

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成24年度)

第36号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2012~MARCH 2013)

NO. 36

2013



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成24年度)

第36号

富山県衛生研究所

は じ め に

平成24年度の富山県衛生研究所年報第36号をお届け致します。

当衛生研究所の業務は、試験検査、調査研究、技術指導・研修、公衆衛生情報の収集と提供です。本報告書では平成24年度に行われた業務で、新生児マス・スクリーニング、染色体分析、感染症流行予測調査、感染症発生動向調査、食中毒、食品や水の検査などの業務内容を記載し、さらに関連する調査研究報告や資料としてまとめた内容を収載しました。ご高覧いただき、お気づきの点についてご教示いただけると幸いです。

平成24年度には、「地方衛生研究所の充実強化」という文言が項目として地域保健法に位置づけられました。つまり、平成24年7月に、地域保健対策の推進に関する基本的な指針の一部を改正する件(平成24年厚生労働省告示第464号)に、「地域における科学的かつ技術的な中核機関である地方衛生研究所の機能強化として、保健所等と連携しながら、その専門性を活用した地域保健に関する調査及び研究を推進すること」、そして「地方衛生研究所を設置する地方公共団体は、強毒性の新型インフルエンザ等の感染症の発生や広域化する食中毒の発生等に備えたサーベイランス機能の強化や迅速な検査体制の確立と検査精度の向上が求められていることを踏まえ、地域における科学的かつ技術的に中核となる機関として地方衛生研究所の機能の一層の充実強化を図ること」と明記されました。これまで以上に、関連部局と連携して、県民の期待に応えられるようにしていかなければいけないと思う次第です。

平成23年4月に富山県で発生した牛生肉料理のユッケを原因とする腸管出血性大腸菌の食中毒事例をうけて、平成23年10月1日から生食用食肉の規格基準の制定、そして平成24年7月1日から生食用牛肝臓の販売・提供禁止に至りました。本年3月末には、国内で病原性大腸菌 O157に感染して症状が出た人が5年前と比べて約4割減ったことが明らかになりました。また、厚生労働省科学研究費補助金による「重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究」事業に参加し、研究班では「わが国の医療状況に合致した腸管出血性大腸菌感染症ならびに溶血性尿毒症症候群とその合併症(脳症含む)に対するガイドライン(案)」が作成され、また腸管出血性大腸菌に関する細菌学的研究も行われています。全面的な解明にはまだ時間がかかりますが、一步一步着実に進んでいると考えております。

私ども衛生研究所の業務の遂行にあたり、富山県厚生部をはじめ関連行政機関、各医療機関、学術研究機関をはじめ、関係の皆様には、多くのご指導ご協力をいただきました。この場を借りて、改めてお礼申し上げます。当研究所は、地域の科学的・技術的中核機関として、県民の健康づくりを支援し、くらしの安全を確保するため、業務とともに関連する基礎的および応用的研究を行ってまいりますので、引き続き、ご指導ご協力を賜りますようお願い致します。

平成25年11月

富山県衛生研究所長

佐 多 徹太郎

目 次

1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品	5
(8) 各 部 の 業 務 概 要	6
(9) 検 査 状 況	16
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金 等	19
(11) 講 師 派 遣	21
(12) 研 修 指 導	23
(13) 研 修 受 講	24
(14) 客 員 研 究 員	25
(15) 研 究 成 果 発 表 会	25
(16) 各 種 規 程 等	26

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24年度の検査成績)	27
九曜雅子 米田 豊 高田吉弘 土肥裕美子	
ヒト血液の染色体分析結果(平成24年度)	37
高森亮輔 品川保弘 稲畑 良 高田吉弘	
流産胎児の染色体分析結果(平成24年度)	43
高森亮輔 品川保弘 稲畑 良 高田吉弘	
羊水細胞の染色体分析結果(平成24年度)	46
品川保弘 高森亮輔 稲畑 良 高田吉弘	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について(平成24年度)	51
名古屋真弓 稲崎倫子 石田 徹 堀元栄詞 小淵正次 嶋 一世 板持雅恵 滝澤剛則	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況(2012)	58
磯部順子 金谷潤一 嶋 智子 木全恵子 清水美和子 綿引正則 佐多徹太郎	
富山県における市販生食用鮮魚クドア汚染実態調査と有症苦情事例におけるクドア調査(2012年)	65

清水美和子 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 金谷潤一 佐多徹太郎 綿引正則 出村尚子 若年女性のインスリン抵抗性と肥満・ライフスタイルとの関連……………	71
田中朋子 中崎美峰子 金木 潤 坪野由美 澁谷直美 大浦栄次 山上孝司 生活空間の空気中有機リン化合物の分析……………	75
中崎美峰子 金木 潤 長期・継続的な海洋深層水運動浴の皮膚状態に及ぼす影響－クロスオーバー試験による検討－……………	80
新村哲夫 田中朋子 金木 潤 山腰高子 松永憲治 清水忠道 立瀬剛志 立浪 勝 鏡森定信 中高年女性の身体活動量、活動強度が2年間の骨強度変化に及ぼす影響 ……………	85
小林直人 田中朋子 金木 潤 要明仁美 今村由美子	

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査(感染源調査)2012年……………	89
山内健生 名古屋真弓 渡辺 護 稲崎倫子 關口健治 日本脳炎流行予測調査(感受性調査)平成24年度……………	96
名古屋真弓 稲崎倫子 堀元栄詞 小淵正次 嶋 一世 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 川越久美子 高道江里子 關口健治 ポリオ流行予測調査(平成24年度) ……………	100
嶋 一世 板持雅恵 堀元栄詞 名古屋真弓 稲崎倫子 小淵正次 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 川越久美子 高道江里子 關口健治 インフルエンザ流行予測調査(平成24年度) ……………	106
小淵正次 堀元栄詞 稲崎倫子 名古屋真弓 板持雅恵 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 川越久美子 高道江里子 關口健治 富山県におけるエンテロウイルスの検出状況(平成24年度) ……………	111
嶋 一世 板持雅恵 堀元栄詞 稲崎倫子 名古屋真弓 小淵正次 滝澤剛則 富山県における平成24年度のウイルスおよびリケッチア検出状況 ……………	115
稲崎倫子 板持雅恵 名古屋真弓 嶋 一世 堀元栄詞 小淵正次 滝澤剛則 富山県における市販鶏肉のカンピロバクター、サルモネラ属菌および基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌汚染実態調査(2012年) ……………	118
清水美和子 嶋 智子 磯部順子 金谷潤一 木全恵子 佐多徹太郎 綿引正則 出村尚子 富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2012) ……………	122
木全恵子 嶋 智子 金谷潤一 磯部順子 清水美和子 佐多徹太郎 綿引正則 漁港における腸炎ビブリオ調査(2012年) ……………	127
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 清水美和子 佐多徹太郎 綿引正則 富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性(2012年) ……………	131

増田千恵子 嶋 智子 金谷潤一 清水美和子 木全恵子 磯部順子 佐多徹太郎 綿引正則 中村雅彦 百石祐一郎 加藤陽子 中村政雄 奥野ルミ	
富山県における2012年の病原微生物検出状況	135
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 清水美和子 佐多徹太郎 綿引正則	
平成24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－	139
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 嶋 智子 清水美和子 佐多徹太郎 綿引正則	
富山県の温泉利用施設における源泉と浴槽水の成分比較調査	143
村元達也 山下智富 上出 功	

4. 業 績

(1) 誌上発表	147
(2) 学会発表等	161
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	165
(4) 知的所有権	165

Reports

The Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Yumiko DOI

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tooru ISHIDA, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI and Takenori TAKIZAWA

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2012

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

Surveillance of the Contaminated Raw Fish Meats with *Kudoa septempunctata* in the Market and the Stool Examination in Some Food Poisoning Cases in Toyama Prefecture, 2012

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

Relationship between Insulin Resistance and Obesity or Life Styles in Young Women

Tomoko TANAKA, Mineko NAKAZAKI, Jun KANAOKI, Yoshimi TSUBONO, Naomi SHIBUYA, Eiji OURA and Takashi YAMAGAMI

Analysis of Organophosphorus Compounds in Indoor and Outdoor Air

Mineko NAKAZAKI and Jun KANAOKI

Cross-Over Study of Effects on Skin Conditions by Long-Term and Continuous Exercise Bathing in Deep Sea Water

Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAOKI, Takako YAMAKOSHI, Kenji MATSUNAGA, Tadamichi SHIMIZU, Takashi TATSUSE, Masaru TACHINAMI and Sadanobu KAGAMIMORI

Volume and Intensity of Physical Activity in Middle-age and Elderly Women Affect Change of Bone Strength for 2 years

Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAOKI, Hitomi YOUMEI and Yumiko IMAMURA

Notes

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2012

Takeo YAMAUCHI, Mayumi NAGOYA, Mamoru WATANABE, Noriko INASAKI and Kenji SEKIGUCHI

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI, Ichiyo Shima, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kumiko KAWAGOSHI, Eriko TAKAMICHI and Kenji SEKIGUCHI

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kumiko KAWAGOSHI, Eriko TAKAMICHI and Kenji SEKIGUCHI

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2012-2013

Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kumiko KAWAGOSHI, Eriko TAKAMICHI and Kenji SEKIGUCHI

Enterovirus detected from specimens of human and raw sewage in the fiscal year 2012 in Toyama Prefecture

Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Ichiyo SHIMA, Eiji HORIMOTO,
Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA

Survey of *Campylobacter* spp. , *Salmonella* spp. and Extended-Spectrum β -Lactamase-(ESBL)-
Producing *Escherichia coli* Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2012)

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

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2012

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

Surveillance for *Vibrio parahaemolyticus* at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2012

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

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Haemolytic Streptococcal Isolates in Toyama
Prefecture, 2012

Chieko MASUDA, Tomoko SHIMA, Jun-ichi KANATANI, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Junko
ISOBE, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Masahiko NAKAMURA, Yuichirou HYAKKOKU,
Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2012

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

Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture
(2012)

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

Comparison of Chemical Ingredients in Source of the Springs and Spring Baths in Toyama Prefecture

Tatsuya MURAMOTO, Tomohisa YAMASHITA and Isao KAMIDE

1. 運

營

(1) 沿 革

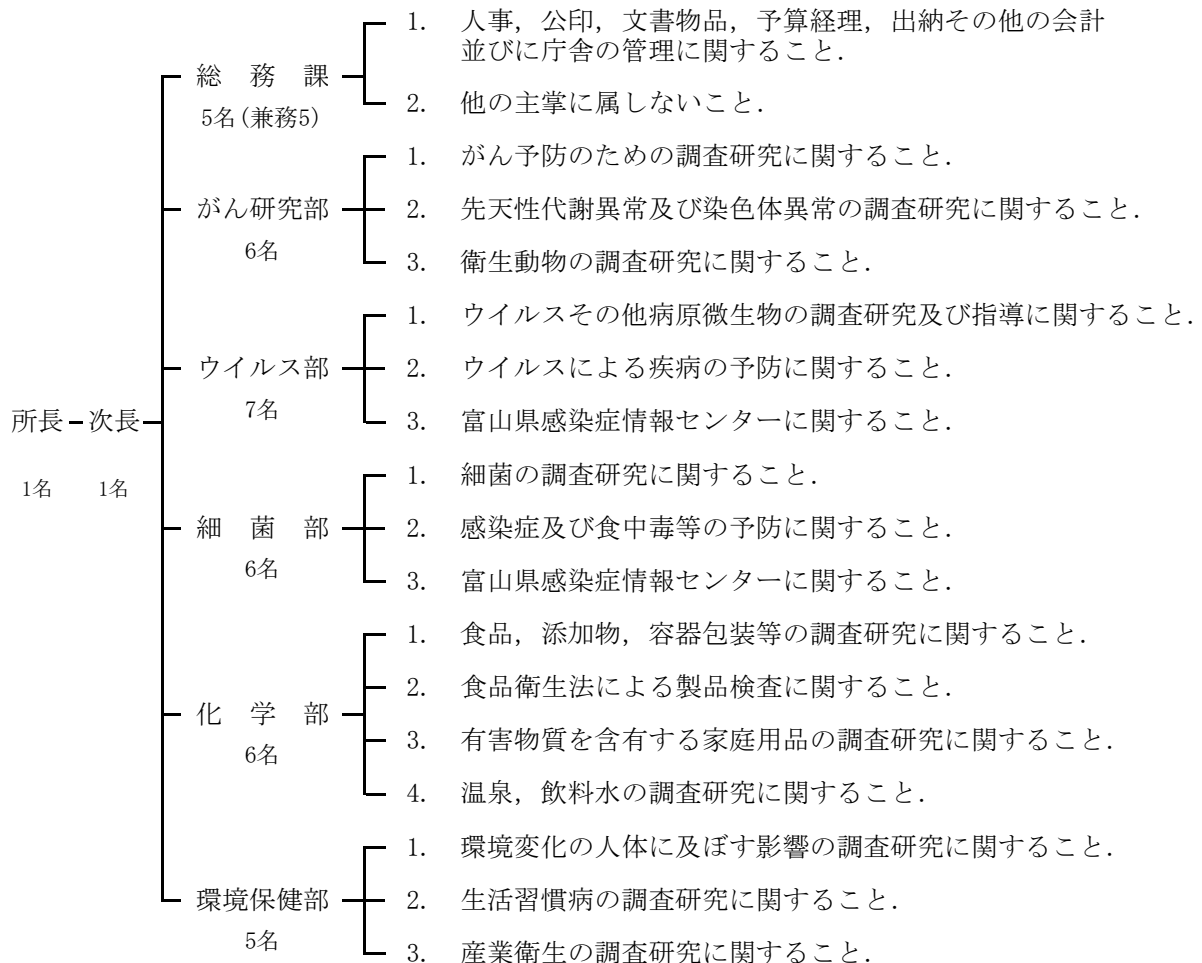
昭和35年 4月 1日	職員9名の構成で発足.
昭和36年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員17名に拡充強化(庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
昭和37年11月30日	旧研究所の増築.
昭和38年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部(庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課)を変更.
昭和39年10月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査課を新設.
昭和44年 4月 1日	富山県行政組織規則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(現環境科学センター)に移管され, また, 各部の名称を変更(病理部, ウイルス部, 細菌部, 化学部, 環境保健部).
昭和55年12月20日	研究所新庁舎小杉町(現射水市)中太閤山で建設着工.
昭和57年 6月10日	小杉町(現射水市)中太閤山に新庁舎完成.
平成元年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 病理部をがん研究部に名称を変更.
平成 4年 4月 1日	富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 庶務課を総務課に名称を変更.
平成12年 7月 1日	衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置.
平成14年 9月 4日	文部科学省から科学研究費補助金取扱規程第2条第4号の研究機関に指定.
平成15年 5月28日	富山県衛生研究所倫理審査委員会, 富山県衛生研究所研究評価委員会を設置.
平成23年 5月31日	富山県衛生研究所利益相反管理委員会を設置.

(2) 施設 の 概 要

建 物	構 造	延 面 積
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階(一部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25年6月1日)



(4) 職 員 数

(平成25年6月1日現在)

区 分	所・次長 部・課長	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主 任 研究員	主 任 専門員	主 任	研究員	主 事	(業務) 技 師	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1(注1)		1(注1)				1(注1)		1(注1)	1(注2)	5(兼5)
がん研究部	次 長 事務取扱			2	2	1		1			6
ウイルス部	1	1			3			1		1	7
細菌部	所 長 事務取扱	1		1	3			1			6
化学部	1			2	2			1			6
環境保健部	1			2		1		1			5
合 計	6	2	1	7	10	2	1	5	1	2	37(兼5)

※総務課の(注1)は環境科学センター・薬事研究所を兼務。

(注2)は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成25年6月1日現在)

職 名		氏 名	職 名		氏 名
所 長		佐 多 徹太郎	部 長		所長事務取扱
次 長		齊 藤 尚 仁	主 幹 研究員		綿 引 正 則
総 務 課	総務課長(兼)	西 村 次 男	副主幹研究員		磯 部 順 子
	副 主 幹(兼)	光 田 美千代	主 任 研究員		木 全 恵 子
	主 任(兼)	浅 井 直 子	〃		清 水 美和子
	主 事(兼)	岸 友 哉	〃		増 田 千恵子
	業務技師(兼)	新 木 康 之	研 究 員		金 谷 潤 一
	部 長	次長事務取扱		部 長	
がん研究部	副主幹研究員	九 曜 雅 子	副主幹研究員		健 名 智 子
	〃	品 川 保 弘	〃		堀 井 裕 子
	主 任 研究員	稲 畑 良	主 任 研究員		中 山 恵理子
	〃	山 内 健 生	〃		山 下 智 富
	主 任 専門員	米 田 豊	研 究 員		村 元 達 也
	研 究 員	高 森 亮 輔			
ウイルス部	部 長	滝 澤 剛 則	部 長		金 木 潤
	主 幹 研究員	小 淵 正 次	副主幹研究員		田 中 朋 子
	主 任 研究員	堀 元 栄 詞	〃		中 崎 美峰子
	〃	名古屋 真 弓	主 任 専門員		新 村 哲 夫
	〃	板 持 雅 恵	研 究 員		小 林 直 人
	研 究 員	稲 崎 倫 子			
技 師	嶋 一 世				

注 総務課は環境科学センターおよび薬事研究所を兼務

(6) 予算及び決算

平成24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	988				988	所の運営等
試験研究費	44,872	2,978			41,894	所の運営、維持管理、試験検査等
設備充実費	2,606				2,606	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,561				1,561	調査研究
がん等特別研究費	7,227		776		6,451	調査研究
合計	57,254	2,978	776		53,500	

平成24年度 歳入・歳出決算

(歳 入)

科目	決算額 (円)	備考
衛生手数料	10,009,601	衛生研究所費4,916,991環境衛生検査5,092,610
財産運用収入	5,140	特許権等運用収入
雑収入	90,314	
合計	10,105,055	

(歳 出)

科目	決算額 (円)	備考
人事管理費	420,194	嘱託職員の雇用
財産管理費	129,713	庁舎維持管理費
管理諸費	234,000	国際協力費
児童福祉対策費	10,003,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	1,640,382	再任用職員の保険料
予防費	5,404,144	感染症関連調査
母子保健費	34,080	女性への支援事業・妊娠出産支援事業費
環境保健対策費	6,404,284	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	56,406,382	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理、賃金
環境衛生総務費	4,947,360	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	10,098,322	食品安全対策検査
保健所費	87,100	妊婦・乳幼児支援費
公害防止対策費	366,000	海水浴場細菌検査
工鉱業総務費	1,567,390	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合計	97,742,351	

(7) 重 要 備 品

品 名	型 式	購入年月日
分光光度計	UV -2200	H 2. 9
分光蛍光光度計	日本分光 FP -777	H 3.11
ガスクロマトグラフ	GC -14APSC タンデム GC システム	H 2. 3
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC -14B	H 4.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP -1100WA	H 5.11
ガスクロマトグラフシステム	島津製作所	H 9. 3
ガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカーード H P6890	H10. 8
ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N	H15. 6
オートサンプラー付ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP -2010	H17.10
大量注入方式ガスクロマトグラフ質量分析計	Agilent Technologie 5975	H19.11
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L -6300	H 5.12
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ	H 7.10
高速液体クロマトグラフ	ヒューレットパッカーード Agilent 1100	H12. 6
高速液体クロマトグラフタンデム四重極質量分析装置	waters Quattro micro API システム	H15.12
高速液体クロマトグラフ用分光蛍光検出器	島津製作所 FR -550	H 4. 3
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネックス DX -500	H 9.11
全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム	日本分光	H 9. 3
染色体核型分析用画像処理システム	カールツアイス社製 イカロス	H13. 1
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカーード	H 7. 9
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社	H12.12
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社 CHEF Mapper XA	H23. 9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O. I. ANALYTICAL AP -512	H11. 3
全有機炭素計(TOC計)	島津製作所 TOC - V CS H	H18. 1
全自動化学発光分析システム	日本分光	H11. 3
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS5	H11.12
原子吸光光度計	島津製作所 AA -6700	H 8.11
マイクロプレートリーダー	コロナ	H 9. 2
マイクロプレートリーダー	BIO - RAD Benchmark	H12. 9
分離用超遠心機	日立製作所 CP101MX	H12.11
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H -7600	H13. 3
万能顕微鏡	オリンパス VANOXAHBT3-512	H 4. 9
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
リアルタイムPCRシステム	アプライドバイオシステム	H20.12
多波長検出用リアルタイムPCR装置	タカラバイオ(株) TP9000	H23. 8
遺伝子増幅装置一式	C1000 サーマルサイクラー	H21. 6
自動遺伝子抽出機	QIA-symphony SP	H21. 6
蛍光式DNAシーケンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9.12
ELISA測定システム	BIO - RAD 社	H10. 2
定量PCR(遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7500	H15.10
キャピラリー型遺伝子解析システム	ABI PRISM 3100	H16. 3
キャピラリー型遺伝子解析システムデータ処理装置	ABI PRISM 3130XL	H19.10
ジェネテックアナライザー(遺伝子解析装置)	イルミナ MiSeq	H24. 1
超音波骨密度測定装置	GE横河メディカルシステム A -1000	H18. 7

(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24年度の検体総数は9,006件で、県内33か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検率は、109.1%(里帰り出産を含む)となり、前年同様高い割合であった。検査項目は、フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の6疾患である。検査の結果、要精密検査として27人(フェニルケトン尿症疑い1人、ガラクトース血症疑い3人、先天性甲状腺機能低下症疑い11人、先天性副腎過形成症疑い12人)がスクリーニングされ、先天性甲状腺機能低下症3人の患者が発見された。

染色体検査

平成24年度の検体数は、羊水154件、血液23件と自然流産胎児45件の計222件であった。特に羊水検査の依頼数の伸びが例年に比べて著しく、対前年比では実数で57件、率にして58.8%の増加であった。染色体異常を示したものは、羊水13件(21トリソミー症候群5件、均衡転座2件、18トリソミー症候群2件、ターナー症候群1件、構造異常2件、トリプル X1件)、8.4%、血液4件(均衡転座保因者2件、21トリソミー症候群1件、トリプル X1件)、17.4%、流産胎児23件(数的異常13件、モザイク6件、倍数体2件、数的異常+構造異常2件)、51.1%の計40件であった。染色体検査の依頼理由(主訴)は、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、血液・流産胎児では不育症関連が最も多かった。

衛生動物検査

厚生センターや県内企業などから依頼のあった衛生害虫(食品混入動物を含む)の同定検査を32件実施した。

日本脳炎流行予測事業として、平成23年度に引き続き、媒介蚊コガタアカイエカの発生消長を調査した。6ヶ所の畜舎において6月から10月まで調査を実施した。平成24年度のコガタアカイエカ捕集総数は、平成23年度よりも大幅に少なかった。

[調査研究]

がん発生要因に関する研究

地域がん登録システムで集積され、厚生部より刊行されている富山県がん疫学調査報告書記載のデータを用い、胃がんと大腸がんの、県内4医療圏別の罹患率や死亡率における地域差を継続して解析中である。

健康課が主導する平成25年度からの新たながん対策推進事業における衛生研究所の位置づけを検討し、当所が担える作業分担をペーパーにまとめ提出した。

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

先天性副腎過形成症の指標である17- α -hydroxyprogesterone(17-OHP)の測定値に季節変動が認められ、特に、直接法でカットオフ値4ng/ml以上を示す検体の割合が夏期に低く、冬期に高いという変動が顕著であった。我々の検討結果では、この季節変動の原因は測定時の環境的な要因や新生児の副腎機能の影響ではなく、血液濾紙を高温曝露すると17-OHPの測定値が低下することが判明したことから、夏期では、検体輸送中に高温負荷がおこり指標物質に影響を及ぼす可能性が示唆された。

また、導入が予定されているタンデムマス装置によるマススクリーニングでは、様々な有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症が発見されることから、より確実に患者を発見するための確認検査法について検討している。

衛生動物に関する研究

愛玩動物に寄生するマダニ類とノミ類の調査を前年度に引き続きウイルス部と共同で実施した。富山県の標高の異なる3地点においてマレーズトラップで捕獲されたスズメバチ類のデータを整理し、論文を投稿した。富山県の海岸地域で発生する蚊類のデータを整理し、論文を投稿した。

ウイルス部

【行政および依頼検査】

感染症発生動向調査

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」及び「感染症発生動向調査実施要領」に基づき、県内の医療機関や厚生センター・保健所から依頼を受けた検体について、ウイルスおよびリケッチアの検査を行った。インフルエンザでは、225症例中211症例からウイルスが検出された(AH1型インフルエンザウイルス1名、AH3型インフルエンザウイルス159名、B型インフルエンザウイルス51名)。上気道炎・下気道炎では、2症例中2症例からウイルスが検出された(パラインフルエンザウイルス+ライノウイルス1名、メタニューモウイルス1名)。脳炎・脳症では、7症例中4症例からウイルスが検出された(ヒトヘルペスウイルス6型1名、ヒトヘルペスウイルス6型+7型1名、ライノウイルス1名、ロタウイルスA群1名)。無菌性髄膜炎では、8症例中3症例からウイルスが検出された(コクサッキーウイルスB5型1名、ロタウイルスA群1名、水痘带状疱疹ウイルス1名)。感染性胃腸炎では26症例中20症例からウイルスが検出された(ノロウイルス GenogroupII; NoVGII6名、NoVGI+ロタウイルスA群1名、ロタウイルスA群5名、ロタウイルスA群+ポリオウイルス3型(ワクチン株)1名、サポウイルス4名、アデノウイルス5型+41型1名、アデノウイルス41型1名、パレコウイルス1型1名)。麻疹疑い例8症例からは麻疹ウイルスは検出されなかったが、3症例からウイルスが検出された(風疹ウイルス1名、ライノウイルス1名、エコーウイルス9型+ライノウイルス1名)。A型肝炎では、2症例中1症例からA型肝炎ウイルスが検出された。つつが虫病では、2症例中2症例からつつが虫病リケッチアが検出された。心外膜炎では、1症例からエコーウイルス7型が検出された。腸重積症では、1症例からアデノウイルス2型が検出された。ALTE/無呼吸、全身チアノーゼの1症例からライノウイルスが検出された。発熱・活気低下の1症例から、コクサッキーウイルスB5型が検出された。

HIV抗体検査

平成24年4月から平成25年3月までの1年間に177件の血液についてHIV抗体検査を行ったところ、177件全て陰性であった。

感染症流行予測調査

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

感染源調査：豚の抗体保有調査では、抗体保有率は5%以下で推移し、新鮮感染を示す豚は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。したがって、24年度の日本脳炎ウイルスの流行は非常に小規模だったと考えられた。豚の抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎回掲載した。

感受性調査：日本脳炎流行予測調査(感受性調査)として、県内住民315名の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。その結果、抗体陽性者の割合は全体として50.5%であった。5～29歳では73%以上が抗体を保有していたが、40～49歳で15.4%、50～59歳で13.6%であった。「予防接種歴なし」の割合は、0～4歳で最も多く69.2%で、2011年と同程度であった。「接種歴あり」の割合は、5～19歳で80%以上となるが、20歳以上では50%未満であった。予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で14.9%、「接種歴不明」で44.2%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では78.5%であった。

ポリオ：県内のポリオウイルスの動向を把握するために、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成24年9月、平成25年2月に、富山県内の健康な乳幼児82名の糞便を採取し、ウイルス分離を行った。その結果、パレコウイルス1型が2名から、コクサッキーウイルスA16型が1名から、エコーウイルス7型が1名から、アデノウイルス2型が1名からそれぞれ検出されたが、ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：平成24年6月～9月に、0歳から87歳までの315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95.8%、2型では97.4%、3型では79.7%であった。また、各型に対する幾何平均抗体価は、1型は245.0倍、2型は112.4倍、3型は55.5倍であり、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの侵淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

インフルエンザ：インフルエンザの予防と流行状況の把握のために、ヒト感受性調査(2012年4～10月)と感染源調査(2012年9月～2013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315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、2012/13シーズンインフルエンザワクチン株の A/California/7/2009(H1N1)pdm09, A/Victoria/361/2011(H3N2), B/Wisconsin/1/2010(山形系統)および参考株の B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)に対して各々40.0%, 37.5%, 14.3%, 34.9%であった。

感染源調査：インフルエンザウイルスは、AH1pdm09型が2株、AH3型が164株、B型が66株分離され、AH3型とB型ウイルスの混合流行となった。AH3型が主流であったが、第12週以降はB型が分離株の大半を占めた。

[調査研究]

ウイルスウォッチプログラム

地域で流行を繰り返すエンテロウイルスやノロウイルス等の腸管系ウイルスを対象に、下水流入水のウイルス調査を実施した。平成24年度は、県西部地区に定点を設置し、地区別の腸管系ウイルス検出状況を比較した。年間を通してエコーウイルス7型及びコクサッキーウイルス B5型が高頻度に分離された。エコーウイルス7型は心外膜炎患者、コクサッキーウイルス B5型は無菌性髄膜炎と発熱患者から検出されているが、これらのウイルスでは不顕性感染者も多かったことが推測された。

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2012年4月から2013年3月までの1年間に発生届けのあった、ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生21事例のうち、17事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えると、ウイルス性胃腸炎の集団発生は計23事例であった。原因と推定されたウイルスの内訳は、NoVGIIが21事例、NoVGIが1事例、NoVGIとGIIの混合が1事例であった。NoVの型別は、GII.4が14事例と最も多かった。

発生施設別にみると、飲食店での発生が13事例、結婚式場、宿泊施設、学校が各2事例であった。10事例では、各事例内の検出ウイルスの遺伝子配列が一致し、これらの集団発生は、同一の感染源である可能性が高いことがわかった。

動物由来感染症実態調査(動物由来感染症予防体制整備事業)

ヒトに密接な関わりを持つ動物の外部寄生虫と保有病原体について把握し、ヒトへの感染予防に役立てるため、イヌ及びネコ等の外部寄生虫を対象に病原体検出(リケッチア、アナプラズマ、エーリキア)を行った。2010年5月～2013年1月にイヌは123頭、ネコ77頭からマダニ類やノミ類が採取された。イヌからは5種515個体のマダニ類及び2種86個体のノミ類が得られ、ネコからは2種10個体のマダニ類と2種463個体のノミ類が得られた。これらから病原体の遺伝子検出を試みたところ、4種15検体のマダニ類から病原性不明の紅斑熱群リケッチア遺伝子を検出した。

県内における動物由来感染症の流行及び汚染状況把握、海外からの侵入を監視する目的で、哺乳類と媒介節足動物におけるウエストナイル熱、日本脳炎、デング熱、腎症候性出血熱、ハンタウイルス肺症候群、ジフテリア様疾患の浸淫状況を調査した。蚊やブタから日本脳炎ウイルスは分離されなかった。野生げっ歯類13頭からハンタウイルスに対する抗体は検出されなかった。2001～2010年に捕獲した野生げっ歯類100検体においてジフテリア抗毒素価はいずれも検出限界以下であった。

本研究は、がん研究部と共同で行った。

[富山県感染症情報センター]

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

県内および全国の感染症発生動向の情報は、速報あるいは週報の印刷物として関係機関へ毎週送付するとともに、富山県感染症情報センターホームページで一般公開した。また、県厚生部健康課の依頼を受け

て、富山県感染症 ML を利用して、県内全病院、厚生センター・保健所、県群市医師会へ感染症に関する国からの通知等を配信した。

細 菌 部

[行政および依頼検査]

2類感染症検査：厚生センターから搬入された結核菌株4株について、分子疫学的解析方法である VNTR 解析を行い、感染源を追求した。

3類感染症検査：細菌により起因する3類感染症は、コレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症、腸チフス、パラチフスである。平成24年は、腸管出血性大腸菌感染症が15件(30名)、赤痢が2件(2名)発生した。このうち、腸管出血性大腸菌感染事例の原因菌の血清型は O157 8件(8名)、O26 4件(14名)、O121 3件(6名)、O98(1名、O121感染事例関連調査にて検出)、O119(1名、O26感染事例関連調査にて検出)であった。腸管出血性大腸菌による集団感染および家族内感染は4件であった。このうち、8月、9月に発生した O26感染事例においては薬剤感受性試験も実施した。O98の血清型別は当所では型別不明であったため、国立感染症研究所に依頼した。また、分離株について国立感染症研究所(パルスネット)に全国分離株との比較を依頼し、分離株の送付事務を行った。

赤痢2件のうち、1件はインド渡航歴のある患者であり、*Shigella sonnei* による事例であった。他の1件は *Shigella flexneri* による事例であり、渡航歴の無い患者から分離された。

レジオネラ症検査：厚生センターから搬入された喀痰11検体から分離培養を行った結果、3検体からレジオネラ属菌が分離された。

細菌性食中毒検査：平成24年は、3月に黄色ブドウ球菌による食中毒が発生し、患者および食品由来株について毒素遺伝子検査、コアグラーゼ型別検査を実施した。5月に赤痢の患者が発生した事例に関連して、食品5検体から赤痢菌の検査を実施したが、全て陰性であった。7月に飲料水によるエルシニア・エンテロコリチカによる食中毒が発生し、水、ふきとり等の検査を行った。また、患者および水由来株について、パルスフィールド電気泳動法による解析を行った。

食品検査：6月に清涼飲料水31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、生食用鮮魚介類(刺身等)33検体について腸炎ビブリオの定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。4月から7月に二枚貝によるノロウイルス食中毒発生防止対策事業として、岩かき21件と漁港で使用されている殺菌海水5件の腸炎ビブリオ検査を行った。すべての検体が成分規格に合致していた。鶏肉・牛レバー汚染実態調査(ノーモア・カンピロバクター事業)として、平成24年5月～平成25年3月に県内に流通する鶏肉等についてカンピロバクターの汚染実態を調査した。鶏肉37検体中22検体からカンピロバクターが検出された。牛レバー 1検体からはカンピロバクターは検出されなかった。牛レバーについては腸管出血性大腸菌(O157、O26、O111)検査も行ったが、すべて陰性であった。2月に生食用食肉のモニタリング検査として、生食用馬肉1検体の糞便系大腸菌群、サルモネラ属菌の検査を行った。いずれも陰性であった。

厚生労働省医薬食品局食品安全部より依頼のあった「平成24年度食品の食中毒菌汚染実態調査」に基づき、60検体、6～7項目について検査を実施した。腸管出血性大腸菌はすべての検体で検出されなかったが、大腸菌、サルモネラ属菌、カンピロバクターについては、それぞれ24、6、7検体で検出された。

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

腸炎ビブリオ検査：平成8年度より始まった通称「VP マリン」事業として、6月から10月にかけて県内4漁港の表層海水32検体および魚介類販売業2施設で市販されていた魚介類48検体中の腸炎ビブリオ数を調べた。その結果、海水からは <3～150/100ml、市販魚介類からは <30～200/100g の腸炎ビブリオが検出された。また、県内の4漁港海水中の耐熱性溶血毒素(TDH)産生性腸炎ビブリオ O3：K6の分布を PCR 法および免疫磁気ビーズ法により調べた。その結果、海水32検体のうち8検体において tdh 遺伝子が検出されたが、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3：K6は分離されなかった。

名水調査：県内で飲用利用されているいわゆる「名水」について、細菌学的な調査を行った。調査は7、10月の2回、採水地点はそれぞれ8か所、計22検体について、生菌数、大腸菌定量、嫌気性芽胞菌、従属栄養細菌数を実施した。5検体で大腸菌が検出された(2.0, 1.0, 1.0, 3.1, 1.0 MPN/100ml)。嫌気性芽胞菌はすべての検体で陰性であった。

[病原細菌検出情報]

県内10か所の病院と4か所の厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原細菌検出数は、1,266株、前年比98.0%であった。最も多かったのは大腸菌669株で、以下、黄色ブドウ球菌の283株、カンピロバクター199株の順であった。

[調査研究]

サルモネラの薬剤感受性動向調査：県内の病院、保健所でヒトから分離された菌株の収集、解析を行った。2012年1月～12月までに当所に送付された菌株は46株で、昨年比1.21と増加していた。それらの血清型の内訳は *S. Enteritidis* が14株(30.4%)、*S. Thompson* が8株(17.4%)、*S. Saintpaul* が6株(13.0%)、*S. Infantis* が4株(8.6%)その他14株であった。これらヒトから分離されたサルモネラの薬剤感受性試験を行ったところ、14株が何らかの薬剤に耐性を示し、多いものは4薬剤に耐性を示した。

腸管出血性大腸菌ベロ毒素ファージの塩基配列解析：富山県で分離された腸管出血性大腸菌についてベロ毒素プロファージの構造と病原性の関係について、ベロ毒素プロファージの一部塩基配列多型の解析を行った。その結果、Stx2プロファージと *stx* 2多型の1つである Stx2c プロファージについて多型配列の系統解析を行った結果、Stx2プロファージでは血清型と *stx* 保有状況に対応した分布を、Stx2c プロファージでは *stx* 保有状況に対応しない分布であることが判明した。

腸管出血性大腸菌 O111/O157による集団食中毒事例の細菌学的解析：EHEC O111分離株と血便検体から Stx2ファージの分離を試み、2つの分離株および3つの血便から Stx2ファージを検出、その構造を解析した。その結果、これまで報告されている Stx2ファージと類似した構造を持っていることが判明した。

薬剤耐性菌の新規検査法の開発：PCR法をベースにした薬剤耐性遺伝子領域を型別する検査法を検討した。平成24年度は、アシネトバクター属菌を対象としてバウマニコンプレックスを型別する方法を検討した。また、この検査法を評価するため、臨床分離株50株の薬剤感受性、薬剤耐性に係る遺伝子の有無について調査した。

クドア汚染実態調査：クドア属を広く検出するために、クドア属に特異的なプライマーを設計した。また、県内に流通する市販生食用鮮魚31検体について、クドア汚染実態調査を行った。その結果、3検体からクドア属が検出された。刺身を喫食したことに伴う有症苦情事例の患者便8検体についてクドア検査を行ったが、すべて陰性であった。

溶連菌の血清型別調査：平成24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65株では、検出率が高いT型は、順にT1型、T12型、TB3264型、T28型であった。前年に増加したB3264型が、本年も同じ分離頻度を示した。B群200株で検出率が高い型は、順にI b型、Ⅲ型、V型、I a型、VI型であった。前年と比較してI b型が増加していた。

カンピロバクターの臨床分離株の薬剤感受性に関する調査：平成24～25年度に県内2か所の病院で分離されたカンピロバクター43株の収集解析を行った。内訳は *C. jejuni* 38株、*C. coli* 5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。

レジオネラ属菌の環境調査：厚生センター(支所)、富山市保健所と連携し、協力を得られた15浴用施設のレジオネラ属菌調査を行った。その結果、浴用水12/45検体(26.7%)、シャワー水7/18検体(38.9%)からレジオネラ属菌が検出された。浴用施設以外の環境調査では、アスファルト道路の水たまり21/65検体(32.3%)や自動車のウォッシャー液3/106検体(2.8%)からレジオネラ属菌が検出された。

結核菌分子疫学調査：厚生センター(支所)、富山市保健所と連携し、県内の結核患者から分離された結核菌44株についてVNTR(JATA-12/15)解析を実施した。

【精度管理】

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

外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

【レファレンスセンター事業】

レンサ球菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）：2012年1～12月の分離株について、A群溶血レンサ球菌114株（愛知県衛生研究所49株および富山県衛生研究所65株）のT型別結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した18例の劇症型溶連菌感染症例およびB群溶連菌200株の型別結果についても報告した。

レジオネラの東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）：平成24年度に患者から分離されたレジオネラ菌13株（富山県、石川県で分離）について、国立感染症研究所に送付した。13株とも血清型は *Legionella pneumophila* SG1であった。

結核の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）：7月のレファレンス会議で決められた「疫学解析についてのアンケート調査」を実施し、とりまとめた。

化 学 部

【行政および依頼検査】

食品等の検査

成分規格及び添加物等：県内で製造されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウム及びスズ）並びに惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリンナトリウム）試験及び生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の試験を行ったところ、51検体（総項目数231）全てが食品衛生法の規格基準または使用基準に適合していた。

残留農薬等：県内産主要農産物の玄米、トマト、小松菜等の6種8検体について、有機リン系（フェニトロチオン等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）及び含窒素系（フルトラニル等）農薬約90種類の残留状況を検査した（総項目数743項目）。その結果、トマト1検体からジエトフェンカルブ（基準値5.0ppm）が0.02ppm、ぶどう2検体からクレソキシムメチル（同15ppm）が0.15ppm及び0.08ppm並びにペルメトリン（同5.0ppm）が0.11ppm及び0.06ppm、また、玄米1検体からフサライド（同1ppm）が0.03ppm及びフルトラニル（同2.0ppm）が0.05ppm 検出されたが、全て基準値以下であった。

また、平成19年12月から20年1月の間に国内で中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け、平成20年度から輸入加工食品中の残留農薬検査を行っている。今年度は、県内で市販されている輸入冷凍加工食品32検体について、メタミドホス、ジクロロボスを含む有機リン系化合物等56農薬を検査したところ、いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）。

重金属等：富山湾産魚介類17魚種20検体（サワラ、フクラギ等）について総水銀を測定したところ、19検体から検出されたが、濃度は0.02～0.21ppmといずれも暫定規制値（0.4ppm）を下回っていた。

また、ハガツオ及びシイラ等10魚種10検体について船底や魚網の防汚剤として平成元年まで使用されていたビストリブチルスズオキシドによる汚染調査を行ったところ、全て不検出であった。

家庭用品検査

家庭用洗剤及び家庭用エアロゾル製品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及びメタノールの試験を、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なったところ、いずれの製品からも検出されず、家庭用品の規制基準に適合していた。

水質検査

水質管理目標設定項目¹⁾：県内の水道事業体の水道原水25検体及び浄水22検体について、亜硝酸態窒素、アンチモン及びトルエン等13項目(総項目数196)並びにチウラム等38項目(総項目数367)の農薬類の検査を行った。その結果、2検体からウラン0.0002~0.0004mg/L(目標値0.002mg/L)が、2検体からジクロロアセトニトリル0.001mg/L(目標値0.01mg/L)が、また7検体から抱水クロラール0.001~0.003mg/L(目標値0.02mg/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。

1) 水道水質基準を補完する項目で、水質管理上留意すべき項目

要検討項目²⁾：県内水道事業体の水道原水27検体及び浄水27検体について、銀などの重金属類、スチレンなどの揮発性有機化合物、フタル酸ジ(n-ブチル)などのフタル酸エステル類、ブロモクロロ酢酸などのハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどのハロアセトニトリル類等24項目(総項目数640)の検査を行った。その結果、1検体からモリブデン0.008mg/L(目標値0.07mg/L)が、また1検体からアセトアルデヒド0.016mg/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。

2) 毒性評価が定まらない物質や水道水中での検出実態が明らかでない項目

ゴルフ場使用農薬：県内ゴルフ場周辺の飲用井戸水21件について、5月及び11月の2回、当該ゴルフ場で使用されている農薬(シマジン等のべ40項目)の検査(総項目数464)を行った。全ての検体について、いずれの項目も不検出であった。

温泉分析

温泉所有者等から依頼のあった14源泉について温泉中分析検査を行ったところ、すべての源泉が温泉の定義に適合していた。また、そのうち12源泉については、温泉利用施設内の浴槽水の成分検査も同時に行った。

[調査研究]

食品中の成分及び添加物に関する研究

ジュースには多くの有機酸が含まれ、その中には光学活性な有機酸がある。例えば、100%果汁表示のジュースでのD-リンゴ酸の検出は酸味料の添加を意味し、ブドウジュース以外のジュースでの酒石酸の検出は酸味料の添加あるいはブドウジュースの添加のどちらかを示す。リンゴ酸や酒石酸以外の有機酸でも様々な真正指標が報告されている。我々はこれまでにリンゴ酸、酒石酸やイソクエン酸の光学異性体分析法を開発して食品分析に適用してきた。しかし、これらはいずれも個別分析法であることから、1回の分析で多種の有機酸を分析でき、かつ光学異性体も同時に分析できる方法が望まれている。今回は2種類の金属イオンを中心イオンに用いた新規な配位子交換キャピラリー電気泳動法を検討した。DL-リンゴ酸、DL-酒石酸及びDL-イソクエン酸を用いて基礎的検討を行った結果、2種類の金属イオンとしてCu(II)及びAl(III)イオンを用いた系で上記3種類の有機酸を光学異性体分析できることが分かった。現在、ジュースなどの食品分析への応用を検討している。

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価

厚生労働省から「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号 最終改正:平成22年12月24日付け食安発第1224第1号)が通知され、食品衛生法に定められている規格基準への適合性について判断を行う試験法については、平成25年12月13日までに妥当性の確認をすることとなった。当研究所では県産農産物の残留農薬検査を実施していることから、今年度から本県の代表的な作物5種類について妥当性評価を行っている。今年度は、イオウ化合物を含む野菜としてキャベツ、果実として梨を選定し妥当性評価を実施した。

食品検査業務における既存検査方法の改良

本県の厚生センターでは、食品の漂白剤として使用されている二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の検査を、「通気蒸留-アルカリ滴定法または比色法」により、年間30件程度行っている。その添加回収試験において、良好な結果が得られない旨の相談が検査担当職員より相次いで寄せられたことを受けて、平成22年度から原因の解明と既存検査方法の改良を行っている。

現地分析を可能とする分析ツールの開発

従来の分析機器は、大型であるため設置場所から簡単に動かせない。また、分析コストが高いという問

題点も有している。その問題点を解決するために、安価で、分析コストが低く、持ち運びも可能な分析ツールの開発に取り組んでいる。

飲料水及び温泉に関する調査

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。今年度は名水16箇所について、水質管理目標設定項目のうち農薬類41項目の検査を行った(総項目数656)。いずれの項目も不検出であった。飲用されている「とやまの名水」については、名水の管理者、市町村、県が連携して取り組んでいる衛生管理・飲用対策により、良好な水環境が保たれていると考えられる。

氷見・高岡地区温泉実態調査：

温泉資源保護を目的として、氷見・高岡地区の海岸地域の狭い範囲に密集する源泉群について、平成7年度から温泉成分等の経年変化調査を行っている。今年度は新たに1源泉を加えた19源泉を対象として、成分濃度等10項目の検査を行った。全ての源泉について、泉温、揚湯量及び成分濃度の大幅な変動は認められなかった。

[精度管理調査]

食品検査の精度管理：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」(平成10年12月制定)に基づき、平成11年度から県内の厚生センター等の食品の収去検査を実施している公的機関の検査水準の維持、向上を目的として、精度管理調査を実施している。今年度は5機関を対象に、しょう油中の甘味料(サッカリンナトリウム)の定量試験について精度管理調査を行った。その結果、全機関の検査結果は良好と判定され、「十分管理されている」と判断できる結果が得られた。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」(平成9年3月制定)に基づき、平成8年度から、県内の水道水質検査を実施する機関を対象に精度管理調査を実施している。今年度は、「鉄及びその化合物」(21機関参加)及び「水銀及びその化合物」(16機関参加)の2項目について精度管理調査を行った。

鉄及びその化合物測定用配布試料は、水道原水(河川水)に有害金属測定用硝酸を添加して調製した。1機関がGrubbsの異常値検定(危険率5%)により棄却された。棄却された1機関を除く20機関の測定値の平均値±標準偏差は0.09519±0.00803 mg/L、機関間変動係数は8.4%、機関内変動係数は0.4~7.4%であった。棄却された機関の原因は、検査に使用したガラスビーカーからのコンタミネーションであった。

水銀及びその化合物測定用配布試料は、当所水道水に市販標準品、L-システインおよび有害金属測定用硝酸を添加して調製した。2機関がGrubbsの異常値検定(危険率5%)により棄却された。棄却された2機関を除く14機関の測定値の平均値±標準偏差は0.0002385±0.0000215 mg/L、機関間変動係数は9.0%、機関内変動係数は0.0~3.8%であった。棄却された1機関の原因は、告示法に規定する加熱前処理を行っていないこと、また他の1機関の原因は測定中の機器の感度変化であった。

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年度から現行方式に改められた。平成24年度は、対象者1,862名中589名が1次検診を受診した。

精密検診：1次検診の結果、尿中β2-マイクログロブリン濃度が5.0mg/gCr以上または尿検査で尿蛋白(±)以上の陽性を示した者109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82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1名に対して管理検診が実施され、該当する尿及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：平成24年度は認定申請に伴う行政検査は、実施されなかった。

[調査研究]

肥満体質遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

職域の健康診断受診者のうち、20歳代～30歳代の若年女性(106名)を対象とし、肥満、やせと糖代謝について調べたところ、以下の結果を得た。

- ① BMI 25以上の「肥満」は5名(4.7%)と少なかったが、BMI 18.5未満の「やせ」は25名(23.6%)と多かった。
- ② 糖代謝の異常者は、HbA1c：1名、空腹時血糖(FPG)：0名、空腹時インスリン(INS)：5名、インスリン抵抗性指標(HOMA-R)：6名といずれも少なかった。
- ③ 「肥満」のINS、HOMA-Rは「やせ」、「普通」に比べ高かった。しかし、「普通」にもHOMA-Rが高くインスリン抵抗性を示す者がみられた。
- ④ ライフスタイルとの関連では10歳代に運動習慣のない者、外食の頻度が多い者でHOMA-Rが高かった。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

有機リン化合物の空気由来曝露について検討するため、一般住宅の室内と屋外で定期的に空気を採取し、農薬成分とリン酸トリエステル類の気中濃度を分析した。農薬成分は室内、屋外ともに夏期に観察され、気中濃度の最大値を用いて呼吸による1日曝露量を推計したところ、許容一日摂取量(ADI)に対する割合は0.04～0.83%であった。トリエステル類は調査期間を通して検出され、室内の方が高濃度であった。いずれの物質も室内の気中濃度と気温の間に相関がみられ、気温が高いとき気中濃度も高かった。一般の住宅において、微量の有機リン化合物の空気由来曝露があることが示された。

海洋深層水温浴による健康増進と皮膚状態に関する調査研究

平成23年度に、海洋深層水を利用した長期・継続的な運動浴によるメタボリック症候群対策への利用の可能性と、健康関連QOLスコアの改善を報告した。皮膚状態については、アンケート調査では改善の感想が得られたものの、角質水分量などの測定指標では悪化の傾向を示した。9月から12月にかけての季節的影響が大きかったためと考えられた。そこで、平成24年度は季節的影響を考慮するため、中高年女性(年齢40～69歳)の肥満者40名と非肥満者20名を調査対象者とし、交互に比較対照となるように、深層水運動浴を9月から12月に行う前期群と12月から3月に行う後期群の2群に分け、開始時、中間時、終了時の3回、身体測定、皮膚状態の測定、アンケート調査等を行った。

その結果、皮膚のアンケート調査では、深層水運動浴後に、前期群・後期群からあわせて53名中21名から「状態がよくなった」旨の回答があった。しかし、測定指標である水分蒸散量、角質水分量およびpHについては、季節的影響を考慮に入れて解析したが、深層水運動浴による統計学的に有意な変化は見られなかった。今後、あらたな皮膚関連の測定項目を加え、さらに検討を行う予定である。

(富山大学医学部等との共同研究、平成23年度から25年度の3年計画)

骨粗鬆症予防法の確立に関する研究

① 中高年女性の低強度の身体活動が、骨強度減少予防にどの程度寄与するかを調べるために、高岡市保健センター主催の健康運動教室に参加している住民の協力を得て、平成22年度から2年間の調査を終了した。開始時、1年経過時、終了時の尿血液検査及び骨強度測定並びに期間を通じてのライフコーダの装着による身体活動量及び身体活動の強さを観察した。23Ex/week以上の身体活動を行えば、活動の種類を問わず骨強度低下予防に効果的に働く可能性が示唆されたが、研究協力者の確保が当初の目標に至らず、統計的検出力は低かった。

② 女性89名に対して、ホモシステイン(Hcy)と骨代謝指標の測定を行い、10ヶ月間の骨代謝変化とHcyの関連を検討した。Hcy濃度が $9.3\mu\text{M}$ 以上を高値群、 $9.3\mu\text{M}$ 未満を低値群として、骨代謝の変化を比較したところ、高値群の骨吸収指標(デオキシピリジノリン)の変化は低値群と比較して大きく、かつデオキシピリジノリンが増加する傾向が見られた。これよりHcyが $9.3\mu\text{M}$ 以上の者は骨吸収が亢進しやすいことが示唆され、将来的に骨強度の低下が低値群と比較して早い可能性が示唆された。

カドミウムによる近位尿細管機能異常ならびに慢性腎臓病に関する研究

環境省委託研究「重金属による健康影響に関する総合的研究」のうち、「イタイイタイ病及び慢性カドミウム中毒に関する総合的研究」の中の「カドミウムによる近位尿細管機能異常に関する研究」として実施

されている標記研究(主任研究者：石田陽一(富山市民病院院長代行))に平成24年度から研究協力者として参画し、調査対象者からの同意の取得、追加問診票の送付・回収及び研究同意者の追加検査を実施した。

(9) 検 査 状 況

()内項目数

部 名	区 分	行政検査	依頼検査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常検査	9,006(54,036)	
	染色体検査	34(34)	188(188)
	衛生動物検査	1,015(1,015)	0(0)
	小 計	10,055(55,085)	188(188)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	717(717)	
	血清学的検査	1,370(2,966)	
	小 計	2,087(3,683)	0(0)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	146(451)	
	食中毒にかかわる検査	45(512)	
	食品検査	284(907)	
	水質検査	277(628)	48(54)
	小 計	752(2,498)	48(54)
化 学 部	食品にかかわる検査	118(2,796)	
	家庭用品検査	15(20)	
	水質検査	130(1,907)	44(563)
	温泉分析	32(560)	14(420)
	小 計	295(5,283)	58(983)
環 境 保 健 部	カドミウム環境汚染にかかわる 地域住民健康調査等	672(2,506)	
	小 計	672(2,506)	0(0)

検 査 内 容

が ん 研 究 部

()内項目数

[行政検査]

[依頼検査]

1. 先天性代謝異常検査 9,006(54,036)

2. 染色体検査

(1) 血液 0(0)
 (2) 羊水 31(31)
 (3) 胎児 3(3)

1. 染色体検査

(1) 血液 23(23)
 (2) 羊水 123(123)
 (3) 胎児 42(42)

3. 衛生動物等検査

(1) 衛生・不快動物 1,013(1,013)
 (2) 食品混入異物 2(2)

2. 衛生動物等検査

(1) 衛生・不快動物 0(0)
 (2) 食品混入異物 0(0)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査

(1) インフルエンザ	225(225)
(2) ポリオ	82(82)
(3) その他ウイルス	149(149)
(4) リケッチア	5(5)
(5) 食中毒および集団発生	256(256)

2. 血清学的検査

(1) インフルエンザ	315(1,260)
(2) ポリオ	315(945)
(3) 日本脳炎ヒト	315(315)
ブタ	240(240)
(4) エイズ	177(177)
(5) その他のウイルス	3(3)
(6) リケッチア	5(26)

細 菌 部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 結核菌	50(50)
(2) レジオネラ	19(19)
(3) 腸管出血性大腸菌	43(344)
(4) 溶血性レンサ球菌	20(20)
(5) コレラ	2(4)
(6) ウルセランス	1(3)
(7) 喀痰	11(11)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 病原大腸菌	16(456)
(2) 黄色ブドウ球菌	15(25)
(3) エルシニア	14(31)

3. 食品検査

(1) 収去検査	64(95)
(2) 食中毒検査	21(39)
(3) その他	199(773)

4. 水質検査

(1) 海水浴場水	80(180)
(2) 海水	37(111)
(3) 名水	22(88)
(4) 浴用水	63(171)
(5) 飲用水	1(3)

[依頼検査]

1. 水質検査

(1) 海水浴場水	48(54)
-----------	-----	-----

(6) 水道水原水	19(20)
(7) その他	55(55)

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査	
(1) 食品成分および添加物	51(231)
(2) 残留農薬等	40(2,535)
(3) 重金属類	27(30)
(4) その他有害物質	0(0)
2. 家庭用品検査	
(1) メチルアルコール	5(5)
(2) テトラクロロエチレン及び トリクロロエチレン	5(10)
(3) デイルドリン	5(5)
3. 水質検査	
(1) 水質基準項目	0(0)
(2) 管理目標設定項目	55(1,047)
(3) 要検討項目	50(600)
(4) ゴルフ場使用農薬	21(232)
(5) その他	4(28)
4. 温泉分析	
(1) 中分析	12(360)
(2) その他	20(200)

[依頼検査]

1. 水質検査	
(1) 水質基準項目	5(87)
(2) 管理目標設定項目	8(172)
(3) 要検討項目	2(40)
(4) ゴルフ場使用農薬	21(232)
(5) その他	8(32)
2. 温泉分析 中分析	14(420)

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査	
(1) 神通川流域住民健康調査	
1次検診尿検査	589(1,178)
精密検診尿、血液検査	82(1,312)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診 尿、血液検査	1(16)
(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査 尿、血液検査	0(0)

[依頼検査]

(10) 科学研究費補助金等

研究課題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
検査体制、精度管理体制の質的向上に関する研究	がん研究部	九曜 雅子	厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業 タンデムマス導入による新生児マスクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究
東日本大震災による被災地と富山県で採集した蚊からのウイルス分離 富山県の愛玩動物におけるマダニ類とノミ類の調査 3道府県で得られたトコジラミの殺虫剤感受性と適用承認されたマイクロカプセル剤の基礎的検討	ウイルス部 がん研究部	名古屋真弓 稲崎 倫子 山内 健生 渡辺 護	厚生労働省科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業)感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化、感染リスクの把握に関する研究
富山県のつつが虫病調査	ウイルス部 がん研究部	名古屋真弓 稲崎 倫子 山内 健生 渡辺 護 滝澤 剛則	厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究
イヌやネコなどの愛玩動物に寄生する外部寄生虫及び保有病原体に関する研究	ウイルス部	名古屋真弓	平成24年度大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成
地方衛生研究所等診断施設の病原体取扱いに関する教育プログラムの研究と評価 検体輸送における研修会の効果と輸送の実態調査	細菌部 ウイルス部 他 各部	佐多徹太郎 綿引 正則 名古屋真弓 磯部 順子 田中 朋子 山下 智富 高森 亮輔 滝澤 剛則	厚生労働省科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究
ノイラミニダーゼ阻害薬投与患者における薬剤耐性 A 型インフルエンザウイルスの検出	ウイルス部	佐多徹太郎 小渕 正次 滝澤 剛則	厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究
富山県における下水流入水からの腸管系ウイルス検出(平成19～24年)	ウイルス部	滝澤 剛則 板持 雅恵 嶋 一世	厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) エンテロウイルス感染症制御のための診断・予防治療に関する国際連携研究
薬剤耐性インフルエンザウイルスの早期探知への次世代シークエンサーの応用	ウイルス部	小渕 正次	(財)田村科学技術振興財団研究等助成事業
インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間および国立感染症研究所との連携強化に関する研究	ウイルス部	滝澤 剛則 小渕 正次	厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業) 地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株、薬剤耐性株等の早期検出、検査診断系の改良および流行把握に関する研究
富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況	ウイルス部	名古屋真弓 稲崎 倫子 板持 雅恵 嶋 一世 堀元 栄詞 小渕 正次 滝澤 剛則	厚生労働科学研究費補助金(食品の安心・安全確保推進研究事業) 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究

研究課題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
ノロウイルスの地域内浸潤の分子的背景の解明	ウイルス部	滝澤 剛則	文部科学省(日本学術振興会) 基盤研究C 研究代表者
病原体管理システムとアクセスコントロール	細菌部	佐多徹太郎 綿引 正則 ほか	厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究 事業「病原体及び毒素の管理システムおよび 評価に関する総括的な研究」
薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析技術の向上に関する研究	細菌部	佐多徹太郎 綿引 正則 清水美和子	厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究 事業「新たな薬剤耐性菌の耐性機能の解明及 び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究」
重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究	細菌部	綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子 清水美和子 金谷 潤一	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一	厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業
地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究	細菌部	佐多徹太郎 綿引 正則 磯部 順子	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
地域における効果的な結核対策の強化に関する研究	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一 佐多徹太郎	厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業
富山県におけるレジオネラ属菌の環境中における分布調査と感染源の探求	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一	(財)田村科学技術振興財団研究等助成事業
腸管出血性大腸菌ベロ毒素産生におけるプロファージ・宿主ゲノム配列多型の寄与	細菌部	木全 恵子	文部科学省(日本学術振興会) 科学研究費補助金 若手研究(B) 研究代表者
[金属イオン-配位子]カクテルを用いた新規なキラル配位子交換法の開発	化学部	小玉 修嗣	文部科学省(日本学術振興会) 基盤研究C 研究代表者
難分解性金属キレート剤を指標とした水環境汚染実態の解明	化学部	健名 智子	文部科学省(日本学術振興会) 基盤研究C 研究代表者
日常食の汚染物質摂取量及び汚染物モニタリング調査研究	化学部	堀井 裕子	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
インドネシア西ジャワ農村部における地域の持続可能性と健康	環境保健部	中崎美峰子 新村 哲夫	文部科学省 基盤研究A(海外学術) 分担研究者

(11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
疫学(感染症)	堀元 栄詞	保健学科講義	平24. 5. 11 - 6. 22(計4回)	県総合衛生学院
ウイルス学講義「ウイルス感染症の病理」	佐多徹太郎	富山大学医学部医学科3年生講義	平24. 5. 17	富山大学
電気泳動	小玉 修嗣	機器分析化学	平24. 6. 8	中部大学
新興・再興感染症の病理 ウイルス感染症への対応	佐多徹太郎 滝澤 剛則	ウイルス感染症制御学講義	平24. 7. 5	金沢大学
食品の産地判別	小玉 修嗣	環境物理分析学講義	平24. 7. 11	金沢大学
腸管出血性大腸菌：最近の話題	綿引 正則	麻布大学大学院特別講義	平24. 7. 13	麻布大学
焼肉ユッケを介した集団食中毒対策事例	佐多徹太郎	健康危機管理専門課程研修	平24. 7. 18	国立保健医療科学院
富山県における腸管出血性大腸菌 O111 集団食中毒～1年経過後の解析データ～	磯部 順子	第16回腸管出血性大腸菌感染症研究会	平24. 7. 19	パーティギャラリーイヤタカ(秋田)
食中毒 最近の動向	綿引 正則	敦賀市医師会 感染症対策講演会	平24. 7. 20	敦賀市医師会館
最近注目される感染症	堀元 栄詞	出前県庁しごと談義	平24. 7. 18 平24. 10. 2 平24. 10. 18	ユニオン産業(株) 八尾老人保健施設「風の庭」 (株)JA ライフ富山
牛肉生食による腸管出血性大腸菌 O111 集団食中毒事例 - 特に細菌学的特徴について	綿引 正則	第38回日本食品微生物学会学術セミナー	平24. 8. 30	富山明治安田生命ホール
ノロウイルスを中心としたウイルス性食中毒の予防について	名古屋真弓	日本食品微生物学会第38回学術セミナー	平24. 8. 30	富山明治安田生命ホール
感染症と微生物	佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 小渕 正次 堀元 栄詞 嶋 智子 名古屋真弓	富山赤十字看護専門学校講義	平24. 9. 5, 9. 12, 9. 19, 9. 26, 10. 3, 10. 24, 10. 31, 11. 14, 11. 15, 11. 21, 11. 28, 12. 5, 12. 12, 12. 19, 平25. 1. 9	富山赤十字看護専門学校
2011年腸管出血性大腸菌集団食中毒事件の概要と細菌検査	磯部 順子	第14回東海病原微生物研究会	平24. 9. 15	栄ガスホール (名古屋市)
富山県における O111 集団事例～細菌学検査の立場から～	磯部 順子	第95回日本細菌学会関東支部総会	平24. 10. 12	ホテル日航東京
インフルエンザウイルス検査診断実習(HI法)	小渕 正次	平成24年度短期研修ウイルス研修	平24. 10. 17	国立感染症研究所
健康危機管理と衛生研究所－地域ネットワークのために－	佐多徹太郎	富山市感染症危機管理医師研修会	平24. 10. 19	富山市医師会健康管理センター
感染症の予防とは敵をよく知ること～ペットから感染する病気を学びませんか～	佐多徹太郎	福井大学医学部付属病院感染制御講演会	平24. 10. 22	福井大学医学部付属病院
リアルタイム PCR に関する技術指導	名古屋真弓	リアルタイム PCR に関する技術指導	平24. 10. 24-26	大阪大学微生物病研究所 日本・タイ感染症共同研究センター

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
富山県で発生した腸管出血性大腸菌食中毒における細菌学的解析と地衛研	綿引 正則	第71回日本公衆衛生学会総会	平24. 10. 25	山口県立図書館レクチャールーム
生物資源分析化学	小玉 修嗣	生物資源分析化学集中講義	平24. 10. 27 平24. 11. 10	福井県立大学
これまでの深層水を利用したタラソテラピー研究について	新村 哲夫	「深層水と健康増進」講演会	平24. 10. 28	ほたるいかミュージアム
ウイルスの特性	滝澤 剛則	富山県消防学校専科教育救急科(第15期)	平24. 11. 7	富山県消防学校
焼肉チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌を原因とする集団食中毒の細菌学的特徴	綿引 正則	第49回日本細菌学会中部支部総会	平24. 11. 10	金沢大学医学部十全講堂・医学部記念館
富山湾海洋深層水を利用したタラソテラピー研究	新村 哲夫	とやま深層水フォーラム2012	平24. 11. 14	東京都
感染症の病理学	佐多徹太郎	浜松医科大学医学部講義	平24. 11. 16	浜松医科大学
ユッケによる腸管出血性大腸菌食中毒事例について	佐多徹太郎	平成24年度第2回疫学情報研修会	平24. 11. 27	滋賀県衛生科学センター
注目される感染症とその対応について	堀元 栄詞	平成24年度養護教諭研修会	平24. 11. 27	富山県総合教育センター
PPE 着脱時の感染予防	堀元 栄詞	新川厚生センター個人防護具(PPE)着脱訓練	平24. 12. 7	新川厚生センター
ユッケによる腸管出血性大腸菌O111集団食中毒	佐多徹太郎	第26回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会特別講演	平25. 1. 24	沖縄県立博物館・美術館
感染症のいま～対策, 予防, 診断, 治療等～	佐多徹太郎	富山県立富山いずみ高等学校看護科講義	平25. 2. 4	富山県立富山いずみ高等学校
細菌について	磯部 順子	富山県消防学校特殊災害科(第5期)	平25. 2. 5	富山県消防学校
ウイルスについて	滝澤 剛則	富山県消防学校特殊災害科(第5期)	平25. 2. 6	富山県消防学校
最近注目される感染症～感染症発生動向調査から見えるもの～	堀元 栄詞	富山大学医学部感染予防医学講座	平25. 2. 15	富山大学杉谷キャンパス
環境における感染ルートを探る	磯部 順子	平成24年度生活衛生関係技術担当者研修会	平25. 3. 12	厚生労働省
焼肉チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌111集団食中毒事例の概要と細菌学的特徴	綿引 正則	平成24年度三重県食品衛生監視員研修会	平25. 3. 15	三重県庁1階 S101会議室

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
夏休みこども科学研究室	平24. 7. 26	細胞から DNA を取り出そう	環境保健部
厚生センター職員他	平24. 4. 6, 12	ノロウイルス検査法	ウイルス部
医療機関職員 他	平24. 6. 18, 19, 7. 9	ゆうパックにより検体を送付する ための研修会	細菌部 ウイルス部
中国遼寧省疾病予防コントロール センター 職員 李 延昇	平24. 6. 27-11. 15	食品等に関する理化学検査技術	化学部
高岡厚生センター 高橋 敏	平24. 6. 27-29	農薬中の残留農薬検査方法実習	化学部
岐阜大学応用生物科学部獣医学 科5年生	平24. 9. 3-14	衛生研究所における獣医師の業 務と役割の理解	ウイルス部

(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
山下 智富	平24. 4. 13	平成24年度 食品安全行政講習会	厚生労働省講堂	国立保健医療科学院 寺田 宙 他
綿引 正則 名古屋真弓 金谷 潤一	平24. 4. 16	感染症発生動向調査事業等 においてゆうパックにより検体 を送付するための研修会	厚生労働省健康局 結核感染症課	厚生労働省健康局結 核感染症課 中嶋 建介 他
佐多徹太郎 綿引 正則 木全 恵子 滝澤 剛則 小淵 正次	平24. 6. 28, 29	衛生微生物技術協議会 第33回研究会	神奈川県民ホール	国立感染症研究所 渡邊治雄 他
堀井 裕子	平24. 7. 3	平成24年度第1回放射線測定 技術講習会	富山県環境科学セ ンター	富山大学工学部 西村克彦 他
高森 亮輔	平24. 7. 11-13	先天性代謝異常等検査技術者 研修会	恩賜財団母子愛育 会総合母子保健セ ンター	島根大学小児科 山口清次 他
高森 亮輔	平24. 8. 25, 26	臨床細胞遺伝学セミナー	東京慈恵医科大学	神奈川県立こども医 療センター遺伝科 黒澤健司 他
小淵 正次	平24. 9. 5- 7	高病原性鳥インフルエンザウ イルス(H5N1)同定技術研究 会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 影山 努 他
村元 達也	平24. 9. 20, 21	平成24年度バイオテクノロジー 人材育成トレーニングコー ス(一般コース)	富山県立大学工学 部	富山県立大学工学部 生物工学科 榊 利之 他
堀井 裕子	平24. 10. 5	平成24年度食品衛生検査施設 信頼性確保部門責任者研修会	厚生労働省講堂	国立医薬品食品衛生 研究所 工藤由起子 他
村元 達也	平24. 10. 16, 17	第52回温泉保護・管理研修会	国立オリンピック 記念青少年総合セ ンター	公益財団法人中央温 泉研究所 益子 保 他
木全 恵子	平24. 12. 3	公的研究費の管理及びe- Rad 更新に係る新システム研 修説明会	名古屋大学 (名古屋市)	文部科学省研究振興 局振興企画課担当官
金谷 潤一	平24. 12. 17-21	次世代シーケンサー Miseq を用いた研修	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 黒田 誠 他
堀井 裕子	平25. 2. 1	平成24年度地方衛生研究所全 国協議会衛生化学分野研修 会	国立医薬品食品衛 生研究所	厚生労働省医薬食品 局安全部基準審査課 中西 民二 他
稲崎 倫子 木全 恵子	平25. 2. 26, 27	希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 渡邊治雄 他
健名 智子	平25. 2. 27	水道水質検査精度管理に関す る研修会	厚生労働省講堂	厚生労働省健康局水 道課 尾川 毅 他
九曜 雅子 米田 豊	平25. 3. 2	日本マス・スクリーニング学 会第31回技術部会研修会	名古屋市立大学	名古屋市立大学大学 院医学研究科 水野晴夫 他
金谷 潤一	平25. 3. 12	生活衛生関係技術担当者研修 会	厚生労働省 (東京都)	国立感染症研究所 倉 文明 他

(14) 客 員 研 究 員

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容 等
山口 央	茨城大学大学院理学研究科 准教授(理学博士)	平24. 9. 18, 19	ナノ構造体の作製と評価方法および ナノ材料の分析化学への応用につい ての講演および技術指導
大西 真	国立感染症研究所 細菌第一部部長(医学博士)	平24. 12. 14, 15	日本における淋菌感染症の現状・咽 頭淋菌と薬剤耐性獲得機構

(15) 研 究 成 果 発 表 会

- 1 日 時 平成24年11月30日(金) 15:00~17:15
- 2 場 所 富山明治安田生命ホール
- 3 対 象 一般県民等130名
- 4 研究所の概要紹介 次長 高 田 吉 弘
- 5 講 演 所長 佐 多 徹太郎「ユッケによる腸管出血性大腸菌O111集団食中毒」
- 6 研究成果発表

所 属	発 表 者	演 題
がん研究部	品川 保弘	染色体検査でわかること, わからないこと
化 学 部	村元 達也	氷見・高岡地区における温泉の経年変化調査から
環境保健部	新村 哲夫	海洋深層水利用研究のこれまでの取り組み

(16) 各種規程等

名 称	施 行	最終改正
実験動物管理運営規程・動物実験施設利用規程	昭和59年 4月 1日	平成14年 9月 1日
研修生規程	昭和63年 4月 1日	平成 4年 4月 1日
研修生受入審査会要綱	昭和63年 4月 1日	平成16年 4月 1日
病原体等安全管理規程	平成10年 4月 1日	平成21年 6月17日
富山県衛生研究所毒物及び劇物取扱規程	平成11年 4月 1日	平成21年 7月 1日
機種選定委員会要綱	平成13年 7月 1日	
研究評価実施要領	平成15年 5月28日	平成21年 7月31日
富山県衛生研究所倫理審査委員会設置要綱	平成15年 5月28日	平成25年 3月15日
組換えDNA実験安全管理規程	平成15年 9月18日	
感染症発生予防規程	平成19年 6月 1日	
競争的研究資金等に関する取扱規程	平成19年11月15日	
富山県衛生研究所放射線障害予防規程	平成21年 6月15日	平成22年 4月 1日
富山県衛生研究所知的財産権検討委員会設置要綱	平成21年 8月 1日	
富山県衛生研究所利益相反管理委員会設置要綱	平成23年 5月31日	

2. 調 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24年度の検査成績)

九曜 雅子 米田 豊 高田 吉弘 土肥 裕美子¹

The Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture
(Apr. 2012 – Mar. 2013)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Yoshihiro TAKADA and Yumiko DOI¹

要 旨 平成24年度の検体総数は9,006件で、スクリーニングの結果、先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)3人の患者が発見された。これで、スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症が36年間で40人(フェニルケトン尿症5人、メイプルシロップ尿症1人、ガラクトース血症1人、ヒスチジン血症33人)、先天性甲状腺機能低下症が33年間で156人、先天性副腎過形成症が24年間で14人となった。また、検査対象外の疾病については、今年度までに、高フェニルアラニン血症15人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素(G6PD)異常症2人、シトリン欠乏症2人が発見されている。

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

富山県では、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を実施している。平成24年度のスクリーニング結果について報告する。

実 施 方 法

1. 対象疾病

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

2. 対象者

県内で出生した新生児のうち、保護者がこの検査を希望した者を対象とした。

3. 検査期間

本報では、平成24年4月より、平成25年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血された濾紙血液を用いた。

(2) 検査方法

① アミノ酸代謝異常症

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

② ガラクトース血症

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

また、全検体について、自家調製試薬[4]による Beutler 法 で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase(UT)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 WatmanDE81[5]を使用した。

③ 先天性甲状腺機能低下症

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

1. 富山県厚生部健康課

④ 先天性副腎過形成症

ELISA(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用)による17-OHP(17-hydroxy progesterone)値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

バーコードを利用した自動サンプリング[6]を行った。

(4) 判定基準

表1に示した。

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

(5) 結果報告

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

(6) データ処理

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

結 果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、9,006件で、県内33か所の医療機関(おもに産婦人科医院)より送付されてきたものである。

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した。

今年度の出生数は7,885人[8]であり、初回検体数8,606件(人)から計算すると受検率は109.1%となった。100%を超えているのは、県外在住者がいわゆる『里帰り出産』のため県内で出産するケースを含んでいるためと考えられる。また、県内在住者が他県で受検するケースもあることから、正確な受検率は算定できないが、県内で出生した新生児はほぼ全員この検査を受けているものと推定される。

初回検体のうち8,257件(95.9%)は正常と判定されたが、228件(2.6%)は疑陽性のため、118件(1.4%)は血液量の不足等の不備検体のため、再採血を依頼した。また、3件(0.03%)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400件のうちでは、

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)	$\geq 2.0\text{mg/dl}$	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine(Met)	$\geq 1.0\text{mg/dl}$	
メイプルシロップ尿症	HPLC	Leucine(Leu)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	$\geq 7.0\text{mg/dl}$
ガラクトース血症	Microplate 酵素法	Galactose(Gal)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	Gal 3.0mg/dl 以上でポトラー法で蛍光がない
	ポイトラー法	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	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)	$\geq 8.0 \mu \text{U/ml}$	$\geq 30 \mu \text{U/ml}$
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -Hydroxy Progesterone(17-OHP)	直接法 $\geq 10\text{ng/ml}$	直接法 10ng/ml 以上で何らかの症状がある 抽出法 $\geq 10\text{ng/ml}$
			抽出法 $\geq 4.0\text{ng/ml}$	

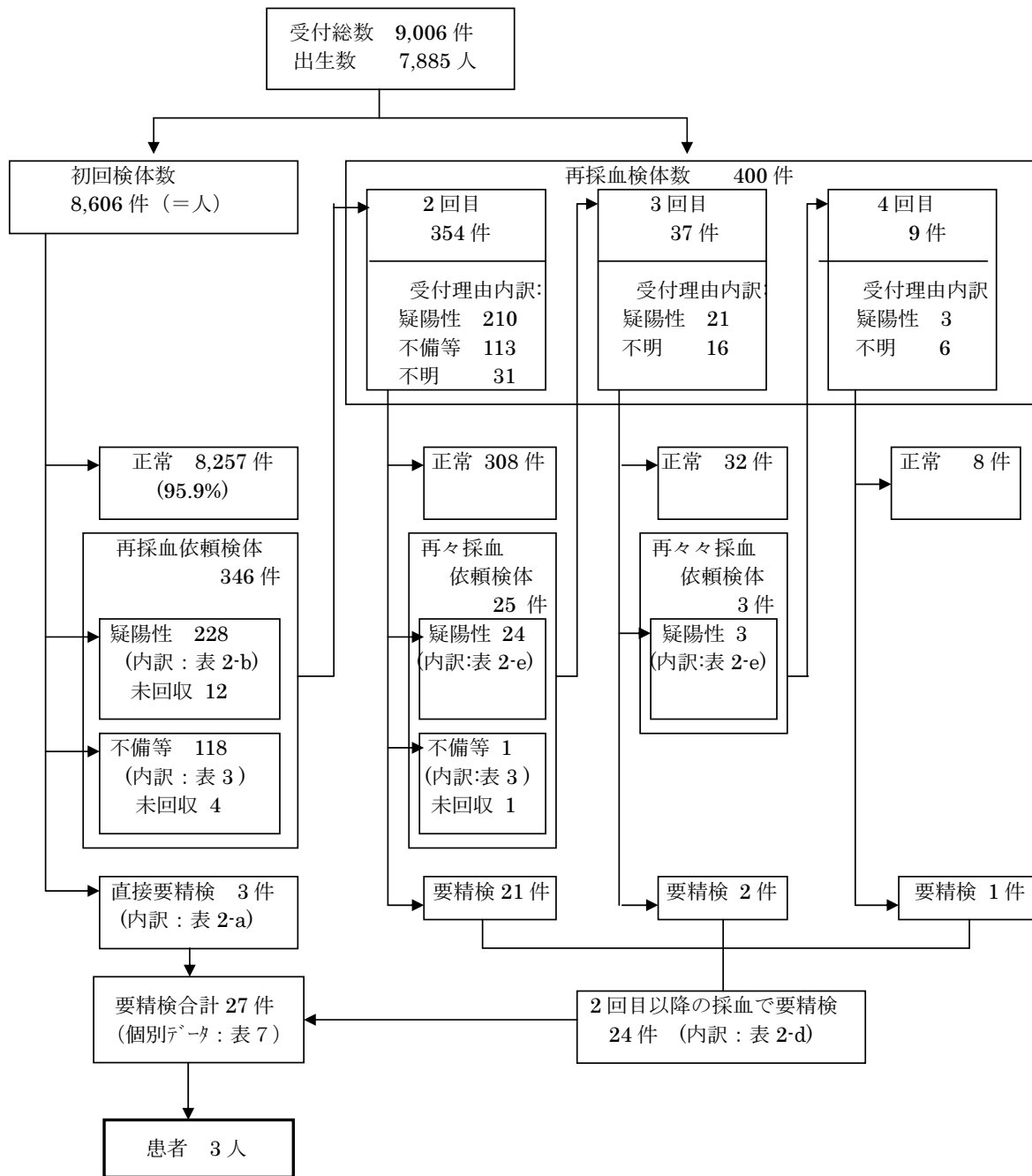


図1. 検査の流れおよび検査数の概要

24件(6.0%)が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接精査の3件と合わせて27件となった。

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾病別の疑陽性による再採血依頼数を示した。再採血率は代謝異常症4疾病で0.39%、先天性甲状腺機能低下症が0.99%、先天性副腎過形成症が1.49%となり、合計2.86%であった。再採血率の目安は代謝異常症4疾病で0.5%程度、先天性甲状腺機能低下症は0.5~1.0%、先天性副腎過形成症は0.3~0.5%で6項目合わ

せて2%程度とされている[9]が、これと比較すると、先天性副腎過形成症の再採血率が約3倍高かった。これは、先天性副腎過形成症疑いの再採血依頼数の約半数が、副腎機能が未熟でストレス状態にある等で17-OHP値が高くなりやすい低出生体重児(出生体重2,000g未満の児)であることが要因となったと考えられる。

また、1検体で2疾病以上が重複して疑陽性となった検体は3件あった。内訳は、フェニルケトン尿症とメイプルシロップ尿症が2件、メイプルシロップ尿症と先天性副腎過形成症が1件であ

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

疾病名	初回検体 (8,606 件)			再採血検体 (400 件)		総受付検体 (9,006 件) 〔 〕: 患者数		
	直接精査 (a)	疑陽性による 再採血依頼数 (b)	再採血率 (%) (c)	要精検数 (d)	疑陽性による 再採血依頼数 (e)	要精検合計 〔患者数〕 (f)=(a)+(d)	疑陽性 総件数 (g)=(b)+(e)	再採血率 (%) (h)
フェニルケトン尿症	0	4	0.05	1	0	1	4	0.04
ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0
メイプルシロップ尿症	0	6	0.07	0	0	0	6	0.07
ガラクトース血症	0	25	0.29	3	0	3	25	0.28
先天性甲状腺機能低下症	2	85	0.99	9	4	11 [3]	89	0.99
先天性副腎過形成症 (うち出生体重 2000g 未満児の数)	1 (0)	111 (39)	1.29	11 (4)	23 (18)	12 (4)	134 (57)	1.49
合計 《うち疑疾病が重複している数》	3	231 《3》	2.68	24	27	27 [3]	258 《3》	2.86

った。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は255件で、そのうち、平成25年6月7日現在243件の再採血検体を回収した。回収率は95.3%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、それでも回収できなかった症例のほとんどがNICUや小児科からの送付された検体であり、医療機関でフォローアップされていると考えられる。なお、今年度は、これらのように再採血検体が当所に届かず医療機関でフォローアップされている症例のうち、先天性甲状腺機能低下症の疑いの例で、医療機関での再検査でもTSHが高いため、治療を開始し、3歳時に詳細な精査を実施する予定という例があった。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表3に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。

3日以内に採血された検体は2件あったが、そのうち哺乳不良が認められた例は、先天性副腎過形成症の疑いがあるということで至急検査の依頼があった検体であった。また、濾紙の血液部分が滲んだようになっていて汚染が考えられた検体が1件、血液量が不足していた検体は3件であった。採血後日数が経って届いた検体は1件であり、8月に8日間かかって届いた検体であった。採血後は濾紙を十分乾燥させ、直ちに郵送するよう注意喚起するとともに、早期の再採血

表3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

不備理由	初回検体	再採血検体	総数
3日以内に採血	1	0	1
3日以内に採血、哺乳不良	1	0	1
濾紙が汚染	1	0	1
血液量不足	3	0	3
古い	1	0	1
哺乳不良	6	1	7
低体重、哺乳不良	14	0	14
低体重	91	0	91
合計	118	1	119

を依頼した。

2,000g未満の低出生体重児については、①生後1か月時②体重が2,500gに達した時期③医療施設を退院する時期のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している[10]。今年度は105件に対して再採血を依頼した。このうち14件が哺乳不良であった。他に、哺乳不良のみの理由で再採血を依頼した検体は7件であった。

これらのような疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は119件で、このうち再検査できたのが114件で、回収率は95.8%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[11]との比較をそれぞれ表4、表5および表7に示した。

富山県における現在までの患者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/9,700、先天性甲状腺機能低下症が1/2,300、先天性副腎過形成症が

表4. 月別検査実施状況

年	平成24年										平成25年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数(件)	666	854	739	821	804	734	835	708	658	819	679	689	9,006		
内 訳	初回検査数(件)	636	827	711	777	764	705	808	685	616	777	650	650	8,606	
	再採血総数(件)	30	27	28	44	40	29	27	23	42	42	29	39	400	
	採 血 回 数	2回目	24	26	26	42	38	26	25	18	34	38	26	31	354
		3回目	6	1	1	2	2	2	1	4	6	3	2	7	37
		4回目	0	0	1	0	0	1	1	1	2	1	1	1	9
疑 陽 性 数 ～ 要 精 検 査 数 ～	フェニルケトン尿症	0	0	0	0	0	0	1	0(1)	0	1	1	1	4(1)	
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	メイプルシロップ尿症	0	0	0	0	1	1	0	0	1	2	0	1	6	
	ガラクトース血症	2	3(1)	0	1	2	1	2	1	4(2)	2	3	4	25(3)	
	先天性甲状腺機能低下症	9	7(2)	7	7	6(1)	7(1)	7(2)	11(1)	5(2)	8	10(1)	5(1)	89(11)	
	先天性副腎過形成症	11(1)	14	13(2)	5	6	6(1)	4(2)	11	15(1)	18(1)	16(1)	15(3)	134(12)	
計	22(1)	24(3)	20(2)	13	15(1)	15(2)	14(4)	23(2)	25(5)	31(1)	30(2)	26(4)	258(27)		

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			要精検査数		
					代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症	代謝 異常症	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(27)	130(25)	—
平成元年度 ～18年度	203,839	191,211	179,222	106.7	2,344	2,616	1,747	163(8)	473(90)	267(11)
平成19年度	10,067	9,550	9,326	102.4	64	136	118	6(0)	22(8)	21(1)
平成20年度	9,926	9,466	8,723	108.5	46	140	137	9(0)	16(8)	14(0)
平成21年度	9,845	9,275	8,600	107.8	71	168	180	4(0)	25(8)	14(0)
平成22年度	9,352	8,877	8,252	107.6	36	118	176	7(1)	23(5)	21(0)
平成23年度	9,151	8,754	8,013	109.2	26	102	124	3(0)	16(9)	18(2)
平成24年度	9,006	8,606	7,885	109.1	33	89	134	4(0)	11(3)	12(0)
計	413,256	389,624	386,665	—	4,693*	4,210	2,616	277*(40**)	716(156)	367(14)

()は、対象疾病患者数

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

* * : この他に対象疾病以外の患者21人あり(高フェニルアラニン血症15人, チロジン血症2人, G6PD異常症2人, シトリン欠乏症2人)

1/17,600となった。全国の患者発見率と比較すると、先天性甲状腺機能低下症の発生頻度が有意に高いといえる(P<0.01)。

2. 要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は、代謝異常症が33人、先

天性甲状腺機能低下症が89人、先天性副腎過形成症が134人であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症4人、先天性甲状腺機能低下症11人、先天性副腎過形成症12人であった。

表6に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた。

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(1)

疾病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績	診断名等
フェニルケトン尿症	1		男	5	Phe 2.34 mg/dl 2.40	良性高フェニルアラニン血症疑い
				10	Phe 2.32 mg/dl 2.13	
ガラクトース血症	1		男	5	Gal 4.24 mg/dl ポイトラー法正常 3.68	一過性高ガラクトース血症
				12	Gal 7.52 mg/dl ポイトラー法正常 7.93	
	2		男	4	Gal 3.33 mg/dl ポイトラー法正常 3.03	生後1か月時フォローアップ ⁶ 検体正常
				9	Gal 3.44 mg/dl ポイトラー法正常 3.25	
	3		女	4	Gal 4.42 mg/dl ポイトラー法正常 4.15	一過性高ガラクトース血症疑い
				12	Gal 6.55 mg/dl ポイトラー法正常 6.51	
甲状腺機能低下症	1		男	5	TSH 12.69 μU/ml 12.10	一過性高TSH血症
				17	TSH 12.54 μU/ml 13.25	
	2		女	4	TSH 8.82 μU/ml 8.73	一過性高TSH血症
				9	TSH 12.37 μU/ml 10.87	
	3*		女	5	TSH 14.80 μU/ml 14.20	先天性甲状腺機能低下症(軽症)
				12	TSH 14.17 μU/ml 14.26	
	4		男	5	TSH 14.74 μU/ml 12.97	正常
				10	TSH 14.11 μU/ml 14.31	
	5		女	5	TSH 8.32 μU/ml 8.63	異常なし
				11	TSH 12.48 μU/ml 12.80	
	6*		女	5	TSH 157.8 μU/ml	先天性甲状腺機能低下症
	7		男	4	TSH 17.94 μU/ml 18.03	異常なし
				11	TSH 10.29 μU/ml 9.38	
	8		男	5	TSH 20.99 μU/ml 19.09	先天性甲状腺機能低下症疑い(チラジンス開始し経過観察)
				12	TSH 26.99 μU/ml 24.49	
9		女	5	TSH 11.60 μU/ml 10.40	軽症先天性甲状腺機能低下症疑い	
			11	TSH 10.13 μU/ml 10.04		
10*		男	6	TSH 112.8 μU/ml	先天性甲状腺機能低下症	
11		女	4	TSH 10.04 μU/ml 10.50	生後1か月時フォローアップ ⁶ 検体正常	
			11	TSH 10.96 μU/ml 10.96		

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(2)

疾病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名等
先天性副腎過形成症	1		男	5	17-OHP 直接法	9.09ng/ml 8.71	17-OHP 抽出法	2.56ng/ml	生後2か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 30.2 週 生下時体重 1728 g
				33	17-OHP 直接法	15.75ng/ml 12.45	17-OHP 抽出法	6.84ng/ml	
				42	17-OHP 直接法	14.13ng/ml 13.38	17-OHP 抽出法	5.90ng/ml	
	2		男	8	17-OHP 直接法	7.50ng/ml 6.23	17-OHP 抽出法	5.26ng/ml	生後2か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 34 週 生下時体重 1964 g
				31	17-OHP 直接法	7.39ng/ml 7.30	17-OHP 抽出法	5.10ng/ml	
	3		女	5	17-OHP 直接法	7.41ng/ml 6.94	17-OHP 抽出法	5.13ng/ml	生後9か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 35.6 週 生下時体重 2600 g
				15	17-OHP 直接法	7.29ng/ml 7.21	17-OHP 抽出法	5.02ng/ml	
	4		女	5	17-OHP 直接法	9.03ng/ml 9.71	17-OHP 抽出法	5.16ng/ml	生後1か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 29.6 週 生下時体重 1362 g
				31	17-OHP 直接法	11.35ng/ml 12.95	17-OHP 抽出法	6.24ng/ml	
	5		男	5	17-OHP 直接法	13.34ng/ml 11.52	17-OHP 抽出法	7.40ng/ml	生後2か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 36 週 生下時体重 2790 g
				9	17-OHP 直接法	8.98ng/ml 8.74	17-OHP 抽出法	4.59ng/ml	
	6		女	5	17-OHP 直接法	38.68ng/ml 33.15	17-OHP 抽出法	20.36ng/ml	子宮内発育遅延に伴う生理的 変化 在胎週数 36.4 週 生下時体重 2046 g
	7		女	5	17-OHP 直接法	7.46ng/ml 6.06	17-OHP 抽出法	5.02ng/ml	異常なし 在胎週数 36 週 生下時体重 2320 g
				9	17-OHP 直接法	5.36ng/ml 5.48	17-OHP 抽出法	4.05ng/ml	
15				17-OHP 直接法	6.77ng/ml 6.80	17-OHP 抽出法	4.75ng/ml		
8		男	5	17-OHP 直接法	5.01ng/ml 5.33	17-OHP 抽出法	4.38ng/ml	生後1か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 39 週 生下時体重 2610 g	
			7	17-OHP 直接法	5.64ng/ml 6.13	17-OHP 抽出法	5.82ng/ml		
9		男	5	17-OHP 直接法	7.37ng/ml 7.93	17-OHP 抽出法	5.85ng/ml	生後1か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 37 週 生下時体重 2930 g	
			12	17-OHP 直接法	10.37ng/ml 11.79	17-OHP 抽出法	7.59ng/ml		
10		男	4	17-OHP 直接法	6.34ng/ml 6.37	17-OHP 抽出法	5.38ng/ml	一過性高ACTH血症 在胎週数 38 週 生下時体重 3682 g	
			10	17-OHP 直接法	5.38ng/ml 5.13	17-OHP 抽出法	4.41ng/ml		
11		男	6	17-OHP 直接法	6.27ng/ml 7.11	17-OHP 抽出法	4.99ng/ml	生後3か月時フォローアップ ^o 検体 正常 在胎週数 30.6 週 生下時体重 1544 g	
			24	17-OHP 直接法	6.52ng/ml 6.53	17-OHP 抽出法	4.06ng/ml		
			46	17-OHP 直接法	7.13ng/ml 7.35	17-OHP 抽出法	4.06ng/ml		
			59	17-OHP 直接法	7.87ng/ml 7.91	17-OHP 抽出法	4.66ng/ml		

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(3)

疾病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名等
先天性副腎過形成症	12		男	6	17-OHP	5.59ng/ml	17-OHP	4.35ng/ml	一過性高17-OHP血症 在胎週数 38 週 生下時体重 2678 g
					直接法	6.82	抽出法		
	10	17-OHP	6.42ng/ml	17-OHP	4.14ng/ml				
		直接法	6.29	抽出法					

表7. マスクリーニングによる富山県および全国の患者発見状況

区分	富山県				全国			
	平成24年度		昭和52年度～平成24年度		平成23年度		昭和52年度～平成23年度	
受検者数	8,606人		389,624人		1,113,014人		43,649,779人	
患者数、発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率
疾病名	(人)		(人)		(人)		(人)	
フェニルケトン尿症	0		5	1/ 77,900	20	1/ 55,700	590	1/ 74,000
ホモシスチン尿症	0		0		3	1/ 371,000	201	1/ 217,200
ヒスチジン血症	—		33	1/ 6,000 ¹⁾	—		2,200	1/ 9,600 ⁴⁾
メイプルシロップ尿症	0		1	1/ 389,600	2	1/ 556,500	84	1/ 519,600
ガラクトース血症	0		1	1/ 389,600	23	1/ 49,500	1,167	1/ 37,400
先天性甲状腺機能低下症	3	1/ 2,900	156	1/ 2,300 ²⁾	584	1/ 1,900	13,087	1/ 3,100 ³⁾
先天性副腎過形成症	0		14	1/ 17,600 ³⁾	62	1/ 18,000	1,648	1/ 16,800 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24年度 受検者数 361,174人 5) 昭和54年度～平成23年度 受検者数 40,285,873人
 3) 平成元年度～平成24年度 受検者数 245,739人 6) 昭和63年度～平成23年度 受検者数 27,653,802人

当所では、精密検査が必要となった場合、スクリーニング結果連絡の際に、診断結果記入用紙を同封し、精密検査実施病院名、主治医名、精密検査結果及び診断名を記入し返送してもらうシステム[13]となっている。この記入用紙の回収率は、平成25年6月7日現在、66.7% (18例/27例)と低い。記入用紙がまだ回収できていない9例についてはいずれも精密検査実施病院(小児科)を受診しており、当所にフォローアップ検体[13]が届いている。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体は延べ63検体であり、今年度要精密検査となった27例のうちでは、19例で延べ23検体についてフォローアップ検査を行った。

表6の診断名等の欄には、診断結果記入用紙が回収できた症例については精密検査実施機関から報告のあった診断名を、また記入用紙が回収できていない症例については当所でのフォローアップ検体の検査結果を記した。

次に、要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで1人、ガラクトース血症の疑いで3人の計4人が要精密検査となった。

フェニルケトン尿症の疑い症例1は、Phe 値の軽度上昇が持続していたため、要精密検査となった。身体的な所見は問題がなく、良性高フェニルアラニン血症の疑いとして無治療で経過観察中である。

ガラクトース血症の疑いの3症例については、いずれも Gal 値のみが高く、Gal-1-P 値は正常、UT 活性も認められた。症例1, 3については、ともに、約2か月後には Gal 値が正常化しており、一過性高ガラクトース血症またはその疑いとして小児科でフォローアップされている。

症例2については、生後1か月時に小児科から送付されたフォローアップ検体で検査を行った。

結果, Gal 値は正常範囲内に低下していた.

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった11人のうち, 患者と診断されたのは, 症例3, 6, 10の3人である.

症例3については, 精密検査の結果, 軽症の先天性甲状腺機能低下症と診断されたが, 兄も同じように要精密検査となっており先天性甲状腺機能低下症疑いと診断されていた.

症例6および10は, いずれも初回検査で TSH 値がスケールオーバーしたため, 即精密検査となった. 両症例とも, 精密検査時には TSH 値がさらに上昇, FT4の低値も認められたため, 直ちに治療が開始された.

また, 症例8および9は, いずれも先天性甲状腺機能低下症の疑いとして, チラージン S の内服を開始して経過を追っている. なお, 症例9については, 初回検体, 再採血検体とも, TSH 値がカットオフ値前後でばらついた. しかし, カットオフ値以下を示したスポットが限定していること, 再採血検体でも, TSH 値が低下していないことから, 要精密検査と判定した. 精密検査の結果, 血清による測定でも TSH 値は高値であった.

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった12人のうち, 4人が 2,000g 未満の低出生体重児であった.

また, 要精密検査となった12人すべてについてフォローアップ検体による検査を行った.

症例10については, 精密検査の結果, ACTH (Adrenocorticotrophic hormone)が88.8pg/ml と高かったが, 副腎過形成症の所見は認められず, 経過観察されていたが, 生後1か月半時の検査で正常化していた.

症例11は, 低出生体重児のため NICU にて経過観察されていたが, 生後2か月時でも 17-OHP 値は直接法, 抽出法とも低下が認められず, 要精密検査となった. 生後3か月時のフォローアップ検体による検査では 17-OHP 値は正常化していた.

(4) 対象外疾病

要精密検査となった例の中には, 診断の結果, 検査対象外の疾病の患者が発見される場合がある. 今年度はこのような例はなかった. これまでに発見された対象外疾病の患者は, 高フェニルアラニン血症15人, チロジン血症2人, グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PD) 異常症2人, シトリン欠乏症2人である.

3. 精度管理

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

また, 昨年度に引き続き, ブラインドサンプルによる外部精度管理[14, 15]を実施した. 今年度は, 2検体が2か所の病院から送付された. 1検体は 17-OHP 高値検体, もう1検体は正常検体であった. 異常検体では約2週間で事務処理が完了したが, 正常検体では20日間かかった. 正常検体の場合は, 一般検体と同様に, 受付した日の翌週末にまとめて医療機関へ報告することになるため, 異常検体と比較すると報告までの日数がかかることになり, このことも20日間かかった原因のひとつと考えられた.

考 察

先天性甲状腺機能低下症は, 多様な病態が存在し, TSH 遅発上昇型等新生児マス・スクリーニングで発見できない例も報告[16]されている. 今年度我々は, 初回検査で TSH 値がカットオフ値以上であったが再採血検体ではカットオフ値未満で正常と判定した例の中で, 3例が経過を追っていくうちに再び TSH 値が高くなった例を経験した. そのうちの1例は, 初回検査(生後5日)でカットオフ値(8 μ U/ml)の前後で TSH 値にバラツキが見られたが, 確認のため要再採血と判定した例であり, 再採血検体(生後15日)ではカットオフ値未満になったため正常と判定した. その後は医療機関で経過を診ていたが, 生後1か月半時の検査では TSH 値は30 μ U/ml(血清値)を超えていた. また, その他の1例は, 母親が甲状腺機能低下症のため治療中の例であり, 生後2か月時より TSH 値が再び上昇, FT4値も低下したため治療が開始された. このことから, スクリーニング検査で異常が認められ, 再検査で一旦正常化しても, 定期的なフォローアップが必要であると考えられた.

また, 今年度は, 緊急検査の依頼が2例あり, いずれも副腎過形成症の疑いであったが, 検査の結果は異常がなかった. さらに, 厚生労働省通知[17]を受け, 本県でも実施する予定となったタンデムマス装置によるスクリーニング検査では, 対象と

なる疾病の特性上、緊急検査の依頼検体の中で患者が発見される可能性もあることから、これらの疾病を早期に診断し、早期に治療を開始するためには、スクリーニング検査施設レベルでの鑑別検査法や確認検査法を確立し、迅速に的確な情報を医療機関に提供することが必要であると考える。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2004). 日本マス・スクリーニング学会誌, 14(3), 29-39.
2. 米田 豊, 九曜雅子(2010). 富山衛研年報, 33, 40-44.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊(1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212.
4. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 石丸敏子(2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
5. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三(1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
6. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 吉田智子(2010). 富山衛研年報, 33, 27-39.
7. 米田 豊(1999). 富山衛研年報, 22, 54-57.
8. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」, http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko130401/jinko130401.html
9. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿(1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement2, 73-81.
10. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸苺 創(2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(3), 6-7
11. 先天性代謝異常検査等検査状況(平成23年度)厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課(2012). 日本マス・スクリーニング学会誌, 22(3), 109-111.
12. 九曜雅子, 米田 豊, 高田吉弘, 吉田智子(2011). 富山衛研年報, 34, 23-34.
13. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 二谷 武, 津幡眞一, 倉本 崇, 齋藤万里子, 三浦正義, 松倉裕喜, 今村博明, 辻 隆男, 吉田智子(2009). 日本マス・スクリーニング学会誌, 19(3), 53-62.
14. 原田正平(2007). 平成18年度厚生労働科学研究費補助金(子ども家庭総合研究事業)分担研究報告書, 161-164.
15. 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 成瀬 浩, 望月孝一, 山上祐次, 安片恭子, 田崎隆二, 九曜雅子, 須山範子, 吉井千代子, 安部真理子, 中村多加良, 栗原秀子, 佐々木純子, 木谷美枝, 松本智津子, 河地 豊, 松崎宏子, 平原史樹, 森 臨太郎, 松井陽, 原田正平, 山口清次(2013). 平成24年度厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)平成24年度総括・分担研究報告書, 108-111.
16. 倉辻忠俊, 原田正平, 藤枝憲二, 伊藤道德, 顧艶紅, 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 青木菊麿, 大関武彦(2007). 平成19年度厚生労働科学研究(子ども家庭総合研究事業)分担研究報告書, 1-19.
17. 雇児母発0331第1号 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知(平成23年3月31日)

ヒト血液の染色体分析結果(平成24年度)

高森 亮輔 品川 保弘 稲畑 良 高田 吉弘

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成24年度の血液の染色体分析依頼数は、23件であった。全例検査を完了し、4件に染色体異常を認めた。検査依頼理由(主訴)の大半は、「不育症関連」であった。

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

一般に出生児の約0.6%が染色体異常といわれている[1]。これを富山県に単純に当てはめると年間の出生数が約7,800人であることから、約47人の染色体異常児が毎年出生することになる。しかし、先天異常を伴う場合には染色体検査を行い、確定診断が行われるが、先天異常を伴わない性染色体異常者や均衡転座保因者では新生児期に発見されないことが多く、長じて、低身長や原発性無月経、習慣性流産を主訴として初めて発見されることが多い。また、分染法の発達と特定の遺伝子近傍のDNAプローブを用いた蛍光 in situ ハイブリダイゼーション(FISH)法の開発により、最近の染色体分析技術は従来に比較し、著しく向上してきており、微細な異常と臨床像をあわせ判定できる範囲が広がってきている現状である。

ここに、平成24年度の血液検体の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

主に県内の病医院より染色体検査依頼のあった末梢血液(ヘパリン採血)を通常の方法により、3~4日間培養し、染色体標本を作製した。また、染色法は通常のG分染法と高精度分染法[2]を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上、数の分析は20個以上について行った。性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性を考え、観察数を50個以上に増加した。また、FISH法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。

方法等は既年報[3]に従った。

結 果

1. 平成24年度

血液検体として、血液、臍帯血を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示したが、平成24

表1. 血液の染色体検査依頼医療機関名、件数

医療機関名	H24	H23	H22	H21
富山赤十字病院	10	9	5	3
済生会高岡病院	6	10	2	8
厚生連高岡病院	4	2	0	1
富山市民病院	2	2	4	0
富山大学附属病院	1	30	45	24
おとぎの森レディースクリニック	0	4	4	0
さたけ産婦人科医院	0	2	2	5
あわの産婦人科医院	0	2	0	0
富山県立中央病院	0	2	0	0
高岡市民病院	0	0	4	4
レディースクリニックむらた	0	0	1	0
済生会富山病院	0	0	0	0
計(件)	23	63	67	45

年度は依頼件数が大幅に減少したことから、参考までに平成23年度から平成21年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。平成22年度から増加し、平成23年度は63件となっていた受付件数が、平成24年度は23件であった。依頼医療機関数は5施設であり、富山赤十字病院からの依頼が10件(43.5%)で最多であった。

平成24年度の受付件数は23件で、内訳は22件が血液、1件が臍帯血であった。臍帯血1検体を含む23件23検体の分析を完了した。検査を完了できた検体23件中4件(17.4%)に染色体異常がみとめられた。

検査依頼理由別の依頼件数と異常件数および染色体異常の核型を表2に示した。依頼理由は、原則として検査依頼書の記入内容に依拠した。染色体異常4件の内訳は、構造異常2件、性染色体数の異

常1件、常染色体数異常1件であった。

不育症関連の検体14件(60.9%)では、染色体異常1件(7.1%)を確認した。夫と妻の平均年齢、平均流産回数は、 35.6 ± 4.8 歳、 35.7 ± 3.7 歳、 2.4 ± 1.0 回であった。

夫婦の血液検体と同時に流産胎児由来組織の染色体検査を依頼された例が5組あり、表3に示した。そのうち4組の夫婦の核型は正常であり、流産胎児由来組織4件のうち2件で異常を確認した。性染色体数異常1件、常染色体数異常1件であった。1組は夫が[46, XY], 妻が[46, XX, t(8;10)(p21;q24)]の転座保因者、流産胎児由来組織の核型は正常と確認された。

羊水検査施行後に染色体検査を依頼された例が3件あった。2件は羊水検体で転座型異常を確認し、御両親の染色体検査を施行した。母親が[46, XX, t(2;13)(p13;q32)]の転座保因者と確認された。1件は羊水検体で性染色体数異常を確認し、生後血液の染色体検査で[47, XXX]と確認された。

ターナー症候群やダウン症候群など児の染色体異常疑いによる依頼が9件(39.1%)あったが、染色体異常を確認したのは1件(11.1%)であった。

2. 昭和48年度～平成24年度(40年間)

昭和48年度～平成24年度の染色体検査結果一覧を表4に示した。血液の受付人数は2,378人で判定可能数2,357人(99.12%)中、276人が染色体異常であり、異常率は11.7%になった。

検査依頼理由中、不育症関連が約55.6%を占め、次いでダウン症候群の疑いなど出生後の児に何らかの染色体異常が疑われた場合が14.9%、家族(遺伝相談など)が13.8%、性染色体異常の疑いが6.7%等であった。

不育症関連のうち流産を繰り返す1,192人において、転座型等の染色体異常を確認したのは49人(4.1%, 男24+女25)であった。検査受付時の流産回数と染色体異常の有無については、2～3回目の流産時に検査希望が多く2回目652人(54.7%)、3回目348人(29.2%)、染色体異常確認率は3～4回目が高く、3回目21人(6.0%)、4回目5人(6.9%)であった(表5)。その内容はロバートソン転座8人(男1+女7)、均衡転座38人(男22+女16)、逆位保因者1人(男)、トリプルX 1人(女)と+mar染色体保有1人(女)であった(表6)。

児の異常疑いではダウン症候群の疑い(118人/144人中、異常率81.9%)が最も多く、先天奇形(同11/104, 10.6%)、発育不良・発育遅延(同2/55, 3.6%)等であった。家族では染色体異常(転座型異常、トリソミー等)の家族(同18/201, 9.0%)、性染色体異常の疑いでは無月経が最も多く(同3/41, 7.3%)、ターナー症候群の疑い(同18/40, 45.0%)、低身長(同2/39, 5.1%)、クラインフェルター症候群の疑い(同7/9, 77.8%)等であった。

発見された染色体異常の数と内訳を表7に示した。常染色体異常ではダウン症候群が119人(50.9%)と最も多く、次いで18トリソミー症候群

表2. 検査依頼理由と検査数、異常数

依頼理由	検査数	異常数	染色体異常の核型
不育症関連	14	1	
不育症	2	0	
反復流産	2	0	
習慣性流産	6	1	46,XX,t(8;10)(p21;q24)
流産原因精査	4	0	
羊水検査施行後の精査	3	2	47,XXX 46,XX,t(2;13)(p13;q32)
ターナー症候群の疑い	3		
染色体異常の有無確認	2		
ダウン症候群の疑い	1	1	47,XY,+21
計(人)	23	4	

表3. 不育症関連検体の流産回数と検査件数、異常数

不育症関連	検査件数(同時依頼件数*)	異常数	染色体異常の核型
流産2回	4(2)	0	
流産3回	4(2)	0	
流産4回	2(2)	1	46,XX,t(8;10)(p21;q24)
生児1人流産1回	2(2)	0	
生児1人流産2回	2(2)	0	
計	14(10)	1	

*夫婦血液検体1組に対し、流産胎児由来組織1件を同時に依頼

表4. 染色体検査結果一覧(実人数)(昭和48~平成24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不育症関連	1,323	1,322	48	22 *	
流産を繰り返す	1,187	1,186	48	21	均衡転座保因者、ターナー症候群
不妊症	106	106	0	1	
子宮内胎児死亡	30	30	0		
②児の異常疑い	355	348	159	2 *	
ダウン症候群の疑い	146	144	118		21トリソミー
先天奇形	109	104	11		r(D),2pトリソミー等
発育不良・発育遅延	55	55	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	17	17	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
プラダー・ウイリー症候群の疑い	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)
ウイリアムズ症候群の疑い	1	1	1		del(7)(q11.23q11.23)
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	328	328	18	2 *	
染色体異常有り	201	201	18	1	均衡転座保因者等
染色体異常無し	127	127	0	1	
④性染色体異常の疑い	159	157	35	6 **	
無月経	41	41	3	6	45,X/46,XX 等
ターナー症候群の疑い	40	40	18		r(X), i(Xp) 等
低身長	39	39	2		iso(Xp)mos
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
腔欠損・鎖脛	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クラインフェルター症候群の疑い	9	9	7		47,XXY
他の性染色体異常の疑い	7	7	1		47,XXX
⑤白血病等	46	41	9	0	
白血病	41	36	6		Ph染色体 等
ファンコニー貧血	4	4	2		切断、キヤップ 45,X/46,XX
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クラインフェルター症候群
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	2,378	2,357	276	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)	2,432	2,403	291	33	

*: inv(9)

** : inv(9)および睾丸女性化症候群

表5. 流産回数と染色体異常の有無

出産の有無 流産回数	なし			あり		計 人	異常率
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦	妻のみ		
1	70 (2)		2	16		88 (2)	2.3%
2	540 (15)	1	4	106 (5)	1 (1)	652 (21)	3.2%
3	246 (15)	1	4 (1)	96 (5)	1	348 (21)	6.0%
4	48 (5)			24		72 (5)	6.9%
5	8		1	6	1	16 (0)	0.0%
6	4			4		8 (0)	0.0%
7	4					4 (0)	0.0%
8	4					4 (0)	0.0%
計 (人)	924 (37)	2 (0)	11 (1)	252 (10)	3 (1)	1,192 (49)	4.1%

()内染色体異常数

が15人(6.4%)であった。均衡転座保因者は63人(26.9%)と多く、核型が多種類であった。性染色体異常ではターナー症候群が最も多く26人(66.7%)、クラインフェルター症候群が7人(17.9%)であった。

考 察

前年度は63件であった受入れ件数がおおよそ1/3に減少していた。これは、今年度は富山大学附属病院からの依頼が減少したことや依頼医療機関数の減少のためであった。

一般的に、不育症の原因としての染色体異常は、およそ4.6%とされている[4]。今年度の検査によると不育症関連14件のうち1件(7.1%)の染色体異常(転座型)を確認した。転座型染色体異常のうち均衡転座型染色体異常では、十分な遺伝カウンセリングを行うことや適切な治療方針の決定により、最終的に60~80%が出産に至る可能性があるとされている[4]。

平成24年度は、5組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析、もしくは比較することができた。流産胎児5件中2件に核型の異常が確認された一方で、そのうち4組の両親は正常核型であり、1組は母親に核型異常を認めた。流産胎児では、[46, XY]を認めたため、流産胎児のみの染色体検査では、母親が転座型保因者であることは分からなかった。流産胎児の染色体検査の場合には、両親の染色体検査も同時に行うことで不育症等の原因が染色体異常に寄与する可能性について明確になると考えられた。

当所における検査依頼理由の中で不育症関連が最も多く、平成24年度は依頼理由中の約6割を占

め、過去を含めたものでは約5割になった。これは染色体検査開始当初は、先天異常児の原因追求のための検査が大部分を占めたのに対し、最近では拳児を望むための検査が多くなってきたため、近年の少子化、晩婚化による影響も考えられた。また、習慣流産・不育症の原因究明の一つとして夫婦の染色体異常の検索は必要不可欠になってきている。

不育症等で悩むカップルや染色体異常疑い、これを治療し支えていく医療者サイドの遺伝相談資料として役立つためには、血液の染色体分析実績をさらに積み重ねていくことが必要である。そのためには、分析しやすい染色体標本の作成が必須である。今後も検査法や技術の向上に努めていきたい。

謝 辞

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

文 献

1. 大濱絃三, 三春範夫(1996). 染色体異常の発生頻度, 64-74, 臨床染色体診断法, 金原出版.
2. 池内達郎(1996). 高精度分染法, 144-151, 臨床染色体診断法, 金原出版.
3. 高森亮輔, 林美貴子, 品川保弘, 高田吉弘(2011). 富山衛研年報, 34, 35-38
4. 斎藤滋(2012) 反復・習慣流産(いわゆる「不育症」)の相談対応マニュアル

表6. 流産を繰り返す夫婦中染色体異常のあった49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,t(2;14)(q35;q22)	流産2
9	46,XY,t(3;6)(q29;p22)	流産3
10	46,XY,inv(9)p11q13,t(4;10)(q31;q25)	流産3
11	46,XY,t(4;15)(q12;q24)	流産2
12	46,XY,t(4;18)(q31.3;q21.3)	流産2
13	46,XY,t(5;16)(p13;p13)	生産2・流産3
14	46,XY,t(7;11)(q34;q21)	流産2
15	46,XY,t(8;14)(p11;q32)	流産4
16	46,XY,t(8;15)(q11.2;q15)	流産3
17	46,XY,t(8;21)(q24.2;q21.2)	流産4
18	46,XY,inv(8)(p21q24.2)	流産4
19	46,XY,t(9;17)(q34.1;q21)	流産2
20	46,XY,t(11;14)(p15.5;q32.1)	流産2
21	46,XY,t(11;20)(q21;p13)	流産4
22	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産4
23	46,XY,t(14;20)(q24;q13.1)	流産2
24	46,XY,t(5;8)(q31;q22)	流産3
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;q10)	流産2
5	45,XX,der(14;21)(q10;q10)	生産1・流産3
6	45,XX,der(21;21)(q10;q10)	流産2
7	46,XX,t(1;15)(q42;q26)	流産2
8	46,XX,t(3;4)(p13;p16)	流産3
9	46,XX,t(3;10)(q29;q22)	流産3
10	46,XX,t(3;13)(q25;q11.2)	流産4
11	46,XX,t(3;21)(q27;q11.2)	流産2
12	46,XX,t(4;15)(q33;q15)	生産3・流産2
13	46,XX,t(5;10)(p14;q11.2)	生産1・流産3
14	46,XX,t(5;12)(p14;p12)	胎児死亡2
15	46,XX,t(7;20)(p23.1;q11.2)	流産3
16	46,XX,t(8;15)(q11.2;q26.1)	流産2・死産1
17	46,XX,t(10;14)(p13;q24.3)	流産2
18	46,XX,t(10;18)(q23;q11.2)	流産3
19	46,XX,t(12;19)(p13.1;p13.1)	流産2・妊娠中
20	47,XXX	流産2・胎児死亡1
21	47,XX,+mar	流産2
22	45,XX,der(14;22)(q10;q10)	流産3
23	46,XX,t(8;21)(q24.1;q21.1)	生産1・流産5
24	46,XX,t(8;10)(p21;q24)	流産4
25	46,XXt(2;13)(p13;q32)	流産1

*: 夫婦

表7. 染色体異常の内訳(昭和48～平成24年度)

染色体異常	人数	内訳	異常率*
1. 常染色体異常			
①ダウンス症候群	119		
(トリソミー型)		111	
(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ウリアムス ^ス 症候群の疑い	1		
⑬由来不明部分過剰	6		
⑭均衡転座保因者	63		
⑮逆位保因者	4		
⑯ファンコニー貧血	1		
⑰白血病	6		
⑱悪性腫瘍がある	1		
小計(人)	234		9.9%
2. 性染色体異常			
①ターナー症候群	26		
(モノソミー型)		6	
(モザイク型)		20	
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	3		
④半陰陽	3		
小計(人)	39		1.7%
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		0.1%
合計(人)	276		11.7%

*: 全体(2,357人)における異常率

流産胎児の染色体分析結果(平成24年度)

高森 亮輔 品川 保弘 稲畑 良 高田 吉弘

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成24年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は、45件であった。そのうち44件について検査を完了し、23件に染色体異常を認めた。検査依頼理由の大半は、反復流産、子宮内胎児死亡、不育症であった。

一般に自然流産胎児の約半数に、あるいはそれ以上の頻度で染色体異常がみとめられるとされているが、これまでの当所での経験からも同様の結果を得ている[1]。流産胎児の染色体異常の有無を検索することは、当該流産のみならず、習慣性流産、反復流産、不育症といった用語で括られる産科領域の疾患の治療および克服に、少なからず情報をもたらす。次回の妊娠およびその継続、さらには出産に向けた指針となりうる。富山県では、総合母子保健対策の一環として昭和48年度から染色体検査事業に取り組んでおり、血液および羊水に続いて、昭和50年度からは自然流産胎児の染色体検査が実施されている。平成24年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

主に県内の病医院より染色体検査依頼のあった流産胎児検体を貼り付け法、酵素処理法により、10日間程度培養し、染色体標本を作製した。また、染色法は通常のG分染法を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上、数の分析は20個以上について行った。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。

詳細な方法等は既年報[2]に従った。

結果および考察

流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織、臍帯、皮膚等を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示したが、ここ数年、依頼件数が著明に増加していたことから、参考までに平成23年度から平成20年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示し

表1. 医療機関別検査依頼件数

医療機関名	件数				
	H24	H23	H22	H21	H20
富山大学附属病院	29	36	29	2	3
済生会高岡病院	5	7	3	4	2
富山赤十字病院	3	3	3	1	5
富山県立中央病院	3	2	3	2	1
厚生連高岡病院	3	1	0	0	0
おとぎの森レディースクリニック	1	0	3	0	0
吉本レディースクリニック	1	0	0	0	0
(さたけ産婦人科)	0	3	1	1	0
(黒部市民病院)	0	2	1	1	3
(富山市民病院)	0	1	1	0	1
(高岡市民病院)	0	0	2	2	0
(済生会富山病院)	0	0	0	0	4
(砺波総合病院)	0	0	0	0	1
計	45	55	46	13	20

た。平成22年度から大幅に増加し、平成23年度は55件となっていた受付件数が、平成24年度は45件であった。依頼医療機関数は7施設であったが、富山大学産科婦人科からの依頼が29件(67.4%)と多かった。

平成24年度の受付件数は45件で、42件は絨毛のみ、1件は絨毛+羊水、1件は絨毛+臍帯+臍帯血+羊水、1件は絨毛+皮膚であった。羊水2検体、臍帯1検体、臍帯血1検体を含む44件48検体の分析を完了した。絨毛検体1件、皮膚検体1件、は増殖能力がなく分析を完了できなかった。依頼された流産胎児の週数は4週から22週の範囲(2件は不明)で、もっとも件数の多かったのは8週と9週の8件(全体の19.0%)、次いで10週の7件(16.7%)であった。便宜的に10週刻みで3等分すると、10週までが30件(71.4%)、11週から20週までが10件(23.8%)、21週から30週までが2件(4.8%)であった。10週以内の30件の週数の平均は 8.2 ± 1.7 週、結果の得られなかった1件、週数不明の2件を除く42件全体の週数の平均は 10.2 ± 4.2 週であった。

流産母体年齢の平均は 34.2 ± 5.2 歳であり、最若年齢は22歳、最高年齢は44歳であった。

検査を完了できた検体44件中23件(52.3%)に染

色体異常がみとめられた。参考までに、当所での流産胎児染色体検査受入件数は、昭和50年以来38年間で509件を数えるが、分析を完了できた検体465件のうち、異常を確認したのは262件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は56.3%

となっている。

検査依頼理由別の依頼件数と流産回数内訳、異常件数および染色体異常の核型を表2に示した。依頼理由は、原則として検査依頼書の記入内容に依拠したが、記載があいまいな検体については、妊

表2. 検査依頼理由、流産回数と検査結果

依頼理由(主訴)	依頼件数	合計流産回数						異常件数	染色体異常の核型
		1	2	3	4	5	6		
反復流産	9	1	3	4	0	1	0	6	47,XX,+22 45,X[2] 45,XY,-21/46,XX 47,XY,t(8;21)(q24.2;q21.1),+21 47,XX,+18/46,XX
IUFD	9	4	3	1	0	1	0	4	47,XY,+13 47,XX,+21 45,X/46,XX 47,XX,+22
不育症	8	0	1	5	2	0	0	7	47,XX,+5,+13,der(13;14)(q10;q10) 47,XY,+3 92,XXYY 47,XX,+16[2] 47,XY,+16/46,XX 46,X,+16/46,XX
習慣性流産	7	0	0	3	2	1	1	0	
稽留流産	7	4	0	1	2	0	0	4	47,XX,+13 47,XX,+16 47,XX,+21 46,XX/46,XY
胎児骨疾患	1	0	1	0	0	0	0	0	
胎児水腫	1	1	0	0	0	0	0	1	47,XX,+18
胞状奇胎疑い	1	1	0	0	0	0	0	1	69,XXX
ポッター症候群疑い	1	0	1	0	0	0	0	0	
合計	44	11	9	14	6	3	1	23	

依頼件数:培養不調のために結果の得られなかった1検体を除く

[2]:同一核型が2件であることを示す

IUFD:子宮内胎児死亡

娠歴等の記載内容から類推した。染色体異常23件の内訳は、数的異常13件、3倍体1件、4倍体1件、構造異常および数的異常2件、モザイク(正常核型/正常核型)2件、モザイク(性染色体モノソミー型/正常核型)2件、モザイク(常染色体トリソミー型/正常核型)2件であった。

流産胎児由来組織と同時に両親の血液の染色体検査を依頼された例が6件、別途両親の血液の染色体検査結果の判明していた例が6件あった。合わせて12件あった。また、7件は流産胎児の核型は正常であり、そのうち6件は両親が正常核型を示し、1件は母親が[46, XX, t(8;10)(p21;q24)]と確認された。常染色体トリソミー型が2件あったが、その両親は正常核型であった。性染色体モノソミー型が1件あったが、両親は正常核型であった。

[47, XX, +5, +13, der(13;14)(q10;q10)]と判定された検体があったが、両親の核型は正常であった。

[47, XY, t(8;21)(q24.2;q21.1), +21]と判定された検体があったが、その両親については昨年度両親の染色体検査を施行しており、母親が[46, XX, t(8;21)(q24.2;q21.1)]の均衡転座保因者であった。

染色体異常の有無と、依頼時の流産を含む総流産回数、検査依頼時の母体年齢、流産確認時まで

の在胎週数を比較した。表3に示したごとく、いずれの項目についても、染色体異常の有無との相関はみとめられなかった。

受入検体45件の中で検査を施行できた44件について、標本作製開始までの培養日数の分布と平均日数を表4に示した。標本作製1回目は培養9日目が多かったが、培養4日目から15日目まで培養日数にばらつきがあり、平均培養日数は9.8±2.6日であった。また、標本作製2回目も培養9日目が多かったが、培養4日目から16日目まで培養日数にばらつきがあり、平均培養日数は11.1±2.7日であった。

検体受入から、すべての作業工程を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付または手交するまでの日数は、核型判定にまで至った44検体についてみると最短で19日間、最長で30日間、平均は24.3±2.9日であった。前年の平均日数は20.3±2.8日であったことから、およそ4日、工程に要する日数が長くなってしまったが、これは、羊水等の流産胎児以外の検体も含めて多数の検体が集中したために検査分析体制が追いつかないことによるものや、検査担当者の交代にともない検査処理能力の若干の低下に起因するものと思われる。

以上、平成24年度に当所で受け付けた流産胎児に関する染色体検査について、現状をまとめてみ

表 3. 染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数

	件数	流産回数	母体年齢	在胎週数
異常あり	22	2.2±1.1	35.5±4.5	10.4±3.0
異常なし	20	2.8±1.3	32.3±5.3	10.0±5.2
全体	42	2.6±1.4	34.2±5.2	10.2±4.2

*:結果の得られなかった1検体、在胎週数記入なしの2検体を除いて集計

表 4. 染色体標本作製までの培養日数

	日数														合計	平均日数
	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日			
標本作製1回目	1	2	0	6	5	8	6	3	5	5	1	2	0	44	9.8±2.6	
標本作製2回目	1	0	0	1	4	8	7	5	2	7	5	1	3	44	11.1±2.7	

注:培養が不調(増殖不良)のため、標本作製ができなかった1検体を除いて集計

た。

前々年度に受入れ件数が大幅に増加していたが、今年度も不育症治療に積極的に取り組んでいる富山大学産科婦人科からの依頼を中心に、受入れ件数が増加していた。習慣性流産や不育症と診断されながらも挙子を望むカップルは多く、治療方針の策定に有効であるとの観点から、今後も検査依頼件数は高い水準で推移するものと予想されている。

検査を完了した検体のおよそ5割に染色体異常をみとめたが、この割合は、多くの報文[3, 4]の記述と合致していた。

一般的に、流産の原因が両親に、とりわけ母体側にあると思われていることがまだ多いが、原因が胎児レベルに局限した染色体異常によるものと判明することによって、当事者の精神的な苦痛や負担を軽減されるものと考えられる。平成24年度は、最終的に12組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析、もしくは比較することができた。流産胎児12件中5件に核型の異常が確認された一方で、そのうち10組の両親は正常核型であり、母親に核型異常をみとめたケースが2件あった。このケースでは2件とも均衡転座型保因者であり、いずれのケースについても、将来的な妊娠およびその継続と挙子の可能性が残されていることが示されたものと考えられる。不育症等で悩むカップルと、これを治療し支えてゆく医療者サイドの遺伝相談資料として役立つためには、流産胎児の染色体分析実績をさらに積み重ねてゆかねばならない。そして資料としての精度を高めるためにも、可能であるならばすべての流産胎児検体に関し、ご両親の血液についての染色体検査も並行して実施することが望まれる。

当所では、検体受入れ日から三週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を

調整しながら作業を進めているが、平成24年度の実績では平均で24日余りとなり、前年比でおよそ4日延長した。目安とする3週間、つまり21日以内の結果報告を実現できなかったケースがあったが、その大半が短期間に集中して舞い込んだ検査依頼であったことから、依頼医療機関に対しては検査の進行予測を説明し、報告日の遅延がありうることへの了承を得た上で受け付けたものであった。とは言え、検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を少しでも短縮することは、この業務に携わる上での重要な課題である。また、これまでの経験から、流産胎児由来細胞では血液リンパ球や羊水細胞の場合と比較して、分析が容易な染色体標本がコンスタントに作成できているとはいまだに言いがたい。標本作成技術、さらにさかのぼって培養技術をみがくことで、核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化が実現されるものと思われる。

文 献

1. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子(2007)富山衛研年報, 30, 47-52.
2. 品川保弘, 高森亮輔, 林美貴子(2012)富山衛研年報, 35, 38-42.
3. 杉浦真弓(2005)産婦人科治療91, 2, 140-143.
4. 小澤伸晃(2010)不育症治療に関する再評価と新たな治療法の開発に関する研究:平成21年度総括・分担研究報告書(研究代表者:齊藤滋)135-137.

羊水細胞の染色体分析結果(平成24年度)

品川 保弘 高森 亮輔 稲畑 良 高田 吉弘

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2012 – Mar. 2013)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Ryo INAHATA and Yoshihiro TAKADA

要 旨 平成24年度の羊水の染色体検査受付件数は154件で、そのうちの13件に染色体異常を認めた。主な検査依頼理由は、高齢妊娠、胎児異常疑い、染色体異常児出産・妊娠既往であった。

当所では、富山県の総合母子保健対策の一環として昭和48年度から血液の染色体検査を開始し、昭和49年度からは羊水の染色体検査を実施している。出生前診断の一技術としての羊水検査は、染色体分析を通じて胎児に何らかの異常が存在するか否かを検索し、妊娠の継続や中断を決定したり、出生後のケアや治療の方向付けのための判断資料を医療機関に提供することを目的として実施される。平成24年度に受け付けた羊水検体154件について、検査状況および結果の概要を報告する。

実 施 方 法

1. 検体の培養方法

羊水細胞の培養は、成書[1]および当所にて長年採用されてきた方法[2]を参考にし、以下の手順でおこなった。

- ・ディスプレイ注射器中の羊水を、2本のポリプロピレン遠沈チューブA・Bに分注(チューブに分注されて届けられた検体の場合は、そのまま使用する)。
- ・チューブAは試験管立てに正立させ、5%炭酸ガスインキュベーター内に静置。(注：年度途中から、この処理を省略。チューブA・Bとも直ちに遠心)
- ・チューブBは、分注後ただちに1,200r.p.m.で6分間遠心し、細胞を沈殿させる。
- ・チューブAは一晩静置後、チューブBは遠心終了後、沈殿ペレットが浮遊しないよう0.2~0.3mlを残して上清を取り除き、0.7~0.8mlの培養液(×1PSN抗生物質溶液添加)を加えて静かに再浮遊させ、その全量を35mm径シャーレに移す。
- ・チューブ内を2.0ml程度の培養液で洗い、その全量をシャーレに加え、最終液量を3mlに

して培養。

- ・培養開始後、顕微鏡下で細胞増殖の有無を観察。コロニーの形成が確認された段階で、培地を適宜交換。
- ・検体中に多量の赤血球が混入している場合は、コロニー形成の有無およびコロニーの状態の観察を阻害するので、5~7日目を目処に、培地を交換する。
- ・低張処理に反応しない鱗片状の剥落細胞は、染色体標本の作製に際し、低張処理後の膨張した核板の形態保持を阻害するほか、スライドガラス上に滴下した際の伸展を妨げるので、培養5~7日目に、あるいは標本作製日の1~2日前に培地を交換、除去する。
- ・核型分析に十分な分裂像が得られると判断できた時点で、染色体標本を作製。

2. 染色体標本の作製方法

- ・1 μ g/mlに調製したコルセミド溶液を、培養液量に対し13 μ l/mlとなるよう添加し、37℃インキュベーター内にて2時間処理する。
- ・シャーレ内の培地全量をパストールピペット(以下、ピペット)を用いてスピッツ管に移し、シャーレ内にトリプシン液1.5mlを加える。
- ・シャーレを37℃インキュベーター内に9分間静置し、細胞を剥離分散させる。
- ・倒立顕微鏡下でシャーレからの細胞の剥離および単一細胞への分散を確認後、細胞をピペットで緩やかに攪拌し、スピッツ管に集め、はじめに取り置いた培地と十分に混和させる。
- ・1,200r.p.m.で6分間遠心にかけ、細胞を沈殿させる。
- ・約0.2mlを残し、上清部分を取り除く。
- ・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊さ

- せ、37℃に加温しておいた低張液1ml程度を重層させる。
- ・1.0～1.5ml程度の低張液でシャーレ内の残余細胞を洗い集め、スピッツ管への重層を数回繰り返す、全量を9～10mlとする。
 - ・スピッツ管内の細胞懸濁液と低張液とをピペットで静かに混和させ、全体を均一にしたのち、37℃に加温したウォーターバス内で、27分間低張処理する。
 - ・1, 200r. p. m. で6分間遠心にかけ、細胞を沈殿させる。
 - ・約0.2mlを残し、上清部分を取り除く。
 - ・沈殿ペレットをピペットで静かに再浮遊させ、作業直前に調製したカルノア固定液1mlを重層させる。
 - ・スピッツ管を傾斜させ回転させながら、細胞懸濁液と固定液とを静かに混和させる。
 - ・固定液をさらに加えて全量をおよそ8mlとし、4℃の冷蔵庫内で2時間以上固定する。
 - ・1, 200r. p. m. で6分間遠心にかけ、細胞を沈殿させる。
 - ・約0.2mlを残し、上清部分を取り除く。
 - ・スピッツ管底部側面を指先でタッピングし、ペレットを再浮遊させたのち、4℃に冷蔵しておいたカルノア固定液8mlを加え、ピペットで静かに混和する。
 - ・室温で10分間静置したのちに、1, 200r. p. m. で6分間遠心にかけ、細胞を沈殿させる。
 - ・沈殿部分が浮遊拡散しないように留意しながら上清を取り除き、0.05mlから0.1ml程度を残す。
 - ・ピペットで細胞を静かに浮遊させ、少量をピペットでスライドガラス上に滴下し、ただちに65℃に加温したウォーターバスの熱気で固定液を蒸発させる。
 - ・スライドガラス上の滴下箇所が完全に乾燥したことを確認した後に、リン酸緩衝液で軽く洗浄し、リン酸緩衝液で希釈したギムザ染色液にて染色する。
 - ・分裂像の有無、分裂像および休止核の密度を確認後、必要に応じて浮遊液濃度を調整し、滴下スライドガラスを8～9枚作製する。
 - ・トリプシン処理によるGバンド染色は、原則として標本作製の翌日以降に行う。

3. 試薬等

- ・PSN: PSN Antibiotic Mixture 100X (GIBCO:

15640-055)

- ・培養液: Amnio MAX-C100 (GIBCO: 17001-082) + Supplement (GIBCO: 12556-015)
- ・コルセミド: KARYO MAX Colcemid Solution 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (GIBCO: 15210-040)
- ・トリプシン液(細胞分散用): 0.05% Trypsin-EDTA (GIBCO: 25300-054)
- ・低張液: 0.075M 塩化カリウム: 0.9% クエン酸ナトリウム = 3:1 混合液
- ・カルノア固定液: メタノール: 酢酸 = 3:1 混合液
- ・リン酸緩衝液: リン酸緩衝剤粉末 1/15 mol/L · DW, pH6.8, (和光純薬: 163-14471)
- ・ギムザ染色液: Microscopy Giemsa's azur eosine methylene blue solution (MERCK: 1.09204.0100)
- ・トリプシン(Gバンド染色用): Trypsin (1:250) (GIBCO: 27250-018)

4. 機材等

- ・15ml 遠沈管: 2325-015 (IWAKI)
- ・35mm ϕ シャーレ: FALCON3001 (Becton Dickinson)
- ・パストールピペット: IK-PAS-9P (IWAKI)
- ・スピッツ管: 目盛付スピッチガラス10ml · Aタイプ(日電理硝子)
- ・スライドガラス: マイクロスライドガラス白縁磨フロスト No. 1 (MATSUNAMI: S2112)

結果および考察

羊水染色体核型分析検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示した。参考までに平成21年度から平成23年度までの依頼医療機関名と依

表1. 医療機関別検査依頼件数 (H21～24)

医療機関名	件数			
	H24	H23	H22	H21
県立中央病院	31	15	15	11
厚生連高岡病院	21	7	12	8
富山赤十字病院	20	14	17	13
黒部市民病院+あわの産婦人科	18	17	17	30
富山市民病院	17	12	19	14
済生会高岡病院	14	5	7	6
富山大学附属病院	13	6	7	2
おとぎの森レディースクリニック	11	17	12	8
さたけ産婦人科	7	3	7	1
菅田産婦人科医院	1	1	0	1
砺波総合病院	1	0	1	4
(済生会富山病院)	0	0	4	1
(高岡市民病院)	0	0	1	0
計	154	97	119	99

頼件数も示した。増加の一途を辿っていた依頼件数が、平成23年度に若干減少したが、平成24年度には154件へと劇的に増加した。依頼医療機関数は11施設(提携する総合病院が採取を担当する1施設を除外)であったが、これは分娩を取り扱う県内の26施設(1助産院を含む)の半数以下であり、その内訳は、総合病院12施設中8施設、産科医院13施設中3施設であった。

平成24年度に依頼を受けた154件のすべてについて、検査および分析を実施し、完了した。

妊娠週数別の検査依頼件数を表2に示した。16週での依頼が106件で最も多く、全体のおよそ69%を占めた。次いで17週18件、15週12件であり、この三週で全体の88%を占めた。最短は15週、最長は33週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表3に示した。39歳での依頼が23件で最も多く、最低年齢は23歳、最高年齢は45歳であった。23歳から45歳までの23年間を、若年域より6歳刻みで4区分すると、35歳から40歳までが91件で、全体のおよそ6割を占めていた。一般的に高齢妊娠とされる35歳以上全体では114件で、全体の74.0%であった。なお、羊水検体受け付けの際に添付される染色体検査依頼書で、検査依頼理由欄に高齢妊娠と記載されている場合であっても、母体年齢が35歳未満の場合には本人希望扱いに区分した。また、高齢妊娠以外の依頼理由のみが記載されている場合であっても、母体が35歳以上であれば高齢妊娠の区分に含めて解析した。

検査依頼理由別の受付件数、核型の異常を確認した検体数、および判定した核型を表4に示した。高齢妊娠、および、これにその他の依頼理由が付随したものが114件で、全体の74%を占めていた。

母体が35歳未満でありながら、超音波検査や血清マーカー・スクリーニング検査により、胎児に何らかの染色体異常や形態異常が疑われることを主訴とした依頼は21件で、全体の13.4%を占めた。

染色体異常児出産あるいは染色体異常児妊娠既往を依頼理由としたのは35歳未満で4件、35歳以上でも4件の、計8件であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体154件中13件(8.4%)であった。高齢妊娠、つまり35歳以上での検査依頼114件のうち10件に異常を認めた。

胎児異常疑いを主訴とする依頼40件(35歳以上19件、35歳未満21件)中10件(25.0%)に核型異常を確認した。

NT肥厚の記載のある依頼は25件(35歳以上11

件、35歳未満14件)であったが、そのうち6件(24.0%)に異常核型を確認した。NT肥厚を依頼理由とする検体での異常核型検出率は、35歳以上で36.4%(4/11)、35歳未満で14.3%(2/14)であった。

母体血液についてのトリプルマーカーテスト(TM)あるいはクアトロテスト(QT)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼6件で、1件の異常が確認された。

両親のいずれかがロバートソン型転座保因者であることを理由とする依頼が2件あったが、そのうちの1件で、母親に由来するロバートソン型不均衡転座を確認した。

異常核型13件の内訳は、常染色体トリソミー型7件(+21:5件、+18:2件)、性染色体数異常2件(47,XXX:1件、45,X:1件)、常染色体均衡転座型2件、常染色体端部欠失1件、派生染色体不均衡転座型1件であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表5に示した。各検体から準備されたシャーレ2枚を用いて、標本作製は2回ずつ行われた。1回目の標本作製のピークは培養9日目であり、この日を含む前後4日間の総数は137件(89.0%)であった。2回目の標本作製のピークは培養11日目であり、この日を含む前後4日間の総数は、134件(87.0%)であった。平均日数は、標本作製1回目が 9.1 ± 2.3 日、2回目が 10.7 ± 1.6 日であった。

検体受入から、培養、標本作製、顕微鏡下での観察、写真撮影、核型分析を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を、表6に示した。最短で10日間、最長で24日間、平均は 18.9 ± 2.5 日であった。

以上、平成24年度に当所で受け付けた羊水の染色体検査について、概要をまとめてみた。

表1に示したように、ここ数年100件前後で推移していた依頼件数が、平成24年度には過去最高数となる154件を記録した。対前年比は実数で57件、率にして58.8%の増加となった。医療機関別にみると、県立中央、厚生連高岡、済生会高岡、富山大学附属の各病院からの依頼件数増加が顕著であった。保健統計年報[3]によれば、県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠満12週以降22週までの自然および人工死産数も減少傾向にあることから、妊娠数自体も微減傾向にあると推測される。それにも関わらず検査依頼件数が増加してきた背景には、高齢妊娠の増加、超音波検査や母体血液

表2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	18	19	...	21	...	24	25	26	27	...	29	30	31	...	33	合計
件数	12	106	18	5	1	...	1	...	2	2	2	1	...	1	1	1	...	1	154

表3. 年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	合計
件数	1	3	0	1	1	5	1	6	2	5	6	9	11	9	14	17	23	17	11	6	4	1	1	154
	11件(7.2%)					28件(18.3%)					91件(59.5%)					23件(15.0%)								

表4. 検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
高齢妊娠	114	10	
高齢妊娠	85	1	47,XX,+21
NT肥厚	10	3	47,XX,+21【3件】
NT肥厚・奇形疑い	1	1	47,XX,+18
QTで染色体異常疑い	2	1	47,XXX
TMで染色体異常疑い	3	0	
18トリソミー児出産歴	1	0	
21トリソミー児出産歴	2	0	
21トリソミー児流産歴	1	0	
心奇形	1	1	47,XX,+18
心奇形・横隔膜ヘルニア	1	0	
IVF-ET	4	0	
胎児発育不全・奇形	1	1	46,XY,del(4)(p1?4)
家族歴(父の従兄に21トリソミー)	1	1	46,XX,t(2;13)(p13;q32)
保因者(母がRT染色体異常)	1	1	45,XX,der(13;14)(q10;q10)mat
胎児異常疑い	21	3	
NT肥厚	14	2	45,X 46,XX,t(1;16)(q12?p13.1?)
TMで染色体異常疑い	1	0	
胎児水腫疑い	1	0	
奇形疑い	4	1	47,XY,+21
奇形疑い・発育遅延	1	0	
染色体異常児出産・妊娠既往	4	0	
21トリソミー児出産歴	1	0	
RT型21トリソミー児出産歴	1	0	
18トリソミー児流産歴	1	0	
21トリソミー児流産歴	1	0	
保因者(父がRT染色体異常保因)	1	0	
本人希望	8	0	
羊水過多	1	0	
家族希望	1	0	
発達障害児出産歴	1	0	
双胎の一方(他方がNT肥厚)	1	0	
流産胎児娩出時羊水	2	0	
IUFD原因精査	1	0	
骨疾患(下肢短縮)原因精査	1	0	
計	154	13	

NT:nuchal translucency(後頸部肥厚)

QT:quatro(marker)test(母体血清4成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)

TM:triple marker(test)(母体血清3成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)

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

RT:Robertsonian translocation(ロバートソン型転座)

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

表5. 培養日数別標本作製件数

培養日数	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日	17日	合計	平均日数
1回目	1	0	6	37	46	28	26	5	3	1	0	1	0	154	9.1±2.3
2回目	0	0	0	5	30	39	42	23	8	1	4	1	1	154	10.7±1.6

表6. 検査全工程所要日数別件数

日数	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	計
件数	1	0	1	3	3	8	13	12	14	19	36	32	5	2	5	154

検査の普及による胎児の異常疑いの増加があるものと考えられる。また、4～9月の半年間の依頼件数が65件で、10～3月の半年間の依頼件数が89件であることから(データ未掲出)、昨年8月頃に、母体血液中の胎児由来DNAを用いる新たな出生前診断検査法が広く報道されて以降、妊婦さんや産科医療関係者の間で詳細かつ正確な判定結果が得られる従来の羊水検査に対する関心が高まったか、あるいは再認識されたことも、その背景となっているものと推測される。

出生前診断を目的とする羊水検査は、妊娠16週での実施が最適であるとされているが、当所で受け付けた検査依頼も、16週がおおよそ7割を占めた。

年齢別の検査依頼件数については、35歳から40歳の年齢階級だけで全体のおおよそ60%、35歳以上の全年齢で74%を占めていた。受付検体154件のすべてについて検査を完了し、そのうち13件に異常を見出したが、35歳以上114件中の異常核型判定件数は10件(8.8%)、35歳未満40件中の異常核型判定件数は3件(7.5%)であった。この35歳未満での異常核型は、超音波による胎児形態検査および母体末梢血血清検査により胎児異常が疑われた検体でのみ認められた。

35歳以上での依頼114件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは85件であり、あとの29件ではNT肥厚や心奇形等の依頼理由が加わっていた。前者で異常核型を認めたのはわずかに1件(1.2%)であったが、後者では9件(31.0%)であった。一般的に35歳以上での高齢妊娠において胎児の染色体異常の確率が高まるとされるが、当所で扱った検体に限れば、検査依頼書に記される依頼理由が高齢妊娠のみの場合は、それ以外の依頼理由と比べて異常核型検出の確率が高いとは言えない。

NT肥厚を依頼理由とする検体の異常確認率は24.0%(6/25)で、そこには何らかの相関があるものと推測されるが、さらなるデータの蓄積を待ちたい。

平成24年度に13件でみとめた核型異常の内訳は、数的異常9件(常染色体7件、性染色体2件)、構造異常3件(均衡転座2件、部分欠失1件)、数的異常+構造異常(ロバートソン型不均衡転座)1件であった。

当所では、染色体核型分析の対象となっている

羊水、血液、流産胎児絨毛のいずれについても、検体受入れ日から三週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を調整しながら作業を進めている。羊水については、平成24年度の実績では平均で 18.9 ± 2.5 日(参考：平成23年度平均 19.1 ± 2.3 日)であり、最短は10日(参考：平成23年度最短13日)であった。目安とする三週間、つまり21日以内の結果報告を実現できなかったケースが12件あり、最長で24日を要した。そのうち8件は長期の連休にかかることから、結果報告が遅れる可能性のあることを了解していただいた上で検査を受託した。残りの4件については、核型分析ソフトによる判定を終えた段階で、21日目までに電話による報告を済ませ、後日、正式な報告書を作成、送付した。

標本作製までの培養日数が、血液で3日、流産胎児絨毛で7～8日程度であるのに対し、羊水の場合は平均で10日前後となっている。検査結果の正確性こそが最重要であるが、羊水検査に関しては判定結果が妊娠の継続の可否をも左右しかねないゆえに、母体保護ならびに倫理的な観点からも、その迅速性が厳に問われている。それゆえ、検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を、たとえ1日でも短縮することは、我々の重要な課題である。本稿では触れなかったが、受入れ羊水量や細胞濃度、培養開始時点でのシャーレへの播種生細胞数と培養日数との相関の有無等を明確にすべく、データの蓄積を継続中である。

文 献

1. 鈴森薫(1996)臨床染色体診断法, 260-263. 金原出版
2. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子, 前多隆志(2010)富山衛研年報, 33, 54-58.
3. 富山県厚生部(2012), 62, 32.

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について (平成24年度)

名古屋真弓 稲崎 倫子 石田 徹¹ 堀元 栄詞
小渕 正次 嶋 一世 板持 雅恵 滝澤 剛則

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tooru ISHIDA¹, Eiji HORIMOTO,
Masatsugu OBUCHI, Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI and Takenori TAKIZAWA

要 旨 平成24年4月から25年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例及び散発例についてまとめた。また、岩ガキを対象にノロウイルス(NoV)の検出を行った。

当所及び富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生23事例からウイルスが検出された。例年と同様、11～1月の発生が多く、全体の発生数も例年並みであった。原因と推定されたウイルスの内訳は、NoV Genogroup(G)II が21事例、NoVGI が1事例、NoVGI と GII の混合が1事例であった。カキの喫食に関連した事例が3事例あった。カキと関連のない食中毒事例6事例は感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。岩ガキ21検体から、NoV は検出されなかった。

NoV の遺伝子型は、集団発生、散発例ともに GII. 4が最も多かった。GII. 4の亜型は2006b と2012とが検出され、特に1月以降は2012亜型が主であった。

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

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

NoV はヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄される。吐物には1gあたり $10^3 \sim 10^6$ 個、糞便には 10^9 個ものNoVが含まれている[7]。NoVは、感染者から2週間以上にわたり排泄され[8, 9]、環境中でも長期間感染性を維持するとされる。100個以下で感染・発病させるといわれている[10]ため、

調理従事者が感染すると、その手指を介して食品がNoVで汚染され、集団食中毒を引き起こすことがある。また、ヒトから排泄されたNoVは、海に入り、カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積されるため[11]、二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方、NoVは食中毒のみならず、ヒトからヒトへ手指等を介して感染し、散発例、集団発生なども引き起こしている。

近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどがNoVによるものであるため[1, 12-16]、主にNoVを対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例の調査を実施した。また、NoVの感染リスクを把握するため、平成23年度に引き続き岩ガキの調査を実施した。

材料と方法

1. 集団発生事例

平成24年4月～25年3月までに当所及び富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした。検

1. 富山市保健所

体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

2. 散発例

平成24年4月～25年3月までに当所で受け付けた散発例を対象とした。検体採取は各定点医療機関及び管轄厚生センターが実施した。

3. 岩ガキ

平成24年5月から7月までの毎月2回、富山県の3漁港(2～4か所/回)で採取した岩ガキ63個を用いた。

4. ウイルスの検出

NoV の検出は、厚生労働省通知[17]に準じ、糞便からのRNA抽出、リアルタイムPCR法及びRT-PCR法を行った。岩ガキは同一ロット3個分の

中腸腺を1検体として10%乳剤にし、 α -アミラーゼを加えて37℃1時間消化したのち、遠心上清をポリエチレングリコール(PEG)沈殿法にて濃縮した。RNA抽出、リアルタイムPCR法はヒト検体と同様に行った。PCRはnested PCR法を行った。

結果および考察

1. 集団発生事例の概要

平成24年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生21事例のうち、17事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えた計23事例の概要を表1に示す。原因ウイルス

表1. 平成24年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例No.	発生月	発生/原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源	
1	平成24年 4月	飲食店(有症苦情)	4	NoV	GII.13	不明
2	4月	公民館	15	NoV	GII.2	不明
3	4月	不明(複数施設)	3	NoV	GI型不明	不明 *
4	4月	飲食店	17	NoV	GII.13、GII.6	食品 **
5	4月	飲食店	23	NoV	GII.13	食品
6	11月	保育所	31	NoV	GII.4	ヒト-ヒト
7	11月	結婚式場(有症苦情)	44	NoV	GII.4	不明 **
8	11月	飲食店(有症苦情)	63	NoV	GII.4	不明 **
9	11月	結婚式場 (県外、有症苦情)	1 (富山市分のみ)	NoV	GII.4	不明 *
10	12月	飲食店(有症苦情)	3	NoV	GII.4	不明 *
11	12月	老人保健施設	12	NoV	GII.4	ヒト-ヒト
12	12月	飲食店(有症苦情)	5	NoV	GII.4	不明 *
13	12月	飲食店(有症苦情)	2	NoV	GII.4	不明
14	12月	飲食店	6	NoV	GII.4	食品
15	12月	飲食店	33	NoV	GII.4	食品
16	12月	飲食店	17	NoV	GII.12	食品
17	平成25年 1月	宿泊施設(県外)	11	NoV	GII.4	食品
18	1月	仕出し(有症苦情)	5	NoV	GII.4、GII.12	不明
19	1月	高校(運動部)	9	NoV	GII.4	不明
20	1月	飲食店(県外、有症苦情)	11	NoV	GII.4	不明 *
21	1月	飲食店(有症苦情)	4	NoV	GI.6、GII.4、GII型不明	不明
22	2月	宿泊施設(県外、有症苦情)	26	NoV	GII.4	不明 *
23	3月	小学校	22	NoV	GII.6	ヒト-ヒト

*富山市保健所にて検査

**当所及び富山市保健所にて検査

の内訳はNoVGIIが21事例、NoVGIが1事例、NoVGIとGIIの混合が1事例であった。NoVの型別は、GII.4が14事例と最も多く、次いでGII.13が2事例、GI型不明、GII.2、GII.6、GII.12、GII.4+GII.12、GII.13+GII.6、GI.6+GII.4+GII型不明がそれぞれ1事例となっていた。カキの喫食に関連した事例が3件(事例No.1, 10, 12)あったが、いずれも食中毒とは判断されず、因果関係は不明であった。その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は6件あった。

2. 施設別発生事例数(図1)

施設別の発生数は、多い順に飲食店による発生

が13事例、結婚式場、宿泊施設、学校が各2事例であった。

3. 月別発生事例数(図2)

月別では、例年と同様に11～1月の発生が多く、全体の発生数も例年並みであった。平成23年度に発生の多かった3月は1事例の発生にとどまった。

4. 散発例からのNoV遺伝子型別(表2)

感染症発生動向調査定点医療機関からの感染性胃腸炎(主として散発例)より検出されたNoVについて遺伝子型別を行った。なお、NoV以外の検出ウイルスの詳細については別途示す[18]。最も多かったのはGII.4型であり、これは例年[1, 15]

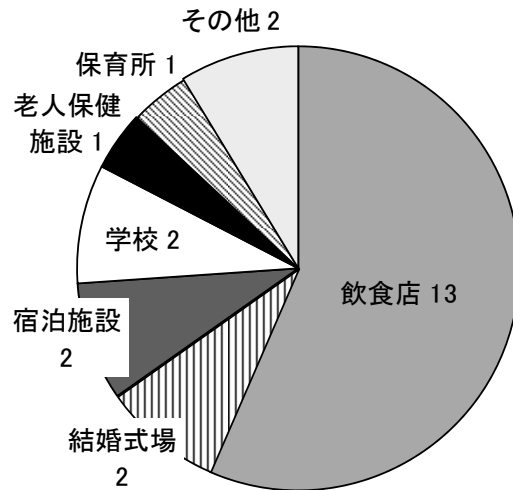


図1. 集団発生事例の施設別発生数
その他には、公民館、不明（複数施設にまたがる）を含む

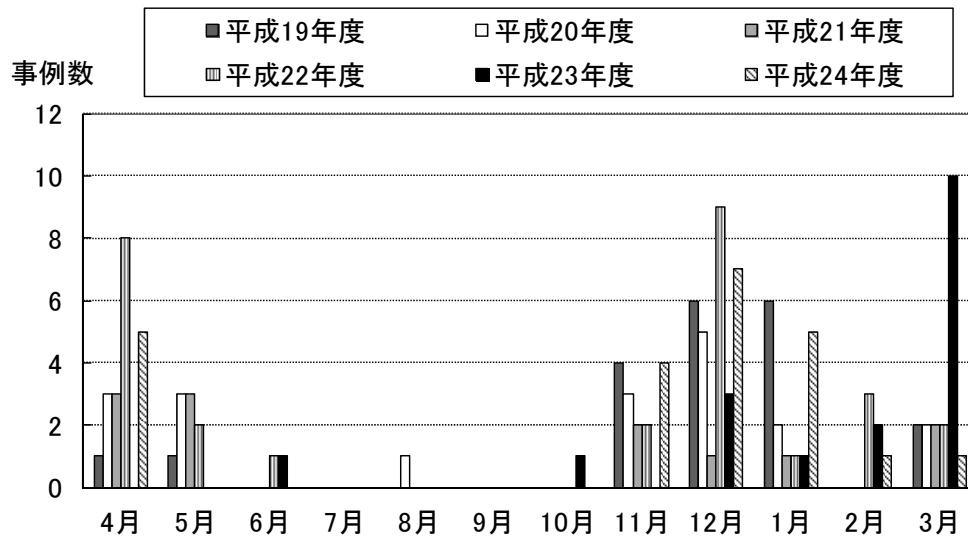


図2. 年度ごとの月別発生数

表2. 平成24年度の胃腸炎散発例からのノロウイルス検出状況

検出月	NoV型別		計	
	GII.4	GI.4		
平成24年	4月		0	
	5月		0	
	6月		0	
	7月		0	
	8月		0	
	9月		0	
	10月		0	
	11月	2		2
	12月	4		4
	平成25年	1月	1	1
2月			0	
3月			1*	
計	7	1	8	

*ロタウイルス A 群との混合感染

や集団発生事例の状況(表1)と同様であった。他に GI. 4がロタウイルス A 群との混合感染で検出された。なお, GII. 3が多かった平成23年度[16]とは発生状況は異なっていた。

5. 岩ガキからの NoV 検出

岩ガキについては、いずれの検体からも NoV は検出されなかった。

6. NoV の系統樹解析(図3, 図4)

単一の遺伝子型が原因と考えられた事例のう

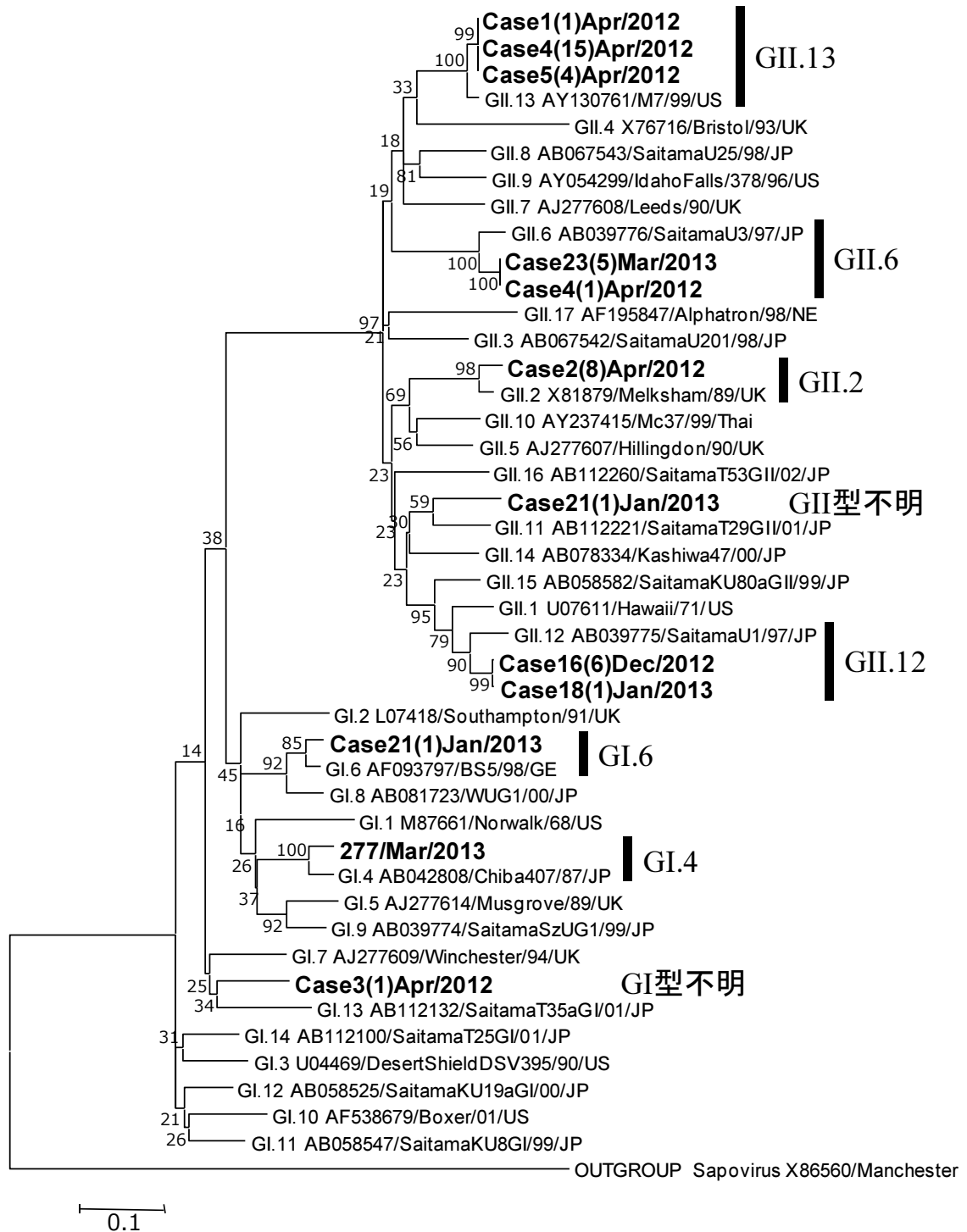


図3. 2012年度に得られたノロウイルス (GII. 4 除く) の系統樹

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

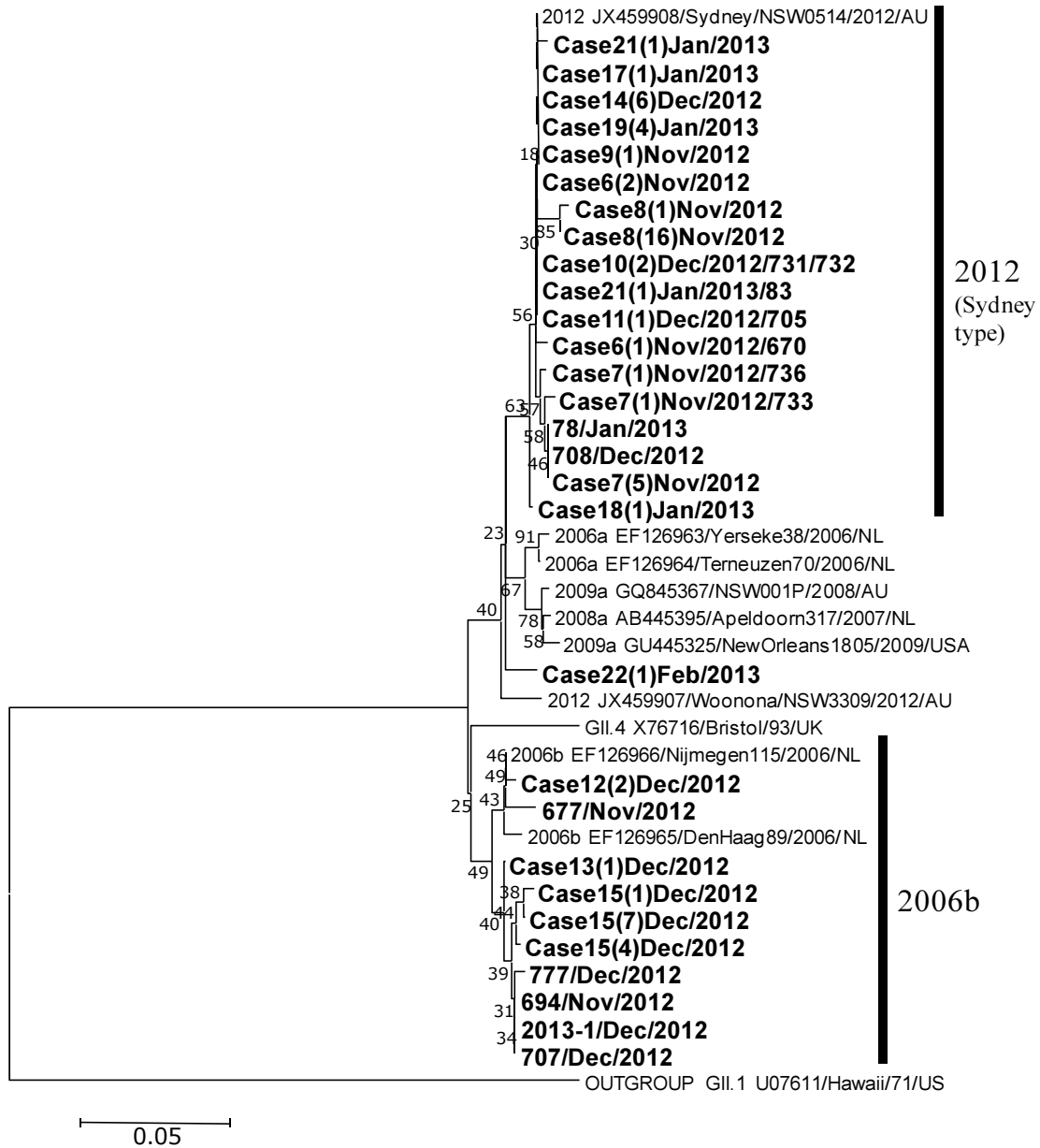


図4. 2012年度に得られたノロウイルス GII. 4 の系統樹

検体は太字で示す。株名については図3と同じ。GII. 4参考株については（亜型 accession no. / 株名）で示す。事例 No. 20は、明瞭な配列が得られなかったため系統樹から除いた。

ち、複数の検体から NoV が得られた事例は14事例あり、そのうち NoV の塩基配列が100% 一致していた事例は10件(事例 No.1, 2, 5, 10, 11, 12, 14, 16, 19, 23)であった。これらは同じ感染源から感染したと考えられる。残り4事例(事例番号 6, 7, 8, 15)では、同じ遺伝子型であってもわずかに異なる配列を示す検体が存在した。異なる配列の NoV をもつ患者が他の感染源から感染した可能性も否定できないが、患者の腸内で、NoV がわずかに変異した可能性も考えられた。また、これら4事例はいずれも GII. 4であり、GII. 4は変異

しやすいことが示唆される。

GII. 4の株は主に、2006年の大流行の主な原因であった2006b 亜型[19]に近縁な株と、2012亜型 (Sydney タイプ, 参考株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908) [20]に近縁の株とに分けられた。これは2006b 亜型と2009a 亜型(参考株: New Orleans1805/2009/USA, accession no. GU445325)とに分かれた平成23年度の結果[16]と異なっていた。また、2006b 亜型は平成24年11~12月のみにみられたが、2012亜型は平成24年11月から検出され始め、少なくとも1月ま

で検出された。平成24年2月に事例 No. 22から検出された GII. 4は、2012亜型に近いものの、他の Sydney タイプとは異なるクラスターを形成しており、今後新たな亜型として流行する可能性もある。

事例 No.1, 4, 5から得られた GII. 13は非常に近縁であり、平成24年4月の時期にこの遺伝子型が流行していたと考えられる。他に、平成24年12月～25年1月には GII. 12が流行していたと思われる。

今回、集団発生事例から GI 型不明、GII 型不明の NoV が検出されており、今後、これらの NoV による流行が危惧される。

ま と め

平成24年4月から25年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例のうち、23事例からウイルスが検出された。発生数は例年と同様であった。検出されたウイルスは例年と同様、NoVGII が22事例(1事例はGIとの混合)と大部分を占めた。

食品を介した感染では、従業員等によって汚染された食品が感染源として推定された事例が6件あった。保育所や老人ホーム等での発生は、感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介してウイルスが伝播したヒト-ヒト感染と考えられた。

今回、岩ガキから NoV は検出されなかったが、平成23年度の調査で2検体から NoVGII が検出されていること、岩ガキは真ガキよりも生で食べることが多い食材であることから、引き続き調査を行うとともに、岩ガキによる食中毒事例の発生に注意が必要である。

遺伝子解析により、各遺伝子型や亜型の流行状況が明らかとなった。集団発生事例では、複数の検体で遺伝子配列が一致すれば、単一暴露と推測できると考えられる。このように、遺伝子解析は、流行状況の把握、集団発生事例の原因究明などに有効であると考えられた。

謝 辞

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

文 献

1. 宗玄俊一, 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 滝澤剛則(2010). 小児感染免疫, 22, 23-28
2. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班:国立予防衛生研究所(1995).
3. Ando, T., Noel, J. S., Fankhauser, L. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
4. Vinje, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. I., Brown, D. W., Koopmans, M. P.(2000). Arch. Virol., 145, 223-241
5. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T.(2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
6. Katayama, K., Sirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). Virology, 299, 225-223
7. 西尾 治, 新川奈緒美(2002). 日本医事新報, 4105, 6-9
8. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 徳竹由美, 山口卓, 秋山美穂, 西尾 治(2004). 臨床とウイルス, 32, 189-194
9. Obara, M., Hasegawa, S., Iwai, M., Horimoto, E., Nakamura, K., Kurata, T., Saito, N., Oe, H., Takizawa, T.(2008). J. Clin. Microbiol., 46, 3397-3403
10. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S.(2000). J. Infect. Dis., 181, S254-261
11. 染谷雄一(2000). ウイルス, 50, 173-184
12. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則(2008). 富山衛研年報, 31, 104-110
13. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則(2009). 富山衛研年報, 32, 90-96
14. 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則(2010). 富山衛研年報, 33, 97-102
15. 小原真弓, 森岡誠二, 小淵正次, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則(2011). 富山衛研年報, 34, 74-79
16. 名古屋(小原)真弓, 森岡誠二, 堀元栄詞, 板持(岩井)雅恵, 小淵正次, 滝澤剛則(2012). 富山

衛研年報, 35, 74-79

17. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長(2003)食安監初115001号.
18. 稲崎倫子, 板持雅恵, 名古屋真弓, 嶋一世, 堀元栄詞, 小渕正次, 滝澤剛則(2013). 富山衛研年報, 36, 115-117
19. Motomura, K., Oka, T., Yokoyama, M., Nakamura, H., Mori, H., Ode, H., Hansman, G. S., Katayama, K., Kanda, T., Tanaka, T., Takeda, N., Sato, H. (2008). *J. Virol.*, 82, 11247-11262
20. 田村務, 渡邊香奈子, 田澤崇, 渡部香, 広川智香, 吉澄志磨, 横井一, 森功次, 入谷展弘, 藤井慶樹, 木内郁代, 加藤聖紀, 仁平稔, 野田衛(2012). 病原微生物検出状況(IASR), 33: 394, 333-334

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況(2012)

磯部 順子 金谷 潤一 嶋 智子¹ 木全 恵子
清水美和子 綿引 正則 佐多徹太郎

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2012

Junko ISOBE, Junichi KANATANI, Tomoko SHIMA¹, Keiko KIMATA,
Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

要 旨 2012年9～11月に富山県内の15施設から採取した浴用水45件およびシャワー水18件について、*Legionella* 属菌による汚染実態調査を実施した。結果は以下のとおりであった。

1. 浴用水の *Legionella* 属菌の検出率は、培養法では12/45件(26.7%)、LAMP法では19/45件(42.2%)とLAMP法で高かった。
2. *Legionella* 属菌の菌数は遊離残留塩素濃度が高いほど少なくなる傾向が認められたが、残留塩素濃度 >2.0 mg/L、0.6 mg/L の浴用水それぞれ1検体から *Legionella* 属菌(25cfu, 555cfu/100 ml)が検出された。一方、*Legionella* 属菌の検出率と換水頻度との関連性は明らかではなかった。
4. *Legionella* 属菌が分離された12浴用水100 mlあたりの *Legionella* 属菌数は10～6,190 cfu、12件の平均は809.6 cfu/100mlであった。
5. 分離された *Legionella* 属菌の血清型は、*L. pneumophila* SG1, SG9(4検体)が多かった。
6. シャワー水の *Legionella* 属菌の検出率は、培養法、LAMP法ともに7/18件(38.9%)で、すべての検体の結果は両方で一致した。
7. シャワー水の汚染菌数は40～720cfu/100mlで、菌数の平均は302.9cfu/100mlと、浴用水の平均より少なかった。
8. シャワー水から分離された *Legionella* 属菌の血清型は *L. pneumophila* SG1, SG3, SG4がそれぞれ2検体、SG5が1検体から分離された。

Legionella 属菌は土壌や淡水などの自然環境に棲息するが、近年では冷却塔、加湿器、循環式浴場など、人工的な水環境にも生息域を広げている。これらの環境から発生するエアロゾルや粉塵と一緒に吸入された *Legionella* 属菌は、マクロファージの中で増殖し、ヒトに経気道感染(レジオネラ症)を起こすことが知られている。レジオネラ症は高齢者に多く発生し、重篤な場合には死に至るため、注意を要する。日本においては2002年7月の宮崎県で7名が死亡する集団感染[1]をはじめ、温泉や循環式浴用施設を感染源とする多くの事例が報告されている[2]。くわえて、2009年には公衆浴場のシャワー水を感染源とする事例[3]も発生し、レジオネラ症の発生に浴用施設が強く関連することは明らかな状況となっている。

富山県におけるレジオネラ症の発生動向は全国と同様、増加傾向にあるが[4]、その発生数は全国

的にみて多く(厚生労働省健康局生活衛生課「平成23年度生活衛生関係技術者担当者研修会」)、対策が急務となっている。

そこでレジオネラ症の感染源を明らかにし、その発生の予防に資することを目的として、感染源として推定されることが多い浴用施設の *Legionella* 属菌による汚染実態を調査したので報告する。また、今年度はシャワー水についても調査を行ったので、あわせて報告する。

材料と方法

1. 対象と材料

2012年9～11月に県内15施設から採取した浴用水45検体を試料とした。採水は厚生センターの担当者に依頼した。浴用水は採取後直ちにハイポ入り滅菌採水瓶に入れ、採水当日あるいは翌日に当

1. 富山県厚生部くすり政策課

所へ搬入された。

2. 浴用水の濃縮と培養

検査はビル管理教育センターの「レジオネラ症防止指針」[5]に準じて実施した。すなわち、浴用水500mlをポリカーボネート製メンブランフィルター(直径47mm, 0.2 μ m, 日本ミリポア)で吸引ろ過し、さらに滅菌蒸留水50mlでメンブランフィルターおよびろ過用ファンネルを洗浄、吸引ろ過した。吸引後フィルターを50ml滅菌コニカルチューブに入れ5.0mlの滅菌蒸留水を加え、ボルテックスで5分間振盪し、100倍濃縮試料とした。また、シャワー水については、浴用水と同様の工程で検査を実施したが、検査試料は200mlでおこなった。

この濃縮試料のうち、*Legionella* 属菌以外の細菌の発育を抑制するために、1.0mlはpH2.2の0.2M KCl-HCl(レジオネラ検体用前処理液: 極東製薬工業)を等量加え、5分間静置して酸処理検体とし、 $\times 1$ 、 $\times 10$ 希釈した試料をGVPC寒天培地(日研生物)に、200 μ lをコンラージ棒で全面に塗布した。これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ、35 $^{\circ}$ Cで7~10日間培養した。ただし、*Legionella* 属菌を早期に検出するため、培養3日目に斜光法[6]による確認を実施した。この方法は実体顕微鏡を用いて*Legionella* 属菌のモザイク模様、カットガラス様の形態を観察するもので、菌種や血清型によりその形態が少しずつ異なることを利用し、多種類の菌を分離することが可能となる。

3. 同定および菌数測定

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

4. 血清型別試験

浴用水1検体あたり1~10個のBCYE α 寒天に

発育した菌を用い、病原体検出マニュアル[7]に従い、加熱抗原を作製した。反応はレジオネラ免疫血清(デンカ生研)および*Legionella* Latex Test Kit(オキソイド)を用いておこなった。

5. DNA抽出法

抽出は新鮮分離株を5%キレックス(日本バイオラド)に懸濁し、100 $^{\circ}$ C 10分の加熱処理をおこない、遠心(10,000 rpm, 5分)して得られた上清をDNA溶液とした。

6. LAMP法による遺伝子検査

Loopampレジオネラ検出試薬キットEを用い、濁度装置LA320Cで判定した。

結 果

1. 浴用水の管理状況

換水は毎日~2回/4週間の頻度で実施されており、1回/週が23件ともっとも多く、次いで毎日が16件の順に多かった。採水日の遊離残留塩素濃度(以下残塩濃度)は0.0 mg/Lの浴用水が2施設3件(白湯1, 薬湯1, 温泉1)、0.1~<0.4 mg/Lの浴用水が6施設12件であった。一方、2.0 mg/L以上の浴用水が7施設14件で、もっとも高い残塩濃度は2.2 mg/Lであった。

2. 浴用水の泉種

浴用水45件の泉種の内訳は、温泉13/45(28.9%)、水道水を含む白湯29/45(64.4%)、薬湯3/45(6.7%)であった。これらの給湯方式について、3件を除きすべてが循環式であった。なお、この報告で述べる「薬湯」とは、薬用成分の有無に関わらず、入浴剤などを添加している浴用水とした。

3. *Legionella* 属菌の検出状況

浴用水の*Legionella* 属菌検出率は培養法で12/45件(26.7%)で昨年の15/45検体(33.3%)に比べ若干低かった。これを泉種別にみると、温泉が3/13件(23.1%)、白湯8/29件(27.6%)、薬湯1/3件(33.3%)であった。一方、遺伝子検査法であるLAMP法による*Legionella* 属菌の検出率は、全体では19/45件(42.4%)で、泉種別にみると温泉が6/22件(54.5%)、白湯が11/20件(45.0%)、薬湯2/3件(66.7%)とすべてにおいて培養法に比べて高かった(表1)。培養法、LAMP法いずれか一方、もしくは両法で陽性となった浴用水21件について、その定量値と分離された*Legionella* 属菌の血清型をまとめた(表2)。LAMP法は、定量性、とりわけ菌数の少ない検体では精度が劣ることが倉

らの厚生科学研究[8]により明らかになっているため、レジオネラ症防止指針に記載されている「10 cfu/100 ml」の基準値ではなく、遺伝子の増幅が認められた検体を陽性(定性)とした。培養法陽性、LAMP法陰性という検体は2検体(表2: 浴用水 No. 10, 20)で、いずれも培養法での菌数が10 cfu/100mlであった。このように培養法での菌数が10~20 cfu/100 mlのように少ない検体については、検査試料に菌が含まれる確率の問題が考えられ、LAMP法で陽性とならない可能性が考えられた。

Legionella 属菌の検出率、菌数について、残塩濃度との関連性を図1, 図2に示した。残塩濃度はレジオネラ症防止指針の中で望ましいとされる残塩濃度「0.2~0.4, 高くても1.0mg/L」までを基準として、濃度別で検出率を比較した。その検出率は、残塩濃度が0~<0.2mg/Lで4/8 (50.0%), 0.2~<0.4mg/Lで3/7(42.9%), 0.4~<1.0mg/Lで2/8(25.0%), 1.0mg/L以上で3/20(15.0%)で、残塩濃度が高い浴用水で検出率が低かった。また、

残塩濃度と *Legionella* 属菌数では、菌数が多かった2検体(表2: 浴用水 No.1, 15)の残塩濃度は、0.1mg/Lおよび0mg/Lといずれも低かった。しかしながら、表2の浴用水 No.9のように残塩濃度が0.6mg/Lでも *Legionella* 属菌数が555cfu/100mlのような場合もあることから、残塩濃度は十分条件ではないことが分かる。

4. *Legionella* 属菌数

Legionella 属菌が検出された浴用水で100mlあたりの菌数をもっとも多かったのは6,190 cfu/100ml(平均809.6cfu/100ml)、換水した日に採水され、残塩濃度が0.1 mg/Lであった。(表2 No.1)。この浴用水と同じ施設内の別の浴用水では、残塩濃度が0.4mg/mlが保たれていること、次亜塩素酸ナトリウムも自動注入となっており、なぜ、この浴用水の残塩が低くなったのかは不明である。

5. 分離菌の血清型別

浴用水から分離された *Legionella* 属菌のうち、血清型別を表2に示した。認められた血清型は7種類で、*L. pneumophila* SG1, SG9がそれぞれ4検

表1. 泉種別 *Legionella* 属菌検出率(GVPC 培地)

	培養法 (%)		LAMP法 (%)	
	10cfu/100ml以上		定性	
温泉	3/13	(23.1)	6/22	(54.5)
白湯	8/29	(27.6)	11/20	(45.0)
薬湯	1/3	(33.3)	2/3	(66.7)
計	12/45	(26.7)	19/45	(42.2)

表2. *Legionella* 属菌が検出された浴用水における分離数と血清群(2012年)

浴用水 No.	LAMP法 定性結果	培養結果 cfu/100ml	分離された <i>Legionella</i> 属菌の血清群				遊離残留塩素濃度 (mg/L)		
1	+	6190	SG1	SG9			0.1		
2	+	<10					0.3		
3	+	<10					0.3		
4	+	10	SG3			0.31			
5	+	20	SG7			UT	0.34		
6	+	<10					2		
7	+	<10					0.3		
8	+	75	SG1				0.5		
9	+	555	SG1	SG6			0.6		
10	-	10	SG4			UT	1.77		
11	+	<10					2.4		
12	+	<10					0.1		
13	+	<10					0.1		
14	+	10	SG6			0.1			
15	+	2785	SG7			SG9	0		
16	+	<10					2		
17	+	10	SG10				0.1		
18	+	<10					0.2		
19	+	15				SG9	UT	ミクダディ	0.2
20	-	10	SG5			SG9	1		
21	+	25	SG1	SG5			>2.0		

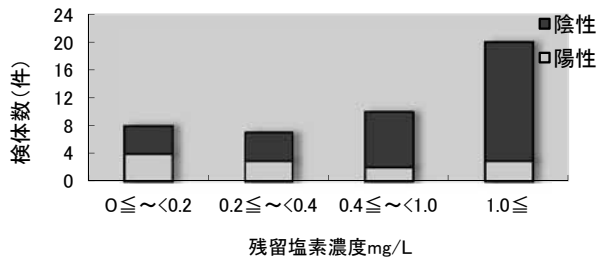


図1. 残留塩素濃度と Legionella 属菌数の検出率

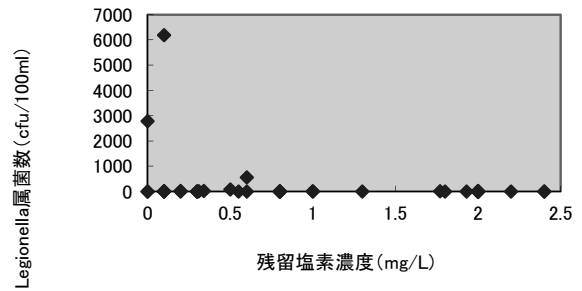


図2. Legionella 属菌数と残留塩素濃度

体から、また、*L. pneumophila* SG5, SG6およびSG7がそれぞれ2検体から、*L. pneumophila* SG3, SG4, SG10がそれぞれ1検体から分離された。一方、型別できなかった(UT)菌が3検体から分離された。

6. シャワー水の管理状況

シャワー水18検体中、泉種は水道水と井戸水が9件ずつであった(表3)。これらの温度調整に使用される調節箱は、閉鎖型が13件(72.2%)、調節箱のない型が4件、混合水栓が1件であった。シャワー水の残塩濃度は0.0mg/L5検体、(水道水1、井戸水4)、0.1~ < 0.4mg/L水が8検体(水道水6、井戸水2)、0.4mg/L以上が3検体(すべて井戸水)であった。

7. シャワー水の Legionella 属菌汚染状況

シャワー水からの Legionella 属菌の検出率は培養法、LAMP 法いずれも7/18件(38.9%)であった。また、シャワー水については、培養法とLAMP法の結果はすべての検体で一致した。Legionella 属菌が検出されたシャワー水は水道水が3件、井戸

水が4件で、泉種による差は認められなかった。これらのうち、6/7(85.7%)の検体は残塩濃度が0.2mg/L未満であった。ただし、1検体は残塩濃度が0.54/Lで、その菌数は740cfu/100mlと、Legionella 属菌が検出されたシャワー水の中でもっとも多かった。これ以外のシャワー水の汚染菌数は40~630cfu/100mlで、菌数の平均は302.9cfu/100mlで、浴用水の平均より少なかった。認められた Legionella 属菌の血清型は *L. pneumophila* SG1, SG3, SG4がそれぞれ2検体から、SG5が1検体から分離された。

考 察

今回の調査における浴用水45件の Legionella 属菌の検出率は12/45件(26.7%)で、これは調査を始めた2006年からの7年間で最も低かった。しかしながら、浴用水を個別に見ると、汚染菌数をもっとも多い施設では6,190cfu/100ml(表2)であり、依然として、リスクの高い施設が存在していること

表3. シャワー水のレジオネラ属菌検査結果

シャワー水 No.	泉種	調節箱の種類	採水日の遊離残留塩素濃度	cfu/100ml	血清群		
S01	井戸水	閉鎖型調節箱	0.1	<10			
S02	水道水	閉鎖型調節箱 (貯湯槽で60度以上の湯がシャワー混合水栓で調節できるシステム)	0	<10			
S03	井戸水	閉鎖型調節箱	0	120		SG6	UT
S04	井戸水	閉鎖型調節箱	0	70		SG6	UT
S05	井戸水	ボイラー横の貯湯槽から給湯、混合水栓	0	80	SG3		UT
S06	井戸水	閉鎖型調節箱	0.38	<10			
S07	水道水	調節箱なし	0.05	<10			
S08	水道水	調節箱なし	0.05	<10			
S09	井戸水	閉鎖型調節箱	0.53	<10			
S10	井戸水	閉鎖型調節箱	0.54	740	SG3		SG5
S11	水道水	調節箱なし	0.2	<10			
S12	井戸水	調節箱なし。ボイラーのみ	0.4	<10			
S13	水道水	閉鎖型調節箱	0.1	40	SG1		
S14	井戸水	閉鎖型調節箱	0	<10			
S15	水道水	閉鎖型調節箱	0.05	440	SG1	SG4	UT
S16	水道水	閉鎖型調節箱	0.05	630		SG4	SG8 SG9 UT
S17	水道水	閉鎖型調節箱	0.1	<10			
S18	水道水	閉鎖型調節箱	0.1	<10			

が示された。県内のレジオネラ症患者の多くは、感染源を推定できていない状況にあるが、これまでの調査から、浴用水が関連したと思われる患者は少なくはない[9]。したがって、富山県で発生するレジオネラ症を減少させるひとつの方法として、浴用水のレジオネラ属菌により汚染状況を改善することが重要であると思われる。ただし、富山県でのレジオネラ症患者の報告数が多い理由は、他府県の同様の報告[10, 11]を見る限り、浴用水の *Legionella* 属菌の汚染状況だけでは説明できない。

レジオネラ症は *Legionella* 属菌を含むエアロゾルを吸い込むことが原因であることから、浴用水の衛生管理はもちろんであるが、エアロゾルが多く発生するシャワーなどの管理はきわめて重要となる。2012年におこなったシャワー水の *Legionella* 属菌の検出率は、東京都文京区が実施した調査結果(陽性率11/70検体:15.7%)に比較して高かった。その原因は明らかではないが、とりあえずシャワーヘッドのぬめりを取るなどの早急な対応が必要である。シャワー水は、感染源となりうる可能性が高いうえ、ジャグジーなどの気泡発生装置のように使用を控えるという対策が難しいことから、そのリスクについて広報するとともに、さらに多くの検体について調査する必要がある。

浴用水の衛生管理手法の一つである塩素消毒については、*Legionella* 属菌の検出率が残塩濃度と関連し、菌数は残塩濃度の高い浴用水では少ないなど、有用であると思われる。したがって、浴用水 No.1のように、菌数が多いうえ、ジャグジー装置が設置してあり、また、残塩濃度が低くなった理由も明らかになっていない施設については、早急な対応と監視の継続が必要である。一方、烏谷らが全国のかけ流し方式の温泉について調査した結果、*Legionella* 属菌の検出率は39.4%で[13]、われわれの調査の結果より高く、換水で衛生状態を保つのは難しいことを示している。しかしながら、報告の中で掛け流し温泉の *Legionella* 属菌数は、循環式浴用水のそれより少ない傾向を示していることから、塩素消毒と換水を併用して衛生管理することが望まれる。また、*Legionella* 属菌の検出率は温度が50℃で大きく低下すること、*Legionella* 属菌の増殖に深く関与するアメーバが50℃で死滅することから、貯湯槽などの温度を可能な限り高温に保つことが衛生管理に有効な手段となることを示唆している。一方、近年は遊離

塩素に頼らない消毒法として、モノクロラミン消毒が検討され、効果的であることが報告されている[14]。この方法は塩素のような異臭がないため、浴用施設でも導入に抵抗がないことが予想される。静岡市では、塩素による衛生管理が難しいとされる pH の高い泉質等の浴用施設について、この方法による衛生管理を条例化している。

浴用水の *Legionella* 属菌検査において、迅速性を高めるために、遺伝子検査法を取り入れることは重要であるが、注意しなければならない点として、PCR 阻害と死菌 DNA の検出の問題が考えられる。とくに、温泉や地下水などを水源とする場合の泉質(たとえばフミン等)による反応阻害[15]は、遺伝子検査だけで管理状況を最終評価できない理由となっている。また、シャワー水については、培養法と LAMP 法の結果がすべての検体で一致した。この結果は浴用水とは異なり、人などから持ち込まれる *Legionella* 属菌以外の菌数が少ないことが影響したものと考える。すなわち、PCR が偽陰性となる可能性は泉質の問題だけではないことを示している。これらをどれだけ除去できるかが、今後の課題であろう。これとは逆に遺伝子法陽性、培養法陰性を示す浴用水は死菌の遺伝子が検出された可能性がある。これについては、Etidium mono azaid(EMA)による死菌 DNA の切断という手法を取り入れたキットも出たことから、今後普及するものと思われる。2012年の調査の中でも、培養法と LAMP 法で異なる結果が認められたが、その相違は、汚染菌数が少ないことによる、確率の問題であると推定された。しかしながら、遺伝子検査法には、検出できない *Legionella* 属菌があることも問題である。したがって、培養法は必ず平行しておこなうべきものと考えられる。

富山県におけるレジオネラ症患者報告数は2006年以降20人/年前後で推移しているが、2009年以降は常に20人を超えている(図3)。なかでも2012年の富山県の患者報告数は、2006年以降でもっとも多い28人/年であった。これは、全国平均12.6人/年に比べ、2倍以上と多い。2009年以降の増加傾向は全国的にも同様の状況にあるが、対人口10万人の報告数は、富山県は2.38で、全国でもっとも多いと指摘されている[9]。一方、富山県のレジオネラ症のなかで、感染源が特定された患者は一人もいなかった。行動調査の中で公衆浴場を利用していた患者が3名、土木作業などに携わり、粉塵を吸い込んだ可能性が考えられた患者が2名、その両

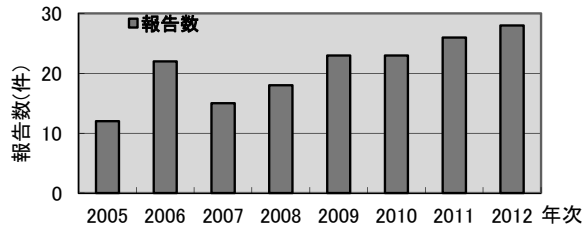


図3. 富山県におけるレジオネラ症報告数の年次推移(2005~2012)

方が考えられた患者が1名であるが、残る19名(67.9%)は行動調査から感染源を推定できなかった。その大きな理由のひとつが、患者から *Legionella* 属菌が分離されないことである。すなわち、患者分離株と環境分離株について、細菌学的に比較するという、基本的な調査ができない状況となっている。したがって、疫学調査から原因施設と推定できても、最終的に原因施設を特定するに至っていない。これは *Legionella* 症が尿中抗原検出で診断できるようになり、また、保険適用となったことで、この方法により診断される患者が増加しているからである。近年、SBT(Sequence-Based Typing)という手法で、*Legionella* 属菌の由来、すなわち棲息環境を推定することが可能となっている[16]。どの方法を用いるにしろ、患者から *Legionella* 属菌が分離されることがもっとも重要である。われわれの調査で、一部の患者から分離された *Legionella* 属菌が、アスファルト道路にある水溜りから分離された *Legionella* 属菌と、遺伝的にきわめて近い関係にあることが明らかになった[17]。患者が直接水溜りからのエアロゾルを吸入したかは不明であるが、新しい感染源の可能性を指摘することができた。これも患者からの *Legionella* 属菌があればこそその成果である。したがって、レジオネラ症を疑う場合には、培養検査を実施していただくよう、医療機関に対して広報していきたい。また、感染源となりうる環境水等について、更なる調査が必要である。

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

- 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
- Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, Tsuchida F, Oh-hashii S, Yamaguchi K, et al.(2003) Intern Med, 42, 806-11
- 国立感染症研究所(2010). 病原微生物検出情報, 31(11), 331-333
<http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>
- 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21年), 12
- レジオネラ症防止指針第3版, 財団法人ビル管理教育センター, (2009)28-36
- 森本 洋(2010), 環境感染誌, 25, 8-14
- 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
- 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成20年度), 77-105
- Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M. 2012. J. Infect. Chemother. [Epub ahead of print.] doi : 10. 1007/ s10156-012-0537-x.
- 緒方喜久代, 佐々木麻里, 大島由香利, 成松浩志(2011). 大分県衛生環境研究センター, 39, 64-67
- 鈴木敦子, 市瀬正之, 松江隆之, 天野祐次, 寺山 武, 泉山信司, 遠藤卓郎(2008), 感染症学雑誌. 76. 703-710
- 国立感染症研究所(2010). 病原微生物検出情報, 31(11), 331-333
<http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>
- 烏谷竜哉, 黒木俊郎, 大谷勝実, 山口誠一, 佐々木美江, 齊藤志保子, 藤田雅弘, 杉山寛治, 中嶋 洋, 村上光一, 田栗利紹, 藏元 強, 倉 文明, 八木田健司, 泉山信司, 前川純子, 山崎利雄, 縣 邦雄, 井上博雄(2009). 感染症学雑誌, 83. 36-43
- 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成22年度),

平成25年11月29日

25-28

15. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成19年度), 37-55
16. Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M. (2013), *Appl. Environ. Microbiol.* 79 : 3959-66
17. Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, Kaneko S, Suzuki-Hashimoto A, Furuhashi K, et al. *Appl Environ Microbiol.* 2012 ; 78 : 4263-70.

富山県における市販生食用鮮魚クドア汚染実態調査と 有症苦情事例におけるクドア調査(2012年)

清水美和子 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子¹
金谷 潤一 佐多徹太郎 綿引 正則 出村 尚子²

Surveillance of the Contaminated Raw Fish Meats with *Kudoa septempunctata*
in the Market and the Stool Examination
in Some Food Poisoning Cases in Toyama Prefecture, 2012

Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA¹,
Jun-ichi KANATANI, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, and Naoko DEMURA²

要 旨 富山県内の市販生食用鮮魚31検体について *Kudoa septempunctata* (以下, *K. septempunctata*) 及び *K. septempunctata* 以外のクドア属の汚染実態調査を行った。さらに, クドア属を広く検出するために, クドア属に特異的なプライマーを設計し, 検討した。その結果, ヒラメ1検体から規格値以下であるが *K. septempunctata* が, カンパチ2検体からクドア属が検出された。また, 刺身等を喫食したことに伴う有症苦情事例における患者便について, *K. septempunctata* と *K. septempunctata* 以外のクドア属の検出を試みた。結果は, すべての検体で *K. septempunctata* 及びクドア属は陰性であった。

平成15年以降, 鮮魚を喫食し, 短時間で下痢, 嘔吐を発症する原因不明の食中毒の報告が国内, 特に西日本を中心に増加していた。原因としてヒラメの刺身の喫食が疑われ, 調査の結果, ヒラメの筋肉内に寄生する *K. septempunctata* が原因であると結論付けられた[1]。その結果をうけて, 厚生労働省から「*Kudoa septempunctata* の検査法について(暫定版)」[2](以下, 暫定法)が通知され, 全国の地方衛生研究所で検査体制が整備された。一方で, ヒラメを喫食していない有症苦情事例や, ヒラメ以外のマグロなどから *K. septempunctata* 以外のクドア属が検出されたとする報告[3]があり, *K. septempunctata* 以外のクドア属が食中毒の原因となっている可能性も指摘されていた。しかし, 現在提示されている検査法は, *K. septempunctata* を対象としており, クドア属の検査法は確立されていない。

一方, *K. septempunctata* 食中毒が疑われる事例が発生した場合, 刺身等の食品残品が残っていないことが多く, 食中毒の原因調査に苦慮することをしばしば経験する。そこで, 患者由来の検体(便, 嘔吐物)から *K. septempunctata* の検出が試

みられているが[3], まだ確立した方法はない。

そこで今回, 県内に流通するヒラメやヒラメ以外に寄生する *K. septempunctata* と *K. septempunctata* 以外のクドア属の汚染状況を把握することを目的に, 市販生食用鮮魚の汚染実態調査を行った。また, 県内で発生した刺身等を喫食したことに伴う有症苦情事例の患者便について, *K. septempunctata* と *K. septempunctata* 以外のクドア属の検出を試みた。

材料と方法

1. 調査期間と検体

調査期間は, 平成24年4月~平成25年3月, 検体は, 買い上げた生食用鮮魚検体と, 県内で発生した有症苦情事例の便であった。

生食用鮮魚検体は, 業者が当所に搬入し, すべて切り身をパックしたものであった。検体数は31検体で, 内訳はヒラメ(愛媛産・養殖)7検体, 南マグロ(オーストラリア産・養殖)6検体, パチマグロ(韓国産・天然)6検体, カンパチ(愛媛・養殖)6検体, サーモン(チリ産・養殖・解凍)6検体であった。

1. 富山県厚生部くすり政策課, 2. 富山県厚生部生活衛生課

(表1).

患者便検体は、8月と10月に県内で発生した刺身等を喫食したことに伴う有症苦情3事例の患者及び従業員から採取された8検体である(表2)。これらの便は、他の食中毒原因菌及びウイルス検索が実施されているが陰性であった。

2. 顕微鏡による検査

暫定法に従った。

3. 鮮魚からの DNA 抽出

QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)を使用し、暫定法に従った。

4. 便からの DNA 抽出

QIAamp Stool Mini Kit(QIAGEN)を用い、DNA

表1. 市販生食用鮮魚検体

No.	買上日	魚種	天然/養殖	産地
1	H24.9.25	ヒラメ	養殖	愛媛
2		ヒラメ	養殖	愛媛
3		南マグロ	養殖	オーストラリア
4		バチマグロ	天然	韓国
5		カンパチ	養殖	愛媛
6		サーモン	養殖	チリ
7	H24.10.23	ヒラメ	養殖	愛媛
8		南マグロ	養殖	オーストラリア
9		バチマグロ	天然	韓国
10		カンパチ	養殖	愛媛
11		サーモン	養殖	チリ
12	H24.11.20	ヒラメ	養殖	愛媛
13		南マグロ	養殖	オーストラリア
14		バチマグロ	天然	韓国
15		カンパチ	養殖	愛媛
16		サーモン	養殖	チリ
17	H24.12.11	ヒラメ	養殖	愛媛
18		南マグロ	養殖	オーストラリア
19		バチマグロ	天然	韓国
20		カンパチ	養殖	愛媛
21		サーモン	養殖	チリ
22	H25.1.29	ヒラメ	養殖	愛媛
23		南マグロ	養殖	オーストラリア
24		バチマグロ	天然	韓国
25		カンパチ	養殖	愛媛
26		サーモン	養殖	チリ
27	H25.2.19	ヒラメ	養殖	愛媛
28		南マグロ	養殖	オーストラリア
29		バチマグロ	天然	韓国
30		カンパチ	養殖	愛媛
31		サーモン	養殖	チリ

表2. 有症苦情事例

事例No.	検査日	管轄HC	検体数	症状の有無	備考
1	H24.8.20~22	新川HC	3	無	従業員(刺身を喫食)
2	H24.8.20~22	高岡HC	4	有	
3	H24.10.11~12	中部HC	1	有	

抽出を行った。ただし、QIAamp Stool Mini Kit では、細菌の DNA は抽出可能であるがクドアからの DNA 抽出効率が悪いことが報告されており [3]、事例3については、Percoll 法 [3] を実施後に QIAamp Stool Mini Kit を使用した。

5. リアルタイム PCR

5-1. *K. septempunctata* リアルタイム PCR (暫定法)

暫定法に従った。10⁷ クドア rDNA コピー /g 試料 以上検出された場合、陽性とした。しかしながらこの方法は食中毒の原因となる *K. septempunctata* 以外のクドア属の交差反応が報告されている [3]。

5-2. *K. septempunctata* 特異的リアルタイム PCR(改良法)

K. septempunctata に特異的に検出する方法として暫定法を改良したもの [3] だが、ターゲット遺伝子を定量するためのコントロール DNA 溶液が利用できない。従って、相対的な定量しかできないため、暫定法で陽性となった場合のみ行った。プライマーとプローブの配列は、Forward primer : 5' - AAT ACA TAG CAA ATC TCA CCA TGT AAA TG - 3', Reverse primer : 5' - TGC TCA GTT ATT AGG ATT CAT CAA ATG - 3', Probe : 5' - FAM-TGG GAG CAT TTA TTA GAC TCG ACC AAC TGG-TAMURA - 3' である。反応調製液、反応条件は暫定法に従った。

6. PCR

6-1. *K. septempunctata* の18S rRNA PCR 国立医薬品食品衛生研究所(以下、国衛研)の

方法 [4] に従い、*K. septempunctata* を検出する特異的プライマーとして、18S rRNA 配列をターゲットとした SSU1 (Forward) : 5' - ACC AAG GTT GTG ACG GGT AA - 3', SSU2 (Reverse) : 5' - AGG CTC AGT CCA AAG CAA GA - 3' を用いた。PCR は、Multiplex Master Mix (2×) (QIAGEN) 10 μl に、SSU1, SSU2 (2 μM) をそれぞれ 2 μl, DNA 溶液 2 μl を加え、全量を 20 μl になるよう H₂O を加え、反応液とした。反応条件は、95℃ 15分の後、94℃ 30秒、55℃ 15秒、72℃ 1分30秒を 35 サイクル、最後に 72℃ 3分とした。PCR 陽性は 1.1kb の増幅産物が得られる。

6-2. クドア属18S rRNA PCR のプライマー設計

クドア属を検出するために、プライマーを設計した。DDBJ [5] に登録されているクドア属の 18S rRNA 配列をダウンロードし、約 1700 塩基対のすべての配列の異同を MEGA5 で解析した。得られた共通領域から Ksp378-F, Ksp833-F, Ksp947-F, Ksp850-R, Ksp1246-R の 5本のプライマーを設計し、比較した (図1)。PCR は、Multiplex Master Mix (2×) (QIAGEN) 10 μl に、プライマー (10 μM) をそれぞれ 0.4 μl, DNA 溶液 2 μl を加え、全量を 20 μl になるよう H₂O を加え、反応液とした。反応条件は *K. septempunctata* の 18S rRNA PCR と同じとした。

7. 塩基配列解析

PCR 陽性となった場合、得られた PCR 産物の塩基配列を解析した。アガロース電気泳動後の

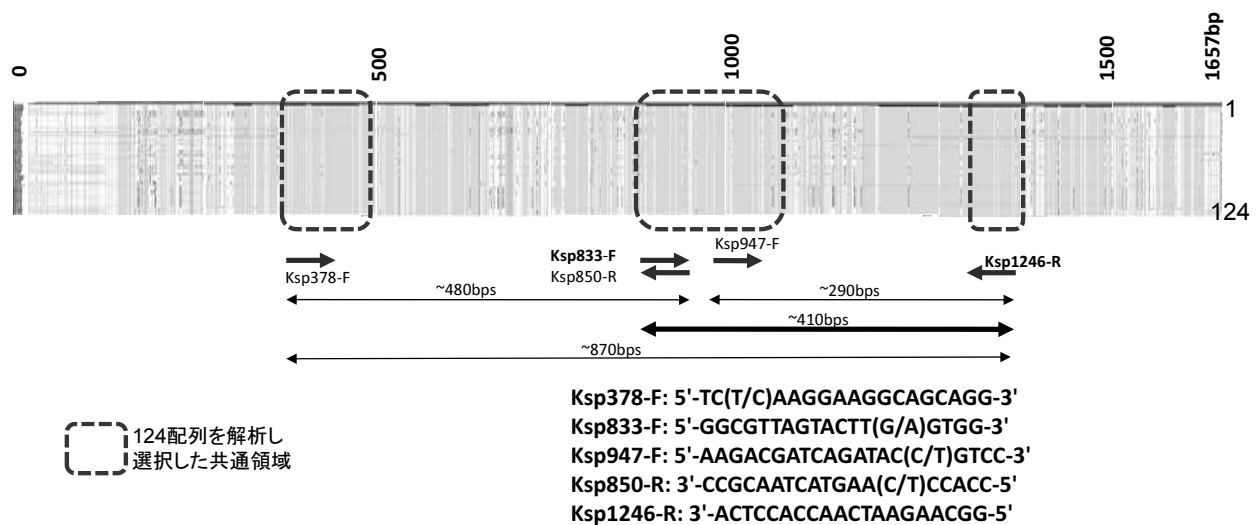


図1. クドア属の18S rRNA 配列の解析とプライマーの設計

PCR産物をDNA Gel Extraction Kit(ミリポア)を用いて精製し、これを鋳型としてBigDye Terminator Cycle sequencing Kit Ver. 3.1 (Applied Biosystems)とABI 3130xl Genetic Analyzer(Applied Biosystems)で塩基配列を解析した。得られた配列は、DDBJのDNA Bankに登録されている塩基配列を対象にBlast検索を行った。

結 果

1. 市販生食用鮮魚を対象とした汚染実態調査

結果を表3に示した。

1-1. 顕微鏡検査

全ての検体で、クドア属あるいはそれに似た虫体は検出されなかった。

1-2. リアルタイムPCR

No.7(ヒラメ)において、暫定法の*K. septempunctata*リアルタイムPCRが陽性となり、定量値は 1.1×10^6 クドアrDNAコピー/gであった。その他の検体は、すべて陰性であった。

No.7については、*K. septempunctata*特異的リアルタイムPCRにおいても、陽性となった。

1-3. クドア属18S rRNA PCRのプライマーによる増幅

作成した5本のプライマーを用いて4つのPCR系の評価を行い、特異性が高かったKsp833-FとKsp1246-Rの系を使用することに決定した。このPCRでは、18S rRNA遺伝子の主に後半部分を検出し、410bpの増幅産物が得られる。

1-4. PCR

*K. septempunctata*の18S rRNA PCRでは、No.7(ヒラメ)において陽性となった。その他の検体は、すべて陰性であった。

当所で設計したKsp833-FとKsp1246-Rのプライマーを使用したクドア属の18S rRNA PCRでは、No.5(カンパチ)、No.7(ヒラメ)、No.10(カンパチ)の3検体が陽性となった。その他の検体は、陰性であった。

1-5. 塩基配列解析

PCR陽性となったNo.5, 7, 10のPCR産物の塩基配列解析結果を表4に示した。No.5は*Kudoa megacapsula*/*Kudoa whippsi*/*Kudoa gunterae*, No.7は*K. septempunctata*, No.10は*Myxosporea cf. Unicapsula sp.*と同定された。ScoreをQueryで除したRatio(S/Q)はそれぞれ

表3. 市販生食用鮮魚の検査結果

No.	魚種	顕微鏡検査	18S rRNAリアルタイムPCR		18S rRNA PCR		判定	
			<i>Kudoa septempunctata</i> (暫定法)	<i>Kudoa septempunctata</i> 特異的(改良法)	<i>Kudoa septempunctata</i>	<i>Kudoa</i> 属	<i>Kudoa septempunctata</i>	<i>Kudoa</i> 属
1	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
2	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
3	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
4	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
5	カンパチ	-	-	NT	-	+	陰性	陽性
6	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
7	ヒラメ	-	+	+	+	+	陰性	陽性
8	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
9	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
10	カンパチ	-	-	NT	-	+	陰性	陽性
11	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
12	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
13	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
14	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
15	カンパチ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
16	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
17	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
18	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
19	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
20	カンパチ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
21	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
22	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
23	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
24	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
25	カンパチ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
26	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
27	ヒラメ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
28	南マグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
29	バチマグロ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
30	カンパチ	-	-	NT	-	-	陰性	陰性
31	サーモン	-	-	NT	-	-	陰性	陰性

NT;未検査

表4. クドア属陽性検体における PCR 産物の塩基配列結果

検体No.	魚種	Query	Score	Ratio(S/Q)	解析結果
5	カンパチ	414	817	1.97	<i>Kudoa megacapsula</i> <i>Kudoa whippsi</i> <i>Kudoa gunterae</i>
7	ヒラメ	416	825	1.98	<i>Kudoa septempunctata</i>
10	カンパチ	416	809	1.94	<i>Myxosporea cf. Unicapsula sp.</i>

れ1.97, 1.98, 1.94となり, すべて高い相同性を示した。

2. 有症苦情事例における便検査

リアルタイム PCR, PCR はすべて陰性であった。

考 察

1. 市販生食用鮮魚を対象とした汚染実態調査

今回の汚染実態調査では, 生食用鮮魚31検体中3検体についてクドア属が検出された。

No.7のヒラメにおいては, *K. septempunctata* が検出された。ここで, リアルタイム PCR の暫定法では, 原因不明有症事例時の検査でヒラメから 10^7 クドア rDNA コピー /g 試料 以上検出された場合, 遺伝子検査のスクリーニング陽性としている。この値は, 国衛研の有症事例報告の喫食量の集計により, 有症事例のほとんどが, 10^7 クドア rDNA コピー /g 以上であったことによる。今回の定量値は 1.1×10^6 クドア rDNA コピー /g であったため, 最終判定は *K. septempunctata* 陰性と判断した。

また, No.7はリアルタイム PCR, PCR において陽性となったが, 顕微鏡検査では陰性という結果であった。これは, 顕微鏡検査の定量限界が1g あたりクドア孢子数 1.0×10^5 個であり, 1クドア孢子あたりの rDNA のコピー数は現段階では不明であるが, リアルタイム PCR のクドア rDNA コピー定量値から推測してクドア孢子数が定量限界以下であったため検出されなかったと考えられた。

No.5, 10のカンパチにおいては, クドア属の PCR が陽性となり, PCR 産物の塩基配列解析によって同定した。No.5は *Kudoa megacapsula*, *Kudoa whippsi*, *Kudoa gunterae* の3種が極めて相同性が高いとされる値になった。*Kudoa megacapsula* は, アカカマス, ブリ, シイラに寄生し, 筋肉クドア症やジェリーミートをおこすが,

ヒトに対する病原性はないとされている[6]。

No.10は *Myxosporea cf. Unicapsula sp.* と同定された。*Myxosporea* は粘液胞子虫綱(ミクソゾア門)に属しており, クドア属と近縁種である。

以上の結果より, 当所において設計したプライマーは, クドア属の検出が可能であることが明らかとなった。これにより, 県内に流通しているヒラメ以外の鮮魚にもクドア属が寄生していることが確認された。現在, *K. septempunctata* 以外のクドア属のヒトに対する病原性は明らかにはなっていない。しかし, ヒラメ刺身を喫食していない事例でも有症苦情が報告されており, 今後, さらに研究が必要と思われる。

2. 有症苦情事例における調査

有症苦情事例における患者及び従業員の便検査では, すべての検体で *K. septempunctata* 及びその他のクドア属は陰性であった。本食中毒疑い事例では, 食品検体残品がないことが多く, 患者便や嘔吐物を用いたクドア検査の意義は大きい。しかし現在, 便や嘔吐物などの検体を用いた *K. septempunctata* を検出する検査法は確立されておらず, 便からの DNA 抽出方法もまだ検討段階にある。また, *K. septempunctata* による食中毒は①潜伏期間が短い, ②患者の体内で増殖し, 持続的に便から排出されることはない, ③喫食したヒラメに含まれていた *K. septempunctata* が排出されるだけである, といったことから, 嘔吐物や便から *K. septempunctata* の検出を行う場合は, 検体採取のタイミングが非常に重要であるとされている[7]。これらのことから, 今回の有症苦情事例において, 便検査で陰性であったからといって *K. septempunctata* の関与が否定されたものではない。今後も, 検査法の改良も含めた患者検体からの *K. septempunctata* の検出の検討が必要と思われる。

平成25年11月29日

文 献

1. Kawai, T., et al.(2012). Clin. Infect. Dis., 54, 1046-1052
2. 平成23年7月11日 食安監発0711第1号
3. 病原微生物検出情報. (2012). 33(6) 147-156
4. 大西貴弘, 小西良子(国立医薬品食品衛生研究所)(私信)
5. <http://www.ddbj.nig.ac.jp/>
6. Yokoyama. H, et al.(2005). J. Parasitol., 91, 1132-1137
7. モダンメディア(2012). 58(7)205-209

若年女性のインスリン抵抗性と肥満・ライフスタイルとの関連

田中 朋子 中崎美峰子 金木 潤 坪野 由美¹
 澁谷 直美¹ 大浦 栄次¹ 山上 孝司²

Relationship between Insulin Resistance and Obesity or Life Styles in Young Women

Tomoko TANAKA, Mineko NAKAZAKI, Jun KANAKI,
 Yoshimi TSUBONO, Naomi SHIBUYA, Eiji OURA and Takashi YAMAGAMI

要 旨 20歳代～30歳代の若年女性(106名)の肥満, やせと糖代謝について調べたところ, 以下の結果を得た.

1. BMI25以上の「肥満」は5名(4.7%)と少なかったが, BMI18.5未満の「やせ」は25名(23.6%)と多かった.
2. 糖代謝の異常者は, HbA1c: 1名, 空腹時血糖(FPG): 0名, 空腹時インスリン(INS): 5名, インスリン抵抗性指標(HOMA-R): 6名といずれも少なかった.
3. 「肥満」のINS, HOMA-Rは「やせ」, 「普通」に比べ高かった. しかし, 「普通」にもHOMA-Rが高くインスリン抵抗性を示す者がみられた.
4. ライフスタイルとの関連では10歳代に運動習慣のない者, 外食の頻度が多い者でHOMA-Rが高かった.

メタボリックシンドロームは「内臓脂肪蓄積肥満にくわえて脂質異常症, 高血圧, 高血糖のうち2つ以上あてはまる状態」とされ, 内臓脂肪蓄積によるインスリン抵抗性が基盤となっていると考えられる[1]. 我々は40歳以上の特定健康診査受診者について, インスリン抵抗性と肥満, ライフスタイルとの関連を検討し, 男女ともインスリン抵抗性を引き起こす主たる要因は肥満であることを明らかにした[2]. しかし, メタボリックシンドローム予防対策のためにはより若い年代の実態を調べる必要があると考えられることから, 若年女性を対象とし, 肥満と糖代謝, 特にインスリン抵抗性との関連を検討した.

対象と方法

職域の健康診断受診者のうち20歳代～30歳代の若年女性106名を対象とした. 身体状況は身長, 体重, 腹囲を測定し, 身長, 体重からBMIを求めた(= 体重 Kg/(身長 m)²).

糖代謝検査項目としてヘモグロビンA1c (HbA1c: %, JDS値), 空腹時血糖(FPG), 空腹時インスリン値(INS)を測定した. また, FPGと

INSからインスリン抵抗性の指標とされるHOMA-Rを求めた(=FPG×INS/405).

アンケートにより食習慣, 飲酒, 喫煙状況, 現在および10歳代の運動習慣を聞いた.

対象者にはあらかじめ本調査の目的, 内容を十分に説明し, 書面にて研究協力への同意を得た. この研究は富山県衛生研究所の倫理審査委員会および, 厚生連高岡病院, 北陸予防医学協会の倫理委員会の承認を得て実施した.

身体計測値については算術平均値, 算術標準偏差で示した. HbA1c, FPG, INS, HOMA-Rについては2群間の比較はU検定を用い, 3群間についてはKruskal-Wallisの検定を用い, Bonferroni法により多重比較を行った. 相関係数はスピアマンの順位相関係数を用いた.

統計学的有意水準を $p < 0.05$ とした. 統計解析にはHALBAU(ver7.0)を用いた.

結 果

対象者の基本特性を表1に示した. BMI25以上を「肥満」, 18.5～25を「普通」, 18.5未満を「やせ」とすると, 「肥満」は5名(4.7%), 「やせ」は25名

1. 厚生連高岡病院健診センター, 2. 北陸予防医学協会

表 1. 対象者の基本特性

	平均値	S.D.	最小値	最大値
年齢(歳)	32.2	5.6	21	39
身長(cm)	159.8	5.2	149.9	173.9
体重(kg)	52.5	8.4	38.0	91.2
BMI ^a	20.4	2.7	14.7	32.4
腹囲	72.9	7.2	61.0	103.0

a:=(体重/(身長m)²)

表 2. 対象者の糖代謝

	最小値	Q1 ¹⁾	中央値	Q3 ²⁾	最大値
HbA1c(%) JDS値	4.3	4.8	5.0	5.1	5.6
FPG(mg/dL)	65	82.5	87	91	106
INS(μ U/L)	0.2	2.2	3.5	5.15	47.2
HOMA-R ^a	0.1	0.5	0.745	1.1	9.8

a:=(FPG×INS)/405

1):第1四分位

2):第3四分位

表 3. 肥満度別糖代謝

	やせ(n=25)			普通(n=76)			肥満(n=5)			Kruskal-Wallis test
	Q1 ¹⁾	中央値	Q3 ²⁾	Q1 ¹⁾	中央値	Q3 ²⁾	Q1 ¹⁾	中央値	Q3 ²⁾	
HbA1c(%)JDS値	4.8	4.9	5.1	4.8	5.0	5.6	4.95	5.0	5.1	
FPG(mg/dL)	81	84	90	83	87	91	85	91	100	
INS(μ U/L)	1.75	3.4 ^b	4.35	2.2	3.4 ^c	5.15	6.6	8.1 ^{b,c}	19.15	p<0.01
HOMA-R ^a	0.35	0.7 ^d	0.9	0.5	0.745 ^e	1.1	1.4	1.9 ^{d,e}	4.75	p<0.01

a:=(FPG×INS)/405

b,c,d,e:p<0.01(Bonferroniの対比較)

1):第1四分位

2):第3四分位

(23.6%)であった。

糖代謝の結果を表2に示した。また、各指標の正常範囲をHbA1c(JDS値):5.5mg/dL未満, FPG:110mg/dL未満, INS:10 μ U/L未満, HOMA-R:2未満とすると、異常者はそれぞれ1名(0.9%), 0名, 5名(4.7%), 6名(5.7%)であった。そこで、先の肥満度別の糖代謝をみたところ(表3)、HbA1c, FPGは3群間に違いはみられなかったが、INS, HOMA-Rは「肥満」が高値を示した。

糖代謝指標と年齢, BMI, 腹囲との関連をみたところ(表4)、HbA1cはいずれの項目とも相関はみられなかったが、FPGは各項目と正の相関が認められた。また、INSとHOMA-RはBMI, 腹囲とは正相関を認めた。

次に、糖代謝指標とライフスタイルとの関連をみた。「10歳代の運動習慣がない」、「外食が多い」でINS, HOMA-Rが高かった(図1, 2)。しかし、他の食習慣、現在の運動習慣や、飲酒、喫煙との関連はみられなかった。

考 察

これまでに、40歳以上の特定健診受診者についてインスリン抵抗性と肥満、生活習慣との関連を調べたところ、女性では肥満のほかに、生活習慣として「夕食後の間食」、「運動不足」が、インス

表 4 糖代謝指標と年齢、BMI、腹囲との相関係数

	年齢	BMI	腹囲
HbA1c. JDS値	0.133	0.145	0.149
FPG	0.265**	0.288**	0.321**
INS	-0.238*	0.412***	0.356***
HOMA-R	-0.199*	0.435***	0.383***

*:p<0.05,**:p<0.01,***:P<0.001

スピアマンの順位相関

リン抵抗性をきたす要因として選択された。しかし、BMIで調整すると両習慣とも関連が認められなくなったことから、肥満がインスリン抵抗性をきたす主たる要因であると報告している[2]。

しかし、メタボリックシンドローム予防対策にはより若い年代の実態を調べる必要があると考えられるため、20歳代、30歳代の若年女性について調査を行ったところ、「肥満」はわずか5名のみであった。現在、国民健康・栄養調査の結果から20歳代、30歳代の女性は肥満より、むしろやせが多いことが問題視されている[3]。今回の調査でも「やせ」が多かった。

そこで、今回は「肥満」の他、「やせ」の糖代謝、特にインスリン抵抗性についても検討した。HOMA-Rをインスリン抵抗性の指標として用いるには、FPGが140mg/dL未満が望ましいとされているが[4]、対象者にFPG異常者はみられないことから、インスリン抵抗性の指標として用いる

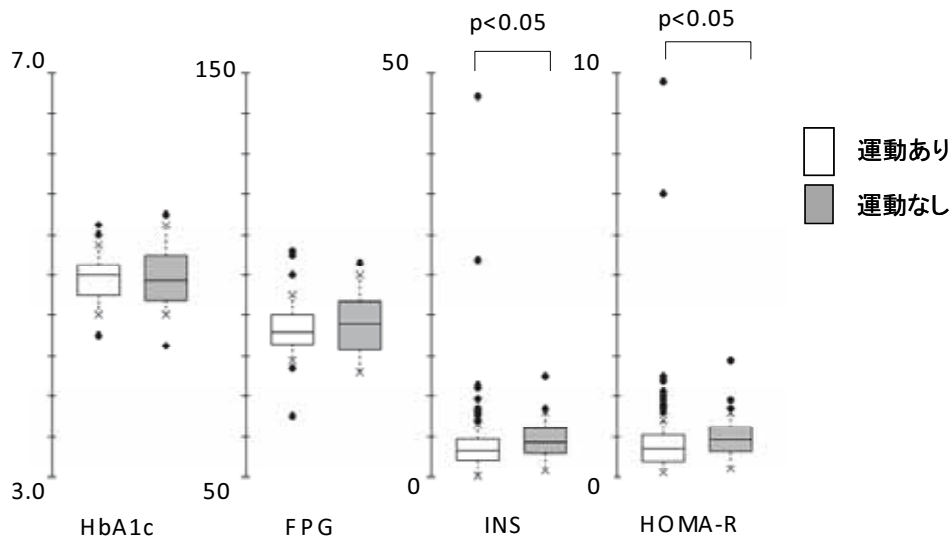


図1. 10歳代の運動習慣と糖代謝

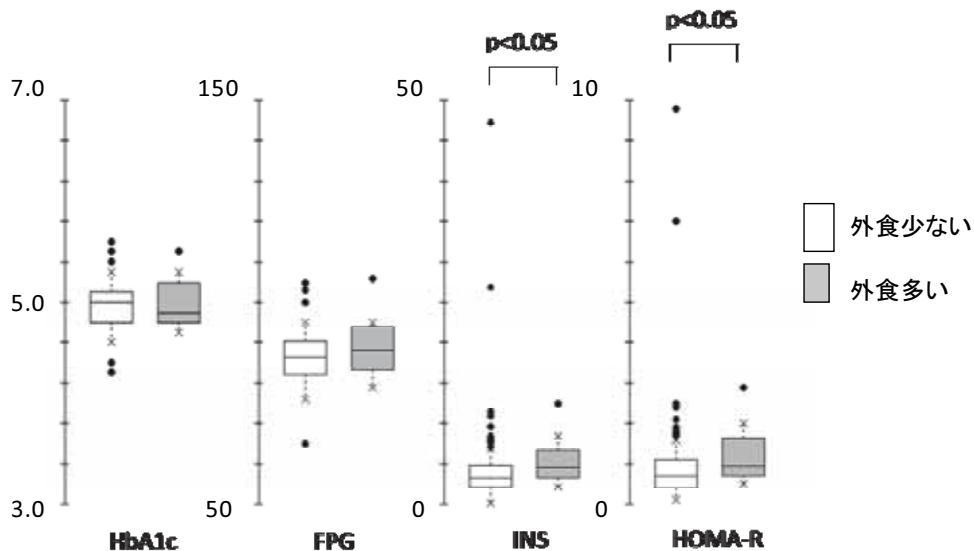


図2. 外食頻度と糖代謝

ことに問題はないと考えられる。その結果、FPG、INS、HOMA-RはともにBMIと正の相関を示し、「やせ」にHbA1c、FPG、INS、HOMA-R高値者はみられなかったことから、「やせ」は糖代謝に問題はないと考えられた。一方、若年女性ではBMI25未満でもいわゆる「隠れ肥満」が多く、それらではインスリン抵抗性を示すことが多いとされる[5]。今回、HOMA-Rが2.0以上のインスリン抵抗性を示すものが「普通」にも4名(5.3%)認められ、それらではあるいは「隠れ肥満」の状態にあるのかもしれないと思われた。そこで、内臓脂肪の蓄積を反映するとされる腹囲についてみたが、HOMA-R高値者の腹囲は高くなかった(HOMA-R2.0未満:73.6±5.1cm, HOMA-R2.0以

上75.6±5.8cm)。若年女性の隠れ肥満は筋肉不足とも考えられていることから、腹囲が増える中年の肥満とは異なるのかもしれない。

また、ライフスタイルのうち、「10歳代の運動習慣なし」のHOMA-Rは高値を示したが、「肥満」を除いても有意性は保たれた(図3)。若年女性では、10歳代に運動習慣のなかったものは肥満に至らないものの、HOMA-Rが高くなっている可能性が示された。

食習慣のうち、「外食が多い」でHOMA-Rが高かったが、これについても「肥満」を除いても有意であった(図4)。今回、外食の内容、夕食、昼食、朝食別に調べていないが、少なくとも、食事内容に偏りをもたらしやすい習慣ではないかと推察

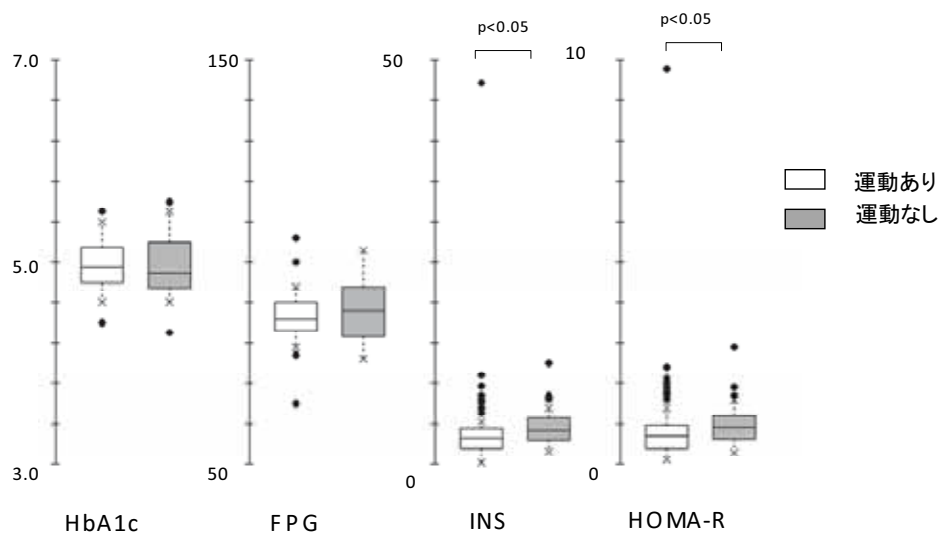


図3. 10歳代の運動習慣等糖代謝 (BMI25未満)

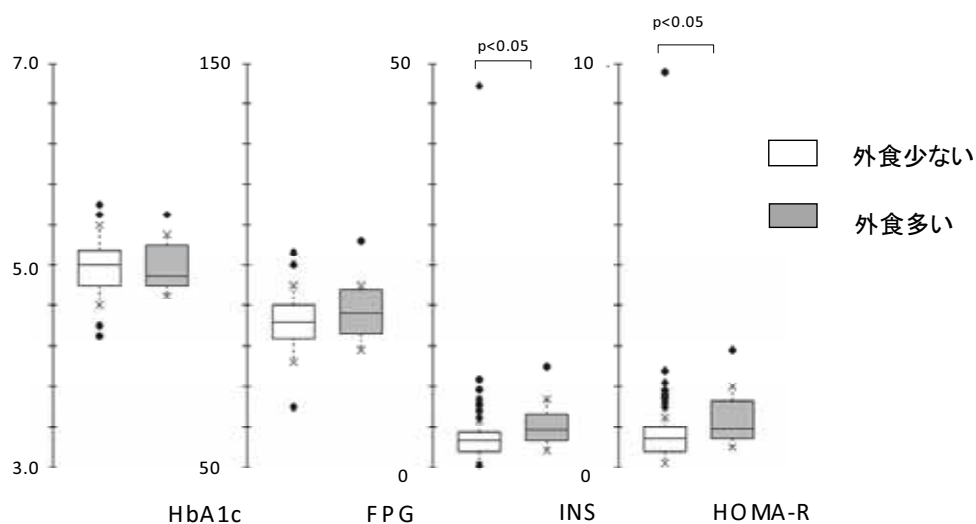


図4. 外食頻度と糖代謝 (BMI25未満)

され、インスリン抵抗性をきたしやすいのではないかと考えられた。

文 献

1. 別冊・医学のあゆみ「肥満症・メタボリックシンドローム」(2006). 医歯薬出版, 5-10.
2. 田中朋子, 中崎美峰子, 金木 潤, 澁谷直美, 大浦栄次(2012). 富山衛研年報, 34, 123-127.
3. 厚生労働省 HP: H23年国民健康・栄養調査の概要, 19.
4. 田中 逸(2009). 日本内科学雑誌, 98. (vol. 4), 19-24.
5. 高宮裕子, 本間 健(2001). 栄養学雑誌, 59. 277-283.

生活空間の空気中有機リン化合物の分析

中崎美峰子 金木 潤

Analysis of Organophosphorus Compounds in Indoor and Outdoor Air

Mineko NAKAZAKI and Jun KANAKI

要 旨 有機リン化合物の呼吸からの曝露について考察するため、週1回の頻度で空気を採取し、農薬成分とトリエステル類の分析を行った。農薬成分は室内、屋外ともに夏期に観察され、気中濃度の最大値を用いて呼吸による1日曝露量を推計したところ、許容一日摂取量(ADI)に対する割合は0.04～0.83%であった。トリエステル類は6物質が検出され、室内の方が高濃度であった。いずれの物質も室内の気中濃度と気温の間に相関がみられ、気温が高いとき気中濃度も高かった。

一般の住宅において、微量の有機リン化合物の空気由来曝露があることが示された。

有機リン系農薬の曝露指標とされる尿中アルキルリン酸を測定し、農業に従事しない一般の人からも年間を通して微量に検出されること、果物の摂取頻度と関連がみられたことなどを報告してきた[1, 2]。化学物質の体内への取り込みは、飲食物を介した経口摂取、呼吸を介した経気道摂取、直接接触による経皮吸収の経路があり、職業的な曝露がない場合は経口摂取の寄与が最も大きいといわれている。一方、成人の呼吸量は1日約15m³といわれ、空気重量にして約19kgに相当する。そこで、一般の生活環境における空気由来の曝露の有無、およびその寄与の程度について考察するため、生活空間における空気中の有機リン化合物のモニタリング調査を行った。

材料と方法

空気中の有機リン化合物の捕集および分析は既報[3]に準じた。すなわち、石英とオクタデシルシリカゲル(ODS)の2種類のフィルターを用い、10L/minの流速で24時間通気して採取した物質を、アセトンで抽出、濃縮後に、FPD-GCで分析した。

木造一戸建て住宅1件について、1階の和室1室と屋外1か所をサンプリング地点に選定した。2012年6月から2013年3月までの10か月間、冬期降雪時の屋外を除いてほぼ週に1回の頻度で空気を採取し、室内38回(6月16日～3月30日)、屋外24回(6月2日～11月24日)の測定を行った。

分析対象としたのは、ジクロロボス(DDVP)、シアノホス(CYAP)、ダイアジノン、フェントロチ

オン(MEP)、マラチオン、クロルピリホス、フェントエート(PAP)、メチダチオン(DMTP)、イソキサチオンの9種の農薬と、リン酸トリエチル(TEP)、リン酸トリス(2-クロロエチル)(TCEP)、リン酸トリ-n-ブチル(TnBP)、リン酸トリス(2-クロロイソプロピル)(TCiPP)、リン酸トリス(1, 3-ジクロロ-2-プロピル)(TDCPP)、リン酸トリス(ブトキシエチル)(TBEP)、リン酸トリフェニル(TPhP)の7種のリン酸トリエステル類である。定量下限値は、TEPが0.5ng/m³、TDCPP、TBEP、TPhPが2.0ng/m³、そのほかの12物質は1.0ng/m³とした。

屋内外の濃度の比較はU検定、相関性についてはスピアマンの順位相関係数を用い、有意確率は5%未満とした。統計解析にはHALBAU7を使用した。

結果および考察

農薬成分

10か月間のモニタリング期間のうち、6月から9月にかけて室内、屋外の両方の空気から、DDVP、CYAP、MEP、イソキサチオンの4種の農薬が検出された。10月から翌年3月まではどちらからも農薬成分は検出されなかった。6月から9月の農薬成分の検出状況を図1に示した。室内、屋外各17回の測定のうち、DDVPは室内で10回、屋外で8回検出、CYAPは2回と3回、MEPは8回と8回、イソキサチオンは4回と6回検出され、室内、屋外で検出頻度に差はみられなかった。

家庭向けの室内用殺虫剤には有機リン剤は使用されていないこと、対象とした部屋は冷房設備が

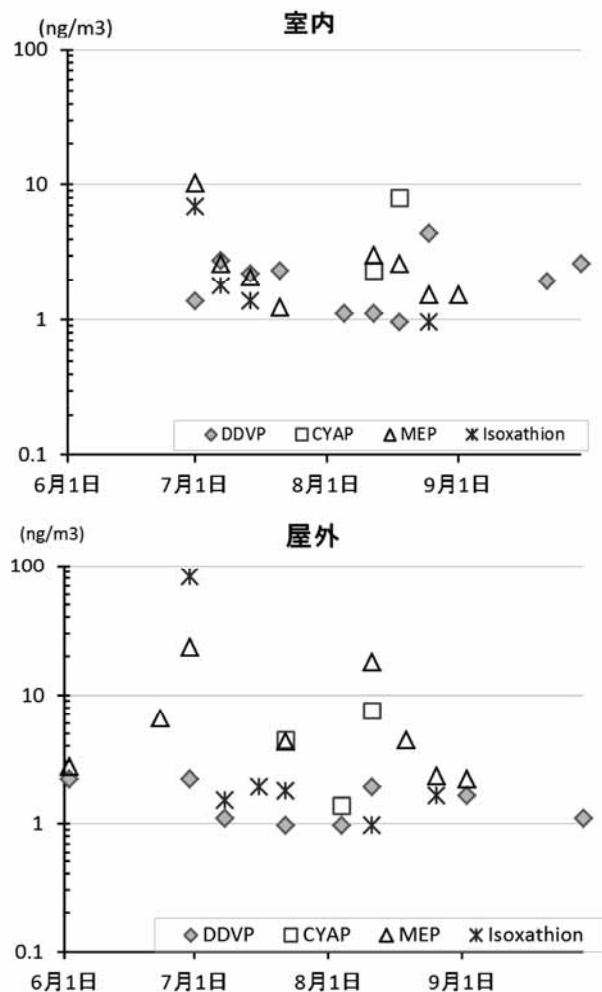


図1. 室内および屋外の空気中有機リン系農薬濃度

ないため、夏期は窓を開放していることが多いこと、検出された農薬の種類や時期が屋内外で似ていることなどから、検出された農薬成分の発生源は屋外であり、換気によって室内にもたらされたものと考えられた。

調査期間内でイソキサチオンが83ng/m³と高い濃度を示した日があったが、これはサンプリングの2日前に、家屋の周囲の庭木に対してイソキサチオンを成分とする殺虫剤が散布されたためであった。今回サンプリングを行った地点の周辺は住宅街で、この日以外に殺虫剤等の散布の情報は得られていない。検出されたそれぞれの農薬濃度の最大値をもとに、1日の呼吸量を15m³、体重を50kgとして呼吸による1日摂取量を試算し、許容一日摂取量(ADI)に対するパーセントを求めたところ、いずれもADIの1%に満たない量であった(表1)。斎藤ら[4]は、住宅室内、オフィスビル、外気における有機リン系殺虫剤の分析結果から、空気由来曝露量最大値がADIに占める割合を、DDVP 0.16%、MEP0.26%と報告している。今回の結果

ではDDVP0.04%、MEP0.14%であり、斎藤らの報告と同等か低いものであった。

厚生労働省が2013年4月に公表した「平成21～22年度食品中の残留農薬の一日摂取量調査結果」[5]によると、食品からの平均一日摂取量は、DDVPが6.03μg、MEPが2.41μgであるのに対して、今回の調査での呼吸による一日最大摂取量は、DDVP0.07μg、MEP0.35μgであり、空気由来の曝露は食品由来の曝露よりも少ないと考えられた。

リン酸トリエステル(TPs)

リン酸トリエステル類は、繊維製品の難燃剤、樹脂や塗料などの難燃剤・可塑剤として使用され、多くの種類がある。今回の調査では、分析した7種のTPsのうち室内から6種、屋外では5種が検出された。採取時期ごとのTPs濃度を、気温とともに図2に示した。室内では6月から翌年3月までの38回の採取において、TEP、TCEP、TCiPPの検出率はいずれも100%であり、TnBP、TDCPP、TPhPの検出率はそれぞれ92.1%、71.1%、18.4%であった。TPhPが検出されたのは、7月から9月初めの夏期のみであった。屋外は、6月から11月までの24回の採取に対して検出率の高かったものから、TEP100%、TCEP87.5%、TDCPP70.8%、TnBP41.7%、TCiPP25.0%であり、TBEPとTPhPは検出されなかった。本調査では冬期間の屋外の状況について調査できなかったが、TPsが日常の生活空間において恒常的に存在することが分かった。

室内における検出率が50%を超えた5物質(TEP、TnBP、TCEP、TCiPP、TDCPP)について、最大値、最小値、中央値を表2に示した。室内ではTCEPの濃度が高く(中央値34.0ng/m³)、屋外ではTDCPPの濃度が高かった(中央値6.3ng/m³)。上記5物質について室内、屋外の濃度を比較すると、TDCPPを除いていずれも室内の濃度が高かった(U検定、p<0.001)。

室内では、TPs濃度は夏期に高く冬期に低い傾向がみられたので、5物質の濃度と気温との関連をみたところ(表3)、いずれも有意な正の相関がみられた(相関係数0.370～0.956)。TPs相互の関連では、TEP、TCEP、TCiPP、TnBPはすべての組み合わせにおいて高い正の相関がみられたが、TDCPPと有意な相関がみられたのはTCiPPのみであった。屋外は、気温と相関がみられたのはTEP、TCEP、TCiPPの3物質で、TPs相互で関連がみられた組み合わせはTCEPとTCiPPのみであった。

表1. 有機リン系殺虫剤の空気からの1日最大摂取量と対ADI比

	室内				屋外		
	ADI	最大値	1日最大摂取量	対ADI比	最大値	1日最大摂取量	対ADI比
	μg/50kg/day	ng/m ³	μg/day	%	ng/m ³	μg/day	%
DDVP	165	4.4	0.07	0.04	2.2	0.03	0.02
CYAP	50	8.1	0.12	0.24	7.5	0.11	0.23
MEP	250	10.3	0.15	0.06	23.6	0.35	0.14
Isoxation	150	6.9	0.10	0.07	83.1	1.25	0.83

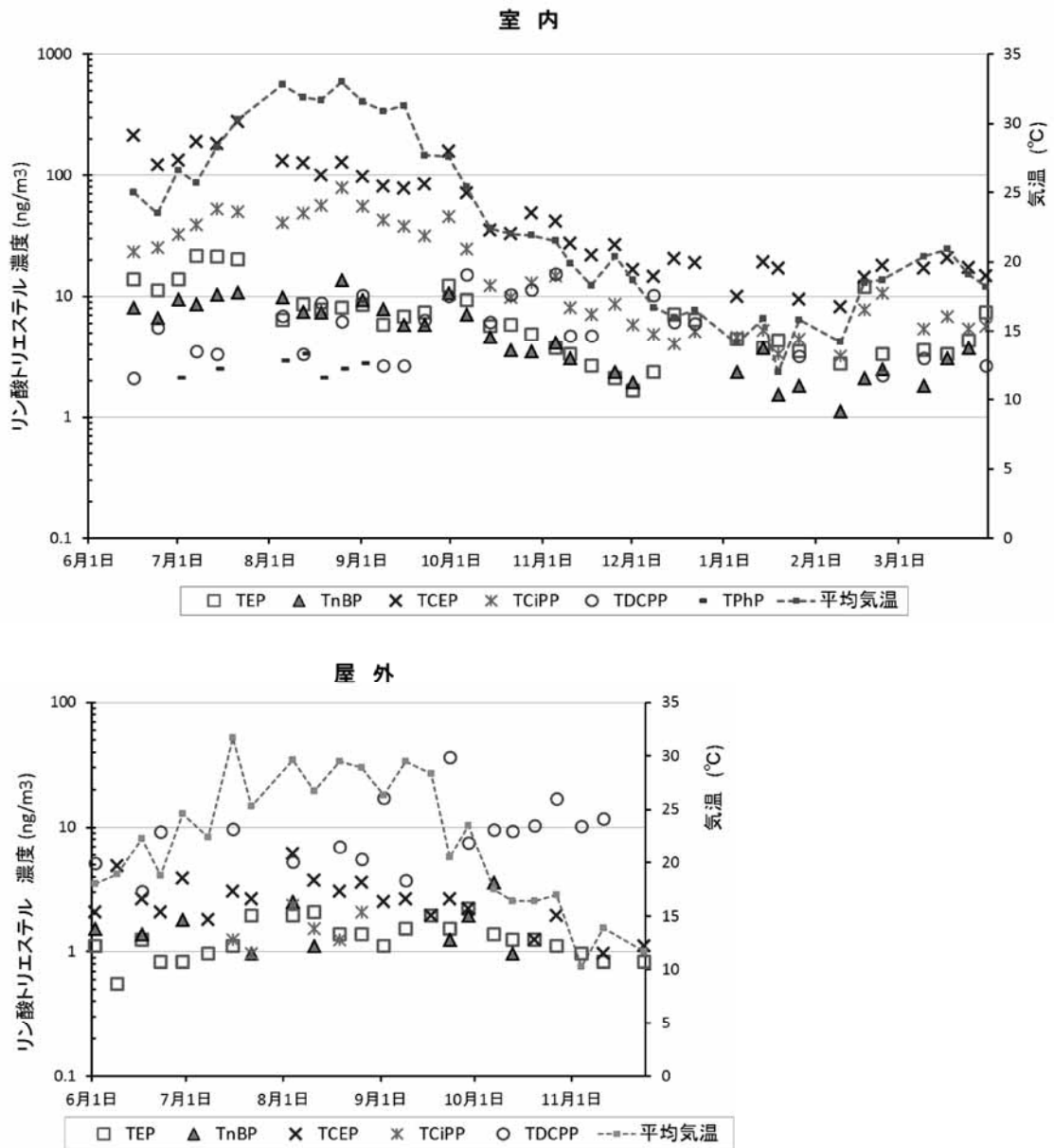


図2. 空気中のリン酸トリエステル類濃度と気温

表2. リン酸トリエステル類の室内および屋外気中濃度

	室内 (n=38) ng/m ³			屋外 (n=24) ng/m ³			U検定
	最小値	中央値	最大値	最小値	中央値	最大値	
TEP	1.7	6.1	21.5	0.6	1.3	2.2	p<0.001
TnBP	<1.0	3.8	13.6	<1.0	<1.0	3.6	p<0.001
TCEP	8.2	34.0	277	<1.0	2.4	6.1	p<0.001
TCiPP	3.2	11.5	79.3	<1.0	<1.0	2.4	p<0.001
TDCPP	<2.0	3.3	15.4	<2.0	6.3	36.3	p=0.200

表3. リン酸トリエステル類相互および気温との順位相関係数

室内	TEP	TnBP	TCEP	TCiPP	TDCPP
気温	0.595 ^c	0.872 ^c	0.861 ^c	0.956 ^c	0.370 ^a
TEP		0.688 ^c	0.720 ^c	0.654 ^c	0.174
TnBP			0.889 ^c	0.893 ^c	0.195
TCEP				0.883 ^c	0.317
TCiPP					0.356 ^a

屋外	TEP	TnBP	TCEP	TCiPP	TDCPP
気温	0.581 ^b	0.028	0.679 ^c	0.520 ^b	-0.246
TEP		0.403	0.230	0.381	-0.059
TnBP			0.172	0.061	-0.115
TCEP				0.524 ^b	-0.355
TCiPP					-0.147

a:p<0.05, b:p<0.01, c:p<0.001

今回調査対象にした部屋では、トリエステル類の中でも特にTCEPとTCiPPの濃度が高かった。これらは主にウレタン樹脂の難燃性可塑剤として室内のカーペットやソファなど様々なものに使用される。今回は、床に敷かれたマットが薄いウレタンフォームで裏打ちされた製品であったため、これが発生源である可能性が考えられた。

TPsのうち塩素化リン酸エステルのTCEP, TCiPP, TDCPPは、発がん性物質である可能性が疑われるとして、欧米では、作業員や消費者が曝露する可能性がある場合に事前に告知することを義務付ける有害物質のリストに挙げられたり、乳幼児向け製品への使用が規制されたりしている[6~8]。これらの物質が屋内外の空气中に高い頻度で観察されたことから、今後、築後年数などの条件が異なる建物等について空气中TPsを分析し、実態調査を進めたいと考えている。

今回の調査は1地点での連続サンプリングで、6月から9月にかけて断続的に一般大気中から4種の

殺虫剤成分が検出され、一般の生活空間において呼吸からの曝露があることが示された。測定された気中濃度から求めた空気由来1日摂取量は、いずれもADIの1%未満に相当する量であった。

リン酸トリエステル類は調査期間を通して検出され、屋外よりも室内で高い濃度を示し、気温と相関がみられた。

微量の化学物質曝露に対するリスク評価にとって空気由来の曝露量の把握は重要であり、調査地点を増やすなど、さらに調査が必要であると考えられる。

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, 高橋直人, 金木 潤, 桑守豊美 (2011). 富山衛研年報, 34, 128-131.
3. 中崎美峰子, 金木 潤 (2012). 富山衛研年報, 35, 157-160.

4. 斎藤育江, 大貫 文, 矢口久美子, 小懸昭夫 (2008). 東京都健康安全研究センター研究年報, 59, 27-38.
5. 厚生労働省医薬食品局食品安全部:平成21～22年度食品中の残留農薬の一日摂取量調査結果, 平成25年4月15日
6. REACH 付属書XIVを修正する規則(EU) No 125/2012
7. Proposition65 Safe Drinking Water and Toxic Enforcement Act of 1986, California (2012).
8. Toxic-Free Kids Act, North Carolina HB 848 (2013).

長期・継続的な海洋深層水運動浴の皮膚状態に及ぼす影響 —クロスオーバー試験による検討—

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

Cross-Over Study of Effects on Skin Conditions
by Long-Term and Continuous Exercise Bathing in Deep Sea Water

Tetsuo SHIMMURA, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Takako YAMAKOSHI¹,
Kenji MATSUNAGA¹, Tadamichi SHIMIZU¹, Takashi TATSUSE²,
Masaru TACHINAMI³ and Sadanobu KAGAMIMORI⁴

要 旨 平成23年度調査において、海洋深層水を利用した長期・継続的な運動浴により、メタボリック症候群対策への利用の可能性と、健康関連 QOL スコアの改善を報告した。皮膚状態については、アンケート調査では改善の感想が得られたが、角質水分量などの測定指標では悪化の傾向を示した。調査を行った9月から12月にかけての季節的影響が大きいのではないかと考えられた。そこで、今回は季節的影響を想定したクロスオーバー試験による検討を行った。

中高年女性(年齢40~69歳)の肥満者40名と非肥満者20名を調査対象者とした。交互に比較対照となるように、深層水運動浴を9月から12月に実施する前期群と12月から3月に実施する後期群の2群に分け、開始時(9月)、中間時(12月)、終了時(3月)の3回、皮膚状態の測定およびアンケート調査等を行った。

皮膚状態のアンケート調査では、深層水運動浴後に、前期群・後期群からあわせて53名中21名から「よくなった」との回答があった。皮膚状態の測定指標である角質水分量、水分蒸散量および pH は、測定時期による変動がみられ、季節的影響があるものと考えられた。しかし、これらの皮膚状態の測定指標について、深層水運動浴の有無群と測定時期との間に交互作用はみられず、深層水運動浴による統計学的に有意な変化は認められなかった。今後、あらたな皮膚関連の測定項目を追加して、アンケート結果との関係等についてさらに検討を加えて行きたい。

これまでに海洋深層水(以下、深層水と略す)を健康増進に利用できないかと考え、調査研究を行ってきた[1-3]。単回の深層水中の運動浴(歩行器による運動)が、水道水を用いた場合に比べ、深部体温を上昇させ、中高年男性では、酸素消費量も多いことを報告した[4]。続いて、長期・継続的に深層水中で運動浴を行い、腹部肥満者における体重や腹囲の減少など、メタボリック症候群対策への利用の可能性を報告した[5]。今回は、中高年女性を対象に、長期・継続的な深層水運動浴による身体的・生化学的指標への影響とともに、皮膚状態および健康関連 QOL に及ぼす影響について検討した[6]。その結果、深層水運動浴後に、身体

的・生化学的指標の改善と健康関連 QOL スコアの上昇がみられることを報告した。一方、皮膚状態については、主観的なアンケート調査では良好な回答が得られたにもかかわらず、夏から冬にかけての調査のためか、角質水分量など客観的指標では一般に悪化と思われる結果であった[6]。そこで、今回は季節的影響を考慮できるようクロスオーバー試験による検討を行ったので報告する。

対象と方法

深層水体験施設「タラソピア」で、これまで深層水運動浴をしたことのない40歳以上70歳未満の

1. 富山大学大学院医学薬学研究部皮膚科学教室, 2. 同 保健医学教室
3. 富山大学芸術文化学部, 4. 富山産業保健推進事務所

女性60名を募集し、メタボリック症候群のスクリーニング基準である腹囲が90cm以上、またはBMIが25以上の肥満者40名と、基準未満の非肥満者20名を調査対象者とした。対象者を季節的影響が考慮できるよう、2群に分け、9月から12月に深層水運動浴を実施するグループ(前期群30名)としないグループ(後期群30名)とし、12月から3月については、逆に深層水運動浴を実施しないグループ(前期群)と実施するグループ(後期群)とした(図1および表1)。

調査期間の開始前(9月)に、全員の身体測定、皮膚状態の測定およびアンケート調査、並びに医師による診察を行った。皮膚状態の測定部位は、前腕内側部と腹部である。皮膚状態の測定項目は、角質水分量、水分蒸散量、pH、粘弾性である。

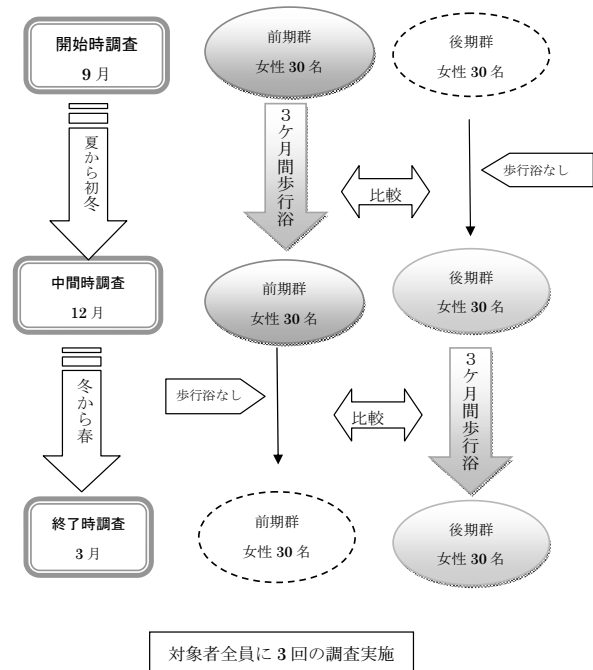


図1. 調査の概略図

表1. 年齢およびメタボリック基準別の対象者数

前期群の深層水運動浴後の調査参加数			
年齢	メタボリック症候群スクリーニング基準		合計
	未満【非肥満者】	以上【肥満者】	
40-49	2(3)	4(5)	6(8)
50-59	4(4)	5(5)	9(9)
60-69	4(4)	8(8)	12(12)
合計	10(11)	17(18)	27(29)

表の()内は開始時の数

後期群の深層水運動浴後の調査参加数			
年齢	メタボリック症候群スクリーニング基準		合計
	未満【非肥満者】	以上【肥満者】	
40-49	2(3)	4(6)	6(9)
50-59	5(5)	4(4)	9(9)
60-69	7(7)	4(5)	11(12)
合計	14(15)	12(15)	26(30)

表の()内は開始時の数

測定方法は、先に報告したとおりである[6]。測定室は、室温26℃、湿度70%に設定した。

前期群は、水中運動の専門家による水中運動の指導を受けた後、9月～12月の3ヶ月間、週1回以上、水温34℃、水深90～120cmの深層水中で歩行浴を主とした運動浴を行った。3ヶ月間の運動浴回数については、深層水体験施設に備付けの記録用紙により確認した。前期群の3か月間の深層水運動浴実施後(12月)に、中間時調査として、後期群も含む全員について開始前と同じ検査を実施した。中間時の質問票によりアンケート調査を行った。

後期群は、中間時調査の後、水中運動の専門家による水中運動の指導を受けた後、12月～3月の3ヶ月間、前期群と同じ条件で運動浴を行った。後期群の3か月間の深層水運動浴実施後(3月)に、終了時調査として、前期群も含む全員について開始前・中間時と同じ検査を実施した。終了時の質問票によりアンケート調査を行った。

調査に先立ち、対象者に本研究の説明を行い、参加する署名入りの同意書の提出を受けた。本研究は、富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受けて実施した。

調査結果の統計解析には、統計ソフトSPSS17を用いた。

結 果

対象者のうち、前期群では中間時の調査に参加した27名、後期群では終了時の調査に参加した26名(合計53名、対象者の88%)について検討した。その年齢構成および肥満者・非肥満者の区分は表1のとおりである。また、対象者の運動浴開始時の身体状況および運動浴回数は表2のとおりである。3ヶ月間の運動浴回数は平均30回、最高は67回であった。

深層水運動浴後のアンケート結果を表3に示した。肥満者の肥満が改善すると皮膚状態が改善するという報告[7]があることから、肥満の有無別に検討した。

表3-1は、長期・継続的な深層水運動浴の効果についての調査結果である。開始時に比べて「変わらない」の回答が前期群で18名、後期群で12名であり、それに対して「よくなった」の回答が、前期群で8名、後期群で13名であった。前・後期群とも肥満、非肥満による違いはみられなかった。

表3-2は、長期・継続的な深層水運動浴の効果を前期群と後期群について比較したものである。

表2. 対象者の身体状況および深層水運動浴回数

項目	前期群			後期群		
	非肥満者(n=10)	肥満者(n=17)	合計(n=27)	非肥満者(n=14)	肥満者(n=12)	合計(n=26)
身長(cm)	155.8±5.7	157.3±5.3	156.8±5.4	154.4±3.0	157.7±4.7	155.9±4.2
体重(kg)	52.6±7.1	68.8±9.5	62.8±11.7	52.3±4.9	65.7±5.7	58.5±8.5
BMI	21.6±2.0	27.8±3.4	25.5±4.2	22.0±2.1	26.5±2.6	24.0±3.2
腹囲(cm)	82.7±5.6	98.7±7.7	92.7±10.3	81.3±5.9	94.9±8.0	87.6±9.7
運動浴回数	33.4±13.0	28.1±13.2	30.0±13.1	30.1±8.4	27.9±18.1	29.1±13.5

表3-1で、肥満、非肥満による違いはみられなかったため両者をあわせて検討した。上の表は、前期群と、対照として後期群の比較、下の表は、前期群を対照として、運動浴を行った後期群を比較したものである。いずれにおいても回答に有意な違いがみられた(p<0.01)。表3-2の上下の表の結果から、深層水運動浴の実施時期の比較を行ったところ、前期群に比べ後期群において「よくなった」の回答数が多かったが、有意な違いではなかった。

アンケート結果と深層水運動浴の回数について検討したところ、皮膚の状態が「よくなった」の回答者(n=21)の3か月間の運動浴回数(36±13)は、他の者(25±12, n=32)に比べ有意に多かった(Studentのt検定, p<0.01)。

対象者から深層水運動浴後に自由記述で感想を聞いたところ、「かさかさしなくなった(17名)」が最も多く、「しっとりした(10名)」、「つるつるになった(6名)」、「かゆみがなくなった(4名)」、「ヒビワレがなくなった(2名)」などの回答があった(複数回答あり)。

図2(A～H)は、皮膚状態の測定項目(角質水分量、水分蒸散量、pH、粘弾性)について、部位別に、前期群および後期群の測定結果を表したものである。皮膚状態の測定項目については、季節的影響が考えられることから調査の開始時(9月)、中間時(12月)および終了時(3月)のいずれにも参加した前期群22名、後期群26名について検討した。測定結果は、測定時期の平均値および標準偏差で表した。

角質水分量：図2のAおよびBのとおりである。深層水運動浴による影響について検討するため、2元配置(対応のない因子(深層水運動浴の有無)と対応のある因子(測定時期))の分散分析を行った。その結果、測定時期の間に有意な差は認められたが(前腕部および腹部とも p<0.001)、深層水運動浴と測定時期の間に交互作用はなく、深層水運動浴により角質水分量の変化のパターンが異なるとは言えなかった。先に述べたように肥満者

表3. 深層水運動浴の皮膚への影響(アンケート調査結果)

表3-1. 長期・継続的な深層水運動浴後の回答(前期群)

回答	非肥満者	肥満者	合計
よくなった	4	4	8
よくて変わらない	1	0	1
変わらない	5	13	18
悪くて変わらない	0	0	0
悪くなった	0	0	0
合計	10	17	27

(後期群)

	非肥満者	肥満者	合計
よくなった	8	5	13
よくて変わらない	1	0	1
変わらない	5	7	12
悪くて変わらない	0	0	0
悪くなった	0	0	0
合計	14	12	26

表3-2. 長期・継続的な深層水運動浴の効果(対照群との比較)(中間時での比較)

	前期群	後期群(対照群)	合計
よくなった	8	0	8
よくて変わらない	1	3	4
変わらない	18	19	37
悪くて変わらない	0	5	5
悪くなった	0	1	1
合計	27	28	55

$\chi^2=15.0, p<0.01$

(終了時での比較)

	前期群(対照群)	後期群	合計
よくなった	1	13	14
よくて変わらない	1	1	2
変わらない	21	12	33
悪くて変わらない	1	0	1
悪くなった	2	0	2
合計	26	26	52

$\chi^2=15.7, p<0.01$

の肥満が改善すると皮膚状態が改善するという報告[7]があることから、非肥満者・肥満者別にも検討を行った。その結果、後期群の非肥満者の腹部の角質水分量が、前期群に比べ終了時に上昇する傾向がみられたが(2元配置分散分析, p<0.1)、肥満者の角質水分量が深層水運動浴により上昇(改善)することはなかった(図なし)。

水分蒸散量：図2のCおよびDに示した。角質水分量と同様に、2元配置の分散分析を行ったところ、測定時期の間に有意な差は認められたが(いずれも p<0.001)、深層水運動浴と測定時期の間に交

相互作用はみられなかった。

pH：図2のEおよびFに表した。2元配置の分散分析を行った結果、測定時期の間に有意な差は認められたが(いずれも $p < 0.001$)、深層水運動浴と測定時期の間に交互作用はみられなかった。

粘弾性：図2のGおよびHのとおりである。2元配置の分散分析において、測定時期の間に有意な差はいずれもみられず、深層水運動浴と測定時期の間に交互作用もみられなかった。

水分蒸散量、pHおよび粘弾性についても、非肥満者・肥満者別に検討をおこなったが、深層水運動浴による違いはみられなかった。

考 察

深層水を用いた長期・継続的な運動浴の効果の検討を行ってきた。特に皮膚状態については、前回[6]の主観的なアンケートでは良好な結果が得られたにもかかわらず、角質水分量などの客観的指標では一般に悪化と思われる結果であった。そこで、今回は季節の影響も考慮できるようにクロスオーバー試験による検討を行った。その結果、今回もアンケート調査では、前・後期群にかかわらず、長期・継続的な深層水運動浴後に皮膚状態

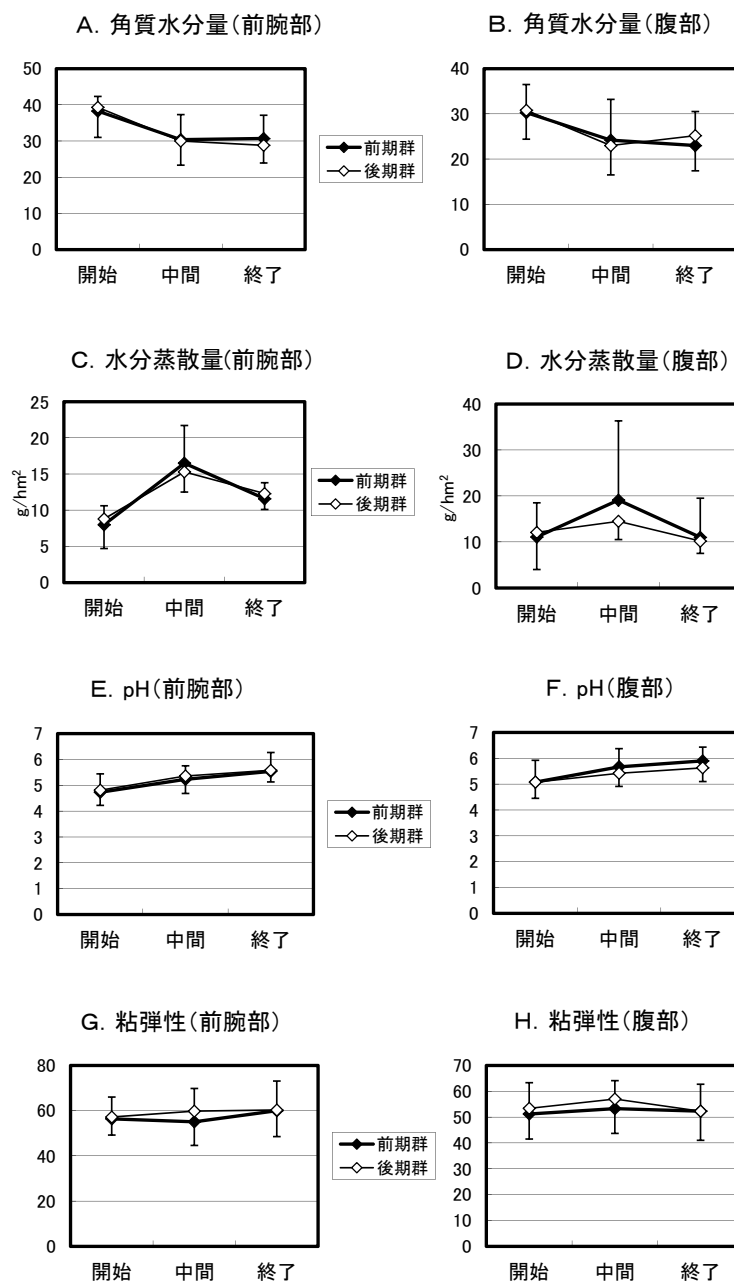


図2. 皮膚状態の測定結果

が「よくなった」との回答が40%あり(表3)、深層水運動浴の効果が示唆された。しかし、角質水分量、水分蒸散量、pHの測定項目では、全体として深層水運動浴に関係なく、測定時期によって測定結果が変動することが認められた。前回[6]観察された、客観的指標で悪化と思われる結果は、皮膚への季節的な影響によるものと考えられた。

角質水分量や水分蒸散量の精確な測定には、恒温・恒湿の気象室の使用が望ましいが、今回用いた測定室は室温を定温(26℃)に保持することはできたが、湿度を一定に保つことは困難であった。そのことが、水分蒸散量や角質水分量の測定データに影響を与えている可能性がある。

今回のクロスオーバー試験では、交互に対照群とすることにより、前述の影響を相殺して、深層水運動浴による効果を検討したが、上記の測定項目では統計学的に有意な変化は認められなかった。

今回の検討においても、主観的なアンケート結果と皮膚状態の測定結果との間に乖離がみられたことから、皮膚状態のアンケート調査と測定指標の関係について解析したところ、前期群で皮膚状態が「よくなった」との回答者では、運動浴後の前腕部の水分蒸散量の上昇が、他の者に比べ抑えられる傾向がみられた(2元配置分散分析, $p < 0.1$, 図なし)。しかし、対象数が少ないことから、昨年度のデータも加えるなど、アンケート調査と皮膚状態の測定結果との関連について、さらに詳細に解析したいと考えている。あわせて、深層水運動浴の回数と皮膚状態の測定指標との関係についても検討を行いたい。

対象者からの自由記述の感想で、皮膚の潤い(水分)に関する他に、皮膚の形成(ターンオーバー)や「かゆみ」が関係していると思われるものがみられた。今後、新たにこれらの皮膚に関する客観的な測定項目を追加して、主観的なアンケート結果との関係について、さらに検討を加える必要があると考えている。

その他、肥満の改善や健康関連 QOL と皮膚状態との関連などについて、これまでのデータを用いて解析を行う予定である。

謝 辞

本研究は、富山県および滑川市の深層水利用研究費(非水産分野)による。

本研究にご参加いただいた皆様に深謝いたしま

す。

ご協力いただいた深層水体験施設「タラソピア」の升方章人氏、油本智美氏をはじめ従業員の皆様に感謝いたします。

ご助言をいただいた、富山大学大学院医学薬学研究部病理診断学教室 常山幸一先生、セキヒフ科クリニック(富山大学医学部臨床教授)関 太輔先生に深謝いたします。

文 献

1. 鏡森定信, 王紅兵, アリナセルモアデリ, 張焱, 関根道和, 堀井裕子, 新村哲夫, 西野治身, 大村栄(2002). 日本温泉気候物理医学会雑誌, 65, 73-82
2. 新村哲夫, 張焱, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 王紅兵, アリナセルモアデリ, アレックスガイナ, 関根道和, 鏡森定信(2004). 日本温泉気候物理医学会雑誌, 67, 155-164
3. 新村哲夫, 張焱, 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 堀井雅恵, 広田直美, 王紅兵, 鏡森定信(2005). 富山県衛生研究所年報, 28, 138-143
4. 新村哲夫, 田中朋子, 金木 潤, 鏡森定信, 胡莉珍, 立瀬剛志, 関根道和, 升方章人(2010). 富山県衛生研究所年報, 33, 127-131.
5. 新村哲夫, 田中朋子, 金木 潤, 立瀬剛志, 関根道和, 鏡森定信, (2011). 富山県衛生研究所年報, 34, 132-138.
6. 新村哲夫, 田中朋子, 金木 潤, 小林俊哉, 山腰高子, 松永 憲治, 清水忠道, 立瀬剛志, 立浪勝, 鏡森定信, (2012). 富山県衛生研究所年報, 35, 105-1110.
7. 飯坂真司, 峰松健夫, 大場美穂, 赤瀬智子, 真田弘美, 須釜淳子(2010). 日本創傷・オストミー・失禁管理学会誌, 14, 258-265.

中高年女性の身体活動量，活動強度が2年間の骨強度変化に及ぼす影響

小林 直人 田中 朋子 金木 潤 要明 仁美¹ 今村由美子¹

Volume and Intensity of Physical Activity in Middle-age and Elderly Women Affect Change of Bone Strength for 2 years

Naoto KOBAYASHI, Tomoko TANAKA, Jun KANAKI, Hitomi YOUNE¹, Yumiko IMAMURA¹

要 旨 身体活動量，活動強度と超音波骨強度指標との関連を明らかにするために，中高年女性について2年間の身体活動(歩数，身体活動量，低強度活動時間，中高強度活動時間)を測定し，身体活動量・活動強度充足群(充足群)，身体活動量充足群(半充足群)，身体活動量・活動強度不足群(不足群)に分類し，それぞれの超音波骨強度指標(SOS, BUA, stiffness)について検討した。

その結果，開始時の stiffness は3群間に違いは見られなかったが，終了時においては，不足群は半充足群と比較して stiffness が低値である傾向がみられた。また，充足群と半充足群では骨強度指標に違いは見られなかった。

以上のことから，中高年女性では，身体活動量が充足していれば，身体活動の強弱に関わらず，骨強度低下を抑制させる可能性が示唆された。

現在，日本では，要介護者に支払われている介護保険費は9.7兆円であり[1]，要介護者の多くは75歳以上の後期高齢者である。2030年には後期高齢者数が現在の1.7倍になる試算があり[2]，介護保険費の更なる増加が見込まれる。要介護状態になる原因として脳血管疾患，認知症，骨折などがある。この内，骨折は75歳以上から要介護原因の割合が増加しており[3]，また，近年発生数が増加していることが推察されている[4]。骨粗鬆症は骨の強度が低下し骨折しやすい状態であり，現在，国内の患者数が1100万人と推定されている[5]。骨粗鬆症予防は介護保険費の増加，要介護状態による高齢者の生活の質(QOL)低下などから考えて，高齢化社会の進む日本では重要な課題である。骨粗鬆症予防には，骨の構成成分であるカルシウム，カルシウムの吸収を促進させるビタミンDなどを含む食品を摂取することや日常的な運動が効果的であると言われている。運動については，活発な運動が効果的とされているが，明確な基準はなく，また，高齢者にとって活発な運動は転倒リスクの増大につながりかねない。我々は，高齢者にとって効率のよい骨粗鬆症予防運動の確立を目指

し，平成22年から高岡市主催の健康体操教室参加者の協力を得て，2年間の骨粗鬆症予防に関する調査を行なった。昨年度は1年経過時点での骨強度について報告したが[6]，本報告では2年間の調査結果について報告する。

対象及び方法

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

骨強度については超音波骨密度計(A-1000 InSight : GM Medical Systems)を使用し，開始時と2年経過時の右足の踵骨を測定し，超音波伝播速度(SOS : m/sec)，超音波減衰係数(BUA : dB/MHz)及びそれから算出される総合的な骨強度指標 Stiffness の3つを骨強度指標とした。

身体活動量は長期間記録型加速度計(Lifecoder PLUS : SUZUKEN)を用いて起床時から就寝時までの歩数と活動強度を測定した(平成22年8月4日から平成24年7月31日までの約2年間)。活動強度は

1. 高岡市健康増進課

低強度活動(1.8~3.5 METs), 中強度活動(3.6~6.0 METs)高強度活動(6.1 METs) 以上を行った時間(分)を測定した. 身体活動量(Ex)については測定した時間と活動強度を乗じた値を使用した. また, 1日の歩数が2000歩未満である日は不装着日とし, 解析から除外した.

身体活動量と活動強度が骨強度に与える影響を検討するため, 23 Ex/week(エクササイズガイド2006[7]で推奨されている値), 中強度以上の活動割合26.3%(我々が実施した骨粗鬆症研究で対象となった高齢女性(n= 89, age= 62.8±4.8 yrs)の身体活動時間に占める中強度以上の活動時間割合の平均が26.3%)を基準に図1のように4群に分類した. A群を不足群, B群を半充足群, C群を充足群として解析を行った. D群に対しては対象者がいなかったため, 解析を行えなかった.

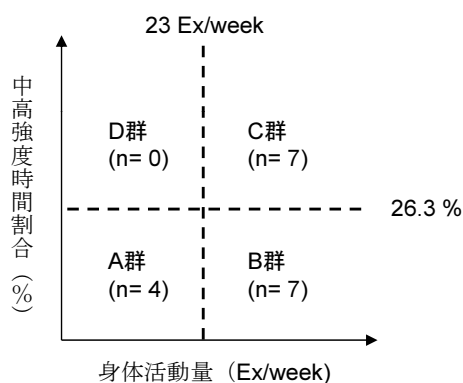


図1. 対象者の分類方法

表1. 対象者の身体特性

	median	IQR
年齢 (歳)	66.0	5.3
身長 (cm)	150.5	9.5
体重 (kg)	53.0	10.1
BMI (kg/m ²)	22.7	2.3

解析に際して, 対象者が少ないことから, 中央値(median), 四分位範囲(IQR)を求めた. 中央値の比較は, 開始時と終了時の比較では Willcoxon の符号順位検定, 3群以上の比較では Kruskal-Wallis 検定(多重比較: Bonferroni 補正による Mann-Whitney 検定), 2群間の比較では Mann-Whitney 検定を行った. いずれの検定方法についても有意水準を0.05未満とし, 0.10未満を傾向ありとりとした. 統計解析には統計解析ソフト SPSS19及び R ver. 2.14.1を使用した.

なお, 本調査は富山県衛生研究所倫理審査委員

会の承認を受け実施された.

結 果

対象者の2年間の身体活動の平均は表2の通りであった.

表2. 対象者の身体活動

	median	IQR
歩数 (歩)	9280	3823
身体活動量 (Ex/week)	32.3	15.3
低活動時間 (分/day)	64.4	26.7
中高強度活動時間 (分/day)	25.5	16.6

不足群, 半充足群, 充足群の身体特性と2年間の身体活動の結果(表3)を示す. 年齢, 身長, 体重, BMI については3群とも有意な差は見られなかった. 歩数と身体活動量では不足群と半充足群, 不足群と充足群に有意な差がみられ, 低強度運動時間では不足群と半充足群, 半充足群と充足群で有意な差がみられ, 中高強度運動時間では不足群と半充足群, 不足群と充足群, 半充足群と充足群で有意な差がみられた. 開始時の骨強度指標については SOS において不足群が半充足群に対して低値であった(表4). 終了時の骨強度指標については, stiffness, SOS, BUA 共に有意差はみられなかったが, stiffness において3群間で値が異なる傾向がみられた. 終了時の stiffness について多重比較を行なうと不足群が半充足群に対して低値である傾向がみられた(p= 0.069). また, 開始時と終了時の骨強度指標の比較を行うと, 3群共に, 開始時と1年経過時では有意な差はみられなかった.

考 察

対象集団は健康体操教室に通う者を対象としているため, 一般集団よりも健康意識が高く, 普段から十分な身体活動を行っていることが考えられる. 実際に1週間の身体活動量についてはエクササイズガイドで推奨されている23 Ex を超えていることが観察された(表2). しかし, データは調査開始からの記録であり, 加速度計を装着することで身体活動量が増加した可能性がある. また, 開始時の stiffness は対象者全員で62.7±15.0 (median±IQR)であった. 対象者の年代である60~69歳女性での stiffness の平均値(67.5~69.9)

表3. 3群間の身体特性と身体活動

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value	多重比較 (Bonferroni補正)
	median	IQR	median	IQR	median	IQR		
年齢 (歳)	65.5	11.8	66.0	4.0	68.0	5.0	0.278	
身長 (cm)	159.0	11.0	148.0	3.0	152.0	11.0	0.164	
体重 (kg)	55.3	9.6	48.0	8.0	56.0	6.0	0.122	
BMI (kg/m ²)	21.4	6.82	22.4	1.87	23.4	2.54	0.676	
歩数 (歩)	6499	608	10013	3597	9744	1990	0.012	A<B, A<C
身体活動量 (Ex/week)	21.5	0.9	33.9	10.7	35.9	9.4	0.009	A<B, A<C
低強度運動時間 (分/day)	53.0	9.8	86.5	40.6	59.7	25.7	0.026	A<B, B>C
中高強度運動時間 (分/day)	15.2	3.6	21.5	10.9	37.4	17.7	0.001	A<B, A<C, B<C

Kruskal-Wallis検定

表4. 3群間の開始時の骨強度指標

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value	多重比較 (Bonferroni補正)
	median	IQR	median	IQR	median	IQR		
stiffness	54.6	9.7	66.6	20.0	62.6	18.0	0.119	
SOS (m/sec)	1489	27	1535	23	1512	47	0.020	A<B
BUA (dB/MHz)	90.3	19.2	89.5	21.5	89.8	10.4	0.948	

Kruskal-Wallis検定

表5. 3群間の終了時の骨強度指標

	不足群(A)		半充足群(B)		充足群(C)		p-value
	median	IQR	median	IQR	median	IQR	
stiffness	53.6	11.1	64.5	13.5	62.7	10.7	0.073
SOS (m/sec)	1491	32	1517	37	1516	34	0.121
BUA (dB/MHz)	88.3	22.3	91.2	18.3	91.0	15.9	0.585

Kruskal-Wallis検定

[8]と比較すると、低いことが分かり、骨に不安をもつ者が対象となった可能性が考えられる。

stiffnessはSOS, BUAから算出される総合的な骨強度指標であり、測定精度の向上や温度変化などによる誤差がSOS, BUAと比較して、軽減されている[9]。stiffnessに関しては、開始時には有意差はなかったが、終了時において不足群が半充足群と比較して値が低い傾向を示した。一方で、身体活動量、活動強度が充足している充足群と半充足群とは違いがみられなかった。これより、十分な身体活動量を満たしていれば、活動強度が高い身体活動を短い時間行うことと、活動強度の低い身体活動を長い時間行うことは、骨強度

に与える影響は変わらないことが推測された。しかし、開始時には不足群は半充足群よりSOSが低値を示し、終了時には有意差がなくなったこと、骨強度指標において充足群と不足群の間に有意差がみられなかったこともあり、本研究の結果で結論を出すためには不十分であると考えられる。一方で、中高年男女で衝撃のある運動、衝撃のない運動どちらも腰椎の骨密度を増加させるとの報告[10]や、中年男女の慢性リウマチ患者に2年間、週2回筋力トレーニングを行わせた集団と、週2回負荷のないストレッチを行わせた集団で、2年後の腰椎と大腿骨頸部の骨密度に違いが見られなかった報告[11]などがあり、本研究結果もこれらの結果を支

持するものであると考える。

本研究にはいくつか限界点が存在する。一つは研究対象者が少ないことである。本研究では当初50名の対象者を予定していたが、18名の対象者で調査を行った。そのため、いくつかの項目で有意差がみられなかったと考える。また、本調査に使用した加速度計は、本体が上下左右に揺れることで身体活動量を測定し、揺れる速度で活動強度を測定している。そのため、荷物を持って歩く場合や、階段の上り下りでは正確な活動強度の測定は行えない。そのため、中強度以上の活動強度が低強度として測定されているケースがあると考えられる。

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

謝 辞

本調査の実施にあたり、ご協力いただいた健康体操教室参加者のみなさん、高岡市健康増進課の関係各位に対し、心から感謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省(2011). 平成22年国民生活基礎調査
2. 国立社会保障・人口問題研究所. 日本の将来推計人口(平成24年1月推計)
3. 林 泰 史 (2013). Osteoporosis Japan, 21, p36-37
4. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会, 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン2006年版
5. 吉村典子(2013). Osteoporosis Japan, 21, p38-39
6. 小林直人, 田中朋子, 金木潤, 要明仁美, 今村由美子(2012). 富山衛研年報, 35, p100-104
7. 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
8. 萩野浩(2005). Osteoporosis Japan, 13, p31-35
9. 曾根照喜(2005). Osteoporosis Japan, 13, p21-23
10. 吉村典子(2003). 日本衛生学会誌, 58, p328-337
11. Arja Hakkinen, Tuulikki Sokka, Antero Kotaniemi, Pekka Hannonen(2001). Arthritis & Rheumatism, 44, p515-22.

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査(感染源調査)2012年

山内 健生 名古屋真弓 渡辺 護¹ 稲崎 倫子 関口 健治²

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2012

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

近年の国内における日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかしながら、全国での日本脳炎流行予測調査の結果から、ウイルスは確実に活動しているといえる[1-6]。富山県においても毎年ウイルスの流行が確認されており[7-14]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、2012年も本研究を継続し、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* の発生状況とウイルスの浸淫状況を調査したので報告する。

I. コガタアカイエカ雌成虫の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は2011年[14]と同様(表1, 図1)であった。

調査期間および調査方法も2011年とほぼ同様であった。すなわち、「3. 黒牧」と「4. 大井」では6月1日から調査を開始し、10月18日まで、ライトトラップ(東京エース製, 15W 捕虫円型管)により毎日捕集を行なった(連日捕集)。なお、ライトトラップの作動は照度感受スイッチ(EE8113K ニューEE スイッチ, National 松下電工)によってコントロールされるため、捕集時間帯は日没(照度約40ルクス)から日の出(照度約120ルクス)までである。他の4定点では6月1日(第1週)から10月24日(第4週)まで、毎週水曜日のみトラップを一晩点灯し、

捕集を行なった(週1捕集)。なお、前2定点では、畜舎管理者が毎朝トラップ捕集籠の捕獲物を酢酸エチルで麻醉した後、70%エタノールの入った500ml ポリ瓶に移した。後4定点では毎週水曜日に畜舎管理者が電源を入れ、翌日の朝に筆者らが電源を切り、捕集籠を回収・交換した。このようにして得られた捕集籠内の蚊類を、検査室にて分類・計数した。

2. 結果

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

表4に、1991年以降のコガタアカイエカ雌成虫の定点別捕集数を示した。2012年の捕集数は、すべての定点において2011年の捕集数よりも少なかった。それらの中でも「1. 黒部」「2. 上市」「3. 黒牧」「6. 婦中」では、2012年の捕獲数は2011年の1/2以下であった。全体的に、2012年の捕獲数は、2010年、2011年よりも大幅に少なかった。

表1. コガタアカイエカ捕集定点(畜舎)の概要(2012年)

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

1. 国立感染症研究所, 2. 富山県厚生部健康課

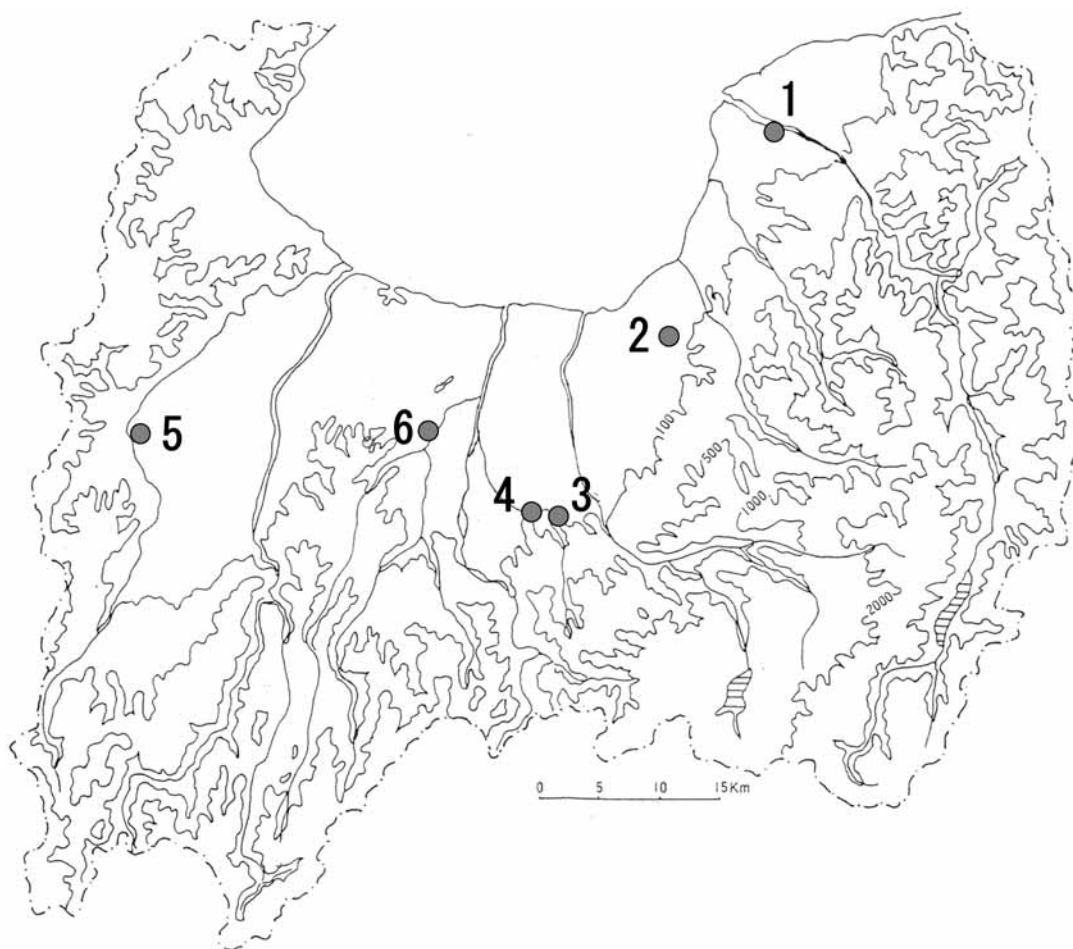


図1. コガタアカイエカ捕集定点(2012年)

1. 黒部, 2. 上市, 3. 黒牧, 4. 大井, 5. 小矢部, 6. 婦中

表2. 6定点(畜舎)のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数(2012年)

調査日	調査地点						合計
	1. 黒部	2. 上市	3. 黒牧	4. 大井	5. 小矢部	6. 婦中	
6月6日	4	2	0	159	74	5	244
13日	3	0	0	238	12	-	253
20日	8	2	0	447	73	6	536
27日	22	4	0	1,089	270	4	1,389
7月4日	11	2	4	1,010	84	22	1,133
11日	45	0	0	1,260	324	145	1,774
18日	49	0	0	7,274	489	171	7,983
25日	0	13	1	5,881	248	424	6,567
8月1日	131	45	7	10,978	766	430	12,357
8日	411	985	1	3,774	399	1,776	7,346
15日	-	1,055	35	1,261	2,088	3,562	8,001
22日	-	562	84	24,579	3,202	4,828	33,255
29日	-	567	43	9,514	5,359	1,655	17,138
9月5日	1,832	617	39	25,381	8,567	2,183	38,619
12日	356	433	64	8,575	7,984	668	18,080
19日	2,848	404	8	12,647	8,208	445	24,560
26日	167	147	4	1,133	1,152	40	2,643
10月3日	283	156	3	3,098	319	-	3,859
10日	-	11	0	45	281	-	337
17日	4	14	1	49	141	3	212
24日	0	1	-	-	-	0	1
計	6,174	5,020	294	118,392	40,040	16,367	186,287

「-」はトラップの故障等による欠測を示す。

表3-1. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2012年6月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計
	マダラカ	イエカ	イエカ			マダラカ	イエカ	イエカ		
6月1日	0	1	0	4	5	0	148	2	0	150
2日	0	0	0	1	1	0	58	2	0	60
3日	0	0	0	1	1	0	219	6	0	225
4日	0	1	0	0	1	0	150	19	1	170
5日	0	1	0	1	2	0	113	13	1	127
6日	0	0	0	1	1	0	159	6	0	165
7日	0	0	0	0	0	0	183	3	0	186
8日	0	0	0	1	1	0	158	0	1	159
9日	0	5	0	4	9	0	124	0	0	124
10日	0	0	0	2	2	0	85	0	1	86
11日	0	0	1	1	2	0	182	0	1	183
12日	0	0	3	1	4	0	130	2	2	134
13日	0	0	1	4	5	0	238	3	2	243
14日	0	0	0	2	2	0	261	7	0	268
15日	0	2	0	4	6	0	478	0	1	479
16日	-	-	-	-	-	0	276	0	1	277
17日	0	0	0	1	1	0	525	8	3	536
18日	0	0	1	3	4	0	606	10	1	617
19日	0	0	0	1	1	0	436	5	1	442
20日	0	0	0	2	2	0	447	8	0	455
21日	0	3	0	4	7	0	1,848	5	2	1,855
22日	0	0	3	1	4	0	318	3	2	323
23日	0	0	1	1	2	0	599	2	0	601
24日	0	0	0	1	1	0	474	0	1	475
25日	0	0	0	3	3	0	522	8	2	532
26日	0	0	0	1	1	0	1,221	7	0	1,228
27日	0	0	0	2	2	0	1,089	11	3	1,103
28日	0	0	0	4	4	0	260	8	0	268
29日	0	1	1	1	3	0	641	4	0	645
30日	0	1	0	4	5	0	578	13	0	591
計	0	15	11	56	82	0	12,526	155	26	12,707

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
*オオクロヤブカ、ヒトスジシマカ、ハマダライエカ、ヤマトヤブカ。

表3-2. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2012年7月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計
	マダラカ	イエカ	イエカ			マダラカ	イエカ	イエカ		
7月1日	0	0	0	0	0	0	432	7	0	439
2日	0	0	2	5	7	0	412	3	0	415
3日	0	0	1	7	8	0	1,533	16	0	1,549
4日	0	4	0	8	12	0	1,010	20	0	1,030
5日	0	0	1	1	2	0	1,217	13	0	1,230
6日	0	3	1	4	8	0	811	10	0	821
7日	0	0	0	8	8	0	1,653	12	4	1,669
8日	0	0	1	8	9	0	1,583	10	4	1,597
9日	0	0	3	9	12	0	1,072	13	2	1,087
10日	1	5	3	7	16	0	2,403	22	0	2,425
11日	0	0	0	5	5	0	1,260	10	0	1,270
12日	0	0	0	2	2	0	1,485	21	0	1,506
13日	0	0	0	0	0	0	3,426	7	1	3,434
14日	0	0	0	3	3	0	2,593	25	0	2,618
15日	0	0	0	0	0	0	1,005	16	0	1,021
16日	0	0	0	0	0	0	2,778	26	4	2,808
17日	0	0	0	0	0	0	3,459	9	0	3,468
18日	0	0	0	0	0	0	7,274	5	0	7,279
19日	0	0	0	0	0	0	6,201	29	0	6,230
20日	0	2	0	2	4	0	5,425	17	1	5,443
21日	0	0	0	8	8	0	3,943	29	1	3,973
22日	0	1	0	4	5	0	3,296	40	1	3,337
23日	0	1	0	5	6	0	5,378	23	0	5,401
24日	0	1	1	1	3	0	5,437	28	0	5,465
25日	0	1	0	1	2	0	5,881	57	0	5,938
26日	0	0	2	1	3	0	5,163	9	0	5,172
27日	0	1	0	3	4	0	2,695	11	0	2,706
28日	0	1	0	2	3	0	2,482	5	0	2,487
29日	0	7	0	2	9	0	1,287	5	0	1,292
30日	0	13	0	1	14	0	3,704	10	1	3,715
31日	0	4	0	1	5	0	3,652	16	0	3,668
計	1	44	15	98	158	0	89,950	524	19	90,493

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
*オオクロヤブカ、ヤマトヤブカ、ハマダライエカ。

表3-3. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2012年8月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計
	マダラカ	イエカ	イエカ			マダラカ	イエカ	イエカ		
8月1日	0	7	1	1	9	0	10,978	45	0	11,023
2日	0	9	0	3	12	0	3,669	16	0	3,685
3日	0	2	0	2	4	0	6,994	19	0	7,013
4日	0	1	0	1	2	0	4,964	14	0	4,978
5日	0	11	1	6	18	0	5,221	11	0	5,232
6日	0	12	1	1	14	0	8,435	12	0	8,447
7日	0	3	0	4	7	0	18,060	5	0	18,065
8日	0	1	0	5	6	0	3,774	0	0	3,774
9日	-	-	-	-	-	0	6,760	6	0	6,766
10日	0	2	0	0	2	0	12,360	20	0	12,380
11日	0	7	1	5	13	0	2,165	4	0	2,169
12日	0	3	1	4	8	0	11,566	0	0	11,566
13日	0	39	0	3	42	0	47,640	0	0	47,640
14日	0	20	1	4	25	0	25,826	13	0	25,839
15日	0	35	1	5	41	0	1,261	0	0	1,261
16日	0	49	0	3	52	0	16,666	0	0	16,666
17日	0	22	0	7	29	0	24,500	11	0	24,511
18日	0	29	0	2	31	0	11,507	6	0	11,513
19日	0	88	0	1	89	0	20,466	13	0	20,479
20日	-	-	-	-	-	0	12,453	0	0	12,453
21日	0	70	0	2	72	0	21,167	26	0	21,193
22日	0	84	1	2	87	0	24,579	0	0	24,579
23日	0	53	0	0	53	0	33,233	0	0	33,233
24日	0	65	0	2	67	0	23,720	20	0	23,740
25日	0	18	0	0	18	0	22,800	27	6	22,833
26日	0	11	0	1	12	0	19,887	6	4	19,897
27日	0	19	0	2	21	0	9,480	4	0	9,484
28日	0	114	0	4	118	0	1,787	20	0	1,807
29日	0	43	0	0	43	0	9,514	0	0	9,514
30日	0	101	1	1	103	0	23,813	0	0	23,813
31日	13	1	1	0	15	0	6,633	4	0	6,637
計	13	919	10	71	1,013	0	451,878	302	10	452,190

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
*オオクロヤブカ、ヤマトヤブカ、ハマダライエカ。

表3-4. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2012年9月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計	シナハ	コガタアカ	アカ	その他*	計
	マダラカ	イエカ	イエカ			マダラカ	イエカ	イエカ		
9月1日	0	22	0	4	26	0	23,992	13	0	24,005
2日	0	33	0	0	33	0	21,233	31	0	21,264
3日	0	32	2	3	37	0	25,650	0	0	25,650
4日	0	26	0	1	27	0	18,587	53	0	18,640
5日	0	39	0	4	43	0	25,381	0	0	25,381
6日	0	82	0	1	83	0	730	0	0	730
7日	0	22	2	2	26	0	21,663	0	0	21,663
8日	0	111	0	5	116	0	12,565	0	0	12,565
9日	-	-	-	-	-	0	7,616	0	1	7,617
10日	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
11日	-	-	-	-	-	0	14,788	0	0	14,788
12日	0	64	2	5	71	0	8,575	5	0	8,580
13日	0	13	0	1	14	0	7,196	0	0	7,196
14日	0	7	1	5	13	0	1,603	0	0	1,603
15日	0	8	0	0	8	0	12,116	0	0	12,116
16日	0	9	0	3	12	0	6,908	0	0	6,908
17日	0	10	0	1	11	0	951	0	0	951
18日	0	5	0	2	7	0	10,105	0	0	10,105
19日	0	8	0	3	11	0	12,647	0	0	12,647
20日	0	13	0	2	15	0	7,604	0	0	7,604
21日	0	5	0	1	6	0	4,422	0	0	4,422
22日	0	4	1	1	6	0	1,120	0	0	1,120
23日	0	4	0	0	4	0	1,064	0	0	1,064
24日	0	2	0	1	3	0	2,887	0	1	2,888
25日	0	1	1	1	3	0	2,142	0	0	2,142
26日	0	4	0	7	11	0	1,133	1	0	1,134
27日	0	2	0	3	5	0	1,354	0	0	1,354
28日	0	0	1	6	7	0	1,511	0	0	1,511
29日	0	1	0	5	6	0	1,800	1	0	1,801
30日	0	25	1	1	27	0	2,247	2	0	2,249
計	0	552	11	68	631	0	259,590	106	2	259,698

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
*オオクロヤブカ、ヤマトヤブカ、ハマダライエカ。

表3-5. 2定点のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2012年10月)

調査日	3. 黒 牧					4. 大 井				
	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
10月1日	0	6	0	3	9	0	1,798	0	0	1,798
2日	0	5	1	2	8	0	1,604	6	0	1,610
3日	0	3	0	3	6	0	3,098	0	3	3,101
4日	0	0	0	0	0	0	543	23	0	566
5日	0	0	0	4	4	0	328	9	0	337
6日	0	1	0	1	2	0	227	9	0	236
7日	0	0	0	0	0	0	130	17	0	147
8日	0	1	0	0	1	0	135	15	0	150
9日	0	1	0	4	5	0	23	3	0	26
10日	0	0	0	2	2	0	45	0	0	45
11日	0	0	0	3	3	0	45	5	0	50
12日	0	1	0	3	4	0	43	2	0	45
13日	0	0	0	3	3	0	17	5	0	22
14日	0	0	0	4	4	0	25	3	0	28
15日	0	0	0	2	2	0	7	0	0	7
16日	0	0	0	2	2	0	19	0	0	19
17日	0	1	0	2	3	0	49	0	0	49
18日	-	-	-	-	-	0	17	2	0	19
計	0	19	1	38	58	0	8,153	99	3	8,255

「-」はトラップの故障等による欠測、または次日、次々日にまとめて捕集したことを示す。
*オオクロヤブカ、ヤマトヤブカ、ハマダライエカ。

表4. 6定点のライトトラップにおける1991年以降のコガタアカイエカ雌成虫の年間捕集数

年	6月2週から9月30日までの毎週水曜日に捕集した総数						6月1日から9月30日 までの連日捕集の総数	
	1. 黒 部	2. 上 市	3. 黒 牧	4. 大 井	5. 小矢部	6. 婦 中	3. 黒 牧	4. 大 井
1991	1,702	14,322	-	7,640	4,318	-	-	51,218
1992	1,968	5,025	-	9,998	5,992	-	-	59,735
1993	642	1,100	-	8,827	5,093	-	-	72,509
1994	13,655	3,527	-	26,275	94,055	-	-	169,307
1995	6,398	1,790	-	26,247	21,751	-	-	161,391
1996	2,034	1,562	-	36,305	7,683	-	-	275,957
1997	7,054	1,466	-	23,743	45,250	-	-	172,373
1998	6,250	5,620	1,843	96,196	31,158	-	11,814	657,900
1999	1,954	2,676	1,319	52,436	27,944	-	11,379	344,498
2000	1,181	2,965	965	67,757	19,477	-	9,147	495,004
2001	1,443	6,574	1,819	78,846	12,877	-	10,433	504,862
2002	2,187	1,288	802	62,135	1,330	-	7,979	465,957
2003	2,181	195,869	496	60,527	17,963	8,555	2,644	469,460
2004	4,880	225,945	3,206	90,578	12,758	12,733	18,526	468,459
2005	8,392	295,817	3,974	88,321	12,088	11,424	13,291	735,891
2006	891	16,462	544	15,295	4,569	3,780	2,916	117,306
2007	13,819	203,488	4,143	73,227	50,777	16,337	22,118	516,504
2008	10,089	35,478	4,631	78,052	16,199	23,581	27,233	492,617
2009	5,011	6,119	1,916	46,180	9,893	12,423	9,738	373,502
2010	8,758	14,074	1,797	146,861	70,400	50,790	12,377	841,733
2011	36,900	20,612	713	150,365	45,532	36,508	3,522	933,761
2012	5,883	4,836	290	115,041	39,225	16,359	1,530	813,944

1. 黒部では1998年に定点(畜舎)の場所を変更した。
2. 上市では1994, 2008, 2009年に定点(畜舎)の場所を変更し, 2003年に畜舎が30mほど移設された。
3. 黒牧では, 2011年からライトの位置を変更した。
5. 小矢部では2003年に定点(畜舎)を変更した。

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2日から10月30日までの約4ヶ月間、富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産(小矢部市、南砺市、上市町、黒部市)の豚を対象として、月3回、各20頭ずつから血液を採取し、合計240頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式[15]に従った。すなわち、アセトン処理を2回行うことにより、被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後、日本脳炎 CF、HI 試薬「生研」JaGAR01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制(HI)反応により抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、マイクロタイター法で行った。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。さらに、抗体価40倍以上を示した血清について37℃で1時間2-メルカプトエタノール(2-ME)処理を行い、抗体価が8倍以上上下がれば2-ME感受性陽性(= IgM 抗体陽性)とし、新鮮感染とみなした。

2. 結果および考察

HI 抗体価の測定結果を表5に示した。全体として、新鮮感染を示す豚、抗体価80倍以上の豚は確認されなかった。新鮮感染を示す豚が確認されなかったのは2011年[14]に引き続き2年連続であった。

以上のことから、2012年は、日本脳炎ウイルス流行が非常に小規模であったと推測される。

III. 蚊と豚からの日本脳炎ウイルス分離

1. 調査対象と検査方法

2012年4月から11月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎の計5地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた。また、抗体調査に用いた豚血清240検体についてもウイルス分離を行った。分離には、ヒトスジシマカ由来の C6/36細胞とアフリカミドリザル由来の Vero9013細胞を用いた。細胞変性が現れた検体の培養上清について、日本脳炎ウイルス NS3領域を対象としたリアルタイム RT-PCR [16]を実施した。

表5. 豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況(平成24年, 2012年)

検体 採取日	抗体価								2-ME感受性 陽性数/検査数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月2,3日	20 (100)								
17日	20 (100)								
23,24日	20 (100)								
8月8,9日	20 (100)								
13,14日	20 (100)								
27,28日	19 (95)			1 (5)					0 (0.0)
9月4日	20 (100)								
18,19日	20 (100)								
25日	20 (100)								
10月1,2日	20 (100)								
11日	20 (100)								
22,23,30日	20 (100)								
計	239 (99.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (0.4)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)

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

2. 結果および考察

捕集蚊153プール(4, 291個体)及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。

これまでの調査結果[7-14, 17-19]より, ウイルスが濃厚に存在している年と, 不活発な年があると考えられ, 2012年は2011年に引き続き不活発な年であったと思われる。

ま と め

コガタアカイエカの捕集数は, 2011年よりも大幅に少なかった。豚の抗体保有率は5%以下で推移し, 新鮮感染を示す個体や抗体価80倍以上の個体は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。これらの結果から, ウイルスの活動は非常に小規模であり, 日本脳炎患者が発生する可能性は低いと考えられた。県内において患者は発生しなかった。

謝 辞

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

文 献

- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2007). 平成17年度感染症流行予測調査報告書, 100-112
- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2008). 平成18年度感染症流行予測調査報告書, 74-96
- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2010). 平成19年度感染症流行予測調査報告書, 121-148
- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2011). 平成20年度感染症流行予測調査報告書, 80-106
- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2012). 平成21年度感染症流行予測調査報告書, 128-156
- 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2013). 平成22年度感染症流行予測調査報告書, 83-111
- 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
- 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
- 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
- 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 川尻千賀子(2008). 富山衛研年報, 31, 65-75.
- 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 林達哉(2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
- 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 植田陽子(2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
- 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治(2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
- 山内健生, 名古屋(小原)真弓, 渡辺 護, 關口健治(2012). 富山衛研年報, 35, 48-57
- 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.
- Huang, J. L., Lin, H. T., Wang, Y. M., Weng, M. H., Ji, D. D., Kuo, M. D., Liu, H. W., Lin, C. S. (2004). J. Med. Virol., 74, 589-96
- Watanabe, M., Hasegawa, S., Obara, M., Ando, S., Yamauchi, T. and Takizawa, T. (2011) Long-term analyses of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*, and serological surveys of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 - a review of surveys for the prediction of epidemics of Japanese encephalitis in Toyama Prefecture over 35 years -. 159 pp. Skarafactory. Ltd., Toyama.
- Obara, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Ueda, Y., Matsuno, K., Iwai, M., Horimoto, E., Kurata, T., Takizawa, T., Kariwa, H., Takashima, I.(2011). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708
- 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則(2011) 富山衛研年報, 34, 97-105

日本脳炎流行予測調査(感受性調査)平成24年度

名古屋真弓 稲崎 倫子 堀元 栄詞 小淵 正次 嶋 一世
滝澤 剛則 大井 哲夫¹ 南部 厚子² 大西さやか³ 川越久美子⁴
高道江里子⁵ 關口 健治⁶

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI,
Ichiyo Shima, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU²,
Sayaka OONISHI³, Kumiko KAWAGOSHI⁴, Eriko TAKAMICHI⁵, Kenji SEKIGUCHI⁶

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

調査および検査方法

平成24年6月から9月に、新川、中部、高岡、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、合計315名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の測定は、peroxidase-anti-peroxidase (PAP)法を応用したフォーカス計数法にて行った。血清を56℃ 30分間非働化した後、10倍から2倍階段希釈し、100 focus forming units (FFU)/25 μL に調整したウイルス液(日本脳炎 Beijing-1株)と等量で混合した。37℃、1時間の中和反応ののち、Vero Osaka細胞に接種した。37℃で1時間ウイルスを吸着させたのち、培養液を追加し、37℃で46時間培養した。細胞を洗浄・固定後、抗日本脳炎ウイルスウサギ血清を用いたPAP法によってウイルスフォーカスを染色した。被検血清を加えていないコントロールと比較して、フォーカス数が50%以上減少した最大希釈倍数を中和抗体価とした。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。

結果および考察

315名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽

性は159名(50.5%)であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。5~29歳では80%前後と高い抗体保有率を示したが、それ以外は40%を下回る年齢群が多く、特に40~49歳で15.4%、50~59歳で13.6%であった。結果として、抗体保有率はN字型と山型の中間の曲線を描いていた。この形は平成23年度の結果[1]や近年の全国の結果[2]と同様であった。

0~4歳の乳幼児における抗体保有率の低さは、ワクチン未接種のためと考えられる。5~9歳の抗体保有率は平成19年度に78.9%であったが、平成20年度に41.2%、平成21年度に36.4%と一時減少し、平成22年度以降は回復して今回77.8%であった(図1、図2)。これは、平成17年5月に予防接種の勧奨が中止された[3]が、平成22年4月から第1期の定期接種[4]の積極的勧奨が再開されたことと、平成22年8月より第2期(通常9歳)の定期接種が再開され[5]、さらに第1期(通常3~4歳)を受けそびれていた人も接種を受けられるようになったことによると考えられる。これまでの調査結果と比べると、平成24年は10~19歳の抗体保有率が減少した(図1、2)。この原因として、予防接種勧奨中止の影響が考えられるが、平成23年度の調査と比べ急激に減少した理由は不明である。いずれの調査年でも30~59歳で抗体保有率が低い理由は、年をとるにつれワクチン効果が減弱したことが考えられる。逆に60歳以上で抗体保有率がやや増加するのは、自然感染の機会が多かったためと考えられる。

調査対象者の予防接種歴を年齢群別に示すと(図3)、「接種歴なし」の割合は、0~4歳で69.2%

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

と最も多かった。この結果は、平成19～23年度の結果[1, 6-9]と顕著な差はなく、0～4歳に定期接種の対象年齢(通常3～4歳から)未満が多く含まれるためと考えられる。10～14歳の「接種歴なし」は10.5%、15～19歳は15.4%で、いずれも調査開始以来最も高かった。一方、「接種歴あり」の割合は、10～14歳での80.8%、15～19歳の84.2%がピークとなるが、やはり調査開始以来最も低く、これが抗体保有率の減少につながったと考えられた。20歳以上では「接種歴あり」は50%以下であった。

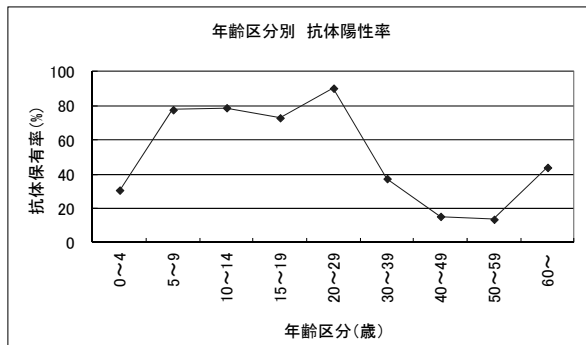


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

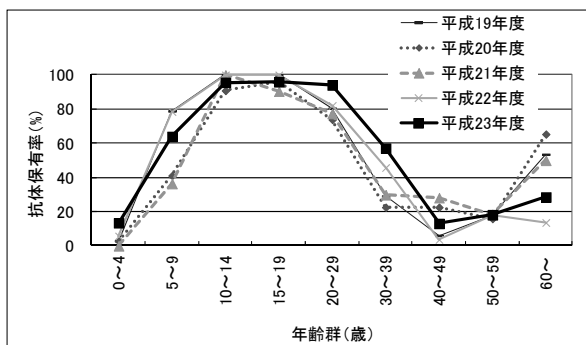


図2. 平成19～23年度の年齢群別中和抗体保有率

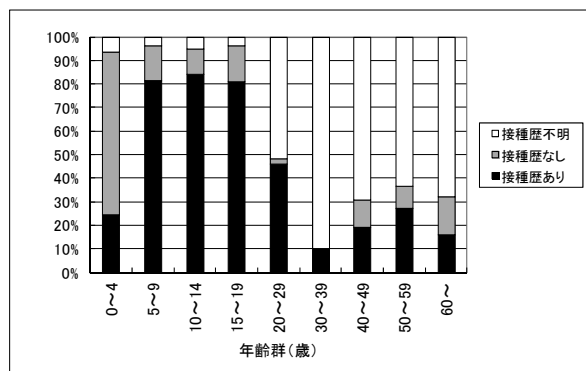


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で14.9%、「接種歴不明」で44.2%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では78.5%であった(表1)。これらの保有率は、平成19～23年度の結果[1, 6-9]と同様であり、予防接種の効果により抗体を獲得できていると考えられる。年齢群別にみると、1回以上接種歴のある対象者のうち、抗体陽性者の割合は、29歳以下では79.2%以上であるものの、30歳以上では0～25%となっている。これは、加齢に伴いワクチンの効果が減弱していると思われる。この傾向は平成19～23年度[1, 6-9]の結果と同様であった。

「接種歴なし」のうち、抗体陽性者が14.9%存在した(表1)。これは自然感染によるものと推測されるが、罹患歴は全て「なし」または「不明」であり、多くは不顕性感染であったと推定される。今回、このような不顕性感染を示唆するような抗体陽性者が0～4歳で5名存在した。なお、この年齢群の予防接種歴は母子手帳で確認できる場合が多く、他の年齢群より正確と考えられる。また、詳しく年齢をみると11か月齢～3歳3か月齢となっており、移行抗体が残存していたとは考えにくい。この年齢群では、平成22年度まで不顕性感染者0名であったのが、平成23年度の調査では1名、今回5名と増加傾向を示した。増加した原因は不明だが、全国ではこれまでに1～3歳児の日本脳炎患者も報告されている[10]ため、本年齢群の患者発生に注視するとともに、引き続き感受性調査を実施していく必要がある。

参考に、富山県における予防接種率を図4に示す。平成16年度までは80%前後であったが、平成17年のワクチンの勧奨中止[3]により、平成17年度には10～20%、18年度、19年度は数%と激減した。しかしながら、20年度以降接種率は回復し始め、平成22年度はほぼ勧奨中止前と同程度となった。

表1. ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数/検査数	陽性率	陽性率	陽性数/検査数	陽性率	陽性率	陽性数/検査数	陽性率	陽性率	陽性数/検査数	陽性率	
0～4	19 / 19	100.0%		5 / 54	9.3%		0 / 5	0.0%		24 / 78	30.8%	
5～9	21 / 22	95.5%		0 / 4	0.0%		0 / 1	0.0%		21 / 27	77.8%	
10～14	15 / 16	93.8%		0 / 2	0.0%		0 / 1	0.0%		15 / 19	78.9%	
15～19	18 / 21	85.7%		1 / 4	25.0%		0 / 1	0.0%		19 / 26	73.1%	
20～29	19 / 24	79.2%		1 / 1	100.0%		27 / 27	100.0%		47 / 52	90.4%	
30～39	1 / 4	25.0%		0 / 0			14 / 36	38.9%		15 / 40	37.5%	
40～49	0 / 5	0.0%		1 / 3	33.3%		3 / 18	16.7%		4 / 26	15.4%	
50～59	1 / 6	16.7%		1 / 2	50.0%		1 / 14	7.1%		3 / 22	13.6%	
60～	1 / 4	25.0%		2 / 4	50.0%		8 / 17	47.1%		11 / 25	44.0%	
計	95 / 121	78.5%		11 / 74	14.9%		53 / 120	44.2%		159 / 315	50.5%	

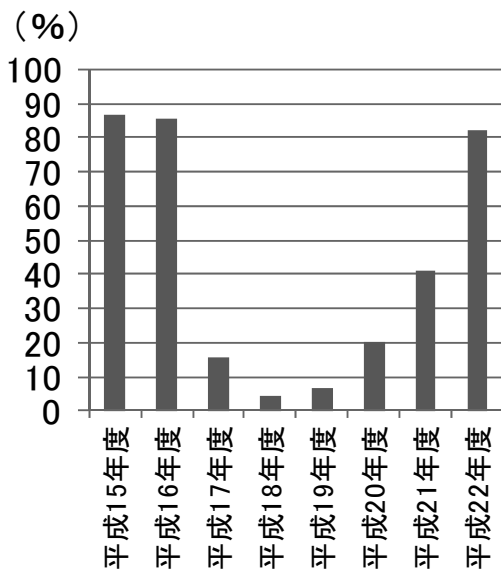


図4. 富山県における日本脳炎予防接種率
接種率は保健統計年報[11-18]を参考にした。

ま と め

今回の調査では、平成19～23年度と同様、県民の抗体保有率は5割程度であること、予防接種歴のある人は8割程度抗体を保有していること、乳幼児の抗体保有率が低いこと、不顕性な自然感染をしている人がいることなどが確認された。一方、平成20～21年度に低下していた、5～9歳のワクチン接種率及び抗体保有率は、平成22年度以降回復してきている。しかしながら今回、10～19歳で「接種歴なし」が増加し、それに伴い抗体保有率が減少した。また、0～4歳の不顕性感染と思われる抗体保有者についても今後の動向に注意が必要である。

日本脳炎ワクチンの勧奨中止[3]以来、ワクチン接種率は顕著に低くなったが、新しい細胞培養ワクチンが認可されたことにより、徐々に定期接種

が再開され、さらに接種機会を逃した人も接種を受けられるようになったため、接種率が回復した。今後も高い接種率を維持することが期待される。

日本脳炎流行予測調査の感染源調査やウイルス分離調査において、県内での日本脳炎ウイルスの存在が確認されている[19-24]ことから、ワクチン未接種の乳幼児、40歳以上の抗体保有率が低い年齢群、及び発症リスクの高い高齢者は、特に蚊に刺されないための注意が必要である。

謝 辞

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

文 献

1. 名古屋(小原)真弓,堀元栄詞,板持(岩井)雅恵,小渕正次,滝澤剛則,大井哲夫,南部厚子,馬渕俊輔,川越久美子,星山典江,關口健治(2012). 富山衛研年報, 35, 58-61
2. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2013). 平成22年度感染症流行予測調査報告書, 83-111
3. 厚生労働省健康局結核感染症課長(2005). 健感発第0530001号
4. 厚生労働省健康局長, 厚生労働省医薬食品局長(2010). 健発0401第19号, 薬食発0401第25号
5. 厚生労働省健康局長, 厚生労働省医薬食品局長(2010). 健発0827第10号, 薬食発0827第4号
6. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 田中桂子, 南部厚子, 田中有易知, 上田順子, 嶋尻悟志(2008). 富山衛研年報, 31, 76-78
7. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 高田厚史, 南部厚

- 子, 原田慎太郎, 清原美千代, 嶋尻悟志(2009). 富山衛研年報, 32, 65-67
8. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 高田厚史, 南部厚子, 中村純香, 清原美千代, 春木加奈, 植田陽子(2010). 富山衛研年報, 33, 79-81
 9. 小原真弓, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 小淵正次, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 關口健治(2011). 富山衛研年報, 34, 58-61
 10. 日本脳炎ワクチン接種に係るQ&A
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou21/dl/nouen_qa.pdf
 11. 富山県厚生部(2005). 保健統計年報(平成15年度), 55, 306-307
 12. 富山県厚生部(2006). 保健統計年報(平成16年度), 56, 306-307
 13. 富山県厚生部(2007). 保健統計年報(平成17年度), 57, 304-305
 14. 富山県厚生部(2008). 保健統計年報(平成18年度), 58, 311-313
 15. 富山県厚生部(2009). 保健統計年報(平成19年度), 59, 246-247
 16. 富山県厚生部(2010). 保健統計年報(平成20年度), 60, 244-245
 17. 富山県厚生部(2011). 保健統計年報(平成21年度), 61, 244-245
 18. 富山県厚生部(2013). 保健統計年報(平成22年度), 62, 244-245
 19. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 林達哉(2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
 20. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 植田陽子(2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
 21. 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治(2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
 22. Obara, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Ueda, Y., Matsuno, K., Iwai, M., Horimoto, E., Kurata, T., Takizawa, T., Kariwa, H., Takashima, I.(2011). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 84, 695-708
 23. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則(2011). 富山衛研年報, 34, 97-105
 24. 山内健生, 名古屋(小原)真弓, 渡辺 護, 關口健治(2012). 富山衛研年報, 35, 48-57

ポリオ流行予測調査(平成24年度)

嶋 一世 板持 雅恵 堀元 栄詞 名古屋真弓 稲崎 倫子
小渕 正次 滝澤 剛則 大井 哲夫¹ 南部 厚子² 大西さやか³
川越久美子⁴ 高道江里子⁵ 関口 健治⁶

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Mayumi NAGOYA, Noriko
INASAKI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA
Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU², Sayaka OONISHI³,
Kumiko KAWAGOSHI⁴, Eriko TAKAMICHI⁵ and Kenji SEKIGUCHI⁶

急性灰白髄炎(ポリオ)は、ポリオウイルスが中枢神経へ侵入することにより弛緩性麻痺を呈する感染症である。ヒトの腸管で増殖したポリオウイルスは糞便中に排泄され、経口感染によってヒトの間を伝播する。1988年に世界保健機関(WHO)によりポリオ根絶計画が提唱されて以来、ポリオ症例数は当初の99%以下まで減少した。しかしながら、アフガニスタン、ナイジェリア、パキスタンの3カ国では現在もポリオ野生株(WPV)の伝播が続いており、また、これら常在国の周辺の国々においては、常在国からのWPVの輸入に由来する麻痺患者が発生している[1]。ポリオウイルスには1~3型の血清型が存在するが、2012年には、ポリオ常在国と輸入国とを合わせた5カ国で、202株の1型及び21株の3型WPVが検出されている[1]。さらに、ワクチン株が変異し、地域伝播することにより複数の患者に麻痺を発症させる伝播型ワクチン由来ポリオウイルス(cVDPV)による症例も報告されている[2]。2012年には、8カ国で66例と2例の2型及び3型cVDPVがそれぞれ発生している[3]。このような流行地からのWPVの侵入やcVDPVの伝播を阻止するためには、ポリオウイルスに対する高い集団免疫と、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。調査内容は健康な乳幼児の糞便についてポリオウイルスの検索を行う「感染源調査」と、

県民のポリオウイルスに対する中和抗体保有状況を調べる「感受性調査」である。本稿では両調査結果を合わせて報告する。

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

感染源調査

調査方法：小矢部市では春期のポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成24年9月に、また黒部市では平成25年2月に、健康な乳幼児から糞便を採取した。年齢区分ごとの検査対象者数は、0歳児12名、1歳児15名、2歳児16名、3歳児12名、4歳児14名、5歳児13名の計82名であった。小矢部地区のワクチン接種率は、接種者数を対象人員で除して求めた。

ウイルスの検索は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[4]に準じて行った。すなわち、採取した糞便にEagle-MEM培養液(日水製薬)を加えて約10%乳剤を作製し、3,000rpm、30分間遠心後、フィルター(Pore size 0.45 μ m)でろ過して雑菌を除いた。得られたろ液を4~5種類の培養細胞(Vero6, MA104, RD-18S, HEp-2, L20B)に接種し、細胞変性効果の有無を指標としてウイルス分離を行なった。ウイルスは、抗ウイルス抗血清(デンカ生研)を用いた中和試験により同定した。

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

結果および考察：乳幼児82名の糞便からは、ポリオウイルスは検出されなかったが(表1)、パレコウイルス1型が0歳児2名から、コクサッキーウイルス A16型が0歳児1名から、エコーウイルス7型が0歳児1名から、アデノウイルス2型が1歳児1名からそれぞれ検出された。当該地区のワクチン接種率は、小矢部市が春期81.5%であった。9月以降は

不活化ワクチンの個別接種に切り替えられたため、接種率の算定は行っていない。

また、富山県内ではワクチン関連麻痺を含め、急性弛緩性麻痺患者の報告はなかった。これらのことから、県内におけるポリオウイルス野生株やVDPVの地域伝播の可能性は低いと考えられた。

表1. 乳幼児の糞便からのウイルス検出状況

調査地区	年齢 (歳)	検体数	ウイルス検出		ウイルス内訳			
			陽性数	(%)	パレコ1	コクサッキーA16	エコー7型	アデノウイルス2型
小矢部市	0	12	4	(33.3)	2	1	1	
	1	15	1	(6.6)				1
	2	16	0	(0)				
黒部市	3	12	0	(0)				
	4	14	0	(0)				
	5	13	0	(0)				
合計		82	5	(6.1)	2	1	1	1

糞便検体採取日：小矢部市，平成24年9月19-20日；黒部市，平成25年2月2-5日。

感受性調査

調査方法：平成24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315名(0~87歳)について、採血と予防接種歴の調査を行った。

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

結果および考察：表2にポリオウイルスに対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況を示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が97.4%(304/312)で最も高く、次いで1型が95.8%

(299/312)、3型が79.7%(248/311)であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は1、2型については高く維持されていると考えられた。各年齢区分をみると、1型では40~49歳が84.6%と最も低値であったが、それ以外の年齢区分は90%以上の抗体保有率であった。2型も、0~1歳が85.3%と最も低値を示したが、それ以外の年齢区分は90%以上の抗体保有率を示した。一方、3型は25~29歳が60.9%と最も低く、次いで0~1歳が61.8%、4~9歳が70.6%、35~39歳が72.0%、10~14歳が73.7%、40~49歳が76.9%と続き、1型や2型に比べて低かった。1型、2型に比し3型の抗体保有率が低いのは、これまでの全国の調査でも同様である[5]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、1型では50~59歳の49.1倍から4~9歳の572.6倍までを示し、平均は245.0倍であった。2型では50~59歳の50.8倍から0~1歳の499.9倍までを示し、平均は112.4倍であった。一方、3型では35~39歳の20.2倍から0~1歳の161.3倍までを示し、平均は55.5倍であり、1型や2型と比べて低かった。

表3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ポリオ生ワクチンは、1961年に全国の乳幼児を対象に一斉に接種が開始され、1963年からは2回接種が定期的に行われてきた[6]。さらに、2012年9月からは不活化ワクチンの個別接種に切り替えられた[7]。従来の生ワクチンの接種では、1型では1回の接種で94.4%(17/18)、2回の接種で98.5%(133/135)と抗体保有率が上昇した。2型で

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

1型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	34	2	1	1	0	1	1	4	0	3	21	32	(94.1)	440.0
2~3	34	0	0	0	0	2	0	0	6	7	19	34	(100)	566.9
4~9	34	3	0	1	0	0	0	1	5	6	18	31	(91.2)	572.6
10~14	19	0	0	0	0	1	0	3	6	3	6	19	(100)	355.5
15~19	26	0	0	0	1	1	1	2	5	3	13	26	(100)	413.7
20~24	29	1	0	0	0	0	2	7	5	7	7	28	(96.6)	327.9
25~29	23	1	0	1	0	1	7	2	4	3	4	22	(95.7)	170.0
30~34	15	0	0	0	1	0	2	4	2	2	4	15	(100)	233.4
35~39	25	1	0	0	4	6	2	5	4	1	2	24	(96.0)	85.4
40~49	26	4	1	2	0	2	5	6	3	2	1	22	(84.6)	87.7
50~59	22	1	2	2	0	6	3	5	2	1	0	21	(95.5)	49.1
60~	25	0	0	2	0	1	5	4	6	6	1	25	(100)	151.2
合計	312	13	4	9	6	21	28	43	48	44	96	299	(95.8)	245.0
(%)		(4.2)	(1.3)	(2.9)	(1.9)	(6.7)	(9.0)	(13.8)	(15.4)	(14.1)	(30.8)	(95.8)		

2型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	34	5	0	0	1	0	1	2	5	4	16	29	(85.3)	499.9
2~3	34	0	0	0	0	3	2	3	10	9	7	34	(100)	295.3
4~9	34	0	0	0	2	0	8	10	5	5	4	34	(100)	166.8
10~14	19	0	0	1	1	5	6	3	1	0	2	19	(100)	71.4
15~19	26	1	0	0	3	4	3	5	2	5	3	25	(96.2)	131.6
20~24	29	0	1	1	1	5	6	9	4	1	1	29	(100)	81.3
25~29	23	0	0	2	4	3	6	6	2	0	0	23	(100)	51.8
30~34	15	0	0	0	2	4	3	2	3	1	0	15	(100)	73.5
35~39	25	0	0	0	2	2	8	7	6	0	0	25	(100)	91.8
40~49	26	0	0	3	4	5	4	5	2	2	1	26	(100)	59.1
50~59	22	1	0	2	3	4	5	5	2	0	0	21	(95.5)	50.8
60~	25	1	1	1	2	6	3	6	4	0	1	24	(96.0)	65.9
合計	312	8	2	10	25	41	55	63	46	27	35	304	(97.4)	112.4
(%)		(2.6)	(0.6)	(3.2)	(8.0)	(13.1)	(17.6)	(20.2)	(14.7)	(8.7)	(11.2)	(97.4)		

3型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	34	13	1	1	2	0	2	4	3	3	5	21	(61.8)	161.3
2~3	33	4	1	1	1	5	3	3	10	4	1	29	(87.9)	116.3
4~9	34	10	1	3	4	3	4	3	3	2	1	24	(70.6)	55.4
10~14	19	5	1	2	4	3	1	2	0	1	0	14	(73.7)	29.0
15~19	26	2	0	0	1	9	4	5	3	1	1	24	(92.3)	78.3
20~24	29	5	0	2	5	4	5	5	2	1	0	24	(82.8)	50.8
25~29	23	9	1	1	5	4	1	2	0	0	0	14	(60.9)	25.0
30~34	15	0	0	3	2	5	3	1	1	0	0	15	(100)	32.0
35~39	25	7	0	7	4	2	4	1	0	0	0	18	(72.0)	20.2
40~49	26	6	3	4	4	2	3	1	1	1	1	20	(76.9)	27.9
50~59	22	1	1	1	3	3	3	4	4	1	1	21	(95.5)	70.7
60~	25	1	0	3	1	4	4	8	2	2	0	24	(96.0)	69.8
合計	311	63	9	28	36	44	37	39	29	16	10	248	(79.7)	55.5
(%)		(20.2)	(2.9)	(9.0)	(11.5)	(14.1)	(11.9)	(12.5)	(9.3)	(5.1)	(3.2)	(79.5)		

表3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1型		ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0~1	34	14 / 14	(100)	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	4 / 6	66.7		
2~3	34	33 / 33	(100)	1 / 1	(100)						
4~9	34	28 / 29	(96.6)	1 / 2	(50.0)	3 / 3	(100)				
10~14	19	17 / 17	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)				
15~19	26	25 / 25	(100)	1 / 1	(100)						
20~24	29	13 / 14	(92.9)			1 / 1	(100)			14 / 14	(100)
25~29	23	3 / 3	(100)			3 / 3	(100)	2 / 2	(100)	14 / 15	(93.3)
30~34	15							1 / 1	(100)	14 / 14	(100)
35~39	25					3 / 3	(100)	1 / 2	(50.0)	20 / 20	(100)
40~49	26					2 / 2	(100)	3 / 3	(100)	17 / 21	(81.0)
50~59	22					2 / 2	(100)	2 / 2	(100)	17 / 18	(94.4)
60~	25					2 / 2	(100)	5 / 5	(100)	18 / 18	(100)
合計	312	133 / 135	(98.5)	17 / 18	(94.4)	18 / 18	(100)	18 / 21	(85.7)	114 / 120	(95.0)
				168/172	(97.7%)						

2型		ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0~1	34	14 / 14	(100)	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 6	(16.7)		
2~3	34	33 / 33	(100)	1 / 1	(100)						
4~9	34	29 / 29	(100)	2 / 2	(100)	3 / 3	(100)				
10~14	19	17 / 17	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)				
15~19	26	24 / 25	(96.0)	1 / 1	(100)						
20~24	29	14 / 14	(100)			1 / 1	(100)			14 / 14	(100)
25~29	23	3 / 3	(100)			3 / 3	(100)	2 / 2	(100)	15 / 15	(100)
30~34	15							1 / 1	(100)	14 / 14	(100)
35~39	25					3 / 3	(100)	2 / 2	(100)	20 / 20	(100)
40~49	26					2 / 2	(100)	3 / 3	(100)	21 / 21	(100)
50~59	22					2 / 2	(100)	1 / 2	(50.0)	18 / 18	(100)
60~	25					2 / 2	(100)	5 / 5	(100)	17 / 18	(94.4)
合計	312	134 / 135	(99.3)	18 / 18	(100)	18 / 18	(100)	15 / 21	(71.4)	119 / 120	(99.2)
				170/172	(98.8%)						

3型		ワクチン接種歴あり						ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回接種		1回接種		回数不明		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)				
0~1	34	13 / 14	(92.9)	7 / 13	(53.8)	0 / 1	(0)	1 / 6	(16.7)		
2~3	33	28 / 32	(87.5)	1 / 1	(100)						
4~9	34	21 / 29	(72.4)	0 / 2	(0)	3 / 3	(100)				
10~14	19	13 / 17	(76.5)	1 / 1	(100)	0 / 1	(0)				
15~19	26	23 / 25	(92.0)	1 / 1	(100)						
20~24	29	12 / 14	(85.7)			1 / 1	(100)			12 / 14	(85.7)
25~29	23	1 / 3	(33.3)			3 / 3	(100)	1 / 2	(50.0)	9 / 15	(60.0)
30~34	15							1 / 1	(100)	14 / 14	(100)
35~39	25					2 / 3	(66.7)	1 / 2	(50.0)	15 / 20	(75.0)
40~49	26					2 / 2	(100)	3 / 3	(100)	15 / 21	(71.4)
50~59	22					1 / 2	(50.0)	2 / 2	(100)	18 / 18	(100)
60~	25					2 / 2	(100)	4 / 5	(80.0)	18 / 18	(100)
合計	311	111 / 134	(82.8)	10 / 18	(55.6)	14 / 18	(77.8)	13 / 21	(61.9)	101 / 120	(84.2)
				135/171	(78.9%)						

は、1回の接種で100% (18/18)、2回の接種で99% (134/135)といずれも高値を示した。一方、3型の場合の抗体保有率は、1回の接種で55.6% (10/18)、2回の接種で82.8% (111/134)といずれも1、2型に比し低値であった。ポリオの弱毒生ワクチンは1型、2型、3型の3種類のウイルスを同時に接種するため、ウイルスの干渉作用により、2型に比べ1型、さらに3型のポリオウイルスに対する免疫が得ら

れにくいことが報告されている [8, 9]。一方、ワクチン接種を重ねるに従い3型のポリオウイルスに対する中和抗体保有率が上昇し、3回以上の接種で100% 近くなることも報告されている [10]。不活化ワクチンへの移行が抗体保有状況にどのような影響を及ぼすかは、今後の推移を見ていく必要がある。

表4に1、2、3型ポリオウイルスに対する中和抗

表4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 すべて 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数							1,2,3型(%)
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型		
0～1	34	2	3	0	0	8	0	0	21	(61.8)
2～3	33	0	0	0	0	4	0	0	29	(87.9)
4～9	34	0	0	1	0	9	2	0	22	(64.7)
10～14	19	0	0	0	0	5	0	0	14	(73.7)
15～19	26	0	0	0	0	2	0	1	23	(88.5)
20～24	29	0	0	1	0	4	0	0	24	(82.8)
25～29	23	0	0	0	0	9	1	0	13	(56.5)
30～34	15	0	0	0	0	0	0	0	15	(100)
35～39	25	0	1	1	0	6	0	0	18	(72.0)
40～49	26	0	0	0	0	6	4	0	16	(61.5)
50～59	22	0	0	0	0	1	1	1	19	(86.4)
60～	25	0	0	0	0	1	0	1	23	(92.0)
合計 (%)	311 (100)	2 (0.6)	3 (1.0)	3 (1.0)	0 (0)	55 (17.7)	8 (2.6)	3 (1.0)	237 (76.2)	

体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では76.2% (237/311)であったが、25～29歳と40～49歳とがそれぞれ56.5% (13/23)、61.5% (16/26)、0～1歳が61.8% (21/34)、4～5歳が64.7% (22/34)と比較的低い値を示した。いずれも3型に対する中和抗体保有状況と相関している (表2)。

現在、5カ国で検出されているWPVは主に1型であり、2型は1999年以降、3型は2012年11月以降検出されていない [1]。一方、8カ国で検出されているcVDPVは2型が主であり、1型は2011年6月以降、3型は2012年8月以降検出されていない [2]。このように2型cVDPVが主流となっている一因として、1型および近年まで発生していた3型WPVを対象とした1価、あるいは2価の生ワクチンが使用されるために、2型に対する集団免疫能が低下していることが推定されている [11]。

本調査結果は、県内において1型、2型に対する高い抗体保有状況が維持されていることを示している。したがって、県内へのWPV、cVDPVの侵入及び伝播の可能性は、現時点では極めて低いも

のと考えられる。一方、不活化ワクチンへの移行期に生ワクチンの接種控えが全国的に認められている (平成24年度の春期で67.2%の接種率) [12]。小矢部地区での春季のワクチン接種率も、昨年の91.6%から81.5%へと減少していることから、県内においてもワクチン未接種児の増加によって感受性世代が生じることのないよう、今後注意が必要と考えられる。

世界では、まだ生ワクチンを使用している国も存在する [13, 14]。不活化ワクチンを使用している国において、環境水サーベイランスにより下水からワクチン株やVDPVが検出された例も報告されている [15, 16]。抗体保有率の低い血清型があると、前述したように、それに対応する血清型のcVDPVが伝播する可能性も考えられる。したがって、世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチンが使用されなくなるまでは、ウイルスの侵入や地域伝播を防ぐために、今後もすべての型に対する高い集団免疫を保ち、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。

ま と め

感染源調査：平成24年9月，平成25年2月に，健康な乳幼児82名の糞便についてポリオウイルスの検査を実施した。その結果，ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：0歳から87歳までの315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95.8%，2型97.4%，3型79.7%であった。また，抗体保有者の幾何平均抗体価は1型245.0倍，2型112.4倍，3型55.5倍を示した。

謝 辞

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

文 献

1. WHO(2013). Weekly epidemiological record, 88, 181-188
2. CDC(2911), MMWR, 60, 846-850
3. WHO(2007). Weekly epidemiological record, 82, 337-344
4. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会(2002). 感染症流行予測調査事業検査術式, 1-8
5. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課(2009). 病原微生物検出情報, 30, 178-180
6. 厚生労働省, 国立感染症研究所(2001). 感染症発生動向調査週報, 3(26), 8-11
7. 厚生労働省(2012), ポリオワクチン (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/>)
8. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al.(1997). J. Infect. Dis., 175, 545-553
9. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩ら(1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
10. Modlin, J. F., Halsey, N. A., Thoms, M. L. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228-234
11. Wassilak, W., Pate, M.A., Wannemuehler, K., et. al. (2011). J. Infect. Dis., 203, 898-909
12. 厚生労働省健康局 結核感染症課(2012). 平成

24年度春 急性灰白髄炎(ポリオ)予防接種率の調査結果まとめ(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/dl/121102-1.pdf>)

13. 清水博之(2011). 日本臨床, 69, 1604-1608
14. WHO(2010). WHO vaccine-preventable disease monitoring system, 2010 global summary, 50-242
15. Zurbriggen, S., Tobler, K., Abril, C. et. al. (2008). Appl. Environ. Microbiol., 74, 5608-5614
16. Roivainen, M., Blomqvist, S., al-Hellol, H. et. al. (2010). Euro Surveill. 15(19): pii=19566

インフルエンザ流行予測調査(平成24年度)

小渕 正次 堀元 栄詞 稲崎 倫子 名古屋真弓 板持 雅恵
滝澤 剛則 大井 哲夫¹ 南部 厚子² 大西さやか³
川越久美子⁴ 高道江里子⁵ 関口 健治⁶

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2012-2013

Masatsugu OBUCHI, Eiji HORIMOTO, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU², Sayaka OONISHI³, Kumiko KAWAGOSHI⁴, Eriko TAKAMICHI⁵ and Kenji SEKIGUCHI⁶

インフルエンザの流行の予測と予防に資することを目的として、インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現状把握(I感受性調査)とウイルス検索(II感染源調査)を行った。本調査は、厚生労働省結核感染症課が主体となり、全国の地方衛生研究所、保健所、医療機関等が協力して実施した。

対象および方法

I 感受性調査

1. 調査期間

2012年4～10月

2. 調査対象者数および年齢別構成

本年度は県内住民315名について調査を行った。年齢群別調査数は0～4歳：78名、5～9歳：27名、10～14歳：19名、15～19歳：26名、20～29歳：52名、30～39歳：40名、40～49歳：26名、50～59歳：22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(平成14年発行)」に準じて行い、血清希釈10倍を最低希釈倍数とした。

抗原は、次の4種類を使用した。このうち、1, 2, 3は2012/13シーズンのインフルエンザワクチン株である。

1. A/California/7/2009(H1N1)pdm09
2. A/Victoria/361/2011(H3N2)
3. B/Wisconsin/1/2010(山形系統)
4. B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)

抗原はデンカ生研製を使用した。血球は0.5%ニワトリ血球浮遊液を使用した。

II 感染源調査

1. 調査期間

2012年9月～2013年5月

2. 調査対象

定点医療機関として、二本垣医院(黒部市)、中村内科クリニック(上市町)、小栗小児科医院(高岡市)、おおしまこどもクリニック(射水市)、力耕会金井医院(砺波市)、柳下小児科内科医院(砺波市)、中島こどもクリニック(富山市)、むらかみ小児科アレルギークリニック(富山市)の協力を得た。一部、定点外医療機関において採取された検体も調査の対象とした。

3. 検査方法

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

1. 抗 A/California/7/2009(H1N1) pdm09血清
2. 抗 A/Victoria/361/2011(H3N2) 血清
3. 抗 B/Wisconsin/1/2010(山形系統) 血清
4. 抗 B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統) 血清

血球は0.75%モルモット血球浮遊液を使用した。

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

結果および考察

I 感受性調査

1. 年齢群別抗体保有状況

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

(1) A/California/7/2009(H1N1)pdm09に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均40.0%であった。年齢群別では、5～9歳、10～14歳、15～19歳の群ではそれぞれ63.0%、68.4%、61.5%と高く、20～29歳の群でも55.8%と比較的高かった。30～39歳、50～59歳、60歳以上の群ではそれぞれ32.5%、27.3%、36.0%と中程度であった。一方、0～4歳および40～49歳の群では24.4%、15.4%と比較的低かった。

(2) A/Victoria/361/2011(H3N2)に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は平均37.5%であった。年齢群別では、5～9歳の群で74.1%と高く、15～19歳、20～29歳、30～39歳の群でもそれぞれ50.0%、50.0%、40.0%と比較的高かった。10～14歳および60歳以上の群では31.6%、32.0%と中程度であった。一方、0～4歳、40～49歳、50～59歳の群ではそれぞれ23.1%、23.1%、22.7%と比較的低かった。

(3) B/Wisconsin/1/2010(山形系統)に対する抗体保有率

B 型インフルエンザウイルスには、抗原的および遺伝系統的に異なる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14.3%であった。年齢群別では、10～14歳の群では42.1%と比較的高く、20～29歳の群では36.5%と中程度であった。一方、15～19歳、30～39歳、60歳以上の群ではそれぞれ15.4%、12.5%、16.0%と比較的低かった。さらに、40～49歳および50～59歳の群では7.7%、9.1%と低く、0～4歳および5～9歳の群では0%、3.7%と極めて低かった。

(4) B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)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34.9%であった。年齢群別では、10～14歳の群で68.4%と高く、5～9歳および30～39歳の群でも59.3%、55.0%と比較的高かった。15～19歳、20～29歳、40～49歳および60歳以上の群ではそれぞれ38.5%、34.6%、26.9%、36.0%と中程度であった。一方、0～4歳および50～59歳の群では12.8%、22.7%と比較的低かった。

A/California/7/2009(H1N1)pdm09に対する HI 抗体価40倍以上の抗体保有率は、昨年度の調査と比較して若干低かった(昨年度:23.9～92.0%) [1]。AH3N2亜型に対する抗体保有率は、年齢群によって差がみられたものの(22.7～74.1%)、大半は中程度～高い保有率を示した。これは、前シーズンに AH3N2亜型が流行の主流になったことによるものと考えられた。一方、B 型に対する抗体保有率は、A 型と比較していずれの年齢群においても低い傾向がみられた。特に山形系統株に対する抗体保有率は低かった。過去数シーズンにおいて、山形系統株の流行がほとんどなかったことや、同株が2009/10シーズン以降のワクチンに含まれないことなどがその一因と考えられた。したがって、同ウイルスが流行した場合は患者数が多くなる懸念された。

また、従来からの調査と同様に、0～4歳の年齢群においては他の年齢群よりも抗体保有率が低いことから、インフルエンザに対する注意が必要であると考えられた。

2. 予防接種歴別抗体保有状況

各年齢群における予防接種歴別抗体保有率を表2に示す。調査対象者315名中、予防接種歴不明の12名を除く303名におけるインフルエンザワクチン接種率(採血時に2011/12年シーズンのワクチン接種歴有りと回答した者)は49.8%(151名)であった。年齢群別の接種率は32.0(40～49歳)～76.0(5～9歳)%で、各年齢群間で最大44ポイントの差がみられた。

全年齢群における平均抗体保有率を予防接種歴別に見ると、A/California/7/2009(H1N1)pdm09で57.6%:25.0%(接種歴有群:接種歴無群、以下同)、A/Victoria/361/2011(H3N2)で45.0%:30.3%、B/Wisconsin/1/2010(山形系統)で17.9%:11.8%、B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)で43.7%:27.6%と全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して6.1～32.6ポイント高かった。

今回の調査で、40～49歳の群において最も接種

表1. 年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況

A/California/7/2009 (H1N1)pdm09

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	78	46	7	6	8	5	2	3	1	0	0	19	24.4	
5-9	27	4	3	3	2	6	5	3	1	0	0	17	63.0	
10-14	19	1	2	3	6	4	3	0	0	0	0	13	68.4	
15-19	26	5	3	2	3	5	4	3	1	0	0	16	61.5	
20-29	52	17	2	4	8	8	11	1	1	0	0	29	55.8	
30-39	40	14	5	8	5	1	5	2	0	0	0	13	32.5	
40-49	26	11	6	5	2	1	1	0	0	0	0	4	15.4	
50-59	22	11	2	3	4	2	0	0	0	0	0	6	27.3	
≥60	25	9	3	4	3	4	1	1	0	0	0	9	36.0	
合計	315	118	33	38	41	36	32	13	4	0	0	126	40.0	

A/Victoria/361/2011 (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	78	46	6	8	2	6	7	2	1	0	0	18	23.1	
5-9	27	4	1	2	7	9	2	1	1	0	0	20	74.1	
10-14	19	8	5	0	3	1	1	1	0	0	0	6	31.6	
15-19	26	8	2	3	5	4	2	2	0	0	0	13	50.0	
20-29	52	8	4	14	12	10	3	1	0	0	0	26	50.0	
30-39	40	17	3	4	10	3	2	1	0	0	0	16	40.0	
40-49	26	12	5	3	6	0	0	0	0	0	0	6	23.1	
50-59	22	9	5	3	1	3	0	1	0	0	0	5	22.7	
≥60	25	6	4	7	6	2	0	0	0	0	0	8	32.0	
合計	315	118	35	44	52	38	17	9	2	0	0	118	37.5	

B/Wisconsin/01/2010(山形系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	78	68	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0	
5-9	27	14	8	4	0	0	0	1	0	0	0	1	3.7	
10-14	19	3	2	6	6	2	0	0	0	0	0	8	42.1	
15-19	26	10	7	5	3	0	1	0	0	0	0	4	15.4	
20-29	52	4	13	16	11	7	1	0	0	0	0	19	36.5	
30-39	40	9	17	9	5	0	0	0	0	0	0	5	12.5	
40-49	26	11	9	4	1	1	0	0	0	0	0	2	7.7	
50-59	22	14	3	3	1	1	0	0	0	0	0	2	9.1	
≥60	25	12	7	2	2	2	0	0	0	0	0	4	16.0	
合計	315	145	71	54	29	13	2	1	0	0	0	45	14.3	

B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	78	33	19	16	7	2	0	1	0	0	0	10	12.8	
5-9	27	4	2	5	11	4	1	0	0	0	0	16	59.3	
10-14	19	0	2	4	9	4	0	0	0	0	0	13	68.4	
15-19	26	4	8	4	10	0	0	0	0	0	0	10	38.5	
20-29	52	1	15	18	12	6	0	0	0	0	0	18	34.6	
30-39	40	3	4	11	11	9	2	0	0	0	0	22	55.0	
40-49	26	0	9	10	5	1	1	0	0	0	0	7	26.9	
50-59	22	1	9	7	4	0	0	1	0	0	0	5	22.7	
≥60	25	1	10	5	5	4	0	0	0	0	0	9	36.0	
合計	315	47	78	80	74	30	4	2	0	0	0	110	34.9	

表2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率(抗体価40倍以上)

抗原	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09		A/Victoria/361/2011 (H3N2)		B/Wisconsin/1/2010(山形系統)		B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)		
	有	無	有	無	有	無	有	無	
年齢区分	0-4	40.0%	9.1%	20.0%	27.3%	0.0%	0.0%	17.5%	9.1%
	5-9	73.7%	50.0%	73.7%	83.3%	5.3%	0.0%	63.2%	50.0%
	10-14	75.0%	57.1%	41.7%	14.3%	50.0%	28.6%	75.0%	57.1%
	15-19	75.0%	50.0%	41.7%	50.0%	25.0%	8.3%	41.7%	33.3%
	20-29	87.0%	31.0%	69.6%	34.5%	43.5%	31.0%	39.1%	31.0%
	30-39	50.0%	21.7%	68.8%	21.7%	18.8%	8.7%	75.0%	43.5%
	40-49	37.5%	5.9%	62.5%	5.9%	25.0%	0.0%	62.5%	11.8%
	50-59	62.5%	7.1%	12.5%	28.6%	12.5%	7.1%	37.5%	14.3%
	≥60	23.1%	54.5%	23.1%	45.5%	7.7%	27.3%	30.8%	45.5%
全体	57.6%	25.0%	45.0%	30.3%	17.9%	11.8%	43.7%	27.6%	

率が低く、接種歴有群と無群で抗体保有率に大きな差が見られた(表2)。したがって、この年齢群ではインフルエンザワクチンの接種が望まれる。

II 感染源調査

1. インフルエンザ患者の報告数

富山県感染症発生動向調査によると、2012/13シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は2012年第36週(9/3~9/9)であった。散発流行の後、第51週(12/17~23)には定点あたり1.08人となり、流行が始まった。2013年第2週(1/7~13)から患者報告数が急増し、第5週(1/28~2/3)にピークに達した(34.92人/定点)。その後徐々に減少し、第24週(6/10~16)には0.54人/定点となり、流行は終息した。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、2012年12月13日(第50週)から2013年5月30日(第22週)までに延べ133施設でとられた。シーズン中の累積患者数は2585名であった。

2012/13シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行開始時期や流行規模は前シーズンとほぼ同様であったが、流行の終息は前シーズンよりも1カ月遅かった。これは、5月以降もB型の流行が続いたことによるものであった[2]。この現象は他県ではみられなかったが、その違いが生じた理由は明らかではない。

2. インフルエンザウイルスの検出・分離

2012年9月~2013年5月までに、定点および定点外医療機関で採取された246検体についてインフルエンザウイルスの分離・遺伝子検出を試みた。成績を表3に示す。ウイルスの型・亜型別では、

AH1N1pdm09が2株(0.9%)、AH3亜型が164株(70.7%)、B型が66株(28.4%)の合計232株が分離された。AH3亜型が流行の主流であったが、第12週(3/18~24)以降はB型が分離株の大半を占めた(図1)。AH1N1pdm09が2シーズンぶりに2株分離されたが(富山市1株、高岡市1株)、検体採取時期が異なっていることから(第6週、第14週)、別個にAH1N1pdm09の散発流行があったことが示唆された。しかし、AH1N1pdm09による流行の拡大はみられなかった。AH3亜型とB型の分離比率は前シーズンとほぼ同じであった[1]。B型分離株における山形系統とビクトリア系統の比率は7.7:2.3で、前シーズンと比較して山形系統の割合が高かった。一方、AH1N1ソ連型は前シーズンと同様に全く検出されなかった。

HI試験において、ほとんどの分離株が参照株のホモ価から4倍以内におさまった。しかし、2012/13シーズンより抗血清が従来のフェレット感染血清からウサギ免疫血清に変更されたことから、ワクチン株に対する分離株の抗原性のずれは判定できなかった。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた二本垣医院、中村内科クリニック、小栗小児科医院、おおしまこどもクリニック、力耕会金井医院、柳下小児科内科医院、住田小児科医院、中島こどもクリニック、むらかみ小児科アレルギークリニックならびに南砺市民病院に深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

表 3. 施設別インフルエンザウイルス検出・分離数

管轄厚生セン ター・保 健所等	検体採取施設	区分	ウイルス検査					
			咽頭(鼻腔)ぬぐい液		ウイルス検出			
			採取日	検体数	検出数	型別内訳		
					AH1pdm	AH3	B	
新川	二本垣医院	定点	2013.2.2~ 2013.3.14	4	4	0	3	1
中部	中村内科クリニック	定点	2012.12.22~ 2013.4.17	10	10	0	8	2
高岡	小栗小児科医院	定点	2013.1.11~ 2013.5.22	34	33	1	21	11
高岡	おおしまこどもクリニック	定点	2013.1.5~ 2013.5.28	40	37	0	18	19
砺波	力耕会 金井病院	定点	2012.9.27~ 2013.5.25	83	81	0	66	15
砺波	柳下小児科内科医院	定点	2012.12.11~ 2013.4.4	8	8	0	6	2
砺波	住田小児科医院	定点外	2012.9.29	1	1	0	1	0
富山市	中島こどもクリニック	定点	2013.1.18~ 2013.3.9	13	12	0	10	2
富山市	むらかみ小児科アレルギークリニック	定点	2012.12.21~ 2013.4.24	51	45	1	30	14
砺波	南砺市民病院	定点外	2013.4.9	2	1	0	1	0
合計				246	232	2	164	66

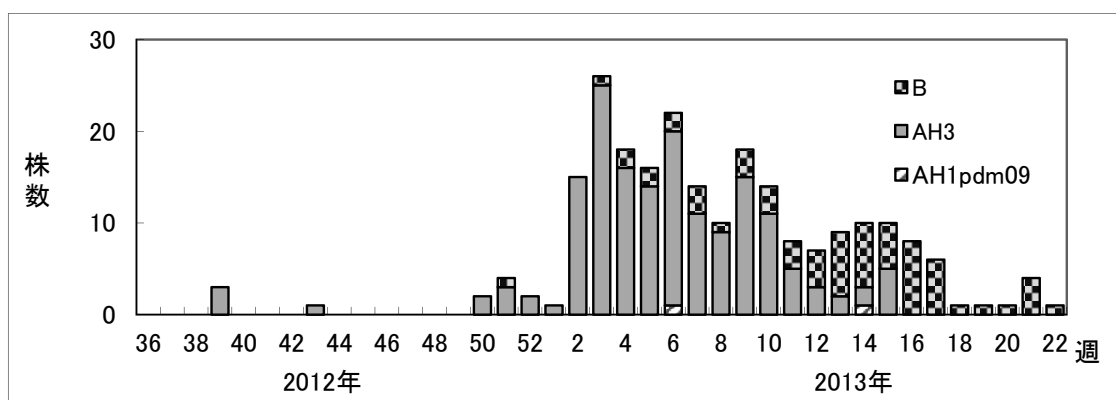


図 1. 週別・型別インフルエンザウイルス検出・分離数

文 献

1. 小淵正次, 堀元栄詞, 名古屋(小原)真弓, 板持(岩井)雅恵, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 星山典江, 關口健治 (2012) 富山県衛生研究所年報. 35, 68-73
2. 富山県衛生研究所感染症情報センター (2013). 感染症発生動向調査速報 <http://www.pref.toyama.jp/branches/1279/kansen/sokuhou/sokuhou.html>

富山県におけるエンテロウイルスの検出状況(平成24年度)

嶋 一世 板持 雅恵 堀元 栄詞 稲崎 倫子 名古屋真弓
小淵 正次 滝澤 剛則

Enterovirus detected from specimens of human and law sewage in the fiscal year 2012 in
Toyama Prefecture

Ichiyo SHIMA, Masae ITAMOCHI, Eiji HORIMOTO, Noriko INASAKI, Mayumi
OBARA-NAGOYA, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA

ポリオウイルス, コクサッキーウイルス A 群, コクサッキーウイルス B 群, エンテロウイルス71 型(EV71), エコーウイルスなどのエンテロウイルスは, 主に経口感染によってヒトの間を伝播し, 風邪様症状, 手足口病, ヘルパンギーナ, 無菌性髄膜炎, 脳炎・脳症, 胃腸炎等, 様々な疾患の原因となる[1]. 一方, エンテロウイルスには不顕性感染も多い[1]. エンテロウイルスの流行状況は年ごとに異なり, また, 各ウイルスによって病原性が異なることも報告されているため[1], 流行しているウイルスを把握することは, 公衆衛生上重要であると考えられる.

ヒトの腸管で増殖したウイルスは便中に排泄されるため, 下水流入水には顕性, 不顕性感染者からの様々な種類の腸管系ウイルスが存在すると予想される. これまでの調査で, 下水流入水には, 地域で流行しているエンテロウイルス, アデノウイルス, ノロウイルス, サポウイルスなど多種類のウイルスが存在することを報告した[2, 3].

平成24年度は, 手足口病, ヘルパンギーナ, 無菌性髄膜炎の患者発生動向と, ヒト検体及び下水流入水から分離されたエンテロウイルスとを比較したので報告する.

材料と方法

1. 感染症発生動向調査患者数

平成24年4月～25年3月の間のヘルパンギーナ, 手足口病の患者数は小児科定点医療機関から, また, 無菌性髄膜炎の患者数は基幹定点医療機関から週ごとに管轄厚生センターに報告された数を富山県感染症情報センターにおいて集計した.

2. 感染症発生動向調査患者検体

平成24年4月～25年3月に, 小児科定点医療機関あるいは基幹定点医療機関等から当所で受け付け

た患者検体を対象とした. 検体は管轄厚生センターが搬入した.

3. 感染症流行予測調査(ポリオ感染源調査)

平成24年度の実施要領に従い実施した[4].

4. 下水流入水の採取と濃縮

平成24年4月～25年3月の間に, 県西部に位置する下水処理場において, 月1回, 下水流入水を2リットル採取した. 採取した下水流入水は, 3000rpm, 30分間遠心し上清を回収後, 既報に従い濃縮した[2].

5. ウイルス分離・同定

ヒト検体, ウイルス濃縮液を, 24ウェルプレートの培養細胞(Vero, MA104, RD-18S, HEp-2, CaCo-2, L20B)に接種し, 細胞変性効果を指標としてウイルス分離を行った. 分離ウイルスの同定は, 抗エンテロウイルス血清(国立感染症研究所分与, デンカ生研), 抗アデノウイルス血清(デンカ生研)を用いた中和試験によって行った[2].

ポリオウイルス分離株は, 既報に従ってVP1領域の塩基配列を解析し, ワクチン株 Sabin1, Sabin2, Sabin3のVP1と比較した[2].

結果および考察

1. 手足口病, ヘルパンギーナの患者発生動向調査

平成24年度では, ヘルパンギーナは第25週から増加し始め, 30-32週に大きなピークを迎え, 41週にはほぼ収束する流行状況を示した(図1). 手足口病も, ヘルパンギーナと同じ時期に低い2峰性のピークと第51週前後に低いピークを示す流行を示した(図1). 無菌性髄膜炎の報告は, 第21, 24週にそれぞれ1例の報告があったのみだった. ヘルパンギーナと手足口病の発生動向は全国とほぼ同様の傾向だった[5].

2. 発生動向調査検体, 感染症流行予測調査(ポリオ感染源調査)検体からのエンテロウイルス等の検出状況

平成24年度の発生動向調査(無菌性髄膜炎, 感染性胃腸炎, 麻疹疑い, 心外膜炎等), および感染症流行予測調査(ポリオ感染源調査)におけるヒト検体から分離されたウイルスを示した(図2)。5月に検出されたポリオウイルス3型は, 後述する下水から検出されたポリオウイルスと同様, ワクチン様株であった。生ワクチンの接種時期であったため, 不顕性に感染したものと考えられた。9, 10月にエコーウイルス7型(E7)がヒト検体から検出され, これらのうちひとつは心外膜炎患者検体であった。上記以外に, E9, コクサッキーウイルス A16型(CA16), また, エンテロウイルス以外のウイルスとして, A群ロタウイルス, アデノウイルス2型, ヒトパレコウイルス1型が検出された。

平成24年度に手足口病から検出されたウイルスとして, 全国からEV71, CA16, CA10, エコーウイルス(型不明)などが報告されている[6]。ヘル

パンギーナからは, CA4, CA5, CA2, CA12, CA9, CA6, CA8, コクサッキーウイルス B5型(CB5), CB4, CB2など多種のウイルスが報告されている[7]。富山県では, 平成24年度は手足口病およびヘルパンギーナの検体の搬入は無かった。前述したCA16は, 不顕性感染者からの検出であった。

3. 下水流入水からのエンテロウイルス等の検出状況

乳幼児への生ワクチン接種時期である5月と, その翌月の6月に採取された下水流入水から, ポリオウイルス1, 2, 3型がそれぞれ3, 4, 4株分離された(図3)。これらのウイルスは, VP1領域の塩基配列のワクチン株との相違がいずれも1%未満であったため, 全てワクチン様株であった。9月以降の下水流入水からは, ポリオウイルスが検出されていないのは, 9月からポリオワクチンの定期接種が不活化ワクチンに切り替えられたことによるものと考えられる。したがって, 下水流入水は, ポリオワクチン接種状況をよく反映しているものと考

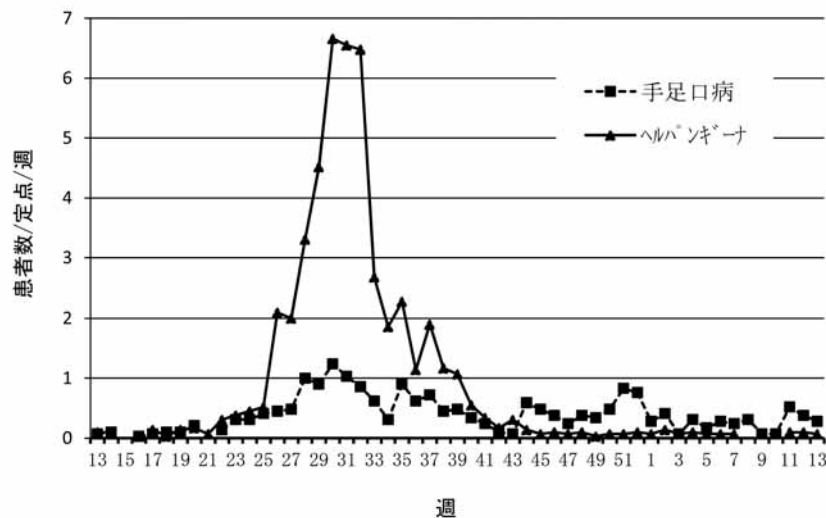


図1. 富山県における手足口病、ヘルパンギーナの患者発生動向(平成24年度)

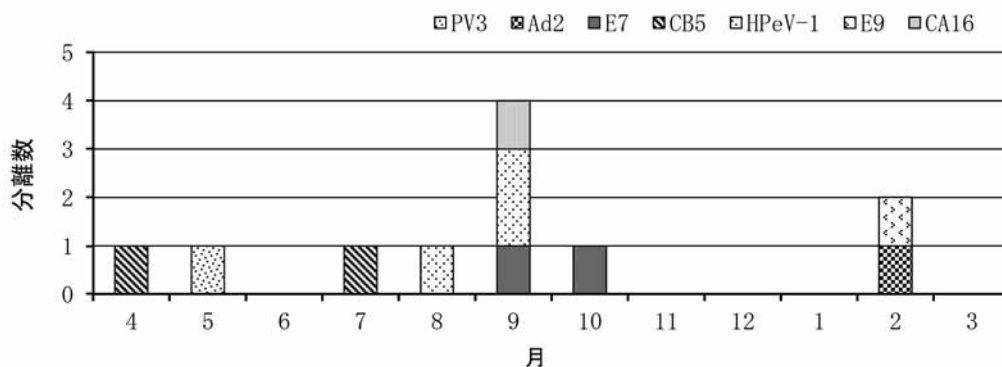


図2. 富山県におけるヒト検体からのエンテロウイルス等分離状況(平成24年度)

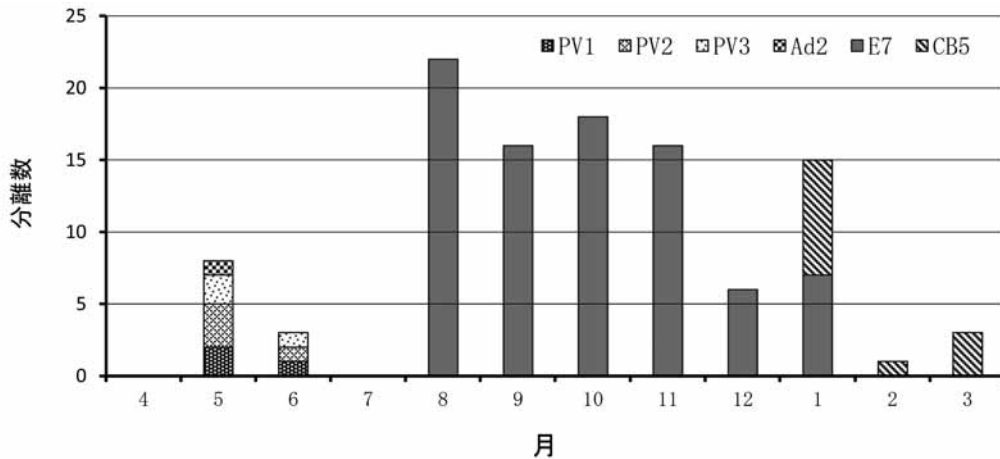


図3. 富山県における下水流入水からのエンテロウイルス等分離状況(平成24年度)

えられた。

平成24年8月～25年1月にかけてE7が多数分離され、その後、1月～3月にCB5が分離された(図3)。E7は前述したように、心外膜炎患者の検体からも検出されているため、ヒトに病原性を有していると考えられるが、多数の不顕性感染者も県内に存在していたものと推定される。CB5も無菌性髄膜炎患者の検体から検出されているため、病原性を有していると考えられるが、E7と同様に多数の不顕性感染者が存在しているものと推定される。これまでエコーウイルスは、特定の血清型が複数年にわたり流行する傾向を示している[8, 9]。平成14～15年に見られたE13の流行では、若年者層での抗体保有率の増加が、流行の収束の要因であったことが推定されている[10]。今回認められているE7の流行は、ウイルスが検出され始めて1年以内であるため、まだ暫く推移を注視する必要があると考えられる。CB5はこれまでも下水流入水及び患者検体から断続的に検出されており[2]、現在もそれが継続しているものと推定される。このように下水流入水は、無菌性髄膜炎等の主な原因ウイルスであるエコーウイルスやコクサッキーウイルスB群の発生状況を、不顕性感染も含めてよく反映しているものと考えられる。

下水流入水からは、手足口病やヘルパンギーナの主な原因となるEV71やコクサッキーウイルスA群は検出されなかった。県内でも両疾患が発生していることから、下水流入水中にもこれらの原因ウイルスが含まれていると推定されるが、これらはエコーウイルスやコクサッキーウイルスB群に比し分離が困難であるため、検出されていないものと考えられる。EV71やコクサッキーウイルスA群に対して特異的なPCRプライマーを用い

るか、あるいは汎用プライマーによるPCR産物を網羅的に解析する必要があると考えられる。

ま と め

平成24年度の手足口病、ヘルパンギーナの患者発生動向と、発生動向調査、ポリオ流行予測調査(感染源調査)、下水流入水等の検体から分離されたエンテロウイルスを比較した。下水流入水から検出されるエンテロウイルスは、ポリオ生ワクチンの定期接種や無菌性髄膜炎等の原因ウイルスを反映していると考えられたが、手足口病やヘルパンギーナの主な原因ウイルスは反映しておらず、ウイルスの検出方法を検討する必要があると考えられた。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた医療機関、厚生センター、富山市保健所、保育所、富山県都市計画課、富山県下水道公社、その他関係各位に深謝いたします。

文 献

- White, D.O., Fenner, F.J.(1996). 医学ウイルス学<第4版>(北村敬訳), p349-352 近代出版
- 岩井雅恵, 中村一哉, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 倉田毅, 滝澤剛則. (2008). 富山県衛生研究所年報, 31, 96-103
- 岩井雅恵, 中村一哉, 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 倉田毅, 滝澤剛則. (2009). 富山県衛

- 生研究所年報, 32, 135-137
4. 嶋 一世, 板持雅恵, 堀元栄詞, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 小渕正次, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 大西さやか, 川越久美子, 高道江里子, 關口健治. (2012). 富山県衛生研究所年報, 35, 104-109
 5. 厚生労働省, 国立感染症研究所. (2013). 感染症週報 第24週(6月10日～6月16日), 通巻第15巻第24号
 6. 厚生労働省, 国立感染症研究所. (2013). 病原微生物検出情報(7月8日)<https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data115j.pdf>
 7. 厚生労働省, 国立感染症研究所. (2013). 病原微生物検出情報(7月8日) <https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data26j.pdf>
 8. Iwai, M., Hasegawa, S., Obara, M., Nakamura, K., Horimoto, E., Takizawa, T., Kurata, T., Sogen, S., Shiraki, K.(2009). *Appl. Environ. Microbiol.* 75, 1264-1270
 9. Iwai, M., Horimoto, E., Obara, M., Obuchi, M., Kurata, T., Kawagoshi, K., Nakamura, S., Shimizu, H., Yoshida, H., Takizawa, T.(2011). *Jap. J. Infect. Dis.* 64(2), 163-167
 10. Iwai, M., Yoshida, H., Obara, M., Horimoto, E., Hasegawa, S., Nakamura, K, Takizawa, T, Kurata, T, Mizoguchi, M, Daikoku, T, Shiraki, K.(2010). *Clin. Vaccine Immunol.* 17, 764-770

富山県における平成24年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

稲崎 倫子 板持 雅恵 名古屋真弓 嶋 一世 堀元 栄詞
小淵 正次 滝澤 剛則

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2012

Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Ichiyo SHIMA,
Eiji HORIMOTO, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA

富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生動向調査や行政依頼検査、一般依頼検査など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、平成24年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する。検査は、検体の種類や状態に応じて、常法に従い実施した。

平成24年4月から平成25年3月までに受け付けた被検者は延べ628例、検体別では糞便(直腸拭い液を含む)353、咽頭または鼻腔拭い液254、髄液16、尿12、血液(全血、血漿、血清、末梢血単核球など)39、吐物2、痂皮2、糞便由来 cDNA25の計703件であった。被検者628例中388例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を臨床診断名別、患者別に表1にし、若干の解説を加えた。

インフルエンザ：県内の医療機関を受診した患者225症例(咽頭または鼻腔拭い液225)について検査を行った。

昨シーズン(平成23/24)終期の4、5月に、3症例から AH3型インフルエンザウイルスが、19症例から B 型インフルエンザウイルスが検出された。H24/25シーズンでは、流行期前の9、10月に3症例から AH3型インフルエンザウイルスが検出された。流行期の12月～3月には AH3型インフルエンザウイルスが主流を占め(153症例)、次いで B 型インフルエンザウイルスが32症例、AH1型インフルエンザウイルスが1症例から検出された。

上気道炎・下気道炎：6月、8月に計2症例(糞便1、鼻汁1、血清1、気管吸引液1)について検査を行ったところ、1症例の鼻汁からパラインフルエンザウイルス3型およびライノウイルスが、1症例の気管吸引液からメタニューモウイルスが検出された。

脳炎・脳症：計7症例(髄液7、血清6、糞便4、咽

頭または鼻腔拭い液6、尿2)の検査を行ったところ、1症例の血清からヒトヘルペスウイルス6型が、1症例の咽頭拭い液からヒトヘルペスウイルス6型および7型が、1症例の咽頭拭い液からライノウイルスが、1症例の血清からロタウイルス A 群が検出された。

無菌性髄膜炎：計8症例(髄液8、糞便3、咽頭拭い液7、尿2、血清3)の検査を行ったところ、1症例の髄液、糞便、咽頭拭い液、尿、血清からコクサッキーウイルス B5型が、1症例の糞便からロタウイルス A 群が、1症例の髄液から水痘帯状疱疹ウイルスがそれぞれ検出された。

感染性胃腸炎：集団発生事例では、平成24年度に発生した食中毒および有症苦情事例を含む27事例(延べ245例、糞便218、吐物2、糞便由来 cDNA25)について検査を行ったところ、1事例の1症例からノロウイルス Genogroup I(GI)が、22事例の125症例からノロウイルス GII が検出された。このうち2月の1事例では、3症例からノロウイルス GII が検出されたのに加え、ノロウイルス GI と GII の重感染者が1名確認された。また、6事例においては、無症状者からもノロウイルスが検出された。月別では、平成24年4月に5事例、7月に1事例、8月に1事例、10月に2事例、11月に4事例、12月に7事例、平成25年1月に4事例、2月に2事例、3月に1事例それぞれ発生した。これに加えて、平成23年度に発生した3事例におけるノロウイルス GII 陽性者のべ11症例(糞便11)について再検査を行ったところ、3事例の6症例よりノロウイルス GII が検出された。

小児科定点医療機関からは、計26症例(糞便26)の散発例の検査依頼があった。このうち19症例がウイルス検査陽性となり、検出されたウイルスの種類はノロウイルス GI 及び GII、サポウイルス、ロタウイルス A 群、アデノウイルス5型および41

表1. 平成24年度 疾患別, 月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

臨床診断名	検出病原体	平成24年(2012年)					平成25年(2013年)					合計		
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月		2月	3月
インフルエンザ	(被検者数)	20	3				2	1		8	76	69	46	225
	AH1型インフルエンザ										1			1
	AH3型インフルエンザ	3					2	1		7	66	54	26	159
	B型インフルエンザ	16	3							1	4	10	17	51
上気道炎・下気道炎	(被検者数)			1		1								2
	パラインフルエンザ3型+ライノ			1										1
脳炎・脳症	(被検者数)	1		2				1	1		1	1		7
	HHV-6	1												1
	HHV-6+HHV-7										1			1
	ライノ			1										1
無菌性髄膜炎	(被検者数)	2		3		1	1	1						8
	コクサッキーB5型	1												1
	ロタA群	1										1		1
	水痘帯状疱疹			1										1
感染性胃腸炎 (集団発生事例)	(延べ被検者数)	87	12		3	12		14	25	74	19	5	5	256
	ノロGI ^a	1												1
	ノロGII	47	6						16	44	9	4	5	131
	ノロGI+ノロGII											1		1
感染性胃腸炎 (散発例)	(被検者数)	3	3	1	2	1	1		4	4	3	1	3	26
	ノロGII								1	4	1			6
	ロタA群	1	1		1								2	5
	ロタA群+ノロGI												1	1
	ロタA群+ポリオ3型 ^b		1											1
	サボ		1	1							1	1		4
	アデノ5型+アデノ41型	1												1
	アデノ41型								1					1
	パレコ1型				1									1
麻疹疑い	(被検者数)		1			1	1	2	1			2		8
	風疹							1						1
	ライノ								1					1
	ライノ+エコー9型											1		1
A型肝炎	(被検者数)		2											2
	A型肝炎		1											1
つつが虫病	(被検者数)		1						1					2
	つつが虫病リケッチア		1						1					2
ライム病	(被検者数)				1	1								2
	-													0
心外膜炎	(被検者数)								1					1
	エコー7型								1					1
腸重積症	(被検者数)											1		1
	アデノ2型											1		1
無症状(ポリオ流行予測)	(被検者数)							12				70		82
	エコー7型							1						1
	パレコ1型							2						2
	コクサッキーA16型							1						1
	アデノ2型											1		1
その他 ^c	(被検者数)	1	1		1							1	2	6
	コクサッキーB5型				1									6
	ライノ											1		1
症例合計	(被検者数)	114	23	7	7	17	17	20	32	86	99	150	56	628
	病原体検出者数	72	14	4	2	2	6	3	20	56	82	76	51	388

■、灰色の影で記した数は、無症状の施設関係者及び利用者を含む被検者数を示す。

a. ノロGI: ノロウイルスGenogroup I.

b. ポリオウイルスは、型内型鑑別試験の結果、ワクチン由来株であった。

c. その他: 4月の1症例はウイルス感染症(パレコ疑い); 5月の1症例は新生児ヘルペス; 7月の1症例は発熱・活気低下; 2月の1症例はALTE/無呼吸, 全身チアノーゼ; 3月の1症例は心筋炎; 3月の1症例はリケッチア症。

型, パレコウイルス1型, ポリオウイルス3型(ワクチン株)等様々であった。これらのうち, ロタウイルス A 群が7症例から, ノロウイルス GII が6症例からと多く検出された。

麻疹疑い: 計8症例(咽頭拭い液8, 血漿8, 末梢血単核球8, 尿7)の検査を行ったところ, 麻疹ウイルスは検出されなかった。一方, 10月の1症例(20

代男性)の咽頭拭い液から風疹ウイルス, 11月の1症例の咽頭拭い液からライノウイルス, 2月の1症例の咽頭拭い液からライノウイルスおよびエコーウイルス9型が検出された。

A型肝炎: 5月に2症例(糞便2)の検査を行ったところ, 1症例から A 型肝炎ウイルスが検出された。本症例は20代の男性であり, 西アフリカへの

渡航歴があった。検出された A 型肝炎ウイルスの遺伝子型は IB 型であった。

つつが虫病：5月，11月に計2症例(血液4，痲皮2)の検査を行ったところ，つつが虫病リケッチアの Karp 型，及び Kawasaki 型がそれぞれ5月，及び11月の1症例から検出された。

ライム病：7月，8月に計2症例(血液2，髄液1)の検査を行ったが，ライム病ボレリアに対する抗体は検出されなかった。

心外膜炎：10月に1症例(咽頭拭い液1，直腸拭い液1，血清1)の検査を行ったところ，咽頭拭い液および直腸拭い液よりエコーウイルス7型が検出された。

腸重積症：2月に1症例(糞便1)の検査を行ったところ，アデノウイルス2型が検出された。

無症状：ポリオ流行予測調査事業により，0～6歳までの健康な乳幼児の糞便を対象にウイルス検査を行った。9月および2月に計82名の検査を行ったが，ポリオウイルスは検出されなかった。その他のウイルスでは，パレコウイルス1型が2名から，エコーウイルス7型，コクサッキーウイルス A16 型，アデノウイルス2型がそれぞれ1名から検出された。

その他：7月に1症例の発熱・活気低下(咽頭拭い液1，血清1，糞便1)の検査を行ったところ，糞便からコクサッキーウイルス B5型が検出された。2月に1症例の ALTE/無呼吸・全身チアノーゼ(咽頭拭い液1，鼻腔拭い液1，糞便1)の検査を行ったところ，ライノウイルスが検出された。4月に1症例のパレコウイルス感染症疑い(便1，咽頭拭い液1)，5月に1症例の新生児ヘルペスウイルス感染症疑い(血清1)，3月に1症例の心筋炎(糞便1，咽頭拭い液1，尿1，血清1)の検査を行ったが，ウイルスは検出されなかった。3月に1症例のリケッチア症疑い(血液1)の検査を行ったが，リケッチアおよび抗体は検出されなかった。

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

富山県における市販鶏肉のカンピロバクター，サルモネラ属菌 および基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL) 産生大腸菌汚染実態調査(2012年)

清水美和子 嶋 智子¹ 磯部 順子 金谷 潤一 木全 恵子
佐多徹太郎 綿引 正則 出村 尚子²

Survey of *Campylobacter* spp., *Salmonella* spp. and
Extended-Spectrum β -Lactamase- (ESBL)-producing *Escherichia coli*
Contamination in Retail Chicken Meats in Toyama Prefecture (2012)

Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA¹, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI,
Keiko KIMATA, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, and Naoko DEMURA²

2012年の厚生労働省食中毒統計[1]によると，細菌性食中毒のうち，カンピロバクターによる食中毒は事例数，患者数ともにもっとも多かった。富山県内でも，2012年にはカンピロバクターによる集団食中毒が3件発生しており，いずれも鶏肉を使用した料理が提供され，加熱不十分で喫食したことが原因と推定されている。また，カンピロバクターの場合，散发食中毒事例も非常に多く，実際のカンピロバクター腸炎患者数は年間約150万人と推定されている[2]。

サルモネラ属菌による食中毒は，発生件数，患者数は年々減少してきているが，2011年は本菌による食中毒で3名が死亡しており[3]，依然として重要な食中毒起因菌である。

細菌性食中毒の原因の上位を占めているカンピロバクターおよびサルモネラ属菌は，鶏の腸管内に生息しているため，鶏肉にはこれらの細菌が付着している可能性が高い。したがって，鶏肉あるいはその二次汚染により発生する食中毒を未然に防止するためには，県内に流通している鶏肉におけるカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の汚染実態を把握することが重要である。

一方，基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(Extended-spectrum β -lactamase: ESBL)産生大腸菌は薬剤耐性菌の一つで，第三世代セフェム系薬剤も分解する β -ラクタマーゼを産生する大腸菌である。近年，医療機関において ESBL 産生大腸菌の検出率が高くなっており，また，院内感染の原因菌としても重要な問題となっている。ESBL 産生大腸菌の感染源として，鶏肉が重要視

されており，市販鶏肉からの分離報告も数多くある[4-6]。

富山県では，食中毒発生防止対策事業の一環として，鶏肉のカンピロバクター・サルモネラ汚染実態調査を実施している。また，2011年は基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の汚染実態調査も行ったので，あわせて報告する。

材料と方法

1. 材料

2012年5月～2013年3月にかけて，県内の A 店舗で購入した市販鶏肉33検体及び2月に県内の B 店舗で購入した市販鶏肉4検体，計37検体(手羽先12検体，モモ肉13検体，ささみ12検体)について，カンピロバクター，サルモネラ属菌，ESBL 産生大腸菌の汚染実態を調査した。また，カンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数を最確数(Most probable number: MPN)法で測定した。

2. 一般生菌数の測定

自動スパイラルプレーター WASP(GSI クレオス)を用いて標準寒天培地(日水製薬)に塗抹し，既報[7]に従い実施した。

3. カンピロバクターの検出

鶏肉25gにニュートリエントブイヨン No.2 (Oxoid)100mlを加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした。増菌培地にはプレストン培地(試料原液+プレストンカンピロバクター選択サプリメント(Oxoid)+5%量のウマ溶血液(関東化学))，選択分離培地には CCDA 培地(カン

1. 富山県厚生部くすり政策課，2. 富山県厚生部生活衛生課

ピロバクター血液無添加選択寒天培地 + CCDA 選択サプリメント, いずれも Oxoid)を用い, 既報 [7]に従い実施した. 菌数は, 試料原液10mlを1段階目とする MPN 法(3本×3段階)を行い, カンピロバクターが検出された試験管数から100gあたりの MPN を算出した.

4. サルモネラ属菌の検出

鶏肉25gにBPW培地(栄研化学)225mlを加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした. 35℃で一晩培養後, ハーナのテトラチオネート培地(栄研化学)に1ml, ラパポート培地(栄研化学)に0.1mlそれぞれ接種し, 42℃で一晩培養した. 各増菌液をクロモアガーサルモネラ培地(CHROMagar)およびMLCB培地(日水製薬)に塗抹し, 35℃で一晩培養した. 生育した疑わしいコロニーについて1平板から3コロニーを釣菌し, 生化学的性状, 血清型を確認して同定した. 菌数は, 試料原液10mlを1段階目とする MPN 法(3本×3段階)を行い, サルモネラ属菌が検出された試験管数から100gあたりの MPN を算出した.

5. 大腸菌の検出

鶏肉25gにBPW培地(栄研化学)225mlを加え1分間ストマッカー処理したものを試料原液とした. 35℃で一晩培養後, EC発酵管(日水製薬)に1ml接種し, 44.5℃の恒温水槽で24時間培養した. ガスの発生が認められたものをEMB培地(日水製薬)に塗抹し, 35℃で一晩培養した. 生育した疑わしいコロニーについて1平板から5コロニーを釣菌し, 生化学性状を確認して大腸菌を同定した.

6. ESBL 産生のスクリーニング試験

検出された大腸菌をミュラーヒントン寒天培地(BBL)に塗抹し, 濃厚部分に薬剤感受性試験用ディスク(センシディスク; 日本ベクトン・デッキンソンの Ceftadizime(CAZ)と Cefotaxime(CTX)を3cm程度離してディスクを置き, 35℃で一晩培養した. CAZとCTXの阻止円に明らかな差がある場合をスクリーニング陽性とした.

7. ESBL 産生の確定試験

スクリーニング陽性となった大腸菌を, CLSI に

準拠して確定試験を行った. CAZ及びCTX単剤ディスクと, CAZ及びCTXにクラブラン酸(CVA)を加えたディスク(CAZ/CVA及びCTX/CVA)を比較し, CVA含有ディスクによる阻止円が単剤による阻止円よりも5mm以上拡張したものをESBL産生大腸菌と判定した.

8. PCR法によるESBL産生遺伝子の型別

分離されたESBL産生大腸菌について, ESBL産生遺伝子の型別(TEM, SHV, CTX-M-1, 2, 8, 9group)をPCR法により行った[8, 9]. キレックス液(5%W/V Chelex-100, バイオラド, 10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0)100 μ lにESBL産生大腸菌を懸濁後, 100℃10分間処理し, 12,000rpm5分間の遠心上清をPCRのDNA溶液とした.

結果と考察

1. 一般生菌数

鶏肉37検体の生菌数は, 平均 2.3×10^5 cfu/gであった. 部位別では, 手羽先が 1.8×10^5 cfu/g, モモ肉が 2.3×10^5 cfu/g, ささみが 2.7×10^5 cfu/gであった.

2. カンピロバクター検出結果

鶏肉37検体中23検体(62.2%)からカンピロバクターが検出された. 検出率は前年の2011年(46/71検体, 64.8%)とほぼ同じであった. 部位別にみると, 手羽先が12検体中8検体(66.7%), モモ肉が13検体中8検体(61.5%), ささみが12検体中7検体(58.3%)であった(表1). 菌種別では, *C. jejuni*のみ検出されたものが22検体(59.5%), *C. jejuni*と*C. coli*両方が検出されたものが1検体(2.7%)であった.

3. サルモネラ属菌検出結果

鶏肉37検体中27検体(73.0%)からサルモネラ属菌が検出された. 検出率は前年の2011年(52/71検体, 73.2%)とほぼ同じであった. 部位別にみると, 手羽先が12検体中11検体(91.7%), モモ肉が13検体中11検体(84.6%), ささみが12検体中5検体

表1. 鶏肉からのカンピロバクター検出率

部位	調査数	カンピロバクター陽性数			計	(%)
		<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>	<i>C. jejuni</i> + <i>C. coli</i>		
手羽先	12	8	0	0	8	66.7
モモ肉	13	7	0	1	8	61.5
ささみ	12	7	0	0	7	58.3
計	37	22	0	1	23	62.2

(41.7%)であった(表2)。

血清型別では *S. Infantis* が最も多く、サルモネラ属菌陽性となった27検体中23検体(85.2%)で検出された。そのほか、*S. Schwarzengrund*(7検体)、*S. Manhattan*(4検体)の計3種類の血清型が検出された(表3)。2012年に富山県内医療機関において患者から検出されたサルモネラ属菌46株の血清型を調査したところ、鶏肉から分離された3種類の血清型のうち *S. Infantis* が4株(8.7%)検出されたが、*S. Schwarzengrund* および *S. Manhattan* は検出されなかった[データ未発表]。鶏肉由来株と患者由来株の血清型が大きく異なっている理由については現在のところ不明であるが、鶏肉以外の食品が食中毒の原因食品となっている可能性が示された。

4. カンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数

鶏肉中のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数を表4に示した。カンピロバクターの菌数は、<15~2300/100gであり、このうち22/37検体(59.5%)が<15/100gであった。部位別にみると、手羽先でカンピロバクター菌数が100gあたりMPNが1,000を超えたのが12検体中5検体(41.7%)あり、モモ肉およびささみよりも菌数が多い傾向にあった。

サルモネラ属菌の菌数は、<30~430/100gであり、このうち26/37検体(70.3%)が<30/100gであった。カンピロバクターと比べて全体的に菌数は少なかった。なお、同一検体におけるカンピロバ

クターとサルモネラ属菌の菌数にはとくに相関性はみられなかった。

5. ESBL 産生大腸菌検出結果

大腸菌が鶏肉37検体中36検体(97.3%)から検出され、検出率は高かった。また、11検体(29.7%)から13株のESBL産生大腸菌が検出された。部位別にみると、モモ肉が13検体中6検体(46.2%)、ささみが12検体中3検体(25%)、手羽先が12検体中2検体(16.7%)であり、モモ肉からの検出率が高かった(表5)。

6. ESBL 産生遺伝子の型別結果

ESBL産生大腸菌13株のESBL産生遺伝子型別結果を表6に示した。CTX-M-1 groupが4株、CTX-M-2 groupが3株、CTX-M-9 groupが1株、SHV型が5株であった(表6)。わが国で検出頻度が高いといわれているのはCTX-M型ESBLであるが[8, 10]、今回の調査では、CTX-M型が8株、SHV型が5株であり、SHV型も多く分離された。

今回の調査でカンピロバクターおよびサルモネラ属菌のいずれかが検出されたのは、鶏肉37検体中30検体(81.1%)、うち19検体(51.4%)では両方が検出された。市販鶏肉はカンピロバクターおよびサルモネラ属菌に高率に汚染されていることから、食中毒予防のため生肉処理段階での適切な取扱い、ならびに十分な加熱調理を行う必要がある。

また、ESBL産生大腸菌はカンピロバクターおよびサルモネラ属菌ほど高率ではないが検出されており、県内の市販鶏肉が汚染されている実態が

表2. 鶏肉からのサルモネラ属菌検出率

部位	調査数	陽性数	(%)
手羽先	12	11	91.7
モモ肉	13	11	84.6
ささみ	12	5	41.7
計	37	27	73.0

表3. 鶏肉から検出されたサルモネラ属菌の血清型

部位	手羽先	モモ肉	ささみ	計
	調査数	12	13	
血清型				
<i>S. Infantis</i>	11	8	4	23
<i>S. Schwarzengrund</i>	1	5	1	7
<i>S. Manhattan</i>		2	2	4
Untypeable			1	1
計	12	15	8	35

表4. 鶏肉中のカンピロバクターおよびサルモネラ属菌の菌数

部位	菌種	菌数(MPN/100g)											
		店舗A											店舗B
		5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	2月
手羽先	カンピロバクター	2,300	<15	115	2,300	1,200	<15	2,300	<15	45	<15	<15	1,100
	サルモネラ属菌	36	<30	<30	<30	<30	<30	230	<30	<30	<30	150	<30
モモ肉	カンピロバクター	<15	<15	<15	600	15	<15	<15	<15	20	<15	<15	115 215
	サルモネラ属菌	210	<30	<30	<30	<30	<30	<30	36	36	<30	<30	36 430
ささみ	カンピロバクター	20	<15	<15	<15	<15	20	<15	215	<15	<15	<15	<15
	サルモネラ属菌	36	<30	<30	<30	<30	36	<30	<30	<30	<30	<30	36

表5. 鶏肉からの大腸菌およびESBL産生大腸菌検出率

部位	調査数	大腸菌 陽性数	(%)	ESBL産生大腸菌 陽性数	(%)
手羽先	12	11	91.7	2	16.7
モモ肉	13	13	100.0	6	46.2
ささみ	12	12	100.0	3	25.0
計	37	36	97.3	11	29.7

表6. ESBL産生遺伝子の型別

部位	CTX-M-1 group	CTX-M-2 group	CTX-M-9 group	SHV	計
手羽先		1		1	2
モモ肉	3	2	1	2	8
ささみ	1			2	3
計	4	3	1	5	13

明らかになった。近年、医療機関においてESBL産生大腸菌の検出率が高くなってきていることから、今後も動向を注視していく必要があると思われる。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体収集等にご協力いただきました富山県生活衛生課および各厚生センターの関係各位に深謝いたします。

文 献

- 厚生労働省(2012). 食中毒統計資料, <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>.
- 窪田邦宏, 春日文子(2009). 平成21年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業, 食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究, 分担研究報告書, 117-136
- 厚生労働省(2011). 食中毒統計資料, <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>
- Warren. R. E., et al.(2008). J. Antimicrob. Chemother. 61, 504-508
- Kojima, A. et al. (2008) Antimicrob. Agents Chemother., 61, 504-508
- 石畝 史, 永田暁洋, 山崎史子, 津持文子, 望月典朗, 山根一和, 荒川宜親(2010). 福井県衛生環境研究センター年報, 9, 33-37
- 嶋 智子, 磯部順子, 金谷潤一, 木全恵子, 倉田 毅, 綿引正則, 出村尚子(2011). 富山衛研年報, 34, 149-153
- Shibata, N., et al.(2006). Antimicrob. Agents Chemother., 50, 791-795
- Yagi, T., et al.(2000) FEMS Microb. lett., 184, 53-56
- 松下 秀, 神 眞知子, 磯貝スエ子, 森本敬子, 森田耕司(2008), モダンメディア, 54(7)202-209

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2012)

木全 恵子 嶋 智子¹ 金谷 潤一 磯部 順子 清水美和子
佐多徹太郎 綿引 正則

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture,
2012

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA¹, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,
Miwako SHIMIZU, Tetsutaro SATA, and Masanori WATAHIKI

2012年1月から12月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌(EHEC)感染事例は15件であり、感染者は30名であった。感染事例の内訳はEHEC O157(以下 O157)が8件、EHEC O26(以下 O26)が4件、EHEC O121(以下 O121)が3件であったが、このうち2件の接触者調査によりEHEC O98(以下 O98)およびEHEC O119(以下 O119)が検出された。感染者の内訳はO157感染症8名、O26感染症14名、O121感染症6名、O98感染症1名、O119感染症1名であった(表1)。以下にこれらの感染事例についてその概要、疫学的解析結果を報告する。

2012年における EHEC 感染症発生状況:2012年の富山県における EHEC 感染症の事例数、感染者数はそれぞれ前年(26件、193名)比0.58倍、0.16倍で、感染者20名以上の集団感染が4件発生した前年と比較して事例数、感染者数とも大きく減少した。発生形態は、集団感染が4件(家族内感染1件、食中毒・家族内感染以外3件)、散発11件であった(表1)。また、定期検便等により無症状病原体保有者が初発感染者として探知された事例は散発3件(表1、事例3、6、15)であった。

EHEC 感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。本年は7月に4件、9月に3件と夏季を中心に感染事例が多発し、月ごとの感染者数が5名以上を超えた月は、7月～10月であった(図1)。これらは、この時期に事例4、事例9、10及び事例13を含む集団感染事例が発生したことによる(表1)。

感染者に占める有症者の割合は63.3%(19名)であった。感染者の年齢層における有症者割合では、全体の割合63.3%より高かったのは、10歳未満が

87.5%、20歳代が100%、50歳代が66.7%であった。一方、40歳代、70歳以上の感染者はすべて無症状であった(図2)。

性別では男性15名のうち有症者10名(66.7%)、女性15名のうち有症者9名(60.0%)と性別による有症者割合に差はみられなかった。

分離株の薬剤感受性:各事例の EHEC 分離株について薬剤感受性試験を行った。感受性試験の対象とした薬剤は12薬剤(NFLX, OFLX, NA, KM, GM, FOM, ABPC, ST, TC, CL, CEZ, CP)である。これらの薬剤について CLSI のプロトコールに準拠し、Kirby-Bauer 法に基づいたディスク法(センシ・ディスク、日本ベクトン・ディッキンソン)を用いた[1, 2]。供試菌株は、O157 8株、O26 5株、O121 3株、O98 1株、O119 1株である。なお、事例13については PFGE パターンが異なる(後述参照)O26 2株を供試菌株に用いた。

解析対象株のうち、上記12薬剤のいずれかに耐性を示した株は3株(16.6%)であった。その内訳は ABPC 耐性1株(事例8由来)、TC・CP・ABPC 耐性1株(事例4由来)、ST・TC・ABPC 耐性1株(事例14由来)であった。

分離株の病原因子:各事例分離株について病原因子遺伝子の検索を行った。病原因子遺伝子の確認は既報[3]に従い、CVD432、接着性病原因子遺伝子 *eae*、*aggR*、志賀毒素遺伝子 *stx1* (VT1 遺伝子)、*stx2* (VT2 遺伝子)、*invE*、*elt* (LT 遺伝子)、*esth* (STh 遺伝子)、*estp* (STp 遺伝子)、*bfp*、EAF、*astA* についてマルチプレックス PCR による検索を行った。

各事例分離株におけるベロ毒素遺伝子型は表1

1. 富山県厚生部くすり政策課

のとおりであり, *stx1*・*stx2*保有型が4株, *stx2*保有型が7株, *stx1*保有型が6株であった. 全ての事例の分離株は *eae* を保有していた. また, 事例9で検出された O98は *astA* を保有していた.

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による分子疫学解析: 各事例代表株について PFGE を行った. PFGE は制限酵素 *Xba*I を用いた標準化プロトコールに基づいて行った[4]. 得られた PFGE パターンは FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて解析した. デンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い, トレランス値は1.2%とした. 2012年に発生した O157, O26株の PFGE パターンの解析は以下のとおりであった.

2012年に分離された O157(*stx1*・*stx2*), O157(*stx2*)及び O26(*stx1*)の PFGE パターンについ

てデンドログラムを図3A, B, Cに示した. これらの PFGE パターンは事例ごとに異なっており, 各事例間の関連性はないと考えられた. また, 集団感染である事例13(表1)では分離された O26 10株のうち9株は PFGE パターンが同一であった(図3 レーン12). 残る1株はこれらの株のパターンと2バンド異なる PFGE パターンを示し, Tenoverらの基準[5]により同一集団株であると考えられた(図3 レーン13).

O157, O26, O111以外の血清型 EHEC が検出された感染事例: 2012年に発生した EHEC 感染事例15事例のうち, 26.7%(4件)から O157, O26, O111以外の血清型の EHEC が検出された(表1, 事例4, 7, 9, 13).

表1. 腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2012)

事例 No.	発生時期	感染者数 (名)	発生形態	大腸菌血清型	ベロ毒素遺伝子型
1	2012.1	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
2	2012.5	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
3	2012.6	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
4	2012.6~7	2	集団感染	O121:H19	<i>stx2</i>
5	2012.7	1	散発	O157:HNM	<i>stx1stx2</i>
6	2012.7	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
7	2012.7	1	散発	O121:H19	<i>stx2</i>
8	2012.7	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
9	2012.8	3	集団感染	O121:H19	<i>stx2</i>
		1		O98:HNM	<i>stx1</i>
10	2012.8	2	家族内感染	O26:H11	<i>stx1</i>
11	2012.9	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
12	2012.9	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
13	2012.9~10	10	集団感染	O26:HNM	<i>stx1</i>
		1		O119:HUT	<i>stx1</i>
14	2012.10	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
15	2012.12	1	散発	O157:HNM	<i>stx2</i>

O157 8件(8名), O26 4件(14名), O121 3件(6名), O98 1件(1名, 事例9と同一事例), O119 1件(1名, 事例13と同一事例) 計 15件(30名)

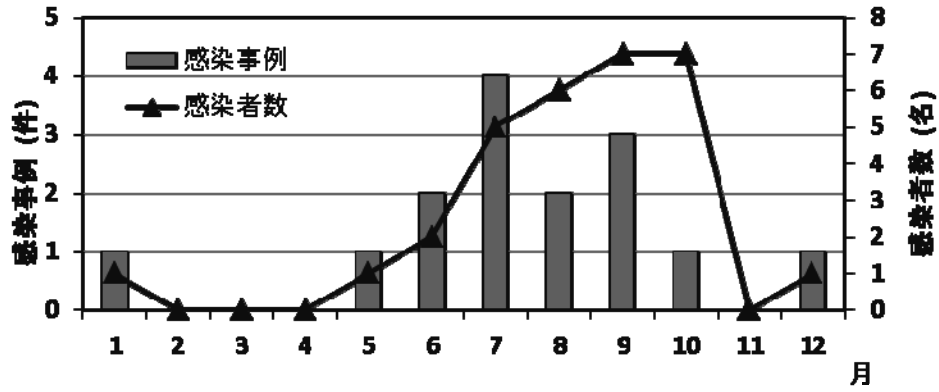


図1. 富山県における腸出血性大腸菌感染症月別発生動向 (2012)

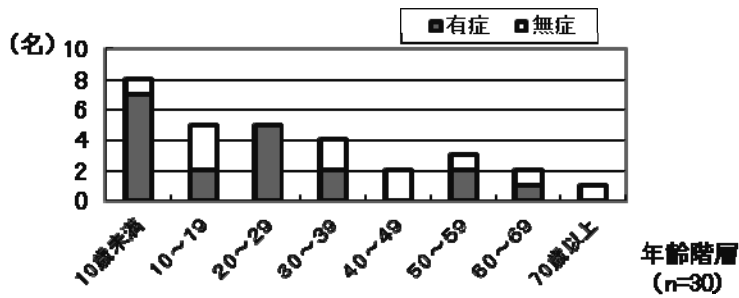
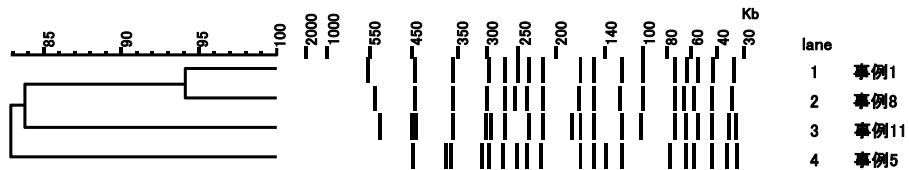
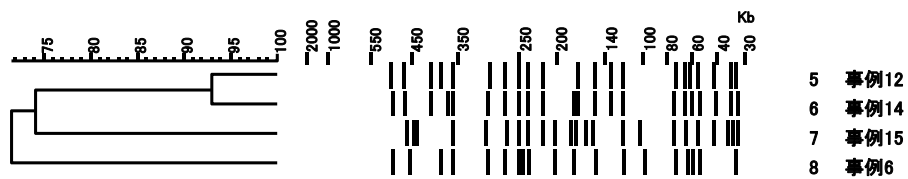


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

A. O157 *stx1 stx2*



B. O157 *stx2*



C. O26 *stx1*



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

A: EHEC O157(*stx1 stx2*), B: EHEC O157(*stx2*), EHEC O26(*stx1*)
事例13については PFGE パターンの異なる2株についてデンドログラム解析を行った。

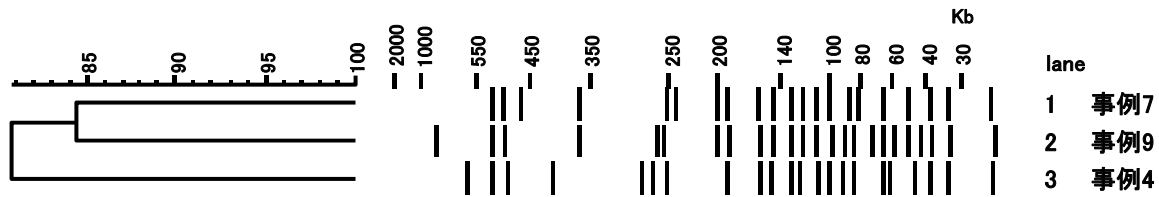


図4. EHEC O121(*stx2*)PFGE パターンのデンドログラム解析

これらの事例とその分離株の解析の概略は以下の通りである。

1) O121感染事例(表1, 事例4, 7, 9)

2012年6月から8月にかけて O121:H19(*stx2*, 以下 O121) 感染事例3件が発生した。これら3件の O121感染者6名のうち有症者は3名であった。これらの O121分離株の PFGE パターンは事例ごとに異なる株であることが判明した(図4)。

これらの事例より分離された O121はすべて溶血性毒素遺伝子 *hlyA* を保有していた。しかし、生化学性状では乳糖代謝について違いが観察された。事例4由来の O121株は乳糖代謝陰性であったが、事例7及び事例9ではそれぞれ、乳糖代謝陽性株と乳糖代謝陰性株の双方が分離された。

これらの性状はマッコンキーラクトース寒天、BTB 寒天及び TSI 斜面(赤：乳糖陰性, 黄：乳糖陽性)で確認した。なお O121は乳糖陰性株であっても培養中に乳糖陽性株を生じることが知られている[6]。

2) O98・O119感染事例(表1, 事例9, 13)

富山県において初めて O98, O119が分離された。これらはすべて集団感染事例における接触者検便で検出された。保有する病原因子は、O98は *eae*, *astA*, *hlyA* を、O119は *stx1*, *eae*, *hlyA* をそれぞれ保有していた。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較：

2012年の全国における EHEC 感染者数は3,768名で、昨年に比べてやや減少していた[8]。しかし、2011年10月の生食用食肉の規格基準の改正、2012年7月の牛生レバー提供禁止により、感染症発生動向調査に届出のあった生肉・生レバーの喫食履歴のある O157感染事例は昨年度の55%に減少した[9]。

2012年の富山県の EHEC 感染症発生状況は、1996年以降において感染者数は過去4番目に少なく、事例数は過去5番目に少なかった(図5)。また、国立感染症研究所パルスネットによる解析から2012年に全国6県以上から同一の PFGE パターン

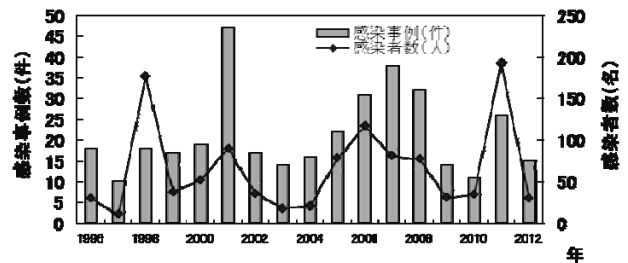


図5. 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

を示す複数の広域流行株が報告されている[10]が、富山県では事例8でこれらの広域流行株のうちの1つが検出された。同じ PFGE パターンの株は2012年全国で19府県にて検出された[10]。

考 察

2012年の富山県における EHEC 感染症の事例数は15件、感染者は30名であり、1996年以降4番目に少ない感染者数であった。本年は稀な血清型の EHEC である O119および O98が県内で初めて検出された。2000-2012年に病原微生物検出情報(IASR)[7, 8]に報告された O119, O98の全国検出状況では、O119(*stx1*)は18株(H血清型 H4, HNM, HNT, HUT を含む), O98(*stx1*)は2株であった。これらの EHEC はいずれも別の血清型の EHEC による集団感染事例(表1, 事例9, 13)に関する調査により探知されたが、その感染経路は不明である。

本県における過去5年間(2008-2013)の8月から12月までの EHEC 感染事例発生件数と感染者数の平均は11.2件, 27名であるが、本年の8月から12月までの EHEC 感染事例発生件数と感染者数は7件, 21名であった。本年7月以降の牛生レバー提供禁止以降の4ヶ月間では EHEC 感染事例の発生件数は平均以下であったが、感染者数に大きな差は認められなかった。しかし、今後は本改正により O157を中心とする EHEC 感染事例の減少が期待されると考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、ご協力頂きました厚生センター、富山市保健所、健康課、生活衛生課の関係各位ならびに国立感染症研究所 寺嶋淳先生に深く感謝致します。

文 献

1. CLSI.(2005)Performance standards for antimicrobial susceptibility test. M100-S15
2. Kim, S.-R., Nonaka, L., Suzuki, S.(2004). FEMS Microbiol. Lett., 237, 147-156.
3. Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Tanaka, D., Isobe, J., Gyobu, Y., Watahiki, M., and Nagai, Y.(2005)Microbiol. Immunol.,49, 485-492.
4. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K.(2002)J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848.
5. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V. J., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., and Swaminathan, B.(1995)Clin. Microbiol., 33, 2233-2239
6. 地方衛生研究所全国協議会, 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル 腸管出血性大腸菌 (EHEC)検査・診断マニュアル(平成24年6月改訂)
7. 病原微生物検出情報 [http:// www. nih. go. jp/ niid/ ja/ iasr. html](http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html)
8. 病原微生物検出情報(2013), 34, 123-125
9. 柳楽真佐実, 八幡裕一郎, 齊藤剛仁, 加納和彦, 山岸拓也, 砂川富正, 多田有希, 大石和徳(2013)病原微生物検出情報, 34, 129-130
10. 寺嶋淳, 伊豫田淳, 泉谷秀昌, 三戸部治郎, 大西真(2013)病原微生物検出情報, 34, 139-140

漁港における腸炎ビブリオ調査(2012年)

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子¹ 清水美和子
佐多徹太郎 綿引 正則

Surveillance for *Vibrio parahaemolyticus* at Fishing Ports in Toyama Prefecture, 2012

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA¹,
Miwako SHIMIZU, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI

2011年の全国の食中毒発生状況によると、腸炎ビブリオによる発生件数は9件、患者数124名であった[1]。近年、腸炎ビブリオ食中毒は全国的に減少している。しかし、腸炎ビブリオは海水中に生息している細菌であり、環境中の菌数を制御することは困難であることから、食中毒を予防するためその分布状況を把握することは重要である。

富山県では、夏期に全国的に発生する腸炎ビブリオ食中毒防止のため、飲食店等に対する衛生指導に加え、富山湾における腸炎ビブリオの汚染実態調査を実施している。その一環として、富山県衛生研究所では1996年より「Vp(腸炎ビブリオ)マリン実態調査」事業に基づき、県内漁港の海水や魚介類等の腸炎ビブリオ汚染実態調査を行い、県民への食中毒注意報発令や効率的な監視指導のための科学的エビデンスを提供している。ここでは、2012年の調査結果を報告する。

材料と方法

平成24年6～10月にかけて、6月および10月は月1回、7～9月は月2回で、計8回実施した。富山県内の主要4漁港(生地、魚津、新湊および氷見)の海水について調査した(図1)。各漁港の併設市場前を検



図1. 採水漁港

体採取場所とし、表層海水を柄杓で採取した。腸炎ビブリオ数の測定は、食塩ポリミキシンブイオン(日水製薬)を用いた most probable number (MPN)法(3本×5段階)を用いた[2]。海水の塩分濃度の測定は、赤沼式比重計を用いた[3]。

海水からの耐熱性溶血毒遺伝子(*tdh*)の検出は、海水1,000 mlを0.45 μmのメンブランフィルターでろ過し、ろ過フィルターを3% NaCl 含 Trypticase soy broth(ベクトン・ディッキンソン)に入れ、タイマー機能付フラン器で37℃ 6時間培養後4℃に一晩おいた。培養液1mlを12,000 rpmで5分間遠心し、沈査にキレックス液(5% W/V Chelex-100, バイオラド, 10 mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0)を100 μl添加再懸濁後、100℃ 10分間処理した。12,000 rpmで5分間遠心し、上清を新しいチューブに移してPCR用のDNA溶液とした。*tdh*の検出にはTDF-1、-2プライマー[4]を用いてPCRを行った。*tdh*が検出された検体は、既報[5]に従い血清型O3:K6を対象とし、K6免疫磁気ビーズ処理[6]により菌の分離を行った。また、分離菌について、PCRを用いて*tdh*の保有を確認した。

市販魚介類は、富山県内の魚介類販売業2施設(県東部A施設および県西部B施設を選定)から購入した。調査1回あたり2施設から3魚種ずつ計6検体購入し、冷蔵状態で搬入した。エラ、ヒレおよびウロコなどの魚体表面部位を10g秤取り細切した後、90mlの食塩ポリミキシンブイオンを加え、1分間手揉みしたものを試料原液とした。空試験管に試料原液を10ml接種したものを1段階目としたMPN法(3本×5段階)で測定した。

1. 富山県厚生部くすり政策課

表1. 漁港海水における腸炎ビブリオ菌数、海水温及び塩分濃度

漁港		調査日							
		6/26	7/10	7/24	8/7	8/21	9/4	9/18	10/9
生地	腸炎ビブリオ	<3*	9	9	6	43	15	43	150
	海水温 (°C)	18.2	19.4	19.8	21.1	23.1	20.9	21.5	19.6
	塩分濃度 (‰)	6.3	7	3.2	5.9	9.3	6.2	7.2	8.8
魚津	腸炎ビブリオ	4	6	43	4	<3	<3	7	3
	海水温 (°C)	21.2	22.6	25.6	27	27	25.5	26.7	24.5
	塩分濃度 (‰)	28.7	21.6	15.7	22.5	25.9	19.1	26.1	28
新湊	腸炎ビブリオ	4	20	16	9	150	7	29	11
	海水温 (°C)	27.8	24.1	27.5	28.9	29.8	29.8	29	26
	塩分濃度 (‰)	21.9	18.6	22.1	23.2	23.5	19.4	32.6	29.9
氷見	腸炎ビブリオ	9	9	3	6	16	11	93	9
	海水温 (°C)	22.8	24.2	28	31.1	31	28.9	29	24
	塩分濃度 (‰)	28.9	29.3	28.9	32.4	32.6	32.9	33.1	30.6
腸炎ビブリオ菌数 (4漁港平均)		4.25	11	17.75	6.25	52.25	8.25	43	43.25

*MPN法による漁港海水100 mlあたりの腸炎ビブリオ菌数

表2 魚介類からの腸炎ビブリオ菌数*

調査日	A店	菌数	
		(MPN/100 g)	B店 (MPN/100 g)
6月26日	トビウオ	200	コヅクラ <30
	アジ	<30	アジ 30
	サバ	110	キス <30
7月10日	アカガレイ	<30	トビウオ 40
	アジ	<30	シラビラメ <30
	トビウオ	140	タイ <30
7月24日	ツ바이ソ	<30	メイタカレイ <30
	サバ	<30	トビウオ <30
	タイ	70	フグ <30
8月7日	メジナ	110	トビウオ 40
	カワハギ	<30	カレイ <30
	シマダイ	<30	サバ <30
8月21日	シマダイ	<30	イシモチ <30
	コチ	<30	ヤナギバチメ <30
	アカガレイ	<30	アカガレイ <30
9月4日	カワハギ	40	カツオ <30
	シロガレイ	90	フクラギ <30
	カマス	92	アジ 70
9月18日	ナメタガレイ	<30	アオリイカ 93
	カマス	<30	タチウオ <30
	アジ	<30	アジ <30
10月9日	タイ	<30	メギス <30
	アジ	<30	フクラギ <30
	カマス	30	アジ <30

*MPN法による魚介類100 gあたりの腸炎ビブリオ菌数

表3 漁港海水における病原因子 *tdh* 及び TDH 産生性腸炎ビブリオ O3 : K6の検出状況

漁港		日付								
		6/26	7/10	7/24	8/7	8/21	9/4	9/18	10/9	
生地	<i>tdh</i> 遺伝子	—	+	+	—	—	—	—	—	2/8**
	TDH+ O3:K6	N. E*	—	—	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	0/2
魚津	<i>tdh</i> 遺伝子	+	+	+	+	—	—	—	—	4/8
	TDH+ O3:K6	—	—	—	—	N. E	N. E	N. E	N. E	0/4
新湊	<i>tdh</i> 遺伝子	+	+	—	—	—	—	—	—	2/8
	TDH+ O3:K6	—	—	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	0/2
氷見	<i>tdh</i> 遺伝子	—	—	—	—	—	—	—	—	0/8
	TDH+ O3:K6	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E	N. E
	<i>tdh</i> 遺伝子	2/4	3/4	2/4	1/4	0/4	0/4	0/4	0/4	8/32
	TDH+ O3:K6	0/2	0/3	0/2	0/1	N. E	N. E	N. E	N. E	0/8

*未測定

**陽性数/検体数

結果及び考察

漁港海水の90.6% (29/32検体) から腸炎ビブリオが分離された(表1)。菌数(MPN)は < 3 ~ 150/100 ml であり, 1998~2007年の10年間に於ける菌数変動を調査した文献と比較すると, 2001年以降の菌数と同等であった[7]。

富山県内2施設で市販されていた魚介類14/48検体(29.2%)から腸炎ビブリオが検出された。菌数は < 30~200/100 g であった(表2)。菌数は, 同じ調査日でも検体によりバラツキがみられた。前年の腸炎ビブリオ検出率は45.8%であり[8], 前年と比べ本年の検出率は低かった。腸炎ビブリオは他の食中毒起因菌に比べ増殖が早いので, 魚介類は短時間でも低温で保存することが重要である。

腸炎ビブリオの病原因子である *tdh* および *tdh* 保有腸炎ビブリオの漁港海水からの検出状況を表3に示した。*tdh* 保有腸炎ビブリオについては, 日本でヒトから分離される主要な血清型である O3 : K6を標的とした。*tdh* は, 25% (8/32検体) の検体から検出された。6月下旬から8月上旬にかけて魚津の漁港海水から4回検出された。昨年度もこの漁港海水から同じ時期に4回検出されたが, この原因は不明である。*tdh* が検出された漁港海水から, 食中毒の原因となる *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3 : K6の分離を試みたが, 2012年は分離されな

かった。しかしながら, 25%の海水から *tdh* が検出されたことから, これらの海水に *tdh* 保有腸炎ビブリオが生息している可能性は考えられる。生食用魚介類の加工基準では, 加工に使用する水は, 飲用適の水, 殺菌した海水又は飲用適の水を使用した人工海水を使用することになっているが, 今後もその徹底が望まれる。

謝 辞

本調査の検体採取は, 富山県生活衛生課で作成された計画に基づき, 県内各厚生センターの担当者により行われました。これらの方々に深謝いたします。

文 献

- 厚生労働省 HP: 食中毒に関する情報
http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/12_hassei/xls/H24jokyo.xls
- 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
- 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

平成25年11月29日

4. 伊藤文明, 吉野谷進, 平野千春, 石村勝之, 山岡弘二, 松石武昭, 荻野武雄, 島田俊雄, 伊藤健一郎, 渡辺治雄, 沖津忠行, 滝沢金次郎(1993). 感染症誌, 67(臨時増刊号), 181
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之(2004). 富山衛研年報, 27, 129- 137
6. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村敬(2000). 日食微誌, 17, 5-10
7. 嶋 智子, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 金谷潤一, 倉田 毅, 綿引正則(2008). 富山衛研年報, 31, 125-134
8. 金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 嶋一世, 佐多 徹太郎, 綿引正則(2011). 富山衛研年報, 35, 131-134

富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性(2012年)

増田千恵子 嶋 智子¹ 金谷 潤一 清水美和子 木全 恵子
 磯部 順子 佐多徹太郎 綿引 正則 中村 雅彦² 百石祐一朗³
 加藤 陽子³ 中村 政雄³ 奥野 ルミ⁴

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2012

Chieko MASUDA, Tomoko SHIMA¹, Jun-ichi KANATANI, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Masahiko NAKAMURA², Yuichirou HYAKKOKU³, Yoko KATO³, Masao NAKAMURA³ and Rumi OKUNO⁴

A 群溶血性レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起因菌となる。感染症法では、本菌による咽頭炎が小児科定点報告の5類感染症に位置づけられており、富山県における2012年のA 群溶連菌咽頭炎患者報告数は、3,016人(104.0/定点)であった[1]。

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

B 群溶連菌は腸内の常在菌であり、男性の尿道粘膜や女性の膣に存在する場合もある。成人の場合にはまれに尿路感染症などを引き起こす程度であまり問題にならないが、子宮内感染や産道感染により新生児の敗血症、髄膜炎および肺炎を引き起こすため、妊婦に対してGBSスクリーニングが実施されている。

当所では、衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A 群溶連菌の血清型別や劇症型溶連菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2012年に富山県内で分離されたA 群およびB 群溶連菌の血清型別および薬剤感受性検査の結果について報告する。

材料と方法

2012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64株およびB 群200株、計264株)について、A 群のT 型別およびB 群の型別を実施した。A 群のT 型別は、T 型別用免疫血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応にて行った。B 群の型別は、IX型を除く9種類について、マルチプレックスPCR法[5]で行った。QIAGEN Multiplex PCR Kit(QIAGEN)を使用し、反応条件は、95℃ 15分間の熱変性後、94℃ 1分間、53℃ 2分間、72℃ 3分間を40サイクル行い、72℃ 10分間伸長反応を行った。

薬剤感受性試験は、2012年に分離されたA 群溶連菌64株について実施した。アンピシリン(ABPC)、セファレキシン(CEX)、セフジトレン(CDTR)、セフジニル(CFDN)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、クリンダマイシン(CLDM)、リンコマイシン(LCM)の10薬剤について、ドライプレートおよびIA-20(栄研化学)を用いて測定した。測定は東京都健康安全研究センターにて行った。MIC値は、CLSIの判定基準に従い判定した。

結果と考察

(1) A 群溶連菌のT 型別

2012年に分離されたA 群溶連菌のT 型別結果

1. 富山県厚生部くすり政策課, 2. 富山県立中央病院, 3. 富山市民病院, 4. 東京都健康安全研究センター

を Table1 に示した。分離率が高い T 型は、順に T1 型(19 株, 29.7%), T12 型(12 株, 18.8%), TB3264 型(11 株, 17.2%), T28 型(7 株, 10.9%) であった。T1 型および T12 型は毎年検出率が高い血清型である。TB3264 型および T28 型は 2011 年に増加し、2012 年も同程度の検出率であった。なお、2012 年に富山県内で届出があった劇症型 A 群溶レン菌感染症は 6 例で、患者から分離された菌の血清型は T12 型 2 例、T1 型、T3 型、T28 型、型別不能が各 1 例であった (Table2)。

(2) B 群溶連菌の型別

2012 年に分離された B 群溶連菌の型別結果を Table3 に示した。検査材料は多い順に、帯下(125 検体)、尿(34 検体)、吸引痰(15 検体)、喀痰(8 検体)、膿(6 検体)、血液(5 検体) などであった。分離率が高い血清型は、順に I b 型(39 株, 19.5%)、III 型

(35 株, 17.5%)、V 型(33 株, 16.5%)、I a 型(31 株, 15.5%)、VI 型(30 株, 15.0%) であった。当所では本年から血清型別に PCR 法を導入したため、型別不能となる株が減少した。したがって、前年との単純な比較は難しいが、検出率に大きな差はみられなかった。

(3) A 群溶連菌の薬剤感受性

A 群溶連菌の薬剤感受性の結果を Table4 に、薬剤耐性パターンを Table5 に示した。

β -ラクタム系薬剤 (ABPC, CEX, CFDN, CDTR) に対してはすべて感受性を示したが、EM および CAM に対して 64.1%、TC に対して 12.5%、CLDM に対して 10.9% が耐性を示した。マクロライド系薬剤に対する耐性株は近年増加し、2008 年以降は 60% を超える耐性率で推移している (Fig. 1)。血清型別にみると、EM および

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2012

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	4	4	5	1	2						2	1	19	29.7
T-2													0	0.0
T-3								1			1	3	5	7.8
T-4											1		1	1.6
T-6													0	0.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12	1	1	1		2	1	2	1	2			1	12	18.8
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25	1			1		1						1	4	6.3
T-28		1	2	1			1	1		1			7	10.9
T-B3264	2		1		4			2			2		11	17.2
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable	1				1			1		2			5	7.8
Total	9	6	9	3	9	2	3	6	2	3	6	6	64	100.0

Table 2. Cases of Group A Streptococcus-induced Toxic Shock Syndrome in Toyama, 2012

Month	Age	Sex	Outcome	Group	T serotype	M serotype	<i>emm</i>	<i>spe</i>	Resistance to antibiotic
2012/2	82	M	Dead	A	T12	M12	<i>emm12.0</i>	BC	EM, CLDM, MINO
2012/3	71	M	Dead	A	UT*	M3	<i>emm3.1</i>	AB	
2012/3	48	F	Alive	A	T1	M1	<i>emm1.0</i>	AB	EM
2012/4	78	M	Alive	A	T3	M3	<i>emm3.1</i>	AB	
2012/8	81	M	Alive	A	T12	M12	<i>emm12.0</i>	BC	EM, CLDM, MINO
2012/9	46	F	Alive	A	T28	UT	<i>emm28.0</i>	BC	

*: Untypable

Table 3. Monthly Distribution of Serotypes of Clinical Group B Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2012

Type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a	1	4	2	1	3	8	2				4	6	31	15.5
I b	1	2	5	6	6	3	3	4	5		1	3	39	19.5
II	3	3	1	1	2	1		1			2	4	18	9.0
III		1	5		4	2	4	3	6	2	4	4	35	17.5
IV													0	0.0
V	2	4	4	2	3	2	3	2	1	4	1	5	33	16.5
VI	3	3	1	1	4	2	2	1	3	5	2	3	30	15.0
VII								1					1	0.5
VIII	1	1	1		2	1	2			1		1	10	5.0
Untypable	2						1						3	1.5
Total	13	18	19	11	24	19	17	12	15	12	14	26	200	100.0

Table 4. Antibiotic Susceptibilities of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2012

MIC (μ g/ml)	Antibiotics										
	ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM	
>64							7				7
64					6						
32					2						
16							16	14*			
8						1	8	16			
4						33	4	4	7†		
2						30	6	2			
1								5			
0.5		51			10				57‡		9
0.25		13			39						44
0.12					7		16	3			4
0.06							6	19			
0.03	35						1	1			
0.015	29		3	2							
0.008			60	62							
≤ 0.004			1								

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

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

Table 5. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2012

Resistance pattern	No. of strains (%)
TC, EM, CAM, CLDM	4(6.3)
EM, CAM	41 (64.1)
TC	7 (10.9)
Susceptible	12 (18.8)
Total	64 (100.0)

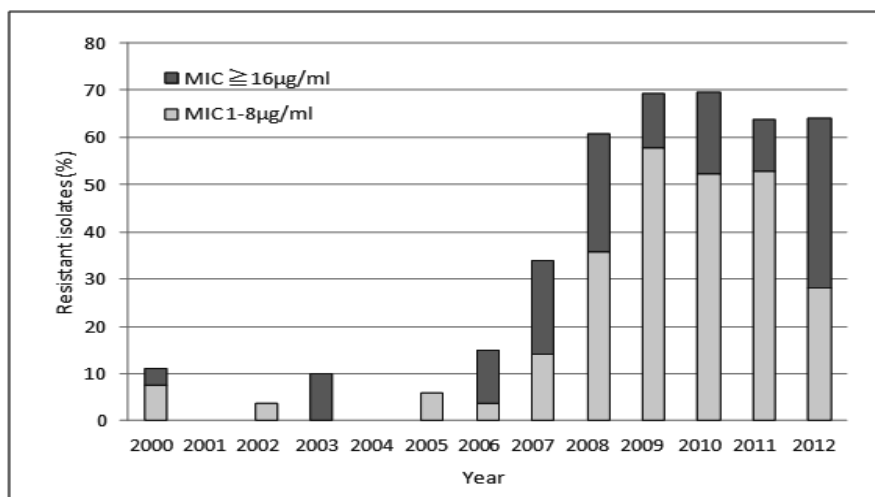


Fig. 1 Frequency of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* Resistance to Erythromycin in Toyama from 2000 to 2012

CAM に対して耐性を示したのは T1型, T12型, T25型および T28型で, これら4血清型の株は, すべてが EM および CAM に対して耐性であった。

薬剤耐性パターンでは, 18.8% (12株) はすべてに感受性であったが, 4剤耐性 (TC・EM・CAM・CLDM) が4株 (いずれも T12型), 2剤耐性 (EM・CAM) が41株 (T1型18株, T12型12株, T28型7株, T25型4株) であった。なお, 2012年に富山県内で発生した6件の劇症型 A 群溶レン菌感染症で患者から分離された菌は, 3株が EM に耐性を示した [4]。

マクロライド系薬剤は, 本菌の第一選択薬であるペニシリン系にアレルギーを示す患者に対し使用が推奨されていることから, 治療薬選択の際には十分な注意が必要であると思われる。

文 献

1. 富山県衛生研究所編集 (2012). 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成23年)
2. 感染症発生動向調査 週報 IDWR (2012). 第12号, 9-14
3. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 6-7
4. 第33回衛生微生物協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンター会議資料 (2012)
5. Poyart, C., Tazi, A., Regilier-Poupet, H., Billoet, A., Tavares, N., Raymond, J. and Trieu-Cuot, P. (2007). J Clin Microbiol, 45, 1985-1988

富山県における2012年の病原微生物検出情報

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子¹ 清水美和子
佐多徹太郎 綿引 正則

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2012

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA¹,
Miwako SHIMIZU, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI

われわれは県内10か所の公立病院検査室, 4か所の富山県厚生センター, 富山市保健所, 衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集している。2012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。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1,265株で, 前年の98.0%であった。最も多かったのは大腸菌669株で, 前年の712株から少し減少した。腸管出血性大腸菌(EHEC/VTEC)は, 血清型 O26が14株, O98が1株, O119が1株, O121が6株, O157が8株で合計30株分離された。本年は, EHEC による集団感染事例が3件報告された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌283株(そのうち MRSA は32.9%)であり, 前年の102.2%であった。カンピロバクターは199株で前年の93.9%であった。また, 腸管出血性大腸菌以外の3類感染症の原因菌については, 赤痢菌が2株分離された。

穿刺液: 分離株総数は352株で前年の100.6%であった。コアグラールゼ陰性ブドウ球菌, 黄色ブドウ球菌(MRSA は37.5%), 大腸菌などが多く分離された。

髄液: 分離株総数は0株で, 前年の15株から減少した。

血液: 分離株総数は1,419株で前年の111.3%であった。大腸菌, コアグラールゼ陰性ブドウ球菌, 黄色ブドウ球菌(MRSA は38.0%)が多く分離された。

咽頭および鼻咽喉: 分離株総数は2,226株で前年の96.7%であった。インフルエンザ菌, 肺炎球菌, A群溶連菌が多く分離された。

喀痰, 気管吸引液および下気道: 分離株総数は4,523株で前年の102.5%であった。黄色ブドウ球菌(MRSA は44.3%)が最も多く, 肺炎桿菌, 緑膿菌, インフルエンザ菌, 肺炎球菌なども多く分離された。

尿: 分離株総数は5,919株で前年の105.1%であった。大腸菌が最も多く分離され, 腸球菌, コアグラールゼ陰性ブドウ球菌, 肺炎桿菌, 緑膿菌なども多く分離された。

陰部尿道頸管擦過(分泌物): 分離株総数は1,297株で前年の100.3%であった。*Candida albicans*, B群溶連菌が多く分離された。なお, *Chlamydia trachomatis* は抗原検出による報告である。

謝 辞

県内10か所の公立病院と4か所の富山県厚生センター, 富山市保健所の検査担当各位に感謝いたします。

1. 富山県厚生部くすり政策課

平成25年11月29日

月別・菌種別の病原微生物検出状況(2012年)

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> 04				1	1			5					7
<i>Salmonella</i> 07			1	1		1	3	7		2	1		16
<i>Salmonella</i> 08	2						2	1		1	1	1	8
<i>Salmonella</i> 09								3	1	5	1	1	11
<i>Salmonella</i> その他									2				2
<i>Salmonella</i> 群不明										1			1
<i>Yersinia enterocolitica</i>					2		6	1	2				11
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01, 139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>													0
<i>Vibrio fluvialis</i>								1					1
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>	1		2		1		2	4	2	1	5	2	20
<i>Plesiomonas shigelloides</i>							1						1
<i>Campylobacter</i>	19	15	17	14	12	14	13	13	16	15	30	21	199
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	19	25	29	19	15	27	32	17	23	31	28	283
<i>Clostridium perfringens</i>		1	1	8				9	1	9	1	4	34
<i>Clostridium botulinum</i>													0
<i>Bacillus cereus</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性				2	1	1		1				1	6
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	2	1	1	6	3	2	3	3	1	5	2	5	34
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	38	28	55	34	38	39	53	38	25	39	46	47	480
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC	1				1	2	5	6	7	7			30
<i>Escherichia coli</i> その他, 不明	2	6	13	5	12	23	9	11	5	5	17	11	119
<i>Shigella</i>				1(1)	1								2(1)
合計	83	70	115	101(1)	91	97	124	135	79	113	135	122	1265(1)

注：()内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

<i>Escherichia coli</i>	9	3	5	5	7	3	5	10	4	3	5	15	74
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	5	4	1	1	4	3	7	4	0	3	2	34
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0	6	0	3	1	3	2	3	3	2	8	32
<i>Mycobacterium</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	3	4	5	13	8	7	7	9	11	7	1	80
<i>Staphylococcus</i> コクサラセ陰性	4	6	5	9	7	8	7	8	8	9	6	6	83
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0	4
<i>Anaerobes</i>	10	0	4	3	1	0	4	7	1	8	5	2	45
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	29	17	28	24	32	25	29	41	30	35	28	34	352

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus, B</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	54	14	48	36	52	55	66	61	50	40	45	79	600
<i>Salmonella Typhi</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella Paratyphi A</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Salmonella spp.</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	1	0	4
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	4	2	5	7	7	6	9	5	3	5	59
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	17	18	26	15	12	20	16	20	19	30	22	245
<i>Staphylococcus コアグラーゼ陰性</i>	30	30	30	22	31	32	49	54	28	28	26	39	399
<i>Streptococcus, B</i>	1	2	2	4	3	2	4	5	3	1	1	1	29
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2	4	3	1	4	2	2	2	6	4	2	5	37
Anaerobes	3	2	8	3	2	3	9	3	7	1	2	3	46
合計	124	71	113	94	112	114	158	148	123	98	110	154	1419

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	104	94	79	123	96	117	107	77	84	75	87	123	1166
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Streptococcus, A</i>	49	53	56	24	29	15	22	12	8	6	16	23	313
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	47	37	43	61	55	68	54	54	75	86	98	67	745
<i>C. diphtheriae</i>	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	200	184	178	210	180	200	183	143	167	167	201	213	2226

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>	2	2	0	2	0	3	0	2	4	2	3	4	24
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	62	56	42	54	68	65	60	96	82	84	72	72	813
<i>Haemophilus influenzae</i>	29	23	31	51	49	38	41	45	26	35	26	43	437
<i>Legionella pneumophila</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59	42	44	53	49	67	62	54	64	76	63	48	681
<i>Staphylococcus aureus</i>	154	156	170	186	163	156	160	185	135	158	144	143	1910
<i>Streptococcus, A</i>	3	3	1	5	1	0	1	4	1	1	2	2	24
<i>Streptococcus, B</i>	17	13	20	22	28	20	21	20	17	15	15	13	221
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	33	33	31	31	39	37	38	40	20	23	33	48	406
Anaerobes	0	0	0	0	1	0	0	2	0	1	0	0	4
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	361	328	339	404	398	386	384	448	349	395	358	373	4523

平成25年11月29日

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>	205	193	214	207	206	238	229	266	187	247	222	207	2621
<i>Enterobacter</i> spp.	24	13	13	10	16	15	28	26	20	22	14	21	222
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	32	29	31	26	32	32	36	44	44	53	42	39	440
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	2	2	4	2	2	3	0	1	3	1	2	23
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37	31	28	25	41	39	33	37	26	28	42	35	402
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	22	23	23	25	30	17	21	23	23	17	21	270
<i>Staphylococcus</i> コアケラーゼ陰性	44	48	34	74	82	75	78	96	46	87	58	60	782
<i>Enterococcus</i> spp.	72	69	62	86	82	82	80	99	62	69	85	86	934
<i>Candida albicans</i>	29	15	17	19	23	14	19	25	11	20	14	19	225
合計	469	422	424	474	509	527	523	614	420	552	495	490	5919

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	0	2	0	2	0	2	2	4	1	2	0	16
<i>Streptococcus</i> , B	63	54	46	40	61	40	60	50	49	45	51	48	607
<i>Chlamydia trachomatis</i>	0	2	1	1	1	1	2	2	5	4	3	1	23
<i>Ureaplasma</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	60	60	35	39	48	46	53	67	62	61	62	56	649
<i>Trichomonas vaginalis</i>	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2
合計	124	116	84	80	114	87	117	121	120	111	118	105	1297

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	6	7	9	12	12	4	9	8	6	3	10	7	93
	MSSA	12	12	16	17	7	11	18	24	11	20	21	21	190
	未検査													
	件数	18	19	25	29	19	15	27	32	17	23	31	28	283
穿刺液	MRSA	3	1	1	4	5	3	6	0	2	2	3	0	30
	MSSA	2	2	3	1	8	5	1	7	7	9	4	1	50
	未検査													
	件数	5	3	4	5	13	8	7	7	9	11	7	1	80
髄液	MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	未検査													
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血液	MRSA	12	7	8	10	3	3	9	3	8	9	13	8	93
	MSSA	18	10	10	16	12	9	11	13	12	10	17	14	152
	未検査													
	件数	30	17	18	26	15	12	20	16	20	19	30	22	245
呼吸器	MRSA	74	80	89	67	73	70	77	83	54	71	51	54	843
	MSSA	80	76	81	119	90	86	74	102	81	87	93	89	1058
	未検査													
	件数	154	156	170	186	163	156	151	185	135	158	144	143	1901
尿	MRSA	10	14	7	8	10	14	9	7	11	14	7	3	114
	MSSA	15	8	16	15	15	16	8	14	12	9	10	18	156
	未検査													
	件数	25	22	23	23	25	30	17	21	23	23	17	21	270
その他	MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	未検査													
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

平成24年度富山県食品衛生検査の精度管理調査 －微生物学的検査－

金谷 潤一 磯部 順子 木全 恵子 嶋 智子¹ 清水美和子
佐多徹太郎 綿引 正則

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for
Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2012)

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA¹,
Miwako SHIMIZU, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI

富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として微生物学的精度管理調査を実施している。平成24年度の微生物学的検査の精度管理調査項目は、牛乳中に添加した細菌数の測定及び食肉製品の腸管出血性大腸菌の定性的検査とし、実施した。検査用試料は、衛生研究所で調製後、各検査機関に配布した。各々の検査結果の報告を集計・解析し、評価を行ったので報告する。

あった。菌数測定は各機関の検査実施標準作業書(SOP)に準拠して行うこととした。得られた各機関の2回の実測値を用いて、標準偏差(SD)、変動係数、Z-スコアを算出した。

腸管出血性大腸菌検査用の模擬食品は、市販の国産牛豚合挽肉に腸管出血性大腸菌の培養液を表1のように接種して作製した。なお、市販の国産牛豚合挽肉は予備検査において該菌が検出されないことを確認した。検査法は各機関の検査実施標準作業書(SOP)に準拠して行うこととした。

材料及び方法

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の7機関を対象とし、平成25年1月24日～2月3日に実施した。

細菌数測定用の検体は、牛乳10ml、2検体の菌数がそれぞれ 1.0×10^4 CFU/ml(牛乳A)、 2.0×10^3 CFU/ml(牛乳B)となるよう市販品「枯草菌6633『栄研』」を調製し、牛乳(常温保存可)に添加し作製した。なお、牛乳原液の生菌数は0CFU/mlで

結 果

各機関の検査記録詳細を表2、結果を表3に示した。牛乳Aについては、報告された測定値(各機関の実測値2回を平均した値)の平均は 9.90×10^3 CFU/ml、最大値 1.17×10^4 CFU/ml、最小値 7.95×10^3 CFU/mlであった。標準偏差(SD)は1337.29となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($7.23 \times 10^3 \sim 1.26 \times 10^4$)の範囲内であった。

牛乳Bについては、報告された測定値の平均は

表1. 模擬食品における添加細菌と添加方法

試料名	添加細菌	添加方法と菌数
模擬食品 C	腸管出血性大腸菌 0111	模擬食品に 9.35×10^2 cfu/50g となるよう接種した。
模擬食品 D	腸管出血性大腸菌 026	模擬食品に 8.25×10^2 cfu/50g となるよう接種した。
模擬食品 E	なし	模擬食品に精製水 10 ml を接種した。

1. 富山県厚生部くすり政策課

2.06×10^3 CFU/ml, 最大値 2.37×10^3 CFU/ml, 最小値 1.62×10^3 CFU/mlであった。標準偏差(SD)は242.88となり, 各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($1.57 \times 10^3 \sim 2.55 \times 10^3$)の範囲内であった。

牛乳 A, B について, 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を評価できる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」, $2 <$

$|Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」, $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。牛乳 A, B において, 全機関の Zスコアはいずれも2未満で, 測定は「良好」と判断された。一方, 各機関の実測値(1検体あたり2回)で解析すると, Zスコアはそのほとんどが2未満で, ばらつき度合いは良好と判断されたが, 機関 No.1の1回の実測値の Zスコアが2を超えた。

平成20年度から平成24年度までの5年間において, 生菌数の測定値及び実測値の Zスコアを示した(図1, 2)。測定値はいずれも2未満であったが,

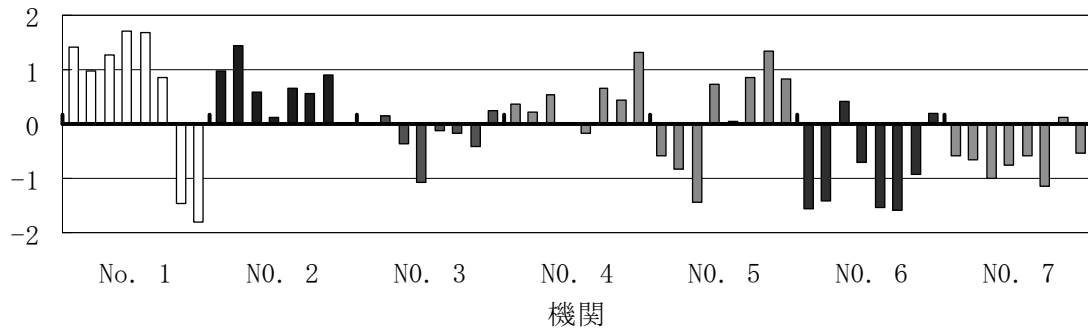


図1. 測定値の Zスコア (H20~ H24)

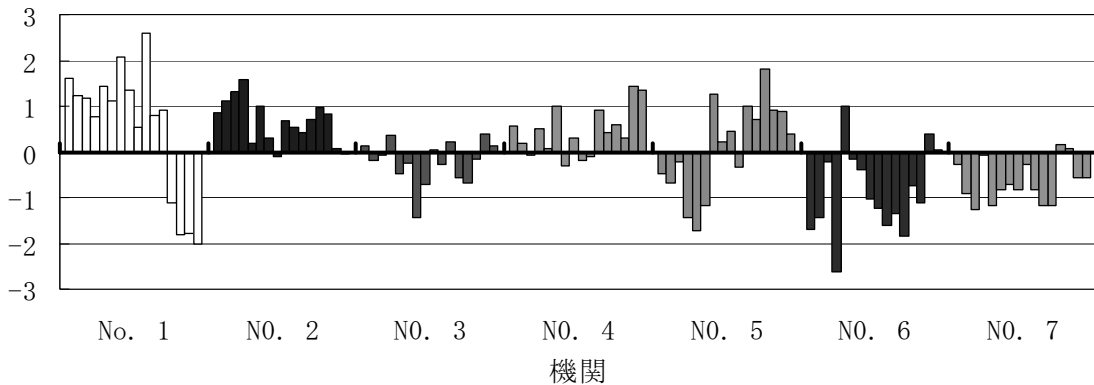


図2 実測値の Zスコア (H20~ H24)

実測値については, 機関 No.1の3回, 機関 No.6の1回が $2 < |Z| < 3$ であった。

腸管出血性大腸菌検査の各機関の成績は表3に示した。すべての機関が食品 C から腸管出血性大腸菌 O111を, 食品 D から腸管出血性大腸菌 O26を分離することができ, 鑑別能力に問題はなかった。そして, 精製水を接種した食品 E からは, 全ての機関で腸管出血性大腸菌は検出されなかった。

考 察

平成20年度から平成24年度までの5年間において, 一般細菌数の測定値の Zスコアをみると, いずれの年も「良好」とされる範囲内であり問題はなかった。ただし, 実測値(1検体あたり2回)をみると, 2つの機関(計4回)で Zスコアが $2 < |Z| < 3$ の範囲であった。精度管理は検査結果の信頼性を判断する一つの材料であるが, あくまで特定の日に, 特定の場所で, 特定の人, 特定の試料を検査した結果に過ぎない。したがって, 検査施設の評価には継続的な観察が必要である。昨年まで

は、その年の報告の中で指摘し、翌年には2回の測定値がすべて範囲内に入る結果に改善されていたことから、精度管理の観点からは各検査施設に問題は無いと考えられる。

今年度は、機関 No.1の実測値のZスコアがわずかに2を越えた。この精度管理調査の参加機関は多くないため、全体的な測定値のばらつきが小さい場合、少しの変動がZスコアに大きく影響する可能性があるのは事実である。従って、Zスコアだけでその測定方法等を否定はできないが、ばらつき度合いの指標として、できるだけスコアが小さくなるよう検討するべきである。

腸管出血性大腸菌感染症は、その重篤な症状から3類感染症に指定されている。従ってこの感染症の原因菌である腸管出血性大腸菌は、最も重要な食中毒原因菌の一つである。しかしながら、通常行っている食品検査で腸管出血性大腸菌が検出されることはほとんどないので、精度管理を通して定期的に検査精度を確認することは重要である。また、平成24年12月17日付け食安監発1217第1号に

より「食品からの腸管出血性大腸菌 O26, O111及び O157の検査法」が通知され、検査法が改正されたこともあり、今年度の精度管理の項目とした。

今回は、O111またはO26を添加した模擬食品を作製した。現在通常の取去検査では、O157以外の腸管出血性大腸菌について検査していないが、これらの菌は食中毒事例発生時には検査対象となる可能性があるだけでなく、O26は保育施設などでの集団感染の原因菌としてしばしば問題となることから、検査精度を維持することが求められる。今年度は、全ての機関で陽性検体からのみ腸管出血性大腸菌を検出することが出来た。今後も定期的に腸管出血性大腸菌の検査を精度管理の項目としていく必要がある。

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

表 2. 平成24年度富山県食品衛生精度管理検査記録詳細

機関名	牛乳A, B		希釈液	培地	手順
	検査期間	採取量			
No. 1	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 2	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 3	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 4	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 5	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1
No. 6	1/22~1/24	1 ml	リン酸緩衝生理食塩水	標準寒天培地	SOP5
No. 7	1/22~1/24	1 ml	滅菌生理食塩水	標準寒天培地	SOP1

機関名	検査期間	採取量	増菌培地	培養温度(°C)	培養時間(h)	分離培地	培養温度(°C)	培養時間(h)
No. 1	1/22~1/25	25 g	mEC培地	42±1	22±2	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-0157, CIX, CT-Vi RX 026	35±1	18~24
No. 2	1/22~1/25	25 g	mEC培地	42±1	21	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-EHEC	36±1	23
No. 3	1/22~1/25	25 g	mEC培地	42±1	21	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-0157, CIX, CT-Vi RX 026, クロモアガー-STEC	35±1	21
No. 4	1/22~1/25	25 g	mEC培地	42±1	20	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-0157, クロモアガー-STEC	36±1	20
No. 5	1/22~1/25	25 g	ノボピオシン加mEC培地	42±1	21	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-0157, クロモアガー-STEC, CT-Vi RX 026	35±1	21
No. 6	1/22~2/1	25 g	mEC培地	42±1	22±2	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-0157, クロモアガー-STEC	35±1	18~24
No. 7	1/22~1/25	25 g	mEC培地	42±1	22±2	CT-SMAC, CT-RMAC, CT-SBMAC, クロモアガー-STEC, CT-Vi RX 026	35±1	18~24

表 3. 平成24年度富山県食品衛生精度管理調査結果

牛乳A生菌数							
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	7.95×10 ³	8400	-1500.0	-1.13	7950	-1950.00	-1.46
		7500	-2400.0	-1.80			
No. 2	1.11×10 ⁴	11200	1300.0	0.98	11100	1200.00	0.90
		11000	1100.0	0.83			
No. 3	9.35×10 ³	9000	-900.0	-0.68	9350	-550.00	-0.41
		9700	-200.0	-0.15			
No. 4	1.05×10 ⁴	10700	800.0	0.60	10500	600.00	0.45
		10300	400.0	0.30			
No. 5	1.17×10 ⁴	12300	2400.0	1.80	11700	1800.00	1.35
		11100	1200.0	0.90			
No. 6	8.65×10 ³	8900	-1000.0	-0.75	8650	-1250.00	-0.93
		8400	-1500.0	-1.13			
No. 7	1.01×10 ⁴	10100	200.0	0.15	10050	150.00	0.11
		10000	100.0	0.08			
平均値 (X)		9900.00			9900.00		
標準偏差 (SD)		1331.86			1337.29		
X+2SD		12563.72			12574.57		
X-2SD		7236.28			7225.43		

牛乳B生菌数							
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	1.62×10 ³	1640	-410.7	-1.79	1615	-435.71	-1.79
		1590	-460.7	-2.01			
No. 2	2.06×10 ³	2070	19.3	0.08	2055	4.29	0.02
		2040	-10.7	-0.05			
No. 3	2.11×10 ³	2140	89.3	0.39	2110	59.29	0.24
		2080	29.3	0.13			
No. 4	2.37×10 ³	2380	329.3	1.44	2370	319.29	1.31
		2360	309.3	1.35			
No. 5	2.19×10 ³	2120	199.3	0.87	2250	199.29	0.82
		2250	89.3	0.39			
No. 6	2.10×10 ³	2140	89.3	0.39	2100	49.29	0.20
		2060	9.3	0.04			
No. 7	1.92×10 ³	1920	-130.7	-0.57	1920	-130.71	-0.54
		1920	-130.7	-0.57			
平均値 (X)		2050.71			2060.00		
標準偏差 (SD)		228.89			242.88		
X+2SD		2508.50			2545.76		
X-2SD		1592.93			1574.24		

模擬食品からの腸管出血性大腸菌検出

機関名	食品C	食品D	食品E
No. 1	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 2	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 3	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 4	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 5	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 6	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性
No. 7	腸管出血性大腸菌0111陽性	腸管出血性大腸菌026陽性	陰性

富山県の温泉利用施設における源泉と浴槽水の成分比較調査

村元 達也 山下 智富 上出 功¹

Comparison of Chemical Ingredients in Source of the Springs and Spring Baths
in Toyama Prefecture

Tatsuya MURAMOTO, Tomohisa YAMASHITA and Isao KAMIDE¹

温泉は自然の資源で、古くから国民の保健休養に大きな役割を果たしており、特に近年は自然とのふれあい志向や健康への関心の高まりを受けて、温泉の果たす役割はますます重要となっている。

平成17年には、温泉利用者に対し温泉に関する確で正確な情報提供が行われるよう温泉法施行規則が改正され、温泉利用施設において、温泉に加水、加温、循環装置の使用、入浴剤添加、消毒処理など(以下「加水等」という)を行っている場合は、その旨とその理由を掲示しなければならないこととなった[1]。

温泉利用施設において掲示されている温泉の成分は、通常、温泉湧出口における分析結果が記載されている。しかし、加水等を行うことによって、源泉と浴槽水の成分に差異が生じる可能性がある。そこで、県内の一部の温泉利用施設における、加水等の実施状況の調査及び源泉と浴槽水の成分分析を行った。

方 法

1. 調査期間

平成21年4月1日～平成25年3月31日

2. 調査対象

当所に温泉成分の再分析依頼があった温泉のうち、施設内に浴槽を有しており、かつ、本調査の実施について温泉事業者からの承諾が得られた15件(温泉 A～O)

3. 調査方法

現地に向いた際に、加水、加温、循環装置の使用、入浴剤添加及び消毒処理などの実施状況について聞き取り調査を行うとともに、源泉及び1箇所の浴槽から採水した浴槽水について、温泉中分析試験を行った。

結果と考察

1. 加水等の実施状況

通常、営業時に加水を行っている施設は6件、加温を行っている施設は11件、循環ろ過を行っている施設は9件、消毒を行っている施設は10件であった。なお、入浴剤を添加している施設はなかった。

加水は温泉資源の保護のほか、浴槽水の温度調節や配管に目詰まりが生じるのを防ぐ目的で、加温は主に入浴に適した温度を保つため、循環ろ過及び消毒は温泉資源の保護及び衛生管理のために行われていた。

2. 源泉と浴槽水の溶存物質濃度の差異

各温泉について、源泉及び浴槽水の溶存物質の総量(溶存ガス成分は含まない)と浴槽水の溶存物質の総量を源泉の溶存物質の総量で除したものの百分率(以下「浴/源」という)をとり、それぞれ加水、加温、循環ろ過及び消毒の実施状況との関係性を調べ、図1に示した。なお、調査時に装置が稼働しておらず、加温を行っていなかった温泉 K と、加水を行っていなかった温泉 M については、それぞれ加温未実施、加水未実施の施設とした。

15件の温泉のうち、温泉 I で浴/源が81.3%に、温泉 B, E, H 及び L で40%以下に減少したが、これらの5施設では加水が行われており、加水によって溶存物質が希釈された結果と推測された。ただし、温泉 I では浴槽水の温度調節のための加水で比較的少量であることから、他の温泉と比べ減少率は低くなっていた。なお、加水を行っていない施設では、加温、循環ろ過又は消毒(以下「加温等」という)を行っている、いないにかかわらず、浴/源は90～110%の範囲にあることから、加温等による温泉の溶存物質の総量の増減に対する影響は、ほとんどないと考えられた。

1. 富山県厚生部くすり政策課

溶存物質の主要な7成分について、加水を行っている施設(以下「加水グループ」という)と行っていない施設(以下「無加水グループ」という)とに分けて、源泉及び浴槽水濃度を比較した散布図を、図2に示した。

ナトリウムイオン(以下「Na⁺」という)、カリウムイオン(以下「K⁺」という)、マグネシウムイオン(以下「Mg²⁺」という)、カルシウムイオン(以下「Ca²⁺」という)、塩素イオン(以下「Cl⁻」という)及び炭酸水素イオン(以下「HCO₃⁻」という)については、無加水グループでは源泉と浴槽水の成分濃度はほぼ等しく、y = xのライン(図2グラフ中の対角線)付近に分布していた。一方、加水グループではy = xのラインから離れた源泉 > 浴槽水側に分布していた。これは、当所において、平成13年4月1日から3年間調査した結果と同様の成分分布であった[2]が、HCO₃⁻については、本調査では無加水グループと加水グループの区別がより明確に現れている。したがって、これら6成分は溶存物質の総量と同様に、加水によって濃度が減少するが、加温等による影響は少ないと言える。

一方、鉄(II)イオン(以下「Fe²⁺」という)については、加水の有無にかかわらず、すべての温泉でy = xのラインより源泉 > 浴槽水側に分布している。これは、Fe²⁺が空気と触れることによって容易に酸化され、溶解度の低い水酸化鉄(III)が生成されたことが原因として考えられ、源泉と同じ濃度では浴槽まで供給されにくいことを示唆している。

3. 溶存ガス成分の変化

温泉に含まれる溶存ガス成分の主たるものとしては、遊離硫化水素(以下「H₂S」という)、遊離二酸化炭素(以下「CO₂」という)、可燃性天然ガスなどがあり、温泉中分析試験においては、H₂S及びCO₂が測定項目となっている。源泉及び浴槽水におけるH₂S及びCO₂の測定結果を表1に示す。H₂Sは温泉A及びIに、CO₂は温泉Iを除くすべての温泉に含まれていた。温泉Dでは、CO₂の濃度は増加したが、これは温泉Dが温泉を源泉から直接浴槽に引湯し、かつ、加水を行っていないためであり、測定誤差の範囲であると考えられる。その他の温泉については、加水等の実施の有無にかかわらず、H₂S及びCO₂の濃度は減少していた。このことから、貯湯槽や浴槽等の源泉が空気と触れる場所において、溶存ガス成分は常温で揮散しているものと考えられた。

4. 泉質、泉温及びpHの変化

源泉及び浴槽水の泉質、泉温及びpHを表2に示す。

源泉と浴槽水との泉質を比較したところ、温泉Aでは、源泉が単純硫黄泉であったのに対し、浴槽水ではアルカリ性単純温泉に、温泉Hでは、源泉がナトリウム-塩化物泉であったのに対し、浴槽水では泉質なしに、また、温泉Lでは、源泉が含二酸化炭素-ナトリウム・マグネシウム-塩化物・炭酸水素塩泉であったのに対し、浴槽水ではナトリウム・マグネシウム-塩化物・炭酸水素塩泉に変わっていた。温泉AはH₂Sの揮散により、温泉Hは加水による成分濃度低下のため、また、

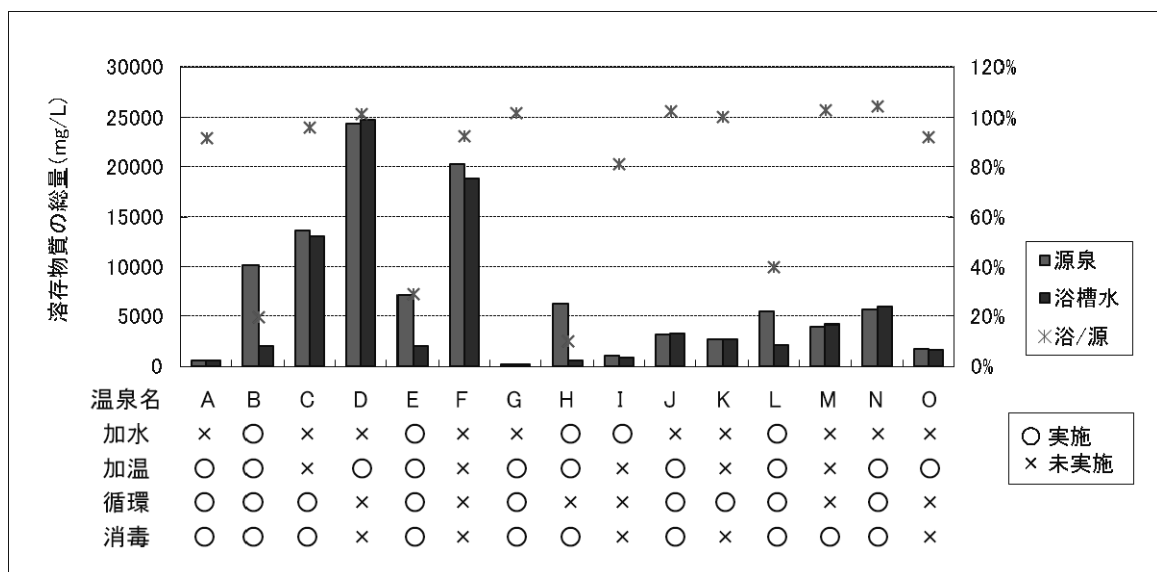
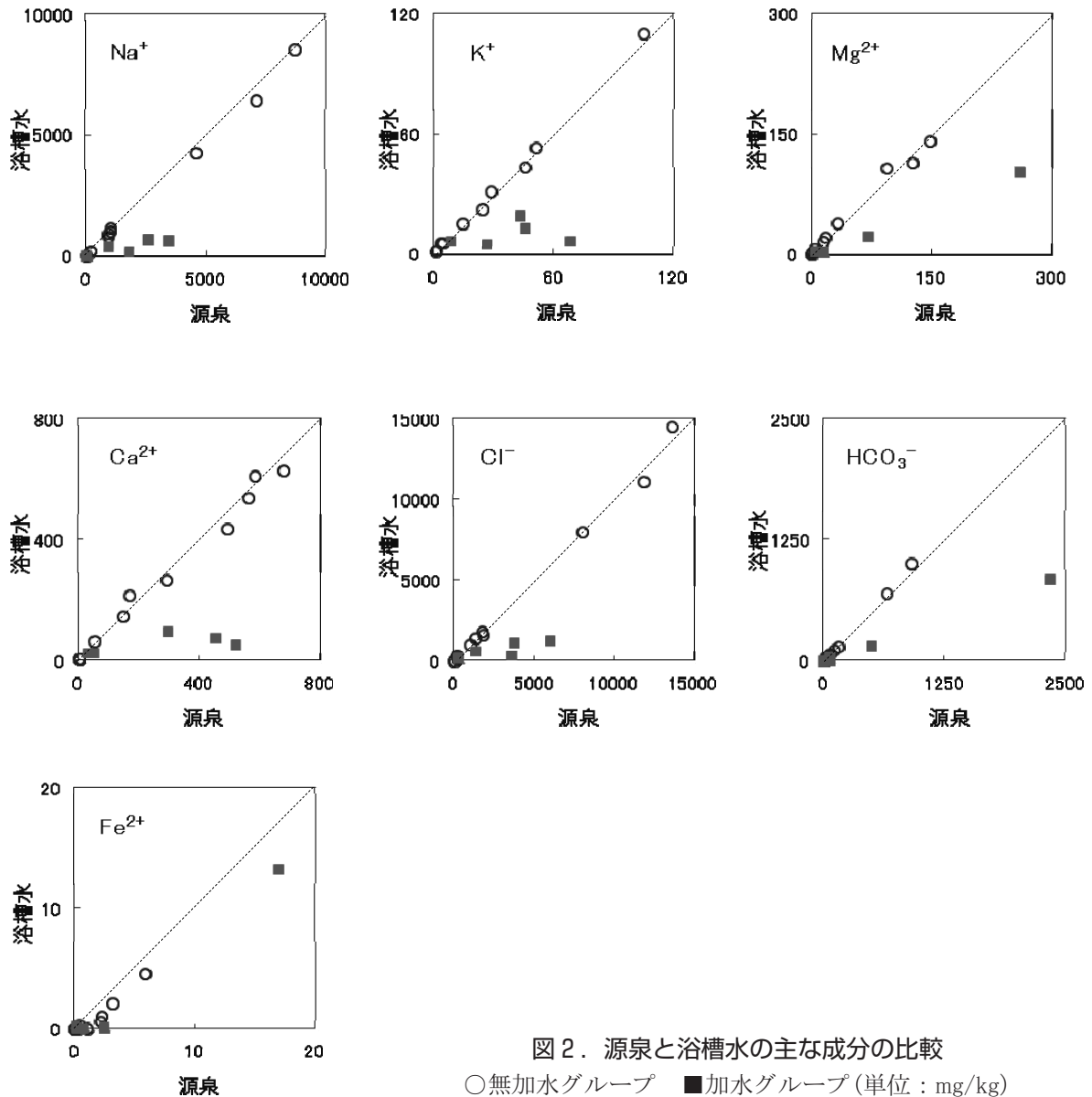


図1. 源泉及び浴槽水の溶存物質の総量と源泉の利用状況一覧



温泉 L は加水及び CO₂ の揮散によって、それぞれ泉質が変わったと考えられた

源泉の温度が、温泉法第2条第1項に規定する摂氏25℃以上を満たしていたのは、10温泉であった。また、入浴が可能な状態になっていた13施設について、浴槽水の温度は41～46℃、平均42.2℃に管理されていた。

源泉と浴槽水との pH 値を鉱泉分析法指針(最終改正:平成14年3月)の「液性の分類」により比較したところ、源泉と浴槽水とで液性が異なっていたのは、温泉 H, J, L 及び N の4温泉であった。

温泉 H では、源泉が弱アルカリ性(pH7.5以上8.5未満)であったのに対し、浴槽水は中性(pH 6以上7.5未満)となった。その原因として、温泉 H では加水が行われていることから、加水によって

温泉成分が希釈されたことが考えられた。実際に、pH 値は8.04から7.04と水酸化物イオン濃度で1/10量まで低下しており、これは溶存物質の総量の減少割合と一致する。

温泉 L では、源泉が中性であったのに対し、浴槽水は弱アルカリ性となった。温泉 L でも加水が行われているが、中性からアルカリ性への pH 上昇が起きており、希釈による影響は考えにくい。この温泉では CO₂ の揮散(源泉:1056→浴槽水:109mg/kg)が確認されており、酸成分が減少したことによって pH が上昇したと考えられた。同様に、温泉 O についても、CO₂ の揮散(源泉:409→浴槽水:130mg/kg)による pH の上昇が確認された。

温泉 J では、源泉が弱アルカリ性であったのに

表1. 源泉及び浴槽水の溶存ガス成分濃度

H ₂ S		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
源泉	0.61	0	0	0	0	0	0	0	0	2.19	0	0	0	0	0	0
浴槽水	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1.53	0	0	0	0	0	0
CO ₂		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
源泉	0.01	3.9	4.6	152	9.2	19.6	19.7	20.2	0	12.3	6.6	1056	7.3	17.2	409	
浴槽水	0.01	1.3	2.7	164	6.3	13.5	16.5	11.9	0	5.7	5.3	109	6.4	14.1	130	

表2. 源泉から浴槽へ供した際の泉質、泉温及びpHの変化

温泉名	A		B		C		D		E	
区別	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽
泉質	単純S泉	アルカリ性単純温泉	Na-Cl泉	Na-Cl泉	Na-Cl泉	Na-Cl泉	強Na-Cl泉	強Na-Cl泉	Na-Cl	Na-Cl泉
泉温(°C)	44.2	42.0	54.9	41.1	51.5	43.6	30.6	45.5	15.0	43.4
pH	9.82	9.46	7.49	7.10	7.54	7.76	7.12	7.12	8.10	7.75
液性	アルカリ性	アルカリ性	中性	中性	弱アルカリ性	弱アルカリ性	中性	中性	弱アルカリ性	弱アルカリ性
温泉名	F		G		H		I		J	
区別	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽
泉質	強Na-Cl泉	強Na-Cl泉	なし(メタケイ酸)	なし(メタケイ酸)	Na-Cl泉	なし	酸性・含Fe・S-SO ₄ ⁻ ・Cl泉	酸性・含Fe・S-SO ₄ ⁻ ・Cl泉	Na-Cl泉	Na-Cl泉
泉温(°C)	45.4	41.1	6.6	42.2	27.0	41.6	72.5	42.6	19.7	41.3
pH	7.14	7.30	6.68	6.76	8.04	7.04	1.88	2.35	7.55	9.09
液性	中性	中性	中性	中性	弱アルカリ性	中性	酸性	酸性	弱アルカリ性	アルカリ性
温泉名	K		L		M		N		O	
区別	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽	源泉	浴槽
泉質	Na-Cl泉	Na-Cl泉	含CO ₂ -Na・Mg-Cl・HCO ₃ 泉	Na・Mg-Cl・HCO ₃ 泉	Na・Ca-Cl・SO ₄ 泉	Na・Ca-Cl・SO ₄ 泉	Na・Ca-SO ₄ ・Cl泉	Na・Ca-SO ₄ ・Cl泉	Ca・Mg・Na-HCO ₃ ・Cl泉	Ca・Na・Mg-HCO ₃ ・Cl泉
泉温(°C)	22.6	22.7	29.1	41.9	57.6	55.5	29.3	42.4	13.2	41.3
pH	9.62	9.30	6.94	7.76	8.20	8.44	8.63	7.99	6.60	7.40
液性	アルカリ性	アルカリ性	中性	弱アルカリ性	弱アルカリ性	弱アルカリ性	アルカリ性	弱アルカリ性	中性	中性

対し、浴槽水はアルカリ性(pH8.5以上)に、温泉Nでは、源泉がアルカリ性であったのに対し、浴槽水は弱アルカリ性にそれぞれ変化した。これら2温泉の源泉と浴槽水とで目立った成分の変化は認められない。しかし、現地及び採水後試験室で測定した源泉のpH値は、温泉Jで7.55及び8.06、温泉Nで8.63及び8.21と、湧出後の時間経過によって比較的大きな変動が見られた。温泉Jでは浴槽水を100%循環利用している。また、温泉Nでは、源泉を貯湯槽で貯留するとともに、循環ろ過を行っている。このことから、何らかの因子によって、時間経過に伴ったpH変動が起きたことが考えられた。

その他の温泉では液性の変化は見られず、源泉と浴槽水でほぼ同じ値をとるか、低pH温泉では微増、高pH温泉では微減する傾向が見られた。

ま と め

県内の温泉について、源泉と浴槽水の成分等の比較調査を行ったところ、加水や溶存ガス成分の

揮散等によって、分析結果に差異が生じている施設があった。加水の程度は気温の変化や利用者の多寡等により変動する可能性があるため、これらの施設の浴槽水の成分濃度を常時監視・測定することは困難と考えられる。源泉と浴槽水の泉質が大きく異なる場合などに、温泉事業者が利用者に対してどのように情報提供を行うことができるか、課題である。

文 献

1. 平成17年環境省令第2号「温泉法施行規則の一部を改正する省令」
2. 高柳信孝, 健名智子(2004) 富山県衛生研究所年報, 27, 160-162

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表

[著書・総説]

1) スガ科, ニセスガ科, クチブサガ科, コナガ科

山内健生・広渡俊哉*

日本産蛾類標準図鑑3, 広渡俊哉・那須義次・坂巻祥孝・岸田泰則 編, pp. 169-175. 学研教育出版, 東京, 2013

2) インフルエンザ診断マニュアル(第2版)

今井正樹*・高下恵美*・岸田典子*・藤崎誠一郎*・徐 紅*・中内美名*・高山郁代*・松井清彦*・影山 努*・小田切孝人*・押部智宏*・小淵正次・加瀬哲男*・川上千春*・高橋雅輝*・平良勝也*・安井善宏*・皆川洋子*・調 恒明*

病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 編, p1-85.

(http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza_2003.pdf), 2013

3) 高病原性鳥インフルエンザ診断マニュアル(第3版)

今井正樹*・高下恵美*・岸田典子*・藤崎誠一郎*・徐 紅*・中内美名*・高山郁代*・松井清彦*・影山 努*・小田切孝人*・押部智宏*・小淵正次・加瀬哲男*・川上千春*・高橋雅輝*・平良勝也*・安井善宏*・皆川洋子*・調 恒明*

病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 編, p1-30.

(http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/avian_influenza_2003.pdf), 2013

4) 手足口病病原体検査マニュアル

板持雅恵, 飯塚節子*, 山下照夫*, 中田恵子*, 石橋哲也*, 清水博之*, 西村順裕*, 吉田 弘*

病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 編, p1-37.

(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/HFMdis.pdf>)

5) ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル

板持雅恵, 世良暢之*, 石橋哲也*, 林 志直*, 山下照夫*, 清水博之*, 西村順裕*, 吉田 弘*

病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会 編, p1-39.

(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/polio.pdf>)

6) 菌種同定のための遺伝子検査の現状と課題

磯部順子

平成25年11月29日

日本防菌防黴学会誌. 41. 213-220. 2012

7) 焼肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌による集団食中毒の概要

磯部順子

日本食品微生物学会誌 29. 94-97. 2012.

[原 著]

1) Ecological and genetic analyses of the complete genomes of *Culex flavivirus* strains isolated from *Culex tritaeniorhynchus* and *Culex pipiens* (Diptera:Culicidae) group mosquitoes.

Mayumi Obara-Nagoya, Takeo Yamauchi, Mamoru Watanabe, Sumiyo Hasegawa, Masae Iwai-Itamochi, Eiji Horimoto, Takenori Takizawa, Ikuo Takashima*, Hiroaki Kariwa*

J Med Entomol 50, 300-309, 2013

Culex flavivirus(CxFV) is an insect-specific flavivirus that was first reported in 2007 in Japan. CxFV strains were isolated from *Culex tritaeniorhynchus* Giles and *Culex pipiens* L. group mosquitoes and genetically characterized in Toyama Prefecture, Japan, from 2004 to 2009, to reveal host specificity, mode of transmission, and seasonal and geographical distribution. The minimum infection rate (MIR) of CxFV within *Cx. tritaeniorhynchus* populations was 0.3 and much lower than that within *Cx. pipiens* group (17.9). The complete genome sequences of 11 CxFV isolates (four from *Cx. tritaeniorhynchus* and seven from *Cx. pipiens* group) consisted of 10,835-10,837 nucleotides. When these 11 isolates and five reference strains (NIID-21-2 and Tokyo strains from Japan, Iowa07 and HOU24518 strains from the United States, H0901 strain from China) were compared, there were 95.2-99.2% nucleotide and 98.1-99.8% amino acid identities. Phylogenetic analysis showed that the 11 isolates were divided into four clusters. One cluster consisted of five isolates from *Cx. pipiens* group and *Cx. tritaeniorhynchus* from one site and their nucleotide sequences almost completely matched. One cluster consisted of an isolate with a unique sequence from a *Cx. pipiens* group mosquito captured in an aircraft from Taiwan, suggesting that it was introduced from abroad. CxFV strains were divided into several groups according to countries when nucleotide sequences of CxFV available in GenBank and 11 Toyama isolates were compared. These results suggest that CxFV is maintained in nature among *Culex* mosquitoes in a mosquito habitat-specific but not a species-specific manner.

2) Molecular analysis of genome of the pandemic influenza A (H1N1)2009 virus associated with fatal infections in Gunma, Tochigi, Yamagata and Yamaguchi prefectures in Japan during the first pandemic wave

Obuchi M, Toda S*, Tsukagoshi H*, Oogane T*, Abiko C*, Funatogawa K*, Mizuta K*, Shirabe K*, Kozawa K*, Noda M*, Kimura H*, Tashiro M*

Jpn. J. Infect. Dis., 65(4): 363-367, 2012

3) Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates identify a prevalent sequence type, ST505, and a distinct clonal group of clinical isolates in Toyama Prefecture, Japan

Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, Keiko Kimata, Tomoko Shima, Miwako Shimizu, Fumiaki Kura*, Tetsutaro Sata, and Masanori Watahiki

J. Infect. Chemother. 2012. Epub ahead of print.

We performed comparative analyses of *Legionella pneumophila* serogroup (SG) 1 isolates obtained during 2005-2012 in Toyama Prefecture, Japan, by sequence-based typing (SBT) and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE). Seventy-three isolates of *L. pneumophila* SG 1, including 17 isolates from patients, 51 from public baths, 4 from cooling towers, and 1 from a shower, were analyzed. The isolates were classified into 43 sequence types (STs) by SBT and 52 types by PFGE. Fourteen STs were unique to Toyama Prefecture, as determined from the SBT database of European Working Group for *Legionella* Infections (EWGLI), as of October 31, 2012. ST505 strain was identified in 4 isolates from patients and 5 isolates from public baths, and these isolates belonged to 2 PFGE types. These, however, were similar because of the difference with only two restriction fragments, indicating that ST505 strain was prevalent among *L. pneumophila* SG 1 isolates in this area. ST505 strains isolated from patients and public baths were distributed along the river in a western part of Toyama Prefecture. SBT and PFGE profiles of 3 clinical isolates were identical with those of 3 environmental isolates from the suspected origins of the infection in each case, respectively. This finding suggested that SBT and PFGE were useful for epidemiological study. Furthermore, by SBT analysis, we identified a clonal group formed only by 7 clinical isolates that are not associated with bathwater, suggesting that they were derived from unrecognized sources.

4) 温泉水から分離された *Legionella londiniensis* のパルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別と薬剤感受性

古畑勝則*, 奥野ルミ*, 河野喜美子*, 磯部順子, 福山正文*

J. Enviro. Dis. 22. 13-19. 2013.

全国の温泉浴槽水から分離された27株の *Legionella londiniensis* に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法によるクラスター解析を行い、分離地域と遺伝子からの関連性を検討した。供試菌株の制限酵素 *Sfi* I による消化後の電気泳動パターンは非常に多様であり、相同性は低いものの、分離地域ごとに I 群と II 群に大別された。すなわち、I 群は中部地方より東の地域から分離された株が多かった一方で、II 群は中部地方より西の地域から分離された菌株のみであった。また、作成したデンドログラムを80%以上の相同性で見ると、4群のクラスター形成が認められ、いずれの群も同一の分離地域由来株で構成されていた。また、これら供試菌株の薬剤感受性を測定したところ、リファンピシンに対して最も高い感受性 (MIC=0.016 μ g/ml) を示した。さらにピペラシリンの MIC90値は4 μ g/ml と比較的低かったのに対し、イミペネムは32 μ g/ml と高い値を示し、耐性傾向を示した。

5) 嘔吐毒産生性セレウス菌検出イムノクロマトキットの評価

中山素一*, 宮下 隆*, 細谷幸一*, 人見 潤*, 佐藤美紀*, 須永幸恵*, 重松康彦*, 小笠原 準*, 竹中重幸*, 堀川和美*, 磯部順子, 小西良子*, 鎌田洋一*

平成25年11月29日

食衛誌. 53. 273-277. 2012

We evaluated the sensitivity and specificity of an immunochromatography kit, Single-path Emetic Tox Mrk (Merck), which targets a marker protein for the detection of *Bacillus cereus* that produces emetic toxin. Strains were isolated after outbreaks of food poisoning, and from retail prepared foods and food products. The strains were examined for the presence of the emetic toxin-synthetase gene by PCR. All 58 emetic strains were isolated from the food poisoning cases showed a positive reaction in the immunochromatography kit. No emetic strains gave false negative result. Among 47 non-emetic strains, only two strains isolated from the food poisonings and one strain isolated from food products showed a false positive reaction in the test. We concluded that this method has high sensitivity and specificity. The test can be used for detection of emetic toxin-producing *B. cereus* not only from food poisoning cases, but also in food products.

6) Analysis of reducing carbohydrates and fructosyl saccharides in maple syrup and maple sugar by CE

Atsushi Taga*, Shuji Kodama

Chromatographia, 75: 1009-1016, 2012

Reducing carbohydrates in maple syrup and maple sugar were separated by capillary electrophoresis using derivatization with 1-phenyl-3-methyl-5-pyrazolone (PMP) and the characteristics of these samples were studied. Reducing carbohydrate standards including nine monosaccharides and five disaccharides as PMP derivatives could be easily resolved by using 200 mM borate buffer (pH 10.5) as a background electrolyte. Glucose was the most abundant reducing sugar in both maple samples, and mannose was abundant relative to the other sugars. The other monosaccharides (xylose, arabinose, ribose, galactose and N-acetyl-glucosamine) were also detected. When maple syrup and maple sugar were treated with invertase, which removed fructose residues from the reducing ends of fructosyl saccharides, melibiose was detected, suggesting that raffinose exists in both samples. The differences of carbohydrate contents between maple syrup and maple sugar were also discussed.

7) Direct enantioseparation of lipoic acid in dietary supplements by capillary electrophoresis using trimethyl- β -cyclodextrin as a chiral selector

Shuji Kodama, Atsushi Taga*, Sen-ichi Aizawa*, Tomoko Kemmei, Yoshitaka Honda*, Kentaro Suzuki*, Atsushi Yamamoto*

Electrophoresis, 33: 2441-2445, 2012

Lipoic acid, an antioxidant, naturally occurs as the (R)-enantiomer, while synthetic lipoic acid is racemic. It is thus of interest to know the (R)-enantiomer content of lipoic acid supplements. Here, we used capillary electrophoresis to directly enantioseparate lipoic acid in dietary supplements by using a sulfonated capillary with an effective voltage of +18 kV and direct detection at 200 nm. Factors affecting migration time and resolution of lipoic acid were investigated. The optimum background electrolyte was found to be 100 mM phosphate buffer (pH 7.0) containing 8 mM trimethyl- β -cyclodextrin as a chiral selector at 20°C. Under the proposed conditions, direct chiral resolution of lipoic acid in dietary supplements was conducted successfully.

8) Enantioseparation of α -hydroxy acids by chiral ligand exchange CE with a dual central metal ion system

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Sen-ichi Aizawa*, Yoshitaka Honda*, Kentaro Suzuki*, Tomoko Kemmei, Atsushi Taga*

Electrophoresis, 33: 2920-2924, 2012

Using two kinds of central metal ions in a background electrolyte, ligand exchange CE was investigated for the simultaneous enantioseparation of DL-malic, DL-tartaric, and DL-isocitric acids. Ligand exchange CE with 100 mM D-quinic acid as a chiral selector ligand and 10 mM Cu(II) ion as a central metal ion could enantioseparate DL-tartaric acid but not DL-malic or DL-isocitric acid. A dual central metal ion system containing 0.5 mM Al(III) ion in addition to 10 mM Cu(II) ion in the background electrolyte enabled the simultaneous enantioseparation of the three α -hydroxy acids. These results suggest that the use of a dual central metal ion system can be useful for enantioseparation by ligand exchange CE.

9) Determination of ethylenediaminetetraacetic acid in foods by reversed-phase high-performance liquid chromatography

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Yoshinori Inoue*, Kazuichi Hayakawa*

Food Chemistry, 138, 866-869, 2013

A convenient HPLC method for the quantitative determination of EDTA in foods was developed. EDTA in food samples was easily extracted with water by ultrasonication. After converting to Fe(III) complex in the presence of Fe(III) ions, EDTA was separated on a reversed-phase C30 column and detected with ultraviolet detection (260 nm). Citrate and malate, which are present in many foods, also formed Fe(III) complexes but they did not interfere the chromatographic detection of EDTA. The method allowed determination of EDTA in foods at concentrations as low as 0.01 mmol/kg. Good recoveries (95.2-101%) were obtained by the standard addition method on four samples with high repeatability (RSD. 0.8-3.4%). The method was successfully applied to the analysis of EDTA in carbonated drinks, jellies, canned beans, canned corn and food supplements.

10) 若年者を対象とした運動教室参加者の肥満関連遺伝子と運動による減量効果について

田中朋子, 小林直人, 金木 潤, 高島寧子*, 板鼻弘美*, 酒井保宜*, 櫻田惣太郎*

肥満研究, Vol 18, No 3: 212-218, 2012

運動施設を利用した3ヵ月間の「脱メタボ! ウェルネス講座」の参加者について, 肥満関連遺伝子の有無と, 運動や生活習慣の変化による減量効果について調べた. 対象は20~30歳代の若年男性30名, 女性20名である (そのうち男性6名, 女性7名はBMI25未満).

その結果, 全対象者では有意なBMIと腹囲の減少が認められた. 生活習慣の変化との関連は認められなかったが, 運動量が多いことがBMI減少と関連していた.

UCP1 (脱共役タンパク1) については, 遺伝子多型の頻度は若年健康者についての報告より低かった. また, 遺伝子多型ホモ型「GG」は6名 (男性のみ) であり, 開始時のBMI, 腹囲に差はみられず, 減量効果にも違いはなかった.

平成25年11月29日

β 3AR (β 3アドレナリンレセプター) の遺伝子多型の頻度は若年健常者の集団に比べ多かった。多型の有無による開始時のBMI、腹囲に差はみられなかった。しかし、BMI変化量に影響する要因は遺伝子型により異なった。「Trp/Trp」では男性であること、開始時のBMIが高いことが減量に影響していたが、「Trp/Arg + Arg/Arg」では期間中の運動量が多いほどBMIの減少が認められた。

[報 告]

1) 外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の現状 (平成24年度)

研究代表者：山口清次*，研究分担者：原田正平*，研究協力者：鈴木恵美子*，渡辺倫子*，成瀬 浩*，望月孝一*，山上祐次*，安片恭子*，田崎隆二*，九曜雅子，須山範子*，吉井千代子*，安部真理子*，中村多加良*，栗原秀子*，佐々木純子*，木谷美枝*，松本智津子*，河地 豊*，松崎宏子*，平原史樹*，森臨太郎*，松井 陽*

厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「タンデムマス導入による新生児マスクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」平成24年度 総括・分担研究報告書，p108-111

ブラインドサンプル(BLS)を用いた精度管理は、自治体及び施設の現行システムの実情を的確に把握し、施設の検査精度を保証する効果的な方法であることが明らかとなってきた。平成24年度は、全国44検査施設中15施設、自治体3、連絡協議会2及び地域医療機関と協力して実施した。これまでの7年間でBLS 137検体(異常69、正常68)を送付し、見逃しは1検体であった。この見逃しの原因はダブルチェックの未実施と推測された。本研究は現行6疾患が対象であるが、タンデムマスの導入が進んでいることから、今後は、現行精度管理の見直しを含めた詳細な検討が必要である。

2) バーコード付き採血用濾紙の検討(第2報)

研究代表者：山口清次*，研究分担者：原田正平*，研究協力者：河地 豊*，渡辺倫子*，鈴木恵美子*，安片恭子*，山上祐次*，穴澤 昭*，九曜雅子，稲岡一考*，田崎隆二*，花井潤師*

厚生労働科学研究費補助金 成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業「タンデムマス導入による新生児マスクリーニング体制の整備と質的向上に関する研究」平成24年度 総括・分担研究報告書，p101-103

タンデムマス・スクリーニングが全国展開されるにあたり、対象疾患の特性上、検査済み濾紙血を長期保管することが必要と考えられたことから、これに対応できる新しい採血濾紙を作成し、検査技術者の意見聴取による問題点を探った。その結果、乾燥時、検査時の問題が指摘されたが、タンデムマス・スクリーニング法の検証には、新採血濾紙は不可欠であり、今後は採血医療機関での実証試験も含めた改良が必要と考えられた。

3) 富山県のつつが虫病調査

研究分担者：岸本壽男*

研究協力者：名古屋真弓，稲崎倫子，山内健生，渡辺 護，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業 ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究 (H24-新興-一般-008) 平成24年度総括・分担研究報告書，pp. 139-144.

過去につつが虫病が疑われたものの、3つの型(Karp, Kato, Gilliam)の抗体価からは判断できなかった患者の血清を再調査したところ、1例はKawasaki型に対するIgM抗体が陽性であり、つつが虫病であったと考えられた。抗体の検出は少なくとも5つの型について行うこと、ペア血清を用いることが重要であることが再認識された。

これまでに患者、野生げっ歯類から検出されたつつが虫病リケッチア56kDa蛋白の塩基配列について比較したところ、Kawasaki型については配列が一致しており、県内の広範囲に同じタイプのKawasaki型が分布している可能性が示唆された。一方、Karp型については、患者から得られた配列と野生げっ歯類から得られた配列は異なっており、異なるKarp型を持つツツガムシのコロニーが存在していると考えられた。

4) 地方衛生研究所等診断施設の病原体取扱いに関する教育プログラムの研究と評価

研究分担者：佐多徹太郎

研究協力者：綿引正則、名古屋真弓、磯部順子、田中朋子、山下智富、高森亮輔、滝澤剛則

厚生労働省科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業 国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究(H23-新興-一般-009)平成24年度総括・分担研究報告書. pp. 67-71.

実験室バイオセーフティにおいて基本的に大事な点は、実験者が微生物実験手技をマスターしておくことである。各実験者の経験以外は、これに関する教育研修用の資料は残念ながらほとんどない。そこで臨床現場で行われているヒヤリ・ハット事例と同様の事例を収集し評価し、そして教育研修用の資料化をおこない、実際に使って評価していくことにした。今回は事例の収集と解析・評価、そして教育研修用の資料ファイルの試作をおこなった。今後は実際に使ってその効果を評価し、改良を加え完成させていく予定である。

5) 検体輸送における研修会の効果と輸送の実態調査

研究分担者：佐多徹太郎

研究協力者：名古屋真弓、綿引正則、松崎千春*

厚生労働省科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業 国際的なバイオリスク管理の基準に基づく病原体取扱いと管理のモデル総合システムの構築と検証に関する研究(H23-新興-一般-009)平成24年度総括・分担研究報告書. pp. 91-95.

医療施設や民間検査会社を対象に、感染症発生動向調査事業等においてゆうパックにより検体を送付するための研修会を行い、研修会直後と8カ月後に2回アンケートを行った。研修会終了直後のアンケートでは、感染症発生動向調査事業や検体輸送方法についての知識があまりなく、研修会によって理解できたという結果であった。今後のゆうパックを利用した輸送時の対応については、協力できるとした回答が大部分を占めたものの、容器も準備できると回答したのは1名(3.6%)にとどまった。2回目のフォローアップ・アンケートによると、輸送容器を準備したのは1施設にとどまった。研修会のあといずれの施設でもゆうパックを使用した移動実績はなく、外部機関担当者への手渡しが多かった。今後は、バイオセーフティ関連の情報を加えつつ継続して研修会を実施するなど、アンケートによって現状を把握し、より良い検体輸送のための基礎データにしていく必要があると考えられた。

平成25年11月29日

6) 東日本大震災による被災地と富山県で採集した蚊からのウイルス分離

研究分担者：名古屋真弓

研究協力者：渡辺 護，稲崎倫子，山内健生

厚生労働省科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業 感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化，感染リスクの把握に関する研究(H24-新興-一般-007)

平成24年度総括・分担研究報告書. pp. 66-70.

震災被災地及び富山県で捕集した蚊についてウイルスの保有状況を調査した。宮城県気仙沼市では6,294個体(133プール)，岩手県陸前高田市では1,404個体(34プール)，富山県では4,291個体(153プール)をウイルス分離に用いたが，いずれの検体からも JEV 等の病原性ウイルスは分離されなかった。気仙沼市と陸前高田市のアカイエカ群及びイナトミシオカ，富山県のアカイエカ群から *Culex flavivirus* が分離された。また，富山県ではヒトスジシマカから *Aedes flavivirus* が分離された。地震や津波が蚊の保有するウイルスに影響を与えているという証拠は得られなかった。

7) 富山県の愛玩動物におけるマダニ類とノミ類の調査

研究分担者：名古屋真弓

研究協力者：山内健生，稲崎倫子

厚生労働省科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業 感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化，感染リスクの把握に関する研究(H24-新興-一般-007)

平成24年度総括・分担研究報告書. pp. 71-77.

2010年5月～2013年1月に，富山県動物管理センターと県内の動物病院19か所に持ち込まれたイヌとネコから外部寄生虫を採集した。イヌ123頭からは5種184個体のマダニ類(他に未同定のチマダニ属幼虫329個体，マダニ属♀成虫2個体)と2種86個体のノミ類が得られ，ネコ77頭からは2種10個体のマダニ類と2種462個体のノミ類が得られた。得られたマダニ類の大多数はフタトゲチマダニとヤマトマダニであり，キチマダニ，タネガタマダニおよびクリイロコイタマダニの個体数は少なかった。得られたノミ類の大多数はネコノミであり，他にミカドケナガノミが4個体採取された。ヤマトマダニ，フタトゲチマダニ，キチマダニ，ネコノミなど，病原体を媒介しうる種類が市街地に生息していることが確認された。ノミ類187個体とマダニ類230検体(成虫207個体，幼虫340個体23プール)から，各種病原体の遺伝子検出を試みたところ，4種15検体のマダニから紅斑熱群リケッチア遺伝子を検出した。得られたリケッチアはいずれも病原性不明のタイプであった。ヒトに身近な動物であるイヌやネコにもリケッチアを保有するマダニ類が寄生していることが確認された。

8) 3道府県で得られたトコジラミの殺虫剤感受性と適用承認されたマイクロカプセル剤の基礎的検討

研究分担者：名古屋真弓，沢辺京子*

研究協力者：渡辺 護，山内健生

厚生労働省科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興再興感染症研究事業 感染症を媒介する節足動物の分布・生息域の変化，感染リスクの把握に関する研究(H24-新興-一般-007)

平成24年度総括・分担研究報告書. pp. 123-129.

「北海道札幌市」「千葉県成田市」「京都府京都市」で採集されたトコジラミはピレスロイド系のフェノ

トリンとペルメトリンに対して高度の抵抗性を示し、有機リン系のジクロロボスとフェニトロチオンには低度の抵抗性を示した。その中で「千葉県成田市」のトコジラミが全体的に抵抗性が高いことが明らかになったが、先に試験した「千葉系」に比べると、その程度は低かった。今回の試験で、国内13カ所で採集したトコジラミの感受性が明らかになり、北海道から沖縄まで全ての箇所ですレスロイド剤に高い抵抗性の発現が認められた。手軽な剤型が市販されているこれらの薬剤では実質的な駆除は望めないと思われる。有機リン系とカーバメイト系に対しても低度の抵抗性が認められるが、丁寧な散布を行うことで駆除は可能と考えられる。さらに、2012年にトコジラミに適用が承認された有機リン・マイクロカプセル剤2種も抵抗性系統に対して殺虫効果が期待出来ると思われた。

9) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況

研究分担者：田中智之*

研究協力者：名古屋真弓，稲崎倫子，板持雅恵，嶋 一世，堀元栄詞，小淵正次，滝澤剛則

平成24年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究(H22-食品-一般-013)平成24年度総括・分担研究報告書。 pp. 209-217.

富山県におけるノロウイルス(NoV)，サポウイルス(SaV)の流行状況を調査し、また、岩ガキによるウイルス性食中毒のリスクを推測するため、感染性胃腸炎患者、下水流入水、岩ガキからウイルスを検出した。患者からはNoV GII. 4, GII. 13, GII. 2, GII. 3, SaV GI. 1などが検出された。下水流入水からは、NoV GII. 4, GI. 4, GI. 6, SaV GI. 1などが検出された。岩ガキからはNoV, SaV ともに検出されなかった。2012年のNoVは例年と同様にNoV GII. 4が主体であったが、2011/12シーズンには2009aと2006b 亜型が、2012/13シーズンは2006bと2012亜型が主流であった。2003年以降のNoVについてキメラウイルスの有無を調べたところ、12種類が得られた。カプシド領域でGII. 2やGII. 3となるNoVでは、それぞれ3つのタイプのポリマーゼが存在し、一時的な流行にキメラウイルスが関与した可能性が示唆された。

10) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況

研究分担者：田中智之*

研究協力者：名古屋真弓，稲崎倫子，板持雅恵，嶋 一世，堀元栄詞，小淵正次，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究(H22-食品-一般-013)平成22年度～24年度総合研究報告書。 pp. 223-231.

2010～2012年に胃腸炎患者、下水流入水、岩ガキからノロウイルス(NoV)・サポウイルス(SaV)の検出を試みたところ、患者からも下水からもNoV GII. 4が最も多く検出された。GII. 4の2006b 亜型は3年間にわたり検出されたが、2012/13シーズンには新たな2012亜型が検出された。NoVのGI、特にGI. 4は下水から多数検出されるものの患者は少なく、不顕性感染が多いと考えられた。2011年6月にはNoV GII. 2が患者、下水、岩ガキの全てから検出された。岩ガキからNoVが検出されたことで、生食による感染リスクが改めて示唆された。2003～2011年のNoVを調査したところ、多数のキメラウイルスの存在が確認され、NoV GII. 2やGII. 3の一時的な流行にキメラウイルスが関与した可能性が示唆された。

11) 自然界における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

分担執筆(ウイルス部，がん研究部)，富山県厚生部生活衛生課*

平成24年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2012

平成25年11月29日

イヌやネコなどの愛玩動物を対象に、寄生した外部寄生虫におけるリケッチア等の検出を行った。また、例年に引き続き、海外からの侵入監視及び流行状況の把握のため、哺乳類と媒介節足動物における各種感染症の浸淫状況を調査した。

12) 富山県における下水流入水からの腸管系ウイルス検出(平成19～24年)

研究分担者：滝澤剛則，研究協力者：板持(岩井)雅恵，嶋 一世

厚生労働科学研究費補助金：新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業；ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 平成24年度分担研究報告書，pp. 21-26

富山県におけるエンテロウイルス流行状況を把握するために、フィルター吸着溶出法を用いて毎月1回下水流入水のウイルス調査を行った。下水からは生ワクチン接種後2ヶ月の間にワクチン様ポリオウイルスが検出された。本研究班で作製したワクチン様ポリオウイルスを対象とした高感度のリアルタイム PCR 法でも、同様の結果だった。したがって、下水サーベイランスはポリオワクチンの接種状況をよく反映しているものと考えられた。また、下水流入水からは毎月多種のヒトエンテロウイルス B(HEV-B)群が検出され、同じ血清型の HEV-B 群も発生動向の検体からほぼ同時期に検出される傾向を示したことから、下水サーベイランスは不顕性感染も含む地域における HEV-B 群の流行状況をよく反映しているものと考えられた。一方、コクサッキーウイルス A(CoxA)群は発生動向の検体からは検出される一方、下水流入水からはほとんど検出されなかったため、分離培養以外の検出法を導入する必要があると考えられた。

13) ノイラミニダーゼ阻害薬投与患者における薬剤耐性 A 型インフルエンザウイルスの検出

研究分担者：佐多徹太郎，研究協力者：小淵正次，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金：新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業；自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究 平成24年度総括・分担研究報告書，pp. 202-206

ノイラミニダーゼ阻害薬(NI)投与中の薬剤耐性変異ウイルスの発生状況を明らかにするため、インフルエンザ入院患者における NI 投与前後の検体から薬剤耐性ウイルスの検出を試みた。2011/12シーズンの患者11名から、NI 投与前後で A(H3N2)ウイルス27株を分離した。それら分離株について NA 遺伝子を解析したが、薬剤耐性変異は検出されなかった。さらに、ペラミビル投与患者11名の検体から直接 NA 遺伝子断片を増幅し、次世代シーケンサーを用いて薬剤耐性変異を有するマイナーポピュレーションを検索したが、投与前後で変異は検出されなかった。

14) インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間および国立感染症研究所との連携強化に関する研究

研究分担者：皆川洋子*，協力研究者：池田辰也*，水田克己*，長島真美*，新開敬行*，林 志直*，加瀬哲男*，森川佐依子*，廣井 聡*，高橋和郎*，戸田昌一*，調 恒明*，吉富秀亮*，千々和勝巳*，駒込理佳*，長野秀樹*，川上千春*，小淵正次，滝澤剛則，内野清子*，田中智之*，平良勝也*，山下和予*，安井善宏*

厚生労働科学研究費補助地方自治体との連携による新型インフルエンザおよび高病原性インフルエンザ変異株，薬剤耐性株等の早期検出，検査診断系の改良および流行把握に関する研究(平成24年度総括・分担研究年度終了報告書，pp. 7-20，平成22～24年度総合研究報告書，pp. 10-17)

2009/2010シーズンに発生した A/H1pdmN1 ウイルスによるパンデミックインフルエンザ対応にあたり国立感染症研究所(以下：感染研)と地方衛生研究所(以下：地衛研)の緊密な連携に基づく全数検査診断が実施され、その後到来した第1波ではウイルスサーベイランス及びオセルタミビル耐性遺伝子マーカーのサーベイランスが実施された。これらの経験をふまえ、地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会と緊密な連絡調整を行いつつ22年度に構築したコア・サポート地衛研体制を軸とした国内におけるインフルエンザウイルス・サーベイランスの維持強化を図った。

24年度は、22-23年度に引き続き

- (1) 抗ウイルス剤感受性や抗原性変化などのハイリスク変異株サーベイランスの維持強化や検査手法の検討・改善に努めた。協力地衛研はインフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。
- (2) 影山分担研究者(感染研)によるウイルス遺伝子検出試験における精度管理試行に協力した。さらに
- (3) 全国の地方衛生研究所を対象に、インフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査を実施した。

15) リアルタイム PCR 法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法と精度管理

研究代表者：調 恒明*，分担研究者：後藤良一*，研究協力者：山口敬治*，池田徹也*，綿引正則，嶋 智子，飯田奈都子*，川瀬 遵*，亀山光博*，堀川和美*，江藤良樹*

厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「地方衛生研究所における網羅的迅速検査法の確立と、その精度管理の実施、及び疫学機能の強化に関する研究」平成24年度総括・分担研究報告書，p7-18

インターカレート法による食水系感染症原因菌の迅速検査法について、リアルタイム PCR 装置を用いて網羅的迅速検査を開発してきた。平成21年度までに24病原遺伝子を網羅的に検出するキットを作成した(Rapid Foodborne Bacteria Screening 24：RFBS249)。本研究では、平成22年度に RFBS24IV(version4)を、平成23年度に RFBS24V(version5)を開発した。平成24年度は、食中毒・感染症等の事例から得た糞便試料を用いて、検査精度の検討を行った。RFBS24Vの結果は細菌培養法の結果とほぼ一致し、本システムは、網羅的迅速検査法として実用的であることが証明された。

16) リアルタイム PCR 法を用いた食水系感染症原因細菌の網羅的検査法と精度管理

研究代表者：調 恒明*，分担研究者：後藤良一*，研究協力者：山口敬治*，池田徹也*，綿引正則，嶋 智子，飯田奈都子*，川瀬 遵*，亀山光博*，堀川和美*，江藤良樹*

平成22～24年度厚生科学研究費助成金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)「地方衛生研究所における網羅的迅速検査法の確立と、その精度管理の実施、及び疫学機能の強化に関する研究」分担研究最終報告書，p9-51

食水系感染症原因菌の迅速検査法について、リアルタイム PCR 法による網羅的迅速検査法の確立を目的に研究を行った。SYBR Green を用いたインターカレーター法により24種の病原遺伝子を網羅的に検出するシステム(Rapid Foodborne Bacteria Screening 24：RFBS24)を開発し、改良を加えて RFBS24Ⅲとした(第1期：平成19～21年度)。第2期(平成22～24年度)にあたる本研究では、各研究協力機関で所有する機種を使用し RFBS24Ⅲの精度管理を行った上で、検出感度や精度の向上を図るため、さらに改良を行った。プライマーセットならびに組合せを変更して RFBS24IV を作成し、最終的には、PCR サイクル数の増加、プライマーセットの大幅変更、競合型内部標準を導入した RFBS24V を作成した。最終年度には、実際の食中毒・感染症等の事例から得た糞便試料を用いて検討を行った。RFBS24V による結果は、従来の培養法

平成25年11月29日

による結果とほぼ一致し、本システムは網羅的迅速検査法として実用的であることが証明された。これにより、迅速な行政対応に寄与することが期待される。また、数種類の標的遺伝子を同時に検出可能なRFBS24法を応用し、RFBS24V から STEC 用プライマー(*stx1*, *stx2*, *eae*)を採用した STEC 検出検査用キット(RFBS-STEC)を開発した。

17) 病原体管理システムの実用化に際しての検証および改良

研究代表者：西條政幸*, 研究分担者：篠原克明*, 佐多徹太郎, 研究協力者：綿引正則

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究」平成24年度総括・分担研究報告書, p17-36

病原体の安全保管とトレーサビリティ管理及び大量サンプル処理などを効率的に行うことを目的とした病原体の登録、保管、輸送、廃棄における一括管理システム(ICBS システム)を構築する。本システムは、最新のタグ技術を用い、病原サンプルを1本単位で管理し、且つサンプル採取の段階から廃棄までの情報と取扱い履歴を自動的に一括管理するものである。特定病原体管理、大量検体検査、感染症サーベイランス及び研究グループ間情報共有などに機能を特化した管理システムについては、ソフトとハードを含めたシステム全体と実用可能レベルに到達した。本研究では、システムをさらに改良し、新たに物理的ロックシステムとの連携を行い、より汎用性の高い総合システムを構築、再整備する。本改良型病原体管理ソフトの配布は実際の現場における病原体管理作業の効率化と省力化に大いに貢献できるものとする。また、病原体管理情報の統一化は、緊急時の病原体管理における迅速対応に非常に有用である。

18) 病原体管理システムのアクセスコントロール

研究代表者：西條政幸*, 研究分担者：篠原克明*, 佐多徹太郎, 研究協力者：綿引正則

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「病原体及び毒素の管理システムおよび評価に関する総括的な研究」平成24年度総括・分担研究報告書, p37-41

本研究にて開発、改良、検証を行っている病原体管理システム(ICBS システム、以下本システム)は、サンプルの出納、在庫管理のみならず、個別サンプルへアクセス権限を情報として付加することにより、実際の個別アクセス記録をデータとして一括収集・管理できるものである。本研究ではアクセスコントロールの強化と効率化を両立させる目的で、これまでに確立できた個別サンプルへのアクセス権限管理と履歴取得のほかに、実際の保管庫の開閉記録などを一元的に本システムへ集約し、総合的に管理する事を試みた。また、即応化とコスト軽減のため、市販の機器(入退出用カードリーダー、鍵管理ボックス、保管庫開閉感知装置など)を応用し、本システムへのアクセスログを転送し、データベース上に集約させるモデルを構築した。さらに、それらのログを時系列で解析することにより、アクセスが正常に行われたか否かを検知するシステム構想を検討した。今後、試験運用を行い、有用性を検証する予定である。

19) Stx ファージの多様性についての解析

研究代表者：大西 真*, 研究分担者：綿引正則 研究協力者：磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 清水美和子, 金谷潤一

厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)「重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原因子及び診療の標準化に関する研究」平成24年度総括・分担研究報告書, p35-39

平成23年4月に発生した焼肉チェーン店を原因施設とした腸管出血性大腸菌の集団食中毒事例では、細菌学的な特徴として、原因菌が分離されなかった患者群に重症患者が含まれていること、血清群 O111には安定な Stx2プロファージと不安定な Stx2プロファージが存在することなど、これまでの事例とは異なる特徴を示していた。今回、臨床検体および分離株から Stx2ファージを複数分離し、その構造を明らかにした。その結果、ファージ間の構造は極めて類似していること、Stx2ファージの免疫に関する遺伝子の一つである cI 遺伝子の下流に II 型制限修飾遺伝子単位が挿入されていることなどが明らかになった。また、今回解析した Stx2ファージの一つである 395ファージの一部には組換えが起こっていることが推定された。このような特徴は、本食中毒の特徴である原因菌が分離されなかった患者群の存在と不安定なプロファージ現象との関連性について示唆するものであるが、今後、さらに検討が必要である。

20) 東海・北陸地方11施設(地方衛生研究所及び衛生試験所)による IS printing System の実施とデータベースへの登録、及びパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)活用状況調査

研究代表者：寺嶋 淳*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，山田和弘*，加藤真美*，白木豊*，土屋美智代*，木全恵子，中根邦彦*，石畝 史*，岩出義人*，藪谷充孝*，多和田光紀*，山本新也*

厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「食品由来感染症探知システムの構築に関する研究」平成24年度総括・研究分担報告書，p46-78

平成24年度東海・北陸ブロック研究班活動として、本年分離された O157について IS printing System を実施し、その泳動図と菌株情報(集団・散発，分離年月)，IS 型を報告した。その結果、3つの IS 型について他の都県市由来株と同一であった。これらの IS 型の株は3県以上から分離されていた。また、2012年に発生した O121感染事例について PFGE 実施例の報告を行った。

21) 液体培養(Liquid Culture)定量 RT-PCR を用いたレジオネラ属菌迅速検査法の改良

研究代表者：倉 文明*，研究分担者：烏谷竜哉*，磯部順子，八木田健司*，泉山信司*，矢崎知子*，金谷潤一，吉崎美和*

厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉 文明*，平成24年度総括・分担報告書，p 59-70

レジオネラ属菌の定量について、生菌による迅速検査法の改良をおこなった。今年度は、ATP 測定から夾雑菌の量を予測して前処理を変更・追加すること、また、RT-qPCR 阻害回避試薬を添加することを試みたところ、偽陰性反応を軽減することができた。

結果は、通常実施する培養法と比較し、感度90.0%，特異度81.9%ときわめて良好であった。そして、生菌として算出された菌数は、感度83.3%，特異度96.6%となり、特異度の高い方法であることが明らかとなった。この方法は、結果が最短で21時間後に出るなど、施設管理やその指導に十分活用できると思われる。また、増菌前の死菌 DNA 量から、潜在的なレジオネラの棲息を察知でき、注意を促すことも可能であると考えられた。

22) 液体培養(Liquid Culture)EMA-qPCR を用いたレジオネラ属菌生菌迅速検査法の検討

研究代表者：倉 文明*，研究分担者：烏谷竜哉*，荒井桂子*，磯部順子，緒方喜久代*，八木田健司*，泉山信司*，矢崎知子*，金谷潤一，吉崎美和*

平成25年11月29日

厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業

「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉 文明*，平成24年度総括・分担報告書，p 71-70

液体培養液にEMA処理をおこなうことで死菌DNAを切断し，生菌だけを検出する系について検討した。カットオフ値を5CFU/100ml相当とした場合の感度は95.5%，特異度は75.4%で，平板培養法と高い相関を示した。簡便な操作で結果が早期にえられるなど，本法は浴用水におけるレジオネラ生菌迅速検査法であることが期待される。

23) レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み

研究代表者：倉 文明*，研究分担者：森本 洋*，磯部順子，大屋日登美*，緒方喜久代*，中島 洋*，前川純子* 研究協力者：小川恵子*，田中忍*，長瀬敏*，矢崎知子*，吉野修二*，渡辺ユウ*

厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉 文明*，平成24年度総括・分担報告書，p 93-130

標準的な検査法の整理と提示，研修システムの構築，精度管理の3点を柱として検討をおこなった。ワーキンググループ内で，精度管理方法の検討を行い，培地により結果がばらつくこと，また，コンラージする際の力加減により，培養結果が異なることが明らかになった。

24) 富山県の不明感染源解明のための環境調査

研究代表 倉 文明*，研究分担者：磯部順子 研究協力者 金谷潤一

厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業

「公衆浴場におけるレジオネラ対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉 文明*，平成24年度総括・分担報告書，p 151-160

富山県におけるレジオネラ症のおよそ4割が感染源不明となっている。その感染源を明らかにするため，環境調査を行った。調査した水たまり65件とウォッシュ液106件の結果は，21/65(32.3%)，3/106(2.8%)であった。また，新たに河川水と浴用施設のシャワー水からもレジオネラ属菌の分離を試みた。河川水からは菌は分離されなかったが，シャワー水からは7検体(38.9%)から菌が分離された。ウォッシュ液からは *L. pneumophila* SG5が分離されたのみであったが，シャワー水からはSG1に加え，SG3，4，5，6，8，9，UTが分離された。シャワー水はミストが多く，リスクが高いため，注意が必要であることが示された。

25) 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

研究代表者：柴山恵吾*，分担研究者：佐多徹太郎，協力研究者：綿引正則，清水美和子，八柳 潤*，鈴木匡弘*

厚生科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究」研究代表者：柴山恵吾，平成24年度総括・分担研究報告書

Acinetobacter 属菌，特に *Acinetobacter baumannii* complex を構成する4つの genospecies (*A. baumannii*，*A. calcoaceticus*，*A. genospecies* 3，*A. genospecies* 13TU) を迅速に型別する方法を検討し

た。本年度は、gyrB 遺伝子をターゲットとして LinePCR 法を開発し、その型別能力を検討した。今回の検討では、4つの genospecies を完全に識別することはできなかったが、その有用性が示唆された。また、本方法の開発及びその評価をするためのアシネトバクター属菌の臨床分離50株の薬剤感受性試験及び薬剤耐性関連遺伝子の有無を検証する PCR 試験を実施し、報告した。

(2) 学 会 発 表 等

- 1) 富山県における2011年の日本脳炎ウイルス流行予測調査
名古屋(小原)真弓, 山内健生, 渡辺 護, 板持(岩井)雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第47回日本脳炎ウイルス生態学研究会 平24. 5. 25-26, 阿蘇市
- 2) ノイラミニダーゼ阻害薬服用患者からの薬剤耐性インフルエンザウイルスの検出
小渕正次, 堀元栄詞, 名古屋(小原)真弓, 板持(岩井)雅恵, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
NGS 現場の会第2回研究会, 平24. 5. 24-25, 吹田市
- 3) 長期・継続的な海洋深層水運動浴によるメタボリック症候群対策と皮膚状態の改善への利用の検討
新村哲夫, 田中朋子, 金木 潤, 山腰高子*, 松永憲治*, 清水忠道*, 関 太輔*, 小林俊哉*, 立瀬剛志*, 鏡森定信*
第77回日本温泉気候物理医学会総会, 平24. 6. 8-9, 秋田県仙北市
- 4) 富山県における2011年の日本脳炎ウイルス流行予測調査
名古屋(小原)真弓, 山内健生, 渡辺 護, 板持(岩井)雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 滝澤剛則
第30回記念北陸病害動物研究会 平24. 6. 30, 坂井市
- 5) 富山県における腸管出血性大腸菌 O111集団食中毒~1年経過後の解析データ~
磯部順子
第16回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 平24. 7. 19-20, 秋田市
- 6) 災害発生時の新生児マス・スクリーニング事業の継続と迅速な復旧のための対策
九曜雅子, 花井潤師*, 田崎隆二*, 鈴木 健*
第39回日本マス・スクリーニング学会 平24. 8. 24-25, 東京
- 7) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況
名古屋真弓, 板持雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 滝澤剛則
平成24年度 中部地区獣医師大会 獣医学術中部地区学会 平24. 9. 1-2, 金沢市
- 8) HPLC 法による食品中 EDTA の分析
健名智子, 小玉修嗣, 山本敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
日本分析化学会第61年会 平24. 9. 19-21, 金沢市
- 9) 有機酸の光学異性体分析-2価及び3価の金属イオンを組み合わせた中心イオンによる配位子交換キャピラリー電気泳動法の開発
小玉修嗣, 多賀 淳*, 山本 敦*, 會澤宣一*
日本分析化学会第61年会 平24. 9. 19-21, 金沢市

平成25年11月29日

- 10) 身体活動が骨に与える影響はメチレンテトラヒドロキシ葉酸還元酵素(MTHFR)遺伝子多型間で違いがあるか？
小林直人, 田中朋子, 金木 潤
第14回日本骨粗鬆症学会, 平24. 9. 27-29, 新潟市
- 11) 日本人によるマダニ研究史: 戦前編(予報)
山内健生
第67回日本衛生動物学会西日本支部大会 平24. 10. 21, 伊勢市
- 12) 居住空間の大気中有機リン化合物の分析
中崎美峰子
平成24年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平24. 10. 11-12, 名古屋市
- 13) 中高年女性の身体活動量に影響を及ぼす気候的要因
小林直人, 田中朋子, 金木 潤
平成24年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会, 平24. 10. 11-12, 名古屋市
- 14) 焼肉チェーン店における生食肉による腸管出血性大腸菌食中毒について
嶋 智子
第14回富山県薬学会年会, 平24. 10. 20, 富山市
- 15) 運動教室参加者の血清総ホモシステイン, アディポネクチンの変化
田中朋子, 小林直人, 金木 潤
第71回日本公衆衛生学会総会, 平24. 10. 24-26, 山口市
- 16) 血中ホモシステイン高値が超音波骨強度指標に与える影響
小林直人, 田中朋子, 金木 潤
第71回日本公衆衛生学会総会, 平24. 10. 24-26, 山口市
- 17) 腸管出血性大腸菌 O26食中毒における IS-printing 法の利用
嶋 智子, 木全恵子, 磯部順子, 金谷潤一, 綿引正則, 佐多徹太郎
第33回日本食品微生物学会学術総会, 平24. 10. 25-26, 福岡市
- 18) 花卉栽培者における農薬曝露調査(2)
中崎美峰子, 末永隆次郎*, 永美大志*, 前島文夫*, 西垣良夫*, 夏川周介*
第61回日本農村医学会学術総会, 平24. 11. 1-2, 松江市
- 19) 骨強度と血中ホモシステイン濃度の関連
小林直人, 田中朋子, 金木 潤
第45回北信越薬剤師学術大会, 平24. 11. 3-4, 新潟市
- 20) 海洋深層水体験施設における長期・継続的な運動浴による健康関連 QOL の改善
新村哲夫, 田中朋子, 金木 潤, 小林俊哉*, 立瀬剛志*, 山腰高子*, 松永憲治*, 清水忠道*, 立浪勝*, 升方章人*, 鏡森定信*
第16回海洋深層水利用学会全国大会海洋深層水2012伊豆大島大会, 平24. 11. 8-9, 東京都大島町
- 21) ノイラミニダーゼ阻害薬投与患者における薬剤耐性 A(H3N2)インフルエンザウイルスの検出

- 小淵正次, 畑崎喜芳*, 津幡眞一*, 篠崎健太郎*, 辻 隆男*, 粕井正春*, 小西道雄*, 稲崎倫子, 名古屋(小原)真弓, 堀元栄詞, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第49回日本細菌学会中部支部総会, 平24. 11. 9-10, 金沢市
- 22) ノロウイルスにおけるキメラウイルスが感染性胃腸炎の流行に与える影響
名古屋(小原)真弓, 板持(岩井)雅恵, 稲崎倫子, 堀元栄詞, 小淵正次, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第60回日本ウイルス学会 平24. 11. 13-15, 大阪市
- 23) A型インフルエンザウイルス市中株およびノイラミニダーゼ阻害薬投与患者由来株における薬剤耐性変異の検出
小淵正次, 堀元栄詞, 稲崎倫子, 名古屋(小原)真弓, 板持(岩井)雅恵, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第60回日本ウイルス学会学術集会, 平24. 11. 13-15, 大阪市
- 24) 腸炎ビブリオ食中毒の減少と環境中の腸炎ビブリオの動態(VP マリン事業調査から)
磯部順子, 嶋 智子, 金谷潤一, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 佐多徹太郎
第46回腸炎ビブリオシンポジウム, 平24. 11. 14-16, 湯布市
- 25) 食品に使用された二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の試験法の検討
村元達也
第49回全国衛生化学技術協議会年会 平24. 11. 21-22, 高松市
- 26) 富山県出身の忘れられた蚊学者: 大塚外次
山内健生
平成24年度 富山県生物学会研究発表会 平24. 12. 2, 富山市
- 27) 当所におけるヒト血液染色体検査の状況
高森亮輔, 稲畑 良, 品川保弘
第47回富山県公衆衛生学会 平25. 2. 7, 富山市
- 28) 富山県における2011/2012シーズンのウイルス性胃腸炎発生状況
稲崎倫子, 名古屋(小原)真弓, 堀元栄詞, 嶋 一世, 小淵正次, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第47回富山県公衆衛生学会 平25. 2. 7, 富山市
- 29) 腸炎ビブリオ食中毒の減少と環境中の腸炎ビブリオの動態(VP マリン事業調査から)
磯部順子, 嶋 智子, 金谷潤一, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 佐多徹太郎
第47回富山県公衆衛生学会, 平25. 2. 7, 富山市
- 30) 富山県におけるヒト由来サルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性の推移(2002-2011)
清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 金谷潤一, 綿引正則, 佐多徹太郎
第47回富山県公衆衛生学会, 平25. 2. 7, 富山市
- 31) 特定健康診査受診者のインスリン抵抗性と肥満, 生活習慣との関連
田中朋子, 中崎美峰子, 金木 潤, 大浦栄次*, 澁谷直美*, 山上孝司*
第47回富山県公衆衛生学会, 平25. 2. 7, 富山市
- 32) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況
名古屋真弓, 板持雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則

平成25年11月29日

平成24年度日本獣医師会 獣医学術学会年次大会 平25. 2. 9-11, 大阪市

- 33) 当所における羊水染色体検査の概要
品川保弘, 高森亮輔, 稲畑 良
第25回富山県母性衛生学会総会・学術集会, 平25. 2. 23, 富山市
- 34) 富山県におけるインフルエンザの流行(2012/13シーズン)
小渕正次, 堀元栄詞
平成24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25. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 35) 東海・北陸におけるウイルス性胃腸炎の発生状況とウイルスの検出状況
稲崎倫子
平成24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25. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 36) 富山県における胃腸炎ウイルス検出状況
稲崎倫子
平成24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25. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 37) 富山県のウイルス及びリケッチア検出状況(平成24年)
稲崎倫子
平成24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25. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 38) 簡易水道水を原因とするエルシニア集団食中毒事例
磯部順子, 嶋 智子, 清水美和子, 木全恵子, 金谷潤一, 綿引正則, 佐多徹太郎
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 39) 富山県における平成24年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況
金谷潤一
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 40) アスファルト道路の水たまり由来 *Legionella pneumophila* 血清群1の遺伝子解析
金谷潤一
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 41) レジオネラレファレンス事業報告
金谷潤一
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 42) 結核菌レファレンス事業報告
磯部順子
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 43) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
磯部順子
平成24年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平24. 3. 7-8, 鈴鹿市
- 44) 腸管出血性大腸菌(EHEC)の Stx プロフェージ塩基配列多型の解析

木全恵子, 嶋 智子, 磯部順子, 佐多徹太郎, 綿引正則
第86回日本細菌学会総会, 平25. 3. 18-20, 千葉市

45) 腸管出血性大腸菌による食中毒事例で観察された Stx2プロファージの解析
磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 佐多徹太郎, 綿引正則
第86回日本細菌学会総会, 平25. 3. 18-20, 千葉市

46) 食品中 EDTA の HPLC 法による分析
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133年会 平25. 3. 28-30, 横浜市

(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 受賞

1. 品川 保弘

地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部長表彰
受賞日 平成24年6月15日

2. 米田 豊

厚生労働大臣表彰
受賞日 平成25年3月22日

(4) 知的 所 有 権

発明の名称	特許権者・出願人	発明者	番号
キャピラリーチューブ 及びその製造方法	富山県・ジエールサイエンス(株)	小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 寺島弘之, 誉田佳孝	特許第4521754号 (平成22年6月4日)

編 集 委 員

委 員 長 金 木 潤
委 員 岸 友 哉
品 川 保 弘
小 渕 正 次
清 水 美 和 子
健 名 智 子
中 崎 美 峰 子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成24年度（2012）第36号

2013年11月29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 北日本印刷株式会社

富山県富山市草島134-10

電 話 （076）435-9224(代)

