源調査結果と平成22年度から平成24年度に行った遺伝子検出の結果についてまとめたので報告する。

II 方法

1 感染源調査

感染症流行予測調査事業実施要領に基づき実施した。

(1) 調査時期及び回数

7月から8月の上・中・下旬及び9月の上・中旬の各旬1回ずつ合計8回実施した。

(2) 調査客体および検体

調査客体は、徳島県内で飼育、出荷された生後約6ヶ月の肥育ブタからと畜場において放血液を採取した80頭とした。検体は、検査客体から採取した血液から分離した血清とした。

*現 東部保健福祉局

(3) 調査内容

感染症流行予測調査事業検査術式²⁾に準じてブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制 (HI) 抗体の測定を行い、HI 抗体価が 1:10 以上を抗体陽性とした。HI 抗体価が上昇した検体について 2-Mercaputoethanol (2-ME) 感受性抗体 (IgM 抗体) の測定を行った。HI 抗体陽性率が 50% を超え、かつ 2-ME 感受性抗体が検出された地域を日本脳炎に対して注意を促す地域とした。

2 遺伝子検出

感染源調査に使用した血清から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出し、DNase 処理後、SuperScript II Reverse Transcriptase (invitrogen) を用いて cDNA を合成した。日本脳炎ウイルス遺伝子のエンベロープ (E) 領域を標的としたプライマー (表 1) を用いて、表 2 の条件で PCR 反応を行った。増幅産物は、アガロースゲル電気泳動を行い、一次増幅産物は 381 bp、二次増幅産物は 326 bp の位置にバンドが確認されたものを陽性とした。

表 1 PCR 反応に用いたプライマー

	Name	Sequence
一次増幅反応	JE8K-S	5` ATG GAA CCC GCC TTC 3`
	JEER	5` AGC AGG CAC ATT GGT CGC TA 3`
二次増幅反応	JE8K inner-S	5` ATC GTG GTT GGG AGG GGA GA 3`
	JEER inner-C	5` AGC ACA CCT CCT GTG GCT AA 3`

表 2

一次増幅反応

Temperature	Time	Cycle
92 °C	5 mim	1
92 °C	1 mim	35
53 °C	1 mim	
72 °C	1 mim	
72 °C	5 mim	1

二次増幅反応

Temperature	Time	Cycle
92 °C	5 mim	1
92 °C	1 mim	25
53 °C	1 mim	
72 °C	1 mim	
72 °C	5 mim	1

III 結果及び考察

1 感染源調査の結果

ブタ HI 抗体検査結果および 2-ME 感受性抗体検査結果を表 3 に、ブタ HI 抗体陽性率の推移を図 1 に示す。

平成 20 年度は 8 月上旬に調査したすべての検体で HI 抗体陽性 (HI 抗体陽性率 100%) となり、そのうち 9 検体から新鮮感染の指標となる 2-ME 感受性抗体が検出され、日本脳炎

ウイルスが活動していることが確認された。その後陽性率が下がることなく、100% のまま推移した。

平成 21 年度は 7 月下旬に調査したすべての検体で HI 抗体陽性 (HI 抗体陽性率 100%) となり、そのうち 2 検体から新鮮感染の指標となる 2-ME 感受性抗体が検出され、日本脳炎ウイルスが活動していることが確認された。その後 9 月上旬の検体では HI 抗体陽性率が 30% に下がったが、9 月中旬の検体では再び 100% となった。

平成 22 年度は、調査期間中をとおして HI 抗体陽性率は 0% ~40% と低い値で推移した。7 月下旬、8 月上旬の調査で HI 抗体陽性率が 30%、20% となったが、8 月中旬・下旬は HI 抗体価が上昇した検体はなかった。9 月上旬・中旬の調査では HI 抗体陽性率が 10%、40% であった。

平成 23 年度は 7 月上旬から 9 月上旬に調査した検体すべて HI 抗体価の上昇が見られなかった。しかし、9 月中旬の調査ではすべての検体で HI 抗体価が陽性となり、そのうち 1 検体から 2-ME 感受性抗体が検出され、日本脳炎ウイルスが活動していることが確認された。

平成 24 年度は、調査期間中の多くの時期で HI 抗体価の上昇が見られなかった。7 月下旬の調査で HI 抗体陽性率が 10% となった以外は、すべての時期で HI 抗体陽性率 0% だった。このため 10 月上旬に追加調査を実施したところ、HI 抗体陽性率は 60% となり、そのうち 2 検体から 2-ME 感受性抗体が検出された。

2 遺伝子検出の結果

平成 22 年度から平成 24 年度の HI 抗体陽性検体について遺伝子検出を試みたが、いずれの検体からも検出されなかった。

3 考察

平成 21 年度以前と比較して、平成 22 年度以降は HI 抗体陽性率の立ち上がりが遅く、100% に達しない年もあった。この要因として、ブタの肥育環境の変化や気候の違いによる蚊の活動時期の変化などが推察されるが特定には至っていない。

近年、日本の日本脳炎患者発生数は毎年数名程度で、そのうち多くは西日本で発生している。本県では、1999 年に 1 名の患者報告があつて以降発生していない。日本脳炎ワクチン接種の普及や生活様式の変化等により、ブタの抗体保有状況と患者発生は必ずしも一致しなくなっているのが現状である。しかしながら、本調査の結果から現在も日本脳炎ウイルスが本県で活動していることは明らかであり、乳幼児や高齢者、予防接種未接種の者は蚊に刺されないよう注意が必要である。日本脳炎ワクチンの接種は安全性の面から積極的勧奨の差し控えが行われたことがあり、予防接種未接種者への啓発も重要である。

表3 感染源調査結果

年度	採血時期	HI抗体価										HI抗体		2-ME感受性抗体	
		検査頭数										陽性		陽性	
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640	陽性	陽性率(%)	検査頭数	陽性	陽性率(%)	
平成20年度	7月上旬	10										0	0	-	-
	7月中旬	10										0	0	-	-
	7月下旬	10										0	0	-	-
	8月上旬	10				1	4	5				10	9	90	
	8月中旬	10				1	3	6				10	0	0	
	8月下旬	10					6	4				10	0	0	
	9月上旬	10					5	5				10	0	0	
	9月中旬	10				2	5	3				10	0	0	
	平成21年度	7月上旬	10									0	0	-	-
7月中旬	10										0	0	-	-	
7月下旬	10				1	3	6				10	2	25		
8月上旬	10				1	3	3				10	4	67		
8月中旬	10				1	1	5	3			10	3	38		
8月下旬	10				1	1	5	3			10	0	0		
9月上旬	10	7				2	1				3	30	-	-	
9月中旬	10				3	3	3	1			10	100	-	-	
平成22年度	7月上旬	10									0	0	-	-	
	7月中旬	10									0	0	-	-	
	7月下旬	10									3	30	-	-	
	8月上旬	10				1					2	20	-	-	
	8月中旬	10									0	0	-	-	
	8月下旬	10									0	0	-	-	
	9月上旬	10									1	10	-	-	
	9月中旬	10									4	40	-	-	
	平成23年度	7月上旬	10									0	0	-	-
7月中旬	10										0	0	-	-	
7月下旬	10										0	0	-	-	
8月上旬	10										0	0	-	-	
8月中旬	10										0	0	-	-	
8月下旬	10										0	0	-	-	
9月上旬	10										1	10	-	-	
9月中旬	10					2	2	6			10	100	6	17	
平成24年度	7月上旬	10									0	0	-	-	
	7月中旬	10									0	0	-	-	
	7月下旬	10									1	10	-	-	
	8月上旬	10									0	0	-	-	
	8月中旬	10									0	0	-	-	
	8月下旬	10									0	0	-	-	
	9月上旬	10									0	0	-	-	
	9月中旬	10									0	0	-	-	

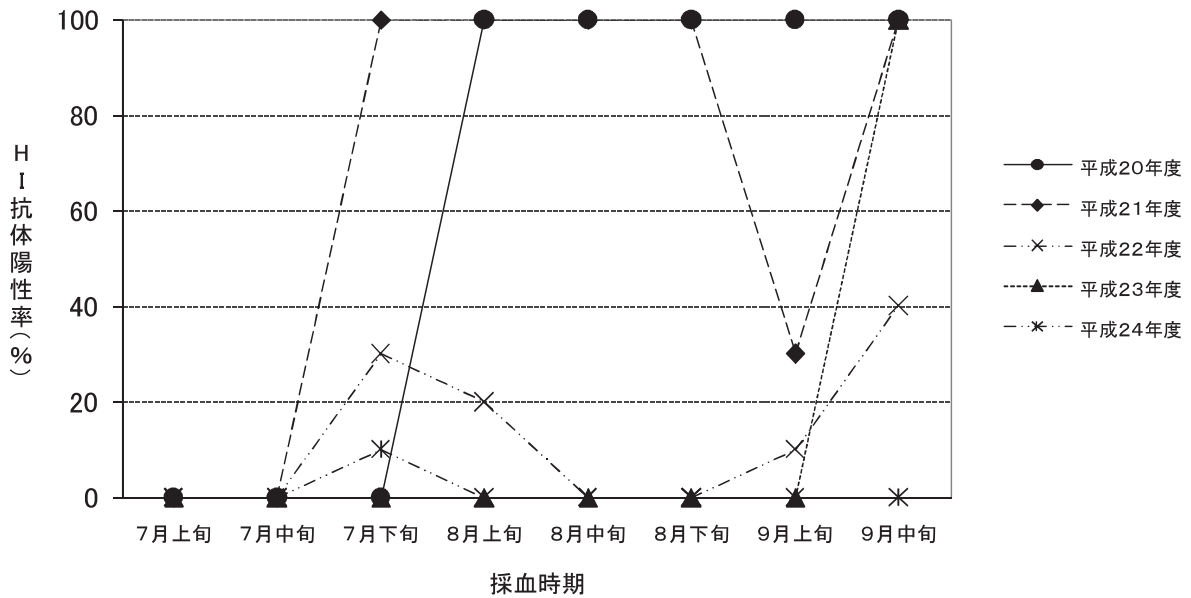


図1 HI抗体陽性率の推移

5ヶ年にわたる結果では、すべての年度においてHI抗体が検出され、また22年度以外は2-ME感受性抗体も検出されているなど、徳島県内には感染リスクがあることが確認できたことから、今後も継続して調査を行うとともに、調査結果を県民に迅速に公開し注意喚起を行うことが必要である。

IV まとめ

- 平成20年度から平成24年度の5年間について、日本脳炎ウイルスの感染源調査の結果をまとめたところ、すべての年度でブタ血清中のHI抗体価の上昇がみられた。
- 平成21年度以前と比較し、平成22年度以降はHI抗体価の上昇時期が遅くなり、さらにはHI抗体陽性率が100%に達しない年度もあった。
- 徳島県では現在も日本脳炎ウイルスの活動が確認される結果を示しており、今後も調査を継続するとともに、予防接種の奨励や蚊に刺されないようにするなど県民への注意喚起が必要である。

参考文献

- 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症の話
- 厚生労働省健康局結核感染症課：感染症流行予測調査検査術式