ISSN 0917-0707

# 富山県衛生研究所年報

（平成22年度）

第３４号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

（APRIL 2010～MARCH 2011）

NO. 34

2011

富山衛研年報
Annu. Rep. Toyama Inst. Hlth.

富 山 県 衛 生 研 究 所

富山県衛生研究所年報　（平成二十二年度）

第三十四号

富山県

# 富山県衛生研究所年報

（平成22年度）

第３４号

富 山 県 衛 生 研 究 所

# はじめに

平成23年4月から，倉田　毅前所長の後任として国立感染症研究所から赴任しました．富山県衛生研究所の業務及び研究等の推進に微力を尽くし，県民の健康を守る責務を果たしていきたいと思います．

本年3月11日の東日本大震災は，1000年に一度ともいわれる巨大地震と津波により，死者・行方不明者合わせて約2万人，罹災者約47万人と，極めて甚大な被害をもたらしました．特に巨大な津波が押し寄せる映像には，言葉を失い，呆然とするばかりでした．

不幸にしてお亡くなりになられた皆様方のご冥福をお祈り申しあげますとともに，被災された方々に対し，心からお見舞い申しあげます．

3月という気温が低い時期で，また多くの人々の努力もあって，心配された感染症の流行は早いうちに封じ込められ，さらなる健康危機の発生を防止することができたかに見えます．しかし，原発事故が明らかとなり，思いも寄らぬ方向での危機が発生し続いています．日本人は「とりあえず症候群」に陥りやすく，根本的解決が苦手であると報道されていました．原因の一つにあったかもしれません．しかし，今度は是非そうならないよう，日本全体で努力して将来に備えていかねばならないと思います．

一方，本年4月末の連休前から，牛肉の生食料理を提供していた焼肉チェーン店で，腸管出血性大腸菌による食中毒が問題となりました．O111という血清型の腸管出血性大腸菌が原因で，多くの方が入院治療を受け，富山県では4名（全国で5名）が亡くなりました．5%以下の少ない頻度でみられる血清型の菌による集団発生であり，ベロ毒素が陰性の菌が分離されたりされなかったり，溶血性尿毒症症候群の前に重篤な急性脳症を合併したり，しかもその頻度が高いといった特徴があります．これらは従来のO157腸管出血性大腸菌による食中毒例とは異なる様相を示しています．被害にあわれた方々やそのご家族のご心痛はもちろんのこと，多くの県民の皆さん，とりわけ富山県内の医療機関等，関連の方々は大変なご心配をされたと思います．私ども衛生研究所は，県の厚生部や厚生センターと連携し，菌の検査に奮闘してきました．今後は種々の疑問に応えられるよう，内外の専門家とも協力して，検査のみならず調査研究を進めることにより，解明していきたいと思います．それが今後の食中毒事件の再発防止に役立つものと思っています．

さて，平成22年度の富山県衛生研究所年報をお届けいたします．研究所の業務は，試験検査，調査研究，技術指導・研修，公衆衛生情報の収集と提供です．それらについての内容をまとめました．医療機関，学術研究機関はじめ関係の皆様には，業務遂行にあたり，ご指導，ご協力等をいただきました．この場を借りて，改めてお礼申しあげます．

当研究所では，今後とも地域保健の科学的・技術的中核機関として，県民の健康づくりを支援し，くらしの安全を確保するため，基礎的研究と応用的研究を，広い分野について世界的な視野で行ってまいりたいと考えておりますので，引き続き，ご指導ご協力を賜りますようお願いいたします．

平成23年12月

富山県衛生研究所長

**佐　多　徹　太　郎**

# 目　　次

## 1．運　　営


⑴ 沿　　革 ……1
⑵ 施 設 の 概 要 ……2
⑶ 組 織 及 び 業 務 ……2
⑷ 職　　員　　数 ……3
⑸ 職　員　一　覧 ……3
⑹ 予 算 及 び 決 算 ……4
⑺ 重 要 備 品 一 覧 ……5
⑻ 各 部 の 業 務 概 要 ……6
⑼ 検　査　状　況 ……15
⑽ 科学研究費補助金 ……17
⑾ 講　師　派　遣 ……19
⑿ 研　修　指　導 ……20
⒀ 研　修　受　講 ……20
⒁ 客員研究員招へい ……21
⒂ 研究成果発表会 ……21
⒃ 各　種　規　程　等 ……21


## 2．調査研究報告


富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について（平成22年度の検査成績） ……23
　九曜雅子　米田　豊　高田吉弘　吉田智子
ヒト染色体に関する調査研究　―血液―（平成22年度） ……35
　高森亮輔　林　美貴子　品川保弘　高田吉弘
羊水細胞の染色体分析結果（平成22年度） ……39
　品川保弘　高森亮輔　林　美貴子　高田吉弘
流産胎児の染色体分析結果（平成22年度） ……44
　品川保弘　高森亮輔　林　美貴子　高田吉弘
日本脳炎流行予測調査（感染源調査）2010年 ……48
　山内健生　小原真弓　小渕正次　渡辺　護　關口健治
日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2010年 ……58
　小原真弓　堀元栄詞　岩井雅恵　小渕正次　滝澤剛則　高田厚史　南部厚子　馬渕俊輔
　川越久美子　嶋尻悟志　關口健治

ポリオ流行予測調査（平成22年度）……62
岩井雅恵　堀元栄詞　小原真弓　馬渕俊輔　高田厚史　南部厚子　川越久美子　嶋尻悟志
關口健治　滝澤剛則
インフルエンザ流行予測調査及びウイルス検出状況（平成22年度）……65
堀元栄詞　小渕正次　小原真弓　岩井雅恵　滝澤剛則　高田厚史　南部厚子　馬渕俊輔
川越久美子　嶋尻悟志　關口健治
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について（2010年度）……74
小原真弓　森岡誠二　小渕正次　岩井雅恵　堀元栄詞　滝澤剛則
新規リアルタイム PCR 法による下水流入水中のワクチン様のポリオウイルスの検出……80
岩井雅恵　吉田　弘　小原真弓　堀元栄詞　倉田　毅　滝澤剛則
輸送培地中の麻疹ウイルスへの凍結融解及び保存温度の影響……88
岩井雅恵　堀元栄詞　小原真弓　小渕正次　木村博一　滝澤剛則
2010年の A 型肝炎発生状況……94
小原真弓　堀元栄詞　岩井雅恵　小渕正次　滝澤剛則　宮田英喜　嶋尻悟志　野田　衛
富山県内の蚊と豚における日本脳炎ウイルス分離（2004～2010年）……97
小原真弓　山内健生　渡辺　護　長谷川澄代　岩井雅恵　堀元栄詞　小渕正次　滝澤剛則
病因物質不明食中毒事例の原因として疑われる粘液胞子虫の県内最初の検出及び市販刺身における
保有状況に関する調査研究……106
綿引正則　磯部順子　木全恵子　嶋　智子　金谷潤一　倉田　毅　出村尚子
富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況……114
磯部順子　金谷潤一　柏島伊津子　嶋　智子　木全恵子　倉田　毅　綿引正則
大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いた魚介類中の有機スズ化合物
（MBT,DMT,MPT,DPT）の残留実態調査（平成22年度）……120
山下智富　小玉修嗣　大戸幹也　中山恵理子　上出　功
特定健康診査受診者のインスリン抵抗性と肥満・ライフスタイルとの関連……123
田中朋子　中崎美峰子　金木　潤　澁谷直美　大浦栄次
農村部と都市部居住者における尿中アルキルリン酸と生活環境要因について……128
中崎美峰子　新村哲夫　高橋直人　金木　潤　桑守豊美
海洋深層水を利用した長期・継続的な運動浴の腹部肥満者に対する効果……132
新村哲夫　田中朋子　金木　潤　立瀬剛志　関根道和　鏡森定信

## 3．資　料

新生児マス・スクリーニングにおいて血液濾紙の汚染が考えられた先天性副腎過形成症陽性例……139
九曜雅子　米田　豊
ムコ多糖症 I 型スクリーニングのためのイズロニダーゼ活性測定の迅速化……142
米田　豊　九曜雅子
均衡型相互転座染色体の切断点の分布－反復流産を主訴とした症例から－……144
林　美貴子　高森亮輔　品川保弘

富山県における平成22年度のウイルスおよびリケッチア検出状況 ……146
岩井雅恵　小原真弓　小渕正次　堀元栄詞　滝澤剛則
富山県における市販鶏肉のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌汚染実態調査（2010年） ……149
嶋　智子　磯部順子　金谷潤一　木全恵子　倉田　毅　綿引正則　出村尚子
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2010) ……154
木全恵子　嶋　智子　金谷潤一　磯部順子　倉田　毅　綿引正則
漁港における腸炎ビブリオ調査（2010年） ……159
金谷潤一　磯部順子　木全恵子　嶋　智子　倉田　毅　綿引正則
富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性（2010年） ……163
嶋　智子　金谷潤一　木全恵子　磯部順子　倉田　毅　綿引正則　朝野洋一
加藤陽子　中村政雄　奥野ルミ
富山県における2010年の病原微生物検出状況 ……168
金谷潤一　磯部順子　嶋　智子　木全恵子　倉田　毅　綿引正則
平成22年度富山県食品衛生検査の精度管理調査－微生物学的検査－ ……172
金谷潤一　磯部順子　木全恵子　嶋　智子　倉田　毅　綿引正則
平成22年度水道水質検査の精度管理事業について ……176
健名智子　村元達也　上出　功
平成22年度富山県内食品衛生検査の精度管理調査―理化学的検査― ……180
中山恵理子　大戸幹也　山下智富　小玉修嗣　上出　功
富山県内市販菓子中のメラミン含有量調査 ……183
大戸幹也　中山恵理子　山下智富　小玉修嗣　齊藤尚仁　上出　功
氷見・高岡地区温泉の湧出量，泉温及び化学成分の経年変化（1995～2010） ……186
村元達也　健名智子　小玉修嗣
季節変化が中高年女性の身体活動に与える影響 ……190
小林直人　田中朋子　金木　潤　武内夕華　今村由美子

## 4．業　　績

⑴ 誌　上　発　表 ……195
⑵ 学　会　発　表　等 ……214
⑶ 受賞，学位授与，資格取得等 ……218
⑷ 知　的　所　有　権 ……219

## Reports

Results of the Neonatal Mass Screening in Toyama Prefecture (April 2010～March 2011) ……23
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Tomoko YOSHIDA
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2010－Mar. 2011) ……35
Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and Yoshihiro TAKADA
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2010－Mar. 2011) ……39
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI And Yoshihiro TAKADA
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2010－Mar. 2011) ……44
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI and Yoshihiro TAKADA
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitisin Toyama Prefecture in 2010 ……48
Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Mamoru WATANABE
and Kenji SEKIGUCHI
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis Virus in Toyama Prefecture in 2010 ……58
Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Shunsuke MABUCHI, Kumiko KAWAGOSHI, Satoshi SHIMAJIRI, Kenji SEKIGUCHI
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010 ……62
Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Shunsuke MABUCHI, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Kumiko KAWAGOSHI,Satoshi SHIMAJIRI, Kenji SEKIGUCHI
and Takenori TAKIZAWA
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2010-2011 ……65
Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Takenori TAKIZAWA, Atsushi TAKATA, Atsuko NANBU, Shunsuke MABUCHI, Kumiko KAWAGOSHI, Satoshi SHIMAJIRI, Kenji SEKIGUCHI
Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010 ……74
Mayumi OBARA, Seiji MORIOKA, Masatsugu OBUCHI, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA
Oral Polio Vaccine-like Polioviruses in Raw Sewage Detected by Novel Real-time PCR ……80
Masae IWAI, Hiromu YOSHIDA, Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Takeshi KURATA, and Takenori TAKIZAWA
Influence of Freeze and Thaw, and Storage Temperature on the Infectivity of Measles Virus in Transport Mediums ……88
Masae Iwai, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Hirokazu KIMURA, and Takenori TAKIZAWA

Prevalence of Hepatitis A Virus in Toyama Prefecture in 2010 ……94
Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Hideki MIYATA1, Satoshi SHIMAJIRI , Mamoru NODA
Isolation of Japanese Encephalitis Virus from Mosquitoes and Pigs in Toyama Prefecture in 2004-2010 ……97
Mayumi OBARA, Takeo YAMAUCHI, Mamoru WATANABE , Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA
First Detection of Myxozoan Parasites in Toyama Prefecture from Food-poisoning Cases with Unexplained Agents and the Surveillance Study of Its Existence in the Fresh Seafood on the Market. ……106
Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Takeshi KURATA and Naoko DEMURA
Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2010 ……114
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Itsuko KAYASHIMATomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI
Analysis of Organotin Compounds in Fishes Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection (2010) ……120
Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Isao KAMIDE
Relationship between Insulin Resistance and Obesity or Life Styles in Examinees of Metabolic Syndrome Screening ……123
Tomoko TANAKA, Mineko NAKAZAKI,Jun KANAKI,Naomi SHIBUYA,Eiji OURA
Urinary Levels of Alkylphosphates and Effects of Environmental Factors in Rural and Urban Inhabitants ……128
Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Naoto TAKAHASHI, Jun KANAKI and Toyomi KUWAMORI
The Effects of Long-Term and Continuous Exercise in Deep Sea Bath on Belly Obese Persons ……132
Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Takashi TATSUSE,Michikazu SEKINE and Sadanobu KAGAMIMORI

## Notes

A Pseudo-Positive case of Congenital Adrenal Hyperplasia detected by the Neonatal Mass-Screening with the Contamination Dried Blood Specimen ……139
Masako KUYO and Yutaka YONEDA
Study on Enzymatic Assay for α-L-Iduronidase in Dried Blood Samples for Newborn Screening of mucoplysaccaridosis type I ……142
Yutaka YONEDA and Masako KUYO

Analyses of Breakpoints of Reciprocal Translocation Chromosomes with Balanced Condition : Report of Patients Diagnosed as Habitual Abortions ……144
Mikiko HAYASHI, Ryosuke TAKAMORI and Yasuhiro SHINAGAWA
Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010 ……146
Masae IWAI, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, and Takenori TAKIZAWA
Survey of *Campylobacter* and *Salmonella* Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2010) ……149
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI and Naoko DEMURA
The Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Deteected in Toyama Prefecture, 2010 ……154
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI
Surveillance for *Vibrio parahaemolyticus* at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2010 ……159
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI
Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Haemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture,2010 ……163
Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA , Junko ISOBE, Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI, Youichi ASANO, Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO
Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2010 ……168
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2010) ……172
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA , Tomoko SHIMA, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI
On the External Quality Control of the Quantification of Manganese and Nitrate-nitrogen in Water ……176
Tomoko KEMMEI, Tatsuya MURAMOTO and Isao KAMIDE
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture ……180
Eriko NAKAYAMA, Mikiya OHTO, Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Isao KAMIDE
Contents of Melamine in Confectionery Products in Toyama Prefecture ……183
Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Naohito SAITO and Isao KAMIDE

Secular Variation of Discharge, Temperature and Chemical Components of Mineral Springs in Himi and Takaoka Areas ……186
Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI and Shuji KODAMA
Influence of Seasonal Change on Physical Activities in Middle-aged and Elderly Women ……190
Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Yuka TAKEUCHI
and Yumiko IMAMURA

# 1．運　　営

# 1　運　　営

## (1)　沿　　革

| | |
|---|---|
| 昭和35年 4月 1日 | 職員9名の構成で発足. |
| 昭和36年 4月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係，細菌課，ウイルス血清課，食品衛生課，生活環境課). |
| 昭和37年11月30日 | 旧研究所の増築. |
| 昭和38年 4月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，所長代理制が設けられ，また，課名の一部（庶務係を庶務課に，ウイルス血清課をウイルス病理課）を変更. |
| 昭和39年10月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，公害調査課を新設. |
| 昭和44年 4月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，従来の課制を廃止し，部制を設置し，部に主任研究員を配置（病理生化学部，微生物部，食品科学部，公害調査部). |
| 昭和46年 4月15日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，公害調査部所管の業務が公害センターに移管され，また，各部の名称を変更（病理部，ウイルス部，細菌部，　化学部，　環境保健部). |
| 昭和55年12月20日 | 研究所新庁舎小杉町（現射水市）中太閤山で建設着工. |
| 昭和57年 6月10日 | 小杉町（現射水市）中太閤山に新庁舎完成. |
| 平成元年 4月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，病理部をがん研究部に名称を変更. |
| 平成 4年 4月 1日 | 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により，庶務課を総務課に名称を変更. |
| 平成12年 7月 1日 | 衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置. |
| 平成14年 9月 4日 | 文部科学省から科学研究費補助金取扱規程第2条第4号の研究機関に指定. |
| 平成15年 5月28日 | 富山県衛生研究所倫理審査委員会，富山県衛生研究所研究評価委員会を設置. |

## (2) 施 設 の 概 要

| 建　　物 | 構　　造 | 延　面　積(㎡) |
|---|---|---|
| 研　究　棟 | 鉄筋コンクリート造3階（1部4階）建 | 3,044.59 |
| 動物飼育棟 | 〃　　平屋建 | 241.76 |
| 車　庫 | 鉄骨造平屋建 | 34.56 |
| 薬　品　庫 | コンクリートブロック造平屋建 | 20.60 |
| ボ　ン　ベ　庫 | 〃 | 17.54 |
| R　I　排　水　庫 | 〃 | 26.65 |
| 排　水　処　理　庫 | 〃 | 13.57 |
| 渡　り　廊　下 | 鉄　骨　建 | 40.50 |
| 機　械　室 | 鉄骨造平屋建 | 39.24 |
| 合　計 | | 3,479.01 |

## (3) 組 織 及 び 業 務

（平成23年6月1日）

所長1名　次長1名

- 総務課 5名(兼務5)
  1．人事，公印，文書物品，予算経理，出納その他の会計並びに庁舎の管理に関すること．
  2．他の主掌に属しないこと．
- がん研究部 6名
  1．がん予防のための調査研究に関すること．
  2．先天性代謝異常及び染色体異常の調査研究に関すること．
  3．衛生動物の調査研究に関すること．
- ウイルス部 5名
  1．ウイルスその他病原微生物の調査研究及び指導に関すること．
  2．ウイルスによる疾病の予防に関すること．
  3．富山県感染症情報センターに関すること．
- 細菌部 7名
  1．細菌の調査研究に関すること．
  2．感染症及び食中毒等の予防に関すること．
  3．富山県感染症情報センターに関すること．
- 化学部 7名
  1．食品，添加物，容器包装等の調査研究に関すること．
  2．食品衛生法による製品検査に関すること．
  3．有害物質を含有する家庭用品の調査研究に関すること．
  4．温泉，飲料水の調査研究に関すること．
- 環境保健部 5名
  1．環境変化の人体に及ぼす影響の調査研究に関すること．
  2．生活習慣病の調査研究に関すること．
  3．産業衛生の調査研究に関すること．

## (4) 職　　員　　数

（平成23年 6 月 1 日現在）

| 区分 | 所・次長<br>部・課長 | 主　幹<br>研究員 | 副主幹 | 副主幹<br>研究員 | 主任 | 主　任<br>研究員 | 主　任<br>専門員 | 主事 | 研究員 | 業務技師 | 計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 所　　長 | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| 次　　長 | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| 総　務　課 | 1（注1） | | 2（注1） | | 1（注1） | | | | | 1（注2） | 5（兼5） |
| がん研究部 | 次　長<br>事務取扱 | | | 2 | | 1 | 2 | | 1 | | 6 |
| ウイルス部 | 1 | | | 1 | | 3 | | | | | 5 |
| 細　菌　部 | 所　長<br>事務取扱 | 1 | | 1 | | 3 | | | 1 | 1 | 7 |
| 化　学　部 | 1 | 1 | | 2 | | 2 | | | 1 | | 7 |
| 環境保健部 | 1 | | | 2 | | | 1 | | 1 | | 5 |
| 合　　計 | 6 | 2 | 2 | 8 | 1 | 9 | 3 | 0 | 4 | 2 | 37（兼5） |

＊総務課の（注1）は環境科学センター・薬事研究所を兼務.
（注2）は環境科学センターを兼務

## (5) 職　　員　　一　　覧

（平成23年6月 1 日現在）

| 職　名 | | 氏　名 |
|---|---|---|
| 所　　長 | | 佐　多　徹太郎 |
| 次　　長 | | 高　田　吉　弘 |
| 総務課 | 総務課長（兼） | 愛　場　尋　幸 |
| | 副主幹（兼） | 春　山　和　則 |
| | 副主幹（兼） | 前　田　和　男 |
| | 係　長（兼） | 真　木　雅　子 |
| | 業務技師（兼） | 新　木　康　之 |
| | | |
| がん研究部 | 部　長 | 次長事務取扱 |
| | 副主幹研究員 | 九　曜　雅　子 |
| | 〃 | 品　川　保　弘 |
| | 主任研究員 | 山　内　健　生 |
| | 主任専門員 | 林　　美貴子 |
| | 〃 | 米　田　　豊 |
| | 研　究　員 | 高　森　亮　輔 |
| ウイルス部 | 部　長 | 滝　澤　剛　則 |
| | 副主幹研究員 | 小　渕　正　次 |
| | 主任研究員 | 堀　元　栄　詞 |
| | 〃 | 岩　井　雅　恵 |
| | 〃 | 小　原　真　弓 |

| 職　名 | | 氏　名 |
|---|---|---|
| 細菌部 | 部　長 | 所長事務取扱 |
| | 主幹研究員 | 綿　引　正　則 |
| | 副主幹研究員 | 磯　部　順　子 |
| | 主任研究員 | 木　全　恵　子 |
| | 〃 | 嶋　　智　子 |
| | 〃 | 清　水　美和子 |
| | 研　究　員 | 金　谷　潤　一 |
| | 技　　師 | 嶋　　一　世 |
| 化学部 | 部　長 | 上　出　　功 |
| | 主幹研究員 | 小　玉　修　嗣 |
| | 副主幹研究員 | 健　名　智　子 |
| | 〃 | 大　戸　幹　也 |
| | 主任研究員 | 中　山　恵理子 |
| | 〃 | 山　下　智　富 |
| | 研　究　員 | 村　元　達　也 |
| 環境保健部 | 部　長 | 金　木　　潤 |
| | 副主幹研究員 | 田　中　朋　子 |
| | 〃 | 中　崎　美峰子 |
| | 主任専門員 | 新　村　哲　夫 |
| | 研　究　員 | 小　林　直　人 |

注　総務課は環境科学センターおよび薬事研究所を兼務

## (6) 予 算 及 び 決 算

### 平成22年度予算概要（当初）

| 事業名 | 予算額 (千円) | 財源内訳 | | | | 備考 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 使用料手数料（千円） | 国支出金（千円） | 受託事業（千円） | 一般財源（千円） | |
| 衛生研究所費 | 66,429 | 2,720 | | | 63,709 | 所の運営、維持管理、試験検査等 |
| 試験研究費 | 8,978 | | | | 8,978 | 調査研究 |
| 設備充実費 | 2,766 | | | | 2,766 | 試験研究及び検査用機械器具 |
| 感染症対策特別研究費 | 1,561 | | | | 1,561 | |
| がん等特別研究費 | 7,368 | | 837 | | 6,531 | 調査研究 |
| 合計 | 87,102 | 2,720 | 837 | 0 | 83,545 | |

### 平成22年度　歳入・歳出決算

(歳　入)

| 科目 | 決算額（円） | |
|---|---|---|
| 衛生手数料 | 9,407,710 | 衛生研究所費 4,374,830　環境衛生検査 5,032,880 |
| 財産運用収入 | 36,233 | 特許権等運用収入 |
| 雑入 | 61,927 | |
| 合計 | 9,505,870 | |

(歳　出)

| 科目 | 決算額（円） | |
|---|---|---|
| 人事管理費 | 76,220 | 嘱託職員の雇用 |
| 財産管理費 | 311,850 | 庁舎維持管理費 |
| 管理諸費 | 232,251 | 国際協力費 |
| 社会福祉総務費 | 135,027 | |
| 児童福祉対策費 | 10,017,901 | 先天異常児の早期発見 |
| 公衆衛生総務費 | 2,034,263 | 再任用職員の保険料 |
| 予防費 | 4,903,790 | 感染症関連調査 |
| 環境保健対策費 | 8,935,514 | カドミウム環境汚染地域住民関連調査 |
| 衛生研究所費 | 83,843,917 | 試験検査・研究及びそれに伴う維持管理、賃金 |
| 環境衛生総務費 | 5,798,751 | 温泉・飲料水等検査 |
| 食品衛生指導費 | 9,220,268 | 食品安全対策検査 |
| 公害防止対策費 | 326,000 | 海水浴場細菌検査 |
| 雇用対策費 | 3,870,878 | 緊急雇用創出事業 |
| 工鉱業総務費 | 1,604,060 | 海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興 |
| 合計 | 131,310,690 | |

## (7) 重 要 備 品 一 覧

| 品　　名 | 型　　式 | 購入年月 |
|---|---|---|
| 分光光度計 | UV-2200 | H 2. 9 |
| 分光蛍光光度計 | 日本分光　FP-777 | H 3.11 |
| ガスクロマトグラフ | GC-14APSC タンデム GC システム | H 2. 3 |
| ガスクロマトグラフ | 島津製作所 GC-14B | H 4.11 |
| ガスクロマトグラフ質量分析計 | 島津製作所 QP-1100WA | H 5.11 |
| ガスクロマトグラフシステム | 島津製作所 | H 9. 3 |
| ガスクロマトグラフ | ヒューレットパッカード　HP6890 | H10. 8 |
| ガスクロマトグラフ | Agilent　6890N | H15. 6 |
| ガスクロマトグラフ質量分析計 | 島津製作所 QP-2010 | H17.10 |
| 大量注入方式ガスクロマトグラフ質量分析計 | Agilent　Technologie 5975 | H19.11 |
| 高速液体クロマトグラフ | 日立製作所 L-6300 | H 5.12 |
| 高速液体クロマトグラフ | ウォーターズ | H 7.10 |
| 高速液体クロマトグラフ | ヒューレットパッカード Agilent 1100 | H12. 6 |
| 高速液体クロマトグラフタンデム四重極質量分析装置 | waters Quattro micro API ｼｽﾃﾑ | H15.12 |
| 高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器 | 島津製作所　FR-550 | H 4. 3 |
| イオンクロマトグラフ | 日本ダイオネックス DX-500 | H 9.11 |
| 全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム | 日本分光 | H 9. 3 |
| キャピラリー電気泳動システム | ヒューレットパッカード | H 7. 9 |
| 全自動ゲル浸透クロマトグラフ | O.I.ANALYTICAL　AP-512 | H11. 3 |
| 全有機炭素計（ＴＯＣ計） | 島津製作所　TOC-V CSH | H18. 1 |
| マイクロウェーブ分解装置 | アステック　MARS 5 | H11.12 |
| 原子吸光光度計 | 島津製作所　AA-6700 | H 8.11 |
| マイクロプレートリーダー | コロナ | H 9. 2 |
| マイクロプレートリーダー | BIO-RAD　Benchmark | H12. 9 |
| 分離用超遠心機 | 日立製作所　CP 101 MX | H12.11 |
| 透過型電子顕微鏡 | 日立製作所 H-7600 | H13. 3 |
| 万能顕微鏡 | オリンパス　VANOXAHBT3-512 | H 4. 9 |
| 落射蛍光顕微鏡 | ニコン | H 9. 8 |
| リアルタイムＰＣＲシステム | アプライドバイオシステム | H20.12 |
| 遺伝子増幅装置　一式 | C1000　サーマルサイクラー | H21. 6 |
| 自動遺伝子抽出機 | QIAsymphony SP | H21. 6 |
| 蛍光式 DNA シーケンサー | パーキンエルマー　310-1-TI | H 9.12 |
| ELISA 測定システム | BIO-RAD 社 | H10. 2 |
| 定量 PCR（遺伝子増幅機器） | ABI　PRISM 7500 | H15.10 |
| キャピラリー型遺伝子解析システムデータ処理装置 | ABI　PRISM 3130XL | H19. 9 |
| 超音波骨密度測定装置 | ＧＥ横河メディカルシステム　A-1000 | H18. 7 |

（平成23年3月31日現在）

# (8) 各部の業務概要

## がん研究部

［行政および依頼検査］

**先天性代謝異常等マス・スクリーニング**

平成22年度の検体総数は9,352件で，県内35か所の医療機関で採血され，送付されたものである．受検率は富山県の出生数の92.0%，里帰り出産数を含めると107.6%となり，前年同様高い割合であった．検査項目は，フェニルケトン尿症，ホモシスチン尿症，メイプルシロップ尿症，ガラクトース血症，先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の6疾患である．検査の結果，要精密検査として51人（フェニルケトン尿症疑い2人，メイプルシロップ尿症疑い1人，ガラクトース血症疑い4人，先天性甲状腺機能低下症疑い23人，先天性副腎過形成症疑い21人）がスクリーニングされ，ガラクトース血症1人，先天性甲状腺機能低下症4人の患者が発見された．

**染色体検査**

平成22年度の検体数は，羊水119件，血液67件と自然流産胎児46件の計232件で，うち，染色体異常を示したものは，羊水13件，10.92%（18トリソミー症候群4件，モザイク型18トリソミー症候群1件，21トリソミー症候群2件，ターナー症候群2件，ターナー症候群＋均衡転座保因1件，均衡転座保因者1件，トリプルX1件，XYY症候群1件），血液2件，2.99%（均衡転座保因者1件，21トリソミー症候群1件），流産胎児31件，67.39%（数的異常23件，倍数体4件，構造異常3件，数的異常＋構造異常1件）の計46件であった．染色体検査の依頼理由（主訴）は，羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い，血液・流産胎児では流産を繰り返すが最も多かった．

**衛生動物検査**

厚生センターや県内企業などから依頼のあった衛生害虫（食品混入動物を含む）の同定検査を52件実施した．同定対象の大部分は昆虫類であったが，ダニ類，多足類，甲殻類なども含まれていた．

日本脳炎流行予測事業として，平成21年度に引き続き，媒介蚊コガタアカイエカの発生消長を調査した．6ヶ所の畜舎において6月から10月まで調査を実施し，コガタアカイエカ雌成虫1,146,000個体以上を捕集した．平成22年度のコガタアカイエカ捕集総数は，平成21年度の2倍以上であった．

［調査研究］

**がん発生要因に関する研究**

富山県の地域がん登録システムで集積され，厚生部より毎年公表されているデータを用い，消化器系がん，特に胃がんと大腸がんの県内4医療圏別の罹患率や死亡率の差異を検討している.これと並行して，当所で実施したがん疫学調査のデータを医療圏単位で再解析中である．

**先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング検査法に関する研究**

ムコ多糖症Ⅰ型はα-L-Iduronidase活性が低下もしくは失活する疾患である．従って，当該疾患のスクリーニング検査法として，4-methylumbeliferyl-α-L-Iduronideを基質として用い，遊離する4-methylumbelliferoneの蛍光を測定してα-L-Iduronidase活性を測定する方法が知られている．しかし，この検査法は分析に20時間以上を要する欠点がある．そこで，分析時間の短縮化の可能性について，検討を行った．

内分泌異常症（先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症）の検査において，測定値のばらつきや季節変動が認められることがあり偽陽性増加の要因となっている．その原因を探るため，今年度は，先天性副腎過形成症の指標である17-α-hydroxyprogesterone （17-OHP）の季節変動について検討した．過去3年間の初回検体の17-OHPの月別測定値を調べたところ，冬期に測定値が高くなる傾向が認められた．そこで，冬期に受付した検体を夏期に，また夏期に受付した検体を冬期に測定して，結果を比較した．その結果，冬期受付検体は夏期に測定しても測定値は高く，夏期受付検体は冬期に測定しても測定値は低いことが判明した．このことから，季節変動の要因は，血液濾紙自体あるいは新生児自身の要因である可能性が示唆された．また，濾紙を37℃で保存し17-OHPの測定値への影響を見たが，変化は認められなかった．

**染色体に関する研究**

流産を繰り返す夫婦の原因検索のため，染色体検査を行い発見された染色体異常45件のうち，34件が均衡型の相互転座，8件がロバートソン転座であった．相互転座は染色体上の2か所以上で切断が生じ，別の部分同士が再結合した結果であるが，理論的にはすべての染色体のすべての部分に切断と再結合が起こると考えられるにも関わらず，発見された切断点には偏りが観察されたため，その切断点について検討した．

**突然変異原性に関する研究**

小核試験は，染色体切断片の発生の有無を指標とする変異原性試験法であるが，当所ではこれまでマウス末梢血赤血球を用いた in vivo（生体内）法を用いて，発ガン物質や食品添加物等の試験を行ってきた．しかし，動物試験代替法として，培養細胞を使用する in vitro（試験管内）法を導入し，染色体異常誘発を直接観察し，さらに FISH 法の導入を図った．

**衛生動物に関する研究**

中部山岳国立公園の立山観光ルート沿い（標高約500～2,000m）において，蚊類幼虫の分布を調査した．その結果，計973個体が採集され，これらは少なくとも8種に分類された．個体数がもっとも多かったのはヤマトヤブカで，キンパラナガハシカがこれに次いだ．ヤマトヤブカはすべての調査地点で採集された．本研究は，ウイルス部と共同で行った．

# ウ　イ　ル　ス　部

**［行政および依頼検査］**

**感染症発生動向調査**

「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」及び「感染症発生動向調査実施要領」に基づき，県内の医療機関や厚生センター・保健所から依頼を受けた検体について，ウイルスおよびリケッチアの検査を行った．インフルエンザでは，257症例中231症例からウイルスが検出された（AH1型インフルエンザウイルス（AH1pdm）129名，AH3型インフルエンザウイルス28名，B型インフルエンザウイルス73名，アデノウイルス3型1名）．上気道炎・下気道炎では，23症例中15症例からウイルスが検出された（ライノウイルス4名，ライノウイルス+アデノウイルス2型1名，メタニューモウイルス6名，RS ウイルス2名，エコーウイルス30型1名，コクサッキーウイルス B5型1名）．脳炎・脳症では，10症例中各1症例からエンテロウイルス71型及びロタウイルス A 群がそれぞれ検出された．無菌性髄膜炎では，6症例中1症例からコクサッキーウイルス B4型が検出された．感染性胃腸炎では47症例中34症例からウイルスが検出された（ノロウイルスGenogroupII; NoVGII9名，NoVGII+ポリオウイルス2型1名，NoVGII+エコーウイルス25型1名，サポウイルス2名，サポウイルス+エコーウイルス25型1名，サポウイルス+アデノウイルス2型1名，ロタウイルス A 群4名，ロタウイルス A 群+エコーウイルス30型1名，アストロウイルス6名，アデノウイルス31型1名，アデノウイルス41型3名，アデノウイルス41型+ポリオウイルス3型1名，パレコウイルス1型2名，ポリオウイルス3型1名）．肝炎では，7症例すべてから A 型肝炎ウイルスが検出された．麻疹疑い例7症例からは麻疹ウイルスは検出されなかったが，3症例からウイルスが検出された（風疹ウイルス1名，ヒトヘルペスウイルス6型1名，ライノウイルス1名）．手足口病では，17症例中13症例からウイルスが検出された（エンテロウイルス71型3名，コクサッキーウイルス A6型9名，ライノウイルス1名）．ヘルパンギーナでは，3症例中2症例からコクサッキーウイルス A4型が，1症例からコクサッキーウイルス A6型が検出された．耳下腺炎では3症例中各1症例からムンプスウイルス+ライノウイルス，ライノウイルス，エコーウイルス6型がそれぞれ検出された．つつが虫病では，1症例からつつが虫病リケッチアが検出された．

**ＨＩＶ抗体検査**

平成22年4月から平成23年3月までの１年間に143件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ，2件が陽性，141件が陰性であった．

**感染症流行予測調査**

**日本脳炎**：県内の日本脳炎ウイルスの状況を把握するために，感染源調査と感受性調査を実施した．

感染源調査：豚の抗体保有調査では，9月と10月にのみ新鮮感染を示す豚が確認された．蚊から，10月5日に日本脳炎ウイルスが分離された．22年度の日本脳炎ウイルスの流行は，比較的小規模だったと考えられた．豚の抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載した．

感受性調査：日本脳炎流行予測調査（感受性調査）として，県内住民384名の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した．その結果，抗体陽性者の割合は全体として49.7%であった．10〜19歳では100%以上が抗体を保有していたが，0〜4歳では5.8%，40歳以上では20%未満であった．若年齢の抗体保有率は2008〜2009年よりも回復したが，60歳以上の抗体保有率は2007〜2009年に比べ低くなった．「予防接種歴なし」の割合は，0〜4歳で最も多く78.8%であったが，5〜9歳では2008〜2009年より大きく減少し7.1%となった．予防接種歴別の抗体保有率は，「接種歴なし」で8.2%，「接種歴不明」で40.3%であったのに対し，1回以上接種歴のある対象者では76.4%であった．

**ポリオ**：県内のポリオウイルスの動向を把握するために，感染源調査を実施した．

感染源調査：平成23年1月及び2月，平成22年9月に，富山県内の健康な乳幼児71名の糞便を採取し，ウイルス分離を行った．その結果，コクサッキーウイルス B4型が1名から検出されたが，ポリオウイルスは検出されなかった．

**インフルエンザ**：インフルエンザの予防と流行状況の把握のために，ヒト感受性調査（2010年6〜10月）と感染源調査（2010年9月〜2011年5月）を実施した．

感受性調査：インフルエンザ流行期前における富山県住民384名の抗体保有状況について，4種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた．血球凝集抑制（HI）抗体価40倍以上の力価を示す抗体保有率は，2010/11シーズンインフルエンザワクチン株のA/California/7/2009（H1N1）pdm, A/Victoria/210/2009(H3N2), B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）および参考株の B/Florida/4/2006（山形系統）に対して各々21.1%，26.6%，21.1%，16.9%であった．

感染源調査：インフルエンザウイルスは，AH1pdm 型が128株，AH3型が38株，B 型が84株分離され,3種類のウイルスの混合流行となった．シーズン始めと後半は B 型が主流であったが，1〜2月の流行ピーク時は AH1pdm 型が主流となった．B 型ウイルスのほとんどはビクトリア系統株であった．

**［調査研究］**

**ウイルスウォッチプログラム**

地域で流行を繰り返すエンテロウイルスやノロウイルス等の腸管系ウイルスを対象に，下水流入水のウイルス調査を実施した．平成21〜22年度は，県西部地区と砺波地区に定点を設置し，地区別の腸管系ウイルス検出状況を比較した．両地区から検出されたウイルスの種類及び検出時期は，類似していが，砺波地区では，エコーウイルス11型やノロウイルス GII/3，GII/4の検出頻度が高かったため，これらのウイルスが砺波地域で流行していた可能性が考えられた．

**ウイルス感染症の疫学的研究**

2010年に県内の小児科医療機関を受診した上気道炎及び胃腸炎患者から検出されたエコーウイルス30型について，国内外の流行株とともに遺伝子解析を行い，ウイルスの由来及び地域における流行状況を解析した．その結果，上記症例から検出されたエコーウイルス30型は，富山県内の下水流入水から2008年1月から2010年8月までに分離されたエコーウイルス30型の塩基配列と極めて類似しており（相同性98%以上），近年に国外で検出されたウイルスとの相同性は約80%と低かった．このため，本症例のエコーウイルス30型は，2008年以降に富山県内で不顕性あるいは軽症で感染が続いているウイルスが由来であり，他の地域から侵入した可能性は低いと考えられた．

**ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について**

富山県内で2010年4月から2011年3月までの1年間に発生届けのあった,ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた．当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生30事例のうち，25事例からウイルスが検出された．これに富山市保健所で検査した事例を加えると，ウイルス性胃腸炎の集団発生は計28事例であった．原因と推定されたウイルスの内訳は，NoVGII が22事例，NoVGI が4事例，NoVGI と GII の混合が1事例，NoVGI と GII とサポウイルスの混合が1事例であった．NoV の型別は，GII/4が17事例と最も多く，次いで GII/13が3事例，GI/8，GII/2及び GII/3が2事例であった．

発生施設別にみると，飲食店及び弁当による発生が8事例，保育園・幼稚園が7事例，老人ホーム等が5事例，小学校が3事例，宿泊施設が2事例，その他が3事例であった．

18事例では，各事例内の検出ウイルスの遺伝子配列が一致し，これらの集団発生は，同一の感染源である可能性が高いことがわかった．これらのうち1事例では，さらに，患者，調理従事者，食品から得られた塩基配列が一致し，食品を介した感染であると推定された．

**動物由来感染症実態調査（動物由来感染症予防体制整備事業）**

イノシシの分布拡大に伴ってマダニ類とリケッチアの分布が拡大している可能性について検討するため，イノシシ及び寄生マダニ類からのリケッチア検出を行った．イノシシ31個体からはリケッチア遺伝子は検出されなかった．寄生マダニ類214個体のうち14個体（6.5%）からは，ヒトへの病原性が不明のリケッチアが検出された．これらはこれまでの研究で富山県のマダニ類から検出されたリケッチアと近縁であった．

県内における動物由来感染症の流行把握及び海外からの侵入を監視する目的で，哺乳類と媒介節足動物におけるウエストナイル熱，日本脳炎，デング熱，腎症候性出血熱，ハンタウイルス肺症候群，つつが虫病の浸淫状況を調査した．牛舎で捕集した蚊1プールから日本脳炎ウイルスが分離されたが，ブタから日本脳炎ウイルスは分離されなかった．アカネズミ4頭からつつが虫病リケッチアに対する抗体が，そしてアカネズミ4頭からつつが虫病リケッチア遺伝子（Karp 型，Kawasaki 型）が検出された．ハンタウイルスに対する抗体は検出されなかった．

ヒトに密接な関わりを持つ動物の外部寄生虫と保有病原体について把握し，ヒトへの感染予防に役立てるため，イヌ及びネコの外部寄生虫を対象に病原体検出を行った．3頭のイヌ及び2頭のネコから，ヤマトマダニ，キチマダニ，フタトゲチマダニ計17個体及びネコノミ18個体が得られた．これらのうち，イヌに寄生していたキチマダニから病原性不明の紅斑熱群リケッチアが検出された．このリケッチアはこれまでに富山県のマダニ類から検出されたリケッチアと近縁であった．

**［富山県感染症情報センター］**

富山県感染症情報センターでは，感染症発生動向調査実施要領に基づき，全数把握感染症については各管内の全医療機関から，定点把握感染症については県内延べ70定点医療機関から各厚生センターおよび富山市保健所へ週報および月報として報告されたデータを集計・解析した．

県内および全国の感染症発生動向の情報は，速報あるいは週報の印刷物として関係機関へ毎週送付するとともに，富山県感染症情報センターホームページで一般公開した．また，県厚生部健康課の依頼を受けて，富山県感染症 ML を利用して，県内全病院，厚生センター・保健所，県群市医師会へ感染症に関する国からの通知等を配信した．

## 細　菌　部

**［行政および依頼検査］**

**2 類感染症検査**：厚生センターから搬入された菌株1株について，PCR 法により結核菌を同定した．

**3 類感染症検査**：細菌により起因する3類感染症は，コレラ，細菌性赤痢，腸管出血性大腸菌感染症，腸チフス，パラチフスである．平成22年に，腸管出血性大腸菌感染症発生数は11件（35名），赤痢1件（2名）が発生した．このうち，腸管出血性大腸菌感染事例の原因菌の血清型は O157 10件（33名），O111 1件（2名）であった．腸管出血性大腸菌による集団感染および家族内感染は3件であった．このうち，8月に発生した集団感染事例においては薬剤感受性試験を実施した．また，分離株について国立感染症研究所（パルスネット）に全国分離株との比較を依頼し，分離株の送付事務及び結果の還元を行った．

赤痢 1 件は *Shigella sonnei*　D 群による事例であり，海外渡航歴のない患者からの分離であった．

**レジオネラ症検査**：1事例の患者分離株，浴用施設分離株について，血清型別に加えて分子疫学的解析方法である PFGE 解析を行い，感染源を追求した．

**細菌性食中毒検査**：平成22年度は，カンピロバクターによる食中毒が2件発生した．

**食品検査**：6月に清涼飲料水23件の成分規格試験を行った．すべての検体で大腸菌群陰性であった．また，食

品の夏期一斉取締りの一環として，生食用魚介類（刺身等）32検体について腸炎ビブリオの定量検査を行った．すべての検体が成分規格基準に合致していた．平成22年度より始まった「ノーモア・カンピロバクター事業」として，平成22年5月～平成23年3月にかけて，県内に流通する鶏肉等についてカンピロバクターの汚染実態を調査した．鶏肉139検体中89検体，牛レバー21検体中9検体からカンピロバクターが検出された．さらに，牛レバーについては，一般生菌数，糞便性大腸菌群数，腸管出血性大腸菌 O157・O26・O111の検査を行った．腸管出血性大腸菌はすべて陰性であった．

**海水浴場水検査**：生活環境文化部および富山市の依頼で海水浴場水（8定点，のべ128検体）の糞便性大腸菌群数測定を行った．いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった．このうち26検体について腸管出血性大腸菌 O157検索を行ったがすべて陰性であった．

**腸炎ビブリオ検査**：平成8年度より始まった通称「VP マリン」事業として，6月から10月にかけて県内5漁港の表層海水32検体および魚介類販売業2施設で市販されていた魚介類44検体中の腸炎ビブリオ数を定期的に調べた．その結果，海水からは$<3.0\sim4.6\times10^2$/100ml，市販魚介類からは$<3.0\times10\sim3.8\times10^2$/100g の腸炎ビブリオが検出された．

**名水調査**：県内で飲用利用されているいわゆる「名水」について，細菌学的な調査を行なった．調査は7，10月の2回，採水地点はそれぞれ6か所，計18検体について，生菌数，大腸菌定量，病原性大腸菌定性，嫌気性芽胞菌，従属栄養細菌数を実施した．4検体で大腸菌数が2.0, 13.0, 17.1, 1.0 MPN/100ml であった．嫌気性芽胞菌，病原性大腸菌はすべての検体で陰性であった．

［病原細菌検出情報］

県内10か所の病院と4か所の厚生センター，富山市保健所，衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は，1,168株，前年比106.5%であった．最も多かったのは大腸菌588株で，以下，黄色ブドウ球菌の307株，カンピロバクター206株の順であった．

［調査研究］

**サルモネラの薬剤感受性動向調査**

県内の病院，保健所でヒトから分離された菌株の収集解析を行った．2010年1月～12月までに当所に送付された菌株は25株で．それらの血清型の内訳は *S.* Infantis が9株，*S.* Entritidis が5株，*S.* Thompson，*S.* schwarzengrand が各2株，その他7株であった．これら人から分離されたサルモネラの薬剤感受性試験を行なったところ，5株が何らかの薬剤に耐性を示し，多いものは3薬剤に耐性を示した．

**腸管出血性大腸菌集団感染事例における遺伝子型別調査**

本年度，県内で発生した O157集団感染事例について，IS-Printing による遺伝子型のスクリーニングを行った．その結果，感染者2名より，3種類の新規の IS パターン株を分離した．このうち2つの IS-パターン株は PFGE パターンも異なっていた．

**溶連菌の血清型別調査**

平成22年に県内2ヶ所の病院で分離された溶連菌を型別した．A 群23株では，検出率が高い T 型は，順に T1型，T12型であった．前年と比較して T25型が減少していた．B 群139株で検出率が高い型は，順にⅠb型，Ⅴ型，Ⅵ型，Ⅰa型，Ⅲ型であった．

**腸炎ビブリオ汚染実態調査**

平成22年6～10月にかけて，県内の4漁港海水中の耐熱性溶血毒素（TDH）産生性腸炎ビブリオの分布を PCR 法および免疫磁気ビーズ法により調べた．その結果，海水40検体のうち8検体において *tdh* 遺伝子が検出され，うち1検体から TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6が分離された．

**カンピロバクターの臨床分離株の薬剤感受性に関する調査**

平成21～22年に県内2か所の病院で分離されたカンピロバクターの収集解析を行った．当所に搬入された菌株は48株で，内訳は *C. jejuni* 46株，*C. coli* 2株であった．分離菌について薬剤感受性試験，Penner 型別を行った．

**コリネバクテリウム・ウルセランス保有状況調査**

動物管理センターおよび動物病院との共同調査として平成22年6月～ 2 月にイヌ・ネコ82匹についてジフテリ

ア毒素保有型コリネバクテリウム・ウルセランスとその他のコリネバクテリウム属菌の保有調査を行った．その結果ジフテリア毒素保有型コリネバクテリウム・ウルセランスは検出されなかった．なお3月以降の検査は本年度中に完了しなかったため，来年度に報告する．

［精度管理］

**内部精度管理**：富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき，県内4厚生センター，食肉検査所，富山市保健所および衛生研究所の7機関について，内部精度管理調査を行った．試料は当所で作製しそれぞれに配布した．調査項目は，牛乳の一般生菌数測定および模擬食品中の腸管出血性大腸菌の検出とした．なお，模擬食品は市販のひき肉を原料とし，腸管出血性大腸菌を2検体に接種し，接種しない1検体と計3検体を各機関に配布した．回答結果は，一般生菌数測定，腸管出血性大腸菌検出ともにすべての機関で良好であった．この回答結果については本年報にその詳細を掲載している．

**外部精度管理**：前述の精度管理規定に基づき，外部精度管理調査に参加した．

［レファレンスセンター事業］

**レンサ球菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会，希少感染症研究事業）**

2010年1～12月の分離株について，A 群溶血レンサ球菌44株（愛知県衛生研究所21株および富山県衛生研究所23株）の T 型別結果を報告した．また，東海北陸地区で発生した13例の劇症型溶連菌感染症例および B 群溶連菌139株の型別結果についても報告した．

**レジオネラの東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会，希少感染症研究事業）**

平成22年度に患者から分離されたレジオネラ菌3株（富山県，石川県で分離）について，国立感染症研究所に送付した．2株は血清型が *Legionella pneumophila* SG1であったが1株は *Legionella londeniensis*，であった．市販されていない抗血清とコントロールとなる加熱菌をブロック内に配付した．

**結核の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会，希少感染症研究事業）**

結核菌の遺伝子型別 VNTR の研修会が愛知衛研で行なわれ，詳細な説明と実施するに際しての問題点などが協議された．VNTR の Ver.2のキットを配付した．

# 化　学　部

［行政および依頼検査］

**食品等の検査**

**添加物及び成分規格等**：県内で生産されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁，沈殿物，ヒ素，鉛，カドミウム及びスズ），惣菜等の保存料（安息香酸，ソルビン酸）及び甘味料（サッカリンナトリウム）試験、並びに生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の試験を行ったところ、46検体（総項目数198 ）全てが食品衛生法の規格基準または使用基準に適合していた．

**残留農薬等**：県内産主要農産物の玄米，トマト，小松菜等の9種22検体について，有機リン系（フェニトロチオン等），ピレスロイド系（ペルメトリン等），有機塩素系（ディルドリン等），含窒素系（フルトラニル等）の約90農薬を調査した（総項目数1,813項目）．トマト１検体からイプロジオン0.04ppm（基準値5.0ppm），キャベツ１検体からフェンバレレート0.02ppm（同3.0ppm），ぶどう１検体からクレソキシムメチル0.07ppm（同15ppm）及びシペルメトリン0.05ppm（同2.0ppm），ぶどう１検体からクレソキシムメチル0.04ppm（同15ppm）及びシペルメトリン0.03ppm（同2.0ppm），玄米1検体からフラメトピル0.03ppm（同1ppm）検出されたが、全て基準値以下であった。平成19年12月から20年1月の間に国内で中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け，県内で市販されている輸入冷凍加工食品32検体について，メタミドホス，ジクロルボスを含む有機リン系化合物等56農薬を調査したところ，いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）．

平成22年11月、県内店舗で購入した白キクラゲ（中国産）を調理して食べた後、身体の不調を訴え、健康被害が疑われた食品について、コリンエステラーゼ阻害反応による殺虫剤検出キットを用いた有機リン系農薬類のスクリーニング検査を実施したが、農薬は検出されなかった。

**重金属等**：富山湾産魚介類について，17魚種20検体（アジ，カマス等）の総水銀を測定したところ，19検体から検出され，濃度は0.01～0.10 ppm（暫定的規制値0.4 ppm）であった．またシイラやタチウオ等の7魚種10検体のトリブチルスズオキシド（いずれも規制値なし）を測定したところ，全て不検出であった（定量限界0.02 ppm）．

**家庭用品検査**

消臭、洗浄スプレーや防水スプレーなどの家庭用洗浄剤，エアロゾル製品10検体について，テトラクロロエチレン及びトリクロロエチレンあるいはメタノールの規格試験を，また羊毛製品（衣類）5検体についてディルドリンの試験を行ったところ，いずれの製品からも検出されず，規格基準に適合していた．

**水質検査**

**管理目標設定項目**：水道水源の水質監視に伴い，水道原水27検体及び浄水24検体について，亜硝酸態窒素，アンチモン及びトルエン等13項目（総項目数240）の検査を行った．また農薬類としてシマジン等37項目（総項目数374）の検査も行った．うち2検体からウラン0.0004 mg/L及び0.0005 mg/L（目標値0.002 mg/L）が，1検体からニッケル0.001 mg/L（目標値0.01 mg/L)が,また5検体から抱水クロラール0.001～0.003 mg/L（目標値0.005 mg/L)が検出された．その他の項目はいずれも不検出であった．

**要検討項目**：水道水源の水質監視に伴い，水道原水29検体及び浄水29検体について，銀など重金属類，スチレンなど揮発性有機化合物，フタル酸ジ(n-ブチル)などフタル酸エステル類，ブロモクロロ酢酸などハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどハロアセトニトリル類等24項目（総項目数688）の検査を行った．全ての検体はいずれの項目も不検出であった．

**ゴルフ場使用農薬**：県内におけるゴルフ場周辺の飲用井戸水について，平成22年5月（21件）及び11月（21件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等41項目）の検査（総項目数514）を行った.全ての井戸水から農薬は検出されなかった．

**温泉分析**

温泉資源保護を目的として，氷見・高岡地区温泉密集地域の17源泉（今年度より新たに1源泉追加）の主要成分等について，経年変化調査を行った．うち2つの源泉の成分濃度に大幅な増加が見られ，1つの源泉の泉質が「ナトリウム－塩化物泉」から「ナトリウム－塩化物強塩泉」となった．その他，ここ数年で濃度変化の大きい源泉が2つあり，来年度以降の観察が必要である．

［調査研究］

**食品中の成分及び添加物に関する調査研究**

自然界における糖類はD-グルコースを代表とする，いわゆるD-糖から構成されているが，L-糖を含む希少糖は存在するのか，ビタミンC合成経路の中間体であるL-ガラクトースに注目して検討した．野菜や加工食品を用いてL-ガラクトースの検出を試みたが，これまでのところ検出されておらず，今後もさらに検討する予定である．

**輸入食品中の有害物質に関する調査研究**

輸入食品から農薬が検出される事件が多発し，食の安全が求められている中，県の輸入食品検査検討会で指摘のあった有害化学物質について調査を実施し，含有状況を把握するなど，県民の食の安全・安心に直結した調査研究を行っている．平成20年に中国で乳幼児4万人に健康被害を及ぼしたメラミンや，有害金属のヒ素，鉛，カドミウムについて，これまで試験方法の妥当性評価を実施した後，調査を実施してきた。今後も，検討会で要望が高い項目の調査を予定している．

**飲料水及び温泉に関する調査研究**

**飲用されている「とやまの名水」の調査**：飲用されている「とやまの名水」の環境保全や衛生管理・飲用対策の基礎資料とするための水質調査を平成15年度から行っている．今年度は名水16箇所について，水質管理目標設定項目23項目（うち農薬10項目）及び要検討項目24項目の検査を行った（総項目数752）．いずれの項目も不検出であった．飲用されている「とやまの名水」については，名水の管理者，市町村，県が連携して取り組んでいる衛生管理・飲用対策により，良好な水環境が保たれていると考えられた．

**日常の検査業務に適する簡便，迅速な多成分一斉分析法の開発**

D-及びL-ガラクトースをアルカリ条件下で加熱すると，それぞれ対応するタロース光学異性体が生成した．

タロースの加熱はガラクトースの生成をもたらした．しかし，酸性から中性条件下では，上記の異性化反応は起こらなかった．

［精度管理調査］

**食品検査の精度管理**：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」（平成10年12月制定）に基づき，平成11年度から県内の厚生センター等の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持，向上を目的とした精度管理調査を実施している．今年度は5機関において，みそ中の保存料（ソルビン酸）の定量試験の調査を実施したところ，全ての検査機関の検査結果は良好で，「十分管理されている」と判断できる結果が得られた．

**水質検査の精度管理**：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき，県内の水道水質検査を実施する機関を対象に，今年度はマンガン及びその化合物（以下、「マンガン」という。）と硝酸態窒素について精度管理調査を実施した．

マンガンの精度管理には市販マンガン標準液を添加した当所水道水（１Ｌにつき0.021 mg 添加）を用いた．参加15機関のうち Grubbs の異常値検定(危険率5%)により棄却される機関はなかった．測定値の平均値±標準偏差は0.0207±0.000446 mg/L，機関間変動係数は2.15%，機関内変動係数は0.26〜1.90%であった．

硝酸態窒素の精度管理には市販ミネラルウォーターを用いた．参加20機関のうち Grubbs の異常値検定(危険率5%)により棄却される機関はなかった．測定値の平均値±標準偏差は1.53±0.0492 mg/L，機関間変動係数は3.23%，機関内変動係数は0.0〜4.94%であった．

マンガン，硝酸態窒素ともに，機関内・機関間のばらつきは小さく，報告された検査結果は概ね良好であった．

# 環　境　保　健　部

**カドミウム汚染地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）**

**１次検診**：昭和54年度から実施してきた環境省（庁）委託の健康調査方式が，平成９年度から新しい方式に改められた．平成22年度は，対象者2,015名中661名が１次検診を受診した．

**精密検診**：１次検診の結果，尿中β2-マイクログロブリン濃度が5.0㎎/gCr 以上または尿検査で尿蛋白（±）以上の陽性を示した者125名が精密検診の対象となった．精密検診は指定医療機関である富山大学附属病院，富山県立中央病院，富山市民病院の３医療機関で行われ，受診者87名の尿，血液について所定の検査を行った．

**高齢未受診者に対する追加検診**：平成22年度は，上記検診に加え，平成9年以降神通川流域住民健康調査を一度も受診していない80歳以上の者を対象に，環境省委託で追加検診が実施され，１次検診分の検査を行った．

**管理検診**：イタイイタイ病要観察者に対する管理検診については,対象者がいないので実施されなかった．

**イタイイタイ病認定申請に伴う検査**：申請のあった1名について,該当する尿および血液検査を実施した．

［調査研究］

**肥満体質遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究**

特定健康診査受診者の肥満，ライフスタイルと HOMA 指数（インスリン抵抗性の指標）の関連をみたところ，男女とも BMI25以上の肥満者の HOMA 指数が高かった．ライフスタイルとの関連をみると，女性では「運動習慣なし」,「間食あり」で HOMA 指数が高かった．しかし，BMI で補正することにより有意性が消失したことから，インスリン抵抗性を引き起こす主たる要因は肥満と考えられた．一方，男性では「飲酒習慣あり」の HOMA 指数が低く，BMI で補正してもその関連は有意であった．さらに，推定飲酒量との間には U 字型の関係が示唆された．

**環境汚染物質の生体影響に関する研究**

生活環境が大きく異なる対象での有機リン化合物曝露状況を比較するため，富山と東京都心の大学に通う学生について，居住環境や食習慣に関するアンケートと，尿中アルキルリン酸の調査を行った．居住環境が違ってもアルキルリン酸の検出率に差はみられず，東京のほうが濃度レベルが高い項目もあった．また,食品摂取状況との関連では,果物の摂取が多いほどアルキルリン酸濃度が高値を示し，富山では，野菜・果物のジュース摂取量とも相関がみられたことから，果物摂取が有機リン曝露に寄与していることが示唆された．

**メタボリック症候群に対する海洋深層水温浴の効果に関する研究**

深層水を用いた長期・継続的な運動浴の効果について検討した．対象者は，BMI25以上または腹囲がメタボリック症候群のスクリーニング基準を上回る男女85名である．対象者は，週1回以上，3ヶ月間，34℃の深層水中で歩行浴を主とした運動浴を行った．運動浴期間の前後に，身体測定，血液検査並びにアンケート調査等を行った．終了時調査に参加した74名のうち，はじめて深層水施設を利用した男性26名，女性29名について検討したところ，女性では，体重が0.9kg および腹囲が3.2cm 有意に減少した．収縮期血圧が低下し，下肢筋力の増加がみられた．血液検査では，HDL コレステロールとアディポネクチンの有意な増加がみられた．男性では，体重が0.7kg 減少し，腹囲が2.0cm 減少した．下肢筋力の増加がみられた．また，収縮期血圧の減少傾向と，血液検査では HDL コレステロールの増加傾向がみられた．男性では，深層水運動浴回数と体重および腹囲の変化（減少）との間に相関がみられた．以上のことから，3ヶ月間の継続的な深層水運動浴により，腹囲の減少，下肢筋力の増加等，腹部肥満者への効果が示唆された．深層水運動浴のメタボリック症候群対策への利用の可能性があるものと考えられた．

（富山大学医学部との共同研究，平成20年度から22年度の3年計画）

**骨粗鬆症予防法の確立に関する研究**

①　中高年女性の低強度の身体活動が，骨量減少予防にどの程度寄与するかを調べるために，高岡市主催の健康運動教室に参加している住民の協力を得て，2年間の調査を開始した．おもな調査内容は，開始時，1年経過時，終了時の尿血液検査及び骨密度測定並びに期間を通じてのライフコーダの装着による身体活動量の観察である．平成22年8月から19名を対象に実施中．

②　射水市主催の運動教室「いみず貯筋教室」に平成17年から19年度までに参加した193名に，保存血液の検査について文書で同意を求めたところ，156名から同意が得られた．同意を得た検体についてメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素（MTHFR）遺伝子多型を測定し，その結果を本人に通知した．ひき続き，対象者の保存血液を使用し，血清ホモシステイン濃度，葉酸濃度の測定を行っている．

## (9) 検　査　状　況

（　）内項目数

| 部名 | 区分 | 行政検査 | 依頼検査 |
|---|---|---|---|
| がん研究部 | 先天性代謝異常検査 | 9,352 ( 56,112 ) | |
| | 染色体検査 | 18 ( 18 ) | 214 ( 214 ) |
| | 衛生動物検査 | 1,845 ( 1,845 ) | 2 ( 2 ) |
| | 小計 | 11,215 ( 57,975 ) | 216 ( 216 ) |
| ウイルス部 | 感染源検査 | 859 ( 859 ) | ( ) |
| | 血清学的検査 | 1,161 ( 2,331 ) | |
| | 小計 | 2,020 ( 3,190 ) | 0 ( 0 ) |
| 細菌部 | 感染症にかかわる検査 | 243 ( 474 ) | ( ) |
| | 食中毒にかかわる検査 | 118 ( 151 ) | |
| | 食品検査 | 406 ( 679 ) | 7 ( 7 ) |
| | 水質検査 | 130 ( 209 ) | 67 ( 74 ) |
| | 小計 | 897 ( 1,513 ) | 74 ( 81 ) |
| 化学部 | 食品にかかわる検査 | 152 ( 3,928 ) | |
| | 家庭用品検査 | 15 ( 20 ) | |
| | 水質検査 | 154 ( 2,139 ) | 44 ( 603 ) |
| | 温泉分析 | 17 ( 170 ) | 0 ( 0 ) |
| | 小計 | 338 ( 6,257 ) | 44 ( 603 ) |
| 環境保健部 | カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査等 | 820 ( 2,872 ) | |
| | 小計 | 820 ( 2,872 ) | 0 0 |

## 検　査　内　容

（　）内項目数

### がん研究部

[行政検査]

| | |
|---|---|
| 1. 先天性代謝異常検査 | 9,352 ( 56,112 ) |
| 2. 染色体検査 | |
| (1) 血　液 | 0 ( 0 ) |
| (2) 羊　水 | 15 ( 15 ) |
| (3) 胎　児 | 3 ( 3 ) |
| 3. 衛生動物等検査 | |
| (1) 衛生・不快動物 | 1,842 ( 1,842 ) |
| (2) 食品混入異物 | 3 ( 3 ) |

[依頼検査]

| | |
|---|---|
| 1. 染色体検査 | |
| (1) 血　液 | 67 ( 67 ) |
| (2) 羊　水 | 104 ( 104 ) |
| (3) 胎　児 | 43 ( 43 ) |
| 2. 衛生動物等検査 | |
| (1) 衛生・不快動物 | 0 ( 0 ) |
| (2) 食品混入異物 | 2 ( 2 ) |

### ウイルス部

[行政検査]

| | |
|---|---|
| 1．感染源検査 | |
| (1) インフルエンザ | 259 ( 259 ) |
| (2) ポリオ | 71 ( 71 ) |
| (3) その他ウイルス | 188 ( 188 ) |
| (4) リケッチア | 1 ( 1 ) |
| (5) 食中毒および集団発生 | 340 ( 340 ) |
| 2．血清学的検査 | |
| (1) インフルエンザ | 384 ( 1,536 ) |
| (2) ポリオ | 0 ( 0 ) |
| (3) 日本脳炎　ヒト | 240 ( 240 ) |
| 　　ブタ | 384 ( 384 ) |
| (4) エイズ | 143 ( 147 ) |
| (5) その他のウイルス | 8 ( 14 ) |
| (6) リッチケア | 2 ( 10 ) |

## 細　　菌　　部

[行政検査]

| | | |
|---|---|---|
| 1．感染症にかかわる検査 | | |
| (1) 結核菌 | 1 | ( 1 ) |
| (2) レジオネラ | 13 | ( 62 ) |
| (3) 腸管出血性大腸菌 | 37 | ( 219 ) |
| (4) 溶連性レンサ球菌 | 192 | ( 192 ) |
| 2．食中毒にかかわる検査 | | |
| (1) 糞便 | 6 | ( 12 ) |
| (2) 病原性大腸菌 | 4 | ( 30 ) |
| (3) カンピロバクター | 103 | ( 103 |
| (4) 黄色ブドウ球菌 | 5 | ( 6 ) |
| 3．食品検査 | | |
| (1) 収去検査 | 58 | ( 58 ) |
| (2) 食中毒検査 | 138 | ( 167 ) |
| (3) その他 | 210 | ( 454 ) |
| 4．水質検査 | | |
| (1) 海水浴場水 | 80 | ( 100 ) |
| (2) 海水 | 32 | ( 64 ) |
| (3) 名水 | 18 | ( 45 ) |

[依頼検査]

| | | |
|---|---|---|
| 1．食品検査 | | |
| (1) 食品検査 | 7 | ( 7 ) |
| 2．水質検査 | | |
| (1) 水道水源水 | 19 | ( 20 ) |
| (2) 海水浴場水 | 48 | ( 54 ) |

## 化　　学　　部

[行政検査]

| | | |
|---|---|---|
| 1．食品にかかわる検査 | | |
| (1) 食品成分および添加物 | 54 | ( 249 ) |
| (2) 残留農薬 | 68 | ( 3,649 ) |
| (3) 重金属類 | 30 | ( 30 ) |
| 2．家庭用品検査 | | |
| (1) メチルアルコール | 5 | ( 5 ) |
| (2) ﾃﾄﾗｸﾛﾛｴﾁﾚﾝ及びﾄﾘｸﾛﾛｴﾁﾚﾝ | 5 | ( 10 ) |
| (3) ディルドリン | 5 | ( 5 ) |
| 3．水質検査 | | |
| (1) 水質基準項目 | 0 | ( 0 ) |
| (2) 管理目標設定項目 | 59 | ( 822 ) |
| (3) 要検討項目 | 70 | ( 1,032 ) |
| (4) ゴルフ場使用農薬 | 21 | ( 257 ) |
| (5) その他 | 4 | ( 28 ) |
| 4.温泉分析 | | |
| (1) 中分析 | 0 | ( 0 ) |
| (2) その他 | 17 | ( 170 ) |

[依頼検査]

| | | |
|---|---|---|
| 1. 水質検査 | | |
| (1) 水質基準項目 | 5 | ( 122 ) |
| (2) 管理目標設定項目 | 8 | ( 160 ) |
| (3) 要検討項目 | 4 | ( 40 ) |
| (4) ゴルフ場使用農薬 | 21 | ( 257 ) |
| (5) その他 | 6 | ( 24 ) |
| 2. 温泉分析 | | |
| 中分析 | 0 | ( 0 ) |

## 環　境　保　健　部

[行政検査]

| | | |
|---|---|---|
| 1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査 | | |
| (1) 神通川流域住民健康調査 | | |
| 1次検診　尿検査 | 732 | ( 1,464 ) |
| 精密検診　尿，血液検査 | 87 | ( 1,392 ) |
| (2) イタイイタイ病要観察者の管理検診 | | |
| 尿，血液検査 | 0 | ( 0 ) |
| (3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査 | | |
| 尿，血液検査 | 1 | ( 16 ) |

[依頼検査]

## ⑽　科学研究費補助金

| 研　究　課　題 | 所　属 | 研　究　者 | 補助金等事業名 |
|---|---|---|---|
| 検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究 | がん研究部 | 九曜雅子（協力） | 厚生労働科学研究費補助金<br>成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業<br>タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究 |
| トコジラミの殺虫剤感受性と駆除法の検討 | がん研究部 | 山内健生 | 厚生労働科学研究補助金<br>新興・再興感染症研究事業<br>節足動物が媒介する感染症への効果的な対策に関する総合的な研究 |
| 中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いにおける蚊類幼虫調査<br>富山県のイノシシと寄生マダニ類におけるリケッチア保有調査 | ウイルス部<br>がん研究部 | 滝澤剛則<br>小原真弓<br>山内健生<br>渡辺　護 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）<br>地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究 |
| 感染症患者情報と病原体情報の評価について（非流行期のインフルエンザサーベイランス） | ウイルス部 | 倉田　毅<br>堀元栄詞<br>滝澤剛則 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業） |
| 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況 | ウイルス部 | 小原真弓<br>岩井雅恵<br>小渕正次<br>堀元栄詞<br>滝澤剛則 | 厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）<br>食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 |
| 富山県における A 型肝炎発生状況 | ウイルス部 | 小原真弓<br>堀元栄詞<br>滝澤剛則 | 厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）<br>A 型肝炎発生報告増加に対する食品衛生上の原因究明と予防対策 |
| 下水中のポリオウイルス性状解析と下水処理過程におけるエンテロウイルス量の変化に関する調査 | ウイルス部 | 岩井雅恵 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）<br>エンテロウイルス感染症制御のための診断・予防治療に関する国際連携研究<br>研究分担者 |
| 北陸地区における麻疹ウイルス検査状況と麻疹検体輸送培地の検討 | ウイルス部 | 岩井雅恵 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）<br>早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究<br>研究協力者 |
| パンデミック（H1N1）2009インフルエンザウイルスのオセルタミビル耐性株サーベイランスに関する調査研究 | ウイルス部 | 小渕正次 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業） |
| テロの可能性のある病原体等の早期検知・迅速診断法の開発とその評価法の確立に関わる研究 | ウイルス部 | 倉田　毅<br>滝澤剛則 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業） |
| 地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究 | ウイルス部 | 滝澤剛則<br>小渕正次 | 厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業） |

| 研　究　課　題 | 所　属 | 研　究　者 | 補助金等事業名 |
|---|---|---|---|
| ノロウイルスの地域内浸潤の分子的背景の解明 | ウイルス部 | 滝 澤 剛 則 | 文部科学省（日本学術振興会）<br>基盤研究Ｃ<br>研究代表者 |
| Long-term analyses of the population dynamics of Culex tritaeniorhynchus and Anopheles sinensis, and serological survey of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 | ウイルス部 | 滝 澤 剛 則 | 文部科学省（日本学術振興会）<br>研究成果公開促進費（学術図書）<br>代表者 |
| Improvement of an environmental surveillance system to comprehensively track polioviruses in an area. | ウイルス部 | 滝 澤 剛 則 | World Health Organization Proposal of a Collaborative Research Project (Short-Form)<br>研究代表者 |
| 病原体保管，輸送，廃棄における一括管理システムの開発 | 細　菌　部<br>ウイルス部 | 倉 田　毅<br>滝 澤 剛 則<br>綿 引 正 則 | 厚生労働科学研究費補助金<br>新興・再興感染症研究事業 |
| 循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究 | 細　菌　部 | 磯 部 順 子 | 厚生労働科学研究費補助金<br>地域健康危機管理研究事業 |
| 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的,疫学的調査解析機能の強化に関する研究 | 細　菌　部 | 倉 田　毅<br>綿 引 正 則<br>磯 部 順 子 | 厚生労働科学研究費補助金<br>新興・再興感染症研究事業 |
| ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究 | 細　菌　部 | 木 全 恵 子<br>磯 部 順 子 | 厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) |
| 地方衛生研究所における網羅的迅速検査法の確立と，その精度管理の実施，及び疫学機能の強化に関する研究 | 細　菌　部 | 嶋　智 子<br>綿 引 正 則 | 厚生労働科学研究費補助金<br>健康安全・危機管理対策総合研究事業 |
| 腸管出血性大腸菌ベロ毒素産生におけるプロファージ・宿主ゲノム配列多型の寄与 | 細　菌　部 | 木 全 恵 子 | 文部科学省科学研究費補助金 若手研究（B) |
| 植物及び食品中における L-糖の探索 | 化　学　部 | 小 玉 修 嗣 | 文部科学省（日本学術振興会）<br>基盤研究Ｃ<br>研究代表者 |
| 難分解性金属キレート剤を指標とした水環境汚染実態の解明 | 化　学　部 | 健 名 智 子 | 文部科学省（日本学術振興会）<br>基盤研究Ｃ<br>研究代表者 |
| 日常食の汚染物質摂取量及び汚染物モニタリング調査研究 | 化　学　部 | 調 査 協 力 | 厚生労働科学研究費補助金<br>食品の安心・安全確保推進研究事業 |
| インドネシア西ジャワ農村部における地域の持続可能性と健康 | 環境保健部 | 中崎美峰子（分担）<br>新 村 哲 夫（協力） | 文部科学省<br>基盤研究Ａ（海外学術）<br>分担研究者 |

## ⑾ 講　師　派　遣

| 主　題 | 講　師 | 会合名 | 年月日 | 場　所 |
|---|---|---|---|---|
| 疫学（感染症） | 堀元栄詞 | 保健学科講義 | 平22.4.16～6.4（計4回） | 県総合衛生学院 |
| 医療関連感染症と地方衛生研究所の関係 | 綿引正則 | 富山県臨床衛生検査技師会生涯教育研修会 | 平22.5.26 | 富山県医師会館 |
| 新興再興感染症と衛生研究所の役割について | 倉田毅<br>滝澤剛則 | ウイルス感染症制御学講義 | 平22.6.25 | 金沢大学 |
| 産地判別 | 小玉修嗣 | 環境物理分析学講義 | 平22.7.7 | 金沢大学 |
| ふるさと発見講座/教養・実践コース 食中毒をふせぐためのウラオモテ | 綿引正則 | 県民カレッジ高岡センター | 平22.7.17 | 高岡地区センター |
| 今時の予防接種事情 | 堀元栄詞 | 平成22年度砺波厚生センター管内母子保健推進員研修会 | 平22.8.31 | 砺波総合庁舎 |
| 富山県における新型インフルエンザ（A/H1N1）の流行状況 | 堀元栄詞 | 第27回富山県感染対策研究会 | 平22.9.11 | 富山大学杉谷キャンパス |
| 感染症と微生物 | 倉田毅<br>滝澤剛則<br>綿引正則<br>磯部順子<br>堀元栄詞<br>小原真弓 | 富山赤十字看護専門学校講義 | 平22.10.6, 10.13, 10.20, 10.27, 11.19, 11.25, 12.2, 12.6, 12.20, 平23.1.13, 1.20, 1.27, 2.3, 2.10, 2.14 | 富山赤十字看護専門学校 |
| 骨粗鬆症の予防<br>－元気で長生きするために－ | 田中朋子 | 県民カレッジ<br>教養・実践コース | 平22.10.9 | ウイングウイング高岡 |
| インフルエンザウイルス検査診断実習（HI法） | 小渕正次 | 平成22年度短期研修ウイルス研修 | 平22.10.12 | 国立感染症研究所 |
| 保育所における感染症対策 | 堀元栄詞 | 富山市主査保育士研修会 | 平22.10.14 | 富山市役所 |
| ゲノムから細菌をみる<br>－ゲノム配列情報を如何に検査に応用するか | 綿引正則 | 麻布大学大学院特別講義 | 平22.11.22 | 麻布大学 |
| 注目される感染症とその対応について | 堀元栄詞 | 平成22年度養護教諭研修会 | 平22.11.30 | 富山県総合教育センター |
| キャピラリー電気泳動分析 | 小玉修嗣 | 食品分析学特論 | 平22.12.1 | 中部大学 |
| 産地判別 | 小玉修嗣 | 機器分析化学 | 平22.12.2 | 中部大学 |
| ウイルスについて | 滝澤剛則 | 富山県消防学校特殊災害科 | 平22.12.2 | 富山県消防学校 |
| 細菌について | 磯部順子 | 富山県消防学校特殊災害科 | 平22.12.9 | 富山県消防学校 |
| ウイルスの特性 | 滝澤剛則 | 富山県消防学校専科教育救急科（第13期） | 平22.12.13 | 富山県消防学校 |
| これまでの海洋深層水を用いた健康増進研究について | 新村哲夫 | 富山湾に学ぶ会 | 平23.2.19 | とやま市民交流館 |
| 医療関連感染症と地方衛生研究所の関係（研究班活動から考える） | 綿引正則 | （社）新潟県臨床検査技師会　感染制御部門疫学・公衆衛生分野研修会 | 平23.2.26 | 新潟大学駅南キャンパス |
| 身のまわりの嫌な虫～同定依頼検査で確認した虫たち～ | 山内健生 | 第27回中部地区一般検査研修会 | 平23.3.5 | 富山国際会議場 |

## ⑿ 研　修　指　導

| 所属および対象者 | 研　修　期　間 | 研　修　内　容 | 担　当 |
|---|---|---|---|
| 新潟検疫所富山空港出張所<br>職員 | 平22.4.1<br>～平23.3.31 | 動物由来感染症病原体を媒介する動物の侵淫状況の調査に関する研修 | ウイルス部<br>がん研究部 |
| 医師臨床研究（地域保健）臨床医受入にともなうバイオセーフティ講義 | 平22.5.31，9.6，<br>10.4，11.5，12.6<br>平23.1.24，2.14 | 病原体の管理について（講義） | 細　菌　部 |
| 高岡厚生センター受入れ<br>臨床研修医 | 平22.6.2，9.8，<br>11.17，12.8，<br>平23.1.26，2.16 | 衛生研究所の役割を把握し HIV 検査を体験する | ウイルス部 |
| 中国遼寧省疾病予防コントロールセンター　職員　安　淑一 | 平22.6.29～11.19 | 細菌感染症にかかる検査技術 | 細　菌　部 |
| 夏休みこども科学研究室 | 平22.8.6 | ウイルスって何？<br>～ウイルスの模型を作ろう～ | ウイルス部 |
| 県立いずみ高校　教職員研修 | 平22.8.18～8.20 | 衛生研究所の業務内容の研修<br>インフルエンザウイルス検査実習 | 細　菌　部<br>ウイルス部<br>環境保健部<br>がん研究部<br>化　学　部 |
| 医師臨床研究（地域保健）臨床医受入 | 平22.9.7，10.8 | 衛生研究所検査の実際<br>（腸炎ビブリオ汚染実態調査） | 細　菌　部 |
| 環境科学センター　藤島 裕典 | 平22.10.20，10.22，<br>10.26，10.28，<br>11.4，11.8，<br>11.11 | P&T-GC/MS 操作法実習 | 化　学　部 |
| 食肉検査所<br>安田 純子，松浦 涼子 | 平23.3.9 | LC/MS/MS によるイベルメクチンの確認試験 | 化　学　部 |

## ⒀ 研　修　受　講

| 受講者氏名 | 研修期間 | 研　修　内　容 | 研 修 機 関 | 講師所属氏名 |
|---|---|---|---|---|
| 倉田　毅<br>綿引正則<br>磯部順子<br>嶋　智子<br>小原真弓 | 平22.5.25<br>～26 | 衛生微生物技術協議会<br>第31回研究会 | かごしま県民交流センター | 国立感染症研究所<br>渡邉治雄　他 |
| 高橋直人 | 平22.6.28<br>～7.6 | 実地疫学統計研修（計画立案編） | 国立保健医療科学院 | 国立保健医療科学院<br>佐田文宏　他 |
| 金谷潤一 | 平23.1.24<br>～2.4 | 水道クリプトスポリジウムに係る技術研修 | 国立保健医療科学院 | 国立保健医療科学院<br>秋葉道宏　他 |
| 小渕正次<br>木全恵子 | 平23.2.24<br>～25 | 平成22年度希少感染症診断技術研修会 | 国立感染症研究所<br>（東京都） | 国立感染症研究所<br>渡邉治雄　他 |
| 米田　豊<br>九曜雅子 | 平23.3.5 | 日本マス・スクリーニング学会<br>第29回技術部会研修会 | 広島医師会館 | 国立病院機構岡山医療センター小児科<br>古城真秀子　他 |

## ⑭ 客員研究員招へい

| 客員研究員氏名 | 所属職名 | 招へい期間 | 指導内容等 |
|---|---|---|---|
| 渡辺知保 | 東京大学医学系研究科国際保健学専攻人類生態学分野 | 平22.12.1～2 | 重金属を中心とする環境中化学物質の健康影響について |

## ⑮ 研究成果発表会

1　日　　時　　平成22年12月22日（水）15：00～17：30
2　場　　所　　富山国際会議場201号室
3　対　　象　　一般県民等125名
4　研究所の概要紹介
　　次長　高田　吉弘
5　講　　演　　所長　倉田　毅　「インフルエンザパンデミックとは何であったか」
6　研究成果発表

| 所属 | 発表者 | 演題 |
|---|---|---|
| がん研究部 | 山内健生 | 知っておきたいマダニの話 |
| 化学部 | 大戸幹也 | 輸入食品等を中心とした有害物質の試験検査について |
| 環境保健部 | 田中朋子 | 衛研における骨粗鬆症予防研究のこれまでとこれから |

## ⑯ 各種規程等

| 名称 | 施行 | 最終改正 |
|---|---|---|
| 実験動物管理運営規程・動物実験施設利用規程 | 昭和59年 4月 1日 | 平成14年9月1日 |
| 研修生規程 | 昭和63年 4月 1日 | 平成4年4月1日 |
| 研修生受入審査会要綱 | 昭和63年 4月 1日 | 平成16年4月 1日 |
| 病原体等安全管理規程 | 平成10年 4月 1日 | 平成21年6月17日 |
| 機種選定委員会要綱 | 平成13年 7月 1日 | |
| 研究評価実施要領 | 平成15年 5月28日 | 平成21年7月31日 |
| 倫理審査委員会設置要綱 | 平成15年 5月28日 | 平成22年5月14日 |
| 組換えＤＮＡ実験安全管理規程 | 平成15年 9月18日 | |
| 感染症発生予防規程 | 平成19年 6月 1日 | |
| 競争的研究資金等に関する取扱規程 | 平成19年11月15日 | |
| 放射線障害予防規程 | 平成21年 6月15日 | 平成22年4月1日 |
| 毒物及び劇物取扱規程 | 平成21年 7月 1日 | |
| 知的財産権検討委員会設置要綱 | 平成21年 8月 1日 | |

# 2．調　査　研　究　報　告

# 富山県における新生児マス・スクリーニングの成果について
## （平成22年度の検査成績）

九曜　雅子　　米田　豊　　高田　吉弘　　吉田　智子[1]

Results of the Neonatal Mass Screening in Toyama Prefecture
(April 2010～March 2011)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Tomoko YOSHIDA[1]

**要　旨**　平成22年度の検体総数は9,352件で，スクリーニングの結果，ガラクトース血症（ガラクトキナーゼ欠損症）1人と先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）4人の合計5人の患者が発見された．これで，スクリーニング開始当初からの患者数は，代謝異常症が34年間で40人（フェニルケトン尿症5人，メイプルシロップ尿症1人，ホモシスチン尿症0人，ガラクトース血症1人，ヒスチジン血症33人），先天性甲状腺機能低下症が31年間で143人，先天性副腎過形成症が22年間で12人となった．また，検査対象外の疾病については，今年度までに，高フェニルアラニン血症14人，チロジン血症2人，グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症2人，シトリン欠乏症2人が発見されている．

先天性代謝異常マス・スクリーニングは，昭和52年4月に厚生省母子保健事業の一環として導入され，都道府県および政令市が主体となり，代謝異常症の早期発見，早期治療により心身の障害を未然に防止するという目的で実施された．

富山県では，昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき，公費負担により，フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を実施してきており，平成22年度のスクリーニング結果について報告する．

## 実　施　方　法

1．対象疾病

フェニルケトン尿症，ホモシスチン尿症，メイプルシロップ尿症，ガラクトース血症，先天性甲状腺機能低下症，先天性副腎過形成症の6疾病を対象とした．

2．対象者

県内で出生した新生児のうち，保護者がこの検査を希望した者を対象とした．

3．検査期間

本報では，平成22年4月より，平成23年3月までの検査実施状況をまとめた．

4．スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血された濾紙血液を用いた．

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

高速液体クロマトグラフィー(HPLC)により，濾紙血中のフェニルアラニン，ロイシンおよびメチオニンを迅速分析法（9分法）[1,2]で測定した．

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレートGAL」使用）により，濾紙血液中のガラクトースを測定した．ガラクトースの抽出には，トランスファープレートを使用する改良法[3]を用いた．

また，全検体について，自家調製試薬[4]によるBeutler法で，Galactose-1-phosphate uridyl transferase活性の有無を検査した．なお，判定用の濾紙は，短時間でも判定可能であるWatman DE 81[5]を使用した．

③先天性甲状腺機能低下症

ELISA（栄研化学社製キット「クレチンTSH ELISAⅡ'栄研'」使用）によるTSH（Thyroid stimulating hormone）値の測定を行った．

④先天性副腎過形成症

ELISA（シーメンスヘルスケア•ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレートNeo-17α-OHP」

1．富山県厚生部健康課

使用）による17-OHP（17-hydroxy progesterone）値の測定を行った．

(3) 検体のサンプリング

バーコードを利用した自動サンプリング[6]を行った．

(4) 判定基準

表1に示した．

表1の判定基準に従い，疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し，再検査を行った．再検査でも疑陽性となった場合は，直ちに精密検査機関を受診するよう主治医に報告した．緊急に精密検査を要する場合は，初回検査でも，直ちに主治医に連絡し，小児科受診を勧奨した．

(5) 結果報告

毎週金曜日に，その前週の月～金曜日に受付したすべての検体の検査結果を各医療機関に郵送で報告した．

(6) データ処理

検査検体の受付事務処理，検査結果の報告，月報集計，年度集計などのデータ管理は，当所で開発した動的データ管理システム[7]を用いた．

## 結　　果

1．検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は，9,352件で，県内35か所の医療機関（おもに産婦人科医院）より送付されてきたものである．

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した．今年度の出生数は 8,252人[8]であり，初回検体数8,877件（人）から計算すると受検率は107.6%となるが，初回検体のうち県内在住者は7,593人，県外在住者は1,284人であることから，いわゆる「里帰り分娩」を含めない受検率は92.0%であった．また，県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため，県内の新生児のほとんどが，この検査を受けているものと思われる．

初回検体のうち8,482件(95.6%)は正常と判定されたが，285件(3.2%)は疑陽性のため，105件(1.2%)は採血後日数が経っている等の不備検体のため，再採血を依頼した．また，5件(0.06%)は初回検査で直ちに精密検査が必要（直接精査）と判定された．

再採血検体として受付した475件のうち，46件(9.7%)が要精検と判定された．今年度の要精検数は，直接精査の5件と合わせて，51件となった．

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾病別の疑陽性による再採血依頼数を示した．再採血率は代謝異常症4疾病で0.4%，先天性甲状腺機能低下症が1.3%，先天性副腎過形成症が1.9%となり，合計3.5%であった．再採血率の目安は代謝異常症4疾病で0.5%程度，先天性甲状腺機能低下症は0.5～1.0%，先天性副腎過形成症は0.3～0.5%で6項目合わせて2%程度が適当とされている[9]．これと比較すると，今年度は，先天性副腎過形成症の再採血率が高かった．低出生体重児は，副腎機能が未熟であり，またストレス状態にあることが多いため，17-OHP が高くなる例が多いが，今年度は，表2に示したように，再採血依頼数のうちの約40%が低出生体重児であった．

また，1検体でいくつかの疾病が重複して疑陽性となる例が5件あった．そのうち1件は3疾病が疑陽性となった例であった．これらの重複例の詳細は，2疾病

**表１．判定基準**

| 対象疾病 | 検査法 | 測定物質 | 判定基準値 | |
|---|---|---|---|---|
| | | | 疑陽性 | 緊急に精密検査が必要 |
| フェニルケトン尿症 | HPLC | Phenylalanine (Phe) | ≧2.0mg/dl | |
| ホモシスチン尿症 | HPLC | Methionine (Met) | ≧1.0mg/dl | |
| メイプルシロップ尿症 | HPLC | Leucine (Leu) | ≧3.0mg/dl | ≧7.0mg/dl |
| ガラクトース血症 | Microplate 酵素法<br>ボイトラー法 | Galactose (Gal)<br>Galactose-1-Phospate Uridyltransferase | ≧3.0mg/dl<br>蛍光がない | Gal 3.0mg/dl 以上でボイトラー法で蛍光がない |
| 先天性甲状腺機能低下症（クレチン症） | ELISA | Thyroid-Stimulating Hormone (TSH) | ≧8.0μU/ml | ≧30μU/ml |
| 先天性副腎過形成症 | ELISA | 17-α-Hydroxy Progesterone (17-OHP) | 直接法<br>≧10ng/ml<br><br>抽出法<br>≧4.0ng/ml | 直接法10ng/ml 以上で何らかの症状がある<br><br>抽出法<br>≧10ng/ml |

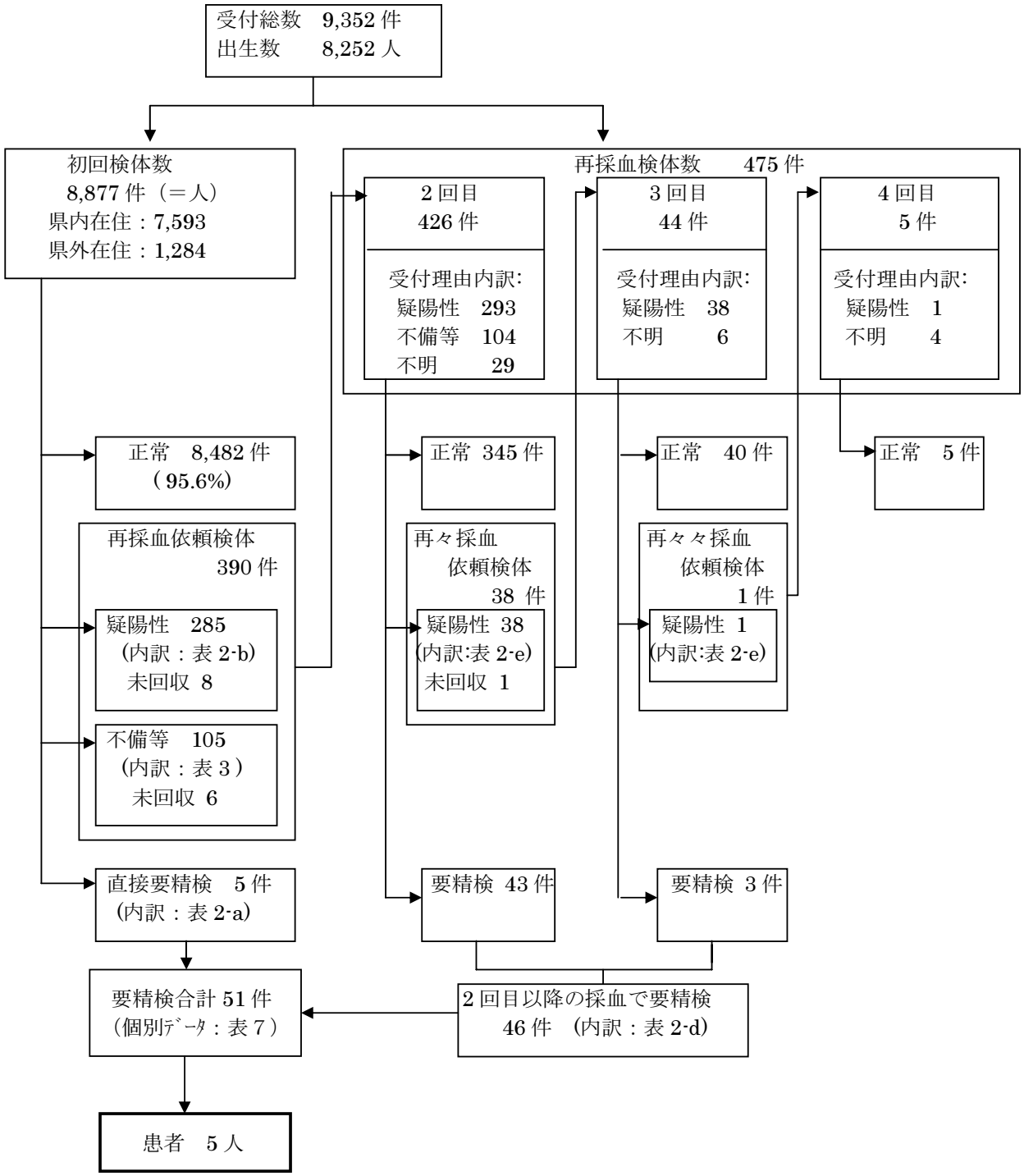



**図１．検査の流れおよび検査件数の概要**

が疑陽性となった例については，フェニルケトン尿症とメイプルシロップ尿症が1件，フェニルケトン尿症とホモシスチン尿症が1件，先天性甲状腺機能低下症と先天性副腎過形成症が2件であった．3疾病での重複例については，フェニルケトン尿症，ホモシスチン尿症，メイプルシロップ尿症の疑陽性であった．

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は324件で，そのうち，平成23年6月10日現在，313件の再採血検体を回収した．回収率は96.6%であった．

再採血を依頼しても１か月以上検体が送られてこない場合は再依頼しているが，それでも回収できなかった症例のほとんどは NICU や小児科から送付された検体であり，これらについては医療機関でフォローアップされていると考えられる．

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表3に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示し

**表２．疑陽性による再採血依頼数および要精密検査検体数の内訳**

| | 採血回数 | | | | | 総受付検体(9,352件)〔 〕:患者数 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 初回(8,877件) | | | 2回以上(475件) | | | | |
| | 直接精査 (a) | 疑陽性による再採血依頼数 (b) | 再採血率 (%) (c) | 要精検数 (d) | 疑陽性による再採血依頼数 (e) | 要精検合計〔患者数〕 (f)=(a)+(d) | 疑陽性総件数 (g)=(b)+(e) | 再採血率 (%) (h) |
| フェニルケトン尿症 | 0 | 4 | 0.05 | 2 | 1 | 2 | 5 | 0.05 |
| ホモシスチン尿症 | 0 | 1 | 0.01 | 0 | 1 | 0 | 2 | 0.02 |
| メイプルシロップ尿症 | 0 | 8 | 0.09 | 1 | 1 | 1 | 9 | 0.10 |
| ガラクトース血症 | 0 | 17 | 0.19 | 4 | 3 | 4〔1〕 | 20 | 0.21 |
| 先天性甲状腺機能低下症 | 2 | 111 | 1.25 | 21 | 7 | 23〔4〕 | 118 | 1.26 |
| 先天性副腎過形成症 | 3 | 147 | 1.66 | 18 | 29 | 21 | 176 | 1.88 |
| (うち出生体重2000g 未満児の数) | (1) | (47) | | (2) | (24) | (3) | (71) | |
| 合計 | 5 | 288＊1 | 3.24 | 46 | 42＊2 | 51〔5〕 | 330 | 3.53 |

＊１　擬陽性の重複例3件(3項目)を含む.
＊２　擬陽性の重複例2件(3項目)を含む.

た．3日以内に採血された検体は2件，血液量が不足していた検体は3件，採血後日数が経ち過ぎた古い検体は8件（最長 11日）で，古い検体のうち1件は低出生体重児であった．古い検体については，いずれも年末年始や5月の連休明けに受付したものであった．

2,000g 未満の低出生体重児については，①生後１か月時②体重が2,500ｇに達した時期③医療施設を退院する時期のうち，いずれか早い時期に再採血を依頼している[10]．今年度は87件に対して再採血を依頼した．このうち2件が哺乳不良であった．また，哺乳不良のみの検体は6件であった．

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は105件で，このうち再検査できたのが99件（回収率94.3%）であった．

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

検査実施状況の月別比較，年度推移並びに全国集計との比較をそれぞれ表4，表5および表6に示した．

なお,全国集計は，特殊ミルク情報[11]より引用した．富山県における現在までの患者発見率は，検査対象の代謝異常症が1/9,300，先天性甲状腺機能低下症が1/2,400，先天性副腎過形成症が1/19,000である．全国の患者発見率と比較すると，先天性甲状腺機能低下症の発生頻度が有意に高いといえる(P<0.01)．

２．要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は，代謝異常症が36人，先天性甲状腺機能低下症が118人，先天性副腎過形成症が176人であった．このうち，精密検査の必要が認められたのは，代謝異常症7人，先天性甲状腺機能低下症23人，先天性副腎過形成症21人であった．

表7に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた．当所では，精密検査が必要となった場合，スクリーニング結果連絡の際に，診断結果記入用紙を同封し，精密検査実施病院名，主治医名，精密検査結果及び診断名を記入し返送してもらうシステム [12]となっている．この記入用紙回収率は，平成23年6月10日現在，72.5%（37例/ 51例）と低かった．しかし，未回収例14例のうち9例については精密検査実施病院（小児科）からフォローアップ検体[12]が当所に届いており，中には定期的に送付される例もあった．また，この他の未回収例5例についても小児科を受診したことが確認できていることから，記入用紙が回収できていない例については経過観察中の例であると考えられた．

なお，今年度当所に届いたフォローアップ検体は延べ84検体であった．今年度要精密検査となった51例のうちでは，25例46検体についてフォローアップ検査を行った．

要精密検査者の主な症例について経過を報告する．

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで2人，メイプルシロップ尿症の疑いで1人，ガラクトース血症の疑いで4人の計7人が要精密検査となった．

フェニルケトン尿症の疑いの2症例は，いずれもフォローアップ検体が当所に届いている例である．

症例1は，フェニルアラニン水酸化酵素の異常による軽度の高フェニルアラニン血症と診断されており，一年以上経った現在も Phe 値は2mg/dl 前後で経過し

**表３．疑陽性以外の理由による再採血依頼数**

| 不備理由 | 件数 |
|---|---|
| 3日以内に採血 | 2 |
| 血液量不足 | 3 |
| 古い | 7 |
| 哺乳不良 | 6 |
| 低体重，哺乳不良 | 2 |
| 低体重，古い | 1 |
| 低体重 | 84 |
| 合　　計 | 105 |

**表４．月別検査実施状況**

| 年 | | | 平成22年 | | | | | | | | | 平成23年 | | | 計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 月 | | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | |
| 受付検体総数（件） | | | 759 | 760 | 812 | 795 | 827 | 790 | 795 | 792 | 731 | 781 | 716 | 794 | 9,352 |
| 内訳 | 初回検査数（件） | | 707 | 722 | 777 | 764 | 794 | 752 | 768 | 747 | 693 | 735 | 668 | 750 | 8,877 |
| | 再採血総数（件） | | 52 | 38 | 35 | 31 | 33 | 38 | 27 | 45 | 38 | 46 | 48 | 44 | 475 |
| | 再採血内訳 | 2回目 | 50 | 34 | 30 | 27 | 29 | 36 | 23 | 41 | 29 | 41 | 45 | 41 | 426 |
| | | 3回目 | 2 | 4 | 4 | 4 | 3 | 2 | 3 | 3 | 9 | 5 | 2 | 3 | 44 |
| | | 4回以上 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 5 |
| 疑陽性件数（要精検数） | フェニルケトン尿症 | | 1(1) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1(1) | 1 | 1 | 1 | 0 | 5(2) |
| | ホモシスチン尿症 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| | メイプルシロップ尿症 | | 0(1) | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 1 | 2 | 2 | 0 | 9(1) |
| | ガラクトース血症 | | 3(2) | 0 | 0 | 1 | 1(1) | 2 | 2(1) | 3 | 1 | 2 | 4 | 1 | 20(4) |
| | 先天性甲状腺機能低下症 | | 16(4) | 14(3) | 9(1) | 6(2) | 12(2) | 7(1) | 7(1) | 8(1) | 7 | 11(4) | 12(2) | 9(2) | 118(23) |
| | 先天性副腎過形成症 | | 13(3) | 9(1) | 15 | 13(1) | 15(1) | 8(3) | 11 | 25(2) | 18 | 15(1) | 18(6) | 16(3) | 176(21) |
| 計 | | | 33(11) | 24(4) | 24(1) | 20(3) | 29(4) | 18(4) | 21(2) | 37(4) | 29 | 31(5) | 38(8) | 26(5) | 330(51) |

**表５．先天性代謝異常等検査実施状況**

| 区分 / 期間 | 受付総数（件） | 検査実人員数（人） | 出生数（人） | 受検率（%） | 疑陽性数 代謝異常症 | 疑陽性数 甲状腺機能低下症 | 疑陽性数 副腎過形成症 | 要精検数 代謝異常症 | 要精検数 甲状腺機能低下症 | 要精検数 副腎過形成症 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 昭和52年度～54年度 | 29,229 | 28,450 | 39,688 | 71.7 | 262 | － | － | 6 (4) | － | － |
| 昭和55年度～63年度 | 122,841 | 115,435 | 116,956 | 98.7 | 1,811 | 841 | － | 75 (27) | 130(25) | － |
| 平成元年度～16年度 | 183,241 | 171,673 | 160,698 | 106.8 | 2,272 | 2,350 | 1,529 | 150 (8) | 422(71) | 249(11) |
| 平成17年度 | 10,382 | 9,827 | 9,079 | 108.2 | 33 | 131 | 123 | 8 (0) | 26(13) | 8(0) |
| 平成18年度 | 10,216 | 9,711 | 9,445 | 102.8 | 39 | 135 | 95 | 5 (0) | 25(6) | 10(0) |
| 平成19年度 | 10,067 | 9,550 | 9,326 | 102.4 | 64 | 136 | 118 | 6 (0) | 22(8) | 21(1) |
| 平成20年度 | 9,926 | 9,466 | 8,723 | 108.5 | 46 | 140 | 137 | 9 (0) | 16(8) | 14(0) |
| 平成21年度 | 9,845 | 9,275 | 8,600 | 107.8 | 71 | 168 | 180 | 4 (0) | 25(8) | 14(0) |
| 平成22年度 | 9,352 | 8,877 | 8,252 | 107.6 | 36 | 118 | 176 | 7 (1) | 23(4) | 21(0) |
| 計 | 395,099 | 372,264 | 370,767 | － | 4,634* | 4,019 | 2,358 | 270*(40**) | 689(143) | 337(12) |

（　）は，対象疾病患者数

＊，＊＊：昭和52年度～平成5年度分のヒスチジン血症の数（疑陽性137人，要精検39人，患者33人）を含む

＊　＊：この他に対象疾病以外の患者20人あり（高フェニルアラニン血症14人，チロジン血症2人，G6PD 異常症2人，シトリン欠乏症2人）

表６．マススクリーニングによる富山県および全国の患者発見状況

| 区　分 | 富　山　県 | | | | 全　国 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 期　間 | 平成22年度 | | 昭和52年度～平成22年度 | | 平成21年度 | | 昭和52年度～平成21年度 | |
| 受検者数 | 8,877人 | | 372,264人 | | 1,140,782人 | | 41,397,519人 | |
| 患者数，発見率 / 疾病名 | 患者数（人） | 発見率 | 患者数（人） | 発見率 | 患者数（人） | 発見率 | 患者数（人） | 発見率 |
| フェニルケトン尿症 | 0 | | 5 | 1/ 74,500 | 17 | 1/ 67,100 | 558 | 1/ 74,200 |
| ホモシスチン尿症 | 0 | | 0 | | 0 | | 194 | 1/213,400 |
| ヒスチジン血症 | — | | 33 | 1/ 6,000[1] | — | | 2,200 | 1/ 9,600[4] |
| メイプルシロップ尿症 | 0 | | 1 | 1/372,300 | 0 | | 80 | 1/517,500 |
| ガラクトース血症 | 1 | 1/8,900 | 1 | 1/372,300 | 19 | 1/ 60,000 | 1,121 | 1/ 37,000 |
| 先天性甲状腺機能低下症 | 4 | 1/2,200 | 143 | 1/ 2,400[2] | 625 | 1/ 1,800 | 11,880 | 1/ 3,200[5] |
| 先天性副腎過形成症 | 0 | | 12 | 1/ 19,000[3] | 60 | 1/ 19,000 | 1,513 | 1/ 16,800[6] |

1) 昭和52年度～平成 5年度 受検者数 197,180人
2) 昭和55年度～平成22年度 受検者数 343,814人
3) 平成元年度～平成22年度 受検者数 228,379人
4) 昭和52年度～平成 4年度 受検者数 21,119,892人
5) 昭和54年度～平成21年度 受検者数 38,041,477人
6) 昭和63年度～平成21年度 受検者数 25,401,542人

ている．

症例2は，約1か月間 Phe 値の軽度上昇が認められたが，その後は値が低下し，身体的にも明らかな異常がないことから経過観察となった．

ガラクトース血症の疑いの症例1は，日齢5の初回検査で Gal 値はスケールオーバー（70mg/dl 以上）であったが，ボイトラー法は正常であり，再採血検体での再検査となった．日齢8の再採血検体による検査でも，Gal 値はスケールオーバー，ボイトラー法正常であったため，二次検査として Gal-1-P を測定したところ，ほとんど検出されなかった．これらの結果からガラクトキナーゼ（GALK）欠損症が強く疑われ，要精密検査となった．精密検査の結果，児の GALK 残存活性は12.1%，両親は43.6%，37.8%（大阪市立大学小児科岡野善行先生測定）であった．新生児期の GALK 活性は正常成人の約3倍の高値を示す[13]ことから，児の実質の GALK 活性は3～4%となり，GALK 欠損によるガラクトース血症と診断された．

症例3は，Gal 高値が持続，ボイトラー法正常，Gal-1-P は2mg/dl であり，要精密検査となった．児は，心臓疾患のため NICU に入院中であり，精密検査の結果，総胆汁酸，$NH_3$が上昇しており，門脈大循環シャントと診断された．１か月後に当所に届いたフォローアップ検体での検査では Gal 値は正常範囲内であり，シャントは自然閉鎖したと考えられるとのことであった．

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった23人のうち，患者と診断されたのは，症例3，8，11，14の4人であった．

まず，患者と診断された症例について報告する．症例3は，日齢10の再検査の結果でも TSH 値が高く，要精密検査となった．精密検査の結果， TSH は48.7μU/ml（血清）とさらに高くなっており，$FT_4$は0.9ng/dl で低下が認められたことから，先天性甲状腺機能低下症と診断された．

症例8は，日齢5の初回検査時で TSH 値はスケールオーバーしており，即要精密検査となった．日齢14に小児科を受診し，精密検査の結果，TSH 419μU/ml（血清），$FT_4$ 0.3ng/dl であり，患者と診断され，即日ホルモン補充療法による治療が開始された．

症例11も，症例8と同様，初回検査で TSH 値がスケールオーバーしており，即要精密検査となった．検査の結果，患者と診断された．

症例14は，日齢5の初回検査では TSH カットオフ値（8μU/ml）をわずかに超える程度で疑陽性となった．日齢15での再採血検体による検査の結果では，TSH 値が上昇しており，要精密検査となった．精密検査の結果，TSH 38.4μU/ml（血清），$FT_4$ 1.1ng/dl

表７．要精検患者の検査状況と結果（１）

| 疾病名 | 症例 | 患者 | 性別 | 日齢 | 検査成績 | 診断名等 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ﾌｪﾆﾙｹﾄﾝ尿症 | 1 | | 女 | 5 | Phe　2.20 mg/dl | 軽症の高フェニルアラニン血症（ﾌｪﾆﾙｱﾗﾆﾝ水酸化酵素異常） |
| | | | | | 2.00 | |
| | | | | 12 | Phe　2.24 mg/dl | |
| | | | | | 2.14 | |
| | 2 | | 男 | 5 | Phe　2.65 mg/dl | 一過性軽度高フェニルアラニン血症疑い（経過観察） |
| | | | | | 2.52 | |
| | | | | 11 | Phe　2.27 mg/dl | |
| | | | | | 2.23 | |
| ﾒｲﾌﾟﾙｼﾛｯﾌﾟ尿症 | 1 | | 男 | 5 | Leu　3.30 mg/dl | 異常なし |
| | | | | | 3.52 | |
| | | | | 12 | Leu　3.79 mg/dl | |
| | | | | | 3.42 | |
| ｶﾞﾗｸﾄｰｽ血症 | 1 | * | 男 | 5 | Gal　70mg/dl以上 | ガラクトース血症（GALK欠損症） |
| | | | | | ボイトラー法正常 | |
| | | | | 8 | Gal　70mg/dl以上 | |
| | | | | | ボイトラー法正常 | |
| | 2 | | 男 | 4 | Gal　6.94 mg/dl　ボイトラー法正常 | フォローアップ検体正常 |
| | | | | | 6.68 | |
| | | | | 7 | Gal　5.10 mg/dl　ボイトラー法正常 | |
| | | | | | 4.97 | |
| | 3 | | 女 | 7 | Gal　8.77 mg/dl　ボイトラー法正常 | 門脈大循環シャント |
| | | | | | 9.53 | |
| | | | | 15 | Gal 10.15 mg/dl　ボイトラー法正常 | |
| | | | | | 10.15 | |
| | 4 | | 女 | 5 | Gal　4.66 mg/dl　ボイトラー法正常 | フォローアップ検体正常 |
| | | | | | 4.50 | |
| | | | | 13 | Gal　4.24 mg/dl　ボイトラー法正常 | |
| | | | | | 4.16 | |
| 甲状腺機能低下症 | 1 | | 女 | 5 | TSH　9.49 μU/ml | 一過性高TSH血症 |
| | | | | | 8.73 | |
| | | | | 10 | TSH 10.54 μU/ml | |
| | | | | | 11.54 | |
| | 2 | | 男 | 5 | TSH　9.02 μU/ml | 小児科受診 |
| | | | | | 8.68 | |
| | | | | 13 | TSH 18.38 μU/ml | |
| | | | | | 20.06 | |
| | 3 | * | 女 | 4 | TSH 20.46 μU/ml | 先天性甲状腺機能低下症 |
| | | | | | 21.26 | |
| | | | | 10 | TSH 19.98 μU/ml | |
| | | | | | 18.84 | |
| | 4 | | 女 | 5 | TSH　8.35 μU/ml | 一過性高TSH血症 |
| | | | | | 9.34 | |
| | | | | 10 | TSH 11.88 μU/ml | |
| | | | | | 10.57 | |
| | 5 | | 女 | 4 | TSH 10.74 μU/ml | 一過性高TSH血症 |
| | | | | | 11.58 | |
| | | | | 11 | TSH　8.16 μU/ml | |
| | | | | | 8.58 | |
| | | | | 25 | TSH　8.42 μU/ml | |
| | | | | | 8.89 | |
| | 6 | | 女 | 5 | TSH　3.31 μU/ml | 先天性甲状腺機能低下症もしくは低出生体重による一過性甲状腺機能低下 |
| | | | | 32 | TSH 30.82 μU/ml | |
| | | | | | 30.76 | |
| | 7 | | 男 | 4 | TSH　8.19 μU/ml | 一過性高TSH血症の疑い |
| | | | | | 8.26 | |

表７．要精検患者の検査状況と結果（２）

| 疾病名 | 症例 | 患者 | 性別 | 日齢 | 検査成績 | 診断名等 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 甲状腺機能低下症 | 7 | | 男 | 13 | TSH 10.02 μU/ml<br>10.89 | 一過性高TSH血症の疑い |
| | 8 | * | 女 | 5 | TSH234.1 μU/ml | 先天性甲状腺機能低下症 |
| | 9 | | 女 | 4 | TSH 9.22 μU/ml<br>9.02 | 一過性高TSH血症 |
| | | | | 11 | TSH 11.87 μU/ml<br>11.89 | |
| | 10 | | 男 | 4 | TSH 8.86 μU/ml<br>8.80 | 先天性甲状腺機能低下症疑いとして治療開始 |
| | | | | 12 | TSH 21.65 μU/ml<br>18.76 | |
| | 11 | * | 女 | 5 | TSH250.64 μU/ml | 先天性甲状腺機能低下症 |
| | 12 | | 男 | 5 | TSH 12.46 μU/ml<br>14.47 | クレチン症の疑い（一過性高TSH血症） |
| | | | | 12 | TSH 12.98 μU/ml<br>10.00 | |
| | 13 | | 男 | 4 | TSH 8.81 μU/ml<br>8.46 | 高TSH血症 |
| | | | | 12 | TSH 10.57 μU/ml<br>10.31 | |
| | 14 | * | 男 | 5 | TSH 8.10 μU/ml<br>8.69 | 先天性甲状腺機能低下症 |
| | | | | 15 | TSH 14.17 μU/ml<br>13.60 | |
| | 15 | | 男 | 5 | TSH 8.32 μU/ml<br>9.11 | 小児科受診 |
| | | | | 12 | TSH 12.75 μU/ml<br>11.92 | |
| | 16 | | 女 | 11 | TSH 11.38 μU/ml<br>10.62 | 新生児一過性高TSH血症 |
| | | | | 17 | TSH 18.49 μU/ml<br>19.26 | |
| | 17 | | 女 | 5 | TSH 10.68 μU/ml<br>12.42 | 一過性甲状腺機能低下症疑い |
| | | | | 12 | TSH 16.06 μU/ml<br>17.66 | |
| | 18 | | 女 | 4 | TSH 9.27 μU/ml<br>10.71 | クレチン症の疑い |
| | | | | 11 | TSH 14.33 μU/ml<br>13.54 | |
| | 19 | | 男 | 5 | TSH 14.39 μU/ml<br>15.03 | 先天性甲状腺機能低下症疑い |
| | | | | 12 | TSH 21.08 μU/ml<br>20.28 | |
| | 20 | | 男 | 4 | TSH 23.64 μU/ml<br>26.40 | 小児科受診 |
| | | | | 10 | TSH 20.06 μU/ml<br>22.69 | |
| | 21 | | 女 | 5 | TSH 8.36 μU/ml<br>8.59 | 一過性高TSH血症 |
| | | | | 14 | TSH 10.79 μU/ml<br>11.51 | |
| | 22 | | 男 | 4 | TSH 13.81 μU/ml<br>11.65 | 高TSH血症（先天性甲状腺機能低下症疑い） |
| | | | | 8 | TSH 16.15 μU/ml | |

表７．要精検患者の検査状況と結果（３）

| 疾病名 | 症例 | 患者 | 性別 | 日齢 | 検査成績 | 診断名等 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 16.77<br>17.41 | |
| 甲状腺機能低下症 | 23 | | 女 | 5 | TSH 11.00 μU/ml<br>13.72 | 新生児一過性高TSH血症 |
| | | | | 12 | TSH 25.20 μU/ml<br>23.38 | |
| 先天性副腎過形成症 | 1 | | 男 | 5 | 17-OHP 10.79ng/ml 17-OHP 3.05ng/ml<br>直接法 9.36 抽出法 | 正常（一過性高ACTH血症）<br>在胎週数 37.2 週<br>生下時体重 3570 g |
| | | | | 10 | 17-OHP 10.83ng/ml 17-OHP 3.16ng/ml<br>直接法 11.38 抽出法 | |
| | | | | 17 | 17-OHP 8.60ng/ml 17-OHP 2.44ng/ml<br>直接法 抽出法 | |
| | 2 | | 女 | 4 | 17-OHP 11.84ng/ml 17-OHP 3.75ng/ml<br>直接法 10.28 抽出法 | 軽度の高17-OHP血症（経過観察中）<br>在胎週数 38 週<br>生下時体重 2859 g |
| | | | | 8 | 17-OHP 11.20ng/ml 17-OHP 4.09ng/ml<br>直接法 13.14 抽出法 | |
| | 3 | | 女 | 6 | 17-OHP 8.46ng/ml 17-OHP 4.07ng/ml<br>直接法 8.63 抽出法 | 小児科受診<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 3204 g |
| | | | | 13 | 17-OHP 6.86ng/ml 17-OHP 4.06ng/ml<br>直接法 6.55 抽出法 | |
| | 4 | | 女 | 6 | 17-OHP 10.74ng/ml 17-OHP 6.22ng/ml<br>直接法 11.22 抽出法 | 早産児に伴う偽陽性<br>在胎週数 29 週<br>生下時体重 1428 g |
| | | | | 26 | 17-OHP 9.45ng/ml 17-OHP 6.18ng/ml<br>直接法 9.70 抽出法 | |
| | 5 | | 女 | 5 | 17-OHP 6.72ng/ml 17-OHP 4.27ng/ml<br>直接法 6.77 抽出法 | 正常<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2885 g |
| | | | | 16 | 17-OHP 8.41ng/ml 17-OHP 4.51ng/ml<br>直接法 7.79 抽出法 | |
| | 6 | | 男 | 5 | 17-OHP 21.92ng/ml 17-OHP13.31ng/ml<br>直接法 25.15 抽出法 | フォローアップ検体検査値低下<br>在胎週数 35.1 週<br>生下時体重 2172 g |
| | 7 | | 男 | 5 | 17-OHP 11.38ng/ml 17-OHP 5.97ng/ml<br>直接法 9.44 抽出法 | 異常なし<br>在胎週数 36 週<br>生下時体重 2065 g |
| | | | | 12 | 17-OHP 23.66ng/ml 17-OHP12.10ng/ml<br>直接法 22.79 抽出法 | |
| | 8 | | 男 | 5 | 17-OHP 7.93ng/ml 17-OHP 4.76ng/ml<br>直接法 7.01 抽出法 | 異常なし<br>在胎週数 36 週<br>生下時体重 2010 g |
| | | | | 12 | 17-OHP 15.28ng/ml 17-OHP 9.22ng/ml<br>直接法 15.23 抽出法 | |
| | 9 | | 女 | 11 | 17-OHP 5.88ng/ml 17-OHP 4.15ng/ml<br>直接法 4.59 抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 31.3 週<br>生下時体重 1776 g |
| | | | | 26 | 17-OHP 11.31ng/ml 17-OHP 8.01ng/ml<br>直接法 12.59 抽出法 | |
| | 10 | | 女 | 7 | 17-OHP 8.35ng/ml 17-OHP 5.99ng/ml<br>直接法 8.87 抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2940 g |
| | | | | 22 | 17-OHP 6.37ng/ml 17-OHP 5.03ng/ml<br>直接法 7.42 抽出法 | |
| | 11 | | 女 | 4 | 17-OHP 7.37ng/ml 17-OHP 5.87ng/ml<br>直接法 7.41 抽出法 | 高17-OHP血症疑い<br>在胎週数 36 週<br>生下時体重 2610 g |
| | | | | 15 | 17-OHP 6.44ng/ml 17-OHP 4.42ng/ml<br>直接法 7.25 抽出法 | |
| | | | | 23 | 17-OHP 7.12ng/ml 17-OHP 5.62ng/ml<br>直接法 8.51 抽出法 | |
| | 12 | | 女 | 5 | 17-OHP 10.97ng/ml 17-OHP 4.12ng/ml | フォローアップ検体正常 |

表７．要精検患者の検査状況と結果（４）

| 疾病名 | 症例 | 患者 | 性別 | 日齢 | 検査成績 | 診断名等 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | 直接法　8.88　　抽出法 | 在胎週数 37 週<br>生下時体重 2910 g |
| 先天性副腎過形成症 | 12 | | 女 | 16 | 17-OHP 13.77ng/ml 17-OHP 4.33ng/ml<br>直接法 13.73　　抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2910 g |
| | 13 | | 男 | 5 | 17-OHP　6.17ng/ml 17-OHP 4.93ng/ml<br>直接法　7.39　　抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 39.5 週<br>生下時体重 3426 g |
| | | | | 24 | 17-OHP　5.45ng/ml 17-OHP 5.15ng/ml<br>直接法　6.60　　抽出法 | |
| | 14 | | 女 | 5 | 17-OHP　6.82ng/ml 17-OHP 4.42ng/ml<br>直接法　8.76　　抽出法 | 異常なし（経過観察は行う）<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2616 g |
| | | | | 8 | 17-OHP　8.40ng/ml 17-OHP 5.12ng/ml<br>直接法　8.89　　抽出法 | |
| | 15 | | 男 | 5 | 17-OHP　8.03ng/ml 17-OHP 4.34ng/ml<br>直接法　8.10　　抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 36 週<br>生下時体重 2628 g |
| | | | | 19 | 17-OHP 10.41ng/ml 17-OHP 4.85ng/ml<br>直接法 13.50　　抽出法 | |
| | 16 | | 男 | 6 | 17-OHP 17.35ng/ml 17-OHP 13.07ng/ml<br>直接法　　抽出法 | 早産児<br>在胎週数 34 週<br>生下時体重 2314 g |
| | 17 | | 男 | 4 | 17-OHP 12.69ng/ml 17-OHP 2.28ng/ml<br>直接法 12.52　　抽出法 | （一過性）高17-OHP血症<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2675 g |
| | | | | 10 | 17-OHP 18.18ng/ml 17-OHP 5.99ng/ml<br>直接法　　抽出法 | |
| | 18 | | 女 | 5 | 17-OHP　6.05ng/ml 17-OHP 4.24ng/ml<br>直接法　6.10　　抽出法 | 小児科受診<br>在胎週数 35.6 週<br>生下時体重 2195 g |
| | | | | 19 | 17-OHP　6.16ng/ml 17-OHP 4.75ng/ml<br>直接法　　抽出法 | |
| | 19 | | 女 | 6 | 17-OHP 18.58ng/ml 17-OHP15.68ng/ml<br>直接法 20.71　　抽出法 | フォローアップ検体正常<br>在胎週数 28 週<br>生下時体重 1022 g |
| | 20 | | 男 | 4 | 17-OHP　7.11ng/ml 17-OHP 5.18ng/ml<br>直接法　6.57　　抽出法 | 異常なし<br>在胎週数 40 週<br>生下時体重 3492 g |
| | | | | 11 | 17-OHP　7.95ng/ml 17-OHP 4.74ng/ml<br>直接法　8.86　　抽出法 | |
| | 21 | | 男 | 4 | 17-OHP 15.05ng/ml 17-OHP 4.84ng/ml<br>直接法 17.23　　抽出法 | 異常なし<br>在胎週数 37 週<br>生下時体重 2614 g |
| | | | | 12 | 17-OHP 10.99ng/ml 17-OHP 4.03ng/ml<br>直接法 11.46　　抽出法 | |

であり，先天性甲状腺機能低下症としてホルモン補充療法による治療が開始された．大腿骨遠位骨端核は良好に出現，甲状腺は位置，大きさとも正常とのことであった．

また，症例6，10，12については，いずれも治療が開始されているが，病気疑いという報告であったため，患者として数には計上しなかった．

症例6は，出生時体重1,016g の低体重児で，日齢5（採血時体重931g）の初回検査の結果は TSH 3.3μU/ml で正常範囲であったが，低体重児のため要再採血となった．日齢33（採血時体重1,504g）の再検査では，TSH 30.8μU/ml と高くなっており，要精密検査となった．精密検査の結果は，日齢37で TSH は11.0μU/ml（血清）であり，これは全血表示では6.3μU/ml 相当となり急激に低下していた．しかし，$FT_4$が0.6ng/dl で低下しており，ホルモン補充療法による治療が開始された．先天性甲状腺機能低下症もしくは低出生体重による一過性の機能低下との診断であった．この症例については，初回正常，１か月時の TSH 異常高値，その4日後の検査では TSH 値の急激な低下と，値の変動が大き過ぎるため，検体の取り違え，母親の甲状腺疾患や造影剤使用の有無についての調査を

おこなったが，いずれも否定された．

症例10は，患者と診断された症例14と同様にTSHカットオフ値（8μU/ml）をわずかに超える程度で疑陽性となり，その後の再検査でTSH値がさらに上昇し，要精密検査となった．診断結果は，病気疑いとして治療開始するとのことであった．

症例17も，症例10と同じような経過をたどっているが，一過性甲状腺機能低下症疑いとして治療しながら経過を見るとのことであった．

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった21人のうち，3人が2,000g未満の低出生体重児であった．今年度は，患者は発見されなかった．

症例1は，日齢5の初回検査で17-OHP直接法が10ng/ml以上であり，抽出法はカットオフ値4ng/ml以下であったが，要再検査となった．日齢10の再検査でも，直接法は10ng/mlを超えているが，抽出法がカットオフ値以下であるため，この時点では要精密検査とせず，再々採血を依頼した．3回目の検査では，17-OHP値は直接法も抽出法も低下していたが，医療機関での検査でACTHが132.0pg/mlと高値，コルチゾールは2.5μg/dlで低値であり，何らかの疾病が疑われるとのことから，要精密検査となった．7か月間経過観察されていたが，副腎の腫大や色素沈着等の身体所見はなく，一過性高ACTH血症と診断された．

症例2は，日齢4の初回検査で17-OHP直接法が10ng/ml以上であり，抽出法はカットオフ値以下であったが，要再採血となった．日齢8の再検査でも直接法は10ng/mlを超えており，抽出法もカットオフ値以上に上昇していたため，要精密検査となった．当所に届いた日齢19採血のフォローアップ検体による検査では，17-OHP値は直接法，抽出法ともにさらに上昇しており，男性化，塩喪失症状のない軽度の高17-OHP血症と診断された．非古典型21水酸化酵素欠損の可能性も含めて経過観察をするとのことであった．

症例11は，日齢4，15，23と3回検査を実施したが，17-OHP値は直接法，抽出法ともに低下は認められず要精密検査となった．当所に届いた日齢48，76採血のフォローアップ検体による検査では，17-OHP値は正常範囲に低下しており，臨床症状，検査結果ともに異常なしとのことから，無治療で経過観察するとのことであった．

症例6，9，10，12，13，15および19については，主治医からの最終的な診断結果は届いていないが，いずれもNICUからの検体であった．すべての症例で，フォローアップ検体が当所に届いており，これらの検体で検査した結果，どの症例においても17-OHP値の低下が認められている．

3．精度管理

新生児マス・スクリーニングの全国的な精度管理を行っている新生児スクリーニング研究開発センターから毎月10件ずつ送付されてくる精度管理検体については，アミノ酸，ガラクトース，TSH，17-OHPの異常検体はすべてカットオフ値以上で拾い上げ，見逃しはなかった．また，事務処理上の記入漏れ，記入間違いもなかった．

また，昨年度に引き続き，ブラインドサンプルによる外部精度管理[14，15]を実施した．今年度は，2検体が2ヶ所の病院から送付された．このうち1検体は，正常検体であった．正常検体の場合は，一般検体と同じように受付から約1週間後に，まとめて結果報告する際にブラインドサンプルと判明することになるため，異常検体の場合に比べ時間がかかるが，今回の場合は，事務処理が完結するまでに約20日間かかった．また，もう一方の検体については，『ブラインドサンプル』と書かれた袋に入って当所に届いたため，検査前にブラインドサンプルであることが判明してしまった．いずれの場合も，これからのブラインドサンプルによる外部精度管理を実施するうえでの課題として，検討する必要があると考えられ，協力いただいている先生方の診療に差し支えないような方法も考慮する必要があると思われた．

## 考　察

今年度は，本県で新生児マススクリーニング検査開始以来初めてのガラクトース血症（GALK欠損症）の患者が発見された．わが国でのGALK欠損症の頻度は1人/100万人[13]と言われており，非常に稀少な例である．

ガラクトース血症のスクリーニング検査では，遺伝的な酵素欠損による患者例よりも，他の要因による2次的なガラクトース高値例が多く見つかる[13]．当所でも，これまで，シトリン欠損症例，門脈形成異常例，乳児肝炎例等が発見されている．このように，スクリーニング検査により，検査対象以外の疾病も早期に発見できることは大きな意義があるが，精密検査機関での鑑別診断が必要となってくる．疾病を早期に診断し，早期に治療を開始するには，スクリーニング検査において，異常を迅速に確実に見つけ出し，的確な情報を医療機関に提供することが重要となってくる．そのためには，検査施設レベルでの鑑別検査が必要と考えられる．

我々は，フェニルケトン尿症とテトラヒドロビオプ

テリン（$BH_4$）欠乏症との鑑別のためのジヒドロプテリジン還元酵素（DHPR）活性の測定[16]，また，日常検査レベルで実施しているガラクトース血症の型の鑑別のための Gal-1-P 測定のほか，ボイトラー法異常のガラクトース血症（ガラクトース-1-リン酸 ウリジルトランスフェラーゼ：GALT 欠損症）とグルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）欠損症との鑑別のための G6PD 活性測定[17]などにより鑑別検査を行っている．

また，HPLC 法では，シトルリンやチロシンを測定すること[18]により，チロシン症やシトリン欠損症等の鑑別も可能である．

先天性甲状腺機能低下症では，検査施設レベルでの$FT_4$の測定により，早期に治療開始が可能となるうえ，遅発型患者の発見も可能である[19]とのことから，日常検査に導入する施設も数箇所ある．また，先天性副腎過形成症では，低出生体重児で異常となる例が多いことから，コルチゾール等の副腎ホルモン分析も必要であり，鑑別検査法については，今後さらに検討し，迅速に的確な情報を提供していきたいと考えている．

## 文　献


1. 米田　豊，九曜雅子(2004)．日本マス・スクリーニング学会誌，14(3)，29-39.
2. 米田　豊，九曜雅子(2010)．富山衛研年報，33，40-44.
3. 藤本昭栄，大浦敏明，長谷　豊（1991)．日本マス・スクリーニング学会誌，1(1)，211-212.
4. 米田　豊，九曜雅子(2005)．富山衛研年報，28，23-32.
5. 美澄博雄，高坂睦年，和田　洋，川上幹子，二宮福子，末石照香，市場洋三(1980)．代謝異常スクリーニング研究会会報，5，46-47.
6. 九曜雅子，米田　豊，前多隆志，吉田智子(2010)．富山衛研年報，33，27-39.
7. 米田　豊(1999)．富山衛研年報，22，　54-57.
8. とやま統計ワールド「平成22年富山県の人口」人口動態/自然動態，http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/index2.html
9. 市原　侃，鈴木　健，青木菊麿(1998)．日本マス・スクリーニング学会誌，8 Suppliment 2，73-81.
10. 猪股弘明，楠田　聡，大関武彦，藤枝憲二，山口清次，黒田泰弘，戸苅　創(2006)．日本マス・スクリーニング学会誌，16(3)，6-7
11. 先天性代謝異常検査等検査状況　厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課（平成21年度)．特殊ミルク情報，46，69-71.
12. 九曜雅子，米田　豊，五十嵐　登，二谷　武，津幡眞一，倉本　崇，齋藤万里子，三浦正義，松倉裕喜，今村博明，辻　隆男，吉田智子(2009)．日本マス・スクリーニング学会誌，19(3)，53-62.
13. 岡野善行(2006)．平成18年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会テキスト，59-74.
14. 原田正平(2007)．平成18年度厚生労働科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）分担研究報告書，161-164.
15. 鈴木恵美子，渡辺倫子，門脇真理，前田昌子，成瀬　浩，望月孝一，山上祐次，安片恭子，田崎隆二，九曜雅子，園山京子，吉井千代子，安部真理子，中村多加良，栗原秀子，佐々木純子，木谷美枝，松本智津子，平原史樹，加藤忠明，松井　陽，原田正平(2011)．平成22年度厚生労働科学研究費補助金（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）平成22年度総括・分担研究報告書，119-121.
16. 九曜雅子，米田　豊(2010)．富山衛研年報，33，133 -136.
17. 九曜雅子，米田　豊(2007)．日本マス・スクリーニング学会誌，17(3)，43-52.
18. 米田　豊，九曜雅子(2003)．富山衛研年報，26，48-54.
19. 朝倉由美(2003)．先天性代謝異常症等検査技術者研修会テキスト，85-92.

# ヒト染色体に関する調査研究　―血液―
## （平成22年度）

高森　亮輔　　林　美貴子　　品川　保弘　　高田　吉弘

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells（Apr. 2010－Mar. 2011）

Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and Yoshihiro TAKADA

**要 旨**　平成22年度の血液の染色体分析依頼数は67人，染色体異常数は2人であった。依頼理由は「不育症」が最も多く,79.1%をしめた．染色体異常の内訳は均衡転座保因者が1人，ダウン症候群が1人であった．

当所では富山県総合母子保健対策の一環として，先天異常の発生原因を明らかにする目的で染色体分析法の開発研究と染色体検査を昭和48年度から行ってきた．

一般に出生児の約0.6%が染色体異常といわれている[1]．これを富山県に単純に当てはめると年間の出生数が約8,200人であることから，約49人の染色体異常児が毎年出生することになる．しかし，先天異常を伴う場合には染色体検査を行い，確定診断が行われるが，先天異常を伴わない性染色体異常者や均衡転座保因者では新生児期に発見されないことが多く，長じて，低身長や原発性無月経，習慣性流産を主訴として初めて発見されることが多い．また，分染法の発達と特定の遺伝子近傍のDNAプローブを用いた蛍光in situハイブリダイゼーション（FISH）法の開発により，最近の染色体分析技術は従来に比較し，著しく向上してきており，微細な異常と臨床像をあわせ判定できる範囲が広がってきている現状である．

ここに，平成22年度の血液検体の検査状況および結果を報告する．

## 実　施　方　法

1. 検体の培養方法

血液検体の培養にあたっては成書[2]を参考にしながら，以下の手順でおこなった．

○通常法

・8mlのRPMI1640，1.5mlのFBS，0.2mlのPHAを分注した90mmφプラスチックシャーレ（以下，シャーレ）を4枚準備する．
・検体を1ml分注する．
・撹拌したのち，炭酸ガスインキュベータ内で3～4日間培養を行う．

○MTX同調培養法

・通常法で培養を行い，染色体標本の作成前日の16時間前に100μlのMTXを添加し，再び炭酸ガスインキュベータ内で培養を続ける．

2. 染色体標本の作成方法

○通常法

・1μl/mlに調製したコルセミド溶液100μlを添加し，炭酸ガスインキュベータ内で2時間処理する．
・1,600r.p.mで6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・血球部分を残し，上清部分を取り除く．
・事前に37℃に加温しておいた低調液を徐々に加え，8mlとする．
・37℃に設定したウォーターバスに入れ，23分間低調処理する．
・1,600r.p.mで6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・血球部分を残し，上清部分を取り除く．
・血球部分をピペットで静かに再浮遊させ，カルノア固定液1mlを重層させる．
・細胞懸濁液と固定液を静かに混和させる．

**表１．染色体検査依頼病院**

| 病　院 | 血液 |
|---|---|
| おとぎの森 | 4 |
| 済生会高岡病院 | 2 |
| さたけ産婦人科 | 2 |
| 高岡市民病院 | 4 |
| 富山市民病院 | 4 |
| 富山赤十字病院 | 5 |
| 富山大学附属病院 | 45 |
| むらた | 1 |
| 計（件） | 67 |

**表２．血液の染色体検査依頼理由と結果**

| 依　頼　理　由 | 検査数 | 判定数 | 異常数 | 症例 |
|---|---|---|---|---|
| 流産経験のある夫婦 | 57 | 57 | 1 | |
| 内訳　流産１回 | | 4 | 4 | |
| 流産２回 | | 19 | 19 | |
| 流産３回 | | 20 | 20 | 1 症例1 |
| 流産４回 | | 8 | 8 | |
| 流産５回 | | 2 | 2 | |
| 詳細記入なし | | 4 | 4 | |
| 18トリソミー症候群の疑い | 1 | 1 | 0 | |
| ダウン症候群の疑い | 1 | 1 | 1 | 症例2 |
| ターナー症候群の疑い | 1 | 1 | 0 | |
| 親族に障害者がいるため | 1 | 1 | 0 | |
| 羊水1750(47,XYY)の確認 | 2 | 2 | 0 | |
| 羊水1751(46,XY/47,XY,add(3))の確認 | 2 | 2 | 0 | |
| 羊水1753(46,XY,inv(9)(p12q13)の確認 | 2 | 2 | 0 | |
| 計(人) | 67 | 67 | 2 | |

・固定液をさらに加えて全量を8ml とし，4℃の冷蔵庫内で2時間固定する．
・1,600r.p.m で6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・約0.5ml を残し，上清部分を取り除く．
・沈殿した細胞を再浮遊させ，カルノア固定液8ml を加え，ピペットで静かに混和する．
・4℃の冷蔵庫内で10分間静置したのち，1,600r.p.m で6分間遠心，細胞を沈殿させる．-①
・約0.5ml を残し，上清部分を取り除く．-②
・①，②を2回繰り返す．
・固定液を加え，適度な濃度に細胞を浮遊させ，少量をパスツールピペットでスライドグラス上に滴下し，ただちに65℃に加温したウォーターバスの蒸気で固定液を蒸発させる．
・スライドグラス上の滴下箇所が完全に乾燥したことを確認する．
・トリプシン処理による G バンド染色は，標本作製の翌日以降に行う．

○MTX 同調培養法
・プラスチックチューブに血液検体を入れる．
・1,600r.p.m で6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・血球部分を残し，上清部分を取り除く．
・血球部分をピペットで静かに再浮遊させ，RPMI 8ml 入れ，静かに混和する．
・1,600r.p.m で6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・血球部分を残し，上清部分を取り除く．
・血球部分を8ml の RPMI1640で静かに混和し，シャーレに分注，1.5ml の FBS，0.1ml の TdR も加え，炭酸ガスインキュベータ内で5時間培養する．
・コルセミド溶液100μl を添加，炭酸ガスインキュベータ内で10分処理する．
・1,600r.p.m で6分間遠心，細胞を沈殿させる．
・血球部分を残し，上清部分を取り除く．
・事前に37℃に加温しておいた低調液（KCl のみ）を徐々に加え，8ml とする．
・37℃に設定したウォーターバスに入れ，23分間低調処理する．
後は，上記通常法と同様．

3. 染色体核型分析方法

核型分析は中期分裂像を5個以上，数の分析は20個以上について行った．性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性を考え，観察数を50個以上に増加した．また，FISH 法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した．

4. 試薬など
・RPMI1640：RPMI Medium 1640 1x（GIBCO: 11875-093）
・FBS：Fetal Bonne Serum , Qualified（GIBCO: 26140）
・PHA：Phytohemagglutinin（M form）（GIBCO: Cat No.10576-015）
・PSN: PSN Antibiotic Mixture 100x（GIBCO: 15640-055）
・MTX：メソトレキセート 5mg バイアル（武田薬品工業株式会社　製造番号088A）
・コルセミド：KARYO MAX Colcemid Solution

10μg/ml（GIBCO:15210-040）
・低調液：0.075M 塩化カリウム：0.9%クエン酸ナトリウム＝3：1 混合液
・カルノア固定液：メタノール：酢酸＝3：1 混合液
・チミジン：THYMIDINE LOT No.R4763（ICN Biomedicals Inc.）
・低調液（KCl のみ）：塩化カリウム　0.56g/100ml
・リン酸緩衝液：1/15M・pH6.8 buffer,（リン酸水素二ナトリウム・12水，35.81g＋リン酸二水素カリウム13.61g）/3L・DW
・ギムザ染色液：Microscopy Giemsa's azur eosine methylene blue solution（MERK:09204-0100）
・トリプシン（G バンド染色用）：Trypsin（1：250）（GIBCO:27250-018）

5. 機材など
・滅菌シャーレ90mmφ×20mm：CSPD90-20　関東化学株式会社
・パルツールピペット：IK-PAS-90（IWAKI）
・スピッツ管：目盛付スピッチグラス 10ml・A タイプ（日電理化硝子）
・スライドグラス：マイクロスライドグラス　白縁磨フロスト No.1（MATSUNAMI:S2111）
・プラスチックチューブ：Centrifuge Tube with Triple Seal Cap（IWAKI）:2325-015

## 結　　果

平成22年度の血液検体の染色体検査依頼数は67件で，依頼病医院内訳は表1に示した．依頼理由の中で最も多かったのは，「不育症」で53件であった．その他はダウン症候群の疑い，ターナー症候群の疑い，18トリソミー症候群の疑い，羊水検査施行後の精査，本人の希望であった．うち，染色体異常はダウン症候群１件と転座型保因者1件の計2件であった（表2）．各症例の核型分析結果と臨床症状の概要を下記に示した．

---

症例1．ダウン症候群（生後25日，男児）
核型；47,XX,+21　　（図 1）
出生時；在胎38週，2,266g
主訴；酸素化不良

---

症例2．転座型保因者（妻）
核型；45,XX,der（14;22）（q10;q10）　　（図2）
既往歴；流産3回
夫；正常核型

---

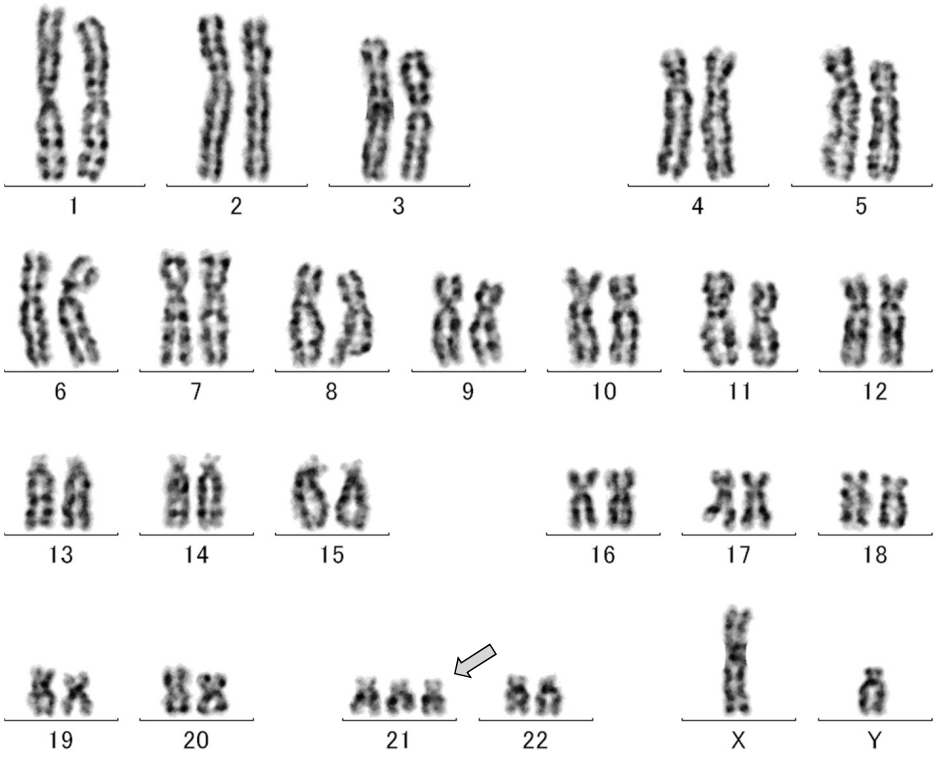



図１．症例1の核型　　47,XX,+21

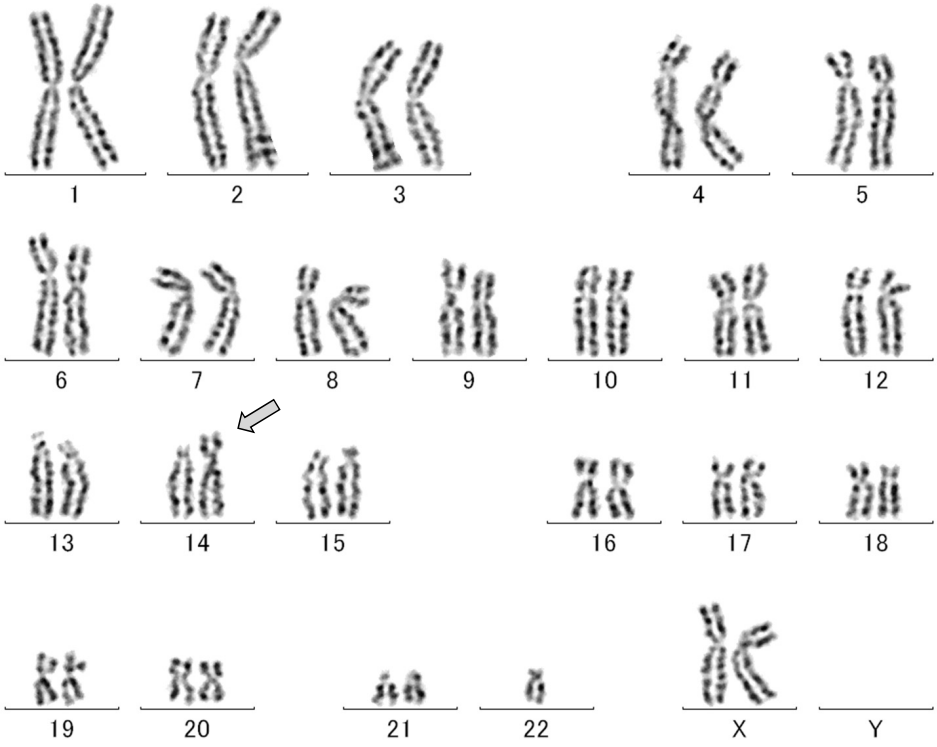



図２．症例2の核型　　45,XX,der(14;22)(q10q10)

## 考　　察

当所における検査依頼理由の中で「不育症」が最も多く，22年度は依頼理由中の約8割を占めた．最近は挙児を望むための検査が多くなってきたためで，近年の少子化，晩婚化による影響も考えられた．また，習慣流産・不育症の原因究明の一つとして夫婦の染色体異常の検索は必要不可欠になってきている．

また，夫婦の染色体異常が胎児の異常と一致していないこともあった[3]．しかし，不育症の理由が染色体均衡転座保因による場合は，他の理由が原因であるよりも児を得る可能性が高いといわれているため，不育症夫婦の染色体検査を行うことは今後の妊娠指導や遺伝相談に大きな役割を果たすものと考えられる．

また，染色体異常の確定診断は染色体検査に基づいて行われるものであり，その結果は本人や家族に影響を与えることもある．そのため，日本人類遺伝学会では平成6年度より，臨床細胞遺伝学認定士制度を設け，人材育成に積極的に携わっている．当所では臨床細胞遺伝学認定士として一人が認められ，さらに指導士としても委嘱されて検査を行っている．今後，さらに，上記のような資格を得た人材の育成が望まれるところである．

## 謝　　辞

各症例の臨床像のご提供と採血に対しご協力いただきました方々に深謝いたします．

## 文　　献

1．大濱紘三，三春範夫（1996）．染色体異常の発生頻度，64-74，臨床染色体診断法，金原出版．
2．池内達郎（1996）．高精度分染法，144-151，臨床染色体診断法,金原出版．
3．林美貴子，本田幸子，品川保弘（2009）．第30回北陸臨床遺伝研究会

# 羊水細胞の染色体分析結果（平成22年度）

品川　保弘　　高森　亮輔　　林　美貴子　　高田　吉弘

## Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells（Apr. 2010－Mar. 2011）

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI
And Yoshihiro TAKADA

**要 旨**　平成22 年度の羊水の染色体検査受付件数は，119件であった．そのうち13件に，染色体異常を認めた．検査依頼理由(主訴)の大半は，高齢妊娠，胎児異常疑い，染色体異常児出産・妊娠既往であった．

富山県では，総合母子保健対策の一環として昭和48年度から染色体検査事業が開始され，昭和49年度からは羊水の染色体検査が実施されている．出生前診断の一技術としての羊水検査は，染色体分析，DNA 診断，代謝酵素活性測定等により，胎児に何らかの異常が存在するか否かを検索し，出生後のケアや治療，妊娠の継続や中断を決定するための判断資料を得ることを目的として実施されている．当所においては染色体分析のみを実施しているが，検出される異常核型によってはDNA の特定領域に対応するプローブを利用したFISH 法を適宜併用しており，広義の意味においては，これもDNA 診断に含まれる．平成22年度に受け付けた羊水119件について，その属性，検査状況および結果の概略を報告する．

## 実　施　方　法

### 1．検体の培養方法

羊水中細胞の培養にあたっては，成書[１]および当所にて長年採用されてきた方法[２]を参考にしながら，以下の手順でおこなった．

- 採取医療機関より届けられたディスポ注射器中の羊水検体を，２本のポリプロピレン遠沈チューブA・Bに分注する（すでに２本以上のチューブに分注されて届けられた検体の場合は，そのまま使用する）．
- チューブＡは試験管立てに正立させ，５％炭酸ガスインキュベーター内に静置する．
- チューブＢは，分注後ただちに1,200r.p.m.で6分間遠心し，細胞を沈殿させる．
- チューブＡは一晩（18～24時間）静置後，チューブＢは遠心終了後，沈殿ペレットが浮遊しないよう0.2～0.3ml 程度を残して上清を取り除き，0.7～0.8ml 程度の培養液（×１PSN 抗生物質溶液添加）を加えて静かに再浮遊させ，その全量を35mm 径シャーレに移す．
- チューブ内を2.0ml 程度の培養液で洗い，その全量をシャーレに加え，最終培養液量を3ml にする．
- 培養開始後5日目以降，倒立顕微鏡下で細胞増殖の有無を観察し，コロニーの形成が確認された段階で，培地の一部もしくは全量を交換する．
- 培養開始時の検体中に血液の混入，特に多量の赤血球の混入が認められる場合は，コロニー形成の有無およびコロニーの状態の観察を阻害するので，5～7日目を目処に，培地を交換する．
- また，鱗片状の剥落死細胞が多数認められる場合には，染色体標本の作成に際し，低張処理後の膨張した核板の形態保持を阻害するほか，懸濁液をスライドガラス上に滴下した際に，その伸展を妨げる可能性があるので，やはり5～7日目に，あるいは標本作成日の１～2日前に培地を交換する．
- 核型分析に十分な分裂像が得られると判断できた時点で，染色体標本作成に供する．

### 2．染色体標本の作成方法

- １μg／ml に調製したコルセミド溶液を，培養液量に対し13μl／ml となるよう添加し，37℃にて2時間処理する．
- シャーレ内の培地全量をパスツールピペット（以下，ピペット）を用いて10ml スピッツ管に移し，シャーレ内にトリプシン液を1.5ml 加える．
- シャーレを37℃インキュベーター内に9分間静置し，細胞を剥離分散させる．
- 倒立顕微鏡下で細胞の剥離分散を確認後，細胞をピペットで緩やかに撹拌し，スピッツ管に集め，はじめに取り置いた培地と十分に混和させる．

・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2ml を残し，上清部分を取り除く．
・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊させ，あらかじめ37℃に加温しておいた低張液1ml を重層させる．
・スピッツ管を傾斜させ回転させながら，細胞懸濁液と低張液とを静かに混和させる．
・低張液をさらに加えて全量を 9 〜10ml としたスピッツ管を，37℃に設定したウォーターバス内で，23分間低張処理する．
・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2ml を残し，上清部分を取り除く．
・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊させ，カルノア固定液1ml を重層させる．
・スピッツ管を傾斜させ回転させながら，細胞懸濁液と固定液とを静かに混和させる．
・固定液をさらに加えて全量を8ml とし，4 ℃の冷蔵庫内で 2 時間以上固定する．
・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2ml を残し，上清部分を取り除く．
・スピッツ管底部側面を指先でタッピングし，ペレットを再浮遊させたのち，4 ℃に冷蔵しておいたカルノア固定液 8 ml を加え，ピペットで静かに混和する．
・室温で10分間静置したのちに，1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・0.05ml から0.1ml 程度を残し，上清を取り除く．
・ピペットで細胞を浮遊させ，少量をピペットでスライドグラス上に滴下し，ただちに65℃に加温したウォーターバスの熱気で固定液を蒸発させる．
・スライドグラス上の滴下箇所が完全に乾燥したことを確認した後に，リン酸緩衝液で軽く洗浄し，リン酸緩衝液で希釈したギムザ染色液にて染色する．
・分裂像の有無，分裂像および休止核の密度を確認後，浮遊液量を調整し，滴下スライドガラスを6〜7枚作成する．
・トリプシン処理による G バンド染色は，原則として標本作製の翌日以降に行う．

### 3．試薬等

・PSN：PSN Antibiotic Mixture×100（GIBCO：15640-055）
・培養液：Amnio MAX-C100（GIBCO：17001-0 82）+ Supplement（GIBCO：12556-015）
・コルセミド：KARYO MAX Colcemid Solution 10μg/ml（GIBCO：15210-040）
・トリプシン液（細胞分散用）：0.05% Trypsin-EDTA（GIBCO：25300-054）
・低張液：0.075M 塩化カリウム：0.9%クエン酸ナトリウム＝ 3 ： 1 混合液
・カルノア固定液：メタノール：酢酸＝ 3 ： 1 混合液
・リン酸緩衝液：1／15M・ pH6.8 buffer,（リン酸水素二ナトリウム・12水，35.81 g ＋リン酸二水素カリウム13.61 g）／3L・DW
・ギムザ染色液：Microscopy Giemsa's azur eosine methylene blue solution（MERCK：1.09204.0100）
・トリプシン（G バンド染色用）：Trypsin（1：250）（GIBCO：27250-018）

### 4．機材等

・15ml 遠沈管：2325-015（IWAKI）
・35mmφシャーレ：FALCON3001（Becton Dickinson）
・パスツールピペット：IK-PAS-9P（IWAKI）
・スピッツ管：目盛付スピッチグラス10ml・A タイプ（日電理化硝子）
・スライドグラス：マイクロスライドグラス白縁磨フロスト No.1（MATSUNAMI：S2111）

## 結果および考察

県内の医療機関より羊水を受け入れ，染色体核型分析検査に供した．検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示したが，ここ数年，依頼件数が著名に増加していることから，参考までに平成21年度および平成20年度の依頼医療機関名と依頼件数も示した．2年連続で，ちょうど20件ずつの増加があり，平成22年度の受付件数は119件であった．

119件の中に二絨毛膜二羊膜双胎（DD twins）が1組（2件）あったが，そのうちの1件については羊水中に有核生細胞がほとんど認められず，標本作製のためのコロニー形成となる接着性細胞が観察できなかったことから，7日目で培養を中止して検査を終了した．これをのぞく118件の分析を完了した．

妊娠週数別の検査依頼件数を表2に示した．16週での依頼が67件で最も多く，全体の56%を占めた．次いで17週22件，15週19件であり，この三週だけで全体の91%を占めていた．週数の最短は14週，最長は31週で

あった．

母体年齢別の検査依頼件数を表3に示した．35歳および36歳での依頼が最も多く，ともに14件で，それぞれ全体のおよそ12%を占めていた．最低年齢は23歳，最高年齢は46歳であった．23歳から46歳まで24年間の幅があったことから，便宜的に6歳階級で4等分してみると，35歳から40歳までの階級が74件で，全体の62%余りを占めていた．また，一般的に高齢妊娠の年齢境界とされる35歳以上での依頼件数は合計90件であり，全体の75.6%であった．

検査依頼理由別の受付件数，異常を確認した検体数，および核型の判定結果を表4に示した．高齢妊娠，および，これにその他の依頼理由が付随したものが76件で，全体のおよそ64%を占めていた．表3では，35歳以上での依頼が90件であったが，たとえ35歳以上であっても，検査依頼書の依頼理由の欄で「高齢妊娠」にチェックの入っていないものが少なくなかったことが，この差を生じせしめていた．一方，35歳未満であっても，「高齢妊娠」を唯一の依頼理由に掲げていた検査依頼については，そのまま高齢妊娠に含めた．

超音波検査により，胎児に何らかの染色体学的異常や形態学的異常が疑われたものが28件で，全体のおよそ24%を占めた．しかし，高齢妊娠を依頼理由とするものの中に「NT」および「トリプルマーカー」の記載のあったものが合わせて9件，さらに，血液テストの「クアトロテスト」を依頼理由としたものが4件あったことから，これらを合算すると41件で，全体の34.5%を占めていた．

染色体異常児出産あるいは染色体異常児妊娠既往を依頼理由としたのは6件であったが，高齢妊娠を依頼理由とするものの中に「前子ダウン症」「前子心奇形」としたものが計4件あり，これを合わせると10件で，8%余りを占めていた．

染色体核型異常を認めたのは119件中13件（10.9%）であった．高齢妊娠を主訴とする検査依頼76件のうち，異常を認めたのは1件のみであった．依頼理由（主訴）の記載に関わらず，35歳以上の受付検体90件中の異常確認数は8件（8.9%）であった．

胎児異常疑いを主訴とする依頼28件中11件（39.3%）に，核型異常を確認した．NT 肥厚の記載のある依頼は25件であったが，増殖不良により検査終了となった1件を除く24件のうち8件（33.3%）に異常核型を確認した．データは示していないが，受け付け時35歳未満の検体29件中に，NT の記載のあったものは16件で，そのうち4件に異常を認めた．35歳未満の検体29件中の異常確認数5件のうちの大半が NT 関連であった．

母体血液についてのトリプルマーカーやクアトロテストの結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼9件については，異常は見つからなかった．母親が均衡転座保因者である依頼が1件あったが，羊水の検査結果は母親と同じ均衡転座型であった．羊水への母由来細胞の混入の可能性は，男性核型であることで否定された．異常核型13件の内訳は，常染色体トリソミー型6件（+18：4件，+21：2件），性染色体数的異常4件（45,X：2件，47,XYY：1件，47,XXX：1件），45,X と常染色体均衡転座の複合型1件，45,X／47,XX,+18モザイク1件，常染色体均衡転座1件であった．

染色体標本作成までに要する培養日数別の依頼件数を，表5に示した．原則として，各検体につき標本作

**表１．医療機関別検査依頼件数（H20～22）**

| 医療機関名 | 件数 | | |
|---|---|---|---|
| | H22 | H21 | H20 |
| 富山市民病院 | 19 | 14 | 11 |
| 黒部市民病院 | 17 | 30 | 18 |
| 富山赤十字病院 | 17 | 13 | 6 |
| 県立中央病院 | 15 | 11 | 14 |
| おとぎの森レディースクリニック | 12 | 8 | 9 |
| 厚生連高岡病院 | 12 | 8 | 4 |
| 済生会高岡病院 | 7 | 6 | 5 |
| 富山大学附属病院 | 7 | 2 | 3 |
| さたけ産婦人科 | 7 | 1 | 2 |
| 済生会富山病院 | 4 | 1 | 2 |
| 砺波総合病院 | 1 | 4 | 3 |
| 高岡市民病院 | 1 | 0 | 2 |
| （菅田産婦人科医院） | 0 | 1 | 0 |
| 計 | 119 | 99 | 79 |

**表２．妊娠週数別検査依頼件数**

| 週数 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | … | 27 | … | 30 | 31 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 件数 | 1 | 19 | 67 | 22 | 3 | 1 | 1 | … | 1 | … | 2 | 2 | 119 |

**表３．年齢別検査依頼件数および年齢区分（6歳階級）別割合**

| 年齢 | 23 | 24 | 25 | 26 | 27 | 28 | 29 | 30 | 31 | 32 | 33 | 34 | 35 | 36 | 37 | 38 | 39 | 40 | 41 | 42 | 43 | 44 | 45 | 46 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 件数 | 1 | 0 | 3 | 2 | 1 | 3 | 0 | 4 | 4 | 3 | 3 | 5 | 14 | 14 | 10 | 10 | 13 | 13 | 6 | 5 | 3 | 1 | 0 | 1 | 119 |

| 10件（8.4%） | 19件（16.0%） | 74件（62.2%） | 16件（13.4%） |
|---|---|---|---|

表４．検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

| 依頼理由 | | 受付数 | 異常数 | 核型 |
|---|---|---|---|---|
| 高齢妊娠 | | 76 | 1 | |
| | 高齢妊娠 | 58 | 0 | |
| | トリプルマーカー | 5 | 0 | |
| | NT | 4 | 1 | 47,XY,+21 |
| | 前子ダウン症 | 3 | 0 | |
| | 近親結婚 | 1 | 0 | |
| | 反復流産 | 1 | 0 | |
| | 前子心奇形 | 1 | 0 | |
| | 身内に染色体異常 | 1 | 0 | |
| | 身内にダウン症 | 1 | 0 | |
| | IVF-ET | 1 | 0 | |
| 胎児異常疑い | | 28 | 11 | |
| | NT | 19 | 6 | 45,X　45,X,t(?8;21)(?q24;q22)<br>45,X/47,XX,+18モザイク<br>47,XYY　47,XXX　47,XX,+18 |
| | NT　VSD疑い | 1 | 1 | 45,X |
| | DD twins・NT | 1 | ND | |
| | DD twins | 1 | 0 | |
| | 18トリソミー疑い | 1 | 1 | 47,XY,+18 |
| | 胎児共存奇胎疑い | 1 | 0 | |
| | 胎児心奇形 | 1 | 1 | 47,XX,+21 |
| | 胎児胸水 | 1 | 0 | |
| | 胎児胸水心奇形 | 1 | 1 | 47,XX,+18 |
| | 左心低形成症候群疑い | 1 | 1 | 47,XX,+18 |
| 染色体異常児出産・妊娠既往 | | 6 | 0 | |
| | 前子ダウン症 | 2 | 0 | |
| | 前回妊娠18トリソミー | 1 | 0 | |
| | 前子奇形 | 1 | 0 | |
| | 前子胎児奇形 | 1 | 0 | |
| | 前胎児ターナー・嚢胞水腫 | 1 | 0 | |
| 血液テスト | | 4 | 0 | |
| | クアトロテスト | 4 | 0 | |
| 本人希望 | | 2 | 0 | |
| 母均衡転座保因者 | | 1 | 1 | 46,XY,t(12;19)(p13.1;p13.1) |
| 親族にダウン症 | | 1 | 0 | |
| IVF-ET | | 1 | 0 | |
| 計 | | 119 | 13 | |

NT：nuchal translucency（後頚部肥厚）
IVF-ET：in vitro fertilization-embryo transfer（体外受精-胚移植）
VSD：ventricular septal defect（心室中隔欠損症）
DD twins：dichorionic diamniotic twins（二絨毛膜二羊膜双胎）
ND：not done

表５．培養日数別検査依頼件数

| | 培養日数別の件数 | | | | | | | | | | | | 合計 | 平均日数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 7日 | 8日 | 9日 | 10日 | 11日 | 12日 | 13日 | 14日 | 15日 | 16日 | 17日 | ND | | |
| 標本作製１回目 | 6 | 28 | 43 | 25 | 4 | 3 | 3 | 4 | 1 | 1 | 0 | 1 | 119 | 9.4±1.7 |
| 標本作製２回目 | 0 | 4 | 20 | 39 | 25 | 10 | 8 | 4 | 4 | 1 | 2 | 2 | 119 | 10.8±1.8 |

ND：not done

表６．検査全工程所要日数別件数

| 日数 | 11 | 12 | 13 | 14 | 15 | 16 | 17 | 18 | 19 | 20 | 21 | 22 | 計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 件数 | 1 | 1 | 1 | 7 | 10 | 15 | 21 | 17 | 18 | 23 | 4 | 1 | 119 |

製は2回行われた．1回目の標本作製のピークは培養9日目であり，前後1日ずつを加えた3日間の総数は96件（81.4%）であった．2回目の標本作製のピークは培養10日目であり，これに前後1日ずつを加えた3日間の総数は，84件（71.8%）であった．平均日数は，標本作製1回目が9.4±1.7日，2回目が10.8±1.8日であった．

検体受入から，培養，標本作製，顕微鏡下での観察，写真撮影，核型分析を経て検査成績報告書を作成し，これを医療機関あてに送付または手交するまでの全作業工程所要日数別の件数を，表6に示した．最短で11日間，最長で22日間，平均は17.6±2.1日であった．

以上，平成22年度に当所で受け付けた羊水の染色体検査について，現状をまとめてみた．

表１に示したように，前年度および前々年度と比較すると受入れ件数が大幅に増加していた．保健統計年報[3]によれば，県内の出生数は年々微減傾向にあることから，妊娠数自体も本来微減傾向にあると推測される．それにも関わらず検査依頼件数が増加している背景には，高齢妊娠の増加，超音波検査や母体血液検査の普及による胎児の異常疑いの増加があるものと考えられるが，詳細は不明である．

検査のための羊水採取は，妊娠16週が最適であるとされているが，当所で受け付けた検査依頼も，16週が半数以上を占めた．羊水採取時点の妊娠週数と，標本作製までに要する培養日数との間の相関の有無は興味が持たれるところであるが，さらに例数を積み重ねた上で解析してみたい．

年齢別の検査依頼件数については，35歳から40歳の年齢階級だけで全体の60%以上，35歳以上の全年齢で75%以上を占めていた．受付検体119件中118件の検査を完了し，そのうち13件に異常を見出したが，35歳以上90件中の異常核型は8件，35歳未満29件中の異常核型は，5件であった．

高齢妊娠を主訴とする依頼76件のうち，異常核型をみとめたのはわずかに1件であったが，胎児異常疑いを依頼理由とする依頼28件のうち11件に異常核型をみとめた．高齢妊娠において胎児の染色体異常の確率が高まるとされているが，検査依頼書に記される依頼理由（主訴）としては，「高齢妊娠」よりも，超音波検査の結果を受けての「胎児異常疑い」の方が異常核型検出の確率が高いというのが，染色体検査の現場の素直な感想である．

平成22年度に受け付け，検査を完了できた118検体のうち13検体に核型異常をみとめた．その内訳は数的異常が10件（常染色体6件，性染色体4件），性染色体数的異常と常染色体均衡転座の複合型1件，性染色体モノソミーと常染色体トリソミーのモザイク1件，母由来常染色体均衡転座型1件であった．

当所では，染色体核型分析の対象となっている羊水，血液，流産胎児絨毛のいずれについても，検体受入れ日から三週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように，日程を調整しながら作業を進めている．羊水については，平成22年度の実績では平均で17.6日であり，最短は11日であった．目安とする三週間，つまり21日以内の結果報告を実現できなかったケースが1件あったが，これは標本作製までの培養にほぼ2週間を費やし，さらにごく少数ながら，異常核型を検出したことから，最終判定に手間取ったためであった．標本作製までの培養日数は，血液では通常3日であり，流産胎児絨毛の場合は7日程度である．これに対し，羊水の場合は平均で10日前後となっており，この差は大きいと考えられる．医療関連領域の検査については，検査結果の正確性こそが最重要であることは論をまたないが，こと羊水検査に関しては，判定結果が妊娠の継続の可否をも左右しかねないゆえに，母体保護の観点からも，その迅速性が厳に問われている．それゆえ，検体受入れから培養，染色体標本作製，そして結果報告までに要する日数を，少しでも短縮することは，我々の重要な課題である．　妊娠週数と培養日数との間の相関の有無や，本稿では触れていないが，受入れ羊水量や細胞濃度，培養開始時点でのシャーレへの播種生細胞数と培養日数との相関の有無等についても，今後検討を進めたい．

## 文　献


1．鈴森薫（1996）臨床染色体診断法，260－263．金原出版

2．本田幸子，品川保弘，林美貴子，前多隆志（2010）富山衛研年報，33，54－58.

3．富山県厚生部（2010），60，36.

平成23年12月16日

# 流産胎児の染色体分析結果（平成22年度）

品川　保弘　　高森　亮輔　　林　美貴子　　高田　吉弘

Chromosome Analysis of Abortus Cells（Apr. 2010—Mar. 2011）

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI
And Yoshihiro TAKADA

**要 旨**　平成22 年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は，46件であった．そのうち31件に，染色体異常を認めた．検査依頼理由(主訴)の大半は，習慣性流産，反復流産，不育症，子宮内胎児死亡であった．

一般に自然流産胎児の約半数に，あるいはそれ以上の頻度で染色体異常がみとめられるとされているが，これまでの当所での経験からも同様の結果を得ている[１]．流産胎児の染色体異常の有無を検索することは，当該流産のみならず，習慣性流産，反復流産，不育症といった用語で括られる産科領域の疾患の治療および克服に，少なからず情報をもたらし，次回の妊娠およびその継続，さらには出産に向けた指針となりうる．富山県では，総合母子保健対策の一環として昭和48年度から染色体検査事業が開始され，昭和50年度からは自然流産胎児の染色体検査が実施されている．平成22年度の流産胎児由来検体の検査状況および結果を報告する．

## 実施方法

### １．検体の培養方法

検体絨毛組織の培養にあたっては成書[２]を参考にしながら，以下の手順でおこなった．

・適量の絨毛組織を切り出す．
・7ml の HBSS（× 1 PSN 抗生物質溶液添加）を分注した60mmφプラスチックシャーレ（以下，シャーレ）を3枚準備し，組織片を HBSS 内に浸漬させる．
・これを3回繰り返し，組織片を洗浄する．
・35mmφシャーレ内で，解剖用ハサミを用いて0.2〜0.5mm 程度の小片に細切する．
・培養に用いる35mmφシャーレを8〜10枚程度準備し，シャーレ1枚あたり組織小片を10個程度並べる．
・クリーンベンチ内で組織小片周辺の水分を蒸発させながら，組織小片をシャーレ底面に接着させる．
・2.0〜2.5ml 程度の培養液（×0.6PSN 抗生物質溶液添加）をシャーレ内にゆっくり注ぎ，組織小片が底面に接着していることを確認したのちに炭酸ガスインキュベーター内で培養を行う．
・培養開始後3日目以降，倒立顕微鏡下で細胞増殖の有無を確認し，培養が長期にわたりそうな場合には，適宜，培地交換を行う．
・核型分析に十分な分裂像が得られると判断された時点で，染色体標本作成に供する．

### ２．染色体標本の作成方法

・１μg／ml に調製したコルセミド溶液を，培養液量に対し 9 μl／ml となるよう添加し，37℃にて2時間処理する．
・シャーレ内の培地全量をパスツールピペット（以下，ピペット）を用いて10ml スピッツ管 A に移し，シャーレ内にトリプシン液を1.5ml 加える．
・シャーレを37℃インキュベーター内に9分間静置し，細胞を分散させる．
・分散細胞をピペットで緩やかに撹拌し，スピッツ管 A に集め，はじめに取り置いた培地と十分に混和させる．
・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2ml を残し，上清部分を取り除く．
・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊させ，事前に37℃に加温しておいた低張液1ml を重層させる．
・スピッツ管 A を傾斜させ回転させながら，細胞懸濁液と低張液とを静かに混和させる．
・低張液をさらに加えて全量を10ml とする．
・スピッツ管 A を試験管立てに1分程度保持し，混入した組織小片を沈殿させる．
・沈殿部分を残し，細胞浮遊部分をスピッツ管 B に取り分ける．

・スピッツ管Bを，37℃に設定したウォーターバス内で，23分間低張処理する．
・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2mlを残し，上清部分を取り除く．
・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊させ，カルノア固定液1mlを重層させる．
・スピッツ管Bを傾斜させ回転させながら，細胞懸濁液と固定液とを静かに混和させる．
・固定液をさらに加えて全量を8mlとし，4℃の冷蔵庫内で2時間固定する．
・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・約0.2mlを残し，上清部分を取り除く．
・スピッツ管B底部側面を指先でタッピングし，ペレットを再浮遊させたのち，カルノア固定液8mlを加え，ピペットで静かに混和する．
・室温で10分間静置したのちに，1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる．
・0.05mlから0.1ml程度を残し，上清を取り除く．
・ピペットで細胞を浮遊させ，少量をピペットでスライドグラス上に滴下し，ただちに65℃に加温したウォーターバスの熱気で固定液を蒸発させる．
・スライドグラス上の滴下箇所が完全に乾燥したことを確認し，リン酸緩衝液で洗浄後，リン酸緩衝液で希釈したギムザ染色液にて染色する．
・トリプシン処理によるGバンド染色は，原則として標本作製の翌日以降に行う．

### 3．試薬等

・HBSS：Hanks' Balanced Salt Solution×1（GIBCO：24020-117）
・PSN：PSN Antibiotic Mixture 100X（GIBCO：15640-055）
・培養液：Amnio MAX-C100（GIBCO：17001-082）+ Supplement（GIBCO：12556-015）
・コルセミド：KARYO MAX Colcemid Solution 10μg/ml（GIBCO：15210-040）
・トリプシン液（細胞分散用）：0.05% Trypsin-EDTA（GIBCO：25300-054）
・低張液：0.075M塩化カリウム：0.9%クエン酸ナトリウム＝3：1混合液
・カルノア固定液：メタノール：酢酸＝3：1混合液
・リン酸緩衝液：1／15M・ pH6.8 buffer,（リン酸水素二ナトリウム・12水，35.81ｇ＋リン酸二水素カリウム13.61ｇ）／3L・DW
・ギムザ染色液：Microscopy Giemsa's azur eosine methylene blue solution（MERCK：1.09204.0100）
・トリプシン（Gバンド染色用）：Trypsin（1：250）（GIBCO：27250-018）

### 4．機材等

・60mmφシャーレ：FALCON3002（Becton Dickinson）
・35mmφシャーレ：FALCON3001（Becton Dickinson）
・パスツールピペット：IK-PAS-9P（IWAKI）
・スピッツ管：目盛付スピッチグラス10ml・Aタイプ（日電理化硝子）
・スライドグラス：マイクロスライドグラス白縁磨フロストNo.1（MATSUNAMI：S2111）

## 結果および考察

流産胎児検体として，胎盤・絨毛組織，胎児皮膚組織等を受け入れ，染色体核型分析検査に供した．検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示したが，平成22年度は依頼件数がかつてなく多かったことから，参考までに平成21年度および平成20年度の依頼医療機関名と依頼件数も示した．対前年比で，件数はおよそ3.5倍，伸び率は254%，対前々年比でも，件数で2.3倍，伸び率は130%であった．

平成22年度の受付件数は46件で，43件は絨毛のみ，2件は絨毛＋胎児皮膚，1件は絨毛＋胞状奇胎組織であった。胎児皮膚1検体を除く46件48検体の分析を完了した．依頼された流産胎児の週数は5週から30週の範囲

**表1．医療機関別検査依頼件数**

| 医療機関名 | 件数 | | |
|---|---|---|---|
| | H22 | H21 | H20 |
| 富山大学附属病院 | 29 | 2 | 3 |
| 済生会高岡病院 | 3 | 4 | 2 |
| 富山県立中央病院 | 3 | 2 | 1 |
| 富山赤十字病院 | 3 | 1 | 5 |
| おとぎの森レディースクリニック | 3 | 0 | 0 |
| 高岡市民病院 | 2 | 2 | 0 |
| 黒部市民病院 | 1 | 1 | 3 |
| 富山市民病院 | 1 | 0 | 1 |
| さたけ産婦人科 | 1 | 1 | 0 |
| （済生会富山病院） | 0 | 0 | 4 |
| （砺波総合病院） | 0 | 0 | 1 |
| 計 | 46 | 13 | 20 |

**表２．検査依頼理由、流産回数と検査結果**

| 依頼理由（主訴） | 依頼件数 | 合計流産回数 | | | | | | 異常件数 | 染色体異常の核型 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | | |
| 習慣性流産 | 16 | 0 | 0 | 8 | 3 | 5 | 0 | 12 | 46,XX,add(14)(p11.1)<＃1>　47,XX,+3　47,XX,+15<br>47,XY,+15　47,XX,+16[＊2]　47,XY,+21[＊3]<br>47,XY,+22　48,XY,+20,+22　69,XXX |
| 反復流産 | 7 | 0 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 7 | 47,XY,+5　47,XX<+6　47,XX,+16　47,XY,+16<br>47,XX,+18　69,XXX　92,XXXX |
| 不育症 | 5 | 0 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 2 | 45,XX,-21　46,XX,+6,der(14;22)(q10;q10)<＃2> |
| IUFD（子宮内胎児死亡） | 5 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 47,XY,+21 |
| IUFD・胞状奇胎疑い | 2 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 69,XXX |
| IUFD・胎児水腫 | 2 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 47,XY,+21　47,XX,+18 |
| IUFD・頭部浮腫 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 47,XY,+21 |
| IUFD・胎児奇形 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 46,XY,? i (18)(qter→q10：：q10→qter) |
| 流産原因精査 | 6 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 46,XX,del(4)(p13)　47,XX,+2　47,XX,+8　47,XY,+16 |
| ポッター症候群 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | |
| 合計 | 46 | 15 | 10 | 10 | 4 | 6 | 1 | 31 | |

<＃1>,<＃2>：この2件は，同じ両親に由来する検体である
[＊2],[＊3]：それぞれ，同一核型が2件，および3件であることを示す

で，もっとも件数の多かったのは8週の13件（全体の28.3%）であった．便宜的に10週刻みで3等分すると，10週までが31件（67.4%）,11週から20週までが10件(21.7%)，21週から30週までが5件（10.9%）であった．10週以内の31件の週数の平均は8.1±1.3週，46件全体の週数の平均は11.5±6.1週であった．

流産母体年齢の平均は34.0±4.4歳であり，最若年齢は24歳，最高年齢は44歳であった．

検体46件中31件（67.4%）に染色体異常がみとめられた．参考までに，当所での流産胎児染色体検査受入件数は，昭和50年以来36年間で409件を数えるが，分析を完了できた検体370件のうち，異常を確認したのは202件であり，検査完了件数に占める異常検体の確認率は54.6%となっている．

検査依頼理由別の依頼件数と流産回数内訳，異常件数および染色体異常の核型を表2に示した．依頼理由は，原則として検査依頼書の記入内容に依拠したが，記載があいまいな検体については，妊娠歴等の記載内容から類推した．染色体異常31件の内訳は，常染色体トリソミー型22件，モノソミー型1件，3倍体3件，4倍体1件，構造異常4件であった．なお，常染色体トリソミー型1件については，異なる2種類の染色体がそれぞれトリソミーであると判定された．

流産胎児由来組織と同時に両親の血液の染色体検査を依頼された例が6件，胎児の染色体核型の判定結果を受けて，後日両親の血液を検査を依頼された例が1件あった．7件すべての流産胎児に，核型異常（[ 45, XX,－21], [46,XX,add（14）(p11.1）], [47,XY,+16], [47,XX,+18], [69,XXX], [92,XXXX], [47,XY,+21]）が検出された．このうち，[46,XX,add(14)(p11.1)]と判定した胎児に関して両親の染色体核型を血液中リンパ球により確認したところ，母親の核型が[46,XX, der（14;22)(q10;q10)]であったことから,当初[46,XX, add(14)(p11.1)]と記載した核型が，正確には[46,XX, der（14;22）,+22]であったことが確認された．なお，この両親はその後の妊娠も流産となり，再度流産胎児絨毛について染色体検査を施行したところ，その核型は[46,XX,+6,der（14;22）(q10;q10）]であった（表２）．このケースを除く6組の両親については，全員が正常核型であった．

染色体異常の有無と，依頼時の流産を含む総流産回数，検査依頼時の母体年齢，流産確認時までの在胎週数を比較した．表3に示したごとく，いずれの項目についても，染色体異常の有無との相関はみとめられなかった．

受入検体46件について，標本作製開始までの培養日数の分布と平均日数を表4に示した．標本作製1回目は培養5日目から7日目にかけて集中しており，平均培養日数は6.3±2.1日であった．また，標本作製2回目は培養6日目から8日目に集中しており，平均培養日数は7.2±2.6日であった．

検体受入から，すべての作業工程を経て検査成績報告書を作成し，これを医療機関あてに送付または手交するまでの日数は，最短で8日間，最長で22日間，平

均は17.1±3.4日であった．46件中8件は，標本作製後にゴールデンウィークや年末年始の休暇があったことから，参考までにこの8件を除外すると，平均は16.3±3.0日であった．ちなみに、前年度の同様のデータは，全体で23.3±6.3日，長期休暇をはさんだケースを除外した場合は21.9±5.9日であったことから，有意とはいえないまでも，手技習熟および分析体制の効率化による時日の短縮が図られた結果と推測された．以上，平成22年度に当所で受け付けた流産胎児に関する染色体検査について，現状をまとめてみた．

前年度までと比較すると受入れ件数が大幅に増加したが，この増加分の大半を占めたのは，不育症治療に積極的に取り組んでいる富山大学産科婦人科からの依頼によるものであった．習慣性流産や不育症と診断されながらも挙子を望むカップルは多く，治療方針の策定に有効であるとの観点から，今後はさらに検査依頼件数が増加することも予想されている．

検査を完了した検体のおよそ3分の2に染色体異常をみとめたが，この割合は，多くの報文[3，4]の記述と合致していた．

一般的に，流産の原因が両親に，とりわけ母体側にあると思われていることがまだ多いが，原因が胎児レベルに限局した染色体異常によるものと判明することによって，当事者の精神的な苦痛や負担を軽減されるものと考えられる．平成22年度は，最終的に７組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析し比較することができた．流産胎児7件すべてに核型の異常が確認された一方で，そのうち6組の両親は正常核型であり，1組のみ母親に核型異常をみとめた．しかし，母親が均衡転座型染色体保因者であると確認されたこのケースについても，むしろ将来的な妊娠の継続と挙子の可能性が残されていることが示されたものと考えられる．不育症等で悩むカップルと，これを治療し支えてゆく医療者サイドの遺伝相談資料として役立てるためには，流産胎児の染色体分析実績をさらに積み重ねてゆかねばならない．そして資料としての精度を高めるためにも，可能であるならばすべての流産胎児検体に関し，ご両親の血液についての染色体検査も並行して実施すべきと考える．

当所では，検体受入れ日から三週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように，日程を調整しながら作業を進めているが，平成22年度の実績では平均で17日余りとなり，前年比でおよそ6日短縮した．目安とする3週間，つまり21日以内の結果報告を実現できなかったケースが1件あったが，これはゴールデンウィーク直前の検査依頼であったことから，依頼医療機関に対しては事情を説明し、報告日の遅延がありうることへの了承を得た上で受け付けたものであった．検体受入れから培養，染色体標本作製，そして結果報告までに要する日数を，さらに少しでも短縮することは，我々の重要な課題である．また，これまでの経験から，流産胎児由来細胞では血液リンパ球や羊水細胞の場合と比較して，分析が容易な染色体標本がコンスタントに作成できているとは言いがたい．標本作成技術，さらにさかのぼって培養技術をみがくことで，核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化が実現されるものと思われる．

**表３．染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数**

| | 件数 | 流産回数 | 母体年齢 | 在胎週数 |
|---|---|---|---|---|
| 異常あり | 31 | 2.6±1.3 | 34.5±4.7 | 10.1±4.7 |
| 異常なし | 15 | 2.5±1.7 | 32.9±3.6 | 14.1±7.5 |
| 全体 | 46 | 2.5±1.5 | 34.0±4.4 | 11.5±6.1 |

## 文　献


1．本田幸子，品川保弘，林美貴子（2007）富山衛研年報，30，47－52.
2．前田徹（1996）臨床染色体診断法，256－259．金原出版
3．杉浦真弓（2005）産婦人科治療91，２，140－143.
4．小澤伸晃（2010）不育症治療に関する再評価と新たなる治療法の開発に関する研究：平成21年度総括・分担研究報告書（研究代表者：斉藤滋）135－137.


**表４．染色体標本作製までの培養日数**

| | 培養日数別の件数 | | | | | | | | | | | 合計 | 平均日数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 3日 | 4日 | 5日 | 6日 | 7日 | 8日 | 9日 | 10日 | 11日 | ・・・ | 17日 | | |
| 標本作製１回目 | 1 | 5 | 7 | 18 | 8 | 3 | 1 | 2 | 0 | ・・・ | 1 | 46 | 6.3±2.1 |
| 標本作製２回目 | 0 | 1 | 3 | 7 | 19 | 8 | 4 | 1 | 2 | ・・・ | 0 | 45 | 7.2±2.6 |

注：培養が不調（増殖不良）のため、2回目の標本作製ができなかった検体がひとつあり

平成23年12月16日

# 日本脳炎流行予測調査（感染源調査）2010年

山内　健生　　小原　真弓　　小渕　正次　　渡辺　護[1]　　關口　健治[2]

## Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2010

Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Mamoru WATANABE[1] and Kenji SEKIGUCHI[2]

**要 旨**　富山県内において，ライトトラップで捕集されるコガタアカイエカ雌成虫の発生消長，豚血清の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況，蚊と豚の日本脳炎ウイルス保有状況を調査した．コガタアカイエカは，調査を開始した6月第2週から各定点において捕集され，8月中旬～9月に発生のピークを形成した．2010年の捕集総数は，2009年の2倍以上であり，顕著に多かったといえる．豚の抗体保有調査では，新鮮感染を示す個体が9月に4頭，10月に1頭確認された．全体として，新鮮感染を示す豚の数は5頭（2.1%），抗体価640倍以上の豚は22頭（9.2%）であった．蚊から，10月5日に日本脳炎ウイルスが分離され，この時期にウイルスが存在したと考えられた．これらの状況から，ウイルスの活動は比較的小規模であり，日本脳炎患者が発生する可能性は低いと考えられた．県内において患者は発生しなかった．

近年の国内における日本脳炎患者発生数は少なく推移している．しかしながら，全国での日本脳炎流行予測調査の結果から，ウイルスは確実に活動しているといえる[1-4]．富山県においても毎年ウイルスの流行が確認されており[5-12]，日本脳炎の脅威は続いている．そこで，2010年にも本研究を継続し，日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* の発生状況とウイルスの浸淫状況を調査したので報告する．

### Ⅰ．コガタアカイエカ雌成虫の発生調査

#### 1．調査対象と検査方法

蚊の捕集定点は2009年[11]とほぼ同様であったが，諸事情により射水定点では調査を実施できなかった（表1，図１）．

調査期間および調査方法も2009年とほぼ同様であった．すなわち，「３．黒牧」では6月8日から，「４．大井」では6月7日から調査を開始し，10月18日まで，ライトトラップ（東京エース製，15W 捕虫円型管）により毎日捕集を行なった（連日捕集）．なお，ライトトラップの作動は照度感受スイッチ（EE8113K ニューEE スイッチ，National 松下電工）によってコントロールされるため，捕集時間帯は日没（照度約40ルクス）から日の出（照度約120ルクス）までである．他の4定点では6月9日（第2週）から10月27日（第4週）まで，毎週水曜日のみトラップを一晩点灯し，捕集を行なった（週1捕集）．なお，前2定点では，畜舎管理者が毎朝トラップ捕集籠の捕獲物を酢酸エチルで麻酔した後，70%エタノールの入った500ml ポリ瓶に移した．後4定点では毎週水曜日に畜舎管理者が電源を入れ，翌日の朝に筆者らが電源を切り，捕集籠を回収・交換した．このようにして得られた捕集籠内の蚊類を，検査室にて分類・計数した．




**図１．コガタアカイエカ捕集定点（2010年）**
**1．黒部，2．上市，3．黒牧，4．大井，5．小矢部，6．婦中**

１．国立感染症研究所　２．富山県厚生部健康課

表1.　コガタアカイエカ捕集定点（畜舎）の概要（2010年）

| 地点番号 | 略号 | 地名 | 飼育家畜 |
|---|---|---|---|
| 1 | 黒部 | 黒部市荻生 | 豚 |
| 2 | 上市 | 上市町広野 | 和牛 |
| 3 | 黒牧 | 富山市東黒牧上野 | 乳牛 |
| 4 | 大井 | 富山市大井 | 乳牛，和牛 |
| 5 | 小矢部 | 小矢部市鷲ヶ島 | 乳牛 |
| 6 | 婦中 | 富山市婦中町友坂 | 馬 |

表2.　6定点（畜舎）のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の週1日捕集数（2010年）

| 調査日 | 調査地点 | | | | | | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. 黒　部 | 2. 上　市 | 3. 黒　牧 | 4. 大　井 | 5. 小矢部 | 6. 婦　中 | |
| 6月9日 | 1 | 5 | 5 | 286 | 24 | 4 | 325 |
| 16日 | 3 | 12 | 1 | 19 | 50 | 15 | 100 |
| 23日 | 4 | 1 | 1 | 1,096 | 17 | 16 | 1,135 |
| 30日 | 9 | 50 | 8 | 2,283 | 216 | - | 2,566 |
| 7月7日 | 18 | 18 | 6 | 535 | 195 | 146 | 918 |
| 14日 | 35 | 36 | 4 | 1,608 | 196 | 125 | 2,004 |
| 21日 | - | 26 | 14 | 11,241 | 1,066 | 293 | 12,640 |
| 28日 | 38 | 79 | 11 | 2,621 | 422 | - | 3,171 |
| 8月4日 | 67 | 637 | 114 | 13,084 | 2,396 | - | 16,298 |
| 11日 | 292 | 733 | 159 | 5,163 | 1,144 | 6,182 | 13,673 |
| 18日 | 871 | 3,243 | 155 | 15,138 | 8,856 | 31,956 | 60,219 |
| 25日 | 1,308 | 1,590 | 515 | 9,065 | 6,762 | 4,318 | 23,558 |
| 9月1日 | - | 2,313 | 517 | 25,480 | 11,819 | 3,888 | 44,017 |
| 8日 | 3,108 | - | 47 | 18,801 | 23,278 | - | 45,234 |
| 15日 | 1,669 | 715 | 174 | 3,258 | 9,524 | 1,610 | 16,950 |
| 22日 | 944 | 4,212 | 55 | 34,487 | 3,023 | 2,016 | 44,737 |
| 29日 | 391 | 404 | 11 | 2,696 | 1,412 | 221 | 5,135 |
| 10月6日 | 23 | 166 | 2 | 411 | 629 | 95 | 1,326 |
| 13日 | 25 | 97 | 2 | 554 | 166 | 8 | 852 |
| 20日 | 6 | 10 | - | - | 32 | 9 | 57 |
| 27日 | 0 | 0 | - | - | 5 | 0 | 5 |
| 計 | 8,812 | 14,347 | 1,801 | 147,826 | 71,232 | 50,902 | 294,920 |

## 2．結果

表2に，全調査定点における週1日捕集の成績を，表3に「3．黒牧」と「4．大井」における連日捕集の成績を示した．コガタアカイエカは，調査を開始した6月第2週から各定点において捕集され，全体的には8月中旬～9月に発生のピークがみられ，9月末から顕著に減少した．週1日捕集を集計した年間捕集数で比較すると「4．大井」が最も多く，「5．小矢部」「6．婦中」と続いた．

表4に，1991年以降のコガタアカイエカ雌成虫の定点別捕集数を示した．2010年の捕集数はすべての定点において2009年の捕集数よりも多かった（「3．黒牧」と「4．大井」については連日捕集数のみを対象）．それらの中でも「2．上市」「4．大井」および「6．婦

表3-1. 2定点のライトトラップにおける蚊雌成虫の連日捕集成績（2010年6月）

| 調査日 | 3. 黒　牧 | | | | | 4. 大　井 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 |
| 6月 1日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 2日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 3日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 4日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 5日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 6日 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| 7日 | - | - | - | - | - | 1 | 238 | 8 | 1 | 248 |
| 8日 | 0 | 4 | 1 | 2 | 7 | 0 | 227 | 3 | 1 | 231 |
| 9日 | 0 | 5 | 7 | 3 | 15 | 0 | 286 | 8 | 4 | 298 |
| 10日 | 0 | 3 | 10 | 2 | 15 | 0 | 90 | 1 | 1 | 92 |
| 11日 | 0 | 1 | 6 | 4 | 11 | 0 | 110 | 2 | 1 | 113 |
| 12日 | 0 | 2 | 8 | 1 | 11 | 0 | 216 | 0 | 1 | 217 |
| 13日 | 0 | 4 | 5 | 5 | 14 | 0 | 187 | 0 | 1 | 188 |
| 14日 | 0 | 6 | 3 | 13 | 22 | 0 | 305 | 3 | 0 | 308 |
| 15日 | 0 | 2 | 1 | 6 | 9 | 0 | 269 | 0 | 1 | 270 |
| 16日 | 0 | 1 | 2 | 10 | 13 | 0 | 19 | 0 | 1 | 20 |
| 17日 | 0 | 4 | 1 | 1 | 6 | 0 | 244 | 4 | 2 | 250 |
| 18日 | 0 | 2 | 1 | 1 | 4 | 0 | 831 | 1 | 0 | 832 |
| 19日 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1,463 | 12 | 0 | 1,475 |
| 20日 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3 | 0 | 832 | 4 | 0 | 836 |
| 21日 | 0 | 4 | 1 | 1 | 6 | 0 | 795 | 3 | 0 | 798 |
| 22日 | 0 | 2 | 2 | 2 | 6 | 0 | 1,927 | 7 | 0 | 1,934 |
| 23日 | 0 | 1 | 1 | 3 | 5 | 0 | 1,096 | 5 | 1 | 1,102 |
| 24日 | 0 | 5 | 0 | 2 | 7 | 0 | 1,373 | 11 | 1 | 1,385 |
| 25日 | 0 | 9 | 1 | 1 | 11 | 0 | 4,502 | 23 | 3 | 4,528 |
| 26日 | 0 | 6 | 0 | 4 | 10 | 0 | 3,459 | 9 | 1 | 3,469 |
| 27日 | 0 | 2 | 0 | 4 | 6 | 0 | 4,070 | 20 | 6 | 4,096 |
| 28日 | 0 | 4 | 0 | 3 | 7 | 0 | 4,836 | 29 | 13 | 4,878 |
| 29日 | 0 | 2 | 1 | 2 | 5 | 0 | 3,651 | 15 | 5 | 3,671 |
| 30日 | 0 | 8 | 2 | 1 | 11 | 0 | 2,283 | 18 | 1 | 2,302 |
| 計 | 0 | 77 | 53 | 75 | 205 | 1 | 33,309 | 186 | 45 | 33,541 |

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す．

*オオクロヤブカ，ハマダライエカ，ヤマトヤブカ

表3-2.　2定点のライトトラップにおける蚊雌成虫の連日捕集成績（2010年7月）

| 調査日 | 3. 黒　牧 | | | | | 4. 大　井 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 |
| 7月 1日 | 0 | 7 | 1 | 2 | 10 | 0 | 2,026 | 18 | 4 | 2,048 |
| 2日 | 2 | 1 | 1 | 0 | 4 | 0 | 3,041 | 16 | 4 | 3,061 |
| 3日 | 0 | 5 | 0 | 2 | 7 | 0 | 4,550 | 33 | 3 | 4,586 |
| 4日 | 0 | 5 | 1 | 0 | 6 | 0 | 1,644 | 15 | 3 | 1,662 |
| 5日 | 0 | 3 | 1 | 3 | 7 | 0 | 2,002 | 14 | 0 | 2,016 |
| 6日 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 2,760 | 9 | 0 | 2,769 |
| 7日 | 0 | 6 | 0 | 3 | 9 | 0 | 535 | 0 | 0 | 535 |
| 8日 | 0 | 3 | 0 | 1 | 4 | 0 | 8,715 | 10 | 0 | 8,725 |
| 9日 | 0 | 8 | 0 | 2 | 10 | 0 | 7,212 | 12 | 0 | 7,224 |
| 10日 | 0 | 8 | 0 | 4 | 12 | 1 | 5,373 | 21 | 1 | 5,396 |
| 11日 | 0 | 9 | 0 | 2 | 11 | 0 | 4,940 | 18 | 0 | 4,958 |
| 12日 | 0 | 5 | 0 | 1 | 6 | 0 | 7,093 | 29 | 1 | 7,123 |
| 13日 | 0 | 10 | 0 | 0 | 10 | 0 | 15,440 | 22 | 0 | 15,462 |
| 14日 | 0 | 4 | 0 | 2 | 6 | 0 | 1,608 | 9 | 0 | 1,617 |
| 15日 | 0 | 4 | 0 | 2 | 6 | 0 | 5,769 | 15 | 1 | 5,785 |
| 16日 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 3,891 | 18 | 2 | 3,911 |
| 17日 | 0 | 5 | 3 | 1 | 9 | 0 | 5,238 | 24 | 0 | 5,262 |
| 18日 | 0 | 3 | 1 | 0 | 4 | 0 | 6,638 | 39 | 1 | 6,678 |
| 19日 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 5,097 | 15 | 0 | 5,112 |
| 20日 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 7,377 | 22 | 0 | 7,399 |
| 21日 | 0 | 14 | 0 | 0 | 14 | 0 | 11,241 | 11 | 0 | 11,252 |
| 22日 | 0 | 5 | 0 | 2 | 7 | 0 | 313 | 0 | 0 | 313 |
| 23日 | 0 | 5 | 2 | 0 | 7 | 0 | 7,595 | 37 | 0 | 7,632 |
| 24日 | 0 | 2 | 1 | 2 | 5 | 0 | 5,926 | 19 | 0 | 5,945 |
| 25日 | 0 | 3 | 2 | 0 | 5 | 0 | 5,063 | 26 | 0 | 5,089 |
| 26日 | 0 | 6 | 0 | 0 | 6 | 0 | 3,710 | 28 | 0 | 3,738 |
| 27日 | 0 | 2 | 0 | 1 | 3 | 1 | 3,517 | 28 | 0 | 3,546 |
| 28日 | 0 | 11 | 1 | 0 | 12 | 0 | 2,621 | 41 | 1 | 2,663 |
| 29日 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 0 | 5,819 | 11 | 0 | 5,830 |
| 30日 | 0 | 10 | 0 | 2 | 12 | 0 | 4,882 | 15 | 3 | 4,900 |
| 31日 | 0 | 15 | 0 | 0 | 15 | 0 | 4,533 | 4 | 1 | 4,538 |
| 計 | 2 | 163 | 16 | 32 | 213 | 2 | 156,169 | 579 | 25 | 156,775 |

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す．

*オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ，ハマダライエカ

表3-3.　2定点のライトトラップにおける蚊雌成虫の連日捕集成績（2010年8月）

| 調査日 | 3. 黒　牧 | | | | | 4. 大　井 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 |
| 8月 1日 | 0 | 7 | 0 | 0 | 7 | 0 | 6,871 | 7 | 0 | 6,878 |
| 2日 | 0 | 46 | 0 | 0 | 46 | 0 | 5,757 | 10 | 0 | 5,767 |
| 3日 | 0 | 129 | 0 | 1 | 130 | 0 | 6,860 | 38 | 0 | 6,898 |
| 4日 | 0 | 114 | 0 | 0 | 114 | 0 | 13,084 | 18 | 1 | 13,103 |
| 5日 | - | - | - | - | - | 1 | 5,933 | 5 | 0 | 5,939 |
| 6日 | 0 | 478 | 0 | 2 | 480 | 0 | 12,355 | 15 | 1 | 12,371 |
| 7日 | 0 | 209 | 0 | 0 | 209 | 0 | 7,239 | 23 | 1 | 7,263 |
| 8日 | 0 | 430 | 0 | 0 | 430 | 1 | 7,117 | 12 | 1 | 7,131 |
| 9日 | 0 | 343 | 0 | 2 | 345 | 0 | 1,771 | 4 | 0 | 1,775 |
| 10日 | 0 | 67 | 0 | 1 | 68 | 0 | 7,863 | 9 | 5 | 7,877 |
| 11日 | 0 | 159 | 0 | 0 | 159 | 0 | 5,163 | 16 | 1 | 5,180 |
| 12日 | 0 | 12 | 0 | 2 | 14 | 0 | 1,223 | 10 | 0 | 1,233 |
| 13日 | 1 | 150 | 0 | 0 | 151 | 2 | 12,501 | 6 | 1 | 12,510 |
| 14日 | 0 | 68 | 0 | 4 | 72 | 0 | 12,256 | 5 | 0 | 12,261 |
| 15日 | 0 | 362 | 0 | 1 | 363 | 0 | 4,218 | 0 | 0 | 4,218 |
| 16日 | 0 | 113 | 0 | 1 | 114 | 0 | 8,627 | 0 | 0 | 8,627 |
| 17日 | 0 | 131 | 0 | 0 | 131 | 0 | 8,656 | 0 | 0 | 8,656 |
| 18日 | 0 | 155 | 0 | 0 | 155 | 0 | 15,138 | 0 | 2 | 15,140 |
| 19日 | 0 | 336 | 0 | 1 | 337 | 0 | 20,160 | 5 | 2 | 20,167 |
| 20日 | 1 | 782 | 0 | 1 | 784 | 0 | 20,779 | 0 | 1 | 20,780 |
| 21日 | 0 | 408 | 1 | 1 | 410 | 0 | 20,107 | 13 | 0 | 20,120 |
| 22日 | 0 | 282 | 0 | 1 | 283 | 0 | 16,532 | 7 | 0 | 16,539 |
| 23日 | 0 | 838 | 3 | 0 | 841 | 0 | 21,216 | 5 | 2 | 21,223 |
| 24日 | 0 | 316 | 0 | 1 | 317 | 0 | 16,829 | 3 | 0 | 16,832 |
| 25日 | 0 | 515 | 0 | 0 | 515 | 0 | 9,065 | 4 | 0 | 9,069 |
| 26日 | 1 | 175 | 0 | 0 | 176 | 0 | 19,326 | 2 | 0 | 19,328 |
| 27日 | 0 | 496 | 0 | 0 | 496 | 0 | 10,873 | 4 | 0 | 10,877 |
| 28日 | 0 | 254 | 0 | 1 | 255 | 0 | 7,093 | 6 | 0 | 7,099 |
| 29日 | 0 | 234 | 1 | 0 | 235 | 0 | 8,738 | 5 | 0 | 8,743 |
| 30日 | 0 | 45 | 0 | 0 | 45 | 0 | 22,242 | 3 | 0 | 22,245 |
| 31日 | 0 | 276 | 1 | 0 | 277 | 0 | 16,106 | 0 | 0 | 16,106 |
| 計 | 3 | 7,930 | 6 | 20 | 7,959 | 4 | 351,698 | 235 | 18 | 351,955 |

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す．

*オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ

表3-4.　2定点のライトトラップにおける蚊雌成虫の連日捕集成績（2010年9月）

| 調査日 | 3. 黒　牧 | | | | | 4. 大　井 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 |
| 9月 1日 | 0 | 517 | 0 | 1 | 518 | 0 | 25,480 | 0 | 0 | 25,480 |
| 2日 | 0 | 298 | 1 | 0 | 299 | 0 | 1,684 | 5 | 0 | 1,689 |
| 3日 | 0 | 187 | 1 | 0 | 188 | 0 | 8,551 | 4 | 0 | 8,555 |
| 4日 | 0 | 24 | 0 | 0 | 24 | 0 | 952 | 0 | 0 | 952 |
| 5日 | 0 | 197 | 1 | 2 | 200 | 0 | 13,551 | 3 | 1 | 13,555 |
| 6日 | 0 | 938 | 0 | 1 | 939 | 0 | 10,325 | 6 | 1 | 10,332 |
| 7日 | 0 | 294 | 0 | 0 | 294 | 0 | 19,180 | 4 | 1 | 19,185 |
| 8日 | 0 | 47 | 0 | 0 | 47 | 0 | 18,801 | 2 | 0 | 18,803 |
| 9日 | 0 | 27 | 0 | 0 | 27 | 0 | 3,268 | 13 | 0 | 3,281 |
| 10日 | 0 | 38 | 1 | 1 | 40 | 1 | 4,398 | 4 | 3 | 4,406 |
| 11日 | 0 | 100 | 0 | 1 | 101 | 0 | 7,875 | 1 | 1 | 7,877 |
| 12日 | 0 | 297 | 0 | 2 | 299 | 0 | 6,749 | 6 | 1 | 6,756 |
| 13日 | 1 | 83 | 0 | 2 | 86 | 0 | 3,990 | 7 | 3 | 4,000 |
| 14日 | 0 | 52 | 0 | 1 | 53 | 0 | 1,807 | 3 | 2 | 1,812 |
| 15日 | 0 | 174 | 1 | 2 | 177 | 1 | 3,258 | 6 | 5 | 3,270 |
| 16日 | 0 | 32 | 0 | 0 | 32 | 0 | 2,996 | 2 | 1 | 2,999 |
| 17日 | 0 | 22 | 0 | 0 | 22 | 1 | 3,856 | 3 | 0 | 3,860 |
| 18日 | 0 | 66 | 1 | 1 | 68 | 0 | 8,739 | 2 | 0 | 8,741 |
| 19日 | 1 | 158 | 3 | 0 | 162 | 0 | 35,665 | 0 | 0 | 35,665 |
| 20日 | 0 | 241 | 0 | 1 | 242 | 0 | 6,994 | 1 | 1 | 6,996 |
| 21日 | 1 | 169 | 0 | 1 | 171 | 0 | 10,243 | 11 | 0 | 10,254 |
| 22日 | 0 | 55 | 1 | 1 | 57 | 6 | 34,487 | 7 | 0 | 34,500 |
| 23日 | 0 | 41 | 0 | 0 | 41 | 0 | 25,106 | 0 | 0 | 25,106 |
| 24日 | 1 | 34 | 1 | 2 | 38 | 0 | 12,331 | 0 | 0 | 12,331 |
| 25日 | 1 | 31 | 0 | 2 | 34 | 0 | 9,269 | 5 | 0 | 9,274 |
| 26日 | 2 | 13 | 0 | 0 | 15 | 0 | 5,303 | 6 | 0 | 5,309 |
| 27日 | 0 | 32 | 0 | 2 | 34 | 0 | 7,181 | 3 | 0 | 7,184 |
| 28日 | 0 | 8 | 0 | 1 | 9 | 0 | 3,675 | 4 | 0 | 3,679 |
| 29日 | 0 | 11 | 0 | 1 | 12 | 0 | 2,696 | 1 | 2 | 2,699 |
| 30日 | 0 | 21 | 1 | 3 | 25 | 0 | 2,147 | 8 | 1 | 2,156 |
| 計 | 7 | 4,207 | 12 | 28 | 4,254 | 9 | 300,557 | 117 | 23 | 300,706 |

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す．

*オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ，ハマダライエカ

表3-5. 2定点のライトトラップにおける蚊雌成虫の連日捕集成績（2010年10月）

| 調査日 | 3. 黒　牧 | | | | | 4. 大　井 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 | シナハマダラカ | コガタアカイエカ | アカイエカ | その他* | 計 |
| 10月 1日 | 1 | 4 | 0 | 1 | 6 | 0 | 1,254 | 1 | 0 | 1,255 |
| 2日 | 0 | 12 | 0 | 3 | 15 | 0 | 633 | 0 | 0 | 633 |
| 3日 | 0 | 18 | 1 | 3 | 22 | 0 | 285 | 2 | 2 | 289 |
| 4日 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 333 | 2 | 0 | 335 |
| 5日 | 0 | 3 | 1 | 2 | 6 | 0 | 615 | 0 | 0 | 615 |
| 6日 | 0 | 2 | 0 | 0 | 2 | 0 | 411 | 1 | 0 | 412 |
| 7日 | 1 | 5 | 0 | 0 | 5 | 0 | 404 | 1 | 1 | 406 |
| 8日 | 0 | 6 | 0 | 1 | 7 | 0 | 276 | 2 | 0 | 278 |
| 9日 | 0 | 6 | 1 | 4 | 11 | 0 | 257 | 1 | 0 | 258 |
| 10日 | 0 | 6 | 0 | 3 | 9 | 0 | 421 | 8 | 0 | 429 |
| 11日 | 1 | 5 | 0 | 4 | 10 | 0 | 233 | 3 | 0 | 236 |
| 12日 | 0 | 3 | 0 | 1 | 4 | 0 | 81 | 4 | 0 | 85 |
| 13日 | 0 | 2 | 0 | 2 | 4 | 0 | 554 | 4 | 0 | 558 |
| 14日 | 0 | 4 | 0 | 0 | 4 | 0 | 56 | 4 | 0 | 60 |
| 15日 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 57 | 3 | 1 | 61 |
| 16日 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 34 | 5 | 0 | 39 |
| 17日 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 39 | 2 | 1 | 42 |
| 18日 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 | 0 | 9 | 2 | 0 | 11 |
| 計 | 3 | 76 | 7 | 28 | 113 | 0 | 5,952 | 45 | 5 | 6,002 |

「-」 はトラップの故障等による欠測，または次日，次々日にまとめて捕集したことを示す．

*オオクロヤブカ，ヤマトヤブカ，ハマダライエカ

中」では，2010年の捕集数は2009年の2倍以上であった．特に「４．大井」と「６．婦中」における捕集数は，同地点において1991年以降最大となった．コガタアカイエカ雌成虫の2010年の捕集総数は，2009年の2倍以上であった．

## II．豚血清の日本脳炎 HI 抗体保有調査

### １．調査対象と検査方法

7月5日から10月26日までの約4ヶ月間，富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産（小矢部市，南砺市，上市町，黒部市）の豚を対象として，月3回，各20頭ずつから血液を採取し，合計240頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した．抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式［13］に従った．すなわち，アセトン処理を2回行うことにより，被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後，日本脳炎 CF，HI 試薬「生研」JaGAr01株（デンカ生研）を抗原として，赤血球凝集抑制（HI）反応により抗体価を測定した．血球はガチョウの赤血球を用い，マイクロタイター法で行った．抗体価10倍以上を抗体陽性とした．さらに，抗体価40倍以上を示した血清について37℃で1時間2－メルカプトエタノール（2-ME）処理を行ない，抗体価が8倍以上下がれば2-ME 感受性陽性（＝IgM 抗体陽性）とし，新鮮感染とみなした．

### ２．結果および考察

HI 抗体価の測定結果を表5に示した．7月5～6日の調査で，抗体陽性の豚が2頭みられたが，その後，9月13,15日の調査まで新鮮感染を示す豚は確認されなかった．全体として，新鮮感染を示す豚の数は5頭（2.1%），抗体価640倍以上の豚は22頭（9.2%）であった．この割合は昨年度の新鮮感染3頭（1.3%），抗体価640倍以上の豚2頭（0.8%）[12]に比べ高かったが，2007年

表4.　7 定点のライトトラップにおける過去20年間のコガタアカイエカ雌成虫の年間捕集数

| 年 | 6月2週から 9月30日までの毎週水曜日に捕集した総数 | | | | | | | 6月1日から9月30日まで連日捕集の総数 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1. 黒部 | 2. 上市 | 3. 黒牧 | 4. 大井 | 5. 小矢部 | 6. 婦中 | 7. 射水 | 3. 黒牧 | 4. 大井 |
| 1991 | 1,702 | 14,322 | - | 7,640 | 4,318 | - | - | - | 51,218 |
| 1992 | 1,968 | 5,025 | - | 9,998 | 5,992 | - | - | - | 59,735 |
| 1993 | 642 | 1,100 | - | 8,827 | 5,093 | - | - | - | 72,509 |
| 1994 | 13,655 | 3,527 | - | 26,275 | 94,055 | - | - | - | 169,307 |
| 1995 | 6,398 | 1,790 | - | 26,247 | 21,751 | - | - | - | 161,391 |
| 1996 | 2,034 | 1,562 | - | 36,305 | 7,683 | - | - | - | 275,957 |
| 1997 | 7,054 | 1,466 | - | 23,743 | 45,250 | - | - | - | 172,373 |
| 1998 | 6,250 | 5,620 | 1,843 | 96,196 | 31,158 | - | - | 11,814 | 657,900 |
| 1999 | 1,954 | 2,676 | 1,319 | 52,436 | 27,944 | - | - | 11,379 | 344,498 |
| 2000 | 1,181 | 2,965 | 965 | 67,757 | 19,477 | - | - | 9,147 | 495,004 |
| 2001 | 1,443 | 6,574 | 1,819 | 78,846 | 12,877 | - | - | 10,433 | 504,862 |
| 2002 | 2,187 | 1,288 | 802 | 62,135 | 1,330 | - | - | 7,979 | 465,957 |
| 2003 | 2,181 | 195,869 | 496 | 60,527 | 17,963 | 8,555 | 25,219 | 2,644 | 469,460 |
| 2004 | 4,880 | 225,945 | 3,206 | 90,578 | 12,758 | 12,733 | 20,421 | 18,526 | 468,459 |
| 2005 | 8,392 | 295,817 | 3,974 | 88,321 | 12,088 | 11,424 | 34,968 | 13,291 | 735,891 |
| 2006 | 891 | 16,462 | 544 | 15,295 | 4,569 | 3,780 | 10,909 | 2,916 | 117,306 |
| 2007 | 13,819 | 203,488 | 4,143 | 73,227 | 50,777 | 16,337 | 104,019 | 22,118 | 516,504 |
| 2008 | 10,089 | 35,478 | 4,631 | 78,052 | 16,199 | 23,581 | 78,568 | 27,233 | 492,617 |
| 2009 | 5,011 | 6,119 | 1,916 | 46,180 | 9,893 | 12,423 | 30,904 | 9,738 | 373,502 |
| 2010 | 8,758 | 14,074 | 1,797 | 146,861 | 70,400 | 50,790 | - | 12,377 | 841,733 |

1．黒部では1998年に定点（畜舎）の場所を変更した．

2．上市では1994，2008，2009年に定点（畜舎）の場所を変更し，2003年に畜舎が30mほど移設された．

5．小矢部では2003年に定点（畜舎）を変更した．

(3.2%及び11.0%)，2008年（9.1%及び10.6%）[10,11]に比べやや低かった．

以上のことから，2010年は，調査を開始した7月には一部の豚が日本脳炎ウイルスに感染していたが，本格的な流行は9月頃から始まったと推測される．

### III．蚊と豚からの日本脳炎ウイルス分離

#### 1．調査対象と検査方法

2010年4月から11月にかけて，県内の富山空港，港湾地区，畜舎の計5地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた．また，抗体調査に用いた豚血清240検体についてもウイルス分離を行った．分離には，ヒトスジシマカ由来のC6/36細胞とアフリカミドリザル由来のVero9013細胞を用いた．細胞変性が現れた検体の培養上清について，フラビウイルスNS3領域または日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象としたRT-PCRを実施した．蚊と豚から得られた，日本脳炎ウイルスエンベロープ領域のPCR産物について，ダイレクトシークエンス法を用いて遺伝子配列の解析を行った．

#### 2．結果および考察

捕集蚊123 プール（1,823個体）を調査し，畜舎（牛舎）のコガタアカイエカ1 プール（47 個体）より日本脳炎ウイルスが分離された．ウイルス陽性であった蚊の捕集日は10月5日であった．豚血清については，日本脳炎ウイルスは分離されなかった．分離ウイルスは，エンベロープ領域を比較した遺伝子解析により，

表5. 豚血清における日本脳炎ウイルスの HI 抗体保有状況（平成22年，2010年）

| 検体採取日 | 抗体価 | | | | | | | | 2-ME 感受性陽性数/検査数 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ＜10 | ×10 | ×20 | ×40 | ×80 | ×160 | ×320 | ≧640 | |
| 7月5,6日 | 18 (90) | 1 (5) | 1 (5) | | | | | | |
| 12～14日 | 19 (95) | 1 (5) | | | | | | | |
| 26,27日 | 17 (85) | 1 (5) | 2 (10) | | | | | | |
| 8月2,3日 | 19 (95) | 1 (5) | | | | | | | |
| 17日 | 18 (90) | 2 (10) | | | | | | | |
| 25,27,31日 | 15 (75) | 3 (15) | 2 (10) | | | | | | |
| 9月6,7日 | 18 (90) | 1 (5) | 1 (5) | | | | | | |
| 13,15日 | 16 (80) | | 3 (15) | 1 (5) | | | | | 1 (100.0) |
| 27,28日 | 13 (65) | | | | | | 1 (5) | 6 (30) | 3 (42.9) |
| 10月4～6日 | 11 (55) | | 1 (5) | | | | 2 (10) | 6 (30) | 0 (0.0) |
| 12日 | 11 (55) | | | | | 1 (5) | | 8 (40) | 1 (11.1) |
| 25,26日 | 12 (60) | 2 (10) | 1 (5) | | | 1 (5) | 2 (10) | 2 (10) | 0 (0.0) |
| 計 | 187 (77.9) | 12 (5.0) | 11 (4.6) | 1 (0.4) | 0 (0.0) | 2 (0.8) | 5 (2.1) | 22 (9.2) | 5 (16.7) |

注　1. 表中の数字は検体数を表し，括弧内の数字はパーセントを示す．
2. 抗体価10倍以上を陽性とみなし，さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行い，ウイルスの新鮮感染を検討した．
3. 平成17年度から，2-ME 処理により抗体価40倍から10倍未満に低下した時は2-ME 感受性陽性とした．

いずれもⅠ型であると考えられ，これまでの結果[14]に引き続き，富山県ではⅠ型日本脳炎ウイルスが流行していた．ウイルスの流行時期は例年と同様に10月であった．

これまでの調査結果[6-12,14]より，ウイルスが濃厚に存在している年と，不活発な年があると考えられ，2010年は2009年より濃厚にウイルスが流行していたものの，2008～2009年よりは不活発な年であったと思われる．

## まとめ

コガタアカイエカの捕集数は2009年に比べて顕著に増加した．豚の抗体保有調査では，9～10月にのみ少数の新鮮感染を示す豚が確認された．また，蚊からは，10月上旬にウイルスが分離され，この時期にウイルスが存在したと考えられた．これらの状況から，ウイルスの活動は小規模であり，日本脳炎患者が発生する可能性は低いと考えられた．患者発生はみられなかった．

## 謝　　辞

本調査の実施にあたり，ご協力を頂いている各定点畜舎，関係厚生センター・支所および食肉総合センター，食肉検査所の各位に深謝する．

## 文　　献

1．1.厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2006）．平成16年度感染症流行予測調査報告書，93-114.
2．厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2007）．平成17年度感染症流行予測調査報告書，100-112.
3．厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2008）．平成18年度感染症流行予測調査報告書，74-96
4．厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2010）．平成19年度感染症流行予測調査報告書，121-148
5．Watanabe, M., Hasegawa, S., Obara, M., Ando, S., Yamauchi, T. and Takizawa, T.（2011）Long-term analyses of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis,* and serological surveys of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 - a review of surveys for the prediction of epidemics of Japanese encephalitis in Toyama Prefecture over 35 years-. 159pp. Skarafactory. Ltd., Toyama.
6．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，米道暁彦（2004）．富山衛研年報，27，56-67.
7．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，米道暁彦（2005）．富山衛研年報，28，52-64.
8．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2006）．富山衛研年報，29，56-68.
9．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2007）．富山衛研年報，30，62-74.
10. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，川尻千賀子（2008）．富山衛研年報，31，65-75.
11. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，林　達哉（2009）．富山衛研年報，32，55-64.
12. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，植田陽子（2010）．富山衛研年報，33，69-78
13. 厚生労働省健康局結核感染症課（2002）．感染症流行予測調査事業検査術式，27-39，東京.
14. Obara, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Ueda, Y., Matsuno, K., Iwai, M., Horimoto, E., Kurata, T., Takizawa, T., Kariwa, H., Takashima, I.（2011）. Am J Trop Med Hyg 84, 695-708

平成23年12月16日

# 日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2010年

小原　真弓　　堀元　栄詞　　岩井　雅恵
小渕　正次　　滝澤　剛則　　高田　厚史[1]　　南部　厚子[2]
馬渕　俊輔[3]　　川越　久美子[4]　　嶋尻　悟志[5]　　關口　健治[6]

## Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis Virus in Toyama Prefecture in 2010

Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Atsushi TAKATA[1], Atsuko NANBU[2], Shunsuke MABUCHI[3], Kumiko KAWAGOSHI[4], Satoshi SHIMAJIRI[5], Kenji SEKIGUCHI[6]

**要 旨**　日本脳炎流行予測調査（感受性調査）として，富山県住民の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した．その結果，抗体陽性者の割合は全体として49.7%であった．10〜19歳では100%が抗体を保有していたが，0〜4歳では5.8%，40歳以上では20%未満であった．若年齢の抗体保有率は2008〜2009年よりも回復したが，60歳以上の抗体保有率は2007〜2009年に比べ低くなった．「予防接種歴なし」の割合は，0〜4歳で最も多く78.8%であったが，5〜9歳では2008〜2009年より大きく減少し7.1%となった．予防接種歴別の抗体保有率は，「接種歴なし」で8.2%，「接種歴不明」で40.3%であったのに対し，1回以上接種歴のある対象者では76.4%であった．

本調査は，富山県住民の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体保有状況を調べ，今後の流行の可能性を推定し，感染予防に役立てることを目的として実施した．

### 調査および検査方法

2010 年6月から9月に，新川，中部，高岡，砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で，合計384名について採血と予防接種歴，罹患歴の調査を行った．

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の測定は，peroxidase-anti-peroxidase（PAP）法を応用したフォーカス計数法にて行った．血清を56℃30分間非働化した後，10倍から2倍階段希釈し，ウイルス液（日本脳炎 Beijing-1株）と混合した．37℃，1時間の中和反応ののち，Vero Osaka 細胞に接種した．37℃で1時間ウイルスを吸着させたのち，培養液を追加し，37℃で46時間培養した．細胞を洗浄・固定後，抗日本脳炎ウイルスウサギ血清を用いたPAP法によってウイルスフォーカスを染色した．被検血清を加えていないコントロールに比較して，フォーカス数が50%以上減少した最大希釈倍数を中和抗体価とした．抗体価10倍以上を抗体陽性とした．

### 結果および考察

384名のうち，日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は191名（49.7%）であった．図1に年齢群別の抗体保有率を示した．10〜19歳では100%と高い抗体保有率を示したが，0〜4歳で5.8%，30〜39歳で45.8%，40〜49歳で3.7%，50〜59歳で18.0%，60歳以上で13.6%と低い保有率を示す年齢群が存在した．結果として，抗体保有率はＮ字型と山型の中間の曲線を描いていた．2007年〜2009年の結果（図2）[1-3]や全国の結果[4]では，曲線はＮ型を描いており，年とともにＮ型が山型に変化していると考えられた．

5〜9歳の抗体保有率は2007年に78.9%であったが，2008年に41.2%，2009年に36.4%と一時減少し，2010年は78.6%に回復した．これは，2005年5月に予防接種の勧奨が中止された[5]が，2010年4月から第1期の定期接種[6]の積極的勧奨が再開されたことと，2010年8月より第2期（通常9歳）の定期接種が再開され[7]，さらに第1期（通常3〜4歳）を受けそびれていた人も

1．新川厚生センター，2．中部厚生センター，3．高岡厚生センター，4．砺波厚生センター，5．富山市保健所
6．厚生部健康課

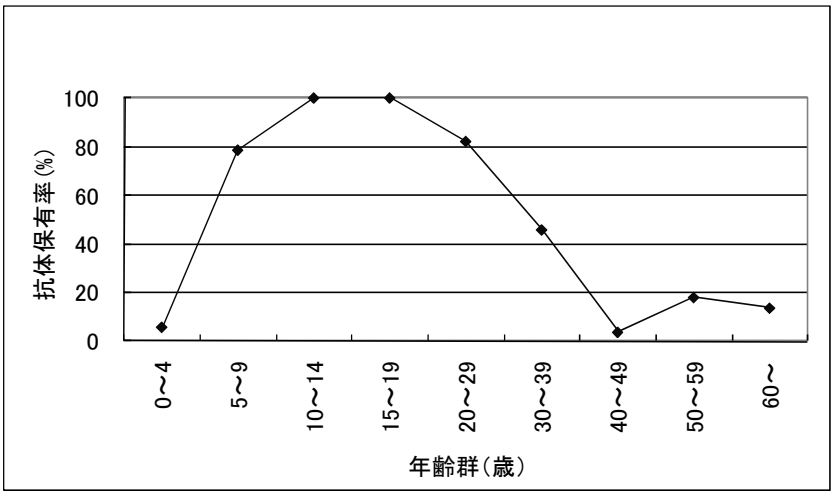



図１．年齢群別の中和抗体保有率

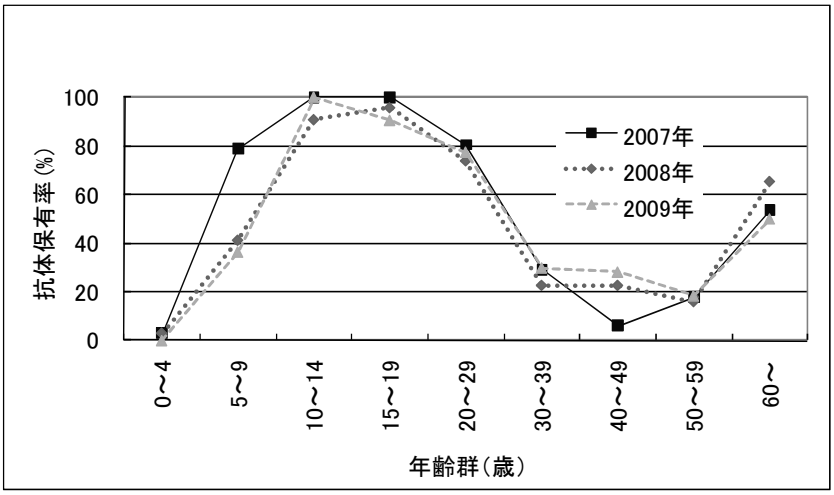



図２．2007～2009年の年齢群別中和抗体保有率

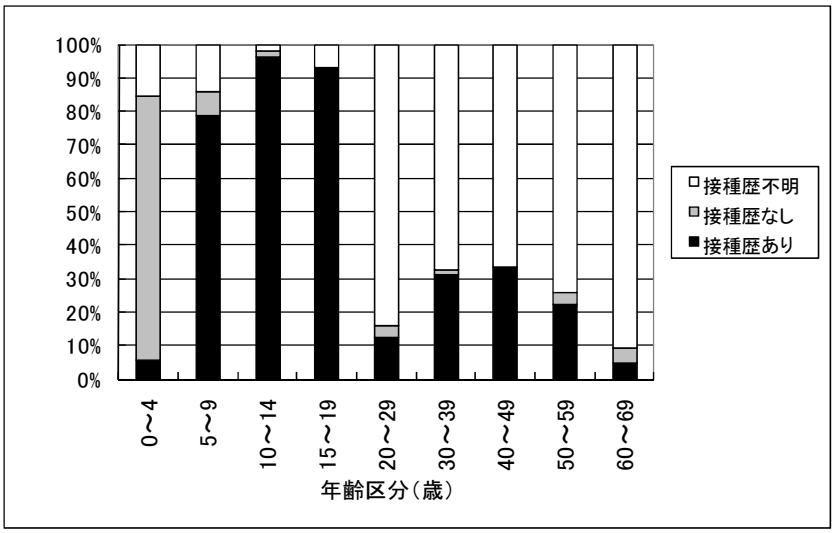



図３．年齢群別のワクチン接種歴

表１．ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

| 年齢群 | 接種歴あり | | | 接種歴なし | | | 接種歴不明 | | | 合計 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| （歳） | 陽性数/検査数 | | 陽性率 | 陽性数/検査数 | | 陽性率 | 陽性数/検査数 | | 陽性率 | 陽性数/検査数 | | 陽性率 |
| 0～4 | 3 ／ | 3 | 100.0% | 0 ／ | 41 | 0.0% | 0 ／ | 8 | 0.0% | 3 ／ | 52 | 5.8% |
| 5～9 | 11 ／ | 11 | 100.0% | 0 ／ | 1 | 0.0% | 0 ／ | 2 | 0.0% | 11 ／ | 14 | 78.6% |
| 10～14 | 49 ／ | 49 | 100.0% | 1 ／ | 1 | 100.0% | 1 ／ | 1 | 100.0% | 51 ／ | 51 | 100.0% |
| 15～19 | 27 ／ | 27 | 100.0% | 0 ／ | 0 | | 2 ／ | 2 | 100.0% | 29 ／ | 29 | 100.0% |
| 20～29 | 7 ／ | 7 | 100.0% | 2 ／ | 2 | 100.0% | 37 ／ | 47 | 78.7% | 46 ／ | 56 | 82.1% |
| 30～39 | 9 ／ | 26 | 34.6% | 1 ／ | 1 | 100.0% | 28 ／ | 56 | 50.0% | 38 ／ | 83 | 45.8% |
| 40～49 | 1 ／ | 9 | 11.1% | 0 ／ | 0 | | 0 ／ | 18 | 0.0% | 1 ／ | 27 | 3.7% |
| 50～59 | 3 ／ | 11 | 27.3% | 0 ／ | 2 | 0.0% | 6 ／ | 37 | 16.2% | 9 ／ | 50 | 18.0% |
| 60～ | 0 ／ | 1 | 0.0% | 0 ／ | 1 | 0.0% | 3 ／ | 20 | 15.0% | 3 ／ | 22 | 13.6% |
| 計 | 110 ／ | 144 | 76.4% | 4 ／ | 49 | 8.2% | 77 ／ | 191 | 40.3% | 191 ／ | 384 | 49.7% |

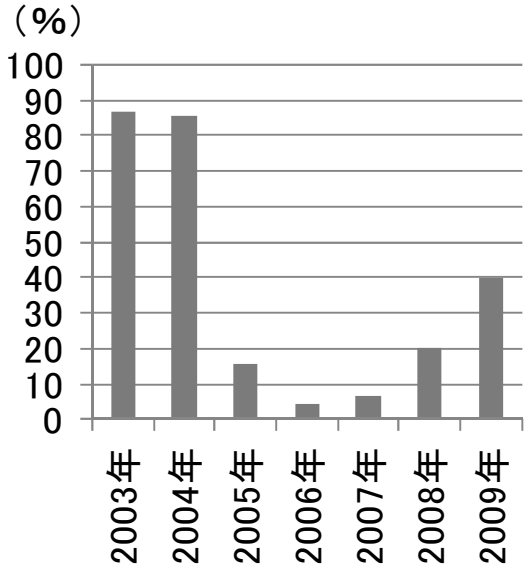



図４．富山県における日本脳炎予防接種率
値は保健統計年報[8－13]を参考にした。

接種を受けられるようになったことによると考えられる．また，0～4歳の乳幼児における抗体保有率の低さは，ワクチン未接種のためと考えられる．60歳以上の抗体保有率は，2007～2009年の調査（図2）で50～60%程度だったのが，今回13.6%と減少した．これまでの調査で抗体保有率が低かった30～59歳の年齢群が，調査年とともに高年齢へ推移し，今回60歳以上の年齢群にも及んだためと考えられる．なお，30歳以上の抗体保有率が低い理由として，年をとるにつれワクチン効果が減弱したことが考えられる．

調査対象者の予防接種歴を年齢群別に示すと（図3），「接種歴あり」の割合は，10～14歳での94.2%，15～19歳の93.1%がピークとなるが，20歳以上では40%以下であった．「接種歴なし」の割合は，0～4歳で78.8%と最も多かった．この結果は，2007～2009年の結果と顕著な差はなく，0～4歳に定期接種の対象年齢（通常3～4歳から）未満が多く含まれるためと考えられる．5～9歳での「接種歴なし」は7.1%で，2008年の52.9%，2009年の31.8%より大幅に減少し，2007年の結果（5.2%）と近かった．この値は，前述の定期接種の再開を反映している．

予防接種歴別の抗体保有率は，「接種歴なし」で8.2%，「接種歴不明」で40.3%であったのに対し，1回以上接種歴のある対象者では76.4%であった（表1）．これらの保有率は，2007～2009年の結果と同様であり，予防接種の効果により抗体を獲得できていると考えられる．年齢群別にみると，1回以上接種歴のある対象者のうち，抗体陽性者の割合は，29歳以下では100%であるものの，30歳以上は0.0～34.6%と，加齢に伴いワクチンの効果が減弱していると思われる．この傾向は2007～2009年の結果と同様であった．

「接種歴なし」のうち，抗体陽性者が8.2%存在した（表1）．これは自然感染によるものと推測されるが，罹患歴は全て「なし」または「不明」であり，多くは不顕性感染であったと推定される．年齢群別にみると，0～14歳，20～39歳で100%，その他の年齢群では0%となっており，50歳以上で抗体陽性者がみられた2007～2009年の結果とは異なっていた．これは，今回，「接種歴不明」に「接種歴なし」が多く含まれたせいかもしれない．

富山県における予防接種率を図4に示す．2004年までは80%前後であったが，2005年ワクチンの勧奨中止[5]により，2005年には10～20%，2006年度，2007年度は数%と激減した．しかしながら，2008年度以降は接種率が回復しつつある．

## まとめ

今回の調査では，2007～2009年と同様，県民の抗体保有率は5割程度であること，予防接種歴のある人は8割程度抗体を保有していること，乳幼児の抗体保有率

が低いこと，不顕性な自然感染をしている人が1割程度いることなどが確認された．一方，これまでの調査では30～59歳の年齢群で抗体保有率が低かったが，今回の調査結果では30～39歳の抗体保有率は5割程度となり，40歳以上では顕著に低かった．また，2008～2009年に低下していた，5～9歳のワクチン接種率及び抗体保有率が，今回の結果では回復し，2007年の調査と近い結果となっていた．

日本脳炎ワクチンの勧奨中止[5]以来，ワクチン接種率は顕著に低くなったが，新しい細胞培養ワクチンが認可されたことにより，徐々に定期接種が再開され，さらに接種機会を逃した人も接種を受けられるようになったため，今後の接種率の回復が期待される．

日本脳炎流行予測調査の感染源調査やウイルス分離調査において，県内での日本脳炎ウイルスの存在が確認されている[14-18]ことから，ワクチン未接種の乳幼児，40歳以上の抗体保有率が低い年齢群，及び発症リスクの高い高齢者は，特に蚊に刺されないための注意が必要である．

## 謝　辞

本調査の実施にあたり，検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします．

## 文　献

1．小原真弓，長谷川澄代，堀元栄詞，岩井雅恵，中村一哉，滝澤剛則，倉田　毅，田中桂子，南部厚子，田中有易知，上田順子，嶋尻悟志（2008）．富山衛研年報，31，76-78
2．小原真弓，長谷川澄代，堀元栄詞，岩井雅恵，中村一哉，滝澤剛則，倉田　毅，高田厚史，南部厚子，原田慎太郎，清原美千代，嶋尻悟志（2009）．富山衛研年報，32，65-67
3．小原真弓，長谷川澄代，堀元栄詞，岩井雅恵，中村一哉，滝澤剛則，倉田　毅，高田厚史，南部厚子，中村純香，清原美千代，　春木加奈，植田陽子（2010）．富山衛研年報，33，79-81
4．厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター（2011）．平成20年度感染症流行予測調査報告書，80-106
5．厚生労働省健康局結核感染症課長（2005）．健感発第0530001号
6．厚生労働省健康局長，厚生労働省医薬食品局長（2010）．健発0401第19号，薬食発0401第25号
7．厚生労働省健康局長，厚生労働省医薬食品局長（2010）．健発0827第10号，薬食発0827第4号
8．富山県厚生部（2005）．保健統計年報（平成15年度），55，306-307
9．富山県厚生部（2006）．保健統計年報（平成16年度），56，306-307
10．富山県厚生部（2007）．保健統計年報（平成17年度），57，304-305
11．富山県厚生部（2008）．保健統計年報（平成18年度），58，311-313
12．富山県厚生部（2009）．保健統計年報（平成19年度），59，246-247
13．富山県厚生部（2010）．保健統計年報（平成20年度），60，244-245
14．山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，川尻千賀子（2008）．富山衛研年報，31，65-75
15．山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，林　達哉（2009）．富山衛研年報，32，55-64
16．山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，植田陽子（2010）．富山衛研年報，33，69-78
17．山内健生，小原真弓，小渕正次，渡辺　護，關口健治（2011）．富山衛研年報，34，48-57
18．小原真弓，山内健生，渡辺　護，長谷川澄代，岩井雅恵，堀元栄詞，小渕正次，滝澤剛則（2011）．富山衛研年報，34，97-105

平成23年12月16日

# ポリオ流行予測調査（平成22年度）

岩井　雅恵　　堀元　栄詞　　小原　真弓　　馬渕　俊輔[1]　　高田　厚史[2]
南部　厚子[3]　　川越　久美子[4]　　嶋尻　悟志[5]　　關口　健治[6]　　滝澤　剛則

# Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010

Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Shunsuke MABUCHI[1],
Atsushi TAKATA[2], Atsuko NANBU[3], Kumiko KAWAGOSHI[4],
Satoshi SHIMAJIRI[5], Kenji SEKIGUCHI[6], and Takenori TAKIZAWA

**要 旨**　平成22年度ポリオ流行予測調査として，感染源調査を実施した．
感染源調査は，0歳から6歳までの健康な乳幼児71名について，ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で糞便を採取しウイルス分離を実施した．その結果，ポリオウイルスは検出されなかったが，コクサッキーウイルスB4型が1名から検出された．

急性灰白髄炎（ポリオ）は，ポリオウイルスが中枢神経へ侵入することにより弛緩性麻痺を呈する感染症である．ヒトの腸管で増殖したポリオウイルスは糞便中に排泄され，経口感染によってヒトに伝播する．1988年に世界保健機関（WHO）によりポリオ根絶計画が提唱されて以来ポリオ症例数は減少し，2010年現在で野生株ポリオウイルスの伝播が続いているのは，アフガニスタン，インド，ナイジェリア，パキスタンの4カ国となっている[1]．しかしながら，一旦ポリオの根絶が宣言されたアジアやアフリカの国々において，流行地から侵入した野生株ポリオウイルスに由来する麻痺患者が発生している[1]．また，ワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）の二次感染や地域伝播を通じて感染し，麻痺を発症する例も報告されている[2]．これらの地域ではワクチン接種率が低下していたため，野生株の侵入やVDPVの伝播を阻止するためには，ポリオウイルスに対する高い集団免疫を維持することが重要であると考えられる．

富山県におけるポリオ流行予測調査は，国内のポリオウイルスの動向を監視するために，厚生労働省感染症流行予測事業のひとつとして毎年実施されている．平成22年度は，健康な乳幼児の糞便からのポリオウイルスの検索（感染源調査）を行ったので報告する．

なお，検体を採取するにあたり，本調査の主旨，およびプライバシーの保護に対する適切な予防措置が行われることなどについて説明し，承諾の得られた場合にのみ検査を行った．

## 調査方法

春期または秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成22年9月，平成23年1月，及び2月に，小矢部市，黒部市，射水市の健康な乳幼児から採取された糞便について，ウイルス分離検査を実施した．年齢区分ごとの検査対象者数は，0歳児9名，1歳児12名，2歳児20名，3歳児9名，4歳児4名，5歳児16名，6歳児1名の計71名であった．当該地区のワクチン接種率は，予防接種の手引き[3]に従い，接種者数を対象人員｛(0歳の人口の9/12＋1歳の人口の6/12）×12/15｝で除して求めた．

ウイルスの検索は，「感染症流行予測調査事業検査術式」[4]に準じて行った．すなわち，採取した糞便にEagle-MEM培養液（日水製薬）を加えて約10%乳剤を作製し，10,000rpm，15分間遠心後，フィルター（Pore size 0.45μm）でろ過して細菌等を除いた．得られたろ液を4種類の培養細胞（Vero，MA104，RD-18S，HEp-2）に接種し，細胞変性効果の有無を指標としてウイルス分離を行なった．ウイルスは，抗エンテロウイルス抗血清（デンカ生研）を用いた中和試験により同定した．

1．高岡厚生センター　2．新川厚生センター　3．中部厚生センター　4．砺波厚生センター　5．富山市保健所
6．厚生部健康課

## 結果および考察

乳幼児71名の糞便からは，ポリオウイルスは検出されなかった（表1）が，パレコウイルス1型が小矢部市の0歳児4名から，コクサッキーウイルスB4型が黒部市の1歳児1名から検出された．当該地区のワクチン接種率は，小矢部市が春期104.8%，秋期92.2%，黒部市が春期97.8%，秋期93.5%，射水市が91.3%と高かった．

平成22年度，富山県内ではワクチン関連麻痺を含め，急性弛緩性麻痺患者の報告はなかった．また，平成21年度に実施したポリオ流行予測調査では，富山県内366名（0〜76歳）のポリオウイルスに対する抗体保有率は1型92.6%，2型97.0%，3型74.9%と高かった[5]．さらに，2006年から2010年に毎月1回，富山県内1〜2か所の下水処理場において下水流入水を採水し，ポリオウイルス分離検査を実施したところ，ワクチン株のみが春期及び秋期のポリオワクチン接種時期に検出され，野生株ポリオウイルスやVDPVは検出されていない[6, 7]．これらのことから，県内ではポリオウイルス伝播の可能性は低いと考えられた．

野生型ポリオウイルスは，アフガニスタン，インド，ナイジェリア，パキスタンで依然として感染が続いており，ウイルスが日本へ侵入する可能性は否定できないため，その監視は続けなければならない[1]．また，ウイルス感染や発症，地域での流行を起こさないために，今後も高い集団免疫を保つことが重要であると考えられる．

## ま と め

ポリオ感染源調査：平成22年9月，平成23年1月，及び2月に，健康な乳幼児71名の糞便についてポリオウイルスの検査を実施した．その結果，ポリオウイルスは検出されなかった．

## 謝　辞

本調査を実施するにあたり，検体採取等にご協力いただいた保育所，学校，病院，その他関係各位に深く感謝申し上げます．

## 文　献

1．WHO（2011）．Weekly epidemiological record. 86, 153-160
2．WHO（2007）．Weekly epidemiological record, 82, 337-344
3．予防接種の手引き<第11版>．木村三生夫ら編，p60 近代出版．
4．厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所流行予測調査事業委員会（平成14年）．感染症流行予測調査事業検査術式，1-8
5．岩井雅恵，堀元栄詞，小原真弓ら（2010）．富山県衛生研究所年報，33，82-87

表1．乳幼児の糞便からのウイルス検出状況

| 調査地区 | 年齢（歳） | 検体数 | ウイルス検出 | | ウイルス内訳 |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 陽性数 | (%) | コクサッキーB4 |
| 小矢部市 | 0 | 9 | 0 | | |
| 黒部市 | 1 | 12 | 1 | (8.3) | 1 |
| | 2 | 3 | | | |
| | 3 | 9 | | | |
| | 4 | 3 | | | |
| | 5 | 3 | | | |
| | 2 | 17 | | | |
| | 4 | 1 | | | |
| | 5 | 13 | | | |
| | 6 | 1 | | | |
| 合計 | | 71 | 1 | (1.4) | 1 |

検体採取日：小矢部市，平成22年9月15-16日；黒部市，平成23年1月19-26日，射水市，2月8-14日．

6．岩井雅恵，中村一哉，小原真弓ら（2009）．病原微生物検出情報月報，30，180-181
7．清水博之（2011）．厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「エンテロウイルス感染症制御のための診断・予防治療に関する国際連携研究」平成22年度総括・分担研究報告書，22-27

# インフルエンザ流行予測調査およびウイルス検出状況（平成22年度）

堀元　栄詞　　小渕　正次　　小原　真弓　　岩井　雅恵　　滝澤　剛則　　高田　厚史[1]
南部　厚子[2]　　馬渕　俊輔[3]　　川越　久美子[4]　　嶋尻　悟志[5]　　關口　健治[6]

## Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2010-2011

Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Mayumi OBARA, Masae IWAI,
Takenori TAKIZAWA, Atsushi TAKATA[1], Atsuko NANBU[2], Shunsuke MABUCHI[3],
Kumiko KAWAGOSHI[4], Satoshi SHIMAJIRI[5], Kenji SEKIGUCHI[6]

**要 旨**　インフルエンザ流行期前に富山県住民の抗体保有状況を調べ，流行期にインフルエンザ様患者からウイルスの検出と分離を行った．その結果，以下の成績を得た．

1．インフルエンザ流行期前における富山県住民384名の抗体保有状況について，4種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた．血球凝集抑制（HI）抗体価40倍以上の力価を示す抗体保有率は，2010/11シーズンインフルエンザワクチン株の A/California/7/2009（H1N1）pdm，A/Victoria/210/2009（H3N2），B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）および参考株の B/Florida/4/2006（山形系統）に対して各々21.1%，26.6%，21.1%，16.9%であった．

2．インフルエンザ患者の報告は2010年第50週に定点当たり1.81になり、流行が始まった。2011年第1週から報告数は急増し，第5週にピークに達した後，緩やかに減少し,第18週には流行が終息した．

3．インフルエンザウイルスは，AH1pdm 型が128株，AH3型が38株，B 型が84株分離され,3種類のウイルスの混合流行となった．シーズン始めと後半は B 型が主流であったが，1〜2月の流行ピーク時は AH1pdm 型が主流となった．B 型ウイルスのほとんどはビクトリア系統株であった．

本調査は，インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現状把握（Ⅰ感受性調査）とウイルス検索（Ⅱ感染源調査）を行い，ワクチン株選定を含めたインフルエンザ流行の予測と予防に資することを目的としている．厚生労働省健康局結核感染症課が主体となり，全国の地方衛生研究所，保健所，医療機関等が協力して実施した．

## Ⅰ　感受性調査

インフルエンザ流行期前の県民の抗体保有状況を調べ，県民の免疫状況とインフルエンザ流行の実態を把握し，今後の流行予測および感受性者に対しての注意を喚起する為の資料とする．

### 調査および検査方法

1．調査期間

2010年6〜10月

2．調査対象者数および年齢別構成

本年度は県内住民384名について調査を行った．年齢群別調査数は0〜4歳:51名，5〜9歳：15名，10〜14歳：51名，15〜19歳：29名，20〜29歳：56名，30〜39歳：83名，40〜49歳：27名，50〜59歳：50名，60歳以上：22名であった．

3．検査方法

調査対象者から採血し，血清中のインフルエンザウイルス赤血球凝集抑制（HI）抗体価を測定した．抗体価の測定は，「感染症流行予測調査事業検査術式（平成14年発行）」に準じて行い，血清希釈10倍を最低希釈倍数とした．

抗原は，次の4種類を使用した．この内，1，2，3は2010/11シーズンのインフルエンザワクチン株である．

1. A/California/7/2009（H1N1）dm
2. A/Victoria/210/2009（H3N2）

1．新川厚生センター，2．中部厚生センター，3．高岡厚生センター，4．砺波厚生センター，5．富山市保健所
6．厚生部健康課

表１．年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況

A/California/7/2009（H1N1）pdm

| 年齢群 | 人数 | 各 HI 抗体価別人数 | | | | | | | | | | 40倍以上抗体保有者(率) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ＜10 | 10 | 20 | 40 | 80 | 160 | 320 | 640 | 1280 | 2560 | 人数 | % |
| 0-4 | 51 | 36 | 9 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 7.8 |
| 5-9 | 15 | 4 | 3 | 2 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 40.0 |
| 10-14 | 51 | 22 | 1 | 9 | 9 | 3 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 19 | 37.3 |
| 15-19 | 29 | 4 | 1 | 3 | 10 | 5 | 4 | 2 | 0 | 0 | 0 | 21 | 72.4 |
| 20-29 | 56 | 32 | 8 | 7 | 7 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 16.1 |
| 30-39 | 83 | 48 | 15 | 8 | 10 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12 | 14.5 |
| 40-49 | 27 | 13 | 5 | 3 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 22.2 |
| 50-59 | 50 | 32 | 8 | 8 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4.0 |
| ≧60 | 22 | 18 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 9.1 |
| 合計 | 384 | 209 | 51 | 43 | 47 | 16 | 14 | 4 | 0 | 0 | 0 | 81 | 21.1 |

A/Victoria/210/2009（H3N2）

| 年齢群 | 人数 | 各 HI 抗体価別人数 | | | | | | | | | | 40倍以上抗体保有者(率) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ＜10 | 10 | 20 | 40 | 80 | 160 | 320 | 640 | 1280 | 2560 | 人数 | % |
| 0-4 | 51 | 13 | 29 | 8 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2.0 |
| 5-9 | 15 | 0 | 5 | 4 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 40.0 |
| 10-14 | 51 | 8 | 18 | 19 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 | 11.8 |
| 15-19 | 29 | 1 | 6 | 3 | 11 | 6 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 19 | 65.5 |
| 20-29 | 56 | 0 | 17 | 21 | 13 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 18 | 32.1 |
| 30-39 | 83 | 1 | 22 | 39 | 16 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 21 | 25.3 |
| 40-49 | 27 | 0 | 9 | 13 | 4 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 18.5 |
| 50-59 | 50 | 1 | 11 | 21 | 13 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 17 | 34.0 |
| ≧60 | 22 | 0 | 4 | 9 | 6 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 40.9 |
| 合計 | 384 | 24 | 121 | 137 | 71 | 23 | 6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 102 | 26.6 |

B/Brisbane/60/2008（Vic.）

| 年齢群 | 人数 | 各 HI 抗体価別人数 | | | | | | | | | | 40倍以上抗体保有者(率) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ＜10 | 10 | 20 | 40 | 80 | 160 | 320 | 640 | 1280 | 2560 | 人数 | % |
| 0-4 | 51 | 48 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0 |
| 5-9 | 15 | 6 | 4 | 1 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 26.7 |
| 10-14 | 51 | 31 | 3 | 8 | 7 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 17.6 |
| 15-19 | 29 | 4 | 10 | 8 | 4 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 7 | 24.1 |
| 20-29 | 56 | 20 | 15 | 14 | 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 12.5 |
| 30-39 | 83 | 15 | 16 | 12 | 18 | 17 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 48.2 |
| 40-49 | 27 | 8 | 6 | 3 | 8 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 37.0 |
| 50-59 | 50 | 17 | 18 | 11 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 4 | 8.0 |
| ≧60 | 22 | 17 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0 |
| 合計 | 384 | 166 | 80 | 57 | 51 | 24 | 5 | 1 | 0 | 0 | 0 | 81 | 21.1 |

B/Florida/4/2006（Yama.）

| 年齢群 | 人数 | 各 HI 抗体価別人数 | | | | | | | | | | 40倍以上抗体保有者(率) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ＜10 | 10 | 20 | 40 | 80 | 160 | 320 | 640 | 1280 | 2560 | 人数 | % |
| 0-4 | 51 | 50 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0 |
| 5-9 | 15 | 11 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0 |
| 10-14 | 51 | 17 | 11 | 12 | 8 | 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 | 21.6 |
| 15-19 | 29 | 6 | 3 | 5 | 5 | 10 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 51.7 |
| 20-29 | 56 | 11 | 11 | 17 | 12 | 4 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 17 | 30.4 |
| 30-39 | 83 | 32 | 21 | 15 | 12 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 18.1 |
| 40-49 | 27 | 11 | 7 | 4 | 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 | 18.5 |
| 50-59 | 50 | 33 | 10 | 5 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 4.0 |
| ≧60 | 22 | 21 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.0 |
| 合計 | 384 | 192 | 68 | 59 | 44 | 19 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 65 | 16.9 |

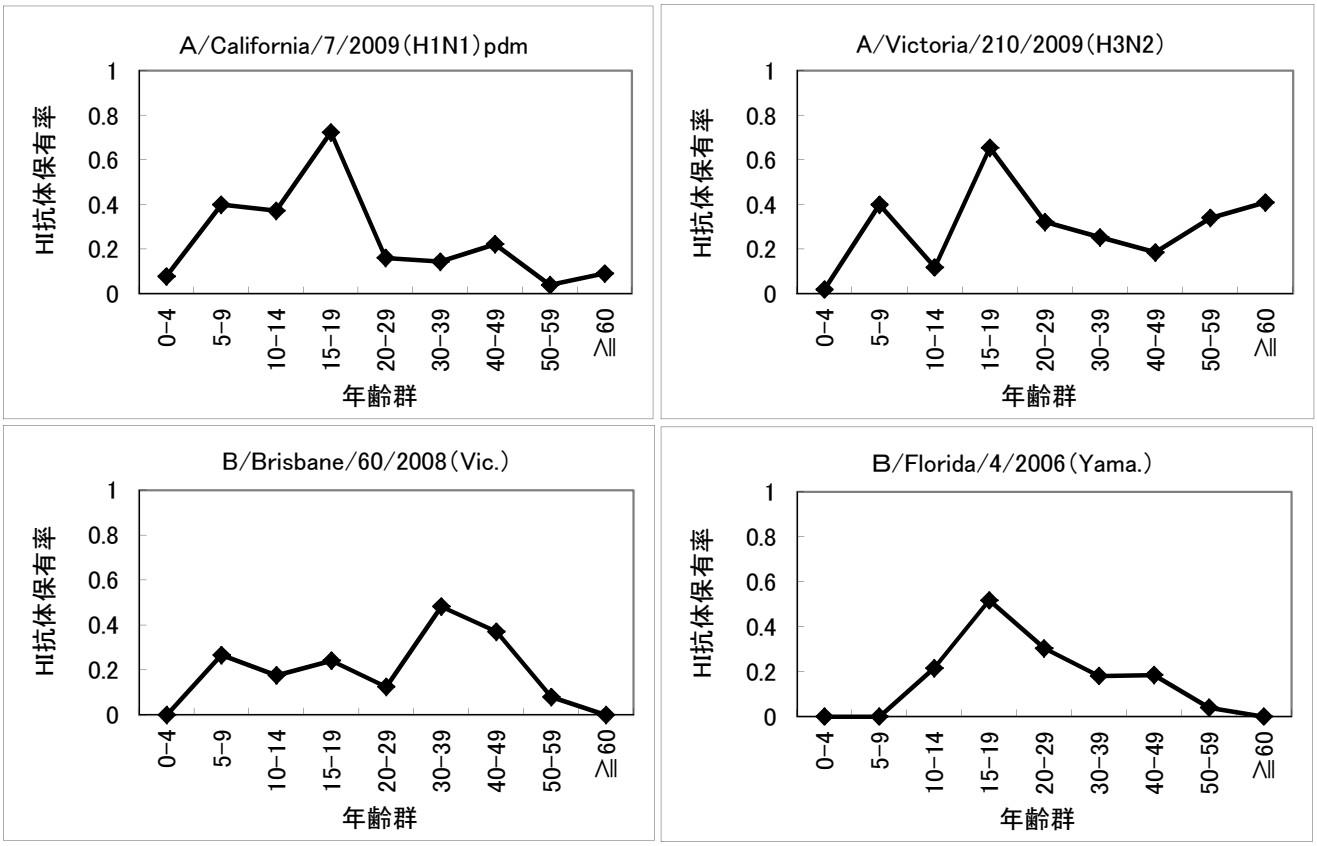



図１．年齢群別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）

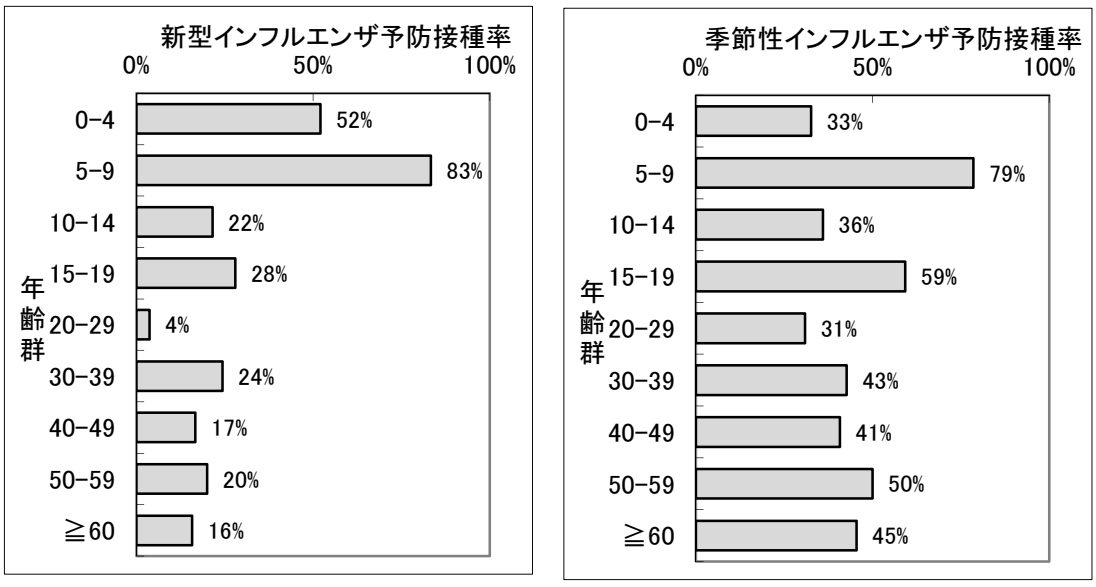



図２．対象者の年齢群別2009/10シーズンインフルエンザワクチン接種率

表２．予防接種歴別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）

| 抗原 | | A/California /7/2009 （H1N1） pdm | | A/Victoria /210/2009 （H3N2） | | B/Brisbane /60/2008 （Vic.） | | B/Florida /4/2006 （Yama.） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 予防接種 | | 有 | 無 | 有 | 無 | 有 | 無 | 有 | 無 |
| 年齢分布 | 0-4 | 12.0% | 4.3% | 6.7% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| | 5-9 | 40.0% | 0.0% | 45.5% | 33.3% | 27.3% | 33.3% | 0.0% | 0.0% |
| | 10-14 | 27.3% | 40.0% | 11.1% | 12.5% | 22.2% | 15.6% | 38.9% | 12.5% |
| | 15-19 | 85.7% | 66.7% | 81.3% | 36.4% | 31.3% | 9.1% | 62.5% | 36.4% |
| | 20-29 | 50.0% | 13.5% | 64.7% | 18.4% | 11.8% | 13.2% | 52.9% | 18.4% |
| | 30-39 | 25.0% | 9.7% | 42.9% | 12.8% | 71.4% | 29.8% | 28.6% | 10.6% |
| | 40-49 | 50.0% | 20.0% | 45.5% | 0.0% | 54.5% | 25.0% | 27.3% | 12.5% |
| | 50-59 | 10.0% | 2.5% | 44.0% | 24.0% | 12.0% | 4.0% | 4.0% | 4.0% |
| | ≧60 | 33.3% | 6.3% | 50.0% | 33.3% | 0.0% | 0.0% | 0.0% | 0.0% |
| 平均 | | 28.3% | 17.6% | 43.0% | 14.9% | 30.4% | 14.4% | 25.3% | 10.7% |

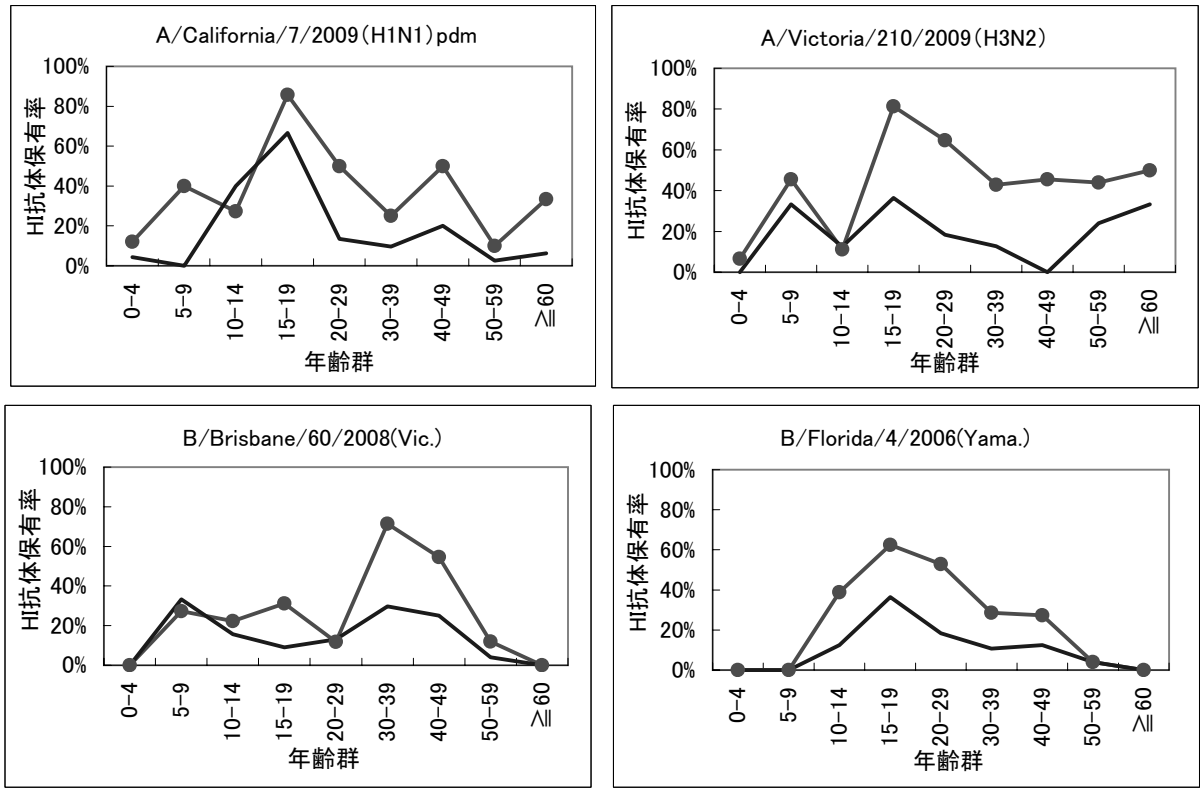



図３．予防接種歴別 HI 抗体保有率（抗体価40倍以上）

3. B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）
4. B/Florida/4/2006（山形系統）

抗原については，全てデンカ生研製のものを使用した．血球は1，3，4の抗原に対し0.5%ニワトリ血球浮遊液を，2の抗原に対しては0.75%モルモット血球浮遊液を使用した．

## 結果および考察

1．年齢群別抗体保有状況

HI 抗体価10倍未満～2560倍の抗体保有状況について年齢群別に示した（表１）．また HI 抗体価40倍以上の抗体保有率について，年齢群別に示した（図１）．なお，本稿においては，抗体保有率の高低について60%以上を「高い」，40～59%を「比較的高い」，25～39%を「中程度」，10～24%を「比較的低い」，5～9%を「低い」，5%未満を「極めて低い」として以下の表現に用いた．

**A/California/7/2009（H1N1）pdm に対する抗体保有率**：本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均21.1%であった．年齢群別では，15～19歳の群では72.4%と高く，5～9歳の群では40.0%と比較的高かった．10～14歳の群では37.3%と中程度であり，20～29歳，30～39歳，40～49歳の群ではそれぞれ16.1%，14.5%，22.2%と比較的低く，0～4歳，60歳以上の群では7.8%，9.1%と低く，50～59歳の群では4.0%と極めて低かった．

**A/Victoria/210/2009（H3N2）に対する抗体保有率**：本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均26.6%であった．年齢群別では，15～19歳の群では65.5%と高く，5～9歳，60歳以上の群では40.0%，40.9%と比較的高かった．20～29歳，30～39歳，50～59歳の群ではそれぞれ32.1%，25.3%，34.0%と中程度であり，10～14歳，40～49歳では11.8%，18.5%と比較的低く，　0～4歳の群では2.0%と極めて低かった．

**B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）に対する抗体保有率**：B 型インフルエンザウイルスには，抗原性および遺伝学的に異なる2つの系統（山形系統とビクトリア系統）がある．本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均21.1%であった．年齢群別では，30～39歳の群が48.2%と比較的高かった．5～9歳，40～49歳の群では26.7%と37.0%と中程度であり，10～14歳，15～19歳，20～29歳の群ではそれぞれ17.6%，24.1%，12.5%と比較的低く，50～59歳の群では8.0%と低かった．0～4歳，60歳以上の群では共に0.0%と極めて低かった．

**B/Florida/4/2006（山形系統）に対する抗体保有率**：本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均16.9%であった．年齢群別では15～19歳の群では51.7%と高かった．20～29歳の群では30.4%と中程度であり，10～14歳，30～39歳，40～49歳の群ではそれぞれ21.6%，18.1%，18.5%と比較的低く，50～59歳の群で4.0%，および0～4歳，5～9歳，60歳以上の群では全て0.0%と極めて低かった．

2．予防接種率および予防接種歴別抗体保有状況

2009/10シーズンのインフルエンザワクチンは，新型インフルエンザワクチンとして単価ワクチンが，季節性インフルエンザワクチン（3価ワクチン）とは別に接種が行われた．各年齢群における新型・季節性インフルエンザワクチン接種率を図2に，抗体保有状況を予防接種歴別に表2および図3に示す．

新型インフルエンザワクチンの接種者（採血時点で2009/10シーズンにワクチン接種歴有りと回答した者）は，調査対象者384名中，予防接種歴不明の19名を除く365名において92名（25.2%）であった．年齢群別の接種率は3.7～83.3%と，各年齢群間で最大79.6ポイントの差が見られた．0～4歳が52.1%，5～9歳が83.3%と高い接種率であったのに対し，20歳代を除く10歳以上の年齢群では約2割程度の接種率であった．

季節性インフルエンザワクチンの接種者（採血時点で2009/10シーズンにワクチン接種歴有りと回答した者）は，調査対象者384名中，予防接種歴不明の11名を除く373名において158名（42.4%）であった．年齢群別の接種率は30.9～78.6%と，各年齢群間で最大47.7ポイントの差が見られた．年齢群別では，5～9歳で78.6%と最も高かったが，それ以外の群では3～6割程度の接種率であった．

全年齢群における平均抗体保有率を予防接種歴別に見ると，A/California/7/2009（H1N1）pdm で28.3%：17.6%（接種歴有群：接種歴無群，以下同），A/Victoria/210/2009（H3N2）で43.0%：14.9%，B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）で30.4%：14.4%，B/Florida/4/2006（山形系統）で25.3%：10.7%と全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して10.7～28.1ポイント高かった．

A/California/7/2009（H1N1）pdm に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率を，2009年度（パンデミック発生初期の調査）とその1年後（2010年度）について比較検討した（図4）．2009年度の調査では，全年齢群における抗体保有率は3.3%であり，年齢群別では15～49歳の年齢群で数%と低い保有率であった．2010年度の調査では，全年齢群における抗体保有率は21.1

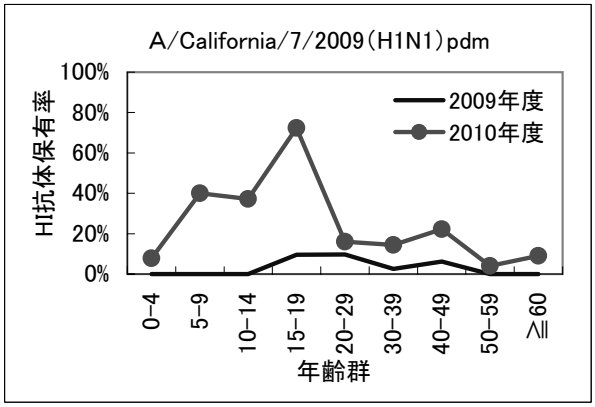



**図４．A/California/7/2009（H1N1）pdm に対する HI 抗体価40倍以上の年齢群別抗体保有率の比較（2009年度、2010年度）**

%と，前年度から17.8ポイント増加した．年齢群別では5〜19歳の群が著しく増加した．この理由として，2009/10シーズンのインフルエンザの流行がほとんどAH1pdm あったこと，調査票に記入された前シーズンのＡ型インフルエンザ罹患状況の集計では5〜19歳の年齢群が25〜29%とそれ以外の年齢群が数%だったことに比べて高かったこと，新型インフルエンザワクチンの接種率が10歳未満で高かったことが影響していると思われる．

2010年度の調査の結果，各抗原に対する抗体保有率は A/California/7/2009（H1N1）pdm, A/Victoria/210/2009（H3N2），B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統), B/Florida/4/2006（山形系統）に対して各々21.1%，26.6%，21.1%，16.9%と比較的低い〜中程度であった．

前シーズン予防接種歴の有無の比較では全ての調査株で接種歴有の群が高く，年齢群別でも概ね同様の傾向が認められた．また，従来からの調査同様，全ての調査株に対する0〜4歳の抗体保有率は低いことから注意が必要である．

## II　感染源調査

インフルエンザ様患者検体からウイルス分離を行い，流行株の性状を把握することにより，次シーズンのワクチン株の選定や，新型インフルエンザ出現監視に資することを目的として本調査を行った．なお，本年度は厚生労働省科学研究として「非流行期におけるインフルエンザサーベイランス」を行ったが，そのデータと合わせて解析した．

### 調査および検査方法

１．調査期間

2010年9月〜2011年5月

２．調査対象

定点医療機関として，二本垣医院（黒部市），池田内科医院（上市町），小栗小児科医院（高岡市），パスコこどもクリニック（射水市），力耕会金井医院（砺波市），柳下小児科内科医院（砺波市），中島こどもクリニック（富山市），むらかみ小児科アレルギークリニック（富山市）の協力を得た．また，インフルエンザ重症サーベイランスの継続に伴い，定点外医療機関において採取された検体も調査の対象とした．

３．検査方法

ウイルス分離は，患者から採取した咽頭・鼻腔拭い液を MDCK 細胞に接種して行った．分離したウイルスの型別同定は，国立感染症研究所（感染研）から配布された次の血清を用いた HI 試験より行った．

1. 抗 A/Brisbane/59/2007（H1N1）血清
2. 抗 A/California/7/2009（H1N1pdm）血清
3. 抗 A/Victoria/210/2009（H3N2）血清
4. 抗 B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）血清
5. 抗 B/Bangladesh/3333/2007（山形系統）血清

血球は0.75%モルモット血球浮遊液を使用した．

必要に応じて，感染研の検査マニュアルに従い，リアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検査を行った．

### 結果および考察

１．インフルエンザ患者の報告状況

富山県感染症発生動向調査によると，2010/11シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は2010年第39週（9/27〜10/3）であった．第44週（11/1〜11/7）以降は継続して報告されるようになり，第50週（12/13〜19）には定点あたり1.81人となり,流行が始まった.2011年第1週（1/3〜9）から患者報告数が急増し，第5週（1/31〜2/6）にピークに達した（37.88人/定点）．その後，緩やかな減少が続いたが，第11週（3/14〜20）以降は急速に減少し，第18週（5/2〜8）には0.71人/定点となり,流行は終息した．

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は，2010年第50週に黒部市で1件発生してから,2011年4月19日（第16週）までに250施設でとられた．シーズン中の累積患者数は5832名であった．

２．インフルエンザウイルス検出状況

2010年9月〜2011年5月までに，定点および定点外医療機関で採取された277検体についてインフルエンザ

表３．施設別インフルエンザウイルス分離状況

| 管轄厚生センター・保健所等 | 検体採取施設 | 区分 | ウイルス検査 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | 咽頭（鼻腔）ぬぐい液 | | ウイルス検出 | | |
| | | | 採取日 | 検体数 | 検出数 | 型別内訳 | |
| | | | | | | AH1pdm | AH3 | B |
| 新川 | 二本垣医院 | 定点 | 2010.12.2～2011.1.28 | 14 | 12 | 3 | 2 | 7 |
| 中部 | 池田内科医院 | 定点 | 2010.12.15～2011.3.26 | 10 | 10 | 7 | 0 | 3 |
| 高岡 | 小栗小児科医院 | 定点 | 2010.12.20～2011.4.16 | 37 | 35 | 23 | 2 | 10 |
| 高岡 | パスコこどもクリニック | 定点 | 2010.12.28～2011.4.25 | 37 | 34 | 7 | 15 | 12 |
| 砺波 | 力耕会　金井病院 | 定点 | 2010.12.13～2011.5.30 | 68 | 64 | 42 | 9 | 13 |
| 砺波 | 柳下小児科内科医院 | 定点 | 2010.10.5～2011.4.18 | 23 | 17 | 12 | 2 | 3 |
| 砺波 | 住田小児科医院 | 定点 | 2010.9.28～2011.4.14 | 11 | 8 | 4 | 2 | 2 |
| 富山市 | 中島こどもクリニック | 定点 | 2010.12.24～2011.3.6 | 8 | 7 | 5 | 0 | 2 |
| 富山市 | むらかみ小児科アレルギークリニック | 定点 | 2010.12.13～2011.4.23 | 49 | 47 | 13 | 2 | 32 |
| 高岡 | 社会保険高岡病院 | 定点外（重症サーベイランス） | 2011.2.1～2.3 | 5 | 5 | 4 | 1 | 0 |
| 高岡 | なるせクリニック | 定点外（集団感染） | 2011.2.9 | 3 | 3 | 1 | 2 | 0 |
| 砺波 | 砺波総合病院 | 定点外（重症サーベイランス） | 2010.10.21～2011.1.22 | 10（注1） | 7 | 6 | 1 | 0 |
| 富山市 | 富山大学附属病院 | 定点外（重症サーベイランス） | 2011.3.8～3.10 | 2（注2） | 1 | 1 | 0 | 0 |
| 合計 | | | | 277 | 250 | 128 | 38 | 84 |

（注1）同一患者から2回採取した3検体を含む
（注2）同一患者から2回採取

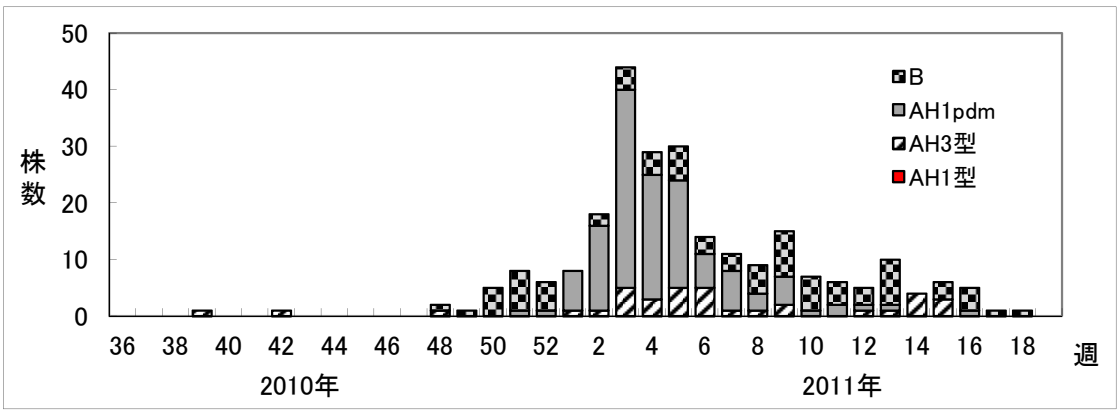



図５．週別・型別インフルエンザウイルス検出状況

表４．標準抗血清に対する分離株の HI 価

（単位：株）

| | | 標準抗血清 | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | AH1pdm 型 | AH3型 | B/ビクトリア系統 | B/山形系統 |
| | | A/California/7/2009 | A/Victoria/210/2009 | B/Brisbane/60/2008 | B/Bangladesh/3333/2007 |
| ホモ価 | | 2560 | 2560 | 1280 | 1280 |
| 分離株のHI抗体価 | 160 | | 2 | | |
| | 320 | 3 | 2 | 5 | |
| | 640 | 7 | 1 | 62 | 1 |
| | 1280 | 16 | 19 | 14 | 1 |
| | 2560 | 2 | 8 | 1 | |
| 合計 | | 28 | 32 | 82 | 2 |

ウイルスの分離・遺伝子検出を試みた．成績を表3に示す．

ウイルスの型別では,AH1pdm 型が128株（51.2%），AH3型が38株（15.2%），B 型が84株（33.6%）の合計250株が検出された．シーズンの始めは B 型ウイルスが多数を占めたが，1月は AH1pdm 型,2月後半以降は再び B 型が主流となった.また,AH3型は少ないながらもシーズンを通して検出され,3種類のウイルスの混合流行となった.一方,AH1型（ソ連型）は全く検出されなかった（図5）．

標準抗血清に対する分離株の HI 価を表 4に示す．抗 A/California/7/2009（H1N1pdm）血清に対する AH1pdm 分離株の HI 価は ， 320～2560 （ホモ価 2560）であった．28株中23株がホモ価から4倍以内におさまり，試験株のほとんどはワクチン株類似の抗原性であった．抗 A/Victoria/210/2009（H3N2）血清に対する AH3分離株の HI 価は，160～2560（ホモ価 2560）であった．32株中28株はホモ価から4倍以内におさまり，AH1pdm ウイルスと同様に分離株のほとんどがワクチン株類似の抗原性であった．

抗 B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）血清に対する B 型分離株の HI 価は，320～2560（ホモ価 1280）で,いずれもワクチン株類似であった． B 型分離株のほとんどはビクトリア系統であったが,山形系統株も2株分離された．それらはいずれも2シーズン前のワクチン株と類似の抗原性であった．

今シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行は，昨シーズンの AH1pdm パンデミックでみられた流行パターンとは異なり[1]，流行の始まりや流行期間は通常のシーズンとほぼ同様であった.定点医療機関からの患者報告数のピークは過去5シーズンでは2番目の高さであったが,流行規模は例年より若干大きい程度であった.富山県発生動向調査によると,インフルエンザ迅速診断キットの型別患者報告数では,シーズン初めは B 型が目立ったものの,1月に入ってからは A 型の割合が急増し,患者数がピークに達した後,その割合は減少した.一方,B 型の報告数は 1月以降徐々に増加し,第7週には A 型を上回り,第11週（3/7～10）まで増加が続いた.B 型インフルエンザの流行は県東部から始まり,県西部へと流行が移行していった傾向が見られた[2].県内の週別患者報告数の推移を全国平均と比較すると,ピーク後の減少が緩やかであった[2].その一因として,B 型ウイルスの流行が他県と比較して大きかったことがあげられるが,県内で B 型ウイルスが流行した原因は明らかではない．

分離株の抗原解析の結果，AH1pdm 型，AH3型,B 型分離株のいずれも,ワクチン株から大きく抗原性が変化した株はほとんど検出されなかった.したがって,市中流行株の抗原性はワクチン株類似であることが示唆された.国内外でも同様の傾向が見られたことから,わが国の2011/12シーズンのワクチン製造株は今シーズンから変更がなかった[3]． しかし,今シーズンの AH1pdm 分離株は赤血球凝集性が低い株が約8割を占め,HI 試験による型・亜型の同定が困難であった[4].来シーズン以降もこのようなウイルスが流行株の主流になった場合は,中和試験による抗原解析を行う必要があると考える．

## 謝　辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた二本垣医院，池田内科医院，小栗小児科医院，パスコこどもクリニック，力耕会金井医院，柳下小児科内

科医院，住田小児科医院,中島こどもクリニック，むらかみ小児科アレルギークリニック，社会保険高岡病院，なるせクリニック,砺波総合病院ならびに富山大学附属病院に深謝いたします．また，ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします．

## 文　献

1．富山県衛生研究所編集・発行（2010）．富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成21年）
2．富山県衛生研究所感染症情報センター（2011）．感染症発生動向調査速報
http://www.pref.toyama.jp/branches/1279/kansen/sokuhou/sokuhou.html
3．国立感染症研究所感染症情報センター（2011）．病原微生物検出情報
http://idsc.nih.go.jp/iasr/rapid/pr3763.html
4．小渕正次,堀元栄詞,小原真弓,岩井雅恵,滝澤剛則,佐多徹太郎（2011）病原微生物検出情報
http://idsc.nih.go.jp/iasr/rapid/pr3771.html

平成23年12月16日

# ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について（2010年度）

小原　真弓　　森岡　誠二[1]　　小渕　正次　　岩井　雅恵
堀元　栄詞　　滝澤　剛則

# Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010

Mayumi OBARA, Seiji MORIOKA[1], Masatsugu OBUCHI, Masae IWAI,
Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA

**要 旨**　2010年4月から2011年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例及び散発例についてまとめた．

当所及び富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生28事例からウイルスが検出された．4月，12月の発生が多く，結果として全体の発生数は例年より多かった．原因と推定されたウイルスの内訳は，ノロウイルス（NoV）Genogroup（G）II が22事例，NoVGI が4事例，NoVGI と GII の混合が1事例，NoVGI と GII とサポウイルスの混合が1事例であった．

食品を介した感染では，カキの喫食による発生が3事例あった．カキと関連のない6事例は感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた．保育所，老人ホーム等での発生は，感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介して，ヒトからヒトへウイルスが伝播したと考えられた．

NoV の遺伝子型は，集団発生，散発例とも GII/4が最も発生が多かった．GII/4の亜型は2006b が主な流行を担っており，春季には2009a，冬季には2008a も流行していた．

ウイルス性の感染性胃腸炎や食中毒の集団発生は，主に冬季に多発し，ノロウイルス（NoV），ロタウイルス，サポウイルス（SaV），アデノウイルスなどが原因ウイルスとなる．この中でも発生が多いのはNoVで，厚生労働省の食中毒統計（http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/index.html）では，患者数の最多割合を占める．一方，小児の散発例では，NoV とともにロタウイルス A 群の占める割合が多い[1].

NoV は，冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり，乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する[2]．ヒトに感染する NoV は主に Genogroup I（GI）と Genogroup II（GII）に分けられる．さらに,それぞれが複数の遺伝子型に分類される[3-6].

NoV はヒトの小腸で増殖し，吐物や糞便中に排泄される．吐物には1g あたり$10^3$〜$10^6$個，糞便には$10^9$個もの NoV が含まれている[7]．NoV は，感染者から2週間以上にわたり排泄され[8,9]，環境中でも長期間感染性を維持するとされる．100個以下で感染・発病させるといわれている[10]ため，調理従事者が感染すると，その手指を介して食品が NoV で汚染され，集団食中毒を引き起こすことがある．また，ヒトから排泄された NoV は，海に入り，カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積される[11]ため，二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある．一方，NoV は食中毒のみならず，ヒトからヒトへ手指等を介して感染し，散発例，集団発生なども引き起こしている．

近年，本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどが NoV によるものであるため[1,12-15]，主に NoV を対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例の調査を実施した．

## 材料および方法

1．集団発生事例

2010年4月〜2011年3月までに当所及び富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした．検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター，富山市

1．富山市保健所

表１．ウイルス性胃腸炎集団発生事例（2008年度）

| 事例No. | 発生月 | 発生／原因施設 | 患者数 | 推定原因ウイルス | | 推定感染源 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2010年　4月 | 飲食店 | 24 | NoV | GⅡ/4 | 食品 | |
| 2 | 4月 | 老人ホーム | 12 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 3 | 4月 | 老人ホーム | 47 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 4 | 4月 | 老人ホーム | 15 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 5 | 4月 | 飲食店(有症苦情) | 2 | NoV | GⅠ/7 | 食品(生岩ガキ) | |
| 6 | 4月 | 小学校 | 9 | NoV | GⅠ/8 | 不明 | * |
| 7 | 4月 | 老人ホーム | 18 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 8 | 4月 | 老人保健施設 | 22 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 9 | 5月 | 飲食店 | 11 | NoV | GⅡ/2,GⅠ/4,GⅠ/8 | 食品(生岩ガキ) | ** |
| 10 | 5月 | 小学校 | 33 | NoV | GⅡ/2 | ヒトーヒト | |
| 11 | 6月 | 弁当 | 13 | NoV | GⅠ(県外で検出) | 食品 | |
| 12 | 11月 | 保育所 | 14 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 13 | 11月 | 保育所 | 22 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 14 | 12月 | 県外、大学(大会) | 15 | NoV | GⅡ/3 | 不明 | ** |
| 15 | 12月 | 家族内 | 2 | NoV | GⅡ/4 | 不明 | |
| 16 | 12月 | 保育所 | 15 | NoV | GⅡ/3 | ヒトーヒト | |
| 17 | 12月 | 保育所 | 24 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 18 | 12月 | 保育所 | 19 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 19 | 12月 | 病院 | 48 | NoV | GⅡ/4 | ヒトーヒト | |
| 20 | 12月 | 飲食店 | 18 | NoV | GⅡ/4 | 食品 | * |
| 21 | 12月 | 飲食店(有症苦情) | 4 | NoV | GⅡ/4 | 不明 | |
| 22 | 12月 | 飲食店 | 27 | NoV | GⅡ/4 | 食品 | |
| 23 | 2011年　1月 | 飲食店 | 401 | NoV | GⅡ/4 | 食品 | |
| 24 | 2月 | 飲食店(有症苦情) | 9 | NoV | GⅡ/4 | 不明 | |
| 25 | 2月 | 旅館 | 8 | NoV | GⅠ/11,GⅡ/13 | 食品(生岩ガキ) | |
| | | | | SaV | GⅠ/2 | | |
| 26 | 2月 | 保育園 | 30 | NoV | GⅡ/13 | ヒトーヒト | |
| 27 | 3月 | 保育園 | 22 | NoV | GⅡ/13 | 食品 | |
| 28 | 3月 | 小学校(有症苦情) | 9 | NoV | GⅡ/13 | 不明 | |

＊富山市保健所にて検査

＊＊当所及び富山市保健所にて検査

保健所で実施した.

2．散発例

2010年4月～2011年3月までに当所で受け付けた散発例を対象とした．検体採取は各定点医療機関及び管轄厚生センターが実施した.

3．ウイルスの検出

NoV の検出は，厚生労働省通知[16]に準じ，糞便からの RNA 抽出，リアルタイム PCR 法及び RT-PCR 法を行った．SaV の検出は，プライマー SV-F11/SV-R1を用いた RT-PCR 及びプライマー SV-F2/SV-R2を用いた nested PCR を行った[17]. PCR 産物は，ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した.

## 結果および考察

1．集団発生事例の概要

2010年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生30事例のうち，25事例（県外の患者からのみ検出された事例を含む）からウイルスが検出された．これに富山市保健所で検査した事例を加えた計28事例の概要を表1に示す．原因ウイルスの内訳は NoVGII が22事例，NoVGI が4事例，NoVGI と GII の混合が1事例，NoVGI と GII と SaV の混合

が1事例であった．NoV の型別は，GII/4が17事例と最も多かったが，次いで GII/13が3事例，GI/8，GII/2及び GII/3がそれぞれ2事例となっていた．2006年以来報告のなかった，カキの喫食に関連した事例が3件（事例5，9，25）あり，そのうち2件では複数種類のウイルスが検出された．その他の食品が原因と疑われた事例は6件あり，このうち事例1では，食品からも NoV（GII/4）が検出された．

2．施設別発生事例数（図1）

施設別の発生数は，多い順に飲食店及び弁当による発生が8事例，保育所が7事例，老人ホーム等が5事例，小学校が3事例であった．この割合はほぼ例年通りであったが，2009年に比べ老人ホーム等の発生が目立った．

3．月別発生事例数（図2）

月別では，4月と12月の発生が例年より多く，その原因ウイルスは NoVGII/4が主であった（表1）．結果として全体の発生数は例年より多かった．

4．散発例からの NoV 遺伝子型別（表2）

感染症発生動向調査定点医療機関からの感染性胃

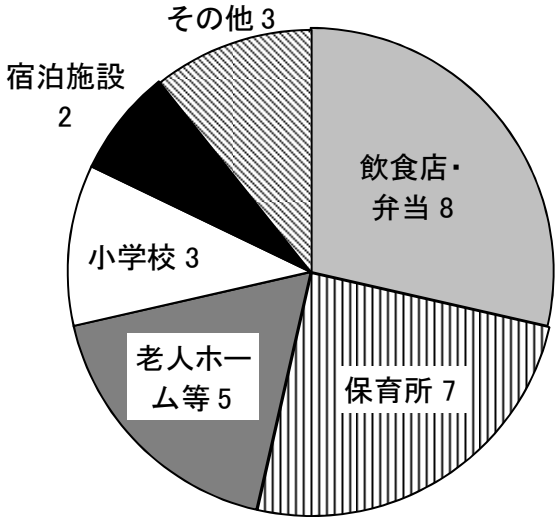



図１．集団発生事例の施設別発生数
その他には大学、病院、家庭内を含む

表２．平成22年度の胃腸炎散発例からのノロウイルス検出状況

| 検出月 | | NoV 型別 GⅡ/2 | GⅡ/4 | GⅡ/7 | 計 |
|---|---|---|---|---|---|
| 2010年 | 4月 | | 1 | | 1 |
| | 5月 | 1 | 2* | | 3 |
| | 6月 | 1 | | | 1 |
| | 7月 | | | | 0 |
| | 8月 | | | | 0 |
| | 9月 | | | | 0 |
| | 10月 | | | | 0 |
| | 11月 | | | 1 | 1 |
| | 12月 | | 2 | | 2 |
| 2011年 | 1月 | | 2** | | 2 |
| | 2月 | | | | 0 |
| | 3月 | | 1 | | 1 |
| | 計 | 2 | 8 | 1 | 11 |

＊1件にポリオウイルスとの混合感染を含む
＊＊1件にエコーウイルスとの混合感染を含む

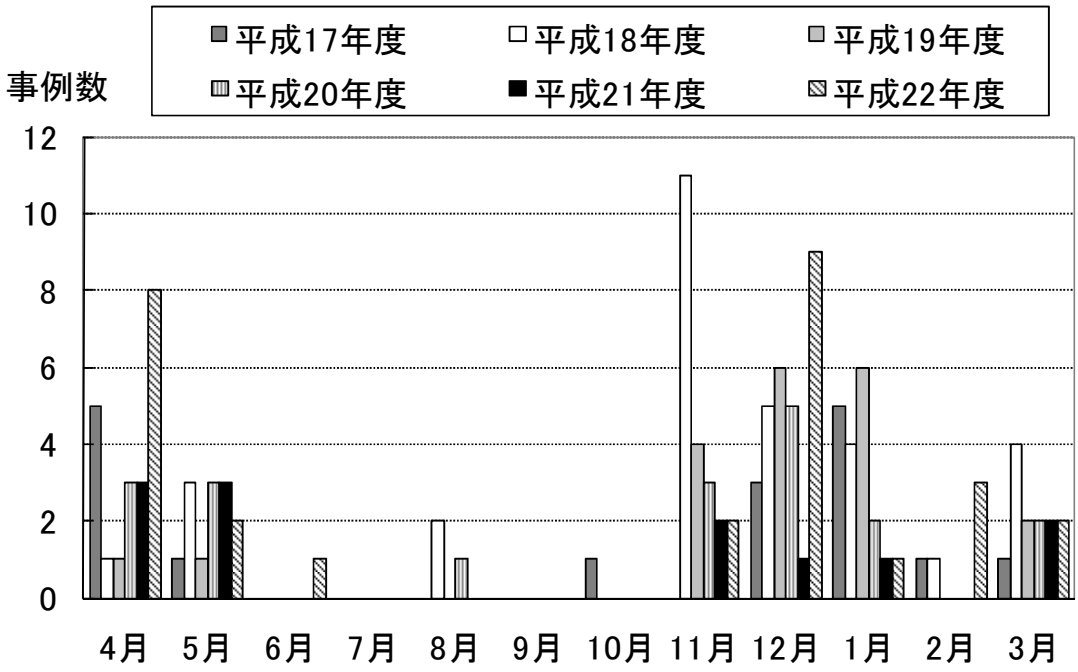



図２．年度ごとの月別発生数

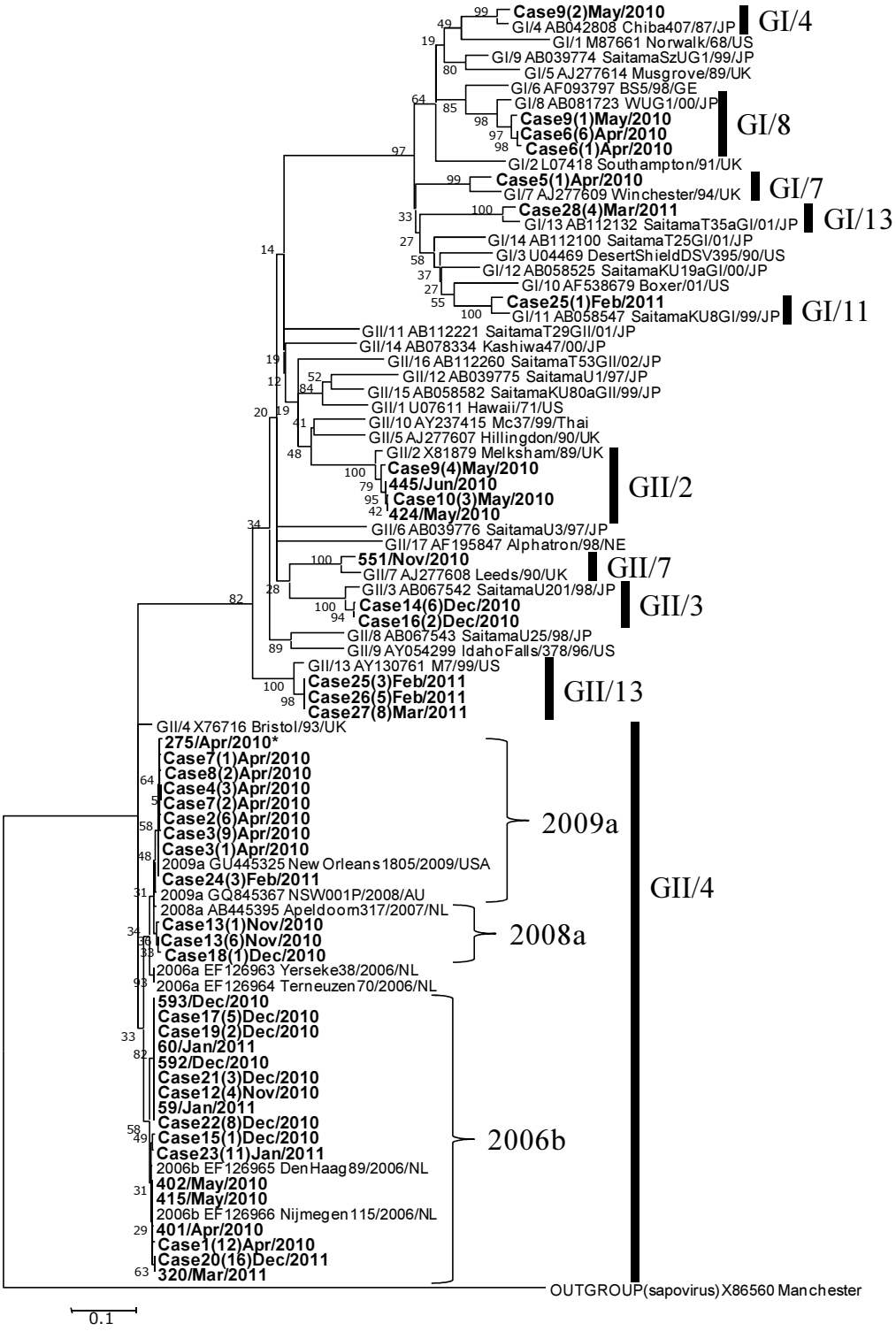



図３．平成22年度に得られたノロウイルスの系統樹

検体は太字で示す．集団発生事例の検体は「事例番号(検体数)発生月/年」，散発例の検体は「検体番号/発生月/年」で示す．参考株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す．

*275/Apr/2010はノロウイルスが原因でない集団発生事例の1名からのみ検出された．

腸炎（主として散発例）より検出されたNoVについて遺伝子型別を行った．なお，NoV以外の検出ウイルスの詳細については別途示す[18]．例年[1,15]と同様に，NoVは全体としてGII/4型が多かった．特に4〜5月，12〜1月にGII/4型が多く，集団発生事例の検出状況（表1）とほぼ一致していた．

5．NoVの系統樹解析（図3）

集団発生事例及び散発例から得られたGII/2とGII/4は，非常に近縁であった．GII/2の流行は5〜6月に集中していた．単一の遺伝子型が原因と考えられた事例のうち，複数の検体からNoVが得られた事例は22事例あり，このうち事例3，6，7，13では，302塩基中1塩基他と異なる配列を示す検体がそれぞれ1検体存在した．これらの患者が他の感染源から感染した可能性も否定できないが，患者の腸内で，NoVがわずかに変異した可能性も考えられた．残りの18事例では，得られたNoVの塩基配列は100％一致していた．

GII/4の株のほとんどは，2006年の大流行の主な原因であった2006b亜型[19]と近縁であった．中でも，散発例から得られた配列は全て2006bに属した．2007年にオランダで検出された株Apeldoorn317/2007/NL(accession no. AB445395)に近縁で，日本では2008年以降検出されている，GII/4の2008a亜型は，11月及び12月の3事例から検出された．その他に，2009a亜型（参考株：New Orleans1805/2009/USA, accession no. GU445325)に近縁の株は主に4月に多く検出された．すなわち，GII/4は2006bが現在も主な流行を担っており，春季には2009a，冬季には2008aも流行していた．

事例1では，患者10名，従業員1名，食品1件から得られたNoV GII/4の塩基配列が一致し，食品を介した感染であると推定された． ノロウイルス陽性の調理従事者は，疫学調査から原因と疑われた食事を調理していた．また，調理に携わる以前，下痢，嘔吐の症状を呈する家族の世話をしていた．従って，ノロウイルス陽性の調理従事者が食品を汚染したことによる食中毒と考えられた．

2010年4月から2011年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例のうち，28事例からウイルスが検出された．例年と比べ12月，4月の発生が多かった．検出されたウイルスは例年と同様，NoVGIIが22事例と最も多かった．

食品を介した感染では，4年ぶりにカキの喫食による発生が3件あり，従業員等によって汚染された食品が感染源として推定された事例が6件あった．学校，保育所・幼稚園での発生は，感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介して，ヒトからヒトへウイルスが伝播したと考えられた．

遺伝子解析により，各遺伝子型や亜型によって流行時期が異なることがわかった．集団発生事例では，複数の患者あるいは検体で遺伝子配列が一致すれば，単一暴露であると推測できると考えられる．食品が感染源として推定された事例のうち1事例では，食品から実際にNoVGIIが検出され，患者等と塩基配列が一致したことにより，食品が原因であることが裏付けられた．このように，遺伝子解析は，流行状況の把握，集団発生事例の原因究明などに有効であると考えられた．

## 謝　辞

本調査の実施にあたり，検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします．

## 文　献

1．宗玄俊一，小原真弓，長谷川澄代，岩井雅恵，滝澤剛則（2010）．小児感染免疫，22，23-28
2．食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究斑：国立予防衛生研究所（1995）．
3．Ando, T., Noel, J. S., Fankhauser, L.（2000）. J. Infect. Dis., 181, S336-348
4．Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T.(2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
5．Katayama, K., Sirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N.（2002）. Virology, 299, 225-223
6．Vinjé, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. l., Brown, D. W., Koopmans, M. P.（2000）. Arch. Virol., 145, 223-241
7．西尾 治，新川奈緒美（2002）．日本医事新報，4105，6-9
8．杉枝正明，新川奈緒美，大瀬戸光明，徳竹由美，山口 卓，秋山美穂，西尾 治（2004）．臨床とウイルス，32，189-194
9．Obara, M., Hasegawa, S., Iwai, M., Horimoto, E., Nakamura, K., Kurata, T., Saito, N., Oe, H., Takizawa, T.（2008）. J. Clin. Microbiol., 46, 3397-3403
10. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser,

R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). J. Infect. Dis., 181, S254-261
11. 染谷雄一 (2000). ウイルス, 50, 173-184
12. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田　毅 (2007). 富山衛研年報, 30, 98-104
13. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田　毅, 滝澤剛則 (2008). 富山衛研年報, 31, 104-110
14. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田　毅, 滝澤剛則 (2009). 富山衛研年報, 32, 90-96
15. 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田　毅, 滝澤剛則 (2010). 富山衛研年報, 33, 97-102
16. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003) 食安監初115001号.
17. Okada, M., Shinozaki, K., Ogawa, T., Kaiho, I. (2002). Arch. Virol., 147, 1445-1451
18. 岩井雅恵, 小原真弓, 小渕正次, 堀元栄詞, 滝澤剛則 (2011). 富山衛研年報, 34, 146-148
19. Motomura, K., Oka, T., Yokoyama, M., Nakamura, H., Mori, H., Ode, H., Hansman, G. S., Katayama, K., Kanda, T., Tanaka, T., Takeda, N., Sato, H. (2008). J. Virol., 82, 11247-11262

平成23年12月16日

# 新規リアルタイムPCR法による下水流入水中のワクチン様のポリオウイルスの検出

岩井　雅恵　　吉田　弘[1]　　小原　真弓　　堀元　栄詞　　倉田　毅　　滝澤　剛則

## Oral polio vaccine-like polioviruses in raw sewage detected by novel real-time PCR

Masae IWAI, Hiromu YOSHIDA[1], Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO,
Takeshi KURATA, and Takenori TAKIZAWA

**要 旨**　環境サーベイランスにおけるワクチン様のポリオウイルス｛Oral polio vaccine (OPV) - likeポリオウイルス｝の迅速な検出及び定量に資するために，リアルタイムPCR法を開発し，検出感度及び特異性を細胞培養法と比較した．

今回開発したリアルタイムPCR法の感度は細胞培養法と同等であり，$10^{-1}$ $TCID_{50}$/25uLの各型のポリオウイルスが検出可能であった．また，OPV-likeポリオウイルスの血清型別判定が可能であり，1型Mahoney及び3型Saukett以外の野生型ポリオウイルスや，調べた範囲で他の腸管系ウイルスとは交差反応しなかった．

2008年から2009年に毎月採取した下水流入水について，リアルタイムPCR法と細胞培養法の両方法によるポリオウイルスの検出または不検出数を比較したところ，検出結果の一致率は，1，2，3型のポリオウイルスすべてで83.3%（20/24）であり，特異性はほぼ同等であった．細胞培養法と比較して，リアルタイムPCR法は，検査時間が1日と短く，必要なサンプル量も10分の1以下と少ないため，本法はOPV-likeポリオウイルスの迅速で簡便な検査に有用であると考えられた．

ポリオウイルスは，ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属し，急性灰白髄炎（ポリオ，小児麻痺）の原因ウイルスである．

世界保健機関（WHO）の主導による世界ポリオ根絶計画により，世界のポリオ患者数は減少し，地域固有の野生型ポリオウイルスが伝播しているのは，インド，ナイジェリア，アフガニスタン，パキスタンの4カ国のみとなっている[1]．しかしながら，流行地からの野生型ポリオウイルスの侵入や，ワクチン株が腸管内での増殖を繰り返すことで変異したポリオウイルス（Vaccine-derived poliovirus, VDPV）の伝播が問題となっており，ポリオ根絶の妨げとなっている．ポリオ根絶計画の基本戦略は，ワクチン接種と急性弛緩性麻痺患者のウイルス検査（AFPサーベイランス）である．一方，環境サーベイランスは，不顕性感染等で地域内に伝播しているウイルスを広く捉えることができるため，AFPサーベイランスを補完する調査として位置付けられている[2]．

日本では，1960年にポリオが流行したことを受け，1961年に乳幼児への経口生ワクチンが導入され，その後患者数が減少した[3,4]．野生型のポリオウイルスは，1980年に患者1名から，1984年と1993年に非麻痺患者から1名ずつ検出された後は検出されていない[5,6]．富山県では，1993年以降，ワクチン由来のポリオウイルスが下水流入水や河川水から春と秋の乳幼児へのポリオワクチン集団接種時期に検出されるのみで，野生株は検出されていない[7,8]．現在，日本では生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が検討されているが，移行期にはポリオウイルスが地域内に存在しないことを確認する必要がある．

ポリオウイルスの検査は通常，細胞培養法で行われており，ウイルスの分離及び血清型別の同定に2〜4週間の時間がかかる．ポリオウイルスの伝播を効率的に監視し，速やかに感染防御対策を行うためには，迅速かつ高感度なポリオウイルス検査方法が必要である．迅速な検査にはPCR法が有用であり，Kilpatrick D.R.ら[9]によりポリオウイルスのリアルタイムPCR法が報告されている．しかしながら，Kilpatrick D.R.らの方法は，ワクチン株と野生株との鑑別が可能である一方，1反応あたり約103 コピー以上のウイ

1．国立感染症研究所

ルス量が必要と感度があまり高くない．そこで，本研究では，OPV-like ポリオウイルスを高感度で検出するリアルタイム PCR 法を開発し，下水流入水中のポリオウイルスについて，細胞培養法による検出感度及び特異性を比較したので報告する．

## 調査方法

### ウイルス

ポリオウイルス1型 Mahoney，Sabin 1，NV134，ポリオウイルス2型 Sabin 2，Lansing，ポリオウイルス3型 Sabin 3，Saukett，エコーウイルス（E）9型 Hill，E11 Gregory，E13 Del Carmen，E18 Metcalf，コクサッキーウイルス（Cox）A10型 Kowalik，CoxB2 Ohio-1，エンテロウイルス71型（EV71）BrCr，レオウイルス（Reo）1型 Lang，Reo2 Amy は，国立感染症研究所から分与を受けた．ポリオウイルス1型 G4-12/Toyama/1993，Fu-May-7/Toyama/2008，Fu-Dec-24/Toyama/2008，ポリオウイルス2型 G18-2/Toyama/1994，Fu-May-13/Toyama/2009，Fu-Jun-13/Toyama/2009，ポリオウイルス3型 G5-1/Toyama/1993，Fu-Jun-9/Toyama/2008，Fu-Jul-5/Toyama/2008，Fu-Oct-12/Toyama/2009 は富山県の下水流入水から分離した．ポリオウイルス2型309-FC/Toyama/2004，ノロウイルス GII.4 Hu/409/Toyama/2006，サポウイルス GI.1 Hu/Ni22/Toyama/2009は富山県の健康な乳幼児から検出した [7,10].

### 下水流入水の採取

下水流入水は2008年1月から2009年12月に毎月1回，富山県内の1下水処理場において採取した[10].

### 下水流入水中のウイルスの濃縮

1L の下水流入水を，3000rpm，30分間遠心し上清を回収後，フィルター吸着溶出法 [11] により濃縮した．すなわち，下水流入水の遠心上清1L に $MgCl_2$を最終濃度0.05M となるように加え，さらに0.5N HCl を加えて pH3.5に調整し，陰電荷フィルター（Mixed cellulose ester type membrane filter，直径142mm，ポアサイズ0.45 μm，ADVANTEC）にろ過することによりウイルスをフィルターに吸着させた．次いでフィルターを細断して10mL の3%Beef extract 液中で，1分間，ボルテックスミキサーにより撹拌することによりウイルスを誘出した．この液をポアサイズ0.45 μm のフィルターに通して細菌等を除き，ウイルス検査材料（下水流入水濃縮液）とした．

### ウイルス分離・同定

200 μL/well の下水流入水濃縮液を24 well プレートに培養した Vero，MA104，RD-18S，HEp-2細胞の各細胞5well ずつに接種し，細胞変性効果を指標としてウイルス分離を行った．分離ウイルスの同定は，抗エンテロウイルス血清（国立感染症研究所分与，デンカ生研）を用いた中和試験によって行った．

### RNA 抽出，RT-PCR，及びシークエンス

分離ウイルス，または，下水流入水濃縮液から，QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて RNA を抽出した．下水流入水濃縮液については，DNase 処理を行なった．抽出 RNA にランダムヘキサマー及び Super Script Ⅲ Reverse Transcriptase（Invitrogen）を加え，逆転写反応で cDNA を作製後，Ex Taq（TaKaRa）を用いて PCR を行った．PCR のプライマーは，ポリオウイルス用に，UG1およびUC11[12,13]を用いた．PCR 産物は，ダイレクトシークエンス法により塩基配列を決定した．

ポリオウイルス分離株の塩基配列は，VP1全領域について，ワクチン株 Sabin1，Sabin2，Sabin3の塩基配列（1型906塩基，2型903塩基，3型900塩基）（GenBank アクセッション番号はそれぞれ AY184219，AY184220，AY082683）と比較した．

### リアルタイム PCR

ポリオウイルスワクチン株のカプシド領域塩基配列を基に，プライマー及びプローブを設計した（表1）．リアルタイム PCR 法の反応組成は，TaqMan Universal PCR Master Mix（Applied Biosystems），cDNA2.5 μL，プライマー各400nM，プローブ200 nM である．これらの混合物を ABI Prism 7500を用いて，50℃ 2分，95℃ 10分，（95℃ 15秒，56℃ 1分）×45サイクル，25℃ ∞で反応させた．検量線用プラスミド DNA は，上記と同様にして作製したポリオウイルス1，2，3型（Sabin 株）の PCR 産物を p-GEM-T Easy vector（Promega）に組み込み，大腸菌に導入して精製したものを用いた．得られたプラスミド DNA を定量し，コピー数を求めた．本実験は，「遺伝子組み換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づき，富山県衛生研究所遺伝子組み換え実験安全委員会の承認を得て実施した．エンテロウイルスのリアルタイム PCR 法による定量は，片山らの方法[14]を用いた．

## 表１．ポリオウイルス各型のリアルタイム PCR 法用のプライマー及びプローブ

### ポリオウイルス１型:

| | 株 | アクセッション番号 | プライマー(PolioS1F) 3187 3213 CTTCGGTATTTTGGCTGTTAGAGTAGT | プローブ(PolioS1_Probe) 3219 3244 FAM-ATCACAACCCGACCAAGGTCACCTCC-BHQ | プライマー(PolioS1R) 5'-GACGCGGGCACCAGACT-3' 3280 3296 AGTCTGGTGCCCGCGTC |
|---|---|---|---|---|---|
| Polio 1 | Sabin1 | AY184219 | ..... | ..... | ..... |
| | Mahoney | V01149 | ..... | ..... | ..... |
| | NV86-92 | AB053958 | T.....C..CC....C..G.....G.. | .C.....T..A..T.TA.....T | ...G.....A..C. |
| | G4-12/Toyama/1993 | AB061286 | ..... | ..... | ..... |
| | Fu-May-7/Toyama/2008 | AB629948 | ..... | ..... | ..... |
| | Fu-Dec-24/Toyama/2008 | AB629949 | ..... | ..... | ..... |
| Polio 2 | Sabin2 | AY184220 | T..T..ATCAC.....C.C..G.. | .....C..GCG.C..... | .....A..A. |
| | G18-2/Toyama/1994 | AB061293 | T..T..ATCAC.....C.C..G.. | .....C..GCG.C..... | .....A..A. |
| | Lansing | M12197 | ...T..ATCAC.....C....G.. | .C.....T..G..AC....T..A | ...G.....T.....A. |
| | 309-FC/Toyama/2004 | AB629950 | T..T..ATCAC.....C.C..G.. | .....C..GCG.C..... | .....T..A..A. |
| | Fu-May-13/Toyama/2009 | AB629951 | T..T..ATCAC.....C.C..G.. | .....C..GCG.C..... | .....A..A. |
| | Fu-Jun-13/Toyama/2009 | AB629952 | T..T..ATCAC.....C.C..G.. | .....C..GCG.C..... | .....A..A. |
| Polio 3 | Sabin3 | X00596 | ...T...G.A.....A...C.T..T.. | .....C..T..A..A..... | T.....TA.A. |
| | G5-1/Toyama/1993 | AB061352 | ...T...G.A.....AA..C.T..T.. | .....C.....A..A..... | T.....TA.A. |
| | Saukett | AY082685 | ...T...G.A.....AA..C....T.. | .....C..T..A..A..... | T.....TA.A. |
| | Fu-Jun-9/Toyama/2008 | AB629953 | ...T...G.A.....A...C.T..T.. | .....C..T..A..A..... | T.....TA.A. |
| | Fu-Jul-5/Toyama/2008 | AB629954 | ...T...G.A.....A...C.T..T.. | .....C..T..A..A..... | T.....TA.A. |
| | Fu-Oct-12/Toyama/2009 | AB629955 | ...T...G.A.....A...C.T..T.. | .....C..T..A..A..... | T.....TA.A. |

### ポリオウイルス２型:

| | 株 | プライマー(PolioS2F) 1499 1519 GTGGAGTGCTGGTAGGGAATG | プローブ(PolioS2_Probe) 1544 1573 FAM-TAAACCTGCGCACTAACAACTGTGCTACGC-BHQ | プライマー (PolioS2R) 5'- TTTGTCATGCTATCTATTGAGAGTGAGTT -3' 1591 1619 AACTCACTCTCAATAGATAGCATGACAAA |
|---|---|---|---|---|
| Polio 2 | Sabin2 | ..... | ..... | ..... |
| | G18-2/Toyama/1994 | ..... | ..... | ..... |
| | Lansing | .C.....A....CG..A.... | .T..T.....C.....C...T | ..T.....T..C.....C..... |
| | 309-FC/Toyama/2004 | ..... | ..... | ..... |
| | Fu-May-13/Toyama/2009 | ..... | ..... | ..... |
| | Fu-Jun-13/Toyama/2009 | ..... | ..... | ..... |
| Polio 1 | Sabin1 | A...CAC.T.AT.G..... | .....A..G..C.....A. | .....C.....G.....T...GT... |
| | Mahoney | A...CAC.T.AT.G..... | .....A..G..C.....A. | .....C.....G.....T...GT... |
| | NV86-92 | .....C.G..A.... | .T...T..A.A.....T..TA....C..T. | ..TG.T.....T..C...TCA...GTC.. |
| | G4-12/Toyama/1993 | A...CAC.T.AT.G..... | .....A..G..C.....A. | .....T.....G.....T...GT... |
| | Fu-May-7/Toyama/2008 | A...CAC.T.AT.G..... | .....A..G..C.....A. | .....C.....G.....T...GT... |
| | Fu-Dec-24/Toyama/2008 | A...CAC.T.AT.G..... | .....A..G..C.....A. | .....C.....G.....T...GT... |
| Polio 3 | Sabin3 | ....G...T.AC.G..A.... | .T...T...A.G..C.....A.C..A..TA | ..TG.TT.GG.C..T...TCA...GTT.. |
| | G5-1/Toyama/1993 | ....G...T.AC.G..A.... | .T...T...A.G..C.....A.C..A..TA | ..TG.TT.GG.C..T...TCA...GTT.. |
| | Saukett | .C..G...T..C.G..A.... | .T...T...A.G..C..T...A.C..A..CA | ..TG.TT.AG.T..T..CTCA...GTT.. |
| | Fu-Jun-9/Toyama/2008 | ....G...T.AC.G..A.... | .T...T...A.G..C.....A.C..A..TA | ..TG.TA.GG.C..T...TCA...GTT.. |
| | Fu-Jul-5/Toyama/2008 | ....G...T.AC.G..A.... | .T...T...A.G..C.....A.C..A..TA | ..TG.TT.GG.C..T...TCA...GTT.. |
| | Fu-Oct-12/Toyama/2009 | ....G...T.AC.G..A.... | .T...T...A.G..C.....A.C..A..TA | ..TG.TT.GG.C..T...TCA...GTT.. |

### ポリオウイルス ３型:

| | 株 | プライマー(PolioS3F) 2636 2654 TGGCACCATCCGACACAG | プローブ (PolioS3_Probe) 2657 2680 FAM-AAACGCGCCACGTAGTCCAACGAC-BHQ | プライマー (PolioS3R) 5'- CCGCGTGCGAAGAATGAT -3' 2706 2723 ATCATTCTTCGCACGCGG |
|---|---|---|---|---|
| Polio 3 | Sabin3 | ..... | ..... | ..... |
| | G5-1/Toyama/1993 | ..A..... | ..... | .....T..... |
| | Saukett | ...T..... | .....T...A.....G. | .....T..... |
| | Fu-Jun-9/Toyama/2008 | ...T..... | ..... | ..... |
| | Fu-Jul-5/Toyama/2008 | ..A..... | ..... | ..... |
| | Fu-Oct-12/Toyama/2009 | ..A..... | ..... | ..... |
| Polio 1 | Sabin1 | .A.TC..T..T..T.... | ....CA.A..T..T..A....ATA | G..T.....G..G.. |
| | Mahoney | .A.TC..T..T..T.... | ....CA.A..T..T..A....ATA | G..T.....G..G.. |
| | NV86-92 | .A.TT..C..A..... | .G..TA.A..T..CA.T....ATA | G..C.....T.. |
| | G4-12/Toyama/1993 | .A.TC..T..T..T.... | ....CA.A..T..T..A....ATA | G..T.....G..G.. |
| | Fu-May-7/Toyama/2008 | .A.TC..T..T..T.... | ....CA.A..T..T..A....ATA | G..T.....G..G.. |
| | Fu-Dec-24/Toyama/2008 | .AATC..T..T..T.... | ....CA.A..T..T..A....ATA | G..T.....G..G.. |
| Polio 2 | Sabin2 | ...TG..T..G.....C. | .....T..CA....GA... | G.....T...A.A.. |
| | G18-2/Toyama/1994 | ...TG..T..G.....C. | .....T..CA....GA... | G.....T...A.A.. |
| | Lansing | ...TG..T..A.....C. | ....T..T.....CA.....AAG. | G..T.....A.A.. |
| | 309-FC/Toyama/2004 | ...TG..T..G.....C. | .....T..CA....GA... | GG.....T...A.A.. |
| | Fu-May-13/Toyama/2009 | ...TG..T..G.....C. | .....T..CA....GA... | G.....T...A.A.. |
| | Fu-Jun-13/Toyama/2009 | ...TG..T..G.....C. | .....T..CA....GA... | G.....T...A.A.. |

a, FAM: 6-carboxyfluorescein reporter dye; BHQ: Black Hole Quencher.

b, 塩基配列の position は，Sabin1，2，3 型を参考にした（GenBank アクセッション番号はそれぞれ AY184219，AY184220，X00596）.

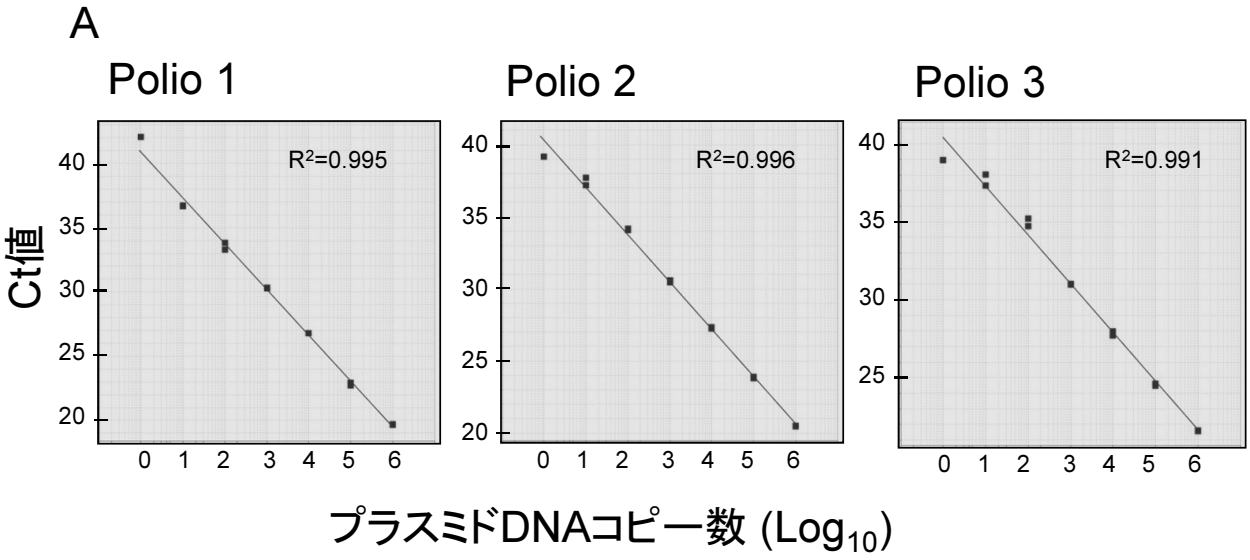



図１．リアルタイム PCR 法の検量線．プラスミド DNA を10倍段階希釈し，Threshold cycles (Ct) とプラスミド DNA のコピー数との関係をプロットした．Ct 値は陽性の増幅反応が検出されたサイクル数を表す．図中の直線は回帰直線を示す．

表２．リアルタイム PCR 法によるポリオウイルスワクチン株の検出感度と血清型別の特異性

| リアルタイム PCR | 株 | Ct 値* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Stock ($10^4$TCID$_{50}$/25μL) | $\times10^{-1}$ | $\times10^{-2}$ | $\times10^{-3}$ | $\times10^{-4}$ | $\times10^{-5}$ |
| Polio 1 | Sabin 1 | 23.2 | 26.5 | 30.3 | 34.2 | 38.4 | 41.0 |
| | Sabin 2 | － | － | － | － | － | － |
| | Sabin 3 | － | － | － | － | － | － |
| Polio 2 | Sabin 1 | － | － | － | － | － | － |
| | Sabin 2 | 21.9 | 25.1 | 28.8 | 32.2 | 36.0 | 39.3 |
| | Sabin 3 | － | － | － | － | － | － |
| Polio 3 | Sabin 1 | － | － | － | － | － | － |
| | Sabin 2 | － | － | － | － | － | － |
| | Sabin 3 | 19.3 | 22.2 | 25.7 | 29.1 | 33.1 | 35.4 |

*, Ct 値: 測定 2 回の平均値
－, 検出されず.

## 結　果

### OPV-like ポリオウイルスのリアルタイム PCR 法の感度及び特異性

リアルタイム PCR 法の感度を調べるために，検量線用プラスミド DNA を10倍段階希釈し，定量曲線を作成した（図1）．本法は，ポリオウイルス1型，2型，3型のそれぞれにおいて$10^1$～$10^6$ copies/assay の間で良好な直線性を示した．また，ポリオウイルス各ワクチン株（Sabin1，Sabin2，Sabin3）のストック液（1$0^4$TCID$_{50}$/25μL）を10倍段階希釈し，検出感度を調べたところ，$10^{-5}$の希釈倍率まで検出された（表2）．

本法の特異性に関しては，ポリオウイルス1型，2型，3型ともに，それぞれの型のワクチン株および OPV-like poliovirus が検出された（表3）．一方，野生株のポリオウイルスについては，1型では Mahoney，3型では Saukett が検出されたものの，その他の株は検出されなかった（表3）．また，異なる血清型のポリオウイルスや，エコーウイルス9，11，13，18型，コクサッキーウイルス A10型，B2型，エンテロウイルス71型，レオウイルス1，2型，ノロウイルス GII.4，サポウイルス GI.1との交差反応はみられなかった．

### リアルタイム PCR 法の環境サーベイランスへの適用

環境サーベイランスにリアルタイム PCR 法が適用可能かどうか検討するために，2008～2009年に毎月1

**表３．リアルタイム PCR 法のポリオウイルス，腸管系ウイルスとの交差反応性**

| ウイルス | 株 | ポリオウイルスの区分[a] | Titer ($TCID_{50}$/25μL) | リアルタイム PCR 法の結果（コピー数/25uL） Polio 1 | Polio 2 | Polio 3 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Polio 1 | Sabin 1 | OPV | $1.0\times10^5$ | + ($9.3\times10^6$) | - | - |
| | G4-12/Toyama/1993 | OPV-like | $5.6\times10^6$ | + ($2.0\times10^9$) | - | - |
| | Fu-May-7/Toyama/2008 | OPV-like | $1.0\times10^5$ | + ($8.1\times10^8$) | - | - |
| | Fu-Dec-24/Toyama/2008 | OPV-like | $1.0\times10^5$ | + ($4.4\times10^9$) | - | - |
| | Mahoney | Wild | $1.0\times10^6$ | + ($1.1\times10^8$) | - | - |
| | NV86-92 | Wild | $2.0\times10^7$ | - | - | - |
| Polio 2 | Sabin 2 | OPV | $1.0\times10^5$ | - | + ($2.8\times10^7$) | - |
| | G18-2/Toyama/1994 | OPV-like | $3.2\times10^6$ | - | + ($5.7\times10^8$) | - |
| | Fu-May-13/Toyama/2009 | OPV-like | $3.2\times10^5$ | - | + ($1.3\times10^9$) | - |
| | Fu-Jun-13/Toyama/2009 | OPV-like | $3.2\times10^5$ | - | + ($1.6\times10^9$) | - |
| | 309-FC/Toyama/2004 | VDPV | $1.0\times10^6$ | - | + ($7.1\times10^7$) | - |
| | Lansing | Wild | $1.8\times10^6$ | - | - | - |
| Polio 3 | Sabin 3 | OPV | $1.0\times10^5$ | - | - | + ($2.7\times10^7$) |
| | G5-1/Toyama/1993 | OPV-like | $5.6\times10^6$ | - | - | + ($3.4\times10^8$) |
| | Fu-Jun-9/Toyama/2008 | OPV-like | $3.2\times10^5$ | - | - | + ($2.9\times10^9$) |
| | Fu-Jul-5/Toyama/2008 | OPV-like | $1.0\times10^6$ | - | - | + ($2.4\times10^9$) |
| | Fu-Oct-12/Toyama/2009 | OPV-like | $3.2\times10^5$ | - | - | + ($3.4\times10^8$) |
| | Saukett | Wild | $3.16\times10^6$ | - | - | + ($6.5\times10^6$) |
| Echo 9 | Hill | | $3.2\times10^6$ | - | - | - |
| Echo 11 | Gregory | | $1.0\times10^6$ | - | - | - |
| Echo 13 | Del Carmen | | $5.6\times10^5$ | - | - | - |
| Echo 18 | Metcalf | | $3.2\times10^4$ | - | - | - |
| Cox A10 | Kowalik | | $5.6\times10^4$ | - | - | - |
| Cox B2 | Ohio-1 | | $5.6\times10^3$ | - | - | - |
| Entero 71 | BrCr | | $1.8\times10^4$ | - | - | - |
| Reo 1 | Lang | | $3.2\times10^1$ | - | - | - |
| Reo 2 | Amy | | $5.6\times10^1$ | - | - | - |
| Noro GII.4 | Hu/409/Toyama/2006 | | NT[b] | - | - | - |
| Sapo GI.1 | Hu/Ni22/Toyama/2009 | | NT[b] | - | - | - |

a，ポリオウイルスの区分は，VP1 領域塩基配列の OPV (Sabin)との差異による．1%未満: OPV-like ポリオウイルス, 1-15%: VDPV, 15%以上:野生株ポリオウイルス.

b, NT: 細胞培養法によるウイルス量の定量は行わず，PCR 法によりウイルスを確認した.

－，検出されず.

回採取した下水流入水を用いて，本法と細胞培養法とによるウイルス検出状況を比較した．細胞培養法によるポリオウイルス及びエンテロウイルス分離株数を図2A に，リアルタイム PCR 法によるポリオウイルス及びエンテロウイルス量を図2B に示す.

細胞培養法では，毎月様々な種類のエンテロウイルスが分離されたが，ポリオウイルスは5月から7月，10月から12月のワクチン集団接種時期に分離された（図2A）．ポリオウイルス分離株はワクチン株との塩基配列の差異が0～0.56%（1%未満）であったため，WHO の基準による OPV-like ポリオウイルスであった．野生株や VDPV は分離されなかった.

A

| ウイルス | 2008 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 2009 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Polio1 | | | | | 2 | | | | | 3 | 2 | | | | | | | | | | | 2 | | |
| Polio2 | | | | | 1 | | | | | | 1 | | | | | | 3 | | | | | | 1 | |
| Polio3 | | | | | 1 | 2 | 1 | | | | 4 | | | | | 3 | | 4 | | | | 1 | | |
| CoxB3 | | | | | | | | | | 4 | 2 | 5 | 2 | 2 | 1 | | 2 | | 1 | 1 | | | | |
| CoxB4 | | | | | | | | | 2 | | | 5 | | | | | | | | | | | 1 | |
| CoxB5 | 1 | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Echo3 | | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | 1 | | | |
| Echo5 | | | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Echo6 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | 1 | 4 | | | | |
| Echo9 | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Echo11 | | | | | | | | 5 | | | | | | | 1 | | | | | 1 | 3 | 2 | 5 | 1 |
| Echo18 | | | | | | | 1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Echo25 | | | | | | | | | | | | 3 | | 1 | | | | | | | | | | |
| Echo30 | 1 | 2 | | | 2 | 4 | | | | 1 | 4 | 1 | | | | | | | | | | 3 | | 4 |

B

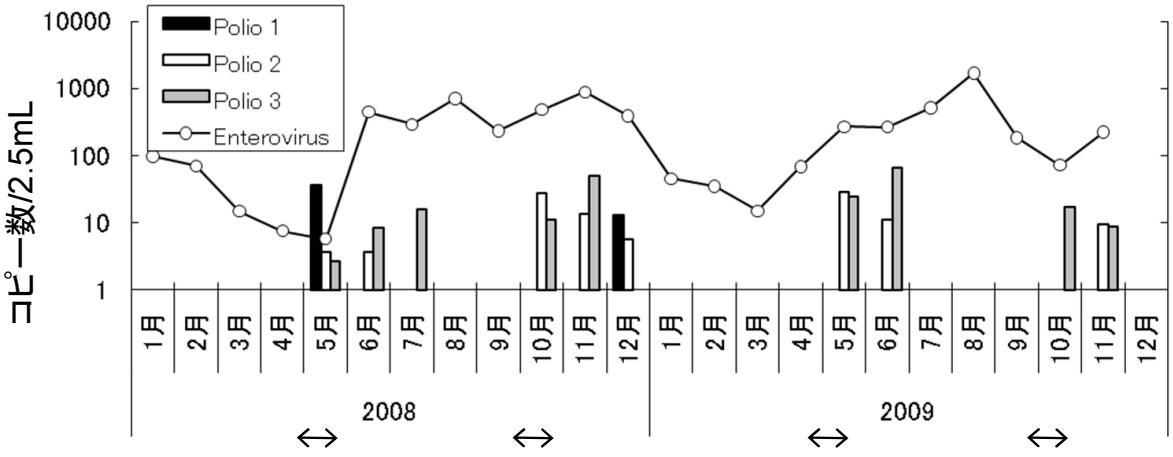



**図２．(A) 下水流入水からのポリオウイルス及びエンテロウイルス分離株数（2008-2009年）.**
24wellプレートに培養したVero, MA104, RD-18S, and HEp-2 細胞計20wellに200μL/wellの下水流入水濃縮液を接種した.

**(B) 下水流入水中のポリオウイルス及びエンテロウイルス量.**
黒，白，灰色の線，及び白丸はそれぞれポリオウイルス1，2，3型，及びエンテロウイルス遺伝子量（下水流入水2.5mLあたりのコピー数）を示す.
矢印は流域管内におけるポリオウイルスワクチン接種時期を示す（2008年4月21日～5月19日，9月16日～10月31日，2009年4月20日～5月18日，9月16日～10月13日）.

リアルタイムPCR法では，調査期間を通してのエンテロウイルス量は，下水流入水2.5mLあたり0 ～ $1.7\times10^{3}$コピーであり，2009年12月以外のすべての月で検出された（図2B）. リアルタイムPCR法では，細胞培養法でウイルスが分離されなかった2008年3月及び4月にも，エンテロウイルス遺伝子が検出された. 下水流入水中のエンテロウイルス量は冬よりも夏に多く，日本におけるエンテロウイルスの流行を反映したものと考えられる[15]. ポリオウイルス遺伝子は，細胞培養法によりポリオウイルスが分離されたサンプルとほぼ同一のサンプルから検出された. 調査期間を通しての各型のポリオウイルス遺伝子量は下水流入水2.5mLあたり0～67copiesであった（図2B）.

下水流入水について，リアルタイムPCR法と細胞培養法の両方法によりポリオウイルスが検出または不検出となったサンプル数を比較したところ，検出結果の一致率は，1，2，3型のポリオウイルスすべてで83.3%（20/24）であり，両方法の感受性と特異性は

**表４．リアルタイム PCR 法及び細胞培養法によるポリオウイルス検出結果別の下水流入水サンプル数**

| | | 細胞培養法[a] | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Polio 1 | | | | Polio 2 | | | | Polio 3 | | |
| | | | + | - | 計 | | + | - | 計 | | + | - | 計 |
| リアルタイム PCR 法 | + | + | 1 | 1 | 2 | + | 4 | 4 | 8 | + | 6 | 3 | 9 |
| | - | - | 3 | 19 | 22 | - | 0 | 16 | 16 | - | 1 | 14 | 15 |
| | 計 | 計 | 4 | 20 | 24 | 計 | 4 | 20 | 24 | 計 | 7 | 17 | 24 |
| 一致率[b] | | 83.3% (20/24) | | | | 83.3% (20/24) | | | | 83.3% (20/24) | | | |

+, 検出; -, 不検出.

a, 細胞培養法, 200 μL/well の下水流入水濃縮液を 1 サンプルあたり 20 well の Vero, MA104, RD-18S, HEp-2 細胞に接種した.

b, 一致率は, リアルタイム PCR 法及び細胞培養法の両方法によりポリオウイルスが検出または不検出となったサンプル数の合計を示す.

ほぼ同等であった（表4）.

## 考　察

環境サーベイランスは，ポリオウイルスの侵入や伝播の監視を強化するために世界で広く実施されている[1,2]．しかしながら，環境水中の微量のウイルスを検出するためには，前処理として環境水中のウイルスの濃縮作業が必要であり，さらに，検出方法は高感度であることが要求される．また，多量のサンプルを検査するためには，その方法は簡便であることが望ましい．そこで，我々は，OPV-like ポリオウイルスを検出可能なリアルタイム PCR 法を開発し，細胞培養を介さずに，下水流入水濃縮液中のポリオウイルスの直接的な検出及び定量を試みた．今回開発したリアルタイム PCR 法は，ポリオウイルスの血清型別が判定可能であり，検出感度は細胞培養法と同等であった．さらに，リアルタイム PCR 法の検査は1日以内で済み，細胞培養法（2〜4週間）と比較して，検査にかかる時間が大幅に短縮される．また，リアルタイム PCR 法に必要なサンプル（下水流入水濃縮液）の量は140 μL であり，細胞培養法での必要量（約4mL）の10分の1以下であるため，サンプルの採取量を減らすことができる．すなわち，環境水サンプルの採取や運搬等の検査の効率化に役立つものと考えられる．

Kilpatrick ら[9]が開発したリアルタイム PCR 法は，ワクチン株と野生株との鑑別が可能であるが，塩基配列に様々なバリエーションを持つ野生株ポリオウイルスを検出できるように degenerate プライマーが使用されているため，感度があまり高くなく，約$10^3$コピー以上のウイルス量が必要である．一方，最近，Troy ら[16]により，神経毒性の有無を推定するために，5' 非翻訳領域の internal ribosome entry site（IRES）における1塩基多型を検出するリアルタイム PCR 法が報告された．この方法は，37 $CCID_{50}$/100 μL の OPV が検出可能とのことである．しかしながら，IRES の塩基配列はエンテロウイルス C 群の中で高く保存されていることが知られており[17]，環境水中のポリオウイルスの同定方法として用いる場合は，他のエンテロウイルスが検出されないことを確認する必要があると考えられる．

日本では1993年以降 OPV-like ポリオウイルスのみが検出されており，野生株は報告されていない[6]．また，日本では現在，ポリオワクチンの OPV から IPV への切り替えが検討されている．それゆえに，本研究で開発したリアルタイム PCR 法は，国内のみならず日本と同様の状況の地域においても，OPV-like ポリオウイルスの伝播の監視や，根絶の確認に利用できるものと考えられる．

今後は，世界的に広くポリオウイルスを監視するために，OPV-like ポリオウイルスのみならず，野生株を含めたすべてのポリオウイルスを検出可能なリアルタイム PCR 法の開発が望まれる．野生株のリアルタイム PCR 法が高感度になれば，ポリオ根絶の最終段階におけるウイルス調査に有用であると考えられる．

## 謝　辞

本研究の実施にあたり，下水流入水の採取にご協力下さいました富山県下水道公社，富山県都市計画課の関係各位に深謝いたします.

## 文　献

1．WHO (2011). Weekly Epidemiological Record, 86, 153-160
2．WHO (2010). Global Polio Eradication Initiative Strategic Plan 2010-2012. http://www.polioeradication.org/content/publications/gpei.strategicplan.2010-2012.eng.may.2010.pdf
3．Shimojo, H. (1984). Rev. Infect. Dis., 6 (Supple 2) , S427-430
4．Takatsu, T., Tagaya, I., Hirayama, M. (1973). Bulletin WHO, 49, 129-137
5．Infectious Agents Surveillance Center in Japan (1997). Infect. Agents Surveillance Rep., 18, 1-2
6．清水博之 (2009). 病原微生物検出情報月報, 30, 171-176
7．Matsuura, K., Ishikura, M., Yoshida, H., et. al. (2000). Appl. Environ. Microbiol., 66, 5087-5091
8．岩井雅恵, 中村一哉, 小原真弓ら (2009). 病原微生物検出情報月報, 30, 180-181
9．Kilpatrick, D.R., Yang, C.F., Ching, K., et. al. (2009). J. Clin. Microbiol., 47, 1939-1941
10. Iwai, M., Hasegawa, S., Obara, M., et. al. (2009). Appl. Environ. Microbiol., 75, 1264-1270
11. Matsuura, K., Hasegawa, S., Nakayama, T., et. al. (1984). Microbiol. Immunol., 28, 575-588
12. Balanant, J., Guillot, S., Candrea, A., et. al. (1991). Virology, 184, 645-654
13. Rico-Hesse R, Pallansch MA, Nottay BK, et. al. (1987). Virology, 160, 311-322.
14. Katayama, H., Shimasaki, A., Ohgaki, S. (2002). Appl. Environ. Microbiol., 68, 1033-1039
15. National Institute of Infectious Diseases in Japan. Infect Agents Surveillance Rep., http://idsc.nih.go.jp/iasr/virus/virus-e.html
16. Troy, S.B., Ferreyra-Reyes, L., Huang, C., et. al. (2011). J. Clin. Microbiol., 49, 1777-1783
17. Brown, B., Oberste, M.S., Maher, K., et. al. (2003). J. Virol., 77, 8973-8984

平成23年12月16日

# 輸送培地中の麻疹ウイルスへの凍結融解及び保存温度の影響

岩井　雅恵　　堀元　栄詞　　小原　真弓　　小渕　正次　　木村　博一[1]　　滝澤　剛則

# Influence of freeze and thaw, and storage temperature on the infectivity of measles virus in transport mediums

Masae Iwai, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Hirokazu KIMURA, and Takenori TAKIZAWA

**要 旨**　輸送培地中の麻疹ウイルスへの凍結融解や保存温度の影響を明らかにするために，生理食塩水，ブイヨン，BD ユニバーサルバイラルトランスポート（BVT）中の麻疹ウイルスを各種条件下で保存し，継時的に遺伝子量及び感染力価を測定した．

ウイルス遺伝子量は，すべての培地で凍結融解1回ごとに10〜20%ずつ減少したが，ウイルス感染力価は生理食塩水ではブイヨンや BVT を用いた場合よりも大きく減少した．生理食塩水中に4℃または28℃で14日間保存した場合では，ウイルス感染力価のみならず遺伝子量も，ブイヨン，BVT 中と比較して大きく減少した．しかしながら，2回以内の凍結融解，または4日以内の4℃保存では，ウイルス感染力価は生理食塩水中でも46.4%以上と比較的高く保たれており，培地の違いによる差は小さかったため，生理食塩水を輸送培地として用いる場合は，3回以上凍結融解を繰り返さないこと，4℃での保存は4日以内に止めることが重要であると考えられた．

また，培地に BVT が10%以上含まれると，3〜5日で Vero/hSLAM 細胞及び B95a 細胞に変性が生じたため，ウイルス保存液に BVT が含まれている場合は，ウイルスを細胞に接種した後，培地を交換する必要があると考えられた．

麻疹は発熱と発疹を主徴とした重篤な感染症であるが，ワクチンにより予防可能な疾患である．日本では2012年までに麻疹を排除するために，2007年12月に「麻しんに関する特定感染症予防指針」が厚生労働省から告示され，2008年1月からは麻疹症例が全数把握の対象となった．また，実験室診断による麻疹症例の確認検査体制の整備が進められている．

麻疹ウイルスを検出するための臨床検体は，咽頭拭い液，全血，尿が推奨されている．そのうち，咽頭拭い液の輸送用培地については，ユニバーサルバイラルトランスポート（BVT）が2010年3月に国から各地の保健所へ配布され，広く用いられている．当所では，従来からインフルエンザ及び上気道疾患の検査用の輸送培地にブイヨンを用い，医療機関に配布している．一方，医療機関に常備されている生理食塩液が輸送培地として利用できれば，迅速な対応に役立つものと考えられる．そこで，本調査では，検体輸送用培地にブイヨン，生理食塩水，BVT を用いた際に，凍結融解や保存温度が PCR 検査及びウイルス分離検査に及ぼす影響について比較し，これらの輸送培地としての有用性を検討した．

## 調査方法

### ウイルス

麻疹ウイルスは，豊島株（国立感染症研究所分与）及び SCHWARTZ　FF-8 株（武田薬品工業）を Vero/hSLAM 細胞により2代継代したものを用いた．

### 細胞培養

24well または96well プレートに一様に培養した Vero/hSLAM 細胞及び B95a 細胞（国立感染症研究所分与）に，維持培地としてそれぞれ4%牛胎児血清加 Eagle MEM 及び2%牛胎児血清加 RPMI 培地を加えて検査に供した．

### 検体輸送培地

生理食塩水，ブイヨン（日水製薬），または BD ユ

1．国立感染症研究所

ニバーサルバイラルトランスポート（日本ベクトン・ディッキンソン）（BVT）を用いた．

ブイヨンの組成は，0.5%肉エキス，1.5%ペプトン，86mM 塩化ナトリウム，29mM リン酸一水素カリウムである．BVT の組成は，ハンクス緩衝塩類，ウシ血清アルブミン，L-システイン，ゼラチン，ショ糖，L-グルタミン，HEPES 緩衝液，バンコマイシン，アンフォテリシン B，コリスチン，フェノールレッドである（各物質の濃度は不明）．

### ウイルスの定量

3種類の培地（生理食塩水，ブイヨン，または BVT）中に麻疹ウイルスをそれぞれ $10^{2.4}$ ～$10^{2.9}$ Tissue culture infectious dose（$TCID_{50}$/25 μL）となるように加えたウイルス液を，-80℃では14日間，4℃，28℃では2日，4日，7日，14日間保存した．また，-80℃での凍結と水浴での融解を，ウイルス液保存4，7，14日後に繰り返し，それぞれ計1～3回の凍結融解を行った．

培地140 μL から QIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて RNA を抽出し，PrimeScript RT reagent Kit（TaKaRa）を用いて cDNA を作製した．麻疹ウイルス遺伝子量は，作製した cDNA から Akiyama らの TaqMan real-time PCR 法 [1] により定量した．

麻疹ウイルス感染力価は，Vero/hSLAM 細胞を用いたマイクロプレート法（細胞培養法）により TCID 50/25 μL を測定した．

ウイルス遺伝子量及び感染力価の残存率（%）は，各日程で採取した培地中のウイルス遺伝子量または感染力価を，0日目のウイルス遺伝子量または感染力価で除して算出した．

これらは3回の実験の値を平均して求めた．

## 結　果

### 1．検体輸送培地中の麻疹ウイルスへの凍結融解及び保存温度の影響

図1に輸送培地別，保存温度別の麻疹ウイルス遺伝子量及び感染力価の変化を示す．

### 1-1. 凍結融解による麻疹ウイルス量の変化

ブイヨン，BVT，または生理食塩水中の麻疹ウイルスを-80℃で凍結し，4日（凍結融解1回），7日（同2回），14日（同3回）後に，融解と凍結を繰り返すと，ウイルス遺伝子量は，すべての培地で凍結融解1回ごとに10～20%ずつ減少した．一方，0日目のウイルス感染力価を100%とすると，1，2，3回の凍結融解で，ブイヨンでは100%，68.1%，68.1%，BVT では100%，100%，82.5%とそれぞれ減少したのに対し，生理食塩水では 68.1%，46.4%，21.5%であり，生理食塩水中でのウイルス感染力価の減少が大きかった．

### 1-2. 保存温度別の麻疹ウイルス量の変化

-80℃で14日間保存した場合，ウイルス遺伝子量は，ブイヨン，BVT，生理食塩水中でそれぞれ67.9%，63.8%，66.8%，ウイルス感染力価は，それぞれ56.2%，82.5%，82.5%が残存していた．これらの値は，-80℃で4日間保存した場合（68.1～100%）とほぼ同等であった．

4℃で4日間保存した場合，ウイルス遺伝子量は，ブイヨン，BVT，生理食塩水中でそれぞれ50.1%，61.8%，31.5%，ウイルス感染力価は，それぞれ68.1%，68.1%，56.2%が残存しており，培地の違いによるウイルス遺伝子量及びウイルス感染力価の差は少なかった．一方，4℃で14日間保存した場合では，ウイルス遺伝子量は，ブイヨン，BVT，生理食塩水中でそれぞれ42.7%，52.8%，9.5%，ウイルス感染力価は，それぞれ38.3%，46.4%，8.3%と，生理食塩水中のウイルス遺伝子量及び感染力価が顕著に減少した．
28℃で14日間保存した場合では，ウイルス遺伝子量は，ブイヨン，BVT，生理食塩水中でそれぞれ31.7%，32.1%，6.5%であり，4℃で保存した場合の減少の程度と同等であった．しかしながら，ウイルス感染力価は，ブイヨン，BVT 中に7日間保存した場合ではそれぞれ3.8%，0.8%と顕著に減少し，特に，生理食塩水中では2日間のみの保存で3.2%となった．

### 2．BVT の細胞障害性

一様に培養した Vero/hSLAM 細胞及び B95a 細胞に BVT を添加後，細胞変性の有無を観察した．図2に24well プレートに培養した Vero/hSLAM 細胞と B95a 細胞の維持培地1mL に，BVT を100 μL または200 μL を加えた場合の1，3，5日後の位相差像を示す．両細胞とも，BVT 添加1日後では細胞変性はみられなかったが，200 μL の BVT を加えた場合は3日後に，100 μL の BVT を加えた場合でも5日後には変性がみられた．

Vero/hSLAM 細胞に麻疹ウイルス SCHWARTZ FF-8株及び豊島株を接種すると，麻疹ウイルス遺伝子は，一旦増加して4～5日後でピークとなり，6日後に減少した（図3A，3B）．しかしながら，20%BVT を含む場合は，BVT を含まない場合に比べてピーク時の遺伝子量が SCHWARTZ FF-8株では約40分の1

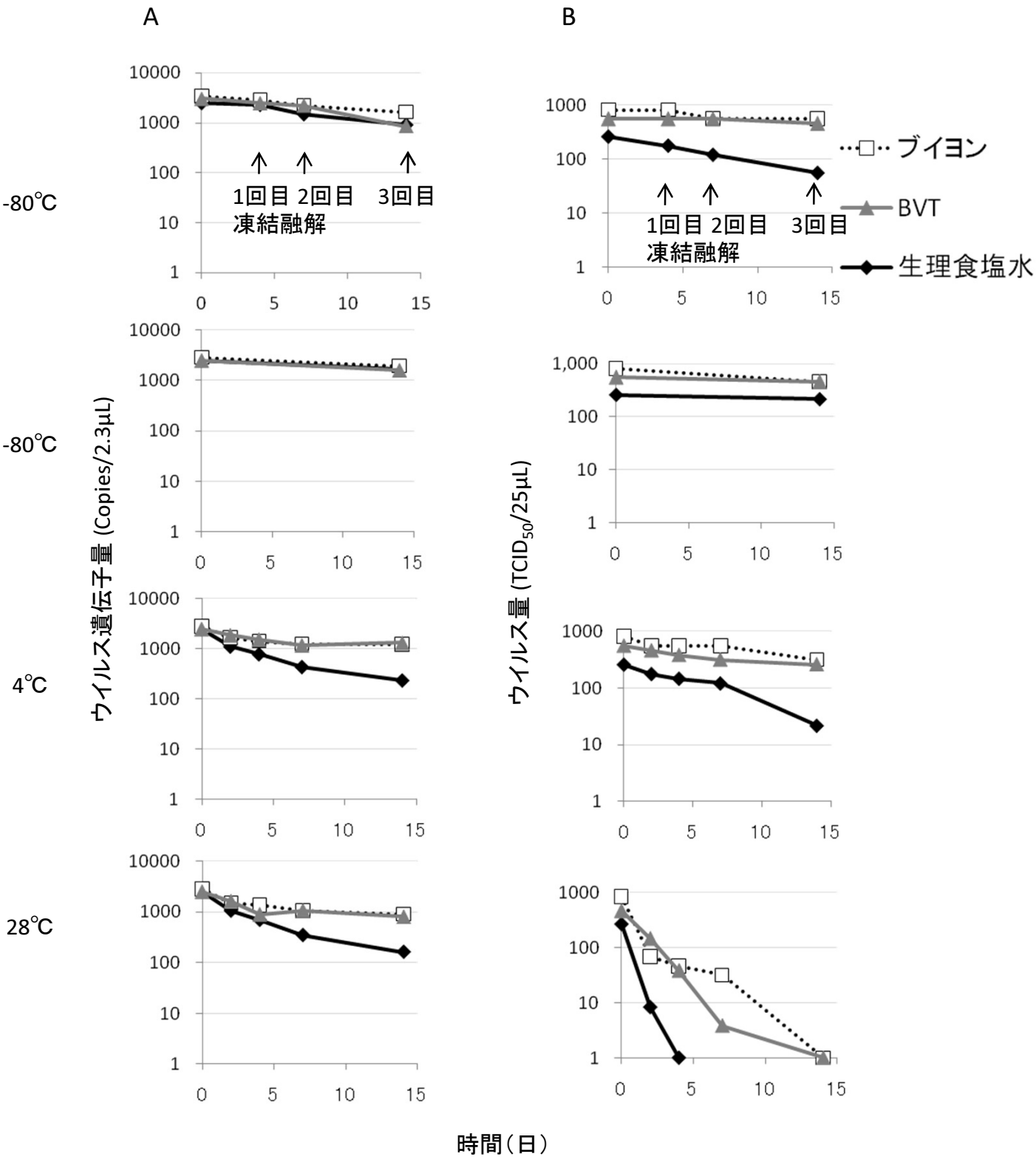



**図１．　輸送培地別，保存温度別の麻疹ウイルス遺伝子量及び感染力価の変化.**

A：-80℃の凍結と水浴による融解を1～3回繰り返した場合，-80℃，4℃，28℃で14日間保存した場合のブイヨン，BVT，生理食塩水中の麻疹ウイルス遺伝子量を real-time PCR 法 [1] により測定した.

B：上記の各培養液中のウイルス感染値量（$TCID_{50}$/25μL）を Vero/hSLAM 細胞を用いたマイクロタイター法（細胞培養法）により測定した.

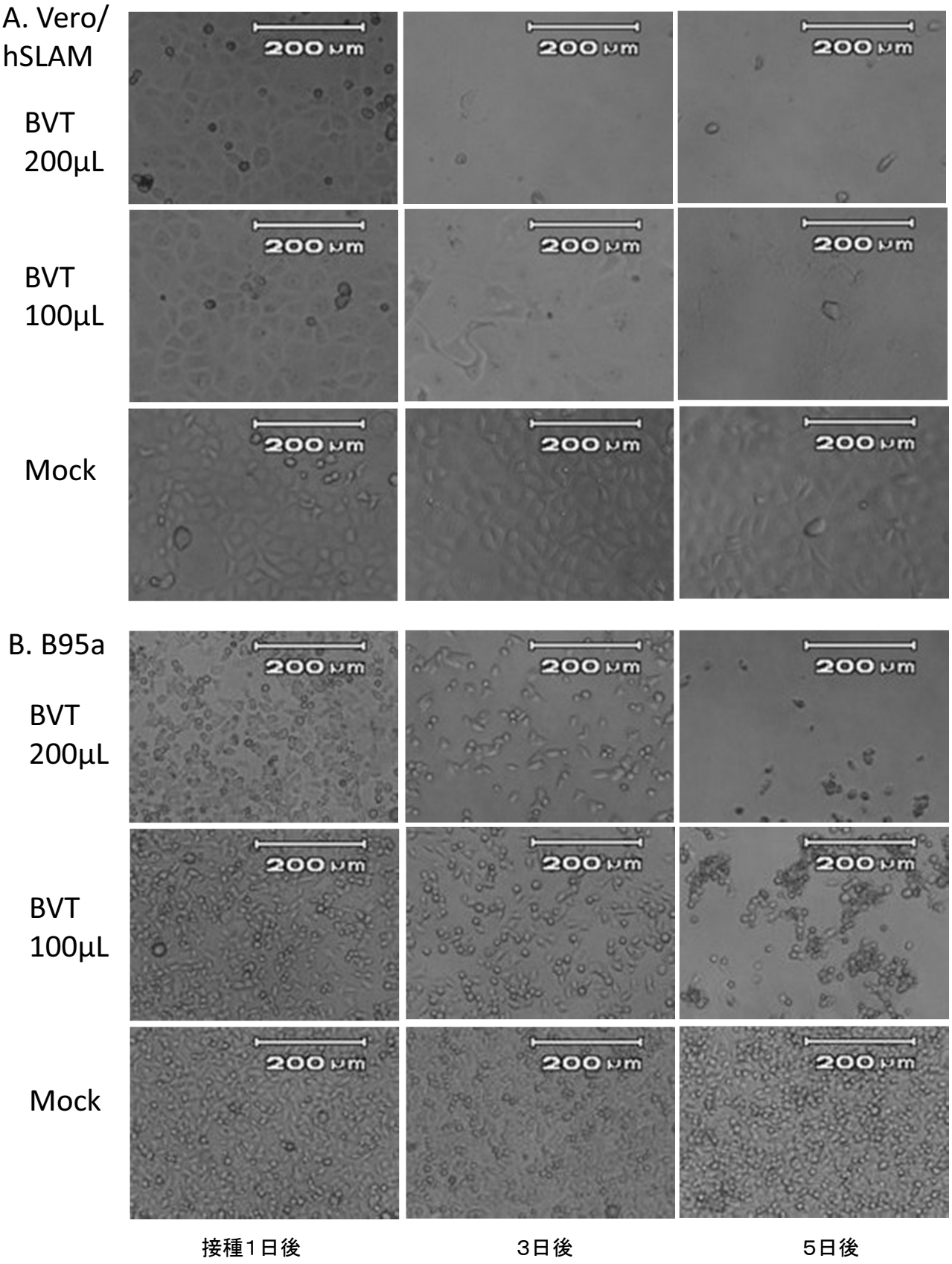



図２．24well プレートの培養細胞に維持培地1mL を入れ，BVT100μL，200μL の添加1，3，5日後の位相差像.
A：Vero/hSLAM 細胞，B：B95a 細胞.

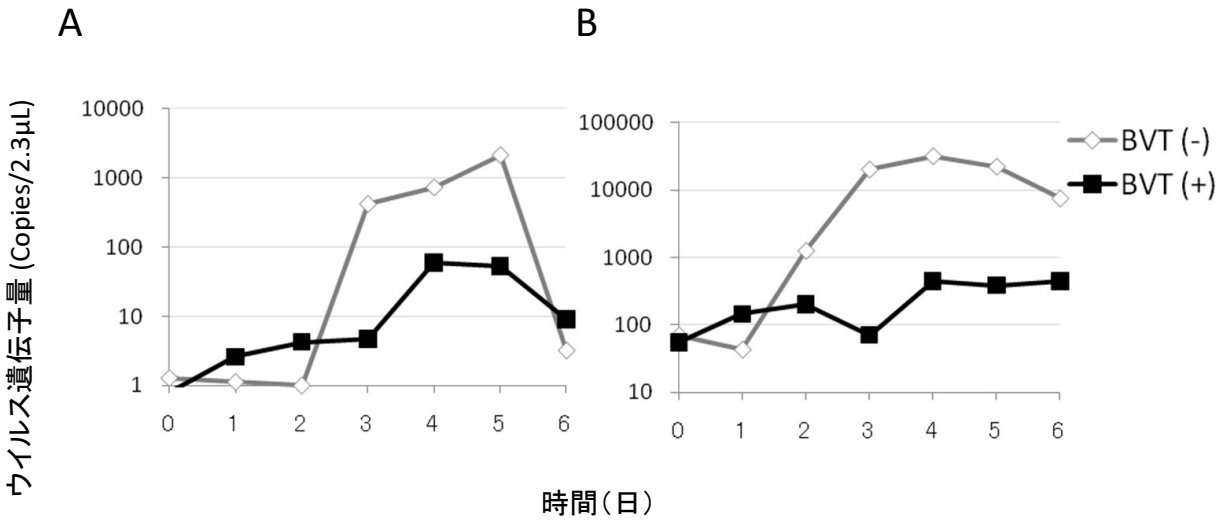



**図１．麻疹ウイルスの増殖曲線．麻疹ウイルス SCHWARTZ FF-8株 (A)，または豊島株 (B) を，24well プレートに培養した Vero/hSLAM 細胞に接種後，200μL の BVT を1mL の維持培地に加えた場合と加えない場合の細胞上清中の麻疹ウイルス遺伝子量を real-time PCR 法 [1] により測定した．麻疹ウイルス接種日を0日目とした．**

（図3A），豊島株では約70分の1（図3B）と減少した．

## 考　察

生理食塩水中に保存した麻疹ウイルスの感染力価は，ブイヨンや BVT 中よりも，凍結融解，4℃，28℃のすべての条件下で，減少する速度が速かった．しかしながら，凍結融解では2回まで，4℃保存では4日間までは，生理食塩水中のウイルス感染力価は46.4%以上と比較的高く保たれており，培地の違いによるウイルス感染力価の差は小さかったため，生理食塩水を輸送培地として用いる場合は，3回以上凍結融解を繰り返さないこと，4℃での保存は4日以内に止めることが重要であると考えられた．また，-80℃で14日間保存した場合のウイルス感染値量は，-80℃で4日間保存した場合とほぼ同等であったため，-80℃では麻疹ウイルス感染力価の減少は比較的少ないものと考えられた．

一方，麻疹ウイルス遺伝子量は，凍結融解を繰り返しても，輸送培地の間で減少に差は見られなかった．また，麻疹ウイルス遺伝子量は，-80℃，4℃，28℃での各輸送培地での保存条件すべてで，感染力価よりも減少率は小さかった．特に，28℃では，4〜14日後に感染力価が0となっても，real-time PCR 法では遺伝子が検出された．このことは，ウイルスの感染性が失われても，遺伝子検出が可能であることを示唆している．

これまでの研究により，麻疹ウイルスは37℃〜56℃で指数関数的に不活化され，不活化の機序はウイルス蛋白質の変性が主であることが報告されている [2, 3]．また，麻疹ウイルスは pH7〜8で安定であるが，30分間で pH5，6，9では約10分の1に，pH10では約100分の1に減少することが報告されている [3, 4]．さらに，皆川らは，PBS に0.2%の BSA や10%のグリセリンを添加すると，添加しなかった場合に比べて，-20℃で保存した麻疹ウイルスの分離可能な期間が2〜4ヶ月延期されることを報告している[5]．生理食塩水中の麻疹ウイルスの不活化の程度が，ブイヨン及び BVT よりも大きかったのは，ウイルス蛋白質を保護する成分が含まれていなかったことや，pH の変動が影響したものと推測される．

他方，細胞培養用の培地に BVT が10%以上含まれると，3〜5日で Vero/hSLAM 細胞及び B95a 細胞に変性が生じた．また，BVT が20%含まれると，麻疹ウイルスの遺伝子量がピーク時で40〜70分の1減少した．BVT の成分中，アンフォテリシン B やコリスチン，フェノールレッドは高濃度で，また HEPES は可視光を照射すると，それぞれ細胞毒性を生ずることが知られており [6-9]，これらのいずれかが細胞を障害したものと推定される．BVT を含むウイルス液を細胞に接種した場合,ウイルス吸着後，BVT による細胞変性が生じる前に培地を交換する必要があると考えられる．また，BVT 添加により細胞が変性した場合は，細胞を回収し，細胞に再度接種する必要があると考えられた．

## 謝　辞

本調査は，厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究」の補助を受けて実施した.

## 文　献

1．Akiyama, M., Kimura, H., Tsukagoshi, H. et. al.（2009）. J. Med. Microbiol., 58, 638-643
2．Arita, M., Matsumoto, M.（1968）. Japan J. Microbiol., 12, 121-122
3．Musser, S.J., Underwood, G.E.（1960）. J. Immunol., 85, 292-297
4．BLACK FL.（1959）. Virology, 7, 184-192
5．皆川洋子，小林慎一，續木雅子ら.（2010）. 厚生労働科学研究費補助金（ウイルス感染症の効果的制御のためのサーベイランスシステムの検討）平成21年度総括・分担研究報告書, 131-133
6．Zigler, J.S. Jr., Lepe-Zuniga, J.L., Vistica, B., et. al.（1985）. In Vitro Cell Dev. Biol., 21, 282-287
7．Hu, J.F., Gilmer, L., Hopkins, R., et. al.（1989）. Cardiovasc. Res., 23, 960-964
8．Wang, H.Z., Chang, C.H., Lin, C.P., et. al.（1996）. J. Ocul. Pharmacol. Ther., 12, 35-43
9．Grady, L.H., Nonneman, D.J., Rottinghaus, G.E., et. al.（1991）. Endocrinology. 129, 3321-3330

平成23年12月16日

# 2010年のA型肝炎発生状況

小原　真弓　　堀元　栄詞　　岩井　雅恵　　小渕　正次　　滝澤　剛則
宮田　英喜[1]　　嶋尻　悟志[1]　　野田　衛[2]

## Prevalence of hepatitis A virus in Toyama Prefecture in 2010

Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Masatsugu OBUCHI,
Takenori TAKIZAWA, Hideki MIYATA[1], Satoshi SHIMAJIRI[1], Mamoru NODA[2]

**要　旨**　富山県におけるA型肝炎患者について，疫学調査及び遺伝子学的解析から感染経路の推定や流行状況の把握を行った．2010年は，全国と同様に富山県でもA型肝炎が多発し，9名の患者発生があった．4名から得られたA型肝炎ウイルス遺伝子はIA型であり，2010年に全国で主流を占めたフィリピン由来の株と一致していた．3名から得られたウイルス遺伝子はIIIA型であり，2008年頃から韓国で流行している株と近縁であった．同一家族で複数の患者が発生した事例が2例あり，うち1事例は1名から3名へ二次感染した可能性が高いと考えられた．このように，富山県のA型肝炎患者報告数の増加は，新たなタイプが侵入したこと，二次感染により同一家族に多数の患者が発生したことが要因と考えられた．

A型肝炎は，経口感染することから，食品媒介感染症として重要である．しかしながら，一般的な食中毒細菌やウイルスに比べ，潜伏期間が2〜6週間と長く，発症してからでは原因を追及することが困難であることが多い．一方，抗体検査で確定診断できることから，その遺伝子学的解析についてはこれまで十分行われていなかった．

今回，富山県において発生したA型肝炎事例について，疫学調査及び遺伝子学的解析を行い，感染経路の推定や流行状況の把握を行ったので報告する．

## 調査および検査方法

1．疫学調査及び材料

富山県内で2010年に発生したA型肝炎患者について疫学調査を行った．7名の患者からは糞便検体を得た．採便及び疫学調査は，各管轄厚生センター及び保健所が実施した．

2．A型肝炎ウイルスの検出

糞便検体の10%乳剤上清から，厚生労働省通知[1]に基づきRNAを抽出し，DNase処理，逆転写反応ののちPCRに用いた．PCR及びsemi-nested PCRには，VP1-2A領域を対象としたプライマーペアHAV-JCT-2F/ HAV-JCT-1R-A及びHAV-JCT-2F/ HAV-JCT-2R（上間ら，未発表）を用いた．PCR産物から，ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定した．

## 結　果

1．患者の概要

2010年，富山県においては9名の患者が発生した．これは，全国と同様に，2004年以来最多であった（図1）．9名の患者の概要を表1に示す．発症時期は3月〜7月に集中していた．2名はカキの喫食があり，少なくとも2名は海産物の喫食があった．9名のうち，4名と2名はそれぞれ同一家族であった．

検査した7名は全てPCR陽性となった．4名はIA型であり，解析領域568塩基の配列は一致し，フィリピン由来株（HAV-DE-2007/08-196, accession no. EU825856）とも一致していた．3名はIIIA型であり，このうち同一家族の2名（表1，△）の配列は一致した．IIIA型は全て，2007年に韓国で検出された株（HAV SEOUL1, accession no. GU991288）と近縁であった．

2．二次感染したと思われる事例

1名が発症したのち，約1カ月の時間を経て同居家族3名が発症した事例があった（表1，★）．家族構成は

1．富山市保健所　2．国立医薬品食品衛生研究所

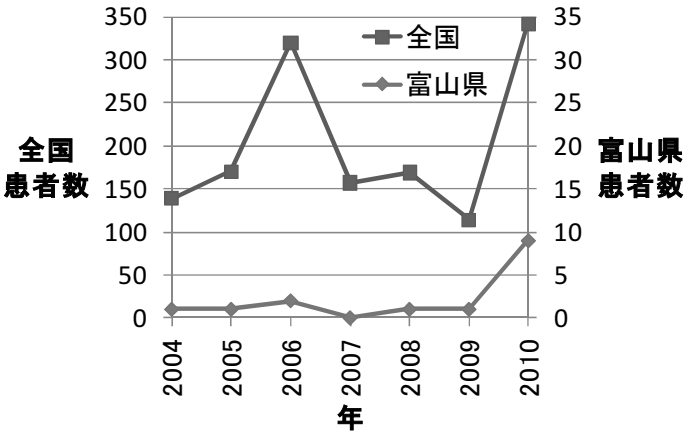



図１．近年のＡ型肝炎患者数

表１．2010年に富山県で発生したＡ型肝炎患者

| | No. | 年齢 | 発症日 | IgM検出 | 遺伝子検出 | 遺伝子型 | 備考 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ★ | 1 | 40代 | 2010年3月27日 | ＋ | NT | | カキ喫食 |
| | 2 | 50代 | 4月1日 | ＋ | ＋ | IIIA | カキ喫食 |
| ★ | 3 | 10代 | 4月27日 | ＋ | ＋ | IA | 患者No.1の子 |
| ★ | 4 | 40代 | 4月30日 | ＋ | ＋ | IA | 患者No.1の妻 |
| ★ | 5 | 10歳未満 | 5月5日 | ＋ | ＋ | IA | 患者No.1の子 |
| | 6 | 20代 | 5月11日 | ＋ | ＋ | IA | 海外に約1年滞在後、県外に2日滞在（寿司喫食） |
| △ | 7 | 40代 | 6月10日 | ＋ | ＋ | IIIA | カキは食べない |
| △ | 8 | 40代 | 6月23日 | ＋ | ＋ | IIIA | 患者No.7の妻 |
| | 9 | 30代 | 7月7日 | ＋ | NT | | 県外にて海産物摂取 |

★△の同印は同じ家族。NT：未検査

父，母，長男，長女，次男，祖父の6名で，3月末に父がＡ型肝炎を発症したのち，4月末～5月初めに母及び長女，次男が発症していた．父の検体は得られなかったが，母，長女，次男ではウイルス遺伝子が一致していた．

疫学調査により，2月下旬に生ガキを加熱調理して祖父・父・長男（母は不明）が喫食していたことが判明した．特に，父は生焼けのカキを食した記憶があった．さらに，残った生ガキは冷蔵庫に保管し，翌日加熱調理して父が食していた．

なお，入浴は祖父ののちそれ以外の家族が順不同で入るが，父の後は発症者（母，長女，次男）が利用する傾向があった．トイレは汲取り式で，父と他の家族では違うトイレを使用していた．各トイレの手拭タオルは共用であった．

食事は主に母が調理するが，まれに父が調理することがあった．父は夕食の他に，晩酌メニュー（カキを含む）を別に喫食していた．

## 考　察

2010年は全国と同様，富山県でもＡ型肝炎が多発した．全国で2010年春に検出されたＡ型肝炎ウイルスの過半数は，これまでの流行株とは異なり，IA型フィリピン由来株HAV-DE-2007/08-196と同じクラスターに属していた[2]．また，残りの株のほとんどは，IA型の別クラスター（従来から日本に常在しているタイプ）及びIIIA型（韓国で2008年頃から流行しているタイプ）に属していたことから，2010年は，常在するIA型に加え，フィリピン由来IA型とIIIA型が侵入して広がり，各地で患者を多発させたと考えられている．富山県においても，このフィリピン由来IA型が4名から，韓国で流行しているIIIA型が3名から検出され，全国と同様の傾向を示した．

同一家族で発生した2例のうち，1例では詳細な情報が得られた．家族4名が時間差で発症した要因として，父が加熱不十分のカキ等で感染したのち，入浴，調理などにより家族に二次感染させた可能性が高いと考えられた．しかしながら，カキを保存した際などに他食

材へ汚染した可能性についても否定はできない.

もう1例（表1，△）では，2名のウイルス遺伝子が一致し，同一感染源から感染したか二次感染した可能性が考えられた.

以上のことから，2010年における富山県のA型肝炎患者報告数の増加は，全国と同様に新たなタイプが侵入したこと，二次感染により同一家族に多数の患者が発生したことが要因と考えられた.

A型肝炎に関しては，2010年4月，厚生労働省通知[3]により各自治体に積極的な疫学調査，検体確保が依頼されている．これを受け，富山県においても疫学調査，糞便検体の確保及び遺伝子検出を行い，今回の結果が得られた．今後も調査を継続することで，短期的・長期的な流行状況の把握に役立つと期待される．また，今回フィリピン由来の株が流行した要因に，病原性や感染力の違いが関わっていないか，今後の詳細な解析が必要である.

## 謝　辞

本調査の実施にあたり，検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします.

## 文　献

1．厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長（2009）．食安監発1201第2号
2．石井孝司，清原知子，吉崎佐矢香，佐藤知子，脇田隆字，中村奈緒美，島田智恵，中島一敏，多田有希，野田　衞，三上稔之，齊藤哲也，山崎彰美，清水英明，宇宿秀三，長岡宏美，吉田徹也，岡村雄一郎，小原真弓，柴田伸一郎，楠原　一，近野真由美，入谷展弘，奴久妻聡一，川西伸也，榊原啓子，槙本義正，岡本玲子，世良暢之，川本大輔，増本久人，上村晃秀（2010）．病原微生物検出情報（IASR）31，287-289
3．厚生労働省健康局結核感染症課長，厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長（2010）．健感発第0426第2号，食安監発0426第4号

# 富山県内の蚊と豚における日本脳炎ウイルス分離（2004～2010年）

小原　真弓　　山内　健生　　渡辺　護[1]　長谷川　澄代[2]
岩井　雅恵　　堀元　栄詞　　小渕　正次　　滝澤　剛則

## Isolation of Japanese encephalitis virus from mosquitoes and pigs in Toyama Prefecture in 2004-2010

Mayumi OBARA, Takeo YAMAUCHI, Mamoru WATANABE[1], Sumiyo HASEGAWA[2], Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA

**要 旨**　現在の日本脳炎ウイルス（JEV）の流行状況を把握するため，蚊及び豚からのJEVの分離を試み，蚊の発生状況との比較，過去のデータとの比較を行うとともに，得られた分離株の遺伝子配列を解析した．2004～2010年に富山県内21ヶ所（民家，畜舎，公園・林等，空港，港）で捕集した蚊53,131個体（2,878 プール）及び2005～2010年の7月から10月に富山県内4ヶ所で採取された豚血清1,690 検体についてウイルス分離を行った．2005年，2007～2010年のコガタアカイエカ52プール及び豚血清9検体よりJEVが分離された．ウイルスの検出と蚊の発生消長を比較すると，コガタアカイエカの発生ピークの後の9～10月頃，蚊のウイルス陽性率が上昇する傾向がみられた．これは，蚊の発生ピークとJEVの分離時期が7～8月でほぼ一致していた1966～1972年の調査結果とは異なっていた．遺伝子解析の結果，いずれの分離株もGenotype Ⅰに分類された．E領域，prM領域ともに，主要なクラスター1種類と2007年にのみ分離されたクラスター2種類の計3種類に分けられた．主要なクラスターに属するタイプは，年により少しずつ変化していた．3'非翻訳領域の欠損パターンは，2005年と2007年に共通のタイプ，2007年にのみみられたタイプ，2008～2010年に共通の新しいタイプの3種類が存在した．

日本脳炎ウイルスは，蚊によって媒介され，ヒトに重篤な脳炎を起こす．日本においては，主にコガタアカイエカが媒介し，豚が増幅動物の役割を担っている[1,2]．1960年代頃までは，年間数百～数千人の患者が報告されていたが，その後減少し，1992年以降は10人未満となっている[3]．

日本脳炎ウイルス（JEV）が日本国内でどのように維持されているか，また，環境の変化がJEVの流行に与える影響については，まだ不明な点が多い．一方，日本では，2005年5月から2010年3月にかけて日本脳炎ワクチン接種の勧奨が中止されたため[4,5]，集団免疫力が一時的に減少していると考えられ[3]，患者発生に注意が必要である．

そこで，現在のJEVの流行状況を把握するため，蚊及び豚からのJEVの分離を試み，蚊の発生状況との比較，過去のデータとの比較を行うとともに，得られた分離株の遺伝子配列を解析した．

## 材料および方法

### 1．ウイルス分離

2004～2010年の7年間に，富山県内21ヶ所（民家，畜舎，公園・林等，空港，港）で捕集した蚊53,131個体（2,878 プール）（表1，2）及び2005～2010年の7月から10月に富山県内4ヶ所で採取された豚血清1,690検体についてウイルス分離を行った．蚊は，種類，雌雄，地点，捕集日別に分け，1プール50個体を最大とした．蚊の乳剤遠心上清もしくは豚血清をヒトスジシマカ由来のC6/36細胞とアフリカミドリザル由来のVero 9013細胞に接種した．2～3代継代し，細胞変性の現れた培養上清からRNAを抽出した．

カプシド（C）/prM領域を対象としたJE-prM-FW/JE-prM-RV（星野ら，未発表），JEVエンベロープ（E）領域を対象としたJE955f/JE2536r[6]，3'非翻訳領域（3'UTR）を対象としたJE10141f/JE10965r[6]のプライマーセットを用いてRT-PCRを行い，ダイレクトシークエンス法を用いて遺伝子配列の解析

1．国立感染症研究所　2．元富山県衛生研究所

表１．ウイルス分離に用いた蚊（地点別）

| 地点 | 定点数 | 個体数 | （プール数） |
|---|---|---|---|
| 畜舎 | 6 | 45,095 | (1,158) |
| 民家 | 7 | 4,953 | ( 839) |
| 公園・林 | 4 | 1,613 | ( 519) |
| 空港 | 1 | 402 | ( 174) |
| 港湾 | 3 | 1,068 | ( 188) |
| 計 | 21 | 53,131 | (2,878) |

表２．ウイルス分離に用いた蚊（種類別）

| 種類 | 個体数 | （プール数） |
|---|---|---|
| コガタアカイエカ | 46,504 | (1,414) |
| アカイエカ群 | 4,913 | ( 883) |
| ヒトスジシマカ | 1,560 | ( 472) |
| ハマダライエカ | 40 | ( 23) |
| キンパラナガハシカ | 34 | ( 14) |
| ヤマトヤブカ | 23 | ( 22) |
| フトシマツノフサカ | 15 | ( 13) |
| ヤマダシマカ | 12 | ( 10) |
| カラツイエカ | 10 | ( 8) |
| フタクロホシチビカ | 8 | ( 7) |
| オオクロヤブカ | 5 | ( 5) |
| シナハマダラカ | 4 | ( 4) |
| シロカタヤブカ | 1 | ( 1) |
| トラフカクイカ | 1 | ( 1) |
| イナトミシオカ | 1 | ( 1) |
| 計 | 53,131 | (2,878) |

表３．JEV が分離された検体及び検査数

| 検体 | 地点 | JEV 陽性数 | 検査数 |
|---|---|---|---|
| コガタアカイエカ（プール数） | 畜舎 | 52 | 1,005 |
| | 民家 | 0 | 233 |
| | 公園・林 | 0 | 109 |
| | 空港 | 0 | 51 |
| | 港湾 | 0 | 16 |
| | 計 | 52 | 1,414 |
| 豚血清 | 南砺市 | 1 | 545 |
| | 小矢部市 | 4 | 496 |
| | 上市町 | 3 | 260 |
| | 黒部市 | 1 | 150 |
| | 計 | 9 | 1,451 |

表４．JEV が分離された豚血清の概要

| 地点 | 採血日 |
|---|---|
| 小矢部市 | 2005年 9月 6日 |
| 小矢部市 | 2005年 9月20日 |
| 上市町 | 2007年 9月11日 |
| 上市町 | 2007年 9月11日 |
| 上市町 | 2007年 9月11日 |
| 小矢部市 | 2007年10月 1日 |
| 小矢部市 | 2007年10月 1日 |
| 南砺市 | 2007年10月 9日 |
| 黒部市 | 2008年 9月30日 |
| 計 | 9 |

を行った．得られた塩基配列と GenBank に登録された配列の E 領域全長1500bp，C/prM 領域240bp を用いて MEGA 3.1 [7]を用いた NJ 法により系統樹を作成した．

２．コガタアカイエカの発生消長

畜舎におけるコガタアカイエカ♀成虫の捕集数は，日本脳炎流行予測調査事業の結果[8-14]を用い，最大と最小を除いた平均で示した．

## 結　果

１．ウイルス分離

2005年，2007～2010年のコガタアカイエカ52プール及び豚血清9検体より JEV が分離された（表3）．その他の種類の蚊からはウイルスは分離されなかった．JEV が分離されたのは全て豚舎または牛舎の蚊であった．県内の広い範囲で JEV が分離された（図1）．

２．蚊の JEV 陽性率と発生消長との比較

蚊のウイルス陽性率と蚊の発生消長とを比較すると，コガタアカイエカの発生ピークの後の9～10月頃，ウイルス陽性率が上昇する傾向がみられた（図2）．また，豚血清から JEV が分離された時期も，9月と10月に集中していた（表4）．これは，蚊のピークと JEV の分離時期が7～8月でほぼ一致していた1966～1972年の調査結果（図3）とは異なっていた．

３．遺伝子解析

E 領域，C/prM 領域の遺伝子解析の結果，いずれの分離株も Genotype Ⅰに分類された（図4，5）．E 領域では A，B，C の3つのクラスターに，C/prM 領域では A'，B'，C'の3つのクラスターに分けられた．

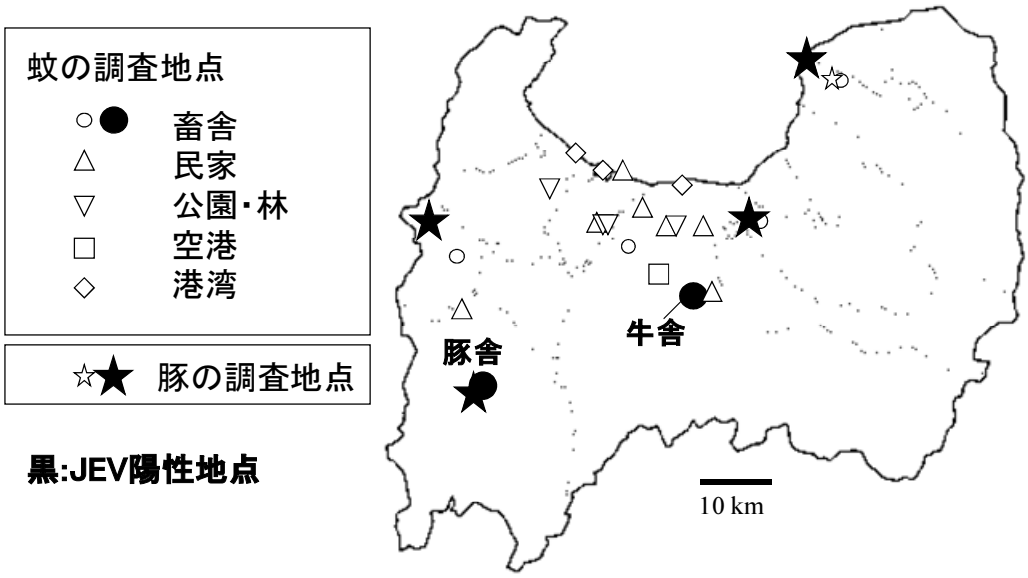



**図 1. 調査地点（JEV が分離された地点は黒で示す）**

A と A'，B と B'，C と C'はそれぞれ対応していた．主な分離株は A，A'のクラスターに属し，2007年にのみ分離された株は B と B'，C と C'に属した．分離株は，兵庫県，三重県，長崎県，香川県，中国，ベトナムの株と近縁であった．

近年の分離株は，3'UTR に欠損がみられるという報告があるため[6,17]，今回の分離株についても解析を行った．3'UTR の欠損パターンには，2005年と2007年に共通のタイプ，2007年にのみみられたタイプ，2008～2010年に共通の新しいタイプの3種類が存在した（図6）．2007年の3株（図6，△）は既報の Sw/Kagawa/35/2004（accession no. AB231464）と同じ欠損を持っており，これら3株と Sw/Kagawa/35/2004は E 領域，prM 領域の系統樹においてクラスター C 及び C'に分類された．2008～2010年に分離された，共通の欠損を持つ株（図6，★）は全てクラスター A 及び A'に属し，それまでの2005～2007年の株とは，E 領域，C/prM 領域の系統樹において差はみられなかった．

## 考　察

富山県における JEV の流行時期は，1960年代頃7～8月だったのが現在は9～10月頃になり，コガタアカイエカの発生が少なくなってから JEV が流行するようになったことが判明した．富山県で1997年を最後に日本脳炎患者が発生していないのは，JEV が流行し始める時期には既に蚊が少ないことも一因になるかもしれない．また，蚊の発生ピーク自体も7～8月から8～9月へと遅くなっているのは，コガタアカイエカの主要な発生源である水田における水管理の変化（6月に1回中干しをする，米の種類が変わって収穫のための落水が遅くなったなど）と，育苗箱に殺虫剤が使われるようになったことなどが要因と考えられる[16]．一方，JEV の流行がさらに遅れている要因としては，蚊の増加が遅れることにより，蚊の発生が多い9月頃には8月と比べ既に5℃程度気温が下降しているため[14]，蚊の体内での JEV の増殖効率が落ちる可能性が考えられる．JEV は蚊と豚のサイクルで主に増殖するため，このような増殖効率の低下により，蚊の JEV 陽性率のピークが遅れるのかもしれない．

国内では，1990年代頃に Genotype III から I への移行が報告されており[18]，現在も Genotype I が主流となっていると思われる．富山県内で流行している JEV も，近年日本国内で分離されている Genotype I であることが判明した．また，少なくとも6年間にわたり維持されてわずかずつ変化しているタイプと，2007年にしかみられなかったことから，他から一時的に侵入しその後消失したと考えられるタイプが存在した．

JEV がどのようなメカニズムで毎年夏に出現するのかはまだ明確になっていないが，国内で越冬している可能性と，毎年海外から JEV を持った蚊が飛来してくる可能性が示唆されている[19]．今回の結果では，6年間維持されていたタイプと一時的に侵入したタイプが，それぞれ JEV の越冬と海外飛来を反映しているのではないかと考えられた．

本研究では，富山県の豚と蚊から JEV を分離し，

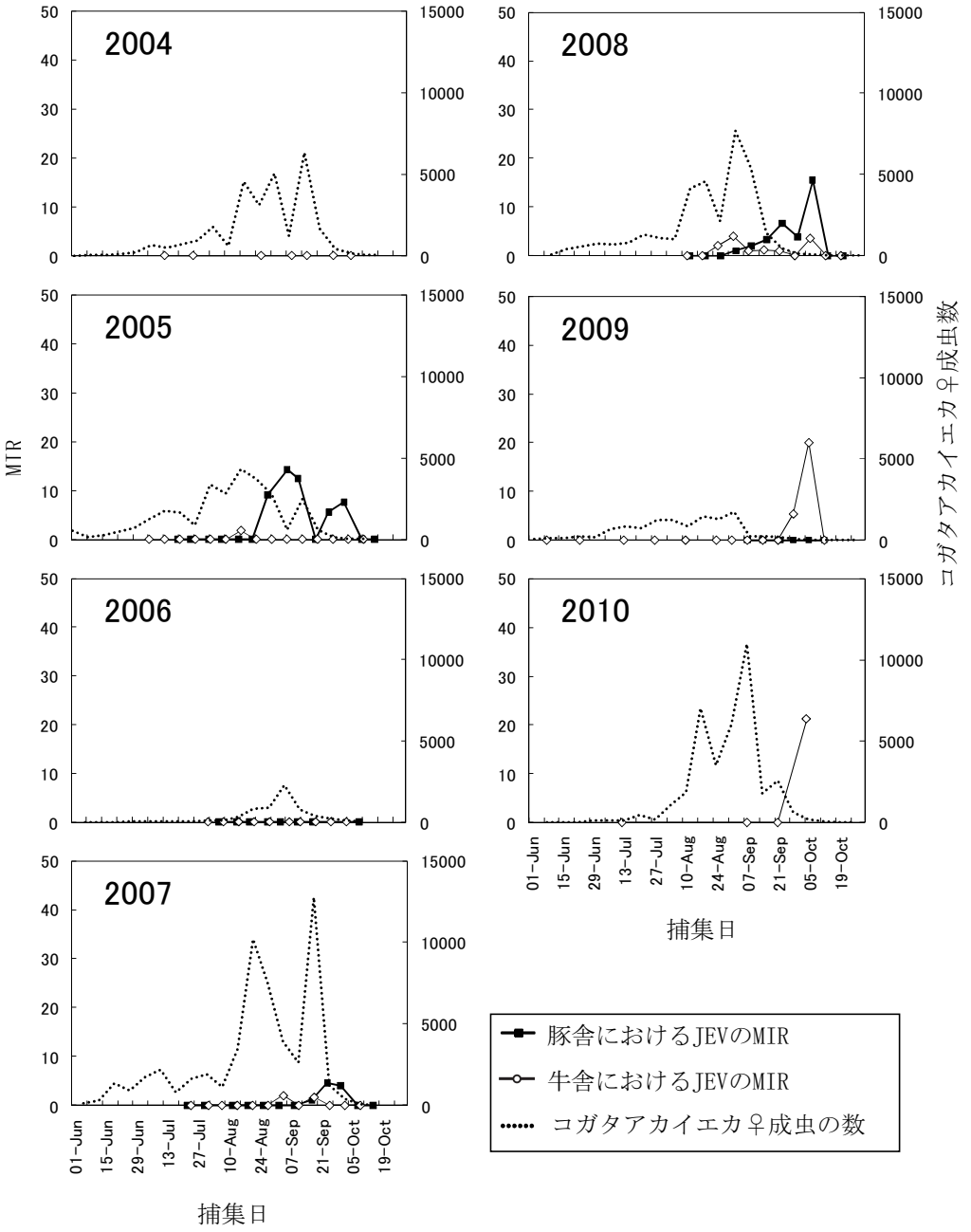



**図２．JEV の最小感染率（Minimum infection rate；MIR）とコガタアカイエカ雌成虫の数（2004～2010 年，南砺市豚舎及び富山市牛舎）**

MIR＝JEV 陽性プール数／検査個体数×1,000＝蚊 1,000 個体当たりの最小ウイルス陽性個体数
グラフ左上の数字は年を示す.
2004 年及び 2010 年には南砺市豚舎での蚊からのウイルス分離は実施していない.

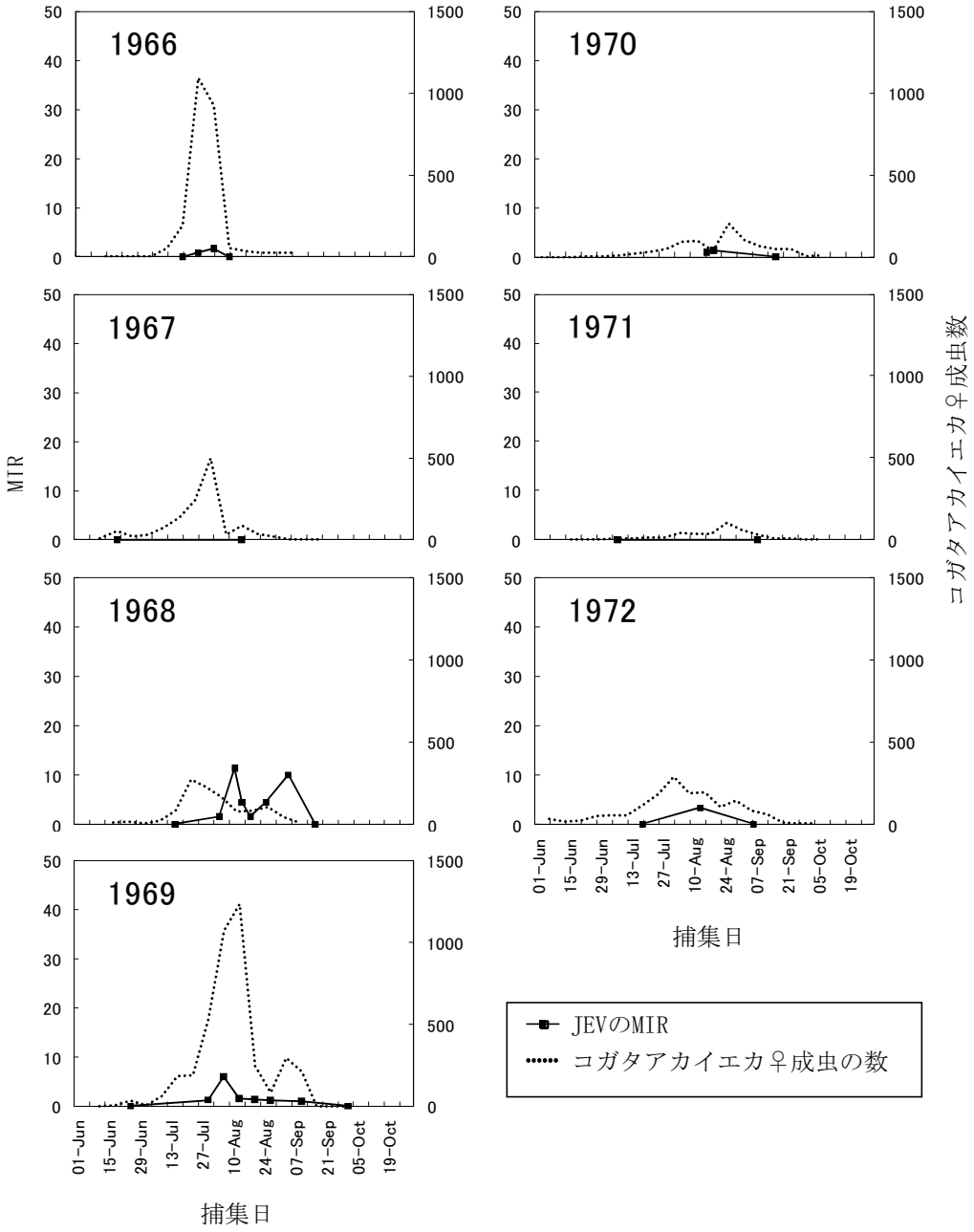



**図 3. JEV の MIR とコガタアカイエカ雌成虫の数（1966～1972 年，豚舎及び牛舎）**

MIR＝JEV 陽性プール数／検査個体数×1,000＝蚊 1,000 個体当たりの最小ウイルス陽性個体数

グラフ左上の数字は年を示す.

数値は過去の報告[15,16]から得た.

グラフ中の MIR は調査開始日及び調査終了日，JEV が分離された日のみ示した.

1970 年は 5 月 25 日に調査を開始しているため，グラフ中にはプロットしていない.

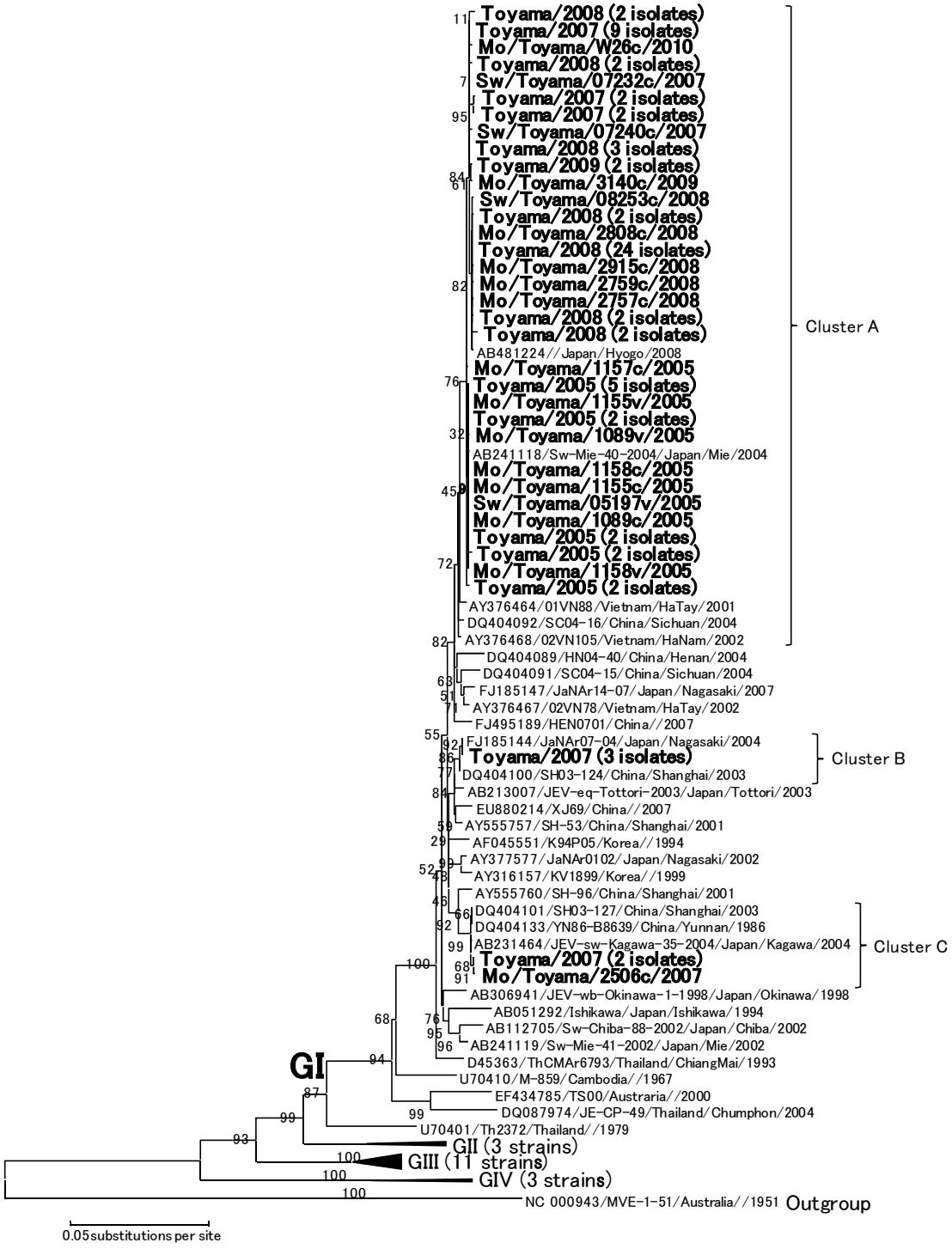



**図４．E 領域 1500bp の系統樹**

富山分離株は Toyama/年 (分離株数)もしくは分離株名で表す.

分離株名は Mo (mosquitoes＝蚊) または Sw (swine＝豚)/Toyama/検体番号及び分離細胞 (c:C6/36, v:Vero)/年で表す.

GI-GIV は JEV の遺伝子型を示す.

参考株は accession no./株名/国/地域/年で表す.

分岐点の数値はブートストラップ値(%)を示す.

ブートストラップ反復は 1,000 回行った.

Murray Valley encephalitis (MVE) virus は outgroup として使用した.

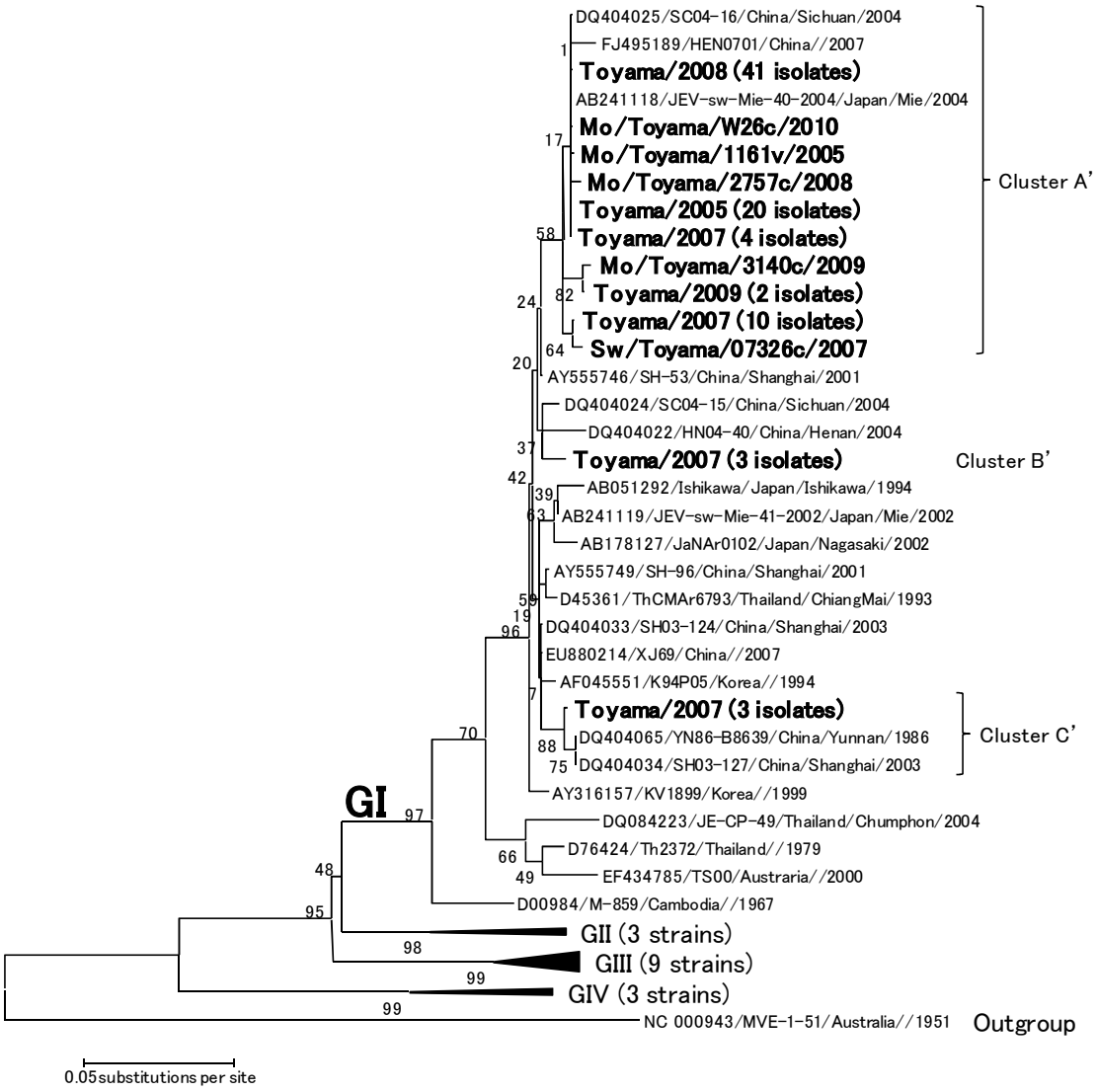



**図 5. C/prM 領域 240bp の系統樹**

どのように JEV が流行しているのかを遺伝子学的，疫学的側面から明らかにした．

## 謝　辞

蚊の調査にご協力くださったボランティアの方々，新潟検疫所富山空港出張所上田泰史先生，松野健太朗先生，国立感染症研究所昆虫医科学部，国立感染症研究所ウイルス第一部第二室，高岡厚生センターの方々に深謝いたします．

## 文　献

1．Burke, D. S., Leake, C. J. (1988). The Arboviruses: Epidemiology and Ecology. Volume III. (Monath, T. P., ed.) p63-92 CRC Press.
2. Igarashi. A. (1992). Control of Virus Diseases. (Kurstak, E., ed.) p309-342 Marcel Dekker, Inc.
3. 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター (2011)．平成20年度感染

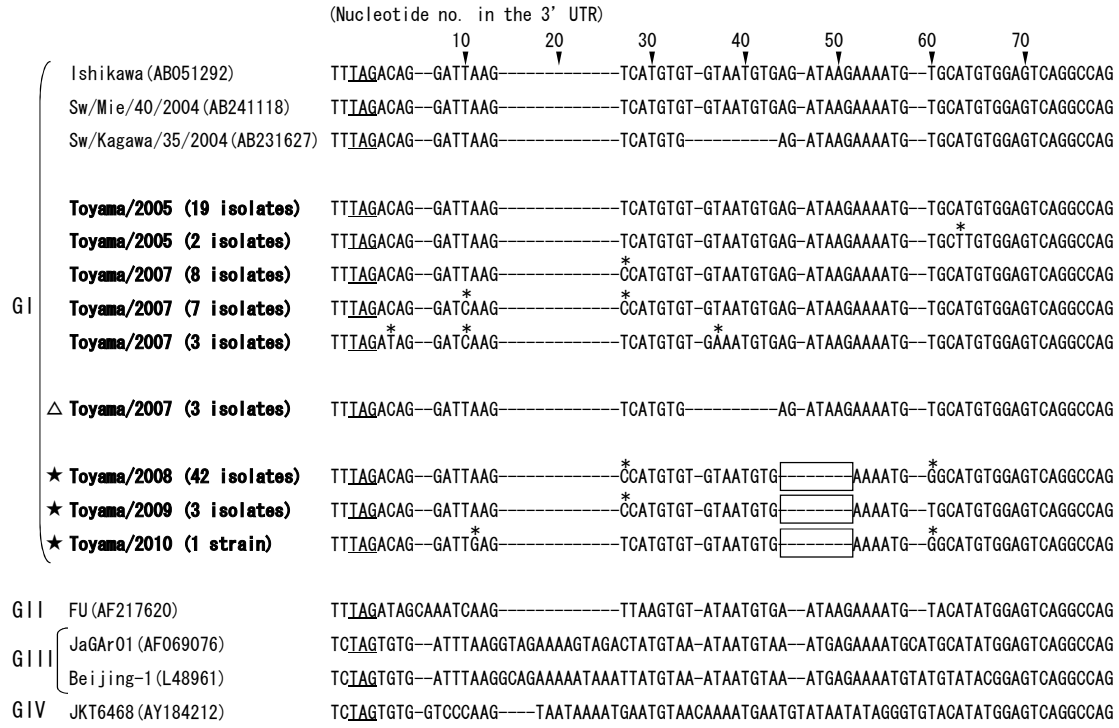



**図６．　富山県分離株と参考株の 3' 非翻訳領域(UTR)可変領域の比較**

富山分離株は太字の Toyama/年 (分離株数)で示す.
参考株は株名(accession no.)で示す.
GI-GIV は JEV の遺伝子型を示す.
欠損部位はハイフンで，終止コドンはアンダーラインで示す.
新規の欠損領域は□で囲む.
富山分離株の配列のうち，“Toyama/2005 (19 isolates)”と異なる塩基には＊を示す.


症流行予測調査報告書，80-106

4．厚生労働省健康局結核感染症課長（2005）．健感発第0530001号

5．厚生労働省健康局長，厚生労働省医薬食品局長（2010）．健発0401第19号，薬食発0401第25号

6．Nerome, R., Tajima, S., Takasaki, T., Yoshida ,T., Kotaki, A., Lim, C. K., Ito, M., Sugiyama, A., Yamauchi, A., Yano, T., Kameyama, T., Morishita, I., Kuwayama, M., Ogawa, T., Sahara, K., Ikegaya, A., Kanda, M., Hosoya, Y., Itokazu, K., Onishi, H., Chiya, S., Yoshida, Y., Tabei, Y., Katsuki, K., Tabata, K., Harada, S., Kurane, I.（2007）. J. Gen. Virol., 88, 2762-2768

7．Kumar, S., Tamura, K., Nei, M.（2004）. Brief. Bioinform., 5, 150-163

8．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，米道暁彦（2005）．富山衛研年報，28，52-64

9．渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2006）．富山衛研年報，29，56-68

10. 渡辺　護，長谷川澄代，小原真弓，道谷真由美（2007）．富山衛研年報，30，62-74

11. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，川尻千賀子（2008）．富山衛研年報，31，65-75.

12. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，林達哉（2009）．富山衛研年報，32，55-64

13. 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，渡辺　護，植田陽子（2010）．富山衛研年報，33，69-78

14. 山内健生，小原真弓，小渕正次，渡辺　護，關口健治（2011）．富山衛研年報，34，xx-xx

15. 香取幸治，松浦久美子，中山　喬，今井澄代，上村　清（1975）．富山農村医研会誌，6，55-61

16. Watanabe, M., Hasegawa, S., Obara, M., Ando, S., Yamauchi, T., Takizawa, T.（2011）.

Long-term analyses of the population dynamics of Culex tritaeniorhynchus and Anopheles sinensis, and serological survey of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003, Skarafactory Ltd.

17. Takegami, T., Ishak, H., Miyamoto, C., Shirai, Y., Kamimura, K. (2000). Jpn. J. Infect. Dis., 53, 178-179
18. Ma, S. P., Yoshida, Y., Makino, Y., Tadano, M., Ono, T., Ogawa, M. (2003). Am. J. Trop. Med. Hyg., 69, 151-154
19. Nabeshima, T., Loan, H. T., Inoue, S., Sumiyoshi, M., Haruta, Y., Nga, P. T., Huoung, V. T., del Carmen Parquet, M., Hasebe, F., Morita, K. (2009). J. Gen. Virol., 90, 827-832

平成23年12月16日

# 病因物質不明食中毒事例の原因として疑われる粘液胞子虫の県内最初の検出及び市販刺身における保有状況に関する調査研究

綿引　正則　　磯部　順子　　木全　恵子　　嶋　智子　　金谷　潤一
倉田　毅　　出村　尚子[1]

# First Detection of Myxozoan Parasites in Toyama Prefecture from Food-poisoning Cases with Unexplained Agents and the Surveillance Study of Its Existence in the Fresh Seafood on the Market.

Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Takeshi KURATA and Naoko DEMURA[1]

**要　旨**　近年，喫食後数時間で一過性の下痢や嘔吐を呈し，患者の共通食として生食用の生鮮食品（刺身）が疑われる有症事例が報告されていた．平成22年6月にその病因物質がヒラメの筋肉に存在する粘液胞子虫のクドアである可能性が報告され，その検査法が開発された．この方法を用いて，平成22年10月に発生した病因物質が特定出来なかった食中毒事例の収去残品を検査したところ，クドアが検出された．これは本県最初のクドア検出の報告である．また，過去の病因物質不明の食中毒事例について，遡り調査を実施したところ，クドアが検出された．こうしたことから，市販刺身におけるクドアの汚染実態調査を実施したが，流通しているヒラメからクドアは検出されなかった．

近年，喫食後数時間で一過性の下痢や嘔吐を呈し，軽症で終わる有症事例が報告されている．これらの食中毒は，患者の共通食としてヒラメの刺身が提供されていることが多いことから原因食品としてヒラメの刺身の関連が疑われていた．しかし，最終的には病因物質が不検出，あるいは疑わしい細菌等が検出されても症状等と合致しないことから病因物質を特定することができない事例であった [1]．この食中毒は，西日本で多く報告されているが，福井県，石川県及び富山県でもしばしば報告されていた．本県においても，平成19年（2007年）から21年（2009年）かけて，病因物質が特定できない食中毒が11件報告されている（表１）．

この病因物質不明食中毒の原因究明について国の研究機関が本格的に動き出し，厚生労働省食中毒被害情報管理室は平成21年7月に都道府県等に「病因物質不明有症事例の情報提供」を依頼，そして平成22年6月21日に中間とりまとめが行われた．このなかで，有症事例ヒラメとそうでないヒラメの肉片から抽出したDNA を次世代型シーケンサーにて，その塩基配列を網羅的に解析し比較した結果，事例ヒラメ特異的に，粘液胞子虫に属するクドア属由来の配列が有意に多く存在することが報告された[2]．このような結果を踏まえて，得られた配列からクドアを特異的に検出する18S rRNA 配列を検出する PCR 法や定量的 RT-PCR が開発された．そして，この PCR を用いて，複数の有症事例について確認したところ，少なくとも事例検体にはクドア（*Kudoa septempunctata*）が高い相関をもって検出される傾向にあることが示唆された．

平成22年10月，県内の旅館 A で潜伏時間が短い集団食中毒が発生した．原因食として疑われた料理にはヒラメを含む刺身が提供されていたが，当時流行していたノロウイルスの検査が実施されたが陰性，その他疑わしい細菌検査についても陰性で，病因物質の特定には至らなかった．そのためただちにクドアの検査を実施したところ，クドアを検出した．この結果を受けて，これまで原因が特定できずヒラメの刺身が提供され，料理残品が保管されていた事例について，遡り検査を実施した．この事例は，平成19年（2007年）8月に県内の結婚式場 B で，潜伏時間が2.5〜11.5時間の病因物質不明の集団食中毒事例で，当所に保管されていたヒラメの子付け刺身を検査したところ，クドアが検出された．これらは生食用の刺身すなわち食中毒の原因として強く疑われる検体から，クドアが検出された富山県における最初の報告である．また，これを受

１．富山県生活衛生課

表１．富山県における病因物質不明食中毒の発生状況　（2007～2010）

| 事例 | 発生年月日 | 施設 | 有症者数／喫食者数 | 潜伏期間（時間）（平均） | 潜伏期間（時間）（最短） | おもな症状 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2007.04.02 | 飲食店 | 13/17 | 4.1 | 2.0 | 嘔気　嘔吐　下痢 |
| 2 | 2007.08.05 | 結婚式場 | 13/35 | 4.8 | 2.5 | 嘔気　嘔吐　下痢　腹痛 |
| 3 | 2007.08.16 | 飲食店 | 16/32 | 7.2 | 2.5 | 嘔気　嘔吐　下痢　腹痛 |
| 4 | 2007.09.22 | 旅館 | 13/18 | 11.9 | 9.0 | 下痢（水様性） |
| 5 | 2007.10.27 | すし店 | 6/9 | 5.8 | 3.0 | 嘔気　嘔吐　下痢　発熱 |
| 6 | 2007.12.01 | ホテル | 28/138 | 8.5 | 5.0 | 嘔吐　下痢 |
| 7 | 2008.04.07 | 飲食店 | 8/19 | 4.6 | 2.5 | 嘔吐　下痢 |
| 8 | 2008.04.10 | 旅館 | 9/30 | 5.4 | 1.5 | 嘔気　嘔吐　下痢 |
| 9 | 2008.07.01 | 飲食店 | 15/31 | 7.8 | 4.0 | 嘔気　嘔吐　下痢 |
| 10 | 2008.07.07 | 飲食店 | 7/20 | 7.8 | 4.0 | 嘔吐　下痢　腹痛 |
| 11 | 2009.10.16 | 飲食店 | 10/25 | 4.5 | 2.5 | 嘔気　嘔吐　下痢 |
| 12 | 2010.10.15 | 旅館 | 10/23 | ? | 4.5 | 嘔気　嘔吐　下痢　腹痛 |

けて，県内の生食用の生鮮魚介類のクドア保有状況調査を実施したのでここで報告する．

## 方法および材料

### １．クドア検査

1-1．鏡検用標本の作製　検体（刺身）は0.5g を秤量し，2mL の PBS とともに，メッシュに筋肉を押さえつけるように潰して濾過する．濾過液を再度，潰して，濾過液を得る．この濾過液は，100メッシュ（セルストレーナー，BD ファルコン）で濾過する．この濾液を血球計算板（ディスポセルカウントチャンバー　セロメーター，日本ジェネティクス株式会社）を用いて，位相差顕微鏡を用いて鏡検（×200-400）し，典型的なクドア胞子虫（6～7つの極嚢をもち，10μm程度の大きさ，図1）が存在するか観察した．陽性の場合には，胞子虫数を4画分（画分=1x1x0.1mm）について計数し，定量値を算出した．ヒラメ検体が魚体の場合には，有眼側 2 箇所と無眼側 1 箇所，合計 3 箇所から 0.5g の肉片を切り取り，刺身で実施した方法で顕微鏡観察用の試料を調製した．

1-2．刺身肉片からの DNA 抽出　刺身肉片からの DNA 抽出は Promega Wizard Genomic DNA Purification Kit を用い，マウステールからの DNA 抽出プロトコルに準拠し，以下のように実施した．刺身検体あたり，2箇所から，20～100mg を切り取り，1.5mL プラスチック遠心管に入れ，600μL の EDTA/Nuclei Lysis Solution，続いて17.5μL のプロティナーゼ K 溶液（20mg/mL）を加え，55℃で一晩，ゆっくり振盪しながら保温した．翌日，3μL の RNase 溶液（10mg/mL）を添加し，37℃で15～30分で保温した．室温に戻してから，200μL の Protein Precipitation Solution を加え，良く混合し，氷上に5分以上おいて冷却する．その後，15,000rpm で10分遠心し，沈殿を吸い込まないように注意しながら，上澄み600μL を新しい1.5mL プラスチック遠心管に移し，600μL のイソプロパノールを添加し，良く混合する．これを再び，15,000rpm で2分，遠心し，上澄みを除去し，沈殿を観察しながら，70%（V/V）エタノールを加え，静かに上下反転動作を繰返し，沈殿を洗浄する．15,000rpm で2分，遠心し，沈殿を注意深く観察しながら，上澄みを捨てて，15分自然乾燥させる．乾燥した沈殿に100μL の TE 緩衝液（10mM Tris-Cl, 1mM EDTA, pH 8.0）を加えて，溶解し，UV 吸収により濃度を測定し，終濃度100ng/μL とした．

1-3．遺伝子検出（PCR）　ヒラメ筋肉中に存在するクドアの PCR による検出法は，国立医薬品食品衛生研究所の方法に従った[3]．クドア属の *Kudoa septempunctata* を検出する特異的プライマー（以下，クドアプライマー）として，18S rRNA 配列をターゲットとした SSU1（forward）: 5'-ACC AAG GTT GTG ACG GGT AA-3' 及び SSU2(reverse): 5'-AGG

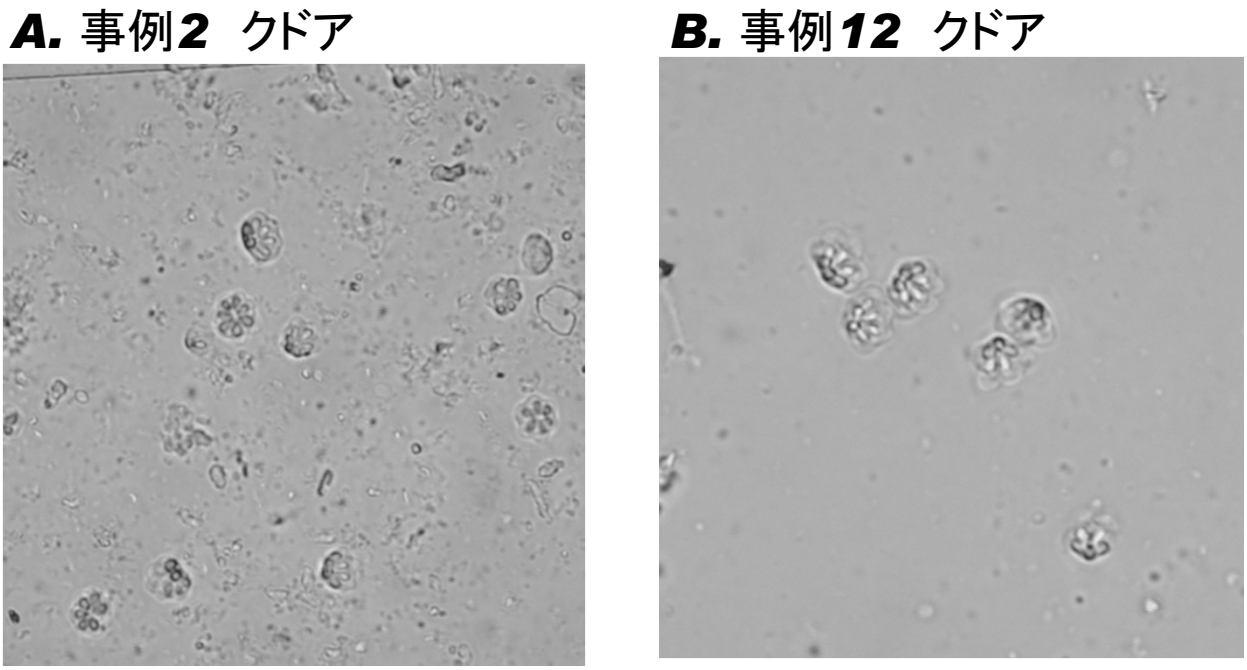



図１．食中毒事例でヒラメ刺身から検出されたクド虫体

CTC AGT CCA AAG CAA GA-3'を用いた．また，PCR 反応の内部コントロールとして，ヒラメ18S rRNA 配列をターゲットとしたプライマー（以下，ヒラメプライマー），U1（forward）: 5'-AAC CTG GTT GAT CCT GCC AGT-3' 及び U2（reverse）: 5'-TGA TCC TTC TGC AGG TTC ACC TAC-3'を用いた．PCR は，DNA 溶液2μL を GoTaqHotStart Green Master Mix（2x）（プロメガ）を用いて反応液20μL として，95℃2分の後，94℃1分，56℃30秒，72℃1分を30サイクル，最後に72℃5分のプログラムで実施した．増幅産物は，1.5%アガロースにて反応の一部（5〜6μL）を電気泳動し，臭化エチジウムで染色して，UV 照射を行い検出した．上記のプライマーを用いることにより，クドア18SrRNA 配列及びヒラメ18SrRNA 配列をターゲットとして，各々約1.1kb及び1.5kb 付近に検出される．

1-4. 塩基配列の解析　PCR 産物については，その一部について塩基配列の決定を以下の通り行った．アガロース電気泳動後の PCR 産物を，DNA Gel Extraction Kit（ミリポア）を用いて精製し，これを鋳型として，BigDye Terminator Kit Ver 3.1（Applied Biosystems）と ABI 3130xl Genetic Analyzer（Applied Biosystems）で塩基配列を決定した．得られた配列は，DDBJ の DNA Bank に登録されている塩基配列を対象に Blast 検索を行った．

**２．市販生食用鮮魚検体**

市販されている生食用鮮魚検体は，大型スーパー店舗等からパックされたものを購入した．魚種については，病因物質不明食中毒事例で最も多かった順にヒラメ，マグロ及びフグラギ[1]として，産地については原則，偏らないように配慮した．

検体数は，28検体，その内訳は，ヒラメ9検体，フクラギ（ブリも含む）9検体，タイ3検体，マグロ類7体であった．産地別では，ヒラメはいずれも県内産，フクラギについては，3検体が県内産であり，3検体が石川県産であった．また，ブリ３検体及びタイ3検体については，すべて愛媛産であった．マグロ類については，氷見産のメジマグロ（ホンマグロの幼魚名）3検体以外，いずれも県外産であり，メバチマグロ１検体のみ国外産であった．

## 結　果

**１．食中毒事例のクドア検査**

**平成22年10月発生食中毒事例（表1，事例12）**

概要　平成22年10月，旅館 A で提供された料理を原因とした食中毒が発生した．喫食者数23名，患者数10名（発症率43%），潜伏期間4.5〜11時間であり，症状は，嘔気，嘔吐，下痢，頭痛等を示した．ただちに患者便検体のウイルス及び細菌検査が行われたが，病因物質の特定に至らず，ヒラメ等の生鮮食品が含まれていることから，一連の病因物質不明食中毒を疑い，料

理残品が当研究所に搬入され，クドア検査が実施された．

顕微鏡による検査結果

旅館Aで提供された料理の残品であった，フクラギ，ヒラメ及び甘海老について，クドア検査を実施した．その結果，フクラギと甘海老については，クドアは検出されなかったが，ヒラメの残品から典型的なクドアの虫体が検出された（図1，B）．その数は，$3.6\times10^{6}$/gであった．この結果を受けて，ヒラメの仕入れ先の調査をおこなったところ，同一産地から仕入れられたヒラメが当該業者の生簀に育養されていることが判明し，内3匹を買い上げ，搬入されたヒラメ筋肉中のクドア検査を実施したが検出されなかった．

PCRによる遺伝子検査

鏡検したフクラギ，ヒラメ及び甘海老検体についてDNAを抽出しPCRを行った．その結果は図2に示した．

事例12の検体については，刺身残品のフクラギ，ヒラメ（レーン1〜6）及び事例ヒラメの仕入れ先から買上げしたヒラメ3尾のうち2尾（レーン9〜12）である．ヒラメの18SrRNA配列をターゲットとしたPCRにおいて，増幅量の違いはあるものの予想通りの〜1.5kbの増幅産物を検出した（レーン1,3,5,9,11）．また，クドアプライマーを用いたPCRにおいては，残品検体のフクラギ及びヒラメから増幅産物が検出された（レーン2,4,6）．しかし，買上げ2尾のヒラメ検体からは増幅産物は検出されなかった（レーン10,12）．

**平成19年8月発生食中毒事例（遡り調査，表1，事例2）**

概要　平成19年8月5日に県内の結婚式場Bで提供された披露宴の会席料理を原因とする集団食中毒が発生した．喫食者数35名，患者数16名（発症率40%），潜伏期間4.8時間，主な症状は，腹痛，嘔気，嘔吐，下痢等を示し，比較的軽症であった．便検査が実施され，ノロウイルスその他細菌検査が実施されたが，検出されなかった．

顕微鏡による検査結果

搬入された料理残品で最も疑わしいものとして，ヒラメの刺身を材料とした生鮮加工品（ヒラメの子付け刺身）が保管されていた．この検体を用いてクドア属の検査を実施したところ，典型的なクドア属虫体が検出された（図1，A）．その数は，$1.6\times10^{7}$/gであった．

PCRによる遺伝子検査

検体（ヒラメの子付け刺身）からDNAを抽出してPCRを行ったところ，ヒラメプライマー及びクドア

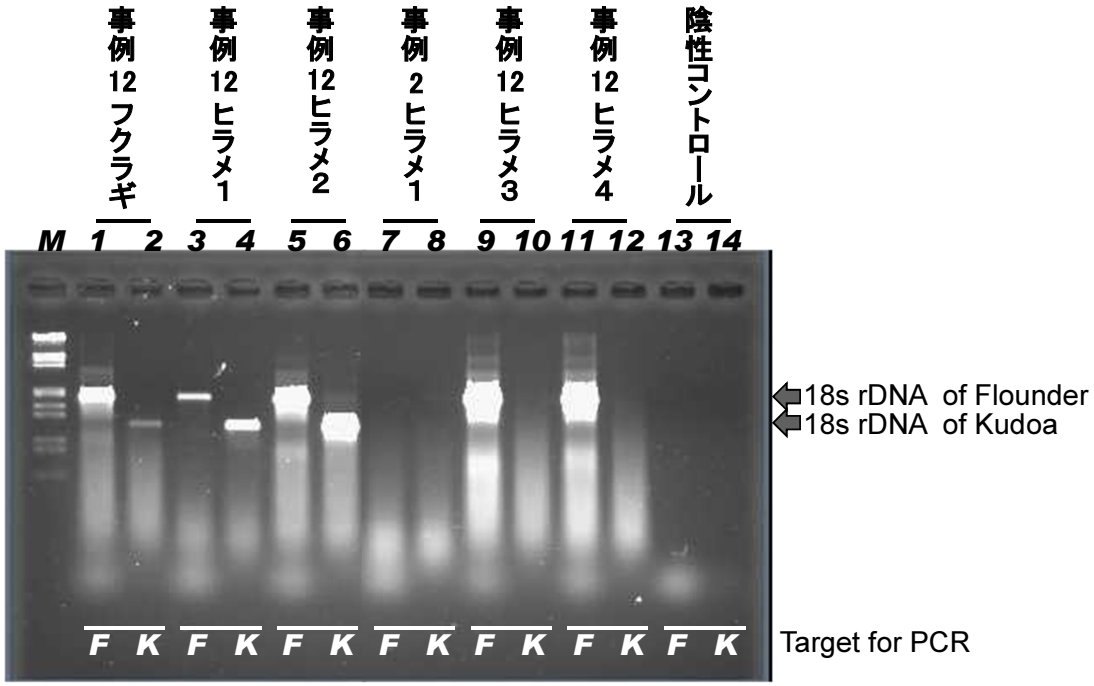



図2．食中毒事例残品のクドア属検出のためのPCR
F:ヒラメプライマー，K：クドアプライマー（詳細は，本文参照）

**表２．市販生鮮魚刺身検体及び検査結果**

| No. | 買上日 | 魚　種 | 形態 | 産　地 | 検鏡 | PCR |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | H22.11.30 | メバチマグロ | 天然 | 国外産（パラオ） | - | - |
| 2 | | ヒラメ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 3 | | フクラギ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 4 | H22.12.14 | ホンマグロ | 養殖 | 県外産(長崎県) | - | - |
| 5 | | フクラギ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 6 | | ヒラメ | 天然 | 県内産（生地） | - | - |
| 7 | H23.1.11 | フクラギ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 8 | | ヒラメ | 天然 | 県内産(魚津) | - | - |
| 9 | | メジマグロ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 10 | H23.1.26 | ヒラメ | 天然 | 県内産（生地） | - | - |
| 11 | | メジマグロ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 12 | | フクラギ | 天然 | 県外産（石川県） | - | - |
| 13 | | マダイ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |
| 14 | | ブリ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |
| 15 | | ビンチョウマグロ | 天然 | 県外産（和歌山県） | - | - |
| 16 | H23.2.15 | ヒラメ | 天然 | 県内産（氷見） | - | - |
| 17 | | フクラギ | 天然 | 県外産（石川県） | - | - |
| 18 | | ビンチョウマグロ | 天然 | 県外産（宮城県） | - | - |
| 19 | | マダイ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |
| 20 | | ブリ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |
| 21 | | ヒラメ | 養殖 | 県内産（堀岡） | - | - |
| 22 | | ヒラメ | 養殖 | 県内産（堀岡） | - | - |
| 23 | | ヒラメ | 養殖 | 県内産（堀岡） | - | - |
| 24 | H23.2.28 | フクラギ | 天然 | 県外産（石川県） | - | - |
| 25 | | ヒラメ | 天然 | 県内産（生地） | - | - |
| 26 | | ホンマグロ | 養殖 | 県外産(長崎県) | - | - |
| 27 | | マダイ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |
| 28 | | ブリ | 養殖 | 県外産（愛媛県） | - | - |

プライマーを用いても増幅産物は得られなかった（図２．レーン7, 8）.

なお，表１に記されているその他の事例については，料理残品等保管されておらず，その病因物質については不明のままである.

**２．市販生食用鮮魚検体のクドア属の保有実態調査**

市販生食用鮮魚として，刺身あるいは刺身用切り身としてパックされたものを買上げし，検体とした．買上げ日時，魚種，形態及び産地，さらに顕微鏡検査及びPCRの結果については，表2にまとめた.

その結果，全ての検体の顕微鏡観察では，クドア属

あるいはそれに似た虫体はいずれも検出されなかった．また，PCR では，ヒラメからはクドアに特異的な増幅産物は検出されなかった．しかし，ホンマグロ検体から，クドアプライマーを用いて PCR を行ったところ1.3kb 付近に増幅産物が検出された（図3.B，レーン5,6）が，増幅量は少なかった．また，一部のマダイから，ヒラメプライマーを用いた PCR により，ヒラメで増幅すると予想された1.5kb とは別に～300塩基対の増幅産物が検出された（図3.A，レーン7,8）これらの増幅産物については，塩基配列の決定を行ったところ，ホンマグロ検体から増幅した DNA の配列は，Blast 検索の結果，*Kudoa grammatorcyni* あるいは *Kudoa acomberomori* とほぼ一致した．しかし，ヒラメから検出され今回問題とされた *Kudoa septempunctata* とは，異なっていた．また，ヒラメプライマーを用いて，マダイから増幅した300bp の産物は，18SrRNA 配列の一部が検出された．

## 考　察

粘液胞子虫（クドア属）は，ミクソゾア門に属し，これまで1,300種以上が記載されており，まれに両生類や爬虫類に寄生するものもいるが，ほとんどが魚類を宿主とする寄生虫である．ゴカイなど貧毛類を介した生活環と関係があり（図4）[4]，ゴカイの上皮組織に侵入して，減数分裂を行い放線胞子を形成して，淡水魚や海産魚に寄生し，その筋肉組織や管腔内で発育し，大きさ10μm 程度の胞子を多数形成する．このようなことから，魚の筋肉からクドア属が検出されても，魚体間でクドアの虫体が感染を広げるということは原理的にはない．また，多くは宿主魚に対して無害とされるが，罹患魚の組織や筋肉内で多数の胞子が形成されて，時に食品として加工中に筋肉を軟化（ゼリーミート化）させ，食味を著しく低下させる．一般的には，罹患魚に対して，筋肉中に検出されても病原性を示さないとされ（筋肉クドア症と呼ばれる），これまで生鮮食品などとして出回っても，人間には寄生しな

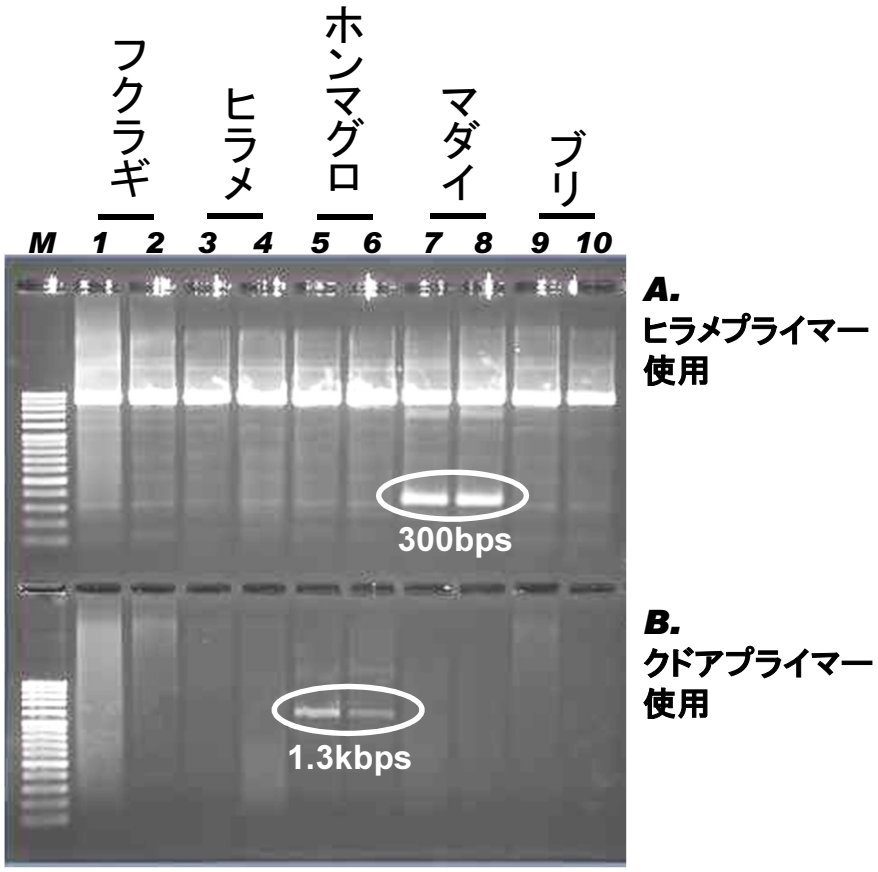
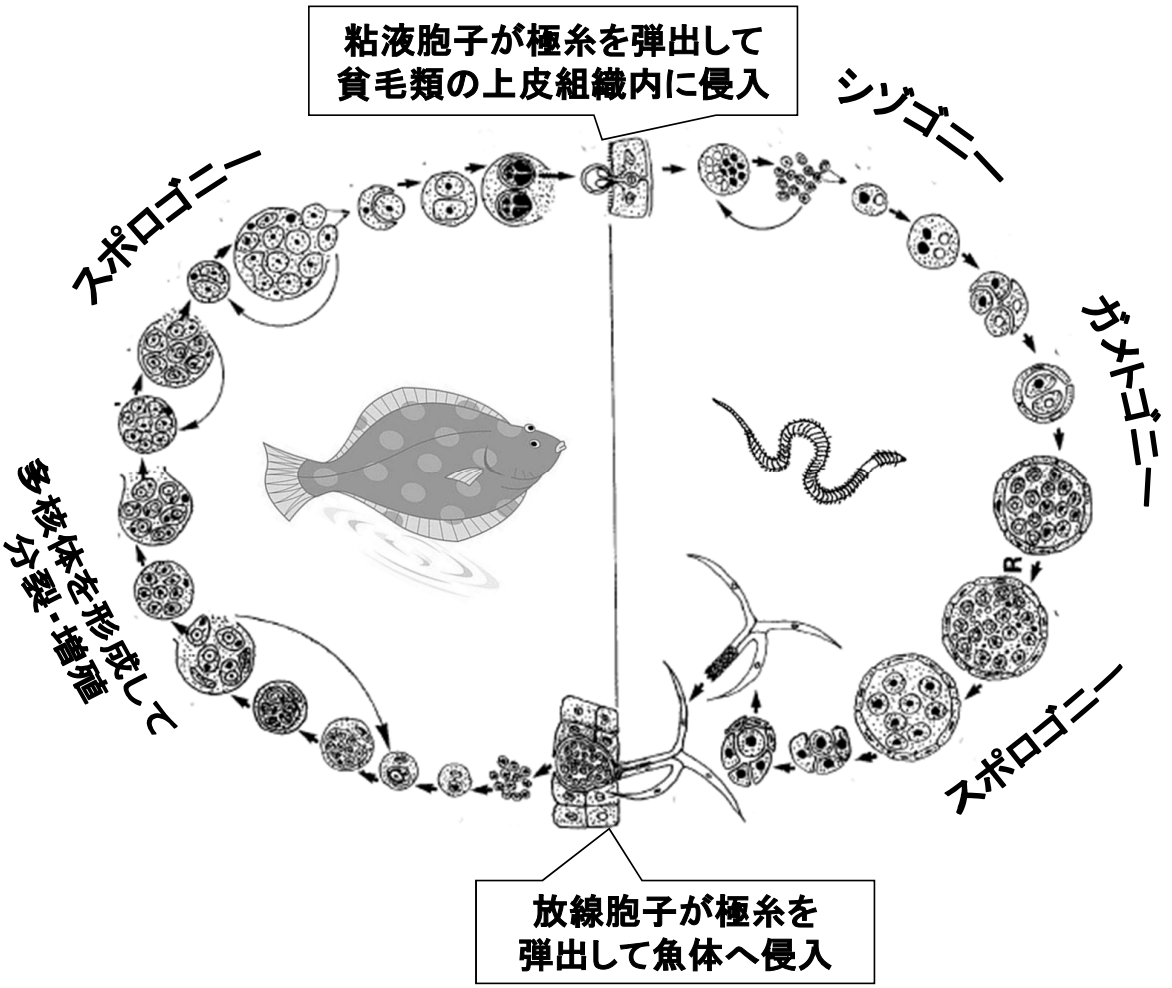



図３．市販生鮮魚刺身のクドア属の PCR 検査
A:ヒラメプライマー，B:クドアプライマーを用いた PCR 産物．
PCR は各々2連で実施した．




Yokoyama,H. *Jpn.J.Protozool.* 37(2):1(2004)より一部改変

図４．魚類と貧毛類を交互に宿主とする粘液胞子虫の生活環

いので，食品衛生上は問題視されることもなく，食中毒の原因となると報告されていなかった．しかしながら，平成22年，有症事例のヒラメ刺身残品からクドア属の存在が報告され，新種の*Kudoa septempunctata*の配列が大量に存在していたことが報告された．

そのようななか本県において，平成22年10月に病因物質が特定できない食中毒事件が発生（表１事例12）し，ヒラメなど残品が搬入され，直ちにクドアの有無を調査したところ，極嚢数が6～7の典型的なクドア属の虫体が肉片ｇあたり$3.6\times10^{6}$検出された．この結果を受けて，遡り調査を実施し，過去の事例において，病因物質が特定できない食中毒事例の残品として搬入され，当所に保管されていた検体（表1事例2）から，同様にクドアを検出した．今回，検出されたヒラメは，いずれも同一産地で養殖されたものであり，地域的な保有状況の違いがあるのか興味があるところであるが，現時点では不明である．

この鏡検の検出感度は，使用している血球計算盤の性質上，数万個/g 肉片あたりが検出限界であり，それほど感度が高いとは言えない．しかし，食中毒事件として有症患者がいる場合には，クドア虫体数は多いことが予想されるため，搬入後，すぐ検鏡する検査は，迅速検査として有用と思われる．

今回，我々はヒラメ以外の魚種である，フクラギ（ブリ）やマグロの刺身も検体として用いた汚染実態調査を行う過程で，ヒラメプライマー及びクドアプライマーを用いて，PCR を行い，その増幅特異性について検討した．図2のレーン2において，事例12の残品であるフクラギの刺身 DNA を抽出して PCR を行った結果を示した．その結果，クドアプライマーで増幅した増幅物については，このフクラギにヒラメから検出されているクドアと近縁のクドアが存在していることを示しているか，あるいは料理残品が，様々な魚種の刺身と混ざった状態であったため，ヒラメに存在す

るクドアの虫体の一部が付着した結果であると考える．事例2のヒラメの子付け刺身からは，大量のクドアが鏡検で観察されたが，PCR は，ヒラメ及びクドアプライマーを用いても増幅せず，PCR を阻害する物質が存在することが推定された．このヒラメの子付け刺身とは，タラコをヒラメの刺身にまぶした料理で，この卵から PCR を阻害する物質が混入し，DNA 試料中に残っていたと推定される．今後，新たに DNA 抽出法を検討する必要がある．

本県は富山湾に面し，比較的水産業が盛んで，フクラギの定置網漁やヒラメ等の養殖も盛んに行われている．今回，県内で初めて食中毒事例のヒラメの刺身残品から，クドアが検出されたことから，市販の生鮮魚介類中のクドアの有無を調査した．対象魚種は，ヒラメ以外に，フクラギ（ブリ），マグロ，一部は鯛とした．その結果は表2に示した．鏡検では，クドアは検出されなかった．また，ヒラメプライマー及びクドアプライマーを用いた PCR を実施したが，結果的にすべて陰性であった．しかしながら，ヒラメプライマーを用いて実施したマダイの PCR から，約300塩基対の増幅産物が検出された．また，クドアプライマーを用いた PCR により，ホンマグロから増幅量は少ないものの約1.3kbp の増幅産物が検出された（図4）．この増幅物の塩基配列を決定したところ，マダイから検出された300bp の DNA は，完全に一致する配列は登録されておらず，部分的に他の魚種（たとえば，インドメダカ）の18SrRNA 配列の一部と相同性が高かったが，非特異的な増幅産物であった．また，ホンマグロ DNA を鋳型として，増幅した約1.3kb の DNA 配列は，*Kudoa grammatorcyni* と一致した．この結果は，ホンマグロの筋肉中に，ヒラメプライマーに反応するクドアの存在を示唆していると思われるが，鏡検の結果からはクドア属特有の虫体を見つけることは出来なかった．しかし，このクドアは，2005年に新種として報告され，クロマグロをはじめとするマグロ類からその存在が報告されている[5]．従って，以上のことから，使用したヒラメプライマー及びクドアプライマーは，生物種間で相同性が比較的高い18SrRNA 配列をターゲットとしているため，他の魚種 DNA あるいは他のクドア属 DNA と反応する非特異的 PCR 産物が検出される場合があると思われる．しかし，食中毒の病因物質として考えられている *Kudoa septempunctata* がヒラメから検出できればよいので，今回使用したプライマーは充分使用可能である．

今回実施した PCR 検査は，魚の肉片から DNA を抽出する作業を含めると検査が終了するまで１日は必要であった．一方，鏡検法は迅速な方法であるが，大量の検体を処理する場合には鏡検工程に時間がかかる場合も考えられる．従って，PCR はスクリーニング検査として非常に有用であろう．今後，迅速に検査結果を得るために Real-time PCR 法等の導入が期待される．

最後にヒラメから検出された *Kudoa septempunctata* については，その後の国によって実施された動物実験により，嘔吐活性や下痢原性を持っていることが示され，人に対する病原性の解明もそう遠くないと思われる．この原因究明に向けた研究の発端に次世代型シーケンサーが威力を発揮し[2]，さらにその検査法の確立にも大きく貢献した．今後，新しい技術として，注目したい．

## 謝　辞

本調査研究を実施するに当たり，本県厚生センターの職員の方には検体搬入に際し，協力をいただきました．ここに感謝いたします．

## 文　献

１．曽根啓一（2009）「従来の疫学的手法で解明できない事例のための調査手法の検討」平成20年度地域保健総合推進事業　報告書（平成21年3月）
２．厚生労働省医薬食品局食品安全部（平成22年6月21日）事務連絡
３．大西貴博，小西良子（国立医薬品食品衛生研究所）（私信）
４．横山　博（2004）．原生動物学雑誌，37,1-9
５．李　迎春，藤井浩平，田中秀平，佐藤　宏（2010）．プログラム23，第66回日本寄生虫学会西日本支部大会講演要旨集，岡山大学．

平成23年12月16日

# 富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況

磯部　順子　　金谷　潤一　　柏島　伊津子　　嶋　智子
木全　恵子　　倉田　毅　　綿引　正則

## Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2010

Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Itsuko KAYASHIMA
Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA,
Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

**要 旨**　富山県におけるレジオネラ症患者報告数は2006年以降20人/年前後で推移し，この値は全国平均12.6人/年に比べると，およそ2倍と多い．それらの感染源のひとつとして推定される浴用水について，レジオネラ属菌の汚染実態を調査した．調査は2010年9～12月に富山県内の17施設から採取した浴用水45件について実施した．得られた結果は以下のとおりであった．

1．浴用水の *Legionella* 属菌の検出率は培養法では15/45件(33.3%),LAMP 法では12/45件（26.7%）と培養法で高かった．

2．*Legionella* 属菌の培養法における検出率は濃縮試料に加熱，酸処理を施した検体および未処理検体の3法で比較すると，それぞれ11/45（24.4%），7/45（15.6%），10/45（22.2%）で，加熱処理検体で高かった．

3．*Legionella* 属菌の菌数は遊離残留塩素濃度が高いほど少なくなる傾向が認められ，1.0 mg/L 以上の検体で *Legionella* 属菌は1浴用水（20 cfu/100 ml）で分離されたのみであった．また，*Legionella* 属菌の検出率は浴用水の換水頻度との関連性は明らかではなかった．

4．*Legionella* 属菌が分離された浴用水100ml あたりの *Legionella* 属菌数は，$1.0\times10$～$1.6\times10^2$cfu，15件の平均は$1.61\times10^2$であった．

5．分離された *Legionella* 属菌の血清型は，*L.pneumophila* SG1(11検体),SG6（7検体）が多かった．

*Legionella* 属菌は土壌や温泉水などの自然環境に広く生息している．しかし，近年においては冷却塔，加湿器，循環式浴場など，水が停滞し，バイオフィルムの形成が容易となる人工的な水環境（水景施設）にもその生息域を広げ，問題となっている．このような環境のなか，レジオネラ症は，重篤な場合には死に至るなど，最も注意しなければならない経気道呼吸器感染症となっている．日本においては2002年7月の宮崎県で7名が死亡する集団感染[1]をはじめ，多くの事例で温泉や循環式浴用水との関連が報告されている[2]．近年は迅速・簡便な尿中抗原検査を用いた診断により，患者数が増加傾向を示している[3]．

富山県においては集団事例こそ発生していないが，レジオネラ症は増加傾向にあり[4]，その発生数は全国的にみても多い県となっている．そこでレジオネラ症の感染源を明らかにし，その発生の予防に資することを目的として，富山県内の感染事例において，推定される感染源のおよそ4割を占める浴用施設の *Legionella* 属菌による汚染実態を調査したので報告する．

## 材料および方法

1．対象と材料

2010年9～12月に県内17施設から採取した浴用水45検体を試料とした．採水は厚生センターの担当者に依頼した．浴用水は採取後直ちにハイポ（チオ硫酸ナトリウム）入り滅菌採水瓶に入れ，採水当日あるいは翌日に当所へ搬入された．

2．浴用水の濃縮と培養

検査はビル管理教育センターの「レジオネラ症防止指針」[5] に準じて実施した．すなわち，浴用水500 ml をポリカーボネート製メンブランフィルター（直径47ｍｍ，0.22μｍ，日本ミリポア）で吸引ろ過し，

さらに滅菌蒸留水50ml でメンブランフィルターおよびろ過用ファンネルを洗浄，吸引ろ過した．吸引後フィルターを50ml 滅菌コニカルチューブに入れ5.0ml の滅菌蒸留水を加え，ボルテックスで5分間振盪し，100倍濃縮試料とした．

この濃縮試料のうち，*Legionella* 属菌以外の細菌の発育を抑制するために，1.0ml は50℃ 20分間加熱処理後，直ちに冷却した加熱処理検体，1.0ml は pH 2.2の0.2M KCl - HC l （レジオネラ検体用前処理液：極東製薬工業）を等量加え，5分間酸処理した酸処理検体とし，1.0ml は未処理検体として， それぞれ GVPC 寒天培地（日研生物）およびMWY寒天培地（関東化学）に，×１，×10，×100希釈した試料100μl をそれぞれ2枚に塗布した．これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ，35℃で7～10日間培養した．ただし，*Legionella* 属菌を早期により確実に検出するため，培養3日目に斜光法［6］による確認を実施した．この方法は実体顕微鏡を用いて *Legionalla* 属菌のモザイク模様，カットガラス様の形態を観察するもので，菌種や血清型によりその形態が少しずつ異なることを利用し，多種類の菌を分離することが可能となる．

３．同定および菌数測定

灰白色のレジオネラ様コロニーの発育が認められる GVPC 寒天培地および MWY 寒天培地を，斜光法により観察した．そこでモザイク模様，カットガラス様の形態を示すコロニーすべてを血液寒天培地（栄研化学）および BCYEα寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離した．2日後に BCYEα寒天培地のみに発育したコロニーについて，市販抗血清との反応性あるいは LAMP 法を用いて *Legionella* 属菌と同定した．同定されたコロニー数をもって浴用水100m l あたりの *Legionella* 属菌数に換算し，10cfu 以上を陽性とした．ただし，発育したコロニー数が極めて多い場合は10～20コロニーのみを同定し，その *Legionella* 属菌の割合をもって，全 *Legionella* 属菌数を計算した．培地上に *Legionella* 属菌を認めない場合は計算上，菌数は10cfu/100ml 未満とした．

４．血清型別試験

浴用水1検体あたり1～20個の BCYEα寒天に発育した菌を用い，病原体検出マニュアル［7］に従い，加熱抗原を作製した．反応はレジオネラ免疫血清（デンカ生研）および *Legionella* Latex Test Kit（オキソイド）を用いておこなった．

５．DNA 抽出法

抽出は新鮮分離株を5%キレックス（日本バイオラド）TE Buffer（pH8.0）に懸濁し，100℃10分の加熱処理をおこない，遠心（10,000rpm，5分）して得られた上清を DNA 溶液とした．

６．LAMP 法による遺伝子検査

Loopamp レジオネラ検出試薬キット E（栄研化学）を用い，濁度装置 LA320C で判定した．

７.遊離残留塩素濃度

測定は DPD（ジエチル-p-フェニレンジアミン）法により，ポータブル残留塩素測定器（東亜 DKK）を用いて，厚生センター職員が採水時に測定した．

## 結　果

１．浴用水の管理状況

換水は毎日～1回/月の頻度で実施されており，1回/週が19件ともっとも多く，次いで毎日実施が16件の順に多かった．採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩濃度）は0.0mg/ℓの浴用水が1件（薬湯），0.4mg/ℓより高い濃度の浴用水が34件，うち1.0 mg/ℓ以上の浴用水が19件で，もっとも高い残塩濃度は4.0 mg/ℓで換水日の浴用水であった．

２．浴用水の泉種および泉質

浴用水46件の泉種の内訳は，温泉18/45（40.0%），井戸水を含む白湯24/45（53.3%），薬湯3/45（6.7%）であった．これらの給湯方式について，4件を除きすべてが循環式であった．なお，この報告で述べる「薬湯」とは，薬用成分の有無に関わらず，入浴剤などを添加している浴用水とした．

３．*Legionella* 属菌の検出状況

浴用水の *Legionella* 属菌検出率は培養法で15/45件（33.3%）であった（表1）．これを泉種別にみると，温泉が2/18件（11.1%），白湯12/24件（50.0%），薬湯1/3件（33.3%）であった．一方，遺伝子検査法である LAMP 法による *Legionella* 属菌の検出率は，全体では7/45件（15.6%）で，泉種別にみると温泉が3/18件（16.7%），白湯が4/24件（16.7%），薬湯0/3件（0%）とすべてにおいて培養法に比べて低かった．これらを培養法，LAMP 法両方もしくはどちらか一方で *Legionella* 属菌が陽性となった浴用水について，その定量値と分離された *Legionella* 属菌の血清型をまとめた（表2）.これをみると，培養法で10 cfu/100 ml 以上の *Legionella* 属菌が認められたにも関わらず，LAMP 法で<10 cfu/100 ml を示した浴用水は11/14（78.6%），逆に LAMP 法で＞10 cfu/100ml が認められたが，培養法で<10 cfu/100 ml を示した浴用水は3件であった．一方，培養に際し濃縮試料に加熱，酸処理を施した検体および未処理検体の *Legionella* 属菌の検出率を比較すると，それぞれ11/45（24.4%），8/45（17.8%），10/45（22.2%）で，加熱処理検体で

**表１．泉種別*Legionella*属菌検出率(GVPC培地)**

| | 培養法（%） | | LAMP法（%） | |
|---|---|---|---|---|
| | 10cfu/100ml以上 | | 1copy/100ml以上 | |
| 温泉 | 2/18 | (11.1) | 3/18 | (16.7) |
| 白湯 | 12/24 | (50.0) | 4/24 | (16.7) |
| 薬湯 | 1/3 | (33.3) | 0/3 | (0.0) |
| 計 | 15/45 | (33.3) | 7/45 | (15.6) |

**表２．*Legionella*属菌が検出された浴用水における分離数と血清型（2010年）**

| | LAMP法 ＞10cfu/100ml | 培養結果 cfu/100ml | 分離された血清型 | | | | | | | | 遊離残留塩素濃度 (mg/L) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | －（0）* | 20 | | SG2 | | | | | | | 0.05 |
| 2 | －（0） | 200 | | | SG3 | SG5 | SG6 | | | *L.micdadei* | 0 |
| 3 | －（0） | 10 | SG1 | | | | | | | | 0.8 |
| 4 | －（3.3） | 60 | SG1 | | | | SG6 | | | | 0.45 |
| 5 | －（0） | 50 | SG1 | | | | SG6 | | SG10 | | 0.4 |
| 6 | －（0） | 20 | SG1 | | | | SG6 | | | | 0.7 |
| 7 | ＋（23） | 20 | SG1 | | | | SG6 | | | | 1.11 |
| 8 | ＋（524） | 120 | SG1 | | | | | SG9 | | | 0.91 |
| 9 | －（1） | 10 | SG1 | | | | | | | | 0.3 |
| 10 | ＋（662） | 10 | SG1 | | | | | | | | 0.3 |
| 11 | －（0） | 10 | | | | | SG6 | | | | 0.4 |
| 12 | －（0） | 10 | | | | | SG6 | | | | 0.4 |
| 13 | ＋（2699） | <10 | | | | | | | | | 0.2 |
| 14 | ＋（978） | <10 | | | | | | | | | 0.3 |
| 15 | ＋（448） | <10 | | | | | | | | | 0.5 |
| 16 | ＋（1058） | 150 | SG1 | | | | | | | | 0.3 |
| 17 | －（1） | 50 | SG1 | | | | | SG9 | SG10 | *L.micdadei* | 0.4 |
| 18 | －（0） | 160 | SG1 | | | | | | | | 0.5 |

＊定量値

**表３．濃縮試料の培養前処方法による*Legionella*属菌陽性率**

| | 加熱処理(1) | 酸処理(2) | 未処理 |
|---|---|---|---|
| 陽性 | 11 | 8 | 10 |
| 陰性 | 34 | 37 | 35 |

（1）濃縮試料1.0mlを50℃20分間加熱後、冷却
（2）濃縮試料1.0mlを酸と等量混合し5分間反応

やや高かった（表3）.

*Legionella* 属菌の検出率について，残塩濃度および換水からの経過日数との関連性を図１，図２に示した．残塩濃度はレジオネラ症防止指針の中で望ましいとされる「0.2～0.4，高くても1.0 mg/L」までを基準として，濃度別で検出率を比較した．その検出率は，残塩濃度が0～＜0.2 mg/L で2/5 （40.0%），0.2～＜0.4 mg/L で7/10（70.0%）,0.4～<1.0 mg/L で5/11（45.5%），1.0 mg/L 以上で1/19（5.3%）で，残塩1.0 mg/L 以上では検出率は低かったが，今年度は残塩濃度と検出率に関連性は認められない結果となった（図1）．一方，換水からの経過日数別の *Legionella* 属菌の検出率は，換水経過0日で6/10（60.0%）に対し，7日以上経過した浴用水で0/5（０%）と関連性は全く認められなかった（図2）.

４．*Legionella* 属菌数

*Legionella* 属菌が検出された検体の100mlあたりの菌数は，もっとも多かった浴用水は200 cfu/100ml，換水から2日目で残塩濃度は検出されなかった(0.0mg/ml)．これに次いで菌数が多かったのは160 cfu/100 ml，150 cfu/100 ml で，その平均は60 cfu/100ml であった．これは調査を始めた2006年からの5年間でもっとも低い値であった．残塩濃度と *Legionella* 属菌数の関連性について図3に示した．*Legionella* 属菌

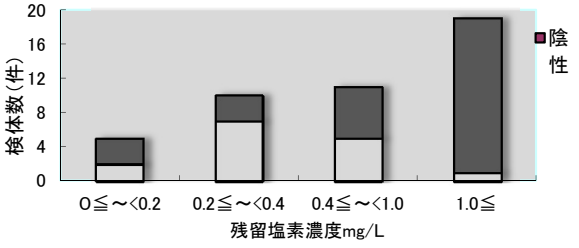



図１. 残留塩素濃度と*Legionella*属菌数の検出率

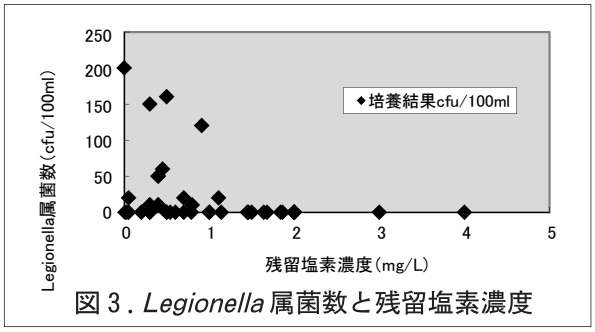



図３. *Legionella* 属菌数と残留塩素濃度

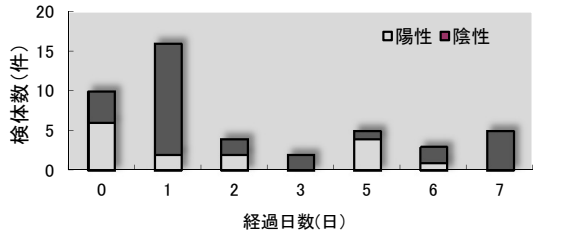



図2. 換水からの経過日数と*Legionella*属菌検出率

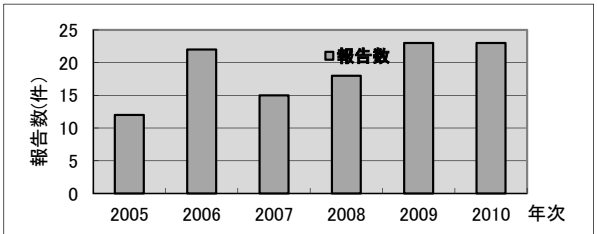



図４．富山県におけるレジオネラ症報告数の年次推移（2004～2010）

数は残塩濃度の低い浴用水で多い傾向であった.

５．分離菌の血清型別

浴用水から分離された *Legionella* 属菌のうち，血清型別を表2に示した．認められた血清型は8種類で，もっとも多い血清型は *L.pneumophila*　SG1（11検体），ついで *L.pneumophila* SG5（7検体）の順に多かった．SG1が分離された浴用水数は昨年度のおよそ2倍であるが，11検体のうち4件は同じ施設の異なる水であることから，SG1の分離される浴用施設数が増加しているわけではない．１検体からもっとも多い血清型（5種類）が認められた浴用水は，換水から2日目，残塩濃度は0.0 mg/L であった.

## 考　察

富山県におけるレジオネラ症患者報告数は2006年以降20人/年前後で推移し，2009年，2010年は23人/年ともっとも多かった．これは全国的な傾向であるが，全国平均12.6人/年に比べると，富山県の報告数はおよそ2倍と多い．それらのうち，およそ4割は温泉や循環式浴用水と、2割は土壌との関連が疑われたが，4割は患者の行動調査から感染源がまったく推定できなかった.

今回の調査では，浴用水45件の *Legionella* 属菌の検出率は15/45件（33.3%）と他府県の報告［9,10,11］と同様であった．したがって，富山県での患者報告数が多い原因について解明するには，その感染源である浴用水の *Legionella* 属菌の検出状況だけでなく，浴用水の衛生管理手法などをより詳細に調査しなければならない．今年度は気泡発生装置の数についても調査した．気泡発生装置が設置されていたのは19/45浴用水（42.2%）で，うち，9件では *Legionella* 属菌が検出された．気泡装置によりミストが増える環境は *Legionella* 属菌に感染するリスクを極めて高くすることから，これらを使用しないように指導しなければならない．一方，衛生管理手法の一つである塩素消毒については，*Legionnella* 属菌の検出率は，残塩濃度との関連性は認められなかったが，菌数は残塩濃度の高い浴用水では少なかったことから，塩素消毒による衛生管理は有用であると思われる．また，*Legionella* 属菌をコントロールする方法として換水という管理手法があるが，烏谷らが全国のかけ流し方式の温泉について調査した結果，*Legionella* 属菌の検出率は浴槽水で39.4%と報告し［12］，本調査でも *Legionella* 属菌の検出率と換水からの経過日数に関連性は認められなかった．したがって，これらの結果は浴用水を換えるだけで衛生状態を保つのは難しいことを示している．そして，原水に *Legionella* 属菌が存在る場合には，換水による *Legionella* 属菌の排除は困難であろう．しかしながら，その報告の中で掛け流し温泉では循環式浴用水よりレジオネラ菌数が少ない傾向を示していることから，塩素消毒と換水を併用して衛生管理することが望まれる．加えて，*Legionella* 属菌の検出率は温度が50℃で大きく低下すること，*Legionella* 属菌の増殖に深く関与するアメーバが50℃で死滅することを踏まえて，貯湯槽などの温度を可能な限り高温に

保つことが *Legionella* 属菌を排除する有効な手段となることを示唆している．また，原水等の調査もおこなうことが望ましい．

環境検体における *Legionella* 属菌の検出率は，雑菌をいかに抑制できるかということに依存する．今回は酸処理より加熱処理あるいは未処理で高かった．これら培養前の処理方法は，冷却塔など低温環境菌などでは熱には弱く，また，アルカリ環境で棲息する菌は酸に弱いなど，菌の棲息環境を考慮しなければならないため，方法をひとつに絞るのは容易ではない．したがって，森本も報告[13]しているように，同時に検出される雑菌の種類や菌数によって検出率が大きく変わることから，可能な限り複数の処理方法を併用することがのぞましい．今回の加熱処理で検出率が高かった理由は加熱により抑制された雑菌が多かったためと推定されるが，未処理検体での検出率も加熱処理検体と同様の結果が得られている．この理由のひとつは，斜光法により早期に平板を観察したことが考えられる．昨年度から *Legionella* 属菌の検出に斜光法を取り入れたところ，培養3日目から *Legionalla* 属菌特有と思われるコロニーを観察することができ，早期報告が可能であった(図５). この方法は,いわゆる雑菌が増殖し，*Legionalla* 属菌が分離できなくなる前に純培養に移行できることで検出率を上げることができる点できわめて有用である．斜光法で確認後，システイン要求性を確認した203個のコロニーのうち，*Legionella* 属菌でなかったのは3株で，逆に *Legionella* では無いと思ったが確認のため釣菌した109株のうち *Legionella* 属菌であったのは3株で，斜光法での菌の観察が有用であった．さらに経験をつめば，この精度はさらに上がると期待できる．この方法を LAMP 法と組み合わせれば，遺伝子が検出された検体に *Legionella* 属菌が生存することを早い段階で確認，報告することが可能となる．この斜光法は時間がかかるという培養法の欠点を改善するのにきわめて有効であると思われた．加えて，平板上ではあまり差が認められないコロニーが，顕微鏡下では様々な色や模様を呈し，様々な種や血清型の菌を分離する可能性を高めるメリットがあり，今後も遺伝子検査とともに活用したい．

培養法での *Legionella* 属菌の検出率が LAMP 法より高かった理由のひとつは，LAMP 法が定量性，とりわけ菌数の少ない検体では精度が劣ることが挙げられよう．これは倉らの厚生科学研究［8］により明らかになっている．したがって，レジオネラ症防止指針に記載されている「10 cfu/100 ml」の基準値で判断するのではなく，遺伝子の増幅が認められた検体についてその遺伝子量に関わらず陽性とすると,No.4,9,17 は LAMP 法陽性と考えるべきであろう．培養法での菌数が10〜20cfu/100ml のように少ない検体については，検査試料に菌が含まれる確率の問題が考えられることから，LAMP 法での結果が陽性とならない可能性が考えられる．しかし，培養法で菌数が多い浴用水，中でも No.2,18のように＞100 cfu/100ml を示した検体において LAMP 法の結果が陰性となった事実は，LAMP 法をスクリーニング法として用いる場合には *Legionella* 属菌の存在を見落とすリスクがあることを示す．LAMP 法をスクリーニング法として汎用するには，インターナルコントロールなど PCR 反応が

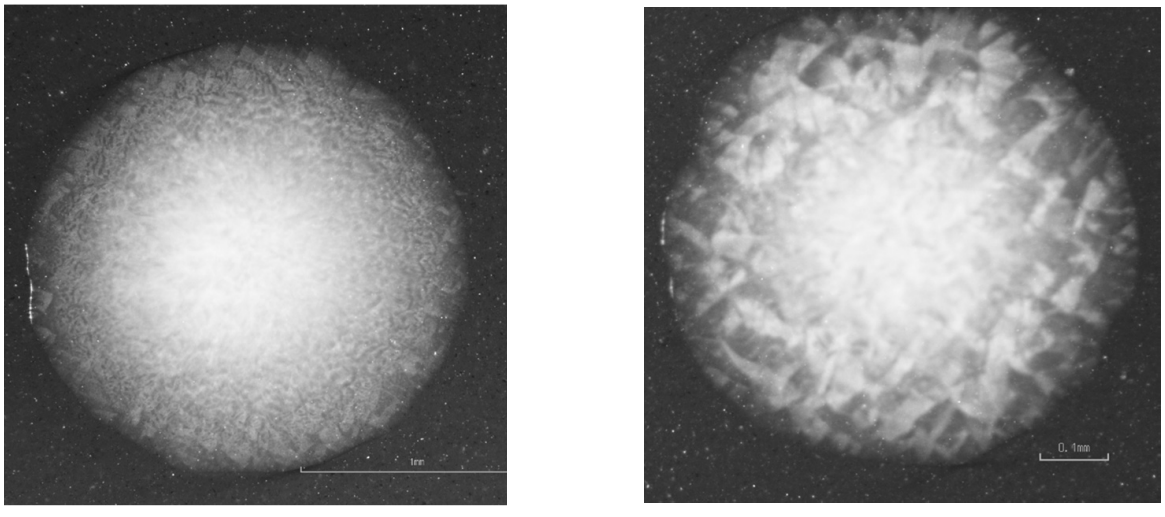



図５．斜光法による *Legionella* 属菌の実体顕微鏡像

正常に行われたことを判断できるよう検討が必要である．また，逆にNo,13〜16のようにLAMP法では菌数がおよそ400〜2,700cfu/100mlであったが，培養法では菌が検出されなかった浴用水などは，死菌DNAを検出した可能性が考えられ，遺伝子検査法における問題の一つを示している．

富山県におけるレジオネラ症患者の感染源は疫学調査から温泉や公衆浴場などが感染源であると推定される事例がある一方，それらをまったく利用していない事例も多くあり，いずれも感染源は特定されていない．その理由のひとつが，患者から*Legionella*属菌が分離されないことである．すなわち，疫学調査から原因施設と推定できても，それを細菌学的に証明できない状況となっている．これはレジオネラ症が尿中抗原検出で診断できるようになり，また，保険適用となったことで，この方法により診断される患者が増加しているからである．近年，SBT（Sequence-Based Typing）という手法で，レジオネラ症の患者から分離される*Legionella*属菌の由来を，浴用水なのか冷却塔なのか，すなわち温水に棲息するのか，冷水に棲息するかなど，その棲息環境を推定することが可能となっている．どの方法を用いるにしろ，患者から*Legionella*属菌が分離されることがもっとも重要である．

感染症発生動向調査の報告数から，2010年の富山県のレジオネラ症患者報告数は対人口10万人（2010年12月現在）あたり2.09人と全国（平均0.6人）でもっとも多い県であった．このような状況はここ数年続いていることから，早急な対策が必要である．そして，レジオネラ症と関連性が強く指摘されている浴用水は今後も監視が必要であるが，公衆浴場や温泉などの浴用施設を利用していない事例も多くあることから，感染源となりうる環境水等に対象を拡大して調査を行う必要があろう．

## 謝　辞

本研究を実施するにあたり，検体採取にご協力いただきました浴用施設および厚生センター，富山市保健所，生活衛生課の関係各位に心より感謝いたします．

## 文　献

1．岡田美香，河野喜美子，倉　文明，前川純子，渡辺治雄，八木田健司，遠藤卓郎，鈴木　泉（2005），感染症誌，79，365－374
2．Nakamura H,Yagyu H,Kishi K,Tsuchida F, Oh-hashi S, YamaguchiK,et al.（2003）Intern Med ,42,806-11
3．病原微生物検出情報, http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html
4．富山県厚生部　富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成20年），12
5．レジオネラ症防止指針第3版，財団法人ビル管理教育センター，（2009）28-36
6．森本　洋（2010），環境感染誌，25，8-14
7．感染症マニュアル，国立感染症研究所，全国地方衛生研究所，平成15年改定版
8．倉　文明，厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速•簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究．（2008），77-105
9．古田紀子，山田万希子,原信行，白木　豊，野田伸司，村瀬真子，河田正史，藤井佳子，森本芳久（2008）岐阜県保健環境研究所報，16，18-24.
10．緒方喜久代，若松正人，成松浩志，長谷川昭生，渕　祐一（2007）．大分県衛生環境研究センター年報，35，35-42
11．鈴木敦子，市瀬正之，松江隆之，天野祐次，寺山武，泉山信司，遠藤卓郎（2008），感染症学雑誌．76．703-710
12．烏谷竜哉，黒木俊郎，大谷勝実，山口誠一，佐々木美江，齊藤志保子，藤田雅弘，杉山寛治，中嶋洋，村上光一，田栗利紹，藏元　強，倉　文明，八木田健司，泉山信司，前川純子，山崎利雄，縣邦雄，井上博雄（2009）．感染症学雑誌，83．36-43

平成23年12月16日

# 大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計を用いた魚介類中の有機スズ化合物（MBT，DMT，MPT，DPT）の残留実態調査（平成22年度）

山下　智富　　小玉　修嗣　　大戸　幹也　　中山　恵理子　　上出　功

Analysis of Organotin Compounds in Fishes Using Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection (2010)

Tomohisa YAMASHITA, Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Isao KAMIDE

**要 旨**　大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS with large volume injection）を用いた有機スズ化合物の分析法によって平成22年度に水揚げされた魚介類中に残留しているモノブチルスズ（MBT），ジブチルスズ（DBT），モノフェニルスズ（MPT），ジフェニルスズ（DPT）の残留濃度を測定した.

## はじめに

有機スズ化合物は主に船底塗料や漁網の生物付着防汚剤として世界中で広く利用されてきた.しかし，この化合物は非常に低濃度でも生物に対して毒性と内分泌攪乱作用を示すことが明らかとなっている[1,2].

有機スズ化合物としてはトリブチルスズ（TBT），トリフェニルスズ（TPT）が有名であり，国内のみならず世界中で残留実態が定期的に調査されているが[1,3]，MBT，DBT，MPT，DPT の残留実態についての報告例は TBT，TPT に比べると多くない.しかし，TBT，TPT と同様に MBT，DBT，MPT，DPT,も毒性を有している.そのため，MBT，DBT，MPT，DPT の残留実態を明らかにすることは重要である.

著者らは大量注入方式 GC/MS[4]（Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Large Volume Injection）を用いて，平成22年度に富山県内で水揚げされた魚介類中の MBT，DBT，MPT，DPT の残留実態を調査したので，その結果を報告する.

## 方　法

### 1　試料

平成22年度に富山県の魚津港および氷見港で水揚げされた魚介類の可食部を細切したものを使用した.

種類：シイラ，ヒラメ，タチウオ，フクラギ，スズキ，ヤガラ，シャケ

### 2　試薬

標準品：Butyltin trichloride（Sigma-Aldrich），Di-n-butyltin dichloride（東京化成工業），Phenyltin trichloride（水質検査用，林純薬工業），Diphenyltin dichloride（水質検査用，林純薬工業）

内標準物質：Butyltin trichloride-$d_9$（水質検査用，林純薬工業），Dibutyltin dichloride-$d_{18}$（水質検査用，林純薬工業），Phenyltin trichloride-$d_5$（水質検査用，林純薬工業），Diphenyltin dichloride-$d_{10}$（水質検査用，林純薬工業）

測定時内標準物質：Tetrabutyltin-$d_{36}$（TeBT-$d_{36}$）（環境分析用，関東化学），Tetraphenyltin-$d_{20}$（TePT-$d_{20}$）（環境分析用，関東化学），Tetraphenyltin-$d_{20}$（TePT-$d_{20}$）（環境分析用，関東化学）

テトラエチルほう酸ナトリウム（林純薬工業）は水質試験用，アセトン（和光純薬工業）およびヘキサン（和光純薬工業）は残留農薬・PCB 試験用，水は TORAYPURE LV-05超純水製造装置（東レ株式会社）で精製したものを用いた.

フロリジルカートリッジカラム：Sep-pak Plus Florisil（Waters）を用いた.使用する直前にヘキサ

ン10 mL を通して洗浄した.

### 3　ガラス器具の洗浄

試料前処理に用いたガラス器具は，1 mol/L 塩酸を含むエタノール，精製水，アセトンで洗浄したものを使用した.その他の器具は，精製水，アセトンで洗浄した.

### 4　溶液調製

混合標準液の調製： それぞれ標準品を量り，アセトンを加えて定容したものを標準原液とした.それぞれの標準原液から分取して合わせ，アセトンで100 mL としたものを混合標準液とした（1 μg/mL）. さらにその混合標準液から10 mL を分取しアセトンで100 mL とした溶液を調製した（0.1 μg/mL）.

内標準物質混合溶液の調製： それぞれ内標準物質を量り，アセトンを加えて定容したものを内標準物質原液とした.それぞれの内標準物質原液から分取して合わせ，アセトンで100mL としたものを内標準物質混合溶液とした（1μg/mL）.さらに，その内標準物質混合標準液から10 mL を分取しアセトンで100mL とした溶液を調製した（0.1μg/mL）.

測定時内標準物質溶液： それぞれ測定時内標準物質を量り，少量のアセトンに溶解後，ヘキサンを加えて定容したものを測定時内標準物質原液とした. それぞれの測定時内標準物質原液を分取して合わせ，ヘキサンで100mL としたものを測定時内標準物質混合溶液とした（1μg/mL）. さらにその混合液から2mL を分取しヘキサンで20mL とした溶液を調製した（0.1 μg/mL）.

酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液（pH5）：2mol/L 酢酸及び2mol/L 酢酸ナトリウム溶液を pH5になるように混合した.

### 5　装置

GC/MS 装置：GC-17A/QP-5000（島津株式会社）
注入装置：Lavi Stoma（エミネット株式会社）

### 6　GC/MS 分析条件

カラム：HP-5MS（HP），内径0.25mm，長さ30m，膜厚0.25μm
注入口温度； 50 ℃ — 100 ℃/min → 280 ℃(28.7 min)　Total 31 min（100μL 試料注入時間；34秒，溶媒蒸発時間；22秒　合計56秒.この後に急速に昇温.スプリット流量；150mL/min，スプリットレス時間； 6 分）
カラム槽温度；50℃（4 min）—25℃/min → 130 ℃ — 10 ℃/min → 300 ℃（9.5 min）
Total 34min
キャリヤーガス；He 1.1 mL/min
注入；溶媒除去注入法，100μL

インターフェース温度；230℃
圧力設定： 60 kPa(3 min) — 5.5 kPa/min → 170 kPa(11 min)　Total 34 min

### 7　検量線溶液の調製および試料前処理

検量線溶液の調製および試料前処理を例年（平成21年度〜）と同様に行なった. 解析時にはサロゲート物質のピークを用いて補正を行なう.したがって，いずれの過程においても，サロゲート物質を添加した後に調製および前処理を行なった.

## 結果および考察

### 1　測定結果

測定結果を表1に示す.スズキから，わずかではあるが MBT が検出された.
この MBT は，海中または魚介類中において TBT または DBTから分解されたものが魚介類中に蓄積したものと推測される.
現在でも，日本国内では魚介類中から有機スズ化合物が検出されている例が報告されている [1,5-10].

### 2　添加回収率

MBT, DBT, MPT, DPT, TPT の添加回収率を表2に示す.いずれも約90〜120%の範囲内にあり，良好であった.サロゲート物質を用いた内部標準法を適用したことによって，分析操作の変動を補正することができたためと考えられる.

## まとめ

大量注入方式ガスクロマトグラフ/質量分析計（GC/MS with large volume injection）を用いた有機スズ化合物の分析法を用いて，平成22年度に富山県内で水揚げされた魚介類中の有機スズ化合物を測定した.その結果，微量ではあるが魚介類中に存在すると

推測される MBT を検出した.

表1　測定結果

| | 濃度（μg/g） | | | |
|---|---|---|---|---|
| | MBT | DBT | MPT | DPT |
| シイラ (1) | — | — | — | — |
| ヒラメ | — | — | — | — |
| タチウオ (1) | — | — | — | — |
| フクラギ(1) | — | — | — | — |
| スズキ | 0.002 | — | — | — |
| ヤガラ | — | — | — | — |
| タチウオ (2) | — | — | — | — |
| フクラギ (2) | — | — | — | — |
| シイラ (2) | — | — | — | — |
| シャケ | — | — | — | — |

検出下限 0.002 μg/g　　— : 不検出（< 0.002 μg/g）

(1)と(2)はそれぞれ異なる漁港から水揚げされたもの

表2　添加回収率

| MBT | DBT | MPT | DPT |
|---|---|---|---|
| 99% | 98% | 97% | 102% |

## 参考文献


1．中西 準子，堀口 文男：“詳細リスク評価書シリーズ8「トリブチルスズ」”，（平成18年），（丸善株式会社）
2．国際簡潔評価文書　No. 14 トリブチルスズオキシド（2005）国立医薬品食品衛生研究所　安全情報部
3．海洋汚染調査報告第36号（海上保安庁海洋情報部 2008）
4．Y. Saito, S. Kodama, A. Matsunaga J. AOAC Int. 87, 1356（2004）
5．平成20年度　魚介類のビストリブチルスズオキシド（TBTO）等　汚染調査結果,（東京都福祉保険局）
6．藤本 啓，上野 健一，田沢 悌二郎，橋本 諭，平間 祐志，西村 一彦，長南 隆夫：道衛研所報，57，51
7．平成21年度　東京湾産魚介類の化学物質汚染実調査結果
8．平成20年度　東京湾産魚介類の化学物質汚染実調査結果
9．菅谷京子，中澤芳子，北林雪枝，廣田久美子，石原島栄二，大森牧子，世取山守，栃木県保健環境センター年報，第8号
10．山辺真一，武 志保，肥塚加奈江，今中雅章，（2005）岡山県環境保健センター年報，29，117

# 特定健康診査受診者のインスリン抵抗性と肥満・ライフスタイルとの関連

田中　朋子　　中崎　美峰子　　金木　潤　　澁谷　直美[1]　　大浦　栄次[1]

## Relationship between Insulin Resistance and Obesity or Life Styles in Examinees of Metabolic Syndrome Screening

Tomoko TANAKA, Mineko NAKAZAKI,Jun KANAKI,
Naomi SHIBUYA and Eiji OURA

**要 旨**　特定健康診査受診者の肥満，ライフスタイルとHOMA指数（インスリン抵抗性の指標）の関連をみたところ，男女ともBMI25以上の肥満者のHOMA指数が高かった．ライフスタイルとの関連をみると，女性では運動習慣なし，間食有でHOMA指数が高かった．しかし，BMIで補正することにより有意性が消失したことから，インスリン抵抗性を引き起こす主たる要因は肥満と考えられた．一方，男性では飲酒習慣ありのHOMA指数が低く，BMIで補正してもその関連は有意であった．さらに，推定飲酒量との間にはU字型の関係が示唆された．

メタボリックシンドロームは「内臓脂肪型肥満に加えて脂質異常症，高血圧，高血糖のうち2つ以上にあてはまる状態」とされ，内臓脂肪の蓄積によるインスリン抵抗性が基盤となっていると考えられ［1］，メタボリックシンドローム患者のインスリンの動態を把握することは重要である．しかし，現在インスリンは健康診査項目とされていない．

近年，汎用自動分析装置でインスリンの測定が可能となっている．そこで，特定健康診査受診者のインスリンを測定し，インスリン抵抗性と肥満，生活習慣との関連を検討した．

## 対象および方法

富山県内のF事業所の特定健康診査受診者に対し，調査の目的を説明し，同意の得られた141名（男性81名，女性60名）から糖尿病治療中7名を除いた134名（男性75名，女性59名）を対象とした．

空腹時採血を実施し，血糖，ヘモグロビンA1c（HbA1c），インスリン（INS）を測定した．INS値，血糖値からインスリン抵抗性の指標としてHOMA指数（=空腹時血糖値×空腹時INS値／405）を求めた．解析は血糖値，HbA1cについては真数，INS値およびHOMA指数は対数変換値を用いた．HbA1cについては従来法値（JDS値）で示した．アンケートにより飲酒，喫煙，運動，食習慣について調べた．調査は富山県衛生研究所に所属する倫理審査委員会の承認を得て実施された．

## 結　果

身体状況と糖代謝を男女別に示した（表1）．年齢の他，空腹時血糖に男女差が認められ，腹囲は男性が大きい傾向を示した．

BMI25以上を肥満とすると，男性は21名（28%），女性は14名（24%）が肥満者であった．BMI25以上を肥満群，未満を非肥満群とし糖代謝をみたところ（図1），HbA1c，空腹時血糖値は男女とも肥満の有無による違いは認められなかったが，インスリン値，HOMA指数は男女とも肥満群が高値を示した（$p<0.001$）．各項目の正常範囲をそれぞれHbA1c:5.5%未満，空腹時血糖値:110mg/dl，インスリン値:10μU/1，HOMA指数:2.0未満とし，異常者の出現を肥満の有無別に比較すると（図2），女性では，すべての項目で肥満群の異常者の出現が多く（HbA1c:$p<0.05$，それ以外:$p<0.001$），男性でもHOMA指数の異常者は肥満群に多く（$p<0.001$），インスリン値異常者も肥満群に多い傾向を示した（$p<0.1$）．

次にライフスタイルとの関連をみた（図3,4,5）．食習慣では「夕食後の間食が週3回以上あり」と回答した女性（n=31 ）ではインスリン，HOMA指数が高値を示した（$p<0.01$）．運動習慣では「1回30分以上の

1．厚生連高岡病院検診センター

表1. 全対象者の身体状況と糖代謝

| | 男性(n=75) | | | | 女性(n=59) | | | | 2群間 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 平均値 | S.D. | 最小値 | 最大値 | 平均値 | S.D. | 最小値 | 最大値 | 比較 |
| 年齢(歳) | 53.9 | 6.50 | 40 | 71 | 51.2 | 5.49 | 40 | 61 | p=0.012 |
| BMI | 23.4 | 2.61 | 16.4 | 30.8 | 22.5 | 3.42 | 17.3 | 34.2 | n.s. |
| 腹囲(cm) | 85.3 | 6.71 | 66.9 | 102.4 | 82.4 | 9.54 | 63.2 | 100.0 | p=0.054 |
| HbA1c(%) [a] | 5.36 | 1.06 | 4.2 | 10.7 | 5.18 | 0.75 | 4.5 | 10.3 | n.s. |
| 空腹時血糖 (mg/dl) | 107 | 25.9 | 82 | 225 | 98 | 17.9 | 64 | 211 | p=0.018 |
| 空腹時インスリン (μU/ml)[1] | 6.4 | 1.60 | 1.6 | 23.2 | 6.3 | 1.76 | 1.6 | 26.0 | n.s. |
| HOMA指数[1] | 1.66 | 1.74 | 0.6 | 8.4 | 1.52 | 1.87 | 0.5 | 7.3 | n.s. |

1:幾何平均値、幾何標準偏差

a:JDS値

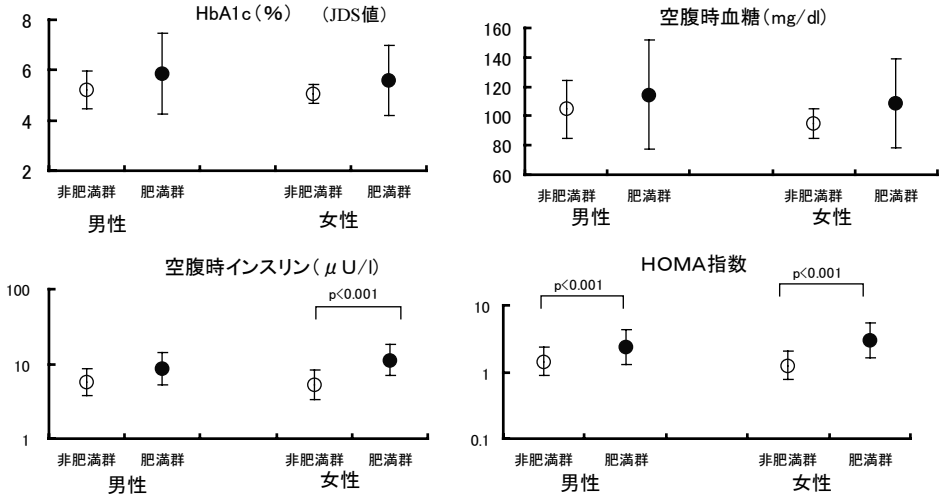



図1. 肥満の有無と糖代謝

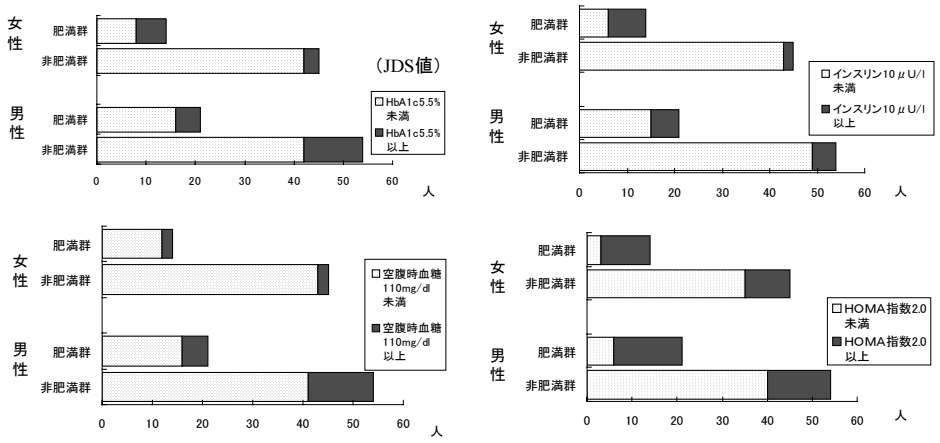



図2. 肥満の有無と異常者の出現

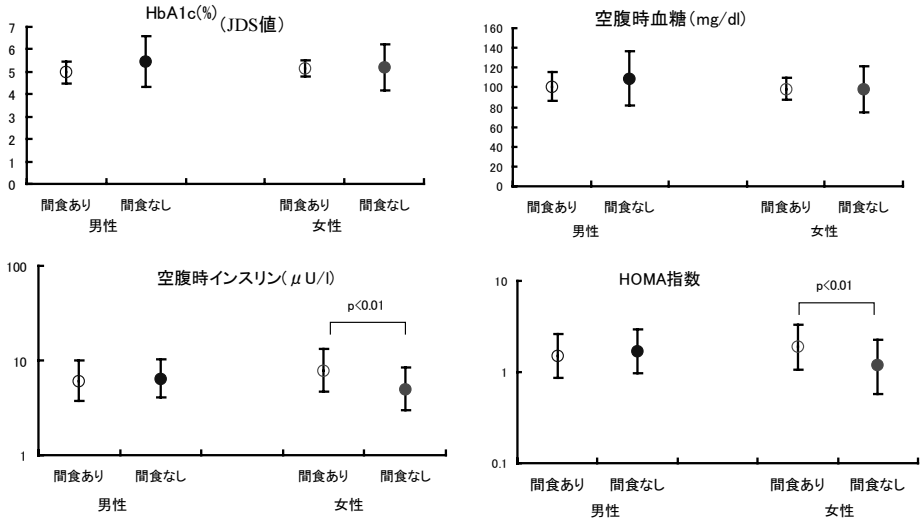



図３．夕食後の間食週３回以上の有無と糖代謝

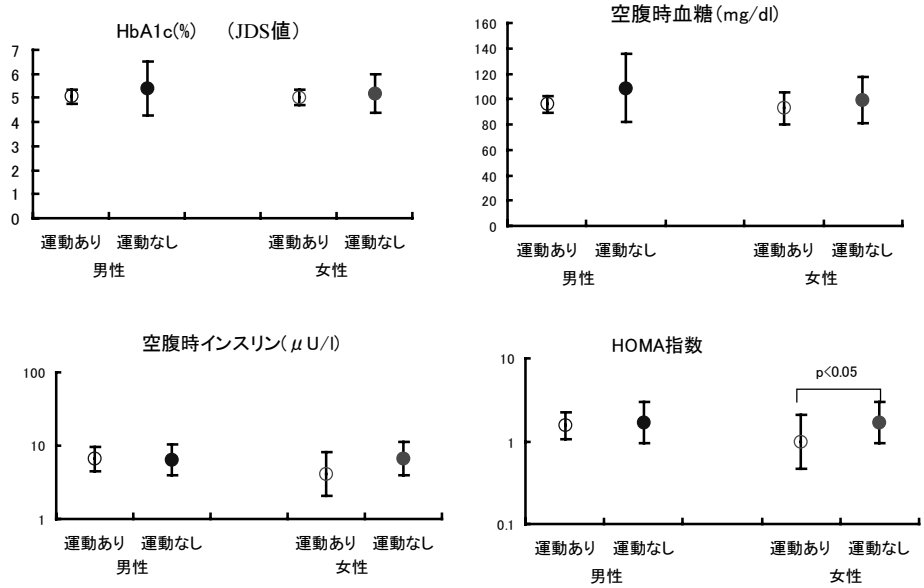



**図4．運動習慣の有無と糖代謝**

運動を週2回以上有」とした女性（n=9）ではインスリン値，HOMA 指数が低値を示した（$p<0.05$）．男性についてみると，飲酒習慣では「飲酒習慣有」（n=55)のインスリン値，HOMA 指数が「飲酒習慣なし」に比して低値を示した($p<0.01$)．

そこで，飲酒習慣有の1日当たりの飲酒量をアンケート結果から推定し，HOMA 指数との関連をみたところ，二次曲線の検定で関連が認められた（図６，$r=0.496$　$p<0.001$)．

それ以外のライフスタイルとして，喫煙の有無，睡眠・ストレスに関するアンケートについて解析したが，関連は男女とも認められなかった．

## 考　察

肥満と糖代謝の関連について男女ともインスリン，HOMA 指数は肥満者が高値を示した．しかし，HbA 1c，空腹時血糖は男女とも肥満の有無による違いはみられなかった．これらのことから，従来言われているように，肥満はインスリン抵抗性をきたす要因であり[１]，高インスリン血症が続くことにより，２型糖尿病を発症するとされる[2]．これらのことから，インスリンの測定は糖尿病の発症予測に意義があると思われる．

腹囲についても BMI とほぼ同様の結果が得られた

表 2．生活習慣と HOMA 指数（女性）

| | 人数 | 幾何平均値 μU/l | 幾何標準偏差 | ANOBA | ANCOVA[1] |
|---|---|---|---|---|---|
| 運動習慣[a] はい | 9 | 0.98 | 2.11 | p=0.014 | n.s. |
| 運動習慣[a] いいえ | 50 | 1.66 | 1.77 | | |

1：BMIで補正　a：1回30分以上の運動を週2回以上

| | 人数 | 幾何平均値 μU/l | 幾何標準偏差 | ANOBA | ANCOVA[1] |
|---|---|---|---|---|---|
| 夕食後の間食 はい | 31 | 1.88 | 1.75 | p=0.005 | n.s. |
| 夕食後の間食 いいえ | 28 | 1.20 | 1.87 | | |

1：BMIで補正

表 3．飲酒習慣別HOMA-R（男性）

| | 人数 | 幾何平均値 μU/l | 幾何標準偏差 | ANOBA | ANCOVA[1] |
|---|---|---|---|---|---|
| ほとんど飲まない | 20 | 2.32 | 1.58 | p=0.00006 | p=0.005 |
| 週1～3回飲む | 18 | 1.90 | 1.81 | | |
| 週4～6回飲む | 9 | 1.79 | 1.56 | | |
| ほぼ毎日飲む | 28 | 1.17 | 1.54 | | |

1：BMIで補正

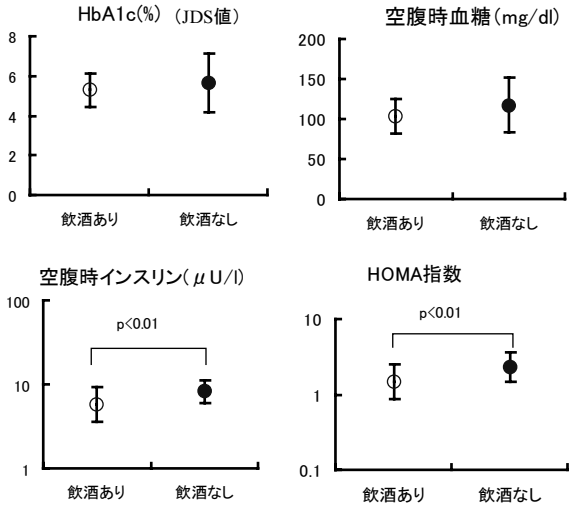



図 5．飲酒習慣の有無と糖代謝－男性－

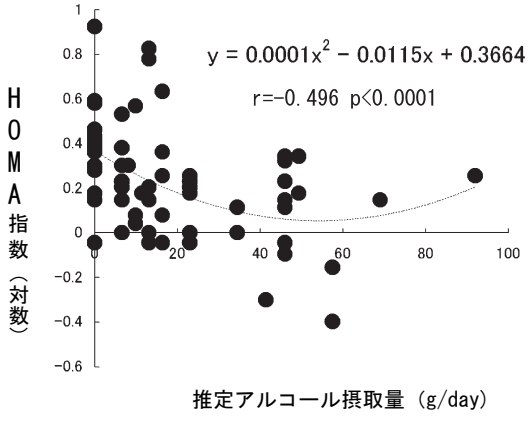



図 6．推定アルコール摂取量と HOMA 指数

が，今回は BMI のみについて検討した．

インスリン，HOMA 指数とライフスタイルとの関連について，女性では夕食後の間食，運動不足がインスリン抵抗性と関連していた．しかし，これらの習慣は肥満の要因でもある．そこで，BMI で補正したところ，これらの習慣の有意性が消失したことから，女性のインスリン抵抗性の主たる要因は肥満と考えられた．

一方，男性では飲酒習慣有のインスリン，HOMA 指数が低値を示した．そこで，女性と同様に BMI で補正したが，有意性がみられたことから（$p<0.05$），飲酒習慣がインスリン抵抗性の亢進を抑制する可能性が考えられた．

飲酒と糖尿病との関連は，飲酒により増悪するとする報告［3］やリスクを軽減するとする報告［4］がみられ，必ずしも一定の傾向を示してはいない．スイス人について最近，飲酒量とインスリン抵抗性との間に U 型の関連が認められたとする報告がある[5]．アルコール飲料の種類にかかわらず，軽，中等度の飲酒群の HOMA 指数が飲酒なしや高度飲酒群に比べ低値を

示したとしている．

日本人についても中西らは35～59歳男性を7年間追跡し，糖尿病の発症と飲酒との関連を調べている．一番発症リスクが低かったのは中等度飲酒者（アルコールに換算して1日23～45g）であり，U 字型の関連性を示したと報告している［6］．中西らは"家族歴あり"，"喫煙者"ではこの関連性がみられないとしている．今回の調査では家族歴を解析にいれていないこと，断面調査結果であること等そのまま比較することはできないが，推定飲酒量と HOMA 指数は U 字型の関連を示したことから，適度な（大量ではない）飲酒習慣がインスリン抵抗性増加のリスクを軽減する可能性を示したものと思われる．

しかし，いくつかの問題点があげられる．１つは，飲酒量を推定により求めたこと，また，例数が少ないこと，特に60g 以上の飲酒者は2名のみであった．これらのことからインスリン抵抗性と飲酒量との関連については，今後さらに例数を増やし，検討する必要があると考えている．

## 文　献


1．別冊・医学のあゆみ「肥満症・メタボリックシンドローム」(2006).医歯薬出版,5-10.

2．健康づくりのためのウオーキング（運動）－インスリンの意義と筋肉の効用－(2008).大同生命厚生事業団

3．Kao WH, Puddey IB, Boland LL, et al (2001). Amj Epidemiol, 154, 748-757.

4．Ajani UA, Hennekens CH, Spelsberg A, et al (2000). Arch Intern Med, 160, 1025-1030.

5．Clerc O, Nanchen D, Corrnuz J, Marques-Vidal P, Gmel G, Daeppen JB, Paccaud F, Mooser V, Waeber G, Vollenweider P, Rondoni N (2010). Diabet. Med. 27, 1241-1249.

6．中西範幸, 吉田寛, 仁科一江, 岡本光明, 李文娟, 松尾吉郎, 多田羅浩三 (2003). 厚生の指標, 50, 1-8.

平成23年12月16日

# 農村部と都市部居住者における尿中アルキルリン酸と生活環境要因について

中崎　美峰子　　新村　哲夫　　高橋　直人　　金木　潤　　桑守　豊美[1]

# Urinary Levels of Alkylphosphates and Effects of Environmental Factors in Rural and Urban Inhabitants

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Naoto TAKAHASHI, Jun KANAKI and Toyomi KUWAMORI[1]

**要　旨**　農村に近い地域と大都市のように生活環境が大きく異なる対象での有機リン系農薬曝露状況を比較するため，富山と東京の学生について，尿中のアルキルリン酸検出状況を調査した．その結果，アルキルリン酸の検出率は富山と東京に差はなかったが，ジメチル型アルキルリン酸の濃度レベルは，東京のほうがむしろ高かった．居住環境等が異なっても有機リン系農薬に対する曝露の機会は同等であり，農村のほうが大都市に比べて農薬曝露の機会がより多いということはなかった．

また，食品摂取状況との関連では，果物の摂取が多いほどアルキルリン酸濃度が高値を示し，富山では，果物・野菜のジュース摂取量とも相関がみられたことから，果物摂取が有機リン系農薬曝露に寄与していることが示唆された．

有機リン系農薬は，主に殺虫剤として国内で約50種が登録されており，農業用だけでなく家庭園芸や街路樹の病害虫防除などにも広く使用されている．

尿中に排泄されるアルキルリン酸は，有機リン系農薬一般の曝露指標とされ，我々はこれまで，農業従事者や職業的な曝露のない人など，様々な対象について調査を行ってきた．その結果，一般の人の尿から年間を通して微量のアルキルリン酸が高い頻度で検出されることがわかった[1，2]．また，農家や農作業をする人では尿中アルキルリン酸濃度が高いこと，特定の殺虫剤の使用と対応するアルキルリン酸濃度に相関がみられたことなどを報告した[3]．

今回，日常生活における有機リン化合物曝露と生活環境要因の関連を探るため，居住環境などが大きく異なる集団について調査を行い，尿中アルキルリン酸の検出状況などを比較したので報告する．

## 対象および方法

生活環境の異なる集団として，富山県内および東京都心の大学に通う学生を対象とした．調査内容を説明し，尿の提供と有機リン代謝物測定およびアンケートへの回答について文書による同意を得た．調査参加者の内訳は，富山73名（男性7名，女性66名），東京60名（すべて女性），合わせて１３３名であった．男性は富山の7名のみであったので，以下の検討では男性を除外し，女性のみを対象とした．

提供を受けた随時尿について，ジメチルリン酸（DMP），ジメチルチオリン酸（DMTP），ジエチルリン酸（DEP），ジエチルチオリン酸（DETP）の4種のアルキルリン酸を，既報［2］に従い誘導体化処理後，FPD-GC で測定した．検出下限値は DMP が0.7 μg/L，DMTP，DEP，DETP は0.5 μg/L であり，不検出の場合は検出下限値の$1/\sqrt{2}$として，解析には対数変換した値を用いた．また，DMP と DMTP を合わせてジメチル型(DMAP)，DEP と DETP を併せてジエチル型(DEAP)とし，μmol/L で表した．

アンケートでは，自宅周辺の居住環境や殺虫剤等の使用状況，生野菜や果物の摂取頻度等について質問紙調査を行った．さらに，佐々木式簡易型食事歴法質問票（BDHQ: brief-type self-administered diet history questionnaire，[4]）による食事調査を実施し，1日あたりの各食品摂取量，栄養素摂取量を算出した．

調査結果の統計学的解析には PASW Statistics 18 および HALBAU 7を使用した．

本研究の実施にあたり，富山県衛生研究所および富

１．富山短期大学 食物栄養学科

山短期大学において倫理審査委員会の承認を得た．

## 結　果

分析した126検体中120検体から1種以上のアルキルリン酸を検出し，全体の検出率は95.2%であった．各種アルキルリン酸の検出率を地域ごとに表1に示した．4種のアルキルリン酸のうち，最も検出頻度が高かったのはDMTP，最も低かったのはDETPであり，ジメチル型の検出率はジエチル型に比べて高かった．地域の比較では，東京のほうが検出率が高い傾向がみられたが，有意な差は認められなかった．

表１．尿中アルキルリン酸検出率（%）

| | n | DMP | DMTP | DEP | DETP |
|---|---|---|---|---|---|
| 富山 | 66 | 77.3 | 83.3 | 71.2 | 25.8 |
| 東京 | 60 | 88.3 | 93.3 | 81.6 | 35.0 |
| 計 | 126 | 82.5 | 88.1 | 76.2 | 30.2 |

nは人数

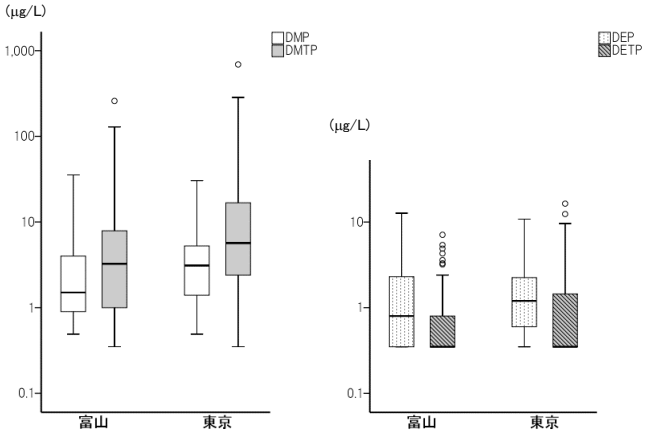



図１．尿中アルキルリン酸濃度分布

表２．アルキルリン酸濃度の幾何平均値および幾何偏差値

| | 富山(n=66) | | 東京(n=60) | | t検定 | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | G.M. | G.S.D. | G.M. | G.S.D. | P | |
| DMP | 1.9 | 3.0 | 2.9 | 2.7 | 0.040 | (μg/L) |
| DMTP | 3.2 | 4.7 | 6.9 | 5.2 | 0.008 | |
| DEP | 1.1 | 2.9 | 1.3 | 2.6 | 0.423 | |
| DETP | 0.6 | 2.4 | 0.7 | 3.1 | 0.161 | |
| DMAP | 0.044 | 3.6 | 0.081 | 4.0 | 0.010 | (μmol/L) |
| DEAP | 0.011 | 2.6 | 0.013 | 2.7 | 0.270 | |

G.M.：幾何平均値
G.S.D.：幾何標準偏差

4種のアルキルリン酸の測定値について，濃度分布の状況を図１に，幾何平均値と幾何標準偏差を表2に示した．図中の箱の上端が75%値，下端が25%値で，箱の中にある横線は中央値を示す．DMPとDMTPの濃度レベルは東京のほうが高い傾向にあり，平均値の差の検定では，有意差がみられた（DMP: $p<0.05$, DMTP: $p<0.01$，DMAP: $p<0.05$）．

居住地の周辺環境について，「近くに農地がある」と答えた者は富山47人(71%)，東京10人(17%)で富山に多かったが，東京では77%の者が公園や街路樹などの植栽があると答えており，近くにほとんど緑がないと答えた者は富山2人(3%)，東京4人(7%)のみであった．殺虫剤等の使用に関して，屋内で使用することがあると答えた者は富山45人（66%），東京27人（45%）で，富山に多かったが，この調査の前1週間以内に使用した者は富山4人，東京5人の計9人のみであり，使用薬剤名がわかったものはすべてピレスロイド系の殺虫剤であった．

食習慣に関するアンケートから，生野菜および果物の摂取頻度について，"1日2回以上"，"1日1回"，"数日に1回"，"1週間に1回"，"ほとんど食べない"の5段階に分けてDMAP,DEAP濃度との関連を検討した．生野菜の摂取頻度と尿中アルキルリン酸濃度には関連はみられなかったものの，果物では，摂取頻度が高いほどアルキルリン酸濃度が高い傾向を示し(図2)，富山，東京とも，有意な相関がみられた（富山　DMAP: $p<0.1$，DEAP: $p<0.01$，東京　DMAP: $p<0.01$，DEAP: $p<0.01$）．また富山では，野菜・果物のジュースの摂取頻度とも相関がみられ，摂取頻度が高いほどDMAP,DEAP濃度が高かった．

BDHQにより算出された様々な食品の1日当たり摂取量と尿中アルキルリン酸濃度との関連について，「葉野菜」，「根菜」，「果物」，「100%ジュース」，「パン」，「麺類」の摂取量とDMAP，DEAP濃度との相関係数を表3に示した．富山は「果物」，「100%ジュース」の摂取量とアルキルリン酸濃度の間に有意な正の相関がみられ，DMAPは「パン」の摂取量とも有意な相関を示した．一方東京は，DMAP,DEAPとも「果物」摂取量と正の相関を示したほかは，有意な関連はみられなかった．

## 考　察

富山と東京都心の大学に通う学生126名を対象に，

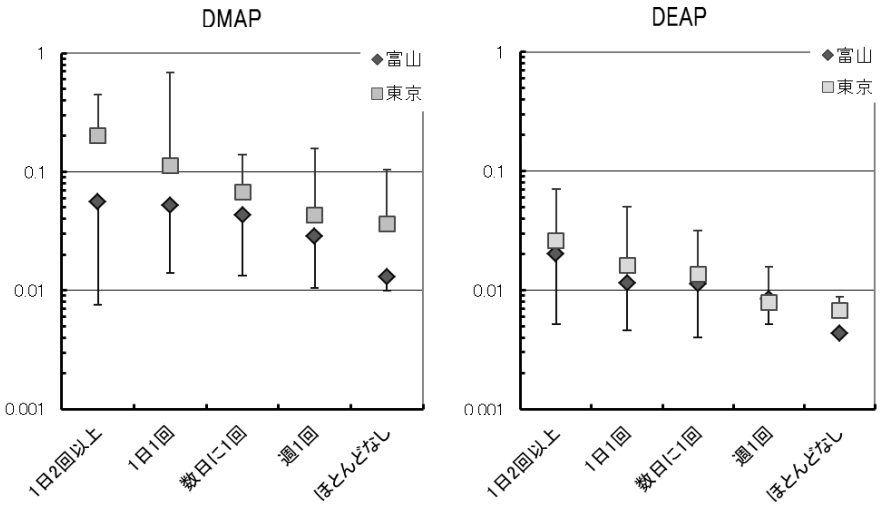



図２．果物摂取頻度と尿中アルキルリン酸濃度（μmol/L）

表３．ジメチル型・ジエチル型アルキルリン酸濃度と食品摂取量との単相関係数

| | 富山（n=61） | | 東京（n=55） | |
|---|---|---|---|---|
| | DMAP | DEAP | DMAP | DEAP |
| 葉野菜 | 0.013 | 0.113 | -0.002 | -0.078 |
| 根菜 | 0.112 | 0.216 | 0.045 | -0.072 |
| 果物 | 0.291 * | 0.334 ** | 0.432 ** | 0.353 ** |
| 100%ｼﾞｭｰｽ | 0.312 * | 0.287 * | -0.128 | -0.080 |
| パン | 0.299 * | 0.054 | -0.157 | 0.089 |
| 麺類 | -0.001 | -0.010 | -0.193 | -0.207 |

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$

有機リン系農薬一般の曝露指標とされる尿中のアルキルリン酸を測定したところ，全体の95%から1種以上のアルキルリン酸が検出され，何も検出されなかったのは富山3例，東京3例だけであった．ジメチル型アルキルリン酸濃度は東京のほうが高かったが，このレベルは以前我々が富山県内の職域の健康診断受診者を対象に行った調査[3]における一般女性と同等であった．

環境省の「化学物質排出移動量届出（PRTR）制度」の平成21年度集計結果[5]によれば，対象化学物質のうち「農薬」120物質の環境への推計排出量について，富山県は965t/年のうち95%が農地での使用であるのに対し，東京都は323t/年のうち家庭からの排出が24%，家庭・ゴルフ場・森林以外の非農耕地からが23%を占める．大都市であっても公園や街路樹など，病害虫防除のために殺虫剤等が使用される機会はあると考えられ，農村地域と同様に身近な環境中に農薬成分などの化学物質が存在し，曝露源となっている可能性が考えられた．

食品からの農薬曝露について，Lu ら[6]は，アメリカの小児を対象にした繰り返しサンプリングによる有機リン系農薬尿中代謝物の長期的な観察で，生鮮食品の野菜と果物をオーガニック栽培のものに切り替えると，その期間だけ尿中代謝物濃度が低下することを示し，子供の有機リン系農薬曝露の主たる経路は食事由来であるとしている．また，東京都健康安全研究センターの小林ら[7]は，輸入穀類加工品中の残留農薬について，2006年までの12年間に検査した490検体のうち91検体（18.6%）から農薬を検出し，すべて有機リン系農薬だったことを報告している．

今回の調査は単回のサンプリングであるが，食品摂取と尿中アルキルリン酸濃度との関連を検討したところ，果物の摂取頻度・摂取量と DMAP，DEAP 濃度との間に相関がみられ，摂取頻度・摂取量が多いほどアルキルリン酸濃度が高かったことから，食品からの有機リン系農薬曝露に関して，果物の摂取が寄与している可能性が考えられた．しかし，野菜の摂取状況と

は関連はみられず，富山でDMAPとパン摂取量に相関がみられたものの，小麦加工品について一定の傾向はみられなかった．
有機リン系農薬曝露に関して，環境由来と食品由来の寄与についてさらに考察するため，空気中の農薬成分等の分析，異なる時期の調査，連続したサンプリングによる調査など，さらに検討を進める必要があると考える．

## 謝　辞

学生実習の一環として本調査にご協力いただいた，お茶の水女子大学生活科学部准教授（現・聖徳大学人間栄養学部教授）池本真二先生に深く感謝いたします．

## 文　献

1．中崎美峰子，新村哲夫，荒谷哲雄（2003）．富山衛研年報，26，140-143.
2．中崎美峰子，新村哲夫，荒谷哲雄（2005）．富山衛研年報，28，134-137.
3．中崎美峰子，新村哲夫，大浦栄次（2007）．富山衛研年報，30，124-127.
4．Sasaki S, Kim MK（2003）. J Community Nutr, 5, 83-92.
5．環境省　平成21年度PRTR届出外排出量の推計方法等の概要・推計結果（平成23年2月公表）
6．Lu C, Barr DB, Pearson MA, Waller LA（2008）. Environ Health Perspect, 116, 537-542.
7．小林麻紀，高野伊知郎，田村康宏，富澤早苗，立石恭也，酒井奈穂子，上條恭子，井部明広，永山敏廣（2008）．食品衛生学雑誌，49，249-260.

平成23年12月16日

# 海洋深層水を利用した長期・継続的な運動浴の腹部肥満者に対する効果

新村　哲夫　　田中　朋子　　金木　潤　　立瀬　剛志[1]　　関根　道和[1]　　鏡森　定信[2]

# The Effects of Long-Term and Continuous Exercise in Deep Sea Water Bath on Belly Obese Persons

Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Takashi TATSUSE[1], Michikazu SEKINE[1] and Sadanobu KAGAMIMORI[2]

**要　旨**　海洋深層水（深層水と略す）を用いた単回の歩行浴が，水道水を用いた場合よりも深部体温を上昇させ，中高年男性では酸素消費量が多いことを，昨年度報告した．そこで，長期・継続的な深層水を用いた運動浴の効果について検討した．対象者は，BMI25以上または腹囲がメタボリック症候群の基準を上回る男女85名である．対象者は，週1回以上，3ヶ月間，深層水体験施設で歩行浴を主とした運動浴を行った．運動浴期間の前後に，身体，血圧および体力測定，尿および血液検査並びにアンケート調査を行った．運動浴後の調査に参加した74名のうち，これまで深層水体験施設の利用のなかった男性26名，女性29名について検討した．男性では，3ヶ月間の運動浴回数は平均23回であり，体重が平均0.7kg 減少し（有意差なし），腹囲が平均2.0cm 減少した（$p<0.01$）．体力測定では，下肢筋力の増加がみられた（$p<0.001$）．また，血圧では収縮期血圧の減少傾向と，血液検査では HDL コレステロールの増加傾向がみられた．女性では，運動浴回数は平均24回であり，体重が平均0.9kg 減少し（$p<0.01$），腹囲が平均3.2cm 減少した（$p<0.001$）．収縮期血圧の低下がみられた（$p<0.05$）．体力測定では，下肢筋力の増加がみられた（$p<0.001$）．血液検査では，HDL コレステロールの増加（$p<0.01$）とアディポネクチンの増加がみられた（$p<0.05$）．男性では，深層水運動浴回数と体重および腹囲の変化（減少）との間に相関がみられた．以上のことから，3ヶ月間の継続的な深層水運動浴により，腹囲の減少，下肢筋力の増加等，腹部肥満者への効果が示唆された．深層水運動浴のメタボリック症候群対策への利用の可能性があるものと考えられた．

現代の多忙なストレス社会において，多くの人々が運動不足と飽食からメタボリック症候群となっていることが報告されている．その対策のひとつとして，保健施設の活用が求められている．

著者らは，これまでに海洋深層水（以下，深層水と略す）をタラソテラピーに応用した場合の基礎的な調査研究[1,2]や，濃縮深層水を用いる「浮遊浴」に関する調査研究[3]を行い，深層水を用いた温浴が，水道水や表層海水を用いた場合よりも温まりやすく冷めにくい温熱効果があり[1]，気分感情調査では「活気」を与えてくれることなどを報告してきた[2]．これまでの深層水の研究から，深層水を用いた運動浴をメタボリック症候群対策に利用できないかと考え研究を開始した．まず深層水中の運動浴として，歩行器による運動（歩行浴）について，水道水を用いた場合と比較実験を行ったところ，単回の深層水の歩行浴が，水道水の場合よりも，深部体温を上昇させ，中高年男性では，酸素消費量も多いことを報告した[4]．そこで，今回は長期・継続的に深層水中で運動浴を行った場合の効果について検討した．

## 対象および方法

調査は，深層水体験施設「タラソピア」において行った．

対象者として，メタボリック症候群のスクリーニング基準である腹囲が男性で85cm 以上，女性で90cm 以上，または BMI が25以上の肥満者で，3ヶ月間，週1回以上，水温34℃の深層水中で歩行浴を主とした運動浴のできる参加者を募集した．あわせて対照群として，深層水体験施設の習慣的な利用者から参加者を募集した．応募者から，男34名，女51名の合計85名（平均年齢54.5歳，25〜77歳）を対象者として選択した．

1．富山大学大学院医学薬学研究部保健医学，　2．富山産業保健推進センター

3ヶ月間の運動浴期間の開始前に，身体測定，血圧測定，採血，尿検査，体力測定，アンケート調査および医師による診断を行った．

測定項目は以下のとおりである．身体測定は，身長，体重，腹囲および体脂肪率を計量し，BMI を求めた．体脂肪率は，体脂肪計（大和製衡株式会社製 DF800）により測定した．血圧は，デジタル血圧計（エー・アンド・デイ社製 UA-767PC）により収縮期血圧と拡張期血圧および脈拍を測定した．血液生化学検査は，肝機能検査として GOT，GPT およびγ‐GTP，脂質検査として血清総コレステロール，HDL コレステロールおよび LDL コレステロールを，自動分析装置（株式会社日立ハイテクノロジーズ社製 LABOSPECT 003）で測定した．糖尿病指標として，ヘモグロビン A1c を自動分析装置で測定した．サイトカインである血清中のアディポネクチンを ELISA キット（大塚製薬株式会社製）により測定した．尿検査は，調査時に採尿し，エームス尿検査試験紙（シーメンスヘルスケア・ダイアグノステックス株式会社製）により糖，蛋白および pH を検査した．体力測定として，下肢筋力をアイソフォース（オージー技研株式会社製 GT-330）により，右足の筋力の Peak 値と平均値を測定した．あわせて，左右の握力を，握力計（堤製作所製 ST100）を用いて測定した．また，アンケートにより疾病歴，深層水体験施設利用歴などの調査を行った．

水中運動の専門家によって水中歩行など運動浴方法の指導を受けた後，深層水を用いた運動浴の実験を開始した．調査開始から3ヶ月間の運動浴回数については，深層水体験施設に備え付けの記録用紙により確認した．

3ヶ月間の深層水運動浴実施後，開始前と同じ検査を実施した．終了時の質問票によりアンケート調査を行った．

本調査研究は，富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受けて実施した．調査に先立ち，対象者に本研究の説明を行い，参加する署名入りの同意書の提出を受けた．

## 結　果

対象者85名のうち，終了時の調査に参加したのは男性31名，女性43名（合計74名，対象者の87.1%）であった．参加者の性，年齢等について表1に示した．深層水体験施設の利用習慣がある群（月に数回以上の利用習慣あり，「利用あり群」と略す）と利用習慣のない群（「利用なし群」と略す）に分けて検討した．また，メタボリック症候群のスクリーニング基準である腹囲が男性で85cm 以上，女性で90cm 以上か，または BMI が25以上の者を「肥満」群，それ以外を「非肥満」群とした．その結果，男性では1名が「非肥満」となり，それを除いた，「利用あり（肥満）群」5名と26名，合計31名を検討の対象とした．女性では，「利用あり群」のなかに「非肥満」が含まれていたことから，「利用あり（非肥満）群」6名，「利用あり（肥満）群」6名，「利用なし（肥満）群」29名，合計41名を3群に分けて検討した．「利用なし（非肥満）」の1名は除いた．

表１．対象者の性・年齢・身長・利用回数

| | 男　性 | | | 女　性 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 | 利用あり（非肥満） | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 |
| 人数 | 5 | 26 | 31 | 6 | 6 | 29 | 41 |
| 年齢（歳） | 69.0±5.9 | 54.1±12.1+ | 56.5±12.5 | 55.5±5.9 | 56.5±7.8 | 55.0±11.9 | 55.3±10.6 |
| 身長（cm） | 163.2±6.1 | 167.9±5.4 | 167.2±5.7 | 155.4±2.0 | 153.8±2.9 | 154.8±5.7 | 154.7±4.9 |
| 利用回数（12週間） | 33.2±16.9 | 22.7±14.0 | 24.4±14.7 | 23.3±14.2 | 29.5±17.6 | 24.1±11.4 | 24.8±12.6 |

+：p<0.05（男性の「利用あり群」との比較）

表２．対象者の体重・腹囲等の測定結果

| | | 男　性 | | | 女　性 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 | 利用あり（非肥満） | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 |
| 体重（kg） | 開始時 | 66.0±5.5 | 75.5±9.6+ | 73.9±9.6 | 54.7±2.0 | 66.0±14.9 | 65.3±9.4 | 63.8±10.3 |
| | 終了時 | 65.9±5.0 | 74.8±9.4 | 73.4±9.4 | 54.3±1.6 | 65.4±15.0 | 64.4±9.0** | 63.0±10.0** |
| BMI | 開始時 | 24.7±0.6 | 26.7±2.4++ | 26.4±2.3 | 22.7±1.2 | 27.8±5.8# | 27.2±3.1# | 26.6±3.7 |
| | 終了時 | 24.7±0.3 | 26.5±2.3 | 26.2±2.2 | 22.5±0.9 | 27.5±5.7 | 26.8±3.0* | 26.3±3.6** |
| 腹囲（cm） | 開始時 | 91.0±2.7 | 94.6±6.9 | 94.0±6.5 | 85.6±3.4 | 97.1±7.5# | 97.6±7.6# | 95.8±8.2 |
| | 終了時 | 88.7±2.6 | 92.6±6.3** | 92.0±6.0*** | 84.6±3.7 | 96.3±9.1 | 94.4±7.6*** | 93.2±8.1*** |
| 体脂肪率（%） | 開始時 | 25.8±0.6 | 25.2±4.2 | 25.3±3.8 | 34.6±3.1 | 39.2±2.2 | 40.4±3.7# | 39.4±4.0 |
| | 終了時 | 25.6±0.9 | 25.6±3.5 | 25.6±3.2 | 34.3±3.8 | 38.1±1.9 | 40.4±3.3 | 39.2±3.9 |

*, **, ***：p<0.05, p<0.01, p<0.001（開始時と終了時の比較）
+, ++：p<0.05, p<0.01（男性の「利用あり群」との比較）
#：p<0.05（女性の「利用あり（非肥満）群」との比較）

表３．対象者の血圧等の測定結果

| | | 男性 | | | 女性 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 | 利用あり（非肥満） | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 |
| 収縮期血圧(mmHg) | 開始時 | 151.6±16.2 | 133.8±14.3+ | 136.7±15.8 | 127.7± 9.9 | 148.3±11.9 | 133.7±17.3 | 134.9±16.6 |
| | 終了時 | 139.6±11.7 | 129.8±13.4 | 131.4±13.4* | 125.7±14.4 | 127.2±11.3* | 128.6±11.8* | 128.0±11.9** |
| 拡張期血圧(mmHg) | 開始時 | 82.2± 7.2 | 84.0±10.0 | 83.7± 9.5 | 78.7± 8.1 | 86.2± 8.4 | 79.6± 8.8 | 80.4± 9.0 |
| | 終了時 | 80.0± 7.6 | 83.0±12.9 | 82.5±12.2 | 78.5± 4.0 | 84.3± 7.0 | 79.4± 8.8 | 80.0± 8.1 |
| 脈拍(/分) | 開始時 | 73.0±12.6 | 71.6±10.6 | 71.8±10.7 | 70.3± 9.1 | 70.2± 8.4 | 74.1±12.3 | 73.0±11.3 |
| | 終了時 | 72.6±13.0 | 69.5± 9.3 | 70.0± 9.8 | 71.7± 5.5 | 70.8± 7.0 | 73.5±10.8 | 72.8± 9.6 |

*, **:p<0.05, p<0.01（開始時と終了時の比較）
+:p<0.05（男性の「利用あり群」との比較）

表４．対象者の体力測定結果

| | | 男性 | | | 女性 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 | 利用あり（非肥満） | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 |
| 下肢筋力(ピーク)(N) | 開始時 | 416±137 | 572±202 | 547±200 | 346±105 | 466± 95 | 382±132 | 389±126 |
| | 終了時 | 518±82 | 652±192*** | 630±185*** | 410±110 | 513± 74 | 432±141** | 441±130*** |
| 下肢筋力(平均)(N) | 開始時 | 310±118 | 478±173+ | 451±175 | 312± 97 | 385± 91 | 322±114 | 330±109 |
| | 終了時 | 453±59 | 603±182*** | 579±177*** | 395±107* | 485± 69* | 407±135*** | 417±125*** |
| 握力(右)(kg) | 開始時 | 37.8±5.3 | 44.7±7.5 | 43.5±7.6 | 28.8±3.1 | 27.5±5.8 | 27.3±4.8 | 27.5±4.7 |
| | 終了時 | 38.8±4.8 | 45.5±6.9 | 44.4±7.0 | 29.2±4.5 | 26.6±5.0 | 27.3±5.0 | 27.4±4.9 |
| 握力(左)(kg) | 開始時 | 37.3±7.0 | 43.3±6.0 | 42.3±6.5 | 28.8±4.1 | 26.9±5.1 | 27.6±4.3 | 27.7±4.3 |
| | 終了時 | 37.1±6.4 | 42.5±5.9 | 41.6±6.2 | 27.7±4.2 | 26.6±5.5 | 26.2±4.4* | 26.5±4.4** |

*, **, ***:p<0.05, p<0.01, p<0.001（開始時と終了時の比較）

表５．対象者の血液検査結果

| | | 男性 | | | 女性 | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 | 利用あり（非肥満） | 利用あり（肥満） | 利用なし（肥満） | 合　計 |
| GOT(U/L) | 開始時 | 29.0±8.1 | 27.5±9.2 | 27.8±8.9 | 8.7±4.1 | 29.0±10.6 | 22.2±7.0 | 22.7±7.8 |
| | 終了時 | 27.0±6.7 | 28.0±12.8 | 27.8±12.0 | 18.8±5.5 | 27.7±12.5 | 22.8±9.0 | 22.9±9.3 |
| GPT(U/L) | 開始時 | 26.6±8.8 | 31.5±15.3 | 30.7±14.4 | 15.7±3.8 | 29.2±10.5 | 21.7±10.5 | 21.9±10.3 |
| | 終了時 | 22.6±7.3 | 30.1±17.3 | 28.9±16.2 | 13.5±5.6 | 26.5±13.4 | 21.5±13.6 | 21.1±13.0 |
| γ-GTP(U/L) | 開始時 | 37.8±16.9 | 49.3±34.0 | 47.4±31.9 | 18.5±6.7 | 41.8±33.5 | 26.4±14.8 | 27.5±18.6 |
| | 終了時 | 31.0±15.5 | 45.5±31.0 | 43.1±29.3 | 18.3±6.6 | 38.5±42.1 | 25.1±12.6 | 26.1±19.4 |
| 総コレステロール(mg/dL) | 開始時 | 209.6±16.5 | 203.3±35.1 | 204.3±32.7 | 209.2±22.1 | 215.0±11.6 | 205.0±27.4 | 207.1±24.8 |
| | 終了時 | 199.6±21.9 | 205.8±39.2 | 204.8±36.8 | 212.7±17.5 | 213.7±22.5 | 207.3±30.0 | 209.0±27.1 |
| HDLコレステロール(mg/dL) | 開始時 | 46.2± 7.9 | 45.6± 8.1 | 45.7± 8.0 | 63.2± 5.2 | 50.5±10.3# | 49.7± 8.1# | 51.8± 9.3 |
| | 終了時 | 48.1± 8.9 | 47.5±10.5 | 47.6±10.1* | 66.5± 5.5 | 55.4±15.3 | 53.1± 8.6** | 55.4±10.4*** |
| LDLコレステロール(mg/dL) | 開始時 | 131.0±17.4 | 126.6±30.1 | 126.6±30.1 | 118.7±20.9 | 136.0±20.2 | 122.4±21.7 | 125.2±21.4 |
| | 終了時 | 122.2±22.3 | 127.6±29.6 | 127.6±29.6 | 124.2±16.6 | 134.5±21.9 | 126.9±26.9 | 127.7±24.6 |
| ヘモグロビンA1c(%)[a)] | 開始時 | 5.5±0.2 | 5.3±0.3 | 5.3±0.3 | 4.9±0.2 | 5.6±0.5+ | 5.2±0.4 | 5.2±0.4 |
| | 終了時 | 5.4±0.2 | 5.3±0.3 | 5.3±0.3 | 5.0±0.3 | 5.6±0.5 | 5.2±0.4 | 5.2±0.4 |
| アディポネクチン(μg/mL) | 開始時 | 4.1±1.5 | 4.7±1.7 | 4.7±1.7 | 7.4±3.2 | 4.8±2.4 | 7.2±3.2 | 6.8±3.2 |
| | 終了時 | 4.1±1.2 | 4.7±1.7 | 4.7±1.7 | 7.8±2.7 | 5.2±1.2 | 7.5±3.4* | 7.2±3.2** |

*, **, ***:p<0.05, p<0.01, p<0.001（開始時と終了時の比較）
#:p<0.05（女性の非メタボ利用群との比較）
a:JDS値

検討対象者の年齢は，各群の平均で54歳から69歳であり，女性では差はみられなかったが，男性では，「利用あり（肥満）群」が「利用なし（肥満）群」に比べ高かった（p<0.05）．身長には差はみられなかった．3ヶ月間（12週間）の運動浴回数は各群の平均で，23回から33回であり，有意な差はみられなかった．最高は57回であった．

表2に，体重，腹囲や体脂肪率について，開始時と終了時の測定結果を示した．

男性では，開始時の体重およびBMIが「利用あり（肥満）群」に比べて「利用なし（肥満）群」が有意に大きかった（p＜0.05）．3ヶ月間の深層水運動浴により，「利用あり（肥満）群」では，体重，腹囲とも有意な減少はみられなかったが，「利用なし（肥満）群」では，体重が平均0.7kg減じ（有意差なし），腹囲が平均2.0cm減少した（p<0.01）．

女性では，「利用あり（肥満）群」および「利用なし（肥満）群」が「利用あり（非肥満）群」に比べて，開始時のBMIおよび腹囲が大きかった（p＜0.05）．3ヶ月間の深層水運動浴により，「利用あり（非肥満）群」，「利用あり（肥満）群」とも体重，BMI，腹囲の有意な減少はみられなかったが，「利用なし（肥満）群」では，体重が平均0.9kg減少し（p<0.01），BMIの平均0.4の減少（p＜0.05），腹囲が平均3.2cm減少した（p<0.001）．体脂肪率については，男女ともいずれの群においても減少はみられなかった．

表3に血圧および脈拍についての測定結果を示した．3ヶ月間の深層水運動浴により，男女とも収縮期血圧の低下傾向がみられた．女性の「利用あり（肥満）群」と「利用なし（肥満）群」で有意な低下がみられた（いずれも $p<0.05$）．拡張期血圧および脈拍については，男女ともいずれの群でも有意な変化はみられなかった．

体力測定の結果を表4に示した．3ヶ月間の深層水運動浴により，男女とも下肢筋力の増加がみられ，男女の「利用なし（肥満）群」において，下肢筋力測定のPeak 値および平均値のいずれもが有意に増加した（$p<0.001$または $p<0.01$）．握力については，男性では変わらなかったが，女性の「利用なし（肥満）群」で左手握力の減少傾向がみられた．

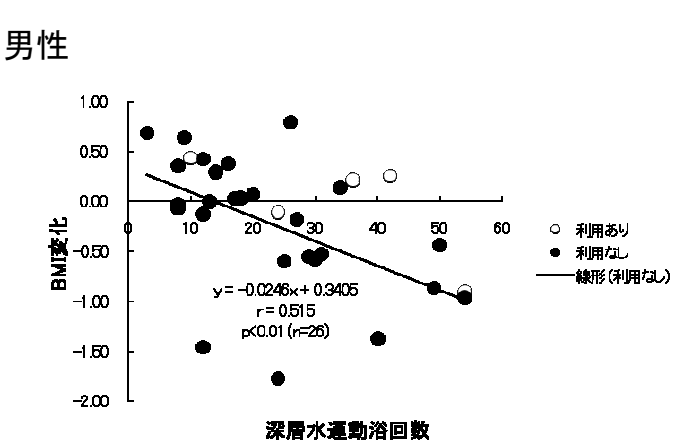
血液検査結果を表5に示した．男女とも，深層水運動浴3ヶ月間後の測定では，肝機能検査に有意な変化はみられなかった．

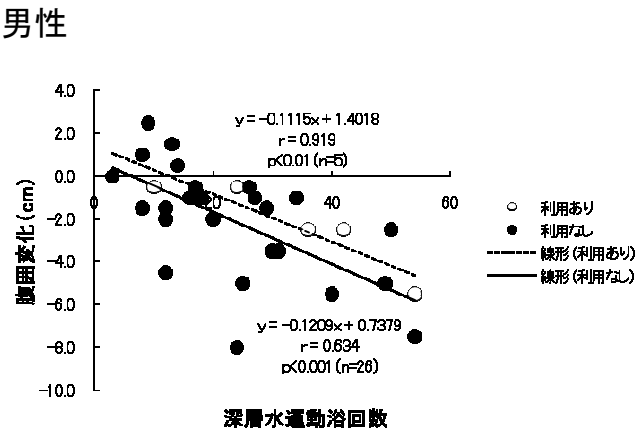
脂質検査では，3ヶ月間の深層水運動浴により，男女とも総コレステロールおよびLDL コレステロールは変わらなかったが，善玉といわれているHDL コレステロールの増加傾向がみられた（男 $p<0.05$，女 $p<0.001$）．女性では，「利用あり（非肥満）群」に比べて，「利用あり（肥満）群」や「利用なし（肥満）群」が開始前には低かったが（$p<0.05$），終了後には増加

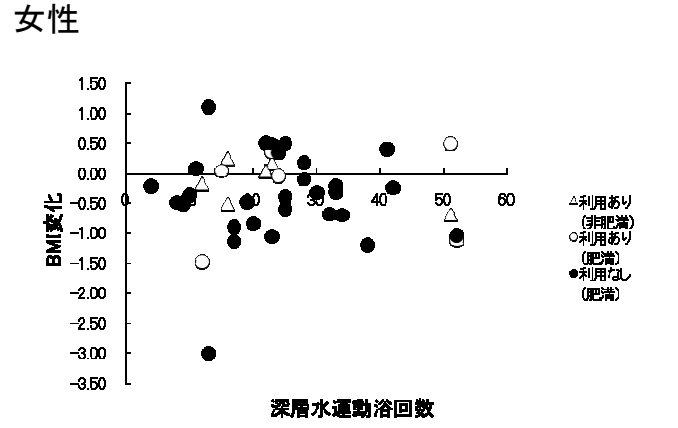
表 6．対象者「利用なし（肥満）群」における深層水運動浴回数と測定項目の変化との相関係数

| | | 男　性　（26名） | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 深層水運動浴回数 | 体重変化 | BMI変化 | 腹囲変化 | 収縮期血圧変化 | 下肢筋力変化 | HDLコレステロール変化 | HbA1c変化[a)] | アデイポネクチン変化 |
| 女 性（29名） | 深層水運動浴回数 | | −0.520** | −0.515** | −0.634*** | 0.099 | −0.026 | 0.140 | 0.004 | 0.353 |
| | 体重変化 | 0.000 | | 0.997*** | 0.836*** | 0.059 | 0.196 | −0.077 | 0.185 | −0.299 |
| | BMI変化 | 0.010 | 0.997*** | | 0.847*** | 0.075 | 0.204 | −0.094 | 0.180 | −0.331 |
| | 腹囲変化 | −0.034 | 0.309 | 0.325 | | 0.065 | 0.202 | 0.004 | 0.000 | −0.388* |
| | 収縮期血圧変化 | 0.125 | −0.249 | −0.232 | −0.031 | | 0.061 | 0.217 | 0.037 | 0.238 |
| | 下肢筋力変化 | 0.191 | 0.056 | 0.074 | −0.061 | 0.327 | | 0.084 | 0.341 | −0.455* |
| | HDLコレステロール変化 | −0.045 | −0.267 | −0.256 | 0.154 | −0.138 | 0.012 | | 0.055 | 0.327 |
| | ヘモグロビンA1c変化[a)] | 0.070 | 0.016 | 0.018 | −0.416* | −0.205 | −0.398* | 0.093 | | −0.216 |
| | アデイポネクチン変化 | −0.131 | −0.279 | −0.273 | 0.162 | −0.090 | 0.103 | 0.632*** | 0.035 | |

*, **, ***：p<0.05, p<0.01, p<0.001
a：JSD値



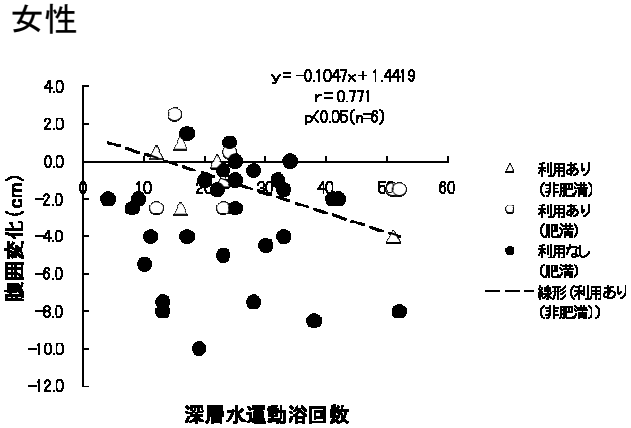
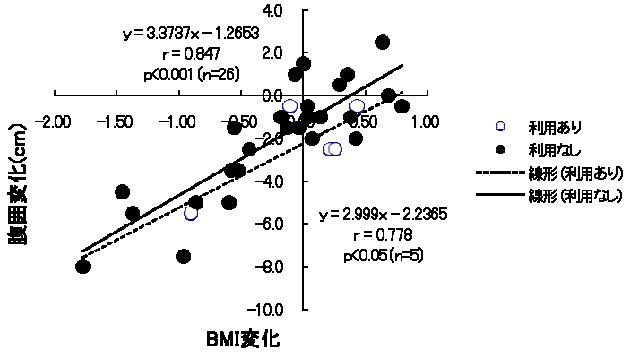




図 1．対象者の深層水運動浴回数と BMI 変化

図 2．対象者の深層水運動浴回数と腹囲変化

男性




女性

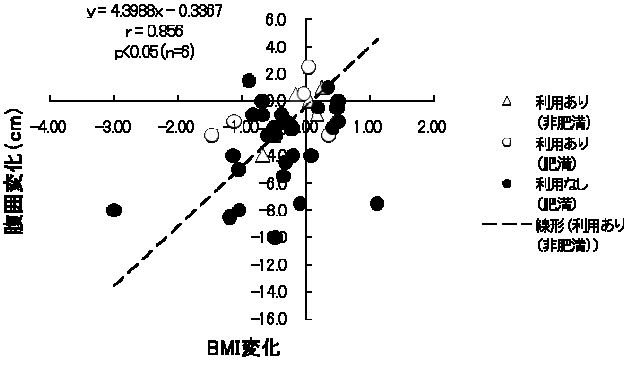
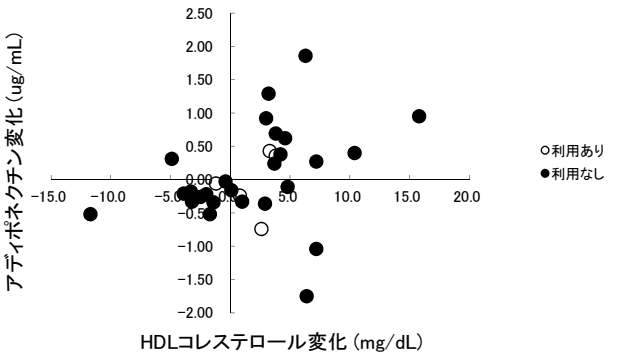



図３．対象者の BMI 変化と腹囲変化の関係

男性




女性

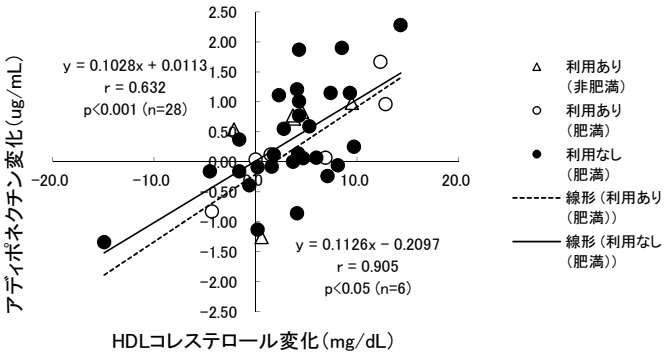



図４．血清中 HDL コレステロールとアデイポネクチンの変化

傾向を示し，「利用なし（肥満）群」で有意に増加していた（p<0.01）．

糖尿病診断の指標とされているヘモグロビン A1c は，男女ともいずれの群においても変化はみられなかった．

善玉サイトカインとして肥満により減少するとされているアディポネクチンは，開始前の測定で，女性に比べて男性が低値を示した（p<0.001）．深層水運動浴3ヶ月間後の測定では，アディポネクチンは男性では変わらなかったが，女性では「利用なし（肥満）群」において有意な増加がみられた（p<0.05）．

表6は，深層水中での運動浴回数と開始前と終了後の体重や腹囲，血圧，下肢筋力，血液検査結果等の変化（終了時の測定値－開始時の測定値）の相関関係を調べたものである．表では，男女の「利用なし（肥満）群」について相関係数を示した．

図1は，深層水運動浴回数と BMI の変化（＝終了時 BMI－開始時 BMI）の関係をみたものである．男性では，深層水運動浴回数と BMI の変化との間に負の相関がみられ（p<0.01），深層水運動浴の回数が多いほど BMI が減少したことをあらわしている．図2は深層水運動浴回数と腹囲の変化（＝終了時腹囲－開始時腹囲）の関係をみたもので，BMI と同様に負の相関がみられた（p<0.001）．図は示してないが，深層水運動浴回数と体重の変化（＝終了時体重－開始時体重）とも同様な関係がみられた（p<0.01，表6）．一方，女性では図1，2に示したように，「利用あり（非肥満）群」においては深層水運動浴回数と腹囲の変化に負の相関がみられたが，その他の群では，深層水運動浴回数と体重，BMI，腹囲の変化との間に有意な相関はみられなかった．図3は，BMI 変化と腹囲変化の関係をみたもので，男性では有意な正の相関がみられ，女性では「利用あり（非肥満）群」のみで有意な正の相関がみられた．

図4は，女性で増加がみられた HDL コレステロールとアディポネクチンの変化の関係をみたものである．両者の間に正の相関がみられ（「利用なし（肥満）群」で p<0.001），HDL コレステロールが増加した人ではアディポネクチンも増加していた．一方，男性ではそのような有意な関係はみられなかった．

## 考　察

水中運動を利用した肥満対策については，すでにい

くつかの報告があるが[5]，深層水を利用した報告はない．今回の実験はメタボリック症候群のスクリーニング基準を越えた肥満者を対象に，長期・継続的な歩行浴を中心とした深層水の運動浴が有効であるかを検討したものである．当初の計画では，深層水施設の習慣的な利用者を対照として比較検討を行う予定であった．習慣的な利用者の参加が少なく，深層水施設をはじめて利用する対象者との比較検討は十分に行えなかったが，はじめて深層水施設を利用する対象者において，長期・継続的な深層水運動浴がメタボリック症候群のスクリーニング基準である腹囲の減少に効果があると考えられる結果が得られた．特に女性では，腹囲の減少に加え，体重の減少，下肢筋力の増加，収縮期血圧の低下，HDL コレステロールやアディポネクチンの増加など運動習慣による効果と考えられる測定項目の変化が特徴的であった．水中運動を利用した報告では[5]，血中の生化学的データの変化は報告しておらず，これらの変化が深層水運動浴の効果と考えてよいのかさらに検討が必要である．

男性では，深層水運動浴の回数と体重（BMI）や腹囲の変化（減少）との間に有意な負の相関がみられ，深層水運動浴回数が多いほど体重や腹囲の減少がみられた．一方，「肥満」の女性では深層水運動浴の回数と体重や腹囲の減少との間にそのような関係はみられなかった．これは，「肥満」の女性には脂肪を内蔵にため込む内蔵脂肪型と皮下に脂肪をため込む皮下脂肪型があり，内臓脂肪型は運動により体重や腹囲の減少がみられるが，皮下脂肪型は運動ではなかなか効果が表れにくいためではないかと推測される．ほとんどが内臓脂肪型肥満だと考えられる男性や，例数は少ないが「非肥満」の女性では，深層水運動浴の回数が多いほど腹囲の（男性の場合は体重も）減少がみられており，それを裏付けているように思われる．

今回の実験は，長期・継続的な深層水の運動浴の効果をみるためのものであり，参加者に食事やその他の生活習慣を改善することは指導していない．しかしながら，参加者は深層水体験施設での運動浴のたびに，これまでになかった体重や血圧等を測定することになり，運動習慣とあわせて，食事やその他の生活習慣に注意を払うようになった参加者が多くなったことは否定できない．今回の実験期間は，9月はじめから12月はじめにかけてであり，「食欲の秋」の季節であった．そのため，深層水体験施設での「運動」のあと，逆にいつもより食事の量が増えたという回答も多く寄せられている．今回は，運動浴の強度や時間は各人にまかせられており，利用回数だけが記録されているだけであり，このようなことも，「肥満」女性において深層水運動浴の回数と体重や腹囲の減少の関係が明らかにできなかった理由かもしれない．今後，運動浴の強度や時間について調査し検討する必要がある．また，今回は，服薬等との関係は，検討しなかったが，今後検討する必要がある．

今回の実験は，深層水を利用した長期・継続的な運動浴の効果について検討したものであり，水道水や表層海水を用いた場合との比較は行っておらず，深層水の優位性を明らかにするものではない．しかしながら，3ヶ月間の継続的な深層水運動浴により，腹囲の減少，下肢筋力の増加等，腹部肥満者への効果が示唆された．実際の活用にあたっては，深層水運動浴の強度や時間，利用回数などの指導内容の確立，食事や他の生活習慣の改善の指導内容との組み合わせの検討，特定健診対象者の募集および指導の体制の確立などの種々の課題を解決する必要があるものと思われる．深層水運動浴のメタボリック症候群対策への利用の可能性が開かれたものと考えられる．

## ま と め

長期・継続的な深層水を用いた運動浴の効果について検討した．

女性では，3ヶ月間の運動浴回数は平均24回であり，体重が平均0.9kg 減少し，腹囲が平均3.2cm 減少した．体脂肪率は変わらなかった．収縮期血圧の低下がみられ，下肢筋力の増加がみられた．血液検査では，HDL コレステロールとアディポネクチンの増加がみられた．

男性では，運動浴回数は平均23回であり，体重が平均0.7kg 減少し，腹囲が平均2.0cm 減少し，下肢筋力の増加がみられた．また収縮期血圧の低下傾向とHDL コレステロールの増加傾向がみられた．

女性では，深層水の運動浴回数と体重および腹囲の変化（終了時－開始時）との間には有意な関係はみられなかったが，男性では負の相関がみられ，運動浴回数が多いほど体重や腹囲の減少がみられた．

3ヶ月間の継続的な深層水運動浴により，腹囲の減少，下肢筋力の増加等，腹部肥満者への効果が示唆された．

## 謝　辞

本研究は，富山県および滑川市の深層水利用研究費（非水産分野）によった．

本研究にご参加いただいた皆様に深謝いたします．

ご協力いただいた深層水体験施設「タラソピア」の

升方章人氏，佐野順子氏をはじめ従業員の皆様に感謝いたします．

水中運動の指導をいただいた富山大学芸術文化学部の立浪勝教授に深謝いたします．

ご助言をいただいた富山大学大学院医学薬学研究部病理診断学教室の常山幸一先生に深謝いたします．

## 文　献

1．鏡森定信，王紅兵，アリナセルモアデリ，張淼，関根道和，堀井裕子，新村哲夫，西野治身，大村栄（2002）．日本温泉気候物理医学会雑誌，65，73-82

2．新村哲夫，張淼，堀井裕子，長瀬博文，荒谷哲雄，王紅兵，アリナセルモアデリ，アレックスガイナ，関根道和，鏡森定信（2004）．日本温泉気候物理医学会雑誌，67，155-164

3．新村哲夫，張淼，堀井裕子，中崎美峰子，田中朋子，長瀬博文，荒谷哲雄，堀井雅恵，広田直美，王紅兵，鏡森定信（2005）．富山県衛生研究所年報，28，138-143

4．新村哲夫，田中朋子，金木　潤，鏡森定信，胡莉珍，立瀬剛志，関根道和，升方章人（2010）．富山県衛生研究所年報，33，127-131．

5．桂　良寛，吉川貴仁，上田真也，臼井達矢，外林大輔，坂本　弘，高戸浩志，砂山友美，中雄勇人，藤本繁夫（2010）．体力科学，59，505-512．

# 3．資　　料

# 新生児マス・スクリーニングにおいて血液濾紙の汚染が考えられた先天性副腎過形成症陽性例

九曜　雅子　　米田　豊

A pseudo-positive case of Congenital Adrenal Hyperplasia detected by the neonatal mass-screening with the contamination dried blood specimen

Masako KUYO and Yutaka YONEDA

先天性副腎過形成症の新生児マス･スクリーニングは，表1.のとおり濾紙血液中の17-hydroxy progesterone（17-OHP）を測定しているが，低出生体重児や感染症等によるストレス状態にある場合などは，副腎皮質刺激状態となり血液中の17-OHP 濃度が高くなるため，疑陽性と判定される場合がある．また，ステロイド剤や利尿剤（スピロノラクトン）は測定系で17-OHP と交差反応するため，これらを使用している場合は，見かけ上の17-OHP が高値になる[1].

さらに，新生児の尿[2]，軟膏[3]，血液抗凝固剤である EDTA[4]や洗剤[5]などが検体濾紙に付着したために，それらとの交差反応により見かけ上の17-OHP 値が高くなり，偽陽性となった例の報告もある．

今回，我々は，血液濾紙の一部が17-OHP 異常高値を示し，検討した結果，濾紙の汚染が考えられた例について報告する．

**症例**：表2.に示した．出生時体重2,684g の女児で，日齢4の初回採血検体で直接法1回目が100ng/ml 以上のスケールオーバーであった．異常高値であったため，採血医療機関に連絡し症状の有無を尋ねたが，異常はなく，再採血をお願いした．さらに，同じ検体で2重

表 1. 先天性副腎過形成症スクリーニングの判定基準

| 検査法 | 測定物質 | 判定基準値 | |
|---|---|---|---|
| | | 疑陽性 | 緊急に精密検査が必要 |
| ELISA* | 17-α-hydroxy progesterone (17-OHP) | 直接法≧10ng/ml | 直接法 10ng/ml 以上で何らかの症状がある |
| | | 抽出法≧4.0ng/ml | 抽出法≧10ng/ml |

＊Enzyme linked immuno solvent assay

表 2. 症例

在胎 37 週　出生時体重 2,684g　　女児

| 日齢 | 体重 | 17-OHP 測定結果 | |
|---|---|---|---|
| | | 直接法 | 抽出法 |
| 4 | 2,544g | 1 回目 100ng/ml 以上<br>2 回目　1.8ng/ml<br>3 回目　1.7ng/ml | 1 回目 100ng/ml 以上<br>2 回目　7.0ng/ml |
| 14 | 2,770g | 1 回目　1.2ng/ml<br>2 回目　1.4ng/ml | 1 回目　1.1ng/ml |

測定による直接法の確認検査を2回行ったが，いずれも平均値で1.8ng/ml，1.7ng/ml と正常であった．また，抽出法を実施したところ，2重測定で一方は100ng/ml 以上のスケールオーバー，もう一方は7.0ng/ml で値の乖離が認められた．また，直接法の確認検査の値よりも抽出法の値のほうが高い結果となった．

日齢14の再採血検体での検査結果は，直接法，抽出法とも正常であった．

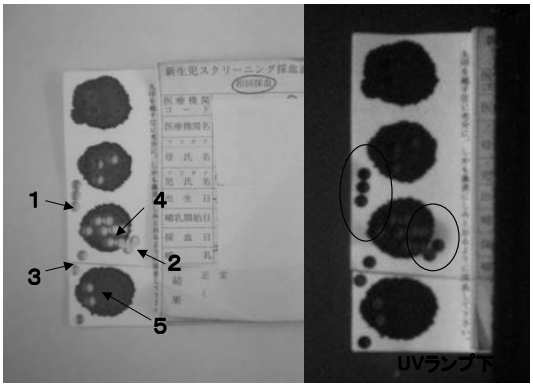
**結果および考察**：今回の例のように同一検体で，また初回検体と再採血検体で，測定結果が大きく乖離する場合，採血時や測定時の検体の取り違え，測定用マイクロプレートの汚染，濾紙の汚染等がないかを検討すべきである．

そこで，まず，この症例の初回検体1回目のアッセイ時に測定したすべての検体について再検査を行った．その結果，異常高値を示した検体はなかった．さらに，採血医療機関で同じ日に採血した検体もなかったため，検体の取り違えは否定された．

次に，同一検体で一部のみが高値を示していることから，検体濾紙の汚染を考えた．高値を示したスポットの前回測定箇所とは異なる部分と，血液が付着していない白紙の部分での17-OHP 値を測定した．また，血液以外のものが検体濾紙に付着していると，UV ランプ下で，その部分に蛍光が見られる場合ある[4,6]ことから，部分的に異常高値を示した初回検体を UV（254nm）下で確認した．

結果は，図1.に示したように，血液の付着していない白紙の部分でも，直接法，抽出法とも17-OHP 値はスケールオーバーした．また，血液が付着している4つのスポットのうち17-OHP 値がスケールオーバーしたのは1スポットだけであった．検体濾紙を UV ランプ下で確認すると，血液が付着していない白紙の部分で，17-OHP 値がスケールオーバーした箇所（図1.の写真〇印部分）は黒く見え，UV 吸収が認められた．これらのことから，検体濾紙に何かが付着したことにより，これが，測定系で17-OHP と交差反応し，見かけ上17-OHP が異常高値となったものと推測された．

ところで，カルボニルに共役する二重結合があると254nm 付近に吸収をもつことから，男性ホルモンの




| 17-OHP (ng/ml) | 1（白紙） | 2（白紙） | 3（白紙） | 4（血液） | 5（血液） |
|---|---|---|---|---|---|
| 直接法 | 100～ | 100～ | 2.0 | 100～ | 5.7 |
| 抽出法 | 61.5 | 100～ | 2.8 | 100～ | 7.4 |

**図1. 汚染が考えられた血液濾紙とそれぞれの部位の測定値**

〇印はUVランプ下で吸収が見られた部位

表 3. ELISA における交差反応性

| ステロイド | % |
|---|---|
| 17α-hydroxyprogesterone(17-OHP) | 100 |
| 17α-hydroxypregnenolone | 0.26 |
| 17α-hydroxypregnenolone 3-sulfate | 0.11 |
| Progesterone | 0.29 |
| Pregnenolone | 0.006 |
| Cortisol | 0.01 |

一次検出に UV 照射が用いられている[7]．先天性副腎過形成症スクリーニングの指標の17-OHP も同じ構造を持つ副腎ホルモン一つであり，UV での検出が可能である．しかし，男性ホルモン一次検出の場合のホルモン濃度は500ppm であり，スクリーニング検査における濾紙血液中の17-OHP 濃度と比較すると200倍以上の高濃度であるため，通常の検体濾紙の血液中副腎ホルモン濃度では UV 照射による検出は難しい．ただし，汚染等により，検体濾紙に副腎ホルモン等が多量に付着した場合には，UV 照射による検出は可能と考えられる．

一方，先天性副腎過形成症の検査法である ELISA（Enzyme linked immuno solvent assay）においては，交差反応は免れないが，通常の検査では，交差反応を最小限にするために抽出法による確認検査を行っている．交差反応性が高い物質は，表3.に示したが，このうち Progesterone については，検体濾紙中多量に存在すると直接法，抽出法とも見かけ上の17-OHP 値が高値となる[8,9]と報告されている．

したがって，今回の症例については，直接法，抽出法ともスケールオーバーの異常高値であったこと，254nm で吸収が認められたことから，かなり高濃度の交差物質が付着したと考えられた．また，その交差物質は Progesterone の可能性もあると考えられた．

今回は，汚染物質の確定，汚染の原因は究明できなかったため，今後さらに検討を進めていく予定である．また，採血機関においての血液濾紙の取り扱いについては，改めて注意喚起を行う必要があると思われた．

## 文　　献


1．寺井　格，山野公明，市原　侃，新井純理(1996)．日本マス・スクリーニング学会誌，6(2)，51.
2．関野高弘，楊　艶玲，豊浦多喜雄，税所純敬，下澤和彦，畑野洋二郎，武井　一，松本　勝(1992)．日本マス・スクリーニング学会誌，2(2)，132-133.
3．柴田百合子，大友真弓，鈴木彰夫，早川安彦，中野三俊，小場正彦（1994）．日本マス・スクリーニング学会誌，4(2)，127-128.
4．Sook Za Kim，Danny M Feuchuk，Yeong Mi Jeon（2006）．ISNS 2006，164.
5．望月孝一，堤　泰子，岡田智香子，筑後保幸，蟹川節子，磯村眞理子，会津克哉，望月　弘(2005)．日本マス・スクリーニング学会誌，15(2)，77.
6．中内明子，大野留奈，川村由佳鈴，鍋島　緑，大西豊美，森山ゆり（2004）．日本マス・スクリーニング学会誌，14(2)，84.
7．守安貴子，安田一郎，宮武ノリエ，岸本清子，中嶋順一，重岡捨身，蓑輪佳子，上村　尚(2002)．東京都衛研年報，53，40-44.
8．武井　一，間下充子，松本　勝，神戸川　明，豊浦多喜雄，税所純敬（1993）．日本マス・スクリーニング学会誌，3(1)，115-118.
9．森山ゆり，森岡茂治，小西裕子，谷口武利，村上正友，好井信子，乗安あゆみ，福士　勝(1991)．高知衛研年報，37，83-91.

平成23年12月16日

# ムコ多糖症Ⅰ型スクリーニングのためのイズロニダーゼ活性測定の迅速化

米田　豊　　九曜雅子

Study on Enzymatic Assay for α-L-Iduronidase in Dried Blood Samples for Newborn Screening of mucopolysaccaridosis type Ⅰ

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

血液ろ紙を用いるムコ多糖症の検査法として，Chamores ら[1]は病型別の酵素診断法を報告している．そのうちムコ多糖症Ⅰ型の欠損酵素であるα-L-Iduronidase 活性を測定する方法について，花井ら[2]は分析条件の改良を行い，また，鈴木ら[3]は，新生児マス・スクリーニング検体に応用している．しかし，これらの方法は反応時間が20時間と長い欠点がある．そこで，今回，測定時間の短縮化が可能であるか否かを検討した．

## 実験方法

1　装置

コロナ社製マイクロプレートリーダー MTP-100F
測定条件は励起波長：365mn，検出波長：450nm

2　試薬

溶出液：50mmol/L ギ酸緩衝液（pH2.8，40μl 中 D-saccharic acid-1,4-lactone0.3μg 含有）
基質液：2mM 4-methylumbeliferyl-α-L-iduronide（以下4MUI）：Glycosynth 社製4MUI 2mg に蒸留水2.84ml を加え溶解した．
反応停止液：0.085mol/L グリシン－炭酸緩衝液(pH 10.5)
標準液：シグマーアルドリッチ社製4-methylumbelliferone（MU)M1381を用いて10μmol/L に調製した．

3　操作

3mm 径の血液ろ紙１枚ずつを96穴U底マイクロプレートのセルに入れ，各セルに溶出液200μl を加え，2000g，5分間の遠心分離を行い，血液成分の抽出を行った．その抽出液25μl 及びブランクとして溶出液25μl を蛍光測定用のマイクロプレートに分取し，それぞれに基質液10μl を加え37℃で4時間，反応を行った．その後，反応停止液200μl を加て反応を停止し，マイクロプレートリーダーで蛍光強度を測定した．また，一部の検体については，経時的な蛍光強度の変化を調べた．

## 結　果

1　経時的な蛍光の変化

任意の 3 検体について，反応開始後 2,4及び6時間の時点で蛍光強度を測定した．その結果は，図１に，また，ブランク値を差し引いた値は図２に示した．このように，経時的に蛍光強度の増加が認められた．

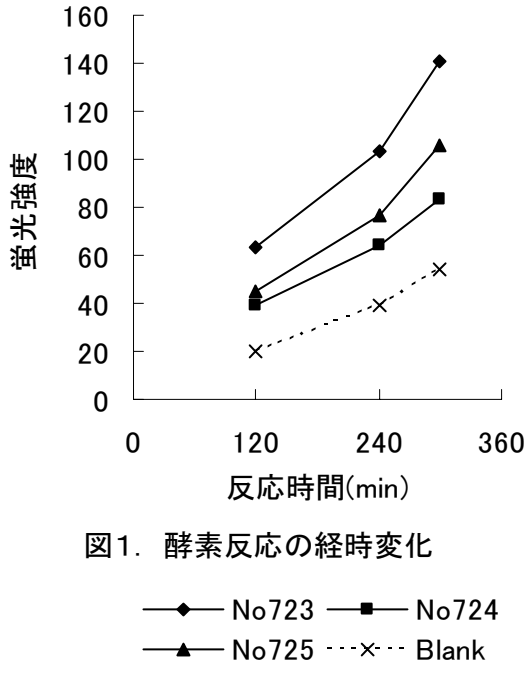



図1．酵素反応の経時変化

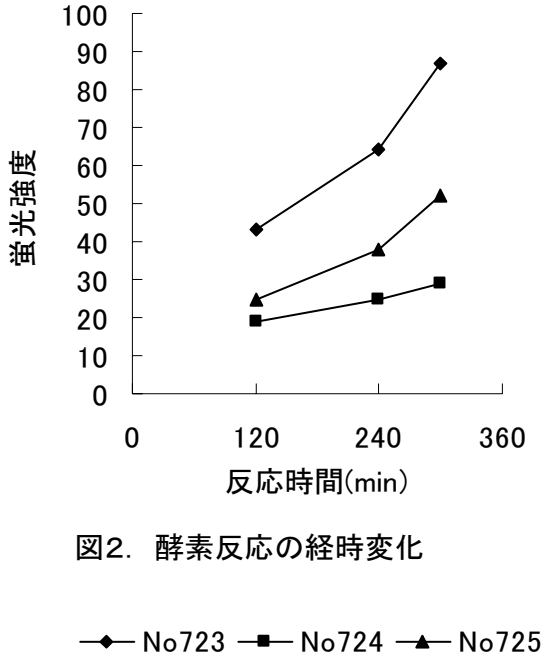



**図2．酵素反応の経時変化**

2　一般検体への応用

一般新生児のろ紙血液50検体を用い，本法での，蛍光強度の増加を調べた．なお，反応時間は４時間とした．その結果，蛍光強度の増加は平均±標準偏差は52.4±25.2，及び最小値と最大値は4及び110であった．なお，標準液の蛍光強度は34であった．

## ま　と　め

本来，スクリーニング検査法としての有用性を比較するためには，正常群と患者群の比較を行うべきであるが，当所にはムコ多糖症Ⅰ型患者の検体を保有していないため，正常群のみの検体を用い，検査法の操作性と迅速化の可能性について調べた．酵素反応時間4時間でも遊離されるMU由来に基づく蛍光の増大が確認できることから，従来法の反応時間20時間を4時間に短縮化できる可能性は示唆された．しかし，今後，正常群と患者群との比較が必要であると考えられた．

## 文　献

1．Chamoles N. A., Blanco M. B., Gaggioli D., Casentini C.(2001).Clin. Chem. 47 (12), 2098-2102.
2．花井潤師，田上泰子，野町祥介ほか（2005）．日本マス・スクリーニング学会誌15(1), 33-39.
3．鈴木　健，大和田　操，北川照男（2008）．日本マス・スクリーニング学会誌18(2), 61.

平成23年12月16日

# 均衡型相互転座染色体の切断点の分布
## －反復流産を主訴とした症例から－

林　美貴子　　高森　亮輔　　品川　保弘

# Analyses of Breakpoints of Reciprocal Translocation Chromosomes with Balanced Condition : Report of Patients Diagnosed as Habitual Abortions

Mikiko HAYASHI, Ryosuke TAKAMORI and
Yasuhiro SHINAGAWA

均衡型相互転座染色体とはヒトの46本の染色体の2か所以上の部分に同時に切断が生じ，偶然に入れ替わって修復し，さらに遺伝子の過不足（増減）が生じなかった状態の染色体のことをさしている．その均衡型相互転座染色体を保有する人が相互転座保因者であり，その多くは臨床的に正常であるが，将来の妊性について追跡した集団調査はいまだない状態である．そのため，流産を繰り返した夫婦や子が不均衡型相互転座と診断された両親が染色体検査を行い，初めて均衡転座保因者と診断されることがある．不均衡型相互転座を持つ児の両親の研究から，相互転座染色体切断点の分布に偏りがみられたという報告がある〔1〕．また，新生児集団の染色体異常調査では相互転座保因者（Robertson 転座保因者を含む）は約0.37％に認められ，その8割は親から受け継いだものと推定されている〔2〕．

今回われわれは当所で染色体分析を行ったうち，反復流産および習慣流産を主訴とした夫婦の染色体検査を行った中で発見された相互転座保因者の転座染色体切断点と生児の有無等について調査した．また，遺伝子を含まないと考えられているサテライト部分を修復時に失っている Robertson 転座も相互転座とほぼ同じと考えられるため，今調査に含めた．

## 対象および方法

反復流産および習慣流産を主訴として1,132人の染色体検査を行った．その中で，染色体異常が発見された45人中，相互転座保因者34人と Robertson 転座保因者8人を対象とした．また，各家系は独立したものと推定した．

染色体検査は通常の血液による分析法に従った．染色体切断点については G バンド法による400バンドから500バンド相当のレベルで分析を行った〔ISCN〕．なお，正常変異といわれている9番染色体動原体近傍の逆位は今報告では含めなかった．

## 結　果

流産を繰り返す理由を主訴として染色体検査を行った1,132人中，45人に染色体異常が発見された（異常率3.98％）．その内訳は男性23人，女性22人であった（表1）．男性では相互転座が多くを占めたが，女性でも相互転座が最も多く，さらに，Robertson 転座が明らかに男性より多かった．

均衡型相互転座染色体の切断点を染色体模式図に表示し，観察された人数を〔●：流産のみ，○：流産および生児あり〕で示した（図1）． 34人から観察された51か所の切断点のうち，1q42が5人と最も多く，次いで，12p13と14q24が各3人であった．3q29，4q31，

表 1　染色体異常の内訳

| | 夫 | 妻 | 計 |
|---|---|---|---|
| 相互転座 | 21(4) | 13(3) | 34(7) |
| Robertson 転座 | 1 | 7(4) | 8(4) |
| 逆位 | 1 | | 1 |
| トリプル X | | 1 | 1 |
| ﾏｰｶｰ染色体 | | 1 | 1 |
| 計 | 23(4) | 22(7) | 45(11) |

(内；生児あり)

表 2　Robertson 転座染色体の種類別頻度

| 染色体番号 | 13 | 14 | 15 | 21 | 22 |
|---|---|---|---|---|---|
| 13 | | | | | |
| 14 | 4(3) | | | | |
| 15 | | | | | |
| 21 | 1 | 1(1) | | 1 | |
| 22 | | 1 | | | |

(内；生児あり)

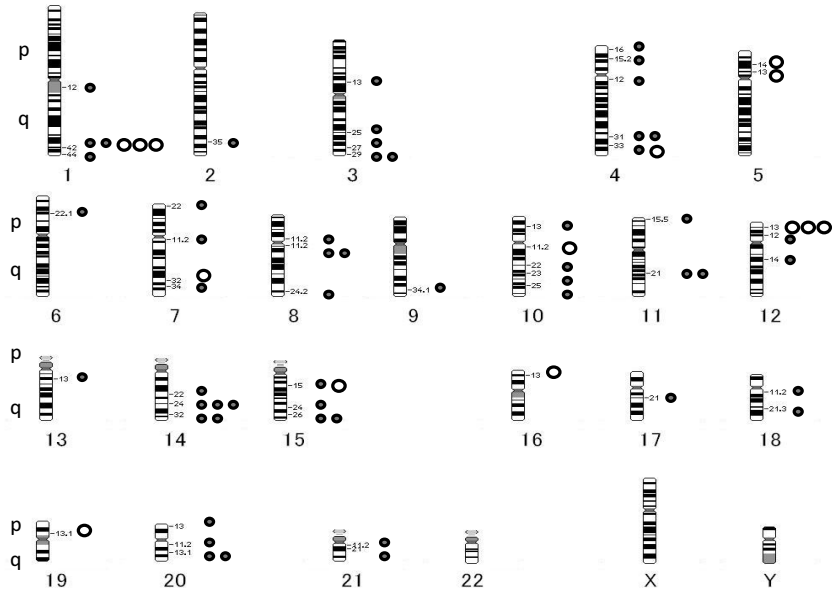



**図1　相互転座の切断点の分布**

**p;短腕　q;長腕　●;流産のみ　○;流産＋生児あり**

8q11.2，11q21，14q32，15q15，15q26と20q13.1が各2人に観察された．

また，生児がいた症例（児については染色体検査未実施のことが多い）も1q42，12p13に偏りが認められた．

また，Robertson 転座は13，14，15，21，22番染色体の動原体部分の切断・再結合によって生じるがこの場合にも染色体の偏りが認められ，13；14転座が最も多く観察された．また，Robertson 転座では児を得ることが多いと思われた．

## 考　察

流産を繰り返すを主訴として染色体検査を行ったなかで発見された均衡転座における切断点の偏りについて自験例を調査した．理論上，染色体上のすべての部分において切断，再結合（修復）が可能と考えられたが，数か所に偏りが観察された．また，出産経験例についても偏りが観察された．大石の報告〔1〕にある不均衡型相互転座を出産した症例で観察された切断点と一部は一致（5p，18q，21q）したが他は一致しなかった（1q，3q，12p，20q など）．また，Cohen ら（1979）は染色体不均衡が欠失2%以下／重複４%以下であれば出生する可能性があると報告している〔3〕．これは減数分裂の際，切断点の位置によって不均衡な部分の大きさが決まってくるためと考えられた．

ヒトのゲノムあたりの遺伝子数を仮に25,000として考えると，現行の染色体検査の500バンドレベルでは1バンドあたりの遺伝子数は平均50になると考えられている〔4〕．このため，検出限界である1バンドレベルの過不足であっても何らかの臨床症状を示し，出生に至ることは難しいと思われた．しかし，何代も転座染色体を保有していると考えられる家系もあり，そのような場合，減数分裂を経ても，遺伝子／染色体の過不足が生じにくい部分の可能性があることや生存に重要な遺伝子の存在の有無も考慮しなければならないと思われた．

一般に習慣流産の原因の中で均衡型の染色体異常保有を原因とする場合，他の理由による場合よりも生児を得る可能性が高いといわれている．今調査ではその中でも，染色体切断点による差が認められたため，今後，さらに文献例や不均衡型構造異常児の両親の検査と合わせ検討し，次回妊娠時などの遺伝相談の資料として活用できるように調査していく予定である．

## 文　献

1．大石英恒（1996）．臨床染色体診断法，75－81,金原出版.
2．Jacobs,P.A.,Browne,C.,Gregson,N.,Joyce,C. and White,H.(1992).J.Med.Genet.,29:103-106.
3．Cohen,O.,Cans,C.,Mermet,M.A.,Demongeot,J. and Jalbert,P(1994).Hum.Genet.,93,188-194.
4．梶井正（2011）.染色体異常をみつけたら，13b. http://www16.ocn.ne.jp/^chr.abn/

平成23年12月16日

# 富山県における平成22年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

岩井　雅恵　　小原　真弓　　小渕　正次　　堀元　栄詞　　滝澤　剛則

## Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2010

Masae IWAI, Mayumi OBARA, Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, and Takenori TAKIZAWA

富山県衛生研究所ウイルス部では，感染症発生動向調査や行政依頼検査，一般依頼検査など，種々の目的によって検査を行っている．ここでは，平成22年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する．検査は，検体の種類や状態に応じて，常法に従い実施した．

平成22年4月から平成23年3月までに受け付けた被検者は延べ757例，検体別では糞便410，咽頭拭い液24，鼻腔拭い液286，唾液1，耳下腺液1，髄液21，尿11，血液（全血，血漿，血清，末梢血単核球など）39，吐物1，糞便由来cDNA32の計826件であった．また，食中毒事例に関連した食材及び拭きとり検体43件についても検査を行った．被検者757例中456例からウイルスあるいはリケッチアが検出された．

以上の成績を臨床診断名別，患者別に表1に示し，若干の解説を加えた．

**インフルエンザ**：県内の医療機関を受診した患者257症例（鼻腔拭い液257）について検査を行った．

昨シーズン（平成21/22）終期の4，5月に，4症例からAH1型インフルエンザウイルス｛A（H1N1）pdm09｝が検出されたが，H22/23シーズンでは，流行期前の9，10月に2症例からAH3型インフルエンザウイルスが検出された．流行期の12月～3月にはAH1型インフルエンザウイルスが主流を占め（125症例），次いでB型インフルエンザウイルスが73症例から，AH3型インフルエンザウイルスが28症例から検出された． また，12月の1症例からアデノウイルス3型が検出された．

**上気道炎・下気道炎**：4～9月，12月，1月に計23症例（咽頭拭い液4，鼻腔拭い液19，髄液1，糞便1） について検査を行った．検出されたウイルスは，メタニューモウイルスが6症例からと最も多く，次いでライノウイルスが5症例から，その他，RSウイルス，アデノウイルス2型，エコーウイルス30型，コクサッキーウイルスB5型が検出された．

**脳炎・脳症**：計10症例（髄液9，血漿または血清6，末梢血単核球1，糞便4，咽頭拭い液5，尿4）の検査を行ったところ，10月の1症例の糞便からエンテロウイルス71型が，3月の1症例の糞便からロタウイルスA群がそれぞれ検出された．

**無菌性髄膜炎**：計6症例（髄液5，糞便1，咽頭拭い液3，鼻腔拭い液1）の検査を行ったところ，12月の1症例の髄液，糞便，及び咽頭拭い液からコクサッキーウイルスB4型が検出された．

**感染性胃腸炎**：集団発生事例では，食中毒および有症苦情事例を含む33事例（延べ297例，糞便264，吐物1，糞便由来cDNA32）について検査を行ったところ，5事例の16症例からノロウイルスGenogroup Ⅰ（GI）が，27事例の135症例からノロウイルスGIIが，1事例の1症例からサポウイルスが検出された．また，8事例においては，無症状者からもノロウイルスが検出された．月別では，平成22年4月に9事例，5月に3事例，6～7月に2事例， 8月に1事例，11月に1事例，12月に11事例，平成23年1月に1事例，2月に1事例， 3月に4事例それぞれ発生した．

小児科定点医療機関からは，計46症例（糞便46）の散発例の検査依頼があった．このうち34症例がウイルス検査陽性となり，検出されたウイルスの種類はノロウイルスGII，サポウイルス，ロタウイルスA群，アストロウイルス，アデノウイルス2型，31型，41型，エコーウイルス25型，30型，パレコウイルス1型，ポリオウイルス2型，3型（ワクチン株）等様々であった．これらのうち，ノロウイルスGIIが9症例から，アストロウイルスが6症例からと多く検出された．

**肝炎**：5～7月に計7症例（糞便7）の検査を行い，7症例からA型肝炎ウイルスが検出された．

**麻疹疑い**：計7症例（咽頭拭い液７，血漿7，末梢血単核球6，尿4）の検査を行ったが，いずれも麻疹ウイルスは検出されなかった．一方，8月の1症例（20代男

## 表1. 平成22年度 疾患別，月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

| 臨床診断名 | 検出病原体 | 平成22年（2010年） | | | | | | | | 平成23年（2011年） | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 2月 | 3月 | 合計 |
| インフルエンザ | （被検者数） | 4 | 1 | | | | 1 | 3 | 2 | 24 | 119 | 66 | 37 | 257 |
| | AH1型インフルエンザ | 3 | 1 | | | | | | | 2 | 84 | 29 | 10 | 129 |
| | AH3型インフルエンザ | | | | | | 1 | 1 | | 1 | 10 | 13 | 2 | 28 |
| | B型インフルエンザ | | | | | | | | | 19 | 14 | 17 | 23 | 73 |
| | アデノ3型 | | | | | | | | | 1 | | | | 1 |
| 上気道炎・下気道炎 | （被検者数） | 2 | 3 | 4 | 5 | 1 | 5 | | | 2 | 1 | | | 23 |
| | ライノ | 2 | 1 | | | 1 | | | | | | | | 4 |
| | ライノ+アデノ2型 | | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| | メタニューモ | | 1 | 1 | 2 | | 2 | | | | | | | 6 |
| | RS | | | 1 | 1 | | | | | | | | | 2 |
| | エコー30型 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| | コクサッキーB5 | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| 脳炎・脳症 | （被検者数） | 2 | 1 | | | 1 | | 2 | 1 | | | 1 | 2 | 10 |
| | エンテロ71型 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| | ロタA群 | | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| 無菌性髄膜炎 | （被検者数） | 1 | | 1 | | | | | 1 | 2 | | | 1 | 6 |
| | コクサッキーB4 | | | | | | | | | 1 | | | | 1 |
| 感染性胃腸炎 | （延べ被検者数） | 104 | 18 | 8 | 5 | 17 | | | 6 | 78 | 25 | 3 | 33 | 297 |
| （集団発生事例） | ノロGI[b] | 8 | 3 | | | | | | | | | | 5 | 16 |
| | ノロGII | 34 | 9 | | | | | | 4 | 54 | 14 | 3 | 17 | 135 |
| | サポ | | | | | | | | | | | | 1 | 1 |
| 感染性胃腸炎 | （被検者数） | 6 | 5 | 3 | 3 | 1 | 5 | 3 | 3 | 7 | 5 | 2 | 4 | 47 |
| （散発例） | ノロGII | 1 | 2 | 1 | | | | | 1 | 2 | 1 | | 1 | 9 |
| | ノロGII+ポリオ2型[c] | | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| | ノロGII+エコー25型 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 |
| | サポ | | | | | | | | | 1 | | 1 | | 2 |
| | サポ+エコー25型 | | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| | サポ+アデノ2型 | | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| | ロタA群 | 2 | | | | | | | | | 1 | | 1 | 4 |
| | ロタA群+エコー30型 | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| | アストロ | | | | | | 1 | | 1 | 3 | 1 | | | 6 |
| | アデノ31型 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| | アデノ41型 | | 1 | | 1 | 1 | | | | | | | | 3 |
| | アデノ41型+ポリオ3型[c] | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| | パレコ1型 | | | | | | 1 | 1 | | | | | | 2 |
| | ポリオ3型[c] | | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| 肝炎 | （被検者数） | | 5 | 1 | 1 | | | | | | | | | 7 |
| | A型肝炎 | | 5 | 1 | 1 | | | | | | | | | 7 |
| 麻疹疑い | （被検者数） | 1 | | | 1 | 1 | | | 1 | | 2 | 1 | | 7 |
| | ヒトヘルペス6型 | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| | 風疹 | | | | | 1 | | | | | | | | 1 |
| | ライノ | | | | | | | | | | 1 | | | 1 |
| 手足口病 | （被検者数） | | 3 | 7 | 4 | 2 | | 1 | | | | | | 17 |
| | エンテロ71型 | | 1 | | 1 | 1 | | | | | | | | 3 |
| | コクサッキーA6 | | | 6 | 2 | 1 | | | | | | | | 9 |
| | ライノ | | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| ヘルパンギーナ | （被検者数） | | | 1 | 2 | | | | | | | | | 3 |
| | コクサッキーA4 | | | | 2 | | | | | | | | | 2 |
| | コクサッキーA6 | | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| 耳下腺炎 | （被検者数） | | | | | | | | 2 | 1 | | | | 3 |
| | ムンプス+ライノ | | | | | | | | | 1 | | | | 1 |
| | ライノ | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| | エコー6型 | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| つつが虫病 | （被検者数） | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| | つつが虫病リケッチア | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| 無症状（ポリオ流行予測） | （被検者数） | | | | | | 9 | | | | 30 | 32 | | 71 |
| | コクサッキーB4 | | | | | | | | | | 1 | | | 1 |
| その他[a] | （被検者数） | 2 | 1 | 2 | 1 | | 2 | | 1 | | 1 | | | 10 |
| | － | | | | | | | | | | | | | 0 |
| 症例合計 | （被検者数） | 122 | 37 | 27 | 22 | 23 | 22 | 9 | 18 | 114 | 183 | 105 | 77 | 759 |
| | 病原体検出者数 | 53 | 26 | 14 | 12 | 5 | 5 | 5 | 9 | 85 | 128 | 63 | 61 | 466 |
| 食材、ふきとり | （検体数） | 12 | | | | | | | 8 | 8 | 10 | | 5 | 43 |
| | ノロGII | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |

■, 灰色の影で記した数は、無症状の施設関係者及び利用者を含む被験者数を示す.

a, その他: 4, 9月の計2症例は発疹症; 5, 7月の計2症例はサイトメガロウイルス感染症疑い; 9月の1症例はデング熱疑い; 4, 6, 11月の計4症例はライム病疑い; 1月の1症例は敗血症性ショック.

b, ノロGI: ノロウイルスGenogroup I.

c, ポリオウイルスは，型内型鑑別試験の結果，ワクチン由来株であった.

性）の咽頭拭い液，血清，及び尿から風疹ウイルスが検出された．4月の1症例（1才3ヶ月の乳幼児）の咽頭拭い液からヒトヘルペスウイルス6型が，1月の1症例の咽頭拭い液からライノウイルスがそれぞれ検出されたが，疾患との関連性は不明である．

**手足口病**：5〜10月に計17症例（糞便11，鼻腔拭い液6）の検査を行ったところ，3症例からエンテロウイルス71型が，9症例からコクサッキーウイルス A6型が，1症例からライノウイルスがそれぞれ検出された．

**ヘルパンギーナ**：6〜7月に計3症例（糞便1，鼻腔拭い液2）の検査を行ったところ，2症例からコクサッキーウイルス A4型が，1症例からコクサッキーウイルス A6型が検出された．

**耳下腺炎**：11〜12月に計3症例（咽頭拭い液2，耳下腺液1，唾液1，髄液1，血清1，糞便1）の検査を行ったところ，1症例の唾液からムンプスウイルスとライノウイルスが，1症例の咽頭拭い液及び糞便からライノウイルスが，1症例の髄液からエコーウイルス6型がそれぞれ検出された．

**つつが虫病**： 11月に1症例（血液3）の検査を行ったところ，つつが虫病リケッチア（Kawasaki 型）が検出された．

**無症状**：ポリオ流行予測調査事業により，0〜6歳までの健康な乳幼児の糞便を対象にウイルス検査を行った．9月および1〜2月に計71名の検査を行ったが，ポリオウイルスは検出されなかった．一方，1月に1症例からコクサッキーウイルス B4型が検出された．

**その他**：4，9月に計2症例の発疹症（糞便1，咽頭拭い液1，鼻腔拭い液1，血清1），5，7月に計2症例のサイトメガロウイルス感染症疑い（糞便2，咽頭拭い液2，髄液1，血清2，尿2），9月に1症例のデング熱疑い（血漿または血清2，末梢血単核球1，尿1），1月に1症例の敗血症性ショック（糞便1）の検査を行ったが，ウイルスは検出されなかった．また，4，6，11月に計4症例のライム病疑い（血清または血漿7，末梢血単核球1，髄液4）の検査を行ったが，ボレリアは検出されず，血液中の抗体価の上昇もみられなかった．なお，うち2症例は国立感染症研究所に検査を依頼した．

**食材，拭き取り検体**：食中毒事例に関連して，食材33検体，拭き取り10検体についてウイルス検査を行ったところ，4月の1検体（食材）からノロウイルス GII が検出された．

ウイルス分離検査は結果が判明するまでに時間がかかりますが，今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります．ご多忙の中でご理解，ご協力をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深く御礼申し上げます．

# 富山県における市販鶏肉のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌汚染実態調査（2010年）

嶋　智子　　磯部　順子　　金谷　潤一　　木全　恵子　　倉田　毅
綿引　正則　　出村　尚子[1]

# Survey of *Campylobacter* and *Salmonella* Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2010)

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Junichi KANATANI, Keiko KIMATA, Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI and Naoko DEMURA[1]

2010年の厚生労働省食中毒統計[1]によると，細菌性食中毒のうち，カンピロバクターによる食中毒は発生件数ではもっとも多く，患者数ではサルモネラ属菌に次いで2番目に多く発生している．富山県内でも，2010年にはカンピロバクターによる集団食中毒が2件発生している．また，地衛研や保健所からのカンピロバクター検出報告数は2003年以降増加して毎年1,000人を超え[2]，実際のカンピロバクター腸炎患者数は年間約150万人と推定されており[3]，散発食中毒事例も多く発生しているという特徴がある．さらに，カンピロバクター感染は手足の麻痺などの症状を呈する神経疾患のギラン・バレー症候群の発生と疫学的な関連があるとされている．

2010年のサルモネラ属菌による食中毒は，患者数ではもっとも多く，発生件数ではカンピロバクターに次いで2番目に多く発生していた [1]．近年，サルモネラ食中毒は減少しているものの，2006年には *Salmonella* Enteritidis により死亡例も報告されており，注意を要する．長い間，鶏卵および卵製品中の *S.* Enteritidis を原因とする事例が多かったが，近年では原因食品が特定されない事例が多く認められる[4]．

細菌性食中毒の原因の上位を占めているカンピロバクターおよびサルモネラ属菌は鶏の腸管内に生息しているため，鶏肉にはこれらの細菌が付着している可能性が高い．したがって，鶏肉を原因とする食中毒を未然に防止するためには，県内に流通している鶏肉におけるカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の汚染実態を把握することが重要である．

ここでは，2010年の調査結果を報告する．

## 材料および方法

### 1．材料

2010年5月から2011年3月に県内12か所の店舗で購入した市販鶏肉139検体（モモ肉32検体，ささみ32検体，手羽先31検体，レバー14検体，砂肝21検体，ムネ肉4検体，ひき肉5検体）について，カンピロバクターおよびサルモネラ属菌の汚染実態を調査した．また，上記12か所の店舗のうち2か所（A，B）の鶏肉（モモ肉，ささみ，手羽先のみ）については，同一検体からカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数を調査した．

### 2．一般生菌数の測定

鶏肉25gに BPW 培地（栄研化学）225mlを加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした．自動スパイラルプレーター WASP（GSI クレオス）を用いて，50 μl，スパイラルモードで試料原液を標準寒天培地に塗沫した．35℃，48時間培養後に Countermat Flash 5（IUL instruments）を用いて菌数を測定し，鶏肉中の生菌数を算出した．

### 3．カンピロバクターの検出

鶏肉25g にニュートリエントブイヨン No.2（Oxoid）100 ml を加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした．試料原液10 ml を中試験管に採り，プレストンカンピロバクター選択サプリメント SR117（Oxoid）およびウマ溶血液（関東化学）を添加し，42℃1～2日間微好気培養後，mCCDA 培地（Oxoid）に塗抹し，42℃2～3日間微好気培養した．微好気培養にはアネロパック・微好気（三菱ガス化学）

1．富山県厚生部生活衛生課

を使用した．生育した疑わしいコロニーについて1検体から5個以上を血液寒天培地で純培養後，キレックス液（5%W/V Chelex-100，バイオラド，10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH8.0）に懸濁し，100℃10分間処理してDNAを抽出した．*C. jejuni*，*C. coli*を含む6菌種のカンピロバクター属菌を検出可能なマルチプレックスPCR法[5]を用いて菌種同定を行った．菌数は，試料原液10 mlを1段階目とするMPN法（3本×3段階）を行い，カンピロバクターが検出された試験管数から100gあたりのMPNを算出した．

### 4. サルモネラ属菌の検出

鶏肉25gにBPW培地225mlを加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした．35℃で一晩培養後，ハーナーのテトラチオネート培地（栄研化学）に1ml，ラパポート培地（栄研化学）に0.1mlそれぞれ接種し，42℃で一晩培養した．各増菌液をクロモアガーサルモネラ培地（CHROMagar），MLCB培地（日水製薬），XLD培地（栄研化学）に塗抹し，35℃で一晩培養した．生育した疑わしいコロニーについて1平板から3コロニーを釣菌し，生化学的性状，血清型を確認して同定した[6]．菌数は，試料原液10mlを1段階目とするMPN法（3本×3段階）を行い，サルモネラ属菌が検出された試験管数から100gあたりのMPNを算出した．

## 結果および考察

### 1. 一般生菌数

鶏肉139検体の生菌数は，平均$1.8\times10^5$cfu/gであった．部位別では，レバーが$1.1\times10^5$cfu/g，手羽先が$2.5\times10^5$cfu/g，砂肝が$9.5\times10^4$cfu/g，モモ肉が$1.9\times10^5$cfu/g，ささみが$9.1\times10^4$cfu/gであった．

### 2. カンピロバクター検出結果

鶏肉139検体中89検体（64.0%）からカンピロバクターが検出された．部位別にみると，レバー14検体中12検体（85.7%），手羽先31検体中25検体（80.6%），砂肝21検体中15検体（71.4%），モモ肉32検体中19検体（59.4%），ささみ32検体中15検体（46.9%）であった（表1）．菌種別では，*C. jejuni*のみ検出されたものが67検体（48.2%），*C. coli*のみ検出されたものが6検体（4.3%），*C. jejuni*と*C. coli*両方が検出されたものが16検体（11.5%）であった．

モモ肉，ささみ，手羽先，レバーおよび砂肝について，カンピロバクターの季節別検出状況を表2および図1に示した．5～6月が26検体中17検体（65.4%），7～9月が24検体中21検体（87.5%），10～12月が32検体中23検体（71.9%），1～3月が48検体中25検体（52.1%）であり，鶏肉からのカンピロバクター検出率は夏から秋にかけて高く，冬には減少する傾向がみられた．富山県内定点医療機関におけるカンピロバク

表1．鶏肉からのカンピロバクター検出率

| 部位 | 調査数 | カンピロバクター陽性数 | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | *C. jejuni* | *C.coli* | *C. jejuni*＋*C. coli* | 計 | （%） |
| モモ肉 | 32 | 14 | 0 | 5 | 19 | 59.4 |
| ささみ | 32 | 10 | 2 | 3 | 15 | 46.9 |
| 手羽先 | 31 | 17 | 1 | 7 | 25 | 80.6 |
| レバー | 14 | 9 | 3 | 0 | 12 | 85.7 |
| 砂肝 | 21 | 14 | 0 | 1 | 15 | 71.4 |
| ムネ肉 | 4 | 2 | 0 | 0 | 2 | 50.0 |
| ひき肉 | 5 | 1 | 0 | 0 | 1 | 20.0 |
| 計 | 139 | 67 | 6 | 16 | 89 | 64.0 |

表2．鶏肉からのカンピロバクター季節別検出状況

| 部位 | 5～6月 | | 7～9月 | | 10～12月 | | 1～3月 | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 調査数 | 陽性数 | 調査数 | 陽性数 | 調査数 | 陽性数 | 調査数 | 陽性数 |
| モモ肉 | 6 | 2 | 6 | 6 | 8 | 4 | 12 | 7 |
| ささみ | 6 | 4 | 6 | 3 | 8 | 5 | 12 | 3 |
| 手羽先 | 6 | 6 | 6 | 6 | 8 | 7 | 11 | 6 |
| レバー | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 5 | 3 |
| 砂肝 | 5 | 2 | 3 | 3 | 5 | 4 | 8 | 6 |
| 計 | 26 | 17 | 24 | 21 | 32 | 23 | 48 | 25 |
| | | （65.4%） | | （87.5%） | | （71.9%） | | （52.1%） |

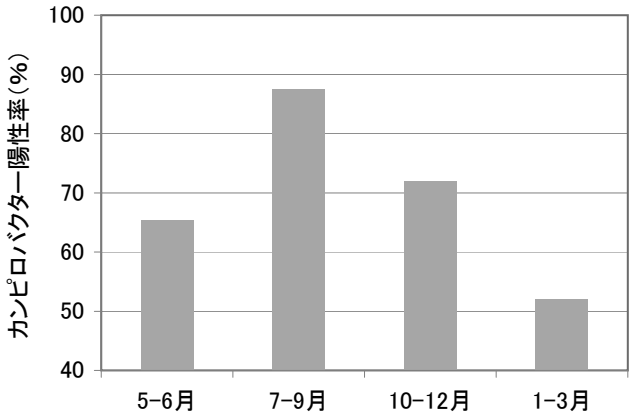



図１．鶏肉におけるカンピロバクター季節別陽性率

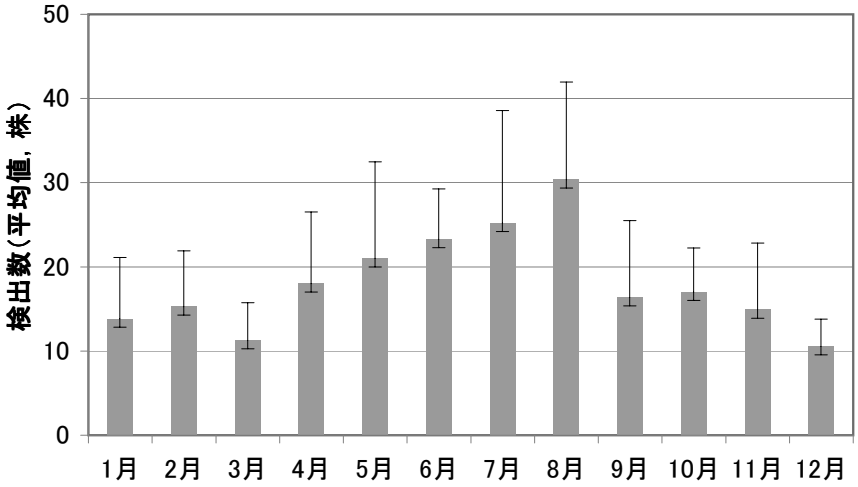



図２．富山県内医療機関におけるカンピロバクター検出状況（2000～2010年)

表3.　鶏肉からのサルモネラ属菌検出率

| 部位 | 調査数 | 陽性数 | （%） |
|---|---|---|---|
| 手羽先 | 31 | 23 | 74.2 |
| モモ肉 | 32 | 22 | 68.8 |
| レバー | 14 | 8 | 57.1 |
| 砂肝 | 21 | 11 | 52.4 |
| ささみ | 32 | 13 | 40.6 |
| ムネ肉 | 4 | 4 | 100.0 |
| ひき肉 | 5 | 4 | 80.0 |
| 計 | 139 | 85 | 61.2 |

ター検出状況を図2に示したが，患者からのカンピロバクター検出状況も5～7月に多い傾向がみられた．全国の状況も同様の傾向であった[7]．*C. jejuni* や *C. coli* の発育には微好気条件かつ30℃以上の温度が必要であり，通常食品中での増殖はないと考えられている．しかし，カンピロバクターは少ない菌量でも発症するため，鶏肉における汚染状態と患者からのカンピロバクター検出状況が比較的良く相関していたものと思われる．

### 3. サルモネラ属菌検出結果

鶏肉139検体中85検体（61.2%）からサルモネラ属菌が検出された．部位別にみると，手羽先31検体中23検体（74.2%），モモ肉32検体中22検体（68.8%），レバー14検体中8検体（57.1%），砂肝21検体中11検体（52.4%），ささみ32検体中13検体（40.6%）であった（表3）．血清型別では，*S.* Infantis が最も多く，サルモネラ属菌陽性であった85検体中61検体（43.9%）で検出された．そのほか，*S.* Schwarzengrund（10検

表4. 鶏肉から検出されたサルモネラ属菌の血清型

| | 手羽先 | モモ肉 | レバー | 砂肝 | ささみ | ムネ肉 | ひき肉 | 計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 調査数 | 31 | 32 | 14 | 21 | 32 | 4 | 5 | 139 |
| 血清型 | | | | | | | | |
| *S.* Infantis | 14 | 14 | 7 | 9 | 10 | 4 | 3 | 61 |
| *S.* Schwarzengrund | 2 | 5 | | 1 | 1 | | 1 | 10 |
| *S.* Manhattan | 5 | 1 | | | 1 | | | 7 |
| *S.* Isangi | 2 | 1 | 1 | 1 | | | | 5 |
| *S.* Hadar | 2 | 1 | | | | | | 3 |
| *S.* Eppendorf | 1 | 1 | | | | | | 2 |
| *S.* Braendereup | 1 | 1 | | | | | | 2 |
| *S.* Agona | | 1 | | | | | | 1 |
| Untypeable | | 1 | | 1 | 1 | | | 3 |
| 計 | 27 | 26 | 8 | 12 | 13 | 4 | 4 | 94 |

表5. 鶏肉中のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数

| | | | 菌数(MPN/100g) | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 店舗 | 部位 | 菌種 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 2月 | 3月 |
| A | モモ肉 | カンピロバクター | <15 | <15 | 465 | 465 | 1,200 | 1,200 | <15 | <15 | 5,500 | <15 | 1,200 |
| | | サルモネラ属菌 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | 36 | 92 | <30 | <30 |
| | ささみ | カンピロバクター | 15 | 15 | 20 | <15 | <15 | 1,200 | 55 | 20 | 75 | <15 | 465 |
| | | サルモネラ属菌 | <30 | <30 | <30 | 92 | <30 | <30 | 36 | <30 | <30 | <30 | <30 |
| | 手羽先 | カンピロバクター | 1,200 | 1,200 | 1,200 | 1,200 | 5,500 | 95 | 465 | 95 | 750 | 115 | >5,500 |
| | | サルモネラ属菌 | 92 | <30 | 430 | 36 | 30 | 150 | <30 | 36 | 36 | <30 | <30 |
| B | モモ肉 | カンピロバクター | <15 | 100 | 2,300 | 65 | >5,500 | 180 | 750 | 465 | <15 | >5,500 | 180 |
| | | サルモネラ属菌 | <30 | 72 | <30 | 36 | 230 | <30 | <30 | 36 | <30 | <30 | 230 |
| | ささみ | カンピロバクター | <15 | 20 | <15 | 20 | 35 | <15 | 20 | 20 | <15 | <15 | 15 |
| | | サルモネラ属菌 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 |
| | 手羽先 | カンピロバクター | 15 | 20 | 75 | 45 | 45 | 1200 | 20 | 20 | –* | 215 | <15 |
| | | サルモネラ属菌 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | <30 | 36 | 930 | – | <30 | <30 |

* 調査未実施

体），*S.* Manhattan（7検体），*S.* Isangi（5検体）など，計8種類の血清型が検出された（表4）．2010年に富山県内医療機関において患者から検出されたサルモネラ属菌25株の血清型を調査したところ，鶏肉から分離された血清型と同じ血清型は，*S.* Infantis が9株(36.0%)，*S.* Schwarzengrund が2株（8.0%），*S.* Manhattan が1株（4.0%）で，計12株（48.0%）であった[データ未発表]．鶏肉由来株と患者由来株の血清型分布が大きく異なっている理由については，1）サルモネラ属菌による食中毒が鶏肉以外の原因食品により主に発生している，2）鶏肉からの培養法による検出過程で特定の血清型菌が選択されている，3）各血清型菌のヒトに対する病原性に差があるため，医療機関を受診した患者から検出される血清型と鶏肉から検出される血清型の分布が異なっている，といった可能性が考えられるが，現在のところ，理由は不明である．

### 4. カンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数

鶏肉中のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数を表5に示した．カンピロバクターの菌数は，<15～>5,500/100g であった．部位別にみると，ささみは店舗 A における10月，3月の2検体を除くすべての検体が100 g あたり100以下であり，昨年の結果[8]と同様，他の部位と比べて菌数が少なかった．上述したように，検出率は夏から秋にかけて高い傾向がみられたが，菌数については時季により変動する傾向はみられなかった． ささみは「鶏わさ」と称して生で食される場合があるが，他の部位と比べて菌数が少なかったことから，カンピロバクターによる食中毒の原因としては，生食よりも菌数の多い鶏肉部位による二次汚染もしくは加熱不十分により発生している事例が多いのではないかと推測される．しかし，ささみでも菌数が1,200/100g の検体もあるため，食中毒予防のためには十分に加熱する必要がある．

サルモネラ属菌の菌数は，<30～930/100g であった．このうち47/65検体（72.3%）が<30/100g であり，

カンピロバクターと比べて菌数は非常に少なかった．なお，同一検体におけるカンピロバクターとサルモネラ属菌の菌数にはとくに相関性はみられず，どちらかの菌が多いからといって他方の菌も多いということはなかった．

今回の調査でカンピロバクターおよびサルモネラ属菌のいずれかが検出されたのは，鶏肉139検体中120検体（86.3%）であり，うち53検体（38.1%）では両方が検出された．モモ肉および手羽先では，カンピロバクター菌数が>5,500/100g の検体もみられた．市販鶏肉はカンピロバクターおよびサルモネラ属菌に高率に汚染されていることから，食中毒予防のため生肉処理段階での適切な取扱い，ならびに十分な加熱調理を行う必要がある．

## 謝　辞

本調査の実施にあたり，検体収集等にご協力いただきました富山県生活衛生課および各厚生センターの関係各位に深謝いたします．

## 文　献

1. 厚生労働省（2010）. 食中毒統計資料，http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html.
2. 国立感染症研究所（2010）. 病原微生物検出情報月報，31，1-3
3. 窪田邦宏，春日文子（2009）. 平成21年度厚生労働科学研究費補助金　食品の安心・安全確保推進研究事業，食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究，分担研究報告書，117-136
4. 国立感染症研究所（2009）. 病原微生物検出情報月報，30，1-11
5. Yamazaki-Matsune, W., Taguchi, M., Seto, K., Kawahara, R., Kawatsu, K., Kumeda, Y., Kitazato, M., Nukina, M., Misawa, N. and Tsukamoto, T.（2007）. J. Med. Microbiol., 56, 1467-1473
6. 食品からの微生物標準試験法検討委員会．サルモネラ属菌標準試験法　NIHSJ-01-ST4（090218），http://www.nihs.go.jp/fhm/kennsahou-index.html
7. 国立感染症研究所　感染症情報センター．病原微生物検出情報，カンピロバクター月別分離報告数，https://hasseidoko.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data51j.pdf
8. 金谷潤一，磯部順子，木全恵子，嶋　智子，倉田毅，綿引正則（2010）. 富山衛研年報，33，140-142

平成23年12月16日

# 富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2010)

木全　恵子　　嶋　智子　　金谷　潤一　　磯部　順子
倉田　毅　　綿引　正則

## Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infectious diseases detected in Toyama Prefecture, 2010

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

2010年1月から12月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）感染事例は11件であり，感染者は35名であった.その内訳はO157感染症が10件（感染者33名）,O111感染症が1件（感染者2名）であった（表1）. 以下にこれらの感染事例についてその概要，疫学的解析結果を報告する.

**2010年における EHEC 感染症発生状況：** 2010年の富山県における EHEC 感染事例数および感染者数は前年（14件，31名）に比べ，大きな変動はなかった．発生形態は，集団感染が1件，家族内感染が2件であった（表1）．また，検便等による無症状病原体保有者の探知は散発1件（表1, 事例8）であった.

EHEC 感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した.本年は5-6月に3件，8月に4件，9-10月に3件と，8月が最も多かった(図1)．感染者の年齢層は，保育園における O157集団感染事例の発生により，全感染者に占める10歳未満感染者の割合が全体の57.1%と高かった.次いで30歳代が14.3%，70歳以上が11.4%であったが，40歳代から60歳代の感染者はいなかった(図2).

感染者全体における有症者の割合は60.0%（有症者21名，うち HUS 1名を含む）であった.このうち，70歳代の感染者は全て有症者であったが，10歳未満における有症者の割合は50%と全体の割合より低かった(図2).

性別では男性16名のうち有症者13名(81.3%)，女性19名のうち有症者8名(42.1%）と男性における有症者の割合が高かった.

表1. 腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2010)

| 事例No. | 発生時期 | 感染者数（名） | 発生態様 | 大腸菌血清型 | ベロ毒素遺伝子型 |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 2010.1 | 3 | 家族内感染 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 2 | 2010.5 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 3 | 2010.6 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx2* |
| 4 | 2010.6 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 5 | 2010.8 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 6 | 2010.8 | 22 | 集団感染 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 7 | 2010.8 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 8 | 2010.8 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 9 | 2010.9 | 2 | 家族内感染 | O111:HNM | *stx1* |
| 10 | 2010.10 | 1 | 散発 | O157:H7 | *stx1stx2* |
| 11 | 2010.10 | 1 | 散発 | O157* | |
| O157 10件(33名), O111 1件(2名) | | | | 計　11件(35名) | |

*事例11は血清診断(血中のO157抗体価)による事例(菌未分離)

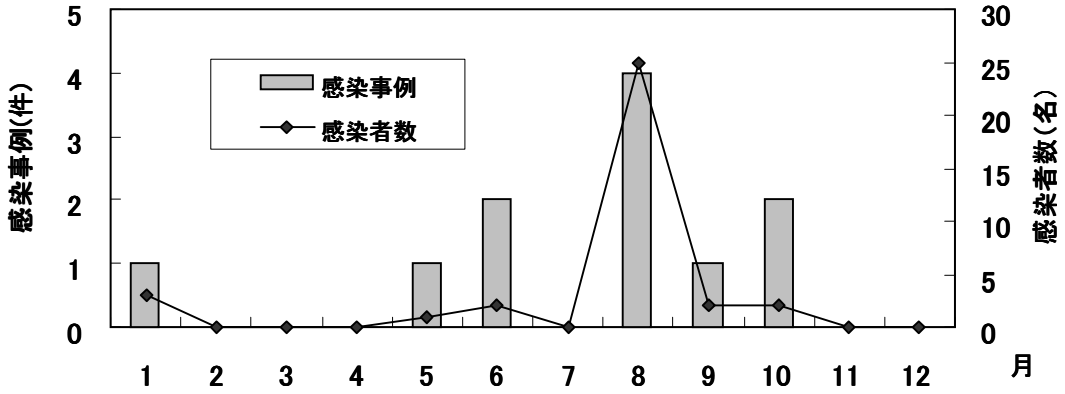



図１．富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向(2010)

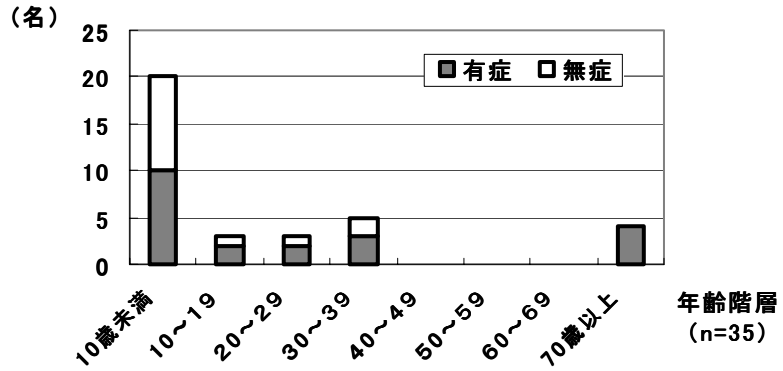



図２．年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

**分離株の薬剤感受性：** EHEC 分離株について薬剤感受性試験を行った.感受性試験の対象とした薬剤は12薬剤（NFLX，OFLX，NA，KM，GM，FOM，ABPC，ST，TC，CL，CEZ，CP）である．これらの薬剤についてCLSIのプロトコールに準拠し，Kirby-Bauer法に基づいたディスク法（センシ・ディスク，日本ベクトン・ディッキンソン）による薬剤感受性試験を行った [1,2]. 供試菌株は，事例11をのぞく各事例の代表株，O157 11株，O111 1株である．事例11はＨＵＳ患者の血清診断による血中O157抗体価により感染が確認された事例であり，菌未分離であった.なお，O157 11株の内訳は事例6のPFGEパターンの異なる3株（後述参照）及び他のO157感染事例由来各1株である（表1).

解析対象株のうち,上記12薬剤のいずれかに耐性を示した株は5株（41.7%）であった.その内訳はTC耐性5株（事例2，事例10代表株各1株，事例6由来2株），ST・TC耐性１株（事例5由来）であった.

**分離株の病原因子：**前述のO157 11株，O111 1株について病原因子遺伝子の確認を行った．病原因子遺伝子の確認は既報［3］に従い，CVD432，接着性病原因子遺伝子 *eaeA*，*aggR*，志賀毒素遺伝子 *stx1*（VT1遺伝子），*stx2*（VT2遺伝子），*invE*，*elt*（LT 遺伝子），*esth*（STh 遺伝子），*estp*（STp 遺伝子），*bfp*，EAF，*astA* についてマルチプレックス PCR による検索を行った.

各事例分離株における *stx1*及び *stx2*の保有状況は表1のとおりであり，*stx1*・*stx2*保有型 EHEC が10株（事例6由来3株を含む），*stx2*保有型 EHEC が1株，*stx1*保有型 EHEC が1株より分離された.また，全ての事例の分離株は *eaeA* を保有していた．*eaeA*，*stx1*，*stx2*以外の病原因子遺伝子は今回の分離株は全て陰性であった.

**パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による DNA 解析：**分離された EHEC34株について PFGE を行った．PFGE は制限酵素 *XbaI* を用いた標準化プロトコールに基づいて行った［4］．得られた PFGE パターンの解析は解析ソフト FingerPrinting Ⅱ（Bio-Rad）を用いて行った．デンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い,トレランス値は1.2%と

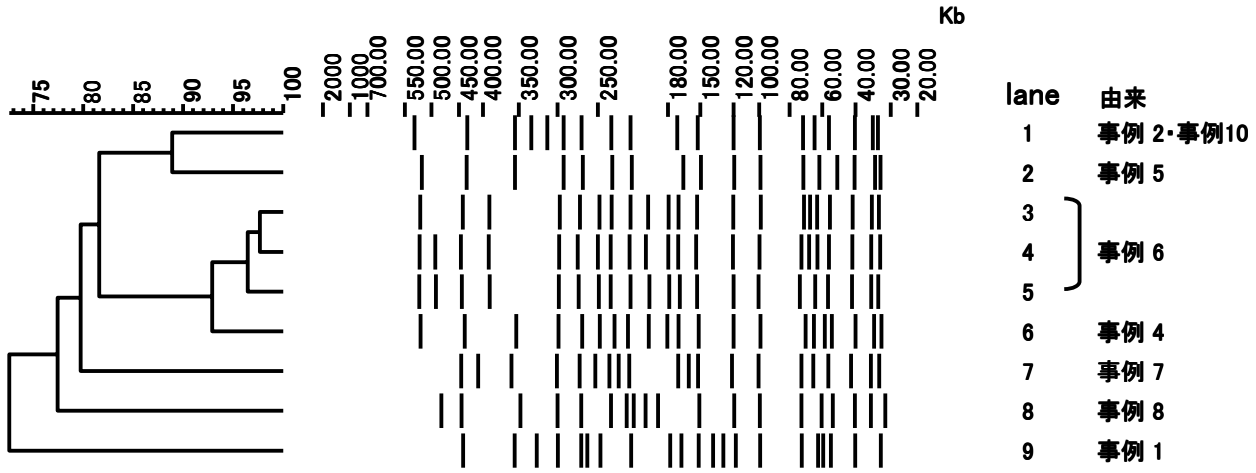



図３．O157(*stx1 stx2*) PFGE パターンのデンドログラム解析

した．このうち，2010年に複数事例発生した *stx1*・*stx2*保有型 O157株の PFGE パターンの解析は以下の通りであった．

2010年に分離された *stx1*・*stx2*保有型 O157株の PFGE パターンについてデンドログラムを図3に示した．なお，事例2・事例10の分離株の PFGE パターンは同一パターンであったが，これらの事例における疫学的関連性は不明であった（図3，レーン１）．他の事例由来の *stx1*・*stx2*保有型 O157株の PFGE パターンは全て事例ごとに異なっていた．O157事例6（集団感染事例）では3つの PFGE パターンが検出されたが，これらについては後に詳細を述べる（図3，レーン3，4，5）．

**集団発生事例**： 2010年8月から9月にかけて富山県内A 町の B 保育園において EHEC O157:H7（*stx1*・*stx2*，以下 O157)による集団感染事例(感染者22名，うち園児14名，家族等接触者8名)が発生した（表1，事例6)．その概要は以下の通りであった［5]．

2010年8月13日，医療機関から2歳保育園児の O157(*stx1*，後に *stx1*・*stx2*に訂正)による感染症発生届が提出された．患児の通う B 保育園関係者（園児，職員)について接触者検便調査を実施した結果，園児14名から O157が検出され，さらに家族内二次感染による O157感染者が8名判明した．有症者12名の症状は血便2名，下痢11名，腹痛5名，発熱4名であり，8月8日から15日までに発症していた（図4B)．また，本事例では一度は菌陰性が確認されたにも関わらず，再度菌が検出された再陽性者3名が報告され，初発届出から最終陰性確認まで約30日間を要した（図4A)．

民間検査機関で実施した初発患者分離株のベロ毒素産生はイムノクロマト法により *stx1*遺伝子より産生されるベロ毒素 VT1のみが確認された．しかし，管轄厚生センター及び当所における PCR 法によるベロ毒素遺伝子検査では初発患者分離株を含む本事例感染者分離株は全てベロ毒素遺伝子 *stx1*・*stx2*を保有していた．感染者22名の分離株について PFGE 解析を行なった結果，分離菌22株は3つのパターンに分類された（図3，レーン3，4，5)．最も多かったパターンⅠ(図3，レーン3)は22株中12株，パターンⅡ（図3，レーン4)は8株，パターンⅢ（図3，レーン5）は2株であった．また，3つの PFGE パターンの株について，前述の薬剤感受性試験を行った結果，違いが認められた．パターンⅠ及びパターンⅡの株は TC 耐性であり，パターンⅢの株は TC 感受性であった．

本事例においては，有症者の発症日が初発探知前後の8日間に分散していること(図 4 B)，保育園の給食，調理員から O157は検出されていないことなどから，給食等を介した同一暴露による感染ではないと考えられたが，感染源・感染経路を特定することはできなかった．しかし，感染が確認された園児14名のうち，12名は 0歳～3歳児クラスであること，特に同一保育室の利用者16名（0歳～1歳児クラスおよび3歳児クラスの一部園児）のうち感染者は7名(43.8%)と，他の保育室を利用していた園児における感染率（5.9%-28.5%）と比較して感染率が高かった．これらの疫学的調査から，本事例は保育園内のヒト－ヒト感染と推察された．

管轄厚生センターは B 保育園に対して給食室・プールの使用自粛，職員の衛生教育のほか，トイレ・手洗いを中心に消毒設備の整備と衛生管理の徹底などについて指導した．感染者宅には個々に訪問し，家庭における二次汚染防止について指導した．また，A 町と連携し，町内保育所に対する感染症予防研修会を実施した．

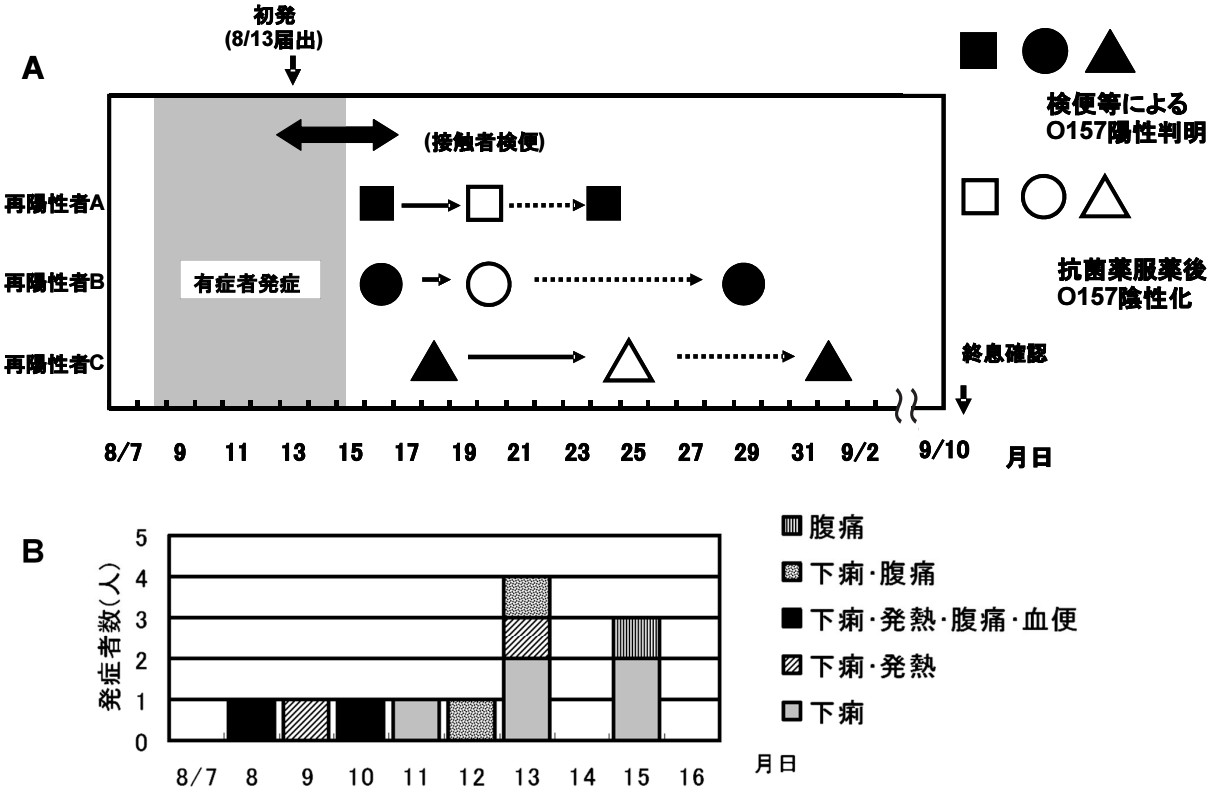



図４．事例６における O157再陽性者の検出と感染者症状
Ａ：O157再陽性者の検出
Ｂ：有症者の発症時期と症状

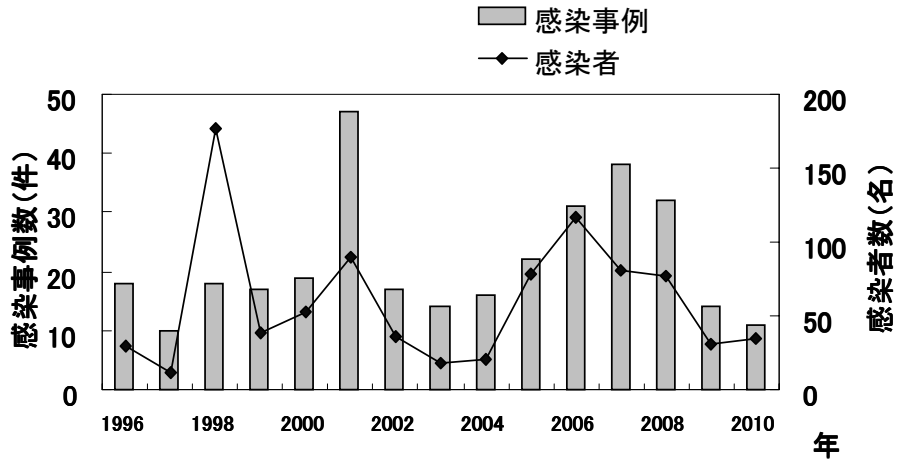



図５．腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

**全国における EHEC 感染症発生状況との比較**：2010年の全国における EHEC 感染者数は4,135名で，昨年に比べて増加しており，全国的に EHEC 感染症が多発している状況であった［6］．2010年の富山県における EHEC 感染症発生状況は，1996年以降において事例数は2番目に少なかった（図5）．人口10万対感染者数を見ると,富山県は3.21で，全国平均3.23とほぼ同様であり，北陸地方においては石川県（5.69），福井県（3.32）と比較すると EHEC 感染症の人口10万対感染者数は北陸地方で最も少なかった．

また，国立感染症研究所パルスネットによる解析から2010年に全国7県以上から同一の PFGE パターンを示す広域流行株が報告されている［6］が，本年の富山県内でこの広域流行株は検出されなかった．

**考察**：2010年の富山県における EHEC 感染症の事例

数は11件,感染者は35名であり，過去5年間の平均の約半分以下に減少した2009年の事例数，感染者数（14件，31名）とほとんど変化がなかった．

本年は保育園を中心としたEHEC集団感染が1例発生している(事例6)．この事例では当初初発感染者の分離株のVT1のみがイムノクロマト法により検出された．本事例を含め，イムノクロマト・RPLA等のVT2タンパク質の検出法では，VT2産生量の少ない株やVT2検出抗体と反応性の低い変異株の場合，VT2検出感度が低下するため，VT2産生が検出されず，PCRによる遺伝子検査結果と一致しない場合が報告されている[7，8]．本事例では，詳細な解析により，VT2産生量が少ないことが判明した．従ってPCR法による検査の重要性が改めて示された．

全国では2010年に7件の保育所を中心としたEHEC集団感染が発生しており，その内訳はO157による感染事例2件，O26による事例3件，O103・O121による事例が各1件であった．これらの事例は5月末から9月にかけて発生しており，ヒトーヒト感染による保育所および家族内感染の拡大を伴う事例が多いことから，夏季の簡易プール，トイレ・おむつ交換などの衛生管理が重要であると考えられる．

**謝辞**：本稿を終えるにあたり，ご協力頂きました厚生センター，富山市保健所，健康課の関係各位ならびに国立感染症研究所 寺嶋淳先生に深く感謝致します．

## 文　献

1．CLSI.（2005） Performance standards for antimicrobial susceptibility test. M100-S15
2．Kim, S.-R., Nonaka, L., Suzuki, S.（2004）. FEMS Microbiol. Lett., 237, 147-156
3．Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Tanaka, D., Isobe, J., Gyobu, Y., Watahiki, M., and Nagai, Y.（2005） Microbiol. Immunol., 49, 485-492
4．Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K.（2002） J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848
5．木全恵子，嶋智子，金谷潤一，磯部順子，倉田毅，佐多徹太郎，綿引正則，,柚木悦子　中嶋寿絵，横川博，小池美奈子，中島康文，南部厚子,大江浩（2011）病原微生物検出情報，32，135―136
6．寺嶋淳，伊豫田淳，泉谷秀昌，三戸部治郎，石原朋子，渡辺治雄（2011）病原微生物検出情報，32，125―129
7．尾崎延芳,大庭三和子，武田昭，鈴宮寛子，永井誠，添田有紀（2004）病原微生物検出情報，25，147-148
8．篠藤るみ，大野陽子，河合ゆみ，岡田正子，高岡勇二郎，中村清司，近藤弘一，浅野由紀子，烏谷竜哉，田中博，岡裕三，土井光徳．（2011）病原微生物検出情報，32，138-140

# 漁港における腸炎ビブリオ調査（2010年）

金谷　潤一　　磯部　順子　　木全　恵子　　嶋　智子
倉田　毅　　綿引　正則

Surveillance for *Vibrio parahaemolyticus* at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2010

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA,
Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

2010年の全国の食中毒発生状況によると，腸炎ビブリオは細菌性食中毒のうち，発生件数で第3位，患者数で第6位であった[1]．近年，腸炎ビブリオ食中毒は全国的に減少している．しかし，腸炎ビブリオは海水中に生息している細菌であり，環境中の菌数を制御することは困難であることから，食中毒を予防するためその分布状況を把握することは重要である．

富山県厚生部では，夏期に全国的に発生する腸炎ビブリオ食中毒防止のため，飲食店等に対する衛生指導に加え，富山湾における腸炎ビブリオの汚染実態調査を実施している．その一環として，富山県衛生研究所では1996年より「Vp（腸炎ビブリオ）マリン実態調査」という事業の中で，県内漁港の海水や魚介類等の腸炎ビブリオ汚染実態調査を行い，県民への食中毒注意報発令や効率的な監視指導のための科学的エビデンスを提供している．

ここでは，2010年の調査結果を報告する．

## 材料および方法

### 1.　調査定点

（1）漁港海水

富山県内の主要4漁港（生地，魚津，新湊および氷見）の海水について調査した（図1）．各漁港の併設市場前の，ある一定の場所を検体採取場所とした．

（2）市販魚介類

富山県内の魚介類販売業2施設（県東部Ａ施設および県西部Ｂ施設を選定）から魚介類を購入し，検体とした．

### 2.　調査期間

平成22年6～10月に実施した．6月および10月は月1回，7～9月は隔週で月2回，計8回実施した．

### 3.　検体採取

（1）漁港海水

各漁港の表層海水を柄杓で採取し，4時間以内に検査した．

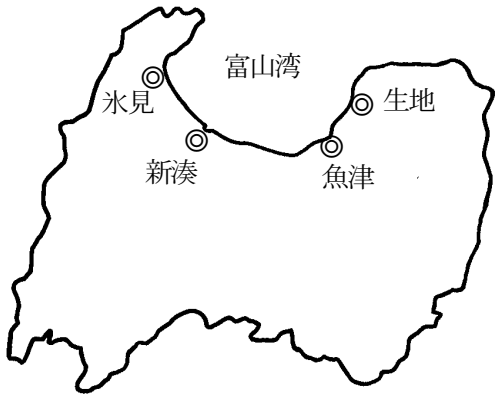



図１．採水漁港

（2）市販魚介類

調査1回につき，2施設から3魚種ずつ最大6検体購入し，冷蔵状態で搬入した．2010年は合計47検体であった．

### 4.　腸炎ビブリオ数の測定

（1）漁港海水

食塩ポリミキシンブイヨン（日水製薬）を用いたmost probable number（MPN）法（3本×5段階）で測定した [2]．

(2)市販魚介類

エラ，ヒレおよびウロコなどの魚体表面部位を10 g秤取し細切した後，90 mlの食塩ポリミキシンブイヨンを加え，1分間手揉みしたものを試料原液とした．空試験管に試料原液を10 ml接種したものを1段階目としたMPN法（3本×5段階）で測定した．腸炎ビブリオの同定および菌数の算出については，海水と同様に行った．

### 5.　海水の塩分濃度の測定

赤沼式比重計を用いて測定した [3]．

### 6.　海水からの耐熱性溶血毒遺伝子（tdh）の検出

海水1,000 mlを0.45 μmのメンブランフィルター

表１．漁港海水における腸炎ビブリオ菌数、海水温及び塩分濃度（‰）

| 漁港 | | 調査日 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 / 29 | 7 / 13 | 7 / 27 | 8 / 10 | 8 / 24 | 9 / 7 | 9 / 28 | 10 / 12 |
| 生地 | 腸炎ビブリオ | 9.0* | $2.1\times10^{1}$ | 9.0 | $2.9\times10^{1}$ | $2.4\times10^{2}$ | 7.0 | 9.0 | $4.3\times10^{1}$ |
| | 海水温（℃） | 18.7 | 18.3 | 21.6 | 22.5 | 21.9 | N.T.** | 17.7 | 18.1 |
| | 塩分濃度（‰） | 7.8 | 7.7 | 8.5 | 9.6 | 7.8 | 6.6 | 7.7 | 8.3 |
| 魚津 | 腸炎ビブリオ | < 3.0 | $1.5\times10^{1}$ | 7.0 | 9.3 | 9.0 | $1.6\times10^{1}$ | $2.1\times10^{1}$ | $1.1\times10^{1}$ |
| | 海水温（℃） | 21.4 | 21.4 | 27.1 | 29.0 | 28.8 | 27.7 | 21.8 | 22.2 |
| | 塩分濃度（‰） | 13.0 | 19.2 | 23.4 | 27.5 | 24.3 | 28.3 | 22.8 | 25.9 |
| 新湊 | 腸炎ビブリオ | $4.3\times10^{1}$ | < 3.0 | $4.6\times10^{2}$ | $3.6\times10^{1}$ | 9.2 | $1.6\times10^{1}$ | $2.9\times10^{1}$ | 3.0 |
| | 海水温（℃） | 23.0 | 22.8 | 27.0 | 30.0 | 30.0 | 30.0 | 23.0 | 24.0 |
| | 塩分濃度（‰） | 18.1 | 15.7 | 20.1 | 26.3 | 18.5 | 27.2 | 24.0 | 29.1 |
| 氷見 | 腸炎ビブリオ | < 3.0 | < 3.0 | 7.0 | <3.0 | $1.1\times10^{1}$ | $1.5\times10^{1}$ | 9.0 | $1.1\times10^{1}$ |
| | 海水温（℃） | 23.0 | 23.6 | 27.0 | 30.0 | 30.0 | 31.5 | 25.5 | 25.0 |
| | 塩分濃度（‰） | 31.7 | 27.7 | 34.8 | 33.7 | 32.6 | 34.3 | 31.7 | 33.4 |

* MPN 法による漁港海水 100 ml あたりの腸炎ビブリオ菌数

** 未測定

表２．魚介類からの腸炎ビブリオ菌数

| 調査日 | A 店 | 菌数 (MPN/100 g) | B 店 | 菌数 (MPN/100 g) |
|---|---|---|---|---|
| 6 月 29 日 | アジ | <30 | アジ | 40 |
| | タイ | 40 | イカ | <30 |
| | トビウオ | 40 | トビウオ | 40 |
| 7 月 13 日 | カワハギ | 30 | アジ | 70 |
| | サバ | 70 | アジ | 270 |
| | ハチメ | 110 | ボタンエビ | <30 |
| 7 月 27 日 | アジ | 40 | コダイ | 40 |
| | トビウオ | 300 | フクラギ | 90 |
| | カマス | <30 | 白エビ | <30 |
| 8 月 10 日 | イシガレイ | 30 | アジ | 140 |
| | シマダイ | <30 | サバ | <30 |
| | キス | 380 | | |
| 8 月 24 日 | カマス | 140 | ハチメ | 300 |
| | タイ | 40 | コイワシ | 210 |
| | ツバイソ | 150 | アマエビ | <30 |
| 9 月 7 日 | カマス | 40 | フクラギ | 200 |
| | ニギス | 40 | マダイ | 40 |
| | ツバイソ | 30 | ハチメ | <30 |
| 9 月 28 日 | ツバイソ | <30 | アジ | <30 |
| | アカカレイ | <30 | カマス | <30 |
| | カワハギ | 90 | フクラギ | <30 |
| 10 月 12 日 | アジ | <30 | カマス | 210 |
| | ミギス | <30 | フクラギ | 30 |
| | カワハギ | 30 | カワハギ | 90 |

表３．漁港海水における病原因子 tdh 遺伝子及び TDH 産生性腸炎ビブリオ O3 : K6の検出状況

| 漁港 | | 日付 | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | 6 / 29 | 7 / 13 | 7 / 27 | 8 / 10 | 8 / 24 | 9 / 7 | 9 / 28 | 10 / 12 | |
| 生地 | *tdh* 遺伝子 | － | ＋ | － | ＋ | － | － | － | － | 2 / 8** |
| | TDH+ O3:K6 | N.E* | － | N.E | － | N.E | N.E | N.E | N.E | 0 / 2 |
| 魚津 | *tdh* 遺伝子 | ＋ | ＋ | ＋ | － | － | ＋ | － | － | 4 / 8 |
| | TDH+ O3:K6 | － | － | － | N.E | N.E | － | N.E | N.E | 0 / 4 |
| 新湊 | *tdh* 遺伝子 | － | － | ＋ | － | － | ＋ | － | － | 2 / 8 |
| | TDH+ O3:K6 | N.E | N.E | ＋ | N.E | N.E | － | N.E | N.E | 1 / 2 |
| 氷見 | *tdh* 遺伝子 | － | － | － | － | － | － | － | － | 0 / 8 |
| | TDH+ O3:K6 | N.E | N.E | N.E | N.E | N.E | N.E | N.E | N.E | N.E |
| | *tdh* 遺伝子 | 1 / 5 | 2 / 5 | 2 / 5 | 1 / 5 | 0 / 5 | 2 / 5 | 0 / 5 | 0 / 5 | 8 / 32 |
| | TDH+ O3:K6 | 0 / 1 | 0 / 2 | 1 / 2 | 0 / 1 | N.E | 0 / 2 | N.E | N.E | 1 / 8 |

*　未測定

**　陽性数／検体数

でろ過し，ろ過フィルターを3%NaCl 含 Trypticase soy broth（ベクトン・ディッキンソン）に入れ，タイマー機能付フラン器で37℃6時間培養後4℃に一晩おいた．培養液1 ml を12,000 rpm で5分間遠心し，沈査にキレックス液（5%W/V Chelex-100，バイオラド，10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0）を100 μl 添加再懸濁後，100℃10分間処理した．12,000 rpm で5分間遠心し，上清を新しいチューブに移して PCR 用の DNA 溶液とした．tdh の検出には TDF-1,-2プライマー[4]を用いて PCR を行った．

### 7.　海水からの *tdh* 保有腸炎ビブリオの分離

*tdh* が検出された検体について，既報 [5] に従い血清型 O3 : K6 を対象とし，K6免疫磁気ビーズ処理[6]により菌の分離を行った．分離菌について，PCR を用いて *tdh* の保有を確認した．

## 結果および考察

### 1.　漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数（MPN）は，< 3 ～4.6 × $10^2$ /100ml であった（表1）．28/32検体（87.5%）から腸炎ビブリオが検出され，夏季の漁港海水には高い割合で腸炎ビブリオが分布していた．

### 2.　市販魚介類の腸炎ビブリオ菌数

富山県内2施設で市販されていた魚介類31/47検体（66.0%）から腸炎ビブリオが検出された．菌数は<30 ×10～3.8×$10^2$/100g であった（表2）．菌数は，同じ調査日でも検体によりバラツキがみられた．前年の腸炎ビブリオ検出率は59.1%であり[7]，前年と比べ本年の検出率は高かった．腸炎ビブリオは他の食中毒起因菌に比べ増殖が早いので，魚介類は短時間でも低温で保存することが重要である．

### 3.　漁港海水からの *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6の分離状況

腸炎ビブリオの病原因子である *tdh* および *tdh* 保有腸炎ビブリオの漁港海水からの検出状況を表3に示した．TDH 産生性腸炎ビブリオについては，日本で分離される主要な血清型である O3 : K6を標的とした．*tdh* は，6月から9月にかけて3か所の漁港海水から検出された．検出率は25.0%（8/32検体）であった．前年の検出率は12.5%（5/40検体）であり，本年の検出率は2倍に増加したが，この原因は不明である．*tdh* が検出された漁港海水のうち，1検体（7/27，新湊）から食中毒の原因となる *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6が分離された．この海水で魚介類を洗浄してしまうと，魚介類が *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6に汚染される可能性がある．生食用魚介類の加工基準では，加工に使用する水は，飲用適の水，殺菌した海水又は飲用適の水を使用した人工海水を使用することになっていることから，今後もその徹底が望まれる．

## 謝　辞

本調査の検体採取は，富山県生活衛生課で作成された計画に基づき，県内各厚生センター及び富山市保健所の担当者により行われました．これらの方々に深謝いたします．

## 文　献


1．厚生労働省 HP：食中毒に関する情報 http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/09hassei/xls/H21joukyou.xls
2．細呂木志保，田中大祐，平田清久，磯部順子，刑部陽宅，城石将幸，長沢憲嗣（1997）．富山衛研年報，20，184-186
3．小久保清治（1969）．海洋生物学，恒星社厚生閣水産学全集11，200 - 202
4．伊藤文明，吉野谷進，平野千春，石村勝之，山岡弘二，松石武昭，荻野武雄，島田俊雄，伊藤健一郎，渡辺治雄，沖津忠行，滝沢金次郎（1993）．感染症誌，67（臨時増刊号），181
5．刑部陽宅，細呂木志保，嶋　智子，田中大祐，木全恵子，香取幸治，磯部順子，綿引正則，永井美之（2004）．富山衛研年報，27，129 - 137
6．刑部陽宅，細呂木志保，磯部順子，田中大祐，北村敬（2000）．日食微誌，17，5-10
7．嶋　智子，磯部順子，木全恵子，清水美和子，金谷潤一，倉田　毅，綿引正則，堂高一彦(2009)．富山衛研年報，32，149-152
8．橋本喜代一，北川恵美子，本庄峰夫，谷村睦美，山田恵子，久道妙子，山下千鶴子(2009)．石川保環研報，46，30-34

# 富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性（2010年）

嶋　智子　　金谷　潤一　　木全　恵子　　磯部　順子　　倉田　毅　　綿引　正則
朝野　洋一[1]　　加藤　陽子[2]　　中村　政雄[2]　　奥野　ルミ[3]

# Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2010

Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Junko ISOBE,
Takeshi KURATA, Masanori WATAHIKI, Youichi ASANO[1],
Yoko KATO[2], Masao NAKAMURA[2] and Rumi OKUNO[3]

A群溶血性レンサ球菌（溶連菌）は，咽頭炎，膿痂疹など様々な感染症の起因菌となる．感染症法では，本菌による咽頭炎が小児科定点報告の5類感染症に位置づけられており，富山県における2010年のA群溶連菌咽頭炎患者報告数は，2,567人（88.52/定点）であった[1]．また，重篤な症状を呈する劇症型溶連菌感染症は全数報告の5類感染症に位置づけられ，本感染症のほとんどがA群溶連菌により発生している．劇症型感染症由来株の血清型はT1型が最も多く，咽頭炎由来株における分布と比較して高い比率となっている[2]．しかし，劇症型となる要因が宿主側にあるのか菌側にあるのかは未だ不明である．さらに近年，A群溶連菌のマクロライド系薬剤に対する耐性株の増加が問題となっている[3, 4]．

B群溶連菌は腸内の常在菌であり，男性の尿道粘膜や女性の膣に存在する場合もある．成人の場合はまれに尿路感染症などを引き起こす程度であまり問題にならないが，子宮内感染や産道感染により新生児の敗血症，髄膜炎および肺炎を引き起こすため，妊婦に対してGBSスクリーニングが実施されている．

富山県衛生研究所では，衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして，A群溶連菌の血清型別や劇症型溶連菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している．ここでは，2010年に富山県内で分離されたA群およびB群溶連菌の血清型別および薬剤感受性検査の結果について報告する．

## 材料および方法

### 1．分離菌株

2010年に富山県内2か所の公立病院で患者から分離された溶連菌（A群23株およびB群139株，計162株）について，A群のT型別およびB群の型別を実施した．A群のT型別およびB群の型別は，それぞれの型別用免疫血清（デンカ生研）を用いてスライド凝集反応にて行った．

### 2．薬剤感受性試験

2010年に分離された溶連菌のうち61株（A群23株，B群38株）について実施した．アンピシリン（ABPC），セファレキシン（CEX），セフジトレン（CDTR），セフジニル（CFDN），テトラサイクリン（TC），クロラムフェニコール（CP），エリスロマイシン（EM），クラリスロマイシン（CAM），クリンダマイシン（CLDM），リンコマイシン（LCM）の10薬剤について，ドライプレートおよびIA-20（栄研化学）を用いて測定した．測定は東京都健康安全研究センターにて行った．MIC値は，CLSIの判定基準に従い判定した．なお，LCMについてはMIC≧1μg/mlを耐性とした．

## 結果および考察

### 1．A群溶連菌のT型別

2010年に分離されたA群23株のT型別結果をTable 1およびFig. 1に示した．分離率が高いT型は，順にT1型（9株，39.1%），T12型（5株，21.7%）であった．T25型は昨年多く検出されたが（7株，26.9%），本年は2株（8.7%）と減少していた．T1型の検出率は，昨年（38.5%）と同様に高く，溶血レンサ球菌レファレンスセンターによる全国データ[2]と比較しても，高かった．富山県内で届出があった劇症型A群溶レ

1．富山県立中央病院　2．富山市民病院　3．東京都健康安全研究センター

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2010

| T type | No. of Isolates | | | | | | | | | | | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Jan | Feb | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep | Oct | Nov | Dec | No. | % |
| T-1 | | 1 | 3 | 2 | 1 | 2 | | | | | | | 9 | 39.1 |
| T-2 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-3 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-4 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-6 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-8 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-9 | | | | | | | 1 | | | | | | 1 | 4.3 |
| T-11 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-12 | 1 | 2 | | | 1 | | | | | | 1 | | 5 | 21.7 |
| T-13 | | 1 | | 1 | | | | | | | | | 2 | 8.7 |
| T-18 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-22 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-23 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-25 | | | | | | 1 | | | | 1 | | | 2 | 8.7 |
| T-28 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-B3264 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-Imp.19 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-5/27/44 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| T-14/49 | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| Untypable | | 1 | | | | 1 | | 2 | | | | | 4 | 17.4 |
| Total | 1 | 5 | 3 | 3 | 2 | 4 | 1 | 2 | 0 | 1 | 1 | 0 | 23 | 100.0 |

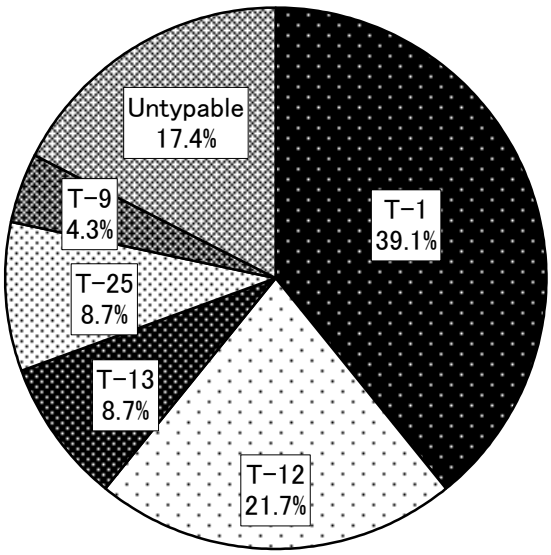



Fig1. Proportion of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2010

ン菌感染症は，2009年が2件（T1型，T28型が各1件），2010年が1件（T1型）で，報告数は例年と比較してとくに多くはなかったが，T1型菌検出率の動向には今後も注意していく必要があると思われる．

## 2．B群溶連菌の型別

2010年に分離されたB群139株の型別結果をTable 2に示した．分離率が高かったのは，順にⅠb型およびⅤ型（各24株，17.3%），Ⅵ型（23株，16.5%），Ⅰa型（17株，12.2%），Ⅲ型（14株，10.1%）であった．

## 3．溶連菌の薬剤感受性

薬剤感受性の結果をTable 3に，またその薬剤耐性パターンをTable 4に示した．

Table 2. Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2010

| Type | No. of Isolates | | | | | | | | | | | | Total | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | Jan | Feb | Mar | Apr | May | Jun | Jul | Aug | Sep | Oct | Nov | Dec | No. | % |
| Ⅰa | 3 | | 2 | 2 | 2 | | 3 | 1 | 3 | | 1 | | 17 | 12.2 |
| Ⅰb | 2 | 3 | 7 | 1 | 2 | 3 | 1 | 3 | 1 | | | 1 | 24 | 17.3 |
| Ⅱ | 2 | | | 2 | 1 | 1 | | | | 1 | | 1 | 8 | 5.8 |
| Ⅲ | 1 | 1 | | | 2 | 1 | 3 | | | 1 | 3 | 2 | 14 | 10.1 |
| Ⅳ | | | | | | | | | | | | | 0 | 0.0 |
| Ⅴ | 1 | 4 | 1 | 1 | 1 | 2 | 3 | 1 | 4 | 1 | 4 | 1 | 24 | 17.3 |
| Ⅵ | 1 | 1 | 2 | 1 | 3 | | 3 | 2 | 1 | 3 | 4 | 2 | 23 | 16.5 |
| Ⅶ | | | | | | | | | | 2 | | | 2 | 1.4 |
| Ⅷ | | 1 | | | | 1 | 1 | 3 | | | | 1 | 7 | 5.0 |
| Untypable | 3 | 2 | 2 | 2 | 3 | | 1 | 1 | | 2 | 2 | 2 | 20 | 14.4 |
| Total | 13 | 12 | 14 | 9 | 14 | 8 | 15 | 11 | 9 | 10 | 14 | 10 | 139 | 100.0 |

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic *Streptococci* in 2010

| Group | MIC | Antibiotics | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (μg/ml) | ABPC | CEX | CFDN | CDTR | TC | CP | EM | CAM | CLDM | LCM |
| A | >64 | | | | | | | 1 | | | 1 |
| | 64 | | | | | | | | | | 1 |
| | 32 | | | | | 1 | | 1 | | | |
| | 16 | | | | | | | 2 | 2* | | |
| | 8 | | | | | | | 10 | 4 | | |
| | 4 | | | | | | 1 | 2 | 9 | 2† | |
| | 2 | | | | | | 19 | | | | |
| | 1 | | 1 | | | | 3 | | 1 | | |
| | 0.5 | | 15 | | | | | | | 21‡ | |
| | 0.25 | | 7 | | | 8 | | | | | 13 |
| | 0.12 | | | | | 14 | | 2 | | | 8 |
| | 0.06 | | | | | | | 5 | 5 | | |
| | 0.03 | 6 | | | | | | | 2 | | |
| | 0.015 | 17 | | 5 | | | | | | | |
| | 0.008 | | | 18 | 18 | | | | | | |
| | ≦0.004 | | | | 5 | | | | | | |

| Group | MIC | Antibiotics | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | (μg/ml) | ABPC | CEX | CFDN | CDTR | TC | CP | EM | CAM | CLDM | LCM |
| B | >64 | | | | | | | 1 | | | 1 |
| | 64 | | | | | 4 | | | | | |
| | 32 | | | | | 4 | | | | | |
| | 16 | | | | | 3 | | | 1* | | |
| | 8 | | | | | | | | | | |
| | 4 | | | | | | 2 | | | 1† | |
| | 2 | | 36 | | | | 36 | 1 | | | |
| | 1 | | 2 | | | 1 | | 2 | 1 | 1 | |
| | 0.5 | | | | | 2 | | 1 | 3 | 36‡ | 27 |
| | 0.25 | | | | | 24 | | | | | 10 |
| | 0.12 | 27 | | | | | | 26 | 1 | | |
| | 0.06 | 11 | | | | | | 7 | 32 | | |
| | 0.03 | | | 34 | 17 | | | | | | |
| | 0.015 | | | 4 | 21 | | | | | | |
| | 0.0075 | | | | | | | | | | |

≧double line, resistant; ≦dotted line, susceptible (CLSI: M02-A10).
*: ＞16 μg/ml, †: ＞4 μg/ml , ‡: ≦0.5 μg/ml

Table 4. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Hemolytic *Streptococci* in 2010

| Resistance pattern | No. of strains (%) | |
|---|---|---|
| | Group A | Group B |
| TC, EM, CAM, CLDM, LCM | 1(4.3) | |
| EM, CAM, CLDM, LCM | 1(4.3) | 1(2.6) |
| TC, EM, CAM | | 1(2.6) |
| TC, EM | | 2(5.3) |
| EM, CAM | 14(60.9) | |
| TC | | 8(21.1) |
| CLDM | | 1(2.6) |
| Susceptible | 7(30.4) | 25(65.8) |
| Total | 23(100.0) | 38(100.0) |

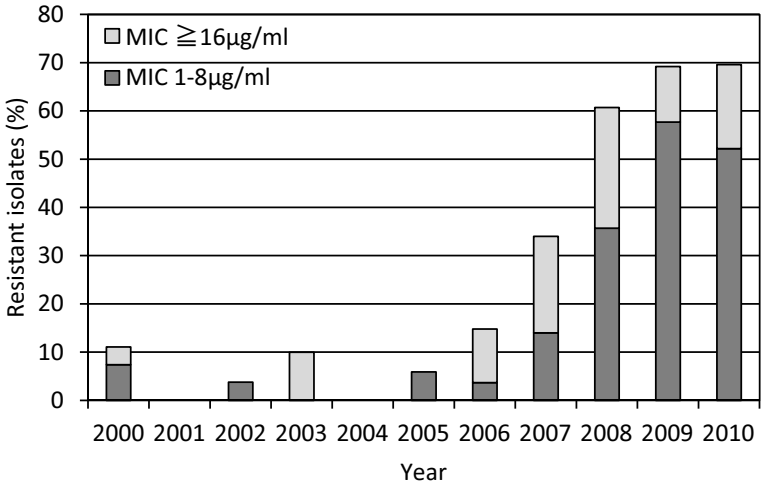



Fig 2. Frequency of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* Resistance to Erythromycin in Toyama from 2000 to 2010

A群23株では，β-ラクタム系薬剤（ABPC，CEX，CFDN，CDTR）に対してはすべて感受性を示したが，EMおよびCAMに対して69.6%，CLDMおよびLCMに対して8.7%，TCに対して4.3%が耐性を示した．マクロライド系薬剤に対する耐性株が近年増加しており，EMおよびCAMに対しては本年も約70%が耐性を示した（Fig. 2）．EMおよびCAMに対して耐性を示したのはT1型，T12型およびT25型で，これら3血清型の株はすべてがEMおよびCAMに対して耐性であった．薬剤耐性パターンは，EMおよびCAMの2剤耐性が60.9%（T1型9株，T12型4株，T25型1株，計14株）で，T12型の1株がTC，EM，CAM，CLDMおよびLCMの5剤に，T25型の1株がEM，CAM，CLDMおよびLCMの4剤に耐性を示した．

B群38株では，β-ラクタム系薬剤に対してはすべて感受性を示したが，TCに対して28.9%，EMに対して10.5%，CAMおよびCLDMに対して5.3%が耐性を示した．血清型別にみると，Ⅱ型およびⅢ型は昨年に引き続きすべてがTCに耐性を示した．薬剤耐性パターンは，TC単剤耐性が21.1%（Ⅰa型2株，Ⅰb型2株，Ⅱ型1株，Ⅲ型1株，Ⅴ型2株，計8株）であった．

マクロライド系薬剤は，本菌の第一選択薬であるペニシリン系にアレルギーを示す患者に対し使用が推奨されているが，近年，とくにA群溶レン菌の耐性率が非常に高い値で推移している．したがって，治療薬選択の際には十分な注意が必要であると思われる．

## 文　献

1．富山県衛生研究所編集（2011）.富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成22年）
2．平成21年溶血レンサ球菌レファレンスセンター報告書（全国集計）
http://idsc.nih.go.jp/pathogen/refer/str2009-

1.pdf
3．荻田純子，黒崎知道，藤崎和仁，牧野　巧，石和田稔彦，河野陽一（2005）．感染症誌，79，871-876
4．東京都健康安全研究センター編集・発行（2010）．東京都微生物検査情報，31，1-2 http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/epid/2010/tbkj3102.html

平成23年12月16日

# 富山県における2010年の病原微生物検出情報

金谷　潤一　　磯部　順子　　嶋　智子　　木全　恵子　　倉田　毅　　綿引　正則

## Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2010

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA,
Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

我々は県内10か所の公立病院検査室，4か所の富山県厚生センター，富山市保健所，衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集している．2010年1月から12月までの検出情報を検出材料別及び菌種別に集計し，表に示した．厚生センター，富山市保健所，衛生研究所で検出された病原細菌は，ほとんどが糞便由来であった．また，公立病院検査室で分離された黄色ブドウ球菌については，メチシリン耐性ブドウ球菌（MRSA）の割合を本文中に示した．

表中の○で囲んだ数字は食中毒，家族内発生などの同一フォーカス由来の分離株が含まれることを示している．また，（　）内の数字は海外旅行者数の再掲である．

【糞便】分離株総数は1,168株で，前年の106.5%であった．最も多かったのは大腸菌588株で，前年の551株から増加した．腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は，血清型 O157が33株，O111が2株，合計35株分離された．本年は，EHEC による家族内感染事例が2件，保育所を原因施設とする集団感染事例が1件報告された．次に多かったのは黄色ブドウ球菌307株（そのうち MRSA は50.8%）であり，前年の99.7%であった．カンピロバクターは206株で前年の128.8%と増加した．また，腸管出血性大腸菌以外の3類感染症の原因菌については，赤痢菌が2株分離された．

【穿刺液】分離株総数は345株で前年の155.4%であった．黄色ブドウ球菌（MRSA は33.8%），大腸菌，嫌気性菌などが多く分離された．

【髄液】分離株総数は11株で前年と同数であった．インフルエンザ菌が多く分離された．

【血液】分離株総数は1,160株で前年の106.5%であった．コアグラーゼ陰性ブドウ球菌，大腸菌，黄色ブドウ球菌（MRSA は36.1%）が多く分離された．

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数は2,670株で前年の128.5%であった．インフルエンザ菌，肺炎球菌，A 群溶連菌が多く分離された．

【喀痰，気管吸引液および下気道】分離株総数は4,142株で前年の96.2%であった．黄色ブドウ球菌（MRSA は53.2%）が最も多く，緑膿菌，肺炎桿菌，肺炎球菌，インフルエンザ菌なども多く分離された．

【尿】分離株総数は5,146株で前年の112.8%であった．大腸菌が最も多く分離され，腸球菌，緑膿菌，コアグラーゼ陰性ブドウ球菌，黄色ブドウ球菌（MRSA は49.3%），肺炎桿菌なども多く分離された．

【陰部尿道頸管擦過（分泌）物】分離株総数は1,319株で前年の88.8%であった．Candida albicans，B 群溶連菌が多く分離された．なお,Chlamydia trachomatis は抗原検出による報告である．

**謝辞**：県内10か所の公立病院と4か所の富山県厚生センター，富山市保健所の検査担当各位に感謝致します．

## 月別・菌種別の病原微生物検出状況（2010年）

1）分離材料：糞便

| 菌種・群・型 | 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Salmonella* Typhi | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Salmonella* Paratyphi A | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Salmonella* O4 | | 1 | | | 1 | | | 2 | | | | | 4 |
| *Salmonella* O7 | 2 | | | 1 | 2 | 2 | | 3 | 1 | 1 | | | 12 |
| *Salmonella* O8 | | | | | 2 | | | | | | | | 2 |
| *Salmonella* O9 | | | | | | | | 2 | 1 | | | 2 | 5 |
| *Salmonella*　その他 | | | | | | 2 | 1 | | | 1 | | | 4 |
| *Salmonella*　群不明 | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Yersinia enterocolitica* | 1 | | | | | 1 | | | | | | | 2 |
| *Y.　pseudotuberculosis* | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Vibrio cholerae* O1 | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Vibrio cholerae* O139 | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Vibrio cholerae* O1,139以外 | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Vibrio parahaemolyticus* | | | | | | | 2 | 6 | 1 | | 1 | | 10 |
| *Vibrio fluvialis* | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Vibrio mimicus* | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| *Aeromonas* | | | 2 | 5 | 2 | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | | | 16 |
| *Plesiomonas shigelloides* | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| *Campylobacter* | 20 | 21 | 21 | 14 | 15 | 26 | 19 | 26 | 8 | 17 | 11 | 8 | 206 |
| *Staphylococcus aureus* | 32 | 33 | 28 | 30 | 21 | 32 | 24 | 24 | 27 | 17 | 20 | 19 | 307 |
| *Clostridium perfringens* | 1 | | 1 | | | | 2 | | | | 3 | | 7 |
| *Clostridium botulinum* | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Bacillus cereus* | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Entamoeba histolytica* | | | | | | | | | | | | | 0 |
| *Escherichia coli* 組織侵入性 | | 1 | | | | | 1 | 1 | | | | | 3 |
| *Escherichia coli* 毒素原性 | 2 | 4 | 3 | 6 | 4 | 1 | 1 | 5 | 3 | 4 | | | 33 |
| *Escherichia coli* 病原大腸菌 | 30 | 29 | 38 | 40 | 32 | 38 | 24 | 28 | 27 | 26 | 21 | 33 | 366 |
| *Escherichia coli* EHEC/VTEC | 3 | | | | 1 | 2 | | 25 | 2 | 2 | | | 35 |
| *Escherichia coli* その他,不明 | 7 | 9 | 8 | 16 | 5 | 12 | 8 | 20 | 14 | 10 | 18 | 25 | 152 |
| *Shigella* | | | | | | | | | 2 | | | | 2 |
| 合　　計 | 98 | 98 | 101 | 113 | 85 | 117 | 83 | 145 | 87 | 80 | 74 | 87 | 1168 |

注：（　）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

2）分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | 5 | 6 | 7 | 3 | 7 | 4 | 4 | 4 | 2 | 10 | 3 | 8 | 63 |
| *Klebsiella pneumoniae* | 2 | 4 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 2 | 2 | 4 | 2 | 5 | 24 |
| *Haemophilus influenzae* | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 4 |
| *Neisseria meningitidis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 1 | 9 | 2 | 3 | 3 | 2 | 4 | 4 | 5 | 6 | 1 | 5 | 45 |
| *Mycobacterium* spp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Staphylococcus aureus* | 6 | 10 | 6 | 4 | 2 | 8 | 4 | 7 | 13 | 7 | 6 | 4 | 77 |
| *Staphylococcus* ｺｱｸﾞﾗｰｾﾞ陰性 | 6 | 4 | 6 | 6 | 4 | 7 | 2 | 8 | 4 | 0 | 7 | 5 | 59 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 5 |
| *Anaerobes* | 7 | 4 | 4 | 6 | 9 | 10 | 7 | 4 | 3 | 7 | 5 | 2 | 68 |
| *Mycoplasma pneumoniae* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合　　計 | 27 | 39 | 26 | 22 | 25 | 37 | 21 | 29 | 29 | 35 | 25 | 30 | 345 |

3）分離材料：髄液

| 菌種・群・型 | 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Haemophilus influenzae* | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 | 5 |
| *Neisseria meningitidis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Listeria monocytogenes* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Staphylococcus aureus* | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| *Streptococcus*,B | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 2 |
| 合　　計 | 1 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 1 | 3 | 11 |

4）分離材料：血液

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | 28 | 24 | 29 | 24 | 31 | 24 | 35 | 49 | 43 | 32 | 38 | 20 | 377 |
| *Salmonella* Typhi | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella* Paratyphi A | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Salmonella* spp. | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 |
| *Haemophilus influenzae* | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 0 | 3 | 2 | 1 | 12 |
| *Neisseria meningitidis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 1 | 5 | 3 | 4 | 5 | 6 | 4 | 6 | 6 | 3 | 10 | 4 | 57 |
| *Staphylococcus aureus* | 14 | 16 | 15 | 24 | 14 | 18 | 15 | 23 | 19 | 14 | 31 | 13 | 216 |
| *Staphylococcus* ｺｱｸﾞﾗｰｾﾞ陰性 | 32 | 27 | 20 | 18 | 39 | 34 | 42 | 36 | 25 | 35 | 43 | 20 | 371 |
| *Streptococcus,* B | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 | 2 | 1 | 6 | 1 | 17 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 0 | 3 | 7 | 1 | 8 | 6 | 3 | 1 | 0 | 7 | 11 | 10 | 57 |
| *Anaerobes* | 1 | 4 | 4 | 6 | 7 | 4 | 4 | 10 | 2 | 1 | 4 | 4 | 51 |
| 合　　計 | 80 | 80 | 80 | 77 | 105 | 93 | 104 | 129 | 97 | 97 | 145 | 73 | 1160 |

5）分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Bordetella pertussis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Haemophilus influenzae* | 86 | 106 | 132 | 167 | 151 | 153 | 86 | 72 | 50 | 69 | 119 | 120 | 1311 |
| *Neisseria meningitidis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Streptococcus,* A | 13 | 18 | 23 | 25 | 15 | 12 | 17 | 8 | 9 | 4 | 7 | 11 | 162 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 52 | 91 | 107 | 149 | 118 | 121 | 66 | 69 | 47 | 100 | 141 | 125 | 1186 |
| *C. diphtheriae* | 11 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11 |
| 合　　計 | 162 | 215 | 262 | 341 | 284 | 286 | 169 | 149 | 106 | 173 | 267 | 256 | 2670 |

6）分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Mycobacterium tuberculosis* | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 4 | 2 | 3 | 3 | 2 | 1 | 5 | 26 |
| *Klebsiella pneumoniae* | 42 | 31 | 48 | 47 | 54 | 50 | 58 | 83 | 89 | 77 | 83 | 52 | 714 |
| *Haemophilus influenzae* | 21 | 27 | 22 | 27 | 31 | 23 | 26 | 31 | 19 | 24 | 30 | 36 | 317 |
| *Legionella pneumophila* | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 3 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 61 | 56 | 47 | 43 | 45 | 54 | 68 | 53 | 81 | 84 | 53 | 51 | 696 |
| *Staphylococcus aureus* | 152 | 129 | 141 | 134 | 138 | 159 | 148 | 166 | 131 | 134 | 178 | 155 | 1765 |
| *Streptococcus,* A | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 6 |
| *Streptococcus,* B | 19 | 22 | 20 | 15 | 16 | 13 | 18 | 18 | 12 | 16 | 13 | 22 | 204 |
| *Streptococcus pneumoniae* | 28 | 32 | 35 | 25 | 43 | 46 | 14 | 41 | 23 | 34 | 44 | 43 | 408 |
| *Anaerobes* | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 |
| *Mycoplasma pneumoniae* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合　　計 | 323 | 301 | 315 | 296 | 327 | 349 | 335 | 397 | 358 | 372 | 402 | 367 | 4142 |

7）分離材料：尿

| 菌種・群・型 | 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Escherichia coli* | 160 | 145 | 180 | 161 | 159 | 185 | 201 | 217 | 197 | 171 | 174 | 186 | 2136 |
| *Enterobacter* spp. | 19 | 17 | 7 | 5 | 17 | 11 | 16 | 26 | 22 | 22 | 18 | 15 | 195 |
| *Klebsiella pneumoniae* | 22 | 29 | 33 | 23 | 30 | 25 | 39 | 51 | 44 | 51 | 36 | 44 | 427 |
| *Acinetobacter* spp. | 3 | 4 | 4 | 1 | 3 | 3 | 1 | 5 | 0 | 0 | 1 | 2 | 27 |
| *Pseudomonas aeruginosa* | 20 | 41 | 43 | 32 | 27 | 41 | 37 | 38 | 47 | 42 | 37 | 31 | 436 |
| *Staphylococcus aureus* | 31 | 37 | 25 | 31 | 26 | 37 | 32 | 32 | 32 | 28 | 28 | 34 | 373 |
| *Staphylococcus* ｺｱｸﾞﾗｰｾﾞ陰性 | 51 | 49 | 39 | 29 | 41 | 54 | 46 | 58 | 47 | 47 | 45 | 54 | 560 |
| *Enterococcus spp.* | 68 | 57 | 63 | 69 | 51 | 60 | 79 | 68 | 59 | 66 | 66 | 61 | 767 |
| *Candida albicans* | 10 | 19 | 17 | 16 | 7 | 23 | 22 | 36 | 24 | 20 | 21 | 10 | 225 |
| 合　　計 | 384 | 398 | 411 | 367 | 361 | 439 | 473 | 531 | 472 | 447 | 426 | 437 | 5146 |

8）分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

| | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Neisseria gonorrhoeae* | 2 | 0 | 1 | 0 | 2 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 14 |
| *Streptococcus,* B | 38 | 44 | 54 | 39 | 47 | 58 | 53 | 44 | 39 | 50 | 66 | 56 | 588 |
| *Clamydia trachomatis* | 1 | 0 | 1 | 4 | 4 | 4 | 0 | 5 | 5 | 2 | 6 | 4 | 36 |
| *Ureaplasma* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| *Candida albicans* | 54 | 40 | 54 | 45 | 46 | 67 | 89 | 73 | 58 | 59 | 48 | 48 | 681 |
| *Trichomonas vaginalis* | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 合　　計 | 95 | 84 | 110 | 88 | 99 | 133 | 143 | 123 | 103 | 112 | 121 | 108 | 1319 |

*Staphylococcus aureus*

| | | 1月 | 2月 | 3月 | 4月 | 5月 | 6月 | 7月 | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 合計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 糞便 | MRSA | 18 | 21 | 15 | 21 | 10 | 15 | 14 | 12 | 8 | 6 | 7 | 9 | 156 |
| | MSSA | 14 | 12 | 13 | 9 | 11 | 17 | 10 | 12 | 19 | 11 | 13 | 10 | 151 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 32 | 33 | 28 | 30 | 21 | 32 | 24 | 24 | 27 | 17 | 20 | 19 | 307 |
| 穿刺液 | MRSA | 3 | 3 | 2 | 2 | 0 | 2 | 3 | 2 | 1 | 1 | 3 | 4 | 26 |
| | MSSA | 3 | 7 | 4 | 2 | 2 | 6 | 1 | 5 | 12 | 6 | 3 | 0 | 51 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 6 | 10 | 6 | 4 | 2 | 8 | 4 | 7 | 13 | 7 | 6 | 4 | 77 |
| 髄液 | MRSA | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | MSSA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 |
| 血液 | MRSA | 4 | 7 | 5 | 6 | 8 | 8 | 6 | 8 | 5 | 3 | 14 | 4 | 78 |
| | MSSA | 10 | 9 | 10 | 18 | 6 | 10 | 9 | 15 | 14 | 11 | 17 | 9 | 138 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 14 | 16 | 15 | 24 | 14 | 18 | 15 | 23 | 19 | 14 | 31 | 13 | 216 |
| 呼吸器 | MRSA | 80 | 67 | 74 | 64 | 65 | 95 | 70 | 88 | 83 | 67 | 105 | 81 | 939 |
| | MSSA | 72 | 62 | 67 | 70 | 73 | 64 | 78 | 78 | 48 | 67 | 73 | 74 | 826 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 152 | 129 | 141 | 134 | 138 | 159 | 148 | 166 | 131 | 134 | 178 | 155 | 1765 |
| 尿 | MRSA | 17 | 21 | 15 | 16 | 12 | 16 | 14 | 14 | 17 | 11 | 12 | 19 | 184 |
| | MSSA | 14 | 16 | 10 | 15 | 14 | 21 | 18 | 18 | 15 | 17 | 16 | 15 | 189 |
| | 未検査 | | | | | | | | | | | | | |
| | 件数 | 31 | 37 | 25 | 31 | 26 | 37 | 32 | 32 | 32 | 28 | 28 | 34 | 373 |

平成23年12月16日

# 平成22年度富山県食品衛生検査の精度管理調査
## －微生物学的検査－

金谷　潤一　　磯部　順子　　木全　恵子　　嶋　智子　　倉田　毅　　綿引　正則

## Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2010)

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Takeshi KURATA and Masanori WATAHIKI

富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき，平成11年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持，向上を目的として微生物学的精度管理調査を実施している．平成22年度の微生物学的検査の精度管理調査項目は，牛乳中に添加した細菌数の測定及び食肉製品の腸管出血性大腸菌の定性的検査とし，実施した．検査用試料は，衛生研究所で調製後，各検査機関に配布し，各々の検査結果の報告を集計・解析し,評価を行ったので報告する．

## 材料および方法

**(1) 参加機関**

新川厚生センター，中部厚生センター，高岡厚生センター，砺波厚生センター，食肉検査所，富山市保健所および衛生研究所

**(2) 調査日程**

平成23年1月25日～2月11日

**(3) 配布試料**

**①菌数測定**：枯草菌を加えた牛乳10 ml ，2検体

菌数がそれぞれ$5.0\times10^4$cfu/ml（牛乳 A），$1.0\times10^4$ cfu/ml（牛乳 B）となるよう市販品「枯草菌6633'栄研'」を調製し，牛乳(常温保存可)に添加した．なお，牛乳原液の生菌数は0 cfu/ml であった．

**②腸管出血性大腸菌検出**：模擬食品 A～C，各50 g 模擬食品は，市販のひき肉に腸管出血性大腸菌の培養液を表1のように接種して作製した．なお，市販のひき肉は予備検査において該菌が検出されないことを確認した．

**(4) 検査方法**

**①菌数測定**：各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした．

**②腸管出血性大腸菌の検出**：各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした．

**(5) 解析方法**

**①牛乳中細菌数の測定値の集計**

各機関の2回の実測値の平均を用いて解析した．標準偏差(SD)，変動係数，Z-スコアを算出した．

**②模擬食品中の腸管出血性大腸菌の解析方法**

各機関の「食品中の腸管出血性大腸菌検査」について結果をまとめた．

## 結　果

**(1) 牛乳の細菌数測定**

各機関の成績は表2に示した．

牛乳 A については，報告された測定値（各機関の実測値2回を平均した値）の平均は$7.23\times10^4$ cfu/ml，最大値$8.35\times10^4$ cfu/ml，最小値$5.95\times10^4$ cfu/ml であった．標準偏差（SD）は8567.66となり，各機関の結果は平均値±2SD（$5.52\times10^4$～$8.94\times10^4$）の範囲内であった．変動係数は11.85であり，問題なかった．

牛乳 B については，平均値$1.45\times10^4$cfu/ml，最大値$1.62\times10^4$cfu/ml，最小値$1.35\times10^4$cfu/ml であった．標準偏差（SD）は946.67となり，各機関の結果は平均値±2SD（$1.26\times10^4$～$1.64\times10^4$）の範囲内であった．変動係数は6.53と良好であった．

牛乳 A，B について，データのばらつき度合いを評価するため，Z スコアを算出した．Z スコアは別名「標準測度」と呼ばれ，「Z＝(測定値－測定値平均)/測定値標準偏差」の計算式で求められ，その絶対値によって各機関の測定値を評価できる．判断基準は｜Z｜≦2のとき「良好」，$2<|Z|<3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」，$3\leqq|Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている．今回の調査において，牛乳 A，B の測定値の Z スコアは全機関いずれも2未満で，測定は良好と判断された．

表１．模擬食品における添加細菌と添加方法

| 試料名 | 添加細菌 | 添加方法と菌数 |
|---|---|---|
| C | 精製水<br>（腸管出血性大腸菌未接種） | 精製水 10 ml を模擬食品に接種した. |
| D | 腸管出血性大腸菌 O26（VT1） | 模擬食品に $8.0\times10^2$ cfu/50 g となるよう接種した. |
| E | 腸管出血性大腸菌 O157（VT1）<br>腸管出血性大腸菌 O157（VT1VT2） | 模擬食品に $4.2\times10^2$ cfu/50 g となるようそれぞれ接種した. |

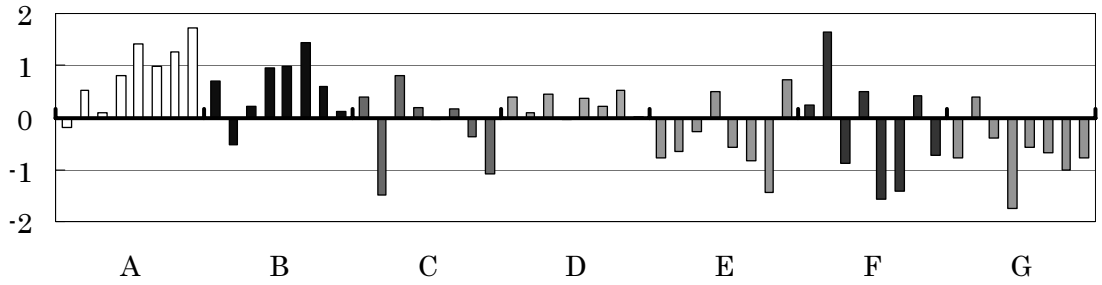



図１．測定値のＺスコア（H16～H22）

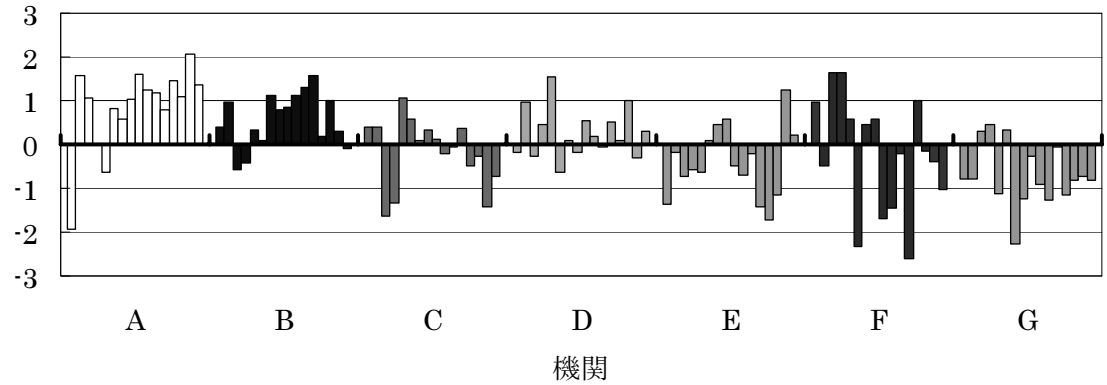



図２．実測値のＺスコア（H16～H22）

## 表２．平成22年度富山県食品衛生精度管理調査結果

牛乳A

| 機関名 | 生菌数 | 実測値 | 偏差 | Zスコア | 測定値 | 偏差 | Zスコア |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **A** | $8.35\times10^4$ | 85,000 | 12714.3 | 1.44 | 83500 | 11214.29 | 1.31 |
| | | 82,000 | 9714.3 | 1.10 | | | |
| **B** | $7.75\times10^4$ | 74,000 | 1714.3 | 0.19 | 77500 | 5214.29 | 0.61 |
| | | 81,000 | 8714.3 | 0.99 | | | |
| **C** | $6.90\times10^4$ | 68,000 | -4285.7 | -0.49 | 69000 | -3285.71 | -0.38 |
| | | 70,000 | -2285.7 | -0.26 | | | |
| **D** | $7.70\times10^4$ | 73,000 | 714.3 | 0.08 | 77000 | 4714.29 | 0.55 |
| | | 81,000 | 8714.3 | 0.99 | | | |
| **E** | $5.95\times10^4$ | 57,000 | -15285.7 | -1.73 | 59500 | -12785.71 | -1.49 |
| | | 62,000 | -10285.7 | -1.17 | | | |
| **F** | $7.60\times10^4$ | 81,000 | 8714.3 | 0.99 | 76000 | 3714.29 | 0.43 |
| | | 71,000 | -1285.7 | -0.15 | | | |
| **G** | $6.35\times10^4$ | 62,000 | -10285.7 | -1.17 | 63500 | -8785.71 | -1.03 |
| | | 65,000 | -7285.7 | -0.83 | | | |
| 平均値（X） | | 72,285.71 | | | 72285.71 | | |
| 標準偏差（SD） | | 8,818.06 | | | 8567.66 | | |
| 変動係数（CD） | | 12.20 | | | 11.85 | | |
| X+2SD | | 89,921.84 | | | 89421.03 | | |
| X-2SD | | 54,649.59 | | | 55150.40 | | |

牛乳B

| 機関名 | 生菌数 | 実測値 | 偏差 | Zスコア | 測定値 | 偏差 | Zスコア |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **A** | $1.62\times10^4$ | 16,500 | 2007.1 | 2.07 | 16150 | 1657.14 | 1.75 |
| | | 15,800 | 1307.1 | 1.35 | | | |
| **B** | $1.46\times10^4$ | 14,800 | 307.1 | 0.32 | 14600 | 107.14 | 0.11 |
| | | 14,400 | -92.9 | -0.10 | | | |
| **C** | $1.35\times10^4$ | 13,100 | -1392.9 | -1.44 | 13450 | -1042.86 | -1.10 |
| | | 13,800 | -692.9 | -0.72 | | | |
| **D** | $1.45\times10^4$ | 14,200 | -292.9 | -0.30 | 14500 | 7.14 | 0.01 |
| | | 14,800 | 307.1 | 0.32 | | | |
| **E** | $1.52\times10^4$ | 15,700 | 1207.1 | 1.25 | 15200 | 707.14 | 0.75 |
| | | 14,700 | 207.1 | 0.21 | | | |
| **F** | $1.38\times10^4$ | 14,100 | -392.9 | -0.41 | 13800 | -692.86 | -0.73 |
| | | 13,500 | -992.9 | -1.03 | | | |
| **G** | $1.38\times10^4$ | 13,800 | -692.9 | -0.72 | 13750 | -742.86 | -0.78 |
| | | 13,700 | -792.9 | -0.82 | | | |
| 平均値（X） | | 14,492.86 | | | 14492.86 | | |
| 標準偏差（SD） | | 968.32 | | | 946.67 | | |
| 変動係数（CD） | | 6.68 | | | 6.53 | | |
| X+2SD | | 16,429.49 | | | 16386.20 | | |
| X-2SD | | 12,556.22 | | | 12599.51 | | |

模擬食品

| 機関名 | 食品A | 食品B | 食品C |
|---|---|---|---|
| **A** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **B** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **C** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **D** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **E** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **F** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |
| **G** | 陰性 | 陽性（O26：VT1） | 陽性（O157：VT1，O157：VT1、2） |

一方，各機関の実測値（1検体あたり2回）で解析すると，Ｚスコアはそのほとんどが2未満で，測定値のばらつき度合いは良好と判断されたが，機関Ａの1回の実測値のＺスコアが2を超えた（表2）．

**（2）模擬食肉製品の腸管出血性大腸菌の検出**

各機関の成績は表2に示した．すべての機関が食品Ｄから腸管出血性大腸菌O26（VT1）を分離した．

食品Ｅには腸管出血性大腸菌O157（VT1）と腸管出血性大腸菌O157（VT1VT2）が接種されており，選択分離培地上での鑑別は困難であるが，PCRによる毒素型の判定では鑑別可能である．全ての機関で両方の菌株が分離され，鑑別能力に問題はなかった．そして，精製水を接種した食品Ｃは全ての機関で選択分離培地上に菌の発育を認めなかった．

## 考　察

平成16年から平成22年までの7年間において，生菌数の測定値のＺスコアを見ると，いずれの年も「良好」とされる範囲内であり問題はなかった（図1）．ただし，実測値（1検体あたり2回）をみると，検査を担当して間もない初心者が測定していた2機関がその範囲を超えていた．これはその年の報告の中で指摘し，翌年には2回の測定値がすべて範囲内に入る結果に改善されていた．今年度は，これまでと同様に検査を担当して間もない初心者が測定した機関Ａの実測値のＺスコアが2を超えたので，機関内でその原因を精査し，ばらつきが小さくなるよう改善する必要がある．しかし，この精度管理調査の参加機関は多くないため，全体的な測定値のばらつきが小さい場合，少しの変動がＺスコアに大きく影響する場合があるのは事実である．したがって，Ｚスコアだけでその測定方法等を否定はできないが，ばらつき度合いの指標として，できるだけスコアが小さくなるよう検討するべきである．

腸管出血性大腸菌感染症は，その重篤な症状から3類感染症に指定されている．従ってこの感染症の原因菌である腸管出血性大腸菌は，最も重要な食中毒原因物質の一つである．しかしながら，日常の食品検査で腸管出血性大腸菌が検出されることはほとんどないことから，精度管理を通して定期的に陽性検体を検査し，検査精度を確認することは重要である．今回は，O157以外にO26を添加した模擬食品も作製した．現在通常の収去検査では，O157以外の腸管出血性大腸菌について検査していないが，O26は保育施設などでの集団感染の原因菌としてしばしば問題となることや，食中毒の原因食品を特定する際には検査する機会があることから，検査精度を維持することが求められる．今後も定期的に腸管出血性大腸菌を対象とした精度管理の課題検査を実施していきたい．

## 文　献

1．富山県厚生部長通知，薬食1,229号，平成10年12月16日

平成23年12月16日

# 平成22年度水道水質検査の精度管理事業について

健名　智子　　村元　達也　　上出　功

## On the External Quality Control of the Quantification of Manganese and Nitrate-nitrogen in Water

Tomoko KEMMEI, Tatsuya MURAMOTO and Isao KAMIDE

富山県は富山県内の水道水等の水質検査を行う機関を対象に，「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理事業を平成8年度から継続して実施している．平成22年度はマンガン及びその化合物（以下，マンガン）および硝酸態窒素について実施した．この事業において，当所は配布試料の作製，参加機関から報告されたデータの集計及び解析を担当しており，今回その結果をまとめたので報告する．

### 調査方法

（1）試料の配布年月日：平成23年1月19日
（2）参加機関：富山県内の水道水等の水質検査を行う20機関で，その内訳は水道事業者1機関，水道用水供給事業者2機関，水道法第20条に規定する登録検査機関11機関，厚生センター・保健所5機関及び当所である．
（3）検査項目：マンガン，硝酸態窒素
（4）配布試料：マンガン測定用試料は，平成23年1月18日，当所水道水にマンガン標準液を0.021mg/L 添加して25 L 調製し(有害金属測定用硝酸250ml も添加)，1 L 角型ポリ瓶21本に分注した．あらかじめ分注した順に3検体を等間隔に抜き出し(No.1,11,21)，マンガン濃度を測定したところ，そのビン間変動係数は0.72％であった．また，試料の経時変化について，検体作製3週間後(平成23年2月8日)にマンガン濃度を測定したところ，濃度に変化はなかった(有効数字2桁)．従って，配布試料間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた．マンガン及びその化合物の濃度範囲は0.005～0.05 mg/L であると明示した．

硝酸態窒素測定用試料は，市販ミネラルウォーター(Volvic; 500 ml 入り，同一 Lot 品24本）を用いた．平成23年1月17日に購入し，あらかじめ2本抜き出し，購入日と検体配布3週間後(平成23年2月9日)に硝酸態窒素濃度を測定したところ，濃度に差はなかった(有効数字2桁)．配布に際し，硝酸態窒素の濃度範囲は0.1～10 mg/L であると明示した．
（5）検査方法及び検査結果：検査は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用いて行うこととした．また測定は，5回の併行測定とし，その併行測定値を検査結果として報告することとした．

### 結　果

（1）マンガン

マンガンについては，15機関が参加し，うち誘導結合プラズマ質量分析法（ICP-MS 法）を用いた機関が14機関，誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP 法）を用いた機関が1機関であった．

各機関の5回の併行測定値（有効数字3桁）の平均値を有効数字3桁まで求め，各機関の測定値とした．表1に各機関の測定値を小さいものから順に，またその度数分布を図1に示した．全機関の測定値の平均値±標準偏差は0.0207±0.000446mg/L で，機関間変動係数は2.15％，機関内変動係数は0.26～1.90％と，両者とも10％を下回った．Grubbs の異常値検定(危険率5％)により棄却される機関はなかった．

マンガンの x bar-R 管理図を図2に示した．A 機関の測定値が平均値±2×標準偏差の範囲(0.0198～0.0216mg/L）から外れた．R 管理図における UCL（上方管理限界）は0.0010mg/L であった．マンガンにおける Z スコアの順位を図3に示す．なお，Z スコアは ISO/IEC ガイド43-1(JISQ0043-1)及び厚生労働省の水道水質検査の精度管理に関する調査結果[1]に基づき算出した．A 機関の Z スコアが3を超えた．測定値の平均値0.0207mg/ L を真の値と仮定した場合の回収率が0.9～1.1の範囲（0.0186～0.0228 mg/L）を外れる機関はなかった．

厚生労働省告示261号[2]では，マンガン及びその化合物を測定する4測定方法の前処理にはすべて加熱する工程が含まれている．今回，前処理として加熱処理

表 1 マンガンおよびその化合物検査結果

| 検査機関 | 測定値 (mg/L) | 変動係数 (%) | 回収率 (=測定値/平均値) |
|---|---|---|---|
| A | 0.0195 | 1.47 | 0.94 |
| B | 0.0204 | 1.61 | 0.99 |
| C | 0.0204 | 0.35 | 0.99 |
| D | 0.0204 | 0.82 | 0.99 |
| E | 0.0205 | 0.27 | 0.99 |
| F | 0.0206 | 1.90 | 1.00 |
| G | 0.0207 | 0.40 | 1.00 |
| H | 0.0208 | 0.90 | 1.00 |
| I | 0.0208 | 0.26 | 1.00 |
| J | 0.0209 | 1.60 | 1.01 |
| K | 0.0209 | 0.80 | 1.01 |
| L | 0.0210 | 1.63 | 1.01 |
| M | 0.0210 | 0.52 | 1.01 |
| N | 0.0212 | 1.31 | 1.02 |
| O | 0.0214 | 0.51 | 1.03 |
| 測定機関数 | 15 | 15 | 15 |
| 最大値(mg/L) | 0.0214 | 1.90 | 1.03 |
| 最小値(mg/L) | 0.0195 | 0.26 | 0.94 |
| 平均値(mg/L) | 0.0207 | 0.96 | 1.00 |
| 標準偏差(mg/L) | 0.000446 | 0.58 | 0.02 |
| 変動係数(%) | 2.15 | —— | 2.15 |

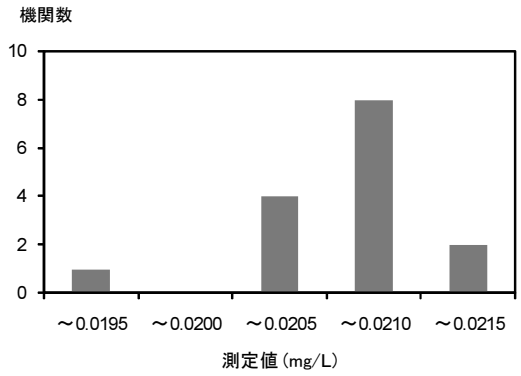



図 1 マンガンおよびその化合物測定値の度数分布

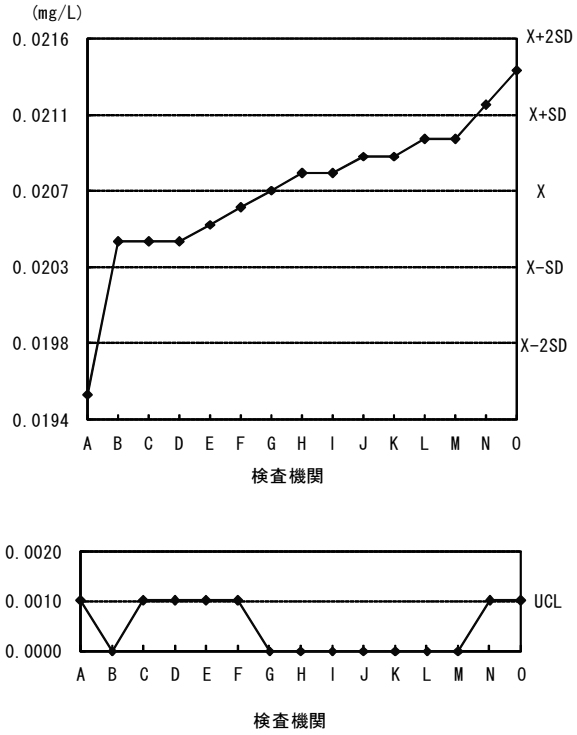



図 2 マンガンおよびその化合物のxbar-R管理図

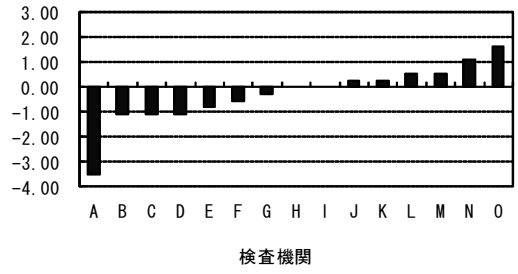



図 3 マンガンおよびその化合物のZ-スコアの順位

を行っていない機関が3機関(機関 F,G,O)あったが，加熱処理の有無により測定値に違いは見られなかった．全機関が内部標準法により定量を行っていた．内部標準物質の種類はガリウム4機関，イットリウム4機関，コバルト7機関であった．添加法についてはオンラインで自動的に添加している機関が11機関，前処理の段階で添加している機関が4機関であった．

(2) 硝酸態窒素

硝酸態窒素については20機関が参加し，IC 法により測定を行っていた．

各機関の5回の併行測定値（有効数字3桁）の平均値を有効数字3桁まで求め，各機関の測定値とした．表 2 に各機関の測定値を小さいものから順に，またその度数分布を図 4 に示した．20機関の測定値の平均値±標準偏差は1.53±0.0492mg/L であり，Grubbs の異常値検定(危険率5%)により棄却される機関はなかった．機関間の室間変動係数は3.23%，機関内変動係数

表 2 硝酸態窒素検査結果

| 検査機関 | 測定値 (mg/L) | 変動係数 (%) | 回収率 (=測定値/平均値) |
|---|---|---|---|
| a | 1.42 | 0.38 | 0.93 |
| b | 1.44 | 2.91 | 0.94 |
| j | 1.47 | 0.30 | 0.96 |
| i | 1.48 | 0.61 | 0.97 |
| e | 1.50 | 0.30 | 0.98 |
| f | 1.51 | 2.59 | 0.99 |
| h | 1.51 | 1.71 | 0.99 |
| o | 1.52 | 1.29 | 1.00 |
| d | 1.53 | 0.29 | 1.00 |
| l | 1.53 | 0.58 | 1.00 |
| g | 1.54 | 0.36 | 1.01 |
| c | 1.54 | 0.00 | 1.01 |
| k | 1.54 | 0.46 | 1.01 |
| p | 1.55 | 0.71 | 1.02 |
| n | 1.55 | 0.00 | 1.02 |
| m | 1.55 | 0.00 | 1.02 |
| q | 1.56 | 2.67 | 1.02 |
| r | 1.56 | 0.00 | 1.02 |
| s | 1.60 | 4.94 | 1.05 |
| t | 1.63 | 1.47 | 1.07 |
| 測定機関数 | 20 | 20 | 20 |
| 最大値(mg/L) | 1.63 | 4.94 | 1.07 |
| 最小値(mg/L) | 1.42 | 0.00 | 0.93 |
| 平均値(mg/L) | 1.53 | 1.08 | 1.00 |
| 標準偏差(mg/L) | 0.0492 | 1.30 | 0.03 |
| 変動係数(%) | 3.23 | —— | 3.23 |

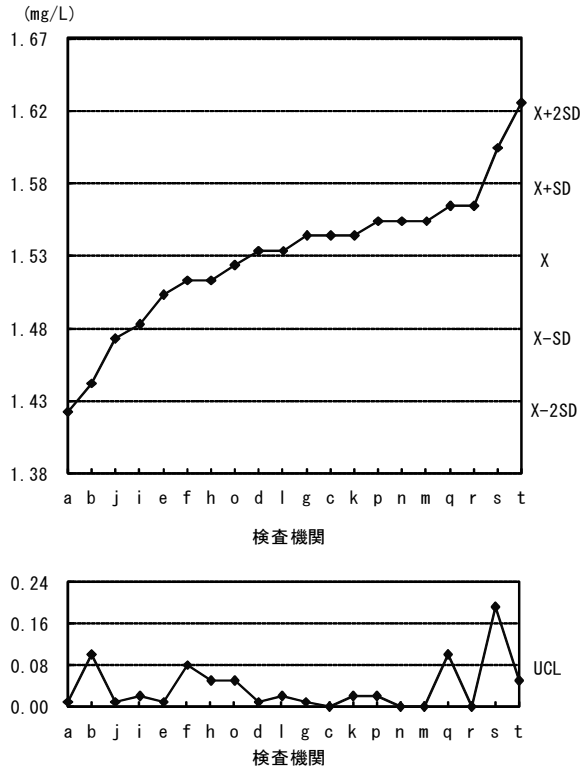



図 5 硝酸態窒素のxbar-R管理図

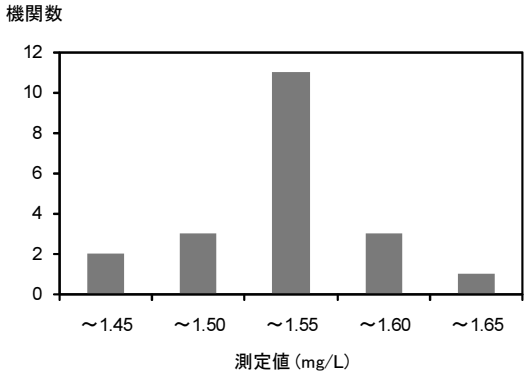



図 4 硝酸態窒素測定値の度数分布

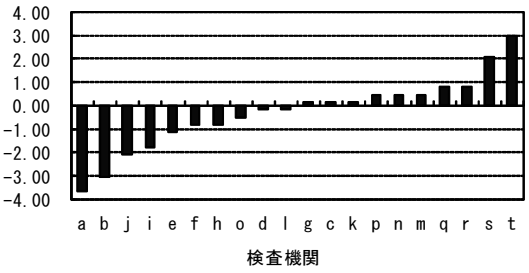



図 6 硝酸態窒素のZ-スコアの順位

は0.0～4.94%と，両者とも10%を下回った．

図 5 に硝酸態窒素の xbar-R 管理図を示す．a,t 機関が平均値±2×標準偏差の範囲（1.43～1.62mg/L）から外れた．R 管理図における UCL（上方管理限界）は0.079mg/L であった．硝酸態窒素における Z スコアの順位を図 6 に示した．a,b,t 機関の Z スコアが3を超えた．測定値の平均値1.53mg/ L を真の値と仮定した場合の回収率が0.9～1.1の範囲（1.37～1.68mg/L）を外れた機関はなかった．

前処理としてろ過を行っている機関が10機関，希釈(5倍)を行っている機関が1機関あった．希釈を行っていない機関の検量線の上限は2～3mg/L が15機関，3～5mg/L が3機関，10mg/L が1機関であった．多点検量線において0を含まない検量線の下限と上限の比

が100以上の3機関のうち2機関は2次検量線を用いていた．18機関が電気伝導度検出器を，また2機関がUV検出器を用いて測定を行っていた．

## 考　察

平成22年度はマンガンと硝酸態窒素について精度管理事業を実施した．両項目ともに，機関内・機関間のばらつきは小さく，Zスコアが3を超えた機関はあったが，回収率が0.9～1.1の範囲を外れた機関はなく，報告された検査結果は概ね良好であった．

## 文　献

1．「平成21年度水道水質検査の精度管理調査結果」(2010)．厚生労働省健康局水道水質管理室．
2．厚生労働省告示第261号（2003)．平成15年7月22日．

平成23年12月16日

# 平成22年度富山県内食品衛生検査の精度管理調査
## －理化学的検査－

中山　恵理子　　大戸　幹也　　山下　智富　　小玉　修嗣　　上出　功

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture

Eriko NAKAYAMA, Mikiya OHTO, Tomohisa YAMASHITA,
Shuji KODAMA, Isao KAMIDE

本県では，富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき，平成11年度から県内の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持，向上を目的とした精度管理調査を実施している．調査試料の作製および調査結果の集計等については当所が担当し，その結果を報告してきた[2-11]．今年度は，日常の食生活の中で使用頻度が高いと思われる「みそ」について，使用基準があり，検査頻度の比較的高い保存料（ソルビン酸，以下SOA）の定量試験について調査を実施した．みそにSOAを添加した試料を調製後，食品衛生検査機関に配布し，含有量等の報告を求めた．今回この集計結果に基づく評価の概要を報告する．

### 調査方法

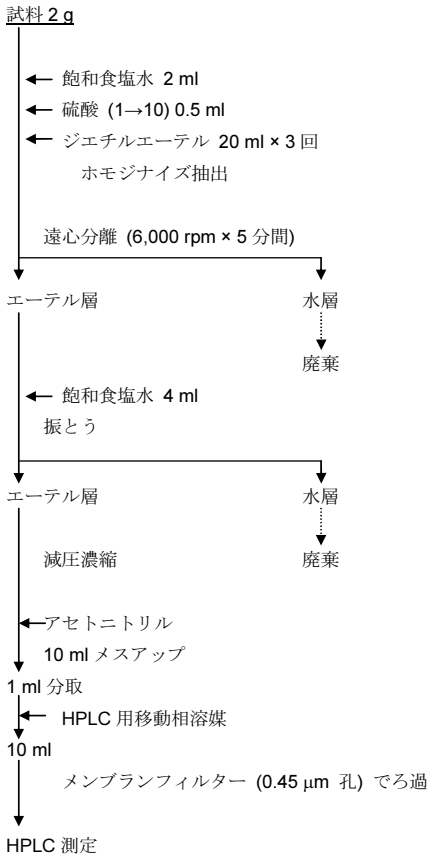
１．参加機関及び実施期間：富山県内の公立食品衛生検査機関5箇所
２．実施期間：平成23年1月25日～2月14日（測定期間：平成23年1月25日～2月4日）
３．調査試料及び調査項目：みそ中の保存料（SOA）の定量
４．調査試料の調製及び保管方法：SOAの標準品は，市販の試薬（和光純薬工業株式会社製）を使用した．これをアセトニトリルに溶解し，$2.000\times10^{4}$ mg/Lの標準原液を調製した．また，調査試料の基材には，市販のみそ「名称；米みそ」を使用し，予備試験においてSOAを含まないことを確認した．

調査試料用基材約990gをミキサーカップに入れ，SOA標準原液をホールピペットを用いて5mL添加した．更に基材を加えて全重量を1,000gとし，均一になるようによく撹拌した．（試料中SOA濃度：0.1000 g/kg）

この調査試料をハイゼックス袋に約120gずつ小分け採取した後，乾燥を防ぐために密封し，配布時まで試験品保管庫（10℃未満）で冷蔵保管した．

各機関に調査試料を1試料（約120g）ずつ配布した．
５．調査試料の均一性確認：以下に示すSOA抽出法及び測定条件に従って調査試料中のSOA濃度を測定し，均一性の確認を行った．

SOA抽出法：




**測定装置：**

ポンプ　　：日立製作所製　L-2100型
オートサンプラ：日立製作所製　L-2200型
検出器　　：日立製作所製　L-2450型
カラムオーブン：東ソー製　CO-8011型

**測定条件：**

カラム：Wakosil Ⅱ 5C18 4.6mmI.D.×250mm，5 μm
移動相溶媒：37%ｱｾﾄﾆﾄﾘﾙ/水 （含3mM 塩化ｾﾁﾙﾄﾘﾒﾁﾙｱﾝﾓﾆｳﾑ，50mM ﾘﾝ酸塩緩衝液，pH4.8）
移動相流量：1ml/min
カラム温度：40℃
試料注入量：20μl
測定波長：λ=260nm

6．測定方法及び検査結果の処理：各機関の検査実施標準作業書（検査 SOP）に基づいて実施し，5回の併行測定を行うものとした．

各検査機関の評価は，報告を受けた検査結果，検査経過記録等に基づいて行った．

## 結果および考察

調査試料の均一性の評価は，調製した試料から18箇所の試料を採取し，SOA の濃度を測定して行った．その定量値は，0.09615g/kg から0.1028g/kg の範囲にあり，その平均と標準偏差は，それぞれ0.099322±0.001814g/kg(変動係数1.827%)であった．なお，最小値と最大値について，有意水準5%で Grubbs の異常値棄却検定を行ったところ，いずれも外れ値とは言えず，配布試料は全て均一と考えられた．

各検査機関から提出された報告書を基に作成した集計結果を表1に示した．

測定機関数は5機関で，測定機関の測定平均値の最大値は0.1044g/kg，最小値は0.08998g/kg，その平均値（全機関測定値平均値 Xbar2）±標準偏差は，0.09666±0.006053g/kg であった．機関間の変動係数は6.26%であった．各機関間の併行測定における機関内変動係数は0.30～2.3%の範囲にあり，その平均値は1.14%であった．

全ての機関において，試料から調製した試験溶液の濃度は検量線の濃度範囲に含まれており，かつその検量線は，相関係数が0.999以上の良好な直線性が得られていた．

次に，各検査機関の測定値を基に Xbar－R 管理図[12, 13]と z－スコア[14]の順位を作成し，これらを，それぞれ図1及び図2に示した．

管理限界範囲については，Xbar 管理図は精度管理の一般ガイドライン[14]に従って，添加した量の70%～120%に設定し，R 管理図については，上水試験方法[12]に従って作製したところ，全ての検査機関の報告値が管理線の範囲(UCL：上方管理限界線と LCL：下方管理限界線の間の範囲)に入り，良好な結果であった．

表1．ソルビン酸集計結果

| 検査機関名 | 測定平均値 [g/kg] | 変動係数 [%] | 測定値範囲 [g/kg] |
|---|---|---|---|
| A | 0.1044 | 0.52 | 0.0010 |
| B | 0.09112 | 1.6 | 0.0030 |
| C | 0.08998 | 2.3 | 0.0050 |
| D | 0.09968 | 0.30 | 0.0008 |
| E | 0.09814 | 0.94 | 0.0021 |
| 機関数 | 5 | － | － |
| 最大値 | 0.1044 | 2.3 | 0.0050 |
| 最小値 | 0.08998 | 0.30 | 0.0008 |
| 平均値（Xbar2） | 0.09666 | 1.14 | 0.00238 |
| 標準偏差（SD） | 0.006053 | － | － |
| 変動係数CV［%］ | 6.26 | － | － |

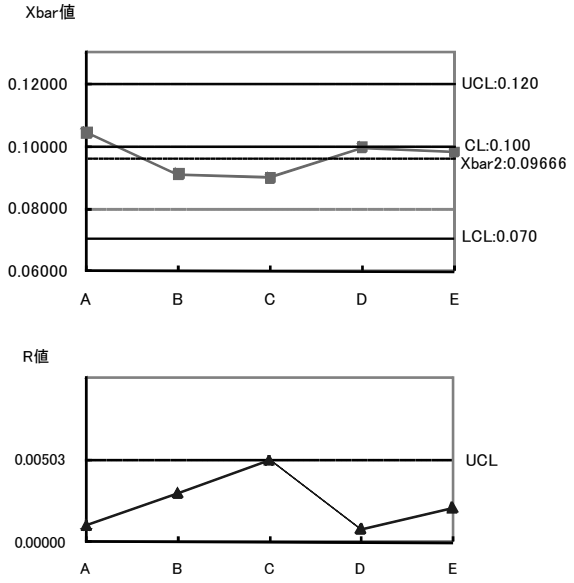



図1．ソルビン酸の Xbar-R管理図

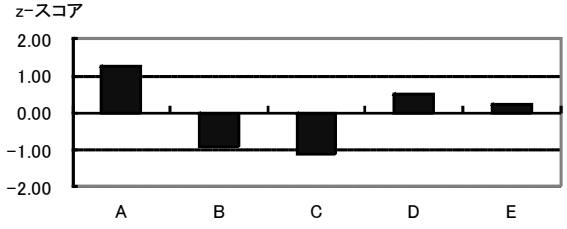



図２．ソルビン酸の Z-スコア

今回の調査では，全ての検査機関が良好な管理状態であると判断された．しかしながら，R 管理図において，C 機関は上部管理限界線に非常に近い結果であった．そこで C 機関のバラつきが大きくなる原因を調査したところ，HPLC 測定やデータ解析処理に課題

があると考えられた．今後，同試験を実施した場合にXbar値やR値の推移を注意していく必要があると考えられた．C機関では，一層精度の高い検査を行うために問題点を改善するよう求めたい．

精度管理調査を通じて検査機関の検査精度の確認をすることは，本県の食品衛生検査水準の維持・向上につながるものと考えられる．今後も継続して本調査を実施していきたい．

## 文　献


1．富山県厚生部長通知，薬食第1,229号．平成10年12月16日
2．大戸幹也，松永明信，尾崎一郎(2000)．富山衛研年報，23，175-177.
3．大戸幹也，松永明信，尾崎一郎(2001)．富山衛研年報，24，191-194.
4．齊藤行雄，大戸幹也，松永明信，尾崎一郎(2002)．富山衛研年報，25，189-193.
5．大戸幹也，齊藤行雄，松永明信，坂森寛治(2003)．富山衛研年報，26，179-182.
6．齊藤行雄，大戸幹也，松永明信，坂森寛治(2004)．富山衛研年報，27，163-166.
7．大戸幹也，齊藤行雄，坂森寛治(2005)．富山衛研年報，28，177-180.
8．中山恵理子，大戸幹也，齊藤行雄，松澤孝信(2006)．富山衛研年報，29，195-197.
9．大戸幹也，中山恵理子，齊藤行雄，高柳信孝,松澤孝信(2007)．富山衛研年報，30，168-171.
10. 大戸幹也，中山恵理子，山下智富，村元達也，高柳信孝，前多隆志(2008)．富山衛研年報，31，191-194.
11. 大戸幹也，中山恵理子，山下智富，小玉修嗣，高柳信孝，齊藤尚仁，前多隆志(2009)．富山衛研年報，33，172-175.
12. 日本水道協会(2001)．上水試験法解説編．P19-29.
13. 日本規格協会(1994)．JIS Z 9021.
14. 厚生省生活衛生局食品保健課長通知，衛食第117号．平成9年4月1日

# 富山県内市販菓子中のメラミン含有量調査

大戸　幹也　　中山　恵理子　　山下　智富　　小玉　修嗣　　齊藤　尚仁　　上出　功

Contents of Melamine in Confectionery Products in Toyama Prefecture

Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASITA, Shuji KODAMA,
Naohito SAITO, and Isao KAMIDE

メラミンは主に合成樹脂の原料として用いられ，加工されて食器などに使用される化学物質である．その構造を図１に示した．分子内には多くの窒素原子が含まれ，分子量あたりの窒素原子が占める割合は66.7%と非常に高い．食品に含まれる三大栄養素の一つであるタンパク質の量は，食品の品質を評価するためには重要であるが，タンパク質分子内の窒素原子の量から換算する方法が一般的に用いられている．しかし，この方法では，メラミンの窒素原子と区別が出来ず，見かけ上のタンパク質量が増加し，タンパク質偽装が可能になる．2007年3月に米国で発生した多数のペット死亡事件や，2008年9月に中国で発生した多数の乳幼児健康被害事件等は，小麦や乳製品等へのメラミンの故意の添加が原因であった[1]．その後我が国でも中国製乳製品や菓子類等からメラミンが検出され[2]，人への健康影響が懸念される事態となった．これを受けて本県も，輸入食品検査検討会議で協議し，県内に流通する菓子の調査を実施することになった．今回は，これまで当所で行ったメラミンの検査について報告する．

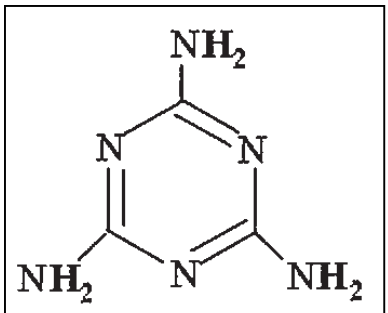



**図 1.　メラミンの構造式**

## 材料および方法

(1) 試料

平成20年8月から平成22年12月までの間に県内で市販された菓子類で，61試料を試験に供した．

(2) 試薬及び標準溶液

メラミン標準品は，関東化学㈱製（純度98.0%以上）を使用した．アセトニトリルはLC/MS用を，またこれら以外の試薬は，残留農薬試験用または特級品を使用した．

メラミン標準溶液は，約5mgの標準品を正確に100mlメスフラスコに量り採り，精製水で溶解して50mg/ml溶液を調製した．

(3) 前処理，装置及び測定条件

前処理は，厚生労働省の通知[3]に従う方法で行った．

高速液体クロマトグラフタンデム質量分析計（LC/MS/MSはWaters社製7195Alliance HPLCシステム付きQuattro Micro APIタンデム質量分析計を用いた．

LC/MS/MS条件：厚生労働省の通知に示されたメラミン試験法例（以下試験法例）にほぼ準拠したが，質量分析計の測定条件については，最適化処理を行って次のように設定した．

メラミン定量用イオンは，m/z＝127＞85でCone電圧は25V，Collisionエネルギーは25eVで測定し，確認用は，m/z＝127＞68でCone電圧は25V，Collisionエネルギーは15eVで測定した．

## 結果および考察

(1) 前処理および検査方法

厚生労働省の通知[3]に示されたメラミンの試験法例は，LC/MS/MSを用いる方法である．この試験法例では，前処理は，試料にメラミン内部標準物質を添加し，メラミンを50%アセトニトリル溶液で抽出する操作から始める．内部標準物質を使用するため，検査コストは高い．また内部標準物質の回収率の確認に伴う作業も必要とする．このため我々は，内部標準物質を使用しない方法の検討を行った．先ず定量に用いる検

量線溶液を調製した．標準溶液を精製水で段階的に希釈し，3〜50ppb溶液の範囲で検量線を作製し，LC/MS/MSで測定したところ，ほぼ原点を通る良好な直線性が得られた．次にこの検量線を用いて，試料からの回収試験を行った．藤田らの方法[4]を参考にして，市販菓子「ジャムパイ」に１μg/gの濃度で添加して回収試験を行った．しかしながら回収率は19.0%に過ぎず，非常に低い結果であった．LC/MSを用いた検査では，一般的に試料に含まれるマトリックスの影響を受け易いことが知られている．川合ら［5]も，メラミン試験において，試料中の成分がメラミンのイオン化抑制を引き起こしていたと指摘し，マトリックス検量線の有効性を指摘している．低回収率の原因は，マトリックスによるものと考えられた．そこで我々も検量線溶液に，試験溶液を添加してマトリックス検量線溶液を作製して定量を行った．その結果，回収率は82.9%（n=5，CV3.7%）に大きく上昇した．良好な回収率が得られ，マトリックス検量線による定量法が，メラミン検査の有効な手段と成り得ることが判明した．

そこで次にイオン化抑制の強度が試料によってどの程度異なるか調査を行った．全ての試料ごとにそれぞれマトリックス検量線を作製して定量することは，日常検査においては大変な労力を必要とするため不可能である．従って，菓子類の代表として，ジャムパイとミルクチョコレートとクラッカーを選び，これらの試料からのマトリックス成分によるメラミンの定量に及ぼす影響を調査した．それぞれの試料の試験溶液にメラミンを20ppb の濃度で添加した溶液を調製し，それぞれのメラミンピークの質量分析計のレスポンスを比較する実験を行ったところ，ジャムパイ：ミルクチョコレート：クラッカーから得られたレスポンス比は，それぞれ1：1.04：1.10であった．ジャムパイに比べて脂質成分やタンパク質成分を多く含むチョコレート菓子（ピーナッツ入りミルクチョコレート）や炭水化物成分を比較的多く含むクラッカー菓子（ピーナッツクリームサンドクラッカー）のレスポンスは，それぞれジャムパイのレスポンスとほぼ同等で，大きな差は無かった．つまり，3試料のイオン抑制度はほぼ同程度であることが判明した．したがって，これらと同種類の菓子類に関しては，一種類のマトリックス検量線で対応が可能であると考えられた．そこで，本法では，3種類の試料の何れかのマトリックス検量線溶液を用いて定量を行うこととした．

(2) 検査方法の評価等

本法を検査に適用できるか否かの評価方法は，厚生労働省の通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」[6]に従った．ただし，メラミンの添加量は，藤田らの方法[5]を参考に菓子「ジャムパイ」に1μg/g濃度で実施し，1日2試料，5日間の試験により実施した．その結果，平均回収率（n=10）は87.7%で，室内精度は5.85%，併行精度は4.62%であり，真値及び精度の目標値（真度：回収率70〜120%，室内精度：15%未満，併行精度：10%未満）を十分満たしていた．

(3) 実試料の分析

米国で発生したペット死亡事件は，FDA及び米国農務省の調査から，中国で小麦粉にメラミン及びメラミン関連化合物が添加され，これを原材料としたペットフードによって発生したものであることが判明している．この結果を受けて我が国も中国製の小麦粉製品等に対してはメラミン検査を行うことになった[7]．また，中国ではメラミンは多くの乳製品に添加されて大きな健康被害を引き起こした．そこで本調査は，原材料に小麦粉または乳製品が使用されている製品とした．

調査試料を種類別にして表１に示した．クッキー類，ビスケット類，クラッカー類，チョコレート類等合計61試料の調査を行ったところ，全ての試料からメラミンは検出されなかった（0.5mg/kg未満）．

なお，検査終了後，10試料（クッキー類，ビスケット類，パイ類，ウエハース類，ケーキ類，カステラ，せんべい）を選び，それぞれの試験溶液にメラミン濃度が20ppb となるようにメラミンを添加して定量したところ，14.4〜17.9ppb のメラミンが確認出来た．これにより，本試験法の有効性が示された．基準値(2.5mg/kgまたは乳幼児使用食品は不検出：0.5mg/kg)を大きく下回るレベルの試料の検査，つまり，検査成績が不検出となる試料の検査においては，定量値の小さな誤差は問題ではないので，試料全てそれぞれのマトリックス検量線を作製する必要は無く，代表的なマトリックス検量線で代用可能であると考えられた．また仮に微量に検出された場合においては，試験溶液にメラミンを添加することで，結果が再確認出来，内部標準溶液を用いない方法として本法は有効な日常検査法であると考えられた．

本方法で調査した試料の生産国を表2に示したが，試料の43%が輸入品で，主に中国，ブラジル，マレーシア，ベトナム産品の割合が高かった．国産品の割合は61件中35件で57%であったが，クッキー，ビスケット，クラッカーは，小麦を主材料として製造される．農林水産省による日本の小麦の自給率は14%（平成21年分，カロリーベース）である現状を考えると，原材料中に占める輸入品の割合は非常に高い．最終製品が国産品であっても，製品の原材料まで含めると純国産品は非常に少ないものと考えられる．予断なく検査す

**表1. 調査した試料（種類別）**

| 種類 | 数 |
|---|---|
| クッキー類 | 19 |
| ビスケット類 | 10 |
| クラッカー類 | 11 |
| チョコレート類 | 8 |
| パイ類 | 4 |
| ウエハース類 | 2 |
| パン | 1 |
| ペレッツェル | 1 |
| ドーナッツ | 1 |
| ケーキ | 1 |
| カステラ | 1 |
| せんべい | 1 |
| スナック類 | 1 |
| 計 | 61 |

**表2. 調査した試料（国別）**

| 国名 | 数 |
|---|---|
| 日本 | 35 |
| 中国 | 6 |
| ブラジル | 6 |
| マレーシア | 5 |
| ベトナム | 4 |
| タイ | 2 |
| 韓国 | 1 |
| フィリピン | 1 |
| シンガポール | 1 |
| 計 | 61 |

る必要性が感じられた．

厚生労働省は，平成20年9月19日以前の過去１年間に輸入された中国製加工食品のメラミン調査結果について，検査数2051件中54件からメラミン検出と発表している[8]．この調査での検出率は2.6%であるが，これ以降大きな事件の報告は無いことから，現在では更に検出率も下がっていると考えられる．しかしながら，中国国内において本年においてもメラミン含有食品が発見された報道もあったことや，メラミンは安定な化合物でありかつ安価であることを考えると，事件の再発も懸念される．当面まだしばらくは最終製品の安全を確認することが重要と考えられるので，今後も実態把握に努めていきたい．

## 文　献


1．食品安全委員会．「メラミン等の影響について」2008年10月9作成2009年4月30日更新　http://www.fsc.go.jp/emerg/melamine1009.pdf

2．厚生労働省発表資料．「中国における牛乳へのメラミン混入事案への対応について（第1～第23報）．2008年9月20日．http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/09/h0920-1.html.

3．厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知，食安監発第1002002号．平成20年10月2日．

4．藤田瑞香，柿本健作，永吉春奈，小西良昌，内田耕太郎，小阪田正和，起橋雅浩，尾花裕孝（2009）．食品衛生学雑誌，50，131-134.

5．川合啓之，林　克弘，竹内　浩，一色　博，林﨑由美子，大垣有紀，志村恭子（2009）．三重保環研年報，54，47-55.

6．厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知，食安発第1115001号．平成19年11月15日．

7．厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室長通知，食安輸発第0510001号．平成19年5月10日．

8．厚生労働省．「過去に輸入された中国産加工食品のメラミン調査結果」 http://www.mhlw.go.jp/topic/bukyoku/syoku-anzen/china-milk/index.html.

平成23年12月16日

# 氷見・高岡地区温泉の湧出量，泉温及び化学成分の経年変化（1995～2010）

村元　達也　　健名　智子　　小玉　修嗣

## Secular Variation of Discharge, Temperature and Chemical Components of Mineral Springs in Himi and Takaoka Areas

Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KENMEI and Shuji KODAMA

氷見・高岡地区には平成23年1月現在で36の源泉があるが，そのうちいくつかの源泉が海岸地域の狭い範囲に密集しており[1]，温泉の枯渇，塩水化，相互影響等の問題が懸念されている．当所では，富山県環境審議会温泉専門部会の提言に基づいて，平成7年度より，この地区の温泉資源保護を目的として，温泉の性質の変動（湧出量，泉温及び化学成分等）について，調査を実施してきた[2].

当初の調査対象は14源泉であったが，新規源泉の追加や利用廃止などがあり，現在対象は18源泉となっている．そのうち調査年数の短い1源泉を除いた17源泉について，1995年から2010年までの16年間の結果を解析したので，報告する．

## 調査方法

１．調査対象

氷見・高岡地区の17源泉（a～q）

２．調査内容

①　現地調査

採水と，湧出量，泉温の測定を，県庁生活衛生課及び高岡厚生センター又は同氷見支所が行った．湧出量については，測定できない場合は源泉管理者等からの聞き取りで行った．

②　温泉成分検査

ナトリウムイオン（Na），塩化物イオン（Cl），マグネシウムイオン（Mg），カルシウムイオン（Ca），硫酸イオン（$SO_4$）及び炭酸水素イオン（$HCO_3$）の測定を，衛生研究所が行った．

## 結果および考察

１．源泉の泉質

泉質は，源泉 a～l がナトリウム－塩化物泉，源泉 m～o がナトリウム－塩化物強塩泉，源泉 p がナトリウム－塩化物・炭酸水素塩泉で，源泉 q が泉質なし（メタケイ酸で温泉に該当）である．ただし，源泉 m については，調査開始から平成21年度までナトリウム－塩化物泉であったが，22年度の調査で成分濃度の大幅な増加が見られ，泉質も強塩泉となった．

２．湧出量及び泉温の経年変化

表1に，源泉ごとの湧出量や泉温の調査結果をまとめた．表中の AV は調査開始から16年間の平均値を，CV（%）は変動係数を示す．17源泉のうち自噴するものは4源泉あり，他はポンプを用いた動力揚湯である．このうち，源泉 p は施設の構造上の理由で湧出量が測定不能であり，他の源泉でも破損などの理由で測定できなかった年がある．

湧出量の経年変化は，CV（%）の最小値が13%，最大値が72%で，いずれの源泉でも目安となる10%を超えた．特に最大値をとる源泉 m の変動が顕著で，平成22年度は21年度比の56%と大きく減少している．しかし，最近10年間の経年変化の散布図から相関関数を求め，増減傾向の有無について調べたところ，有意な相関（危険率 $p<0.01$）が認められる源泉はなく，枯渇の心配は少ないと言える．

泉温についても湧出量と同様の方法で調べた．17源泉の CV（%）の平均値が7.1%と小さく，10%を超える源泉が e，i 及び l のみで，その他の源泉では泉温は安定していた．図1に示すように，源泉 e について最近10年間で増加傾向（相関係数 $r=0.8321$，測定回数 $n=9$）が認められた．ただし，源泉 e は自然湧出で元々の湧出量が非常に小さいことと，平成19年度よりメタンガス対策のために湧出量が測定不能となっており，泉温と湧出量の相関は分からなかった．

また，前回の報告で泉温の減少傾向が認められた2源泉（c，f）については，その後の3年間の調査で微増し，安定化する傾向が見られた．

３．化学成分の経年変化

主要成分の16年間の調査結果について，表2に平均値（AV），標準偏差（SD）及び変動係数（CV（%））で示した．濃度の大きい Na，Ca 及び Cl は変動が小

表 1. 源泉ごとの泉質と湧出量及び泉温の調査結果

| 源泉 | 泉　質　名 | 自噴 | 動力 | 温泉湧出量（L/分） | | 泉温（℃） | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | AV | CV (%) | AV | CV (%) |
| a | ナトリウム－塩化物泉 | | ○ | 168 | 40 | 51.7 | 8.7 |
| b | | | ○ | 139 | 36 | 55.3 | 5.7 |
| c | | | ○ | 165 | 53 | 42.4 | 4.4 |
| d | | | ○ | 86 | 22 | 34.0 | 5.8 |
| e | | ○ | | 1 | 37 | 16.0 | 13.4 |
| f | | | ○ | 127 | 49 | 54.7 | 4.3 |
| g | | | ○ | 74 | 42 | 55.0 | 3.2 |
| h | | ○ | | 35 | 42 | 48.3 | 4.5 |
| i | | | ○ | 92 | 26 | 33.5 | 19.6 |
| j | | | ○ | 16 | 30 | 20.7 | 3.1 |
| k | | | ○ | 91 | 25 | 32.7 | 2.9 |
| l | | | ○ | 282 | 13 | 40.7 | 15.3 |
| m | ナトリウム－塩化物強塩泉 | | ○ | 147 | 72 | 52.2 | 5.8 |
| n | | ○ | | 22 | 45 | 43.6 | 3.9 |
| o | | | ○ | 71 | 71 | 37.5 | 8.0 |
| p | ナトリウム－塩化物・炭酸水素塩泉 | | ○ | — | — | 23.6 | 4.6 |
| q | なし（メタケイ酸） | ○ | | 15 | 17 | 22.1 | 6.8 |

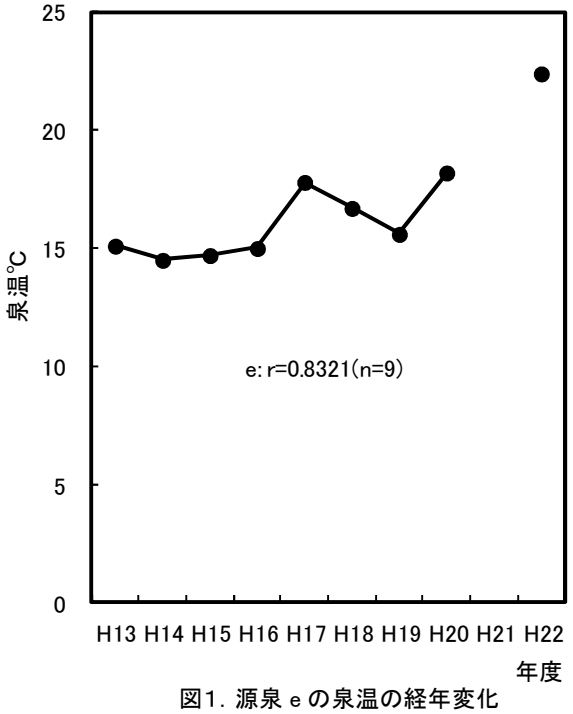



図1. 源泉 e の泉温の経年変化

さく，濃度の小さい Mg は変動が大きくなった．各源泉の中で，j と k については全体的に CV（%）が非常に高い値となっている．この原因として，源泉 k は平成18年度の調査において湧出量が測定不能なほど小さくなっており，浅所での地下水の混入が少なくなったため，その年だけ成分濃度が極端に増加したことが考えられる．また，源泉 j は調査年数が5年間と短いため，今後の推移を観察する必要がある．

源泉ごとに各成分の増減傾向の有無を調べたところ，次のような傾向が見られた．

源泉 d では，平成19年度までの調査で主要な成分濃度に減少傾向が認められたことから，低濃度の地下水の混入が考えられてきたが，図2で示すように，その後の3年間の調査ですべての成分に大きな変動が見られ，有意な相関は得られなくなった．ただし，組成の変化は小さいため，塩水化や他の源泉との相互影響は考えにくく，地下水の混入量または降水量等に依存して，変動していると考えられる．

源泉 m では，図3に示すように，Na，Cl，Mg 及び $HCO_3$ に増加傾向（r は Na，Mg，Cl，$HCO_3$ で，それぞれ0.8197，0.8447，0.8491，0.8924，n＝16）が

表2.源泉の成分分析結果

| 源泉 | | Na mg/kg | Mg mg/kg | Ca mg/kg | Cl mg/kg | $HCO_3$ mg/kg | $SO_4$ mg/kg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | AV | 2874.9 | 8.7 | 370.5 | 5141.1 | 64.6 | |
| | SD | 294.3 | 6.5 | 68.5 | 614.7 | 27.2 | |
| | CV (%) | 10.2 | 74.4 | 18.5 | 12.0 | 42.1 | |
| b | AV | 2502.9 | 1.8 | 281.3 | 4396.6 | 40.6 | |
| | SD | 254.3 | 2.6 | 17.7 | 360.3 | 10.0 | |
| | CV (%) | 10.2 | 144.4 | 6.3 | 8.2 | 24.5 | |
| c | AV | 1381.0 | 1.8 | 34.8 | 1941.1 | 250.7 | 158.0 |
| | SD | 62.4 | 0.5 | 4.0 | 76.1 | 20.6 | 16.3 |
| | CV (%) | 4.5 | 26.9 | 11.5 | 3.9 | 8.2 | 10.3 |
| d | AV | 1538.3 | 31.2 | 69.7 | 2508.1 | 346.9 | |
| | SD | 334.2 | 9.1 | 19.9 | 572.8 | 55.2 | |
| | CV (%) | 21.7 | 29.0 | 28.6 | 22.8 | 15.9 | |
| e | AV | 2452.0 | 43.2 | 41.6 | 3783.8 | 453.0 | |
| | SD | 169.1 | 3.2 | 7.1 | 302.9 | 20.7 | |
| | CV (%) | 6.9 | 7.5 | 17.0 | 8.0 | 4.6 | |
| f | AV | 3338.9 | 5.1 | 378.6 | 5846.1 | 54.9 | |
| | SD | 135.3 | 1.2 | 20.7 | 191.4 | 5.5 | |
| | CV (%) | 4.1 | 24.1 | 5.5 | 3.3 | 10.0 | |
| g | AV | 2753.7 | 4.5 | 252.2 | 4723.3 | 46.0 | |
| | SD | 62.6 | 1.2 | 24.8 | 112.2 | 4.9 | |
| | CV (%) | 2.3 | 26.2 | 9.8 | 2.4 | 10.6 | |
| h | AV | 471.4 | 0.2 | 8.7 | 590.5 | 175.8 | 47.7 |
| | SD | 8.7 | 0.1 | 0.9 | 21.2 | 5.1 | 1.6 |
| | CV (%) | 1.9 | 53.3 | 10.5 | 3.6 | 2.9 | 3.4 |
| i | AV | 9684.1 | 91.3 | 278.6 | 15522.7 | 814.1 | |
| | SD | 673.9 | 12.2 | 38.8 | 1269.8 | 240.8 | |
| | CV (%) | 7.0 | 13.4 | 13.9 | 8.2 | 29.6 | |
| j | AV | 225.6 | 4.2 | 30.3 | 352.2 | 92.1 | 17.2 |
| | SD | 265.5 | 4.9 | 34.4 | 491.2 | 6.2 | 3.9 |
| | CV (%) | 117.7 | 115.5 | 113.8 | 139.5 | 6.7 | 22.5 |
| k | AV | 1019.3 | 7.9 | 27.7 | 1526.4 | 251.4 | 17.3 |
| | SD | 1198.7 | 8.2 | 30.2 | 1966.0 | 44.8 | 5.5 |
| | CV (%) | 117.6 | 103.7 | 109.0 | 128.8 | 17.8 | 31.5 |
| l | AV | 2622.3 | 1.5 | 313.0 | 4705.7 | 20.5 | |
| | SD | 126.0 | 0.5 | 19.7 | 100.0 | 11.9 | |
| | CV (%) | 4.8 | 33.9 | 6.3 | 2.1 | 58.2 | |
| m | AV | 4482.7 | 22.1 | 510.6 | 7894.7 | 78.6 | 3.7 |
| | SD | 974.1 | 18.7 | 53.7 | 1455.6 | 30.3 | 12.8 |
| | CV (%) | 21.7 | 84.9 | 10.5 | 18.4 | 38.6 | 346.5 |
| n | AV | 6629.1 | 68.2 | 590.9 | 11648.6 | 126.1 | |
| | SD | 128.7 | 3.3 | 53.3 | 154.1 | 6.5 | |
| | CV (%) | 1.9 | 4.8 | 9.0 | 1.3 | 5.1 | |
| o | AV | 9401.1 | 23.1 | 1996.2 | 18079.6 | 30.5 | |
| | SD | 328.1 | 3.3 | 81.5 | 403.2 | 4.4 | |
| | CV (%) | 3.5 | 14.5 | 4.1 | 2.2 | 14.4 | |
| p | AV | 968.8 | 8.4 | 18.0 | 1029.3 | 1098.5 | |
| | SD | 49.8 | 0.6 | 1.5 | 89.0 | 34.1 | |
| | CV (%) | 5.1 | 7.1 | 8.5 | 8.6 | 3.1 | |
| q | AV | 13.0 | 4.7 | 7.3 | 11.9 | 67.8 | 8.1 |
| | SD | 0.6 | 0.3 | 0.5 | 0.4 | 8.0 | 0.5 |
| | CV (%) | 4.9 | 5.6 | 7.4 | 3.6 | 11.9 | 6.4 |

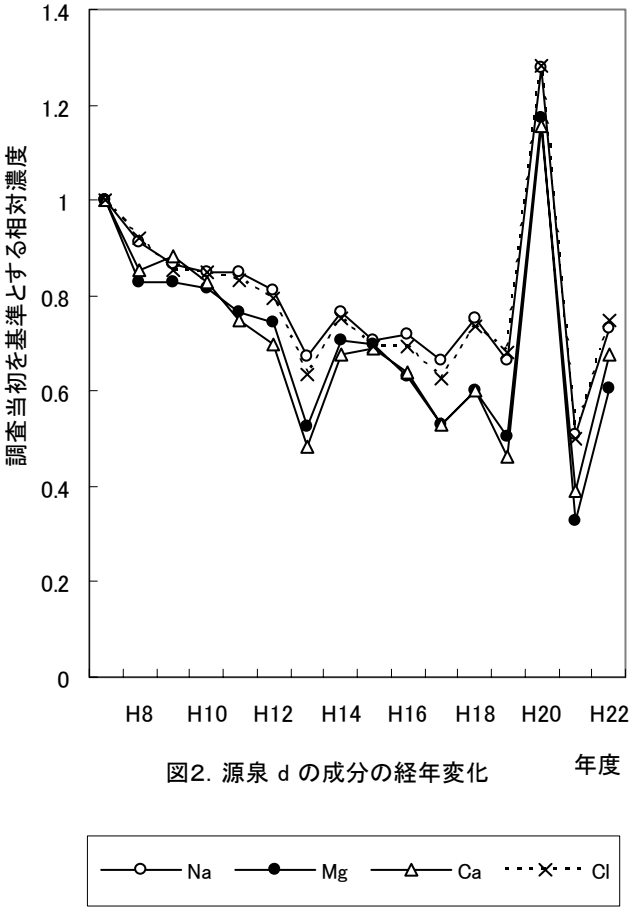



図2. 源泉 d の成分の経年変化

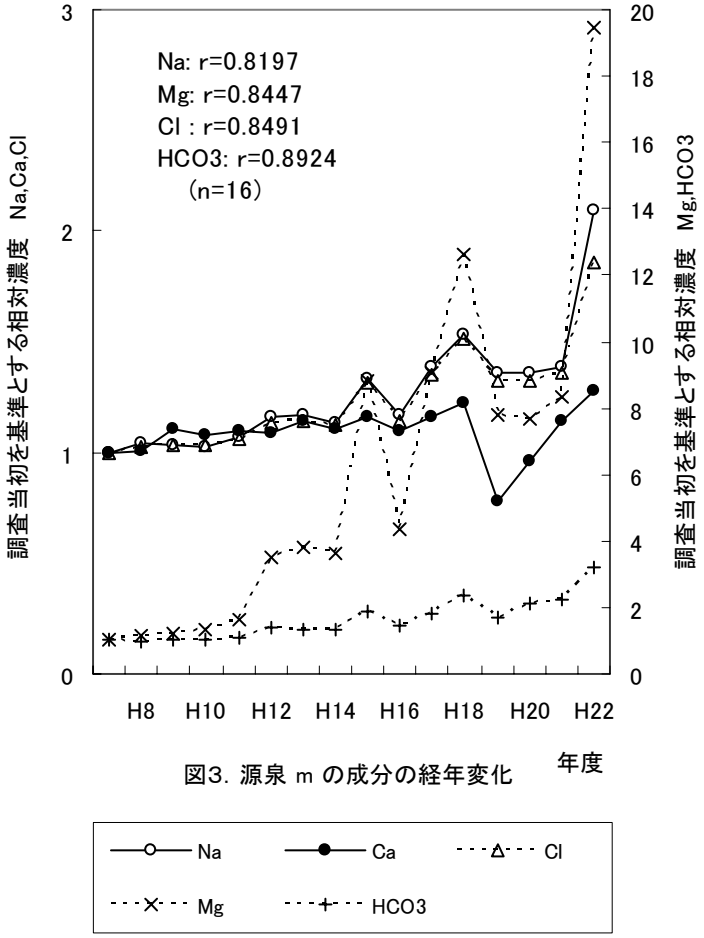



図3. 源泉 m の成分の経年変化

認められた．特に平成22年度における増加が顕著で，源泉が位置的に海に近いことや[1]，海水中の濃度が比較的低い Ca には増加傾向が認められず，新たに $SO_4$が検出されるなど海水の組成に近づいていることから[3]，源泉の塩水化の可能性がある．そこで，平成21年度から22年度にかけて源泉 m に海水のみが混入していると仮定して，源泉に対する海水の混合比を計算すると，Na が0.800，Mg が0.034，Cl が0.449となった（$HCO_3$については，平成22年度に海水より高い濃度をとったため，計算できず）．Mg の混合比が，Na，Clと比べて極端に低いことから，成分濃度の増加が塩水化以外の原因によることも考えられ，平成23年度以降の推移を見て判断する．

源泉 c，n では，これまで $HCO_3$の増加傾向が見られ，$HCO_3$を含む地下水または $CO_2$ガスの混入が考えられてきたが，最近10年間は横ばいの傾向にあり，安定している．

## まとめ

氷見・高岡地区の海岸地域にある17の源泉について，16年間にわたる経年変化を検討した．

現在のところ過剰な動力揚湯や，湧出量，泉温に減少傾向が認められる源泉はなく，この地域での温泉の枯渇の心配は少ないと言える．

ただし，化学成分調査の結果，源泉 m で主要な成分濃度の急激な増加が見られた．このため，今後も濃度変動を注視しながら，塩水化が認められた場合には，何らかの対策を講じる必要がある．

## 文　献

1．富山県厚生部生活衛生課（2011）．富山県の温泉，15-16
2．高柳信孝，健名智子（2005）．富山県衛生研究所年報，28，168-171
3．本島公司，益子安，甘露寺泰雄（1973）．地下水・温泉の分析，26

平成23年12月16日

# 季節変化が中高年女性の身体活動に与える影響

小林　直人　　田中　朋子　　金木　潤　　武内　夕華[1]　　今村　由美子[1]

# Influence of Seasonal Change on Physical Activities in Middle-aged and Elderly Women

Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI,
Yuka TAKEUCHI[1] and Yumiko IMAMURA[1]

現在，我々は中高年女性を対象に身体活動量と骨量変化の調査を行っている．調査では開始時，1年経過時，終了時（2年経過時）の骨量を測定し，変化を解析する予定である（2010/8～2012/8）．対象者は長期間記録型加速度計（Lifecorder PLUS）を装着し，定期的にデータを回収することにより，対象者の日常の身体活動を把握している．今回，2010/8から2011/3までに得られた身体活動量を集計し，季節の変化によって身体活動量がどのように変化するか解析を試みたので報告する．

## 調査方法

対象者は，高岡市が開催している健康体操教室に参加している中高年の女性19名で，2010年8月4日～2011年3月31日（240日）までの身体活動量を Lifecorder PLUS を使用し，測定した．Lifecorder PLUS は歩数以外に，運動の強さ（運動強度）を測定することができる．運動強度として低強度運動（1.8～3.5 METs），中強度運動（3.6～6.0METs），高強度運動（6.1METs以上）を行った時間（分）を測定した[1]．なお，低強度運動は，主に家事や買い物などの日常生活の身体活動（生活活動）時間を反映し，それ以上の強度の運動（中強度以上運動）は健康増進のために意識的に行っている身体活動（運動）時間を主に反映していると考えられる[2][3].

気象データは，気象庁のホームページから期間内の高岡市伏木のものを引用し，花粉飛散量は，環境省ホームページ（はなこさん）2011年3月1日から同31日までの富山県庁舎のデータを引用した．

なお，本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受け，対象者には調査について文書で説明を行い，同意を得た．

## 結果および考察

表1に対象者の身体データ，表2に8～3月の1週間合計歩数，低強度運動時間，中強度以上運動時間の平均を示す．平均の求め方は，1人ずつ，1ヶ月の曜日ごとの平均を算出し合計した．19人分の合計を平均し，その月の1週間合計歩数，低強度運動時間，中強度以上運動時間とした．結果は，1週間合計歩数及び中強度以上運動時間は，10月が最も高く3月が最も低かった．1週間合計低強度運動時間は，8月が最も高く1月が最も低かった．一元配置の分散分析を行うと1週間合計歩数で月間での差がある傾向がみられた．そこで，最小有意差法による各月間での差を検定すると，10月と1月（p= 0.017），10月と3月にそれぞれ有意差がみられた（p= 0.007）．

図1に月の平均気温と１週間合計歩数，図2に月の平均気温と1週間合計身体活動時間（低強度運動時間＋中強度以上運動時間）の推移を示した．歩数，身体活動時間共に8月から10月までは気温が低下すると増加し，10月から1月までは気温の低下に伴い身体活動量が減少していた．しかし，低強度運動時間については，8月から1月まで気温の低下と共に減少していた．

図3に1日の平均気温と19人分の1日合計歩数，1日合計低強度運動時間，1日合計中強度以上運動時間と散布図を示した．天気による身体活動の影響を除くため，屋外で運動できないと思われる雨日（1日降水量が10 mm 以上，65日）を除いた（n= 175日）．また，それぞれの散布図には回帰分析による一次直線と二次曲線を図示した．1日平均歩数，低強度運動時間，中強度以上運動時間いずれについても一次直線と二次曲線が回帰された．

月ごとの身体活動量は，暑い夏や寒い冬には中強度以上運動時間（運動時間）が減り，すごしやすい10月にピークがあることは予想通りの結果であった．しかし，

１．高岡市健康増進課

表１．対象者の年齢および身体データ

| n=19 | mean | SD |
|---|---|---|
| 年齢 (years) | 65.9 | 4.6 |
| 身長 (cm) | 152.3 | 5.6 |
| 体重 (kg) | 51.4 | 5.9 |

表２．月ごとの1週間合計身体活動量

| | | | 8月 | 9月 | 10月 | 11月 | 12月 | 1月 | 2月 | 3月 | ANOVA |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 歩　数 | (歩/week) | mean | 67080 | 69207 | 72345 | 65094 | 62321 | 59121 | 60253 | 58450 | 0.098 |
| | | SD | 18515 | 18682 | 16511 | 15554 | 14757 | 15007 | 16127 | 15331 | |
| 低強度運動時間 | (min/week) | mean | 8007 | 7753 | 7658 | 7009 | 6924 | 6626 | 6712 | 6498 | 0.452 |
| | | SD | 2735 | 2756 | 2601 | 2495 | 2359 | 2158 | 2290 | 2343 | |
| 中強度以上運動時間 | (min/week) | mean | 2705 | 3086 | 3486 | 3005 | 2748 | 2576 | 2667 | 2588 | 0.517 |
| | | SD | 1504 | 1612 | 1589 | 1457 | 1359 | 1182 | 1389 | 1392 | |

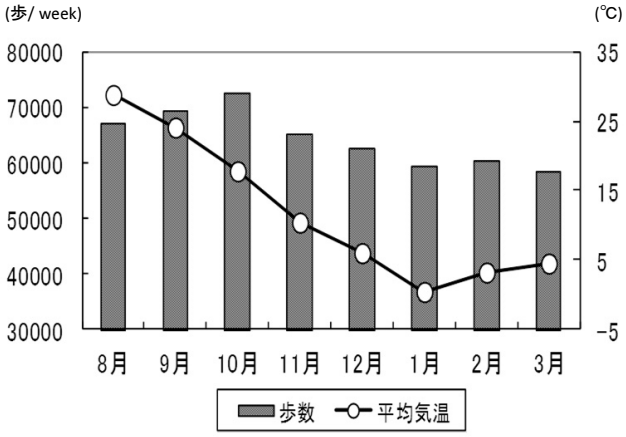



図１．月平均気温と1週間合計歩数平均

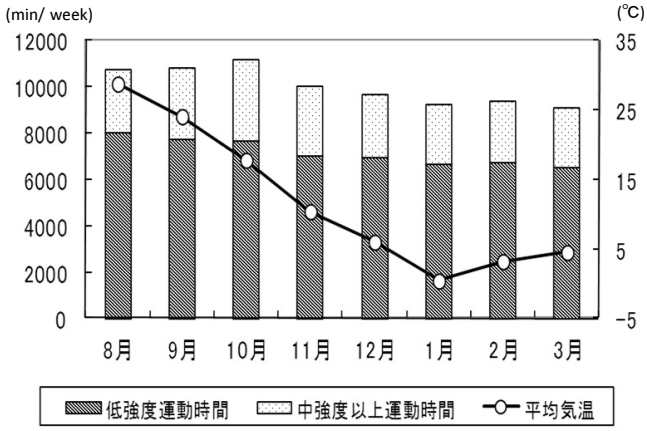



図２．月平均気温と身体活動時間

低強度運動時間（日常活動時間）は暑い季節である8月が最高であった．一因として，8月は可照時間（日の出から日の入りまでの時間）が長いため，日常活動時間が延びた可能性があると考えられる．これ以外にも外出する機会が増えたことなども予想できるが，これらについては，今後，可照時間の長い6，7月のデータを回収し，解析することで詳しく考察できると考えている．

図1，2より，月の身体活動量と月の平均気温に相関があることが推測されたので，線形回帰分析を行うと1日平均歩数，低強度運動時間，中強度以上運動時間にそれぞれ一次直線と二次曲線が回帰された．しかし，低強度運動は一次直線と二次曲線の $R^2$ 値は大きな違いはみられないこと（図3）から，気温が上がるとともに生活活動が活発になることが考えられた．これは，気温が高いほど可照時間が長くなることが理由として考えられたが，6月などの可照時間が長く，気温がさほど高くない季節を結果に加えることでより正確な考察ができると考える．また，1日平均歩数，中強度以上運動時間は $R^2$ 値を比較すると二次曲線の方が当てはまると考えられる（図3）．これより，二次曲線から1日平均歩数，中強度以上運動時間の極大値の時の平均気温を求めると，それぞれ21.4，17.0℃であった．

中強度以上運動時間の極大値のときの平均気温は17.0℃であったことから，中高年女性が運動しやすい日の平均気温は17℃付近であると推測される．また，歩

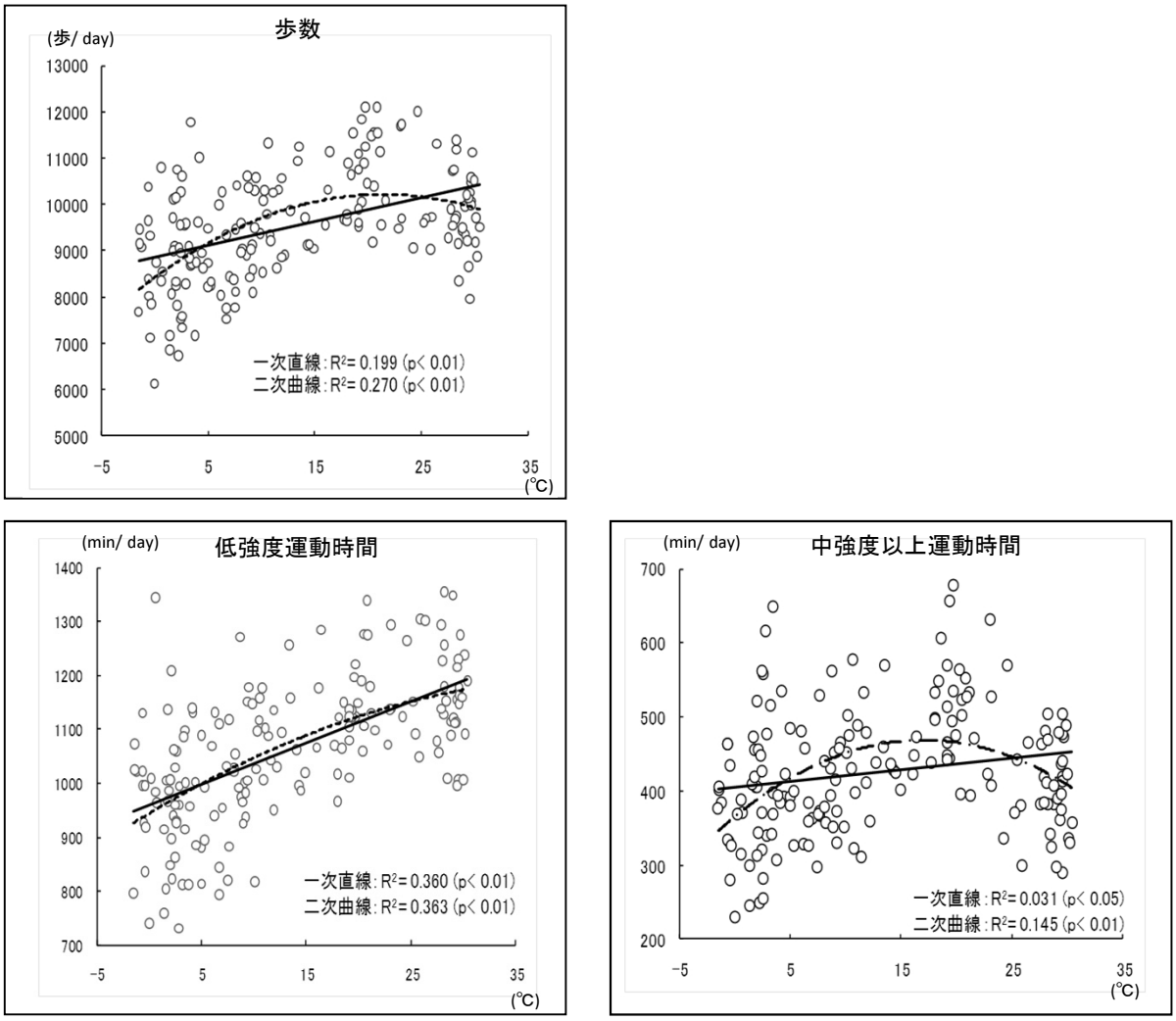



**図３．気温と身体活動**

数は平均気温が21.4℃のときに極大値があることから，中高年女性の身体活動量は21℃付近で最高になると推測される．

一方で，春を迎え，気温が上がり始めている3月が最も低い身体活動量になった．身体活動量は気温のみに依存しているわけでなく，様々な要因（家庭環境，生活の変化）などで変化すると思われる．多くの要因の中で，対象者に共通したものとして，スギ花粉の飛散量の増大と東日本大震災の発生が関係しているのではないかと考え，3月中の花粉の飛散量（富山市）と歩数との相関関係，震災前（3月1～10日）と震災後（3月12～21日）の歩数，平均気温を比較した．花粉飛散量と歩数については相関関係がみられなかった（図4）．また，震災との関連では，歩数と平均気温の比較では，平均気温は震災後の方が高かったが，歩数に有意な差はなかった（表3）．雨日数が震災後の方が多い（震災前：0日，震災後：2日）ことなど，他の原因により低下したことも予想されるので，この結果のみでは断定できないが，身体活動が増加しなかった一因として震災による影響が推測された．

以上，本調査をまとめると，身体活動量のうち，生活活動量（低強度運動時間）は可照時間の長い8月に最大になり，運動量（中強度以上運動時間）は過ごしやすい10月に最大となった．また，気温は身体活動量に影響を与え，運動は気温が約17℃のときが極大であり，生活活動量は気温または可照時間と比例することが推測された．

今回の集計は，8月から3月までの8ヶ月間分の調査である．今後4月から7月までの調査を行い，1年分のデータをまとめる予定である．また，2011年8月から調査終了までの1年間の結果と今回報告した結果を比較したいと考えている．

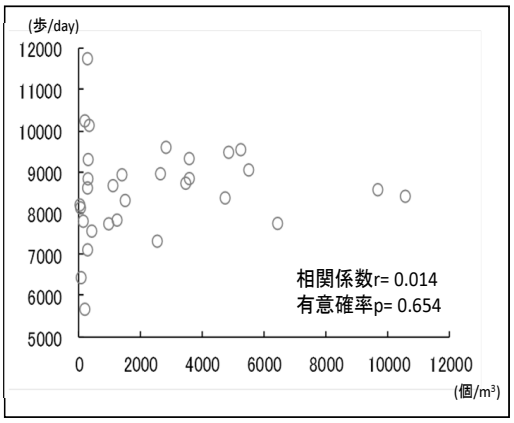



図４．花粉飛散量と歩数

表３．震災前と震災後の歩数と気温

| | 震災前 (n= 10) | | 震災後 (n= 10) | | p値 |
|---|---|---|---|---|---|
| | mean | SD | mean | SD | |
| 1日平均歩数(歩/ day) | 9121.2 | 1432.3 | 8767.7 | 522.5 | 0.25 |
| 平均気温 (℃) | 2.96 | 2.36 | 6.21 | 4.05 | 0.03 |

震災前: 2011/ 3/ 1~ 3/ 10, 震災後: 2011/ 3/ 12~ 3/ 21

## 謝　辞

本調査の実施にあたり，ご協力いただいている高岡市健康体操教室参加者の方，高岡市健康増進課の関係各位に対し心から感謝いたします．

## 文　献

1．Kumahara H, Schutz Y, Ayabe M, Yoshioka M, Yoshitake Y, Shindo M, Ishii K, Tanaka H (2004). Br J Nutr., 91, 235-43.
2．独立行政法人国立健康・栄養研究所エネルギー代謝研究室．身体活動のメッツ（METs）表
3．運動所要量・運動指針の策定検討会．健康づくりのための運動基準2006 ～身体活動・運動・体力～報告書，平成18年7月

# 4．業　　績

# (1) 誌　上　発　表

## [著書・総説]

1）Role and pathological significance of apoptosis induced by influenza virus infection.

Takenori Takizawa and Yoshinobu Nakanishi*

The Open Antimicrobial Agents Journal, 2: 22-25, 2010

The role and pathological significance of apoptosis in an influenza virus-infected host has been hotly debated.
Influenza virus-induced apoptosis was primarily thought to be a host defense mechanism to limit virus replication and eliminate viruses from the host; however, the virus has mechanisms not only to overcome but to utilize apoptosis for its efficient replication. Virus-induced apoptosis also plays a role in developing symptoms. Understanding the mechanisms underlying virus-induced apoptosis could enable us to conquer the threat of influenza.

2）高病原性鳥インフルエンザの世界情勢と今後の展望

小渕正次，田代眞人*

日本臨牀, 68(9): 1729-1735, 2010

Highly pathogenic avian influenza (HPAI) virus of H5N1 subtype has spread worldwide and continues to cause outbreaks in poultry and sporadic human infections since 2003. As of 9 April 2010, 493 confirmed human cases including 292 fatal cases were reported from 15 countries. Despite emergence of the pandemic A(H1N1) 2009 virus, pandemic threats posed by H5N1 subtype virus still remain. H7 subtype avian influenza viruses also pose a similar threat to humans as H5N1 subtype virus. We provide here an updated overview on the human infections of HPAI viruses in the world.

3）Long-term analyses of the population dynamics of Culex tritaeniorhynchus and Anopheles sinensis, and serological survey of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003

Mamoru Watanabe*, Sumiyo Hasegawa, Mayumi Obara, Shuji Ando*, Takeo Yamauchi, Takenori Takizawa

Skarafactory, Ltd. 159pp., 2011

平成23年12月16日

# ［原　　著］

## 1）タカサゴキララマダニによる人体刺症の5例

山内健生，高野　愛*，坂田明子*，馬場俊一*，奥島雄一*，川端寛樹*，安藤秀二*

日本ダニ学会誌，19(1): 15-21，2010

Following five cases of human infestation by *Amblyomma testudinarium* (Acari: Ixodidae) are reported in Japan. Case 1: On June, 2003, one nymph infested on the skin surface of the right brachium of a 55-years-old male in Hyogo Prefecture. Case 2: On June, 2009, one nymph infested on the skin surface of the lumbar of a 39-years-old male in Okayama Prefecture. Case 3: On May, 2008, one adult female infested on the skin surface of the thigh of a 1-year-old female in Yamaguchi Prefecture. Case 4: On March, 2009, one nymph infested on the skin surface of the thigh of a 30-years-old female in Fukuoka Prefecture. Case 5: On May, 2007, one nymph infested on the skin surface of the scrotum of a 31-years-old male in Miyazaki Prefecture. The case of human infestation by *A. testudinarium* is firstly reported in Okayama Prefecture. A retrospective examination found that the DNA of *Borrelia, Ehrlichia, Anaplasma,* and *Rickettsia* were not detected from the ticks.

## 2）富山県におけるマダニ人体刺症の40例

山内健生，福井米正*，渡辺　護*，中川彦人*，上村　清*

衛生動物，61(2): 133-143，2010

Forty cases of human infestations with hard ticks (Acari: Ixodidae) were reported in Toyama Prefecture, Honshu, Japan from 1974 to 2009. Causative tick species were *Haemaphysalis flava* (1 case), *H. japonica* (2 cases), *H. longicornis* (3 cases), *Haemaphysalis* sp. (2 cases), *Ixodes acutitarsus* (4 cases), *I. monospinosus* (3 cases), *I. nipponensis* (6 cases), *I. ovatus* (11 cases), *I. persulcatus* (6 cases) and Ixodidae gen. sp. (2 cases). Although serological examination was carried out for antibodies against the borrelial antigen *Borrelia burgdorferi* in the following 10 cases, the antibody was not detected in 3 of the I. ovatus cases, 1 of *I. nipponensis*, 3 of *I. persulcatus*, 2 of *I. monospinosus* and 1 of Ixodidae gen. sp. A cement-like substance and mucinosis were observed in four cases: 2 of *I. ovatus,* 1 of *I. nipponensis* and 1 of Ixodidae gen. sp. by histopathological examination of the infestation sites. This paper reviews the infestations with ticks occurring in Toyama Prefecture between 1973 and 2009. The reported cases occurred during the period from March to December except for November, with the highest incidences in May and June. The ages of the patients ranged from 2 to 88 years. The most common infestation site was the neck of the patients. The majority of the tick infestations were principally acquired in mountainous areas.

## 3）家屋内で採集したコウモリマルヒメダニ

山内健生，渡辺　護*

家屋害虫, 32(1): 23-25, 2010

コウモリマルヒメダニは特徴的な衛生害虫であるにもかかわらず，わが国における本種の採集記録は1988年以降見あたらなかった．筆者らは，2002年に家屋内で本種を採集した事例を経験したので，記録として報告した．

4）Heavy infection of groupers *Epinephelus* spp. with *Lernaeenicus ramosus* (Copepoda, Pennellidae) in the Sea of Japan

Nagasawa, K.*, Mukai, T.*, Sota, K.* and Yamauchi, T.

Biogeography, 12: 13-15, 2010

One hundred thirteen and 53 adult females of the mesoparasitic pennellid copepod *Lernaeenicus ramosus* Kirtisinghe, 1956 were found infecting a Hong Kong grouper *Epinephelus akaara* (Temminck & Schlegel) and a yellow grouper *Epinephelus awoara* (Temminck & Schlegel) from the southern Sea of Japan off Shimane Prefecture, western Japan in October and November 2004, respectively. These findings constitute the first records of *L. ramosus* from the Sea of Japan. The skin near the base of the dorsal fin was most heavily infected. *Epinephelus awoara* is a new host of *L. ramosus*.

5）A new host record for *Nycteribia pleuralis* (Diptera: Nycteribiidae)

Yamauchi, T., Obara, M. and Yuasa, S.*

Biogeography, 12: 141-142, 2010

*Nycteribia pleuralis* (Diptera: Nycteribiidae) was collected from Ikonnikov's whiskered bat *Myotis ikonnikovi* and the long-legged whiskered bat *Myotis frater* in Toyama Prefecture, Honshu, Japan. This is the first record of N. pleuralis collected from central Honshu. *Myotis ikonnikovi* is a new host of *N. pleuralis*.

6）Identification and field attraction of the female sex pheromone of *Glossosphecia romanovi* (Lepidoptera: Sesiidae)

Naka, H.*, Mochizuki, M.*, Nakada, K.*, Do, N. D.*, Yamauchi, T., Arita, Y.* and Ando, T.*

Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 74(9): 1943-1946, 2010

In field screening tests of synthetic pheromone candidates for Japanese sesiid species, a mixture of (3Z,13Z)-octadecadien-1-ol and (3Z,13Z)-octadecadienyl acetate successfully attracted male moths of *Glossosphecia romanovi*, a harmful pest of vine trees. The GC-EAD and GC-MS analyses of the pheromone gland extract revealed that the female moths produced the alcohol and acetate in a ratio of about 20:1, in addition to three other minor structure-related components.

7）富山県の脈翅類

根来　尚*，山内健生

富山市科学博物館研究報告，34: 23-30, 2011

The nerve-winged insect fauna of Toyama Prefecture, Honshu, Japan is reported. In this Prefecture 58 species belonging to 14 families, 3 orders are recorded based on 25 literature and the specimens deposited at Toyama Science Museum. *Semidalis albata, Sisyra nikkoana, Spilosmylus nipponensis, Spilosmylus tuberculatus, Dichochrysa cognatella* and *Dichochrysa ussuriensis* are newly recorded from this area.

8）Frequent Detection of Noroviruses and Sapoviruses in Swine Population and High Genetic Diversity of Porcine Sapovirus in Japan, during fiscal year 2008.

Nakamura K, Saga Y*, Iwai M, Obara M, Horimoto E, Hasegawa S, Kurata T, Okumura H*, Nagoshi M* and Takizawa T.

J. Clinic. Microbiol., 48: 1215-1222, 2010

A molecular biological survey on porcine norovirus (NoV) and sapovirus (SaV) was conducted in Toyama Prefecture, Japan, during fiscal year 2008. Both NoV and SaV were detected from swine fecal samples throughout the surveillance period, indicating that these viruses were circulating in this region. NoV strains detected in this study belonged to three genotypes that are known as typical swine NoV. Although human NoVs were occasionally detected, it was unclear whether they replicated in pigs. As for SaV, genogroup (G) VII and further divergent genogroups were identified besides the dominant prevalence of GIII, which was prototypic porcine SaV. In addition, 3 strains genetically related to human SaV were detected. Two of these 3 strains were closely related to human SaV GV. Our study showed that genetic diversification of porcine SaV is currently progressing in the swine population.

9）High prevalence of echovirus type 13 in Toyama, Japan in 2002 confirmed by seroepidemiological study.

Iwai M, Yoshida H*, Obara M, Horimoto E, Hasegawa S, Nakamura K, Takizawa T, Kurata T, Mizoguchi M*, Daikoku T* and Shiraki K*.

Clinical and Vaccine Immunology, 17: 764-770, 2010

To confirm the magnitude of an echovirus type 13 (E13) outbreak in 2002 and to evaluate whether genetic and antigenic changes in E13 influenced the occurrence of the outbreak, we measured titers of neutralizing (NT) antibody against the Toyama, 2002-240-SF, and prototype Del Carmen E13 strains among inhabitants of Toyama before and after 2002. The rate of positivity for NT antibodies against both 2002-240-SF and Del Carmen in 2003 made a remarkable upturn in children 0 to 14 years old, compared to that in 2000. Titers of NT antibody against strain 2002-240-SF of inhabitants

were slightly higher than those against Del Carmen, whereas anti-E13 rabbit serum raised against either strain Del Carmen or 2002-240-SF showed almost the same titer of NT antibody against both strains. These data indicate that the antigenic properties of the strains may be slightly different. Differences in amino acids between strains 2002-240-SF and Del Carmen in the VP4, VP2, VP3, and VP1 regions may affect both antigenic and receptor binding properties, even though they do not seem to be significant enough to escape widespread immunity. One of the factors of the outbreak was thought to be the increase in susceptibility in the young generation.

10）当院における小児ウイルス性下痢症の臨床的及びウイルス学的検討（2002年～2008年）.

宗玄俊一*，小原真弓，長谷川澄代，岩井雅恵，滝澤剛則

小児感染免疫，22(1): 23-28，2010

2002～2008 年までの間にウイルスが原因と疑われた小児下痢症 75 例について検討した．このうち 58 検体でウイルスが検出され，多い順に，ロタウイルス A 群（25 検体），ノロウイルス GⅡ（21 検体），アデノウイルスまたはサポウイルス（各 4検体）と続いた．これは，ノロウイルス GⅡが多くを占める全国の結果や集団発生事例の結果とは異なっていた．ロタウイルス A 群は 1～5 月に検出され，高熱となる傾向が高かった．ノロウイルス GⅡは 11～2 月に検出された．このような症状や発生時期の違いは原因ウイルスを推定するのに有用と考えられた．

11）2010年に富山県で検出されたエコーウイルス30型の遺伝子解析.

岩井雅恵，堀元栄詞，小原真弓，小渕正次，倉田　毅，川越久美子*，中村純香*，清水博之*，吉田　弘*，滝澤剛則

病原微生物検出情報月報，31: 298-300，2010

2010年に富山県内の胃腸炎患者及び上気道炎患者からエコーウイルス30型が検出されたが，同時期にヨーロッパにおいてエコーウイルス30型による無菌性髄膜炎が流行していたため，県内のエコーウイルス30型の由来を調べるために，VP1領域の塩基配列（一部分：746塩基）を解析し，国内外のウイルスと比較した．その結果，富山県の症例のエコーウイルス30型は，県内の下水流入水から2008年1月から2010年8月までに分離されたエコーウイルス30型の塩基配列と相同性が極めて高く（98%以上），近年のイギリス（2007～2008年），韓国（2008年），ロシア（2008～2009年）で検出されたウイルスとの相同性は約80%と低かった．このため，本症例のエコーウイルス30型は，2008年以降に富山県内で不顕性あるいは軽症で感染が続いているウイルスが由来であり，他の地域から侵入した可能性は低いと考えられた．

12）Divergent Evolution of Norovirus GII/4 by Genome Recombination from May 2006 to February 2009 in Japan.

Kazushi Motomura*, Masaru Yokoyama*, Hirotaka Ode*, Hiromi Nakamura*, Hiromi Mori*, Tadahito Kanda*, Tomoichiro Oka*, Kazuhiko Katayama*, Mamoru Noda*, Tomoyuki Tanaka*, Naokazu Takeda*, Hironori Sato*, and the Norovirus Surveillance Group of Japan.

J. Virol., 84(16): 8085-8097, 2010

Norovirus GII/4 is a leading cause of acute viral gastroenteritis in humans. We examined here how the GII/4 virus evolves to generate and sustain new epidemics in humans, using 199 near-full-length GII/4 genome sequences and 11 genome segment clones from human stool specimens collected at 19 sites in Japan between May 2006 and February 2009. Phylogenetic studies demonstrated outbreaks of 7 monophyletic GII/4 subtypes, among which a single subtype, termed 2006b, had continually predominated. Phylogenetic-tree, bootscanningplot, and informative-site analyses revealed that 4 of the 7 GII/4 subtypes were mosaics of recently prevalent GII/4 subtypes and 1 was made up of the GII/4 and GII/12 genotypes. Notably, single putative recombination breakpoints with the highest statistical significance were constantly located around the border of open reading frame 1 (ORF1) and ORF2 ($P < 0.000001$), suggesting outgrowth of specific recombinant viruses in the outbreaks. The GII/4 subtypes had many unique amino acids at the time of their outbreaks, especially in the N-term, 3A-like, and capsid proteins. Unique amino acids in the capsids were preferentially positioned on the outer surface loops of the protruding P2 domain and more abundant in the dominant subtypes. These findings suggest that intersubtype genome recombination at the ORF1/2 boundary region is a common mechanism that realizes independent and concurrent changes on the virion surface and in viral replication proteins for the persistence of norovirus GII/4 in human populations.

13) Development of an ELISA system for tick-borne encephalitis virus infection in rodents.

Ikawa-Yoshida A*, Yoshii K*, Kuwahara K*, Obara M, Kariwa H*, Takashima I*.
Microbiol. Immunol., 55: 100-107, 2011

Tick-borne encephalitis (TBE) virus causes severe encephalitis with serious sequelae in humans. An epizootiological survey of wild rodents is effective to detect TBE virus-endemic areas; however, limited serological diagnostic methods are available to detect anti-TBE virus antibodies in wild rodents. In this study, ELISAs for the detection of rodent antibodies against the TBE virus were developed using two recombinant proteins, domain III of the E protein (EdIII) and subviral particles (SPs), as the antigens. As compared with the neutralization test, the ELISA using EdIII had 77.1% sensitivity and 80.0% specificity, and the ELISA using SPs had 91.4% sensitivity and 100% specificity. Furthermore, when the ELISAs were applied to the epizootiological survey in the TBE virus-endemic area, both of the ELISAs was able to detect wild rodents with TBE virus-specific antibodies. This is the first study to show that ELISAs using recombinant antigens can be safe and useful in the detection of TBE virus-infected wild rodents in epizootiological research.

14) Epizootiological study of tick-borne encephalitis virus infection in Japan.

Yoshii K*, Mottate K*, Omori-Urabe Y*, Chiba Y*, Seto T*, Sanada T*, Maeda J*, Obara M, Ando S*, Ito N*, Sugiyama M*, Sato H*, Fukushima H*, Kariwa H*, Takashima I*.

J. Vet. Med. Sci., 73: 409-412, 2011

Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is a zoonotic agent causing severe encephalitis in humans. Rodent species that are potential hosts for TBEV are widely distributed in various regions in Japan.

In this study, we carried out large-scale epizootiological surveys in rodents from various areas of Japan. A total of 931 rodent and insectivore sera were collected from field surveys. Rodents seropositive for TBEV were found in Shimane Prefecture in Honshu and in several areas of Hokkaido Prefecture. These results emphasize the need for further epizootiological and epidemiological research of TBEV and preventive measures for emerging tick-borne encephalitis in Japan.

15) Endemic transmission of echovirus 30 in Toyama, Japan in 2010 is verified by environmental surveillance.

Iwai M, Horimoto E, Obara M, Obuchi M, Kurata T, Kawagoshi K*, Nakamura S*, Shimizu H*, Yoshida H*, Takizawa T.

Jpn. J. Infect. Dis., 64: 165-167, 2011

To Identify the origin and lineage of the E30 isolates from patients with gastroenteritis and upper respiratory illness in Toyama, 2010, nucleotide sequences in a partial VP1 region (746 bases) of the viruses were determined and phylogenetically compared with those of randomly selected E30 isolates from raw sewage in Toyama from 2007 to 2010, and with E30 strains available in GenBank. The clinical isolates in Toyama in 2010 were closely related to environmental isolates in January 2008 to August 2010. On the other hand, similarity with the nucleotide sequences was low (about 80%) compared to the strains in the United Kingdom in 2007 to 2008, Korea in 2008, and Russia in 2008 to 2009. Clinical isolates in Toyama in 2010 were genetically similar to environmental isolates from 2008 to 2010 and the strains in Kobe in 2003, suggesting that they were derived from viruses circulating among individuals in Japan for several years.

16) Molecular Evolutionary Analysis of the Influenza A(H1N1)pdm, May-September, 2009: Temporal and Spatial Spreading Profile of the Viruses in Japan

Teiichiro Shiino*, Nobuhiko Okabe*, Yoshinori Yasui*, Tomimasa Sunagawa*, Makoto Ujike*, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida*, Hong Xu*, Emi Takashita*, Akane Anraku*, Reiko Ito*, Teruko Doi*, Miho Ejima*, Hiromi Sugawara*, Hiroshi Horikawa*, Shuji Yamazaki*, Yumiko Kato*, Akio Oguchi*, Nobuyuki Fujita*, Takato Odagiri*, Masato Tashiro*, Haruo Watanabe*

PLoS One, 5(6): e11057, 2010

Background: In March 2009, pandemic influenza A(H1N1) (A(H1N1)pdm) emerged in Mexico and the United States. In Japan, since the first outbreak of A(H1N1)pdm in Osaka and Hyogo Prefectures occurred in the middle of May 2009, the virus had spread over 16 of 47 prefectures as of June 4, 2009. *Methods/Principal Findings:* We analyzed all-segment concatenated genome sequences of 75 isolates of A(H1N1)pdm viruses in Japan, and compared them with 163 full-genome sequences in the world. Two analyzing methods, distance-based and Bayesian coalescent MCMC inferences were adopted to elucidate an evolutionary relationship of the viruses in the world and Japan. Regardless of the method, the viruses in the world were classified into four distinct clusters with a few exceptions. Cluster 1 was originated earlier than cluster 2, while cluster 2 was more widely spread around the world. The other two clusters (clusters 1.2 and 1.3) were suggested to be distinct reassortants

with different types of segment assortments. The viruses in Japan seemed to be a multiple origin, which were derived from approximately 28 transported cases. Twelve cases were associated with monophyletic groups consisting of Japanese viruses, which were referred to as micro-clade. While most of the micro-clades belonged to the cluster 2, the clade of the first cases of infection in Japan originated from cluster 1.2. Micro-clades of Osaka/Kobe and the Fukuoka cases, both of which were school-wide outbreaks, were eradicated. Time of most recent common ancestor (tMRCA) for each micro-clade demonstrated that some distinct viruses were transmitted in Japan between late May and early June, 2009, and appeared to spread nation-wide throughout summer. *Conclusions:* Our results suggest that many viruses were transmitted from abroad in late May 2009 irrespective of preventive actions against the pandemic influenza, and that the influenza A(H1N1)pdm had become a pandemic stage in June 2009 in Japan.

17) Oseltamivir-Resistant Influenza Viruses A (H1N1) during 2007-2009 Influenza Seasons, Japan

Makoto Ujike*, Kozue Shimabukuro*, Kiku Mochizuki*, Masatsugu Obuchi, Tsutomu Kageyama*, Masayuki Shirakura*, Noriko Kishida*, Kazuyo Yamashita*, Hiroshi Horikawa*, Yumiko Kato*, Nobuyuki Fujita*, Masato Tashiro*, Takato Odagiri*, the Working Group for Influenza Virus Surveillance in Japan*

Emerg. Infect. Dis., 16(6): 926-935, 2010

To monitor oseltamivir-resistant infl uenza viruses A(H1N1) (ORVs) with H275Y in neuraminidase (NA) in Japan during 2 infl uenza seasons, we analyzed 3,216 clinical samples by NA sequencing and/or NA inhibition assay. The total frequency of ORVs was 2.6% (45/1,734) during the 2007-08 season and 99.7% (1,477/1,482) during the 2008-09 season, indicating a marked increase in ORVs in Japan during 1 infl uenza season. The NA gene of ORVs in the 2007-08 season fell into 2 distinct lineages by D354G substitution, whereas that of ORVs in the 2008-09 season fell into 1 lineage. NA inhibition assay and M2 sequencing showed that almost all the ORVs were sensitive to zanamivir and amantadine. The hemagglutination inhibition test showed that ORVs were antigenetically similar to the 2008-09 vaccine strain A/Brisbane/59/2007. Our data indicate that the current vaccine or zanamivir and amantadine are effective against recent ORVs, but continuous surveillance remains necessary.

18) Monitoring and Characterization of Oseltamivir-Resistant Pandemic (H1N1) 2009 Virus, Japan, 2009-2010

Makoto Ujike*, Miho Ejima*, Akane Anraku*, Kozue Shimabukuro*, Masatsugu Obuchi, Noriko Kishida*, Xu Hong*, Emi Takashita*, Seiichiro Fujisaki*, Kazuyo Yamashita*, Hiroshi Horikawa*, Yumiko Kato*, Akio Oguchi*, Nobuyuki Fujita*, Masato Tashiro*, Takato Odagiri*, the Influenza Virus Surveillance Group of Japan*

Emerg. Infect. Dis., 17(3): 470-479, 2011

To monitor and characterize oseltamivir-resistant (OR) pandemic (H1N1) 2009 virus with the H275Y mutation, we analyzed 4,307 clinical specimens from Japan by neuraminidase (NA) sequencing or

inhibition assay; 61 OR pandemic (H1N1) 2009 viruses were detected. NA inhibition assay and M2 sequencing indicated that OR pandemic (H1N1) 2009 virus was resistant to M2 inhibitors, but sensitive to zanamivir. Full-genome sequencing showed OR and oseltamivir-sensitive (OS) viruses had high sequence similarity, indicating that domestic OR virus was derived from OS pandemic (H1N1) 2009 virus. Hemagglutination inhibition test demonstrated that OR and OS pandemic (H1N1) 2009 viruses were antigenically similar to the A/California/7/2009 vaccine strain. Of 61 case-patients with OR viruses, 45 received oseltamivir as treatment and 10 received it as prophylaxis, which suggests that most cases emerged sporadically from OS pandemic (H1N1) 2009, due to selective pressure. No evidence of sustained spread of OR pandemic (H1N1) 2009 was found in Japan; however, 2 suspected incidents of human-to-human transmission were reported.

19）Ethidium Monoazide を用いた腸炎ビブリオ生菌の迅速定量法に関する検討

嶋　智子，磯部順子，木全恵子，金谷潤一，倉田　毅，綿引正則

Jpn. J. Food Microbiol., 28 (1): 21-28, 2011

Ethidium monoazide (EMA) has been used for selective polymerase chain reaction (PCR) amplification of DNA extracted from viable bacterial cells. However, its use is very limited; further, it is less frequently applied for quantitative purposes, for example, bacterial counting. In this study, we evaluated the most probable number (MPN)-PCR method using the species-specific *toxR* as the target gene after EMA treatment, for rapid quantitative determination of viable *Vibrio parahaemolyticus* (EMA+MPN-PCR). In addition, to avoid false-negative results attributable to PCR inhibition owing to carryover contamination, we added the positive-control template DNA (PCT) to each reaction tube. The optimal concentration of EMA for *V. parahaemolyticus* cells was determined to be 5 $\mu$g/ml in the preliminary experiments; subsequnently, the effectiveness of EMA was confirmed using simulated food samples spiked with viable or dead *V. parahaemolyticus* cells. The results of the experiments with 38 seafood and 8 seawater samples were as follows: MPN values determined using EMA+MPN-PCR were almost the same as or higher than those determined using the official method. Moreover, with the EMA+MPN-PCR method, other *Vibrio* species (e.g., *Vibrio harveyi*) could be specifically distinguished from *V. parahaemolyticus*. EMA+MPN-PCR was shown to be a rapid and sensitive technique for counting viable *V. parahaemolyticus* in food and environmental samples.

20）腸管出血性大腸菌感染症の原因として考えられる食肉の生食に関する実態調査

磯部順子，清水美和子，嶋　智子，木全恵子，倉田　毅，綿引正則

Jpn. J. Food Microbiol., 27 (3): 146-151, 2011

富山県民の「食肉の生食」の実態を把握するため，県内の焼肉店および消費者を対象に，アンケート方式で調査を行った．回答者は店舗が33件，消費者が1,439名で，これらの回答から次のような実態が明らかとなった．１．焼肉店は消費者の求めに応じ，生食するユッケや牛レバーを提供する意向があること．２．消費者は20〜30歳代の若い年代で，ユッケや生レバーを好む傾向があること．３．家族の誰かがユッケ等を生食する家庭において，子供もそれらを食べるあるいは好む傾向があること．これらの事実から，消費者に対し，食肉の生食

に対するリスクをより強く注意喚起する必要がある.

21) Emergence of clindamycin-resistant *Streptococcus pyogenes* isolates obtained from patients with severe invasive infections in Japan

Ikebe T*, Wada A*, Oguro Y*, Ogata K*, Katsukawa C*, Isobe J, Shima T, Suzuki R*, Ohya H*, Tominaga K*, Okuno R*, Uchitani Y*, Watanabe H*, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan.

Jpn. J. Infect. Dis., 63 (4): 304-305, 2010

22) Surveillance of severe invasive group G streptococcal infections during 2002-2008

Ikebe T*, Oguro Y*, Ogata K*, Katsukawa C*, Isobe J, Shima T, Suzuki R*, Ohya H*, Tominaga K*, Okuno R*, Uchitani Y*, Tada Y*, Okabe N*, Watanabe H*, The Working Group for β-hemolytic Streptococci in Japan.

Jpn. J. Infect. Dis., 63 (5): 372-375, 2010

Group G *Streptococcus* strains isolated from patients with severe invasive infections in the period 2002-2008 were surveyed and their prevalence compared with that observed in the period 1995-2001 in Japan. Strains with genotypes *stg485, stg6792, stc36, stg6,* and *stg652* were isolated in both period, whereas various new genotypes appeared in 2002-2008 and some genotypes found in 1995-2001 were not found subsequently, thus indicating a change in the prevalent genotyped strains causing severe invasive streptococcal infectious.

23) Metal(II)-ligand molar ratio dependence of enantioseparation of tartaric acid by ligand exchange CE with Cu(II) and Ni(II)-D-quinic acid systems

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa*, Atsushi Taga*, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Kentaro Suzuki*, Yoshitake Honda*, Atsushi Yamamoto*

Electrophoresis, 31: 1051-1054, 2010

Enatioseparation of tartaric acid by ligand exchamge CE with a Cu(II)-D-quinic acid system was studied. Racemic tartaric acid was enantioseparated by ligand exchange CE using BGEs containing relatively low Cu(II)-D-quinic acid molar ratios ranging from 1:1 to 1:3 and high molar ratios ranging from 1:8 to 1:12 but was not enantioseparated using BGEs with medium molar ratios ranging from 1:4 to 1:6. While the migration order of D-tartaric acid was prior to L-tartaric acid at the lower Cu(II)-D-quinic acid molar ratios, the enantiomer migration order was reversed at the higher molar ratios. These results were compared with those for Ni(II)-D-quinic acid system. The molar ratio dependence of enantiomer migration order can be attributed to a change in the coordination structure of Cu(II) ion with D-quinic acid.

24）長鎖疎水基と陰イオン交換基を併せ持つ多官能型固相抽出剤の開発と野菜中のアセフェート簡易迅速分析への応用

塚本友康*，清水　愛*，山本　敦*，小玉修嗣，上茶谷若*，井上嘉則*

日本食品衛生学雑誌，51: 58-64，2010

A novel multi-functional adsorbent (RP-SAX adsorbent) bearing hydrophobic and anion exchange groups was synthesized for the simple and rapid determination of residual acephate (AP) in vegetables. Macroporous base resin was obtained by suspension copolymerization with glycidyl methacrylate, stearyl methacrylate and glycerin dimethacrylate, and then ethyldimethylamine was introduced at glycidyl groups on the base resin. The adsorbent was packed into a syringe-type tube and used for extraction of AP. AP in the vegetable extract was quantitatively entrapped on the adsorbent and was completely eluted with 3 mL of 30 mmol/L trisodium phosphate in 50% (v/v) methanol solution. The eluate was directly injected into an HPLC-UV detection system with a reverse-phased column. The recoveries of 5 mg/L AP spiked in vegetable extraction samples ranged from 77% to 100%.

25）In vitro assay of the interaction between Rnc1 protein and Pmp1 mRNA by affinity capillary electrophoresis with a carboxylated capillary

Atsushi Taga*, Ryosuke Satoh*, Shunji Ishiwata*, Shuji Kodama, Atsushi Sato*, Kentaro Suzuki*, Reiko Sugiura*

J. Pharm. Biomed. Anal., 53: 1332-1337, 2010

The interaction between Rnc1, an RNA interactive protein, and  Pmp1 mRNA was investigated by affinity capillary electrophoresis (ACE). Prior to the ACE experiments, the column performances of three capillaries (an untreated fused silica capillary, a polybrene-polyacrylic acid (PB-PAA) double layer coating capillary, and a carboxylated capillary with a covalent mododification) were studied with model proteins including ribonuclease B (RNAase B) and bovine serum albumin (BSA). Using an untreated fused silica and a PB-PAA double layer coating capillaries, both of the protein peaks were broad and tailing. However, using a carboxylated capillary, the protein peaks were sharp and symmetric, and migration times were repeatable (RSD<0.4%). Further, protein in human serum also gave sharp peaks and its repeatability was kept at a high level by pre-treatment of a capillary inner wall with 1 M sodium chloride solution before each run. An Rnc1 protein was analyzed by ACE with background electrolytes containing various concentrations of Pmp1 sense mRNA using a carboxylated capillary. Increase in the concentration of the mRNA was found to delay the migration time of the protein. But the migration time of the protein was kept constant with increasing Pmp1 anti-sense mRNA instead of Pmp1 sense mRNA. A straight line (r=0.987) was obtained by plotting 1/(migration time shift) versus 1/(Pmp1 sense mRNA concentration) and the association constant of Rnc1 protein with Pmp1 sense mRNA could be estimated to be 4.15 x 106 M-1. These results suggest that the association constants of proteins with mRNA as ligands were easily determined by the proposed method.

26) Analysis of phosphorus-containing amino acid-type herbicudes by capillary electrophoresis/mass spectrometry using a chemically modified capillary having amino groups

Yoshitake Iwamuro*, Reiko Iio-Ishimaru*, Satoshi Chinaka*, Nariaki Takayama*, Shuji Kodama, Kazuichi Hayakawa*

J. Health Sci., 56: 606-612, 2010

We describe a simple and practical method for the analysis of phosphorus-containing amino acid-type herbicides and their decomposition products without derivatization by capillary electrophoresis/mass spectrometry using a chemically modified capillary having amino groups. The compounds were glyphosate (GLYP), glufosinate (GLUF), bialaphos (BLAL), aminomethylphosphonic acid (AMPA) and 3-methylphosphinicopropionic acid (MPPA). AMPA and MPPA are the decomposition products of GLYP and GLUF, respectively. The optimum running conditions were found to be 100 mM formic acid adjusted to pH 3.4 with 100 mM ammonium with an applied voltage of -30 kV using an amino capillary (FunCap-CE/Type A) and mass spectrometry. The five compounds were separately determined within 10 min. Relative standard deviations of the migration times of analysis were less than 0.52%. Total analysis time of the proposed method was 1/6 to 1/3 of that of gas chromatography/-mass spectrometry methods. The method was applicable for the analysis of these compounds in soil and tea beverage samples. The decomposition rates of GLYP, GULF and BIAL in soil are discussed.

27) Enantioseparation of DL-isocitric acid by a chiral ligand exchange CE with Ni(II)-D-quinic acid system

Shuji Kodama, Astushi Taga*, Atsushi Yamamoto*, Yuji Ito*, Yoshitake Honda*, Kentaro Suzuki*, Tomohisa Yamashita, Tomoko Kemmei, Aen-ichi Aizawa*

Electrophoresis, 31: 3586-3591, 2010

The ratio of citric acid to D-isocitric acid can be used to distinguish authentic and adulterated fruit juices. To separate DL-isocitiric acid enantiomers, we used ligand exchange CE. D-Quinic acid was used as a chiral selector ligand and Mn(II), Fe(III), Co(II), Ni(II), Cu(II), and Zn(II) ions were used as the central ions of the chiral selector in the BGE. DL-Isocitric acid was found to be enantioseparated with the above metal ions except for Mn(II) ion. The optimum running conditions for the analysis of D- and L-isocitric acids along with citric acid, an isomer of isocitric acid, were found to be a BGE (pH 5.0) containing 30% CAN, 20 mM acetic acid, 20 mM NiSO4, and 80 mM D-quinic acid. under these conditions, DL-isocitiric and citric acids in fruit juices were analyzed successfully.

## [報　　告]

1）トコジラミの殺虫剤感受性と駆除法の検討

研究分担者：山内健生，協力研究者：小林睦生*・渡辺　護*

厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業　節足動物が媒介する感染症への効果的な対策に関する総合的な研究（H21新興-一般-005）　平成22年度総括・分担研究報告書. pp. 107-115.

富山県，石川県，千葉県で採集されたトコジラミについて，市販5種殺虫剤に対する感受性を，殺虫剤残渣継続接触法と微量滴下法で試験を行なった．トコジラミを確実に駆除する一方法として，DDVP 含有樹脂蒸散剤の殺虫効果を実験的に確認した．さらに，熱風と蒸気による殺虫法の効果を確認した．

2）昭和前期にマラリアが流行した地域における蚊の発生状況調査，2010年の成績

研究分担者：小林睦生*，協力研究者：渡辺　護*，米島万有子*，二瓶直子*，津田良夫*，沢辺京子*，
及川陽三郎*，山内健生

厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業　節足動物が媒介する感染症への効果的な対策に関する総合的な研究（H21新興-一般-005）　平成22年度総括・分担研究報告書. pp. 123-136.

昭和前期にマラリアが流行した滋賀県琵琶湖湖東地域，福井県鯖江地域，石川県河北潟地域および富山県氷見地域において，現時点での蚊の発生状況を把握するための調査を行なった．

3）富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況

研究分担者：田中智之*，協力研究者：小原真弓，岩井雅恵，小渕正次，堀元栄詞，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金　食品の安心・安全確保推進研究事業　食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究（H22-食品-一般-013）　平成22年度総括・分担研究報告書. pp. 221-228.

富山県におけるノロウイルス（NoV），サポウイルス（SaV）の浸淫状況を調査するとともに，環境に存在するウイルスとヒトに胃腸炎を起こすウイルスの関係性を明らかにすることを目的に，感染性胃腸炎事例及び下水流入水からウイルスを検出した．2010年の NoV は例年と同様に NoV GII/4が主体であったが，一時的に小流行していた型も存在した．NoV GII/4，SaV GI/1はヒトからも下水流入水からも高頻度で検出された．NoV GI/4は，下水流入水では高頻度に検出されるものの，ヒトからはあまり検出されなかった．以上のことから，病原性の違いにより，患者の原因を反映しているタイプと不顕性感染を反映しているタイプが存在すると考えられた．

4）富山県における A 型肝炎発生状況

研究代表者：野田　衛*，協力研究者：小原真弓，堀元栄詞，滝澤剛則，宮田英喜*，嶋尻悟志*

厚生労働科学研究費補助金　厚生労働科学特別研究事業　A 型肝炎発生報告増加に対する食品衛生上の原因究明と予防対策（H22-特別-指定-007）　平成22年度総括・分担研究報告書. pp. 137-140.

富山県における A 型肝炎患者について，疫学調査及び遺伝子学的解析から感染経路の推定や流行状況の把握を行った．2010年は，全国と同様に富山県でも A 型肝炎が多発し，9名の患者発生があった．4名から得られた A 型肝炎ウイルス遺伝子は IA 型であり，2010年に全国で主流を占めたフィリピン由来の株と一致していた．3名から得られたウイルス遺伝子は IIIA 型であり，2008年頃から韓国で流行している株と近縁であった．

同一家族で複数の患者が発生した事例が2例あり，うち1事例は1名から3名へ二次感染した可能性が高いと考えられた．このように，富山県のA型肝炎患者報告数の増加は，新たなタイプが侵入したこと，二次感染により同一家族に多数の患者が発生したことが要因と考えられた．

5）富山県のイノシシと寄生マダニ類におけるリケッチア保有調査
　中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いにおける蚊類幼虫調査

分担研究者：滝澤剛則，協力研究者：小原真弓，山内健生，渡辺　護*

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業　地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究（H20-新興-一般-015）　平成22年度総括・分担研究報告書．pp. 65-74.

温暖化等によるイノシシの分布拡大に伴ってマダニ類とリケッチアの分布が拡大している可能性を検討するため，富山県内で捕獲されたイノシシの寄生マダニ類を調査するとともに，マダニ類及びイノシシからのリケッチア検出を行った．マダニ調査の結果，富山県では初の記録となるタカサゴチマダニと，野外において未確認であったタカサゴキララマダニを含む5種のマダニ類が採集された．イノシシ寄生マダニ類から*R. japonica*の遺伝子は検出されなかったものの，214個体中14個体（6.5%）から，病原性不明のリケッチアが検出された．イノシシからリケッチアは検出されなかったが，イノシシの37.7%にリケッチア陽性マダニが寄生していた．2010年7月，8月，および10月に，中部山岳国立公園の立山観光ルート沿い（標高約500〜2,000m）において，蚊類幼虫を採集し，その垂直分布を調査した．その結果，計973個体の蚊類が採集され，これらは少なくとも8種に分類された．個体数がもっとも多かったのはヤマトヤブカ*Ochlerotatus japonicus*（439個体）で，キンパラナガハシカ*Tripteroides bambusa*（430個体）がこれに次いだ．ヤマトヤブカはすべての調査地点で採集された．本年の調査では，昨年と異なり，ヒトスジシマカ*Aedes albopictus*は採集されなかった．このことから，昨年，標高1,200m地点で採集されたヒトスジシマカは，何らかの理由で一時的に発生していたものと推定された．

6）富山県のイノシシと寄生マダニ類におけるリケッチア保有調査
　中部山岳国立公園立山の観光ルート沿いにおける蚊類幼虫調査

分担研究者：滝澤剛則，協力研究者：小原真弓，山内健生，渡辺　護*

厚生労働科学研究費補助金　新興・再興感染症研究事業　地球温暖化に伴い変化する感染症に対する早期防御法確立に関する研究（H20-新興-一般-015）　平成20〜22年度総合研究報告書．pp. 68-80.

温暖化等によるイノシシの分布拡大に伴ってマダニ類とリケッチアの分布が拡大している可能性を検討するため，富山県内で捕獲されたイノシシの寄生マダニ類を調査するとともに，マダニ類及びイノシシからのリケッチア検出を行った．マダニ調査の結果，富山県では初の記録となるタカサゴチマダニと，野外において未確認であったタカサゴキララマダニを含む5種のマダニ類が採集された．イノシシ寄生マダニ類から*R. japonica*の遺伝子は検出されなかったものの，214個体中14個体（6.5%）から，病原性不明のリケッチアが検出された．地球温暖化による感染症媒介蚊の垂直分布の変化を調べるため，2009年9月，10月，2010年7月，8月，および10月に，中部山岳国立公園の立山観光ルート沿い（標高約500〜2,000m）において，蚊類幼虫の分布を調査し，1989〜1994年に同地点で実施された調査結果と比較した．今回の調査では，計2,143個体の蚊類が採集され，これらは少なくとも10種に分類された．個体数がもっとも多かったのはキンパラナガハシカ*Tripteroides bambusa*（1,168個体）で，ヤマトヤブカ*Ochlerotatus japonicus*（725個体）がこれに次いだ．ヒトスジシマカ*Aedes albopictus*は，2009年10月に標高1,200m地点で14個体が採集されたが，それ以外にはまったく採

集されなかった．このことから，標高1,200m 地点で採集されたヒトスジシマカは，何らかの理由で一時的に発生していたものと推定された．本研究では，地球温暖化の影響により感染症媒介蚊の分布が高標高域へと広がっているという証拠を見出すことはできなかった．

7）バーコード付き採血用ろ紙の検討

研究代表者：山口清次*，分担研究者：原田正平*，研究協力者：河地　豊*，渡辺倫子*，安片恭子*，山上祐次*，穴澤　昭*，九曜雅子，稲岡一考*，田崎隆二*

厚生労働科学研究費補助金　成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」平成22年度 総括・分担研究報告書，p113-114

タンデムマス・スクリーニングの普及に対応するため，バーコードを付けた新採血用ろ紙を試案し検討した．バーコードは，検査の精度管理のうえでも，また検体の長期保存においても，さらには追跡調査の際にも非常に有効だと考えられた．

8）外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の現状（平成22年度）

研究代表者：山口清次*，研究分担者：原田正平*，研究協力者：鈴木恵美子*，渡辺倫子*，門脇真理*，前田昌子*，成瀬　浩*，望月孝一*，山上祐次*，安片恭子*，田崎隆二*，九曜雅子，園山京子*，吉井千代子*，安部真理子*，中村多加良*，栗原秀子*，佐々木純子*，木谷美枝*，松本智津子*，平原史樹*，加藤忠明*，松井　陽*

厚生労働科学研究費補助金　成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「タンデムマス導入による新生児マススクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」平成22年度 総括・分担研究報告書，p119-121

平成17年9月からの5年間の研究では，ブラインドサンプル（BLS）の導入は，地域のスクリーニング全体の的確な現状把握を可能とし，スクリーニング検査施設の検査精度を保証する有効な方法と考えられたが，現時点では画一的な BLS 導入には困難があった．5年間に BLS を91検体送付し見逃しは1検体のみであった．平成22年度は，全国の45検査施設中13施設，自治体3，連絡協議会1から継続の意向を得て実施した．また，BLS 導入の関連情報収集ための調査を行った．タンデムマス・スクリーニングを開始する自治体が増え，それに伴うシステム変更も想定されるため，BLS 実施の継続，拡大にはより細かな注意が必要と考えられた．

9）インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間および国立感染症研究所との連携強化に関する研究

分担研究者：皆川洋子*，協力研究者：池田辰也*，水田克己*，長島真美*，新開敬行*，林　志直*，加瀬哲男*，高橋和郎*，戸田昌一*，調　恒明*，吉冨秀亮*，千々和勝巳*，駒込理佳*，長野秀樹*，川上千春*，小渕正次，滝澤剛則，内野清子*，田中智之*，平良勝也*，山下和予*，安井善宏*

厚生労働科学研究費補地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株，薬剤耐性株等の早期検出，検査診断系の改良および流行把握に関する研究（平成22年度総括・分担研究年度終了報告書．pp. 9-14.

2009／2010シーズンに発生したA／H1pdmN1ウイルスによるパンデミックインフルエンザを契機に，国立感染症研究所（以下：感染研）と地方衛生研究所（以下：地衛研）の緊密な連携に基づく全数検査診断実施とその後到来した第1波対応の経験をふまえ，地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会と緊密な連絡調整を行いつつ国内におけるインフルエンザウイルス・サーベイランス体制の維持強化に必要な連携体制づくりに着手した．とくに抗ウイルス剤感受性変化などのハイリスク変異株サーベイランスの強化に努めている．

(1) 感染研・地衛研間のインフルエンザ連携検査研究体制整備：
全国ブロックごとのコア地衛研6機関，インフルエンザ研究を長年実施し地域的特徴を有するサポート地衛研5機関合計11機関を主な研究協力者としてメーリングリストを作成し，感染研との迅速な連携体制の導入をはかるとともに，下記の実地検証に着手した．

(2) オセルタミビル耐性サーベイランスの実地検証
研究分担者の高下博士，影山博士らが新たに開発したリアルタイムRT－PCRを用いたオセルタミビル耐性変異（H275Y）検出システムの実地検証（新たな試験法の試験運用及び従来法との比較を含む検討）を，11地衛研が担当した．その後の全地衛研での運用をより円滑に行えるよう，ブロックごとにコア地衛研が中心となって他地衛研への普及や現場から開発者へのフイードバックをはかっている．

(3) 耐性サーベイランス実地検証に先立ち，コア地衛研により各ブロック内全地衛研のインフルエンザ担当者への連絡体制が確立され，リアルタイムPCR機種情報更新調査が迅速に行われた．

(4) 協力地衛研は，インフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供に努める傍ら，各ブロックの地衛研の意見や要望を拾い上げ，必要に応じて協力地衛研問および感染研担当者間で情報共有している．地衛研現場の声を汲み取る形で，感染研より2010年から2011年にかけて国内各地で発生している高病原性鳥インフルエンザ検査対応について追加情報が発せられた．

(5) 2010／2011シーズン流行早期にA／H1N1pdmウイルスの耐性株をTaqMan RT－PCR法により検出し，速報した．1例はペラミビル単独投与後，1例はオセルタミビル投与後であり，275H／Y mixture変異株であったことから，薬剤の選択圧による耐性変異と推察された．

(6) リアルタイムRT－PCR陽性臨床検体を用いて新型インフルエンザA／H1N1pdmオセルタミビル耐性株検出系の事前評価を行った．その結果，臨床検体を用いる場合は本検出系を最適化する必要があることが示唆された．

10) 自然界における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

分担執筆：ウイルス部，がん研究部，富山県厚生部生活衛生課*

平成22年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2010

イノシシとイノシシに寄生したマダニ類における紅斑熱群リケッチアの検出を行った．海外からの侵入監視及び流行状況の把握のため，哺乳類と媒介節足動物における各種感染症の浸淫状況を調査した．また，多くの観光客が訪れる中部山岳国立公園の観光ルート沿いにおいて蚊幼虫の分布を調査した．

11) 下水中のポリオウイルス性状解析と下水処理過程におけるエンテロウイルス量の変化に関する調査

研究分担者：岩井雅恵

厚生労働科学研究費補助金：新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業；ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討　平成22年度分担研究報告書，pp. 22-27

これまでの環境水ウイルス調査において，富山県内の下水流入水からポリオウイルスはワクチン集団接種時期

に，エンテロウイルスは通年，検出されている．2010年は，48株のポリオウイルスが下水から検出され，VP1領域の塩基配列解析によりすべてOPV-like poliovirusであることを確認した．
また，エンテロウイルスの下水処理効果を調べるために，下水処理工程ごと（流入水，二次処理水，放流水，生汚泥，余剰汚泥）のウイルス量を測定したところ，二次処理水中のウイルス量は流入水よりも10-1〜10-2少なく，生汚泥に吸着されなかったウイルスは活性汚泥に吸着または取り込まれることで，二次処理水中のウイルス量が減少したことが推測された．

12）北陸地区における麻疹ウイルス検査状況と麻疹検体輸送培地の検討

研究協力者：岩井雅恵

厚生労働科学研究費補助金：新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業；早期麻疹排除及び排除状態の維持に関する研究　平成22年度協力研究報告書，pp. 50-55

平成22年度の北陸地区における麻疹患者の報告数は，3県で計8例と少なかった．麻疹検査診断の精度向上のため，PCR検査とIgM抗体検査の相関性を調査した．両検査でも判定が困難な症例があり，急性期と回復期でのIgM及びIgG抗体価の比較が，検査診断に有用であった．
検体輸送培地（生理食塩水とブイヨン，BDユニバーサルバイラルトランスポート）と凍結融解または輸送時の温度（4℃または28℃）の，麻疹ウイルス検出率に及ぼす影響を調べたところ，PCR検査では輸送培地の違いによるウイルス検出率に差は見られなかったが，生理食塩水を用いた場合では，２回以上の凍結融解を行うとウイルス生存率が他の培地を用いた場合の10分の1に低下した．

13）パンデミック(H1N1)2009インフルエンザウイルスのオセルタミビル耐性株サーベイランスに関する調査研究

研究分担者：小渕正次，研究協力者：安孫子千恵子*，大金映子*，塚越博之*，戸田昌一*，木村博一*,野田雅博*

厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業　国際的な感染症情報の収集，分析，提供機能およびわが国の感染症サーベイランスシステムの改善・強化に関する研究　平成22年度総括・分担研究報告書．pp. 163-166.

2009/10および2010/11シーズンに山形県，栃木県，群馬県，富山県および山口県内で分離されたA/H1N1pdmインフルエンザウイルス株について，オセルタミビル耐性変異株の検出および遺伝学的解析を行った．その結果，変異ウイルスの検出率はそれぞれ0.7%，0.9%であった．しかし，県によって検出率に大きなばらつきがみられた．これらの変異株は，いずれも抗インフルエンザ薬の服用中に生じた可能性があると推測された．したがって，抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施する際は，市中流行株と抗インフルエンザ薬服用患者由来株を区別して調査する必要があろう．

14）リアルタイムPCR法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法と精度管理

研究代表者：調　恒明*，分担研究者：長井忠則*，研究協力者：山口敬治*，綿引正則，嶋　智子，川瀬　遵*，亀山光博*，堀川和美*，江藤良樹*

厚生労働科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合研究事業「地方衛生研究所における網羅的迅速検査

法の確立と，その精度管理の実施，及び疫学機能の強化に関する研究」平成22年度総括・分担研究報告書，p17-39

インターカレーター法による食水系感染症原因菌の迅速検査法について，リアルタイム PCR 機器を用いて網羅的検査を実施するための検査法について，平成21年度までに24病原遺伝子を網羅的に検出するシステムを作成した．平成21年度は8群の遺伝子検出セットの中の代表遺伝子を保有するもの8菌株をもちいて検証した．今年度はすべての遺伝子の増幅を検証するため，26菌株から DNA を抽出し，DNA 濃度を調整したのち各所に配布し，複数の地方衛生研究所において10倍段階希釈した24種の対象遺伝子についてそれぞれのリアルタイム PCR 機器を用いて検証した．

15）病原体管理システムの実用化に際しての検証および改良

研究代表者：篠原克明*，分担研究者：篠原克明*，研究協力者：倉田　毅，山本明彦*，奥谷晶子*，駒野　淳*，徐　紅*，白倉雅之*，高田礼人*，綿引正則，滝澤剛則，早川成人*，梶原唯行*

平成22年度厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等振興・再興感染症研究事業
「病原体等の登録・保管・輸送・廃棄に関する一括管理システムの開発と検証」

研究代表者：篠原克明*

平成22年度　総括・分担研究報告書

病原体管理システムの開発を行い，これまで開発してきたシステムの実証実験を行い，本システムのコンセプトの有効性と実用化に向けた改良行うために，数箇所でのモニタリング調査を行い，改良点・問題点の収集，分析およびその結果に基づき，システムの改良を行ってきた．本年度は，個々の用途条件に対応した機能特異型のシステムのカスタマイズと構築およびその検証，さらにより広範囲の導入先への展開，普及を目的とした汎用型システムの構築について検証し，試験運用した．

16）東海・北陸地方9地方衛生研究所によるパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）活用調査と PCR 型別法 (IS printing system 及び POT 法)の実施

研究代表者：寺嶋　淳*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，北川恵美子*，白木　豊*，田中保知*，木全恵子，中根邦彦*，石畝　史*，岩出義人*，藪谷充孝*

厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症調査における分子疫学的手法に関する研究」平成22年度総括・分担研究報告書，p46-86

平成22年度東海・北陸ブロック研究班活動として，感染事例発生時における PFGE および IS-printing の実施例の報告を行った．　2010年 8 月に発生した4件の O157感染事例について PFGE 及び IS-printing による解析を行ったが，いずれの事例も PFGE パターンおよび IS コードの一致はみられなかった．また，当所保存の食中毒および施設内検便により得られた黄色ブドウ球菌について PFGE と POT 法による型別の比較を行った．菌株の POT 型は分離検体の各由来ごとにコアグラーゼ型また PFGE パターンに対応しており，食中毒事例及び施設検便などの同一集団の複数検体より分離された黄色ブドウ球菌から同一クローン株を迅速に検索するには有効であると思われた．

17）コリネバクテリウムに関する研究

分担研究者：高橋元秀*，研究協力者：小宮貴子*，岩城正昭*，山本明彦*，見理　剛*，畠山　薫*，勝川千尋*，木全恵子，磯部順子，廣田昌幸*，保田信一* 他

厚生労働科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「ワンヘルス理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究」平成22年度総括・分担研究報告書，p32-42

平成22年度の分布調査により数箇所の地方自治体の動物愛護センターに引き取られたイヌ・ネコからジフテリア毒素産生性 C.ulcerans が分離された．また，一般家庭で飼育するネコについても本菌が分離された．さらに，ジフテリア様症状を示す患者2名の環境調査により，飼育するネコから本菌が検出された．本県での2010年6月～12月までの調査では，イヌ・ネコからジフテリア毒素産生性 *C.ulcerans* は検出されなかった．

18）液体培養（Liquid Culture）定量 RT-PCR を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の検討

研究代表者：倉　文明*.研究分担者：烏谷竜哉*，磯部順子，中嶋　洋*．研究協力者：泉山信司*，浅野由紀子*，矢崎知子*

厚生科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合事業
「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」

研究代表者：倉　文明*

平成22年度総括・分担報告書，p 59-71

レジオネラ属菌の定量について，18時間培養後の Ct 値により，生菌の存在を予測，定量することを試みた．結果は，通常実施する培養法と比較し，感度85.7%，とく井戸は100%と，きわめて良好であった．この方法は，結果が最短で21時間後に出るなど，施設管理やその指導に十分活用できると思われる．また，増菌前の死菌 DNA 量から，潜在的なレジオネラの棲息を察知でき，注意を促すことも可能である．

19）レジオネラ属菌検査法の現状と今後に向けた検討

研究代表者：倉　文明*.研究分担者：森本　洋*．研究協力者：磯部順子，大屋日登美*，緒方喜久代*，中島洋*，金子紀子*，矢崎知子*，吉野修二*，前川純子*

厚生科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合事業
「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」

研究代表者：倉　文明*

平成22年度総括・分担報告書，p 101-155

浴用水のレジオネラ属菌検査法について，標準化と精度管理を目的として，地研で実際に行なわれている方法を把握するためアンケート方式で調査を行った．様々な方法が用いられていることが判明しただけでなく，研修や精度管理の体制が構築されるよう望んでいることが明らかとなった．

平成23年12月16日

20）感染の地域性とその原因

研究代表　倉　文明*．研究分担者：磯部順子

厚生科学研究費補助金　健康安全・危機管理対策総合事業
「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」

研究代表者：倉　文明*

平成22年度総括・分担報告書，p 215-222

富山県におけるレジオネラ症の発生について，地域により大きく差があることから，その原因を浴用水の特性から明らかにした．患者の多い西部地域では，患者から分離される *L.pneumophila*　SG1（*lag*-1遺伝子保有）株が，遊離残留塩素濃度の高い浴用水から分離される頻度が高いことが明らかとなった．近年の浴用水から多く分離されるこの SG1について残塩との関係を推定されているが，実際の浴用水でその関連性を指摘できた．

21）地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的，疫学的調査解析機能の強化に関する研究

分担研究者：倉田　毅，協力研究者：綿引正則，磯部順子，八柳　潤*，白木　豊*，鈴木匡弘*，石畝　史*，菅野奈美*，青木敦子*，砂押克彦*，村上光一*，緒方喜久代*

厚生科学研究費補助金　新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「薬剤耐性菌等に関する研究」

研究代表者：荒川宜親*

平成22年度総括・分担研究報告書，p182-194

地方衛生研究所の耐性菌検査の現状を把握し，その上で検査技術の向上を目的とした研修会を実施し，地研と耐性菌検査の取り組み方に関する方向性について議論した．さらに，新しい耐性遺伝子の出現や多剤耐性化へ向かう耐性菌に対応した分子疫学的データを得るための検査法の開発（LinePCR）を行った．

## (2)　学 会 発 表 等

1）トヤマゴマフアブとハクサンゴマフアブについて
山内健生，渡辺　護*
第62回日本衛生動物学会大会　平22.4.2，鹿児島市

2）中国内モンゴル自治区フッ素汚染地域女性における骨吸収亢進に関する調査研究（3）―フッ素暴露と斑状歯，骨吸収マーカーの関係について―
新村哲夫，堀井裕子*，中崎美峰子，王　紅兵*，胡　莉珍*，蘇　秀蘭*，常　虹*，畢　力夫*，鏡森定信*
第80回日本衛生学会総会，平22.5.9～11，仙台市

3）インドネシア西ジャワ地域の成人及び小児における尿中アルキルリン酸検出状況

中崎美峰子，新村哲夫，関山牧子*，Budhi Gnawan*，Oekan Abdoellah*，Ieva Akbal*，渡辺知保*
第80回日本衛生学会総会，平22.5.9～11，仙台市

4）コガタアカイエカから分離されたCulex flavivirusの解析及び日本脳炎ウイルスの増殖への干渉
小原真弓，山内健生，渡辺　護*，長谷川澄代，岩井雅恵，堀元栄詞，滝澤剛則
第45回日本脳炎ウイルス生態学研究会　平22.5.28～29，東京都

5）富山湾産ウオノエ科魚類寄生虫（甲殻綱：等脚目）
山内健生，布村　昇*
第9回日本海甲殻類研究会　平22.5.29，魚津市

6）海洋深層水運動浴のメタボリック症候群対策への利用の検討（２）深層水と水道水の歩行浴による酸素消費量と深部体温の比較
新村哲夫，田中朋子，金木　潤，立瀬剛志*，胡　莉珍*，関根道和*，鏡森定信*
第75回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会，平22.6.4～5，栃木県塩原温泉

7）富山県における近年のつつが虫病分布状況
小原真弓，山内健生，渡辺　護*，岩井雅恵，堀元栄詞，滝澤剛則
第28回北陸病害動物研究会　平22.7.3，富山市

8）赤痢菌と侵入性大腸菌の16SrＲＮＡ遺伝子を利用した鑑別法の開発
磯部順子，金谷潤一，嶋　智子，木全恵子，倉田　毅，綿引正則
第14回腸管出血性大腸菌感染症研究会，平22.7.22～7.23，宮崎市

9）下水流入水中の腸管系ウイルスの季節消長と下水処理工程ごとのウイルス量の変化
岩井雅恵，小原真弓，堀元栄詞，倉田　毅，滝澤剛則，高井宗央*，山本博英*
第47回下水道研究発表会　平22.7.27～29，名古屋市

10）富山県における近年のつつが虫病分布状況
小原真弓，山内健生，渡辺　護*，岩井雅恵，堀元栄詞，滝澤剛則
平成22年度日本獣医三学会（中部）　平22.9.5，長野市

11）イノシシの分布拡大はマダニの分布拡大をもたらすのか？
山内健生，茂木周作*，山本英恵*，小原真弓，滝澤剛則
第19回日本ダニ学会大会　平22.9.11，仙台市

12）還元糖光学異性体の加熱による異性化
小玉修嗣，多賀　淳*，山本　敦*，會澤宣一*，鈴木健太郎*，誉田佳孝*，健名智子，山下智富，上出　功

日本分析化学会第59年会　平22.9.15-17，仙台市

13）小矢部川下流部及びその河口海域における EDTA の分析
健名智子，小玉修嗣，山本　敦*，井上嘉則*，早川和一*
日本分析化学会第59年会　平22.9.15-17，仙台市

14）血清総ホモシステインの測定法の検討と尿中骨吸収マーカーとの関連について
高橋直人，田中朋子，金木　潤
平成22年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会，平22.9.30〜10.1，名古屋市

15）*Parabdella quadioculata*（ヒル亜綱：グロシフォニ科）の日本からの初記録，およびそれによる人体寄生例
山内健生，吉郷英範*，伊藤哲也*
第62回日本衛生動物学会東日本支部大会　平22.10.16，千葉県印旛郡印旛村

16）有機リン系農薬の曝露指標としての尿中アルキルリン酸と生活環境要因
中崎美峰子，大浦栄次*
第12回富山県薬学会年会，平22.10.23，富山市

17）特定健診受診者のインスリン抵抗性と肥満，生活習慣との関連
田中朋子，中崎美峰子，大浦栄次*，渋谷直美*
第6 9 回日本公衆衛生学会（東京）平22.10.27〜29

18）マダニ類の調査法とその実践例
山内健生
第26回日本ペストロジー学会大会　平22.11.4，松山市

19）マレー半島における *Amblyomma* 属マダニによる人体刺症，およびその人体咬着輸入例
山内健生，高野　愛*，丸山宗利*，川端寛樹*
第65回日本衛生動物学会西日本支部大会　平22.11.5，倉敷市

20）富山県のイノシシと寄生マダニ類からのリケッチア検出
小原真弓，　山内健生，渡辺　護*，滝澤剛則
第65回日本衛生動物学会西日本支部大会　平22.11.5，倉敷市

21）Culex flavivirus の解析及び日本脳炎ウイルスの増殖への干渉
小原真弓，山内健生，渡辺　護*，長谷川澄代，岩井雅恵，堀元栄詞，倉田　毅，滝澤剛則
第58回日本ウイルス学会　平22.11.7〜9，徳島市

22）花卉栽培者における農薬曝露調査－尿中アルキルリン酸の検出状況－
中崎美峰子，末永隆次郎*，永美大志*，前島文夫*，西垣良夫*，夏川周介*
第59回日本農村医学会学術総会，平22.11.11～12，盛岡市

23）海洋深層水中の歩行浴が酸素消費量と深部体温に及ぼす影響
新村哲夫，田中朋子，金木　潤，升方章人*，鏡森定信*，胡　莉珍*，立瀬剛志*，関根道和*，常山幸一*
第14回海洋深層水利用学会全国大会海洋深層水2010久米島大会，平22.11.18～19，沖縄県久米島

24）富山県衛生研究所における染色体検査状況
品川保弘，林貴美子，本田幸子
第31回北陸臨床遺伝研究会　平22.11.21，富山市

25）市販鶏肉におけるカンピロバクターの汚染状況と *porA* 遺伝子配列による分子疫学的解析
嶋　智子，磯部順子，金谷潤一，木全恵子，倉田　毅，綿引正則
第3回日本カンピロバクター研究会，平22.12.3～5，宮崎市

26）鯨肉の刺身を原因とする集団食中毒事例から分離された *C. lari* に関する検討
磯部順子，嶋　智子，金谷潤一，木全恵子，倉田　毅，綿引正則
第3回日本カンピロバクター研究会，平22.12.3～5，宮崎市

27）Determination of EDTA in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography
Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Hironori Fujishima*, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa
The 4th Japan-China-Korea joint ion analysis symposium, December 9-10, 2010, Gifu city

28）富山県における集団発生事例からのノロウイルス検出状況（平成22年度）
滝澤剛則，小原真弓
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会　平23.3.3～4，福井市

29）富山県におけるインフルエンザの流行（2010/11シーズン）
小渕正次
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会　平23.3.3～4，福井市

30）平成22年度北陸地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告
滝澤剛則，岩井雅恵
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会　平23.3.3～4，福井市

平成23年12月16日

31) 富山県における平成22年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況
木全恵子
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会，平23.3.3～4，福井市

32) 複数の DNA 型を検出した腸管出血性大腸菌 O157の集団感染事例について
木全恵子
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会，平23.3.3～4，福井市

33) レジオネラレファレンス事業報告
磯部順子
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会，平23.3～4，福井市

34) 結核菌レファレンス事業報告
磯部順子
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会，平23.3.3～4，福井市

35) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
木全恵子
平成22年度地方衛生研究所全国協議会　東海北陸支部微生物部会，平23.3.3～4，福井市

36) 有機リン系農薬の尿中代謝物と生活環境要因－都市部と農村部の比較－
中崎美峰子，高橋直人，新村哲夫，金木　潤，桑守豊美*，池本真二*
第81回日本衛生学会総会，平23.3.25～27，東京(誌上開催)

## (3) 受賞，学位授与，資格取得等

1）受賞

1．林　美貴子
厚生労働大臣表彰
受賞日　平成22年11月2日

2．滝澤　剛則
日本公衆衛生協会会長表彰
受賞日　平成22年11月2日

3．小玉　修嗣
地方衛生研究所全国協議会会長表彰
受賞日　平成22年10月26日

4．健名　智子
地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部長表彰
受賞日　平成22年6月18日

2）研究助成
平成22年度下期（財）田村科学技術振興財団「講演会・討論会等開催助成」
第25回インフルエンザ研究者交流の会シンポジウム助成

## (4) 知 的 所 有 権

| 発明の名称 | 特許権者・出願人 | 発　明　者 | 番　　号 |
|---|---|---|---|
| キャピラリーチューブ及びその製造方法 | 富山県・ジーエルサイエンス㈱ | 小玉修嗣，山本　敦，松永明信，寺島弘之，誉田佳孝 | 特許第4521754号（平成22年6月4日） |

## 編 集 委 員

| | |
|---|---|
| **委 員 長** | 金 木　　潤 |
| 委　　員 | 前 田 和 男 |
| | 林　　美貴子 |
| | 小 渕 正 次 |
| | 綿 引 正 則 |
| | 小 玉 修 嗣 |
| | 中 崎 美峰子 |



**富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報**

平成22年度（2010）第34号

2011年12月16日

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所

〒939-0363

富山県射水市中太閤山17－1

電　話　（0766）56－5506㈹

ＦＡＸ　（0766）56－7326

印　刷　株式会社スカラファクトリー

富山市住吉町１－５－18

電　話　（076）424－1755㈹