

富山県衛生研究所年報

(平成29年度)

第41号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2017~MARCH 2018)

NO. 41

2018



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成29年度)

第41号

富山県衛生研究所

は じ め に

年報第 41 号をお届けいたします。本号は、平成 29 年度に当所で実施した検査、調査、研究等について掲載しています。ご高覧いただき、お気づきの点などご教示くださいますと幸いです。

今年 7 月に、記録的な降水量を伴った西日本豪雨が発生し、さらに、9 月には北海道胆振東部地震が発生し、それぞれ広い地域に甚大な被害が及びました。被災された皆様に心よりお見舞い申し上げますとともに、1 日も早い復興をお祈り申し上げます。

さて、昨年の 7 月から 8 月にかけて、腸管出血性大腸菌 O157 (VT2) による感染事例が、関東地方を中心に多数発生しました。検出された菌株の 8 割余りが、同じ遺伝子型であることが後に判明しました。惣菜チェーン店などの関連が疑われた事例も含まれています。このような、共通する菌株の広域感染が推定される場合、事例の発生状況や菌株の特徴などの情報を共有し、早期に原因を探知すれば感染の拡大を防止できます。菌株の遺伝子型判定法も、一元的に管理できるように反復配列多型解析 (MLVA) 法に統一され、地方衛生研究所が実施することになりました。当所でも、MLVA 法に対応するため技術研修会へ職員を派遣するなど、整備を進めています。

今年 3 月に、沖縄県を旅行した外国人観光客が発端となり、麻しんの集団発生が繰り返されました。麻しんウイルスは感染力が強く、重篤な合併症を引き起こす場合があるため、確実に診断して感染の拡大を予防することが大切です。7 月以降には、風しん患者が成人男性を中心に急激に増加しており、先天性風しん症候群の発生が懸念されています。麻しん・風しんには全例での遺伝子検査が求められており、地方衛生研究所で標準作業書に基づいた検査を実施しています。

今年度は、食品衛生法等が一部改正され、HACCP に沿った衛生管理の制度化、食品用器具や包装容器へのポジティブリスト制度の導入などが謳われています。前述した広域的な食中毒事案への対策強化も盛り込まれています。当所も、必要な対応を進めてまいります。

末筆ながら、医療機関、学術研究機関、県厚生部をはじめとする行政機関等の皆様には、日頃より多くのご指導ご支援をいただき、厚くお礼申し上げます。今後とも、よろしく願い申し上げます。

平成 30 年 12 月

富山県衛生研究所長

滝澤 剛則

目 次

I 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	19
(12) 研 修 指 導	20
(13) 研 修 受 講	21
(14) 客 員 研 究 員	23
(15) 研 究 成 果 発 表 会	23
(16) 試 験 研 究 機 関 研 究 員 交 流 集 会	23
(17) 地 方 衛 生 研 究 所 全 国 協 議 会 等	24
(18) 各 種 規 程 等	26

II 調 査 研 究 報 告

1. 短 報

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29年度）	27
稲崎倫子 青柳由美子 森岡誠二 米田哲也 佐賀由美子 板持雅恵 長谷川澄代 小淵正次	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況(2017年)	32
磯部順子 金谷潤一 木全恵子 範本志保 内田 薫 綿引正則	
生活習慣の変容とインスリン抵抗性関連指標の変化	38
中崎美峰子 澁谷直美 坪野由美 大浦栄次 上野美穂	
リン調整因子FGF23と骨質劣化との関連	43
田村恒介 小林直人 上野美穂	

2. 資料

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29年度）	47
九曜雅子 西永真理 上出 功 若杉 央	
ヒト血液の染色体分析結果（平成29年度）	60
湊山亜未 高森亮輔 品川保弘 上出 功	
流産胎児の染色体分析結果（平成29年度）	62
高森亮輔 湊山亜未 品川保弘 上出 功	
羊水細胞の染色体分析結果（平成29年度）	64
高森亮輔 湊山亜未 品川保弘 上出 功	
日本脳炎流行予測調査（感染源調査）平成29年度	68
佐賀由美子 稲崎倫子 青柳由美子 長谷川澄代 板持雅恵 米田哲也	
藤岡俊太郎 小淵正次	
日本脳炎流行予測調査（感受性調査）平成29年度	75
稲崎倫子 青柳由美子 米田哲也 佐賀由美子 板持雅恵 長谷川澄代	
久松佑生子 井川朋子 道谷真由美 渡辺聡子 遠藤京子 杉野泰子	
藤岡俊太郎 小淵正次	
ポリオ流行予測調査（平成29年度）	78
板持雅恵 稲崎倫子 米田哲也 佐賀由美子 久松佑生子 井川朋子 道谷真由美	
渡辺聡子 遠藤京子 杉野泰子 藤岡俊太郎 小淵正次	
インフルエンザ流行予測調査（平成29年度）	85
米田哲也 稲崎倫子 佐賀由美子 板持雅恵 青柳由美子 長谷川澄代 小淵正次	
久松佑生子 井川朋子 道谷真由美 渡辺聡子 遠藤京子 杉野泰子 藤岡俊太郎	
インフルエンザ発生動向調査（2017/18シーズン）	89
米田哲也 稲崎倫子 佐賀由美子 板持雅恵 青柳由美子 長谷川澄代 小淵正次	
久松佑生子 井川朋子 道谷真由美 渡辺聡子 遠藤京子 杉野泰子 藤岡俊太郎	
富山県における平成29年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	92
板持雅恵 米田哲也 稲崎倫子 佐賀由美子 青柳由美子 長谷川澄代 小淵正次	
動物由来感染症浸淫状況調査（平成29年度）	95
稲崎倫子 佐賀由美子 青柳由美子 長谷川澄代 板持雅恵 米田哲也 小林 浩	
貴嶋哲郎 保積亜希子 小淵正次	
富山県内の下水流入水から検出された腸管系ウイルス（平成29年度）	98
板持雅恵 米田哲也 稲崎倫子 佐賀由美子 青柳由美子 長谷川澄代 小淵正次	
麻疹ウイルスと風疹ウイルスを対象としたリアルタイムPCRの迅速化	105
板持雅恵 米田哲也 成相絵里 倉本早苗 五十嵐映子 酒井妙子 稲崎倫子	

佐賀由美子 名古屋真弓 小淵正次	
感染症媒介蚊の生息状況調査（平成29年）	109
佐賀由美子 長谷川澄代 稲崎倫子 板持雅恵 米田哲也 青柳由美子 小淵正次	
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2017年）	114
木全恵子 磯部順子 内田 薫 金谷潤一 範本志保 窪田弘文 綿引正則	
富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株の カルバペネマーゼ遺伝子保有状況について（2017年）	117
内田 薫 綿引正則 範本志保 金谷潤一 木全恵子 磯部順子	
富山県内で分離されたA群溶血性レンサ球菌の血清型（2017年）	119
内田 薫 綿引正則 範本志保 木全恵子 金谷潤一 加藤陽子 柴山直美 堀江妙子 磯部順子	
富山県における2017年の病原微生物検出情報	121
内田 薫 綿引正則 範本志保 木全恵子 金谷潤一 磯部順子	
平成29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－	125
金谷潤一 綿引正則 範本志保 木全恵子 内田 薫 磯部順子	
平成29年度富山県水道水質検査精度管理調査結果	128
村元達也 中山恵理子 健名智子 柚木悦子	
ピロガロールレッド・モリブデン錯体比色法による尿蛋白定量について	131
上野美穂 田村恒介 石橋悠太 中崎美峰子	

Ⅲ 業 績

(1) 誌 上 発 表	135
(2) 学 会 発 表 等	141
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	145
(4) 知 的 所 有 権	145
富山県衛生研究所年報投稿規程	146
富山県衛生研究所年報執筆要領	147

Research Reports

1. Letters

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	27
Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Seiji MORIOKA, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2017	32
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO, Kaoru UCHIDA and Masanori WATAHIKI	
Relationship between Change of Life Style Behavior and Indices of Insulin Resistance or Obesity	38
Mineko NAKAZAKI, Naomi SHIBUYA, Yoshimi TSUBONO, Eiji OURA and Miho UENO	
Association between Phosphate Regulator FGF23 and Reduced Bone Quality	43
Kosuke TAMURA, Naoto KOBAYASHI and Miho UENO	

2. Notes

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2017 - Mar.2018)	47
Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Isao KAMIDE and Chika WAKASUGI	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr.2017 - Mar.2018)	60
Ami MINATOYAMA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2017 - Mar.2018)	62
Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2017 - Mar.2018)	64
Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	68
Yumiko SAGA, Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Shuntaro FUJIOKA and Masatsugu OBUCHI	
Serological Investigation of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture	

in the Fiscal Year 2017	75
<p>Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, Yuko HISAMATSU, Tomoko IKAWA, Mayumi MICHITANI, Satoko WATANABE, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO, Shuntaro FUJIOKA and Masatsugu OBUCHI</p>	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	78
<p>Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Yuko HISAMATSU, Tomoko IKAWA, Mayumi MICHITANI, Satoko WATANABE, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO, Shuntaro FUJIOKA and Masatsugu OBUCHI</p>	
Serological Investigation of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2017-2018	85
<p>Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masatsugu OBUCHI, Yuko HISAMATSU, Tomoko IKAWA, Mayumi MICHITANI, Satoko WATANABE, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO and Shuntaro FUJIOKA</p>	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2017-2018	89
<p>Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masatsugu OBUCHI, Yuko HISAMATSU, Tomoko IKAWA, Mayumi MICHITANI, Satoko WATANABE, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO and Shuntaro FUJIOKA</p>	
Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	92
<p>Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI</p>	
Epidemiological Surveillance of Zoonosis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	95
<p>Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Hiroshi KOBAYASHI, Tetsurou KIJIMA, Akiko HOZUMI and Masatsugu OBUCHI</p>	
Enteric Viruses in Raw Sewage in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017	98
<p>Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI</p>	

Fast Real-time PCR for Measles Virus and Rubella Virus	105
Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Eri NARIAI, Sanae KURAMOTO, Eiko IGARASHI, Taeko SAKAI, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA and Masatsugu OBUCHI	
Distribution of Mosquitoes in Toyama Prefecture, 2017	109
Yumiko SAGA, Sumiyo HASEGAWA, Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Yumiko AOYAGI and Masatsugu OBUCHI	
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2017	114
Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Shiho NORIMOTO, Hirohumi KUBOTA and Masanori WATAHIKI	
Surveillance of Carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> Infectious Diseases and Detection of Carbapenemase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2017)	117
Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA and Junko ISOBE	
Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2017	119
Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Yoko KATO, Naomi SHIBAYAMA, Taeko HORIE and Junko ISOBE	
Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2017	121
Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI , Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI and Junko ISOBE	
Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	125
Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Kaoru UCHIDA and Junko ISOBE	
Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2017)	128
Tatsuya MURAMOTO, Eriko NAKAYAMA, Tomoko KEMMEI and Etsuko YUNOKI	
Measurement of Total Urinary Protein by Pyrogallol red-molybdate Method	131
Miho UENO, Kosuke TAMURA, Yuta ISHIBASHI and Mineko NAKAZAKI	

I 運 營

(1) 沿 革

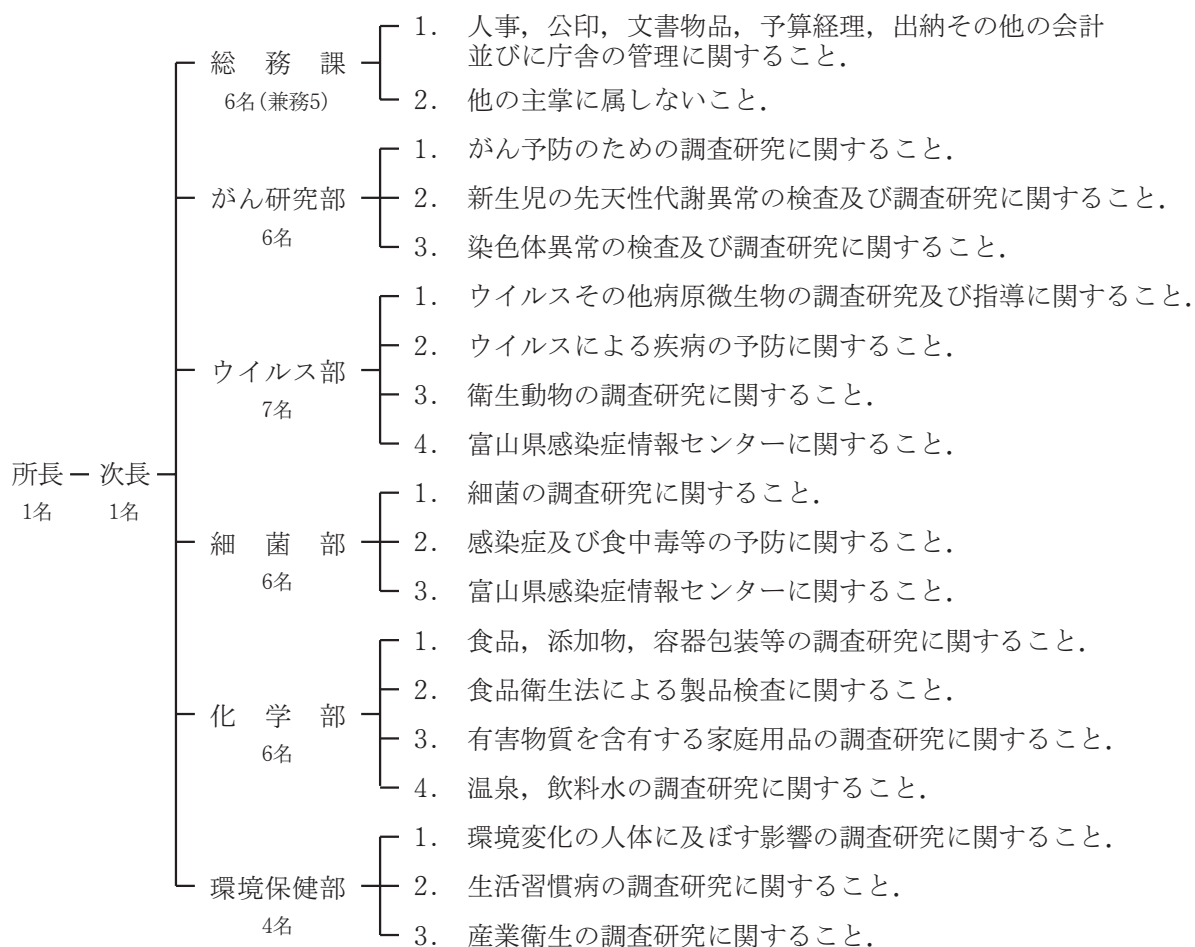
- 昭和35年4月1日 職員9名の構成で発足。
- 昭和36年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）。
- 昭和37年11月30日 旧研究所の増築。
- 昭和38年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、所長代理制が設けられ、また、課名の一部（庶務係を庶務課に、ウイルス血清課をウイルス病理課）を変更。
- 昭和39年10月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査課を新設。
- 昭和44年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正す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）中太閣山で建設着工。
- 昭和57年6月10日 小杉町（現 射水市）中太閣山に新庁舎完成。
- 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。
- 平成27年3月31日 富山県衛生研究所利益相反管理委員会を廃止。
- 平成27年4月1日 富山県衛生研究所倫理審査要綱、同倫理審査委員会運営要領策定。

(2) 施設 の 概 要

建 物	構 造	延 面 積 (㎡)
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階(一部4階)建	3,044.59
動 物 飼 育 棟	” 平屋建	241.76
車 庫	鉄骨造平屋建	34.56
薬 品 庫	コンクリートブロック造平屋建	20.60
ボ ン ベ 庫	”	17.54
R I 排 水 庫	”	26.65
排 水 処 理 庫	”	13.57
渡 り 廊 下	鉄 骨 建	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

(3) 組 織 及 び 業 務

(平成30年6月1日)



(4) 職 員 数

(平成30年6月1日)

区 分	所・次長 部・部長	副主幹	副主幹 研究員	上 席 専門員	主 任 研究員	主 任 専門員	研究員	主事	技師	再任用 業務技師	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1(兼)	2(兼2)						2(兼1)		1(兼)	6(兼5)
がん研究部	1				2	1	1		1		6
ウイルス部	1				4		2				7
細 菌 部	1			1	3		1				6
化 学 部	次長 事務取扱		2		4						6
環境保健部	1		1		1		1				4
合 計	7	2	3	1	14	1	5	2	1	1	37(兼5)

* 総務課の課長，副主幹，主事1名は環境科学センター・薬事総合研究開発センターを兼務
再任用業務技師は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成30年6月1日)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所	長	滝 澤 剛 則		部	長	磯 部 順 子	
次	長	柚 木 悦 子		上 席 専 門 員		綿 引 正 則	
総 務 課	総 務 課 長 (兼)	森 田 雅 章		細 菌 部	主 任 研 究 員	木 全 恵 子	
	副 主 幹 (兼)	清 水 育 子			〃	加 藤 智 子	
	副 主 幹 (兼)	京 角 ゆかり			〃	金 谷 潤 一	
	主 事	関 井 久 代			研 究 員	内 田 薫	
	主 事 (兼)	野 島 留 美					
	再任用業務技師(兼)	竹 内 一 彦					
が ん 研 究 部	部 長	九 曜 雅 子		化 学 部	部 長	次長事務取扱	
	主 任 研 究 員	西 永 真 理			副 主 幹 研 究 員	健 名 智 子	
	〃	高 森 亮 輔			〃	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	湊 山 亜 未			〃	山 下 智 富	
	技 師	能 登 栄 智			〃	村 元 達 也	
ウ イ ル ス 部	部 長	小 渕 正 次		環 境 保 健 部	部 長	上 野 美 穂	
	主 任 研 究 員	板 持 雅 恵			副 主 幹 研 究 員	中 崎 美 峰 子	
	〃	名 古 屋 真 弓			主 任 研 究 員	田 村 恒 介	
	〃	佐 賀 由 美 子			研 究 員	石 橋 悠 太	
	研 究 員	稲 崎 倫 子					
	〃	米 田 哲 也					
	〃	嵩 田 嵩 久					

注 総務課の(兼)は環境科学センターおよび薬事総合研究開発センターを兼務

(6) 予算及び決算

平成 29 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)	その他 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	784					784	所の運営等
試験研究費	42,083	3,427			480	38,176	所の運営、維持管理、試験検査等
設備充実費	2,327		587			1,740	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,188					1,188	調査研究
がん等特別研究費	5,920					5,920	調査研究
感染症対策強化事業費	3,000				500	2,500	調査研究
合 計	55,302	3,427	587		980	50,308	

平成 29 年度歳入・歳出決算

(歳 入)

科 目	決算額 (円)	備 考
衛生手数料	7,602,196	衛生研究所費 2,340,476 環境衛生検査5,261,720
国庫支出金	0	
財産運用収入	806	特許権等運用収入
雑 入	2,841,097	
合 計	10,444,099	

(歳 出)

科 目	決算額 (円)	備 考
人事管理費	528,300	派遣研修費・客員研究員報償費
財産管理費	2,441,600	庁舎維持管理費
児童福祉対策費	13,301,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	1,585,647	再任用職員、臨時的任用職員等の保険料
予 防 費	10,265,484	感染症関連調査
環境保健対策費	8,369,318	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	56,623,719	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	4,648,245	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	9,219,900	食品安全対策検査
環境衛生指導費	232,226	細菌検査
公害防止対策費	314,626	海水浴場細菌検査
工 鉱 業 総 務 費	3,089,787	科学技術振興
合 計	110,619,852	

(7) 重 要 備 品

(最近10年・取得価格100万円以上)

品 名	型 式	取得年月
安全キャビネット	日立 BHC-T7002A1	H30. 3
リアルタイムPCRシステム	Thermo Fisher Scientific	H28.10
高速液体クロマトグラフシアン分析システム	Waters Alliance e2695 postcolumn UV FL	H28. 3
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 UPLC Xevo TQ-Smicro	H28. 3
メディカルフリーザー	日本フリーザー NF-CLN-52UW	H28. 2
ガスクロマトグラフ質量分析計	アジレント・テクノロジー(株) Agilent 7890B/5977A	H27. 3
陰イオン/陽イオン分析イオンクロマトグラフ	Thermo Fisher Scientific	H26. 2
炭酸ガス培養器	Thermo Fisher Scientific	H25. 9
キャピラリガスクロマトグラフ	島津製作所製	H25. 4
自動蛍光免疫装置 (マイクロプレートリーダー)	コロナ電気(株)製 MTP-601F	H24. 8
ジェネティックアナライザー (遺伝子解析装置)	イルミナ(株) Miseqシステム	H24. 1
卓上走査型電子顕微鏡	日立ハイテクノロジーズ(株) Miniscope TM3000	H23.11
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社 CHEF Mapper XA	H23. 8
多波長検出用リアルタイムPCR装置	タカラバイオ(株) サーマルサイクラーDiceReal Time System II	H23. 8
超低温フリーザー	日本フリーザー CNL-50CW	H23. 7
蒸発光散乱検出器	Agilent 385-LC	H23. 7
極微量分光光度計	NanoDrop 2000	H23. 7
冷却カラーデジタルカメラ付実体顕微鏡	ニコン製 SMZ15LS-D2D2	H22. 9
自動注入装置	日本分光製 AS-2051	H22. 7
高速液体クロマトグラフ 蛍光検出器	RF-20AXS	H22. 7
自動遺伝子抽出機	(株)キアゲン QIAsymphony SP	H21. 6
遺伝子増幅装置	バイオ・ラッド1000シリーズサーマルサイクラー	H21. 6
超低温槽	日本フリーザー CLN-50CW	H21. 6
バイオハザード対策用安全キャビネット	日立アプライアンス(株) SCV-1307EC II AB3	H21. 3
リアルタイムPCRシステム	アプライドバイオシステムズ7500	H20.12
超純水製造装置	日本ミリポア社 ElixUV3 Milli-QAdvantage	H20. 8

(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29年度の検体総数は8,365件で、県内26か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検率は、109.3%（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、35人（フェニルケトン尿症疑い1人、メイプルシロップ尿症1人、メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症2人、極長鎖アシルCoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症疑い1人、ガラクトース血症疑い7人、先天性甲状腺機能低下症疑い18人、先天性副腎過形成症疑い5人）が要精密検査となり、先天性甲状腺機能低下症の患者8人、VLCAD欠損症1人が発見された。

染色体検査

平成29年度の検査依頼受付検体数は、羊水66件、血液14件と流産胎児54件の計134件であった。前年度と比較すると血液は6件減、流産胎児は6件減、羊水は25件減であった。染色体異常を示したものは、羊水7件（18トリソミー症候群4件、21トリソミー症候群1件、構造異常1件、モザイク1件）、10.6%、血液3件（21トリソミー症候群3件）、21.4%、流産胎児33件（数的異常27件、モザイク1件、ターナー症候群1件、構造異常+数的異常1件、倍数体3件）、61.1%の計41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。

〔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たデータと人口動態データとの比較から、胃がん並びに大腸がんの、県内各医療圏ごとの罹患率や死亡率の差異を解析している。さらに、医療圏より単位の小さな市町村ごとの比較検討の可能性について検討している。また、これまで検討していた、がん化を防ぐために細胞が備えているDNA修復能については、DNA損傷を検出して評価したことから、このDNA損傷検出法を応用して、遺伝子変異やがん化の原因となる物質が細胞に及ぼす影響を調べている。一般的なDNA損傷検出法であるコメットアッセイ法を確立するため、細胞の固定法等の条件について検討した。

先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査法に関する研究

タンデムマス法の導入でマススクリーニング検査の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、早期の医療対応が必要となる例が多くなった。そこで、緊急性がある疾患かどうかを早期に判別するため、マススクリーニング検査の指標とは別の指標を使った確認検査法について、引き続き検討している。

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、152症例中143症例からウイルスが検出された（AH1pdm09インフルエンザウイルス18名、AH3亜型インフルエンザウイルス48名、B型インフルエンザウイルス71名）。上気道炎・下気道炎では、15症例中9症例からウイルスが検出された（パラインフルエンザウイルス1型+ボカウイルス1名、ヒトメタニューモウイルス1名、ライノウイルス1名、パレコウイルス3型1名、RS

ウイルス 4 名, アデノウイルス 3 型 1 名). 脳炎・脳症・麻痺では, 15 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 2 名, アデノウイルス 1 型 1 名, ヒトヘルペスウイルス 6 型 1 名, AH1pdm09 インフルエンザウイルス 1 名). 感染性胃腸炎では 31 症例中 24 症例からウイルスが検出された (ロタウイルス A 群 1 名, ノロウイルス Genogroup II; NVGII 11 名, サポウイルス+パレコウイルス 1 型 1 名, アデノウイルス 2 型 1 名, アデノウイルス 41 型 5 名, アストロウイルス 5 名). 麻疹疑似例 4 症例では 1 症例から麻疹ウイルスが検出された. 手足口病では, 25 症例中 24 症例からウイルスが検出された (コクサッキーウイルス A 6 型 14 名, コクサッキーウイルス A16 型 5 名, エンテロウイルス 71 型 3 名, ライノウイルス 1 名, エコーウイルス 25 型 1 名). ヘルパンギーナでは 7 症例中 7 症例からウイルスが検出された (コクサッキーウイルス A 2 型 1 名, コクサッキーウイルス A 6 型 4 名, コクサッキーウイルス A10 型 1 名, コクサッキーウイルス A16 型 1 名). デング熱では, 5 症例中 2 症例からウイルスが検出された (デングウイルス 2 型 2 名). 肝炎では, 1 症例から A 型肝炎ウイルスが検出された. つつが虫病では, 6 症例中 5 症例からつつが虫病リケッチアが検出された. 心筋炎では 4 症例中 2 症例でウイルスが検出された (ライノウイルス 1 名, エコーウイルス 3 型 1 名). 口内炎では, 1 症例から単純ヘルペスウイルス 1 型が検出された.

HIV 抗体検査

平成 29 年 4 月から平成 30 年 3 月までの 1 年間に 130 件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ, すべて陰性であった.

感染症流行予測調査

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

感染源調査：豚の抗体保有調査では, 9 月上旬および 9 月下旬から 10 月下旬にかけて抗体陽性の豚が 5 ~ 25% 確認され, 9 月上旬および 10 月上旬には新鮮感染を示す豚が確認された. 豚血清 1 検体から日本脳炎ウイルスが分離された. 平成 29 年度は 9 ~ 10 月に日本脳炎ウイルスの活動が活発であったと考えられた. 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 262 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 64.1% であった. 5 ~ 39 歳では 78% 以上と高い抗体保有率を示したが, 0 ~ 4 歳および 40 歳以上は 30% 前後と低かった. 「接種歴なし」の割合は, 0 ~ 4 歳で最も多く 69.2% で, 平成 28 年度と同程度であった. 「接種歴あり」の割合は 15 ~ 19 歳での 94.3% がピークで, 5 ~ 9 歳でも 93.3% であった. 20 歳以上では 30% 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 13.2%, 「接種歴不明」で 56.6% であったのに対し, 1 回以上接種歴のある対象者では 92.2% 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 29 年 4 月 ~ 平成 30 年 3 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 29 年 7 ~ 9 月に, 0 歳から 81 歳までの 261 名 (ポリオウイルス 2 型に対しては 260 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 96.2%, 2 型では 98.1%, 3 型では 81.6% であった. また, 各型に対する幾何平均抗体価は, 1 型は 109.4 倍, 2 型は 65.6 倍, 3 型は 33.2 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：インフルエンザの流行の予測と予防のために, ヒト感受性調査 (2017 年 7 ~ 9 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 260 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, 2017/18 シーズンインフルエンザワクチン株の A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1) pdm09, A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2), B/Phuket/3073/2013 (山形系統) および B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) に

対して各々43.5%, 76.2%, 59.6%, 26.9%であった。

衛生動物検査

厚生センター等から依頼や問合せがあった14件について、衛生害虫の同定検査を行った。このうち、マダニ2検体については、紅斑熱群リケッチアおよび重症熱性血小板減少症候群ウイルスの検査も行った。マダニ1検体から病原性不明のリケッチアが検出された。

〔調査研究〕

ウイルスウォッチプログラム

地域で流行を繰り返すエンテロウイルスやノロウイルス等の腸管系ウイルスを対象に、下水流入水のウイルス調査を実施した。平成29年4月から平成30年3月の間に、エンテロウイルスはエコーウイルス3, 6, 25型, コクサッキーウイルスB4型が分離された。エコーウイルス3型, および6型は夏期から秋期を中心に県西部地区, 東部地区ともに検出例が多かったことから, 県内で流行が発生していたと推定された。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, 患者からはほぼ同時期に検出されたGII.4が高頻度に検出され, 県内における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

富山県内で平成29年4月から平成30年3月までの1年間に発生届のあった, 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13事例のうち, 6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9事例であった。原因と推定されたウイルスの内訳は, ノロウイルスGIIが8事例, ノロウイルスGIが1事例であった。ノロウイルスの型別は, GII.4が4事例, GII.17が4事例, GI.2が1事例であった。

発生施設別にみると, 飲食店および食堂での発生が7事例, 宿泊施設が1事例, 発生施設不明が1事例であった。6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）

県内における哺乳類と媒介節足動物における日本脳炎, ウエストナイル熱等の蚊媒介性感染症, 腎症候性出血熱, ハンタウイルス肺症候群の浸淫状況を調査した。また, 公園等における蚊の発生状況を調査した。ブタ1検体から日本脳炎ウイルスが分離された。野生げっ歯類等55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。公園等の4地点で優占して捕集された蚊はヒトスジシマカであった。また, ヒトスジシマカの発生ピークは8月下旬から10月上旬であった。観光地7地点すべてでヒトスジシマカの分布が確認されたが, 高岡市以外の5地点においては, ヒトスジシマカの雌成虫の採集数は, 1地点あたり0~10個体と少なかった。高岡市2地点においては, ヒトスジシマカの雌成虫の採集数は, 1地点あたり最大で25個体または30個体と多かった。

低山地3地点およびニホンジカ等の分布密度が高いと推定される4地点において2017年4月から11月までマダニ類の調査を行った。その結果9種1,569個体が採集された。2015~2016年に採集したマダニのうちの1,699個体(712検体)について紅斑熱群リケッチアの遺伝子検出を行ったところ, 2検体から*Rickettsia tamurae*が, 4検体から*R. monacensis*が, 28検体から病原性不明の紅斑熱群リケッチアが検出された。2016年に採集したマダニのうちの622個体についてSFTSVの遺伝子検出を行ったところ, いずれの個体からも検出されなかった。

県東部の2地点において2016年11月および2017年11月に捕獲した野生げっ歯類のつがが虫病の浸淫状況を調査した。アカネズミ39頭について, つがが虫病リケッチアの遺伝子および抗体の検出を行ったところ, 8頭から遺伝子が, 13頭から抗体が検出された。遺伝子解析を行ったところ, 5株がKarp型(JP-2型)で, 3株が分類不明の型であった。

〔富山県感染症情報センター〕

富山県感染症情報センターでは, 感染症発生動向調査実施要領に基づき, 全数把握感染症については各

管内の全医療機関から、定点把握感染症については県内延べ70定点医療機関から各厚生センターおよび富山市保健所へ週報および月報として報告されたデータを集計・解析した。

県内および全国の感染症発生動向の情報は、速報あるいは週報の印刷物として関係機関へ毎週送付するとともに、富山県感染症情報センターホームページで一般公開した。また、県厚生部健康課の依頼を受けて、富山県感染症MLを利用して、県内全病院、厚生センター・保健所、県郡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、富山市保健所から搬入された結核菌73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

細菌を原因とする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29年は、腸管出血性大腸菌感染症が19件（32名）、赤痢が2件（3名）発生した。このうち、腸管出血性大腸菌感染症事例の原因菌の血清型はO157 9件（15名）、O26 7件（11名）、O91 1件（3名）、O146 1件（1名）、Og22 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7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2件は、海外渡航歴のある患者から *Shigella dysenteriae* が、海外渡航歴のない患者から *Shigella sonnei* がそれぞれ分離された。

寄生虫が原因の食中毒検査

クドアが原因と疑われる食中毒検査が2件あった。1件目は食品（ヒラメ昆布ダマシ）から検鏡法でナナホシクドア虫体が検出された。また、遺伝子検査法により、食品及び患者一人の便から、ナナホシクドアの遺伝子が検出された。2件目は食品（刺身）3検体と患者便7検体及び吐しゃ物について検査を行った。食品の検鏡法による検査では陰性であった。遺伝子検査では、ヒラメ刺身、患者吐しゃ物、患者便7検体中4検体で陽性であった。

アニサキスを原因とする食中毒疑いの検査は、14件で、いずれも患者の胃から内視鏡検査時に摘出された虫体の遺伝子による種同定検査を実施した。その結果、すべて *Anisakis simplex sensu stricto* と鑑別された。

レジオネラ症検査

厚生センター、富山市保健所から搬入された喀痰20検体から分離培養を行った結果、9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13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）17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。7月に生食用牛肉4検体について腸内細菌科菌群の検査を行った。4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29年度食品の食中毒菌汚染実態調査」に基づき、31検体、9項目のいずれかについて検査を実施した。サルモネラ、カンピロバクター、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1検体から検出された。

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の検査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8、10月の2回、採水地点はそれぞれ9か所、計20検体（重複した検体も含む）について、サルモネラ菌、従属栄養細菌数を実施した。すべての検体でサルモネラ菌は陰性であった。

〔病原微生物検出情報〕

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、1,119株、前年比92.7%であった。最も多かったのは大腸菌549株で、以下、黄色ブドウ球菌243株、カンピロバクター200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

県内の医療機関、厚生センター等でヒトから分離された菌株の収集、解析を行った。平成29年1月～12月までに当所に送付された菌株は39株で、それらの血清型の内訳はS. Thompsonが9株、S. Enteritidisが6株、S. Saintpaulが5株、S. Newportが5株、その他14株であった。これらヒトから分離されたサルモネラの薬剤感受性試験を行ったところ、8株が何らかの薬剤に耐性を示し、多いものは4薬剤に耐性を示した。

腸管出血性大腸菌の細菌学的解析

病原性遺伝子領域非保有型EHEC O26の系統樹解析と病原因子の解析を行った。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の耐性遺伝子調査

平成29年に県内の医療機関で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌20株（届出株10株）についてカルバペネマーゼ遺伝子の検出を行った。カルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

溶レン菌の血清型別調査

平成29年に県内1医療機関で分離された溶レン菌17株の収集解析を行った。17株のうち16株がA群であった。T型別を行ったところ、T1型が3株（17.6%）であった。その他、T4型、T12型、T25型、T28型、TB3264型が各1株であった。8株が型別不能（UT）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29年に県内1医療機関で分離されたカンピロバクター29株の収集解析を行った。29株のうち22株（75.9%）が*C. jejuni*、1株（3.4%）が*C. coli*であった。*C. jejuni*についてPenner型別を行ったところ、17株（77.3%）は型別不能（UT）で、残る5株はB群、C群、D群、L群、Z群が各1株であった。

レジオネラ属菌の環境調査

厚生センター、富山市保健所と連携し、協力を得られた14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8/39検体（20.5%）、シャワー水8/32検体（25.0%）、カラン水4/15検体（26.7%）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、河川水6/20検体（30.0%）からアメーバ共培養増菌法にてレジオネラ属菌が検出された。

〔精度管理〕

食品内部精度管理

富山県食品衛生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サルモネラ属菌検出とした。なお、模擬食品は市販のコーンビーフを原料とし、サルモネラ属菌を添加した1検体、サイトロバクター属菌を添加した1検体、未接種の計3検体を各機関に配布した。生菌数およびサルモネラ属菌検出は、すべての機関が良好であった。この回答結果については本年報にその詳細を掲載している。

食品外部精度管理

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219 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、棄却される機関はなかった。21機関の平均細菌数±標準偏差は203±12.7 cfu/ml、変動係数は6.25%であった。

感染症病原体等検査内部精度管理

「富山県病原体等検査業務管理要綱」に基づき、腸管出血性大腸菌の同定、ベロ毒素またはベロ毒素遺伝子の検出とO抗原型の決定について、厚生センターおよび衛生研究所細菌部の5機関に対して、内部精度管理調査を実施した。いずれの機関もベロ毒素遺伝子、O抗原型を正しく回答できた。

感染症病原体等検査外部精度管理

「富山県病原体等検査業務管理要綱」に基づき、厚労省が主催する外部精度管理に参加した。

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

2017年1～12月の分離株について、A群溶血レンサ球菌61株（岐阜市衛生試験所44株および富山県衛生研究所17株）のT型別を岐阜市衛生試験所および富山県衛生研究所で実施した。また、東海北陸地区で発生した29例の劇症型溶菌感染症例について国立感染症研究所に菌株を送付した。

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29年度に患者から分離されたレジオネラ菌15株（富山県で分離）について、国立感染症研究所に送付した。15株とも血清群は*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。

薬剤耐性菌の東海・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29年6月に開催された衛生微生物協議会（東京都）において、レファレンスセンター会議が開催された。このなかでAMED研究班事業について紹介した。

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（亜鉛などの重金属類、クロロホルムなどの揮発性有機化合物、硝酸性窒素などの陰イオン性化合物など）及び惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）及び甘味料（サッカリンナトリウム）試験、並びに生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）の試験を行ったところ、24検体（総項目数560）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。

また、アレルギー物質を含む食品のスクリーニング検査で陽性となった食品2検体（卵陽性1検体、小麦陽性1検体）について定性検査（4項目）を行ったところ、2検体全てで陽性が確認された。

残留農薬等：県内産主要農産物の玄米、ぶどう、ほうれんそう等の9種13検体について、有機リン系（フェニトロチオン等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、含窒素系（フルトラニル等）の約90農薬を調査した（総項目数1,051項目）。ぶどう1検体からペルメトリン0.02 ppm（基準値5 ppm）、玄米1検体からトリシクラズール0.03 ppm（基準値3 ppm）、フラメトピル0.02 ppm（基準値0.5 ppm）、フルトラニル0.01 ppm（基準値2 ppm）が検出されたが、全て基準値以下であった。平成19年12月から20年1月の間に国内で中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け、

県内で市販されている輸入冷凍加工食品32検体について、メタミドホス、ジクロロポスを含む有機リン系化合物等57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：0.2 ppm）。

重金属等：富山湾産魚介類10魚種10検体（マサバ、ソウハチガレイ等）について総水銀を測定したところ、10検体全てから検出されたが、濃度は0.03～0.13 ppmといずれも暫定規制値（0.4 ppm）を下回っていた。

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

家庭用品検査

家庭用洗剤及び家庭用エアゾル製品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¹⁾：県内の水道事業体の水道原水28検体及び浄水20検体について、アンチモン及びトルエン等11項目（総項目数176）並びにフサライド等のべ46項目（総項目数434）の農薬類の検査を行った。その結果、ウランが1検体から0.0004 mg/L、2検体から0.0002 mg/L（目標値0.002 mg/L）が、1検体からジクロロアセトニトリル0.001 mg/L（目標値0.01 mg/L）が、4検体から抱水クロラール0.002 mg/L（目標値0.02 mg/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²⁾：県内水道事業体の水道原水19検体及び浄水19検体について、銀などの重金属類、スチレンなどの揮発性有機化合物、フタル酸ジ（*n*-ブチル）などのフタル酸エステル類、ブロモクロロ酢酸などのハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどのハロアセトニトリル類等26項目（総項目数486）の検査を行った。その結果、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について、5月（24件）及び11月（23件）の2回、当該ゴルフ場で使用されている農薬（ダイアジノン等のべ32項目）の検査（総項目数443）を行った。その結果、5月に富山市の1井戸からメソミル0.0021 mg/L（目標値0.03 mg/L以下）が、氷見市の1井戸からメチダチオン0.00006 mg/L（目標値0.004 mg/L以下）が検出された。

温泉分析

温泉所有者等から依頼のあった県内4ヶ所の源泉について、温泉中分析検査を行ったところ、温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・富山地区の17源泉の主要成分等について、経年変化調査を行った。現在のところ海水化が懸念される温泉はなかった。1源泉について、成分濃度減少傾向の疑いがあり、周辺の源泉を含め、今後の推移を注視する必要がある。

〔調査研究〕

HPLCによる品質保持剤（プロピレングリコール）分析法の検討

食品添加物等として様々な用途で使用され、摂取量が比較的多いプロピレングリコールのHPLC装置を用いての分析法の開発に取り組んでいる。

プロピレングリコールは低分子量・高極性のためこのままではHPLCでの測定は困難であるが、水酸基をラベル化剤と反応させて誘導体化することによりUV検出器で比較的感受度良く検出することが可能であると分かった。試料からの抽出精製条件の検討も実施しており、実用性のある検査法の確立を目指している。

現地分析を可能とする分析ツールの開発

分析等に用いる従来の実験機器は大型であるため持ち運びができないなどの問題点がある。化学部では、その問題点を解決するために、安価で持ち運びが可能な分析チップの開発に取り組んでいる。

平成29年度は3Dデジタル技術によってデザインした構造をPDMS樹脂内部に中空構造として3次元転写形成する技術を開発した。PDMSは安定であるとともにUV光の透過性も他の樹脂よりも高く、注目されているチップ素材である。また、小型検出器等と組み合わせることによりフローインジェクションシステムを構築。この分析システムは検査等に応用されることが期待される。

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15箇所について、水質基準38項目の検査を行った（総項目数571）。その結果、蒸発残留物の基準値を超えた箇所が一箇所（黒部市内）あった（基準値 500 mg/L以下）が、2ヵ月後の再検査では基準値内であった。飲用されている「とやまの名水」については、名水の管理者、市町村、県が連携して衛生管理・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4機関を対象に、清涼飲料水中の甘味料（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、4機関ともに検査結果は良好と判定され、今後もこの良好な管理状況を維持した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、20機関を対象に、「臭素酸」（17機関参加）及び「硬度」（20機関参加）の2項目について精度管理調査を行った。

臭素酸測定用検体は、当所水道水に、市販臭素酸イオン標準液（0.004 mg/L）を添加して作製した。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機関を除く16機関の測定値の平均値±標準偏差は0.004398 ± 0.000135 mg/L、機関間変動係数は3.1%、機関内変動係数は0.5～2.7%であった。

硬度測定用検体は、当所水道水に、市販カルシウム標準液（10 mg/L）を添加して作製した。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機関を除く19機関の測定値の平均値±標準偏差は49.23 ± 0.69 mg/L、機関間変動係数は1.4%、機関内変動係数は0.0～1.0%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29年度は、対象者1,229名中489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-ミクログロブリン濃度が5.0 mg/gCr以上の陽性を示した者17名、及び精密検診対象者288名が平成29年度の精密検診の対象となった。精密検診は、検診委託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病院で行われ、100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2名に対して管理検診が実施され、該当する尿及び血液検査を実施した。

イタイイタイ病認定申請に伴う検査：平成29年度は認定申請に伴う行政検査は、実施されなかった。

管理検診及びイタイイタイ病認定申請に伴う検査における尿蛋白定量について、スルホサリチル酸法か

らピロガロールレッド・モリブデン錯体比色法への変更を検討した。

〔調査研究〕

一般成人における尿中アルキルリン酸レベルの追跡的研究

尿中のアルキルリン酸は、有機リン系農薬一般の曝露指標とされている。近年、国内の有機リン系農薬使用量は大きく減少していることから、一般生活者における現在のアルキルリン酸検出状況を調査し、バックグラウンドレベルの経時変化について検証することとした。今年度は、職域の健康診断受診者150名（男性83名、女性67名）について尿中のアルキルリン酸を測定し、同様の調査を行った平成18年度の結果と比較した。その結果、ジメチル型アルキルリン酸は今回の方が検出率が低く、濃度レベルも低い項目があった。一方、ジエチル型では検出率は変わらず、濃度レベルはやや上昇していた。

今後、調査対象者を追加し、生活環境や食習慣との関連についても検討する予定である。

骨質からアプローチする骨粗鬆症研究

骨密度低下者の骨質低下状況を調査し、骨密度と骨質が同時に低下している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した。

厚生連高岡健康管理センターの協力のもと、606名の女性について調査・解析を行ったところ、40歳以上の女性の27.8%は、骨密度がYAM（若年成人平均）の70%以下であった。また、骨質の指標としてペントシジンとホモシステインの血清中濃度を測定したところ、23.6%は骨質が低下していた。さらに、骨密度低下者に対し、骨質も同時に低下していた者の割合は23.3%であった。骨折リスク評価の指標として、身長低下とFRAX（骨折リスク評価ツール）を用い解析した結果、どちらの指標も、骨密度単独低下者と、骨密度と骨質が同時に低下していた者との間に有意な差はなく、これらの指標は骨質低下の影響をほとんど受けないことが示唆された。

健康診断受診者におけるインスリン抵抗性の追跡的観察

職域の健康診断受診者を対象に、体格指標（BMI、腹囲）と糖代謝指標（HbA1c、空腹時血糖、インスリン、HOMA-R）について3年間の変化と、その間の運動や食行動に関する習慣の変容との関連について検討した。その結果、3年間における体格指標の変化率と糖代謝指標の変化率に正の相関がみられ、肥満の進行・改善と糖代謝指標の上昇・低下が関連していた。また、男性では、「夕食の食べ方」と「糖分の入った飲み物の摂り方」の行動の好ましい方への変容が体格指標の改善に影響する可能性が示唆され、「食品のバランス」や「塩分の摂り過ぎ」を気にせず、「昼食を麺・丼などで簡単に済ます」行動を維持することは、糖代謝指標の上昇と関連する可能性が示唆された。

腎機能低下に伴う骨質劣化に関する調査研究

慢性腎臓病(CKD)は骨粗鬆症の危険因子であることは古くから認められているが、そのメカニズムは明らかでない。近年、腎機能低下に伴う骨粗鬆症に繊維芽細胞増殖因子(FGF)23の関与が注目されているが、FGF23と骨質劣化に関する調査は報告されていない。本研究では腎機能低下に伴う骨質劣化にFGF23が関与するか検討する。

「骨質からアプローチする骨粗鬆症研究（平成25-29年度実施）」協力者606名（厚生連高岡健康管理センター骨粗鬆症検診を受診した女性）を対象に血清FGF23の測定を行った。骨質マーカーである血清ペントシジン及び血清ホモシステインとの関連について解析中である。

(9) 検 査 状 況

()内項目数

部 名	区 分	行政検査	依頼検査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常検査	8,365 (175,665)	
	染色体検査	31 (31)	103 (103)
	小 計	8,396 (175,696)	103 (103)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	448 (448)	
	血清学的検査	1,161 (2,224)	
	衛生動物等検査	14 (14)	0 (0)
	小 計	1,623 (2,686)	0 (0)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	155 (747)	
	食中毒にかかわる検査	28 (99)	
	食品検査	70 (190)	
	水質検査	125 (165)	48 (54)
	小 計	378 (1,201)	48 (54)
化 学 部	食品にかかわる検査	91 (3,459)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	117 (1,627)	36 (511)
	温泉分析	17 (170)	4 (120)
	小 計	240 (5,276)	40 (631)
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	591 (2,603)	
	小 計	591 (2,603)	0 (0)

検 査 内 容

()内項目数

が ん 研 究 部

[行政検査]

1. 先天性代謝異常検査	8,365 (175,665)
2. 染色体検査	
(1) 血液	0 (0)
(2) 羊水	27 (27)
(3) 胎児	4 (4)

[依頼検査]

1. 染色体検査	
(1) 血液	14 (14)
(2) 羊水	39 (39)
(3) 胎児	50 (50)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査

(1) インフルエンザ	152	(152)
(2) その他ウイルス	241	(241)
(3) リケッチア	15	(15)
(4) 食中毒および集団発生	40	(40)

2. 血清学的検査

(1) インフルエンザ	260	(1,040)
(2) ポリオ	261	(522)
(3) 日本脳炎 ヒト	262	(262)
ブタ	240	(240)
(4) エイズ	130	(130)
(5) その他のウイルス	3	(3)
(6) リケッチア	5	(27)

3. 衛生動物等検査

(1) 衛生・不快動物	14	(14)
(2) 食品混入異物	0	(0)

[依頼検査]

1. 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)

細 菌 部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 結核菌	73	(73)
(2) 腸管出血性大腸菌	34	(551)
(3) レジオネラ属菌	22	(29)
(4) 喀痰	20	(40)
(5) その他	6	(54)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 糞便	10	(24)
(2) 病原性大腸菌	1	(12)
(3) その他	17	(63)

3. 食品検査

(1) 収去検査	33	(46)
(2) 汚染実態調査における食品	29	(58)
(3) その他	8	(86)

4. 水質検査

(1) 海水浴場水	80	(100)
(2) 名水	20	(40)
(3) 水道原水	16	(16)
(4) その他	9	(9)

[依頼検査]

1. 水質検査

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

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査	
(1) 食品成分および添加物	26 (564)
(2) 残留農薬等	45 (2,875)
(3) 重金属類	20 (20)
(4) その他有害物質	0 (0)
2. 家庭用品検査	
(1) メチルアルコール	5 (5)
(2) テトラクロロエチレン 及びトリクロロエチレン	5 (10)
(3) デイルドリン	5 (5)
3. 水質検査	
(1) 水質基準項目	16 (571)
(2) 管理目標設定項目	40 (370)
(3) 要検討項目	34 (442)
(4) ゴルフ場使用農薬	23 (216)
(5) その他	4 (28)
4. 温泉分析	
(1) 中分析	0 (0)
(2) その他	17 (170)

[依頼検査]

1. 水質検査	
(1) 水質基準項目	0 (0)
(2) 管理目標設定項目	8 (240)
(3) 要検討項目	4 (44)
(4) ゴルフ場使用農薬	24 (227)
(5) その他	0 (0)
2. 温泉分析	
中分析	4 (120)

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	489 (978)
精密検診 尿, 血液検査	100 (1,592)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診	
尿, 血液検査	2 (33)
(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査	
尿, 血液検査	0 (0)

[依頼検査]

(10) 科学研究費補助金等

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント	ウイルス部	小渕 正次 米田 哲也	厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）
下痢症ウイルス感染症の分子疫学および流行予測に関する研究	ウイルス部	小渕 正次 稲崎 倫子	国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）委託費（感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）
麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室診断および国内ネットワーク構築に資する研究	ウイルス部	板持 雅恵	国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）委託費（感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）
薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究	細菌部	綿引 正則 範本 志保 内田 薫	国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）委託費（感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）
ゲノム解析に資する下痢原性細菌感染症サーベイランスの強化及びゲノム解析を利用した迅速診断法の開発に向けた研究	細菌部	綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子	国立研究開発法人日本医療研究開発機構（AMED）委託費（感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）
公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一	厚生労働科学研究費補助金（健康安全・危機管理対策総合研究事業）
地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的実施に必要な事業体制の構築に関する研究	所長室 細菌部	滝澤 剛則 磯部 順子	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）
金属イオンとの配位に基づく親水性抗生物質の新規な分析法の開発と水環境分析への応用	化学部	健名 智子	科学研究費助成事業 基盤研究C 研究代表者
手足口病の原因ウイルスの抗原性状変化と周期的流行に関する分子疫学的研究	ウイルス部	板持 雅恵	科学研究費助成事業 若手研究B 研究代表者
マイクロチップ分析型キャピラリー電気泳動装置を用いた病原性大腸菌の検出	化学部	安川 和志	科学研究費助成事業 若手研究B 研究代表者
富山県におけるイノシシの病原細菌および薬剤耐性菌保有状況調査	細菌部	木全 恵子	公益財団法人 大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成
富山県におけるマダニ媒介性感染症の浸淫状況調査	ウイルス部	佐賀由美子	公益財団法人 大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成

(11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
疫学 (感染症)	小渕 正次 磯部 順子	保健学科講義	平29. 6. 8, 6.12, 6.16, 7.10	県総合衛生学院
微生物学・感染症	綿引 正則 小渕 正次 磯部 順子 板持 雅恵 佐賀由美子 金谷 潤一 米田 哲也	病態生理・治療論 I	平29. 9.12, 9.26, 10.10, 10.17, 10.24, 10.31, 11. 7, 11.14, 11.16, 11.21, 11.28, 12. 5, 12. 7, 12.12, 12.19	富山赤十字看護専門学校
食品から着色料をとり出そう	中山恵理子	きらめきエンジニア事業	平29.10.12	富山市立梶尾小学校
下痢症ウイルス (NoV) 検査診断実習	小渕 正次	平成29年度新興再興感染症技術研修	平29.10.17-18	国立感染症研究所
職場の仕事内容	金谷 潤一	進路学習 「Discover My Future」	平29.10.18	滑川高校
増加するレジオネラ症～患者分離株の重要性	磯部 順子	平成29年度日臨技中部圏支部 第24回臨床微生物部門研修会	平29.11. 4	富山県民会館
赤痢菌検査法各論・腸管系病原細菌検査同定実習	磯部 順子	平成29年度短期研修細菌研修	平29.11. 8- 9	国立感染症研究所
ウイルスの特性	板持 雅恵	富山県消防学校専科教育救急科 (第20期)	平29.11.16	富山県消防学校
蚊やマダニなどの衛生害虫と感染症について	佐賀由美子	富山県薬学技術公務員協会「平成29年度学習会」	平29.11.18	Bistro du marche Gozzone
細菌の特性	磯部 順子	富山県消防学校専科教育救急科 (第20期)	平29.11.22	富山県消防学校
感染症発生動向調査と腸管系ウイルスについて	滝澤 剛則	ウイルス学講義	平29.12. 7	富山大学医学部
動物由来感染症について	佐賀由美子	平成29年度動物取扱責任者研修会	平30. 1.12, 1.25	高岡エクール, 富山県民会館
感染症のいま ～対策, 予防, 診断, 治療等～	滝澤 剛則	高校看護科3学年 特別講義	平30. 1.31	富山いずみ高校
レジオネラ属菌検査法と感染源調査	磯部 順子	平成29年度東海北陸監視員研修会	平30. 2. 2	富山県消防学校
感染症の監視 －感染症発生動向調査－	滝澤 剛則	ウイルス感染症制御学講義	平30. 2. 8	金沢大学医学部
野外活動における マダニ・蚊などの注意点について	佐賀由美子	森づくり塾出張講座	平30. 2.16	くれは山荘保養館
マダニ媒介性感染症について	佐賀由美子	狂犬病予防対策連絡会議	平30. 3. 7	富山県農協会館

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研修期間	研 修 内 容	担 当
厚生センター職員	平29. 4.27-28 平29. 6.22 平29. 7.20	富山県細菌検査研修会	細菌部
平成29年度富山県衛生研究所 バイオセーフティ講習会	平29. 5.25	バイオセーフティの基礎, 安全キャ ビネットの取扱等	バイオセーフ ティ委員会
平成29年度富山県病原体等の 包装・運搬講習会	平29. 6.23 平29. 9.21	病原体等の包装・運搬に関する講義 及び実習等	バイオセーフ ティ委員会
夏休みこども科学研究室	平29. 7.27	測ってわかる, あなたの健康	環境保健部
VPcamp参加獣医学生	平29. 9. 8 平30. 3. 9	衛生研究所における獣医師の業務と 役割の理解	ウイルス部 細菌部

(13) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
中山恵理子 山下 智富 村元 達也 安川 和志	平29. 4.26	水道水質・環境分析セミナー2017	富山県総合情報センター	国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部 アジレントテクノロジー他
磯部 順子 板持 雅恵	平29. 5.18-19	平成29年度病原体等の包装・運搬講習会	国立感染症研究所 戸山庁舎	厚生労働省健康局 結核感染症課
磯部 順子	平29. 5.22	平成29年度病原体等の包装・運搬講習会	国立感染症研究所 (東京都)	厚生労働省健康局 結核感染症課
高森 亮輔 湊山 亜未	平29. 8.26-27	第24回臨床細胞遺伝学セミナー	全国家電会館	神奈川県立こども医療センター 黒澤 健司 他
小淵 正次	平29. 9.20-22	平成29年度バイオセーフティ技術講習会主任管理コース	イカリ消毒(株) LCスクエア/バムサ・環境文化創造研究所	バイオメディカルサイエンス研究会 前川 秀彰 他
中山恵理子	平29. 9.28	Alliance 2695メンテナンスセミナー	ボルファートとやま	日本Waters技術担当者
木全 恵子	平29.10.13	平成29年度腸管出血性大腸菌 MLVA技術研究会	東京都健康安全研究センター	国立感染症研究所 泉谷 秀昌 他
稲崎 倫子	平29.10.16-20	平成29年度新興再興感染症技術研修	国立感染症研究所	国立感染症研究所 大石 和徳 他
佐賀由美子	平29.10.27	平成29年度動物由来感染症対策技術研修会	星陵会館	山口大学 前田 健 他
堀井 裕子	平29.10.31	島津製作所 分析計測ミニセミナー	富山国際会議場	島津製作所分析計測事業部
内田 薫	平29.11. 6-24	平成29年度短期研修細菌研修	国立保健医療科学院 国立感染症研究所	国立感染症研究所 村上 光一 他
健名 智子 堀井 裕子	平29.11. 8	異臭分析セミナー	石川県地場産業振興センター	ジーエルサイエンス株式会社技術担当者
木全 恵子	平29.11.15-17	平成29年度ボツリヌス症の細菌学的検査に関する講習会	国立感染症研究所 村山庁舎(東京都)	国立感染症研究所 加藤 はる 他
石橋 悠太	平29.11.26-12.8	地域保健支援のための保健情報処理技術研修	国立保健医療科学院(埼玉県)	国立保健医療科学院
金谷 潤一	平30. 2. 1	平成29年度生活衛生関係技術担当者研修会	厚生労働省	国立感染症研究所 倉 文明 他
金谷 潤一	平30. 2. 2	東海北陸ブロック環境衛生監視員研修会	富山県庁	文京区文京保健所 中臣 昌広 他
中山恵理子	平30. 2.20	水道水質検査精度管理に関する研修会	厚生労働省講堂	水道水質管理室 東 利博 他
中山恵理子	平30. 2.27	水質分析セミナー2018 in 金沢	石川県地場産業振興センター	ジーエルサイエンス株式会社カスタマサポートセンター 田村 他

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
木全 恵子 米田 哲也	平30. 2.27-28	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 大石 和徳 倉根 一郎 竹田 誠 他
金谷 潤一	平30. 3. 2	平成29年度環境衛生監視員研修会	富山県国際健康プラザ	文京区文京保健所 中臣 昌広 他
金谷 潤一	平30. 3. 9	厚労省通知リステリア・モノサイトゲネスの検査法実習	食品衛生研究所	東京農業大学 五十君 静信 他
九曜 雅子 湊山 亜未	平30. 3.10	日本マスキング学会技術部会第36回研修会	神奈川県総合医療会館	国立成育医療研究センター研究所 但馬 剛 他
村元 達也	平30. 3.15	放射線取扱技術研修会	金沢ニューグランドホテル	北陸原子力懇談会

(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
窪田 満	国立成育医療研究センター 総合診療部長	9月28日～29日	新生児のタンデムマス・スクリーニングについて

(15) 研究成果発表会

- 1 日 時 平成29年11月9日(木) 15:00～17:00
- 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 上出 功
- 5 研究成果発表

所属	発表者	演 題
細菌部	金谷潤一	富山県の浴用施設以外の環境中におけるレジオネラ属菌検出状況
細菌部	範本志保	薬剤耐性菌感染症に対する取り組みについて ～カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症を中心に～
ウイルス部	板持雅恵	手足口病の流行と原因ウイルスの疫学的研究
ウイルス部	小淵正次	風邪の原因ウイルス調査

(16) 試験研究機関研究員交流集会

- 1 日 時 平成29年11月1日(水) 14:00～19:00
- 2 場 所 パレブラン高志会館
- 3 主 催 富山県試験研究機関長会
- 4 研究発表
 - (1) 口頭発表

所属	発表者	演 題
ウイルス部	佐賀由美子	富山県におけるマダニの分布および病原体保有状況

- (2) ポスター展示

所属	発表者	演 題
化学部	山下智富	3Dデジタル技術の応用によるシリコン樹脂(PDMS)内部への3次元内部構造形成

(17) 地方衛生研究所全国協議会等

会 合 名	年 月 日	開 催 場 所	出 席 者
第1回理事会・総務委員会	平29. 5. 9	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
全国地方衛生研究所長会議	平29. 6. 1	厚生労働省	滝澤 剛則
臨時総会	平29. 6. 2	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
東海・北陸支部総会 (支部長, 会議主催)	平29. 6.23	福井市地域交流 プラザ(福井市)	滝澤 剛則 上出 功 川尻千賀子
衛生微生物技術協議会 第38回研究会	平29. 6.26-28	タワーホール船 堀(東京都)	滝澤 剛則 綿引 正則 小淵 正次 磯部 順子 板持 雅恵 金谷 潤一
地域保健総合推進事業 第1回東海・北陸ブロック会議 (ブロック長, 会議主催)	平29. 8.22	ウイंकあいち (名古屋市)	滝澤 剛則 上出 功 小淵 正次 川尻千賀子 上野 美穂
会長表彰選考委員会	平29. 8.28	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
第2回理事会・総務委員会	平29. 8.28	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
東海・北陸支部保健情報疫学部会	平29.10.12-13	ハートフルスク エア-G (岐阜市)	滝澤 剛則 石橋 悠太 内田 薫
地域保健総合推進事業 東海・北陸ブロック専門家会議 (微生物部門) (ブロック長, 会議主催)	平29.10.19-20	富山県民共生セ ンター (富山市)	滝澤 剛則 上出 功 綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子 金谷 潤一 内田 薫
第68回総会	平29.10.30	城山観光ホテル (鹿児島市)	滝澤 剛則
地域保健総合推進事業 東海・北陸ブロック地域レファレンスセンター 連絡会議 (ブロック長, 会議主催)	平29.11.10	ウイंकあいち (名古屋市)	滝澤 剛則 上出 功 小淵 正次 板持 雅恵
第54回全国衛生化学技術協議会年会	平29.11.21-22	奈良春日野国際 フォーラム 麓 ~I・RA・KA~ (奈良市)	堀井 裕子

会 合 名	年 月 日	開 催 場 所	出 席 者
地域保健総合推進事業 第2回東海・北陸ブロック会議 (ブロック長, 会議主催)	平29.12. 1	ウインクあいち (名古屋市)	滝澤 剛則 上出 功 綿引 正則 上野 美穂
地域保健総合推進事業 第2回ブロック長等会議	平30. 1.23	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
第31回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	平30. 1.25-26	国立保健医療科 学院	滝澤 剛則
東海・北陸支部衛生化学部会	平30. 2. 1- 2	石川県政記念 しいのき迎賓館 (金沢市)	滝澤 剛則 川尻千賀子 健名 智子 堀井 裕子 村元 達也
東海・北陸支部微生物部会	平30. 3. 1- 2	ハートフルスク エア-G (岐阜市)	滝澤 剛則 磯部 順子 稲崎 倫子 米田 哲也 内田 薫

(18) 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26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26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
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
組換えDNA実験安全管理規程	平成15年9月18日	平成28年3月1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	平成26年10月1日
放射線障害予防規程	平成21年6月15日	平成22年4月1日
知的財産権検討委員会設置要綱	平成21年8月1日	
競争的研究資金等の不正使用等に関する調査等実施要綱	平成26年10月1日	
倫理審査要綱	平成27年4月1日	平成30年4月1日
倫理審査委員会運営要領	平成27年4月1日	平成29年5月30日
利益相反管理要綱	平成27年4月1日	平成30年4月1日
研究倫理基準	平成27年12月21日	
競争的研究資金等における研究活動の不正行為等調査等実施要綱	平成27年12月21日	

II 調查研究報告

1. 短報

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について (平成29年度)

稲崎 倫子 青柳由美子 森岡 誠二¹ 米田 哲也
佐賀由美子 板持 雅恵 長谷川澄代 小淵 正次

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Seiji MORIOKA¹, Tetsuya YONEDA,
Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA
and Masatsugu OBUCHI

要 旨 平成29年4月から30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および散発例についてまとめた。

当所および富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生9事例からウイルスが検出された。発生時期は平成29年12月～30年2月が多かった。全体の発生数は過去5年間と比較して少なかった。原因と推定されたウイルスの内訳は、ノロウイルス (NoV) Genogroup (G) IIが8事例、NoV GIが1事例であった。カキの喫食があった事例が4件あった。カキと関連のない食中毒事例1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。

NoVの遺伝子型は、集団発生ではGII.4およびGII.17が主流であったのに対し、散発例ではGII.4が主流であった。

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[1]では、患者数が最も多い。一方、小児の散発例では、NoVとともにA群ロタウイルスの占める割合が多い[2]。

NoVは、冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり、乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する[3]。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[4-7]。

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[8]。NoVは、感染者から2週間以上にわたり排泄され[9,10]、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[11]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[12]、二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方、NoVは食中毒のみならず、ヒトからヒトへ手指等を介して感染し、散発例、集団発生なども引き起こしている。

近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどがNoVによるものであるため[2,13-22]、主にNoVを対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例および散発例の調査を実施した。

材料と方法

1. 集団発生事例

平成29年4月～30年3月までに当所および富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした。検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

1. 富山市保健所

2. 散発例

平成29年4月～30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および管轄厚生センターが実施した。

3. ウイルスの検出

厚生労働省通知[23]に準じ、糞便からのRNA抽出、DNase処理、逆転写反応を行い、リアルタイムPCR法およびRT-PCR法によりNoVの検出を行った。PCR産物から、ダイレクトシーケンスによりカプシドN/S領域の塩基配列を決定した。遺伝子型および亜型の判定は、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>)により行った。遺伝子型番号は、NoroNetの遺伝子型分類法[24]に基づき表記した。NoV GIIの塩基配列については、近隣結合法による系統樹解析を行った。

結果および考察

1. 集団発生事例の概要

平成29年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生13事例のうち、6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9事例の概要を表1に示す。原因ウイルスの内訳はNoV GIIが8事例、NoV GIが1事例であった。NoVの遺伝子型は、GII.4が4事例、GII.17が4事例、GI.2が1事例であった。平成28年度に最も検出事例数が多かったGII.2[22]は確認されなかった。カキの喫食に関連した事例は4件(No.5, 6, 8, 9)あったが、いずれも食中毒とは判断されず、因果関係は不明であった。その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は1件(No.3)あり、感染者により食品が汚染されることによつ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、飲食店および食堂における発生が7事例と最も多く、宿泊施設、施設不明が各1事例であった。前年度に引き続き飲食施設における発生が多かった。

3. 月別発生事例数 (図2)

月別では、2月の発生数が5件と最も多く、例年発生の多い1月および3月の発生数は計1件にとどまった。全体としては過去5年間と比べて少なかった。

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[25]。遺伝子型別を行った10症例の遺伝子型はすべてGII.4であり、GII.2およびGII.3が多かった平成28年度[22]とは発生状況が異なっていた。

5. 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6件(事例No.1, 2, 3, 4, 6, 7)あり、いずれの事例もカプシドN/S領域における塩基配列が100%一致していた。これらは同じ感染源から感染したと考えられた。事例No.1では患者と従業員1名から塩基配列の100%一致するNoVが検出された。この従業員は患者と同時期に発症していることから、患者と同一感染源から感染した可能性が考えられた。

GII.4株はいずれもSydney 2012亜型(参考株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908に近縁の株)[26]に分類された。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る[18]。平成29年度は平成25～28年度[19-22]と同様に、この亜型がGII.4の流行の中心

表1. 平成29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29年 4月	飲食店	4	NoV GII.4	不明
2	12月	飲食店	8	NoV GII.17	不明 *
3	12月	学生食堂 県外	45	NoV GII.4	食品 *
4	平成30年 1月	飲食店	8	NoV GII.4	不明 **
5	2月	不明 県外	1(県内)	NoV GI.2	不明
6	2月	飲食店 県外	5	NoV GII.17	不明
7	2月	ホテル 県外	11	NoV GII.4	不明 *
8	2月	飲食店 県外	2	NoV GII.17	不明
9	2月	飲食店	2	NoV GII.17	不明

*富山市保健所にて検査

**当所および富山市保健所にて検査

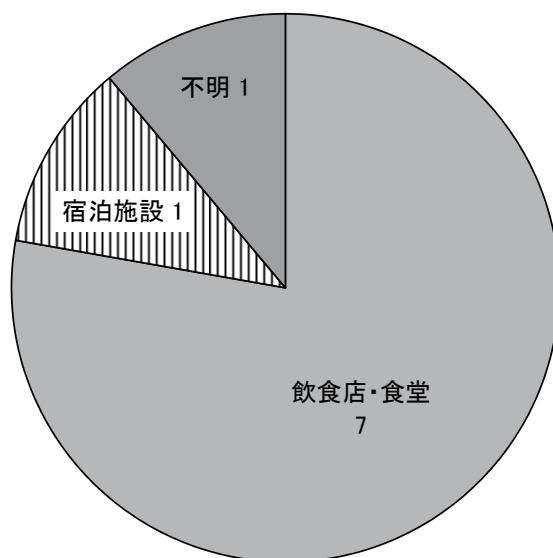


図1. 集団発生事例の施設別発生数

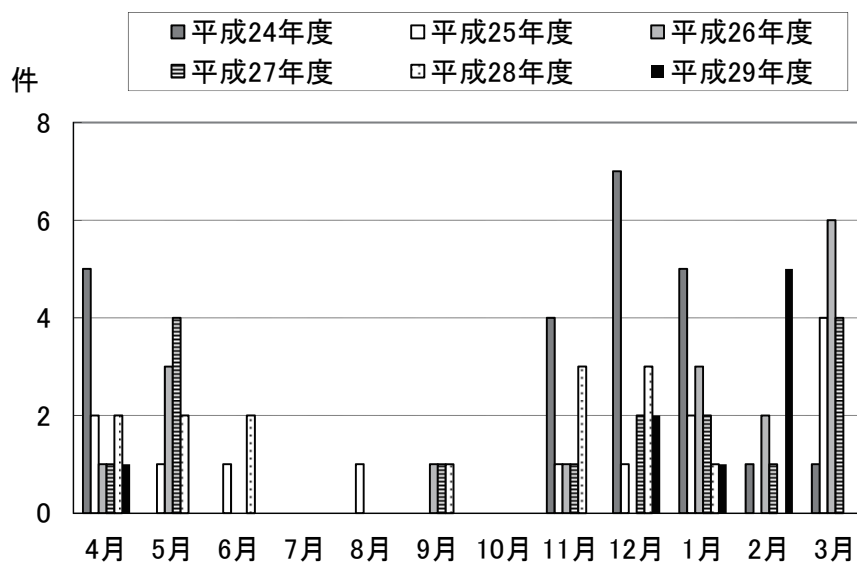


図2. 年度ごとの月別発生数

表2. 平成29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.4	GII型不明*	
平成29年			
4月			0
5月			0
6月	3	1	4
7月			0
8月			0
9月			0
10月			0
11月			0
12月	2		2
平成30年			
1月	3		3
2月	1		1
3月	1		1
計	10	1	11

*リアルタイム PCR 陽性, PCR 陰性

であったと推測された。

GII.17株はいずれも、平成26年に国内で報告されたGII.17変異株 (GII.P17-GII.17, 参考株: Kawasaki 323/2014/JP, accession no. AB983218) [27] に近縁であった。GII.17変異株は平成27年1月以降に国内での広域流行が確認されており [27], 県内では平成27年3月～平成28年3月にかけて、主に集団事例から多く検出された [20-21]。平成29年度は、12月～2月頃にGII.17変異株が流行していたと考えられた。

ま と め

平成29年4月から30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、9事例からウイルスが検出された。発生数は過去5年間と比べて少なかった。検出されたウイルスは、NoV GIIが8事例と大部分を占めた。

食品を介した感染では、カキ喫食関連事例が4件、従業員等によって汚染された食品が感染源として推定された事例が1件あった。

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

- 厚生労働省: 食中毒統計資料. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (2018年7月31日アクセス可能)
- 宗玄俊一, 小原真弓, 長谷川澄代, 他. (2010). 小児感染免疫, 22, 23-28
- 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).
- Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
- Vinje J, Green J, Lewis DC, et al. (2000). Arch. Virol., 145, 223-241
- Kawamoto H, Yamazaki K, Utagawa E, et al. (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
- Katayama K, Sirato-Horikoshi H, Kojima S, et al. (2002). Virology, 299, 225-223
- 西尾 治, 新川奈緒美 (2002). 日本医事新報, 4105, 6-9
- 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 他. (2004). 臨床とウイルス, 32, 189-194
- Obara M, Hasegawa, S, Iwai M, et al. (2008). J. Clin. Microbiol., 46, 3397-3403
- Glass RI, Noel J, Ando T, et al. (2000). J. Infect. Dis., 181, S254-261
- 染谷雄一. (2000). ウイルス, 50, 173-184
- 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2008). 富山衛研年報, 31, 104-110
- 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2009). 富山衛研年報, 32, 90-96
- 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 97-102
- 小原真弓, 森岡誠二, 小淵正次, 他. (2011). 富山衛研年報, 34, 74-79
- 名古屋 (小原) 真弓, 森岡誠二, 堀元栄詞, 他. (2012). 富山衛研年報, 35, 74-79
- 名古屋真弓, 稲崎倫子, 石田 徹, 他. (2013). 富山衛研年報, 36, 51-57
- 稲崎倫子, 名古屋真弓, 石田 徹, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 53-59
- 稲崎倫子, 森岡誠二, 稲畑 良, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 49-54
- 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 47-52
- 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 49-54
- 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.
- 片山和彦, 木村博一. ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 (2015年改訂版). 2015. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html> (2018年8月9日アクセス可能)
- 板持雅恵, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 他. (2018). 富山衛研年報, 41, 92-94
- van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. (2013). Euro Surveill., 18(1), 8-9
- 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 他. (2015). 病原微生物検出情報, 36, 175-178

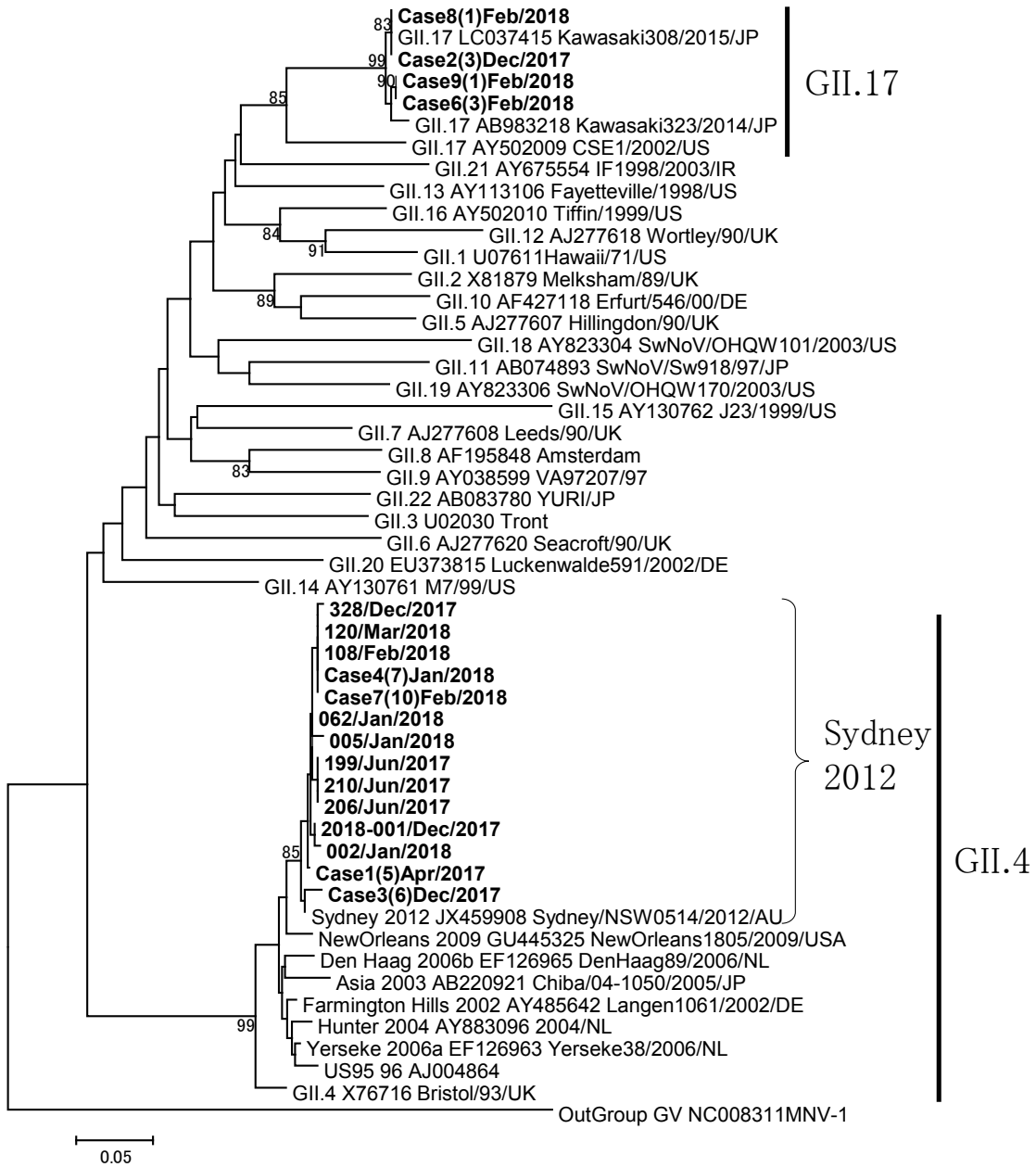


図3. 平成29年度に得られたノロウイルスGIIのカプシドN/S領域(282塩基)における系統樹

分岐上の数値は、ブートストラップ値(1000回試行)の80%以上の値を示す。検体は太字で示す。集団発生事例の検体は「事例番号(検体数)発生月/年」、散发例の検体は「検体番号/発生月/年」で示す。参考株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4亜型の参考株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況 (2017年)

磯部 順子 金谷 潤一 木全 恵子 範本 志保
 内田 薫 綿引 正則

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2017

Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO,
Kaoru UCHIDA and Masanori WATAHIKI

要 旨 2017年6～11月に県内14施設から採取した浴用水39検体, シャワー水32件, カラン水15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8/39検体 (20.5%), LAMP法 (定性試験) で13/39検体 (33.3%) とLAMP法で高かった. シャワー水における*Legionella*属菌検出率は, 培養法で水道水3/10検体 (23.1%), 井戸水5/19検体 (26.3%) となり, LAMP法でもほぼ同様の検出率であった. カラン水では, 培養法における検出率は水道水1/9検体 (11.1%), 井戸水3/6検体 (50.0%) で, シャワー水と同様にLAMP法と大きな違いは認められなかった. *Legionella*属菌の検出率は井戸水で高い傾向であった.
2. 浴用水における*Legionella*属菌の検出率は遊離残留塩素濃度 (残塩濃度) が高いほど低くなる傾向が認められたが, 一部に残塩濃度が高いにも関わらず, *Legionella*属菌数の多い検体が認められた. シャワー水, カラン水では, 残塩濃度>1.0 mg/Lでは*Legionella*属菌は検出されなかったが, 残塩濃度≤1.0 mg/Lの検体では検出率とは必ずしも関連しなかった.
3. 浴用水から検出された*Legionella*属菌の血清型あるいは菌種については, 浴用水では*Legionella pneumophila* 血清群1 (*Lp*1) が6検体から分離され, もっとも多かった. シャワー水およびカラン水からは*Lp*1は検出されず, もっとも多く検出されたのは*Lp*2～14ラテックスに凝集する菌であった.

*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. 日本では2002年7月, 宮崎県で7名が死亡する集団感染 [1] をはじめ, 温泉や循環式浴用施設を感染源とする事例が多く報告されている [2]. 加えて, 2009年には公衆浴場のシャワー水を感染源とする事例 [3] も発生するなど, 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.

レジオネラ症の届け出数は, 広島県で発生した大きな集団発生の影響はあるものの [4], 全国的に増加傾向であり, 2017年には1,722件もの報告となった [5]. 富山県でも同様の傾向を示し, 2017

年の患者届出数は38件で, 罹患率 (人口10万人当たりの発生数) は, 全国と比べて高い状況であることは変わっていない [5].

そこで, レジオネラ症の感染源を明らかにし, 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.

材料と方法

1. 対象と材料

2017年6～11月に県内14施設から採取した浴用水39検体, シャワー水32検体, カラン水15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. 浴用水の濃縮と培養

検査は厚生労働科学研究 [6] に従い、実施した。すなわち、検水1,000 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 μ 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10.0 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。*Legionella*属菌以外の細菌の発育を抑制するために、濃縮試料のうち1.0 mLはpH2.2の0.2M KClHCl（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、また、1.0 mLは50°C20分間ヒートブロックで加熱処理試料とした。酸処理試料は200 μ Lを、加熱処理試料と処理を行わなかった濃縮試料（未処理試料）は100 μ LをGVPC寒天培地（日水製薬）にコンラージ棒で全面に塗布した。菌数が多く、濃縮試料では菌数が測定できない場合も想定されるため、検体の原液（非濃縮検体）による培養も行なった。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。培養3日もしくは4日目に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斜光法 [7] により平板上の発育菌を観察した。培養時間の短い段階でかびなどが広がる前に*Legionella*属菌を釣菌できるため、迅速な判定が可能となる場合がある。

3. 同定および菌数測定

*Legionella*属菌様のコロニーを血液寒天培地（栄研化学）およびBCYE α 寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離し、2日後にBCYE α 寒天培地のみに発育したコロニーについて、ラテックス、市販抗血清と凝集を確認したものを*Legionella*属菌と同定した。未処理、加熱処理、酸処理の中で、もっとも多く*Legionella*属菌と同定された数をもって浴用水100mLあたりの*Legionella*属菌数に換算し、10 CFU以上を陽性とした。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。あるいは、未濃縮検体の培養平板に発育したコロニー数からその数を算出した。*Legionella*属菌を認めない場合10 CFU/100mL未満とした。

4. 血清型別試験

浴用水1検体あたり1～10個のBCYE α 寒天に発育した菌を用い、病原体検出マニュアル[8]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(オキシド)を用いて行った。

5. DNA抽出法

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°C10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。本法は死菌DNAも検出するため、遺伝子の増幅が認められた検体を陽性（定性）とした。

結 果

1. 浴用水の管理状況

採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩濃度）別検体数を表1に示した。濃度として推奨されている $\leq 0.2 \sim < 1.0$ mg/Lの検体は浴用水で17検体（43.6%）、シャワー水で10検体（31.3%）、カラン水では4検体（26.7%）であった。これに対し、 $0.0 \sim < 0.2$ mg/Lの検体は浴用水で4検体（10.3%）、シャワー水で10検体（62.5%）、カラン水で10検体（66.7%）であった。1.0 mg/L以上の浴用水は18検体（46.1%）、シャワー水では2検体、カラン水では1検体（共に6.3%）で、残塩濃度は浴用水で高い傾向であった。一方、換水は毎日実施されている浴用水が6検体（4施設）、他は週に1～2回の頻度であった。（データ未掲載）。

表1. 検体における遊離残留塩素濃度

遊離残留塩素濃度 (mg/L)	検体の内訳		
	浴用水	シャワー水	カラン水
0<0.2	4(0)*	20(8)	10(4)
2.0<1.0	17(6)	10(5)	4(2)
1.0<	18(1)	2(0)	1
	39(7)	32(13)	15(6)

*: ()は井戸水の件数

2. 検水の泉種

泉種は表2(1)(3)に*Legionella*属菌検出率の結果と共に示した。内訳（表2(1)）は、白湯が16検体（32.7%）、温泉が21検体（53.8%）、薬湯が2検体（5.1%）であった。白湯には井戸水7検体が含

表2. 泉種別 *Legionella* 属菌検出状況 (GVPC培地による培養法とLAMP法の比較)

(1) 浴用水における <i>Legionella</i> 属菌検出状況					(2) シャワー水における <i>Legionella</i> 属菌検出状況					(3) カラン水における <i>Legionella</i> 属菌検出状況				
泉種(検体数)	培養法		LAMP法(定性)		泉種(検体数)	培養法		LAMP法(定性)		泉種(検体数)	培養法		LAMP法(定性)	
	陽性	陰性	陽性	陰性		陽性	陰性	陽性	陰性		陽性	陰性	陽性	陰性
温泉(21)	2	19	4	17	水道水(13)	3	10	4	9	水道水(9)	1	8	1	8
白湯*(16)	5	11	8	8	井戸水(19)	5	14	5	14	井戸水(6)	3	3	2	4
薬湯(2)	1	1	1	1	計(32)	8	24	9	23	計(15)	4	11	3	12
計(39)	8	31	13	26										

培養法	LAMP法(定性)	
	+	-
+	6	2
-	7	24

LAMP法の培養法に対する一致率 76.9%

培養法	LAMP法(定性)	
	+	-
+	6	2
-	3	21

LAMP法の培養法に対する一致率

培養法	LAMP法(定性)	
	+	-
+	3	1
-	1	10

LAMP法の培養法に対する一致率

まれている。「薬湯」とは、薬用成分に関わらず、入浴剤などを添加している浴用水とした。給湯方式は、温泉水、井戸水でそれぞれ1検体がかけ流しで、残る37検体はすべてが循環式であった(データ未掲載)。シャワー水32検体(表2(2))とカラン水15検体(表2(3))の泉種の内訳は、それぞれ井戸水19検体(59.4%)、6検体(40.0%)と水道水13検体(40.6%)、9検体(60.0%)であった。温泉水は使用されていなかった。

3. *Legionella* 属菌の検出状況

① *Legionella* 属菌の検出率

浴用水における *Legionella* 属菌の検出率(表2(1))は培養法全体で8/39検体(20.5%)、泉種別では、白湯が5/16検体(31.2%)、温泉が2/21検体(10.5%)、薬湯が1/2検体(50.0%)であった。一方、LAMP法では、全体の検出率は13/39検体(33.3%)、白湯が8/16検体(50.0%)、温泉が4/21検体(19.0%)、薬湯1/2検体(50.0%)で、いずれも培養法に比べ高かった。シャワー水における *Legionella* 属菌検出率(表2(2))は、培養法で水道水3/13検体(23.1%)、井戸水5/19検体(26.3%)で、LAMP法でもほぼ同様の検出率であった。カラン水(表2(3))では、培養法における検出率は水道水1/9検体(11.1%)、井戸水3/6検体(50.0%)で、これらの検出率もLAMP法との間に大きな違いは認められなかった。昨年同様、井戸水を利用した検体で *Legionella* 属菌の検出率が高かった[9]。それぞれの表の下にLAMP法の培養における特異度を示した。浴用水の76.9%がもっとも低かった。

一方、培養時の雑菌抑制のための処理法別 *Legionella* 属菌の検出状況(菌数)を表3に示した。浴用水

の検体No.15では酸処理で検出された *Legionella* 属菌数が多かった。また、検体No.16では未処理のみから、また、No.12、38では加熱処理のみから *Legionella* 属菌が検出されたが、いずれも菌数は10 CFU/100mLであった。シャワー水では、1検体(No.S01)で酸処理からのみ10 CFU/100mL検出されたが、他の検体では処理別による菌数の差は認められなかった。カラン水についても処理法による検出率に大きな差は認められなかった。

③ *Legionella* 属菌と残塩濃度

検体中の *Legionella* 属菌の検出率と残塩濃度との関連性を図1に示した。検出率は、浴用水では残塩濃度が0~<0.2 mg/Lで2/4(50.0%)、0.2~<1.0 mg/Lで5/17(29.4%)、<1.0 mg/Lで1/18(5.6%)で、残塩濃度が高くなるにつれ、検出率が低くなる傾向であった。これに対し、シャワー水、カラン水では、>1.0 mg/Lでは *Legionella*

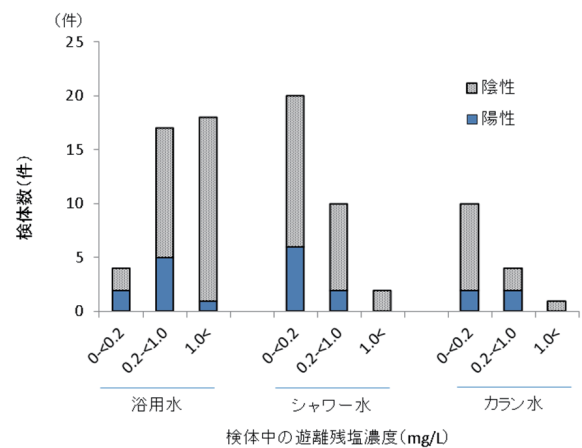


図1. 検水中の遊離残留塩素濃度と *Legionella* 属菌の陽性率(2017)

属菌は検出されなかったが、それぞれ0～<0.2 mg/Lで6/20 (30.0%), 2/10 (20.0%), 0.2～<1.0 mg/Lで2/10 (20.0%), 2/4 (50.0%) となり、残塩濃度と必ずしも相関しなかった。

②Legionella属菌数と血清群

培養法, LAMP法いずれか一方, もしくは両法で陽性となった検体について, 培養法による定量値と分離されたLegionella属菌の血清型別をまとめた(表4)。浴用水ではNo.20の7,520 CFU/100mLが最も多く, 次いでNo.15の890, No.29の820 CFU/100mL, 他の陽性検体は10～100 CFU/100 mLであった。共に陽性となったのは6検体であった。培養法で陽性, LAMP法で陰性となった浴用水は2検体で, 1検体 (No.38) の菌数は10 CFU/100mL (Legionella pneumophila 血清群 5; Lp 5) であったが, 1検体 (No.20) は7,520 CFU/100mLと多かった。この検体から分離されたLegionella属菌のほとんどがLAMP法では検出できないL. micdadeiであり [9], Lp1は10 CFU/100mLのみであった。一方, LAMP法が陽性で培養法が陰性の7検体では, 残留塩素濃度が0.2～2.2 mg/Lと推奨される残塩濃度の検体であった。シャワー水から分離されたLegionella属菌数は, No. S04の1,290 CFU/100mLがもっとも多く, ついで

No.S3の970 CFU/100, No.S23の680 CFU/mLと続く。No.S03とS04は同じ施設の異なる浴室からの採水である。カラン水における菌数は20～50 CFU/100mLと浴用水, シャワー水に比べると少な

表3. 検体処理別 Legionella 属菌検出数

検体No.	処理法			
	未処理	酸処理	加熱処理	非濃縮
12			10*	
13	10		10	
15	110	170	90	
16	10			
17	100	100	90	
20	7,520	7,000	7,160	6,000**
29	250	820	310	
38			10	
S01		10		
S03	970	970	840	1,000
S04	1,290	1,180	1,240	4,000
S09	10	10	30	
S10	20	30	30	
S11	120	90	70	
S12	70	80	100	
S23	250	680	550	
C02	30	40	30	
C11	20	10	20	
C05	20	20	30	
C06	50	30	50	

* : 検出された Legionella属菌数(CFU/100mL)

** : 非濃縮検体から検出された Legionella属菌の菌数(CFU/100mL)

太字はもっとも菌数が多いことを示す

表4. Legionella 属菌が検出された浴用水における菌数と血清群 (2016年)

検体No.	泉種、水源	採水日の遊離残留塩素濃度(mg/L)	LAMP法(定性)	培養結果(CFU/100mL)	検出された Legionella 属菌					
					Lp1*	Lp3	Lp5	Lp6	Lp2~14**	L micdadei
12	薬湯	0	+	10						Lp2~14
13	白湯(井戸水)	0.5	+	10	Lp1					
15	白湯(井戸水)	0.6	+	890	Lp1					
16	白湯(井戸水)	0.6	+	10	Lp1					
17	白湯(井戸水)	0.5	+	100	Lp1					
20	温泉	0.5	-	7520	Lp1					L micdadei
29	白湯	>2.2	+	820	Lp1					
38	温泉	0.05未満	-	10			Lp5			
S01	水道水	0.1	-	10						Lp2~14
S03	水道水	0.15	+	970						Lp2~14
S04	水道水	0	+	1290						Lp2~14
S09	井戸水	0.3	+	30						Lp2~14
S10	井戸水	0.3	-	30						Lp2~14
S11	井戸水	0	+	120		Lp3		Lp6		
S12	井戸水	0	+	100		Lp3				
S23	井戸水	0.08	+	680			Lp5			
C02	水道水	0.05	+	40						Lp2~14
C11	井戸水	0.11	-	20			Lp5			
C05	井戸水	0.3	+	30			Lp5			Lp2~14
C06	井戸水	0.3	+	50						Lp2~14

* : Lpは Legionella pneumophila を, 1は血清群1を示す

** : レジオネララテックス試薬(OXID)のLp2-14混合ラテックスに擬集した株

い傾向であった。

分離された*Legionella*属菌の血清型あるいは菌種は浴用水では*Lp1*が6検体から、*Lp5*と*Lp2-14*、*L. micdadei*がそれぞれ1検体から分離された。*Lp1*が分離された浴用水6検体のうち4検体は同じ施設の異なる浴用水で、いずれも井戸水であった。一方、シャワー水およびカラン水からは*Lp1*は検出されず、もっとも多く検出されたのは*Lp2*～*Lp14*ラテックスに凝集する菌であった。

考 察

日本におけるレジオネラ症の感染源は、浴用水が多いと報告されている [10]。前述の集団事例も浴用施設で発生している [4]。本年の調査において、浴用水における残塩濃度と*Legionella*属菌検出率は概ね相関した。また、残塩濃度1.0 mg/L以上の検体ではシャワー水やカラン水でも陽性検体は認められなかった。浴用水については残塩濃度の低い検体の割合が少なかった。それに比べ、シャワー水、カラン水では残塩濃度の低い検体が多い傾向であった。ミスト生成が多く、リスクの高いこれらの水についてはさらに衛生管理の徹底が望まれる。データは示していないが、表3の検体No.29, S09, C05, C06は、いずれもpHが8.0を越えていた。遊離塩素の効果が減少する理由のひとつとして高いpHが知られていることから、これらの検体の残塩濃度は0.2 mg/L以上であったが、塩素が効いていなかった可能性も考えられた。このような利用水の衛生管理手法として、近年は遊離塩素に頼らない、モノクロミン消毒が効果的であることが報告されている [11]。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ものと予想される。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。このような情報を施設管理者へも周知し、管理方法を考えることが大切であると思われる。浴用施設で使用された井戸水については、*Legionella*属菌の検出率が水道水利用検体より高かったため、井戸水を用いての利用水にはさらに厳重な衛生管理が求められる。一方、これらの検体から検出された*Legionella*属菌を見ると、シャワー水やカラン水から、レジオネラ症患者から多く分離される*Lp1*は検出されなかった。これに対し、浴用水では*Lp1*の検出数が多かった。この傾向は昨年度の調査 [12] でも認められたが、われわれの過去の

調査 [13] では31検体中6検体 (19.4%) から*Lp1*が検出されており、シャワー水における*Lp1*の感染リスクが低いとは言えない。

近年は、感染症の検査にも遺伝子検査法が多く取り入れられている。レジオネラ検査においても例外ではなく、「レジオネラ症防止指針第3版」に遺伝子検査法が記載され、検査の迅速性が高まることが期待されている。本調査中のLAMP法の結果を見ると、浴用水における一致率はシャワー水、カラン水のそれより低い傾向であった。この理由としては、浴用水においては夾雑物や人由来のさまざまなDNAなどが関与する可能性が高く、遺伝子反応阻害や死菌DNAの検出などの影響が考えられた。Etidium mono azaid (EMA) による死菌DNAを除去する方法を取り入れた検査試薬も市販され、今後普及するものと思われる。

富山県におけるレジオネラ症の罹患率（対人口10万人あたりの患者発生数）は、調査が始まった2007年より上位に位置し、対策が必要である。富山県では厚生部生活衛生課の主導のもと、2014年から浴用水の管理のため、*Legionella*属菌による汚染状況の監視体制を強化している。また、2016年3月にはレジオネラ症患者発生時における対応要領も制定するなど、行政指導を強化している。しかしながら、レジオネラ症では感染源が特定される患者は少なく、行動調査の中から利用した浴用施設の衛生管理状況や*Legionella*属菌検査を実施するにとどまっている。富山県では、聞き取り調査などからレジオネラ症のおよそ4割が公衆浴場などを利用していることが判明している。新たな感染源が特定できないまでも、この4割の患者を減らすことは大きな目標である。そのためにも、日常的に浴用施設の衛生管理を監視する体制と汚染実態の把握は必要である。

謝 辞

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

なお、本研究は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」の一環として行った。

文 献

1. 岡田美香, 河野喜美子, 倉 文明 (2005), 感染症誌, 79, 365-374
2. Nakamura H, Yagyu H, Kishi 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(11), 331-333 <http://idsc.nih.gov/iasr/index-j.html>
平成30年7月10日アクセス可能
4. 厚生省生活衛生技術研修「2017年に広島県内で発生したレジオネラ症集団感染事案について」
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/seikatsueisei/gijutukensyuukai/
平成30年7月31日アクセス可能
5. 国立感染症研究所IDWR速報データ2017第52週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/reference.html>
平成30年8月1日アクセス可能
6. 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
7. 森本 洋 (2010). 環境感染誌, 25, 8-14
8. 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
9. 磯部順子, 金谷潤一, 木全恵子, 範本志保, 内田 薫, 綿引正則 (2017). 富山衛研年報, 4061-66
10. 安中敏光, 吉野 学, 百田隆祥, 他. (2003). 臨床微生物, 13, 19-25
11. 病原微生物検出情報 (2000). 21, 186-193
<http://idsc.nih.gov/iasr/21/247/tpc247.html>
平成30年7月31日アクセス可能
12. 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21年度). 115-119
13. Kanatani J, Isobe J, Norimoto S, et al. (2017). J Infect Chemother, 23, 265-270

生活習慣の変容とインスリン抵抗性関連指標の変化

中崎美峰子 澁谷 直美¹ 坪野 由美¹ 大浦 栄次¹
上野 美穂

Relationship between Change of Life Style Behavior and Indices of Insulin Resistance or Obesity

Mineko NAKAZAKI, Naomi SHIBUYA¹, Yoshimi TSUBONO¹, Eiji OURA¹
and Miho UENO

要 旨 職域の健康診断受診者を対象に、体格指標 (BMI, 腹囲) と糖代謝指標 (HbA1c, 空腹時血糖, インスリン, HOMA-R) について3年間の変化と、その間の運動や食行動に関する習慣の変容との関連について検討した。その結果、3年間における体格指標の変化率と糖代謝指標の変化率に正の相関がみられ、肥満の進行・改善と糖代謝指標の上昇・低下が関連していた。また、男性では、「夕食の食べ方」と「糖分の入った飲み物の摂り方」の習慣の好ましい方への変容が、体格指標の改善に影響する可能性が示唆され、「食品のバランス」や「塩分の摂り過ぎ」を気にせず、「昼食を麺・丼などで簡単に済ます」行動を維持することは、糖代謝指標の上昇と関連する可能性が示唆された。

インスリン抵抗性とは、インスリン感受性の低下であり、血中のインスリン濃度に見合ったインスリン作用が得られない状態である。インスリン抵抗性の増大は、高血糖のみならず生活習慣病全般の背景因子ととらえられており、内臓脂肪の蓄積を伴う肥満がその要因の一つといわれている[1]。これまでの断面調査の結果から、成人以降の体重増加量と糖代謝異常に関連がみられたこと、肥満度が正常範囲でも、運動不足、早食い、夕食後の間食などの生活習慣を有する者は、インスリン抵抗性の指標が高いことなどがわかった[2,3]。そこで、生活習慣の変容と肥満や糖代謝の指標の変化との関連を明らかにするため、初回調査から継続して健康診断を受診している集団について、3年後に追跡調査を行った。

対象と方法

1. 対象者

平成27年度に厚生連高岡健康管理センターで実施された職域の健康診断受診者で、本調査への参加に同意が得られた271名 (男性132名, 女性139名) のうち、平成24年度にも調査データがある者について、糖尿病で服薬治療中の者と、インスリン抵

抗性指標であるHOMA-Rの利用に適さないとされる空腹時血糖値 (FPG) が140 mg/dLを超える者を除き[4]、男性90名, 女性105名を解析対象とした。

2. 方法

測定項目のうち身長, 体重, 腹囲, ヘモグロビンA1c (HbA1c: NGSP値), FPGは健診機関のデータを使用し, 空腹時インスリン (IRI) は衛生研究所で測定した。身長と体重からBMIを算出し, HOMA-Rを $HOMA-R = FPG \times IRI / 405$ の式により算出した。

運動習慣や食行動に関する習慣についてアンケート調査を行い, 初回時 (H24年度) と追跡時 (H27年度) の回答を比較した。設問ごとに「好ましい方に変化」「好ましい習慣を維持」「好ましくない習慣を維持」「好ましくない方に変化」の4群に分け, BMI, 腹囲, HbA1c, FPG, IRI, HOMA-Rの6項目について変化率% $\{(\text{追跡時} - \text{初回時}) / \text{初回時} \times 100\}$ を比較した。

対象者には事前に本調査の目的, 内容について十分に説明し, 書面にて研究協力の同意を得た。本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会および厚生連高岡病院の倫理委員会の承認を受けて実施した (平成27年7月17日承認)。

身体計測値は算術平均値と算術標準偏差で示し,

1. 厚生連高岡健康管理センター

HbA1c, FPG, IRI, HOMA-Rおよび各指標の変化率は中央値と四分位範囲で示した。初回時と追跡時の比較は、対応のあるt検定および符号付順位和検定を用いた。各指標の高値率の比較には χ^2 検定を行った。各指標変化率の相関係数の計算と検定はスピアマンの順位相関係数を用いた。4群間の比較はKruskal-Wallis検定を用い、Bonferroni補正によるU検定で多重比較を行った。統計学的有意水準を0.05未満とし、0.10未満を傾向ありとした。統計解析には統計解析ソフトHALBAU (Ver. 7.2) およびIBM SPSS Statistics 19を使用した。

結 果

1. 体格指標、糖代謝指標の変化について

対象者の年齢、体格指標、糖代謝指標について、

男女別に表1に示した(年齢、身長は追跡時のみ)。各指標値の初回時と追跡時を比較すると、男性はBMI、腹囲、HbA1cで追跡時が有意に高かった。女性は、BMI、HbA1cで追跡時が有意に高く、IRIは高値傾向を示した(p<0.1)。

表2には各指標の基準値を超える高値者の割合を示した。BMI、腹囲の高値者の割合は初回時、追跡時とも男性の方が大きく、女性よりも肥満者が多かった。糖代謝指標では、男性のFPG高値者が初回時20.0%、追跡時24.4%と女性よりも多かったが、その他の指標はいずれも10%以下で、男女差はみられなかった。また、男女ともに、いずれの指標でも初回時と追跡時における有意な増減はなかった。

インスリン抵抗性は肥満との関連が指摘されることから、体格指標の変化率と糖代謝指標の変化

表1 対象者の身体指標と糖代謝指標

男性					女性						
		平均値	標準偏差	最小値	最大値			平均値	標準偏差	最小値	最大値
年齢(歳)	追跡時	51.6	7.6	38	67	年齢(歳)	追跡時	49.3	6.9	38	65
身長(cm)	追跡時	171.6	6.1	158.8	186.1	身長(cm)	追跡時	157.8	5.5	140.3	170.5
体重(kg)	初回時	70.1	12.0	46.1	105.7	体重(kg)	初回時	53.1	7.5	34.1	78.0
	追跡時	70.7	12.0	47.0	108.0		追跡時	53.6	7.8	36.1	78.1
BMI [†] **	初回時	23.6	3.4	15.7	33.1	BMI [†] **	初回時	21.3	3.0	14.8	30.7
	追跡時	23.9	3.5	16.6	34.1		追跡時	21.6	3.2	15.2	32.5
腹囲(cm)**	初回時	86.5	9.4	69.7	115.5	腹囲(cm)	初回時	77.9	7.7	58.3	92.9
	追跡時	87.7	9.6	68.3	117.5		追跡時	78.0	7.6	59.7	97.2
		中央値	四分位範囲	最小値	最大値			中央値	四分位範囲	最小値	最大値
HbA1c*** (%NGSP値)	初回時	5.3	0.4	4.7	6.7	HbA1c*** (%NGSP値)	初回時	5.3	0.4	4.7	6.3
	追跡時	5.5	0.5	4.8	7.2		追跡時	5.5	0.4	4.9	6.5
FPG(mg/dL)	初回時	101	12.5	83	132	FPG(mg/dL)	初回時	101	12.5	83	132
	追跡時	101	16.5	79	127		追跡時	95	10	73	130
IRI(μ U/mL)	初回時	4.3	3.4	<0.5	20.4	IRI(μ U/mL) [†]	初回時	3.5	2.4	0.6	10.5
	追跡時	4.5	3.7	0.5	37.3		追跡時	3.7	2.6	0.5	14.7
HOMA-R	初回時	1.1	0.8	0.0	5.4	HOMA-R	初回時	0.8	0.6	0.1	2.6
	追跡時	1.2	1.0	0.1	9.6		追跡時	0.9	0.6	0.1	4.4

** : p<0.01 初回時と追跡時の比較 (Paired t-test)

† : p<0.1, *** : p<0.001 初回時と追跡時の比較 (符号付順位和検定)

表2 体格・糖代謝指標高値者の割合

基準		男性(n=90)		女性(n=105)		χ^2 検定
		人	%	人	%	
BMI \geq 25	初回時	31	34.4	11	10.5	p<0.001
	追跡時	31	34.4	17	16.2	p<0.01
腹囲(男性 \geq 85cm) (女性 \geq 90cm)	初回時	43	47.8	13	12.4	p<0.001
	追跡時	44	48.9	10	9.5	p<0.001
HbA1c \geq 6.0%	初回時	3	3.3	5	4.8	n.s.
	追跡時	9	10.0	9	8.6	n.s.
FPG \geq 110mg/dL	初回時	18	20.0	7	6.7	p<0.01
	追跡時	22	24.4	9	8.6	p<0.01
IRI \geq 10.0 μ U/mL	初回時	3	3.3	1	1.0	n.s.
	追跡時	8	8.9	3	2.9	n.s.
HOMA-R \geq 2.5	初回時	3	3.3	1	1.0	n.s.
	追跡時	8	8.9	4	3.8	n.s.

率の相関を調べた(表3)。男性ではBMIおよび腹囲の変化率と、IRI, HOMA-Rの変化率の間に正の相関がみられ、BMI変化率はHbA1c変化率とも相関を示した。女性においても、BMI変化率とIRI, HOMA-Rの変化率との間に正の相関がみられ、肥満の進行・改善と糖代謝指標の増・減との関連性が示された。

2. 習慣の変容と体格指標, 糖代謝指標について

運動習慣, 食習慣に関するアンケートから, 設問ごとに初回時と追跡時の回答を比較し, 「好ましい方に変化:A」「好ましい習慣を維持:B」「好ましくない習慣を維持:C」「好ましくない方に変化:D」の4群に分け, 体格指標や糖代謝指標の変化率を比較した。4群間でいずれかの指標の変化率に差が認められた習慣について表4に示した。

男性では, 「夕食を満腹まで食べるか」の設問でBMI変化率と腹囲変化率において群間に差がみられ(いずれも $p < 0.01$), A群で負の値を示し, B群, C群よりも低かった。「糖分の入った飲み物の摂り方」でもBMI変化率はA群が最も低かった。「食品のバランスに気を付けるか」, 「塩分の摂り過ぎに気を付けるか」の設問では, HbA1c変化率に群間で差がみられ(いずれも $p < 0.05$), A群, B群に対してC群, D群が高い傾向であった。また, 「昼食を簡単に済ませるか」ではFPG変化率に差がみられ($p < 0.01$), C群が高かった。

一方女性では, 「偏食の有無」でHbA1c変化率に差がみられ($p < 0.05$), B群, C群に対してA群が低値を示したものの, このほかには習慣の変容と各指標の変化率とに関連はみられなかった。

考 察

平成27年国民健康・栄養調査[5]によると, 40~69歳のBMI平均値は男性 23.88 ± 3.37 , 女性 22.48 ± 3.72 であり, 今回の対象者はこれと同等であった。男性の腹囲は, 初回時, 追跡時ともに平均値が肥満の基準値(85 cm)を超えていたが, 高値者の割合は47.8%, 48.9%であり, 国民健康・栄養調査の結果(40歳代:51.0%, 50歳代:54.4%)に比べて高くはなかった。一方, 女性の腹囲高値者の割合は, 国民健康・栄養調査の結果(40歳代:13.5%, 50歳代:19.7%)に比べてやや少なかった。今回の対象者は, 男女とも日本人の一般的な集団に比べて肥満者は多くない集団と考えられた。

肥満とインスリン抵抗性に関して, 断面調査ではBMIや腹囲と糖代謝指標値に相関がみられ, 肥

満の指標が高いほど糖代謝指標が高いことを報告した[3]。今回は, 各指標値の3年間の変化率について相関関係の有無を調べた。その結果, 体格指標の変化率と糖代謝指標の変化率に正の相関が認められ, 肥満の進行・改善と糖代謝指標の増・減が関連していた。女性では腹囲の増減と糖代謝指標の増減に関連がみられなかった。これは, 女性では皮下脂肪が多く, 腹囲と内臓脂肪の蓄積が必ずしも相関しないためと考えられる。

運動習慣や食行動に関する様々な習慣について, 3年前と同じ質問に対して回答を求め, 前後の回答の比較から習慣の変容を捉えた。好ましい方へ変化, 好ましい習慣を維持, 好ましくない習慣を維持, 好ましくない方へ変化, の4群に分け, 行動が好ましい方へ変化した者では体格や糖代謝の指標値が低下傾向になり, 好ましくない行動を維持, あるいは好ましくない方へ変化した者では指標値が上昇傾向になるような「習慣」の抽出を試みた。

男性では, 「夕食の食べ方」と「糖分の入った飲み物の摂り方」の習慣の好ましい方への変容が体格指標の改善に影響する可能性が示唆され, 「食品のバランス」や「塩分の摂り過ぎ」を気にせず, 「昼食を麺・丼などで簡単に済ませる」行動を維持することは, 糖代謝指標の上昇と関連する可能性が示唆された。過去の断面調査では「夕食を満腹まで食べる」と「塩分の摂り過ぎを気にしない」群でHOMA-Rが高値を示し[6], これらの習慣を好ましい方へ変えることが糖代謝指標の改善に効果的であると考えられた。

女性では, 「偏食の有無」以外に体格・糖代謝指標の変化率と関連がみられた項目はなかった。女性は閉経によりエストロゲンが低下すると内臓脂肪が蓄積しやすいといわれており, 今回の対象者のほとんどが40歳代と50歳代であることから, ホルモンバランスの状態が多様な集団と考えられ, 生活習慣の変容の影響が見えにくかった可能性がある。

運動習慣について, 今回の調査では, 3年間に「運動をするようになった」者は男性7名, 女性5名, 「運動を継続している」者は男性7名, 女性3名のみで例数が少なく, 習慣の変容と体格・糖代謝指標の変化との間に関連を見出すことはできなかった。しかし, 定期的な運動習慣が肥満の改善に有効であることは広く認められており, 糖代謝との関連でも, 運動習慣を持つ者の方がIRI, HOMA-Rが低いこと, 運動指導を含む9か月間の

表3 体格指標変化率と糖代謝指標変化率の相関係数

		HbA1c変化率	FPG変化率	IRI変化率	HOMA-R変化率
男性 n=90	BMI変化率	0.260 *	-0.015	0.237 *	0.220 *
	腹囲変化率	0.115	0.006	0.226 *	0.210 *
女性 n=105	BMI変化率	0.104	0.015	0.240 *	0.221 *
	腹囲変化率	0.018	0.025	0.113	0.095

* : p<0.05 スピアマンの順位相関

表4 習慣の変容と体格・糖代謝指標変化率 (%)

男性		A		B		C		D		Kruskal-Wallis	多重比較 (Bonferroni補正)
夕食の 食べ方		腹八分までになった		腹八分にしている		満腹まで食べる		満腹まで食べるようになった			
		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	17		37		33		3			
	BMI変化率	-1.2	4.8	3.0	5.5	1.3	6.2	4.6	14.9	p<0.01	A<B
	腹囲変化率	-0.9	6.0	2.1	4.2	1.5	5.3	2.2	12.2	p<0.01	A<B, A<C
	HbA1c変化率	3.6	5.7	3.8	4.3	2.0	3.8	13.5	17.2	p<0.1	
	FPG変化率	0.0	9.7	1.0	6.6	-2.1	11.4	24.8	29.4	p<0.1	
	IRI変化率	-9.4	69.5	7.1	86.6	-6.0	63.2	46.7	97.4	n.s.	
	HOMA-R変化率	-1.3	72.6	8.9	92.1	-3.1	60.8	71.5	144.4	n.s.	
糖分の入った ジュース・ コーヒー等		飲まなくなった		ほとんど飲まない		1杯/日以上飲む		1杯/日以上飲むようになった			
		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	5		58		24		3			
	BMI変化率	-1.4	7.8	0.4	5.1	3.6	5.3	3.9	1.4	p<0.05	
	腹囲変化率	-1.2	8.0	1.5	4.7	1.5	5.5	2.5	2.3	n.s.	
	HbA1c変化率	1.9	5.7	2.7	6.8	3.8	3.8	3.9	3.1	n.s.	
	FPG変化率	-6.3	13.3	1.5	10.3	-1.4	9.2	-5.2	14.1	n.s.	
	IRI変化率	-13.1	87.9	6.8	75.1	-14.7	63.3	2.9	143.6	n.s.	
	HOMA-R変化率	-18.7	89.2	2.0	76.9	-15.0	64.1	10.0	137.9	n.s.	
食品の摂り 方:バランス		考えるようになった		考えている		気にしない		気にしなくなった			
		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	14		53		14		9			
	BMI変化率	0.5	8.0	0.9	5.7	1.6	6.4	1.3	8.3	n.s.	
	腹囲変化率	1.5	8.7	1.4	2.7	2.3	9.5	1.5	8.5	n.s.	
	HbA1c変化率	3.5	1.9	2.0	5.7	4.6	4.8	7.3	4.6	p<0.05	B<D
	FPG変化率	-6.9	9.1	1.1	8.6	-1.3	10.4	1.0	19.0	p<0.1	
	IRI変化率	-11.7	83.5	3.0	76.7	22.5	87.1	-12.6	37.9	n.s.	
	HOMA-R変化率	-11.9	81.6	5.7	74.4	11.7	93.4	-15.1	36.8	n.s.	
塩分の摂り 過ぎ		気をつけるようになった		気をつけている		気にしない		気にしなくなった			
		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	8		47		24		11			
	BMI変化率	-1.4	5.6	1.2	5.9	1.3	5.9	0.5	5.7	n.s.	
	腹囲変化率	0.3	5.5	1.5	3.2	1.7	7.3	2.3	5.5	n.s.	
	HbA1c変化率	1.9	3.7	3.5	3.9	5.6	5.8	3.6	2.0	p<0.05	A<C
	FPG変化率	1.1	9.2	0.0	8.2	-1.4	13.9	-5.2	9.3	n.s.	
	IRI変化率	23.8	81.2	-1.8	74.2	15.2	72.0	-14.3	43.9	n.s.	
	HOMA-R変化率	22.0	67.6	-2.3	79.2	3.6	82.9	-17.0	33.2	n.s.	
昼食を麺 丼などで簡 単に済ます		きちんと摂るようになった		きちんと摂る		簡単に済ます		簡単に済ますようになった			
		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	9		38		27		15			
	BMI変化率	3.3	5.9	0.6	5.8	1.3	6.7	0.5	9.3	n.s.	
	腹囲変化率	0.9	5.0	1.5	4.9	1.1	5.0	3.2	8.3	n.s.	
	HbA1c変化率	3.6	2.9	3.6	3.8	2.0	5.4	3.8	7.5	n.s.	
	FPG変化率	-6.7	2.4	-0.5	9.0	2.0	6.7	-2.9	11.9	p<0.01	A<C
	IRI変化率	25.6	82.8	-9.0	75.9	3.2	70.1	18.4	64.6	n.s.	
	HOMA-R変化率	33.3	80.9	-7.2	95.0	1.4	72.4	8.9	68.9	n.s.	
女性		偏食なくなった		偏食はない		偏食がある		偏食になった		Kruskal-Wallis	多重比較 (Bonferroni補正)
偏食		中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲	中央値	四分位範囲		
	n	4		46		44		11			
	BMI変化率	1.1	2.0	0.7	3.1	1.4	4.7	0.5	3.5	n.s.	
	腹囲変化率	0.8	5.1	0.4	7.3	0.5	6.1	0.3	3.7	n.s.	
	HbA1c変化率	-3.5	3.2	3.6	4.0	3.8	3.5	1.9	5.5	p<0.05	A<B, A<C
	FPG変化率	5.2	15.5	0.0	8.0	-1.6	7.5	0.0	12.5	n.s.	
	IRI変化率	24.3	67.7	9.8	69.7	5.0	53.0	45.5	125.3	n.s.	
	HOMA-R変化率	31.0	86.9	11.3	70.0	3.1	66.2	56.0	132.8	n.s.	

減量教室で終了時にIRI, HOMA-Rの低下がみられたことなどが報告されている[7,8].「健康日本21」では, 20~64歳における運動習慣者の割合の目標値を男性36%, 女性33%としており, 運動習慣の定着をさらに推奨するべきであると考え.

本調査の対象者は一般勤務者であり, 生活習慣に関して健康診断時の保健指導以上の介入は行っていないため, 3年間で運動習慣や食行動の習慣が変化した者は多くなかったが, 体格指標・糖代謝指標の変化と関連する可能性がある行動を抽出することができた. 介入研究等による検証など, さらに検討する必要があると思われるが, 肥満教室等の保健指導の現場で活用可能な情報を, 今後提供していきたい.

文 献

1. 肥満症診療ガイドライン2016 (2016) 日本肥満学会編, 71-77, ライフサイエンス出版
2. 田中朋子, 中崎美峰子, 金木 潤, 他. (2011). 富山県衛生研究所年報, 34, 123-127
3. 田中朋子, 中崎美峰子, 金木 潤, 他. (2013). 富山県衛生研究所年報, 36, 71-74
4. 糖尿病治療ガイド (2010) 日本糖尿病学会編, 11-12, 株式会社文光堂
5. 厚生労働省 平成27年国民健康・栄養調査報告 (2017) 113-119
6. 田中朋子, 小林直人, 中崎美峰子, 他. (2014). 肥満研究, 12 (2), 102-109
7. 福井敏樹, 吉鷹寿美江, 山本由美子, 他. (2007). 人間ドック, 22 (1), 51-58
8. 野坂久美子, 長尾光城. (2005). 川崎医療福祉学会誌, 14 (2), 331-340

リン調整因子FGF23と骨質劣化との関連

田村 恒介 小林 直人¹ 上野 美穂

Association between Phosphate Regulator FGF23 and Reduced Bone Quality

Kosuke TAMURA, Naoto KOBAYASHI¹ and Miho UENO

要 旨 体内のリン調整因子として作用する繊維芽細胞増殖因子 (Fibroblast Growth Factor : FGF) 23は、慢性腎臓病に伴う骨粗鬆症の要因として注目され、骨折リスクとの相関が認められている一方、骨密度との関連は認められていない。また、骨密度以外の骨強度因子である骨質との関連について調査した報告はない。本研究ではFGF23が骨質劣化に関与するか検討するため、骨粗鬆症検診を受診した女性97名を対象に、FGF23と、骨質の指標であるペントシジンとの関連を横断的に調査した。その結果、FGF23はペントシジンと正の相関が認められた。交絡因子として考えられた年齢、腎機能の影響を除いてもFGF23はペントシジンと独立して関連が認められたことから、FGF23が骨質劣化に関与する可能性が示唆された。

骨粗鬆症の診断は骨密度を中心に行われてきたが、骨密度が正常でも骨折リスクが高い場合が認められ、骨密度以外の骨強度因子である「骨質」の重要性が認識されてきた[1]。骨の体積の5割はコラーゲン蛋白質からなり、正常な骨のコラーゲン蛋白質は秩序正しく酵素依存性の架橋構造をとり、強くしなやかである。一方、酸化ストレスやカルボニルストレスによりコラーゲン蛋白質中に終末糖化産物 (Advanced Glycation End products : AGEs) による不規則な架橋が増加すると、硬く脆い骨となり、骨質が劣化した状態となる。骨質が劣化する要因として、加齢や性ホルモンの減少、動脈硬化の危険因子である高ホモシステイン血症や、その代謝に関わるメチレンテトラヒドロ葉酸還元酵素 (MTHFR) の遺伝子多型、糖尿病による高血糖、生活習慣病に伴う酸化ストレスの増大などが上げられる[2]。

慢性腎臓病 (Chronic Kidney Disease : CKD) もまた骨質が劣化する生活習慣病の1つである。CKDは推定患者数が1,330万人に上り、新たな国民病として認識されている[3]。CKDに伴う骨粗鬆症の要因として、腎機能低下の早期から上昇し、リン調整因子として作用する繊維芽細胞増殖因子 (Fibroblast Growth Factor : FGF) 23の関与が近年注目されている。これまでの研究報告では、

FGF23と骨折リスクに正の相関が認められている[4]一方、骨密度との関連は認められていない[5, 6]。そこで骨質との関連が予想されるが、未だ検討した報告はない (図1)。

本研究では、FGF23と骨質との関連を調査し、腎機能低下に伴う骨質劣化へのFGF23の関与について検討した。

対象と方法

1. 対象

平成25年度に富山県衛生研究所で実施した「骨質からアプローチする骨粗鬆症研究」の協力者156名 (厚生連高岡健康管理センターで骨粗鬆症検診を受診した女性) の調査結果と保存血清を用いて行った。これらの対象者の内、血清クレアチニン

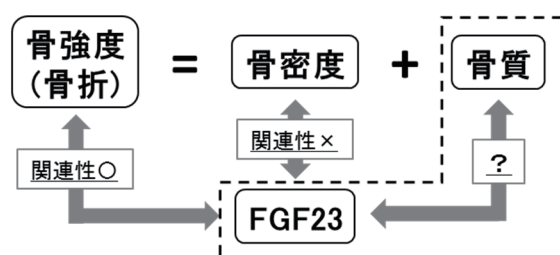


図1. 骨強度因子とFGF23の関連

0.60 mg/dL未満で正しい腎機能評価が困難[7]な38名、腎機能及び骨質に影響を与える糖尿病の既往歴がある13名及び測定データに欠損がある8名を除外した97名を解析対象とした。尚、本研究は対象者の個人情報を匿名化し、富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受け実施した（平成28年8月1日承認）。

2. 調査項目

骨質の指標として、骨コラーゲン蛋白質中のAGEs量と相関が認められている血清ペントシジンを用いた。血清ペントシジン及び血清FGF23の測定は、市販のELISAキット（ペントシジン：伏見製薬(株)、FGF23：(株)カインス）を用いた。検診結果の内、年齢、身長、体重を用い、身長、体重からbody mass index (BMI) を求めた。血清クレアチニンは自動分析装置（日立LABO-SPECT 003）を用いて測定し、腎機能の指標となる推算糸球体濾過量（estimated Glomerular Filtration Rate：eGFR）を以下の式より求めた[3]。その他、自記式調査票による既往歴に関する情報を用いた。

$$\begin{aligned} \text{eGFR (mL/min/1.73m}^2\text{)} \\ &= 194 \times \text{Cr}^{-1.094} \times \text{年齢}^{-0.287} \times 0.739 \\ \text{Cr: 血清クレアチニン (mg/dL)} \end{aligned}$$

3. 統計解析

FGF23とペントシジンは幾何平均値 (GM) 及び幾何標準偏差 (GSD) を用いた。その他の項目は算術平均値 (MEAN) 及び標準偏差 (SD) を用いた。

単変量解析ではピアソンの積率相関係数 (r) を求め、多変量解析では強制投入法による重回帰分析を行った。全ての統計解析はIBM SPSS Statistics 24を用いて行い、危険率5%未満を有意、10%未満を傾向有りとした。尚、FGF23とペントシジンについては対数変換値を使用し統計検定を行った。

結 果

解析対象者97名の特性を表1に示した。年齢は 59.3 ± 9.2 歳、eGFRは 68.4 ± 8.0 mL/min/1.73m²であり、腎機能が正常から軽度低下に該当する集団であった。

FGF23とペントシジンの散布図を図2-1に示した。解析対象者97名のうち、FGF23が極端に高い

1名 (FGF23 = 481 pg/mL) が含まれており、相関係数 ($r = 0.137$, $p = 0.181$) に大きな影響を与えている可能性があった。そこで、このFGF23高値の1名を除外した96名で再度相関分析を行った結果、FGF23とペントシジンとの間に正の相関 ($r = 0.279$, $p = 0.006$) が認められた (図2-2)。FGF23高値の1名はこの集団における外れ値と考え、以降の解析はこの1名を除外した96名で行った。

相関分析の結果、FGF23はペントシジンの他、BMI ($r = 0.262$, $p = 0.010$)、eGFR ($r = -0.271$, $p = 0.008$) と相関、年齢 ($r = 0.189$, $p = 0.065$)、体重 ($r = 0.193$, $p = 0.060$) と相関傾向が認められた。一方、ペントシジンは身長 ($r = -0.213$, $p = 0.037$) と相関、年齢 ($r = 0.192$, $r = 0.061$)、eGFR ($r = -0.171$, $p = 0.095$) と相関傾向が認められた (表2)。そこで、これらの影響を除く為、ペントシジンを目的変数、FGF23、年齢、身長及びeGFRを説明変数とし重回帰分析を行った (表3)。結果、FGF23のみが独立してペントシジンと関連が認められた (標準化 $\beta = 0.232$, $p = 0.027$)。

考 察

本研究は、腎機能低下に伴う骨質劣化にFGF23が関与するのかを検討するため、骨質劣化の指標であるペントシジンとFGF23との関連を明らかにすることを目的としている。

相関分析においてFGF23とペントシジンに正の相関関係が認められたことから、FGF23の骨質劣化への関与が考えられた。しかし、年齢や腎機能 (eGFR) がFGF23とペントシジン共に相関関係が認められたことから、年齢、eGFRが交絡因子となり、FGF23とペントシジンが相関関係を示した可能性が否定できない。そこで年齢等の影響を除くため重回帰分析を行った。その結果、腎機能や年齢の影響を除いてもFGF23とペントシジンの関連が認められたことから、FGF23が骨質劣化に関与する可能性が示唆された。

FGF23は腎機能の低下に伴い上昇し、尿細管のリン再吸収を抑制する一方、活性型ビタミンDの産生を抑制し、副甲状腺ホルモン (PTH) が上昇することが認められている[8]。また、原発性副甲状腺機能亢進症の患者において、副甲状腺の摘出によりPTH及び酸化ストレスが共に低下した報告がある[9]。これらのことから、FGF23が骨質劣化に関与するメカニズムとして、副甲状腺機能の亢

表 1. 対象者の特性 (n = 97)

	MEAN±SD
年齢 (歳)	59.3±9.2
身長 (cm)	155.9±6.3
体重 (kg)	53.8±7.1
BMI (kg/m ²)	22.2±3.0
Cre (mg/dL)	0.68±0.08
eGFR (mL/min/1.73m ²)	68.4±8.0
FGF23 ^{a)} (pg/mL)	48.3 (1.44)
ペントシジン ^{a)} (ng/mL)	39.7 (1.36)

a) GM (GSD)

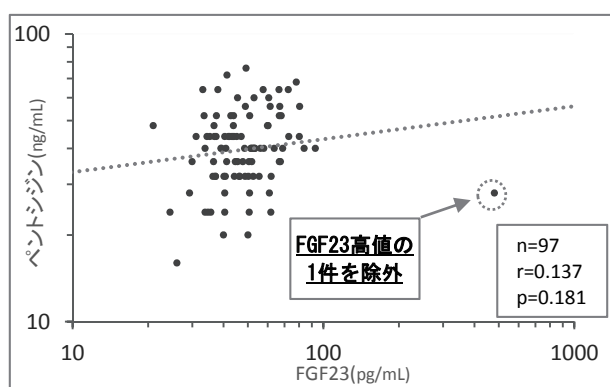


図 2-1. FGF23とペントシジンの関連 (n = 97)

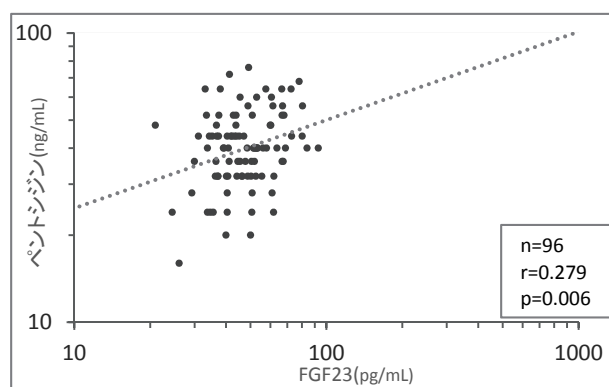


図 2-2. FGF23とペントシジンの関連 (n = 96)

表 2. 相関分析 (n = 96)^{a)}

	FGF23	年齢	身長	体重	BMI	eGFR
FGF23	-	0.189†	-0.122	0.193†	0.262*	-0.271**
ペントシジン	0.279**	0.192†	-0.213*	-0.122	0.001	-0.171†

a) ピアソンの積率相関係数, †: p<0.10, *: p<0.05, **: p<0.01

表 3. 重回帰分析 (目的変数: ペントシジン)

説明変数	β	標準化β	p	VIF
FGF23	0.252	0.232	0.027	1.093
身長	-0.003	-0.153	0.168	1.256
eGFR	-0.001	-0.071	0.520	1.235
年齢	0.001	0.053	0.656	1.449

β: 偏回帰係数, 調整済 R²=0.081, p=0.020, n=96

進が引き起こした酸化ストレスにより骨質が劣化している可能性が考えられる。

本研究から4つの検討すべき課題が考えられる。第一に本研究は横断的研究のため、FGF23高値が将来の骨質劣化を惹起するのか検討されていない。今後FGF23と骨質劣化の因果関係を明らかにするためには縦断的研究を行う必要がある。第二に本研究の対象者は腎機能が正常から軽度低下に該当する集団であることから、腎機能が中等度から高度に低下している者の検討も必要と考える。第三に血清ペントシジン濃度は内的要因（酸化ストレスの増加等）以外にも外的要因（飲食）によっても変化することが知られている[10]ことから、食習慣や採血前の食事の内容についての検討を行う必要がある。最後に本研究は既存のデータとその保存血清を利用しており、情報に限りがある。血清FGF23濃度と関連が認められている血中リン濃度やPTH、他の骨代謝マーカーについても合わせて検討することで、より詳細な解析ができると考える。

謝 辞

本研究の一部は公益財団法人 大同生命厚生事業団 平成28年度 地域保健福祉研究助成を受け実施した。また、検体収集にご協力頂いた厚生連高岡健康管理センターの澁谷直美様、坪野由美様に深謝致します。

文 献

1. 斎藤 充. (2013). 歯薬療法, 32, 109-121
2. 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. (2011). 生活習慣病骨折リスクに関する診療ガイド, 16-20, ライフサイエンス出版
3. 日本腎臓学会. エビデンスに基づくCKD診療ガイドライン2018, 1-5, 東京医学社
4. Kanda E, Yoshida M, Sasaki S. (2012). BMC Nephrology, 13, 122
5. Imel EA, Liu Z, McQueen AK, et al. (2016). Bone, 86, 98-105
6. Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, et al. (2012). Osteoporos Int., 23, 2017-2025
7. 新留将吾, 草野充裕, 狩野美香, 他. (2011). TDM研究, 28, 92-101
8. 永野伸郎, 安藤哲郎, 筒井貴朗, 他. (2013). 透析会誌, 46, 519-533
9. 田中元子, 伊藤和子, 松下和孝, 他. (2009). 1st 二次性副甲状腺機能亢進症に対するPTx研究会学術集会プログラム抄録集, 33. http://2hpt-japs.jp/pdf/1st_japs.pdf (平成30年8月17日アクセス可能)
10. 山岸昌一. (2010). J Jpn Coll Angiol, 50, 555-559

II 調查研究報告

2. 資料

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29年度)

九曜 雅子 西永 真理 上出 功 若杉 央¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2017 - Mar.2018)

Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Isao KAMIDE and Chika WAKASUGI¹

目的：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た。実施主体は都道府県および政令市で、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・軽減することを目的としている。

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、厚生労働省の通知[1]を受けて、タンデムマス法を追加し、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マニュアルが、新たに作成された。また、富山県先天性代謝異常等検査事業検討会が設置され、検査やフォローアップ体制、普及啓発、保健指導等について検討し、事業全体の評価を行っている。

本報では、平成29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。

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しての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29年4月から平成30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「MS²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

1. 富山県厚生部健康課

ELISA II ‘栄研’ 使用) によるTSH (Thyroid stimulating hormone) 値の測定を行った。

4) 先天性副腎過形成症

ELISA (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレートNeo-17 α-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、直ちに精密検査実施医療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。

タンデムマス法については、半年毎に判定基準の見直しを行っているが、今年度は変更がなかった。

(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。

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、8,365件で、県内26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7,210人[8]であり、初回検体数7,881件(人)から計算すると受検率は109.3%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

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	
				(μ mol/L)	アミノ酸(mg/dl)	(μ 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
	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	1.0		5.0	
	メチルクロニルグリシン尿症(3-MCC)		C5-OH	1.0		2.0	
	ヒドロキシメチルグルタル酸血症(HMG)						
	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(GAI)	C5-DC	0.35				
	中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(MCAD)	C8 & C8/C10	0.28		0.28		
	極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(VLCAD)	C14:1 & C14:1/C2	1.2		1.2		
	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)	C16-OH & C18:1-OH	0.3		0.3		
		0.013		0.013			
		0.100		0.100			
	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)	C0/(C16+C18)	0.100		0.100		
			75		75		

	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	Gal-1-P Uridyltransferase	蛍光が微弱または無	ポイトラー法で蛍光無
内分泌異常症	先天性甲状腺機能低下症	エンザイムイムノアッセイ法(ELISA)	TSH	8 μ U/mL	30 μ U/mL
	先天性副腎過形成症	エンザイムイムノアッセイ法(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

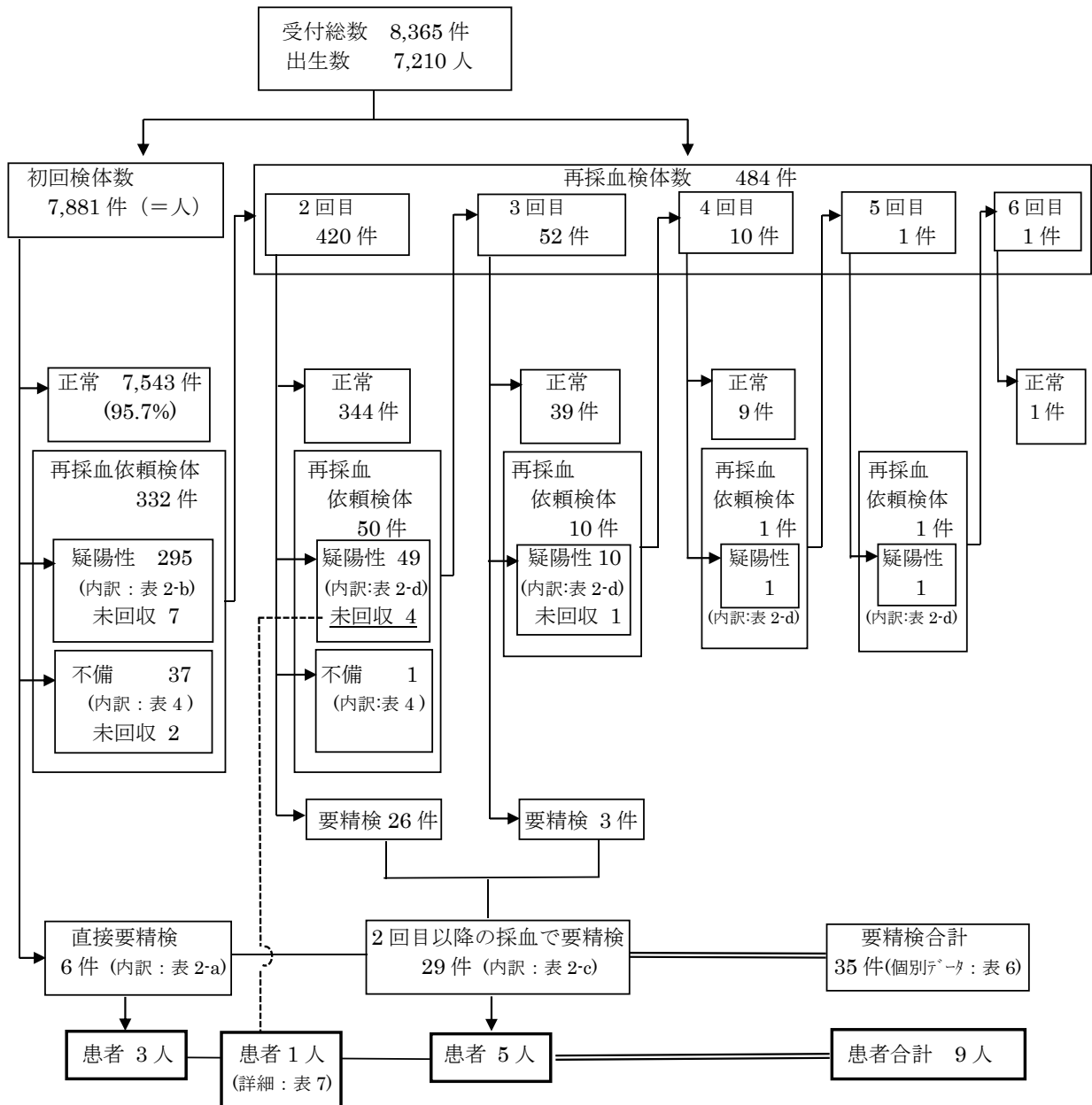


図1. 検査の流れおよび検査数の概要

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7,543件(人)(95.7%)は正常と判定されたが、295件(人)(3.7%)は疑陽性のため、37件(人)(0.5%)は血液量の不足等の検体不備の理由で、再採血を依頼した。また、6件(人)(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484件のうちでは、29件(人)(6.0%)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6件(人)と合わせて35件(人)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0.85%となった。先天性甲状腺機能低下症は1.66%、先天性副腎過形成症は1.32%となり、すべての対象疾患の合計は3.83%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]とされている。タンデムマス法の再採血率は適正であったが、先天性甲状腺機能

表2. 要精検数および疑陽性による再採血依頼数の内訳

〔 〕: 患者数

疾患名	初回検体 7,881 件			再採血検体 484 件		総受付検体 8,365 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 [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	12	0.15	2	2	2	14	0.17
有機酸代謝異常症	2	6	0.08	0	5	2	11	0.13
脂肪酸代謝異常症	1 [1]	10	0.13	1	0	2 [1]	10	0.12
ガラクトース血症	0	39	0.49	6	6	6	45	0.54
先天性甲状腺機能低下症	3 [2]	131	1.66	15 [5]	12 [1]	18 [7]	143 [1]	1.71
先天性副腎過形成症 (内 出生体重 2000g 未満児の数)	0	104 (46)	1.32	5	39 (32)	5	143 (78)	1.71
平成 29 年度総計 《内 疑疾患が重複している数》	6 [3]	302 《7》*1)	3.83	29 [5]	64 [1] 《3》*2)	35 [8]	366 [1] 《10》	4.38

* 重複している疑疾患の内訳

- 1) メーブルシロップ尿症+先天性甲状腺機能低下症 1件
ガラクトース血症+先天性甲状腺機能低下症 2件
ガラクトース血症+先天性副腎過形成症 1件
先天性甲状腺機能低下症+先天性甲状腺機能低下症 3件
- 2) メチルクロトニルグリシン尿症・ヒドロキシメチルグルタル酸血症・複合カルボキシルラーゼ欠損症+先天性副腎過形成症 1件
ガラクトース血症+先天性甲状腺機能低下症 1件
先天性甲状腺機能低下症+先天性副腎過形成症 1件

低下症と先天性副腎過形成症の再採血率は高くなった。先天性甲状腺機能低下症では、再採血依頼数（143件）のうち62件（43.4%）がカットオフ値付近（8~9 μ U/ml）の検体であり、その中にはその後要精検となり患者と診断された例もあった。また、先天性副腎過形成症では、再採血依頼数の約半数が低体重児（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た。

また、2疾患以上が重複して疑陽性となった例は、初回検体と再採血検体とを合わせると10件あり、疑疾患の内訳を表2の注記に示した。なお、これらについては、表2、表4、表5の疑陽性数欄のそれぞれの項目に計上した。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は356件で、そのうち、平成30年8月3日現在344件の再採血検体を回収した。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、回収率は96.6%であった。

回収できなかった12件のうち、8件は再採血検体を送付せずに医療機関（小児科）で検査が行われており、その結果、患者と診断された例が1件、その他の7件は正常であった。患者と診断された例の詳細については後述する。また、3件は、小

児科（NICU）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。その他の1件は、出生時体重が1,000g未満の低体重児であり検査対象疾患以外の理由で亡くなっていた。

(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日以内の採血であったために再採血依頼を行った2件のうち1件は、緊急検査が必要と判断された検体であった。ろ紙の裏まで血液が十分にしみ込んでいない等の血液量不足の理由での依頼は2件であった。また、採血後当所に届くまで7日以上経っている場合は、検体が「古い」ということで再採血を依頼しているが、このような検体が6件あり、最長は8日経過したものであった。年末年始等の連休の時に、医療機関では採血後、ろ紙を冷蔵庫に保管し、そのまま投函し忘れる場合もあることから、採血医療機関に対し、事前に、検体の保管や郵送方法についての通知を送付して、注意喚起を行っている。ろ紙が汚染していた例は1件、ろ紙に血液の塊が付着していた検体は2件、血液の色が黒く変化していた例が2件あった。ろ紙の汚染については、血液部分一面に複写用の青インクが付着していたものであった。測定に影響がある可能性も考えられ、再採血を依頼した。

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日以内の採血	2	0	2
血液量不足	2	0	2
古い	5	1	6
汚染	1	0	1
血液の塊あり	2	0	2
血液変色	2	0	2
哺乳不良	23	0	23
合計	37	1	38

その他理由	初回検体	—	総数
低体重	146	—	146

このような検体不備のために再採血を依頼した検体は38件で、このうち再検査できたのが36件で、回収率は94.7%であった。

また、2,000g未満の低体重児については、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[11]。今年度の初回検体7,881件(人)のうち、低体重児は146人(1.9%)であった。このうち、48人は疑陽性として再採血を依頼した。したがって、低体重児を理由として再採血を依頼したのは98人であった。これらの回収率は98.0%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[12]との比較をそれぞれ表4、表5および表8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9人(ヒスチジン血症除く)となり発見率は1/47,900、先天性甲状腺機能低下症は1/2,200、先天性副腎過形成症は1/16,900となった(表8)。先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は、全国と同様に高かった。

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、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症)が80人、先天性甲状腺機能低下症が143人、先天性副腎過形成症が143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12人、先天性甲状腺機能低下症18人、先天性副腎過形成症5人であった。

患者と診断されたのは、極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症1人、先天性甲状腺機能

低下症8人であった。さらに、1人が検査対象疾患の関連疾患として軽症の高フェニルアラニン血症と診断された。

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30年8月3日現在、85.7%(30人/35人)であった。まだ回収できていない5人についてはいずれも精密検査実施医療機関(小児科)は受診しており、そのうちの3人については当所にフォローアップ検体[13]が届いている。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体は、47人延べ86件であった。また、今年度要精検となった35人のうちでは、26人延べ44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、有機酸代謝異常症の疑いで2人、脂肪酸代謝異常症の疑いで2人、ガラクトース血症の疑いで6人の計12人が要精検となった。

アミノ酸代謝異常症疑いの症例は、メープルシロップ尿症疑いの症例2と、フェニルケトン尿症疑いの症例4であった。症例4は、Phe値の軽度上昇が継続していたため要精検となった。精密検査実施医療機関から大阪市立大学小児科の新城治夫教授に酵素活性の測定が依頼され、その結果、フェニルアラニン水酸化酵素(PAH)異常による軽症高フェニルアラニン血症と診断された。

有機酸代謝異常症疑いの症例は、メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症疑いの症例1および6であった。症例1は、メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症の検査指標であるC3とC3/C2のうちC3のみが高値であり、本県先天性代謝異常等検査事業検討会コンサルタント医である福井大学小児科の重松陽介客員教授に相談した結果、血清での精密検査が必要との判断であった。精密検査は正常であった。症例6は、初回検査(日齢5採血)

で検査指標が即精検のカットオフ値以上であり、直ちに要精検となった。検査の結果は正常であったが、この児は、ABO不適合による高ビリルビン血症のため光線療法を行っており、中止後すぐに初回採血されたとのことであった。高ビリルビン血症では、C3が増加し、メチルマロン酸血症・プロピオン酸血症の偽陽性となることが報告[14]されており、今回の例はそれと同様の例と考えられた。

脂肪酸代謝異常症疑いの症例は、極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症疑いの症例5であった。初回検体(日齢5採血)での検査の結果、検査指標であるC14:1, C14:1/C2の両方ともカットオフ値以上であり、即精検となった。なお、補助的にみている4指標[15]C14:1/C10, C14:1/C12, C14:1/C12:1, C14:1/C14については、いずれも高値であった。精密検査実施医療機関から国立成育医療研究センター研究所マススクリーニング研究室の但馬 剛室長に酵素活性の測定が依頼された。精密検査の結果、VLCAD相対活性は20%であり、患者と診断されたが、低血糖を伴う急性発症を起こす危険性は低いとの診断であった。

また、症例3は、全身性カルニチン欠乏症疑いで要精検となった。検査指標のC0(遊離カルニチン)が低く、低血糖を起こす可能性があった。この児は、日齢10時点で体重増加不良があり、体重減少率は12%であった。生後10日間は母乳のみであったとのことから、哺乳量が不足していたため

と考えられ、人工ミルクの補充により指標は正常化した。

ガラクトース血症疑いの6症例のうち、症例5は、再採血検体(日齢14採血)ではGal値は低くなっていたものの依然とカットオフ値(3mg/dl)以上であり、再々採血を依頼した。再々採血検体(日齢35採血)では、Gal値が異常に高くなっており要精検となった。ポイトラー法(UT活性)は正常、Gal-1-Pは検出されていた。精密検査の結果は、胆汁うっ滞疾患があり二次的な高ガラクトース血症と診断された。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精検となった18人のうち、患者と診断されたのは、症例3, 5, 6, 8, 10, 13, 16の7人であった。そのうちの症例8, 13は、初回検査でTSH異常高値のため即精検となった例である。

また、7例(症例1, 4, 7, 9, 11, 14, 17)については、初回検査でのTSH値に、カットオフ値(8μU/ml)前後でのばらつきが認められた。これらの例のTSHの最低値は4.49μU/ml, 最高値は12.38μU/mlであった。同一検体での血液スポット間のばらつきをみると、最高値と最低値の差が最も大きかった例では5.4μU/mlもあった。過去には、このような例で患者と診断されたケースもあり、初回検査での判断によっては見逃す可能性も考えられた。

症例8は、双胎(男女)の女児で、初回検体(日

表4. 月別検査実施状況

年	平成29年									平成30年			計		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数(件)	634	768	682	640	819	721	768	691	679	699	630	634	8,365		
内 訳	初回検査数(件)	608	724	641	608	778	682	719	644	624	661	590	602	7,881	
	再採血総数(件)	26	44	41	32	41	39	49	47	55	38	40	32	484	
	採 血 回 数	2回目	23	42	34	26	36	38	42	37	47	35	35	25	420
		3回目	3	2	6	4	3	1	7	8	5	2	4	7	52
		4回目以上	0	0	1	2	2	0	0	2	3	1	1	0	12
疑 陽 性 数 ~ 要 精 検 数 ~	アミノ酸代謝異常症	1	2	3(1)	0	3(1)	1	1	1	0	0	1	1	14(2)	
	有機酸代謝異常症	0	1(1)	2	1	0	1	1	1	1	2	1	0(1)	11(2)	
	脂肪酸代謝異常症	0	1	0	1	0(1)	1	1	3	1(1)	1	0	1	10(2)	
	ガラクトース血症	4	4(1)	2(1)	0	3	2	4(2)	5(1)	10	4(1)	4	3	45(6)	
	先天性甲状腺機能低下症	4	14(1)	10(1)	10	17(3)	13(3)	12	18	9(2)	15(6)	9(1)	12(1)	143(18)	
先天性副腎過形成症	5	13(2)	15	7	12(1)	20(1)	8	18	12	13	15(1)	5	143(5)		
計	14	35(5)	32(3)	19	35(6)	38(4)	27(2)	46(1)	33(3)	35(7)	30(2)	22(2)	366(35)		

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 ～24年度	261,186	245,739	230,021	106.8	2,620	3,369	2,616	196(9)	586(131)	367(14)
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	8,460	7,697	109.9	51	59	123	7(1)	11(7)	10(0)
平成27年度	8,777	8,365	7,647	109.4	69	76	148	5(0)	11(7)	5(0)
平成28年度	8,501	8,030	7,373	108.9	61	93	189	4(0)	13(5)	15(0)
平成29年度	8,365	7,881	7,210	109.3	80	143	143	12(1)	18(8)	5(0)
計	456,641	430,879	424,447	—	5,010*2)	4,662	3,325	310*2)(42*3)	786(187)	417(17)

() は、対象疾患患者数

*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) この他に対象疾患以外の患者22人あり(高フェニルアラニン血症16人、チロジン血症2人、G6PD異常症2人、シトリン欠乏症2人)

齢4採血)で異常高値であり、即精検となった。診断の結果は患者であった。一方、男児の方は、初回検体では、即精検のレベルではないもののTSH値はカットオフ値を超えており、疑陽性として再採血を依頼した。再検査(日齢26採血検体)の結果では、TSH値が低下しており正常と判定した。女兒の精検結果の連絡を受けた際に、男児も患者であったことが判明した。再検査時には既に治療が開始されており、そのためTSH値は正常化していたと考えられた。

症例2は、初回検体(日齢5採血)で採血された検体での初回検査でTSH異常高値であり、即精検となったが、母親に甲状腺機能異常があり、経過観察されている。

その他に、疑陽性として再採血を依頼したが回収できなかった例のうち、医療機関(小児科)で再検査が実施された1例が患者と診断された(図1, 表7)。

この症例は、初回検体(日齢6採血)ではTSH値が正常であったが、低体重児のため要再採血となった。再採血検体(日齢28採血)では、TSH値が $12.81 \mu\text{U/ml}$ と上昇しており、疑陽性として再々採血を依頼した。この児は、初回採血時から小児科で管理されており、再々採血を依頼した後すぐに医療機関で検査が行われ、TSH値上昇、FT₄値

低下が認められたことから患者として治療が開始された。

(3) 先天性副腎過形成症

要精検となったのは5人で、今年度は、患者は発見されなかった。

症例1は、初回検体(日齢5採血)では、17-OHP値が、抽出法はカットオフ値以下であったものの、直接法が 10ng/ml 以上であり、低体重児でもなかったことから再採血を依頼した。再採血検体(日齢8採血)では、直接法は依然と 10ng/ml 以上であり、抽出法もカットオフ値を超えていたため、要精検となった。精密検査の結果は異常なしであった。

症例4は、再採血検体(日齢11採血)でも抽出法での17-OHP値がカットオフ値を超えており、要精検となった。疾患の疑いとして経過観察されている。

(4) 検査対象外疾患及び関連疾患

要精密検査となった例の中には、診断の結果、検査対象外疾患や関連疾患の患者が発見される場合がある。今年度は、軽症高フェニルアラニン血症1人が発見された。これまでに発見された対象外及び関連疾患の患者は、高フェニルアラニン血症16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人となった。

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	4	C3	5.38 nmol/ml			異常なし
	2		女	4	Val	171.8 nmol/ml	Leu+Ile	234.2 nmol/ml	異常なし
				12	Val	231.1 nmol/ml	Leu+Ile	366.8 nmol/ml	
				19	Val	247.9 nmol/ml	Leu+Ile	388.8 nmol/ml	
	3		男	4	C0	7.92 nmol/ml			異常なし
				10	C0	6.84 nmol/ml			
	4	*	女	4	Phe	136.4 nmol/ml			軽症高Phe血症
				8	Phe	140.3 nmol/ml			
	5	*	男	5	C14:1	0.35 nmol/ml	C14:1/C2	0.0340	VLCAD欠損症
	6		女	5	C3	8.65 nmol/ml	C3/C2	0.275	異常なし
ガラクトース血症	1		男	5	Gal	4.57 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	5.14 mg/dl 正常	異常なし
				9	Gal	4.87 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	5.96 mg/dl 正常	
	2		女	4	Gal	3.10 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	0.00 mg/dl 正常	異常なし
				12	Gal	3.76 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	0.00 mg/dl 正常	
	3		男	4	Gal	4.28 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	6.60 mg/dl 正常	異常なし
				13	Gal	5.71 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	4.68 mg/dl 正常	
	4		男	5	Gal	3.19 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	3.43 mg/dl 正常	
				13	Gal	3.98 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	3.67 mg/dl 正常	
	5		男	5	Gal	5.84 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	2.79 mg/dl 正常	胆汁うっ滞による二次的 高Gal血症
				14	Gal	3.26 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	1.81 mg/dl 正常	
				35	Gal	13.09 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	1.04 mg/dl 正常	
	6		男	5	Gal	3.74 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	7.17 mg/dl 正常	異常なし

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
ガラクトース血症	6		男	11	Gal	3.59 mg/dl	Gal-1-P ポイトラー法	5.92 mg/dl 正常	異常なし
先天性甲状腺機能低下症	1		女	5	TSH	8.35 μ U/ml			異常なし
				14	TSH	9.13 μ U/ml			
	2		男	5	TSH	46.76 μ U/ml			
	3	*	女	5	TSH	10.11 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH	8.57 μ U/ml			
	4		男	4	TSH	10.15 μ U/ml			異常なし
				9	TSH	9.65 μ U/ml			
	5	*	男	4	TSH	12.58 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症
				9	TSH	13.74 μ U/ml			
	6	*	男	5	TSH	27.65 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症
				14	TSH	38.59 μ U/ml			
7		女	4	TSH	8.44 μ U/ml			異常なし	
			12	TSH	13.07 μ U/ml				
8	*	女	4	TSH	79.00 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症	
9		男	5	TSH	9.73 μ U/ml			異常なし	
			14	TSH	8.56 μ U/ml				
			23	TSH	10.45 μ U/ml				
10	*	男	5	TSH	9.55 μ U/ml			甲状腺機能低下症	
			9	TSH	15.23 μ U/ml				
11		男	4	TSH	8.63 μ U/ml			一過性高TSH血症疑い	
			15	TSH	13.70 μ U/ml				

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		
先天性甲状腺機能低下症	12		男	5	TSH	8.35	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症 疑い		
				17	TSH	11.20	μ U/ml				
	13	*	女	4	TSH	52.64	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症		
	14		女	5	TSH	9.81	μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症		
				16	TSH	11.31	μ U/ml				
	15		女	4	TSH	10.79	μ U/ml		一過性高TSH血症疑い		
				11	TSH	9.40	μ U/ml				
	16	*	女	8	TSH	16.57	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症		
				34	TSH	24.28	μ U/ml				
	17		男	5	TSH	9.29	μ U/ml				
				11	TSH	12.57	μ U/ml				
	18		男	4	TSH	12.35	μ U/ml				
14				TSH	9.55	μ U/ml					
先天性副腎過形成症	1		男	5	170HP直接法	10.53	ng/ml	170HP抽出法	2.42	ng/ml	異常なし 出生体重 2,320g
				8	170HP直接法	10.86	ng/ml	170HP抽出法	4.82	ng/ml	
	2		男	5	170HP直接法	10.35	ng/ml	170HP抽出法	4.66	ng/ml	出生体重 2,900g
				8	170HP直接法	11.24	ng/ml	170HP抽出法	6.52	ng/ml	
	3		男	4	170HP直接法	5.62	ng/ml	170HP抽出法	4.32	ng/ml	異常なし 出生体重 2,340g
				12	170HP直接法	6.65	ng/ml	170HP抽出法	4.42	ng/ml	
	4		男	5	170HP直接法	7.04	ng/ml	170HP抽出法	5.84	ng/ml	先天性副腎過形成症疑い 出生体重 2,280g
				11	170HP直接法	9.45	ng/ml	170HP抽出法	6.23	ng/ml	
	5		男	5	170HP直接法	9.02	ng/ml	170HP抽出法	4.36	ng/ml	異常なし 出生体重 2,286g

表6. 要精密検査者の検査状況と結果(4)

疑病名	症例	患者	性別	日齢	検査成績				診断名
					170HP直接法	11.22 ng/ml	170HP抽出法	4.54 ng/ml	
先天性副腎過形成症	5		男	13	170HP直接法	11.22 ng/ml	170HP抽出法	4.54 ng/ml	異常なし

表7. 疑陽性で再採血を依頼したが再採血検体が届かなかった未回収例のうち、医療機関での再検査により患者と診断された症例

日齢	結果および経過
6	低体重児(1,744g)のため、総合病院 NICU で採血
7	検体受付 新生児マススクリーニング結果 TSH 3.86 μ U/ml (全血値) → 正常 低体重児のため再採血依頼
28	同科で再採血
29	検体受付 新生児マススクリーニング結果 TSH 12.81 μ U/ml (全血値)
31	先天性甲状腺機能低下症の疑いで再々採血依頼
(34)	担当医より連絡 同科で検査 検査結果 TSH 23 μ U/ml 以上、FT₄ 0.7 ng/dl (血清値) 先天性甲状腺機能低下症患者として治療開始

表8. マススクリーニングによる富山県および全国の患者発見状況

区分	富山県				全国			
	平成29年度		昭和52年度～平成29年度		平成28年度		昭和52年度～平成28年度	
受検者数	7,881人		430,879人		991,609人		48,289,540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 ²⁾	1/ 71,800	30	1/ 33,100	994	1/ 48,600
アミノ酸代謝異常症(2疾患) ¹⁾	0	—	0	— ⁴⁾	5	1/ 198,300	21	1/ 231,000 ⁸⁾
有機酸代謝異常症	0	—	0	— ⁴⁾	45	1/ 22,000	177	1/ 27,400 ⁸⁾
脂肪酸代謝異常症	1	1/ 7,900	2 ³⁾	1/ 16,700 ⁴⁾	29	1/ 34,200	98	1/ 49,500 ⁸⁾
ガラクトース血症	0	—	1	1/ 430,900	9	1/ 110,200	1,271	1/ 38,000
先天性甲状腺機能低下症	8	1/ 1,000	187	1/ 2,200 ⁵⁾	611	1/ 1,600	16,363	1/ 2,700 ⁹⁾
先天性副腎過形成症	0	—	17	1/ 16,900 ⁶⁾	62	1/ 16,000	1,959	1/ 16,400 ¹⁰⁾
ヒスチジン血症	—	—	33	1/ 6,000 ⁷⁾	—	—	2,200	1/ 9,600 ¹¹⁾

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、メープルシロップ尿症 1人

3) 患者内訳：極長鎖アシルCoA脱水素酵素(VLCAD)欠損症 2人

4) 平成25年度(平成26年3月)～平成29年度 タンデムマス法受検者数 33,391人

5) 昭和55年度～平成29年度 受検者数 402,429人

6) 平成元年度～平成29年度 受検者数 286,994人

7) 昭和52年度～平成5年度 受検者数 197,180人

8) 平成23年度～平成28年度 タンデムマス法受検者数 4,851,191人

9) 昭和54年度～平成28年度 受検者数 44,946,599人

10) 昭和63年度～平成28年度 受検者数 32,204,999人

11) 昭和52年度～平成4年度 受検者数 21,119,892人

3. 精度管理

タンデムマス法が全国的に実施されるようになった平成26年度より、新たな外部精度管理体制[16]で行われている。

精度試験 (Quality Control : QC) 用検体と技能試験 (Proficiency Test : PT) 用検体の2種類による精度管理が行われており、これらによる評価は、タンデムマス法の導入に伴い制定された「タンデムマス・スクリーニングの検査施設基準および検査実施基準」[17]に準拠しているかどうかを判断するための一手段となる。

平成30年度は、PT 検体による精度管理が3回 (5月, 7月, 1月), QC 検体による精度管理が1回 (11月) 行われた。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。

考察：厚生労働省子ども家庭局から平成30年3月30日付で「先天性代謝異常検査の実施について」の通知[18]が発出された。この通知では、検査の目的は、異常を早期に発見し、その後の治療・生活指導等につなげることにより生涯にわたって障害などの発生を予防すること、と明記され、検査を行うだけでなく、その後の専門医療機関、保健所等の関連機関と連携したサポート体制も整備する必要性が示されている。県外に転居しても対応できるような自治体間の連絡体制の構築についても言及されており、全国規模のネットワーク会議や患者登録追跡体制の整備についての検討が始まっている。

本県では、タンデムマス法導入を契機に、新たな検査実施マニュアルを作成して、当所、産科・小児科の医療機関、県健康課、厚生センター・保健所などの関連機関によるサポート体制を整備したが、里帰り出産等のために出産後本県から転出する例については、本県だけのサポート体制では及ばないところがある。さらに海外に転出する例もある。すべての自治体が参加する全国ネットワーク会議や連絡体制の早期の構築が望まれる。

また、今回の通知には、検査対象疾患及び検査法も示され、さらに検査機関の項では、地方衛生研究所等の機関または検査を適切に実施できる機関に委託となっており、検査施設基準や検査実施基準[17, 19]に準拠した施設において、検査の質を保持する体制を求めていると考えられる。

このように、今回の通知は、新生児マススクリー

ニング事業にとっては大きな意義があり、さらに母子保健対策が充実すると考える。

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, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三 (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
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/jinko180401/jinko180401.html (平成30年8月3日時点アクセス可能)
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. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸荻 創 (2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16(3), 6-7
12. 先天性代謝異常検査等検査状況 (平成28年度) 厚生労働省子ども家庭局母子保健課. 特殊ミルク情報, 53, 45-48.
13. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 二谷 武, 津幡眞一, 倉本 崇, 齋藤万里子, 三浦正義, 松倉裕喜, 今村博明, 辻 隆男, 吉田智子 (2009). 日本マス・スクリーニング学会誌, 19(3), 53-62.
14. 重松陽介, 畑 郁江 (2005). 日本マス・スクリーニング学会誌, 15 (1), 13-18
15. 重松陽介 (2017). 日本マススクリーニング学会誌, 27(1), 31-33
16. 九曜雅子, 米田 豊, 西永真理, 高森亮輔,

- 齊藤尚仁, 角 園子 (2015). 富山衛研年報, 38, 25-36.
17. 日本マス・スクリーニング学会精度保証システム委員会, 日本マス・スクリーニング学会技術部会 (2013). 日本マス・スクリーニング学会誌, 23(3), 85-95.
18. 子母発0330第2号 厚生労働省子ども家庭局母子保健課長通知 (平成30年3月30日)
19. 山口清次, 重松陽介, 河地 豊, 福士 勝 (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21(3), 7-9.

ヒト血液の染色体分析結果 (平成 29 年度)

湊山 亜未 高森 亮輔 品川 保弘 上出 功

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr.2017 - Mar.2018)

Ami MINATOYAMA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA
and Isao KAMIDE

目的: 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%が染色体異常を有しているといわれている[1]。これを富山県に単純に当てはめると、平成29年度の出生数が7,210人[2]であることから、約43人の染色体異常児が毎年出生することになる。先天異常を伴う場合には染色体検査が行われるが、先天異常を伴わない場合には、低身長や原発性無月経、習慣性流産などにより発見されることがある。分染法の発達や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著しく向上してきており、微細な異常と臨床像を判定できる範囲が広がってきている。

本報では、平成29年度の血液検体の検査状況および結果を報告する。

材料と方法: 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) を常法[3]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[4]を併用した。核型分析は中期分裂像を20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。

詳細な方法等は既報[3]に従った。

結果: 検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示した。参考までに平成26年度から平成28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4施設であり、富山赤十字病院からの依頼が7件 (50.0%) と最多であった。

平成29年度の受付件数14件の内訳は、13件が血液、1件が臍帯血であり、臍帯血1件は検体の状態が悪く分析を完了できなかった。分析した検体13件中3件 (23.1%) に染色体異常が認められた。

検査依頼理由別の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3件は、すべてが数的異常であった。

不育症関連の検体10件 (71.4%) は、5組の夫婦であり、表3に示した。正常変異を除いた染色体異常は0件 (0.0%) だった。夫と妻の平均年齢、平均流産回数は、それぞれ37.2±2.4歳、37.6±3.0歳、2.4±1.1回であった。

夫婦の血液検査のみを依頼された例は2組あり、夫婦とも正常核型であった。

夫婦の血液検査と同時に流産胎児由来組織の染色体検査を依頼された例は3組あり、3組とも夫婦は正常核型であったが、胎児は常染色体数的異常であった。

先天異常疑いによる依頼が3件 (21.4%) あり、全てダウン症候群疑いによる常染色体数的異常であった。

表1. 血液の染色体検査依頼医療機関名, 件数

医療機関名	H29	H28	H27	H26
富山赤十字病院	7	7	7	8
さたけ産婦人科	4	0	0	2
富山市民病院	2	0	2	4
富山大学附属病院	1	3	1	0
(済生会高岡病院)*	0	6	8	2
(高岡市民病院)*	0	2	0	2
(おとぎの森レディースクリニック)*	0	2	0	0
(済生会富山病院)*	0	0	0	2
(高岡市民病院)*	0	0	0	0
(レディースクリニックむらた)*	0	0	0	0
計(件)	14	20	18	20

*平成29年度には依頼がなく、平成26~28年度の間に依頼があった医療機関名

考察：平成23年度までは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件程度に減少しており、平成29年度は14件だった。これは、富山大学附属病院や済生会高岡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。

受付検体14件のうち1件は培養不可だった。この検体は臍帯血であった。血液検体は、抗凝固剤としてEDTAを用いた場合には、培養時に添加するPHAの作用が阻害されるため、培養が困難になることがある。また、末梢血リンパ球は死滅が速いことも培養困難となる理由として挙げられる。この検体は抗凝固剤としてヘパリンを使用していたものの、凝集を確認したため、検体自体に何らかの不備があると判断した。

一般的に、不育症の原因のうち、染色体異常の割合は、およそ4.6%とされている[6]。平成29年度の不育症関連11件では染色体異常は0件(0.0%)だった。これまでの当所での不育症関連の染色体異常は分析数1,398件のうち、異常数52件で、比率はおよそ3.7%である。

平成29年度は、3組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析したところ、流産胎児すべてに核型の異常が確認されたが、両親は正常核型であった。流産胎児の染色体検査の染色体検査も同時に行うことで不育症等の原因究明の一助になると考えられる。

当所における検査依頼理由の中で、不育症関連を主訴としたものが最も多く、平成29年度は依頼

理由中の8割を占め、検査を開始した昭和48年度からでは約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、近年の少子化、晩婚化による影響により挙児を望むための検査が多くなってきたためと考えられた。

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. とやま統計ワールド「富山県の人口」, <http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/index.html> (2018年8月2日アクセス可能)
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. 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.
5. 古庄敏行, 外村 晶, 清水信義, 北川照男(1994). 臨床遺伝医学[Ⅱ], 228-229, 診断と治療社.
6. 斎藤 滋(2012) 反復・習慣流産(いわゆる「不育症」)の相談対応マニュアル, 8-9, 平成23年度厚生労働科学研究費補助金(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業)「地域における周産期医療システムの充実と医療資源の適正配置に関する研究」

表2. 検査依頼理由と検査数, 異常数

依 頼 理 由	検査総数	内訳	異常総数	内訳	染色体異常の核型
不育症関連	11		0		
反復流産		4		0	
流産原因精査		2		0	
不育症		5		0	
先天異常	3		3		
ダウン症候群の疑い		3		3	47,XY,+21[2] 47,XX,+21
計	14		3		

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
流産1回	2	0
流産2回	4	0
流産3回	2	0
流産4回	2	0
計	10	0

流産胎児の染色体分析結果 (平成 29 年度)

高森 亮輔 湊山 亜未 品川 保弘 上出 功

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2017–Mar.2018)

Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, Yasuhiro SHINAGAWA
and Isao KAMIDE

目的: 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、次回の妊娠およびその継続、さらには出産に向けた指針となりうる。富山県では、総合母子保健対策の一環として昭和48年度から染色体検査事業に取り組んでおり、血液および羊水に続いて、昭和50年度からは、自然流産胎児の染色体検査を実施している。平成29年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

材料と方法: 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分染法を使用した。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。詳細な方法等は既報[2]に従った。

結果: 流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織、臍帯を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。56検体中54検体の分析を完了した。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。参考までに平成25年度から平成28年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。平成25年度は50件台、平成26年度から平成28年度は60件台で推移した。平成29年度は減少し54件となった。依頼医療機関数は7施設で、そのうち富山大学附属病院からの依頼が39件(72.2%)と多かった。

受付件数54件の内訳は、52件は絨毛のみ、2件は絨毛+臍帯であった。

表1. 医療機関別検査依頼件数

医療機関名	件数				
	H29	H28	H27	H26	H25
富山大学附属病院	39	44	42	49	35
あいARTクリニック	4	4	3	1	4
富山県立中央病院	4	2	1	2	3
さたけ産婦人科	3	1	1	6	0
富山市民病院	2	0	2	1	1
済生会高岡病院	1	3	5	2	7
黒部市民病院	1	0	3	0	1
(富山赤十字病院)*	0	3	3	4	1
(おとぎの森レディースクリニック)*	0	2	1	0	1
(高岡市民病院)*	0	1	0	1	1
(厚生連高岡病院)*	0	0	2	0	1
(市立砺波総合病院)*	0	0	1	1	0
(済生会富山病院)*	0	0	0	1	0
計	54	60	64	68	55

※:平成29年度には依頼がなく、平成25~28年度の間に依頼があった医療機関名

依頼された流産胎児の週数は6週から34週の範囲(1件は不明)で、もっとも件数の多かったのは9週の13件(全体の24.1%)、次いで8週の10件(18.5%)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33件(61.1%)、10週以降が20件(37.0%)であった。10週未満の33件の週数の平均は8.0±1.0週、週数不明の1件を除く53件全体の週数の平均は10.7±5.1週であった。

流産母体年齢の平均は35.6±4.9歳であり、最若年齢は21歳、最高年齢は44歳であった。

検体54件中33件(61.1%)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43年間で810件を数えるが、分析を完了できた検体762件のうち、異常を確認したのは452件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は59.3%となっている。

検査依頼理由別の依頼件数と流産回数内訳、異常件数および染色体異常の核型を表2に示した。

染色体異常33件の内訳は、数的異常27件、モザイク1件、ターナー症候群1件、構造異常+数的異常1件、倍数体3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3件あった。3件とも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。

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について表3に示した。

考察：平成23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年度から平成28年度は60件台で推移し、平成29年度は54件であった。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多くの検査依頼があった。

検体のおよそ6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。

3組の夫婦の血液とその流産胎児について染色体核型を分析したところ、流産胎児全てに核型の異常が確認され、その両親は正常核型であった。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。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。

平成29年度は、培養不可による核型分析できなかった検体が1件もなかった。昨年度より、染色体標本作製過程において、シャーレ2つを1組とし、処理する方法に変更したためと考えられる。これにより培養能力に乏しい検体で、十分な培養に達していなくても分析が可能になり、分析不可

能な検体を減らし、標本作製にかかる日数を短縮することが可能になった。

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、染色体標本作製が困難な場合が多い。培養技術、標本作成技術を改良し、さらなる核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化の実現が望まれる。

文 献

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

表2. 検査依頼理由, 流産回数と検査結果

依頼理由(主訴)	依頼件数	合計流産回数										異常件数	染色体異常の核型
		0	1	2	3	4	5	6	...	8			
流産原因精査	17	1	7	7	1	1	0	0			0	7	47,XX,+16[2] 47,XX,+22 47,XX,+13,15pstk+ 47,XY,+14 69,XXY 69,XXX
不育症	15	0	1	0	8	4	1	1			0	12	69,XXY,+16,-21 47,XY,+22 47,XX,+10 45,X 47,XY,+14 47,XX,+21[2] 47,XY,+21 47,XX,+4 47,XY,+16 47,XX,+15 47,XX,+22
染色体異常の疑い	8	0	1	1	1	1	2	1			1	3	47,XY,+22 47,XY,+16 47,XX,+2
反復流産	6	0	0	3	2	0	1	0			0	5	47,XX,+2 47,XY,+18 45,X/46,XX 47,XY,+13 47,XX,+13
習慣性流産	5	0	0	0	2	2	0	0			1	4	47,XY,+14 47,XX,+21 47,XY,add(7)(p15)+9 47,XX,+16
胎児水腫	2	0	2	0	0	0	0	0			0	2	47,XX,+18 47,XX,+13
胞状奇胎	1	0	1	0	0	0	0	0			0	0	
合計	54	1	12	11	14	8	4	2			2	33	

[2]: 同一核型が2件であることを示す

表3. 染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数

	異常あり (n=32)	異常なし (n=21)	全体 (n=53)
流産回数	3.0±1.4	2.8±2.2	2.9±1.8
母体年齢	37.0±4.9	33.3±4.1	35.6±4.9
在胎週数	9.3±2.2	12.8±7.3	10.7±5.1

※在胎週数記入なしの1検体を除いて集計

羊水細胞の染色体分析結果 (平成 29 年度)

高森 亮輔 湊山 亜未 品川 保弘 上出 功

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2017–Mar.2018)

Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, Yasuhiro SHINAGAWA
and Isao KAMIDE

目的：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。出生前診断領域の一翼を担う羊水検査は、染色体異常に起因する何らかの異常が存在するかどうかを、核型分析により検索し、進行中の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ている。これまでの43年間で、2,705件の検体を対象として検査を実施してきたが、平成29年度に受付けた羊水検体66件について、検査状況および結果の概略を報告する。

材料と方法：羊水細胞の培養は、既報 [1] および当所の方法 [2] に基づいておこなった。詳細については、既報 [3] を参照のこと。

染色体標本の作製方法については、培養に供した1検体あたり2枚のシャーレそれぞれについて、標本作製した。

Gバンド視覚化のためのトリプシン処理およびギムザ染色は、トリプシンによる標本消化効果を高めるため、標本作製日の翌日以降に行った。

核型分析には、Meta System 社の染色体核型解析システム Ikaros (Ver. 5.0) を使用した。

データ集計については、一般的に35歳以上での出産が想定される場合を高齢妊娠と定義する [4] が、本報では検査依頼受付け時点で35歳以上の場合を高齢妊娠とした。

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など「何日」部分が省略される場合が多いことから、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た。

結果：平成29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。計66件の検査依頼を受付けた。参考までに、平成26年度から平成28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。

依頼医療機関数は8施設であった。その内訳は、総合病院6施設、産科医院2施設であった。依頼件数をもっとも多かったのは富山県立中央病院27件(40.9%)で、次いで富山赤十字病院11件(16.7%)であった。

妊娠週数別の依頼件数を表2に示した。16週での依頼が47件で最も多く、全体の71.2%を占めた。次いで17週9件、15週5件であり、検査時期に適している15週～17週での依頼の合計61件は全体の92.4%を占めた。最短は15週、最長は32週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表3に示した。37歳での依頼が10件で最も多く、最低年齢は27歳、最高年齢は44歳であった。本報で定義した高齢妊娠である35歳以上での検査依頼件数は53件で、全体の80.3%であった。

表1. 医療機関別検査依頼件数

医療機関名	件数			
	H29	H28	H27	H26
富山県立中央病院	27	29	66	42
富山赤十字病院	11	13	27	10
富山市民病院	8	10	13	21
厚生連高岡病院	6	18	19	34
おとぎの森レディースクリニック	5	4	7	15
さたけ産婦人科	4	4	10	8
富山大学附属病院	3	2	6	7
済生会高岡病院	2	8	7	6
(レディースクリニックむらた)※	0	2	0	1
(済生会富山病院)※	0	1	1	2
(砺波総合病院)※	0	0	1	2
(高岡市民病院)※	0	0	1	0
(八尾総合病院)※	0	0	0	1
計	66	91	158	149

※：平成29年度には依頼がなく、平成26～28年度の間に依頼があった医療機関名

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53件で、全体の80.3%であった。

母体が35歳未満でも、超音波検査等で、胎児に何らかの染色体異常や形態異常が疑われたことによる依頼は8件で、全体の12.1%であった。

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0件、35歳以上で3件、計3件であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体66件中7件(10.6%)であった。高齢妊娠での検査依頼53件のうち5件(9.4%)に異常を認めた。

近年、胎児の染色体異常を疑うきっかけとして大きな割合を占めているNuchal Translucency(以下NTと略)肥厚の記載のある依頼は8件(35歳以上4件、35歳未満4件)あり、そのうち3件(37.5%)に核型異常が認められた。

母体血液を用いたトリプルマーカーテスト(TM)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が3件(35歳以上3件、35歳未満0件)、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3件(35歳以上2件、35歳未満1件)あった。

平成29年度に判定した異常核型7件の内訳は、常染色体の数的異常5件(18トリソミー症候群4件、21トリソミー症候群1件)、構造異常1件、モザイク1件であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表5に示した。1回目の標本作製のピークは培養12日目であり、10~14日目の5日間の総数は54件(81.8%)であった。2回目の標本作製のピークは培養13日目であり、10~14日目の5日間の総数は、55件(83.3%)であった。平均培養日数は、標本作製1回目が11.9±1.8日、2回目が12.0±1.8日であった。

検体受入から、培養、標本作製、顕微鏡下での観察、写真撮影、核型分析を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を、表6に示した。最短で11日、最長で20日、平均は15.6±2.1日であった。

考察：平成29年度の検査依頼件数66件は、平成28年度の91件から25件減少した。医療機関別にみると、厚生連高岡病院からの依頼件数の減少が顕著であった。平成29年1月から富山大学附属病院で開始された新型出生前診断[5]等も関連しているものと考えられる。

県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠数自体も微減傾向にあると推測される。

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週前後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週のみで過半数、これに前後1週ずつを加えた15週から17週までの3週で、9割以上を占めた。

母体年齢別の検査依頼件数については、高齢妊娠での依頼が8割を占めていた。

受付検体66件のすべてについて検査を完了し、7件に異常を見出したが、35歳以上53件中の異常核型判定件数は5件(9.4%)、35歳未満13件中の異常核型判定件数は2件(15.4%)であった。

35歳以上での検査依頼53件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは39件であり、それ以外の14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、2件であり、NT肥厚その他の依頼理由が付随した場合は3件であった。一般的に高齢妊娠において胎児の染色体異常の発生頻度が高まるとされるが、検体は限

表2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	18	...	30	31	32	合計
件数	5	47	9	2		1	1	1	66

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	27	...	29	30	31	...	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	...	44	合計
件数	3		3	1	1		1	4	2	8	10	5	5	8	7	7		1	66
	13(19.7%)									53(80.3%)									

表4. 検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
高齢妊娠	53	5	
高齢妊娠	39	2	47,XX,+21 47,XX,+18
NT肥厚	4	2	47,XX,+18 46,XX,dup(3)(q?21q?ter)
染色体異常児妊娠出産歴	3	0	
TMで染色体異常疑い	3	0	
QTで染色体異常疑い	2	0	
18トリソミー疑い	1	1	47,XY,+18
羊水過多、十二指腸閉塞	1	0	
胎児異常疑い	8	2	
NT肥厚	4	1	47,XY,+i(12p)/46,XY
18トリソミー疑い	1	1	47,XY,+18
QTで染色体異常疑い	1	0	
胎児胸水	1	0	
胎児臍帯ヘルニア疑い	1	0	
本人希望	5	0	
35歳未満	4	0	
身内に染色体異常あり	1	0	
計	66	7	

NT:nuchal translucency(後頸部低エコー域)

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)

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)

表5. 培養日数別標本作製件数

培養日数	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	合計	平均日数
1回目	2	5	12	3	18	16	5	5	66	11.9±1.8
2回目	2	5	11	5	14	15	10	4	66	12.0±1.8

表6. 検査全工程所要日数別件数

日数	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	計
件数	2	4	4	7	12	18	10	2	5	2	66

られるが、高齢妊娠に加えて、それ以外の依頼理由が付随することで異常核型検出の発生頻度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37.5% (3/8)であったが、35歳以上で50.0% (2/4)、35歳未満で25.0% (1/4)であった。

NTに関して、学会のガイドラインには、「NT肥厚と胎児形態異常とは関連がある (NT肥厚が確認された児では染色体異常や心形態異常頻度が高い)」と明記されているが、正確な判定には、測定された状況が重要であることも記されている [6]。NT測定は妊娠11週0日から13週6日の間に実施するよう推奨されているが、NT肥厚を主訴とした8検体のうち、6検体は測定週日の記載がなく、記載のあった2検体は、推奨された期間内に測定が行われていた。依頼理由としてのNT肥厚と

染色体異常との相関について考察するためには、より詳細なデータの収集とさらなるデータの蓄積が必要と思われる。

異常核型7件の内訳は、18トリソミー症候群4件、21トリソミー症候群1件、構造異常1件、モザイク1件であった。

検体受入れから染色体標本作製までに要した培養日数のピークは、標本作製1回目が12日、2回目が13日であった。全検体の平均培養日数は1回目が11.9日、2回目が12.0日で、平成26年度から28年度までの3年分のデータ (1回目:10.3日、9.9日、11.2日、2回目:11.3日、10.5日、11.6日)と比較すると有意な差が認められた。

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。羊水検体66件の全工程所要日数の平均は、 15.6 ± 2.1 日であった。過去3年間については、平成28年度 14.5 ± 2.3 日、平成27年度 15.4 ± 2.4 日、平成26年度 16.6 ± 2.4 日となっていた。培養日数の増加により、全工程の平均所要日数が前年度より約1日延長していた。その原因として考えられるのは、担当者変更や新たな人員配置により、作業者がより慎重を期して作業に臨んでいたためではないかと推察される。平成27年度より、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による作業工程の簡略・省力化を実現したため、平成29年度の全工程所要日数を過去3年間の平均的な値にすることができたと考えられる。

検体受領から21日以内の結果報告を実現できなかったケースは、皆無であった。

標本作製までの平均培養日数を検体別に比較すると、血液は基本的に3日、流産胎児絨毛ではおよそ10日程度要する。平成29年度の羊水では、1回目11.9日、2回目12.0日となり、流産胎児絨毛とほぼ同じであった。

検体の種類に関わらず、検査結果の正確性こそが最重要であるが、血液や流産胎児組織とは大きく異なり、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ために、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。そのため、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、この業務に携わる者にとって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を極めるとしても、検体間で培養日数に7日以上も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、今後の課題であろう。

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.
3. 品川保弘, 高森亮輔, 西永真理, 齊藤尚仁 (2015) 富山衛研年報, 38, 43-44.
4. 日本産科婦人科学会 (2007) 日産婦誌, 59, 7, N-224.
5. <http://www.hosp.u-toyama.ac.jp/guide/news/news161221.html> (2018年8月2日アクセス可能)
6. 公益社団法人日本産科婦人科学会・公益社団法人日本産婦人科医会 (2017) 産婦人科診療ガイドラインー産科編2017, 101.

日本脳炎流行予測調査 (感染源調査) 平成 29 年度

佐賀由美子 稲崎 倫子 青柳由美子 長谷川澄代
板持 雅恵 米田 哲也 藤岡俊太郎¹ 小淵 正次

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Yumiko SAGA, Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA,
Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Shuntaro FUJIOKA¹ and Masatsugu OBUCHI

目的: 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、ウイルスは確実に存在しているといえる[1-7]。富山県においても毎年ウイルスの存在が確認されており[8-18]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、平成29年度も本研究を継続し、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。

1. コガタアカイエカ雌成虫の発生調査

調査地と調査方法: 蚊の捕集定点は平成28年[18]と同様の場所に加えて、「6. 射水」を追加した(表1, 図1)。

調査期間および調査方法も平成28年とほぼ同様であった。すなわち、「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5定点では6月7日(第2週)から10月25日(第4週)まで、毎週水曜日のみトラップを一晩点灯し、捕集を行なった(週1捕集)。なお、「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5定点では、電源タイマー(PT50DW デジタルプログラムタイマーII, 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に設定し、毎週木曜日に筆者らが捕集籠を回収・交換した。このようにして得られた捕集籠内の蚊類を、検査室にて分類・計数した。

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および図2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2週から6定点全てにおいて捕集され、「3. 大井」では6月下旬~8月中旬

表1, コガタアカイエカ捕集定点(畜舎)の概要(平成29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	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
6	射水	射水市今開発	乳牛

1. 富山県厚生部健康課

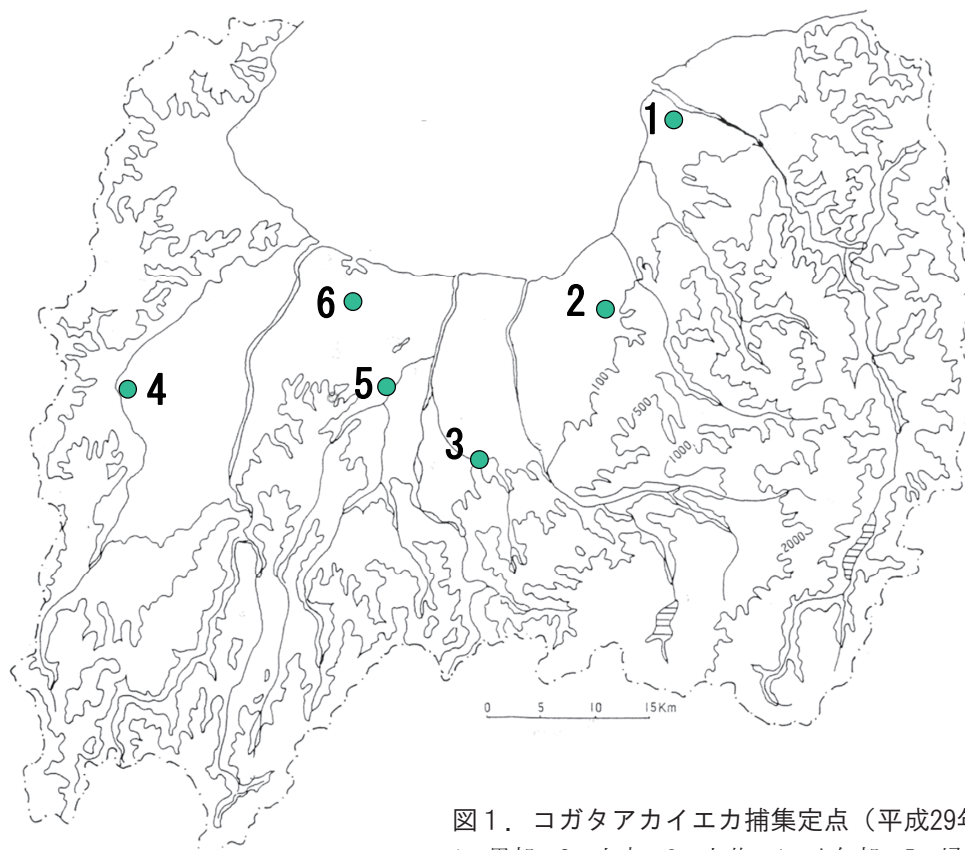


図1. コガタアカイエカ捕集定点 (平成29年度)

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

表2. 6定点 (畜舎) のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数 (平成29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. 射水	
6月7日	116	13	72	1,137	1	144	1,483
14日	41	31	534	544	2	90	1,242
21日	44	11	1,037	477	5	288	1,862
28日	323	105	4,234	1,168	11	595	6,436
7月5日	277	97	4,778	1,472	28	1,286	7,938
12日	418	118	3,873	1,541	12	2,060	8,022
19日	243	222	2,343	3,533	237	903	7,481
26日	448	-	1,313	3,040	82	319	5,202
8月2日	392	370	875	1,856	145	1,141	4,779
9日	-	319	525	1,274	154	293	2,565
16日	2,286	513	1,715	3,428	520	3,250	11,712
23日	5,928	1,426	858	2,962	441	2,883	14,498
30日	1,973	295	664	3,704	44	1,909	8,589
9月6日	1,274	196	167	3,907	13	1,092	6,649
13日	-	252	49	1,466	11	676	2,454
20日	136	133	65	656	16	36	1,042
27日	205	135	46	434	152	36	1,008
10月4日	21	1	5	140	1	6	174
11日	9	9	9	24	3	12	66
18日	0	0	1	9	0	0	10
25日	0	1	-	5	1	1	8
計	14,134	4,247	23,163	32,777	1,879	17,020	93,220

「-」はトラップの故障等による欠測を示す。

表3-1. 1 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 (平成 29 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	761	5	0	766	7月1日	0	2,008	3	0	2,011
2日	0	156	3	0	159	2日	0	3,238	1	0	3,239
3日	0	84	1	0	85	3日	0	2,415	2	0	2,417
4日	0	164	2	0	166	4日	0	4,727	3	0	4,730
5日	0	180	1	0	181	5日	0	4,778	1	0	4,779
6日	0	943	4	0	947	6日	0	6,195	0	0	6,195
7日	0	72	2	0	74	7日	0	3,493	0	0	3,493
8日	0	696	3	0	699	8日	0	7,630	0	0	7,630
9日	0	977	2	1	980	9日	0	4,180	0	0	4,180
10日	0	50	0	0	50	10日	0	5,656	0	0	5,656
11日	0	212	2	0	214	11日	0	6,825	0	0	6,825
12日	0	187	3	0	190	12日	0	3,873	2	0	3,875
13日	0	86	1	0	87	13日	0	4,179	0	0	4,179
14日	0	534	4	0	538	14日	0	2,905	0	0	2,905
15日	0	1,433	4	0	1,437	15日	0	3,706	0	0	3,706
16日	0	904	4	0	908	16日	0	2,118	0	0	2,118
17日	0	647	1	0	648	17日	0	2,275	0	0	2,275
18日	0	1,365	1	0	1,366	18日	0	1,629	7	0	1,636
19日	0	1,156	4	0	1,160	19日	0	2,343	2	0	2,345
20日	0	1,908	1	1	1,910	20日	0	1,997	3	0	2,000
21日	0	1,037	3	0	1,040	21日	0	3,215	7	0	3,222
22日	0	1,445	3	0	1,448	22日	0	3,482	3	0	3,485
23日	0	1,431	5	0	1,436	23日	0	4,761	6	0	4,767
24日	0	3,896	3	0	3,899	24日	0	2,327	7	0	2,334
25日	0	325	1	1	327	25日	0	1,728	3	1	1,732
26日	0	1,509	4	0	1,513	26日	0	1,313	6	0	1,319
27日	0	866	1	0	867	27日	0	1,348	11	0	1,359
28日	0	4,234	2	0	4,236	28日	0	1,855	13	0	1,868
29日	0	3,813	3	0	3,816	29日	0	613	4	0	617
30日	0	5,302	2	0	5,304	30日	0	717	5	0	722
						31日	0	962	6	0	968
計	0	36,373	75	3	36,451	計	0	98,491	95	1	98,587

*ハマダライエカ, ヤマトヤブカ, トラフカクイカ, カラツイエカ.

表3-2. 1 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 (平成 29 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	1,120	4	1	1,125	9月1日	0	288	5	0	293
2日	0	875	4	2	881	2日	0	175	8	0	183
3日	0	911	3	0	914	3日	0	164	3	0	167
4日	0	1,086	2	0	1,088	4日	0	109	2	0	111
5日	0	613	2	0	615	5日	0	314	8	1	323
6日	0	699	3	0	702	6日	0	167	9	0	176
7日	0	490	2	1	493	7日	0	220	3	1	224
8日	0	422	2	0	424	8日	0	237	6	0	243
9日	0	525	3	0	528	9日	0	80	6	0	86
10日	0	577	4	0	581	10日	0	165	1	0	166
11日	0	181	3	0	184	11日	0	101	2	0	103
12日	0	282	1	0	283	12日	0	111	3	0	114
13日	1	371	3	0	375	13日	0	49	2	0	51
14日	0	417	4	0	421	14日	0	83	2	2	87
15日	0	1,065	3	0	1,068	15日	0	69	3	0	72
16日	0	1,715	3	0	1,718	16日	0	38	1	0	39
17日	0	1,367	1	0	1,368	17日	0	50	3	0	53
18日	0	2,275	2	0	2,277	18日	0	45	5	1	51
19日	0	1,383	2	0	1,385	19日	0	41	2	0	43
20日	0	1,418	4	0	1,422	20日	0	65	8	0	73
21日	0	631	2	0	633	21日	0	80	1	0	81
22日	0	1,243	3	0	1,246	22日	0	54	2	0	56
23日	0	858	2	0	860	23日	0	51	3	0	54
24日	0	875	2	0	877	24日	0	28	2	0	30
25日	0	453	3	0	456	25日	0	38	5	1	44
26日	0	629	5	0	634	26日	0	25	3	0	28
27日	0	612	5	0	617	27日	0	46	2	0	48
28日	-	-	-	-	-	28日	0	17	1	1	19
29日	0	998	4	0	1,002	29日	0	21	3	0	24
30日	0	664	7	0	671	30日	0	33	1	0	34
31日	0	284	15	0	299						
計	1	25,039	103	4	25,147	計	0	2,964	105	7	3,076

「-」はトラップの故障等による欠測を示す.

*ハマダライエカ, ヤマトヤブカ, オオクロヤブカ, カラツイエカ.

表3-3. 1 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 (平成 29 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	21	1	0	22
2日	0	15	1	0	16
3日	0	22	3	0	25
4日	0	5	0	1	6
5日	0	1	0	1	2
6日	0	6	0	0	6
7日	0	15	1	1	17
8日	0	14	1	0	15
9日	0	0	0	0	0
10日	0	9	1	0	10
11日	0	9	2	0	11
12日	0	3	1	0	4
13日	0	3	0	0	3
14日	0	5	1	0	6
15日	0	4	1	0	5
16日	0	4	4	1	9
17日	0	7	2	0	9
18日	0	1	0	1	2
計	0	144	19	5	168

*ハマダライエカ, ヤマトヤブカ, オオクロヤブカ.

表4. 6 定点のライトトラップにおける平成3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	6. 射水	3. 大井
平成3	1,702	14,322	7,640	4,318	-	-	51,218
平成4	1,968	5,025	9,998	5,992	-	-	59,735
平成5	642	1,100	8,827	5,093	-	-	72,509
平成6	13,655	3,527	26,275	94,055	-	-	169,307
平成7	6,398	1,790	26,247	21,751	-	-	161,391
平成8	2,034	1,562	36,305	7,683	-	-	275,957
平成9	7,054	1,466	23,743	45,250	-	-	172,373
平成10	6,250	5,620	96,196	31,158	-	-	657,900
平成11	1,954	2,676	52,436	27,944	-	-	344,498
平成12	1,181	2,965	67,757	19,477	-	-	495,004
平成13	1,443	6,574	78,846	12,877	-	-	504,862
平成14	2,187	1,288	62,135	1,330	-	-	465,957
平成15	2,181	195,869	60,527	17,963	8,555	25,219	469,460
平成16	4,880	225,945	90,578	12,758	12,733	20,421	468,459
平成17	8,392	295,817	88,321	12,088	11,424	34,968	735,891
平成18	891	16,462	15,295	4,569	3,780	10,909	117,306
平成19	13,819	203,488	73,227	50,777	16,337	104,019	516,504
平成20	10,089	35,478	78,052	16,199	23,581	78,568	492,617
平成21	5,011	6,119	46,180	9,893	12,423	46,180	373,502
平成22	8,758	14,074	146,861	70,400	50,790	-	841,733
平成23	36,900	20,612	150,365	45,532	36,508	-	933,761
平成24	5,883	4,836	115,041	39,225	16,359	-	813,944
平成25	11,498	7,268	106,487	27,956	20,513	-	1,022,161
平成26	1,282	880	72,879	12,692	4,323	-	489,610
平成27	6,214	4,000	336,974	37,781	4,234	-	1,704,873
平成28	10,068	12,131	182,133	56,671	3,931	-	1,422,590
平成29	13,988	4,223	23,076	31,462	1,873	16,857	163,165

1. 黒部では平成10年に定点(畜舎)の場所を変更した。
2. 上市では平成6, 20, 21年に定点(畜舎)の場所を変更し, 平成15年に畜舎が30mほど移設された。
4. 小矢部では平成15年に定点(畜舎)を変更した。
5. 婦中では, 平成27年からライトトラップの位置を変更した。
6. 射水では平成29年に定点(畜舎)の場所を変更した。

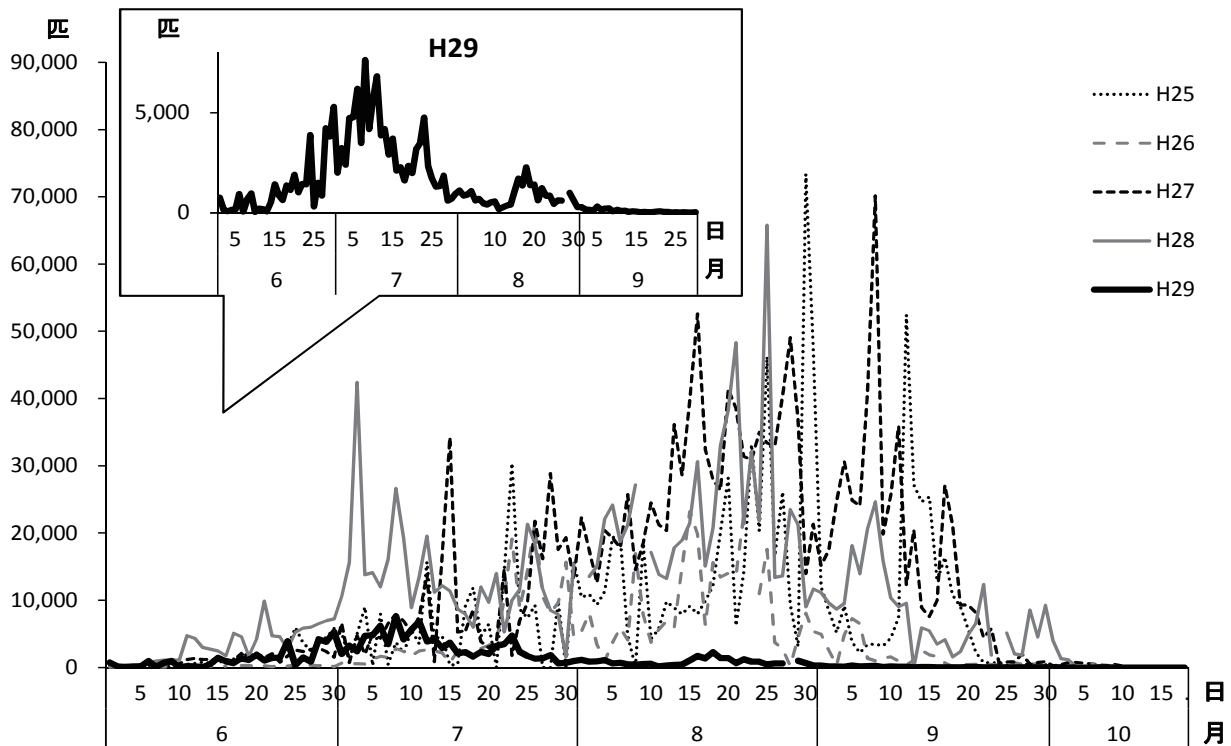


図2. 1 定点 (3. 大井) におけるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数 (平成 25 ~ 29 年)

に、その他の5 定点では7月中旬～9月中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「4. 小矢部」が最も多く、「3. 大井」「6. 射水」と続いた。捕集数の増減については、「3. 大井」の連日捕集の成績に詳細を示した。「3. 大井」では、例年、7月中旬から捕集数が顕著に増加し、概ね9月中旬まで捕集数が多い日が続くが、平成29年は、7月中旬以降増加することなく減少に転じ、9月上旬には捕集数が顕著に減少した(図2)。これは、「3. 大井」定点では平成29年12月に廃業予定のため、飼養牛を順次出荷しており、飼養頭数が前年に比べ激減したことが影響した可能性が考えられた。

表4に、平成3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。平成29年の捕集数は、平成29年に調査を開始した「6. 射水」を除く5 定点のうち、「1. 黒部」を除く4 定点で前年より減少した。特に、「3. 大井」において捕集数の減少が顕著であったが、前述のとおり飼養頭数の減少等、環境要因の大きな変化があったため、年次変動の考察からは除く。その他の4 定点の平成29年の捕集数を過去10年間と比較すると、「1. 黒部」「4. 小矢部」は平年並みであり、「2. 上市」「5. 婦中」は平年より少なかった。全体的にみると、平成29年の捕集数は、捕集数の多い傾向にあった

平成28年より減少したが、過去10年間の中では平均的な捕集数であったといえる。

II. 豚血清の日本脳炎HI抗体保有調査

調査対象と検査方法：7月3日から10月24日までの約4か月間、富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産(小矢部市、南砺市、上市町、黒部市)の豚を対象として、月3回、各20頭ずつから血液を採取し、合計240頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式[19]に従った。すなわち、アセトン処理を2回行うことにより、被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後、日本脳炎CF、HI試薬「生研」JaGAr01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制(HI)反応により抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、マイクロタイター法で行った。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。さらに、抗体価40倍以上を示した血清について37℃で1時間2-メルカプトエタノール(2-ME)処理を行い、抗体価が8倍以上下がれば2-ME感受性陽性(=IgM抗体陽性)とし、新鮮感染とみなした。

結果および考察：HI抗体価の測定結果を表5に示した。9月上旬および9月下旬から10月下旬にかけて抗体陽性の豚が5～25%確認され、抗体価はいずれも40倍以上であった。9月上旬および10月上旬には新鮮感染を示す豚が確認された。全体として、新鮮感染を示す豚の数は3頭、抗体価640倍以上を示す豚は1頭であった。抗体陽性豚および新鮮感染豚の検出率は、平成28年の調査結果[18]と比べて低かった。

以上のことから、平成29年は、平成28年と比べて日本脳炎ウイルスの活動は小規模であったものの、9月～10月にウイルスの活動が活発であったと推測される。

性効果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[20]を実施した。

結果および考察：捕集蚊479プール(8,027個体)から日本脳炎ウイルスは分離されなかった。豚血清からは、表6のとおり、10月3日の1検体から日本脳炎ウイルスが分離された。ウイルス分離検体数は、平成28年の4検体(蚊2プールおよび豚2頭)と比べて少なかった。

以上のことから、平成29年は、平成28年と比べて日本脳炎ウイルスの活動は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

まとめ

調査対象と検査方法：平成29年4月から11月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、公園、観光地、山間部の計27地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた。また、抗体調査に用いた豚血清240検体についてもウイルス分離を行った。分離には、ヒトスジシマカ由来のC6/36細胞とアフリカミドリザル由来のVero9013細胞を用いた。細胞変

コガタアカイエカの捕集数は、平成28年より少なかった。豚の抗体保有率は9月上旬および9月下旬から10月下旬にかけて5～25%で推移し、9月上旬および10月上旬には新鮮感染を示す個体が確認された。豚血清1検体から日本脳炎ウイルスが分離された。これまでの調査結果[8-18,21-23]より、ウイルスが活発に活動している年と、不活

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29年度)

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3,4日	20 (100)								
10,11日	20 (100)								
25,26日	20 (100)								
8月7,8日	20 (100)								
14日	20 (100)								
21,22日	20 (100)								
9月4,5日	19 (95)					1 (5)			1/1 (100.0)
11,12,14日	20 (100)								
25,26日	19 (95)				1 (5)				0/1 (0.0)
10月2,3日	15 (75)			1 (5)		2 (10)	1 (5)	1 (5)	2/5 (40.0)
17,18日	16 (80)			1 (5)		2 (10)	1 (5)		0/4 (0.0)
23,24日	18 (90)					1 (5)	1 (5)		0/2 (0.0)
計	227 (94.6)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.8)	1 (0.4)	6 (2.5)	3 (1.3)	1 (0.4)	3/13 (23.1)

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。

表6. 日本脳炎ウイルスが分離された豚血清 (平成29年度)

番号	動物種	月齢	HI抗体価	調査地	採血日
198	豚	6	<10	上市町	2017/10/3

発年があると考えられる。平成29年のウイルスの動向は、平成28年と比べて不活発であるものの、9月～10月にウイルスの活動が活発であり、ヒトへの感染リスクが高かったと考えられた。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、蚊検体の採集と分類・計数にご協力いただいた国立感染症研究所昆虫医学部の渡辺護先生に深謝いたします。また、ご協力いただいた各定点畜舎、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感謝いたします。

文 献

- 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター (2011)．平成20年度感染症流行予測調査報告書，80-106
- 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター (2012)．平成21年度感染症流行予測調査報告書，128-156
- 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所感染症情報センター (2013)．平成22年度感染症流行予測調査報告書，83-111
- 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
- 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
- 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 (2016)．平成25年度感染症流行予測調査報告書，126-153
- 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 (2017)．平成27年度感染症流行予測調査報告書，118-144
- 渡辺 護，長谷川澄代，小原真弓，他．(2007)．富山衛研年報，30，62-74
- 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，他．(2008)．富山衛研年報，31，65-75
- 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，他．(2009)．富山衛研年報，32，55-64
- 山内健生，小原真弓，長谷川澄代，他．(2010)．富山衛研年報，33，69-78
- 山内健生，小原真弓，小淵正次，他．(2011)．富山衛研年報，34，48-57
- 山内健生，名古屋 (小原) 真弓，渡辺 護，他．(2012)．富山衛研年報，35，48-57
- 山内健生，名古屋真弓，渡辺 護，他．(2013)．富山衛研年報，36，89-95
- 山内健生，名古屋真弓，渡辺 護，他．(2014)．富山衛研年報，37，82-88
- 稲崎倫子，嶋 一世，渡辺 護，大平恵吾 (2015)．富山衛研年報，38，69-75
- 佐賀由美子，名古屋真弓，稲崎倫子，他．(2016)．富山衛研年報，39，69-75
- 佐賀由美子，名古屋真弓，稲崎倫子，他．(2017)．富山衛研年報，40，77-83
- 厚生労働省健康局結核感染症課 (2002)．感染症流行予測調査事業検査術式，27-39，東京．
- Huang J L., Lin H T, Wang Y M, et al. (2004). J. Med. Virol., 74, 589-96
- Watanabe M, Hasegawa S, Obara M, et al. (2011) Long-term analyses of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*, and serological surveys of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 - a review of surveys for the prediction of epidemics of Japanese encephalitis in Toyama Prefecture over 35 years-. 159 pp. Skarafactory. Ltd., Toyama.
- Obara M, Yamauchi T, Watanabe M, et al. (2011). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708
- 小原真弓，山内健生，渡辺 護，他．(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 29 年度

稲崎 倫子	青柳由美子	米田 哲也	佐賀由美子
板持 雅恵	長谷川澄代	久松佑生子 ¹	井川 朋子 ¹
道谷真由美 ²	渡辺 聡子 ³	遠藤 京子 ⁴	杉野 泰子 ⁵
	藤岡俊太郎 ⁶	小淵 正次	

Serological Investigation of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Noriko INASAKI, Yumiko AOYAGI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA,
Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, Yuko HISAMATSU¹,
Tomoko IKAWA¹, Mayumi MICHITANI², Satoko WATANABE³,
Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵, Shuntaro FUJIOKA⁶
and Masatsugu OBUCHI

目的：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29年7月から10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262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°C、30分間非働化した後、10倍から2倍階段希釈し、100 focus forming units (FFU) / 25 μLに調整したウイルス液 (日本脳炎Beijing-1株) と等量で混合した。37°C、1時間の中和反応の後、Vero Osaka 細胞に接種した。37°Cで1時間ウイルスを吸着させた後、培養液を追加し、37°C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：262名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は168名 (64.1%) であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。5～39歳では78%以上と高い抗体保有率を示した。これに対し、0～4歳では28.2%、40～49歳では33.3%、50～59歳では31.8%、60歳以上では23.8%と低かった。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28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が低いのは、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は100%であった (図1、図2)。これは、平成17年5月に予防接種の勧奨が中止された[3]が、平成22年4月から第1期 (通常3～4歳) の定期接種の積極的勧奨が再開されたこと[4]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期を受けそびれ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。いずれの調査年でも40～59歳で抗体保有率が低い理由は、加齢に伴い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。しかしながら今回は60歳以上の抗体保有率は50～59

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

歳より低く、自然感染の機会が徐々に減っていると考えられる。

調査対象者の予防接種歴を年齢群別に示すと(図3)、「接種歴なし」の割合は、0～4歳で69.2%と最も多かった。この結果は、平成19～28年度の結果[1,6-14]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。

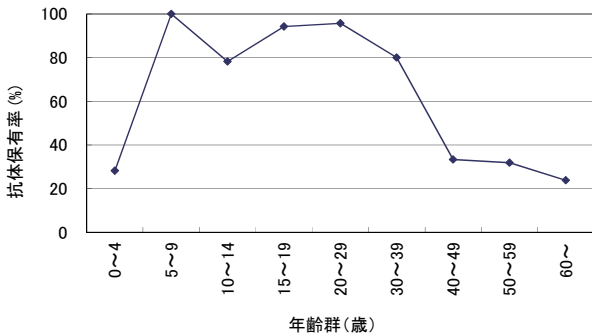


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

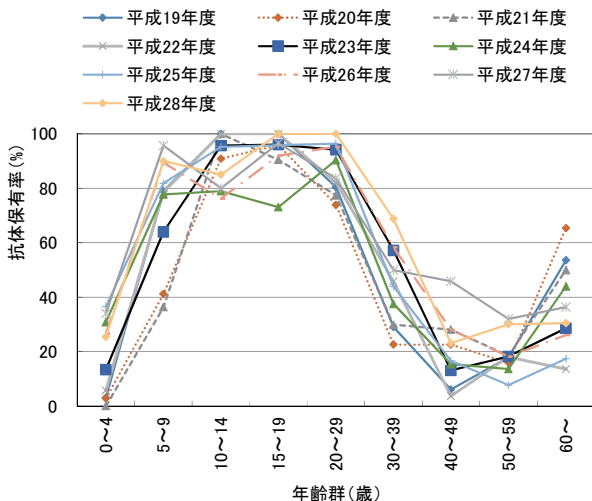


図2. 平成19～28年度の年齢群別中和抗体保有率

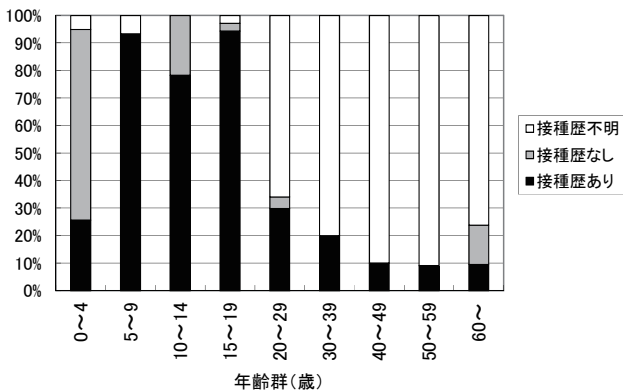


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

「接種歴あり」の割合は15～19歳での94.3%がピークで、5～9歳でも93.3%であった。これらの年齢層で抗体保有率が高いのは、接種歴が高かったためと考えられる。10～14歳で接種率および抗体保有率がやや低かったのは、これらの年齢群が通常第1期接種を受けるはずの3歳頃、平成18～22年頃に、日本脳炎ワクチンが積極的勧奨中止となったことが要因の一つかもしれない。20歳以上では「接種歴あり」は30%以下であり、60%以上は「接種歴不明」であった。

予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で13.2%、「接種歴不明」で56.6%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では92.2%であった(表1)。予防接種歴のある人の抗体保有率は、平成19～28年度には72.7～83.5%であった[1,6-14]のに比較するとやや増加した。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、39歳以下では80%以上であるものの、40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19～28年度の結果[1,6-14]と同様であった。

「接種歴なし」の中に、抗体陽性者が13.2%存在した(表1)。これは自然感染によるものと推測されるが、罹患歴は全て「なし」であり、不顕性感染であったと推定される。中でも、0～4歳の年代で1名確認された。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、この1名は2歳4か月齢となっており、移行抗体の影響は考えられないことから、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」の抗体陽性者は認められなかったが、平成23年度以降は毎年1～6名であった。全国では、これまでに0～4歳児の日本脳炎患者も報告されている[15]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。

まとめ: 今回の調査では、県民の抗体保有率は64.1%であり、平成19～28年度の結果より高かった。日本脳炎ワクチンの勧奨中止[3]に伴い減っていた接種率が回復し、過去に定期接種を受けられなかった人も改めて受けることができるようになり、その影響が大きくなってきたためかもしれない。今後も高い接種率と抗体保有率を維持することが期待される。

表1. ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率	
0~4	10 / 10	100.0%		1 / 27	3.7%		0 / 2	0.0%		11 / 39	28.2%	
5~9	14 / 14	100.0%		0 / 0			1 / 1	100.0%		15 / 15	100.0%	
10~14	18 / 18	100.0%		0 / 5	0.0%		0 / 0			18 / 23	78.3%	
15~19	32 / 33	97.0%		0 / 1	0.0%		1 / 1	100.0%		33 / 35	94.3%	
20~29	13 / 14	92.9%		2 / 2	100.0%		30 / 31	96.8%		45 / 47	95.7%	
30~39	5 / 6	83.3%		0 / 0			19 / 24	79.2%		24 / 30	80.0%	
40~49	1 / 3	33.3%		0 / 0			9 / 27	33.3%		10 / 30	33.3%	
50~59	1 / 2	50.0%		0 / 0			6 / 20	30.0%		7 / 22	31.8%	
60~	0 / 2	0.0%		2 / 3	66.7%		3 / 16	18.8%		5 / 21	23.8%	
計	94 / 102	92.2%		5 / 38	13.2%		69 / 122	56.6%		168 / 262	64.1%	

予防接種歴のある人の抗体保有率は9割程度であった。また、例年と同様、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。0~4歳については、今後も抗体保有率の動向に注意が必要である。

富山県では平成9年度を最後に日本脳炎患者は発生していないものの[16]、日本脳炎流行予測調査の感染源調査やウイルス分離調査において、県内での日本脳炎ウイルスの存在が確認されている[16-23]。このことから、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、およ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

- 稲崎倫子, 名古屋真弓, 長谷川澄代, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 84-87
- 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. 平成27年度感染症流行予測調査報告書, 118-144
- 厚生労働省健康局結核感染症課長 (2005). 健感発第0530001号
- 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
- 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
- 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 他. (2008). 富山衛研年報, 31, 76-78
- 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 他. (2009). 富山衛研年報, 32, 65-67
- 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 79-81
- 小原真弓, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 他. (2011). 富山衛研年報, 34, 58-61
- 名古屋(小原)真弓, 堀元栄詞, 板持(岩井)雅恵, 他. (2012). 富山衛研年報, 35, 58-61
- 名古屋真弓, 稲崎倫子, 堀元栄詞, 他. (2013). 富山衛研年報, 36, 96-99
- 稲崎倫子, 名古屋真弓, 堀元栄詞, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 89-92
- 稲崎倫子, 嶋 一世, 小淵正次, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 76-79
- 名古屋真弓, 稲崎倫子, 小淵正次, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 76-79
- 国立感染症研究所ウイルス第一部. 日本脳炎. 2015. <http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/JEVMeeting.htm> (2018年7月25日アクセス可能)
- Obara M, Yamauchi T, Watanabe M, et al. (2011). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708
- 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 他. (2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
- 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
- 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 他. (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
- 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 他. (2011). 富山衛研年報, 34, 97-105
- 山内健生, 名古屋(小原)真弓, 渡辺 護, 他. (2012). 富山衛研年報, 35, 48-57
- 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 82-88
- 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 69-75

ポリオ流行予測調査 (平成 29 年度)

板持 雅恵 稲崎 倫子 米田 哲也 佐賀由美子
久松佑生子¹ 井川 朋子¹ 道谷真由美² 渡辺 聡子³
遠藤 京子⁴ 杉野 泰子⁵ 藤岡俊太郎⁶ 小淵 正次

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA,
Yuko HISAMATSU¹, Tomoko IKAWA¹, Mayumi MICHITANI²,
Satoko WATANABE³, Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵, Shuntaro FUJIOKA⁶
and Masatsugu OBUCHI

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によるポリオ症例数は、当初125カ国で35万例と推計されていたが、2017年には3カ国 (アフガニスタン、パキスタン、ナイジェリア) からの22例の報告となり、99%以下まで減少した [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) による症例は2017年には2カ国 (シリア、コンゴ共和国) で報告されている [1]。このような流行地からの野生株や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。一方、国内では生ワクチン関連麻痺を防ぐために、平成24年9月からポリオワクチンは不活化ワクチンに変更された。不活化ワクチンへの移行により集団免疫保有状況がどのように変化したかを評価することは重要である。

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29年度の調査内容は、下水流入水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。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のみ検査を行った。

感染源調査

材料と方法：平成29年4月から平成30年3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3,000rpm、30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」 [2, 3] により濃縮した。即ち、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、 1.0×10^{-3} N NaOH (pH10.5) 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、100×TE Buffer (pH 8.0) 100 μ Lと0.1N硫酸50 μ Lを加えた後、4℃で10,000rpm、30分間遠心した。遠心上清を回収し、ポアサイズ0.45 μ m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, MA

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

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29年							平成30年			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
ポリオ	1型												0
	2型												0
	3型												0
コクサッキー エコー	B4型							1					1
	3型					16	10	15	15	14	2		72
	6型	2					1						3
	25型										1		1
計		2			16	11	15	16	14	3			

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	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	16	0	0	2	0	0	2	2	4	6	16	(100)	166.0
2~3	19	0	1	1	3	1	1	2	3	7	19	(100)	110.6
4~9	18	0	0	0	0	3	0	1	6	8	18	(100)	237.0
10~14	23	0	0	2	2	1	2	1	7	8	23	(100)	148.8
15~19	35	0	1	1	0	3	7	7	4	12	35	(100)	144.2
20~24	24	1	0	1	2	1	3	6	1	9	23	(95.8)	144.4
25~29	23	1	0	0	0	2	5	4	4	7	22	(95.7)	170.0
30~34	12	0	0	1	1	2	1	1	2	4	12	(100)	114.0
35~39	18	2	0	0	3	0	3	5	1	4	16	(88.9)	112.4
40~49	30	1	6	2	2	2	9	3	3	2	29	(96.7)	38.7
50~59	22	3	2	1	5	1	2	4	0	4	19	(86.4)	51.4
60~	21	2	1	1	0	6	5	1	3	2	19	(90.5)	64.0
合計	261	10	11	12	18	22	40	37	38	73	251	(96.2)	109.4
(%)		(3.8)	(4.2)	(4.6)	(6.9)	(8.4)	(15.3)	(14.2)	(14.6)	(28.0)	(96.2)		

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	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	16	0	0	0	0	1	2	3	1	9	16	(100)	245.1
2~3	18	0	0	0	0	0	1	2	5	10	18	(100)	322.5
4~9	18	0	0	0	1	3	0	3	5	6	18	(100)	174.2
10~14	23	0	0	1	1	4	5	9	2	1	23	(100)	79.0
15~19	35	1	0	3	6	9	6	7	3	0	34	(97.1)	45.3
20~24	24	0	2	1	3	6	3	5	4	0	24	(100)	47.9
25~29	23	1	0	2	4	9	6	1	0	0	22	(95.7)	32.0
30~34	12	0	0	2	1	1	4	2	2	0	12	(100)	53.8
35~39	18	0	0	3	4	3	6	1	0	1	18	(100)	34.6
40~49	30	0	1	1	5	5	8	2	7	1	30	(100)	59.7
50~59	22	1	3	2	4	2	2	2	5	1	21	(95.5)	41.7
60~	21	2	2	1	1	5	7	1	2	0	19	(90.5)	39.8
合計	260	5	8	16	30	48	50	38	36	29	255	(98.1)	65.6
(%)		(1.9)	(3.1)	(6.2)	(11.5)	(18.5)	(19.2)	(14.6)	(13.8)	(11.2)	(98.1)		

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	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	16	0	1	1	1	0	0	2	2	9	16	(100)	181.0
2~3	19	0	1	0	0	1	2	1	3	11	19	(100)	229.5
4~9	18	3	0	1	2	2	2	1	3	4	15	(83.3)	101.6
10~14	23	5	0	2	8	3	1	2	1	1	18	(78.3)	32.0
15~19	35	11	7	4	7	6	0	0	0	0	24	(68.6)	11.3
20~24	24	5	2	7	2	3	2	3	0	0	19	(79.2)	19.2
25~29	23	5	6	4	5	1	1	1	0	0	18	(78.3)	10.9
30~34	12	4	2	2	2	1	0	0	1	0	8	(66.7)	14.7
35~39	18	6	4	3	1	2	2	0	0	0	12	(66.7)	12.0
40~49	30	5	1	8	6	4	4	0	2	0	25	(83.3)	21.1
50~59	22	2	1	4	5	2	5	2	1	0	20	(90.9)	27.9
60~	21	2	0	2	3	2	5	5	1	1	19	(90.5)	55.3
合計	261	48	25	38	42	27	24	17	14	26	213	(81.6)	33.2
(%)		(18.4)	(9.6)	(14.6)	(16.1)	(10.3)	(9.2)	(6.5)	(5.4)	(10.0)	(81.6)		

104, RD, HEp-2, L20B) に、1 番溶出液は各細胞当たり 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、エコーウイルス 3 型、6 型、25 型が分離された。平成 29 年度は 8～1 月にエコーウイルス 3 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、感染症発生动向調査において急性弛緩性麻痺患者の報告が 1 症例あったが、ポリオウイルスは分離されなかった。また、ワクチン関連麻痺の報告はなかった。一方、脳炎、脳症、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎等の患者からのポリ

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推察された。

県内では、不活化ワクチンが導入された平成 24 年 9 月以降、ポリオウイルスの検出例はないが、他県では国外で生ワクチンを接種した人や下水流入水からポリオウイルスが検出された例がある [4-6]。検出されたウイルスはすべてワクチン株であり、生ワクチン使用国からの持ち込みによると考えられている。世界で野生株、及び VDPV の検出例や、生ワクチンの使用がある限り、本調査等によるポリオウイルス伝播の監視を継続する必要があると考えられる。

感受性調査

材料と方法：平成 29 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

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			不活化ワクチン接種歴あり			接種歴あり		接種歴なし		接種歴不明		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回以上		1回	4回以上		3回	1回	回数不明		接種歴なし		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
0~1	16					2 / 2 (100)	13 / 13 (100)	1 / 1 (100)					1 / 1 (100)	
2~3	19					16 / 16 (100)	2 / 2 (100)						2 / 2 (100)	
4~9	18	6 / 6 (100)				8 / 8 (100)			2 / 2 (100)				1 / 1 (100)	
10~14	23	21 / 21 (100)		1 / 1 (100)							1 / 1 (100)		6 / 6 (100)	
15~19	35	28 / 28 (100)									1 / 1 (100)		13 / 14 (92.9)	
20~24	24	6 / 6 (100)							4 / 4 (100)				20 / 21 (95.2)	
25~29	23	1 / 1 (100)									1 / 1 (100)		11 / 11 (100)	
30~34	12								1 / 1 (100)				13 / 15 (86.7)	
35~39	18	1 / 1 (100)							2 / 2 (100)				25 / 26 (96.2)	
40~49	30			1 / 1 (100)					2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		18 / 21 (85.7)	
50~59	22								1 / 1 (100)				17 / 19 (89.5)	
60~	21								1 / 1 (100)		1 / 1 (100)		13 / 13 (100)	4 / 4 (100)
合計	261	63 / 63 (100)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	26 / 26 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	13 / 13 (100)	4 / 4 (100)				127 / 137 (92.7)	

2 型		生ワクチン接種歴あり			不活化ワクチン接種歴あり			接種歴あり		接種歴なし		接種歴不明		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回以上		1回	4回以上		3回	1回	回数不明		接種歴なし		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
0~1	16					2 / 2 (100)	13 / 13 (100)	1 / 1 (100)					1 / 1 (100)	
2~3	18					15 / 15 (100)	2 / 2 (100)						2 / 2 (100)	
4~9	18	6 / 6 (100)				8 / 8 (100)			2 / 2 (100)				1 / 1 (100)	
10~14	23	21 / 21 (100)		1 / 1 (100)							1 / 1 (100)		6 / 6 (100)	
15~19	35	27 / 28 (96.4)									1 / 1 (100)		14 / 14 (100)	
20~24	24	6 / 6 (100)							4 / 4 (100)				20 / 21 (95.2)	
25~29	23	1 / 1 (100)									1 / 1 (100)		11 / 11 (100)	
30~34	12								1 / 1 (100)				15 / 15 (100)	
35~39	18	1 / 1 (100)							2 / 2 (100)				25 / 26 (96.2)	
40~49	30			1 / 1 (100)					2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		20 / 21 (95.2)	
50~59	22								1 / 1 (100)				17 / 19 (89.5)	
60~	21								1 / 1 (100)		1 / 1 (100)		13 / 13 (100)	4 / 4 (100)
合計	260	62 / 63 (98.4)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	25 / 25 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	13 / 13 (100)	4 / 4 (100)				133 / 137 (97.1)	

3 型		生ワクチン接種歴あり			不活化ワクチン接種歴あり			接種歴あり		接種歴なし		接種歴不明		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	2回以上		1回	4回以上		3回	1回	回数不明		接種歴なし		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
0~1	16					2 / 2 (100)	13 / 13 (100)	1 / 1 (100)					1 / 1 (100)	
2~3	19					16 / 16 (100)	2 / 2 (100)						2 / 2 (100)	
4~9	18	5 / 6 (83.3)				8 / 8 (100)			0 / 2 (100)				1 / 1 (100)	
10~14	23	16 / 21 (76.2)		1 / 1 (100)							1 / 1 (100)		12 / 14 (85.7)	
15~19	35	18 / 28 (64.3)									1 / 1 (100)		16 / 21 (76.2)	
20~24	24	4 / 6 (66.7)							3 / 4 (100)				7 / 11 (63.6)	
25~29	23	1 / 1 (100)									1 / 1 (100)		10 / 15 (66.7)	
30~34	12								1 / 1 (100)				21 / 26 (80.8)	
35~39	18	0 / 1 (0)							2 / 2 (100)		1 / 1 (100)		19 / 21 (90.5)	
40~49	30			1 / 1 (100)					1 / 1 (100)				17 / 19 (89.5)	
50~59	22								1 / 1 (100)				10 / 15 (66.7)	
60~	21								1 / 1 (100)		1 / 1 (100)		11 / 137 (81.0)	
合計	261	44 / 63 (69.8)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	26 / 26 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	10 / 13 (76.9)	4 / 4 (100)				111 / 137 (81.0)	

山市保健所管内で、0～81歳の合計261名（ポリオウイルス2型に対しては260名）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」[7]に準じて行った。なお、平成29年度からWHOによるポリオウイルス病原体バイオリスク管理の基本方針に基づいた調査実施要領[8]により、2型ポリオウイルスに対する中和抗体価は国立感染症研究所において測定されることとなった。

1型および3型のポリオウイルスに対する中和抗体価はこれまでと同様、当所において測定した。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25 μ Lを96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/25 μ Lとなるように調製した1、3型のポリオウイルス（弱毒セービンウイルス）25 μ L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 \times 10⁵細胞/mL）を100 μ Lずつ加え、35℃、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2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。

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、全体では2型が98.1%（255/260）で最も高く、次いで1型が96.2%（251/261）、3型が81.6%（213/261）であ

り、ポリオウイルスに対する集団免疫は1、2型については高く維持されていると考えられた。不活化ワクチンの接種は5歳以下、および6歳の一部に、生ワクチン接種は6歳以上でそれぞれみられたが、年齢区分別の抗体保有率は、0～5歳ではすべての型に対して100%の抗体保有率を示した。学童期以上の年齢区分では、1型では50～59歳が86.4%、35～39歳が88.9%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型では60歳以上が90.5%であったが、それ以外の年齢区分は95%以上の抗体保有率であった。一方、3型は30～39歳が66.7%、15～19歳が68.6%と低く、それ以外の年齢区分が75%以上であった。ポリオウイルス生ワクチン接種者において、1型、2型に比し3型の抗体保有率が低いのは、これまでの全国の調査でも同様である[5]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、全体では1型109.4倍、2型65.6倍、3型33.2倍であった。年齢区分別では、1型では40～49歳の38.7倍から4～9歳の237.0倍までを示した。2型では35～39歳の34.6倍から2～3歳の322.5倍までを示した。3型では25～29歳の10.9倍から2～3歳の229.5倍までを示した。

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。1～4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。一方、2回の生ワクチン接種では、1型で100%、2型で98.4%と高い抗体保有率を示し、3型は69.8%と1、2型に比し低値を示した。

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

表4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数(人)	1,2,3型 ともに 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数						1,2,3型(%)
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	
0～1	16								16 (100)
2～3	18								18 (100)
4～9	18						3		15 (83.3)
10～14	23						5		18 (78.3)
15～19	35		1				10		24 (68.6)
20～24	24						5	1	18 (75.0)
25～29	23		1	1			3		18 (78.3)
30～34	12						4		8 (66.7)
35～39	18			2			4		12 (66.7)
40～49	30						5	1	24 (80.0)
50～59	22					1	2	2	17 (77.3)
60～	21		1				1	2	16 (76.2)
合計 (%)	260 (100)		3 (1.2)	3 (1.2)	1 (0.4)	42 (16.2)	6 (2.3)	1 (0.4)	204 (78.5)

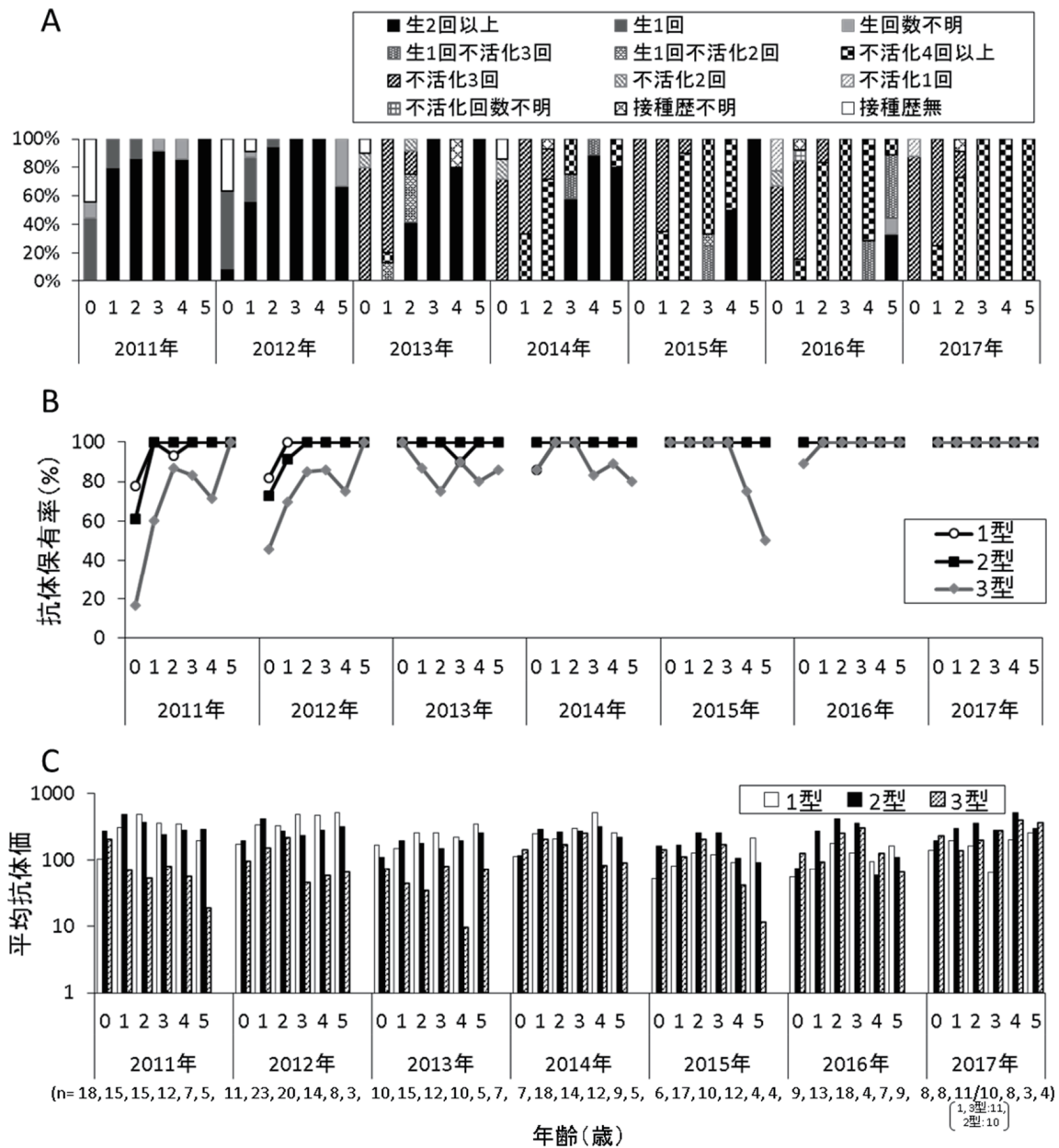


図1. 乳幼児におけるポリオワクチン接種歴と抗体保有状況 (2011～2017年).
A: ワクチン接種歴, B: 抗体保有率, C: 抗体保有者の平均抗体価.

は78.5% (204/260) であった。年齢区別では、0～3歳が100%と高かったが、30～34歳と35～39歳が66.7%、15～19歳が68.6%と比較的低い値を示した。同年齢層の3型に対する比較的低い中和抗体保有率 (それぞれ66.7%, 66.7%, 68.6%) を反映しているものと考えられた (表2)。

日本では、ポリオワクチンは1961年に乳幼児を対象に一斉に生ワクチンの接種が開始され、1963年からは2回接種が定期的に行われてきた[9]。その後、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[5]。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[10]。

生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が集団免疫へ及ぼした影響をみるために、移行前後の年 (2011～2017年) における乳幼児の抗体保有状況 [11-16] を比較した。図1に2011年から2017年までの乳幼児 (0～5歳) におけるポリオワクチン接種歴、ポリオウイルス各型に対する抗体保有率、および平均抗体価の推移を示した。不活ワクチン移行前の2011～2012年では、0～5歳の接種歴の

ある人すべてが生ワクチンを接種していた。不活化ワクチン移行後は、0～2歳の低年齢層から不活化ワクチンの接種にかわり、2017年では0～5歳のすべてが不活化ワクチンを接種していた。2～5歳においては、接種歴不明であった2013年の4歳児1名および2014年と2017年の2歳児それぞれ1名以外のすべての幼児が接種を受けており、生ワクチンと不活化ワクチン接種者でワクチン接種率に差はみられなかった。

抗体保有率は、生ワクチンが接種されていた2011年と2012年においては、1型、2型では0歳61.1～81.8%、1歳91.3～100%、2～5歳93.3～100%と高かったが、3型では0歳16.7～45.5%、1歳60.0～69.6%、2～5歳71.4～100%と1、2型に比較して低かった。不活化ワクチン導入後の2013年以降においては、1、2、3型のすべての抗体保有率が1歳でほぼ100%となった。2013年以降、3型に対する抗体保有率が100%である年齢層は、2013年で0歳、2014年で1～2歳、2015年で0～3歳、2016年で1～5歳、2017年で0～5歳と、年を追うごとに拡大した。

大多数の人がポリオワクチン接種を完了する2～5歳における平均抗体価は、生ワクチンが接種されていた2011年と2012年においては、1型194.0～512.0倍、2型231.9～370.5倍、3型18.4～217.5倍であり、3型に対する平均抗体価が1型や2型に比較して低かった。不活化ワクチン導入後約5年経過し、5歳児までのすべてが不活化ワクチン接種者となった2017年においては、1型64.0～256.0倍、2型279.2～512.0倍、3型111.9～406.4倍であり、3型も1、2型と同等の平均抗体価を示した。

2017年、高齢者を含む全年齢層においても、従来の生ワクチンの2回接種では、1型、2型ではほぼ100%と高い抗体保有率を示したのに対して、3型では69.8% (44/63) と1、2型に比べ低値であった(表3)。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[17, 18]。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[19-22]。本調査でも不活化ワクチン接種者は今のところ3型も含めて高い抗体保有率を示しているが、不活化ワクチンへの移行が接種後の持続免疫や集団免疫保有状況にどのような影響を及ぼすかは、今後も推移を見ていく必要がある。

2017年では、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリアの3カ国から、22例の1型野生株による麻痺症例が報告されている。2型野生株は1999年以降、3型野生株は2012年11月以降報告されていない。世界ポリオ根絶認定委員会は、2015年9月、2型野生株の根絶を宣言した[1, 5]。また、世界全体の生ワクチン使用国で発生しているcVDPVによる症例の多くが2型ウイルスによることから、2016年4月には世界的に2型の生ワクチンが停止され、2価(1型+3型)生ワクチン導入が進められた。生ワクチン使用国においては、少なくとも1回の不活化ワクチン接種が追加されている[1, 5]。

本調査結果は、県内においてポリオウイルス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、県内への野生株、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た。しかしながら、世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチンが使用されなくなるまでは、ウイルスの侵入や地域伝播を防ぐために、今後もすべての型に対する高い集団免疫を保ち、高感度のサーベイランス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29年4月～平成30年3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81歳までの261名(2型は260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96.2%、2型98.1%、3型81.6%であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は1型109.4倍、2型65.6倍、3型33.2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医療機関、下水処理場、ポリオウイルス2型の中和抗体価を測定いただいた国立感染症研究所、その他関係各位に深く感謝申し上げます。

文 献

1. WHO (2018). Weekly epidemiological record, 93, 241-248
2. 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
3. 板持雅恵, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報 (平成28年度), 40, 55-60
4. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2015). 病原微生物検出情報, 36, 86-87
5. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2016). 病原微生物検出情報, 37, 17-31
6. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2018). 病原微生物検出情報, 39, 67-69
7. 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
8. 厚生労働省 (2017). 平成29年度感染症流行予測調査実施要領, 5
9. 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
10. 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
11. 板持(岩井)雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 他. (2012). 富山県衛生研究所年報(平成23年度), 35, 62-67
12. 嶋 一世, 板持雅恵, 堀元栄詞, 他. (2013). 富山県衛生研究所年報 (平成24年度), 36, 100-105
13. 板持雅恵, 嶋 一世, 堀元栄詞, 他. (2014). 富山県衛生研究所年報 (平成25年度), 37, 93-99
14. 長谷川澄代, 稲畑 良, 小淵正次, 他. (2015). 富山県衛生研究所年報 (平成26年度), 38, 80-85
15. 板持雅恵, 稲畑 良, 名古屋真弓, 他. (2016). 富山県衛生研究所年報 (平成27年度), 39, 80-84
16. 板持雅恵, 稲畑 良, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報 (平成28年度), 40, 88-93
17. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997). J. Infect. Dis., 175, 545-553
18. 土居 穰, 鎗水 宏, 山本 浩, 他. (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
19. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228-234
20. 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
21. 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
22. 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>)

インフルエンザ流行予測調査 (平成 29 年度)

米田 哲也	稲崎 倫子	佐賀由美子	板持 雅恵
青柳由美子	長谷川澄代	小淵 正次	久松佑生子 ¹
井川 朋子 ¹	道谷真由美 ²	渡辺 聡子 ³	遠藤 京子 ⁴
	杉野 泰子 ⁵	藤岡俊太郎 ⁶	

Serological Investigation of Influenza Virus Infection
in Toyama Prefecture, 2017 - 2018

Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI,
Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masatsugu OBUCHI,
Yuko HISAMATSU¹, Tomoko IKAWA¹, Mayumi MICHITANI²,
Satoko WATANABE³, Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵ and Shuntaro FUJIOKA⁶

目的：インフルエンザの流行開始前，かつワクチン接種前のインフルエンザウイルスに対する県民の抗体保有状況を把握し，今後の流行予測および注意喚起を促すことを目的として，調査を行った。その調査結果を報告する。

なお本調査は予防接種法に基づき，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：2017年7～9月に調査を行った。平成29年度は，県内住民262名から調査の協力が得られた。しかし2名については血清量が少なく，調査を行うことが出来なかった。そのため，260名について調査を行った。年齢群別調査数は0～4歳：37名，5～9歳：15名，10～14歳：23名，15～19歳：35名，20～29歳：47名，30～39歳：30名，40～49歳：30名，50～59歳：22名，60歳以上：21名であった。

検査方法は，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 (2017/18シーズンワクチン株)。

1. A/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1) pdm09
2. A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)
3. B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
4. B/Texas/2/2013 (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。

調査の協力が得られた262名を対象に，2017/18シーズンの予防接種歴とインフルエンザ罹患歴について，年度末にアンケート調査を行った。調査項目は，ワクチン接種回数と接種年月日，インフルエンザの発症年月日と検出された型とした。

年齢群別抗体保有状況

結果：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/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (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

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

表1. 年齢群別インフルエンザHI抗体保有状況

A/Singapore/GP1908/2015(IVR-180)(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	37	13	19	1	1	1	0	1	1	0	0	4	10.8
5-9	15	3	1	3	1	3	3	1	0	0	0	8	53.3
10-14	23	0	5	5	5	6	2	0	0	0	0	13	56.5
15-19	35	2	2	6	4	11	8	1	1	0	0	25	71.4
20-29	47	4	7	7	11	13	2	3	0	0	0	29	61.7
30-39	30	4	6	8	6	5	1	0	0	0	0	12	40.0
40-49	30	6	10	5	5	3	1	0	0	0	0	9	30.0
50-59	22	5	9	2	5	1	0	0	0	0	0	6	27.3
≥60	21	8	6	0	4	1	1	0	1	0	0	7	33.3
合計	260	45	65	37	42	44	18	6	3	0	0	113	43.5

A/Hong Kong/4801/2014(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	37	0	2	12	14	3	3	0	2	1	0	23	62.2
5-9	15	0	0	0	2	6	4	1	2	0	0	15	100.0
10-14	23	0	0	1	4	8	9	0	1	0	0	22	95.7
15-19	35	0	0	0	8	7	11	6	2	1	0	35	100.0
20-29	47	0	0	10	17	10	6	3	1	0	0	37	78.7
30-39	30	0	1	9	8	9	3	0	0	0	0	20	66.7
40-49	30	2	6	4	5	7	4	1	1	0	0	18	60.0
50-59	22	0	4	3	5	4	2	3	1	0	0	15	68.2
≥60	21	2	2	4	5	4	2	1	0	1	0	13	61.9
合計	260	4	15	43	68	58	44	15	10	3	0	198	76.2

B/Phuket/3073/2013(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	37	19	10	4	3	1	0	0	0	0	0	4	10.8
5-9	15	2	3	2	6	2	0	0	0	0	0	8	53.3
10-14	23	1	3	6	10	2	1	0	0	0	0	13	56.5
15-19	35	0	2	6	14	7	3	2	1	0	0	27	77.1
20-29	47	0	2	3	14	18	7	2	1	0	0	42	89.4
30-39	30	0	4	5	9	5	7	0	0	0	0	21	70.0
40-49	30	2	6	7	10	4	1	0	0	0	0	15	50.0
50-59	22	0	3	5	6	7	1	0	0	0	0	14	63.6
≥60	21	2	4	4	5	4	2	0	0	0	0	11	52.4
合計	260	26	37	42	77	50	22	4	2	0	0	155	59.6

B/Texas/2/2013(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	37	25	6	4	2	0	0	0	0	0	0	2	5.4
5-9	15	8	3	2	2	0	0	0	0	0	0	2	13.3
10-14	23	4	6	4	9	0	0	0	0	0	0	9	39.1
15-19	35	4	9	9	7	3	3	0	0	0	0	13	37.1
20-29	47	7	14	12	13	1	0	0	0	0	0	14	29.8
30-39	30	0	11	9	9	1	0	0	0	0	0	10	33.3
40-49	30	4	8	7	8	3	0	0	0	0	0	11	36.7
50-59	22	2	7	9	4	0	0	0	0	0	0	4	18.2
≥60	21	4	8	4	3	2	0	0	0	0	0	5	23.8
合計	260	58	72	60	57	10	3	0	0	0	0	70	26.9

表2. 予防接種歴別HI抗体保有率（抗体価40倍以上）

抗原	A/Singapore/GP190 8/2015(IVR- 180)(H1N1)pdm09		A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)		B/Phuket/3073/20 13(山形系統)		B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)		
	有	無	有	無	有	無	有	無	
年齢区分	0-4	14.3%	10.0%	71.4%	60.0%	14.3%	10.0%	0.0%	10.0%
	5-9	54.5%	100.0%	100.0%	100.0%	36.4%	100.0%	18.2%	0.0%
	10-14	70.0%	54.5%	100.0%	90.9%	60.0%	45.5%	50.0%	18.2%
	15-19	73.7%	66.7%	100.0%	100.0%	78.9%	73.3%	63.2%	6.7%
	20-29	65.4%	50.0%	92.3%	66.7%	88.5%	100.0%	38.5%	16.7%
	30-39	47.1%	30.0%	82.4%	50.0%	88.2%	50.0%	41.2%	30.0%
	40-49	38.5%	23.5%	76.9%	47.1%	76.9%	29.4%	69.2%	11.8%
	50-59	18.2%	36.4%	90.9%	45.5%	72.7%	54.5%	18.2%	18.2%
	≥60	50.0%	14.3%	91.7%	28.6%	83.3%	14.3%	33.3%	14.3%
全体	50.4%	36.9%	89.5%	64.0%	69.9%	49.5%	38.3%	14.4%	

表3. 年齢別ワクチン接種者（率）および罹患者（率）

年齢群	回答人数	ワクチン接種者（率）		罹患者（率）			
				ワクチン接種有		ワクチン接種無	
		人数	%	人数	%	人数	%
0-4	27	21	77.8%	4	19.0%	2	33.3%
5-9	10	9	90.0%	4	44.4%	0	0.0%
10-14	18	10	55.6%	4	40.0%	2	25.0%
15-19	34	30	88.2%	7	23.3%	1	25.0%
20-29	31	21	67.7%	2	9.5%	1	10.0%
30-39	23	14	60.9%	0	0.0%	1	11.1%
40-49	22	6	27.3%	2	33.3%	0	0.0%
50-59	20	7	35.0%	1	14.3%	3	23.1%
≥60	19	11	57.9%	0	0.0%	1	12.5%
全体	204	129	63.2%	24	18.6%	11	14.7%

平均43.5%であった。年齢群別では、15～19歳および20～29歳の群ではそれぞれ71.4%、61.7%と高く、5～9歳、10～14歳および30～39歳の群でもそれぞれ53.3%、56.5%、40.0%と比較的高かった。一方、40～49歳、50～59歳および60歳以上の群ではそれぞれ30.0%、27.3%、33.3%と中程度で、0～4歳の群では10.8%と比較的低かった。

(2) A/Hong Kong/4801/2014 (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76.2%であった。年齢群別では、0～4歳62.2%、5～9歳100.0%、10～14歳95.7%、15～19歳100.0%、20～29歳78.7%、30～39歳66.7%、40～49歳60.0%、50～59歳68.2%、60歳以上61.9%を示し、全ての年齢群で60%以上と高かった。

(3) B/Phuket/3073/2013 (山形系統) に対する抗体保有率

本株に対するHI抗体価40倍以上の抗体保有率は

平均59.6%であった。年齢群別では、15～19歳、20～29歳、30～39歳および50～59歳の群ではそれぞれ77.1%、89.4%、70.0%、63.6%と高く、5～9歳、10～14歳、40～49歳および60歳以上の群ではそれぞれ53.3%、56.5%、50.0%、52.4%と比較的高かった。一方、0～4歳の群では、10.8%と比較的低かった。

(4) B/Texas/2/2013 (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26.9%であった。年齢群別では、10～14歳、15～19歳、20～29歳、30～39歳および40～49歳の群ではそれぞれ、39.1%、37.1%、29.8%、33.3%、36.7%と中程度であった。一方、5～9歳、50～59歳および60歳以上の群ではそれぞれ13.3%、18.2%、23.8%と比較的低く、0～4歳の群では5.4%と低かった。

予防接種歴別抗体保有状況

結果：調査対象者260名中、予防接種歴不明の16名を除く244名におけるインフルエンザワクチン接種率（採血時に2016/17シーズンのワクチン接種歴有り」と回答した者）は54.5%（133名）であった。年齢群別の接種率は41.2（0～4歳）～84.6（5～9歳）%で、各年齢群間で最大43.4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/Singapore/GP1908/2015 (IVR-180) (H1N1) pdm09で50.4%：36.9%（接種歴有群：接種歴無群，以下同），A/Hong Kong/4801/201 (H3N2) で89.5%：64.0%，B/Phuket/3073/2013（山形系統）で69.9%：49.5%，B/Texas/2/2013（ビクトリア系統）で38.3%：14.4%と、全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して13.5～25.5ポイント高かった。

ワクチン接種歴および罹患状況

結果：回答が得られたのは、262名中204名で回答率は、77.9%であった。ワクチン接種率は、63.2%であった。年齢群別では5～9歳の群が、90.0%と一番高く、40～49歳の群が27.3%と一番低かった。全年齢群における罹患率をワクチン接種の有無で見ると、接種歴有群18.6%，接種歴無群14.7%とほとんど差がみられなかった。

考 察

年齢群別抗体保有率では、B型に対する抗体保有率は、A型と比較して低い傾向がみられた。特

にビクトリア系統株に対する抗体保有率は全年齢群で低かった。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。

予防接種歴別抗体保有率では、AH1pdm09以外の3株は、平成28年度の調査より抗体保有率が高かった[1]。2017/18シーズンのワクチン株は、AH1pdm09以外変更されておらずAH3亜型は2年続けて、B型（山形系統・ビクトリア系統）は3年続けて同じ株であった。そのため、2016/17シーズンのウイルスに暴露、もしくはワクチン接種をしていたことにより抗体保有率が高くなったと考えられた。

年度末のアンケート調査では、平成28年度の調査よりワクチン接種率の増加がみられた。しかし年齢群別にみると、40～49歳および50～59歳の年齢群の接種率は40%以下と低かった。そのため2018/19シーズンは、特に40～59歳の年齢群へワクチン接種を呼びかける必要があると考えられる。

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多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 米田哲也，佐賀由美子，稲畑 良， 他. (2017). 富山県衛研究所年報，40，94-97

インフルエンザ発生動向調査 (2017/18シーズン)

米田 哲也	稲崎 倫子	佐賀由美子	板持 雅恵
青柳由美子	長谷川澄代	小淵 正次	久松佑生子 ¹
井川 朋子 ¹	道谷真由美 ²	渡辺 聡子 ³	遠藤 京子 ⁴
	杉野 泰子 ⁵	藤岡俊太郎 ⁶	

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection
in Toyama Prefecture, 2017 - 2018

Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI,
Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Masatsugu OBUCHI,
Yuko HISAMATSU¹, Tomoko IKAWA¹, Mayumi MICHITANI²,
Satoko WATANABE³, Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵ and Shuntaro FUJIOKA⁶

目的: 感染症法に基づく感染症発生動向調査に従い、インフルエンザの発生状況の正確な把握と分析を行い、その結果を県民や医療機関へ迅速に提供・公開することにより、インフルエンザのまん延を防止することを目的として調査を実施した。

2017/18シーズンの患者発生状況およびウイルスの検出・分離状況について報告する。

材料と方法: 指定提出機関として、黒部市民病院（黒部市）、中村内科クリニック（上市町）、植野内科医院（立山町）、小栗小児科医院（高岡市）、木田小児科医院（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）、その他に、済生会富山病院（富山市）、しんめいこどもクリニック（富山市）の協力を得て、合計144件の検体について検査を行った。

通年で検査を行い、定点医療機関当たりの患者報告数が1.0以上の期間を流行期、それ以外の期間を非流行期とした。2017/18シーズンは、2017年6月～12月までが非流行期、2018年1月～5月までが流行期であった。

検査方法は、患者から採取した鼻腔拭い液からRNAを抽出し、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型・亜型別の同定を行った。インフルエンザウイルスが検出された検体については、鼻腔拭い液をMDCK細胞に接種しウイ

ルス分離を行った。分離ウイルスの型・亜型別同定は、2017/18シーズンワクチン株に対する抗血清を用いたHI試験により行った[1]。

インフルエンザ患者発生状況

結果および考察: 2017/18シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は、2017年第37週（9/11～9/17）であった。散発流行の後、2017年第50週（12/11～12/17）には定点医療機関当たり1.44人となり、流行が始まった。2017/18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、例年並みであった。過去5シーズンで最も流行が早かった2016/17シーズンと比べると4週遅かった。その後、患者報告数が増加し、2018年第3週（1/15～1/22）に警告レベル（30人/定点）を超え、2018年第5週（1/29～2/4）にピークに達した（40.83人/定点）。ピークの時期は例年と同時期であったが、ピークの高さは過去5シーズンで2番目に高かった。その後は減少し、2018年第19週（5/7～5/13）には定点医療機関当たり0.42人となり、流行期が終わった（図1）。流行期の終わりは、例年並みの5月中旬であった。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、2017年12月7日（第49週）から2018年5月17日（第20週）までに延べ247施設でとられた。2016/17シーズンと比較すると48件多かった[2]。その内訳は、

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

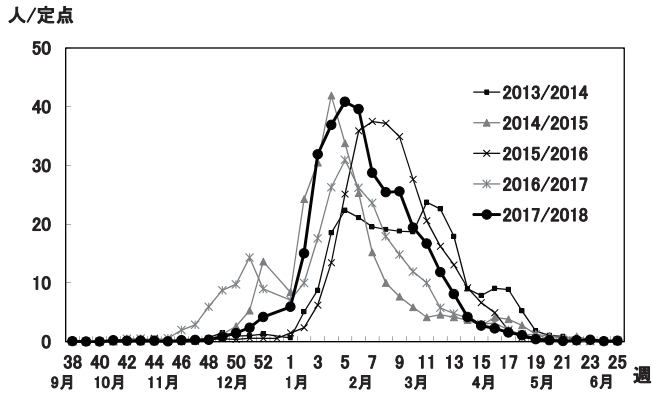


図1. 過去5シーズンの患者報告数の推移 (富山県)

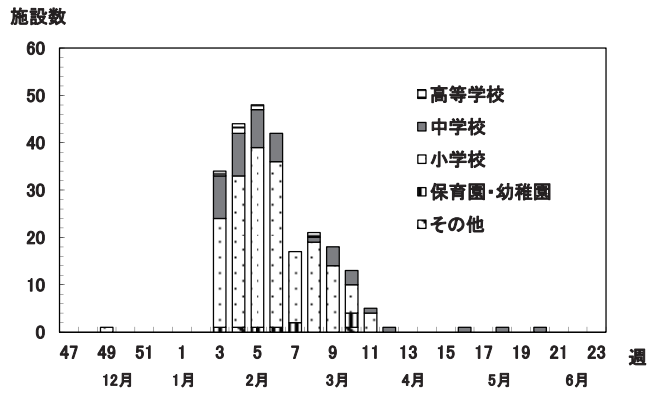


図2. インフルエンザ様疾患の集団発生 富山県2017/2018

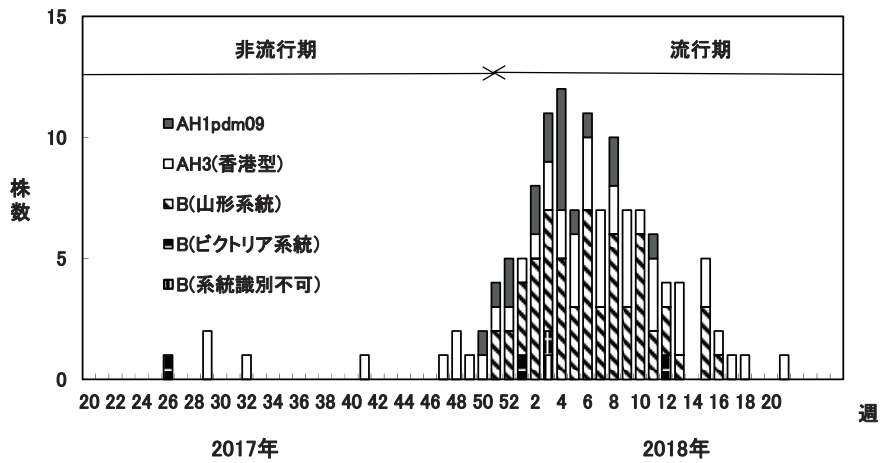


図3. 週別・型別インフルエンザウイルス検出数

表1. 施設別インフルエンザウイルス検出数

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				
				AH1pdm09	AH3	B(山形 系統)	B(ビクト リア系統)	B(系統識 別不可)		
新川	黒部市民病院	指定提出機関	2017.8.25~ 2018.2.27	10	7	2	2	3	0	0
中部	中村内科クリニック	指定提出機関	2018.1.15~ 2018.3.5	15	15	1	6	8	0	0
中部	植野内科医院	指定提出機関	2018.4.16~ 2018.5.21	2	1	0	1	0	0	0
高岡	小栗小児科医院	指定提出機関	2017.6.26~ 2018.4.17	24	22	5	7	7	2	1
高岡	木田小児科医院	指定提出機関	2017.6.7~ 2018.4.18	18	12	2	3	7	0	0
砺波	力耕会 金井病院	指定提出機関	2017.11.27~ 2018.5.24	30	30	2	10	18	0	0
砺波	柳下小児科内科医院	指定提出機関	2017.7.15~ 2018.2.15	4	1	1	0	0	0	0
富山市	中島こどもクリニック	指定提出機関	2018.1.4~ 2018.2.23	8	8	0	4	3	1	0
富山市	しんたにこどもクリニック	指定提出機関	2017.11.27~ 2018.4.28	30	30	5	11	13	1	0
富山市	済生会富山病院	指定提出機関外	2017.7.21	2	2	0	2	0	0	0
富山市	しんめいこどもクリニック	指定提出機関外	2017.8.8	1	1	0	1	0	0	0
合計				144	129	18	47	59	4	1

保育園・幼稚園が8施設，小学校が187施設，中学校45施設，その他が7施設であった（図2）．2017/18シーズン中の集団かぜによる，累積患者数は4,527名であり，2016/17シーズンより約600名多かった[2]．学級閉鎖の施設数のピークは，患者報告数のピークとほぼ同じ時期の2月上旬であった．2017/18シーズンは，2016/17シーズンよりも集団発生による学級閉鎖の施設数や患者報告数が多く，大きな流行となった．

インフルエンザウイルスの検出・分離状況

結果および考察：非流行期（2017年6月～12月）9検体，流行期（2017年12月～2018年5月）135検体の計144検体についてインフルエンザウイルスの遺伝子検出を試みた．成績を表1に示す．ウイルスの型・亜型別では，AH1pdm09が18件（14.0%），AH3亜型が47件（36.4%），B型（山形系統）が59件（45.7%），B型（ビクトリア系統）が4件（3.1%），B型（系統識別不可）が1件（0.8%）の合計129件が検出された．週別の検出状況を見ると，非流行期では，第26週にB型（ビクトリア系統）が1件，第29週～第49週の間にはAH3亜型が8件検出された．今シーズンの流行入りは，第50週からとなり流行期では，AH1pdm09が18件，AH3亜型が39件，B型（山形系統）が59件，B型（ビクトリア系統）が3件，B型（系統識別不可）が1件検出された（図3）．型・亜型別の推移をみると，流行開始前はAH3亜型が主流であった．流行期の早期は，AH1pdm09が主に検出された．しかし第5週以降のA型の主流は，AH3亜型であった．B型が流行するシーズンでは，第5週以降に検出数が増加する傾向にあるが，2017/18シーズンはこれまでとは異なり，第1週から検出数が増加した．B型は，大部分が山形系統（93.7%）であった．

ウイルスの遺伝子が検出された検体のうち，64検体（非流行期1検体，流行期63検体）をMDCK細胞に接種し，ウイルス分離を試みた．その結果，53検体から分離することができ，分離率は82.8%だった．分離株のHA価を測定したところ，53株すべて8倍以上の値が得られた．HI試験により，分離したウイルスの型別同定を行った．その結果非流行期では，AH3亜型が1株，流行期では，AH1pdm09が12株，AH3亜型が19株，B型（山形系統）が18株，B型（ビクトリア系統）が3株分離された．

2017/18シーズンにおいても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価が得られないことが全国的に問題とされた．しかし当所のAH3亜型の分離率は，87.0%と高い割合を示しており，HA価においても8倍以上の値が得られていた．

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた黒部市民病院，中村内科クリニック，植野内科医院，小栗小児科医院，木田小児科医院，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，しんたにこどもクリニック，済生会富山病院ならびにしんめいこどもクリニックに深謝いたします．また，ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします．

文 献

1. インフルエンザ診断マニュアル第3版（平成26年9月 国立感染症研究所監修）
2. 米田哲也，佐賀由美子，稲畑 良，他．（2017）．富山県衛研年報，40，98-100

富山県における平成 29 年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

板持 雅恵 米田 哲也 稲崎 倫子 佐賀由美子
青柳由美子 長谷川澄代 小淵 正次

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA,
Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI

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29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29年4月から平成30年3月までに受け付けた被検者は延べ 357例、検体別では糞便（直腸拭い液を含む）102、咽頭または鼻腔拭い液 228、喀痰 2、髄液 18、尿 23、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球など）58、痂皮 6、皮膚 1、水疱内容物 2、結膜拭い液 1、糞便由来cDNA 24の計465件であった。被検者357例中261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。

インフルエンザおよびインフルエンザ様疾患：県内の医療機関を受診した患者152症例（咽頭または鼻腔拭い液152）について検査を行った。

昨シーズン（平成28/29）終期の4～5月に8症例からAH3型インフルエンザウイルスが、12症例からB型インフルエンザウイルスが検出された。非流行期の6～11月に7症例からAH3型インフルエンザウイルスが、1症例からB型インフルエンザウイルスが、1症例からパラインフルエンザウイルス3型が、延べ4症例からライノウイルスがそれぞれ検出された。平成29/30シーズンでは、12～3月に18症例からAH1型インフルエンザウイルスが、33症例からAH3型インフルエンザウイルスが、58症例からB型インフルエンザウイルスがそれぞれ検出された。また、AH3型とB型のインフルエンザウイルスが同時に検出された例も1症例みられた。

上気道炎・下気道炎：4～6月、11～1月に計15症例（糞便1、咽頭または鼻腔拭い液15、喀痰1、血清1）について検査を行ったところ、4症例からRSウイルスが、1症例からヒトメタニューモウイルスが、1症例からライノウイルスが、1症例からパレコウイルス3型が、1症例からアデノウイルス3型がそれぞれ検出された。また、パラインフルエンザウイルス1型とボカウイルスが同時に検出された例も1症例みられた。

脳炎・脳症・麻痺：計15症例（髄液 14、血清 12、糞便 9、咽頭拭い液 13、喀痰 1、尿 8、結膜拭い液 1）の検査を行ったところ、1症例の糞便からアデノウイルス1型が、2症例の咽頭拭い液からライノウイルスが、1症例の髄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AH1型インフルエンザウイルスがそれぞれ検出された。

無菌性髄膜炎：計4症例（髄液 5、血清 2、糞便 1、咽頭拭い液 3）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、食中毒および有症苦情事例を含む16事例（74名、糞便 50、糞便由来cDNA24）について検査を行ったところ、1事例の1症例からノロウイルスGIが、8事例の36症例からノロウイルスGIIがそれぞれ検出された。5月の1事例では、無症状の施設関係者1名からもノロウイルスGIIが検出された。月別では、4月に1事例、5月に3事例、6月に1事例、8月に1事例、10月に1事例、11月に1事例、12月に2事例、1月に1事例、2月に5事例それぞれ発生した。

小児科定点医療機関からは、計31症例（糞便 31、咽頭拭い液 1、血清 2）の散発例の検査依頼があった。このうち24症例がウイルス検査陽性となった。検出されたウイルスの種類はロタウイルス

表1. 平成29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29年(2017年)										平成30年(2018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・ インフルエンザ様疾患	(被検者数)	15	6	2	4	4	1	2	4	12	42	38	22	152	
	AH1型インフルエンザ									4	10	3	1	18	
	AH3型インフルエンザ	7	1		2	1		1	3	4	8	13	8	48	
	B型インフルエンザ	7	5	1						4	23	19	12	71	
	AH3型+B型											1		1	
	パラインフルエンザ3型			1										1	
上気道炎・下気道炎	(被検者数)	2	5	3					1	1	3			15	
	パラインフルエンザ1型+ボカ	1												1	
	メタニューモ	1												1	
	ライノ			1										1	
	パレコ3型		1											1	
	RS								1		3			4	
	アデノ3型									1				1	
脳炎・脳症・麻痺	(被検者数)	1	3			1	3	2	1	1	2		1	15	
	ライノ						1	1						2	
	アデノ1型		1											1	
	HHV-6									1				1	
	AH1型インフルエンザ										1			1	
無菌性髄膜炎	(被検者数)		1					1	2					4	
	-													0	
感染性胃腸炎(集団)	(被検者数)	4	9	19		4		1	3	11	7	16		74	
	ノロGI ^a											1		1	
感染性胃腸炎(散発)	(被検者数)	3	4	5	4		1	1	1	9	7	15		36	
	ロタA群	1											2	3	
	ノロGII			4						2	3	1	1	11	
	サボ+パレコ1型						1							1	
	アデノ2型								1					1	
	アデノ41型				2					1	1		1	5	
	アストロ	1	3	1										5	
	麻疹			1					1	1	1			4	
	麻疹								1					1	
手足口病	(被検者数)		3	1	7	3	1	3	3	4				25	
	コクサッキーA6		2	1	7	2	1			1				14	
	コクサッキーA16							1	2	2				5	
	エンテロA71型							2		1				3	
	ライノ					1								1	
	エコー25型									1				1	
ヘルパンギーナ	(被検者数)		1	1	2	1	1	1						7	
	コクサッキーA2						1							1	
	コクサッキーA6		1		2	1								4	
	コクサッキーA10							1						1	
	コクサッキーA16			1										1	
つつが虫病	(被検者数)							1	5					6	
	つつが虫病リケッチア							1	4					5	
デング熱	(被検者数)			2						2	1			5	
	デング2型			2										2	
肝炎	(被検者数)										1			1	
	A型肝炎										1			1	
心筋炎	(被検者数)	1				1		1	1					4	
	ライノ	1												1	
	エコー3型							1						1	
口内炎	(被検者数)		1											1	
	単純ヘルペス1型		1											1	
発疹症	(被検者数)		1	1	1								1	4	
	-													0	
SFTS ^b 、日本紅斑熱疑い	(被検者数)			2		1	1	1						5	
	-													0	
その他 ^c	(被検者数)	1	1		1	1								4	
	-													0	
症例合計	(被検者数)	27	35	37	19	16	8	15	22	36	60	56	26	357	
	病原体検出者数	19	20	12	14	5	5	10	14	36	57	53	23	261	

■, 灰色の影で記した数は, 無症状の施設関係者及び接触者を含む。

a. ノロGI: ノロウイルスGenogroup I.

b. SFTS: 重症熱性血小板減少症候群

c. その他: 4月の1症例は黄熱・チクングニア疑い, 5月の1症例は関節炎, 7月の1症例は血管炎, 8月の1症例はリンパ節炎。

スA群, ノロウイルス GII, サポウイルス, パレコウイルス 1 型, アデノウイルス 2 型, 41 型, アストロウイルスであった。これらのうち, ノロウイルス GII が 11 症例からと多く検出された。

麻疹 : 計 4 症例 (咽頭拭い液 4, 血漿 4, 末梢血単核球 4, 尿 4, 髄液 1) の検査を行ったところ, 1 症例 (20 代女性) の咽頭拭い液, 血漿, 末梢血単核球, 尿から麻疹ウイルスが検出された。麻疹ウイルスの遺伝子型は D8 型であった。

手足口病 : 5 ~ 12 月に計 25 症例 (咽頭拭い液 24, 糞便 3, 血清 2, 水疱内容物 2, 尿 1) の検査を行ったところ, 14 症例からコクサッキーウイルス A6 型が, 5 症例からコクサッキーウイルス A16 型が, 3 症例からエンテロウイルス A71 型が, 1 症例からライノウイルスが, 1 症例からエコーウイルス 25 型がそれぞれ検出された。

ヘルパンギーナ : 5 ~ 10 月に 7 症例 (咽頭拭い液 7) の検査を行ったところ, 4 症例からコクサッキーウイルス A6 型が, 1 症例からコクサッキーウイルス A2 型が, 1 症例からコクサッキーウイルス A10 型が, 1 症例からコクサッキーウイルス A16 型がそれぞれ検出された。

つつが虫病 : 10 ~ 11 月に計 6 症例 (血液 6, 痂皮 5) の検査を行ったところ, 5 症例の血液または痂皮からつつが虫病リケッチアの Kawasaki 型が検出された。

デング熱 : 6, 12, 1 月に計 5 症例 (血漿 5, 末梢血単核球 5, 尿 5) の検査を行ったところ, 2 症例からデングウイルス 2 型が検出された。これらの症例では発症数日前にパラオへの渡航歴があった。

肝炎 : 1 月に 1 症例 (糞便 1) の検査を行ったところ, A 型肝炎ウイルスが検出された。

心筋炎 : 4, 8, 10, 11 月に計 4 症例 (糞便 3, 咽頭拭い液 3, 血清 4, 尿 2) の検査を行ったところ, 1 症例の糞便からライノウイルスが, 1 症例の咽頭拭い液からエコーウイルス 3 型がそれぞれ検出された。

口内炎 : 5 月に 1 症例 (咽頭拭い液 1) の検査を行ったところ, 単純ヘルペスウイルス 1 型が検出された。

発疹症 : 5 ~ 7 月, 3 月に計 4 症例 (糞便 2, 咽頭拭い液 3, 髄液 1, 尿 1, 皮膚 1) の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

SFTS (重症熱性血小板減少症候群) および日本紅斑熱 : 6 月, 8 ~ 10 月に計 5 症例 (血清または血漿 5, バフィーコート 1, 痂皮 1) の検査を行ったが, SFTS ウイルスおよび日本紅斑熱リケッチアは検出されなかった。

その他 : 4 月に 1 症例 (血清 1) の黄熱、チクングニア熱の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。5 月に 1 症例 (血清) の関節炎の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。7 月に 1 症例の血管炎 (咽頭拭い液, 髄液, 血清, 尿) の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。8 月に 1 症例のリンパ節炎 (糞便, 咽頭拭い液, 血清, 尿) の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。

謝 辞

ウイルス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。

動物由来感染症浸淫状況調査 (平成 29 年度)

稲崎 倫子 佐賀由美子 青柳由美子 長谷川澄代
 板持 雅恵 米田 哲也 小林 浩¹ 貴嶋 哲郎¹
 保積亜希子¹ 小渕 正次

Epidemiological Surveillance of Zoonosis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2017

Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA,
 Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Hiroshi KOBAYASHI¹, Tetsurou KIJIMA¹,
 Akiko HOZUMI¹ and Masatsugu OBUCHI

県内における動物由来感染症の流行および汚染状況把握、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各種感染症の浸淫状況を調査した。対象疾患はウエストナイル熱、デング熱、ジカウイルス感染症、チクングニア熱、腎症候性出血熱、ハンタウイルス肺症候群とした。日本脳炎については、資料「日本脳炎流行予測調査(感染源調査)」で報告する。

症候群の原因ウイルスを対象としたELISA法[5]により抗体検出を行った。ELISA法で吸光度の高かった検体については、間接蛍光抗体法(IFA法)による抗体価の測定を行った。IFA法の抗原は、腎症候性出血熱の原因ウイルス3種(Hantaanウイルス、PuumalaウイルスおよびSeoulウイルス)を用い、抗体価16倍以上を陽性とした。

結 果

材料と方法

I. 蚊からのウイルス分離

平成29年4月から11月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、公園、観光地、山間部の計27地点で採集した蚊をウイルス分離に用いた(表1, 2)。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。細胞変性効果が現れた検体の培養上清について、ウエストナイルウイルス、デングウイルス、ジカウイルス、チクングニアウイルスを対象としたリアルタイムRT-PCR[1, 2, 3, 4]を実施した。

II. 野生げっ歯類の抗体調査

平成28年11月から平成30年2月に、富山空港、富山新港、伏木港、富山港、墓ノ木自然公園、黒部川河口、城山公園、ねいの里においてシャーマントラップまたは捕獲籠を用いて野生げっ歯類の捕獲を行った。捕獲された野生げっ歯類の血清を用いて、腎症候性出血熱およびハンタウイルス肺

I. 蚊からのウイルス分離

採集した蚊479プール(8,027個体)から、蚊媒介性ウイルスは分離されなかった。

II. 野生げっ歯類の抗体調査

平成28年11月から平成29年11月に、富山空港、富山新港、伏木港、墓ノ木自然公園、黒部川河口、城山公園、ねいの里において、シャーマントラップまたは捕獲籠を用いて捕獲した4種55頭(うち4頭は捕獲対象ではないジネズミおよびヒミズであった)の血清を検査に供した。

ELISA法でハンタウイルスに対する抗体検出を行ったところ、アカネズミおよびハツカネズミの計10検体で吸光度が陰性対照より高かった。IFA法による追加検査を行ったところ、いずれも抗体陰性であった(表3)。

考 察

本年度の調査では、海外から県内への蚊媒介性

1. 新潟検疫所富山空港出張所

ウイルスやハンタウイルスの侵入は確認されなかった。しかし、平成26年8月にはデング熱の国内感染事例が確認され、その後2か月余りで東京都を中心に162例の患者が報告された[6]。また、平成27年以降に南米で流行したジカ熱も、ヒトスジシマカが媒介することから、日本に侵入する可能性は否めない。その他、ウエストナイルウイルスが米国に侵入した例[7,8]、日本脳炎ウイルスがオーストラリアに侵入した例[9]、1970~80年代に日本へ輸入された実験動物ラットからハンタウイルスが広がった例[10]、および1980年代に全国の港湾地区でハンタウイルスに対する抗体を持つネズミが確認された例[10]など、動物由来感染症の侵入例が過去にも多数確認されていることから、今後の侵入に備え、引き続き監視体制を維持する必要があると考えられる。

謝 辞

本調査の実施にあたり、蚊検体の採集と分類・計数にご協力いただいた国立感染症研究所昆虫医科学部の渡辺護先生に深謝いたします。また、ご協力いただいた北海道大学獣医学部 荻和宏明先生、定点畜舎、国立感染症研究所昆虫医科学部、国立感染症研究所ウイルス第一部第二室の各位に感謝いたします。

文 献

1. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, et al. (2000). *J Clin Microbiol.*, 38, 4066-4071
2. 国立感染症研究所. デングウイルス感染症診断マニュアル. (2014). <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Dengue2014.pdf> (2018年8月2日アクセス可能)
3. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, et al. (2008). *Emerg Infect Dis.*, 14, 1232-1239
4. 国立感染症研究所. チクングニアウイルス検査マニュアル. (2013). <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/CHIKV.v1.1.pdf> (2018年8月2日アクセス可能)
5. Sanada T, Kariwa H, Saasa N, et al. (2012). *J Vet Med Sci.*, 74, 1237-1242
6. 国立感染症研究所. (2015). *IASR*, 36, 136
7. Asnis DS, Conetta R, Teixeira AA, et al. (2000). *Clin Infect Dis.*, 30,413-418
8. Petersen LR, Roehrig JT. (2001). *Emerg Infect Dis.*, 7, 611-614
9. Williams DT, Wang LF, Daniels PW, et al. (2000). *J Gen Virol.*, 81, 2471-2480
10. 有川二郎. (1999). *日獣会誌*, 52, 225-229

表1. ウイルス分離に用いた蚊 (地点別)

	採取地	個体数	プール数	
空港	富山空港	184	29	
	富山港	105	23	
	伏木港	58	12	
畜舎	富山新港	995	31	
	牛舎	富山市 4,582	107	
公園等	牛舎	射水市 387	24	
	太閤山ランド	射水市 1,049	140	
観光地	白鳥城址	富山市 313	29	
	高岡古城公園	高岡市 73	5	
	瑞龍寺	高岡市 57	6	
	相倉	南砺市 51	13	
	菅沼	南砺市 19	9	
	雄山神社	立山町 11	4	
	砂防博物館	立山町 28	9	
	宇奈月温泉	黒部市 35	11	
	山間部	利賀村(5地点)	南砺市 17	10
		芦峯寺(7地点)	立山町 63	17
計		8,027	479	

表2. ウイルス分離に用いた蚊 (種類別)

種名	個体数	プール数
コガタアカイエカ	4,755	126
ヒトスジシマカ	1,927	122
アカイエカ群	924	88
オオクロヤブカ	112	35
キンパラナガハシカ	98	29
シロカタヤブカ	95	24
ヤマトヤブカ	87	34
カラツイエカ	11	6
フタクロホシチビカ	9	8
ミスジヤブカ	3	2
ハマダライエカ	3	3
キンイロヌマカ	2	1
トウゴウヤブカ	1	1
計	8,027	479

表3. 野生げっ歯類におけるハンタウイルス抗体検出

捕獲年月	調査地点	種類	検体数	ハンタウイルスELISA		ハンタウイルスIFA抗体価		
				陰性	要検討	HTN	PUU	SEO
平成28年 11月	黒部川河口(黒部市) 墓ノ木自然公園(入善町)	アカネズミ	12	9	3	3	3	3
		アカネズミ	18	14	4	4	4	4
		ジネズミ	1	1				
平成29年	4月 城山公園(朝日町)	アカネズミ	2	2				
		ハツカネズミ	1	1				
	5月 富山新港	アカネズミ	1		1	1	1	1
		ハツカネズミ	2	2				
	8月 富山空港	ジネズミ	1	1				
		ハツカネズミ	1	1				
	11月	富山新港	ハツカネズミ	1		1	1	1
			アカネズミ	1	1			
		伏木港	ハツカネズミ	1		1	1	1
			アカネズミ	1	1			
富山空港	ハツカネズミ	1		1	1	1		
	ハツカネズミ	2	2					
	アカネズミ	9	9					
計		55	45	10	10	10	10	

HTN: Hantaanウイルス, PUU: Puumalaウイルス, SEO: Seoulウイルス

富山県内の下水流入水から検出された腸管系ウイルス (平成 29 年度)

板持 雅恵 米田 哲也 稲崎 倫子 佐賀由美子
青柳由美子 長谷川澄代 小淵 正次

Enteric Viruses in Raw Sewage in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2017

Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA,
Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI

エンテロウイルスやノロウイルスなどの腸管系ウイルスは、主に経口感染によってヒトの間を伝播し、上気道炎や、無菌性髄膜炎、脳炎、感染性胃腸炎等、種々の疾患の原因となる[1, 2]。これらの流行状況は年ごとに様々であり、ウイルスの種類によって病原性が異なるため、流行しているウイルスを把握することは、公衆衛生上重要であると考えられる。一方で、腸管系ウイルスには不顕性感染例も多い。これらのウイルスは、ヒトの小腸などで増殖した後に便中に排泄されるため、下水流入水中には多種類の腸管系ウイルスが含まれ、地域流行を反映すると考えられる。平成29年度は、国内外からの腸管系ウイルスの侵入を監視するために、県内の西部地区と東部地区の下水処理場それぞれ1か所に定点を設置し、地区別の腸管系ウイルス検出状況を比較したので、報告する。

材料と方法：2017年4月～2018年3月の間に、県内の西部地区と東部地区に位置する下水処理場において、月1回、下水流入水を2リットル採取した。それぞれの下水処理場の概要を表1に示す[3]。

表1. 下水流入水の採取地の概要*

下水処理場	県西部	東部
下水排除方式	分流式	分流式
処理水量(平均)	71,356 m ³	1,513 m ³
処理区域内人口	204.6千人	468人
観光人口(計画)	-	3.2千人
水洗化率(%)	91.0	99.4

* 平成28年度末現在

下水流入水は、3,000rpm, 30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」[4, 5]により濃縮した。即ち、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、 1.0×10^{-3} N NaOH (pH 10.5) 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、100×TE Buffer (pH8.0) 100 μLと0.1N硫酸50 μLを加えた後、4℃で10,000rpm, 30分間遠心した。遠心上清を回収し、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, HEp-2, L20B)に、1番溶出液は各細胞当たり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。

また、濃縮処理後の下水流入水、または分離ウイルスについて、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いてRNAを抽出後、濃縮下水については、DNase処理を行なった。抽出RNAにランダムヘキサマーおよびSuper Script III Reverse Transcriptase (Thermo Fisher Scientific)を加え、逆転写反応でcDNAを作製後、Ex Taq (Takara Bio)を用いてPCRを行った。PCRのプライマーは、ノロウイルス Genogroup I (GI)用に、GI-SKFおよびGI-SKR、ノロウイルスGII用に、GII-SKFおよび

GII-SKR [6] を、サポウイルス用に、SV-F11およびSV-R1, SV-F2, SV-R2 [7] を用いた。エコーウイルス 3 型と 6 型の分離株については、VP 1 領域解析用にプライマーを作製し、PCRを行った (表 2)。遺伝子解析用のエコーウイルス 3 型は富山県の実験室から分離された 87 株のうち 26 株、エコーウイルス 6 型は分離株 22 株のうち 13 株をそれぞれランダムに選定した。ウイルスの塩基配列はダイレクトシークエンス法により決定した。分子系統樹は、MEGA6 [8] を用いて最尤法により作成した。エコーウイルス 3 型と 6 型の遺伝子型別はそれぞれ Kyriakopoulouら [9]、および Smuraら [10] の型別に従った。

表 2. エコーウイルス 3 型, 6 型用のプライマー

Primer	Sequence (5' - 3')	Position*
E3_2337F	CCWGGRCRCRCWYCWTCTCGT	2337-2355
E3_3457R	GTWGTGCTTSACYARWAGRTC	3816-3799
E6_2355F	GYGTCATMYTGTGCTTYGTRTC	2355-2376
E6_3314R	CGTRSKTYTCCAYRTGYGT	3314-3296

(混合塩基 R: A/G, Y: T/C, S: G/C, W:A/T)

* Positionはそれぞれエコーウイルス 3 型Morrisey (Accession no. AY302553), エコーウイルス 6 型D'Amori (Accession no. AY302558) を基準にした。

大腸菌群数の測定は、滅菌水で10倍希釈した下水流入水を 1 mL ずつ直径90mmのディッシュに入れ、20mLのデソキシコレート培地を加えて混合した。次いで、7 mLのデソキシコレート培地を重層した後、35°Cで一晩培養した。培養後、出現した赤色のコロニー数を計測して、大腸菌群数 (CFU/mL) とし、2枚のディッシュのコロニー数を平均した。

結果: 図 1 に、西部地区と東部地区の下水流入水からの月別ウイルス検出状況 (平成29年度) を示した。ポリオウイルスは、西部地区、東部地区ともに分離されなかった。西部地区と東部地区の下水流入水からのウイルス検出数を比較すると、エンテロウイルスでは、西部地区においてコクサッキーウイルス B 4 型 1 株、エコーウイルス 3 型 72 株、エコーウイルス 6 型 3 株、エコーウイルス 25 型 1 株の計 4 種類 77 株が、東部地区において、エコーウイルス 3 型 15 株、エコーウイルス 6 型 19 株の計 2 種類 34 株がそれぞれ分離された。ノロウイルスでは、西部地区において GI. 2 が 1 サンプルから、GI. 6 が 2 サンプルから、GII. 4 が 5 サンプ

ルから、GII. 17 が 2 サンプルから検出された。東部地区では GII. 4 と GII. 17 がそれぞれ 1 サンプルから検出された。サポウイルスでは、西部地区において GI. 1 が 1 サンプル、GI. 2 が 5 サンプル、GII. 1 が 1 サンプルから検出された。東部地区では、GI. 1 と GI. 2 がそれぞれ 1 サンプルから検出された。検出されたエンテロウイルス、ノロウイルス、サポウイルスは、西部地区の方が東部地区よりも種類、数ともに多かった。

月別では、エコーウイルス 3 型が西部地区では 8 ~ 1 月に計 72 株、東部地区では 9 ~ 11 月に計 15 株、エコーウイルス 6 型が西部地区では 4 月と 9 月に計 3 株、東部地区では 4 月と 8 月に計 19 株、それぞれ分離された。その他、西部地区では、エコーウイルス 25 型が 1 月に 1 株、コクサッキーウイルス B 4 型が 11 月に 1 株、それぞれ分離された。

ノロウイルスは、GII. 4 が西部地区では 5 ~ 7 月と 12 ~ 1 月に、東部地区では 1 月に、GII. 17 が西部地区では 2 ~ 3 月に、東部地区では 3 月にそれぞれ検出された。その他、西部地区ではノロウイルス GI. 2 が 1 月に、GI. 6 が 5 月と 2 月にそれぞれ検出された。

サポウイルスは、GI. 1 が西部地区では 4 月に、東部地区では 5 月に、GI. 2 が西部地区では 10 月と 12 ~ 3 月に、東部地区では 4 月にそれぞれ検出された。また、西部地区では GII. 1 が 9 月に検出された。

下水流入水中の大腸菌群数は、西部地区では 2 月の 1.1×10^5 CFU/mL から 10 月の 9.6×10^5 CFU/mL までを示し、平均は 3.5×10^5 CFU/mL であった。東部地区では 2 月の 1.5×10^4 CFU/mL から 4 月の 2.5×10^5 CFU/mL までを示し、平均は 8.5×10^4 CFU/mL であった。下水流入水中の大腸菌群数は、西部地区の方が東部地区よりも 1.1 ~ 25.3 倍多かった (図 2)。

両地区で分離数が多かったエコーウイルス 3 型と 6 型について、ウイルスの由来や関連を調べるために、系統樹解析を行った (図 3, 4)。エコーウイルス 3 型では、調査期間中の富山県内における分離株はすべて遺伝子型 C2d [9] に分類された。遺伝子型 C2d には 2010 年に大阪市で分離された株 [11] も含まれており、大阪市の株との一致率は 93.8 ~ 95.5% であった。解析した富山県の実験室から分離された 2 株が他の分離株と 3.4 ~ 5.5% 塩基配列が異なり、C2d 内でのクラスターを別にしたが、その他の 8 ~ 1 月の分離株では、遺伝的に近縁なウイルスが両地区で見られた。

エコーウイルス 6 型では、解析した富山県の分離株はすべて遺伝子型 C 1 [10] に分類された。BLAST 検索により塩基配列の一致率が 94~96% と高かったのは、2011 年にフランスで分離された株 [12] であった。富山県内の分離株では、4 月の県西部地区と 4 月の東部地区における分離株は、塩基配列の一致率が 97.1~97.3% と高かった。東部地区における 4 月と 8 月の分離株は、塩基配列の一致率が 97.5~97.9% であった。

考察：西部地区、東部地区ともに、下水流入水からポリオウイルスは検出されず、県内においてポリオウイルス感染者が存在する可能性は少ないと考えられた。

エンテロウイルスでは、平成 29 年 8 月~平成 30 年 1 月にエコーウイルス 3 型が、4 月および 8~9 月にエコーウイルス 6 型がそれぞれ検出された。したがって、県内においてこれらのウイルスの感染者が多かったことが推測された。

ノロウイルスでは、下水流入水中からの検出頻度の高かった GII. 4, GII. 17, 5 月と 2 月に西部地区で検出された GI. 2 は、県内の胃腸炎の患者からも検出されており [14]、下水流入水中のノロウイルスは地域における流行状況を反映したものと考えられた。

サポウイルスでは、GI. 2 が下水流入水からの検出頻度が高かったが、今年度の感染症発生動向調査や胃腸炎の集団発生事例からは、検出例がなかった [14]。この理由として、患者からの検体数が少なく、ヒトでの感染状況の把握が不十分であったことが考えられるが、GI. 2 の不顕性感染が多かった可能性も存在する。

西部地区と東部地区の下水流入水におけるウイルス検出状況を比較すると、西部地区の方がウイルスの種類、数ともに多かった。下水流入水中の大腸菌群数も市街地の方が観光地よりも 1.1~25.3 倍多かったことから、市街地のウイルス検出数が多いのは、流域人口の違いによるものと推測された。ウイルスの検出時期は、両処理場で 1~数か月ずれたこともあったが、ほぼ同時期であった。東部地区の下水処理場は、観光地が含まれている。観光に訪れる人のうち、5% (23 千人) が外国人 (大部分が台湾や中国、韓国などアジア地域の人) である [観光部局私信]。観光地では、様々な地域の人々が訪れており、その下水流入水中にはそれらの人々の排泄したウイルスも含まれていると考えられる。しかしながら、東部地区の下水流入水か

ら検出されたウイルスは、西部地区からも検出されており、東部地区のみ検出されたウイルスはなかった。エコーウイルス 3 型と 6 型の遺伝子解析結果からも、西部地区と東部地区で検出されたウイルスの塩基配列の一致率は 94.5% 以上と高く、遺伝子型も限られていた (それぞれ C2d と C 1)。エコーウイルス 3 型、および 6 型 VP 1 領域塩基配列の進化速度は、それぞれ 8.13×10^{-3} 、および 7.69×10^{-3} substitutions per site per year と他のエンテロウイルスと同様で早いことが報告されている [9, 10]。エコーウイルスは世界中で様々な遺伝子系統のウイルスが伝播を繰り返して流行を起こしているが [9, 10]、本調査では、西部地区と東部地区の下水流入水からはほぼ同時期に遺伝的に近縁なウイルスが検出されていたことから、両地区のウイルス流行には関連があることが考えられた。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた下水道処理施設、富山県都市計画課、健康課、その他関係各位に深謝いたします。

文 献

1. Hedberg, C.W. and Osterholm, M.T. (1993). *Clin. Microbiol. Rev.*, 6, 199-210
2. Chiba, S., Nakata, S., Numata-Kinoshita, K., Honma, S. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S303-308
3. 富山県土木部都市計画課 (2018). 富山県の下水道 平成 30 年 3 月, 1-124
4. 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
5. 板持雅恵, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報 (平成 28 年度), 40, 55-60
6. Kojima, S., Kageyama, T., Fukushi, S., Hoshino, F.B., Shinohara, M., Uchida, K., Natori, K., Takeda, N., Katayama, K. (2002). *J. Virol. Methods.*, 100, 107-114
7. Okada, M., Shinozaki, K., Ogawa, T., Kaiho, I. (2002). *Arch. Virol.*, 147, 1445-1451
8. Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., et al. (2013). *Mol. Biol. Evol.*, 30, 2725-2729

9. Kyriakopoulou, Z., Bletsas, M., Tsakogiannis, D. et. al. (2015). *Infect. Genet. Evol.*, 32, 305-312
10. Smura, T., Kakkola, L., Blomqvist, S. et. al. (2013). *Infect. Genet. Evol.*, 16, 234-247
11. Sekiguchi, J., Kubo, H., Kaida, A., et. al. (2011). *Jpn. J. Infect. Dis.*, 64, 533-535
12. Volle, R., Bailly, J. L., Mirand, A., et. al. (2014). *J. Infect. Dis.*, 210, 576-584
13. Cabrerizo, M., Trallero, G., Simmonds, P. (2014). *J. Med. Virol.*, 86, 857-864
14. 稲崎倫子, 青柳由美子, 長谷川澄代, 他. (2018). 富山県衛生研究所年報 (平成29年度), 41, 27-31

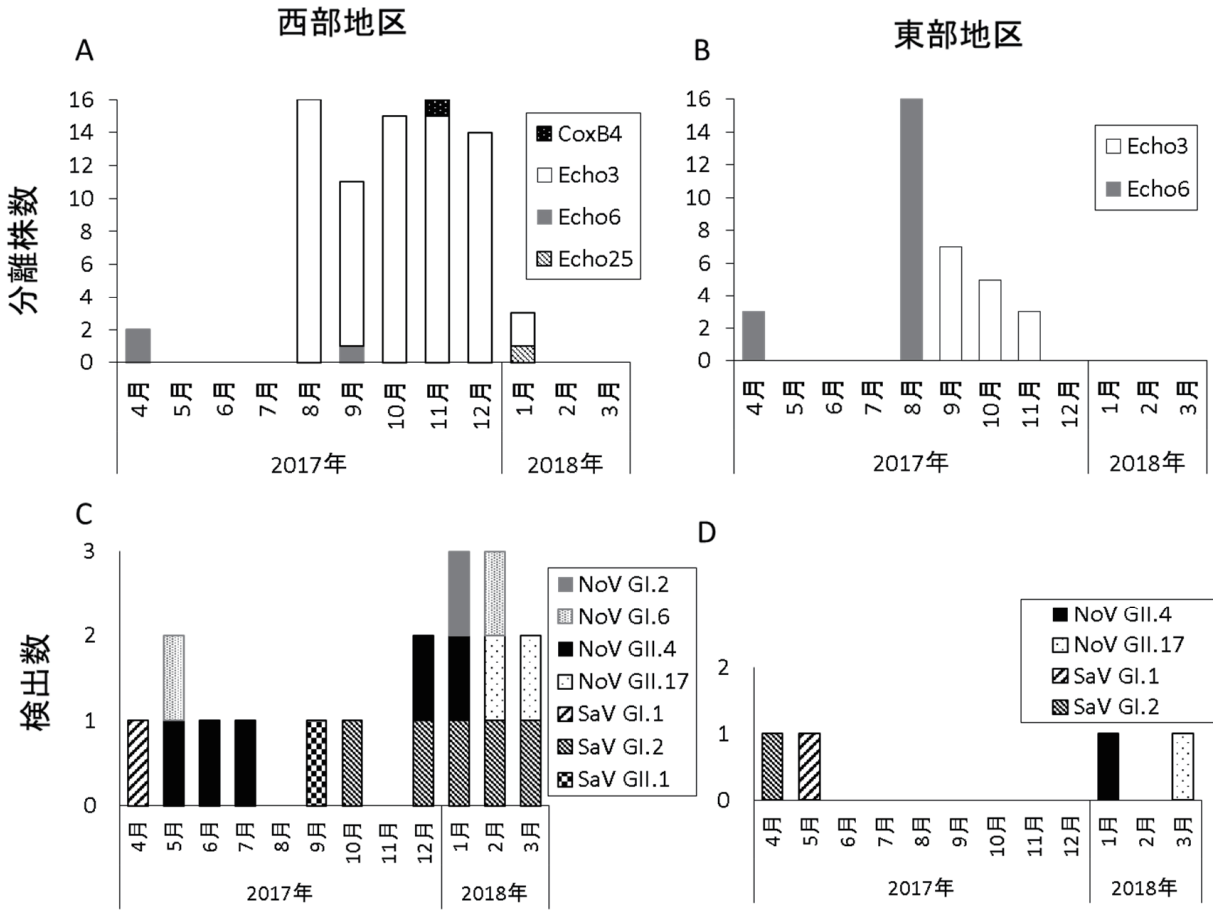


図1. 西部地区と東部地区の下水流入水から検出されたウイルス（平成29年度）
西部地区，東部地区の下水流入水から検出されたエンテロウイルス（それぞれA，B），
ノロウイルス，およびサポウイルス（それぞれC，D）

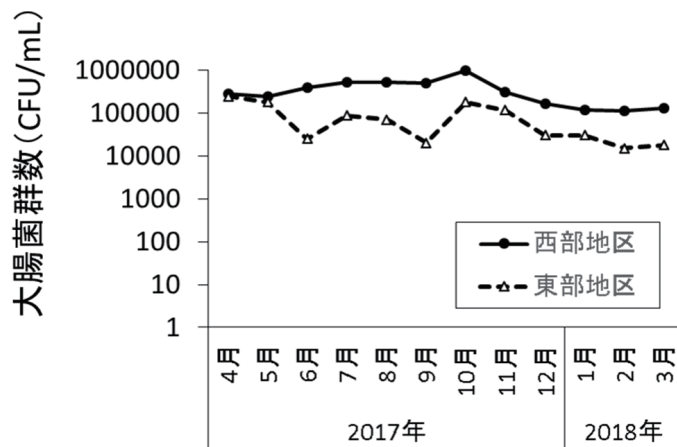


図2. 西部地区と東部地区の下水流入水中の大腸菌群数

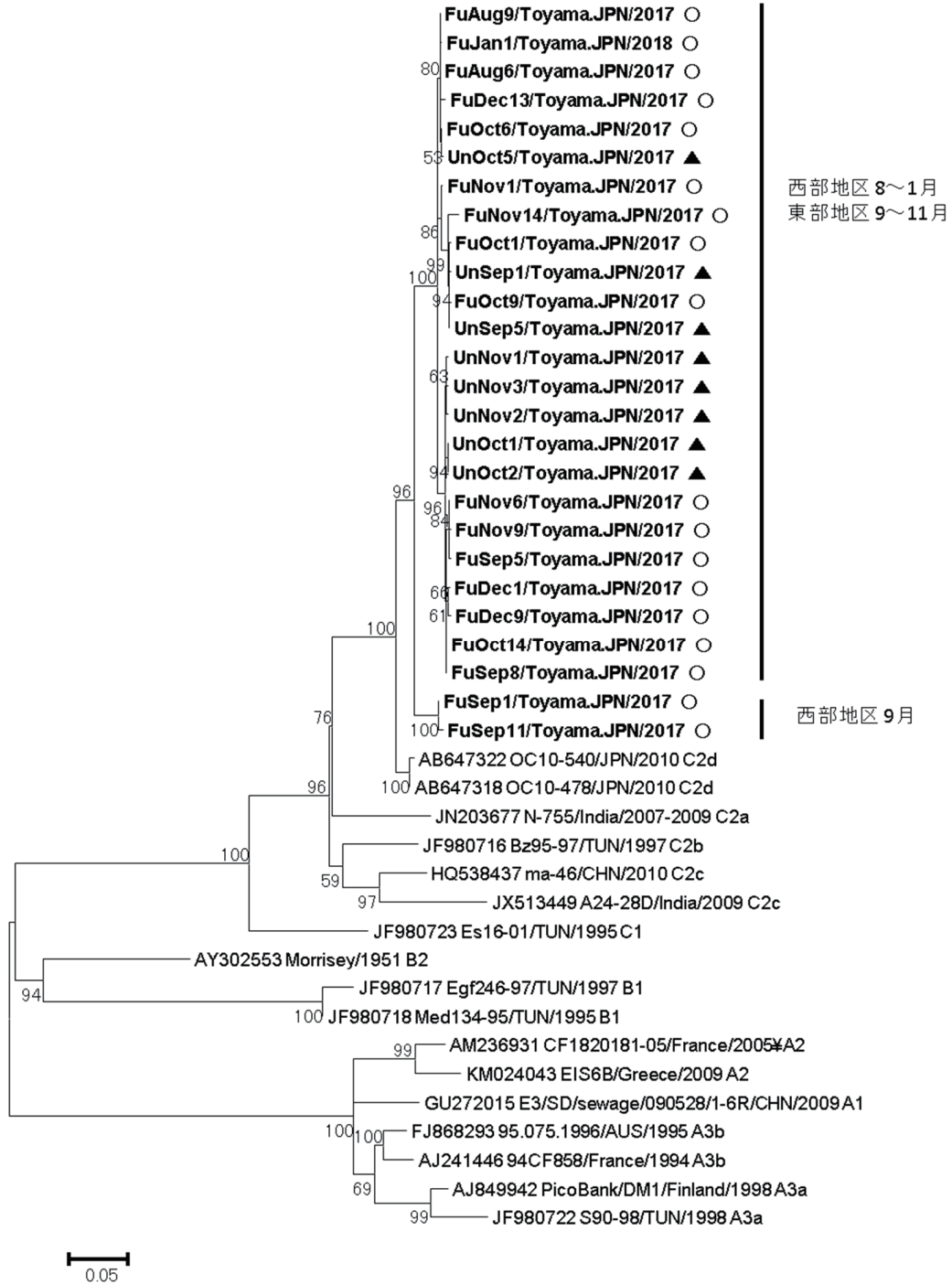


図3. エコーウイルス3型VP1全領域(876塩基)の最尤法による分子系統樹。
 ブートストラップ値は1000回繰り返して決定し、50%以上の値を示した。
 富山県内の下水流入水からの分離株は、太字で示した(○:西部地区, ▲:東部地区)

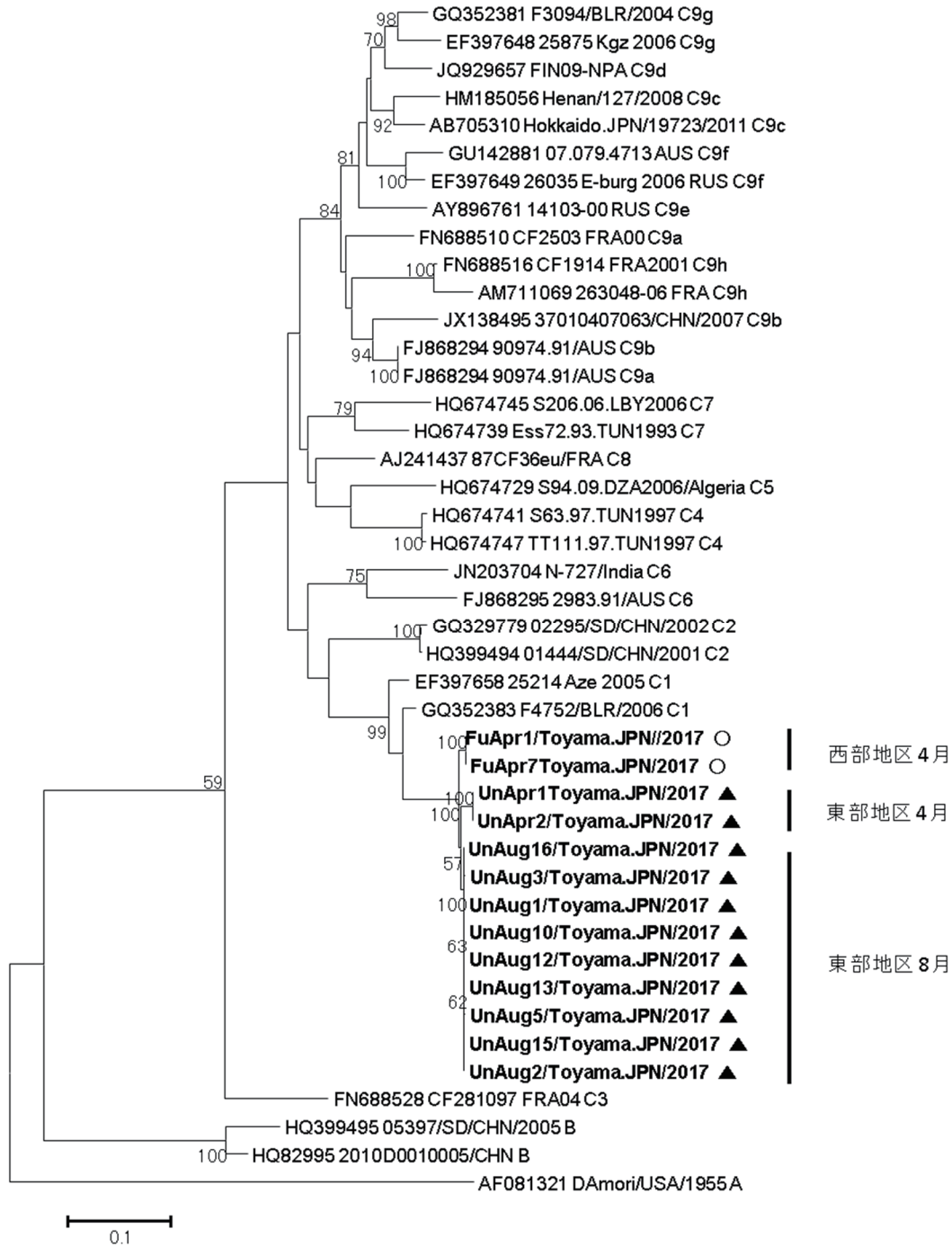


図4. エコーウイルス6型VP1部分領域(806塩基)の最尤法による分子系統樹。
 ブートストラップ値は1000回繰り返して決定し、50%以上の値を示した。
 富山県内の下水流入水からの分離株は、太字で示した(○:西部地区, ▲:東部地区)。

麻疹ウイルスと風疹ウイルスを対象とした リアルタイムPCRの迅速化

板持 雅恵 米田 哲也 成相 絵里¹ 倉本 早苗¹
五十嵐映子² 酒井 妙子² 稲崎 倫子 佐賀由美子
名古屋真弓 小淵 正次

Fast Real-time PCR for Measles Virus and Rubella Virus

Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Eri NARIAI¹, Sanae KURAMOTO¹,
Eiko IGARASHI², Taeko SAKAI², Noriko INASAKI, Yumiko SAGA,
Mayumi NAGOYA and Masatsugu OBUCHI

麻疹、風疹は、ともに発熱と発疹を主徴としたウイルス感染症である。麻疹では症状の重篤さや伝播の容易さが、風疹では先天性風疹症候群の発生などがそれぞれ公衆衛生上の問題であることから、世界保健機関（WHO）は、麻疹、風疹の世界的な排除を目標としている[1]。日本では、麻疹の排除状態を維持し、風疹の排除を達成するために、特定感染症予防指針により、ワクチン接種の普及や国内でのすべての発生症例を把握する等、対策が強化されている。麻疹と風疹の検査診断には、血清中のIgM抗体検査とともに、ウイルス遺伝子を検出するためのリアルタイムPCR法が広く用いられている。地方衛生研究所では、麻疹や風疹と診断された症例や疑い例について、病原体検査を行っており、両ウイルスを同時に検査する機会が多い。そこで、本研究では、検査時間を短縮し、麻疹、風疹ウイルスの感染制御に役立てるために、リアルタイムPCRの迅速化について検討した。

材料と方法：サンプルは、陽性コントロールRNA（国立感染症研究所分与）を 5×10^4 コピー/ $5 \mu\text{L}$ から 5×100 コピー/ $5 \mu\text{L}$ まで10倍階段希釈したもの、および麻疹ウイルス、または風疹ウイルスが陽性と判定された過去の臨床検体（咽頭拭い液、末梢血単核球、血漿、尿）を用いた。臨床検体 $140 \mu\text{L}$ からQIAmp RNA mini kit (QIAGEN) を用いてRNA $60 \mu\text{L}$ を抽出した。

試薬は病原体検査マニュアル（国立感染症研究所）[2, 3] に従い、4×Taqman Fast Virus 1-step Master Mix (Thermo Fisher SCIENTIFIC)

と麻疹ウイルス用プライマーMVN1139F, MVN1213R, プローブMVNP1163P, または風疹ウイルス用プライマーNS (32-54) Fwd, NS (143-160) Rev, プローブNS (93-106) Probeを用いた。

測定機器はApplied Biosystemsの7500, 7500 Fast, およびStepOnePlusを用いた。

リアルタイムPCRの反応時間は、従来法では逆転写反応 50°C 5分, 95°C 20秒の後、熱変性 95°C 15秒, アニーリングと伸長反応 60°C 1分を40回サイクル行った。迅速法では、逆転写反応時間は従来法と同じである（ 50°C 5分, 95°C 20秒）が、熱変性 95°C が15秒のところ3秒, または5秒, アニーリング・伸長反応 60°C 60秒のところ, 30秒, または35秒に短縮させ、これを40サイクル行った（迅速法1： 95°C 5秒, 60°C 30秒, 迅速法2： 95°C 5秒, 60°C 35秒, 迅速法3： 95°C 3秒, 60°C 35秒）。各条件を2反応ずつ3回以上繰り返してCt値やSlopeなどを求め、従来法における値と比較した。

なお、調査内容は富山県衛生研究所倫理審査委員会により承認を受けた（承認番号：30-2）。

結果：反応時間別の陽性コントロールRNAの検出感度

従来法と迅速法による麻疹ウイルス、風疹ウイルスの検出感度について、陽性コントロールRNAを用いて検討した。測定機器は、7500, 7500 Fast (Applied Biosystems) を用いた。図1に、リアルタイムPCRの反応時間別の陽性コントロールRNA量とCt値の関係を示す。麻疹ウイルスでは、従来法（ 95°C 15秒, 60°C 1分）、迅速法1（ 95°C 5秒,

1. 石川県保健環境センター, 2. 福井県衛生環境研究センター

60°C30秒), 迅速法2 (95°C 5秒, 60°C35秒), 迅速法3 (95°C 3秒, 60°C35秒)による最小二乗法で求めた検量線はそれぞれ $y = -3.41x + 38.9$, $y = -3.42x + 38.9$, $y = -3.42x + 39.0$, $y = -3.38x + 39.3$ であり, 決定係数 (R^2) はそれぞれ0.9996, 0.9999, 1, 0.9989であった. 従来法と迅速法1, 2, 3による麻疹ウイルスRNA量ごとのCt値に有意な差はみられなかった ($P > 0.05$). 検出限界をみると, 従来法, 迅速法1, 2, 3ともに50コピーまで6~8反応すべてで検出された (検出率100%). 5コピーでは迅速法3が6反応中5反応で検出された (検出率83.3%) が, 従来法, 迅速法1, 2では6~8反応すべてで検出され検出率100%であった. 麻疹ウイルスでは, 従来法と迅速法1, 2, 3の再現性および検出感度はほぼ同等であった.

風疹ウイルスでは, 従来法, 迅速法1, 迅速法2, 迅速法3による最小二乗法で求めた検量線は

それぞれ $y = -3.26x + 38.6$, $y = -2.99x + 38.3$, $y = -3.42x + 39.0$, $y = -3.27x + 38.8$, 決定係数 (R^2) はそれぞれ0.9976, 0.9993, 1, 0.9998であった. 迅速法1では, 検量線のSlope (傾き) が-2.99と従来法の-3.25に比較して緩やかなこと, およびCt値が従来法に比較して有意に高いこと ($P < 0.05$) から, 風疹ウイルスRNAの増幅効率が落ちることが示唆された. 一方, 迅速法2, 3は, 従来法と同等の検量線およびCt値であった ($P > 0.05$). 検出限界をみると, 従来法, 迅速法1, 2, 3ともに50コピーまで6~10反応すべてで検出された (検出率100%). 5コピーでは従来法が8反応中8反応で検出され (検出率100%) たが, 迅速法1が8反応中7反応で (陽性率83.3%), 迅速法2が10反応中9反応で (陽性率90.0%), 迅速法3が6反応中5反応で (陽性率83.3%) それぞれ検出された.

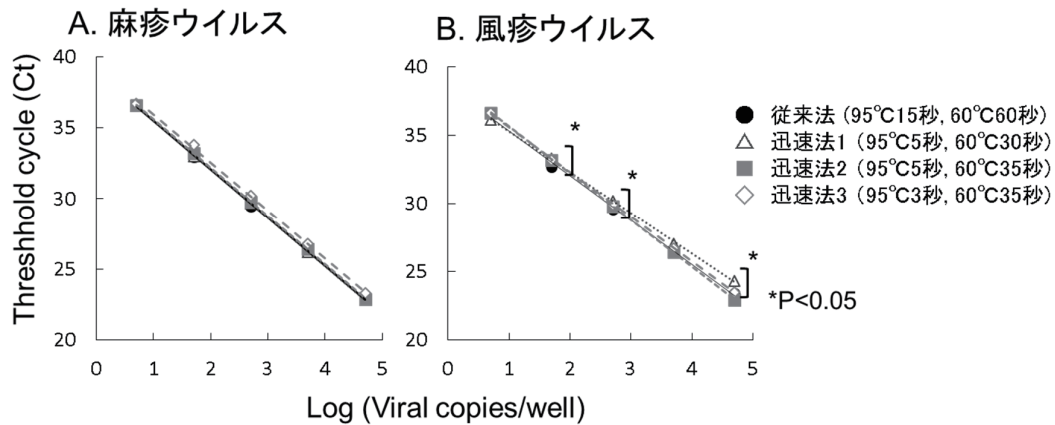


図1. リアルタイムPCR反応時間ごとの陽性コントロールRNA量とCt値の関係

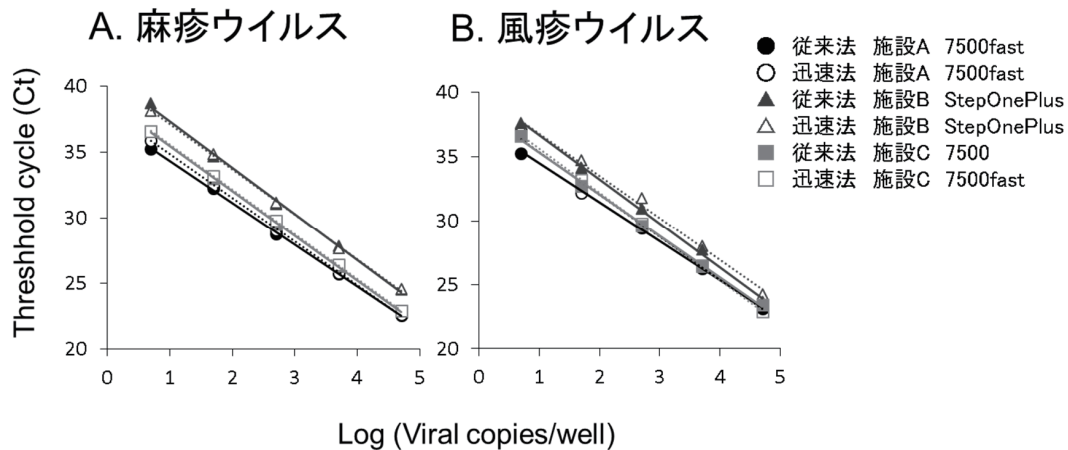


図2. 施設別, 機器別の陽性コントロールRNAによる標準曲線. 迅速法は, 熱変性を5秒, アニーリング・伸長反応を35秒に短縮した.

以上の結果から、迅速法2の熱変性を5秒、アニーリング・伸長反応を35秒に短縮する方法で、従来法と同等の再現性、検出感度が得られた。

施設別、機器別の陽性コントロールRNAの検出感度

熱変性を5秒、アニーリング・伸長反応を35秒まで短縮した迅速法について、施設別、機器別の麻疹ウイルス、風疹ウイルスの陽性コントロールRNAの検出感度を検討した。施設Aは、7500fastを、施設BはStepOnePlusを、施設Cは7500と7500fast（すべてApplied Biosystems）をそれぞれ用いた。図2に、施設別、機器別の陽性コントロールRNAによる標準曲線を示す。このうち、施設Cの標準曲線は、図1における従来法と迅速法2の値と同じである。麻疹ウイルスの従来法、および迅速法による検量線は、施設Aではそれぞれ $y = -3.20x + 37.6$ ($R^2 = 0.9994$)、 $y = -3.33x + 38.2$ ($R^2 = 0.9998$)、施設Bではそれぞれ $y = -3.53x + 40.9$ ($R^2 = 0.9977$)、 $y = -3.44x + 40.6$ ($R^2 = 0.9993$) であった。風疹ウイルスの従来法、および迅速法による検量線は、施設Aではそれぞれ $y = -3.05x + 37.5$ ($R^2 = 0.9994$)、 $y = -3.31x + 38.6$ ($R^2 = 0.9893$)、施設Bではそれぞれ $y = -3.44x + 40.1$ ($R^2 = 0.9981$)、 $y = -3.28x + 40.1$ ($R^2 = 0.9934$) であった。同施設の同機器では、麻疹ウイルス、風疹ウイルスともに従来法と迅速法によるウイルスRNA量ごとのCt値に有意な差はみ

られなかった ($P > 0.05$)。

計3施設の麻疹、風疹ウイルス陽性コントロールRNAの検出限界を表1に示す。麻疹ウイルスの従来法、迅速法、風疹ウイルスの従来法、迅速法すべてで50コピーのRNA量まで検出率100%（陽性数/検査数はそれぞれ19/19、20/20、20/20、22/22）であった。5コピーのRNA量では、麻疹ウイルスの従来法では94.7%（18/19）、迅速法では95.0%（19/20）、風疹ウイルスの従来法では70.0%（14/20）、迅速法では95.5%（21/22）であった。

また、分散分析の結果、陽性コントロールRNAの各希釈系列でのCt値に関する変動係数は、麻疹ウイルスの従来法、迅速法、風疹ウイルスの従来法、迅速法で、それぞれ3.41~3.90%、2.98~3.80%、2.08~2.91%、2.76~3.77%であった。したがって、麻疹ウイルス、風疹ウイルスともに、従来法と迅速法の再現性および検出感度はほぼ同等であった。

臨床検体の検出感度

図3に麻疹、風疹ウイルス陽性臨床検体における従来法、および迅速法による測定値を示す。迅速法での患者検体13件（麻疹8件、風疹5件）による測定値は、従来法での測定値と良好な相関を示した（麻疹ウイルス： $y = -0.975x + 0.137$ 、 $R^2 = 0.9974$ 、風疹ウイルス： $y = 1.065x + 0.054$ 、 $R^2 = 0.972$ ）（図3A）。両方法での測定値の関係を

表1. 麻疹、風疹ウイルス陽性コントロールRNAの検出限界（3施設の合計）

	従来法					迅速法*				
	RNA コピー数 (copies/well)					RNA コピー数 (copies/well)				
	5×10^0	5×10^1	5×10^2	5×10^3	5×10^4	5×10^0	5×10^1	5×10^2	5×10^3	5×10^4
麻疹	N=19					N=20				
Ct 値の平均	36.4	33.0	29.5	26.4	23.1	36.6	33.3	29.8	26.4	23.1
標準偏差	1.41	1.13	1.03	0.93	0.90	1.09	1.07	0.89	0.81	0.88
変動係数(CV%)	3.88	3.41	3.50	3.51	3.90	2.98	3.22	2.98	3.05	3.80
陽性数	18	19	19	19	19	19	20	20	20	20
陽性率(%)	94.7	100	100	100	100	95.0	100	100	100	100
風疹	N=20					N=22				
Ct 値の平均	36.4	32.9	29.8	26.6	23.3	36.7	33.0	30.0	26.8	23.4
標準偏差	1.06	0.85	0.73	0.69	0.48	1.01	1.17	1.13	0.90	0.83
変動係数(CV%)	2.91	2.59	2.45	2.61	2.08	2.76	3.54	3.77	3.37	3.54
陽性数	14	20	20	20	20	21	22	22	22	22
陽性率(%)	70.0	100	100	100	100	95.5	100	100	100	100

*迅速法は、熱変性を5秒、アニーリング・伸長反応を35秒に短縮した。

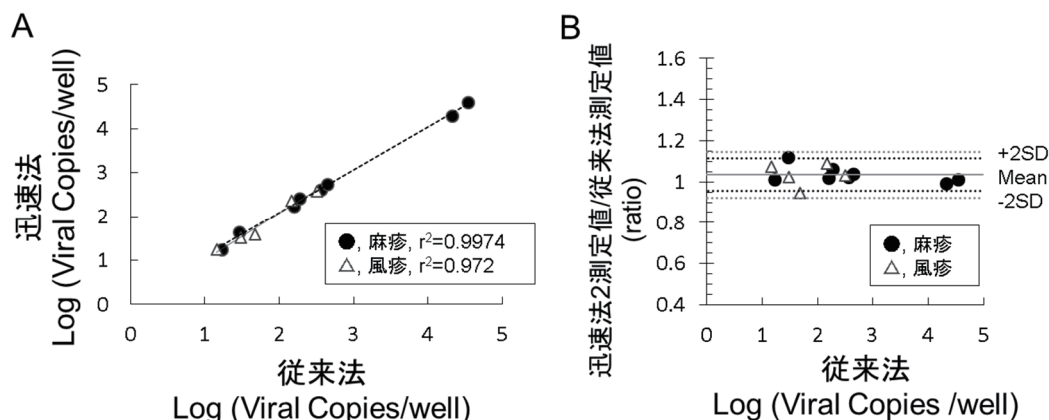


図3. 麻疹、風疹ウイルス陽性臨床検体における従来法、および迅速法による測定値
 A. 従来法と迅速法との相関, B. 従来法と迅速法による測定値の比率.
 * 迅速法は、熱変性を5秒、アニーリング・伸長反応を35秒に短縮した。
 麻疹：N=8, genotype D4: 3件, D8: 5件, 風疹：N=5, genotype 1E: 3件, 2B: 2件.
 検体内訳：咽頭拭液4, 末梢血単核球2, 血清4, 尿3

調べると、従来法と迅速法の測定値の比は、麻疹が0.993~1.121, 平均1.035, 標準誤差0.014, 風疹が0.948~1.091, 平均1.034, 標準誤差0.025であり、測定値の間に有意な差はみられなかった ($P > 0.05$) (図3B).

考察：本調査では、麻疹、風疹ウイルスの検査にかかる時間を短縮し、素早い感染制御や防疫対策に役立てるため、リアルタイムPCRの反応時間の短縮化について検討した。

病原体検出マニュアル[2, 3]では、リアルタイムPCR法による麻疹ウイルス、および風疹ウイルス検査の最適化基準として、Ⅰ. 段階希釈したウイルス参照RNAで作製した検量線のSlope (傾き) が、-3.1から-3.8の間であること (1サイクルで2倍のDNA断片に増幅する理想的なPCR反応の場合、Slopeは-3.32になる。), Ⅱ. 段階希釈したウイルス参照RNAで作製した検量線のR²値が0.98以上であること, Ⅲ. 50コピー/反応のウイルス参照RNAがCt値40以下で検出されることとされる。

今回検討した迅速法では、熱変性95°Cを15秒から5秒に、アニーリング・伸長反応を60°C60秒から35秒にそれぞれ短縮し、これを40サイクル行うことで、従来法と同等の検出感度が得られ、病原体検出マニュアルにおける最適化基準も満たされた。迅速法では、サンプルRNAを測定機器にセットしてから結果が判明するまでの時間が約53分であり、従来法と比較して約32分短縮された。リアルタイムPCRの反応時間の調整により、麻疹ウイ

ルス、および風疹ウイルス遺伝子の検出感度を保ちながら、検査の所要時間を短縮することが可能であると考えられた。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、陽性コントロールRNAを分与下さった国立感染症研究所の森 嘉生先生、關 文緒先生に深く御礼申し上げます。

本調査は、AMED 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「麻疹ならびに風疹の排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室診断および国内ネットワーク構築に資する研究」(課題番号JP16fk0108113j0001)の支援を受けた。

文 献

1. WHO (2018). Weekly epidemiological record, 93, 229-240
2. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2017). 病原体検出マニュアル 麻疹(第3.4版), 1-34. <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/measles.v3-4.2017Mar.pdf> (2018年8月2日アクセス可能)
3. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2017). 病原体検出マニュアル 風疹(第3.2版), 1-44. https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Rubella20170801_v3_2.pdf (2018年8月2日アクセス可能)

感染症媒介蚊の生息状況調査 (平成 29 年)

佐賀由美子 長谷川澄代 稲崎 倫子 板持 雅恵
米田 哲也 青柳由美子 小淵 正次

Distribution of Mosquitoes in Toyama Prefecture, 2017

Yumiko SAGA, Sumiyo HASEGAWA, Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI,
Tetsuya YONEDA, Yumiko AOYAGI and Masatsugu OBUCHI

蚊媒介ウイルス感染症には、デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症、日本脳炎、ウエストナイル熱などがある。国内では、毎年少数ではあるが日本脳炎の国内発生が報告されている他、デング熱やチクングニア熱等の輸入症例が継続的に報告されている[1]。平成26年には、デング熱の国内感染症例が69年ぶりに発生し、最終的に162例が報告された[2]。平成27年以降はデング熱の国内感染症例は報告されていないものの、輸入症例は近年増加傾向にある[2]。国内にも広く分布するヒトスジシマカ *Aedes albopictus* によって媒介されるデング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症は、ヒト→蚊→ヒトの感染環を持つため、散发例に止まらず地域流行する恐れがあり、重点的に対策を行う必要がある。デング熱等の蚊媒介性感染症対策を行うためには、媒介蚊の生息状況を把握することが求められる。そこで本県では、蚊の発生活長や、外国からの観光客によって蚊媒介性ウイルスの持ち込まれる可能性のある観光地における蚊の分布状況を調査している。本稿では、平成29年の蚊の発生活長および観光地における蚊の分布状況を報告する。

材料と方法

I. 蚊の発生活長調査

平成29年5月～11月に、県内の訪問者数が多い公園等2地点で調査を行った(表1, 図1)。白鳥城址では月2回、太閤山ランドでは週1回調査を行った。

蚊の捕集は、白鳥城址では8分間人囮法のみで行った。太閤山ランドでは、8分間人囮法とCDCトラップ(誘引源のドライアイス約1kgと共に地上約1～1.5mの高さに設置し、一晚作動)を用いた。このようにして得られた蚊類を、検査室にて分類・計数した。

II. 蚊の分布状況調査

平成29年7月～9月に、県内の観光地7地点で調査を行った(表1, 図1)。

蚊成虫の捕集は、8分間人囮法および前述のとおり作動させたCDCトラップを用いて行った。雨水枡やビニルシート等の蚊幼虫は、溜まった水とともに柄杓またはスポイトで採集した。立山町芦峠寺の2地点は、オビトラップを設置し、卵および孵化した幼虫を採集した。採集した卵および幼虫は研究室で飼育し、3～4齢幼虫に発育または

表1. 蚊の発生活況調査地点

区分	調査場所	市町村	調査時期(頻度)	成虫調査方法		幼虫調査方法	
				人囮法	CDCトラップ	柄杓等	オビトラップ
発生 消長	1 太閤山ランド	射水市	5～11月(毎週)	○	○	ND	ND
	2 呉羽丘陵(白鳥城址)	富山市	5～11月(月2回)	○	ND	ND	ND
観 光 地 の 分 布	① 高岡古城公園	高岡市	8/7、9/11	○	○	ND	ND
	② 瑞龍寺	高岡市	8/7、9/11	○	○	○	○
	③ 宇奈月温泉	黒部市	7/20、8/21、9/21	○	○	○	ND
	④ 五箇山(相倉集落)	南砺市	7/26、8/24、9/19	○	○	○	○
	⑤ 五箇山(菅沼集落)	南砺市	7/26、8/24、9/19	○	○	○	○
	⑥ 芦峠寺(雄山神社)	立山町	7/18、8/29、9/14	○	○	○	○
	⑦ 芦峠寺(立山カルデラ砂防博物館)	立山町	7/18、8/29、9/14	○	○	○	○

○:調査実施 ND:調査せず

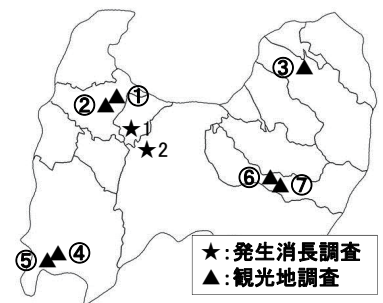


図1. 蚊の発生活況調査地点

成虫に羽化させた。このようにして得られた蚊類を、検査室にて分類・計数した。

結 果

I. 蚊の発生活長調査

全調査期間中に、公園等2地点で捕集された蚊の、各調査地点における種別捕集数を表2に示した。2地点で、5属9種1,389個体が捕集された。8分間人囮法では、優占して捕集された種はヒト

スジシマカ（捕集割合87.9~95.0%）であった。CDCトラップで最も高い割合で捕集された種は、ヒトスジシマカ（捕集割合46.2%）であった。次いでキンパラナガハシカ *Tripteroides bambusa* (16.0%)、オオクロヤブカ *Armigeres subalbatus* (14.6%)、アカイエカ群 *Culex pipiens complex* (12.1%) が捕集された。

公園等2地点におけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別捕集数を表3および図2に示した。ヒトスジシマカの発生は、5月中旬に始まり、10月下

表2. 公園等2地点における蚊の種別捕集数

調査場所	調査方法	ヒトスジシマカ		ヤマトヤブカ		オオクロヤブカ		キンパラナガハシカ		アカイエカ群		コガタアカイエカ		カラツイエカ		ハマダライエカ		フタクロホシチビカ		計
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
1 太閤山ランド	人囮法	472	52	53	0	13	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3	0	596
	トラップ	219	9	8	0	72	0	72	7	59	1	30	0	1	0	3	0	11	2	494
2 白鳥城址	人囮法	253	31	5	0	2	0	7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	299
計		944	92	66	0	87	0	81	8	59	2	30	0	1	0	3	0	14	2	1,389

表3. 公園等2地点におけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別捕集数

平成29年5月~7月

調査場所(調査方法)	調査地点数	5月				6月				7月				
		1週	2週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	
1 太閤山ランド (8分間人囮法)	2	0	0	2	0	1	6	1	0	1	5	5	10	10
	(CDCトラップ)	2	0	0	0	2	1	1	2	1	0	0	6	6
2 白鳥城址 (8分間人囮法)	2	-	0	-	1	-	1	-	-	10	-	11	-	21
	計	6	0	0	2	3	2	8	3	1	11	5	22	16

- : 調査せず

平成29年8月~11月

調査場所(調査方法)	8月					9月				10月				11月	総計 (5月~11月)
	1週	2週	3週	4週	5週	1週	2週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	5週	
1 太閤山ランド (8分間人囮法)	19	13	0	11	35	59	110	44	11	30	1	2	0	1	472
	(CDCトラップ)	2	8	5	38	17	40	18	41	18	0	7	3	1	0
2 白鳥城址 (8分間人囮法)	-	25	-	15	-	67	-	93	-	-	8	-	0	-	253
	計	21	46	5	64	52	202	77	244	62	11	45	4	3	1

- : 調査せず

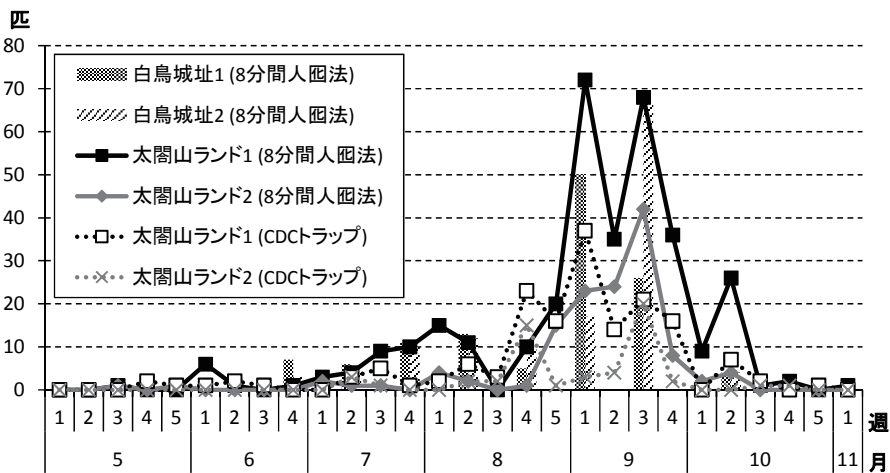


図2. 公園等2地点におけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別捕集数

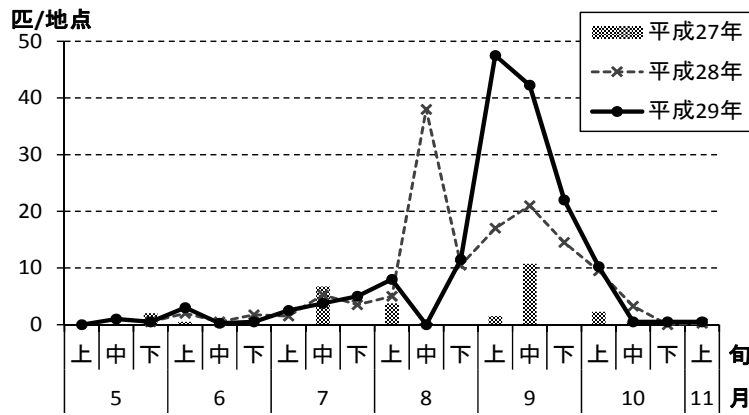


図3. 太閤山ランドにおけるヒトスジシマカ雌成虫の年次別季節消長

旬に終息した。ヒトスジシマカが多数捕集された期間は、8月下旬から10月上旬であった。太閤山ランドにおける8分間人囀法とCDCトラップの成績を比較すると、捕集数は8分間人囀法の方がCDCトラップよりも多かった。捕集数の増減の傾向は、両法で共通していた。

太閤山ランドにおいて、平成27～29年に8分間人囀法により捕集されたヒトスジシマカ雌成虫の調査日別捕集数を比較した(図3)。太閤山ランドにおける平成29年のヒトスジシマカ雌成虫のピーク時の発生数は、平成27年に比較すると多く、平成28年と同程度であった。発生ピークの時期は、年によって変動がみられた。

II. 蚊の分布状況調査

観光地6地点における蚊幼虫の採集成績を表4に示した。6属8種の蚊が採集され、オビトラップ以外から多く採集された種は、ヒトスジシマカとヤマトヤブカ *Aedes japonicus* であった。ヒトスジシマカは宇奈月温泉および菅沼集落以外の4地点で、ヤマトヤブカは瑞龍寺および雄山神社以外の4地点で確認された。オビトラップからは、上記2種に加え、キンパラナガハシカとフタクロホシチビカ *Uranotaenia novobscura* が多く採集された。

観光地7地点における蚊成虫の捕集成績を表5に示した。4属7種304個体が捕集され、8分間人囀法、CDCトラップともに、優占して採集された種はヒトスジシマカ(捕集割合70.9%, 50.3%)であった。ヒトスジシマカは、雄山神社以外の6地点で捕集された。しかしながら、8分間人囀法による1地点あたりのヒトスジシマカ雌成虫捕集数は、0～10個体と少なかった。CDCトラップによる1地点あたりのヒトスジシマカ雌成虫捕集数は、8分間人囀法を用いた場合と同等以下の結果

が多かったが、高岡市の2地点では、8分間人囀法を用いた場合より捕集数が多かった(表6)。

考 察

県内におけるヒトスジシマカの平成29年の発生消長は、5月中旬に始まり10月下旬に終息し、この期間にヒトへの吸血リスクがあることが示された。ヒトスジシマカの発生ピークの時期は地点や年次によって変動がみられるが、平成27～29年の調査結果[3, 4]を総合すると、ヒトスジシマカの発生が多くなるのは、7月から10月上旬の期間であった。この期間は、蚊媒介性感染症対策を講じる上で最も注意すべき期間である。また、8分間人囀法とCDCトラップ捕集法について、平成27年に衛生研究所敷地内で、平成28年に太閤山ランドで比較検討を行ったところ、平成27年には8分間人囀法の方がヒトスジシマカの捕集成績が良かったが、平成28年には相違が認められなかった[3, 4]。これは、8分間人囀法の調査時間帯が平成28年は平成27年に比べ日中の暑い時間帯が多かったことが影響した可能性が考えられた。ヒトスジシマカは昼行性で日中のどの時間帯でも活動がみられるが、最も活動が活発になるのは早朝と夕方である[5]。そこで、平成29年の太閤山ランドの調査は、10月中旬以降の気温が低下した時期を除き、調査時間帯を16時以降としたところ、平成27年と同様、ヒトスジシマカの捕集数は8分間人囀法の方が多くなった。一般に、誘引源がドライアイスのみであるCDCトラップよりも、ヒトの熱や呼吸に含まれるCO₂、汗に含まれる化学物質など誘引源の多い人囀法の方が感度は高く、短時間で効率よく蚊を捕集するのに向いているとされる。迅速性が求められる蚊媒介性感染症発生時の生息密度調査では人囀法を使うことが推奨されているが、

表4. 観光地6地点における幼虫調査の採集成績

調査場所	調査日	採集場所	種名							トランプ カウイカ	
			ヒトスジ シマカ	ヤマト ヤブカ	シロカタ ヤブカ	キンバラ ナガハシカ	フタクロ ホシチビカ	コガタ クロウスカ	オオクロ ヤブカ		
② 瑞龍寺	8/7	手水鉢	75								
	9/11	手水鉢	147								
		墓地(水鉢)	2								
		小計	224	0	0	0	0	0	0	0	
③ 宇奈月温泉	7/20	排水溝		12							
	8/21	排水溝		4							
	9/21	排水溝						25			
		小計	0	16	0	0	0	25	0	0	
④ 五箇山(相倉集落)	7/26	石鉢		11							
		ポール穴		5							
		墓地(花立)	11	3							
	8/24	ポール穴	3								
		墓地(花立)	13								
		梯子	2								
	9/19	石鉢		2							
		ポール穴		5							
墓地(花立)		2	6					20			
	小計	31	32	0	0	0	0	20	0		
⑤ 五箇山(菅沼集落)	9/19	スコップ		1							
		ビニールシート		1							
		一輪車		1							
		プラスチックケース						33			
		小計	0	3	0	0	0	33	0	0	
⑥ 芦峯寺(雄山神社)	7/31	オビトラップ	10			304		1			
	8/18	オビトラップ	2			71		42			
	8/29	オビトラップ	30			14		18			
	9/14	オビトラップ	5			22		2			
		小計	47	0	0	411	63	0	0	0	
⑦ 芦峯寺(立山カル デラ砂防博物館)	7/18	雨水枡		73							
	7/31	オビトラップ	19			8					
	8/18	オビトラップ	62			48		1			
	8/29	雨水枡	1								
		オビトラップ	3	44	1	9					
	9/14	雨水枡		3							3
		オビトラップ		53		7	9				
	小計	85	173	1	72	10	0	0	0	3	
	計	387	224	1	483	73	58	20	3		

表5. 観光地7地点における蚊成虫の種別捕集数

調査場所	調査 方法	延調査 地点数	種名												計			
			ヒトスジ シマカ		ヤマトヤブカ		シロカタ ヤブカ		オオクロ ヤブカ		キンバラ ナガハシカ		アカイエカ群		コガタ アカイエカ		♀	♂
			♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂		
① 高岡古城公園	人囿法	14	40	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	7
	トラップ	2	26	2	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	33	2
② 瑞龍寺	人囿法	8	20	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	4
	トラップ	2	31	2	0	0	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	34	2
③ 宇奈月温泉	人囿法	30	4	3	7	2	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	5
	トラップ	7	7	4	0	0	6	0	0	2	3	0	0	0	0	0	15	7
④ 五箇山(相倉集落)	人囿法	24	14	4	0	1	5	0	1	0	2	0	0	0	0	0	22	5
	トラップ	4	10	0	1	0	5	0	9	0	1	4	0	1	0	0	27	4
⑤ 五箇山(菅沼集落)	人囿法	20	1	1	2	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	1
	トラップ	4	0	0	0	0	6	0	0	1	4	0	0	0	0	0	7	4
⑥ 芦峯寺(雄山神社)	人囿法	6	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0
	トラップ	3	0	0	0	0	2	0	6	0	0	0	0	0	0	0	8	0
⑦ 芦峯寺(立山カル デラ砂防博物館)	人囿法	6	1	1	1	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	1
	トラップ	3	0	0	0	0	15	0	1	0	0	4	0	0	0	0	20	0
	計	133	154	28	14	3	56	0	18	0	6	11	12	0	2	0	262	42

表6. 観光地7地点におけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別捕集数

調査場所	調査方法	捕集数/調査地点数 (1地点あたりの捕集数)			
		7月	8月	9月	計
① 高岡古城公園	人囮法	ND	6/6 (0~3)	34/8 (2~8)	40/14
	トラップ	ND	ND	26/2 (1~25)	26/2
② 瑞龍寺	人囮法	ND	8/4 (0~6)	12/4 (0~6)	20/8
	トラップ	ND	ND	31/2*(1~30)	31/2*
③ 宇奈月温泉	人囮法	0/12	1/9 (0~1)	3/9 (0~1)	4/30
	トラップ	2/2 (0~2)	2/2 (0~2)	3/3 (0~2)	7/7
④ 五箇山(相倉集落)	人囮法	0/10	10/8 (0~5)	4/6 (0~2)	14/24
	トラップ	0/1	0/1	10/2 (0~10)	10/4
⑤ 五箇山(菅沼集落)	人囮法	0/7	1/7 (0~1)	0/6	1/20
	トラップ	0/1	0/1	0/2	0/4
⑥ 芦峯寺(雄山神社)	人囮法	0/2	0/2	0/2	0/6
	トラップ	0/1	0/1	0/1	0/3
⑦ 芦峯寺(立山カル デラ砂防博物館)	人囮法	1/2 (0~1)	0/2	0/2	1/6
	トラップ	0/1	0/1	0/1	0/3
計		0/39	0	123/50	154/133

ND:調査せず

* CDCトラップ2台のうち1台は調査途中で作動停止

平常時の発生活長モニタリングにはどちらの方法を使用しても差し支えない。少人数で多数の場所を同時に調査する場合にはCDCトラップ捕集法の方が向いているが、1日で調査が終了する人囮法に対し、CDCトラップ捕集法では、設置と回収のために2日間を要する等、一長一短がある。なお、強風など蚊の飛来を妨げる環境因子があった場合、調査時間の短い人囮法の方がより影響を受けやすい。これらの特性を踏まえ、トラップの回収が負担になる遠隔地の調査は人囮法で行い、移動距離の短い近隣の調査はトラップを用いる等、今後調査を続ける上で効率の良い方法を検討する必要がある。

県内観光地7地点全てでヒトスジシマカの分布が確認された。しかしながら、8分間人囮法によるヒトスジシマカ成虫の捕集数は少なかった。高岡市以外の5地点については、CDCトラップによるヒトスジシマカ成虫捕集数も少ないことから、これらの調査地点における生息密度は低かったと考えられた。一方、高岡市の2地点では、ヒトスジシマカ成虫の捕集数が多くなったCDCトラップがあった。これらの調査地点では、8分間人囮法の調査を行った際、高岡古城公園では自動車の出入りが多く、瑞龍寺では団体客を含む訪問者が多かったことから、自動車の排気ガスや調査者以外の人に誘引され、蚊が分散したことにより、人囮法による捕集数が少なくなったと考えられた。一方、調査に一昼夜を要するCDCトラップの場合、訪問客のいない時間帯には他に分散することなく蚊がトラップに誘引されたと考えられる。このこ

とから、高岡市の2地点では、ヒトスジシマカの生息密度が高かったと考えられた。高岡市2地点の調査では、日中の調査時間帯には訪問客等の影響で蚊が分散する可能性があるため、CDCトラップの使用が有用であると考えられた。ヒトスジシマカ成虫の飛来密度は、日のあたり具合や風通しなどわずかな環境条件の違いで、狭い場所であっても大きく異なることが報告されている[6]。これまでの調査で、各施設・集落における蚊の捕集される地点が判明したので、今後は調査地点を絞り込んで調査したい。

謝 辞

本調査の実施にあたり、蚊検体の捕集と分類・計数にご協力いただいた国立感染症研究所昆虫医学部の渡辺護先生に深謝いたします。

文 献

1. 国立感染症研究所. (2016). IASR, 37, 119-120
2. 国立感染症研究所. (2015). IASR, 36, 33-34
3. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2016). 富山県衛生研究所年報, 39, 93-96
4. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報, 40, 104-109
5. 津田良夫. (2013). 蚊の観察と生態調査, 54-56, 北隆館
6. Tuda Y, Kim K. (2012). Med. Entomol. Zool., 63, 223-230

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2017年)

木全 恵子 磯部 順子 内田 薫 金谷 潤一
 範本 志保 窪田 弘文¹ 綿引 正則

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2017

Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Shiho NORIMOTO, Hirohumi KUBOTA¹ and Masanori WATAHIKI

2017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19件、感染者は32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、15名、EHEC O26 (以下O26) が7件、11名、EHEC O91 (以下O91) が1件、3名、EHEC O146 (以下O146) が1件、1名、EHEC Og22 (以下Og22) が1件、2名であった (表1)。なおOg22は遺伝子型別により決定したO血清群であるため、Ogと表記した。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。

2017年におけるEHEC感染症発生状況：2017年の富山県におけるEHEC感染症の事例数、感染者数はそれぞれ前年 (11件、46名) 比1.73, 0.70で、事例数は増加していたが、感染者数は減少していた。

表1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2017)

事例No	発生時期	感染者数 (名)	発生形態 (散発・集団)	大腸菌血清型	毒素遺伝子型
1	2017.3	1	散発	O26:H11	str1
2	2017.4	1	散発	O26:HNM	str1
3	2017.4	1	散発	O26:HNM	str1
4	2017.5-6	5	集団	O157:HNM	str1str2
5	2017.6	3	集団	O26:H11	str1
6	2017.7-8	3	集団	O91:HNM	str1str2
7	2017.7	2	集団	O157:HNM	str1str2
8	2017.8	1	散発	O26:HNM	str1
9	2017.8	2	集団	O157:H7	str2
10	2017.8	1	散発	O157:H7	str1str2
11	2017.8	1	散発	O157:H7	str2
12	2017.8	1	散発	O26:HNM	str1
13	2017.8	1	散発	O146:HNM	str1str2
14	2017.8	3	集団	O26:H11	str1
15	2017.8	1	散発	O157:H7	str1str2
16	2017.9	1	散発	O157:H7	str2
17	2017.9	1	散発	O157:H7	str1str2
18	2017.10	1	散発	O157:H7	str1
19	2017.10-11	2	集団	Og22:HNM	str1str2

O157 9件 (15名)、O26 7件 (11名)、O91 1件 (3名)、O146 1件 (1名)、Og22 1件 (2名) 計 19件 (32名)

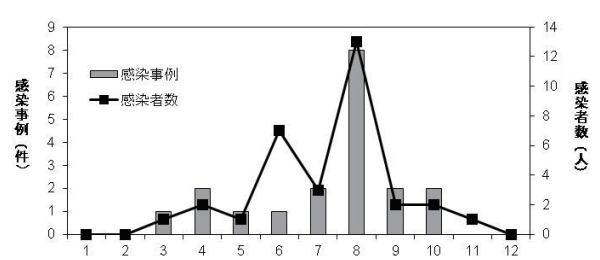


図1. 腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向(2017)

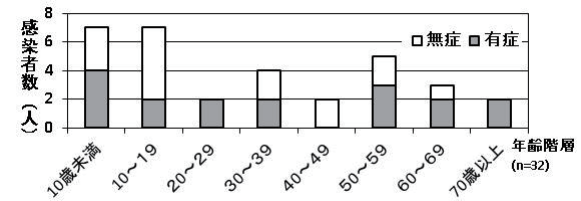


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

発生形態は、集団感染 (家族内感染を含む) 7件、散発12件で、前年に比べ、集団感染は2.3倍、散発は1.5倍増加していた (表1)。

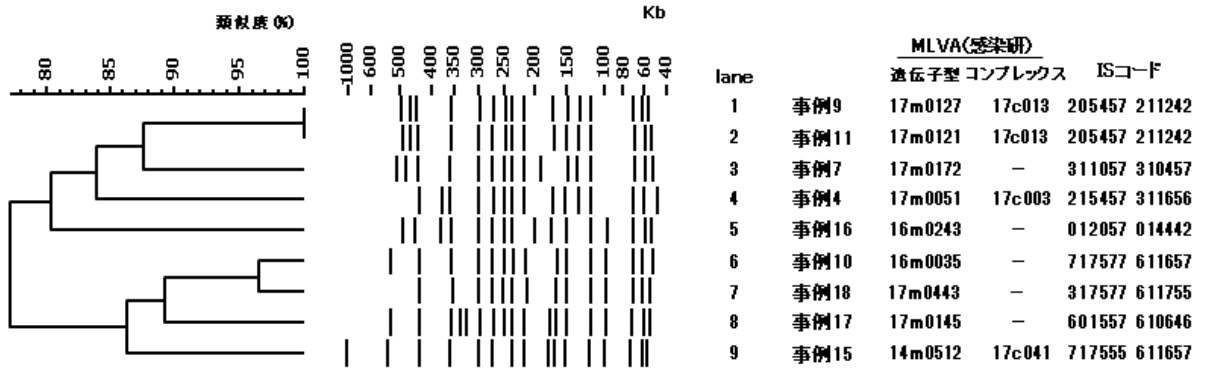
EHEC感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。2017年は、6月に1件 (感染者7名)、7月に2件 (感染者3名)、8月に8件 (感染者13名) と夏季に感染事例が多発した。

感染者32名における有症者の割合が53% (17名) であった。年代ごとの感染者数は20歳未満が44% (14名) と全体の4割程度を占めていた (図2)。また、男女比は男性44%、女性56%と性別による違いはみられなかった。

分離株の薬剤感受性：表1の各事例の代表株について、薬剤感受性試験を行った。対象とした薬剤は12薬剤 (ノルフロキサシン、ナリジクス酸、カ

1. 富山市保健所

A. 腸管出血性大腸菌 O157



B. 腸管出血性大腸菌 O26

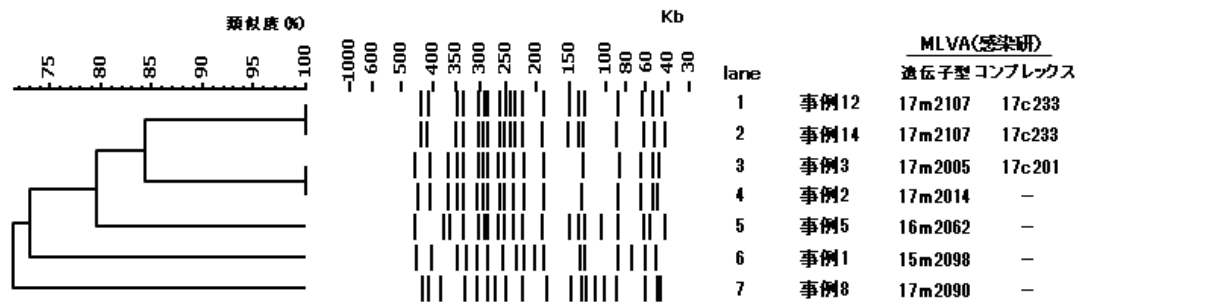


図3. 腸管出血性大腸菌O157, O26における遺伝子型別(PFGEデンドログラム, MLVA及びIS-コード)

ナマイシン, ゲンタマイシン, ホスホマイシン, アンピシリン, SXT, テトラサイクリン, セファゾリン, クロラムフェニコール, セフトアジジム, セフトキシム)で, 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(センチ・ディスク, 日本ベクトン・ディッキンソン)を用いた。

供試菌株のうち, 上記12薬剤のいずれかに耐性を示したのは事例8由来の1株(5.26%)であり, アンピシリン・SXT・テトラサイクリン耐性であった。

分離株の病原因子: 分離株について(表1), 接着因子遺伝子*eae*, ペロ毒素遺伝子*stx1*, *stx2*, 凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子*astA*のPCRにより病原因子遺伝子の検索を行った。

分離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8株, *stx2*保有型が3株, *stx1*保有型が8株であった。事例2, 事例6, 事例13, 事例19以外の事例の分離株は*eae*を保有していた。また, 事例4, 事例7, 事例10の分離株は*astA*も保有していた。

O157のIS-Printingによる遺伝子型別: 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[1]による遺伝子型別を行った。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[2,3](図3A)。その結果, 事例9と事例11(図3A レーン1, 2)はISコードが一致した。

パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による分子疫学解析: PFGEは制限酵素*Xba I*を用いた標準化プロトコールに基づいて行った[4]。得られたPFGEパターンはFingerPrinting II (Bio-Rad)を用いて系統解析(デンドログラム解析)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。2017年に発生したO157, O26の分離株について結果は以下のとおりであった(図3)。

O157のデンドログラムを図3Aに示した。このPFGEパターンは事例9と事例11で一致していた(図3A レーン1, 2)。

また, O26のデンドログラム解析を行った(図

3 B). その結果, 事例12と事例14 (図3 B レーン 1, 2), 事例3と事例2 (図3 B レーン3, 4) のPFGEパターンがそれぞれ一致した. 事例2のPFGEパターンの最も大きいサイズのバンドは, 事例3の最も大きいサイズのバンドよりやや小さかったが, デンドログラム解析ではほぼ同一パターンとして認識された.

Tenover らの基準 [5]によりPFGE パターンの一致した事例の関連性が疑われたが, これらの事例間の関連性は不明であった.

全国におけるEHEC感染症発生状況との比較: 2017年の全国におけるEHEC感染者数は3,904名で, 昨年との1.07倍とほぼ横ばいであり, 過去5年における年間感染者数は3番目に少なかった[6].

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[7]. この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. この解析から, 2017年に全国5以上の地衛研等から検出された広域流行株の遺伝子型/コンプレックスは26種類であった [8].

本年県内で発生したO157 9件, O26 7件のMLVA遺伝子型は, O157が9タイプ, O26が6タイプであった. また, 他のMLVA型と関連性があると認められたコンプレックスが, O157では3種類, O26では2種類検出された (図3). このうち, 広域流行株が検出された事例は, 事例9・事例11 (MLVAコンプレックス 17c013), 事例3 (MLVAコンプレックス 17c201) であった. 17c013タイプおよび17c201タイプの株は富山県を含めそれぞれ28都府県, 18都県で検出されたが, 他県の同じMLVA型が検出された感染事例との関連性は不明であった.

特記すべき事例の報告: 2017年の感染事例のうち, 上述の広域流行株以外の事例について以下に詳細を報告する.

事例6 - 県内で発生したO91集団感染事例: 7月下旬から8月上旬に発生した事例6 (表1)は感染者3名の事例であった. O91は2017年に全国で25件感染者の届出があり, 全国で6番目に多い血清群である. 本事例の感染源は不明であった.

事例19 - 県内で発生したOg22集団感染事例: 10月

下旬から11月上旬に発生した事例19 (表1)は感染者2名の事例であった. 当初分離されたEHECは市販の大腸菌O血清群抗血清に凝集せず, OUTと報告された. 当所で大腸菌O血清群PCR検査法[9]によるO血清群遺伝子型別を実施したところ, O22血清群特異的な遺伝子配列を保有することが判明し, 本菌の血清群をOg22と判定した. なお, 遺伝子型別によるO血清群は, 表現型大腸菌O血清群抗血清に凝集することで決定したO血清群と区別するためにOgと表記することがある.

考察: 事例2と事例3のPFGEパターンは1バンドのサイズがわずかに異なる程度であり, デンドログラム解析では同一パターンと認識された (図3 B レーン3, 4). しかしMLVA型は異なっていた. この原因として, PFGEの解析対象は大腸菌ゲノムのみであるが, MLVAではゲノム・プラスミドの遺伝子座を解析対象としているため, プラスミドの脱落等で同一ゲノムであってもMLVAの遺伝子型が異なるパターンが検出されたと考えられる.

謝辞: 本稿を終えるにあたり, ご協力頂きました厚生センター, 富山市保健所, 健康課, 生活衛生課の関係各位ならびに国立感染症研究所 伊豫田淳先生, 泉谷秀昌先生に深く感謝致します.

文 献

1. Ooka T, Terajima J, Kusumoto M, et al. (2009). J Clin Microbiol, 47, 2888-2894
2. 勢戸和子, 河野智美, 野村憲一, 他. (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
3. 木全恵子, 嶋 智子, 金谷潤一, 他. (2012). 富山県衛生研究所年報, 35, 85-91
4. Watanabe H, Terajima J, Izumiya H, et al. (2002). J Jpn Assoc Infect Dis, 76, 842-848
5. Tenover F C, Arbeit R D, Goering R V J, et al. (1995). Clin Microbiol, 33, 2233-2239
6. 病原微生物検出情報, (2018). 39, 71-72
7. Pei Y, Terajima J, Saito Y, et al. (2008). Jpn J Infect Dis, 61, 58-64
8. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2018). 病原微生物検出情報, 39, 81-82
9. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2017). J Clin Microbiol, 53, 2427-2432

富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況について (2017年)

内田 薫 綿引 正則 範本 志保 金谷 潤一
木全 恵子 磯部 順子

Surveillance of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Infectious Diseases and Detection of Carbapenemase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2017)

Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA and Junko ISOBE

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症は、メロペネムなどのカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌による感染症である。主に感染防御機能の低下した患者や外科手術後の患者、抗菌薬を長期にわたって使用している患者などに感染症を起こすが、健常者に起こすこともある。肺炎などの呼吸器感染症、尿路感染症、手術部位や外傷部位の感染症、カテーテル関連血流感染症、敗血症、髄膜炎その他多様な感染症を起こす。

国内では、2014年9月19日にCRE感染症が感染症法に基づく感染症発生動向調査の5類全数把握疾患に追加された。

2017年3月、厚生労働省健康局結核感染症課長通知によりカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の届出があった際には、地方衛生研究所等での耐性遺伝子等の試験検査の実施および地域内の医療機関等への情報提供を行うとともに必要に応じた対策の実施が求められている[1]。

ここでは2017年1~12月までの富山県における患者発生動向と、CRE感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子の保有状況について報告する。

材料と方法

1. CRE感染症発生動向調査患者数

2017年1月1日~2017年12月31日に県内の医療機関から報告された症例に対し、患者の症状、分離検体、菌種名の疫学情報を集計した。

2. CRE感染症患者由来株

2017年1~12月に医療機関でCRE感染症患者から分離されたCRE20株を用いた。内訳は、届出株が10株、非届出株が10株であった。届出株とは、

CRE感染症として届出があった患者から分離された菌株である。非届出株とは、通常無菌的ではない検体から分離され、感染症の起原菌と判定されなかったなど、届出とならなかった症例から分離された菌株である。これらの菌株は、黒部市民病院、富山労災病院、厚生連滑川病院、富山県立中央病院、富山市民病院、富山赤十字病院、市立砺波総合病院の7機関より分与を受けた。カルバペネマーゼ遺伝子のIMP, NDM, VIM-2, KPC, OXA-48型の検出はPCR法[2]により行った。

結果と考察

1. CRE感染症発生動向調査患者数

富山県内では2017年1~12月までに10例の届出があった(表1)。症状は菌血症・敗血症が4例と最も多く、尿路感染症が3例であった。菌種別では、*Enterobacter aerogenes* が9件、*Serratia marcescens* が1件であった(表2)。

2. CRE感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況

CREのカルバペネム耐性はカルバペネマーゼの産生、あるいは外膜タンパクの変化を伴ったβ-ラクタマーゼの産生量の増加による。*Enterobacter* 属菌などは、染色体性のクラスC型β-ラクタマーゼの産生と膜の透過性低下よりカルバペネム耐性を示すことが知られている。

表1. CRE感染症の届出状況 (2014年9月~2017年12月)

診断年	富山県	全国
2014年 (39週~52週)	5	313
2015年 (1週~53週)	21	1,654
2016年 (1週~52週)	14	1,570
2017年 (1週~52週)	10	1,660

表 2. 富山県におけるCRE感染症届出状況

菌名	届出数(件)	症状(件)	検体(件)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	9	菌血症(3) 尿路感染症(2) 敗血症(1) 肺炎(1) 腹膜炎(1) 胆嚢炎(1) 胆管炎(1) その他(1)	血液(4) 尿(2) 喀痰(1) 胆汁(1) その他(1)
<i>Serratia marcescens</i>	1	尿路感染症(1)	尿(1)

表 3. CRE患者由来株からのカルバペネマーゼ遺伝子検出状況

菌名	検査数	届出株	非届出株	カルバペネマーゼ遺伝子陽性数(PCR法)				
				IMP型	VIM-2型	NDM型	KPC型	OXA-48型
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13	9	4	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0	2	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter asbriae</i>	1	0	1	0	0	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	0	0	0	0	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0	3	0	0	0	0	0

CREとして届出対象となった菌株がカルバペネマーゼを産生するかどうかを鑑別することは院内感染対策上重要である。カルバペネマーゼ遺伝子はほとんどがプラスミド上に存在していることが知られており、腸内細菌科の他菌種に容易に伝播する可能性があり、注意が必要である[3]。

県内の医療機関で分離されたCRE感染症患者由来20株(届出株10株, 非届出株10株)のカルバペネマーゼ遺伝子の保有状況を表3に示した。2017年はカルバペネマーゼ遺伝子を保有する菌株はみられなかった。

CRE感染症においては、カルバペネマーゼ産生性の鑑別やカルバペネマーゼ遺伝子の型別の必要性が増しており、CREの発生動向には今後も注視する必要がある。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体収集等にご協力いただきました富山県医務課、健康課および各厚生センター、富山市保健所、また菌株を分与いただきました県内の医療機関の関係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長通知「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症にかかる試験検査の実施について」健感発0328第4号, 平成29年3月28日
2. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 感染研編(平成28年12月改訂版)
3. 病原微生物検出情報, (2014), 35, 281-291

富山県内で分離されたA群溶血性レンサ球菌の血清型 (2017年)

内田 薫 綿引 正則 範本 志保 木全 恵子
金谷 潤一 加藤 陽子¹ 柴山 直美¹ 堀江 妙子¹
磯部 順子

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2017

Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
Jun-ichi KANATANI, Yoko KATO¹, Naomi SHIBAYAMA¹, Taeko HORIE¹
and Junko ISOBE

A群溶血性レンサ球菌(溶レン菌)は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起因菌となる。感染療法では、本菌による咽頭炎は小児科定点報告の5類感染症に位置づけられており、富山県における2017年の患者報告数は、2,333人(80.45/定点)であった。

また、溶レン菌は、症状の進行が早く、致命率の高い重篤な劇症型の疾患を引き起こすことがある。劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、五類感染症として全数報告が義務付けられている。本県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症報告数は、毎年5～11例が届けられている。これらの患者から分離される溶レン菌はA群が最も多いが、近年では、B群やG群の割合も増えている[1]。劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではない。

近年は、A群溶レン菌のマクロライド系やリンコマイシン系薬剤に対する耐性株の増加が問題となっているため、その動向には注意が必要である[2]。

当所では、衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A群溶レン菌の血清型別や劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2017年に富山県内で分離されたA群溶レン菌の血清型別の結果について報告する。

材料と方法

供試菌株は、2017年に富山県内の1医療機関で

患者から分離されたA群溶レン菌17株である。

【T型別試験】供試菌株17株について、T型別を実施した。型別は「T型別用免疫血清」(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応にて行った。

結果と考察

(1) A群溶レン菌のT型別

2017年に分離されたA群溶レン菌のT型別結果をTable 1に示した。分離された溶レン菌のT型は、T-1型(3株, 17.8%)、T-4型、T-12型、T-25型、T-28型、T-B3264型(各1株, 5.9%)、型別不能(8株, 47.1%)であった。1株は発育しなかったためT型別を行わなかった。

なお、2017年に富山県内で届出された劇症型溶血性レンサ球菌感染症は9例であった。このうち7症例について、菌株の収集および調査を実施した。群別試験の結果、A群溶レン菌は7株中5株であった。この5株の血清型は、T1型2例、TB3264型2例、型不明1例であった(Table 2)。薬剤感受性については、1株でEM耐性、1株でEM耐性、EM誘導CLDM耐性、CPFXおよびMINO低感受性であった。これら以外の3株は12薬剤に感受性であった。

近年、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎の定点あたり報告数は増加している。また、劇症型溶血性レンサ球菌感染症の報告数も増加傾向にあり、A群溶レン菌が多く分離されている。今後も動向を注視する必要があると考えられる。

1. 富山市民病院

文 献

1. 病原微生物検出情報, 36, 7-8
2. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 6-7

Table 1 Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic Streptococci in Toyama, 2017

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1		1					1				1		3	17.6
T-2													0	0.0
T-3													0	0.0
T-4		1											1	5.9
T-6													0	0.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12		1											1	33.3
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25			1										1	5.9
T-28		1											1	5.9
T-B3264	1												1	5.9
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
UT*		2	2					2	1		1		8	47.1
NT**							1						1	5.9
Total	1	6	3	0	0	0	2	2	1	0	2	0	17	100.0

*:Untypable

** :Not typed

Table 2 Cases of Group A Streptococcus-induced Toxic Shock Syndrome in Toyama, 2017

Month	Age	Sex	Outcome	Group	T serotype	M serotype	<i>emm</i>	<i>spe</i>	Resistance to antibiotic
2017/3	44	M		A	TB3264	UT*	<i>emm89.0</i>	BF	
2017/3	43	F		A	T1	M1	<i>emm1.0</i>	ABF	EM
2017/4	73	F		A	T1	M1	<i>emm1.0</i>	ABF	
2017/6	71	M		A	TB3264	UT*	<i>emm89.0</i>	BCF	
2017/9	82	F		A	UT*	UT*	<i>emm58.18</i>	BF	EM,CLDM CPF,MINO(low sensitivity)

*: Untypable

富山県における2017年の病原微生物検出情報

内田 薫 綿引 正則 範本 志保 木全 恵子
 金谷 潤一 磯部 順子

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2017

Kaoru UCHIDA, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
 Jun-ichi KANATANI and Junko ISOBE

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。2017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。また、材料別分離状況について図1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。

材料別分離割合は、尿からの分離が6,279株と最も多く、その割合は38%であった。続いて喀痰、気管吸引液および下気道の材料からの分離数が3,890株（24%）、血液からの分離数が2,155株（13%）であった。これらの材料からの分離報告数で全体の75%を占めている。

以下に材料別の分離状況について報告する。

糞便：分離株総数は1,119株で、前年の92.7%であった。最も多かったのは大腸菌549株で、前年の561株から減少した。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は、血清型O157が15株、O26が11株、O91が3株、Og22(*)が2株、O146が1株、合計32株分離された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌243株（そのうちMRSAは41.2%）であり、前年の98.0%であった。カンピロバクターは200株で前年の81.0%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3株分離された。

(*) 遺伝子検査法により決定

穿刺液：分離株総数は332株で前年の87.4%であった。Anaerobes、大腸菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは27.9%）などが多く分離された。

髄液：分離株総数は1株で、前年の14.3%であった。

血液：分離株総数は2,155株で前年の109.4%であった。大腸菌、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌、黄色

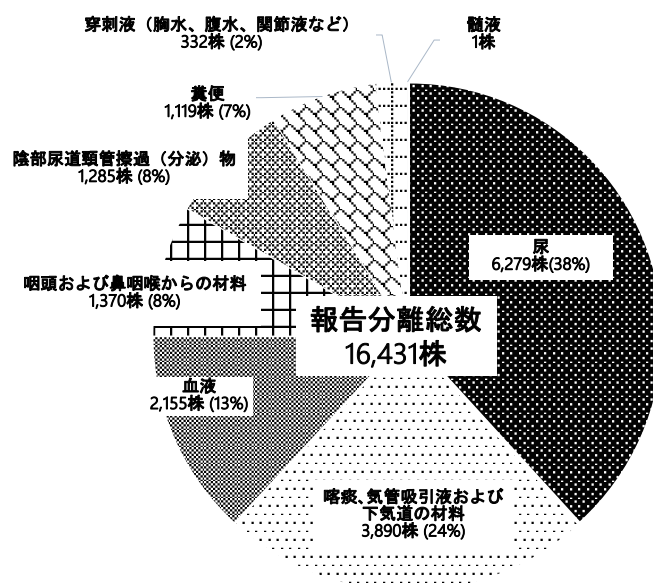


図1. 病原細菌材料別分離割合（2017）

ブドウ球菌 (MRSAは28.4%) が多く分離された。
咽頭および鼻咽：分離株総数は1,370株で前年の91.9%であった。インフルエンザ菌，肺炎球菌，A群溶レン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3,890株で前年の94.4%であった。黄色ブドウ球菌 (MRSAは45.3%) が最も多く，緑膿菌，肺炎桿菌，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6,279株で前年の99.3%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1,285株で前年の108.0%であった。B群溶レン菌，*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。

月別・菌種別の病原微生物検出状況 (2017)

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> O4		1		3	1	1	3	4					13
<i>Salmonella</i> O7					3	9	4	2	1	1			20
<i>Salmonella</i> O8	1							4					5
<i>Salmonella</i> O9								2				1	3
<i>Salmonella</i> O9,46 (D2)													0
<i>Salmonella</i> O3,10 (E1,E2,E3)					1			1			1		3
<i>Salmonella</i> O1,3,19 (E4)													0
<i>Salmonella</i> O13 (G1, G2)													0
<i>Salmonella</i> O18 (K)									1				1
<i>Salmonella</i> その他		1	1		1								3
<i>Salmonella</i> 群不明								2					2
<i>Yersinia enterocolitica</i>			1	1			2			1			5
<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>						1							1
Tor,Ogawa,CT(+)													0
Tor,Ogawa,CT(-)													0
Tor,Inaba,CT(+)													0
Tor,Inaba,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1,139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>								3					3
<i>Vibrio fluvialis</i>								1					1
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>						3	3	6	3	1	1	1	18
<i>Plesiomonas shigelloides</i>													0
<i>Campylobacter</i>	12	10	15	11	17	9	21	38	22	20	11	14	200
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	21	28	10	24	20	18	29	14	16	19	25	243
<i>Clostridium perfringens</i>	1	8	1	9		3	4		8	2	3	6	45
<i>Clostridium botulinum</i> E													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>							1						1
<i>Bacillus thuringiensis</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性		1	1	1				1	2	1		1	8
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	1	2	7	1	5	1			2		1	4	24
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	29	35	36	15	35	36	23	30	24	38	28	28	357
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC			1	2	1	7	4	12	2	2	1		32
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	4	8	13	5	7	20	8	10	22	8	9	14	128
<i>Shigella dysenteriae</i> 型()						1							1
<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>							2						2
<i>Shigella</i> 群不明													0
合計	67	87	104	58	95	111	93	145	101	90	74	94	1119

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	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	4	5	5	2	5	5	7	4	6	6	5	8	62
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	4	2	3	1	1	4	1	1	3		2	23
<i>Haemophilus influenzae</i>			1										1
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	1	1	1	1	1	1	2			4	2	15
<i>Mycobacterium</i> spp.													0
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	3	8	5	6	2	11	3	7	5	2	8	61
<i>Staphylococcus</i> コアグラゼ陰性	6	8	2	4	3	3	4	4	7	5	4	1	51
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1							1	1		1		4
<i>Anaerobes</i>	7	9	11	5	7	10	11	10	6	9	12	18	115
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	21	30	30	20	23	22	38	25	28	28	28	39	332

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	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>										1			1
<i>Staphylococcus aureus</i>													0
<i>Streptococcus</i> , B													0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>													0
合計	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1

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	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	56	54	61	56	68	57	75	81	84	71	97	75	835
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> spp.					1	1		1	1		1		5
<i>Haemophilus influenzae</i>			1	2			1			1			5
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	4	6	7	5	6	6	3	6	8	2	6	61
<i>Staphylococcus aureus</i>	27	24	24	23	30	21	41	37	22	23	11	37	320
<i>Staphylococcus</i> コアグラゼ陰性	42	57	41	48	48	56	65	77	88	42	52	61	677
<i>Streptococcus</i> , B	1	1	2	3	2	3	7	2	5	2	3	4	35
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2	3	6	3	2	6	1	1	2	5		34
<i>Anaerobes</i>	3	10	15	16	19	12	16	22	28	17	9	16	183
<i>Plasmodium</i> spp.													0
合計	134	152	153	161	176	158	217	224	235	166	180	199	2155

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10	11月	12月	合計
<i>Bordetella pertussis</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>	63	74	64	65	69	63	71	65	57	39	56	59	745
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Streptococcus</i> , A	14	14	19	11	15	12	12	13	5	14	9	12	150
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	26	39	37	25	34	43	36	62	50	42	41	40	475
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>													0
合計	103	127	120	101	118	118	119	140	112	95	106	111	1370

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	11月	12月	合計
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	1	1	3	4	5		3	3	4	4	2	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	65	54	51	35	43	50	58	48	60	37	46	54	601
<i>Haemophilus influenzae</i>	59	43	29	37	53	32	40	22	25	31	30	49	450
<i>Legionella pneumophila</i>	1			1					1			1	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50	50	41	43	48	52	72	62	54	69	48	50	639
<i>Staphylococcus aureus</i>	144	118	133	123	144	114	130	140	142	132	140	112	1572
<i>Streptococcus</i> , A		1	2			1	1	4			1		10
<i>Streptococcus</i> , B	17	13	14	20	21	14	15	18	12	15	20	24	203
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	41	35	34	31	59	18	33	21	24	30	31	22	379
<i>Anaerobes</i>													0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	379	315	305	293	372	286	349	318	321	318	320	314	3890

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	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	250	234	252	220	249	204	231	263	239	266	292	270	2970
<i>Enterobacter</i> spp.	15	16	14	12	17	21	20	21	24	21	15	14	210
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	57	39	55	44	41	35	49	43	44	37	53	44	541
<i>Acinetobacter</i> spp.	2	2	1		2		3	7	1		1	1	20
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	22	30	25	28	32	23	20	33	30	35	39	37	354
<i>Staphylococcus aureus</i>	24	18	22	18	30	21	28	21	33	25	22	30	292
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	54	55	46	67	52	46	68	39	62	57	60	54	660
<i>Enterococcus</i> spp.	67	72	83	79	87	67	87	87	85	60	72	82	928
<i>Candida albicans</i>	31	25	21	28	29	28	15	21	26	34	23	23	304
合計	522	491	519	496	539	445	521	535	544	535	577	555	6279

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	11月	12月	合計
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>					1							1	2
<i>Streptococcus</i> , B	49	44	58	39	54	64	64	49	70	47	59	52	649
<i>Chlamydia trachomatis</i>	4	2	3			4	1	2					19
<i>Ureaplasma</i>	1	2	3	5	3		2				1		17
<i>Candida albicans</i>	38	39	50	52	41	55	52	50	67	54	51	49	598
<i>Trichomonas vaginalis</i>													0
合計	92	87	114	96	99	123	119	101	137	101	111	105	1285

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	10	9	9	7	9	8	6	8	5	8	7	14	100
	MSSA	9	12	19	3	15	12	12	21	9	8	12	11	143
	未検査													0
	件数	19	21	28	10	24	20	18	29	14	16	19	25	243
穿刺液	MRSA	1		4	3	0	1	2	1	3	1	1	0	17
	MSSA	0	3	4	2	6	1	9	2	4	4	1	8	44
	未検査													0
	件数	1	3	8	5	6	2	11	3	7	5	2	8	61
髄液	MRSA	0				0		0	0	0	0	0	0	0
	MSSA	0				0		0	0	0	0	0	0	0
	未検査													0
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血液	MRSA	5	4	10	6	8	7	16	13	7	8	0	7	91
	MSSA	22	20	14	17	22	14	25	24	15	15	11	30	229
	未検査													0
	件数	27	24	24	23	30	21	41	37	22	23	11	37	320
呼吸器	MRSA	65	56	49	49	62	59	53	63	62	69	72	52	711
	MSSA	79	61	84	74	82	55	77	77	80	63	68	60	860
	未検査													0
	件数	144	117	133	123	144	114	130	140	142	132	140	112	1571
尿	MRSA	6	5	4	10	12	6	14	10	16	9	8	13	113
	MSSA	18	13	18	8	18	15	14	11	17	16	14	17	179
	未検査													0
	件数	24	18	22	18	30	21	28	21	33	25	22	30	292
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

平成 29 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 綿引 正則 範本 志保 木全 恵子
内田 薫 磯部 順子

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2017)

Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
Kaoru UCHIDA and Junko ISOBE

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、向上を目的として精度管理調査を実施している。平成29年度の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した生菌数測定および加熱食肉製品（加熱殺菌後包装）中のサルモネラ属菌検査を（成分規格 陰性）を実施した。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。

材料と方法：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30年1月23日～2月1日に実施した。

生菌数測定用の検体（牛乳10 ml）は、2検体の菌数がそれぞれ 1.3×10^4 CFU/ml（牛乳A）、 1.3×10^3 CFU/ml（牛乳B）となるよう枯草菌（栄研化学）を、市販品牛乳（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。Zスコアは別名「標準測定度」と呼ばれ、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測定値平均}) / \text{測$

定値標準偏差」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値を評価できる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。

サルモネラ属菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフにサルモネラ属菌およびサイトロバクター属菌の培養液を表1のように接種して作製した。なお、市販のコンビーフは予備検査においてサルモネラ属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 1.21×10^4 CFU/ml、最大値 1.34×10^4 CFU/ml、最小値 1.10×10^4 CFU/mlであった。Zスコアの絶対値はすべて2以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。各機関の実測値（1検体あたり2回）を見ると、標準偏差（SD）は1065.4となり、機関No. 6の1回を除いて平均値 $\pm 2SD$ （ $1.00 \times 10^4 \sim 1.42 \times 10^4$ ）の範囲内であった。実測値のZスコアの絶対値はそのほとんどが2以下で、測定値のばらつき度合いは良好と判断されたが、機関No. 6の1回が2を超えた。

牛乳Bについては、報告された測定値の平均は

表1. 模擬食品における添加細菌と菌数

試料名	添加細菌	菌数
模擬食品C	サルモネラ属菌	約 4.0×10^2 CFU/g
模擬食品D	サイトロバクター属菌	約 4.0×10^3 CFU/g
模擬食品E	未接種	

1.24×10³ CFU/ml, 最大値1.43×10³ CFU/ml, 最小値1.13×10³ CFU/mlであった。Zスコアの絶対値はすべて2以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。各機関の実測値を見ると、標準偏差は107.3となり、すべて平均値±2SD (1.05×10³ ~1.48×10³) の範囲内であった。実測値のZスコアにおいても、すべて絶対値は2以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。

平成25年度から平成29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. 6の3回が2<|Z|

<3であった。

サルモネラ属菌検査については、すべての機関が食品Cからサルモネラ属菌を分離することができ、鑑別能力に問題はなかった。そして、サイトロバクター属菌を接種した食品D、精製水を接種した食品Eからは、すべての機関でサルモネラ属菌は検出されなかった。

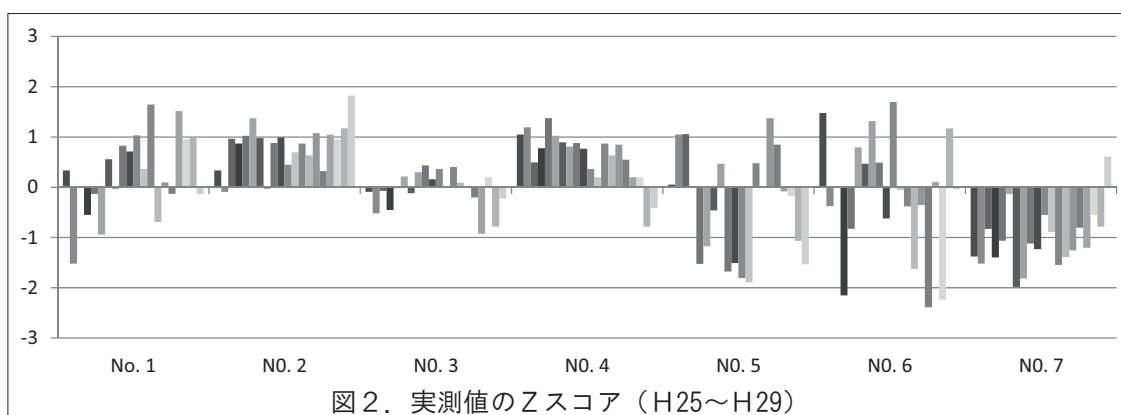
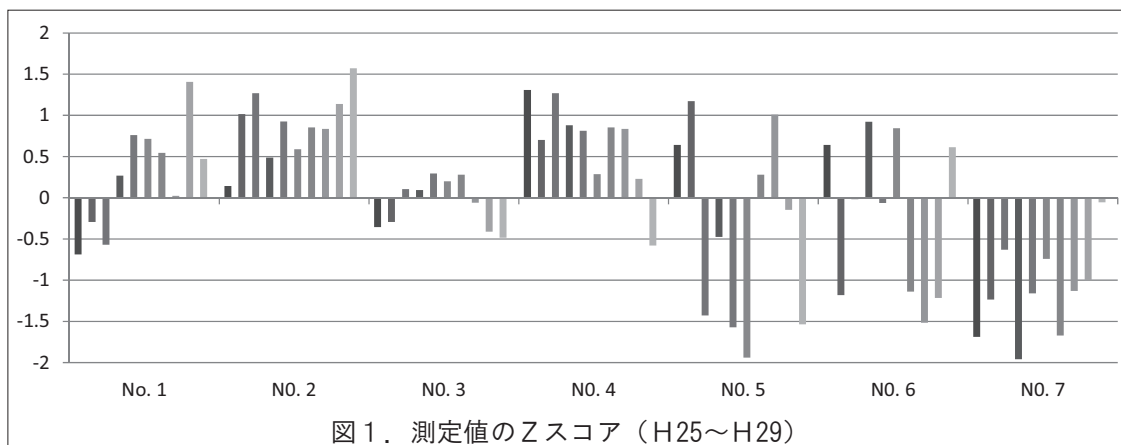
考察：平成25~29年度において、生菌数の測定値のZスコアをみると、いずれの年も「良好」とされる範囲内であり問題はなかった。ただし、実測値をみると、1つの機関(計3回)でZスコアが

表2. 平成29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	1.34 × 10 ⁴	13700	1614.3	1.52	13400	1314.3	1.41
		13100	1014.3	0.95			
No. 2	1.32 × 10 ⁴	13200	1114.3	1.05	13150	1064.3	1.14
		13100	1014.3	0.95			
No. 3	1.17 × 10 ⁴	11100	-985.7	-0.93	11700	-385.7	-0.41
		12300	214.3	0.20			
No. 4	1.23 × 10 ⁴	12300	214.3	0.20	12300	214.3	0.23
		12300	214.3	0.20			
No. 5	1.20 × 10 ⁴	12000	-85.7	-0.08	11950	-135.7	-0.15
		11900	-185.7	-0.17			
No. 6	1.10 × 10 ⁴	12200	114.3	0.11	10950	-1135.7	-1.22
		9700	-2385.7	-2.24			
No. 7	1.12 × 10 ⁴	10800	-1285.7	-1.21	11150	-935.7	-1.00
		11500	-585.7	-0.55			
平均値(X)	1.21 × 10 ⁴	12085.7			12085.7		
標準偏差(SD)		1065.4			934.4		
X+2SD		14216.6			13954.5		
X-2SD		9954.8			10216.9		

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	1.31 × 10 ³	1370	105.7	0.99	1310	49.3	0.47
		1250	-14.3	-0.13			
No. 2	1.43 × 10 ³	1390	125.7	1.17	1425	164.3	1.57
		1460	195.7	1.82			
No. 3	1.21 × 10 ³	1180	-84.3	-0.79	1210	-50.7	-0.48
		1240	-24.3	-0.23			
No. 4	1.20 × 10 ³	1180	-84.3	-0.79	1200	-60.7	-0.58
		1220	-44.3	-0.41			
No. 5	1.13 × 10 ³	1150	-114.3	-1.07	1100	-160.7	-1.54
		1100	-164.3	-1.53			
No. 6	1.33 × 10 ³	1390	125.7	1.17	1325	64.3	0.61
		1260	-4.3	-0.04			
No. 7	1.26 × 10 ³	1180	-84.3	-0.79	1255	-5.7	-0.05
		1330	65.7	0.61			
平均値(X)	1.26 × 10 ³	1264.3			1260.7		
標準偏差(SD)		107.3			104.6		
X+2SD		1478.8			1470.0		
X-2SD		1049.8			1051.5		

C. 模擬食品からのサルモネラ属菌検出			
機関名	食品C	食品D	食品E
No. 1	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 2	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 3	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 4	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 5	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 6	陽性(O7群)	陰性	陰性
No. 7	陽性(O7群)	陰性	陰性



2 < |Z| < 3 の範囲であった。Zスコアの絶対値が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、本調査におけるZスコアだけでその測定方法等を否定できない。この機関については、民間機関が実施する外部精度管理にも参加し、適正な範囲に入る結果を得られるか検討することが望ましい。

サルモネラ属菌による食中毒は、近年は卵を原因とする集団食中毒事件が大きく減少してきていることから、行政的に検査する機会も減少傾向にある。しかしながら、鶏肉からのサルモネラ属菌の検出率は高く、最も注意しなければならない食中毒原因菌のひとつであることに変わりはない。また、加熱食肉製品（加熱殺菌後包装）や食鳥卵（殺菌液卵）からはサルモネラ属菌が検出され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。平成27年には、国際整合性を図る観点から「食品、添加物等の規格基準に定めるサルモネラ属菌の試験法」が変更された。このような

背景から、今回の精度管理ではサルモネラ属菌の検出を検査項目として選定した。

今回、食品Dに接種したサイトロバクター属菌は硫化水素を産生するため、硫化水素産生性を指標とする培地（MLCB培地、DHL培地など）ではサルモネラ属菌との鑑別が困難であるが、リジン脱炭酸陰性、ONPG陽性であることから、サルモネラ属菌を否定できる。一方、特定酵素基質培地上ではサルモネラ属菌とサイトロバクター属菌の典型的な集落が異なるため、容易に鑑別が可能である。今年度は、食品Dから分離された菌は、すべての機関でサルモネラ属菌が否定されていた。また、全ての機関で食品Cからのみサルモネラ属菌を検出することができ、検査精度に問題はなかった。収去検査でサルモネラ属菌を検出する機会は少ないことから、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

平成 29 年度富山県水道水質検査精度管理調査結果

村元 達也 中山恵理子 健名 智子 柚木 悦子

Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2017)

Tatsuya MURAMOTO, Eriko NAKAYAMA, Tomoko KEMMEI
and Etsuko YUNOKI

目的：富山県では、平成8年度より、県内の水質検査機関における試験分析技術及び検査精度の向上を図るため、県内検査機関を対象に、「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理事業を実施している。この事業において、当所は配布検体の作製、参加機関から報告されたデータの集計及び解析並びに技術研修を担当している。今回、平成29年度に実施した臭素酸及び硬度の精度管理事業の調査結果についてまとめたので報告する。

材料と方法：

- (1) 検査項目：臭素酸，硬度
- (2) 検体の配布年月日：平成30年1月16日
- (3) 参加機関：富山県内で水道水等の水質検査を実施している検査機関で、水道事業者，水道用水供給事業者，水道法第20条に規定する登録検査機関及び地方公共団体の20機関
- (4) 配布検体：臭素酸測定用検体は，検体配布前日（平成30年1月15日）に衛生研究所の水道水に臭素酸イオン標準液（2,000 mg/L：和光純薬工業株式会社製）を0.004 mg/L添加して作製したもので，配布に際し，臭素酸の濃度範囲は0.001～0.01 mg/Lであると明示した。あらかじめ任意の3本を抜き出して臭素酸を測定したところ，そのビン間変動係数は0.6%であった。また，検体配布6日後（平成30年1月22日），13日後（平成30年1月29日）においても臭素酸濃度に変化はなく，配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。
硬度の検体は，検体配布前日（平成30年1月15日）に衛生研究所の水道水にカルシウム標準液（1,000 mg/L：和光純薬工業株式会社製）を10 mg/L添加して作製したもので，配布に際し，硬度の濃度範囲は10～300 mg/Lであると明示した。あらかじめ任意の3本を抜き出して硬度を測定した

ところ，そのビン間変動係数は0.7%であった。また，検体配布8日後（平成30年1月24日），14日後（平成30年1月30日）においても硬度濃度に変化はなく，配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。

(5) 検査方法及び検査結果：検査は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用いて5回の併行測定を行うこととした。検査結果は5回の併行測定値を有効数字3桁で報告することとし，その平均値（ \bar{X} ）を有効数字4桁まで求め，各機関の測定値として解析を行った。

(6) 集計項目

範囲 = |最大値 - 最小値|

回収率 = 測定値 / 平均値

変動係数 = 標準偏差 / 平均値 × 100

Zスコア = $(x - X) / s$

x：各機関の測定値

X：測定値の中央値

s：0.7413 × (測定値の第3四分位数 - 測定値の第1四分位数)

結果と考察：

(1) 臭素酸

臭素酸の精度管理には17機関が参加した。すべての機関がイオンクロマトグラフポストカラム吸光光度法を用いて測定を行っていた。

各機関の測定値を大きさの順に並べて表1に，またその度数分布を図1に示す。Grubbs検定（危険率5%）により，統計的外れ値となったQ機関のデータを棄却し，棄却された機関のデータを除いて各計算値を算出したところ，16機関の測定値の平均値±標準偏差は0.004398±0.000135 mg/Lであった。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.5～2.7%，16機関間の室間変動係数は3.1%であった。

表 1. 臭素酸 結果

検査機関	測定値 (mg/L)	変動係数 (%)	回収率 (=測定値/平均値)
A	0.004112	2.0	0.93
B	0.004190	0.6	0.95
C	0.004190	2.0	0.95
D	0.004328	1.4	0.98
E	0.004346	1.1	0.99
F	0.004356	0.6	0.99
G	0.004410	1.1	1.00
H	0.004426	0.7	1.01
I	0.004470	1.7	1.02
J	0.004476	0.8	1.02
K	0.004480	0.9	1.02
L	0.004482	1.7	1.02
M	0.004488	2.0	1.02
N	0.004532	0.5	1.03
O	0.004538	0.5	1.03
P	0.004550	2.7	1.03
Q	0.005458	1.5	1.24
機関数	16	16	16
平均値	0.004398	1.27	1.00
標準偏差	0.000135	0.67	0.03
変動係数(%)	3.1	—	3.1

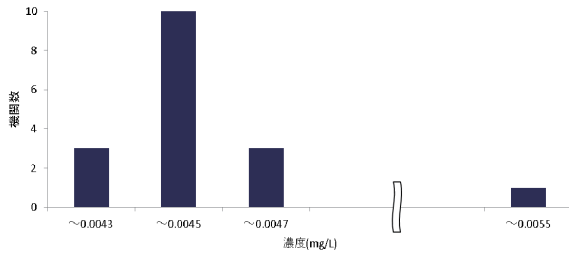


図 1. 臭素酸 ヒストグラム

Xbar-R管理図を図 2 に示す. A 及び Q 機関の測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲 (0.004128 ~ 0.004668 mg/L) から外れた. 範囲 (R) の上方管理限界値 (UCL) は 0.000290 mg/L であった.

Zスコアの順位を図 3 に示す. Zスコアは, ISO/IEC ガイド 43-1 (JIS Q 0043-1) 及び厚生労働省の水道水質検査精度管理に関する調査結果 [1] に基づき, 棄却された機関を除く 16 機関の測定値を用いて算出した. Zスコアの評価基準は, $|Z| \leq 2$ の場合を「満足」, $2 < |Z| < 3$ の場合を「疑義あり」, $3 \leq |Z|$ の場合を「不満足」とした. B 及び C 機関が「疑義あり」と, A 及び Q 機関が「不満足」と評価された.

Q 機関が, 測定値の平均値 0.004398 mg/L を真の値と仮定した場合の回収率が 0.9 ~ 1.1 の範囲 (0.003958 ~ 0.004838 mg/L) を外れた.

棄却された Q 機関については, 標準原液を告示 [2] に従い自己調製していた. Q 機関から提出され

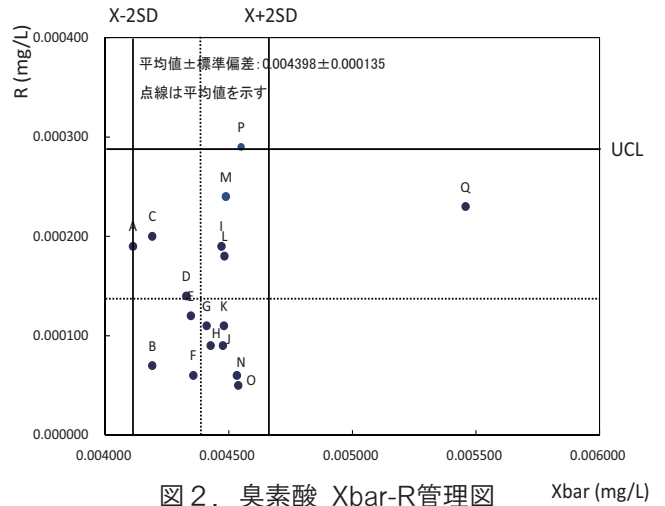


図 2. 臭素酸 Xbar-R 管理図

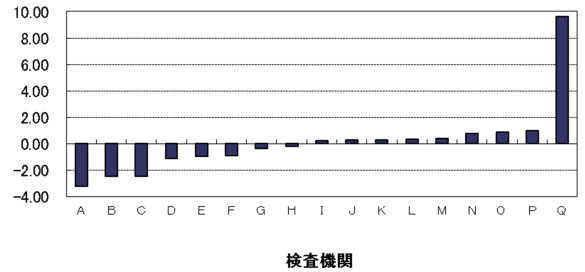


図 3. 臭素酸 Z-スコアの順位

た改善策等の報告書より, 市販標準原液から検量線用標準液を調製して再測定したところ, 測定値が改善されたことから, 標準原液の調製操作に問題があったと考えられた. 試薬の秤量, 希釈操作等が精度良く行われていないと測定値の誤差に直結してしまうため, 注意が必要である.

(2) 硬度

硬度の精度管理には 20 機関が参加した. 誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) を用いた機関が 1 機関, 誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用いた機関が 4 機関, イオンクロマトグラフ法 (IC) を用いた機関が 4 機関, 滴定法を用いた機関が 11 機関であった.

各機関の測定値を大きさの順に並べて表 2 に, またその度数分布を図 4 に示す. Grubbs 検定 (危険率 5%) により, 統計的外れ値となった a 機関のデータを棄却し, 棄却された機関のデータを除いて各計算値を算出したところ, 19 機関の測定値の平均値 ± 標準偏差は 49.23 ± 0.69 mg/L であった. 各機関内での併行測定における室内変動係数は 0.0 ~ 1.0%, 19 機関間の室間変動係数は 1.4% であった.

Xbar-R 管理図を図 5 に示す. a, s 及び t 機関の測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲 (47.85 ~ 50.61

表2. 硬度 結果

検査機関	測定値 (mg/L)	変動係数 (%)	回収率 (=測定値/平均値)	測定方法	
a	46.30	1.0	0.94	IC	棄却
b	48.34	0.8	0.98	滴定法	
c	48.54	0.2	0.99	滴定法	
d	48.58	0.2	0.99	ICP-MS	
e	48.60	0.8	0.99	IC	
f	48.70	0.2	0.99	IC	
g	48.82	0.1	0.99	滴定法	
h	48.98	0.1	0.99	滴定法	
i	49.04	0.6	1.00	滴定法	
j	49.04	0.8	1.00	ICP-MS	
k	49.16	0.3	1.00	ICP-MS	
l	49.18	0.7	1.00	滴定法	
m	49.22	0.4	1.00	滴定法	
n	49.32	0.4	1.00	ICP-MS	
o	49.42	0.3	1.00	滴定法	
p	49.50	0.3	1.01	ICP-AES	
q	49.50	0.0	1.01	滴定法	
r	49.64	0.3	1.01	滴定法	
s	50.70	1.0	1.03	滴定法	
t	51.06	0.7	1.04	IC	
機関数	19	19	19		
平均値	49.23	0.44	1.00		
標準偏差	0.69	0.29	0.01		
変動係数(%)	1.4	—	1.4		

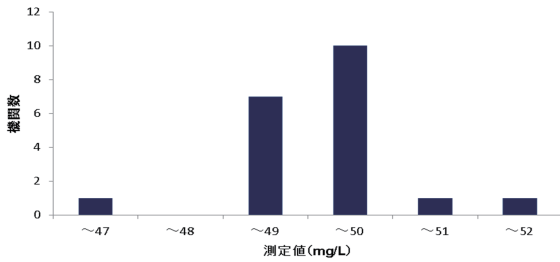


図4. 硬度 ヒストグラム

mg/L) から外れた。RのUCLは1.10 mg/Lであった。

Zスコアの順位を図6に示す。a、s及びt機関が「不満足」と評価された。

測定値の平均値49.23 mg/Lを真の値と仮定した場合の回収率が0.9~1.1の範囲(44.31~54.15 mg/L)を外れた機関はなかった。

棄却されたa機関については、試験操作手順、測定データ等に大きな問題は見られなかった。硬度の精度管理においては、回収率が0.98~1.02の範囲にある機関が全体の85%となるなど、測定値が極めて狭い範囲に集中していた。このため、わずかな誤差であってもZスコアや棄却検定の結果に大きな影響を与えたと考えられた。

参加した各機関は4種類のいずれかの測定方法を用いており、機関数の少ないICP-AESを除く3種類の測定方法について、F検定及びt検定を行ったところ、測定方法間に優位差は見られなかった。

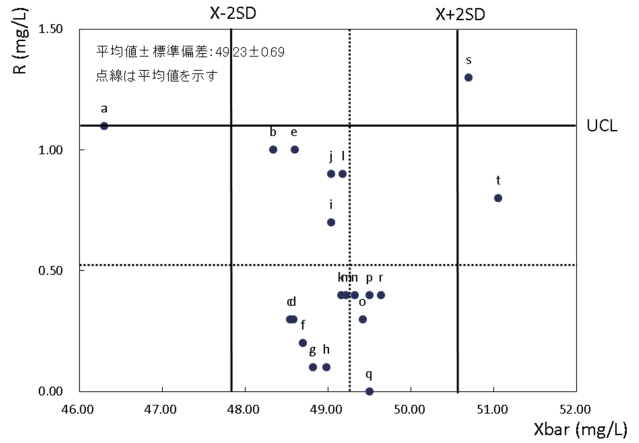


図5. 硬度 Xbar-R管理図

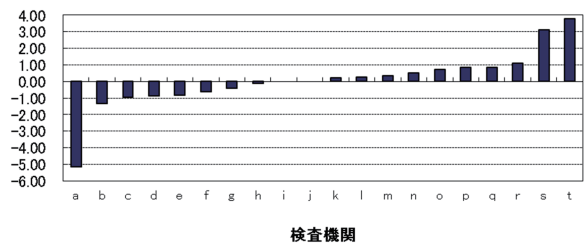


図6. 硬度 Zスコアの順位

ICP-MSを用いた機関で、カルシウムを検量線の上限付近で、マグネシウムを検量線の下限付近で定量する機関が見られた。検体の希釈や検量線の重み付けを行うなど、検体濃度に応じて適切に定量することが望ましい。

滴定法を用いた機関で、塩化マグネシウムを添加していない機関が見られた。配布検体は水道水をベースにしたもので、硬度濃度が十分高かったため、添加の有無による測定値の偏りは見られなかったが、空試験を行う際には塩化マグネシウムを添加する必要があり、空試験と検体の試験操作を統一して行うことが望ましい。

また、ICP-MSで加熱処理を、ICでろ過処理を実施していない機関があった。検査精度を確保するため、適切に前処理を実施する必要がある。

文 献

1. 厚生労働省健康局水道水質管理室 (2011), 「平成22年度水道水質検査精度管理に関する調査結果」
2. 厚生労働省告示第261号 (2003), 平成15年7月22日

ピロガロールレッド・モリブデン錯体比色法による 尿蛋白定量について

上野 美穂 田村 恒介 石橋 悠太 中崎美峰子

Measurement of Total Urinary Protein by Pyrogallol red-molybdate Method

Miho UENO, Kosuke TAMURA, Yuta ISHIBASHI and Mineko NAKAZAKI

尿蛋白の定量法は、スルホサリチル酸法などの比濁法、蛋白と色素の結合を利用した比色法などがある。近年は精度、特異性などの面から日常検査では比色法が広く利用されている[1,2]。

比濁法のスルホサリチル酸法は、蛋白の種類による濁度差が大きく、アルブミンとグロブリンでは2倍以上も異なる[3]。一方、比色法のピロガロールレッド・モリブデン錯体比色法（以下、「ピロガロールレッド法」という）は蛋白の種類による呈色差が小さく、アルブミン100%に対してγ-グロブリンは70～80%と言われている[1,4]。また、生成色素のセルへの吸着が少なく、自動分析機への応用が可能であり[1]、試薬キットが市販されている。

ピロガロールレッド法の測定原理は、以下のとおりである。ピロガロールレッド（PR）はモリブデン酸 [Mo(VI)] と結合し、赤色錯体を形成する。この錯体は、酸性条件下で蛋白と結合すると、極大吸収波長が長波長側にシフトし青紫色を呈する。この青紫色の吸光度を測定することにより試料中の総蛋白濃度を求めるものである[5]。

当所環境保健部では従来、尿蛋白定量をスルホサリチル酸法で行ってきたが、今回市販の試薬キットを用いたピロガロールレッド法に変更するため、正確性及び再現性等を検討した。

方 法

- 1. 検体**：尿検体として、平成29年度神通川流域住民健康調査の精密検診受診者の尿を用いた。
- 2. 試薬**：測定キットはマイクロTP-テストワコー2（富士フィルム和光純薬(株)製）を用いた。管理用血清として、コントロール血清Iワコー（富士フィルム和光純薬工業(株)製）を生理食塩水（0.9%NaCl）で希釈して用いた。定量用尿コントロールとして、ライフチェック定量用尿コントロールノーマル(1)とアブノーマル(2)（Bio-Rad

Laboratories.Inc製）を用いた。ヒト血清アルブミンはシグマ社製を用いた。

3. 装置：分光光度計（UV-1200（島津製作所(株)製））、恒温水槽

4. 測定法（標準操作法）：本キットの測定法は、分光光度計を使用する方法（測定法1）と自動分析装置を使用する方法（測定法2）があるが、検査頻度が少ないことから、測定法1を用いることとした。

測定法1の標準操作法は、試料0.05 mLと発色試液3.0 mLをよく混合し、37°Cで30分間加温後、分光光度計（波長600 nm）で吸光度を測定する。試料は検体(S)、標準(Std, 総蛋白100 mg/dL)および試薬盲検(BI)であり、BIを対照としたSの吸光度EsおよびStdの吸光度EStdから、以下の式で総蛋白濃度を求める。

$$\text{総蛋白濃度(mg/dL)} = E_s / E_{Std} \times 100$$

5. 検討方法：本キットの添付文書[5]に記載された以下の「性能」4項目を評価した。

(1)感度：蒸留水及び特定濃度の標準液（総蛋白100 mg/dL）を試料として操作し、吸光度を測定した。

(2)正確性：既知濃度のコントロール血清を使用した。これはヒトプール血清をベースとした凍結乾燥品で、一定量の蒸留水を加え溶解して用い、精度管理用として使用しやすいように各成分の濃度を調整したものである。この添付文書の各成分の測定値表には、表記載の測定法および測定試薬を用いて測定した実測値（平均値、標準偏差）が表示されている。この表示値を基に、本キットの測定範囲（濃度）に生理食塩水で希釈したものを測定した。

また、精度管理のための定量用尿コントロールを測定した。これはヒト尿をベースとして、ヒトおよび動物由来成分、治療薬、化学物質、ホルモンおよび安定剤を添加して調製されている。凍結

乾燥品となっており、一定量の蒸留水を加え溶解し用いる。添付文書には各成分の濃度について、複数の検査データから得られた平均値と範囲(±3SD)が記載されている。今回、尿中の各成分濃度が正常域と異常域の2種類の定量用尿コントロールを使用した。尿蛋白については通常、30 mg/dL未満が正常((-)~(±)), 30 mg/dL以上は異常(+)以上とされている[2]。

(3)同時再現性：同一検体を5回以上同時に測定し、吸光度のCV値(%)を求めた。

(4)測定範囲：既知濃度のヒト血清アルブミン溶液(ヒト血清アルブミンを正確に秤り、生理食塩水で希釈)を測定し、吸光度の直線性及び既知濃度に対する測定値の割合(%)を検討した。

また、同一検体について他の検査機関で測定した値と当部の測定値を比較した。平成29年度精密検診を行った医療機関の尿蛋白データを利用し、相関性の分析は、検体番号と尿蛋白データの既に匿名化された情報のみで行った。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得た(承認日：平成30年8月9日)。

結果及び考察

1. 感度：添付文書には「(イ)精製水を試料として操作した場合の吸光度は、0.76以下です」と記載されていた。これは、蒸留水またはイオン交換水を試料とする試薬盲検(BI)の吸光度を示しており、当部では0.26~0.27であった。次に「(ロ)特定濃度の標準液(総蛋白100 mg/dL)を試料として操作した場合の吸光度は、0.03~0.37です」と記載されていた。キットに含まれている蛋

白標準液(ヒト血清アルブミン蛋白100 mg/dL)を測定したところ、吸光度は0.18~0.20であった。以上の結果より、感度について添付文書に記載された性能を満たしていた。

2. 正確性：添付文書の記載は「既知濃度の管理用血清を測定するとき、既知濃度の±9%以内にあります」であった。使用したコントロール血清の添付文書の測定値表には、総蛋白の平均値(6.2 g/dL)、標準偏差(0.14)、測定法(ビューレット法)と表示されていた。そこで、生理食塩水で12.5~1667倍希釈し、本キットの測定範囲(濃度)の溶液を調製し測定した(表1)。

この結果、希釈後の濃度に対する測定値の割合が±9%を超えるものもみられた。これは、コントロール血清の希釈誤差と測定誤差によると思われるが、尿蛋白と血清蛋白の測定法の違いによる影響も考えられた。

表1. 既知濃度のコントロール血清の測定値

希釈倍数 ¹⁾	濃度 ²⁾ (mg/dL)	測定値 (mg/dL)	濃度 ²⁾ に対する 測定値の割合 (%)
1667	3.7	3.2	86
500	12.4	13.0	105
166.7	37.2	42.9	115
100	62.0	70.4	114
83.3	74.4	82.1	110
50	124	133.3	108
25	248	275.0	111
16.67	372	386.9	104
12.5	496	486.2	98

1)希釈は生理食塩水を用いた

2)添付文書に記載された総蛋白(6.2g/dL, ビューレット法)と希釈倍数から算出した濃度

表2. 2種類の定量用尿コントロールの測定値

	平均値 ¹⁾ (mg/dL)	範囲 ²⁾ (mg/dL)	測定者	測定値 (mg/dL)
定量用 尿コントロール(1) (正常域)	21.7	16.2~27.1	A	19.4
			B	20.7
			C	18.1
			D	21.7
定量用 尿コントロール(2) (異常域)	66.6	57.0~76.2	A	59.7
			B	62.3
			C	59.6
			D	65.3

1)添付文書に記載されている平均値、複数の検査データにより得られたもの

2)平均値に対応する±3SD(標準偏差)

そこで、市販の定量用尿コントロールを用い、正確性の検討を試みた。この添付文書には、ピロガロールレッド法で測定した総蛋白が記載されている。当部の研究員4名が同一ロットの定量用尿コントロール（尿蛋白が正常域と異常域の2種類）を測定した。この結果、測定値は全て添付文書に記載された範囲に含まれた（表2）。

検査精度については、（一社）日本臨床検査技師会が実施している日臨技臨床精度管理調査の臨床化学検査に尿蛋白定量の項目がある。今後はこのような調査に参加することにより、検査精度を確認し、維持することが望まれる。

3. 同時再現性：添付文書の記載は「同一検体を5回以上同時に測定するとき、吸光度のCV値は3.0%以下です（蛋白30 mg/dL以上の検体）」であった。蛋白量が約60 mg/dLの検体を同時に10回測定したところ、吸光度のCV値は0.79%であった（表3）。以上より、同時再現性について添付文書に記載さ

れた性能を満たしていた。

4. 測定範囲：添付文書の記載は「総蛋白4.3～500 mg/dLです。（標準操作法による）」であった。各種濃度のヒト血清アルブミン溶液（溶媒：生理食塩水）を用い測定したところ、吸光度は3～500 mg/dLで良好な直線性（ $R^2=0.9992$ ）を示した（図1）。測定した総蛋白濃度は、10～500 mg/dLの範囲で既知濃度の94～102%であった。以上より、測定範囲について添付文書に記載された性能を満たしていた。

5. 他の検査機関との相関性：平成29年度精密検診受診者の尿90検体を本キットで測定した。精密検診を行った3つの医療機関は、全てピロガロールレッド法で尿蛋白を定量している。医療機関の尿蛋白データと比較し測定値の相関性を調べたところ、相関係数（R）は0.9829、回帰直線の傾きは1.0587であり、良好な相関性を示した（図2）。

表3. 同一検体を10回同時に測定したときの吸光度

No.	吸光度	濃度(mg/dL)
1	0.3745	55.2
2	0.3784	57.2
3	0.3769	56.4
4	0.3798	57.9
5	0.3788	57.4
6	0.3806	58.3
7	0.3807	58.4
8	0.3756	55.8
9	0.3851	60.6
10	0.3787	57.4
平均	0.3789	57.46
標準偏差	0.0030	1.52
CV値(%)	0.79	2.64

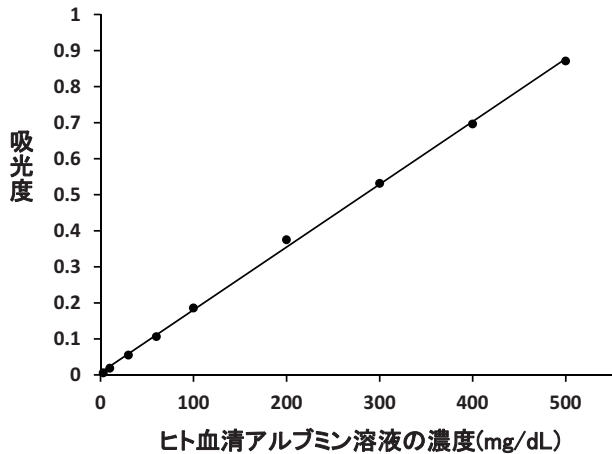


図1. 直線性

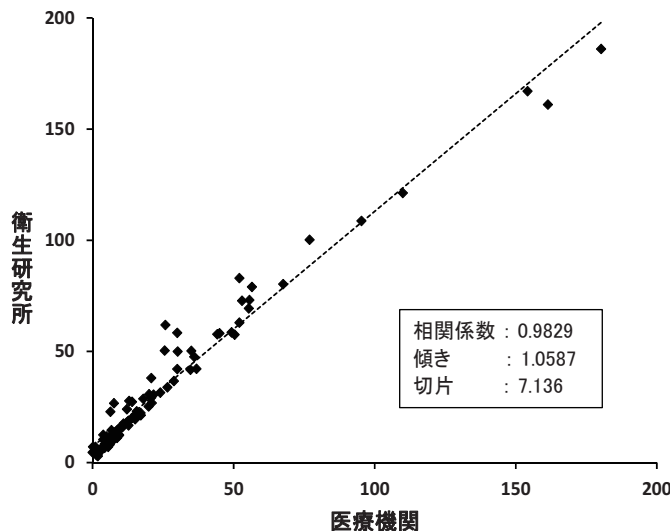


図2. ピロガロールレッド法による尿蛋白定量比較 (mg/dL)

ま と め

尿蛋白の定量法として、市販の試薬キットを用いたピロガロールレッド法を検討した結果、良好な正確性及び再現性が示された。今後、本法により尿蛋白を定量することとした。

文 献

1. 臨床検査法提要 改訂第34版(金井正光監修), 133-136, 金原出版株式会社
2. 日本腎臓学会腎機能(GFR)・尿蛋白測定委員会報告書, 日腎会誌 (2001), 43(1), 1-19
3. 是枝忠子, 後藤光興, 栗田美智子, 他. (1980). 杏林医会誌, 11(4), 371-378
4. Watanabe N, Kamei S, Ohkubo A, et al. (1986). Clin Chem, 32(8), 1551-1554
5. マイクロTP-テストワコー2添付文書(和光純薬工業株式会社)

III 業 績

(1) 誌 上 発 表

[著書・総説]

1) 研究所紹介シリーズ - 7 富山県衛生研究所 ウイルス部

滝澤剛則

臨床とウイルス, 44 :59-61, 2017

[原 著]

1) First complete genome sequences of genogroup V, genotype 3 porcine sapoviruses: common 5'-terminal genomic feature of sapoviruses

Tomoichiro Oka*, Yen Hai Doan*, Takashi Shimoike*, Kei Haga*, Takenori Takizawa

Virus Genes, 53, 848-855, 2017

Sapoviruses (SaVs) are enteric viruses and have been detected in various mammals. They are divided into multiple genogroups and genotypes based on the entire major capsid protein (VP 1) encoding region sequences. In this study, we determined the first complete genome sequences of two genogroup V, genotype 3 (GV.3) SaV strains detected from swine fecal samples, in combination with Illumina MiSeq sequencing of the libraries prepared from viral RNA and PCR products. The lengths of the viral genome (7494 nucleotides [nt] excluding polyA tail) and short 5'-untranslated region (14 nt) as well as two predicted open reading frames are similar to those of other SaVs. The amino acid differences between the two porcine SaVs are most frequent in the central region of the VP1-encoding region. A stem-loop structure which was predicted in the first 41 nt of the 5'-terminal region of GV.3 SaVs and the other available complete genome sequences of SaVs may have a critical role in viral genome replication. Our study provides complete genome sequences of rarely reported GV.3 SaV strains and highlights the common 5'-terminal genomic feature of SaVs detected from different mammalian species.

2) Population structure of *Escherichia coli* O26:H11 with recent and repeated stx2 acquisition in multiple lineages.

Yoshitoshi Ogura*, Yasuhiro Gotoh*, Takehiko Itoh*, Mitsuhiro P. Sato*, Kazuko Seto*, Shyuji Yoshino*, Junko Isobe, Yoshiki Etoh*, Mariko Kurogi*, Keiko Kimata, Eriko Maeda*, Denis Pierard*, Masahiro Kusumoto*, Masato Akiba*, Kiyoshi Tominaga*, Yumi Kirino*, Yuki Kato*, Katsuhiko Shirahige*, Tadasuke Ooka*, Nozomi Ishijima*, Ken-ichi Lee*, Sunao Iyoda*, Jacques Georges Maini*1, Tetsuya Hayashi*

Microbial genomics, 3, doi: 10.1099/mgen.0.000141, 2017

A key virulence factor of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) is the bacteriophage-encoded Shiga toxin (Stx). Stxs are classified into two types, Stx1 and Stx2, and Stx2-producing strains are thought to cause more severe infections than strains producing only Stx1. Although O26:H11 is the second most prevalent EHEC following O157:H7, the majority of O26:H11 strains produce Stx1 alone. However, Stx2-producing O26 strains have increasingly been detected worldwide. Through a large-scale genome analysis, we present a global phylogenetic overview and evolutionary timescale for *E. coli* O26:H11. The origin of O26 has been estimated to be 415 years ago. Sequence type 21C1 (ST21C1), one of the two sublineages of ST21, the most predominant O26:H11 lineage worldwide, emerged 213 years ago from one of the three ST29 sublineages (ST29C2). The other ST21 lineage (ST21C2) emerged 95 years ago from ST21C1. Increases in population size occurred in the late 20th century for all of the O26 lineages, but most remarkably for ST21C2. Analysis of the distribution of stx2-positive strains revealed the recent and repeated acquisition of the stx2 gene in multiple lineages of O26, both in ST21 and ST29. Other major EHEC virulence genes, such as type III secretion system effector genes and plasmid-encoded virulence genes, were well conserved in ST21 compared to ST29. In addition, more antimicrobial-resistance genes have accumulated in the ST21C1 lineage. Although current attention is focused on several highly virulent ST29 clones that have acquired the stx2 gene, there is also a considerable risk that the ST21 lineage could yield highly virulent clones.

3) Distribution and Molecular Characterization of *Acinetobacter baumannii* International Clone II Lineage in Japan

Mari Matsui*, Masato Suzuki*, Masahiro Suzuki*, Jun Yatsuyanagi*, Masanori Watahiki, Yoichi Hiraki*, Fumio Kawano*, Atsuko Tsutsui*, Keigo Shibayama*, Satowa Suzuki*.

Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 62, e02190-17, 2018

Multidrug-resistant (MDR) *Acinetobacter* spp. have been globally disseminated in association with the successful clonal lineage *Acinetobacter baumannii* international clone II (IC II). Because the prevalence of MDR *Acinetobacter* spp. in Japan remains very low, we characterized all *Acinetobacter* spp. (n = 866) from 76 hospitals between October 2012 and March 2013 to describe the entire molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp. The most prevalent species was *A. baumannii* (n = 645; 74.5%), with *A. baumannii* IC II (n = 245) accounting for 28.3% of the total. Meropenem-resistant isolates accounted for 2.0% (n = 17) and carried *ISAbal-bla*_{OXA-23-like} (n = 10), *bla*_{IMP} (n = 4), or *ISAbal-bla*_{OXA-51-like} (n = 3). Multilocus sequence typing of 110 representative *A. baumannii* isolates revealed the considerable prevalence of domestic sequence types (STs). *A. baumannii* IC II isolates were divided into the domestic sequence type 469 (ST469) (n = 18) and the globally disseminated STs ST208 (n = 14) and ST219 (n = 4). ST469 isolates were susceptible to more antimicrobial agents, while ST208 and ST219 overproduced the intrinsic AmpC β -lactamase. *A. baumannii* IC II and some *A. baumannii* non-IC II STs (e.g., ST149 and ST246) were associated with fluoroquinolone resistance. This study revealed that carbapenem-susceptible *A. baumannii* IC II was moderately disseminated in Japan. The low prevalence of acquired carbapenemase genes and presence of domestic STs could contribute to the low

prevalence of MDR *A. baumannii*. A similar epidemiology might have appeared before the global dissemination of MDR epidemic lineages. In addition, fluoroquinolone resistance associated with *A. baumannii* IC II may provide insight into the significance of *A. baumannii* epidemic clones.

- 4) Rapid and accurate diagnosis based on real-time PCR cycle threshold value for the identification of *Campylobacter jejuni*, *astA* gene-positive *Escherichia coli*, and *eae* gene-positive *E. coli*

Jun Kawase*, Hiroshi Asakura*, Morito Kurosaki*, Hitoshi Oshiro*, Yoshiki Etoh*, Tetsuya Ikeda*, Masanori Watahiki, Mitsuhiro Kameyama*, Fumi Hayashi*, Yuta Kawakami*, Yoshiko Murakami*, Yoshie Tsunomori*

Japanese Journal of Infectious Diseases, 71, 79-84, 2018

We previously developed a multiplex real-time PCR assay (Rapid Foodborne Bacterial Screening 24 ver. 5, [RFBS24 ver. 5]) for simultaneous detection of 24 foodborne bacterial targets. Here, to overcome the discrepancy of the results from RFBS24 ver. 5 and bacterial culture methods (BC), we analyzed 246 human clinical samples from 49 gastroenteritis outbreaks using RFBS24 ver. 5 and evaluated the correlation between the cycle threshold (CT) value of RFBS24 ver. 5 and the BC results. The results showed that the RFBS24 ver. 5 was more sensitive than BC for *Campylobacter jejuni* and *Escherichia coli* harboring *astA* or *eae*, with positive predictive values (PPV) of 45.5-87.0% and a kappa coefficient (KC) of 0.60-0.92, respectively. The CTs were significantly different between BC-positive and -negative samples ($p < 0.01$). All RFBS24 ver. 5-positive samples were BC-positive under the lower confidence interval (CI) limit of 95% or 99% for the CT of the BC-negative samples. We set the 95% or 99% CI lower limit to the determination CT (d-CT) to discriminate for assured BC-positive results (d-CTs:27.42-30.86), and subsequently the PPVs (94.7%-100.0%) and KCs (0.89-0.95) of the 3 targets were increased. Together, we concluded that the implication of a d-CT-based approach would be a valuable tool for rapid and accurate diagnoses using the RFBS24 ver.5 system.

- 5) Simultaneous determination of alcohols including diols and triols by HPLC with ultraviolet detection based on the formation of a copper(II) complex

Sohei Tanaka*, Takumi Dohi*, Sen-ichi Aizawa*, Tomoko Kemmei, Hiroyuki Terashima*, Atsushi Taga*, Atsushi Yamamoto*, Shuji Kodama*

Journal of Separation Science, 40, 4168-4175, 2017

We developed a reversed-phase high-performance liquid chromatography method with ultraviolet detection using on-line complexation with Cu(II) ion for analysis of five alcohols including diols and triol (methanol, ethanol, 1,2-propanediol, 1,3-propanediol, and glycerol). The Cu(II) ion concentration in the mobile phase had a great influence on the peak areas of these alcohols, but not on their retention times. Column temperature (25-40°C) and pH of the mobile phase did not affect the separation of analytes. The optimum separation conditions were determined as

5 mM CuSO₄, 3 mM H₂SO₄, and 3 mM NaOH at 30°C. The ratio of the peak areas for three alcohols (methanol, 1,2-propanediol, and glycerol) was in good agreement with that calculated from the obtained stability constants, molar absorption coefficients for the 1:1 Cu(II) complexes with the three alcohols, and the injected molar quantities. This fact strongly suggests that the observed high-performance liquid chromatography signals resulted from formation of the 1:1 Cu(II)-alcohol complexes. Using the proposed method, these five alcohols in spirit, liquid for electronic cigarette, mouth-wash, and nail enamel remover samples were successfully analyzed with only a simple pretreatment.

6) Reversed phase ion-pair chromatographic separation of sugar alcohols by complexation with molybdate ion

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

Journal of Chromatography A, 1547, 71-76, 2018

In this study, we developed a simple and sensitive reversed phase ion-pair chromatographic method for the analysis of C4-C6 sugar alcohols. The method is based on the on-line complexation of sugar alcohols with molybdate ion. The resulting dinuclear anionic complexes can be separated on a reversed-phase C18 column using tetrabutylammonium chloride as an ion-pairing reagent. The mobile phase (pH 3.1) consisted of 0.1 mM disodium molybdate, 1 mM hydrochloric acid and 0.4 mM tetrabutylammonium chloride -10% v/v methanol. By complexing with molybdate ion, sugar alcohols can be detected by their UV absorption at 247 nm with high resolution and sensitivity. The quantification limits of the examined sugar alcohols calculated at S/N = 10 were 0.1 mM for erythritol and xylitol and 0.01 mM for arabitol, sorbitol, mannitol and dulcitol. The detector response was linear over three orders of magnitude of sugar alcohol concentration. The proposed method was successfully applied to measure sugar alcohols in health drinks, eyedrops and mouthwashes.

7) 2016年のつつが虫病患者の多発一富山県

名古屋真弓, 佐賀由美子, 稲崎倫子, 長谷川澄代, 稲畑 良, 板持雅恵, 米田哲也, 小渕正次, 大石直人*, 川瀬紀夫*, 広明秀一*, 齋藤知里*, 久松佑生子*, 松島範子*, 黒澤 豊*, 三井千恵子*, 新保孝治*, 加納紅代*

病原微生物検出情報 (IASR) 38:115-116, 2018

要旨なし

[報 告]

1) 急性呼吸器感染症の病原体サーベイランスの手法の開発

研究分担者：小淵正次，研究協力者：米田哲也

厚生労働行政推進調査事業費補助金：新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業；新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント 平成29年度総括・分担研究報告書，pp.171-174

入院例を含む急性呼吸器感染症（ARI）罹患小児から検体を収集し，duplex リアルタイム（r）RT-PCR法により呼吸器ウイルスの検出を行った。過去3年間の調査結果と合わせ，ライノウイルスが最も多く検出された。本ウイルスは，通年で流行がみられるが春季に多く検出され，多種類の遺伝子型が同時に流行している実態が明らかになった。さらに，重症例からも多く検出されることから，上気道炎のみならず下気道炎においても検査対象にすべき重要なウイルスであることが示された。本研究で開発した rRT-PCR法は，ARI 起因ウイルスを網羅的に検出できることから，インフルエンザ非流行期における病原体サーベイランスにも有用であると考えられる。

2) 急性呼吸器感染症の病原体サーベイランスの手法の開発

研究分担者：佐多徹太郎（平成27年度），小淵正次（平成28-29年度），研究協力者：小淵正次，滝澤剛則（平成27年度），米田哲也（平成28-29年度）

厚生労働行政推進調査事業費補助金：新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業；新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント 平成27-29年度総合研究報告書，pp.67-70

25種類の呼吸器ウイルスを検出できる duplex リアルタイム（r）RT-PCR法を開発し，入院例を含む急性呼吸器感染症（ARI）罹患小児の検体からウイルスの検出を行なった。その結果，ライノウイルスが最も多く検出された。本ウイルスは，通年で流行がみられるが春季に多く検出され，多種類の遺伝子型が同時に流行している実態が明らかになった。さらに，呼吸器症状が長引く児や重症例からも多く検出されることから，上気道炎のみならず下気道炎においても検査対象にすべき重要なウイルスであることが示された。本研究で開発した rRT-PCR法は，ARI 起因ウイルスを網羅的に検出できることから，インフルエンザ非流行期における病原体サーベイランスにも有用であると考えられる。

3) 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 精度管理及び情報共有に関する研究

研究代表者：泉谷秀昌*，分担研究者：松本昌門*，研究協力者：山田和弘*，木全恵子，木村恵梨子*，岩崎理美*，柴田伸一郎*，野田万希子*，信田充弘*，永井佑樹*，山本新也*，中根千鶴*，多和田光紀*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」平成29年度総括・研究分担報告書，pp.50-54

平成29年度東海・北陸ブロック研究班活動として、IS printing Systemの精度管理と地域共有データベースの登録を行った。

4) 公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究

研究代表者：前川純子*，研究分担者：黒木俊郎*，森本 洋*，磯部順子，緒方喜久代*，
研究協力者：倉 文明

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成29年度総括・分担報告書，pp.33-35

「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」班では、これまでに水試料からの*Legionella*属菌検出のための標準的な検査法の検討を重ねてきた。これにより推奨法とすべき検査法が確定しつつある。この推奨法に基づいて、検査機関に対する研修を実施することで検査技術の普及と向上を図ることが当研究班の研究目的の1つとなっている。そこで、研修において使用することを前提に推奨法を解説したマニュアルの作成を検討した。入浴施設における*Legionella*属菌の汚染とこれに起因する感染症の発生を予防する目的で、これまでに複数の研究班により研究が実施されてきている。得られた研究成果は、入浴施設におけるレジオネラ汚染対策として活用されなければならない。実際に研究成果に基づいた各種の予防対策等を行われている。ここでさらに研究成果を見直し、入浴施設の衛生管理での活用の是非を検討した。

5) 感染源解明のための環境調査

研究代表者：前川純子*，研究分担者：磯部順子，研究協力者：金谷潤一

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成29年度総括・分担報告書，pp.45-61

浴槽水、シャワー水および市中河川水における*Legionella*属菌の汚染状況調査と、感染源となり得る環境検体周辺の空気中の*Legionella*属菌の棲息状況について、直接平板培養法だけでなく、アメーバ共培養法も併用して調査した。また、患者検体から最も多く分離されている*Legionella pneumophila*血清群1(以下*Lp1*)を環境検体から効率よく検出するため、抗*Lp1*抗体で感作した免疫磁気ビーズ(*Lp1* IMB)を用いて*Lp1*を選択的に濃縮する方法について検討した。

6) レジオネラ属菌迅速検査法の評価

研究代表者：前川純子*，研究分担者：磯部順子，佐々木麻里*，田栗利紹*，研究協力者：金谷潤一，山口友美*，淀谷雄亮*，上野潤二*，東出誠司*，原口浩幸*，森中りえか*，中筋 愛*，吉崎美和*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成29年度総括・分担報告書，pp.62-70

レジオネラ属菌迅速検査法の標準化のため、PALSAR法、LAMP法、EMA-LAMP法、qPCR法およびEMA-qPCR法について、浴槽水などの実検体324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。

7) レジオネラ属菌検査法の標準化に向けた取り組み

研究代表者：前川純子*，研究分担者：森本 洋*，磯部順子，黒木俊郎*，佐々木麻里*，
研究協力者：大屋日登美*，緒方喜久代*，小川恵子*，金谷潤一，倉 文明*，田中 忍*，千田恭子*，
平塚貴大*，武藤千恵子*，山口友美*，吉野修司*，渡邊涼太*，

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成29年度総括・分担報告書，pp.100-115

レジオネラ属菌検査法の標準化を目的とし，1) 精度管理，2) 標準的検査法，3) 研修システムの3点を柱とし，レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ（以下WG）内で検討を行った。

8) 地方衛生研究所を対象にした赤痢菌検査の外部精度管理調査

研究代表者：皆川洋子*，研究分担者：滝澤剛則，四宮博人*，村上光一*，大石和徳*，松本昌門*
研究協力者：河村真保*，小西典子*，平井昭彦*，貞升健志*，磯部順子，勢戸和子*，世良暢之*，
濱崎光宏*，山田和弘*，泉谷秀昌*，大西 真*，

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」平成29年度総括研究報告書，pp.I-45-97

細菌検査の信頼性確保のために外部精度管理調査を実施し，検査能力の実態を把握するとともに，継続的な実施に必要な手順や問題点を明らかにした。

9) 地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究

研究代表者：皆川洋子*，研究分担者：皆川洋子*，調 恒明*，滝澤剛則，四宮博人*，佐野一雄*，
岸本壽男*，脇田隆字*，宮崎義継*，大石和徳*，吉田 弘*，木村博一*，村上光一*，山本容正*，
松本昌門*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究（H28-健危-一般-002）」平成28年度～29年度 総合研究報告書，pp.1-19

地方衛生研究所（地衛研）と国立感染症研究所（感染研）を主体とする三つの小班を編成して各々(1)ウイルス及び(2)細菌精度調査に必要な配布試料（核酸・感染性病原体等）調製・病原体等を含む試料の授受・回答の回収及び評価まで網羅するプロトコルひな形案を作成のうえ，研究協力地衛研を対象として試行を実施した。さらに(3)全国地衛研における「病原体検査の質確保」体制構築状況及び他機関への精度管理用検体配付実績等に関するアンケート調査を実施・解析を行い，さらに保健所・大学関係者とWG会議を開催し，地域における地衛研の役割について検討した。

(2) 学 会 発 表 等

- 1) モリブデン酸錯体形成を利用した糖アルコール分析ーイオンペアHPLC法の検討ー
健名智子, 小玉修嗣*, 山本 敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
第77回分析化学討論会, 平29.5.27-28, 京都市
- 2) 富山県におけるイノシシおよび植生上からのマダニの採取状況およびSFHSV保有状況について
佐賀由美子, 稲畑 良, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 米田哲也, 板持雅恵, 渡辺 護*, 小淵正次
第35回北陸病害動物研究会, 平29.7.1, 石川県河北郡内灘町
- 3) 富山県の植生上から採集されたマダニの紅斑熱群リケッチア保有状況
佐賀由美子, 名古屋真弓, 長谷川澄代, 稲崎倫子, 稲畑 良, 板持雅恵, 米田哲也, 渡辺 護*,
山内健生*, 小淵正次
平成29年度獣医学術中部地区学会, 平29.8.27, 富山市
- 4) モリブデン酸添加移動相を用いる無機陰イオン分析
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66年会, 平29.9.10-12, 東京都葛飾区
- 5) Detection and identification of Legionella species in aerosols from the area nearby asphalt roads and from bath water in public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan
Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, Shiho Norimoto, Keiko Kimata, Kaoru Uchida,
Fumiaki Kura*, Junko Amemura-Maekawa*, Masanori Watahiki
ESGLI 2017, 2017.9.26-30, Rome
- 6) Distribution of Legionella species in windshield washer fluid of motor vehicles in Toyama, Japan
Junko Isobe, Jun-ichi Kanatani, Keiko Kimata, Junko Amemura-Maekawa*, Fumiaki Kura*,
Masanori Watahiki
ESGLI 2017, 2017.9.26-30, Rome
- 7) 農薬散布者および非散布者の曝露状況と健康影響
中崎美峰子
第66回日本農村医学会学術総会, 平29.10.5-6, 宜野湾市
- 8) 大豆製品と骨質の関連について
石橋悠太, 小林直人*
平成29年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部保健情報疫学部会, 平29.10.12-13, 岐阜市
- 9) 富山県におけるマダニの紅斑熱群リケッチアおよび重症熱性血小板減少症候群ウイルス保有状況調査
佐賀由美子, 名古屋真弓, 長谷川澄代, 稲崎倫子, 稲畑 良, 米田哲也, 板持雅恵, 青柳由美子,
渡辺 護*, 山内健生*, 小淵正次
第72回衛生動物学会西日本支部大会, 平29.10.14-15, 京都市

- 10) 富山県におけるライノウイルス感染症と流行ウイルスの分子疫学
小淵正次, 米田哲也, 新谷尚久*, 八木信一*, 小栗絢子*, 種市尋宙*, 稲崎倫子, 佐賀由美子, 板持雅恵
第65回日本ウイルス学会学術集会, 平29.10.24-26, 大阪市
- 11) 富山県における過去35年間の手足口病の流行とコクサッキーウイルスA16型の分子疫学
板持雅恵, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 米田哲也, 佐賀由美子, 滝澤剛則, 小淵正次
第65回日本ウイルス学会学術集会, 平29.10.24-26, 大阪市
- 12) 2016/17シーズンに富山県で流行したノロウイルスGII.2の遺伝学的解析
稲崎倫子, 青柳由美子, 長谷川澄代, 米田哲也, 佐賀由美子, 板持雅恵, 小淵正次
第65回日本ウイルス学会学術集会, 平29.10.24-26, 大阪市
- 13) 中高年女性を対象としたリン調整因子と骨質劣化の関連性に関する横断研究
田村恒介, 上野美穂
第76回日本公衆衛生学会総会, 平29.10.31-11.2, 鹿児島市
- 14) 富山市の地域クリニックにおける乳幼児の呼吸器ウイルス学的調査 第2報
八木信一*, 足立雄一*, 米田哲也, 小淵正次, 藤田修平*
第50回日本小児呼吸器学会, 平29.11.10-11, 東京都千代田区
- 15) 分離が困難であったEHEC O91家族内感染事例
磯部順子, 木全恵子, 内田 薫, 清水美和子, 宮寺志保, 範本志保, 金谷潤一, 綿引正則
第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 平29.11.18, 鹿児島市
- 16) LEEを保有しない腸管出血性大腸菌のゲノム解析
木全恵子, 磯部順子, 綿引正則, 勢戸和子*, 尾畑浩魅*, 小西典子*, 李 謙一*, 伊豫田淳*, 大西 真*
第21回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 平29.11.18, 鹿児島市
- 17) 地方衛生研究所のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌検査を迅速化するマルチプレックスPCR法の開発
綿引正則, 鈴木匡弘*, 熊谷優子*, 松本裕子*, 範本志保, 野田万希子*, 河原隆二*, 増田加奈子*, 仙波敬子*, 福田千恵美*, 原田誠也*, 松井真理*, 鈴木里和*, 鈴木仁人*, 柴山恵吾*, 四宮博人*
第46回 薬剤耐性菌研究会, 平29.11.11-12, 群馬県利根郡みなかみ町
- 18) Molecular epidemiology of rhinovirus in children with acute respiratory tract infections in Toyama, Japan
Masatsugu Obuchi, Tetsuya Yoneda, Naohisa Shintani*, Shinichi Yagi*, Ayako Oguri*, Hiromichi Taneichi*, Noriko Inasaki, Yumiko Saga, Masae Itamochi
WSPID 2017, 平29.12.2-5, Shenzhen, China
- 19) ワクチン導入前後のロタウイルス感染症の流行状況とA群ロタウイルス流行株について
稲崎倫子, 名古屋真弓, 青柳由美子, 板持雅恵, 長谷川澄代, 米田哲也, 佐賀由美子, 小淵正次
第52回富山県公衆衛生学会, 平30.1.30, 富山市

- 20) 富山県におけるアルベルティイ菌のさかのぼり調査
木全恵子, 磯部順子, 内田 薫, 範本志保, 金谷潤一, 綿引正則
第52回富山県公衆衛生学会, 平30.1.30, 富山市
- 21) 中高年女性におけるリン調整因子と骨質劣化の関連について
田村恒介, 小林直人*, 上野美穂
第52回富山県公衆衛生学会, 平30.1.30, 富山市
- 22) 平成29年度地域保健総合推進事業精度管理事業—ジャガイモ中 α -ソラニン, α -チャコニン定量結果について—
堀井裕子, 健名智子, 川尻千賀子
平成29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30.2.1-2, 金沢市
- 23) GC/MSによる農薬類の一斉分析法におけるマトリックス効果の影響とその抑制方法の検討
村元達也
平成29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30.2.1-2, 金沢市
- 24) 富山県の植生上から採集されたマダニの紅斑熱群リケッチア保有状況
佐賀由美子, 名古屋真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護*, 山内健生*, 小淵正次
平成29年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会, 平30.2.10-12, 大分県別府市
- 25) 富山県におけるウイルス及びリケッチア検出状況 (平成29年)
稲崎倫子, 板持雅恵
平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 26) 平成29年度北陸地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告
米田哲也, 板持雅恵
平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 27) 富山県におけるインフルエンザの流行 (2017/18シーズン)
米田哲也
平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 28) 富山県における胃腸炎ウイルス検出状況
稲崎倫子
平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 29) 富山県における平成29年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況
内田 薫
平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 30) 富山県におけるアニサキス食中毒検査と対応状況
磯部順子
平成29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30.3.1-2, 岐阜市

- 31) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
 内田 薫
 平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 32) レジオネラおよび結核レファレンス事業報告
 磯部順子
 平成29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30.3.1-2, 岐阜市
- 33) 大豆製品と骨質の関連について
 石橋悠太, 小林直人 *
 第35回富山県農村医学研究および健康管理活動発表集会, 平30.3.3, 高岡市
- 34) 逆相イオンペアHPLC-UV法による糖アルコール類の一斉分析ーモリブデン酸錯体形成を利用してー
 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138年会, 平30.3.26-28, 金沢市
- 35) 食品及び牛肉ドリップ中のStxフェージ検出の試み
 綿引正則, 三井千恵子, 木全恵子, 磯部順子
 第91回日本細菌学会総会, 平30.3.27-29, 福岡県福岡市

(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

- 1) 受賞
 名古屋 真弓
 地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部長表彰
 平成29年6月23日
- 2) 受賞
 健名 智子
 地方衛生研究所全国協議会会長表彰
 平成29年10月30日

(4) 知的 所 有 権

発明の名称	特許権者・出願人	発明者	番号
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)

富山県衛生研究所年報投稿規程

制定 平成30年 5月30日

(目的)

- 1 この投稿規程は、富山県衛生研究所年報（以下「年報」という。）に掲載する「調査研究報告」に関して必要な事項を定める。

(年報への掲載)

- 2 年報は、当所の主要な業績報告書であり、調査研究の成果等は全て「調査研究報告」または「業績」に掲載するものとする。「業績」は、他誌掲載論文及び学会発表等について掲載する。

(投稿資格)

- 3 年報の投稿者は原則として当所職員とする。但し、共著者はこの限りでない。

(投稿の手続き)

- 4 職員は、別に定める執筆要領に従って調査研究報告の原稿（以下「原稿」という。）を作成し、所長の校閲及び決裁を受けた後、その原稿を電子媒体及び印刷物により、年報委員会に提出するものとする。

(原稿の区分等)

- 5 原稿は未発表のものに限り、その区分及び内容は次表のとおりとする。投稿者は区分を示して、年報委員会に原稿を提出する。

区 分	内 容
総 説	複数年にわたる連続した研究報告を総合的にまとめたもの、複数の部門で行われた研究報告を総合的にまとめたものまたはひとつの主題に関する内外の研究報告を総括的にまとめたもの
原 著	新しい知見、新しい技術あるいは価値ある結論を報告するもの
短 報	原著にまとめ得ない断片的研究であっても、新しい事実や価値ある情報を報告するもの
資 料	有意義なあるいは利用価値のある試験結果、統計等で、記録として残しておく必要のあるもの

(年報委員会の組織及び業務)

- 6 年報委員会の組織及び業務は、次のとおりとする。

(1) 年報委員会は、委員長及び委員により構成する。

(2) 年報委員会は、提出された原稿を審査し、編集する。

(3) 年報委員会は、本投稿規程及び執筆要領によらない原稿について、訂正並びに疑義の解明などを投稿者に求めることができる。

(4) 年報委員会は、編集した「調査研究報告」の原稿に、「運営」及び「業績」等を加えた全原稿（印刷物）を委員、部課長、次長及び所長に回覧し、校閲及び決裁を受ける。

(5) 審査、編集上必要な事項については、年報委員会で審議し、決定できるものとする。

(校正)

- 7 校正は、著者の責任とする。校正は誤植のみとし、校正時における文章や図表の追加、添削及び変更は原則として認めない。

(その他)

- 8 本投稿規程に定めのない事項については、年報委員会で協議の上、所長が定める。

(適用)

- 9 この規程は、平成30年 5月30日から適用する。

富山県衛生研究所年報執筆要領

制定 平成30年 5月30日

I 調査研究報告

- 1 著者は原則として当所職員に限る。ただし、共著者はこの限りでない。
- 2 原稿は、原則としてMicrosoft Word を用いて作成する。最初に表題、著者及び共著者の氏名を和文で記載する。次に同じ内容を英文で記載する。当所職員以外の共著者は氏名の端に番号を付記（例：小杉 太郎¹）し、脚注に所属を和文で記載する。

① 総説の構成と記載方法

表題及び著者名の次に、要旨を記載する。本文の構成は自由とするが、原著及び短報の構成を参考としてもよい。最後に文献を記載する。見出しはゴシック体でセンタリングし、前後を1行ずつあける。

② 原著及び短報の構成と記載方法

表題及び著者名の次に、要旨を記載する。本文は、“目的”、“はじめに”といった見出しは付けずにいきなり書き出す。続いて材料と方法、結果、考察、謝辞、文献の順に記載する。見出しはゴシック体でセンタリングし、前後を1行ずつあける。

③ 資料の構成と記載方法

要旨はなく、いきなり本文を書き出す。内容は原則として目的、材料と方法、結果、考察の順とする。区切りは前を1行あけ、見出しは行頭にゴシック体で記し、コロン(:), 本文、と書き進める。続いて謝辞と文献を原著及び短報と同じ方法で記載する。

- 3 原稿は和文横書き（要旨は1段組（1行45字程度）、本文は2段組（1ページ22字×47行程度））とし、口語体、現代仮名づかいとする。

句読点は全角のコンマ(,)とピリオド(.)を使用する。

英文および数字は原則として半角とする。数字は算用数字を用い、桁区切りの(,)や小数点の(.)は半角とする。

動植物名、外来語はカタカナとする。

イタリックにする場合はスタイルを斜体とする。

文字のフォント等の書式は、以下のとおりとする。

① 表題及び著者名

和文：表題は、MS明朝強調（太字）14ポイント。

著者名は、MSゴシック強調（太字）12ポイント、5文字に収めることを基本とする。著者と著者の間は2文字あけ、1行に4人分記載する。2行にわたる場合は2行目をセンタリング。

英文：表題及び著者名ともにCentury12ポイント。

表題は、単語の頭文字を大文字とする。前置詞（in, of, and, betweenなど）は小文字とする。

② 本文及び文献

本文は、MS明朝10.5ポイント。英文及び数字は、Century10.5ポイント。

文献も本文と同じ。

見出しは、MSゴシック強調（太字）10.5ポイント。

- 4 図、表、写真のタイトルおよび項目、説明はできるだけ英文とし、タイトルは、表の上、図の下の中央に記載する。タイトルが2行にわたるときは以下のとおり。

Fig.1. Table 1.

Table 1. Epidemic…

(アケル) Salmo…

図表は、できるだけ本文に組み込んだ形で提出する。それが困難な場合は、本文中に図表の位置を指示するか、又は印刷業者に「昨年度と同じスタイルで」等と伝える。

5 引用する文献は、本文中では下記のように記載する。

[例] Kosugiら[1]は…, 著者等は前報[2]で…, 多くの報告[3,4,5]があるが…

6 引用する文献は最後に引用順に配列し、下記のように記載する。単行本の場合は頁の後に発行所名を入れる。

[例] 1. Kosugi K, Toyama J. (2001). *Microbiol Immunol*, 46, 123-128

2. 小杉和子, 富山次郎, 剣 岳雄. (2016). 富山県衛生研究所年報, 39, 88-95

3. 射水三郎. (1999). 化学ハンドブック (高岡衛ら編), 298-304, 太閤書店

文献の著者が3人までは全員, 4人以上の場合は3人までを挙げ, 4人目以降は省略して, 3人の著者名+『, 他.』とする。英文の文献で著者が4人以上の場合は, 3人の著者名+『, et al.』とする。

[例] 1. 小杉和子, 富山次郎, 剣 岳雄, 他. (2016). 富山県衛生研究所年報, 39, 88-95

2. Kosugi K, Toyama J, Turugi T, et al. (2001). *Microbiol Immunol*, 46, 123-128

7 インターネットのサイトは、他に適切な資料が得られない場合のみ文献として使用してもよいこととする。

この場合は、引用番号、著者名、タイトル、発表年、引用元のURL及びアクセス年月日を記載する。

[例] 1. 厚生労働省. 医療国際展開戦略室の設置について. 2011. <http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r985000003125v.html> (2017年12月28日アクセス可能)

8 別刷り希望者は、電子媒体を利用する。

II 運営及び業績

1 「運営」及び「業績」は、各項目を各部で前年の年報の様式に従って記載し、衛生研究所共有フォルダ内の「年報」フォルダ（各部のフォルダ内に「共通原稿」フォルダを作成）にデジタルファイルで、当該年度の内容であることが分かるように、文字の色を変えるなどして期日までに登録する。

2 「業績」の書式については、以下のとおりとする。

英文は、Times New Roman 10.5ポイント。

和文は、MS明朝10.5ポイント。

学会等の日付の表記は、2日間以上の場合、半角のハイフンでつなぐ。

[例] 平29.8.19-20, 東京都

編 集 委 員

委員長	上野美穂
委員	野島留美
	品川保弘
	稲崎倫子
	木全恵子
	中山恵理子
	中崎美峰子

富山県衛生研究所年報

平成29年度 第41号

2018年12月20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)

FAX (0766) 56-7326

印刷 有限会社ヤツオ印刷
富山市八尾町上高善寺946
電話 (076) 455-1201

