

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 (平成 25 年度から平成 26 年度)

徳島県立保健製薬環境センター

浦本 まりな・片山 幸・西野 泰裕*・嶋田 啓司

Surveillance of Japanese Encephalitis in Tokushima Prefecture (2013-2014)

Marina URAMOTO, Miyuki KATAYAMA, Yasuhiro NISHINO, and Keiji SHIMADA

Tokushima Prefectural Public Health, Pharmaceutical and Environmental Sciences Center

要 旨

徳島県での日本脳炎ウイルスの浸淫度を追跡し流行を推定するため、感染症流行予測調査事業の一環として、ブタを対象とした日本脳炎感染源調査を実施している。今回の調査で、平成 25 年度は 7 月上旬、平成 26 年度は 8 月中旬に、日本脳炎ウイルスによる汚染注意報発令基準値を超える抗体価が確認され、日本脳炎ウイルスの活動が活発であることが推測された。本県では、毎年日本脳炎ウイルスの活動が確認されており、今後も県民への注意喚起や迅速な情報提供が必要である。

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、フラビウイルス属の日本脳炎ウイルスによって引き起こされる、重篤な急性脳炎である。近年、国内での患者発生数は、年間 10 人以下に留まっているものの、後遺症の発生頻度が高く、小児では特に重度の障害が残ることが多い疾患である。患者の多くは高齢者であるが、30 歳代、40 歳代の患者発生も報告されており、県民全体に対する予防啓発が必要である。

日本脳炎ウイルスは、主にコガタアカイエカによって媒介され、ブタと蚊の間で感染環を形成している。ブタは日本脳炎ウイルスの増幅動物であり、ブタの日本脳炎ウイルス抗体保有状況を調査することで、間接的に日本脳炎ウイルスの活動を把握することができる¹⁾。

本県では、厚生労働省が実施する感染症流行予測調査事業の中で、ブタ血清中の日本脳炎に対する抗体を測定する、日本脳炎感染源調査を毎年行っている。

平成 25 年度、平成 26 年度の調査結果と、これと同時に行った日本脳炎ウイルス遺伝子検出結果について報告する。

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、徳島県内で飼育された生後 6 ヶ月の肥育ブタ 80 頭とした。検体は、と畜場において調査客体から採取した放血液（ブタ血清）とした。

(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。また、

* 現 東部保健福祉局＜徳島保健所＞

HI 抗体価が 1:40 以上の検体については、新鮮感染抗体であるか否かの判定のため、2-メルカプトエタノール (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

遺伝子検出は、病原体検出マニュアル³⁾ に準じて、次のとおり実施した。感染源調査に使用したブタ血清から 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ペロープ (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 381bp、二次増幅産物は 326bp の位置にバンドが確認されたものを陽性とした。

表 1 Primer Set

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

表 2

一次増幅反応条件

temp.	time	cycles
92 °C	5 mim	1
92 °C	1 mim	35
53 °C	1 mim	
72 °C	1 mim	
72 °C	5 mim	1

二次増幅反応条件

temp.	time	cycles
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

1 感染源調査結果

感染源調査結果を表 3 に、前回の調査結果⁴⁾ を含めた平成 22 年度から平成 26 年度における HI 抗体陽性率の推移を図 1 に示す。

平成 25 年度は、7 月上旬に採取した 10 検体のうち 7 検体が HI 抗体陽性 (陽性率 70%) となり、そのうち 3 検体から 2-ME 感受性抗体が検出され、日本脳炎に対して注意を促す

地域となった。その後、HI 抗体陽性率は 7 月中旬に 100% に達し、9 月中旬までこの状態が維持された。2-ME 感受性抗体については、8 月中旬を除く全ての期間で検出された。

平成 26 年度は、7 月下旬に採取した 10 検体のうち 1 検体が HI 抗体陽性 (陽性率 10%) となった。8 月中旬には HI 抗体陽性率が 100% となり、同日に採取した検体のうち 6 検体から 2-ME 感受性抗体が検出され、日本脳炎に対して注意を促す地域となった。その後、HI 抗体陽性率は 9 月中旬まで 90% を超えたまま推移した。2-ME 感受性抗体については、8 月下旬に 100% となり、8 月中旬から 9 月上旬まで 50% を超えて検出された。

2 遺伝子検出結果

HI 抗体陰性のブタ血清から日本脳炎ウイルス遺伝子検出を試みた。平成 25 年度は 7 月上旬に採取した 1 検体から、平成 26 年度は 8 月上旬に採取した 4 検体、8 月下旬、9 月上旬に採取したそれぞれ 1 検体から、日本脳炎ウイルス遺伝子が確認された。

Ⅳ 考察

徳島県では、例年 7 月下旬から 9 月上旬に、HI 抗体が検出され始めている (図 1)⁴⁾。平成 25 年度は、調査開始日の 7 月上旬から HI 抗体、2-ME 感受性抗体ともに高い陽性率を示し、日本脳炎ウイルス遺伝子も検出された。このことから、平成 25 年度は平年より早い 7 月上旬を含む時期から、ブタの間で日本脳炎ウイルスの活動が開始したと推察される。その後も、調査終了日まで高い HI 抗体陽性率を維持したこと、8 月中旬を除くすべての調査日で、2-ME 感受性抗体が確認されたことなどから、平成 25 年度は調査期間をとおして、日本脳炎ウイルスのブタへの感染が継続していたと推定される。また、平成 25 年度は 14 年ぶりに県内での患者発生があった。今回の調査結果からも、平成 25 年度はブタの間で日本脳炎ウイルスが蔓延していたことが明らかであり、今後も本調査を継続し、広く県民に注意喚起していくことが重要と考える。

日本脳炎ウイルス保有蚊が、生後 4~6 カ月の免疫のないブタを吸血することで、ブタは日本脳炎ウイルスに感染し、2~3 日の潜伏期を経て、約 3 日間持続するウイルス血症を起こす。このウイルス血症時に吸血した蚊がウイルスに感染し、10~13 日の潜伏期を経てウイルスを媒介、多くの蚊がウイルスを保有するようになる⁵⁾。

平成 26 年度の調査では、8 月上旬に HI 抗体陰性であった 4 検体のブタ血清から、日本脳炎ウイルス遺伝子が検出された。さらに、同時期より上昇し始めた HI 抗体陽性率は、8 月中旬には 100% に達し、シーズンで初めて 2-ME 感受性抗体も検出された。その後、2-ME 感受性抗体は 9 月上旬まで 50% を超える高い値で推移した。この結果から、平成 26 年度は、

表3 感染源調査結果

年度	採血時期	検査数	HI抗体価							HI抗体		2-ME感受性抗体			
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	陽性	陽性率(%)	検査数	陽性	陽性率(%)
平成25	7月上旬	10	3		1			2	3	1	7	70	6	3	50
	7月中旬	10				1	3	1	3	2	10	100	10	2	20
	7月下旬	10			1	1	1	4	3		10	100	9	1	11
	8月上旬	10					2	2	5	1	10	100	10	1	10
	8月中旬	10					1	5	3	1	10	100	10	0	0
	8月下旬	10				2	3	2	3		10	100	10	1	10
	9月上旬	10				1	1	3	5		10	100	10	1	10
	9月中旬	10			1	1	2	3	3		10	100	9	2	22
平成26	7月上旬	10	10								0	0	-	-	-
	7月中旬	10	10								0	0	-	-	-
	7月下旬	10	9		1						1	10	-	-	-
	8月上旬	10	8		2						2	20	-	-	-
	8月中旬	10					1	2	4	3	10	100	10	6	60
	8月下旬	10	1		1				8		9	90	8	8	100
	9月上旬	10	1		1	1		3	4		9	90	8	4	50
	9月中旬	10					1	7	2		10	100	10	0	0

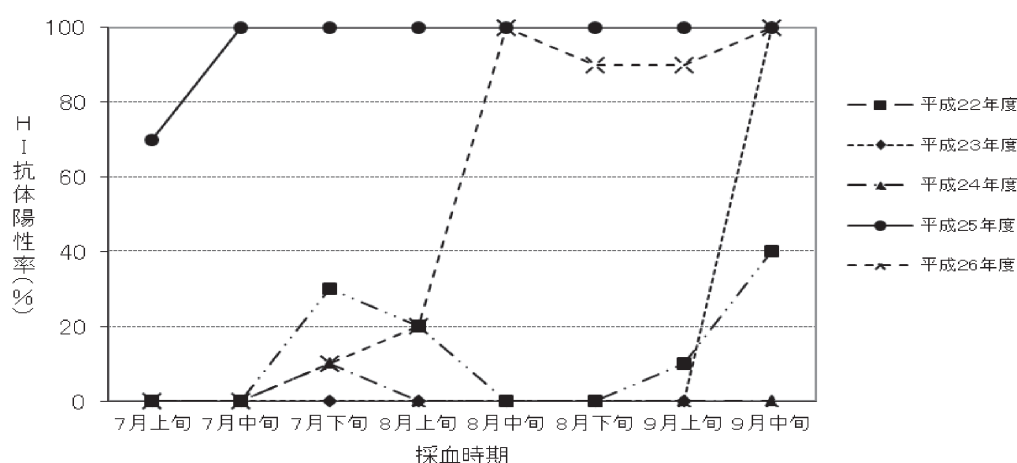


図1 HI抗体陽性率の推移

8月上旬を含む時期に、日本脳炎ウイルスを保有する蚊が活動を始め、その後9月上旬まで、ブタの間で日本脳炎ウイルスの感染が継続されたと推測される。

今回の調査結果から、本県では現在も日本脳炎ウイルスが活動していることが確認された。日本脳炎の予防は、蚊の対策と予防接種である。予防接種については、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るが、本県では患者発生もみられていることもあり、予防接種未接種者や接種不明者に対する啓発も行っていきたい。

V まとめ

- 1 平成25年度は7月上旬、平成26年度は7月下旬に、最初のHI抗体陽性が確認された。
- 2 平成25年度は7月上旬に、平成26年度は8月中旬に、日本脳炎に対して注意を促す地域となった。
- 3 平成25年度に採取した1検体（7月上旬）、平成26年度に採取した6検体（8月上旬4検体、8月下旬、9月上旬各1検体）から日本脳炎ウイルス遺伝子が検出された。

4 徳島県では、平成25年に14年ぶりの患者発生報告があった。今回の調査結果から、現在も県内で日本脳炎ウイルスが活動していることが確認された。新たな患者発生を防止するためにも、今後も本調査を継続するとともに、予防接種の推奨や県民への注意喚起が必要である。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター 感染症の話
- 2) 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
- 3) 国立感染症研究所 日本脳炎病原体検出マニュアル
- 4) 西野泰裕, 他: 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年報, 3, 17-20 (2013)
- 5) 厚生省保健医療局結核感染症課 改定・感染症マニュアル, 1999