

ISSN 0917-0707

# 富山県衛生研究所年報

(平成26年度)

第38号

ANNUAL REPORT  
OF  
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2014~MARCH 2015)

NO. 38

2015



富山県衛生研究所

# 富山県衛生研究所年報

(平成26年度)

第38号

富山県衛生研究所



## は じ め に

平成 26 年度の富山県衛生研究所年報第 38 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 26 年度に行われた業務内容を記載し、さらに関連する調査研究報告や資料としてまとめたものを収載しました。ご高覧いただき、お気づきの点がございましたら、ご教示いただけると幸いです。

平成 25 (2013) 年前後から、新しいウイルス感染症が注目されています。中東呼吸器症候群 (MERS)、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、鳥インフルエンザ A (H7N9)、そして狂犬病です。平成 26 (2014) 年にはエボラ出血熱 (エボラ病ともいう) とデング熱が加わりました。サウジアラビア、中国、台湾、西アフリカといった海外での発生でしたが、SFTS やデング熱はわが国でも発生しました。さらに平成 27 (2015) 年には、韓国で MERS が発生し、患者が 186 名、うち 38 名が死亡しました。接触者追跡調査の結果、隔離や監視下におかれた人は 1 万人を超えました。エボラ出血熱の流行している西アフリカとは異なり、日本と韓国との往来は盛んで、日本各地との間に空路があることから、関係者にはかなりの緊張がはしりましたが、現在では事なきをえています。エボラ出血熱疑似症患者は、これまで東京、大阪、福岡、静岡、千葉で計 9 名見つかりましたが、幸いなことに、国立感染症研究所での検査ではいずれも陰性でした。昨年のデング熱では東京の代々木公園で開催される国際的行事に人が集まることにより輸入感染者等から園内のヒトスジシマカがウイルスを持つようになり、吸血することで人に感染を広げたとされています。いずれも RNA ウイルスが原因となる動物ないしダニや蚊由来の感染症で、致死率が高いものもあることが知られています。幸い富山県での発生はありませんが、エボラ出血熱以外は健康危機管理対策として当研究所ウイルス部で検査を担当しています。

こういった新興・再興感染症が問題になっているとき、平成 26 年 11 月に現在の感染症法の一部が改正され、感染症に関する情報の収集体制の強化が図られることになりました。その中で「検体検査の質の向上を図るため、知事が入手した検体について、知事による検査の実施、検査基準の策定」が規定されて、平成 28 年 4 月から施行されることになり、感染症の検査は実質的に地方衛生研究所が大きな役割を果たすこととなります。今後、検査場所や機器の整備、そして機器の保守管理、試薬の管理等もいま以上に求められ、検査の質の管理もさらに大切な業務になります。これまで以上に、感染症検査の体制強化に向けて進んでいくこととなります。

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 27 年 12 月

富山県衛生研究所所長

**佐多 徹太郎**

# 目 次

## 1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品	5
(8) 各 部 の 業 務 概 要	6
(9) 検 査 状 況	15
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金 等	18
(11) 講 師 派 遣	20
(12) 研 修 指 導	21
(13) 研 修 受 講	22
(14) 客 員 研 究 員	23
(15) 研 究 成 果 発 表 会	23
(16) 各 種 規 程 等	24

## 2. 調 査 研 究 報 告

富山県における新生児マススクリーニングの成果について（平成 26 年度）	25
九曜雅子 米田 豊 西永真理 高森亮輔 齊藤尚仁 角 園子	
ヒト血液の染色体分析結果（平成 26 年度）	37
高森亮輔 品川保弘 西永真理 齊藤尚仁	
流産胎児の染色体分析結果（平成 26 年度）	40
高森亮輔 品川保弘 西永真理 齊藤尚仁	
羊水細胞の染色体分析結果（平成 26 年度）	43
品川保弘 高森亮輔 西永真理 齊藤尚仁	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散发例について（平成 26 年度）	49
稲崎倫子 森岡誠二 稲畑 良 小淵正次 嶋 一世 長谷川澄代 板持雅恵 滝澤剛則	
臨床分離アシネトバクター属菌の <i>rpoB</i> 遺伝子の塩基配列解析による再評価	55
清水美和子 磯部順子 木全恵子 三井千恵子 金谷潤一 綿引正則 佐多徹太郎	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況（2014 年）	61

### 3. 資 料

日本脳炎流行予測調査（感染源調査）平成 26 年度	69
稲崎倫子 嶋 一世 渡辺 護 大平恵吾	
日本脳炎流行予測調査（感受性調査）平成 26 年度	76
稲崎倫子 嶋 一世 小渕正次 板持雅恵 稲畑 良 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 遠藤京子 藤川美香 大平恵吾	
ポリオ流行予測調査（平成 26 年度）	80
長谷川澄代 稲畑 良 小渕正次 稲崎倫子 嶋 一世 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 遠藤京子 藤川美香 大平恵吾	
インフルエンザ流行予測調査（平成 26 年度）	86
小渕正次 稲畑 良 稲崎倫子 嶋 一世 長谷川澄代 滝澤剛則 大井哲夫 南部厚子 大西さやか 遠藤京子 藤川美香 大平恵吾	
富山県における平成 26 年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	91
稲崎倫子 板持雅恵 長谷川澄代 嶋 一世 小渕正次 稲畑 良 滝澤剛則	
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2014 年）	94
木全恵子 三井千恵子 金谷潤一 磯部順子 清水美和子 佐多徹太郎 綿引正則	
富山県における侵襲性肺炎球菌感染症の患者発生動向と患者由来株の血清型別、 薬剤感受性試験およびシーケンスタイピングについて（2014 年）	98
三井千恵子 佐多徹太郎 綿引正則 常 彬 大西 真	
富山県における 2014 年の病原微生物検出情報	101
三井千恵子 磯部順子 木全恵子 清水美和子 金谷潤一 佐多徹太郎 綿引正則	
平成 26 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－	105
金谷潤一 磯部順子 木全恵子 清水美和子 三井千恵子 佐多徹太郎 綿引正則	
農作物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価について	108
堀井裕子 山下智富 細野美香 範本志保	
氷見・高岡沿岸地域における温泉成分の経年変化調査	118
村元達也	
骨質と骨粗鬆症予防－食品との関連について－	122
小林直人 金木 潤 坪野由美 澁谷直美 大浦栄次	

### 4. 業 績

(1) 誌上発表	125
----------	-----

(2) 学会発表等	138
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	140
(4) 知的所有権	140

## Reports

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2014 - Mar.2015)	25
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Mari NISHINAGA, Ryosuke TAKAMORI, Naohito SAITO and Sonoko KADO	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr.2014 - Mar.2015)	37
Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Mari NISHINAGA and Naohito SAITO	
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2014 - Mar.2015)	40
Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Mari NISHINAGA and Naohito SAITO	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2014 - Mar.2015)	43
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mari NISHINAGA and Naohito SAITO	
Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014	49
Noriko INASAKI, Seiji MORIOKA, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, Ichiyo SHIMA, Sumiyo HASEGAWA, Masae ITAMOCHI and Takenori TAKIZAWA	
Re-evaluation of Bacterial Identification by <i>rpoB</i> Sequencing of the Acinetobacter Isolates in the Clinical Settings	55
Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2014	61
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Chieko MITSUI, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA	

## Notes

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014	69
Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Mamoru WATANABE and Keigo OHIRA	
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014	76
Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Masatsugu OBUCHI, Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Mika FUJIKAWA and Keigo OHIRA	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014	80

Sumiyo HASEGAWA, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Mika FUJIKAWA and Keigo OHIRA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2014-2015 .....	86
Masatsugu OBUCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Mika FUJIKAWA and Keigo OHIRA	
Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014.....	91
Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, Ichiyo SHIMA, Masatsugu OBUCHI, Ryo INAHATA and Takenori TAKIZAWA	
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2014 .....	94
Keiko KIMATA, Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI	
Invasive Pneumococcal Disease and Serotypes, Antibiotic Susceptibilities and Sequence Typing of Clinical Pneumococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2014 .....	98
Chieko MITSUI, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Bin CHANG and Makoto OHNISI	
Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2014 .....	101
Chieko MITSUI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Jun-ichi KANATANI, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI	
Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2014).....	105
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Chieko MITSUI, Tetsutaro SATA and Masanori WATAHIKI	
Validation on Simultaneous Analytical Method of Pesticide Residues in Agricultural Products .....	108
Yuko HORII, Tomohisa YAMASHITA, Mika HOSONO and Shiho NORIMOTO	
Secular Variations of Discharge, Temperature and Chemical Components of Hot Spring Waters in Himi and Takaoka Areas .....	118
Tatsuya MURAMOTO	
Relationship between Bone Quality and Food for Osteoporosis Prevention .....	122
Naoto KOBAYASHI, Jun KANAKI, Yumi TSUBONO, Naomi SHIBUYA and Eiji OHURA	





1. 運

營

## (1) 沿 革

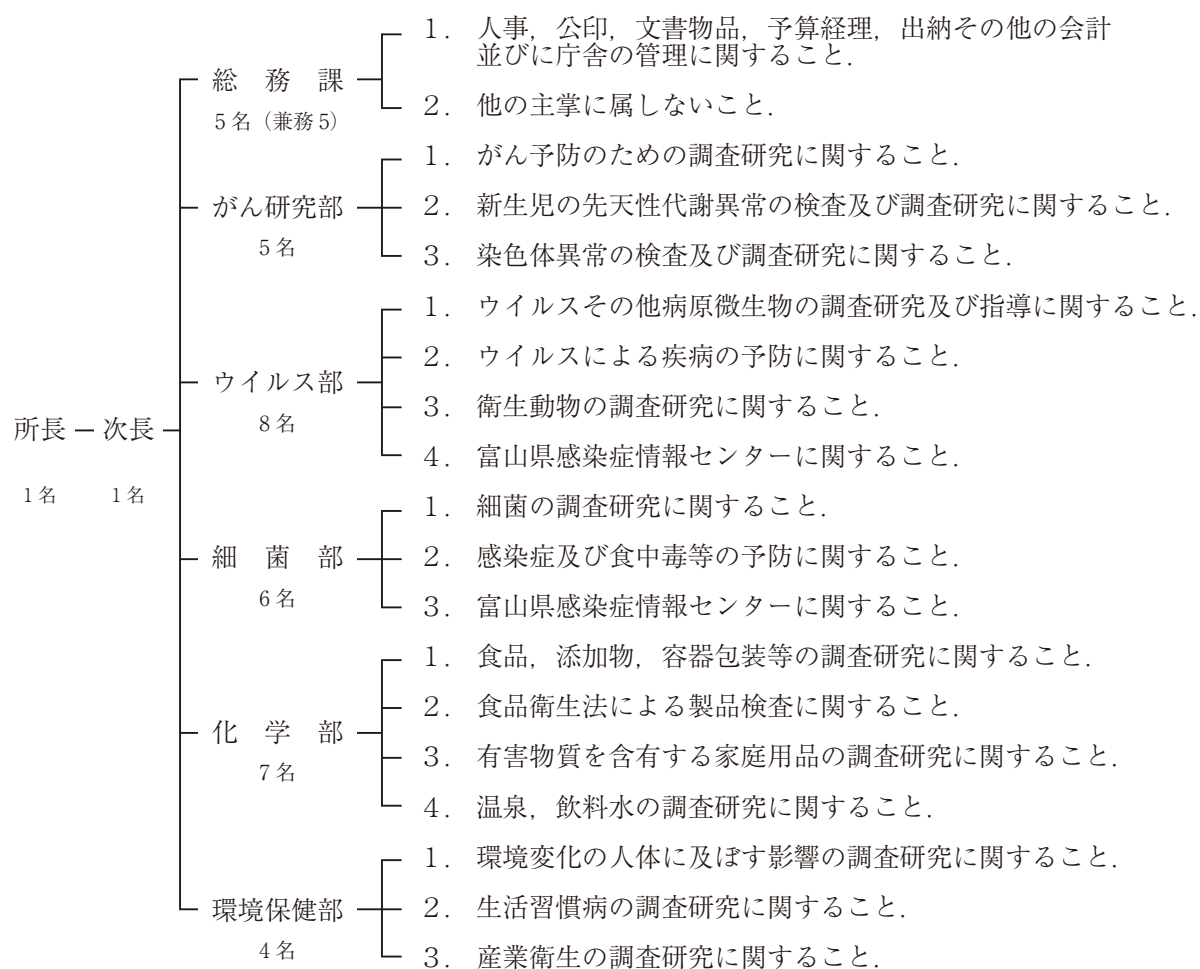
- 昭和 35 年 4 月 1 日 職員 9 名の構成で発足.
- 昭和 36 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員 17 名に拡充強化 (庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
- 昭和 37 年 11 月 30 日 旧研究所の増築.
- 昭和 38 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部 (庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課) を変更.
- 昭和 39 年 10 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 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(1部4階)建	3044.59㎡
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 ベ 庫	〃	17.54
R I 排 水 庫	〃	26.65
排 水 処 理 庫	〃	13.57
渡 り 廊 下	鉄骨建	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

## (3) 組織及び業務

(平成27年6月1日)



## (4) 職 員 数

(平成27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			1	1	1		2			5
ウイルス部	1	1			4			1		1	8
細 菌 部	1			1	4						6
化 学 部	1			2	3			1			7
環境保健部	1			1				2			4
合 計	7	1	1	5	12	1	1	6	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27年6月1日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所	長	佐 多 徹太郎		部	長	綿 引 正 則	
次	長	上 出 功		副主幹研究員		磯 部 順 子	
総 務 課	総務課長(兼)	中 島 敏 寛		主任研究員		範 本 志 保	
	副 主 幹(兼)	光 田 美千代		〃		木 全 恵 子	
	主 任(兼)	浅 井 直 子		〃		三 井 千 恵 子	
	主 事(兼)	米 田 智 美		〃		金 谷 潤 一	
	技能主任(兼)	新 木 康 之					
がん研究部	部 長	次長事務取扱		部 長		高 田 博 司	
	副主幹研究員	九 曜 雅 子		副主幹研究員		健 名 智 子	
	主任研究員	西 永 真 理		〃		堀 井 裕 子	
	主任専門員	品 川 保 弘		主任研究員		中 山 恵 理 子	
	研 究 員	高 森 亮 輔		〃		山 下 智 富	
	〃	金 田 英 亨		〃		村 元 達 也	
ウ イ ル ス 部	参事・部長	滝 澤 剛 則		研 究 員		安 川 和 志	
	主 幹 研 究 員	小 淵 正 次		部 長		金 木 潤	
	主 任 研 究 員	稲 畑 良		副主幹研究員		中 崎 美 峰 子	
	〃	板 持 雅 恵		研 究 員		小 林 直 人	
	〃	名 古 屋 真 弓		〃		田 村 恒 介	
	〃	佐 賀 由 美 子					
	研 究 員	稲 崎 倫 子					
	技 師	長 谷 川 澄 代					

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26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	891				891	所の運営等
試験研究費	43,249	3,120			40,129	所の運営, 維持管理, 試験検査等
設備充実費	2,493				2,493	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,590				1,590	調査研究
がん等特別研究費	7,204		700		6,504	調査研究
合計	55,427	3,120	700		51,607	

### 平成26年度歳入・歳出決算

(歳 入)

科目	決算額(円)	備考
衛生手数料	9,429,460	衛生研究所費 4,117,160 環境衛生検査 5,312,300
財産運用収入	2,048	特許権等運用収入
雑入	27,972	
合計	9,459,480	

(歳 出)

科目	決算額(円)	備考
人事管理費	88,700	嘱託職員の雇用
財産管理費	561,600	庁舎維持管理費
児童福祉対策費	13,122,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	2,411,816	再任用職員の保険料
予防費	6,404,182	感染症関連調査
環境保健対策費	10,610,053	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	52,912,072	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	4,752,278	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	11,875,649	食品安全対策検査
公害防止対策費	318,000	海水浴場細菌検査
工鉱業総務費	925,162	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
教育研究費	787,739	富山県立大学との産学官共同研究
合計	104,769,251	雇用対策費

## (7) 重 要 備 品

(平成 27 年 3 月 31 日現在)

品 名	型 式	購入年月
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
	島津製作所 GC-2010	H25. 4
	ヒューレットパッカード HP6890	H10. 8
	Agilent 6890N	H15. 6
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5. 11
	島津製作所 P&T GCMS QP-2010	H17. 10
	Agilent Technologie 7890A/5975C	H19. 11
	Agilent Technologie 7890B/5977A	H27. 3
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ カルバメート分析システム	H 7. 10
	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-550A	H 4. 3
イオンクロマトグラフ	Thermo Scientific ICS-2100/ICS-1100	H26. 2
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	カールツァイス社製 イカロス	H13. 1
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカード 3DCE	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
	バイオラッド社 CHEF Mapper XA	H23. 9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H11. 3
全有機炭素計(TOC計)	島津製作所 TOC-V CSH	H18. 1
全自動化学発光分析システム	日本分光	H11. 3
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS 5	H11. 12
原子吸光光度計	島津製作所 AA-6700	H 8. 11
マイクロプレートリーダー	コロナ	H 9. 2
	BIO-RAD Benchmark	H12. 9
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H12. 11
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H13. 3
万能顕微鏡	オリンパス VANOXAHBT3-512	H 4. 9
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
卓上走査型電子顕微鏡	日立ハイテクノロジーズ Miniscope TM3000	H23. 11
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
	タカラバイオ(株) TP9000【多波長検出用】	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 シークエンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9. 12
ELISA 測定システム	BIO-RAD 社	H10. 2
定量 PCR (遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7500	H15. 10
キャピラリー型遺伝子解析システムデータ処理装置	ABI PRISM 3130XL	H16. 3
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	G E 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26年度の検体総数は8,844件で、県内28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、112.3%（里帰り出産を含む）となり、前年同様高い割合であった。検査対象疾患は、アミノ酸代謝異常症5疾患、有機酸代謝異常症7疾患、脂肪酸代謝異常症4疾患、ガラクトース血症および内分泌異常症2疾患の計19疾患である。検査の結果、要精密検査として28人（フェニルケトン尿症疑い1人、ホモシスチン尿症疑い1人、極長鎖アシルCoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症疑い3人、ガラクトース血症疑い2人、先天性甲状腺機能低下症疑い11人、先天性副腎過形成症疑い10人）がスクリーニングされ、VLCAD欠損症1人および先天性甲状腺機能低下症7人の計8人の患者が発見された。

##### 染色体検査

平成26年度の検査依頼受付検体数は、羊水149件、血液20件と自然流産胎児68件の計237件であった。前年度と比較すると羊水は26件増、血液は3件減、流産胎児は13件増であった。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、18トリソミー症候群4件、モザイク2件、均衡転座保因者1件、ターナー症候群1件）、8.7%、血液2件（均衡転座保因者2件）、10.0%、流産胎児39件（数的異常35件、倍数体1件、ターナー症候群1件、構造異常1件、構造異常+数的異常1件）、57.4%の計54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等から依頼や問合せがあった17件について、衛生害虫（食品混入異物動物を含む）の同定検査（13件）、相談対応（4件）を行った。

#### [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、及び保健統計年報収載の人口動態データを用い、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、年次推移を継続して解析中である。

##### 先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング検査法に関する研究

タンデムマス法の導入で対象疾患が拡大したことにより、緊急性の高い疾患が増え、早期に医療対応が必要となる例が多くなることから、迅速に確実に患者を発見するための、スクリーニング検査とは別の指標を用いる確認検査法について検討を行っている。

## 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、216症例中174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3名、AH3型インフルエンザウイルス121名、B型インフルエンザウイルス50名）。



上気道炎・下気道炎では、10 症例中 5 症例からウイルスが検出された（ライノウイルス 1 名，パラインフルエンザウイルス 3 型 2 名，アデノウイルス 3 型 1 名）。脳炎・脳症では、9 症例中 6 症例からウイルスが検出された（ライノウイルス 2 名，ヒトヘルペスウイルス 6 型 2 名，メタニューモウイルス 1 名，コクサッキーウイルス B4 型 + サイトメガロウイルス 1 名）。感染性胃腸炎では 27 症例中 23 症例からウイルスが検出された（ノロウイルス Genogroup II; NVGII8 名，サポウイルス 5 名，サポウイルス + パレコウイルス 1 名，ロタウイルス A 群 4 名，ロタウイルス A 群 + エコーウイルス 11 型 1 名，アデノウイルス 41 型 2 名，アデノウイルス 2 型 1 名，アストロウイルス 1 名）。麻疹疑い例 6 症例からは麻疹ウイルスは検出されなかったが，1 症例からパルボウイルス B19 が検出された。つつが虫病では，4 症例中 3 症例からつつが虫病リケッチアが検出された。デング熱 6 症例からはデングウイルスは検出されなかったものの，1 症例からパルボウイルス B19 が検出された。その他の症例として，活気不良 1 症例から単純ヘルペスウイルス 1 型が，川崎病，腎不全，心不全 1 症例からエコーウイルス 11 型が検出された。

### **H I V 抗体検査**

平成 26 年 4 月から平成 27 年 3 月までの 1 年間に 248 件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ，248 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：媒介蚊であるコガタアカイエカの発消長を調査した。5ヶ所の畜舎において6月から10月まで調査を実施したところ，平成 26 年度のコガタアカイエカ捕集総数は，平成 25 年度よりも減少した。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，平成 26 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 261 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 54.8% であった。5～29 歳では 76% 以上が抗体を保有していたが，40～49 歳で 28.0%，50～59 歳で 18.2%，60 歳以上で 26.1% であった。「接種歴なし」の割合は，0～4 歳で最も多く 65.0% で，2013 年と同程度であった。「接種歴あり」の割合は，10～19 歳で 95% 以上であったが，20 歳以上では 40% 以下であった。予防接種歴別の抗体保有率は，「接種歴なし」で 12.0%，「接種歴不明」で 50.0% であったのに対し，1 回以上接種歴のある対象者では 80.6% 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 26 年 7 月～12 月に，富山県内の 1 下水処理場から毎月下水流入水を採取し，ウイルス分離を行った。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：平成 26 年 7 月～9 月に，0 歳から 86 歳までの 261 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 95.4%，2 型では 99.6%，3 型では 90.8% であった。また，各型に対する幾何平均抗体価は，1 型は 143.1 倍，2 型は 91.2 倍，3 型は 49.9 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（2014 年 7～9 月）と感染源調査（2014 年 11 月～2015 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 261 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，2014/15 シーズン インフルエンザ ワクチン 株 の A/California/7/2009 (H1N1) pdm09, A/New York/39/2012 (H3N2), B/Massachusetts/2/2012 (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 50.6%，56.7%，27.2%，25.3% であった。

感染源調査：インフルエンザウイルスは，AH1pdm09 型が 0 株，AH3 型が 125 株，B 型が 35 株分離さ

れ、AH3 亜型およびB 型ウイルスの混合流行となった。シーズン前半はAH3 亜型が主流であったが、後半は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。2014 年4 月から2015 年3 月の間に、エンテロウイルスはエコーウイルス6、11 型、コクサッキーウイルスB3、B4、B5 型が分離された。エコーウイルス11 型は発生動向調査の一部の患者からも検出されているが、2014 年7 月以降の下水流入水から毎月検出されていたことから、不顕性感染者も多かったことが推測された。ノロウイルスは、ほぼ毎月下水流入水から検出された。遺伝子型別では、患者から高頻度に検出されるGII/4 以外に、患者からはほとんど検出されることのないGI/8 が高頻度に検出された。GI/8 には不顕性感染者が多数存在すると推定された。

##### ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2014 年4 月から2015 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17 事例のうち、13 事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えると、ウイルス性胃腸炎の集団発生は計18 事例であった。原因と推定されたウイルスの内訳は、NoVGII が17 事例、NoVGI が1 事例であった。NoV の型別は、GII/4 が10 事例と最も多かった。

発生施設別にみると、宿泊施設での発生が6 事例、飲食店が3 事例、福祉施設、学校が各2 事例であった。11 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)

マダニ媒介感染症対策の基礎資料を得るため、富山県の市街地においてマダニ類の生息調査を行い、重症熱性血小板減少症候群ウイルス(SFTSV)の検出を行った。2014 年4 月～11 月に都市公園2 地点、河川敷4 地点、低山地2 地点においてマダニ類の採集を行ったところ、都市公園では4 種類、河川敷では6 種類、低山地では8 種のマダニ類が得られた。2013 年4 月～11 月に採集したマダニ類7 種379 個体からは、SFTSV は検出されなかった。

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、ハンタウイルス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。

#### [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 36 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 26 年は、腸管出血性大腸菌感染症が 15 件（17 名）、赤痢が 1 件（4 名）、腸チフスが 1 件（1 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 9 件（9 名）、O26 4 件（6 名）、O121 1 件（1 名）、O91 1 件（1 名）であった。腸管出血性大腸菌による集団感染および家族内感染は 1 件であった。また、分離株について国立感染症研究所（パルスネット）に全国分離株との比較を依頼し、分離株の送付事務を行った。

赤痢 1 件は *Shigella sonnei* による家族内感染であった。赤痢菌感染者 4 名のうち 2 名は海外渡航歴があり、2 名は海外渡航歴のない患者であった。腸チフス 1 件は散发事例であり、海外渡航歴のない患者であった。

**細菌性食中毒検査：**平成 26 年度は、当所における細菌性食中毒検査はなかった。

**レジオネラ症検査：**厚生センターから搬入された喀痰 19 検体から分離培養を行った結果、10 検体からレジオネラ属菌が分離された。

**食品検査：**6 月に清涼飲料水 25 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）16 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 17 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。6 月に生食用牛肉 5 検体について腸内細菌科菌群の検査を行った。5 検体とも陰性であり、成分規格基準に合致していた。

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 26 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、大腸菌が 9 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 120 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。

**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 7 か所、計 20 検体について、一般細菌、大腸菌定量、嫌気性芽胞菌、従属栄養細菌数を実施した。4 検体で大腸菌が検出された。嫌気性芽胞菌はすべての検体で陰性であった。

### [病原細菌検出情報]

県内 10 か所の病院と 4 か所の厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原細菌検出数は、1,203 株、前年比 98.1%であった。最も多かったのは大腸菌 632 株で、以下、黄色ブドウ球菌の 258 株、カンピロバクター 178 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、厚生センターでヒトから分離された菌株の収集、解析を行った。2014 年 1 月～12 月までに当所に送付された菌株は 18 株で、それらの血清型の内訳は *S. Thompson* が 3 株、*S. Infantis* が 2 株、*S. Saintpaul* が 2 株、*S. Corvallis* が 2 株、その他 9 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、18 株が何らかの薬剤に耐性を示し、多いものは 5 薬剤に耐性を示した。

**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 O157 及び O111 分離株の Stx2 プロフェージの塩基配列の解析を行った。

**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開発した。平成 26 年度は、この検査法を評価するため、県内医療機関からアシネトバクター属菌の臨床分離株 75 株を収集し、薬剤感受性検査、遺伝子検査を実施した。

**溶連菌の血清型別調査：**平成 26 年に県内 1 か所の病院で分離された溶連菌を型別した。24 株すべてが A 群で、検出率が高い T 型は、順に T6 型、T1 型、T25 型であった。

**カンピロバクターの臨床分離株に関する調査：**平成 26 年度に県内 1 か所の病院で分離されたカンピロバクター 62 株の収集解析を行った。62 株すべてが *C. jejuni* であった。分離菌について 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 11 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 10/44 検体（22.7%）、シャワー水 10/34 検体（29.4%）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、土壌 25/64 検体（39.1%）、河川水 15/34 検体（44.1%）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 20 株について VNTR（JATA15）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、牛乳の生菌数測定および模擬食品中の黄色ブドウ球菌数測定とした。なお、模擬食品は市販のコーンビーフを原料とし、基準値（1,000 /g）以上の黄色ブドウ球菌を添加した 1 検体、基準値以下の黄色ブドウ球菌を添加した 1 検体、ブドウ球菌（レシチナーゼ反応およびコアグラゼ試験陰性）を添加した 1 検体の計 3 検体を各機関に配布した。生菌数および黄色ブドウ球菌数の測定は、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。

**水質検査精度管理：**「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、一般細菌について県内の水道水質検査実施機関 21 機関の精度管理を行った。枯草菌 201 cfu/ml を添加した滅菌水を検体とし、陰性対照検体（滅菌水）とともに各機関に配布した。Grubbs 検定により外れ値の検討を行ったが、棄却された機関はなかった。21 機関の平均細菌数±標準偏差は 203 ± 14.2 cfu/ml であり、変動係数は 7.0%であった。

#### [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）：**2014 年 1～12 月の分離株について、A 群溶血レンサ球菌 56 株（愛知県衛生研究所 32 株および富山県衛生研究所 24 株）の T 型別結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した 13 例の劇症型溶連菌感染症例について報告した。

**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 26 年度に患者から分離されたレジオネラ菌 8 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。8 株とも血清型は *Legionella pneumophila* 血清群 1 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）：**6 月のレファレンス会議の結果を東海北陸ブロック会議で報告した。

# 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）及び惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリンナトリウム）試験を行ったところ、30検体（総項目数165）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、りんご、小松菜等の9種12検体について、有機リン系（フェニトロチオン等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、含窒素系（フルトラニル等）の約90農薬を調査した（総項目数995項目）。ぶどう1検体からペルメトリン0.20ppm（基準値5.0ppm）、りんご1検体からクレソキシムメチル0.04ppm（同5ppm）及びクロルピリホス0.02ppm（同1.0ppm）、キャベツ1検体からフェンバレレート0.01ppm（同3.0ppm）検出されたが、全て基準値以下であった。平成19年12月から20年1月の間に国内で中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け、県内で市販されている輸入冷凍加工食品32検体について、メタミドホス、ジクロルボスを含む有機リン系化合物等56農薬を調査したところ、いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）。

**重金属等**：富山湾産魚介類10魚種11検体（サバ、アジ等）について総水銀を測定したところ、11検体全てから検出されたが、濃度は0.01～0.10ppmと何れも暫定規制値（0.4ppm）を下回っていた。

また、サワラ及びフクラギ等9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（衣類等）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<sup>1)</sup>**：県内の水道事業者の水道原水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12項目（総項目数236）並びにチウラム等のべ44項目（総項目数449）の農薬類の検査を行った。その結果、1検体からウラン0.0005mg/L（目標値0.002mg/L）が、7検体から抱水クロラール0.001～0.003mg/L（目標値0.02mg/L）が検出されたが目標値を下回っていた。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<sup>2)</sup>**：県内水道事業者の水道原水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、プ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23項目（総項目数613）の検査を行った。その結果、全ての検体について、いずれの項目も不検出であった。

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36項目）の検査（総項目数500）を行った。その結果、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県内5ヶ所の源泉について、温泉中分析検査を行ったところ、すべて温泉および療養泉の定義に適合していた。

また、温泉資源保護を目的として、氷見・高岡地区温泉密集地域の19源泉の主要成分等について、経年変化調査を行った。すべての源泉について、現在のところ源泉の枯渇や海水化が懸念される温泉はないと

考えられた。

## [調査研究]

### 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、平成24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。平成26年度は、穀類の玄米について妥当性評価を実施した。

### 動物性自然毒の迅速検査方法の開発

巻貝の唾液腺に含まれる有毒物質テトラミンについて、迅速分析法の開発を行っている。

テトラミンは水溶液中でイオン強度の高い陽イオンとして存在していることから、イオンクロマトグラフを用いて、試料溶液中に含まれる一般的な陽イオン、テトラミン及びテトラミンの類似物質コリンを分離し、良好なクロマトグラムを得ることに成功した。この時のテトラミンの定量下限値は0.1mg/Lであった。

また、InertSep MC-2 カラムに試料溶液を負荷し、メタノール及び精製水で洗浄後、0.1mg/L 塩酸 3mL で溶出することで、試料溶液に含まれる脂質、アミノ酸等をクリーンアップし、テトラミン等の陽イオン物質を得ることに成功した。テトラミンの保持は250mgのカラムサイズに対して2.5mg（検体相当 500  $\mu$ g/g）まで可能であった。

### 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、持ち運びも可能なツールである分析チップの開発に取り組んでいる。特に3次元の流路配置を有するチップは、チップ1個当たりの流路の長さを大幅に伸ばすことができるため有用である。近年、化学部では流路のテンプレートを用いて樹脂やガラス内に3次元流路を作製可能な技術を新たに開発、特許を取得した。この技術では任意形状の樹脂やガラス内に自由に3次元流路を作製可能である。平成26年度は、ガラスチップ内に精度良く流路を形成する方法について検討を行なった。将来的にこの流路内に充填剤を入れて液体クロマトグラフィー等の分析ツールとして用いることを予定している。

また、微生物汚染現場での迅速な微生物の分離同定を目的に、持ち運び可能なマイクロチップ分析型キャピラリー電気泳動装置の開発に取り組んでいる。平成26年度は、キャピラリー電気泳動に使用可能なチップの作製と微生物の分離条件の検討を行なった。

### 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、水質基準48項目の検査を行った（総項目数784）。その結果、1検体からヒ素 0.001 mg/L および六価クロム 0.005 mg/L（基準値それぞれ0.01 mg/L、0.05 mg/L）、1検体から亜鉛 0.02 mg/L およびアルミニウム 0.01 mg/L（基準値それぞれ1.0 mg/L、0.2 mg/L）、1検体からアルミニウム 0.02 mg/L（基準値0.2 mg/L）、1検体から有機物等 0.3 mg/L（基準値3 mg/L）が検出されたが基準値を下回っており、検査したすべての名水が基準に適合していた。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、県が連携して衛生管理・飲用対策に取り組んでおり、調査結果はその良好な水環境を保つために役立っていると考えられる。

## [精度管理調査]

**食品検査の精度管理：**「富山県食品衛生検査業務管理要綱」（平成10年12月制定）に基づき、平成11年度から県内の厚生センター等の食品の理化学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たものの1機関においては他機関に比べて真度が低く、その要因について検討し、より高い精度の検査の実施が望まれる。

**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、21機関を対象に、「塩化物イオン」（21機関参加）及び「亜硝酸態窒素」（16機関参加）の2項目について精度管理調査を行った。

亜硝酸態窒素測定用検体は、当所水道水に、市販亜硝酸態窒素標準液（0.008mg/L）およびエチレンジアミン（50mg/L）を添加して作製した。Grubbsの異常値検定（危険率5%）により棄却される機関はなかった。16機関の測定値の平均値±標準偏差は0.008271 ± 0.000438 mg/L、機関間変動係数は5.3%、機関内変動係数は0.4～8.3%であった。

塩化物イオン測定用検体は、市販のミネラルウォーターの同一ロット製品を用いた。Grubbsの異常値検定（危険率5%）により1機関が棄却された。棄却された1機関を除いた20機関の測定値の平均値±標準偏差は4.146 ± 0.140 mg/L、機関間変動係数は3.4%、機関内変動係数は0.1～0.6%であった。棄却された1機関の原因は、検体の取り間違い（誤って亜硝酸態窒素測定用検体を測定）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)

**一次検診：**平成9年に環境庁から示された健康調査方式により実施。平成26年度は、悉皆調査が行われ、対象者7,461名中2,493名が一次検診を受診した。

**精密検診：**一次検診の結果、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362名が精密検診の対象となった。このうち27年度検診予定の85名を除いた277名を対象として、指定医療機関である富山大学附属病院、富山市立富山市民病院、富山県立中央病院の3病院で精密検診が行われ、149名が受診した。当所では、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3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：**イタイイタイ病認定申請のあった3名について、該当する尿及び血液検査を実施した。

### [調査研究]

#### 有機リン系農薬の代謝物の残留と摂取の可能性に関する研究

有機リン系農薬の職業的な曝露がない人の尿中に観察される代謝物は、ほとんどが経口摂取に由来すると考えられる。一方で実際に食品から検出された有機リン系農薬の推定摂取量では、尿中の代謝物レベルを説明するのに十分ではないことから、農薬成分ではなく代謝物として日常的に摂取されている可能性について検討するため、食品中の代謝物の分析に尿試料の分析法が適用可能かについて検討を開始した。

#### 海洋深層水中成分の健康増進効果に関する調査研究

海洋深層水中成分の効果研究方法確立の予備実験として、海洋深層水、濃縮水、等張水について、表層水、水道水を対照として、足浴実験を行い温熱効果と皮膚への影響について検討した。

男女10名を対象とし、両足を42℃の温水に10分間膝下まで浸す足浴を行い、足浴前及び後45分まで皮膚温度や皮膚状態の測定を行った。

濃縮水、等張水の足浴による皮膚温度が水道水に比し上昇したが、深層水の皮膚温度の上昇が足浴では

明らかでなかった。深層水の足浴では、水分蒸散量が多いなど発汗による影響などを考慮する必要が考えられ、深層水中成分の有効性を検討する実験系として、さらに足浴温度や時間など基礎的検討を行う必要があるものと思われた。

#### **骨質からアプローチする骨粗鬆症研究**

骨密度低下者に対して骨質指標のホモシステイン、ペントシジンを測定し、骨密度低下者の骨質劣化状況を調査し、骨密度低下かつ骨質劣化状態者の骨折リスクについて検討を行うことを目的に平成 25 年度より 5 年計画で調査を実施中である。

平成 26 年度は厚生連高岡病院健康管理センターの協力のもと、女性 159 名の調査を実施した。

#### **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））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	8,844 ( 185,724)	
	染色体検査	44 ( 44)	193 ( 193)
	衛生動物等検査	1,349 ( 1,349)	0 ( 0)
	小 計	10,237 ( 187,117)	193 ( 193)
ウイルス部	感染源検査	589 ( 589)	
	血清学的検査	1,271 ( 2,752)	
	小 計	1,860 ( 3,341)	0 ( 0)
細菌部	感染症にかかわる検査	83 ( 432)	
	食中毒にかかわる検査	10 ( 38)	
	食品検査	120 ( 357)	
	水質検査	160 ( 278)	48 ( 54)
	小 計	373 ( 1,105)	48 ( 54)
化学部	食品にかかわる検査	94 ( 2,999)	
	家庭用品検査	15 ( 20)	
	水質検査	130 ( 2,078)	38 ( 552)
	温泉分析	19 ( 190)	5 ( 150)
	小 計	258 ( 5,287)	43 ( 702)
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	2,648 ( 7,466)	
	小 計	2,648 ( 7,466)	0 ( 0)

## 検 査 内 容

### が ん 研 究 部

( ) 内項目数

[行政検査]

- 1. 先天性代謝異常検査                    8,844 ( 185,724 )
- 2. 染色体検査
  - (1) 血液                                    0 ( 0 )
  - (2) 羊水                                  42 ( 42 )
  - (3) 胎児                                  2 ( 2 )
- 3. 衛生動物等検査
  - (1) 衛生・不快動物                    1,336 ( 1,336 )
  - (2) 食品混入異物                      13 ( 13 )

[依頼検査]

- 1. 染色体検査
  - (1) 血液                                    20 ( 20 )
  - (2) 羊水                                  107 ( 107 )
  - (3) 胎児                                  66 ( 66 )
- 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]

[依頼検査]

### 1. 感染源検査

(1) インフルエンザ	216( 216)
(2) その他ウイルス	133( 133)
(3) リケッチア	10( 10)
(4) 食中毒および集団発生	230( 230)

### 2. 血清学的検査

(1) インフルエンザ	261( 1,044)
(2) ポリオ	261( 903)
(3) 日本脳炎ヒト	261( 301)
ブタ	230( 230)
(4) エイズ	248( 248)
(5) その他のウイルス	3( 3)
(6) リケッチア	7( 23)

## 細 菌 部

[行政検査]

[依頼検査]

### 1. 感染症にかかわる検査

### 1. 水質検査

(1) 結核菌	36( 36)
(2) 腸管出血性大腸菌	24( 351)
(3) コレラ菌	1( 2)
(4) 喀痰	19( 38)
(5) その他	3( 5)

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

### 2. 食中毒にかかわる検査

(1) 糞便	2( 24)
(2) サルモネラ	6( 12)
(3) 黄色ブドウ球菌	2( 2)

### 3. 食品検査

(1) 収去検査	41( 66)
(2) その他	79( 291)

### 4. 水質検査

(1) 海水浴場水	80( 100)
(2) 海水	5( 15)
(3) 名水	20( 80)
(4) 浴用水	36( 64)
(5) 水道原水	18( 18)
(6) その他	1( 1)

## 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	30( 165)
(2) 残留農薬等	44( 2,812)
(3) 重金属類	19( 21)
(4) その他有害物質	1( 1)
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	16( 784)
(2) 管理目標設定項目	39( 441)
(3) 要検討項目	50( 575)
(4) ゴルフ場使用農薬	21( 250)
(5) その他	4( 28)
4. 温泉分析	
(1) 中分析	0( 0)
(2) その他	19( 190)

### [依頼検査]

1. 水質検査	
(1) 水質基準項目	0( 0)
(2) 管理目標設定項目	8( 244)
(3) 要検討項目	4( 38)
(4) ゴルフ場使用農薬	21( 250)
(5) その他	5( 20)
2. 温泉分析	
中分析	5( 150)

## 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	2,493( 4,986)
精密検診 尿、血液検査	149( 2,384)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診	
尿、血液検査	3( 48)
(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	3( 48)

### [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
科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する研究	所長室	佐多徹太郎	厚生労働科学研究費補助金(特別研究事業)
地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究	細菌部 ウイルス部	佐多徹太郎 磯部 順子 小渕 正次	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)
地方衛生研究所の連携による食品由来病原体微生物のゲノム解析に基づく新たな食品の安全確保対策に対する研究	細菌部	佐多徹太郎 綿引 正則	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)
エビデンスに基づくバイオリスク管理の強化と国際標準化及び事故・ヒヤリハット事例の共有データベース構築に関する研究	細菌部 他各部	佐多徹太郎 綿引 正則 滝澤 剛則 高森 亮輔 小林 直人 山下 智富 名古屋真弓 磯部 順子	厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症および予防接種政策推進研究事業)
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)
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	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)
迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究	ウイルス部 細菌部	佐多徹太郎 小渕 正次 滝澤 剛則 稲崎 倫子 嶋 一世 綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子 清水美和子 増田千恵子 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)
富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況及び胃腸炎集団発生事例の次世代シーケンサーによる解析の試み	ウイルス部	滝澤 剛則 稲崎 倫子 名古屋真弓 嶋 一世 長谷川澄代	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)
病原体管理システムとアクセスコントロール	細菌部	綿引 正則 佐多徹太郎	厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
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	細菌部	綿引 正則 清水美和子 佐多徹太郎	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 清水美和子 増田千恵子 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
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における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
網羅的解析による地域におけるノロウイルスの遺伝子変化の把握と病態との関連	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
集団食中毒事例で検出された新規Stx2ファージの機能解析と疫学研究	細菌部	綿引 正則	文部科学省(日本学術振興会) 基盤研究C 研究代表者
金属イオンとの配位を利用した新規分析法の開発-親水性化合物の水環境中での動態解析	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

## (11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
疫学(感染症)	増田千恵子 滝澤 剛則	保健学科講義	平26.5.16, 5.29,6.6, 6.20	県総合衛生学院
狂犬病 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26.4.17	金沢大学
ウイルス感染症の病理	佐多徹太郎	ウイルス学講義	平26.5.15	富山大学
「鉱泉分析法指針(平成26年 改訂)」について	村元 達也	温泉法に係る説明会	平26.6.27	サンシップとや ま
細菌の最近事情について ～感染症を予防するために細菌 の特性を知ろう～	清水美和子	ふるさと発見講座 人間探究コース 「ふるさとの知と技」	平26.7.2	県民カレッジ 高岡地区セン ター
感染症の病理－ウイルス感染 症－	佐多徹太郎	第8回日本病理学会中 部支部 夏の学校 2014 in 石川	平26.8.10	和倉温泉ホテル 海望
ユッケ(牛肉の生食料理)による 腸管出血性大腸菌O111集団 食中毒そして その後	佐多徹太郎	第46回 東海北陸ブ ロック食品衛生監視員 研修会	平26.8.22	富山国際会議場
超音波骨密度計の使用法につ いて	小林 直人	骨密度計を用いた健康 サポート事業事前説明 会(富山県薬剤師会)	平26.8.26	富山電気ビル ディング
バイオセーフティ, 富山県衛 生研究所における実験室診断 の実際について	佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則	JICA国際研修 ベト ナム	平26.9.5	富山県衛生研究 所
微生物学・感染症	佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 小渕 正次 金谷 潤一	病態生理・治療論 I	平26.9.10, 9.17, 9.18, 10.1, 10.2, 10.15, 10.22, 10.29, 11.5, 11.6, 11.19, 11.20, 11.27, 12.3, 12.10.	富山赤十字看護 専門学校
感染症の病理学	佐多徹太郎	浜松医科大学医学部3 年生講義	平26.10.10	浜松医科大学
細胞培養・ウイルス分離同定 実習	小渕 正次	平成26年度短期研修 ウイルス研修	平26.10.14-16	国立感染症研究 所
牛肉の生食料理(焼肉えびす のユッケ)による腸管出血性 大腸菌O111集団食中毒とそ の後	佐多徹太郎	平成26年度群馬県感 染症研修会	平26.10.23	群馬県立県民健 康科学大学
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17期)	平26.11.6	富山県消防学校
斜光法によるレジオネラ属菌検 査診断実習	磯部 順子 金谷 潤一	新興再興感染症技術研 修	平26.11.10-14	国立感染症研究 所
衛生研究所の役割と富山県の 感染症情報	滝澤 剛則	院内感染対策講演会	平26.12.4	厚生連高岡病院
細菌の特性	磯部 順子	富山県消防学校専科教 育救急科(第17期)	平26.12.4	富山県消防学校

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
富山県におけるタンデムマス・スクリーニング	九曜 雅子	新生児マススクリーニングワークショップ	平26.12.6	シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス(株)
環境汚染と健康影響	金木 潤	きらめきエンジニア事業	平26.12.8	県立富山北部高校
感染症のいま～対策, 予防, 診断, 治療等～	佐多徹太郎	富山いずみ高校3年生講義	平27.2.4	県立富山いずみ高校
浴用施設におけるシャワー水のレジオネラ属菌分離状況	金谷 潤一	平成26年度生活衛生関係技術担当者研修会	平27.2.6	厚生労働省
食中毒予防のための微生物の知識	磯部 順子	高岡市保育所給食研究会	平27.2.16	高岡市役所
新興・再興感染症とエボラウイルス病	佐多徹太郎	富山県臨床衛生検査技師会研修会	平27.2.17	サンシップとやま
最近の気になる感染症とその対策	滝澤 剛則	高岡地区高等学校保健連絡協議会	平27.2.24	県立福岡高校
ウイルスの基礎知識・バイオテロについて	滝澤 剛則	富山県消防学校専科教育特殊災害科(第6期)	平27.3.2	富山県消防学校
細菌の基礎知識	磯部 順子	〃	平27.3.9	〃

## (12) 研 修 指 導

所属および対象者	研修期間	研 修 内 容	担 当
平成26年度富山県衛生研究所バイオセーフティ講習会	平26.5.19	バイオセーフティの基礎, 安全キャビネットの取扱等	所内バイオセーフティ委員会
平成26年度富山県病原体等の包装・運搬講習会	平26.6.2	病原体等の包装・運搬に関する講義及び実習等	所内バイオセーフティ委員会
夏休み子ども科学研究室	平26.7.28	おもしろ科学実験 ～ふしぎな化学の世界～	化学部
県内水質検査機関職員	平26.8.20, 平27.3.5	水質検査技術講習会	化学部

### (13) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
稲畑 良 清水美和子	平26.5.22	平成26年度病原体等の包装・ 運搬講習会	大阪合同庁舎4 号館	厚生労働省健康局 結核感染症課
村元 達也	平26.5.29,30	第3回 第3種放射線取扱主 任者講習	東京富山会館	原子力安全技術セ ンター 金井 善寛 他
佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 金谷 潤一 稲崎 倫子	平26.6.26,27	衛生微生物技術協議会 第35回研究会	タワーホール船 堀	国立感染症研究所 渡邊治雄 他
西永 真理 高森 亮輔	平26.8.23,24	第21回臨床細胞遺伝学セミ ナー	家の光会館コン ベンションホー ル	神奈川県立こども 医療センター 黒澤 健司 他
金谷 潤一	平26.10.9	イルミナセミナー	トラストシテイ カンファレンス 丸の内	大阪大学 中村昇太 他
堀井 裕子	平26.12.4	水質分析セミナー 2014	石川県地場産業 振興センター	日本Waters株式会 社
堀井 裕子	平27.2.13	平成26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	東京家政大学 家政 学部 森田 幸雄 他
堀井 裕子	平27.2.14	食品化学研究者基礎セミ ナー	食品衛生センター	日本食品化学学会 理事長 一色 賢司 他
小淵 正次 木全 恵子	平27.2.17,18	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
村元 達也	平27.2.20	水質分析セミナー	石川県地場産業 振興センター	株式会社島津製作 所 他
磯部 順子 金谷 潤一	平27.3.5,6	第20回国際結核セミナー	ヤクルトホール	長崎大学 和田崇之 他
九曜 雅子	平27.3.7	日本マス・スクリーニング学 会技術部会第33回研修会	北海道立道民活 動センタービル かでの2・7	北海道大学医学部 小児科 田島 敏広 他
高森 亮輔	平27.3.10	遺伝教育教材説明会	長崎大学医学部 保健学科	長崎大学医学部保 健学科 森藤 香奈子 他
村元 達也	平27.3.19	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 松本 公男 他
村元 達也	平27.3.20	放射線取扱技術研修会	金沢都ホテル	金沢大学医薬保健 研究域 保健学系 鷺山 幸信 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
杉山 寛治	株式会社マルマ 研究開発部長	9月9日～10日	モノクロラミンを用いた浴用水の消毒法

## (15) 研 究 成 果 発 表 会

- 1 日 時 平成26年11月14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100名
- 4 研究所の概要紹介 次長 齊藤 尚仁
- 5 講 演 所長 佐多 徹太郎「ふたたび新興・再興感染症」
- 6 研究成果発表

所属	発表者	演 題
がん研究部	九曜 雅子	新生児マススクリーニングへの『タンデムマス法』導入について～赤ちゃんの健やかな成長を支援するために～
化学部	堀井 裕子	食の安全・安心のために～食品中残留農薬の検査について
環境保健部	小林 直人	これまでの調査から見えてきた骨粗鬆症予防法

## (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26年度)

九曜 雅子      米田 豊      西永 真理      高森 亮輔  
齊藤 尚仁      角 園子<sup>1</sup>

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture  
( Apr.2014 - Mar.2015 )

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Mari NISHINAGA, Ryosuke TAKAMORI,  
Naohito SAITO and Sonoko KADO<sup>1</sup>

**要 旨** 平成26年度の検体総数は8,844件で、先天性代謝異常症等19疾患を対象とした新生児マススクリーニング検査の結果、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症1人および先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症: CH) 7人の計8人の患者が発見された。CH 7人のうち1例は、母体バセドウ病による抗甲状腺剤の影響による一過性甲状腺機能低下症であり、先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングガイドラインに従って患者とした。また、患者8人のうち5人は、初回検査で直接要精検となった例であった。

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 (アミノ酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、ヒスチジン血症) が38年間で41人 (フェニルケトン尿症5人、メイプルシロップ尿症1人、VLCAD欠損症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35年間で167人、先天性副腎過形成症が26年間で17人となった。検査対象外の疾患については、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。

新生児マススクリーニングにおいて全国的に実施されている外部精度管理の結果は、検査精度は適正であり、結果の判定も適切で、記入の誤りもなく、測定精度も問題はないとの評価であった。

タンデムマス法で新たに検査対象となった疾患によっては、他の要因で検査指標が高くなる、いわゆる偽陽性が増加し、再採血率、要精検率が高くなる傾向があり、新たな検査指標の設定等を検討する必要がある。

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、代謝異常症等の早期発見、早期治療により心身障害の発生を防止・軽減するという目的で実施されている。

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疾患を対象に検査を実施してきた。平成26年3月からは、厚生労働省からの通知 [1] を受けて、タンデムマス法を開始し、スクリーニングの対象疾患は19疾患 (表1) となった。これに伴い、富山県先天

性代謝異常等検査事業検討会が設置され、新たに富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルが作成された。

本報では、平成26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. 対象疾患

アミノ酸代謝異常症5疾患、有機酸代謝異常症7疾患、脂肪酸代謝異常症4疾患、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計19疾患 (表1) を対象とした。

1. 富山県厚生部健康課

2. 対象者

県内で出生した新生児（里帰り児含む）のうち、保護者が「先天性代謝異常等検査申込書兼同意書」を提出した者を対象とした。

なお、「先天性代謝異常等検査申込書兼同意書」には、検査終了後の血液ろ紙を検査法の改良等に使用することに対する同意の有無を記入する欄を設けた。また、随時、同意の撤回もできるような様式とした [2]。

3. 検査期間

平成26年4月から平成27年3月までの1年間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ろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

1) アミノ酸代謝異常症（5疾患）

有機酸代謝異常症（7疾患）

脂肪酸代謝異常症（4疾患）

タンデムマス法（装置：ABSciex社製 API3200・SHIMADZU社製 Prominence-20シ

リーズ、試薬：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「MS<sup>2</sup>スクリーニング Neo」、非誘導体化法 [3]）により、ろ紙血液中のアミノ酸およびアシルカルニチン（表1）を測定した。データの解析は、ABSciex社製 ChemoView を使用した。

2) ガラクトース血症

マイクロプレート・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、ろ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 [4] を用いた。

また、全検体について、自家調製試薬 [5] によるポイトラー法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase (UT) 活性の有無を検査した。なお、判定用のろ紙は、短時間でも判定可能である Whatman DE81 [6] を使用した。

3) 先天性甲状腺機能低下症

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

表 1. 対象疾患および判定基準

	疾患名	検査法	指標	再採血カットオフ値		即精密検査カットオフ値	
				( $\mu$ mol/L)	アミノ酸(mg/dl)	( $\mu$ mol/L)	アミノ酸(mg/dl)
アミノ酸代謝異常症	フェニルケトン尿症(PKU)	タンデムマス法	Phe	120	2.0	500	8.3
	メープルシロップ尿症(MSUD)		Leu+Ile & Val	315	4.1	600	7.9
			Met	210	2.5		
	ホモシスチン尿症(HCU)		Met	67	1.0	340	5.0
	シトルリン血症1型(CIT)		Cit	100		250	
アルギニノコハク酸尿症(ASA)							
有機酸代謝異常症	メチルマロン酸血症(MMA)		C3	3.9		8.0	
	プロピオン酸血症(PA)		& C3/C2	0.24		0.24	
	イソ吉草酸血症(IVA)		C5	1.3 (~H26.10) 1.0 (H26.11~)		5.0	
	メチルクロトニルグリシン尿症(3-MCC)		C5-OH	1.25		2.00	
	ヒドロキシメチルグルタル酸血症(HMG)		C5-DC	0.35			
	複合カルボキシラーゼ欠損症(MCD)						
脂肪酸代謝異常症	グルタル酸血症1型(GA1)		C8 & C8/C10	0.28 1.2		0.28 1.2	
	中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(MCAD)		C14:1 & C14:1/C2	0.3 0.013		0.3 0.013	
	極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(VLCAD)		C16-OH & C18:1-OH	0.100 0.100		0.100 0.100	
	三頭酵素欠損症/長鎖3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素欠損症(TFP/LCHAD)	C0/(C16+C18)	75		75		
カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ-1欠損症(CPT-1)							

	疾患名	検査法	測定物質	再採血カットオフ値	即精密検査カットオフ値
糖代謝異常症	ガラクトース血症	マイクロプレート・酵素法	Gal	3mg/dL	Galが3mg/dL以上かつポイトラー法で蛍光無
		ポイトラー法	Gal-1-P Uridyltransferase	蛍光が微弱または無	
内分泌異常症	先天性甲状腺機能低下症	エンザイム/アッセイ法 (ELISA)	TSH	8 $\mu$ U/mL	30 $\mu$ U/mL
	先天性副腎過形成症	エンザイム/アッセイ法 (ELISA)	17-OHP	直接法10ng/mL 抽出法 4ng/mL	直接法10ng/mL以上で有症状または抽出法10ng/mL以上

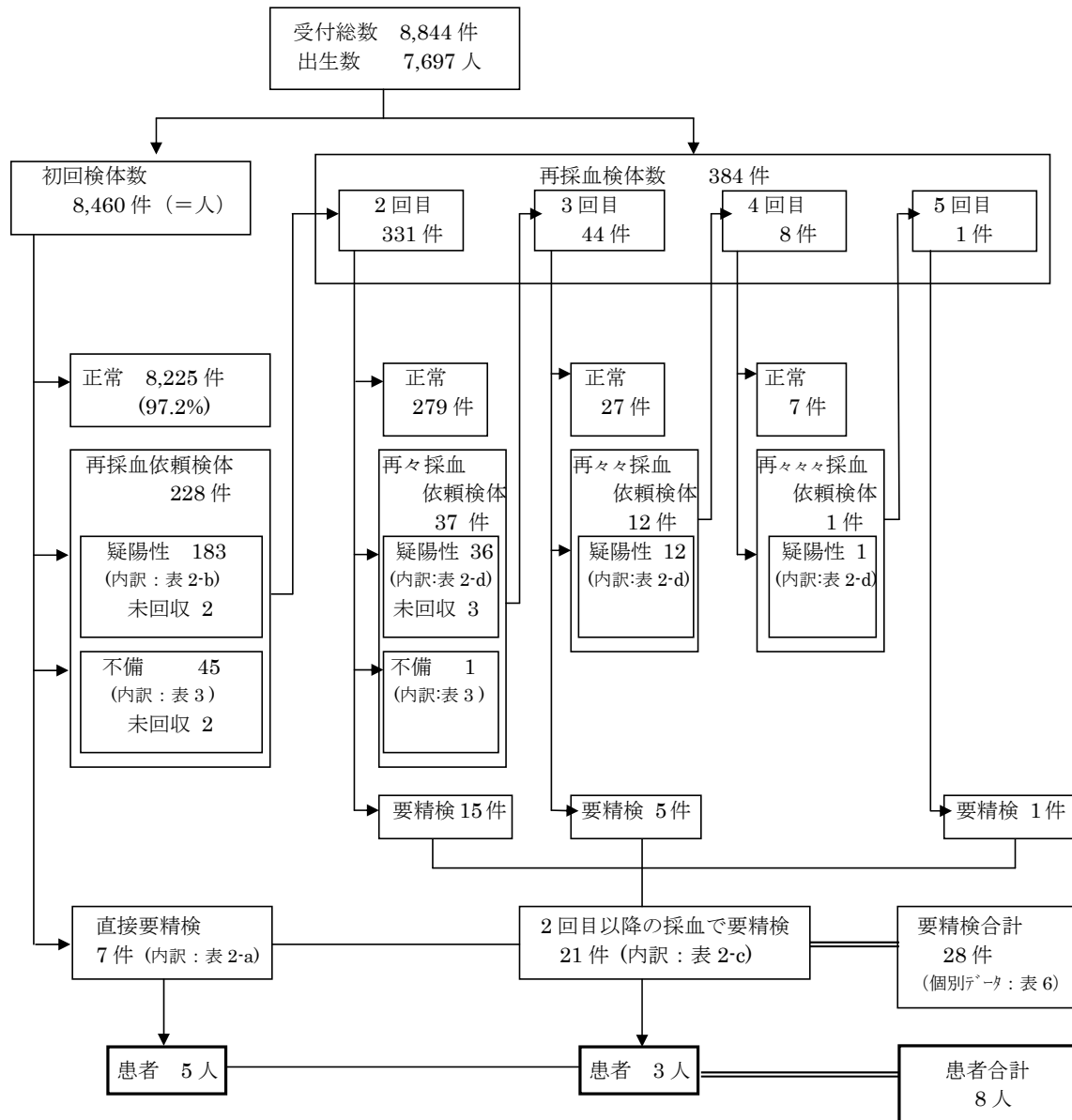


図1. 検査の流れおよび検査数の概要

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 a-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 [7] を行った。

(4) 判定基準

表1に示した。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結果個票を各医療機関に郵送した。保護者には、各医療機関から、結果個票の受診者用の部分が渡されることになっている [2]。

(6) データ処理

システムケイ社製『新生児マススクリーニングシステム』により、検査検体の受付事務処理、検査結果の判定、結果報告、月報集計、年度集計を行った。

表2. 要精検数および疑陽性による再採血依頼数の内訳

疾患名	初回検体 8,460 件			再採血検体 384 件		総受付検体 8,844 件		
	直接要精検数 [a]	疑陽性による 再採血依頼数 [b]	再採血率 (%)	要精検数 [c]	疑陽性による 再採血依頼数 [d]	要精検数合計 〔患者数〕 [a]+[c]	疑陽性による 再採血依頼合計 [b]+[d]	再採血率 (%)
アミノ酸代謝異常症	0	6	0.07	2	3	2	9	0.10
有機酸代謝異常症	0	8	0.08	0	1	0	9	0.10
脂肪酸代謝異常症	3	14	0.17	0	0	3 [1]	14	0.16
ガラクトース血症	0	16	0.19	2	4	2	20	0.22
先天性甲状腺機能低下症	3	54	0.64	8	5	11 [7]	59	0.67
先天性副腎過形成症 (内 出生体重2000g未満児の数)	1 (0)	87 (35)	1.03	9 (5)	36 (26)	10 (5)	123 (61)	1.39
平成26年度総計 《内 疑疾患が重複している数》	7	185 《2》	2.19	21	49	28 [8]	234 《2》	2.65

## 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、8,844件で、県内28か所の医療機関（おもに産婦人科医院）から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7,697人[8]であり、初回検体数8,460件（人）から計算すると受検率は112.3%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8,225件（97.2%）は正常と判定されたが、183件（2.2%）は疑陽性のため、45件（0.5%）は血液量の不足等の不備という理由で、再採血を依頼した。また、7件（0.1%）は初回検査で直ちに精密検査が必要（直接要精検）と判定された。

再採血検体として受付した384件のうちでは、21件（5.5%）が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接要精検の7件と合わせて28件となった。

#### (2) 疑陽性による再採血

表2に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。タンデムマス法によるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症の計16疾

患の再採血率は0.36%であった。ガラクトース血症も合わせた代謝異常症の再採血率は0.58%となった。先天性甲状腺機能低下症は0.67%、先天性副腎過形成症は1.39%となり、すべての対象疾患の合計は2.65%であった。再採血率の目安は、タンデムマス法16疾患では0.1～0.6%[9]、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%[10]とされており、ほぼ適正な再採血率であったが、先天性副腎過形成症の再採血率のみ約3倍高くなった。これは、先天性副腎過形成症疑いでの再採血依頼数の半数が低出生体重児（出生体重2,000g未満の児）であり、副腎機能が未熟でストレス状態にあるために17-OHP値が高くなりやすい例が多かったことが要因のひとつと考えられる。

また、2疾患以上が重複して疑陽性となった検体は1件あり、フェニルケトン尿症とメイプルシロップ尿症と先天性副腎過形成症の3疾患で疑陽性となった。この例はNICUから送付された検体であった。なお、表2の疑陽性による再採血依頼数（件数）および表4の疑陽性数（件数）には、それぞれの項目に計上した。また、表5の疑陽性数（人数）には、代謝異常症は1人として計上した。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は234件で、そのうち、平成27年7月3日現在229件の再採血検体を回収した。回収率は97.9%であった。

再採血を依頼しても1か月以上検体が届かない場合は再依頼しているが、それにもかかわらず5件が回収できなかった。このうちの2件については、再採血検体を送付せず医療機関（小児科）で

検査，フォローアップされていた。また，その他の3例についても小児科から届いた検体であり，そのまま小児科でフォローアップされていると考えられた。

(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日以内の採血が4件，血液量の不足が6件であった。採血後日数が経って届いた「古い」検体は12件あり，採血から当所に届くまでに最長12日かかっていた。採血後直ちにろ紙を郵送したにもかかわらず当所に届くまでに1週間以上を要したケースがあったが，原因は判らなかった。このようなことを避けるために，配達記録や書留速達等を利用して，検体が確実に届くことを確認する

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	4	0	4
血液量不足	5	0	5
血液量不足，古い	1	0	1
古い	11	0	11
汚染	3	0	3
哺乳不良	21	1	22
合計	45	1	46

その他理由	初回検体	再採血検体	総数
低体重	145	0	145

医療機関も増えている。また，ろ紙の血液部分が何らかの液体がこぼれたようになっていた「汚染」検体が3件あった。このような汚染により，検査結果が異常となる偽陽性や異常を発見できず偽陰性となる可能性 [11] があり，採血医療機関に対しては，血液ろ紙の取扱いについての注意を喚起した。

これらのような検体不備のために再採血を依頼した検体は46件で，このうち再検査できたのが44件で，回収率は95.7%であった。

また，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 [12]。今年度は145件に対して再採血を依頼した。このうち6件が哺乳不良であった。低出生体重児については，回収率は100%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 [13] 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については，ガラクトース血症を含めた代謝異常症の患者数は8人（ヒスチジン血症除く）となり発見率は1/51,000，先天性甲状腺機能低下症は1/2,300，先天性副腎過形成症は1/15,500となった（表7）。先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は，全国と

表4. 月別検査実施状況

年	平成26年										平成27年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数 (件)	694	713	702	829	729	843	759	661	713	740	682	779	8,844		
内訳	初回検査数 (件)	665	688	674	793	701	808	725	642	677	705	649	733	8,460	
	再採血総数 (件)	29	25	28	36	28	35	34	19	36	35	33	46	384	
	採血回数	2回目	27	17	23	32	25	30	32	18	33	30	30	34	331
		3回目	2	8	3	3	2	5	1	1	3	4	1	11	44
4回目以上		0	0	2	1	1	0	1	0	0	1	2	1	9	
疑陽性数 (要精検数)	アミノ酸代謝異常症	0	0	0	0	2	2	0	0	1	1	2(1)	1(1)	9(2)	
	有機酸代謝異常症	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	3	9	
	脂肪酸代謝異常症	2	1	1	1(1)	1(1)	2	2	1	1	1(1)	0	1	14(3)	
	ガラクトース血症	1	0	1	0	0	5	0	2(2)	2	4	5	0	20(2)	
	先天性甲状腺機能低下症	9(1)	4	3(1)	6	2(1)	6(3)	2	4	5(1)	2(2)	8(1)	8(1)	59(11)	
	先天性副腎過形成症	8(1)	12	7(1)	14	12(1)	10	6(2)	6(2)	10	8(1)	12(1)	18(1)	123(10)	
計	21(2)	18	13(2)	22(1)	17(3)	25(3)	10(2)	13(4)	19(1)	17(4)	28(3)	31(3)	234(28)		



表5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分 期間	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					代謝 異常症*1)	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症	代謝 異常症*1)	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 ～20年度	223,832	210,227	197,271	106.5	2,454	2,892	2,002	178(8)	511(106)	302(12)
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)
平成25年度	8,898	8,519	7,855	108.5	56	81	106	5(0)	17(4)	15(3)
平成26年度	8,844	8,640	7,697	112.3	51	59	123	7(1)	11(7)	10(0)
計	430,998	406,783	402,217	—	4,800*2)	4,350	2,845	289*2)(40*3))	744(167)	392(17)

( ) は、対象疾病患者数

\* 1) 昭和52年度～平成5年度：アミノ酸代謝異常症4疾患+ガラクトース血症の計5疾患

平成6年度～平成24年度：アミノ酸代謝異常症3疾患+ガラクトース血症の計4疾患

平成25年度～：アミノ酸代謝異常症5疾患+有機酸代謝異常症7疾患+脂肪酸代謝異常症4疾患+ガラクトース血症の計17疾患の合計件数

\* 2) 昭和52年度～平成5年度に検査実施のヒスチジン血症の数(疑陽性137人、要精検39人、患者33人)を含む

\* 3) 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)

同様に高かった。

## 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(アミノ酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症)が52人、先天性甲状腺機能低下症が59人、先天性副腎過形成症が123人であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症7人、先天性甲状腺機能低下症11人、先天性副腎過形成症10人であった。

患者と診断されたのは、脂肪酸代謝異常症(VLCAD欠損症)1人と先天性甲状腺機能低下症7人の計8人であった。このうち、初回検査で直接要精検となった例は、VLCAD欠損症例と先天性甲状腺機能低下症4例の計5例であった。その他の先天性甲状腺機能低下症3例については、2回目以降の採血による検査の結果で要精検となった例であった(図1)。

表6に要精密検査者の個別の検査状況と結果をまとめた。

精密検査が必要となった場合には、富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルに従い、採血医療機関への精密検査依頼時に精密検査実施医療機関(小児科)および主治医名を把握し、さらに主治医からの精密検査結果報告書により、精密検査

結果、診断名等を把握した。

精密検査結果報告書の回収率は、平成26年7月3日現在、89.3%(25例/28例)であった。まだ回収できていない3例についてはいずれも小児科を受診しており、そのうち1例は、当所にフォローアップ検体[14]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122検体であり、今年度要精密検査となった28例のうちでは、18例延べ28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、精密検査結果報告書が回収できた症例については、報告書に記載されていた診断名を記した。

要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

### (1) 代謝異常症

アミノ酸代謝異常症の疑いで2人、脂肪酸代謝異常症の疑いで3人、ガラクトース血症の疑いで2人の計7人が要精密検査となった。

脂肪酸代謝異常症の疑いの3人はいずれも極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症の疑いであった。このうち症例3は、県内精密検査実施医療機関から広島大学小児科 但馬 剛先生に酵素・遺伝子診断を依頼した結果、中間型ない

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(1)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名	
アミノ酸、有機酸、 脂肪酸代謝異常症	1		男	5	C14:1	0.33 mg/dl	C14:1/C2	0.0220	異常なし	
	2		男	4	C14:1	0.34 mg/dl	C14:1/C2	0.0180	異常なし	
	3	*	女	4	C14:1	1.26 mg/dl	C14:1/C2	0.0670	VLCAD欠損症 (中間型ないし骨格筋型)	
	4		男	48	Met	68.1 mg/dl				
				74	Met	71.9 mg/dl				
				95	Met	76.2 mg/dl				
	5		女	5	Phe	130.0 mg/dl				経過観察中
				19	Phe	137.4 mg/dl				
				30	Phe	141.2 mg/dl				
	ガラクトース血症	1		男	6	Gal	4.21 $\mu$ U/ml	ポイトラー法	正常 $\mu$ U/ml	異常なし
10					Gal	5.54 $\mu$ U/ml	ポイトラー法	正常 $\mu$ U/ml		
2			女	5	Gal	0.76 $\mu$ U/ml	ポイトラー法	正常 $\mu$ U/ml	(Gal-1-p 日齢5:34.9mg/dl, 日齢9:43.0mg/dl) 異常なし	
				9	Gal	0.88 $\mu$ U/ml	ポイトラー法	正常 $\mu$ U/ml		
先天性甲状腺機能低下症	1		女	4	TSH	12.80 ng/ml			異常なし	
				12	TSH	8.19 ng/ml				
				21	TSH	10.40 ng/ml				
	2	*	男	5	TSH	95.20 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症	
	3	*	男	6	TSH	56.95 ng/ml			母体Basedow病による一過性甲状腺機能低下症	
	4		男	6	TSH	9.36 ng/ml			異常なし	
				14	TSH	13.93 ng/ml				
	5		女	4	TSH	4.96 ng/ml			異常なし	
11				TSH	8.14 ng/ml					

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(2)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名
先天性甲状腺機能低下症	5		女	20	TSH	8.50 ng/ml			異常なし
	6	*	男	5	TSH	124.10 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症
	7	*	男	5	TSH	8.48 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症
				19	TSH	14.84 ng/ml			
	8	*	男	5	TSH	12.06 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH	17.42 ng/ml			
	9	*	男	4	TSH	8.70 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症
				12	TSH	19.63 ng/ml			
	10	*	男	4	TSH	11.59 ng/ml			先天性甲状腺機能低下症
				12	TSH	12.21 ng/ml			
	11		男	6	TSH	8.20 ng/ml			
16				TSH	8.30 ng/ml				
24				TSH	9.87 ng/ml				
先天性副腎過形成症	1		女	6	17OHP直接法	17.16 nmol/ml	17OHP抽出法	11.05 nmol/ml	異常なし
	2		女	5	17OHP直接法	4.93 nmol/ml	17OHP抽出法	2.96 nmol/ml	異常なし
				31	17OHP直接法	41.86 nmol/ml	17OHP抽出法	22.92 nmol/ml	
	3		女	4	17OHP直接法	5.79 nmol/ml	17OHP抽出法	5.02 nmol/ml	異常なし
				15	17OHP直接法	5.94 nmol/ml	17OHP抽出法	4.20 nmol/ml	
				24	17OHP直接法	9.27 nmol/ml	17OHP抽出法	4.35 nmol/ml	
	4		男	4	17OHP直接法	5.32 nmol/ml	17OHP抽出法	5.15 nmol/ml	異常なし
				12	17OHP直接法	7.33 nmol/ml	17OHP抽出法	4.88 nmol/ml	
5		男	4	17OHP直接法	6.04 nmol/ml	17OHP抽出法	4.43 nmol/ml	異常なし	

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(3)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名
					170HP直接法	7.79 nmol/ml	170HP抽出法	4.37 nmol/ml	
先天性副腎過形成症	5		男	8	170HP直接法	7.79 nmol/ml	170HP抽出法	4.37 nmol/ml	異常なし
	6		女	5	170HP直接法	13.52 nmol/ml	170HP抽出法	6.20 nmol/ml	異常なし
				28	170HP直接法	97.71 nmol/ml	170HP抽出法	33.29 nmol/ml	
	7		男	7	170HP直接法	9.29 nmol/ml	170HP抽出法	5.66 nmol/ml	異常なし
				31	170HP直接法	9.81 nmol/ml	170HP抽出法	5.53 nmol/ml	
	8		男	4	170HP直接法	10.72 nmol/ml	170HP抽出法	6.00 nmol/ml	異常なし
				38	170HP直接法	7.39 nmol/ml	170HP抽出法	5.56 nmol/ml	
	9		男	5	170HP直接法	13.07 nmol/ml	170HP抽出法	5.28 nmol/ml	異常なし
				11	170HP直接法	11.77 nmol/ml	170HP抽出法	5.76 nmol/ml	
	10		男	5	170HP直接法	13.84 nmol/ml	170HP抽出法	2.47 nmol/ml	異常なし
				37	170HP直接法	52.50 nmol/ml	170HP抽出法	15.77 nmol/ml	

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26年度		昭和52年度～平成26年度		平成25年度		昭和52年度～平成25年度	
受検者数	8,460人		406,783人		1,090,713人		45,835,724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
疾患名	(人)	(%)	(人)	(%)	(人)	(%)	(人)	(%)
アミノ酸代謝異常症	0	—	6 <sup>2)</sup>	1/ 67,800	32	1/ 34,100	931	1/ 49,200
アミノ酸代謝異常症 (2疾患) <sup>1)</sup>	0	—	0	— <sup>4)</sup>	3	1/ 328,800 <sup>8)</sup>	7	1/ 267,300 <sup>9)</sup>
有機酸代謝異常症	0	—	0	— <sup>4)</sup>	28	1/ 35,200 <sup>8)</sup>	48	1/ 39,000 <sup>9)</sup>
脂肪酸代謝異常症	1	1/ 8,500	1 <sup>3)</sup>	1/ 9,100 <sup>4)</sup>	15	1/ 65,800 <sup>8)</sup>	25	1/ 74,900 <sup>9)</sup>
ガラクトース血症	0	—	1	1/ 406,800	35	1/ 31,200	1,220	1/ 37,600
先天性甲状腺機能低下症	7	1/ 1,200	167	1/ 2,300 <sup>5)</sup>	634	1/ 1,700	14,347	1/ 3,000 <sup>10)</sup>
先天性副腎過形成症	0	—	17	1/ 15,500 <sup>6)</sup>	69	1/ 15,800	1,787	1/ 16,700 <sup>11)</sup>
ヒスチジン血症	—	—	33	1/ 6,000 <sup>7)</sup>	—	—	2,200	1/ 9,600 <sup>12)</sup>

1) シトルリン血症1型, アルギノコハク酸尿症

2) 患者内訳: フェニルケトン尿症 5人, メイプルシロップ尿症 1人

3) 患者内訳: 極長鎖アシルCoA脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症 1人

4) 平成25年度 (平成26年3月) ~平成26年度 タンデムマス法受検者数 9,115人

5) 昭和55年度~平成26年度 受検者数 378,333人

6) 平成元年度~平成26年度 受検者数 262,898人

7) 昭和52年度~平成5年度 受検者数 197,180人

8) 平成25年度 タンデムマス法受検者数 986,366人

9) 平成23年度~平成25年度 タンデムマス法受検者数 1,871,436人

10) 昭和54年度~平成25年度 受検者数 42,462,145人

11) 昭和63年度~平成25年度 受検者数 29,837,220人

12) 昭和52年度~平成4年度 受検者数 21,119,892人

し骨格筋型として症状を呈する VLCAD 欠損症患者と診断された。なお、この症例については、フォローアップ検体として日齢6の血液ろ紙が届き、測定した結果、C14:1 0.25 nmol/ml(カットオフ値 0.30), C14:1/C2 0.017 (カットオフ値 0.013) となり、C14:1 はカットオフ値以下のため、この検体(日齢6採血)がマススクリーニング用として届いた場合は異常を発見できなかった可能性があった。

ホモシスチン尿症の疑いの症例4は、初回(日齢5)は正常であったが、低出生体重児のため日齢30での再採血検体で17-OHP 抽出法4.17ng/mlとなり、先天性副腎過形成症疑陽性として要再検とした。3回目の採血検体(日齢48)では、17-OHP は正常化していたが、Metが高値となり、カットオフ値(67nmol/ml)をわずかに超える程度が日齢95まで持続したため、要精密検査とした。この間は、NICUの主治医と相談しながら経過を追っていた。

ガラクトース血症の疑いの症例2は、Galは正常であったが、同時に測定しているGal-1-pがスケールオーバー(ディスク分割測定により日齢5で34.9 mg/dl, 日齢9で43.0mg/dlと算出)した例である。大阪市立大学発達小児医学 藤本昭榮先生に酵素活性等の測定を依頼した結果、ガラクトース血症関連酵素活性はすべて正常であった。その後、日齢34のフォローアップ検体ではGal 0.51mg/dl, Gal-1-p 8.99mg/dlと低下しており、異常なしと診断された。

## (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2, 3, 6, 7, 8, 9, 10の7人であった。

症例1は、日齢12の再採血検体で、TSH値は8ディスク測定して6.91~8.61  $\mu$  U/mlとカットオフ値(8  $\mu$  U/ml)の前後ではばらつきが認められたため、再採血を依頼した。しかし、3回目の検体でも同様に8ディスクで8.44~10.40  $\mu$  U/mlとばらつき、前回よりも測定値が高くなっていたことから要精密検査とした。検査の結果は異常なしということであった。

症例2は、日齢5でのTSH異常高値のため、即精密検査となったが、出生時より筋緊張低下が認められたことから、直ちに患者として治療開始された。

症例3は、母親がバセドウ病のため、生後すぐに小児科で管理されており、日齢1より治療が開

始されていた。日齢15で治療が中止され、経過観察されている。なお、先天性甲状腺機能低下症マス・スクリーニングガイドライン(2014年改訂版)[15]によると、原発性先天性甲状腺機能低下症には永続性と一過性があり、また一過性の原因の一つにはバセドウ病母体の服用した抗甲状腺剤の影響によるものもあるとのことから、この症例も患者とした。

症例5は、日齢4ではTSH値は正常であったが、低出生体重児のための日齢11の再採血検体では、症例1と同様に8ディスク測定してTSH値は6.14~10.13  $\mu$  U/mlとカットオフ値(8  $\mu$  U/ml)の前後ではばらつきが認められ、さらに日齢20の検体でも6.72~8.54  $\mu$  U/mlとばらつきがあった。精密検査の結果は正常であった。

## (3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となったのは10人で、今年度は患者は発見されなかった。

また、2,000g未満の低出生体重児は、10人のうち4人であった。

いずれの症例も精密検査の結果、異常なかった。

## (4) 対象外疾患

要精密検査となった例の中には、診断の結果、検査対象外の疾患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患の患者は、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

タンデムマス法が全国で実施されるようになったことから、平成26年度より新生児マススクリーニングにおける外部精度管理体制が新しくなった。

自治体と精度管理業務に関する契約を結んだNPO法人タンデムマス・スクリーニング普及協会が、独立行政法人国立成育医療研究センター(実務はマススクリーニング研究室:MS研)に委託して、精度試験(Quality Control:QC)用検体と技能試験(Proficiency Test:PT)用検体の2種類による外部精度管理が行われることになった。このうちPT検体による精度管理については、従来の外部精度管理と同じ要領であるが、QC検体による精度管理はタンデムマス法のためのものであり、連続した10日間の検査日にQC検体を2重測定した結果を、MS研に送付し、評価

を受けるものである。

平成26年度は、PT検体による精度管理が3回(6月, 9月, 2月), QC検体による精度管理が1回(1月)実施された。今年度の外部精度管理の結果については、検査精度は適正であり、正常・異常の判定も適切で、記入の誤りもなかったとの評価であった。また、QC検体の測定精度にも問題はないと判定された。

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[16, 17]も実施した。今年度は1回だけであり、TSH異常検体のブラインドサンプルとして協力病院が当所に送付したものであったが、実際のTSH測定値はカットオフ値よりも低かったため正常判定とした。この結果の乖離について、ブラインドサンプルによる外部精度管理を実施している他の検査施設、MS研等と検討した結果、他の検査施設でも同様の結果の乖離が認められたことから、今回送付されたブラインドサンプルはTSH値がカットオフ値よりも高くない検体であったことが判明した。したがって今回の結果は、見逃しではなく、正常判定で適切であったと判断された。

## 考 察

今年度は、タンデムマス法を平成26年3月に導入して以来、新たに検査対象となった疾患で初めての患者1人(VLCAD欠損症)が発見された。この例は日齢4に採血され、日齢6で精検医療機関を受診し、処置が行われた。

タンデムマス法の導入を契機に作成された富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルに基づき、関係機関が連携して迅速に対応できた例であった。しかし、既述のとおり、もしこの例が日齢6で採血されていたならば、偽陰性となった可能性があり、日齢6でも採血時期が遅いとも言える。検体の採血時期をチェックする必要がある。遅い場合には、検査結果を慎重に判断することが必要であると考えられた。

また、タンデムマス法では、様々な要因で測定指標が高くなり、要再採血数や要精密検査数が多くなることもある。例えば、ピボキシル系抗生物質を使用している場合は、イソ吉草酸血症の指標であるC5が高くなる。今年度の疑陽性例の中には、母親が産科に入院中にピボキシル系抗生物質を服用していた例で新生児のC5がカットオフ値よりもわずかに高くなったケースがあった。また、

新生児にピボキシル系抗生物質が投与された例では、C5が異常に高くなっていた。このような偽陽性例を鑑別し、できるだけ偽陽性例による再採血率を低くするために、新たな指標の設定等の検討を行っている。また、石毛ら[18]のLC-MS/MS法による2次検査法なども今後検討していきたい。

さらに、哺乳不足による脂肪酸異化亢進により、VLCAD欠損症の指標であるC14:1, C14:1/C2が高くなる例も多くある。VLCAD欠損症等の脂肪酸代謝異常症の疑いの場合、再採血による確認は行わずに即精密検査とすることになっているため、要精密検査例が増えることとなる。そのため、当所は本県のコンサルタント医である福井大学医学部重松陽介先生によるアシルカルニチンプロフィールを参照した判定方法[19]で判定を行うことで、要精密検査率を抑えることができている。

また、今年度は先天性甲状腺機能低下症の患者が7人発見された。日本小児内分泌学会および日本マス・スクリーニング学会から出されている先天性甲状腺機能低下症マス・スクリーニングガイドライン(2014年改訂版)においては、先天性甲状腺機能低下症(CH)の定義の中で、母体バセドウ病による抗甲状腺剤の影響等による一過性のCHの存在が示されていることから、今年度の症例3もCH患者とした。これまでの全国的な集計においては、このような一過性例の取扱いは明確にされていないため、今後このような例をどのように集計するのかについての統一見解が必要と考える。

タンデムマス法導入を契機に本県の新生児マススクリーニング体制が新たに整備されたことで、患者への迅速な対応が可能となり、また、再採血を依頼した検体の回収率や精密検査結果報告書の回収率も昨年度より高くなった。各関係機関が連携して新生児やその保護者をサポートしている成果と考えられ、母子保健対策はさらに充実するものと考えられる。

## 文 献

1. 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)
2. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 土肥裕美子(2014). 富山衛研年報, 37, 25-37.
3. 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考(2011).

- 日本マス・スクリーニング学会誌, 21 (3), 13-18.
4. 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.
  5. 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.
  6. 美澄博雄, 高坂陸年, 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.
  7. 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.
  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/jinko150401/jinko150401.html](http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko150401/jinko150401.html)
  9. 山口清次 (2012). 新しい新生児マススクリーニング タンデムマスQ & A 2012, 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) p14.
  10. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿 (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
  11. 九曜雅子, 米田 豊 (2011). 富山衛研年報, 34, 139-141.
  12. 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
  13. 先天性代謝異常検査等検査状況 (平成 25 年度) 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課 (2015). 日本マススクリーニング学会誌, 25 (1), 119-121.
  14. 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.
  15. 先天性甲状腺機能低下症マス・スクリーニングガイドライン (2014 年改訂版), <http://jspe.umin.jp/medical/files/CH-gui.pdf>
  16. 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.
  17. 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.
  18. 石毛信之, 藤川研人, 渡辺和宏, 長谷川智美, 世良保美, 穴澤 昭, 石毛美夏, 大和田 操, 北川照男 (2014). 日本マス・スクリーニング学会誌, 24 (2), 79.
  19. 重松陽介, 畑 郁江 (2015). 日本マススクリーニング学会誌, 25 (1), 67-73.

## ヒト血液の染色体分析結果(平成26年度)

高森 亮輔 品川 保弘 西永 真理 齊藤 尚仁

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2014 – Mar. 2015)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Mari NISHINAGA,  
and Naohito SAITO

**要 旨** 平成26年度の血液の染色体分析依頼数は、20件であった。全例検査を完了し、2件に染色体異常(構造異常2件)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検査と染色体分析法の開発研究を昭和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て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26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

主に県内の医療機関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。

詳細な方法等は既年報[3]に従った。

## 結 果

検体として、血液を受け入れ、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年度以降は依頼件数が大幅に減少したことから、参考までに平成22年度から平成25年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。依頼医療機関数は6施設であり、富山赤十字病院からの依頼が8件(40.0%)で最多であった。

平成26年度の血液の受付件数は20件であった。受付した20検体全ての分析を完了した。検査を完了できた検体20件中2件(10.0%)に染色体異常が認められた。

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2件の内訳は、構造異常2件であった。

表1. 血液の染色体検査依頼医療機関名, 件数

医療機関名	H22	H23	H24	H25	H26
富山赤十字病院	5	9	10	6	8
富山市民病院	4	2	2	2	4
済生会高岡病院	2	10	6	8	2
済生会富山病院	0	0	0	0	2
さたけ産婦人科医院	2	2	0	0	2
高岡市民病院	0	0	0	0	2
厚生連高岡病院	0	2	4	0	0
富山大学附属病院	45	30	1	4	0
おとぎの森レディースクリニック	4	4	0	0	0
あわの産婦人科医院	0	2	0	0	0
富山県立中央病院	0	2	0	0	0
高岡市民病院	4	0	0	2	0
レディースクリニックむらた	1	0	0	1	0
計(件)	67	63	23	23	20



不育症関連の検体 16 件 (80.0%) は、8 組の夫婦で、染色体異常 1 件 (6.3%) を確認した。夫と妻の平均年齢、平均流産回数は、 $37.4 \pm 5.8$  歳、 $36.0 \pm 2.9$  歳、 $2.4 \pm 0.7$  回であった。

夫婦の血液検体と流産胎児由来組織の染色体検査を依頼された例は 8 組あり、表 3 に示した。8 件中 2 件は流産胎児、両親ともに正常核型であった。5 件はその両親は正常核型であったが、流産胎児が常染色体トリソミー型であった。1 件は、流産胎児が [46,XX,der (4) t (4;8) (q15.2;q13)] であり、父親が [46,XY,t(4;8) (q15.2;q13)] の均衡転座保因者であった。

ターナー症候群疑いによる依頼が 2 件 (10.0%) あったが、染色体異常は確認されなかった。

### 考 察

平成 22、23 年度は 60 件程度あった受付件数が平成 24 年度以降は、およそ 1/3 の 20 件程度に減少した。これは、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 16 件のうち 1 件 (6.3%) 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 26 年度は、8 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 8 件中 5 件に核型の異常が確認された一方で、そのうち 7 組の両親は正常核型であり、1 組は父親に核型異常を認めた。流産胎児のみの染色体検査では、父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 26 年度は依頼理由中の 8 割を占め、過去を含めたものでは約 6 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、最近では挙児を望むための検査が多くなってきたため、近年の少子化、晩婚化による影響も考えられた。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てるためには、血液の染色体分析実績をさらに積み重ねていく必要がある。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

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	16	1	
反復流産	8		
習慣性流産	4		
流産原因精査	4	1	46,XY,t(4;8)(q15.2;q13)
羊水検査施行後の精査	2	1	46,XY,t(1;7)(p32~34;q32~34)
ターナー症候群の疑い	2		
計(人)	20	2	

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	異常数	染色体異常の核型
流産 1 回	2	0	
流産 2 回	4	0	
流産 3 回	4	1	46,XY,t(4;8)(q15.2;q13)
生児 1 人流産 2 回	2	0	
生児 1 人流産 3 回	2	0	
生児 2 人流産 3 回	2	0	
計	16	1	

ただきました方々に深謝いたします。

文 献

1. 大濱紘三, 三春範夫 (1996). 染色体異常の発生頻度, 64-74, 臨床染色体診断法, 金原出版.
2. 池内達郎 (1996). 高精度分染法, 144-151, 臨床染色体診断法, 金原出版.
3. 高森亮輔, 林美貴子, 品川保弘, 高田吉弘 (2011). 富山衛研年報, 34, 35-38
4. 齋藤滋 (2012) 反復・習慣流産 (いわゆる「不育症」) の相談対応マニュアル

## 流産胎児の染色体分析結果(平成26年度)

高森 亮輔 品川 保弘 西永 真理 齊藤 尚仁

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2014 - Mar.2015)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Mari NISHINAGA,  
and Naohito SAITO

**要 旨** 平成26年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は、68件であった。そのうち67件について検査を完了し、39件に染色体異常を認めた。検査依頼理由の大半は、子宮内胎児死亡、稽留流産、反復流産、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認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。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を実施している。平成26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

主に県内の医療機関から染色体検査依頼のあった流産胎児検体を貼り付け法や酵素処理法により、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

#### 1. 依頼医療機関と検体数

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、今年度は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22年度から平成25年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。平成22年度から平成25年度までは50件前後となっていた受付件数が、平成26年度は68件と増加した。依頼医療機関数は10施設であったが、富山大学附属病院からの依頼が49件(72.1%)と多かった。

#### 2. 検体の内訳

平成26年度の受付件数は68件で、63件は絨毛のみ、1件は絨毛+皮膚、3件は絨毛+臍帯、1件は絨毛+皮膚+臍帯であった。67件の分析を完了したが、臍帯4検体、皮膚検体2件は増殖能力がなく分析を完了できなかった。

#### 3. 検体の週数

依頼された流産胎児の週数は5週から38週の範囲(2件は不明)で、もっとも件数の多かったのは8週の20件(全体の29.4%)、次いで9週の14件(20.6%)であった。10週未満と10週以降で2等分すると、10週未満が57件(83.8%)、10週以降が11件(16.2%)であった。10週未満の57件

表1. 医療機関別検査依頼件数(平成22～26年度)

医療機関名	H22	H23	H24	H25	H26
富山大学附属病院	29	36	29	35	49
さたけ産婦人科	1	3	0	0	6
富山赤十字病院	3	3	3	1	4
済生会高岡病院	3	7	5	7	2
富山県立中央病院	3	2	3	3	2
あいARTクリニック	0	0	0	4	1
富山市民病院	1	1	0	1	1
高岡市民病院	2	0	0	1	1
済生会富山病院	0	0	0	0	1
市立砺波総合病院	0	0	0	0	1
厚生連高岡病院	0	1	3	1	0
おとぎの森レディースクリニック	3	0	1	1	0
黒部市民病院	1	2	0	1	0
吉本レディースクリニック	0	0	1	0	0
計(件)	46	55	45	55	68

表2. 平成26年度検査依頼理由, 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	7		
IUFD	14	5	2	2	2	1	1	1	5	47,XY,+21 47,XY,+14 47,XX,+17 47,XX,+16 47,XY,+4
稽留流産	21	4	5	8	2	2	0	0	15	47,XX,+10 47,XY,+14 47,XX,+20 47,XX,+13 47,XY,+15 47,XX,+22 47,XX,+4 47,XY,+7 48,XX,+5,+16 47,XX,+8,16qh+ 47,XX,+15 47,XY,+22[2] 47,XY,+20 48,XX,1qh+ ,+16,+21
反復流産	9	0	6	2	1	0	0	0	4	47,XX,+14 47,XY,+13 47,XX,+21 47,XX,+16
不育症	13	0	1	5	6	0	0	1	6	47,XX,+15 47,XY,t(8;13)(q22;q14),+13 47,XY,+22 47,XX,+6 47,XY,+13 47,XY,+8
習慣性流産	10	0	1	4	5	0	0	0	8	47,XX,+22 46,XX,der(4)t(4;8)(q15.2;q13) 47,XY,1qh+ ,+22 47,XY,+2 47,XY,+15 47,XX,+16 48,XXY,+15 69,XXY
合計	67	9	15	21	16	3	1	2	38	

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

表3. 染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数

	件数	流産回数	母体年齢	在胎週数
異常あり	37	3.0±1.3	37.7±4.7	8.4±1.7
異常なし	28	3.1±1.5	35.2±5.1	10.9±7.5
全体	65	3.0±1.4	36.6±5.0	9.5±5.2

\*: 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

	培養日数													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	0	0	1	8	13	15	11	9	5	2	0	2	1	67	9.6±2.0
標本作製2回目*	0	0	0	3	8	8	13	11	7	7	2	3	0	62	10.6±2.0

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

\*: 培養が不調(増殖不良)のため, 標本作製2回目を行うことができなかった5検体を除いて集計

の週数の平均は8.1 ± 1.2 週, 結果の得られなかった1件, 週数不明の2件を除く65件全体の週数の平均は9.5 ± 5.2 週であった。

#### 4. 流産母体年齢

流産母体年齢の平均は36.6 ± 5.0 歳であり, 最若年齢は24 歳, 最高年齢は44 歳であった。

#### 5. 染色体異常検体の割合

検査を完了できた検体67件中39件(58.2%)に染色体異常が認められた。参考までに, 当所での流産胎児染色体検査受付件数は, 昭和50年以来40年間で632件を数えるが, 分析を完了できた検体586件のうち, 異常を確認したのは338件であり, 検査完了件数に占める異常検体の確認率は57.7%となっている。

#### 6. 検査依頼理由

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

#### 7. 染色体異常検体の内訳

染色体異常39件の内訳は, 数的異常35件, 倍数体1件, ターナー症候群1件, 構造異常1件, 構造異常+数的異常1件であった。

流産胎児と両親の血液の染色体検査を依頼された例が10件あった。10件中3件は流産胎児, 両親ともに正常核型であった。5件は流産胎児が常染色体トリソミー型であり, その両親は正常核型であった。1件は, 流産胎児が[47,XY,t(8;13)(q22;q14),+13]であったが, その両親については以前に両親の染色体検査を施行しており, 母親が[46,XX,t(8;13)(q22;q14)]の均衡転座保因者であった。

1件は, 流産胎児が[46,XX,der(4)t(4;8)(q15.2;q13)]であったが, その両親については流産胎児の染色体検査終了後に両親の染色体検査を施行しており, 父親が[46,XY,t(4;8)(q15.2;q13)]の均衡転座保因者であった。

#### 8. 染色体異常と総流産回数, 母体年齢の比較

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に示したとおり、いずれの項目についても、染色体異常の有無との相関は認められなかった。

### 9. 検体培養日数

受入検体68件の中で検査を施行できた67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日間が多く、平均培養日数は $9.6 \pm 2.0$ 日間（昨年度は $8.9 \pm 1.9$ 日間）であった。また、標本作製2回目は培養10日間が多く、平均培養日数は $10.6 \pm 2.0$ 日間（昨年度は $10.1 \pm 1.8$ 日間）であった。

### 10. 検体処理日数

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67検体についてみると最短で11日間、最長で24日間、平均は $18.7 \pm 3.1$ 日間であった。前年の平均日数は $21.0 \pm 4.4$ 日間であったことから、およそ3日、工程に要する日数を短縮できた。これは、検体の培養日数が短縮されたことや検査担当者の検査処理能力が向上したことに起因するものと思われた。

## 考 察

平成22年度から平成25年度までは50件前後となっていた受付件数が、平成26年度は68件と増加した。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附属病院からの依頼を中心に、受入れ件数が増加したためである。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思われている。

検査を完了した検体のおよそ5割に染色体異常を認めたが、この割合は、多くの報告[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26年度は、最終的に10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10件中7件に核型の異常が確認

された一方で、そのうち8組の両親は正常核型であり、1組が母親に、もう1組が父親に核型異常を認めたケースであった。このケースでは親は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、流産胎児の染色体分析実績をさらに積み重ねていかねばならない。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3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。平成26年度の実績では平均で18日余りとなり、前年比でおよそ3日短縮できたが、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もあった。その大半が短期間に検査依頼が集中したケースであったことから、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を説明した後で受け付けた。検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を少しでも短縮することは、この業務に携わるうえでの重要な課題である。また、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未だに言いがたい。培養技術、標本作成技術のみがくことで、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: 齋藤滋) 135 - 137.

## 羊水細胞の染色体分析結果(平成26年度)

品川 保弘 高森 亮輔 西永 真理 齊藤 尚仁

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2014 - Mar.2015)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Mari NISHINAGA and Naohito SAITO

**要 旨** 平成26年度の羊水の染色体検査受付件数は149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、妊娠の継続や中断の決定、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。これまでの40年間で2,390件の検体を対象として検査を実施してきたが、平成26年度に受け付けた羊水検体149件について、検査状況および結果の概略を報告する。

### 実 施 方 法

#### 1. 検体の培養方法

羊水細胞の培養は、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。

- デイスポ注射器中の羊水を、2本のポリプロピレン遠沈チューブに分注（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）する。
- 1,200r.p.m. で6分間遠心し、細胞を沈殿させる。
- 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、0.7～0.8 mlの培養液（×1 PSN 抗生物質溶液添加）を加えて静かに再浮遊させ、その全量を35 mm径シャーレに移す。
- チューブ内を1 ml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2 ml程度にして培養する。
- 培養開始後、顕微鏡下で細胞増殖の有無を観

察し、コロニーの形成が確認された段階で、培地を適宜交換する。

- 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、染色体標本の作成に際し、低張処理後の膨張した核板の形態保持を阻害するほか、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、あるいは標本作成日の1～2日前に培地を交換し、可能な限り除去する。
- 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、染色体標本を作成する。

#### 2. 染色体標本の作成方法

前項で準備した2枚のシャーレそれぞれについて、以下の手順で個別におこなった。

- 1  $\mu$ g/ml に調製したコルセミド溶液を、培養液量に対し13  $\mu$ l/mlとなるよう添加し、37°C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1.5 mlを加える。
- シャーレを37°Cインキュベーター内に9分間静置し、細胞を剥離分散させる。
- 倒立顕微鏡下でシャーレからの細胞の剥離および単一細胞への分散を確認後、細胞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。
- 1,200 r.p.m. で6分間遠心にかけ、細胞を沈殿させる。

- 約 0.2 ml 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 1 ml 程度を重層させる。
- 1.0 ～ 1.5 ml 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 ～ 10 ml 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。
- 1,200 r.p.m. で 6 分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる。
- 約 0.2 ml 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 1 ml 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 9 ml とし，4℃の冷蔵庫内で 3 時間以上固定する。
- 1,200 r.p.m. で 6 分間遠心にかけ，細胞を沈殿させる。
- 約 0.2 ml を残し，上清部分を取り除く。
- スピッツ管底部側面を指先でタッピングし，ペレットを再浮遊させたのち，4℃に冷蔵しておいたカルノア固定液 8 ml を加え，ピペットで静かに混和する。
- 室温で 10 分間静置したのちに，1,200 r.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，0.05 ml から 0.1 ml 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 枚作成する。
- トリプシン処理による G バンド染色は，標本作製の翌日以降に行う。

### 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  $\mu$  g/ml (GIBCO : 15210-040)
- トリプシン液 (細胞分散用) : 0.05% Trypsin-EDTA (GIBCO : 25300-054)
- 低張液 : 0.075 M 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, pH 6.8, (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

- 15 ml 遠沈管 : 2325-015 (IWAKI)
- 35 mm シャーレ : FALCON3001 (Becton Dickinson)
- パスツールピペット : IK-PAS-9P (IWAKI)
- スピッツ管 : 目盛付スピッチグラス 10 ml · A タイプ (日電理化硝子)
- 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)

表 1. 医療機関別検査依頼件数(H23 ～ 26)

医療機関名	件数			
	H26	H25	H24	H23
県立中央病院	42	43	31	15
厚生連高岡病院	34	15	21	7
富山市民病院	21	18	17	12
おとぎの森レディースクリニック	15	7	11	17
富山赤十字病院	10	13	20	14
さたけ産婦人科	8	4	7	3
富山大学附属病院	7	3	13	6
済生会高岡病院	6	5	14	5
砺波総合病院	2	5	1	0
済生会富山病院	2	0	0	0
レディースクリニックむらた	1	1	0	0
八尾総合病院	1	0	0	0
(黒部市民病院)	0	8	18	17
(高岡市民病院)	0	1	0	0
(菅田産婦人科医院)	0	0	1	1
計	149	123	154	97

結果および考察

平成 26 年度に羊水検体についての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。12 の医療機関より、計 149 件の検査依頼を受けた。参考までに、平成 23 年度から平成 25 年度までに検査依頼のあったすべての医療機関名と依頼件数も示した。平成 26 年度の依頼件数は、平成 24 年度に次いで過去 2 番目の多さであった。過去 4 年間分を平均すると、年間 130 件余り、月平均は約 11 件であった。

依頼医療機関数は 12 施設で前年度と同数であり、県内で分娩を取り扱う 26 施設（1 助産院を含む）のおよそ半数であった。その内訳は、総合病院 12 施設中 9 施設、産科医院 13 施設中 3 施設であった。

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 86 件で最も多く、全体の 57.7% を占めた。次いで 17 週 34 件、15 週 16 件であり、この三週での合計 136 件は全体の 91.3% を占めた。最短は 13 週、最長は 33 週であったが、13 週のケースは、子宮内胎児死亡の原因精査目的で羊水が採取されたものであった。

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 24 件で最も多く、最低年齢は 17 歳、最高年齢は 44 歳であった。高齢妊娠の一般的な節目年齢である 35 歳を基準におよそ 6 歳刻みで 4 区分すると、35 歳から 40 歳までが 83 件で、全体の 55.7% を占めていた。35 歳以上全体では 108 件で、全体の 72.5% 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 歳未満の場合は、便宜上、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、および判定した異常核型を表 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は、表 3 でも示したとおり 108 件で、全体の 72.5% を占めていた。

母体が 35 歳未満でありながら、超音波検査等により、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 24 件で、全体の 16.1% を占めた。

染色体異常や奇形を有する児の出産あるいは妊娠既往を依頼理由としたのは、35 歳未満で 3 件、35 歳以上では 5 件、計 8 件であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体 149 件中 13 件（8.7%）であった。高齢妊娠、つまり 35 歳以上の検査依頼 108 件のうち 9 件（8.3%）に異常を認めた。

胎児異常疑いを主訴とする依頼 42 件（35 歳以上 18 件、35 歳未満 24 件）中 11 件（26.2%）に核型異常を確認した。

胎児異常を疑うきっかけとして最も多い NT 肥厚の記載のある依頼は 23 件（35 歳以上 7 件、35 歳未満 16 件）であったが、そのうち 7 件（30.4%）に核型異常を確認した。

母体血液を用いた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が 12 件（35 歳以上 11 件、35 歳未満 1 件）あったが、高齢で TM により染色体異常が疑われた 1 例に、異常核型を確認した。

平成 26 年度に判定した異常核型 13 件の内訳は、常染色体の数的異常 9 件、性染色体の数的異常 1 件、常染色体均衡転座 1 件、モザイク 2 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 回ずつ行われたが、1 回目の標本作製のピークは培養 10 日目であり、

表 2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	13	...	15	16	17	18	...	27	28	29	...	31	32	33	合計
件数	1	...	16	86	34	5	...	1	1	1	...	1	1	2	149

表 3. 母体年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	17	*	19	20	21	*	23	*	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	合計
件数	1	*	1	1	1	*	2	*	3	1	4	6	5	4	4	3	5	13	7	8	10	24	21	6	11	6	2	149
14件(9.4%)									27件(18.1%)						83件(55.7%)						25件(16.8%)							
41件(27.5%)															108件(72.5%)													



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	108	9	
高齢妊娠	79	1	47,XY,+21
NT肥厚	7	6	47,XX,+18【3件】, 47,XX,+21, 47,XY,+21【2件】
QTで染色体異常疑い	4	0	
TMで染色体異常疑い	7	1	47,XXY/46,XY
染色体異常児妊娠歴	1	0	
染色体異常児出産歴	4	0	
IVF	5	1	47,XY,+21
IUFD原因精査	1	0	
胎児異常疑い	24	4	
NT肥厚	16	1	47,XX,+15/46,XX
QTで染色体異常疑い	1	1	46,XX,t(1;7)
胎児水腫	3	1	45,X
胎児発育不全	1	1	47,XX,+18
奇形疑い	3	0	
異常児出産・妊娠既往	3	0	
奇形妊娠歴	1	0	
奇形出産歴	1	0	
染色体異常児出産歴	1	0	
本人希望	14	0	
35歳未満	11	0	
均衡転座保因者	1	0	
身内に染色体異常あり	1	0	
IUFD原因精査	1	0	
計	149	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: in vitro fertilization (体外受精)

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	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日	合計(*)	平均日数
1回目	2	15	27	42	31	20	6	3	0	1	147	10.3±1.5
2回目	0	4	14	31	34	32	18	9	4	1	147	11.3±1.6

\*: 増殖が認められず培養を中止した2件は除外

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	...	28	計
件数	1	2	2	5	16	24	28	27	11	15	12	5	...	1	149

この日を含む前後3日間の総数は100件(68.0%)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3日間の総数は、97件(66.0%)であった。平均培養日数は、標本作製1回目が10.3±1.5日、2回目が11.3±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、最長で28日、平均は16.6±2.4日であった。

以上、平成26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。

平成26年度の検査依頼件数149件は、平成24年度の154件に次いで、過去2番目に多かった。医療機関別にみると、依頼件数の増加が顕著であったのは厚生連高岡病院のみであったが、平成

23年度以降の推移をみると、県立中央病院、富山市民病院、さたけ産婦人科の各病医院で増加傾向が認められた。一方、依頼件数が平成25年度に大幅に減少した黒部市民病院からの依頼は、平成26年度は皆無であった。富山赤十字病院からの依頼件数の推移にも、減少傾向がうかがわれた。

県内の出生数は年々微減傾向にあり [3]、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。一方、母の年齢階級別出生割合をみると、35歳以上での出産、いわゆる高齢出産は県内でも着実に増加しており、すでに26%を超えている [4]。平成25年度に若干減少したにもかかわらず、平成26年度に再び150件に迫る増加に転じた背景には、高齢妊娠の増加が関連するものと考えられる。

出生前診断を目的とする羊水検査は、羊水採取に際しての安全面、培養に必要な細胞数の確保、母体への負荷や精神的なストレスの低減等の観点から、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6割近くを占めた。

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よそ56%、一般的に高齢妊娠という表現が用いられる35歳以上の全年齢で70%以上を占めていた。受付検体149件のうち、子宮内胎児死亡 (IUID) 後の羊水検体2件を除く147件について検査を完了したが、IUIDの2件については、羊水採取と並行して採取された胎盤絨毛についての染色体検査を完了した。全検体149件中13件に異常を見出したが、35歳以上108件中の異常核型判定件数は9件 (8.3%)、35歳未満41件中の異常核型判定件数は4件 (9.8%) であった。

35歳以上での検査依頼108件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは79件であり、あとの29件ではNT肥厚や母体血液検査による胎児染色体異常疑い等の依頼理由が加わっていた。高齢妊娠のみで異常核型を認めたケースは、平成26年度は1件 (1.3%) であり、NT肥厚その他の依頼理由が付随した場合は8件 (10.1%) 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と比べて、それ以外の依頼理由が付随することで異常核型検出の確率が格段に高まると考えられた。

NT肥厚を依頼理由とする検体の異常確認率は30.4% (7 / 23) であったが、35歳以上では85.7% (6 / 7)、35歳未満では6.3% (1 / 16) であった。NT肥厚と染色体異常との相関については意見の分かれるところであり、さらなるデータの蓄積が必要と思われるが、平成26年度についてみると、高齢かつNT肥厚ありのケースでは、異常核型を検出する確率が高いといえる。

平成26年度に判定した異常核型13件の内訳は、18番染色体トリソミー4件、21番染色体トリソミー5件、性染色体の数的異常 (ターナー症候群) 1件、常染色体均衡転座1件、モザイク2件であった。

常染色体均衡転座と判定したケースは母体血液を用いたスクリーニング検査クアトロテストで染色体異常が疑われた例で、その核型は46,XX,t(1;7)(p32~34;q32~34) であった。

モザイクの第1例は、高齢妊娠、かつ母体血液を用いたスクリーニング検査トリプルマーカーテストで異常が疑われたケースで、その核型は47,XXY / 46,XY であった。第2例は、35歳未満で、かつNT肥厚を認めたケースで、その核型は47,XX,+15 / 46,XX であった。

検体受け入れから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。標本作製1回目までの培養日数は、平成23年度および24年度がそれぞれ9.2日、9.1日、平成25年度と26年度がそれぞれ9.8日、10.3日であり、わずかながら延長傾向がうかがわれた。

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。平成26年度の羊水検体149件について、その全工程所要日数の平均は、16.6 ± 2.4日であった (参考:平成25年度17.8 ± 2.8日、平成24年度18.9 ± 2.5日、平成23年度19.1 ± 2.3日) であった。培養日数の短縮が図られないにも関わらず、全行程の平均所要日数が2年続けておよそ1日ずつ短縮された背景として、標本作製後の核型分析技術の習熟による作業効率向上が考えられた。さらに加えて、染色体核型分析システム Ikaros を用いたパソコン画面上での核型分析・フィルム撮影・印画紙焼付け・染色体切り出しによる核型分析という流れのうち、これまではプリントからの切り出しによる核型分析に重きがおかれていたのを、Ikarosでの核型分析に重き

をシフトさせたことによる省力化が挙げられる。

全行程所要日数の着実な短縮化が図られているにも関わらず、目安とする三週間、つまり21日以内の結果報告を実現できなかったケースが1件あった。これについては、検体受け入れから分析にいたる工程が年末年始休暇をまたぐことから、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もので、核型分析ソフトによる判定を終えた16日目の時点で電話による報告を行い、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を検体別に比較すると、血液は3日、流産胎児絨毛が7～8日程度であるのに対し、羊水の場合は平均で10日前後を要する。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。平均値としての培養日数の短縮は困難であるとしても、検体間で培養日数に7日程度の差異があることも、経験上、歴然たる事実である。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を明確にすることが、出生前診断において重要な役割を担う染色体

検査業務における、今後の課題であると考える。

最後に、35歳以上での出産が想定される場合を高年齢妊娠と定義するのが一般的 [5] であるが、本稿においては便宜上、検査依頼受け付け時点で35歳以上の場合を高年齢妊娠として取り扱っていることをお断りしておく。

また、妊娠週数については、主治医による検査依頼書への記載が、たとえば「16週5日」であっても「16週」となっているケースが散見されること、および、「16週」とのみ記載されている場合には、「何日」部分が原則省略されていることから、その記載がある場合でも「何日」部分についてはすべて切り捨ててデータを取りまとめていることをお断りしておく。

## 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 (2014) 保健統計年報, 64, 32.
4. 富山県厚生部健康課 (2015) 母子保健の現況, 15.
5. 日本産科婦人科学会 (2007) 日産婦誌, 59, 7, N-224.

## ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散发例について(平成26年度)

稲崎 倫子 森岡 誠二<sup>1</sup> 稲畑 良 小淵 正次  
嶋 一世 長谷川澄代 板持 雅恵 滝澤 剛則

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis  
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014

Noriko INASAKI, Seiji MORIOKA<sup>1</sup>, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, Ichiyo SHIMA,  
Sumiyo HASEGAEA, Masae ITAMOCHI, and Takenori TAKIZAWA

**要 旨** 平成26年4月から27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发例についてまとめた。また、岩ガキを対象にノロウイルス (NoV) の検出を行った。

当所及び富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生18事例からウイルスが検出された。平成27年1～3月の発生が多い一方で、11月～12月の発生が少なく、全体の発生数は例年並みであった。原因と推定されたウイルスの内訳は、NoV Genogroup (G) IIが17事例、NoV GIが1事例であった。カキと関連のない食中毒事例3事例は感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。保育所、体育施設での発生は、感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介してウイルスが伝播したと考えられた。岩ガキ17検体中、5月に採取した1検体からNoVが検出された。

NoVの遺伝子型は、集団発生ではGII/4が、散发例ではGII/3が最も多かった。GII/4の亜型はSydney2012と2006bが検出され、Sydney2012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/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/syokuchu/](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/)) では、患者数が最も多い。一方、小児の散发例では、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、冬季に散发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、散发例、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 [1,12-18]、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发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25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26年4月～27年3月までに当所及び富山

1. 富山市保健所

市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした、検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

## 2. 散発例

平成26年4月～27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26年4月から6月までの計5回、富山県の3漁港（2～4か所/回）で採取した岩ガキ51個を用いた。

## 4. ウイルスの検出

厚生労働省通知[19]に準じ、糞便からのRNA抽出、DNase処理、逆転写反応及びPCRを行った。NoVの検出は、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、 $\alpha$ -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26年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎

の集団発生17事例のうち、13事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えた計18事例の概要を表1に示す。原因ウイルスの内訳はNoVGIIが17事例、NoVGIが1事例であった。NoVの型別は、GII/4が10事例と最も多く、次いでGII/11が3事例、GII/3及びGII/6が各2事例、GI/2が1事例であった。カキの喫食に関連した事例は0件であり、その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は3件であった。この3件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。

### 2. 施設別発生事例数（図1）

施設別の発生数は、多い順に宿泊施設による発生が6事例、飲食店が3事例、小学校、福祉施設が各2事例であった。

### 3. 月別発生事例数（図2）

月別では、平成27年1～3月の発生が多かったものの、例年事例発生の多い11月～12月の発生が少なく、全体としては例年と同程度であった。

### 4. 散発例からの遺伝子型別（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、その他の検出ウイルスの詳細については別途示す[20]。最も多かったのはGII/3であり、GII/4が最も多い集団発生事例の状況（表1）とは異なっていた。

表1.平成26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26年 3月	ホテル宴会場(有症苦情)	47	NoV GII/4	不明 *
2	4月	旅館	7	NoV GII/4	不明
			(県内患者のみ)		
3	5月	山小屋	4	NoV GII/4	不明
4	5月	小学校	15	NoV GII/6	不明 *
5	5月	福祉施設	37	NoV GII/4	不明 *
6	9月	結婚式場	19	NoV GII/4	不明 **
7	11月	旅館	27	NoV GII/4	食品
8	平成27年 1月	旅館宴会場(有症苦情)	11	NoV GII/3	不明
9	1月	飲食店(有症苦情)	6	NoV GII/6	不明
10	1月	保育所	30	NoV GII/3	ヒト→ヒト
11	2月	葬儀場	6	NoV GII/4	不明 *
12	2月	老人福祉施設	16	NoV GII/4	不明
13	3月	飲食店	19	NoV GII/11	食品
14	3月	体育施設	39	NoV GII/11	ヒト→ヒト *
15	3月	飲食店	58	NoV GII/11	食品
16	3月	小学校	84	NoV GI/2	不明
17	3月	ホテル	32	NoV GII/4	不明
18	3月	不明(複数施設)	4	NoV GII/4	不明

\*富山市保健所にて検査

\*\*当所及び富山市保健所にて検査

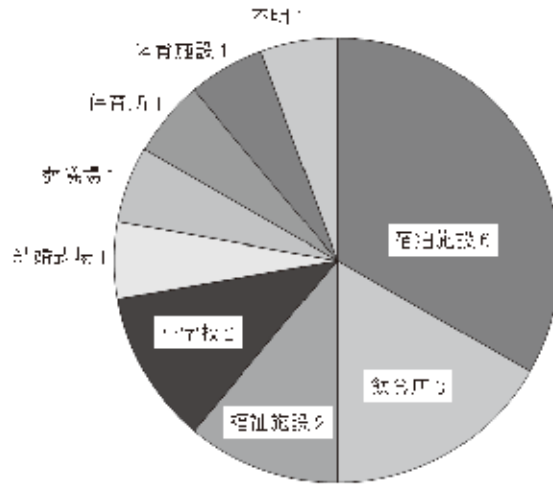


図1. 集団発生事例の施設別発生数

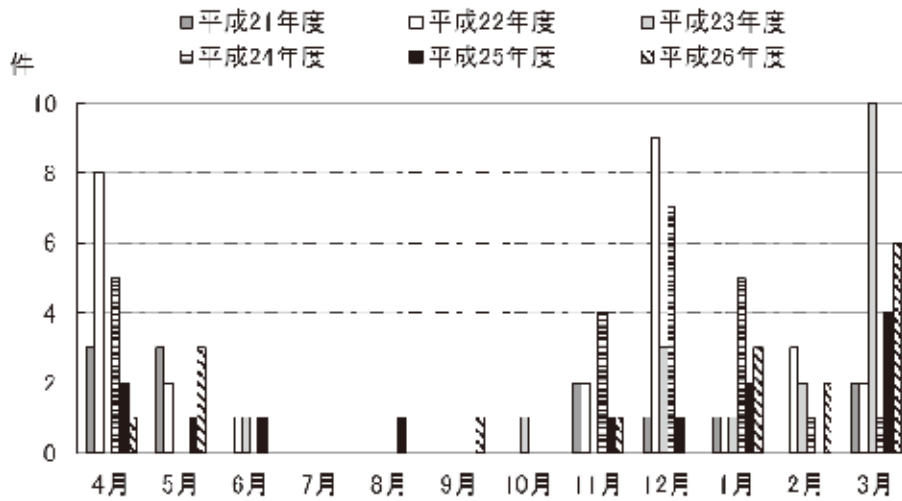


図2. 年度ごとの月別発生数

表2. 平成26年度の胃腸炎散発例からのノロウイルスの検出状況

検出月	NoV型別			計
	GII/3	GII/4	GII型不明	
平成26年				
4月				0
5月		1		1
6月				0
7月				0
8月				0
9月				0
10月				0
11月	2			2
12月	1			1
平成27年				
1月	1	1		2
2月				0
3月	1		1	2
計	5	2	1	8

## 5. 岩ガキからのNoV 検出

岩ガキは、全17検体中、5月の1検体からNoV GII/6が検出された。岩ガキの出荷時期は春から夏であり、NoVの流行時期である冬とはずれているものの、県内産の岩ガキがNoVを蓄積していることが確認された。また、岩ガキは真ガキよりも生で食べることが多い食材である。平成26年度に県内で岩ガキによる食中毒事例は報告されていないものの、岩ガキの生食には感染リスクが伴うことが改めて示唆された。

## 6. NoVの系統樹解析(図3)

単一の遺伝子型が原因と考えられた事例のうち、複数の検体からNoVが得られた事例は15事例あり、そのうちNoVの塩基配列が100%一致していた事例は11件(事例No.2, 3, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 14, 16, 18)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件(事例番号5, 6, 13, 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GII/4およびGII/11であり、これらの遺伝子型は変異しやすいことが示唆される。

GII/4の株は、集団発生事例および散发例いずれも、Sydney 2012亜型(参考株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908に近縁の株)[21]及び2006b亜型[22]の2種類が検出され、全体としてSydney2012亜型が多数を占めた。この傾向は、GII/4が全てSydney 2012亜型であった平成25年度の結果[17]と類似していた。Sydney 2012亜型は県内では平成24年11月に初めて検出された亜型であり、平成25年度以降は流行の中心が既存の亜型からSydney 2012亜型に置き換わったと推測された。

1月に保育所で発生した事例No.10及び11月～3月に散发例4症例から得られたGII/3は互いに近縁であり、この時期にこの遺伝子型が小児を中心に流行していたと考えられる。また、3月にはGII/11が流行していたと考えられる。

## まとめ

平成26年4月から27年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例のうち、18事例からウイルスが検出された。発生数は例年と同程度であった。検出されたウイルスは、

NoVGIIが17事例と大部分を占め、1事例はNoVGIであった。

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3件あった。保育所、体育施設での発生は、感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介してウイルスが伝播したと考えられた。

今回、岩ガキ1検体からNoVGIIが検出された。平成25年度の調査においても3検体からNoV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. Vinjé, 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

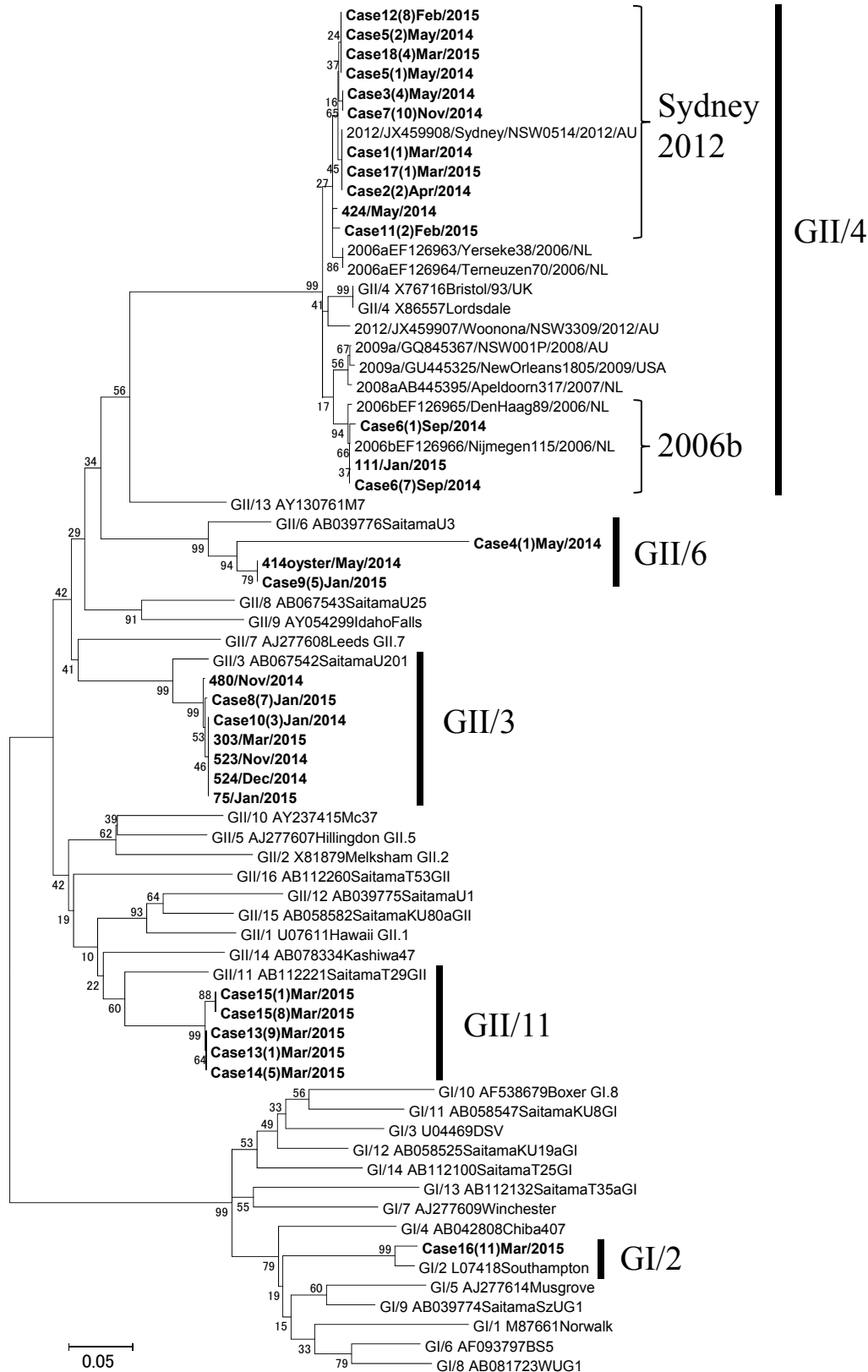


図3. 平成26年度に得られたノロウイルスの系統樹

検体は太字で示す。集団発生事例の検体は「事例番号(検体数)発生月/年」、散发例の検体は「検体番号/発生月/年」、岩ガキ検体は「検体番号 oyster/採取月/年」で示す。参考株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII/4 参考株については(遺伝子型 accession no./株名)で示す。



- 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. 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 (2013). 富山衛研年報, 36, 51-57
  18. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 石田徹, 堀元栄詞, 小淵正次, 嶋一世, 板持雅恵, 滝澤剛則 (2014). 富山衛研年報, 37, 53-59
  19. 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.
  20. 稲崎倫子, 板持雅恵, 長谷川澄代, 嶋一世, 小淵正次, 稲畑良, 滝澤剛則 (2015). 富山衛研年報, 38, 91-93
  21. 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
  22. 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

## 臨床分離アシネトバクター属菌の *rpoB* 遺伝子の塩基配列解析による再評価

清水美和子<sup>1</sup> 磯部 順子 木全 恵子 三井千恵子  
金谷 潤一 綿引 正則 佐多徹太郎

Re-evaluation of Bacterial Identification by *rpoB* Sequencing of the Acinetobacter Isolates in the Clinical Settings

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

**要 旨** 富山県内の医療機関の臨床検体から分離されたアシネトバクター属菌を、*rpoB* 配列から、菌種の同定を行い、比較解析した。検査対象とした138株のアシネトバクター属菌のうち、生化学的性状からほとんど区別できない、*A. baumannii* を含む *A. calcoaceticus-baumannii* complex (ACBC) は、76%であった。医療機関で使用された3種類の自動細菌検査装置による同定結果の違いは、ほとんど見られなかった。また、薬剤感受性試験の結果、一剤以上の薬剤に耐性を示した株は、59%にあたる81株であり、79株はAZT耐性であった。そのほとんどが、アシネトバクター属菌に自然耐性とされている薬剤であり、本県で分離された臨床分離株からは、多剤耐性化傾向は認められなかった。

アシネトバクター (*Acinetobacter*) は土壌など湿潤環境を好み、自然環境中に広く分布している細菌である。細菌学的特徴としては、グラム陰性桿菌、好気性、短桿菌、非運動性、ブドウ糖非発酵、そして、乾燥にも比較的強い細菌とされている。最新の情報では39種類のアシネトバクターが記載されている [1]。人の感染症からもっとも多く検出される *A. baumannii* は多剤耐性化しやすく、しばしば集団発生による死亡例も報告されている。当該菌を原因とする感染症は、まれに集中治療室の患者やその他の重症患者で発症する。しかし、医療機関外で起こることはほとんどない。アシネトバクター感染症は、感染部位としては呼吸器系が多く、肺炎の発症に加えて、尿路感染症、静脈カテーテル留置等による敗血症などが挙げられる。このような中で2011年1月、薬剤耐性アシネトバクター感染症は感染症法の5類感染症(定点)に追加され、さらに、2014年9月には全数報告対象感染症となり、届出基準が設けられた。それによると、カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミノグリコシド系の抗菌薬全てに耐性を示したアシネトバクター属菌が起因菌と判断され

た場合、感染症として届出が必要となる。

アシネトバクター属菌のなかで、*A. baumannii* だけでなく、人に対して感染症を起こす可能性がある近縁な株として、*A. calcoaceticus*、*A. nosocomialis*、*A. pittii* が知られている。これらは、ほとんど同様な生化学的性状を示すため、医療機関等で汎用されている自動細菌検査装置を用いた検査や一般の検査では正しく鑑別することは難しく、そのため *A. calcoaceticus-baumannii* complex (ACBC) あるいは *A. baumannii* complex (ABC) と呼ばれている。アシネトバクター属菌は高い形質転換能をもち外来遺伝子を取り込むシステムを有していることに関連して、*A. baumannii* の多剤耐性化と医療機関でしばしば検出される *A. nosocomialis* や *A. pittii* の間での耐性遺伝子の伝播の可能性など、その関連性に不明な点が多いのも事実である。従って、*A. baumannii* の院内感染対策をするうえで、アシネトバクター属菌の分離状況を把握することは重要となる。それには、ACBC構成菌種を鑑別する必要がある。

アシネトバクター属菌は、DNA-DNA分子交雑法で区別された遺伝子型 (genospecies) で歴

1. 現 高岡厚生センター

史的には分類されており、ACBCは生化学的性状での鑑別が難しいため、遺伝子型による簡便な鑑別法が利用されている。例えば*bla*OXA51-likeをもつアシネトバクター属菌は、*A. baumannii*とほぼ判定できる。しかし、この方法は極めて簡便ではあるが、細菌の鑑別法としての意味づけは不明である。また、16SrRNA配列による分類もDNA-DNA分子交雑法による鑑別には及ばず、アシネトバクター属菌の分類には適さない。そこで、近縁な細菌の鑑別法として、蛋白質をコードしている遺伝子配列の多型を利用した鑑別法が開発されており、その対象遺伝子は、*recA*、*gyrB*、*rpoB*などがよく利用される。その中で、*rpoB*遺伝子の塩基配列は、ACBCの構成菌種の鑑別に有効であることが示されている [2]。

富山県において薬剤耐性アシネトバクター属菌の生態については、これまで報告はほとんどない。近年、人の流れや物流がますます活発になる中で、多剤耐性アシネトバクター属菌の探知や本菌によるアウトブレイクの早期探知を可能とする検査能力を強化するため、本県におけるアシネトバクター属菌の分離状況を把握することは重要である。そこで、我々は、本県における臨床材料から分離されたアシネトバクター属菌を収集し、同定の再評価を*rpoB*遺伝子の部分配列により行ったので報告する。

## 材料と方法

### 供試菌株

医療機関から提供されたアシネトバクター属菌は141株であった。そのうち、3株は生育しなかったため、138株を解析対象とした。富山県内の細菌検査部門をもつ6医療機関で、平成25年6月から平成26年10月までに臨床検体から分離されたアシネトバクター属菌138株を用いた。これらの株の医療機関毎の分離株数は、県立中央病院20株、厚生連滑川病院23株、高岡市民病院13株、黒部市民病院25株、市立砺波総合病院51株、及び富山市民病院6株であった。同定には、3機種種の自動細菌検査機器が使用されていた(装置A、BおよびC)。

### 感受性試験

アシネトバクター属菌の薬剤感受性試験は、センシディスク(日本ベクトン・ディッキンソン、BD)を用い、判定はディスクの判定法に従った。使用した12ディスクは以下の通りである：セ

フォタキシム (CTX)、セフトジジム (CAZ)、イミペネム (IMP)、メロベネム (MEPM)、アズトレオナム (AZT)、セフェピム (CFPM)、ピペラシリン (PIPC)、アミカシン (AMK)、シプロフロキサシン (CPFX)、ミノサイクリン (MINO)、コリスチン (CL)、スルフィソキサゾール (G.25)。

### 培養とDNA抽出

供試菌は、トリプチケースソイ寒天培地(TSA;日本BD)で生育させた新鮮コロニーの一部を100  $\mu$  L 5% (W/V) キレックス-100 (バイオ・ラッドラボラトリー) 液に懸濁し、100°C 10分間処理を行い、その遠心上清を、終濃度50ng/ $\mu$  Lとし、PCRの鋳型とした。

### *rpoB* 遺伝子の部分配列解析

*rpoB*の部分配列決定は、La Scolaらの報告[2]に基づき、*rpoB*内の一部の塩基配列の解析を行った。配列決定用の鋳型調製は、PCR後、増幅物をQIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN)を用いて精製し、これを鋳型として、BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit Ver3.1を用いて解析した。得られたデータは、Sequencher<sup>®</sup>で塩基配列の品質チェック、トリミング後、WebベースのBlast検索を実施し、菌種を推定し、*rpoB*塩基配列による鑑別結果とした。

## 結 果

### 供試菌の特徴

ほとんどの株は医療機関の細菌検査部門において、自動細菌検査装置でアシネトバクター属菌と同定された菌株で、その内訳は図1に示した。*A. baumannii*、ACBCが全体の8割以上を占めていた。それ以外は、*A. junii*、*A. lwoffii/haemolyticus*、*A. ursingii*、*A. heamolyticus*、*A. lwoffii*がわずかに検出されている。さらにこれらの株が分離された検査材料を図2にまとめた。1株については、同一患者の血液と尿から検出されたものとして搬入されているため、検査材料は142検体とした。これらの株の50%は、喀痰から分離されており、呼吸器系疾患から分離されることが多いことが分かる。続いて、尿(19%)、血液(12%)と続き、さらにぬぐい液、膿、気管吸引物、皮膚、膿分泌物、創部及び耳漏から分離された。

同定のほとんどは自動細菌検査装置で行われており、装置Aがもっとも多く、71株、次に装置

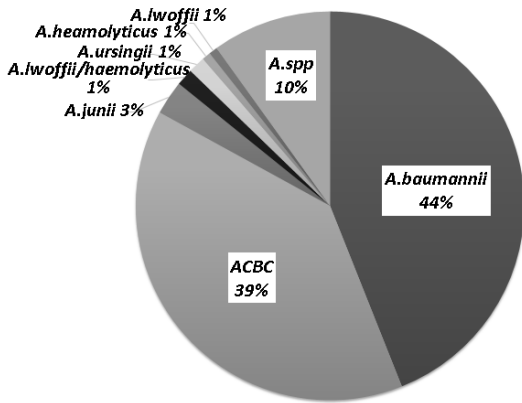


図1. 医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の分布

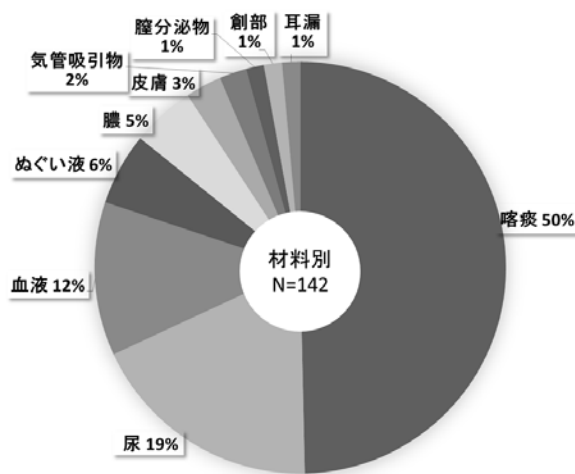


図2. アシネトバクター属菌が分離された検査材料

Bが47株, 装置Cが19株であった. 一株のみ, ApiNE で同定されていた.

**rpoB 配列の解析**

rpoB 配列の結果と医療機関の同定結果との関係を表1に示した. 搬入時の*A. baumannii*とACBCの総数は115株(83%)であり, rpoB配列からは, *A. baumannii*とACBCの総数は105株(76%)であった. rpoB配列から, ACBCを菌種別にみると, *A. baumannii* 64株(61%, 64/105), *A. pittii* 23株(22%, 23/105), *A. nosocomialis* 17株(16%, 17/105), *A. calcoaceticus* 1株(1%, 1/105)であった.

また, 装置別の結果について, 表2 A, B, Cに示した.

**薬剤感受性試験**

今回使用した12薬剤のうち, 1剤以上で耐性を示した81株のみを表3に示した. その他の株は, すべて感性であった. 81株のうち, AZT耐性を示した株が78株であり, AZT感性株3株のうち, 耐性を示した薬剤は, CPF, PIP, G.25であった. また, カルバペネム系薬 (IMP, MEPM) 耐性株は検出されなかった. また, CTXあるいはCAZの耐性株がそれぞれ, 2株検出された.

表1. 富山県内医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の搬入時及び rpoB 配列解析結果との同定結果のとりまとめ

Evaluation by rpoB sequence / Description at carrying-in day from medical institutions	Evaluation by rpoB sequence											Total		
	<i>A. baumannii</i>	<i>A. calcoaceticus</i>	<i>A. nosocomialis</i>	<i>A. pittii</i>	<i>A. bereziniae</i>	<i>A. grimontii</i>	<i>A. guillouise</i>	<i>A. heamolyticus</i>	<i>A. junii</i>	<i>A. radioresistens</i>	<i>A. soli</i>		<i>A. ursingii</i>	<i>A. spp</i>
<i>A. baumannii</i>	31	1*	11	11						3		5	62	
ACBC	25		6	10	1					3		8	53	
<i>A. heamolyticus</i>							1						1	
<i>A. junii</i>						3	1						4	
<i>A. iwoffii</i>	1												1	
<i>A. iwoffii/haemolyticus</i>				1			1						2	
<i>A. ursingii</i>											1		1	
<i>A. spp</i>	7			1	1	1			2			2	14	
<b>Total</b>	<b>64</b>	<b>1</b>	<b>17</b>	<b>23</b>	<b>2</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>2</b>	<b>6</b>	<b>1</b>	<b>15</b>	<b>138</b>

(105, 76%)

(115, 83%)

\*Blast検索の結果. しかし, 実際の配列は, *A. pittii*である.

表2. アシネトバクター属菌の搬入時及び *rpoB* 配列解析結果との同定結果のとりまとめ  
(検査装置別)

Equipment A

Evaluation by <i>rpoB</i> sequence	Description at carrying-in day from medical institutions											Total		
	<i>A.baumannii</i>	<i>A.calcoaceteticus</i>	<i>A.nosocomialis</i>	<i>A.pittii</i>	<i>A.berezinae</i>	<i>A.grimontii</i>	<i>A.guillouiae</i>	<i>A.heamolyticus</i>	<i>A.junii</i>	<i>A.radioresistens</i>	<i>A.solfi</i>		<i>A.ursingii</i>	<i>A.spp</i>
<i>A.baumannii</i>	18		5	9							2		4	38
ACBC	11		2	5							2		5	25
<i>A.heamolyticus</i>							1							1
<i>A.junii</i>						3	1							4
<i>A.lwoffii</i>	1													1
<i>A.ursingii</i>												1		1
<i>A.spp</i>													1	1
Total	30	0	7	14	0	3	1	1	0	0	4	1	10	71

Equipment B

Evaluation by <i>rpoB</i> sequence	Description at carrying-in day from medical institutions											Total		
	<i>A.baumannii</i>	<i>A.calcoaceteticus</i>	<i>A.nosocomialis</i>	<i>A.pittii</i>	<i>A.berezinae</i>	<i>A.grimontii</i>	<i>A.guillouiae</i>	<i>A.heamolyticus</i>	<i>A.junii</i>	<i>A.radioresistens</i>	<i>A.solfi</i>		<i>A.ursingii</i>	<i>A.spp</i>
<i>A.baumannii</i>	9		2	1										12
ACBC	13		4	4	1						1		3	26
<i>A.lwoffii/haemolyticus</i>							1		1					2
<i>A.spp</i>	6												1	7
Total	28	0	6	5	1	0	1	0	1	0	1	0	4	47

Equipment C

Evaluation by <i>rpoB</i> sequence	Description at carrying-in day from medical institutions											Total		
	<i>A.baumannii</i>	<i>A.calcoaceteticus</i>	<i>A.nosocomialis</i>	<i>A.pittii</i>	<i>A.berezinae</i>	<i>A.grimontii</i>	<i>A.guillouiae</i>	<i>A.heamolyticus</i>	<i>A.junii</i>	<i>A.radioresistens</i>	<i>A.solfi</i>		<i>A.ursingii</i>	<i>A.spp</i>
<i>A.baumannii</i>	6	1*	4	2							1		1	15
<i>A.spp</i>				1		1				2				4
Total	6	1	4	3	0	1	0	0	0	2	1	0	1	19

\*Blast検索の結果. しかし, 実際の配列は, *A.pittii*である.

表3. アシネトバクター属菌の薬剤感受性試験結果

Bacterial strains by <i>rpoB</i> sequencing Resistance profiles	<i>A.baumannii</i>	<i>A.calcoaceticus</i>	<i>A.nosocomialis</i>	<i>A.pittii</i>	<i>A.berezinae</i>	<i>A.guillouiae</i>	<i>A.radioresistens</i>	<i>A.soli</i>	<i>A.ursingii</i>	<i>A.spp</i>	Total
AZT, CTX, PIPC	1										1
AZT, CAZ	2										2
AZT, CTX			1								1
AZT, PIPC				2						2	4
AZT, G.25	1	1									2
AZT	26	1	11	12	2	2	1	3	1	9	68
PIPC, G.25				1							1
CPFX				2							2
Total	30	1	13	17	2	2	1	3	1	11	81

## 考 察

医療機関の細菌検査室では、しばしば自動細菌検査装置が利用されており、今回の研究の対象であるアシネトバクター属菌を分離した6医療機関で、3機種種の自動機器が使用されていた。ACBCの構成菌種の鑑別については、生化学性状では鑑別することは非常に難しく、詳細に鑑別するためには遺伝子解析による追加試験が必要である。その理由は、アシネトバクター属菌の分類は、DNA-DNA分子交雑法で区別された遺伝子型(genospecies)で歴史的に分類されていたため、遺伝子型による分類が必要であると考えられる。しかし、DNA-DNA分離交雑法は、通常の検査室では煩雑で、判断しにくい方法であり、現在ではほとんど普及していない。これに替わる遺伝子検査法として、16S-23SリボゾームRNA遺伝子の遺伝子間多型を利用したPCR-RFLP法[3]や、*gyrB*[4]や*rpoB*をターゲットとしたPCR法が開発されている。しかし、いずれの方法も、ACBCの4種の構成菌種を区別することは難しい。そのなかで、我々は今回、La Scolaら[2]による*rpoB*配列解析による鑑別法を用いて、本県の医療機関で分離されるアシネトバクター属菌の再評価を行った。その理由は、塩基配列による解析では系統解析から菌種を推定することで比較的、アシネトバクター属菌の遺伝子型とよく相関することが示されているためである。

その結果、今回医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の83%(115/138)が、*A. baumannii*あるいはACBCであり、そのうちの105株が*rpoB*配列から、ACBCであると判定された。さらに、*A. baumannii*あるいはACBCと判定された株は、*rpoB*配列で*A. baumannii*と判定された株はそれぞれ半分程度であった。このことから、医療機関で判定されるアシネトバクター属を正確に鑑別することは困難であることが示された。しかし、臨床的には、正確な鑑別の必要性はそれほど高くないのが現実であろう。臨床的には、薬剤耐性アシネトバクター属が重要であり、そのほとんどは*A. baumannii*であるとされている。従って、薬剤感受性試験を実施しておけば、臨床的にはほぼ対応可能であると思われる。

人から分離される株の多くがACBCであり、そのうちもっとも分離率(50%)が高いのも*A. baumannii*であり、これまでの報告と矛盾はない。また、今回の研究では、*rpoB*の部分配列を取得し、公的な塩基配列データベース[5]のBlast検索を利用した。しかし、このデータベースは、配列登録の際、正しいか否かなどのチェックがなされないため、信頼性の問題があり、利用に際しては細心の注意が必要である。今回の研究においては、*rpoB*配列の解析の結果、*A. calcoaceticus*と判定される株が存在した(表1および表2C)。しかし、この配列は、他のアシネトバクター属の*rpoB*配列と比較したところ、*A. pittii*の配列と類

似しており、データ登録時の間違いである可能性も考えられた（データ未掲載）。

感受性試験の特徴は、カルバペネム系薬剤（IMP, MEPM）に耐性の株は検出されず、一剤以上の薬剤に耐性を示した株は81株（59%）で、そのうち、96%の株がAZT耐性を示していた。もともとアシネトバクター属菌は、AZT耐性が多く自然耐性に近い特徴として知られている。今回の結果から、本県におけるアシネトバクター属菌の多剤耐性化傾向を示す結果は必ずしも得られていない。しかし、一部の*A. baumannii*の遺伝系統が多剤耐性化しやすいと報告されており [6]、また、ACBCの構成菌種のアシネトバクター属菌にも獲得耐性と思われる耐性菌が観察されており、その耐性化動向と*A. baumannii*の耐性化動向との関係から、その感受性結果に注意する必要がある。

ACBCの構成菌種は、通常の医療機関での鑑別は不可能である。人に感染するアシネトバクター属菌のなかでもっとも警戒すべきは*A. baumannii*であり、今回、富山県で分離された*A. baumannii*を含めたACBCに多剤耐性化の傾向は示されなかった。しかし、ヒト、物の移動が活発な中で、薬剤耐性菌の検査体制を整備する必要があり、*A. baumannii*の耐性化とACBC構成菌種の関係の解析等、今後取り組む課題は多い。このような研究成果は、薬剤耐性*A. baumannii*によるアウトブレイクの早期探知やアウトブレイク発生時の対応に資することが期待される。

## 謝 辞

本研究を実施するにあたり、分離菌を頂きました医療機関及び関係各位に心より感謝いたします。

## 文 献

1. List of prokaryotic names with standing in nomenclature (LPSN bacterio.net) <http://bacteria.net/index.html>  
Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (BMSAB) , which will provide up-to-date descriptions of the taxonomy, systematics, ecology, physiology and other biological properties of all named prokaryotic taxa.
2. La Scola, B., Gundi, V.A.K.B., Khamis, A. and Raoult, D. (2006). J. Clin. Microbiol., 44, 827-832
3. Dolzani, L., Tonin, E., Lagatolla, C., Prandin, L. and Carlo Monti-Bragadini, C. (1995) J. Clin. Microbiol., 33:1108-1113
4. Higgins, P.G., Lehmann, M., Wisplinghoff, H. and Seifert, H. (2010). J. Clin. Microbiol., 48:4592-4594
5. 日本DNAデータバンク , <http://www.ddbj.nig.ac.jp/index-j.html>
6. Karaha, N., Sundsfjorda, A., Townerc, K. and Samuelsen, Ø. (2012) . Drug Resist. Updates, 15:237- 247

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況(2014年)磯部 順子 金谷 潤一 三井千恵子 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, 2014Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Chieko MITSUI,  
Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Tetsutaro SATA

**要旨** 2014年7～11月に富山県内の11浴用施設から採取した浴用水44件およびシャワー水34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9/44件(20.5%)、LAMP法(定性)では19/44件(43.2%)で、この9年間の調査でもっとも低かった。
2. 浴用水における*Legionella*属菌の検出率は、遊離残留塩素濃度が高いほど低くなる傾向が認められたが、検出された菌数は残留塩素濃度とは相関しなかった。
3. 浴用水から検出された*Legionella*属菌は、いずれも*L. pneumophila*で、血清群SG1, SG5がそれぞれ6検体、SG3, SG8とSG9がそれぞれ2検体から分離された。
4. シャワー水における*Legionella*属菌の検出率は培養法、LAMP法どちらも10/34件(29.4%)であった。
5. シャワー水から検出された*Legionella*属菌数は、もっとも多い検体では1,230cfu/100mLで、平均は270cfu/100mLと、浴用水(30cfu/100mL)のおよそ10倍であった。
6. シャワー水から分離された*Legionella*属菌の血清型は*L. pneumophila* SG5が5検体、SG4, 8, 9および型別ができなかった(UT)株がそれぞれ2検体から分離された。レジオネラ症患者からもっとも多く分離される*L. pneumophila* SG1は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。このような環境で発生するエアロゾルや粉塵と一緒に吸入された*Legionella*属菌が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。レジオネラ症は高齢者、とりわけ男性に多く発生し、重篤な場合には死に至るため、もっとも注意を要する感染症のひとつとなっている。日本では2002年7月に宮崎県で発生した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事例が多く報告されている[2]。さらに、2009年には公衆浴場のシャワー水を感染源とする事例[3]も発生するなど、レジオネラ症の発生と浴用施設は強く関連することが明らかとなっている。

レジオネラ症の発生動向は、富山県をはじめ全国的に増加傾向である[4]。しかしながら、富山

県の2014年のレジオネラ症罹患率2.84(人口10万人当たりの発生数)は、全国(0.97)と比べて高く、対策が急務となっている。

そこで、その発生予防に資することを目的として、感染源として注意を要する浴用施設の*Legionella*属菌による汚染実態を調査したので報告する。また、ミスト発生の観点から特に注意を要するシャワー水についても調査を実施したので、あわせて報告する。

## 材料と方法

## 1. 対象と材料

2014年7～11月に県内11浴用施設から採取した浴用水44検体とシャワー水34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、採水当日に当所へ搬入された。



## 2. 浴水の濃縮と培養

検査は厚生労働科学研究の報告書 [5] を参考に実施した。すなわち、浴水 900 mL をポリカーボネート製メンブランフィルター（直径 47 mm, 0.22  $\mu$  m, 日本ミリポア）で吸引ろ過した。このフィルターを 50 mL 滅菌コニカルチューブに入れ 9.0 mL の滅菌蒸留水を加え、ボルテックスで 1 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、浴水と同様の工程で検査を実施したが、検査試料は 400 mL でおこなった。濃縮試料のうち 1.0 mL は、*Legionella* 属菌以外の細菌の発育を抑制するために、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 分間静置した酸処理試料として、200  $\mu$  L を GVPC 寒天培地（日研生物）に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°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 日もしくは 4 日目に斜光法 [6] により平板上の発育菌を観察した。斜光法と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、菌種や血清型は区別できないが、色調や模様の相違から釣菌する株を選ぶ目安となる場合がある。また、観察までの培養時間が短いため、かびなどが広がる前に、*Legionella* 属菌を釣菌できる点でも有用な方法である。

## 3. 同定および菌数測定

斜光法により観察されたモザイク模様、カットガラス様の形態を示すコロニーを血液寒天培地（栄研化学）および BCYE  $\alpha$  寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離した。2 日後に BCYE  $\alpha$  寒天培地のみで発育したコロニーについて、ラテックス、市販抗血清との反応性を確認し、*Legionella* 属菌と同定した。同定されたコロニー数をもって浴水 100 mL 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

浴水 1 検体あたり 1～10 個の BCYE  $\alpha$  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）を用いて行った。

## 5. DNA 抽出法

抽出は新鮮分離株を 5% キレックス液（日本バイオラド）に懸濁し、100°C 10 分の加熱処理を行い、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（栄研化学）を用い、濁度装置 LA320C で判定した。

## 7. ATP 測定法

ATP 量の測定は簡易測定キット‘ルシパックペン’（キッコーマン）により行った。キットの説明書に従って専用の測定器（ルミテスター PD-20）にキット本体を差し込み、測定器に表示された数値を ATP 量とした。

# 結 果

## 1. 浴水の管理状況

採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩濃度）は 0.0～<0.2mg/L の浴水が 3 施設 4 件、適切な濃度として推奨されている  $\leq 0.2$ ～<1.0 mg/L の浴水が 9 施設 24 件であった。これに対し、5 施設 14 件では残塩は 1.0mg/L より高く、もっとも高い残塩濃度は 2.11 mg/L であった。換水は毎日～1 回 / 月の頻度で実施されており、1 回 / 週が 30/44 件（68.2%）ともっとも多く、次いで毎日が 7/44 件（16.0%）の順に多かった。

## 2. 浴水の泉種

浴水 44 件の泉種の内訳は、水道水を含む白湯は 10 施設 25/44（56.8%）、温泉は 6 施設 15/44（34.1%）、薬湯が 2 施設 3/44（6.8%）であった。ここでいう「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水とした。これらの給湯方式について、4 検体のみかけ流しで、残る 40 検体はすべてが循環式であった。

## 3. *Legionella* 属菌の検出状況

浴水の *Legionella* 属菌検出率の結果を表 1 に示した。*Legionella* 属菌の検出率は培養法で 9/44（20.5%）で、調査を開始した 2006 年からの 9 年間でもっとも低かった。これを泉種別にみると、温泉が 1/15 件（6.7%）、白湯 7/25 件（28.0%）、薬湯 2/3 件（66.7%）で、薬湯での検出率ももっとも高かった。一方、遺伝子検査法である LAMP 法（定性試験）による *Legionella* 属菌の検出率は、全体では 19/44 件（43.2%）、泉種別にみると温泉が 8/15 件（53.3%）、白湯が 7/25 件（30.0%）、薬

湯 3/3 件 (100.0%) で、培養法に比べて高かった。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 22 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)。倉らの厚生科学研究 [8] により、LAMP 法は菌数の少ない検体では定量性の精度が劣ることが明らかになっているため、LAMP 法による結果の表記は、レジオネラ症防止指針に記載されている「10cfu/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。両法の結果が共に陽性となったのは 7 検体 (No.8,10,11,13,14,19,20) であった。培養法陽性、LAMP 法陰性という検体は、今年度は 3 検体 (No.1,2,22) で、いずれも培養法では 10cfu/100mL と菌数は少なかった。また、逆に

LAMP 法陽性、培養法で <10cfu/100mL の検体は 12 検体と多かった。これらを ATP でみると、両法で *Legionella* 属菌が陽性となった 7 検体の平均は 66.3 であったのに対し、LAMP 法陽性、培養法 <10cfu/100mL の検体では ATP 値の平均は 607.4 と、後方で ATP 値が高かった。

*Legionella* 属菌の検出率と菌数について、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 1.0 mg/L」までを基準として、濃度別で検出率を比較した。その検出率は、残塩濃度が 0～<0.2 mg/L で 2/5 (40.0%)、0.2～<0.4 mg/L で 4/9 (44.5%)、0.4～<1.0 mg/L で 2/13 (15.4%)、1.0 mg/L 以上で 2/19 (10.5%) で、残塩濃度が高くなるにつれ、

表 1. 泉種別 *Legionella* 属菌検出率 (GVPC 培地)

	培養法 (%)		LAMP 法	
	10cfu/100mL 上		定性	
温泉	1/15	(6.7%)	8/15	53.3%
白湯	7/25	(30.0%)	7/25	30.0%
薬湯	2/3	(66.7%)	3/3	100.0%
深層水	0/1	(0.0%)	1/1	100.0%
計	9/44	(20.5%)	19/44	43.2%

表 2. *Legionella* 属菌が検出された浴用水における菌数と血清群 (2014 年)

No.	泉種	採水日の遊離残留塩素濃度 (mg/L)	ATP	LAMP	培養結果 (CFU/100mL)	血清型	
1	白湯 循環	0.28	7	—	10	SG1	
2	白湯 循環	0.1	22	—	10		SG5
3	温泉 かけ流し	0.13	544	+	<10		
4	温泉 循環	0.3	289	+	<10		
5	温泉 循環	0.4	1000	+	<10		
6	温泉 循環	0.7	1339	+	<10		
7	温泉 循環	0.5	2543	+	<10		
8	白湯 循環	0.2	20	+	20	SG1	UT
9	薬湯 循環	0.5	14	+	<10		
10	薬湯 循環	0.3	122	+	50		SG5 SG9
11	白湯 循環	0.5	38	+	20	SG1	
12	深層水 循環	0.15	15	+	<10		
13	白湯 循環	0.2	18	+	100	SG1	SG5 SG9
14	温泉 循環	1.5	29	+	20		SG5 SG8
15	白湯 循環	0.1	49	+	<10		
16	温泉 循環	0.2-0.8	715	+	<10		
17	温泉 循環	0.6	626	+	<10		
18	白湯 循環	1	118	+	<10		
19	薬湯 かけ流し	<0.1	76	+	10	SG1 SG3	
20	白湯 循環	0.6	161	+	50		SG3 SG8
21	白湯 循環	2.11	37	+	<10		
22	白湯 循環	1.25	8	—	10	SG1	

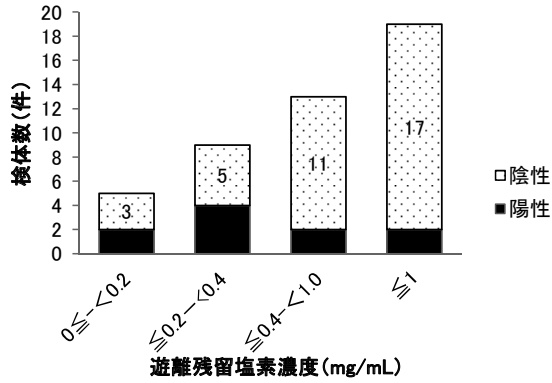


図1. 浴用水中の遊離残留塩素濃度と Legionella 属菌の検出率 (2014)

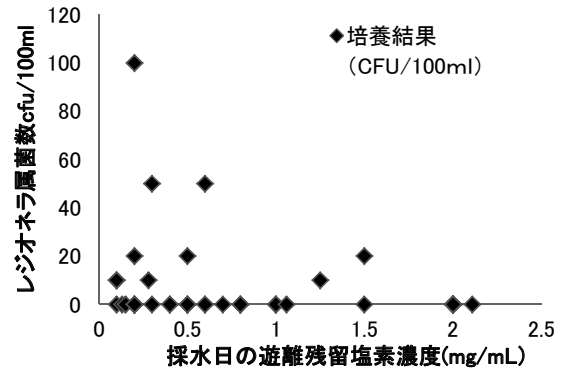


図2. 浴用水の Legionella 属菌数と 遊離残留塩素濃度 (2014)

表3. シャワー水の Legionella 属菌検査結果

No.	泉種	方式	調節箱とシャワーとの間の循環	ATP	採水日の遊離残留塩素濃度 (mg/L)	LAMP	培養結果 (CFU/100mL)	血清型
S1	水道水	混合水栓	循環していない	7	0.39	-	<10	
S2	水道水	混合水栓	循環していない	6	0.47	-	<10	
S3	水道水 井戸水	混合水栓	循環していない	7	0.21	+	470	SG5 SG8
S4	水道水 井戸水	混合水栓	循環していない	10	0.1	+	80	SG8
S5	水道水	混合水栓	循環している	7	0.2	-	<10	
S6	水道水	混合水栓	循環している	8	0.2	-	<10	
S7	水道水	混合水栓	循環している	10	0.05	-	<10	
S8	水道水	混合水栓	循環している	6	0.05	+	<10	
S9	井戸水	調節箱なし ボイラーのみ	循環していない	12	0.2	-	<10	
S10	井戸水	調節箱なし ボイラーのみ	循環していない	8	0.2	-	<10	
S11	井戸水	調節箱なし ボイラーのみ	循環していない	33	0.2	-	<10	
S12	井戸水	調節箱なし ボイラーのみ	循環していない	12	0.2	-	<10	
S13	井戸水	混合水栓	循環していない	6	0.2	-	<10	
S14	井戸水	混合水栓	循環していない	8	0.2	-	<10	
S15	井戸水	混合水栓	循環していない	8	0.1	-	<10	
S16	井戸水	混合水栓	循環していない	7	<0.1	-	<10	
S17	井戸水	混合水栓	循環していない	1332	0.2	-	<10	
S18	井戸水	混合水栓	循環していない	7	0.2	-	<10	
S19	井戸水	混合水栓	循環していない	76	0.2	-	<10	
S20	井戸水	混合水栓	循環していない	24	0.15	-	<10	
S21	井戸水	混合水栓	循環していない	10	0.1	+	170	SG9 UT
S22	井戸水	混合水栓	循環していない	6	0.1	-	10	SG1
S23	井戸水	混合水栓	循環していない	14	0	+	200	SG4 SG5 SG9
S24	井戸水	混合水栓	循環していない	6	0	+	450	SG4
S25	井戸水	開放型調節箱	循環している	6	0.3	+	20	SG5
S26	井戸水	開放型調節箱	循環している	11	0.3	+	60	UT
S27	井戸水	開放型調節箱	循環している	9	0.3	+	<10	
S28	井戸水	開放型調節箱	循環している	8	0	+	1230	SG5
S29	水道水	混合水栓	循環していない	6	0.2	-	<10	
S30	水道水	混合水栓	循環していない	4	0.2	-	<10	
S31	水道水	混合水栓	循環していない	3	0.1	-	<10	
S32	水道水	混合水栓	循環していない	4	0.2	-	<10	
S33	井戸水	調節箱なし	循環していない	22	0.14	-	<10	
S34	井戸水	調節箱なし	循環していない	10	0.13	-	10	SG5

検出率が低くなった(図1).

#### 4. *Legionella* 属菌数

残塩濃度と *Legionella* 属菌数の関係を見ると(図2), 残塩濃度 0.2 ~ 0.6mg/mL の浴用水で菌数が 50 ~ 100cfu/100mL の3検体が認められ, 必ずしも相関しなかった. この3浴用水には気泡が発生する装置, すなわちジャグジーや噴水設備があり, 十分な注意が必要である. このように残塩濃度が適切である場合にも *Legionella* 属菌数が分離される場合もあり, 残塩濃度は十分条件ではないと思われる. 従って塩素消毒だけでなく, 別の方法との併用の必要性が示された.

#### 5. 分離菌の血清型別

浴用水から分離された *Legionella* 属菌のうち, 血清型別を表2に示した. 認められた血清型は5種類で, *L. pneumophila* SG1 が6検体から, *L. pneumophila* SG5 が6検体から, SG3,8,9 がそれぞれ2検体から分離された. 一方, 型別できなかった(UT)菌が1検体から分離された.

#### 6. シャワー水の泉種等

シャワー水 34 検体の泉種は, 井戸水が 22 件, 水道水が 10 件, 併用が 2 件であった(表3). シャワーの給水方式は, 混合水栓が 24/34 件(70.6%)と多く, 調節箱の無い方式のものが 6 件(17.6%)で, シャワー水を感染源とするレジオネラ症の報告[3]で指摘されているような解放型の調節箱は 4 件であった.

#### 7. シャワー水の *Legionella* 属菌汚染状況

シャワー水における *Legionella* 属菌の検出率は培養法, LAMP 法それぞれ 10/34 件(29.4%)で, いずれも陽性となった検体は 8/10 件(80.0%)とよく相関した. 検出された *Legionella* 属菌数は, もっとも多い検体では 1,230cfu/100mL で, 平均は 270cfu/100mL と, 浴用水(30cfu/100mL)のおよそ 10 倍であった. *Legionella* 属菌陽性となったシャワー水は, 井戸水・水道水の混合使用の 2 検体を含み, 全てで井戸水使用の検体であった. その中で, 培養法陽性, LAMP 法陰性の 2 検体(No.S24,S36)はどちらも *Legionella* 属菌数が 10cfu/100mL と少なかった. 一方, シャワー水における ATP 値は, 1 検体は 1,332 であったが, その他 33 検体は 3 ~ 33 と浴用水に比べ少なかった. シャワー水から検出された *Legionella* 属菌の血清型は 5 種類で, *L. pneumophila* SG5 が 5 検体, SG4, 8, 9 および型別ができなかった(UT)株がそれぞれ 2 検体から分離された. レジオネラ患者からもっとも多く分離される *L. pneumophila*

SG1 は 1 検体から分離された.

#### 考 察

2014 年, 富山県では県生活衛生課の主導のもと, レジオネラ症減少を目的として, 浴用水の管理, とりわけ *Legionella* 属菌による汚染状況を監視する体制を強化した. その中で採用されたスクリーニング法は浴用水の ATP を測定することであった. これについては現場ですぐ結果が出ることで, 結果が数値化されるので, 施設管理者, 監視員共に汚染度合いがよく理解できるという利点があるものと思われる. ATP の測定は, 当所に搬入された検体についても実施したところ, 浴用水では, LAMP 法陽性, 培養法が <10cfu/100mL を示した検体で高い傾向を示した. この理由は明らかではないが, *Legionella* 属菌以外の菌により, 平板上での *Legionella* 属菌の発育が抑制された可能性が考えられた. シャワー水では, *Legionella* 属菌の検出数に関係なく, ATP 値は少なく, 報告にあるとおり, ATP 値は浴用水の管理には有用であるが, シャワー水の衛生管理には有用でないことが示された.

*Legionella* 属菌の検出率は残塩濃度と関連し, これによる衛生管理は有用であると思われた. しかしながら, 本年の調査では, *Legionella* 属菌が検出された浴用水の残塩濃度は全て 0.2mg/L 以上で, 中には 1.25mg/L と高い濃度の検体からも *Legionella* 属菌が検出された. これらの結果は, 浴用水の衛生管理が塩素剤だけでは十分でないことを示している. これまでに遊離塩素の効果が減少する理由として, 多量の有機物の混在, あるいは高い pH などが良く知られている. また, バイオフィームが存在する場合, 中まで塩素が行き届かないため, *Legionella* 属菌を含め, 菌は棲息し続けることが懸念されている. 一方, 残塩濃度の効果が得られない理由のひとつとして, 簡易キットによる残塩濃度の誤判定も考えられる. これを用いた残塩濃度測定は, 浴用水に試薬を入れた直後に濃度を測定することになっているが, 判定時間が遅れた場合に赤色が強くなり, 濃度を高く評価するリスクがある. また, アンモニア態窒素を多く含む浴用水でも同様の誤判定のリスクがあり, 適切な方法での測定が必須である. 残塩濃度が適切に管理されているにも関わらず *Legionella* 属菌が多く検出された理由は明らかではないが, これらの理由について検討し, 適切に

管理できるよう改善が必要である。

一方、近年は遊離塩素に頼らない消毒法として、モノクロロ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 [9]。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。

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となることから、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衛生管理はきわめて重要となる。本調査で実施したシャワー水の *Legionella* 属菌の検出率は、東京都文京区が実施した調査結果 [3]（陽性率 11/70 検体：15.7%）に比較して高かった。この文京区の報告では、使用されていた調節箱が開放型で、そこに外部から *Legionella* 属菌が入り込むリスクがあったと指摘している。本調査では開放型調節箱の検体はなく、*Legionella* 属菌が分離されたシャワー水の方式は閉鎖型調節箱と調節箱の無いものであった。*Legionella* 属菌がどのようにシャワー水を汚染したかは、また、検出率の高い原因は明らかにはならなかった。閉鎖型の場合、調節箱の中の衛生管理については検討が必要であると思われるが、まずは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ろう。シャワーは設置数が多く、衛生管理には時間と費用がかかるが、リスクと管理の徹底について広報しなければならない。

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、遺伝子検査の特性から生じる遺伝子増幅反応阻害と死菌 DNA の検出の問題が指摘されている。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 [10] 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。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る可能性がある。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市販されたことから、今後普及するものと思われる。しかしながら、遺伝子検査法には、検出できない *Legionella* 属菌が存在することも問題である。したがって、培養法は必ず平行して行うべきものと考えられる。今年度

の調査で、LAMP 法陰性、培養法陽性となった検体が、浴用水で 3 検体、シャワー水で 2 検体認められた。しかしながら、いずれも検出された *Legionella* 属菌数は 10cfu/100mL と少なく、検体の中に存在する *Legionella* 属菌の確率の問題であると考えられ、これは遺伝子検査法の問題点とは異なるものと考えている。逆に、LAMP 法陽性で、培養法で陰性となった検体は、浴用水で 12 検体、シャワー水で 1 検体認められた。その理由のひとつとしては、死菌 DNA の検出が考えられるが、浴用水について言えば、これらの 12 検体の ATP 値が高いことを考えると、遊離塩素の効果について上述したような理由から再確認することが望ましい。

レジオネラ症では感染源が特定される患者は少なく、行動調査の中で潜伏期間内に公衆浴場や温泉を利用していた場合にはその浴用施設の衛生管理状況や *Legionella* 属菌検査を実施しているにとどまっている。しかしながら、*Legionella* 属菌が棲息する土壌、水たまりや車のウォッシャー液など、われわれの生活環境 [11] のいたるところについて全てを聞き取ることは不可能であるため、調査が公衆浴場などの利用にとどまるのが現状である。さらに、レジオネラ症患者らが、短期間に複数の浴用施設を利用することは珍しいことではなく、感染源を特定することは極めて困難である場合が多い。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 [12]。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たまりから分離された *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 [13]。患者が直接水たま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した。これは患者と環境から分離された *Legionella* 属菌を比較することで推定可能となった。同様に、患者から分離された *Legionella* 属菌について、国立感染症研究所で解析した結果によると、SBT による遺伝子型から類推する感染源は、12/20 株 (60.0%) が土壌由来株のグループに、6/20 株 (30.0%) が浴用水由来グループに近い菌であることが明らかとなった。これらのうち、行動調査で潜伏期間内に公衆浴場や温泉などを利用しなかった患者から分離された 9 株のうち、5 株は土壌のグループに、2 株は浴用水のグループに近いことが示された（データ未掲

載). このように, 患者が感染した *Legionella* 属菌から感染源が類推できた場合, 更なる行動調査などを実施できれば, 感染源が特定することができるかもしれない. しかしながら, 近年は患者から *Legionella* 属菌が分離されないために, 原因施設や感染源を特定できない状況が続いている. これはレジオネラ症が尿中抗原検出で診断できるようになり, また, 保険適用となったことで, この方法により診断される患者が増加しているからである. 我々は2013年からレジオネラ症患者の喀痰検査を積極的に実施し, 感染源調査のために培養検査を実施している. 今後は, レジオネラ症を疑う場合には, 積極的に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.

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たが, 2013年の報告数は39人/年と多かった. そして, はじめにも書いたように, 対人口10万人の報告数が, 富山県は常に全国平均(0.88)の2倍以上と全国でもっとも多い状況が続いていた. 2014年は, 1年間のレジオネラ症報告数は31人, 対人口10万人の報告数が2.84と減少に転じ, 全国ワースト1位の座を他県に譲ることができた. ATP測定を活用しながら, 監視体制を強化したことが効を奏したのかもしれない. しかしながら, 依然として富山県でのレジオネラ症患者の報告数が多い状況は続いており, その原因が明らかになったわけではない. 他県の同様の報告[14, 15]を見る限り, 富山県の浴用水の *Legionella* 属菌の汚染状況にその原因があるとは思えない. しかしながら, 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[16]ことから, まずは, 富山県で発生するレジオネラ症を減少させる方法として, 浴用水のレジオネラ属菌による汚染状況を改善することがもっとも重要で効果的であると考ええる.

## 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

1. 岡田美香, 河野喜美子, 倉 文明, 前川純子, 渡辺治雄, 八木田健司, 遠藤卓郎, 鈴木 泉

- (2005), 感染症誌, 79, 365-374
2. Nakamura, H., Yagyu, H., Kishi, K., Tsuchida, F., Oh-hashii, S., Yamaguchi, K., *et al.* (2003). Intern Med., 42, 806-811
3. 国立感染症研究所 (2010). 病原微生物検出情報, 31, 331-333  
<http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>
4. 富山県厚生部 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成21年), 12
5. 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・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究. (平成24年度総括・分担報告書), 93-127
6. 森本 洋 (2010). 環境感染誌, 25, 8-14
7. 感染症マニュアル, 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所, 平成24年改定版
8. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成20年度), 77-105
9. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成22年度), 25-28
10. 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
11. 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・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究. (平成24年度総括・分担報告書), 151-160
12. Amemura-Maekawa, J., Kikukawa, K., Helbig, J.H., Kaneko, S., Suzuki-Hashimoto, A., Furuhashi, K., *et al.* (2012). Appl. Environ. Microbiol., 78, 4263-4270
13. Kanatani, J., Isobe, J., Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Kura, F., Sata, T., Watahiki, M. (2013). Appl. Environ. Microbiol., 79, 3959-3966
14. 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

平成27年12月15日

- 染症学雑誌. 76. 703-710
15. 緒方喜久代, 佐々麻里, 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
  16. Kanatani, J., Isobe, J., Kimata, K., Shima, T., Shimizu, M., Kura, F., Sata, T., Watahiki, M. *J. Infect. Chemother.* (2013). 19, 644-652.

### 3. 資 料



## 日本脳炎流行予測調査(感染源調査)平成26年度

稲崎 倫子 嶋 一世 渡辺 護<sup>1</sup> 大平 恵吾<sup>2</sup>Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis  
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Mamoru WATANABE<sup>1</sup> and Keigo OHIRA<sup>2</sup>

**要 旨** 富山県内において、ライトトラップで捕集されるコガタアカイエカ雌成虫の発生消長、豚血清の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況、蚊と豚の日本脳炎ウイルス保有状況を調査した。コガタアカイエカは、調査を開始した6月第1週から捕集され、7月下旬～9月上旬に発生のピークを形成した。2014年の捕集総数は、2013年よりも減少した。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20倍以上の個体は確認されなかった。蚊及び豚血清から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。これらの結果から、ウイルスの活動は非常に小規模であり、日本脳炎患者が発生する可能性は低いと考えられた。県内において患者は発生しなかった。

近年の国内における日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかしながら、全国での日本脳炎流行予測調査の結果から、ウイルスは確実に活動しているといえる [1-6]。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2013年 [14] と同様 (表1, 図1) であった。

調査期間および調査方法は、「3. 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4日 (第1週) から10月29日 (第5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、「3. 大井」では、畜舎管理者が毎朝トラップ捕集籠の捕獲物を酢酸エチルで麻酔した後、70%エタノールの入った500ml ポリ瓶に移した。その他の4定点では、6月4日 (第1週) から8月6日 (第1週) ま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。8月13日 (第2週) から10月29日 (第5週) までは、照度感受スイッチの代わりに電源タイマー (PT50DW デジタルプログラムタイマーII,

表1. コガタアカイエカ捕集定点(畜舎)の概要(2014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	大井	富山市大井	乳牛, 和牛
4	小矢部	小矢部市鷺ヶ島	乳牛
5	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(2014年)  
1. 黒部, 2. 上市, 3. 大井, 4. 小矢部, 5. 婦中

表2. 5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(2014年)

調査日	調査地点					合計
	1. 黒部	2. 上市	3. 大井	4. 小矢部	5. 婦中	
6月4日	1	0	108	31	2	142
11日	32	0	288	134	21	475
18日	9	13	310	197	20	549
24日	6		365	95	8	474
7月2日	57	-	552	169	34	812
9日	41	5	2,355	426	30	2,857
16日	38	23	2,508	763	101	3,433
23日	0	-	19,110	594	407	20,111
30日	42	91	15,674	-	215	16,022
8月6日	-	131	5,880	452	499	6,962
13日	-	144	6,043	783	1,428	8,398
20日	117	35	14,041	2,256	1,136	17,585
27日	512	45	2,753	2,164	251	5,725
9月3日	276	167	337	2,459	68	3,307
10日	112	106	1,577	1,715	47	3,557
17日	11	67	707	321	16	1,122
24日	29	53	379	164	42	667
10月1日	4	7	171	77	3	262
8日	0	3	61	75	3	142
15日	0	1	6	8	0	15
22日	0	0	-	0	0	0
29日	0	0	-	0	0	0
計	1,287	891	73,225	12,883	4,331	92,617

「-」はトラップの故障等による欠測を示す。

表3-1. 一定点(3.大井)のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2014年6～7月)

調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
6月1日	0	41	1	0	42	7月1日	0	673	0	0	673
2日	0	88	0	0	88	2日	0	552	1	0	553
3日	0	177	0	1	178	3日	0	572	0	0	572
4日	0	108	0	0	108	4日	0	503	0	0	503
5日	0	121	0	0	121	5日	0	1,247	1	0	1,248
6日	0	81	1	0	82	6日	0	1,675	0	0	1,675
7日	0	68	2	0	70	7日	0	1,498	0	0	1,498
8日	0	80	0	1	81	8日	0	2,823	22	0	2,845
9日	0	121	1	0	122	9日	0	2,355	3	1	2,359
10日	0	113	3	0	116	10日	0	1,759	10	0	1,769
11日	0	288	1	0	289	11日	0	2,471	6	0	2,477
12日	0	89	1	0	90	12日	0	2,631	8	0	2,639
13日	0	108	1	0	109	13日	0	2,473	6	0	2,479
14日	0	181	1	1	183	14日	0	2,181	0	0	2,181
15日	0	282	2	0	284	15日	0	714	1	0	715
16日	0	212	1	0	213	16日	0	2,508	1	1	2,510
17日	-	-	-	-	-	17日	0	1,954	3	0	1,957
18日	0	310	1	0	311	18日	-	-	-	-	-
19日	0	314	0	0	314	19日	0	2,841	4	0	2,845
20日	0	219	0	0	219	20日	0	3,291	11	0	3,302
21日	0	262	1	0	263	21日	0	4,013	7	0	4,020
22日	0	130	0	0	130	22日	0	10,161	11	0	10,172
23日	0	292	2	0	294	23日	0	19,110	15	0	19,125
24日	0	206	3	0	209	24日	0	8,676	5	0	8,681
25日	0	365	1	0	366	25日	0	14,385	0	0	14,385
26日	0	337	0	0	337	26日	0	21,466	17	0	21,483
27日	0	339	0	0	339	27日	0	10,518	0	4	10,522
28日	0	255	0	0	255	28日	0	8,160	6	0	8,166
29日	0	499	1	0	500	29日	0	9,613	11	0	9,624
30日	0	141	1	0	142	30日	0	15,674	5	0	15,679
計	0	5,827	25	3	5,855	31日	0	4,572	6	0	4,578
						計	0	161,069	160	6	161,235

「-」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. 一定点(3.大井)のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2014年8～9月)

調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
8月1日	0	5,332	0	0	5,332	9月1日	0	4,976	0	0	4,976
2日	0	8,067	29	0	8,096	2日	0	2,572	2	0	2,574
3日	0	3,389	17	0	3,406	3日	0	337	1	0	338
4日	0	1,009	0	0	1,009	4日	0	4,841	0	0	4,841
5日	0	3,675	0	0	3,675	5日	0	7,280	4	0	7,284
6日	0	5,880	0	0	5,880	6日	0	6,504	0	1	6,505
7日	0	4,078	0	0	4,078	7日	0	1,351	5	1	1,357
8日	0	16,916	0	0	16,916	8日	0	1,009	2	0	1,011
9日	0	7,787	5	0	7,792	9日	0	1,418	0	0	1,418
10日	0	3,728	0	0	3,728	10日	0	1,577	3	0	1,580
11日	0	5,641	0	0	5,641	11日	0	944	1	0	945
12日	0	6,874	4	0	6,878	12日	0	407	0	0	407
13日	0	6,043	0	0	6,043	13日	0	1,075	2	0	1,077
14日	0	14,951	0	0	14,951	14日	0	2,543	0	0	2,543
15日	0	23,182	0	0	23,182	15日	0	1,873	2	0	1,875
16日	0	19,793	0	0	19,793	16日	0	1,623	1	0	1,624
17日	0	6,235	0	2	6,237	17日	0	707	10	0	717
18日	0	15,604	0	0	15,604	18日	0	169	3	0	172
19日	0	13,428	0	0	13,428	19日	0	571	13	1	585
20日	0	14,041	17	0	14,058	20日	0	450	10	0	460
21日	0	13,714	0	0	13,714	21日	0	472	9	1	482
22日	0	22,820	0	0	22,820	22日	0	446	10	0	456
23日	-	-	-	-	-	23日	0	437	10	2	449
24日	0	10,966	11	0	10,977	24日	0	379	2	0	381
25日	0	17,529	18	0	17,547	25日	0	992	5	0	997
26日	0	3,755	0	0	3,755	26日	0	679	3	0	682
27日	0	2,753	6	0	2,759	27日	0	538	2	0	540
28日	0	225	0	0	225	28日	0	366	5	0	371
29日	1	4,514	4	0	4,519	29日	0	617	1	1	619
30日	0	8,085	0	0	8,085	30日	0	191	6	0	197
31日	0	5,356	5	0	5,361						
計	1	275,370	116	2	275,489	計	0	47,344	112	7	47,463

「-」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. 一定点(3.大井)のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(2014年10月)

調査日	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	171	4	0	175
2日	0	81	2	0	83
3日	0	126	7	0	133
4日	0	45	2	0	47
5日	0	54	9	0	63
6日	0	35	4	0	39
7日	0	26	2	0	28
8日	0	61	3	0	64
9日	0	32	1	1	34
10日	0	20	6	1	27
11日	0	16	3	0	19
12日	0	7	1	0	8
13日	0	6	4	0	10
14日	0	0	3	0	3
15日	0	6	0	0	6
16日	0	8	2	0	10
17日	0	1	0	0	1
18日	0	0	1	0	1
計	0	695	54	2	751

「-」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. 5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. 大井	4. 小矢部	5. 婦中	3. 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	96,196	31,158	-	657,900
1999	1,954	2,676	52,436	27,944	-	344,498
2000	1,181	2,965	67,757	19,477	-	495,004
2001	1,443	6,574	78,846	12,877	-	504,862
2002	2,187	1,288	62,135	1,330	-	465,957
2003	2,181	195,869	60,527	17,963	8,555	469,460
2004	4,880	225,945	90,578	12,758	12,733	468,459
2005	8,392	295,817	88,321	12,088	11,424	735,891
2006	891	16,462	15,295	4,569	3,780	117,306
2007	13,819	203,488	73,227	50,777	16,337	516,504
2008	10,089	35,478	78,052	16,199	23,581	492,617
2009	5,011	6,119	46,180	9,893	12,423	373,502
2010	8,758	14,074	146,861	70,400	50,790	841,733
2011	36,900	20,612	150,365	45,532	36,508	933,761
2012	5,883	4,836	115,041	39,225	16,359	813,944
2013	11,498	7,268	106,487	27,956	20,513	1,022,161
2014	1,282	880	72,879	12,692	4,323	489,610

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。

REVEX)によりライトトラップが毎週水曜日18時から翌朝6時まで点灯するよう設定し、毎週木曜日に筆者らが捕獲籠を回収・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. 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4定点において捕集され、全体的には7月下旬～9月上旬に発生のピークがみられ、9月下旬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「3. 大井」が最も多く、「4. 小矢部」「5. 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。2014年の捕集数は、すべての定点において2013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」では、2014年の捕獲数は2013年の1/8以下であった。全体的に、2014年の捕獲数は、2001年に近い数であった。

II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月7日から10月23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15～20頭ずつから血液を採取し、合計230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

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26年, 2014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7,8,10日	19 (95)	1 (5)							
14,15,17日	20 (100)								
28,29,31日	20 (100)								
8月4,6,7日	19 (95)	1 (5)							
11,12,14日	20 (100)								
25,26,27日	20 (100)								
9月1,2,3日	20 (100)								
16,18日	20 (100)								
22,25日	19 (95)	1 (5)							
10月7,8日	15 (100)								
13,14,15日	15 (100)								
21,22,23日	20 (100)								
計	227 (98.7)	3 (1.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (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。

して、新鮮感染を示す豚、抗体価 20 倍以上の豚は確認されなかった。

以上のことから、2014 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

2014 年 3 月から 11 月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、民家の計 6 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 230 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。

#### 2. 結果および考察

捕集蚊 106 プール (1,176 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、2014 年は不活発な年であったと思われる。

#### まとめ

コガタアカイエカの捕集数は、2013 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 20 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いたします。

#### 文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2010). 平成 19 年度感染症流行予測調査報告書, 121-148

2. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2011). 平成 20 年度感染症流行予測調査報告書, 80-106
3. 厚生労働省健康局結核感染症課, 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
4. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2013). 平成 22 年度感染症流行予測調査報告書, 83-111
5. 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 (2014). 平成 23 年度感染症流行予測調査報告書, 119-147
6. 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 (2015). 平成 24 年度感染症流行予測調査報告書, 123-149
7. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 道谷真由美 (2007). 富山衛研年報, 30, 62-74
8. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 川尻千賀子 (2008). 富山衛研年報, 31, 65-75.
9. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 林 達哉 (2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
10. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 植田陽子 (2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
11. 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
12. 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
13. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2013). 富山衛研年報, 36, 89-95
14. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 82-88
15. 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.
16. 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
17. 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.
18. 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
  19. 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26年度

稲崎 倫子      嶋 一世      小淵 正次      板持 雅恵  
稲畑 良      滝澤 剛則      大井 哲夫<sup>1</sup>      南部 厚子<sup>2</sup>  
大西さやか<sup>3</sup>      遠藤 京子<sup>4</sup>      藤川 美香<sup>5</sup>      大平 恵吾<sup>6</sup>

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in  
Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014

Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Masatsugu OBUCHI, Masae ITAMOCHI,  
Ryo INAHATA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI<sup>1</sup>, Atsuko NANBU<sup>2</sup>,  
Sayaka OONISHI<sup>3</sup>, Kyoko ENDO<sup>4</sup>, Mika FUJIKAWA<sup>5</sup> and Keigo OHIRA<sup>6</sup>

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26年7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261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  $\mu$  L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：**261名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は143名(54.8%)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76%を上回り、特に15～29歳では90%

以上と高い抗体保有率を示した。それ以外は30%を下回る年齢群が多く、特に0～4歳で26.7%、40～49歳で28.0%、50～59歳で18.2%、60歳以上で26.1%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25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89.5%と調査開始以来最も高かった(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。10～19歳の抗体保有率は80%以下であり、平成24年と類似した結果であった(図1、2)。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65.0%と最も多かった。この結果は、平成19～25

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



年度の結果 [1,6-11] 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。

「接種歴あり」の割合は10～14歳での95.2%、15～19歳の100%がピークであった。これらの年齢層で抗体保有率が高いのは接種歴があったためと考えられるが、10～14歳で抗体保有率がやや低かった理由は不明である。20歳以上では「接種

歴あり」は40%以下であった。

予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で12.0%、「接種歴不明」で50.0%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では80.6%であった（表1）。予防接種歴のある人の抗体保有率は、平成19～25年度には72.7～79.7%であった [1,6-11] のに比較すると増加した。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78.6%以上であるものの、30歳以上では0～50%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ためと思われる。この傾向は平成19～25年度 [1,6-11] の結果と同様であった。

「接種歴なし」のうち、抗体陽性者が12.0%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2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。詳しく年齢をみると、2か月齢及び1歳2か月齢となっており、2か月齢の子は移行抗体が残存していた可能性があるが、1歳2か月齢の子は不顕性感染であった可能性がある。0～4歳の年齢群では、平成22年度まで「接種歴なし」の抗体陽性者が0名であったのが、平成23年度以降毎年1～5名であった。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 [12] 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年度以降はほぼ勧奨中止前と同程度となった。

**まとめ：** 今回の調査では、平成19～25年度と同様、県民の抗体保有率は5割程度であること、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。予防接種歴のある人の抗体保有率は8割程度であった。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。また、0～4歳の不顕性感

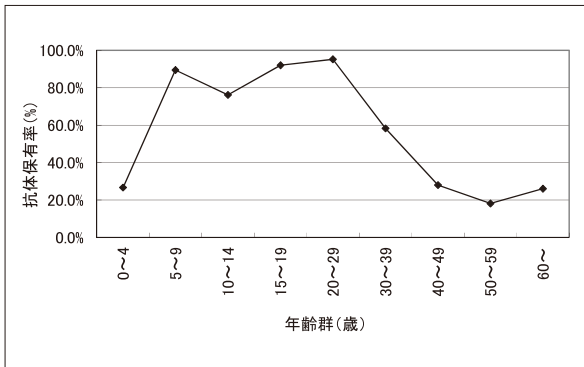


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

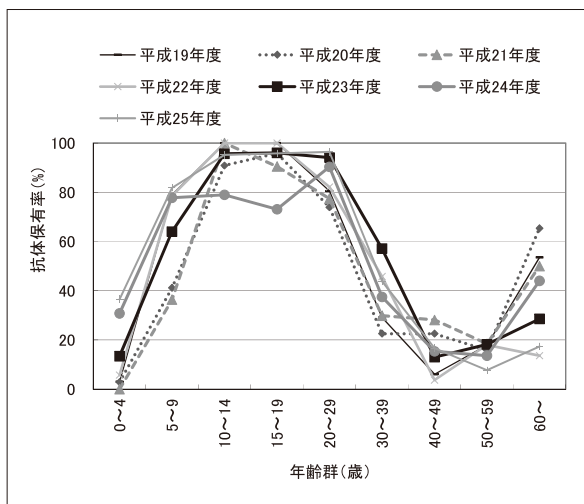


図2. 平成20～25年度の年齢群別中和抗体保有率

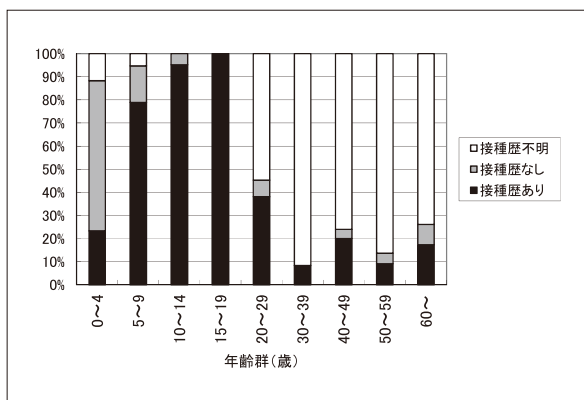


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

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	11 / 14	78.6%		2 / 39	5.1%		3 / 7	42.9%		16 / 60	26.7%	
5~9	15 / 15	100.0%		1 / 3	33.3%		1 / 1	100.0%		17 / 19	89.5%	
10~14	16 / 20	80.0%		0 / 1	0.0%		0 / 0			16 / 21	76.2%	
15~19	23 / 25	92.0%		0 / 0			0 / 0			23 / 25	92.0%	
20~29	16 / 16	100.0%		2 / 3	66.7%		22 / 23	95.7%		40 / 42	95.2%	
30~39	1 / 2	50.0%		0 / 0			13 / 22	59.1%		14 / 24	58.3%	
40~49	0 / 5	0.0%		0 / 1	0.0%		7 / 19	36.8%		7 / 25	28.0%	
50~59	0 / 2	0.0%		0 / 1	0.0%		4 / 19	21.1%		4 / 22	18.2%	
60~	1 / 4	25.0%		1 / 2	50.0%		4 / 17	23.5%		6 / 23	26.1%	
計	83 / 103	80.6%		6 / 50	12.0%		54 / 108	50.0%		143 / 261	54.8%	

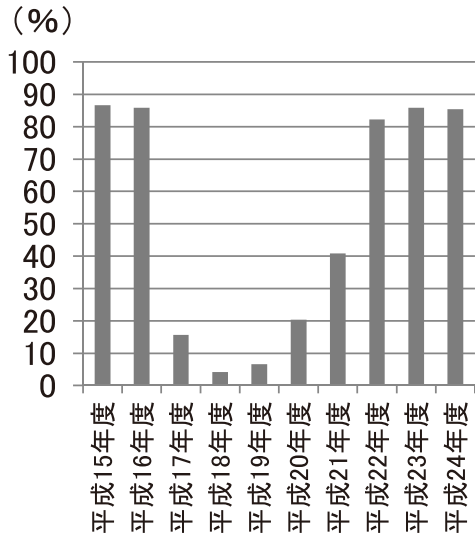


図4. 富山県における日本脳炎予防接種率  
接種率は保健統計年報[13-22]を参考にした。

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 [23-29] 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. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 堀元栄詞, 小渕正次, 板持雅恵, 嶋 一世, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 大西さやか, 遠藤京子, 江本かおり, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 89-92
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 (2015). 平成 24 年度感染症流行予測調査報告書, 123-149
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, 小渕正次, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 58-61
10. 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, 馬淵俊輔, 川越久美子, 星山典江, 關口健治 (2012). 富山衛研年報, 35, 58-61
11. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 堀元栄詞, 小渕正次, 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 (2013). 富山衛研年報, 36, 96-99
  12. 日本脳炎ワクチン接種に係るQ&A [http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou21/dl/nouen\\_qa.pdf](http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou21/dl/nouen_qa.pdf)
  13. 富山県厚生部 (2005). 保健統計年報 (平成15年度), 55, 306-307
  14. 富山県厚生部 (2006). 保健統計年報 (平成16年度), 56, 306-307
  15. 富山県厚生部 (2007). 保健統計年報 (平成17年度), 57, 304-305
  16. 富山県厚生部 (2008). 保健統計年報 (平成18年度), 58, 311-313
  17. 富山県厚生部 (2009). 保健統計年報 (平成19年度), 59, 246-247
  18. 富山県厚生部 (2010). 保健統計年報 (平成20年度), 60, 244-245
  19. 富山県厚生部 (2011). 保健統計年報 (平成21年度), 61, 244-245
  20. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成22年度), 62, 244-245
  21. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成23年度), 63, 244-245
  22. 富山県厚生部 (2014). 保健統計年報 (平成24年度), 64, 244-245
  23. 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
  24. 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
  25. 山内健生, 小原真弓, 小渕正次, 渡辺 護, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
  26. 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
  27. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 滝澤剛則 (2011). 富山衛研年報, 34, 97-105
  28. 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
  29. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 82-88

## ポリオ流行予測調査(平成26年度)

長谷川澄代 稲畑 良 小渕 正次 稲崎 倫子  
 嶋 一世 滝澤 剛則 大井 哲夫<sup>1</sup> 南部 厚子<sup>2</sup>  
 大西さやか<sup>3</sup> 遠藤 京子<sup>4</sup> 藤川 美香<sup>5</sup> 大平 恵吾<sup>6</sup>

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture  
in the Fiscal Year 2014

Sumiyo HASEGAWA, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI,  
 Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA, Takenori TAKIZAWA  
 Tetsuo OOI<sup>1</sup>, Atsuko NANBU<sup>2</sup>, Sayaka OONISHI<sup>3</sup>,  
 Kyoko ENDO<sup>4</sup>, Mika FUJIKAWA<sup>5</sup> and Keigo OHIRA<sup>6</sup>

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、ポリオウイルス野生株(WPV)によるポリオ症例数は、当初125カ国以上で35万例と推計されていたが、2014年には9カ国から359例の報告となり、99%以下まで減少した[1]。しかしながら、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリア3カ国では現在もWPVの伝播が続いており、また、これら常在国からのWPVの輸入に由来する麻痺患者の発生が常在国以外の国々においても報告されている[1]。一方、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]。このような流行地からのWPVやcVDPVの侵入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。平成24年度までの調査内容は、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」であった。平成24年度9月からの生ワクチンから不活化ワクチンへの切り替えに伴い、平成25年度からは「感染源調査」は乳幼児の糞便に代わり、下水流入水についてポリオウイルスの検索を行うこととなった。「感受性調査」の方法には変更はなく、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：**平成26年7月から12月まで、富山県内の1下水処理場(分流式)において、月1回下水流入水を約2L採取した。下水流入水は4℃で3000rpm、30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」[3, 4]により濃縮した。即ち、

表1. 下水流入水からのウイルス分離株数

分離ウイルス	平成25年						計	
	7月	8月	9月	10月	11月	12月		
ポリオ	1型						0	
	2型						0	
	3型						0	
コクサッキー	B4型		5		1	1	7	
	B5型	3	3				6	
エコー	11型	6	16	17	17	16	92	
レオ	2型			2	1		3	
アデノ	41型					3	3	
計		9	16	27	18	17	24	111

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

下水流入水遠心上清 1L に、最終濃度 0.05M となるように塩化マグネシウムを添加し、0.5N の塩酸を用いて pH3.5 に調整した。この液を陰電荷膜に加圧濾過して吸着させた後、陰電荷膜を細切し、3% Beef Extract 液 10mL を添加してボルテックスミキサーによりウイルスを溶出した。溶出液を回収しポアサイズ 0.45 μm のフィルターに濾過して得られた濾液を 100 倍濃縮下水検体とした (1 番溶出液)。同様の溶出操作を繰り返し、2 番溶出液を得た。24 穴プレートに培養した細胞

(Vero, MA104, RD-18S, HEp-2, L20B) に、1 番溶出液は各細胞当り 5 穴、2 番溶出液は 3 穴の計 8 穴 (総計 40 穴) 接種し (180 μl/穴)、細胞変性効果を指標にウイルスを分離した。分離株は、エンテロウイルス、及びアデノウイルス抗血清 (国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研) を用いた中和試験により同定した。

**結果および考察：**下水流入水からは、ポリオウイルスは分離されなかった (表 1)。その他のウイルスでは、コクサッキーウイルス B4 型、B5 型、

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	25	1	0	0	1	3	2	3	3	5	7	24	(96.0)	248.7
2~3	24	0	0	0	0	1	1	5	6	3	8	24	(100)	308.5
4~9	30	0	0	0	0	0	5	0	6	7	12	30	(100)	452.4
10~14	21	0	0	1	1	3	2	3	4	4	3	21	(100)	156.0
15~19	25	0	0	0	0	2	6	3	4	4	6	25	(100)	222.9
20~24	20	0	0	2	0	1	4	3	4	3	3	20	(100)	152.2
25~29	22	0	0	3	2	2	3	2	5	2	3	22	(100)	102.7
30~34	13	2	1	0	2	1	1	2	2	0	2	11	(84.6)	87.7
35~39	11	3	1	2	0	2	1	2	0	0	0	8	(72.7)	26.9
40~49	25	2	0	4	0	9	1	3	3	2	1	23	(92.0)	60.3
50~59	22	2	0	3	0	2	3	7	3	2	0	20	(90.9)	84.4
60~	23	2	1	3	4	3	2	4	2	1	1	21	(91.3)	47.6
合計	261	12	3	18	10	29	31	37	42	33	46	249	(95.4)	143.1
(%)		(4.6)	(1.1)	(6.9)	(3.8)	(11.1)	(11.9)	(14.2)	(16.1)	(12.6)	(17.6)	(95.4)		

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	25	0	0	1	0	1	3	4	2	5	9	25	(100)	294.1
2~3	24	0	0	0	0	0	1	3	11	4	5	24	(100)	308.5
4~9	30	0	0	0	0	4	4	5	9	6	2	30	(100)	185.6
10~14	21	0	0	0	1	1	7	3	5	1	3	21	(100)	146.1
15~19	25	0	0	0	2	6	10	4	3	0	0	25	(100)	64.0
20~24	20	0	1	1	4	5	5	3	1	0	0	20	(100)	38.1
25~29	22	0	1	1	5	2	8	4	1	0	0	22	(100)	42.5
30~34	13	0	1	1	1	4	1	3	2	0	0	13	(100)	46.5
35~39	11	0	0	0	2	2	1	4	1	1	0	11	(100)	77.3
40~49	25	0	0	1	4	3	7	4	3	3	0	25	(100)	73.5
50~59	22	0	1	3	3	5	5	1	3	0	1	22	(100)	42.5
60~	23	1	1	1	5	3	5	4	3	0	0	22	(95.7)	46.7
合計	261	1	5	9	27	36	57	42	44	20	20	260	(99.6)	91.2
(%)		(0.4)	(1.9)	(3.4)	(10.3)	(13.8)	(21.8)	(16.1)	(16.9)	(7.7)	(7.7)	(99.6)		

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	25	1	0	0	1	3	2	2	8	1	7	24	(96.0)	228.1
2~3	24	2	1	0	2	0	1	2	2	3	11	22	(92.3)	279.2
4~9	30	4	1	2	4	2	4	6	2	2	3	26	(85.7)	80.6
10~14	21	3	1	5	7	2	1	1	0	1	0	18	(85.7)	19.4
15~19	25	2	4	5	5	7	2	0	0	0	0	23	(92.0)	15.1
20~24	20	3	2	4	2	4	2	3	0	0	0	17	(85.0)	23.1
25~29	22	3	2	4	7	4	2	0	0	0	0	19	(86.4)	16.0
30~34	13	0	1	4	1	3	2	1	0	1	0	13	(100)	25.9
35~39	11	1	2	1	2	0	3	2	0	0	0	10	(90.9)	26.0
40~49	25	4	2	1	5	3	3	4	2	1	0	21	(84.0)	41.7
50~59	22	1	1	1	5	2	5	3	2	1	1	21	(95.5)	54.3
60~	23	0	0	0	3	5	7	4	3	1	0	23	(100)	68.0
合計	261	24	17	27	44	35	34	28	19	11	22	237	(90.8)	49.9
(%)		(9.2)	(6.5)	(10.3)	(16.9)	(13.4)	(13.0)	(10.7)	(7.3)	(4.2)	(8.4)	(90.8)		

エコーウイルス 11 型が分離された。特にエコーウイルス 11 型の分離数が多く、県内での流行が考えられた。

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。また、脳炎・脳症、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎の患者からのポリオウイルス検出はなかった。これらのことから、県内におけるポリオウイルスやcVDPV の伝播の可能性は低いと考えられた。

### 感受性調査

**調査方法：**平成 26 年 7 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 261 名（0～86 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」[5] に準じて行った。すなわち、被験血清を Eagle-MEM 培養液で 4 倍希釈し、56℃ 30 分間非働化した後、その 50 μl を 96 穴マイクロプレート上で 2 段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID<sub>50</sub>/50 μl 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 μl を加えてよく混和し、35℃、3 時間の中和反応を行った。中和後、Vero 細胞浮遊液（1～2 × 10<sup>5</sup> 細胞/ml）を 100 μl ずつ加え、37℃、5%CO<sub>2</sub> 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 穴ずつ測定した。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 1 代継代したものを使用した。

表 3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1 型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化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回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化2回以上接種		4回以上接種		3回接種		2回接種		ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		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(%)	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	25									1 / 1 (100)				20 / 21 (95.2)	3 / 3 (100)		
2～3	24	7 / 7 (100)				2 / 2 (100)		11 / 11 (100)		2 / 2 (100)				1 / 1 (100)	1 / 1 (100)		
4～9	30	23 / 23 (100)		1 / 1 (100)		2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		1 / 1 (100)				1 / 1 (100)	1 / 1 (100)		
10～14	21	16 / 16 (100)			1 / 1 (100)								2 / 2 (100)		2 / 2 (100)		
15～19	25	20 / 20 (100)			1 / 1 (100)								2 / 2 (100)		2 / 2 (100)		
20～24	20	9 / 9 (100)			1 / 1 (100)								1 / 1 (100)	9 / 9 (100)			
25～29	22				2 / 2 (100)								3 / 3 (100)	17 / 17 (100)			
30～34	13													11 / 13 (84.6)			
35～39	11													8 / 11 (72.7)			
40～49	25				1 / 1 (100)									22 / 24 (91.7)			
50～59	22												1 / 1 (100)	19 / 21 (90.5)			
60～	23				2 / 2 (100)								4 / 4 (100)	15 / 17 (88.2)			
合計	261	75 / 75 (100)		1 / 1 (100)	8 / 8 (100)		4 / 4 (100)		12 / 12 (100)		4 / 4 (100)		4 / 4 (100)	31 / 32 (96.9)		110 / 121 (90.9)	
108/108 (100%)																	
2 型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化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回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化2回以上接種		4回以上接種		3回接種		2回接種		ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		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(%)	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	25									1 / 1 (100)				21 / 21 (100)	3 / 3 (100)		
2～3	24	7 / 7 (100)				2 / 2 (100)		11 / 11 (100)		2 / 2 (100)				1 / 1 (100)	1 / 1 (100)		
4～9	30	23 / 23 (100)		1 / 1 (100)		2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		1 / 1 (100)				1 / 1 (100)	1 / 1 (100)		
10～14	21	16 / 16 (100)			1 / 1 (100)								2 / 2 (100)		2 / 2 (100)		
15～19	25	20 / 20 (100)			1 / 1 (100)								2 / 2 (100)		2 / 2 (100)		
20～24	20	9 / 9 (100)			1 / 1 (100)								1 / 1 (100)	9 / 9 (100)			
25～29	22				2 / 2 (100)								3 / 3 (100)	17 / 17 (100)			
30～34	13													13 / 13 (100)			
35～39	11													11 / 11 (100)			
40～49	25				1 / 1 (100)									24 / 24 (100)			
50～59	22												1 / 1 (100)	21 / 21 (100)			
60～	23				2 / 2 (100)								4 / 4 (100)	16 / 17 (94.1)			
合計	261	75 / 75 (100)		1 / 1 (100)	8 / 8 (100)		4 / 4 (100)		12 / 12 (100)		4 / 4 (100)		4 / 4 (100)	32 / 32 (100)		120 / 121 (99.2)	
100/100 (100%)																	
3 型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化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回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化2回以上接種		4回以上接種		3回接種		2回接種		ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明	
		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(%)	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	25									1 / 1 (100)				20 / 21 (95.2)	3 / 3 (100)		
2～3	24	5 / 7 (71.4)				2 / 2 (100)		11 / 11 (100)		2 / 2 (100)				1 / 1 (100)	1 / 1 (100)		
4～9	30	21 / 23 (91.3)		0 / 1 (0.0)		2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		1 / 1 (100)				1 / 1 (100)	0 / 1 (0.0)		
10～14	21	14 / 16 (87.5)			1 / 1 (100)								2 / 2 (100)		1 / 2 (50.0)		
15～19	25	20 / 20 (100)			0 / 1 (0.0)								2 / 2 (100)		2 / 2 (100)		
20～24	20	7 / 9 (77.8)			1 / 1 (100)								1 / 1 (100)	9 / 9 (100)			
25～29	22				1 / 2 (50.0)								1 / 3 (33.3)	17 / 17 (100)			
30～34	13													13 / 13 (100)			
35～39	11													10 / 11 (90.9)			
40～49	25				1 / 1 (100)									22 / 24 (91.7)			
50～59	22												1 / 1 (100)	20 / 21 (95.2)			
60～	23				2 / 2 (100)								4 / 4 (100)	17 / 17 (100)			
合計	261	67 / 75 (89.3)		0 / 1 (0.0)	6 / 8 (75.0)		4 / 4 (100)		12 / 12 (100)		4 / 4 (100)		4 / 4 (100)	29 / 32 (90.6)		115 / 121 (95.0)	
97/108 (89.8%)																	

**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99.6% (260/261) で最も高く、次いで1型が95.4% (249/261)、3型が90.8% (237/261) であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は1, 2, 3型ともに高く維持されていると考えられた。各年齢区分をみると、1型では35～39歳が72.7%、30～34歳が84.6%と低値であったが、それ以外の年齢区分は90%以上の抗体保有率であった。2型はすべての年齢区分で95%以上の抗体保有率を示した。一方、3型は40～49歳が84.0%、20～24歳が85.0%、25～29歳が86.4%と1型、2型に比べて低い年齢層が多かったが、昨年度の保有率(78.7%)より上昇した。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 [6]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、1型では35～39歳の26.9倍から4～9歳の452.4倍までを示し、平均は143.1倍であった。2型では20～24歳の38.1倍から2～3歳の308.5倍までを示し、平均は91.2倍であった。3型では15～19歳の15.1倍から2～3歳の279.2倍までを示し、平均は49.9倍であった。

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。2回の生ワクチン接種では、1型、2型で100%と高い抗体保有率を示し、3型は89.3%と1, 2型に比し低値を示した。一方、2回以上の不活化ワクチン接種では、1, 2, 3型のいずれも100%と高い抗体保有率を示した。3型に対して昨年度よりも高い抗体保有率を示したのは、不活化ワクチンの高い抗体獲得効果を反映しているもの

と考えられる。

表4に1, 2, 3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では87.4% (228/261) であったが、35～39歳が63.6% (7/11) と比較的低い値を示した。同年齢層の1型に対する比較的低い中和抗体保有率(72.7%)を反映しているものと考えられた (表2)。

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 [7]。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 [8]。不活化ワクチンの接種スケジュールは、生後3ヶ月以上90ヶ月未満の間に計4回接種する。初回接種として20～56日間隔で(標準として12ヶ月までに)3回接種し、その後追加免疫として初回免疫終了後12～18ヶ月の間を標準として1回接種する [8, 9]。

従来の生ワクチンの2回接種では、1型、2型では100%と高い抗体保有率を示したのに対して、3型では89.3%と1, 2型に比べ低値であった。生ワクチンは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 [10, 11]。不活化ワクチンの臨床試験では、4回の接種で生ワクチン接種と同等の免疫原性を有した結果が報告されている [12-15]。本調査では、2回以上の不活化ワクチン接種により、1, 2, 3型のいずれも100%と高い抗体保有率を示した。しかしながら、不活化ワクチンの接種者数はまだ少ないため、不活化ワクチンへの移行が、接種後の持続免疫や集

表4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 ともに 陰性	中和抗体の型別保有者数						1,2,3型(%)
			1型のみ	2型のみ	3型のみ	1,2型	2,3型	1,3型	
0～1	25	0	0	1	0	0	0	0	24 (96.0)
2～3	24	0	0	0	0	2	0	0	22 (91.7)
4～9	30	0	0	0	0	4	0	0	26 (86.7)
10～14	21	0	0	0	0	3	0	0	18 (85.7)
15～19	25	0	0	0	0	2	0	0	23 (92.0)
20～24	20	0	0	0	0	3	0	0	17 (85.0)
25～29	22	0	0	0	0	3	0	0	19 (86.4)
30～34	13	0	0	0	0	0	2	0	11 (84.6)
35～39	11	0	0	0	0	1	3	0	7 (63.6)
40～49	25	0	0	1	0	3	1	0	21 (84.0)
50～59	22	0	0	0	0	1	2	0	19 (86.4)
60～	23	0	0	0	1	0	1	0	21 (91.3)
合計 (%)	261 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (0.8)	1 (0.4)	22 (8.4)	9 (3.4)	0 (0)	228 (87.4)

団免疫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。

2014年では、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリアのWPV常在国と、常在国以外のカメルーン、ソマリア、エチオピア、赤道ギニア、イラク、シリアの計9カ国から、359例の1型WPVによる麻痺症例が報告されている [1]。2型は1999年以降、3型は2012年11月以降報告されていない [1]。一方cVDPVでは、2014～15年には、ナイジェリア、パキスタン、南スーダンから2型、マダガスカルからは1型が報告されている [2]。また、免疫不全者から長期間排泄されるVDPVや散発的に検出されるVDPVでは3型も報告されている [2]。さらに、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、VDPV、あるいはWPVが検出された例が報告されている [16-18]。

本調査結果は、県内において1～3型に対する高い抗体保有率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、現時点では低いものと考えられるが、世界でWPV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体制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26年7月～12月に毎月1回、下水流入水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86歳までの261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95.4%、2型99.6%、3型90.8%であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は1型143.1倍、2型91.2倍、3型49.9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 (2015). Weekly epidemiological record, 90, 253-260
2. WHO (2015). Weekly epidemiological record, 90, 309-320
3. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2012). ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル, 28-38
4. Iwai, M. et al. (2009). Appl Environ Microbiol, 75, 1264-1270
5. 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
6. 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
7. 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
8. 厚生労働省 (2012). ポリオワクチン (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/>)
9. 厚生労働省 (2013). 予防接種法第5条第1項の規定による予防接種の実施について, 平成25年3月30日付健発第0330第2号厚生労働省健康局長通知, 定期接種実施要領
10. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997). J. Infect. Dis., 175, 545-553
11. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩ら (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
12. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228-234
13. 一般財団法人阪大微生物病研究会, 田辺三菱製薬株式会社 (2013). テトラビック皮下注シリンジ医薬品インタビューフォーム, 改訂第4版, 14-29
14. 一般財団法人科学及び血清療法研究所, アステラス製薬株式会社 (2013). クアトロバック皮下注シリンジ医薬品インタビューフォーム, 改訂第3版, 7-21
15. 厚生労働省 (2012). 第4回不可化ポリオワクチンの円滑な導入に関する検討会資料. (<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002gxwd.html>)
16. Zurbriggen, S., Tobler, K., Abril, C. et. al. (2008). Appl. Environ. Microbiol., 74, 5608-5614



17. Roivainen, M., Blomqvist, S., al-Hello1, H. et al. (2010) . Euro Surveill. 15 (19) ;pii=19566
18. WHO Global Alert and Response (2013) . ([http://www.who.int/csr/don/2013\\_07\\_15/en/](http://www.who.int/csr/don/2013_07_15/en/))

## インフルエンザ流行予測調査(平成26年度)

小渕 正次      稲畑 良      稲崎 倫子      嶋 一世  
長谷川澄代      滝澤 剛則      大井 哲夫<sup>1</sup>      南部 厚子<sup>2</sup>  
大西さやか<sup>3</sup>      遠藤 京子<sup>4</sup>      藤川 美香<sup>5</sup>      大平 恵吾<sup>6</sup>

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2014-2015

Masatsugu OBUCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Ichiyo SHIMA,  
Sumiyo HASEGAWA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI<sup>1</sup>, Atsuko NANBU<sup>2</sup>,  
Sayaka OONISHI<sup>3</sup>, Kyoko ENDO<sup>4</sup>, Mika FUJIKAWA<sup>5</sup> and Keigo OHIRA<sup>6</sup>

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

2014年7～9月

##### 2. 調査対象者数および年齢別構成

本年度は県内住民261名について調査を行った。年齢群別調査数は0～4歳:60名、5～9歳:19名、10～14歳:21名、15～19歳:25名、20～29歳:42名、30～39歳:24名、40～49歳:25名、50～59歳:22名、60歳以上:23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2014/15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/New York/39/2012 (H3N2)

3. B/Massachusetts/2/2012 (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1、3、4の抗原に対して0.5%ニワトリ血球浮遊液を、2の抗原に対しては0.75%モルモット血球浮遊液を使用した。

#### Ⅱ 感染源調査

##### 1. 調査期間

2014年11月～2015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）、しんたにこどもクリニック（富山市）の協力を得た。

##### 3. 検査方法

ウイルス分離は、患者から採取した咽頭・鼻腔拭い液をMDCK細胞に接種して行った。分離したウイルスの型別同定は、国立感染症研究所から配布された次の血清を用いたHI試験より行った。一部、リアルタイムRT-PCRによるウイルス遺伝子の検出によって同定した。

1. 抗 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09 血清

2. 抗 A/New York/39/2012 (H3N2) 血清

3. 抗 B/ Massachusetts/2/2012 (山形系統) 血清

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

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。

## 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 50.6% であった。年齢群別では、5～9 歳、10～14 歳、15～19 歳および 20～29 歳の群ではそれぞれ 63.2%、76.2%、88.0%、78.6% と高く、30～39 歳、40～49 歳および 50～59 歳の群でも 45.8%、40.0%、50.0% と比較的高かった。一方、0～4 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 21.7%、17.4% と比較的低かった。

- (2) A/New York/39/2012 (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 56.7% であった。年齢群別では、5～9 歳、10～14 歳、15～19 歳、20～29 歳および 50～59 歳の群ではそれぞれ 73.7%、85.7%、72.0%、73.8%、68.2% と高く、30～39 歳、40～49 歳および 60 歳以上の群でも 41.7%、52.0%、43.5% と比較的高かった。0～4 歳の群では 31.7% と中程度であった。

- (3) B/Massachusetts/2/2012 (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 27.2% であった。年齢群別では、20～29 歳の群では 71.4% と高く、15～19 歳の群では 44.0% と中程度であった。10～14 歳および 30～39 歳の群ではそれぞれ 28.6%、33.3% と中程度であった。一方、40～49 歳、50～59 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 20.0%、

13.6%、17.4% と比較的低かった。さらに、0～4 歳および 5～9 歳の群ではそれぞれ 5.0%、5.3% と低かった。

- (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 25.3% であった。年齢群別では、40～49 歳の群では 44.0% と高かった。5～9 歳、10～14 歳、15～19 歳、20～29 歳、30～39 歳および 50～59 歳の群ではそれぞれ 31.6%、33.3%、36.0%、38.1%、25.0%、31.8% と中程度であった。一方、60 歳以上の群では 8.7% と低く、0～4 歳の群では 3.3% と極めて低かった。

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。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

調査対象者 261 名中、予防接種歴不明の 14 名を除く 247 名におけるインフルエンザワクチン接種率 (採血時に 2013/14 年シーズンのワクチン接種歴ありと回答した者) は 53.4% (132 名) であった。年齢群別の接種率は 37.5 (30～39 歳)～82.4 (5～9 歳)% で、各年齢群間で最大 44.9 ポイントの差がみられた。

予防接種歴別抗体保有率を表 2 に示す。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 63.6% : 35.7% (接種歴有群 : 接種歴無群、以下同)、A/New York/39/2012 (H3N2) で 72.7% : 39.1%、B/Massachusetts/2/2012 (山形系統) で 31.8% : 23.5%、B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) で 32.6% : 17.4% と、全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して 8.3～33.6 ポイント高かった。特に、A 型ウイルスに対する抗体保有率でその差が顕著であった。以上の結果から、インフルエンザの予防にはワクチンの接種が有効であることが示唆された。

### 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、2014/15 シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は 2014 年第 38 週 (9/15～21) であった。散发流行の後、第 49 週 (12/1～7) には定点あたり

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	60	38	2	7	4	3	4	2	0	0	0	13	21.7
5-9	19	3	0	4	4	3	1	3	1	0	0	12	63.2
10-14	21	3	0	2	2	4	7	3	0	0	0	16	76.2
15-19	25	0	1	2	1	5	11	4	1	0	0	22	88.0
20-29	42	3	3	3	4	13	5	10	1	0	0	33	78.6
30-39	24	6	4	3	3	4	4	0	0	0	0	11	45.8
40-49	25	5	3	7	7	2	1	0	0	0	0	10	40.0
50-59	22	5	2	4	5	5	1	0	0	0	0	11	50.0
≥60	23	11	4	4	1	2	1	0	0	0	0	4	17.4
合計	261	74	19	36	31	41	35	22	3	0	0	132	50.6

**A/New York/39/2012 (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	60	29	7	5	6	4	2	5	1	1	0	19	31.7
5-9	19	1	0	4	2	6	3	2	0	1	0	14	73.7
10-14	21	2	1	0	5	5	5	2	1	0	0	18	85.7
15-19	25	2	2	3	5	6	4	3	0	0	0	18	72.0
20-29	42	2	5	4	10	8	6	6	1	0	0	31	73.8
30-39	24	4	4	6	3	2	4	1	0	0	0	10	41.7
40-49	25	6	3	2	5	6	1	0	1	0	0	13	52.0
50-59	22	1	3	3	5	5	4	1	0	0	0	15	68.2
≥60	23	6	2	5	4	2	3	1	0	0	0	10	43.5
合計	261	53	27	32	45	44	32	21	4	2	0	148	56.7

**B/Massachusetts/2/2012(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	60	47	9	1	1	2	0	0	0	0	0	3	5.0
5-9	19	9	3	6	1	0	0	0	0	0	0	1	5.3
10-14	21	6	2	7	3	3	0	0	0	0	0	6	28.6
15-19	25	2	7	5	5	3	3	0	0	0	0	11	44.0
20-29	42	0	5	7	10	16	4	0	0	0	0	30	71.4
30-39	24	3	6	7	5	3	0	0	0	0	0	8	33.3
40-49	25	2	10	8	5	0	0	0	0	0	0	5	20.0
50-59	22	2	5	12	3	0	0	0	0	0	0	3	13.6
≥60	23	6	10	3	3	1	0	0	0	0	0	4	17.4
合計	261	77	57	56	36	28	7	0	0	0	0	71	27.2

**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	60	42	12	4	1	0	1	0	0	0	0	2	3.3
5-9	19	5	4	4	3	3	0	0	0	0	0	6	31.6
10-14	21	7	1	6	5	1	1	0	0	0	0	7	33.3
15-19	25	2	5	9	8	1	0	0	0	0	0	9	36.0
20-29	42	2	13	11	14	1	1	0	0	0	0	16	38.1
30-39	24	1	5	12	3	3	0	0	0	0	0	6	25.0
40-49	25	1	4	9	8	3	0	0	0	0	0	11	44.0
50-59	22	0	6	9	6	1	0	0	0	0	0	7	31.8
≥60	23	3	12	6	2	0	0	0	0	0	0	2	8.7
合計	261	63	62	70	50	13	3	0	0	0	0	66	25.3

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/New York/39/2012 (H3N2)		B/Massachusetts/2/2012(山形系統)		B/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)		
	有	無	有	無	有	無	有	無	
予防接種									
年齢区分	0-4	27.6%	19.2%	41.4%	23.1%	10.3%	0.0%	6.9%	0.0%
	5-9	71.4%	0.0%	78.6%	66.7%	7.1%	0.0%	28.6%	33.3%
	10-14	88.9%	60.0%	100.0%	70.0%	44.4%	10.0%	55.6%	10.0%
	15-19	100.0%	60.0%	73.7%	60.0%	52.6%	20.0%	42.1%	20.0%
	20-29	88.9%	69.6%	94.4%	56.5%	77.8%	65.2%	38.9%	39.1%
	30-39	66.7%	33.3%	77.8%	20.0%	44.4%	26.7%	44.4%	13.3%
	40-49	54.5%	28.6%	81.8%	28.6%	27.3%	14.3%	72.7%	21.4%
	50-59	66.7%	22.2%	83.3%	55.6%	8.3%	22.2%	33.3%	22.2%
	≥60	27.3%	0.0%	63.6%	20.0%	18.2%	20.0%	9.1%	10.0%
全体	63.6%	35.7%	72.7%	39.1%	31.8%	23.5%	32.6%	17.4%	

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	2014.12.16~ 2015.4.16	10	6	0	1	5
中部	中村内科クリニック	定点	2014.12.8~ 2015.2.25	9	7	0	7	0
高岡	小栗小児科医院	定点	2014.12.5~ 2015.4.11	22	19	0	18	1
高岡	おおしまこどもクリニック	定点	2014.12.16~ 2015.4.17	30	22	0	17	5
砺波	力耕会 金井病院	定点	2014.11.17~ 2015.5.2	83	70	0	56	14
砺波	柳下小児科内科医院	定点	2014.11.10~ 2015.2.10	6	5	0	4	1
富山市	中島こどもクリニック	定点	2014.12.26~ 2015.3.28	18	14	0	10	4
富山市	しんたにこどもクリニック	定点	2014.12.6~ 2015.5.15	26	17	0	12	5
合計				204	160	0	125	35

1.23人となり、流行が始まった。その後、患者報告数が急増し、第4週(1/19~25)にピークに達した(41.90人/定点)。その後は減少し、第20週(5/11~17)には0.96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、2014年12月2日(第49週)から2015年5月22日(第21週)までに延べ162施設でとられた。シーズン中の累積患者数は3107名であった。

2014/15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はほぼ平年並みであったが、

過去5シーズンでは患者増加の時期は最も早く、ピーク時の定点当り患者数もやや多かった。前シーズンのような二峰性のピークはみられなかったため、流行規模はさほど大きくなかった。しかし、B型による流行が5月中旬まで続いた[1]。

## 2. インフルエンザウイルスの検出・分離

2014年11月~2015年5月までに、定点医療機関で採取された204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、AH1pdm09が0株(0%)、AH3亜型が125株(78.1%)、B型

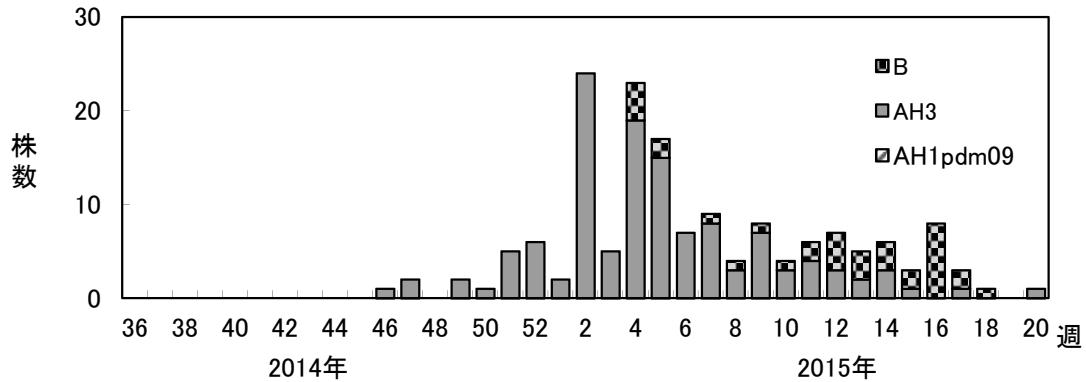


図1. 週別・型別インフルエンザウイルス検出・分離数

が35株(21.9%)の合計160株が分離された。AH3が流行株の主流であったが、シーズン後半はB型分離株が大半を占めた(図1)。前シーズンと異なり、AH1N1pdm09の流行はまったくみられなかった。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それぞれ97%、3%で、前シーズンと同様に山形系統が主流であった。

AH3亜型の流行ウイルスは培養細胞での増殖が悪く、分離できてもHI試験に十分なHA価が得られないものが多かった。

## 文 献

1. 富山県衛生研究所感染症情報センター(2015). 感染症発生動向調査速報 <http://www.pref.toyama.jp/branches/1279/kansen/sokuhou/sokuhou.html>

## 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、中島こどもクリニックならびにしんたにこどもクリニックに深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

## 富山県における平成26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 長谷川澄代 嶋 一世  
小淵 正次 稲畑 良 滝澤 剛則

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients  
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2014

Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, Ichiyo SHIMA,  
Masatsugu OBUCHI, Ryo INAHATA, and Takenori TAKIZAWA

富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生动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26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26年4月から平成27年3月までに受け付けた被検者は延べ459例、検体別では糞便（直腸拭い液を含む）190、咽頭または鼻腔拭い液246、気管吸引液2、髄液18、尿12、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球など）47、痂皮4、皮膚2、糞便由来cDNA15の計553件であった。被検者459例中310例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を臨床診断名別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

**インフルエンザ**：県内の医療機関を受診した患者216症例（咽頭または鼻腔拭い液216）について検査を行った。

昨シーズン（平成25/26）終期の4～5月に3症例からAH1型インフルエンザウイルスが、2症例からAH3型インフルエンザウイルスが、31症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。平成26/27シーズンでは、11月～3月に119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。

**上気道炎・下気道炎**：4～7月、11～12月に計10症例（咽頭または鼻腔拭い液10、気管吸引液1、糞便2、髄液2、血清5、尿2）について検査を行ったところ、1症例の咽頭拭い液及び1症例の咽頭拭い液及び便からライノウイルスが、2症例の咽頭拭い液からパラインフルエンザウイルス

3型が、1症例の咽頭拭い液からアデノウイルス3型が検出された。

**脳炎・脳症**：計9症例（髄液9、咽頭拭い液8、血清7、糞便4、咽頭拭い液4、尿4、気管吸引液1）の検査を行ったところ、2症例の咽頭拭い液からライノウイルスが、2症例の咽頭拭い液及び1症例の血液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メタニューモウイルスA2型が検出された。また、1症例の糞便からはコクサッキーウイルスB4型が、尿からはサイトメガロウイルスが検出された。

**無菌性髄膜炎**：計5症例（髄液5、咽頭拭い液4、血清2、尿1）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

**感染性胃腸炎**：集団発生事例では、平成26年度に発生した食中毒および有症苦情事例を含む21事例（170例、糞便155、糞便由来cDNA15）について検査を行ったところ、1事例の4症例からノロウイルスGIが、17事例の87症例からノロウイルスGIIが検出された。また、無症状者からも1事例においてノロウイルスGIが、7事例においてノロウイルスGIIが検出された。月別では、平成26年4月に1事例、5月に3事例、7月に1事例、9月に1事例、11月に2事例、平成27年1月に3事例、2月に2事例、3月に8事例それぞれ発生した。

小児科定点医療機関からは、計27症例（糞便27）の散発例の検査依頼があった。このうち23症例がウイルス検査陽性となり、検出されたウイルスの種類はノロウイルスGII、サポウイルス、ロタウイルスA群、アストロウイルス、アデノウイルス2型及び41型、パレコウイルス1型、エコーウイルス11型等様々であった。これらのうち、ノロウイルスGIIが8症例から、サポウイ

表 1. 平成26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26年(2014年)					平成27年(2015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)	34	3		2				3	26	82	38	28	216
	AH1型インフルエンザ	3												3
	AH3型インフルエンザ	2						3	15	63	26	12	121	
	B型インフルエンザ	28	3							5	4	10	50	
上気道炎・下気道炎	(被検者数)		4	3	1				1	1			10	
	ライノ		1		1								2	
	パラインフルエンザ3型			2									2	
	アデノ3型							1					1	
脳炎・脳症	(被検者数)		1					2	1	2	1	1	9	
	ライノ									1	1		2	
	ヒトヘルペス6型							1		1			2	
	メタニューモ		1										1	
	コクサッキーB4型+サイトメガロ								1				1	
無菌性髄膜炎	(被検者数)	1	1	1					1			1	5	
感染性胃腸炎 (集団発生事例)	(延べ被検者数)	2	11		1		12		10	25	29	18	62	170
	ノロGI <sup>a</sup>												4	4
	ノロGI <sup>a</sup>	2	9				8			10	15	10	37	91
感染性胃腸炎 (散発例)	(被検者数)	3	1	2	5		1	1	3	3	4		4	27
	ノロGI <sup>a</sup>		1						2	1	2		2	8
	サポ				1			1	1	2				5
	サポ+パレコ1型										1			1
	ロタA群	2		1									1	4
	ロタA群+エコー11												1	1
	アデノ41型				1						1			2
	アデノ2型							1						1
	アストロ	1												1
麻疹	(被検者数)	2	1	1							1	1	6	
	パルボB19			1									1	
E型肝炎	(被検者数)				1								1	
	-													
デング熱	(被検者数)					1	5						6	
	パルボB19						1						1	
つつが虫病	(被検者数)								4				4	
	つつが虫病リケッチア								3				3	
ライム病	(被検者数)			1					1				2	
	-													
Q熱	(被検者数)									1			1	
	-													
その他 <sup>b</sup>	(被検者数)				1	1							2	
	単純ヘルペス1型				1								1	
	エコー11型					1							1	
症例合計	(被検者数)	42	22	8	11	2	18	4	23	58	117	58	96	459
	病原体検出者数	38	15	4	4	1	10	3	10	30	88	40	67	310
食品、ふきとり	(検体数)									9	21	30	60	

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

a, ノロGI: ノロウイルスGenogroup I.

b, その他: 7月の1症例は活気不良; 8月の1症例は川崎病、腎不全、心不全。

ルスが6症例からと多く検出された。

**麻疹疑い**: 計6症例(咽頭拭い液6, 血漿5, 尿5, 末梢血単核球5)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, 6月の1症例の血漿からパルボウイルス B19 が検出された。

**E型肝炎**: 7月に1症例(血液1)の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

**デング熱**: 計6症例(血液9, 尿1)の検査を行ったところ, デングウイルスは検出されなかった。一方, 9月の1症例の血清からパルボウイルス B19 が検出された。

**つつが虫病**: 11月に計4症例(血液5, 痂皮4)

の検査を行ったところ, 3症例の血液及び痂皮からつつが虫病リケッチアのKawasaki型が検出された。

**ライム病**: 6月, 10月に計2症例(血液3, 髄液1, 皮膚2)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。10月の1症例については紅斑熱の検査も行ったが, 紅斑熱群リケッチアおよび抗体は検出されなかった。

**Q熱**: 12月に1症例(血清2)の検査を行ったものの, Q熱に対する抗体は検出されなかった。

**その他**: 7月に1症例の活気不良(髄液1, 咽頭拭い液1, 糞便1, 血液1)の検査を行ったところ,



尿から単純ヘルペスウイルス 1 型が検出された。8月に1症例の川崎病，腎不全，心不全症例疑い（咽頭拭い液 1，糞便 1，血漿 1）の検査を行ったところ，糞便からエコーウイルス 11 型が検出された。

食品，拭き取り検体：食中毒事例に関連して，12月，2月，3月に拭き取り 26 検体，食品 34 検体のウイルス検査を行ったが，ウイルスは検出されなかった。

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

## 富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2014年）

木全 恵子    三井千恵子    金谷 潤一    磯部 順子  
 清水美和子<sup>1</sup>    佐多徹太郎    綿引 正則

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2014

Keiko KIMATA, Chieko Mitsui, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,  
 Miwako SHIMIZU<sup>1</sup>, Tetsutaro SATA, and Masanori WATAHIKI

2014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、感染者は17名であった。これらの事例数、感染者数の内訳は、EHEC O157（以下O157）が9件、9名、EHEC O26（以下O26）が4件、6名、EHEC O121（以下O121）が1件、1名、EHEC O91（以下O91）が1件、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。

**2014年におけるEHEC感染症発生状況：**2014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（29件、86名）比0.52、0.20で、事例数、感染者数とも大幅に減少した。発生形態は、家族内感染1件、散発14件であった（表1）。この家族内感染事例（表1、事例2）の感染源は不明である。また、無症状病原体保有者が探知された散発は3件で、その内訳は定期検便により探知された事例が2件（表1、事例3、8）、EHEC感染事例の接触者検便により探知された事

表1. 腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2014)

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	2014.3	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
2	2014.6	3	家族内感染	O26:H11	<i>stx1</i>
3	2014.6	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
4	2014.6	1	散発	O157:HNM	<i>stx1</i>
5	2014.6	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
6	2014.7	1	散発	O26:HNM	<i>stx1</i>
7	2014.7	1	散発	O157:HNM	<i>stx1stx2</i>
8	2014.7	1	散発	O91:H14	<i>stx1</i>
9	2014.8	1	散発	O157:HNM	<i>stx1stx2</i>
10	2014.8	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
11	2014.8	1	散発	O121:H19	<i>stx2</i>
12	2014.8	1	散発	O157:HNM	<i>stx1</i>
13	2014.8	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
14	2014.8	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
15	2014.10	1	散発	O157:HNM	<i>stx1stx2</i>
O157 9件(9名)、O26 4件(6名)、O121 1件(1名)、O91 1件(1名) 計 15件(17名)					

1. 高岡厚生センター

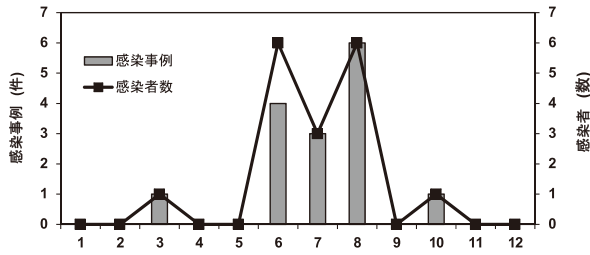


図1. 富山県における腸出血性大腸菌感染症月別発生動向(2014)

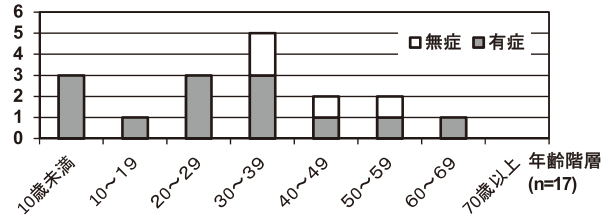


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

例が1件(表1, 事例9)であった。事例9は関連を疑われたEHEC感染事例と異なる血清型のEHECが分離された事例であった。

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。2014年は、6月に4件(感染者6名)、8月に6件(6名)と夏季に感染事例が多発した(図1)。

感染者17名における有症者の割合は76.5%(13名)であった。年齢別にみると、30歳代から50歳代をのぞく感染者の年齢層が全て有症者であった(図2)。無症状病原体保有者4名は、2名は定期検便で、他の2名は接触者検便で探知された。

性別では男性7名のうち有症者6名(85.7%)、女性10名のうち有症者7名(70.0%)とやや男性における有症者割合が高かった。

**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、表1の各事例代表株O157 9株, O26 4株, O121 1株, O91 1株である。

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2株(13.3%)であった。その内訳はTC耐性1株(事例8由来)、KM・TC・SXT・ABPC耐性1株(事例9由来)であった。

**分離株の病原因子：**各事例代表株について病原因子遺伝子の検索を行った。病原因子遺伝子の検出は既報[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により行った。

各事例代表株におけるペロ毒素遺伝子型は表1のとおりであり、*stx1 stx2* 保有型が6株, *stx2* 保有型が2株, *stx1* 保有型が7株であった。事例8を除き、各事例の代表株は *eae* を保有していた。

**O157のIS-Printingによる遺伝子型別：**本年発生したO157感染事例9件の分離株について市販のIS-Printingキット(IS-printing System, TOYOBO)を用いてIS-Printing法[4]による遺伝子型別のスクリーニングを行った。得られた結果は勢戸らの方法に準じてコード化し、IS-Printingによる遺伝子型(以下ISコード)とした[5, 6](図3)。その結果、事例7と事例15のISコードが一致した(図3 レーン5, 6)。また、事例4と事例12(図3 レーン8, 9), 事例1と事例5(図3 レーン3, 4)は1ヶ所のみ異なるISコードであった。上記の事例を除き、他の菌株のISコードは全て異なっていた。

**パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による分子疫学解析：**各事例分離株についてPFGEを行った。PFGEは制限酵素 *XbaI* を用いた標準化プロトコールに基づいて行った[7]。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。2014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。

2014年に分離されたEHECO157及びO26のPFGEパターンについてデンドログラムを作成した。

O157のPFGEパターンについてデンドログラムを図3に示した。O157(*stx1 stx2*)のPFGEパターンは事例7, 15で一致していた(図3 レーン

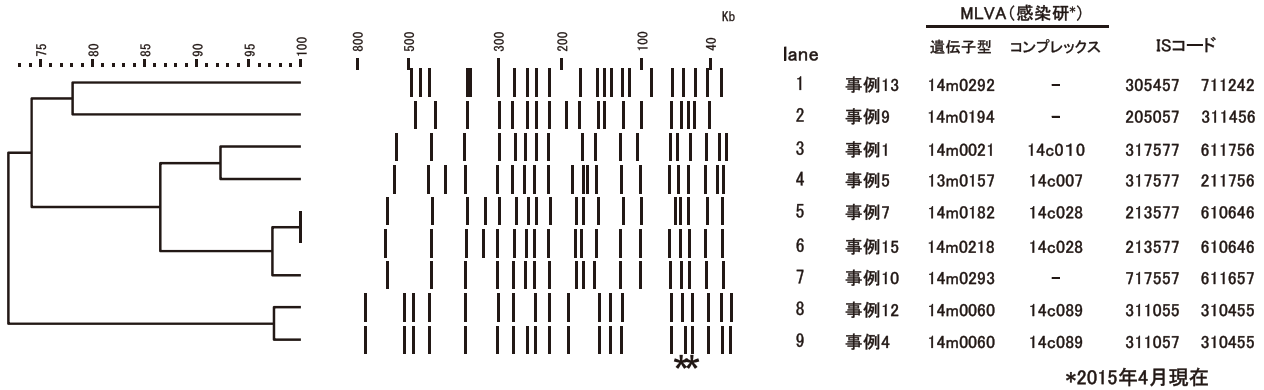


図3. O157のPFGEパターンのデンドログラム, MLVA及びISコード

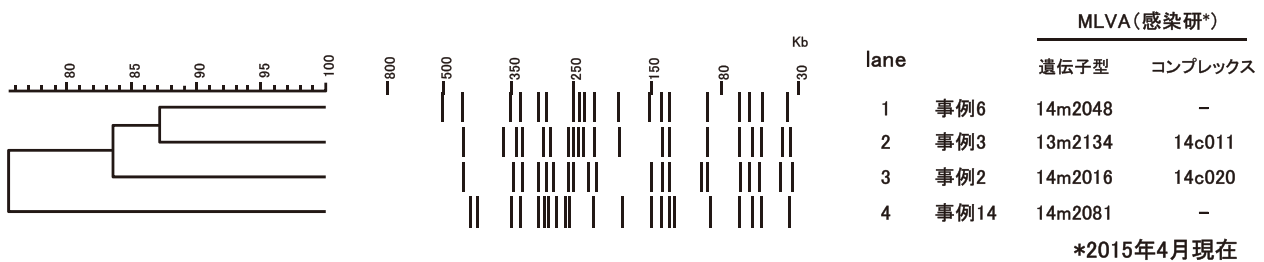


図4. O26のPFGEパターンのデンドログラム, MLVA

5, 6). これらは上述のISコードも一致したが、事例間の関連性は不明であった。

O157 (*stx1*) のPFGEパターンは事例4, 12でデンドログラム解析上では1バンド違いであり、輝度が異なるバンド箇所が2箇所検出された(図3 レーン8, 9\*)。Tenoverらの基準[8]により極めて関連性が高く同一集団株であると考えられた。

また、O26(*stx1*) のPFGEパターンについてデンドログラム解析を行った。その結果、全て異なるPFGEパターンであった(図4 レーン1-4)。

**特記すべき事例の報告**：2014年は家族内感染1事例を除き全て散発であった。このうち他の感染事例との関連性が疑われた事例について以下に詳細を報告する。

**県内で発生したO157(*stx1*)による2つの感染事例**：事例4, 12(表1)はO157(*stx1*)による感染事例であった。*stx1*単独保有型O157は、全国の2013年のO157感染事例1,077件の4.5%、2014年のO157感染事例1,355件の1.77%しか報告されていない[9, 10]。上述したとおり、これら2件の分離株のIS-コード、PFGEパターンから、菌株間の類似性が極めて高い[8]と考えられた(図3 レーン8, 9)。この2株は後述する国立感

染症研究所のMLVA解析の遺伝子型も一致していた(図3 レーン8, 9)。しかし、これらの事例間の関連性は不明であった。

**O26 広域散発食中毒に関連した感染事例**：事例3はO26 広域散発食中毒に関連した無症状病原体保有者の散発事例であった。その概要は以下のとおりである。2014年6月25日に福井県より複数のO26患者が同じ飲食チェーン店を利用していたとの情報提供があり、同チェーン店がある自治体が確認した結果、上述の福井県のほかに新潟県、新潟市、山形県、富山県で届出のあったO26感染者6名(有症者5名、無症状病原体保有者1名)が、同チェーン店を利用し、加工食肉を喫食していたことが判明した。この感染者6名の分離株について国立感染症研究所がMLVAおよびPFGEで解析した結果、遺伝子型が一致した。また、同チェーン店が一括して仕入れていた加工食肉から同じ遺伝子型のO26が検出された(遺伝子型別はMLVAおよびPFGEを用い、新潟県保健環境科学研究所および国立感染症研究所細菌第一部で実施された)。以上からO26に汚染された加工食肉の加熱不足を原因とする広域散発型食中毒であることが判明した[11]。

### 全国におけるEHEC感染症発生状況との比較：

2014年の全国におけるEHEC感染者数は4,153名で、昨年に比べて1.03倍とほぼ横ばいであった[10]。しかし、2014年は静岡県で大規模なO157食中毒事例が発生し、過去5年における年間感染者数は最も多かった[10]。

国立感染症研究所細菌第一部では2014年よりO157, O26, O111についてmultiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA)による遺伝子型別を開始した。MLVAはゲノム上の標的遺伝子座における繰り返し配列数の違いにより遺伝子型別を行う方法である[12]。MLVAによる解析では関連性のある複数の遺伝子型を「コンプレックス」として標記している。このMLVAによる解析から、2014年に全国5以上の地衛研等から同一の遺伝子型もしくはコンプレックスとして検出された広域流行株の遺伝子型/コンプレックスは23種類であった[13]。

本年県内で発生したO157 9件、O26 4件の分離株のMLVA遺伝子型はそれぞれ8タイプ、4タイプであり、他のMLVA型と関連性があると認められたコンプレックスは併せて6種類であった(図3, 図4)。本県で発生した事例3と事例5で、この広域流行株の遺伝子型/コンプレックスが検出された。事例3は上述のO26広域散発食中毒関連であるが、それ以外に県外で検出された同じ遺伝子型/コンプレックスの流行株との関連性は不明であった。事例5で検出された広域流行株は6-7月を中心に17都府県で検出されたがこれらの疫学的関連性は不明であった。

**考察：**2014年の富山県におけるEHEC感染症の事例数は15件、感染者は17名であり、1996年以降において感染者数は過去2番目、事例数は過去4番目に少なかった(図5)。本県で発生したO157, O26についてPFGE, IS-Printing, MLVAによる遺伝子型別の相関性を比較し、IS-Printing, MLVAが有効な遺伝子型別であることが改めて認識された。

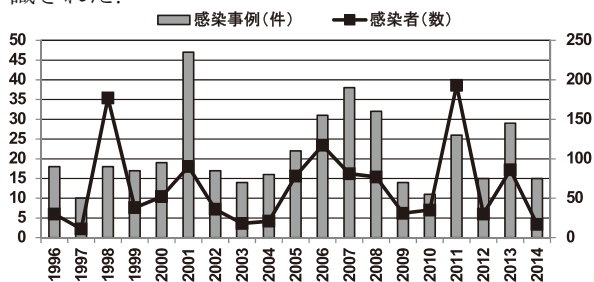


図5. 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

**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 石原朋子先生、泉谷秀昌先生に深く感謝致します。

### 文 献

1. Performance standards for antimicrobial susceptibility test. M100-S15, CLSI
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. Ooka, T., Terajima, J., Kusumoto, M., Iguchi, A., Kurokawa, K., Ogura, Y., Asadulghani, Md., Nakayama, K., Murase, K., Ohnishi, M., Iyoda, S., Watanabe, H. and Hayashi, T. (2009). J.Clin.Microbiol., 47, 2888-2894
5. 勢戸和子, 河野智美, 野村憲一, 平野隆, 小笠原準ほか (2008) 厚生労働科学研究費補助金 平成19年度総括・分担研究報告書, 101-124
6. 木全恵子, 嶋智子, 金谷潤一, 磯部順子, 嶋一世, 綿引正則, 佐多徹太郎 (2012) 富山県衛生研究所年報, 35, 85-91
7. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K. (2002). J. Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848
8. 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
9. 病原微生物検出情報 (2014). 35, 119
10. 病原微生物検出情報 (2015). 36, 73-76
11. 山内洋之, 小松雅美 (2015). 病原微生物検出情報, 36, 79-80
12. Pei, Y., Terajima, J., Saito, Y., Suzuki, R., Takai, N., Izumiya, H., Morita-Ishihara, T., Ohnishi, M., Miura, M., Iyoda, S., Mitobe, J., Wang, B. and Watanabe, H. (2008). Jpn. J. Infect. Dis., 61, 58-64
13. 泉谷秀昌, 石原朋子, 伊豫田淳, 大西真 (2015). 病原微生物検出情報, 36, 83-84

# 富山県における侵襲性肺炎球菌感染症の患者発生動向と患者由来株の血清型別、薬剤感受性試験およびシーケンスタイピングについて(2014年)

三井千恵子 佐多徹太郎 綿引 正則 常 彬<sup>1</sup>  
大西 真<sup>1</sup>

Invasive Pneumococcal Disease and Serotypes, Antibiotic Susceptibilities and Sequence Typing of Clinical Pneumococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2014

Chieko MITSUI, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Bin CHANG<sup>1</sup>  
and Makoto OHNISHI<sup>1</sup>

肺炎球菌 (*Streptococcus pneumoniae*) は主要な呼吸器病原性細菌である。その菌表層の莢膜ポリサッカライドは最も重要な病原因子であり、その血清型を決定する抗原でもある。現在までに少なくとも93の血清型の存在が知られている。

多くの小児は肺炎球菌を鼻咽頭に保菌し、しばしば中耳炎や肺炎を発症する。成人の市中肺炎の大半は菌血症を伴わない肺炎であり、その20～40%が肺炎球菌に起因する。一方、本菌は血液中に侵入し、主に小児や高齢者に侵襲性肺炎球菌感染症 (invasive pneumococcal disease; IPD) を起こす。IPDとは通常無菌的であるべき検体から肺炎球菌が分離された疾患を示し、髄膜炎とそれ以外の菌血症を伴う肺炎や敗血症などがある [1]。

IPDは治療が進歩した今日においても重篤な経過となることがあるため、ワクチンによる予防が重要である。7価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV7) は2013年4月から5歳未満の小児を対象に定期接種化 (A類) され、さらに2013年11月からは13価肺炎球菌結合型ワクチン (PCV13) に切り替わった。一方、2014年10月からは65歳以上と、60歳以上65歳未満の者で心臓、腎臓もしくは呼吸器機能の障害またはヒト免疫不全ウイルスによる免疫の機能の障害を有する者として厚生労働省令で定める者の高齢者に対する23価肺炎球菌ワクチン (PPSV23) の定期接種化 (B類) が開始されている。このような状況から、小児・成人における肺炎球菌ワクチンの効果を監視する目的で、2013年4月、IPDが感染症法に基づく5類感染症全数把握疾患となった [2]。

ここでは、2014年の富山県におけるIPDの患者

発生動向と患者由来株の血清型別、薬剤感受性試験およびシーケンスタイピングの結果について報告する。

## 材料と方法

### 1. IPD 感染症発生動向調査患者数

2014年1月～12月に医療機関から報告された症例に対し、患者の性別・年齢、症状や診断状況などの疫学情報を集計した。

### 2. IPD 患者由来株

2014年1月～12月に富山県内4か所の公的病院で患者から分離された肺炎球菌10株について、血清型別、薬剤感受性試験およびシーケンスタイピングを行った。検査は国立感染症研究所にて行った。

血清型別はStatens Serum Institute 製血清を用いて、膨潤法による判定を行った。薬剤感受性試験は栄研ドライプレートを用い、CLSI M100-S18に準拠し試験を行った (ヘモサプリメント加ミューラーヒントンブロス, 22時間培養)。シーケンスタイピングは肺炎球菌の遺伝子 (*aroE*, *gdh*, *gki*, *recP*, *spi*, *xpt*, *ddl*) の配列を決定し、既存のデータベースとの比較を行った [3]。

## 結果と考察

### 1. IPD 感染症発生動向調査患者数

2014年1月～12月のIPD患者報告症例数は27例であった。年齢構成は、5歳未満の小児が3例 (11.1%)、65歳以上の高齢者が20例 (74.1%) で

あった(図1)。男性が20例(74.1%)を占めた。症状は菌血症が15例(55.6%)、肺炎が11例(40.7%)、髄膜炎が3例(11.1%)であった。届出時点の死亡は3例あり、全て65歳以上であった。

2. IPD 患者由来株検査結果

患者由来株10株(Strain1~10)の血清型別及びワクチン接種歴を表1に、薬剤感受性試験結果を表2に、シーケンスタイピングの結果を表3に示した。

血清型は3が最も多く3株、19A(2株)、24F(2

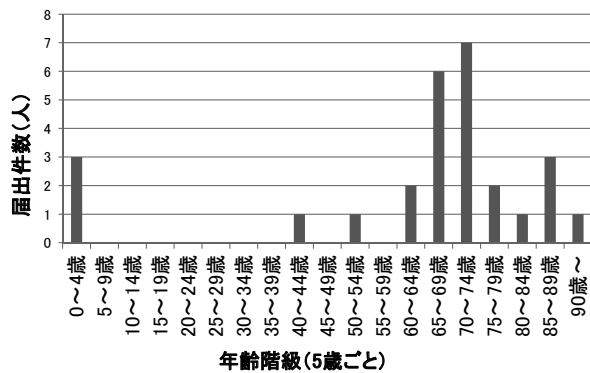


図1. 富山県における年齢層別に見たIPD患者の届出件数(2014年)

株)6B(1株)、15A(1株)、22F(1株)であった。19A、6B、22FはPPSV23に含まれているため、ワクチン接種していれば防止できた可能性がある。

今後もIPDの発生動向とともに、ワクチン接種の評価においても原因菌の血清型や薬剤感受性の推移を継続して調べる必要がある。

表1. 血清型別とワクチン接種歴

Strain	血清型	ワクチン接種歴
1	6B	接種歴なし
2	3	不明
3	3	不明
4	3	不明
5	19A	不明
6	19A	接種歴なし
7	24F	PCV7 4回
8	24F	PCV7 4回
9	22F	接種歴なし
10	15A	接種歴なし

表2. 薬剤感受性(μg/mL)

Strain	PCG	ABPC	CTX	TBPM	PAPM	MEPM	CDTR	EM	CLDM	VCM	TFLX
1	1	1	0.25	0.03	0.06	0.25	0.12	≥8	≥8	0.5	≤0.12
2	1	1	1	0.03	0.03	0.25	0.5	2	≥8	0.25	≤0.12
3	1	1	1	0.03	0.06	0.25	0.5	2	4	0.25	≤0.12
4	0.06	0.12	0.25	≤0.008	≤0.008	0.015	0.06	≥8	≥8	0.25	0.25
5	1	2	0.5	0.03	0.06	0.25	0.25	≥8	≥8	0.25	0.25
6	1	2	0.5	0.03	0.06	0.25	0.25	≥8	≥8	0.25	0.25
7	1	2	0.5	0.03	0.06	0.25	0.25	≥8	≥8	0.25	0.25
8	1	2	0.5	0.03	0.06	0.25	0.25	≥8	≥8	0.25	0.25
9	1	2	0.5	0.03	0.06	0.25	0.25	≥8	≥8	0.25	0.25
10	0.25	0.25	0.25	≤0.008	0.015	0.06	0.12	≥8	≥8	0.25	0.25

表3. シークエンスタイピング

Strain	ST	aroE	gdh	gki	recP	spi	xpt	ddl
1	2756	8	8	19	16	77	1	68
2	90	5	6	1	2	6	3	4
3	※Strain2と同一患者由来株のため、シーケンスタイピング未実施							
4	180	7	15	2	10	6	1	22
5	3111	61	60	67	16	10	104	14
6	5842	10	16	150	1	13	1	29
7	2572	7	75	9	6	25	6	14
8	※Strain7と同一患者由来株のため、シーケンスタイピング未実施							
9	433	1	1	4	1	18	58	17
10	new	15	5	36	12	17	21	14

平成27年12月15日

## 謝 辞

本研究を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただきました関係各位に深謝いたします。

## 文 献

1. 病原微生物検出情報 (2013). 34, 1-8
2. 病原微生物検出情報 (2014). 35, 16-18
3. <http://spneumoniae.mlst.net>



## 富山県における2014年の病原微生物検出情報

三井千恵子 磯部 順子 木全 恵子 清水美和子<sup>1</sup>  
 金谷 潤一 佐多徹太郎 綿引 正則

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2014

Chieko MITSUI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Miwako SHIMIZU<sup>1</sup>,  
 Jun-ichi KANATANI, 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。2014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1,203株で、前年の98.1%であった。最も多かったのは大腸菌632株で、前年の699株から減少した。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は、血清型O26が6株、O91が1株、O121が1株、O157が9株で合計17株分離された。本年は、EHECによる集団感染事例が1件報告された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌258株（そのうちMRSAは36.4%）であり、前年の94.6%であった。カンピロバクターは178株で前年の93.2%であった。また、腸管出血性大腸菌以外の3類感染症からは、赤痢菌が4株、腸チフス菌が1株分離された。

**穿刺液：**分離株総数は336株で前年の131.3%であった。コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは36.0%）、大腸菌などが多く分離された。

**髄液：**分離株総数は8株で、前年の13株から減少した。

**血液：**分離株総数は1,634株で前年の104.1%であった。大腸菌、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは28.7%）が多く分離さ

れた。

**咽頭および鼻咽喉：**分離株総数は1,714株で前年の94.9%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4,296株で前年の97.1%であった。黄色ブドウ球菌（MRSAは39.2%）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6,072株で前年の98.7%であった。大腸菌が最も多く分離され、腸球菌、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、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1,320株で前年の101.0%であった。B群溶連菌、*Candida albicans*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. 高岡厚生センター

平成27年12月15日

月別・菌種別の病原微生物検出状況(2014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 Typhi</i>													0
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													0
<i>Salmonella</i> 04						1	5		1				7
<i>Salmonella</i> 07	1		1	1		1	2	4	4	1		1	16
<i>Salmonella</i> 08		1			2		2	2	1				8
<i>Salmonella</i> 09		1						1					2
<i>Salmonella</i> 09,46 (D2)													0
<i>Salmonella</i> 03,10 (E1, E2, E3)													0
<i>Salmonella</i> 01,3,19 (E4)											1		1
<i>Salmonella</i> 013 (G1, G2)							1	1					2
<i>Salmonella</i> 018 (K)													0
<i>Salmonella</i> その他													0
<i>Salmonella</i> 群不明													0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	1			1	2	1	1		1			8
<i>Y. pseudotuberculosis</i>	1						1						2
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :E1 Tor, Ogawa, CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :E1 Tor, Ogawa, CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :E1 Tor, Inaba, CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :E1													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139, CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139, CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01,139以外				1				1					2
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>													0
<i>Vibrio fluvialis</i>	1												1
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>	1	2	1	1	3	2	2	3	5	2	2	1	25
<i>Plesiomonas shigelloides</i>										1			1
<i>Campylobacter</i>	12	7	9	20	17	18	16	20	13	19	17	10	178
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	14	24	29	21	14	22	22	29	22	12	20	258
<i>Clostridium perfringens</i>	14	1	4	3	24	2		2				7	57
<i>Clostridium botulinum</i> F													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>													0
<i>Bacillus thuringiensis</i>		2											2
<i>Entamoeba histolytica</i>		1											1
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性	3			1		1	1	1					7
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	1	2		2	7		2	1	2			2	19
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	56	41	42	48	45	39	41	29	31	26	33	28	459
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC			1			6	3	6		1			17
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	16	12	12	8	20	11	9	6	6	4	10	16	130
<i>Shigella dysenteriae</i> 型( )													0
<i>Shigella dysenteriae</i> 型( )													0
<i>Shigella flexneri</i> 型( )													0
<i>Shigella flexneri</i> 型( )													0
<i>Shigella boydii</i> 型( )													0
<i>Shigella boydii</i> 型( )													0
<i>Shigella sonnei</i>												4(2)	0
<i>Shigella</i> 群不明													0
合計	136	85	94	114	140	97	108	100	92	77	75	85	1203

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）

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>	6	9	4	6	3	4	6	4	5	4	5	6	62
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	4		2		1	2	6	2	4	1	2	25
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2		1	1	6	1	2	7		2	5	1	28
<i>Mycobacterium spp.</i>											1		1
<i>Staphylococcus aureus</i>	6	8	7	5	10	13	7	5	8	2	5	13	89
<i>Staphylococcus</i> コリナリネ陰性	5	3	6	12	5	2	3	3	4	2	4	4	53
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					1	1							2
Anaerobes	1	8	3	5	6	10	10	8	9	5	5	6	76
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	21	32	21	31	31	32	30	33	28	19	26	32	336

## 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
<i>Haemophilus influenzae</i>												1	1
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>							1						1
<i>Staphylococcus aureus</i>	2						1		1				4
<i>Streptococcus, B</i>													0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					1						1		2
合計	2	0	0	0	1	0	2	0	1	0	1	1	8

## 4) 分離材料：血液

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>	50	69	74	50	46	53	62	64	52	65	55	50	690
<i>Salmonella Typhi</i>					1								1
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													0
<i>Salmonella spp.</i>				1	1		2						4
<i>Haemophilus influenzae</i>	1										1	1	3
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	11		5	3	5	1	7	7	7	3	6	63
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	18	26	25	34	23	15	16	16	22	18	25	258
<i>Staphylococcus コリネラータ</i> 陰性	35	31	37	38	35	35	46	53	29	48	36	36	459
<i>Streptococcus, B</i>	4	3		2	3	6	4	1	4	3	2	1	33
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	7		5	6	4				2	6	4	35
<i>Anaerobes</i>	11	8	3	10	5	2	8	4	8	11	4	12	86
<i>Plasmodium spp.</i>					2								2
合計	130	147	140	136	136	128	138	145	116	158	125	135	1634

## 5) 分離材料：咽頭および鼻咽腔からの材料

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>Bordetella pertussis</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>	65	46	85	101	87	78	68	37	65	67	98	136	933
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Streptococcus, A</i>	23	24	12	27	27	13	12	5	4	9	9	15	180
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27	29	40	50	49	46	42	24	56	60	90	88	601
<i>C. diphtheriae</i>													0
合計	115	99	137	178	163	137	122	66	125	136	197	239	1714

## 6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

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>Mycobacterium tuberculosis</i>	4	1	4	4	1	8	6	3	3	5	1	1	41
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	65	64	55	54	43	47	54	50	66	73	51	68	690
<i>Haemophilus influenzae</i>	41	45	47	37	62	32	32	32	24	16	34	47	449
<i>Legionella pneumophila</i>	2		1					1					4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58	47	53	46	40	48	67	54	63	84	58	67	685
<i>Staphylococcus aureus</i>	173	131	178	143	146	141	139	123	161	153	126	166	1780
<i>Streptococcus, A</i>	2		2		2	2		1		3	1	4	17
<i>Streptococcus, B</i>	23	19	15	17	13	17	18	11	16	21	11	11	192
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	49	40	30	35	46	37	28	33	26	31	39	35	429
<i>Anaerobes</i>	1		8										9
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	418	347	393	336	353	332	344	308	359	386	321	399	4296

平成27年12月15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>	238	222	258	218	223	219	230	225	233	212	212	234	2724
<i>Enterobacter spp.</i>	17	11	11	10	16	15	24	27	20	11	21	9	192
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37	37	30	37	36	33	42	37	54	46	39	41	469
<i>Acinetobacter spp.</i>	1	2	2	1	1	1	3	6		4	4	1	26
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	37	48	34	30	33	35	35	41	39	41	46	448
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	23	18	22	24	17	17	21	26	23	20	29	269
<i>Staphylococcus</i> コクサージ陰性	56	51	72	64	92	69	63	62	50	54	42	71	746
<i>Enterococcus spp.</i>	88	68	72	79	62	85	88	54	78	79	71	89	913
<i>Candida albicans</i>	28	27	23	22	19	21	23	22	25	27	22	26	285
合計	523	478	534	487	503	493	525	489	527	495	472	546	6072

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

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>Neisseria gonorrhoeae</i>	3						2	1	1				7
<i>Streptococcus, B</i>	62	45	49	47	47	65	44	66	71	75	49	72	692
<i>Chlamydia trachomatis</i>			1	2	3	3	5	3	1	1	2	3	24
<i>Ureaplasma</i>	0												0
<i>Candida albicans</i>	51	38	48	43	51	45	62	74	57	60	42	39	610
<i>Trichomonas vaginalis</i>													0
合計	116	83	98	92	101	113	113	144	130	136	93	114	1333

*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	7	4	7	16	12	7	5	5	12	6	4	9	94
	MSSA	22	10	17	13	9	7	17	17	17	16	8	11	164
	未検査													0
	件数	29	14	24	29	21	14	22	22	29	22	12	20	258
穿刺液	MRSA	4	3	0	0	7	5	1	1	5	0	1	4	31
	MSSA	2	5	7	5	3	8	6	4	3	2	4	9	58
	未検査													0
	件数	6	8	7	5	10	13	7	5	8	2	5	13	89
髄液	MRSA	1						1		0				2
	MSSA	1						0		1				2
	未検査													0
	件数	2	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	4
血液	MRSA	5	8	7	8	13	6	5	3	0	5	2	12	74
	MSSA	15	10	19	17	21	17	10	13	16	17	16	13	184
	未検査													0
	件数	20	18	26	25	34	23	15	16	16	22	18	25	258
呼吸器	MRSA	79	53	68	51	66	61	47	52	69	48	41	63	698
	MSSA	94	78	110	92	80	80	92	71	92	105	85	103	1082
	未検査													0
	件数	173	131	178	143	146	141	139	123	161	153	126	166	1780
尿	MRSA	15	6	4	11	7	9	7	10	11	7	4	14	105
	MSSA	14	17	14	11	17	8	10	11	15	16	16	15	164
	未検査													0
	件数	29	23	18	22	24	17	17	21	26	23	20	29	269
その他	MRSA													0
	MSSA													0
	未検査													0
	件数													0

## 平成26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 清水美和子  
三井千恵子 佐多徹太郎 綿引 正則

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for  
Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2014)

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

**目的：**本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱 [1] に基づき、平成11年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26年度の微生物学的検査の精度管理調査項目は、牛乳中に添加した生菌数測定および模擬食品（加熱食肉製品加熱殺菌後包装）中の黄色ブドウ球菌検査（成分規格 1,000 以下/g）とし、実施した。検査用試料は、衛生研究所で調製後、各検査機関に配布した。各々の検査結果の報告を集計・解析し、評価を行ったので報告する。

**材料及び方法：**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27年1月20日～1月23日に実施した。

生菌数測定用の検体は、牛乳10 ml、2検体の菌数がそれぞれ  $1.0 \times 10^4$  CFU/ml（牛乳A）、 $2.0 \times 10^3$  CFU/ml（牛乳B）となるよう枯草菌（栄研化学）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0 CFU/mlであった。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。

黄色ブドウ球菌検査用の模擬食品は、市販のコーンビーフに黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌（レシチナーゼ反応およびコアグララーゼ試験陰性）の培養液を表1のように接種して作製した。なお、市販のコーンビーフ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。

**結果：**各機関の成績は表2に示した。牛乳Aについては、報告された測定値（各機関の実測値2回を平均した値）の平均は  $9.81 \times 10^3$  CFU/ml、最大値  $1.09 \times 10^4$  CFU/ml、最小値  $8.65 \times 10^3$  CFU/mlであった。標準偏差（SD）は815.3となり、各機関の結果は平均値  $\pm 2SD$  ( $8.18 \times 10^3 \sim 1.14 \times 10^4$ ) 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  $1.90 \times 10^3$  CFU/ml、最大値  $2.00 \times 10^3$  CFU/ml、最小値  $1.67 \times 10^3$  CFU/mlであった。標準偏差（SD）は114.5となり、各機関の結果は平均値  $\pm 2SD$  ( $1.67 \times 10^3 \sim 2.13 \times 10^3$ ) 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「標準測度」と呼ばれ、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測$

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	菌数
模擬食品 C	黄色ブドウ球菌	$1.32 \times 10^4$ CFU/g
模擬食品 D	ブドウ球菌	$8.00 \times 10^3$ CFU/g
模擬食品 E	黄色ブドウ球菌	$1.32 \times 10^2$ CFU/g

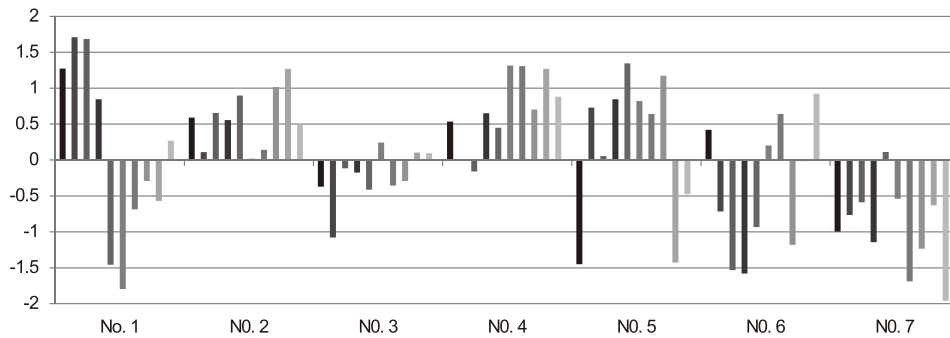


図1.測定値のZスコア(H22～H26)

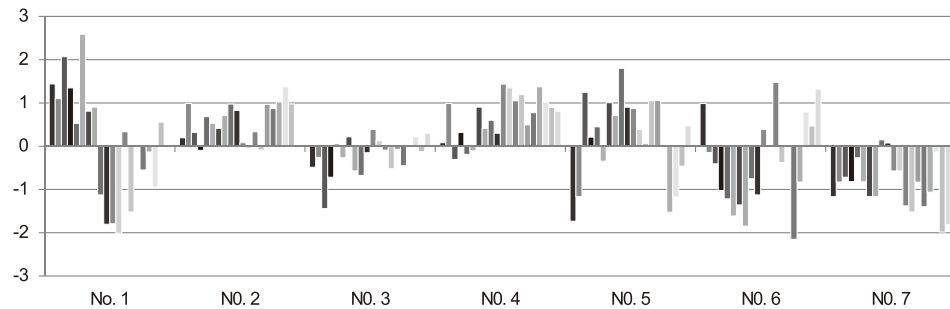


図2.実測値のZスコア(H22～H26)

定値平均) / 測定値標準偏差」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値を評価できる。判断基準は  $|Z| \leq 2$  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。各機関の実測値（1 検体あたり 2 回）においても、Z スコアはすべて 2 未満で、ばらつき度合いは良好と判断された。

平成 22 年度から平成 26 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、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。

各機関の成績は表 1 に示した。すべての機関が食品 C から基準値（1,000 以下 /g）を上回る黄色ブドウ球菌数を検出できた。一方、レシチナーゼ反応およびコアグラゼ試験陰性のブドウ球菌を接種した食品 D からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌は検出されなかった。また、基準値以下の黄色ブドウ球菌数を接種した食品 E からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌数 1,000 以下 /g となり、検査精度に問題はなかった。

**考察：**平成 22～26 年度において、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。これらの機関については、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る。Z スコアが 2 を越えた場合、機関内でその原因を精査し、ばらつきが小さくなるよう改善する必要がある。しかし、この精度管理調査の参加機関は多くないため、全体的な測定値のばらつきが小さい場合、少しの変動が Z スコアに大きく影響する場合があるので、Z スコアだけでその測定方法等を否定はできない。

黄色ブドウ球菌による食中毒は、日本の衛生管理水準が高くなってから減少しているため、食中毒の検査として黄色ブドウ球菌を検出することはまれになった。しかし、洋生菓子からこの菌を検出してはいけないこととなっているため、この検査の必要性は高い。食品検査における黄色ブドウ球菌は、レシチナーゼ反応およびコアグラゼ試験によって同定される。今回、食品 D に添加したブドウ球菌はレシチナーゼ反応陰性であるため、選択培地上で判別可能である。今年度は、すべての機関で食品 D から黄色ブドウ球菌は検出されなかった。また、すべての機関で食品 C からのみ基準値（1,000 以下 /g）を上回る黄色ブドウ球菌数を検出することができ、検査精度に問題はなかった。

表2. 平成26年度富山県食品衛生精度管理調査結果

## A. 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	$9.35 \times 10^3$	9700	-114.3	-0.13	9350	-464.3	-0.57
		9000	-814.3	-0.94			
No. 2	$1.09 \times 10^4$	10700	885.7	1.03	10850	1035.7	1.27
		11000	1185.7	1.37			
No. 3	$9.90 \times 10^3$	9800	-14.3	-0.02	9900	85.7	0.11
		10000	185.7	0.22			
No. 4	$1.09 \times 10^4$	11000	1185.7	1.37	10850	1035.7	1.27
		10700	885.7	1.03			
No. 5	$8.65 \times 10^3$	8500	-1314.3	-1.52	8650	-1164.3	-1.43
		8800	-1014.3	-1.18			
No. 6	$9.80 \times 10^3$	9100	-714.3	-0.83	9800	-14.3	-0.02
		10500	685.7	0.79			
No. 7	$9.30 \times 10^3$	8900	-914.3	-1.06	9300	-514.3	-0.63
		9700	-114.3	-0.13			
平均値(X)		9814.3			9814.3		
標準偏差(SD)		862.8			815.3		
X+2SD		11539.9			11444.9		
X-2SD		8088.7			8183.6		

## B. 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	$1.93 \times 10^3$	1960	65.7	0.56	1925	30.7	0.27
		1890	-4.3	-0.04			
No. 2	$1.95 \times 10^3$	2010	115.7	0.98	1950	55.7	0.49
		1890	-4.3	-0.04			
No. 3	$1.91 \times 10^3$	1880	-14.3	-0.12	1905	10.7	0.09
		1930	35.7	0.30			
No. 4	$2.00 \times 10^3$	2000	105.7	0.89	1995	100.7	0.88
		1990	95.7	0.81			
No. 5	$1.82 \times 10^3$	1790	-54.3	-0.46	1840	-54.3	-0.47
		1840	55.7	0.47			
No. 6	$2.00 \times 10^3$	1950	55.7	0.47	2000	105.7	0.92
		2050	155.7	1.32			
No. 7	$1.67 \times 10^3$	1660	-234.3	-1.98	1670	-224.3	-1.96
		1680	-214.3	-1.81			
平均値(X)		1894.3			1897.9		
標準偏差(SD)		118.2			114.5		
X+2SD		2130.6			2126.8		
X-2SD		1657.9			1668.9		

## C. 模擬食品からの黄色ブドウ球菌検出

機関名	食品C	食品D	食品E
No. 1	基準値以上(14000/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(200/g)
No. 2	基準値以上(16000/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(200/g)
No. 3	基準値以上(16350/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(100/g)
No. 4	基準値以上(15500/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(200/g)
No. 5	基準値以上(13300/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(300/g)
No. 6	基準値以上(11500/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(150/g)
No. 7	基準値以上(14100/g)	基準値以下(0/g)	基準値以下(350/g)

た。黄色ブドウ球菌は選択培地での発育が遅い場合もあり、また、市販生培地での発育形態に特徴があることから、定期的に精度管理を実施し、使用する培地での陽性コントロールの発育状況を確認することが望ましい。

## 文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食1,229号, 平成10年12月16日

# 農作物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価について

堀井 裕子 山下 智富 細野 美香<sup>1</sup> 範本 志保

## Validation on Simultaneous Analytical Method of Pesticide Residues in Agricultural Products

Yuko HORII, Tomohisa YAMASHITA, Mika HOSONO<sup>1</sup> and Shiho NORIMOTO

平成 22 年 12 月の厚生労働省通知により「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」が改正され [1], 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の判断を行う試験法については平成 25 年 12 月 13 日までに妥当性を確認することとなった。当所では県内産農産物について GC/MS を用いた残留農薬一斉分析を行っており, 本試験法について妥当性評価を実施した結果について報告する。

### 方 法

#### 1. 試料

現在検査を実施している農産物を対象とし, 果実として「日本なし」, イオウ化合物を含む野菜として「キャベツ」, 葉緑素を多く含む野菜として「ほうれんそう」, デンプンを多く含む野菜として「さといも」を選択し, 添加を行う試料とした。

#### 2. 試薬

対象農薬は 101 農薬 (129 成分) である。

農薬標準品は和光純薬工業(株), 関東化学(株), 林純薬(株), GLサイエンス(株), Dr.Ehrenstorfer GmbH, SIGMA-ALDRICH, AccuStandard 製を使用して 2ppm 農薬混合標準溶液を調製し, 用時希釈して試験に用いた。

精製用ミニカラムはSUPELCO 製 Dual Layer ENVI-Carb II /PSA (500mg/500mg) を用いた。

#### 3. 試料溶液調製

農薬が不検出の試料 (ブランク試料) に農薬混合標準溶液 (アセトン溶液) を試料中 0.1ppm 及び 0.01ppm となるように添加したものを添加試料とし, 30 分放置後, 抽出操作を行った。試料溶液の調製は当所の検査実施標準作業書に従い, 図

1 のとおり実施した。検量線用溶液はマトリックス標準溶液を使用した。

#### 4. 装置及び測定条件

GC/MS: Agilent Technologies 7890A, 5975C

分析カラム: Inert Cap 5MS/Sil (長さ 30m, 内径 0.25mm, 膜厚 0.25  $\mu$  m)

カラム温度: 50 $^{\circ}$ C (4min) -25 $^{\circ}$ C /min-150 $^{\circ}$ C (0min) -3 $^{\circ}$ C /min-200 $^{\circ}$ C (0min) -8 $^{\circ}$ C /min-280 $^{\circ}$ C (10min) -10 $^{\circ}$ C /min-300 $^{\circ}$ C (5min)

注入方式: 大量注入法 (アイスティサイエンス社製 LVI-S200)

注入量: 100  $\mu$  l

注入口温度: 50 $^{\circ}$ C (0.7min) -120 $^{\circ}$ C /min-250 $^{\circ}$ C (0min) -50 $^{\circ}$ C /min-280 $^{\circ}$ C (43min)

イオン化モード: EI 70eV

インターフェース温度: 250 $^{\circ}$ C

イオン源温度: 230 $^{\circ}$ C

#### 5. 妥当性評価方法

ガイドラインに従い, 選択性, 真度 (回収率), 併行精度, 室内精度, 定量限界 (S/N 比) の確

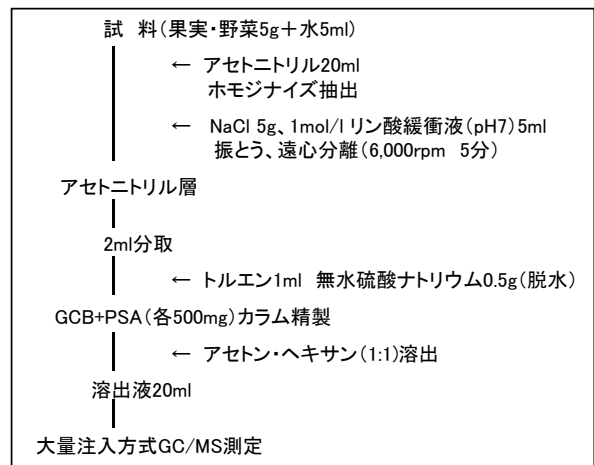


図 1 試験溶液調製法

1. 高岡厚生センター



認を行った。添加濃度は0.1ppm, 0.01ppmの2濃度とし、分析者1人が1日1回(2併行)、5日間分析を実施した。

選択性はブランク試料において妨害ピークがないことを確認した。

定量下限は標準溶液0.25ppb(試料0.01ppm相当)のクロマトグラムにおいてS/N比が10以上であることを確認した。

真度、精度の目標値は、添加濃度0.1ppmのとき、真度70～120%、併行精度15%未満、室内精度20%未満、添加濃度0.01ppmのとき、真度70～120%、併行精度25%未満、室内精度30%未満とした。

### 結果及び考察

妥当性評価結果を表1に示した。果実1種類、野菜3種類の各試料に農薬を添加し129成分について測定したところ、全試料でキャプタン、クロタロニル、ジコホール、トリアジメノール1,2、ピテルタノール1,2の7成分のピークが不明瞭または検出されなかった。さらに、なし、さといもではパクロブトラゾールが、キャベツではパクロブトラゾールに加えホルペットのピークが不明瞭であった。この結果、定量が可能であったのは、日本なし121成分、キャベツ120成分、ほうれんそう122成分、さといも121成分であり、これらについて妥当性評価を行った。

選択性についてブランク試料を測定した結果、なし、キャベツについて妨害ピークは見られなかったが、ほうれんそうはシフルトリン3、トリシクラゾールに、さといもはエディフェンホス、シハロトリン2に妨害ピークがみられた。

定量下限について標準溶液0.25ppbのクロマトグラムを確認した結果、日本なしでは全成分でS/N比 $\geq 10$ であったが、キャベツではホスチアゼート、ほうれんそうではホスチアゼート、デルタメトリン、ジエトフェンカルブ、さといもではホスチアゼート、デルタメトリンがS/N比 $< 10$ であった。

真度、精度について添加濃度0.1ppm, 0.01ppmともに評価の目標値に適合していた成分数は、日本なし：105成分、キャベツ115成分、ほうれんそう111成分、さといも112成分であった。

選択性、定量下限、真度、精度全てについて目標値に適合したのは、日本なし：105成分、キャベツ114成分、ほうれんそう：107成分、さといも：110成分であった。

今回、4種類の農産物について妥当性評価を行った結果、129成分中105～114成分について妥当性が確認された。目標値に適合しなかった評価項目は真度(回収率70%未満)、室内精度が多く、併行精度はほとんどが目標値に適合していた。このことから、日内における検査には問題がないと考えられ、今後はさらに、日間での誤差を最小限にするように、試料溶液や標準液の調製法などを統一して行えるようにすることが重要と考える。

また、今回測定した農産物ごとに、妨害ピークの有無や真度、精度の適合状況は異なっており、他の農作物についても妥当性評価を実施することが望ましく、今後、計画的にデータの収集を行う必要がある。

### 文 献

1. 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、食安発1224第1号、平成22年12月24日

表1. 妥当性評価結果

No.	成分名	日本なし							
		選択性	定量下限	添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
1	α-BHC			90	5.3	8.9	86	4.0	9.6
2	β-BHC			102	2.2	4.7	97	4.0	6.1
3	γ-BHC			98	3.8	7.4	100	2.5	5.1
4	δ-BHC			89	2.9	6.6	75	4.8	8.6
5	p,p'-DDD			94	1.9	5.6	86	3.4	7.6
6	p,p'-DDE			97	1.3	8.0	93	3.0	5.6
7	o,p'-DDT			92	2.7	6.1	88	2.1	10.1
8	p,p'-DDT			83	2.3	5.5	77	3.6	6.0
9	EPN			87	3.9	10.0	87	5.2	7.2
10	アクリナリン			73	2.9	4.8	82	12.7	12.3
11	アラクロール			106	1.3	8.0	106	2.1	4.3
12	アルドリン			95	3.4	8.2	81	5.7	9.6
13	ディルドリン			97	2.7	6.9	81	9.8	11.0
14	イソキサチオン			80	3.1	12.1	87	7.8	12.3
15	イソフェンホス			103	2.6	9.0	105	6.0	11.3
16	イソフェンホスオキソン			81	5.1	17.3	88	3.2	11.9
17	イソプロカルブ			93	4.5	5.1	100	4.3	6.6
18	イプロジオン			68	2.3	10.0	64	12.3	19.4
19	エスプロカルブ			102	3.2	8.0	98	6.4	7.9
20	エチオン			90	2.8	7.0	90	2.7	6.8
21	エディフェンホス			58	5.9	18.1	64	12.3	15.3
22	エトプロホス			99	3.6	4.8	104	2.2	2.6
23	エトリムホス			97	3.3	7.1	93	3.9	3.8
24	エンドリン			99	1.3	8.9	95	4.2	8.2
25	カスサホス			98	3.4	6.6	98	3.3	5.1
26	カフェンストール			46	12.2	21.9	47	10.3	20.9
27	キナルホス			99	2.1	11.0	100	6.2	11.9
28	キャプタン	-	-	-	-	-	-	-	-
29	クレソキシムメチル			97	4.0	7.1	86	3.5	10.5
30	クロルピリホス			95	2.5	6.6	93	6.4	9.2
31	クロルピリホスメチル			100	4.6	9.2	100	2.2	5.4
32	α-クロルフェンピホス			94	4.5	9.7	87	14.6	10.8
33	β-クロルフェンピホス			97	3.4	9.5	100	5.6	13.5
34	クロルプロファム			97	3.4	6.0	93	1.8	7.5
35	クロロタロニル	-	-	-	-	-	-	-	-
36	クロロベンジレート			94	2.1	5.6	88	4.0	7.5
37	シアノホス			91	3.4	7.5	89	2.9	8.0
38	ジエトフェンカルブ			112	1.8	3.4	90	9.0	16.2
39	ジクロルホス			68	13.0	24.9	67	6.1	17.3
40	ジコホル	-	-	-	-	-	-	-	-
41	シハロリン1			85	2.5	11.7	88	12.1	13.1
42	シハロリン2			92	3.6	11.0	91	9.4	13.8
43	ジフェノコナゾール1			91	2.9	7.9	96	3.7	6.1
44	ジフェノコナゾール2			96	6.4	8.4	91	5.3	7.6
45	シフルトリン1			81	7.1	7.5	83	8.8	14.8
46	シフルトリン2			75	2.9	3.1	75	3.5	5.1
47	シフルトリン3			82	4.7	7.6	76	6.3	5.6
48	シフルトリン4			94	12.1	14.5	80	10.5	13.3
49	シヘルメトリン1			81	5.5	9.8	89	12.0	11.8
50	シヘルメトリン2			80	5.5	13.9	74	10.3	25.1
51	シヘルメトリン3			81	6.0	16.3	72	13.2	23.7
52	シヘルメトリン4			77	6.7	13.1	77	9.5	20.2
53	ジメチルピホス(E)			71	5.5	13.7	65	11.2	22.2
54	ジメチルピホス(Z)			82	7.0	16.4	78	9.0	14.8
55	ジメトエート			94	3.1	14.4	100	2.7	10.1
56	ダイアジノン			101	2.4	5.5	94	3.7	4.6
57	チオベンカルブ			97	2.9	8.4	91	9.0	9.9
58	テニルクロール			95	2.6	10.2	97	3.0	9.7
59	テブコナゾール			93	3.0	8.0	98	5.2	7.1
60	テブフェンピラト			93	3.1	5.0	91	7.6	9.2
61	テフルトリン			103	1.9	7.9	100	1.7	3.6
62	テルタメトリン			56	7.7	23.7	73	3.9	8.8
63	トラロメトリン			63	6.4	12.8	71	12.2	12.2
64	テルブホス			101	3.9	12.5	101	3.2	7.7
65	トリアジメノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
66	トリアジメノール2	-	-	-	-	-	-	-	-

(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	日本なし					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
67	トリシクラゾール			90	1.8	11.7	79	3.9	8.3
68	トリフルラリン			92	4.9	9.2	100	1.7	6.9
69	トルクロホスメチル			103	4.2	7.8	104	1.7	4.7
70	パクロフトラゾール	-	-	-	-	-	-	-	-
71	パラチオン			85	2.1	11.0	92	2.5	3.7
72	パラチオンメチル			81	2.9	11.8	88	3.7	7.2
73	ハルフェンプロックス			87	3.5	7.7	91	2.8	5.7
74	ピテルタノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
75	ピテルタノール2	-	-	-	-	-	-	-	-
76	ピフェントリン			93	2.2	5.1	87	3.7	5.7
77	ピラクロホス			57	6.8	14.8	64	6.3	10.5
78	ピリダフェンチオン			81	3.0	7.1	83	3.7	9.1
79	ピリダヘン			95	2.6	10.3	89	5.3	18.2
80	ピリフェノックス(E)			57	13.3	37.5	85	4.7	12.9
81	ピリフェノックス(Z)			63	11.9	33.2	88	5.8	14.7
82	ピリプロキシフェン			88	2.4	7.1	87	3.2	7.6
83	ピリミホスメチル			103	4.1	8.2	109	4.6	6.3
84	ピンクロゾリン			99	2.1	4.7	95	1.4	3.2
85	フェナリモル			96	2.8	9.7	99	6.4	11.1
86	フェントロチオン			81	3.4	11.8	90	7.2	11.0
87	フェンスルホチオン			92	2.6	9.4	92	4.3	12.9
88	フェントエート			90	2.0	7.9	87	3.1	13.6
89	フェンバレレート1			78	2.2	5.2	83	6.9	8.5
90	フェンバレレート2			76	3.7	6.8	82	5.2	8.9
91	フェンプロハトリン			92	2.0	5.3	90	9.9	10.4
92	フサライド			72	7.1	17.4	70	8.3	19.5
93	フタクロール			94	3.0	5.5	84	4.9	10.7
94	フタミホス			92	3.2	8.2	95	3.5	8.3
95	フラメピル			97	2.4	7.7	97	3.6	10.1
96	フルジオキシニル			91	2.1	8.2	87	5.4	7.9
97	フルシトリネート1			83	1.5	5.8	83	5.5	5.4
98	フルシトリネート2			78	3.1	6.2	82	5.7	7.7
99	フルシラゾール			97	2.9	10.7	99	5.5	13.2
100	フルトラニル			99	3.1	12.1	98	5.6	15.0
101	フルバリネート1			61	8.4	24.0	76	5.0	7.9
102	フルバリネート2			56	8.6	26.0	72	4.2	9.9
103	フレチラクロール			99	1.9	9.3	97	7.0	10.6
104	フロシミドン			97	1.9	6.0	93	5.8	9.6
105	フロチオホス			94	1.6	5.9	84	3.1	11.3
106	フロヒコナゾール1			96	3.4	9.7	100	6.5	9.3
107	フロヒコナゾール2			97	1.9	9.2	101	4.6	10.7
108	フロモフロヒレート			97	2.7	9.3	100	1.9	11.7
109	ヘキサコナゾール			96	2.9	7.3	94	5.0	9.2
110	ヘブタクロル			92	2.9	10.0	87	5.6	9.6
111	ヘブタクロルエホキシド			100	2.2	6.9	93	4.2	7.2
112	ヘルメトリン1			90	3.6	5.6	87	10.1	16.1
113	ヘルメトリン2			92	1.5	6.2	86	5.2	6.5
114	ヘンコナゾール			100	3.3	8.2	102	4.5	7.2
115	ヘンディメタリン			90	1.9	7.0	100	3.7	5.3
116	ホサロン			89	2.5	14.0	94	3.3	12.7
117	ホスチアセート1			66	6.8	16.2	65	6.5	25.1
118	ホスチアセート2			64	6.6	16.1	71	7.0	14.9
119	ホスマット			59	7.8	15.9	63	5.8	13.2
120	ホルベット			45	5.1	10.1	60	11.7	12.3
121	マイルレックス			94	2.2	6.2	84	6.0	6.5
122	マラチオン			91	2.4	15.2	90	4.0	11.3
123	マイクロブタニル			94	4.5	7.7	96	7.7	8.9
124	メチダチオン			77	4.6	12.6	72	2.5	20.6
125	メトキシクロール			87	3.8	8.5	92	2.0	11.7
126	メトラクロール			98	1.6	6.0	94	4.5	5.1
127	メフェナセツト			91	3.3	13.1	91	1.5	12.4
128	メフロニル			89	5.6	9.0	97	6.3	5.6
129	レナシル			90	2.4	13.9	94	4.2	11.9

(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	キャベツ					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
1	α-BHC			93	6.0	7.5	91	6.4	19.1
2	β-BHC			101	5.7	9.6	100	3.8	8.6
3	γ-BHC			100	4.1	4.8	102	10.2	11.0
4	δ-BHC			95	5.7	10.4	91	5.4	9.6
5	p,p'-DDD			89	3.9	9.3	85	3.7	10.1
6	p,p'-DDE			96	1.9	6.9	92	5.0	11.1
7	o,p'-DDT			96	4.5	8.2	95	7.4	14.6
8	p,p'-DDT			83	5.8	11.9	81	1.9	14.0
9	EPN			92	5.3	11.2	94	5.8	15.1
10	アクリナトリン			85	6.2	8.2	85	7.7	20.0
11	アラクロール			103	1.7	2.0	106	4.4	9.7
12	アルドリン			94	4.1	6.1	93	9.9	14.0
13	ディルドリン			94	6.7	13.4	89	11.5	15.2
14	イソキサチオン			77	9.0	14.2	86	8.0	23.7
15	イソフェンホス			103	3.1	6.5	104	3.3	11.4
16	イソフェンホスオキソン			92	9.7	12.6	101	8.8	10.7
17	イソプロカルブ			105	5.4	9.5	102	4.1	13.6
18	イプロジオン			86	7.6	14.1	84	3.2	20.1
19	エスプロカルブ			101	2.1	3.1	98	4.0	17.6
20	エチオン			87	4.7	7.9	88	1.3	9.2
21	エディフェンホス			65	8.6	22.3	65	7.7	21.7
22	エトプロホス			101	5.8	8.8	106	2.7	9.0
23	エトリムホス			100	5.0	8.2	103	4.0	6.0
24	エンドリン			104	4.6	7.5	97	10.8	18.0
25	カスサホス			104	4.6	7.3	109	6.1	9.1
26	カフェンストール			73	11.4	21.9	50	18.7	44.8
27	キナルホス			101	1.6	6.1	108	4.2	13.5
28	キャプタン	-	-	-	-	-	-	-	-
29	クレソキシムメチル			92	4.8	9.2	88	7.5	10.1
30	クロルピリホス			96	4.6	8.9	110	3.0	10.2
31	クロルピリホスメチル			100	2.5	2.8	102	4.1	8.5
32	α-クロルフェンビンホス			100	5.5	10.4	94	22.1	20.2
33	β-クロルフェンビンホス			100	5.0	5.4	103	5.1	13.3
34	クロルプロファム			105	4.5	7.9	98	3.1	15.6
35	クロロタロニル	-	-	-	-	-	-	-	-
36	クロロベンジレート			89	4.8	6.6	87	2.1	15.7
37	シアノホス			97	5.2	13.0	104	2.1	4.6
38	ジエトフェンカルブ			105	2.8	8.1	87	12.7	21.3
39	ジクロルホス			72	11.6	13.5	70	13.8	27.8
40	ジコホール	-	-	-	-	-	-	-	-
41	シハロリン1			93	4.5	5.6	97	4.2	9.4
42	シハロリン2			94	5.7	11.9	82	13.5	20.5
43	ジフェノコナゾール1			88	4.6	8.7	87	19.0	18.9
44	ジフェノコナゾール2			91	4.5	9.1	95	6.6	14.9
45	シフルトリン1			82	6.7	10.7	88	12.7	23.8
46	シフルトリン2			85	3.7	11.6	91	6.3	13.3
47	シフルトリン3			89	3.9	10.2	80	8.4	17.1
48	シフルトリン4			86	9.4	15.6	94	8.9	8.1
49	シヘルメトリン1			94	2.8	7.8	98	5.1	13.4
50	シヘルメトリン2			93	3.3	5.8	98	10.7	16.0
51	シヘルメトリン3			92	4.3	8.1	90	9.0	7.4
52	シヘルメトリン4			94	4.8	6.4	102	9.4	8.3
53	ジメチルビンホス(E)			82	8.1	12.1	90	2.1	14.9
54	ジメチルビンホス(Z)			93	5.1	5.4	95	6.4	7.2
55	ジメトエート			100	5.9	4.7	102	7.2	9.5
56	ダイアジノン			100	4.9	12.9	104	6.7	8.6
57	チオベンカルブ			94	3.8	11.8	107	6.0	7.5
58	テニルクロール			91	5.5	8.7	85	7.4	12.3
59	テフコナゾール			90	5.7	7.9	101	6.6	14.1
60	テフフェンピラト			87	3.6	8.7	86	2.4	12.3
61	テフルトリン			100	2.6	2.8	99	3.3	10.6
62	テルタメトリン			85	5.8	6.7	98	2.4	10.7
63	トラロメトリン			88	9.1	16.1	83	12.4	27.1
64	テルフホス			102	5.2	15.8	99	5.1	12.3
65	トリアジメノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
66	トリアジメノール2	-	-	-	-	-	-	-	-

(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	キャベツ					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
67	トリシクラーゾール			92	5.3	11.1	101	6.1	10.3
68	トリフルラリン			98	5.7	8.1	103	4.2	11.0
69	トルクロホスメチル			102	2.3	3.3	102	4.1	8.1
70	パクロブトラゾール	-	-	-	-	-	-	-	-
71	パラチオン			95	6.7	10.5	109	5.6	11.0
72	パラチオンメチル			97	7.3	10.8	106	3.9	11.8
73	ハルフェンプロックス			84	5.2	10.9	96	1.5	9.5
74	ピテルタノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
75	ピテルタノール2	-	-	-	-	-	-	-	-
76	ピフェントリン			87	4.2	8.7	85	3.6	9.9
77	ピラクロホス			57	10.4	18.0	57	7.5	25.1
78	ピリダフェンチオン			79	6.1	12.8	89	2.8	12.1
79	ピリダベン			93	4.9	5.1	92	4.6	7.6
80	ピリフェノックス(E)			100	4.8	10.2	109	3.2	6.8
81	ピリフェノックス(Z)			100	3.5	8.7	110	1.9	8.6
82	ピリプロキシフェン			84	4.1	9.5	86	2.4	10.6
83	ピリミホスメチル			105	2.6	4.2	108	4.7	8.6
84	ピンクロソリン			99	4.7	9.0	104	4.0	11.2
85	フェナリモル			94	2.8	7.5	95	7.7	8.3
86	フェントロチオン			93	7.0	11.0	106	5.7	8.9
87	フェンシルホチオン			91	4.0	7.7	75	10.6	11.0
88	フェントエート			88	6.2	8.8	97	2.8	7.3
89	フェンバレレート1			85	4.8	10.9	84	8.6	28.8
90	フェンバレレート2			87	5.3	10.9	87	21.0	27.6
91	フェンプロバトリン			86	4.0	8.1	84	5.2	10.5
92	フサライド			78	4.3	7.7	89	5.4	10.0
93	ブタクロール			90	5.0	8.5	92	4.3	9.3
94	ブタミホス			95	5.4	8.3	103	4.6	7.1
95	フラメトピル			94	5.6	7.8	94	4.0	4.1
96	フルシオキソニル			87	5.4	9.1	98	6.6	10.6
97	フルシトリネート1			86	3.9	8.1	95	4.6	13.2
98	フルシトリネート2			86	5.0	9.7	89	7.2	13.9
99	フルシラゾール			95	3.8	12.5	95	11.8	12.9
100	フルトラニル			98	5.0	8.6	97	2.9	16.4
101	フルバリネート1			90	7.2	8.6	97	7.1	11.3
102	フルバリネート2			90	7.0	8.2	97	4.3	10.6
103	プレチラクロール			96	4.0	8.2	93	5.8	13.7
104	プロシムドン			93	5.1	7.8	92	4.7	7.4
105	プロチオホス			90	4.1	7.8	94	2.7	5.8
106	プロピコナゾール1			89	6.7	8.6	88	9.6	18.2
107	プロピコナゾール2			96	7.2	10.2	91	9.6	8.6
108	プロモプロピレート			94	3.7	6.0	96	2.6	4.4
109	ヘキサコナゾール			100	8.2	6.8	105	5.6	13.9
110	ヘフタクロル			88	4.6	8.5	87	5.4	8.5
111	ヘフタクロルエホキシド			94	5.1	8.4	92	4.4	10.0
112	ヘルメトリン1			83	6.1	10.3	86	6.6	14.8
113	ヘルメトリン2			86	5.9	11.4	85	3.2	16.9
114	ヘンコナゾール			104	4.0	7.7	100	4.4	12.0
115	ベンディメタリン			94	6.2	9.8	109	4.5	8.4
116	ホサロン			88	6.0	8.3	91	7.3	12.9
117	ホスチアセート1		×	72	8.3	9.2	77	25.0	36.4
118	ホスチアセート2		×	72	14.7	14.0	80	17.0	19.2
119	ホスメット			53	9.3	23.1	62	3.6	23.9
120	ホルペット	-	-	-	-	-	-	-	-
121	マイルレックス			88	5.0	9.0	86	18.7	25.8
122	マラチオン			99	3.4	3.2	105	5.6	8.5
123	マイクロブタニル			102	5.4	5.8	102	7.3	18.2
124	メチダチオン			83	6.7	11.8	90	4.2	12.9
125	メキシクロール			92	5.0	6.2	88	3.7	9.2
126	メトラクロール			96	3.9	8.2	103	2.5	9.5
127	メフェナセツ			90	5.4	8.4	94	7.4	10.1
128	メプロニル			90	4.0	10.5	86	7.3	16.2
129	レナシル			94	5.0	9.4	98	6.7	7.1

(表1の続き)

No.	成分名	ほうれんそう								
		選択性	定量下限	添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm			
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	
1	α-BHC			115	1.3	11.7	113	7.4	14.9	
2	β-BHC			115	1.5	11.0	109	3.3	7.0	
3	γ-BHC			114	1.3	11.9	133	36.3	35.6	
4	δ-BHC			110	1.5	13.4	103	7.1	8.1	
5	p,p'-DDD			114	1.4	12.3	110	2.9	8.9	
6	p,p'-DDE			110	1.0	14.8	106	6.3	11.1	
7	o,p'-DDT			111	1.0	16.0	106	5.8	10.4	
8	p,p'-DDT			112	2.0	14.5	107	2.3	12.2	
9	EPN			115	0.9	15.2	107	3.1	9.4	
10	アクリナトリン			103	9.0	9.6	106	4.8	14.4	
11	アラクロール			110	1.5	14.8	109	5.9	15.4	
12	アルドリン			112	0.8	14.0	103	8.6	19.9	
13	ディルドリン			109	3.3	13.5	88	10.4	18.0	
14	イソキサチオン			106	2.1	14.8	108	4.4	8.8	
15	イソフェノス			109	2.2	15.9	105	6.4	22.1	
16	イソフェノスオキソン			104	4.8	18.3	106	5.5	14.3	
17	イソプロカルブ			117	2.0	8.8	109	4.2	7.1	
18	イプロジオン			105	4.5	12.1	104	7.3	22.4	
19	エスプロカルブ			109	1.2	15.0	104	7.5	8.2	
20	エチオン			113	1.0	12.9	109	3.8	8.0	
21	エディフェノス			82	9.8	22.3	74	20.4	28.7	
22	エトプロス			118	0.7	9.1	117	3.8	4.3	
23	エトリムス			112	1.0	9.4	111	2.9	5.9	
24	エンドリン			111	1.1	16.5	103	11.9	11.3	
25	カスサホス			113	1.7	5.8	116	1.8	4.8	
26	カフェンストロール			79	8.5	29.7	73	17.0	28.7	
27	キナルホス			108	2.1	15.9	111	4.9	10.1	
28	キャブタン	-	-	-	-	-	-	-	-	
29	クレソキシムメチル			112	1.8	10.6	107	4.2	14.7	
30	クロルピリホス			109	1.8	11.0	95	6.5	24.5	
31	クロルピリホスメチル			110	2.6	15.0	110	4.5	12.1	
32	α-クロルフェンピホス			109	5.1	17.0	90	19.8	18.2	
33	β-クロルフェンピホス			106	3.9	17.1	111	11.2	20.0	
34	クロルプロファミ			113	1.0	8.9	108	4.6	10.9	
35	クロロタロニル	-	-	-	-	-	-	-	-	
36	クロロベンジレート			113	0.8	13.5	111	2.2	9.5	
37	シアノホス			112	2.2	11.1	110	3.6	8.3	
38	ジエトフェンカルブ		×	109	2.7	8.7	96	16.8	15.1	
39	ジクロルホス			95	5.8	19.7	93	6.7	16.4	
40	ジコホール	-	-	-	-	-	-	-	-	
41	シハロリン1			102	3.6	14.4	104	4.9	11.1	
42	シハロリン2			107	3.8	17.0	96	14.5	26.6	
43	ジフェノコナゾール1			115	1.9	13.6	114	3.3	15.5	
44	ジフェノコナゾール2			117	1.4	14.5	112	8.0	10.6	
45	シフルトリン1			104	9.2	11.0	105	11.2	8.2	
46	シフルトリン2			102	9.2	15.0	101	11.8	13.8	
47	シフルトリン3	×		107	3.9	10.4	104	9.3	16.4	
48	シフルトリン4			98	4.3	9.0	94	4.8	8.1	
49	シヘルメトリン1			98	7.7	16.5	94	14.2	16.1	
50	シヘルメトリン2			90	7.7	16.4	94	10.1	18.6	
51	シヘルメトリン3			93	4.8	13.6	126	11.6	34.0	
52	シヘルメトリン4			90	9.1	14.1	99	6.0	12.9	
53	ジメチルピホス(E)			94	5.9	17.9	92	10.3	16.4	
54	ジメチルピホス(Z)			100	6.6	20.4	91	8.8	21.5	
55	ジメトエト			105	3.5	20.9	116	37.8	42.5	
56	ダイアジノン			114	2.8	7.7	108	5.2	7.0	
57	チオベンカルブ			109	1.9	9.9	105	5.2	13.0	
58	テニルクロール			111	2.9	17.0	105	4.1	14.9	
59	テブコナゾール			112	1.6	13.5	111	2.4	5.3	
60	テブフェンピラト			115	1.3	12.5	110	2.9	11.1	
61	テフルトリン			112	0.6	12.7	113	6.5	12.7	
62	テルタメトリン		×	79	10.5	17.0	84	21.3	22.1	
63	トラロメトリン			106	8.5	11.1	97	6.2	10.6	
64	テルブホス			113	1.5	12.8	119	4.6	9.3	
65	トリアジメノール1	-	-	-	-	-	-	-	-	
66	トリアジメノール2	-	-	-	-	-	-	-	-	

(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	ほうれんそう					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
67	トリシクラーゾール	×		110	1.3	17.5	110	4.5	14.8
68	トリフルラリン			112	2.0	11.8	120	5.0	9.0
69	トルクロホスメチル			111	1.6	14.2	109	6.5	12.0
70	パクロフトラゾール			112	2.0	18.8	106	8.6	25.1
71	パラチオン			110	1.9	13.6	110	4.1	4.7
72	パラチオンメチル			106	2.5	15.5	105	8.3	8.1
73	ハルフェンプロックス			112	3.0	12.8	109	3.2	9.1
74	ピテルタノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
75	ピテルタノール2	-	-	-	-	-	-	-	-
76	ピフェントリン			114	1.6	11.7	113	2.7	14.1
77	ピラクロホス			95	5.1	18.8	89	8.8	26.5
78	ピリタフェンチオン			110	1.2	12.1	110	3.9	10.4
79	ピリタベン			112	1.3	16.5	108	5.1	10.3
80	ピリフェノックス(E)			108	2.4	13.1	107	5.5	6.6
81	ピリフェノックス(Z)			109	1.4	13.8	108	2.3	6.6
82	ピリプロキシフェン			113	1.2	12.2	114	1.4	12.5
83	ピリミホスメチル			110	2.1	14.7	113	5.8	10.2
84	ピンクロソリン			111	1.6	11.6	106	3.9	7.4
85	フェナリモル			114	2.1	18.2	115	3.2	14.3
86	フェントロチオン			107	1.9	13.4	102	9.0	7.7
87	フェンシルホチオン			110	3.0	12.7	97	4.0	15.2
88	フェントエート			107	2.5	14.6	107	6.6	9.1
89	フェンバレレート1			102	4.2	6.1	91	18.9	17.0
90	フェンバレレート2			104	3.1	11.4	100	4.6	16.7
91	フェンプロバトリン			112	2.6	10.4	104	4.5	12.8
92	フサライド			85	12.2	21.3	84	10.6	23.9
93	ブタクロール			111	0.6	11.9	106	3.5	9.8
94	ブタミホス			114	1.9	12.8	113	3.4	4.4
95	フラメトピル			113	2.5	17.2	115	7.9	11.1
96	フルシオキソニル			114	2.7	13.6	106	4.6	12.7
97	フルシトリネート1			107	2.9	10.6	107	2.7	13.5
98	フルシトリネート2			106	4.2	9.5	106	3.0	8.6
99	フルシラゾール			112	1.5	16.2	113	5.3	9.8
100	フルトラニル			112	1.7	15.4	110	5.4	10.6
101	フルバリネート1			72	8.0	14.6	92	6.6	19.6
102	フルバリネート2			71	9.2	14.7	91	5.5	21.3
103	フレチラクロー			109	1.8	17.7	106	10.1	19.2
104	プロシムドン			114	2.0	13.2	107	7.1	10.4
105	プロチオホス			112	1.6	11.7	104	4.2	10.0
106	プロピコナゾール1			111	2.4	18.0	116	6.4	12.2
107	プロピコナゾール2			114	5.5	18.2	117	3.9	9.1
108	プロモプロピレート			113	1.3	18.3	112	4.8	14.2
109	ヘキサコナゾール			114	1.2	11.8	113	3.4	7.5
110	ヘフタクロル			113	2.5	8.9	108	2.3	7.3
111	ヘフタクロルエホキシド			114	2.2	11.0	110	2.4	7.6
112	ベルメリン1			112	1.7	11.0	111	11.4	18.5
113	ベルメリン2			113	0.9	11.0	114	3.8	10.8
114	ベンコナゾール			111	2.1	17.1	110	5.9	11.6
115	ベンディメタリン			112	1.6	13.7	113	4.8	6.3
116	ホサロン			107	4.1	18.3	102	6.1	19.7
117	ホスチアセート1		×	90	9.3	25.3	54	28.5	85.5
118	ホスチアセート2		×	83	11.2	25.2	52	21.6	74.7
119	ホスメット			99	4.1	19.9	95	6.5	17.5
120	ホルベット			16	17.9	49.7	56	17.7	29.4
121	マイレックス			114	1.3	12.9	110	1.6	14.1
122	マラチオン			106	2.8	16.5	105	9.1	20.3
123	マイクロブタニル			113	1.1	12.9	111	4.8	12.5
124	メチダチオン			101	3.4	18.4	82	6.9	57.5
125	メキシクロール			112	1.7	17.8	109	7.1	9.7
126	メトラクロール			111	1.8	11.0	104	6.5	9.5
127	メフェナセツ			112	2.2	18.0	109	3.4	14.2
128	メプロニル			113	2.4	14.6	117	6.0	12.8
129	レナシル			112	2.3	17.4	112	8.0	16.6

(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	さといも					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
1	α-BHC			98	4.2	16.3	93	7.1	15.7
2	β-BHC			99	3.5	12.4	82	9.9	16.0
3	γ-BHC			104	4.0	12.6	94	5.0	18.1
4	δ-BHC			97	2.8	13.9	90	7.0	11.0
5	p,p'-DDD			94	2.6	8.8	85	4.8	6.2
6	p,p'-DDE			94	7.4	9.2	85	3.2	14.2
7	o,p'-DDT			95	3.6	9.7	90	2.4	14.0
8	p,p'-DDT			92	3.3	9.9	88	3.2	6.3
9	EPN			96	5.5	9.5	82	6.7	18.6
10	アクリナトリン			81	7.0	18.1	90	14.2	13.3
11	アラクロール			104	3.7	11.7	101	2.3	12.5
12	アルドリ			97	4.4	15.1	86	7.7	20.8
13	テイルトリ			95	6.5	9.1	86	10.4	11.3
14	イソキサチオン			85	6.5	10.8	90	6.1	10.7
15	イソフェノス			100	4.8	10.4	95	1.8	12.5
16	イソフェノスオキソン			88	6.8	15.9	93	4.8	13.2
17	イソプロカルブ			103	4.9	12.6	100	4.5	16.7
18	イプロジオン			79	4.6	13.4	88	12.4	16.4
19	エスプロカルブ			99	4.3	9.8	92	6.4	14.8
20	エチオン			96	3.6	10.0	94	4.1	5.4
21	エチフェノス	×		73	7.6	12.1	55	24.2	26.3
22	エトロホス			104	4.4	10.0	106	5.5	14.6
23	エトリムホス			99	3.7	12.2	96	4.1	10.4
24	エンドリン			99	4.3	11.4	91	3.5	14.4
25	カスサホス			98	3.3	17.2	102	4.1	14.0
26	カフェンストール			77	10.3	13.2	54	23.7	40.8
27	キナルホス			99	4.2	10.6	93	3.1	14.9
28	キャブタン	-	-	-	-	-	-	-	-
29	クレソキシムメチル			98	2.5	10.7	91	5.7	10.8
30	クロルピリホス			93	2.8	11.5	86	5.4	29.3
31	クロルピリホスメチル			96	3.4	18.0	96	4.4	17.4
32	α-クロルフェンピホス			96	5.2	11.9	84	12.4	11.7
33	β-クロルフェンピホス			96	4.3	11.2	87	2.6	13.5
34	クロルプロファミ			98	3.3	16.0	99	3.3	9.7
35	クロロタロニル	-	-	-	-	-	-	-	-
36	クロロベンシレート			91	3.8	3.7	92	5.7	12.9
37	シアノホス			97	4.2	14.4	95	7.3	11.2
38	ジエトフェンカルブ			107	1.3	6.7	88	12.7	20.4
39	ジクロルホス			71	5.9	31.7	60	9.8	37.5
40	ジコホール	-	-	-	-	-	-	-	-
41	シハロリン1			86	4.2	16.1	88	5.6	13.9
42	シハロリン2	×		93	5.1	10.0	73	9.9	23.1
43	ジフェノコナゾール1			93	2.1	15.3	93	3.5	15.4
44	ジフェノコナゾール2			94	4.0	16.1	94	13.2	11.6
45	シフルトリ1			86	6.5	13.8	91	7.7	7.8
46	シフルトリ2			84	7.6	11.1	91	12.9	16.3
47	シフルトリ3			87	3.2	11.3	78	12.4	19.1
48	シフルトリ4			86	8.1	15.9	85	11.9	10.6
49	シヘルメトリ1			83	5.4	15.2	88	7.4	18.5
50	シヘルメトリ2			81	6.5	18.5	90	5.5	14.0
51	シヘルメトリ3			80	7.9	16.1	89	9.2	16.6
52	シヘルメトリ4			81	8.0	17.7	95	8.1	14.3
53	ジメチルピホス(E)			77	5.5	12.6	72	5.3	21.0
54	ジメチルピホス(Z)			89	4.1	15.4	77	12.1	24.3
55	ジメトエート			96	5.9	17.6	93	3.1	22.7
56	ダイアジノン			93	3.3	19.6	100	4.7	12.0
57	チオベンカルブ			95	4.3	11.6	92	8.7	14.4
58	テニルクロール			97	2.9	11.3	92	4.6	13.0
59	テブコナゾール			96	3.0	12.1	96	4.6	7.5
60	テブフェンピラト			97	3.0	12.1	89	5.2	10.4
61	テフルトリ			101	4.1	11.7	96	3.8	16.4
62	テルタメトリ		×	65	14.7	31.8	84	6.3	7.8
63	トラロメトリ			72	11.5	18.9	85	12.9	15.4
64	テルブホス			101	5.3	15.8	96	2.6	23.0
65	トリアジメノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
66	トリアジメノール2	-	-	-	-	-	-	-	-



(表1の続き)

No.	成分名	選択性	定量下限	さといも					
				添加濃度0.1ppm			添加濃度0.01ppm		
				真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	室内精度 RSD%
67	トリシクザール			88	4.3	15.5	81	8.6	23.2
68	トリフルラリン			95	4.6	18.1	102	2.4	19.2
69	トルクロホスメチル			100	3.2	14.3	99	3.1	14.3
70	パクロフトラゾール	-	-	-	-	-	-	-	-
71	パラチオン			93	5.2	10.3	102	6.0	6.3
72	パラチオンメチル			89	4.6	13.7	92	4.4	14.9
73	ハルフェンプロックス			90	3.4	12.5	94	2.3	5.3
74	ピテルタノール1	-	-	-	-	-	-	-	-
75	ピテルタノール2	-	-	-	-	-	-	-	-
76	ピフェントリン			96	2.6	10.2	88	3.9	11.3
77	ピラクロホス			73	7.8	16.1	70	7.2	8.9
78	ピリダフェンチオン			92	3.8	12.1	96	3.8	9.8
79	ピリダベン			96	2.8	8.6	94	2.0	13.9
80	ピリフェノックス(E)			95	3.9	12.6	94	7.5	8.5
81	ピリフェノックス(Z)			95	5.1	11.3	93	8.4	10.6
82	ピリプロキシフェン			91	2.2	11.1	89	3.3	7.6
83	ピリミホスメチル			101	3.6	10.1	97	4.9	15.0
84	ピンクロゾリン			98	3.8	9.2	93	1.7	10.5
85	フェナリモル			96	3.6	9.4	93	5.0	15.3
86	フェントロチオン			89	5.6	12.4	89	4.9	11.8
87	フェンシルホチオン			95	3.9	9.5	76	10.5	21.0
88	フェントエート			93	4.3	11.4	92	5.9	7.3
89	フェンバレレート1			82	5.2	18.0	83	13.5	27.4
90	フェンバレレート2			79	5.6	11.3	89	10.7	16.7
91	フェンプロパトリン			96	2.3	11.2	80	15.1	18.5
92	フサライド			66	8.3	14.2	56	10.2	22.5
93	ブタクロール			95	4.1	11.4	85	6.7	7.8
94	ブタミホス			102	5.0	15.6	100	6.2	14.4
95	フラメトピル			100	5.2	9.4	91	7.1	14.8
96	フルシオキソニル			94	1.8	15.7	90	7.7	11.8
97	フルシトリネート1			84	2.5	14.0	86	6.3	7.2
98	フルシトリネート2			82	3.4	14.2	89	4.9	10.2
99	フルシラゾール			97	4.0	9.5	99	4.4	9.0
100	フルトラニル			96	3.0	5.2	91	5.0	14.9
101	フルバリネート1			64	11.6	31.4	82	7.9	19.8
102	フルバリネート2			63	13.2	34.0	84	7.0	13.7
103	フレチラクロール			97	3.9	11.1	91	5.7	14.9
104	プロシミドン			99	3.1	10.5	95	6.6	12.4
105	プロチオホス			93	4.7	10.4	88	13.1	12.5
106	プロピコナゾール1			99	4.7	12.9	95	4.5	13.4
107	プロピコナゾール2			98	2.9	12.9	94	6.6	13.4
108	プロモプロピレート			97	4.5	10.7	91	7.7	14.4
109	ヘキサコナゾール			98	2.3	11.5	94	4.9	7.5
110	ヘフタクロル			91	4.4	17.1	87	7.3	13.7
111	ヘフタクロルエホキシド			99	3.6	12.5	90	6.2	10.8
112	ベルメリン1			90	4.8	9.8	76	10.1	26.7
113	ベルメリン2			93	3.7	12.0	89	4.6	8.3
114	ベンコナゾール			99	4.0	11.0	95	1.7	13.6
115	ベンディメタリン			93	6.4	10.8	103	3.5	6.3
116	ホサロン			90	3.7	12.3	88	3.4	19.2
117	ホスチアセート1		×	79	9.7	12.3	76	19.9	18.0
118	ホスチアセート2		×	73	8.2	12.5	70	23.7	26.7
119	ホスメット			73	6.6	9.9	81	5.3	20.7
120	ホルベット			31	9.0	19.1	69	9.1	15.0
121	マイレックス			96	2.6	10.3	85	5.6	11.5
122	マラチオン			93	4.6	13.7	84	4.8	17.4
123	マイクロブタニル			98	3.3	13.7	99	4.1	10.3
124	メチダチオン			82	3.4	10.4	82	4.0	11.4
125	メキシクロール			97	5.6	11.2	90	2.0	11.4
126	メトラクロール			96	2.9	11.3	90	5.2	14.7
127	メフェナセツ			93	3.6	9.0	88	4.4	15.0
128	メプロニル			101	5.5	12.4	91	16.8	18.3
129	レナシル			93	5.2	11.7	93	5.4	15.8

注1 選択性は妨害ピークがみられたものは×とした。

注2 定量下限は標準液0.25ppbでS/N比が10未満のものを×とした。

注3 ピークが不明瞭で定量できなかった成分には“-”を記した。

注4 真度、併行精度、室内精度の目標値に適合しないものを網かけとした。

# 氷見・高岡沿岸地域における温泉成分の経年変化調査

村元 達也

Secular Variations of Discharge, Temperature and Chemical Components of Hot Spring Waters in Himi and Takaoka Areas

Tatsuya MURAMOTO

本県氷見市及び高岡市の一部に湧出する温泉の数は、昭和60年の時点では5源泉であった。しかし、その後掘削による温泉開発が盛んに行われ、平成7年には温泉の数は15源泉に達し、そのほとんどが海岸沿いの延長約15kmの狭い範囲で行われた。このため、この地域の温泉資源の枯渇、塩水化、相互影響等が懸念され、本県環境審議会温泉専門部会において、温泉資源保護のための調査の必要性が提言された。これを受けて、平成7年度から、これらの温泉の性質（湧出量、泉温及び成分量等）の変化について、調査を開始した[1]。

当初調査対象は14源泉であったが、新規温泉の掘削、既存温泉の利用廃止等があり、現在は19源泉となっている。調査開始から20年が経過し、これまでの調査結果の解析を行ったので報告する。

## 方 法

### 1. 調査対象

氷見・高岡地区の温泉19源泉（a～s）

### 2. 調査期間

平成7年～平成26年（年1回夏季に実施）

### 3. 調査項目

①湧出量、②泉温、③成分分析（ナトリウムイオン（Na）、マグネシウムイオン（Mg）、カルシウムイオン（Ca）、塩化物イオン（Cl）、硫酸イオン（SO<sub>4</sub>）及びpH）

## 結果と考察

### 1. 湧出量の経年変化

調査開始から20年間の調査結果を、表1に平均値（AV）及び変動係数（CV（%））で示した。湧出量の変動は、CV（%）の最小値が10.5%、最大値が66.7%で、測定不能な1源泉を除く18源

泉の平均値は37.4%と高かった。湧出量の経年変化の散布図から得られた相関係数（r）より、有意な相関（有意水準  $\alpha < 0.01$ ）が認められたものを、湧出量の増減傾向の有無の判断基準とした。

図1に示すように、源泉c、h、i及びqで減少傾向が認められた。これらの4源泉は隣接しており、cとh及びhとiの湧出量の間、有意な正の相関が認められた（rはそれぞれ0.7834、0.7639）。源泉qについては、平成20年度に新たに掘削され、調査対象に追加された温泉であるが、その時期の前後で、c、h及びiの湧出量に大きな変動はなく、かつこれら3源泉との間に有意な相関もないことから、現在のところ源泉qの湧出量の減少は、独自の現象であると考えられた。

### 2. 泉温の経年変化

湧出量と同様に泉温の経年変化を調べたところ、CV（%）が10%を超えたのは源泉f、l及びqの3源泉で、19源泉の平均値は7.7%と低かった。

図2に示すように、源泉cで泉温の減少傾向が

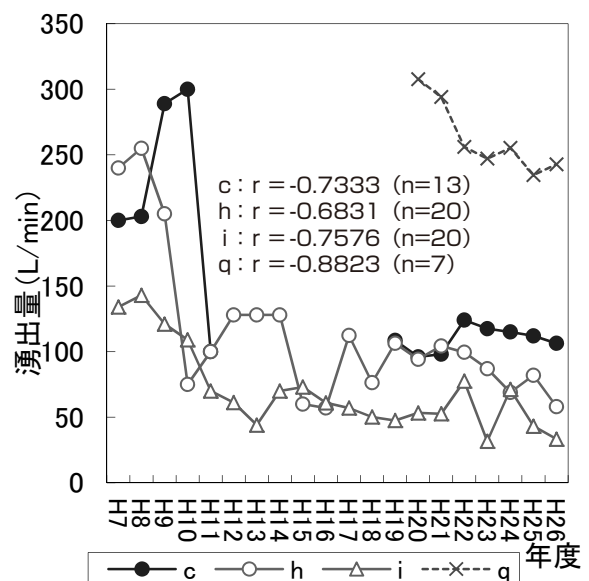


図1. 湧出量の経年変化

表1. 源泉の調査結果

源泉	調査年数		湧出量 (L/min)	泉温 (°C)	Na (mg/kg)	Mg (mg/kg)	Ca (mg/kg)	Cl (mg/kg)	SO <sub>4</sub> (mg/kg)	pH
a	20年	AV	197	51.0	3140	13.3	432	5641		7.91
		CV(%)	44.0	9.0	32.7	134.2	55.1	33.8		3.0
b	20年	AV	139	55.9	2524	1.7	283	4424		8.28
		CV(%)	33.2	5.5	9.5	143.8	5.9	7.6		1.4
c	20年	AV	159	42.3	1373	1.8	34.7	1935	157	8.01
		CV(%)	48.3	4.2	4.6	25.6	10.9	3.8	9.0	1.8
d	20年	AV	87	33.7	1470	30.4	68.0	2385		8.32
		CV(%)	20.3	7.5	27.4	28.7	28.4	28.5		1.4
e	20年	AV	15	22.0	13.0	4.8	7.3	11.9	8.2	6.58
		CV(%)	16.3	7.4	4.6	10.2	7.0	3.4	7.1	1.5
f	20年	AV		18.4	2476	45.2	42.4	3805		8.04
		CV(%)		28.5	6.8	15.7	16.4	7.6		2.1
g	20年	AV	24	44.1	6688	69.7	603	11661		7.19
		CV(%)	38.5	3.9	2.8	9.5	9.6	1.4		1.9
h	20年	AV	113	54.7	3349	5.2	387	5874		7.81
		CV(%)	50.3	4.3	3.8	22.4	7.3	3.2		2.5
i	20年	AV	70	55.0	2767	4.5	256	4744		8.06
		CV(%)	45.8	3.0	2.5	23.9	9.6	2.4		1.1
j	20年	AV	34	47.6	477	0.2	8.9	593	47.3	8.37
		CV(%)	41.1	6.2	2.7	49.0	10.8	3.4	3.9	1.2
k	20年	AV	149	53.2	4502	22.9	517	7912		7.42
		CV(%)	66.7	7.0	19.8	76.2	10.0	16.8		2.4
l	20年	AV	94	32.5	9458	94.5	275	15127		6.98
		CV(%)	22.5	17.8	10.4	19.0	14.6	11.1		3.9
m	18年	AV	67	36.9	9425	23.3	2026	18120		7.76
		CV(%)	33.2	5.5	9.5	143.8	5.9	7.6		1.4
n	9年	AV	19	20.2	1048	34.8	166	1931	16.0	8.66
		CV(%)	30.1	4.2	178.3	216.5	190.7	186.9	24.7	4.6
o	12年	AV	97	32.6	903	7.4	25	1337	16.7	8.06
		CV(%)	19.2	2.3	113.3	94.1	103.3	125.4	28.2	2.3
p	10年	AV	40	23.6	958	8.6	17.4	982		7.86
		CV(%)	63.9	3.5	5.5	17.6	12.0	10.8		1.5
q	7年	AV	263	37.6	2654	1.0	325	4699		8.42
		CV(%)	10.5	15.2	3.8	56.5	7.0	1.7		3.1
r	5年	AV	77	50.5	10563	88.8	412	17147		7.39
		CV(%)	51.2	3.1	2.1	24.0	5.9	1.2		4.7
s	3年	AV	133	30.9	4449	39.7	610	8100		4.78
		CV(%)								

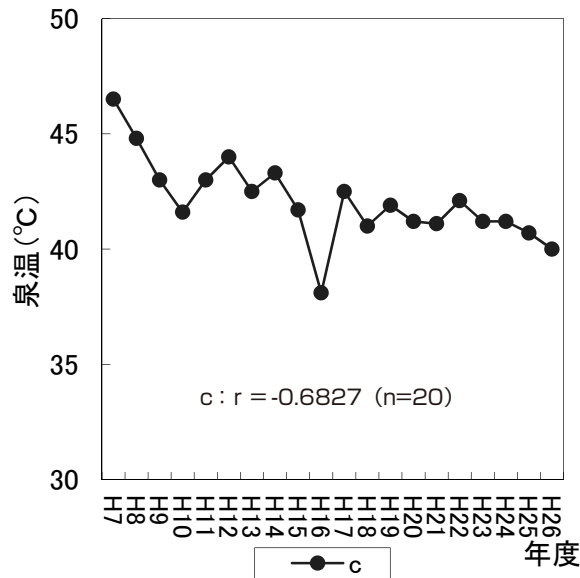


図2. 泉温の経年変化

認められた。後で述べるように、源泉cではNa及びClにも減少傾向が見られ、それぞれ泉温との間に有意な正の相関が認められた（ $r$ は0.8848及び0.9049）ことから、この傾向は成分濃度の減少と連動しており、低温、低濃度の地下水が徐々に流入していると推察された。

### 3. 成分の経年変化

表1の源泉において、溶存量の多い成分（Na, Cl, Ca等）はCV（%）が低く、溶存量の少ない成分（Mg等）はCV（%）が高い傾向にあった。調査対象源泉の多くは高濃度成分と低濃度成分が混在しているため、Mg等のCV（%）が高い傾向にあるのは、分析誤差の影響が一部あると考えられた。

源泉a, d, k, l, n及びoでは、すべての成分でCV（%）が10%を超えた。源泉nの成分について、調査開始時の値を基準とした相対濃度を算出し、縦軸を対数表記で図3に示す。Na, Mg, Ca, 及びClが大きく変動しており、平成24及び26年度の調査では特に大きな値となったため、同年再調査を行ったところ、各成分とも調査期間中の最小値に近い値となった。この変動の原因については現在調査中であるが、Ca, Mgのモル濃度比（Ca/Mg）は1より高い値で安定しており、SO<sub>4</sub>も海水の値と比べて非常に低い値で安定していることから、海水の影響はないと考えられた（海水のCa/Mgは0.19, SO<sub>4</sub>は2690mg/kg）。

また、図4に示すように、源泉cでNa及びClに減少傾向が、源泉kでNa及びClに増加傾向が認められた。源泉cについては、低温、低濃度の

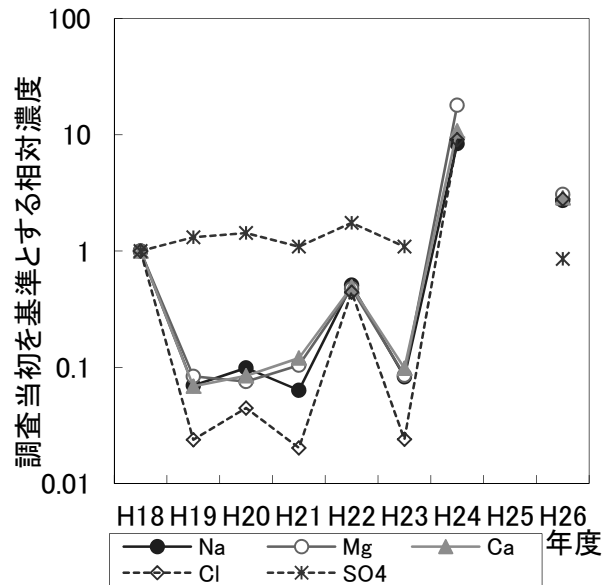


図3. 源泉nの成分の経年変化

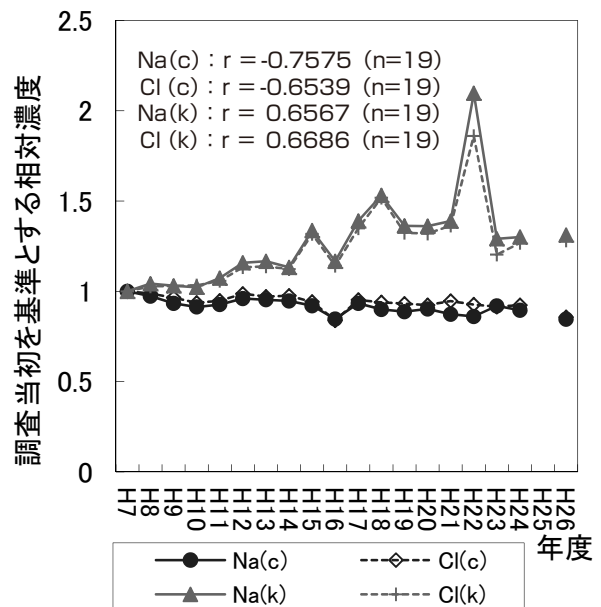


図4. 源泉c及びkの成分の経年変化

地下水の流入によるNa及びClの減少が推察された。源泉kの増加傾向については、前報[2]で示した平成22年度の調査をピークに安定化する傾向にあり、Ca/Mgが1より高く、SO<sub>4</sub>が検出されていないことから、海水の影響によって起きたものではないと考えられた。

源泉lでは、最近7年間の調査で、Na及びClに減少傾向が確認された（図5）。この傾向が続いた場合、泉質等に変化が生じることが予想されることから、今後の推移を観察する必要がある。

文 献

1. 高柳信孝, 健名智子 (2005) 富山衛研年報, 28, 168-171
2. 村元達也, 健名智子, 小玉修嗣 (2011) 富山衛研年報, 34, 186-189

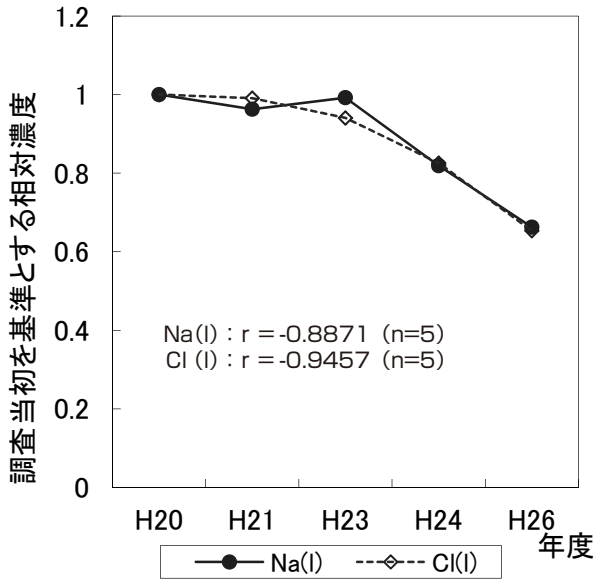


図3. 源泉nの成分の経年変化

まとめ

本調査において、一部の温泉で湧出量、泉温、成分量等に変動が見られたが、現在のところ今すぐに源泉の枯渇や塩水化が懸念される温泉はないと考えられた。これらの影響を随時把握するために、今後も定期的にモニタリング調査を実施する必要があると言える。

## 骨質と骨粗鬆症予防－食品との関連について－

小林 直人 金木 潤 坪野 由美<sup>1</sup> 澁谷 直美<sup>1</sup>  
大浦 栄次<sup>1</sup>

Relationship between Bone Quality and Food for Osteoporosis Prevention

Naoto KOBAYASHI, Jun KANAKI, Yumi TSUBONO<sup>1</sup>,  
Naomi SHIBUYA<sup>1</sup> and Eiji OHURA<sup>1</sup>

骨粗鬆症は骨の強度が低下することによって骨折しやすくなった状態である。現在、日本国内では骨粗鬆症患者が推定で1280万人いると言われており [1]、骨粗鬆症によっておきる骨折は要介護の原因疾患として第5位（10.2%）である [2]。また、骨粗鬆症患者は高齢者に多く、高齢化率が全国平均よりも高い富山県においては、骨粗鬆症の予防は重要な課題である。

近年の研究で、骨の強度は骨密度と骨質（骨の微細構造と材質）で決定されることが明らかになっている [3]。骨密度については医薬品や生活習慣の改善により骨密度の低下を抑制できることが報告されている。しかし、骨質の改善については治療法、予防法の検討はあまりされておらず、明確な方法がないのが現状である。そこで、我々は骨粗鬆症予防に効果的であるとされる食品の骨質への効果について検討を行った。

**対象および方法：**厚生連高岡病院健康管理センターで骨粗鬆症検診を受診した女性のうち本研究の説明を口頭で行い、調査に同意した40歳以上を対象者とした（n= 303）。この内、アンケートの記入に不備がない298名について解析を行った。

骨質の評価は血清ホモシステインおよびペントシジンで行った。ホモシステインは骨基質中のコラーゲンの成熟を阻害するアミノ酸であり [4]、ペントシジンはアミノ酸側鎖と糖が反応して出来る終末糖化産物（AGEs）の一つである。両成分とも骨中のコラーゲンを脆くすることが報告されている [5]。ホモシステインはHPLC法で、ペントシジンはELISAキットを使用してそれぞれ測定した。

骨粗鬆症予防効果のある食品の調査は、自記式アンケートで、牛乳、乳製品、肉・卵、大豆製品、小魚、魚介類の摂取頻度を『ほとんど食べない』、『月に1~3回』、『週1~2回』、『週3~6回』、『毎日』の5段階で評価を行った。それぞれの食品摂取頻度別の回答人数を表1に示す。

ホモシステインとペントシジンは幾何平均値（GM）および幾何標準偏差（GSD）を求めた。また、統計解析には統計解析ソフトSPSSを使用し、多群間比較では一元配置分散分析を、多変量解析では共分散分析を行った。また危険率5%未満を有意とし、10%未満を傾向ありとした。

なお、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実施された。

表1. 各食品の摂取頻度別回答人数

	ほとんど食べない		月1~3回		週1~2回		週3~6回		毎日	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
牛乳	62	20.8	36	12.1	63	21.1	58	19.5	79	26.5
乳製品	19	6.4	42	14.1	92	30.9	59	19.8	86	28.9
大豆製品	1	0.3	10	3.4	77	25.8	124	41.6	86	28.9
肉卵類	1	0.3	3	1.0	51	17.1	168	56.4	75	25.2
小魚	62	20.8	92	30.9	91	30.5	40	13.4	13	4.4
魚介類	1	0.3	15	5.0	103	34.6	151	50.7	28	9.4

1. 厚生連高岡病院健康管理センター

表2. 食品摂取頻度とホモシステイン(mmol / L)

	ほとんど食べない		月1~3回		週1~2回		週3~6回		毎日		ANOVA p-value
	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	
牛乳	7.03	1.36	6.94	1.40	7.02	1.29	6.74	1.36	7.15	1.30	0.843
乳製品	6.40	1.30	6.89	1.37	7.16	1.33	6.78	1.31	7.14	1.35	0.460
大豆製品			6.08	1.24	7.37	1.28	6.84	1.36	6.99	1.34	0.120
肉卵類			8.00	1.16	6.72	1.33	7.02	1.36	7.06	1.30	0.583
小魚	6.90	1.39	7.14	1.33	6.96	1.30	6.54	1.35	8.09	1.30	0.199
魚介類			7.71	1.25	6.90	1.39	7.01	1.31	6.82	1.33	0.522

\*p&lt;0.05, †p&lt;0.1

表3. 食品摂取頻度とペントシジン(pg / mL)

	ほとんど食べない		月1~3回		週1~2回		週3~6回		毎日		ANOVA p-value
	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	
牛乳	27.40	1.68	24.14	1.65	28.23	1.55	25.79	1.79	26.36	1.62	0.617
乳製品	27.66	1.62	25.33	1.76	26.49	1.67	27.45	1.66	26.42	1.59	0.944
大豆製品*			22.24	1.79	24.68	1.68	25.77	1.66	30.32	1.57	0.023
肉卵類			36.49	1.22	26.09	1.57	26.77	1.68	25.98	1.66	0.605
小魚†	25.63	1.68	24.99	1.66	29.38	1.60	24.38	1.76	31.21	1.33	0.098
魚介類*			24.25	1.65	23.96	1.70	28.46	1.61	28.17	1.63	0.043

\*p&lt;0.05, †p&lt;0.1

表4. 食品摂取頻度別年齢と空腹時血糖

		ほとんど食べない		月1~2回		週1~2回		週3~6回		毎日		ANOVA p-value
		GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	GM	GSD	
大豆製品	年齢(yrs)†			56.6	13.4	57.6	10.3	59.5	8.2	61.1	9.8	0.085
	空腹時血糖(mg/dL)			102	17	101	18	97	14	102	25	0.265
小魚	年齢(yrs)*	54.9	9.8	56.4	9.4	62.8	8.2	63.7	7.0	65.5	7.9	<0.001
	空腹時血糖(mg/dL)	96	9	102	20	101	25	100	15	95	8	0.292
魚介類	年齢*			54.8	8.6	56.8	10.2	61.2	9.0	61.9	7.4	<0.001
	空腹時血糖(mg/dL)			98	20	100	23	99	17	99	15	0.97

\*p&lt;0.05, †p&lt;0.1

**結果と考察：**各食品の摂取頻度別のホモシステイン、ペントシジンの値を表2, 3に示す。肉卵、大豆製品、魚介類は、『ほとんど食べない』と回答した者が1名のみだったので、『月に1~3回』と答えた者と合わせて計算した。大豆製品、魚介類で摂取頻度の違いによりペントシジンに有意な差(p<0.05)がみられ、小魚では摂取頻度によりペントシジンの値が異なる傾向がみられた(p<0.1)。

交絡因子の影響を考慮するため、ペントシジンと関係のあるとされる年齢、空腹時血糖と大豆製品、小魚、魚介類の摂取頻度との関連を検討した(表4)。小魚、魚介類の摂取頻度は年齢との関連が見られ、大豆製品摂取頻度についても年齢との関連傾向がみられた。年齢との関連がみられたので、

各食品の摂取頻度別の年齢調整ペントシジン濃度を算出したところ(図1)、小魚と魚介類は摂取頻度ごとの有意差が消失したが、大豆製品では、『毎日』が『週1~2回』、『週3~6回』と答えたものよりペントシジン濃度が高かった。これより、大豆製品の摂取頻度が高い者はペントシジンが高く、骨質が劣化している可能性が示唆された。

AGEsの一つであるペントシジンは、酵素を必要としないメイラード反応により生成される[5]。大豆が原料となる味噌や醤油はメイラード反応により出来るAGEsにより着色していることから、これらの食品中にペントシジンが含まれる可能性が否定できない。本研究では摂取している大豆製品の種類についての調査は行っておらず、味噌や醤油に含まれているペントシジンを摂取したため

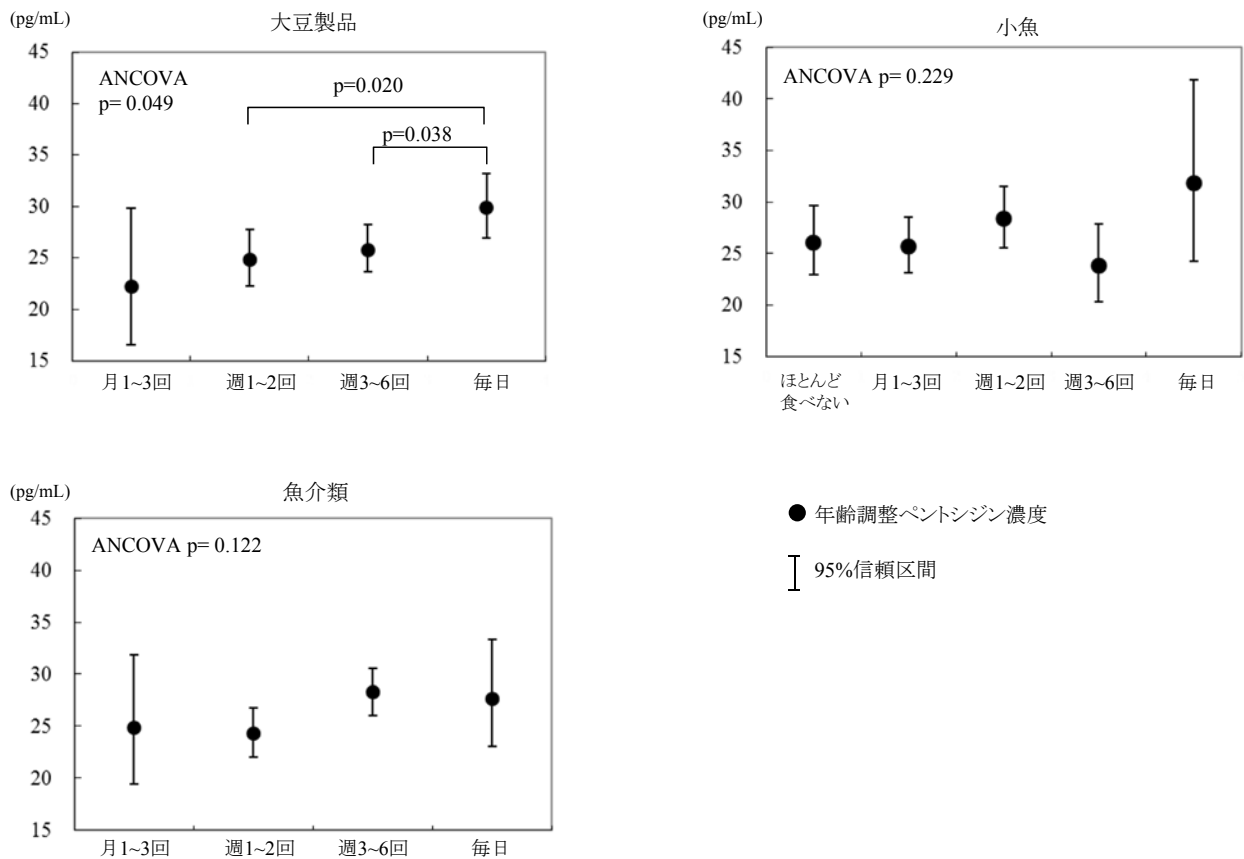


図1. 各食品の摂取頻度別の年齢調整ペントシジン濃度

に血中濃度が上昇した可能性がある。

AGEsは内皮細胞上にあるAGEs受容体(RAGE)に結合することで炎症反応や酸化ストレス反応を示すことが知られている [6]。また、骨芽細胞の分化を阻害することなども明らかとなっており、外因性のAGEsにおいても骨質に影響を与えることも考えられるが、ペントシジンの骨質劣化メカニズムは骨中コラーゲンの架橋構造の変異であることから [5]、外因性AGEsが骨質を劣化させるとは断言できない。

以上、まとめると大豆製品を摂取すると骨質が劣化する可能性が示唆された。しかし、食品中からペントシジン摂取しているためにペントシジンの血中濃度が上昇した可能性が排除できないことから、さらなる調査が必要と考える。本研究は平成29年度まで調査を行う予定であり、平成27年度調査からは大豆製品の種類について調査を行う予定である。

## 文 献

1. 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 2011年版
2. 林泰史 (2013). Osteoporosis Japan, 21, p36-37
3. 日本骨粗鬆症学会 生活習慣病における骨折リスク評価委員会, 生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド
4. Markus Herrmann, Thomas Widmann, Wolfgang Herrmann (2005): Clin Chem Lab Med, 43, 1111 - 1117.
5. 斎藤 充 (2008): 腎と骨代謝, 21, 325-334.
6. 山岸昌一 (2010): 脈管学, 50, 555-559.



4. 業

績

## (1) 誌 上 発 表

## [原 著]

1) In vitro and in vivo anti-influenza virus activities of flavonoids and related compounds as components of Brazilian propolis (AF-08)

Kai H\*, Obuchi M, Yoshida H\*, Watanabe W\*, Tsutsumi S\*, Park YK\*, Matsuno K\*, Yasukawa K\*, Kurokawa M\*

J. Funct. Foods, 8:214-223, 2014.

We previously demonstrated that Brazilian propolis AF-08 exhibits anti-influenza virus activity in vitro and in vivo. To characterize its effective components, flavonoids and related compounds involved in AF-08 were examined for their anti-influenza virus activity in vitro and in vivo. Four flavonoids and three phenyl propanoids were selected as possible components of AF-08 by HPLC. Among them, apigenin, kaempferol, and coumaric acid exhibited significant antiviral activity against oseltamivir- and peramivir-sensitive and oseltamivir- and peramivir-resistant influenza viruses in plaque reduction assays and kaempferol did not interfere with virus adsorption and/or invasion in vitro. The oral administration of kaempferol was significantly effective in prolonging survival times and reducing virus titers in bronchoalveolar lavage fluids prepared from influenza virus-infected mice. Thus, kaempferol, a component of AF-08, exhibited therapeutic efficacy in limiting influenza symptoms in mice and is indicated to contribute to the in vivo anti-influenza virus activity of propolis AF-08 as a crude extract.

2) Molecular evolution of the VP1, VP2, and VP3 genes in human rhinovirus species C.

Kuroda M\*, Niwa S\*, Sekizuka T\*, Tsukagoshi H\*, Yokoyama M\*, Ryo A\*, Sato H\*, Kiyota N\*, Noda M\*, Kozawa K\*, Shirabe K\*, Kusaka T\*, Shimojo N\*, Hasegawa S\*, Sugai K\*, Obuchi M, Tashiro M\*, Oishi K\*, Ishii H\*, Kimura H\*.

Sci Rep. 2015 Feb 2;5:8185. doi: 10.1038/srep08185.

Human rhinovirus species C (HRV-C) was recently discovered, and this virus has been associated with various acute respiratory illnesses (ARI). However, the molecular evolution of the major antigens of this virus, including VP1, VP2, and VP3, is unknown. Thus, we performed complete VP1, VP2, and VP3 gene analyses of 139 clinical HRV-C strains using RT-PCR with newly designed primer sets and next-generation sequencing. We assessed the time-scale evolution and evolutionary rate of these genes using the Bayesian Markov chain Monte Carlo method. In addition, we calculated the pairwise distance and confirmed the positive/negative selection sites in these genes. The phylogenetic trees showed that the HRV-C strains analyzed using these genes could be dated back approximately 400 to 900 years, and these strains exhibited high evolutionary rates ( $1.35$  to  $3.74 \times 10^{-3}$  substitutions/site/year). Many genotypes (>40) were confirmed in the phylogenetic trees. Furthermore, no positively selected site was found in the VP1, VP2, and VP3 protein. Molecular modeling analysis combined with variation analysis suggested that the exterior surfaces of the VP1, VP2 and VP3 proteins are rich in loops and are highly variable. These results suggested that HRV-C may have an old history and unique antigenicity as an

平成27年12月15日

agent of various ARI.

3) Phylogenetic clades 6 and 8 of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 with particular stx subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers

Sunao Iyoda\*, Shannon D. Manning\*, Kazuko Seto\*, Keiko Kimata, Junko Isobe, Yoshiki Etoh\*, Sachiko Ichihara\*, Yuji Migita\*, Kikuyo Ogata\*, Mikiko Honda\*, Tsutomu Kubota\*, Kimiko Kawano\*, Kazutoshi Matsumoto\*, Jun Kudaka\*, Norio Asai\*, Junko Yabata\*, Kiyoshi Tominaga\*, Jun Terajima\*, Tomoko Morita-Ishihara\*, Hidemasa Izumiya\*, Yoshitoshi Ogura\*, Takehito Saitoh\*, Atsushi Iguchi\*, Hideki Kobayashi\*, Yukiko Hara-Kudo\*, and Makoto Ohnishi\*, EHEC Working Group in Japan\*

Open Forum Infectious Diseases, 1, 2014

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157:H7 infection causes severe diseases such as bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome (HUS). Although EHEC O157:H7 strains have exhibited high genetic variability, their abilities to cause human diseases have not been fully examined.

Clade typing and Stx subtyping of EHEC O157:H7 strains, which were isolated in Japan during 1999–2011 from 269 HUS patients and 387 asymptomatic carriers (ACs) and showed distinct pulsed-field gel electrophoresis patterns, were performed to determine relationships between specific lineages and clinical presentation.

Clades 6 and 8 strains were more frequently found among the isolates from HUS cases than those from ACs ( $P = .00062$  for clade 6,  $P < .0001$  for clade 8). All clade 6 strains isolated from HUS patients harbored *stx2a* and/or *stx2c*, whereas all clade 8 strains harbored either *stx2a* or *stx2a/stx2c*. However, clade 7 strains were predominantly found among the AC isolates but less frequently found among the HUS isolates, suggesting a significant association between clade 7 and AC ( $P < .0001$ ). Logistic regression analysis revealed that 0–9 year old age is a significant predictor of the association between clade 8 and HUS. We also found an intact *norV* gene, which encodes for a nitric oxide reductase that inhibits Shiga toxin activity under anaerobic condition, in all clades 1–3 isolates but not in clades 4–8 isolates.

4) Association between aggregative adherence fimbriae types including putative new variants and virulence-related genes and clump formation among aggR-positive *Escherichia coli* strains isolated in Thailand and Japan

Kenitiro Ito\*, Shigeru Matsushita\*, Mitsugu Yamazaki\*, Kazuo Moriya\*, Takayuki Kurazono\*, Noriaki Hiruta\*, Hiroshi Narimatsu\*, Nobuhiro Ueno\*, Junko Isobe, Jun Yatsuyanagi\*, Norimichi Kumagai\*, Michiko Hashimoto\* and Orn-Anong Ratchtrachenchai\*

Microbiol. Immunol., 58, 467-473, 2014

Enteraggregative *Escherichia coli* (EAggEC) are an important cause of diarrhea. Four types of AAF have been identified; however, their prevalence and association with virulence properties remain unclear. *E. coli* strains carrying the *aggR* gene as EAggEC that were isolated in Japan and Thailand ( $n=490$ ) were examined for AAF subunit genes, two toxin genes (*pet/astA*), and clump formation. The most prevalent AAF gene was *hdaA* (28%), followed by *aafA* (20%), *aggA* (12%), and *agg3A* (4%), as well as a putative new AAF sequence (25.6%). Retention status of the toxin genes and intensities of clump

formation appeared to vary according to the AAF type.

5) 簡易水道を原因とする *Yersinia enterocolitica* O8 による集団感染事例

磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 金谷潤一, 佐多徹太郎, 綿引正則

感染症学雑誌, 88, 827-832, 2014

2012年7～8月、富山県において塩素管理が不十分な簡易水道水が原因で *Yersinia enterocolitica* O8 による患者4名の集団感染事例が発生した。患者らが飲用していた簡易水道水から、大腸菌は検出されなかったが、一般細菌数が最大700 CFU/mL 検出され、水質基準である100 CFU/mL を超えていた。また、この簡易水道水から免疫磁気ビーズを用いた培養法で *Y. enterocolitica* O8 が分離された。*Y. enterocolitica* O8 の pulsed-field gel electrophoresis 解析の結果、水道水から分離された株と4名の患者便から分離された株は同一由来株であることが明らかとなった。簡易水道の水源に注入されることになっている塩素タンクは空であったことが原因であると推定された。予防策として、塩素濃度を適切に維持し、管理する体制が重要であると考えられた。簡易水道水を原因とする *Y. enterocolitica* O8 集団感染事例は、日本では初めての報告である。

6) 腸管出血性大腸菌 O26, O103, O111, O121, O145 および O157 の食品からの検出における選択増菌培地および酵素基質培地の検討

工藤由起子\*, 磯部順子, 古川一郎\*, 権平文夫\*, 寺嶋 淳\*, 斉藤志保子\*

日食微誌 32, 60-66, 2015

EHEC 血清群 O103, O121 および O145 は O26, O111 および O157 と同一の増菌培養法 (mEC 培地での 42°C 培養) によって十分に増殖することが確認された。また、他種類の酵素基質培地について、多数の菌株を供試してコロニーの形成および発色を検討した結果、複数又は単独の対象血清群を単色または複数色で鑑別・分離されることが示された。さらに、新規に開発された血清群 O103, O121 および O145 に対する免疫磁気ビーズ濃縮法、酵素基質培地での分離培養を効果的に組み合わせることで確立できることが示された。

7) Virulence gene profiles and Population Genetic Analysis for Exploration of Pathogenic 4 Serogroups of Shiga toxin-producing *Escherichia coli*

Naoki Kobayashi\*, Ken-ichi Lee\*, Akiko Yamazaki\*, Shioko Saito\*, Ichiro Furukawa\*, Tomomi Kono\*, Eriko Maeda\*, Junko Isobe, Yoshiko Sugita-Konishi\*, Yukiko Hara-Kudo\*

J. Clin. Microbiol., 51, 4022-4028, 2013

Infection with Shiga toxin (Stx) -producing *Escherichia coli* (STEC) is a serious public health concern, causing severe diarrhea and hemolytic-uremic syndrome. Patient symptoms are varied among STEC strains, implying the presence of additional markers for STEC virulence other than Stx. To reveal the genotypic traits responsible for STEC virulence, we investigated 282 strains of various serogroups for the presence of 17 major virulence genes: *stx1*, *stx2a*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *eae*, *tir*, *espB*, *espD*, *iha*, *saa*, *subA*, *ehxA*, *espP*, *katP*, and *stcE*. Next, we examined the prevalence of virulence genes according to the seropathotypes in which serotypes were classified into 5 groups (A through E)

平成27年12月15日

based on the reported frequencies in human illness, as well as known associations with outbreaks and with severe disease. As a result, we uncovered the harboring of both *katP* and *stcE* in STEC, in addition to the genes located in locus of enterocyte effacement (LEE) , including *eae*, *tir*, *espB*, and *espD*, which may represent the most pathogenic genotype of STECs. Furthermore, a population structure analysis of the profile of virulence genes revealed a potentially higher pathogenic serogroups than previously thought. A segment of serogroups O26, O145, and O165 strains may have high a virulence equivalent to serogroup O157. Several serogroups, including the serogroups O14, O16, O45, O63, O74, O119, O128, and O untypable, also may be potentially pathogenic, although rarely in humans.

8) Comparison of Two Methods of Bacterial DNA Extraction from Human Fecal Samples Contaminated with *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, and *Campylobacter jejuni*

Kawase J\*, Kurosaki M\*, Kawakami Y\*, Kashimoto T\*, Tsunomori Y\*, Sato K\*, Ikeda T\*, Yamaguchi K\*, Watahiki M, Shima T\*, Kameyama M\*, Etoh Y\*, Horikawa K\*, Fukushima H\*, Goto R\*, Shirabe K\*.

Jpn. J. Infect. Dis., 67, 441-446, 2014

In this study, 2 methods of DNA extraction were evaluated for use in conjunction with the screening system Rapid Foodborne Bacterial Screening 24 (RFBS24) , which employs multiplex real-time SYBR Green polymerase chain reaction (SG-PCR) and can simultaneously detect 24 target genes of foodborne pathogens in fecal DNA samples. The QIAamp DNA Stool mini kit (Qkit) and Ultra Clean Fecal DNA Isolation Kit (Ukit) were used for bacterial DNA extraction from fecal samples artificially inoculated with *Clostridium perfringens*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* Typhimurium, and *Campylobacter jejuni*. SG-PCR and simplex real-time quantitative PCR (S-qPCR) analyses revealed higher copy numbers (8 - 234 times) of DNA in samples obtained using Ukit compared with those obtained using Qkit, resulting in lower cycle threshold values for the Ukit samples of the 4 bacteria on SG-PCR analysis. Fecal DNA samples from patients infected during foodborne outbreaks of *Salmonella* and *Campylobacter* were also prepared by Qkit and Ukit methods and subjected to RFBS24 analyses. Higher numbers of RFBS24 bacterial target genes were detected in DNA samples obtained using Ukit compared with those obtained using Qkit. Thus, the higher DNA extraction efficiency of the Ukit method compared with Qkit renders the former more useful in achieving improved detection rates of these 4 bacteria in fecal samples using SG-PCR.

9) Serodiagnosis Using Microagglutination Assay during the Food-Poisoning Outbreak in Japan Caused by Consumption of Raw Beef Contaminated with Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 and O157

Junko Isobe, Tomoko Shima\*, Jun-ichi Kanatani, Keiko Kimata, Miwako Shimizu, Naoto Kobayashi, Tomoko Tanaka, Sunao Iyoda\*, Makoto Ohnishi\*, Tetsutaro Sata, and Masanori Watahiki

J. Clin. Microbiol., 52, 1112-1118, 2014

A microagglutination (MA) assay to identify antibodies to *Escherichia coli* O111 and O157 was conducted in sera collected from 60 patients during a food-poisoning outbreak affecting 181 patients in Japan which was caused by the consumption of contaminated raw beef. Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) O111:H8 and/or O157:H7 was isolated from the stools of some of the patients, but the total rate of positivity for antibodies to O111 (45/60, 75.0%) was significantly higher than that for antibodies to O157 (10/60, 16.7%) . The MA titers of antibodies to O111 measured in patients with hemolytic-uremic

syndrome and bloody diarrhea were higher than those measured in patients with only diarrhea. In patients from whose stool no isolates of *E. coli* O111 and O157 were obtained, the positive antibody detection rates were 12/19 (63.2%) for O111 and 2/19 (10.5%) for O157, and the MA titers of antibodies to O111 measured were higher than those to O157. Similarly, the MA titers of antibodies to O111 were significantly higher than those to O157, regardless of the other groups, including groups O111, O111 and O157, and O157. These serodiagnosis results suggest that EHEC O111:H8 *stx2* played a primary role in the pathogenesis of this outbreak. Furthermore, our findings suggest that the isolates from the patients' stool specimens were not always the major causative pathogen in patients with multiple EHEC infections, because the sera from patients from whose stools only O157 was isolated were positive for antibodies to O111. Measuring antibodies to *E. coli* O antigen is helpful especially in cases with multiple EHEC infections, even with a non-O157 serotype.

#### 10) Characterization of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O111 and O157 Strains Isolated from Outbreak Patients in Japan

Masanori Watahiki, Junko Isobe, Keiko Kimata, Tomoko Shima\*, Jun-ichi Kanatani, Miwako Shimizu, Akihiro Nagata\*, Keiko Kawakami\*, Mikiko Yamada\*, Hidemasa Izumiya\*, Sunao Iyoda\*, Tomoko Morita-Ishihara\*, Jiro Mitobe\*, Jun Terajima\*, Makoto Ohnishi\*, and Tetsutaro Sata

J. Clin. Microbiol., 52, 2757-2763, 2014

In April and May 2011, there was a serious food-poisoning outbreak in Japan caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) strains O111:H8 and O157:H7 from raw beef dishes at branches of a barbecue restaurant. This outbreak involved 181 infected patients, including 34 hemolytic-uremic syndrome (HUS) cases (19%). Among the 34 HUS patients, 21 developed acute encephalopathy (AE) and 5 died. Patient stool specimens yielded *E. coli* O111 and O157 strains. We also detected both EHEC O111 *stx2* and *stx*-negative *E. coli* O111 strains in a stock of meat block from the restaurant. Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and multilocus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) showed that the *stx*-negative *E. coli* O111 isolates were closely related to EHEC O111 *stx2* isolates. Although the EHEC O157 strains had diverse *stx* gene profiles (*stx1*, *stx2*, and *stx1 stx2*), the PFGE and MLVA analyses indicated that these isolates originated from a single clone. Deletion of the *Stx2*-converting prophage from the EHEC O111 *stx2* isolates was frequently observed during in vitro growth, suggesting that strain conversion from an EHEC O111 *stx2* to an *stx*-negative strain may have occurred during infection.

#### 11) LETTER TO THE EDITOR: Does Sequence Type 33 of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* O91 Cause Only Mild Symptoms?

Maeda E\*, Murakami K\*, Etoh Y\*, Onozuka D\*, Sera N\*, Asoshima N\*, Honda M\*, Narimatsu H\*, Iyoda S\*, Watahiki M, Fujimoto S\*.

J. Clin. Microbiol., 53, 362-364, 2015.

No abstract

#### 12) 富山県における市販魚介類および漁港海水の腸炎ビブリオ菌数の推移と食中毒事例数との相関 (1979～1995, 2008～2012年)

平成27年12月15日

金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 佐多徹太郎, 綿引正則

日食微誌, 31, 93-99, 2014

本研究では, 1999年および2001年に出された腸炎ビブリオ食中毒発生予防に関連する通知が市販魚介類の腸炎ビブリオ菌数に与えた影響を調査するため, 1979~1995年および2008~2012年にかけて市販魚介類の腸炎ビブリオ菌数を, 2008~2012年には漁港海水の腸炎ビブリオ菌数, *thermostable direct hemolysin (tdh) gene*, *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6 の検出率を調査した. その結果, 1979~1995年の魚介類における腸炎ビブリオ検出率は66.3% (666/1,005 検体), 幾何平均菌数  $\pm$  SD ( $\log_{10}/100$  g) は  $2.73 \pm 1.27$  であったが, 2008~2012年は50.6% (119/235 検体) および  $1.89 \pm 0.44$  であり, 有意に低くなった ( $P < 0.05$ ; Student's *t* test). また, 1979~1995年は平均気温が20℃未満のときは58.4% および  $2.48 \pm 0.98$ , 20~25℃のときは67.6% および  $2.73 \pm 1.17$ , 25℃より高いときは70.8% および  $2.95 \pm 1.23$  と, 平均気温が高くなるにつれて高くなった. 一方, 2008~2012年においては, 平均気温と陽性率, 幾何平均菌数のいずれも有意な差は見られなかった. 漁港海水の腸炎ビブリオ検出率は86.9% (153/176 検体) であり, 幾何平均菌数は  $1.07 \pm 0.53$  であった. そのうち20.5% (36/176 検体) から *tdh* 遺伝子が検出され, 2検体から *tdh* 保有腸炎ビブリオ O3:K6 が分離された. 本研究によって, 夏季の漁港海水には依然としてTDH産生性を含む腸炎ビブリオが広く分布しているが, 魚介類の洗浄における殺菌海水の導入や低温輸送などの衛生管理によって, 近年の魚介類の腸炎ビブリオ菌数および検出率は減少し, 結果として腸炎ビブリオによる食中毒を減少させることができていると考えられた

13) Simultaneous and sensitive analysis of aliphatic carboxylic acids by ion-chromatography using on-line complexation with copper (II) ion

Tomoko Kemmei, Shuji Kodama\*, Atsushi Yamamoto\*, Yoshinori Inoue\*, Kazuichi Hayakawa\*

Journal of Chromatography A, 1375, 49-53, 2015

A new approach to ion chromatography is proposed to improve the UV detection of aliphatic carboxylic acids separated by anion-exchange chromatography. When copper (II) ion added to the mobile phase, it forms complexes with carboxylic acids that can be detected at 240 nm. The absorbance was found to increase with increasing copper (II) ion concentration. The retention times of  $\alpha$ -hydroxy acids were also found to depend on the copper (II) ion concentration. Addition of acetonitrile to the mobile phase improved the separation of aliphatic carboxylic acids. The detection limits of the examined carboxylic acids (formate, glycolate, acetate, lactate, propionate, 3-hydroxypropionate, n-butyrate, isobutyrate, n-valerate, isovalerate, n-caproate) calculated at S/N = 3 ranged from 0.06 to 3  $\mu$  M. The detector signal was linear over three orders of magnitude of carboxylic acid concentration. The proposed method was successfully applied to analyze aliphatic carboxylic acids in rainwater and bread.

14) 各種農作業における代謝量に関する調査研究 (平成26年度)

主任研究者 大浦栄次\*

共同研究者 浅沼信治\*, 柳沢和也\*, 出野健明\*, 吉田 稔\*, 田中朋子, 峠田和史\*, 辻村裕次\*

共済エグザミネー通信, 第35号 Autumn 2014, 26-43, 2014

呼吸代謝測定装置を用い, 各種農作業時におけるメッツ値を求めたところ, 作業時間内の平均メッツ値が最も高かったのは動散の3.7であり, 次いで, 収穫作業補助の2.9, 2.8, 草刈りの2.4, 2.2, 柑橘収穫の2.0

であり、トラクターの耕起作業は、座位姿勢のままのためか、1.8, 1.5, 1.4であった。

今回得られた数値はメッツ3前後にあたる日常生活等は普通の歩行程度であり、それ以下では「運動」とは規定されない日常生活活動である。つまり、今回の農作業をもって「運動」しているとはいいがたく、現在では、農家の肉体的健康保持のためには、農作業とは別に運動を積極的に取り入れることが必要と考えられた。

15) FABP2,  $\beta$  3AR 遺伝子多型が肥満とインスリン抵抗性におよぼす影響  
- 職域男性について -

田中朋子, 小林直人, 中崎美峰子, 金木 潤, 澁谷直美\*, 坪野由美\*, 大浦栄次\*, 山上孝司\*

肥満研究, Vol20, No.2 : 102-109, 2014

職域の健康診断を受診した男性 382 名を対象とし、身体指標の他、糖代謝指標、インスリン抵抗性遺伝子とされる FABP 2 遺伝子多型 (Ala54Thr)、肥満関連遺伝子とされる  $\beta$  3 アドレナリンレセプター ( $\beta$  3AR) 遺伝子多型 (Trp64Arg) を調べ、インスリン抵抗性におよぼす影響を解析した。

FABP2 遺伝子多型により身体指標に違いが認められ、「Thr/Thr」は「Ala/Ala」、「Ala/Thr」に比べ BMI が高く、20 歳時推定 BMI も「Ala/Ala」に比べ高かったが、IRI, HOMA-R に違いはなかった。そこで、成人以降の体重変化量を経過年数で割った平均値 (+ 0.34kg) で 2 群に分け増加群と非増加群として比較したところ、非増加群では遺伝子多型による違いはなかったが、増加群では「Thr/Thr」の IRI, HOMA-R は「Ala/Ala」、「Ala/Thr」に比べ高かった。

$\beta$  3AR 遺伝子多型による身体状況に違いはみられなかったが、「Trp/Arg + Arg/Arg」の HOMA-R は「Trp/Trp」に比べ低値を示した。

多重ロジスティック回帰分析により、インスリン抵抗性の有無、または肥満の有無に関連する因子を検索したところ、インスリン抵抗性に関連していたのは BMI と「塩分のとりすぎを気にしない」であった。また、肥満とは FABP2 遺伝子の「Thr/Thr」、「現在運動をしている」が関連していた。これらのことから、 $\beta$  3AR 遺伝子多型はインスリン抵抗性、肥満のどちらにも大きな影響はきたさないのではないかと考えられ、FABP2 遺伝子多型の「Thr/Thr」は肥満をきたす要因であったが、インスリン抵抗性をきたす独立した要因ではなく、肥満 (成人以降の体重増加) を介してインスリン抵抗性を惹起していると考えられた。

## [報 告]

### 1) 急性呼吸器感染症起因ウイルスの流行実態調査

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 26 年度総括・分担研究報告書, pp.184-186

急性呼吸器感染症 (ARI) 起因ウイルスの検出感度を上げるため、昨年度構築したリアルタイム RT-PCR の改良を行った。その結果、検出率は 63% から 85% に改善された。この検出系を用いて平成 26 年 3 月から平成 27 年 1 月の期間に採取された 160 検体について調査したところ、124 検体から 20 種類のウイルスが検出された。その中でライノウイルスが最も多く検出された。次いで、パラインフルエンザウイルス、ヒトボカウイルスと続き、これら 3 種類のウイルスが全検出ウイルスの 6 割を占めた。



平成27年12月15日

## 2) 薬剤耐性インフルエンザウイルスおよび急性呼吸器感染症起因ウイルスのサーベイランスに関する研究

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 ～ 26 年度総合研究報告書，pp.98-100

現行の病原体サーベイランスを補完する目的で，1) ノイラミニダーゼ阻害薬（NI）投与中の薬剤耐性インフルエンザウイルスの発生状況、2) インフルエンザウイルス以外の急性呼吸器感染症（ARI）起因ウイルスの流行実態を調査した。その結果，1) 2011/12 シーズンの入院小児患者 11 名から，NI 投与前後で A（H3N2）ウイルス 27 株を分離して 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。2) 呼吸器ウイルスの遺伝子検出診断系（duplex リアルタイム RT-PCR）を構築し，平成 25 年 10 月から平成 27 年 1 月の期間に採取された 209 検体のうち 167 検体から 21 種類のウイルスが検出された。

## 3) 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：高橋雅輝\*，長島真美\*，新開敬行\*，原田幸子\*，林志直\*，森川佐依子\*，廣井 聡\*，加瀬哲男\*，山下育孝\*，駒込理佳\*，長野秀樹\*，川上千春\*，宇宿秀三\*，森田昌弘\*，小淵正次，滝澤剛則，岡山文香\*，喜屋武向子\*，久場由美仁\*，安井善宏\*

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等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究（平成 26 年度総括・分担研究報告書，pp.12-18

インフルエンザウイルスサーベイランス体制維持強化の中核となるべく 2010 年に地方衛生研究所全国協議会（地全協）感染症対策部会と国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターの理解のもと，コア・サポート地衛研体制が構築され，ネットワークが可視化された。本ネットワークはウイルスサーベイランス並びにパンデミック対応に加え，野鳥及び家禽における鳥インフルエンザ発生時にはヒト疑い事例の遺伝子検査対応を担当する。中国で 3 シーズン目に入った鳥インフルエンザ A（H7N9）の二類感染症指定等を受けて，感染研-地研ネットワークには鳥インフルエンザを含むインフルエンザウイルス検査体制の維持強化が求められている。

平成 26 年度は

- (1) インフルエンザ内部精度管理に必要な書類について検討した。
- (2) H1pdm09 インフルエンザの流行が拡大した 2013/14 シーズンは，H275Y マーカーサーベイランスを中心とする抗ウイルス剤感受性監視の強化を図り，全国地衛研による約 5000 株のスクリーニング-感染研による確認試験実績が達成された。血球凝集活性の引い H3 インフルエンザが流行の主流となっている 2014/15 シーズンは，株サーベイランス実績の維持に向けて情報共有を図っている。
- (3) 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（EQA）実施にあたり，現場としてプロトコルの検討や結果の検討に協力した。
- (4) 協力地衛研はインフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め，研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。

## 4) 網羅解析を必要とする感染症患者検体収集および網羅解析ネットワークの構築：富山県衛生研究所

研究分担者：佐多徹太郎，研究協力者：小淵正次，滝澤剛則，稲崎倫子，嶋 一世，綿引正則，磯部順子，木全恵子，清水美和子，増田千恵子，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；迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究 平成 26 年度総括・分担研究報告書，pp. 26-33

地方衛生研究所での次世代シーケンサの利用について，昨年度に引き続き、病原微生物不明の感染症を疑う患者検体の解析，そして少量の便検体からでも検査が可能かどうかについて検討した。結果，無菌性髄膜炎，脳炎・脳症患者の検体からは病因と推定される病原体の遺伝子は検出されなかった。一方，昨年度の調査で感染性胃腸炎集団事例から見つかったサポウイルス GV.2 について，PCR 法により本ウイルスが当該事例の原因ウイルスであることが確かめられた。また，少量の便検体からは解析リードは得られなかったものの，便検体自体のメタゲノム解析は十分可能であることが示唆された。これらのことから，地方衛生研究所での病原体診断に次世代シーケンサが応用可能であることが示されたので，今後さらに検体を解析していくことで次世代シーケンサの利用方法や解析方法を確立するとともに，国立感染症研究所と地方衛生研究所とのネットワークの構築についてもさらに検討していきたい。

#### 5) 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，清水美和子，増田千恵子，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性因子及び診療の標準化に関する研究」平成 26 年度総括・分担研究報告書，p41-49

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（EHEC）の集団食中毒事例では，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プロファージが存在していたこと，そして O111 だけでなく O157 も分離されたことなど，これまでの EHEC 食中毒とは異なる細菌学的な特徴を示していた。昨年までの Stx2 ファージの解析と O157 EHEC の Stx2 プロファージの PCR による多型解析により，Stx2 遺伝子が 2 コピー存在する株の存在から，*in vivo* で 2 つの血清群 EHEC 由来 Stx2 ファージの交差感染が示唆された。これを明らかにするため，今年度は O157 EHEC の Stx2 プロファージのゲノムの構造解析を行い，O111 EHEC 及び Stx2 ファージの構造と比較したところ，本食中毒事例で分離された複数の EHEC 株は，*in vivo* で 2 つの血清群の EHEC 由来 Stx2 ファージの交差感染の結果であることがさらに強く示唆された。

#### 6) 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，清水美和子，増田千恵子，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性因子及び診療の標準化に関する研究」平成 24-26 年度総合研究報告書，p86-94

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（EHEC）の集団食中毒事例では，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たこと，血清群 O111 には安定な Stx2 プロファージと不安定なプロファージが存在していたこと，そして O111 だけでなく O157 も分離されたことなど，これまでの EHEC 食中毒とは異なる細菌学的な特徴を示していた。この研究では，本事例の細菌学的特徴を明らかにし，重症化の原因を究明することを目的として，特に EHEC 感染症の重症化に関連するといわれている Stx2 ファージの解析を行った。本食中毒事例の検体から，Stx 2 ファージの分離を試み，患者便と O111stx2 分離株から，Stx2 ファージを分離し，構造解析を行った。さらに本食中毒事例で分離

平成27年12月15日

されたO111 EHECだけでなく、複数のO157 EHECのStx2プロファージの構造解析を行った。得られたStx2ファージ、及びStx2プロファージの構造を比較したところ、2つの血清群のEHECが混合感染し、食中毒患者の腸管内で、Stx2ファージの交差感染が起っていたことが強く示唆された。

#### 7) 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」、平成26年度総括・分担研究報告書、p 101-118.

##### （アシネトバクター属菌の鑑別法に関する研究）

*Acinetobacter* 属菌、特に *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex (ACBC) を構成する4つの *genospecies* (*A. baumannii*, *A. calcoaceticus*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*) を迅速に鑑別する遺伝子検査法を検討した。昨年度は、*rpoB* 遺伝子を対象とした MultiplexPCR 法を考案し、*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* を鑑別することが可能となったことを報告した。今年度は、この方法の有用性を評価するため、引き続き県内医療機関から分離されたACBC 40株について検討した。また、本鑑別法の客観的な評価を得るため他の研究機関への評価を依頼し、28株のACBCを用いて検討した。その結果、ACBC構成菌種の鑑別能は*rpoB* 配列による系統解析結果とよく一致した。従って、実用レベルの鑑別法として使用できると思われる。

##### （アシネトバクター属菌の感染疫学解明に関する研究）

国内におけるアシネトバクター属菌の感染疫学に関する知見を得ることを目的とした。*A. baumannii* の次世代シーケンサーを使用した全ゲノム解析データに基づいた *A. baumannii* International Clone II (IC II) のSNP系統樹解析と *A. baumannii* の薬剤耐性遺伝子の検索を実施した。SNP系統樹解析によりMDRAが他の *A. baumannii* IC II クラスターに属する株と異なる起源と感染疫学を持つ可能性が示唆された。院内感染防止策構築の基礎となるMDRAの感染疫学に関して、今後さらなる調査が必要である。

#### 8) 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24-26年度総合研究報告書、p 98-123.

##### （アシネトバクター属菌の鑑別法に関する研究）

この研究では、*Acinetobacter* 属菌、特に *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex (ACBC) を構成する4つの菌種のうち、臨床的に重要な3つの *genospecies* (*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*) を迅速に鑑別する遺伝子検査法を開発した。当初は *gyrB* 遺伝子を標的としたが、その後 *rpoB* 遺伝子を対象とした multiplex PCR 法を考案し、*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis* を鑑別することが可能となった。このPCR法の有用性を評価は、富山県内医療機関から分離されたACBC 109株と愛媛県内の医療機関から分離されたACBC 28検体を用いて、*rpoB* 遺伝子の塩基配列決定の結果と比較することで実施した。その結果、ACBC構成菌種の鑑別能は*rpoB* 配列による系統解析結果とよく一致した。従って、実用レベル

の鑑別法として使用できると思われる。

(アシネトバクター属菌の感染疫学解明に関する研究)

国内におけるアシネトバクター属菌の感染疫学に関する知見を得ることを目的として、国立感染症研究所と連携し、全国の国立病院から収集した866株のアシネトバクター属菌について菌種同定を行った。また、*A. baumannii*のMLST解析と次世代シーケンサーを使用した全ゲノム解析データに基づいた*A. baumannii* International Clone IIのSNP系統樹解析と*A. baumannii*の薬剤耐性遺伝子の検索を実施した。866株中*A. baumannii*が最も多く(74%)、次いで*A. nosocomialis*(10%)、*A. pittii*(7%)、*A. sp. close to 13TU*(2%)が続いた。MLST解析の結果から、*A. baumannii*についても地域に特異的な感染疫学が成立している可能性が示唆された。また、SNP系統樹解析によりMDRAが他の*A. baumannii* International Clone IIクラスターに属する株と異なる起源と感染疫学を持つ可能性が示唆された。院内感染防止策構築の基礎となるMDRAの感染疫学に関して、今後さらなる調査が必要である。

#### 9) 食品分離株及び臨床分離株のゲノム解析

研究代表者：調恒明\*、分担研究者：佐多徹太郎、協力研究者：綿引正則、磯部順子、木全恵子、清水美和子、増田千恵子、金谷潤一。

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進事業)「地方衛生研究所の連携による食品由来病原微生物の網羅的ゲノム解析を基盤とする新たな食品の安全確保に関する研究」平成26年度総括・分担研究報告書、p 20-37。

大量の塩基配列データが得られる次世代シーケンサー(NGS)の公衆衛生分野での活用方法について、検証した。これまでに食中毒の原因物質不明事例で利用され、NGSは原因究明法として極めて有用であることが知られるようになってきた。今年度は、食中毒原因菌として重要なサルモネラ属菌分離株36株のゲノム配列を、比較ゲノム解析手法を用いて評価した。さらに、カンピロバクター分離株20株についてもゲノム解析を行い、分離菌種のゲノム配列の特徴や機能について解析した。その結果、高精度疫学マーカーとしてのSNP解析や比較ゲノム学的手法を導入した結果、迅速で正確な遺伝子解析法として、NGSは地衛研における公衆衛生学分野で十分利用価値があると考えられた。

#### 10) 病原体管理システム実用化に際しての検証および改良

研究代表者：西條 政幸\*、分担研究者：篠原克明\*、綿引正則、高田礼人\*、駒野淳\*、協力研究者：佐多徹太郎、倉田毅\*、奥谷晶子\*、福士秀悦\*、早川成人\*、小松亮一\*。

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)「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26年度総括・分担研究報告書、p 17-30。

病原体等の安全保管管理と使用履歴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)を構築し、実用配備することが本研究の目的である。本ICBSシステムは、病原体サンプルを1本単位でコード管理し、且つサンプル採取の段階から廃棄までの取り扱い情報とその履歴を自動的に一括管理する。本システムの導入とサンプルのコード体系化は各施設内及び施設間における情報の共有化と一元管理を可能とし、現行感染症法の遵守並びにパンデミック感染症発生時などのバイオセキュリティ及びバイオセーフティの確立に寄与するものである。本ICBSシステム(汎用型)は、本年度を含めこれまでに、地方衛生研究所などにおいてシステムの安定性及び有用性評価と実証実験を行い、ソフトとハードを含めたシステム全体として実用可能なレベルに到達したことが確認できた。さらに、本ICBSシステムと別の情報管理システムとの連携方法につい

平成27年12月15日

でも検討を行い、連携可能であることが確認できた。

本 ICBS システムの導入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  
と考える。また、病原体管理情報の統一化及び別の情報管理システムとの連携は、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。

#### 11) 病原体管理システム実用化に際しての検証および改良

研究代表者：西條 政幸\*、分担研究者：篠原克明\*、佐多徹太郎、高田礼人\*、駒野淳\*、綿引正則、協力  
研究者：倉田毅\*、奥谷晶子\*、福士秀悦\*、早川成人\*、小松亮一\*。

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）「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 24-26 年度総合研究報告書、p 33-49。

本研究の目的は、病原体等の安全保管管理と使用履歴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）を構築し、実  
用配備することである。本 ICBS システムは、病原体サンプルを1本単位でコード管理を行い、且つサン  
プル採取の段階から廃棄までの取り扱い情報とその履歴を自動的に一括管理する。本システムの導入とサ  
ンプルのコード体系化は各施設内及び施設間における情報の共有化と一元管理を可能とし、現行感染症法  
並びにパンデミック感染症発生時などのバイオセキュリティ及びバイオセーフティの向上に寄与するもの  
である。本 ICBS システム（汎用型）は、地方衛生研究所などにおいてシステムの安定性や有用性評価と  
実証実験を行い、その都度現場からの要望を考慮してアプリケーションの改良を行った。現段階において、  
ソフトとハードを含めたシステム全体として実用可能なレベルに到達したことが確認できた。本 ICBS シ  
ステムの導入は病原体管理現場における情報管理作業の効率化と省力化に大いに貢献でき、病原体サン  
プル情報の統一化及び別の情報管理システムとのデータ連携は、同一機関のみならず複数機関との情報管理  
に有用であると思われる。

#### 12) 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 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）等活用状況調査

研究代表者：泉谷秀昌\*、分担研究者：松本昌門\*、研究協力者：鈴木匡弘\*、山田和弘\*、北川恵美子\*、  
野田万希子\*、土屋美智代\*、木全恵子、中根邦彦\*、新名由季子\*、永井佑樹\*、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 26 年度総括・研究分担報告書及び平成 24～26 年度総合報告書、p51-64

平成 26 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、これらの IS 型は  
全て異なっていた。このうち 2 つの IS 型は他の都県市由来株と同一であった。また、本年検出された O157  
（VT1）感染事例 2 件について S printing System と PFGE 実施例の報告を行った。

#### 13) 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、緒方喜久代\*、中島 洋\*、研究協力者：  
小川恵子\*、金谷潤一、久保田晶子、佐々木麻里、田中忍\*、千田恭子、武藤千恵子\*、山口友美\*、吉野  
修二\*、渡辺祐子\*、前川純子\*、黒木俊郎\*

厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」研究代表者：倉 文明\*, 平成 26 年度総括・分担報告書, p 77-107.

精度管理の配布試料として、昨年と同じく BioBall を利用し、全国 41 の地研を対象に調査を行った。施設毎の SOP とワーキンググループ推奨法で測定した。昨年度の検査機関ごとのばらつきは解消され、非濃縮試料及び未処理での検査を工程に入れたことによると思われる。

#### 14) 厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場の衛生管理等に関する研究」

倉 文明\*, 黒木俊郎\*, 森本 洋\*, 磯部順子, 烏谷竜哉\*, 緒方喜久代\*

「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 26 年度総括・分担報告書, p 109-114.

入浴施設の衛生管理やレジオネラ属菌の培養法等について、活用が期待される研究成果を整理した。

#### 15) 富山県の不明感染源解明のための環境調査

研究代表者：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「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 26 年度総括・分担報告書, p 123-132

富山県で多く発生するレジオネラ感染症の感染源として、浴用水以外の感染源を探求するため、環境中の *Legionella* 属菌の生息状況を平成 24 年より調査している。今年度の調査対象はシャワー水 34 検体、河川水 34 検体、河川水周辺の土壌 64 検体とした。シャワー水については平成 24、25 年分も含め、3 年間で得られた 94 検体について解析した。*Legionella* 属菌の検出率はシャワー水 32/94 検体 (34.0%)、河川水 15/34 検体 (44.1%)、土壌 25/64 検体 (39.1%) であった。シャワー水では、水源の種別の *Legionella* 属菌の検出率は、水道水に比べ、井戸水、湧水や温泉水などで高かった。土壌では、*Legionella* 属菌の検出率は、道路沿いの土壌で 8/30 検体 (26.7%) に対し、河川付近では 17/34 検体 (50.0%) と、河川付近の土壌で *Legionella* 属菌の検出率が高かったが、個別に見ると、河川と土壌の関連性は明らかではなかった。分離された *Legionella* 属菌は *L. pneumophila* がもっとも多く、それらの血清群はシャワー水では SG5、河川水では SG3、そして土壌では SG8 が多かった。また、河川水と土壌から分離された *Legionella* 属菌では型別不能 (UT) も多く分離された。今年度の調査では富山県特有の ST505 の *Legionella pneumophila* SG1 は河川水・土壌およびシャワー水から分離されなかった。

今年度は、*Legionella* 属菌の自動車のウインドウッシャー液中での生残性について、*L. pneumophila* SG1, SG5, SG14 および *L. rubrilucens* を用いて調べた。市販のウインドウッシャー液中ではどの株も 24h 後に生存株は認められなかった。これに対し PBS 中でのこれらの株はおよそ 50% が生残した。この結果から、ウインドウッシャー液を使用することで、レジオネラ感染症に対するリスクを軽減することが示された。

#### 16) Liquid Culture EMA qPCR によるレジオネラ生菌迅速検査法の改良と評価

研究代表者：倉 文明\*, 研究分担者：磯部順子, 研究協力者：飯高 順子\*, 金谷 潤一, 武藤 千恵子\*, 山口 友美\*

本研究では、レジオネラ生菌迅速検査法の標準化に向けた基礎的データを得るため、昨年度までの検討をもとに従来のLC EMA qPCR法を少し改変し、主に循環式浴槽水などの実試料176検体を用いて、平板培養法に対する感度、特異度などの評価を行った。また、市販されている迅速検査キット（生菌と死菌の両方を検出するLAMP法）についても平板培養法に対する感度、特異度などの評価を行い、LC EMA qPCR法と比較した。LC EMA qPCR法について、平板培養法による10 CFU/100 ml以上の検体を検出するカットオフ値として1 CFU/100 ml相当を用いて解析を行った結果、平板培養法に対する感度は89.5% (51/57検体)、特異度は73.9% (88/119検体)であり、平板培養法と高い相関を示した。LAMP法およびLC EMA qPCR法を実施した98検体について、平板培養法に対する感度、特異度をそれぞれ比較した結果、LAMP法の平板培養法に対する感度は77.5% (31/40検体)、特異度は69.0% (40/58検体)であった。一方、LC EMA qPCR法の平板培養法に対する感度は90.0% (36/40検体)、特異度は74.1% (43/58検体)であり、いずれもLAMP法より高かった。LC EMA qPCR法と平板培養法の菌数（定量値）の比較では、 $R^2 = 0.6176$ と高い相関を示し、全体として平板培養法の菌数を反映していた。ワーキンググループ推奨法を用いて平板培養を実施した場合、LC EMA qPCR法のカットオフ値に5 CFU/100 ml相当を用いて解析を行うと感度が低下するため、昨年度の結果と同様にLC EMA qPCR法のカットオフ値は1 CFU/100 ml相当が良いと考えられた。今年度の結果から、主に循環式浴槽水を対象とした場合、LC EMA qPCR法は、カットオフ値1 CFU/100 ml相当を用いることで平板培養法と高い相関を示す迅速検査法であることが示された。

## (2) 学 会 発 表 等

- 1) 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, 山腰高子\*, 松永憲治\*, 清水忠道\*, 立瀬剛志\*, 鏡森定信\*,  
第79回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会, 平26.5.11-14, 京都市.
- 2) A.calcoaceticus-A.baumannii complex (ACBC) のPCRによる同定法開発の試み  
綿引正則, 清水美和子, 金谷潤一, 木全恵子, 磯部順子, 松井真理\*, 鈴木匡弘\*, 荒川宜親\*,  
柴山恵吾\*, 佐多徹太郎  
第88回日本感染症学会学術講演会, 平26.6.18-20 福岡市
- 3) 銅添加移動相を用いた有機酸のイオン交換クロマトグラフィーによる分析  
健名智子, 小玉修嗣\*, 山本敦\*, 井上嘉則\*, 早川和一\*  
日本分析化学会第63年会 平26.9.17-19, 東広島市
- 4) 免疫ビーズを用いて食品中の腸内出血性大腸菌の2つの血清群を同時に検出する方法の検討  
清水美和子, 磯部順子, 木全恵子, 増田千恵子, 金谷潤一, 佐多徹太郎, 綿引正則  
第35回日本食品微生物学会学術総会, 平26.9.18-19 堺市
- 5) 富山県内の浴用施設におけるシャワー水のレジオネラ属菌分離状況  
金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 増田千恵子, 倉 文明\*, 佐多徹太郎, 綿引正則  
日本防菌防黴学会第41回年次大会, 平26.9.24-25 東京都品川区
- 6) ウインドウウォッシャー液のレジオネラ属菌による汚染実態調査  
磯部順子, 金谷潤一, 木全恵子, 清水美和子, 増田千恵子, 倉 文明\*, 佐多徹太郎, 綿引正則

日本防菌防黴学会第41回年次大会, 平 26.9.24-25 東京都品川区

- 7) 10年間骨折発生リスク予測ツール (FRAX®) と骨密度の比較  
小林直人  
平成 26 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 26.10.9-10, 津市
- 8) タンデム型質量分析装置を用いた先天性代謝異常等の新生児マススクリーニング状況  
九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 角 園子\*  
第 16 回富山県薬学会年会 平 26.10.18, 富山市
- 9) 富山県における呼吸器感染症罹患児からの呼吸器ウイルスの検出と分子疫学  
小淵正次, 八木信一\*, 小栗絢子\*, 稲崎倫子, 稲畑 良, 佐多徹太郎, 滝澤剛則  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 平 26.11.10-12, 横浜市
- 10) 次世代シーケンサーによる感染性胃腸炎集団事例患者検体からのサポウイルス GV.2 の検出  
稲崎倫子, 名古屋真弓, 板持雅恵, 嶋一世, 小淵正次, 稲畑良, 長谷川澄代, 黒田誠\*, 佐多徹太郎,  
滝澤剛則  
第 62 回日本ウイルス学会学術集会, 平 26.11.10-12, 横浜市
- 11) 富山県氷見・高岡沿岸地域における温泉成分の経年変化調査  
村元達也, 健名智子, 堀井裕子, 山下智富  
第 51 回全国化学技術協議会年会 平 26.11.20-21, 別府市
- 12) 食品添加物分析法の検討 - 二酸化硫黄及び亜硫酸塩類の添加回収率の低下について -  
村元達也, 山下智富  
平成 26 年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会 平 27.2.5-6, 富山市
- 13) 新生児マススクリーニングにおけるタンデムマス法導入の成果  
九曜雅子, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 佐多徹太郎, 角 園子\*  
第 49 回富山県公衆衛生学会 平 27.2.10, 富山市
- 14) 流産検体の染色体検査～モザイク型について～  
高森亮輔, 西永真理, 品川保弘  
第 27 回富山県母性衛生学会 平 27.2.14, 富山市
- 15) 富山県における平成 26 年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況  
木全恵子  
平成 26 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 27.3.5-6, 名古屋市
- 16) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告  
木全恵子  
平成 26 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 27.3.5-6, 名古屋市
- 17) レジオネラおよび結核レファレンス事業報告  
綿引正則  
平成 26 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 27.3.5-6, 名古屋市



平成27年12月15日

18) 銅添加移動相を用いる有機酸類の一斉分析

健名智子, 小玉修嗣\*, 山本敦\*, 井上嘉則\*, 早川和一\*

日本薬学会第135年会 平 27.3.25-28, 神戸市

19) 内部鑄型によるガラスおよび樹脂製3次元流路チップの作製

山下智富, 安川和志, 健名智子, 堀井裕子, 中山恵理子, 村元達也, 松井秀樹

日本化学会第95春季年会 平 27.3.26-29, 船橋市

### (3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 学位授与

名古屋 真弓

平成 25 年 9 月 25 日, 北海道大学から博士(獣医学)の学位を授与

学位論文「Ecological and molecular epidemiological studies of Japanese encephalitis virus and Culex flavivirus in Toyama Prefecture」

2) 学位授与

金谷 潤一

平成 26 年 11 月 12 日, 麻布大学から博士(学術)の学位を授与

学位論文「Molecular epidemiology of *Legionella pneumophila* serogroup 1 isolates from sputum specimens and environmental sources in Toyama Prefecture, Japan」

### (4) 知的所有権

発明の名称	特許権者・出願人	発明者	番号
キャピラリーチューブ及びその製造方法	富山県・ジーエルサイエンス(株)	小玉修嗣, 山本 敦, 松永明信, 寺島弘之, 誉田佳孝	特許第4521754号 (平成22年6月4日)
流路チップの製造方法	富山県	山下智富	特許第5344414号 (平成25年8月23日)

## 編 集 委 員

委 員 長 金 木 潤  
委 員 米 田 智 美  
品 川 保 弘  
小 渕 正 次  
範 本 志 保  
健 名 智 子  
中 崎 美 峰 子

## 富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成26年度（2014）第38号

2015年12月15日

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所  
〒939-0363

富山県射水市中太閤山17-1

電 話 （0766）56-5506(代)

F A X （0766）56-7326

印 刷 株式会社タニグチ印刷

富山県射水市東明中町7-1

電 話 （0766）86-1376(代)

