

富山県衛生研究所年報

(平成23年度)

第35号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2011~MARCH 2012)

NO. 35

2012



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成二十三年度)

第三十五号

富山県衛生研究所年報

(平成23年度)

第35号

富山県衛生研究所

は　じ　め　に

平成23年度の富山県衛生研究所年報をお届け致します。

平成23年度の当衛生研究所のトピックスは、なんといっても牛生肉料理のユッケを原因とする腸管出血性大腸菌（EHEC）の食中毒事例への対応です。通常の検査業務等のほか原因菌の特定などに多くの作業を要し、細菌部員全員のみならず、所内外からも多くの応援と支援をいただきました。残念なことに県内で4名（事例全体では5名）の方が亡くなりました。平成23年の厚生労働省食中毒統計によるとEHECで7名の方が死亡されており、この大半が本事例によります。本年6月の厚生労働省医薬食品局食品安全部作成の「食の安全をめぐる最近の動き」において、昨年は食品中の放射性物質とともに本事例がとりあげられています。主な原因がEHEC O111に汚染した牛肉の生食であったことで、平成23年10月1日から食品衛生法の罰則を伴う新しい生食用食肉の規格基準が施行され、さらに平成24年7月1からは生食用牛肝臓の販売・提供禁止に結びつきました。若い人の半数以上に牛肉の生食経験があり、人気食材のために反対もありましたが、食中毒の重い症状や不幸な転帰に至る場合を考えると、「牛肝臓を安全に生食するための有効な予防対策が見出せていない」現状では、食中毒にならないようリスク対策はとても大切です。

平成23年8月からは、厚生労働科学研究費補助金厚生労働科学特別研究事業に私を研究代表者とする「EHEC/O111食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究」班が採択され、富山県内外6名の研究分担者と計123名の研究協力者にご参加いただきました。計4回の研究班会議や打合せ会等を富山県で開催し、熱心にご議論いただき、年度末には研究報告書をまとめることができました。溶血性尿毒症症候群（HUS）や脳症といった重症化を示す患者が多かったこと、原因となったO111VT2菌の分離が困難であったこと、O111以外にもO157など多様な菌が分離されたこと、毒素がない大腸菌が多く分離されたこと、抗大腸菌LPS血清抗体の測定が診断に有用であったこと、そして臨床的課題も明らかになるなど、多くの成果とともに、今後につながる報告書になったと思います。平成24年度からは、私どものほか、全国の専門家の参加を得て新しい研究班が立ち上がり、細菌学的解析や臨床ガイドラインの改訂等を目標として、さらに研究が進んでいます。今回のような事例の再発防止につながる結果が出ることを期待しています。

当衛生研究所の業務は、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。本報告書では平成23年度に行われた内容をまとめました。医療機関、学術研究機関をはじめ関係の皆様には業務遂行にあたり、多くのご指導ご協力をいただきました。この場を借りて、改めてお礼申し上げます。当研究所は、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行ってまいりますので、引き続き、ご指導ご協力を賜りますようお願い致します。

平成24年12月

富山県衛生研究所長

佐 多 徹 太 郎

目 次

1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品	5
(8) 各 部 の 業 務 概 要	6
(9) 検 査 状 況	15
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金	17
(11) 講 師 派 遣	19
(12) 研 修 指 導	21
(13) 研 修 受 講	21
(14) 客 員 研 究 員	22
(15) 研 究 成 果 発 表 会	22
(16) 各 種 規 程 等	22

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23年度の検査成績）	23
九曜雅子 米田 豊 高田吉弘 土肥裕美子	
ヒト血液の染色体分析結果（平成23年度）	33
高森亮輔 林美貴子 品川保弘 高田吉弘	
流産胎児の染色体分析結果（平成23年度）	38
品川保弘 高森亮輔 林美貴子 高田吉弘	
羊水細胞の染色体分析結果（平成23年度）	43
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）2011年	48
山内健生 名古屋（小原）真弓 渡辺 護 關口健治	
日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2011年	58
名古屋（小原）真弓 堀元栄詞 板持（岩井）雅恵 小渕正次 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 馬渕俊輔 川越久美子 星山典江 關口健治	

ポリオ流行予測調査（平成23年度）	62
板持（岩井）雅恵 堀元栄詞 小渕正次 名古屋（小原）真弓 馬渕俊輔 保科瑛子 大井哲夫 南部厚子 川越久美子 星山典江 関口健治 滝澤剛則	
インフルエンザ流行予測調査（平成23年度）	68
小渕正次 堀元栄詞 名古屋（小原）真弓 板持（岩井）雅恵 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 馬渕俊輔 川越久美子 星山典江 関口健治	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について（2011年度）	74
名古屋（小原）真弓 森岡誠二 堀元栄詞 板持（岩井）雅恵 小渕正次 滝澤剛則	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況	80
磯部順子 金谷潤一 嶋 智子 木全恵子 綿引正則 佐多徹太郎	
富山県における腸管出血性大腸菌 O157 の IS-printing による遺伝子型別の評価	85
木全恵子 嶋 智子 金谷潤一 磯部順子 嶋 一世 綿引正則 佐多徹太郎	
仕出し弁当の添え野菜を原因とする腸管出血性大腸菌 O26 食中毒事例	92
嶋 智子 木全恵子 磯部順子 金谷潤一 綿引正則 佐多徹太郎 堂高一彦 西部健治 出村尚子	
中高年女性を対象とした運動教室参加者のアディポネクチン、ホモシステインの変化	96
田中朋子 小林直人 金木 潤	
中高年女性の身体活動量、活動強度が超音波骨強度指標に及ぼす影響	100
小林直人 田中朋子 金木 潤 要明仁美 今村由美子	
長期・継続的な海洋深層水運動浴によるメタボリック症候群対策と皮膚状態及び QOL の改善の検討	105
新村哲夫 田中朋子 金木 潤 小林俊哉 山腰高子 松永憲治 清水忠道 立瀬剛志 立浪 勝 鏡森定信	

3. 資 料

先天性副腎過形成症スクリーニングにおける17-hydroxyprogesterone（17-OHP）値の季節変動	111
九曜雅子 米田 豊	
ミルクによる血液ろ紙の汚染検査のためのラクトース測定法の開発	115
米田 豊 九曜雅子	
富山県における平成23年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	117
板持（岩井）雅恵 名古屋（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（2011年）	120
嶋 智子 磯部順子 嶋 一世 金谷潤一 木全恵子 綿引正則 佐多徹太郎 出村尚子	
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2011）	124
木全恵子 嶋 智子 金谷潤一 磯部順子 綿引正則 佐多徹太郎	
漁港における腸炎ビブリオ調査（2011年）	131
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 嶋 一世 綿引正則 佐多徹太郎	
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（2011年）	135
嶋 智子 金谷潤一 木全恵子 磯部順子 嶋 一世 綿引正則 佐多徹太郎 朝野洋一 百石祐一朗 加藤陽子 中村政雄 奥野ルミ	

ネコにおけるジフテリア毒素産生型 <i>Corynebacterium ulcerans</i> および <i>Corynebacterium</i> 属菌	
保有状況調査（2010－2011）第2報	139
木全恵子 嶋 智子 金谷潤一 磯部順子 嶋 一世 廣田昌幸 保田信一 綿引正則 佐多徹太郎	
富山県における2011年の病原微生物検出状況	143
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 嶋 一世 綿引正則 佐多徹太郎	
平成23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－	147
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 嶋 一世 綿引正則 佐多徹太郎	
加熱による D-及び L-ガラクトースの異性化	152
小玉修嗣 健名智子 大戸幹也 中山恵理子 山下智富 村元達也 上出 功	
富山県内に流通する輸入菓子中の有害金属検査	154
村元達也 大戸幹也 小玉修嗣 健名智子 中山恵理子 山下智富 上出 功	
空気中有機リン酸エステル類の分析法	157
中崎美峰子 金木 潤	

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表	161
(2) 学 会 発 表 等	178
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	183
(4) 知 的 所 有 権	183

Reports

The Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (April 2011~March 2012)	23
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Yumiko DOI	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2011-Mar. 2012)	33
Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and Yoshihiro TAKADA	
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2011-Mar. 2012)	38
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI and Yoshihiro TAKADA	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2011-Mar. 2012)	43
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI and Yoshihiro TAKADA	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2011	48
Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA-NAGOYA, Mamoru WATANABE and Kenji SEKIGUCHI	
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in 2011	58
Mayumi OBARA-NAGOYA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI-ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Shunsuke MABUCHI, Kumiko KAWAGOSHI, Norie HOSHIYAMA and Kenji SEKIGUCHI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2011	62
Masae IWAI-ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Mayumi OBARA-NAGOYA, Syunsuke MABUCHI, Eiko HOSHINA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Kumiko KAWAGOSHI, Norie HOSHIYAMA, Kenji SEKIGUCHI and Takenori TAKIZAWA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2011-2012	68
Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA-NAGOYA, Masae IWAI-ITAMOCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Shunsuke MABUCHI, Kumiko KAWAGOSHI, Norie HOSHIYAMA and Kenji SEKIGUCHI	
Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2011	74
Mayumi OBARA-NAGOYA, Seiji MORIOKA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI-ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2011	80
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
Evaluation of the Genotyping with IS-Printing of Enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157 Isolated in Toyama Prefecture	85
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
The Outbreak of Food poisoning Caused by Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O26 Traced to Precut vegetables in Boxed lunch of Delivery	92
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI,	

Tetsutaro SATA, Kazuhiko DOTAKA, Kenji NISHIBU and Naoko DEMURA Changes of Serum Adiponectin and Total homocysteine in Middle Aged and Elderly Women during Exercise Program	96
Tomoko TANAKA Naoto KOBAYASHI and Jun KANAKI Volume and Intensity of Physical Activity in Middle-age and Elderly Women Affect the Bone Strength Index by Quantitative Ultrasound	100
Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Hitomi YOUNE and Yumiko IMAMURA Health Effects of Long-Term and Continuous Exercise Bathing in Deep Sea Water:Effects on Metabolic Syndrome, Skin Condition and QOL	105
Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Toshinari KOBAYASHI, Takako YAMAKOSHI, Kenji MATSUNAGA, Tadamichi SHIMIZU, Takashi TATSUSE, Masaru TACHINAMI and Sadanobu KAGAMIMORI	

Notes

Seasonal Variation in 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) Concentration of Dried Blood Samples on Filter Paper in the Newborn Screening of Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama	111
Masako KUYO and Yutaka YONEDA Determination of Lactose in Dried Blood Samples for Newborn Screening	115
Yutaka YONEDA and Masako KUYO Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2011	117
Masae IWAI-ITAMOCHI, Mayumi OBARA-NAGOYA, Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, and Takenori TAKIZAWA Survey of <i>Campylobacter</i> and <i>Salmonella</i> Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2011)	120
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI, Tetsutaro SATA and Naoko DEMURA Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2011	124
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA Surveillance for <i>Vibrio parahaemolyticus</i> at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2011	131
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Haemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2011	135
Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA , Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI, Tetsutaro SATA, Youichi ASANO, Yuichirou HYAKKOKU, Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO	

Isolation of Toxigenic <i>Corynebacterium ulcerans</i> and <i>Corynebacterium</i> spp. from Cats (2010-2011). Second Report	139
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Masayuki HIROTA, Shin-ichi YASUDA Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2010	143
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2011)	147
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
Epimerization of D- and L-galactoses during heating	152
Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA, Tatsuya MURAMOTO and Isao KAMIDE	
Inspection of Toxic Metal in Imported Confectionery Circulating in Toyama	154
Tatsuya MURAMOTO, Mikiya OHTO, Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA and Isao KAMIDE	
Analysis of Organophosphate Esters in Air Samples	157
Mineko NAKAZAKI and Jun KANAKI	

1. 運 営

1 運 営

(1) 沿 革

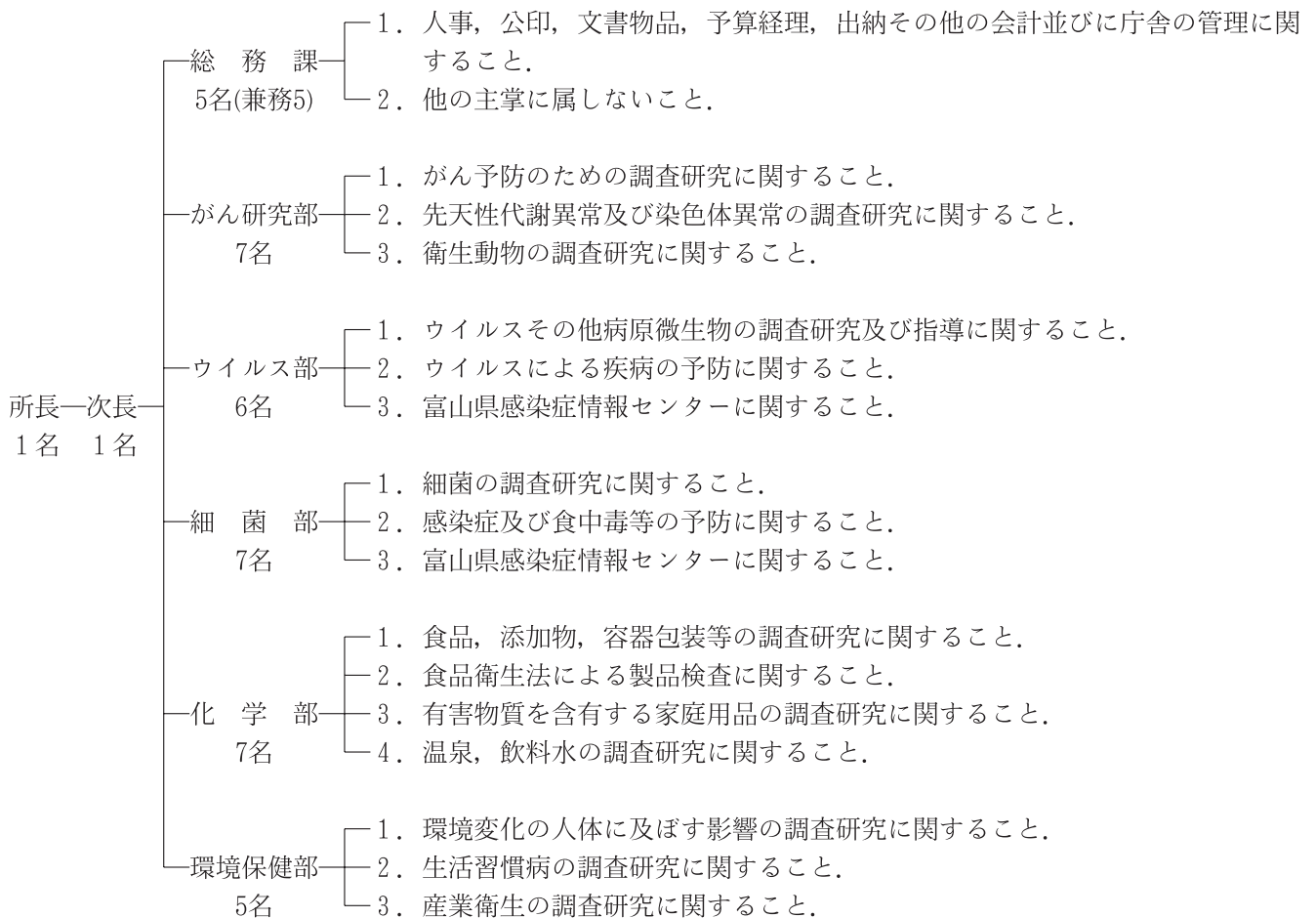
昭和35年 4月 1日	職員9名の構成で発足.
昭和36年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員17名に拡充強化(庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
昭和37年11月30日	旧研究所の増築.
昭和38年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部(庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課)を変更.
昭和39年10月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査課を新設.
昭和44年 4月 1日	富山県行政組織規則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24年6月1日）



(4) 職 員 数

(平成24年 6 月 1 日現在)

区分	所・次長 部・課長	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主任	主 任 研究員	主 任 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)		1 (注1)		1 (注1)			1 (注1)		1 (注2)	5 (兼5)
がん研究部	次 長 事務取扱			2		1	1		2	1	7
ウイルス部	1			1		3			1		6
細 菌 部	所 長 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	1	8	1	9	2	1	6	3	39 (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24年6月 1 日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所 長		佐 多 徹 太 郎		細 菌 部	部 長	所長事務取扱	
次 長		高 田 吉 弘			主 幹 研 究 員	綿 引 正 則	
総 務 課	総 務 課 長（ 兼 ）	西 村 次 男			副 主 幹 研 究 員	磯 部 順 子	
	副 主 幹（ 兼 ）	前 田 和 男			主 任 研 究 員	木 全 恵 子	
	副 主 幹（ 兼 ）	真 木 雅 子			〃	嶋 智 子	
	係 長（ 兼 ）	浅 井 直 子			〃	清 水 美 和 子	
	業 務 技 師（ 兼 ）	新 木 康 之			研 究 員	金 谷 潤 一	
					技 師	嶋 一 世	
がん研究部	部 長	次長事務取扱		化 学 部	部 長	上 出 功	
	副 主 幹 研 究 員	九 曜 雅 子			主 幹 研 究 員	小 玉 修 嗣	
	〃	品 川 保 弘			副 主 幹 研 究 員	健 名 智 子	
	主 任 研 究 員	山 内 健 生			〃	堀 井 裕 子	
	主 任 専 門 員	米 田 豊			主 任 研 究 員	中 山 恵 理 子	
	研 究 員	稲 畑 良			〃	山 下 智 富	
	〃	高 森 亮 輔			研 究 員	村 元 達 也	
	技 師	渡 辺 護					
ウイルス部	部 長	滝 澤 剛 則		環 境 保 健 部	部 長	金 木 潤	
	副 主 幹 研 究 員	小 渕 正 次			副 主 幹 研 究 員	田 中 朋 子	
	主 任 研 究 員	堀 元 栄 詞			〃	中 崎 美 峰 子	
	〃	名 古 屋 真 弓			主 任 専 門 員	新 村 哲 夫	
	〃	板 持 雅 恵			研 究 員	小 林 直 人	
	研 究 員	稲 崎 倫 子					

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23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	24,793		6,750		18,043	所の運営等
試験研究費	46,375	2,978			43,397	所の運営、維持管理、試験検査等
設備充実費	2,685				2,685	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	調査研究
がん等特別研究費	7,256		781		6,475	調査研究
合 計	82,670	2,978	7,531		72,161	

平成23年度 歳入・歳出決算 (歳 入)

科 目	決 算 額 (円)	
衛生手数料	9,168,880	衛生研究所費 3,700,620 環境衛生検査 5,468,260
財産運用収入	22,330	特許権等運用収入
雑 入	92,795	
合 計	9,284,005	

(歳 出)

科 目	決 算 額 (円)	
人事管理費	666,005	嘱託職員の雇用
財産管理費	347,325	庁舎維持管理費
管理諸費	164,280	国際協力費
児童福祉対策費	10,135,744	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	2,030,377	再任用職員の保険料
予 防 費	5,265,390	感染症関連調査
環境保健対策費	8,460,621	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	66,637,067	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	5,095,973	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	11,241,803	食品安全対策検査
薬 務 費	6,123,000	備品購入費
公害防止対策費	394,750	海水浴場細菌検査
雇用対策費	28,807	緊急雇用創出事業
工 鉱 業 総 務 費	1,517,364	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合 計	118,108,506	

(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
オートサンプラー付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
染色体核型分析用画像処理システム	カールツアイス社製 イカロス	H13. 1
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
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社	H12.12
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社 CHEF Mapper XA	H23. 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
全自動化学発光分析システム	日本分光	H11. 3
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
多波長検出用リアルタイムPCR装置	タカラバイオ(株) TP9000	H23. 8
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	QIAAsymphony 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	ABI PRISM 3130XL	H19.10
遺伝子解析装置	イルミナ MiSeq	H24. 1
超音波骨密度測定装置	G E横河メディカルシステム A-1000	H18. 7

（平成24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23年度の検体総数は9,151件で、県内33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、109.2%（里帰り出産を含む）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37人（フェニルケトン尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い2人、先天性甲状腺機能低下症疑い16人、先天性副腎過形成症疑い18人）がスクリーニングされ、先天性甲状腺機能低下症9人と先天性副腎過形成症2人の患者が発見された。

染色体検査

平成23年度の検体数は、羊水97件、血液63件と自然流産胎児55件の計215件で、うち、染色体異常を示したものは、羊水10件（21トリソミー症候群4件、ターナー症候群2件、不均衡転座保因者2件、均衡転座保因者1件、トリプルX1件）、10.3%、血液5件（不均衡転座保因者2件、21トリソミー症候群2件、ターナー症候群1件）、7.9%、流産胎児37件（数的異常29件、倍数体5件、構造異常2件、数的異常＋構造異常1件）、72.5%の計52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44件実施した。

日本脳炎流行予測事業として、平成22年度に引き続き、媒介蚊コガタアカイエカの発消長を調査した。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1,232,000個体以上を捕集した。平成23年度のコガタアカイエカ捕集総数は、平成22年度とほぼ同程度であった。

〔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、地域差を見出した。この地域差に関連する要因の有無を、当所で実施したがん疫学調査のデータに見出せるか否かを解析中である。

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

ガラクトース血症のマス・スクリーニング検査では、血液ろ紙を用い、血液中のガラクトースとガラクトース代謝酵素であるGalactose-1-Phosphate Uridyltransferaseを測定している。当所ではガラクトース高値でかつ血液ろ紙がミルク臭を呈することから、ミルクによる汚染が疑われた事例を経験しており、県外においても類似の報告がある。そこで、ミルク汚染が疑われた場合の確認検査法として、血液ろ紙中のラクトースを測定する方法を開発した。当該方法はガラクトースの測定残液に β -ガラクトシダーゼ溶液を添加し、一定時間後の蛍光増加を測定するだけの簡便な方法であり、ミルク汚染を裏付ける検査法として役立つと考えられる。

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。特に、冬期に測定値が高くなる傾向が認められる先天性副腎過形成症の指標である17- α -hydroxyprogesterone（17-OHP）については、昨年検討結果から、季節変動の要因が血液濾紙自体あるいは新生児自身の変化である可能性が示唆された。このことから、今年度は、血液濾紙の高温曝露の影響および新生児の副腎機能の季節変化について検討した。その結果、血液濾紙を50℃で曝露すると、6時間で17-OHPの測定値の低下が認められた。また、副腎機能の指標の一つである濾紙血液中の cortisol 値を測定した結果、季節差は見られなかった。

衛生動物に関する研究

漁港・釣り場を中心とした富山県内の海辺にて、蚊類幼虫を調査し、3属7種を採集した。富山県内の海辺では、

ヤマトヤブカ、ヒトスジシマカ、およびアカイエカ群による被害が発生している可能性が高いと考えられた。

愛玩動物に寄生するマダニ類とノミ類の種構成について調査した。イヌからは3種のマダニ類と2種のノミ類が得られ、これらのうちフタトゲチマダニとネコノミが優占種と考えられた。ネコからはネコノミとミカドケナガノミが得られ、ネコノミが優占種と考えられた。ミカドケナガノミは、通常は野生中型肉食獣（タヌキやイタチなど）に寄生する種であることから、本調査結果は、飼育下のイヌとネコも、野生中型肉食獣の外部寄生虫に寄生されうることを示唆している。本研究は、ウイルス部と共同で行った。

富山県内でこれまでに報告されたヤスデ類とムカデ類の全記録を整理し、発表した。

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、214症例中198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1名、AH3型インフルエンザウイルス153名、B型インフルエンザウイルス44名）。上気道炎・下気道炎では、4症例中4症例からウイルスが検出された（ライノウイルス1名、RSウイルス1名、メタニューモウイルス1名）。無菌性髄膜炎では、9症例中5症例からウイルスが検出された（ムンプスウイルス4名、水痘帯状疱疹ウイルス1名）。感染性胃腸炎では35症例中21症例からウイルスが検出された（ノロウイルス GenogroupII; NVGII6名、NVGI+NVGII1名、サポウイルス2名、ロタウイルス A 群3名、ロタウイルス A 群+C 群1名、ロタウイルス A 群+ポリオウイルス1型（ワクチン株）1名、アデノウイルス31型1名、アデノウイルス41型1名、エコーウイルス3型3名、パレコウイルス1型2名）。麻疹疑い例では、1症例から麻疹ウイルスが検出された。手足口病では、38症例中33症例からウイルスが検出された（コクサッキーウイルス A6型25名、コクサッキーウイルス A10型2名、コクサッキーウイルス A6型+B5型1名、コクサッキーウイルス A6型+エコーウイルス3型1名、ライノウイルス3名）。ヘルパンギーナでは、2症例について検査を行い、コクサッキーウイルス A10型+ライノウイルス、コクサッキーウイルス B1型がそれぞれ1名から検出された。耳下腺炎では1症例からムンプスウイルスが検出された。つつが虫病では、5症例中2症例からつつが虫病リケッチアが検出された。筋炎では、1症例からパレコウイルス3型が検出された。

H I V抗体検査

平成23年4月から平成24年3月までの1年間に187件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ、1件が陽性、186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、抗体保有率は20%以下で推移し、新鮮感染を示す豚は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。したがって、23年度の日本脳炎ウイルスの流行は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回掲載した。

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299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51.5%であった。10～29歳では95%前後が抗体を保有していたが、0～4歳では13.4%、40～59歳では13.0～18.2%、60歳以上では28.6%であった。5～9歳の抗体保有率は64.0%であり、2010年（78.6%）と比べ若干低くなった。60歳以上の抗体保有率は2010年より高かったものの、2007～2009年に比べ低かった。「予防接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く79.1%で、2010年と同程度であった。「接種歴あり」の割合は、10～14歳での95.7%、15～19歳の92.0%がピークとなるが、20歳以上では45%以下であった。予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で5.6%、「接種歴不明」で52.6%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では78.9%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、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成24年1月，平成23年9月に，富山県内の健康な乳幼児61名の糞便を採取し，ウイルス分離を行った．その結果，パレコウイルス1型が2名から，コクサッキーウイルス B4型が1名からそれぞれ検出されたが，ポリオウイルスは検出されなかった．

感受性調査：平成23年6月～9月に，0歳から85歳までの299名の血清について，ポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した．ポリオウイルス各型に対して4倍以上の中和抗体価を保有する割合は，1型では94.0%，2型では96.7%，3型では70.0%であった．また，各型に対する幾何平均抗体価は，1型は164.6倍，2型は111.6倍，3型は28.1倍であり，集団免疫としては良好な抗体保有状況であった．これらの結果から，本県においては，野生型ポリオウイルスの侵淫や，ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた．

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（2011年6～9月）と感染源調査（2011年10月～2012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299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，2011/12シーズンインフルエンザワクチン株の A/California/7/2009（H1N1）pdm09，A/Victoria/210/2009（H3N2），B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）および参考株の B/Wisconsin/1/2010（山形系統）に対して各々46.5%，84.9%，93.6%，4.7%であった．

感染源調査：インフルエンザウイルスは，AH3型が146株，B型が52株分離され，2種類のウイルスの混合流行となった．AH3型が主流であったが，第11週以降はB型が分離株の大半を占めた．

〔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23年度は，県西部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．年間を通してエコーウイルス3型が高頻度に分離された．エコーウイルス3型は，県内の小児の感染性胃腸炎や手足口病患者の便からも検出されているが，髄膜炎の患者からは検出されなかった．エコーウイルス3型による感染症は，比較的軽症例が多かったことが推測された．

ウイルス感染症の疫学的研究

2011年夏に小児を中心に流行した手足口病について，原因ウイルス，及び臨床的特徴を調査した．主な原因ウイルスはコクサッキーウイルス A6であった．臨床症状は，四肢および口腔内の発疹は従来の手足口病に類似していたが，皮膚病変は全身性に拡がる例が多かった．また，症状の回復2～3週間後に爪が脱落する症例も存在した．

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2011年4月から2012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24事例のうち，15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18事例であった．原因と推定されたウイルスの内訳は，NoV Genogroup（G）II が16事例，NoVGI と GII の混合が1事例，サポウイルスが1事例であった．NoV の型別は，GII.4が7事例と最も多く，次いで GII.2及び GII.13がそれぞれ3事例，GII.6及び GII.12がそれぞれ2事例であった．

発生施設別にみると，飲食店での発生が9事例，宿泊施設，体育施設，保育所が各2事例であった．14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．

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）

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，イヌ及びネコ等の外部寄生虫を対象に病原体検出（リケッチア，アナプラズマ，エーリキア）を行った．イヌは39頭，ネコ31頭からマダニ類やノミ類が採取された．イヌからは3種75個体及び未同定チマダニ属幼虫322個体，2種55個体のノミ類が得られ，ネコからは2種117個体のノミ類が得られた．ミカドケナガノミを除くノミ類，マダニ類から，病原体の遺伝子検出を実施したが，いずれも検出限界以下であった．

富山県内の海辺における蚊類相を明らかにするため，12地点で蚊幼虫の採集を実施した．10地点で，3属7種の

蚊類が採集された。ヤマトヤブカ、ヒトスジシマカ、アカイエカ群は3～5地点で採集され、個体数も多かった。キンバラナガハシカ、トウゴウヤブカ、ヤマダシマカ、クシヒゲカ亜属の1種は、いずれも1、2地点で採集されたのみであった。国内の海岸に分布するトウゴウヤブカは、今回1頭が採れたのみであった。

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の浸淫状況を調査した。蚊やブタから日本脳炎ウイルスは分離されなかった。野生げっ歯類6頭からハンタウイルスに対する抗体は検出されなかった。

本研究は、がん研究部と共同で行った

〔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結核菌5株について、分子疫学的解析方法である VNTR 解析を行い、感染源を追求した。

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23年に、腸管出血性大腸菌感染症は26件（193名）、パラチフス1件（1名）、赤痢1件（1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 13件（42名）、O26 6件（60名）、O145 2件（3名）、O157・O111混合感染1件[O111 42名（12名は血清抗体価による確定）、O157 25名、O157・O111重複感染 13名 計80名]、O157・O145混合感染1件（O157 2名、O145 1名、O157・O145 1名）、O103 1件（1名）、O121 2件（3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12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も実施した。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、分離株の送付事務を行った。

赤痢1件はタイ渡航歴のある患者であり、*Shigella flexneri* による事例であった。パラチフス1件は渡航歴の無い患者であった。

レジオネラ症検査：厚生センターから搬入された喀痰6検体から分離培養を行った結果、1検体からレジオネラ属菌が分離された。

細菌性食中毒検査：平成23年度は、腸管出血性大腸菌による食中毒が3件（O111・O157：1件、O157 1件、O26：1件）発生し、患者または食品由来分離株の性状検査、毒素遺伝子検査、パルスフィールドゲル電気泳動解析等を実施した。また、サルモネラ属菌（*Salmonella* Enteritidis）による食中毒が1件発生した。

食品検査：6月に清涼飲料水29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。4月と7月に二枚貝によるノロウイルス食中毒発生防止対策事業と併せて、岩かき10件と漁港で使用されている殺菌海水10件の腸炎ビブリオ検査を行った。すべての検体が成分規格に合致していた。鶏肉・牛レバー汚染実態調査（ノーモア・カンピロバクター事業）として、平成23年6月～平成24年3月に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71検体中46検体からカンピロバクターが検出された。牛レバー3検体からはカンピロバクターは検出されなかった。牛レバーについては腸管出血性大腸菌（O157、O26、O111）検査も行ったが、すべて陰性であった。

厚生労働省医薬食品局食品安全部より依頼のあった「平成23年度食品の食中毒菌汚染実態調査」に基づき、34検体、6～7項目について検査を実施した。腸管出血性大腸菌はすべての検体で検出されなかったが、大腸菌、サルモネラ属菌、カンピロバクターについては、それぞれ24、8、8検体で検出された。

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4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48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 $<3\sim 43/100\text{ml}$ 、市販魚介類からは $<30\sim 2,100/100\text{g}$ 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8か所、計21検体について、生菌数、大腸菌定量、嫌気性芽胞菌、従属栄養細菌数を実施した。2検体で大腸菌数が1.0、1.0 MPN/100mlであった。嫌気性芽胞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細菌検出数は、1,292株、前年比110.6%であった。最も多かったのは大腸菌712株で、以下、黄色ブドウ球菌の277株、カンピロバクター212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。2011年1月～12月までに当所に送付された菌株は38株で、昨年比1.52と増加していた。それらの血清型の内訳は *S. Enteritidis* が10株（26.3%）、*S. Infantis* と *S. Thompson* がそれぞれ4株（10.5%）、その他20株であった。これらヒト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、15株が何らかの薬剤に耐性を示し、多いものは4薬剤に耐性を示した。

腸管出血性大腸菌ベロ毒素ファージの塩基配列解析

富山県で分離された腸管出血性大腸菌についてベロ毒素プロファージの構造と病原性の関係について、ベロ毒素プロファージの一部塩基配列多型の解析を行った。その結果、O157集団感染事例株についてその *stx2*プロファージが *stx2*多型の1つである *stx2*プロファージと *stx2*プロファージの組み換え型であることが判明した。

溶連菌の血清型別調査

平成23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36株では、検出率が高いT型は、順にT1型、T12型、TB3264型、T28型であった。前年と比較してTB3264型が増加していた。B群187株で検出率が高い型は、順にVI型、V型、Ib型、III型であった。前年と比較してVI型が増加していた。

腸炎ビブリオ汚染実態調査

平成23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 O3:K6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32検体のうち5検体においてTDH遺伝子が検出されたが、TDH産生性腸炎ビブリオ O3:K6は分離されなかった。

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22～23年度に県内2か所の病院で分離されたカンピロバクター42株の収集解析を行った。内訳は *C. jejuni* 38株、*C. coli* 4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

前年度3月に搬入された検体について検査を継続したところ、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(以下ウルセランス菌)が検出された。国立感染症研究所における精査の結果、毒素産生性が確認された。しかし、再度の検査では本菌は分離されず、検体の血中毒素・抗毒素価は検出レベル以下であったことから、ウルセランス菌の感染は成立しておらず、一時的な通過菌である可能性が高いと考えられた。本年度は、本県での2011年6月～12月までに行政的に引き取られたネコ57匹について検査したところ、ウルセランス菌は検出されなかった。

[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カンピロバクターの検出とした。なお、模擬食品は市販のひき肉を原料とし、カンピロバクターを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、一般生菌数測定はすべての機関が良好であったが、カンピロバクターの検出については、1機関が2検体中1検体から菌を検出できなかった。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。カンピロバクターを検出できなかった機関について、再検査を実施するなど、原因調査を行った。

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）

2011年1～12月の分離株について、A群溶血レンサ球菌70株（愛知県衛生研究所34株および富山県衛生研究所36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21例の劇症型溶連菌感染症例およびB群溶連菌187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23年度に患者から分離されたレジオネラ菌4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。4株ともは血清型は *Legionella pneumophila* SG1であった。また、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）

7月におこなわれたレファレンス会議に参加し、3月の微生物部会で報告した。

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、50検体（総項目数222）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2,050項目）。トマト1検体からプロシミドン0.05ppm（基準値5.0ppm）、ぶどう2検体からクレソキシムメチル0.06ppmと0.27ppm（同15ppm）及びペルメトリン0.25ppmと0.47ppm（同5.0ppm）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、ジクロロ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）。

重金属等：富山湾産魚介類について、16魚種20検体（アジ、カマス等）の総水銀を測定したところ、全検体から検出され、濃度は0.02～0.21 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9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）。

その他有害物質：放射性物質が検出された稲わらを給与した可能性のある牛の肉について、県内に流通し在庫が確認された6検体中の放射性セシウム及びヨウ素を検査したところ、5検体から5～128ベクレル/kgの放射性セシウムが検出されたが、いずれも暫定規制値（500ベクレル/kg）以下であった。

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24検体及び浄水18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196）の検査を行った。また農薬類としてシマジン等39項目（総項目数375）の検査も行った。うち3検体からウラン0.0003～0.0005mg/L（目標値0.002mg/L）が、1検体からニッケル0.002mg/L（目標値0.01mg/L）が、また1検体からモリブデン0.009mg/L（目標値0.07mg/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23検体及び浄水23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496）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23年5月（21件）および11月（21件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等40項目）の検査（総項目数548）を行った。うち1検体からモリネート0.00007mg/L（目標値0.005mg/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。

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18源泉の主要成分等について、経年変化調査を行った。前年度成分濃度に大幅な増加が見られた2源泉については、いずれも前々年度以前と同程度の値に落ち着いた。ただし、新たに1源泉について、泉温の低下と成分濃度の大幅増が見られたため、今後の推移を観察する必要がある。

〔調査研究〕

食品中の成分及び添加物に関する調査研究

リポ酸（チオクト酸）は抗酸化作用を有する含硫ビタミン様作用物質である。(R)-リポ酸は動植物界に広く分布しているが、加齢とともにその生成量は減少する。2004年の厚生労働省医薬食品局長通知により、「医薬品の効能効果を標榜しない限り医薬品と判断しない成分本質リスト」にリポ酸が挙げられ、現在ではリポ酸を含むサプリメント商品が多数販売されている。今回、シクロデキストリンを光学分割剤に用いたキャピラリー電気泳動法によるリポ酸の光学異性体分析法を開発し、7種類のサプリメントに適用した。その結果、表示のリポ酸含有量は今回の分析値と概ね合致すること、及び(R)-リポ酸表示サプリメントも正しいことを確認した。

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、調査を実施した。

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15箇所について、水質管理目標設定項目のうち農薬類41項目の検査を行った（総項目数615）。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

食品成分や添加物である有機酸の中には、リンゴ酸、酒石酸やイソクエン酸などのように光学活性を有するものがある。これら有機酸は個別の分析条件で光学異性体分析されてきたが、現在、有機酸光学異性体の一斉分析法を検討している。

[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、しょう油中の保存料（安息香酸）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と判定され、「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、今年度は臭素酸と硬度について精度管理調査を実施した。

臭素酸の精度管理には市販臭素酸標準液を添加した当所水道水（1 Lにつき0.0019 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 0.002246 ± 0.000160 mg/L、機関間変動係数は7.1%、機関内変動係数は1.1～7.0%と、報告された検査結果は良好であった。

硬度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1機関が Grubbs の異常値検定(危険率5%)により棄却された。棄却された1機関を除く19機関の測定値の平均値±標準偏差は 69.89 ± 0.753 mg/L、機関間変動係数は1.1%、機関内変動係数は0.0～2.3%であった。棄却された機関は ICP-MS 法により測定を行っていた。参加機関のうち機器分析により測定を行っていた7機関のカルシウム、マグネシウムそれぞれの測定値について Grubbs の異常値検定を行ったところ、棄却された機関のマグネシウムの測定値が棄却された。棄却された機関に対しては、分析対象項目に適した内部標準物質の選択を助言した。

環 境 保 健 部

[行政検査]

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年度から現行方式に改められた。平成23年度は、対象者1,755名中580名が1次検診を受診した。

精密検診：1次検診の結果、尿中 β 2-マイクログロブリン濃度が5.0mg/gCr 以上または尿検査で尿蛋白（±）以上の陽性を示した者121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99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23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実施された追加検診の精密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

9カ月間の運動教室に参加した中高年女性を対象とし、血清アディポネクチン（抗動脈硬化作用を有する）と血清総ホモステイン（動脈硬化のリスクを高めるとされる）を調べたところ、血清アディポネクチンは終了時には有意な上昇を認め、血清総ホモステインは有意な低下を示し、ともに動脈硬化のリスクが軽減した可能性が示唆された。運動との関連では、血清アディポネクチン変化量（終了時－開始時）は期間中の運動量変化と関連を示し、運動量を多くすることにより動脈硬化のリスクを軽減させる可能性が示された。

食習慣では「毎日大豆食品を食べる」習慣を有する者で血清アディポネクチンは高値を示し、血清総ホモステインは低値を示した。しかし、両指標の期間中の変化量との関係は明らかではなかった。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

有機リン化合物の空気中濃度の分析法を検討し、県内で使用の多い有機リン系農薬および化学物質過敏症やシックハウス症候群との関連が疑われる有機リン系難燃剤から、農薬9種と有機リン酸トリエステル7種について測定可能とした。検出下限値は気中濃度で $0.5 \sim 2 \text{ ng/m}^3$ であった。実際に住宅の室内空気をサンプリングして測定したところ、農薬1種、リン酸トリエステル5種が検出された。

海洋深層水温浴による健康増進と皮膚状態に関する研究

海洋深層水の長期・継続的な運動浴のメタボリック症候群対策への利用とともに、皮膚状態および QOL の改善効果について検討した。

腹囲がメタボリック症候群のスクリーニング基準以上、または BMI が25以上の肥満者40名と非肥満者20名の中高年女性を対象とし、深層水体験施設で、3ヶ月間、週1回以上、深層水中で歩行浴を主とした運動浴を行い、その期間前後に、身体測定、血圧測定、血液生化学的検査、尿検査、体力測定、皮膚状態の測定および QOL アンケート調査等を行った。

肥満者および非肥満者のいずれにおいても、体重、体脂肪率および腹囲は有意に減少し、下肢筋力および血中の HDL-コレステロールは有意に増加し、HbA1c は有意な減少がみられ、メタボリック症候群対策として深層水を利用した長期・継続的な運動浴が有効であると考えられた。参加者の QOL スコアを比較すると、身体的健康の尺度である PF（身体機能）、RP（日常役割機能（身体））、BP（体の痛み）、GH（全体的健康感）のいずれもが上昇し、精神的健康の尺度では VT（活力）が上昇し、サマリースコアである PCS（身体的側面）と MCS（精神的側面）が上昇した。肥満者の低スコアからの改善が特徴的であった。皮膚状態のアンケートでは、52名中28名から「よくなった」との回答があったが、前腕および腹部の水分蒸散量は増加し、角質水分量は減少、pH は上昇した。対照とした女性11名でも同様なことがみられており、季節的変動によることが示唆され、さらに検討を行う予定である。

（富山大学医学部等との共同研究、平成23年度から25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、骨強度減少予防にどの程度寄与するかを調べるために、高岡市保健センター主催の健康運動教室に参加している19名の住民の協力を得て、平成22年度から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強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及び身体活動の強さの観察である。身体活動量が不十分（24 Ex/week 未満）である集団は、身体活動量が十分である集団より1年経過時の骨強度（stiffness、超音波伝播速度：SOS）が低値を示した。また、ともに身体活動量が十分であり、強い身体活動を多く行っている集団と、あまり行っていない集団では骨強度に違いは見られなかった。

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。対象者のうち男性、骨粗鬆症の治療を行っている者、甲状腺機能障害がある者、ステロイドの服用を行っている者を除外し、86名について解析を行った。その結果、血中ホモシステイン濃度が若干高値（ $9.3 \mu\text{M}$ 以上）である者は T-score が-2.5以下（骨粗鬆症の診断基準）であるリスクが高かった（オッズ比：2.67）。

(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	9,151 (54,906)	
	染色体検査	19 (19)	196 (196)
	衛生動物検査	1,845 (1,845)	1 (1)
	小 計	11,015 (56,770)	197 (197)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	776 (776)	
	血清学的検査	1,338 (2,880)	
	小 計	2,114 (3,656)	0 (0)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	939 (1,275)	
	食中毒にかかわる検査	748 (987)	
	食品検査	304 (707)	394 (394)
	水質検査	167 (285)	66 (72)
	小 計	2,158 (3,254)	460 (466)
化 学 部	食品にかかわる検査	150 (4,146)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	124 (1,772)	46 (605)
	温泉分析	21 (270)	3 (90)
	小 計	310 (6,208)	49 (695)
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	692 (2,952)	
	小 計	692 (2,952)	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 9,151 (54,906)
2. 染色体検査
 - (1) 血 液 2 (2)
 - (2) 羊 水 15 (15)
 - (3) 胎 児 2 (2)
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 61 (61)
 - (2) 羊 水 82 (82)
 - (3) 胎 児 53 (53)
2. 衛生動物等検査
 - (1) 衛生・不快動物 0 (0)
 - (2) 食品混入異物 1 (1)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査
 - (1) インフルエンザ 214 (214)
 - (2) ポリオ 61 (61)
 - (3) その他ウイルス 207 (207)
 - (4) リケッチア 5 (5)
 - (5) 食中毒および集団発生 289 (289)
2. 血清学的検査
 - (1) インフルエンザ 299 (1,196)
 - (2) ポリオ 299 (897)
 - (3) 日本脳炎 ヒト 299 (299)
 - ブタ 240 (240)
 - (4) エイズ 187 (190)
 - (5) その他のウイルス 3 (3)
 - (6) リッチケア 11 (55)

細菌部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 結核菌	7 (7)
(2) レジオネラ	1 (1)
(3) 腸管出血性大腸菌	694 (1030)
(4) 溶血性レンサ球菌	22 (22)
(5) パラチフス A	1 (1)
(6) 抗酸菌	7 (7)
(7) 喀痰	4 (4)
(8) 血清	203 (203)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 糞便	618 (618)
(2) 病原性大腸菌	104 (329)
(3) カンピロバクター	14 (28)
(4) 黄色ブドウ球菌	12 (12)

3. 食品検査

(1) 収去検査	61 (61)
(2) 食中毒検査	57 (60)
(3) その他	186 (586)

4. 水質検査

(1) 海水浴場水	80 (100)
(2) 海水	30 (65)
(3) 名水	21 (84)
(4) 浴用水	9 (9)
(5) 飲用水	27 (27)

[依頼検査]

1. 食品検査

(1) 食品、ふきとり検体等	394 (394)
----------------	-------------

2. 水質検査

(1) 水道水源水	18 (18)
(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	60 (262)
(2) 残留農薬	54 (3,842)
(3) 重金属類	30 (30)
(4) その他有害物質	6 (12)

2. 家庭用品検査

(1) メチルアルコール	5 (5)
(2) テトラクロエチレン及びトリクロエチレン	5 (10)
(3) デイルドリン	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	57 (1,014)
(3) 要検討項目	42 (456)
(4) ゴルフ場使用農薬	21 (274)
(5) その他	4 (28)

4. 温泉分析

(1) 中分析	3 (90)
(2) その他	18 (180)

[依頼検査]

1. 水質検査

(1) 水質基準項目	5 (87)
(2) 管理目標設定項目	8 (172)
(3) 要検討項目	4 (40)
(4) ゴルフ場使用農薬	21 (274)
(5) その他	8 (32)

2. 温泉分析 中分析

3 (90)

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	580 (1,160)
精密検診 尿, 血液検査	111 (1,776)
(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]

(10) 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 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 スクリーニング体制の整備と質 的向上に関する研究
富山県の海辺における蚊類幼虫調査 富山県の愛玩動物における外部寄生虫調査 (2011年) 国内数箇所では2010年に採集されたトコジラミの 殺虫剤感受性	がん研究部 ウイルス部	山 内 健 生 名古屋真弓 滝 澤 剛 則	厚生労働科学研究補助金 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
感染症患者情報と病原体情報の評価について (感染症発生動向調査における「咽頭結膜熱」 の報告に関するアンケート調査)	ウイルス部	佐多徹太郎 堀 元 栄 詞 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	名古屋(小原)真弓 板持(岩井)雅恵 堀 元 栄 詞 小 渕 正 次 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
下水流入水中の腸管系ウイルス検出状況 (2011 年次) および下水中のウイルス濃縮方法の検討	ウイルス部	板持(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) 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 研究分担者
下水中のウイルス濃縮方法の検討	ウイルス部	板持(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 研究協力者
インフルエンザウイルスサーベイランスに関す るウイルス学的研究—低赤血球凝集価のインフ ルエンザ A(H1N1)2009ウイルス分離株の性状 解析—	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) 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
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	ウイルス部	滝 澤 剛 則 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) 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
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) 基盤研究 C 研究代表者

研 究 課 題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
手足口病の原因ウイルスの抗原性状変化と周期的流行に関する分子疫学的研究	ウイルス部	板持(岩井)雅恵	文部科学省（日本学術振興会） 若手研究 B 研究代表者
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) 研究代表者
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	細菌部	綿 引 正 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
EHEC/O111食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究	細菌部	佐多徹太郎 綿 引 正 則 磯 部 順 子	厚生労働科学研究費補助金 厚生労働科学特別研究事業
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	細菌部	磯 部 順 子 金 谷 潤 一	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	佐多徹太郎 綿 引 正 則 磯 部 順 子	厚生労働科学研究費補助金 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 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 綿 引 正 則	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
地域における効果的な結核対策の強化に関する研究	細菌部	磯 部 順 子 金 谷 潤 一 佐多徹太郎	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
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)
〔金属イオンー配位子〕カクテルを用いた新規なキラル配位子交換法の開発	化学部	小 玉 修 嗣	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究 C 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） 基盤研究 C 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 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） 新 村 哲 夫 （協力）	文部科学省 基盤研究 A（海外学術） 分担研究者

(11) 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23.4.22～ 6.24（計4回）	県総合衛生学院
電気泳動	小 玉 修 嗣	機器分析化学	平23.6.28	中部大学
食品の産地判別	小 玉 修 嗣	環境物理分析学講義	平23.7.6	金沢大学
新興再興感染症と衛生研究所の役割について	佐多徹太郎 滝 澤 剛 則	ウイルス感染症制御学 講義	平23.7.8	金沢大学
薬剤耐性菌 最近の話題 －（特に検査法を中心に）	綿 引 正 則	麻布大学大学院特別講義	H23.7.8	麻布大学
焼肉チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌 O111による集団食中毒の概要	磯 部 順 子	第15回腸管出血性大腸菌 感染症研究会	H23.7.19	大阪北浜フォーラム
腸管出血性大腸菌の最近の知見について	綿 引 正 則	平成23年高岡厚生センター 管内職域管理栄養士等研修会	H23.7.21	高岡総合庁舎
食中毒防止のための細菌・ウイルスなどの知識について	木 全 恵 子	砺波市給食主任研修会	H23.8.1	砺波市立 庄川小学校
分析化学	小 玉 修 嗣	海洋応用生命科学特別講義	平23.8.2-3	北海道大学
感染症と微生物	佐多徹太郎 滝 澤 剛 則 綿 引 正 則 磯 部 順 子 小 渕 正 次 堀 元 栄 詞 小 原 真 弓	富山赤十字看護専門学校 講義	平23.9.7, 9.8, 9.14, 9.30, 10. 5, 10.13, 10.19, 10.26, 11.16, 11.17, 11.30, 12. 7, 12.14, 12.21, 平24.1.18	富山赤十字看護専門学校
焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要	磯 部 順 子	第32回日本食品微生物学会 学術総会	H23.10.6	東京都タワーホール船堀
これまでの深層水を利用したタラソテラピー研究について	新 村 哲 夫	「深層水健康増進とスキ ンケア」講演会	平23.10.23	ほたるいかミュージアム
焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要	磯 部 順 子	第60回九州地区獣医師大会	H23.10.30	長崎新聞ホール
富山県におけるEHEC検査の実態 焼肉酒家えびすにおける集団食中毒事例の場合	磯 部 順 子	第38回地方衛生研究所近畿 支部細菌部会研究会	H23.11.2	神戸市勤労会館
感染防止のために知っておきたい 細菌のこと・ウイルスのこと	木 全 恵 子	平成23年度浄化槽管理士 技術講習会	H23.11.8-9	富山県産業展示館・ 高岡テクノドーム
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14期）	平23.11.11	富山県消防学校
2011EHEC 市中アウトブレイク について	磯 部 順 子	第18回中部地区微生物検 査研究班宿泊研究会	H23.11.19	ウイングウイング 高岡

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
腸管出血性大腸菌 O111 の食中毒事件について	綿 引 正 則	平成23年度 富山県薬学技術公務員協会学習会	H23.11.26	富山県民会館 302号
富山県における狂犬病の現状 ～なぜ今、狂犬病対策が必要なのか～	堀 元 栄 詞	平成23年度富山県動物取扱責任者研修会	平23.11.24,30	高岡エクール 富山県民会館
注目される感染症とその対応について	堀 元 栄 詞	平成23年度養護教諭研修会	平23.11.29	富山県総合教育センター
食の安全について －食品衛生の観点から－	上 出 功	富山市公設地方卸売市場 せり人研修会	平23.11.30	富山市公設地方卸売市場
最近注目される感染症	堀 元 栄 詞	あさひ総合病院 院内研修会	平23.12.15	あさひ総合病院
生物資源分析化学	小 玉 修 嗣	生物資源分析化学集中講義	平23.12.26-27	福井県立大学
生食用食肉を原因とする腸管出血性大腸菌による食中毒と検査	磯 部 順 子	平成23年地域保健総合推進事業関東甲信越静岡ブロック専門家会議	H24.1.24	静岡県男女共同参加センター
海洋深層水を用いた健康増進研究の進展	新 村 哲 夫	富山湾に学ぶ会	平24.2.18	とやま市民交流館
富山県における O111 による集団食中毒事例での血清中の抗大腸菌 LPS 抗体価	磯 部 順 子	平成23年度希少感染症診断技術研修会	H24.2.23	国立感染症研究所
焼肉チェーン店における生食肉による腸管出血性大腸菌食中毒について	綿 引 正 則	福井県衛生環境研究センター研修会	H24.3.9	福井県衛生環境センター
腸管出血性大腸菌集団感染2011年 富山 O111	磯 部 順 子	大阪病院機能向上研究会	H24.3.10	大阪オーバルホール
志賀毒素産生性大腸菌 O111 による集団食中毒事例を振り返って	磯 部 順 子	第85回日本細菌学会総会	H24.3.27	長崎ブリックホール

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
中国遼寧省疾病予防コントロールセンター 職員 王 作 鱸	平23.7.11～11.18	ウィルス感染症に関する検査技術	ウィルス部
夏休みこども科学研究室	平23.8.4-5	身近な微生物を観察しよう	細 菌 部
薬事研究所 高橋 敏, 寺崎さち子	平23.10.24	全有機炭素計操作法実習	化 学 部
厚生センター職員他	平24.3.9	微生物検査担当者技術研修会	ウィルス部 細 菌 部

(13) 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
綿 引 正 則 磯 部 順 子 木 全 恵 子 滝 澤 剛 一 板 持 雅 恵	平23.6.29 -30	衛生微生物技術協議会 第32回研究会	タワーホール船堀	国立感染症研究所 渡邊治雄 他
新 村 哲 夫	平23.7.7	放射線取扱主任者定期講習	(財)原子力安全センター	(社)日本アイソトープ協会 深野重男 他
木 全 恵 子	平23.9.15	平成24年度科学研究費助成事業 －科研費－公募要領等説明会	金沢大学	文部科学省研究振興局 学術研究助成課
小 林 直 人	平23.9.26 ～10.4	実地疫学統計研修（実践編）	国立保健医療科学院	国立保健医療科学院 佐田文宏 他
高 森 亮 輔	平23.10.16 ～21	染色体検査研修	神奈川県立こども医療 センター	神奈川県立こども医療 センター 黒澤健司 他
村 元 達 也	平23.10.25 -26	第51回温泉経営管理研修会	国立オリンピック記念 青少年総合センター	環境省自然環境局 大庭 一夫 他
小 原 真 弓 金 谷 潤 一	平23.11.30	感染症の病原体等の運搬に関する 講習会	国立感染症研究所 (東京都)	厚生労働省健康局結核 感染症課 正林 督章 他
金 谷 潤 一	平23.12.12 ～16	抗酸菌検査実習	結核研究所 (東京都)	結核研究所 御手洗 聡 他
木 全 恵 子	平24.2.6	「科研費電子申請システム」操作 方法等説明会	学術総合センター －橘記念講堂	日本学術振興会研究事 業部研究助成第一課他
磯 部 順 子 金 谷 潤 一	平24.2.17	生活衛生関係技術担当者研修会	厚生労働省	厚生労働省健康局
金 木 潤	平24.2.20 ～24	放射線取扱主任者講習	(独)日本原子力開発機 構原子力人材育成セン ター（茨城県東海村）	(独)日本原子力開発機 構原子力人材育成セン ター 篠原伸夫 他
滝 澤 剛 一 金 谷 潤 一	平24.2.22 -23	希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 渡邊治雄 他
山 下 智 富	平24.2.27 -28	平成23年度地方衛生研究所全国協 議会衛生理化学分野研修会	国立保健医療科学院 国立医薬品食品衛生 研究所	国立保健医療科学院 櫻田 尚樹 他 国立医薬品食品衛生研究所 松田 りえ子 他
九 曜 雅 子	平24.3.2-3	日本マス・スクリーニング学会 第30回技術部会研修会	国立成育医療研究セ ンター	国立成育医療研究セン ター 松井 陽 他
村 元 達 也	平24.3.12	水道水質検査精度管理に関する研 修会	厚生労働省講堂	厚生労働省健康局水道課 尾川 毅 他
新 村 哲 夫 村 元 達 也	平24.3.16	放射線取扱技術研修会	金沢都ホテル	高エネルギー加速器研究 機構 放射線科学センター 榎本 和義

(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
黒 田 誠	国立感染症研究所・病原体ゲノム解析研究センター・センター長	平23.10.27-28	次世代シーケンサーを用いた網羅的ゲノム解析法に関する最新の知見，研究方法，病原体微生物検査への応用等について，指導助言を得る．

(15) 研 究 成 果 発 表 会

1 日 時 平成23年11月25日（金）15：00～17：15

2 場 所 富山明治安田生命ホール

3 対 象 一般県民等170名

4 研究所の概要紹介

次長 高田 吉弘

5 講 演 所長 佐多 徹太郎「インフルエンザを理解する」

6 研究成果発表

所 属	発表者	演 題
細 菌 部	綿 引 正 則	焼肉チェーン店における腸管出血性大腸菌 O111食中毒事件について
細 菌 部	金 谷 潤 一	富山県で分離されたレジオネラ属菌の特徴について
ウイルス部	小 淵 正 次	抗インフルエンザ薬耐性ウイルスの発生状況
ウイルス部	板 持 雅 恵	今年流行した手足口病

(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	
富山県衛生研究所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
富山県衛生研究所毒物及び劇物取扱規程	平成21年 7月 1日	
富山県衛生研究所知的財産権検討委員会設置要綱	平成21年 8月 1日	
富山県衛生研究所利益相反管理委員会設置要綱	平成23年 5月31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23年度の検査成績)

九曜 雅子 米田 豊 高田 吉弘 土肥 裕美子¹

The Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture
(April 2011~March 2012)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Yumiko DOI¹

要 旨 平成23年度の検体総数は9,151件で、スクリーニングの結果、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）9人と先天性副腎過形成症2人の合計11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現在までの患者数は、代謝異常症が35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32年間で153人、先天性副腎過形成症が23年間で14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15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てきた。

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、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を実施している。平成23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23年4月より、平成24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 DE81[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 ELISA II '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-17 α -

1. 富山県厚生部健康課

OHP」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、9,151件で、県内33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 8,013人[8]であり、初回検体数8,754

件（人）から計算すると受検率は109.2%となるが、初回検体のうち県内在住者は7,476人、県外在住者は1,278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93.3%であった。しかし、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8,401件（96.0%）は正常と判定されたが、222件（2.5%）は疑陽性のため、122件（1.4%）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、9件（0.1%）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397件のうちでは、28件（7.1%）が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接精査の9件と合わせて37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0.3%、先天性甲状腺機能低下症が1.1%、先天性副腎過形成症が1.4%となり、合計2.8%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]が、これと比較すると、先天性副腎過形成症の再採血率が約2倍高かった。これは、先天性副腎過形成症疑いの再採血依頼数の約半数が、副腎機能が未熟でストレス状態にある等で17-OHP 値 が高くなりやすい低出生体重児（出生体重2,000g 未満の児）であることが要因となったと考えられる。

また、1検体で2疾病以上が重複して疑陽性となった

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 ボイトラー法	Galactose (Gal) Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	≥3.0mg/dl 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)	≥8.0 μU/ml	≥30 μU/ml
先天性副腎過形成症	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

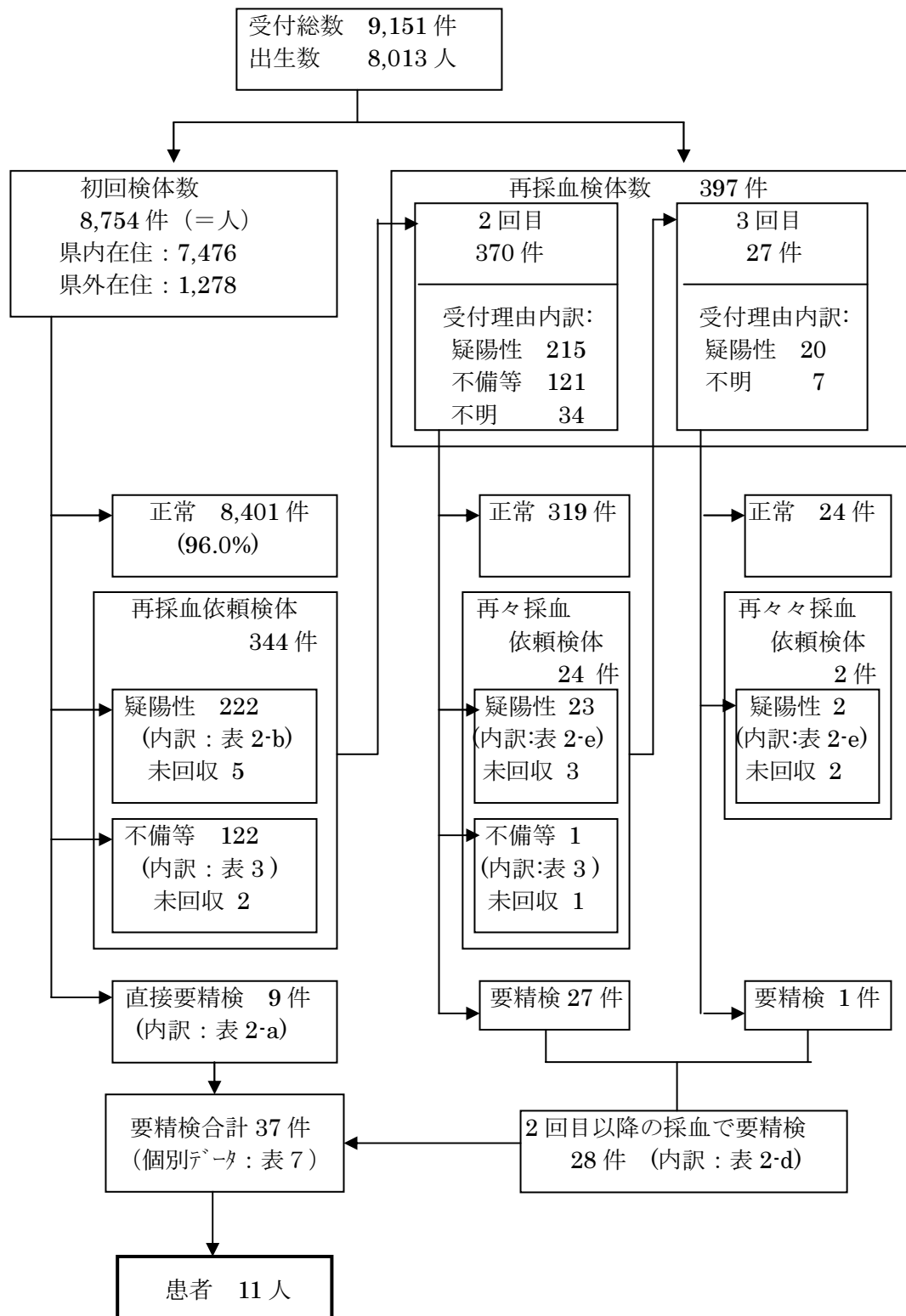


図 1. 検査の流れおよび検査数の概要

検体は 5 件あった。内訳は、フェニルケトン尿症とメイプルシロップ尿症が 1 件、先天性甲状腺機能低下症と先天性副腎過形成症が 4 件であった。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は 247 件で、そのうち、平成 24 年 11 月 8 日現在 237 件の再採血検体を

回収した。回収率は 96.0% 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 や小児科からの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

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

	初回検体 (8,754件)			再採血検体 (397件)		総受付検体(9,151件) 〔 〕:患者数		
疾 病 名	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	3	0.03	1	0	1	3	0.03
ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0
メイプルシロップ尿症	0	3	0.03	0	0	0	3	0.03
ガラクトース血症	0	17	0.19	2	3	2	20	0.22
先天性甲状腺機能低下症	2	98	1.12	14	4	16 [9]	102	1.11
先天性副腎過形成症 (うち出生体重2000g未満児の数)	7 (4)	104 (43)	1.19	11 (1)	20 (17)	18 (2)	124 (60)	1.36
合 計 《うち疑疾病が重複している数》	9	225 《3》	2.56	28	27 《2》	37 [11]	225 《5》	2.75

表 3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

不備理由	初回検体	再採血検体	件数
3日以内に採血	1	0	1
血液量不足	3	0	3
古い	12	0	12
哺乳不良	13	1	14
低体重、哺乳不良	7	0	7
低体重	86	0	86
合 計	122	1	123

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た。

3日以内に採血された検体は1件で、哺乳不良等が認められ、疾病の疑いがあるということで至急検査の依頼があった検体である。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12件（最長10日）であった。古い検体の中には、採血後直ちに郵送せずに冷蔵庫に保管し、数日経ってから提出したと思われる検体もあった。採血後は濾紙を十分乾燥させ、直ちに郵送するよう注意喚起するとともに、早期の再採血を依頼した。

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93件に対して再採血を依頼した。このうち7件が哺乳不良であった。なお、哺乳不良で再採血を依頼した検体は14件あった。

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は123件で、このうち再検査できたのが120件で、回収率は97.6%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7に示した。

全国集計は、特殊ミルク情報[11]より引用した。

なお、平成22年度に先天性甲状腺機能低下症の疑いで要精密検査となった者のうち1例が、今年度に患者であることが判明したため、表5および表7における先天性甲状腺機能低下症の患者数は昨年度の報告[12]より1例増えた。

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1/9,500、先天性甲状腺機能低下症が1/2,300、先天性副腎過形成症が1/16,900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26人、先天性甲状腺機能低下症が102人、先天性副腎過形成症が124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3人、先天性甲状腺機能低下症16人、先天性副腎過形成症18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[13]となっている。この記入用紙回収率は、平成24年11月8日現在、

表 4. 月別検査実施状況

年		平成23年									平成24年			計
月		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
受付検体総数 (件)		694	774	732	749	860	807	758	798	662	846	766	705	9,151
内 訳	初回検査数 (件)	668	755	701	719	826	759	717	761	630	811	738	669	8,754
	再採血総数 (件)	26	19	31	30	34	48	41	37	32	35	28	36	397
	再内採血													
	2回目	25	18	30	27	32	44	38	35	30	32	27	32	370
	3回目	1	1	1	3	2	4	3	2	2	3	1	4	27
疑陽性件数 (要精検数)	フェニルケトン尿症	1	0	0	1	0(1)	0	0	0	0	0	0	1	3(1)
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	メイプルシロップ尿症	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
	ガラクトース血症	2	0	1	2	0	0	1	1	3	4(1)	1(1)	5	20(2)
	先天性甲状腺機能低下症	14(3)	4(1)	9	7	7(1)	13(3)	9	15(2)	6(2)	4(1)	5(1)	9(2)	102(16)
	先天性副腎過形成症	4(2)	5	13(5)	12(1)	14	11(1)	10	18(1)	11(1)	9(3)	10(4)	7	124(18)
計		22(5)	10(1)	23(5)	22(1)	21(2)	25(4)	20	34(3)	20(3)	17(5)	16(6)	22(2)	252(37)

表 5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分	受付総数	検査 実人員数	出生数	受検率	疑陽性数			要精検数		
期間	(件)	(人)	(人)	(%)	代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症	代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	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)
平成23年度	9,151	8,754	8,013	109.2	26	102	124	3 (0)	16(9)	18(2)
計	404,250	381,018	378,780	—	4,660*	4,121	2,482	273*(40**)	705(153)	355(14)

() 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21人あり (高フェニルアラニン血症15人, チロジン血症2人, G6PD 異常症2人, シリン欠乏症2人)

78.4% (29例/ 37例) と低かったが、未回収の8例についてはいずれも精密検査実施病院 (小児科) を受診しており、このうち7例から当所にフォローアップ検体[13]が当所に届いている。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体は延べ90検体であった。今年度要精密検査となった37例のうちでは、18例42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1人、ガラクトース血症の疑いで2人の計3人が要精密検査となった。

フェニルケトン尿症の疑い症例1は、約1か月間Phe値の軽度上昇が認められたため、大阪市立大学にて分

表 6. 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	*	男	5	Phe 2.28 mg/dl 2.39	良性高フェニルアラニン血症
				8	Phe 2.57 mg/dl 2.70	
ガラクトース血症	1		男	6	Gal 3.62 mg/dl ボイトラー法正常 3.46	フォローアップ検体正常
				10	Gal 3.10 mg/dl ボイトラー法正常 2.71 4.70	
				18	Gal 3.17 mg/dl ボイトラー法正常 3.15	
	2	女		6	Gal 4.35 mg/dl ボイトラー法正常 4.72	一過性高ガラクトース血症
				10	Gal 5.56 mg/dl ボイトラー法正常 5.40 5.61	
甲状腺機能低下症	1	*	男	4	TSH 9.42 μ U/ml 9.63	先天性甲状腺機能低下症
				9	TSH 11.70 μ U/ml 9.83	
	2	*	男	5	TSH 10.79 μ U/ml 12.55	先天性甲状腺機能低下症
				11	TSH 9.22 μ U/ml 9.46	
	3	女		5	TSH 8.96 μ U/ml 8.72	新生児一過性甲状腺機能低下症疑い
				9	TSH 10.84 μ U/ml 11.13	
	4	女		5	TSH 14.72 μ U/ml 12.98	(一過性) 高TSH血症疑い
				16	TSH 21.85 μ U/ml 21.12	
	5	*	女	5	TSH 96.48 μ U/ml	原発性甲状腺機能低下症
	6	女		4	TSH 9.69 μ U/ml 9.03	高TSH血症として当面LT4補充にて経過観察
				11	TSH 30.15 μ U/ml 28.39	
	7	*	女	5	TSH 14.30 μ U/ml 12.65	先天性甲状腺機能低下症
				14	TSH 28.22 μ U/ml 26.82	
	8	*	男	6	TSH 9.23 μ U/ml 8.59	先天性甲状腺機能低下症
				16	TSH 9.37 μ U/ml 9.23	
	9	*	男	5	TSH 8.91 μ U/ml 9.96	先天性甲状腺機能低下症
				12	TSH 22.48 μ U/ml 23.72	
	10	*	男	5	TSH 8.44 μ U/ml 8.24	甲状腺機能低下症
				15	TSH 12.06 μ U/ml 12.39	
	11		男	5	TSH 14.87 μ U/ml 14.79	一過性甲状腺機能低下症

表 6. 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	11		男	10	TSH 12.46 μ U/ml 11.97		一過性甲状腺機能低下症
	12		男	4	TSH 11.25 μ U/ml 9.82		新生児一過性高TSH血症
				12	TSH 9.98 μ U/ml 10.33		
	13	*	男	4	TSH 12.72 μ U/ml 10.90		先天性甲状腺機能低下症
				17	TSH 26.43 μ U/ml 25.35		
	14	*	男	5	TSH 9.17 μ U/ml 9.36		先天性甲状腺機能低下症
				11	TSH 10.16 μ U/ml 11.21		
	15		女	5	TSH140.88 μ U/ml		高TSH血症 (クレチン症含 む一過性疑い)
	16		女	4	TSH 11.46 μ U/ml 10.82		乳児一過性高TSH血症
				13	TSH 9.90 μ U/ml 9.29		
先天性副腎過形成症	1	*	女	2	17-OHP237ng/ml 直接法	17-OHP149ng/ml 抽出法	先天性副腎過形成症 在胎週数 38 週 生下時体重 2816 g
	2		男	5	17-OHP 56.12ng/ml 直接法 62.16	17-OHP22.27ng/ml 抽出法	低出生体重児 在胎週数 30 週 生下時体重 1284 g
	3		男	8	17-OHP 9.93ng/ml 直接法 11.32	17-OHP 6.32ng/ml 抽出法	小児科でフォロー 在胎週数 34.5 週 生下時体重 2488 g
				15	17-OHP 9.66ng/ml 直接法 9.56	17-OHP 5.86ng/ml 抽出法	
	4		男	4	17-OHP 8.36ng/ml 直接法 8.52	17-OHP 5.31ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 37.5 週 生下時体重 2532 g
				9	17-OHP 10.64ng/ml 直接法 11.80	17-OHP 6.76ng/ml 抽出法	
	5		男	5	17-OHP 13.12ng/ml 直接法 14.09	17-OHP 3.02ng/ml 抽出法	小児科でフォロー 在胎週数 34.3 週 生下時体重 2116 g
				20	17-OHP 12.90ng/ml 直接法 13.03	17-OHP 5.56ng/ml 抽出法	
	6		女	5	17-OHP 5.36ng/ml 直接法 6.01	17-OHP 4.17ng/ml 抽出法	小児科でフォロー 在胎週数 37 週 生下時体重 2860 g
				13	17-OHP 6.56ng/ml 直接法 6.75	17-OHP 4.45ng/ml 抽出法	
	7		男	5	17-OHP 6.26ng/ml 直接法 7.52	17-OHP 4.02ng/ml 抽出法	フォローアップ検体正常 在胎週数 34.4 週 生下時体重 2245 g
				14	17-OHP 6.19ng/ml 直接法 6.35	17-OHP 4.47ng/ml 抽出法	
	8		女	5	17-OHP 16.92ng/ml 直接法 17.38	17-OHP 4.18ng/ml 抽出法	フォローアップ検体正常 在胎週数 30 週 生下時体重 1348 g
				26	17-OHP 29.27ng/ml 直接法 27.47	17-OHP 7.32ng/ml 抽出法	
	9		男	5	17-OHP 17.18ng/ml 直接法 17.11	17-OHP10.62ng/ml 抽出法	低出生体重児 (経過観察) 在胎週数 32.6 週 生下時体重 1890 g
	10		男	4	17-OHP 5.49ng/ml 直接法 5.64	17-OHP 4.20ng/ml 抽出法	高17-OHP血症 在胎週数 38 週

表 6. 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
先天性副腎過形成症	10		男	11	17-OHP 4.91ng/ml 直接法 5.24	17-OHP 4.53ng/ml 抽出法			生下時体重 2950 g 高17-OHP血症 在胎週数 38 週 生下時体重 2950 g
	11		男	5	17-OHP 7.13ng/ml 直接法 8.10	17-OHP 4.38ng/ml 抽出法			一過性高17-OHP血症 在胎週数 37 週 生下時体重 2886 g
				12	17-OHP 5.85ng/ml 直接法 5.83	17-OHP 4.30ng/ml 抽出法			
	12		男	7	17-OHP 22.40ng/ml 直接法 21.09	17-OHP11.75ng/ml 抽出法			フォローアップ検体正常 在胎週数 29 週 生下時体重 1360 g
	13	*	男	7	17-OHP400ng/ml以上 直接法	17-OHP400ng/ml以上 抽出法			先天性副腎過形成 在胎週数 41.2 週 生下時体重 3512 g
	14		男	5	17-OHP 16.40ng/ml 直接法 14.91	17-OHP 5.66ng/ml 抽出法			先天性副腎過形成症の疑い 在胎週数 38 週 生下時体重 2765 g
				8	17-OHP 13.07ng/ml 直接法 14.06	17-OHP 5.28ng/ml 抽出法			
	15		男	5	17-OHP 32.72ng/ml 直接法 38.89	17-OHP10.09ng/ml 抽出法			低出生体重児、早産児 在胎週数 31.1 週 生下時体重 1628 g
	16		男	6	17-OHP 15.51ng/ml 直接法 14.51	17-OHP 8.31ng/ml 抽出法			異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2730 g
				9	17-OHP 11.28ng/ml 直接法 11.90	17-OHP 6.26ng/ml 抽出法			
	17		男	5	17-OHP 13.32ng/ml 直接法 11.66	17-OHP 6.70ng/ml 抽出法			異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2890 g
				9	17-OHP 12.07ng/ml 直接法 11.90	17-OHP 6.32ng/ml 抽出法			
	18		男	5	17-OHP 18.92ng/ml 直接法 16.79	17-OHP11.62ng/ml 抽出法			フォローアップ検体正常 在胎週数 34 週 生下時体重 2258 g

析が行われた結果、BH4 (tetrahydrobiopterin) 欠乏症は否定された。良性高フェニルアラニン血症として経過観察中である。

ガラクトース血症の疑いの症例1, 症例2ともに、Gal 値がカットオフ値以上で持続し、要精密検査となった。2例とも、小児科を受診し、生後1か月時のフォローアップ検体による検査では、Gal 値は正常範囲内であった。症例2については、主治医からの報告があり、一過性高ガラクトース血症の診断であった。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった16人のうち、患者と診断されたのは、症例1, 2, 5, 7, 8, 9, 10, 13, 14の9人であり、いずれも遅くとも生後1か月時までには治療が開始されている。

この9症例のうち5例は、初回検査での TSH 値が10 μ U/ml 以下で発見された例であるが、いずれの例も、TSH 値は次第に高くなり、また、精密検査時の FT₄

値も低下していた。

症例5については、日齢5の初回検査で TSH 値が異常高値を示したため、即要精密検査となった。精密検査の結果でも、TSH は67.7 μ U/ml (血清) と高く、FT₄は0.8ng/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、日齢9から治療が開始された。エコーでは、通常位置に甲状腺を確認できないとのことであった。

また、症例6は、日齢15の再検査の結果で、TSH 値が異常に上昇しており、要精密検査となった。精密検査時では TSH 値は15.5 μ U/ml (血清) と高かったが、FT₄は1.3ng/dl であり、ホルモン補充治療は開始されたが、高 TSH 血症として経過観察するとのことであった。

症例12は、カットオフ値を少し超える程度の TSH 値が持続し要精密検査となった例であるが、2年前に検査を行った前子も同様の経過で要精密検査となり、

表 7. マスクリーニングによる富山県および全国の子患者発見状況

区 分	富 山 県		全 国	
期 間	平成23年度	昭和52年度～平成23年度	平成22年度	昭和52年度～平成22年度
受検者数	8,754人	381,018人	1,139,246人	42,536,765人
患者数, 発見率	患者数 発見率	患者数 発見率	患者数 発見率	患者数 発見率
疾病名	(人)	(人)	(人)	(人)
フェニルケトン尿症	0	5 1/ 76,200	12 1/ 94,900	570 1/ 74,600
ホモシチン尿症	0	0	4 1/284,800	198 1/214,800
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 1/381,000	2	82 1/518,700
ガラクトース血症	0	1 1/381,000	23 1/569,600	1,144 1/ 37,200
先天性甲状腺機能低下症	9 1/1,000	153 1/ 2,300 ²⁾	623 1/ 49,500	12,503 1/ 3,100 ⁵⁾
先天性副腎過形成症	2 1/4,400	14 1/ 16,900 ³⁾	73 1/ 15,600	1,586 1/ 16,700 ⁶⁾

- 1) 昭和52年度～平成 5年度 受検者数 197,180人 4) 昭和52年度～平成 4年度 受検者数 21,119,892人
 2) 昭和55年度～平成23年度 受検者数 352,568人 5) 昭和54年度～平成22年度 受検者数 39,174,787人
 3) 平成元年度～平成23年度 受検者数 237,133人 6) 昭和63年度～平成22年度 受検者数 26,540,788人

新生児一過性高 TSH 血症と診断されていた。

症例15は、日齢5の初回検査で TSH 値が100 μ U/ml 以上のスケールオーバーのため、即要精密検査となった。しかし、日齢12の小児科での精密検査の結果では、血清値で TSH 8.9 μ U/ml, FT₄ 2.5ng/dl, FT₃ 6.7pg/ml, TRAb (TSH レセプター抗体) 1.0未満であり、TSH 値が急激に低下しているものの、まだ、TSH が高値を示しているため、経過をみるとのことであった。なお、この例は里帰り出産のため、県外転出した後も転出先の病院で引き続きフォローされる予定になっている。

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった18人のうち、5人が2,000g未満の低出生体重児であった。患者と診断されたのは、症例1と13の2例であった。

症例1は、外性器異常が認められるため、日齢2の採血で至急検査の依頼があった例である。検査の結果は、17-OHP 値が直接法、抽出法とも100ng/ml 以上でスケールオーバーしており、即要精密検査となった。精密検査の結果、ACTH が1,460pg/mlと異常高値であり、女兒の患者であった。

症例13は、日齢7の初回検査で17-OHP 値が直接法、抽出法とも100ng/ml 以上でスケールオーバーしており、即要精密検査となった。検体を分割して再測定し

た結果では400 ng/ml 以上を示した。児は、嘔吐が認められたため NICU に入院していたが、直接法の検査結果を連絡した時は退院直前であった。しかし、この検査結果の連絡直後から再び嘔吐が始まり、体重増加不良、色黒など患者の症状も認められたとのことであった。精密検査の結果は ACTH が異常高値、コルチゾールは正常下限であり、患者と診断された。

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。2検体とも正常検体であった。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、今年度は、事務処理が完結するまでに16日間かかった。事務処理方法の簡略化等により、昨年度[12]に比べると4日間早く完結

できた。

考 察

今年度発見された患者のうち先天性副腎過形成症の2例は、生後まもなく症状が認められたため緊急検査依頼があった例と、スクリーニング検査の結果報告までは疾病を全く疑っていなかった例であった。後者については、結果報告後急に症状が現れ、手遅れにならずに治療が開始された。

また、前者のような緊急検査の依頼は、今年度6例あり、副腎過形成症の疑いが2例、何らかの代謝性疾患の疑いが2例および発達異常が認められた2例であった。これらについては、先天性副腎過形成症患者であった1例を除き、現行のスクリーニング検査対象の6疾病については異常がなかった。しかし、厚生労働省通知[16]を受け、現在全国で導入が進んでいるタンデムマス装置によるスクリーニング検査では、対象となる疾病が13疾病増えることから、緊急検査依頼検体の中で患者が発見される可能性もあり、本県でもタンデムマス装置によるマス・スクリーニングの早期の導入が望まれる。

また、これらの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施設のレベルで、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、疾病の鑑別検査法、確認検査法を確立しておくことが必要であると考ええる。

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. 九曜雅子，米田 豊，加藤丈士，石丸敏子(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「富山県の人口と世帯」，
http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko120401/jinko120401.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 Supplement 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，戸荊 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22年度）．特殊ミルク情報，47，65-67.
12. 九曜雅子，米田 豊，高田吉弘，吉田智子(2011)．富山衛研年報，34，23-34.
13. 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.
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，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(2012)．平成23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23年度総括・分担研究報告書，102-104.
16. 雇児母発0331第1号 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知（平成23年3月31日）

ヒト血液の染色体分析結果（平成23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

Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and
Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成23年度の血液の染色体分析依頼数は63件、染色体異常数は5件であった。依頼理由は「不育症関連」が最も多く79.4%をしめた。染色体異常の内訳は、ダウン症候群が2件、ターナー症候群が1件、均衡転座保因者が2件であった。

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23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

主に県内の病医院より染色体検査依頼のあった末梢血液（ヘパリン採血）を通常の方法により、3～4日間培養し、染色体標本作製した。また、染色法は通常のG分染法と高精度分染法[2]を併用した。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。

方法等は既年報[3]に従った。

結 果

平成23年度の血液検体の染色体検査依頼数は63件で、検査依頼を受けた医療機関名および各依頼件数を表1に示した。

検査依頼理由別の検査数、異常確認検体数を表2に示した。依頼理由は、原則検査依頼書の記載に依拠した。「不育症関連」が最も多く63件中50件（79.4%）をしめた。「不育症関連」は、[4]を参考に不育症に関連する依頼理由をまとめた。その他は原発性不妊症、羊水検査施行後の精査、ダウン症候群の疑い、ターナー症候群の疑いであった。

染色体核型異常を認めたのは63件中5件（7.9%）であった。依頼理由が不育症関連とする50件のうち染色体核型異常を認めたのは2件（4.0%）であった。羊水検査施行後の精査による検体63件中8件（12.7%）では、染色体核型異常を認めなかった。染色体核型異常を認めた症例1～5の核型分析結果を下記に示した。

表1. 血液の染色体検査依頼医療機関名、件数

医 療 機 関 名	血液
あわの産婦人科医院	2
おとぎの森レディースクリニック	4
厚生連高岡病院	2
済生会高岡病院	10
さたけ産婦人科医院	2
富山県立中央病院	2
富山市民病院	2
富山赤十字病院	9
富山大学附属病院	30
計（件）	63

表 2. 検査依頼理由と検査数, 異常数

依頼理由	検査数		異常数		症例
不育症関連	50		2		
不育症		20		2	症例2,5
反復流産		12		0	
習慣性流産		8		0	
胎児精査		6		0	
流産原因精査		4		0	
原発性不妊症	2		0		
羊水検査施行後の精査	8		0		
ダウン症候群の疑い	2		2		症例1,4
ターナー症候群の疑い	1		1		症例3
計(人)	63		5		

症例1.
依頼理由；ダウン症候群の疑い
分析結果；47,XX,+21 (図1)

症例2.
依頼理由；不育症
既往歴・他；流産3回
分析結果；46,XY,t(5;8)(q31;q22) (図2)

症例3.
依頼理由；ターナー症候群の疑い
分析結果；46,iso(X),(q10) (図3)

症例4.
依頼理由；ダウン症候群の疑い
分析結果；47,XX,+21 (図4)

症例5.
依頼理由；不育症
既往歴・他；生児1人流産2回
分析結果；46,XX,t(8;21)(q24.2;q21.1) (図5)

「不育症関連」を流産回数別に表3に示した。流産回数が2～4回での依頼が多く50件中40件(80%)を占めていた。

不育症関連の検体では、流産胎児検体とセットで依頼される場合が多く、不育症関連検体50件中30件(60%)あった。染色体核型異常を認めた1件は、流産胎児がその核型を有する異常を認めた。

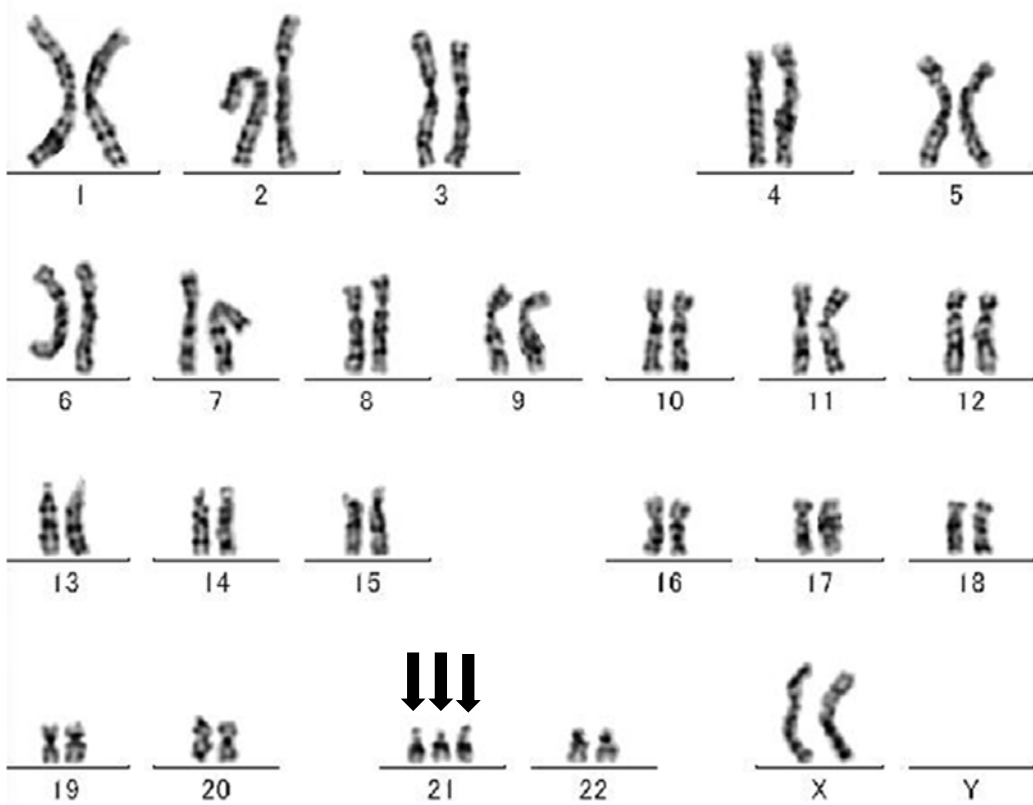


図 1. 症例1の核型 47,XX,+21

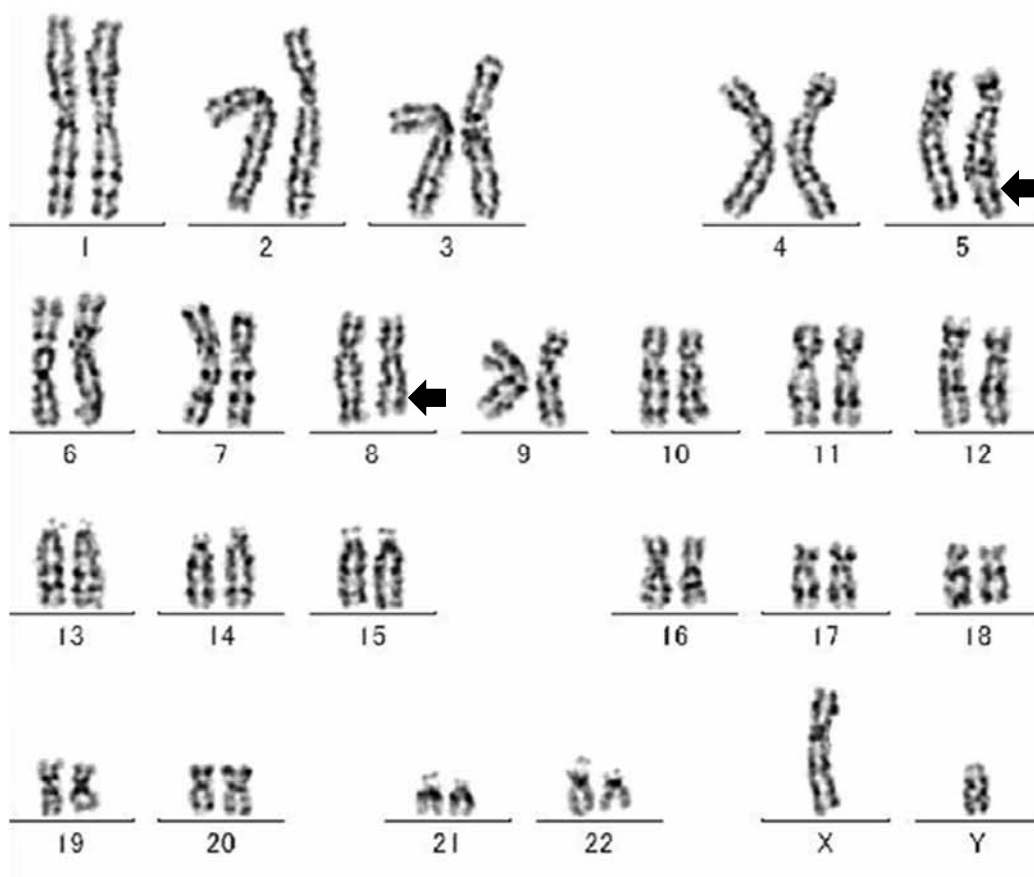


図2. 症例2の核型 46,X,Y,t(5;8)(q31q22)

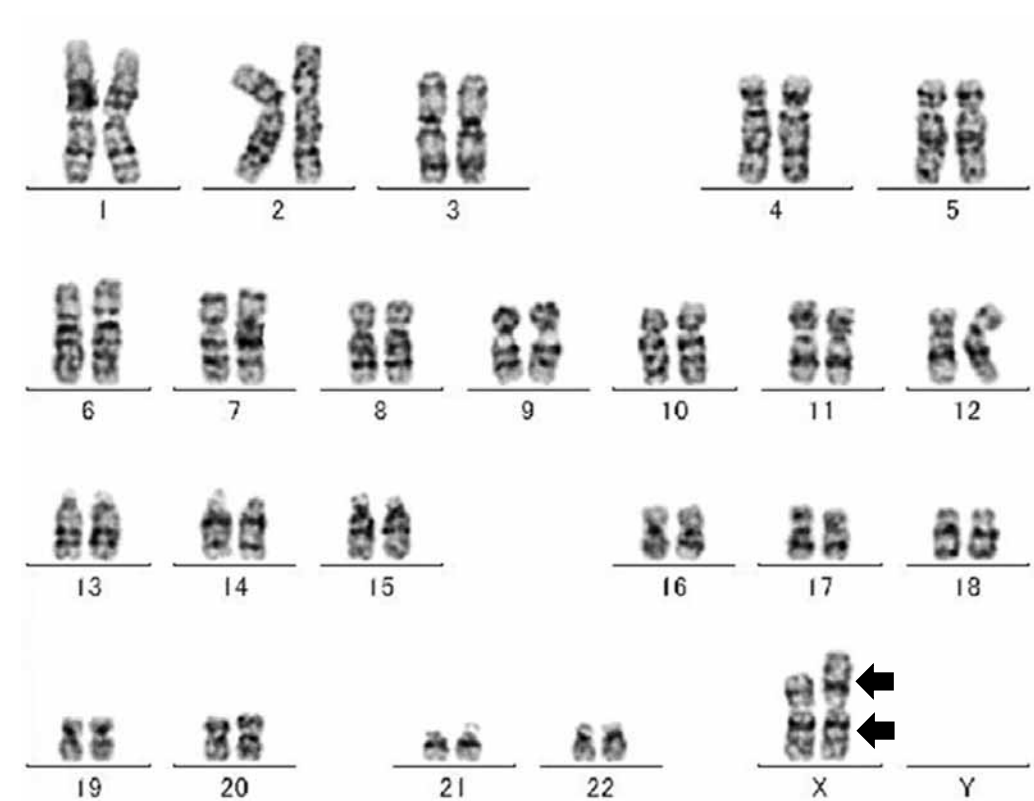


図3. 症例3の核型 46,X,iso(X)(q10q10)

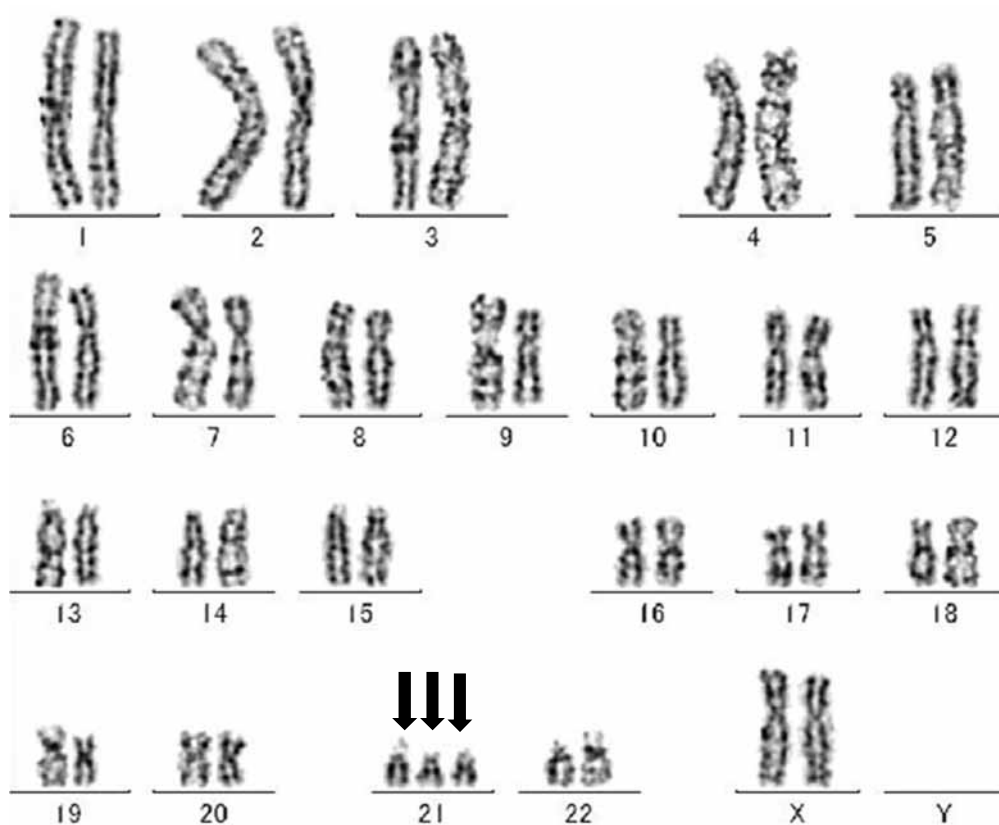


図4. 症例4の核型 47,XX,+21

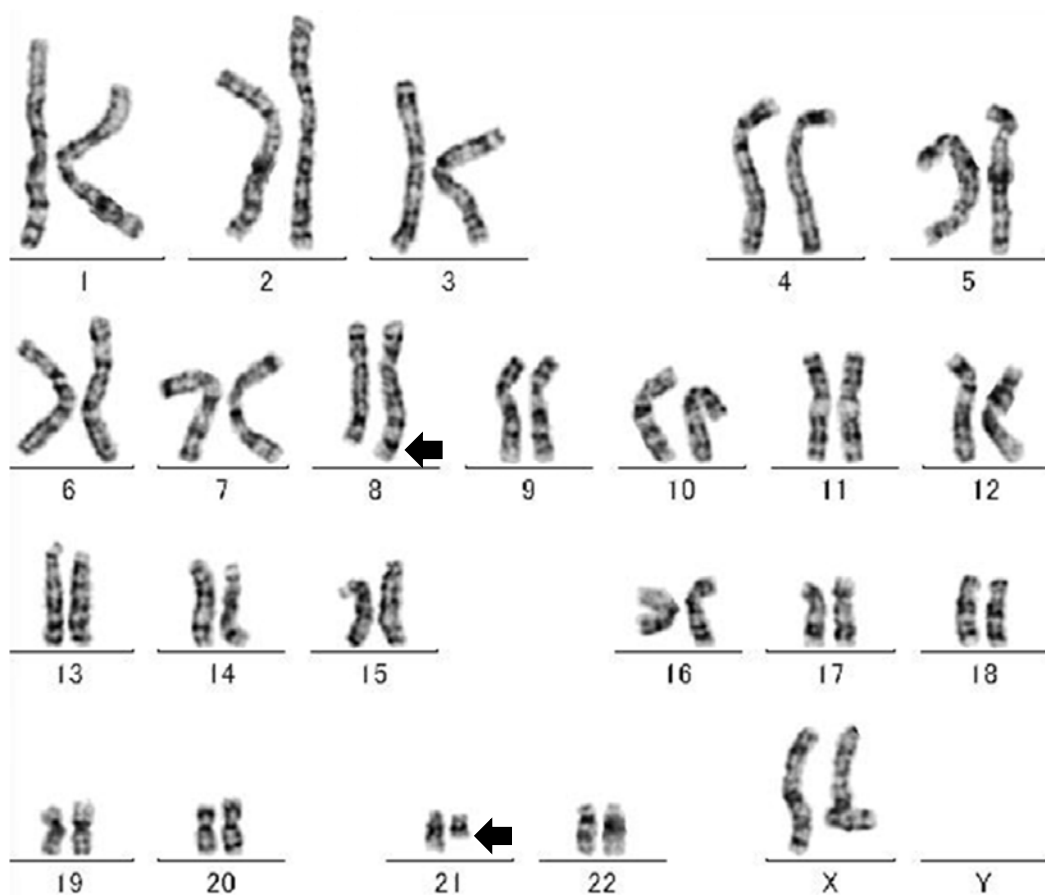


図5. 症例5の核型 46,XY,t(8;21)(q24.1q21.1)

表 3. 不育症関連と検査数, 流産胎児同時依頼数, 異常数

不育症関連	検査数 (うち流産胎児検体同時依頼数)	異常数	症例
流産 1 回	2 (2)	0	
流産 2 回	14 (10)	0	
流産 3 回	8 (8)	1	症例2
流産 4 回	8 (4)	0	
流産 5 回	2 (2)	0	
流産 6 回	2 (0)	0	
生児 2 人流産 1 回	2 (2)	0	
生児 1 人流産 2 回	6 (2)	1	症例5
生児 1 人流産 3 回	2 (0)	0	
生児 1 人流産 4 回	2 (0)	0	
詳細記入なし	2 (0)	0	
計	50 (30)	2	

考 察

当所における検査依頼理由の中で「不育症関連」が最も多く、平成23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、近年の少子化、晩婚化による影響も考えられた。不育症の原因究明の一つとして御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。これは、染色体均衡転座保因などを検索する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と考えられるからである。

不育症関連の検体の6割が流産胎児とセットで依頼された。御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る[5]ため、御夫婦と流産胎児をセットで検査すべきと考えている。また、羊水検査施行後の精査目的の検体では、羊水検体での染色体核型分析結果が確定した後に、御夫婦の染色体検査を依頼された。いずれの場合も御夫婦の染色体核型に異常は見られなかった。羊水検査の結果報告後のため、時間的な猶予は限られていたが、通常通り分析を行い正確な結果を返すことができたと考えている。

血液検体は、羊水、流産胎児検体と比べると培養日数が短いので染色体核型分析に時間を費やすことがで

きる。検査の効率化を考え、分析しやすい染色体標本を作製し精度の高い核型分析を行っていただけるよう努めたい。

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. 高森亮輔, 林美貴子, 品川保弘, 高田吉弘(2011). 富山衛研年報, 34, 35-38
4. 斎藤滋(2011). 不育症治療に関する再評価と新たな治療法の開発に関する研究班を基にした不育症管理に関する提言
5. 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

流産胎児の染色体分析結果（平成23年度）

品川 保弘 高森 亮輔 林 美貴子 高田 吉弘

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2011—Mar. 2012)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI
and Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成23年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は、55件であった。そのうち51件について検査を完了し、37件に染色体異常を認めた。検査依頼理由(主訴)の大半は、不育症、反復流産、習慣性流産、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す、次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に取り組んでおり、血液および羊水に続いて、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23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、以下の二つの方法を適宜選択、あるいは併用しておこなった。

＜A：貼り付け法＞

- ・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、染色体標本作製に供する。

＜B：酵素処理法＞（前述の貼り付け法の＊の手順が以下の通りに変更される）

- ・細切小片を15ml チューブに集め、7ml の HBSS で洗浄する。
- ・1,200r.p.m で6分遠心にかけ細切小片を沈殿させたあと、上清を除去し、100U/ml に調整したコラゲナーゼ溶液約2ml を加え、振とう器にて緩やかに攪拌しながらおよそ30分間分散処理を行う。
- ・遠心操作と HBSS による洗浄を二回繰り返した後に培養液に浮遊させ、シャーレー一枚あたり3ml ずつ分注し培養に供する。

2. 染色体標本の作製方法

- ・1 μg/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トールピペット（以下、ピペット）を用いて12ml 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攪拌し、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 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、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 1X (GIBCO : 24020-117)
- PSN : PSN Antibiotic Mixture 100X (GIBCO : 15640-055)
- 培養液 : Amnio MAX-C100 (GIBCO : 17001-082) + Supplement (GIBCO : 12556-015)
- コラゲナーゼ : Collagenase Type1,260U/mg (Wor-Thington : CLSS1)
- コルセミド : KARYO MAX Colcemid Solution 10 μ g/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 $\cdot$ pH6.8 buffer, (リン酸水素二ナトリウム $\cdot$ 12水, 35.81 g + リン酸二水素カリウム 13.61 g) / 3L $\cdot$ DW
- ギムザ染色液 : Microscopy Giemsa's azure 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)

表 1. 医療機関別検査依頼件数

医療機関名	件数			
	H23	H22	H21	H20
富山大学附属病院	36	29	2	3
済生会高岡病院	7	3	4	2
富山赤十字病院	3	3	2	1
さたけ産婦人科	3	3	1	5
富山県立中央病院	2	3	0	0
黒部市民病院	2	2	2	0
富山市民病院	1	1	1	3
厚生連高岡病院	1	1	0	1
(おとぎの森レディースクリニック)	0	1	1	0
(高岡市民病院)	0	0	0	4
(済生会富山病院)	0	0	0	4
(砺波総合病院)	0	0	0	1
計	55	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		
不育症	15	1	0	4	5	5	11	47, XY, +6 47, XX, +8 47, XX, +13 47, XX, +15 47, XY, +16 47, XX, +21[2] 47, XX, +22 47, XY, +22[2] 48, XY, +9, +21
不育症・胞状奇胎	1	0	0	0	1	0	1	47, XY, +7/46, XY
反復流産	10	0	7	1	2	0	7	47, XY, +13 47, XX, +16 47, XX, +21[2] 46, XY, der(5)(5pter→5q31::8q22→8qter)pat 69, XXY 92, XXY
IUFD	9	9	0	0	0	0	5	47, XY, +17 47, XX, +18 47, XX, +22 69, XXY[2]
IUFD・胞状奇胎	2	2	0	0	0	0	1	69, XXX
習慣性流産	7	0	3	1	2	1	6	47, XY, +14 47, XX, +16 47, XX, +18 47, XX, +22 49, XX, +8, +22, +mar 46, XX, i(15)(q10)
稽留流産	6	3	3	0	0	0	5	47, XX, +13 47, XX, +15 47, XY, +16 47, XY, +22[2]
稽留流産・母転座保因者	1	0	1	0	0	0	1	47, XY, der(13;14)(q10;q10), +13, +21
合計	51	15	14	6	10	6	37	

依頼件数：培養不調のために結果の得られなかった4検体を除く

[2]：同一核型が2件であることを示す

IUFD：子宮内胎児死亡

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緑磨フロスト No.1 (MATSUNAMI：S2111, S2112)

結果および考察

流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織を受け入れ、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23年度は依頼件数が急増した前年度をさらに上回ったことから、参考までに平成22年度から平成20年度まで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1.2倍、伸び率は20%、対前々年比では、件数で4.23倍、伸び率は323%であった。

平成23年度の受付件数は55件で、54件は絨毛のみ、1件は絨毛+さい帯であった。さい帯1検体を含む51件52検体の分析を完了した。依頼された流産胎児の週数は4週から30週の範囲（1件は不明）で、もっとも件数の多かったのは8週の15件（全体の27.3%）、次いで

5週の14件（25.5%）であった。便宜的に10週刻みで3等分すると、10週までが43件（79.6%）、11週から20週までが7件（13.0%）、21週から30週までが4件（7.4%）であった。10週以内の43件の週数の平均は7.7±1.4週、週数不明の1件を除く54件全体の週数の平均は9.7±5.0週であった。

流産母体年齢の平均は35.6±4.9歳であり、最若年齢は23歳、最高年齢は46歳であった。

検査を完了できた検体51件中37件（72.5%）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37年間で464件を数えるが、分析を完了できた検体421件のうち、異常を確認したのは239件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は56.8%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37件の内訳は、数적異常28件、3倍体4件、4倍体1件、構造異常2件、構造異常および数적異常1件、モザイク（常染色体トリソミー型／正常核型）1件であった。

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18件、別途両親の血液の染色体検査結果の判明していた例が2件あった。合わせて20件のうち、2件は増殖不良のため検査が実施できなかった

が、両親の染色体核型はいずれも正常であった。また、3件は流産胎児の核型は正常であり、両親もすべて正常核型を示した。常染色体トリソミー型が9件あったが、その両親はいずれも正常核型であった。3倍体と4倍体が1件ずつあったが、両親は正常核型であった。

モザイクと判定した検体が1件あったが、両親の核型は正常であった。この例では、シャーレ4枚中1枚のみに正常核型と7番染色体トリソミーの混在を認めたが、トリソミー型の分裂像が多かったことと、依頼理由が胎状奇胎疑いであったことから検体組織部位の差異による核型の相違の可能性を考え合わせて、モザイクと判定した。

構造異常で[46,XX,i(15)(q10)]と判定された例があったが、ご両親の核型は正常であった。

[46,XY,der(5)]を疑った検体があったが、ご両親の染色体検査で、父親が[46,XY,t(5;8)(q31;q22)]と確認されたことから、胎児染色体核型を[46,XY,der(5)(5pt er→5q31::8q22→8qter)pat]と判定した。

[47,XY,der(13;14)(q10;q10),+13,+21]と判定された検体があったが、その両親については前回の流産の際に両親および胎児の染色体検査を施行しており、母親が[46,XX,der(13;14)(q10;q10)]のロバートソン型転座保因者、前回流産胎児は[46,XY,der(13;14)(q10;q10),+13 mat]と確認されていた。

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55件の中で検査を施行できた51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

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	37	2.7±1.4	36.2±5.0	8.8±3.1
異常なし	14	2.3±1.4	33.7±4.5	11.6±7.1
全 体	51	2.6±1.4	35.5±5.0	9.6±4.7

に示した。標本作製1回目は培養7日目から9日目にかけて集中しており、平均培養日数は7.6±2.0日であった。また、標本作製2回目は培養8日目から10日目に集中しており、平均培養日数は8.9±2.2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、核型判定にまで至った51検体についてみると最短で14日間、最長で27日間、平均は20.3±2.8日であった。前年の平均日数は17.1±3.4日であったことから、およそ3日、工程に要する日数が長くなってしまったが、これは、羊水等の流産胎児以外の検体も含めて多数の検体が集中したために検査分析体制が追いつかないことによるものと思われた。

以上、平成23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。

前年度に受入れ件数が大幅に増加していたが、今年度も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を中心に、受入れ件数が増加していた。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、今後も検査依頼件数は高い水準で推移するものと予想されている。

検査を完了した検体のおよそ7割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局限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23年度は、最終的に18組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析、もしくは比較することができた。流産胎児18件中15件に核型の異常が確認された一方で、そのうち13組の両親は正常核型であり、父親または母親に核型異常をみとめたケースがそれぞれ1件あった。父親のケースは均衡転座型保因者であり、母親のケースは数的異常をとまなうロバートソン型転座保因者であるが、いずれのケースについても、わずかではあるが、将来的な妊娠およ

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	12日	13日	・・・	15日	16日		
標本作製1回目	1	1	4	5	17	8	8	3	3	0	0	・・・	1	0	51	7.6±2.0
標本作製2回目	0	2	0	4	5	13	8	9	3	5	1	・・・	0	1	51	8.9±2.2

注：培養が不調（増殖不良）のため、標本作製ができなかった4検体を除いて集計

平成24年12月14日

びそ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ることが望まれる。

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23年度の実績では平均で20日余りとなり、前年比でおよそ3日延長した。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17件にのぼったが、その大半が短期間に集中して舞い込んだ検査依頼であったことから、依頼医療機関に対しては検査の進行予測を説明し、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。とは言え、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、この業務に携わる上での重

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製できているとはいまだに言いがたい。標本作製技術、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。

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: 齊藤滋) 135-137.

羊水細胞の染色体分析結果（平成23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. 2011–Mar. 2012)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mikiko HAYASHI
and Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成23年度の羊水の染色体検査受付件数は97件で、そのうちの10件に染色体異常を認めた。主な検査依頼理由は、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23年度に受け付けた羊水97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（×1 PSN 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、低張処理に反応しにくい鱗片状の剥落細胞が多数認められる場合には、染色体標本の作製に際し、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ため、やはり5～7日目に、あるいは標本作製日の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、染色体標本作製に供する。

2. 染色体標本の作製方法

- ・1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ に調製したコルセミド溶液を、培養液量に対し13 $\mu\text{l}/\text{ml}$ となるよう添加し、37°Cにて2時間処理する。
- ・シャーレ内の培地全量をパストールピペット（以下、ピペット）を用いてスピッツ管に移し、シャーレ内にトリプシン液1.5mlを加える。
- ・シャーレを37°C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。
- ・倒立顕微鏡下でシャーレからの細胞の剥離および単一細胞への分散を確認後、細胞浮遊液をピペッ

トで緩やかに攪拌し、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、25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、作業直前に調製したカルノア固定液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およそ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枚作製する。
- 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 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 10 μ g/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

- 15ml 遠沈管：2325-015 (IWAKI)
- 35mm ϕ 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, S2112)

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たことから、参考までに平成22年度から平成20年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。2年連続で20件ずつの増加があり、平成22年度は119件となっていた受付件数が、平成23年度は97件と、100件を割り込んだ。依頼医療機関数は10施設（採取を、提携する総合病院が担当する1施設を除外）であったが、これは分娩を取り扱う県内の26施設（1助産院を含む）の半数以下であり、その内訳は、総合病院12施設中7施設、産科医院13施設中3施設であった。

平成23年度は、依頼を受けた97件のすべてについて

検査および分析を実施し、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68件で最も多く、全体の70%を占めた。次いで17週15件、15週10件であり、この三週だけで全体のおよそ96%を占めていた。週数の最短は15週、最長は29週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表3に示した。37歳での依頼が16件で最も多く、全体のおよそ16%を占めていた。最低年齢は21歳、最高年齢は44歳であった。21歳から44歳まで24年間の幅があったことから、6歳階級で4等分してみると、33歳から38歳までの階級が48件で、全体の約半数を占めていた。また、一般的に高齢妊娠の年齢境界とされる35歳を基点に6歳階級区分をシフトさせると、35歳から40歳までの階級が65件で、全体のちょうど3分の2を占めていた。35歳以上全体では75件で、全体の77.3%であった。

検査依頼理由別の受付件数、核型の異常を確認した検体数、および判定した核型を表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68件で、全体のおよそ70%を占めていた。表3では、35歳以上での依頼が75件であったが、たとえば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かったことが、この差を発生させていた。一方、分娩予定日が誕

生日以降で35歳になるなど、検査依頼時に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ることを主訴とした依頼は22件で、全体のおよそ22.7%を占めた。しかし、高齢妊娠を依頼理由とするものの中に「トリプルマーカー」もしくは「NT」の記載のあったものが合わせて5件あったことから、これらを合算すると27件で、全体の27.8%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5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」「前回流産児16トリソミー」としたものが計2件あり、これを合わせると7件で、7%余りを占めていた。

染色体核型異常を認めたのは97件中10件（10.3%）であった。高齢妊娠を主訴とする検査依頼68件のうち3件に、異常を認めた。依頼理由（主訴）の記載に関わらず、35歳以上の受付検体75件中の異常確認数は6件（8.0%）であった（データ未掲出）。

胎児異常疑いを主訴とする依頼22件中6件（27.3%）に、核型異常を確認した。NT肥厚の記載のある依頼は16件であったが、そのうち3件（18.8%）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22件中に、NTの記載のあったものは13件で、そのうち2件に異常を認めた（データ未掲出）。母体血液についてのトリプルマーカーテストの結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼4件で、1件の異常が確認された。

両親のいずれか一方が均衡転座保因者であることを理由とする依頼が2件あったが、そのうちの1件に、親の均衡転座に由来する不均衡転座を確認した。

異常核型10件の内訳は、常染色体トリソミー型4件（+21：4件）、性染色体数異常3件（47,XXX：1件、45,X：2件）、常染色体不均衡転座型2件、性染色体を含む三染色体間均衡転座型1件であった。

染色体標本作製までに要する培養日数別の依頼件数を、表5に示した。羊水量が極端に少なかった1件を除き、各検体から準備されたシャーレ2枚を用いて、標本作製は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79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、73件（76.0%）であった。平均日数は、標本作製1回目が9.2±1.1日、2回目が10.6±1.1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、

表 1. 医療機関別検査依頼件数（H20～23）

医療機関名	件数			
	H23	H22	H21	H20
黒部市民病院+あわの産婦人科	17	17	30	18
おとぎの森レディースクリニック	17	12	8	9
県立中央病院	15	15	11	14
富山赤十字病院	14	17	13	6
富山市民病院	12	19	14	11
厚生連高岡病院	7	12	8	4
富山大学附属病院	6	7	2	3
済生会高岡病院	5	7	6	5
さたけ産婦人科	3	7	1	2
菅田産婦人科医院	1	0	1	0
（済生会富山病院）	0	4	1	2
（砺波総合病院）	0	1	4	3
（高岡市民病院）	0	1	0	2
計	97	119	99	79

表 2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	18	…	26	…	28	29	合計
件数	10	68	15	1	…	1	…	1	1	97

表 3. 年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	合計
件数	1	0	0	0	1	1	3	2	2	2	2	1	1	6	6	7	16	12	11	13	3	2	2	3	97
3件 (3.1%)					12件 (12.4%)					48件 (49.5%)					34件 (35.1%)										
8件 (8.2%)					14件 (14.4%)					65件 (67.0%)					10件 (10.3%)										

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
高齡妊娠	68	3	
高齡妊娠	54	1	47,XY,+21
トリプルマーカー	4	1	47,XX,+21
NT	1	0	
前子ダウン症	1	0	
前回流産児16トリソミー	1	0	
ICSI	1	0	
前児IUFD	1	0	
前児死亡	1	0	
IVF-ET	4	1	47,XXX
胎児異常疑い	22	6	
NT	15	3	47,XY,+21【2件】 別途記載<*>
のう胞性ヒグローム	3	2	45,X【2件】
胸水貯留	1	0	
奇形疑い・前児心疾患	1	0	
羊水過多奇形疑い	1	1	46,XY,der(18)(qter→p11.3::q11.2→qter)
心疾患	1	0	
染色体異常児出産・妊娠既往	5	0	
21トリソミー	3	0	
18トリソミー	2	0	
親の一方が均衡転座保因者	2	1	46,XX,der(20)(20qter→20p13::7p15.3→7pter)
計	97	10	

NT：nuchal translucency(後頸部肥厚)

ICSI：Intracytoplasmic sperm injection(顕微授精=卵細胞質内精子注入法)

IUFD：Intrauterine fetal death(子宮内胎児死亡)

IVF-ET：in vitro fertilization-embryo transfer(体外受精-胚移植)

<*>46,X,der(X)(Xpter→Xq13::14q11.2→14q23.2::5q31→5qter),
 der(14)(14pter→14q11.2::Xq13→Xqter),der(5)(5pter→5q31::14q23.2→14qter)

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		
標本作製1回目	4	24	32	23	13	1	0	0	97	9.2±1.1
標本作製2回目	0	2	15	31	27	18	2	1	96	10.6±1.1

羊水量が少なかった1検体はシャーレ1枚のため標本作製2回目はなし

表 6. 検査全工程所要日数別件数

日数	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	計
件数	2	2	1	3	11	14	17	34	5	2	2	1	1	1	1	97

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13日間，最長で27日間，平均は 19.1 ± 2.3 日であった．

以上，平成23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，前年度に100件の大台を突破した依頼件数が，前々年度とほぼ同等のレベルに戻った感がある．とはいえ，過去40年近い染色体検査事業における受入件数の推移から勘案すれば，まだしばらくは右肩上がりの傾向が維持されるものと思われる．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きた背景には，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．

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週がおおよそ7割を占めた．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を持たれるところであるが，妊娠18週以降では，羊水中の細胞数の増加が関連すると思われる培養日数の短縮傾向がみられる（データ未掲載）．

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97件すべてについて検査を完了し，そのうち10件に異常を見出したが，35歳以上75件中の異常核型は6件，35歳未満22件中の異常核型は，4件であった．

高齢妊娠を主訴とする依頼68件のうち，異常核型をみとめたのはわずかに3件であったが，胎児異常疑いを依頼理由とする依頼22件のうち6件に異常核型をみとめた．一般市民の感覚では，高齢妊娠において胎児の染色体異常の確率が高まると考えがちと思われるが，当所に寄せられる検体に限って言えば，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考えうる．

平成23年度に受け付け，検査を完了できた97検体のうち10検体に核型異常をみとめた．その内訳は数値異常が7件（常染色体4件，性染色体3件），構造異常が3件（常染色体／性染色体均衡転座1件，常染色体不均衡転座2件）であった．常染色体／性染色体均衡転座の1例について，その核型は $[46,X,der(X)(Xpter \rightarrow Xq13::14q11.2 \rightarrow 14q23.2::5q31 \rightarrow 5qter),der(14)(14pter \rightarrow 14q11.2::Xq13 \rightarrow Xqter),der(5)(5pter \rightarrow 5q31::$

$14q23.2 \rightarrow 14qter)]$ と記載されるが，5番，14番，そしてXの三つの染色体間での相互転座例であった．ちなみに，性染色体が関わった相互転座も，三つの染色体間に生じた相互転座も，当所では初めての経験であった．

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23年度の実績では平均で19.1日であり，最短は13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6件あったが，25日，26日，27日を要した3件については，それぞれ15日，18日，21日時点で暫定的な結果を得ており，依頼医療機関に電話で報告を済ませ，核型確定のための追加検査を施行した後で，正式な報告書を作成，送付した．日数が22日，23日，24日を要した5件のうちの2件は，検査依頼を受けた時点で，年末年始の休暇により作業工程が遅延することを事前に了承していただいた上で検体を受け入れた．残りの3件は，ちょうど年度末に差し掛かり，検査担当者の交代にともない検査処理能力の若干の低下に起因するものと思われた．

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7～8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，わずかに2日程度とはいえ，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に異論はないと思われるが，こと羊水検査に関しては，判定結果が妊娠の可否をも左右しかねないゆえに，母体保護の観点，さらには倫理的な観点からも，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，たとえ1日であっても短縮することは，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，現在検討を進めている．

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．

日本脳炎流行予測調査（感染源調査）2011年

山内 健生 名古屋(小原) 真弓 渡辺 護¹ 關口 健治²

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2011

Takeo YAMAUCHI, Mayumi OBARA-NAGOYA, Mamoru WATANABE¹
and Kenji SEKIGUCHI²

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1週から各定点において捕集され、8月中旬～9月上旬に発生のピークを形成した。2011年の捕集総数は、2010年とほぼ同程度であった。豚の抗体保有率は20%以下で推移し、新鮮感染を示す個体や抗体価640倍以上の個体は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。これらの結果から、ウイルスの活動は非常に小規模であり、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[5-11]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、2011年も本研究を継続し、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。

(第1週)から10月26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。

1. 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2010年[11]と同様(表1, 図1)であったが、「3. 黒牧」では、畜舎内のライトトラップの設置位置を変更した。

調査期間および調査方法も2010年とほぼ同様であった。すなわち、「3. 黒牧」と「4. 大井」では6月1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1日



図1. コガタアカイエカ捕集定点(2011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（2011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	小矢部市鷺ヶ島	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（2011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1日	3	-	7	157	4	3	174
8日	24	32	15	405	69	22	567
15日	10	10	2	148	49	8	227
22日	61	18	13	790	201	145	1,228
29日	91	-	6	2,426	439	226	3,188
7月6日	159	36	0	3,898	-	760	4,853
13日	283	99	28	3,973	1,646	1,382	7,411
20日	-	66	7	2,414	1,741	1,022	5,250
27日	-	1,156	28	9,771	2,918	4,020	17,893
8月3日	-	574	24	7,140	5,212	3,321	16,271
10日	2,223	1,200	8	9,981	2,017	3,232	18,661
17日	15,219	2,426	88	21,169	3,003	8,021	49,926
24日	11,976	7,926	223	21,012	7,028	11,399	59,564
31日	-	3,718	117	27,726	14,237	1,877	47,675
9月7日	3,068	1,806	110	23,135	1,463	491	30,073
14日	2,443	481	15	9,949	4,882	253	18,023
21日	1,343	721	29	5,708	-	291	8,092
28日	-	343	-	720	627	38	1,728
10月5日	48	236	2	1,621	510	30	2,447
12日	14	25	0	23	21	-	83
19日	1	2	-	-	2	1	6
26日	4	0	-	-	-	1	5
計	36,970	20,875	722	152,166	46,069	36,543	293,345

「-」はトラップの故障等による欠測を示す。

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1週から各定点において捕集され、全体的には8月中旬～9月上旬に発生ピークがみられ、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」「1. 黒部」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。2011年の捕集数は、「1. 黒部」「2. 上市」「4. 大井」において2010年の捕集数よりも多かった。それらの中でも「1. 黒部」では、2011年の捕獲数は2010年の4倍以上であった。これは、同

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 (2011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	0	7	3	11	21	0	157	1	0	158
2日	0	2	1	5	8	0	55	1	0	56
3日	0	6	0	3	9	0	119	0	2	121
4日	-	-	-	-	-	0	192	2	2	196
5日	0	1	1	4	6	0	142	2	2	146
6日	0	13	1	3	17	0	188	1	3	192
7日	0	7	0	2	9	0	308	1	2	311
8日	0	15	0	2	17	0	405	1	0	406
9日	0	6	0	4	10	0	556	2	0	558
10日	-	-	-	-	-	0	294	2	2	298
11日	0	17	0	6	23	0	327	0	1	328
12日	0	6	1	4	11	0	387	1	0	388
13日	0	5	0	4	9	0	178	3	2	183
14日	-	-	-	-	-	0	344	3	0	347
15日	0	2	1	0	3	0	148	2	0	150
16日	1	5	1	2	9	0	355	1	1	357
17日	0	5	0	1	6	0	295	8	1	304
18日	-	-	-	-	-	0	331	2	0	333
19日	0	12	3	7	22	0	440	19	2	461
20日	0	22	1	2	25	0	1,442	15	0	1,457
21日	0	36	4	5	45	0	622	24	3	649
22日	0	13	0	2	15	0	790	6	0	796
23日	0	34	2	1	37	0	914	18	0	932
24日	0	3	0	1	4	0	1,610	15	1	1,626
25日	0	8	2	1	11	0	1,167	30	0	1,197
26日	1	23	11	2	37	0	2,118	20	0	2,138
27日	0	6	9	1	16	0	2,336	23	0	2,359
28日	0	0	2	2	4	0	3,464	43	0	3,507
29日	0	6	4	1	11	0	2,426	25	1	2,452
30日	0	3	0	0	3	0	2,122	28	2	2,152
計	2	263	47	76	388	0	24,232	299	27	24,558

「-」 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 (2011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	0	2	0	2	0	1,989	23	0	2,012
2日	0	0	0	0	0	0	3,126	24	0	3,150
3日	0	0	0	0	0	0	2,406	17	0	2,423
4日	0	0	0	0	0	0	4,182	16	0	4,198
5日	0	1	1	0	2	0	2,641	21	0	2,662
6日	0	0	0	0	0	0	3,898	24	0	3,922
7日	-	-	-	-	-	0	2,837	21	0	2,858
8日	2	11	0	1	14	0	4,203	25	0	4,228
9日	0	7	0	2	9	0	4,750	36	0	4,786
10日	-	-	-	-	-	0	3,598	20	0	3,618
11日	0	31	1	5	37	0	4,711	34	0	4,745
12日	0	22	0	1	23	0	3,342	16	0	3,358
13日	0	28	0	2	30	0	3,973	35	0	4,008
14日	0	26	0	1	27	0	6,423	20	0	6,443
15日	0	24	1	0	25	0	2,024	16	0	2,040
16日	0	37	0	1	38	0	2,113	7	0	2,120
17日	0	25	0	0	25	0	2,077	17	0	2,094
18日	-	-	-	-	-	0	2,636	18	1	2,655
19日	0	23	1	2	26	0	3,818	4	0	3,822
20日	0	7	1	0	8	0	2,414	6	0	2,420
21日	0	6	0	0	6	0	3,755	5	0	3,760
22日	0	1	0	2	3	0	1,235	1	0	1,236
23日	-	-	-	-	-	0	1,960	4	0	1,964
24日	0	4	0	2	6	0	1,991	4	1	1,996
25日	0	11	0	0	11	0	3,175	9	1	3,185
26日	0	5	0	0	5	0	3,488	13	0	3,501
27日	0	28	0	2	30	0	9,771	8	0	9,779
28日	0	9	0	0	9	0	5,425	17	0	5,442
29日	0	12	0	3	15	0	11,095	8	1	11,104
30日	1	18	0	1	20	0	7,076	7	0	7,083
31日	0	14	0	0	14	0	5,810	8	1	5,819
計	3	350	7	25	385	0	121,942	484	5	122,431

「-」 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，トラフカクイカ

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 (2011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	3	30	0	3	36	0	5,757	6	0	5,763
2日	0	37	0	1	38	0	9,591	3	0	9,594
3日	1	24	0	1	26	0	7,140	0	0	7,140
4日	1	37	0	0	38	0	6,743	5	0	6,748
5日	0	40	0	0	-	1	13,410	6	0	13,417
6日	-	-	-	-	-	0	5,822	7	0	5,829
7日	0	10	0	0	10	0	3,188	3	0	3,191
8日	-	-	-	-	-	1	8,738	4	0	8,743
9日	0	24	0	0	24	0	7,157	2	0	7,159
10日	0	8	0	0	8	0	9,981	4	0	9,985
11日	0	10	0	0	10	0	7,012	8	0	7,020
12日	0	11	0	0	11	0	11,533	15	1	11,549
13日	0	33	0	0	33	1	8,668	14	0	8,683
14日	0	25	0	0	25	2	5,093	6	0	5,101
15日	0	68	0	0	68	0	8,908	5	0	8,913
16日	0	85	0	0	85	0	15,896	17	1	15,914
17日	0	88	0	0	88	0	21,169	16	0	21,185
18日	-	-	-	-	-	0	41,965	22	0	41,987
19日	1	240	0	0	241	0	18,404	17	0	18,421
20日	1	84	0	2	87	1	26,746	16	0	26,763
21日	1	30	0	0	31	0	24,220	18	0	24,238
22日	1	119	0	1	121	0	34,988	6	0	34,994
23日	-	-	-	-	-	0	17,255	5	0	17,260
24日	2	223	0	1	226	0	21,012	4	0	21,016
25日	4	147	0	1	152	0	30,625	0	0	30,625
26日	5	94	0	1	100	0	10,611	5	0	10,616
27日	5	83	0	1	89	0	4,788	3	0	4,791
28日	1	80	0	0	81	0	8,633	15	0	8,648
29日	1	88	0	0	89	1	5,993	4	0	5,998
30日	4	52	0	3	59	0	18,906	6	0	18,912
31日	2	117	0	1	120	0	27,726	7	0	27,733
計	33	1,887	0	16	1,936	7	447,678	249	2	447,936

「-」 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 (2011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	80	0	1	81	0	20,621	9	0	20,630
2日	1	34	0	0	35	0	34,265	11	0	34,276
3日	1	28	0	0	29	0	24,436	13	0	24,449
4日	1	44	0	0	45	0	17,465	8	0	17,473
5日	1	38	0	0	39	0	24,080	5	0	24,085
6日	0	101	0	1	102	1	7,937	5	0	7,943
7日	0	110	0	1	111	1	23,135	7	2	23,145
8日	-	-	-	-	-	0	13,247	3	0	13,250
9日	1	209	2	1	213	1	17,553	0	0	17,554
10日	-	-	-	-	-	0	5,120	3	0	5,123
11日	2	34	0	0	36	0	13,988	0	0	13,988
12日	0	25	0	0	25	0	905	0	0	905
13日	0	8	0	0	8	0	15,231	0	0	15,231
14日	1	15	0	1	17	0	9,949	2	0	9,951
15日	0	15	0	0	15	0	7,113	6	2	7,121
16日	-	-	-	-	-	0	11,089	5	2	11,096
17日	0	70	0	1	71	0	19,734	0	0	19,734
18日	0	26	0	1	27	0	27,242	7	1	27,250
19日	0	22	0	0	22	0	15,873	0	0	15,873
20日	0	17	0	0	17	1	10,062	0	0	10,063
21日	0	29	0	1	30	1	5,708	1	0	5,710
22日	0	8	0	0	8	0	1,612	0	0	1,612
23日	0	49	0	2	51	0	2,672	0	3	2,675
24日	0	10	0	0	10	0	1,440	0	1	1,441
25日	1	23	1	1	26	0	2,587	3	1	2,591
26日	0	9	0	0	9	1	2,088	0	0	2,089
27日	1	5	0	0	6	0	1,023	3	1	1,027
28日	-	-	-	-	-	1	720	0	1	722
29日	0	7	0	0	7	0	769	0	0	769
30日	0	6	0	0	6	0	2,245	1	0	2,246
計	10	1,022	3	11	1,046	7	339,909	92	14	340,022

「-」 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3-5. 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 (2011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	0	1	0	0	1	0	1,079	1	1	1,081
2日	0	0	0	0	0	0	510	1	1	512
3日	-	-	-	-	-	1	138	5	1	145
4日	0	0	0	0	0	0	46	1	0	47
5日	0	2	0	0	2	0	1,621	0	5	1,626
6日	0	0	0	0	0	0	320	3	1	324
7日	0	0	0	0	0	0	49	0	0	49
8日	0	0	0	0	0	0	73	1	0	74
9日	0	1	0	0	1	0	109	1	0	110
10日	0	0	0	0	0	0	101	0	0	101
11日	0	0	0	0	0	0	29	0	0	29
12日	0	0	0	0	0	0	23	0	0	23
13日	0	0	1	0	1	-	-	-	-	-
14日	0	0	0	1	1	0	45	0	0	45
15日	0	1	0	1	2	0	317	1	0	318
16日	0	1	0	1	2	0	53	1	0	54
17日	0	0	0	0	0	0	51	1	0	52
18日	0	0	0	0	0	0	5	1	0	6
計	0	6	1	3	10	1	4,569	17	9	4,596

「-」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

地点において1991年以降最大の捕獲数であった。残り3定点では，2011年の捕集数は，2010年よりも少なかった。「3. 黒牧」の捕獲数は前年の半分以下であったが，この定点ではライトトラップの位置が前年と異なっているため，単純に比較することはできない。全体的にみると，2011年の捕獲数は，2010年とほぼ同程度であったといえる。

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4日から10月24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 [12] 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。全体として，新鮮感染を示す豚，抗体価640倍以上の豚は確認されなかった。新鮮感染を示す豚が確認されなかったのは1995年以来17年ぶり[13]であった。

表4. 7 定点のライトトラップにおける1991年以降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
2011	36,900	20,612	713	150,365	45,532	36,508	-	3,522	933,761

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。
3. 黒牧では, 2011年からライトの位置を変更した。
5. 小矢部では2003年に定点（畜舎）を変更した。

以上のことから, 2011年は, 日本脳炎ウイルス流行が非常に小規模であったと推測される。

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

2011年4月から12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, 日本脳炎ウイルス NS3領域を対象としたリアルタイム RT-PCR[14]を実施した。

2. 結果および考察

捕集蚊212 プール（5,868個体）及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。

これまでの調査結果[5-11,13,15,16]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, 2011年は不活発な年であったと思われる。

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4,5日	20 (100)								
11,12日	17 (85)	2 (10)	1 (5)						
25,26,28日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
8月1,2日	19 (95)	1 (5)							
17,18日	19 (95)	1 (5)							
22,23日	17 (85)	2 (10)	1 (5)						
9月5,6日	18 (90)		2 (10)						
12,13,15日	20 (100)								
26,27,29日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
10月3,4日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
11日	16 (80)	1 (5)	1 (5)				2 (10)		0 (0.0)
24日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
計	218 (90.8)	11 (4.6)	9 (3.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.8)	0 (0.0)	0 (0.0)

- 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。

まとめ

コガタアカイエカの捕集数は，2010年とほぼ同程度であった。豚の抗体保有率は20%以下で推移し，新鮮感染を示す個体や抗体価640倍以上の個体は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。これらの結果から，ウイルスの活動は非常に小規模であり，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。

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. 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

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 (2008). 平成18年度感染症流行予測調査報告書, 74-96
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 (2010). 平成19年度感染症流行予測調査報告書, 121-148
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. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道曉彦 (2005). 富山衛研年報, 28, 52-64
6. 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
7. 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
8. 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.
9. 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
10. 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
11. 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
12. 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.
13. 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 -. 159 pp. Skarafactory. Ltd., Toyama.
14. Huang, J. L., Lin, H. T., Wang, Y. M., Weng, M. H., Ji, D. D., Kuo, M. D., Liu, H. W., Lin, C. S.(2004). J. Med. Virol., 74, 589-96
15. 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
16. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則 (2011) 富山衛研年報, 34, 97-105

日本脳炎流行予測調査（感受性調査）2011年

名古屋(小原) 真弓 堀元 栄詞 板持(岩井) 雅恵
小渕 正次 滝澤 剛則 大井 哲夫¹ 南部 厚子²
馬渕 俊輔³ 川越 久美子⁴ 星山 典江⁵ 関口 健治⁶

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese
Encephalitis Virus in Toyama Prefecture in 2011

Mayumi OBARA-NAGOYA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI-ITAMOCHI,
Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU²,
Shunsuke MABUCHI³, Kumiko KAWAGOSHI⁴, Norie HOSHIYAMA⁵
and Kenji SEKIGUCHI⁶

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51.5%であった。10～29歳では95%前後が抗体を保有していたが、0～4歳では13.4%、40～59歳では13.0～18.2%、60歳以上では28.6%であった。5～9歳の抗体保有率は64.0%であり、2010年（78.6%）と比べ若干低くなった。60歳以上の抗体保有率は2010年より高かったものの、2007～2009年に比べ低かった。「予防接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く79.1%で、2010年と同程度であった。「接種歴あり」の割合は、10～14歳での95.7%、15～19歳の92.0%がピークとなるが、20歳以上では45%以下であった。予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で5.6%、「接種歴不明」で52.6%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では78.9%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。

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。

調査および検査方法

2011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299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

結果および考察

299名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は154名（51.5%）であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。10～29歳では95%前後と高い抗体保有率を示したが、0～4歳で13.4%、40～49歳で13.0%、50～59歳で18.2%、60歳以上で28.6%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。これは2010年の結果[1]や全国の結果[2]と同様であった。

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。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年は回復して78.6%、2011年は64.0%であった（図1、図2）。これは、2005

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. 富山県厚生部健康課

年5月に予防接種の勧奨が中止された[3]が、2010年4月から第1期の定期接種[4]の積極的勧奨が再開されたこと、2010年8月より第2期（通常9歳）の定期接種が再開され[5]、さらに第1期（通常3～4歳）を受けそびれていた人も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。2010年から2011年にかけてやや減少した原因は不明である。2009年までの調査では、30～39歳の年齢群で抗体保有率が20～30%と低かったが、2010年以降、50%前後となった。60歳以上の抗体保有率は、2007～2009年の調査で50～60%程度だったのが、2010年に13.6%、2011年に28.6%と減少した。2009年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ていること、自然感染の機会が減っていることが要因と考えられる。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）、「接種歴なし」の割合は、0～4歳で79.1%と最も多かった。この結果は、2007～2010年の結果[1,6-8]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24.0%で、2010年の7.1%に比べ高くなった。「接種歴あり」の割合は、10～14歳での95.7%、15～19歳の92.0%がピークとなるが、20歳以上では45%以下であった。

予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で5.6%、「接種歴不明」で52.6%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では78.9%であった（表1）。これらの保有率は、2007～2010年の結果[1,6-8]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80%以上であるものの、30～39歳の55.6%から年齢が上がるにつれ減少して60歳以上は0.0%となった。これは、加齢に伴いワクチンの効果が減弱していると思

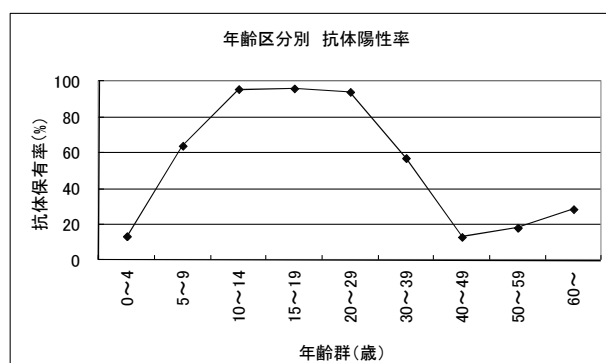


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

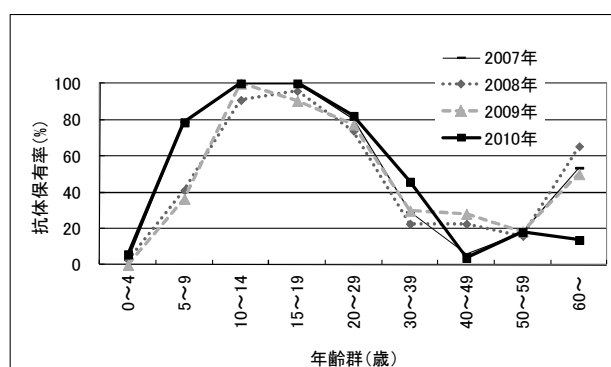


図2. 2007～2010年の年齢群別中和抗体保有率

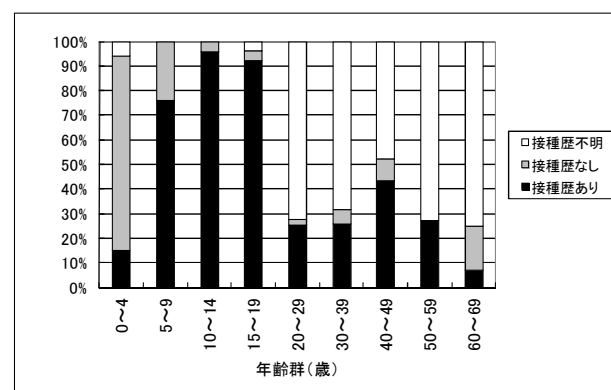


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

表1. ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	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	8	10	80.0%	1	53	1.9%	0	4	0.0%	9	67	13.4%
5～9	16	19	84.2%	0	6	0.0%	0	0		16	25	64.0%
10～14	22	22	100.0%	0	1	0.0%	0	0		22	23	95.7%
15～19	23	23	100.0%	1	1	100.0%	0	1	0.0%	24	25	96.0%
20～29	13	13	100.0%	0	1	0.0%	35	37	94.6%	48	51	94.1%
30～39	5	9	55.6%	1	2	50.0%	14	24	58.3%	20	35	57.1%
40～49	2	10	20.0%	0	2	0.0%	1	11	9.1%	3	23	13.0%
50～59	1	6	16.7%	0	0		3	16	18.8%	4	22	18.2%
60～	0	2	0.0%	1	5	20.0%	7	21	33.3%	8	28	28.6%
計	90	114	78.9%	4	71	5.6%	60	114	52.6%	154	299	51.5%

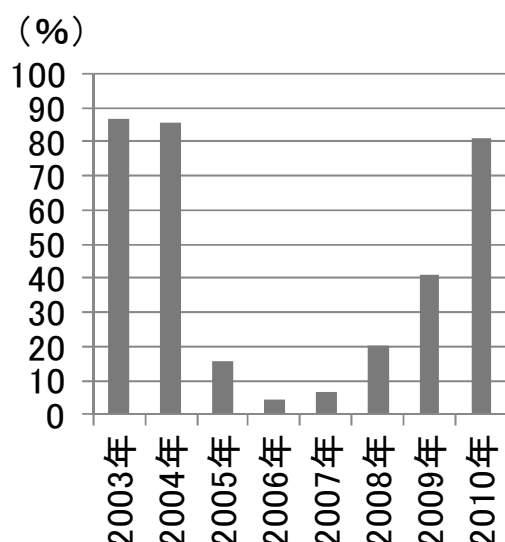


図4. 富山県における日本脳炎予防接種率
接種率は保健統計年報[9-15]を参考にした。

われる。この傾向は2007～2010年[1,6-8]の結果と同様であった。

「接種歴なし」のうち、抗体陽性者が5.6%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。年齢群別の偏りはみられなかった。

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[3]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年度以降接種率は回復し始め、2010年はほぼ勧奨中止前と同程度となった。

まとめ

今回の調査では、2007～2010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いることなどが確認された。一方、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は、2010年以降回復してきている。また、2009年までの調査では30～39歳の年齢群で抗体保有率が低かったが、2010年以降、5割程度となっている。

日本脳炎ワクチンの勧奨中止[3]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、接種率が回復した。今後も高い接種率を維持することが期待される。

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[16-21]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, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 小渕正次, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 58-61
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 (2011). 平成20年度感染症流行予測調査報告書, 80-106
3. 厚生労働省健康局結核感染症課長 (2005). 健感発第0530001号
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 富山県厚生部(2005). 保健統計年報 (平成15年度), 55, 306-307
10. 富山県厚生部(2006). 保健統計年報 (平成16年度), 56, 306-307
11. 富山県厚生部(2007). 保健統計年報 (平成17年度), 57, 304-305
12. 富山県厚生部(2008). 保健統計年報 (平成18年度), 58, 311-313

13. 富山県厚生部(2009). 保健統計年報(平成19年度), 59, 246-247
14. 富山県厚生部(2010). 保健統計年報(平成20年度), 60, 244-245
15. 富山県厚生部(2011). 保健統計年報(平成20年度), 61, 244-245
16. 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
17. 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
18. 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
19. 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
20. 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
21. 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

ポリオ流行予測調査（平成23年度）

板持(岩井) 雅恵 堀元 栄詞 小渕 正次 名古屋(小原) 真弓
馬渕 俊輔¹ 保科 瑛子¹ 大井 哲夫² 南部 厚子³
川越 久美子⁴ 星山 典江⁵ 関口 健治⁶ 滝澤 剛則

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2011

Masae IWAI-ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Mayumi
OBARA-NAGOYA, Syunsuke MABUCHI¹, Eiko HOSHINA¹, Tetsuo OOI²,
Atsuko NANBU³, Kumiko KAWAGOSHI⁴, Norie HOSHIYAMA⁵, Kenji SEKIGUCHI⁶,
and Takenori TAKIZAWA

要 旨 平成23年度ポリオ流行予測調査として、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査は、0歳から6歳までの健康な乳幼児61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、パレコウイルス1型が2名から、コクサッキーウイルス B4型が1名から検出された。

感受性調査は、乳児から成人（0歳～76歳）の366名の血清について、ポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対して4倍以上の中和抗体価を保有する割合は、1型では94.0%、2型では96.7%、3型では70.0%であった。また、各型に対する幾何平均抗体価は、1型は164.6倍、2型は111.6倍、3型は28.1倍であった。

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の間を伝播する。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2012年2月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、ナイジェリア、パキスタンの3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、流行地からの野生株ポリオウイルスの輸入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、流行地からの野生株の侵入や 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

症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。調査内容は健康な乳幼児の糞便についてポリオウイルスの検索を行う「感染源調査」と、県民のポリオウイルスに対する中和抗体保有状況を調べる「感受性調査」である。本稿では両調査結果を合わせて報告する。

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。

I 感染源調査 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23年9月、または平成24年1月に、小矢部市、黒部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11名、2歳児19名、3歳児4名、4歳児17名、5歳児10名の計61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

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

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 0.45 μm）でろ過して雑菌を除いた。得られたろ液を4～5種類の培養細胞（VeroE6, MA104, RD-18S, HEp-2, Caco-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、抗ポリオウイルス抗血清（デンカ生研）を用いた中和試験により同定した。

結果および考察

乳幼児61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0歳児2名から、コクサッキーウイルス B4型が0歳児1名からそれぞれ検出された。当該地区のワクチン接種率は、小矢部市が春期91.6%、秋期94.6%、黒部市が春期73.1%、秋期75.2%であった。

また、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。これらのことから、県内におけるポリオウイルス野生株や VDPV の地域伝播の可能性は低いと考えられた。

Ⅱ 感受性調査 調査方法

平成23年6月から9月にかけて、高岡、新川、中部、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、乳児から成人まで合計299名（0～85歳）について、採血と予防接種歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「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、被験血清を

Eagle-MEM 培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μl を96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μl となるように調製した1～3型の弱毒セービンウイルス 50 μl を加えてよく混和し、37℃、3時間の中和反応を行った。中和後、Vero 細胞浮遊液（1～2×10⁵細胞/ml）を100 μl ずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2回ずつ測定した。弱毒セービンウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所において VeroE6細胞で1代継代後、さらに Vero 細胞で1代継代したものを使用した。

結果および考察

表2にポリオウイルス（セービン株）に対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況を示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が96.7%（289/299）で最も高く、次いで1型が94.0%（281/299）、3型が70.0%（209/299）であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は1、2型については高く維持されていると考えられた。各年齢区分をみると、1型では35～39歳が82.4%で最も低く、次いで30～34歳が83.3%、40～49歳が87.0%、0～1歳が87.9%であったが、それ以外の年齢区分では、90%以上の人抗体を保有していた。2型では、0～1歳が78.8%であったが、それ以外の年齢区分では、90%以上の抗体保有率であった。一方、3型は0～1歳が36.3%と最も低く、次いで25～29歳が50.0%、10～14歳が56.5%、35～39歳が64.7%、40～49歳が65.2%、20～24歳が66.7%であり、1型や2型に比べて低かった。1型、2型に比べて3型の抗体保有率が低いのは、全国の調査でも同様である[5]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、1型では35～39歳の33.6倍から2～3歳の743.6倍までを示し、平

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	(%)	パレコ1	コクサッキー B4
小矢部市	0	11	3	(27.3)	2	1
	2	19				
	3	4				
黒部市	4	17				
	5	10				
合計		61	3	(4.9)	2	1

糞便検体採取日： 小矢部市、平成23年9月15日；黒部市、平成24年1月24-26日。

表2. ポリオウイルス（セービン株）に対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況

1型		各中和抗体価の保有者数											抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
(歳)	(人)														
0～1	33	4	2	2	1	2	1	0	1	0	20	29	(87.9)	295.5	
2～3	27	1	0	0	0	1	0	1	1	2	21	26	(96.3)	743.6	
4～9	32	0	0	2	0	1	1	3	7	8	10	32	(100)	317.9	
10～14	23	0	0	1	2	2	1	0	4	9	4	23	(100)	226.9	
15～19	25	1	2	0	0	1	1	6	5	6	3	24	(96.0)	186.3	
20～24	27	0	0	1	1	5	1	6	5	3	5	27	(100)	157.2	
25～29	24	1	1	0	4	2	4	5	2	3	2	23	(95.8)	91.9	
30～34	18	3	2	0	0	5	2	1	1	1	3	15	(83.3)	80.6	
35～39	17	3	3	2	1	1	2	3	1	1	0	14	(82.4)	33.6	
40～49	23	3	1	2	2	3	0	5	3	2	2	20	(87.0)	84.4	
50～59	22	1	2	1	5	0	2	4	6	0	1	21	(95.5)	61.9	
60～	28	1	1	4	0	2	2	4	5	4	5	27	(96.4)	131.3	
合計	299	18	14	15	16	25	17	38	41	39	76	281	(94.0)	164.6	
(%)		(6.0)	(4.7)	(5.0)	(5.3)	(8.4)	(5.7)	(12.7)	(13.7)	(13.0)	(25.4)	(94.0)			

2型		各中和抗体価の保有者数											抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
(歳)	(人)														
0～1	33	7	1	0	0	0	0	1	2	6	16	26	(78.8)	585.0	
2～3	27	0	0	0	1	1	0	3	5	9	8	27	(100)	376.3	
4～9	32	0	0	0	0	3	3	10	8	2	6	32	(100)	201.7	
10～14	23	0	0	1	1	1	4	9	5	2	0	23	(100)	113.5	
15～19	25	0	1	3	1	6	6	1	3	4	0	25	(100)	60.5	
20～24	27	0	1	1	2	8	6	6	1	1	1	27	(100)	57.8	
25～29	24	0	0	2	1	3	3	8	5	2	0	24	(100)	93.2	
30～34	18	0	0	1	1	6	1	6	3	0	0	18	(100)	66.5	
35～39	17	1	1	1	3	1	2	3	2	2	1	16	(94.1)	72.9	
40～49	23	0	0	1	5	2	5	5	2	2	1	23	(100)	72.2	
50～59	22	1	2	3	3	1	4	4	2	1	1	21	(95.5)	47.6	
60～	28	1	0	5	7	1	3	1	1	7	2	27	(96.4)	67.4	
合計	299	10	6	18	25	33	37	57	39	38	36	289	(96.7)	111.6	
(%)		(3.3)	(2.0)	(6.0)	(8.4)	(11.0)	(12.4)	(19.1)	(13.0)	(12.7)	(12.0)	(96.7)			

3型		各中和抗体価の保有者数											抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数														
(歳)	(人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
0～1	33	21	1	1	1	2	0	2	0	2	3	12	(36.3)	107.6	
2～3	27	4	1	2	2	4	4	6	1	2	1	23	(85.2)	64.0	
4～9	32	5	5	5	6	3	2	4	1	1	0	27	(84.4)	22.3	
10～14	23	10	2	3	2	1	2	3	0	0	0	13	(56.5)	23.2	
15～19	25	6	7	4	3	2	2	0	1	0	0	19	(76.0)	12.0	
20～24	27	9	4	4	5	2	1	1	1	0	0	18	(66.7)	15.4	
25～29	24	12	3	1	3	4	1	0	0	0	0	12	(50.0)	15.1	
30～34	18	5	2	5	3	1	1	0	1	0	0	13	(72.2)	14.4	
35～39	17	6	4	4	1	1	0	0	0	1	0	11	(64.7)	11.0	
40～49	23	8	1	1	4	4	2	1	1	0	1	15	(65.2)	36.8	
50～59	22	2	2	1	4	2	5	2	4	0	0	20	(90.9)	43.7	
60～	28	2	0	3	3	6	7	4	2	1	0	26	(92.9)	49.0	
合計	299	90	32	34	37	32	27	23	12	7	5	209	(70.0)	28.1	
(%)		(30.1)	(10.7)	(11.4)	(12.4)	(10.7)	(9.0)	(7.7)	(4.0)	(2.3)	(1.7)	(70.0)			

表 3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明					
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	33	12 / 12	(100)	11 / 11	(100)	2 / 2	(100)	4 / 8	(50.0)		
2～3	27	24 / 24	(100)	1 / 2	(50.0)	1 / 1	(100)				
4～9	32	28 / 28	(100)			4 / 4	(100)				
10～14	23	20 / 20	(100)			3 / 3	(100)				
15～19	25	23 / 24	(95.8)	1 / 1	(100)						
20～24	27	8 / 8	(100)			3 / 3	(100)			16 / 16	(100)
25～29	24	1 / 1	(100)			2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	19 / 20	(95.0)
30～34	18					3 / 3	(100)	2 / 3	(66.7)	10 / 12	(83.3)
35～39	17					2 / 2	(100)			12 / 15	(80.0)
40～49	23	1 / 1	(100)			8 / 8	(100)	1 / 3	(33.3)	10 / 11	(90.9)
50～59	22					3 / 3	(100)	1 / 1	(100)	17 / 18	(94.4)
60～	28					1 / 1	(100)	3 / 3	(100)	23 / 24	(95.8)
合計	299	117 / 118	(99.2)	13 / 14	(92.9)	32 / 32	(100)	12 / 19	(63.2)	107 / 116	(92.2)
		162/164 (98.8%)									
2型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明					
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	33	12 / 12	(100)	10 / 11	(90.9)	2 / 2	(100)	2 / 8	(25.0)		
2～3	27	24 / 24	(100)	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)				
4～9	32	28 / 28	(100)			4 / 4	(100)				
10～14	23	20 / 20	(100)			3 / 3	(100)				
15～19	25	24 / 24	(100)	1 / 1	(100)						
20～24	27	8 / 8	(100)			3 / 3	(100)			16 / 16	(100)
25～29	24	1 / 1	(100)			2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	20 / 20	(100)
30～34	18					3 / 3	(100)	3 / 3	(100)	12 / 12	(100)
35～39	17					2 / 2	(100)			14 / 15	(93.3)
40～49	23	1 / 1	(100)			8 / 8	(100)	3 / 3	(100)	11 / 11	(100)
50～59	22					3 / 3	(100)	1 / 1	(100)	17 / 18	(94.4)
60～	28					1 / 1	(100)	3 / 3	(100)	23 / 24	(95.8)
合計	299	118 / 118	(100)	13 / 14	(92.9)	32 / 32	(100)	13 / 19	(68.4)	113 / 116	(97.4)
		163/164 (99.4%)									
3型											
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		2回接種		1回接種		回数不明					
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	33	9 / 12	(75.0)	2 / 11	(18.2)	1 / 2	(50.0)	0 / 8	(0)		
2～3	27	22 / 24	(91.7)	0 / 2	(0)	1 / 1	(100)				
4～9	32	24 / 28	(85.7)			3 / 4	(75.0)				
10～14	23	12 / 20	(60.0)			1 / 3	(33.3)				
15～19	25	18 / 24	(75.0)	1 / 1	(100)						
20～24	27	7 / 8	(87.5)			2 / 3	(66.7)			9 / 16	(56.3)
25～29	24	1 / 1	(100)			1 / 2	(50.0)	0 / 1	(0)	10 / 20	(50.0)
30～34	18					3 / 3	(100)	2 / 3	(66.7)	8 / 12	(66.7)
35～39	17					2 / 2	(100)			9 / 15	(60.0)
40～49	23	1 / 1	(100)			7 / 8	(87.5)	1 / 3	(33.3)	6 / 11	(54.5)
50～59	22					3 / 3	(100)	0 / 1	(0)	17 / 18	(94.4)
60～	28					1 / 1	(100)	3 / 3	(100)	22 / 24	(91.7)
合計	299	94 / 118	(80.0)	3 / 14	(21.4)	25 / 32	(78.1)	6 / 19	(31.6)	81 / 116	(69.8)
		122/164 (74.4%)									

表 4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 ともに 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数						
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	1,2,3型(%)
0～1	33	2	5	2	0	12	0	0	12 (36.4)
2～3	27	0	0	1	0	3	0	0	23 (85.2)
4～9	32	0	0	0	0	5	0	0	27 (84.4)
10～14	23	0	0	0	0	10	0	0	13 (56.5)
15～19	25	0	0	0	0	6	1	0	18 (72.0)
20～24	27	0	0	0	0	9	0	0	18 (66.7)
25～29	24	0	0	1	0	11	0	0	12 (50.0)
30～34	18	0	0	3	0	2	0	0	13 (72.2)
35～39	17	0	1	2	0	3	1	0	10 (58.8)
40～49	23	0	0	2	0	6	1	0	14 (60.9)
50～59	22	0	0	0	0	2	1	1	18 (81.8)
60～	28	0	1	0	0	1	1	0	25 (89.3)
合計	299	2	7	11	0	70	5	1	203
(%)	(100)	(0.7)	(2.3)	(3.7)	(0)	(23.4)	(1.7)	(0.3)	(67.9)

均は164.6倍であった。2型では50～59歳の47.6倍から0～1歳の585.0倍までを示し、平均は111.6倍であった。一方、3型では35～39歳の11.0倍から0～1歳の107.6倍までを示し、平均は28.1倍であり、1型や2型と比べて低かった。

表3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ポリオ生ワクチンは、1961年に全国の乳幼児を対象に一斉に接種が開始され、1963年からは2回接種が定期的に行われている[6]。1型及び2型では1回の接種でともに92.9% (13/14)、2回の接種でそれぞれ99.2% (117/118) 及び100% (118/118) と抗体保有率が上昇した。一方、3型の場合の抗体保有率は、1回の接種で21.4% (3/14)、2回の接種で80.0% (94/118) であった。ポリオの弱毒生ワクチンは1型、2型、3型の3種類のウイルスを同時に接種するため、ウイルスの干渉作用により、2型に比べ1型、さらに3型のポリオウイルスに対する免疫が得られにくいことが報告されている[7,8]。一方、ワクチン接種を重ねるに従い3型のポリオウイルスに対する中和抗体保有率が上昇し、3回以上の接種で100%近くなることも報告されている [9]。

表4に1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では67.9% (203/299) であったが、0～1歳と25～29歳がそれぞれ36.4% (12/33)、50.0% (12/29) と比較的低い値を示した。中和抗体を保有していない人は、家族に生ワクチンの接種を受けた乳幼児がいる場合や海外渡航等の場合は、ポリオウイルスに感染しないように注意

が必要である。

野生型ポリオウイルスは、アフガニスタン、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、日本へウイルスが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]。一方、日本では2012年9月からポリオワクチン接種体制が、生ワクチンから不活化ワクチンへ移行される予定である。世界では欧米各国をはじめ多くの国で既に不活化ワクチンが導入されているが、生ワクチンを使用している国も存在する[10, 11]。生ワクチン株が腸管内で増殖する過程で変異した毒性復帰株に由来する二次感染は、約789万回に1回発生するといわれている[12]。ポリオウイルスは通常、ワクチン接種後約1ヶ月間便中に排泄され、免疫不全者ではさらに長期間にわたることがある[13-16]。世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチンが使用されなくなるまでは、ウイルス感染や地域伝播を防ぐために、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

感染源調査：平成24年1月、平成23年9月に、健康な乳幼児61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。

感受性調査：0歳から85歳までの299名の血清について、ポリオウイルス（弱毒セービンウイルス）に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型94.0%、2型96.7%、3型70.0%であった。また、

抗体保有者の幾何平均抗体価は1型164.6倍, 2型111.6倍, 3型28.1倍を示した.

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 (2012). Weekly epidemiological record, 87, 189-200
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. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2009). 病原微生物検出情報, 30, 178-180
6. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001). 感染症発生動向調査週報, 3 (26), 8-11
7. Maladonado, YA., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997). J. Infect. Dis., 175, 545-553.
8. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩ら (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
9. Modlin, JF., Halsey, NA., Thoms, ML. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228-234
10. 清水博之 (2011). 日本臨床, 69, 1604-1608
11. WHO (2010). WHO vaccine-preventable disease monitoring system, 2010 global summary, 50-242
12. 日本ポリオ研究所, 日本薬局方・経口生ポリオワクチン (セービン) I・II・III 型混合添付文書.
13. WHO (2001). Polio Laboratory Manual, 13
14. Cherkasova EA, Korotkova EA, Yakovenko ML, et. al. (2002). J. Virol., 76, 6791-6799
15. Kew, O.M., Sutter, R.W., Nottay, B.K., et. al. (1998). J. Clin. Microbiol., 36, 2893-2899
16. Martin, J., Dunn, G., Hull, R., et. al. (2000). J. Virol., 74, 3001-301

インフルエンザ流行予測調査（平成23年度）

小渕 正次 堀元 栄詞 名古屋(小原) 真弓 板持(岩井) 雅恵 滝澤 剛則
大井 哲夫¹ 南部 厚子² 馬淵 俊輔³ 川越 久美子⁴ 星山 典江⁵ 関口 健治⁶

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2011-2012

Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA-NAGOYA,
Masae IWAI-ITAMOCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU²,
Shunsuke MABUCHI³, Kumiko KAWAGOSHI⁴, Norie HOSHIYAMA⁵
and Kenji SEKIGUCHI⁶

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299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、2011/12シーズンインフルエンザワクチン株の A/California/7/2009（H1N1）pdm09, A/Victoria/210/2009（H3N2）, B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）および参考株の B/Wisconsin/1/2010（山形系統）に対して各々46.5%, 84.9%, 93.6%, 4.7%であった。
2. インフルエンザ患者の報告は2011年第51週に定点当たり1.13になり、流行が始まった。2012年第3週から報告数は急増し、第6週にピークに達した後、徐々に減少し、第19週には流行が終息した。
3. インフルエンザウイルスは、AH3型が146株、B型が52株分離され、2種類のウイルスの混合流行となった。AH3型が流行の主流であったが、第11週以降はB型が分離株の大半を占めた。B型ウイルス分離株に占めるビクトリア系統株と山形系統株は、それぞれ28株、24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、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する注意を喚起するための資料とする。

調査および検査方法

1. 調査期間

2011年6～9月

2. 調査対象者数および年齢別構成

本年度は県内住民299名について調査を行った。年齢群別調査数は0～4歳：67名、5～9歳：25名、10～14歳：23名、15～19歳：25名、20～29歳：51名、30～39歳：35名、40～49歳：23名、50～59歳：22名、60歳以上：28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。このうち、1, 2, 3は2011/12シーズンのインフルエンザワクチン株である。

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

1. A/California/7/2009 (H1N1) pdm09
2. A/Victoria/210/2009 (H3N2)
3. B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)
4. B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)

抗原1, 2, 3についてはデンカ生研製, 4は国立感染症研究所(感染研)より配布されたものを使用した。血球は1, 3, 4の抗原に対して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倍の抗体保有状況およびHI 抗体価40倍以上の抗体保有率を年齢群別に示した(表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) pdm09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46.5%であった。年齢群別では、5～9歳, 10～14歳, 15～19歳の群ではそれぞれ72.0%, 69.6%, 92.0%と高く, 20～29歳, 40～49歳, 50～59歳の群でもそれぞれ49.0%, 47.8%, 50.0%と比較的高かった。30～39歳および60歳以上の群では31.4%, 28.6%と中程度であった。一方, 0～4歳の群では23.9%と比較的低かった。

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84.9%であった。年齢群別にみても71.6～100%で, いずれの年齢群においても高かった。

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, 抗原性および遺伝系統的に異なる2つの系統(ビクトリア系統と山形系統)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93.6%であった。年齢群別にみても前述の A/H3N2株に対する抗体保有率と同様に77.6～100%で, いずれの年齢群においても高かった。

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4.7%であった。年齢群別では15～19歳および20～29歳の群では12.0%, 13.7%と比較的低く, 50～59歳の群でも9.1%と低かった。一方, その他の年齢群ではいずれも極めて低く, 0～4歳, 5～9歳, 30～39歳,

40～49歳の各群では0%であった。

2. 予防接種率および予防接種歴別抗体保有状況

各年齢群における予防接種歴別抗体保有状況を表2に示す。調査対象者299名中, 予防接種歴不明の20名を除く279名におけるインフルエンザワクチン接種率(採血時に2010/11年シーズンのワクチン接種歴ありと回答した者)は48.7% (136名)であった。年齢群別の接種率は36.7 (20～29歳)～70.8 (60歳以上) %で, 各年齢群間で最大34.1ポイントの差がみられた。

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) pdm09で64.7%：29.4% (接種歴有群：接種歴無群, 以下同), A/Victoria/210/2009 (H3N2) で88.2%：80.4%, B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) で95.6%：91.6%, B/Wisconsin/1/2010 (山形系統) で5.9%：3.5%と全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して2.4～35.3ポイント高かった。

A/California/7/2009 (H1N1) pdm09に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は, 昨年度の調査と比較してどの年齢群においても高かった (昨年度：4.0～72.4%) [1]。これは, AH1N1pdm09が2シーズン続けて流行の主流になったことや, ワクチン接種の効果によるものと考えられた。しかし, 0～4歳の群は比較的低かった。AH3N2亜型およびB型ビクトリア系統に対する抗体保有率はどの年齢群においても高かった。一方, B型山形系統株に対する抗体保有率は低く, 特に0～4歳, 5～9歳, 30～39歳および40～49歳の群では0%であった。過去数シーズン, B型山形系統の流行がほとんどなかったことや, 同株が2009/10シーズン以降のワクチンには含まれないことなどから, 同ウイルスが流行した場合は患者数が増えることが懸念された。しかし, 2011/12シーズンの流行において山形系統はB型分離株の約半数にとどまった。

前シーズンの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, 0～4歳の年齢群においては他の年齢群よりも抗体保有率が低いことから注意が必要であると考えられた。

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, 流行株の性状を分析することにより, 流行の拡大規模や次シーズンの流行の傾向を予測し, インフルエンザの予防につなげることを目的として本調査を行った。

平成24年12月14日

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) pdm09

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	67	35	9	7	2	10	1	1	1	1	0	16	23.9
5-9	25	5	2	0	2	9	4	2	1	0	0	18	72.0
10-14	23	4	1	2	4	6	3	0	2	1	0	16	69.6
15-19	25	0	1	1	8	5	4	5	0	1	0	23	92.0
20-29	51	17	1	8	5	8	5	5	1	1	0	25	49.0
30-39	35	18	1	5	7	2	1	1	0	0	0	11	31.4
40-49	23	7	2	3	3	4	1	3	0	0	0	11	47.8
50-59	22	5	2	4	4	4	2	1	0	0	0	11	50.0
≥60	28	10	8	2	8	0	0	0	0	0	0	8	28.6
合計	299	101	27	32	43	48	21	18	5	4	0	139	46.5

A/Victoria/210/2009 (H3N2)

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	67	2	4	13	36	11	1	0	0	0	0	48	71.6
5-9	25	1	3	3	8	6	3	1	0	0	0	18	72.0
10-14	23	1	1	2	7	11	1	0	0	0	0	19	82.6
15-19	25	0	0	1	10	10	3	1	0	0	0	24	96.0
20-29	51	0	0	5	8	25	11	2	0	0	0	46	90.2
30-39	35	0	0	3	14	14	4	0	0	0	0	32	91.4
40-49	23	0	0	0	10	10	3	0	0	0	0	23	100.0
50-59	22	0	1	3	5	9	3	1	0	0	0	18	81.8
≥60	28	0	0	2	12	10	3	1	0	0	0	26	92.9
合計	299	4	9	32	110	106	32	6	0	0	0	254	84.9

B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)

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	67	0	1	14	24	20	8	0	0	0	0	52	77.6
5-9	25	0	0	1	8	12	3	1	0	0	0	24	96.0
10-14	23	0	0	0	3	12	8	0	0	0	0	23	100.0
15-19	25	0	0	0	4	16	4	1	0	0	0	25	100.0
20-29	51	0	0	0	20	25	6	0	0	0	0	51	100.0
30-39	35	0	0	0	10	20	5	0	0	0	0	35	100.0
40-49	23	0	0	0	6	14	3	0	0	0	0	23	100.0
50-59	22	0	1	0	4	11	6	0	0	0	0	21	95.5
≥60	28	0	0	2	10	10	4	2	0	0	0	26	92.9
合計	299	0	2	17	89	140	47	4	0	0	0	280	93.6

B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)

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	67	53	12	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	25	12	8	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
10-14	23	7	9	6	1	0	0	0	0	0	0	1	4.3
15-19	25	2	4	16	3	0	0	0	0	0	0	3	12.0
20-29	51	10	18	16	6	1	0	0	0	0	0	7	13.7
30-39	35	13	18	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
40-49	23	4	13	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
50-59	22	8	9	3	2	0	0	0	0	0	0	2	9.1
≥60	28	20	5	2	1	0	0	0	0	0	0	1	3.6
合計	299	129	96	60	13	1	0	0	0	0	0	14	4.7

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) pdm09		A/Victoria/210/2009 (H3N2)		B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統)		B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)	
予防接種		有	無	有	無	有	無	有	無
年齢区分	0-4	29.2%	21.6%	83.3%	62.2%	75.0%	75.7%	0.0%	0.0%
	5-9	71.4%	75.0%	64.3%	75.0%	100.0%	87.5%	0.0%	0.0%
	10-14	81.8%	50.0%	81.8%	80.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
	15-19	100.0%	77.8%	92.9%	100.0%	100.0%	100.0%	14.3%	11.1%
	20-29	83.3%	32.3%	94.4%	87.1%	100.0%	100.0%	27.8%	6.5%
	30-39	64.3%	9.5%	100.0%	85.7%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
	40-49	83.3%	9.1%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	0.0%
	50-59	66.7%	33.3%	83.3%	77.8%	100.0%	88.9%	8.3%	11.1%
	≥60	35.3%	0.0%	94.1%	85.7%	100.0%	85.7%	0.0%	14.3%
平均		64.7%	29.4%	88.2%	80.4%	95.6%	91.6%	5.9%	3.5%

調査および検査方法

1. 調査期間

2011年10月～2012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。一部、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、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/California/7/2009 (H1N1) pdm09血清
 2. 抗 A/Victoria/210/2009 (H3N2) 血清
 3. 抗 B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) 血清
 4. 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。

結果および考察

1. インフルエンザ患者の報告数

富山県感染症発生動向調査によると、2011/12シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は2011年第39週（9/26～10/2）であった。散発流行の後、第51週（12/19～25）には定点あたり1.13人となり、流行が始まった。2012年第3週（1/16～22）から患者

報告数が急増し、第6週（2/6～12）にピークに達した（37.33人/定点）。その後徐々に減少し、第19週（5/7～13）には0.58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、2012年第3週から5月14日（第20週）までに延べ206施設でとられた。シーズン中の累積患者数は4148名であった。

2. インフルエンザウイルスの検出・分離

2011年10月～2012年5月までに、定点および定点外医療機関で採取された213検体についてインフルエンザウイルスの分離・遺伝子検出を試みた。成績を表3に示す。

ウイルスの型・亜型別では、AH3型が146株（73.7%）、B型が52株（26.3%）の合計198株が分離された。AH3型が流行の主流であったが、第11週（3/12～18）以降はB型が分離株の大半を占めた。一方、AH1型（ソ連型）およびAH1pdm09型は全く検出されなかった。

HI 試験による分離株の抗原性解析の結果を表 4に示す。抗 A/Victoria/210/2009 (H3N2) 血清に対する AH3分離株の HI 価は、80～2560（ホモ価1280～2560）であった。146株中134株はホモ価から4倍以内におさまリ、分離株のほとんどがワクチン株類似の抗原性であった。B型分離株では、ビクトリア系統が28株、山形系統が24株分離され、前シーズンと比べて山形系統株の割合が増えた。抗 B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) 血清に対する B型ビクトリア系統株の HI 価は、320～1280（ホモ価1280～5120）で、1株以外はワクチン株類似であった。抗B/Bangladesh/3333/2007 (山形系統) 血清に対する B型山形系統株の HI 価は、320～1280（ホモ価640～2560）で、い

表 3. 施設別インフルエンザウイルス検出・分離数

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	2012.1.6～ 2012.2.11	12	12	0	10	2
中部	池田内科医院	定 点	2011.12.22～ 2012.4.3	9	9	0	6	3
高岡	小栗小児科医院	定 点	2011.10.18～ 2012.4.23	27	27	0	20	7
高岡	パスコこどもクリニック	定 点	2011.12.25～ 2012.5.5	29	27	0	19	8
砺波	力耕会 金井病院	定 点	2011.12.9～ 2012.4.23	63	61	0	45	16
砺波	柳下小児科内科医院	定 点	2011.12.19～ 2012.4.18	15	9	0	6	3
砺波	住田小児科医院	定点外	2011.12.22	1	1	0	1	0
富山市	中島こどもクリニック	定 点	2012.2.3～ 2012.4.16	11	11	0	9	2
富山市	むらかみ小児科アレルギー クリニック	定 点	2011.12.6～ 2012.5.8	44	39	0	29	10
砺波	砺波総合病院	定点外	2011.12.1～ 2011.12.13	2	2	0	1	1
合計				213	198	0	146	52

表 4. インフルエンザウイルス分離株の抗原性

標準抗血清ホモ価からのずれ	AH3分離株	B型分離株	
		ビクトリア系統	山形系統
≤2倍	52	12	20
4倍	82	15	4
≥8倍	12	1	0
合計	146	28	24

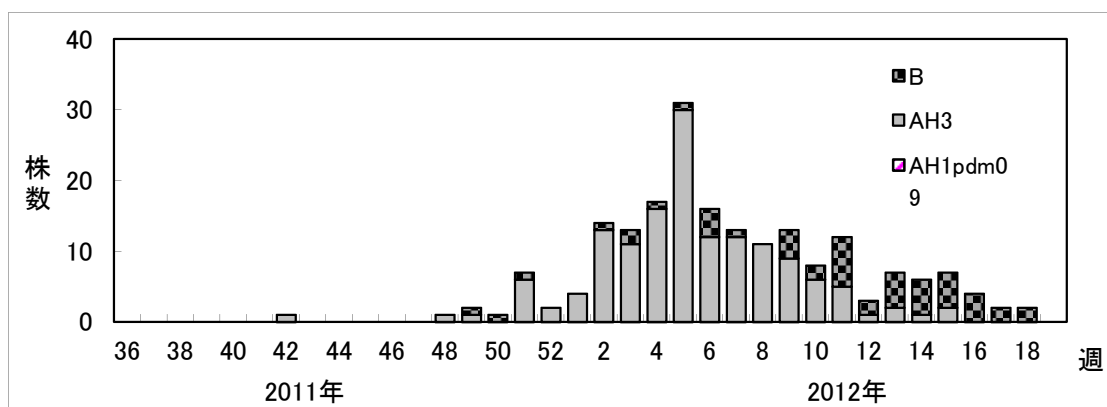


図 1. 週別・型別インフルエンザウイルス検出・分離数

ずれも3シーズン前のワクチン株類と類似の抗原性であった。

2011/12シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行期間や流行規模は前シーズンとほぼ同様であった。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、シーズンを通してA型が大勢を占めた[2]。B型の報告数は3月以降徐々に増加し、第14週にはA型を上回ったが、大きな流行には至らなかった[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、立ち上がりが若干遅かったもののほぼ同様なパターンであった[2]。

分離株の抗原解析の結果、AH3型および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。しかし、HA遺伝子の系統樹解析では、AH3型分離株はワクチン株とは全く別のクレードに分類された（データ未提示）。また、シーズン前半に、前シーズンほとんど分離されなかったB型山形系統株が多く検出された。国内外でも同様の傾向が見られたことから、わが国の2012/13シーズンのワクチン製造株はAH3型とB型が変更された[3]。一方で、シーズン後半にはB型ビクトリア系統株も多く分離され、B型の半数以上を占めた。したがって、来シーズンのB型ウイルスの動向には注意が必要であると考えられる。

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ならびに砺波総合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. 堀元栄詞, 小淵正次, 小原真弓, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 關口健治 (2011) 富山県衛生研究所年報. 33, 65-73.
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 (2012). 病原微生物検出情報
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrd/2028-kj3881.html>

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について（2011年度）

名古屋(小原) 真弓 森岡 誠二¹ 小渕 正次 板持(岩井) 雅恵
小渕 正次 滝澤 剛則

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2011

Mayumi OBARA-NAGOYA, Seiji MORIOKA¹, Eiji HORIMOTO,
Masae IWAI-ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA

要 旨 2011年4月から2012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。また、岩ガキを対象にノロウイルス（NoV）の検出を行った。

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18事例からウイルスが検出された。3月の発生が多い一方、11～1月の発生が例年より少なく、全体の発生数は例年並みとなった。原因と推定されたウイルスの内訳は、NoV Genogroup（G）IIが16事例、NoVGIとGIIの混合が1事例、サポウイルスが1事例であった。食品を介した感染では、県外でカキの喫食による発生が1事例あった。カキと関連のない8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。体育施設、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ウイルスが伝播したと考えられた。岩ガキ18検体中、5月、6月の2検体から NoV GII.2が検出された。

NoV の遺伝子型は、集団発生では GII.4、散発例では GII.3が最も多かった。また、2011年6月には、集団発生、散発例、岩ガキの全てで GII.2が検出された。GII.4の亜型は2006b と2009a とが検出され、近年主な流行を担っていた2006b から徐々に2009a 亜型に置き換わりつつある傾向を示した。

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、患者数が最も多い。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 $10^3 \sim 10^6$ 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[1,12-16]、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。また、NoV の感染リスクを把握するため、岩ガキの調査を実施した。

材料と方法

1. 集団発生事例

2011年4月～2012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. 平成23年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

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	2011年 6月	家庭内	5	NoV	GⅡ.2	ヒトーヒト
2	10月	旅館(県外)	2	NoV	GⅡ.12	食品(カキフライ) *
		(富山市分のみ)		(他県では GⅠ.14も)		
3	12月	老人保健施設	20	NoV	GⅡ.4	ヒトーヒト
4	12月	飲食店(有症苦情)	7	NoV	GⅡ.12	不明
5	12月	海外帰国者	7	NoV	GⅡ.4	不明
6	1月	飲食店	14	NoV	GⅡ.4	食品
7	2月	飲食店	37	NoV	GⅡ.4	食品
8	3月	飲食店	6	NoV	GⅡ.4	食品
9	3月	保育所	24	NoV	GⅡ.13	不明
10	3月	ホテル(有症苦情)	18	NoV	GⅡ.4	不明 **
11	3月	仕出し	40	NoV	GⅡ.2	食品
12	3月	保育所	62	NoV	GⅡ.2	食品
13	3月	体育施設	51以上	NoV	GⅡ.6	ヒトーヒト
14	3月	飲食店(有症苦情)	7	NoV	GⅡ.13	不明
15	3月	飲食店	18	SaV	GⅠ	食品
16	3月	飲食店	7	NoV	GⅡ.4	食品
17	3月	飲食店(県外)	7	NoV	GⅡ.6	食品 *
18	3月	体育施設	15	NoV	GⅡ.13	ヒトーヒト *

* 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

2011年4月～2012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. 岩ガキ

2011年4月から6月までの毎月2回、富山県の3漁港で採取した岩ガキ54個を用いた。

4. ウイルスの検出

NoV の検出は、厚生労働省通知[17]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。岩ガキは同一ロット3個分の中腸腺を1検体として10%乳剤にし、 α -アミラーゼを加えて37℃1時間消化したのち、遠心上清を PEG 沈殿法にて濃縮した。RNA 抽出、リアルタイム PCR 法はヒト検体と同様に行った。PCR は nested 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[18]。PCR 産物は、ダイレクトシーケ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

2011年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生24事例のうち、15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た計18事例の概要を表1に示す。原因ウイルスの内訳は NoVGⅡ が16事例、NoVGⅠ と GⅡ の混合が1事例、SaV が1事例であった。NoV の型別は、GⅡ.4が7事例と最も多く、次いで GⅡ.2及び GⅡ.13がそれぞれ3事例、GⅡ.6及び GⅡ.12がそれぞれ2事例となっていた。カキの喫食に関連した事例が1件（事例 No.2）あり、複数種類の NoV が検出された。その他の食品が原因と疑われた事例は8件あった。

2. 施設別発生事例数（図1）

施設別の発生数は、多い順に飲食店による発生が9事例、宿泊施設、体育施設、保育所が各2事例であった。平成23年度は前年度[16]に比べ老人ホーム等の発生が少なかった。

3. 月別発生事例数（図2）

月別では、3月の発生が例年より多く、その原因は様々な遺伝子型であった。一方、例年発生の多い

11～1月は少なかった。結果として全体の発生数は例年並みであった。

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[19]。最も多かったのは GII.3型であり, その他 GII.4や GII.2等が検出された。NoV 陽性検体数が全体として少ないものの, GII.4が多かった例年[1,15]とは異なっていた。

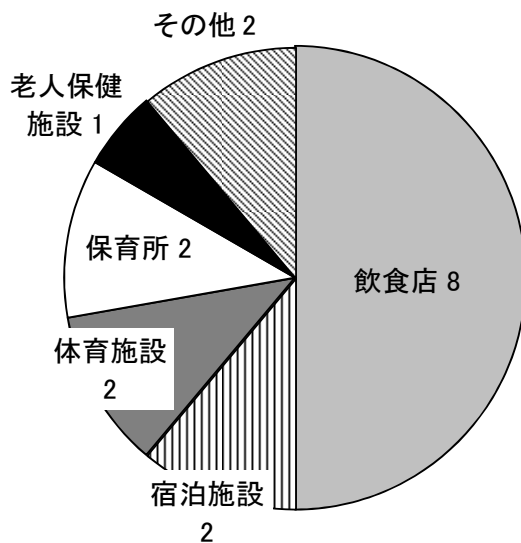


図 1. 集団発生事例の施設別発生数
その他には海外帰国者、家庭内を含む

また, GII.3型が検出されなかった集団発生事例の状況 (表1) とも異なっていた。

5. 岩ガキからの NoV 検出

岩ガキは, 5月と6月の計2検体から NoV GII.2が検出された。今回, 富山県産の岩ガキから NoV が検出された。岩ガキの出荷時期は春から夏であり, NoV の流行時期である冬とはずれているものの, NoV を蓄積していることが確認された。また, 岩ガキは真ガキよりも生で食べることが多い食材である。2011年に県内で岩ガキによる食中毒事例は報告

表 2. 平成23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				計
	GIⅡ.2	GIⅡ.3	GIⅡ.4	GI型不明 (のべ数)	
2011年 4月					0
5月					0
6月	2				2
7月					0
8月					0
9月					0
10月					0
11月					0
12月			1		1
2012年 1月		2*	1	1*	4
2月		1			1
3月					0
計	2	3	2	1	8

**1件は GI 型不明と GII.3の混合感染

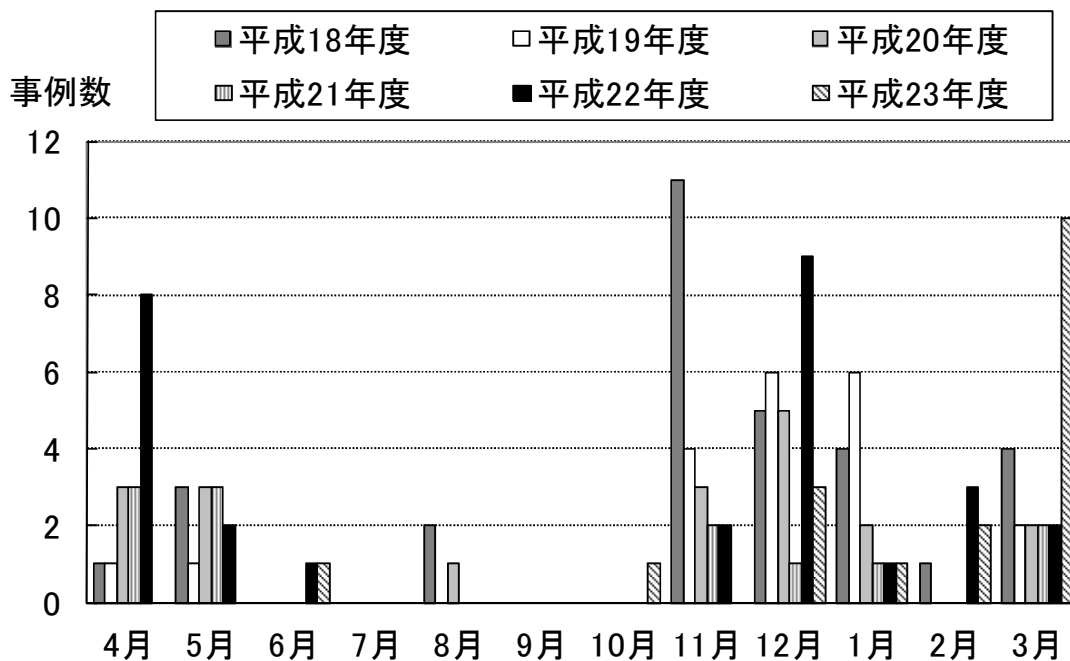


図 2. 年度ごとの月別発生数

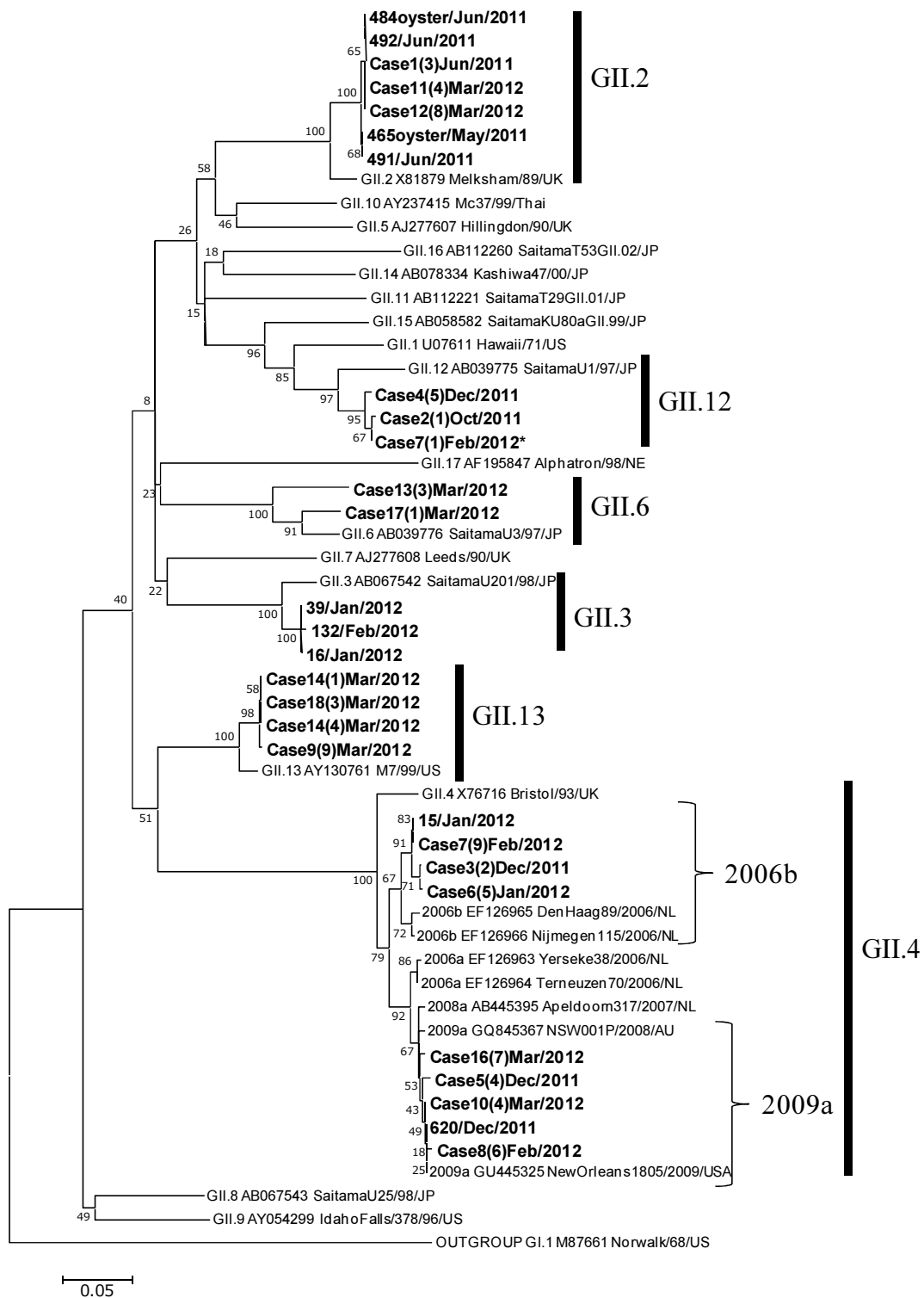


図3. 平成23年度に得られたノロウイルスの系統樹

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。

*Case7(1)Feb/2012は発生施設の従業員からのみ検出された。

がなかったが、岩ガキの生食には感染リスクが伴うことが改めて示唆された。

6. 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。6 月には集団発生事例、散発例、岩ガキの全てから GII.2 が検出され、この時期に GII.2 が流行していたと考えられた。

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15事例あり、このうち事例番号14では、302塩基中1塩基異なる配列を示す検体が1検体存在した。こ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14事例では、得られた NoV の塩基配列は100%一致していた。

II.4 の株は、2006 年の大流行の主な原因であった 2006b 亜型[20] に近縁な株と、2009a 亜型 (参考株: New Orleans1805/2009/USA, accession no. GU445325) に近縁の株とに分けられた。これは 2006b が大部分を占めていた 22 年度の結果[16] と異なっていた。すなわち、II.4 は近年主な流行を担っていた 2006b から徐々に 2009a 亜型に置き換わりつつある傾向を示した。

2011 年 4 月から 2012 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、18 事例からウイルスが検出された。例年と比べ 3 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 17 事例 (1 事例は GI との混合) と最も多かった。

食品を介した感染では、カキの喫食による発生が 1 件、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 8 件あった。体育施設、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、各遺伝子型や亜型の流行状況がわかった。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。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班: 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., Ohya, T. (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
5. Katayama, K., Sirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushima, 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. I., 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. 小原真弓, 森岡誠二, 小淵正次, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則 (2011). 富山衛研年報, 34, 74-79

17. 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.
18. Okada, M., Shinozaki, K., Ogawa, T., Kaiho, I. (2002). Arch. Virol., 147, 1445-1451
19. 板持(岩井)雅恵, 名古屋(小原)真弓, 小渕正次, 堀元栄詞, 滝澤剛則 (2012). 富山衛研年報, 35, 117-119
20. 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

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 嶋 智子
木全 恵子 綿引 正則 佐多 徹太郎

Isolation of *Legionella* Species from
Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2011

Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Tomoko SHIMA,
Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

要 旨 2011年9～12月に富山県内の14施設から採取した浴用水45件について、*Legionella* 属菌による汚染実態調査を実施した。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23/45件（51.1%）と LAMP 法で高かった。
2. *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たが、残留塩素濃度 1.0 mg/L 以上の6検体中、2浴用水から *Legionella* 属菌（20および30 cfu/100ml）が分離された。また、*Legionella* 属菌の検出率と換水頻度との関連性は明らかではなかった。
3. *Legionella* 属菌が分離された15浴用水100ml あたりの *Legionella* 属菌数は10～2,655cfu、15件の平均は658 cfu であった。
4. 分離された *Legionella* 属菌の血清型は、*L. pneumophila* SG1（9検体）、SG3, SG5（各5検体）が多かった。

Legionella 属菌は土壌や淡水などの自然環境に棲息する細菌であるが、近年では冷却塔、加湿器、循環式浴場など、人工的な水環境にも生息域を広げている。*Legionella* 属菌が、これらの環境から発生するエアロゾルや粉塵と一緒に吸入され、マクロファージの中で増殖し、ヒトに経気道感染（レジオネラ症）を起こすことが知られている。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感染症のひとつである。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であることが厚生労働省健康局生活衛生課「平成23年度生活衛生関係技術者担当者研修会」でも指摘されている。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、感染源として推定されることが多い浴用施設の *Legionella* 属菌による汚染実態を調査したので報告する。

材料と方法

1. 対象と材料

2011年9～12月に県内14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, 0.22 μ m, 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pH2.2の0.2M KCl - HCl（レジオネラ検体用前処理液：極東製薬工業）を等量加え、5分間静置して酸処理検体とし、1.0mlは未処理検体とした。これらの $\times 1$ 、 $\times 10$ 希釈した試料をGVPC 寒天培地（日研生物）に、酸処理検体は

200 μ l を、未処理検体は100 μ l をコンラージ棒で全面に塗布した。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 *Legionella* 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 BCYE α 寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離した。2日後に BCYE α 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100ml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1～10個の BCYE α 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（デシカ生研）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）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 を用い、濁度装置 LA320C で判定した。

結 果

1. 浴用水の管理状況

換水は毎日～1回/4～7週間の頻度で実施されており、1回/週が20件と最も多く、次いで2回/週が12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3施設7件（薬湯）、

0.4mg/L より高い濃度の浴用水が7施設13件、うち1.0mg/L 以上の浴用水が6件で、もっとも高い残塩濃度は2.0mg/Lであった。

2. 浴用水の泉種および泉質

浴用水45件の泉種の内訳は、温泉22/45（48.9%）、水道水を含む白湯20/45（44.4%）、薬湯3/45（6.7%）であった。これらの給湯方式について、3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%）で昨年と同様であった。これを泉種別にみると、温泉が8/22件（36.4%）、白湯5/20件（25.0%）、薬湯2/3件（66.7%）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23/45件（51.1%）で、泉種別にみると温泉が12/22件（54.5%）、白湯が9/20件（45.0%）、薬湯2/3件（66.7%）とすべてにおいて培養法に比べて高かった（表1）。培養法、LAMP 法いずれか一方、もしくは両法で陽性となった浴用水24件について、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）。LAMP 法は、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倉らの厚生科学研究 [8] により明らかになっているため、レジオネラ症防止指針に記載されている「10cfu/100ml」の基準値ではなく、遺伝子の増幅が認められた検体を陽性（定性）とした。培養法陽性、LAMP 法陰性という検体は1/24件（4.2%：表 No.2）だけで、昨年度の11/14件（78.6%）に比べ、きわめて低かった。この1検体は培養法での菌数が10cfu/100ml で、このように培養法での菌数が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、LAMP 法での結果が陽性とならない可能性が考えられた。

Legionella 属菌の検出率、菌数について、残塩濃度との関連性を図1、図2に示した。残塩濃度はレジオ

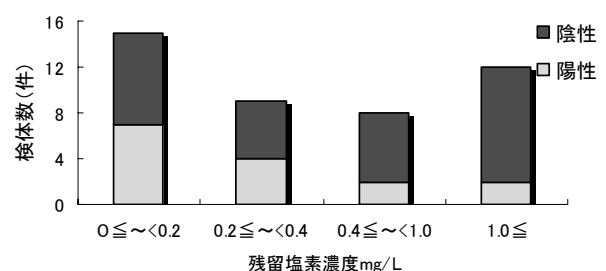


図1. 残留塩素濃度と *Legionella* 属菌数の検出率

表 1. 泉種別 *Legionella* 属菌検出率 (GVPC 培地)

	培養法(%)		LAMP 法(%)	
	10cfu/100ml 以上		定性	
温泉	8/22	(36.4)	12/22	(54.5)
白湯	5/20	(25.0)	9/20	(45.0)
薬湯	2/3	(66.7)	2/3	(66.7)
計	15/45	(33.3)	23/45	(51.1)

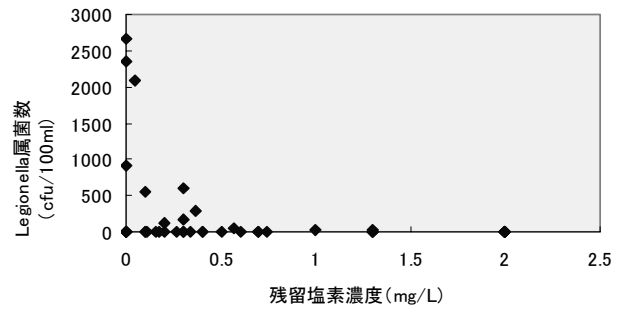


図 2. 残留塩素濃度と *Legionella* 属菌数

表2. *Legionella* 属菌が検出された浴用水における分離数と血清群 (2011年)

浴用水 No.	LAMP法 定性結果	培養結果 cfu/100ml	分離された <i>Legionella</i> 属菌の血清群				遊離残留 塩素濃度 (mg/L)
1	+	2655	SG1			SG9	0
2	-	10			SG3		<0.05
3	+	<10					0.1
4	+	10			SG3		0
5	+	2350	SG1				0
6	+	<10					0
7	+	<10					0
8	+	2100			SG3	SG10	0.05
9	+	545			SG3	SG10	0.1
10	+	<10					0.7
11	+	<10					0.7
12	+	920	SG1	SG2	SG4	SG5	0
13	+	30	SG1				1
14	+	20	SG1			SG9	1.3
15	+	<10					0.4
16	+	115	SG1		SG5	SG8	0.2
17	+	10		SG3			0.6
18	+	<10					0.27
19	+	<10					0.17
20	+	295	SG1		SG5		0.37
21	+	<10					0.34
22	+	160	SG1			SG6	0.3
23	+	595	SG1		SG5		0.3
24	+	55			SG5	SG10ミクダディ	0.57

ネラ症防止指針の中で望ましいとされる残塩濃度「0.2～0.4, 高くても1.0mg/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～<0.2mg/L で7/15 (46.7%), 0.2～<0.4mg/L で4/9 (44.4%), 0.4～<1.0mg/L で2/8 (25.0%), 1.0 mg/L 以上で2/12 (16.7%) で、残塩濃度が高いほど検出率が低かった。また、残塩濃度と検出された *Legionella* 菌数では、残塩濃度の低い浴用水で菌数が高い傾向が認められたものの (図2), 個々の施設で見ると、No12のように残塩濃度が1.3mg/L でも *Legionella* 属菌が分離されていることから (図1), 残塩濃度は十分条件ではないことが分かる。

4. *Legionella* 属菌数

Legionella 属菌が検出された浴用水で100ml あたりの菌数をもっとも多かったのは2,655 cfu/100ml,

換水した日に採水され、残塩濃度が0.0mg/mlであった。(表2 No.1)。この浴用水は、pHが8.3の弱アルカリ泉質で塩素効果が軽減されている可能性も考えられたが、同じ施設の他の浴用水では残塩濃度0.1mg/L が確認され、菌は検出されなかった。したがって、この菌数は管理方法の問題である可能性が高く、今後の監視が必要である。次いで菌数が多かったのは2,350, 2,100cfu/100mlで、これらはいずれも残塩濃度が0.0～0.05mg/L と低く、塩素による管理は不十分であったものと考えられた。

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10種類で、もっとも多い血清型は *L. pneumophila* SG1 (9検体), ついで *L. pneumophila* SG3と SG5 (5検体) の順に

多かった1検体からもっとも多い血清型（4種類）が認められた浴用水（表1 No.12）は、換水から3日目、残塩濃度は0.0mg/L、pH7.99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、2011年は26人/年はこの6年間でもっとも多かった〔図3〕。全国でみるとレジオネラ症の報告数は2008年がもっとも多かったが、2009年以降、再び増加傾向を示し、富山県と同様の状況にある。また、報告数が全国平均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。対人口10万人でみると、2.38で、全国でもっとも多いことが指摘されている〔9〕。2011年は、3割が温泉や循環式浴用水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。

今回の調査における浴用水45件の *Legionella* 属菌の検出率は15/45件（33.3%）で、他府県の報告〔10,11〕に比べ、決して高い状況ではない。したがって、感染源である浴用水の *Legionella* 属菌の検出状況だけでは、富山県の患者発生状況を説明することはできない。浴用水からの検出率だけではなく、発生するエアロゾルをいかに少なくするかということが肝要であろう。そのため、感染源となる可能性が高いと考えられる気泡発生装置についても設置状況を調査しているが（18/45浴用水、40.0%）、これらの使用を抑えるように指導していくことが重要である。2009年にシャワー水を感染源としたレジオネラ症について報告されていることから〔12〕、これらのリスクについても周知する必要がある。一方、衛生管理手法の一つである塩素消毒については、*Legionella* 属菌の検出率は残塩濃度と関連し、菌数は残塩濃度の高い浴用水では少ないなど、塩素消毒による衛生管理は有用であると思われる。また、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39.4%と報告しているが〔13〕、今回の調査の

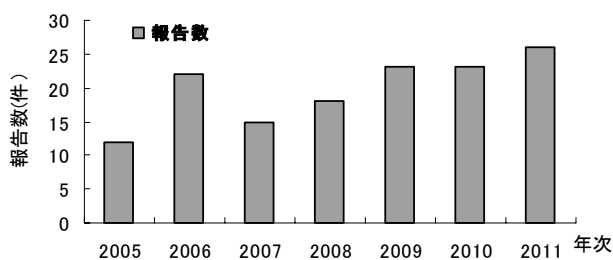


図3. 富山県におけるレジオネラ症報告数の年次推移（2004～2011）

Legionella 属菌の検出率より高く、換水という管理手法で衛生状態を保つのは難しいことを示している。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 *Legionella* 属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。一方、近年は遊離塩素に頼らない消毒法として、モノクロラミン消毒が検討され、効果的であることが報告されている〔14〕。この方法は塩素のような異臭がないため、浴用施設でも導入に抵抗がないことが予想される。

浴用水の *Legionella* 属菌検査において、迅速性を高めるために、遺伝子検査法を取り入れることは重要であるが、遺伝子検査法陰性の場合に注意しなければならない点として、PCR 阻害がある。とくに、温泉や地下水などを水源として利用する場合、泉質（たとえばフミン等）により、反応が阻害される場合が報告されている〔15〕。また、遺伝子法陽性、培養法陰性を示す浴用水は死菌の遺伝子が検出された可能性があり、今回の調査でも9/24件（37.5%）がLAMP法のみ陽性となった。これらの結果は遺伝子法の問題点を示している。加えて、遺伝子法には、検出できない *Legionella* 属菌があることも問題である。そのような菌種として、富山県の東部地区の浴用水からしばしば分離される *L.londiniensis* が挙げられる。したがって、検査に際しては必ず培養法による確認が必要であると思われる。しかし、近年、*L.londiniensis* を検出できるLAMP用のプライマー試薬が市販されるようになり、この菌種に関する問題は改善された。この *L.londiniensis* については、培養法でも7日間培養ではコロニーが小さく、見落とす危険性があることから、注意しなければならない。そして、この菌種は斜光法による観察でも3～4日では検出できないため、斜光法を取り入れたとしても7～10日培養後の平板の観察は必ず実施しなければならない。

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3～4割が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あり、いずれも感染源は特定されていない。その大きな理由のひとつが、患者から *Legionella* 属菌が分離されないことである。すなわち、患者分離株と環境分離株について、細菌学的に比較するという、もっとも基本的な調査ができない状況

となっている。したがって、疫学調査から原因施設と推定できても、最終的に原因施設を特定するに至っていない。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、*Legionella* 属菌の由来、すなわち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。

レジオネラ症患者報告数は富山県をふくめ、北陸地方で多い傾向にあることが平成23年度生活衛生関係技術者担当者研修会で報告されている。このような状況を改善するためには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-hashii S, Yamaguchi K, 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. (平成20年度), 77-105
9. 厚生労働省健康局生活衛生課 平成23年度生活衛生関係技術担当者研修会資料
10. 緒方喜久代, 若松正人, 山本由香利, 成松浩志 (2010). 大分県衛生環境研究センター, 38, 59-64
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. 国立感染症研究所 (2010). 病原微生物検出情報, 31 (11), 331-333
<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>
13. 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
14. 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. (平成22年度), 25-28
15. 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. (平成19年度), 37-55

富山県における腸管出血性大腸菌 O157の IS-printing による遺伝子型別の評価

木全 恵子 嶋 智子 金谷 潤一 磯部 順子 嶋 一世
 綿引 正則 佐多 徹太郎

Evaluation of the Genotyping with IS-printing of Enterohaemorrhagic
Escherichia coli O157 Isolated in Toyama Prefecture

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,
 Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

要 旨 2006年から2010年にかけて富山県内で発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）O157感染症94事例から分離された EHEC O157を対象に PFGE と IS-printing の2種類の遺伝子型別法について比較した。各事例代表株をそれぞれの手法で遺伝子型別を行った結果、IS-printing による遺伝子型別では47タイプ、PFGE では69タイプに型別され、IS-printing は PFGE に比べ、遺伝子型別能はやや劣ることが判明した。しかし、発生時期が近接した感染事例間および同一集団感染事例内の分離株の遺伝子型別において比較した場合、ISコードと PFGE 解析によるクラスター形成には相関性がみられ、IS-printing は発生時期が極めて近接した感染事例間もしくは同一感染事例内の O157分離株については遺伝子型の比較スクリーニングとして有効かつ迅速な手段であることが判明した。

腸管出血性大腸菌（EHEC）は水様性下痢、血便を伴う出血性大腸炎のほか、時として溶血性尿毒症候群（HUS）や脳症のような重篤な合併症を引き起こし、小児や高齢者では重症化する場合が多い。また、食品を取り扱う従業員等が EHEC に感染していた場合、さらに感染が拡大する危険は大きい。このため、EHEC 感染症は感染症法では届出が必要な3類感染症に位置づけられ、全国では2006年以降4000人前後の EHEC 感染者が報告されている。また、EHEC は少ない菌量で感染が成立するため、ヒト－ヒト感染や食品媒介による集団感染、広域散在型食中毒（diffuse outbreak）などが毎年数多く発生している [1]。

EHEC 感染症が発生した場合、疫学的解析と細菌学的解析による感染経路の解明や他の感染事例との関連性の有無を調査することは感染拡大防止の面から非常に重要である。現在、疫学的な情報を得られる遺伝子型別法としてパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）が用いられているが、①判定までに数日間必要とすること、②工程が煩雑で特殊な機器や労力を多く必要とすることなどの問題点が指摘されている [2, 3]。

一方、近年ゲノム塩基配列を基とした遺伝子型別法がさまざまな菌種において開発され、菌株間の同一性・類似性を解析する手法として用いられている。これら

の遺伝子型別法のひとつとして、EHEC 感染症で最も多く検出される EHEC O157（以下 O157）を解析対象とする迅速な遺伝子型別法である IS-printing が報告された[4]。この方法は O157ゲノム内の32か所の IS629の部位と病原因子遺伝子（*eeae*, *stx1*, *stx2*, *hlyA*）計36か所を標的とした2組の multiplex PCR であり、O157のゲノムおよびプラスミド上の IS629の分布に由来した PCR 増幅の有無から O157の遺伝子型別して、菌の異同を数値化する（図1）。

今回、我々は富山県において分離された EHEC O157について分子疫学的解析を目的に IS-printing による遺伝子型別法と PFGE との比較を行い、IS-printing の公衆衛生分野での有用性を評価した。

材料と方法

供試菌株：2006年～2010年に富山県内で発生した O157感染症94事例の代表株94株を解析に用いた。また、同一事例内で PFGE タイプの異なる6株も解析に用いた。菌株は BBL™ Trypticase™ Soy Agar（Becton, Dickinson）で35℃一晩培養し、鋳型 DNA の抽出に用いた。

IS-printing：IS-printing に用いる鋳型 DNA の調製は以下の方法で行った。5% Chelex® 100（Bio-

Rad) -TE (pH8.8) 懸濁液に菌体を懸濁し、100℃で10分加熱し、遠心(12,000rpm 5分)分離を行った。得られた上清を鋳型 DNA として PCR に用いた。

調製した全ての鋳型 DNA の OD₂₆₀ を Nanodrop[®] (Thermo Fisher Scientific) で測定し、鋳型 DNA 濃度を決定した。各鋳型 DNA 15~20ng を市販の IS-printing キット (IS-printing System, TOYOBO) の2組の Multiplex PCR に用いた。PCR 条件は IS-printing System の推奨条件で行った。電気泳動は3%アガロース (Nusieve GTG Agarose (Lonza) : SeaKem GTG Agarose (Lonza) =2:1混合, 0.5×TBE buffer) を、泳動装置には Mupid ミニゲル電気泳動装置を用いた。泳動に用いるアガロースゲルと泳動バッファーはあらかじめ4℃で冷却し、使用した。

得られた数値のコード化は勢戸らの方法に準じた [5]。IS-printing System の2組の Multiplex PCR について、それぞれ増幅サイズの大きいバンドから順に3バンドごとに係数1, 2, 4を割り当てた (図1 C)。次に IS-printing System により得られた電気泳動像を陽性コントロール (図1 A, 1st STD, 2ndSTD) と比較し、陽性コントロールと同一サイズの PCR 増

幅が認められる場合を「1」、増幅が認められない場合を「0」としてプライマーごとの増幅の有無を数値化した (図1 B)。各数値に対応した上記の係数を乗じ、増幅サイズの大きい順に3つつづ加算した。得られた12桁の数値を IS-printing による遺伝子型 (以下 ISコード) とした (図1C)。

PFGE: 各事例代表株の PFGE 型別はパルスネットにより国立感染症研究所細菌第一部で採用されている PFGE 型別タイプ番号 (以下 PFGE タイプ) により分類した。集団感染事例より分離された複数株については標準化プロトコールに基づいて PFGE を行い、得られた PFGE の泳動像の解析は解析ソフト Finger Printing II を用いて行った。Finger Printing II による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%とした。

結 果

PFGE タイプと IS コードの対応: 94事例の代表株各1株の PFGE タイプと IS コードを比較した。その結果、代表株94株の PFGE タイプは69種類、IS コードは47種類に分類され、IS-printing System による

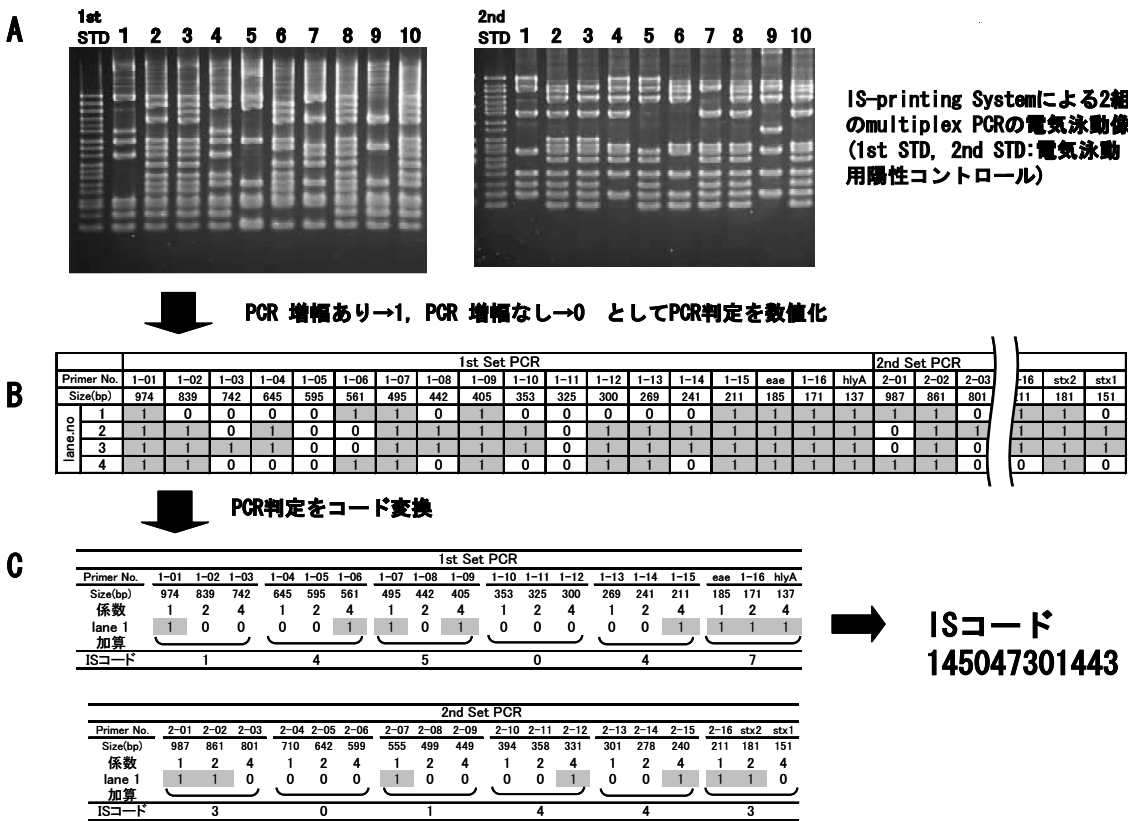


図1. IS-printing による O157サブタイピング

遺伝子型別に比べて PFGE による型別はより細分化していた。その内訳は以下の通りであった。

PFGE タイプと IS コードの対応を比較した。PFGE タイプと IS コードが1:1対応した組み合わせは33で、38株に認められ、PFGE タイプでは47.8% (33/69)、IS コードでは70.2% (33/47) を占めていた。ひとつの IS コードで複数の PFGE タイプが検出された事例は53事例であり (表1)、IS コードが11種類 (全 IS コードの23.4%) であるのに対し、PFGE タイプは35種類 (全 PFGE タイプの50.7%) 検出された。逆にひとつの PFGE タイプに複数の IS コードが検出された事例は4事例で、2種類の PFGE タイプ (全 PFGE タイプの2.9%) に対して、4種類の IS コード (全 IS コードの8.5%) であった。

各感染事例間における IS コードと PFGE タイプの比較: 1つの IS コードに1つの PFGE タイプの株のみが検出された事例は総事例数の41.5% (38事例) であった。

同一 IS コードで PFGE タイプが異なる株が検出された事例は53事例 (表1) で、総事例数の56.4%であった。このうち IS コード 317577 611757, 613577 610646, 317575 211757の感染事例では同一 IS コードで PFGE タイプが4タイプ~7タイプ検出された。上記の感染事例の発生はそれぞれ2007~2008年と2010年、2006~2007年と2010年、2007年と2009~2010年と、発生時期が2つに分かれていた。

同一 PFGE タイプで異なる IS コードであった株が検出された事例は4事例 (表2) で、総事例数の4.3%であった。これらの株の IS コードを比較すると PFGE タイプ f412, b277ではそれぞれ2か所の IS629 の変化が生じていると推定された。

複数事例において、IS コード・PFGE タイプが双方一致した事例は IS コード・PFGE タイプ6組で30事例 (総事例数の31.9%) であった (表3)。1事例 (IS コード・PFGE タイプ 613575 610646 : c32, 2007年散発) を除き、これらの事例はいずれも同一年で発生時期が近接していた (表3) が、疫学的関連性は不明であった。また、これらの IS コード・PFGE タイプ6組のうち4組の IS コードには他の PFGE タイプが検出されていた (表2)。

集団感染事例における IS-printing の活用: 以下の2つの集団感染事例について複数株の IS-printing による遺伝子型別を行った。

1) 2006年8月に発生した O157 (*stx1*, *stx2*) 集団感染事例1 (感染者79名) [6]

本事例より分離された O157 74株のうち PFGE タイプの異なる5株について IS-printing による型別を

行った (図2A, レーン1-5)。その結果 IS コードは5株中4株で完全に一致し (IS コード 707557 611657)、残る1株は1か所の IS629が脱落したと推定された (IS コード 707555 611657)。IS コード、PFGE デンドログラム解析を比較すると、3株について IS コードの一致と PFGE デンドログラム上でのクラスター形成は相関していた (図2A, レーン2-4)。残りの2株のうち、1株は IS コードが一致したが PFGE デンドログラム上はクラスターに含まれなかった (図2A, レーン1)。残る1株は IS コードは1つ異なるが PFGE デンドログラムにおいて本事例由来株と類似度94.3%のクラスターを形成していた (図2A, レーン5)。

集団感染事例1 と同時期2006年8月に発生した他の O157 (*stx1*, *stx2*) 感染事例由来株と IS コード、PFGE デンドログラム解析を比較した (図2A, レーン6-10)。IS コード、PFGE デンドログラムともに集団感染事例1 由来の分離株との一致は見られなかった。また、図2A のレーン6の分離株を除き、IS コードの類似と PFGE デンドログラム上でのクラスター形成はみられなかった。

2) 2010年8月に発生した O157 (*stx1*, *stx2*) 集団感染事例2 (感染者22名) [7]

本事例由来22株のうち PFGE タイプの異なる3株について同様に IS コード、PFGE デンドログラム解析を比較した (図2B, レーン11-13)。その結果 IS コードは3株中2株で完全に一致し (IS コード 613577 610646)、残る1株 (IS コード 213577 610646) は1か所の IS629が脱落したと推定されたが、PFGE デンドログラム解析では同一クラスターを形成していた。同時期の2010年8月に発生した他の O157 (*stx1*, *stx2*) 感染事例由来株と IS コード、PFGE デンドログラムの相関を解析した (図2B, レーン11-16)。しかし、これらの感染事例由来株の IS コードもしくは PFGE デンドログラムでの一致や類似性は認められなかった。

考 察

IS-printing は EHEC の血清群 O157に特化した遺伝子型別法である。今回 PFGE による遺伝子型別と比較した結果、遺伝子型別の数では IS-printing の型別は PFGE の68%と、PFGE に比較してその型別能はやや劣る結果であったが、遺伝子型別にかかる時間は PFGE の場合は菌の培養から判定までに4、5日かかるのに対し、IS-printing では菌の培養から2日以内と短時間で判定が可能であった。

PFGE はその長所として①細分化された型別であ

表 1. 同一 IS コードで PFGE タイプが異なる事例

<i>stx</i>	Iscode-1	Iscode-2	PFGE Type	発生年	発生月	発生形態
<i>stx1 stx2</i>	317575	211757	c401	2007	7	散発
			c903	2007	10	家族内感染
			c188	2009	5	家族内感染
			f412	2010	10	散発
<i>stx1 stx2</i>	317575	611757	b178	2006	10	散発
			b400	2007	9	散発
<i>stx1 stx2</i>	317577	611757	b142	2007	4	集団感染
			b142	2007	6	集団感染
			b142	2007	7	散発
			b142	2007	8	集団感染
			b142	2007	8	散発
			b142	2007	8	散発
			b142	2007	8	家族内感染
			b142	2007	8	集団感染
			b142	2007	9	家族内感染
			b142	2007	9	散発
			b142	2008	8	家族内感染
			b142	2008	8	散発
			c394	2007	7	散発
			c399	2007	9	集団感染
			d148	2008	7	散発
			d152	2008	5	家族内感染
			d357	2008	7	家族内感染
			d476	2010	8	散発
<i>stx1 stx2</i>	613575	610646	b223	2008	8	家族内感染
			c32	2007	10	散発
			c32	2008	3	散発
			c32	2008	9	散発
			c32	2008	11	散発
<i>stx1 stx2</i>	613577	610646	b173	2006	7	散発
			a259	2006	8	散発
			a259	2006	8	散発
			b330	2006	9	散発
			b330	2006	9	散発
			b399	2006	9	散発
			b769	2006	10	家族内感染
			c395	2007	9	家族内感染
			f408	2010	8	集団感染
<i>stx1 stx2</i>	717555	611657	a27	2006	4	散発
			c393	2007	9	散発
			d48	2008	4	家族内感染
			d48	2008	4	散発
			d48	2008	5	散発
<i>stx1 stx2</i>	717577	611657	b36	2006	5	散発
			d789	2008	9	家族内感染
<i>stx2</i>	012057	214443	b33	2006	4	散発
			c402	2007	9	集団感染
<i>stx2</i>	345457	311652	d363	2008	8	散発
			c57	2010	6	散発
<i>stx2</i>	305457	211642	d361	2008	7	散発
			e185	2009	6	散発
<i>stx2</i>	055047	303443	d158	2008	7	家族内感染
			e190	2009	7	散発

ISコード・PFGEタイプが同一であった事例(表3に再掲)

* PFGEタイプが同一であってISコードが異なる事例(表2)においても再掲

表 2. 同一 PFGE タイプで IS コードが異なる事例

<i>stx</i>	PFGE Type	Iscode-1	Iscode-2	発生年	発生月	発生形態
<i>stx1 stx2</i>	f412	217575	211747	2010	5	散発
		317575	211757	2010	10	散発 *
<i>stx1 stx2</i>	b277	717555	211657	2006	8	散発
		717575	611657	2006	9	散発

*同一ISコードでPFGEタイプが異なる事例(表1)においても掲載

表 3. 複数事例間で PFGE タイプ・IS コードともに一致した事例

<i>stx</i>	Iscode-1	Iscode-2	PFGE Type	発生年	発生月	発生形態
<i>stx1 stx2</i>	717477	611657	b705	2007	7	散発
			b705	2007	7	散発
			b705	2007	7	家族内感染
<i>stx2</i>	305457	611642	c47	2007	6	家族内感染
			c47	2007	6	散発
			c47	2007	7	散発
			c47	2007	7	散発
<i>stx1 stx2</i>	317577	611757	b142	2007	4	集団感染
			b142	2007	6	集団感染
			b142	2007	7	散発
			b142	2007	8	集団感染
			b142	2007	8	散発
			b142	2007	8	散発
			b142	2007	8	家族内感染
			b142	2007	8	集団感染
			b142	2007	9	家族内感染
			b142	2007	9	散発
			b142	2008	8	家族内感染
			b142	2008	8	散発
			c32	2007	10	散発
			c32	2008	3	散発
<i>stx1 stx2</i>	613575	610646	c32	2008	9	散発
			c32	2008	11	散発
			a259	2006	8	散発
			a259	2006	8	散発
<i>stx1 stx2</i>	613577	610646	b330	2006	9	散発
			b330	2006	9	散発
			d48	2008	4	家族内感染
			d48	2008	4	散発
<i>stx1 stx2</i>	717555	611657	d48	2008	5	散発
			d48	2008	5	散発

ISコード・PFGEタイプがそれぞれ1種類1タイプであった事例

ること、②多くの菌種に適用でき、菌の血清型等に限定されない汎用型の遺伝子型別であることなどが挙げられる。一方、PFGEの短所として①型別に平均3日と時間がかかること、②特殊な機器や操作を要することが挙げられる。一方、IS-printingは①標的となる細菌はEHECで血清群はO157に限定されること、②

型別能はPFGEに劣ることなどの短所があるが、長所として①主要な操作はMultiplex PCRと電気泳動という簡易な操作であること、②新鮮な菌体コロニーが搬入されれば半日以内に型別が判明することなどが挙げられる。

しかし、PFGEとIS-コードによる遺伝子型別はそ

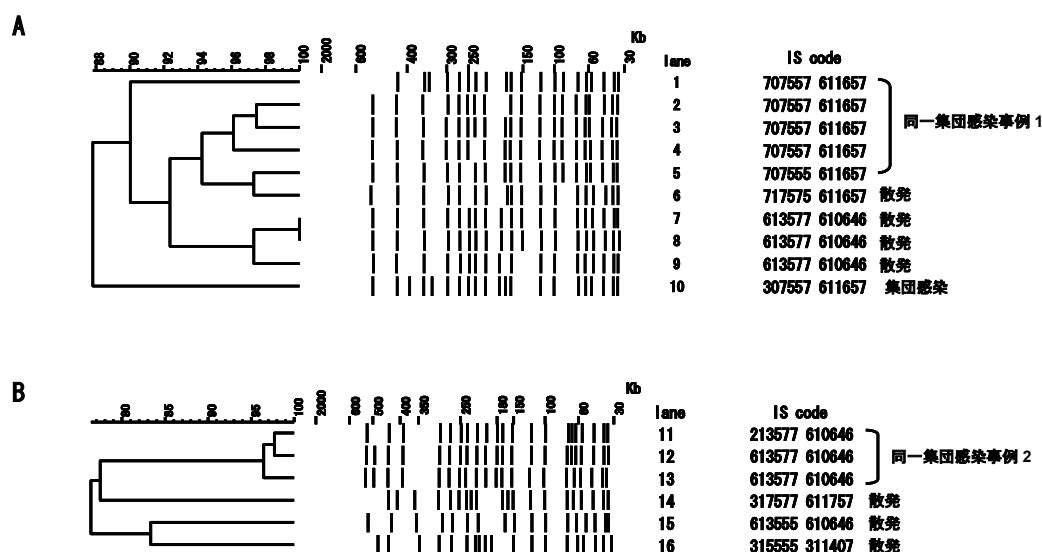


図2 . 集団感染事例由来株のIS-printingとPFGE

A : 2006年8月発生のO157(*stx1 stx2*) 集団感染事例 1 と同月に発生したO157(*stx1 stx2*) 感染事例分離株のISコードとPFGE デンドログラム解析

B : 2010年8月発生のO157(*stx1 stx2*) 集団感染事例2と同月に発生したO157(*stx1 stx2*) 感染事例分離株のISコードとPFGE デンドログラム解析

の型別の原理がゲノム制限酵素切断部位、IS 挿入位置と異なることから型別は完全には一致しない。今回の比較では同一 IS コードで PFGE タイプの異なる事例が解析対象事例の56.4%を占めた(表1)。これらの事例の多くは同じ IS コードの株が検出されてから1年から2年以内に発生した事例であった。このような同一 IS コードで PFGE タイプの異なる原因としては PFGE に用いられる制限酵素切断部位の変異、IS 間でのゲノムの逆位などが考えられる。

逆に同一 PFGE タイプで異なる IS コードであった PFGE タイプ f412, b277 ではそれぞれ2か所の IS629 の変化が IS コードにより検出されたが、これらの IS629 の変異は PFGE タイプに影響していなかった。この原因として、約1.3kb の IS629 の脱落 (excision) によるゲノム上での分布変化が、IS-printing では特異的に検出されても、20kb~30kb 以上のゲノム制限酵素切断片のパターンを解析する PFGE では反映されなかったためであると考えられる[8]。

また、PFGE タイプ f412 の2つの異なる IS コード 217575 211747 と 317575 211757 を比較する(表2) と、217575 211747 はその IS の分布から 317575 211757 のゲノム上のプロフェージ様因子 SpLE5 (Sakai prophage-Like Element 5) 上の2つの IS629 が脱落した株であることを示しており、これら2つの株が非常に近縁であることを示している[4]。

PFGE タイプと IS コードが共に一致した複数の感

染事例はすべて同じ年に発生していた。これらの7つの PFGE タイプのうち5つは検出された年もしくはその後数年にわたり多くの都道府県で検出された O157 の「広域流行株」であった。表3の PFGE タイプ b705 は2007年に22都府県で、c47は2007年~2009年にかけて7~12都道府県にて検出されている。b142は2007年に11都府県、a259は2006、2007年に27、13都府県、b330は2006年に8府県にて検出されている [9-13]。

また、同一集団感染事例内の異なる PFGE タイプの株について IS コードを比較した(図2)。その結果、IS コードは一致もしくは1ヶ所の IS629 のみが異なっており、遺伝学的に近い O157 クローンであることを示唆していた。これらの株は一部(図2A, レーン1)を除き PFGE のデンドログラム解析においても同じ集団由来株でのクラスターを形成していた。また、これらの2つの集団感染事例と同時期に発生した他の O157 感染事例分離株との IS コードを比較したところ、1事例(図2A レーン10)を除き、他の事例由来株とは 2~11ヶ所の IS629 が異なっていた。Ooka らは、pLE1 やプラスミド pO157 の脱落により、PFGE タイプの違いは2バンド以下であった同一集団事例由来の株の中に、IS629 の分布 (IS コード) が大きく異なる株が存在することを報告している[4]。IS-printing の標的である 32か所の IS629 のうち、SpLE、Sp (Sakai prophage) 及び pO157 上に存在する IS629 は、これらの因子がゲノムまたは菌体内から脱落すること

により、同一集団事例内で分離された O157であっても大きく IS629の分布が変化する [4, 14]. SpLE もしくは Sp の脱落により、同一 SpLE または Sp 上の2または3か所の IS629が欠失する. また, pO157の脱落により pO157上5か所の IS629と *hlyA* が欠失する. これらは IS コード上ではそれぞれ2~3か所, もしくは5か所異なり [14], 同一集団事例内およびその近縁株であっても IS コードが2か所以上異なる株が検出される可能性が指摘されている [14]. しかし, 図2において解析した集団事例株および近接して発生した感染事例由来株の IS コードの比較では, これらの SpLE, Sp, pO157のいずれか1つが脱落した IS629の分布に当てはまる近縁の株は検出されなかった [4, 14]. 以上のことから感染事例分離株と他の事例由来株は異なる O157クローンであることが推察された. なお, 図2A レーン10の株は PFGE デンドログラム解析により集団感染事例1由来とは異なる由来の O157であると考えられた.

以上から IS-printing による遺伝子型別は①IS コードによる各感染事例の比較は1年以内の近接した時期に発生した事例間, ②同一集団感染事例株については複数株の IS コードを確認することにおいてその迅速性と型別能の効果が期待できると考えられた. また, 上述のとおり PFGE と IS-printing では異なる型別対象から遺伝子型別を決定しており, PFGE による細分化された遺伝子型は IS-printing による型別を補う効果が期待される (図2B レーン10) が, いずれの遺伝子型別においても疫学的検証が重要である.

このように集団感染事例を含めた疫学的に関連性が疑われる事例や広域流行株による感染症は, 特に同時期に発生した場合, 共通の感染源による diffuse outbreak の可能性が疑われる. このような事例は早期に探知し, 拡大防止と感染源の特定が重要である. IS-printing System はその迅速性・簡便性の点から, 上記の事例間の関連性について簡易な遺伝子型別比較のスクリーニングとして有効な手段であると考えられる.

(本研究は厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染研究症事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」(平成18年~20年度), 厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染研究症事業「食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究」(平成21年・22年度)の研究協力の一部として行われたものである.)

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. 病原微生物検出情報 (2012). 33
2. 金子紀子, 大谷勝実, 青木敏也 (2008). 山形県衛生研究所報, 41, 29-31
3. 清水俊一, 森本洋, 駒込理佳, 山口敬治 (2009). 北海道立衛生研究所報, 59, 67-71
4. Ooka, T., Terajima, J., Kusumoto, M., Iguchi, A., Kurokawa, K., *et al.* (2009) J. Clin.Micobiol., 47, 2888-2894
5. 勢戸和子, 河野智美, 野村憲一, 平野 隆, 小笠原準ほか (2008) 厚生労働科学研究費補助金 平成19年度総括・分担研究報告書, 101-124
6. 木全恵子, 嶋 智子, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 倉田 毅ほか (2007) 富山県衛生研究所年報, 30, 150-153
7. 木全恵子, 嶋 智子, 金谷潤一, 磯部順子, 倉田毅, 綿引正則 (2011) 富山県衛生研究所年報, 34, 154-158
8. Kusumoto, M., Ooka, T., Nishiya, Y., Ogura, Y., Saito, T., *et al.* (2011) Nat. Commun., 2:152 doi:10.1038/ncomms1152
9. 寺嶋 淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 渡辺治雄 (2007) 病原微生物検出情報, 28, 134-135
10. 寺嶋 淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡邊治雄 (2008) 病原微生物検出情報, 29, 119-120
11. 寺嶋 淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡邊治雄 (2009) 病原微生物検出情報, 30, 124-125
12. 寺嶋 淳, 伊豫田淳, 泉谷秀昌, 三戸部治郎, 石原朋子, 大西真 (2010) 病原微生物検出情報, 31, 155-156
13. 寺嶋 淳, 伊豫田淳, 泉谷秀昌, 三戸部治郎, 石原朋子, 大西 真 (2011) 病原微生物検出情報, 32, 128-129
14. IS-printing System 取扱説明書, 東洋紡

仕出し弁当の添え野菜を原因とする腸管出血性大腸菌 O26食中毒事例

嶋 智子 木全 恵子 磯部 順子 金谷 潤一 綿引 正則 佐多 徹太郎
堂高 一彦¹ 西部 健治² 出村 尚子³

The Outbreak of Food poisoning Caused by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26
Traced to Precut Vegetables in Boxed lunch of Delivery

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI,
Masanori WATAHIKI, Tetsutaro SATA, Kazuhiko DOTAKA¹, Kenji NISHIBU²,
and Naoko DEMURA³

要 旨 2011年6月に、富山県および石川県内の3か所の弁当製造施設が製造した仕出し弁当による腸管出血性大腸菌 O26による食中毒が発生した。これらの施設には、共通して石川県内の食品加工業者から添え野菜（千切りキャベツ）が納入されており、富山県内の1ヶ所の弁当製造施設で保管されていた弁当に入っていた千切りキャベツから O26が検出された。患者や食品から分離された O26のパルスフィールドゲル電気泳動パターンは全て同じであった。本事例について、細菌学的検査結果を中心に報告する。

材料と方法

1. 事例の概要

2011年6月14日から20日にかけて、富山県内の複数の医療機関から腸管出血性大腸菌 O26（以下 O26）感染者の届出が8件あった。厚生センターで行動調査や喫食状況等の調査を実施したところ、これらの患者は6月10日頃から腹痛、下痢、血便等の消化器症状を呈しており、7名は県内の弁当製造施設 A（以下施設 A）、1名は県内の弁当製造施設 B（以下施設 B）が製造した仕出し弁当を食べていることが判明した。

さらに調査を進めたところ、施設 A および B が製造した仕出し弁当を喫食したうち、18名が食中毒症状を呈していることが判明した。患者からの分離株は O26:H11 (*stx1*) であった。当所において施設 A および B の検食について O26検査を実施したところ、施設 B で保管されていた弁当に入っていた添え野菜（千切りキャベツ）から O26が検出された。この添え野菜は、石川県内の食品加工業者から施設 A および B に共通して納入されていたものであった。また、同じ食品加工業者から添え野菜が納入されていた石川県内の弁当製造施設 C の仕出し弁当を食べた1名からも O26が検出された。

表1に本事例の概要を示した。

表 1. 仕出し弁当による O26食中毒の概要

発生年月	平成23年6月
弁当提供数	3,841食(施設A)、1,468食(施設B)
患者数	19名*
症状	腹痛、下痢、血便 等
原因施設	食品加工施設
原因食品	添え野菜(千切りキャベツ)
病因物質	O26:H11(<i>stx1</i>)

* 石川県の患者1名を含む。

2. 疫学調査

県内患者の症状や発生状況、行動および喫食状況などの調査は、高岡厚生センター、高岡厚生センター射水支所、高岡厚生センター氷見支所、砺波厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所、および厚生部生活衛生課の職員により行われた。

3. 検食の O26検査方法

施設 A の検食（6月7日～10日に提供された弁当）、施設 B の検食（6月7日に提供された弁当）について当所において O26検査を実施した。なお、施設 B では、検査対象となる期間内の検食は6月7日分しか保存されていなかった。

検査は、基本的には常法[1]（注：本事例発生時の常法）に従ったが、検食が冷凍保存されていたこと、

1. 高岡厚生センター、2. 高岡厚生センター射水支所、3. 厚生部生活衛生課

検体量が少なかったことなどから、一部変更して実施した(図1)。

検食10gにBBL™ Trypticase™ Soy Broth (TSB: Becton, Dickinson and Company)を40ml加えて1分間ストマッカー処理後、35℃、6時間培養した(1次増菌)。1次増菌液1mlをノボバイオシン加mEC培地(白水製薬)10mlに添加し、42℃、一晚培養した(2次増菌)。選択分離培地への塗抹は、2次増菌後、菌が発育し培地に濁りが認められた検体は、直接塗抹及びO26免疫磁気ビーズ処理を行った濃縮液を塗抹した。培地に濁りが認められない検体は、直接塗抹のみを行った。選択分離培地として、CT-RMAC寒天培地(Difco™ MacConkey Agar BaseにCTおよびラムノースを添加し調製)、Vi RXO26寒天培地(栄研化学)、クロモアガーSTEC(関東化学)、およびCIX寒天培地(極東製薬工業)に塗抹した。培地に発育したO26疑いコロニーについて、血清型別、生化学的性状試験により菌の同定を行った。

4. 病原因子遺伝子の検出

O26の病原因子遺伝子の確認は、既報[2]に従い、マルチプレックスPCR法で行った。対象遺伝子は、志賀毒素遺伝子 *stx1*, *stx2*, 接着性病原因子遺伝子 *eae*, *aggR*, *astA*, CVD432, *invE*, LT 遺伝子 *elt*, STh

遺伝子 *esth*, STp 遺伝子 *estp*, *bfp*, EAF の12種類である。

5. 薬剤感受性試験

患者から分離されたO26について薬剤感受性試験を行った。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)により測定した。使用薬剤はノルフロキサシン(NFLX), オフロキサシン(OFLX), ナリジクス酸(NA), カナマイシン(KM), ゲンタマイシン(GM), ホスホマイシン(FOM), アミノベンジルペニシリン(ABPC), スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤(ST), テトラサイクリン(TC), コリスチン(CL), セファゾリン(CEZ), クロラムフェニコール(CP)の12薬剤である。

6. パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)

患者および検食から分離されたO26についてPFGEを行い、遺伝的関連性の確認を行った。PFGEは国立感染症研究所の標準化プロトコール[3]に基づき、制限酵素に *XbaI* を用いて行った。

結 果

1. 患者および従事者等の便からのO26検出状況(富山県)

患者18名中13名の検便を行い、うち12名(施設A 弁当喫食者11名, 施設B 弁当喫食者1名)からO26が検出された。

弁当製造施設の従業員(施設A: 26名, 施設B: 42名)の検便検査を実施したところ、施設Aの従業員2名からO26が検出された。この2名は施設Aで6月8日に製造した弁当を喫食していたが、下痢等の症状はなかった。

また、弁当を喫食したうち食品製造業者の従事者等(施設Aの弁当喫食者: 231名, 施設Bの弁当喫食者: 12名)の検便検査を実施したところ、施設Aの弁当

図1. 本事例における検査のO26検査方法

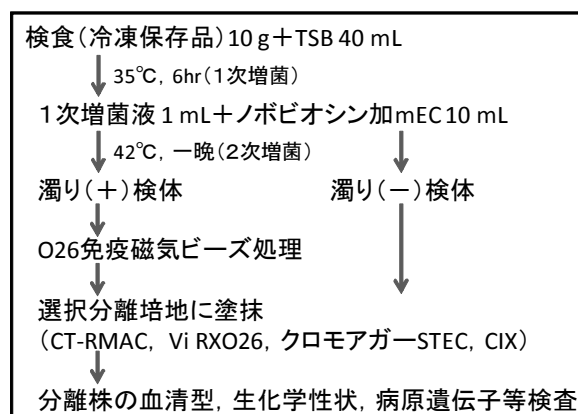


表2. 弁当製造施設別の患者発生状況および検食のO26検査結果

施設	所在地	患者数	年齢	発症日	原因食(推定)	検食O26検査	
						検体	結果
A	富山県	17名	10~70代	6/9-6/22	6/8弁当	6/7-10弁当	—
B	富山県	1名	70代	6/11	6/7弁当	6/7弁当	O26検出(添え野菜)
C	石川県	1名	20代	6/12	6/8弁当 or 6/9弁当		

喫食者8名から O26が検出された。

2. 検食の O26検査

施設 A および施設 B の検食について O26検査を実施したところ、施設 B 製造の弁当（6月7日に提供分）に入っていた添え野菜（千切りキャベツ）から O26 が分離された。なお、O26は今回使用した選択分離培地のいずれからも検出された。施設 A の検食からは O26は検出されなかった（表2）。ただし、施設 A の弁当は、メニュー中に「千切りキャベツ」の記載があったが、検食中には本食材が保存されていなかった。

3. 生化学的性状、病原因子遺伝子の保有状況および薬剤感受性

患者および施設 B 検食から分離された O26の検査結果を表3に示した。患者および施設 B の検食から分離された O26は、すべて O26:H11 (*stx1*+, *eae*+) であった。また、接触者および無症状病原体保有者から分離された O26も同じ結果を示した。患者分離株

について薬剤感受性を測定したところ、検査した12薬剤すべてに感受性であった。

4. PFGE による相同性解析

患者（施設 A, B, または C の弁当を喫食）、施設 B の検食、および無症状病原体保有者（施設 A の弁当を喫食）から分離された O26の PFGE の泳動パターンを図2に示した。施設 B 製造の弁当（6月7日に提供分）に入っていた添え野菜（千切りキャベツ）から分離された O26（図2，レーン8）も含め、すべての株が同一のパターンを示した。

考 察

本事例は、1）富山県内および石川県の弁当製造施設（施設 A, B, C）の弁当を喫食した患者のほか、施設 B の検食中の添え野菜（千切りキャベツ）から O26が検出され、これらの菌の PFGE パターンがす

表 3. 患者および食品由来 O26の細菌学的特徴

血清型	生化学的性状							
	TSI	CLIG	LIM	VP	MR	CIT	SOR	MUG
O26:H11	A/AG	-/AG	+++	-	+	-	+	+

病原因子遺伝子保有状況											
<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	CVD432	<i>invE</i>	<i>elt</i>	<i>esth</i>	<i>estp</i>	<i>bfp</i>	EAF
+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

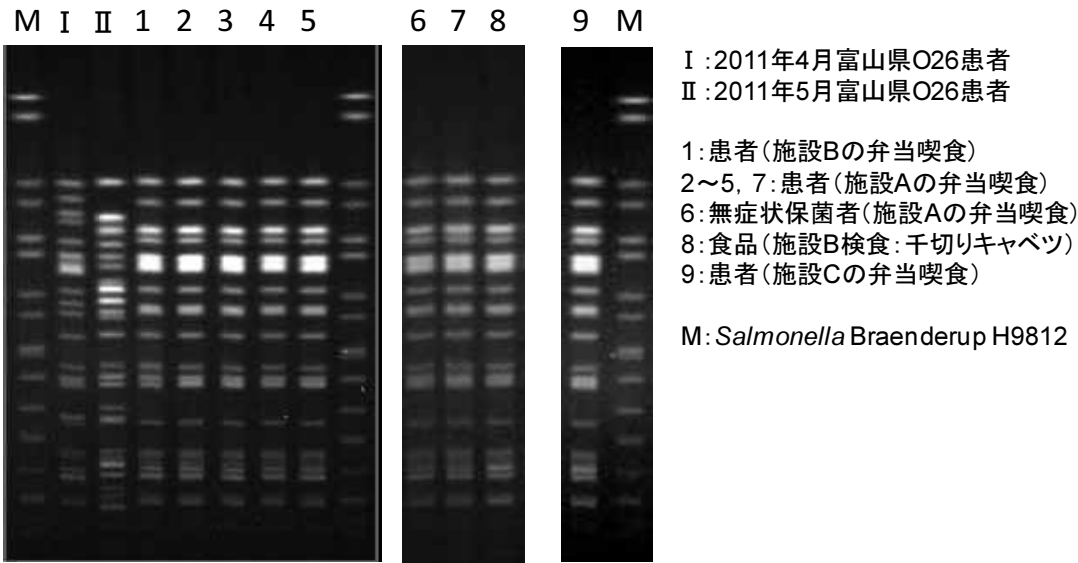


図 2. PFGE による O26の DNA 切断パターン

べて一致したこと，2) 施設 A, B, および C で使用していた食材等で共通するものは千切りキャベツのみであったことから，原因食品は千切りキャベツと確定された．O26による食中毒において原因食品から菌が検出された事例の報告は非常に少ないことから，今回 O26が検出された添え野菜（千切りキャベツ）にどの程度の菌量が付着していたかは非常に興味のあるところであるが，検食に残されていた検体量が少なく，菌数については調査することができなかった．施設 B の検食から O26が検出されたものの，施設 A および B ではいずれも検食の保存方法に次のような問題点があった．1) 施設 A では毎日の弁当が検食として保存されていたが，メニュー通りの食材が保存されていなかった，2) 施設 B では6月7日以外の製造日の弁当が検食として保存されていなかった．食中毒事例の原因究明には，食品からの菌の検出はきわめて重要なデータとなることから，検食は適切に保存されていなければならない．

近年，食品加工業者が加工した食材の流通量・消費量が増加し，納入先も多岐にわたっている．いずれかの流通段階で食材が食中毒起因菌で汚染されると，今回の事例のように複数施設が関与し，結果として食中毒患者が広域に発生する危険性がある．本事例の最初

の探知は，複数の医療機関から同時期に O26感染症の届出が続いたことであった．このように散発事例が多発するような場合には，本事例のような広域での食中毒が背後で発生している可能性も考慮して調査を進める必要がある．

謝 辞

本事例の調査にあたり，ご協力いただきました石川県保健環境センター，金沢市保健所の関係各位に深謝いたします．

文 献

1. 腸管出血性大腸菌 O157及び O26の検査法について，平成18年11月2日食安監発第1102004号
2. Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Tanaka, D., Isobe, J., Gyobu, Y., Watahiki, M., and Nagai, Y. (2005) Microbiol. Immunol., 49, 485-492
3. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S., and Tamura, K. (2002) J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848

中高年女性を対象とした運動教室参加者のアディポネクチン、ホモシステインの変化

田中 朋子 小林 直人 金木 潤

Changes of Serum Adiponectin and Total homocysteine
in Middle Aged and Elderly Women during Exercise Program

Tomoko TANAKA Naoto KOBAYASHI and Jun KANAKI

要 旨 9カ月間の運動教室に参加した中高年女性を対象とし、血清アディポネクチン（抗動脈硬化作用を有する）と血清総ホモシステイン（動脈硬化のリスクを高めるとされる）を調べたところ、血清アディポネクチンは終了時には有意な上昇を認め、血清総ホモシステインは有意な低下を示し、ともに動脈硬化のリスクが軽減したと考えられた。運動との関連では、血清アディポネクチン変化量（終了時－開始時）は期間中の運動量変化と関連を示し、運動量を多くすることにより動脈硬化のリスクを軽減させる可能性が示された。

食習慣では「毎日大豆食品を食べる」習慣を有するもので血清アディポネクチンは高値を示し、血清総ホモシステインは低値を示した。しかし、両指標の期間中の変化量との関係は明らかではなかった。

血清総ホモシステイン（t-Hcy）は、動脈硬化の危険因子として知られ、t-Hcyの低下は心血管疾患の発症リスクの軽減に繋がるとされる[1]。一方、血清アディポネクチン（Adp）は脂肪細胞由来の善玉アディポサイトカインとして知られ、抗動脈硬化作用がある[2]。さらに、これらの指標は生活習慣の改善により可逆的に変動するといわれている[3,4]。しかし、これらの指標の変化と運動との関係を、詳細に調べた報告は少ない。そこで、中高年女性を対象とした運動教室参加者の運動状況と t-Hcy、Adp の変化との関連を調べた。

対象と方法

9カ月間の運動教室に参加した女性118名を対象とした。開始時、終了時に身体計測、体力テスト、採血を実施した。t-HcyはHPLC法により測定、AdpはELISA法により測定した。対象者の運動状況を把握するため、開始前の2週間、終了前の2週間、長期間記録型加速度計（ライフコーダ EX：スズケン）を装着した。運動量として歩数のほか、運動強度が中等度と強度をあわせた中等度以上運動時間（分）を解析に用いた。開始時、終了時にはアンケートにより食習慣を調べた。なお、体力テストは「開眼片足立ち」、「10 m 障害物歩行」、「6分間歩行」、「上体起こし」、「握力」、「長座体前屈」の6種目を実施し、その合計得点を用いた。

統計解析はBMI、運動状況の前後の比較は対応の

ある t 検定を用いた。t-Hcy、Adp については前後の比較は Wilcoxon の符号付順位和検定を用い、2群間の比較には順位和検定を用いた。相関はスピアマンの順位相関係数を用い、危険率0.05未満を有意とした。

なお、本調査は富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を得て実施された。

結 果

対象者の開始時、終了時の身体状況を表1に示した。BMIは 23.4 ± 3.1 から 23.2 ± 3.0 と有意に減少した（ $p < 0.05$ ）。t-Hcy、Adpの開始時、終了時の中央値、各四分位値を表2に示した。t-Hcyは開始時には中央値が $9.13 \mu\text{mol/L}$ であったが、終了時には $8.52 \mu\text{mol/L}$ に有意に減少した（ $p < 0.001$ ）。Adpは中央値 $11.6 \mu\text{g/mL}$ から $12.0 \mu\text{g/mL}$ と有意に増加した（ $p < 0.001$ ）。

調査開始前と終了時の運動量および体力テスト得点を表3に示した。歩数、中等度以上運動時間については、有意な変化はみられなかったが、体力テスト得点は有意に高くなった（ $p < 0.001$ ）。

1. 運動との関連

次に、開始時の年齢、運動状況、体力テスト得点、BMIとt-Hys、Adpとの関連をみたところ（表4）、t-Hcyは体力テスト得点と負の相関が認められた（図1、 $\rho = -0.26$, $p < 0.01$ ）。AdpはBMIと有意な負の相関を示した（図2、 $\rho = -0.33$, $p < 0.001$ ）。しかし、年齢、運動状況とは関連は認められなかった。

t-Hcy、Adpの変化量（終了時－開始時）と、各運

表 1. 身体状況の変化

	開 始 時		終 了 時		対応のある t 検 定
	平均値	S. D.	平均値	S. D.	
年齢 (歳)	63	4.8	—		
身長 (cm)	153.1	5.4	—		
体重 (kg)	54.9	7.1	54.4	7.2	p<0.05
BMI	23.4	3.1	23.2	3.0	p<0.05

表 2. ホモシステイン, アディポネクチンの変化

	第1四分位	中央値	第3四分位	
開始時ホモシステイン ($\mu\text{mol/L}$)	7.9	9.13	10.69	a
終了時ホモシステイン ($\mu\text{mol/L}$)	7.35	8.52	9.73	a
変化量 (終了時-開始時)	-1.71	-0.83	0.31	
開始時アディポネクチン ($\mu\text{g/mL}$)	8.2	11.6	15.3	b
終了時アディポネクチン ($\mu\text{g/mL}$)	8.4	11.95	17.3	b
変化量 (終了時-開始時)	-0.35	0.44	1.76	

a, b: Wilcoxon の符号付順位和検定 p<0.01

表 3. 運動状況, 体力テスト得点の変化

	開 始 時		終 了 時		対応のある t 検 定
	平均値	S. D.	平均値	S. D.	
歩数	10206	2851	10259	3019	
中等度以上時間 (分)	28.7	13.3	29.9	15.0	
体力テスト得点	39.7	5.7	48.9	5.2	p<0.001

表 4. 開始時のホモシステイン, アディポネクチンと各指標とのスピアマンの順位相関係数

	年齢	BMI	歩数	中等度以上	体力テスト得点
開始時 t-Hcy	0.160	0.105	-0.157	-0.152	-0.256*
開始時 Adp	0.145	-0.318*	0.091	0.061	-0.062

*: p<0.01

動指標の変化量 (終了時-開始時) との関連をみたところ, Adp 変化量は歩数変化量, 中等度以上運動時間変化量と正の相関を示した (図3, 各々 $\rho=0.20, 0.21$ $p<0.05$). しかし, t-Hcy の変化量との相関は認められなかった.

2. 食習慣との関係

開始時のアンケートから, 食習慣として1週間の摂

取頻度別に t-Hcy, Adp を比較した (表5). その結果, 大豆製品の摂取頻度「ほぼ毎日食べる」は, 開始時の t-Hcy が有意に低く ($p<0.001$), 開始時の Adp が高かった ($p<0.05$). しかし, それ以外の食品摂取頻度による違いは認められなかった. また, 期間中の t-Hcy, Adp の変化量を各食習慣で比較したが, いずれの習慣でも違いはみられなかった.

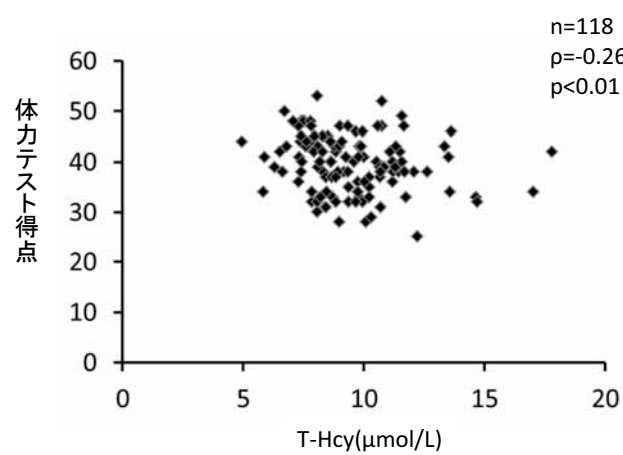


図 1. 開始時のホモシステインと
体力テスト得点の関連

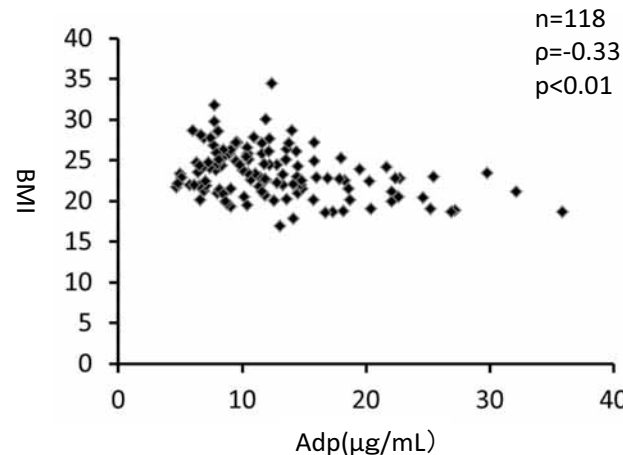


図 2. 開始時のアディポネクチンと BMI の関連

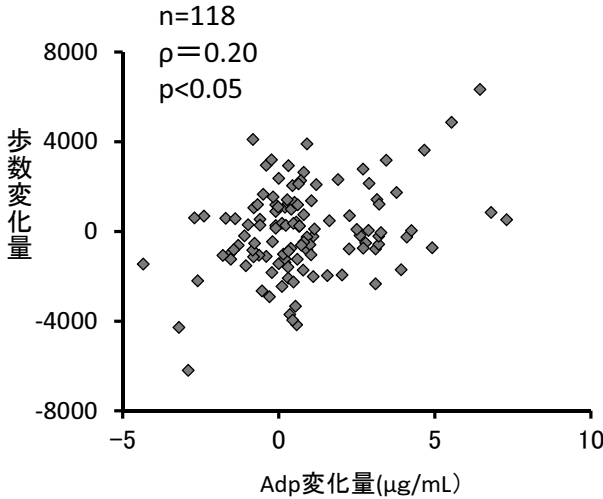


図 3. アディポネクチン変化量と
歩数の変化量の関連

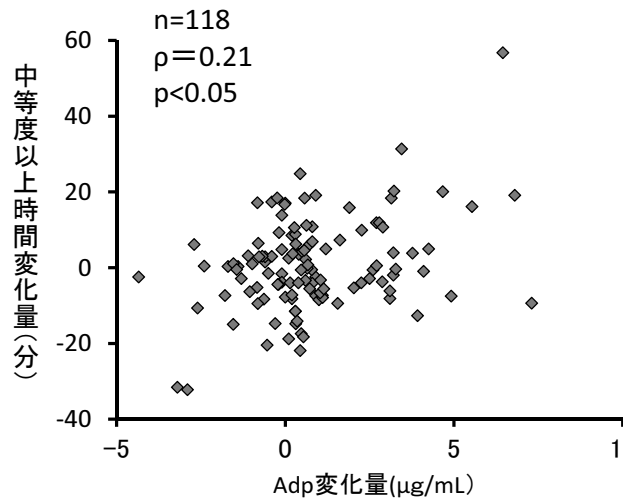


図 4. アディポネクチン変化量と中等度以上
運動時間変化量の関連

表 5. 食習慣と血清総ホモシステイン, 血清アディポネクチン

		は い				いいえ				U 検定
		n	第1四分位	中央値	第3四分位	n	第1四分位	中央値	第3四分位	
血清総ホモ システイン (μmol/L)	大豆食品を毎日食べる	49	7.4	8.45	10.4	69	8.3	9.7	11.1	p<0.001
	卵, 肉を毎日食べる	87	8.1	9.2	10.7	29	7.7	9.0	10.9	
	魚介類を毎日食べる	24	7.5	8.7	10.7	94	8.1	9.2	10.7	
	間食を毎日する	56	8.5	9.7	10.8	62	7.8	8.8	10.6	
血清アディ ポネクチン (μg/mL)	大豆食品を毎日食べる	49	8.5	13.9	17.7	69	7.95	10.5	13.6	p<0.05
	卵, 肉を毎日食べる	87	8.1	11.7	15.3	29	8.0	11.9	15.8	
	魚介類を毎日食べる	24	7.9	10.5	13.7	94	8.5	11.9	16.7	
	間食を毎日する	56	8.5	9.7	10.8	62	7.9	11.6	15.3	

考 察

1. t-Hcy について

調査期間中に t-Hcy は有意に低下していたことから、健康教室参加によると考えられるであろう。運動との関連では、開始時の t-Hcy は体力テスト結果と関連が認められ、テストの成績が良いほど t-Hcy は低値を示していた。しかし、歩数や中等度以上運動時間との関連はみられていない。さらに、t-Hcy の変化量と運動量や体力テスト得点の変化とも関連はみられなかった。運動との関連については低下させるとする報告[5]や変わらないとする報告がある[6]。体力テストは中高齢者向けの10m障害物歩行や6分間歩行、開眼片足立ちを含む6種類のテストから計算されており、実際の運動量というより、それまでの運動による総合的な能力と考えるべきであろう。今回、運動量として、開始前、終了前の各2週間の歩数や中等度以上運動時間を用いたが、運動との関連をみるためにはより長期間の運動量を把握する必要があるのかもしれない。

一方、食習慣については「大豆食品を毎日食べる」の t-Hcy は低値を示した。一般に、葉酸やビタミン B6、ビタミン B12が t-Hcy を低下させることが知られている[7]。しかし、食品成分表をみても大豆食品が、これらの成分を特に多く含んでいるとは考えられない[8]。一方、大豆中にはイソフラボンをはじめ生理活性物質が多く含まれていることが知られている[9]。その中のいずれかの成分が t-Hcy の軽減に働いているのかもしれない。今回、大豆食品は t-Hcy を低下させる可能性が示されたが、アンケートでは大豆食品の種類、摂取量については調べられていない。今後、アンケート内容について検討を加える必要があると考えている。

2. Adp について

Adp は脂肪細胞から分泌される善玉アディポサイトカインであり、内臓脂肪細胞の肥大に伴い低下するが、減量により脂肪細胞が正常化（小球化）すると可逆的に増加することが知られている[2]。また、近年、運動による減量効果をみるために、Adp を指標とした場合、少なくとも4か月以上の継続が必要であるという報告がある[10]。我々も今回と同様9カ月の運動

教室参加者と3か月間の運動教室参加者を比較したところ、9カ月の運動群では BMI 減少と負の相関を示したが、3か月間の運動では関連が認められていない[11]。今回の対象者は9か月と長期間の教室ではあるが、運動により筋力アップを目指す教室参加者であり、肥満者を対象としたものではない。そのため、BMI の変化量との関連がみられなかったのではないかと考えている。しかし、歩数や中等度以上運動時間の増加した者で Adp が増えていたことから、運動量の増加により、脂肪細胞が小球化した可能性を示していると考えている。

食習慣については、「大豆食品を毎日食べる」の Adp が高かったが、t-Hcy と同様、アンケートの内容を検討する必要があると考えている。

文 献

1. 橋本隆男, 篠原佳彦, 長谷川弘 (2007). ホモステイン代謝, 薬学雑誌, 127,1579-1592
2. 木原進士 (2002). BIO Clinica, 17,44-48
3. Arita,K. et al. (1999). Biochem.Biophys. Res.Comm.,257,79-83
4. 梅村詩子, 石森眞子, 藤原美佐子 (2010). 医療保健学研究, 1,145-162
5. 大蔵倫博 (2003). 財団法人総合健康推進財団助成報告書
6. E,Bambaeichi.M,A,Najari.B,Barjasteh. (2010). Br.J.Sports.Med.,doi:10.1136/bjsm.2010.078725.7075.
7. 小川 博, 池田高紀, 桂田昭彦 (2010). 人間科学部研究年報, H22,46-56
8. 香川芳子 (2006). 五訂増補食品成分表, p58-65女子栄養大出版部.
9. 田中平三, 門脇 孝, 篠塚和正, 清水敏雄, 山田和彦 (2006). 健康食品のすべて, p313-314
10. 吉田 博 (2007). 第39回日本動脈硬化学会抄録集
11. 田中朋子, 高橋直人, 中崎美峰子, 金木 潤, 明神三枝子, 澁谷直美, 大浦栄次 (2010). 富山県衛生研究所年報, 33,183-185

中高年女性の身体活動量、活動強度が超音波骨強度指標に及ぼす影響

小林 直人 田中 朋子 金木 潤 要明 仁美¹ 今村 由美子¹

Volume and Intensity of Physical Activity in Middle-age and Elderly Women Affect the Bone Strength Index by Quantitative Ultrasound

Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Hitomi YOUMEI¹
and Yumiko IMAMURA¹

要 旨 身体活動量及び活動強度と超音波骨強度指標との関連を明らかにするために、中高年女性を対象に1年間の身体活動（歩数、身体活動量、低強度活動時間、中高強度活動時間）を測定し、身体活動量・活動強度充足群（以下「充足群」）、身体活動量充足群（以下「半充足群」）、身体活動量・活動強度不足群（以下「不足群」）に分類し、それぞれの開始時、1年経過時の超音波骨強度指標（SOS, BUA, stiffness）について検討した。

その結果、1年経過時においては、不足群は半充足群と比較してSOSとstiffnessが低値を示した。また、充足群と半充足群では骨強度指標に違いは見られなかった。

このため、中高年女性は、身体活動量が充足していれば、身体活動の強弱に関わらず、骨強度低下を抑制できることが推測された。

現在、日本では、65歳以上の要介護認定者は375万人[1]おり、その9.3%は骨折・転倒が原因で要介護者になっている[2]。一方で骨粗鬆症は国内の患者数が1,100万人と推定されており、多くが高齢女性である。

骨粗鬆症予防は高齢社会の重要な課題である。骨粗鬆症予防には、骨の構成成分であるカルシウムやカルシウムの吸収を促進させるビタミンDなどを含む食品を摂取するほか、日常的な運動が効果的であると言われている。運動については、活発な運動が効果的とされているが、明確な基準はなく、また、高齢者にとって活発な運動は転倒リスクの増大につながりかねない。我々は、高齢者にとって効率のよい骨粗鬆症予防運動の確立を目指し、平成22年から高岡市主催の健康体操教室参加者の協力を得て、2年間の骨粗鬆症予防に関する調査を開始した。本報告では平成22年から平成23年までの1年間の調査結果について報告する。

対象及び方法

対象は、高岡市主催の健康体操教室に継続的に参加している者のうち、事前に本調査の説明を文書と口頭で行い、調査に同意した女性18名（表1、2）である。

骨強度については超音波骨密度計（A-1000

InSight: GM Medical Systems）を使用し、開始時と1年経過時の右足の踵骨を測定し、超音波伝播速度（SOS: m/sec）、超音波減衰係数（BUA: dB/MHz）及びそれから算出される総合的な骨強度指標Stiffnessの3つを骨強度指標とした。

身体活動量は長期間記録型加速度計（Lifecoder PLUS: SUZUKEN）を用いて起床時から就寝時までの歩数と活動強度を測定した（平成22年8月4日から平成23年8月2日までの約1年間）。活動強度は低強度活動（1.8～3.5 METs）、中強度活動（3.6～6.0 METs）高強度活動（6.1 METs）以上を行った時間（分）を測定した。身体活動量（Ex）については測定した時間と活動強度を乗じた値を使用した。また、1日の歩数が2000歩未満である日は不装着日とし、解析から除外した。

また、開始時と1年経過時に自記式アンケート調査を行い、牛乳、乳製品、大豆製品、肉・卵、小魚、魚介類の摂取頻度を5段階（ほとんど食べない、月1-3回、週1-2回、週3-6回、毎日）で評価した。このうち、『ほとんど食べない』、『月1-3回』、『週1-2回』を摂取低頻度、『週3-6回』及び『毎日』を摂取高頻度とし、解析を行った。自記式アンケート調査で年齢、身長、体重、閉経後年数についての回答を得た。

1. 高岡市健康増進課

表 1. 対象者の身体特性と身体活動

		median	interquartile range
年齢	(歳)	66.0	5.3
身長	(cm)	150.5	9.5
体重	(kg)	53.0	10.1
BMI	(kg/m ²)	22.7	2.3
閉経後年数	(年)	16	7.5
歩数	(歩)	9422.8	3836.8
身体活動量	(Ex/week)	29.1	14.1
低活動時間	(分/day)	64.4	28.4
中高強度活動時間	(分/day)	26.6	17.1

表 2. 対象者の骨強度指標

	開始時		1 年経過時		p-value
	median	interquartile range	median	interquartile range	
stiffness	62.7	15.0	63.5	15.1	0.253
SOS (m/sec)	1514.8	39.4	1522.8	32.4	0.058
BUA (dB/MHz)	89.7	12.1	89.3	9.6	0.961

Willcoxon の符号順位検定

身体活動量と活動強度が骨強度に与える影響を検討するため、エクササイズガイド2006 [3] で推奨されている23 Ex/week 以上行っており、また、中強度以上の活動が28.1分/day 以上（以前我々が行った研究 [4]で対象となった高齢女性（n= 78, age= 63.0±4.5 yrs）の身体活動に占める強度が中強度以上の活動が28.1分/day であった）行っている者を身体活動量・活動強度充足群（充足群, n= 7）、23 Ex/week 以上、28.1分/day 未満の者を身体活動量充足群（半充足群, n= 5）、23 Ex/week 未満、28.1分/day 未満の者を身体活動量・運動強度不足群（不足群, n= 6）とし解析を行った。

解析に際して、対象者が少ないことから、中央値、四分位範囲を求めた。中央値の比較は、開始時と終了時の比較では Willcoxon の符号順位検定、3群以上の比較では Kruskal-Wallis 検定（多重比較：Steel-Dwass 検定）、2群間の比較では Mann-Whitney 検定を行った。割合の比較は Fisher の正確確率検定を行った。いずれの検定方法についても危険率0.05未満を有意水準とした。統計解析には統計解析ソフト SPSS19

及び R ver.2.14.1を使用した。

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実施された。

結 果

各群の身体特性と1年間の身体活動の結果（表3）を示す。年齢、身長、体重、BMI については3群とも有意な差は見られなかった。歩数と身体活動量では不足群と半充足群、不足群と充足群に有意な差がみられ、低強度運動時間では不足群と半充足群で有意な差がみられ、中高強度運動時間では不足群と半充足群、不足群と充足群、半充足群と充足群で有意な差がみられた。開始時の骨強度指標については不足群が低値を示したものの、いずれも指標についても有意な差はみられなかった（表4）。しかし、1年経過時の stiffness, SOS については、不足群と半充足群に有意な差がみられた（表5）。また、開始時と1年経過時の骨強度指標の比較を行うと、3群共に、開始時と1年経過時では有意な差はみられなかった。

表 3. 3 群間の身体特性と身体活動

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value	多重比較
	median	interquartile range	median	interquartile range	median	interquartile range		
年齢 (歳)	64.5	7.3	67.0	6.0	66.0	7.0	0.405	
身長 (cm)	154.0	11.0	148.0	4.5	153.0	12.0	0.081	
体重 (kg)	51.0	10.9	53.0	6.3	54.0	11.0	0.854	
BMI (kg/m ²)	21.5	3.8	23.9	1.9	22.7	2.1	0.100	
閉経後年数 (年)	14	14	19	5	15	9	0.479	
歩数 (歩)	6582.5	1642.3	11285.3	2691.5	10397.8	2365.4	0.006	A<B, A<C
身体活動量 (Ex/week)	20.6	2.1	31.0	9.6	34.8	13.3	0.006	A<B, A<C
低強度運動時間 (分/day)	56.5	13.6	94.2	38.7	60.5	30.2	0.011	A<B
中高強度運動時間 (分/day)	16.0	4.3	25.7	7.6	34.4	11.8	0.018	A<B, A<C, B<C

Kruskal-Wallis検定, Steel-Dwass検定

表 4. 3 群間の開始時の骨強度指標

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value
	median	interquartile range	median	interquartile range	median	interquartile range	
stiffness	56.4	12.4	62.9	16.2	66.4	12.1	0.273
SOS (m/sec)	1500.8	39.3	1523.3	48.9	1519.6	20.0	0.273
BUA (dB/MHz)	89.3	15.5	89.8	16.4	95.7	13.2	0.584

Kruskal-Wallis検定

表 5. 3 群間の1年経過時の骨強度指標

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value	多重比較
	median	interquartile range	median	interquartile range	median	interquartile range		
stiffness	59.3	12.4	74.3	13.9	63.9	10.8	0.045	A<B
SOS (m/sec)	1506.3	24.1	1535.1	32.5	1519.5	36.2	0.006	A<B
BUA (dB/MHz)	88.1	12.8	96.2	14.6	87.6	6.8	0.273	

Kruskal-Wallis検定, Steel-Dwass検定

開始時のアンケート結果を表6に示す。表の値は高頻度摂取と答えた人の実数であり、カッコ内の値は高頻度摂取と答えた人の割合である。開始時では半充足群で大豆を高頻度で摂取している者の割合が、他の2群に比べ、低い傾向であったが有意な差はみられなかった($p=0.057$)。また、1年経過時のアンケート結果についても有意な差はみられなかった(表7)。開始時と1年経過時を比較すると、不足群では、大豆製品で割合が増加し、小魚で減少していた。半充足群では、大豆製品、肉・卵、小魚、魚介の割合が増加し、牛乳、

乳製品で高頻度摂取と答えた人の割合が減少していた。充足群では乳製品、肉・卵、小魚の割合が減少し、魚介の割合が増加していた。

考 察

表1より身体活動量についてはエクササイズガイドで推奨されている23 Ex/weekを超えていることから、普段から十分な身体活動を行っている集団であることが推測されるが、データは調査開始からの記録であり、

表 6. 3 群間の開始時の食生活

	不足群		半充足群		充足群		p-value
牛乳	5	(0.83)	4	(0.80)	5	(0.71)	1.000
乳製品	4	(0.67)	2	(0.40)	5	(0.71)	0.285
大豆製品	5	(0.83)	1	(0.20)	6	(0.86)	0.057
肉・卵	6	(1.00)	3	(0.60)	3	(0.43)	0.112
小魚	3	(0.50)	0	(0.00)	2	(0.29)	0.281
魚介	5	(0.83)	1	(0.20)	5	(0.71)	0.131

カッコ外は高頻度摂取と答えた人の実数，カッコ内は高頻度摂取と答えた人の割合
Fisher の正確確率検定

表 7. 3 群間の1年経過の食生活

	不足群		半充足群		充足群		p-value
牛乳	5	(0.83)	2	(0.40)	5	(0.71)	0.387
乳製品	4	(0.67)	1	(0.20)	4	(0.57)	0.367
大豆製品	6	(1.00)	3	(0.60)	6	(0.86)	0.239
肉・卵	6	(1.00)	4	(0.80)	5	(0.71)	0.588
小魚	2	(0.33)	2	(0.40)	1	(0.14)	0.669
魚介	5	(0.83)	2	(0.40)	6	(0.86)	0.281

カッコ外は高頻度摂取と答えた人の実数，カッコ内は高頻度摂取と答えた人の割合
Fisher の正確確率検定

加速度計を装着することで身体活動量が増加した可能性がある。また、表2の開始時の stiffness と、対象者の年代である60～69歳女性での stiffness の基準値(67.5～69.9) [5]と比較すると、低いことが分かり、骨に不安をもつ者が対象となった可能性が考えられる。

骨強度指標は、開始時には3群間に違いは見られなかったが、1年経過時では、不足群は半充足群より、stiffness, SOS が低値を示した。身体活動以外に骨に影響を与える、年齢、体重、身長及び開始時と1年経過時の食生活については3群間に違いがないことから、stiffness, SOS が低値を示したことは身体活動に起因するものと考えられる。また、身体活動量、活動強度が充足している充足群と半充足群とでは違いがみられなかった。これより、十分な身体活動量を満たしていれば、活動強度が高い身体活動を短い時間行うことと、活動強度の低い身体活動を長い時間行うことは、骨強度に与える影響は変わらないことが推測された。しかし、半充足群は他の2群と比較して、1年経過時の食生活で、摂取高頻度と答えた人の割合が増加している項目が多いことが骨強度変化に影響している可能性も考えられるため、さらなる検討が必要である。

本研究にはいくつか限界点が存在する。一つは身体活動の測定の限界である、本調査に使用した加速度計は、本体が上下左右に揺れることで身体活動量を測定し、揺れる速度で活動強度を測定している。そのため、荷物を持って歩く場合や、階段の上り下りでは正確な活動強度の測定は行えない。そのため、中強度以上の活動強度が低強度として測定されているケースがあると考えられる。また、研究対象者数が少ないため、集団が十分に一般化されているとはいいがたい。しかし、中高年男女で衝撃のある運動、衝撃のない運動どちらも腰椎の骨密度を増加させるとの報告[6]や、中年男女の慢性リウマチ患者に2年間、週2回筋力トレーニングを行わせた集団と、週2回負荷のないストレッチを行わせた集団で、2年後の腰椎と大腿骨頸部の骨密度に違いが見られなかった報告[7]などがあり、本調査結果もこれらの結果を支持するものである。

また、本報告は、中間報告であり、調査は平成24年8月まで行われる。閉経後の女性では踵骨骨密度が年間、約2.7 %減少する [8] との報告があり、2年間では、約5.3 %減少する計算になる。終了時は、本報告結果より骨強度の変化は大きくなると考えられ、より

平成24年12月14日

長期的な骨強度変化と身体活動についての報告ができ
ると考えている。

以上、まとめると、中高年者女性では身体活動量が
23 Ex/week 以上であれば、身体活動の種類を問わず、
骨強度低下予防に効果的に働くことが示唆された。

謝 辞

本調査の実施にあたり、ご協力いただいた健康体操
教室参加者のみなさん、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. 厚生労働省(2011). 介護保険事業状況報告
2. 厚生労働省(2011). 平成22年国民生活基礎調査
3. 厚生労働省(2006). 健康づくりのための運動指針
2006<エクササイズガイド2006>，運動所要量・
運動指針の策定検討会
4. 堀井裕子，中崎美峰子，田中朋子，明神三枝子
(2007). 富山衛研年報，31，p152-157
5. 萩野浩(2005). Osteoporosis Japan, 13, p 31-35
6. 吉村法子(2003). 日本衛生学会誌，58，p 328-337
7. Arja Häkkinen, Tuulikki Sokka, Antero Ko
taniemi, Pekka Hannonen(2001). Arthritis &
Rheumatism, 44, p 515-22.
8. 伊藤昌子，井口登美子，森山郁子(2002). 日本産
婦人学会誌，54，p 427-430

長期・継続的な海洋深層水運動浴によるメタボリック症候群対策と 皮膚状態およびQOLの改善の検討

新村 哲夫 田中 朋子 金木 潤 小林 俊哉¹ 山腰 高子²
松永 憲治² 清水 忠道² 立瀬 剛志³ 立浪 勝⁴ 鏡森 定信⁵

Health Effects of Long-Term and Continuous Exercise Bathing in Deep Sea Water:
Effects on Metabolic Syndrome, Skin Condition and QOL

Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Toshinari KOBAYASHI¹,
Takako YAMAKOSHI², Kenji MATSUNAGA², Tadamichi SHIMIZU²,
Takashi TATSUSE³, Masaru TACHINAMI⁴ and Sadanobu KAGAMIMORI⁵

要 旨 海洋深層水（深層水と略す）を用いた長期・継続的な運動浴のメタボリック症候群対策への利用とともに、皮膚状態およびQOLの改善効果について検討した。

腹囲がメタボリック症候群のスクリーニング基準以上、またはBMIが25以上の肥満者40名と、基準未満の非肥満者20名の中高年女性を募集し、調査対象とした。深層水体験施設で、3ヶ月間、週1回以上、深層水中で歩行浴を主とした運動浴を行った。深層水浴期間の開始時と終了時に、身体測定、血圧測定、血液生化学的検査、尿検査、体力測定、皮膚状態の測定およびSF-36によるQOLアンケート調査等を行った。

終了時の調査に参加した肥満者34名、非肥満者18名について検討したところ、体重、体脂肪率および腹囲は、肥満者および非肥満者のいずれにおいても有意に減少し、両者の腹囲変化に違いがみられた。肥満者と非肥満者において、下肢筋力および血中のHDL-コレステロールで有意な増加と、HbA1cの有意な減少がみられた。

深層水浴期間後の皮膚状態のアンケートでは、52名中28名から「よくなった」との回答があったが、皮膚状態の指標として測定した、前腕および腹部の水分蒸散量は増加し、角質水分量は減少し、pHは上昇する結果がえられた。対照とした深層水浴をしない女性11名の測定でも同様なことがみられており、季節の影響が示唆され、さらに検討が必要である。

深層水浴期間前後の52名のQOLスコアを比較すると、身体的健康の尺度であるPF（身体機能）、RP（日常役割機能（身体））、BP（体の痛み）、GH（全体的健康感）のいずれもが上昇し、精神的健康の尺度ではVT（活力）が上昇し、サマリースコアであるPCS（身体的側面）とMCS（精神的側面）が上昇した。肥満者の低スコアからの改善が特徴的であった。肥満や皮膚状態とQOLスコア改善との関連についてさらに検討する必要がある。

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、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]。さらに、長期・継続的に深層水中で運動浴を行った場合について検討し、腹部肥満者におけるメタボリック症候群対策への利用の可能性が示唆される結果が得られた[5]。そこで、今回は、長期・継続的な深層水運動浴のメタボリック症候群対策への利用

1. 富山大学地域連携推進機構、2. 富山大学大学院医学薬学研究部皮膚科学教室、
3. 同 保健医学教室、4. 同 病理診断学教室、5. 富山大学芸術文化学部、6. 富山産業保健推進センター

とともに、皮膚状態および健康関連 QOL に及ぼす影響について検討したので報告する。

対象と方法

深層水体験施設「タラソピア」で、これまで深層水運動浴をしたことのない40歳以上70歳未満の女性60名を募集し、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90cm 以上、または BMI が25以上の肥満者40名と、基準未満の非肥満者20名を調査対象者とした。

水中運動の専門家による深層水中での運動浴の指導を受けた後、3ヶ月間、週1回以上、水温34℃、水深90～120cm の深層水中で歩行浴を主とした運動浴を行った。3ヶ月間の運動浴回数については、深層水体験施設に備付けの記録用紙により確認した。

運動浴期間の開始時と終了時に、身体測定、血圧測定、採血、尿検査、体力測定、皮膚状態の測定、皮膚状態および QOL 関連の質問項目を含むアンケート調査および医師による診断を行った。身体測定など測定項目および測定方法は、先に報告したとおりである[5]。皮膚状態の測定を新たに実施した。測定部位は、前腕部と腹部である。測定項目は、水分蒸散量 (TEWL)、角質水分量、pH、粘弾性である。水分蒸散量 (TEWL) はドイツ COURAGE KHAZAKA 社製テヴァメータ TM300装置、角質水分量は COURAGE KHAZAKA 社製コルネオメータ CM825装置、pH は COURAGE KHAZAKA 社製スキンペーハーメータ PH905、粘弾性はモリテックス社製トリプルセンス装置を用いて測定した。

深層水運動浴を行わない女性11名 (30歳代～60歳代) を対照者として、対象者の開始時および開始時にあわせて皮膚状態の測定を行った。

運動浴期間の開始時と終了時に、健康状態調査票 SF-36v2™を用いて健康関連 QOL (Health Related Quality of Life) の調査を行った

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。

結 果

1 メタボリック症候群対策の検討結果

対象者60名のうち、終了時の調査に参加した肥満者34名、非肥満者18名 (合計52名、対象者の87%) の年齢構成は表1のとおりである。終了時調査の参加者52名について、開始時と終了時の検査結果を比較検討した。その結果を表2、3に示した。3ヶ月間 (12週間)

の運動浴回数は、肥満者で平均29回、非肥満者で平均30回であり、運動浴回数に違いはみられなかった。最高は61回であった。

3ヶ月間の深層水運動浴期間前後の体重、体脂肪率および腹囲の変化をみると、肥満者では、体重が平均1.0kg、腹囲が3.0cm、体脂肪が0.9%、有意に減少した (いずれも $p<0.001$)。非肥満者では、体重が平均0.5kg、腹囲が1.3cm、体脂肪が1.0%有意に減少した (いずれも $p<0.05$)。肥満者と非肥満者の腹囲の変化に違いがみられた ($p<0.05$)。

血圧の変化をみると、前回の肥満者の検討では、収縮期血圧が低下する傾向がみられたが、今回の対象者ではそのような傾向は顕著でなく、非肥満者では逆に上昇する傾向がみられた。非肥満者の中に、低血圧者が含まれていたためではないかと思われるが、さらに検討が必要である。

体力測定として、下肢筋力および握力の測定を行った。肥満者と非肥満者の両群とも下肢筋力の増加がみられた (いずれも $p<0.001$)。握力は右も左も変わらなかった。

血液検査では、肝機能検査は両群とも有意な変化はみられなかった。総コレステロールおよび LDL-コレステロールは肥満者でやや増加する傾向がみられたが (有意差なし)、HDL-コレステロールは肥満者と非肥満者の両群で有意に増加した ($p<0.001$)。前回の対象者ではみられなかった HbA1c の有意な減少が、肥満者と非肥満者の両群でみられた (いずれも $p<0.05$)。また、非肥満者でアディポネクチンの増加がみられた ($p<0.01$)。HDL-コレステロールとアディポネクチンの変化についてみたところ、肥満者で有意な相関がみられ、HDL-コレステロールの増加したものではアディポネクチンの増加がみられた。深層水運動浴の回数と腹囲の変化の関係をみたところ、運動浴回数と腹囲の変化との間には相関はみられなかった。

2 皮膚状態への影響の検討結果

終了時の調査に参加した52名の皮膚状態への影響について実施したアンケート結果を表4に示した。深層水運動浴の1回の効果においても、3ヶ月間の運動浴の終了後の効果においても、「しっとりした」「かさかさしなくなった」など皮膚の状態がよくなったとの感想が半数以上あり、肥満者と非肥満者の間に有意な差はみられなかった。悪くなったとの感想はなかった。

運動浴期間前後の皮膚状態に関する測定項目の結果を表5に示した。肥満者の肥満が改善すると皮膚状態が改善するという報告[7]があることから、肥満者および非肥満者に分けて検討した。前腕部の水分蒸散量

表 1. 年齢およびメタボリック基準別の終了時の対象者数

年齢	メタボリック症候群スクリーニング基準		合計
	未満【非肥満者】	以上【肥満者】	
40-49	7 (8)	7 (10)	14 (18)
50-59	5 (5)	13 (13)	18 (18)
60-69	6 (7)	14 (17)	20 (24)
合計	18 (20)	34 (40)	52 (60)

表の () 内は開始時の数

表 2. 測定項目（体格、血圧および体力検査）の結果

項 目		非肥満者 (n=18)	肥満者 (n=34)	合計 (n=52)
運動浴回数		29.6±11.4	28.9±12.8	29.1±12.4
身長	開始時	156.0±6.1	154.6±6.3	155.1±6.2
体重 (Kg)	開始時	50.2±4.5	62.7±8.4+++	58.4±9.4
	終了時	49.7±4.4*	61.7±8.3***	57.5±9.2***
BMI	開始時	20.7±1.7	26.2±3.0+++	24.3±3.7
	終了時	20.4±1.6*	25.8±3.0***	23.9±3.7***
体脂肪率 (%)	開始時	28.9±6.2	39.7±4.7+++	36.0±7.4
	終了時	20.5±1.6*	38.8±4.5*	35.0±7.3**
腹囲 (cm)	開始時	78.9±5.7	96.9±6.7+++	90.7±10.8
	終了時	77.7±5.4*	93.9±6.9***	88.3±10.1***
収縮期血圧 (mmHg)	開始時	112.5±14.0	131.4±10.8+++	124.8±17.5
	終了時	118.4±10.8*	130.0±11.0	126.0±12.1
拡張期血圧 (mmHg)	開始時	70.8±7.9	82.8±11.0+++	78.6±11.8
	終了時	75.1±7.2*	82.8±9.8	80.1±9.7
脈拍 (/分)	開始時	66.8±7.9	69.3±9.6	68.4±9.1
	終了時	71.4±7.6*	70.0±9.1	70.5±8.6
下肢筋力 (Peak) (N)	開始時	407±95	392±84	397±87
	終了時	440±122*	447±108***	445±112***
下肢筋力 (平均) (N)	開始時	379±94	358±86	366±89
	終了時	418±110*	419±107***	419±107***
握力 (右) (kg)	開始時	26.8±4.5	26.1±5.2	26.4±4.9
	終了時	27.2±5.0	26.1±5.6	26.5±5.4
握力 (左) (kg)	開始時	26.0±4.3	25.5±4.6	25.7±4.4
	終了時	26.6±4.3	25.6±4.6	26.0±4.5

*, **, ***: p<0.05, p<0.01, p<0.001 (開始時と終了時の比較)

+++ : p<0.001 (非肥満者と肥満者の比較)

表 3. 血液生化学項目の測定結果

項 目		非肥満者 (n=18)	肥満者 (n=34)	合計 (n=52)
GOT (U/L)	開始時	20.5±10.3	24.0±17.2	22.8±15.1
	終了時	19.9±5.3	23.9±12.7	22.5±10.8
GPT (U/L)	開始時	17.8±11.6	28.0±33.4	24.5±28.1
	終了時	14.2±5.2	22.7±21.8	19.8±18.2
γ-GTP (U/L)	開始時	18.8±12.3	36.9±51.9	30.7±43.2
	終了時	17.4±6.6	26.2±18.1	23.1±15.6
T-Chol (mg/dL)	開始時	210±39	206±32	208±34
	終了時	213±43	214±32	214±36
HDL-Chol (mg/dL)	開始時	60.2±9.3	55.1±10.0	56.9±10.0
	終了時	65.1±11.0**	59.6±10.1***	61.5±10.7***
LDL-Chol (mg/dL)	開始時	124±37	125±28	124±31
	終了時	127±41	132±30*	131±34*
HbA1c (%)	開始時	5.10±0.31	5.18±0.30	5.15±0.30
	終了時	4.96±0.30**	5.11±0.30*	5.06±0.31***
アディポネクチン (μg/mL)	開始時	8.8±2.6	8.4±7.2	8.6±6.0
	終了時	9.7±3.0**	8.8±6.8	9.1±5.8*

*, **, ***: p<0.05, p<0.01, p<0.001 (開始時と終了時の比較)

表 4. 深層水運動浴の皮膚状態への影響（アンケート結果）

対象者	1回の運動浴の効果		3ヶ月の運動浴の効果	
	効果あり	変わらない	効果あり	変わらない
非肥満者	11 (61)	7 (39)	8 (44)	10 (56)
肥満者	21 (62)	13 (38)	20 (59)	14 (41)
全体	32 (62)	20 (38)	28 (54)	24 (46)

数, () 内は%

表 5. 皮膚状態の測定結果

項目		非肥満者 (n=18)	肥満者 (n=34)	対照者 (n=11)	合計 (n=63)
水分蒸散量 (前腕)	開始時	9.4±1.6	10.9±3.3	10.9±2.3	10.5±2.8
	終了時	13.7±2.6***	14.7±3.2***	12.9±2.7	14.1±3.0***
水分蒸散量 (腹部)	開始時	9.4±3.6	11.1±6.0	9.4±3.6	10.3±5.1
	終了時	10.6±6.0	13.9±8.7	11.4±6.8	12.5±7.3*
角質水分量 (前腕)	開始時	46.0±6.4	41.2±6.4+	43.4±8.1	42.9±6.9
	終了時	28.8±4.6***	27.9±4.8***	29.7±4.4***	28.5±4.7***
角質水分量 (腹部)	開始時	33.2±8.9	25.8±6.0++	32.9±6.5	29.1±7.8
	終了時	24.6±4.2**	21.3±4.0***	26.6±8.0*	23.2±5.3***
pH (前腕)	開始時	4.30±0.43	4.28±0.59	4.38±0.43	4.30±0.52
	終了時	5.47±0.74***	5.41±0.80***	5.14±0.60*	5.38±0.75***
pH (腹部)	開始時	4.52±0.35	4.45±0.53	4.64±0.46	4.51±0.46
	終了時	5.45±0.47***	5.45±0.98***	5.83±1.25*	5.51±0.92***
粘弾性 (前腕)	開始時	66.9±7.0	68.5±5.3	69.0±5.3	68.1±5.8
	終了時	73.0±8.1**	71.1±7.9	71.1±7.6	71.6±7.8**
粘弾性 (腹部)	開始時	58.3±11.5	55.9±10.4	57.4±15.9	56.9±11.6
	終了時	57.7±10.4	53.6±10.1	57.2±13.2	55.4±10.8

*, **, ***: 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 (ANOVA、非肥満者および対照者と比較)

(TEWL) は、肥満者と非肥満者の両者ともに増加した (いずれも p<0.001)。角質水分量は、肥満者、非肥満者の両者の前腕および腹部で減少した (p<0.001)。pH は両者のいずれの部位においても上昇がみられた (いずれも p<0.001)。

深層水運動浴をしない対照者においても、水分蒸散量 (TEWL) は増加の傾向があり、角質水分量は前腕および腹部で有意に減少した。また、pH は前腕および腹部で上昇した。

前腕部の粘弾性は、肥満者、非肥満者において終了後に増加する傾向がみられた (非肥満者 p<0.01, 肥満者 p=0.08)。

3 QOL への影響の検討結果

終了時調査において回答のあった52名について、QOL の調査結果を表6および7に示した。表6は、国民標準値に基づいたスコアリング (NBS: Norm-based Scoring) による得点を示したものである。表7は、3つのサマリースコアの結果を示した。

対象者全体では、身体的健康の尺度である PF (身体機能)、RP (日常役割機能 (身体))、BP (体の痛

み)、GH (全体的健康感) のいずれもが上昇し、精神的健康の尺度では VT (活力) のみが上昇した (表6)。サマリースコアである PCS (身体的側面の QOL サマリースコア) と MCS (精神的側面の QOL サマリースコア) が上昇し、MCS (役割/社会的側面の QOL サマリースコア) は変わらなかった (表7)。

非肥満者では、身体的健康の尺度の GH と精神的健康の VT のみの上昇であったが、肥満者は、身体的健康の尺度である PF、BP、GH が上昇し、精神的健康の VT、MH (心の健康) が上昇し、サマリースコアである PCS と MCS が上昇した。開始時には非肥満者に比べて肥満者が BP、GH、PCS、MCS において有意に低かったが、終了時には差はみられなくなった。

運動浴期間中の運動浴回数と健康尺度との関係を見ると、20回以下では (12名)、健康尺度の上昇はみられなかった。21回以上で (40名)、SF (社会生活機能)、RE (日常役割機能 (精神)) および RCS を除いた尺度で有意な上昇がみられた。

表 6. 健康関連QOL調査結果 (NBS得点)

項目		非肥満者 (n=18)	肥満者 (n=34)	合計 (n=52)
PF	開始時	48.0±11.3	44.5±10.8	45.7±10.9
	終了時	49.0±10.3	47.9±9.52**	48.3±9.7**
RP	開始時	51.1±12.6	48.3±8.5	49.3±10.1
	終了時	53.5±6.8	51.3±8.0	52.1±7.6*
BP	開始時	52.1±8.2++	45.1±9.0	47.5±9.3
	終了時	53.9±7.9	52.3±10.1**	52.8±9.3**
GH	開始時	51.4±9.1+	45.6±6.2	47.6±7.7
	終了時	54.2±9.7**	51.3±8.3***	52.3±8.8***
VT	開始時	50.0±7.9	45.6±8.3	47.1±8.4
	終了時	54.6±10.3*	53.6±8.4***	54.0±9.0***
SF	開始時	48.8±9.3	49.1±10.0	49.0±9.7
	終了時	48.8±11.0	51.3±9.2	50.4±9.8
RE	開始時	50.8±12.4	49.8±8.5	50.1±9.9
	終了時	52.9±9.5	51.5±8.7	52.0±7.8
MH	開始時	52.0±7.9	49.1±9.2	50.1±8.8
	終了時	52.3±9.5	52.8±9.3*	52.6±9.3

*, **, ***: 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 (非肥満者と肥満者の比較)

表 7. 健康関連QOL調査結果 (サマリースコア)

項目		非肥満者 (n=18)	肥満者 (n=34)	合計 (n=52)
PCS	開始時	49.8±10.3+	43.8±11.1	45.9±11.1
	終了時	51.9±10.7	48.5±11.4*	49.7±11.1**
MCS	開始時	51.6±7.4+	47.0±7.3	48.6±7.6
	終了時	53.9±10.5	53.7±8.8***	53.8±9.3***
RCS	開始時	49.8±15.4	52.6±10.1	51.6±12.2
	終了時	49.7±8.4	51.2±9.2	50.7±8.9

*, **, ***: p<0.05, p<0.01, p<0.001 (開始時と終了時の比較)

+: p<0.05 (非肥満者と肥満者の比較)

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[6]、深層水を利用した報告は前回の報告[5]以外みあたらない。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中高年女性の肥満者と非肥満者を対象に、深層水体験施設において長期・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。今回の検討では、肥満者だけでなく非肥満者においても前回と同様に、体重および腹囲の減少や下肢筋力の増強、血液生化学的な指標の改善がみられた。前回[5]と今回の検討から、深層水体験施設における長期・継続的な運動浴が、メタボリック症候群対策として利用が可能であるものと思われる。

皮膚状態への影響の検討では、終了時のアンケートでよくなったという感想が得られ、また粘弾性の増加傾向がみられたが、水分蒸散量 (TEWL)、角質水分量および pH は、一般的に悪化したと考えられる変化

であった。この変化は対照者でもみられ、今回の調査時期が、開始時が9月と終了時が12月であるため、季節的な要因が示唆された。今後、アンケート結果と測定項目の悪化傾向とのギャップについて、皮膚状態の季節的変動を把握し、さらに深層水運動浴の効果を明らかにしていく必要がある。

今回、深層水体験施設において長期・継続的な運動浴を行うことにより健康関連 QOL のスコアの上昇がみられた。低いスコアであった肥満者が運動浴を行い、PF (身体機能)、BP (体の痛み)、GH (全体的健康感)、VT (活気)、MH (心の健康) の健康尺度が上昇し、PCS (身体的側面の QOL サマリースコア) と MCS (精神的側面の QOL サマリースコア) も上昇し、非肥満者のレベルまで改善したことが特徴的であった。この現象は、肥満者のなかで体重や腹囲の減少した者にみられることであり、メタボリック症候群対策として良好な結果によるものと考えられた。また、皮膚状態がよくなったとアンケートで回答した者は、同様に BP、GH の健康尺度および PCS と MCS の QOL サ

平成24年12月14日

マリースコアの上昇が観察されており、皮膚状態とQOLの関連も示唆された。肥満や皮膚状態の改善とQOLスコアとの関連についてさらに検討する必要がある。

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。

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 常山幸一先生、セキひふ科クリニック（富山大学医学部臨床教授）関 太輔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. 新村哲夫，田中朋子，金木 潤，立瀬剛志，関根道和，鏡森定信，（2011）. 富山県衛生研究所年報，34，132-138.
6. 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.
7. 飯坂真司，峰松健夫，大場美穂，赤瀬智子，真田弘美，須釜淳子（2010）. 日本創傷・オストミー・失禁管理学会誌，14，258-265.

3. 資 料

先天性副腎過形成症スクリーニングにおける 17-hydroxyprogesterone(17-OHP)値の季節変動

九曜 雅子 米田 豊

Seasonal Variation in 17-hydroxyprogesterone(17-OHP) Concentration of Dried Blood Samples on Filter Paper in the Newborn Screening of Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama

Masako KUYO and Yutaka YONEDA

新生児マス・スクリーニングにおいて、先天性甲状腺機能低下症の指標である甲状腺刺激ホルモン(TSH)値が冬期に高くなり[1,2]、また、ガラクトース血症スクリーニングについては夏期にガラクトース値が低くなる[3,4]等の季節変動が認められている。

当所では、先天性副腎過形成症スクリーニングにおいても、指標となる17-hydroxyprogesterone (17-OHP) 値が冬期に高く、夏期に低くなる傾向が認められたことから、年間を通しての17-OHP 値の変化を調査し、その要因について検討した。

なお、先天性副腎過形成症スクリーニングにおける17-OHP の測定は、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-17 α -OHP」を使用して行い、結果の判定は図1に示した基

準を用いた。

方法：

1. 過去4年間の初回受付検体の測定値を月別平均値と比較した。
2. 測定する環境の影響を検討するため、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、それぞれの測定値について比較検討を行った。
3. 17-OHP 値の季節変動と副腎機能との関連を調べるため、濾紙血液中の cortisol 値を測定した。

cortisol の測定は、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 cortisol」を使用した。測定用キットは血清用

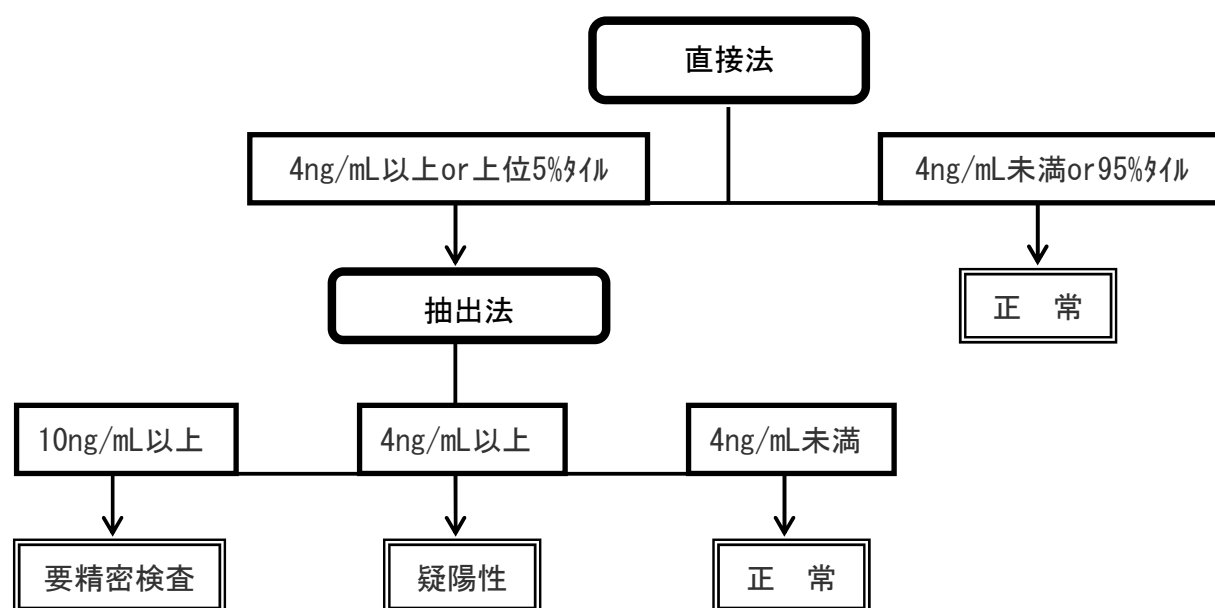


図1. 先天性副腎過形成症スクリーニングにおける17-OHPの判定基準

□内の値はカットオフ値

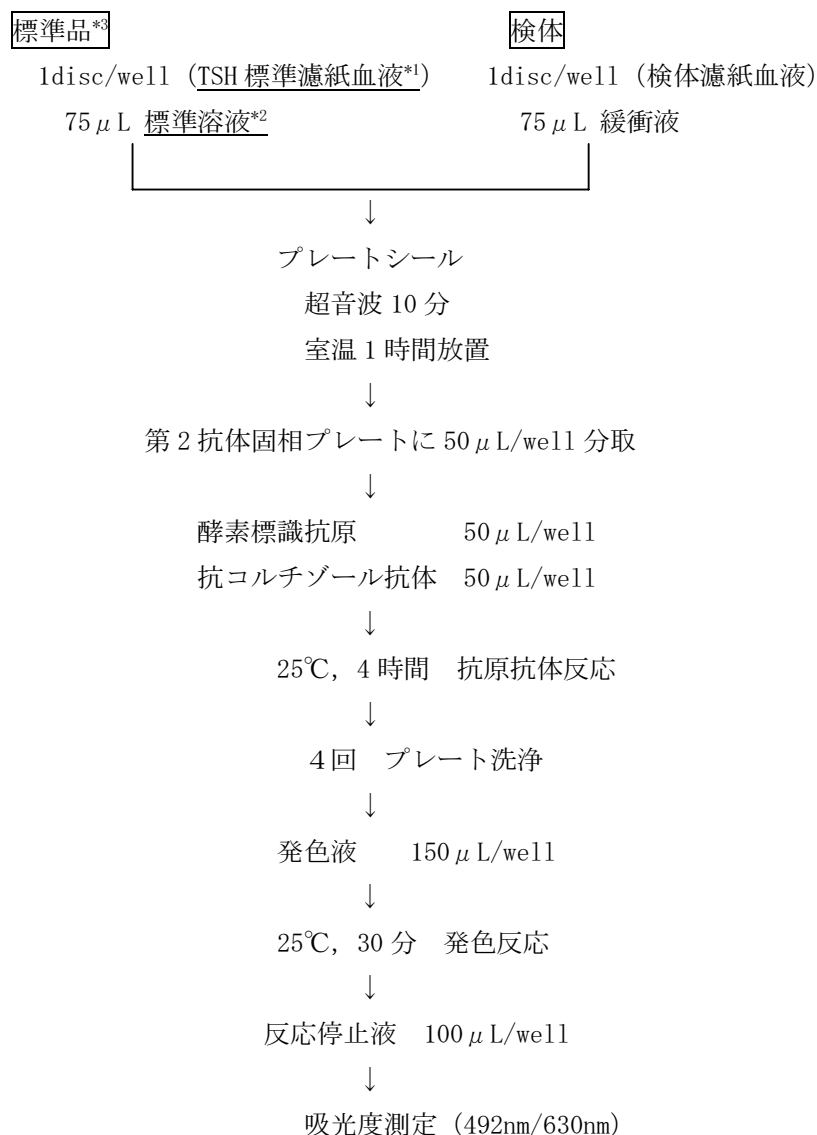


図 2. 濾紙血液中のコルチゾール測定法

*1: TSH標準濾紙血液は、ステロイド除去血液で作成されているためコルチゾールは含まない。

*2: キット添付の標準液を緩衝液で4 μg/mLに調製し、さらにこれを緩衝液で希釈して6濃度の標準溶液を作成する。

*3: 標準品は、TSH標準濾紙血液1disc（血液量は3 μLと仮定）を各濃度の標準溶液75 μLで溶出したものとする。

4 μg/mL 標準液で溶出する場合は、濾紙血液に換算したコルチゾール標準液濃度は1000ng/mLとなる。

のため、血液濾紙溶出液を試料として図2に示した手順で行った。

結果：

1. 過去4年間（2008～2011年）の17-OHP 月別平均値の比較

対象は、初回受付検体のうち出生体重2,000 g 以上の検体で、直接精査検体は除外した。

①直接法では、図3に示したように、4年間とも冬期の値が高く、夏期が低い傾向が見られた。

②抽出法では、図4に示したように、2010年と2011年は冬期の値が高い傾向が見られたが、一貫した季節変動は認められなかった。

③直接法4ng/mL 以上を示した検体、すなわち抽出法実施検体の割合を調べた結果、図5に示すように、顕著な季節変動が認められた。

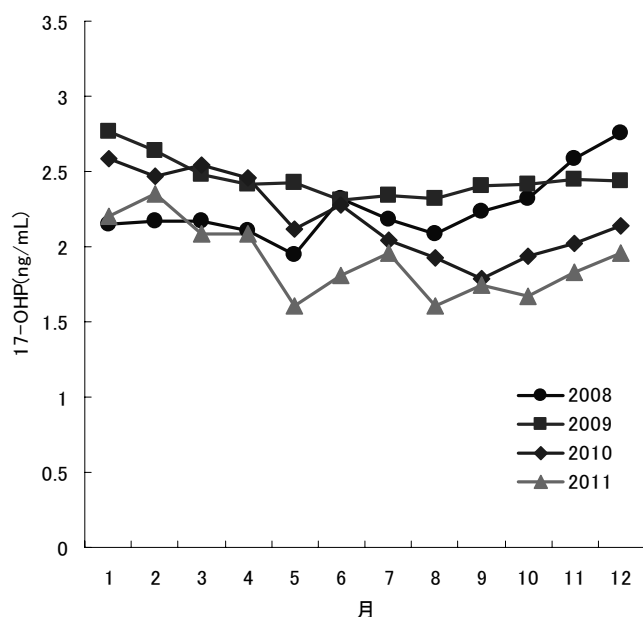


図3. 17-OHP 直接法の月別平均値

対象：初回受付検体
 出生体重2,000g 以上
 直接精査検体を除く

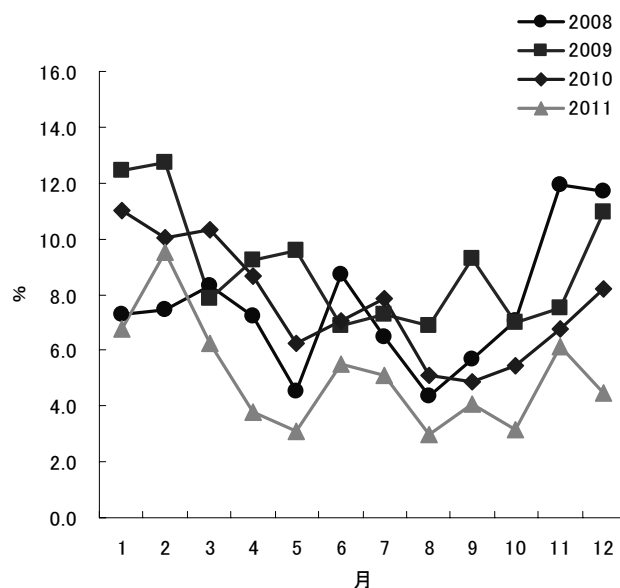


図5. 17-OHP直接法4ng/mL以上の検体(抽出法実施検体)の割合

対象：初回受付検体
 出生体重2,000g 以上
 直接精査検体を除く

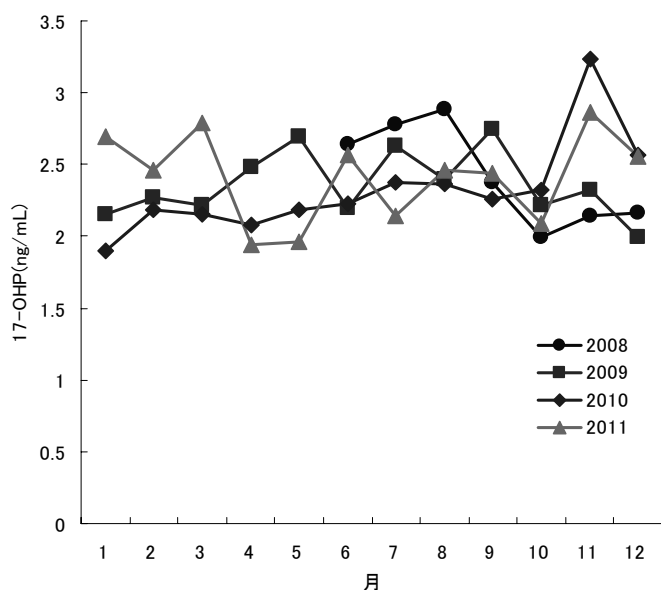


図4. 17-OHP 抽出法の月別平均値

対象：初回受付検体のうち直接法4ng/mL 以上で抽出法を実施した検体
 出生体重2,000g 以上
 直接精査検体を除く

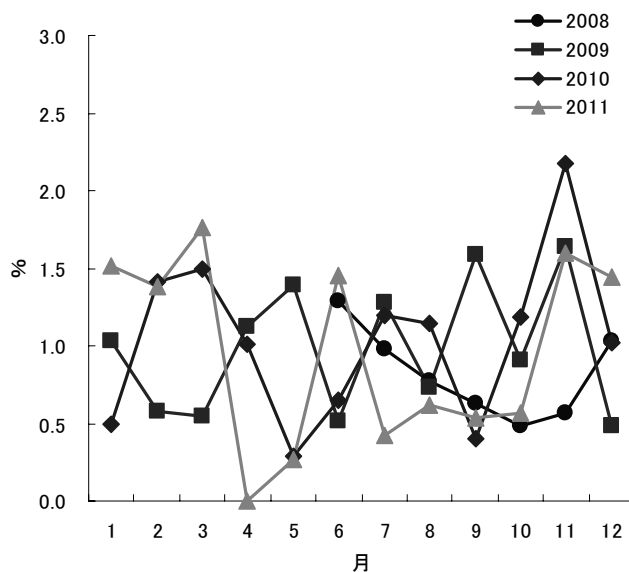


図6. 17-OHP 抽出法4ng/mL 以上の検体の割合(疑陽性率)

対象：初回受付検体
 出生体重2,000g 以上
 直接精査検体を除く

④抽出法でカットオフ値(4ng/mL)以上を示した検体の割合、すなわち疑陽性率については、図6に示したが、明らかな季節変動は認めなかった。

2. 測定環境の影響の検討

明らかな季節変動が認められた17-OHP 直接法につ

いて、その要因が測定環境によるものであるかどうかを調査するため、測定時期を換えて値を比較した。有意差検定はt検定で行った。結果は、図7に示した。

冬期に受付した検体〔受付時 2.44 ± 1.78 ng/mL〕を夏期に測定した結果、値は 2.32 ± 1.67 ng/mLとなり、

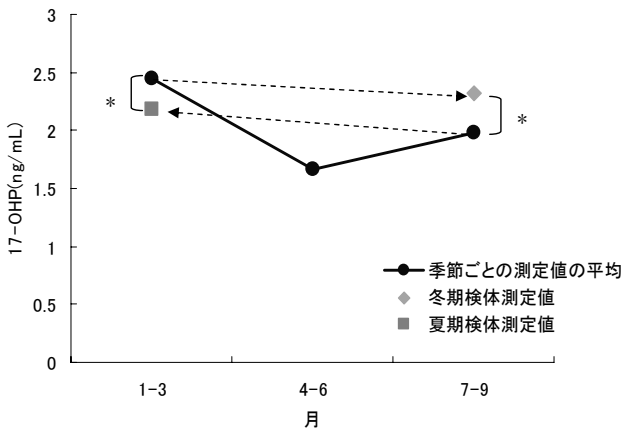


図 7. 17-OHP 直接法測定における測定環境の影響

測定時期	1-3 月 (冬期)	7-9 月 (夏期)
冬期検体測定値	2.44 ± 1.78 N=306	2.32 ± 1.67 N=250
夏期検体測定値	2.18 ± 1.57 N=385	1.98 ± 1.60 N=250

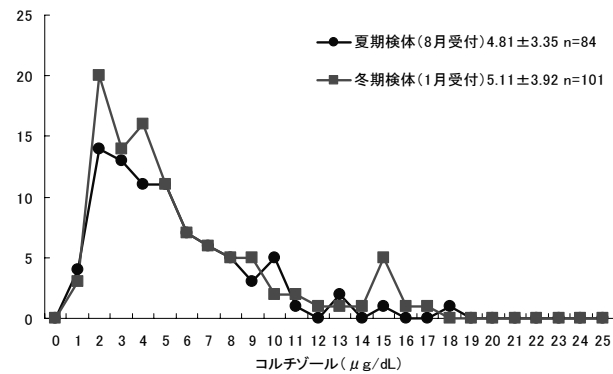


図 8. 夏期検体と冬期検体の濾紙血液中コルチゾール値の分布の比較

この測定と同じ時期に受付した夏期検体の測定値 $1.98 \pm 1.60 \text{ ng/mL}$ と比較すると、冬期の受付検体のほうが有意に高かった。

また、夏期に受付した検体〔受付時 $1.98 \pm 1.60 \text{ ng/mL}$ 〕を、冬期に測定した結果では、 $2.18 \pm 1.57 \text{ ng/mL}$ となり、この測定と同じ時期に受付した冬期検体の測定値 $2.44 \pm 1.78 \text{ ng/mL}$ と比較すると、夏期の受付検体のほうが有意に低かった。

3. 副腎機能と季節変動との関連の検討

冬期に副腎機能が亢進する[5,6]ことにより、冬期の17-OHP値が高くなる可能性が考えられたことから、これを確認するために、濾紙血液中のコルチゾール値を測定した。

その結果、冬期は $5.11 \pm 3.92 \mu\text{g/dL}$ 、夏期は $4.81 \pm 3.35 \mu\text{g/dL}$ となり、冬期が高い傾向はあるものの有意差は認められなかった。(図8)

考察：

先天性副腎過形成症スクリーニングにおける17-OHP値については、直接法で高値を示す検体の割合が、冬期に高く、夏期が低くなる季節変動が認められた。

抽出法および再採血率では明らかな変動は認められなかったものの、直近2年間は冬期に高くなる傾向が認められており、これらの値の変動は、カットオフ値の設定や検査効率に影響を及ぼすことから、さらに検討が必要と思われた。

また、17-OHP値については、冬期検体を夏期に測定しても高く、夏期検体を冬期に測定しても低かったこと、さらに、濾紙血液中のコルチゾールについては、冬期と夏期では明らかな差が認められなかったことから、季節変動は、測定環境や新生児の副腎機能の影響ではなく、例えば、濾紙血液中のガラクトースのように、高温曝露等により血液濾紙中で変化する[3,4]可能性も考えられ、今後さらに検討したい。

謝 辞

コルチゾール測定に当たり、ご助言いただきました(株)岸本医学研究所 藤井正先生に深謝いたします。

文 献

1. 成瀬 浩, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 五十嵐優子, 夏井裕子, 橋本延代, 今井秀樹(1999). 平成11年度厚生科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担研究報告書, 39-41.
2. 南谷幹史, 廣田美和, 安片恭子, 数川逸郎, 皆川真規, 上瀧邦雄, 大西尚志, 眞山和徳, 高柳正樹, 猪股弘明(2010). 日本マス・スクリーニング学会誌, 20(1), 27-32.
3. 望月孝一, 堤 泰子, 岡田智香子, 筑後保幸, 磯村真理子, 石山 洋, 小澤仁子, 藤井 正, 大竹 明, 望月 弘(2007). 日本マス・スクリーニング学会誌, 17(2), 57.
4. 渡川美弥子, 中常千代美, 吉井千代子, 但馬 剛, 佐倉伸夫(2008). 日本マス・スクリーニング学会誌, 18(2), 164.
5. 堀内淑彦, 岡本正敏, 上妻和矩(1964). 日本温泉気候物理医学会雑誌, 28, 77-78.
6. Anne Helene Garde, Ase Marie Hansen, Lene Theil Skovgaard, Jytte Molin Christensen (2000). Clin.Chem., 46(4), 551-559.

ミルクによる血液ろ紙の汚染検査のためのラクトース測定法の開発

米田 豊 九曜 雅子

Determination of Lactose in Dried Blood Samples for Newborn Screening

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

当所では血液ろ紙の汚染物質としてミルク汚染が疑われる事例を経験している。当該血液ろ紙はミルク臭を呈しておりガラクトース濃度が高値でポイトラー試験は正常であった。再採血検体は、ガラクトース濃度、ポイトラー試験共に、正常であった。ミルクによる血液ろ紙の汚染については、中内ら[1]も報告しており、薄層クロマトグラフィー（TLC）により、ラクトースを検出している。今回、ガラクトース測定残液に β -グルコシダーゼ（ β -GS）を加え、簡便に血液ろ紙中のラクトースを定量する方法を確立したので報告する。

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：365nm, 検出波長：450nm

2 試薬

ガラクトース測定キット：シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティック社製エンザプレート GAL-R
 β -GS 溶液：シグマ社製 β -ガラクトシダーゼ（G5160, 8.0units/mg 以上）20mg を蒸留水10ml に溶解した（用時調製）。

ラクトース標準溶液：ラクトースを精製水に溶解し30mg/ml の原液を調製後、これを精製水で希釈し、25, 20, 15, 10及び5 mg/ml の標準液を調製した。

3 牛乳含有ろ紙

牛乳3銘柄について、各々50 μ l を新生児マス・スクリーニング用ろ紙に含浸させ、風乾したろ紙を検体とした。

4 操作

1/8インチ径の牛乳含有ろ紙1枚ずつを96穴U底マイクロプレート上にセットしたトランスファープレートのセルに入れ、血液ろ紙中のガラクトース測定の方法に準じ操作を行った。すなわち固定液10 μ l を添加し蛋白質をろ紙に固定後、37°Cで60分間溶媒を揮散さ

せた。トランスファープレートを蛍光測定用マイクロプレート上に移し、溶出液50 μ l を加え、25°Cで60分間溶出を行った。これを5分間2000rpm の遠心分離を行い、ろ紙から溶出液を分離した。得られた溶出液にレサズリン含有緩衝液100 μ l 及びガラクトース測定用酵素液50 μ l を加え、37°Cで60分間反応後、蛍光測定によりガラクトースを定量した。次に β -GS 溶液50 μ l を加え、直ちに蛍光を測定しラクトース測定用のブランクとした。更に37°Cで60分間反応後の蛍光を測定し、先に測定したブランク値を差引き、ラクトースの定量を行った。ラクトースの検量線は2次回帰曲線を用い、1/8インチ径のろ紙中の牛乳量を3 μ l として定量を行った。

結 果：

1 β -GS 添加量と反応時間

牛乳含有ろ紙中にはガラクトースと高濃度のラクトースを同時に含有しており、定量に適した β -GS 添加量と反応時間は限定される。これらのバランスと操作性を考慮し、2mg/ml β -GS を50 μ l 添加し、反応時間を60分間とする方法を採用した。

2 検量線

牛乳含有ろ紙の作成にあたり、牛乳を希釈しないで用いる方法と2倍希釈及び4倍希釈する方法を試みたところ、希釈しない場合の、ろ紙上の広がり血液とほぼ同様であったが、希釈牛乳では広がりが大きくなった、そこで希釈しない牛乳を用いることとした。検量線は5, 10, 15, 20, 25及び30mg/ml の濃度の標準液で作成した結果、図1に示す検量線が得られた。

3 測定結果

3銘柄の牛乳中のガラクトース濃度は7.5, 6.5及び5.7 mg/dlであり、ラクトース濃度は24.9, 23.3及び25.5 mg/ml であった。

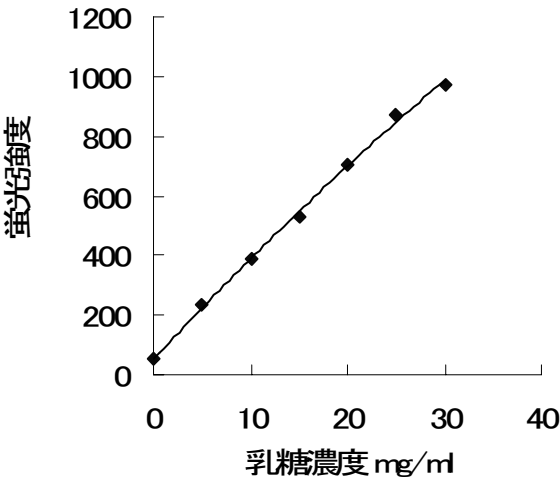


図 1．乳糖の検量線

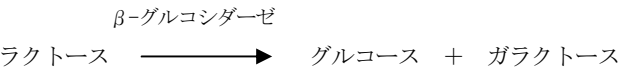


図 2．測定原理

ま と め：

ラクトースはグルコースとガラクトースからなる 2 糖であり、その定量方法として、ラクトースを酵素で分解後、グルコースを測定する方法とガラクトースを測定する方法に分けられる（図 2）。本法では後者を利用する定量法を採用した。ガラクトース測定残液には、 β -GS 以外のラクトースの測定に必要な試薬は全て含まれている。従って、 β -GS を添加するだけで、ラクトースの定量が可能であり、本法はミルク污染が疑われる検体の簡便な確認検査法として役立つと考えられる。

文 献

1．中内明子，大野留奈，川村由佳，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.

富山県における平成23年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

板持(岩井) 雅恵 名古屋(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 2011Masae IWAI-ITAMOCHI, Mayumi OBARA-NAGOYA, 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23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23年4月から平成24年3月までに受け付けた被検者は延べ637例、検体別では糞便365、咽頭または鼻腔拭い液280、唾液1、髄液19、尿6、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球など）24、吐物9、爪の皮2、痂皮2、糞便由来 cDNA7の計715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46件についても検査を行った。被検者637例中380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214症例（咽頭または鼻腔拭い液214）について検査を行った。

昨シーズン（平成22/23）終期の4、5月に、1症例からAH1型インフルエンザウイルス {A (H1N1) pdm09} が、10症例からAH3型インフルエンザウイルスが、11症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。H23/24シーズンでは、流行期前の10月に1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AH3型インフルエンザウイルスが主流を占め（142症例）、次いでB型インフルエンザウイルスが33症例から検出された。

上気道炎・下気道炎：4月、7月、3月に計4症例（咽頭または鼻腔拭い液4）について検査を行ったところ、ライノウイルス、RSウイルス、メタニューモウイルスがそれぞれ1症例から検出された。

脳炎・脳症：計6症例（髄液6、血清3、糞便2、咽頭拭い液4、尿1）の検査を行ったが、ウイルスは検出さ

れなかった。

無菌性髄膜炎：計9症例（髄液9、糞便4、咽頭拭い液7、尿1）の検査を行ったところ、4症例（髄液4、咽頭拭い液1）からムンプスウイルスが、1症例（髄液1）から水痘带状疱疹ウイルスがそれぞれ検出された。

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28事例（延べ243例、糞便227、吐物9、糞便由来 cDNA7）について検査を行ったところ、18事例の90例からノロウイルス Genogroup II (GII) が、1事例の11症例からサポウイルスが検出された。また、6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23年5月に2事例、6月に4事例、8月に1事例、10月に1事例、11月に2事例、12月に4事例、平成24年1月に1事例、2月に2事例、3月に11事例それぞれ発生した。

小児科定点医療機関からは、計35症例（糞便35、咽頭拭い液1）の散発例の検査依頼があった。このうち21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 GI 及び GII、サポウイルス、ロタウイルス A 群、ロタウイルス C 群、アデノウイルス、エコーウイルス3型、パレコウイルス1型、ポリオウイルス1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7症例からと多く検出された。

麻疹疑い：計4症例（咽頭拭い液4、血漿または血清4、末梢血単核球3、尿3）の検査を行ったところ、3月の1症例の咽頭拭い液、血漿、末梢血単核球から麻疹ウイルスが検出された。本症例は、麻疹ワクチン接種歴のない1歳4ヶ月の男児であった。男児はパキスタンから帰国した翌日に発症したが、家族は全員無症状であった。検出された麻疹ウイルスの遺伝子型は、D4型であった。

手足口病：7～10月に計38症例（便30、咽頭拭い液33、鼻腔拭い液1、爪の皮2）の検査を行ったところ、33症例からウイルスが検出された。ウイルスの種類は、

表 1. 平成23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23年(2011年)					平成24年(2012年)							合計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
インフルエンザ	(被検者数)	21	3					1		16	65	67	41	214
	AH1型インフルエンザ	1												1
	AH3型インフルエンザ	8	2					1		10	56	58	18	153
	B型インフルエンザ	10	1							3	4	7	19	44
上気道炎・下気道炎	(被検者数)	1			2								1	4
	ライノ				1									1
	RS												1	1
	メタニューモ	1												1
脳炎・脳症	(被検者数)				1					1	2		2	6
														0
無菌性髄膜炎	(被検者数)	1	1	1		2	1	1				1	1	9
	ムンプス	1	1	1		1								4
	水痘带状疱疹											1		1
感染性胃腸炎 (集団発生事例)	(延べ被検者数)		32	14		2		2	7	19	8	40	119	243
	ノロGII ^b			3				2		13	5	21	49	93
	サボ												11	11
	(被検者数)	3	2	7	4	3	1	3	1	2	3	2	4	35
感染性胃腸炎 (散発例)	ノロGII			2						1	2	1		6
	ノロGI+ノロGII										1			1
	サボ			2										2
	ロタA群	2		1										3
	ロタA群+ロタC群			1										1
	ロタA群+ポリオ1型 ^c		1											1
	アデノ31型							1						1
	アデノ41型												1	1
	エコー3型			1	1	1								3
	パレコ1型							1	1					2
	(被検者数)	2	1										1	4
麻疹疑い	麻疹												1	1
	ライノ	1												1
手足口病	(被検者数)				23	11	2	2						38
	コクサッキーA6型				15	8	1	1						25
	コクサッキーA10型					1	1							2
	コクサッキーA6型+コクサッキーB5型					1								1
	コクサッキーA6型+エコー3型					1								1
	エコー3型				1									1
	ライノ				3									3
	(被検者数)				2									2
ヘルパンギーナ	コクサッキーA10型+ライノ				1									1
	コクサッキーB1型				1									1
	(被検者数)				1									1
耳下腺炎	ムンプス				1									1
	(被検者数)			1				1						2
水痘	水痘带状疱疹							1						1
	(被検者数)			1	2				2					5
つつが虫病	つつが虫病リケッチア			1					1					2
	(被検者数)							1						1
筋炎	パレコ3型							1						1
	(被検者数)							2						2
心筋炎														0
	(被検者数)				2									3
発疹症	ライノ				1							1		1
	(被検者数)							11			50			61
無症状(ポリオ流行予測)	コクサッキーB4型							1						1
	パレコ1型							2						2
その他 ^a	(被検者数)		1	1	1		1		1		1		1	7
	単純ヘルペス1型		1											1
	エコー6型						1							1
	コクサッキーA10型								1					1
症例合計	(被検者数)	28	40	25	37	19	20	9	11	38	129	111	170	637
	病原体検出者数	24	6	12	25	13	9	6	2	27	68	88	100	380
食材、ふきとり	(検体数)											24	22	46
														0

■, 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検者数を示す。

a. その他: 5～11月の5症例は新生児ヘルペスウイルス感染症疑い。1月の1症例は不明熱。3月の1症例は肝機能障害。

b. ノロGII: ノロウイルスGenogroup II.

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。

コクサッキーウイルス A6型が最も多く (27症例), その他, コクサッキーウイルス A10型, コクサッキーウイルス B5型, エコーウイルス3型, ライノウイルスが検出された。

ヘルパンギーナ: 7月に2症例 (咽頭拭い液2) の検査を行ったところ, 1症例からはコクサッキーウイルス A10型とライノウイルスが同時に検出され, 1症例からはコクサッキーウイルス B1型が検出された。

耳下腺炎: 7月に1症例 (唾液1) の検査を行ったところ, ムンプスウイルスが検出された。

水痘: 6月, 9月に計2症例 (便1, 咽頭拭い液1, 血清1) の検査を行ったところ, 1症例の咽頭拭い液から水痘帯状疱疹ウイルスが検出された。

つつが虫病: 6月, 7月, 11月に計5症例 (血液13, 痂皮2) の検査を行ったところ, つつが虫病リケッチアの Kawasaki 型, 及び Karp 型がそれぞれ6月, 及び11月の1症例から検出された。

筋炎: 9月に1症例 (便1, 咽頭拭い液1) の検査を行ったところ, 便及び咽頭拭い液からパレコウイルス3型が検出された。

心筋炎: 9月に2症例 (便2, 咽頭拭い液2, 血清1) の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

発疹症: 7月及び2月に計3症例 (咽頭拭い液1, 鼻腔拭い液1, 血清1) の検査を行ったところ, 7月1症例の咽頭拭い液からライノウイルスが検出された。

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月に計61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。その他のウイルスでは, コクサッキーウイルス B4型が1名から, パレコウイルス1型が2名から検出された。

その他: 5~11月に延べ5症例の新生児ヘルペスウイルス感染症疑い (糞便1, 咽頭拭い液2, 血清3, 尿1) の検査を行ったところ, 単純ヘルペスウイルス1型が1症例の血清及び咽頭拭い液から, エコーウイルス6型が1症例の髄液から, コクサッキーウイルス A10型が1症例の咽頭拭い液からそれぞれ検出された。1月に1症例の不明熱 (糞便1, 咽頭拭い液1), 3月に1症例の肝機能障害 (血清1, 咽頭拭い液1) の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

食材, 拭き取り検体: 食中毒事例に関連して, 2月と3月にそれぞれ拭き取り24検体, 食材22検体のウイルス検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

ウイルス分離検査は結果が判明するまでに時間がかかるが, 今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となる。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お礼申し上げます。

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（2011年）

嶋 智子 磯部 順子 嶋 一世 金谷 潤一 木全 恵子
綿引 正則 佐多 徹太郎 出村 尚子¹

Survey of *Campylobacter* and *Salmonella* Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2011)

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA,
Masanori WATAHIKI, Tetsutaro SATA and Naoko DEMURA¹

2011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、ウェルシュ菌に次いで3番目に多く発生していた。富山県内でも、2011年にはカンピロバクターによる集団食中毒が2件発生しており、うち1件は、鶏肉を十分に加熱せず提供した食品（タタキなど）が原因食品と推定されている。また、カンピロバクターの場合、散発食中毒事例も非常に多く、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いる[2]。

2011年のサルモネラ属菌による食中毒は、2月に北海道内で発生した学校給食によるサルモネラ食中毒で1,000人を超える有症者が出ており、細菌性食中毒のうち、患者数ではもっとも多く発生していた。発生件数でもカンピロバクターに次いで2番目に多かった。さらに、本菌による食中毒で3名が死亡している [1]。いずれも家庭内食中毒事例であり、うち2例は生卵を喫食していた。

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、鶏肉あるいはその二次汚染により発生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。

富山県では、食中毒発生防止対策事業の一環として、鶏肉のカンピロバクター・サルモネラ汚染実態調査を実施している。ここでは、2011年の調査結果を報告する。

材料と方法：

2011年6月～2012年3月にかけて、県内2か所の店舗（A、B）で購入した市販鶏肉71検体（モモ肉20検体、ささみ20検体、手羽先21検体、レバー2検体、砂肝8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、モモ肉、ささみ、手羽先については、カンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数を最確数（Most probable number：MPN）法で測定した。

一般生菌数の測定は、自動スパイラルプレーター WASP（GSI クレオス）を用いて標準寒天培地（日水製薬）に塗抹し、既報[3]に従い実施した。

カンピロバクターの検出は、鶏肉25g にニュートリエントブイヨン No.2（Oxoid）100ml 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。増菌培地にはプレストン培地（試料原液＋プレストンカンピロバクター選択サプリメント（Oxoid）＋5%量のウマ溶血液（関東化学））、選択分離培地には CCDA 培地（カンピロバクター血液無添加選択寒天培地＋CCDA 選択サプリメント、いずれも Oxoid）を用い、既報[3]に従い実施した。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、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。

サルモネラ属菌の検出は、鶏肉25g に BPW 培地（栄研化学）または EEM 培地（日水製薬）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）

1. 富山県厚生部生活衛生課

および MLCB 培地（日水製薬）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。

結果と考察：

(1) 一般生菌数

鶏肉71検体の生菌数は、平均 2.4×10^5 cfu/gであった。部位別では、モモ肉が 1.7×10^5 cfu/g、ささみが 3.0×10^5 cfu/g、手羽先が 3.5×10^5 cfu/g、砂肝が 5.9×10^4 cfu/gであった。

(2) カンピロバクター検出結果

鶏肉71検体中46検体（64.8%）からカンピロバクターが検出された。検出率は前年の2010年（89/139検体、64.0%）とほぼ同じであった。部位別にみると、砂肝が8検体中7検体（87.5%）、モモ肉が20検体中15検体（75.0%）、手羽先が21検体中15検体（71.4%）、ささみが20検体中8検体（40.0%）であった（表1）。菌種別では、*C. jejuni*のみ検出されたものが40検体（56.3%）、*C. coli*のみ検出されたものが1検体（1.4%）、*C. jejuni*と*C. coli*両方が検出されたものが5検体（7.0%）であった。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。カンピロバクター検出率は、6月が7検体中3検体（42.9%）、7～9月が22検体中18検体（81.8%）、10～12月が21検体中16検体（76.2%）、1～3月が21検体中9検体（42.9%）であり、夏から秋にかけて高く、冬に減少する傾向がみられた。

(3) サルモネラ属菌検出結果

鶏肉71検体中52検体（73.2%）からサルモネラ属菌が検出された。検出率は前年の2010年（85/139検体、61.2%）と比べて少し高かった。部位別にみると、手羽先が21検体中19検体（90.5%）、モモ肉が20検体中16検体（80.0%）、砂肝が8検体中5検体（62.5%）、ささみが20検体中10検体（50.0%）であった（表3）。すべての部位で前年より検出率が高かった。

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52検体中37検体（71.2%）で検出された。そのほか、*S. Schwarzengrund*（16検体）、*S. Manhattan*（5検体）、*S. Hadar*（1検体）の計4種類の血清型が検出された（表4）。検出されたサルモネラ属菌の血清型の種類は、前年（8種類）と比べて少なかった。すなわち、鶏肉からのサルモネラ属菌検出率は前年より高かったが、その多くが *S. Infantis* であった。2011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38株の血清型を調査したところ、鶏肉から分離された4種類の血清型のうち *S. Infantis* が4株（10.5%）検出されたが、*S. Schwarzengrund*、

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				計	(%)
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>			
モモ肉	20	14	0	1	15	75.0	
ささみ	20	7	0	1	8	40.0	
手羽先	21	15	0	0	15	71.4	
レバー	2	0	0	1	1	50.0	
砂 肝	8	4	1	2	7	87.5	
計	71	40	1	5	46	64.8	

表2. 鶏肉からのカンピロバクター季節別検出状況

部位	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	2	2	6	5	6	5	6	3
ささみ	2	0	6	3	6	3	6	2
手羽先	2	1	7	7	6	5	6	2
レバー	1	0	1	1				
砂 肝			2	2	3	3	3	2
計	7	3	22	18	21	16	21	9
		(42.9%)		(81.8%)		(76.2%)		(42.9%)

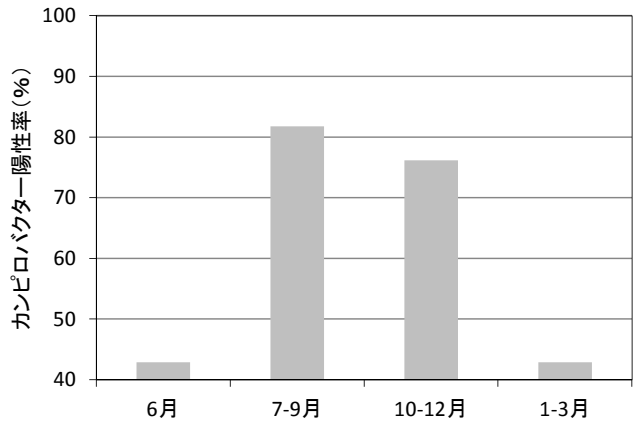


図 1. 鶏肉におけるカンピロバクター季節別陽性率

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	(%)
モモ肉	20	16	80.0
ささみ	20	10	50.0
手羽先	21	19	90.5
レバー	2	2	100.0
砂 肝	8	5	62.5
計	71	52	73.2

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	ささみ	砂肝	レバー	計
調査数	21	20	20	8	2	71
血清型						
S. Infantis	17	9	8	2	1	37
S. Schwarzengrund	4	6	1	4	1	16
S. Manhattan		2	1	2		5
S. Hadar		1				1
Untypeable	1			1		2
計	22	18	10	9	2	61

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

店 舗	部 位	菌 種	菌数(MPN/100g)									
			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	215	15	45	2,300	>5,500	<15	2,300	105	<15	35
		サルモネラ属菌	92	36	<30	36	<30	36	<30	36	750	36
	ささみ	カンピロバクター	<15	30	20	<15	375	1,200	<15	<15	<15	215
		サルモネラ属菌	<30	92	36	<30	<30	<30	<30	36	<30	<30
	手羽先	カンピロバクター	1,200	45	20	20	20	1,050	<15	105	<15	<15
		サルモネラ属菌	92	36	<30	92	<30	<30	430	36	36	230
B	モモ肉	カンピロバクター	2,300	<15	20	45	NT*	2,300	20	<15	<15	30
		サルモネラ属菌	<30	230	<30	<30	NT	<30	36	<30	<30	30
	ささみ	カンピロバクター	<15	<15	<15	20	NT	<15	20	<15	<15	<15
		サルモネラ属菌	<30	<30	<30	<30	NT	<30	36	<30	<30	<30
	手羽先	カンピロバクター	<15	465	35	5,500	NT	1,200	215	<15	<15	115
		サルモネラ属菌	<30	92	<30	36	NT	<30	<30	36	<30	<30

* 調査未実施

S. Manhattan, および S. Hadar は検出されなかった[データ未発表]。鶏肉由来株と患者由来株の血清型が大きく異なっている理由については現在のところ不明であるが、鶏肉以外の食品が食中毒の原因食品となっている可能性が示唆される。

(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 であり、このうち 23/57 検体 (40.4%) が<15/100g であった。しかし、100g あたり MPN が1,000を超える検体もあり、9～11月に菌数が多い傾向がみられた。部位別にみると、店舗 B のささみのカンピロバクター菌数は年間を通して<15～20/100g と少なかったが、一方で、店舗 A のささみ

は、10, 11, および3月にそれぞれ375, 1,200, および215/100g の菌数が検出されていた。サルモネラ属菌の菌数は、<30~750/100g であり、このうち33/57検体（57.9%）が<30/100g であった。カンピロバクターと比べて全体的に菌数は少なかった。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71検体中61検体（85.9%）、うち37検体（52.1%）では両方が検出された。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(2011). 食中毒統計資料,
<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>.
2. 窪田邦宏, 春日文字(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
3. 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(2011). 富山衛研年報, 34, 149-153

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2011)

木全 恵子 嶋 智子 金谷 潤一 磯部 順子
嶋 一世 綿引 正則 佐多 徹太郎

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected
in Toyama Prefecture, 2011

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,
Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

2011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26件であり、感染者は193名であった。感染事例の内訳は EHEC O157（以下 O157）が13件、EHEC O26（以下 O26）が6件、EHEC O145（以下 O145）2件、EHEC O121（以下 O121）2件、EHEC O103（以下 O103）1件のほか、O157・O111混合感染及び O157・O145混合感染がそれぞれ1件であった。感染者の内訳は O157感染症69名、O26感染症60名、O111感染症42名、O157・O111感染症13名、O145感染症4名、O121感染症3名、O157・O145感染症1名、O103感染症1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。

2011年における EHEC 感染症発生状況： 2011年の富山県における EHEC 感染症の事例数・感染者数はそれぞれ前年（11件、35名）比 2.4倍、5.5倍であった。これは感染者20名以上の集団感染が4件発生したことによる。発生形態は、集団感染が12件（食中毒関連4件、家族内感染6件、上記以外2件）、散発14件であった（表1）。また、定期検便等により無症状病原体保有者が初発感染者として探知された事例は家族内感染1件（表1、事例1）、散発4件（表1、事例2、7、12、26）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1月と3月を除き、EHEC 感染症が発生し、なかでも7月に7件、8月に5件と夏季に感染事例が多発した（図1）。月ごとの感染者数が20名以上を超えた月は、4月～6月及び8月であった（図1）。これらは、この時期に事例3を含む集団食中毒が発生したことによる（表1）。

EHEC 感染者の年齢層は、10歳代感染者の割合が全体の35.7%と最も高かった。これは集団食中毒（表1、事例3、4、18）において10歳代の感染者が多かつ

たためと考えられる。上記事例における10歳代感染者の占める割合は、事例3（感染者80名）では28.8%、事例4（感染者24名）では83.3%、事例18（感染者24名）では75.0%であった。

感染者に占める有症者の割合は68.9%（133名）で、このうち重篤な症状を呈した患者の割合は、溶血性尿毒症症候群（HUS）22.6%であった。また、患者4名が死亡した。HUSを発症した患者は1名を除き、すべて事例3の有症者であった。感染者の年齢層における有症者割合では、全体の割合68.9%より高かったのは、10歳未満が93.3%、10歳代が79.7%、20歳代が77.8%、70歳以上が71.4%であった。一方、50歳代、40歳代、60歳代の感染者に占める有症者割合はそれぞれ31.3%、45.5%、53.8%と全体の割合より低かった（図2）。

性別では男性93名のうち有症者63名（67.7%）、女性100名のうち有症者70名（70.0%）と性別による有症者割合に差はみられなかった。

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）を用いた [1, 2]。供試菌株は、O157 13株、O26 6株、O145 3株、O121 2株、O103 1株、O111 1株である。なお、O157 13株の内訳は以下のとおりである。O157感染事例8件と O157・O145混合感染事例より代表株各1株と、O157・O111混合感染事例由来2株を供試菌株に用いた。PFGE パターンが同一であった（後述参照）事例9・10・11（表1）と事例13・16から2株選択した。

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8株（30.8%）であった。その内訳は TC

表 1. 腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2011)

事例No.	発生時期	感染者数 (名)	発生態様	大腸菌 血清型	ペロ毒素遺伝子型
1	2011.2	3	家族内感染	O157:H7	stx2
2	2011.4	1	散発	O26:H11	stx1
3	2011.4~5	80	食中毒 (飲食店)	O111:H8 O157:H7 O157:H7 O157:H7	stx2 stx1stx2 stx1 stx2
4	2011.5	24	食中毒 (飲食店)	O157:H7	stx1stx2
5	2011.5	4	家族内感染	O26:H11	stx1
6	2011.6	27	食中毒 (仕出し弁当)	O26:H11	stx1
7	2011.6	1	散発	O157:H7	stx2
8	2011.7	3	家族内感染	O26:H11	stx1
9	2011.7	2	家族内感染	O157:H7	stx1stx2
10	2011.7	1	散発	O157:H7	stx1stx2
11	2011.7	1	散発	O157:H7	stx1stx2
12	2011.7	1	散発	O26:H11	stx1
13	2011.7	1	散発	O157:H7	stx1stx2
14	2011.7	1	散発	O145:HNM	stx2
15	2011.8	4	家族内感染	O145:HNM O157:H7	stx2 stx1stx2
16	2011.8	1	散発	O157:H7	stx1stx2
17	2011.8	2	家族内感染	O145:HNM	stx2
18	2011.8	24	食中毒 (県外宿泊施設)	O26:H11	stx1
19	2011.8	1	散発	O157:H7	stx1stx2
20	2011.9	1	散発	O103:H2	stx1
21	2011.10	1	散発	O121:H19	stx2
22	2011.10	4	集団感染	O157:H7	stx1stx2
23	2011.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
24	2011.11	1	散発	O157:H7	stx2
25	2011.11	2	集団感染	O121:H19	stx2
26	2011.12	1	散発	O157:H7	stx2

O157 13件(42名), O26 6件(60名), O145 2件(3名), O121 2件(3名), O103 1件(1名), O157・O111混合感染 1件(O111 42名*, O157 25名, O157・O111 13名 計 80名), O157・O145混合感染 1件(O157 2名, O145 1名, O157・O145 1名) 計 26件(193名)

*12名は血清診断(血中のO111抗体価)による感染確定(菌未分離)

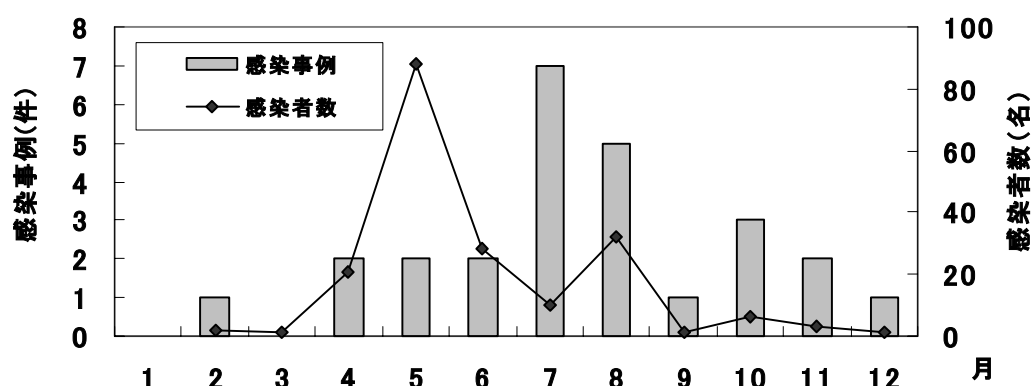


図 1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向(2011)

耐性3株（事例3由来2株，事例20由来1株），TC・ABPC 耐性2株（事例3,事例9），TC・CP・KM・ABPC 耐性1株（事例7），ST・TC・ABPC 耐性1株（事例14），NA 耐性1株（事例18）であった。

分離株の病原因子： 各事例分離株について病原因子遺伝子の検索を行った。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 *eae*，*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ベロ毒素遺伝子型は表1のとおりであり，*stx1*・*stx2*保有型が11株，*stx2*保有型が11株，*stx1*保有型が8株であった。また，全ての事例の分離株は *eae* を保有していた。*eae*，*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： 各事例代表株について 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 パターンは FingerPrinting II（Bio-Rad）を用いて解析した。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%とした。2011年に発生した O157，O26株の PFGE パターンの解析は以下のとおりであった。

2011年に分離された O157（*stx1*・*stx2*）の PFGE パターンについてデンドログラムを図3A に示した。なお，事例3由来の O157（*stx1*・*stx2*）株は PFGE パターンが8パターン検出された [5] が，このうち検出頻度の高い2パターンを本報告のデンドログラム解析に用いた。デンドログラム解析により，事例9・10・11および事例13・15・16はそれぞれ PFGE パターンが一致した（図3A，レーン1-3，5-7）。事例9・10・11は7月に，事例13・15・16は7月～8月に発生した事例であったが，これらの事例における疫学的関連性は不明であった。

O157（*stx2*）及び O26の PFGE パターンは事例ごとに異なっており，各事例間の関連性はないと考えられた（図3 B，C）。

O111・O26が検出された食中毒： 2011年の富山県での EHEC による食中毒は4件であるが，このうち1件は O111・O157，2件は O26が分離され，O157以外の血清型の EHEC が原因菌として検出された（表1，

事例3，6，18）。このうち県内で原因食品を喫食した以下の2つの事例について概要を以下に示す。

1) O111・O157食中毒（事例3）

2011年4月下旬に焼肉チェーン店 A で提供されたユッケを原因とする EHEC 食中毒が富山県にて発生した。同じ焼肉チェーン店がある福井県，石川県，神奈川県においても食中毒が発生した。4県6店舗を合わせた食中毒患者は181名であり，患者34名が HUS を発症し，5名が死亡した。患者からは EHEC O111:H8（*stx2*，以下 O111）および複数の毒素型 O157:H7（*stx1*・*stx2*，*stx1*，*stx2*，以下 O157），さらにベロ毒素遺伝子を保有しない O111（*stx*-）が分離された。

本事例における富山県の食中毒患者は175名であり，本事例に関連した EHEC 感染者は80名であった。その内訳は EHEC が分離された68名（O111が分離された31名，O157が分離された24名，O157・O111ともに分離された13名）と，EHEC 未分離で血清診断により O111感染が確定した HUS 発症者12名であった。

本事例では①HUS,脳症等の重症例が多いこと，②2種類の血清型の EHEC が検出されたこと，③O111（*stx2*），O111（*stx*-），O157（*stx1*・*stx2*），O157（*stx1*）と O157（*stx2*）と多様な EHEC が患者より分離されたこと，③複数の PFGE パターンが検出されたことが特徴としてあげられる [5,6]。これらの細菌学および疫学上の詳細な解析は厚生労働科学特別研究事業「EHEC/O111食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究」平成23年度総括・分担研究報告書 [5] に報告・記載されている。

本事例の EHEC 感染者80名のうち HUS および HUS・脳症を発症した患者はそれぞれ13.8%，22.5%であった。HUS および HUS・脳症を発症した患者のうち65.5%は女性であった。

原因食品は，喫食状況調査によりユッケの喫食が発症に有意に関連があること，神奈川県の店舗のユッケ用肉より O111（*stx*-）が検出され，患者より分離された O111（*stx*-）と PFGE パターンが一致したことから，本事例はユッケ（牛生肉）の喫食が原因であるとされた。また，本事例をきっかけに，平成23年10月1日より罰則を伴う生食用食肉（牛肉）の新しい規格基準が施行された [7]。

2) O26食中毒（事例6）

2011年6月に富山県内の施設 B，C が製造した仕出し弁当を喫食した18名（施設 B の仕出し弁当喫食者17名，施設 C の仕出し弁当喫食者1名）が腹痛，血便，発熱等の食中毒症状を呈し，このうち8名から O26:H11（*stx1*，以下 O26）が検出された。施設 B，C の弁当喫食者から分離された O26の PFGE パター

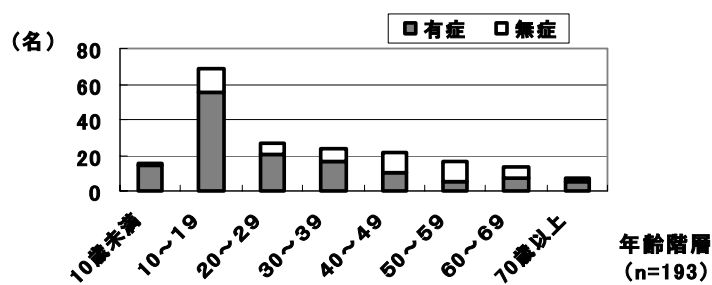


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

A



B



C



図3. EHEC O157・EHEC O26 PFGE パターンのデンドログラム解析

A: EHEC O157 (stx1 stx2), B: EHEC O157 (stx2), C: EHEC O26 (stx1)

事例3 O1577 (stx1 stx2) 分離株については主要な PFGE パターン2パターンについてデンドログラム解析を行った。

ンは同一であった。本食中毒に関連した調査の結果、接触者及び無症状病原体保有者を合わせて27名からO26が検出された(表1, 事例6)。

これらの施設には、共通して県外の食品加工会社から「添え野菜」が納入されていた。両施設の検食についてO26の検査を行った結果、施設Cの検食の「添え野菜」からO26が検出された(施設Bの検食には「添え野菜」が残されていなかった)。「添え野菜」から検出されたO26と弁当喫食者から検出されたO26のPFGEパターン及び病原因子遺伝子は一致した。これらの結果から、本事例は共通食材「添え野菜」が原因で発生したものであると考えられた。なお、「添え野菜」よりのO26の分離及び分子疫学的解析については本年報資料「仕出し弁当の添え野菜を原因とする腸管出血性大腸菌O26食中毒事例」に詳細を報告する。

O157, O26, O111以外の血清型 EHEC が検出された感染事例： 2011年に発生した EHEC 感染事例26事例のうち、23.1% (6件) は O157, O26, O111以外の血清型の EHEC が検出された(表1, 事例14, 15, 17, 20, 21, 25)。これらの事例とその分離株の解析の概略は以下の通りである。

1) O145感染事例(表1, 事例14, 15, 17)

2011年7月から8月にかけてO145:HNM(*stx2*, 以下O145)感染事例及びO145・O157混合感染事例が発生した。これら3件のうち、O145が単独で分離され

た感染者は4名であり、全員が有症であった。上記3件の関連性を疑い、搬入されたO145 5株のPFGEパターンを比較した。しかし、いずれもPFGEパターンは互いに1-3バンド異なる5パターンを示し、不一致であった(図4A レーン1-4, 7)。そこで医療機関より提供された事例15と事例17の患者各1名(図4A 患者A, 患者C)の便塗抹平板から、再度O145株の分離を試みた。増菌・免疫磁気ビーズ処理等より分離した複数のO145株のPFGEを行った。その結果、事例15の患者由来19株と事例17の患者由来12株のPFGEパターンが一致し、これら2事例の関連性が疑われた(図4A レーン6)。しかし、これらの事例における疫学的関連性は不明であった。

2) O121感染事例(表1, 事例21, 25)

2011年10月、11月にO121:H19(*stx2*, 以下O121)感染事例2件が発生した。この2件の感染者3名のうち、有症者は2名であり、それぞれ血便、HUS等の症状を呈した。感染者3名のO121分離株から各4株を再分離し、PFGEを行った。その結果、互いに1-2本の範囲で異なる3つのPFGEパターンが検出され、同一集団株である可能性が示唆された(図4B, ①, ②, ③)。事例25の患者Fの再分離株3株と感染者Eの再分離株3株のPFGEパターンが一致した(図4B, レーン8, 9, PFGEパターン①)。しかし、事例25の感染者Eの再分離株1株のPFGEパターンは事例21患者の再分離株4株のパターンと一致した(図4B, レーン10, 11, パターン②)。しかし、これらの事例間での疫学的関連



図4. EHEC O145(*stx2*)・EHEC O121(*stx2*) PFGE パターンのデンドログラム解析

A: EHEC O145(*stx2*)PFGEパターン 解析対象事例[事例14(散発),事例15・事例17(家族内感染)]

B: EHEC O121(*stx2*)

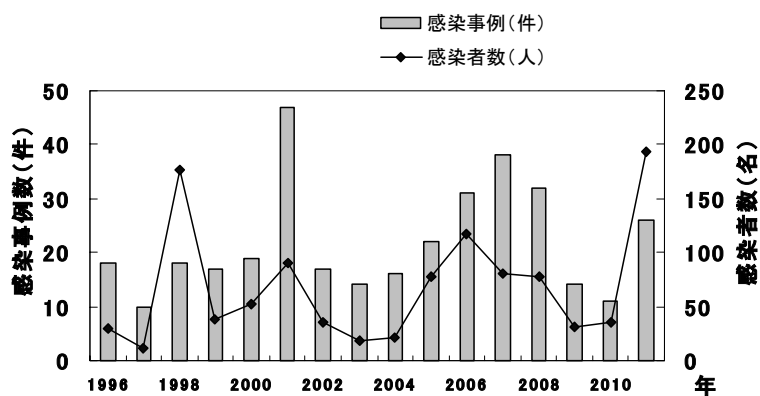


図5. 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

性は不明であった。

この O121は溶血性毒素遺伝子 *hlyA* を保有しており、アピ50CH（バイオメリュー）を用いた炭水化物代謝試験では D-アラビノース、L-ソルボース、ズルニトール、5-ケト-グルコン酸代謝陽性であった。

3) O103感染事例（表1，事例20）

富山県での O103感染事例は2008年につづき2事例目の発生であり，県内では検出の稀な EHECである。事例20では腹痛・血便症状を呈する患者より O103:H2 (*stx1*，以下 O103) が分離された。この O103は *hlyA* を保有しており，アピ50CH による炭水化物代謝試験では D-スクロース，D-ラフィノース代謝陽性であった。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較： 2011年の全国における EHEC 感染者数は3,938名で，昨年に比べてやや減少していたが死亡例が17例と1999年に感染症法により届出が義務付けられてから最も多かった [8]。2011年の富山県の EHEC 感染症発生状況は，1996年以降において感染者数は最も多く，事例数は過去5番目に多かった（図5）。人口10万対感染者数を見ると，大規模な食中毒（事例3）の影響で富山県は17.74と昨年の5.5倍であった。

また，国立感染症研究所パルスネットによる解析から2011年に全国6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 [9]。富山県では事例13，15，16でこの広域流行株の1つが検出された。同じ PFGE パターンの株は2007年以降全国で断続的に検出されており，本年では11都府県で検出された [9]。

考察： 2011年の富山県における EHEC 感染症の事例数は26件，感染者は193名であり，1996年以降最多の感染者数であった。これは事例3の大規模食中毒に

よるところが大きい。

2011年に発生した EHEC 感染症の特徴として①複数の血清型の EHEC による感染症の発生（表1，事例3，15），②その約2割が O157，O26，O111以外の血清型の EHECによる感染症であったこと，③O157以外の EHEC が関与した食中毒が複数事例発生したことがあげられる。

上記①の事例の場合，各患者から2種類以上の血清型の EHEC の分離・鑑別を行う。このため，増菌培養・免疫磁気ビーズ法などの分離標的となる EHEC の選択的濃縮作業は重要かつ必須である。また，②に関連した今後の問題点として，先述した O145・O121では同一患者由来株においても異なる PFGE パターンが複数検出される場合があげられる（事例15，17,21,25）。このような EHEC の場合，PFGE パターンの比較には注意が必要であると思われた。最初に分離し EHEC 感染症を確定した患者分離株の PFGE パターンのみではなく，可能であれば複数株の再分離・PFGE 型別をする必要があると考えられる。

③に関しては本年発生した食中毒3事例（事例3，6，18）はこれまで EHEC 食中毒の大部分を占めていた O157による食中毒ではなく，O111もしくは O26による食中毒であった。病原微生物検出情報（IASR）に報告された2001～2010年の EHEC 感染者10人以上の食中毒・食品媒介推定事例は，39件であった [10-19]。その内訳は O157以外の EHEC による4件を除き，35件は O157による事例である。2011年に本県で発生した O111・O157食中毒は重篤な患者が多く，死亡例もある事例であった。この事例を受けて食品衛生法の罰則を伴う新しい生食用食肉の規格基準が施行された。また，上記事例では従来の EHEC 感染症と異なり，HUS・脳症の発症率が高かった。しかしこの重症化要因は現時点では明らかにはなっていない。今後，本事例における EHEC 感染症の重症化の要因が解析され，EHEC による HUS・脳症の治療指針等の確立につながる事が望まれる。

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，生活衛生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. 厚生労働科学研究費補助金厚生労働科学特別研究事業「EHEC/O111食中毒事例における疫学・細菌学・臨床的研究」平成23年度総括・分担研究報告書 (2012)
6. 磯部順子, 嶋智子, 木全恵子, 金谷潤一, 綿引正則, 佐多徹太郎(2012) 病原微生物検出情報, 33, 119-120
7. 厚生労働省告示第321号 (平成23年9月12日付)
8. 病原微生物検出情報 (2012), 33, 115-117
9. 寺嶋淳, 伊豫田淳, 泉谷秀昌, 三戸部治郎, 石原朋子, 大西真 (2012) 病原微生物検出情報, 33, 127-128
10. 病原微生物検出情報 (2002), 23, 138
11. 病原微生物検出情報 (2003), 24, 130
12. 病原微生物検出情報 (2004), 25, 139
13. 病原微生物検出情報 (2005), 26, 138
14. 病原微生物検出情報 (2006), 27, 142
15. 病原微生物検出情報 (2007), 28, 132
16. 病原微生物検出情報 (2008), 29, 118
17. 病原微生物検出情報 (2009), 30, 120
18. 病原微生物検出情報 (2010), 31, 153
19. 病原微生物検出情報 (2011), 32, 126

漁港における腸炎ビブリオ調査 (2011年)

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子 嶋 一世
綿引 正則 佐多 徹太郎

Surveillance for *Vibrio parahaemolyticus* at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2011

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA,
Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

2011年の全国の食中毒発生状況によると、腸炎ビブリオによる発生件数は9件、患者数87名であった [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」事業に基づき、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、2011年の調査結果を報告する。

材料と方法：

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23年6～10月。なお、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。

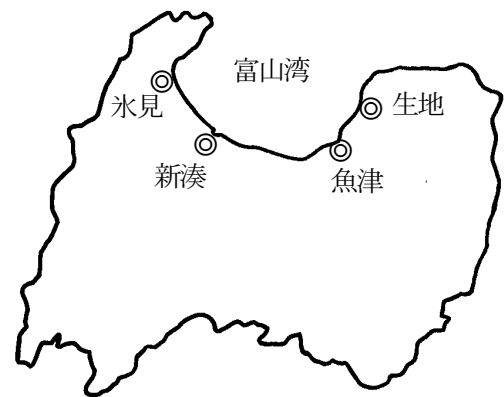


図1. 採水漁港

(2) 市販魚介類

調査1回につき、2施設から3魚種ずつ6検体購入し、冷蔵状態で搬入した。

4. 腸炎ビブリオ数の測定

(1) 漁港海水

食塩ポリミキシンプイオン（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10g 秤取し細切した後、90ml の食塩ポリミキシンプイオンを加え、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10ml 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1,000ml を0.45 μ m のメンブランフィルターでろ過し、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

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							
		6/28	7/12	7/26	8/9	8/23	9/6	9/27	10/11
生地	腸炎ビブリオ	<3*	4	20	15	20	<3	43	6
	海水温 (°C)	18.4	20.2	19.6	22.4	20.3	19	18	17.1
	塩分濃度 (‰)	2.9	4	5.5	4.4	7	2.9	5.9	8.9
魚津	腸炎ビブリオ	4	9	3	4	7	9	<3	4
	海水温 (°C)	21.5	23.9	25	29	24.4	23	20.4	19
	塩分濃度 (‰)	9.5	15.6	25.2	20.1	22.2	15.6	19.2	23.7
新湊	腸炎ビブリオ	3	7	3	15	4	20	3	9
	海水温 (°C)	24	28	27	30.5	24.5	27	25.5	20.5
	塩分濃度 (‰)	18.1	22.2	15.9	17.5	16.3	27.1	25.3	19.8
氷見	腸炎ビブリオ	<3	3	11	4	<3	4	7.4	21
	海水温 (°C)	23	29	28	31	26	27.5	24.5	22
	塩分濃度 (‰)	27.5	30.3	27.2	26.1	29.3	30.7	29.4	33.1
腸炎ビブリオ菌数 (4 漁港平均)		1.75	5.75	9.25	9.5	7.75	8.25	13.35	10

*MPN 法による漁港海水 100 ml あたりの腸炎ビブリオ菌数

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 28 日	アジ	140	トビウオ	<30
	アカカレイ	200	カマス	<30
	トビウオ	110	マダイ	<30
7 月 12 日	アジ	40	コズクロ	290
	サバ	<30	トビウオ	260
	シロカレイ	2100	ホウボウ	<30
7 月 26 日	タイ	70	アジ	<30
	カサゴ	90	トビウオ	110
	クルマダイ	40	ヤナギバチメ	30
8 月 9 日	メジナ	<30	アカダイ	<30
	アジ	<30	イワシ	<30
	シマダイ	<30	トビウオ	<30
8 月 23 日	ホウボウ	430	アジ	40
	シロカレイ	<30	キス	<30
	ツバイソ	<30	ホウボウ	<30
9 月 6 日	メジナ	<30	カマス	40
	メバル	70	白えび	<30
	カワハギ	<30	フクラギ	<30
9 月 27 日	カマス	92	アジ	<30
	メジナ	<30	イワシ	<30
	コチ	<30	カレイ	<30
10 月 11 日	ツバイソ	90	アジ	130
	コチ	200	タイ	30
	コショウダイ	<30	ホウボウ	120

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									
		6/28	7/12	7/26	8/9	8/23	9/6	9/27	10/11		
生地	<i>tdh</i> 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	
魚津	<i>tdh</i> 遺伝子	+	+	+	+	—	—	—	—	4/8	
	TDH+ O3:K6	—	—	—	—	N.E	N.E	N.E	N.E	0/4	
新湊	<i>tdh</i> 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	
氷見	<i>tdh</i> 遺伝子	—	—	—	—	—	—	—	+	1/8	
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	—	0/1	
		<i>tdh</i> 遺伝子	1/4	1/4	1/4	1/4	0/4	0/4	0/4	1/4	5/32
		TDH+ O3:K6	0/1	0/1	0/1	0/1	N.E	N.E	N.E	0/1	0/5

*未測定

**陽性数／検体数

イマー機能付フラスコで37℃6時間培養後4℃に一晩おいた。培養液1mlを12,000rpm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 μ l 添加再懸濁後, 100℃10分間処理した。12,000rpm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。

結果及び考察：

1. 漁港海水中的の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

漁港海水の84.4%（27/32検体）から腸炎ビブリオが分離された（表1）。菌数（MPN）は< 3～43/100 mlであり、1998～2007年の10年間における菌数変動を調査した文献と比較すると、2001年以降の菌数と同等であった [7]。

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22/48検体（45.8%）から腸炎ビブリオが検出された。菌数は<30～2100/100 g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66.0%であり [8]、前年と比べ本年の検出率は低かった。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* 保有腸炎ビブリオについては、日本でヒトから分離される主要な血清型である O3:K6を標的とした。*tdh* は、15.6%（5/32検体）の検体から検出された。6月下旬から8月上旬にかけて魚津の漁港海水から4回検出されたが、この原因は不明である。*tdh* が検出された漁港海水から、食中毒の原因となる *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6の分離を試みたが、2011年は分離されなかった。しかしながら、15.6%の海水から *tdh* が検出されたことから、これらの海水に *tdh* 保有腸炎ビブリオが生息している可能性は考えられる。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が、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/11hassei/xls/H23jokyo.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 (2008). 富山衛研年報, 31, 125-134
8. 金谷潤一, 磯部順子, 嶋 智子, 木全恵子, 倉田 毅, 綿引正則 (2010). 富山衛研年報, 34, 159-162

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 (2011年)

嶋 智子 金谷 潤一 木全 恵子 磯部 順子 嶋 一世
 綿引 正則 佐多 徹太郎 朝野 洋一¹ 百石 祐一朗²
 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, 2011

Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI, Tetsutaro SATA, Youichi ASANO¹, Yuichirou HYAKKOKU², Yoko KATO², Masao NAKAMURA² and Rumi OKUNO³

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2011年の A 群溶連菌咽頭炎患者報告数は、3,642人 (125.59/定点) であった [1]。

また、A 群溶連菌の感染によって起こる疾患のひとつである劇症型溶連菌感染症は、致死率の高い重篤な疾患であり、全数報告の5類感染症に位置づけられている。本県でも、毎年1～3例の届出がある。本感染症で検出される溶連菌は A 群が最も多く約7割を占めるが [2]、劇症型となる要因やその発生機序は未だ明らかではない。さらに近年、A 群溶連菌のマクロライド系やリンコマイシン系薬剤に対する耐性株の増加が問題となっている [3]。

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性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、2011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。

材料と方法：

2011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36株および B 群187株、計223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。

薬剤感受性試験は、2011年に分離された A 群溶連菌36株について実施した。アンピシリン (ABPC)、セフェレキシム (CEX)、セフトロニド (CDTR)、セフトリアキソン (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。

結果と考察：

(1) A 群溶連菌の T 型別

2011年に分離された A 群溶連菌の T 型別結果を Table 1に示した。分離率が高い T 型は、順に T1型 (10株, 27.8%), T12型 (8株, 22.2%), TB3264型 (6株, 16.7%), T28型 (4株, 11.1%) であった。T1型および T12型は毎年検出率が高い血清型である。前年と比較して、TB3264型および T28型が増加していた。TB3264型は、2010年頃から急激に増加している血清型である。なお、2011年に富山県内で届出があった劇症型 A 群溶連菌感染症は3件で、患者から分離された菌の血清型は T1型2件、T12型1件であった。

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, 2011

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1			2		3	3		1				1	10	27.8
T-2	1									1			2	5.6
T-3	1												1	2.8
T-4													0	0.0
T-6													0	0.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12		1	2		1					1	1	2	8	22.2
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25												1	1	2.8
T-28			1							1		2	4	11.1
T-B3264				3		1					1	1	6	16.7
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable	1	1		1					1				4	11.1
Total	3	2	5	4	4	4	0	1	1	3	2	7	36	100.0

Table 2 Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2011

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a	1	1		1	6	1	1		2		3	3	19	10.2
I b	2	1	1	8	4		1		3	1	2	3	26	13.9
II		1	1	3	3		2	1	2			1	14	7.5
III	2	2		2		1	2	2	3	2	3	4	23	12.3
IV							1	2		1			4	2.1
V	3	3	3		3	4	4	2	3	2	4	1	32	17.1
VI	1	1	1	8	4	6	4	2	2	2	4	5	40	21.4
VII													0	0.0
VIII	1	1			1		1		1	2			7	3.7
Untypable	2		2	1	3	3		3		2	4	2	22	11.8
Total	12	10	8	23	24	15	16	12	16	12	20	19	187	100.0

(2) B 群溶連菌の型別

2011年に分離された B 群187株の型別結果を Table 2 に示した。検査材料は多い順に、帯下 (108検体)、尿 (33検体)、喀痰 (14検体)、膿 (10検体) などであった。分離率が高い血清型は、順にVI型 (40株, 21.4%)、V型 (32株, 17.1%)、I b 型 (26株, 13.9%)、III型 (23株, 12.3%) であった。前年と比較して、VI型が増加していた。

(3) A 群溶連菌の薬剤感受性

A 群溶連菌の薬剤感受性の結果を Table 3 に、薬剤耐性パターンを Table 4 に示した。

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63.9%、TC に対して11.1%、CLDM に対して5.6%が耐性を示した。マクロライド系薬剤に対する耐性株は近年増加し、2008年以降は60%を超える耐性率で推移している (Fig. 1)。血清型別にみると、EM および CAM に対して耐性を示した

Table 3 Antibiotic Susceptibilities of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2011

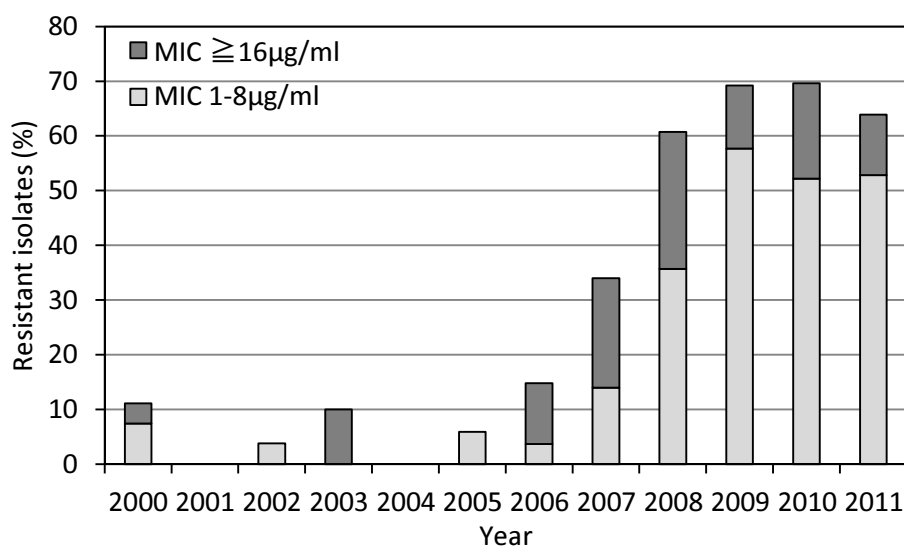
MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
	ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
>64							2			2
64					1					
32					2					
16							2	2*		
8					1		12	9		
4						3	2	7	2†	
2						29	5	5		
1						4				1
0.5		21							34‡	
0.25		15			21		1			28
0.12					11		6	1		5
0.06							6	11		
0.03	19							1		
0.015	17		6	2						
0.008			30	29						
≤ 0.004				5						

$\geq$ double line, resistant; $\leq$ dotted line, susceptible (CLSI: M100-S21).

*: $> 16 \mu$ g/ml, †: $> 4 \mu$ g/ml, ‡: $\leq 0.5 \mu$ g/ml

Table 4 Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2011

Resistance pattern	No. of strains (%)
TC, EM, CAM, CLDM	2 (5.6)
EM, CAM	21 (58.3)
TC	2 (5.6)
Susceptible	11 (30.6)
Total	36 (100.0)

Fig. 1 Frequency of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* Resistance to Erythromycin in Toyama from 2000 to 2011

平成24年12月14日

のは T1型, T12型, T25型および T28型で, これら4血清型の株は, T12型のうち1株を除き, すべてが EM および CAM に対して耐性であった。

薬剤耐性パターンでは, 30.6% (11株) はすべてに感受性であったが, 4剤耐性 (TC・EM・CAM・CLDM) が2株 (いずれも T12型), 2剤耐性 (EM・CAM) が21株 (T1型10株, T12型5株, T28型4株, T25型1株, T型別不能1株) であった。なお, 2011年に富山県内で発生した3件の劇症型 A 群溶レン菌感染症で患者から分離された菌は, すべて EM に耐性を示した [4]。

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ことから, 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 (2012) .富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成23年)
2. 感染症発生動向調査 週報 IDWR (2012). 第12号, 9-14
3. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012) 病原微生物検出情報, 33, 6-7
4. 第33回衛生微生物協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンター会議資料 (2012)

ネコにおけるジフテリア毒素産生型 *Corynebacterium ulcerans* および *Corynebacterium* 属菌保有状況調査 (2010-2011) 第2報

木全 恵子 嶋 智子 金谷 潤一 磯部 順子 嶋 一世 廣田 昌幸¹
保田 信一² 綿引 正則 佐多 徹太郎

Isolation of Toxigenic *Corynebacterium ulcerans* and *Corynebacterium* spp.
from Cats (2010-2011). Second Report

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,
Ichiyo SHIMA, Masayuki HIROTA¹, Shin-ichi YASUDA², Masanori WATAHIKI
and Tetsutaro SATA

目的： *Corynebacterium* 属菌は人獣の皮膚や口腔内の常在菌の1つである。このうちジフテリア毒素を産生する *Corynebacterium diphtheriae* による感染症、ジフテリアはその感染力と症状の重篤度から2類感染症に指定されている [1]。

近年、この *C. diphtheriae* の近縁菌である *C. ulcerans*, *C. pseudotuberculosis* がジフテリア毒素 (*diphtheriae* toxin 以後 DT) と類似したジフテリア様毒素 (*diphtheriae* like toxin 以後 DLT) 産生性となり、ヒトにジフテリア様症状を引き起こす事例が報告された。特にジフテリア様毒素産生型 *C. ulcerans* (以下 *C. ulcerans*^{Tox+}) によるヒト感染事例が欧米、日本で報告され [1-3]、厚生労働省は *C. ulcerans*^{Tox+} によるジフテリア様症状について周知と感染者に関する情報提供を医療機関をはじめとする関係機関に依頼している [4,5]。また、2011年1月にはジフテリア届出基準の改正を行い、ジフテリア様毒素産生性の *C. ulcerans*・*C. pseudotuberculosis* と *C. diphtheriae* との鑑別に留意することを求めているが、*C. ulcerans*・*C. pseudotuberculosis* による感染症は現在、感染症法に基づく届出対象に含まれていない [6]。

日本では *C. ulcerans*^{Tox+} によるヒト感染事例は2001年から2011年までに散発的に発生した事例9件が報告されている。うち3件からは患者と接触のあったネコから *C. ulcerans*^{Tox+} が分離された [1,7-10]。これらの事例ではヒト-ヒト感染は確認されず、動物-ヒト感染が疑われたが、上記9例中7例はネコやイヌとの接触歴が確認されており、愛玩動物からの感染の可能性が示唆されている。高橋らは動物の *C. ulcerans*^{Tox+} 保有状況の調査を行い、国内における *C. ulcerans*^{Tox+} 分布状

況は明らかになりつつある [8]。また、海外では *C. ulcerans*^{Tox+} に感染したネコ等の愛玩動物からの感染のほか、畜産動物及び生乳からの感染事例が報告されており、動物を媒介とする感染症として注目されている [11-13]。

我々は2009年に富山県内における *C. ulcerans*^{Tox+} および *Corynebacterium* 属菌の愛玩動物における保有状況を調査する目的で、行政機関に引き取られたネコを対象に *Corynebacterium* の保有状況を調査し、報告した [14]。

引き続き2010・2011年について富山県内における *C. ulcerans*^{Tox+} の愛玩動物における保有状況の調査を行ったので報告する。これらの調査は平成22年度・23年度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 (研究代表者 国立感染症研究所 山田章雄)」における研究小班「コリネバクテリウムに関する研究：研究分担者 国立感染症研究所 高橋元秀 (平成22年度)・山本明彦 (平成23年度)」の一環として行われた。

材料と方法： 2010・2011年に採取された147検体について *C. ulcerans*^{Tox+} の分離を行った。その内訳は富山県動物管理センターに引き取られたネコの咽頭ぬぐいスワブ116検体、ネコ鼻汁スワブ6検体、開業獣医より採取されたネコ鼻汁スワブ23検体、イヌ鼻汁スワブ2検体である。

採取した咽頭ぬぐいスワブの分離培養は既報 [14] に従い行った。勝川変法荒川培地 (以下 K 培地, 日研生物医学研究所) にスワブを塗抹し 24・30・48・72時

1. 富山県動物管理センター, 2. ドリトル動物病院

間後に生育したコロニーをヒツジ血液寒天培地（日水製薬）に採取した。K 培地塗抹後のスワブを Bacto™ Brain Heart Infusion (Becton, Dickinson and Company) に振り出し、35℃で一晩培養した。

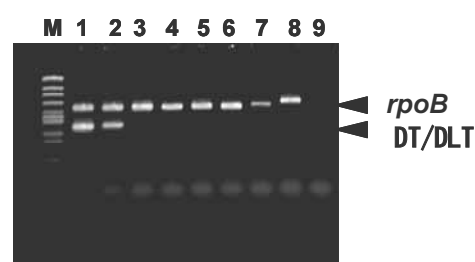
陽性対照株として国立感染症研究所より供与された *C.diphtheriae*^{Tox+} PW8, *C.ulcerans*^{Tox+} 旭0102を用いた。陰性対照株として *C.ulcerans*（国立感染症研究所より供与）、*C.confusum* TC93, *C.ammoniagenes* TC300, *C.tuberculostearicum* TC527, *C.auriscanis* TC522[14]を用いた。

C.ulcerans^{Tox+}の保有する DLT 遺伝子のスクリーニングは以下の3つの方法で行った。DNA 抽出は既報[14]に従い、①K 培地上のコロニーの濃厚発育部分をかきとり鋳型 DNA とした Sweep PCR, ②ヒツジ血液寒天培地上で *C.ulcerans* を疑われる複数のコロニー（最大10コロニー）をひとつにまとめた混合鋳型 DNA を用いた Group PCR[15], ③増菌液抽出 DNA の PCR を行った。DT および DLT 遺伝子の検出は病原体検出マニュアル ジフテリア記載の DT プライマー[16]を用いた。

また、PCR によるスクリーニングの内部コントロールとして RNA ポリメラーゼ β サブユニット遺伝子 *rpoB* を検出する *rpoB* プライマー [17]を用いた。これらの *rpoB* プライマーは、配列中に複数個所の重複塩基を保有しており（C2700F: CGWATGAACATY GGBACAGGT, C3130R: TCCATYTCRCCRAARCGC TG）、*Corynebacterium* 属菌のほか他菌種の *rpoB* も増幅可能である（図1, レーン8, [17]）。上記検体の

一部68検体について上記の DT プライマーと *rpoB* プライマーを混合した *rpoB*・DT duplex PCR 系を用い（図1）、DT および DLT 遺伝子を指標としたスクリーニングを行った。*rpoB* プライマー C2700F, C3130R [17]を用い、*rpoB* 遺伝子の一部塩基配列434-452base の PCR 増幅が検出された *rpoB* 陽性・DT 陰性の場合（図2A）、DT 陰性として PCR によるスクリーニングは終了とした。*rpoB*・DT 共に陰性の場合（図2B レーン20）はそれぞれ個別に *rpoB* と DT の PCR の再試を行った（図2C レーン25）。*rpoB*・DT 共に陽性の場合（図2B レーン21）は、陽性となった混合鋳型 DNA を構成するコロニーごとに鋳型 DNA を抽出し、*rpoB*・DT の single PCR を行い、DT 陽性株を特定した（図2C レーン26-34）。*rpoB*・DT duplex PCR 反応液は 1×GoTaq® Hot Start Master Mix（Promega）に鋳型 DNA 2 μ l（20-50 μ g）と DT プライマー [16]と *rpoB* プライマー [17] 2組のプライマー各0.2 μ M を加え、95℃ 2分×1サイクル、（95℃ 20秒, 55℃ 30秒, 72℃ 1分）×35サイクル、72℃ 10分×1サイクルで行った。PCR 後、3%アガロースゲル電気泳動と EtBr 染色により PCR 産物を分離・検出した。

C.ulcerans 同定検査は病原体検出マニュアル ジフテリア[16]、既報[15]に従い、DLT 遺伝子、*rpoB* 領域の塩基配列解析[14, 17]、DSS 鑑別培地および Api Coryne（バイオメリュウ）にて同定した。毒素産生性・毒素抗体価測定、PFGE は国立感染症研究所にて実施した。



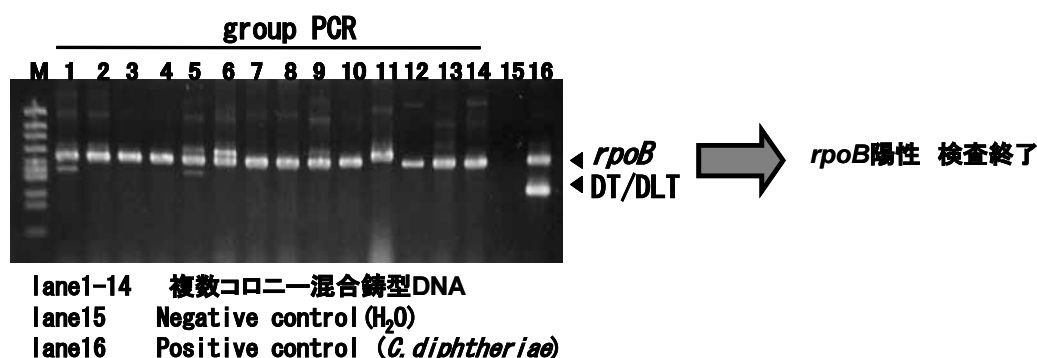
lane1 *C.diphtheriae*pw18 (Tox+)
lane2 *C.ulcerans* (Tox+)
lane3 *C.ulcerans* (Tox-)
lane4 *C.confusum* (Tox-)
lane5 *C.ammoniagenes* (Tox-)
lane6 *C.tuberculostearicum* (Tox-)
lane7 *C.auriscanis* (Tox-)
lane8 *E.coli*
lane9 H₂O
(M: ϕ X174/Hinc II)

図1 ジフテリア毒素遺伝子・*rpoB* duplex PCR

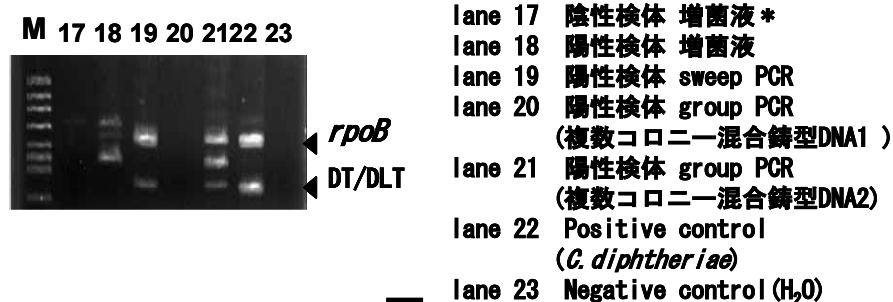
結果と考察： 2010-2011年に採取された147検体のうち *C.ulcerans*^{Tox+} は1検体のみ検出され、残りの検体は全て DT 陰性もしくは DLT 陰性（*C.ulcerans*^{Tox+} 陰性）であった。分離された株は DT PCR 陽性で ApiCoryne では *C.ulcerans* ID99.7%であった。分離株の DT PCR 産物と *rpoB* の塩基配列の一部（419bp）を解析したところ、DLT 遺伝子および *C.ulcerans* type strain CIP106504の *rpoB* の塩基配列と100%一致した。また、ジフテリア毒素産生性試験により産生性が確認され、分離株は *C.ulcerans*^{Tox+} 同定された。PFGE ではこの分離株はヒト由来 *C.ulcerans*^{Tox+} 岡山株[18]とパターンが一致した。

一方、*C.ulcerans*^{Tox+} 陽性が分離されたネコは鼻汁症状であったが、血清の抗毒素価は検出限界以下であり、血中のジフテリア毒素は検出されなかった [19]。さらに同ネコの再検査では本菌は分離できなかった。これらのことから、今回 *C.ulcerans*^{Tox+} 陽性となったネコの体内では *C.ulcerans*^{Tox+} の感染が成立しておら

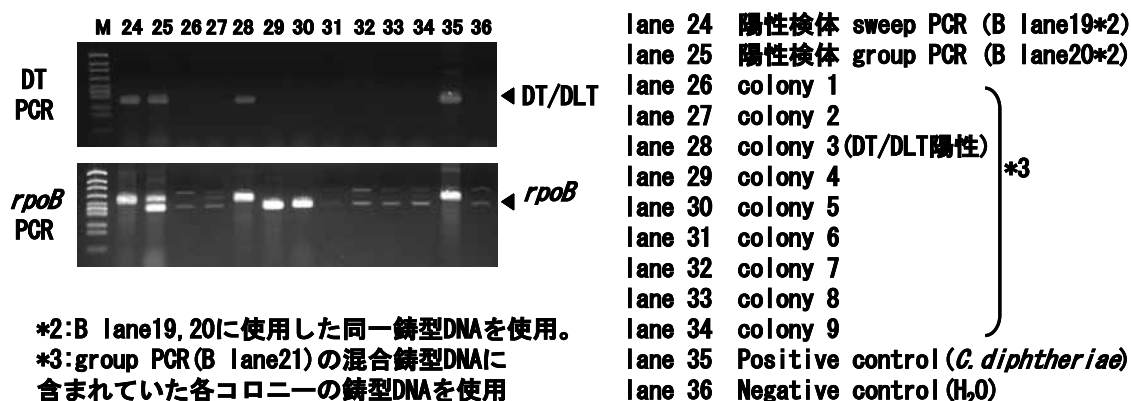
A. 陰性検体



B. 陽性検体



lane20: *rpoB*陰性であるため、*rpoB*, DTのsingle PCRによる検証を行う。(Lane17 * 増菌液の濁りがみられず平板上の生育菌もない陰性検体。培養液のコントロールとして使用)
lane21 : *rpoB*, DT/DTL陽性であるため、single colony PCRを行う。

C *rpoB*, DTのsingle PCR図2 ジフテリア毒素遺伝子・*rpoB*のduplex PCRによるスクリーニングの1例

ず、本菌は一時的な通過菌であり、鼻汁症状等の原因菌ではなかった可能性が考えられた。2009年調査分78検体を合わせ今回報告分の検体を合わせた225検体中本菌が検出された検体は1検体であり、全体の0.4%であった。以上から、本県においても環境中に *C. ulcerans*^{Tox+} は存在していたが、ヒトへの感染を仲介するネコ等の感染の可能性は低いと考えられた。

今回、本調査の検体の一部68検体について *rpoB*・DT duplex PCR を用いた。PCR でのスクリーニングには、鑄型 DNA 内の PCR 阻害物質による偽陰性の可能性を考慮に入れなければならない。今回 *Corynebacterium* 属菌の分離に特化した方法としてコリネ属菌の *rpoB* の一部を増幅するプライマーを利用した duplex PCR を試行した。その結果、Group

PCR に用いた混合鋳型 DNA 90サンプルのうち21.1%が *rpoB*・DT duplex PCR で *rpoB* 陰性・DT 陰性となり、*rpoB* PCR, DT PCR をそれぞれ再試した、duplex PCR では *rpoB* が増幅しなかった鋳型 DNA を single PCR に用いた場合、PCR 増幅効率は低い、これらの鋳型 DNA で *rpoB* の増幅が検出された。*rpoB* 陰性となった Group PCR の混合鋳型 DNA を構成する菌株22株と *rpoB*陽性の混合鋳型 DNA を構成する菌株8株について16S r DNA による種同定を行ったところ、*Streptococcus* sp, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus* spが *rpoB* 陰性の混合鋳型 DNA に多く存在していた、これらの菌種と上記の duplex PCR と single PCR における *rpoB* 増幅効率との関連性は不明である。以上の検討から DT PCR を *C.ulcerans*^{Tox+} 分離のスクリーニングの主要な手段として用いる場合、PCR の内部コントロールなどの精度管理の構築が重要であると考えられた。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、*C.ulcerans*^{Tox+} の解析について多大なご協力を頂きました国立感染症研究所細菌第二部の山本明彦先生、小宮貴子先生、高橋元秀先生に感謝致します。

文 献

1. 国立感染症研究所細菌第2部第3室他 (2006) 病原微生物検出情報, 27, 331-337
2. Lartigue, M., Monnet, X., Flèche, A., Grimont, P., A. D. *et al.* (2005) J. Clin. Microbiol., 43, 999-1001
3. Zoysa, A. D., Hawkey, P. M., Engler, K., George, R. *et al.* (2005) J. Clin. Microbiol., 43, 4377-4381
4. 健感発第1120001号厚生労働省健康局結核感染症課長通知 (平成14年11月20日付け)
5. 健感発第0722第3号厚生労働省健康局結核感染症課長通知 (平成21年7月22日付け)
6. 健感発第0114第1号厚生労働省健康局結核感染症課長通知 (平成23年1月14日付け)
7. 野田佳裕, 角田篤信, 小宮貴子, 山本明彦, 高橋元秀 (2009) 病原微生物検出情報, 30, 118
8. 高橋元秀, 若松正人, 人見徹, 烏谷竜哉, 浅野由紀子, 中嶋洋, 大畠律子他 (2010) 病原微生物検出情報, 31, 203-207
9. 吉村幸浩 (2010) 病原微生物検出情報, 31, 331
10. 畑中章生, 鎌田知子, 田崎彰久, 本田圭司, 山本明彦, 小宮貴子, 高橋元秀 (2011) 病原微生物検出情報, 32, 19-20
11. Schuëgger, R., Schoerner, C., Długaicz, J. *et al.* (2009) Emerg. Infect. Dis., 15, 1315-1316
12. Tiwari, T. S., Golaz, A., Yu, D. T., *et al.* (2008) Clin. Infect., Dis., 46, 395-401
13. 平成18年度希少感染症診断技術研修会
14. 木全恵子, 磯部順子, 嶋智子, 清水美和子, 金谷潤一, 倉田毅, 綿引正則, 廣田昌章 (2010) 富山県衛生研究所年報, 33, 109-117
15. 浅野由紀子, 烏谷竜哉, 田中博, 武智拓郎, 土井光徳, 佐々木俊哉 他 (2010) 平成21年度愛媛県立衛生環境研究所年報, 12, 1-7
16. 国立感染症研究所 地方衛生研究所協議会 病原体検出マニュアル (2003)
17. Khamis, A., Didier Raoult, D., and Scola, B. L. (2004) J. Clin. Microbiol., 42, 3925-3931
18. 中嶋洋, 大畠律子, 石井学, 岸本寿男, 大木有美, 木口修 他 (2010) 病原微生物検出情報, 31, 206-207
19. 山本明彦 (2012) 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) 分担研究報告書 コリネバクテリウムに関する研究, 34-43

富山県における2011年の病原微生物検出情報

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子 嶋 一世
綿引 正則 佐多 徹太郎

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2011

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA,
Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

われわれは県内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。2011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1,292株で、前年の110.6%であった。最も多かったのは大腸菌712株で、前年の588株から増加した。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は、血清型 O103が1株、O121が3株、O145が5株、O157が83株、O26が60株、O111が44株で合計196株分離された。本年は、EHEC による家族内感染事例が6件、集団感染事例が6件報告された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌277株（そのうち MRSA は45.5%）であり、前年の90.2%であった。カンピロバクターは212株で前年の102.9%であった。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、パラチフス A 菌が1株、赤痢菌が1株分離された。

穿刺液： 分離株総数は350株で前年の101.4%であった。黄色ブドウ球菌（MRSA は35.2%）、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌などが多く分離された。

髄液： 分離株総数は15株で、前年の11株からわずかに増加した。黄色ブドウ球菌（全て MRSA）が7株分離された。

血液： 分離株総数は1,275株で前年の109.9%であった。大腸菌、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は45.4%）が多く分離された。咽頭および鼻咽喉:分離株総数は2,302株で前年の86.2%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4,413株で前年の106.5%であった。黄色ブドウ球菌（MRSA は51.6%）が最も多く、肺炎桿菌、緑膿菌、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5,631株で前年の109.4%であった。大腸菌が最も多く分離され、腸球菌、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、緑膿菌、肺炎桿菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は49.7%）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1,293株で前年の98.0%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いたします。

平成24年12月14日

表 月別・菌種別の病原微生物検出状況（2011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
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A							1						1
<i>Salmonella</i> 04		1	1		1		1	7				2	13
<i>Salmonella</i> 07			1	3		3	2	3	1	5			18
<i>Salmonella</i> 08								2			1		3
<i>Salmonella</i> 09			1	1	1				1	2	11		17
<i>Salmonella</i> その他							1						1
<i>Salmonella</i> 群不明						1							1
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1			1		1		1					4
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01,139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>									1				1
<i>Vibrio fluvialis</i>													0
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>		1	1		4	7	2	2	1	1	1	1	21
<i>Plesiomonas shigelloides</i>								2					2
<i>Campylobacter</i>	11	5	12	13	21	48	17	19	14	15	19	18	212
<i>Staphylococcus aureus</i>	23	15	31	20	14	31	29	23	27	24	23	17	277
<i>Clostridium perfringens</i>	1						1		1	1	3	1	8
<i>Clostridium botulinum</i>													0
<i>Bacillus cereus</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性	1	1				1			1				4
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	1	2	1	2	2	1	2	1	2		5		19
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	22	13	19	38	39	31	33	32	27	30	30	33	347
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC			3	30	81	27	12	32	1	6	3	1	196
<i>Escherichia coli</i> その他、不明	20	11	13	20	25	7	13	4	9	13	5	6	146
<i>Shigella</i>												1(1)	1(1)
合 計	80	49	83	128	188	158	114	128	86	97	101	80(1)	1292(1)

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）

<i>Escherichia coli</i>	3	3	6	5	9	3	5	7	1	6	9	1	58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	1	1	2	3	2	2	4	5	6	4	35
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	3	0	3	2	2	6	5	1	4	11	3	43
<i>Mycobacterium</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	4	7	5	13	10	13	8	5	6	4	5	92
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	4	7	1	10	10	2	10	3	6	3	11	5	72
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	1	1	0	2	0	0	0	0	0	1	0	5
<i>Anaerobes</i>	2	0	0	8	7	3	6	5	10	1	3	0	45
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	25	21	16	33	45	23	42	30	27	25	45	18	350

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
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	4
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	0	0	7
<i>Streptococcus</i> , B	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1
合 計	0	1	1	0	1	2	3	2	2	2	0	1	15

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	31	30	37	34	49	41	47	41	43	29	33	48	463
<i>Salmonella</i> Typhi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	2
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	3	8
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	5	5	6	5	1	7	4	6	12	5	6	63
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	14	20	13	17	19	14	30	15	20	23	27	238
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	16	20	27	19	32	32	47	62	45	39	45	24	408
<i>Streptococcus</i> , B	2	0	1	1	2	1	1	3	2	0	2	2	17
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	1	1	5	5	4	0	4	1	1	2	3	29
<i>Anaerobes</i>	3	8	2	3	7	3	3	8	2	2	4	1	46
合 計	81	79	94	81	117	102	120	153	115	104	115	114	1275

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	89	74	108	130	149	140	73	63	61	73	98	125	1183
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus</i> , A	7	7	25	27	18	16	15	6	3	14	31	44	213
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	66	42	55	83	129	90	48	46	66	97	104	80	906
<i>C. diphtheriae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	162	123	188	240	296	246	136	115	130	184	233	249	2302

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	0	0	2	2	2	2	3	3	2	0	3	2	21
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	54	51	65	69	55	55	53	73	67	59	82	57	740
<i>Haemophilus influenzae</i>	28	30	39	33	47	39	25	26	19	29	29	34	378
<i>Legionella pneumophila</i>	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48	54	52	58	64	64	66	73	89	58	47	51	724
<i>Staphylococcus aureus</i>	178	150	164	149	155	160	116	159	143	178	149	154	1855
<i>Streptococcus</i> , A	0	0	0	0	0	4	1	1	0	1	0	1	8
<i>Streptococcus</i> , B	20	12	17	25	20	18	16	20	19	22	14	13	216
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	30	38	33	44	69	51	30	23	21	32	48	42	461
<i>Anaerobes</i>	0	0	0	3	0	0	0	5	0	0	0	0	8
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	358	336	372	383	413	393	310	383	360	379	372	354	4413

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
<i>Escherichia coli</i>	189	148	214	172	208	198	226	216	192	180	195	212	2350
<i>Enterobacter</i> spp.	13	9	19	10	12	17	24	23	28	25	17	19	216
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35	27	41	23	28	30	43	58	54	47	46	27	459
<i>Acinetobacter</i> spp.	4	1	1	2	1	1	0	5	1	11	0	1	28
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	31	24	49	41	41	35	47	42	56	51	51	44	512
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	24	28	25	22	26	20	26	40	31	31	19	324
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	39	59	27	69	46	44	69	58	50	69	54	47	631
<i>Enterococcus</i> spp.	69	66	85	83	70	79	80	76	75	69	58	75	885
<i>Candida albicans</i>	15	19	21	21	21	16	17	24	12	14	19	27	226
合 計	427	377	485	446	449	446	526	528	508	497	471	471	5631

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	2	0	5	1	1	0	0	4	0	0	1	1	15
<i>Streptococcus</i> , B	47	39	49	50	50	61	46	48	67	58	58	41	614
<i>Chlamydia trachomatis</i>	4	1	3	3	1	4	2	4	5	3	2	4	36
<i>Ureaplasma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3
<i>Candida albicans</i>	49	37	54	53	43	51	55	53	65	63	54	48	625
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合 計	102	77	111	107	95	116	103	109	137	127	115	94	1293

平成24年12月14日

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	9	6	16	9	8	16	10	10	9	18	11	4	126
	MSSA	14	9	15	11	6	15	19	13	18	6	12	13	151
	未検査													
	件数	23	15	31	20	14	31	29	23	27	24	23	17	277
穿刺液	MRSA	5	0	3	1	2	4	9	3	0	2	2	1	32
	MSSA	6	4	4	4	11	6	4	5	5	4	2	4	59
	未検査													
	件数	11	4	7	5	13	10	13	8	5	6	4	5	91
髄液	MRSA	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	0	0	7
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	未検査													
	件数	0	0	0	0	0	0	2	2	2	1	0	0	7
血液	MRSA	15	6	12	6	4	9	5	11	4	10	12	14	108
	MSSA	11	8	8	7	13	10	9	19	11	10	11	13	130
	未検査													
	件数	26	14	20	13	17	19	14	30	15	20	23	27	238
呼吸器	MRSA	99	82	86	79	86	82	66	81	73	97	67	60	958
	MSSA	79	68	78	70	69	78	50	78	70	81	82	94	897
	未検査													
	件数	178	150	164	149	155	160	116	159	143	178	149	154	1855
尿	MRSA	15	16	15	12	9	15	9	13	21	16	13	7	161
	MSSA	17	8	13	13	13	11	11	13	19	15	18	12	163
	未検査													
	件数	32	24	28	25	22	26	20	26	40	31	31	19	324
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

平成23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 嶋 一世
綿引 正則 佐多 徹太郎

Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture (2011)

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA,
Ichiyo SHIMA, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

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23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カンピロバクターの定性的検査とし、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た。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。

材料及び方法：

(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24年1月24日～2月3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 1.0×10^4 cfu/ml (牛乳 A)、 1.0×10^3 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0cfu/ml

であった。

②カンピロバクター検出：模擬食品 C～E、各50 g
模擬食品は、市販の国産牛豚合挽肉にカンピロバクターの培養液を表1のように接種して作製した。なお、市販の国産牛豚合挽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カンピロバクターの検出：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模擬食品中のカンピロバクターの解析方法

各機関の「食品中のカンピロバクター検査」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・工程は表2及び表3に示した。

牛乳 A については、報告された測定値（各機関

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
模擬食品 C	<i>Campylobacter jejuni</i>	模擬食品に 2.8×10^3 cfu/50g と なるよう接種した。
模擬食品 D	<i>Campylobacter coli</i>	模擬食品に 3.8×10^3 cfu/50g と なるよう接種した。
模擬食品 E	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	模擬食品に 8.5×10^3 cfu/50g と なるよう接種した。

の実測値2回を平均した値)の平均は 8.74×10^3 cfu/ml, 最大値 1.20×10^4 cfu/ml, 最小値 6.70×10^3 cfu/mlであった。標準偏差(SD)は8567.66となり, 各機関の結果は, 機関 No.1の実測値1回以外は平均値 $\pm 2SD$ ($6.21 \times 10^3 \sim 1.13 \times 10^4$)の範囲内であった。変動係数は14.44であり, 問題なかった。

牛乳 B については, 平均値 1.01×10^3 cfu/ml, 最大値 1.11×10^3 cfu/ml, 最小値 8.20×10^2 cfu/mlであった。標準偏差(SD)は101.57となり, 各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($8.04 \times 10^2 \sim 1.21 \times 10^3$)の範囲内であった。変動係数は10.07であり, 問題なかった。

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「標準測定」と呼ばれ, 「 $Z = (\text{測定値} - \text{測定値平均}) / \text{測定値標準偏差}$ 」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 $|Z| \leq 2$ 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」, $3 \leq |Z|$ 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。

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 No.1の1回の実測値の Zスコアが2を超えた(表3)。

(2) 模擬食肉製品のカンピロバクターの検出

各機関の成績・工程は表2及び表3に示した。増菌培養には, すべての機関がプレストン培地を使用しており, 培養温度は42℃, 時間は22~48時間であった。分離選択培地には, 6機関が CCDA 培地を使用していた。その他にプレストン処方寒天培地, スキロー寒天培地, カンピロ10%血液寒天培地が用いられていた。食品 C については, 6機関が *C. jejuni* を検出したが, 機関 No.1では検出できなかった。食品 D については, すべての機関が *C. coli* を検出した。*C. jejuni* と *C. coli* の鑑別は馬尿酸塩の加水分解試験で判定可能であるが, 近年この2菌種を鑑別する PCR 法が複数報告されており, 6機関で実施されていた。食品 E には *K. pneumoniae* が接種されており, 分離培地上で生育可能であるが, コロニーの色及び形状はカンピロバクター属菌とは異なる。すべての機関でカンピロバクター属菌ではないと判定され, 鑑別能力に問題はなかった。

考察:

平成19年から平成23年までの5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3機関がその範囲を超えていた(図2)。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(図1)。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

表 2. 平成23年度富山県食品衛生精度管理検査記録詳細

牛乳D、E					
機関名	検査期間	採取量	培地	培地	手順
No. 1	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地 栄研化学	SOP1
No. 2	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 3	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地 栄研化学	SOP1
No. 4	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 5	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 6	1/24～1/26	1 ml	リン酸緩衝生理食塩水	標準寒天培地 ニッスイ	SOP5
No. 7	1/24～1/26	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地 ニッスイ	SOP1

食品A、B、C										
機関名	検査期間	採取量	増菌培地	培養温度 (℃)	培養時間 (h)	分離培地	分離培地	分離培地	培養温度 (℃)	培養時間 (h)
No. 1	1/24～1/30	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	24	プレストン処方寒天培地 OXOID			42±1	24
No. 2	1/24～2/1	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	24		CCDA培地 OXOID	スキロー寒天培地 日研生物	42±1	48
No. 3	1/24～2/2	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	24	プレストン処方寒天培地 OXOID	CCDA培地 OXOID	スキロー寒天培地 栄研化学	42±1	48
No. 4	1/24～2/3	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	46		CCDA培地 OXOID	スキロー寒天培地 栄研化学	42±1	50
No. 5	1/24～2/3	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	48		CCDA培地 OXOID		42±1	48
No. 6	1/24～1/30	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	22	カンピロ10%血液寒天培地 BD	CCDA培地 OXOID		42±1	46
No. 7	1/24～2/1	25 g	プレストン培地 OXOID	42±1	24		CCDA培地 OXOID		42±1	48

表 3. 平成23年度富山県食品衛生精度管理結果

牛乳A

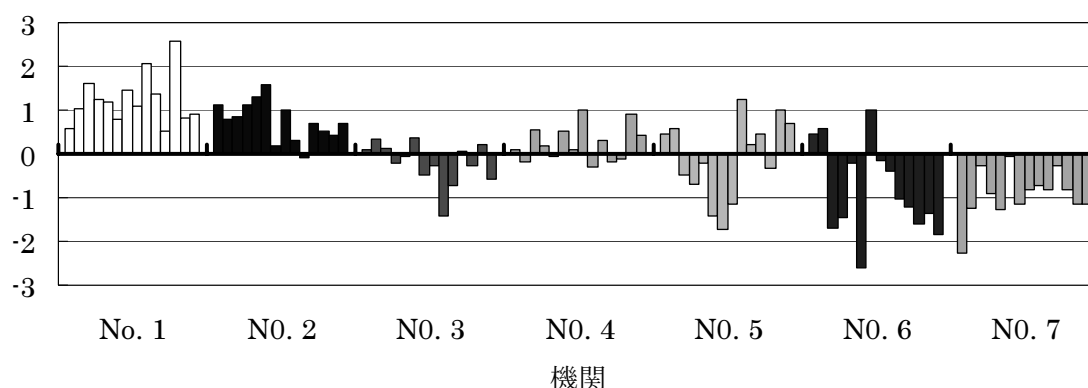
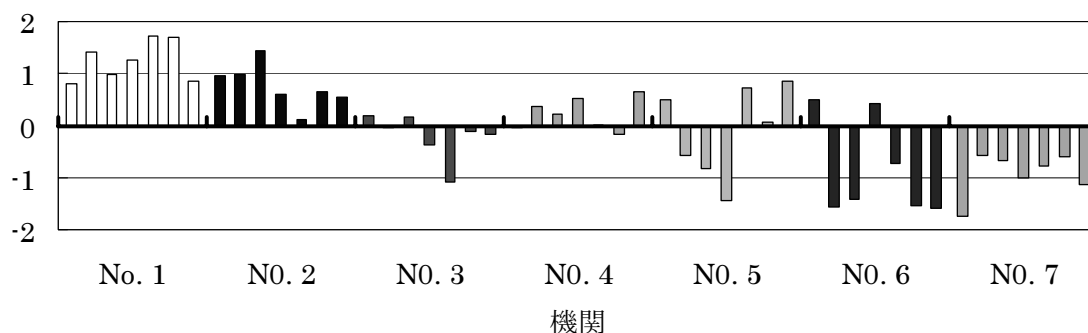
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	1.07×10^4	9400 12000	664.3 3264.3	0.53 2.59	10700	1964.29	1.68
No. 2	9.50×10^3	9600 9400	864.3 664.3	0.69 0.53	9500	764.29	0.66
No. 3	8.60×10^3	8800 8400	64.3 -335.7	0.05 -0.27	8600	-135.71	-0.12
No. 4	8.55×10^3	8500 8600	-235.7 -135.7	-0.19 -0.11	8550	-185.71	-0.16
No. 5	8.80×10^3	9300 8300	564.3 -435.7	0.45 -0.35	8800	64.29	0.06
No. 6	6.95×10^3	7200 6700	-1535.7 -2035.7	-1.22 -1.61	6950	-1785.71	-1.53
No. 7	8.05×10^3	8400 7700	-335.7 -1035.7	-0.27 -0.82	8050	-685.71	-0.59
平均値 ($\bar{X}$)		8735.71			8735.71		
標準偏差 (SD)		1261.02			1166.09		
変動係数 (CD)		14.44			13.35		
X+2SD		11257.75			11067.89		
X-2SD		6213.68			6403.54		

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
No. 1	1.10×10^3	1090 1100	82.1 92.1	0.81 0.91	1095	87.14	0.85
No. 2	1.07×10^3	1050 1080	42.1 72.1	0.42 0.71	1065	57.14	0.55
No. 3	9.95×10^2	1030 950	22.1 -57.9	0.22 -0.57	990	-17.86	-0.17
No. 4	1.08×10^3	1100 1050	92.1 42.1	0.91 0.42	1075	67.14	0.65
No. 5	1.10×10^3	1110 1080	102.1 72.1	1.01 0.71	1095	87.14	0.85
No. 6	8.45×10^2	870 820	-137.9 -187.9	-1.36 -1.85	845	-162.86	-1.58
No. 7	8.90×10^2	890 890	-117.9 -117.9	-1.16 -1.16	890	-117.86	-1.14
平均値 ($\bar{X}$)		1007.86			1007.86		
標準偏差 (SD)		101.54			103.03		
変動係数 (CD)		10.07			10.22		
X+2SD		1210.94			1213.92		
X-2SD		804.78			801.79		

模擬食品からのカンピロバクター検出

機関名	食品C	食品D	食品E
No. 1	陰性	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 2	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 3	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 4	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 5	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 6	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性
No. 7	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	陽性 (<i>C. coli</i>)	陰性



カンピロバクターによる食中毒患者数は全国で毎年2,000人前後報告され、細菌による食中毒の中ではサルモネラ属菌に次いで多い。県内では、平成23年はカンピロバクターによる食中毒が2件発生した。ギランバレー症候群との関連も指摘されていることから、注意すべき食中毒起因菌である。しかしながら、好気条件下では容易に人工培地で発育できない状態となるため、配布試料としての管理が難しく、全国展開の精度管理調査では本菌はあまり用いられない。また、他の細菌検査に比べて培養期間が長く、発育に微好気条件を必要とし、一般的な腸内細菌とは使用する培地も異なる。従って、内部精度管理を通して定期的に陽性検体を検査し、検査精度を維持することは重要である。

今回は、*C. jejuni*、*C. coli*の他に *K. pneumoniae* を添加した模擬食品も作製した。すべての機関が食品 D から *C. coli* を検出でき、*K. pneumoniae* を添加した食品 E をカンピロバクター陰性と判定できた。

培地で24時間培養後、プレストン処方寒天培地で24時間培養して判定していた。なお、コロニーが生育しなかった食品Cの分離培地は48時間まで培養し、再度コロニーが生育しなかったことを確認していた。

プレストン処方寒天培地は SOP の出典元である食品衛生検査指針に記載されていることから、その他の分離培地と同等の性能を有する製品であると考えられる。機関 No.3が行った検討においても、CCDA 培地、スキロー寒天培地、プレストン処方寒天培地すべてでコロニーの生育が確認された。但し、プレストン処方寒天培地は機関 No.1の SOP には記載されていないことから、日常的に使用する製品はその性能を確認し、SOP に記載する必要がある。

機関 No.1が食品 C から *C. jejuni* を検出できなかった原因として、検査を開始する段階で機関 No.1に配布した試料中の *C. jejuni* が死滅あるいは培養できない状態になっていた可能性が考えられた。その後、他の分離培地の併用など改善措置を講じた後再検査を実施し、機関 No.1においても *C. jejuni* を検出できることが確認された。

カンピロバクターの検査は、食中毒の原因食品を特

定する際などに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。今後も定期的にカンピロバクターを精度管理の項目としたい。

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

加熱による D-及び L-ガラクトースの異性化

小玉 修嗣 健名 智子 大戸 幹也 中山 恵理子
山下 智富 村元 達也 上出 功

Epimerization of D- and L-galactoses during heating

Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA,
Tomohisa YAMASHITA, Tatsuya MURAMOTO and Isao KAMIDE

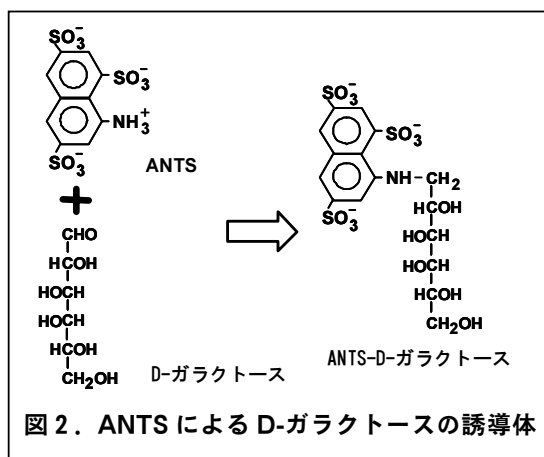
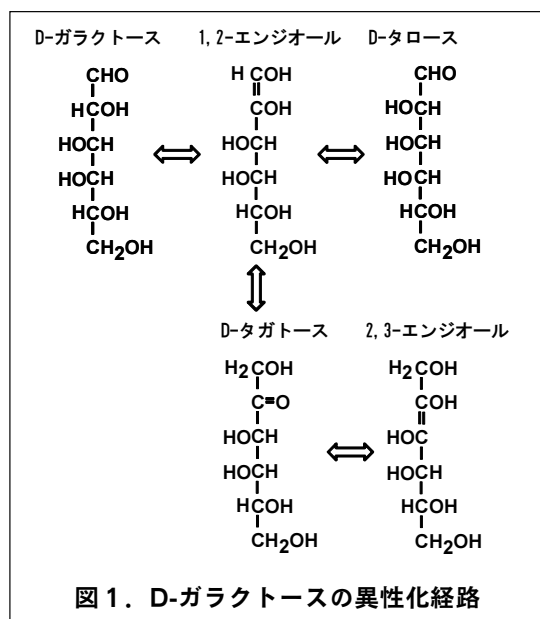
目的： 糖類は重要な食材料であるにもかかわらず、糖に関する知見は栄養学的な面に留まっている。糖類を高濃度に含む食品では、加熱処理によるエピ化がどの程度起こるのか、また、どのような条件で起こりうるのかを明らかにすることを目的として、ガラクトースの光学異性体の加熱による異性化を検討した (図1)。

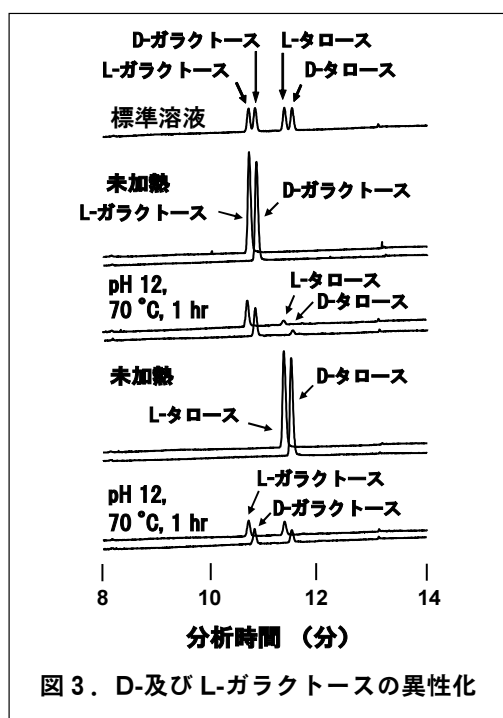
方法： 酸性、中性及びアルカリ性水溶液に溶解した D-及び L-ガラクトースと D-及び L-タロースを水溶液中で加熱した後、酢酸酸性下で8-アミノナフタレン-1,3,6-トリスルホン酸 (ANTS) 及びジメチルアミン・ボロン錯体を用いて糖類を還元誘導体化し、ANTS-D-及び L-単糖を調製した (図2)。ジーエルサイエンス製の FunCap-CE Type S キャピラリー (スルホン化キャピラリー, 50m , 全長64.5cm, 有効長 56 cm) を用い、アジレントテクノロジー製のキャピラリー電気泳動システムで分析した。泳動緩衝液は10%

メタノールを含む300mM (R)-アミノ-1,2-プロパンジオール-300mM ホウ酸 (pH 9.2) を用いた。印加電圧を+25 kV, キャピラリー温度を40℃とし、ANTS-D-及び L-単糖を225nm の吸光度で測定した [1]。

結果及び考察： pH 2~pH 7の範囲では100℃, 1時間の加熱ではガラクトースの異性化は起こらなかった。pH 8~pH 12では、pH の上昇と共に異性化率が増加し、D-及び L-ガラクトースからそれぞれ D-及び L-タロースが生成した。同様に、D-及び L-タロースの加熱はそれぞれ D-及び L-ガラクトースの異性化をもたらした。このとき、タロースからガラクトースの生成量に比べて、ガラクトースからタロースの生成量は少なかった (図3)。

また、本分析法ではタガトースは誘導体化されないため、図2ではピークとして検出されないが、D-及び L-タガトースをアルカリ条件下で加熱すると、それぞれ D-ガラクトース・D-タロース及び L-ガラクトース・L-タロースが生成した。D-及び L-タロースの生成量は D-及び L-タロースの生成量に比べて少なかった。





以上の結果から、1,2-エンジオールを経由する異性化反応では、3つの水酸基がシス型であるタロースに比べて、2位と3位の水酸基がトランス型であるガラクトースの方が生成しやすいことが分かった。

文 献

1. Kodama, S., Aizawa, S., Taga, A., Yamashita, T., Kemmei, T., Yamamoto, A., Hayakawa, K. (2007) Electrophoresis, 28, 3930-3933.

富山県内に流通する輸入菓子中の有害金属検査

村元 達也 大戸 幹也 小玉 修嗣 健名 智子 中山 恵理子
山下 智富 上出 功

Inspection of Toxic Metal in Imported Confectionery Circulating in Toyama

Tatsuya MURAMOTO, Mikiya OHTO, Shuji KODAMA, Tomoko KEMMEI,
Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA and Isao KAMIDE

はじめに：平成19年12月に起きた中国製冷凍餃子への農薬混入事件や、平成20年9月に中国製乳製品へのメラミン混入事件等が相次いで発生したことを受けて、輸入食品に対する安全面での不安が全国的に高まり、監視体制を強化する必要が生じた[1]。このため、本県では輸入食品検査検討会（主催：富山県生活衛生課）を開催するとともに、「輸入加工食品の検査実施要領」を制定し、県内の市販流通品の監視を行っている。平成21年度からは輸入菓子中のヒ素、カドミウム及び鉛について検査することとなった。

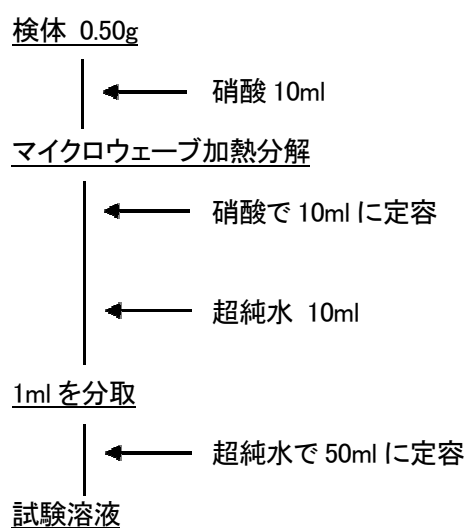
本検査は平成21年度から23年度まで3年間実施してきたが、すべての検体でいずれの有害金属も不検出であった。また、検疫所等の検査においても検出事例がないことから、来年度より当面実施しないことが決まった。そこで、これまで3年間の検査結果をまとめたので、報告する。

試料：平成21年11月から平成23年11月にかけて搬入された、高岡厚生センター射水支所及び中部厚生センター管内に流通する輸入菓子30検体を用いた。

試薬：ICP 汎用混合液（SPEX 製）、ヒ素（As）、カドミウム（Cd）、鉛（Pb）、イットリウム（Y）、インジウム（In）及びタリウム（Tl）標準液（和光純薬製）、硝酸（和光純薬製；有害金属測定用）を用いた。

装置：マイクロウェーブ加熱分解装置（アステック社製；MARS5）、誘導結合プラズマ-質量分析装置（Agilent 社製；Agilent7500ce）で分析した。マイクロウェーブ加熱分解装置の条件は、最大出力300W、昇温速度12℃/分、最大圧力350psi、最高温度200℃、最高温度保持時間10分とした。誘導結合プラズマ-質量分析装置の条件は、RF パワー1500W、プラズマガス15.0L/min、キャリアガス1.0L/min、ネブライザ

図1. 試験溶液の調製方法



ポンプ0.1rps, H₂ガス3.5ml/min とした。

前処理：試験溶液の調製方法は、平成21年度に当所で実施した妥当性評価[2, 3]を根拠に作成した検査標準作業書に従い、図1の通りとした。検体は、約10gをガラス製の乳鉢で均一に粉碎した後、0.50gを精秤した。

分析：上記の前処理で得られた試験溶液を、内部標準液と自動混合して誘導結合プラズマ-質量分析装置に導入し、表1に示す質量数及び濃度範囲で金属のイオン強度を測定し、内部標準液に対する各金属のイオン強度比を求めた。検量線溶液についても同様の操作を行い、検量線を作成し、試験溶液中の金属濃度を算出した。

結果及び考察：各年の検査結果及び添加回収試験の結果を、表2にまとめた。本試験法における定量下限

表 1. 各金属の濃度範囲及び質量数

金属	濃度範囲 (mg/l)	質量数 (m/z)
As	0.00006 ~ 0.006	75
Cd	0.00007 ~ 0.007	111
Pb	0.0002 ~ 0.02	208
Y		89
In		115
Tl		205

表 2. 有害金属検査結果

年度	収去地域	品名	原産国	試験検査項目 (mg/kg)		
				As	Cd	Pb
H21	高岡	クラッカー	フィリピン	<4.0	<4.0	<4.0
		ウエハース	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	ベトナム	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		ビスケット	シンガポール	<4.0	<4.0	<4.0
	中部	クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	ベトナム	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	タイ	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		添加回収試験		101%	105%	102%
	高岡	チョコレート	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		ウエハース	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		チョコレート菓子	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		ビスケット	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		スナック	ブラジル	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	タイ	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	ベトナム	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		添加回収試験		98%	92%	103%
H23	中部	クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	中国	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー	タイ	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	タイ	<4.0	<4.0	<4.0
		クッキー	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		クラッカー加工品	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		ウエハース	マレーシア	<4.0	<4.0	<4.0
		ビスケット加工品	ベトナム	<4.0	<4.0	<4.0
		添加回収試験		96%	93%	107%

平成24年12月14日

値は、検体相当で4mg/kgであり、これより小さい値を不検出とした[2]。すべての検体について、As、Cd及びPbは不検出であった。また、各金属の検量線はすべての年度で決定係数 $r^2=0.999$ 以上の直線性を示し、添加回収試験もすべて80～110%の範囲に収まり、良好な結果が得られた。

文 献

1. 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知. 食安発第0325001号. 平成21年3月25日
2. 村元達也, 大戸幹也, 小玉修嗣, 齊藤尚仁 (2010). 富山衛研年報, 33, 179-182
3. 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知. 食安発第0926001号. 平成20年9月26日

空気中有機リン酸エステル類の分析法

中崎 美峰子 金木 潤

Analysis of Organophosphate Esters in Air Samples

Mineko NAKAZAKI and Jun KANAKI

農薬などの有機リン化合物の曝露指標として尿中のアルキルリン酸を測定し、一般住民から微量ではあるが年間を通して検出されることを報告した [1, 2]. 有機リン系農薬は、農業以外にも家庭園芸や街路樹等の病虫害防除に使用され、居住環境の近くで使用される機会もあることから、呼吸を介した曝露の可能性が考えられる。そこで、生活空間における空気中の有機リン化合物の分析のため、農薬のほかにシックハウス症候群や化学物質過敏症との関連が疑われている有機リン酸トリエステル類も合わせて、測定法を検討したので報告する。

材料と方法： 空気の採取および抽出方法は斎藤らの報告 [3] に準じた。分析対象として、農薬類は環境省の集計 [4] を参考に県内での使用が多いものを、有機リン酸トリエステルは住宅やオフィスビルの大気中からの検出頻度が高いものを選択した [5].

1. 試薬

有機リン系農薬：ジクロロボス (DDVP)、アセフェート、シアノホス (CYAP)、ダイアジノン、フェニトロチオン (MEP)、マラチオン、クロルピリホス、フェントエート (PAP)、メチダチオン (DMTP)、イソキサチオン、以上、残留農薬試験用、和光純薬製

リン酸トリエステル類：リン酸トリエチル (TEP)、リン酸トリス (2-クロロエチル) (TCEP)、リン酸トリス (1,3-ジクロロ-2-プロピル) (TDCPP)、以上、東京化成工業製、リン酸トリ-n-ブチル (TnBP)：特級、リン酸トリス (2-クロロイソプロピル) (TCiPP)：化学用、リン酸トリス (ブトキシエチル) (TBEP)：化学用、リン酸トリフェニル (TPhP)：一級、以上、和光純薬製 分析ではこれら標準品をアセトン (残留農薬・PCB 試験用、和光純薬製) に溶解し、適宜希釈、混合して使用した。

2. 捕集剤

石英フィルター (QR-100 直径47mm ADVANTEC 製)

ODS フィルター (Empore Disk C18 直径 47mm

3M 製)

3. 装置

ろ紙ホルダー (EMO-47 GL サイエンス製)

ローボリウムポンプ (LV-40BR 柴田科学製)

炎光光度検出器付きガスクロマトグラフ (GC-2010 FPD 島津製)

キャピラリーカラム (DB-5 0.53mm i.d.×30m×1.5μm) を使用し、Table1に示した条件で昇温分析を行った。

4. 測定方法

空気の採取は、四フッ化エチレン樹脂製のろ紙ホルダーを用い、前段に粒子状物質捕集用として石英フィルターを、後段にガス状物質捕集用として ODS フィルターをセットして、流速10L/分で24時間 (14.4m³) のサンプリングを行った。採取後のフィルターはピンセットで丸めてそれぞれ遠沈管に入れ、アセトン10 mLを加えて10分間超音波抽出した。3000rpm で10分間遠心分離後、上清5mLを濃縮管にとり、内部標準液を加えて気流下で1mLまで濃縮し、分析用試料とした。

各測定対象物質の単一溶液を分析し、個々の保持時間を調べ、内部標準物質との相対保持時間により同定した。

結果および考察： 有機リン系農薬およびリン酸トリエステル類17種混合溶液を分析したところ、Fig.1に

Table 1. Instrumentation and conditions for GC-FPD

Gas Chromatograph	SHIMADZU GC-2010
Detector	Flame photometric detector (P-filter)
Column	DB-5 0.53mm.i.d.x30m x 1.5 μm
Oven temperature	60°C(2min) ~ 30°C/min ~ 180°C ~ 5°C/min ~ 200°C ~ 3°C/min ~ 230°C ~ 7°C/min ~ 280°C(5min)
Carrier gas	Helium 25.0kPa
Hydrogen flow	80mL/min
Air flow	120mL/min
Injection port temperature	250°C
Injection volume	2 μL, splitless mode (purge on time 1.5min)
Detector temperature	280°C

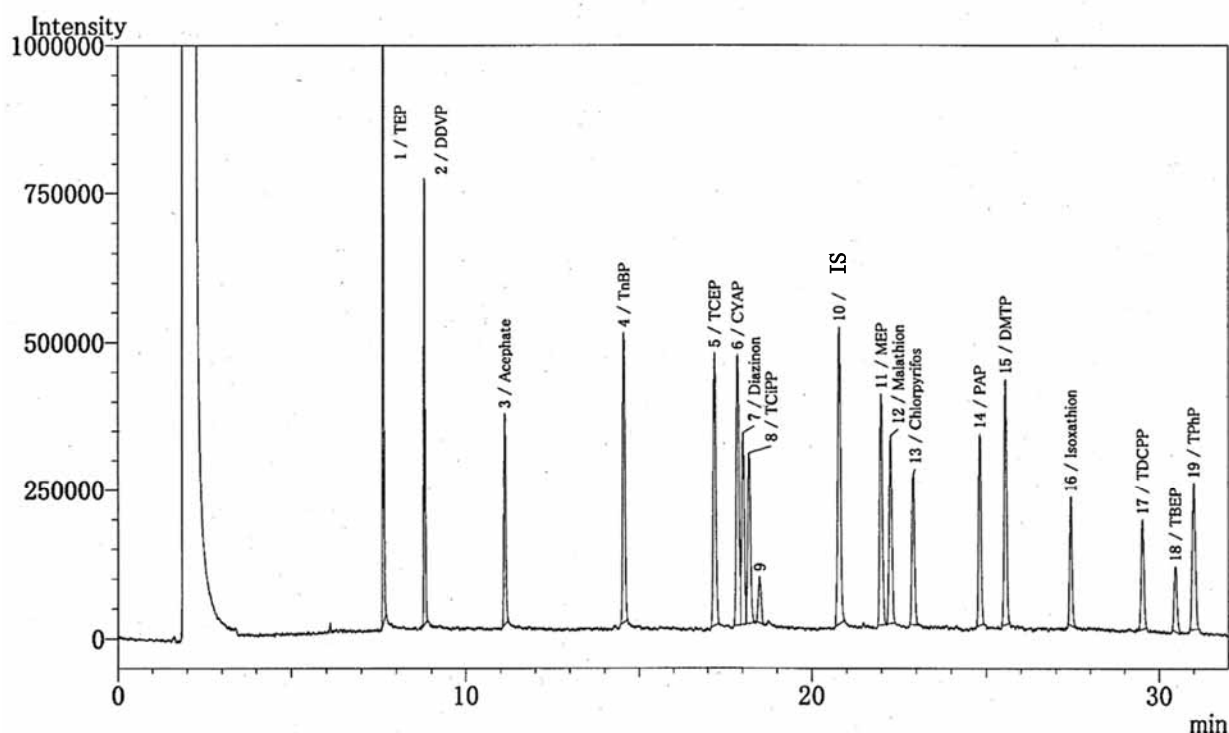


Fig. 1. A typical gas chromatogram of organophosphate esters

Table 2. Detection limits of organophosphate esters

Compounds	Detection limit (ng/m ³)
<i>Pesticides</i>	
DDVP	0.5
CYAP	1
Diazinon	1
MEP	1
Malathion	1
Chlorpyrifos	1
PAP	1
DMTP	1
Isoxathion	1
<i>Triesters</i>	
TEP	0.5
TnBP	1
TCEP	1
TCiPP	1
TDCPP	2
TBEP	2
TPhP	2

示すように各物質の分離は良好であった。標準物質の混合溶液をアセトンで希釈して0.005～1.0 μg/mLの標準系列を調整し、それぞれ3回ずつ分析してピーク高さと濃度から検量線を作成した。アセフェートについては、分析ごとの応答値の変動が大きく、良好な検量線が得られなかった。それ以外の16物質については、良好な直線性が認められた。

アセフェート以外の16物質について、クロマトグラムよりノイズの3倍のシグナル強度を示す濃度を求め、試験液1mL中の物質質量(ng)の2倍が抽出液全量中に存在したものととして、これを空気量14.4m³で除して検出下限値を算出した結果をTable2に示した。

破過試験は、1段目の石英フィルターに16物質の混合溶液(10 μg/mL)を20 μL添加し、2段目と3段目にODSフィルターをセットし、実験室内で10L/分の流速で24時間通気した。その結果、TEPとTDCPPで添加量のそれぞれ1.3%、5.0%の破過がみられたほかはいずれの物質も3段目に破過しないことが確認された。通気後の1段目と2段目のフィルターをアセトンで抽出して、添加量に対する回収率をみたところ、リン酸トリエステル類で回収率が100%を大きく超えるものがあったため、標準物質を添加せずに通気だけを行ったブランクをとり、差し引きして回収率を計算した(Table 3)。農薬9種の回収率は88.0～102.0%と良好であり、変動係数はフェントエートが9.4%であっ

Table 3. Spike recovery from ambient air matrix (n=3)

Compounds	Amount spiked (ng)	Recovery (ng)	Unspiked (ng)	Spike recovery rate (%)	RSD(%)
<i>Pesticides</i>					
DDVP	200	207	4.0	101.0	0.6
CYAP	200	182	<5.0	91.0	5.0
Diazinon	200	181	<5.0	90.7	3.5
MEP	200	180	<5.0	90.0	3.3
Malathion	200	187	<5.0	93.3	3.4
Chlorpyrifos	200	177	<5.0	88.7	3.3
PAP	200	194	<5.0	97.0	9.4
DMTP	200	176	<5.0	88.0	3.0
Isoxathion	200	204	<5.0	102.0	4.3
<i>Triesters</i>					
TEP	200	380	215	82.5	1.4
TnBP	200	229	52	88.7	4.5
TCEP	200	359	235	62.2	0.9
TCiPP	200	229	64	82.5	0.6
TDCPP	200	291	170	60.3	10.5
TBEP	200	203	<10	101.0	3.7
TPhP	200	157	<10	78.5	2.0

Table 4. Concentrations of organophosphate esters in indoor air

Compounds	Concentration (ng/m ³)
<i>Pesticide</i>	
DDVP	0.8
<i>Triesters</i>	
TEP	9.1
TnBP	9.3
TCEP	44.7
TCiPP	31.3
TDCPP	8.4
TBEP	<2
TPhP	<2

た以外はすべて5%以下であった。トリエステル類について、標準物質を添加せずに通気したブランク値が大きいもので差し引きした回収率が60%台の物質があった（TCEP および TDCPP）。これらについて、フィルターに添加後通気せずに抽出操作を行った場合の回収率は、それぞれ76.7%および87.7%であった。

以上の結果から、石英フィルターと ODS フィルターを使用したサンプリング法により、有機リン系農薬9種とリン酸トリエステル7種について、0.5~2ng/m³の検出下限値で精度よく一斉分析できることがわかった。

本分析法を用い、実際に居住環境の空気中有機リン化合物の測定を試みた。

サンプリングは、築後30年の木造一戸建て住宅の一室（6畳和室）で行った。家具および寝具があり、測定中は室のドアは開いた状態で窓の開閉はなく、冷暖房の使用はなかった。分析の結果、有機リン系農薬のDDVP がわずかに検出され、トリエステル類は5物質が検出された（Table 4）。このうち比較的濃度が高かったのは TCEP と TCiPP で、これらは軟質ウレタンフォームの難燃剤として使用されることから、寝具由来の可能性が考えられた。

平成24年12月14日

今回検討した分析法を用いて、空気中に存在する農薬などの有機リン化合物の状況を明らかにし、呼吸からの曝露について調査する予定である。

文 献

1. 中崎美峰子, 西野治身, 大浦栄次 (2000). 日本農村医学会雑誌, 49, (2), 142-145.
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. 斎藤育江, 大貫 文, 瀬戸 博, 上原眞一, 藤井 孝 (2001). 東京衛研年報, 52, 201-207.
4. 環境省 平成22年度 PRTR 届出外排出量の推計方法等の概要・推計結果 (平成24年3月13日公表)
5. 斎藤育江, 大貫 文, 矢口久美子, 小縣昭夫 (2008). 東京都健康安全研究センター研究年報, 59, 27-38.

4. 業

績

(1) 誌 上 発 表

[著書・総説]

1) インフルエンザ

小渕正次・水田克巳*・田代真人*

ウイルス感染症の検査・診断スタンダード，田代真人・牛島廣治 編，p32-35. 羊土社，東京，2011

2) 発育鶏卵培養法

小渕正次

ウイルス感染症の検査・診断スタンダード，田代真人・牛島廣治 編，p249-256. 羊土社，東京，2011

[原 著]

1) A new host record of *Ichthyoxenus amurensis* (Crustacea: Isopoda: Cymothoidae) from Amur bitterling *Rhodeus sericeus* (Cypriniformes: Cyprinidae)

Yamano, H.*, Yamauchi, T. and Hosoya, K.*

Limnology, 12 (1) : 103-106, 2011

Ichthyoxenus amurensis (Crustacea: Isopoda: Cymothoidae) was found in the body cavity of the Amur bitterling, *Rhodeus sericeus* (Cypriniformes: Cyprinidae), from Primorsky, Russia, in August 2003. A total of 13 individuals of *I. amurensis* were obtained from nine of 29 fish specimens (prevalence = 31.0%). *Rhodeus sericeus* is a new host for *I. amurensis*. In the body cavity of *R. sericeus*, *I. amurensis* was found within a thin-walled membranous sac, and the intestines of the host were malformed as a result of infection. There was no significant difference in the standard length of infected and uninfected *R. sericeus*.

2) High incidence of rickettsiosis correlated to prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* tick

Tabara, K.*, Kawabata, H.*, Arai, S.*, Itagaki, A.*, Yamauchi, T., Katayama, T.*, Fujita, H.* and Takada, N.*

Journal of Veterinary Medical Science, 73 (4) : 507-510, 2011

平成24年12月14日

Endemic spotted fever group rickettsiosis was reported in Shimane Prefecture, Japan. From an analysis of 14 clinical cases found in the endemic area, the infectious agent of spotted fever group rickettsiosis was identified as *Rickettsia japonica*. In this study, we also found that *Rickettsia japonica* was highly infected with the vector tick, *Haemaphysalis longicornis*, in the endemic area. These findings suggest that the high incidence of rickettsiosis in Shimane Prefecture can be explained by the high prevalence of *Rickettsia japonica* among *Haemaphysalis longicornis* ticks.

3) ミズホヤドリコハナバチによる人体刺症

山内健生・三田井克志*

衛生動物, 62 (4) : 271-272, 2011

An 11 year-old male was stung by a female *Sphecodes japonicus* (Hymenoptera, Halictidae) in Toyama Prefecture, Honshu, Japan. He felt a severe pain at the moment of the bee sting. This is the first reported case of *Sphecodes* bee sting in Japan.

4) シラミバエ科による製品混入例

山内健生・小松謙之*

都市有害生物管理, 1 (2) : 133-135, 2011

食肉加工品を包装したダンボール内でシラミバエ科 *Pseudolynchia canariensis* が発見されたので、製品混入例として報告した。

5) Redescription of the fish parasite *Nerocila japonica* Schioedte & Meinert, 1881 (Crustacea: Isopoda: Cymothoidae), with comments on previous records of *N. acuminata* in Japanese waters

Yamauchi, T. and Nagasawa, K.*

Systematic Parasitology, 81 (2) : 147-157, 2012

Nerocila japonica Schioedte & Meinert, 1881 is redescribed based on the holotype and specimens from various localities in Japanese waters. The following fishes are recorded as new hosts: *Tribolodon hakonensis* (Cyprinidae), *Mugil cephalus*, *Liza affinis*, *Chelon haematocheilus* (Mugilidae), *Lateolabrax japonicus*, *L. latus* (Lateolabracidae), *Acanthopagrus latus*, *A. schlegelii* (Sparidae), *Rhyncopelates oxyrhynchus* (Terapontidae), *Ditrema viride*, *D. temminckii* (Embiotocidae), *Chaenogobius gulosus*, *Acanthogobius flavimanus* (Gobiidae), *Pseudolabrus* sp. (Labridae) and *Aluterus monoceros* (Monacanthidae). Specimens previously recorded as '*Nerocila acuminata*' from Toyama Bay (the Sea of Japan) were examined, when available, and re-identified as *N. japonica*. As there has been no reliable record of *N. acuminata* Schioedte & Meinert, 1881 from off Japan, reports of this species in Japanese waters are considered to represent *N. japonica*.

6) 富山県におけるヤスデ類とムカデ類の記録 (既報の整理)

山内健生・石井 清*・布村 昇*

富山市科学博物館研究報告, 35: 49-55, 2012

A bibliographical survey was made concerning millipedes and centipedes in Toyama Prefecture, Japan. Twenty-six species belonging to 12 families of millipedes and 31 species and 3 subspecies belonging to 9 families of chilopodes have hitherto been recorded in Toyama Prefecture.

7) Continuity and change of Japanese encephalitis virus in toyama prefecture, Japan.

Mayumi Obara, Takeo Yamauchi, Mamoru Watanabe, Sumiyo Hasegawa, Yasufumi Ueda*, Kentaro Matsuno*, Masae Iwai, Eiji Horimoto, Takeshi Kurata, Takenori Takizawa, Hiroaki Kariwa*, and Ikuo Takashima*

Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708, 2011

To determine the mechanisms of maintenance and evolution of Japanese encephalitis virus (JEV) in a temperate zone, we attempted to isolate JEV from mosquitoes and pigs in Toyama Prefecture, Japan. A total of 87 JEVs were isolated from female *Culex tritaeniorhynchus* mosquitoes and pigs during 2005-2009. The prevalence of JEV in Toyama Prefecture was seasonally late in comparison with that of the virus during 1966-1972. Furthermore, JEVs were isolated after the peak in the number of female *Cx. tritaeniorhynchus*. Among JEV strains isolated in this study, two distinct groups were observed within genotype I of the phylogeny generated from nucleotide sequence information derived from the envelope and capsid/premembrane genes: strains belonging to the major type were isolated during 2005-2009, and strains from the minor type were isolated only in 2007. The major type has exhibited gradual change in its envelope and capsid/premembrane genes, and all isolates obtained in 2008 and 2009 had a novel deletion of seven nucleotides in the variable region of the 3'-untranslated region.

8) Development of a poliovirus neutralization test with poliovirus pseudovirus for measurement of neutralizing antibody titer in human serum.

Minetaro Arita*, Masae Iwai, Takaji Wakita*, Hiroyuki Shimizu*

Clin. Vaccine Immunol., 18: 1889-1894, 2011

In the Global Polio Eradication Initiative, laboratory diagnosis plays a critical role by isolating and identifying poliovirus (PV) from the stool samples from acute flaccid paralysis (AFP) cases. In recent years, reestablishment of PV circulation in countries where PV was previously eliminated has occurred because of decreased herd immunity, possibly due to poor vaccination coverage. To monitor the vulnerability of countries to PV circulation, surveillance of neutralizing-antibody titers against PV in susceptible populations is essential in the end game of the polio eradication program. In this study, we have developed a PV neutralization test with type 1, 2, and 3 PV pseudoviruses to

determine the neutralizing-antibody titer against PV in human serum samples. With this test, the neutralizing-antibody titer against PV could be determined within 2 days by automated interpretation of luciferase signals without using infectious PV strains. We validated the pseudovirus PV neutralization test with 131 human serum samples collected from a wide range of age groups (ages 1 to >60 years) by comparison with a conventional neutralization test. We found good correlation in the neutralizing-antibody titers determined by these tests. These results suggest that a pseudovirus PV neutralization test would serve as a safe and simple procedure for the measurement of the neutralizing-antibody titer against PV.

9) Effects of respiratory syncytial virus infection and major basic protein derived from eosinophils in pulmonary alveolar epithelial cells (A549)

Ishioka T*, Kimura H*, Kita H*, Obuchi M, Hoshino H*, Noda M*, Nishina A*, Kozawa K*, Kato M*

Cell Biol. Int., 35 (5) : 467-474, 2011

RSV (respiratory syncytial virus) -induced pneumonia and bronchiolitis may be associated with hyperresponsive conditions, including asthma. Eosinophilic proteins such as MBP (major basic protein) may also be associated with the pathophysiology of asthma. To elucidate the roles of RSV infection and MBP in the pathogenesis of pneumonia with hyperresponsiveness, we investigated the effects of RSV infection and MBP on A549 (alveolar epithelial) cells. CPE (cytopathic effects) in A549 cells were observed by microscopy. Apoptosis and cell death was evaluated by flow cytometric analysis and modified MTT [3- (4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide] assay. We also measured 15 types of cytokines and chemokines in A549 cell supernatants. Although RSV alone did not affect the CPE of A549, high concentrations of MBP resulted in cell death within 24 h. Combinations of RSV and MBP synergistically induced cell death. In A549 cells infected with RSV alone, the release of GM-CSF (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor) was significantly enhanced compared with control cells (no infection) . In the cells treated with MBP alone, the production of IL (interleukin) -2, 4, 5, 7, 10, 12, 13, 17, IFN (interferon) - γ , GM-CSF, G-CSF (granulocyte colony-stimulating factor) and MIP (macrophage inflammatory protein) -1 β was significantly increased compared with control cells. Notably, the levels of GM-CSF and IL-17 in RSV/MBP-treated cells were significantly higher than those treated with MBP alone. These results suggest that MBP synergistically enhanced the release of various cytokines/chemokines and the cell death of RSV-infected A549 cells, indicating that MBP may be closely associated with the pathophysiology of allergic reactions in bronchiolitis/pneumonia due to RSV.

10) Rapid discrimination of oseltamivir-resistant 275Y and -susceptible 275H substitutions in the neuraminidase gene of pandemic influenza A/H1N1 2009 virus by duplex one-step RT-PCR assay

Nakauchi M*, Ujike M*, Obuchi M, Takashita E*, Takayama I*, Ejima M*, Oba K*, Konomi N*, Odagiri T*, Tashiro M*, Kageyama T*, influenza virus surveillance group of Japan*

J. Med. Virol., 83 (7) : 1121-1127, 2011

Pandemic influenza A/H1N1 2009 (A/H1N1pdm) virus caused significant outbreaks worldwide last

year (2009) . A number of oseltamivir-resistant A/H1N1pdm viruses possessing an H275Y substitution in the neuraminidase (NA) protein were reported sporadically in several countries, including Japan, but they were sensitive to zanamivir and did not spread in the community. In this study, to monitor rapidly and simply oseltamivir-resistant A/H1N1pdm viruses possessing H275Y, a duplex one-step RT-PCR assay (H275Y RT-PCR assay) was developed based on an endpoint genotyping analysis method. H275Y RT-PCR assay evaluated using several subtypes/types of influenza A and B viruses and other respiratory pathogenic viruses and shown to have high sensitivity and high specificity. Forty-four clinical specimens were tested after RNA purification using the H275Y RT-PCR assay, resulting in one clinical specimen being found to contain a virus possessing the H275Y mutation. Seventy-three clinical isolates were then tested with the H275Y assay by using clinical isolates in the cultured supernatants of cells directly, without RNA purification, and the results were consistent with the NA sequencing. Since the H275Y RT-PCR assay could detect the H275Y mutation in clinical isolates without RNA purification, as well as a H275Y mutated virus in clinical specimens after RNA purification, the assay was considered a powerful tool for surveillance screening of oseltamivir-resistant A/H1N1pdm virus activity.

11) Anti-influenza virus activity of tricin, 4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone

Yazawa K*, Kurokawa M*, Obuchi M, Li Y*, Yamada R*, Sadanari H*, Matsubara K*, Watanabe K*, Koketsu M*, Tsuchida Y*, Murayama T*

Antivir. Chem. Chemother., 22:1-11, 2011

BACKGROUND: We examined the anti-influenza virus activity of tricin, 4',5,7-trihydroxy-3',5'-dimethoxyflavone, against five viruses: A/Solomon islands/3/2006 (H1N1), A/Hiroshima/52/2005 (H3N2), A/California/07/2009 (H1N1pdm), A/Narita/1/2009 (H1N1pdm) and B/Malaysia/2506/2004 strains in vitro and against A/PR/8/34 virus in vivo. METHODS: The effect of tricin was studied by an infectious virus yield reduction assay. The anti-influenza virus mechanism of the tricin was examined by western blot analysis, real-time reverse transcriptase PCR analysis, haemagglutination inhibition (HI) assay and neuraminidase (NA) inhibition assay. The anti-influenza virus efficacy of tricin was further examined in a murine influenza virus infection model. RESULTS: Tricin of 3.3 to 30 μ M significantly reduced seasonal A (H1N1), (H3N2) viruses, novel A (H1N1pdm) virus, as well as B virus in a dose-dependent manner. The 50% effective concentrations of tricin were 3.4 μ M for seasonal A (H3N2) virus, 4.9 μ M for B virus and 8.2 μ M for A/Narita (H1N1pdm) virus. Tricin decreased the expression of haemagglutinin (HA) protein and matrix (M) protein, and messenger RNA expression of HA and M of influenza virus in the infected cells. Tricin exhibited little or no effects on influenza virus HI and NA activities. In the mouse infection model, tricin was significantly effective in reducing body weight loss, and also effective in prolonging survival times of infected mice. CONCLUSIONS: Tricin was indicated to possess anti-influenza virus activity and to ameliorate body weight loss and survival rate of influenza-A-virus-infected mice. Tricin is a novel compound with potential anti-influenza virus activity in vitro and in vivo.

12) Low hemagglutinin-titer strains of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus circulated in Toyama Prefecture, Japan, during the 2009-2011 influenza seasons

平成24年12月14日

Obuchi M, Yokoyama M*, Horimoto E, Obara M, Iwai M, Sato H*, Sata T, Takizawa T

Jpn. J. Infect. Dis., 64 (5) : 448-450, 2011

13) 2010/11シーズンに急増した赤血球凝集性が低いインフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルス分離株—富山県

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

病原微生物検出情報月報, 32: 197-198, 2011

2010/11シーズンに赤血球凝集 (HA) 価が低いインフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルス分離株が増加し, 赤血球凝集阻止試験による型・亜型の同定が困難であったため, これら分離株の性状を解析した. その結果, HA 蛋白の197位のアミノ酸において, アラニンからスレオニンへの置換がみられた. このアミノ酸はレセプター近傍に位置することから, HA 価の低下に何らかの影響を与えている可能性が示唆された.

14) 保育園で発生した腸管出血性大腸菌 O157による集団感染事例について—富山県

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*

病原微生物検出情報, 32, 135-136, 2011

2010年8月から9月にかけて富山県内の W 町所在の Y 保育園において腸管出血性大腸菌 O157:H7 (VT1 VT2, 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) が発生したのでその概要を報告する.

15) Clinical Significance of *Escherichia albertii*

Tadasuke Ooka*, Kazuko Seto*, Kimiko Kawano*, Hideki Kobayashi*, Yoshiki Etoh*, Sachiko Ichihara*, Akiko Kaneko*, Junko Isobe, Kenji Yamaguchi*, Kazumi Horikawa*, Tania A.T. Gomes*, Annick Linden*, Marjorie Bardiau*, Jacques G.Mainil*, Lothar Beutin*, Yoshihito Ogura* and Tetsuya Hayashi*

Emerging Infectious Disease, 2012. 18 (3). 488-492

Discriminating *Escherichia albertii* from other *Enterobacteriaceae* is difficult. Systematic analyses showed that *E. albertii* represents a substantial portion of strains currently identified as *eae*-positive *Escherichia coli* and includes Shiga toxin 2f-producing strains. Because *E. albertii* possesses the *eae* gene, many strains might have been misidentified as enterohemorrhagic or enteropathogenic *E. coli*.

16) Development of a variable-wavelength optical rotation detector in the ultraviolet region

Atsushi Yamamoto*, Toshio Miwa*, Mio Kawai*, Toshiyasu Tadokoro*, Koichi Tsutsumi*,
Takanobu Sato*, Shuji Kodama, Kazuichi Hayakawa*

Anal. Sci., 27: 799-803, 2011

A new type of optical rotation (OR) detector based on the phase retardation of the first-order diffraction beam has been constructed. The proposed detector responded to only OR properties by eliminating the circular dichroism (CD) effect. Thus, it could measure the optical rotatory dispersion curves in the Cotton band. Although the optical system requires the incident beam in which the phase retardation is 0.5π , the actual retardation was estimated to be around 0.3π . It means that the OR signal intensity can be doubled. Since the proposed detector works over a range of UV wavelengths, there was a compound whose OR signal intensity was higher than the CD signal intensity. The OR detection was superior to CD in stability and in defining the baseline.

17) Simple determination of a strongly aromatic compounds, sotolon, by capillary electrophoresis

Atsushi Taga*, Atsushi Sato*, Kentaro Suzuki*, Manami Takeda*, Shuji Kodama

J. Oleo Sci., 61: 45-48, 2012

A strongly aromatic compound, sotolon, was assessed by capillary zone electrophoresis within 9 min without specific pre-sample treatment. The calibration curve comprised a straight line with good linearity ($R = 0.997$) over a relatively wide range of 3.13 to 100 ppm. The precision of this system was excellent with relative standard deviations of 1.39 % for migration time and 2.96 % for peak response over 10 repetitions at a concentration of 12.5 ppm. The limit of quantitation and limit of detection values were 3.13 ppm ($S/N = 9$) and 0.781 ppm ($S/N = 3$), respectively. Using this system, sotolon was clearly detected from a maple-flavored food additive.

18) Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in sea water by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Hironori Fujishima*, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*,
Kazuichi Hayakawa*

Anal. Chim. Acta, 709: 54-58, 2012

The chelating agent EDTA is widely used, and as a result is showing up widely in the aquatic environment. Here we describe a preconcentration procedure for measuring EDTA concentration in sea water samples by HPLC. The procedure consists of forming an Fe (III) complex followed by solid-phase extraction using an activated carbon cartridge. After the preconcentration, EDTA was quantified by HPLC with ultraviolet detection (260nm). The enrichment permitted the determination of EDTA at concentration as low as 1 nM. Good recoveries were obtained for both brackish and full-strength sea water with high repeatability ($RSD < 6\%$). The method was applied to sea water

平成24年12月14日

samples taken from near the mouth of the Oyabe River in Japan.

19) Mechanism of change in enantiomer migration order of enantioseparation of tartaric acid by ligand exchange capillary electrophoresis with Cu (II) and Ni (II) -D-quinic acid systems

Sen-ichi Aizawa*, Shuji Kodama

Electrophoresis, 33: 523-527, 2012

The mechanism of change in the enantiomer migration order (EMO) of tartarate on ligand exchange CE with Cu (II) — and Ni (II) —D-quinic acid systems was investigated thoroughly by circular dichroism (CD) spectropolarimetry. The ^{13}C NMR spectra of solutions containing D-quinic acid (pH 5.0) with Cu (II) or Ni (II) revealed the coordination of carboxylate and hydroxyl groups on D-quinic acid. The D-quinic acid concentration dependence of the CD spectra at a fixed Cu (II) concentration at pH 5.0 indicates that the 1:1, 1:2 and 1:3 Cu (II) —D-quinic acid complexes were formed with an increase in concentration of D-quinic acid. The CD spectral behavior revealed that D-tartarate is selectively coordinated to the 1:1 complex to give the 1:1:1 Cu (II) —D-quinic acid—D-tartarate ternary complex while L-tartarate is selectively bound to the 1:2 and 1:3 complexes to form the 1:2:1 ternary complex. In the Ni (II) —D-quinic acid system, it became apparent that the 1:2 Ni (II) —D-quinic acid complex is mainly formed in the wide range of D-quinic acid concentration at pH 5.0 and D-tartarate is selectively coordinated to the 1:2 complex to form the 1:2:1 ternary complex. The change in EMO of tartarate on ligand exchange CE was explainable by the change in coordination selectivity for D- and L-tartarates in the Cu (II) — and Ni (II) —D-quinic acid systems depending on the compositions of the complexes formed in BGE.

[報 告]

1) 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23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*、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クリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」平成23年度 総括・分担研究報告書, p102-104

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であるが、自治体や施設ごとのシステムの差異により全施設での実施には至っておらず、平成23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。これまでの6年間に BLS を113検体実施したうち、見逃しは1検体のみであった。また、マスキューニング体制の整備に必須である連絡協議会は、全45施設中20施設、BLS 導入13施設では9施設で定期的に開催され、良好な体制整備が行われていた。今後、タンデムマス・スクリーニングを開始する自治体がさらに増加し、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。

2) 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*、吉富秀亮*、千々和勝巳*、駒込理佳*、長野秀樹*、川上千春*、小淵正次、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助金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23年度総括・分担研究年度終了報告書）

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22年度に構築したコア・サポート地衛研体制を軸とした国内におけるインフルエンザウイルス・サーベイランスの維持強化を図った。

23年度は、22年度に引き続き

- (1) 抗ウイルス剤感受性や抗原性変化などのハイリスク変異株サーベイランスの維持強化や検査手法の検討・改善に努める一方で、
- (2) 影山分担研究者（感染研）によるウイルス遺伝子検出試験における精度管理試行に協力した。また
- (3) 2011年1月以降各地で発生した鳥インフルエンザ対応における地衛研の役割について検討を開始した。
- (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及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。

平成24年12月14日

3) 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23年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2011

イヌやネコなどの愛玩動物を対象に，寄生した外部寄生虫におけるリケッチア等の検出を行った．富山県内の海辺における蚊類相を明らかにするため，海辺において蚊幼虫の分布を調査した．また，例年に引き続き，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．

4) 石川県河北潟干拓地と富山県氷見市における感染症媒介蚊の発生状況調査

研究代表者：小林睦生*．研究協力者：渡辺 護*，及川陽三郎*，S. Roychoudhury*，沢辺京子*，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23年度総括・分担研究報告書，pp. 91-99

石川県河北潟の周辺および富山県氷見市において感染症媒介蚊の発生状況を把握することを目的に調査を行ったところ，河北潟干拓地域では7種類24,664個体の蚊が捕集され，98%をアカイエカ群とコガタアカイエカが占めた．干拓地内部では周辺外部に比べ多数のアカイエカ(57.9%)とコガタアカイエカ（41.0%）が捕集された．干拓地の周辺外部ではそれとは逆にコガタアカイエカ(86.2%)の方がアカイエカに比べ明らかに多く捕集された．宝達志水町では6種類の蚊が捕集されたが，97%をコガタアカイエカが占めた．全体の捕集数は河北潟干拓地に比べ1/5と少なかった．富山県氷見市加納では10種類の蚊が捕集され，石川県では捕集されなかったシナハマダラカが少数捕集された．この地域でもコガタアカイエカが79.5%と最も多く捕集されたが，全体の捕集数は河北潟干拓地の1/8と明瞭に少なかった．

石川県河北潟干拓地域にはアカイエカとコガタアカイエカの繁殖に適した環境の存在が示唆され，それは発生源になる水域と吸血源動物（鳥類），さらに休息場所になる茂みの多さであると推察された．

5) 富山県の海辺における蚊類幼虫調査

研究分担者：山内健生．研究協力者：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23年度総括・分担研究報告書，pp. 101-105

2011年6月中～下旬と9月下旬に，漁港・釣り場を中心とした富山県内の海辺12地点にて，蚊類幼虫を調査した．10地点で，3属7種の蚊類が採集された．ヤマトヤブカは5地点で，ヒトスジシマカは4地点で，そしてアカイエカ群は3地点で採集され，個体数も多かった．その他の種：キンパラナガハシカ，トウゴウヤブカ，ヤマダシマカ，クシヒゲカ亜属の1種は，1，2地点で採集されたのみであった．それらのうち，海岸で発生するとされるトウゴウヤブカは東部の1地点で1頭が採れたのみであった．したがって，富山県内の海辺では，ヤマトヤブカ，ヒトスジシマカ，およびアカイエカ群による被害が発生している可能性が高いと考えられる．蚊幼虫が採集された水溜りの塩分濃度は，ヤマトヤブカとヒトスジシマカが生息していた1カ所（0.2%）を除き，すべて0%であった．また，調査時に採集した捕食性水生昆虫は，チビゲンゴロウ成虫のみであった．

6) 富山県の愛玩動物における外部寄生虫調査

研究分担者：山内健生、研究協力者：名古屋真弓、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 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23年度総括・分担研究報告書，pp. 117-120

愛玩動物に寄生するマダニ類とノミ類は、人獣共通感染症の各種病原体を媒介する可能性を有する。そこで、2011年6～12月に、富山県において、愛玩動物（イヌ39頭とネコは31頭）に寄生するマダニ類とノミ類の種構成及び保有病原体について調査した。イヌからは3種のマダニ類と2種のノミ類が得られ、これらのうちフタトゲチマダニとネコノミが優占種と考えられた。ネコからはネコノミとミカドケナガノミが得られ、ネコノミが優占種と考えられた。ミカドケナガノミは、通常は野生中型肉食獣（タヌキやイタチなど）に寄生する種であることから、本調査結果は、飼育下のイヌとネコも、野生中型肉食獣の外部寄生虫に寄生されうること示唆している。マダニ類とノミ類からDNAを抽出し、各種病原体（リケッチア、エーリキア、アナプラズマ）の遺伝子検出を試みたが、いずれも検出限界以下であった。愛玩動物の行動圏内（住宅街や公園等）に生息するマダニ類のリケッチア保有率は、山岳地帯のそれより低いと考えられた。

7) 国内数箇所で2010年に採集されたトコジラミの殺虫剤抵抗性

研究分担者：山内健生、研究協力者：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23年度総括・分担研究報告書，pp. 167-174

2010年に「沖縄那覇」「福岡行橋」「福岡若宮」「石川金沢」「新潟長岡」「北海道旭川」で採集されたトコジラミの内、「沖縄那覇」がピレスロイド系のフェノトリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示し、「北海道旭川」が低度の抵抗性であることが明らかになった。先に試験した「千葉」や「富山」などと比較すると、「千葉」が最も低抵抗性比が高く、「沖縄那覇」はそれに次いだ。全般的には各地のトコジラミともピレスロイド剤に高い抵抗性の発現が認められ、実質的な駆除は望めないと思われる。有機リン剤とカーバメイト剤に対しても低度の抵抗性が認められるが、丁寧な散布を行うことで駆除は可能と考えられる。

8) 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

研究代表者：小林睦生*、研究協力者：渡辺 護*、米島万有子*、二瓶直子*、及川陽三郎*、津田良夫*、沢辺京子*、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21～23年度総合研究報告書，pp. 55-58

昭和前期（1926～46年）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った。琵琶湖湖東地域と鯖江地域では2009年と2010年の2シーズン、河北潟干拓地および氷見地域では2009年から2011年の3シーズン5月中旬から10月下旬まで調査を行った。

琵琶湖湖東地域では現在もシナハマダラカの発生がみられたが、石川県河北潟干拓地では全く捕集されなかった。福井県鯖江地域と富山県氷見地域ではわずかに捕集された。懸念されているマラリアの再興は現段階では

平成24年12月14日

無いと考えられるが、全国的な調査が必要と思われる。コガタアカイエカは全地域、全定点で捕集され、広範囲に高密度で分布していることが明らかになった。アカイエカは石川県河北潟干拓地で多数が捕集されたが、他地域では捕集される定点に相違がみられ、分布に遍在性が認められた。ヒトスジシマカは捕集される定点とされない定点に分れ、分布に大きな偏りが示唆された。

9) 富山県の海辺における蚊類幼虫調査

研究分担者：山内健生．研究協力者：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21～23年度総合研究報告書，pp. 59-61

2011年6月中～下旬と9月下旬に、漁港・釣り場を中心とした富山県内の海辺12地点にて、蚊類幼虫を調査した。10地点で、3属7種の蚊類が採集された。ヤマトヤブカは5地点で、ヒトスジシマカは4地点で、そしてアカイエカ群は3地点で採集され、個体数も多かった。その他の種：キンパラナガハシカ、トウゴウヤブカ、ヤマダシマカ、クシヒゲカ亜属の1種は、1、2地点で採集されたのみであった。それらのうち、海岸で発生するとされるトウゴウヤブカは東部の1地点で1頭が採れたのみであった。したがって、富山県内の海辺では、ヤマトヤブカ、ヒトスジシマカ、およびアカイエカ群による被害が発生している可能性が高いと考えられる。蚊幼虫が採集された水溜りの塩分濃度は、ヤマトヤブカとヒトスジシマカが生息していた1カ所（0.2%）を除き、すべて0%であった。また、調査時に採集した捕食性水生昆虫は、チビゲンゴロウ成虫のみであった。

10) 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．研究協力者：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21～23年度総合研究報告書，pp. 85-88

沖縄県、福岡県、千葉県、石川県、富山県、新潟県、北海道で採集された10系統のトコジラミに対して、ピレスロイド剤のペルメトリンとフェノトリン、有機リン剤のディクロルボスとフェニトロチオン、カーバメイト剤のプロボクスル油剤の感受性を試験した。「千葉系」がピレスロイド系のフェノトリンに対して超高度の抵抗性を示し、次いで「沖縄那覇系」が高い抵抗性を示した。ペルメトリンに対しては「沖縄那覇系」が高い抵抗性を示し、「千葉系」、「新潟長岡系」が続いた。一方、「富山08系」、「北海道旭川系」は低度の抵抗性であることが明らかになり、採集地によって感受性が異なることが確認された。全般的には各地のトコジラミともピレスロイド剤では確実な駆除は望めないと思われた。有機リン剤とカーバメイト剤に対しては低度の抵抗性が認められるが、丁寧な散布を行うことで駆除は可能と考えられる。

ディクロルボス含有樹脂剤は家具調度品、寝具などに潜んだトコジラミを駆除する際に利用が考えられ、熱風・蒸気は殺虫剤が使用出来ない場合に利用が考えられる。なお、最近駆除の要望が増えてきた、室内の家具などが多い一般家屋などでの駆除は2、3の駆除法を組み合わせることで確実な駆除が期待できる。

11) 日本産哺乳類・鳥類の外部寄生虫に関する基礎的研究

研究分担者：山内健生，研究協力者：名古屋真弓，滝澤剛則，渡辺 護*，山本栄治*

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21～23年度総合研究報告書，pp. 125-129

日本産哺乳類・鳥類の外部寄生虫に関する基礎的研究として，富山県の都市周辺行楽地におけるマダニ類の季節消長，愛媛県における秋季の鳥類寄生マダニ相，富山県における愛玩動物の外部寄生虫相と保有病原体を調査した．調査の結果，典型的な南方系種とみなされていたタカサゴチマダニとヤマアラシチマダニが，北陸地方に分布する可能性が示された．紅斑熱のベクターであるヒトツゲマダニがアオジから初めて採集された．これは本種が鳥類から採集された初めての記録となる．フタトゲチマダニ，ヤマトマダニ，およびキチマダニは，イヌに寄生することにより，山野のみならず市街地にも広く生息している可能性が示唆された．イヌとネコから得られたミカドケナガノミは，通常はタヌキやイタチなどに寄生する種であり，室内飼育のイヌやネコであっても，野生中型肉食獣の外部寄生虫に寄生されうることが示唆された．愛玩動物の行動圏内に生息するマダニ類の紅斑熱群リケッチア保有率は，山岳地帯のそれより低いと考えられた．

12) 下水流入水中の腸管系ウイルス検出状況（2011年次）および下水中のウイルス濃縮方法の検討

研究分担者：板持（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23年度分担研究報告書，pp. 23-28

富山県における腸管系ウイルス流行状況やポリオウイルス野生株の伝播を監視するために，下水流入水中の腸管系ウイルス検出状況を調査した．2011年次は，19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 Oral poliovirus vaccine-like poliovirus であった．

また，下水流入水中のウイルス濃縮方法を検討するために，2006年から2010年にかけて採取した下水検体を「フィルター吸着溶出法」及び「PEG 沈殿法」により濃縮し，ポリオウイルス，ヒトエンテロウイルス B 群，レオウイルス，アデノウイルス分離株数，ノロウイルス，サポウイルス検出件数を比較した．その結果，ノロウイルスやサポウイルスでは，濃縮方法の違いによる検出件数の差は比較的小さかった（1.1～1.3倍）が，すべてのウイルスで「フィルター吸着溶出法」の方が「PEG 沈殿法」よりもウイルス分離株数や検出件数が多かった（1.1～3.1倍）．

13) 北陸地区における麻疹ウイルス PCR 検査，及び IgM ELISA 検査の実施状況

研究協力者：板持（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23年度協力研究報告書，pp. 50-53

平成23年の北陸地区における麻疹患者の報告数は，3県で計1例であった．また，北陸地区で平成23年に麻疹 PCR 検査を行った症例のうち，8症例9件の血漿について IgM ELISA 検査を行ったところ，デンカ生研のキットでは陽性5件，判定保留2件，陰性2件であったが，シーメンズのキットでは9件すべて陰性であった．麻疹 PCR 検査は8症例（9件）すべて陰性であった．このように，キットの違いにより判定に差が生じる例があり，

平成24年12月14日

麻疹 PCR 検査や急性期と回復期での IgM, 及び IgG 抗体検査等の結果を総合的に判断することが, 検査診断に重要であると考えられた.

14) Improvement of an environmental surveillance system to comprehensively track polioviruses in an area

Masae Iwai-Itamochi, Hiromu Yoshida*, Takeshi Kurata*, Takenori Takizawa

A report for a WHO Research Grant -The Global Polio Eradication Initiative (GPEI) Proposal of a collaborative research project (short-form) - 70pp., 2012

This report summarizes all the documents including the application form, research plan, contract (Technical Services Agreement: TSA), and technical reports submitted quarterly to the World Health Organization (WHO) according to the program for a polio eradication grant from February 2010 to March 2012.

15) 低赤血球凝集価のインフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルス分離株の性状解析

研究分担者: 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 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23年度総括・分担研究報告書, pp. 231-233.

2010/11シーズンに赤血球凝集 (HA) 価が低いインフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルス分離株が増加し, 赤血球凝集阻止 (HI) 試験による型・亜型の同定が困難であったため, これら分離株の性状を解析した. その結果, HA 蛋白の197位のアミノ酸に共通の置換がみられた. このアミノ酸はレセプター結合部位近傍に位置することから, HA 価の低下に何らかの影響を及ぼしている可能性が示唆された. インフルエンザの病原体サーベイランスでは, HI 試験が型・亜型の同定および抗原解析のためのグローバルスタンダードとされているが, このような場合には中和試験等の導入も検討する必要がある.

16) インフルエンザ病原体サーベイランスに関するウイルス学的研究

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21年度～平成23年度総合研究報告書, pp. 183-185.

2009/10および2010/11シーズンに分離されたインフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルスについて, 1) 重症死亡例由来株の性状解析, 2) オセルタミビル耐性株の検出, 3) 低赤血球凝集価株の性状解析を行い, 現行のインフルエンザ病原体サーベイランスにおける問題点などを考察した.

17) 感染症の患者情報と病原体情報の効果的連携に関する研究（感染症発生動向調査における「咽頭結膜熱」の報告に関するアンケート調査）

研究分担者：佐多徹太郎、研究協力者：堀元栄詞、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 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 成23年度分担研究報告書, pp. 221-229.

富山県内の小児科定点医療機関に対して咽頭結膜熱診断時の臨床的特徴とアデノウイルス迅速診断キットの使用状況に関するアンケート調査を行った。定点医療機関の約8割は咽頭結膜熱の診断に迅速診断キットを使用していた。迅速診断キットを使用する際の臨床症状の組み合わせは、「発熱+咽頭所見（咽頭炎、扁桃炎）」が6割以上を占めており、診療の際にアデノウイルス感染症として見られる臨床症状の組み合わせの割合と類似していた。アデノウイルス感染症（迅速診断キット陽性例）としてサーベイランスを行うことについては、約7割が必要と回答した。

18) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況

協力研究者：名古屋（小原）真弓、板持（岩井）雅恵、堀元栄詞、小渕正次、滝澤剛則

研究分担者：田中智之*

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23年度総括・分担研究報告書, pp. 201-207.

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ため、感染性胃腸炎患者、下水流入水、岩ガキからウイルスを検出した。患者からは、NoV GII.4, GII.2, GII.13が比較的多く検出された。下水流入水からは、NoV GII.4, GII.2, GI.1, SaV GI.1, GI.2などが検出された。岩ガキ18検体中、5月、6月の2検体から NoV GII.2が検出された。2011年の NoV は例年と同様に NoV GII.4が主体であったが、6月には NoV GII.2型が患者、下水、岩ガキの全てから検出され、この時期の流行型であると考えられた。2003年以降の NoV GII.3についてキメラウイルスの有無を調べたところ、GII.10または GII.12-GII.3と GIIB-GII.3の2つのタイプの組み換え NoV が主に流行していた。これらのキメラウイルスは GII.3が流行した2005/06, 2009/10シーズンの主流であったと考えられた。

19) 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：後藤良一*、研究協力者：綿引正則、嶋 智子、川瀬 遵*、亀山光博*、堀川和美*、江藤良樹*、山口敬治*、池田徹也*

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23年度総括・分担研究報告書, p17-38

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（RFBS24）。平成23年度は primer を大幅に変更し、リアルタイム PCR のサイクル数を増やして感度向上を図った。また、競合型内部標準を導入した（RFBS24V）。24菌株の DNA から対象遺伝子部位前後を増幅し、コピー数既知の DNA template を調製した後、RFBS24V の精度管理を実施した。また、リアルタイム

平成24年12月14日

PCR 機器を用いた簡易スクリーニング試験を導入するために、*stx1*, *stx2*, *eae* の三種の遺伝子が同時に検出できる系を検討した。

20) 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*、研究分担者：篠原克明*、倉田 毅*、高田礼人*、駒野 淳*、山本明彦*、徐 紅*、白倉雅之*、奥谷晶子*、氏家 誠*、綿引正則、研究協力者：滝澤剛則、井上 智*、小松亮一*、早川成人*、神林敬吾*、梶原唯行*、滝吉大二郎*、甲野英治*

平成23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
「地方衛生研究所における病原体管理システムの適応と検証に関する研究」

研究分担者：綿引正則、平成21～23年度 総合研究報告書

新たに特定病原体に関する項目が制定された平成19年の感染症法の改正は、それを取扱う地方衛生研究所においても対応が求められた。特に感染症や食中毒による健康危機事例に対応する部局は、特定病原体だけでなく、その他健康被害の起因微生物の取扱いに関して、適切な管理が求められる。本研究は、地研の業務のなかで、ICBS 病原体管理システムの実証試験を行い、病原体管理を適切に行うためのアプリケーションとして使用できるかを評価することである。本年度は、腸管出血性大腸菌の集団食中毒事例から分離された多数の株について、情報の登録、保管、その後の取出し作業に関して検証した。その結果、管理業務を問題なく使用することができた。今後、登録した病原体の疫学的情報や細菌学的情報も含んだ管理システムとなれば、さらに有効なシステムになると考えられた。

21) 東海・北陸地方11地方衛生研究所及び衛生試験所によるパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）と PCR 型別法である IS printing system の腸管出血性大腸菌 O157精度管理と PFGE 解析結果の行政への還元に関する調査

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*、竹内由香*、山本新也*

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23年度総括・分担研究報告書、p47-66

平成23年度東海・北陸ブロック研究班活動として、PFGE および IS-printing の精度管理を実施した。また、PFGE 実施例の報告を行った。2011年6月に発生した O26食中毒事例について PFGE を行った。患者および原因食材より O26が分離され、これらの PFGE パターンは一致した。また、今回初めて行われた IS-printing の精度管理では、当部では全ての株で正しく型別が行われた。

22) コリネバクテリウムに関する研究

分担研究者：山本明彦*、研究協力者：小宮貴子*、岩城正昭*、見理剛*、高橋元秀*、畠山薫*、勝川千尋*、木全恵子、磯部順子、廣田昌幸*、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「ワンヘルズ理念に基づく動物由来感染症制御に関する研究」平成23年度総括・分担研究報告書、p34-43

平成23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* の分離または血清ジフテリア抗毒素陽性が検出された。また、ジフテリア様症状を示す患者1名からジフテリア毒素産生性 *C.ulcerans* が検出された。本県での2011年6月～12月までの調査では、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。

23) 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改良

研究代表者：倉 文明*、研究分担者：烏谷竜哉*、荒井桂子*、磯部順子、田栗利紹*。
研究協力者：矢崎知子*、金谷潤一

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23年度総括・分担報告書、p 69-91

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。昨年度実施した2step RT-qPCR を、迅速、簡便、安価な1Step-qPCR としての改良法を作成した。結果は、通常実施する培養法と比較し、感度60.2%、特異度89.7%ときわめて良好であった。ATP をあらかじめ測定し、雑菌の処理法を変更することで、感度は77.3%まで上昇することが明らかとなった。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と考えられた。

24) レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み

研究代表者：倉 文明*、研究分担者：森本 洋*、磯部順子、大屋日登美*、緒方喜久代*、中島 洋*、前川純子、研究協力者：田中 忍*、長瀬敏之*、矢崎知子*、吉野修二*、渡辺ユウ*

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23年度総括・分担報告書、p 113-134

浴用水のレジオネラ属菌検査を目的とした精度管理調査を行った。結果は、配付された試料からの回収率は施設によりバラツキが見られ、全体として回収率はよくなかった。精度管理実施には検討が必要であることが明らかとなった。内部精度管理も必要であることを指摘した。

25) 富山県の不明感染源解明のための環境調査

研究代表 倉文明*、研究分担者：磯部順子 研究協力者 金谷潤一

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23年度総括・分担報告書、p 155-164

平成24年12月14日

富山県におけるレジオネラ症のおよそ4割が感染源不明となっている。その感染源を明らかにするため、環境調査を行った。調査した水たまり69件とウォッシュ液31件の結果は、47.8%、32.3%であった。これらのSBT塩基配列を系統樹解析したところ、その一部が感染源不明の患者分離株と遺伝的に近いところに位置することが明らかとなった。また、そこから分離されたSG1のlag-1遺伝子保有率は、浴用水のそれよりも高く、レジオネラ症との関連性が示された。

26) 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：佐多徹太郎。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*，小黒裕子*，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 新興・再興感染症研究事業「薬剤耐性菌等に関する研究」

主任研究者：荒川宜親*。平成23年度総括・分担研究報告書

薬剤耐性菌を医療関連施設等において迅速に把握し、健康被害の拡大を防止することは現在の医療のかかえる重要な課題である。その防止のために地研の検査能力は有用である。本研究は地研の特性を活かした研究を実施し、検査能力の向上を目指した。その結果として、①検査の精度管理、②新しい分子疫学的な解析法の開発、③医療機関から分離された多剤耐性菌の解析とESBLの分布や起源に関する研究を実施した。

(2) 学 会 発 表 等

1) *Hirosia* 属4種の雄交尾器について

山内健生，渡辺 護*

第63回日本衛生動物学会大会，平23.4.14，東京

2) 富山県内の蚊と豚における日本脳炎ウイルス分離と遺伝子学的解析

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

第46回日本脳炎ウイルス生態学研究会，平23.5.20-21，金沢市

3) Distribution of EDTA in the water area around the mouth of the Oyabe river

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Hironori Fujishima*, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa*

IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011, May 22-26, 2011, Kyoto city

4) Enantioseparation of galactose by ligand-exchange capillary electrophoresis using borate as a central ion of the chiral selector

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa*, Atsushi Taga*, Kentaro Suzuki*, Yoshitaka, Honda*, Tomoko Kemmei, Tomohisa Yamashita, Isao Kamide, Atsushi Yamamoto*

IUPAC International Congress on Analytical Sciences 2011, May 22-26, 2011, Kyoto city

- 5) 2010/11シーズンに急増した低 HA 価の A (H1N1) 2009ウイルス分離株について
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, 横山 勝*, 佐藤裕徳*
第25回インフルエンザ研究者交流の会, 平23.6.2-5, 富山市
- 6) 富山県の山地においてマレーズトラップで捕獲されたスズメバチ類の種構成
山内健生, 渡辺 護*
第29回北陸病害動物研究会, 平23.7.2, 金沢市
- 7) 可動性遺伝子に関連した複数の遺伝子型が検出された O157集団感染事例
木全恵子, 金谷潤一, 嶋 智子, 磯部順子, 倉田 毅*, 佐多徹太郎, 綿引正則
第15回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 平23.7.15-16, 大阪市
- 8) Environmental surveillance of viruses in Toyama Prefecture, Japan
Masae Iwai
Asian Environmental Surveillance Workshop, 2011.7.23-24, Kurume City
- 9) 深層水運動浴を利用した健康増進の研究—メタボリック症候群対策の試み—
新村哲夫
深層水フォーラム in 富山, 平23.7.29, 富山市
- 10) 富山県内で分離された *L. pneumophila* 血清群 (SG) 1の遺伝子解析
金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 綿引正則, 佐多徹太郎
日本防菌防黴学会第38回年次大会, 平23.8.30-31, 大阪府
- 11) Recombinant noroviruses of GII/3 prevalent from 2003 to 2010 in Toyama prefecture, Japan.
Mayumi Obara, Masae Iwai, Masatsugu Obuchi, Eiji Horimoto, Takeshi Kurata*, Takenori Takizawa.
International Union of Microbiological Societies 2011 Congress 2011.9.11-16, Sapporo City
- 12) 小矢部川流域におけるアミノポリカルボン酸系金属キレート剤の分布
健名智子, 小玉修嗣, 藤島裕典*, 山本 敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
日本分析化学会第60年会, 平23.9.14-16, 名古屋市
- 13) キャピラリー電気泳動法によるリボ酸の光学異性体分析
小玉修嗣, 多賀 淳*, 會澤宣一*, 菅田佳孝*, 鈴木健太郎*, 山本 敦*
日本分析化学会第60年会, 平23.9.14-16, 名古屋市

平成24年12月14日

- 14) Efficient elimination of polioviruses in sewage water after activated sludge process, evaluated by cell culture and newly developed real-time PCR
Masae Iwai, Hiromu Yoshida*, Mayumi Obara, Eiji Horimoto, Masatsugu Obuchi, Takeshi Kurata*, Takenori Takizawa
The Unlimited World of Microbes, International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, XV International Congress of Virology, 2011.9.14-16, Sapporo City
- 15) 仕出し弁当の添え野菜を原因とする腸管出血性大腸菌 O26による食中毒事例について
嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 金谷潤一, 綿引正則, 佐多徹太郎, 堂高一彦*, 西部健治*
第32回日本食品微生物学会学術総会, 平23.10.6-7, 東京都
- 16) 都市部と農村部居住者の尿中アルキルリン酸について
中崎美峰子
平成23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23.10.6-10.7, 福井市
- 17) 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
平成23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23.10.6-10.7, 福井市
- 18) 衛生研究所における衛生動物研究の未来と展望 ～富山県衛生研究所を例に～
山内健生
第6回日本衛生動物学会西日本支部例会, 平23.10.8, 金沢市
- 19) 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, 鏡森定信*, 立瀬剛志*, 関根道和*
第70回日本公衆衛生学会総会, 平23.10.19-21, 秋田市
- 20) 富山県におけるノイラミニダーゼ阻害薬耐性インフルエンザ A (H1N1) 2009ウイルスの検出
小渕正次, 高下恵美*, 堀元栄詞, 小原真弓, 板持(岩井)雅恵, 江島美穂*, 小田切孝人*, 小西道雄*, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第48回日本細菌学会中部支部総会, 平23.10.21-22, 名古屋市
- 21) 富山県の海辺における蚊類幼虫の調査
山内健生
第63回日本衛生動物学会東日本支部大会, 平23.10.22, 東京
- 22) 先天性副腎過形成症スクリーニングにおける17-OHP 値の季節変動についての検討
九曜雅子, 米田 豊
第38回日本マス・スクリーニング学会, 平23.10.28-29, 福井市

- 23) 大震災緊急シンポジウム：災害時速やかに対応できる連携の整備
九曜雅子
第38回日本マス・スクリーニング学会，平23.10.28－29，福井市
- 24) Determination of Aminopolycarboxylic Acids in the Basin of the Oyabe River
Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Hironori Fujishima*, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*,
Kazuichi Hayakawa*
The 5th Japan-China-Korea Joint Ion Analysis Symposium, November 3－6, 2011, Guilin, China
- 25) 中高年女性の身体活動量の季節的变化
小林直人
第39回北陸公衆衛生学会，平23.11.14，福井市
- 26) 長期・継続的な海洋深層水運動浴によるメタボリック症候群対策の試み
新村哲夫，田中朋子，金木 潤，升方章人*，鏡森定信*，立瀬剛志*，関根道和*
第15回海洋深層水利用学会全国大会海洋深層水2011伊豆大会，平23.11.17－18，静岡県伊東市
- 27) 羊水検査で経験した三染色体間での相互転座例
品川保弘，高森亮輔，林美貴子，古谷 博*
第32回北陸臨床遺伝研究会，平23.11.19，石川県内灘町
- 28) 食品に使用された漂白剤の試験法の検討
村元達也
平成23年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部衛生化学部会，平24.2.2，名古屋市
- 29) 富山県における過去3年間のウイルス性胃腸炎発生状況
名古屋（小原）真弓，板持（岩井）雅恵，堀元栄詞，小渕正次，佐多徹太郎，滝澤剛則
第46回富山県公衆衛生学会，平24.2.9，富山市
- 30) 当所における流産胎児由来組織の染色体検査について
高森亮輔，品川保弘，林美貴子
第24回富山県母性衛生学会，平24.2.25，高岡市
- 31) 富山県における胃腸炎ウイルス検出状況
名古屋（小原）真弓
平成23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24.3.1－2，岐阜市

平成24年12月14日

32) 富山県におけるインフルエンザの流行（2011/12シーズン）

滝澤剛則

平成23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24.3.1－2，岐阜市

33) 富山県のウイルス及びリケッチア検出状況（平成23年）

名古屋（小原）真弓

平成23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24.3.1－2，岐阜市

34) 平成23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

平成23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24.3.1－2，岐阜市

35) 富山県で発生した焼肉チェーン店における腸管出血性大腸菌 O111

綿引正則

平成23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24.3.1－2，岐阜市

36) 富山県における平成23年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況

嶋 智子

平成23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24.3.1－2，岐阜市

37) レジオネラレファレンス事業報告

綿引正則

平成23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24.3.1－2，岐阜市

38) 結核菌レファレンス事業報告

嶋 智子

平成23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24.3.1－2，岐阜市

39) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告

嶋 智子

平成23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24.3.1－2，岐阜市

40) HPLC 法による食品中 EDTA の分析

健名智子，小玉修嗣，山本 敦*，井上嘉則*，早川和一*

日本薬学会第132年会，平24.3.29－31，札幌市

41) 2種類の金属イオンを中心イオンに用いたキラル配位子交換キャピラリー電気泳動法による有機酸光学異性体分析

小玉修嗣, 會澤宣一*, 多賀 淳*, 山本 敦*

日本薬学会第132年会, 平24.3.29-31, 札幌市

(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 受賞

1. 山内 健生

第21回佐々賞 (日本衛生動物学会)

受賞日 平成23年4月15日

2. 中崎 美峰子

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23年6月17日

3. 磯部 順子

地方衛生研究所全国協議会会長表彰

受賞日 平成23年10月18日

(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(株)	小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 寺島弘之, 菅田佳孝	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
	品 川 保 弘
	小 渕 正 次
	磯 部 順 子
	小 玉 修 嗣
	中 崎 美峰子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成23年度（2011）第35号

2012年12月14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(代)

F A X （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(代)