

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成18年度)

第30号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2006~MARCH 2007)

NO. 30

2007



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成18年度)

第30号

富山県衛生研究所

は じ め に

2006年3月末で永井美之所長が理化研に転出し、後任として国立感染症研究所から倉田毅が着任した。2007年3月末で、松澤次長と齊藤化学部長、本田副主幹が退官された。国が公務員を激しいペースで削減しており、そのあおりは地方自治体にも及んでいるが、健康危機管理の立場から県の配慮もあり、4月からは欠員分2名を含め、新たに4名の研究員が補充されている。組織の変更はない。

さて、富山県内における平成18年度の重要事項は、1) 腸管出血性大腸菌感染症の集団発生(保育園児、保育士、家族含めて74名及び多数の家族内発生例)が認められた。2) 前年秋遅くからはじまったノロウイルス感染は、夏7月立山の山小屋で大発生があり、二次、三次と登山者が移動するに従い先々の山小屋で発生が見られた。1) 2)とも2005年あたりからの増加が注目される。1)は、焼肉、生レバー等の喫食が多数の家族でみられ、感染園児から園内で感染拡大が生じたと疑われている。2)については、食材では検出されてはいないが、常時富山の河川からウイルスは検出されており、また患者では、症状消失後2～3ヶ月にわたりウイルスが便中に排出されていることもあり、便所や公共の場所での種々の物体(ドア、その他の取っ手)のウイルス感染が証明されつつあることから、この感染が糞便を介して国中に広く拡大していることがわかる。唯一手洗い励行が解決法であろう。富山県では、1)も2)も感染患者と診断検査は一致しており、感染研のIASR(病原体検出方法)では、常に地図は真黒に塗りつぶされている。これは各厚生センターと衛生研究所の連携が究めてスムーズかつ密に行われていることの証明である。

2006年12月8日“感染症の予防と感染症の患者に対する医療に関する法律”(略 感染症法)の第3次改正が平成15年のSARS発生時に続き行われ、2007年6月1日に施行されることとなった。重要点は2つある。ひとつはテロ未然防止のための病原体の安全管理、他は結核予防法の廃止と、現感染症法への統合(4月より)である。前者分は、政省令の内容次第では、例えば地方衛生研究所の調査でも、施設基準や他機関への輸送のルールが最も注目されるところである。今後もこの内容については注視していく必要がある。さらに、2006年5月から導入されている農薬等のポジティブリスト制への対応も重要項目のひとつである。

平成19年12月

富山県衛生研究所長

倉 田 毅

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	17
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金	19
(11) 講 師 派 遣	20
(12) 研 修 指 導	22
(13) 研 修 受 講	22
(14) 客 員 研 究 員	23
(15) セミナーの開催	23
(16) 各 種 規 定 等	24

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18年度の検査成績）	25
九曜雅子, 米田 豊, 松澤孝信, 向野勝美	
新生児スクリーニングのための酵素サイクリング法による血液ろ紙中遊離カルニチン及び 総アシルカルニチンの定量法（第2報）	36
米田 豊, 九曜雅子	
ヒト染色体に関する調査研究 ―血液, 骨髄液―（平成18年度）	41
林 美貴子, 品川保弘, 本田幸子	
ヒト染色体に関する調査研究 ―羊水, 流産胎児―（平成18年度）	47
本田幸子, 品川保弘, 林 美貴子	
富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査, 2006年の成績	53
渡辺 護, 小原真弓, 松浦涼子, 廣瀬修, 長谷川澄代, 西尾恵美里, 小林睦生	
日本脳炎流行予測調査	62
渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 道谷真由美	
ポリオ流行予測調査	75
岩井雅恵, 堀元栄詞, 小原真弓, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田毅, 田中有易知, 田中桂子	

南部厚子, 上田順子, 嶋尻悟志	
インフルエンザ流行予測調査	81
堀元栄詞, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田毅, 田中桂子, 南部厚子 中澤保文, 田中有易知, 上田順子, 宮田英喜	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2006年度)	91
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田毅	
2006年度に検出されたノロウイルス Genogroup II の遺伝子解析	98
小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田毅	
食中毒菌カンピロバクターの迅速検査を可能とする Multiplex PCR の開発	105
清水美和子, 綿引正則, 磯部順子, 嶋智子, 木全恵子, 倉田毅	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況	110
磯部順子, 綿引正則, 清水美和子, 嶋智子, 木全恵子, 倉田毅	
思春期女子の高い骨量獲得に効果的な運動および牛乳摂取の時期	115
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 山上孝司	
中高年者の日常身体活動量と骨量の関連	120
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 明神三枝子, 澁谷直美, 大浦栄次	
一般成人における尿中アルキルリン酸検出状況と生活環境要因	124
中崎美峰子, 新村哲夫, 大浦栄次	

3. 資料

富山県における平成18年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	129
岩井雅恵, 堀元栄詞, 小原真弓, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 倉田毅	
富山県における2006年の病原微生物検出情報	132
木全恵子, 嶋智子, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 倉田毅	
漁港における腸炎ビブリオ調査 (2006年)	137
嶋智子, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 綿引正則, 吉田毅	
臨床検体から分離された嫌気性黄色ブドウ球菌の性状	141
嶋智子, 磯部順子, 綿引正則, 永田肇	
富山県内で分離された溶血レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2006年)	145
嶋智子, 磯部順子, 綿引正則, 林喜代志, 中村政雄, 遠藤美代子	
2006年富山県内で発生した腸管出血性大腸菌 O157 による集団感染事例	150
木全恵子, 嶋智子, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 倉田毅 新村信久, 泉和子, 松村美智代, 野嶋直樹, 齊藤尚仁, 大江浩	
平成18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 -	154
磯部順子, 清水美和子, 嶋智子, 木全恵子, 綿引正則, 松澤孝信	
大量注入口装置付きガスクロマトグラフ質量分析計による飲料水中残留農薬の一斉分析法の検討	158
高柳信孝	
飲用されている「とやまの名水」の理化学的性状について	162

健名智子, 小玉修嗣, 大戸幹也, 中山恵理子, 山下智富, 高柳信孝 平成18年度富山県内食品衛生(理化学)検査機関の精度管理調査について -寒天中のソルビン酸-	168
大戸幹也, 中山恵理子, 齊藤行雄, 高柳信孝, 松澤孝信 中国茶葉および紅茶のティーバッグ浸出液中のフッ素濃度	172
新村哲夫, 中崎美峰子, 堀井裕子, 三井 博, 長瀬博文, 鏡森定信 アディポネクチン多量体測定の意義	175
田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文	

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表	177
(2) 特 別 講 演 等	188
(3) 学 会 発 表 等	189
(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等	193

Reports

Results of the Neonatal Mass Screening in Toyama Prefecture (April 2006~March 2007)	25
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takanobu MATSUZAWA and Katsumi MUKAINO	
Determination of Free Carnitine and Total Acylcarnitine in Dried Blood Specimens for Neonatal Screening (The Second Report)	36
Yutaka YONEDA, Masako KUYO	
Chromosome Analyses of Human Peripheral Blood Cells and Bone Marrow Cells	41
Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and Sachiko HONDA	
Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Abortus	47
Sachiko HONDA, Yasuhiro SHINAGAWA and Mikiko HAYASHI	
Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2006	53
Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Ryouko MATSUURA, Osamu HIROSE, Sumiyo HASEGAWA, Emiri NISHIO and Mutsuo KOBAYASHI	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2006	62
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA and Mayumi MICHITANI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	75
Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Yuichi TANAKA, Keiko TANAKA, Atsuko NANBU Junko UEDA and Satoshi SHIMAJIRI	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2006-2007	81
Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA Takenori TAKIZAWA Keiko TANAKA, Atsuko NANBU, Yasufumi NAKAZAWA, Yuichi TANAKA, Junko UEDA Hideki MIYATA	
Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2006	91
Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA and Takeshi KURATA	
Genotyping of Noroviruses Genogroup II detected in the fiscal year 2006	98
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Takenori TAKIZAWA and Takeshi KURATA	
Developing a Multiplex PCR Protocol for Rapid Detection of <i>Campylobacter jejuni</i> / <i>coli</i> at Public Health Settings	105
Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA and Takeshi KURATA	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2006	110
Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA and Takeshi KURATA	
Interaction between Pubertal Development and Exercise or Milk Intake on Bone Mass Acquisition in Adolescent Female	115

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE
and Takashi YAMAGAMI

Relationship between Daily Physical Activity and Bone Mass in Middle-aged
and Elderly Subjects120

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Mieko MYOJIN,
Naomi SHIBUYA and Eiji OURA

Background Levels of Urinary Alkylphosphates and Effects of Environmental Factors in Healthy
Adults124

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Eiji OURA

Notes

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2006	129
Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA	
Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2006	132
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Takeshi KURATA	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture	137
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Takeshi YOSHIDA	
Case Report of Anaerobic <i>Staphylococcus aureus</i> Isolated from Specimen of Patient	141
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Hajime NAGATA	
Serotypes and Drug Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture (2006)	145
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Kiyoshi HAYASHI, Masao NAKAMURA and Miyoko ENDO	
The Outbreak of Infections Caused by Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157 in Toyama Prefecture, 2006	150
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Takeshi KURATA, Nobuhisa SHINMURA, Kazuko IZUMI, Mitiyo MATSUMURA, Naoki NOJIMA, Naohito SAITOU and Hiroshi OHE	
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	154
Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI and Takanobu MATSUZAWA	
Investigation of Simultaneous Analysis of Pesticides in Drinking Water with GC/MS Equipped Large Volume Injector	158
Nobutaka TAKAYANAGI	
On the Physicochemical Properties of the Famous Natural Waters in Toyama Prefecture	162
Tomoko KEMMEI, Shuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA and Nobutaka TAKAYANAGI	
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture - Sorbic Acid in Agar -	168
Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Yukio SAITO, Nobutaka TAKAYANAGI and Takanobu MATSUZAWA	
Fluoride Levels in Various Bagged Tea Infusions of Chinese Tea and Black Tea	172
Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Yuko HORII, Hiroshi MITSUI, Hirofumi NAGASE	

and Sadanobu KAGAMIMORI

Meaning of Multimetric Complexes in Adiponectin Measurement175

Tomoko TANAKA, Yuko HORII and Hirofumi NAGASE

1. 運

營

1 運 営

(1) 沿 革

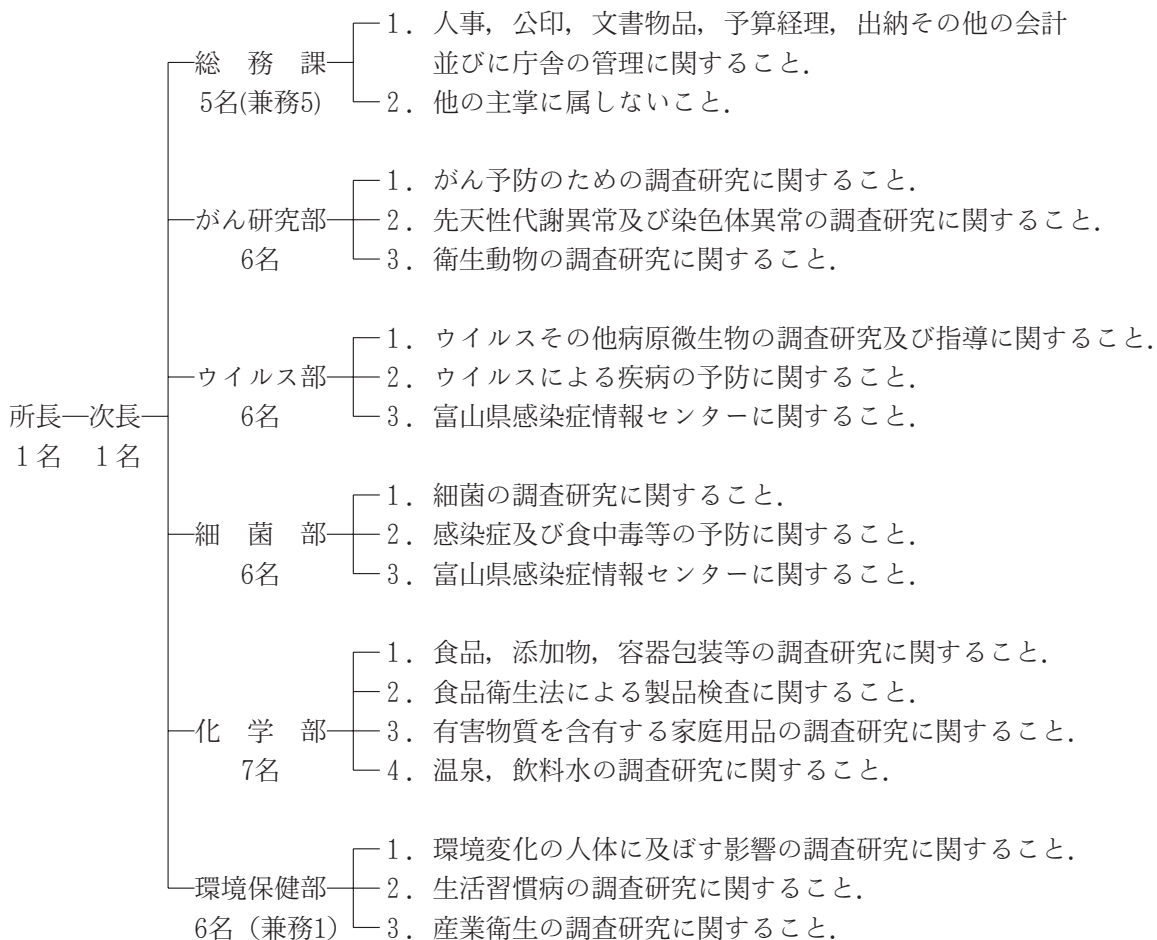
昭和35年 4月 1日	職員9名の構成で発足.
昭和36年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員17名に拡充強化(庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
昭和37年11月30日	旧研究所の増築.
昭和38年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部(庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課)を変更.
昭和39年10月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査課を新設.
昭和44年 4月 1日	富山県行政組織規則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中太閤山で建設着工.
昭和57年 6月10日	小杉町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定第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(m ²)
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
ポ ン べ 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19年5月1日)



(4) 職 員 数

(平成19年5月1日現在)

区分	所・次長 部・課長	技術 吏員	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主任	主 任 研究員	再任用 主任	研究員	主 任 業務技師	嘱託	計
所 長	1											1
次 長	1											1
総 務 課	1 (注1)			2 (注1)		1 (注1)				1 (注2)		5 (兼5)
がん研究部	次 長 事務取扱				4			1	1			6
ウイルス部	1						1	1	3			6
細 菌 部	所 長 事務取扱				2		3		1			6
化 学 部	1				3		1		2			7
環境保健部	1	1 (注3)			2		2					6 (兼1)
合 計	6	1	0	2	11	1	7	2	7	1	0	38 (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, (注3)高岡厚生センター射水支所

(5) 職 員 一 覧

(平成19年5月1日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
	所 長	倉 田	毅		部 長	所長事務取扱	
	次 長	前 多	隆 志		副 主 幹 研 究 員	綿 引 正 則	
総 務 課	総 務 課 長 (兼)	宮 田	良 治	細 菌 部	〃	磯 部 順 子	
	副 主 幹 (兼)	梶 原	孝 志		主 任 研 究 員	木 全 恵 子	
	副 主 幹 (兼)	後 藤	郁 子		〃	嶋 智 子	
	主 任 (兼)	宮 本	伊 津 子		〃	清 水 美 和 子	
	業 務 技 師 (兼)	高 安	勝 弘		研 究 員	金 谷 潤 一	
	部 長	次長事務取扱				部 長	高 柳 信 孝
がん 研 究 部	副 主 幹 研 究 員	林 美 貴 子		化 学 部	副 主 幹 研 究 員	小 玉 修 嗣	
	〃	米 田 豊			〃	大 戸 幹 也	
	〃	品 川 保 弘			〃	健 名 智 子	
	〃	九 曜 雅 子			主 任 研 究 員	中 山 恵 理 子	
	再 任 用 主 任	本 田 幸 子			研 究 員	山 下 智 富	
	研 究 員	山 内 健 生			〃	村 元 達 也	
ウ イ ル ス 部	部 長	滝 澤 剛 則		環 境 保 健 部	部 長	三 井 博	
	主 任 研 究 員	堀 元 栄 詞			技 術 吏 員 (兼)	長 瀬 博 文	
	再 任 用 主 任	長 谷 川 澄 代			副 主 幹 研 究 員	新 村 哲 夫	
	研 究 員	小 原 真 弓			〃	田 中 朋 子	
	〃	岩 井 雅 恵			主 任 研 究 員	中 崎 美 峰 子	
	〃	中 村 一 哉			〃	堀 井 裕 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
環境保健部は高岡厚生センター射水支所を兼務

(6) 予 算 及 び 決 算

平成18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	63,350	3,526			59,824	所の運営、維持管理、試験検査等
試験研究費	11,170				11,170	調査研究
設備充実費	3,500				3,500	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,716				1,716	
がん等特別研究費	9,393		670	1,500	7,223	調査研究
合 計	89,129	3,526	670	1,500	83,433	

平成18年度 歳入・歳出決算 (歳 入)

科 目	決 算 額 (円)	備 考
衛生手数料	8,452,424	衛生研究所費 3,384,694 環境衛生検査 5,067,730
衛生国庫負担金	588,000	
財産運用収入	6,887	特許権等運用収入
衛生研究所受託事業	1,500,000	
納 付 金	72,496	
合 計	10,619,807	

(歳 出)

科 目	決 算 額 (円)	備 考
人事管理費	426,725	嘱託職員の雇用
財産管理費	3,950,980	庁舎修繕
計画調査費	56,425	客員研究員の招へい
児童福祉対策費	12,517,528	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	176,709	再任用職員の保険料
予 防 費	12,004,553	感染症関連調査
環境保健対策費	9,459,833	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	104,180,160	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理
環境衛生総務費	7,190,870	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	5,910,000	食品安全対策検査
環境衛生指導費	85,000	家庭用品検査
公害防止対策費	316,000	海水浴場細菌検査
工 鉱 業 総 務 費	10,107,148	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合 計	166,381,931	

(7) 重要備品一覧

品名	型式	購入年月
分光光度計	島津製作所 UV-2200	H 2 .9
分光光度計	日立製作所 U-3010	H11. 9
分光光度計	島津製作所 UV-180A	H 5. 3
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	島津製作所 QP-5000	H 9. 3
ガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカード HP-6890	H10 .8
ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N	H15. 6
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-2010	H17.10
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5.11
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	島津製作所 LC-9A	H 2. 9
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-VP	H10. 6
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
液体クロマトグフ・質量分析装置	waters Quattro micro API システム	H15.12
全有機炭素計 (TOC計)	島津製作所 TOC-V CSH	H18. 1
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
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネックス DX-500	H 9.11
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカード	H 7. 9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H11. 3
高速液クロ用オートインジェクター	島津製作所 SIL-10ADV	H10 .7
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	BIO-RAD Benchmark	H12. 9
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H12.11
高速冷却遠心機(マルチパーパス)	久保田 6800	H 6. 2
遠心濃縮機	東京理科製 CVE-100	H 7.10
デンストグラフ	アトー株式会社 プリントグラフ AE-6911	H 6. 1
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H13. 3
落射蛍光顕微鏡	オリンパス光学工業	H13 3
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
マイクロプレートウォッシャー	米国ダイナテック (ウルトラウォッシャー-II)	H 5. 3
DNA 合成装置	ファルマシア ジェノアッセンプ ラス [®] シェル	H 4.11
蛍光式 DNA シーケンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9.12
遺伝子導入装置	バイオラド社 (ジェノア [®] ルサ)	H 7. 3
ELISA 測定システム	BIO-RAD 社	H10. 2
定量 PCR (遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7000 Sequence	H15.10
二次元電気泳動装置	アマシャムバイオサイエンス Multiphor II	H15 .9
キャピラリー型遺伝子解析システム	ABI PRISM 3100	H16. 3
超音波骨密度測定装置	C E 横河メディカルシステム A-1000	H18. 7

(平成19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18年度の検体総数は10,216件で、県内45か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検児は出生数の88.4%（里帰り分娩を含めると102.8%）であり、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39人（フェニルケトン尿症疑い3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25人、先天性副腎過形成症疑い9人）がスクリーニングされ、クレチン症の患者6人が発見された。

染色体検査

平成18年度の検体数は、血液41件、羊水68件と自然流産胎児20件の計129件で、うち、染色体異常を示したものは、血液1件（均衡転座保因者1件）、羊水5件（クラインフェルター症候群1件、18トリソミー症候群1件、21トリソミー症候群1件、9番染色体部分トリソミー1件と均衡転座保因者1件）、流産胎児10件（13トリソミー症候群2件、4トリソミー症候群1件、9トリソミー症候群1件、14トリソミー症候群1件、18トリソミー症候群1件、22トリソミー症候群1件、47,XY,+16/46,XX 1件、68,XX 1件および93,XXXX,+mar 1件）の計16件であった。染色体検査の依頼理由（主訴）は、血液では流産を繰り返す、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、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

行政検査として、日本脳炎流行予測事業における媒介蚊の発生調査は17年度と同一の7ヶ所の畜舎において6月から10月まで行った。18年度は7ヶ所全ての定点で、前年度に比べ明瞭にコガタアカイエカの捕集数が減少した。とくに上市定点では1/18と顕著な減少を示した。また、動物由来感染症予防体制整備事業におけるダニ類の調査を春と秋に、蚊類の分布および発生調査を5月から10月まで前年とほぼ同じ規模で行った。マダニ類は6種258個体、ツツガムシは15種1721個体が得られた。蚊類の調査では、成虫で9種類1011個体が得られ、幼虫では6種1209個体が採集され、環境による種構成および採集数（生息数）に相違がみられた。

日常の検査として、各厚生センターや市町村などの行政機関および各種事業所からの食品混入昆虫などの同定検査を80件行った。

〔調査研究〕

がん発生要因に関する研究

カテキン含有量が多いとされる煎茶粗抽出物を用い、哺乳動物培養細胞の染色体核型への影響を引き続き検討した。正常アフリカミドリザルの染色体核型には二次狭窄を有する染色体がペアで存在するが、VERO細胞では一つが欠落し、対を構成しない状態で安定している。粗抽出物による二次狭窄染色体の数的変動への影響の有無を検討したが、培養中の濃度の高低に関わらず、変化は認められなかった。

富山県における大腸がん発生背景要因についての症例対照研究で得られたデータを、調査サンプルの県内分布（居住地域）を考慮に入れて、再解析中である。また、かつて実施した胃がん発生背景要因に関する症例対照研究と大腸がん研究のそれぞれの結果について、背景要因の異同を比較検討している。

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

これまでに乾燥ろ紙血液中の遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの定量法として、酵素法によるガラクトースの測定残液を用い、ガラクトース分析に続けて、カルニチン類を測定する方法を報告した。しかし、この方法は分析時間に5時間以上を要するため、今回、カルニチン類を単独測定することで迅速化を図ることを検討した。本法を一般新生児の血液ろ紙1813検体に適用した結果、遊離カルニチン、総アシルカルニチン及び総カルニチン定量値の平均及び標準偏差は順に $31.3 \pm 8.3 \text{ nmol/ml}$ 、 $22.2 \pm 6.7 \text{ nmol/ml}$ 及び $53.4 \pm 13.1 \text{ nmol/ml}$ であった。

グルコース-6-リン酸脱水素（G6PD）異常症は、ガラクトース血症のマス・スクリーニングで偶然発見される

疾患の1つであり、富山県では、2人の患者が発見されている。この疾患は G6PD 活性を測定することにより確定診断されるが、現在全国に酵素活性を測定する施設がなく、医療機関からの依頼があったため、マス・スクリーニング用血液濾紙を使用した G6PD 活性の簡易測定法を検討した。今年度は、酵素活性を定量する方法を検討した結果、rate assay で短時間に多検体を測定することを可能とした。この方法での一般新生児の濾紙血液中の G6PD 活性は、 5.23 ± 1.16 U/gHb であった。

染色体に関する研究

微細欠失、転座、合併異常、モザイク等複雑な染色体異常の場合、通常の染色体分析では正確な判定が得られないことがあり、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法と併せ、判定することが多くなっている。微細な均衡転座、モザイクの検出に応用し、良好な結果を得た。また、脆弱 X 症候群の特徴である fra(Xq)は特殊な培養法でのみ検出できる。しかし、低頻度の場合、検出が困難であるため、培養時の血清量に着目し、検討中である。

突然変異原性に関する研究

小核試験は染色体異常のなかの染色体切断を指標とした試験法として確立されている。しかし、どの部位で切断が起きているのかは今の小核試験では特定することはできない。最近マウスの FISH プローブが開発されつつあるので、この方法を導入し、新たな変異原性試験法を検討中である。

衛生動物に関する研究

オロロ（イヨシロオビアブ）を主体とする県内のアブ相をより正確に把握することを目的に、ボックストラップとマレイズトラップを結合した Combination Trap を設置し、その効果・成果を検討した。その結果、両トラップの利点を導き出す効果が得られ、従来の各種トラップに比べ、種類数、捕集数とも増加する結果が得られた。

ヘクサンボ（クサギカメムシとスコットカメムシ）の発生動態研究では、近年の発生が遅れる傾向がみられることを再確認した。その原因については現在精査中である。

平成15年度から開始した感染症媒介蚊の発生動態調査では、成虫および幼虫において家屋の立地環境により採集される種類相、数に相違を認めた。また、農村部の住宅団地の1民家において、幼虫の発生源対策を重点的に行った駆除実験では、不明瞭な結果になった。その主な原因は、周囲からの蚊の移入が早いことに由来すると推定された。

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」および「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。インフルエンザおよび呼吸器系疾患については、129症例中115症例からウイルスが検出された（A H1型インフルエンザウイルス5名、AH3型インフルエンザウイルス60名、B型インフルエンザウイルス49名、アデノウイルス3型1名）。これらの検査結果の多くはインフルエンザ流行予測調査にも含まれており、詳細については、本年報に掲載されている流行予測調査報告を参考にされたい。感染性胃腸炎では127症例の依頼があり、このうち99症例においてウイルスが検出された（ノロウイルス Genogroup I ; NVG I 5名、NVG II 88名、サボウイルス1名、アデノ40/41型1名、A群ロタウイルス2名、A群ロタウイルス＋アデノウイルス2型1名、パレコウイルス1型1名）。食中毒では256症例の検査を行い、このうち121名から NVG II が検出された。無菌性髄膜炎では、3症例のうち1名からコクサッキーウイルス（Cox）B2型が、2名から Cox B5型が検出された。手足口病では、18症例中2症例から Cox A16型が、15症例からエンテロウイルス71型が検出された。ツツガムシ病では、2症例のうち1症例からツツガムシ病リケッチア（Kawasaki 型）が検出され、他の1症例ではリケッチアは検出されなかったが、血清中のリケッチアに対する抗体価の上昇がみられた。脳炎・脳症3症例、心筋炎1症例、Q熱疑い2症例については、いずれもウイルス等は検出されなかった。

動物由来感染症実態調査

平成13年度から、野生動物が関連する動物由来感染症の発生監視体制の確立を目的に、野生げっ歯類をモデル動物として調査を行っている。18年度にはつつが虫病及び腎症候性出血熱の浸淫調査のため野生げっ歯類80個体を捕獲した。さらに、旗ずり法等によりマダニ類258個体を採集した。野生げっ歯類計80頭について、腎症候性出血熱ハンタウイルス（Hantaan型、Puumala型）に対する抗体の保有調査を行ったが、抗体は検出されなかった。一方、つつが虫病リケッチアに対する抗体について調査したところ、2頭（2.5%）がKato型とKarp型両者に対する抗体を保有していた。県内の患者で流行している、Kawasaki型と交差反応するGilliam型に対する抗体は、全て陰性であった。

国内に侵入が懸念されるウエストナイル熱等を含む蚊媒介性感染症対策として、平成15年度から、県内における蚊の生息状況の調査を開始している。蚊の成虫調査では、18年度は17年度に比べ、コガタアカイエカが顕著に減少した一方、アカイエカはやや減少し、ヒトスジシマカは逆に増加した。蚊の幼虫調査では、富山市保健所及び各厚生センターの協力のもとに、49箇所を調査を行った。256個の溜水環境を調べたところ、196個が有水で、その内の54個から6種1,209個体の幼虫が採集された。幼虫の種類は、ヤマトヤブカとヒトスジシマカが多くみられた。蚊の成虫4,347個体、536プールを用いてウイルス保有調査を行ったが、日本脳炎ウイルス、ウエストナイルウイルスともに検出されなかった。また、同時に行った豚血清からの日本脳炎ウイルス分離でも、ウイルスは分離されなかった。

これらの研究は、がん研究部と共同で行った。

HIV抗体検査

平成18年4月から平成19年3月までの1年間に176件の血液についてHIV抗体検査を行ったところ、すべて陰性であった。

感染症流行予測調査

日本脳炎：日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生は、8月の第2週まで低く推移したが、その後徐々に増加し9月第1週にピークを迎えた。そして、10月には減少した。年間の総捕集数は、17年度に比べ4分の1に減少した。一方、県内産ブタの日本脳炎に対する抗体陽性率は7月は8.0%であったが、8月は67.0%に増加し、9月は31.0%、10月は54.0%となった。ウイルスの新鮮感染を示すIgM抗体を保有するブタは、7月下旬から確認され始めた。その後は8月中旬にピークを迎え、10月中旬まで存続した。すなわち、18年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は7月下旬より始まり10月まで続いた。また、ブタの血清から日本脳炎ウイルスの分離を試みたが、ウイルスは分離されなかった。抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載した。

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19年1月、平成18年9月に、新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児73名の糞便を採取し、ウイルス分離を行った。その結果、アデノウイルス1型が3名から、アデノウイルス2型が2名から、パレコウイルス1型が8名から、コクサッキーウイルスB5型がそれぞれ1名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：平成18年6月～9月に、0歳から69歳までの275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。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91.3%、2型では97.8%、3型では76.0%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型は98.7倍、2型は73.4倍、3型は20.7倍を示し、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。しかしながら、すべてあるいはいずれかの型の抗体を保有していない人が29.1%おり、ポリオウイルス常在地からのウイルス侵入警戒、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

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（2006年6～9月）と感染源調査（2006年9月～2007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275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、ワクチン株のA/New Caledonia/20/99(H1N1)株、A/Hiroshima/52/2005(H3N2)株およびB/Malaysia/2506/2004株（ビクトリア系統）、そして参考株のB/Shanghai/361/2002株（山形系統）に対して、各々50.9%、40.7%、7.6%、48.7

%であった。B型（ビクトリア系統）に対する抗体保有率は依然低く、流行が危惧された。

感染源調査：インフルエンザの流行は、2007年1月中旬から5月上旬までの約5か月間にわたり継続した。インフルエンザウイルスの分離については、AH1型が12株、AH3型が95株、B型が79株であった。シーズン前半はAH3型とB型がほぼ同じ割合で分離されたのに対し、AH1型はシーズン終盤で分離された。分離株の抗原解析の結果、AH1型およびAH3型分離株ではワクチン株と異なる抗原性を示すものが多かったが、B型分離株は全てビクトリア系統で、ワクチン株と抗原性がほぼ同じであった。

[調査研究]

ウイルスウォッチプログラム

富山県における環境水のウイルス汚染実態調査は、河川、下水流入水および名水を対象に、1979年から断続的に実施している。これまでの調査で、富山県内の河川は多種類の腸管系ウイルスで汚染されていること、検出されたウイルスはほとんどヒト由来であること、また、最近のウイルス検出頻度は1979年頃よりも低くなったことなどが判明した。平成18年度からは、地域における腸管系ウイルスの侵淫状況を把握するために、下水処理場の未処理流入水について、毎月、ウイルス検索を実施中である。また、2002年の調査で河川から多く分離されたエコーウイルス13型（E13）について、平成17年度に引き続き、同時期に検出された無菌性髄膜炎患者由来株との遺伝子の比較を行った。その結果、河川水由来および患者由来E13はすべての領域で差が少なく、よく相関することが判明した。このことから、環境水のウイルス調査は、地域で流行するウイルスを追跡する方法として有意義であると考えられた。

急性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2006年4月から2007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。2006年度中に調査したウイルス性急性胃腸炎の集団発生は28事例であった。これら全てよりノロウイルス（NV）が検出された。うち1事例はNV Genogroup I（GI）によるもの、27事例はNV Genogroup II（GII）によるものであった。NV GIIは全てがGII/4型であった。

老人保健施設・障害者施設での発生が最も多く10事例あった。その他に、飲食店で6事例、宿泊施設で5事例、小学校等で4事例、病院で2事例、旅行中で1事例の発生があった。集団発生では、28事例中24事例の遺伝子配列が各事例内で100%一致し、少なくともこの24事例の集団発生は、同一のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。他の4事例では複数のウイルスが検出されたが、それぞれの相同性は99.0～99.7%（302塩基中3～1塩基の違い）であった。

[富山県感染症情報センター]

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

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ている。

また、本年度も「富山県感染症発生動向調査事業報告書」を作成し、関係機関に配布した。

細菌部

[行政および依頼検査]

感染症、食中毒

2類感染症：腸管感染症では、赤痢3件、コレラ7件の発生があった。赤痢菌の血清型はソンネI相(1株)、フレキシネリ2(1株)、フレキシネリ2b(1株)で、1株はベトナム・カンボジアへの旅行者から、残りの2株は海外渡航歴のない患者からの分離であった。コレラ7件はすべてインドへ旅行した同一集団発生由来であった。その内訳はO1 Inaba 5株、O1 Ogawa 2株であった。このうちO1 Ogawa株とO1 Inaba株が同一の患者から分離された例が2例あった。

3類（腸管出血性大腸菌）感染症：平成18年度は感染事例が31件（117名）で、原因菌の血清型はO157 19件（96名）、O26 10件（13名）、O111 1件（7名）、O63 1件（1名）であった。集団発生事例は7件であり、そのうちの3件は家族内感染例であった。また、保育園における集団発生事例は2件であった。

細菌性食中毒：平成18年度は細菌性食中毒が3件（富山市1件）発生し、原因菌について生化学性状、毒素産生性および毒素遺伝子を調べた。7月に発生した腸炎ビブリオによる1件の食中毒は血清型 O3:K6であった。ウェルシュ菌による食中毒及びサルモネラ属菌による食中毒が各1件発生した。

生活衛生

食品検査：7月に清涼飲料水27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性または定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。7～11月に、牛生レバー19検体について一般生菌数、大腸菌群数、腸管出血性大腸菌 O157・O26・O111、カンピロバクターの検査を行った。腸管出血性大腸菌はすべて陰性であった。カンピロバクターは9検体が陽性であり、7検体から *C.jejuni*、2検体から *C.coli* が分離された。

海水浴場水検査：生活環境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。

水道水水源水検査：「水道におけるクリプトスポリジウム対策の暫定方針」に基づき、富山県内で水道源水として利用される河川水、湧水等43検体について汚染指標菌（大腸菌と嫌気性芽胞菌）の検査を行った。指標菌のいずれかが陽性であった9検体についてクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検査を行ったところ、いずれからもそのオーシストは検出されなかった。

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11月にかけて県内5漁港の海水（表層及び海底）の腸炎ビブリオを定期的に調べた。その結果、海水中の腸炎ビブリオ数は、100ml あたり $3\sim 2.4\times 10^3$ の範囲であった。

名水調査：県内で飲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った。調査は7、10月の2回、採水地点はそれぞれ9か所、計21検体について、嫌気性芽胞菌、生菌数、病原性大腸菌定性と大腸菌定量を実施した。1か所の名水（採水箇所2）が大腸菌定量試験（MPN）93、240であった。嫌気性芽胞菌、病原性大腸菌定性はすべての検体で陰性であった。

依頼検査：民間企業から依頼を受けた医薬品について、抗菌試験を実施した。

滑川市から依頼を受け、海洋深層水の一般細菌数および大腸菌定性の検査を18検体、また一般細菌数および病原細菌定性（大腸菌、腸管出血性大腸菌 O157、赤痢菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、腸球菌、緑膿菌、嫌気性菌）の検査を16検体について行った。一般細菌数検査では、多くが0～5cfu/ml と少なく、清浄性が保たれていた。病原細菌定性検査では、一部の採水地点から大腸菌、セレウス菌、緑膿菌、嫌気性菌が検出された。

病原細菌検出情報内10か所の病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は、1,644株、前年比98.6%であった。最も多かったのは大腸菌745株で、以下、黄色ブドウ球菌の530株、カンピロバクター250株、サルモネラ31株、腸炎ビブリオ16株の順であった。

〔調査研究〕

サルモネラ

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。2006年1月～12月までに当所に送付された菌株は8株であった。この研究を開始してからの26年間でもっとも少なかった。サルモネラ分離菌について血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

また、市販鶏肉36検体についてサルモネラ汚染実態調査を行った。その結果、24検体からサルモネラが分離された。

大腸菌

平成18年度に発生した腸管出血性大腸菌 O63について、その生化学的性状とベロ毒素遺伝子の解析を行った。1992年以降富山県で発生した腸管出血性大腸菌について、代表株378株についてパルスフィールド電気泳動による DNA パターンを解析し、データベース化を行った。また、平成18年8月～9月に発生した保育所を中心とする

腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例について全分離株 74 株についてパルスフィールド電気泳動による分子疫学的解析を行った。

溶連菌

平成 18 年に県内 2 か所の病院で分離された溶連菌を型別した。A 群 40 株では、検出率が高い T 型は、順に T1 型、T11 型、T25 型、T4 型、T12 型、T28 型であった。前年と比較して、T1 型と T25 型が増加し、T6 型、T12 型が減少していた。B 群 44 株で検出率が高い型は、順に VI (NT6) 型、I b 型、I a 型、V 型、VIII (JM9) 型であった。

腸炎ビブリオ

平成 18 年 6 月から 11 月の期間、県内の 5 漁港海水について PCR 法と免疫磁気ビーズ法により耐熱性溶血毒素 (TDH) 産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。その結果、海水 100 検体のうち、15 検体が TDH 遺伝子陽性となった。また、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 を 1 検体から分離した。

カンピロバクター

平成 18 年に県内 2 か所の病院で分離されたカンピロバクターの収集解析を行った。当所に搬入された菌株は 26 株で、内訳は *C.jejuni* 23 株、*C.coli* 3 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。また、市販鶏肉 22 検体について、カンピロバクター汚染実態調査を行った。その結果、17 検体からカンピロバクターが分離された。

[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牛レバー中の EHEC O26 の検出とした。なお、牛レバーは、EHEC が陰性であることを確認した。EHEC O26 を接種、*E.coli* O1 を接種、接種菌なしの 3 検体を各機関に配布した。回答結果は、一般生菌数測定、EHEC の検出ともにすべての機関で良好であった。この回答結果については本年報にその詳細を掲載している。今回、EHEC 検出の新しい通知が出たことを受けて、SOP を改正するための予備試験としてこの課題を選択した。その結果、PCR 法の結果については慎重な対応が必要である事が確認された。

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]

衛生微生物協議会、希少感染症研究事業の溶連菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンターとして活動した。A 群溶連菌の T 型別については、愛知県衛生研究所 56 株および富山県衛生研究所 40 株、計 96 株の結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した 8 例の劇症型溶連菌感染症例や B 群溶連菌 44 株の型別結果についても報告した。

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、カドミウムおよびスズ）、煮干し等魚介乾製品中の酸化防止剤（BHA、BHT）、惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリンナトリウム）及び生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の 52 検体（総項目数 229）の検査を行ったところ、いずれの検体も規格基準または使用基準に適合していた。

合成抗菌剤等：食肉検査所から豚肉（脂肪）中の残留動物用医薬品、イベルメクチンの定性確認試験依頼があり、LC/MS で確認試験を行ったところ、イベルメクチンの残留を確認した。

残留農薬：県内産主要農産物の玄米、ねぎ、キャベツ等の 11 種 27 検体について、残留農薬迅速分析法（Y. Saito *et al.* 2004, *J. AOAC Int.* 8(6), 1356-1357）で有機リン系（フェニトロチオン等）、含窒素系（フルト

ラニル等), 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)の約94農薬を調査した。玄米2検体及びトマト2検体からフルトラニルが, ぶどう1検体からイプロジオンが, だいこん1検体からメプロニルがそれぞれ検出された。検出量は基準値の1/10以下であった。

重金属等: 富山湾産魚介類について, 15魚種20検体(カワハギ, アジ等)の総水銀を測定したところ, 濃度は0.01~0.05 ppm(暫定的規制値0.4 ppm)であった。また10魚種10検体のトリブチルスズオキシド, ジブチルスズオキシド, ジフェニルスズオキシド(いずれも規制値なし)を測定したところ, すべての検体でいずれの化合物も不検出であった(定量限界0.02 ppm)。

家庭用品検査

除菌消臭スプレーやヘア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, トリクロロエチレンあるいはメタノールの規格試験を, また羊毛製品(衣類)5検体についてディルドリンの試験を行ったところ, いずれの製品からも検出されず, 規格基準に適合していた。

水質検査

管理目標設定項目: 水道水源の水質監視に伴い, 水道原水27検体及び浄水24検体について, 亜硝酸態窒素, アンチモン及びトルエン等13項目(総項目数271)の検査を行った。また農薬類としてシマジン等42項目(総項目数367)の検査も行った。うち3検体についてウラン(0.0002 ~ 0.0005mg/L: 目標値0.002mg/L)が, 1件についてニッケル(0.001mg/L: 目標値0.01mg/L)が, 1件について亜硝酸態窒素(0.007mg/L: 目標値0.05mg/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う水道原水29検体及び浄水29検体について, 銀など重金属類, スチレンなど揮発性有機化合物, フタル酸ジ(n-ブチル)などフタル酸エステル類, プ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696)の検査を行った。うち6検体についてアセトアルデヒド(0.002 ~ 0.005mg/L: 目標値なし)が検出された。その他の項目はいずれも不検出であった。

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18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42項目)の検査(総項目数596)を行ったところ, うち2件についてシマジン(0.00004 ~ 0.0003mg/L: 目標値0.003 mg/L)が検出された。その他の井戸水からは農薬は検出されなかった。

温泉分析

中分析15件(新規分析3件, 再分析7件及び浴槽水5件)を行ったところ, 温泉法第2条に適合するものは10件(浴槽水を除く)であり, そのうち6件は療養泉であった。泉質は, ナトリウム-塩化物・炭酸水素塩泉, 含鉄(II)-ナトリウム-塩化物強塩泉, 単純温泉等であった。また温泉資源保護を目的として, 平成7年度から温泉密集地域の16源泉(18年度1源泉追加)の主要成分等について, 経年変化調査を行っている。平成18年度は1源泉において成分濃度が数倍高くなったが, これは温泉の利用形態の変化(揚湯量の大幅減少)が影響しているものと推定された。

[調査研究]

食品中の成分および添加物に関する調査研究

ビール中に含まれるイソキサントフォーム(IX)は, 醸造工程においてホップに含まれるキサントフォーム(X)が環化した化合物である。最近, 腸内細菌や肝臓内代謝酵素によりIXは8-プレニルナリンゲニン(8-PN)に変換されることが報告された。8-PNは植物最強のエストロゲンともいわれている。そこで, IXの光学分割法を検討し, ビールの分析に適用した。その結果, ビール12検体中のIX濃度は0.15~1.4ppmであり, いずれもラセミ体であることがわかった。また, IXの光学異性体は加熱により容易にラセミ化することもわかった。

食品等中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

マイクロウェーブ抽出LC/MSによる有害化合物の分析: マイクロウェーブ装置を食品中の農薬等有機化合物の迅速分析法開発に応用する検討を行った。約70種類の農薬をほうれん草に添加して回収実験を行ったところ, 温度やマトリックスによる影響が少ない約50種類で回収率が60~120%であった。現在, 試料への応用を検討している。

飲料水およ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: 平成15年度から飲用されている「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行っている。平成15・16年度は水質基準項目の検査を行った。平成17年度からは、管理目標設定項目22項目(うち農薬類9項目)、要検討項目(フタル酸ブチルベンジル等)3項目及び有機塩素系化合物(PCB, アルドリン, DDT 等)8項目の計33項目の検査を行っており、平成18年度は名水18箇所について同検査を行った(総項目数594)。検査の結果、うち1箇所についてウラン(0.0003 mg/L:目標値0.002mg/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。平成18年度に調査を行った名水18箇所うち5箇所は平成18年度に新たに追加選定された名水で、これらについては水質基準項目等の検査(総項目数270)も行った。

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

キャピラリー電気泳動法による光学異性体の分析:光学異性体の新しい分析法として、ホウ酸を中心イオンに用いたキラル配位子交換法を検討し、ジオール構造を有する光学異性体を分離できることを既に報告した。そこで、本法の応用範囲を広げるため、ポリオール構造を有する単糖類の光学分割について検討した。単糖類はイオン性がなく、吸光度検出できないため、1-フェニル-3-メチル-5-ピラゾロンで誘導体化した。その結果、検討した6種類の単糖類のうち、グルコース、マンノース及びフコースを光学分割できた。今後、誘導体化試薬を検討し、単糖類を一斉に光学分割できる分析条件を検討する予定である。

[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」の制定(平成10年12月)によって、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、寒天中の保存料(ソルビン酸)の定量試験の調査を実施した。

$\bar{x}-R$ 管理図法で各検査機関の測定値を評価したところ、一機関の測定値が異常と判定された。その主な原因は前処理操作時の試料の不十分なホモジナイズにあったことが判明した。また、標準作業書(SOP)に従っても異常値が出る可能性も考えられた。経験年数が浅い担当者には、習熟者による補助、SOPへの前処理に関する説明文の補充の必要性が考えられた。なお、問題点を把握後、再検査を行ったところ、良好な結果が得られ、全ての機関について、「充分管理されている」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、平成18年度は県内の水道水質検査を実施する18機関の参加により、TOCとアルミニウム、ホウ素について精度管理調査を実施した。

TOCは去年に引き続いての実施で県内の水質検査を行う全18機関が参加した。全機関が島津製作所製全有機体炭素計により、また1機関はセントラル科学製TOC計による測定も行ったことより19機関として統計処理を行った。今回は試料として濁りのある自然水(射水市薬勝寺池)を用いたため、前処理の有無・種類により機関間のばらつきが大きく、全機関の測定値の平均値±標準偏差は 1.563 ± 0.186 mg/Lとなり、室間変動係数が11.9%と10%を上回った。前処理としてろ過を行っている1機関の測定値1.16mg/Lは平均値±2標準偏差の範囲から外れていた。前処理としてホモジナイザーまたは超音波発生器を用いている5機関の平均値±2標準偏差は 1.744 ± 0.131 mg/L、前処理を行っていない13機関の平均値±2標準偏差は 1.525 ± 0.133 mg/Lで、両者には有意な差がみられた($p < 0.05$)。今回の結果は懸濁物質を含む水道原水を測定する場合の参考になった。

アルミニウム、ホウ素の精度管理には13機関が参加した。試料は超純水に標準原液および硝酸(試料1Lにつき10ml)を添加し、アルミニウム:0.03mg/L、ほう素:0.3mg/Lとなるように作製した。アルミニウムの測定値の平均値±標準偏差は 0.0292 ± 0.0017 mg/Lであり、室間変動係数は5.7%、室内変動係数は0.0~5.5%であった。ほう素の測定値の平均値±標準偏差は 0.296 ± 0.012 mg/Lであり、室間変動係数は3.9%、室内変動係数は、0.0~3.0%であった。両者ともに機関間・機関内のばらつきが小さく、報告された検査結果は概ね良好であった。

環 境 保 健 部

〔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年度から新しい方式に改められた。平成18年度は、対象者2,343名中774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140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112名の尿、血液について所定の検査を行った。

管理検診：イタイイタイ病要観察者に対して、経過観察中の管理検診対象者1名が受診し、該当する尿および血液検査を実施した。

イタイイタイ病認定申請に伴う検査：申請のあった4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〕

骨粗鬆症予防法の確立に関する研究 ―骨粗鬆症予防に効果的な運動についての検討―

骨粗鬆症予防を目的としたこれまでの調査から運動がその予防に有効であることが明らかとなった。一方、運動以外の日常生活活動も中等度の身体活動であれば生活習慣病予防の効果があるといわれている。そこで、骨粗鬆症予防に有効な身体活動を明らかにするために、中高齢者について歩行運動の量（歩数）および強度を測定し、骨密度、骨代謝の生化学指標との関連を検討する。

今年度は、中高齢者の身体活動量の実態を把握するために、健康教室に参加した中高齢男女について身体活動量の指標として1日平均歩数、速歩時間、活発な身体活動量を測定した。その結果、いずれの指標も男性に比べ女性のほうが多い傾向を示した。年齢と身体活動量の指標との間には男女ともに関連はなかった。歩数と速歩時間及び活発な身体活動量の間には高い相関があったが、歩数が10,000歩以上あるものでも活発な身体活動量が少ないものがみられ、活動強度も含めて身体活動量を評価する必要性があると考えられた。

肥満体質遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

これまで、肥満男性についてアディポネクチンを測定したところ、BMIや体脂肪率と負の相関を示し、アディポネクチンは肥満（体脂肪の蓄積）により減少することがわかった。

今年度はアディポネクチンのなかでも特に生理活性を有するとされる多量体を測定し、その分画比を求めたところ、分画比はBMI、体脂肪率のほかインスリン値とも有意な負の相関を示し、多量体測定の有用性が認められた。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

有機リン系農薬の曝露指標として、尿中のジアルキルリン酸のモニタリングを行い、生活環境要因との関連について検討した。30歳代から70歳代の男女193名を対象とし、ジメチルリン酸、ジメチルチオリン酸、ジェチルリン酸、ジェチルチオリン酸の4種のアルキルリン酸を測定した。その結果、すべての検体から1種以上のアルキルリン酸が検出され、これまでの調査と同様にジェチル型よりもジメチル型アルキルリン酸の検出率が高く、濃度レベルも高かった。“農家”で“農作業あり”の女性では、年間10日以下と少ない作業日数にもかかわらず、“農作業なし”や“非農家”の女性に比べてジメチル型アルキルリン酸が高い値を示した。また、DDVP製剤の殺虫剤を使用している者で尿中ジメチルリン酸濃度が高値を示し、環境要因が尿中アルキルリン酸レベルに影響している可能性が示唆された。

中国内蒙古フッ素汚染地域における血中ビタミンD3著高と骨吸収亢進に関する調査研究（文部科学省科学研究補助金基盤研究B海外学術調査）

これまでフッ素曝露による骨への影響は、骨芽細胞刺激による骨硬化症（骨過形成）とされてきたが、1996年から2002年の富山大学医学部および中国内蒙古医学院との共同研究により、飲料水中フッ素汚染がみられた中国・

内モンゴル自治区草原地域の中年女性に骨吸収の亢進を観察した。そこで、フッ素曝露が成長期および閉経期の骨量と骨代謝へ及ぼす影響を明らかにするため、同地域のフッ素汚染状況を把握し、先に同地域住民にみられた血中活性型ビタミンD3著高と骨吸収亢進・骨量減少の関係を検討し、そのメカニズムを考察するとともにフッ素摂取量の基準設定への科学的データの提供を目的として平成18年度から20年度の3カ年計画で調査を実施する。平成18年度は、9月に研究代表者を含む4名が現地へ赴き、閉経および未閉経中高年女性と成長期女性の対象者の選定など現地の研究協力者と打ち合わせを行った。あわせて血中骨代謝マーカーの測定を依頼する北京大学医学部との打合せを行った。調査地域である中国・内モンゴル自治区の草原地域（達茂旗市周辺）では、フッ素濃度が高いタン茶浸出液が常飲されていることが分かり、他の中国茶葉浸出液について検討を行った。採取した中国茶葉の浸出液中フッ素の濃度は約6割が飲料水の基準である0.8mg/Lを超え、ティーバッグやタン茶類には数mg/Lも含有するものがみられ、お茶飲料からのフッ素摂取量が多いことが示唆された。若年者の骨密度測定のために新たに超音波骨密度計GE Lunar A-1000 InSightを購入し、過去に使用した装置、同A-1000 Expressとの比較を行った。フッ素摂取量を推察するための栄養調査項目を追加したアンケートの作成を行った。平成19年度は疫学調査を行う予定である。

カドミウム汚染地域住民健康影響調査（神通川流域住民健康調査）に関する研究

神通川流域のカドミウム汚染地域において、平成9年度以降、新方式により行われた住民健康調査の調査データと、昭和60年度から平成8年度までに、昭和51年方式により環境省（庁）委託事業および富山県単独事業として行われた住民健康調査データについて、集計・解析し取りまとめている。

（環境省カドミウム汚染地域住民健康影響調査検討会にて検討中）

濃縮海洋深層水のスキンケア利用に関する皮膚科学的研究

これまで濃縮海洋深層水を用いた「浮遊浴」の健康増進効果について調査研究を行ってきたが、濃縮深層水の「浮遊浴」のモデルである「死海」では、乾癬やアトピー性皮膚炎などの療養に利用されている。そこで、人間の皮膚に構造上の類似点の多い仔豚を使用して濃縮海洋深層水の抗アレルギー・抗炎症効果を検討した。

平成17年度は、「仔豚皮膚を用いた濃縮海洋深層水成分の皮膚浸透性と抗炎症作用に関する実験的研究」を課題として研究を行った。4週令の仔豚に1-クロロ2,4-ジニトロベンゼン（DNCB）を2回皮内注射し、DNCBを染み込ませた綿を接触させることにより接触性皮膚炎を惹起させ、塩分濃度15%および30%の濃縮海洋深層水と蒸留水の温水（37℃）に2時間温浴させ、皮膚組織の採取を行い、組織学的観察およびイオン質量分析装置（SIMS、イオン顕微鏡）測定を行った。その結果、組織学的観察では、温浴後の蒸留水群と濃縮海洋深層水群に組織学的な差は認められなかったが、SIMSによる炎症部位のイオン濃度測定では、濃縮海洋深層水群の表皮および真皮中のNa、K、Mg、Caは蒸留水群に比べて著しく高く、これらの元素の皮膚浸透性が明らかとなった。

これまで行った実験は、単回の温浴実験であり温浴による治癒効果は検討できず、濃縮されていない富山湾海洋深層水については検討できなかった。濃縮海洋深層水の「浮遊浴」のモデルである「死海」では、多く含まれるMgが抗原提示細胞であるランゲルハンス細胞の活性を抑制する作用があることが報告されている。そこで、平成18年度は「仔豚の繰り返し温浴による濃縮海洋深層水成分の皮膚浸透性と抗炎症作用に関する実験的研究」として、濃縮海洋深層水とあわせて、富山湾海洋深層水、Mgを多く含む苦汁（ニガリ）水から作製したMg水の温浴について検討した。すなわち、先の方法で実験的に腹部に炎症を起こした仔豚を、純水（イオン交換水）、富山湾海洋深層水、15%および30%の濃縮海洋深層水、0.5%および1%のMg水の6種類の温水に繰り返し（炎症惹起2日後、1週間後、2週間後の3回）温浴させた。温浴方法は、縦45cm横90cm深さ30cmの浴槽に水を入れ、ヒーターで37℃に温め、仔豚をケージに入れたまま腹部（炎症部位を含む）を浸漬した。仔豚を1時間温浴させ、皮膚の観察を行った後、麻酔をかけ、腹部の皮膚からバイオプシーにより組織の採取を行った。組織の採取は、3回の温浴後にそれぞれ、炎症部位と非炎症部位から採取した。採取した皮膚組織について、組織学的検討およびイオン質量分析装置測定を実施中であり、海洋深層水成分の皮膚浸透性と抗炎症作用および治癒効果について検討する予定である。

（富山大学、農業技術センター畜産試験場との共同研究）

アレルギー診断薬液等の超音波経皮浸透装置の開発と応用（大学連携先端研究推進事業）

アレルギー検査は皮膚試験と試験管内試験に大別され、患者の負担が少ない試験管内試験が現在のアレルギー検査の主流となっているが、費用や判定まで要する時間、採血などの問題がある。本研究では、数種類以上のアレルギー診断薬をそれぞれに独立したパッチ（薬液を染み込ませるパッチが近接して数種類以上点在している）に染み込ませ、これを被験者の皮膚の上に貼り、貼ったパッチの上から超音波振動を加えて短時間でアレルギー診断薬を経皮浸透させる超音波式アレルギー診断薬経皮浸透装置とアレルギー診断用パッチの開発を目的として研究を実施中である。

平成18年度は、超音波薬剤経皮注入装置および振動ジグの試作を行い、モルモット皮膚への色素の浸透実験を行ったが浸透力が弱く浸透しなかった。そこで、振動ジグの改良を行うことにより、滴下した色素がモルモットおよび豚皮膚を浸透することを確認した。市販パッチに色素を染込ませて上から超音波装置を使う方法では皮膚への浸透は弱く、濾紙に染込ませる方法では浸透した。アレルギーテスト（スクラッチテスト）陽性のヒトの皮膚へ、ハウスダストおよびダニアレルゲンを滴下し、超音波装置を使用する方法で島状の赤斑が生じることを確認した。レーザードップラー血流画像化装置を用いて、上記の島状赤斑の画像解析を行い、陽性判定の方法として高感度であり、実際に使用できることを確認した。衛生研究所倫理審査委員会（外部委員会）に対して、平成19年度にヒトを対象として実験を行うことについて申請し、承認を受けた。

（工業技術センター機械電子研究所，富山大学医学部，同工学部との共同研究，平成18年度から19年度の2年計画）

(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	10,216 (61,296)	
	染色体検査	32 (32)	97 (97)
	衛生動物検査	3,942 (11,687)	80 (84)
	小 計	14,190 (73,015)	177 (181)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	713 (713)	23 (23)
	血清学的検査	1,182 (2,577)	2 (2)
	小 計	1,895 (3,290)	25 (25)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	269 (734)	
	食中毒にかかわる検査	90 (183)	
	食品検査	351 (462)	4 (8)
	水質検査	412 (815)	
	医薬品検査		16 (16)
	小 計	1,122 (2,194)	20 (24)
化 学 部	食品にかかわる検査	113 (2,292)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	192 (2,398)	46 (544)
	温泉分析	21 (310)	10 (300)
	小 計	341 (5,020)	56 (844)
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	891 (3,288)	
	小 計	891 (3,288)	

検 査 内 容

() 内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 先天性代謝異常検査	10,216 (61,296)	1. 染色体検査	
2. 染色体検査		(1) 血液	18 (18)
(1) 血液	23 (23)	(2) 羊水	60 (60)
(2) 羊水	8 (8)	(3) 胎児	19 (19)
(3) 胎児	1 (1)	2. 衛生動物等検査	
3. 衛生動物等検査		(1) 衛生・不快動物	69 (72)
(1) 衛生・不快動物	3,940 (11,685)	(2) 食品混入異物	11 (12)
(2) 食品混入異物	2 (2)		

ウ イ ル ス 部

[行政検査]		[一般依頼検査]	
1. 感染源検査		1. 感染源調査	
(1) インフルエンザ	131 (131)	(1) その他ウイルス	20 (20)
(2) ポリオ	73 (73)	(2) リケッチア, その他	3 (3)
(3) その他ウイルス	213 (213)		
(4) リケッチア, その他	6 (6)		
(5) 食中毒	290 (290)		
2. 血清学的検査		(1) リケッチア, その他	2 (2)
(1) インフルエンザ ヒト	275 (1100)		
(2) ポリオ	275 (825)		
(4) 日本脳炎	430 (430)		
(4) エイズ	176 (176)		
(5) その他のウイルス	18 (18)		
(6) リケッチア, その他	8 (28)		

細菌部

<p>[行政検査]</p> <p>1. 感染症にかかわる検査</p> <p>(1) コレラ菌 26 (100)</p> <p>(2) 赤痢菌 1 (2)</p> <p>(3) 腸管出血性大腸菌 117 (468)</p> <p>(4) レジオネラ 2 (36)</p> <p>(5) 赤痢アメーバ 1 (2)</p> <p>(6) 溶連菌 117 (117)</p> <p>(7) 結核菌 3 (4)</p> <p>(8) ボツリヌス菌 2 (5)</p> <p>2. 食中毒にかかわる検査</p> <p>(1) サルモネラ 29 (29)</p> <p>(2) 病原大腸菌 13 (39)</p> <p>(3) ウエルシュ菌 13 (27)</p> <p>(4) カンピロバクター 53 (53)</p> <p>(5) 黄色ブドウ球菌 10 (20)</p> <p>(6) 検便 1 (15)</p> <p>3. 食品検査</p> <p>(1) 収去検査 79 (174)</p> <p>(2) 集団発生原因食調査 206 (206)</p> <p>(3) その他 66 (82)</p> <p>4. 水質検査</p> <p>(1) 海水 100 (100)</p> <p>(2) 海水浴場水 128 (154)</p> <p>(3) 水道水源水 55 (181)</p> <p>(4) 深層水 33 (210)</p> <p>(5) 名水 24 (96)</p> <p>(6) 水道水 2 (4)</p> <p>(7) 浴用水 70 (70)</p>	<p>[一般依頼検査]</p> <p>1. 食品検査 4 (8)</p> <p>2. 医薬品検査 16 (16)</p>
---	--

化学部

<p>[行政検査]</p> <p>1. 食品にかかわる検査</p> <p>(1) 食品成分および添加物 52 (236)</p> <p>(2) 残留農薬 31 (2,026)</p> <p>(3) 重金属類 30 (30)</p> <p>2. 家庭用品検査</p> <p>(1) メチルアルコール 5 (5)</p> <p>(2) テトラクロロエチレン およびトリクロロエチレン 5 (10)</p> <p>(3) デイルドリン 5 (5)</p> <p>3. 水質検査</p> <p>(1) 水質基準項目 5 (240)</p> <p>(2) 管理目標設定項目 65 (924)</p> <p>(3) 要検討項目 76 (750)</p> <p>(4) ゴルフ場使用農薬 21 (298)</p> <p>(5) その他 25 (186)</p> <p>4. 温泉分析</p> <p>(1) 中分析 5 (150)</p> <p>(2) その他 16 (160)</p>	<p>[一般依頼検査]</p> <p>1. 水質検査</p> <p>(1) 水質基準項目 13 (104)</p> <p>(2) 管理目標設定項目 4 (110)</p> <p>(3) ゴルフ場使用農薬 21 (298)</p> <p>(4) その他 8 (32)</p> <p>2. 温泉分析 中分析 10 (300)</p>
---	--

環境保健部

<p>[行政検査]</p> <p>1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査</p> <p>(1) 神通川流域住民健康調査</p> <p>1次検診 尿検査 774 (1,548)</p> <p>精密検診 尿、血液検査 112 (1,676)</p> <p>(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診</p> <p>尿、血液検査 1 (16)</p> <p>(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査</p> <p>尿、血液検査 4 (48)</p>	<p>[一般依頼検査]</p>
---	-----------------

(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
一住宅において防蚊対策を行った場合の蚊成虫の捕集状況	がん研究部 ウイルス部	渡 辺 護 小 原 真 弓	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 節足動物媒介感染症の効果的な防除などの対策研究
富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類分布調査	ウイルス部 がん研究部	倉 田 毅 小 原 真 弓 渡 辺 護 堀 元 栄 詞 岩 井 雅 恵 長 谷 川 澄 代 滝 澤 剛 則	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築
富山県における蚊の発生調査とウイルス保有調査	ウイルス部 がん研究部	滝 澤 剛 則 小 原 真 弓 渡 辺 護 長 谷 川 澄 代 倉 田 毅	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 ウエストナイルウイルス侵入に備えての診断、予防対策への基盤的研究
感染症患者情報と病原体情報の評価について	ウイルス部 細菌部	倉 田 毅 堀 元 栄 詞 木 全 恵 子 磯 部 順 子 綿 引 正 則 滝 澤 剛 則	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 効果的な感染症サーベイランスの評価並びに改良に関する研究
病原体情報収集、伝達、管理装置の開発ー情報伝達機能付小型滅菌装置の作製と検証ー	所長	倉 田 毅	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 病原体保管、輸送、廃棄における一括管理システムの開発
病原微生物の取扱におけるバイオセーフティの強化及びバイオセキュリティシステムの構築に関する研究	所長	倉 田 毅	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
ヒト大腸がん由来 Caco-2細胞でのインフルエンザウイルス感染様式の検討	ウイルス部	滝 澤 剛 則 堀 元 栄 詞 長 谷 川 澄 代 小 原 真 弓 岩 井 雅 恵 倉 田 毅	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 新型インフルエンザへの事前準備と大流行発生時の緊急対応計画に関する研究
富山県におけるノロウイルスの浸淫状況調査	ウイルス部	滝 澤 剛 則 堀 元 栄 詞 長 谷 川 澄 代 小 原 真 弓 岩 井 雅 恵 倉 田 毅	内閣府食品安全委員会 生食用カキに起因するノロウイルスリスク評価に関する研究
富山県における感染性胃腸炎の事例について	ウイルス部	滝 澤 剛 則 堀 元 栄 詞 長 谷 川 澄 代 小 原 真 弓 岩 井 雅 恵 倉 田 毅	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 ウイルス性食中毒の予防に関する研究
畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究ー腸炎ビブリオーー	細菌部	磯 部 順 子	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）
循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究	細菌部	磯 部 順 子	厚生労働科学研究費補助金（地域健康危機管理研究事業）

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究	細菌部	倉田 毅 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）
先天性代謝異常症早期診断のための酵素チップの開発（迅速細菌診断法の開発と実用化研究）	細菌部	綿引 正則	文部科学省 富山・高岡地域 知的クラスター創成事業
病原体保管，輸送，廃棄における一括管理システムの開発	細菌部 ウイルス部	倉田 毅 滝澤 剛則 綿引 正則	厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）
キラル配位子交換法の新展開ーポロスピラン形成に基づく光学分割法の開発	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
大量に排出される金属キレート剤が重金属の環境動態をどう変化させるか？	化学部	健名 智子 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
シリカナノ細孔薄膜を利用した光学異性体分離精製膜の開発	化学部	山下 智富	文部科学省 若手研究B 研究代表者
遺伝的素因と心理的モチベーションを考慮した運動習慣確立のための支援プログラム開発	環境保健部	長瀬 博文 田中 朋子 堀井 裕子	文部科学省 基盤研究C 研究代表者
内モンゴフッ素汚染地域における血中ビタミンD3著高と骨吸収亢進に関する調査研究	環境保健部	新村 哲夫 長瀬 博文 堀井 裕子	文部科学省 基盤研究B（海外学術） 研究代表者
西ジャワ農村部における水系の化学物質汚染と学童の健康に関する人類生態学的調査	環境保健部	新村 哲夫 中崎美峰子	文部科学省 基盤研究B（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
地域看護学概論（公衆衛生学）	長瀬 博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平18.4.11	富山県総合衛生学院
公衆衛生の技術および産業保健	長瀬 博文	厚生連高岡看護専門学校1年生	平18.5.16	厚生連高岡看護専門学校
地域保健指導論（成人保健）	長瀬 博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平18.6.13, 23, 26	富山県総合衛生学院
吸血昆虫とは	渡辺 護	きらめきエンジニア事業	平18.6.13	富山県立福岡高校
吸血昆虫の生理生態と駆除	渡辺 護	4回生特別講義	平18.7.4	酪農学園大学
昆虫とは	渡辺 護	きらめきエンジニア事業	平18.7.11	黒部市立前沢小学校
ウエストナイル熱媒介蚊の調査の現状と結果	渡辺 護	ウエストナイル熱に係る関係省庁連絡会議（第6回）	平18.7.12	厚生労働省省議室
鳥インフルエンザの動向と新型インフルエンザ流行の可能性	堀元 栄詞	富山県学校保健主事会総会	平18.8.10	富山県立中部高校

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
公衆衛生の技術および産業保健	長瀬博文	高岡市医師会看護専門学校2年生	平18.10.19	高岡市医師会看護専門学校
地方自治体におけるウエストナイル熱対策について	渡辺護	動物由来感染症対策(狂犬病予防を含む)技術研修会(平成18年度)	平18.11.2	東京都 JAホール
公衆衛生学	長瀬博文	富山県総合衛生学院第一看護学科講義	平18.11.8~ 11.29 週1回	富山県総合衛生学院
公衆衛生の技術および産業保健	長瀬博文	高岡市立看護専門学校2年生	平18.11.15	高岡市立看護専門学校
エイズとサソリと蜘蛛の糸	綿引正則	きらめきエンジニア事業	平18.11.20	富山県立富山北部高等学校
特定化学物質等による障害とその予防 第1編	長瀬博文	特定化学物質等作業主任者技能講習	平18.11.21	富山県安全衛生教育センター研修室
ウイルスの特性について	堀元栄詞	富山県消防学校救急科(第9期)講義	平18.11.22	富山県消防学校
食品汚染	小玉修嗣	金沢大学大学院自然科学研究科「大学院特論」	平18.11.29	金沢大学
地域看護学研究	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科実習	平18.11~平19.2 年数回	富山県総合衛生学院
ウイルス・細菌の基礎知識	磯部順子 滝澤剛則	平成18年度特殊災害科授業	平18.12.4	富山県消防学校
最近の細菌事情	綿引正則	遠隔授業	平18.12.7	富山県立富山北部高等学校
フッ素と骨代謝—内モンゴル調査とお茶飲料について—	新村哲夫	富山湾に学ぶ会	平18.12.16	とやま市民交流館
狂犬病患者の発生を踏まえて-京都と横浜の発生事例の検証から	堀元栄詞	感染研セミナー伝達講習会	平19.1.17	富山県民会館
保健・医療・福祉と介護の制度「障害者・高齢者医療」	長瀬博文	富山大学医学部医学科3年生講義	平19.1.18	富山大学医学部医学科
食品衛生に関わる最近のトピックス	小玉修嗣	金沢大学薬学部「衛生薬学I」	平19.1.22	金沢大学
プレゼンテーションの進め方	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平19.1.31	富山県総合衛生学院
地域看護学研究報告会	長瀬博文	富山県総合衛生学院保健学科講義	平19.2.27	富山県総合衛生学院
富山県を取り巻く狂犬病の現状について	堀元栄詞	平成18年度富山県狂犬病予防研修会	平19.2.28	富山国際会議場
カラムスイッチング HPLC を用いたアミノ酸迅速分析法の特徴と改良経緯	米田豊	日本マス・スクリーニング学会 技術部会 第25回研修会	平19.3.3	石川県文教会館

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
高岡厚生センター受入れ 臨床研修医	平18.5.17 平18.6.14 平18.7.5 平18.8.2 平18.9.6 平18.9.20 平18.11.15 平18.12.17	衛生研究所の役割を把握し HIV 検査を体験する	ウイルス部
富山大学医学部総合診療部実習	平18.6.26～27 平18.9.11～12	下水からのウイルス分離と遺伝子解析	ウイルス部
高岡厚生センター受入れ 臨床研修医	平18.7.4 平18.8.7 平18.9.11 平18.11.6	腸炎ビブリオ汚染実態調査に関する検査	細菌部
夏休み子供科学教室	平18.7.31～8.1	身のまわりの細菌を調べてみよう	細菌部
(社)富山県薬剤師会 八ツ井智未	平18.8.22～23	クリプトスポリジウム検査実習	細菌部
新川厚生センター 上野美穂 中部厚生センター 川幡映二 高岡厚生センター 林 淑子 砺波厚生センター 平井重成	平19.1.18	濁度計の保守点検について	化学部
富山市保健所 橋本妙子 中川和歌子	平19.3.5 ～3.9	魚介類中の有機スズ化合物の検査に係るガスクロマトグラフ質量分析計操作及び試料測定の実施	化学部

(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
倉田 毅 滝澤 剛 磯部 順 嶋 智 小原 真 岩井 雅	平18.6.29 ～30	衛生微生物技術協議会 第27回研究会	札幌コンベンションセンター(札幌市)	国立感染症研究所 宮村達男 他
木全 恵子	平18.8.7 ～10	第36回嫌気性菌検査技術セミナー	岐阜大学 生命科学総合研究支援センター	岐阜大学教授渡邊邦友 他
本田 幸子 林 美貴子	平18.8.26 ～27	第13回臨床細胞遺伝学セミナー	家の光会館(東京都)	日本人類遺伝学会 東京医科歯科大学 池内達郎 他
小原 真弓	平18.8.30 ～9.2	バイオセーフティ技術講習会(主任管理者コース)	東京慈恵会医科大学(東京都)	バイオメディカルサイエンス研究会 小松俊彦 他
堀元 栄詞	平18.9.5 ～10.6	特別課程ウイルスコース	国立感染症研究所(東京都)	国立感染症研究所 感染症情報センター 第6室長 木村博一 他
滝澤 剛 則	平18.9.28 ～29	平成18年度感染症危機管理研修会	国立感染症研究所(東京都)	国立感染症研究所 田代真人他

受講者氏名	研修期間	研 修 内 容	研 修 機 関	講師所属氏名
堀元栄詞	平18.11.2	平成18年度動物由来感染症対策（狂犬病予防含む）技術研修会	JA ホール（東京都）	厚生労働省 滝本浩司 他
綿引正則	平18.11.4 /11.25 /12.9	第4回富山県院内感染対策担当者（TICS）養成研修	富山大学医学部付属病院（富山市）	長崎大学医学部 安岡彰他
小原真弓	平 18.11.9 ～10	PAP 法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法	国立感染症研究所（東京都）	国立感染症研究所 高崎智彦 他
木全恵子	平18.11.23	第1回病原体輸送トレーニングコース	国立感染症研究所	航空危険物安全輸送協会 丸尾進他
綿引正則	平 18.11.30 ～12.1	全国自然毒中毒講演会・研究会	姫路商工会議所、 姫路市中央健康センター	東京医療保健大学教授・ 野口玉雄他
木全恵子	平 19.1.25 ～26	東海北陸ブロック微生物部門研修会	愛知県衛生研究所	栄研化学 佐々木泰治 他
嶋智子 小原真弓	平 19.2.15 ～16	平成18年度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 宮村達男他
磯部順子 堀元栄詞	平19.2.21	平成18年度臨床衛生検査研修会	サンシップとやま	富山大学医学部看護学科 落合宏

(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
清水 徹	金沢大学大学院医学系研究科	平18.11.27 ～11.28	嫌気性細菌の遺伝子検査、病原性に関する指導、助言
伊木雅之	近畿大学医学部公衆衛生学教授	平19.1.12～13	骨粗鬆症の予防と生活習慣要因に関する研究について指導
加賀谷重浩	富山大学大学院理工学研究部助教授	平19.3.2	金属イオン分析法について

(15) セミナーの開催

衛生研究所、薬事研究所、環境科学センター 3研究機関合同セミナー

演 題	講師氏名	所 属 職 名	年 月 日
クロストリジウム属菌のゲノム解析と病原性との関連について	清水 徹	金沢大学 大学院医学系研究科	平18.11.27
エビデンスに基づく骨粗鬆症予防対策と今後の課題	伊木雅之	近畿大学医学部公衆衛生学教授	平19.1.12
重金属錯体含有廃液の化学的処理	加賀谷重浩	富山大学大学院理工学研究部助教授	平19.3.2

(16) 各種規定等

名 称	施 行	最 終 改 訂
放射線障害予防規定	昭和44年 8月 1日	
病原体等安全管理規定	平成10年 4月 1日	平成17年 7月1日
毒物及び劇物取扱い規定	平成11年 4月 1日	平成12年12月15日
実験動物管理運営規定・動物実験施設利用規定	昭和59年 4月 1日	平成14年9月1日
研究評価実施要領	平成15年 5月28日	
倫理審査委員会設置要綱	平成15年 5月28日	
組換えDNA実験安全管理規定	平成15年 9月18日	

2. 調 查 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18年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 松澤孝信 向野勝美¹

Results of the Neonatal Mass-Screening in Toyama Prefecture
(April 2006~March 2007)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takanobu MATSUZAWA and Katsumi MUKAINO¹

要旨 平成18年度の検体総数は10,216件で、スクリーニングの結果、クレチン症の患者が6人と高フェニルアラニン血症の患者が1人発見された。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30年間で39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0人、ヒスチジン血症33人）、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が27年間で115人、先天性副腎過形成症が18年間で12人となった。また、その他の疾病については、今年度までに、高フェニルアラニン血症11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18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、クレチン症、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18年4月より、平成19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（6分法）で測定した[1,2].

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法（バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用）により、濾紙血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を使用した[5].

③先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）

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（栄研化学社製キット「17-OHP D-ELISA'栄研II'」使用）による17-OHP（17-Hydroxy progesterone）の測定を行った。

1 富山県厚生部健康課

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 抽出法 ≥3.0ng/ml	直接法10ng/ml 以上 で何らかの症状がある

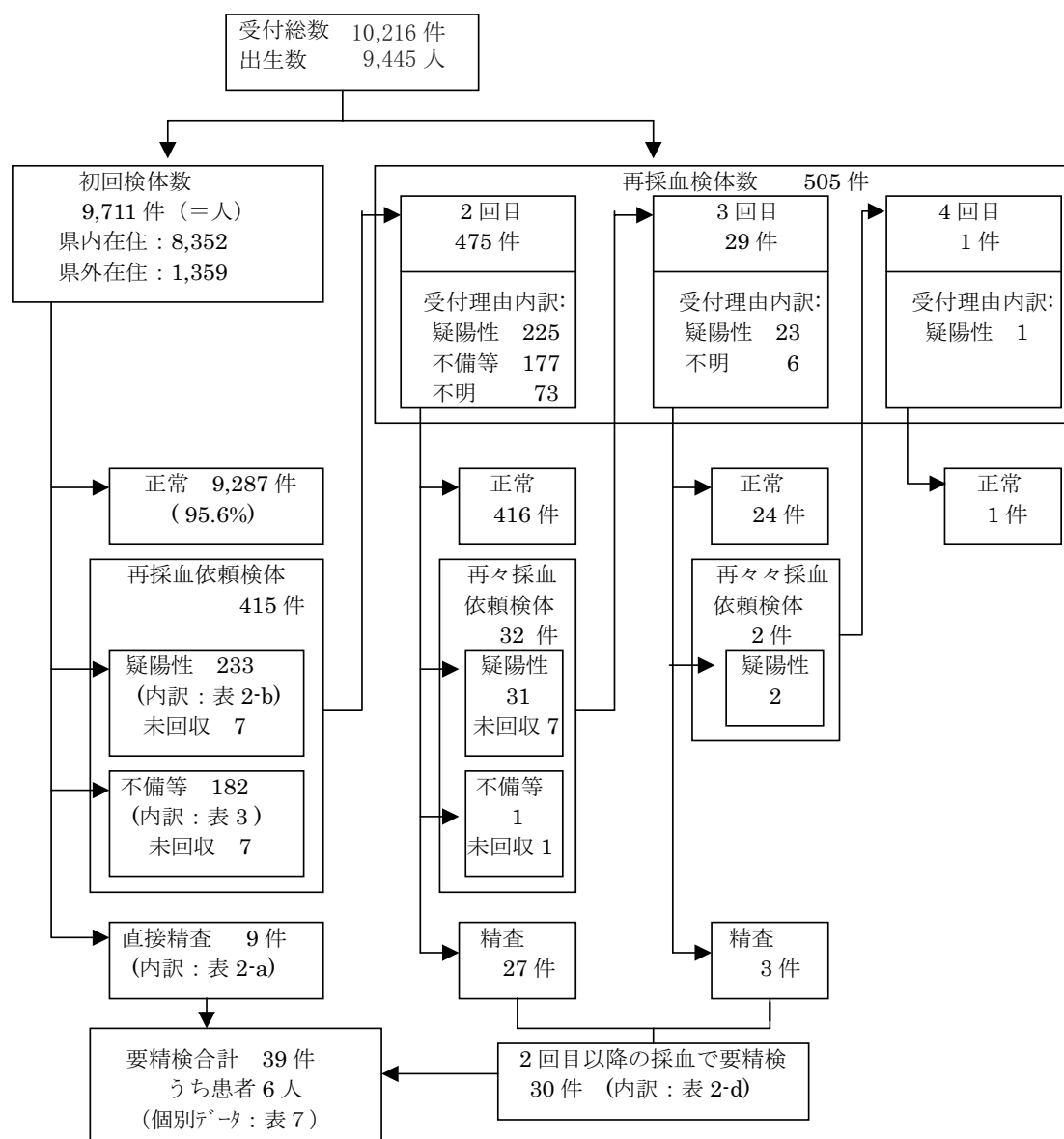


図 1. 検査の流れおよび検査件数の概要

terone) 値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

栄研化学社製血液濾紙自動パンチャー「RP-96」で、検体をマイクロプレートにサンプリングした。

(4) 判定基準

表1に示した。

この判定基準に従い、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[6]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、10,216件で、県内45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9,445人であり、初回検体数9,711件(人)から計算すると受検率は102.8%となるが、初回検体のうち県内在住者は8,352人、県外在住者は1,359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88.4%であった。また、県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

初回検体のうち9,287件(95.6%)は正常と判定されたが、233件(2.4%)は疑陽性のため、182件(1.9%)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(0.09%)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505件のうち、30件(5.9%)は要精検と判定され、直接精査分と合わせ、計39件が要精検と判定された。

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾患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疾患で0.38%、クレチン症は1.32%および副腎過形成症は0.93%となり、合計2.63%であった。なお、現在再採血率の目安は代謝異常症4疾患で0.5%程度、クレチン症は0.5～1.0%、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[7]。副腎過形成症の再採血率が高い傾向が見られたが、表2に示したように再採血を必要とした児の約2/3は2,000g未満の低出生体重児であった。

また、1検体で2疾患が同時に疑陽性となった検体が3件あった。これらは、フェニルケトン尿症とメイプル

表2. 疑陽性による再採血依頼数および要精密検査検体数の内訳

	採血回数					総受付検体		
	直接精査	疑陽性による再採血依頼数	再採血率 (%)	要精検数	疑陽性による再採血依頼数	要精検合計 [患者数]	疑陽性総件数	再採血率 (%)
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)	(f)=(a)+(d)	(g)=(b)+(e)	(h)
フェニルケトン尿症	0	4	0.04	3	0	3	4	0.04
ホモシスチン尿症	0	0	0.00	0	1	0	1	0.01
メイプルシロップ尿症	0	6	0.06	0	1	0	7	0.07
ガラクトース血症	0	25	0.26	2	2	2	27	0.26
クレチン症	4	125	1.29	21	10	25 [6]	135	1.32
副腎過形成症 (うち低体重児数)	6 (4)	75 (45)	0.77	4 (3)	20 (17)	10 (7)	95 (62)	0.93
合計 《うち2疾患以上の重複数》	10 《1》	235 《2》	2.42	30	34 《1》	40 [6] 《1》	269 《3》	2.63

[] : 患者数

表 3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼

不備理由	初回検体のみ	総受付検体
3日以内に採血	5	5
血液量不足	5	6
古い	17	17
哺乳不良	22	22
低体重、古い	1	1
低体重、哺乳不良	6	6
低体重	126	126
合計	182	183

表 4. 月別検査実施状況

年	平成18年									平成19年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
受付検体総数 (件)	767	854	825	888	960	845	922	834	752	939	766	864	10,216	
内 訳	初回検査数 (件)	736	805	793	846	905	822	872	792	710	885	731	814	9,711
	再採血総数 (件)	31	49	32	42	55	23	50	42	42	54	35	50	505
	再採血内訳													
	2回目	30	47	31	39	50	22	48	40	39	49	34	46	475
	3回目	1	2	1	3	4	1	2	2	3	5	1	4	29
4回以上	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	
疑陽性件数 (要精検数)	フェニルケトン尿症	0	1	0(1)	0	0	1	1(1)	0	0	0	0	1(1)	4(3)
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
	メイプルシロップ尿症	0	0	0	1	2	0	1	0	1	0	0	1	6
	ガラクトース血症	3	2	0	2	1(1)	4	1	3	2	3(1)	1	5	27(2)
	クレチン症	5(1)	9(1)	10	15(1)	17(4)	8(2)	6(4)	12	12(4)	14(2)	10(3)	18(2)	136(25)
	副腎過形成症	9	5	9(1)	8(1)	6	8(2)	12(1)	8	14	6(2)	3(1)	7(2)	95(10)
計	17(1)	17(1)	19(2)	26(2)	26(5)	21(4)	21(6)	23	29(4)	23(5)	14(4)	33(5)	269(40)	

シロップ尿症、メイプルシロップ尿症とクレチン症、ガラクトース血症とクレチン症の2項目同時疑陽性で、それぞれ1件ずつであった。

疑陽性のため再採血を依頼した件数は合計269件で、そのうち、平成18年6月8日末現在255件が再採血され、その回収率は94.8%であった。再採血を依頼しても1か月以上検体を送られてこない場合は再依頼しているが、疑陽性で再採血依頼し回収できなかった症例のうち、病院で再検査された例が8件あった。その他の未回収検体のほとんどが、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アップされていると思われる。

(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が5件、血液が不足している検体が6件、採血後日数が経ち過ぎている古い検体が17件（最長 225日）あった。古い検体のうち、採血後225日も経って届いた検体が3件あった。これらは平成18年7月に採血されたもので、当所に届いたのが翌19年2月であった。採血した医療機関が原因を調査したが、究明することができなかった。これら3検体のうち1検体は、当所で再検査を行った結果、異常は認められなかった。他の2検体については、採血した医療機関が児の保護者に事情を説明し再受検のため小

表 5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					代謝 異常症	クレチン症	副腎 過形成症	代謝 異常症	クレチン症	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 ～12年度	138,823	129,883	122,205	106.3	2,095	1,798	1,047	123(7)	318(52)	195(12)
平成13年度	11,574	10,907	10,050	108.5	53	139	135	7(0)	36(8)	12(0)
平成14年度	11,216	10,506	9,766	107.6	42	167	159	8(0)	27(3)	22(0)
平成15年度	11,046	10,374	9,509	109.1	52	134	98	8(0)	25(4)	13(0)
平成16年度	10,582	10,003	9,168	109.1	30	112	90	4(1)	16(4)	7(0)
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)
計	355,909	335,096	335,866	—	4,417*	3,457	1,747	244*(39**)	603(115)	267(12)

() は、対象疾病患者数

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

* * : この他に対象疾病以外の患者17人あり(高フェニルアラニン血症11人, チロジン血症2人, G6PD 異常症2人, シトリン欠乏症2人)

表 6. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区 分	富 山 県				全 国	
	平成18年度		昭和52年度～平成18年度		昭和52年度～平成17年度	
受検者数	9,711人		335,096人		36,776,471人	
患者数, 発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
疾病名						
フェニルケトン尿症	0		5	1/ 67,000	481	1/ 76,500
ホモシスチン尿症	0		0	1/ 6,000 ¹⁾	184	1/199,900
ヒスチジン血症	—		33		2,200	1/ 9,600 ⁴⁾
メイプルシロップ尿症	0		1	1/335,100	76	1/483,900
ガラクトース血症	0		0		1,015	1/ 36,200
クレチン症	6	1/1,600	115	1/ 2,700 ²⁾	9,492	1/ 3,500 ⁵⁾
先天性副腎過形成症	0		12	1/ 15,900 ³⁾	1,270	1/ 17,300 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18年度 受検者数 306,646人 5) 昭和54年度～平成17年度 受検者数 33,442,336人

3) 平成元年度～平成18年度 受検者数 191,211人 6) 昭和63年度～平成17年度 受検者数 21,912,285人

児科を紹介したとのことであるが、小児科を受診したかどうかを確認することはできなかった。これまでも、採血後すぐに郵送されたはずの検体が、何らかの事情で10日以上経って届くケースが数件あり、医療機関によっては、検体送付と当所での受け取りの確認のために、簡易書留郵便を利用しているところがある。また、採血医療機関においては、検体の送付記録と当所が送付する検査結果報告書との照合を確実に行うことによっても、検体の当所への送付確認が可能であると考えられた。

2,000 g未満の低出生体重児については、体重が2,500 gに達した時か、1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している。今年度は133件に対して再採血を依頼した。このうち哺乳不良が6件あった。また、哺乳不良のみの検体は22件であった。

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は182件で、このうち再検査できたのが175件(回収率96.2%)であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

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

なお、全国集計は、特殊ミルク情報[8,9,10]より数を訂正し引用した。富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/8,600、クレチン症が1/2,700、副腎過形成症が1/15,900である。全国の患者発見率と比較すると、クレチン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39人、クレチン症が135人、先天性副腎過形成症が95人であった。また、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症5人、クレチン症25人、先天性副腎過形成症10人であった。なお、この中に、初回検査でクレチン症と先天性副腎過形成症の2項目が要精密検査となった1例が含まれており、それぞれの疾患の人数としてあげた。

表7に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた。クレチン症の患者と診断されたのは、クレチン症の疑いの症例5、8、11、13、14、17の6人であった。この他に、フェニルケトン尿症疑いの症例2は高フェニルアラニン血症と診断された。

なお、当所では、精密検査が必要となった場合には、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、治療病院名、主治医名、精密検査の結果及び診断名を記入し返送してもらうシステムをとっている。この回収率は、69.2% (27例/39例)であった。なお、回収できなかった12例は経過観察中で、そのうちの10例が当所でフォローアップ検査を行なっている。なお、

表7には、主治医が報告した診断名を示した。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで3人、ガラクトース血症の疑いで2人が要精密検査となった。フェニルケトン尿症の疑いの症例2は、血中、尿中プテリジン分析を行った結果、高フェニルアラニン血症と診断され、定期的にフォロー中である。この症例の兄(H13年生)もフェニルケトン尿症の疑いで要精密検査となっており、経過観察中である。

ガラクトース血症の疑いの症例2は、初回検査ではクレチン症の項目で疑陽性となり再検査を実施した。その結果、TSH値は低下が認められず、さらにガラクトースも高値となり3回目の検査を行った。生後21日で採血された3回目の検体で検査した結果、TSH値はカットオフ値以下に低下したが、ガラクトース高値が持続していたため、ガラクトース血症の項目で要精密検査とした。現在経過観察中であるが、ガラクトース値は低下し、アミノ酸値も正常となっている。

(2) クレチン症

要精密検査となった25人のうち、初回検査でTSHが異常高値で直接精査となった症例5を含む6人が患者と診断された。

症例8は、再検査のTSH値は、初回検査の結果に比べると低下はしているものの、依然カットオフ値以上であったため、要精密検査とした。医療機関に結果を報告した時点で、すでに治療が開始されていた。

症例11は、初回検査で17-OHP高値であり副腎過形成症の疑陽性のために再検査が必要となった。再検査の結果では、TSH値が $100\mu\text{U/ml}$ 以上で異常高値となっており、要精密検査となった。医療機関での検査結果でもTSH値は $200\mu\text{U/ml}$ 以上であり、患者と診断された。この児は双生児で、もう一方の児は正常であった。

症例13は、初回検査、再検査とも、TSH値はカットオフ値($8\mu\text{U/ml}$)付近であり、再検査でもTSH値の低下が認められなかったため要精密検査とした。医療機関でのTRH負荷テストの結果、TSH過剰分泌が認められたため、軽症クレチン症として治療が開始された。

症例16は、TSH値が漸次上昇し、精密検査時には $50\mu\text{U/ml}$ 以上となったため、クレチン症の疑いで経過観察されている。なお、平成15年生まれの兄もクレチン症の疑いで要精密検査となっていて、一過性高TSH血症の疑いで経過観察されていた。

症例17は、2回目の検査の結果、TSH値は初回検査値に比べ低下傾向ではあるが、カットオフ値付近でのバラツキが認められたため、念のためもう一度検査す

表7. 要精検患者の検査状況と結果(1)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績	診断名等	
フェニルケトン尿症	1		男	5	Phe 2.11 mg/dl 2.0	経過観察中	
				12	Phe 2.12 mg/dl 2.0		
	2		男	4	Phe 2.04 mg/dl 2.115	高フェニルアラニン血症	
				11	Phe 2.35 mg/dl 2.825 2.505		
	3		女	4	Phe 2.48 mg/dl 2.805	経過観察中	
				10	Phe 2.07 mg/dl 2.28		
	ガラクトース血症	1		男	6	Gal 4.31 mg/dl ポイトラー法正常 3.51 3.36	経過観察中
					12	Gal 3.92 mg/dl ポイトラー法正常 3.80 3.69	
		2		男	5	Gal 0.52 mg/dl ポイトラー法正常 TSH 10.37 μ U/ml 9.875	経過観察中
12					Gal 3.42 mg/dl ポイトラー法正常 3.37 TSH 8.97 μ U/ml 9.035		
21					Gal 3.57 mg/dl ポイトラー法正常 3.045 TSH 5.28 μ U/ml 4.54		
クレチン症		1		女	5	TSH 10.3 μ U/ml 8.9	一過性高TSH血症疑い
					10	TSH 8.3 μ U/ml 9.1	
		2		女	5	TSH 8.4 μ U/ml 9.6	高TSH血症
					12	TSH 9.55 μ U/ml 9.55	
	3		男	5	TSH 9.25 μ U/ml 8.75		
				10	TSH 10.3 μ U/ml 9.35		
	4		女	5	TSH 9.3 μ U/ml 9.8	異常なし	
				11	TSH 10.9 μ U/ml 9.95		
	5 *		男	5	TSH 36.3 μ U/ml 39.1	先天性甲状腺機能低下症 (高TSH血症)	
	6		女	5	TSH 15.5 μ U/ml 12.85	一過性高TSH血症	
				13	TSH 11.3 μ U/ml 12.6 10.95		
	7		男	5	TSH 11.8 μ U/ml 12.0	経過観察中	

表 7. 要精検患者の検査状況と結果 (2)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	7		男	11	TSH 9.5 μ U/ml 9.95	経過観察中
	8 *		女	5	TSH 20.0 μ U/ml 20.4	先天性甲状腺機能低下症
				12	TSH 10.7 μ U/ml 13.4 10.25	
	9		男	5	TSH 14.2 μ U/ml 12.55	一過性高TSH血症 (疑)
				13	TSH 12.21 μ U/ml 12.055 15.03	
	10		女	5	TSH 27.05 μ U/ml 28.915 20.5	一過性甲状腺機能低下症
				10	TSH 49.16 μ U/ml 42.825	
	11 *		女	4	17-OHP 14.5 ng/ml 17-OHP 3.1 ng/ml 直接法 15.35 抽出法 TSH 2.5 μ U/ml	甲状腺機能低下症
				41	TSH 177.56 μ U/ml 17-OHP 2.87ng/ml 17-OHP 1.0 ng/ml 直接法 抽出法	
	12		男	5	TSH 26.98 μ U/ml 21.145	甲状腺機能低下症疑い (一過性の可能性あり)
				18	TSH 14.49 μ U/ml 14.525 16.78	
				31	TSH 19.63 μ U/ml 20.275 15.87	
	13 *		男	7	TSH 8.22 μ U/ml 9.95 7.83	軽症クレチン症
				16	TSH 8.32 μ U/ml 8.16 7.6 7.025	
	14 *		女	5	TSH 14.87 μ U/ml 15.04	クレチン症
				8	TSH 16.08 μ U/ml 13.81 10.515	
	15		男	5	TSH 8.35 μ U/ml 8.23	クレチン症疑い (一過性高TSH血症)
13				TSH 9.52 μ U/ml 9.70		
16		男	4	TSH 8.98 μ U/ml 8.10	クレチン症疑い	
			9	TSH 18.78 μ U/ml 16.05		
17 *		女	6	TSH 9.81 μ U/ml 9.375	甲状腺機能低下症	
			15	TSH 8.84 μ U/ml 8.55		

表 7. 要精検患者の検査状況と結果 (3)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績	診断名等
クレチン症	17	*	女	30	TSH 27.78 μ U/ml 31.29	甲状腺機能低下症
	18		女	22	TSH 37.725 μ U/ml 32.32 17-OHP119.8 ng/ml 17-OHP14.29ng/ml 直接法 抽出法	経過観察中
	19		男	10	TSH 3.72 μ U/ml	
				30	TSH 31.26 μ U/ml 32.605	
	20		男	5	TSH 69.93 μ U/ml 51.7	異常なし
	21		男	5	TSH 37.35 μ U/ml 32.985	異常なし
	22		女	5	TSH 8.14 μ U/ml 8.91	高TSH血症
				14	TSH 10.07 μ U/ml 9.42	
	23		女	4	TSH 13.22 μ U/ml 14.22	一過性高TSH血症
				10	TSH 10.32 μ U/ml 8.80	
	24		女	5	TSH 8.62 μ U/ml 8.83	経過観察中
				14	TSH 10.75 μ U/ml 11.32	
	25		女	5	TSH 10.11 μ U/ml 8.75	クレチン症疑い
			13	TSH 16.56 μ U/ml 18.11		
先天性副腎過形成症	1		男	5	17-OHP161.0 ng/ml 17-OHP88.25ng/ml 直接法 抽出法	経過観察中 在胎週数 25 週 生下時体重 758 g
	2		男	14	17-OHP 21.8 ng/ml 17-OHP 5.1 ng/ml 直接法 19.4 抽出法	異常なし 在胎週数 28.6 週 生下時体重 1437 g
				40	17-OHP 34.0 ng/ml 17-OHP 5.55ng/ml 直接法 34.95 抽出法 34.85	
	3		男	5	17-OHP 13.0 ng/ml 17-OHP 2.2 ng/ml 直接法 13.3 抽出法	一過性17-OHP高値 在胎週数 36 週 生下時体重 2366 g
				9	17-OHP 16.1 ng/ml 17-OHP 4.15ng/ml 直接法 16.1 抽出法 15.7	
	4		男	5	17-OHP 49.9 ng/ml 17-OHP15.5 ng/ml 直接法 49.9 抽出法	高17-OHP血症 在胎週数 33 週 生下時体重 2235 g
	5		男	20	17-OHP 9.89ng/ml 17-OHP 3.27ng/ml 直接法 10.53 抽出法	経過観察中 在胎週数 27 週 生下時体重 1044 g
				32	17-OHP 24.19ng/ml 17-OHP 6.08ng/ml 直接法 22.72 抽出法 21.76	
6		女	8	17-OHP322.6 ng/ml 17-OHP138.0ng/ml 直接法 抽出法	超低出生体重児 (経過観察) 在胎週数 24.6 週 生下時体重 628 g	
7		男	8	17-OHP 63.71ng/ml 17-OHP11.73ng/ml	早産、低出生体重児 (経過)	

表 7. 要精検患者の検査状況と結果 (4)

疾病名	症 例	患 者	性 別	日 令	検査成績		診断名等
					直接法 58.7	抽出法	観察) 在胎週数 34 週 生下時体重 2260 g
先天性副腎過形成症	8		男	5	17-OHP 10.28ng/ml 直接法 11.03	17-OHP 2.19ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 29.5 週 生下時体重 1370 g
				43	17-OHP 16.95ng/ml 直接法 17.47 16.14	17-OHP 6.43ng/ml 抽出法	
	9		男	32	17-OHP 60.08ng/ml 直接法 69.32	17-OHP10.66ng/ml 抽出法	経過観察中 在胎週数 26.6 週 生下時体重 1111 g

ることとした。生後1か月時に採血された3回目の検査の結果、TSHは30 μ U/ml以上となっており、医療機関に精密検査をお願いした。精密検査の結果、患者と診断された。

症例18は、出生時体重828gの極小未熟児であり、クレチン症と副腎過形成症の2項目で要精密検査となった。生後3か月時の検査では、2項目とも正常範囲内であった。

症例19は、初回検査ではTSH値は正常範囲内であったが、出生時体重が1,673g、哺乳状態も不良のため要再検査となった。2回目の検査の結果、TSH値が30 μ U/mlと上昇していたため、要精密検査とした。医療機関(小児科)からの結果報告は未だない。

症例20, 21は、双生児の同胞例で、2例とも初回検査でTSH高値のため、要精密検査となった。2週間後の検査ではTSH値は正常化している。

(3) 副腎過形成症

要精検となった9人のうち、6人が2,000g未満の低出生体重児であった。

ほとんどの児は、生後2~3か月時の検査で17-OHP値が正常化している。

3. 精度管理

精度管理センターから毎月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の異常検体は全てカットオフ値以上で拾い上げられており、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。

また、試行的に実施したブラインドサンプルによる外部精度管理[11]についても、異常項目を見逃すことなく発見し、迅速に確実に病院に連絡した。

考 察

富山県ではクレチン症の発見率が、全国に比べ高く

なっているが、今年度は6人がクレチン症の患者と診断された。さらに、クレチン症の疑いで4人が経過観察中であり、今後患者数が増える可能性がある。前報[12,13]でも述べたが、クレチン症の病態の多様性を十分に認識し、患者の見逃しが起こらないような検査体制を構築するとともに、継続的なフォローアップや全国規模の追跡調査体制の確立の必要性があると考えられた。

また、ここ数年続いて、医療機関で採血後かなり日数がかかって当所に届く検体が見受けられるが、その原因を解明することは困難であった。万が一、発見の遅れや検査漏れのために、患者の治療が手遅れにならないように、各採血医療機関においても早急に何らかの対策を講じる必要があると考えられた。

ところで、今年度より、厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合事業)「我が国の21世紀における新世紀マスキングのあり方に関する研究」の分担研究「現行マスキングの問題解決に関する研究」の中の課題である外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の検討[11]に協力することになり、平成19年1月と2月に、ブラインドサンプルによる外部精度管理を試験的に実施した。現行の外部精度管理は、それと明らかに判る検体が送付されるため、その検体だけを特別扱いするつもりがなくても注意をして検査する状況になってしまい、検査施設の真の検査水準を評価するには不十分であると考えられる。しかし、ブラインドサンプルは、いつ送付されるか判らないため、常に緊張感のある検査を行うことが必要となる。このことは、常に見逃しのない検査を実施することになり、検査施設の水準向上にも繋がるものとする。今後は、協力いただける医療機関を増やし、ブラインドサンプル導入に向けて検討を加えたい。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2001). 富山衛研年報, 24, 48-53.
2. 米田 豊, 九曜雅子(2005). 富山衛研年報, 28, 33-40.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212.
4. 米田 豊, 九曜雅子 (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
5. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三(1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
6. 米田 豊 (1999). 富山衛研年報, 22, 54-57.
7. 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.
8. 先天性代謝異常検査及び B 型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生省児童家庭局母子保健課 (1999). 特殊ミルク情報, 36, 136-138.
9. 先天性代謝異常検査及び B 型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課(2001). 特殊ミルク情報, 37, 99-101.
10. 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 (2004). 特殊ミルク情報, 40, 114-116.
11. 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.
12. 九曜雅子, 米田 豊, 松澤孝信, 石丸敏子 (2006). 富山衛研年報, 29, 23-33.
13. 九曜雅子, 米田 豊 (2006). 富山衛研年報, 29, 157-159.

新生児スクリーニングのための酵素サイクリング法による血液ろ紙中 遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの定量法 (第2報)

米田 豊 九曜雅子

Determination of Free Carnitine and Total Acylcarnitine in Dried Blood
Specimens for Neonatal Screening (The Second Report)

Yutaka YONEDA, Masako KUYO

要旨 前報[1]では乾燥ろ紙血液中の遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの定量法として、酵素法によるガラクトースの測定残液を用い、ガラクトース分析に続けて、カルニチン類を測定する方法を報告した。しかし、この方法は分析時間に5時間以上を要するため、今回、カルニチン類を単独測定することで迅速化を図ることを検討した。本法を一般新生児の血液ろ紙1813検体に適用した結果、遊離カルニチン、総アシルカルニチン及び総カルニチン定量値の平均及び標準偏差は順に $31.3 \pm 8.3 \text{ nmol/ml}$ 、 $22.2 \pm 6.7 \text{ nmol/ml}$ 及び $3.4 \pm 13.1 \text{ nmol/ml}$ であった。

遊離カルニチンは脂肪酸代謝異常症である全身性カルニチン欠損症 (carnitinetransporter 異常症) 及び carnitine palmitoiltransferase (CPT)-II 欠損症 (全身型) では低値を示し、CPT-I 欠損症では高値となることから、脂肪酸代謝異常症のスクリーニング指標として利用されている[2]。また、ファンコニー症候群や栄養障害でも低値を示すことが知られている。我々は、先に、酵素法によるガラクトース (Gal) 測定キットを用い、Gal 定量を行った残液にカルニチンデヒドロゲナーゼ(CDH)を添加して、遊離カルニチンを測定し、更に、アシルカルニチンエステラーゼ(ACE)を添加して総カルニチンを測定し、その差から総アシルカルニチン濃度を求める方法 (図1) を報告した[1]。この方法は、Gal 測定キットを使用できるため、試薬調製等の操作が簡易ではあるが、Gal 測定後にカルニチン分析を行うため全体の測定時間が5時間以上を要する欠点があった。そこで、今回、自家調製試薬により単独でカルニチンを測定する方法を検討し、また、これら2方法でのカルニチン測定値の比較を行った。

実験方法

1 試薬

CDH 及び ACE は旭化成(株)製 81.000 U/mg 及び 6.03 U/mg を用いた。レサズリンはシグマ社製、NAD リチウム塩 (NAD-Li) はベーリンガー・マンハイム社製を用いた。ジアホラーゼ(DA)はシグマ社製、オリエンタルイースト社製、ユニチカ製 DA-I 及び DA-

II を用いた。なお、各 DA の規格を表1に示した。

DA 溶液：各社のジアホラーゼに、それぞれ精製水を加え 400 U/ml の濃度となるよう調製し DA 原液とした。

CDH-NAD-DA 混合液：NAD-Li 28.1 mg を精製水 9.8 ml に溶解し、これにユニチカ製 DA-I の 1000 U/vial を精製水 2.5 ml に溶解した DA 原液 $200 \mu\text{l}$ を添加し NAD-DA 混合液を調製した。次に、別の試薬ビンに秤量した CDH 2 mg をこの NAD-DA 混合液 10 ml を用いて溶解した。本溶液は 16.2 U/ml CDH 及び 8 U/ml DA 含有 2.8 mg/ml NAD 溶液であり、96穴マイクロプレート2枚の測定が可能である。

ACE 溶液：ACE 5 mg を精製水 3 ml に溶解し、更に精製水で10倍に希釈して用いた。本溶液は 1 U/ml ACE 溶液である。

レサズリン溶液： 10 mM レサズリン含有 0.2 M トリス緩衝液 (pH8) $200 \mu\text{l}$ を 0.2 M トリス緩衝液 (pH8) を用い全量 50 ml に希釈し用いた。本溶液は $40 \mu\text{M}$ レサズリン含有 0.2 M トリス緩衝液 (pH8) である。

0.2 M グリシン緩衝液 (pH9.6)：グリシン 15.0 g 及び塩化カリウム 14.9 g を約 700 ml の精製水に溶解後、 2 N 水酸化カリウム溶液で pH を 9.6 に調整し、更に精製水を加えて全量を 1 L にした。

2 カルニチン標準ろ紙血液の作成

和光純薬製精度管理用凍結乾燥牛血液1バイアルを精製水 25 ml に溶解し、ブランク血液とした。次に 25 mmol/L カルニチン溶液 $1670 \mu\text{l}$ をブランク血液で希

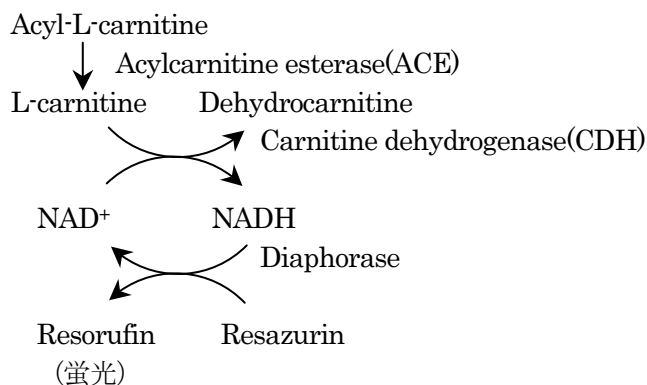


図1. 測定原理

表1 ジアホラーゼの規格

製造	シグマ	オリエンタル	ユニチカ	ユニチカ
販売	シグマ	和光純薬	生化学工業	生化学工業
タイプ			I	II
コード	D-5540	46445003	100436	100437
EC	1.8.1.4	1.6.99.2	1.6.99.-	1.8.1.4
由来	Clostridium kluyveri	Clostridium kluyveri	Bacillus stearothermophilus	Bacillus stearothermophilus
比活性	4.9U/mg solid 5.1U/mg prot.	74U/mg solid 91U/mg prot.	1.000U/solid 1,850U/mg prot.	108U/mg solid 184U/mg prot.
至適 pH	7.5	7.5	8.0	6.5
分子量			約 30,000	約 110,000
安定性 pH 耐熱性			pH7.5-9.5, 4°C,24h 50°Cまで	pH6.5-8, 4°C,24h 60°Cまで
基質特異性				
DCIP			100%	20%
NBT			19%	110%
NADH				100%
NADPH				1%
INT			24%	

DCIP: 2,6-Dichlorophenolindophenol

NBT: Nitroblue tetrazolium

NADH: Nicotinamide-adenine dinucleotide reduced form

NADPH: Nicotinamide-adenine dinucleotide phosphate reduced form

INT: p-Iodonitrotetraolium

積し全量2.5mlとし、カルニチン濃度が(1670+ α) μ mol/Lのカルニチン添加血液を調製した。このカルニチン添加血液を更にブランク血液で希釈し、16.7, 41.7, 83.3, 167.0及び250.0 μ mol/Lのカルニチン添加血液を調製した。また、これらのカルニチン添加血液を用い、標準添加法によりブランク血液中のカルニチン濃度(α)を測定し、得られた値($\alpha=12.2\mu$ mol/L)を加えて、標準血液ろ紙中のカルニチン濃度とした。すなわち、標準血液ろ紙中のカルニチン濃度は12.2(カルニチン無添加), 28.9, 53.9, 95.5, 179.2及び262.2 μ mol/Lとした。

3 分析操作

Gal測定キットを利用するカルニチン測定は前報[1]の方法を用い、Gal測定キットを用いない本法は図2に示す下記の方法で測定を行なった。

1/8インチ径の血液ろ紙1枚を96穴マイクロプレート上のトランスファープレートに切出し、エタノール-アセトン-水(7:7:2)10 μ lにより37°Cで60分間色素の固定を行った。次に0.2Mグリシン緩衝液(pH9.6)50 μ lを添加し、25°Cで60分間カルニチンを溶出した。その後、遠心分離によりトランスファープレート内の溶出液を、マイクロプレートに移し、レサズリン溶液100 μ l及びCDH-NAD-DA混合液50 μ lを添加し、37°Cで60分間酵素反応を行った後、励起波長545nm、蛍光波長590nmで蛍光強度(F)を測定した。次に、検体セルにはACE溶液10 μ lを、ブランク及び標準血液ろ紙のセルには精製水10 μ lをを添加し、37°Cで90分間酵素反応を行い蛍光強度(T)を測定し、カルニチン標準ろ紙を用いて作成した検量線から蛍光強度F及びTに対応するカルニチン濃度(f及びt)を求めた。なお、空セルに試薬のみを添加したセルを、ブランクセルとした。

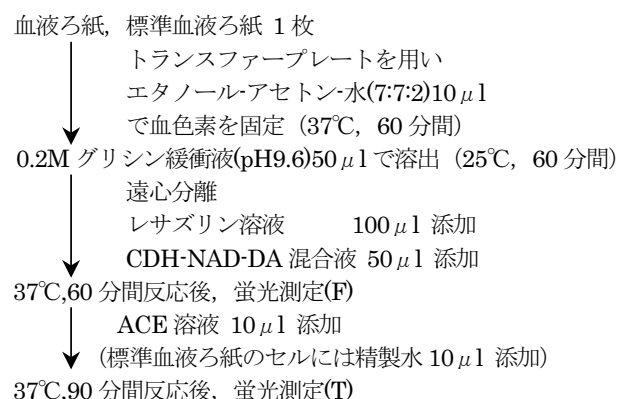


図2. カルニチンの測定操作

4 ジアホラーゼ活性の比較

ジアホラーゼ/レサズリンを用いる酵素サイクリング法では、ジアホラーゼの種類が測定感度に大きく影響することから、ジアホラーゼ4種を用いて比較を行った。即ち、50 μ mol/L NADH-0.2M トリス緩衝液(pH8)50 μ lに40 μ mol/lレサズリン含有0.2M-トリス緩衝液(pH8)100 μ l及び8U/mlジアホラーゼ-0.2M トリス緩衝液(pH8)50 μ lを加え、37°C恒温槽に入れ15分毎に蛍光強度を測定する試験を、各ジアホラーゼについて行い比較した。

5 新生児ろ紙血液への応用

一般新生児ろ紙血液1813検体を用い、Gal測定残液を用いる方法[1]及びカルニチンを単独で測定する方法(図2)により、遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを測定し比較した。

実験結果

1 ジアホラーゼ活性の比較

ジアホラーゼ4種を比較した結果は、図3に示すように、ユニチカ製(DA-1)で最も強い蛍光が得られ、反応は15分で完結した。なお、ユニチカ製(DA-1)の活性を100%とすると、シグマ社製、オリエンタルイースト製及びユニチカ製ジアホラーゼ(DA-2)の活性はそれぞれ46, 33及び17%であった。従ってユニチカ製(DA-1)を用いることとした。

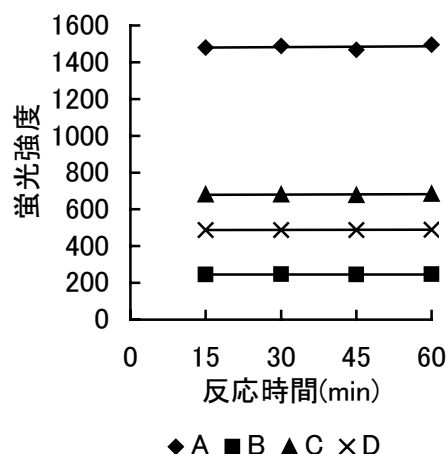


図3. ジアホラーゼの種類が蛍光強度に及ぼす影響
A: ユニチカ製(DA-1), B: ユニチカ製(DA-2),
C: シグマ社製, D: オリエンタルイースト社製

2 新生児ろ紙血液への応用結果

カルニチンの検量線は図4に示すように、ほぼ直線を示し、表2に示すカルニチン測定値が得られた。ま

表 2 新生児ろ紙血液中カルニチンの測定値

測定法	ガラクトース測定残液 を利用する方法	単独測定
試薬	エンザプレート GAL-R キット	自家調製試薬
検体数	2018	1813
遊離カルニチン	27.4±8.1	31.3±8.3
総アシルカルニチン	24.2±6.8	22.1±6.7
総カルニチン	51.6±12.9	53.4±13.1

Mean±SD (nmol/ml)

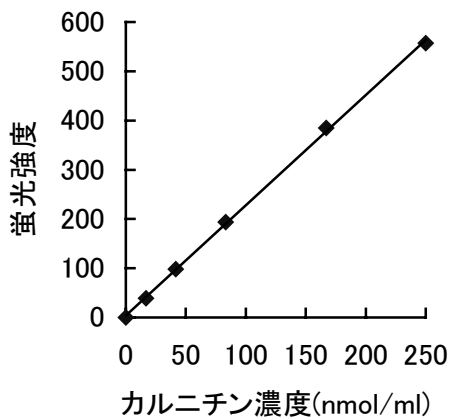


図 4. カルニチンの検量線

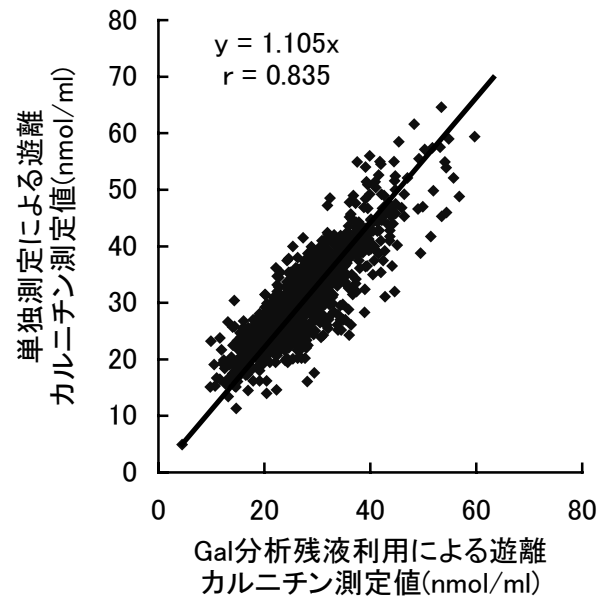


図5-1 遊離カルニチン測定値の比較

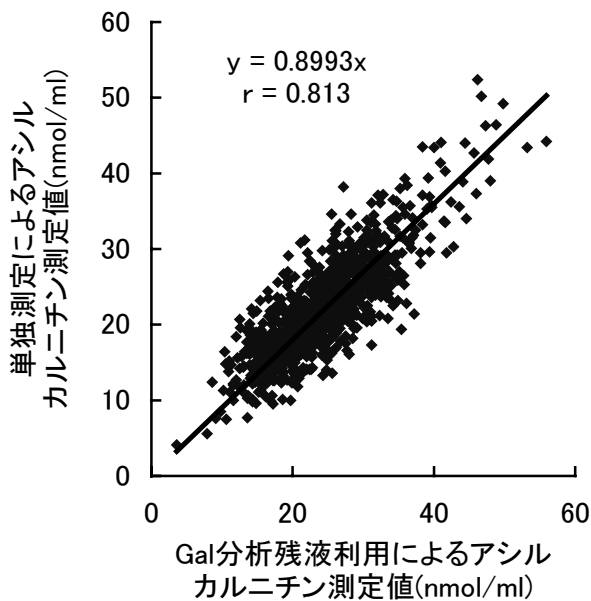


図5-2 アシルカルニチン測定値の比較

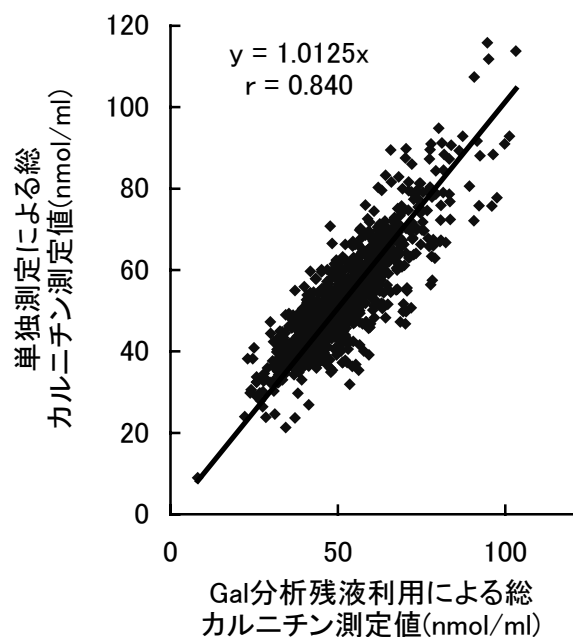


図5-3 総カルニチン測定値の比較

平成19年12月 1 日

た、カルニチンの Gal 分析残液を利用する測定法と単独測定法での比較を図5-1,5-2及び5-3に示した。総カルニチンは両測定法間でほぼ一致した測定値が得られたが、単独測定の場合は Gal 分析残液利用法に比較し、遊離カルニチンはやや高値が得られ、総アシルカルニチンはやや低値を示す傾向が見られた。

考 察

血中カルニチン分析は先天性脂肪酸代謝異常症が疑われた場合、MS/MS 法によるアシルカルニチンプロファイル分析の前段階で実施されている[2]。また、近年、子供のインフルエンザ脳症の発症原因と脂肪酸代謝との関連が指摘され、「多くの重症化インフルエンザ脳症は体温の上昇に伴う一過性の脂肪酸代謝酵素の活性低下が発症の誘因となり、その結果 ATP 産生が低下して起こった全身の多臓器不全ではないか」[3]と推定されており、実際にインフルエンザ脳症34例の調査[4]では、血中遊離カルニチンが測定された21例中5例でその低下が認められている。更に乳児突然死症候群(SIDS)と脂肪酸代謝異常症との関連も指摘されており、SIDS の5%以上に脂肪酸代謝異常が見出され

ているとの報告もある[5]。これらことから、脂肪酸代謝の指標として、血中カルニチンの測定意義は高いと考えられる。今回検討したカルニチン測定法は、新生児マス・スクリーニングのフェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症および Gal 血症の検査法として、すでに利用されている酵素サイクリング法とほぼ同様の方法であり、マス・スクリーニング検査への導入は容易と考えられ、今後、更に本法の有用性を検討する必要があると考える。

文 献

- 1) 米田 豊, 九曜雅子(2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1)57-63.
- 2) 高柳正樹(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌, 14(3)9-12.
- 3) 木戸 博, Ye Chen, Dengfu Yao, 長南 律, 塚根まり子(2006). 化学と生物, 44(2)114-120.
- 4) 黒田泰弘, 山口清次, 重松陽介, 吉田一郎他,(2003). 日本マス・スクリーニング学会誌, 13(2)60.
- 5) 山口清次(2007). 医報とやま, 1431,16-20.

ヒト染色体に関する調査研究 —血液，骨髓液— (平成18年度)

林 美貴子 品川保弘 本田幸子

Chromosome Analyses of Human Peripheral Blood Cells and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI, Yasuhiro SHINAGAWA and Sachiko HONDA

要 旨 平成18年度の血液の染色体分析依頼数は41件で，依頼理由は流産を繰り返すための原因検索が最も多かった。うち，1人が転座型保因者，1人が正常変異である9番染色体動原体部分逆位保因者であった。他の依頼理由では染色体異常は発見されなかった。また，昭和48年度から，平成18年度までに検査を行った実人数2,118人中，2,089人が検査可能であり，うち264人に染色体異常が発見されたため，染色体異常発見率は12.6%になった。

出生児の約0.6%が何らかの染色体異常を有すると報告されている[1]。これを富山県に単純に当てはめると年間出生数1万人に対し，約60人の染色体異常児が毎年出生することになる。さらに年々加算されていくことを考えるとこれは母子衛生上大きな位置を占めると考えられている。上記の0.6%のなかには性染色体異常のように新生児時期には判別し難いものや，均衡転座保因者のように流産の原因追究のなかで発見されるものもある。また，遺伝相談の普及や，不妊治療の発達に伴い，体外受精・顕微授精が増加し，そのため，染色体検査も増加している現状である。また，高精度分染法の発達や染色体の部分や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) 法の開発等により，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いる。

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し，その発生を減少させる目的で染色体分析法の研究を行うとともに昭和48年度から染色体検査を行ってきた。ここに，平成18年度の結果とともに過去34年間に検査を行った2,118人の検査内容について報告する。

実 施 方 法

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)については通常の方法により，3~4日間培養し，染色体標本を作製した[2]。また，染色は通常のG分染法と高精度分染法[3]を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上，分析数は20個以上行っ

表 1. 医療施設別依頼内訳 (昭和48~平成18年度)

病 院 名	年 度	
	H18	S48~H18
県立中央病院		1,103
富山赤十字病院	7	361
富山大学	3	164
富山市民病院	4	103
高志学園		92
高岡市民病院	5	33
氷見市民病院		32
済生会富山病院	2	28
厚生連高岡病院		24
さたけ産婦人科	8	22
砺波総合病院		19
富山保健所		17
黒部市民病院		14
済生会高岡病院		9
富山通信病院		9
国立富山病院		8
他 (県外分含)	2	110
計	41	2,148

表 2. 依頼理由別内訳 (平成18年度)

依頼理由	検査数	判定数	異常数
流産を繰り返す夫婦	37	37	1
内訳			
流産 1 回	7		
流産 2 回	8		
流産 3 回	4		
流産 4 回	6		
生産児 1 人と流産 2 回	4		
生産児 1 人と流産 3 回	6		1
生産児 1 人、流産 1 回と現在妊娠中	2		
低身長等	1	1	
脆弱 X 症候群の母	1	1	
ターナー症候群の疑い	1	1	
子宮内発育遅延	1	1	
計(人)	41	41	1

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。脆弱 X 染色体の検出には Medium199(Gibco)／牛胎児血清 5%を用い、3日間培養後標本作成し、G バンド標本で分裂像100個を観察し、脆弱 X 染色体の割合を計測した。

平成18年度の染色体検査依頼数は41件で、全て県内の病医院からの依頼であり、依頼病院内訳は表1に示した。

結 果

1. 平成18年度

平成18年度の依頼数は血液41件(人)であった。依頼理由のうち、最も多いものは不育症(反復流産・流産胎児の両親)であった。その他はターナー症候群の疑い等であった。うち、染色体異常は均衡転座保因者1人と9番染色体動原体部分逆位(正常変異)1人であった。各症例については下記に示した。

症例1. 転座型保因者(夫)

核型 46,XY,t(1;7)(q42;q32) (図1)

生産児1人、自然流産歴3回(各3ヶ月、6~7週、6~7週)。流産胎児の染色体分析は行われなかった。

FISH 法で転座を確認。

症例2. 9番染色体動原体部分逆位保因者(妻)

核型 46,XX,inv(9)(p11;q13)

流産1回、10週、子宮内胎児発育遅延。胎児細胞は増殖不良のため、分析不能であった。

2. 昭和48年度~平成18年度

検査開始当初からの受付件数は血液2,089件と骨髄液59件の計2,148件になったが、血液と骨髄液の重複、再検査による重複を除くと実人数は血液2,064人と骨髄液54人の計2,118人であった。そのうち、検査可能であった2,089人中264人に染色体異常が発見され、染色体異常率は12.6%になった(表3)。依頼数の最も多いものは不育症で全体の50.2%を占めた。そのうち、流産を繰り返す夫婦中、判定可能な943人中36人に染色体異常が発見され、異常率は3.82%、夫婦単位にすると約14組に1組の割合で染色体異常が認められた。その染色体異常の内訳は男性19人・女性17人とほぼ同じ割合で発見された。流産回数と染色体異常の有無について検討したところ、2回流産で検査を受けている人が最も多く、さらに、染色体異常のある人は流産歴2~4回に集中していた(表4)。全染色体異常の内訳については表5に、流産を繰り返す夫婦中、染色体異常の認められた36例の核型と既往歴については表6に示した。

考 察

前年度発見された脆弱 X 症候群の1例は葉酸欠乏培養液で培養した結果、fra(X)(q27.3)が15%の細胞に観察されたため、脆弱 X 症候群と判定したが、今年度は引き続き、母の検査を行った。母の場合、低頻度のfra(X)の存在が考えられたが、fra(X)は検出されず、低頻度の場合の検出力に課題を残した。

今年度検査を行った流産を繰り返す夫婦37人中、5人の女性に明らかな47,XXX および47,XX,+21の細胞が若干観察された。しかし、リンパ球培養時の X 染色体の不分離のし易さに起因するかどうかはわからない。

表 3. 染色体検査結果一覧(実人数) (昭和48~平成18年度)

依頼理由	依頼検査数	検査判定数	染色体異常	その他	染色体異常の主な核型
血液の依頼理由内訳					
①不育症	1,066	1,065	36	22*	
流産を繰り返す	944	943	36	21	均衡転座保因者,ターナー症候群
不妊症	104	104	0	1	
子宮内胎児死亡	18	18			
②児の異常疑い	341	334	151	2*	
ダウン症候群の疑い	138	136	111		21トリソミー
先天奇形	106	101	11		r(D),2pトリソミー等
発育不良・発育遅延	54	54	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	16	16	15		18トリソミー
猫なき症候群の疑い	6	6	1		5p部分モノソミー
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
プラター・ウリー症候群の疑い	4	4	1		15トリソミー
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		14トリソミー
Langer-Giedion 症候群の疑い	1	1	1		del(8)(q24.11q24.13)
DiGeorge 症候群の疑い	1	1	1		del(22)(q11.2q11.2)
脆弱 X 症候群の疑い	5	5	1		fra(X)(q27.3)
双胎間輸血症候群	2	2	2		46,XY/46,XX
③家族	300	300	15	2*	
染色体異常有り	177	177	15	1	均衡転座保因者等
染色体異常無し	123	123	0	1	
④性染色体異常の疑い	144	142	31	6**	
無月経	38	38	3	6	45,X/46,XX 等
ターナー症候群の疑い	35	35	17		r(X), i(Xp) 等
低身長	34	34	1		
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
陰欠損・鎖脛	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クライフェルター症候群の疑い	8	8	6		47,XXY
他の性染色体異常の疑い	6	6	0		
⑤白血病等	46	41	9	0	
白血病	41	36	6		Ph 染色体 等
ファンニー貧血	4	4	2		切断,キ・ャップ 45,X/46,XX
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クライフェルター症候群
⑥出生前診断	14	14	1	0	
胎児異常の疑い(胎児血液等)	14	14	1		18トリソミー
⑦その他	153	147	6	1*	
心臓病	10	10	1		45,X/46,XX
その他	143	137	5	1	均衡転座保因者等
血液の小計	2,064	2,043	249	33	
骨髄液の依頼理由内訳					
①白血病等	54	46	15	0	Ph 染色体等
合計(人)	2,118	2,089	264	33	

* ; inv(9)

** ; inv(9)および睾丸女性化症候群

表 4. 流産回数と染色体異常の有無

児の有無 流産回数	児無し		児有り		計 人	異常率
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦		
1	52 (1)	2		12	66 (1)	1.52%
2	440 (11)	1	3	88 (3)	533 (15)	2.81%
3	186 (12)	1	4 (1)	76 (4)	268 (17)	6.34%
4	32 (3)			18	50 (3)	6.00%
5	6	1		6	14 (0)	0.00%
6	4			2	6 (0)	0.00%
7	2				2 (0)	0.00%
8	4				4 (0)	0.00%
計 人	726 (27)	2 (0)	10 (1)	202 (7)	943 (36)	3.82%

() 内染色体異常数

表 5. 染色体異常の内訳

染色体異常	人 数	内 訳
1. 常染色体異常		
①ダウン症候群	111	
(トリソミー型)		103
(モザイク型)		3
(転座型)		5
②18トリソミー症候群	15	
(トリソミー型)		12
(モザイク型)		2
(転座型)		1
③13トリソミー症候群	6	
(トリソミー型)		2
(モザイク型)		1
(転座型)		2
(部分トリソミー)		1
④13リング症候群	2	
⑤9pトリソミー症候群	2	
⑥2p部分トリソミー	2	
⑦DiGeorge 症候群	1	
⑧猫なき(5pモノソミー)症候群	1	
⑨7p部分トリソミー-7q部分モノソミー	1	
⑩11p部分トリソミー	1	
⑪プラター・ウイラー症候群	1	
⑫Langer-Giedion 症候群	1	
⑬由来不明部分過剰	6	
⑭均衡転座保因者	48	
⑮逆位保因者	4	
⑯ファンコニー貧血	1	
⑰白血病	21	
⑱悪性腫瘍がある	1	
小 計 (人)	225*	
2. 性染色体異常		
①ターナー症候群	24	
(モノソミー型)		5
(モザイク型)		19
②クラインフェルター症候群	7	
(トリソミー型)		6
(モザイク型)		1
③トリプルX	2	
④半陰陽	3	
小 計 (人)	36**	
3. その他		
①双胎間輸血症候群	2	
②脆弱X症候群	1	
小 計 (人)	3***	
合 計 (人)	264	

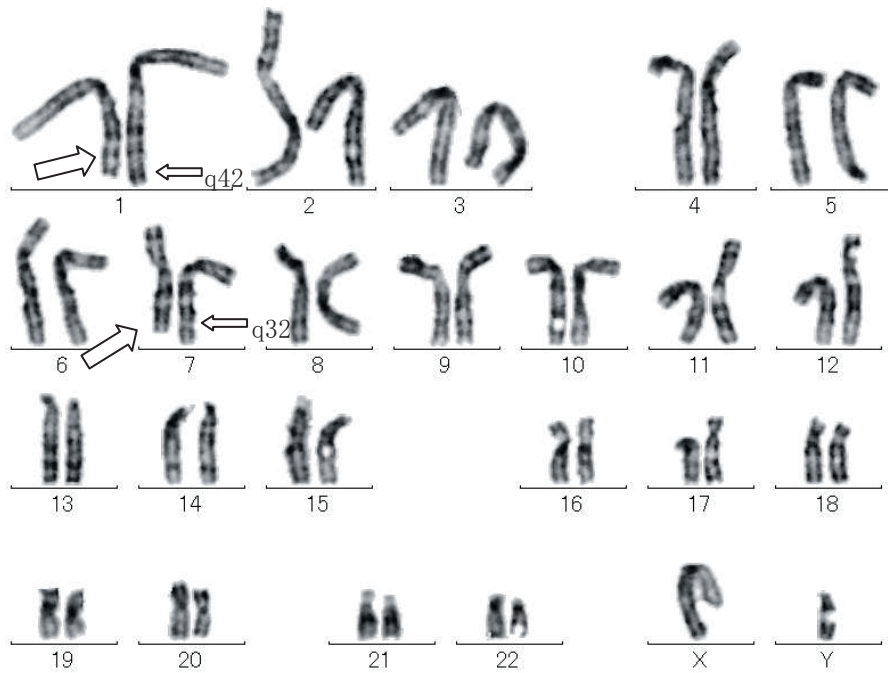
* ; 全体に占める異常率 11.01%(225/2,043)

** ; 全体に占める異常率 1.76%(36/2,043)

*** ; 全体に占める異常率 0.15%(3/2,043)

表6. 流産を繰り返す夫婦中染色体異常のあった36例の核型と既往歴

No.	核型	検査時既往歴
夫		
①	45,XY,der(13;14)(q10;q10)	流産 2
②	46,XY,t(1;4)(q11;p15.2)	流産 2
③	46,XY,t(1;7)(q42;q32)	生産 1 ・ 流産 3
④	46,XY,t(1;7)(q45;q11)	流産 3
⑤*	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産 1 ・ 流産 6 ・ 妊娠中
⑥	46,XY,t(1;12)(q42;p13)	生産 1 ・ 流産 3
⑦	46,XY,t(1;12)(q42;q14)	流産 1
⑧	46,XY,inv(9)p11q13,t(4;10)(q31;q25)	流産 3
⑨	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	流産 2
⑩	46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)	流産 2
⑪	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	生産 2 ・ 流産 3
⑫	46,XY,t(8;14)(p11;q32)	流産 4
⑬	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	流産 3
⑭	46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	流産 4
⑮	46,XY,inv(8)(p21q24.2)	流産 4
⑯	46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)	流産 2
⑰	46,XY,t(11;14)(p15.5;q32.1)	流産 2
⑱	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産 4
⑲	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産 2
妻		
①	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 流産 2 ・ 妊娠中
②	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 流産 6 ・ 妊娠中
③	45,XX,der(13;14)(q10;q10)	生産 1 ・ 死産 1 ・ 流産 3 ・ 妊娠中
④	45,XX,der(13;21)(q10;q11)	流産 2
⑤	45,XX,der(14;21)(q10;q12)	生産 1 ・ 流産 3
⑥	46,XX,t(1;15)(q42;q26)	流産 2
⑦	46,XX,t(3;4)(p13;p16)	流産 3
⑧	46,XX,t(3;10)(q29;q22)	流産 3
⑨	46,XX,t(3;13)(q25;q11.2)	流産 4
⑩	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	流産 2
⑪	46,XX,t(4;15)(q33;q15)	生産 3 ・ 流産 2
⑫	46,XX,t(5;12)(p14;p12)	胎児死亡 2
⑬	46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	流産 3
⑭	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	流産 2 ・ 死産 1
⑮	46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	流産 3
⑯	47,XXX	流産 2 ・ 胎児死亡 1
⑰	47,XX,+mar	流産 2



46, XY, t(1;7)(q42;q32)

⇒ ; 転座染色体 ⇐ ; 切断点

図1. 症例1の核型

かった。

一般に流産を繰り返す夫婦（不育症）で発見される染色体異常の男女比は1:2とされる [4] が、当所での検査結果ではほぼ同数で推移しており、女性の方に染色体異常が多いという偏見をなくし、夫婦同時の染色体検査受検が望まれた。また、流産を繰り返す夫婦（不育症）の原因中、染色体異常である場合、他の理由よりも児を得る可能性が高いといわれている。そのため、不育症夫婦の染色体検査を行うことは今後の妊娠指導や遺伝相談に資するものと考えられた。

最後に、人や家族に大きな影響を与える染色体異常の確定診断は染色体検査に基づいて行われるものであり、重要な臨床検査として位置づけられている。そのため、日本人類遺伝学会では平成6年度より、臨床細胞遺伝学認定士制度を設け、人材育成に積極的に携わっている。当所では2人が臨床細胞遺伝学認定士として認められ、その認定士の中からさらに指導士として2

人とも委嘱されている現状である。

謝 辞

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

文 献

1. 大濱紘三, 三春範夫 (1996). 染色体異常の発生頻度, 64-74, 臨床染色体診断法, 金原出版.
2. 林 美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 54-60.
3. Yunis, J.J., Sawyer, R. and Ball, D.W. (1978). Chromosoma, 67, 293-307.
4. De Braekeleer MD, Dao TN (1990). Hum. Reprod., 5, 519-528.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— (平成18年度)

本田幸子 品川保弘 林 美貴子

Chromosome Analyses of Amniotic
Fluid Cells and Abortus

Sachiko HONDA, Yasuhiro SHINAGAWA and Mikiko HAYASHI

要 旨 平成18年度の羊水および流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水68件、流産胎児20件で、昭和49年度からの累計件数は、羊水1,504件、流産胎児313件となった。検査の結果、今年度は、羊水5件、流産胎児10件で染色体異常がみられた。今年度までの累計件数では羊水中で78件、流産胎児で143件の異常がみられている。染色体検査の理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠、胎児に異常が疑われる、染色体異常児出産既往等による依頼、流産胎児では流早産既往等による依頼が多かった。

富山県においては、昭和48年度から、総合母子保健対策の一環として、染色体検査事業が開始された。当所における染色体検査は、昭和48年度から血液を対象として始まり、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児、絨毛等が加わり、実施されてきている。

最近では、晩婚化傾向からの高齢出産の増加や、超音波診断装置等の発達により胎児の異常が発見されることが多くなり、染色体検査の要望が高くなっている。また遺伝子診断等の高度な技術も要求されるようになってきている。ここに平成18年度の羊水、流産胎児の検査状況、結果とともに今年度までの累計結果もあわせて報告する。

実 施 方 法

1. 羊水

染色体標本作成は、妊娠15-17週に採取された羊水15ml~20mlを静置または軽く遠心(800 - 900rpm 5分)し、沈殿した細胞に培養液(AmnioMAX™ Gibco SRL)を加え、再浮遊し、1検体につきシャーレ(Falcon Tissue Culture Dish 35×10mm) 2枚以上を作製して炭酸ガス培養(5%CO₂ 37°C)を行った。培養期間は9 - 12日間で、その間、細胞の増殖(コロニー形成)を確認しながら培養液交換を1-2回行った。細胞分裂が十分に行われていることを確認した後、染色体標本作成を行った。方法等の詳細は既年報[1]に従った。

染色は通常のギムザ染色およびGバンド分染を行い、必要により、Cバンド法による分染やクロモゾームペインティング法等のFISH法を用いて行った。1検体につき20個以上の中核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 流産胎児

検体はおもに、流産胎児の皮膚組織、および流産胎児の付属物である絨毛組織等であった。方法等は既年報[1]に従った。

これらの組織をハサミで細切し、シャーレの上に並べ、培養液を添加し、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。培養液の組成や染色体標本作製等は羊水細胞と同様の方法で行い、染色体分析を行った。

結果および考察

1. 羊水

今年度の染色体検査受付総数は68件で、すべて富山県内の医療施設からの依頼であった(表1)。染色体分析可能件数は67件で1件が分析不能であった。この1件は妊娠40週で採取されたため生細胞が少なく、培養が不能となり、染色体分析不能となった。

検査事業開始時から平成18年度までの検査受付総数1,504件のうち分析可能数は1,457件で、その分析率は96.8%になった。今年度および検査開始の昭和49年度

表 1. 染色体検査依頼病院(羊水・流産胎児) (平成18年度)

病 院	羊水	流産胎児	計
富山市民病院	11	3	14
黒部市民病院	12	1	13
おとぎの森レディースクリニック	9	1	10
富山赤十字病院	8	2	10
富山大学附属病院	6	3	9
富山県立中央病院	8	1	9
済生会高岡病院	5	0	5
高岡市民病院	4	2	6
さたけ産婦人科	0	4	4
厚生連高岡病院	2	0	2
レディースクリニックむらた	2	0	2
済生会富山病院	0	2	2
砺波総合病院	1	0	1
吉本レディースクリニック	0	1	1
計	68	20	88

から今年度までの累積検査数、結果等はそれぞれ表 2、表 3 に示した。

今年度染色体分析の結果、染色体異常5件がみられた。今年度までの異常累計数は78件であり、その異常率は5.4%となった。

検査依頼の理由として一番多いのは「高齢妊娠」の40件で、受付総数の58.8%にあたる。その年齢は35歳から44歳であった。今年度、高齢妊娠を主訴とする依頼のなかに染色体異常が3件(症例1-3)みられ、すべて数的異常であった。症例の詳細は下記に記した。

次に多いのは、「胎児に奇形等の異常が疑われる」という理由で16件の依頼があったが、これらには染色体異常はみられなかった。依頼の内訳では、胎児にNuchal translucency (NT) の肥厚(3~10mm)がみられたとするものももっとも多く13件であったが、これは最近の超音波診断の進歩により、胎児の状況がよく診られるようになったからと考えられる。特に、妊娠10~14週胎児のNTの肥厚が異常の判断の指標として採用され、トリプルマーカー検査より正確ともいわれるようになっている[2]。当所においても近年NTにかかわる依頼が増加し、異常率も高い傾向があったが[3]、今年度、特に多く依頼があった。NTだけの理由では染色体異常はみられなかったが、前述の症例3では、高齢妊娠とNT肥厚が理由となっている。そのほか、多発奇形(分析不能)、頸部リンパ腫、子宮内胎児死亡が疑われるための理由で各1件あったが、異常はみられなかった。

「染色体異常児妊娠・出産既往」の理由で4件依頼があったが異常はみられなかった。その内訳は「前子が

ダウン症候群であった」2件、「前子ターナー症候群」「前子48(+M,+m)」がそれぞれ1件であった。

妻または夫が転座型保因者であることを理由に3件依頼があり、症例4が親と同じ均衡転座型染色体異常、症例5が不均衡転座型の異常であった。

また、「羊水過多」で2件の依頼があった。これらの症状は胎児の異常により発生し、比較的染色体異常が多くみられることがあるが、今回はいずれも異常は見られなかった。

「近親者に染色体異常」「本人の強い希望」「習慣流産」という理由で依頼がそれぞれ1件あったが異常はみられなかった。

〈症例1〉

年齢・妊婦：37歳
夫：37歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：4回目の妊娠、第1児は妊娠35週で子宮内胎児死亡
分析結果：47,XXY (クラインフェルター症候群)

〈症例2〉

年齢・妊婦：40歳
夫：不明
羊水採取時の妊娠週数：17週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：前5回の妊娠・出産
分析結果：47,XX,+18

〈症例 3〉

年齢・妊婦：41歳
夫：44歳
羊水採取時の妊娠週数：15週
主訴・依頼理由：高齢妊娠，NT肥厚
既往歴・他：3回目の妊娠，第2児は自然流産
分析結果：47,XX,+21

〈症例 4〉

年齢・妊婦：28歳
夫：28歳
羊水採取時の妊娠週数：17週
主訴・依頼理由：均衡転座染色体保因
既往歴・他：3回目の妊娠，第1児は妊娠7週で自然流産
分析結果：46,XX,t(5;12)(p14;p12)mat

〈症例 5〉

年齢・妊婦：33歳
夫：34歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：転座型保因者 46,XX,t(9;20)
既往歴・他：3回目の妊娠，第1,2児は転座型染色体異常
分析結果：46,XX,der(20)t(9;20)(p13;q13.3)mat

羊水穿刺等による出生前診断が行われる際には，人類遺伝学会等から示されている「出生前診断に関するガイドライン・遺伝カウンセリング」等に従って次のようなケースについて実施されている。

- ・ 夫婦のいずれかが染色体異常の保因者
- ・ 染色体異常児を分娩した既往がある
- ・ 高齢妊娠
- ・ 妊婦が重篤な X 連鎖遺伝病のヘテロ接合体
- ・ 夫婦のいずれもが重篤な劣性 or 優性遺伝病のヘテロ接合体
- ・ その他，重篤な胎児異常のおそれがある

今年度は検査の依頼理由がこのガイドラインに該当しない症例が1件あった。前にも述べたが，本人が強く希望したということで，その詳細は不明である。以前に同じ依頼理由の中から染色体異常が認められたこともあるので，これらの対処には苦慮している。

検査にあたっては，最近の遺伝子診断技術の急激な進歩に伴い，高精度分染法やクロモゾームペインティング法，FISH 法等により分析精度を上げるよう努力し，異常が疑われる検体については，これらの技術を導入した。しかし，出生前診断としての羊水等の染色

体検査には，母親細胞混入の危険性があること，培養細胞を分析していること，微細な染色体異常やモザイク症がすべて把握されるわけではないこと，染色体異常が発見されてもほとんどが治療困難であること等多くの問題がある。また，倫理的，社会的な問題も残されており，臨床の場において，十分なインフォームドコンセントがなされたうえでの検査が必要である。

2. 流産胎児

今年度，受付総数は20件で，そのうち分析可能数は16件であった。分析不能はいずれも採取された組織の状態が悪く，培養不能となったものである。依頼された流産胎児の週数は6週から13週にわたっていた。

平成18年度および検査事業開始時から平成18年度までの検査依頼病院，理由，結果等を表1，表4，表5に示した。

今年度は16件中10件(62.5%)に染色体異常がみられた。全年度では52.2%となった。また今回の流産時点の母体年齢は27歳～41歳(平均32.8歳)で，数的異常を持つ症例では平均34.2歳となる。母体年齢依存性にトリソミー等の発生率が高くなることは定説となっているが，当所においては症例数も少なく，年齢と異常と流産の関係についてはまだ明らかではない。

検査理由で一番多かったのは，「過去にも流産をしたことがあるため」の13件で，そのうち11件が分析可能で7件(63.6%)に異常があった。これらの異常はすべて数的異常(4トリソミー，9トリソミー，14トリソミー，16トリソミーモザイク，22トリソミー各1件，高倍体2件)であった。流産の回数は2～4回であった。このうち症例6は4回目の流産であるが，3回目の流産胎児が47,XY,+22の染色体異常で今回は数的異常の再発となる。両親の染色体に異常はみられなかった。他の症例の過去の流産胎児の染色体異常の有無については未調査のため，再発かどうかは不明である。

次に多い理由は流産胎児に奇形がみられたための3件で，胎児水腫に18トリソミー，頭部に構造異常に13トリソミーの染色体異常があった。

「初めての子宮内胎児死亡であるが，その原因検索」の理由で2件依頼がありそのうち1件が分析可能であったが異常はみられなかった。

表 2. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成18年度)

依頼理由 (主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	40	3	
35-39歳	22	1	47, XXY (症例1)
40歳以上	18	2	47,XX,+18 (症例2) 47,XX,+21 (症例3)
胎児異常の疑い	16	0	
Nuchaltranslusency	13	0	
多発奇形	1(1)*	0	
頸部リンパ腫	1	0	
子宮内胎児発育遅延	1	0	
染色体異常児妊娠・出産既	4	0	
前子ダウン症	2	0	
前子ターナー症	1	0	
前子48(+M,+m)	1	0	
転座型保因	3	2	
t(2;19)	1	0	
t(5;12)	1	1	46,XY,t(5;12) (p14;p12)mat
t(9;20)	1	1	46,XX,der(20)t(9;20)(p13;q13.3)mat
羊水過多	2	0	
近親者に染色体異常	1	0	
強い希望	1	0	
習慣流産	1	0	
計	68(1)*	5	

(*)* 分析不能

表 3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (昭和49年～平成19年3月)

依頼理由 (主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	837	822	20	47,(+18):4件 47,XX,+13/46,XX 47,(+21):7件 47,XY,+21/46,XY 46,XX,-18p 47,XXY:2件 47,XXX 45,XY,t(13;14)mat 46,XX/46,XY 46,XX,inv(11)
染色体異常児妊娠出産既往	204	199	4	47,XX,+G:2件 47,XY,+E 46,XY/47,XXY
胎児異常の疑い	170	163	26	45,X:3件 47,XX,+13 47,(+18):9件 47,(+21):8件 47,XX,+M 69,XXY 47,XXY 46,XY,del(4) 46,XY,der(20)t(9;20)mat
前子・胎児が異常(染色体異常除く)	56	51	1	47,XX,+21
親類にダウン症や障害児等がある	55	54	0	
羊水過多・羊水過少	49	46	8	47,XY,+E 47,XX,+D 46,XX,isopsudic(18) 47,XY,+21:2件 47,XY,+13 47,(+18):2件
転座型染色体保因者	34	33	16	45,XY,t(14;21) 46,XY,t(D;G) 46,XX,t(1;12) 46,XX,t(7;11) 46,XX,inv(3) 46,XX,t(2;17) 45,XX,t(13;15):2件 46,XY,inv(7) 46,XY,t(5;12) 45,XY,t(13;14) 46,XY,t(14;21) 46,XY,inv(8) 47,XY,t(14;20),+21 46,der(20)t(9;20):2件
流産・死産既往	25	23	2	69,XXX 46,XX,t(5;6)
本人の強い希望	18	18	1	46,XY/45,X
体外受精・顕微授精	9	9	0	
血中アルファプロテイン等の異常	7	7	0	
近親婚	4	3	0	
風疹に感染	4	4	0	
トキソプラズマ症の疑い	2	2	0	
その他	17	14	0	
不明	13	9	0	
計	1504	1457	78	

表4. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (平成18年度)

依頼理由(主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
流早産経験者	13(2)*	7	
流早産 2回目	4(2)*	1	47,XY,+14
3回目	6	3	47,XX,+4 93,XXXX,+m 47,XY,+16/46,XX
4回目	3	3	47,XY,+9 47,XX,+22 68,XX(症例6)
胎児に奇形	3	2	
胎児水腫	1	1	47,XY,+18
cystic hygroma	1	0	
頭部の構造異常	1	1	47,XY,+13
子宮内胎児死亡(初)	2(1)*	0	
転座保因	1	1	46,XY,der(13;14)mat,+13
体外受精	1(1)*	0	
計	20(4)*	10	

():分析不能

表5. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (昭和50年～平成19年3月)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型等
過去にも流早産をした	171	152	93	45,X:10件 47,(+3):2件 47,(+16):9件
初めての流早産(原因不明)	53	44	15	69,XXX:4件 47,XY,+18 45,X
流産胎児に奇形等があった	43	40	14	69,XXY 47,(+18):3件 45,X:4件
体外受精・顕微授精	17	15	8	47,XX,+13 47,XY,+20
親が染色体異常	11	9	7	46,XY,der(4)t(4;15) 45,X
胞状奇胎	7	7	1	69,XXX
羊水検査で染色体異常があった	3	2	2	47,XX,+13/46,XX 47XY,+21/46,XY
前子が染色体異常	3	3	3	48,XX,+15,+16 45,X
前子が多発奇形	1	1	0	
羊水過少	1	1	0	
妊娠中に風疹に罹った	1	0	0	
理由不明	2	0	0	
計	313	274	143	

〈症例6〉

年齢・妊婦：32歳 (46,XX)

夫：31歳 (46,XY)

胎児の週数：8週

主訴・依頼理由：習慣流産

既往歴・他：今回は5回目の妊娠。第1, 3回目の妊娠

は自然流産。2回目の妊娠は女兒出産。4

回目に自然流産。児の染色体47,XY,+22

分析結果：68,XX

片親が均衡転座保因者である1件は親由来の13トリソミーがみられた。

体外受精の1件は分析不能であった。

今年度みられた異常10件中、1件の転座型異常を除く9件すべてが数的異常となっている。

自然流産胎児の染色体異常の頻度が高いことは一般に認められている。染色体異常の発生頻度は、研究材料、収集方法、研究方法による違いで開きはあるもの

の、池内[4]は46.1%と報告しており、当所の結果も全年度で、52.2%となり、ほぼ一致している。

流産胎児の染色体分析は、流産の原因を明らかにしたいと願う夫婦にとって有用であり、次の妊娠の指導方針にも必要である。また遺伝相談の資料として母子医療に役立つと考えられる。

謝辞：ここに発表しました症例の調査にご協力をいただきました各医療施設の関係者の方々に、深謝いたします。

文 献

1. 本田幸子, 林美貴子, 大江浩, 北村敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 61-66.
2. 佐藤孝道 (2001). 臨床検査, 45(2), 161-166, 医学書院.
3. 本田幸子, 林美貴子 (2003). 富山衛研年報, 26, 149-151.

平成19年12月 1 日

4. 池内達郎 (1999). 遺伝子・染色体検査学 (奈良信雄編), p131-135 医歯薬出版.

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査，2006年の成績

渡辺 護 小原真弓 松浦涼子¹ 廣瀬 修¹
長谷川澄代 西尾恵美里² 小林睦生³

Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2006

Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Ryouko MATSUURA, Osamu HIROSE,
Sumiyo HASEGAWA, Emiri NISHIO and Mutsuo KOBAYASHI

要 旨 富山県では、従来行って来た日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生活長調査に加え、2003年からウエストナイル熱、デング熱、マラリアなど、海外からの侵入が懸念される蚊媒介性感染症に關与する蚊の発生実態調査を開始した。

一般住宅6軒を立地環境別に区分し、ウエストナイルウイルス (WNV)、デングウイルス (DENV)、日本脳炎ウイルス (JEV) などを媒介する蚊類の発生数と発生活長の調査を2005年に引き続き行った。全ての定点住宅において、上記感染症をそれぞれ媒介する代表的なアカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが捕集された。都市住宅街では顕著に、都市周縁部住宅街ではわずかに多くヒトスジシマカが捕集され、都市部新興団地と海岸混合住宅街ではアカイエカ、農村地域住宅団地ではコガタアカイエカが明らかに多数捕集された。なお、2005年と比較すると捕集数が増加した定点と減少した定点がみられた。また、マラリア原虫を媒介するシナハマダラカは、2003年以来全く捕集されなかった。

カラスのねぐら近くの調査では、都市公園の定点でアカイエカが最も多く、都市郊外の定点でコガタアカイエカの捕集数が多かった。なお、地面より高い位置のトラップではヒトスジシマカは捕集されず、アカイエカが相対的に多くなった。捕集数は2005年に比べ1箇所は増加したが、他の2箇所は減少した。

蚊4,347個体536プールについてフラビウイルスの検出を行ったが、ウイルスは分離・検出されなかった。

近年、海外からウエストナイル熱、デング熱、マラリアなどの侵入が懸念されており[1]、2006年にはチクングニア熱の輸入例が初めて確認された。これらの感染症を媒介する蚊は国内にも確認されており、それら蚊の発生実態を把握することが緊急の課題になっている。富山県では動物由来感染症の調査事業の一つとして、蚊についても平成15年度(2003年)から調査を開始した[2]。

2006年も、2005年同様に、住宅立地環境別、および病原微生物の媒介・増幅に關与するカラスなど鳥類の営巣の近くにおける蚊類の分布、発生活長を調査した。

さらに、富山県において発生する蚊が、ウエストナイル熱や日本脳炎の原因ウイルスを保有しているかを調べるとともに、検査体制を構築することも目的とした。

調 査 方 法

調査定点の選定：2005年と同様に、住宅の周辺環境を都市中心部の住宅街、都市周縁部の住宅街、同じく周縁部の新興団地、海岸の商・工・住混合地区、農村水田地域の新興住宅団地、農村地域住宅（農家）に区分し、それぞれから1軒ずつ選定した(表1)。また、ウエストナイルウイルス (WNV) は鳥類、とくにカラスで感受性が高く、増幅動物になる可能性が知られているので、カラスのねぐら近くに3ヶ所を選定し、トラップを地上部と高い位置に設置した(表1)。さらに、WNVに感受性が高い馬への蚊の吸血飛来をみるために、2003年から加えた厩舎1ヶ所（従来からの日本脳炎ウイルス(JEV)媒介蚊監視畜舎定点6ヶ所に追加)と、山村集落における蚊相を明らかにするために、県境山間地の岐阜県飛騨市(旧神岡町)下之本の牛舎を選定した(表1)。また、2005年に引き続き富山空港国際線到着便手荷物搬入口にもトラップを設置した。

蚊の捕集方法：一般住宅とカラスのねぐら近くおよび

1. 富山県高岡厚生センター 2. 富山県食品生活衛生課 3. 国立感染症研究所

表1-1. 富山県における WNV 媒介蚊の発生調査定点の概要 (平成18年)

	住宅区分	住所	トラップ	設置場所
1 一般民家	①都市部住宅街	富山市鹿島町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	②都市部周縁住宅	富山市富岡町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	③都市部新興団地	富山市呉羽町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	④海岸地域混合地区	射水市海老江	猪口製、ドライアイス、1台	菜園、地上 1m
	⑤農村地域住宅団地	富山市津羽見	CDC 型、ドライアイス、4台	庭、地上 1m×3台、3.5m
	⑥農村地域住宅	南砺市安居	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
2 カラス	①高岡市古城公園	市立動物園	CDC 型、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、8m
	②富山市城址公園	市立図書館	CDC 型、ドライアイス、3台	回廊、地上 1m、12m、20m
	③衛研隣杉林(鶏舎)	射水市黒河	CDC 型、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、6.5m
3 他	①富山空港国際便口	富山市秋ヶ島	CDC 型、ドライアイス、2台	構造物、地上 1m×2台
	②丘陵際農村地域	富山市婦中町友坂	エーエス、ライトトラップ ^o 、1台	厩舎(乗馬倶楽部)、3m
	③山間高地農村地域	飛騨市神岡下之本	野沢、ライトトラップ ^o 、1台	牛舎(肉牛4頭)、2m

調査定点は前年に加え、3その他に富山空港国際便荷物搬入口を増設した。

トラップの猪口製は猪口鉄工所、CDC 型は John W.Hock 製、エーエスは東京エーエス、野沢は野沢製作所を示す。

表1-2. 各調査定点における調査期間と捕集時間帯および調査間隔

	住宅区分	調査期間	調査間隔と調査時間
1 一般民家	①都市部住宅街	5/10~10/24	毎週水曜日の午後2時~翌朝8時
	②都市部周縁住宅	5/10~10/24	毎週火曜日の午後6時30分~翌午後6時30分
	③都市部新興団地	5/10~10/24	毎週水曜日の午前7時30分~翌朝7時30分
	④海岸地域混合地区	5/10~10/24	毎週水曜日の午後1時30分~翌朝7時
	⑤農村地域住宅団地	5/10~10/24	毎週水曜日の午後2時30分~翌朝7時30分
	⑥農村地域住宅	5/10~10/24	毎週水曜日の午前7時~翌朝7時
2 カラス	①高岡市古城公園	6/6~10/10	毎週火曜日の午前11時~翌朝9時
	②富山市城址公園	5/10~10/11	毎週水曜日の午後2時~翌朝8時30分
	③衛研隣杉林(鶏舎)	5/10~10/24	毎週水曜日の午後0時30分~翌朝9時30分
3 他	①富山空港国際便口	6/7~10/11	毎週水曜日の午後2時30分~翌朝9時
	②丘陵際農村地域	6/7~10/11	毎週水曜日の午後18時30分~翌朝7時(自動設定)
	③山間高地農村地域	5/20~10/7	7~8月は毎週、それ以外は隔週のほぼ金曜日の午後~翌朝

②都市部周縁住宅は7~8月に4回、⑥農村地域住宅は9月に5回の調査中断があった。

⑤農村地域住宅団地は家の増改築によりトラップの設置場所の環境が微妙に変わった。

空港定点ではドライアイス・ライトトラップ(猪口型もしくは CDC 型)を用いた。畜舎定点では東京エーエス社製のライトトラップ(20W 円形捕虫蛍光管)のみで捕集を行った。飛騨市神岡町下之本牛舎では野沢式ライトトラップ(6W 直管捕虫蛍光管)を用いた(表1)。

トラップの設置場所：一般住宅では道路に近い庭の樹木の高さ約1m程に設置した。カラスのねぐら近くでは、高い樹木を選んで地面近くと出来るだけ高い位置にトラップを設置した。適当な樹木が無い場合には近

くの建物の壁面を利用し、空港は荷物搬入口の柱の1mの高さに、約10m離して2台設置した。

調査期間、時間：一般住宅とカラスのねぐら近く定点では、5月1週もしくは6月1週から10月2週または4週まで行った。水曜日の13~15時にトラップを設置稼動し、翌朝8~9時に回収した。畜舎トラップでは6月1週から10月3週までの毎週水曜日に捕集を行った。なお、飛騨市神岡町下之本では5月20日~10月7日の隔週または毎週(7~8月)金曜日に行った。これら畜舎定点では

表 2-1. 検査に用いた蚊検体 (地点別)

住宅区分		設置場所	プール数		個体数		
民家	都市部住宅街	富山市	42	(10)	206	(25)	
	都市部周縁住宅	富山市	16		28		
	都市部新興団地	富山市	24	(1)	57	(1)	
	海岸地域混合地区	射水市	35	(1)	200	(1)	
	農村地域住宅団地	富山市 東1m		32		171	
		富山市 北1m		21		93	
		富山市 南西3.5m		19		91	
		富山市 南西1m		37	(4)	174	(9)
農村地域住宅	南砺市	9	(2)	9	(2)		
カラスの ねぐら	高岡古城公園	地上8m	23		109		
		地上1m	30	(3)	58	(3)	
	富山城址公園	地上20m	1		2		
		地上12m	2		4		
		地上1m	18	(4)	40	(4)	
	射水市鶏杉林	地上6.5m	15		41		
		地上1m	43	(3)	82	(3)	
空港	富山空港	北	6		8		
		南	8		12		
日本脳炎 定点	豚舎	南砺市	53	(1)	1045	(1)	
		上市町	17		210		
		黒部市	10		189		
	牛舎	富山市	74	(1)	1512	(25)	
	厩舎	富山市	1		6		
		合計	536	(30)	4347	(74)	

カッコ内は♂

表2-2. 検査に用いた蚊検体 (種類別)

種名	プール数		個体数	
コガタアカイエカ	192	(4)	3147	(28)
アカイエカ	185	(5)	762	(5)
ヒトスジシマカ	127	(20)	377	(40)
キンバラナガハシカ	10		28	
ハマダライエカ	8	(1)	19	(1)
フトシマツノフサカ	5		5	
ヤマトヤブカ	5		5	
フタクロホシチビカ	1		1	
カラツイエカ	1		1	
シナハマダラカ	1		1	
種不明	1		1	
計	536	(30)	4347	(74)

カッコ内は♂

照度感受自動スイッチを用いて、調査日の夕方から翌朝まで捕集を行った(表1-2).

ウイルスの検出方法：ウイルス分離に用いた蚊について表2-1, 2-2に示した。ウエストナイル熱媒介蚊調

査定点および日本脳炎定点5ヶ所について、未吸血蚊を捕集し検査に供した。

捕集蚊は、地点・捕集日・種類・雌雄別に分け、最大50個体までを1プールとして細胞維持培地で磨砕し、

表3. 各定点における蚊種別の捕集数（雌雄合計、平成18年）

1 一般民家

住宅区分	トラップ設置高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカエカ	ヒトスジ	ヤマト	ハマダラ	ツノサカ	その他	
都市住宅	1m	2	37	167	0	0	4	0	210
都市周縁	1m	0	12	17	0	0	0	0	29
都市団地	1m	3	48	6	1	1	0	0	59
海岸住宅	1m	15	146	43	0	0	0	0	204
農村団地	1m	135	5	22	0	0	0	2	164
農村住宅	1m	3	5	1	0	0	0	0	9
計		158	253	256	1	1	4	2	675

コガタカはコガタアカエカ、ヒトスジはヒトスジシマカ、ヤマトはヤマトヤブカ、ハマダラはハマダライエカ、ツノサカはトシツノサカを指す。

2 カラスのねぐら近く

定点名	トラップ設置高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカエカ	ヒトスジ	ヤマト	キンバラ	ハマダラ	その他	
高岡古城	1m	3	24	29	0	0	0	3	59
	8m	0	92	0	1	0	15	2	110
富山城址	1m	1	31	4	0	0	0	1	37
	12m	0	4	0	0	0	0	0	4
	20m	0	2	0	0	0	0	0	2
衛研隣杉林	1m	7	16	29	2	25	0	1	80
	6.5m	0	42	0	1	0	0	1	44
計		11	211	62	2	25	15	8	336

高岡古城のその他はカツエカ1個体、トシツノサカ3個体、不明1個体であり、富山城址はトシツノサカ1個体である。衛研隣杉林のその他は6.5mがトシツノサカ、1mがフクロホシヒカである。

3 その他

定点名	畜種などトラップ高	蚊の種類							計
		コガタカ	アカエカ	ヒトスジ	ヤマト	材カ	シハマ	その他	
富山空港	外柱, 1m	5	15	0	0	0	0	0	20
丘陵際農村	馬, 3m	3,784	77	8	28	5	0	4	3,906
高地農村	肉牛, 2m	164	0	0	6	8	4	20	202
計		3,953	92	8	34	13	4	24	4,128

材カは材カヤブカ、シハマはシハマダラカを指す。

丘陵部農村のその他はカツエカ1個体、ハマダライエカ2個体、キンバラがハシカ1個体である。

高地農村のその他はヤマダシマカ11個体、カツエカ2個体、ハマダライエカ6個体、キンヤブカ1個体である。

遠心上清をヒトスジシマカ由来の C6/36およびアフリカミドリザル由来の Vero9013細胞に接種した。7日間後に細胞変性の有無を確認後、培養上清を新しい細胞に接種した。さらにそれぞれを C6/36細胞に継代した。

細胞変性が現れた培養上清からウイルス RNA を抽出し、フラビウイルス NS3領域を対象としたプライマーセットを用いて RT-PCR を実施した。RT-PCR 陽性であった検体については、日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR, nested PCR, ウエストナイルウイルスエンベロープ領域を対象とし

た RT-PCR を行った。

7月～10月に採取された豚血清（6ヶ月齢、富山県内2ヶ所）のうち、日本脳炎に対する抗体価が10倍未満の270検体についてもウイルス分離を行った。血清を Vero9013, C6/36細胞に接種し3代継代して細胞変性が現れたものについて RNA を抽出した。さらに、日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR, nested PCR を行った。

調査結果

1. 一般住宅での捕集成績：表3にまとめて示した。都市部住宅ではヒトスジシマカが圧倒的に多く、都市周縁住宅ではヒトスジシマカがアカイエカよりもわずかに多く捕集された。都市部新興団地住宅と海岸混合地域住宅ではアカイエカが多数捕集された。農村地域住宅団地ではコガタアカイエカが最も多かった。農村住宅では捕集数が少ないが、アカイエカがコガタアカイエカよりも多い傾向がみられた。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園では、下(1m)トラップでアカイエカよりもヒトスジシマカがわずかに多く捕集されたが、上トラップではアカイエカが圧倒的に多くなった。上(8m)トラップではヒトスジシマカは捕集されず、一方でハマダライエカが全体の13.6%捕集された。富山城址公園では高さ20mトラップでアカイエカ2個体、12mトラップでアカイエカ4個体のみ捕集であったが、1mトラップではアカイエカ31個体とヒトスジシマカ4個体などが捕集された。衛研隣杉林では1mトラップでヒトスジシマカが最も多く29個体、次いでキンパラナガハシカが25個体捕集され、アカイエカは16個体、コガタアカイエカ7個体などであった。6.5mトラップではアカイエカが42個体で全体の95.5%を占めた。

富山空港では、6～10月の調査でアカイエカ15個体とコガタアカイエカ5個体の捕集であった。富山市婦中町の乗馬クラブの厩舎では、コガタアカイエカが多数捕集され、ヤマトヤブカも少数捕集された。標高825mにある飛騨市の牛舎でも、コガタアカイエカが最も多く捕集されたが、ヤマダシマカやシナハマダラカも少数捕集された。

2. 定点別の捕集数と種類構成の年度比較

図1に、民家と空港の2003年からの年間の捕集数を種類別に棒グラフで示した。都市部住宅街では2003年から年々捕集数が増加し、2006年は2003・4年の3倍、2005年の2倍になった。なお、その増加分はヒトスジシマカであった。都市周縁住宅の2006年の捕集数は2004・5年に比べ明らかに減少した。この原因の大きな部分は7～8月に調査が4回抜けたことが考えられる。しかし、種類構成は年々ヒトスジシマカの占有率が高くなる傾向がうかがえる。都市周縁団地住宅では2004～6年に調査を行い、この3年間ほぼ60個体の蚊が捕集され、その大部分がアカイエカであった。2006年に移転で調査を行わなかった郊外団地住宅では、2003～5年の3年間ともヒトスジシマカが最も多く捕集された。海岸地域住宅の2006年の捕集数はこの4年間で最も少

なくなり、そのほとんどはアカイエカの減少であり、ヒトスジシマカは減少しなかった。農村団地住宅では年々捕集数が増加する傾向を示し、それはコガタアカイエカとヒトスジシマカが年々増加したためと考えられた。農村住宅では2006年に捕集数が明瞭に減少したが、この減少の大きな原因は9月の5回の調査が出来なかったためと思われる。2005年から調査を開始した富山空港では、2006年にはコガタアカイエカが減り、アカイエカが2倍に増加した。

カラスのねぐら近くの成績を図2に示した。高岡古城公園の8mトラップでは2004年が顕著に少ないが、年間ほぼ100個体が捕集され、その大部分がアカイエカであった。2006年の増加分はハマダライエカである。1mトラップは8mトラップよりも捕集数が毎年少なく、それはアカイエカが少ないことに由来する。しかしながら、ヒトスジシマカが1mトラップでは毎年採れ、2006年には最優先種になった。富山城址公園の20m、12mトラップでは捕集数が少ないが、大部分はアカイエカであった。1mトラップは年々捕集数が減少を示し、2006年は2003年の1/3以下になった。とくにアカイエカの減少が顕著であった。衛研隣杉林の6.5mトラップでは2003・4年が年間約20個体であったのが、2005・6年はその3倍以上の60～80個体に増え、その増加分をアカイエカが占めていた。1mトラップは2004年が著しく少なく、2006年は2003年とほぼ同数の80個体で、2005年よりも50個体ほど少ない。その減少の大きな部分はコガタアカイエカとアカイエカであった。衛生研究所動物舎の壁面トラップの2005年までの成績では6.5m、2mトラップともコガタアカイエカが大部分を占めた。この定点は前述の隣杉林定点と約20mしか離れていないにもかかわらず、捕集蚊の構成が大きく異なり蚊の生態の違いを示唆するものと思われる。とくに木々が全く無い場所でコガタアカイエカが捕集されるのは、この種が夜間に広範に飛翔する生態を持っていることを示すものと思われる。

図3に、民家における3年間もしくは4年間の平均捕集数(1年当り数)を示した。海岸地域住宅が圧倒的に多く年間600個体以上、都市部住宅街住宅と農村住宅団地住宅では年間約110～120個体、都市周縁住宅、都市周縁団地住宅と郊外団地住宅、農村住宅では年間60個体前後であった。種類構成をみると(図4)、都市部住宅街と郊外団地住宅ではヒトスジシマカが最も多数を占め(前者で約60%、後方で約80%)、都市周辺住宅、都市周縁団地、海岸地域住宅ではアカイエカが最も多数を占めた(前者約60%、中者約80%、後者約90%)。一方、農村団地住宅ではコガタアカイエカが75%を占め、家屋の立地環境で生息する蚊種構成に相違がみら

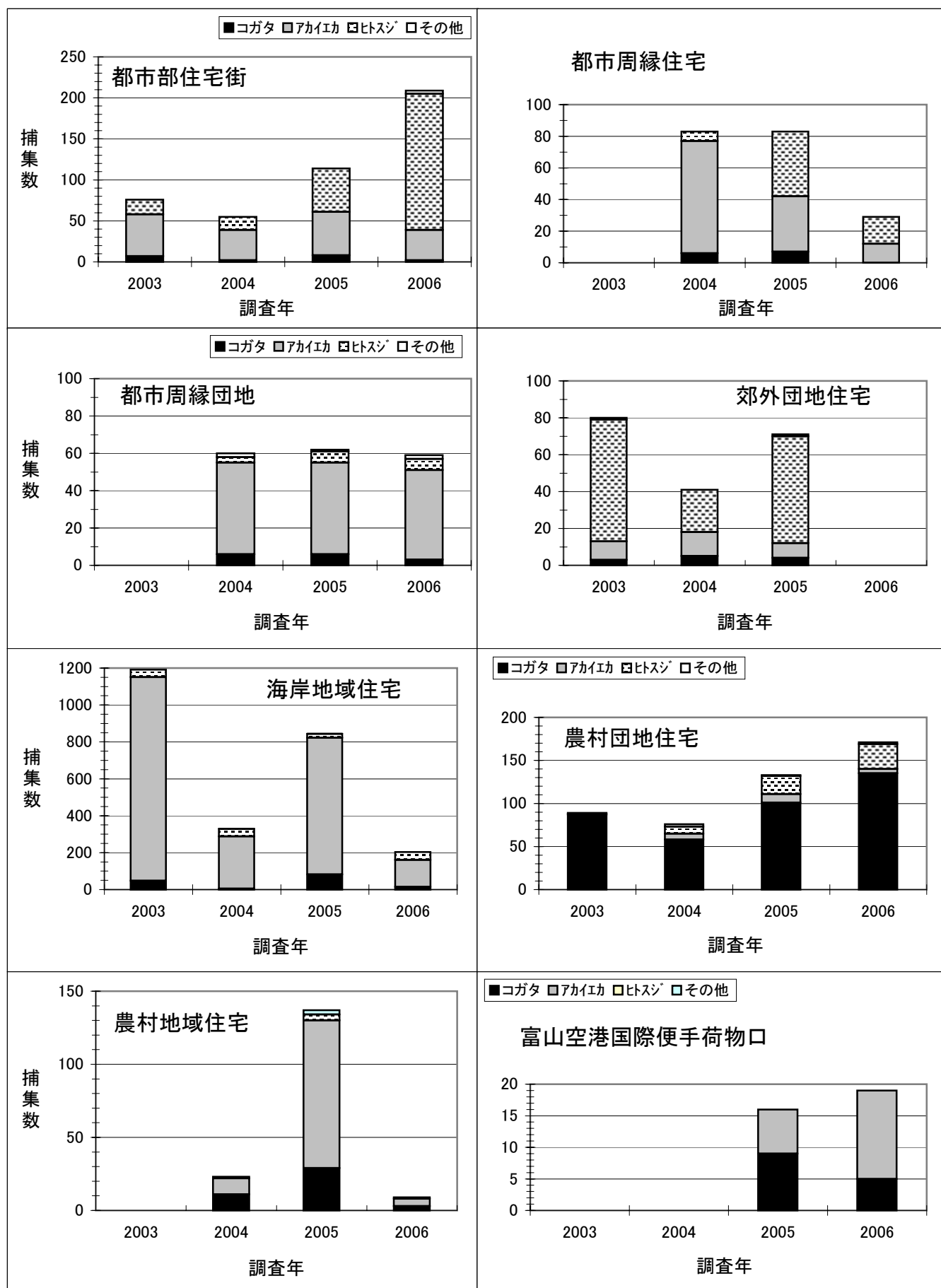


図1. 民家定点と空港定点における成虫の種類構成と捕集数の年変化

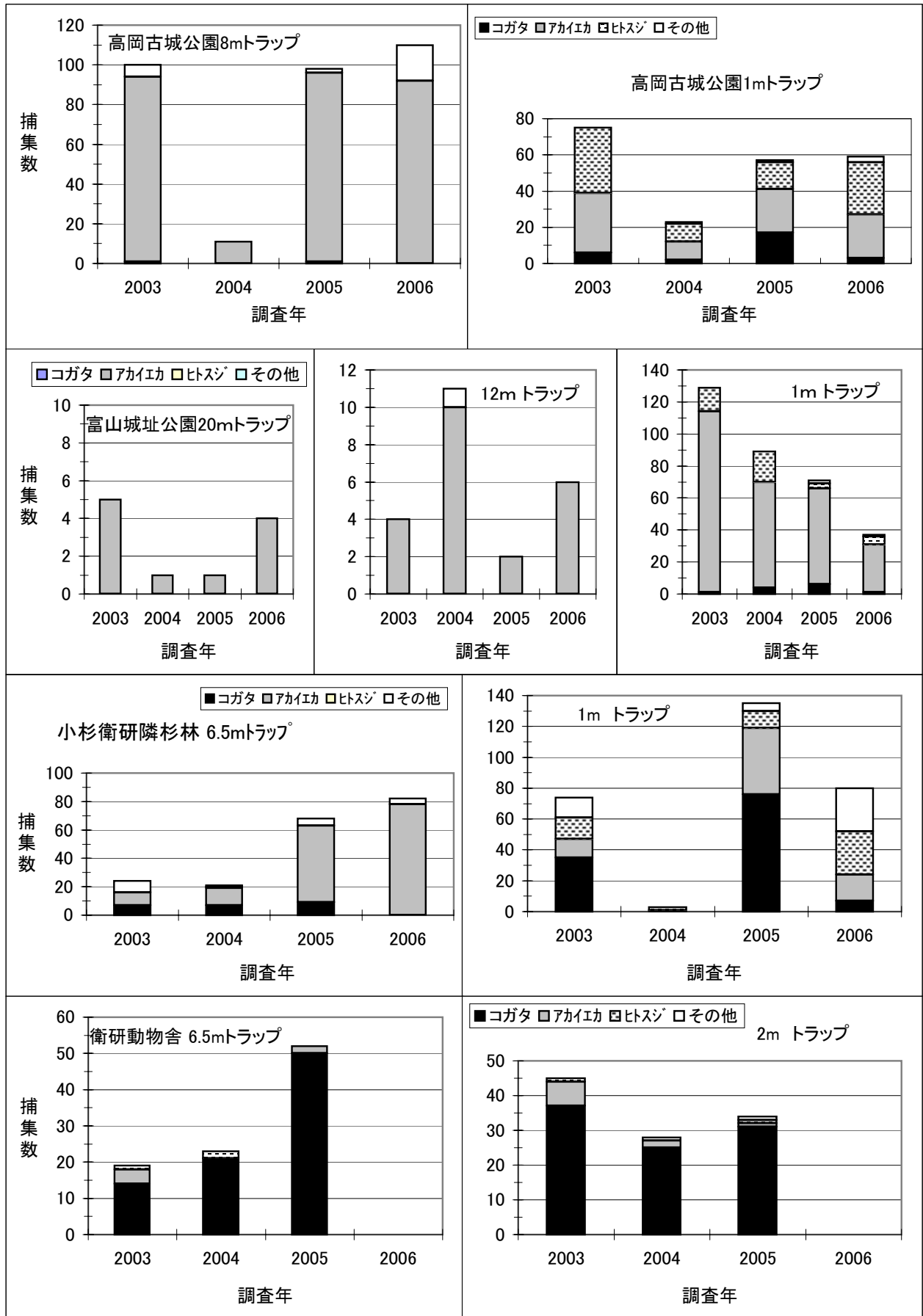


図2. カラスのねぐら定点における成虫の種類構成と捕集数の年変化

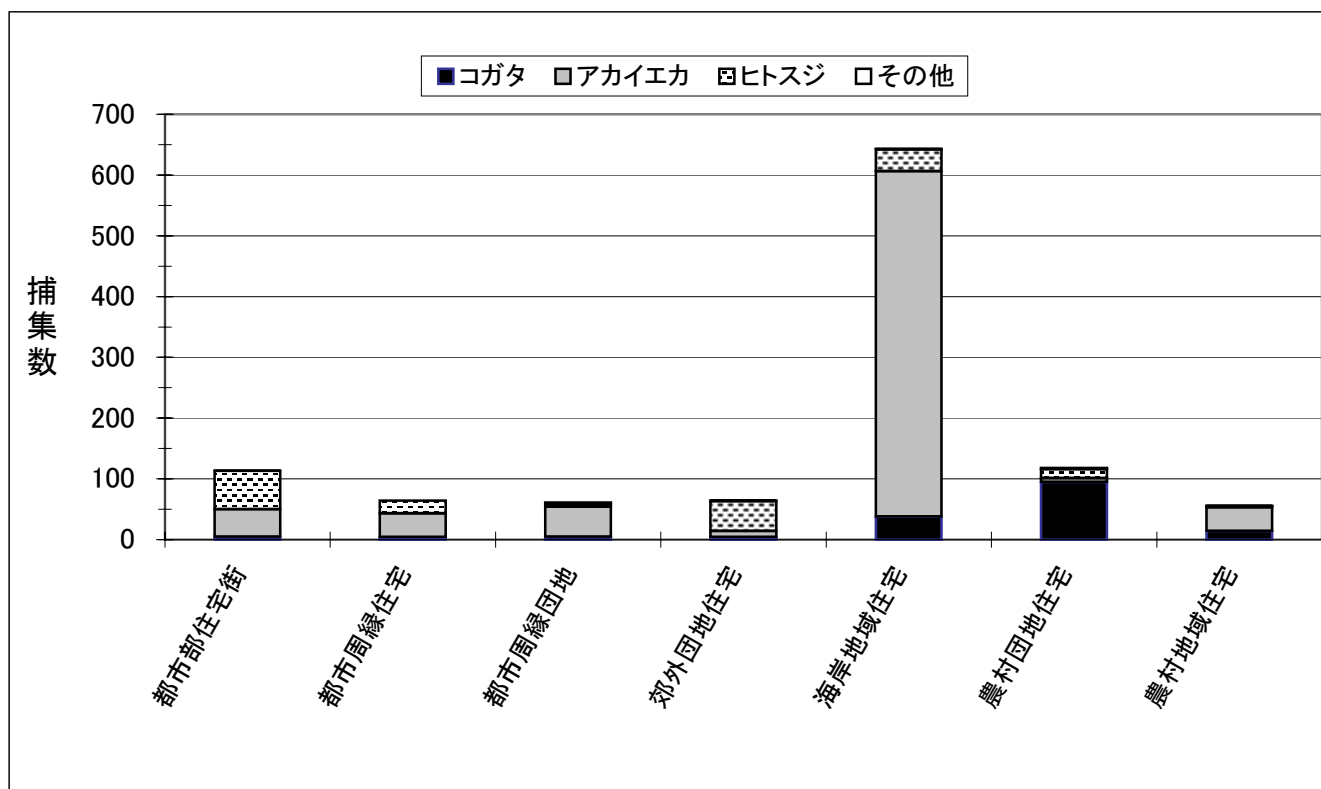


図3. 民家定点における蚊捕集数の比較 (2003～6年、1年当り数)

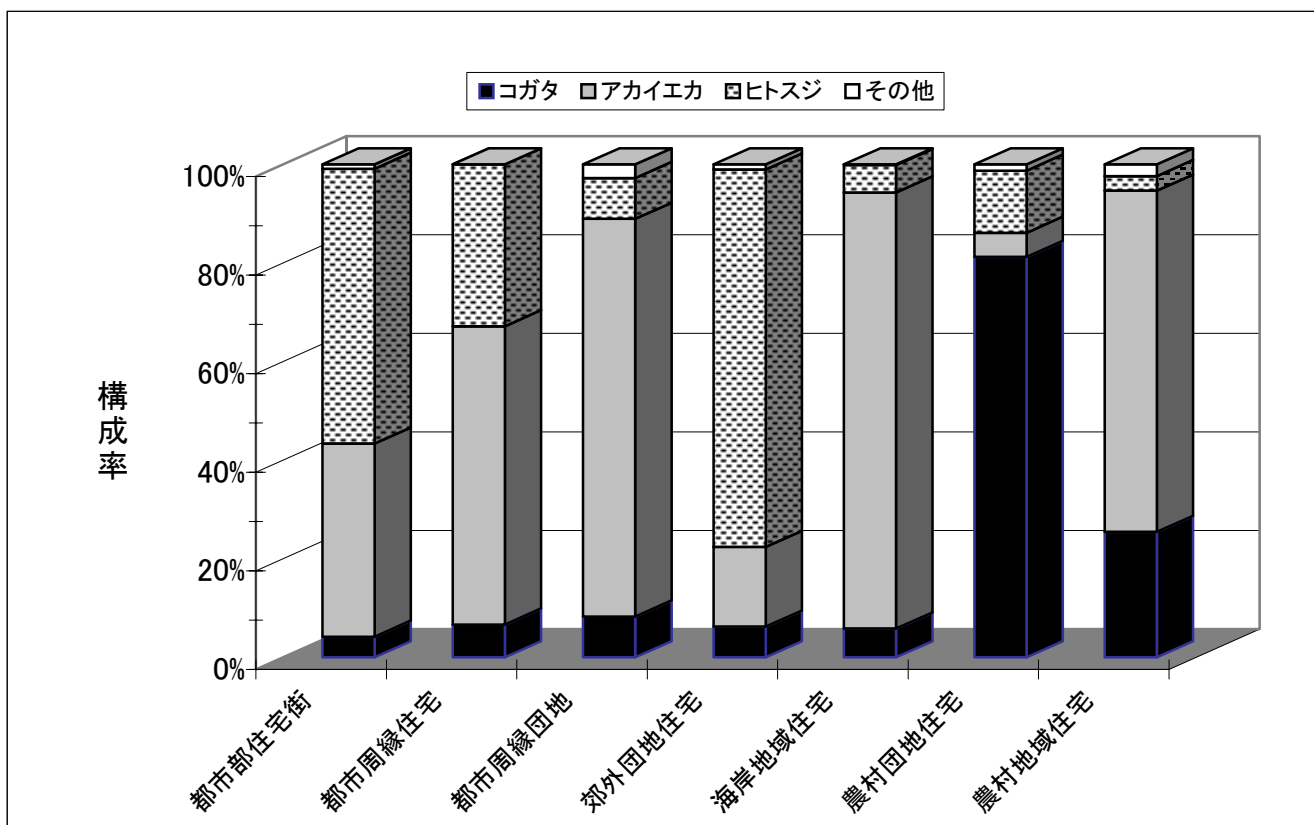


図4. 民家定点における捕集蚊の種類構成 (2003～6年の合計)

れた。

3. フラビウイルスの検出

蚊からは、ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスともに分離されなかった。豚からも日本脳炎ウイルスは分離されなかった。

考 察

一般住宅における捕集蚊の種構成は、全ての定点において WNV を主に媒介すると考えられているアカイエカ、DENV を媒介するヒトスジシマカ、JEV を媒介するコガタアカイエカの3種が捕集されたが、その3種の割合は住宅が建つ環境で異なっていた。すなわち、アカイエカはほとんどの環境で捕集され、ヒトスジシマカは都市部住宅街など住宅街で多く捕集される傾向がみられた。コガタアカイエカは農村地域で多数捕集される一方、発生源(水田)が近くにない都市部でも捕集され、飛翔範囲が広いことが示唆された。なお、2006年のコガタアカイエカの捕集数は2005年に比べ減少した地点が多く、日本脳炎監視畜舎定点の成績と一致し[3]、2006年は全県的にコガタアカイエカの発生が少なかったことが示された。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園、富山市城址公園においてはアカイエカが最も多く捕集され、トラップの設置場所が高くなるに従ってその傾向は強くなるように思われた。このことは、木々の先端に巣を構える野鳥の吸血に少なからず関与していることが示唆される。

2003年からの捕集成績を比べると、ヒトスジシマカが年々増加する傾向がみられ、今後とも注意して観察することが求められる。

なお、05年は全般的に蚊の捕集数が04年に比べ増加した。気温および日照時間は04年よりも低く推移したが、7~8月の降水量は04年よりも多くなり、また、04年に比べ台風の影響なども少なかったことが、蚊の発生を促した要因と考えられる。

調査した蚊536プール(4,347個体)からはウエストナイルウイルスは検出されず、富山県内にウエストナイルウイルスの侵入はないと考えられる。

2005年[2]にコガタアカイエカと豚から分離された日本脳炎ウイルスが、今回は分離されなかった。日本脳炎流行調査事業において、コガタアカイエカの発生が少なく、豚の抗体価も低かった[3]ことから、ウイルスの活動があまり活発でなかったと思われる。

このことから、水田に囲まれた豚舎のような、増幅動物と媒介蚊のいる地点でも、日本脳炎ウイルスが毎

年分離されるとは限らず、年によって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た。この流行状況を探るためにも、本調査を継続して行っていく必要がある。

ま と め

全ての調査定点で WNV、DENV、JEVなどを媒介するアカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが捕集された。アカイエカはほとんどの環境区分で捕集され、ヒトスジシマカは都市部住宅街など純住宅街で多く捕集される傾向がみられた。コガタアカイエカは農村地域で圧倒的に多数捕集され、周辺環境により捕集される蚊種に相違がみられた。しかし、2005年に比べコガタアカイエカの捕集数は減少し、ヒトスジシマカは増加する傾向がみられた。

カラスのねぐら近くでは、全般的にアカイエカが多いが位置が低いトラップではヒトスジシマカが多くなる傾向がみられた。

捕集蚊からはウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスは分離・検出されなかった。

謝 辞

本調査の実施にあたり、トラップの設置に快諾頂いた富山市図書館、高岡市動物園の関係者の皆様、一般民家での調査にご協力頂いた当研究所元職員石倉康宏博士、現職員の米田豊氏、堀元栄詞氏、岩井雅恵氏、また高岡古城公園での調査にご協力頂いた高岡厚生センター金子望博次長はじめ衛生課の皆様、富山空港での調査を担当された稲田芳史新潟検疫所出張所長はじめ出張所の皆様に厚くお礼申し上げます。

さらに、ウイルス分離・検出のご指導を頂いた国立感染症研究所、高崎智彦先生に衷心より感謝申し上げます。

文 献

1. 小林睦生 (2003). 感染症, 33,29-39.
2. 渡辺 護, 小原真弓, 松浦涼子, 廣瀬 修, 長谷川澄代, 西尾恵美理, 小林睦生 (2006) 富山衛研年報, 29, 83-94.
3. 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.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 小原真弓 道谷真由美¹

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2006

Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA
and Mayumi MICHITANI¹

要 旨 平成18年度の豚における日本脳炎 HI 抗体保有推移は、7月4日にまず2頭が認められ、7月25～26日には高抗体価の新鮮感染を示す2頭が認められた。その後は9月5日を除き10月31日まで認められた。この間、新鮮感染を示唆する2-ME 感受性の豚は、8月17日、29・30日、9月12・14日、10月3日、10日、17日に認められた。しかしながら、160倍以上の高抗体価を示す豚は陽性であった160/430頭の内、わずかに1頭のみであった。一方、ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生は17年度に比べ7定点全てにおいて減少した。とくに、黒部と上市で顕著であり、県全体では17年度の1/5程度の発生であったと推定される。なお、蚊の発生消長は6～7月が極端に少なく、8～9月に多くなるほぼ一峰性の消長を示し、ピークは17年度よりも約1ヶ月遅くなった。これらのことが、増幅動物(豚)での日脳ウイルスの感染が早くから認められたが、高抗体価の豚が少なかった原因と思われた。

コガタアカイエカの発生が少なくなった理由は、雪解けが例年よりも遅れたことと、4月および7月の気温が低いこと、5月および7月の日照時間が短かったことなどが考えられる。これらは幼虫の発育に強く影響し、6月の初期発生を少なくし、その後の卵・幼虫の生産にも影響したと推察される。これらのことから日本脳炎患者の発生する可能性は低いと考えられ、事実患者発生はなかった。

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、豚の日本脳炎ウイルス HI 抗体陽性率が高いことから、ウイルスは確実に活動しているといえる。富山県においても毎年ウイルスの侵入が確認されており[1, 3-6]、日本脳炎の脅威は続いている。われわれは長年の調査から[1]、コガタアカイエカが多く発生すると、豚の HI 抗体陽性率も高くなることを示し、ウイルスの拡大に媒介蚊が関与していることを明らかにした。本調査では、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、2005年に引き続き日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生状況と、ウイルスの侵入状況を2006年6月から10月にかけて監視調査を行なったので報告する。

1. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は2005年と同様、表1に示す通りである[6]。

調査期間および調査方法は2005年とほぼ同様に行っ

た。すなわち、「富山大井」と「大山東黒牧」では6月1日から10月18日まで、ライト・トラップ(東京エース製、20W 捕虫円型管)による連日捕集を行った。他の5定点では6月第1週から10月2週まで、毎週水曜日にトラップを一晩点灯することで行った。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クロロホルムで麻酔した後、70%エタノールの入った500ml ポリ瓶に移し、それらを20日毎に回収して蚊類を選り分け、分類・集計した。後5定点では毎週水曜日に畜舎管理者が電源コンセントを差し込み、木曜日の朝に筆者らが電源コンセントを抜き、捕集籠を回収・交換して、検査室に持ち帰り蚊類を選別して集計した。なお、捕集時間帯は照度感受スイッチ(ナショナル EE スイッチ)を用いて、夕刻から翌朝まで行なった。

また、「神岡下之本」での調査は野沢式ライトトラップ(6W 捕虫蛍光管)を用いて、隔週の金曜日(7月～9月上旬は毎週)に上述と同じ方法で捕集を行い、翌土曜日に回収し集計した。

表1. 日本脳炎ウイルス媒介コガタアカイエカ捕集定点の概要 (平成18年度, 2006年)

番号	地点名	類別	地点の概要
1	黒部荻生	豚舎	黒部市荻生, 肥育豚90頭, 親豚30頭. 平野部水田・畑作地帯, 南西側は幅10mほどの黒瀬川に接し, 北東側に排水処理場. 水田は最も近いところで30m離れている.
2	上市湯上野	牛舎	上市町湯上野, 乳牛48頭, 和牛20頭. 水田地帯はずれの丘陵地, 側面は社叢, 背面は杉林と畑. 西100mに厩舎あり, 北東, 東100mに水田, 北300mに上市川.
3	大山東黒牧	牛舎	富山市(大山)東黒牧上野, 乳牛40頭. 丘陵稜線部(標高162m), 周辺は大学などの教育機関と雑木林, 畑, 民家が点在する. 水田は半径300mの範囲には無い.
4	富山大井	牛舎	富山市大井, 乳牛30頭, 和牛6頭, 子牛6頭. 平野部水田地帯, 北側200mに新興住宅団地がある. 南東1kmに熊野川. 近くには他畜舎は無い.
5	小矢部鷺島	牛舎	小矢部市鷺ヶ島, 乳牛40頭. 平野部水田地帯, 事業所, 人家点在. 近くに他畜舎は無い. 東側に幅4mほどの水量豊富な用水に隣接.
6	婦中友坂	厩舎	富山市婦中町(下)友坂, 乗馬倶楽部の厩舎, 乗用馬9頭. 丘陵部の裾野, 周囲に水田, 畑, 雑木林, 墓, 人家が点在. 南東1,000mに牛舎(約50頭)あり.
7	小杉山本新	牛舎	射水市(小杉)山本新, 肉牛60頭. 丘陵部水田地帯, 人家点在. 近くに同一人の肉牛舎あり. 周囲は溜池および畑, 梨園に隣接.
S	神岡下之本	牛舎	岐阜県飛騨市神岡町下之本, 肉牛4頭. 山間部畑作・水田地帯(標高875m), 人家数軒. 東北200mに 他肉牛舎(約60頭)あり. 前面の水田まで約100m, 裏は山林.

2. 調査結果および考察

表2に, 全調査定点における毎週水曜日の捕集成績を示した. 各定点において調査開始の6月第1週からコガタアカイエカは捕集されたが, 極めて少数であり, その後の増加も遅かった. 7月最終週から8月第1週にかけて各定点で増加を示し, 8月下旬~9月上旬にピークを形成する発消長を示した. 年間捕集数は「上市」が最も多く, 最も少なかった「大山東黒牧」の30倍に達した(表3). 次いで「富山大井」で多く, 「大山東黒牧」の28倍であった.

表3に, 1991年からのコガタアカイエカの定点別捕集数を示した. 2003年の冷夏年(表6)から2006年までを比べると, 「大山東黒牧」を除いた6定点で, 2006年が最も捕集数が少なくなった. この間最も捕集数が多かった2005年の捕集数と比べると, 減少率94.5%の「上市」を筆頭に, 89.4%の「黒部」, 86.3%の「大山東黒牧」, 82.7%の「富山大井」, 68.8%の「小杉」, 66.9%の「婦中」, 62.2%の「小矢部」と続いた.

以下, 各定点別に捕集結果を述べる.

[1.黒部荻生]の捕集数は2005年の10.6%と(表3), 顕著に減少した. 日最高捕集数も2005年8月3日の1,440個体に対し, 2006年は9月13日の432個体に減少した. 発消長曲線は9月中旬に山を形成する年1峰成を示した. 2005年の8月上旬に大きな山を形成した場合に比べ, 1ヶ月遅くなった.

[2.上市湯上野]年間捕集数は前年の295,817個体から16,462個体(5.5%)に激減した. 日最高捕集数も2005年8月24日の64,031個体から9月6日の5,536個体に減少した. 発消長は8月第2週から捕集数が増加し, 9月1週にピークに達し, その後減少する明瞭な年1峰性を示した(表2).

[3.大山東黒牧]この定点は, 後述の「富山大井」から, 直線距離で約3kmしか離れていない丘陵地の稜線上に位置する(標高162m, 標高差90m). そのほぼ中間に幅50mほどの一級河川「熊野川」が流れ, それに沿って両側に水田が広がっている. 最も近い水田でも定点から300m離れている. その間の標高差50mの斜面は竹, 雑木, 杉などで覆われている. また, 牛舎の周辺には畑地, 杉植林, 雑木林や民家および教育

平成19年12月1日

表2-1. 7 定点（畜舎）における蚊雌成虫の捕集数（平成18年，2006年）

調査日	1. 黒部					2. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.7	0	1	8	0	9	1	15	3	4	23
14	0	4	13	1	18	0	15	1	4	20
21	0	4	39	0	43	1	39	1	16	57
28	0	0	0	0	0	1	34	0	7	42
7.5	0	13	55	0	68	4	63	2	4	73
12	0	13	45	0	58	4	70	1	0	75
19	0	13	45	1	59	6	42	6	5	59
26	0	2	2	0	4	7	74	0	6	87
8.2	0	2	2	0	4	6	75	0	1	82
9	0	5	2	0	7	3	178	1	0	182
16	0	16	2	0	18	8	303	0	0	311
23	0	8	3	0	11	35	1,583	0	0	1,618
30	0	3	1	0	4	63	3,391	0	0	3,454
9.6	0	0	0	0	0	18	5,536	0	0	5,554
13	0	432	23	0	455	18	2,385	0	0	2,403
20	0	229	13	0	242	3	1,744	0	4	1,751
27	0	117	2	0	119	1	683	0	0	684
10.4	0	29	2	0	31	2	232	2	5	241
11	0	5	0	0	5	0	58	0	1	59
計	0	896	257	2	1,155	181	16,520	17	57	16,775

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.7	0	1	1	0	2	0	9	0	0	9
14	0	7	1	5	13	0	27	2	0	29
21	0	1	2	0	3	0	110	3	0	113
28	0	0	1	0	1	0	419	14	0	433
7.5	0	1	0	2	3	0	393	9	0	402
12	1	7	0	0	8	0	855	13	1	869
19	0	2	0	0	2	0	341	4	1	346
26	0	3	0	1	4	0	1,263	12	1	1,276
8.2	0	0	0	0	0	0	700	12	0	712
9	0	0	0	0	0	0	83	0	0	83
18	0	16	1	0	17	0	541	3	0	544
23	0	8	0	0	8	0	3,116	4	0	3,120
30	1	44	0	0	45	0	1,324	6	0	1,330
9.6	0	243	1	2	246	0	4,281	0	0	4,281
13	3	170	1	3	177	0	633	2	0	635
20	0	10	0	0	10	0	604	2	0	606
27	0	5	1	0	6	0	327	1	0	328
10.4	0	4	0	0	4	0	223	0	0	223
11	0	21	0	0	21	0	28	0	0	28
18	0	1	0	4	5	0	1	0	0	1
計	5	543	8	17	573	0	15,269	87	3	15,359

As=シナハマダラカ, Ct=コガタアカイエカ, Cp=アカイエカ, その他はヤマトヤブカ, オオクロヤブカである。
 ※2. 上市のその他はほとんどがオオクロヤブカである。

表2-2. 7 定点（畜舎）における蚊雌成虫の捕集数（2006年，平成18年）

調査日	5. 小矢部					6. 婦中友坂				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.7	0	9	0	0	9	0	2	2	3	7
14	0	17	2	0	19	0	10	4	8	22
21	0	23	2	0	25	0	8	0	2	10
28	0	22	4	0	26	0	30	0	1	31
7.5	0	20	5	3	28	0	39	1	7	47
12	0	46	10	0	56	0	25	1	2	28
19	0	90	18	0	108	0	37	5	5	47
26	0	2	0	0	2	0	187	3	4	194
8.2	0	289	11	1	301	0	94	4	4	102
9	0	104	6	0	110	0	121	2	0	123
16	0	501	8	0	509	0	355	2	0	357
23	0	632	32	0	664	0	615	4	2	621
30	0	1,020	4	0	1,024	0	667	8	0	675
9.6	0	804	22	0	826	0	881	8	0	889
13	0	361	4	0	365	0	289	0	0	289
20	0	187	8	0	195	0	362	4	2	368
27	0	268	4	0	272	0	46	0	1	47
10.4	0	174	2	0	176	0	12	1	0	13
11	0	49	0	0	49	0	4	0	2	6
計	0	4,609	142	4	4,764	0	3,784	49	43	3,876

調査日	7. 小杉山本新					As	Ct	Cp	その他	計
	As	Ct	Cp	その他	計					
6.7	0	5	2	0	7					
14	0	19	3	3	25					
21	0	10	3	0	13					
28	0	43	5	0	48					
7.5	0	31	4	0	35					
12	0	67	1	0	68					
19	0	10	1	0	11					
26	0	133	9	0	142					
8.2	0	5	0	0	5					
9	0	110	0	0	110					
16	0	1,364	0	0	1,364					
23	0	1,320	3	2	1,325					
30	0	1,428	3	0	1,431					
9.6	0	3,169	4	0	3,173					
13	0	2,111	3	0	2,114					
20	0	632	2	0	634					
27	0	341	0	0	341					
10.4	0	111	0	0	111					
11	0	9	1	0	10					
計	0	10,918	44	5	10,967					

As=シナハマダラカ, Ct=コガタアカイエカ, Cp=アカイエカ, その他はヤマトヤブカ, オオクロヤブカである.

表3. 7 定点における近年のコガタアカイエカ雌成虫の捕集数変動

年度	定 点 名								
	1. 黒部	2. 上市	3. 大山東黒牧		4. 富山大井		5. 小矢部	6. 婦中	7. 小杉
1991	1,702	14,322	-	-	7,640	51,218	4,318	-	-
1992	1,968	5,025	-	-	9,998	59,735	5,992	-	-
1993	642	1,100	-	-	8,827	72,509	5,093	-	-
1994	13,655	3,527	-	-	26,275	169,307	94,055	-	-
1995	6,398	1,790	-	-	26,247	161,391	21,751	-	-
1996	2,034	1,562	-	-	36,305	275,957	7,683	-	-
1997	7,054	1,466	-	-	23,743	172,373	45,250	-	-
1998	6,250	5,620	1,843	11,814	96,196	657,900	31,158	-	-
1999	1,954	2,676	1,319	11,379	52,436	344,498	27,944	-	-
2000	1,181	2,965	965	9,147	67,757	495,004	19,477	-	-
2001	1,443	6,574	1,819	10,433	78,846	504,862	12,877	-	-
2002	2,187	1,288	802	7,979	62,135	465,957	1,330	-	-
2003	2,181	195,869	496	2,644	60,527	469,460	17,963	8,555	25,219
2004	4,880	225,945	3,206	18,526	90,578	468,459	12,758	12,733	20,421
2005	8,392	295,817	3,974	13,291	88,321	735,891	12,088	11,424	34,968
2006	891	16,462	544	2,916	15,295	117,306	4,569	3,780	10,909

- 注. 1) 6月2週から 9月末までの、毎週水曜日にライトトラップ一晩捕集による成績。
 2) 富山大井、大山東黒牧の右側の数値は、6月1日から9月30日までの連日捕集による成績。
 3) 1.黒部は1998年に、2.上市は1994年に定点の場所(畜舎)を変更した。上市はさらに2003年に畜舎が30mほど移設された。3. 大山東黒牧は1998年、6. 婦中、7. 小杉は2003年から調査を開始した。5.小矢部は2003年に畜舎を変更した。

施設がある。これらの環境状況が、調査定点7か所の中でコガタアカイエカの捕集数が最も少ない原因と思われる(表2, 3)。

表4に連日捕集成績を示した。日最大捕集は9月12日の288個体であり、2005年の2,775個体(8月24日)の約1/10に減少し、ピークは2005年に比べ3週間遅くなった。年間捕集数は前年の約22%に著しく減少した(表3)。

[4. 富山大井] 表4に連日捕集成績を示した。調査当初から9月末まで2005年よりも明らかに捕集数は少なかったが[5]、10月に入り2005年よりも多く推移した。日最大捕集数は8月28日の5,347個体であり、2005年の7月3日31,290個体よりも1半月以上も遅くなった[5]。2006年は6月から9月まで捕集数が少なく推移したが、7月中旬、8月中旬、下旬、9月上旬、中旬に3,000個体を越える山が出現する年多峰性になった。年間の捕集数は2005年の16%に激減した(表3)。

[5. 小矢部鷺田] 年間捕集数は2005年の37.8%に減少した。(表3)。日最大捕集数も8月30日の1,020個体で、2005年の3,033個体(8月24日)よりも明瞭に減少した。発生推移は8月下旬に山を形成する1峰性を示した(表2)。

[6. 婦中友坂] 年間捕集数は3,780個体と2005年の11,424個体に比べ約1/3に減少した。日最大捕集数は9月

6日の881個体であり、2005年の8月24日3,328個体に比べ激減した。この定点は牛舎定点に比べ、極くわずかであるがヤマトヤブカが多く捕集される傾向があるが、2006年度も同様であった。シナハマダラカは全く捕集されなかった。

[7. 小杉山本新] 年間捕集数は10,918個体で、2005年の34,968個体よりも著減した。日最大捕集数も9月6日の3,169個体であり、2005年8月10日の6,879個体に比べ約1/2に減少した。発生推移は8月1週に谷を作った。例年は7月第4週から増加し、9月第1週にピークを形成し、その後減少する年1峰性の消長を示した(表2)。2005年に比べピークは約1月遅れた。

[S.神岡下之本] コガタアカイエカの年間捕集数は164個体で、2005年の1,884個体に比べ顕著に減少した。日最大捕集数も9月15日の46個体で、2005年8月13日の1,192個体に比べ明らかに減少した。シナハマダラカは4個体のみで、2005年の28個体、2004年の250個体に比べ激減した。その他の蚊種は6種類33個体で、2005年の4種類18個体よりも増加した。

本年の6～9月の気温は7月が平年値より幾分低く、8月が高く推移した。日照時間は7月が平年値の約半分と極端に少なく、逆に8月は約1.5倍に増えた。降水量

表4-1. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成18年, 2006年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6月1日	0	0	0	6	6	0	19	0	0	19
6月2日	0	0	0	1	1	0	12	2	0	14
6月3日	0	1	0	0	1	0	12	0	0	12
6月4日	0	3	0	3	6	0	7	1	0	8
6月5日	0	0	0	0	0	0	6	0	1	7
6月6日	0	0	0	0	0	0	35	3	0	38
6月7日	0	1	1	0	2	0	9	0	0	9
6月8日	0	1	1	1	3	0	14	0	0	14
6月9日	0	0	0	0	0	0	23	1	0	24
6月10日	0	1	1	0	2	0	16	1	0	17
6月11日	0	2	0	6	8	0	16	0	0	16
6月12日	0	8	1	6	15	0	52	0	1	53
6月13日	0	0	2	5	7	0	18	0	0	18
6月14日	0	7	1	5	13	0	27	2	0	29
6月15日	0	7	0	2	9	0	25	0	0	25
6月16日	0	1	0	1	2	0	34	1	0	35
6月17日	0	2	0	4	6	0	73	4	0	77
6月18日	0	0	2	1	3	0	36	3	0	39
6月19日	0	0	0	2	2	0	54	4	0	58
6月20日	1	0	1	1	3	0	111	6	0	117
6月21日	0	1	2	0	3	—	—	—	—	—
6月22日	0	3	0	0	3	0	110	3	0	113
6月23日	0	1	0	1	2	0	335	14	0	349
6月24日	0	2	0	0	2	0	96	2	0	98
6月25日	0	0	0	0	0	0	52	3	0	55
6月26日	0	0	0	0	0	0	188	0	0	188
6月27日	0	1	0	0	1	0	421	20	0	441
6月28日	0	0	1	0	1	0	419	14	0	433
6月29日	0	1	0	0	1	0	261	10	0	271
6月30日	0	1	0	2	3	0	740	12	0	752
計	1	44	13	47	105	0	3,221	106	2	3,329

注. —印はトラップの故障等による欠測を示す.

その他はカラツイエカ, ヤマトヤブカ, オオクロヤブカなどである.

平成19年12月1日

表4-2. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成18年,2006年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7月1日	0	1	0	0	1	0	254	17	0	271
7月2日	0	1	0	0	1	0	587	21	0	608
7月3日	0	4	0	0	4	0	395	15	0	410
7月4日	0	0	0	2	2	0	206	19	1	226
7月5日	0	1	0	2	3	0	393	9	0	402
7月6日	0	4	0	2	6	0	299	16	1	316
7月7日	0	2	0	2	4	0	372	29	0	401
7月8日	0	6	0	2	8	0	625	22	1	648
7月9日	0	2	0	0	2	0	861	7	0	868
7月10日	0	13	0	1	14	0	298	5	0	303
7月11日	0	0	0	0	0	0	521	10	0	531
7月12日	1	7	0	0	8	0	855	13	1	869
7月13日	1	10	2	0	13	0	450	3	1	454
7月14日	0	9	0	1	10	0	405	10	0	415
7月15日	0	6	0	0	6	0	641	8	3	652
7月16日	0	0	0	0	0	0	438	7	0	445
7月17日	0	2	0	0	2	0	838	6	2	846
7月18日	0	0	0	1	1	0	157	4	2	163
7月19日	0	2	0	0	2	0	351	4	1	356
7月20日	0	3	4	1	8	0	699	8	0	707
7月21日	2	5	0	2	9	0	949	7	1	957
7月22日	0	5	0	0	5	0	1,062	9	0	1,071
7月23日	0	7	0	3	10	0	3,346	41	0	3,387
7月24日	0	1	0	0	1	0	2,617	10	30	2,657
7月25日	0	6	0	0	6	0	985	5	8	998
7月26日	0	3	0	1	4	0	1,263	12	1	1,276
7月27日	0	10	0	2	12	0	695	5	0	700
7月28日	0	5	0	1	6	0	1,138	7	1	1,146
7月29日	0	17	0	1	18	0	817	4	1	822
7月30日	0	9	0	2	11	0	409	8	0	417
7月31日	0	11	2	2	15	0	2,016	9	0	2,025
計	4	152	8	28	192	0	24,942	350	55	25,347

注. その他はカラツイエカ, ヤマトヤブカである.

表4-3. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成18年,2006年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8月1日	0	8	0	2	10	0	2,495	22	0	2,517
8月2日	0	0	0	0	0	0	700	12	0	712
8月3日	—	—	—	—	0	0	686	12	0	698
8月4日	0	2	0	2	4	0	656	9	0	665
8月5日	0	1	0	0	1	0	258	7	0	265
8月6日	0	0	0	0	0	0	93	2	0	95
8月7日	0	2	0	0	2	0	271	8	0	279
8月8日	0	1	0	0	1	0	101	3	0	104
8月9日	0	0	0	0	0	0	83	3	0	86
8月10日	0	0	0	0	0	0	202	9	0	211
8月11日	0	0	0	0	0	0	434	5	0	439
8月12日	0	0	0	0	0	0	393	5	0	398
8月13日	0	2	0	0	2	0	290	1	0	291
8月14日	—	—	—	—	—	0	363	5	0	368
8月15日	0	0	0	0	0	0	444	3	0	447
8月16日	—	—	—	—	—	0	541	1	0	542
8月17日	0	0	0	0	0	0	4,494	2	0	4,496
8月18日	0	16	1	0	17	0	2,494	3	0	2,497
8月19日	0	2	0	0	2	0	2,020	3	0	2,023
8月20日	0	8	0	1	9	0	4,871	4	0	4,875
8月21日	0	1	0	0	1	0	6,193	6	0	6,199
8月22日	—	—	—	—	—	0	5,834	3	0	5,837
8月23日	0	8	0	0	8	0	3,116	4	0	3,120
8月24日	0	4	0	0	4	0	2,357	4	0	2,361
8月25日	1	3	0	0	4	0	1,470	4	0	1,474
8月26日	0	9	0	0	9	0	3,811	2	0	3,813
8月27日	0	10	0	0	10	0	4,288	3	0	4,291
8月28日	0	1	0	0	1	0	5,347	9	0	5,356
8月29日	0	9	1	2	12	0	4,825	2	0	4,827
8月30日	1	44	0	0	45	0	1,324	6	0	1,330
8月31日	0	5	0	0	5	0	1,777	4	0	1,781
計	2	136	2	7	147	0	62,231	166	0	62,397

注. —印はトラップの故障等による欠測を示す.

その他はヤマトヤブカ, トラフカクイカである.

平成19年12月1日

表4-4. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成18年, 2006年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9月1日	0	8	0	1	9	0	2,482	3	0	2,485
9月2日	0	23	0	1	24	0	1,097	0	0	1,097
9月3日	0	21	0	1	22	0	1,496	3	0	1,499
9月4日	0	8	0	0	8	0	1,552	2	0	1,554
9月5日	0	31	0	0	31	0	210	0	0	210
9月6日	0	243	1	2	246	0	4,281	0	0	4,281
9月7日	0	59	1	1	61	0	1,154	0	3	1,157
9月8日	0	166	0	3	169	0	1,417	0	0	1,417
9月9日	0	148	0	2	150	0	961	2	0	963
9月10日	0	87	1	2	90	0	597	1	0	598
9月11日	0	140	0	1	141	0	888	1	0	889
9月12日	1	288	2	2	293	0	404	0	0	404
9月13日	3	170	1	3	177	0	633	2	0	635
9月14日	0	142	1	1	144	0	315	0	0	315
9月15日	0	210	0	3	213	0	230	0	0	230
9月16日	1	86	0	1	88	0	461	2	1	464
9月17日	1	110	0	1	112	0	338	1	0	339
9月18日	0	164	3	3	170	0	751	2	0	753
9月19日	0	151	0	3	154	0	3,017	4	0	3,021
9月20日	0	10	0	0	10	0	604	2	0	606
9月21日	0	28	0	2	30	0	468	1	1	470
9月22日	0	10	0	1	11	0	177	2	0	179
9月23日	0	9	0	1	10	0	408	1	0	409
9月24日	0	18	0	1	19	0	134	4	1	139
9月25日	—	—	—	—	—	0	96	0	0	96
9月26日	0	5	1	1	7	0	652	3	1	656
9月27日	0	5	1	0	6	0	327	1	0	328
9月28日	0	26	0	3	29	0	155	1	0	156
9月29日	0	2	0	1	3	0	176	2	0	178
9月30日	0	3	0	2	5	0	65	2	0	67
計	6	2,371	12	43	2,432	0	25,546	42	7	25,595

注. —印はトラップの故障等による欠測を示す.

その他はヤマトヤブカ, オオクロヤブカ, キンイロヤブカなどである.

表4-5. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成18年, 2006年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
10月1日	0	5	0	1	6	0	159	1	0	160
10月2日	0	14	0	2	16	0	236	3	1	240
10月3日	—	—	—	—	—	0	305	2	0	307
10月4日	0	4	0	0	4	0	223	0	0	223
10月5日	0	21	0	0	21	0	78	0	0	78
10月6日	0	52	0	2	54	0	83	0	0	83
10月7日	1	18	1	2	22	0	54	0	0	54
10月8日	0	2	0	0	2	0	47	0	0	47
10月9日	0	16	0	1	17	0	29	2	0	31
10月10日	0	14	0	3	17	0	58	1	0	59
10月11日	0	21	0	0	21	0	28	0	0	28
10月12日	0	16	0	1	17	0	39	0	0	39
10月13日	0	20	0	1	21	0	6	0	0	6
10月14日	0	2	0	0	2	0	11	0	0	11
10月15日	0	3	0	3	6	0	6	1	0	7
10月16日	0	3	0	1	4	0	2	1	0	3
10月17日	0	1	0	2	3	0	1	0	1	2
10月18日	0	1	0	4	5	0	1	0	0	1
計	1	213	1	23	238	0	1,366	11	2	1,379

注. —印はトラップの故障等による欠測を示す.

その他はヤマトヤブカである.

は6月に少なく、7月に多くなった(表6). これらの気象状況により、コガタアカイエカの発生は6~7月に少なく推移し、8月になってから増加し、下旬から9月上旬にピークを形成する消長を示したと思われる。なお、本年度は6月の発生数がここ数年で最も少なく、この初期発生が少ないことが、今年度の全体の発生数が少なく推移した根本的な原因と思われる。すなわち、コガタアカイエカの発生場所である水田では、5月中旬には田植を終え、6月中下旬には1回目の中干しが行われる。この中干し前に、多くの成虫が羽化していると、その後の再入水と気温の上昇によって、産卵と蚊幼虫の発育が加速され増加することになる。しかしながら、2006年は6月の発生数が顕著に少ない上に、7月の低温・少日照量で、蚊の生産性が顕著に悪くなり、加えて7月下旬のカメムシやニカメイチュウなどの駆除のために、多量の殺虫・殺菌剤が散布され、成虫羽化数はさらに減少したと考えられる。それが8月になり水田環境が平穏になるとともに、多日照量になり気温が上昇し、蚊が増加を始めたと思われる。9月に入り水田の落水が始まり下旬には稲刈りが始まり、蚊の発生は減

少、終息に向かったと考えられる。一方、近年9月に入ってから成虫の捕集数が増加する傾向がみられるが、一つには稲刈りのため水田から追い出された成虫が畜舎周辺に移動し、トラップに捕集され易くなること。二つには稲刈り後の水田に雨水がたまり、好適な幼虫発生源になることが考えられる。

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31日までの4か月間、富山食肉総合センターに搬入される生後6か月の県内産(小矢部市、南砺市、上市町)の豚を対象として、毎週20~30頭から血液を採取し、日本脳炎の抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年のごとく感染症流行予測調査事業検査術式 [7] に従った。被検血清はアセトン処理を2回行い、非特異的赤血球凝集(HA)抑制物質を除去し、市販の日本脳炎CF, HI 試薬「生研」JaGAr01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制反応(HI)で抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球

表5. 飛騨市神岡町下之本における蚊雌成虫の捕集数 (平成18年, 2006年)

調査日	蚊の種類									計
	シハマ	コガタ	アカ	ハマダラ	カラツ	ヤマダ	キンロ	ヤマト	材刈	
5.20	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6.2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	1	0	0	0	1	0	0	0	2
30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7.7	1	5	0	0	1	0	0	0	0	7
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	12	0	2	1	0	0	0	0	15
28	1	2	0	2	0	0	0	0	0	3
8.4	0	18	0	1	0	2	0	0	0	21
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	17	0	2	0	3	0	0	0	22
25	0	17	0	0	0	1	0	0	0	18
9.1	0	35	0	1	0	2	0	0	1	39
15	1	46	0	0	0	1	1	5	5	59
29	1	11	0	0	0	1	0	1	1	15
10.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	4	164	0	6	2	11	1	6	7	201

シハマはシナハマダラカ、コガタはコガタアカイエカ、アカはアカイエカ、ハマダラはハマダライエカ、カラツはカラツイエカ、ヤマダはヤマダシマカ、キンロはキンイロヤブカ、ヤマトはヤマトヤブカ、材刈はオオクロヤブカを表す。

表6. 富山県における近年の月別気象要因の年変動 (富山気象台)

因子	月	年 度											平年値
		1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	
平均気温 (°C)	4	10.1	11.9	14.2	11.9	11.8	12.6	14.4	12.6	13.2	13.2	11.0	11.8
	5	16.3	17.6	18.6	17.6	17.6	18.9	16.9	18.0	18.1	16.2	17.1	16.7
	6	21.0	21.5	20.7	20.9	21.4	21.1	21.1	21.6	22.0	22.8	21.4	20.5
	7	25.1	24.8	25.2	24.9	27.0	27.0	26.4	22.5	26.8	24.9	24.0	24.6
	8	26.0	26.4	25.5	27.7	28.1	26.4	27.2	25.6	26.7	26.9	27.9	26.0
	9	21.0	21.4	23.3	24.5	23.5	21.6	22.5	22.9	23.6	23.9	22.0	21.6
日照時間 (hrs)	4	192.6	166.4	109.8	154.9	168.3	224.3	177.6	139.1	198.1	221.7	127.5	172.2
	5	212.1	167.8	207.0	224.9	184.8	201.4	170.6	218.6	133.6	212.5	139.8	200.9
	6	117.3	162.5	86.5	137.3	148.4	111.6	177.4	120.2	173.3	157.7	140.3	147.5
	7	192.2	136.3	130.9	134.5	232.7	234.7	170.1	65.4	196.7	119.6	81.1	160.5
	8	226.4	199.8	101.6	201.8	271.8	203.7	207.1	144.2	213.3	161.6	281.9	200.4
	9	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	134.0	144.9	151.9	112.9	134.4	152.8	133.9
降水量 (mm)	4	91.5	260.0	214.5	147.0	131.5	42.0	110.0	267.0	115.0	66.5	187.5	122.5
	5	126.0	197.5	245.5	132.5	48.5	105.0	231.0	68.5	313.5	72.5	175.5	124.8
	6	305.0	143.0	135.0	247.0	197.0	281.5	117.5	176.5	205.5	182.0	82.0	183.3
	7	60.5	325.0	161.5	88.0	65.0	108.0	363.0	201.5	214.5	311.0	565.5	223.1
	8	149.0	129.5	630.5	155.0	39.5	230.5	63.5	283.0	50.0	266.5	113.0	176.6
	9	159.0	213.0	303.0	424.5	287.0	206.5	210.5	159.0	255.5	190.0	227.5	233.1

注. 1. 富山地方気象台の「富山県の気象・地震概況」からデータを引用した。
 2. 平年値は1971年～2000年の平均値である。

表7. 平成17年度豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況(2005年)

検体採取日	抗体価								2-ME感受性陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月4日	18 (90)	1 (5)	1 (5)						
11日	20 (100)								
18日	30 (100)								
25,26日	24 (80)	4 (13)		1 (3)	1 (3)				2/2 (100.0)
8月1日	17 (85)	1 (5)	2 (10)						
8日	20 (67)	8 (27)	2 (7)						
17日	10 (33)	10 (33)	6 (20)	3 (10)				1 (3)	4/4 (100)
22日	0 (0)	10 (50)	10 (50)						
29-30日	6 (30)	10 (50)	3 (15)	1 (5)					1/1 (100)
9月5日	20 (100)								
12-14日	19 (63)	9 (30)	1 (3)	1 (3)					1/1 (100)
19日	10 (50)	6 (30)	4 (20)						
26日	20 (67)	9 (30)	1 (3)						
10月3日	13 (65)	3 (15)	1 (3)	3 (15)					3/3 (100)
10日	2 (10)	5 (25)	10 (50)	2 (10)	1 (5)				2/3 (67)
17日	18 (60)	4 (13)	6 (20)	2 (7)					2/2 (100)
24日	16 (80)	4 (20)							
31日	7 (35)	9 (45)	4 (20)						
計	270 (62.8)	93 (21.6)	51 (11.9)	13 (3.0)	2 (0.5)	0 (0)	0 (0)	1 (0.2)	15/16 (93.8)

- 注 1. 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)処理を行ない、ウイルスの新鮮感染を検討した。
2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。
3. 平成17年度から、2-ME処理により抗体価が40倍から10倍以下に低下した時は2-ME感受性を陽性とした。

平成19年12月1日

を用い、HI 反応はマイクロタイター法で行った。

2. 調査結果および考察

採血日と HI 抗体価の測定結果を表7に示した。本年は10月末まで採血を行い、合計18回の調査になった。

7月4日の調査で、抗体価が10～20倍と比較的低い豚が2頭みられた。その後2週間、抗体保有豚はみられなかったが、7月25,26日には10～80倍の抗体価を持つ豚が4頭出現した。40倍以上の2頭について2-ME 感受性を調べたところ、2頭とも感受性のある新鮮感染を示した。8月に入ると抗体保有豚は徐々に増加し、8月22日には100%になった。9月5日に抗体保有率は0%になったものの、その後再び上昇し、抗体陽性豚は10月まで継続してみられた。新鮮感染を示す豚は毎月みられ、10月17日まで続いた。7月から10月までの間に、抗体価が40倍以上を示した豚（16頭）のうち、15頭が2-ME 感受性であった。抗体価は全体を通して80倍以下がほとんどであり、640倍以上であったのは8月17日の1頭のみであった。

これに対して昨年2005年は、8月3週から抗体保有率が上昇し、10月に100%に達した。新鮮感染は8月3週から10月2週まで確認されたが、そのピークは8月3週から9月3週までと考えられた。全体として新鮮感染を示す豚の数は64頭であった。また、抗体価が640倍以上の豚は108頭であった。以上のことから、2006年には、日本脳炎ウイルスは7月下旬に富山県内に侵入し、10月中旬まで豚の間で感染が拡大したが、2005年ほどウイルス動態は活発でなかったと考えられる。

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

7月から10月にかけて豚舎3ヶ所と牛舎1ヶ所、厩舎1ヶ所付近で捕集した蚊（豚舎1444個体、牛舎1512個体、厩舎6個体）について、50個体までを1プールとして日本脳炎ウイルス分離を行った。また、抗体調査に用いた豚血清のうち、日本脳炎に対する抗体価が10倍未満の270検体についてもウイルス分離を行った。分離には、ヒトスジシマカ由来の C6/36細胞とアフリカミドリザル由来の Vero9013細胞を用いた。細胞変性が現れた検体の培養上清について、フラビウイルス NS3 領域または日本脳炎ウイルスエンベロープ領域を対象とした RT-PCR を実施した。

2. 調査結果および考察

蚊、豚ともに、日本脳炎ウイルスは分離されなかった。2006年は、コガタアカイエカの発生が少なく、豚

の抗体価や新鮮感染を示す豚の数も低かったことから、ウイルスの活動があまり活発でなかったと思われる。2005年[6]にコガタアカイエカと豚からウイルスが分離されたのにもかかわらず、同じ定点の検体において2006年は陰性であったことから、水田に囲まれた豚舎のような、増幅動物と媒介蚊のいる地点でも、日本脳炎ウイルスが毎年分離されるとは限らず、年によって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た。この流行状況を探るためにも、本調査を継続して行っていく必要がある。

3. まとめ

2006年の豚の HI 抗体保有率は、8月に100%となり、10月まで増減を繰り返していた。また、7月から10月まで新鮮感染を示す豚は毎月みられたが、全体として15頭にとどまった。抗体価は80倍以下の低値がほとんどであった。2006年には、日本脳炎ウイルスは7月下旬に富山県内に侵入し、10月中旬まで豚の間で感染が拡大したが、2005年ほどウイルス動態は活発でなかったと考えられた。実際に、2005年には蚊・豚から日本脳炎ウイルスが分離されたにも関わらず、2006年には分離されなかった。これらの状況から、日本脳炎患者が発生する可能性は2005年より低いと考えられ、予想通り患者発生はみられなかった。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力を頂いている各定点畜舎、関係厚生センター・支所および食肉総合センター、食肉検査所の各位に深謝いたします。

文 献

1. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 安藤秀二 (2004). 富山県における日本脳炎流行予測調査35年間のまとめ, 82p 図版+46pp, 富山県衛生研究所・富山県厚生部健康課.
2. 小林睦生 (2003). 感染症, 33, 29-39,
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦 (2003). 富山衛研年報, 26, 74-84.
4. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦 (2004). 富山衛研年報, 27, 56-67.
5. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦 (2005). 富山衛研年報, 28, 52-64.
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. 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.

ポリオ流行予測調査

岩井雅恵 堀元栄詞 小原真弓 長谷川澄代
 滝澤剛則 倉田 毅 田中有易知¹ 田中桂子²
 南部厚子³ 上田順子⁴ 嶋尻悟志⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA,
 Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA, Yuichi TANAKA¹, Keiko TANAKA²,
 Atsuko NANBU³, Junko UEDA⁴ and Satoshi SHIMAJIRI⁵

要 旨 平成18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、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、0歳から6歳までの乳幼児73名から糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、アデノウイルス1型が3名から、アデノウイルス2型が2名から、パレコウイルス1型が8名から、コクサッキーウイルス B5型が1名から検出された。ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査は、乳児から成人(0歳~69歳)の275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91.3%、2型では97.8%、3型では76.0%であった。また、各型に対する平均抗体価は、1型は98.7倍、2型は73.4倍、3型は20.7倍であった。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業のひとつとして国からの依頼を受け、昭和38年から毎年実施している。本年度は感染源調査および感受性調査が委託された。両調査結果を合わせて報告する。

富山県における過去25年間の感染源調査では、1983年度にポリオウイルス1型が1株、1992年度に同3型が1株、1999年度に同2型が1株、2001年度に同2型が2株、2004年度に同2型が1株分離された。これら6株はすべてワクチン由来であり、野生型は分離されなかった。一方、感受性調査では、富山県民は1型、2型、3型ともポリオの流行を十分に阻止しうる抗体保有状況にあると考えられた。しかしながら、1~3型すべてに対する抗体を保有している人は、県民の約4分の3にとどまっていると推定された。

世界保健機関(WHO)によって1988年に決議され、開始されたポリオ根絶計画により、世界のほとんどの地域でポリオウイルスが駆逐されている。日本の属する西太平洋地域においても、2000年10月に根絶が宣言された[1]。しかしながら、インドやアフリカなどの

一部には依然として野生型ポリオウイルスが存在する。さらに、野生株フリーとなっていたアフリカの国々やインドネシアでは、2002年から2005年にナイジェリア由来と考えられるポリオ伝播が起き、また、レバノンやアンゴラ、ネパール等では、インド由来と考えられる輸入症例が報告されている[2]。ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)についても、2000-2001年ハイチおよびドミニカ共和国、2001年フィリピン、2001-2002年マダガスカルなどで流行が報告されている[3, 4, 5]。これらの国は、いずれも野生株フリーが達成され、ワクチン接種率が低下していた。このように、海外からのポリオウイルスの侵入を阻止し、VDPVの発生を監視するために、また、集団および個人レベルの感染防御を保つためにも、県民の抗体保有状況を把握することは重要であると考えられる。

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のみ検査を行った。

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

I 感染源調査 調査および検査方法

健康な乳幼児を対象にして、砺波厚生センター管内の小矢部市では、春期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成18年9月に、新川厚生センター管内の黒部市では、秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成19年1月に、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、小矢部市では0歳児12名、黒部市では0歳児2名、1歳児10名、2歳児2名、3歳児21名、5歳児5名、6歳児21名の計61名、両市の合計は73名であった。また、ポリオワクチン接種歴なども調査した。

ウイルスの検索は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[6]に準じて行った。採取した糞便にEagle-MEM 培養液(日水製薬KK)を加えて約10%乳剤を作製し、10,000rpm、15分間の遠心後、pore size0.45μmのフィルターでろ過して雑菌を除いた。得られたろ液をウイルス分離材料とした。分離用細胞としてMA104, RD-18S, HEp-2を使用し、細胞変性効果を指標とした。

結果および考察

黒部市の3歳児2名および5歳児1名からアデノウイルス1型が、1歳児2名からアデノウイルス2型が、6歳児1

名からコクサッキーウイルス B5型が検出された。また、小矢部市0歳児8名からパレコウイルス1型が検出された。ポリオウイルスは検出されなかった (Table 1)。したがって、これらの地域でのポリオウイルス野生株、およびワクチン由来株の浸淫の可能性は少ないと考えられた。

II 感受性調査 調査および検査方法

平成18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275名 (0~69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」[6]に準じて行った。被験血清を Eagle-MEM 培養液で4倍希釈し、56°C30分間非働化した後、その50μl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、100TCID₅₀/50μlとなるように調製した1~3型の弱毒セービンウイルス50μlを加えてよく混和し、37°C、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100μlずつ加え、37°C、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。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、平成15年度に国立感染症研究所から分与され、当

Table 1. Virus isolation from feces of children

Area	Age (Year)	No. of feces	Virus isolation		Type of virus*			
			No.	(%)	Adeno1	Adeno2	Parecho1	CoxB5
Kurobe	0	2	0	(0)				
	1	10	2	(20.0)		2		
	2	2	0	(0)				
	3	21	2	(9.5)	2			
	4							
	5	5	1	(20.0)	1			
	6	21	1	(0)				1
	Subtotal	61	6	(9.8)	3	2		1
Oyabe	0	12	8	(66.7)			8	
	1							
	2							
	3							
	4							
	5							
	6							
	Subtotal	12	8	(66.7)			8	
Total		73	14	(19.2)	3	2	8	1

Date of surbey : Kurobe; Jan.29-30, 2007. Oyabe; Sep.13-14, 2006.

* : Adeno; Adenovirus, Parecho; Parechovirus, CoxB; Coxsackievirus type B,

Table 2. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies

Type1

Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	18	3	0	0	0	0	0	1	2	1	11	15	(83.3)	707.5
2~3	17	0	0	0	0	0	2	0	3	2	10	17	(100)	533.3
4~9	24	0	0	0	1	1	1	1	3	7	10	24	(100)	418.3
10~14	29	0	0	1	0	1	2	3	7	3	12	29	(100)	341.0
15~19	19	0	0	0	4	3	1	4	2	3	2	19	(100)	106.7
20~24	21	1	0	1	3	0	6	4	3	1	2	20	(95.2)	97.0
25~29	16	2	0	0	1	4	3	3	1	1	1	14	(87.5)	86.1
30~34	31	6	6	3	6	6	1	3	0	0	0	25	(80.6)	16.9
35~39	21	5	2	1	7	2	2	2	0	0	0	16	(76.2)	21.7
40~49	28	1	1	4	3	8	8	2	1	0	0	27	(96.4)	32.8
50~59	26	2	0	3	5	4	4	3	1	0	4	24	(92.3)	60.4
60~	25	4	1	0	5	6	3	5	1	0	0	21	(84.0)	41.7
Total	275	24	10	13	35	35	33	31	24	18	52	251	(91.3)	98.7
(%)	(100)	(8.7)	(3.6)	(4.7)	(12.7)	(12.7)	(12.0)	(11.3)	(8.7)	(6.5)	(18.9)	(91.3)		

Type2

Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	18	3	0	0	0	0	0	0	2	3	10	15	(83.3)	741.0
2~3	17	0	0	0	1	0	0	3	2	3	8	17	(100)	417.6
4~9	24	0	0	0	0	3	1	7	6	5	2	24	(100)	197.4
10~14	29	0	0	1	2	10	7	3	4	2	0	29	(100)	64.0
15~19	19	0	0	5	2	2	4	6	0	0	0	19	(100)	37.0
20~24	21	0	0	0	4	3	7	4	3	0	0	21	(100)	61.9
25~29	16	0	0	1	4	3	4	2	2	0	0	16	(100)	45.3
30~34	31	1	0	2	5	4	13	1	3	1	1	30	(96.8)	55.7
35~39	21	0	1	4	1	3	5	2	4	0	1	21	(100)	50.8
40~49	28	0	1	5	10	3	4	1	3	1	0	28	(100)	29.0
50~59	26	1	3	1	3	8	3	5	0	1	1	25	(96.2)	39.9
60~	25	1	2	1	5	4	2	1	4	3	2	24	(96.0)	65.9
Total	275	6	7	20	37	43	50	35	33	19	25	269	(97.8)	73.4
(%)	(100)	(2.2)	(2.5)	(7.3)	(13.5)	(15.6)	(18.2)	(12.7)	(12.0)	(6.9)	(9.1)	(97.8)		

Type3

Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	18	8	1	0	2	0	1	0	4	1	1	10	(55.6)	104.0
2~3	17	2	1	2	6	2	0	2	2	0	0	15	(88.2)	27.9
4~9	24	4	0	2	6	5	2	2	2	1	0	20	(83.3)	39.4
10~14	29	4	2	8	5	7	3	0	0	0	0	25	(86.2)	16.4
15~19	19	4	5	2	2	3	2	0	1	0	0	15	(78.9)	15.3
20~24	21	10	4	4	2	1	0	0	0	0	0	11	(52.4)	8.0
25~29	16	4	4	2	1	4	0	1	0	0	0	12	(75.0)	13.5
30~34	31	15	5	6	2	2	1	0	0	0	0	16	(51.6)	9.5
35~39	21	7	6	2	1	3	1	1	0	0	0	14	(66.7)	11.9
40~49	28	5	4	2	6	3	3	2	2	1	0	23	(82.1)	27.5
50~59	26	1	2	9	3	1	5	4	1	0	0	25	(96.2)	23.6
60~	25	2	3	3	6	5	3	1	2	0	0	23	(92.0)	23.7
Total	275	66	37	42	42	36	21	13	14	3	1	209	(76.0)	20.7
(%)	(100)	(24.0)	(13.5)	(15.3)	(15.3)	(13.1)	(7.6)	(4.7)	(5.1)	(1.1)	(0.4)	(76.0)		

Table 3. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies against poliovirus in relation to vaccination history among age groups

Type1											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	18	4/4	(100)	5/5	(100)	6/6	(100)	0/3	(0)		
2~3	17	10/10	(100)			7/7	(100)				
4~9	24	9/9	(100)	1/1	(100)	14/14	(100)				
10~14	29					29/29	(100)				
15~19	19	3/3	(100)	1/1	(100)	14/14	(100)			1/1	(100)
20~24	21	8/9	(88.9)			10/10	(100)			2/2	(100)
25~29	16	0/1	(0)			13/14	(92.9)			1/1	(100)
30~34	31			0/1	(0)	19/21	(90.5)			6/9	(66.7)
35~39	21					9/12	(75.0)			7/9	(77.8)
40~49	28	3/3	(100)			5/5	(100)	1/1	(100)	18/19	(94.7)
50~59	26	2/2	(100)			3/3	(100)	2/2	(100)	17/19	(89.5)
60~	25					3/4	(75.0)	2/3	(66.7)	16/18	(88.9)
Total	275	39/41	(95.1)	7/8	(87.5)	132/139	(95.0)	5/9	(55.6)	68/78	(87.2)
				178/188	(94.7 %)						

Type2											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	18	4/4	(100)	5/5	(100)	6/6	(100)	0/3	(0)		
2~3	17	10/10	(100)			7/7	(100)				
4~9	24	9/9	(100)	1/1	(100)	14/14	(100)				
10~14	29					29/29	(100)				
15~19	19	3/3	(100)	1/1	(100)	14/14	(100)			1/1	(100)
20~24	21	9/9	(100)			10/10	(100)			2/2	(100)
25~29	16	1/1	(100)			14/14	(100)			1/1	(100)
30~34	31			1/1	(100)	20/21	(95.2)			9/9	(100)
35~39	21					12/12	(100)			9/9	(100)
40~49	28	3/3	(100)			5/5	(100)	1/1	(100)	19/19	(100)
50~59	26	2/2	(100)			2/3	(66.7)	2/2	(100)	19/19	(100)
60~	25					4/4	(100)	3/3	(100)	17/18	(94.4)
Total	275	41/41	(100)	8/8	(100)	137/139	(98.6)	6/9	(66.7)	77/78	(98.7)
				186/188	(98.9%)						

Type3											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	18	4/4	(100)	2/5	(40.0)	4/6	(66.7)	0/3	(0)		
2~3	17	10/10	(100)			5/7	(71.4)				
4~9	24	9/9	(100)	1/1	(100)	10/14	(71.4)				
10~14	29					25/29	(86.2)				
15~19	19	1/3	(33.3)	0/1	(0)	13/14	(92.9)			1/1	(100)
20~24	21	2/9	(22.2)			7/10	(70.0)			2/2	(100)
25~29	16	1/1	(100)			11/14	(78.6)			0/1	(0)
30~34	31			1/1	(100)	11/21	(52.4)			4/9	(44.4)
35~39	21					9/12	(75.0)			5/9	(55.6)
40~49	28	2/3	(66.7)			5/5	(100)	1/1	(100)	15/19	(78.9)
50~59	26	2/2	(100)			3/3	(100)	2/2	(100)	18/19	(94.7)
60~	25					3/4	(75.0)	2/3	(66.7)	18/18	(100)
Total	275	31/41	(75.6)	4/8	(50.0)	106/139	(76.3)	5/9	(55.6)	63/78	(80.8)
				141/188	(75.0%)						

* Number of positive sera(≥ 4)/Number of tested sera

Table 4. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies against different types of poliovirus among age groups

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against							
			Type1	Type2	Type3	Type1&2	Type2&3	Type1&3	Type1,2&3(%)	
0~1	18	3				5			10	(55.6)
2~3	17					2			15	(88.2)
4~9	24					4			20	(83.3)
10~14	29					4			25	(86.2)
15~19	19					4			15	(78.9)
20~24	21			1		9			11	(52.4)
25~29	16			1		3	1		11	(68.8)
30~34	31			3		12	3	1	12	(38.7)
35~39	21			3		4	2		12	(57.1)
40~49	28			1		4			23	(82.1)
50~59	26					1	2	1	22	(84.6)
60~	25			1		1	3	1	19	(76.0)
Total	275	3		10		53	11	3	195	
(%)	(100)	(1.1)		(3.6)		(19.3)	(4.0)	(1.1)	(70.9)	

研究所において HEp-2細胞1代後 Vero 細胞で1代継代したものを使用した。

結果および考察

ポリオウイルス各型に対する中和抗体価の保有状況をウイルス型別、年齢区分別にまとめて Table 2 に示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が97.8%(269/275)で最も高く、次いで1型が91.3%(251/275)、3型は76.0%(209/275)であった。これらの結果は、昨年度の調査結果(1型93.2%、2型95.9%、3型77.6%)とほぼ同様であり、いずれの型に対しても集団免疫として十分な状況であると考えられる[7]。各年齢区分をみると、1型では35~39歳が76.2%で最も低く、次いで30~34歳が80.6%、0~1歳が83.3%、60歳以上が84.0%、25~29歳が87.5%であった。それ以外の年齢区分では、90%以上の人々が抗体を保有していた。2型では、0~1歳が83.3%であったが、それ以外の年齢区分では95%以上の抗体保有率であった。一方、3型は30~34歳が51.6%と最も低く、次いで20~24歳が52.4%、0~1歳が55.6%、35~39歳が66.7%、35~39歳が73.7%、それ以外の年齢区分が75%以上であり、1型や2型に比べて低かった。

抗体保有者の平均抗体価(幾何平均)は、1型では30~34歳の16.9倍から0~1歳の707.5倍までを示し、平

均は98.7倍であった。2型では15~19歳の29.6倍から0~1歳の741.0倍までを示し、平均は73.4倍であった。一方、3型では20~24歳の8.0倍から0~1歳の104.0倍までを示し、平均は20.7倍であり、1型や2型と比べて低かった。

Table 3 にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ワクチン接種者全体の抗体保有率は、1型94.7%(178/188)、2型98.9%(186/188)であり、1回のみでも十分な抗体獲得率を示していた。しかし、3型の場合の陽性率は75.0%(141/188)にとどまり、1型や2型と比べて低かった。なお、ポリオ生ワクチンは、日本では1961年に導入され、全国の乳幼児を対象に一斉に投与された。1963年からは2回接種が定期的に行われている[8]。

各年齢層における複数の型に対する抗体保有状況を Table 4 に示した。1~3のすべての型に対する抗体保有率は、全体では70.9%(195/275)であったが、保有率が比較的低い年齢としては、30~34歳の38.7%(12/31)、20~24歳の52.4%(11/21)、0~1歳の55.6%(10/18)であった。抗体を保有していなかった人は2回のワクチンが済んでおらず、今後の定期接種によって免疫を得る機会があると考えられる。今回の調査では、1型に対する抗体保有率が低いとされている昭和50年(1975年)から52年(1977年)生まれ[9]の検体が8名あり、このうち4名が1型に対する抗体を保有していなかった。一方、

平成19年12月1日

すべての型に対して抗体を持っていなかったのは0～1歳の3名であったが、これらの3名はワクチン接種歴が無く、今後の定期接種によって免疫を得る機会があると考えられる。いずれかの型に対して抗体を持っていなかったのは77名(28.0%)で、このうち2回の接種が済んでいる人は11名、1回が5名、0回が1名、回数不明が39名、接種不明が21名であった。

野生型ポリオウイルスは、インドやアフリカなどで依然として感染が続いており、これらの地域からウイルスが侵入する可能性があるため、その監視は続けなければならない。一方、生ワクチン株が腸管内で増殖する過程で毒性が復帰する可能性も考慮しておかなければならない。毒性復帰株に由来する二次感染は、約580万回に1回発生するといわれており[10]、子供から二次感染によって家族がポリオ麻痺を発症した事例も報告されている[11]。このような毒性復帰株の根絶は重要な課題となっており、日本においても生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が検討されている[12]。ワクチン由来のポリオウイルスは、通常、ワクチン接種後約1ヶ月間便に排泄され、免疫不全者ではさらに長期間にわたることがある[13, 14, 15, 16]。ウイルス増殖が繰り返されるほど変異は蓄積される可能性があるため、生ワクチンを使用している限り、高い集団免疫状況を保つことが大切であると考えられる。今回の調査では、29.1%の人が3種類のポリオウイルスのうち、いずれか、あるいはすべての型に対する抗体を持っていないことが判明した。これらの人は、海外渡航時や育児に携わる期間には注意が必要であると考えられる。

ま と め

感染源調査：平成19年1月、平成18年9月に、それぞれ新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児73名を対象に調査した。その結果、アデノウイルス1型が3名から、アデノウイルス2型が2名から、パレコウイルス1型が8名から、コクサッキーウイルス B5型が1名から検出された。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69歳までの275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91.3%、2型97.8%、3型76.0%であった。また、平均抗体価（幾何平均）は1型98.7倍、2型73.4倍、3型20.7倍を示し、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。しかしながら、いずれか、あるいはすべての型の抗体を保有していない人が29.1%おり、海外からのポリオウイルス侵入に対する警戒や、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

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、その他関係各位に感謝いたします。

文 献

1. WHO (2000). Weekly epidemiological record, No.49, 75, 397-408
2. WHO (2006). Weekly epidemiological record, No.7, 81, 61-68
3. Kew,O., Morris-Glasgow, V., Landaverde,M. et al. (2002). Sience, 296, 356-359
4. Shimizu, H., Thorley, B., Paladin, F.J., et al. (2004). J. Virol., 78, 13512-13521
5. WHO (2002). Weekly epidemiological record, No.29, 77, 241-248
6. 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
7. 岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 他 (2005). 平成16年度富山県衛生研究所年報, 28, 73-79
8. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001). IDWR, 第3巻, 第26号, 8-11
9. 厚生省通知, (平成8年11月28日). 健医感発第147号.
10. 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.
11. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課(2001). 病原微生物検出状況月報, 22, 63
12. 清水博之, 武田直和, 宮村達男 (2004). 総合臨床. 53, 6, 1860-1865
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

堀元栄詞 小原真弓 岩井雅恵 長谷川澄代
 滝澤剛則 倉田 毅 田中桂子¹ 南部厚子² 中澤保文³
 田中有易知³ 上田順子⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2006-2007

Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA,
 Takenori TAKIZAWA, Keiko TANAKA¹, Atsuko NANBU², Yasufumi NAKAZAWA³,
 Yuichi TANAKA³, Junko UEDA⁴, Hideki MIYATA⁵

要 旨 インフルエンザ流行期前の富山県住民の抗体保有状況，および流行期のインフルエンザ様患者からのウイルス分離を実施した．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275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，ワクチン株の A/New Caledonia/20/99(H1N1)株，A/Hiroshima/52/2005(H3N2)株および B/Malaysia/2506/2004株（ビクトリア系統），そして参考株の B/Shanghai/361/2002株（山形系統）に対して，各々50.9%，40.7%，7.6%，48.7%であった．B型（ビクトリア系統）に対する抗体保有率は依然低く，流行が危惧された．
2. インフルエンザ患者の報告は1月中旬（第4週）より上昇し，3月中旬（第12週）をピークにして5月上旬（第20週）に終息した．その間に，休校，学級あるいは学年閉鎖の措置が36施設でとられ，累積患者数は966名であった．
3. インフルエンザウイルス分離については，AH1型が12株，AH3型が95株，B型が79株，合計186株が分離された．シーズン前半はAH3型とB型がほぼ同じ割合で分離されたのに対し，AH1型はシーズン終盤で分離された．分離株の抗原解析の結果，AH1型およびAH3型分離株ではワクチン株と異なる抗原性を示すものが多かったが，B型分離株は全てビクトリア系統で，ワクチン株と抗原性がほぼ同じであった．

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

I ヒト感受性調査

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の注意を喚起する為の資料とする．

調査および検査方法

1. 調査期間
2006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275名について調査を行った．年齢群別調査数は0～4歳:42名，5～9歳:17名，10～14歳:29名，15～19歳:19名，20～29歳:37名，30～39歳:52名，40～49歳:28名，50～59歳:26名，60歳以上:25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

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

平成19年12月1日

表1. 年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況

A/New Caledonia/20/99(H1N1)

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	42	25	11	3	2	1	0	0	0	0	0	0	3	7.1
5-9	17	6	1	2	1	1	3	1	1	1	0	0	8	47.1
10-14	29	3	0	4	4	5	6	4	1	2	0	0	22	75.9
15-19	19	2	1	0	2	5	1	3	3	2	0	0	16	84.2
20-29	37	5	2	3	1	5	7	6	3	4	1	0	27	73.0
30-39	52	17	3	6	10	7	4	5	0	0	0	0	26	50.0
40-49	28	9	4	3	2	3	3	3	1	0	0	0	12	42.9
50-59	26	6	7	2	4	2	2	2	1	0	0	0	11	42.3
≥60	25	7	2	1	4	7	1	1	2	0	0	0	15	60.0
合計	275	80	31	24	30	36	27	25	12	9	1	0	140	50.9

A/Hiroshima/52/2005(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	42	24	1	2	3	5	5	1	1	0	0	0	15	35.7
5-9	17	2	2	1	1	3	3	4	0	1	0	0	12	70.6
10-14	29	4	6	3	2	5	4	4	1	0	0	0	16	55.2
15-19	19	1	1	2	6	5	3	1	0	0	0	0	15	78.9
20-29	37	7	5	5	9	7	3	0	1	0	0	0	20	54.1
30-39	52	21	7	9	7	3	3	1	1	0	0	0	15	28.8
40-49	28	13	8	2	2	2	1	0	0	0	0	0	5	17.9
50-59	26	10	3	4	4	3	2	0	0	0	0	0	9	34.6
≥60	25	13	3	4	0	3	2	0	0	0	0	0	5	20.0
合計	275	95	36	32	34	36	26	11	4	1	0	0	112	40.7

B/Malaysia/2506/2004

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	42	41	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	17	12	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
10-14	29	26	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	6.9
15-19	19	6	7	3	3	0	0	0	0	0	0	0	3	15.8
20-29	37	22	7	3	5	0	0	0	0	0	0	0	5	13.5
30-39	52	25	9	11	2	4	1	0	0	0	0	0	7	13.5
40-49	28	17	7	1	3	0	0	0	0	0	0	0	3	10.7
50-59	26	19	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
≥60	25	21	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4.0
合計	275	189	40	25	15	4	2	0	0	0	0	0	21	7.6

B/Shanghai/361/2002

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	42	29	5	2	3	2	0	1	0	0	0	0	6	14.3
5-9	17	3	2	1	3	7	1	0	0	0	0	0	11	64.7
10-14	29	1	1	2	9	10	4	1	1	0	0	0	25	86.2
15-19	19	1	0	1	2	5	5	3	2	0	0	0	17	89.5
20-29	37	2	3	4	9	7	7	5	0	0	0	0	28	75.7
30-39	52	10	9	12	13	5	1	0	2	0	0	0	21	40.4
40-49	28	5	5	7	7	3	1	0	0	0	0	0	11	39.3
50-59	26	7	6	5	0	3	5	0	0	0	0	0	8	30.8
≥60	25	12	1	5	3	3	0	1	0	0	0	0	7	28.0
合計	275	70	32	39	49	45	24	11	5	0	0	0	134	48.7

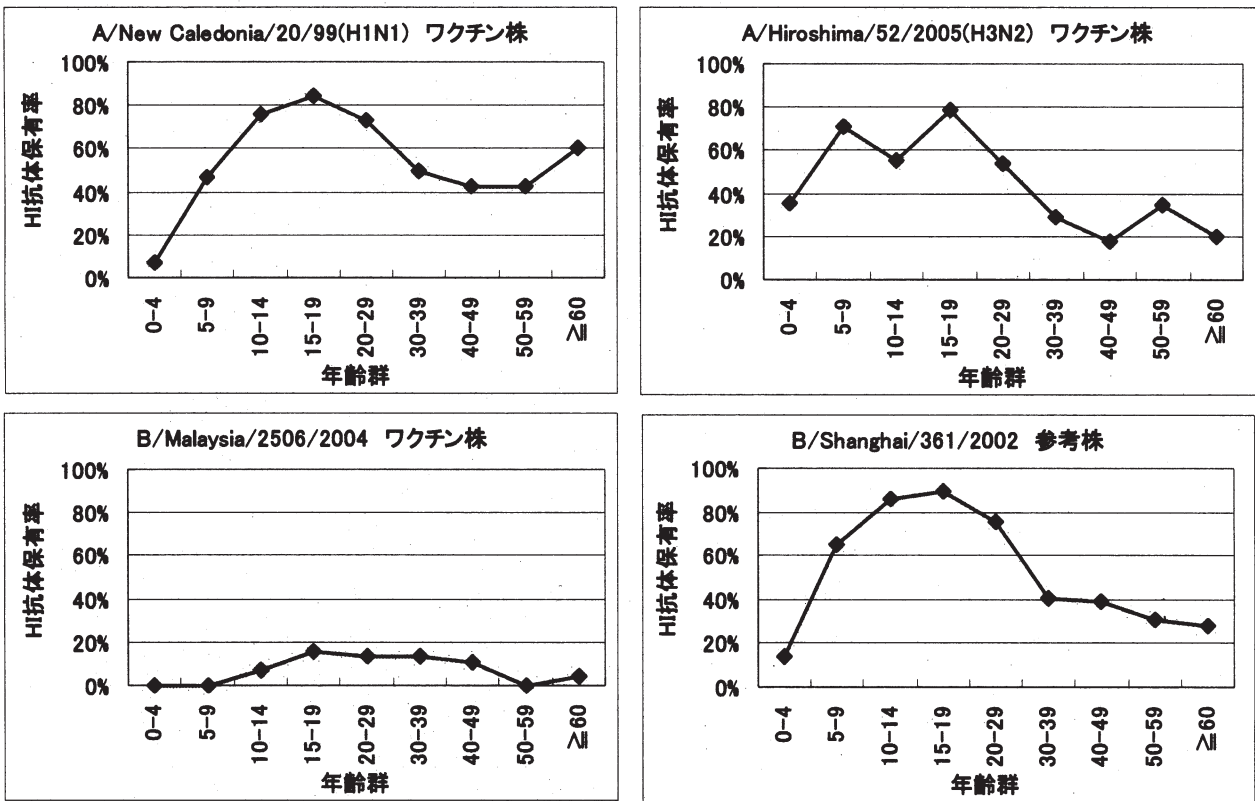


図1. 年齢群別 HI 抗体保有率 (抗体価40倍以上)

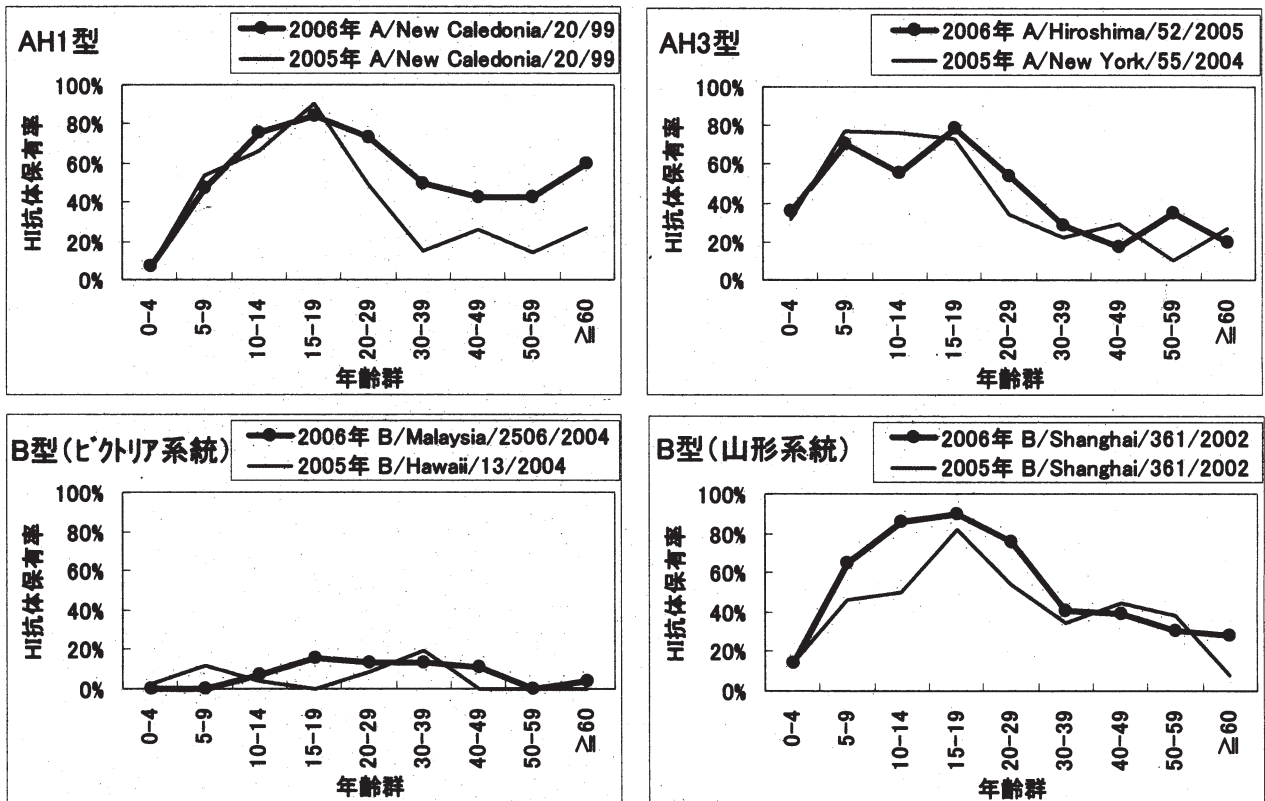


図2. 年度別 HI 抗体保有率 (2005年, 2006年) (抗体価40倍以上)

(平成14年発行)」に準じて行い、血清希釈10倍を最低希釈倍数とした。

抗原は、次の4種類を使用した。この内、1, 2, 3は2006/07年シーズンのワクチンに使用されている株と同じである。

1. A/New Caledonia/20/99(H1N1)
2. A/Hiroshima/52/2005(H3N2)
3. B/Malaysia/2506/2004株 (ビクトリア系統)
4. B/Shanghai/361/2002株 (山形系統)

抗原は全てデンカ生研製のものを使用し、血球は全ての抗原に対し0.5%ニワトリ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

インフルエンザ HI 抗体価10倍未満から2560倍の各 HI 抗体価における抗体保有状況について年齢群別に示した(表1)。また HI 抗体価40倍以上の抗体保有率について、年齢群別に示した(図1)。なお、本報告書においては、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「きわめて低い」として以下の表現に用いた。

A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株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50.9%であった。年齢群別では、10~29歳と60歳以上の群で60.0~84.2%と高く、また5~9歳と30~59歳の群で42.3~50.0%と比較的高かったのに対し、0~4歳の群では7.1%と低かった。

A/Hiroshima/52/2005 (H3N2) 株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40.7%であった。年齢群別では、5~9歳、15~19歳の群でそれぞれ70.6%、78.9%と高く、また10~14歳、20~29歳の群ではそれぞれ55.2%、54.1%と比較的高かった。0~4歳、30~39歳、50~59歳の群では28.8~35.7%と中程度で、40~49歳と60歳以上の群ではそれぞれ17.9%と20.0%と比較的低かった。

B/Malaysia/2506/2004株 (ビクトリア系統) に対する抗体保有率：B型インフルエンザウイルスには、抗原性および遺伝学的に異なる2つの系統(山形系統とビクトリア系統)がある。本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均7.6%であった。年齢群別では、15~49歳の群で10.7~15.8%と比較的低く、10~14歳の群では6.9%と低く、0~9歳と50歳以上の群では、0.0~4.0%ときわめて低かった。

B/Shanghai/361/2002株 (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48.7%であった。年齢群別では、5~29歳の群で64.7~89.5%と高く、30~39歳の群では40.4%と比較的高く、40歳以上の群では28.0~39.3%と中程度であり、0~4歳の群では14.3%と比較的低かった。

2. 保有状況の年度別比較

A型について2005年度(昨年度)と2006年度の抗体保有状況を比較した(図2)。AH1型の各年齢群における HI 抗体価40倍以上の抗体保有率については、2005年度が5~29歳の各年齢群で他の年齢群より高い傾向がみられたのに対し、2006年度では0~4歳の群を除く全ての群で抗体保有率が高くなる傾向がみられた。両年度とも A/New Caledonia/20/99が調査株として使用されたが、2006年度の抗体保有率は、2005年度と比較して20歳以上の各年齢群で16.9~35.4ポイント高かった。また、全年齢群の平均では、2005年度と比較して2006年度は16.7ポイント高かった。AH3型については、2005年度は A/New York/55/2005、2006年度は A/Hiroshima/52/2005が調査株として使用されていることから、両年度の抗体保有率は単純に比較できないが、5~19歳の各年齢群の抗体保有率が、他の年齢群より高い傾向は両年度ともにみられた。

一方、B型について、山形系統は2005年度、2006年度とも B/Shanghai/361/2002が調査株として使用されたが、2006年度の抗体保有率は、2005年度と比較して40~59歳の年齢群を除いて0.3~36.2ポイント高かった。また、全年齢群の平均では、2006年度は2005年度より11.1ポイント高かった。ビクトリア系統は、2005年度では B/Hawaii/13/2004が、2006年度は B/Malaysia/2506/2004が調査株として使用されているため、単純な比較はできないが、2006年度には15~49歳の年齢群で他の年齢群より若干高い傾向がみられるものの、両年度とも全年齢群の平均抗体保有率は調査株中最も低かった。

3. 予防接種率および予防接種歴別抗体保有状況

各年齢群における抗体保有状況を予防接種歴別に表2および図3に示した。調査対象者275名中、予防接種歴不明の15名を除く260名におけるインフルエンザワクチン接種率(採血時点で2005年度にワクチン接種歴ありと回答した者)は51.5%(134名)であった。年齢群別の接種率は38.5~66.7と、各年齢群間で最大約28.2ポイントの差が見られた。

全年齢群における平均抗体保有率について予防接種歴別に見ると、A/New Caledonia/20/99 (H1N1) で72.4% : 29.4% (接種歴有群 : 接種歴無群)、A/Hiroshima/52/2005 (H3N2) で50.9% : 22.2%、B/Malaysia/2506/2004株 (ビクトリア系統) で9.7% :

表 2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率 (抗体価40倍以上)

抗原		A/New Caledonia/20/99 (H1N1)		A/Hiroshima/52/2005 (H3N2)		B/Malaysia/2506/2004		B/Shanghai/361/2002	
		有	無	有	無	有	無	有	無
年齢区分	0-4	10.5%	5.6%	42.1%	27.8%	0.0%	0.0%	26.3%	5.6%
	5-9	50.0%	40.0%	100.0%	40.0%	0.0%	0.0%	90.0%	40.0%
	10-14	92.3%	62.5%	92.3%	25.0%	15.4%	0.0%	100.0%	75.0%
	15-19	100.0%	66.7%	100.0%	77.8%	0.0%	33.3%	100.0%	77.8%
	20-29	95.5%	40.0%	68.2%	33.3%	18.2%	6.7%	95.5%	46.7%
	30-39	83.3%	22.2%	50.0%	7.4%	25.0%	3.7%	62.5%	22.2%
	40-49	80.0%	25.0%	30.0%	6.3%	0.0%	18.8%	60.0%	31.3%
	50-59	66.7%	9.1%	46.7%	18.2%	0.0%	0.0%	33.3%	27.3%
	≥60	85.7%	11.1%	35.7%	0.0%	7.1%	0.0%	42.9%	11.1%
平均		72.4%	29.4%	59.0%	22.2%	9.7%	6.3%	64.9%	34.9%

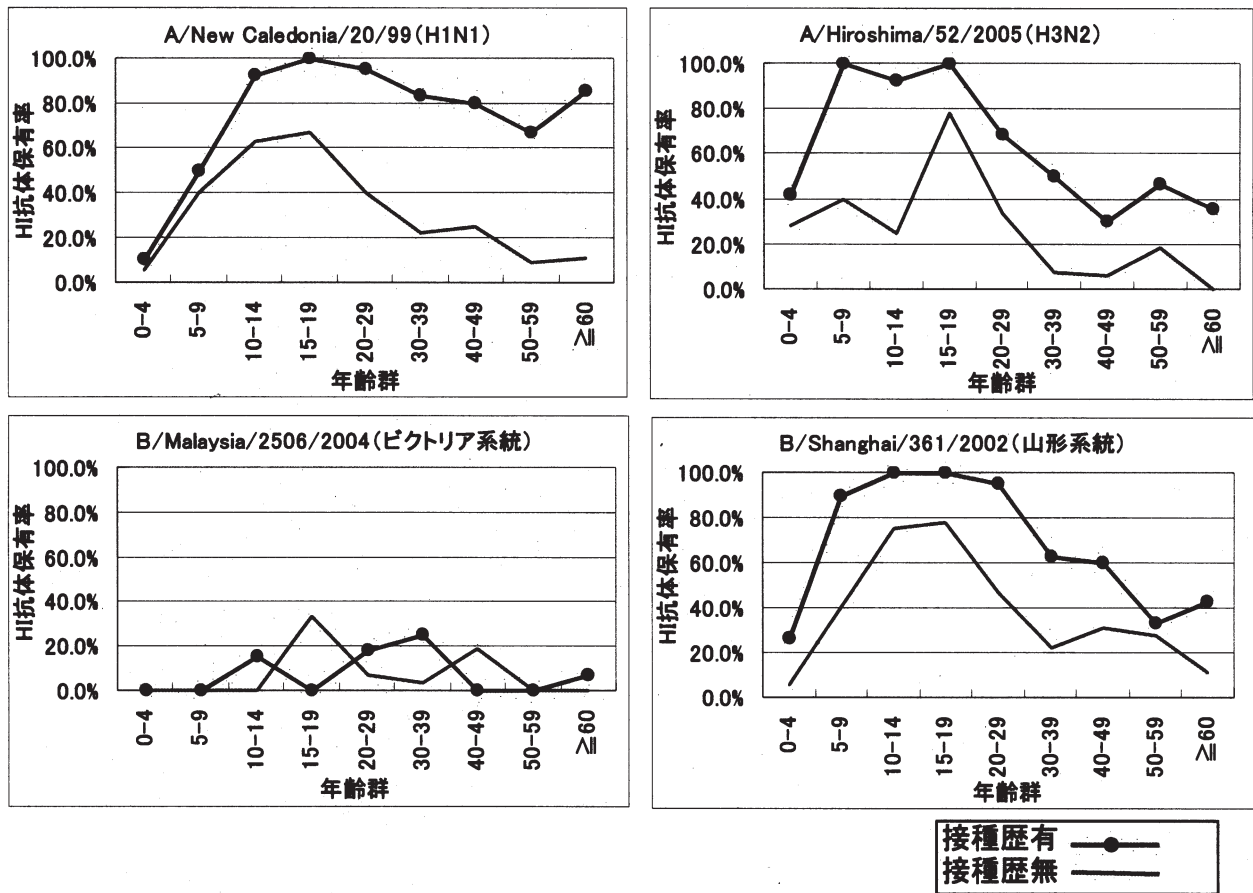


図 3. 予防接種歴別 HI 抗体保有率 (抗体価40倍以上)

平成19年12月1日

6.3%, B/Shanghai/361/2002株(山形系統)で64.9%:34.9%と、全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して3.4~43.0ポイント高かった。

2006年度の調査の結果、AH1型、AH3型、B型(山形系統)は、5~29歳の群での抗体保有率が他の年齢群に比較して高く、この傾向は2005年度の調査とほぼ同じであった。これは、この年齢層が学校等の集団生活においてインフルエンザウイルスの暴露を頻回に受けることによるものと思われた。また、AH1型では、2005年度の全年齢群の平均抗体保有率が、2004年度に比べ16.7ポイント上昇した。これは、予防接種有群と無群で全年齢群平均抗体保有率が43.0ポイント上昇していたことから、毎年同じワクチン株(A/New Caledonia/20/99)を接種することによるものと思われた。さらに、前シーズンにAH1型が流行した事も影響していると思われた。しかしながら、0~4歳のAH1型とB型(山形系統)および40~49歳と60歳以上のAH3型の抗体保有率は十分といえず、注意が必要である。また、B型(ビクトリア系統)に対する抗体保有率は全ての年齢群で低かったことから、B型インフルエンザの今後の動向には十分な注意が必要である。

II 感染源調査

インフルエンザ様患者からウイルスを分離することにより、流行株の性状を把握し、それに基づく次シーズンのワクチン株の選定や、新型インフルエンザ出現監視に資することを目的に調査を行った。

調査および検査方法

1. 調査期間

2006年9月~2007年5月

2. 調査対象

定点医療機関として、いなば小児科医院(魚津市)、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)、正木医院(南砺市)、坂本小児科医院(富山市)、中島こどもクリニック(富山市)の協力を得た。

3. 検査方法

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

1. 抗A/New Caledonia/20/99(H1N1)血清

2. 抗A/Hiroshima/52/2005(H3N2)血清

3. 抗B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統)血清

4. 抗B/Shanghai/361/2002(山形系統)血清

血球は全て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状況

感染症発生動向調査によると、富山県のインフルエンザ患者は、2006年11月下旬から散発的に報告されたが、年明け第4週に定点あたり1.0人を越えて流行期に入った。報告数はその後緩やかに増加し、第12週(3月19日~25日)にピーク(30.13人/定点)を迎えたが、その後急速に減少し、第20週(5月14~20日)には0.42人/定点となり、流行は終息した。

また、「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、1月22日の中学校での学級閉鎖に始まり、4月18日までに36施設で取られた。シーズン中の累積患者数は966名であった。

2. インフルエンザウイルス検出状況

2006年9月~2007年5月までに、定点医療機関で採取された210検体、および2007年3月に衛生研究所職員から採取した1検体についてインフルエンザウイルスの分離を試みた。成績を表3に示す。

ウイルス分離はAH1型が12株、AH3型が95株、B型が79株、合計186株分離された。今シーズン流行前の9月に、タイから帰国後に発症した男児からB型が1株分離されたが、本格的に分離されるようになったのは年明け第3週以降であった。シーズン全体を通じてAH3型とB型がほぼ同程度分離され、シーズン終盤にAH1型が散発的に分離された(図4)。

標準抗血清に対するA型分離株のHI抗体価を表4に示す。抗A/New Caledonia/20/99血清に反応するAH1型の分離株(12株)のHI抗体価は、40~320倍(ホモ価640倍)であった。HI抗体価がホモ価と4倍以上違う分離株は10株あり、AH1型の分離株のほとんどはワクチン株と抗原性が異なるものであった。抗A/Hiroshima/52/2005血清に反応するAH3型の分離株(95株)のHI抗体価は、40~1280倍(ホモ価1280倍)であった。HI抗体価がホモ価と4倍以上違う分離株は71株あり、さらに16倍以上違う分離株は4株あった。

標準抗血清に対するB型分離株のHI抗体価を表5に示す。抗B/Malaysia/2506/2004血清に反応するB型分離株(79株)のHI抗体価は、80~320倍(ホモ価640倍)であり、ホモ価と4倍以上違うHI抗体価を示した株は2株あった。また、B/Shanghai/361/2002

表 3. 施設別インフルエンザウイルス分離状況

管轄厚生 センター ・保健所 等	検体採取施設	区分	ウイルス検査					
			咽頭（鼻腔）ぬぐい液		ウイルス分離			
			採取日	検体数	分離数	型別内訳		
						AH1	AH3	B
新川	いなば小児科医院	定点	2007.2.28-3.23	5	5		1	4
新川	二本垣医院	定点	2007.4.9-4.11	5	5		3	2
中部	池田内科医院	定点	2007.1.16-4.20	16	16		8	8
高岡	小栗小児科医院	定点	2007.2.6-5.25	28	25	4	14	7
高岡	バスコこどもクリニック	定点	2006.9.4 2007.2.6-5.26	33	28	3	13	12
砺波	正木医院	定点	2006.12.8-2007.5.17	62	54	5	25	24
富山市	坂本小児科医院	定点	2007.2.5-4.20	40	32		17	15
富山市	中島こどもクリニック	定点	2007.1.20-5.1	21	20		13	7
-	衛生研究所	任意	2007.3.23	1	1		1	
合計				211	186	12	95	79

(注) 検体は1人1検体ずつ採取

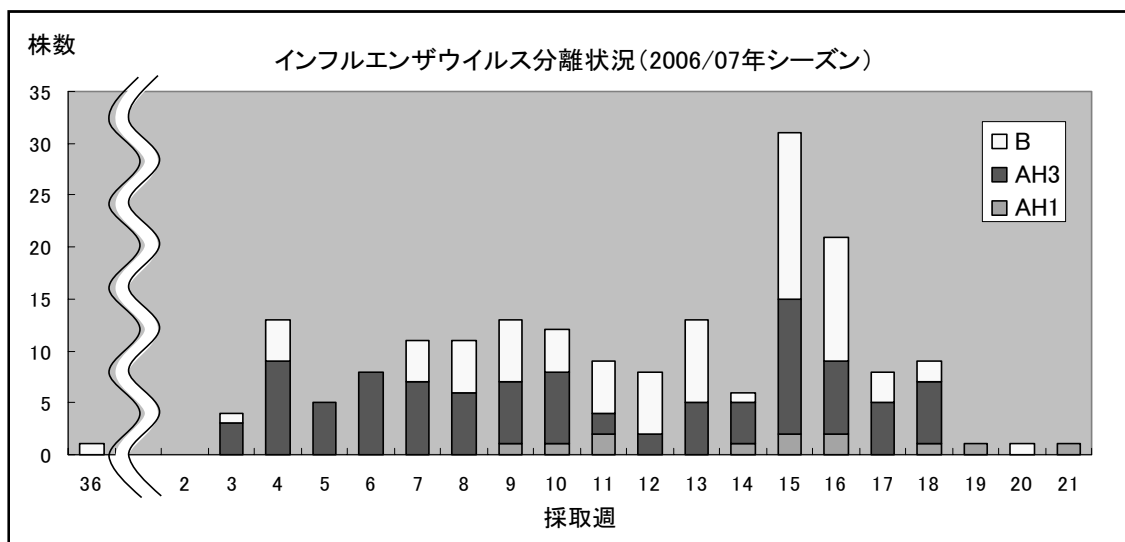


図 4. 週別・型別インフルエンザウイルス分離状況

表 4. 標準抗血清に対する A 型分離株の HI 価

	抗血清		抗原 (分離株)	抗血清	
	抗 A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	抗 A/New York/55/2004 (H3N2)		抗 A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	抗 A/New York/55/2004 (H3N2)
A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	640	-	A/New Caledonia /20/99 (H1N1)	640	-
A/New York/55/2004 (H3N2)	-	1280	A/New York/55/2004 (H3N2)	-	1280
1 A/富山/1/2007	-	320	55 A/富山/55/2007	-	320
2 A/富山/2/2007	-	320	56 A/富山/56/2007	-	320
3 A/富山/3/2007	-	320	57 A/富山/57/2007	160	-
4 A/富山/4/2007	-	320	58 A/富山/58/2007	-	160
5 A/富山/5/2007	-	640	59 A/富山/59/2007	-	160
6 A/富山/6/2007	-	640	60 A/富山/60/2007	-	160
7 A/富山/7/2007	-	640	61 A/富山/61/2007	-	160
8 A/富山/8/2007	-	160	62 A/富山/62/2007	-	160
9 A/富山/9/2007	-	640	63 A/富山/63/2007	-	160
10 A/富山/10/2007	-	320	64 A/富山/64/2007	-	320
11 A/富山/11/2007	-	320	65 A/富山/65/2007	-	40
12 A/富山/12/2007	-	640	66 A/富山/66/2007	-	160
13 A/富山/13/2007	-	640	67 A/富山/67/2007	40	-
14 A/富山/14/2007	-	320	68 A/富山/68/2007	-	80
15 A/富山/15/2007	-	320	69 A/富山/69/2007	-	80
16 A/富山/16/2007	-	320	70 A/富山/70/2007	-	160
17 A/富山/17/2007	-	640	71 A/富山/71/2007	-	320
18 A/富山/18/2007	-	640	72 A/富山/72/2007	-	160
19 A/富山/19/2007	-	640	73 A/富山/73/2007	-	160
20 A/富山/20/2007	-	320	74 A/富山/74/2007	160	-
21 A/富山/21/2007	-	160	75 A/富山/75/2007	-	160
22 A/富山/22/2007	-	320	76 A/富山/76/2007	-	320
23 A/富山/23/2007	-	640	77 A/富山/77/2007	-	160
24 A/富山/24/2007	-	320	78 A/富山/78/2007	-	160
25 A/富山/25/2007	-	320	79 A/富山/79/2007	-	320
26 A/富山/26/2007	-	320	80 A/富山/80/2007	-	320
27 A/富山/27/2007	-	640	81 A/富山/81/2007	80	-
28 A/富山/28/2007	-	320	82 A/富山/82/2007	40	-
29 A/富山/29/2007	-	160	83 A/富山/83/2007	-	640
30 A/富山/30/2007	-	320	84 A/富山/84/2007	-	320
31 A/富山/31/2007	-	160	85 A/富山/85/2007	-	640
32 A/富山/32/2007	-	640	86 A/富山/86/2007	-	160
33 A/富山/33/2007	-	320	87 A/富山/87/2007	-	320
34 A/富山/34/2007	-	320	88 A/富山/88/2007	-	320
35 A/富山/35/2007	-	320	89 A/富山/89/2007	-	320
36 A/富山/36/2007	-	160	90 A/富山/90/2007	-	640
37 A/富山/37/2007	-	640	91 A/富山/91/2007	-	640
38 A/富山/38/2007	-	1280	92 A/富山/92/2007	-	160
39 A/富山/39/2007	-	640	93 A/富山/93/2007	-	160
40 A/富山/40/2007	-	80	94 A/富山/94/2007	-	160
41 A/富山/41/2007	-	1280	95 A/富山/95/2007	320	-
42 A/富山/42/2007	-	160	96 A/富山/96/2007	-	320
43 A/富山/43/2007	-	1280	97 A/富山/97/2007	-	160
44 A/富山/44/2007	-	320	98 A/富山/98/2007	-	320
45 A/富山/45/2007	-	320	99 A/富山/99/2007	-	320
46 A/富山/46/2007	160	-	100 A/富山/100/2007	-	640
47 A/富山/47/2007	320	-	101 A/富山/101/2007	-	160
48 A/富山/48/2007	-	160	102 A/富山/102/2007	-	320
49 A/富山/49/2007	-	160	103 A/富山/103/2007	-	320
50 A/富山/50/2007	-	160	104 A/富山/104/2007	80	-
51 A/富山/51/2007	40	-	105 A/富山/105/2007	-	320
52 A/富山/52/2007	-	1280	106 A/富山/106/2007	40	-
53 A/富山/53/2007	-	640	107 A/富山/107/2007	40	-
54 A/富山/54/2007	-	160			

-: HI 抗体価 <1:10

A/New Caledonia /20/99 (H1N1) ワクチン株
A/New York/55/2005 (H3N2) ワクチン株

表 5. 標準抗血清に対する B 型分離株の HI 価

	抗血清		抗原 (分離株)	抗血清	
	抗 B/Malaysia /2506/2004	抗 B/Shanghai /361/2002		抗 B/Malaysia /2506/2004	抗 B/Shanghai /361/2002
B/Malaysia/2506/2004	320	160	B/Malaysia/2506/2004	320	160
B/Shanghai/361/2002	-	640	B/Shanghai/361/2002	-	640
1 B/富山/10/2006	320	-	41 B/富山/40/2007	160	-
2 B/富山/1/2007	80	-	42 B/富山/41/2007	320	-
3 B/富山/2/2007	160	-	43 B/富山/42/2007	160	-
4 B/富山/3/2007	160	-	44 B/富山/43/2007	320	-
5 B/富山/4/2007	160	-	45 B/富山/44/2007	160	-
6 B/富山/5/2007	80	-	46 B/富山/45/2007	160	-
7 B/富山/6/2007	160	-	47 B/富山/46/2007	160	-
8 B/富山/7/2007	160	-	48 B/富山/47/2007	160	-
9 B/富山/8/2007	160	-	49 B/富山/48/2007	160	-
10 B/富山/9/2007	160	-	50 B/富山/49/2007	160	-
11 B/富山/10/2007	160	-	51 B/富山/50/2007	160	-
12 B/富山/11/2007	160	-	52 B/富山/51/2007	160	-
13 B/富山/12/2007	160	-	53 B/富山/52/2007	160	-
14 B/富山/13/2007	160	-	54 B/富山/53/2007	160	-
15 B/富山/14/2007	160	-	55 B/富山/54/2007	320	-
16 B/富山/15/2007	160	-	56 B/富山/55/2007	160	-
17 B/富山/16/2007	160	-	57 B/富山/56/2007	320	-
18 B/富山/17/2007	160	-	58 B/富山/57/2007	160	-
19 B/富山/18/2007	320	-	59 B/富山/58/2007	320	-
20 B/富山/19/2007	160	-	60 B/富山/59/2007	320	-
21 B/富山/20/2007	320	-	61 B/富山/60/2007	160	-
22 B/富山/21/2007	160	-	62 B/富山/61/2007	160	-
23 B/富山/22/2007	320	-	63 B/富山/62/2007	320	-
24 B/富山/23/2007	160	-	64 B/富山/63/2007	160	-
25 B/富山/24/2007	320	-	65 B/富山/64/2007	320	-
26 B/富山/25/2007	320	-	66 B/富山/65/2007	160	-
27 B/富山/26/2007	320	-	67 B/富山/66/2007	160	-
28 B/富山/27/2007	320	-	68 B/富山/67/2007	160	-
29 B/富山/28/2007	320	-	69 B/富山/68/2007	320	-
30 B/富山/29/2007	320	-	70 B/富山/69/2007	320	-
31 B/富山/30/2007	320	-	71 B/富山/70/2007	320	-
32 B/富山/31/2007	320	-	72 B/富山/71/2007	320	-
33 B/富山/32/2007	160	-	73 B/富山/72/2007	320	-
34 B/富山/33/2007	160	-	74 B/富山/73/2007	320	-
35 B/富山/34/2007	320	-	75 B/富山/74/2007	160	-
36 B/富山/35/2007	160	-	76 B/富山/75/2007	320	-
37 B/富山/36/2007	320	-	77 B/富山/76/2007	320	-
38 B/富山/37/2007	320	-	78 B/富山/77/2007	160	-
39 B/富山/38/2007	320	-	79 B/富山/78/2007	320	-
40 B/富山/39/2007	320	-			

-: HI 抗体価 <1:10

B/Malaysia/2506/2004(ビクトリア系統株)ワクチン株
B/Shanghai/361/2002 (山形系統株) 参考株

平成19年12月1日

株血清に対しては、すべて10倍未満（ホモ価320倍）であった。このように、今シーズン分離されたB型分離株は全てビクトリア系統であった。

今シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行は、患者報告状況からみて昨シーズンとほぼ同様であり [1]、過去10シーズンでは7番目に多い報告数となった。患者報告は、3月中旬をピークに持つ一峰性の曲線を描き、これは、過去10シーズンで最も遅いピークであった。

ウイルス分離については、AH1型が6.4%、AH3型が51.1%、B型が42.5%であった。全国の集計では、2007年6月27日時点で、AH1型が10.7%、AH3型が48.6%、B型が40.7%であり、富山県とほぼ同様の傾向だった[2]。

分離株の抗原解析の結果、AH1型についてはほとんどが、AH3型については約7割がワクチン選定株と異なる抗原性を示していた。B型については、全てビクトリア系統であり、抗原的にはワクチン株に類似したものがほとんどだった。この傾向は全世界的に同様で、WHOは2007/08年インフルエンザシーズンワク

チン（北半球の冬）のAH1型の推奨株をA/Solomon Islands/3/2006類似株に変更した[3]。

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いなば小児科医院、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、正木医院、坂本小児科医院、中島こどもクリニックに深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 富山県衛生研究所編集・発行（2007）. 富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成18年），p18
2. 国立感染症研究所感染症情報センター（2007）. IASR, <http://idsc.nih.go.jp/iasr/prompt/graph-kj.html>
3. 国立感染症研究所編（2007）. 病原微生物検出情報，28，121

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について (2006年度)

長谷川澄代 小原真弓 岩井雅恵 堀元栄詞 滝澤剛則 倉田 毅

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2006

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Eiji HORIMOTO
Takenori TAKIZAWA and Takeshi KURATA

要旨 2006年4月から2007年3月までの1年間に検査し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。

1. ウイルス性の急性胃腸炎の集団発生事例が28件あった。これら全てがノロウイルス感染によるものであった。
2. 発生施設別にみると飲食店(食堂,宿泊施設,旅館等)12件,保育園1件,小学校3件,病院2件,老人保健施設等10件であった。
3. 飲食店はカキの喫食によるものは無く,殆んどの場合,感染者からのノロウイルスで食品等が汚染されることによって発生したと考えられた。
4. 学校,老人保健施設等での発生は,手指が感染者の吐物や糞便で汚染されてヒトからヒトへ直接伝播したと考えられた。
5. 28事例それぞれの事例からは一つの遺伝子型のみが検出され,1事例が Genogroup I (G I) G I / 8 で他の27事例はすべて G II / 4 であった。

はじめに

ノロウイルス (Norovirus:NV) は, 冬季に散発及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 [1]. NV はヒトの小腸で増殖し, 吐物や糞便中に排泄され, 吐物には1g あたり $10^3 \sim 10^6$ 個, 糞便には 10^9 個ものNVが含まれている [2]. NV は, 感染者から2週間以上にわたり排泄され [3], 環境中でも長期間感染性を維持し, 100個以下で感染・発病させるといわれている [4]. このため, 感染者である調理従事者の手指を介して食品がNVで汚染され, 急性胃腸炎の集団発生を引き起こすこともある [5]. ヒトから排泄されたNVは, 海に入り, カキなどの2枚貝の中腸腺に蓄積される [6]. 2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起こる急性胃腸炎は, NVによる食品媒介事例の約40%を占めている [2]. 一方, NVは食中毒のみならず, 冬季に小児の間で散発, あるいは集団発生する感染性胃腸炎の流行も引き起こすことが知られている. しかしながら, 冬季以外

にもNVの流行が認められるようになっており[7], 富山県でも2004年には5, 6月にNVが検出されている[8].近年, 本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生が, 2003年度には10事例, 2004年度には20事例, 2005年度には17事例と年々増加傾向にあり, それらの殆んどが, NVによるものである. そこで, 本年度も引き続き原因ウイルスの特徴と発生傾向を把握するために, ウイルス性胃腸炎の集団発生事例の個別調査を実施した.

材料と方法

検査対象事例および検査材料

- (1) 2006年4月～2007年3月までに調査した集団発生事例30事例を対象とした. 検体採取と疫学的調査は各事例の管轄保健所, 厚生センターで実施した.
- (2) Rotaウイルスの検出方法
デンカ生研のロタ-RPHA「生研」を用いて糞便からRota A, Rota Cウイルスの検索をした.
- (3) NVの検出方法,

糞便からのRNA抽出法、RT-PCR法、リアルタイムPCR法については、厚生労働省通知[9]に準じて行った。PCR産物の一部は、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した[10]。

結 果

感染性胃腸炎の集団発生30事例のうち、28事例からウイルスが検出された(表1-1, I-2)。本年はカキ関連の事例はなかった。

(1) 施設別発生事例数(図1)

飲食店等での発生は、5、8月に2件、11月に4件、12月に3件、1月に1件であった。老人保健施設等での発生は、5月に1件、11月に4件、12、1月に各2件、3月に1件であった。病院は11月に2件、学校は4、1、3月に各1件、保育園は11月に1件であった。

(2) 月別発生事例数(図2)

平成16年度、17年度、18年度の月別発生状況を示した(図2)。本年度の集団発生は4、5、8、11、12、1、3月に発生し、11月が最多であった。1月にピークが見られた平成16、17年度と比較して本年度は、事例数も2倍近くであった。

(2) 施設別発生状況とウイルス検出状況

1) 飲食店等(12事例)

事例 No.2, 3: 事例 No.2は温泉旅館の利用者の146名(5月9~12日)中43名が、11~12日に嘔吐、下痢、腹痛の症状を呈した。患者3名、従業員(調理人含む)27名の糞便の検査を行った。患者2名、従業員12名(調理人2名含む)からNV Genogroup II(G II)が検出され、遺伝子型はG II/4であった。患者1名以外の遺伝子型は一致した。調理人1名が10日に発症していたことから、調理人が食品を汚染することにより発生したと考えられた。患者1名の感染経路は不明であった。従業員(調理人等)5名の追跡調査したところ、14病日ぐらゐまで糞便にウイルスが検出されたが、1名は57病日まで、ウイルスが検出された。

事例 No.3は、食堂兼旅館に5月14日に宿泊した10名中9名が15~16日に、嘔吐、下痢、腹痛、発熱の食中毒症状を呈した。患者は検査出来なかったが、従業員とその家族2名の糞便を検査したところ、従業員4名、家族(子供1名)からNVG II/4が検出されそれらの塩基配列は一致した。調理人、従業員はすべて無症状だったことから、本事件は無症状の従業員が食品を汚染することで発生したと考えられた。

事例 No.5: 海拔2000メートルを越すR山小屋で7月31日~8月1日にかけて宿泊利用者457人のうち58人が

下痢、嘔吐、腹痛等の症状を呈した。患者11名の糞便、患者1名の吐物、従業員22名の糞便の検査をおこない、患者5名、従業員7名からNVG II/4を検出し、これらの塩基配列は一致した。従業員の糞便中には、13病日から37病日までウイルスが検出された。本事例は、有症状の従業員からNVによる食品の汚染、環境の汚染が拡大し、さらに山小屋という特殊な環境のため多数の患者が発生したと考えられた。

事例 No.18: 調理人(無症状)が食品を汚染することにより起きた事例と考えられた。

事例 No.20, 22, 24: これら3件も、調理人が食品を汚染することにより発生したと考えられた。

事例 No.6: A山小屋の主人と作業員3名が、8月9日に悪寒、下痢の症状を呈した登山客1名を介助したところ、4名全員が8月12日に嘔吐、下痢、発熱の症状を呈し、病院を受診した。これら4名からNVG II/4が検出され塩基配列は一致したことから、登山患者との密な接触によって、作業員が全員感染したと考えられた。

事例 No.13: 11月15、16日の仕出し弁当を食べた病院などの従業員や看護師が、食中毒を起こした。当該の弁当屋の従業員に関しては食中毒症状は全くなかった。患者、仕出し弁当屋の従業員とその家族の糞便40件、弁当3件、弁当屋の施設の拭き取り10件についてウイルス検査を行った。患者28名中23名、従業員9名中5名、従業員の1歳の子供からNVG IIが検出され、また、弁当の食材「昆布じめ」からもNVG IIが検出された。従業員の家族2名(1名有症、1名無症状)からもNVG IIが検出された。これらNVの遺伝子型はG II/4であったが、無症状の家族一名以外の塩基配列は一致した。従業員が15日朝に嘔吐、下痢の症状を呈した1歳の子供を作業所につれてきていたこと、患者は16日午後2~3時ごろから発生し始めていたが、患者のなかには、16日お昼に「昆布じめ(15日作製)」だけを食べて発症した人がいたこと等から、弁当屋の従業員らが、発症した幼児に接触し、手指などを介して、食品を汚染させ、従業員自身も幼児から感染したと考えられた。

事例 No.11, 12, 15: 事例 No.11調理人からの食品汚染によるものと考えられた。事例 No.12は、宿泊先の旅館で11月12日(日)昼に会食をした1グループ20名中17名が、嘔吐、下痢の症状を呈した。本県から参加した親子3人の糞便を検査したところ全員からNVG IIが検出されこれ等の塩基配列は一致した。この1歳の子供は会食の前日11日に自宅で発症しており、旅館での患者発生はこの20名のグループだけであったことからこの1歳の子供から感染が広がったと考えられた。事例 No.15は2台のバスで11月17~18日の旅行に出か

表1-1. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生事例（2006年4月～12月）

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数 (患者数/喫食者数)		ウイルス検出		推定 伝播経路
				検出数/検査数		
1	2006年4月15日 ～4月末	小学校 18/38	患者	5/6	G I /8	ヒト→ヒト
2	5月11日 ～12日	温泉旅館 (43/146)	患者 従業員	2/3 12/27	G II /4	食品
3	5月15日 ～16日	食堂・旅館 (9/10)	従業員 とその家族	5/6	G II /4	食品
4	5月21日 ～25日	老人保健施設 17/81	患者	5/5	G II /4	ヒト→ヒト
5	8月 1日 ～3日	宿泊施設（山小屋） (58/457)	患者 従業員	5/11 7/22	G II /4	食品
6	8月12日	宿泊施設（山小屋） 4	患者 (従業員含む)	4/4	G II /4	ヒト→ヒト
7	11月 7日 ～8日	保育園 16/144	患者 調理人	5/5 0/3	G II /4	ヒト→ヒト
8	11月 1日 ～13日	老人保健施設 83	患者	5/7	G II /4	ヒト→ヒト
9	11月 4日 ～14日	老人保健施設 36	患者	8/9	G II /4	ヒト→ヒト
10	11月 6日 ～15日	老人保健施設 6	患者	4/6	G II /4	ヒト→ヒト
11	11月10日	温泉旅館 石川県	患者	1/2	G II /4	食品
12	11月11日 ～16日	旅館 岐阜県	患者	3/3	G II /4	ヒト→ヒト
13	11月16日 ～17日	飲食店（弁当屋） (176/294)	患者 従業員	23/27 8/12	G II /4	食品
14	11月12日 ～25日	老人保健病院 22	患者 (従業員含む)	5/5	G II /4	ヒト→ヒト
15	11月19日	旅行（岐阜県） 20人位	患者	4/5	G II /4	ヒト→ヒト
16	11月19日 ～28日	病院 43	患者 (職員含む)	6/8	G II /4	ヒト→ヒト
17	11月10日 ～26日	老人保健施設 34	患者 (従業員含む)	4/8	G II /4	ヒト→ヒト
18	12月 7日 ～8日	宿泊施設 (39/154)	患者 従業員	8/8 2/7	G II /4	食品
19	12月 6日 ～12日	老人保健施設 26	患者 (職員含む)	5/5	G II /4	ヒト→ヒト
20	12月10日 ～11日	飲食店 (50/143)	患者 従業員	11/11 2/6	G II /4 G II /4	食品

G I, G IIは NVG I, NVG IIを表す。

表1-2. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生事例（2007年1月～3月）

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数 (患者数/喫食者数)		ウイルス検出		推定 伝播経路
				検出数/検査数		
21	2006年12月27日 ～2007年1月4日	老人保健施設 20/170	患者	4/4	G II /4	ヒト→ヒト
22	2006年12月31日 ～2007年1月1日	飲食店 (10/115)	患者 従業員	4/4 2/11	G II /4	食品
23	2007年1月9日 ～27日	知的障害者施設 63/145	患者 (職員含む)	4/4	G II /4	ヒト→ヒト
24	2007年1月11日 ～12日	飲食店 6/8	従業員	1/7	G II /4	食品
25	2007年1月11日 ～15日	小学校 5年2組	患者	2/3	G II /4	ヒト→ヒト
26	2007年1月24日 ～2月18日	老人保健施設 31/100	患者 (職員含む)	6/6	G II /4	ヒト→ヒト
27	2007年3月 1 日	小学校 4年2組20名	患者	3/3	G II /4	ヒト→ヒト
28	2007年3月15日 ～20日	老人保健施設 15	患者	4/4	G II /4	ヒト→ヒト

G I, G IIは NVG I, NVG IIを表す。

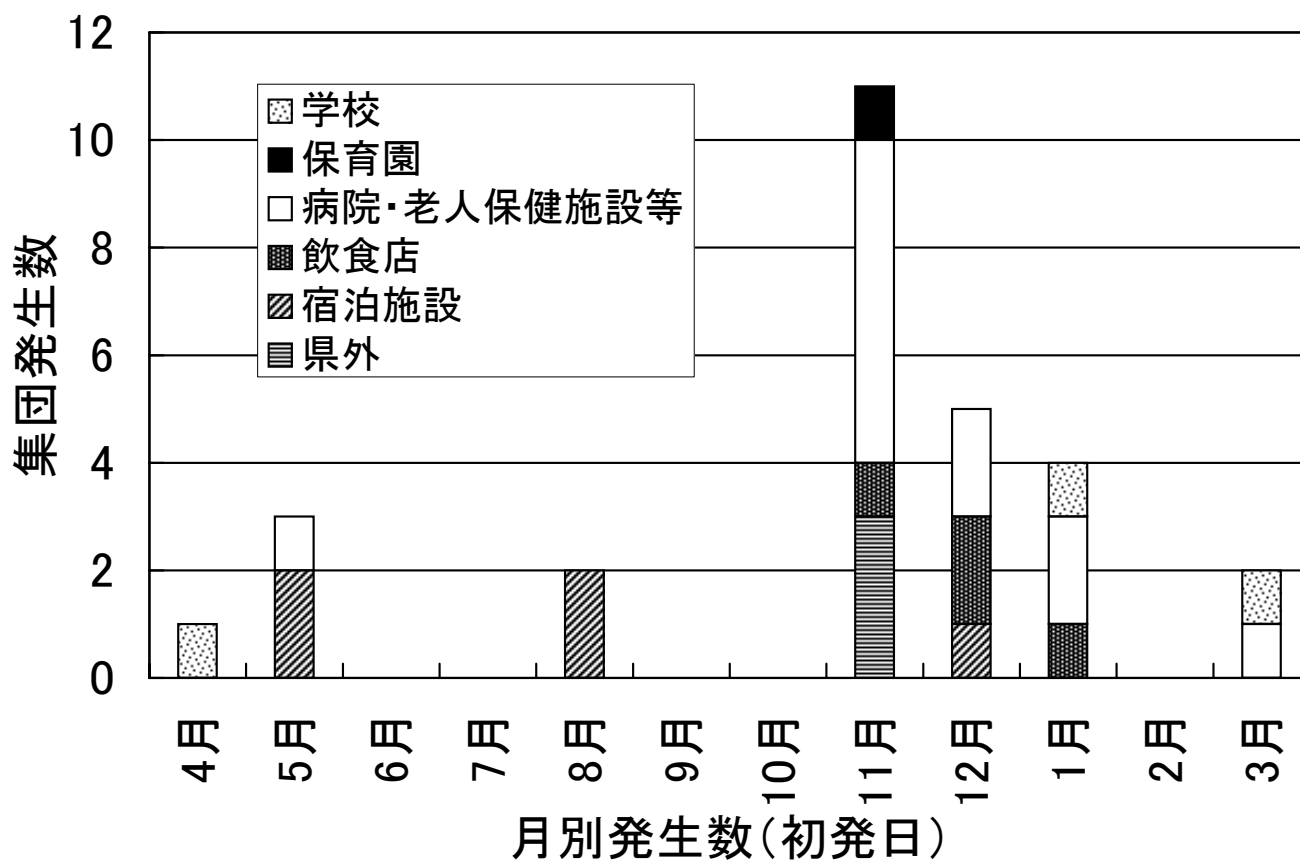


図1. 平成18年度ウイルス性胃腸炎集団発生（施設別）

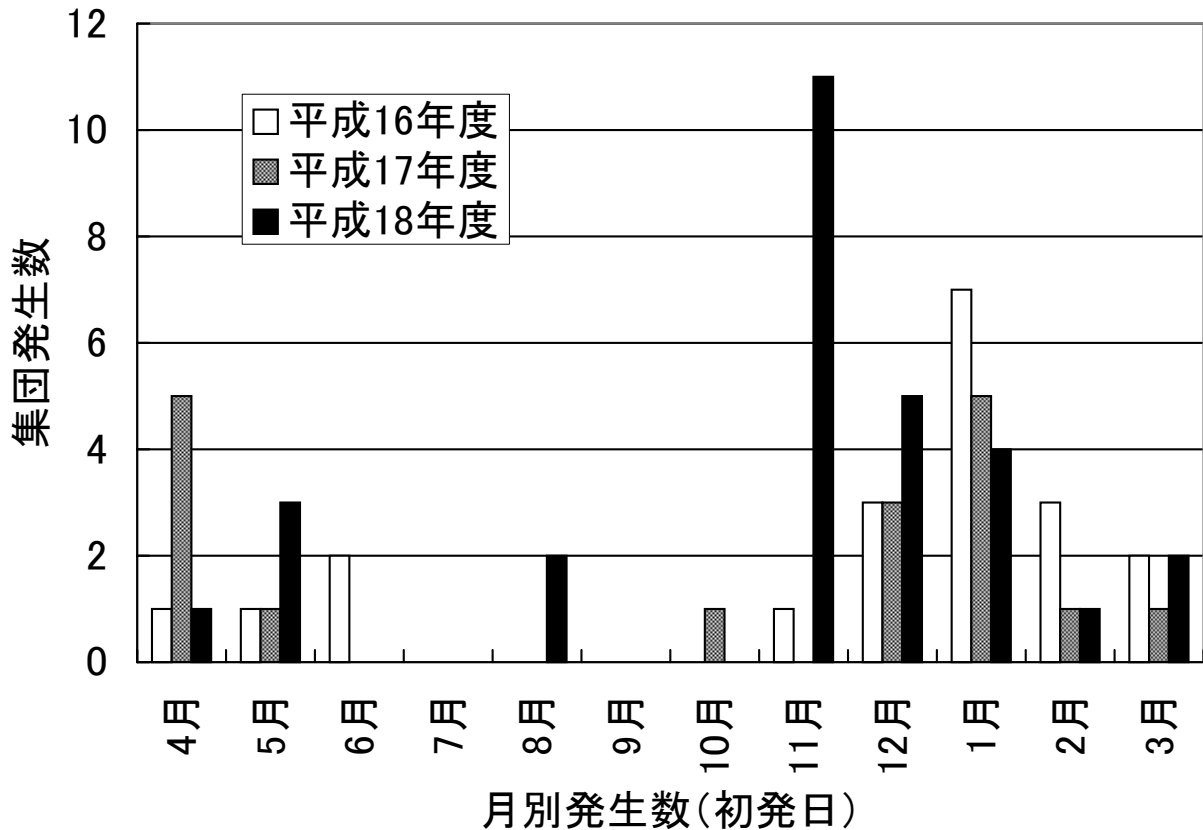


図2. ウイルス性胃腸炎集団発生の月別発生状況（平成16, 17, 18年度）

け1台のバス40名中20名が、19日から嘔吐、下痢の症状を呈した。このグループ内で15日に発症し、下痢が18日まで続いたヒトが1名いたことから、旅行中のバス内での接触感染によるものと考えられた。しかし、感染源と思われる患者からウイルスの検出は出来なかった。

2) 老人保健施設(8事例)、知的障害者施設(1事例)

事例 No.4, 8, 9, 17, 19, 21, 26, 28: 老人保健施設での発生で、殆どどの事例で入所者と職員が発症していた。事例ごとに発生期間と患者発生数を表すと、No.4は、5月21日～25日(5日間)に22名、No.8は11月1日～13日(13日間)に77名、No.9は11月4日～13日(10日間)に57名、No.17は11月10日～26日(17日間)に34名、No.19は12月6日～11日(6日間)に30名、No.21は12月27日～1月4日(9日間)に20名、No.26は1月24日～2月18日(26日)に35名、No.28は3月15日～20日(6日間)に17名で、患者発生期間の長いものは1ヶ月近くあった。これ等の患者糞便から NVG II が検出され、事例ごとに、塩基配列はそれぞれ一致した。これ等老人保健施設では、初発の患者の糞便等を介してヒト-ヒト感染が起きたと考えられた。

初発患者は1事例 (No.8) だけが、従業員であっ

たが、他は全て入所者であった。No.8の従業員(調理人)の糞便中に13病日まで10コピー以下であるがウイルス遺伝子が検出された。

事例 No.17では、発症した職員が調理人であったので、糞便中のウイルスの追跡調査をしたところ、12病日まで10コピー以下であるがウイルス遺伝子が糞便中に確認された。

事例 No.28はこの施設で2006年12月に NV による患者発生があり、今回は新たな棟での、発生であった。

事例 No.23: 知的障害者施設での事例であり、初発患者からヒト-ヒト感染で、患者が発生したと考えられた。1月9日から27日の18日間に、入所者56名、職員7名が嘔吐・下痢の症状を呈した。入所者4名の糞便全てから NVG II が検出され、塩基配列は一致した。

3) 病院(2事例)

事例 No.14: 老人病院で11月12日に患者(介護士)が発生し、11月22日までの10日に入所者9名、職員22名が発症した。入所者3名、職員2名(看護師1名、調理人1名)の糞便から NVG II / 4 が検出されたが、塩基配列は入所者3名と看護師1名は一致したが、調理人とは一致しなかった。このことから初発患者の職員から感染が広がったと考えられたが、調理人は別の感染

平成19年12月1日

と考えられた。

事例 No.16：11月19日に病院で職員が発症し、12月3日までの15日間に入院患者23名、職員19名が発症した。NVGⅡ/4が検出されたが、塩基配列がわずかに違うものが存在し3グループに分かれた。それぞれ感染ルートが違うことが考えられた。

3) 学校 (3事例)、保育園 (1事例)

事例 No.1, 25, 27：事例 No.1では、4月19日に5年生の1クラス38名中18人が嘔吐、吐気の症状を呈した。患者6名の糞便中5名からNVGⅠが検出され、これらの塩基配列は一致した。聞き取りでは15日(土)、16日(日)には同クラスの8名が嘔吐症状を呈し、このうちの5名が17日(月)に登校し、1名は給食当番をしていたとのことであった。このことから、8名が最初に感染し、このなかの給食当番(1名)により、食品等が汚染されクラスの半数が感染したと考えられたが、感染源は特定出来なかった。

事例 No.25は、1月12日、5年生の1クラス在籍者21名中20名が嘔吐、下痢の症状を呈した。患者3名中2名の糞便からNVGⅡが検出され、塩基配列は一致した。11日に嘔吐、下痢で早退した者が1名いたことから、この初発患者から接触感染により広がったと考えられた。

事例 No.27は3月1日に4年生の1クラス在籍者30名中21名、教師1名が嘔吐、腹痛、下痢、発熱の症状を呈した。患者3名の糞便からNVGⅡが検出され、塩基配列は一致した。患者の発生時期が集中していたことから単一暴露の感染が考えられた。同クラスの生徒1名が、2月21日～26日まで感染性胃腸炎で出席停止であったことが分った。このことからこの初発の生徒が、症状が治まって、登校した時点でも糞便中にウイルスを排出し、接触により同クラス内の児童に感染させたと考えられた。

事例 No.7：保育園1歳児のクラスで園児8名、保育士2名が嘔吐、下痢を発症した。患児5名からNVGⅡが検出され、これらの塩基配列は一致した。この数日前に症状を呈していた1歳園児が1名いたことから、この園児から感染が広がったと考えられた。

考 察

本年は飲食店等での発生は、カキの関与した事例は全く無く、NVに感染した調理人等により、食品が二次汚染された場合が殆んどであった。

NVの集団発生は冬季に多いが、本年度は飲食店、宿泊施設などでは5, 8, 11, 12, 1月に発生があり、殆んど年間を通して発生していた。また保育園、学校、

老人保健施設等でも4, 11, 12, 1, 3月に発生していた。2次感染が起こりやすいと考えられる施設では、冬季以外にも十分な注意が必要であると考えられた。

富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も一昨年・昨年同様に感染性胃腸炎患者の報告数は、第1位を占めていた。また、これらの発生は感染性胃腸炎の集団発生事件が多発していた時期と一致していた。

我々は、NVに感染しても発症しない場合や、回復した後でも2ヶ月近く糞便中にウイルスを排泄している例のあることを確認した。小野ら[11]は、学校給食従事者(健康者)の糞便を検査し、NVの遺伝子が年間を通じて4.7%の割合で検出されることを報告している。このことは、発症あるいは発症しなくても、長期間にわたりウイルスを糞便中に排泄し続け、感染源となる可能性が十分であることを示唆している。感染症発生動向調査情報により患者発生状況を監視し、食中毒と感染症の両方の観点から事例ごとの個別調査研究を積み重ねていく必要があると考えられた。

謝 辞

検体採取等にご協力いただきました富山市保健所、高岡厚生センター、高岡厚生センター氷見支所、高岡厚生センター射水支所、中部厚生センター、新川厚生センター、新川厚生センター魚津支所、砺波厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所の関係者各位に感謝します。

文 献

1. 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)。
2. 西尾 治, 新川奈緒美(2002)。日本医事新報, 5, 6-9。
3. 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, (3), 189-194。
4. lass, 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. 2, S254, 181。
5. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之(2004)。富山衛研年報, 27, 106-111。
6. 染谷雄一(2000)ウイルス, 50, (2), 173。
7. 2005年病原微生物検出情報, 月報, 12, 1-2。
8. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子,

- 堀元栄詞, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 93-98
9. 厚生労働省医薬食品局食品案全部監視安全課長 (2003) 食安監初115001号.
10. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 倉田 毅 (2007). 富山衛研年報, 30, 98-104.
11. 小野哲郎, 小河正雄, 塚本伸哉 (2000). 大分県衛生環境研究センター年報, 21 - 23.

2006年度に検出されたノロウイルス Genogroup II の遺伝子解析

小原真弓 長谷川澄代 岩井雅恵 堀元栄詞 滝澤剛則 倉田 毅

Genotyping of Noroviruses Genogroup II detected in the fiscal year 2006

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Masae IWAI, Eiji HORIMOTO,
Takenori TAKIZAWA and Takeshi KURATA

要 旨 2006年度に発生した感染性胃腸炎のうち、ノロウイルス (NV) Genogroup II (G II) が検出されたものについて遺伝子解析を行った。集団発生事例27事例、散発例5例から NVG II が検出された。さらに遺伝子型別を行うと、G II は1月の散発例1例のみ G II /6型であり、他は全て G II /4型であった。G II /4型はさらに2つのクラスターに分けられた。これらは2003年から2005年度までの調査で得られた G II /4型とは異なるクラスターであった。

5月に発生した集団食中毒事例において、従業員から長期にわたり NV が検出された。2名から検出されたウイルスのカプシド領域で、塩基およびアミノ酸の経時的变化がみられた。PCR 産物をクローニングして解析したところ、クローンの割合が徐々に変化していた。

ノロウイルス (NV) はカリシウイルス科のノロウイルス属に属し、冬季のウイルス性胃腸炎の原因となる。汚染された二枚貝の喫食や、感染者から2次汚染された食品の喫食、ヒトとヒトとの接触などによって感染する。遺伝子解析により、NV は Genogroup I (G I) と Genogroup II (G II) に分けられる。研究者によって若干異なるものの、さらに各 Genogroup 内でいくつかの遺伝子型に分類される[1, 2, 3, 4]。G II は NV 流行の大部分を占めるが、中でも、G II /4型が近年全国的に流行している[5]。そこで今回、2006年度に流行した G II、主として G II /4型について解析を行った。また、長期にわたって NV が検出された例について、排出期間における NV 遺伝子の変化を調べた。

材料と方法

1) 2006年4月から2007年3月までの間に発生した感染性胃腸炎集団発生事例 (食中毒事例、県内者の県外感染事例を含む) と散発例のうち、遺伝子検出で NVG II が確認された糞便171検体を用いた。糞便の処理から RT-PCR 法については厚生労働省通知[6]に準じ、2004年度[7]、2005年度[8]と同様に行った。PCR 産物は、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列はプライマー部分を除き、ClustalW (DDBJ) にてアライメントを行った。さらに Njplot により分子系統樹を作成した。参考株は、2004年度[7]と同様、片山らの分類に従い[3]、CaliciWeb (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/>) よりダウンロードした塩基配列を使用した。

2) 2006年5月に発生した NV を原因とする食中毒事例において、2名の調理従事者 (有症者 a、無症状者 b とする) の糞便を7回及び4回にわたり採取した。これ

らの糞便から RNA を抽出し、NV 遺伝子をポリメラーゼ領域プライマー COG2F/COG2R を用いたリアルタイム PCR 法[6]で検出した。また、プライマー G2-SKF/G2-SKR で増幅したカプシド領域の PCR 産物を用い、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。同時に、TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen) を用いて PCR 産物をクローニングし、各20~30クローンについて塩基配列を決定した。

結果および考察

1) 2006年4月から2007年3月までに得られた塩基配列を用いて系統樹を作成したところ、NVG II は散発例の1例のみ G II /6型であり、他は全て G II /4型であった (図1)。この G II /4型は、2つのクラスターを形成しており、302塩基について比較したところ、事例番号3と4で形成されるクラスター内では相同性99.3% (2塩基の相違)、その他の検体で形成されるクラスター内では相同性100~98.3% (0~5塩基の相違) であった。



図1. 2006年度に得られた検体のNVG II 遺伝子解析

集団発生事例の検体は「事例番号_年/検体番号」、散発例の検体は「年/検体番号」で示す。
 参考株については「遺伝子型(accession No.)」で示す。

☆・・・2003年度
 ●・・・2004年度
 □・・・2005年度
 ▲・・・2006年度

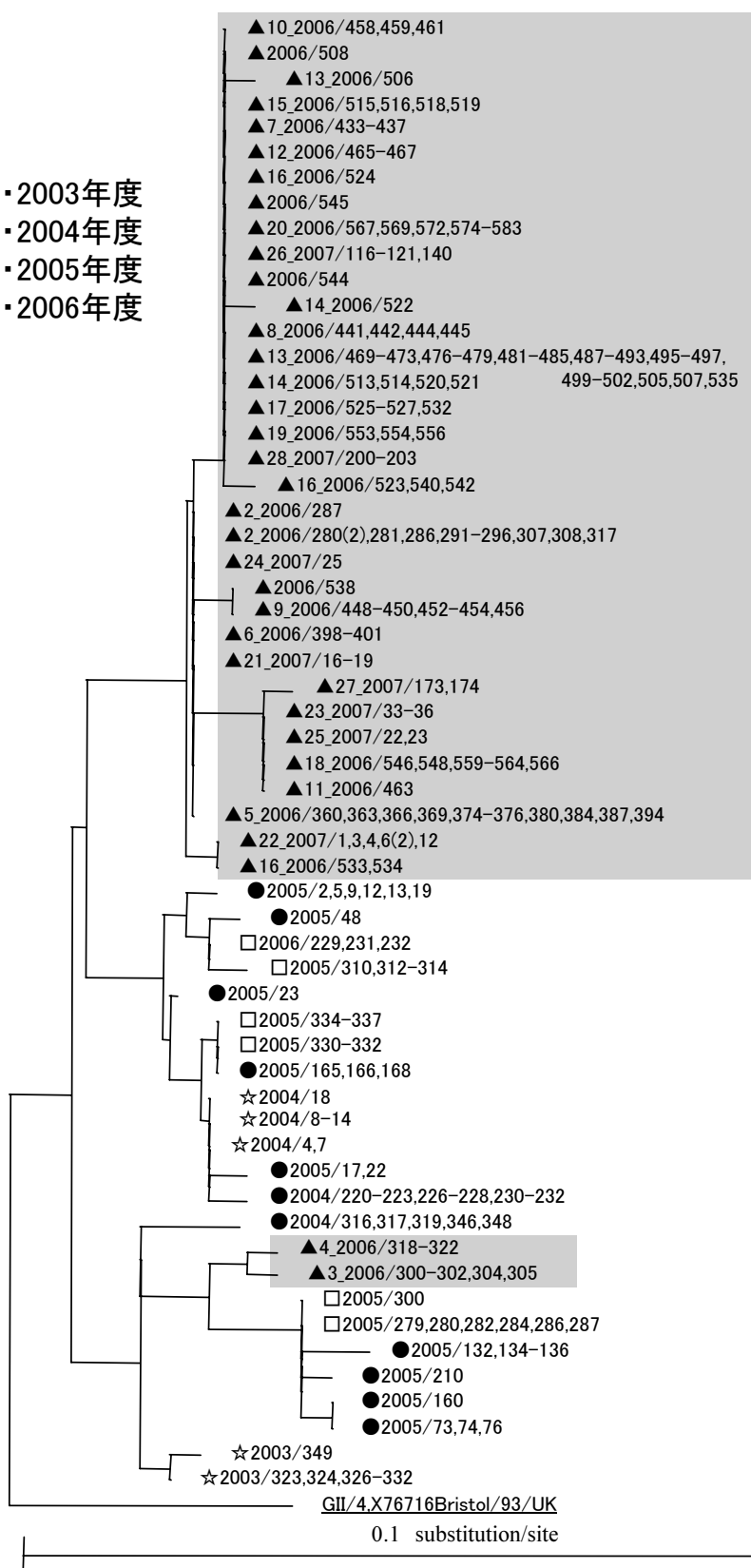


図2. 2003～2006年度に得られた検体の遺伝子解析(NVGII/4比較)

2006年度の検体については、集団発生事例の検体は「事例番号_年/検体番号」、散发例の検体は「年/検体番号」で示す。

2003～2005年度の検体については全て「年/検体番号」で示す。

表1-1. 従業員 a (有症者) のノロウイルス検出結果

検体採取	病日	リアルタイム PCR		RT-PCR
		結果	平均コピー数/g	
1回目	4	-	-	+
2回目	9	+	1.13E+07	+
3回目	14	+	1.53E+06	+
4回目	28	+	4.10E+05	+
5回目	42	+	6.74E+06	+
6回目	57	+	4.70E+06	+
7回目	71	-	-	-

表1-2. 従業員 b (無症状) のノロウイルス検出結果

検体採取	検体採取日	リアルタイム PCR		RT-PCR
		結果	平均コピー数/g	
1回目	2006/5/24	+	1.07E+09	+
2回目	2006/6/5	+	9.24E+06	+
3回目	2006/6/20	+	2.11E+04	-
4回目	2006/7/5	-	-	-

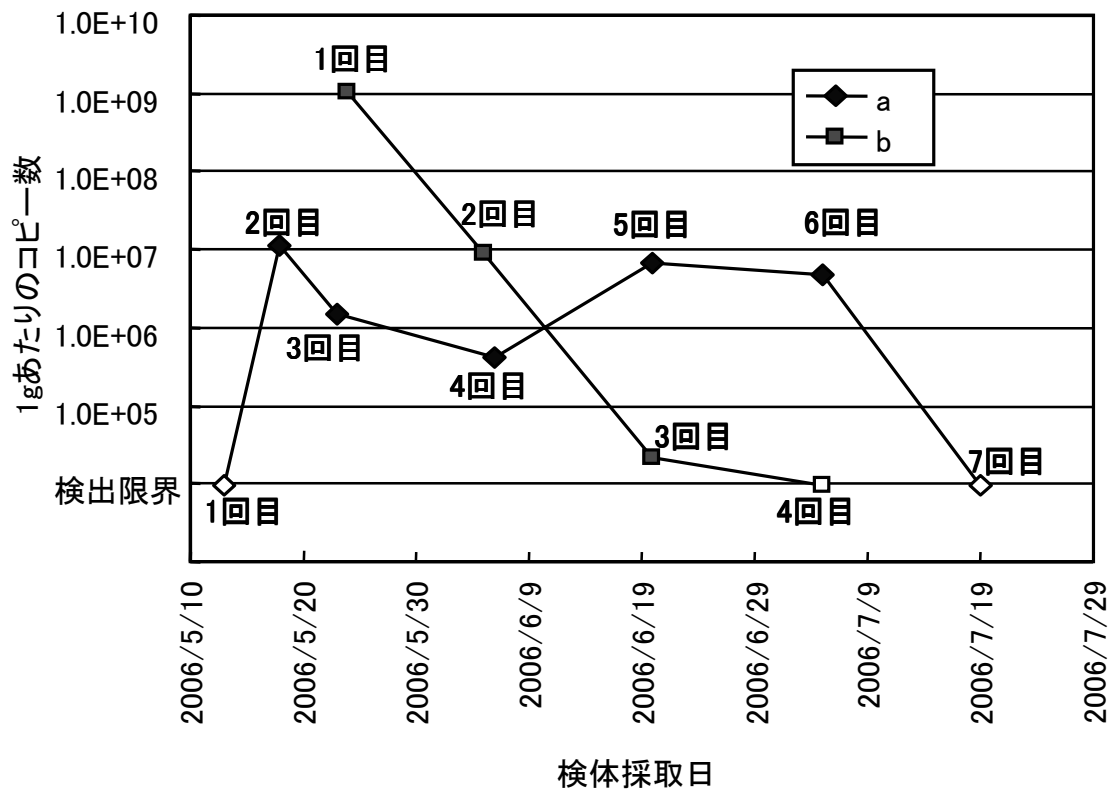


図3. 従業員aおよびbの便1gあたりのNVコピー数

白抜きはリアルタイムPCR陰性

		(カプシド領域の塩基番号)					
		231	240	250	260	270	280
a	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	C- --
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
	3回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
	4回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
	5回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
	6回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
b	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	T- --
(nt)		GAGCGCGCCC	TTAGGCCCTG	ATCTGAATCC	CTACCTATCT	CATTTGGCYA	GA
(aa)		S A P	L G P D	L N P	Y L S	H L A R	
						A	

図4-1. カプシド領域第279番目の塩基における変化

		(カプシド領域の塩基番号)						
		1	10	20	30	40	50	60
a	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	A -----	
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	A -----	
	3回目	-----	-----	-----	-----	-----	A -----	
	4回目	-----	-----	-----	-----	-----	G -----	
	5回目	-----	-----	-----	-----	-----	G -----	
	6回目	-----	-----	-----	-----	-----	G -----	
b	1回目	-----	-----	-----	-----	-----	A -----	
	2回目	-----	-----	-----	-----	-----	G -----	
(nt)		ATGAAGATGG	CGTCGAATGA	CGCCAACCCA	TCTGATGGGT	CCGCAGCCAR	CCTCGTCCCA	
(aa)		M K M A	S N D	A N P	S D G S	A A N	L V P	
						S		

図4-2. カプシド領域第50番目の塩基における変化

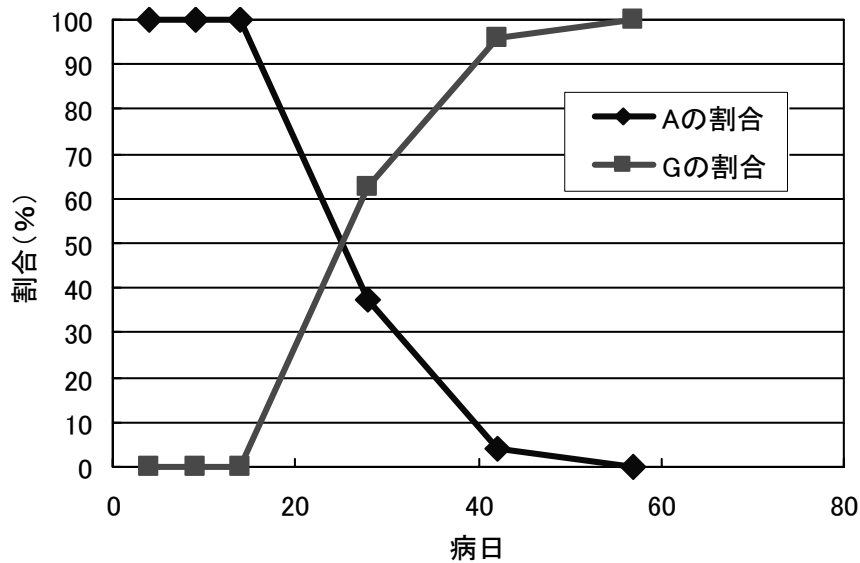


図5. 従業員aから得られたNVのカプシド領域第50番目がAであるクローンとGであるクローンの割合

違うクラスター同士では相同性95.7~96.7% (10~13塩基の相違)であった。この2006年度に得られたG II /4型を、これまでの富山県内の調査で得られたG II /4型と比較したところ (図2), 2006年度のクラスターはいずれも富山県内の2003~2005年度の調査で得られたG II /4型と異なっていた。2006年度は、11月をピークとして例年の1.5倍のNV集団発生があった。世界的にも同時期に、これまでと異なるG II /4型が大規模な流行を起こしており[9], 日本においても新たな株が2006年度の流行の原因となったと考えられる。

2) 従業員aおよびbのNV検出結果について表1-1, 1-2に示す。リアルタイムPCR法により、aは2回目(9病日)から6回目(57病日)にかけて、bは1回目から3回目にかけてNVG IIが検出された。aとbの糞便1gあたりのコピー数を図3に示す。aは2回目から4回目(28病日)にかけて減少したが、5回目(42病日)で再び増加し、7回目(71病日)に陰性となるまで減少した。bのコピー数は4回目に陰性となるまで減少し続けた。

PCR産物のダイレクトシーケンスの結果では、aのカプシド領域第279番目の塩基が1回目から2回目にかけてシトシン(C)からチミン(T)に変化していた(図4-1)。さらに、aおよびbのカプシド領域第50番目の塩基がアデニン(A)からグアニン(G)に変化していた(図4-2)。これはアスパラギン(AAC)からセリン(AGC)へのアミノ酸変異を伴っていた。

aは3回目(14病日)から4回目(28病日)に、bは1回目から2回目にA→Gの変化がみられた。この2名におけるA→Gの変化の時期はほぼ一致していた。クローニングを行い解析したところ、カプシド領域第279番目においてはaの1回目のみ全クローンCであり、他は全てTであった。カプシド領域第50番目については、Aのクローン数：Gのクローン数の割合はそれぞれ、aの1回目27：0, 2回目24：0, 3回目23：0, 4回目9：15, 5回目1：24, 6回目0：20と徐々に変化していた(図5)。bは1回目27：0, 2回目1：28であった。

ab二名と同じ事例内のNV陽性者において、カプシド領域第50番目の塩基でAがGに変わっているのがダイレクトシーケンス法で確認できたのは、この二名のみであった。また、有症者a以外にカプシド領域第279番目の塩基がCであった者はいなかった。このことから、カプシド領域第279番目の塩基は感染当初Cであったが、aを含む感染者の誰かの中でTに変わったと考えられる。カプシド領域第50番目の塩基の変化は、ab二名が感染していたNVが偶然同じ時期・同じ場所に変異を起こしたとは考えにくいことから、この二名のどちらかでウイルスが変異し、相手に感染した可能性が高い。

本事例において、aは約2ヶ月、bは約1ヶ月にわたりNVを排出しつづけていた。この間にNVのカプシド領域で、塩基およびアミノ酸の経時的变化がみら

平成19年12月1日

れた。このことは、長期排出者は二次感染の原因となるだけでなく、ウイルスの病原性変異の要因ともなりうることを示唆している。

謝 辞

本研究を実施するに当たり、検体採取にご協力くださった病院と厚生センター、富山市保健所の関係各位に心より感謝いたします。

文 献

1. Ando, T., Noel, JS., Fankhauser, RL. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S336-348
2. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T. (2001). *J. Med. Virol.*, 64, 569-576
3. Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). *Virology*, 299, 225-223
4. Vinje, J., Green, J., Lewis, DC., Gallimore, CI., Brown, DW., Koopmans, MP. (2000). *Arch. Virol.*, 145, 223-241
5. 国立感染症研究所編 (2006). 病原微生物検出情報, 速報 (2007年6月21日現在報告数)
6. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003). 食安監発第115001号.
7. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 99-104
8. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 永井美之(2006). 富山衛研年報, 29, 121-125
9. 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部編 (2006). 食品安全情報2006年26号

食中毒菌カンピロバクターの迅速検査を可能とする Multiplex PCR の開発

清水美和子 綿引正則 磯部順子 嶋 智子 木全恵子 倉田 毅

Developing a Multiplex PCR Protocol for Rapid Detection of *Campylobacter jejuni* / *coli* at Public Health SettingsMiwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Tomoko SHIMA
Keiko KIMATA and Takeshi KURATA

要旨 食中毒の起因菌として重要なカンピロバクターの迅速検査法として、特にヒューマンエラーの少ない Multiplex PCR を構築した。 *Campylobacter jejuni* と *Campylobacter coli* を高い精度で識別し、同時にアガロース電気泳動による泳動パターンが容易に判定できるようにターゲット遺伝子の選択とその増幅サイズを検討した。文献で報告されているプライマーと、カンピロバクターのゲノム配列を利用して選択したターゲット遺伝子から作製したプライマーを使用し、容易に *Campylobacter jejuni* / *coli* を判定することが可能となった。今後は、検査部門への普及を期待したい。

カンピロバクター腸炎は人畜共通感染症で、ヒトにおける細菌性腸炎の10~20%を占めるといわれ、日本における発生状況はサルモネラと並んで多い。また、カンピロバクターによる集団食中毒も年々増加している [1]。カンピロバクターの中でヒトに病原性を示す株として、 *C. jejuni* 及び *C. coli* が知られているが、特に *C. jejuni* は腸炎患者から高頻度に分離されるばかりではなく、合併症としてギラン・バレー症候群の原因となることもあり、注意が必要である。

カンピロバクターは好氣的あるいは嫌氣的条件では生育せず、酸素が5~15%の微好気条件でよく生育するものの、培養に時間がかかるため同定までに長時間を要する [2]。また、カンピロバクター分離培地上のカンピロバクターは特徴的なコロニーを示すが、中には形態が似たカンピロバクター以外のコロニーもよくみられ、判断に迷う事も少なくない。従って、迅速性が要求される食中毒時の原因菌検索、また原因食品の特定に時間を要するため、カンピロバクターの迅速検出法の要望は強い。

一方、極めて特異性の高い検査法である PCR 法のうち Multiplex PCR は、一度の反応で複数のターゲット遺伝子を対象としているため、多くの情報を得ることができるが、検査の現場で容易に使える系はほとんどないのが現状である。従って、この Multiplex PCR を用いた迅速で簡便にカンピロバクターを検出するシステムを再検討し、従来より簡便なシステムの開発を試みた。

材料と方法

1. 供試菌株：当所に保存されているヒト由来の *C. jejuni* 28株、 *C. coli* 2株、食肉由来の *C. jejuni* 24株、 *C. coli* 12株、計66株を用いた。

2. DNA の抽出：2通りの抽出法を行った。

キレックス法：血液寒天培地上に生育したコロニーを白金線で少量掻き取り、TE 緩衝液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.8) で5%としたキレックス懸濁液 (W/V ; Chelex-100, バイオラド社) 200 μ l に懸濁・攪拌後、100°C8分間処理し、直ちに遠心 (12,000 rpm, 3分) した。

DW 法：コロニーを白金線で少量掻き取り、200 μ l の滅菌精製水に懸濁後、100°C8分間加熱し、直ちに遠心 (12,000rpm, 3分) した。

両法とも遠心後の上清約100 μ l を新しいチューブに移し、DNA 溶液とし、使用まで-20°Cにて凍結保存した。

3. PCR：TaKaRa *Taq*TM Hot Start Version (タカラ) を使用した。反応液の組成は、10×Ex *taq* buffer 2 μ l, dNTP Mixture (各2.5mM) 2 μ l, Ex *taq* HS 0.2 μ l, プライマー最終濃度はすべて0.1 μ M とし、滅菌精製水で全量 20 μ l とした。反応条件は使用するプライマーの組み合わせにより、アニーリング温度、プライマー濃度、サイクル反応条件を検討した。得られた増幅産物は、3%アガロースゲルで100 V, 40分間電気泳動をした。

4. バイオインフォマティクス：カンピロバクターの

ゲノム配列は, *C. jejuni* subsp. *jejuni* NCTC11168, *C. jejuni* RM1221及び *C. coli* RM2228の3株を使用した. これらの配列は, DDBJweb サイト[3]から入手した (アクセッション番号 GIB00027CH01, GIB00230CH01, AAFL01000001~AAFL01000038). ゲノム配列を用いた比較解析, 特定配列の抽出, 類似配列の多重配列解析及びプライマーの設計は, G-infoBIO [4], MEGA3.1 [5] 及び Artemis [6] を用いた.

結 果

1. Multiplex PCR 用プライマーの選択: カンピロバクターを検出するプライマーを検討するために, 文献を調査し, 有用と考えられるものを表1にまとめた. 今回の Multiplex PCR で *C.jejuni* /*coli* を簡単に識別するために, *C. jejuni* あるいは *C. coli* のみに特異的に反応するプライマーと, カンピロバクターであることを確認できる *C. jejuni* と *C. coli* が共に反応するプライマーを組み合わせることを目指した. 表1に示したプライマーを, 様々な組み合わせで, アニーリング温度, プライマー濃度の最適な条件を検討し, また電気泳動パターンとして, 判定しやすいプライマーの組み合わせを選択した.

その結果, *C. jejuni* /*coli* 共通に増幅する表1の No.10 (23Sr RNA), *C. jejuni* を特異的に検出する No.3 (*hip* gene, 馬尿酸分解酵素) と No.9 (機能未知) 及び, *C. coli* 特異的な No.8 (*gatB*, glutamyl-tRNA (Glu) amidotransferase, B subunit) の組み合わせで, *C. jejuni* と *C. coli* を簡単に識別することができた (図1). その泳動パターンは, *C. jejuni* に特異的, あるいは *C. coli* 特異的な増幅物だけでなく, 両者に共通の増幅物も含み, 特徴的なパターンを示した.

さらに我々は, 真正細菌の中でもゲノムサイズが比較的大きな大腸菌より, 変異が蓄積しやすいといわれている [14] カンピロバクターの PCR による検出の

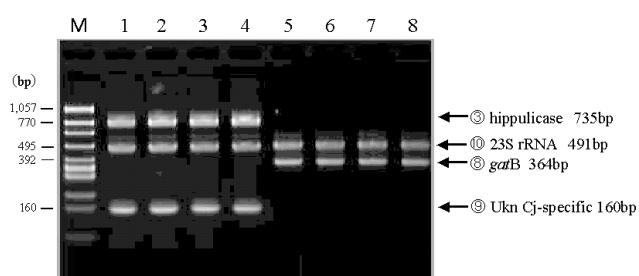


図1. 文献より選択したプライマーの Multiplex PCR
M: マーカー
レーン1~4: *C.jejuni* レーン5~8: *C.coli*

表1. 文献より検索したプライマー

No.	プライマー名	増幅サイズ (塩基対)	ターゲット 遺伝子	用途	文献
1	pg50/pg3	450	<i>flaA</i>	<i>C.jejuni</i> & <i>C.coli</i>	[7]
2	CCCJ609F /CCCJ1442R	854	16S rRNA	<i>Campylobacter</i> general	
3	HIP400F /HIP1134R	735	hippucase	<i>C.jejuni</i> specific	[8]
4	CC18F /CC519R	500	CCCH	<i>C.coli</i> & <i>C.hyoilei</i> specific	
5	CL2/CR2	152	Unknown	<i>C.jejuni</i> specific	[9]
6	CL2/CR3	402	Unknown		
7	9-F/9-R	894	<i>ceuE</i>	<i>C.coli</i> specific	[10]
8	38-F/38-R	364	<i>gatB</i>	<i>C.coli</i> specific	
9	C-1/C-4	160	Unknown	<i>C.jejuni</i>	[11]
10	THERM1 /THERM4	491	23S rRNA	Thermophilic <i>Campylobacter</i>	[12,13]

効率を上げるため、図1の Multiplex PCR のプライマーに新たなターゲットを入れることにした。そこで、既に報告されているカンピロバクターのゲノム配列を基に、新たなターゲット遺伝子の選択と、プライマーの設計を試みた。

2. ゲノム情報を利用した新たなターゲット遺伝子の選択とプライマー設計：*C. jejuni* subsp. *jejuni* NC TC11168と *C. coli* RM2228の2株を Megablast を用いて比較した結果、ゲノム全体で202箇所の領域を抽出した。図2は、Megablast の一例である。これらの領域のうちタンパク質をコードしている領域を抽出して23箇所とし、そこからさらに、タンパク質をコードすると思われる遺伝子である8箇所を選んだ。その8箇所の配列と、さらに *C. jejuni* RM1221のゲノム配列を比較し、90%以上の相同性を持つ5領域に絞った。最終的に、この5領域のうち *C. jejuni* subsp. *jejuni* NCTC11168と *C. coli* RM2228の相同性が³⁾、99.54%

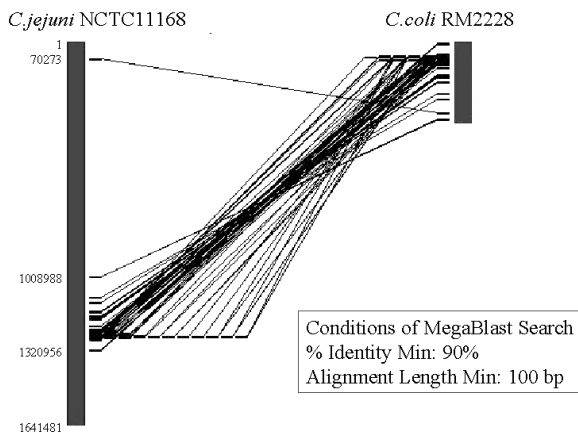


図2. Megablast の一例

と最も高かった *flaD* gene をターゲット遺伝子に選んだ。この遺伝子はカンピロバクターの鞭毛タンパク質をコードする遺伝子であった。この *flaD* 遺伝子の配列から4組のプライマー対を設計した。その中から、増幅産物が268bpとなる jc549F : 5'-CAT ACT TAC ATC AAC AGT AGC-3' と jc816R : 5'-AAC TGT AAG CTA TCC TGA TCC-3' のプライマーを選択した。このプライマーを用いてPCRを行ったところ、*C. jejuni* 及び *C. coli* 共に予想された増幅産物が検出された(図3)。そこで、このプライマーを Multiplex PCR のターゲット遺伝子として加えることとした。

3. Multiplex PCR の確立：図1に示した Multiplex PCR の系に、*flaD* 遺伝子をターゲットとしたプライマー jc549F と jc816R を加え、*C. jejuni* 及び *C. coli* のDNAを用いて Multiplex PCR を検証した。その結果の電気泳動パターンが図4である。*C. jejuni* では、735bp (No.3), 491bp (No.10), 268bp 及び160bp

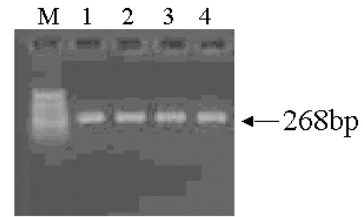


図3. 設計したプライマーのPCR結果

M: マーカー

レーン1,2: *C. jejuni* レーン3,4: *C. coli*

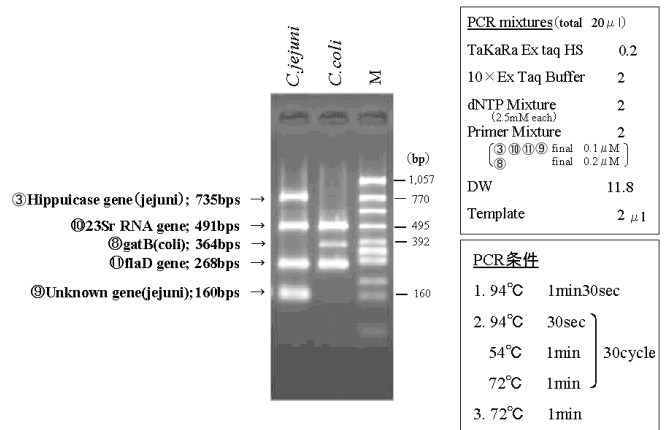


図4. Multiplex PCR の電気泳動パターン

(No.9) の4本が検出され、*C. coli* では、491bp (No.10), 364bp (No.8) 及び268bp の3本が検出された。また、最終的に決定されたPCR条件を図4に示した。

4. Multiplex PCR 系の評価：当所で保存しているカンピロバクター分離株66株を対象とし、今回開発した Multiplex PCR システムの検証を行った(図5)。

C. jejuni 52株中52株が *C. jejuni* 特異的パターンを示した。また *C. coli* 14株中11株が *C. coli* 特異的パターンとなった。しかしながら、3株からは *C. coli*

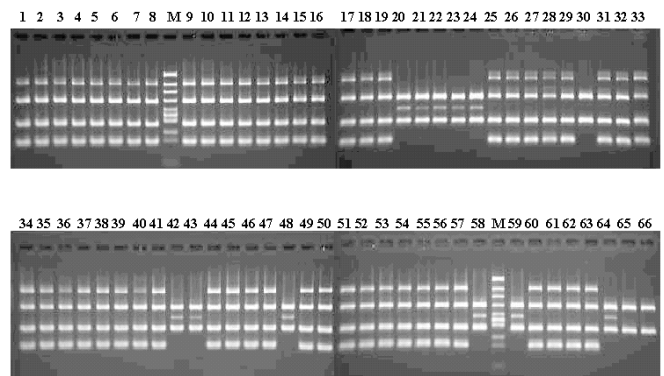


図5. カンピロバクター保存菌株による評価

M: マーカー

レーン1~19, 25~29, 31~41, 44~47, 49~57, 60~64: *C. jejuni*
レーン20~24, 30, 42, 43, 48, 58, 59, 64~66: *C. coli*

特異的なプライマーである No.8の増幅産物が検出されなかった(レーン30, 65, 66).

5. DNAの抽出法の比較検討: キレックス法とDW法で抽出したDNAを用いて Multiplex PCRを行い, 比較を行った. キレックス法で抽出されたDNAを用いたとき, すべての増幅産物が鮮明に検出された(図6). DW法では, *C. jejuni*の *hip* geneをターゲットとした735bpの増幅産物が不明瞭であった.

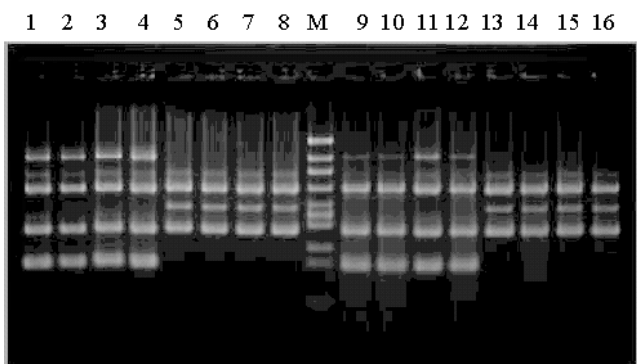


図6. DNA抽出法の比較

レーン1~4: *C. jejuni*(キレックス抽出法)
レーン5~8: *C. coli*(キレックス抽出法)
レーン9~12: *C. jejuni*(DW抽出法)
レーン13~16: *C. coli*(DW抽出法)

考 察

今回, カンピロバクターの迅速な検出と同定を目的として Multiplex PCRの開発を行った. 当所に保存しているカンピロバクター分離株を用いて Multiplex PCRの評価を行った結果, *C. jejuni*ではすべて *C. jejuni*と判定することが可能であり, 結果は良好であった. *C. coli*は14株中3株に, *C. coli* 特異的な増幅産物(364bp)が不検出となった. 常にこのプライマー(No.8)は他のプライマーに比べて効率が悪いと考えられる. しかし, *C. jejuni*及び *C. coli*共に検出できる2本の増幅産物(491, 268bp)が検出されていること, また *C. jejuni* 特異的な2本の増幅産物(735, 160bp)が不検出なことから, *C. coli*の可能性が高いことがわかる. 食中毒検査の場合, 少なくとも *C. jejuni*と *C. coli*の識別は求められていないことから, 実際には問題はないと思われる.

また, DNA抽出法の比較では, キレックス法がDW法に比べて優れていた. DW法では, *C. jejuni*の *hip* geneをターゲットとした735bpのバンドが不明瞭となった. これは, 増幅サイズが大きいほどPCR効率が悪くなるためと考えられた. しかし, DW

法でも単一のターゲット遺伝子のPCRによる *C. jejuni*か *C. coli*の判定は可能であると思われる.

これまでも, カンピロバクターの Multiplex PCRについては様々な報告があるが [11,15], それらは *C. jejuni*と *C. coli*を対象としたものが多く, *C. jejuni* / *coli*を識別する単一の遺伝子をターゲットにしているため, 増幅産物の正確な分子量(あるいは塩基長)の測定が必要であった. 今回, 我々の開発した Multiplex PCRでは, *C. jejuni*及び *C. coli*共に特徴的な電気泳動パターンが得られ, 容易に判定しやすい泳動パターンを示すシステムである. 仮に, 分子量マーカーや陽性コントロールを同時に泳動しなくても, 判定することが可能である. また, 複数のターゲット遺伝子を組み合わせることで, 検出, 識別能が上昇したものと考えられる. カンピロバクターは, 培養に時間がかかり, 検査を開始してから同定までに約5~8日間を要す. 食中毒時などに検査に迅速性が求められる際に, カンピロバクター分離培地上に疑わしいコロニーが検出された段階で, 今回の Multiplex PCRを用いることで迅速に, また簡便にカンピロバクターかどうか, さらに *C. jejuni*か *C. coli*かを判定することが可能となった. 今後, 種々の細菌検査を担当している現場の厚生センター等で実際に使用してもらい, より利用しやすく, かつ正確に判定できるシステムを構築していきたい. また, 将来的には増菌培養液で Multiplex PCRを行い, より迅速にカンピロバクターを検出できるよう検討したい. また, *C. lari*や *C. fetus* 検出についての応用は今後の課題である.

今回は既存のプライマーを利用するだけでなく, 既に報告されている細菌ゲノム情報を用いてプライマーを設計した. このような手法は, 細菌ゲノム配列情報が増大するなかで, その情報を積極的に細菌検査分野に応用しようとする新しい試みであり, 今後, その他の病原細菌の検査へ応用できることが期待される.

文 献

1. 病原微生物検出情報(2006) Vol,27, No.7
2. 食品衛生検査指針 微生物編(2004), 225-235, 社団法人日本食品衛生協会
3. Kumar,S., Tamura,K., Nei,M. Briefings In Bioinformatics, 5(2):150-163(2004)
4. Artemis
<http://www.sanger.ac.uk/Software/Artemis/>
5. DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp>
6. Tanaka,N., Abe,T., Miyazaki,S. and Sugawara,H. (2006) BMC Bioinformatics, 7, 368.

- <http://wdec.nig.ac.jp/inforbio/G-InforBIO/download.html>
7. Oyofu, B. A., Thornton, S. A., Burr, D. H., Trust, T. J., Pavlovskis, O. R., Guerry, P. (1992) *J. Clin. Microbiol.*, 30, 2613-2619
 8. Linton, D., Lawson, A. J., Owen, R. J., Stanley, J. (1997) *J. Clin. Microbiol.*, 35, 2568-2572
 9. Lai-King NG, Kingombe, C. I. B., Yan, D., Taylor, D. E., Hiratsuka, K., Malik, N., Garcia, M. M. (1997) *Appl. Environ. Microbiol.*, 63, 4558-4563
 10. On, S. L. W., Jordan, P. J. (2003) *J. Clin. Microbiol.*, 41, 330-336
 11. Harmon, K. M., Ransom, G. M., Wesley, I. V. (1997) *Mol. Cell. Probes.* 11, 195-200
 12. Eyers, M., S. Chapelle, G. van Camp, H. Goossens, R De Wachter (1993) *J. Clin. Microbiol.*, 31, 3340-3343
 13. Fermer, C., Engvall, E. O. (1999) *J. Clin. Microbiol.* 37, 3370-3373
 14. Parkhill, J., Wren, B. W., Mungall, K., Ketley, J. M., Churcher, C., Basham, D., Chillingworth, T., Davies, R. M., Feltwell, T., Holroyd, S. (2000) *Nature*, 403, 665-668
 15. Cloak, O. M., Fratamico, P. M. (2002) *J. Food Prot.* 65, 266-273

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況

磯部順子 綿引正則 清水美和子
嶋 智子 木全恵子 倉田 毅

Isolation of *Legionella* Species from
Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2006

Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU,
Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA and Takeshi KURATA

要旨 2006年9～11月に富山県内の20施設から採取した浴用水52件について、*Legionella* 属菌による汚染実態調査を実施した。調査は *Legionella* 属菌の検出率、生菌数、分離菌の血清型別について実施した。また、血清型別不能株については16S rDNA 配列解析による菌種の同定を実施した。得られた結果は以下のとおりであった。

1. 浴用水の *Legionella* 属菌の検出率は27/52件 (51.9%) で、温泉水で特に高かった。
2. *Legionella* 属菌の検出率は遊離残留塩素濃度が0mg/ℓ の検体で高く、泉質および換水頻度との関連性は明らかではなかった。
3. 浴用水100mlあたりの *Legionella* 属菌数は、10～6.1×10³ cfu, 27件の平均は8.1×10² であった。
4. 分離された *Legionella* 属菌の血清型は、*L.pneumophila* SG6(13検体), SG1, SG9 (各7検体) が多かった。
5. 血清型別不能であった *Legionella* 属菌(以下 UT)について、16S rDNA の配列により同定された菌種は *L.oakridgensis*, *L.londeiniensis*, *L.feeleii* および *L.pneumophila* であった。

Legionella 属菌は本来自然界の土壌や淡水の湖沼、温泉水等の環境に生息している。しかし、近年においては冷却塔、加湿器、循環式浴場等の施設、設備の増加に伴い、人工的な水環境にもその生息域を広げてきている。この菌によって引き起こされるレジオネラ症は劇症型の肺炎、あるいは軽い熱性疾患の病型を示すが、重篤な場合は死に至ることからもっとも注意しなければならない経気道感染症のひとつである。1976年の米国フィラデルフィアで発生したレジオネラ症の集団事例[1]以来注目されるようになったが、日本では2002年7月の宮崎県で7名が死亡する集団感染事例[2]をはじめ、多くの事例が報告されている。

富山県においても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[3]、2005年には死亡事例もおきている。そこでレジオネラ症の感染源を明らかにする目的で、富山県内の浴用施設の *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

2006年9～11月に県内20施設から採取した浴用水52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

浴用水500mlをポリカーボネート製メンブランフィルター(直径47mm, 0.22μm, 日本ミリポア)で吸引ろ過し、さらに滅菌蒸留水50mlでメンブランフィルターおよびろ過用ファンネルを洗浄、吸引ろ過した。吸引後フィルターを50ml滅菌コニカルチューブに入れ5.0mlの滅菌蒸留水を加え、ボルテックスで1分間振とうし、濃縮試料とした。

3. 培養

濃縮試料のうち、2.0mlをヒートブロックで50℃20分間加熱処理した。冷却後、GVPC 寒天培地(日本ビオメリュー)および WYO 寒天培地(栄研化学)に、10倍希釈した試料100μℓをそれぞれ1枚と試料原液100μℓをそれぞれ2枚に分注し、コンラージした。これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ、37℃で10日間培養した。

4. 同定および菌数測定

出現した灰白色のレジオネラ様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。そこで BCYE α 寒天培地のみで発育したコロニーについて、グラム陰性桿菌であることを確認、*Legionella* 属菌とした。その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10未満とした。

5. 血清型別試験

浴用水1検体あたり1~20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[4]に従い、加熱抗原を作製した。反応はレジオネラ免疫血清（デンカ生研）および *Legionella* Latex Test Kit（オキソイド）を用いておこなった。

6. 16S rDNA 塩基配列による菌種の同定

UT 株について、16S rDNA の塩基配列を解析し、国立遺伝研 DDBJ[5] の Blastn プログラムにより細菌16S rDNA データベースと相同性解析を実施、分離菌の同定を行った。この方法の詳細は既報[6]に報告している。ただし、DNA の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。

結 果

1. 浴用水の管理状況

換水は毎日~1回/月の頻度で実施されており、毎日実施が20件ともっとも多く、1回/週が12件、1回/2週が10件であった。採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩）は0mg/l の浴用水が16件（温泉12件、薬湯4件）で、残塩が0.4 mg/l より高い濃度の浴用水が17件、平均0.5mg/l であった。

2. 浴用水の泉種および泉質

浴用水52件の泉種の内訳は、温泉28（53.8%）、白湯18（34.6%）、薬湯6（11.5%）であった。これらの給湯方式について、温泉では循環式が17検体、掛け流し方式が6検体、併用が5検体であった。一方、白湯および薬湯ではすべてが循環式であった（表1）。また、温泉の泉質はアルカリ単純温泉（8検体）、Na-Ca 塩化物泉（5検体）、Na-塩化物泉（5検体）が多かった（表2）。

3. *Legionella* 属菌の検出状況

浴用水の *Legionella* 属菌検出率は27/52件

表1. 検水の種類と給湯方式

	循環	掛け流し	循環/ 掛け流し	計
温泉	17	6	5	28
白湯	18	0	0	18
薬湯	6	0	0	6
計	41	6	5	52

表2. 温泉の泉種

温泉種	数
アルカリ単純泉	8
Na-Ca 塩化物泉	5
Na-塩化物炭酸水素泉	2
Na-塩化物泉	5
Na 炭酸水素泉	2
二酸化炭素 - 鉄 - Na 塩化物 - 炭酸水素塩泉	3
メタケイ酸	1
不明	2
	28

(51.95%) であった（表3）。これを泉種別にみると、温泉が20/28件（71.4%）、白湯4/18件（22.2%）、薬湯3/6件（50.0%）であった。また、温泉における給湯方式別の *Legionella* 属菌検出率は、循環式が9/17（52.8%）、掛け流し式が6/6（100%）、併用式が5/5（100%）であった。また、浴用水の残塩別の *Legionella* 属菌検出率については、レジオネラ症防止指針[7]の中で望ましいとされる残塩0.2~0.4mg/l を基準に濃度別の結果を図1に示す。その検出率は、残塩が0~0.1未満(mg/l)が16/17(94.1%)、0.1~0.2未満(mg/l)で2/5(40.0%)、0.2~0.4mg/l で5/13(38.5%)、0.4(mg/l) ~で4/17(23.5%)と、残塩が検出されない浴用水で高かった。一方、換水頻度別の *Legionella* 属菌の検出率は、毎日換水している21検体では12件（57.1%）、5~7日毎の換水12検体では3件（25.0%）、月2回の換水10検体では7件（70.0%）であり、換水頻度との関連性は明らかではなかった（図2）。

4. *Legionella* 属菌数

Legionella 属菌が検出された27検体の100mlあたりのその菌数は、No.43が 6.1×10^3 cfu ともっとも多かった。7検体は10cfu/100ml と少なく、その平均は 8.1×10^2 cfu/100ml であった（表4）。*Legionella* 属菌数が 10^3 CFU/100ml 以上と多かった5検体はすべて温泉であり、1検体を除いては当日の残塩が0mg/l で

表 3. 泉種別 Legionella 属菌検出率 (GVPC 培地)

	循環	(%)	掛け流し	(%)	循環/ 掛け流し	(%)	計	(%)
温泉	9/17	(52.9)	6/6	(100.0)	5/5	(100.0)	20/28	(71.4)
白湯	4/18	(22.2)					4/18	(22.2)
薬湯	3/6	(50.0)					3/6	(50.0)
計	16/41	(39.0)	6/6	(100.0)	5/5	(100.0)	27/52	(51.9)

表 4. 分離菌株の血清型別および UT 株の菌種の同定

施設名	検体名	レジオネラ属 菌数 cfu/100m l	採水日の 遊離残留塩素 濃度 mg/ l	血清型			血清型 UT の 16S r DNA 配列解析に よる菌種の同定				
A	1	2.7×10 ²	1	SG1		SG9	UT <i>L.pneumophila</i>				
	2	8.0×10	0.6	SG1			UT <i>L.feeleii</i>				
	3	2.9×10 ²	0.4	SG1		SG9 micdadei					
C	6	9.0×10 ²	0	SG1			UT <i>L.oakridgensis</i>				
	7	3.0×10 ²	0			SG9	UT <i>L.oakridgensis</i>				
D	8	4.0×10 ³	0				UT <i>L.londiniensis</i>				
	9	3.9×10 ³	0				UT <i>L.londiniensis</i>				
F	12	1.2×10 ²	0			SG6	UT <i>L.oakridgensis</i>				
	13	2.1×10 ³	0		SG4						
	14	7.0×10	0		SG4		UT <i>L.oakridgensis</i>				
	15	4.0×10 ²	0		SG4 SG5 SG6	SG9	UT <i>L.oakridgensis</i> <i>L.pneumophila</i>				
	16	2.4×10 ³	0	SG 3 SG4	SG6		UT <i>L.oakridgensis</i>				
H	19	10	0			SG6					
	21	20	0			SG6	UT <i>L.londiniensis</i>				
	22	10	0			SG6					
J	25	4.4×10 ²	0.1未満			SG 5 SG6					
	27	4.0×10	0								
	31	2.5×10 ³	1.0			SG6 SG9					
M	35	10	0.4			SG 6					
	37	4.0×10	0.2	SG1		SG 5					
O	43	6.1×10 ³	0.25	SG1		SG5 SG6					
P	44	10	0.25		SG4	SG6	UT <i>L.pneumophila</i>				
Q	45	10	0				UT <i>L.pneumophila</i>				
R	47	9.0×10	0.16			SG9 SG4,9*	UT <i>L.londiniensis</i>				
T	51	3.0×10	0.1	SG1		SG7					
	52	10	0.8			SG6					
				7	1	5	4	13	1	7	14

*SG4,9: SG4およびSG9いずれの血清とも凝集したことを示す

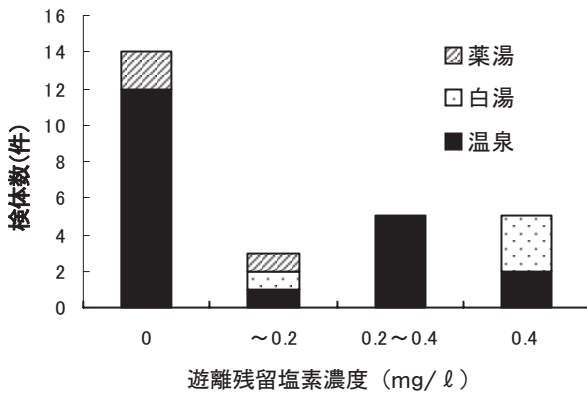


図1. 遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出率

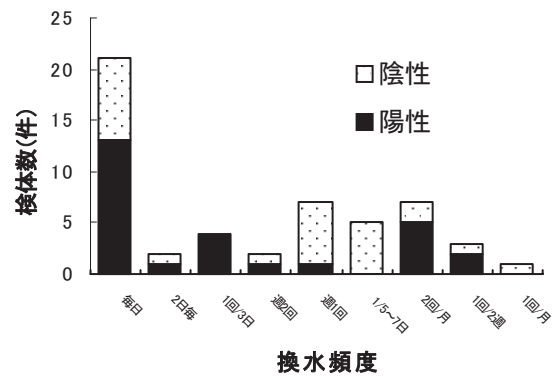


図2. 換水頻度とレジオネラ属菌検出率

あった。また、それらのうち2検体は紫外線殺菌装置を併用している施設 (No.17, 18) から採取した。

5. 分離菌の血清型別および UT 株の菌種の決定

分離された *Legionella* 属菌153株の血清型別結果を表4に示した。検体によって分離数が異なり、血清型別に供した菌株は検体あたり1~20株であった。認められた血清型は8種類で、もっとも多い血清型はSG6 (13/27, 48.1%)、14件の浴用水から計54株の UT が認められた。1検体から4種類 (UT を除く) の血清型が認められたものもあった。また、検体 No.47からは抗血清 SG4および SG9の双方に凝集する菌株が分離された。UT 株は1検体あたり1~11株分離され、それぞれ16S rDNA の塩基配列解析結果から菌種を決定した (表4)。同定された菌種は *L.oakridgensis*, *L.pneumophila*, *L.londiniensis*, *L.feelei* であった。検体 No.15から分離された UT 株は5株で、内4株が *L.oakridgensis* で、1株が *L.pneumophila* であった。

考 察

近年、富山県ではレジオネラ症が増加しているが、これは全国的な傾向である。これまでレジオネラ症の診断には菌の分離が不可欠であったが、臨床検体からの *Legionella* 属菌の分離は困難な場合が多く、またコストもかかる等の理由で、積極的に検査されていなかった。このことは岡田らも指摘しているとおりである [2]。しかし、2003年4月、レジオネラ症の診断のための尿中抗原検出キットが保険適用になったことで検査件数そのものが増加し、その結果として、以前には原因不明の市中肺炎とされていた一部の肺炎患者がレジオネラ症と診断されるようになった。このことがレジオネラ症患者の増加の一因になっていると思われる。しかし、近年、循環式浴槽や冷却塔等の人の環境

の変化により、*Legionella* 属菌の生息域が拡大し、結果として人が感染する機会が増加している背景があるものと考えられる。中でも、わが国においては循環式浴槽におけるレジオネラ症の集団発生 [2, 8, 9] が問題となっている。したがって、この感染症の蔓延を防ぐためには循環式浴槽の管理、すなわち *Legionella* 属菌のコントロールがきわめて重要となる。今回の調査では、厚生センターの協力を得て、県内の広い地域の浴用水について *Legionella* 属菌の汚染実態を把握することができた。そして調査した20施設52浴用水のおよそ半数が、*Legionella* 属菌に汚染されている実態が明らかとなった。*Legionella* 属菌の検出率51.9%は他府県の調査結果 [10, 11, 12] と比べると比較的高いと思われる。この結果については、浴用水の種類や検出方法等、同じ条件での調査ではないことから、数値だけを単純に比較するべきではないが、*Legionella* 属菌の排除にむけた対策を早急に行う必要があろう。本調査で *Legionella* 属菌が検出された浴用水は、その泉質や給湯方式に関係なく、採水日の残塩に相関していた。宮崎の事例においても、浴用水から残塩が検出されず、不十分な管理が大きな事故につながったと指摘している。しかし、この菌をコントロールするために残塩が充分条件でないことは、その濃度が0.25mg/l であるにもかかわらず、 6.1×10^3 CFU/100ml の *Legionella* 属菌が検出されたことから明らかである。一方、換水頻度および調査日における換水後の経過日数は *Legionella* 属菌の検出率と相関しなかった。これらの結果は、浴用水の管理において、単に塩素剤を使う、あるいは水を交換するだけで、*Legionella* 属菌をコントロールするのは難しいことを示している。富山県におけるレジオネラ症の発生は、1999~2004年までは1~4人/年で推移していたが、2005年に12人、2006年に22人と急増している (図3)。これらはすべて

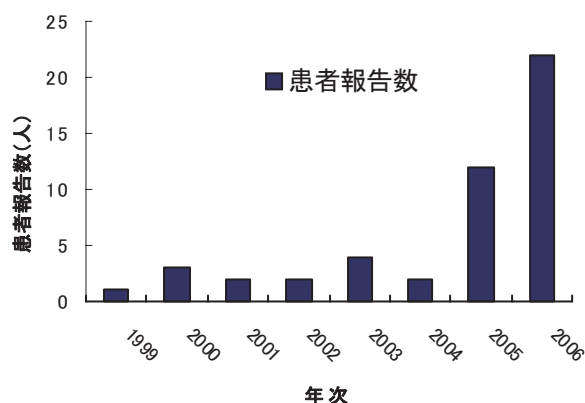


図3. 富山県におけるレジオネラ症患者の年次推移

散発事例であり、この増加は前に述べたように検査法の変更によると思われる。しかし、発生動向調査によれば、2006年の富山県のレジオネラ症患者報告数は全国7番目で、対人口10万人あたりでは2.00人と多く、全国1位であった。富山県でレジオネラ症発生数が多いことの原因を解明するために、関連性が指摘されている浴用水について、今後も調査が必要であろう。岡田らは集団事例の原因施設の環境から多くの *L.londiniensis* を分離した。しかし、この菌に対する患者の抗体価が上昇していないことから、病原性のない株である可能性を指摘している [2]。また、レジオネラ症の集団発生はそのほとんどが *L.pneumophila* SG1であることなどから、*Legionella* 属菌の検出率と患者発生数が必ずしも相関するものではないと思われる。実際、富山県における患者発生地域は県西部、中でも高岡地区に多いが、浴用水の汚染状況における地域間差は認められなかった。また、患者の疫学調査から、感染源が必ずしも浴用水に関連しているとは考えられない事例も報告されている。したがって、レジオネラ症の発生を解明するためには、浴用水の汚染状況だけでなく、環境およびレジオネラ症患者、双方から分離されるレジオネラ属菌について、血清型、病原性遺伝子の解明等、より詳細な研究が必要である。そのためにも、患者分離菌が収集、解析されるようなシステムが早期に構築されることを強く要望するものである。

レジオネラ症の集団発生は、過去の事例から 5.0×10^3 cfu/100ml を超える濃度で起きていると思われる。本調査のなかでそれを超える菌数が検出された浴用水

があったことは、富山県においてもいつ集団発生が起きてもおかしくない状況であることを示唆する。今後、更なる調査を進めるとともに、浴用施設の管理体制の監視を強めなければならない。

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. Fraser D.W. et. al (1997), N. Engl. J. Med. 297
2. 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
3. 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17年), 12
4. 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
5. DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>
6. 綿引正則, 清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋智子, 田中大祐, 永井美之 (2006), 富山衛研年報, 29, 126-132
7. 厚生省生活衛生局企画課監修, 新版レジオネラ症防止指針(2004)
8. 杉山寛治, 西尾智裕, 郷田淑明, 張 凡非, 増田教子, 秋山真人, 宮本秀樹(2000). 静岡県環境衛生科学研究所報告, 43, 1-4
9. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報(2003). 2, 27-36
10. 鈴木敦子, 市瀬正之, 松江隆之, 天野裕次, 寺山武, 泉山信司, 遠藤卓郎(2002). 感染症誌, 76, 703-709
11. 久高 潤, 糸数清正, 平良勝也, 仁平 稔, 大野 惇 (2006). 沖縄県衛製環境研究所年報.40. 77-81
12. 笹原武志, 菊野理津子, 奥田舜治, 関口朋子, 佐藤義則, 高山陽子, 青木正人, 井上松久 (2004). 感染症誌, 78, 545-553

思春期女子の高い骨量獲得に効果的な運動および牛乳摂取の時期

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 長瀬博文¹ 山上孝司²Interaction between Pubertal Development and Exercise or Milk Intake
on Bone Mass Acquisition in Adolescent FemaleYuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA,
Hirofumi NAGASE¹ and Takashi YAMAGAMI²

要旨 中学2年生女子の橈骨骨密度、生活習慣を高校3年生まで追跡調査し、牛乳摂取や運動習慣が骨密度に与える影響が初経発来時期の違いによって異なるか検討した。

対象者を初経発来時期で小学5,6年生に初経があった群（初経小学群）、初経が中学1,2年生にあった群（初経中学群）の2群に分け、小学、中学、高校での牛乳摂取量別（1日400ml以上と未満）で骨密度、骨密度変化率を比較したところ、骨密度に差はなく、骨密度変化率では初経小学群の高校時牛乳摂取400ml以上が大きい増加率を示した。

運動習慣で週3回以上運動ありを習慣あり、週3回未満を習慣なしとし、運動習慣有無で中学2年時から高校3年時までの骨密度を比較したところ、初経小学群では小学時に運動習慣があったもので、初経中学群では、小学時および中学時に運動習慣があったもので骨密度が高値を示した。しかし、両群ともに高校時の運動習慣有無では骨密度に差はみられず、骨密度変化率にも差は認められなかった。

以上のことから、思春期の骨密度増加には運動習慣が重要で、その影響は初経発来の時期と運動実施の時期によって異なり、初経発来の前から発来時期までの運動習慣が高い骨密度獲得に寄与するものと考えられた。

女性の成長期における骨量増加に影響する要因を検討するために、女子中学生を対象として、中学2年から高校3年生まで5年間の骨密度の追跡調査を実施した。これまでに思春期女子では初経が骨密度に影響し、初経発来直後に骨密度は多く増加し、その後増加率が低下することを報告した [1]。また、牛乳摂取や運動習慣があるもので骨密度が高いことも報告した [2]。そこで今回は牛乳摂取、運動習慣が、初経発来直後の骨密度が多く増加する時期とその後の骨密度増加が少なくなった時期との違いで、骨密度に与える影響が異なるか検討した。

対象および方法

対象は中学2年生から高校3年生まで追跡調査を実施した富山県内の女子生徒である。調査は毎年7月に実施した。調査人数は中学2年生 136人、中学3年生 149名、高校1年生 116名、高校2年生 92名、高校3年生 84名で、そのうち5年間全て調査ができたもの

（追跡対象者）は43名である。解析に際しては、骨代謝に影響を与えるような疾患があるもの、早発月経（初経発来10歳未満）および遅発月経（初経発来15歳以上）の可能性のあるものを除き、追跡対象者39名について解析を行った。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、受診者と保護者から承諾書を得た。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た。

骨密度 (Bone Mineral Density: BMD) の測定はDXA法 (DTX-200 OSTEOMETER社製) により非きき腕の前腕骨を測定した。骨密度の変化率は中学2年から高校1年まで (中学時 BMD 変化率: $\{(高校1年 - 中学2年) / 中学2年骨密度 \times 100\}$) と、高校1年から3年まで (高校時 BMD 変化率: $\{(高校3年 - 1年) / 高校1年骨密度 \times 100\}$) の各2年間の変化率を算出した。身長および体重は検診当日に測定し、初経発来の時期および生活習慣 (小学、中学、高校時の1日牛乳摂取本数、運動部参加状況) を自記式の質問票で調査した。

1. 高岡厚生センター射水支所 2. 北陸予防医学協会

解析方法は、追跡対象者を初経発来の学年が小学5、6年のもの“初経小学群”，中学1、2年のもの“初経中学群”の2群に分け、各群それぞれについて牛乳摂取量、運動有無別で骨密度、骨密度変化率を比較した。平均値の差の検定にはt検定を用いた。牛乳摂取量は1日摂取量が400ml以上と400ml未満の2群に分け、運動習慣は、1週間の運動回数が3回以上を運動あり群、3回未満を運動なし群とした。

骨密度と小学、中学、高校時の運動習慣との関連を検討するために、中学3年時の全受診者、高校3年時の全受診者を対象とし、それぞれについて従属変数を各時点のBMD、独立変数を体重、小学、中学、高校時（高校3年時のBMDを従属変数としたときのみ）の運動習慣とし重回帰分析（強制投入法）を行った。

結 果

追跡対象者について、初経発来時期別に中学2年から高校3年時までのBMDおよびBMD変化率を示す（表1）。BMDは初経小学群、中学群ともに学年が上がるにしたがって高くなる傾向を示した。初経小学群と中学群のBMDを比較すると、初経小学群が高値を示し、中学2、3年時は有意に高かった。一方、BMD変化率は初経中学群が中学時、高校時ともに増加率が大きく、中学時BMD変化率には初経小学群と比べて有意な差があった。

初経小学群、中学群の両群について、小学、中学、高校各時期の牛乳摂取量別でBMDを比較した（表2）。

表1 初経時期別骨密度および骨密度変化率

	学年	初経小学群(n=22)		初経中学群(n=17)		初経小学群と 中学群の比較
		平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	中学2年	0.368	0.036	0.332	0.035	p<0.01
	中学3年	0.394	0.039	0.363	0.039	p<0.05
	高校1年	0.410	0.036	0.388	0.037	p<0.1
	高校2年	0.423	0.029	0.410	0.026	
	高校3年	0.434	0.043	0.421	0.033	
骨密度 変化率(%)	中学2年-高校1年	11.5	6.0	17.5	6.9	p<0.01
	高校1-3年	6.1	5.9	8.8	6.5	

表2 初経小学群、中学群における牛乳摂取量別骨密度、骨密度変化率

	学年	初経小学群					初経中学群						
		小学校牛乳摂取量		400ml未満 n=14 牛乳摂取量			小学校牛乳摂取量		400ml未満 n=10 牛乳摂取量				
		400ml以上 n=8	平均値	SD	平均値	SD	別の比較	400ml以上 n=7	平均値	SD	平均値	SD	別の比較
骨密度 (g/cm ²)	中学2年	0.357	0.041	0.375	0.032		0.318	0.033	0.341	0.034			
	中学3年	0.380	0.044	0.401	0.035		0.349	0.030	0.373	0.043			
	高校1年	0.400	0.037	0.415	0.036		0.376	0.031	0.397	0.039			
	高校2年	0.418	0.033	0.426	0.028		0.401	0.015	0.417	0.031			
	高校3年	0.431	0.054	0.436	0.037		0.413	0.029	0.427	0.036			
骨密度 (g/cm ²)	中学2-高校1年	中学校牛乳摂取量		400ml未満 n=16 牛乳摂取量			中学校牛乳摂取量		400ml未満 n=13 牛乳摂取量				
		400ml以上 n=6	平均値	SD	平均値	SD	別の比較	400ml以上 n=4	平均値	SD	平均値	SD	別の比較
		0.352	0.043	0.374	0.032		0.317	0.044	0.336	0.032			
		0.371	0.044	0.402	0.035		0.347	0.032	0.368	0.041			
		0.396	0.039	0.415	0.035		0.368	0.037	0.395	0.035			
0.418	0.035	0.425	0.028		0.401	0.014	0.413	0.029					
0.436	0.057	0.434	0.038		0.415	0.037	0.423	0.033					
骨密度変化率(%)	中学2-高校1年	13.0	8.8	11.0	4.7		16.7	9.5	17.7	6.3			
骨密度 (g/cm ²)	高校1-3年	高校牛乳摂取量		400ml未満 n=19 牛乳摂取量			高校牛乳摂取量		400ml未満 n=16 牛乳摂取量				
		400ml以上 n=3	平均値	SD	平均値	SD	別の比較	400ml以上 n=1	平均値	SD	平均値	SD	別の比較
		0.409	0.057	0.410	0.034		0.397		0.388	0.038			
		0.433	0.040	0.422	0.028		0.408		0.411	0.027			
0.462	0.065	0.430	0.039		0.413		0.422	0.034					
骨密度変化率(%)	高校1-3年	13.1	7.3	5.0	5.0	p<0.05	4.0		9.1	6.6			

BMD は初経小学、中学群ともに、小学、中学、高校時いずれの時期の牛乳摂取量別でも差はみられなかった。BMD 変化率では、初経小学群で高校時牛乳400 ml 以上摂取者の高校時 BMD 変化率が高値を示した (表2 p<0.05)。

次に、小学、中学、高校時それぞれの運動習慣有無で BMD を比較した (表3)。初経小学群では、小学時に運動習慣があったものは中学2年から高校3年までの全期間で骨密度が高い傾向を示したが (中2, 3 p<0.1, 高1, 2 p<0.01, 高3 p<0.05), 中学時と高校時の運動習慣有無では骨密度に差はみられなかった。初経中学群では、小学時に運動習慣があったものでは骨密度は全期間で高い傾向を示し (中2 p<0.01, 中3, 高1, 2, 3 p<0.05), 中学時に運動習慣があったものも骨密度が高い傾向を示した (中2, 3, 高1 p<0.1, 高2 p<0.05)。しかし、高校時の運動習慣有無では差はみられなかった。BMD 変化率について中学、高校時の運動習慣有無での差を比較したが、初経小学群、中学群ともに差はみられなかった (表3)。

さらに小学、中学、高校時のどの時期の運動習慣が

BMD と関連しているか検討するために、初経小学群、中学群それぞれについて、従属変数を中学3年 BMD または高校3年 BMD, 独立変数を小学、中学、高校時運動有無、体重として重回帰分析を行った。(表4)。その結果、初経小学群では中学3年 BMD, 高校3年 BMD とともに小学校時運動習慣 (中学3年 p<0.05, 高校3年 p<0.1) との関連がみとめられた。初経中学群では、中学3年時 BMD は運動習慣との関連はみられなかったものの、高校3年時 BMD は小学時 (p<0.1), 中学時 (p<0.05) の運動習慣との関連が認められた。

考 察

これまでの調査から、思春期女子について牛乳摂取や運動が骨密度に影響していることを報告した [2]。一方、思春期における骨密度の増加は初経後1年以内が最も多く、その後増加率が低下することから [3]、初経後の時期の違いで骨量増加に及ぼす牛乳摂取や運動の影響が異なる可能性が推測された。そこで、高い骨量を得るために牛乳摂取や運動をいつ実行するのが

表3 初経小学群、中学群における運動習慣有無別骨密度、骨密度変化率

		初経小学群					初経中学群				
		小学校運動		運動有無			小学校運動		運動有無		
		あり	n=9	なし	n=13	の比較	あり	n=7	なし	n=10	の比較
		平均値	SD	平均値	SD		平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	中学2年	0.384	0.034	0.357	0.034	p<0.1	0.358	0.021	0.313	0.030	p<0.01
	中学3年	0.412	0.035	0.381	0.038	p<0.1	0.388	0.029	0.346	0.037	p<0.05
	高校1年	0.433	0.036	0.394	0.028	p<0.01	0.413	0.030	0.371	0.031	p<0.05
	高校2年	0.443	0.025	0.410	0.025	p<0.01	0.429	0.028	0.398	0.016	p<0.05
	高校3年	0.461	0.045	0.416	0.030	p<0.05	0.444	0.037	0.405	0.018	p<0.05
		中学校運動		運動有無			中学校運動		運動有無		
		あり	n=17	なし	n=5	の比較	あり	n=12	なし	n=5	の比較
		平均値	SD	平均値	SD		平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	中学2年	0.374	0.035	0.348	0.035		0.341	0.031	0.310	0.036	p<0.1
	中学3年	0.399	0.038	0.376	0.040		0.374	0.038	0.337	0.032	p<0.1
	高校1年	0.415	0.037	0.392	0.028		0.399	0.036	0.364	0.026	p<0.1
	高校2年	0.426	0.031	0.416	0.024		0.419	0.027	0.390	0.011	p<0.05
	高校3年	0.437	0.046	0.426	0.029		0.428	0.036	0.405	0.015	
骨密度変化率(%)	中学2-高校1年	11.1	5.8	12.9	7.0		17.2	6.4	18.2	8.7	
		高校運動		運動有無			高校運動		運動有無		
		あり	n=11	なし	n=11	の比較	あり	n=9	なし	n=8	の比較
		平均値	SD	平均値	SD		平均値	SD	平均値	SD	
骨密度 (g/cm ²)	高校1年	0.413	0.043	0.407	0.030		0.393	0.037	0.384	0.038	
	高校2年	0.423	0.032	0.423	0.027		0.416	0.029	0.404	0.024	
	高校3年	0.442	0.053	0.427	0.030		0.430	0.041	0.411	0.019	
骨密度変化率(%)	高校1-3年	7.0	6.8	5.2	5.0		9.7	5.2	7.7	7.9	

表 4 中学3年生、高校3年生の骨密度を従属変数とした重回帰分析（強制投入法）

初経小学群				初経中学群			
従属変数	中学3年生 BMD		n=96	従属変数	中学3年生 BMD		n=53
独立変数	標準偏回帰係数	t 値	有意確率	独立変数	標準偏回帰係数	t 値	有意確率
体重	0.350	3.580	p<0.01	体重	0.412	3.216	p<0.01
小学校運動	0.232	2.263	p<0.05	小学校運動	-0.021	-0.145	p=0.885
中学校運動	0.027	0.269	p=0.788	中学校運動	0.173	1.210	p=0.232
R ² = 0.149				R ² = 0.214			
従属変数	高校3年生 BMD		n=51	従属変数	高校3年生 BMD		n=33
独立変数	標準偏回帰係数	t 値	有意確率	独立変数	標準偏回帰係数	t 値	有意確率
体重	0.326	2.381	p<0.05	体重	0.357	2.217	p<0.05
小学校運動	0.266	1.871	p<0.1	小学校運動	0.273	1.742	p<0.1
中学校運動	-0.124	-0.779	p=0.440	中学校運動	0.418	2.204	p<0.05
高校運動	0.060	0.391	p=0.698	高校運動	-0.076	-0.386	p=0.702
R ² = 0.156				R ² = 0.375			

運動：週3回未満=0 週3回以上=1

効果的か明らかにするために、対象者を初経の時期で分け、骨量と牛乳摂取量や運動習慣との関連を検討した。

今回対象者を初経の時期で初経小学群と初経中学群に分けた。初経小学群は初経発来が小学校5,6年のもので小学時に最も骨量増加が多い群、初経中学群は中学1,2年に初経を迎えたもので中学時に最も骨量増加が多い群と考えられる。この2群の中学時 BMD 変化率、高校時 BMD 変化率がともに初経中学群で高値を示したのは、初経中学群は初経発来からの期間が短くまだ骨密度増加が大きいためと考えられる。

この両群について牛乳摂取量との関連を検討した結果では、小学、中学、高校時いずれの時期の牛乳摂取量も骨量との間に明らかな関連を示さなかった。乳製品の摂取と骨量の関連については、女性では7～10歳で正の関連が認められ、思春期前にカルシウム摂取の効果が顕著に認められるとの報告がある[4]。また、すでに報告した中学2年生の横断調査結果では[2]牛乳摂取量が1日3本以上（600ml以上）と多いもので骨密度が高いという結果を得ている。これらのことから、思春期の骨密度に牛乳摂取は影響すると考えられるが、今回の対象には1日3本以上摂取者が少なく、対象者全体のカルシウム摂取量が少ないために骨密度との関連がみられなかったのかもしれない。

運動習慣と骨密度との関連を検討した結果では、骨密度は初経小学群では小学時に運動習慣があったもの

で高く、初経中学群では小学時、中学時の両方の運動習慣と関連があり、これらの関連は重回帰分析においても確認された。福岡らは[5]、高校生について中学および高校時の運動の骨密度への影響を検討し、高校より中学で運動をしていた群の骨密度がより高値であったことを報告している。また、女子大学生の骨密度についても13-15歳の運動習慣との関連が報告されている[6]。これらの報告では第二次性徴との関連は検討していないが、中学時は初経発来時期であり、この時期の運動習慣が骨密度増加に働いたことを示している。我々の結果でも、初経小学群、中学群ともに初経が発来した学年に運動習慣があったもので骨密度が高く、運動が骨量増加に最も効果的に働くのは初経発来の時期だと考えられた。さらに今回の結果では、初経中学群において初経前である小学時の運動習慣も骨密度に影響していた。これらのことから、運動は急激な骨密度上昇が始まる前から急増期にかけての骨密度増加に効果的に働くと考えられた。

若年期の最大骨量の増加には小学生の頃からの運動習慣が有効であることが明らかとなった。学校保健会が実施している、小学生から高校生を対象とした児童生徒の健康状態サーベイランス事業の結果（平成14年度）では、運動によるエネルギー消費量は平成5年度調査から平成14年度調査にかけて減少しており、特に中学生での減少が顕著であったと報告されている[7]。また、運動によるエネルギー消費量は朝食摂取や朝の

目覚めの状況など他の生活習慣とも関連していることが報告されており、生活習慣病予防のためにも小学生の頃から運動習慣を形成するような対策が重要であると考えられる。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいた各学校の教諭、養護教諭ならびに生徒のみなさん、教育委員会の関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司 (2003). 富山衛研年報, 26, 130-135.
2. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司 (2002). 富山衛研年報, 25, 155-161.
3. 広田孝子, 広田憲二 (1994). The BONE, 8(2), 95-103.
4. 守分 正, 加賀 勝, 高橋香代, 鈴木久雄, 松枝睦美, 山本晃史, 清野佳紀 (1999). Osteoporosis Japan, 7, 68-71.
5. 福岡秀興, 笠原悦夫, 清野佳紀, 西山宗六, 広田孝子 (1996). 保健の科学, 38, 612-617.
6. 広田孝子, 中林朋子, 藤木雅美, 木藤由紀子, 城谷万希子, 山西佐智美, 広田憲二 (1995). Osteoporosis Japan, 3, 186-188.
7. 日本学校保健会 (2004). 平成十四年度児童生徒の健康状態サーベイランス事業報告書, p72-77.

中高年者の日常身体活動量と骨量の関連

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 長瀬博文¹
明神三枝子² 澁谷直美³ 大浦栄次³

Relationship between Daily Physical Activity and Bone Mass
in Middle-aged and Elderly Subjects

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE¹
Mieko MYOJIN², Naomi SHIBUYA³ and Eiji OURA³

要旨 健康教室に参加した中高年男女について長期間記録型歩数計を用いて歩数、歩行強度を測定し、日常の身体活動量の実態を調査し、さらに身体活動量と骨量との関連を検討した。

男女別で身体活動量の指標（1日平均歩数、速歩時間、活発な身体活動量）を比較したところ、男性に比べ女性のほうが多い傾向を示した。年齢と身体活動量の指標との間には男女ともに関連はなかった。

歩数と速歩時間および活発な身体活動量との間には高い相関があったが、歩数が10,000歩以上あるものでも活発な身体活動量が少ないものがみられ、活動強度も含めて身体活動量を評価する必要があると考えられた。

身体活動量の指標と骨量、骨代謝指標との間には関連がみられなかった。

これまでの骨粗鬆症予防に関する調査から、中高齢女性では運動習慣を持つものの骨密度が高く、その重要性が指摘されている[1]。運動の内容としてはスポーツ活動やトレーニングを中心とした運動についての報告が多いが、運動以外の日常の生活活動も中等度の身体活動であれば生活習慣病予防の効果があるといわれている。そこで、歩行運動の量（歩数）と強度を測定できる歩数計を用い、中高齢者について日常の生活活動と運動をあわせたすべての身体活動量を測定し骨量との関連を検討した。

対象および方法

対象は筋力トレーニング等の運動を主体とした運動教室参加者（対象1）男性9名（61-80歳）、女性36名（54-72歳）と生活習慣チェックにより自分で生活習慣を改善することを目指した健康教室参加者（対象2）男性10名（43-71歳）、女性16名（52-73歳）である。対象者のうち骨量に影響するような服薬歴のあるもの、術後閉経者を除き、対象1は男性9名、女性29名、対象2は男性9名、女性10名を解析に用いた。調査内容は身長、体重、骨量（Lunar社製 Achilles）、骨代謝指標（血清中骨型アルカリフォスファターゼ、尿中ピリ

ジノリン、デオキシピリジノリン、ハイドロキシプロリン）、ライフコーダ EX（スズケン社製）による2週間の歩数および歩行強度の測定、自記式質問票による生活習慣調査（現在、過去の運動習慣等）である。骨量の指標として stiffness（スティフネス）を用いた。身体活動量の指標として1日平均歩数と運動強度が中以上の歩行時間（以下 速歩時間）を用いた。さらに、ライフコーダの記録データから活発な身体活動量をエクササイズとして求めた。エクササイズ（Ex）は厚生労働省により策定された「健康づくりのための運動指針<エクササイズガイド>2006」[2]で提示された身体活動量を表す単位で、身体活動の強度（メッツ）に身体活動の実施時間（時）をかけたもの（メッツ・時=Ex）である。今回は、Kumahara らの報告[3]に基づき、ライフコーダで測定した強度4以上の測定データについて、各運動強度に対応したメッツ値にその強度の運動実施時間をかけて算出した。調査時期は、両教室とも開始から約1ヶ月後に調査を行った。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い承諾書を得た。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た。

1. 高岡厚生センター射水支所 2. 射水市新湊保健センター 3. 富山県農村医学研究所

結果および考察

表1に各対象の年齢、体格、身体活動量を示した。対象1は対象2に比べて男女ともにやや高齢で、また男性では体重が少なく、BMIが小さかった。身体活動量は男女ともに歩数、速歩時間、活発な身体活動量のいずれにも差はみられなかった。

対象1と2を合わせた全対象者の身体活動量は歩数が男性8,639±3,685歩（最小-最大 4,405-20,706）、女性9,571±2,790歩（5,864-15,731）、速歩時間は男性18.6±10.8分（3.6-40.4）、女性26.9±16.1分（4.7-63.5）、活発な身体活動量は男性1.3±1.0Ex（0.2-4.5）、女性1.9±1.2Ex（0.3-4.9）でいずれも男性より女性のほうが多い傾向を示した（速歩時間 $p<0.05$ 、活発な身体活動量 $p<0.1$ ）。年齢と身体活動量指標との関連を検討したところ、歩数、速歩時間、活発な身体活動量（図1）は男女ともに年齢との関連はみられなかつ

た。歩数と速歩時間の散布図を図2に示した。歩数と速歩時間には男女ともに高い正の相関が認められた。また、歩数と活発な身体活動量にも正相関があった（男 $r=0.908$ 、女 $r=0.879$ 共に $p<0.001$ ）。

対象者の歩数を平成16年度国民健康・栄養調査結果[4]の60歳代の歩数と比較すると（男性7,434歩、女性6,421歩）、男女ともに我々の調査対象者の歩数が多く、特に女性でその差が大きかった。このことは、今回の対象者はいずれも自発的に健康教室に参加した者であり、運動に対する意欲の表れを反映していると推測された。活発な身体活動量については、エクササイズガイドで健康づくりのための身体活動量として、週に23Ex以上の活発な身体活動を行い、そのうち4Exは活発な運動を行うことを目標としている。週23Exは1日あたりでは約3.3Exであり、今回の調査ではこの目標を満たすものは男性1名、女性7名と少なかった。歩数計は水中運動では使用できないことや自転車や上肢

表1 対象1と2における年齢、体格、身体活動量

	男					女				
	対象1	n=9	対象2	n=9	t-test	対象1	n=29	対象2	n=10	t-test
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差		平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
年齢 (歳)	70.1	7.4	63.9	8.6		63.0	3.9	59.3	4.2	$p<0.05$
身長 (cm)	164.0	7.1	165.9	5.5		151.7	6.0	153.3	4.4	
体重 (kg)	58.8	8.0	67.2	10.4	$p<0.1$	54.5	7.0	56.9	7.2	
BMI (kg/m ²)	21.8	1.8	24.4	3.5	$p<0.1$	23.8	3.5	24.1	1.9	
歩数 (歩)	8201.0	1408.1	9076.4	5141.6		9373.1	2670.9	10146.1	3188.9	
速歩時間 (分)	22.4	7.1	14.9	12.8		26.4	16.4	28.5	15.8	
活発な身体活動量 (Ex)	1.5	0.5	1.2	1.4		1.9	1.2	2.1	1.3	

t-test 対象1と2の比較

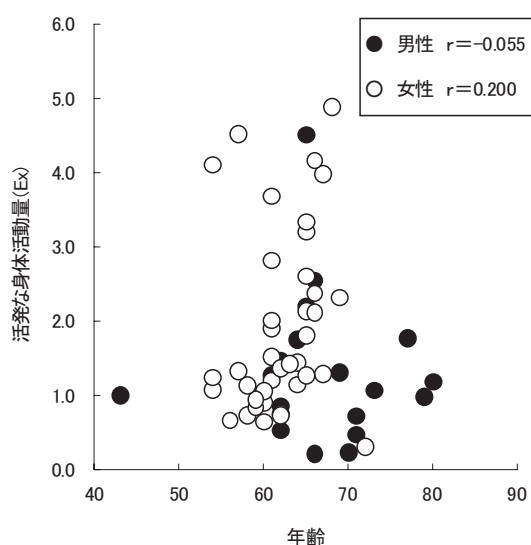


図1 年齢と活発な身体活動量の散布図

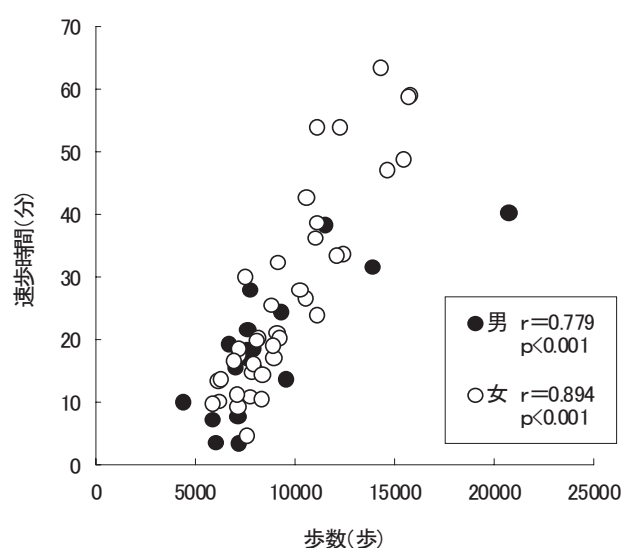


図2 歩数と速歩時間の散布図

表2 スティフネス、骨代謝指標の平均値

	男 n=18		女 n=39		男女差
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
スティフネス	74.1	11.2	68.8	10.1	p<0.1
骨型アルカリフォスファターゼ (U/l)	133.8	23.4	180.9	71.9	p<0.01
ピリジノリン# (nmol/mmolCr)	16.3	1.3	24.4	1.3	p<0.001
デオキシピリジノリン# (nmol/mmolCr)	3.0	1.4	5.8	1.4	p<0.001
ヒドロキシプロリン# (mg/gCr)	20.2	1.4	37.5	1.6	p<0.001

幾何平均値、幾何標準偏差

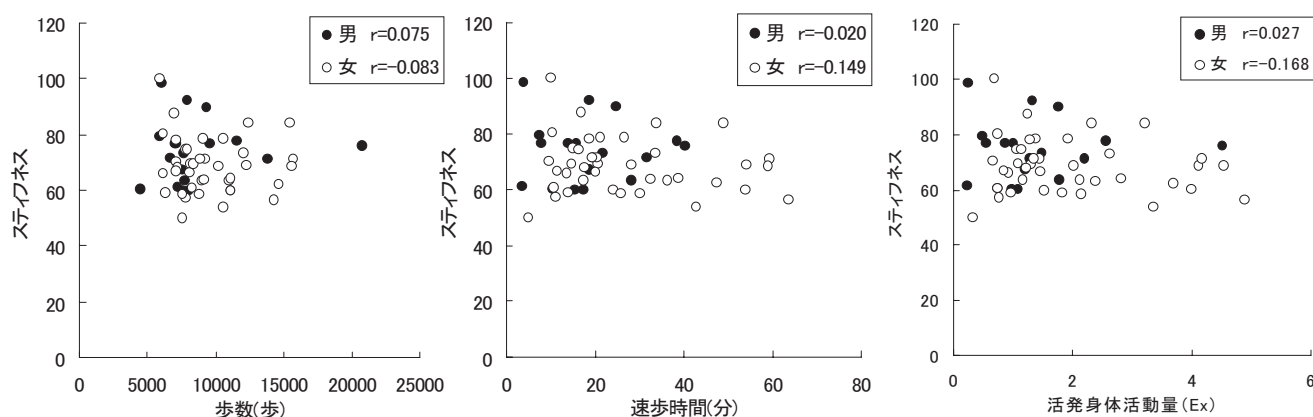


図3 歩数、速歩時間、活発な身体活動量とスティフネスの散布図

のみの運動では歩数が必ずしも身体活動を反映するとはいえず、得られた身体活動量は過小評価されている可能性がある。今回の対象者では、1週間あたりの活発な身体活動量は男性では平均13.9Ex，女性は平均9.7Ex 不足しており，これは水中運動に換算すると1週間に男は約3時間30分，女性では約2時間15分の運動に相当する。そこで，個別に運動習慣をみたが，水中運動をしているのは4名のみであり，実際に活発な身体活動が基準値に達していないものが多かったと考えられる。

活発な身体活動量と歩数との関連については，週23 Ex に達した8名の歩数は全て10,000歩以上（10,562-20,706歩）であった。一方，歩数10,000歩以上のものは18人で，それらの活発な身体活動量は最も少ないもので1.5Ex（1週間あたり10.6Ex）であり，歩数には個人によって強度の低い活動がかなりカウントされており，活動強度も含めて身体活動量を評価する必要性があると考えられる。

表2にスティフネス，骨代謝指標の平均値を示した。スティフネスは男性が高い傾向を示し，骨代謝指標は女性が高かった。各身体活動量の指標とスティフネスとの散布図を図3に示した。歩数，速歩時間，活発な身体活動量はいずれもスティフネスとの関連はみられなかった。また，骨代謝指標の間にも有意な相関はみられなかった（図なし）。骨量と運動の関連について，閉経後女性において強度が中等度の運動が骨量低下を防止すると述べられている [1]。そこで今回の対象者について，アンケートで調査した運動習慣と骨量との関連を検討したところ（表なし），現在の運動習慣の有無で差はみられなかった。過去の運動習慣有無では，男性の過去運動ありは2名のみ（スティフネス平均61）で，運動なし（スティフネス76±10.8）よりむしろ低値であったが，女性では過去運動ありのスティフネスは73±12.3で運動なし（スティフネス67±8.3）よりも高い傾向を示し（p<0.1），過去の運動習慣と高い骨量に関連がみられた。この調査で身体活

動量と骨量に関連がみられなかった理由として、対象者が健康教室に参加することで以前より身体活動量を増やしたが、その効果が骨量にまだ反映されていない可能性があり、今後追跡調査を実施して、骨量との関連をさらに検討したいと考えている。

謝辞：本調査の実施にあたり、ご協力いただいたパワーアップいみず貯筋教室およびJAとなみ野健康教室参加者のみなさん、射水市新湊保健センター、厚生連高岡健康管理センター、JAとなみ野の関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 吉村典子(2003). 日本衛生学雑誌, 58, 328-337.
2. 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
3. H. Kumahara, Y. Schutz, M. Ayabe, M. Yoshioka, Y. Yoshitake, M. Shindo, K. Ishii, H. Tanaka (2004). British Journal of Nutrition, 91, 235-243.
4. 厚生労働省(2006). 平成16年度国民健康・栄養調査報告(健康栄養情報研究会編), p180, 第一出版

一般成人における尿中アルキルリン酸 検出状況と生活環境要因

中崎美峰子 新村哲夫 大浦栄次¹

Background Levels of Urinary Alkylphosphates and Effects of Environmental Factors in Healthy Adults

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Eiji OURA¹

要旨 30歳代から70歳代の男女193名について尿中アルキルリン酸の分析を行い、生活環境要因との関連について検討した。

すべての検体から1種以上のアルキルリン酸が検出され、ジエチル型よりもジメチル型アルキルリン酸の検出率が高く、濃度レベルも高かった。検出率に男女差は無かったが、ジメチル型アルキルリン酸は女性でやや高値を示す傾向がみられた。

“農家”で“農作業あり”の女性は、“農作業なし”や“非農家”の女性に比べてジメチル型アルキルリン酸が高い値を示した。また、DDVP製剤の殺虫剤を使用している者で尿中ジメチルリン酸濃度が高値を示し、薬剤使用の影響が示唆された。

尿中のアルキルリン酸は、アルキルリン酸エステル型の有機リン化合物に共通の代謝物であり、有機リン系農薬一般に対する曝露指標と考えられている。我々のこれまでの調査では、職業的な曝露のない人の尿から年間を通して微量のアルキルリン酸が検出されること、成人同様、学童においても高率に尿中アルキルリン酸が検出されることがわかった[1, 2]。今回、一般成人男女における尿中アルキルリン酸レベルを把握することを目的に調査を行い、生活環境等との関連について検討した。

対象と方法

職域の健康診断受診者のうち、検査後の尿の提供について文書による同意が得られた成人男女193名を対象とした。内訳は、男性107名(年齢35~72歳)、女性86名(34~66歳)である。検体の採取は、2006年10月から2007年2月にかけて行った。

測定項目は、ジメチルリン酸(DMP)、ジメチルチオリン酸(DMTP)、ジエチルリン酸(DEP)、ジエチルチオリン酸(DETP)の4種のアルキルリン酸と、クレアチニンである。アルキルリン酸の分析は既報[1]と同様にFPD-GCにより行った。検出下限値は、

DMPが $0.7 \mu\text{g/l}$ 、DMTP、DEP、DETPは $0.5 \mu\text{g/l}$ であった。

合わせて、居住環境や殺虫剤等使用状況、果物やアルコールの摂取状況等に関するアンケート調査を行った。

結 果

193件のすべての検体から1種以上のアルキルリン酸が検出された。各種アルキルリン酸の検出率を表1に、中央値を表2に男女別に示した。最も検出頻度が高いのはDMTPであり、DETPは最も検出率が低く、検出率に男女差はみられなかった。中央値はDMTP > DMP > DEP > DETPの順に高く、ジメチル型アルキルリン酸はジエチル型アルキルリン酸よりも検出率、濃度レベルともに高かった。

検出限界以下のものに検出下限値の1/2値を与え、幾何平均値を算出し、DMPとDMTPを合わせてDMDAP、DEPとDETPを合わせてDEDAPとして、表3に示した。DMPは女性が高値を示し($p < 0.01$)、DEPとDEDAPでは男性が高値を示した(それぞれ $p < 0.05$, $p < 0.1$)。クレアチニン比ではDMP、DMTP、DMDAPの各項目でいずれも女性のほうが

1 富山県農村医学研究所

表1. 尿中アルキルリン酸検出率

	n	DMP	DMTP	DEP	DETP	(%)
Male	107	90.7	98.1	86.9	16.8	
Female	86	95.3	95.3	81.4	24.4	
Total	193	92.7	96.9	84.5	20.2	

nは人数

表2. 各種アルキルリン酸の中央値（実測値およびクレアチニン補正值）

	DMP		DMTP		DEP		DETP	
	μg/l	μg/gCr	μg/l	μg/gCr	μg/l	μg/gCr	μg/l	μg/gCr
Male	2.2	1.4	7.3	5.1	1.4	1.1	<0.5	<0.5
Female	3.7	4.2	6.8	6.9	1.1	1.3	<0.5	<0.5
Total	3.1	2.2	7.1	6.1	1.2	1.2	<0.5	<0.5

表3. アルキルリン酸濃度の幾何平均値および幾何標準偏差

	DMP		DMTP		DEP		DETP	
	G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.
Male (μg/l)	2.3	2.8	7.2	2.9	2.0	4.8	<0.5	2.6
Female (μg/l)	3.7	3.1	6.5	3.8	1.2	3.2	<0.5	3.3
Total (μg/l)	2.8	3.0	6.9	3.3	1.6	4.1	<0.5	2.9
Male (μg/gCr)	1.6	2.6	5.1	2.7	1.4	4.8	<0.5	2.8
Female (μg/gCr)	4.1	3.0	7.3	3.1	1.4	2.9	<0.5	3.3
Total (μg/gCr)	2.4	3.1	6.0	2.9	1.4	3.9	<0.5	3.2

	DMDAP		DEDAP	
	G.M.	G.S.D.	G.M.	G.S.D.
Male (μmol/l)	0.075	2.6	0.017	4.2
Female (μmol/l)	0.088	3.1	0.012	3.1
Total (μmol/l)	0.081	2.8	0.015	3.7
Male (μmol/gCr)	0.054	2.4	0.012	4.3
Female (μmol/gCr)	0.098	2.7	0.013	2.9
Total (μmol/gCr)	0.070	2.7	0.013	3.6

G.M. 幾何平均値, G.S.D. 幾何標準偏差, † p<0.1, * p<0.05, ** p<0.01, *** p<0.001

高値となり、ジエチル型アルキルリン酸では差はみられなかった。

アルキルリン酸濃度の実測値と年齢との関連を見ると、男性において DEP とジエチル型の2項目で有意な正の相関がみられ(それぞれ $r=0.280$, $r=0.283$, いずれも $p<0.01$)、年齢が高い者でアルキルリン酸濃度が高値を示した。女性ではいずれの項目でも年齢との関連はみられなかった。

アンケートによると、今回の対象者のうち男性の

84.1%、女性の67.4%が農家であり、1日以上農作業を行ったと答えた者が男性で81.3%、女性で41.9%あった。そこで、農作業の有無別にアルキルリン酸濃度を比較したところ、男性ではアルキルリン酸濃度に差はみられなかった。一方女性では、“農作業あり”と答えた者で DMDAP の濃度が高く、“農家”で“農作業あり”が最も高い値を示した(図1)。

屋内で吊るして使用するプレート状の殺虫剤についてたずねたところ、使用ありと答えた者は男性9名、

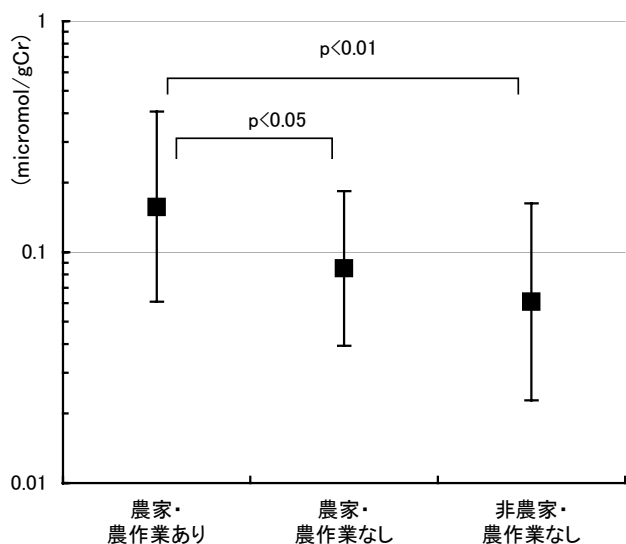


図1. 家業，農作業の有無別尿中DMDAP濃度(女性)
一元配置分散分析の対比較

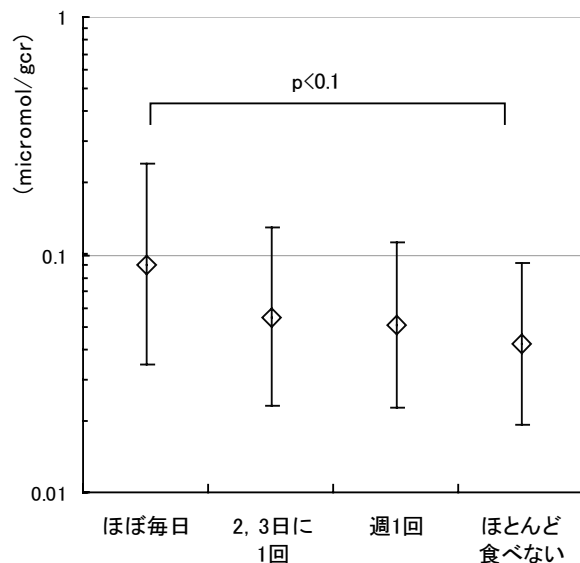


図3. 果物摂取頻度とDMDAP濃度(男性)

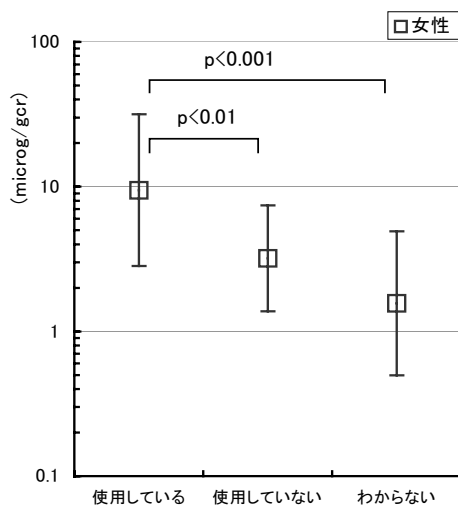
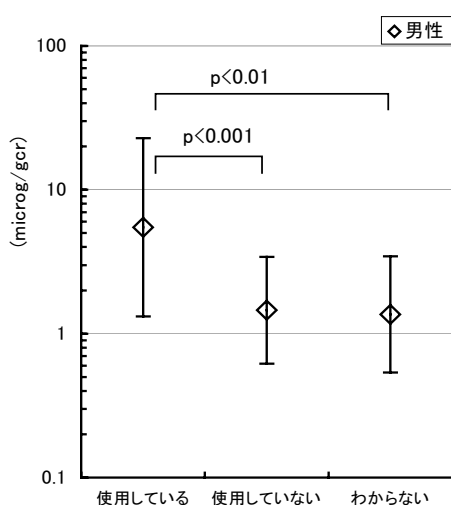
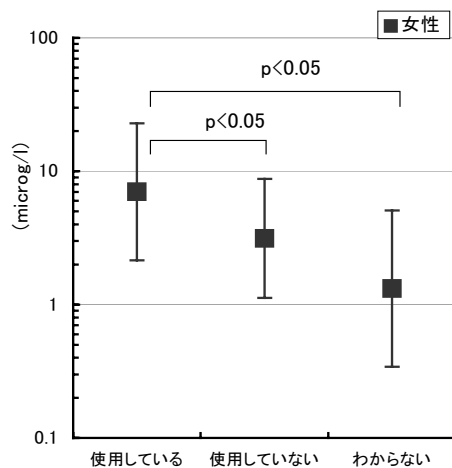
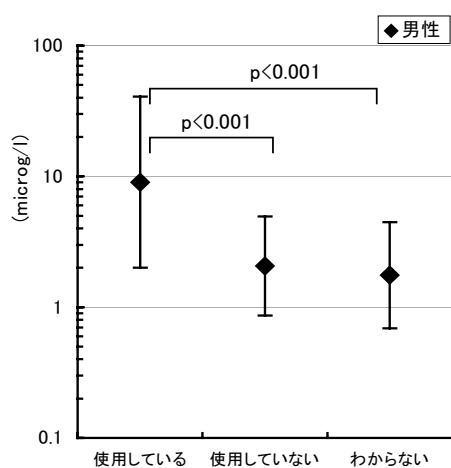


図2. プレート型殺虫剤の使用状況別尿中DMP濃度

女性21名であった。この製剤の殺虫成分であるDDVPは代謝物としてDMPを生成することから、使用の有無別にDMP濃度を比較すると、図2に示すように、男女とも殺虫剤使用“あり”のDMPレベルは“なし”、“わからない”に比べて有意に高かった。

調査の直前の2日以内に果物を食べたかどうかではアルキルリン酸濃度に違いはみられなかったが、果物の摂取頻度について、“ほぼ毎日”、“数日に1回”、“1週間に1回”、“ほとんど食べない”の4段階に分けてアルキルリン酸との関連を見たところ、男性において、果物摂取頻度が高いほどDMDAPの濃度レベルが高い傾向がみられた(図3)。女性では果物の摂取状況とアルキルリン酸との関連は見られなかった。アルコール摂取との関係では、摂取量、摂取頻度ともにアルキルリン酸との間に関連を見出すことは出来なかった。

考 察

富山県内に住む30歳代から70歳代の一般成人における、尿中アルキルリン酸検出状況を調査した。少人数を対象にした追跡調査[1]や学童の調査[2]と同様に、ジエチル型よりもジメチル型のアルキルリン酸のほうが検出率が高く、濃度レベルも高かった。484人の成人について調査したHeudorfら(ドイツ)の報告[3]では、DMP, DMTP, DEP, DETPの中央値はそれぞれ15.5, 13.5, 2.1, <1 (mg/gCr)と報告されており、今回の結果はこれに比べるとDMP, DMTPがやや低かった。また、米国CDCが2005年に発表した「Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals」[4]によると、20歳から59歳の男女814人におけるDMTP, DEP, DETPの幾何平均値はそれぞれ1.59, 0.955, 0.449mg/lと報告されている(DMPは算出されていない)。今回の結果ではDMTPがこれより高い値を示したが、DEP, DETPは同レベルと考えられた。

男女の比較では、DMPは女性が、DEPは男性がそれぞれ高値であったが、尿の濃度補正として用いられるクレアチニン比で見ると、DMP, DMTP, DM DAPの各項目でいずれも女性のほうが高値となり、尿中クレアチニン値に差がある場合は補正の有無で比較の結果が異なっていた。アルキルリン酸濃度の実測値と年齢との関連では、男性のDEPとDEDAPで年齢が高いほど高値を示す傾向がみられたが、女性では年齢との関連はみられなかった。

今回の対象者は農家の割合が高く、特に男性では80%以上が実際に農作業を行っていた。女性では、年間に1日以上農作業を行った者は41.9%で、作業日数は

ほとんどが10日以内であったが、農家であること、農作業を行うこととDMTP, DMDAPの高値が関連していた。しかし、調査を行ったのは農薬散布時期ではなく、直前に農作業を行ったと答えた者は5名のみであったことから、農繁期の農薬曝露の影響が持続している可能性を含め、さらに調査する必要があると考える。農地からの距離や、農村地帯か市街地かといった居住環境の違いと尿中アルキルリン酸レベルとの間に関連はみられなかった。

DDVPを主成分とするプレート状の殺虫剤を使用している者でDMPが高値を示した。DDVPはジメチルリン酸型の殺虫剤で、揮発性が高く、くん煙剤や蒸散剤などの製剤は家庭用にも用いられる。代謝物のアルキルリン酸としてはDMPのみを生成することから、この殺虫剤の使用が尿中DMPの高値に寄与していると考えられた。

男性において、果物の摂取頻度とDMDAP濃度との間に有意な相関が見られ($r=0.241$, $p<0.05$)、果物摂取頻度が高いほど代謝物濃度が高い傾向にあったが、女性では一定の傾向はみられなかった。

通常の農産物を摂っている者では有機栽培の農産物を摂っている者に比べて尿中アルキルリン酸が6~9倍高いという米国の報告[5]もあることから、農産物の産地に気をつけて購入するか、農薬使用の少ないものを選ぶよう心がけているかといった質問項目を設けたが、今回の調査では尿中アルキルリン酸との関連を見出すことはできなかった。

家庭における薬剤の使用や、農産物の摂取状況等との関連についてさらに検討する必要があると考える。

文 献

1. 中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄 (2005). 富山衛研年報, 28, 134-137.
2. 中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄 (2006). 富山衛研年報, 29, 201-202.
3. Heudorf U., Angerer J. (2001). Environ Res, 86(1), 80-87.
4. Centers for Disease Control and Prevention (2005). Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 349-366.
5. Curl CL, Fenske RA, Elgethun K (2003). Environ Health Perspect, 111(3), 377-382.

3. 資

料

富山県における平成18年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

岩井雅恵 堀元栄詞 小原真弓
長谷川澄代 滝澤剛則 倉田 毅

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2006

Masae IWAI, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA,
Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Takeshi KURATA

平成18年度に実施した感染症発生動向調査事業、感染症流行予測調査事業、行政依頼検査、一般依頼検査および調査研究におけるウイルスおよびリケッチア検出結果を報告する。検査の実施方法は、検体の種類や状態に応じて常法に従って行った。

平成18年4月から平成19年3月までに受け付けた被検者は延べ614例、検体別では便477、咽頭拭い液64、鼻腔拭い液89、うがい液1、髄液6、水疱内容物5、尿1、血液16、吐物1の計660であった。また、ノロウイルスモニタリング調査用の岩牡蠣24、食中毒事例に関連した食材3件および器具のふき取り10件についても検査を行った。被検者614例中371例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を疾患別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザおよび呼吸器疾患：県内の定点医療機関および衛生研究所における調査研究用として依頼のあった129症例（咽頭拭い液39、鼻腔拭い液89、うがい液1）についての検査を行った。昨シーズン（平成17/18）終期の4月から5月の間に1症例からAH1型インフルエンザウイルス、6症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。また、9月にも1症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。この症例は、タイから帰国した後に発症し、医療機関において迅速診断キットでB型インフルエンザとの判定がされていた。家族および本人は鳥との接触歴がなく、高病原性鳥インフルエンザの要観察例にあたらなかったが、AH5型でないことをRT-PCR法により確認した。

今シーズン（平成18/19）は、平成19年1～3月の間で、4症例からAH1型インフルエンザウイルス、60症例からAH3型インフルエンザウイルス、42症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。さらに、集計には加わっていないが、平成19年3月以降、4～5

月にもAH1型、AH3型およびB型インフルエンザウイルスが検出された。このように今シーズンは、AH1型、AH3型およびB型の3種類のウイルスが混合流行していた。

インフルエンザウイルス以外では、12月に1症例からアデノウイルス3型が検出された。

脳炎・脳症：6、8、3月に計3症例（便1、咽頭拭い液3、髄液3、血液2）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：5月、10月、12月に計3症例（便3、咽頭拭い液3、髄液3、血清3、尿1）の検査を行った。このうち5月の症例からコクサッキーウイルスB2型が、10月と12月の症例からコクサッキーウイルスB5型が検出された。

感染性胃腸炎：集団発生19事例（糞便111）を含む延べ127症例（糞便127）についてウイルス検索を行った。このうちウイルスが検出された99症例のうち、88症例（88.9%）からノロウイルスGeno group II（NVG II）が検出された。

集団発生例は平成18年4月に1事例、5月に1事例、8月に1事例、11月に9事例、12月に1事例、平成19年1月に3事例、2月に1事例、3月に2事例発生した。集団発生例は特に11月に多く、全国的にも集団発生が多発していた。県内における集団発生例の原因ウイルスは、4月の事例のみNVG Iであったが、それ以外の18事例はNVG IIによると判断された。

定点医療機関からの散発例の検体（糞便16）は平成18年4月に2症例、9月～平成19年3月の間に14症例であった。このうち、11～1月の5名からNVG IIが検出されたため、NVG IIは冬季における小児の感染性胃腸炎の主な原因ウイルスであったことが推察された。その他、A群ロタウイルスが4月、2月、3月のそれぞれ1名から検出された。また、アデノウイルス40/41型が4月に1名から、パレコウイルス1型が9月に1名から、

表1. 平成18年4月～平成19年3月 疾患別、月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

検出病原体	平成18年												平成19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 及び呼吸器疾患	(被検者数)	2	5				1			1	22	38	60	129		
	AH1型インフルエンザ	1											4	5		
	AH3型インフルエンザ									15	24	21	60			
	B型インフルエンザ	1	5				1			5	11	26	49			
	アデノ3型								1				1			
脳炎・脳症	(被検者数)			1		1							1	3		
無菌性髄膜炎	(被検者数)		1					1		1				3		
	コクサッキー B2型		1											1		
	コクサッキー B5型							1		1				2		
感染性胃腸炎	(延べ被検者数)	8	5			5*	3*	1	59*	13	14	11	8	127		
	ノロGⅠ	5												5		
	ノロGⅡ		5			5*	1*		43	9	11	7	7	88		
	サポ										1			1		
	アデノ40/41型	1												1		
	A群ロタ	1									1			2		
	A群ロタ+アデノ2型												1	1		
	パレコ1型							1						1		
食中毒 (有症苦情事例を含む)	(延べ被検者数)	53*	26*	4	43*	4*	11*	42*	40*	33*				256		
	ノロGⅡ	29*	5*	1	20*	1*		33*	24*	9*				121		
手足口病	(被検者数)	1	12	3			1	1						18		
	コクサッキー A16型						1	1						2		
	エンテロ71型		1	11	3									15		
ツツガムシ病	(被検者数)			1						1				2		
	ツツガムシ病リケッチア									1				1		
Q熱疑い	(被検者数)						1	1						2		
心筋炎	(被検者数)				1									1		
無症状 (ポリオ流行予測調査)	(被検者数)							12			61			73		
	アデノ1型										3			3		
	アデノ2型										2			2		
	パレコ1型							8						8		
	コクサッキー B5型										1			1		
症例合計	(被検者数)	10	65	40	8	49	22	15	102	55	130	49	69	614		
	病原体検出者数	9	41	16	4	25	13	2	77	35	46	44	59	371		
食材・ふきとり検査	(検体数)	4	4	4	4	4				13			4	37		
	ノロGⅠ		1											1		
	ノロGⅡ									1				1		

■：集団発生事例を含む。

*：無症状の施設関係者および利用者を含む。

サポウイルスが2月に1名から検出された。

食中毒および有症苦情例：5月に2事例，6月1事例，8月1事例，10月1事例，11月2事例，12月2事例，1月1事例の計10事例（糞便255，吐物1）についてウイルス検査を行った。

10事例中8事例から NVGⅡが検出され，NVGⅡが原因の食中毒と判断された。このうち7事例においては，有症状あるいは無症状の施設従業員からも NVGⅡが検出され，患者から検出された NVGⅡと遺伝子型が一致した。

手足口病：5月から10月にかけて，計18症例（便17，咽頭拭い液18，水疱内容物5）の検査を行った。このうち5～7月の15症例からエンテロウイルス71型，9～10月の2症例からコクサッキーウイルス A16型が検出された。

ツツガムシ病：6，11月に計2症例（血液6）の検査を行った。11月の症例でツツガムシ病リケッチア遺伝子（Kawasaki型）がPCR法により検出された。6月の症例では，ツツガムシ病リケッチアは検出されなかったが，血清中のリケッチアに対する抗体価の上昇がみられた。

Q熱疑い：9，10月に計2症例（血液5）の検査を行ったが，*Coxiella burnetii*は検出されなかった。また，回復期の抗体上昇もみられなかった。

心筋炎：7月の1症例（便1，気管吸引液1，血液1）からは，ウイルスは検出されなかった。

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索を行った。9月および1月に計73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。9月には8名からパレコ

ウイルス1型が検出され、1月には3名からアデノウイルス1型が、2名からアデノウイルス2型が、1名からコクサッキーウイルス B5型が検出された。

食材・ふきとり検査：3～8月にかけて、計25検体の岩ガキについてノロウイルスモニタリング調査を行ったところ、リアルタイム PCR 法ではすべて陰性であったが、RT-PCR 法で5月の1検体から NVG I が検出された。11月の食中毒事例に関連して、3検体の食材および10検体の調理器具についてウイルス検査を行った

ところ、食材1検体（昆布じめ）から NVG II が検出された。

ウイルス分離検査は結果が判明するまでに時間がかかりますが、今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります。ご多忙の中でご理解、ご協力をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深く御礼申し上げます。

富山県における2006年の病原微生物検出情報

木全恵子 嶋 智子 清水美和子
磯部順子 綿引正則 倉田 毅

Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2006

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE,
Masanori WATAHIKI and Takeshi KURATA

我々は県内10か所の公立病院検査室、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、当所を定点として病原細菌の検出情報を収集している。2006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、当所で検出された病原細菌は、ほとんどが糞便材料由来であった。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1,644株で前年比98.6%とほぼ同じであった。そのうち最も多かったのは大腸菌745株であるが、前年比95.1%とやや減少していた。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は117株で、集団発生事例（家族内発生事例も含む）が7件発生し、前年比150%と増加した。その内訳は血清型 O157が96株、O26が13株、O111が7株、O63が1株であった。この O63 はベロ毒素 VT2変異型毒素 VT2f を保有していた。次に多かったのは黄色ブドウ球菌530株（そのうち MRSA は54.5%）であり、前年比104%であった。カンピロバクターは250株で前年比83.1%と減少した。サルモネラは31株で、前年比135%と増加していた。腸炎ビブリオは、16株で前年比72.7%と減少していた（図1）。2類感染症では、赤痢菌が3株、コレラ菌が7株分離された。赤痢菌3株の内訳は *S. flexneri* 2株、*S. sonnei* 1株であった。分離された *S. flexneri* 2株は海外渡航歴のない患者からの分離であった。*S. sonnei* 1株はベトナム・カンボジア旅行歴のある患者からの分離であった。また、コレラ菌7株はすべてインドへ旅行した同一集団発生由来であった。その内訳は O1 Inaba 5株、O1 Ogawa 2株であった。

【穿刺液】分離株総数242株、前年比109%で、黄色ブ

ドウ球菌（MRSA は39.2%）、嫌気性菌、大腸菌などが多く分離された（図2）。

【髄液】分離株総数17株、前年比113%で、黄色ブドウ球菌（内 MRSA は33.3%）インフルエンザ菌、肺炎球菌が分離された（図3）。

【血液】分離株総数979株、前年比106%で、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は52.6%）が多く分離された（図4）。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数2,193株、前年比117%で、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（図5）。

【喀痰、気管吸引液および下気道】分離株総数5,630株、前年比83.4%で、分離株数が最も多い検査材料であった。黄色ブドウ球菌（MRSA は69.5%）、緑膿菌が特に多く、肺炎桿菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌なども多く分離された（図6）。

【尿】分離株総数5,204株、前年比92.6%であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌が特に多かったが、黄色ブドウ球菌（MRSA は61.6%）、肺炎桿菌なども多かった（図7）。

【陰部尿道頸管擦過（分泌）物】分離株総数1,702株、前年比93.8%で、*Candida albicans* が特に多く、その他に B 群溶連菌などが分離された。

なお、*Chlamydia trachomatis* は抗原検出による報告である（図8）。

謝辞：県内10か所の公立病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所の検査担当各位に感謝致します。

月別・菌種別の病原微生物検出状況（2006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													
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													
<i>Salmonella</i> O4	4	1			1			4	1(1)				11(1)
<i>Salmonella</i> O7				1	2	1				1			5
<i>Salmonella</i> O8					1	1	3	1	4				10
<i>Salmonella</i> O9					1			1			2	1	5
<i>Salmonella</i> その他		1							1				2
<i>Salmonella</i> 群不明				2									2
<i>Yersinia enterocolitica</i>						1		2	1		1		5
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													
<i>Vibrio cholerae</i> O1						1(1)	6(6)						7(7)
<i>Vibrio cholerae</i> O139													
<i>Vibrio cholerae</i> O1,139以外					1(1)		1	1					3(1)
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>							4	10	2				16
<i>Vibrio fluvialis</i>			1										1
<i>Vibrio mimicus</i>									1				1
<i>Aeromonas</i>			1			1	4	4	2	3	5	1	21
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	1					1					1		3
<i>Campylobacter</i>	12	16	11	24	28	21	33	42	14	23	12	14	250
<i>Staphylococcus aureus</i>	34	44	54	46	38	46	48	51	28	40	55	46	530
<i>Clostridium perfringens</i>	1			23									24
<i>Clostridium botulinum</i>													
<i>Bacillus cereus</i>													
<i>Entamoeba histolytica</i>													
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性	1	3	1			1			1				7
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	3				1		1	1	3	1	1	2	13
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	35	41	36	28	32	29	34	21	26	41	58	48	429
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC				2	6		7	53	37(3)	12			117(3)
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	12	9	25	24	19	18	8	10	8	13	16	17	179
<i>Shigella</i>	1				1							1(1)	3(1)
合計	104	115	129	150	131(1)	121(1)	149(6)	201	129(4)	134	151	130(1)	1644(13)

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>	6	1	5	1	2	3	2	4	8	6	5	3	46
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2			2		2	2	2		2	4		16
<i>Haemophilus influenzae</i>									1		1		2
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		3		4	1	1	1	1	1	2	2	18
<i>Mycobacterium spp.</i>													
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	1	9	4	6	8	7	6	11	6	3	4	74
<i>Staphylococcus</i> コクサラセ陰性	2	1	3	1	3	4	4	2	2	3	1	6	32
<i>Streptococcus pneumoniae</i>							2				2		4
<i>Anaerobes</i>	8	3	1	2	4	6	2	5	5	1	3	10	50
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合計	29	6	21	10	19	24	20	20	28	19	21	25	242

平成19年12月 1 日

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>													
<i>Haemophilus influenzae</i>		1									2	2	5
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Listeria monocytogenes</i>													
<i>Staphylococcus aureus</i>		1			1		1	1				2	6
<i>Streptococcus, B</i>								2					2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					2			1	1				4
合 計	0	2	0	0	3	0	1	4	1	0	2	4	17

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	23	17	19	20	34	24	16	23	31	29	14	26	276
<i>Salmonella Typhi</i>													
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													
<i>Salmonella spp.</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	1			1					2	1	2		7
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	1	3	2	6	1	3	3	8	6	6	7	49
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	16	13	13	18	16	24	17	29	19	14	15	209
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	25	19	16	19	23	21	45	47	40	39	33	25	352
<i>Streptococcus, B</i>	3		1	6		1		2	1		1	2	17
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	3	4	5	2	7	3	2		3	4	4	40
<i>Anaerobes</i>	2	2	2	1	4	2	1	2	4	1	3	5	29
合 計	75	58	58	67	87	72	92	96	113	99	76	86	979

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	93	92	121	118	157	102	39	44	34	66	77	113	1056
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus, A</i>	21	24	29	28	26	22	17	13	8	8	19	10	225
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	67	47	89	100	127	105	46	38	37	66	83	107	912
<i>C. diphtheriae</i>													
合 計	181	163	239	246	310	229	102	95	79	140	179	230	2193

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>	1	1	1	2	3	4	3	3	7	4	2	1	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	60	59	52	43	50	58	62	89	79	78	69	71	770
<i>Haemophilus influenzae</i>	49	63	47	46	59	41	32	30	30	30	25	30	482
<i>Legionella pneumophila</i>						1	1	3	2	1			8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	97	83	78	81	81	78	77	99	79	85	90	80	1008
<i>Staphylococcus aureus</i>	210	228	268	238	192	172	171	219	158	230	225	237	2548
<i>Streptococcus, A</i>	2	2	2	6			1	3		1	1	1	19
<i>Streptococcus, B</i>	21	20	24	15	22	26	17	17	17	18	18	21	236
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	48	47	57	43	58	57	34	20	22	33	57	42	518
<i>Anaerobes</i>		9											9
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合 計	488	512	529	474	465	437	398	483	394	480	487	483	5630

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>	160	136	193	134	177	160	192	203	178	162	161	156	2012
<i>Enterobacter spp.</i>	8	7	12	10	11	18	14	23	9	15	26	12	165
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	28	31	22	28	37	20	29	40	43	40	22	27	367
<i>Acinetobacter spp.</i>	2	2	4	2	4	1	4	7	4	3	2	7	42
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48	44	57	50	41	42	50	57	49	50	38	53	579
<i>Staphylococcus aureus</i>	38	32	32	39	36	45	39	43	32	36	35	31	438
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	44	22	18	38	54	56	65	65	50	48	43	56	559
<i>Enterococcus spp.</i>	74	78	77	86	66	50	57	65	65	53	64	68	803
<i>Candida albicans</i>	27	32	21	14	17	19	16	17	19	18	22	17	239
合計	429	384	436	401	443	411	466	520	449	425	413	427	5204

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>		3		3	1	2	2	2	2	9	4	2	30
<i>Streptococcus, B</i>	48	34	54	50	57	41	62	51	67	47	63	50	624
<i>Chlamydia trachomatis</i>	2	6	5	3	9	5	5	4	7	5	6	3	60
<i>Ureaplasma</i>													
<i>Candida albicans</i>	67	62	66	59	86	96	93	101	112	89	74	83	988
<i>Trichomonas vaginalis</i>													
合計	117	105	125	115	153	144	162	158	188	150	147	138	1702

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	20	29	27	25	24	29	27	26	13	19	31	19	289
	MSSA	14	15	27	21	14	17	21	25	15	21	24	27	241
	未検査													
	件数	34	44	54	46	38	46	48	51	28	40	55	46	530
穿刺液	MRSA	2	1	4	2	1	1	3	3	2	5	3	2	29
	MSSA	7		5	2	5	7	4	3	9	1		2	45
	未検査													
	件数	9	1	9	4	6	8	7	6	11	6	3	4	74
髄液	MRSA												2	2
	MSSA		1			1		1	1					4
	未検査													
	件数	0	1	0	0	1	0	1	1	0	0	0	2	6
血液	MRSA	9	6	9	2	10	9	14	9	17	9	7	9	110
	MSSA	6	10	4	11	8	7	10	8	12	10	7	6	99
	未検査													
	件数	15	16	13	13	18	16	24	17	29	19	14	15	209
呼吸器	MRSA	147	157	193	177	133	116	116	147	109	163	151	161	1770
	MSSA	63	71	75	61	59	56	55	72	49	67	74	76	778
	未検査													
	件数	210	228	268	238	192	172	171	219	158	230	225	237	2548
尿	MRSA	26	20	23	22	27	29	24	26	14	17	23	19	270
	MSSA	12	12	9	17	9	16	15	17	18	19	12	12	168
	未検査													
	件数	38	32	32	39	36	45	39	43	32	36	35	31	438
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

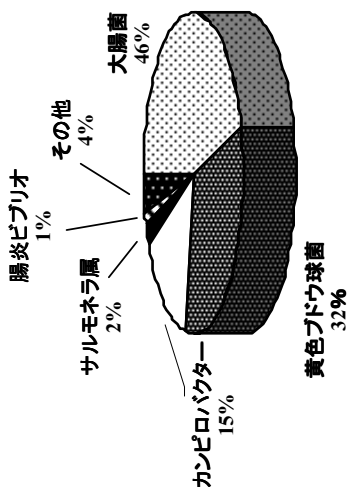


図1 糞便由来

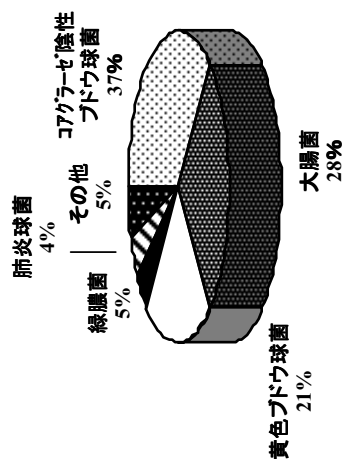


図2 尿由来

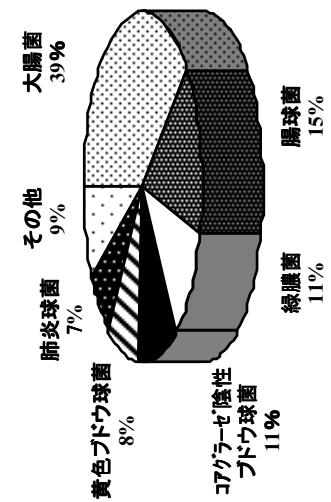


図3 血液由来

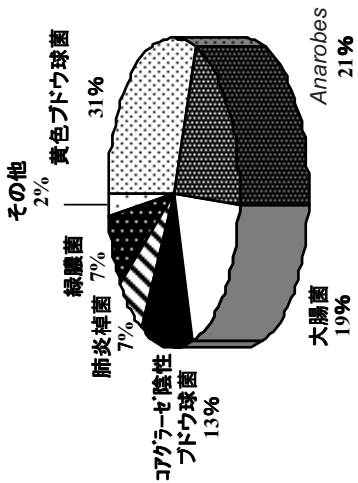


図4 穿刺液由来

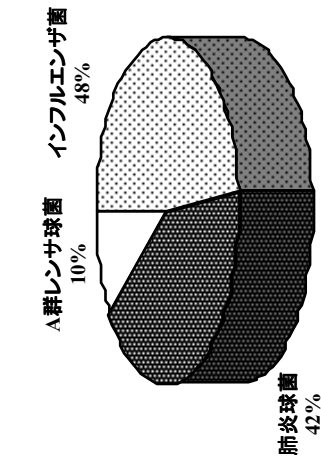


図5 咽頭及び鼻咽腔由来

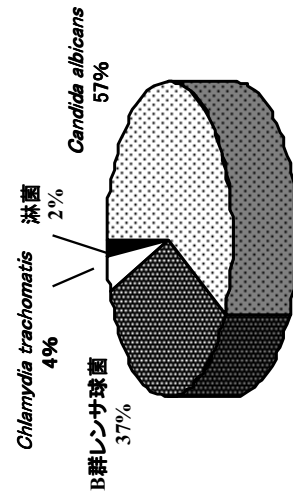


図6 喀痰、気管吸引液及び下気道由来

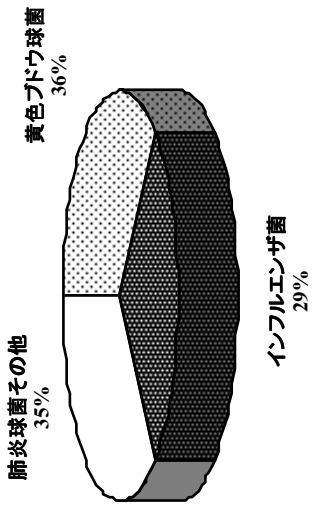


図7 髄液由来

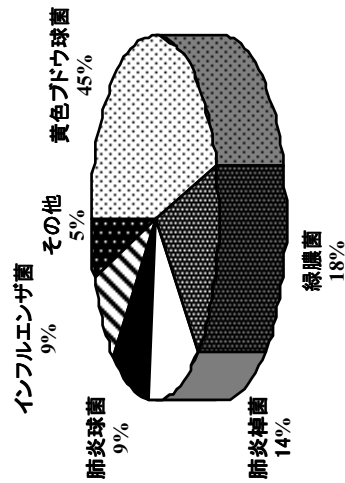


図8 陰部尿道頭管標過(分泌)物由来

漁港における腸炎ビブリオ調査(2006年)

嶋 智子 磯部順子 木全恵子 清水美和子 綿引正則 吉田 毅¹*Vibrio parahaemolyticus* Surveillance at Fishing Ports in Toyama PrefectureTomoko SHIMA, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU
Masanori WATAHIKI and Takeshi YOSHIDA¹

2006年の全国の食中毒発生状況によると、腸炎ビブリオは、病因物質別の発生件数ではノロウイルス、カンピロバクター、サルモネラ属菌、自然毒に次いで第5位、患者数でもノロウイルス、カンピロバクター、サルモネラ属菌、ウェルシュ菌に次いで第5位であった。

県厚生部では、夏期に多く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。富山県衛生研究所では、1979年から1995年までは市販魚介類の腸炎ビブリオ調査を実施し、1996年からは「Vp（腸炎ビブリオ）マリン実態調査」として、県内漁港の海水、海泥中の腸炎ビブリオの実態調査を行い、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基礎資料としている。

ここでは2006年の調査結果を報告する。

材料と方法

1. 調査定点

Fig. 1に示す富山県内の主要5漁港（生地、魚津、四方、新湊および水見）の海水について調査した。各漁港では併設市場前を検体採取場所とした。

2. 調査期間

調査は6～9月の隔週月2回、10月および11月の月1回、計10回実施した。

3. 検体採取

表層と底層の海水を採取した。前者は柄杓で、後者はハイロート採水器で水深2m付近を採取した。検体は県厚生センターと富山市保健所が採取し、採取後4時間以内に検査した。

4. 腸炎ビブリオ数の測定

食塩ポリミキシンブイオン培地を用いたMPN3本法で測定した [1]。

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 [2]。

6. *tdh* 遺伝子の検出

前報 [3]に従った。

7. 海水からのTDH産生性腸炎ビブリオの分離

前報 [4]に従い、*tdh* 遺伝子が検出された検体について、血清型O3:K6を対象とし、K6免疫磁気ビーズ処理 [5]を行って菌を分離した。

8. 海水から分離した腸炎ビブリオの遺伝子解析

海水から分離した腸炎ビブリオが新型クローンかどうかの確認は、Matsumotoら [6]のPCR法 (group-specific PCR)で行った。

結 果

1. 漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

6～11月における、漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数は、 $<3/100\text{ml}$ ～ $2.4 \times 10^3/100\text{ml}$ であった (Table 1)。菌数は7月後半から増加し、9月後半にかけて菌数が比較的多い状態で推移し、11月まで検出された。

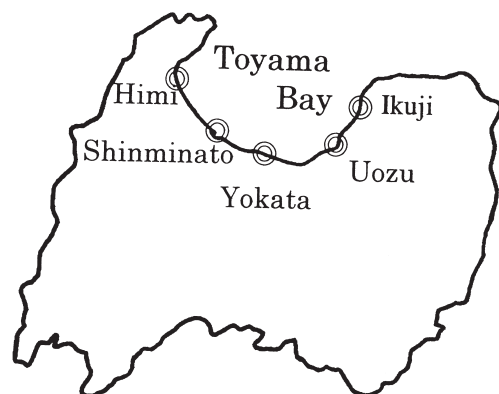


Fig. 1. Location of fishing ports for sampling in Toyama Prefecture

Table 1. The number of *V. parahaemolyticus*, water temperature (WT) and salinity in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date									
		6 / 5	6 / 19	7 / 4	7 / 24	8 / 7	8 / 21	9 / 4	9 / 11	10 / 2	11 / 6
Ikuji	V.p [Surface]	< 3 *	< 3	6.0	4.3 × 10 ¹	2.3 × 10 ¹	1.5 × 10 ²	9.3 × 10 ¹	4.3 × 10 ²	9.3 × 10 ¹	6.0
	WT (°C)	16.2	18.3	18.1	19.0	22.3	20.5	21.1	19.3	17.6	15.7
	Salinity (‰)	6.6	6.9	5.5	5.1	5.4	7.4	10.3	9.1	5.7	10.0
	V.p [Bottom]	< 3	9.0	4.3 × 10 ²	9.3 × 10 ¹	2.4 × 10 ³	1.5 × 10 ²	1.5 × 10 ²	2.4 × 10 ²	9.3 × 10 ¹	7.0
	WT (°C)	17.9	20.0	20.7	21.5	25.5	26.8	26.0	24.3	21.1	19.4
	Salinity (‰)	30.9	30.4	31.4	25.6	26.9	29.9	31.8	27.8	30.1	32.6
Uozu	V.p [Surface]	< 3	< 3	< 3	2.1 × 10 ¹	9.0	2.3 × 10 ¹	9.3 × 10 ¹	9.0	4.0	9.0
	WT (°C)	17.4	20.0	19.0	20.3	25.9	25.3	25.2	22.2	18.3	17.4
	Salinity (‰)	16.3	10.2	6.3	7.6	15.8	16.9	22.2	12.2	9.2	22.4
	V.p [Bottom]	9.0	4.0	9.0	4.0	2.9 × 10 ¹	2.9 × 10 ¹	1.1 × 10 ¹	2.4 × 10 ²	< 3	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	17.7	21.0	20.1	21.5	26.3	27.5	26.5	25.4	21.2	19.9
	Salinity (‰)	31.8	24.2	20.5	24.7	29.8	27.0	30.6	27.7	31.6	34.3
Shir- minato	V.p [Surface]	< 3	4.0	3.0	4.3 × 10 ²	2.4 × 10 ²	2.1 × 10 ¹	2.9 × 10 ²	4.3 × 10 ²	1.5 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	20.0	21.0	21.0	22.0	29.0	29.0	25.0	24.0	21.0	19.0
	Salinity (‰)	17.2	28.3	32.2	11.8	18.4	27.7	23.8	24.9	23.8	32.4
	V.p [Bottom]	< 3	3.0	9.0	4.3 × 10 ¹	3.8 × 10 ¹	9.3 × 10 ²	2.4 × 10 ²	1.5 × 10 ²	1.5 × 10 ¹	2.1 × 10 ¹
	WT (°C)	12.0	19.0	20.0	22.0	28.0	29.0	28.0	25.0	22.0	20.0
	Salinity (‰)	32.2	NE **	NE	31.4	28.7	32.7	33.4	31.0	35.0	34.8
Himi	V.p [Surface]	4.0	4.0	4.0	1.1 × 10 ¹	9.3 × 10 ¹	9.3	4.3 × 10 ²	2.4 × 10 ²	4.0	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	20.0	21.0	23.0	22.0	31.0	30.0	27.0	26.0	22.0	19.0
	Salinity (‰)	26.5	34.7	NE	23.8	26.3	31.5	32.6	32.4	33.0	34.5
	V.p [Bottom]	4.0	2.8 × 10 ¹	4.0	7.0	2.9 × 10 ¹	4.2 × 10 ¹	1.1 × 10 ¹	2.4 × 10 ²	4.0	4.0
	WT (°C)	17.0	20.0	20.0	23.0	28.0	30.0	28.0	25.0	22.0	18.0
	Salinity (‰)	32.7	NE	NE	29.3	28.1	31.1	32.2	32.1	34.4	34.9
Yokata	V.p [Surface]	< 3	9.0	4.0	2.3 × 10 ¹	1.5 × 10 ²	2.0 × 10 ¹	3.8 × 10 ¹	9.3 × 10 ¹	4.3 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	20.8	22.2	22.0	24.0	30.1	30.9	28.5	25.8	23.3	20.3
	Salinity (‰)	23.3	31.6	29.8	14.7	20.2	25.5	30.7	26.9	31.9	34.7
	V.p [Bottom]	4.0	4.0	9.0	1.5 × 10 ¹	4.3 × 10 ¹	2.3 × 10 ¹	2.4 × 10 ²	4.3 × 10 ²	1.4 × 10 ¹	1.5 × 10 ¹
	WT (°C)	19.5	21.5	22.4	23.5	28.8	30.8	29.0	26.5	23.7	20.6
	Salinity (‰)	32.5	34.8	33.1	31.7	29.7	32.5	32.1	30.3	33.4	35.6

* No. of V.p (*V. parahaemolyticus*) in 100 ml of seawater by MPN method

** Not examined.

2. 漁港海水からの *tdh* 遺伝子検出と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の分離状況

海水1L 中の *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出状況を Table 2 に示した。海水100 検体中15 件 (15%) から *tdh* 遺伝子が検出された。遺伝子は7 月前半から9 月後半にかけて検出され、11 月にも10 検体中3 件から検出された。過去3 年の *tdh* 遺伝子検出率は、2003 年 45 件/100 検体 (45%)、2004 年 46 件/120 検体 (38%)、2005 年 9 件/100 検体 (9%) であった。前年 (2005 年) の検出率はきわめて低い結果であったが、本年も低い傾向であった。

海水100mL 中の腸炎ビブリオ数が10 未満の場合は、*tdh* 遺伝子検出率が3 件/41 検体 (7%)、10 以上100 未満の場合は検出率が8 件/38 検体 (21%)、100 以上の場合には5 件/21 検体 (19%) であった (Table 3)。菌数が10 以下の場合には、*tdh* 遺伝子検出率が低い傾向であったが、10 以上での場合は、菌数と検出率との相関はみられなかった。

TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 は *tdh* 遺伝子陽性の15 検体中1 件 (9/11 氷見漁港表層) より分離された。分離された腸炎ビブリオ O3:K6 について group-specific PCR を行ったところ、新型クローンであっ

Table 2. Detection of *tdh* gene and TDH+ *V. parahaemolyticus* O3:K6 in seawater of fishing ports

Fishing Port		Date										Total
		6/5	6/19	7/4	7/24	8/7	8/21	9/4	9/11	10/2	11/7	
Ikuji	<i>tdh</i>	0 / 2*	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E**	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E
Uozu	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	1 / 2	1 / 2	1 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	5 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	0 / 1	0 / 1	0 / 1	0 / 1	N.E	N.E	N.E	0 / 1	0 / 5
Shin-minato	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 2	1 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	2 / 2	6 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	0 / 2	0 / 1	N.E	0 / 1	N.E	N.E	0 / 2	0 / 6
Himi	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	1 / 1	N.E	N.E	1 / 1
Yokata	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	1 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	3 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	0 / 1	0 / 1	0 / 1	N.E	N.E	N.E	N.E	0 / 3
Total	<i>tdh</i>	0 / 10	0 / 10	1 / 10	4 / 10	3 / 10	2 / 10	1 / 10	1 / 10	0 / 10	3 / 10	15 / 100
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	0 / 1	0 / 4	0 / 3	0 / 2	0 / 1	1 / 1	N.E	0 / 3	1 / 15

* No. of positive / No. of samples examined ** Not examined.

Table 3. Relation between No. of *V. parahaemolyticus* and *tdh* gene in seawater of fishing ports

Fishing Port	No. of <i>V. parahaemolyticus</i> (/100mL)				Total	
	0~9	10~99	100~			
Ikuji	0 / 7*	0 / 6	0 / 7	0 / 20	(0 %)	
Uozu	3 / 12	2 / 7	0 / 1	5 / 20	(25 %)	
Shinminato	0 / 6	3 / 7	3 / 7	6 / 20	(30 %)	
Himi	0 / 10	0 / 7	1 / 3	1 / 20	(5 %)	
Yokata	0 / 6	3 / 11	0 / 3	3 / 20	(15 %)	
Total	3 / 41 (7 %)	8 / 38 (21 %)	5 / 21 (19 %)	15 / 100	(15 %)	

* No. of *tdh* gene-positive / No. of sample

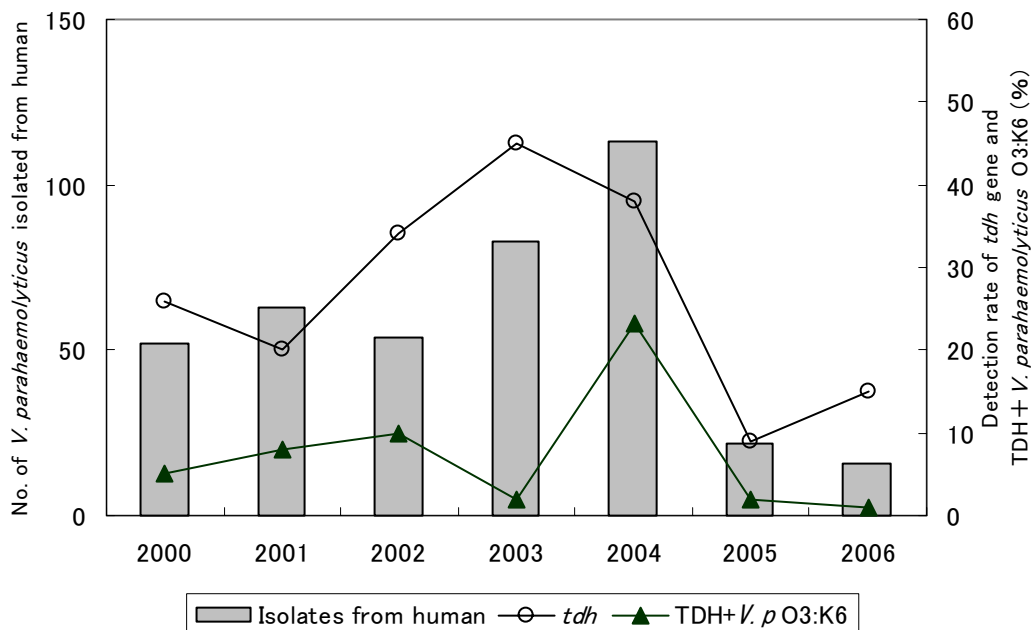


Fig. 2. Relationship between the distribution of TDH+ *V. parahaemolyticus* and incidence of food poisoning

平成19年12月1日

た。

3. 富山県における食中毒と漁港海水からの *tdh* および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 検出率の年次推移

2000～2006年の富山県におけるヒト由来の腸炎ビブリオ菌株数、漁港海水からの *tdh* および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の検出状況について Fig. 2 に示した。ヒト由来の腸炎ビブリオ分離菌株数は、富山県感染症情報センター（富山県衛生研究所内）が厚生センターと県内の主な10か所の公立病院の細菌検査室に対して情報収集を行いまとめている「病原微生物検出情報」を参照し集計した。この菌数には、集団および散発的発生例が含まれている。富山県におけるヒトからの腸炎ビブリオ分離菌株数は、2003年から2004年にかけて増加傾向であったが、2005年は22株と少なく、2006年は前年からさらに減少し16株であった。

また、2006年本調査の漁港海水からの *tdh* 検出率および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 分離率は前年と同じく低く、ヒトからの腸炎ビブリオ分離菌株数の推移と関連していた。

考 察

2006年、漁港海水からの *tdh* 遺伝子検出率および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6 の分離率は、ともに低い結果であった。また、病原微生物検出情報の腸炎ビブリオ分離株数も少なかったことから、県内における腸炎ビブリオによる食中毒発生は少なかったと推測され、海水中の TDH 産生性腸炎ビブリオの分離状況と相関性がみられた。これについては、前年[7]と同じ傾向であった。

しかし、MPN 法による腸炎ビブリオ数をみると、海水中の全腸炎ビブリオ数自体は減少しているとはいえない。また、MPN 法による腸炎ビブリオ数と *tdh* 遺伝子検出率との間にも明らかな相関はなかった (Table 3)。腸炎ビブリオによる食中毒が減少してきている背景には、食品衛生の向上ばかりでなく、海水中における TDH 産生性腸炎ビブリオの分布頻度が減少していることも一つの要因となっている可能性が考えられる。しかし、TDH 産生菌の分離法は確立され

ておらず、汚染状態を定量的に把握することは現段階では困難である。したがって、腸炎ビブリオによる食中毒発生実態を把握するためには、TDH 産生菌の有用な分離法の早期開発が望まれる。

今後も、漁港海水中の腸炎ビブリオの動態をモニタリングし、本菌による食中毒発生との関連をさらに明らかにするために、本調査を継続していく必要があると思われる。

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職員により行われました。これらの方々には深謝いたします。

文 献

1. 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
2. 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
3. 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 香取幸治, 刑部陽宅, 永井美之, 竹内 崇 (2002). 富山衛研年報, 25, 179-182
4. 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
5. 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
6. Matsumoto, C., Okuda, J., Ishibashi, M., Iwanaga, M., Garg, P., Rammamurthy, T., Wong, H, C., Depaola, A., Kim, Y, B., Albert, M.J. and Nishibuchi, M. (2000). J. Clin. Microbiol., 38, 578-585
7. 嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 綿引正則, 吉田 毅 (2006). 富山衛研年報, 29, 168-173

臨床検体から分離された嫌気性黄色ブドウ球菌の性状

嶋 智子 磯部順子 綿引正則 永田 肇¹Case Report of Anaerobic *Staphylococcus aureus* Isolated from Specimen of PatientTomoko SHIMA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Hajime NAGATA¹

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*, 以下 *S. aureus*) は、ヒトの皮膚、消化管などに常在するグラム陽性球菌であり、健康者からも分離される。本菌は、毒素を産生し毒素型食中毒の原因となるばかりでなく、化膿や敗血症など実に多様な感染症の原因となる。また、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) は院内感染の原因菌として重要であり、さらに近年では「市中型」MRSA が問題となっている。

黄色ブドウ球菌は通性嫌気性であり、むしろ好気条件下で良く増殖する。今回、臨床検体より分離された黄色ブドウ球菌は、好気条件下ではほとんど発育せず、嫌気条件下では良好に発育した。本菌について、得られた結果を報告する。

材料と方法

1. 患者の疫学情報

82歳男性、腹部大動脈断端仮性動脈瘤

基礎疾患として、腹部大動脈瘤、急性下壁心筋梗塞などがあった。以前の手術の際、既にMRSA保菌者となっていた。発熱があり、感染源として腹部大動脈断端と十二指腸の瘻孔部での腹部内膿瘍によるものが疑われた。MRSA敗血症から低アルブミン血症に伴う肺水腫、MRSA肺炎も併発した。

2. 分離菌

静脈血およびIVH先端2検体より菌が分離された。好気条件下では48時間培養で小さなコロニーが発育する程度であったにもかかわらず、嫌気培養では良好な発育がみられた。CO₂培養菌を全自動細菌検査装置 MicroScan WalkAway (デイドベリング) にて検査したところ、MRSAと判定された。

3. 生化学的性状の検査方法

コアグララーゼ型別は、BHI broth (Difco) に分離菌を接種し35°C24時間培養後3,000rpmで10分間遠心し、上清についてコアグララーゼ型別用免疫血清 (デン

カ生研) を用いて実施した。

ブドウ球菌毒素産生性試験は、BHI broth に接種し、35°C20時間培養後3,000rpmで20分間遠心し、その上清についてSET-RPLAおよびTST-RPLA (ともにデンカ生研) を用いて毒素産生性試験を実施した。

市販簡易同定キットとして、BD BBLCRYSTAL-GP (日本ベクトン・ディッキンソン)、ID32 STAPH (日本ビオメリユール)、ERIC RapID ANA II Cocci (極東製薬工業)、API 20A (日本ビオメリユール)、API 20 STREP (日本ビオメリユール) を使用し、菌の同定を試みた。

4. DNA テンプレートの調製

平板上に生育した新鮮コロニーをTE緩衝液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.8) に懸濁後、Chelex-100法[1]を用いて行った。

5. 16S rDNA のPCRと塩基配列決定

分離菌の16S rDNAの配列解析には、以下の8本のプライマー[2]を用いた。#519: 5'-CCG AAT TCG TCG ACA ACA GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3', #520: 5'-CCC GGG ATC CAA GCT TAC GGC TAC CTT GTT ACG ACT T-3', #864: 5'-GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3', #865: 5'-CCA GCA GCC GCG GTA ATA C-3', #866: 5'-AAA CTC AAA GGA ATT GAC GG-3', #858: 5'-GTA TTA CCG CGG CTG CTG G-3', #861: 5'-TTG CGC TCG TTG CGG GAC T-3', #862: 5'-ACG GGC GGT GTG TAC AAG-3'。プライマー#519と#520を用いたPCR産物は、QIAquick PCR Purification Kit (キアゲン) を用いて精製後、塩基配列決定の鋳型とした。精製したDNAについて、PCRに使用したプライマー#519、#520と残りの6本のプライマーおよびBigDye Terminator Kit V3.1を用いてダイターミネーター反応を行った。反応産物はSephadex G-50 Fine (GEヘルスケアバイオサイエンス) を用いて精製[3]した後、ABI3100 Ge-

1 市立砺波総合病院

Table 1. Comparison of growth characteristics and biochemical reactions for the isolates from the patient and *Staphylococcus aureus* subspecies

Characteristics ¹⁾	Isolate	Isolate by Peake et al. ²⁾	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ³⁾	<i>S. aureus</i> subsp. <i>anaerobius</i> ³⁾
Colony pigment	+	+	+	—
Catalase	+	W	+	—
Oxidase	—	—	—	—
Aerobic growth	(W)	—	+	(±)
Anaerobic growth	+	+	+	(+)
Strict anaerobe	—	+	—	±
Tube coagulase	+	+	+	+
Sucrose	+	+	+	+
Maltose	+	+	+	+
Lactose	—	—	+	—
Mannose	+	+	+	—
Trehalose	+	+	+	—
Mannitol	+	W	+	ND
Arginine utilization	+	+	+	ND
β -Glucosidase	—	—	+	—
<i>N</i> -Acetylglucosamine	+	+	+	—

1) Symbols and abbreviations: +, 90% or more strains positive; —, 90% or more strains negative; W, weakly positive; ±, 90% or more strains weakly positive; ND, not determined.

Parentheses indicate a delayed reaction.

2) Obligately anaerobic *Staphylococcus aureus* reported as infecting human by Peake et al. [6]

3) The characteristics by Kloos and Bannerman [7]

Table 2. Blast Searching of 16S rDNA sequences of isolates from the patient

Isolate	Specimen	Query	Score	Ratio (S/Q)	Definition
A	Venous blood	1814	3000	1.65	AJ938182.1 Staphylococcus aureus RF122 complete genome.
B	IVH	1830	3002	1.64	AJ938182.1 Staphylococcus aureus RF122 complete genome.

netic Analyzer (アプライドバイオシステムズジャパン) を用いて塩基配列を決定した。得られた配列は DDBJ ホームページ [4] の Blastn プログラムを用いて相同性検索を行った。

結 果

1. 生化学性状

静脈血由来 (以下, A 株) および IVH 先端由来

(以下, B 株) の生化学性状結果を Table 1 に示した。Peake ら [5] が 2006 年にヒトから初めて分離の報告をした Obligately anaerobic *S. aureus* ならびに *S. aureus* subsp. *aureus* および *S. aureus* subsp. *anaerobius* の性状を併記した。また, 分離菌はグラム陽性ブドウ球菌で, コアグララーゼ型は II 型であった。*S. aureus* subsp. *aureus* と比較すると, 好氣的発育, 乳糖分解性, β -グルコシダーゼが異なる性状を示した。また, Peake らの分離菌とはほぼ同じ性状であっ

た。

2. 簡易同定キットによる同定結果

好気下培養菌について、BD BBLCRISTAL-GP および ID32 STAPH の2キットを使用した。その結果、BD BBLCRISTAL-GP では *Staphylococcus schleiferi* (60.7%)、ID32 STAPH では Unacceptable profile となり菌種名が出なかった。嫌気下培養菌について、ERIC Rapid ANA II Cocci, API 20A および API 20 STREP の3キットを使用した。その結果、ERIC Rapid ANA II Cocci では *Staphylococcus saccharolyticus* (78.43%, Inadequate profile), API 20A では *Gemella morbillorum* (99.9%, Very good identification), API 20 STREP では *Streptococcus acidominimus* (A株94.4%, Good identification, B株80.0%, Low discrimination) であった。簡易同定キットの結果はキットにより異なり、%ID も低値のものが多かった。なお、使用したキットの中で *S. aureus* と判定されたものはなかった。

3. 毒素産生性

毒素産生性は、エンテロトキシン C (SEC) 産生、毒素性ショック症候群毒素 (toxic shock syndrome toxin 1: TSST-1) 産生の菌であった。

4. 16S rDNA 塩基配列解析結果

16S rDNA 塩基配列解析結果を Table 2 に示した。Score を Query で除した Ratio (S/Q) が A 株1.65, B 株1.64 で *S. aureus* complete genome と同定された。Score は、検索した局所配列のビット数で表されるもので、この値の1/2がおおよそその局所配列長となる。したがって、Ratio (S/Q) の値が2に近いほど、検索した菌が得られた細菌名である確率が高いことを示している。今回解析した配列では species レベルで *S. aureus* と判定できるものの、subspecies レベルまでを区別することはできなかった。

考 察

MRSA の中には嫌気条件下で発育可能な菌もあるが、嫌気性菌と異なり酸素のある好気条件下でも十分に発育できるため、好気性菌に分類されることもある。今回、患者から分離された菌の生化学性状は、酸素抵抗性や乳糖分解性などを除き *S. aureus* subsp. *aureus* に一致し、Peake らの報告している菌株の性状ともかなり類似していた。Peake らは、分離菌について catalase 弱陽性、clumping factor 陽性、tube coagulase 陽性、DNase, nitrate, urease, mannose, trehalose, N-acetylglucosamine 陽性を示す、過去にヒトから分離報告例のない obligately anaerobic

S. aureus であるとしている。酸素抵抗性は、*S. aureus* subsp. *aureus* が好気下でも嫌気下でも発育、*S. aureus* subsp. *anaerobius* は微好気下で発育、Peake らの分離菌は嫌気下でのみ発育する。今回の分離菌の性状は、嫌気下で発育し、好気下でもかなり遅いながらも発育するので、酸素抵抗性は上記3つの *S. aureus* のいずれとも異なっている。カタラーゼ活性は *S. aureus* subsp. *aureus* が陽性、*S. aureus* subsp. *anaerobius* が陰性、Peake らの分離菌が弱陽性である。分離菌は *S. aureus* subsp. *aureus* と同じく陽性であった。

16S rDNA の塩基配列解析結果では、高い Score で *S. aureus* と同定された。しかし、subspecies レベルの区別はできないので、16S rDNA 結果からは *S. aureus* subsp. *aureus* なのか *S. aureus* subsp. *anaerobius* なのか、またはそれ以外なのかは判別不能であった。

遠藤らによると、1993~2004年に東京都内で分離された MRSA 2,871株の主なコアグラーゼ型はII型で、88.2%を占めている。毒素産生はII型のうち73.0%は SEC+TSST-1産生株であったと報告されている[7]。今回の分離菌はコアグラーゼ型および毒素産生性は、典型的な MRSA のものであったといえる。

以上の結果より、今回の分離菌は *S. aureus* であると思われるが、酸素抵抗性等の生化学性状の特徴から *S. aureus* subsp. *aureus* の variant もしくは mutant である可能性が示唆される。

文 献

1. Walsh, P. S., Metzger, D. A. and Higuchi, R. (1991). *Biotechniques*, 10, 506-513
2. Olsen, G. J. and Woese, C. R. (1993). *FASEB J.*, 7, 113-123
3. 綿引正則, 清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐, 永井美之 (2006). 富山県衛生研究所年報, 29, 126-132
4. DDBJ [http:// www.ddbj.nig.ac.jp](http://www.ddbj.nig.ac.jp)
5. Peake, S. L., Peter, J. V., Chan, L. Wise, R. P., Butcher, A. R. and Grove, D. I. (2006). *J. Clin. Microbiol.*, 44, 2311-2313
6. Kloos, W. E. and Bannerman, T. L. (1999). *Staphylococcus and Micrococcus*, Murray, P. R., Baron, E. J., Tenover, F. C., Tenover, R. H. (ed.), *Manual of clinical microbiology*, 7th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., 264-282

平成19年12月1日

7. 遠藤美代子, 奥野ルミ, 畠山 薫, 向川 純, 柳川義勢 (2005). 東京都健康安全研究センター年報, 56, 35-39

富山県内で分離された溶血レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2006年)

嶋 智子 磯部順子 綿引正則 林 喜代志¹ 中村政雄² 遠藤美代子³

Serotypes and Drug Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture (2006)

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Kiyoshi HAYASHI¹, Masao NAKAMURA² and Miyoko ENDO³

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起原菌となり、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いる。さらに近年、本菌による重篤な劇症型溶血レンサ球菌感染症や食品を介した集団発生も報告されている[1]。また、B群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎の原因となる。

2006年の富山県におけるA群溶連菌咽頭炎患者報告数は、年間3,630人(125.17人/定点)であった[2]。年間定点あたり患者数は全国平均87.91人の1.43倍で、47都道府県のうち第7位であった。

ここでは、2006年に県内で患者から分離された溶連菌について、血清型および薬剤感受性の調査結果を報告する。

材料と方法

分離菌株：

2006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40株およびB群44株、計84株)について、A群のT型別およびB群の型別を調べた。A群のT型別およびB群の型別は、それぞれの型別用抗血清(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：

アンピシリン(ABPC)、セフジニル(CFDN)、セファレキシン(CEX)、セフジトレン(CDTR)、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)、リンコマイシン(LCM)の9薬剤について、MIC-2000を用いた微量液体希釈法で測定した。測定は東京都健康安全研究センターにて行った。また、MIC

値16 μ g/ml以上を示すものを耐性菌とした。

結果および考察

1. A群溶連菌のT型別

2006年に分離されたA群40株のT型別結果をTable 1およびFig. 1に示した。分離率が高いT型は、順にT1型(8株, 20.0%)、T11型(8株, 20.0%)、T25型(5株, 12.5%)、T4型(3株, 7.5%)、T12型(3株, 7.5%)、T28型(3株, 7.5%)であった。昨年と比較して、T1型とT25型が増加し、T6型とT12型は減少していた。東京都健康安全研究センターによる、当所を含む全国6施設の*S. pyogenes*のT型別の調査結果でも、2006年分離株ではT1型が35%を占め、前年の15%から急増していたとの報告があった[3]。2006年分離株のT1型の増加は全国的な傾向であると思われる。

2. B群溶連菌の型別

2006年に分離されたB群44株の型別結果をTable 2およびFig. 2に示した。分離率が高い型は、順にVI(NT6)型(14株, 31.8%)、I b型(12株, 27.3%)、I a型(5株, 11.4%)、V型(5株, 11.4%)、VIII(JM9)型(3株, 6.8%)であった。VI型の分離率が最も高く、この傾向は1996年以来続いている。次に分離率が高かったのはI b型で、VI型およびI b型で調査株の59.1%を占めた。VIII(JM9)型は、以前はVI型に次いで2番目に多く分離されていたが、その分離率は1998年の26.3%をピークに減少傾向であり、本年も分離率は6.8%と低かった。

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 *Streptococci* in 2006

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	2	1			1			1		1	1	1	8	20.0
T-2													0	0.0
T-3						1							1	2.5
T-4			1									2	3	7.5
T-6	1			1									2	5.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11			1	2	1	2	1				1		8	20.0
T-12					2		1						3	7.5
T-13								1	1				2	5.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25	1	1		1	1		1						5	12.5
T-28		1			1				1				3	7.5
T-B3264										1		1	2	5.0
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable								2			1		3	7.5
Total	4	3	2	4	6	3	3	4	2	2	3	4	40	100.0

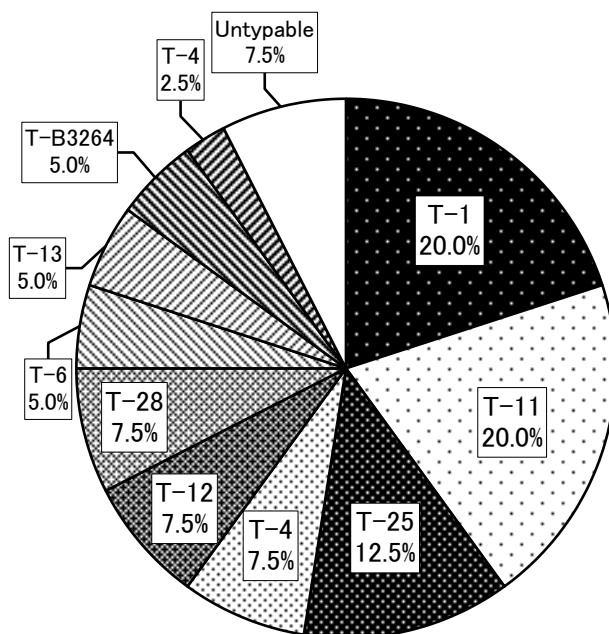


Fig. 1. Proportion of T Serotypes of Clinical Group A *Streptococci* in 2006

Table 2. Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B *Streptococci* in 2006

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a		1	2					1			1		5	11.4
I b	1	2		2	3			1		1		2	12	27.3
II													0	0.0
III	1												1	2.3
IV													0	0.0
V	1				2	1						1	5	11.4
VI	1	4			2	2	1	2	1			1	14	31.8
VII													0	0.0
VIII				1		1				1			3	6.8
Untypable						2		2					4	9.1
Total	4	7	2	3	7	6	1	6	1	2	1	4	44	100.0

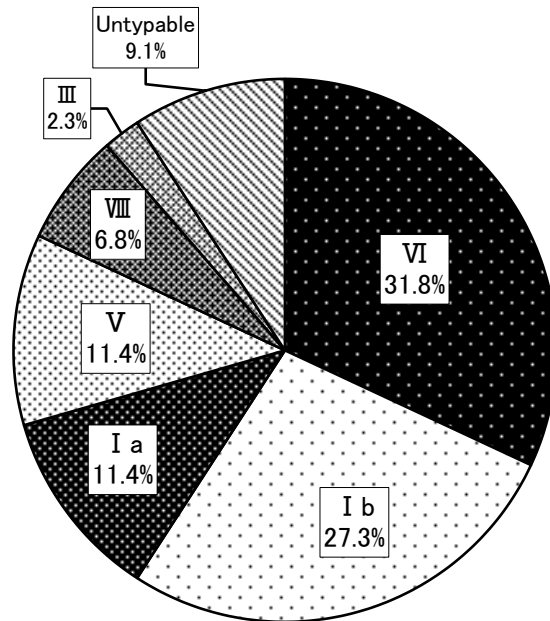


Fig. 2. Proportion of Serotypes of Clinical Group B *Streptococci* in 2006

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Hemolytic *Streptococci* in 2006

Group	MIC (μ g/ml)	Antibiotics								
		ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM
A	>64									
	64					1				
	32					5				
	16							3		
	8								3	
	4						19			
	2						8	1		
	1								1	
	0.5			16						
	0.25			11		20				17
	0.12					1		4		10
	0.06							19	15	
	0.03	1							8	
	0.015	25	1		1					
	0.008	1*	25		25					
≤ 0.004		1		1						

* $\leq 0.008 \mu$ g/ml

Group	MIC (μ g/ml)	Antibiotics								
		ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM
B	>64									1
	64					3				
	32					2				
	16					1				
	8					1		1		
	4			4			15		1	
	2			12			1	1		
	1					1			1	
	0.5					4				12
	0.25					4		3		3
	0.12	4						11	3	
	0.06	12							11	
	0.03		13		12					
	0.015		3		4					
	0.0075									

Table 4. Antibiotic Resistance Pattern of Hemolytic *Streptococci* in 2006

Resistant pattern	No. of strains (%)	
	Group A	Group B
TC, LCM		1 (6.3)
TC	6 (22.2)	5 (31.3)
EM	3 (11.1)	
Susceptible	18 (66.7)	10 (62.5)
Total	27 (100.0)	16 (100.0)

3. 溶連菌の薬剤感受性

2006年に分離された溶連菌のうち43株（A群27株，B群16株）について実施した薬剤感受性試験の結果をTable 3に，またその薬剤感受性パターンをTable 4に示した。

A群溶連菌27株では，TCに対して22.2%（T28型2株，T1型1株，T4型1株，T11型1株，T型別不能1株，合計6株），EMに対して11.1%（T1型2株，T12型1株，合計3株）が耐性であった。B群溶連菌16株では，TCに対して31.3%（I a型1株，III型1株，V型1株，VI型1株，型別不能1株，合計5株），TCおよびLCMに対して6.3%（I b型1株）が耐性であった。A群，B群ともにβラクタム系薬剤（ABPC，CFDN，CEX，CDTR）に対する耐性菌は認められなかった。

薬剤感受性パターンで見ると，A群溶連菌ではTC

単剤耐性菌が6株（22.2%），EM単剤耐性菌が3株（11.1%）であった。B群溶連菌では，TCおよびLCMの2剤耐性菌が1株（6.3%），TC単剤耐性菌が5株（31.3%）であった。B群の1株を除き，複数薬剤に対する耐性菌は認められなかった。

文 献

1. 国立感染症研究所編（2004）. 病原微生物検出情報，25巻10号，252-253
2. 富山県衛生研究所編集・発行（2006）. 富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成17年），p19
3. 遠藤美代子，奥野ルミ，柳川義勢（2006）. レンサ球菌感染症研究会 第40回学術講演会抄録，p3

2006年富山県内で発生した腸管出血性大腸菌 O157による集団感染事例

木全恵子 嶋 智子 清水美和子 磯部順子 綿引正則 倉田 毅
新村信久¹ 泉 和子¹ 松村美智代¹ 野嶋直樹¹ 齊藤尚仁² 大江 浩¹

The Outbreak of Infections Caused by Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157
in Toyama Prefecture, 2006

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE,
Masanori WATAHIKI, Takeshi KURATA, Nobuhisa SHINMURA¹, Kazuko IZUMI¹,
Mitiyo MATUMURA¹, Naoki NOJIMA¹, Naohito SAITOU² and Hiroshi OHE¹

2006年の富山県における腸管出血性大腸菌感染症患者は117名であり、集団感染事例（家族内感染事例も含む）は7事例（91名）であった。このうち、1事例は感染者79名にのぼる大規模な集団感染事例であった。以下にこの大規模な集団発生事例についてその概要、細菌学的解析について報告する。

概要：平成18年8月29日、富山県 A 市の B 保育所において腸管出血性大腸菌 O157：H7（VT1+ VT2+、以下 O157）による集団感染が発生した（表1）。感染者は74名であり、その内訳は表2に示すとおり、園児59名、保育所職員6名、家族等接触者9名であった。有症者は72名であり、うち入院患者は18名、HUSを併発した患者は2名であった（表1、表2）。なお、有症者72名には、O157を検出することはできなかったが血清中のO157抗体価が高値であったことから、O157感染が推測された入院患児5名が含まれている（この患児5名のO157血清抗体価測定検査は国立感染症研究所において行われた）。疫学調査により、発症のピークは8月25日～26日であることが判明した（図1）。O157感染者の内訳は表2に示すとおり、保育所の1歳児クラスから4歳児クラスに感染者が集中し、0歳児クラスには感染者がいなかった。また、5歳児クラスの有症者はいずれも8月29日前後の発症であり、2次感染であると考えられた。9月3日以降新たな発症者はなく、感染者は当該保育所園児の接触者とどまった。

この B 保育所について8月11日～28日にかけて提供された給食の保存検体（204検体）や保育施設及び調理室の拭取り検体（80検体）、調理従事者3名の検便（3検体）のO157検査を行ったが、上記の検体から

O157を検出することはできなかった。このことから給食を原因とする食中毒ではないと考えられ、保育所内のヒト-ヒト感染が推察された。しかし、感染源・感染経路を特定することはできなかった。

分離菌株の諸性状：この事例において分離されたO157株について任意に数株選び、生化学性状と病原因子遺伝子の確認を行った（表3）。糖分解能試験は、1%炭水化物を添加した Andrade ペプトン水を使用した。また、薬剤感受性試験はセンシディスク（日本ベクトン・ディッキンソン）を用いた CLSI（旧 NCCLS）のガイドラインに従い、行った [1]。分離株は典型的な O157の生化学性状を呈し、糖分解能試験ではソルビトール非分解性を示した。また、薬剤感受性試験ではセファロチン、アンピシリン、エリスロマイシンの3薬剤に耐性を示した。

病原因子遺伝子の確認については既報 [2] に従い、CVD432, *eaeA*, *aggR*, *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。その結果、分離された O157株は *eaeA*, *stx1* (VT1遺伝子), *stx2* (VT2遺伝子) を保有することが確認された。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による DNA 解析：検便により O157が検出された感染者74名について分離菌株のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行った (図2A)。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 [3]。得られた PFGE の泳動像の解析は解析ソフト FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて行った。

1. 新川厚生センター 2. 高岡厚生センター

FingerPrinting II によるデンドログラム解析には UPGAMA 法と Dice 係数を用いて行い、トレランス値は1.2%とした。

得られたデンドログラム解析と目視による確認を行った結果、分離菌株74株はパターン1 (lane 1~69), パターン2 (lane 70), パターン3 (lane 71), パターン4 (lane 72~73), パターン5 (lane 74) に分類された (図2 B)。パターン1は74株の93.2% (69株) を占めており、デンドログラム解析では類似度97.5%以上の大きなクラスターを形成していた。パターン1とバンド数の異なるパターン2~5を示した菌株は74株中5株 (6.8%) であった (図2 B)。

考察：2006年における全国の腸管出血性大腸菌の集団発生事例は28事例 (うち O157による集団発生事例17事例) 報告されている。本事例は、1事例あたりの腸管出血性大腸菌陽性者がこの28事例のうち最も多かった [4]。

本事例において管轄厚生センターは感染者の行動調査を行ったが、感染者の行動パターンにおいて保育所以外の共通点は見いだせなかった。また、調査対象となる期間が8月中旬のお盆前後ということもあり、帰省等の県内外への旅行、バーベキューなどの野外での喫食、外食等が頻繁に行われていたことなど、感染者の行動パターンが極めて多様であった。このため、感染源をさかのぼり特定することはできなかった。保育所内の感染拡大に関しては、保育所内のヒト-ヒト感染が推察されたが、保育所内の施設、遊具等の拭取り

からは O157を検出することができず、感染源・感染経路を特定することはできなかった。

また、1歳~4歳児の各クラスに感染が拡大した (表2) 要因として、1) オムツ交換時や排便後の手洗い消毒が不徹底であったこと、2) 1歳児クラスから4歳児クラスは発症ピークの一週間前から水遊びを行っていたことなどが考えられた。なお、全く感染者が確認されなかった0歳児クラス及び発症ピーク時に感染者がいなかった5歳児クラスは、この感染拡大と推察される時期(発症ピークの一週間前)に水遊びを行っていなかった。これらの疫学調査の結果から、水遊びが感染拡大の大きな要因であることが示唆されたが、たらいや水鉄砲等の水遊びの遊具や用水等の拭取りや採水の検体から O157は検出されなかった。しかしながら、水遊びにおける衛生管理の重要性はあらためて認識しておく必要がある。

PFGE 解析により、本事例で分離された O157株のうち、6.8% (74株中5株) は主要な泳動パターン (パターン1) とは異なる泳動パターンを示した。パターン2, パターン3, パターン4, パターン5を示した菌株の生化学的性状、糖分解能、薬剤感受性についてはパターン1の菌株と異なる性状は検出できなかった。パターン2の菌株は発症ピーク時の8月25日に発症した患者由来、パターン4の菌株2株に関してはそれぞれ発症ピーク時の8月26日、その後再度発症者が増加した28日に発症した患者由来であった。また、パターン4の菌株は最初の発症ピークから5日遅く8月30日に発症した患者由来、パターン5の菌株は無症状保菌者由来で

表1. 集団発生事例の概要

発生日月	2006.8.28~11.18 (患者全て退院)
発生場所	富山県A市B保育所
原因	不明
病因物質	腸管出血性大腸菌 O157:H7 (VT1 VT2)
感染者数*1	79名 (O157が検出された74名及び血中抗体価上昇によりO157感染が推測された5名)
死者	0名
有症者	72名 (発症率91%)
症状 (%*2)	下痢(83.3%), 発熱(45.8%), 血便(40.3%), HUS(2名, 2.7%)

*1 内訳は表2参照。

*2 有症者72名中に占める割合。

表2. 感染者の内訳

区分	人数	感染者 (%*2)	有症者 (入院患者再掲)
園児			
0歳児クラス	8	0 (0)	0
1歳児クラス	22	17 (77)	16 (3)
2歳児クラス	19	13 (68)	13 (5)
3歳児クラス	29	16 (55)	14 (1)
4歳児クラス	26	15 (58)	15 (6)
5歳児クラス	31	3 (9.6)	2 (2)
合計	135	64 (47)	60 (17)
職員	21	6 (29)	4 (1)
家族等接触者	—	9 (—)	8
総計		79*1	72 (18)

*1 感染者79名のうち、O157は検出されなかったが血中抗体価の上昇が認められ、O157感染が推測された5名を含む。

*2 園児数あるいは職員数に占める感染者の割合。

表 3 . 分離菌株の性状

生化学的性状		糖分解能	
TSI	A/AG	グルコース	+
LIM	+++	ラクトース	+
MR	+	マンニット	+
VP	—	サリシン	—
クエン酸*1	—	ソルビトール	—
CLIG	-/AG	アラビノース	+
MUG	—	セロビオース	—
		ラフィノース	+
		ラムノース	+
薬剤耐性			
クロラムフェニコール	S*2	サッカロース	+
テトラサイクリン	S	トレハロース	+
ストレプトマイシン	S	キシロース	+
セファゾリン	S	アドニット	—
コリスチン	S	ズルシット	+
セファロチン	R*2	イノシット	—
アンピシリン	R	イヌリン	—
ゲンタマイシン	S		
ナリジクス酸	S		
ミノサイクリン	S		
エリスロマイシン	R		
カナマイシン	S		

*1 Simmons のクエン酸培地を使用.

*2S : 感受性, R : 耐性を示す.

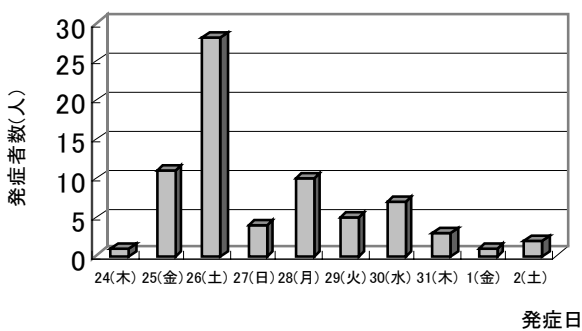
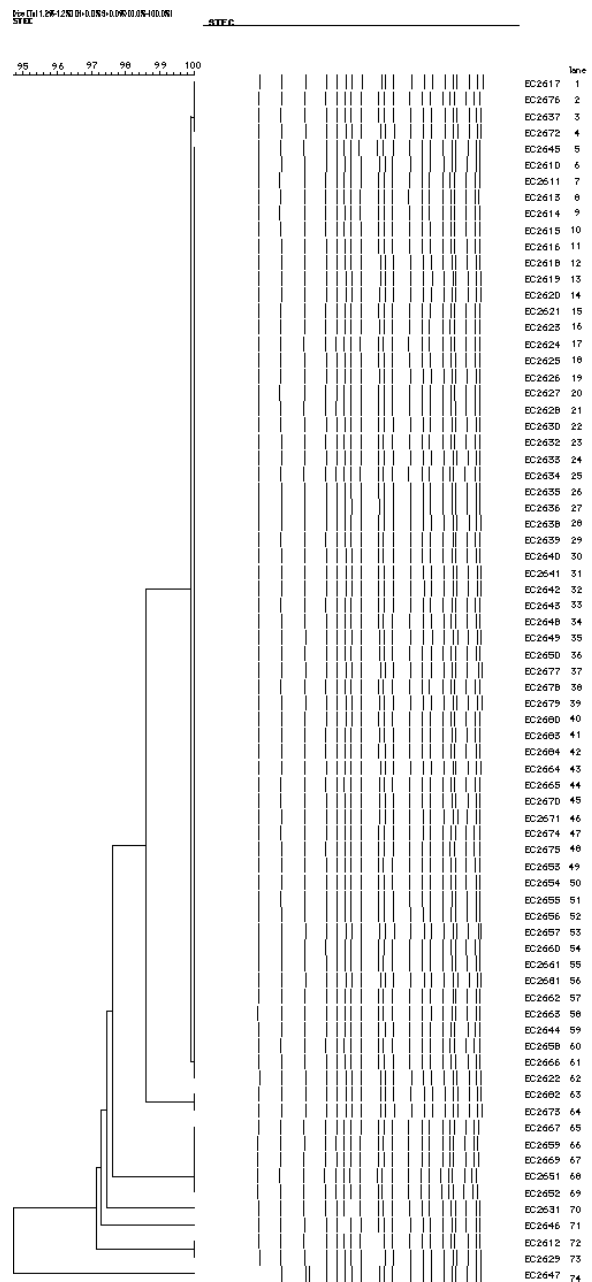


図1.有症者の発症状況

A



B

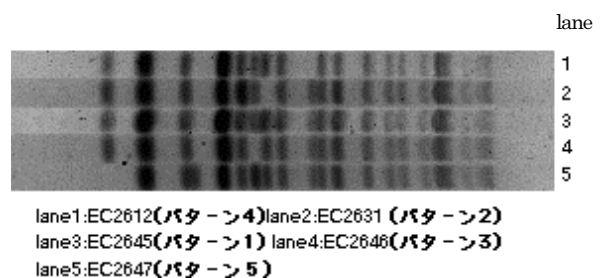


図2. 分離株の PFGE パターン

A: 分離菌 74 株の *Xba*I 切断パターンのクラスター分類

B: 分離菌 74 株中における異なる *Xba*I 切断パターン

あった。このことから、発症ピーク（8月25日・26日）前後の感染・発症の拡大途中に一部の菌株のゲノム DNA 上に変異が生じたと推察された。パターン2, パターン3, パターン4はいずれも分離菌株の大半を占めるパターン1とバンドが1つ異なるパターンを示しており、FingerPrinting II によるデンドログラム解析による類似度は97%以上であった。パターン5の菌株については類似度94.7%でパターン1~4とは PFGE 解析上かなり異なる泳動パターンを示した。おそらく本事例での感染拡大期間中に、パターン5の菌株はゲノム上の比較的大きな部分を巻き込んだ相同組換え等が生じたため、PFGE では見かけ上かなり異なる泳動パターンを呈するのではないかと推察される。本事例におけるゲノムの動態について、今回はゲノム DNA 上の制限酵素切断部位をマーカーとする PFGE 解析による検出を行ったが、それ以外の解析法（MLST, サザンブロッティング等）によるゲノム内の IS 及びプロフェージ等の動態に関してもさらに詳細な分子疫学的解析が必要であろう。

本事例では管轄厚生センターは集団発生探知後、速やかに保育所関係者（職員、保護者等）への説明会と検便を実施し、感染者の把握と感染の拡大防止を行った。感染の拡大防止と再発防止のため、管轄厚生センターは給食調理の自粛、有症者及び感染者の登園自粛、手洗い消毒設備の整備及び職員と園児の手洗い消毒の徹底などについて指導し、感染者宅に訪問指導を行った。多数の感染者に対する対応として地域基幹病院と連携し、感染者に対する優先的な診療体制と小児病床の確保、患者状況の把握等を行った。また、B 保育所が所在する A 市は市内保育所等の一斉消毒を行った

ほか、O157に関するチラシの市内全戸配布を行った。管轄厚生センターでは無料検便等の健康相談窓口設置のほか、ケーブルテレビなどで地域住民に対して O157 に対する感染予防策を呼びかけた。そのため、本事例関係者及び地域住民に大きな混乱も起こさず、感染者を当該保育所園児の接触者のみに留めた。従ってこのような早期の検便、訪問指導、相談窓口の開設及び医療機関との連携が、拡大防止に有効であったと考えられる。

謝辞：本稿を終えるにあたり、O157抗体価測定を行ってくださった国立感染症研究所伊豫田淳先生、並びに関係機関の方々のご協力に深く感謝致します。

文 献

1. Clinical and Laboratory Standards Institute (2005). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests M100-S12
2. Keiko Kimata, Tomoko Shima, Miwako Shimizu, Daisuke Tanaka, Junko Isobe, Yotaku Gyobu, Masanori Watahiki, and Yoshiyuki Nagai (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 .
4. 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, 131-144.

平成18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 —

磯部順子 清水美和子 嶋 智子 木全恵子 綿引正則 松澤孝信

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

Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA, Keiko KIMATA,
Masanori WATAHIKI and Takanobu MATSUZAWA

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18年度の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した細菌数の測定及び食品の腸管出血性大腸菌検査とした。検査用試料は、当研究所で調製、各検査機関に配布し、各々の検査結果の報告を受けて集計と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19年1月22日～2月23日

(3) 配布試料

- ① 枯草菌を加えた牛乳 10 ml [菌数測定] : 菌数が100～1,000cfu/mlとなるよう市販品「枯草菌6633'栄研」を調製し、牛乳(常温保存可)に添加した。なお、牛乳原液の生菌数は0 cfu/mlであった。
- ② 模擬食品 A～C 各50 g [腸管出血性大腸菌O26 検出] : EHECO26培養液を希釈し、牛レバーに添加した。レバー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。
添加した菌株は次のとおりである。

試料名	添加細菌
模擬食品 A	O1:H12
模擬食品 B	未接種
模擬食品 C	O26 : H11(VT1+)

(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する。
- ② EHECO26検出 : 食安監発第1102004号「食品からの EHECO157, O26の検査法」に準拠し、行うこととする。

(5) 解析方法

- ① 牛乳中細菌数の測定値の集計
各機関の2回の測定値について、実測値(D)とその平均の測定値(E)の両方で解析した。解析は標準偏差(SD)、変動係数(CV)、Zスコアを活用して行った。
- ② 牛レバー中の EHECO26検出結果の解析方法
各機関の EHECO26の検体別検出状況を、検査に使用した培地とともに比較した。

結果の解析

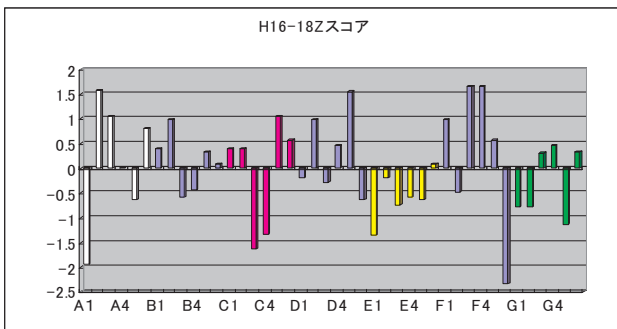
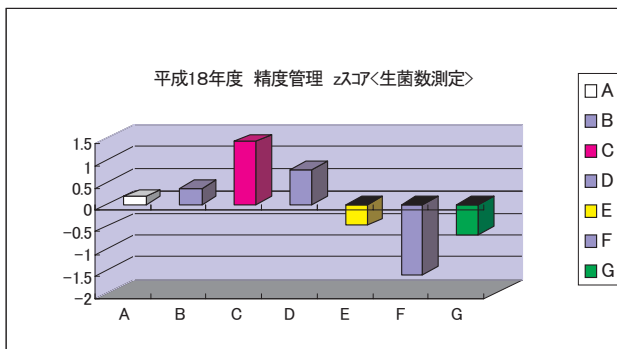
(1) 牛乳の細菌数測定

各機関の成績は表1に示した。報告された測定値 E (各機関の実測値2回を平均した値) の平均は 6.56×10^2 cfu/ml, 最大値 6.90×10^2 cfu/ml, 最小値 6.20×10^2 cfu/ml, であった。各機関の2回の実測値(D)で解析すると、平均は65.6, 標準偏差(SD)4.13となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2 \times SD$ の範囲内であった。変動係数(CV)は良好とされる値(10%以下)の範囲内であった。一方、データのばらつき度合を評価するため、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の評価をおこなうことができる。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、機関 F を除く各機関の結果は平均に対する Zスコアが

いずれも2未満で、測定は「良好」と判断された。

しかし、機関 F については2回の測定値のうち1回の結果の Z スコアが -2.338 で、「改善が必要かどうかの検討が必要」と判断された。この原因については不明であるが、原因のひとつとして、担当者の経験年数が0年であることから、経験不足による操作のばらつきである可能性が考えられよう。機関としてこの原因を突き止め、Z スコアが管理範囲となるよう、対策を講じる必要がある。

各々の Z スコアを求めてみると、機関によりばらつき度合に差がみられた。Z スコアが $|Z| \leq 2$ の範囲内にあってもプラス側、マイナス側と差が大きい機関があった。前述の機関 F は Z スコアの差が 2.909 と大きく、次いで機関 D の 2.182 であった。一方、この Z スコアの差が 0.242、0.485 とばらつきが小さい機関もみられた。



(2) 牛レバー中の EHEC O26 検出

各機関の成績は表 2 に示した。すべての機関で試料 C から EHEC O26 を分離した。機関 G を除き、H 抗原の型別も実施され、分離された大腸菌は O26 : H11 と同定されていた。はじめに試料別に成績を比較した。食品 A : 大腸菌 O1 : H12 が接種してあった。この大腸菌は CT(セフェキシム・亜テルル酸カリウム)に感受性であったため、選択分離培地での発育はほとんど認められなかった。分離菌は抗血清との凝集試験を実施することで EHEC O26 を否定できる。すべての機

関で EHEC 未検出という結果であった。

食品 B : 大腸菌は接種されていなかった。すべての機関で未検出であった。

食品 C : EHEC O26 が接種してあった。すべての機関で接種菌を分離することができた。

次に各機関の検査経過記録書より、増菌培地・分離培地等実際の手順について比較した。増菌培地は、すべての機関でノボビオン加 mEC 培地を使用していた。これは、通知に示されていることから、基本的な選択であると考えられる。なお、機関 A は TSB を併用していた。検査試料によっては、損傷菌である可能性に配慮し、このような対応が必要となるであろう。分離培地は、通知に必ず使用することが明記されている CT-RMAC について、すべての機関で使用されており問題はなかった。この培地以外に大腸菌を鑑別できる培地として、CT-ViRXO26 を 7 機関が使用し、さらに CT-SMAC を 3 機関が、ドルガリスキ改良培地を 1 機関が併用していた。前述した損傷菌の場合、CT に感受性を示す可能性が否定できないことから、できれば CT を添加しない選択性の低い培地を併用するのが望ましい。磁気ビーズ法については、機関 A 以外は使用したビーズ等使用記録がないことから詳細は不明である。したがってここでは、実施したことが明確であった機関のみ実施とした。この通知に従えば、ビーズ法は実施しなければならない。また、分離された疑わしい菌については、VT 遺伝子または VT 産生性を確認しなければならないことになっている。この VT 遺伝子および VT 産生性について、2 機関で実施した結果が記載されていないが、通知に従い実施していたものと思われる。

一方、培養液から DNA を抽出し、VT 遺伝子の検出を試みた機関が 3 か所あった。いずれもアルカリ熱抽出法で DNA テンプレートを作製し、PCR 法を試みている。機関 A は One Shot PCR Typing Kit (タカラ) を用いて検出を試み、テンプレート量が $5 \mu l$ と少ない場合に限り、特異的なバンドを検出した。この場合、遠心には通知に記載されている方法より低い回転数の機器を用いており、この回転数が VT 遺伝子検出には影響がなかったことを示している。ただし、テンプレート量が多い場合の PCR では、回転数を通知にある $10,000 g$ で DNA を回収しても実施しても VT 遺伝子を検出できていない。この原因として、検体からの PCR 阻害物質の持込がかんがえられよう。これと同様のことが機関 G のデータからも考えられた。機関 G ではテンプレート量 $5 \mu l$ で PCR を実施しているが、 $10,000 g$ 回転で作製されたテンプレート量の PCR 系で検出された増幅産物の量が極めて少な

表1. 牛乳中生菌数の結果と解析データ

機関名	成績書					生データ			希釈液	培地	
		log	偏差	Zスコア		log	偏差	Zスコア			
A	6.60 × 10 ²	660	2.81954	0.002594	0.1670	6.3 × 10 ²	63	-2.643	-0.641	滅菌生理食塩水	標準寒天培地
						6.9 × 10 ²	69	3.357	0.814		
B	6.65 × 10 ²	665	2.82282	0.005872	0.3781	6.7 × 10 ²	67	1.357	0.329	滅菌生理食塩水	標準寒天培地
						6.6 × 10 ²	66	0.357	0.087		
C	6.90 × 10 ²	690	2.83885	0.021899	1.4101	7.0 × 10 ²	70	4.357	1.056	滅菌生理食塩水	標準寒天培地
						6.8 × 10 ²	68	2.357	0.571		
D	6.75 × 10 ²	675	2.8293	0.012354	0.7955	7.2 × 10 ²	72	6.357	1.541	滅菌生理食塩水	標準寒天培地
						6.3 × 10 ²	63	-2.643	-0.641		
E	6.45 × 10 ²	645	2.80956	-0.00739	-0.4759	6.3 × 10 ²	63	-2.643	-0.641	滅菌生理食塩水	標準寒天培地
						6.6 × 10 ²	66	0.357	0.087		
F	6.20 × 10 ²	620	2.79239	-0.02456	-1.5813	6.8 × 10 ²	68	2.357	0.571	リン酸緩衝生理食塩水	標準寒天培地
						5.6 × 10 ²	56	-9.643	-2.338		
G	6.4 × 10 ²	640	2.80618	-0.01077	-0.6935	6.1 × 10 ²	61	-4.643	-1.126	生理食塩水	標準寒天培地
						6.7 × 10 ²	67	1.357	0.329		
平均値 (X)		656	2.81695			6.6 × 10 ²	65.6				
標準偏差 (S)		23.401	0.01553			0.4 × 10	4.1	4.125			
C.V.(変動係数)		3.5649	0.55131				6.3				

表2. レバー中腸管出血性大腸菌O26検出結果

機関名	検体名	O26検出			増菌培地	供試量	分離培地
		結果	血清型				
A	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学) トリプトソイアイン培地(栄研化学)	25g・10g	CT-RMAC CT-ViRXO26 CT-SMAC
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11	VT1			
B	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学)	25g	CT-RMAC CT-ViRXO26
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11				
C	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学)	25g	CT-RMAC CT-ViRXO26
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11	VT1			
D	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地 (極東製薬工業)	25g	CT-RMAC CT-ViRXO26
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11	VT+			
E	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学)	25g	CT-RMAC CT-ViRXO26 CT-SMAC
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11	VT1			
F	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学)	25g	CT-RMAC ハールコアViCT-ViRXO26 ハールコアトルカルスキー改良培地
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26:H11				
G	食品A	陰性			ノボジオン加mEC地(栄研化学)	25g	CT-RMAC CT-ViRXO26 CT-SMAC
	食品B	陰性					
	食品C	陽性	O26	VT+			

い。機関Dでは用いたプライマーあるいは使用したキット名等は不明であるが、PCRでVT遺伝子を検出できなかった。3機関の結果から、レバーの腸管出血性大腸菌検査において、PCR法によるVT遺伝子陰性という結果については培養法による確認が必要であると思われる。

考 察

生菌数の測定について3年間のZスコアをグラフとして示した。実際は担当者が交代している機関があることから、経年変化を比較する際にはこのことを考慮し、今後の精度管理の参考にしていただきたい。

EHEC O26の検出については、新しい通知に従い検査を実施することを目的とした。前述したが、試料からの持ち込みによるPCR阻害が十分考えられることから、培養液を用いたPCRによるVT遺伝子陰性の結果をもって腸管出血性大腸菌陰性とするには問題が残るのではないだろうか。更なる検討が必要だと思われる。今回の経験がSOP作製の参考になるのではないかと思われる。

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

大量注入口装置付きガスクロマトグラフ質量分析計による 飲料水中残留農薬の一斉分析法の検討

高柳信孝

Investigation of simultaneous analysis of pesticides in drinking water
with GC/MS equipped large volume injector

Nobutaka TAKAYANAGI

平成15年に水道水質基準の見直しが実施され、水質管理のための検査項目が、基準項目、水質管理目標設定項目、要検討項目に分類された。農薬類は水質管理目標設定項目に設定され、対象農薬として101種が示された[1]。その後、平成17年11月に試験方法等が改正されたのを機に対象農薬の一部が変更され、オキソニン体、代謝物、異性体等が追加された[2]。これらの農薬には個々に目標値が定められており、さらに農薬類の目標値として、「検出値と目標値の比の和として、1以下」と定められている。したがって個々の農薬は原則として目標値の1/100まで測定し、そのときの変動係数が20%以下となるよう精度を確保することが求められている。しかし、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS)による一斉分析を行う場合、使用する機器の状態によっては、必要な感度が及び精度が得られない場合も起きるものと推測される。また、公定法では、1種類の農薬につき3種類のフラグメントイオンが示されており、これらを測定することにより、定性、定量することになっているが、マススペクトルのパターンで同定確認するのが確実であり望ましい。しかし、目標値の1/100程度の濃度の試料水を公定法に従って500倍濃縮し、GC/MSに1 μ L程度注入しても、マススペクトルによる確認はほとんど困難である。そこで、これらの問題を解消するために大量注入口装置を使用する分析法の検討を行った。

実験方法：

1. 試薬

農薬標準液は、いずれも関東化学(株)製の70種農薬混合標準液46(各0.01mg/mlアセトン溶液)、8種農薬混合標準液47(各0.1mg/mlアセトン溶液)及びクロロニトロフェンアミノ体標準品をアセトンに溶解したものを混合して用いた。内部標準液は9-ブromoアントラセン(0.5mg/Lジクロロメタン溶液)を用いた。使用溶媒は残留農薬試験用を用いた。超純水は日本ミ

リポア・リミテッド社製 Milli-Q SP TOC を用いた。
2. 器具及び装置

(1)固相カートリッジ：Waters社製 Sep-Pak Plus PS-2(以下PS-2)、ジーエルサイエンス(株)製アクセス PLS-3 Jr.(以下PLS-3)及び住友スリーエム(株)製EZカートリッジ RP-1(以下EZ)

(2)固相抽出装置：Waters社製 Sep-Pak コンセントレータ

(3)GC/MS：エミネット(株)製大量注入口装置 LVI-S 200付き島津製 GCMS QP5050A

・大量注入口装置の動作の概要

- ① オートインジェクターにより、試験溶液を大量注入口装置内のスパイラルインサートに注入する。
- ② コントロールモードを一定時間(溶媒蒸発時間)スプリットとし、溶媒を蒸発・排気させる。
- ③ コントロールモードを一定時間(スプリットレス時間)スプリットレスに切り替え、注入口装置を昇温プログラムに従って最終温度まで上昇させ、農薬類を順に分析カラムに導入する。
- ④ コントロールモードをスプリットに戻し、スパイラルインサート内を清浄にする。

3. 添加回収試験方法

超純水及び水道水(アスコルビン酸ナトリウムを加えて残留塩素を除去したもの)500mlに80種農薬(異性体、オキソニン体、代謝物を含む)0.05 μ g(100 μ g/Lアセトン溶液0.5ml)を添加し回収試験を行った。なお、この添加用標準液中のクロロタロニルは消失することがあるので、調製後直ちに使用した。

本GC/MSでは、注入口装置内で濃縮を行うため、通常のGC/MSと比較して試験溶液のマトリックスの影響が大きいと考えられるので、使用する固相カートリッジの比較検討を併せて行った。

試料水を予めジクロロメタン、メタノール及び超純水5mlずつでコンディショニングを行った3種類の固相カートリッジに10ml/分の流速で通液した。つぎ

平成19年12月1日

に、固相カートリッジをアスピレータで吸引乾燥（EZのみ30分、他は2～3分）し、ジクロロメタン5mlで固相カートリッジから農薬類を溶出し、PS-2及びPLS-3の溶出液についてはガラスロート（ロート足に農薬分析用ガラスウールを詰めたもの）上にのせた無水硫酸ナトリウム約3gで脱水乾燥した。溶出液に内部標準液0.5ml及びジクロロメタンを加えて5mlとし試験溶液とした。

結果と考察

1. GC/MS 測定条件の検討

①溶媒蒸発時間

溶媒蒸発時間は注入した試験溶液の溶媒の蒸発排気に要する時間である。大量注入口装置は200 μ lまで試験溶液の注入が可能であるが、今回の検討では注入量を100 μ lとした。溶媒蒸発時間を60～120秒間で変化させたところ、ほとんどの農薬で応答値（ピーク面積、ピーク高さ）に差は見られなかったが、クロロクロニルは、時間が長くなるほど減少し、アニロホスは、時間が長いほうが増加したので、中間の90秒に設定した。

②注入口温度の検討

LVI-S200は昇温条件プログラムによる温度制御が可能である。ジクロロメタンの大気圧での沸点は39.8 $^{\circ}$ Cであるが、入口圧は100kPa以上に設定することを考慮して、初期温度は60 $^{\circ}$ Cとし、最終温度を検討した。最終温度のみを250～300 $^{\circ}$ Cで変化させ、標準液（メモリー効果が考えられるのでジクロロメタンをはさむ）の応答値を調べたが、ほとんど差は見られなかった。高沸点物質の分析カラムへの導入をできるだけ避けるため、最終温度は250 $^{\circ}$ Cとした。

③カラム入口圧の検討

カラム入口圧を100, 150, 200kPaと変化させたところ、ほとんどの農薬のピーク高さは100>150>200kPaとなったが、キャプタン等ピーク高さが低いものでは150kPaで最大となるものが多かったので150kPaとした。

④スプリットレス時間の検討

スプリットレス時間を3,4,5分と変化させたところ、3>4>5分となる農薬が多かったが、応答値の低いものでは、4>3>5分となるものが多かったので、サンプリング時間を4分とした。

以上の検討結果を基にGC/MS測定条件を次のとおり設定した。

・LVI-S200の設定条件

溶媒排出時間（100 μ l注入）：90秒

昇温条件：60 $^{\circ}$ C→150 $^{\circ}$ C/分→250 $^{\circ}$ C（25分）

・GCMS QP5050A 測定条件

分析カラム：J&W社製DB-1（長さ30m、内径0.25mm、膜厚0.25 μ m）

昇温条件：70 $^{\circ}$ C（4分）→25 $^{\circ}$ C/分→120 $^{\circ}$ C→10 $^{\circ}$ C/分→250 $^{\circ}$ C（2分）→10 $^{\circ}$ C/分→300 $^{\circ}$ C（4分）

スプリットレス時間：4分

測定モード：スキャン測定

・キャリアガス条件

入口圧：150kPa

全流量：70ml/分

2. 添加回収試験結果

3種類の固相カートリッジを用いた超純水、水道水への添加回収試験結果を表1に示した。

クロロニトロフェン（CNP）-アミノ体はいずれの試験においても殆んど回収されなかった。標準液では分析可能であることから、マトリックスの影響が大きいものと考えられる。本装置での分析は非常に困難であり、LC/MS等他の分析機器により測定する方がよいと考えられる。

また、エトフェンプロックスはいずれも40%前後の回収率であった。試料容器をアセトンで洗浄することにより40%程度回収されることから、ガラス容器に吸着することが分かった。添加回収試験方法の検討が必要である。

その他の農薬類については、PS-2では超純水からの回収率が70%以下なのは、トリクロロホン等3種類であり、水道水で70%以下あるいは120%以上なのは、ベンシクロン等4種類であった。

PLS-3では、超純水でエチルチオメトンだけが70%以下あり、水道水ではメフェナセットだけが120%を超えたが、ほぼ満足できる結果であった。

EZでは、超純水で70%以下あるいは120%以上なのは、ジクロロボス等11種類であり、水道水では、トリクロロホン等21種類であった。

以上の結果から、本装置に適用する固相カートリッジとしてはPLS-3が適当であると考えられた。

3. 実試料水の分析

大量注入口装置付きGC/MSによる分析では、マススペクトルによる確認が容易であるため、実試料水のクロマトグラム上の未知物質検索も可能であり、これまで湧水2検体から水質管理目標設定項目には含まれていない除草剤のプロマシルが0.00026及び0.00040mg/L検出された。しかし、プロマシルの一日許容摂取量（ADI）はメタラキシルと同じ0.019mg/kg/日なので、目標値も同じ0.05mg/Lと考えれば、検出濃度は目標値の1/100以下であり問題はないと考えら

れた.

文 献

1. 厚生労働省健康局水道課長通知(2003).健水発第1010001号.
2. 厚生労働省健康局水道課長通知(2005).健水発第1101001号

飲用されている「とやまの名水」の理化学的性状について

健名智子 小玉修嗣 大戸幹也 中山恵理子 山下智富 高柳信孝

On the Physicochemical Properties of the Famous Natural Waters in Toyama Prefecture

Tomoko KEMMEI, Syuji KODAMA, Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA
Tomohisa YAMASHITA and Nobutaka TAKAYANAGI

富山県は、県内に数多くあるすぐれた水環境を広く県民に紹介し、水に対する認識の高揚を図ることを目的に、昭和61年2月に「とやまの名水」55ヵ所を選定した。これらは市町村からの推薦をもとに、故事来歴の有無や住民による保全活動の状況等を勘案して選定したもので、その後平成17・18年度に11ヵ所が追加選定された。この取り組みは本県の良好な水環境が広く認知されるという点ではかなりの成果を上げているが、水質についての認識は不十分であり、「とやまの名水」のうち飲用に利用されている地点においても、水質管理がほとんどなされていない状態にあった。

そこで県は、飲用されている「とやまの名水」を対象に平成14年8月に「とやまの名水」衛生管理マニュアル(平成19年3月改正)[1]を策定し、名水の衛生管理・飲用対策及び飲用者に対する情報提供策を定めるとともに、その保全や衛生管理・飲用対策の基礎資料とするため、平成15-18年度にかけて水質検査(細菌及び理化学)と周辺の環境の調査研究を行った。このうち、理化学検査の結果について報告する。

調査方法

- (1) 検査対象；飲用されている「とやまの名水」26ヵ所のうち管理者の同意が得られなかった1ヵ所を除いた25ヵ所を対象とし、また、うち1ヵ所が6地点の総称であることから30地点において採水し、検査を行った(表1)。
- (2) 検査項目；
 - ①水質基準項目及び主要成分等44項目(表2)
 - ②水質管理目標設定項目及び要検討項目等33項目(表5)
- (3) 検査時期；
検査項目①：平成15年10月、平成16年10月、平成18年10月(追加選定地点)
検査項目②：平成17年10月、平成18年10月

- (4) 検査方法：以下に準拠して行った。

検査項目①：

平成15年度水質基準項目；平成4年衛水264号
平成16、18年度水質基準項目；平成15年告示261号
主要成分；上水試験方法2001年版

検査項目②：

水質管理目標設定項目；平成15年健水1010001号
要検討項目；上水試験方法2001年版
有機塩素系化合物；上水試験方法2001年版

結 果

①水質基準項目及び主要成分等44項目

水道水質基準項目とおいしい水指標(カルシウム、カリウム、二酸化ケイ素、マグネシウム、硫酸イオン等)について検査を行ったが、平成15年5月付けで水質基準に関する省令が改正され平成16年4月より施行されたため、平成15年度は計51項目、平成15年度は計54項目について検査した。これらのうち共通する44項目について表2に示す。

44項目のうち、無機物質・金属類(No.1-7,9,22-25,27)については、ほとんどの検体で検出されず、検出された検体においても極微量であった。No.8の硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素については、亜硝酸態窒素はすべての検体で検出されず(検出下限値0.1mg/L)、硝酸態窒素のみが検出された。一般有機化学物質類(No.10-16)及び消毒副生成物(No.17-21)、においや発泡に関する化合物(No.31-32)はすべての検体で検出されなかった。そのほかの水質基準項目についても検査したすべての名水が基準に適合していた。

表2に各名水の水質検査の主要成分の検出範囲を併記した。当所においては昭和59-60年度に「とやまの名水」を選定するにあたり同様の水質検査を行なっている[2]。今回採水を行なった地点のうち昭和59-60年度と対応しているのは18地点で、これらの主要成分を比較する

表1. 飲用されている「とやまの名水」一覧
「とやまの名水」衛生管理マニュアル(平成19年3月最終改正)より

No.	市町村名	名水の名称
1	富山市	石倉町の延命地蔵の水
2	〃	殿様清水
3	〃	八木山の瀧
4	高岡市	影無し井戸
5	〃	弓の清水
6	〃	気多神社の清泉
7	魚津市	魚津駅前の「うまい水」
8	黒部市	清水の里
9	〃	生地の共同洗い場(6ヶ所) 神明町共同洗場/神明町の共同洗い場 神明町共同洗場/神田の清水 上町共同洗場/弘法の清水 上町共同洗場/殿様清水 四十物町共同洗場/弘法の清水 大町共同洗場/清水庵の清水
10	黒部市	下立の霊水
11	〃	村椿(飛驒)の清水
12	〃	名水公園の清水
13	〃	箱根の清水
14	砺波市	瓜裂清水
15	小矢部市	鳩清水
16	南砺市	中江の霊水
17	〃	丸池
18	〃	脇谷の水
19	〃	不動滝の霊水
20	〃	妃の清水
21	射水市	誕生寺の誕生水
22	上市町	弘法大師の清水
23	〃	大岩日石寺の藤水
24	〃	穴の谷の霊水
25	立山町	立山玉殿の湧水
26	入善町	高瀬湧水の庭

表2. 水質基準項目及び主要成分等44項目検査結果

項目No.	項目名	平成15年度	平成16年度	平成18年度	検出下限値	基準値	検出値又は範囲
		検査件数	13	12			
1	カドミウム及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
2	水銀及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.00005	0.0005	
3	セレン及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
4	鉛及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
5	ヒ素及びその化合物	すべてND	1カ所検出	すべてND	0.001	0.01	0.002
6	六価クロム化合物	すべてND	1カ所検出	すべてND	0.001	0.05	0.006
7	シアン化物イオン及び塩化シアン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
8	硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	1カ所のみND	すべて検出	すべて検出	0.1	10	0.6~28.0
9	フッ素及びその化合物	8カ所検出	1カ所検出	4カ所検出	0.05	0.8	0.05~0.19
10	四塩化炭素	すべてND	すべてND	すべてND	0.0002	0.002	
11	1,1-ジクロロエチレン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.02	
12	シス-1,2-ジクロロエチレン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.04	
13	ジクロロメタン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.02	
14	テトラクロロエチレン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
15	トリクロロエチレン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.03	
16	ベンゼン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.01	
17	クロホルム	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.06	
18	ジプロモクロロメタン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.1	
19	総トリハロメタン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.1	
20	ブromoジクロロメタン	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.03	
21	ブromoホルム	すべてND	すべてND	すべてND	0.001	0.09	
22	亜鉛及びその化合物	すべてND	2カ所検出	すべてND	0.01	1.0	0.01,0.01
23	アルミニウム及びその化合物	すべてND	1カ所検出	すべてND	0.01	0.2	0.01
24	鉄及びその化合物	2カ所検出	すべてND	1カ所検出	0.01	0.3	0.02,0.01*2
25	銅及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.01	1.0	
26	ナトリウム及びその化合物	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.1	200	0.8~33.9
27	マンガン及びその化合物	すべてND	すべてND	すべてND	0.005	0.05	
28	塩化物イオン	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.2	200	0.8~44.1
29	カルシウム、マグネシウム等(硬度)	すべて検出	すべて検出	すべて検出	1	300	6.1~104
30	蒸発残留物	すべて検出	すべて検出	すべて検出	1	500	22~182
31	陰イオン界面活性剤	すべてND	すべてND	すべてND	0.02	0.2	
32	フェノール類	すべてND	すべてND	すべてND	0.005	0.005	
33	過マンガン酸カリウム消費量	ND~1.1	0.3~0.8	すべてND*	0.3	10	
34	pH値	6.8~7.1	6.5~8.0	6.4~7.3		5.8~8.6	
35	味	すべて異常なし	すべて異常なし	すべて異常なし		異常なし	
36	臭気	すべて異常なし	すべて異常なし	すべて異常なし		異常なし	
37	色度	すべてND	すべてND	すべてND	1	5	
38	濁度	すべてND	1カ所検出	すべてND	0.1	2	0.1
39	溶性ケイ酸(SiO ₂)	すべて検出	すべて検出	すべて検出	1		5.1~61.9
40	カルシウム	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.2		1.2~37.3
41	マグネシウム	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.05		0.2~5.7
42	カリウム	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.05		0.1~5.1
43	重炭酸イオン	すべて検出	すべて検出	すべて検出	1		10.4~121
44	硫酸イオン	すべて検出	すべて検出	すべて検出	0.2		1.0~27.4

ND:検出下限値未満

*:平成18年度は有機物(TOC)を測定, 検出下限値 0.5mg/L, 基準値 5.0mg/L

表3. 名水4地点における測定年度による測定値の比較 単位(mg/L)

測定年度	県東部湧水		県東部井戸		県西部湧水		県西部井戸	
	平成15	昭和59	平成15	昭和60	平成16	昭和59	平成16	昭和60
pH値	7.2	7.5	6.9	7.9	7.3	7.0	6.9	7.1
過マンガン酸 カリウム消費量	< 0.3	2.6	0.3	< 0.3	0.5	2.5	0.7	0.8
蒸発残留物	51	53	166	182	73	84	102	84
カルシウム、マグネシウム等 (硬度)	29.0	27.5	104	105	41.4	40.4	54.6	48.7
溶性ケイ酸 (SiO ₂)	15.0	13.4	43.8	42.1	18.4	20.3	26.8	24.1
塩化物イオン	2.8	3.4	5.9	7.1	5.1	6.3	7.4	8.0
重炭酸イオン	33.6	26.5	113	107	49.4	45.5	59.8	52.3
硫酸イオン	7.5	6.3	15.5	16.5	5.0	4.1	12.8	9.0
硝酸イオン	1.1	0.8	6.4	5.4	2.1	2.3	1.2	1.2
ナトリウム	3.1	3.2	5.4	5.6	6.0	7.1	6.3	6.1
マグネシウム	2.0	2.4	5.7	5.8	3.5	2.9	3.6	3.6
カリウム	0.9	0.7	2.1	2.4	0.6	0.6	1.1	1.1
カルシウム	8.2	7.1	32.3	32.3	10.8	11.4	15.9	13.6

表4. 厚生省「おいしい水研究会」の評価基準及びミネラルバランス指標からみた
飲用されている「とやまの名水」の評価

厚生省おいしい水研究会の評価基準			
	蒸発残留物	硬度	過マンガン酸カリウム消費量
	30~200mg/L	10~100mg/L	3mg/L未満
条件を満たす地点数	29	26	30
条件を満たさない地点数	1	4	0
条件未満	22mg/L	6.1mg/L, 7.2mg/L	
条件超過		102mg/L, 104mg/L	

ミネラルバランス指標からみた評価		
指標の大小	水質分類	分類される地点数
O Index ≥ 2.0, K-Index ≥ 5.2	おいしく、健康に良い水	17
O Index ≥ 2.0, K-Index < 5.2	おいしい水	9
O Index < 2.0, K-Index < 5.2	何れにも属さない水	2
O Index < 2.0, K-Index ≥ 5.2	健康に良い水	2

表5. 水質管理目標設定項目及び要検討項目等33項目検査結果

項目No.	項目名	平成17年度	平成18年度	検出下限値	目標値	検出値
		検査件数	12			
水質管理目標設定項目						
1	アンチモン及びその化合物	すべてND	すべてND	0.001	0.015	
2	ウラン及びその化合物	すべてND	1ヵ所検出	0.0002	0.002 (暫定)	0.0003
3	ニッケル及びその化合物	すべてND	すべてND	0.001	0.01 (暫定)	
4	亜硝酸態窒素	すべてND	すべてND	0.005	0.05 (暫定)	
5	1,2-ジクロロエタン	すべてND	すべてND	0.0004	0.004	
6	トランス-1,2-ジクロロエチレン	すべてND	すべてND	0.001	0.04	
7	1,1,2-トリクロロエタン	すべてND	すべてND	0.0006	0.006	
8	トルエン	すべてND	すべてND	0.001	0.2	
9	フタル酸ジ(2-エチルヘキシル)*	すべてND	すべてND	0.01	0.1	
10	ジクロロアセトニトリル	すべてND	すべてND	0.002	0.04 (暫定)	
11	抱水クロラール	すべてND	すべてND	0.002	0.03 (暫定)	
12	1,1,1-トリクロロエタン	すべてND	すべてND	0.001	0.3	
13	メチル-tert-ブチルエーテル	すべてND	すべてND	0.001	0.02	
	以下, 農薬類					
14	シマジン*	すべてND	すべてND	0.00003	0.003	
15	2,4-ジクロロフェノキシ酢酸*	すべてND	すべてND	0.0003	0.03	
16	アクロラール*	すべてND	すべてND	0.0001	0.01	
17	カルハリル*	すべてND	すべてND	0.0005	0.05	
18	アトラジン*	すべてND	すべてND	0.0001	0.01	
19	エンドスルファン*	すべてND	すべてND	0.0001	0.01	
20	メソミル*	すべてND	すべてND	0.0003	0.03	
21	ペノミル*	すべてND	すべてND	0.0002	0.02	
22	トリフルラリン*	すべてND	すべてND	0.0006	0.06	
要検討項目						
23	スチレン*	すべてND	すべてND	0.001	0.02	
24	フタル酸ジ(n-ブチル)*	すべてND	すべてND	0.01	0.2 (暫定)	
25	フタル酸ブチルベンジル*	すべてND	すべてND	0.01	0.5 (暫定)	
有機塩素系化合物						
26	PCB*	すべてND	すべてND	0.000005	--	
27	アルドリン*	すべてND	すべてND	0.000005	--	
28	ディルドリン*	すべてND	すべてND	0.000005	--	
29	エンドリン*	すべてND	すべてND	0.000005	--	
30	pp'-DDE*	すべてND	すべてND	0.00001	--	
31	pp'-DDT*	すべてND	すべてND	0.00001	--	
32	pp'-DDD*	すべてND	すべてND	0.00001	--	
33	op'-DDT*	すべてND	すべてND	0.00005	--	

ND: 検出下限値未滿

*: 環境ホルモン

と各名水の主成分濃度に大差はなく、名水の水質は安定しているといえた。18地点のうち代表的な4地点の測定値を表3に示した。

水の「おいしさ」を成分組成と相関付けようという試みがいくつかなされている。厚生省「おいしい水研究会」は水道水に関する評価基準を提示している(昭和60年4月)[3]。それによると蒸発残留物が30~200mg/L, 硬度10~100mg/L, 遊離炭酸3~30mg/L, 過マンガン酸カリウム消費量3mg/L以下, 臭気度3以下, 残留塩素0.4mg/L以下で飲用温度が20℃以下の時においしいとしている。表4に、今回測定した項目のうち蒸発残留物, 硬度, 過マンガン酸カリウム消費量の測定結果をこの評価基準に照らし合わせた判定を示した。過マンガン酸カリウム消費量(平成18年度はTOCを測定)についてはすべての名水が評価基準を満たしていたが、5地点の名水が蒸発残留物または硬度について評価基準を満たさなかった。

橋本ら[4]は、おいしい水と健康に良い水のミネラルバランス指標を提唱している。彼らは、水道水, 井戸水, ミネラルウォーター等13検体の無機組成と官能試験の結果より、カルシウムイオン, カリウムイオン及びケイ酸を多く含む水はおいしく、逆にマグネシウムイオン, 硫酸イオンは水をまずくすると結論付け、おいしい水の指標: $O\ Index = (Ca+K+SiO_2) / (Mg+SO_4)$ が2.0以上の水をおいしいと、またカルシウムイオンとナトリウムイオンのバランスより、健康に良い水の指標: $K\ Index = Ca - 0.87Na$ が5.6以上の水を健康であると定義し、両指標の値より水質を4種類に分類した。今回測定した結果よりおいしい水の指標及び健康に良い水の指標を算出し、水質を分類したところ、表4に示す通り、17地点の名水が「おいしく、健康に良い水」、また9地点の名水が「おいしい水」に分類された。厚生省「おいしい水研究会」の評価基準と橋本らのミネラル指標からみた評価の間に関連性はなく、無機成分組成に関連付けて水の「おいしさ」を判定することは難しいが、県内の飲用されている「とやまの名水」はいずれもどちらかの基準は満たしており、おいしい水といえるものと考えられる。

②水質管理目標設定項目及び要検討項目等33項目

水質管理目標設定項目27項目のうち、基準項目と重なる項目および消毒剤による項目を除いた13項目と農薬類9項目、要検討項目40項目のうち3項目、また有機塩素系化合物としてPCB等8項目の計33項目について検査を行った。このうち21項目がいわゆる環境ホルモンと呼ばれる化合物である(表5)。検査の結果、33項目のうち、金属類であるウランが1地点について検出されたが、その他の化合物はすべての検体で検出されなかった。このことから飲用されている「とやまの名水」は理化学的に清浄であるといえる。

考 察

平成15-18年度にかけて、飲用されている「とやまの名水」の水質理化学検査を行なった結果、検査を行なった名水は清浄で、水質は安定しており、かつおいしい水であるといえた。この状態を維持するため、今後も、管理者、市町村、県の3者が協力して「とやまの名水」衛生管理を実施し、名水の飲用が原因となる食中毒や感染症の発生等の事故を防止する必要がある。

謝 辞

水質検査を実施するに当たり、協力いただいた各名水の管理者、市町村、県の関係者の方々に感謝の意を表します。

文 献

1. 富山県厚生部生活衛生課(2007)。「とやまの名水」衛生管理マニュアル(平成19年3月改正)
2. 井山洋子, 高柳信孝, 健名智子, 大浦敏(1989). 富山衛研年報, 12, 170-175.
3. おいしい水研究会(1985). 水道協会雑誌, 54, 76-81.
4. 橋本奨, 藤田正憲, 南純一(1986). 日本水処理生物学会誌, 22, 1-2.

平成18年度富山県内食品衛生（理化学）検査機関の精度管理調査について －寒天中のソルビン酸－

大戸幹也 中山恵理子 齊藤行雄 高柳信孝 松澤孝信

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture - Sorbic Acid in Agar -

Mikiya OHTO, Eriko NAKAYAMA, Yukio SAITO,
Nobutaka TAKAYANAGI and Takanobu MATSUZAWA

本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年度から県内の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的とした精度管理調査を実施している[2-8]。今年度は、寒天中のソルビン酸（SOA）の定量試験について調査を実施した。寒天に SOA を添加した試料を作製後、食品衛生検査機関に配布し、含有量等の報告を求め、当所で測定値を集計して解析と評価を行った。今回この結果について報告する。

調査方法

- (1) 参加機関および実施期間：富山県内の公立食品衛生検査機関5箇所が参加して、平成19年1月22日～2月9日（測定期間：平成19年2月22日～2月2日）に実施した。
- (2) 調査試料および調査項目：寒天中の SOA。
- (3) 調査試料の作製及び保管方法：SOA（和光純薬工業製、特級）1g を正確に量り取り、アセトニトリルに溶解して正確に10mg/mL 溶液を調製した。次に和光純薬工業製の寒天粉末（細菌培地用粉末）7.50g に精製水492.5mL を加え、SOA10mg/mL 溶液を正確に2 mL 添加した。攪拌しながら寒天を徐々に加熱（95℃、1分）して溶解後、加熱を止め、温時5個の配布試料容器（100mL キャップ付きポリプロピレン容器）に各約90g ずつ取り分け、徐々に室温まで冷却して固まるのを待ち、密栓して冷蔵庫（庫内温度10℃）に保管した。なお、試料中の SOA 添加濃度は、調製後の重量が481.0g であったことから0.04158g/kg（0.02g/0.4810kg）とした。
- (4) 調査試料の均一性の確認：無作為に配布試料の10箇所から約2g をそれぞれ採取して精秤し、SOA 含有量を測定した。採取した寒天それぞれに精製水を50g 加えた後、攪拌しながら加熱して検体を溶解後、精製水で100mL に定容した。次にこれらをそれぞれメン

ブランフィルター（ポアサイズ0.45 μm）でろ過後、島津製 SPD-M10AVP フォトダイオードアレイ検出器付の LC10ADVP 高速液体グラフシステムを使用し、SOA 含有量を測定した。

HPLC 測定条件については、分析カラム：野村化学製 Develosil Packed Column ODS-UG-5、内径4.6mm×長さ250mm、粒径5 μm、ガードカラム：Merck 製 LiChrospher100 RP-18、内径4mm×長さ4mm、粒径5 μm、検出波長：200-600nm（D2ランプ）、定量波長：260nm、その他の条件は、松永らの方法[9]に準拠した。

調査試料10箇所の定量値は、0.04093 g/kg から0.04229 g/kg の範囲にあり、その平均と標準偏差は、それぞれ0.04182 ±0.0004581g/kg（変動係数1.095%）であった。なお、最小値と最大値について、有意水準5%で Grubbs の異常値棄却検定を行ったところ、最小値0.04093 g/kg と最大値0.04229 g/kg は、それぞれいずれも外れ値と言えず、配布試料は全て均一と考えられた。

また、10℃で22日間冷蔵保存した後、試料の SOA を測定したところ、濃度変化は見られなかった。

(4) 測定方法及び検査結果の処理：検査機関の SOA 測定方法は、それぞれの機関の検査実施標準作業書（検査 SOP）に従うものとし、各検査機関の評価は、5回併行測定した値及びその検査経過記録書を基に行った。

結果と考察

集計結果を Table 1 に示した。測定機関数は5機関で、測定機関の測定平均値の最大値は0.04136 g/kg、最小値は0.01682 g/kg、その平均値（全機関平均値）±標準偏差（ $\bar{x} \pm SD$ ）は、0.03401 ±0.009917 g/kg であった。最大値と最小値の開きが大きく、また機関

間の変動係数 (CV) も29.16%で10%を大きく超えていた。各機関での併行測定における機関内変動係数は、No.1 機関の 8.54% が他の機関の変動係数 (0.439~2.41%) を大きく上回っていた。なお、定量結果と合わせて提出されたチャート類については、全ての機関の検量線は相関係数が全て0.999以上ではほぼ原点を通る良好な直線性が得られていて良好であり、標準および試験溶液のクロマトグラムの形状も良く、適正に定量処理されていた。次に、各測定機関の測定値を基に \bar{x} -R 管理図[10,11]と Z スコアの順位を作成し、これらをそれぞれ Fig.1-1及び Fig.1-2に示した。管理限界範囲については、 \bar{x} 管理図は、厚生労働省が求めている添加回収率の範囲 (精度管理の一般のガイドライン[12]: 添加回収率70~120%) を基に設定し、R 管理図については、JIS 法に従って作製したところ、 \bar{x} 管理図で No.1 機関の値が下部管理限界値

(LCL) を下回っていることが判明した。他の機関の値は、両管理図ともに全て管理限界範囲内に入りおり問題は無いと考えられたが、No.1機関の検査値は異常の可能性が考えられ、直ちに本結果を連絡して原因調査を行った。

検査担当者の経験年数は1年で、まず検査 SOP の遵守、試薬、標準液、試験溶液の調製方法の確認、機器の作動状況の調査を行ったが、問題は見られなかった。これらを再確認後、SOP どおりに検査を行ったが、定量値に変化は見られず、変動係数も高い傾向のままであった。そこで本検査に習熟した職員立会いの下、前処理を一つ一つ最初から点検し、確認して行ったところ、ようやく幾つかの問題点が見つかった。列挙すると、①ホモジナイザーの激しい回転により容器から試料が飛び散ることを防ぐために、ホモジナイザーの回転数を通常より下げて行っていた。②その動作時

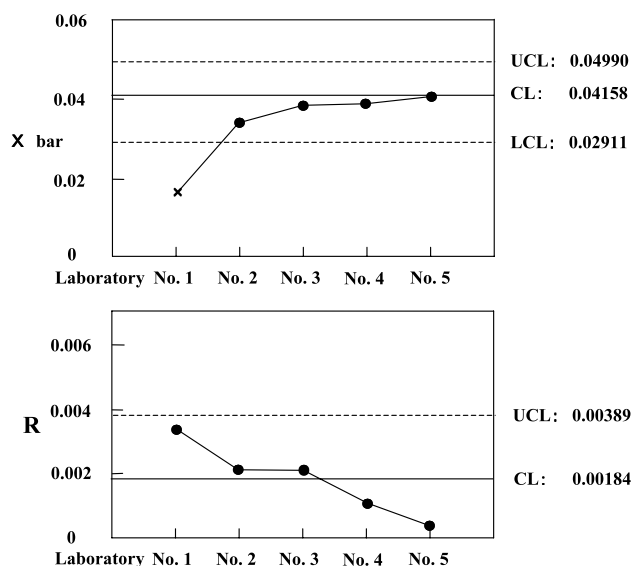


Fig. 1-1. \bar{x} -R Control Chart of SOA

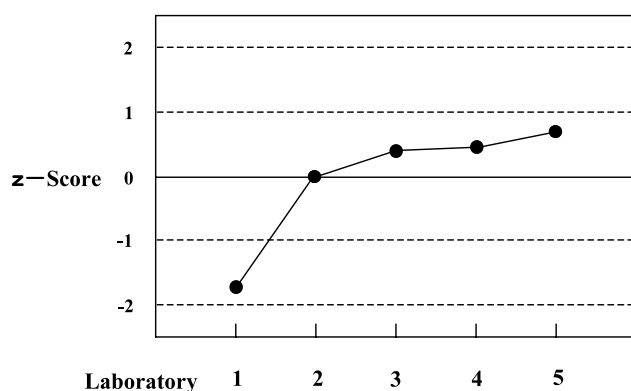


Fig. 1-2. z-Score of SOA

Table 1. Analytical Results of Sorbic Acid (SOA)

Laboratory	Concentration (*, g/kg)	CV (%)	Range (R, g/kg)
No.1	0.01682	8.54	0.0034
No.2	0.03454	2.41	0.0022
No.3	0.03840	2.03	0.0021
No.4	0.03894	1.13	0.0011
No.5	0.04136	0.439	0.0004
Max	0.04136	8.54	0.0034
Min	0.01682	0.439	0.0004
Average	0.03401	2.91	0.00184
SD	0.009917	—	—
CV(%)	29.16	—	—

Table 2. Analytical Results of SOA After Retest

Laboratory	Concentration (*, g/kg)	CV (%)	Range (R, g/kg)
No.1	0.03610	3.21	0.0028
No.2	0.03454	2.41	0.0022
No.3	0.03840	2.03	0.0021
No.4	0.03894	1.13	0.0011
No.5	0.04136	0.439	0.0004
Max	0.04136	3.21	0.0028
Min	0.03454	0.439	0.0004
Average	0.03787	1.84	0.00172
SD	0.002636	—	—
CV(%)	6.96	—	—

間は約20秒程度と短かった。③ホモジナイザーのシャフトに付着した試料を抽出溶媒で十分洗い落とさず、付着分の再抽出が不完全であったことなどである。そこで、次の点に注意し、再度検査を実施した。①ホモジナイズする容器を大きめのサイズに変更して激しく(回転数をこれまでの二倍以上に引き上げ)かつ十分な時間(3分以上)ホモジナイズする。②シャフト付着試料はホモジナイズの度毎に丁寧に抽出溶媒で洗い落としてホモジナイズし、③ホモジナイズ状態を実行中も目視確認を徹底すること等である。その結果、定量値は大きく上昇した。この結果を他の検査機関のデータと合わせて Table2 に示した。測定値は、初回時の二倍以上に増加して0.3610 g/kg になり、変動係数は半分以下の3.21%に減少した。以上のことから、ホモジナイズ処理に問題があったことが判明した。

No.1機関の再試験の最終結果を再集計してその \bar{x} -R管理図を Fig.2-1に、Zスコアを Fig.2-2に示した。全ての検査機関の値が管理限界範囲に入り、全検査機関の管理状態が良好な値となった。

ところで、これらの回収率に影響を及ぼした事項(ホモジナイザー処理の回転数、抽出時間、洗い操作)は、SOPにはホモジナイズ処理をするという記述だけで、ホモジナイズ処理の具体的な説明や指針に関する表記は無かった。通常 SOPには、詳細な事柄まで記載されていない場合が多く、不足事項は検査担当の経験や判断に委ねられており、経験者にとって常識的な事柄などは、省略されていることも多い。検査の経験が浅い場合はどの程度までホモジナイズ処理が必要であるのか等の基準が明確でなく、判断は難しいと考えられた。SOPにもホモジナイズ処理の方法について、ある程度具体的に記載することも必要であると考えられた。

一般に SOA の抽出処理には、水蒸気蒸留法、溶媒抽出法、固相抽出法などが採用されている。No.1機関の用いた前処理 SOP は溶媒抽出法であった。通常添加回収試験は、陰性試料に測定成分を溶液状態で検査直前に添加し、攪拌し、混和する。測定成分が揮発性なら添加溶媒の揮散処理をする場合もあるが、通常は試料に標準溶液添加後攪拌し、すぐ抽出処理に入る。このため測定成分は試料中に混ざり合っているが、一般的には微細な試料の表面に付着し局所的になりがちで、試料の内部全てにまで均一に分布していない場合が多いと考えられる。前処理では検査成分全てを抽出溶媒に溶解移行させることが求められるが、今回の調査試料のように食品製造段階で検査成分を添加して作製している場合は、SOA が試料全体に均一に分布していると考えられ、十分に時間をかけた試料

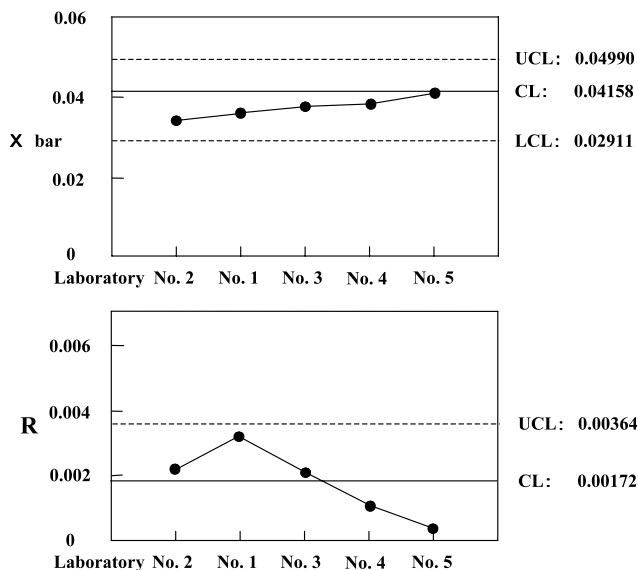


Fig. 2-1. \bar{x} -R Control Chart of SOA after Retest

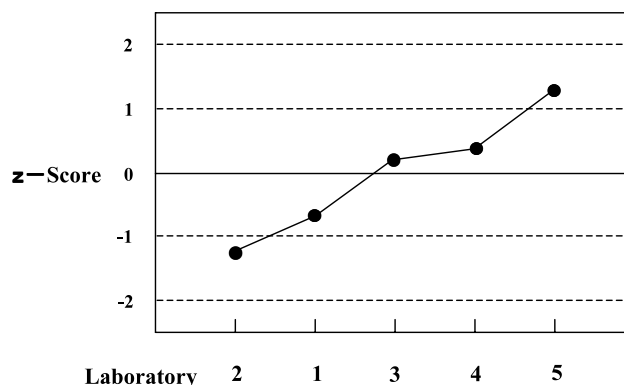


Fig. 2-2. z-Score of SOA after Retest

の磨砕均一化、攪拌、分散処理が必要と考えられる。今回の精度管理試験はこうした理由から通常の添加試験と比較すると、難易度が高いと考えられ、本来の抽出操作の基本を知ることが出来、良い試験検体であると考えられた。

検査 SOP では、検査する度ごとに陰性試料への添加回収試験を義務付け、その回収率は通常70%以上を求めている。今回 No.1機関が検査試料に添加して行った回収試験結果は、検体に1mg/g レベル添加して73%であった(初回検査時)。通常業務のルーチン SOA 検査の回収率と比較すると低い傾向であったが、回収率が70%以上と規定する SOP の場合、回収率に問題は無い。つまり大きな誤差がある検査結果が成績書として発行される危険性も考えられた。検査担当者は、前処理の各過程で注意深い観察を行い、実行した操作でどのような結果が得られたかを検査ごとに自己チェッ

クし、自己研鑽して行く事が重要と考えられた。

今回の精度管理調査のように、食品の製造段階で検査成分を添加する手法によって、日常の検査では見出せない検査上の問題点も指摘できた。検査員の経験が浅い場合、習熟者による補助が必要であることが示された。精度管理調査は、検査室の検査能力の維持、向上のために、重要であると考えられた。

文 献

1. 富山県厚生部長通知，薬食第1,229号．平成10年12月16日
2. 大戸幹也，松永明信，尾崎一郎（2000）.富山衛研年報，23，175-177.
3. 大戸幹也，松永明信，尾崎一郎（2001）.富山衛研年報，24，191-194.
4. 齊藤行雄，大戸幹也，松永明信，尾崎一郎（2002）.富山衛研年報，25，189-193.
5. 大戸幹也，齊藤行雄，松永明信，坂森寛治（2003）.富山衛研年報，26，179-182.
6. 齊藤行雄，大戸幹也，松永明信，坂森寛治（2004）.富山衛研年報，27，163-166.
7. 大戸幹也，齊藤行雄，坂森寛治（2005）. 富山衛研年報，28，177-180.
8. 中山恵理子，大戸幹也，齊藤行雄，松澤孝信（2006）. 富山衛研年報，29，195-197.
9. 松永明信，山本 敦，牧野正雄（1985）. 衛生化学，31，269-273.
10. 日本水道協会(2001). 上水試験法解説編. P19—29.
11. 日本規格協会(1994). JIS Z 9021
12. 厚生省生活衛生局食品保健課長通知，衛食第117号．平成9年4月1日

中国茶葉および紅茶のティーバッグ浸出液中のフッ素濃度

新村哲夫 中崎美峰子 堀井裕子 三井 博 長瀬博文¹ 鏡森定信²

Fluoride Levels in Various Bagged Tea Infusions of Chinese Tea and Black Tea

Tetsuo SHIMMURA, Mineko NAKAZAKI, Yuko Horii, Hiroshi MITSUI,
Hirofumi NAGASE¹, and Sadanobu KAGAMIMORI²

中国内モンゴル自治区の飲料水中フッ素濃度が高い草原地域において、骨吸収の亢進がみられることを報告した[1, 2]. さらに、同地域で常飲されているタン茶浸出液のフッ素濃度は高く、お茶飲料によるフッ素摂取量を考慮する必要を報告した[2, 3]. 日本では、清涼飲料水としてお茶飲料が数多く市販されており、またインターネットによって中国の茶葉を容易に購入することができることから、日本のお茶飲料および中国茶葉浸出液中のフッ素濃度について調査を行い報告した[4]. 今回、ティーバッグとして市販されている中国茶葉および紅茶について調査を行い、これまで報告した茶葉飲料より高い濃度を検出したので報告する。

材料および方法：調査対象とした中国茶葉は、先にインターネットを通じて入手できた28検体[4]、お土産として輸入されたもの16検体、富山県内で市販されていたもの6検体の、製造者や種類が異なる合計50検体を収集した。種類別に表1に掲げた。内訳は、緑茶6、白茶1、黄茶2、青茶（烏龍茶）14、中国紅茶9、黒茶（プーアール茶を含む）14、ジャスミン茶3、その他1である。そのうち、12検体がティーバッグ入りであった。

紅茶ティーバッグは、中国製以外の4社、10種類15検体を収集した。そのうち5銘柄については茶葉のものも入手した。それらを表2に示した。

浸出液の作製は、先に報告したように[4]、茶葉やティーバッグに添付されている説明書の方法に従い、70~100℃の蒸留水を用いて中国茶葉および紅茶ティーバッグから浸出液を作製した。

フッ素の測定は、イオンメーターオリオン社製920 A+型を使用した。浸出液を測定試料とした。イオン強度調整剤 TISAB III (Thermo 社製) を5倍に希釈し、試料に等量加えて測定した。精度管理には NIST 2671a の Fluoride in Freeze-Dried Urine を用いた

[4, 5].

結果および考察：中国茶葉および紅茶ティーバッグからの浸出液中のフッ素濃度について、種類別に図1に示した。図中で黒く塗りつぶされているものが、ティーバッグ入りのものである。中国茶葉についてみると、青茶（烏龍茶）は平均1.23mg/L（範囲0.61~2.56 mg/L）であり、中国紅茶は1.18mg/L（0.53~2.12 mg/L）、ジャスミン茶は1.17 mg/L（0.89~1.71 mg/L）と高かった。タン茶と同じ種類とされている黒茶は0.93 mg/L（0.39~2.25 mg/L）であり、緑茶は0.86 mg/L（0.43~1.49 mg/L）であった。青茶（烏龍茶）、中国紅茶、黒茶に高いものがみられた。図1に示したように、収集した中国茶葉のうち、ティーバッグタイプの浸出液中フッ素濃度は平均1.51mg/L（12検体）であり、茶葉を浸出したもの（平均0.91 mg/L, 38検体）に比べて有意に高かった（ $p < 0.001$ ）。

ティーバッグタイプの中国茶葉浸出液が高いフッ素濃度を示したことから、中国製以外の紅茶ティーバッグ浸出液のフッ素濃度について調査を行った。中国製以外の紅茶ティーバッグ浸出液のフッ素濃度は、平均2.31mg/L（範囲0.99~4.17 mg/L）と高値を示した。中国茶葉は、何度も煎じて飲用されることから、2回目の浸出液について測定を行い、1回目の浸出液と比較したところ、黒茶では10%、青茶（烏龍茶）、中国紅茶で20%、緑茶で30%しかフッ素濃度が減少しなかった（図2）。しかし、この紅茶ティーバッグの2回目浸出液については、60%フッ素濃度が減少した（図2）。

紅茶ティーバッグタイプの浸出液フッ素濃度が、茶葉を浸出したものよりも高いのではないかと考え、同じメーカーの同一銘柄の紅茶茶葉を求め、同じように浸出し比較を行った。2社5銘柄の紅茶茶葉およびティーバッグを収集し、各々2gを取り100℃の100mlで1分間浸出した後フッ素濃度を測定した。その結果、いず

1. 兼高岡厚生センター射水支所 2. 富山大学大学院医学薬学研究所

表1 収集した中国茶葉の品名および生産地

緑茶 6 検体
 明前黄色毛峰・雀舌 (安徽省) 六安瓜片 (安徽省) 明前太湖碧螺春 (江蘇省) 明前西湖龍井 (浙江省) 八馬龍井 (浙江省) **龍井茶 (バッグ)**
 白茶 1 検体
 白牡丹 (福建省)
 黄茶 2 検体
 君山銀針 (湖南省) 霍山黄芽 (安徽省)
 青茶 (烏龍茶) 14 検体
 黄金桂 (福建省) 安溪鉄観音 (福建省) 武夷岩茶大紅包 (福建省) 岩茶肉桂 (福建省) 岩茶水仙 (福建省) 凍頂烏龍茶 (台湾) 鉄観音, 鉄観音 (福建省) 烏龍茶, 烏龍茶 (広東省) **鉄観音 (バッグ)** **烏龍茶 (バッグ)** **紅烏龍茶 (バッグ)** **紅烏龍茶 (バッグ)**
 中国紅茶 9 検体
 祁門紅茶 (安徽省) 九曲紅梅 (浙江省) 雲南紅茶 (雲南省) 英徳紅茶 (広東省) 正山小種 (福建省) デン紅沱茶 (雲南省) **ライチ紅茶 (バッグ)** **祁門紅茶, 祁門紅茶 (バッグ)**
 黒茶 14 検体
 熟茶 (雲南省) 緑印小沱茶 (雲南省) 竹筒茶 (雲南省) 沱茶 (雲南省) 宮廷プーアール茶 (雲南省) 不知年プーアール (雲南省) 陳年プーアール (雲南省) 特急プーアール (雲南省) 千両茶 (湖南省) プーアール茶, プーアール茶, プーアール茶 (雲南省) **プーアール茶, プーアール茶 (バッグ)**
 ジャスミン茶 3 検体
 茉莉花茶, 茉莉花茶, **茉莉花茶 (バッグ)**
 その他 1 検体
上海康茶 (バッグ)

注：ティーバッグ入りをゴシックで示す

表2 収集した紅茶ティーバッグの品名

中国産以外の紅茶バッグ 15 検体
 日東紅茶, Lipton (イエローラベル, ダージリン, アールグレイ) TWININGS (ゴールドアッサム, セイロンオレンジペコ, ダージリン, プリンスオブウェルズ, アールグレイ) SAARA (アールグレイ, セイロンウバ, アッサム, ダージリン, ニルギリ)

れもティーバッグタイプのフッ素濃度が高く、茶葉で販売されているものに比べて2から2.5倍の高濃度を示すものがみられた (図3)。

なぜ、茶葉浸出液中のフッ素濃度が高いのであろうか。それは、さきに報告したように茶が (草木として)

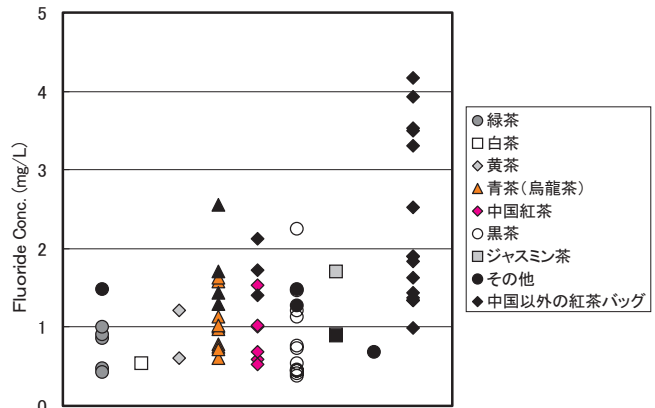


図1 中国茶葉および紅茶ティーバッグ浸出液中のフッ素濃度測定結果
 ティーバッグ入りのものを黒く塗りつぶす

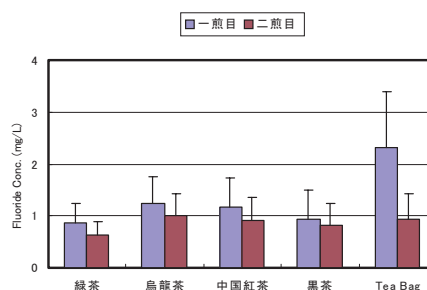


図2 中国茶葉および紅茶ティーバッグ浸出回数別フッ素濃度 (平均値, 標準偏差)
 Tea Bag: 中国以外の紅茶バッグ

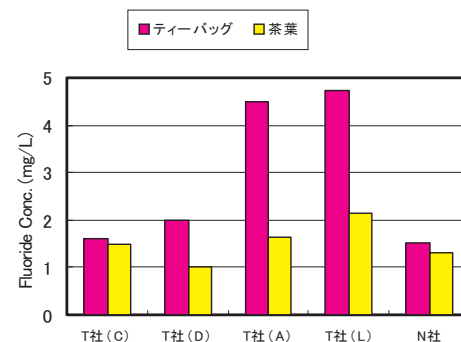


図3 中国以外の同一銘柄の紅茶ティーバッグと茶葉の浸出液の比較
 茶葉 2g を沸騰した蒸留水 100ml で 1 分間浸出した場合

属する椿科 (椿, サザンカなど) の植物はフッ素含有量が多いためと考えられる[6]. 植物のフッ素含有量は、土壌・肥料・気候・品種・時期などによって変わるが、茶の葉に多い、しかも若葉より古葉に多いことは事実のようである[6]. 中国茶葉のなかでは、日本であまり作製されていない、半発酵の総称である青茶 (烏龍茶が属す) や完全発酵茶である紅茶、後発酵茶の総称でプーアール茶やタン茶が属す黒茶の、3種類の浸出液にフッ素濃度が高いものがみられた。タン茶などが高濃度のフッ素を含有する理由として、生産地

である湖南省や湖北省の土壤中のフッ素濃度の影響や、発酵させた茶葉をレンガのように固めるために使用する石炭中のフッ素濃度が影響していることも推測されるが、使用する茶葉として成熟した古葉を用いるためではないかと考えられる。中国の研究者によると、茶木の一番先端にある芽や葉を使った高級な茶葉製品のフッ素含有量は低い、茶木の下部の古葉を使った品質の悪い製品のフッ素含有量は高いことが報告されている[7]。今回、測定した紅茶ティーバッグの浸出液が茶葉のものより高フッ素濃度であったということは、品質の悪いものが使われている可能性とともに、茶成分が浸出されやすいように細かくするなどの処理がされているためとも考えられる。

茶葉にフッ素が多く含まれることはよく知られていることであったが、我々が飲料水やタン茶中のフッ素による骨吸収の亢進を報告した後に、中国の研究者により骨フッ素症の主な曝露源としてタン茶が疑われるとの報告がなされている[8]。米国においては、インスタントお茶飲料（紅茶飲料）が原因と思われる骨疾患が報告されお茶飲料のフッ素濃度が注目されるようになった[9]。最近の報告では、中国茶葉の浸出液や[7]、ボトル詰の紅茶飲料および紅茶茶葉浸出液について、我々が報告した値と同レベルか高いフッ素濃度が報告されている[9,10]。

今回測定した中国茶葉浸出液や紅茶ティーバッグ浸出液から、飲料水の基準（0.8 mg/L）を超えるフッ素濃度が、中国茶葉で6割、紅茶ティーバッグの全てから検出された。先に骨吸収の亢進がみられた中国内モンゴル地域で常飲されているタン茶浸出液のように、ミネラルウォーターのフッ素基準（2.0 mg/L）を超えるものが、中国茶葉で3検体、紅茶ティーバッグで5検体みられた。今回の調査から、日本においても中国茶葉や紅茶ティーバッグの使用により高フッ素濃度の浸出液を喫する恐れがあることが示された。高フッ素濃度のお茶飲料の健康影響については明らかでなく、

これまで検討されてこなかった骨吸収への影響に関する疫学的調査研究が必要である。

謝辞：本研究の一部は文部科学省科学研究補助金基盤研究B18406024の補助を受け行った。

文 献

1. 新村哲夫, 西野治身, 田中朋子, 中崎美峰子, 伊木雅之, 梶田悦子, 劉 仲玉, 張 淼, 鏡森定信, 畢 力夫 (2000). 富山衛研年報, 23, 184-186.
2. 新村哲夫, 張 淼, 西野治身, 中崎美峰子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 畢 力夫, 梶田悦子, 江藤真紀, 賈 光, 王 紅兵, 鏡森定信 (2004). 富山衛研年報, 27, 142 -148.
3. 新村哲夫, 張 淼, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 西野治身, 梶田悦子, 江藤真紀, 王 紅兵, 鏡森定信, 畢 力夫 (2003). 富山衛研年報, 26, 136 -139.
4. 新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 鏡森定信 (2006). 富山衛研年報, 29, 152 -156.
5. 日本薬学会編, 衛生試験法注解1995追補版 (1995), 71-73, 588-589.
6. 松浦新之助, 国分信英著, フッ素の研究—自然界における分布とその役割— (1972), 東京大学出版会, 東京.
7. Cao, J., Zhao, Y., Li, Y., Deng, H.J., Yi, J. and Liu, JW. (2006), Food and Chemical Toxicology 44, 1131-1137.
8. Cao, J., Zhao, Y., Liu, JW., Xirao, R., Danzeng, S., Daji, D. and Yan, Y. (2003), Food and Chemical Toxicology 41, 535-542.
9. Whyte, MP., Essmyer K., Gannon, FH. And Reinus WR. (2005), Am J Med 118, 78-82.
10. Whyte, MP (2006), Am J Med 119, 189-190.

アディポネクチン多量体測定の意味

田中朋子 堀井裕子 長瀬博文

Meaning of Multimetric Complexes in Adiponectin Measurement

Tomoko TANAKA, Yuko HORII and Hirofumi NAGASE

いわゆる善玉アディポサイトカインとされるアディポネクチンは脂肪細胞由来の生理活性物質であり抗動脈硬化作用やインスリン感受性改善作用等が知られている。アディポネクチンの構造は約240個のアミノ酸で構成されるたんぱく質が重合し3量体を形成し、さらに血中では12~18量体の高分子分画とそれ以下の低分子分画の数種類の多量体構造をとっていることが知られていた[1]。近年、そのうち高分子分画のアディポネクチンが生理活性を有すること、高分子分画の割合が重要であることが報告され[2, 3]、分画可能なキットが販売されている。そこで、高分子分画のアディポネクチン測定の有用性を従来法と併せて検討した。

対象および方法：県内の1企業従業員でインフォームドコンセントの得られた男性27名を対象とし、BMI、体脂肪率および生化学指標とアディポネクチン値との関連を検討した。採血は空腹時に実施し、生化学項目は当日測定し、アディポネクチンは測定まで-80℃で保存した。生化学項目は、脂質として総コレステロール、HDLコレステロール、LDLコレステロールを測定し、動脈硬化指数{AI：(総コレステロール-HDLコレステロール)÷HDLコレステロール}を求めた。糖代謝関連項目として、血糖、インスリンを測定しHOMA指数(インスリン×血糖÷405)を求めた。従来法として総アディポネクチン量のみを測定するアディポネクチン値をO-Adnとし、今回検討に用いた多量体アディポネクチン分画キットの総アディポネクチン値をT-Adn、12~18量体分画をH-Adn、その比をH/Tとした。

結果および考察：身体状況、各アディポネクチン値を表1, 2に示す。

T-AdnはO-Adnより低値を示した(p<0.001)。しかし、両キット間には良好な相関が認められた(図1, r=0.947)。

身体状況と各アディポネクチン値の関連を表3に示した。各指標とも体脂肪率と負の傾向を示し、BMI

とは有意な負の相関を示した。

次に、生化学指標との関連をみたところ(表4)、脂質ではT-AdnはHDLコレステロールと正の傾向、AIと負の傾向が認められた。また、インスリンとは、O-Adn, T-Adn, H-Adnともに負の傾向が認められ、H/Tは有意な負の相関を示した。さらに、H/TはHOMA指数とも負の傾向を示した。

これらのことから、多量体分画法による総アディポネクチン値は従来法と良好な相関を示し、脂質との関連が示された。多量体アディポネクチン値はBMI、体脂肪率と負の関連を示し、特に、分画比H/Tはインスリン値と有意な負の相関を示した。これらのことから生理活性を有するとされる多量体の測定は意義があるものと考えられた。

朝山らはH-Adnは内臓脂肪面積と有意な相関を認めたとしている[4]。今回我々は内臓脂肪量の測定やその指標として提唱されているウェストの測定を実施していない。そのため多量体の有用性の一部しか活用できなかったのではないかと考えられる。今後、ウェストの測定実施とあわせて更に検討したいと考えている。

文 献

1. 木原進士(2007). *BIO Clinica*, 17, 134-137.
2. Kobayashi, H (2004). *Circ. Res*, 94, 27-31.
3. Pajvani, UB., Hawkins, M., Combs, TP. (2004). *J Biol Chem*, 279, 12152-12162.
4. 朝山光太郎, 荒木俊介, 土橋一重 (2006). *予防医学*, 48, 101-105.

表1 対象者の身体状況 (n=27)

	Mean	S.D.	Max	Min
年齢	44.6	8.79	60	30
BMI	26.4	2.66	32.4	21.7
体脂肪率(%)	26.5	4.2	33.5	19.1

表2 対象者のアディポネクチン

	Mean	S.D.	Max	Min
O-Adn(μg/ml)	5.7	1.82	11.5	2.6
T-Adn(μg/ml)	4.8	1.62	9.2	2.1
H-Adn(μg/ml)	1.7	0.97	5.1	0.31
H/T	0.34	0.085	0.559	0.148

表3 身体状況との相関係数

	O-Adn	T-Adn	H-Adn	H/T
BMI	-0.410*	-0.391*	-0.365◇	-0.415*
体脂肪率(足)	-0.356◇	-0.335◇	-0.332◇	-0.377◇

*:p<0.05, ◇:p<0.1

表4 生化学指標との相関係数

	O-Adn	T-Adn	H-Adn	H/T
Tchol	-0.041	-0.027	-0.076	0.066
HDLchol	0.247	0.337◇	0.259	0.218
LDLchol	-0.051	-0.069	-0.086	-0.042
AI	-0.299	-0.349◇	-0.318	-0.202
Glu	0.141	0.209	0.229	0.124
インスリン	-0.329◇	-0.333◇	-0.335◇	-0.350*
HOMA指数	-0.260	-0.242	-0.246	-0.350◇

*:p<0.05, ◇:p<0.1

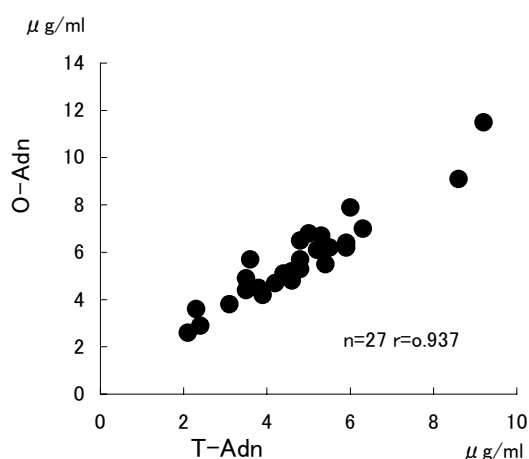


図1. 総アディポネクチン値と従来法の比較

4. 業

績

(1) 誌 上 発 表

[原 著]

1) 酵素サイクリング法による血液ろ紙中ガラクトースの測定残液を利用する遊離カルニチン及び総アシルカルニチンの同時分析法

米田 豊, 九曜雅子

日本マス・スクリーニング学会誌, 16(1), 57 - 63, 2006

ガラクトース血症マス・スクリーニングにおいて、酵素サイクリング法によりガラクトースの定量を行った直後のマイクロプレートセルに、carnitine dehydrogenase (CDH), 更に acylcarnitine esterase (ACE)を添加し、それぞれ一定時間反応後の蛍光を測定することで、遊離カルニチン及び総アシルカルニチンを定量する方法を検討した。本法はマイクロプレートリーダーを用いる簡便で、安価なカルニチン定量法であり、血中カルニチン値が低下する carnitinetransporter 異常症や carnitine palmitoiltransferase II (CPT-II)欠損症、及びカルニチン値が上昇する carnitine palmitoiltransferase I (CPT-I)欠損症のスクリーニング検査法としての利用が考えられる。なお、一般新生児の血液ろ紙2018検体について、カルニチン標準ろ紙血液を基準に本法を適用した場合の遊離カルニチン、総アシルカルニチン及び総カルニチン定量値の平均及び標準偏差は順に $27.4 \pm 8.1 \text{ nmol/ml}$, $24.2 \pm 6.8 \text{ nmol/ml}$ 及び $51.6 \pm 12.9 \text{ nmol/ml}$ であった。

2) 富山県内河川のウイルス汚染に関する定点観測

岩井雅恵, 吉田 弘*, 松浦久美子*

日本公衆衛生学雑誌, 54(3), 178-189, 2007

河川のウイルス汚染の経年変化を把握し、水系感染症の流行予測、および予防に役立てることを目的に、富山県内3河川のウイルス調査を1979年から2003年の間に4回にわたり実施したところ、以下の結果を得た。「いたち川」の4回にわたる調査で、ポリオウイルス、ヒトエンテロウイルス B 群 (HEV-B), レオウイルス等、多種類の腸管系ウイルスが分離された。ポリオウイルスは、乳幼児への生ワクチン投与時期に検出されたため、ワクチン由来株であると推測された。第3, 4回調査で分離された株の VP3-VP1領域480塩基あるいは474塩基は、ワクチン株と0~2塩基のみの違いであった。ポリオウイルスの検出頻度は、第3回以降、有意に低下した ($P < 0.001$)。これは、乳幼児の紙おむつ使用量が上昇した時期と一致した。HEV-Bは、年ごとに様々な型が検出され、その時期のヒトの臨床分離株と一致する株が多数存在した。レオウイルスは、第1, 2回では年間を通して頻繁に検出されたが、第3, 4回では春期から夏期の検出頻度が低下した。2002年から2003年の河川水のポリオウイルスおよびレオウイルスの汚染度は1979年から1981年の汚染度よりも低くなったのは、下水道の整備や、乳幼児の紙おむつ使用率の上昇等、生活様式が変化したことによると推測される。HEV-Bの検出頻度に大きな変化が認められず、種類が年ごとに様々であったのは、地域の HEV-B 流行状況を反映するためと考えられた。このように、河川のウイルス汚染度は総じて低くなった。しかしながら、いまだ河川は多種類のウイルスに汚染されているため、水系感染症の発生要因となる可能性がある。

3) Molecular epidemiology of echoviruses 11 and 13, based on an environmental surveillance conducted in toyama prefecture, 2002-2003

平成19年12月1日

Masae Iwai, Hiromu Yoshida*, Kumiko Matsuura*, Tsuguto Fujimoto*, Hiroyuki Shimizu*, Takenori Takizawa, Yoshiyuki Nagai*

Applied and Environmental Microbiology. 72, 6381-6387, 2006

Nineteen echovirus 11 (E11) and 12 E13 isolates were isolated from three rivers in Toyama Prefecture, Japan, during an environmental surveillance conducted from April 2002 to March 2003. The nucleotide sequences of E13 isolates were closely related to those from patients with aseptic meningitis, with less than 1.3% divergence in the VP1 region of the viral capsid gene, and belonged to the same clade responsible for a worldwide outbreak that started in 2000. In contrast, E11 isolates were clustered into three genomic groups and were not closely related to echovirus strains isolated from patients. These results suggest that the combination of both virus isolation from environmental sources and phylogenetic analysis could be complementary assessment approaches to trace prevalent and minor circulating enteroviruses in the human population.

4) Assessment of efficacy of a live oral poliovirus vaccine for virulent Sabin-like poliovirus 1 strains in Japan

Masae Iwai, Takashi Nakayama*, Kumiko Matsuura*, Sumiyo Hasegawa, Shuji Ando*, Mayumi Obara, Yoshiyuki Nagai*, Hiromu Yoshida*, Hitoshi Horie*

Acta virologica, 50, 139-143, 2006

Virulent Sabin-like poliovirus (VSLP) was isolated from river and sewage waters between October 1993 and September 1995 in Toyama Prefecture, Japan. In this study, to assess the possibility of an epidemic of poliomyelitis caused by a VSLP in Japan under the current vaccination policy of administration of live attenuated oral poliovirus vaccine (OPV), we determined titers of serum neutralizing antibodies to poliovirus 1 (PV-1) strains Sabin (vaccine strain), Mahoney (wildtype strain) and G4-12 (VSLP) in various groups of residents of Toyama Prefecture, Japan. The seropositivity and geometric mean neutralizing antibody titers against these strains in the individuals who obtained two doses of OPV were 99.1%, 94.5% and 95.5%, respectively, and 564, 186 and 194, respectively. Although the antibody titers to G4-12 were lower compared with those to Sabin, these results indicate that the OPV vaccination policy in Japan has been effective in preventing poliomyelitis caused by VSLPs. These results also suggest that (i) an epidemic of poliomyelitis caused by a VSLP has not occurred in Japan due to herd immunity, and (ii) the possibility of reemergence of VSLPs will be prevented if sufficient herd immunity is acquired immediately after completion of the OPV vaccination in accordance with the poliomyelitis eradication program.

5) Evidence for phagocytosis of influenza virus-infected, apoptotic cells by neutrophils and macrophages in mice.

Yumi Hashimoto*, Takeshi Moki*, Takenori Takizawa, Akiko Shiratsuchi*, Yoshinobu Nakanishi*

Journal of Immunology, 178, 2448-2457, 2007.

Influenza virus-infected cells undergo apoptosis and become susceptible to phagocytosis by macrophages in vitro, and this leads to the propagation of the virus being inhibited. We previously showed that inhibitors of phagocytosis increased the rate of mortality among influenza virus-infected mice. However, the mode of the phagocytosis of influenza virus-infected cells in vivo has not been investigated. We, in this study, assessed this issue by histochemically analyzing bronchoalveolar lavage cells and lung tissue obtained from C57BL/6 mice infected with influenza A/WSN (H1N1) virus. Both neutrophils and macrophages accumulated in the lung soon after the viral challenge, and either type of cell was capable of phagocytosing influenza virus-infected, apoptotic

cells. Changes in the level of phagocytosis and the amount of virus in lung tissue roughly correlated with each other. Furthermore, alveolar macrophages prepared from influenza virus-infected mice showed greater phagocytic activity than those from uninfected mice. The phagocytic activity of macrophages was stimulated in vitro by a heat-labile substance(s) released from influenza virus-infected cells undergoing apoptosis. These results suggested that the level of phagocytosis is augmented both quantitatively and qualitatively in the lung of influenza virus-infected animals so that infected cells are effectively eliminated. Finally, lack of TLR4 caused an increase in the rate of mortality among influenza virus-challenged mice and a decrease in the level of phagocytosis of apoptotic cells in the lung. TLR4 could thus play an important role in the host defense against influenza by positively regulating the phagocytic elimination of infected cells.

6) 集団感染2事例を含む腸管出血性大腸菌 O157の発生状況—富山県

木全恵子, 磯部順子, 綿引正則, 倉田毅, 尾崎博子*, 大江浩*, 松下敏昭*, 横山浩二*

病原微生物検出情報, 27 (6), 144, 2006

2005年の富山県における腸管出血性大腸菌感染症患者は78名であり, このうち O157による感染例は74例であった. この74例のうち, 集団感染事例(家族内感染事例も含む)は8事例(63名)で, 散発事例は11事例(11名)であった. このうち2つの集団発生事例について報告する.

7) Epidemiology and molecular analysis of group A streptococci from patients involved in food-borne disease outbreaks in Japan between 1996 and 2003

Daisuke Tanaka*, Tomoko Shima, Junko Isobe, Masanori Watahiki, Masakado Matsumoto*, Miyoko Endoh*, Rumi Okuno*, Kikuyo Ogata* and Yoshiyuki Nagai*

Jpn.J.Infect.Dis., 59, 202, 2006.

We performed T serotyping, emm typing, and MLST for 16 group A streptococcus (GAS) isolates from seven food-borne outbreaks in Japan during 1996-2003. Five T/emm types were detected and two types of them matched the types from two independent food-borne outbreaks. These results suggest that the presumed source of food contamination was not restricted to the food handler who had pharyngitis or hand wounds. Close relations between emm type and MLST was observed over a long period and/or from different places. Finally, one new sequence type (ST405) of MLST would result in useful comparative data on the epidemiological research of food-borne streptococcal pharyngitis.

8) Genotyping of clostridium perfringens isolates collected from food poisoning outbreaks and healthy individuals in japan based on the cpe locus

Daisuke Tanaka*, Keiko Kimata, Miwako Shimizu, Junko Isobe, Masanori Watahiki, Tadahiro Karasawa*, Takayoshi Yamagishi*, Sanae Kuramoto*, Toshihiko Serikawa*, Fubito Ishiguro*, Makiko Yamada*, Kazukiyo Yamaoka*, Mitsuo Tokoro*, Toshio Fukao*, Masakado Matsumoto*, Reiji Hiramatsu*, Chie Monma* and Yoshiyuki Nagai*

Jpn.J.Infect.Dis., 60, 68, 2007

Clostridium perfringens type A isolates carrying the enterotoxin gene (*cpe*) are responsible for both food poisoning and non-foodborne human diseases. Food poisoning isolates are generally found to carry *cpe* gene on a chromosome, while non-foodborne isolates were shown the gene on a plasmid. We performed multiplex PCR *cpe* genotyping developed by Miyamoto et al, for clarifying the epidemiology of *cpe* locus with a linkage of IS sequences. Thirty-one isolates from food poisoning outbreaks were typing by the method: 15 isolates from eight outbreaks carried the chromosomal *cpe* gene, 10 isolates from four outbreaks carried the plasmid *cpe* gene. In conclusion, *C.perfringens* food poisoning outbreaks may frequently be caused by plasmid *cpe* gene isolates.

9) Chiral resolution of monosaccharides as 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone derivatives by ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion of the chiral selector

Shuji Kodama, Sen-ichi Aizawa*, Atsushi Taga*, Atsushi Yamamoto*

Electrophoresis, 27, 4370-4734, 2006.

Six reducing monosaccharides (mannose, galactose, fucose, glucose, xylose, and arabinose) were derivatized with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) and chiral resolution of these racemic PMP-monosaccharides was studied by ligand exchange capillary electrophoresis (CE) using borate anion as a central ion of the chiral selector and (S)-3-amino-1,2-propanediol (SAP) as a chiral selector ligand. PMP-mannose, PMP-galactose and PMP-fucose were successfully enantioseparated. Lowering the capillary temperature increased the resolution of PMP-mannose system, but decreased that of PMP-galactose and PMP-fucose systems. Whereas the maximum resolution was obtained at pH 8.9 in the PMP-mannose system, resolution increased gradually with pH in the PMP-galactose and PMP-fucose systems. Expecting the formation of the ternary borate complexes with SAP and PMP-monosaccharide in the CE experiments, the optimized structures of the borate diastereomers were obtained by semiempirical molecular orbital calculations to discuss the structural difference of the diastereomers in connection with the enantioseparation behaviors.

10) Determination of dieldrin in wool products by gas chromatography with microwave-assisted extraction

Mikiya Ohto, Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Yukio Saito

J. Sep. Sci., 29, 2759-2764, 2006.

Dieldrin is a moth-proofing agent that was banned by the Stockholm Convention in 2001. The amount of dieldrin in wool products was measured by a microwave-assisted extraction (MAE) method. The optimal conditions were as follows: extraction solvent, acetone/n-hexane (1:1 v/v); extraction temperature, 110 ° C; extraction time, 10 min; solvent volume, 25 mL. When six samples were used, dieldrin contents determined by GC with the proposed MAE agreed closely with those by the Japanese official method using GC with solvent extraction and cleanup by column chromatography. The proposed MAE has two merits. First, the pretreatment of the MAE needs only 4 h for 11 samples, while that using the Japanese official method needs 2 days for six samples. Second, the volume of organic solvents used for the proposed method was only about one-tenth of that used in the Japanese official method. Our proposed method seems to be easy and useful for dairy (routine) tests. Dieldrin contents of 28 used wool products, which were obtained from local clothing shops and ordinary homes, were determined by GC with the proposed MAE, and six products contained dieldrin (0.310-175 ppm). The dry cleaning of the woolen yarn containing 175 ppm dieldrin did not remove a significant amount of dieldrin. Therefore, it seems likely that dieldrin is still distributed slightly but widely throughout the world.

11) Permeation flux of organic molecules through silica-surfactant nanochannels in a porous alumina membrane

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Sumiyo Hasegawa, Nobutaka Takayanagi, Tomoko Kemmei, Akira Yamaguchi*, Norio Teramae*, Yukio Saito

Anal. Sci., 22, 1495-1500, 2006.

The permeation fluxes of phenol, benzene sulfonate (BS) and benzene disulfonate (BDS) through a porous anodic alumina membrane with the perpendicularly oriented silica-surfactant nanochannel assembly membrane (NAM) were measured in water-ethanol mixture media. The permeation flux depended on solute charges and on solvent composition. As the ethanol ratio increased, the fluxes of BS and BDS increased and the flux of phenol decreased. The results of extraction/elution experiments also depended on the solute charges and the solvent composition. Chromatographic experiments in n-hexane showed that dipole and hydrophobic interactions affect the retention of solutes. Permeation of the solute across the NAM in water-ethanol mixture is likely to be determined by various factors such as dipole interaction, hydrophobic interaction, solvation, and anion-exchange efficiencies.

12) Use of porous anodic alumina membranes as a nanometer-diameter column for high performance liquid chromatography

Tomohisa Yamashita, Shuji Kodama, Mikiya Ohto, Eriko Nakayama, Nobutaka Takayanagi, Tomoko Kemmei, Akira Yamaguchi*, Norio Teramae*, Yukio Saito

Chem. Commun., 1160-1162, 2006.

平成19年12月1日

The possibility of using porous anodic alumina membranes as a column for normal-phase high performance liquid chromatography was evaluated using phenol and toluene with mobile phases having different solvent compositions.

13) Determination of low-level ethylenediaminetetraacetic acid in water samples by ion chromatography with ultraviolet detection

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa*

Chromatographia, 65, 229-232, 2007.

A convenient and sensitive ion chromatographic (IC) method for the analysis of ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) in water samples was proposed. Using a fast reversible reaction of free EDTA and metal-EDTA complexes into Fe(III)-EDTA complex in the presence of Fe(III) ions, sample solutions were applied to an ion-exchange column using a mobile phase (pH 2.3), which was composed of 100 mM Fe(III) chloride and 5 mM methanesulfonic acid. The addition of Fe(III) solution (100 mL) containing 10 mM Fe(III) chloride and 0.5 M methanesulfonic acid to the sample solution (10 mL) permitted the injection of a large volume (400 mL) of sample, which allowed for greater sensitivity. The proposed IC method gave a highly linear ($r^2 > 0.999$) calibration curve ranging 0.005-1.0 mM EDTA and had a limit of detection of 1.5 nM. High repeatability (RSD < 2.1%) and recoveries (88-108%) were also obtained. With this method, total EDTA level in raw and drinking waters were analyzed successfully.

14) Specific separation of polar analyte on a polar column by gas chromatography with carrier gas containing vaporous modifiers

Hiroshi Ito*, Takashi Sugiura*, Hidenori Nagai*, Atsushi Murase*, Shuji Kodama, Yoshinori Inoue*, Atsushi Yamamoto*, Kazuichi Hayakawa*

Chromatography, 28, 25-28, 2007.

We have developed a novel generator that constantly introduces a vaporous modifier into the inert carrier gas. The effect of different modifiers on the retention times of analytes using a medium polar stationary phase and the generator was studied. When using formic acid as a modifier, the line of the van't Hoff plot of acetic acid was convexly curved. The inflection point was in the range of 100 to 120°C, which corresponds to the boiling point of formic acid under pressurized conditions. The inflection point was found to be related to the association of formic acid.

15) Extraction mechanisms of charged organic dye molecules into silica-surfactant nanochannels in a porous alumina membrane

Akira Yamaguchi*, Jun Watanabe*, Mekawy M. Mahmoud*, Rise Fujiwara*, Kotaro Morita*, Tomohisa Yamashita, Yosuke Amino*, Yong Chen*, Logudurai Radhakrishnan*, Norio Teramae*

Anal. Chim. Acta, 556, 157-163, 2006

Extraction mechanisms of charged organic dye molecules are examined for an assembly of silica-surfactant nanochannels with a channel diameter of 3.4 nm, which is formed inside the pores of an anodic alumina membrane by a surfactant-template method. Experimental results confirm that the extraction mechanism depends on the sign of a charge of the dye molecules. The extraction of the cationic rhodamine 6G is predominantly caused by an ion-pair extraction process, whereas an anion-exchange process is mainly responsible for the extraction of the anionic sulforhodamine B. These extraction mechanisms are discussed by considering the microstructures of the silica-surfactant nanochannels.

16) Local environments of coumarin dyes within mesostructured silica-surfactant nanocomposites

Akira Yamaguchi*, Yosuke Amino*, Tomohisa Yamashita, Kentaro Shima*, Shintaro Suzuki*, Norio Teramae*

J. Phys. Chem. B, 110, 3910-3916, 2006

The local environments surrounding dye molecules were studied with use of coumarin dyes in a mesostructured silica-surfactant nanocomposite, which was formed in a porous alumina membrane by a surfactant-templated method and has an average pore diameter of 3.4 nm. Coumarin dyes, such as coumarin 480 (C480), coumarin 343 (C343), and propylamide coumarin 343 (PAC343), were extracted into the silica-surfactant nanocomposite and time-resolved fluorescence spectra of these dyes were examined. C480 and C343 show slow dynamic Stokes shifts and the decay curve can be fitted by a biexponential function. The decay-time constants obtained from the fitting are almost identical for C480 and C343: 0.87 and 7.5 ns for C480, and 0.86 and 7.6 ns for C343. In contrast to these two coumarin dyes, short decay-time constants (0.50 and 4.8 ns) were obtained for PAC343 in the silica-surfactant nanocomposite. These results indicate that the local environments of C480 and C343 are almost identical but different from that of PAC343. By considering the origin of the dynamic Stokes shift and the mesostructure of the silica-surfactant nanocomposite, the location and microenvironment of coumarin dyes within the silica-surfactant nanocomposite are discussed.

17) Longitudinal diffusion behavior of hemicyanine dyes across phospholipid vesicle membranes as studied by second-harmonic generation and fluorescence spectroscopies

Akira Yamaguchi*, Masaki Nakano*, Kimihisa Nochi*, Tomohisa Yamashita, Kotaro Morita*, Norio Teramae*

Anal. Bioanal. Chem., 386, 627-632, 2006

The adsorption and longitudinal diffusion behaviors of a series of hemicyanine dyes to phospholipid vesicle membranes were studied by second-harmonic generation (SHG) and fluorescence spectroscopies. It was observed that the longitudinal diffusion of cationic hemicyanine dyes takes place immediately after the initial adsorption of these dyes to the outer surface of the vesicle membrane. In contrast, hardly any amount of a zwitterionic hemicyanine dye with a sulfonate group diffused across the

平成19年12月1日

vesicle membrane within the measurement time (<2000 s). Based on the difference in the time-course responses of SHG and fluorescence spectroscopies for all of the hemicyanine dyes tested, we propose that hydration of the sulfonate group is mainly responsible for the low diffusivity of the zwitterionic hemicyanine dye.

18) Psychological factors including sense of coherence and some lifestyles are related to general health questionnaire-12(GHQ-12) in elderly workers in Japan.

Ichiyo Matsuzaki*, Takiko Sagara*, Yoshiko Ohshita*, Hirofumi Nagase, Keiko Ogino*, Akira Eboshida*, Shinichiro Sasahara* and Hiroyuki Nakamura*.

Environ, Hlth. Prev. Med., 12(2), 2007.3

Objectives: The number of elderly workers has also been increasing and poor psychological well-being in elderly workers has been reported. The aim of this study is to elucidate the factors that are related to poor psychological well-being in elderly workers.

Methods: We administered General Health Questionnaire-12 (GHQ-12) as an indicator of psychological well-being to 330 male elderly workers in the age range of 50–69, and analyzed different psychological factors, namely sense of coherence (SOC), and physical and life style variables such as blood pressure, serum total cholesterol, smoking frequency, alcohol intake, exercise frequency, and body mass index (BMI) that are related to GHQ-12.

Results: When the cut-off point of GHQ-12 was 2/3, 97 workers who showed high GHQ-12 score were classified as one group having poor psychological well-being. A statistically significantly lower SOC score, higher stress score, lower frequency of exercise, higher smoking score and higher BMI, but not longer working hours or higher shin work score in the workers with higher GHQ-12 scores were observed than in the workers with normal GHQ-12 scores. Multiple logistic regression analysis showed that the low SOC score, low frequency of exercise, high smoking frequency and high BMI significantly contributed to the high GHQ-12 score.

Conclusions: A low SOC score in elderly workers is assumed to be directly related to poor psychological well-being, or via the development of life style problems such as lack of exercise, obesity, and smoking in elderly workers. This assumption must be confirmed by conducting future intervention studies on lifestyle.

19) 高齢労働者における精神的健康度の向上のためのSOCを用いた健康プログラムの開発

中村裕之*, 相良多喜子*, 荻野景規*, 長瀬博文, 大下喜子*, 松崎一葉*, 友常祐介*, 吉野聡*, 立川秀樹*, 烏帽子田彰*

産業医学ジャーナル, 29(4), 93-98, 2006.7

昨今の雇用事情による高齢労働者における精神的健康度の低下を防ぐことは、超高齢社会における産業保健の最も重要な課題と考えられる。本研究では、sense of coherence (SOC)を用いた健康プログラムを開発し、その効果を検討した。非成功者のBMI, SOCと運動頻度は成功者に比べ、有意に改善した。以上の結果から、SOCを増加させる本健康教育プログラムが、高齢労働者の精神的健康の改善に有効であると考えられた。

[著書・総説・解説]

1) Chiral capillary electrophoresis of agrochemicals in real samples

Shuji Kodama, Yukio Saito, Satoshi Chinaka*, Atsushi Yamamoto*, Kazuichi Hayakawa*

J. Health Sci., 52, 489-494, 2006

Many agrochemicals have one or more chiral centers and are used as racemic mixtures. Monitoring the stereoselective degradation and/or transformation of agrochemical enantiomers is an important target in environmental chemistry. For chiral analysis, capillary electrophoresis has advantages over other chromatographic methods, in resolution, cost performance and simplicity. This review summarizes chiral separation techniques of real samples of agrochemicals using capillary electrophoresis.

2) Chiral capillary electrophoresis of amphetamine-type stimulants

Satoshi Chinaka*, Reiko Iio*, Nariaki Takayama*, Shuji Kodama, Kazuichi Hayakawa*

J. Health Sci., 52, 649-654, 2006

Amphetamine-type stimulants (ATS), having one or more asymmetric carbons, are important targets in forensic science field. For chiral analysis, capillary electrophoresis (CE) has advantages over other chromatographic methods, especially, in fastness, resolution, cost performance and simplicity. This review summarizes chiral separation techniques of ATS using CE with UV detection or CE/mass spectrometry mainly by the present authors' research group.

3) 医療と健康 タラソセラピー

新村哲夫, 鏡森定信* (分担執筆)

海洋深層水利用学—基礎から応用・実践まで— (藤田大介・高橋正征編), 141-152, 成山堂書店, 東京, 2006

[報 告]

1) 一住宅において防蚊対策を行った場合の蚊成虫の捕集状況

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

厚生労働科学研究補助金：新興・再興感染症研究事業；

平成19年12月1日

節足動物媒介感染症の効果的な防除などの対策研究，平成18年度総括・分担報告書，p. 147-156. 2007

2) 富山県における蚊の発生調査とウイルス保有調査

滝澤剛則，小原真弓，渡辺 護，長谷川澄代，倉田毅

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；ウエストナイルウイルス侵入に備えての診断，予防対策への基盤的研究 平成18年度総括研究報告書

蚊媒介性感染症対策として，現在の状態を把握するため，蚊の発生状況とウイルス保有状況，幼虫の発生源を調査した。

3) 富山県におけるつつが虫病に関する調査とマダニ類分布調査

倉田毅，小原真弓，渡辺護，堀元栄詞，岩井雅恵，長谷川澄代，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；リケッチア感染症の国内実態調査及び早期診断体制の確立による早期警鐘システムの構築 平成18年度総括・分担研究報告書

富山県内で流行しているつつが虫病の状況について把握することを目的に，野生げっ歯類とツツガムシの調査を行った。さらに，近年全国的に患者が増加している日本紅斑熱の媒介者であるマダニ類の調査を行った。

4) 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

平成18年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2006

平成13年度から，野生動物が関連する動物由来感染症の発生監視体制の確立を目的に，野生げっ歯類をモデル動物として調査を行っている。18年度にはつつが虫病及び腎症候性出血熱の浸淫調査を行った。さらに，国内に侵入が懸念されるウエストナイル熱等を含む蚊媒介性感染症対策として，平成15年度から，県内における蚊の調査を開始している。平成18年度は蚊の成虫調査及び幼虫調査，ウイルス保有調査，防蚊対策の実験を行った。

5) 東海・北陸地方9地方衛生研究所のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) の行政への還元と PCR を用いた腸管出血性大腸菌 O157 の型別法 (IS printing system) の検討

主任研究者：寺嶋淳*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，児玉洋江*，白木豊*，田中保知*，木全恵子，奥村貴代子*，石畝 史*，岩出義人*，藪谷充孝*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「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年度総括・分担研究報告書，p80-98

平成18年度東海・北陸ブロック研究班活動として，ブロック内9地研が O157をはじめ各種病原菌による集団

発生時に PFGE を行い、その結果を保健所、及び県庁（市役所）に報告した事例（行政への還元）について調査を行った。

6) 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究

分担研究者：倉田 毅，協力研究者：綿引正則，磯部順子，八柳 潤*，白木 豊*

厚生労働科学研究費補助金 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18年度総括・分担研究報告書，p214-222

平成18年度は、地方衛生研究所の薬剤耐性菌の検査に関する実態調査を行うために、全国衛生微生物協議会会員である76機関に、アンケート調査を行った。

7) 病原体情報収集，伝達，管理装置の開発 ー情報伝達機能付安全キャビネット試作機の作製と検証ー

分担研究者：篠原克明*，倉田 毅，高田礼人*，小暮一俊*，協力研究者：滝澤剛則，綿引正則，富田浩史*，加藤俊夫*

厚生労働科学研究費補助金 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：篠原克明，平成18年度総括・分担研究報告書，p91-113

平成18年度は、情報伝達機能付（IC チップによるタグ）を内蔵した病原体の一次保管容器と IC タグ読み取り機能付の安全キャビネットを用いて、安全キャビネット内での作業を行い、トレーサビリティ管理について評価する実験を行った。

8) 病原体情報収集，伝達，管理装置の開発 ー病原体情報収集，伝達機能付小型滅菌装置の作製と検証ー

分担研究者：倉田 毅，協力研究者：滝澤剛則，綿引正則，下河辺学*，津久井貞至*

厚生労働科学研究費補助金 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：篠原克明，平成18年度総括・分担研究報告書，p115-146

平成18年度は、不要となった感染性廃棄物や病原体の物理的な不活化処理のモニタリングを効率的に行うシステム開発の一環として、感染性廃棄物の廃棄情報等の履歴を集中管理するシステムとしての、情報伝達機能付小型滅菌装置を試験運用し、問題点の洗い出し等を行った。

9) 「健やか親子21」公式ホームページ「取り組みのデータベース」優秀事業 セレクト2006

「健やか親子21の推進のための情報システム構築および各種情報の利活用に関する研究」研究班主任研究者：山縣然太郎，分担執筆：長瀬博文

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）報告書 2007年3月発行

「健やか親子21」公式ホームページに搭載してある「取り組みのデータベース」を、今後さらに多くの関係者

平成19年12月1日

に活用してもらうため、登録してある母子保健事業の中から、事業計画の立案、及び、実施、評価のお手本になる優れた事業を、研究班の分担研究者を中心に母子保健の専門家によって選抜し、「セレクト2006」としてまとめた。

10) 富山県における大腸がん発生背景要因の疫学的研究報告書

編集者：品川保弘，長瀬博文，松澤孝信 2006年3月

富山県における大腸がん発生に関与する危険因子や抑制因子を疫学的に解明し、今後の富山県の保健行政に反映させ、大腸がん罹患率の抑制に資する目的で、患者対照研究を実施した。

11) レジオネラ属菌迅速測定法の有用性の検討

分担研究者：荒井桂子*，研究協力者：吉江循江*，田中礼子*，林 宏子，山口 正*，磯部順子，佐々木美江*，杉山寛治*，田栗利紹*，中嶋 洋*，高田千恵子*，橋本-鈴木敦子*

厚生労働科学研究費補助金：地域健康危機管理研究事業；循環式浴槽における浴用水の浄化・消毒方法の最適化に関する研究 平成18年度総括・分担研究報告書 p69-98

レジオネラ検査としてDNAを用いた検査法が有用であるかを検討した。市販の検査キットで検査が可能であること、また、結果が迅速に報告できることが確認された。しかし、温泉成分中にDNA増幅を阻害する物質が含まれる可能性があることと、DNAの抽出等に技術的な熟練が必要であることが明らかになった。

12) 食品を対象とした腸炎ビブリオ検査法に関する研究

厚生労働科学研究費補助金：食の安全・安心確保推進研究事業「畜水産食品の微生物等の試験方法に関する研究」平成18年度 総括・分担研究報告書 II-3 腸炎ビブリオ検査法

食品から腸炎ビブリオを検出する標準法の検討をおこなった。今年度は、酵素基質培地の有用性を検討した。その結果、酵素基質培地が有用であることが明らかとなった。また、培養温度、増菌培地についても改良することを提言した。

(2) 特別講演等

1) 富山湾海洋深層水および濃縮水を利用した健康増進とスキンケア

第65回日本公衆衛生学会総会ランチョンセミナー

新村哲夫

平18.9.25～27 富山市

2) 海洋深層水を利用した健康増進について

平成18年度富山県水泳医・科学シンポジウム

新村哲夫

平18.11.23 富山健康科学専門学校(富山県上市町)

(3) 学会発表等

- 1) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査 (2003~2005年)
渡辺 護, 小原真弓, 西尾恵美里*, 小林睦生*
第58回日本衛生動物学会大会, 平18.4.6~7, 長崎市
- 2) 飛越高原, 山之村地域のアブ
渡辺 護
第58回日本衛生動物学会大会, 平18.4.6~7, 長崎市
- 3) 濃縮海洋深層水のスキンケア利用に関する皮膚科学的研究
新村哲夫
平成18年度深層水利用研究 (非水産分野) 担当者会議 平18.5.24 富山市
- 4) 二卵性一絨毛膜性双胎児の男女児の染色体分析について
本田幸子, 林美貴子, 倉本崇*, 尾上洋一*
第46回日本先天異常学会, 平18.6.28~30, 山形市
- 5) ヒト胎児細胞を用いたコメットアッセイの検討—DNAcrosslink 物質との併用について
林美貴子, 本田幸子, 品川保弘, Jia Guang*, 鏡森定信*
第46回日本先天異常学会, 平18.6.28~30, 山形市
- 6) Fluoride levels in various tea-based beverages of Japan and in Chinese tea infusions
Tetsuo Shimmura, Hirofumi Nagase, Tetsuo Aratani and Sadanobu Kagamimori*
第17回日本微量元素学会, 平18.7.12~14, 静岡市
- 7) 富山県内の蚊と豚における日本脳炎ウイルス保有状況
小原真弓, 渡辺護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則
平成18年度日本獣医三学会 (中部) 平18.8.26~27, 新潟県南魚沼郡湯沢町
- 8) プロフェージゲノム配列多形を利用した EHEC の Multilocus Sequence Typing (pMLST) 法の開発
綿引正則, 磯部順子, 永井美之*
第10回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム, 平18.8.31~9.1, 東京都港区
- 9) EHEC の遺伝子型別におけるプロフェージ配列多型を利用した Multilocus Sequence Typing (pMLST) と PFGE 法の比較
磯部順子, 木全恵子, 永井美之*, 綿引正則
第10回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム, 平18.8.31~9.1, 東京都港区
- 10) 還元性単糖誘導体のポロスピラン形成に基づくキラル分離
小玉修嗣, 會澤宣一*, 山本敦*, 多賀敦, 山下智富, 健名智子, 齊藤行雄
日本分析化学会第55年会, 平18.9.20~22, 豊中市
- 11) LAMP 法による食品からのサルモネラ検出法の検討—DNA 抽出改良法の有用性—
磯部順子, 嶋 智子, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 倉田 毅
第27回日本食品微生物学会学術総会, 平18.9.21~22, 大阪府

平成19年12月1日

- 12) 市販鶏肉を用いたカンピロバクター LAMP 法キットの検討
清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 綿引正則, 倉田 毅
第27回日本食品微生物学会学術総会, 平18.9.21~22, 大阪府
- 13) 食品からの腸管出血性大腸菌血清型 O157及び O26の検出法に関するコラボレイティブ・スタディの実施概要について
土屋 禎*, 小西典子*, 森本 洋*, 畠山 敬*, 磯部順子, 横山英二*, 浅井良夫*, 川森文彦*, 塚本定三*, 田中 忍*, 小西博隆*, 工藤由紀子*, 高鳥浩介*
第27回日本食品微生物学会学術総会, 平18.9.21~22, 大阪府
- 14) Effectiveness of combination with malaise and box traps for survey of tabanid flies (Tabanidae).
Watanabe M.(渡辺 護)
6th International Congress of Dipterology, 2007.9.23~29, Fukuoka Japan
- 15) 市販お茶飲料および中国茶葉浸出液中のフッ素濃度について
新村哲夫, 長瀬博文, 荒谷哲雄*, 鏡森定信*
第65回日本公衆衛生学会総会, 平18.9.25~27, 富山市
- 16) 高齢者の運動習慣に関連する要因
中嶋郁栄*, 青木美佳*, 魚谷佳代*, 谷口素美*, 矢野安耶*, 前波和子*, 長瀬博文
第65回日本公衆衛生学会総会, 平18.9.25~27, 富山市
- 17) 運動習慣, 肥満体質遺伝子と肥満の進行
田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄*, 大下喜子*, 山上孝司*
第65回日本公衆衛生学会総会, 平18.9.25~27, 富山市
- 18) 初経発来と運動実施の時期が思春期女子の骨密度に与える影響
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄*, 山上孝司*
第65回日本公衆衛生学会総会, 平18.9.25~27, 富山市
- 19) 染色体異常を疑われた2,000例の検討—富山県衛生研究所における染色体検査の現状
林美貴子, 本田幸子, 鏡森定信*
第65回日本公衆衛生学会, 平18.10.25~27, 富山市
- 20) 富山県でのワクチン由来ポリオウイルス (VDPV) 検出例とその対応
岩井雅恵, 松浦久美子*, 長谷川澄代, 小原真弓, 滝澤剛則, 倉田毅, 吉田弘*
第65回日本公衆衛生学会, 平18.10.25~27, 富山市
- 21) 富山県におけるウイルス性胃腸炎の集団発生について (平成16~17年度)
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 滝澤剛則, 倉田 毅
第65回日本公衆衛生学会, 平18.10.25~27, 富山市
- 22) 大量注入方式 GC/MS を用いた残留農薬の迅速分析法について
齊藤行雄, 中山恵理子
日本食品衛生学会第92回学術講演会, 平18.10.26~27, 春日井市
- 23) 富山県における2006年のコガタアカイエカの発生状況

- 渡辺 護, 小原真弓, 長谷川澄代
第55回日本衛生動物学会東日本支部大会, 平18.10.27, 栃木県下野市
- 24) 2006年の天候不順とイヨシロオビアブの発消長
渡辺 護
第55回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平18.11.11~12, 愛知県長久手町
- 25) インドネシア 西ジャワ農村の学童と母親の尿中アルキルリン酸
中崎美峰子, 新村哲雄, 関山牧子*, 田中美加*, イファ・アクバル*, ブディ・グナワン*, ウカン・アブドゥ
ラ*, 渡辺知保*
環境ホルモン学会第9回研究発表会, 平18.11.11~12, 東京都
- 26) 仔豚皮膚を用いた海洋濃縮深層水成分の皮膚浸透性に関する実験的研究
新村哲夫, 荒谷哲雄*, 三井博, 吉田淑子*, 岡部素典*, 古市恵津子*, 鏡森定信*, 胡莉珍*, 孫迎春*, 廣瀬富
雄*, 水木亮史*
第10回海洋深層水利用全国大会, 平18.11.16~17, 尾鷲市
- 27) 富山県における2002年のエコーウイルス13型検出と浸淫状況
岩井雅恵, 滝澤剛則, 吉田弘*, 松浦久美子*, 長谷川澄代, 小原真弓, 堀元栄詞, 倉田毅
第54回日本ウイルス学会, 平18.11.19~21, 名古屋市
- 28) 富山県内の蚊媒介性ウイルス調査 (2005年)
小原真弓, 長谷川澄代, 滝澤剛則, 堀元栄詞, 岩井雅恵, (共同研究者 渡辺護)
第54回日本ウイルス学会 平18.11.19~21, 名古屋市
- 29) 平成17年度の東海北陸地区におけるノロウイルス検出状況について
小原真弓, 大矢英紀*, 尾西一*, 東方美保*, 猿渡正子*, 青木聡*, 田中保和*,
柴田伸一郎*, 中野陽子*, 杉山明*, 小林慎一*, 長谷川晶子*, 長谷川澄代
第54回日本ウイルス学会 平18.11.19~21, 名古屋市
- 30) 抗酸化作用の増強と遺伝毒性の軽減を目的としたレスベラトール誘導体の開発
福原潔*, 中西郁夫*, 松岡厚子*, 松村友博*, 本田幸子, 林美貴子, 小澤俊彦*, 宮田直樹*, 伊古田暢夫*, 齋
藤慎一*, 奥田晴宏*
第35回日本環境変異原学会, 平18.11.20~21, 堺市
- 31) 一般民家で防蚊対策を行った場合の蚊成虫の捕集状況
渡辺 護, 小原真弓
第22回日本ペストロジー学会大会, 平18.11.21~22, 岡山市
- 32) 石川県県民の森におけるアブ誘殺ボックストラップの捕獲成績
齋藤嘉宏*, 桔梗 隆*, 岩村邦夫*, 渡辺 護
第22回日本ペストロジー学会大会, 平18.11.21~22, 岡山市
- 33) トコジラミの徹底駆除にかかる日数
谷口敬敏*, 黒田昭吉*, 渡辺 護
第22回日本ペストロジー学会大会, 平18.11.21~22, 岡山市

平成19年12月1日

34) 染色体検査で発見された脆弱 X 症候群の1例

林美貴子, 本田幸子, 本間一正*

第27回北陸先天異常研究会, 平18,11,26,石川県河北郡内灘町

35) 運動習慣, 禁煙行動に関する行動変容ステージと抑うつ度の関係性について

長瀬博文, 中村夕美*, 水木紀子*, 井澤朋子*

第34回北陸公衆衛生学会, 平18.11.27, 金沢市

36) Simultaneous analysis of aminopolycarboxylic acid in water by HPLC

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa*

The 2nd China-Japan-Korea Joint Symposium on Ion Chromatography, 2006.11.29~12.1, 杭州, 中国

37) 漁港海水の腸炎ビブリオ定量に関する検討

磯部順子, 嶋 智子, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 倉田 毅

第40回腸炎ビブリオシンポジウム, 平18.11.30~12.1, 東京都

38) 富山湾海洋水に存在する従属栄養細菌の分布について

綿引正則

第12回環日本海機能水バイオ研究会, 平18.12.16, 富山県立大学(射水市)

39) 富山県におけるインフルエンザ抗体保有状況調査(平成18年度)について

堀元栄詞, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 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*

第41回富山県公衆衛生学会, 平19.2.6, 富山市

40) 精神障害者地域家族会に対する家族の思い~継続参加及び不参加家族の思いから~

大戸登世乃*, 水木紀子*, 井澤朋子*, 長瀬博文, 瀧田恵子*, 土肥裕美子*, 炭谷靖子*

第41回富山県公衆衛生学会, 平19.2~6, 富山市

41) 大量注入方式 GC/MS を用いた魚介類中の有機スズ化合物の分析法と残留実態

山下智富, 齊藤行雄

平成18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19.2.8~9, 富山市

42) 富山県内の蚊と豚における日本脳炎ウイルス保有状況

小原真弓, 渡辺護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則

平成18年度日本獣医師会三学会, 平19.2.23~25, さいたま市

43) 陽極酸化アルミナ薄膜の液体クロマトグラフィー用ナノカラムとしての利用

山下智富, 齊藤行雄, 小玉修嗣, 大戸幹也, 中山恵理子, 寺前紀夫*, 山口央*, 高柳信孝, 健名智子

日本化学会第87春季年会, 平19.2.25~28, 吹田市

44) 富山県における2006年のウイルスおよびリケッチア検出状況

岩井雅恵, 堀元栄詞, 長谷川澄代, 小原真弓, 滝澤剛則, 倉田毅

平成18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19.3.8~9, 富山市

45) ノロウイルスの長期排出でウイルス遺伝子に変化がみられた一例

小原真弓

平成18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19.3.8~9, 富山市

46) 平成18年度に富山県で発生したウイルス性胃腸炎集団発生の特徴について

長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則, 倉田 毅

平成18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19.3.8~9, 富山市

47) 複数の血清型コレラ菌による混合感染が疑われた集団感染事例

清水美和子

平成18年度 地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平19.3.8~9, 富山市

48) 溶血レンサ球菌レファレンス事業

嶋 智子

平成18年度 地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平19.3.8~9, 富山市

49) 東海北陸ブロックにおける2006年1月~2006年12月の食中毒・感染症の検出状況

磯部順子

平成18年度 地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平19.3.8~9, 富山市

50) 富山県における平成18年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況

木全恵子

平成18年度 地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平19.3.8~9, 富山市

51) 臨床分離株の輸送中紛失事件の経緯とそれから学ぶもの

綿引正則

平成18年度 地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平19.3.8~9, 富山市

52) 中国茶葉および紅茶ティーバック浸出液中のフッ素濃度

新村哲雄, 中崎美峰子, 堀井裕子, 長瀬博文, 鏡森定信*

第77回日本衛生学会総会, 平19.3.25~28, 大阪市

53) ビール中におけるイソキサントフォームの光学分割

小玉修嗣, 山下智富, 健名智子, 齊藤行雄, 誉田佳孝*, 佐藤睦*, 鈴木健太郎*, 寺島弘之*, 多賀敦*, 山本敦*, 早川和一*

日本薬学会第127年会, 平19.3.28~30, 富山市

54) HPLC を用いた水中アミノカルボン酸キレート剤の一斉分析

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127年会, 平19.3.28~30, 富山市

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 長谷川澄代

厚生労働大臣表彰

受賞日 平成18年10月31日

平成19年12月 1 日

2) 新村哲夫

日本公衆衛生協会会長表彰

受賞日 平成18年10月31日

3) 米田 豊

地研全国協議会北陸東海支部長表彰

受賞日 平成18年5月26日

編 集 委 員

委 員 長 三 井 博
委 員 後 藤 郁 子
林 美貴子
長谷川 澄 代
嶋 智 子
小 玉 修 嗣
堀 井 裕 子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成18年度（2006）第30号

2007年12月1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 あ け ぼ の 企 画 株 式 会 社

富 山 市 住 吉 町 1 - 5 - 18

電 話 （076）424-1755