

感染症流行予測調査事業における日本脳炎感染源調査概要 (平成23年度)

ウイルス課 増本久人 南 亮仁 野田日登美
江口正宏 古川義朗 轟田清典

キーワード：日本脳炎ウイルス 感染源調査 豚血清 HI抗体価 RT-PCR法

1 はじめに

日本脳炎は、日本脳炎ウイルスを媒介する蚊であるコガタアカイエカの刺咬によって感染する重篤な急性脳炎である。日本脳炎は1999年4月に施行された「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）」に基づく感染症発生動向調査において全数届出の4類感染症とされ、サーベイランスが実施されている。また、感染症流行予測調査事業の一環として、豚の血清を対象に感染源調査（日本脳炎ウイルスHI抗体価保有調査など）を実施し、同時に豚血清中からRT-PCR法による遺伝子検出を試み、豚における日本脳炎ウイルス感染の浸淫状況について調査を実施した。

2 材料および方法

(1) 感染源調査

本調査は日本脳炎ウイルスの増幅動物である豚の感染状況を知る目的で実施されているが、平成23年度は7月上旬から9月中旬までの計8回、1回につき10頭、合計80頭のブタについて調査を実施した。検査は、感染症流行予測調査事業の検査方法¹⁾によりHI抗体価（赤血球凝集抑制試験）を測定した。また、同時に初期感染（IgM抗体）の指標となる2-メルカプトエタノール（2-ME）処理法による感受性抗体価についても測定した。

(2) 遺伝子検出（RT-PCR法）

平成23年度の感染源調査で使用したブタ血清について病原体検出マニュアルに準じたRT-PCR法による遺伝子検出を試みた。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、豚血清500 μ lからQIAamp UltraSens Virus Kit（QIAGEN）を用いてRNAを抽出し、DNase処理およびRT反応にてcDNAの合成後、下記の各プライマーセットを用いてPCR反応を行った。そして、増幅産物の電気泳動により日本脳炎ウイルスDNA（326bp）の有無について判定した。

・1st PCRプライマー組合せ

(JE8K-S:5' ATG GAA CCC CCC TTC 3')

(JEER:5' AGC AGG CAC ATT GGT CGC TA 3')

・Nested PCRプライマー組合せ

(JE8K inner-S:5' ATC GTG GTT GGG AGG GGA GA 3')

(JEER inner-S:5' AGC ACA CCT CCT GTG GCT AA 3')

3 結果

(1) 平成23年度感染源調査結果

今回の感染源調査における豚のHI抗体保有率については、前年度が7月下旬30%、8月上旬40%、8月中旬90%、8月下旬90%、9月上旬90%、9月中旬80%と高い保有率を示したのに対し、今年度は、8月下旬1件(10%)、9月上旬1件(10%)のみがHI抗体陽性となり、他の時期ではHI抗体は検出されなかった。

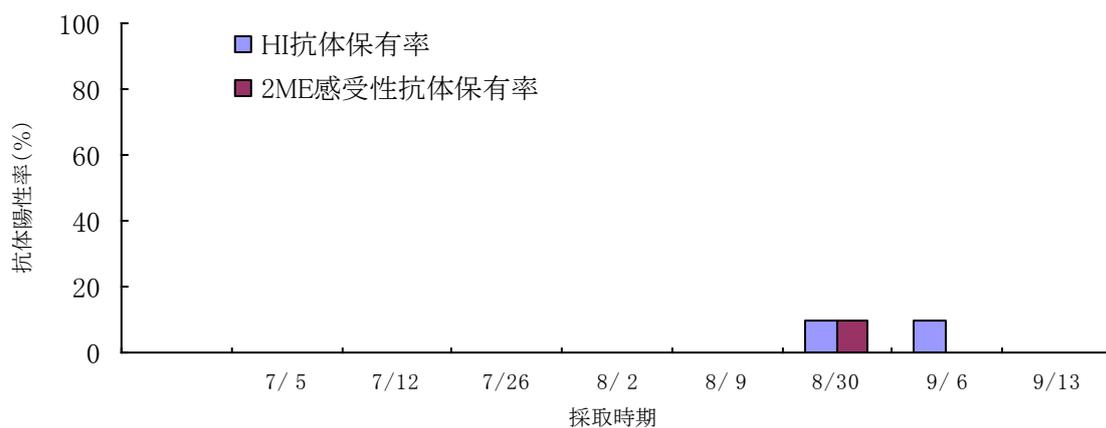
また、初期感染の指標である2-ME感受性抗体保有率(IgM抗体)についても、前年度は7月下旬33%、8月上旬33%、8月下旬23%の抗体保有率を示したが、今年度は、8月下旬1件のみが陽性であった。

表1 平成23年度 豚のHI抗体価保有状況調査結果

採血月日	検査頭数	HI抗体価								HI抗体陽性率	2ME感受性抗体陽性率
		<10	10	20	40	80	160	320	≥640		
7/5	10	10								0%	0%(0/0)
7/12	10	10								0%	0%(0/0)
7/26	10	10								0%	0%(0/0)
8/2	10	10								0%	0%(0/0)
8/9	10	10								0%	0%(0/0)
8/30	10	9							1	10%	100%(1/1)
9/6	10	9		1						10%	0%(0/0)
9/13	10	10								0%	0%(0/0)

図1 平成23年度 豚のHI抗体保有率と2-ME感受性抗体保有率の出現推移

豚の日本脳炎抗体保有率(平成23年度)



(2) 平成23年度遺伝子検出 (RT-PCR法) 結果

今年度のHI抗体保有率および初期感染の指標とされる2-ME感受性抗体保有率(IgM抗体)は非常に低い結果となったが、感染源調査に用いた豚血清80件についてRT-PCR法を試みた。日本脳炎ウイルス遺伝子は全ての検体で陰性であった。

4 考察

日本脳炎ウイルス感染による患者の発生は、予防ワクチンや生活環境の変化などにより、感染患者は激減し、近年では数名の発生にとどまっている。その中で、日本脳炎患者の多くが西日本地区で発生しており、平成23年度は福岡県、長崎県、山口県、沖縄県、東京都(推定感染地インド)で日本脳炎患者の発生が報告された。県内では、平成17年8月に60歳代女性患者の発生届出がされた以降は、患者発生の届出はない。

今回の感染源調査では、日本脳炎ウイルスによる汚染注意報発令基準値であるHI抗体陽性率50%を超えることはなかった。また、遺伝子検出については、平成17年度調査の豚血清から日本脳炎ウイルス1型を検出した経緯もあり今回も検出を試みたが、日本脳炎ウイルス遺伝子は確認できなかった。

隣接する長崎県、福岡県、熊本県、大分県においては、HI抗体陽性率は80%を超えており、まだ県内でも日本脳炎ウイルスを持った蚊は発生しているものと考えられる。

このため、日本脳炎ウイルスの浸淫状況を監視し、注意喚起を促すための本事業の役割は引き続き、重要であると思われる。

謝辞

この度、日本脳炎ウイルスにおける感染症流行予測調査(感染源)事業に御協力を賜った(社)佐賀県畜産公社及び食肉衛生検査所職員の皆様に厚く御礼を申し上げます。

文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課：感染症流行予測調査事業検査術式、2002
- 2) 国立感染症研究所、地方衛生研究所全国微生物協議会編：病原体検出マニュアル
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課：平成21年度感染症流行予測調査報告書、2009
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター：日本脳炎疾患情報(ウイルス第一部)
- 5) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症流行予測調査、日本脳炎速報、2011年第18報
- 6) 佐賀県衛生薬業センター所報：感染症流行予測調査事業, 32, 2011