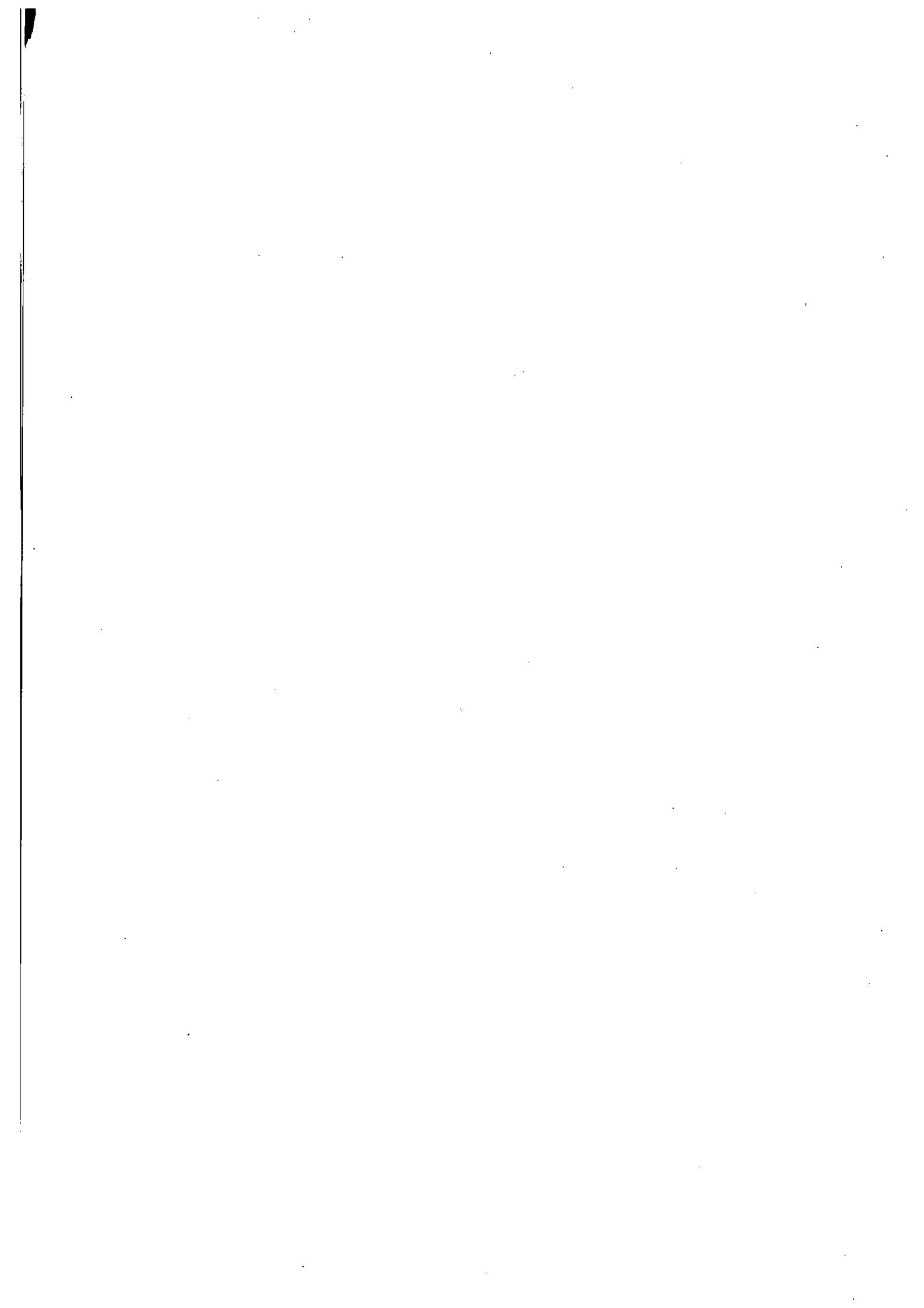


富山県衛生研究所年報

(平成16年度)

第28号

富山県衛生研究所



はじめに

近年、SARSや高病原性鳥インフルエンザなど新たな感染症の発生、また結核や天然痘などこれまで封じ込められた、あるいは一旦は制圧されたと見なされている感染症再興の兆し、さらには炭疽菌によるバイオテロなど健康危機管理への対応は極めて複雑かつ多様化しています。

また、行政面からも指定管理者制度の導入や地方独立行政法人化の検討など行財政改革の厳しい波が押し寄せてきています。

このような中で、富山県衛生研究所は地域保健対策の科学的・技術的中核機関として、国、他県の関係機関や県の厚生センターなどと連携しながら県民の健康づくりを支援し、くらしの安全が確保されるよう努めているところです。

一方、研究面においては、研究評価制度を導入し、当所の調査研究が自己満足的なものではなく、県民ニーズへの対応や科学的・技術的かつ効率的な観点などから他者の評価に耐え得るものかどうかを検証しています。昨年度は36の研究課題について所内での内部評価を行い、その中から特に有意義である、特にミッション性が高いと評価された5課題について、外部有識者の方々に評価をお願いしました。それぞれの課題に対して鋭い指摘と建設的な意見を述べていただき、次の一步を踏み出す上で大いに参考とさせていただきます。研究評価は当所自体が自己変革を遂げる上でも必須であるといえます。

このように「外からの健康危機管理への対応」と「内からの自己変革への努力」の両面において、職員一同、一層の研鑽に努めているところです。

ここに、平成16年度の調査研究など業務概要を第28号として取りまとめました。調査研究報告では、新生児アミノ酸代謝異常症の高速液体クロマトグラフィーによる迅速マス・スクリーニング検査法の開発など18題、資料では食中毒患者から分離されたカンピロバクター・ジェジュニの細菌学的検討など10題、その他行政依頼検査状況などを掲載しています。ご高覧のうえ、ご意見等をいただければ幸いと存じます。

今後とも県民の「健康とくらしの安全を科学する」ために、最善の努力をしてまいりたいと考えていますので、引き続きご指導、ご支援をお願い申し上げます。

平成17年7月

富山県衛生研究所長

永井美之

目 次

1. 運 営

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

2. 調 査 研 究 報 告

先天性代謝異常等マス・スクリーニングの成果について（平成16年度の検査成績）	23
九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 石丸敏子	
高速液体クロマトグラフィーによる新生児アミノ酸代謝異常症の迅速マス・スクリーニング検査法の開発	33
米田 豊, 九曜雅子	
ヒト染色体に関する調査研究—血液, 骨髄液—（平成16年度）	41
林 美貴子, 本田幸子	
ヒト染色体に関する調査研究—羊水・流産胎児—（平成16年度）	46
本田幸子, 林 美貴子, 品川保弘	
日本脳炎流行予測調査	52
渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道曉彦	
富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査, 2004年の成績	65
渡辺 護, 小原真弓, 出村尚子, 城石将幸, 長谷川澄代, 松澤留美子, 小林睦生	
ポリオ流行予測調査	73
岩井雅恵, 長谷川澄代, 松浦久美子, 堀元栄詞, 小原真弓, 永井美之, 番留忠司, 田中桂子, 飛田忠嗣, 田中有易知, 瀧波賢治	

ポリオ流行予測調査感染源調査においてワクチン由来ポリオウイルスが検出された一例について	80
岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 小原真弓, 堀元栄詞, 永井美之, 田中有易知, 吉田 弘, 清水博之	
インフルエンザ流行予測調査	85
堀元栄詞, 松浦久美子, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 永井美之, 田中桂子, 飛田忠嗣, 番留忠司, 田中有易知, 宮田英喜	
ウイルス性胃腸炎の集団発生について (2004年度)	93
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 堀元栄詞, 永井美之	
2004年度に発生した感染性胃腸炎から検出されたノロウイルスの遺伝子解析	99
小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之	
富山県で分離されたヒト由来サルモネラの血清型と薬剤耐性 (2000~2004)	105
磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 綿引正則, 永井美之	
富山湾海洋水の細菌学的特性に関する調査研究	110
綿引正則, 清水美和子, 嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 木全恵子, 松永明信, 永井美之	
富山県における溶血レンサ球菌分離株の型別調査—流行予測事業分離株と臨床株の10年の集計—	120
田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 清水美和子, 木全恵子, 嶋 智子, 永井美之, 田中桂子, 田中有易知	
成長期女子の牛乳摂取および運動習慣が骨代謝に与える影響	126
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司	
ウォーキングによる体重減少と肥満体質遺伝子多型	130
田中朋子, 長瀬博文, 堀井裕子, 荒谷哲雄, 松倉知晴, 山上孝司	
尿中アルキルリン酸年間追跡調査	134
中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄	
濃縮海洋深層水の浮遊浴によるリラクゼーション効果の検討	138
—「滑川深層水フェア2003・ぶかぶか体験」参加者について—	
新村哲夫, 張 焱, 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 堀井雅恵 広田直美, 王 紅兵, 鏡森定信	

3. 資料

富山県における平成16年度のウイルス検出情報	145
岩井雅恵, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 小原真弓, 松浦久美子, 永井美之	
富山県における2004年の病原微生物検出情報	148
木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐, 清水美和子, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之	
漁港における腸炎ピブリオ調査 (2004年)	152
嶋 智子, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 木全恵子, 綿引正則, 永井美之, 松澤留美子	
食中毒患者から分離された <i>Campylobacter jejuni</i> の細菌学的検討	156
清水美和子, 磯部順子, 綿引正則	
溶血レンサ球菌感染症流行予測調査 (平成16年度)	159
田中大祐, 清水美和子, 田中桂子, 田中有易知	

富山県内で患者から分離された溶血レンサ球菌の血清型（平成16年）	161
田中大祐, 磯部順子, 綿引正則	
平成16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－	163
磯部順子, 清水美和子, 田中大祐, 綿引正則, 坂森寛治	
氷見・高岡地区の温泉の経年変化	168
高柳信孝, 健名智子	
平成16年度水道水質検査の精度管理事業について	172
健名智子, 高柳信孝, 齊藤行雄	
平成16年度富山県内食品衛生（理化学）検査機関の精度管理調査について	177
大戸幹也, 齊藤行雄, 坂森寛治	

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表	181
(2) 特 別 講 演 等	189
(3) 学 会 発 表 等	189
(4) 受賞, 学位授与, 資格取得	193

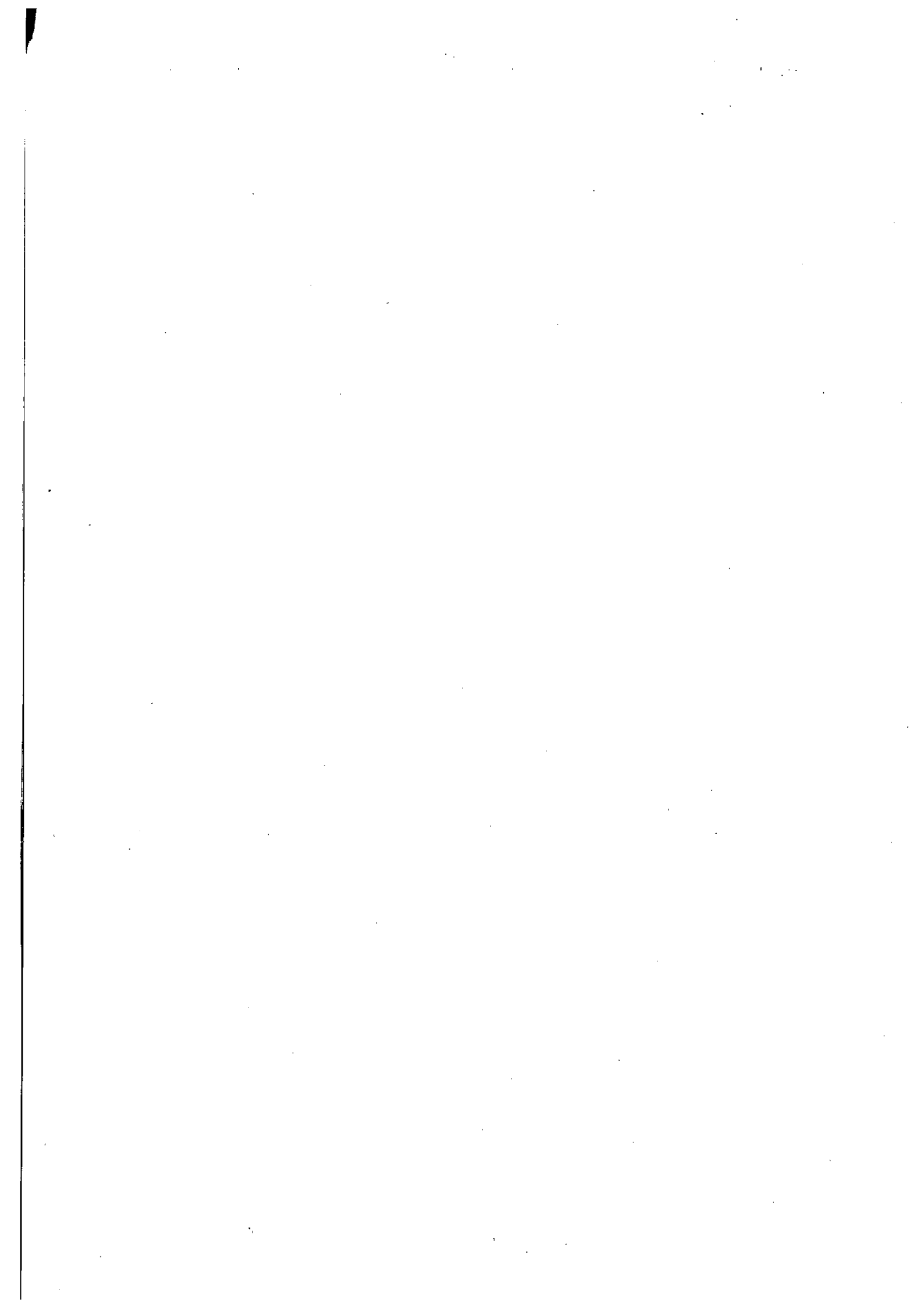
Reports

A Survey Report on the Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 2004~March 2005)	23
Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takeshi KATO and Toshiko ISHIMARU	
Rapid Method for Amino Acids Quantification in Dried Blood Specimens by High Performance Liquid Chromatography for Mass-screening of Disorders of Amino Acid Metabolism	33
Yutaka YONEDA and Masako KUYO	
Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells	41
Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA	
Chromosome Analyses of Amniotic Fluid Cells and Fetal cells	46
Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Yasuhiro SHINAGAWA	
Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in 2004	52
Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA and Akihiko YONEMICHI	
Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2004	65
Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Naoko DEMURA, Masayuki SHIROISHI, Sumiyo HASEGAWA, Rumiko MATSUZAWA and Mutsuo KOBAYASHI	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture	73
Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Chuuji BANDOME, Keiko TANAKA, Tadatsugu TOBITA, Yuichi TANAKA and Kenji TAKINAMI	
Isolation of Vaccine-derived Strain in Epidemiological Surveillance of Poliovirus	80
Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Eiji HORIMOTO, Yoshiyuki NAGAI, Yuichi TANAKA, Hiromu Yoshida and Hiroyuki Shimizu	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2004-2005	85
Eiji HORIMOTO, Kumiko MATSUURA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA, Tadatsugu TOBITA, Chuuji BANDOME, Yuichi TANAKA and Hideki MIYATA	
Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2004	93
Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae Iwai, Kumiko MATSUURA, Eiji HORIMOTO and Yoshiyuki NAGAI	
Genotyping of Noroviruses from Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2004	99
Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI, Kumiko MATSUURA and Yoshiyuki NAGAI	
Serovar and Drug Resistance of <i>Salmonella</i> Isolated from Human in Toyama Prefecture, 2000-2004	105
Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	

Characterization of Bacteriological Traits in Toyama Bay	110
Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Akinobu MATSUNAGA and Yoshiyuki NAGAI	
Serotyping of Hemolytic Streptococci Isolated from Healthy Children and Patients in Toyama Prefecture, 1995-2004	120
Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA and Yuichi TANAKA	
Influence of Milk Intake and Exercise on Bone Metabolism in Adolescent Girls	126
Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI	
The Weight Loss Induced by Walking and Polymorphism in β 3-adrenergic Receptor and Uncoupling protein-1 Genes in Japanese Men	130
Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Yuko HORII, Tetsuo ARATANI, Tomoharu MATSUKURA and Takashi YAMAGAMI	
Follow-up Study on Levels of Urinary Alkylphosphate in Healthy Adults	134
Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA and Tetsuo ARATANI	
Relaxation Effects by Floating Bath Using Concentrated Deep Sea Water at "NAMERIKAWA DEEP SEA WATER FAIR 2003, PUKAPUKA EXPERIENCE"	138
Tetsuo SHIMMURA, Miao ZHANG, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Masae HORII, Naomi HIROTA, Hongbing WANG and Sadanobu KAGAMIMORI	

Notes

Viruses Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2004	145
Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Mayumi OBARA, Kumiko MATSUURA, and Yoshiyuki NAGAI	
Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2004	148
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI	
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> Surveillance at Fishing Ports in Toyama Prefecture in 2004	152
Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI, Yoshiyuki NAGAI and Rumiko MATSUZAWA	
Bacteriological Studies on <i>Campylobacter jejuni</i> Isolated from Food Poisoning Patients	156
Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI	
Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture	159
Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Keiko TANAKA and Yuichi TANAKA	
Serotypes of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2004	161
Daisuke TANAKA, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI	
Quality Control of the Bacterial Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	163
Junko ISOBE, Miwako SHIMIZU, Daisuke TANAKA, Masanori WATAHIKI and Kanji SAKAMORI	
Variation of Temperature and Chemical Components of Mineral Springs in Himi and Takaoka Areas	168
Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI	
On the External Quality Control of the Quantification of Chromaticity, Turbidity and Iron in Water	172
Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Yukio SAITO	
Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture	177
Mikiya OHTO, Yukio SAITO and Kanji SAKAMORI	



1. 運

營



1 運 営

(1) 沿 革

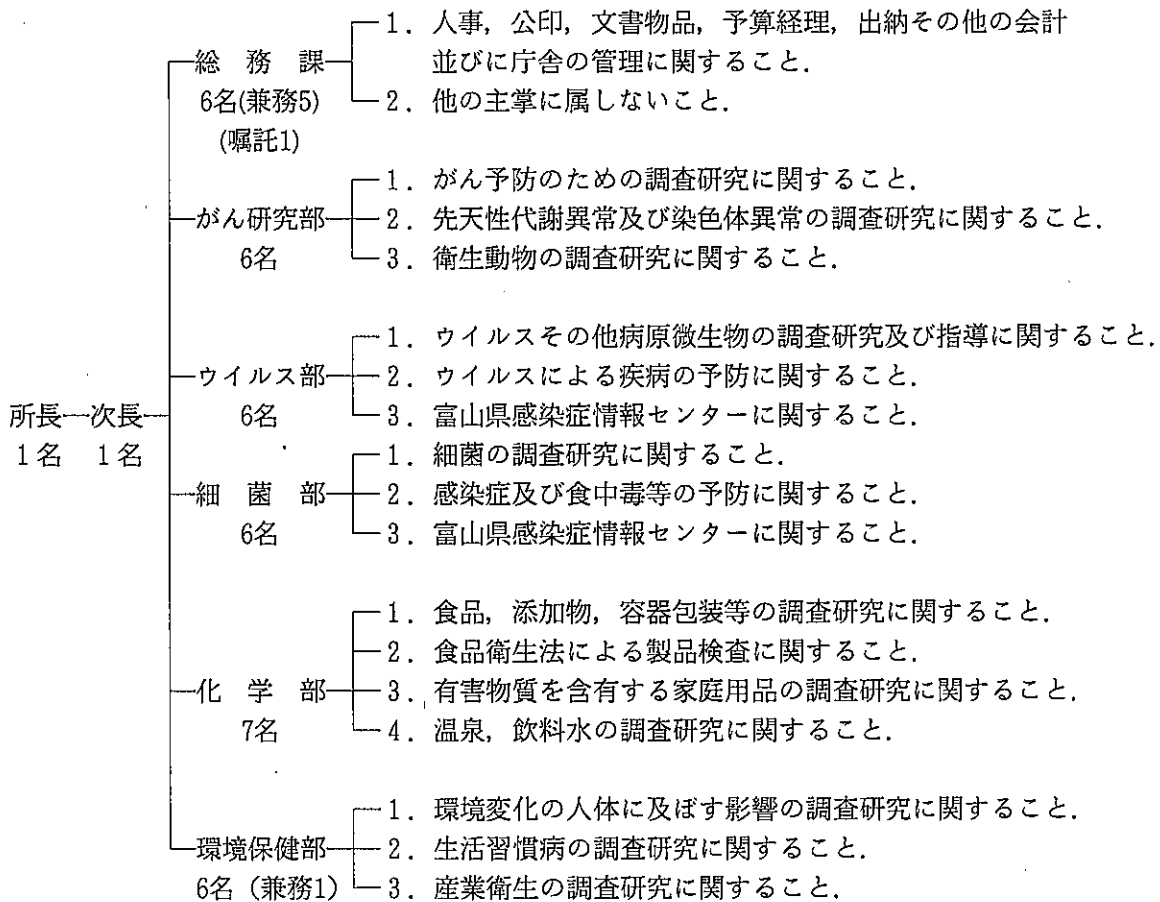
- 昭和22年10月1日 富山県部設置条例の規定により衛生部が設置され、衛生試験検査を所管。
- 昭和23年1月1日 衛生部公衆衛生課が設置され、細菌検査所、衛生試験室を併置。
- 昭和23年4月7日 厚生省が「地方衛生研究所設置要綱」を提示。
- 昭和33年3月30日 旧研究所の庁舎が完成。
- 昭和35年3月28日 富山県衛生研究所設置条例が交付され、4月1日から職員9名の構成で発足。
- 昭和36年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、課・係制が設けられ職員17名に拡充強化（庶務係、細菌課、ウイルス血清課、食品衛生課、生活環境課）。
- 昭和37年11月30日 旧研究所の増築。
- 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科）を変更。
- 昭和39年5月18日 「地方衛生研究所設置要綱」改正。
- 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43年7月10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」制を「次長」制に変更。
- 昭和44年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、従来の課制を廃止し、部制を設置し、部に主任研究員を配置（病理生化学部、微生物部、食品科学部、公害調査部）。
- 昭和46年4月15日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、公害調査部所管の業務が公害センターに移管され、また、各部の名称を変更（病理部、ウイルス部、細菌部、化学部、環境保健部）。
- 昭和51年9月10日 「地方衛生研究所設置要綱」が改正され、「公衆衛生情報の解析提供」が設置目的に追加。
- 昭和55年12月20日 研究所新庁舎小杉町中太閤山で建設着工。
- 昭和57年6月10日 小杉町中太閤山に新庁舎完成。
- 平成元年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、病理部をがん研究部に名称を変更。
- 平成4年4月1日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により、庶務課を総務課に名称を変更。
- 平成12年7月1日 衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置。
- 平成14年9月4日 文部科学省から科学研究費補助金取扱規定第2条第4号の研究機関に指定。
- 平成15年5月28日 富山県衛生研究所倫理審査委員会、富山県衛生研究所研究評価委員会を設置。

(2) 施設の概要

建 物	構 造	延 面 積
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階（1部4階）建	3,044.59㎡
動 物 飼 育 棟	“ 平屋建	241.76
車 庫	鉄骨造平屋建	34.56
薬 品 庫	コンクリートブロック造平屋建	20.60
ボ ン ベ 庫	“	17.54
RI 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17年5月1日)



(4) 職 員 数

(平成17年5月1日現在)

区分	所・次長 部・課長	技術 吏員	主 幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主任	主 任 研究員	再任用 主 任	研究員	主 任 業務技師	嘱託	計
所 長	1											1
次 長	1											1
総 務 課	1 (注1)			2 (注1)		1 (注1)				1 (注2)	1	6 (兼5)
がん研究部	次長 事務取扱				4		1	1				6
ウイルス部	1				2				3			6
細菌部	所長 事務取扱				1		2		3			6
化学部	1		1		1		2		2			7
環境保健部	1	1 (注3)					2					6 (兼1)
合 計	6	1	1	2	10	1	7		8	1	1	39 (兼6)

* (注1) は環境科学センター・薬事研究所を兼務,

(注2) は環境科学センターを兼務, (注3) 高岡厚生センター小杉支所を兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成17年5月1日現在)

職 名		氏 名		職 名		氏 名	
所 長		永 井 美 之		部 長		所長事務取扱	
次 長		松 澤 孝 信		副主幹研究員		綿 引 正 則	
総務課	総務課長(兼)	奥 沢 孝 志		細菌部	主任研究員	磯 部 順 子	
	副主幹(兼)	中 村 美 千 代			“	田 中 大 祐	
	副主幹(兼)	梶 原 孝 志			研 究 員	木 全 恵 子	
	主 任 (兼)	宮 本 伊 津 子			“	嶋 智 子	
	主任業務技師(兼)	青 木 豊			“	清 水 美 和 子	
	嘱 託	谷 井 富 造			部 長	齊 藤 行 雄	
がん研究部	部 長	次長事務取扱		化学部	主 幹 研 究 員	高 柳 信 孝	
	副主幹研究員	本 田 幸 子			副主幹研究員	小 玉 修 嗣	
	“	林 美 貴 子			主 任 研 究 員	健 名 智 子	
	“	米 田 豊			“	大 戸 幹 也	
	“	品 川 保 弘			研 究 員	中 山 恵 理 子	
	主 任 研 究 員	九 曜 雅 子			“	山 下 智 富	
	再 任 用 主 任	渡 辺 護			部 長	荒 谷 哲 雄	
ウイルス部	部 長	滝 沢 剛 則		環境保健部	技 術 吏 員 (兼)	長 瀬 博 文	
	副主幹研究員	長 谷 川 澄 代			副主幹研究員	新 村 哲 夫	
	“	庄 司 俊 雄			“	田 中 朋 子	
	研 究 員	堀 元 栄 詞			主 任 研 究 員	中 崎 美 峰 子	
	研 究 員	小 原 真 弓			“	堀 井 裕 子	
	研 究 員	岩 井 雅 恵					

(6) 予 算 及 び 決 算

平成16年度予算概要（当初）

事業名	予算額 (千円)	財 源 内 訳				備 考
		使用料 手数料 (千円)	国支出金 (千円)	受託事業 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	63,636	3,716			59,920	所の運営、維持管理、試験検査等
試験研究費	13,066				13,066	調査研究
設備充実費	4,160				4,160	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	2,138				2,138	
がん等特別研究費	12,405		892	3,000	8,513	調査研究
合 計	95,405	3,716	892	3,000	87,797	

平成16年度 歳入・歳出決算 (歳 入)

科 目	決 算 額 (円)	備 考
衛生手数料	5,887,522	衛生研究所費892,272 環境衛生検査 4,995,250
衛生国庫負担金	866,250	
衛生研究所受託事業	3,000,000	
納 付 金	38,010	
合 計	9,791,782	

(歳 出)

科 目	決 算 額 (円)	備 考
人事管理費	4,888,441	嘱託職員の雇用
財産管理費	1,267,300	庁舎修繕
計画調査費	1,722,330	富山湾の海洋科学基礎研究・客員研究員
児童福祉対策費	13,865,943	先天性代謝異常検査
予 防 費	12,622,259	感染症関連調査
環境保健対策費	14,051,142	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	91,088,834	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理
環境衛生総務費	12,652,385	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	5,911,250	食品安全対策検査
環境衛生指導費	157,185	家庭用品検査
保健所費	112,175	リハビリテーション調査研究
医務総務費	153,910	職員のワクチン
保健師等指導管理費	74,000	指導調査
公害防止対策費	292,000	海水浴場細菌検査
工鉱業総務費	6,603,030	海洋深層水研究・知的クラスター科学技術振興
合 計	165,462,184	

(7) 重要備品一覧

品名	型式	購入年月
分光光度計	島津製作所 UV-2200	H 2.9
分光光度計	日立製作所 U-3010	H11.9
分光光度計	島津製作所 UV-180A	H 5.3
分光蛍光光度計	日本分光 FP-777	H 3.11
ガスクロマトグラフ	島津製作所 QP-5000	H 9.3
ガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカード HP-6890	H10.8
ガスクロマトグラフ	Agilent 6890N	H15.6
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-14B	H 4.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-2000	H 2.11
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5.11
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-6300	H 5.12
高速液体クロマトグラフ	ウォーターズ	H 7.10
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-9A	H 2.9
高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-VP	H10.6
高速液体クロマトグラフ	ヒューレットパッカード Agilent 1100	H12.6
液体クロマトグラフ・質量分析装置	waters Quattro micro API システム	H15.12
全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム	日本分光	H 9.3
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネックス DX-500	H 9.11
キャピラリー電気泳動システム	ヒューレットパッカード	H 7.9
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H11.3
高速液クロ用オートインジェクター	島津製作所 SIL-10ADV	H10.7
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS 5	H11.12
原子吸光光度計	島津製作所 AA-6700	H 8.11
マイクロプレートリーダー	BIO-RAD Benchmark	H12.9
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H12.11
高速冷却遠心機(マルチパーパス)	久保田 6800	H 6.2
遠心濃縮機	東京理科製 CVE-100	H 7.10
デンストグラフ	アトー株式会社 プリントグラフ AE-6911	H 6.1
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H13.3
落射蛍光顕微鏡	オリンパス光学工業	H13.3
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9.8
マイクロプレートウォッシャー	米国ダイナテック (ウルトラウォッシャー-II)	H 5.3
DNA 合成装置	ファルマシア ジェネアセンブラスペシャル	H 4.11
蛍光式 DNA シーケンサー	パーキンエルマー 310-1-TI	H 9.12
染色体 DNA 電気泳動解析システム	解析システム: GS-700 解析ソフト: モレキュラ アナリスト RFLP	H 8.12
遺伝子導入装置	バイオラド社 (ジェソパルター)	H 7.3
ELISA 測定システム	BIO-RAD 社	H10.2
定量 PCR (遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7000 Sequence	H15.10
二次元電気泳動装置	アマシャムバイオサイエンス Multiphor II	H15.9
キャピラリー型遺伝子解析システム	ABI PRISM 3100	H16.3

(平成17年3月31日現在)

(8) 各部の業務概要

がん研究部

〔行政および依頼検査〕

先天性代謝異常等マス・スクリーニング

平成16年度の検体総数は10,582件で、県内53か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検児は出生数の94.5%（里帰り分娩を含めると109.1%）であり、前年同様高い割合であった。検査項目は、フェニルケトン尿症、ホモシスチン尿症、メイプルシロップ尿症、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の6疾患である。検査の結果、要精密検査として27人（フェニルケトン尿症疑い2人、ガラクトース血症疑い2人、先天性甲状腺機能低下症疑い16人、先天性副腎過形成症疑い7人）がスクリーニングされ、クレチン症の患者4人が発見された。

染色体検査

平成16年度の検体数は、血液81件、羊水53件、自然流産胎児26件の計160件で、うち、染色体異常を示したものは、血液2件（21トリソミー型ダウン症候群1件、DiGeorge症候群1件）、羊水8件（21トリソミー型ダウン症候群3件、18トリソミー症候群3件、ターナー症候群1件、XX/XYモザイク1件）、流産胎児14件（ターナー症候群5件〔うちモザイク1件〕、13トリソミー症候群2件、ターナー症候群+21トリソミー症候群1件、22トリソミー症候群1件、6トリソミー症候群1件、4トリソミーモザイク1件、XX/XYモザイク1件、3倍体1件、4倍体1件）の計24件であった。染色体検査の依頼理由（主訴）は、血液では反復流産、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、流産胎児では流産を繰り返すが最も多かった。

衛生動物検査

行政検査として、日本脳炎流行予測事業における媒介蚊の発生調査は15年度と同一の7ヵ所の畜舎において6月から10月まで調査を行った。16年度のコガタアカイエカの発生状況は定点「黒部」、「大山」、「婦中」で顕著に増加、「上市」、「富山」はわずかに増加したが、「小矢部」、「小杉」では減少した。また、本県におけるダニ媒介性感染症の浸淫状況を把握するために、県下6地点でダニの採集を行い、標高の高い有峰地域と南砺市利賀村水無でライム病を媒介するシュルツェマダニを多数確認した。

この他、厚生センター依頼の食品混入昆虫など36件と、行政機関および各種事業所からの分類同定を合計して2,867件の検査を行った。

〔調査研究〕

がん発生要因に関する研究

煎茶粗抽出物による哺乳動物培養細胞の染色体核型への影響を引き続き検討している。アフリカミドリザル由来VERO細胞の増殖抑制を引き起こす濃度の粗抽出物添加状態でも、染色体の数的異常は認められなかった。染色体数の、より少ないチャイニーズハムスター由来培養細胞を用いて、影響の有無をさらに検討している。

富山県における大腸がん発生背景要因を探るための症例対照研究は、アンケートによる聞き取り項目全てのデータ入力を完了し、解析が進行中である。

先天性代謝異常症等のマス・スクリーニング検査法に関する研究

先天性アミノ酸代謝異常症のマス・スクリーニングは高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により1検体11分間を要する分析法（11分法）で行っている。11分法で得られるクロマトグラム上にはX1及びX2の2種の未知ピークが出現し、X2は更なる分析時間の短縮化の障害となっていた。これまでにLC/質量分析法を用いX2の同定を行い、酸化型グルタチオンであることを明らかにした。そこで、あらかじめX2を還元型グルタチオンに変換し、X2によるアミノ酸の定量妨害を防ぐことによるアミノ酸の迅速定量法の検討を行った。その結果、迅速アミノ酸定量法（6分法）を開発できた。今後、この方法をアミノ酸の1次スクリーニング検査に導入予定である。

先天性副腎過形成症のマス・スクリーニングで使われているELISA法（Enzyme Linked Immunosorbent assay）による17-hydroxyprogesterone（17-OHP）測定用キットは2種市販されている。

それらのうち当所で使用しているキットについては、抗原抗体反応時の温度が設定温度の25℃より低い場合でも測定値に影響を及ぼさないことが判った。さらに、このキットを用いて、反応時間や試薬の影響についても検討し、17-OHP測定時における至適条件を探った。

染色体に関する研究

複雑な染色体異常の場合、通常の染色体分析では正確な判定が得られないことがあり、fluorescence in situ hybridization (FISH) 法と併せ、判定することが多くなっている。そのため、微細欠失、転座、合併異常、モザイク等に FISH 法を用い判定に成功した。また、流産を繰り返す夫婦では数的染色体異常が観察されたため、低頻度モザイク・培養による不分離の可能性について FISH 法を用い、引き続き検討している。

突然変異原性に関する研究

小核試験は染色体異常のなかの染色体切断を指標とした試験法として確立されている。しかし、どの部位で切断が起きているのかは今の小核試験では特定することはできない。この試験に FISH 法を導入することができれば、新たな試験法も考えられる。そのための基礎的試験を検討している。

衛生動物に関する研究

イヨシロオビアブ(オロロ)を効果的に誘引捕獲するためにボックストラップの改良を行い、南砺市(利賀村・福光)、富山市(大山)などにおいて実用的な検討を行ったところ良好な成績が得られた。

家屋侵入性のクサギカメムシとスコットカメムシ(ヘクサンボ)の発生動態研究では、2002年に顕著に発生数が減少したのが、2004年にはかなり多く発生し(回復)、その原因の多くは繁殖期の夏が高温で推移したためと推察された。

昨年度から開始した感染症媒介蚊の、民家とカラスのねぐら近くにおける発生実態調査では、調査定点の設置環境により、捕集される蚊種と数に明らかに相違が認められた。また、1軒の民家で複数のトラップを設置して小分布を観察したところ、明るい開放的な場所(環境)よりも、暗く感じる場所(環境)の方で、より多くの蚊類が捕集された。このことは緊急的な駆除を考えた場合、殺虫剤散布を丁寧に、しかも的確に行うことが示唆される。

ウイルス部

【行政および依頼検査】

感染症発生動向調査における病原体検査および厚生センター等から依頼のあった検体についてウイルス分離検査を実施した。インフルエンザおよび呼吸器系疾患の110検体からは、A(H3)型インフルエンザウイルス48株、B型インフルエンザウイルス48株が分離された。これらの検体の多くはインフルエンザ流行予測調査を兼ねており、詳細については、本年報に掲載されている流行予測調査の報告を参考にされたい。咽頭結膜熱は32件の検査依頼を受け、アデノウイルス1型2株、2型2株、3型3株、5型2株、コクサッキーウイルスB1型1株、B2型1株、エコーウイルス7型1株が分離された。ウイルス性脳炎・脳症2症例、無菌性髄膜炎4症例、手足口病1症例の検査依頼を受けたが、ウイルスは検出されなかった。感染性胃腸炎では98症例の依頼があり、このうち62症例においてウイルスが検出された(ノロウイルス Genogroup I; NVGI 1件、ノロウイルス Genogroup II; NVGII 55件、アデノウイルス40/41型1件、A群ロタウイルス2件、NVGI+NVGII 2件、サポウイルス1件)。食中毒では糞便125件(9事例)の検査を行い、NVGI 15件、NVGII 46件、A群ロタウイルス1件、NVGII+A群ロタ1件が検出された。リケッチア関係では、1例についてQ熱の抗体検査を行ったが、急性期と回復期を比較し4倍以上の抗体価上昇は見られなかった。

動物由来感染症実態調査

平成13年度から、野生動物が関連する動物由来感染症の発生監視体制の確立を目的に、野生げっ歯類をモデル動物として調査を行っている。16年度には腎症候性出血熱及びライム病の浸淫調査のため野生げっ歯類(アカネズミ39個体、ヒメネズミ1個体、スミスネズミ11個体、ドブネズミ1個体、その他1個体)53個体を捕獲した。さらに、ライム病ボレリアの遺伝子検出のため、旗ざり法によりマダニ類(シュルツェマダニ27個体、ヤマトマダニ219個体、ヤマトチマダニ29個体、キチマダニ121個体、その他3個体)を採集した。

平成15年度からは、国内に侵入が懸念されるウエストナイル熱等を含む蚊媒介性感染症対策として、県内にお

ける蚊の生息状況の調査を開始している。アカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカなどが捕集され、住環境により蚊の種類・数に相違がみられた。なお、16年度は15年度に比べ捕集数が1/2～1/4に減少した。さらに、16年度は捕集した蚊のウイルス保有調査についても行った。3,758個体（コガタアカイエカ2,675個体、アカイエカ911個体、ヒトスジシマカ154個体、その他18個体）、382プールを用いたところ、10プールで細胞変性がみられたが、フラビウイルス NS3領域を対象としたPCRでは陰性であった。

これらの研究は、がん研究部と共同で行った。

HIV抗体検査

平成16年4月から平成17年3月までの1年間に210件の検体についてHIV抗体検査を行い、そのうち3件がHIV-1抗体陽性であった。

感染症流行予測調査

日本脳炎：日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生は、6月下旬から徐々に増え、8月に急増し9月初めにピークを迎える消長を示した。一方、県内産ブタの日本脳炎に対する抗体陽性率は7月は20.0%、8月は20.0%で、9月は38.8%に増加した。10月はさらに上昇し56.3%となり、11月は55.0%であった。ウイルスの新鮮感染を示すIgM抗体保有ブタは、7月に2頭確認されたが、以降8月まではみられず、9月中旬から再び確認され、11月まで持続した。すなわち、16年度の日本脳炎ウイルスの浸淫は7月から見られたが、本格的な流行は9月より始まり11月まで続いた。これらの「日本脳炎ブタ情報」を富山県感染症情報センターのホームページに毎週掲載した。

ポリオ：野生型ポリオウイルスの侵入およびワクチン由来ポリオウイルス（VDPV）の監視や集団免疫の現状把握を行い、感染予防に役立てるため、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査：平成17年1月、平成16年9月に、新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内における健康な乳幼児52名の糞便を採取し、ウイルス分離を行った。その結果、0才9ヶ月の男児1名からポリオウイルス2型が検出され、1歳8ヶ月の女児1名からアデノウイルス2型が検出された。ポリオウイルス2型が検出された男児は約3ヶ月10日前にポリオ生ワクチンの初回接種を受けており、検出されたウイルスは、型内型鑑別の結果、VDPVであると判定された。VDPVが検出されたことを受けて、VDPVの由来や周囲への感染の有無を調べるために追跡調査として本人および同居家族の便検査や生活歴の聞き取りなどを行い、追跡調査ではポリオウイルスは検出されず、本人および同居家族は健康であることを確認した。

感受性調査：平成16年6月～9月に、0歳から75歳までの202名の血清について、ポリオウイルス（弱毒セービンウイルス）に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型95.5%、2型96.5%、3型82.7%であった。また、平均抗体価（幾何平均）は1型159.4倍、2型185.3倍、3型48.1倍を示し、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの浸淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。しかし、いずれかの型の抗体を保有していない人が22.3%おり、ポリオウイルス常在地からのウイルス侵入警戒、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

インフルエンザ：インフルエンザの予防と蔓延の防止のために、ヒト感受性調査（2004年1～9月）とブタ抗体保有状況調査（2004年6月～2005年3月）および感染源調査（2005年1～6月）を実施した。

ヒト感受性調査：202名（0～75歳）を対象としてA（H1）型、A（H3）型およびB型のワクチン株およびB型の参考株（1株）に対する赤血球凝集阻止（HI）価を測定した。その結果、感染防御能があるとされているHI価40倍以上の保有率は、各々33.2%、33.7%、8.9%、15%で、A型が比較的高かったのに対し、B型は非常に低かった。

ブタ抗体保有状況調査：県内産ブタ290頭を対象に、A（H1）型、A（H5）型、A（H7）型およびA（H9）型株に対するHI価を測定したところ、冬季にA（H1）型株に対する抗体の上昇が認められた。

感染源調査：2005年1月中旬よりインフルエンザ患者が発生し、2005年5月上旬までの約4か月間にわたり流行は継続した。この間にA（H3）型インフルエンザウイルス（56株）及びB型インフルエンザウイルス（59株）が分離された。

【調査研究】

ウイルスウォッチプログラム

富山県における河川水のウイルス汚染実態調査は、1979年から断続的に（第1回1979～1981、第2回1983～

1985, 第3回1993~1995, 第4回2002~2003) 実施している。これまでの調査で、富山県内の河川は多種類の腸管系ウイルスで汚染されていること、検出されたウイルスはほとんどヒト由来であること、ウイルス検出率は調査の回数を追うごとに低くなっていることなどがわかっている。最近の第4回目調査で多く分離されていたエコーウイルス13型についてVPI領域703塩基の遺伝子解析を実施した結果、それらのウイルスは2001~2002年に富山県を含む国内の無菌性髄膜炎患者から分離された株と類似しており、塩基配列で2.2%以下の違い、アミノ酸で0.2%の違いであった。環境ウイルスサーベイランスは、集団内に循環するウイルスを追跡する手法として有意義であると考えられる。また、今年度は県内の名水2ヶ所についてウイルス分離検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

急性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で2004年4月から2005年3月までの1年間に発生届けのあった、ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。2004年度中に調査したウイルス性急性胃腸炎の集団発生は20事例であった。これら全てよりノロウイルス：Norovirus=NV（カリシウイルスの命名変更に伴いノーワーク様ウイルス=NLVをNVと改めた）が検出された。うち1事例はNV Genogroup I (GI) によるもの、15事例はNV Genogroup II (GII) によるもの、2事例はNVGI, NVGIIの混合、残りの2事例はNVGI, NVGII, A群ロタウイルス (RotaA) の混合によるものであった。

飲食店での発生が8事例 (NVGIが1事例, NVGIIが3事例, 混合が4事例) あり、混合感染の4事例はカキに関連して発生していた。老人保健施設・障害者施設での発生は7事例、幼稚園・保育所での発生は3事例、学校での発生は2事例あり、全てNVGIIによるものであった。これらはヒトからヒトへ伝播したと考えられた。

集団発生では20事例中13事例の遺伝子配列がそれぞれ100%の一致率を示し、少なくともこの13事例の集団発生は、それぞれ同一のウイルス由来である可能性が高いことがわかった。また、異なる事例同士の遺伝子配列が一致した例が存在し、時期的に同じ型のウイルスが流行し、別の集団発生や散发例を起こしている可能性が示唆された。

【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67定点医療機関から各厚生センターおよび富山市保健所へ、週報および月報として報告されたデータを集計し、中央感染症情報センターへ送信した。

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

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

【夏休み子供科学研究室】

感染症についての理解を深めることを目的に、「ウイルスって何？病気を起こすウイルスについて知ろう」というテーマで企画し、県内の中学生12人の参加があった。ウイルスの特徴や疾患について学び、電子顕微鏡の見学、光学顕微鏡での観察、ウイルス検出キットの試用などを行った。

細菌部

[行政および依頼検査]

感染症, 食中毒

2類感染症：腸管感染症では、赤痢4件、パラチフスA2件、コレラ1件の発生があった。厚生センターから搬入された分離菌について血清型の確認を行い、更に病原遺伝子および薬剤感受性を調べた。赤痢菌の血清型はソネI相(2株)、フレキシネリ3a(1株)、志賀赤痢2(1株)で、1株はエジプト・ギリシャへ旅行した人から、残りの3株は海外渡航歴のない人からの分離であった。パラチフスA菌のうち、1株はネパールへ渡航歴のあった人から、1株は海外渡航歴のない人から分離された。パラチフスA菌について、国立感染症研究所でのフェージ型別の結果は、4(2株)であった。コレラ菌はコレラO1小川型であった。PCR法にてコレラトキシン遺伝子を確認した。

3類(腸管出血性大腸菌)感染症：平成16年度は感染事例が16件(22名)で、原因菌の血清型はO157 8件(9名)、O26 5件(10名)、O111 2件(2名)、O128 1件(1名)であった。このうち3件は家族内感染であった。

細菌性食中毒：平成16年度は細菌性食中毒が9件(富山市1件)発生し、原因菌について生化学性状、毒素産生性および毒素遺伝子を調べた。8月、9月に発生した2件の腸炎ビブリオによる食中毒はいずれも血清型O3:K6であった。セレウス菌による食中毒は2件、カンピロバクターによる食中毒は3件発生した。また、サルモネラ(パラチフスB)による食中毒が1件発生した。平成17年1月にはノロウイルスと腸管凝集性大腸菌の複合原因による食中毒が1件発生した。

生活衛生

食品検査：7月に清涼飲料水30件の成分規格試験を行った。すべての検体で大腸菌群陰性であった。また、食品の夏期一斉取締りの一環として、生食用魚介類(刺身等)34検体について腸炎ビブリオの定性または定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。

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

水道水ろ過検査：「水道におけるクリプトスポリジウム対策の暫定方針」に基づき、富山県内で水道源水として利用される河川水、湧水等148検体について汚染指標菌(大腸菌と嫌気性芽胞菌)の検査を行った。指標菌のいずれかが陽性であった49検体についてクリプトスポリジウムおよびジアルジアの検査を行った。1水源水でクリプトスポリジウムのオーシストが検出された。再検査を実施したところ結果は陰性であり、継続した汚染は認められなかった。

腸炎ビブリオ検査：平成8年度より始まった通称「VPマリン」事業として、6月から11月にかけて、県内5漁港及び魚津漁港については昨年までの旧漁港を加えた計6漁港の海水(表層及び海底)、計120検体について腸炎ビブリオの検査を行った。その結果、海水中の腸炎ビブリオ数は、100mlあたり $<3\sim 1.1\times 10^3$ の範囲であった。

名水調査：県内で飲用されているいわゆる「名水」について、細菌学的な調査を行った。調査は4、7、10、1月の4回、採水地点はそれぞれ7箇所、計28検体について、嫌気性芽胞菌、生菌数、クリプトスポリジウム、ジアルジア及び低温培養菌の検査を実施した。1名水が嫌気性芽胞菌陽性であった。低温培養菌では *Pseudomonas*, *Flabobacterium* が優勢菌種であった。

依頼検査：民間企業から依頼を受けた食品(ます寿司)1検体6項目について検査を実施した。

滑川市および入善町から依頼を受け、海洋深層水の一般細菌数および大腸菌定性の検査を17検体、また一般細菌数および病原細菌定性(大腸菌、大腸菌O157、赤痢菌、サルモネラ、腸炎ビブリオ、黄色ブドウ球菌、セレウス菌、腸球菌、緑膿菌、嫌気性菌)の検査を23検体について行った。また、入善海洋深層水活用施設の脱塩水製造工程の衛生管理調査として一般細菌数検査を10検体について行った。一般細菌数は、滑川および入善海洋深層水はともに少なく、清浄性が保たれていた。病原細菌は、滑川で大腸菌、腸炎ビブリオ、嫌気性菌が検出され、また入善で緑膿菌が検出されたが、これらの菌の由来は不明であった。

感染症流行予測調査

溶連菌：県単独事業として保育所の園児における咽頭溶連菌保菌状況を平成17年1~2月に調査した。県東部の

保育所園児37名では3名(8.1%)が溶連菌陽性であった。分離菌3株は、A群T1型2株、A群T型別不能1株であった。また、県西部の保育所園児41名では2名(4.9%)が溶連菌陽性であり、分離菌はB群Ib型1株、C群1株であった。

病原細菌検出情報：県内10か所の病院と4か所の厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原菌検出数は、1,681株、前年比98.1%であった。最も多かったのは黄色ブドウ球菌607株で、以下、大腸菌の586株、カンピロバクター270株、腸炎ビブリオ113株、サルモネラ63株の順であった。

[調査研究]

サルモネラ

県内の病院、厚生センターでヒトから分離された菌株の収集解析を行った。2004年1月～12月までに当所に送付された菌株は36株で、内9株は集団食中毒同一事例の患者から分離された株(S.Typhi B)であった。分離菌について血清型別、薬剤感受性試験を実施した。

また、市販食肉のサルモネラ汚染実態調査を行なった。鶏肉76検体、豚レバー11検体、牛肉1検体、計88検体について調査した結果、サルモネラは鶏肉46、豚レバー7検体から分離された。中でも鶏もも肉、ひき肉、手羽肉からの分離が多かった。

大腸菌

平成16年本県で既知の病原因子をもたないSTEC 2株が報告された。これらのSTECを用いて培養細胞に対する接着を確認したところ、特異な接着パターンを示した。また、平成17年1月に発生したノロウイルスによる食中毒患者複数から病原性大腸菌O44:H18を単離した。PCRによる病原因子検索の結果、耐熱性毒素遺伝子*astA*を保有していた。これらの菌株の培養細胞に対する接着を確認したところ、腸管凝集性大腸菌特異な接着パターンを示した。

溶連菌

平成16年に県内2ヶ所の病院で分離された溶連菌を型別した。A群47株では、検出率が高いT型は、T12型、T28型、T25型、T1型であった。前年と比較して、T12型とT28型が増加し、T1型、T3型、T4型が減少していた。B群174株で検出率が高い型は、NT6型、Ib型、V型、JM9型、Ia型であった。また、富山県内で分離された劇症型溶連菌感染症や咽頭炎等の患者由来菌株の特徴を明らかにする為、*emm*型、MLST、各種病原因子遺伝子保有状況を調べた。

腸炎ビブリオ

平成16年6月から11月の期間、県内の5漁港及び魚津漁港については昨年までの旧漁港を加えた計6漁港の海水についてPCR法と免疫磁気ビーズ法により耐熱性溶血毒素(TDH)産生性腸炎ビブリオの分布を調べた。その結果、海水120検体のうち、46検体が*tdh*遺伝子陽性となった。また、TDH産生性腸炎ビブリオO3:K6を28検体から分離した。

カンピロバクター

市販鶏肉のカンピロバクター汚染調査を行った。鶏肉76検体中38検体(50.0%)からカンピロバクターが検出され、部位別では手羽先が最も多く、11検体中9検体(81.8%)から検出された。また、食中毒由来の分離株と鶏肉から分離された株との遺伝学的な関係をPFGE及びMLSTを用いて調べたところ、遺伝子型が一致したものは時期的及び地域的に密接に関係していることが判明した。

[精度管理]

内部精度管理：富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内4厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の7機関について、内部精度管理調査を行った。試料は当所で作製しそれぞれに配布した。調査項目は、牛乳の一般生菌数測定および模擬食品中のカンピロバクター検出とした。なお、模擬食品は、カンピロバクターが陰性であることを確認した鶏肉ミンチにカンピロバクター・コリ、カンピロバクター・ジュジュニを接種した2種類の陽性検体と、菌未接種の陰性検体とし、それぞれ3検体を各機関に配布した。回答結果は、一般生菌数測定についてはすべての機関で良好であった。カンピロバクターの検出の回答結果については、本年報にその詳細を掲載した。今回、極めて死滅しやすいカンピロバクターを用いたが、近年食中毒発生件数の上位を占める本菌を再認識する機会となった。調査後検討会を開催し、これらの結果につい

て解析および今後の課題等について議論した。

外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

[レファレンスセンター事業]

衛生微生物協議会、希少感染症研究事業の溶連菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンターとして活動した。A群溶連菌のT型別については、179株の結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した1例の劇症型溶連菌感染症例やB群溶連菌208株の型別結果についても報告した。

化学部

[行政および依頼検査]

食品等の検査

添加物及び成分規格等：県内で生産されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウムおよびスズ）、煮干し等魚介乾製品中の酸化防止剤（BHA、BHT）、魚肉ねり製品、漬物等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）、甘味料（サッカリンナトリウム）及び生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）等の87検体（総項目数339）の検査を行ったところ、野菜の水煮2検体から使用基準(0.030g/kg)を超える漂白剤を検出した。その他の検体はいずれも規格基準または使用基準に適合していた。

残留農薬：県内産主要農産物の玄米、ねぎ、キャベツ等の10種22検体について、残留農薬迅速分析法（Y. Saito et al. 2004, J. AOAC Int. 8(6), 1356-1357）で有機リン系（フェントロチオン等）、含窒素系（フルトラニル等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、N-メチルカーバメート系（フェノブカルブ等）の103農薬（115成分）を調査した。玄米2検体からフルトラニルが、えだまめ1検体からマラチオン、フサライド、フルトラニル及びイソキサチオンが、トマト2検体からプロシモンやイプロジオンが、こまつな1検体からダイアジノンが、ほうれんそう1検体からシベルメトリンがそれぞれ検出された。検出量は基準値の1/7以下であった。その他の検体はいずれの農薬も不検出であった。

重金属等：富山湾産魚介類について、17魚種20検体（あじ、たちうお等）の総水銀を測定したところ、すべての検体から検出され、濃度は0.01~0.27ppm（暫定的規制値0.4ppm）であった。また、10魚種10検体のトリブチルスズオキシド、ジブチルスズオキシド、ジフェニルスズオキシド（いずれも規制値なし）を測定したところ、すべての検体でいずれの化合物も検出されなかった（定量限界0.02ppm）。

家庭用品検査

除菌消臭スプレーやヘアスプレーなどの家庭用洗浄剤、エアロゾル製品10検体について、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレンあるいはメタノールの規格試験を、また羊毛製品（衣類）5検体についてディルドリンの試験を行ったところ、いずれの製品からも検出されず、規格基準に適合していた。

水質検査

水質基準項目：「とやまの名水」については昭和61年2月に55箇所が選定され、水質保全意識の高揚に役立ってきた。しかしながら、一部の名水から大腸菌群が検出されるなど衛生面で問題も見受けられており、平成14年には「とやまの名水」衛生管理マニュアルが策定された。「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に、平成15年度から水質調査等を行っている。飲用されている13箇所の名水について、水道法の基準項目及びおいしい水指標（カルシウム、マグネシウム、カリウム、溶性ケイ酸、硫酸）並びに重炭酸の分析を行ったところ、いずれの名水の水質も理化学的には清浄であり、飲用上の問題点は見られなかった。

管理目標設定項目：水道原水22検体及び浄水12検体について、亜硝酸性窒素、ウラン、ニッケルおよびトルエン等13項目（総項目数226）の検査を行った。また農薬類としてシマジン等49成分（総項目数96）を行った。すべての項目はいずれも不検出であった。

井戸水のゴルフ場使用農薬：県内ゴルフ場周辺の井戸水について、平成16年5月（23件）および11月（23件）にゴルフ場使用農薬（シマジン等63成分）の検査（総項目数738）を行ったところ、いずれの井戸水からも農薬は検出されなかった。

温泉分析

中分析15件（再分析3件，浴槽水12件）を行ったところ，温泉法第2条に適合するものは3件（浴槽水を除く）であり，3件全て療養泉であった。泉質は，ナトリウム-塩化物泉，単純温泉であった。また温泉資源保護を目的として，温泉密集地域の15源泉の主要成分等について，平成7年度から経年変化調査を行っているが，調査開始から10年を経過したのでこれまでの結果を解析したところ，一部の源泉で成分濃度，泉温，湧出量の低下傾向あるいは上昇傾向が見られた。

[調査研究]

食品中の成分および添加物に関する調査研究

お茶には抗酸化作用のあるカテキン類が豊富に含まれ，発ガン抑制作用，抗菌作用あるいは抗アレルギー作用などに効果のあることが知られている。さらに，カテキンの光学異性体間で生理作用が異なることも最近報告されはじめてきた。カテキンやエピカテキンの光学分割では，お茶中にカテキン類縁化合物が多く含まれるため，従来法では，一度，HPLC法でカテキンやエピカテキンのそれぞれの画分を分取した後，改めて光学分割カラムで分析するという手間のかかる方法が用いられている。そこで，キャピラリー電気泳動法を用いて，カテキンやエピカテキンを簡便に光学分割する方法を検討した。その結果，カテキンとエピカテキンを含む9化合物を分離・定量する系を確立した。本法により，緑茶，ウーロン茶および紅茶中のカテキンおよびエピカテキンの光学異性体を前処理なしで分析できることが分かった。

食品中の残留農薬およびその他の有害物質に関する調査研究

大量注入方式GC/MSによる食品中の残留農薬分析の迅速化：胃袋型ライナーが組込まれているPTVインレット（昇温気化方式試料注入口）をGC/MSに装着して，大量注入（LVI）時の溶媒をスプリット後，ライナー内に保持された農薬を効率良くGC/MSに移行して測定する方法を検討した。農産物から109農薬の抽出法で，アセトニトリル抽出および塩析・水層分離にディスポ遠心チューブと遠心分離操作を導入して器具量の縮小化と前処理時間の短縮化を行った。抽出液の一部2ml（試料0.5g相当量）をミニカラム（GCBとPSAを積層）のみで精製し，上記PTV-LVI方式GC/MS（SIM）で測定したところ，供試農薬の全てが分析可能であり，流通食品中の農薬検査に有用であることを明らかにした。

飲料水および温泉に関する調査研究

温泉利用施設における浴槽水と源泉との成分比較調査：平成13年度から3年間，温泉浴用利用施設における加水，循環ろ過，加温などの行為の実態と，源泉と浴槽水との成分濃度差異についての現状を把握する調査を行った。浴槽水において温泉の定義に適合しない利用施設に対しては，関係行政機関により温泉の適正利用について指導が行われた。16年度は指導後の状況調査を行い，調査対象施設のすべてが温泉の定義に適合する浴槽水を有することを確認した。

日常の検査業務に適する簡便，迅速な多成分一斉分析法の開発

キャピラリー電気泳動法による光学異性体の分析：光学異性体の新しい分析法として，ホウ酸を中心イオンに用いたキラル配位子交換法を検討し，(S)-3-アミノ-1,2-プロパンジオールを光学分割剤としたときにパントテン酸が光学分割されることを昨年度報告した。そこで，本法の応用範囲を広げるため，ジオール構造を有する中性化合物の分析法を検討した。その結果，(1S,2S,3R,5S)-ピナンジオールとホウ酸の複合体を光学分割剤としたCE法により，1-フェニル-1,2-エタンジオールなどの3種類の中性ジオール化合物も光学分割されることが分かった。現在，本法の分離メカニズムを検討している。今後，ポリオール構造を有する糖類の分析条件を検討し，食品分析に適用する予定である。

[精度管理調査]

食品検査の精度管理：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」の制定（平成10年12月）によって，平成11年度から県内の厚生センター等の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持，向上を目的とした精度管理調査を実施している。今年度は5個所の機関について，果実ソース中の保存料（安息香酸，パラオキシ安息香酸ブチル）と甘味料（サッカリンナトリウム）の3項目の定量試験の調査を実施した。パラヒドロキシ安息香酸ブチル試験で，不適切なピーク解析処理を行った機関（1機関）や，検量線の直線性で低い機関（1機関）はあったが， \bar{X} -R管理図やZスコア等から全機関の3項目の分析値は，「充分管理されている」と判断できる結果が得られた。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、平成16年度は県内の水道水質検査を実施する11機関の参加により、鉄および色度・濁度の3項目について精度管理調査が実施された。

鉄については、水道水に0.15mg/Lとなるように標準液を添加した試料を使用したところ、機関内・機関間のばらつきも小さく、全機関の測定値の平均値も0.161 mg/Lと回収率0.9～1.1の範囲に入り、報告された鉄の検査結果は概ね良好であった。

色度・濁度については、環境水試料を使用した。試料と同時に配布した標準液から、色度1度、濁度1度の標準水溶液をそれぞれ調製し、これらの測定結果についても試料と同様に報告を求めた。

濁度については機関内・機関間変動係数ともに小さく、濁度1度標準水溶液測定における回収率も0.9～1.1の範囲内にあり、概ね良好な結果が得られた。

色度については各機関とも機関内のばらつきは小さかったが、機関間のばらつきが大きく、11機関のうち3機関の値がGrubbsの異常値検定(危険率5%)の結果から棄却された。透過光測定法を用いた10機関による色度1度標準水溶液測定における回収率では、1機関を除き0.9～1.1の範囲内にあった。内蔵検量線や標準板を用いて定量する機関も、標準列測定による定期的な機器の保守点検が必要であると考えられた。

環 境 保 健 部

【行政検査】

カドミウム汚染地域住民健康調査（神通川流域住民健康調査）

1次検診：昭和54年度から実施してきた環境省（庁）委託の健康調査方式が、平成9年度から新しい方式に改められた。平成16年度は、対象者2,435名中867名が1次検診を受診した。

精密検診：1次検診の結果、尿中 β 2-マイクログロブリン濃度が5.0mg/gCr以上または尿蛋白定性陽性のもので186名が精密検診の対象となった。精密検診は指定医療機関である富山医科薬科大学附属病院、富山県立中央病院、富山市民病院の3医療機関で行われ、受診者144名の尿、血液について所定の検査を行った。

管理検診：イタイタイ病要観察者に対して、経過観察中の管理検診対象者2名全員が受診し、該当する尿および血液検査を実施した。

イタイタイ病認定申請に伴う検査：申請のあった1名について、該当する尿および血液検査を実施した。

【調査研究】

小児期から実行可能な骨粗鬆症予防法の確立に関する研究

骨粗鬆症の予防には、成長期の骨量獲得時期に最大骨量をより高くしておくことが重要である。そこで、平成13年度から、骨密度が急速に増える中学2年生女子を対象者とし、高校3年までの4年間の骨量増加と、身体的要因や環境要因との関係を明らかにする追跡調査を行っている。

平成16年度は、高校2年生となった生徒の骨密度等を調査した。今回はその中で中学3年（中3）、高校1、2年（高1、高2）時の3回とも調査ができた47名について、牛乳摂取および歩数と骨代謝指標、骨密度変化率との関連を解析した。中3時の牛乳摂取量の違いでは骨代謝指標（中3時）、骨密度変化率（中3から高1）に差は認められなかった。歩数を運動量指標として骨代謝指標との関連をみたところ、中3時に1日15,000歩以上歩いていた歩数多群は15,000歩未満の歩数少群に比べて骨型アルカリフォスファターゼ（中3時）が高い傾向を示し、骨形成の亢進が示唆された。さらに、中3から高1までの1年間の骨密度増加率が大きく、成長期女子においては1日15,000歩以上の運動が骨密度の増加に有効であると考えられた。次に高校時の歩数の減少が骨代謝に影響するか検討するために、中3時の歩数多群を中3時と高1時の歩数差で2群に分け、骨代謝指標（高1時）、骨密度変化率（高1から高2）を比較した。その結果、歩数の減少が大きい群で骨形成指標は低く、骨密度の増加はやや小さく、歩数の減少は骨密度増加に負の要因になると考えられた。

肥満遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究

運動量と体重減少との関係を遺伝的および心理的要因を考慮して明らかにすることを目的とする。県内のウォーキング推進活動を展開している工場従業員で同意が得られた男性22名について、6ヶ月間のウォーキングによる運動量と体重減少の関係を追跡調査し、それと肥満体質遺伝子多型との関連を検討した。

ウォーキング推進活動中の開始時、終了時（3ヶ月後）、さらに3ヶ月後に体重、体脂肪率を測定し、6ヶ月間の毎日の運動量をライフコーダ（長期間記録型万歩計）で計測した。

BMI、体脂肪率ともに $\beta 3$ アドレナリン受容体の正常型と節約型において差異は認められなかった。脱共役蛋白（UCP）1では節約型の方が正常型に比べ体脂肪率が高かった。ウォーキング推進活動期間の前半3ヶ月については、歩数、速歩時間とBMI、体脂肪の変化との間に関連は認められなかったが、後半の歩数の多い者でBMIが低下していたが、 $\beta 3$ アドレナリン受容体、UCP1の両肥満体質遺伝子多型による違いは認められず、遺伝的要因より自発的なウォーキングが体重減少に寄与したと考えられる。

環境汚染物質の生体影響に関する研究

環境汚染物質の一般住民における暴露レベルを把握し、リスク評価に資するデータを蓄積するため、有機リン農薬についての尿中代謝物のモニタリングを行った。職業的に農薬曝露の無い勤務者のボランティア6名を対象とし、1年間（毎週1回計53週）延べ314検体の尿中の有機リン農薬代謝物である4種のアルキルリン酸を分析した。4種の内訳はジメチルリン酸（DMP）、ジメチルチオリン酸（DMTP）、ジエチルリン酸（DEP）およびジエチルチオリン酸（DETP）である。6例とも低レベルではあるがアルキルリン酸が継続して検出された。最も高頻度かつ高濃度に検出されたのはDMTPであり、ジメチル型はジエチル型よりも検出率、濃度ともに高かった。環境省の平成15年度の化学物質排出移動量届出制度（PRTTR制度）の集計によると、全国で使用された有機リン農薬のうち、PRTTR制度の対象である33種では、その年間移動排出量においてジメチル型が64%、ジエチル型が26%を占めている。アルキルリン酸濃度の月ごとの推移をみると、春低く秋高いという季節の違いがみられたが、家庭での殺虫剤の使用の多い時期と、代謝物濃度の上昇とは一致しなかった。この1年間の追跡調査から、一般住民は低レベルであるが年間を通じて有機リン農薬の曝露を受けており、曝露源としては食品や住居環境の影響が大きいと考える。

イタイイタイ病に関する研究

神通川流域のガドミウム汚染地域において、平成9年度から平成13年度までに行った住民健康調査結果を集計・解析し、取りまとめている。

濃縮海洋深層水を利用した浮遊浴に関する研究

海洋深層水を逆浸透膜によって塩分濃度を15%にした濃縮海洋深層水を使って、イスラエルの「死海」で海洋療法として行われている浮遊浴を試みた。濃縮深層水浮遊浴における効果として、心理・生理学的指標から、リフレッシュ度の向上を確認する。次に、塩分濃度30%濃縮海洋深層水による「滑川海洋深層水フェア2003・浮遊浴体験」に関する調査研究を行い、浮遊浴（15分間）前後のストレス感・リフレッシュ感アンケート調査と筋弾性計による背部、頸部の筋硬度の測定結果から、浮遊浴により精神的リフレッシュ効果と筋肉のリラクゼーション効果を確認する。15%および30%濃縮海洋深層水による浮遊浴、「浮き」を用いた水道水浴、床に寝る「空浴」を温度36℃と39℃（浮遊時間15分）で比較検討した。塩分濃度と温度の差によるリフレッシュ感の変化、交感神経と副交感神経の活動度の変化、浮遊後の筋硬度の変化をとらえる。さらに、濃縮海洋深層水による浮遊浴に休息を取り入れ、リラックス・リフレッシュ効果の指標として脳波の測定を加え、水道水浴と比較した。深層水ジャクジー効果についても検討を加えた。濃縮海洋深層水浮遊浴の有用性と適正条件を評価する資料となる。

（富山医科薬科大学、滑川市との共同研究）

リハビリテーション調査研究事業

介護保険制度が導入された後の、県内公的病院を退院した脳卒中患者の自立度改善又は悪化への影響要因を解析する。

（厚生労働省地域保健特別推進事業・富山県厚生部健康課）

(9) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行 政 検 査	依 頼 検 査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常検査	10,582 (63,492)	
	染色体検査	59 (59)	101 (101)
	衛生動物検査	8,349 (8,349)	49 (49)
	小 計	18,990 (71,900)	150 (150)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	863 (863)	
	血清学的検査	1,369 (3,258)	
	小 計	2,232 (4,121)	
細 菌 部	感染症にかかわる検査	396 (472)	
	食中毒にかかわる検査	115 (383)	
	食品検査	64 (64)	1 (6)
	水質検査	541 (1,201)	
	小 計	1,116 (2,120)	1 (6)
化 学 部	食品にかかわる検査	175 (3,091)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	751 (3,956)	83 (648)
	温泉分析	29 (570)	1 (30)
	小 計	970 (7,637)	84 (678)
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	1,014 (3,942)	
	小 計	1,014 (3,942)	

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 10,582 (63,492)
2. 染色体検査
 - (1) 血液 49 (49)
 - (2) 羊水 10 (10)
 - (3) 胎児 0 (0)
3. 衛生動物等検査
 - (1) 衛生・不快動物 8,342 (8,342)
 - (2) 食品混入異物 7 (7)

[一般依頼検査]

1. 染色体検査
 - (1) 血液 32 (32)
 - (2) 羊水 43 (43)
 - (3) 胎児 26 (26)
2. 衛生動物等検査
 - (1) 衛生・不快動物 38 (38)
 - (2) 食品混入異物 11 (11)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査
 - (1) インフルエンザ 110 (110)
 - (2) ポリオ 59 (59)
 - (3) その他ウイルス 553 (553)
 - (4) リケッチア, その他 0 (0)
 - (5) 食中毒 141 (141)
2. 血清学的検査
 - (1) インフルエンザ ヒト 202 (808)
 - " ブタ 290 (1160)
 - (2) ポリオ 202 (606)
 - (3) 日本脳炎 440 (440)
 - (4) エイズ 210 (213)
 - (5) その他のウイルス 23 (29)
 - (6) リケッチア, その他 2 (2)

[一般依頼検査]

細菌部

<p>[行政検査]</p> <p>1. 感染症にかかわる検査</p> <p>(1) コレラ菌 1 (1)</p> <p>(2) 赤痢菌 3 (9)</p> <p>(3) パラチフス菌 2 (4)</p> <p>(4) 腸管出血性大腸菌 25 (75)</p> <p>(5) 炭疽菌 5 (19)</p> <p>(6) レジオネラ菌 2 (2)</p> <p>(7) 赤痢アメーバ 1 (1)</p> <p>(8) 溶連菌 344 (347)</p> <p>(9) 結核菌 13 (14)</p> <p>2. 食中毒にかかわる検査</p> <p>(1) サルモネラ 26 (52)</p> <p>(2) 病原大腸菌 50 (145)</p> <p>(3) ウェルシュ菌 9 (18)</p> <p>(4) 腸炎ビブリオ 3 (3)</p> <p>(5) 検便 27 (165)</p> <p>3. 食品検査</p> <p>(1) 収去検査 64 (64)</p> <p>4. 水質検査</p> <p>(1) 海水 120 (120)</p> <p>(2) 海水浴場 128 (154)</p> <p>(3) 水道水源水 191 (475)</p> <p>(4) 深層水 66 (310)</p> <p>(5) 名水 35 (140)</p> <p>(6) 水道水 1 (2)</p>	<p>[一般依頼検査]</p> <p>1. 食品検査 1 (6)</p>
--	--

化学部

<p>[行政検査]</p> <p>1. 食品にかかわる検査</p> <p>(1) 食品成分および添加物 87 (339)</p> <p>(2) 残留農薬 48 (2,702)</p> <p>(3) 重金属類 40 (50)</p> <p>(4) 容器包装 0 (0)</p> <p>2. 家庭用品検査</p> <p>(1) メチルアルコール 5 (5)</p> <p>(2) テトラクロロエチレン 5 (10)</p> <p>およびトリクロロエチレン</p> <p>(3) デイルドリン 5 (5)</p> <p>3. 水質検査</p> <p>(1) 水質基準項目 24 (713)</p> <p>(2) 監視項目 34 (322)</p> <p>(3) ゴルフ場使用農薬 22 (359)</p> <p>(4) その他 671 (2,562)</p> <p>4. 温泉分析</p> <p>(1) 中分析 14 (420)</p> <p>(2) その他 15 (150)</p>	<p>[一般依頼検査]</p> <p>1. 水質検査</p> <p>(1) 水質基準項目 8 (65)</p> <p>(2) ゴルフ場使用農薬 24 (379)</p> <p>(3) その他 51 (204)</p> <p>3. 温泉分析</p> <p>(1) 中分析 1 (30)</p>
---	---

環境保健部

<p>[行政検査]</p> <p>1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査</p> <p>(1) 神通川流域住民健康調査</p> <p>1次検診 尿検査 867 (1,734)</p> <p>精密検診 尿、血液検査 144 (2,160)</p> <p>(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診</p> <p>尿、血液検査 2 (32)</p> <p>イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査</p> <p>尿、血液検査 1 (16)</p>	<p>[一般依頼検査]</p>
---	-----------------

(10) 科学研究費補助金

平成16年度

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
感染の成立と宿主応答の分子基盤	所 長	永井美之	文部科学省 特定領域研究 研究代表者
地方衛生研究所の地域における健康危機管理の在り方に関する研究：健康危機管理事例のデータベース化とその利用に関する研究	がん研究部	永井美之	厚生労働省 がん予防等健康科学総合研究事業
感染症媒介ベクターの実態、生息防止対策に関する研究：富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査	がん研究部	渡辺 譲	厚生労働省 新興・再興感染症研究事業 研究協力者
先天性代謝異常症早期診断のための酵素チップの開発（迅速細菌診断法の開発と実用化研究）	細菌部	綿引正則	文部科学省 富山・高岡地域 知的クラスター創成事業
病原性大腸菌における遺伝子・タンパク発現による病原因子の検索	細菌部	木全恵子	文部科学省 若手研究 B
食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究	細菌部	田中大祐	厚生科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 研究協力者
波長軸変調型蛍光検出円二色性検出法の開発	化学部	小玉修嗣	文部科学省 基盤研究 C 研究分担者
知的障害者の就労・生活支援のための健康管理コンサルティング体制の確立	環境保健部	長瀬博文	文部科学省 基盤研究 C 研究分担者
遺伝的素因と心理的モチベーションを考慮した運動習慣確立のための支援プログラム開発	環境保健部	長瀬博文	文部科学省 基盤研究 C 研究実施者
アジア途上国における環境汚染の生態学的把握と小児への曝露－健康影響評価	環境保健部	新村哲夫 中崎美峰子	文部科学省 基盤研究 B 2 研究協力者

(11) 講師派遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
ウォーキングのすすめ	長瀬博文	日本曹達高岡工場 衛生講話	平16. 4.20	日本曹達(株) 高岡工場
ウイルスと食中毒	長谷川澄代	老人クラブリーダー 研修会	平16. 5.20	砺波ロイヤルホテル
高齢者の感染症	永井美之	長寿大学講演	平16. 6.10	高岡文化ホール
高齢者の感染症	永井美之	長寿大学講演	平16. 6.22	サンシップ富山
老化と人の死 －高齢者の生活支援－	長瀬博文	富山医科薬科大学医学 科3年生講義	平16. 6.28	富山医科薬科大学 医学科
情報機器の操作 (SPSS)	新村哲夫	富山県総合衛生学院 保健学科講義	平16. 7. 9～ 平16.11.24 年5回	富山県総合衛生学院

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
地域看護学研究 (育児不安の実態と関連関連)	長瀬博文	富山県総合衛生学院 保健学科実習	平16. 8. 4~ 平17. 2.24 年数回	富山県総合衛生学院
特定化学物質等による障害とその予防 第I編	長瀬博文	特定化学物質等作業 主任者技能講習	平16. 7.21	富山地域職業訓練 センター 4F
ウイルス学各論 (パラミクソウイルス)	永井美之	金沢大学医学部 特別講義	平16. 7. 1	金沢大学医学部
保健・医療・福祉と介護の制度 -障害者・高齢者医療-	長瀬博文	富山医科薬科大学医学 科4年生講義	平16. 9.28	富山医科薬科大学 医学科
昆虫とは；昆虫の体と変態	渡辺 護	きらめきエンジニア事 業	平16. 9.28	富山市立柳町小学 校
HIV/AIDS の最近の状況について	堀元栄詞	性感染症予防研修会	平16. 9.30	富山県民会館
特定化学物質等による障害とその予防 第I編	長瀬博文	特定化学物質等作業 主任者技能講習	平16.10. 6	富山県中小企業 研修センター 2F
ウエストナイル熱について	堀元栄詞	衛生消毒講習会	平16.10.25	高岡市ふれあい 福祉センター
公衆衛生学	長瀬博文	富山県総合衛生学院 第一看護学科講義	平 16.10.27~ 平16.12.22 週1回	富山県総合衛生学院
食品添加物・汚染物質	小玉修嗣	金沢大学大学院 自然科学研究科 「大学院特論」	平16.11.17	金沢大学
ウイルスの特性について	堀元栄詞	富山県消防学校 救急科救急標準課程	平16.11.18	富山県消防学校
今冬の感染症の動向と対策について	堀元栄詞	平成16年度養護教諭活 動研修会	平16.12. 1	県総合教育センター
インフルエンザの流行状況と対策について	堀元栄詞	富山市医師生涯教育研 修会	平16.12.10	富山市医師会
濃縮海洋深層水のぶかぶか浮遊浴によるリラクゼーション効果	新村哲夫	富山湾に学ぶ会	平16.12.18	とやま市民交流館
ノロウイルス感染症について	堀元栄詞	施設における感染性胃 腸炎予防対策研修会	平17. 1.25	高岡総合庁舎
施設紹介「細菌部の取り組み紹介 ゲノムから細菌を見る」	綿引正則	フォーラム富山「創薬」 第15回研究会	平17. 2. 3	名鉄富山ホテル
富山湾から揚水されている海洋深層 水中の硝酸塩濃度の変動について	松永 明信	平成16年度水産船舶職 員研修会	平17. 2.10	富山県水産試験場
プレゼンテーションの進め方	長瀬博文	富山県総合衛生学院 保健学科講義	平17. 2.22	富山県総合衛生学院
ノロウイルス感染症について	堀元栄詞	感染症研修会	平17. 2.23	特別養護老人ホーム「だいが苑」
地域看護学研究報告会	長瀬博文	富山県総合衛生学院 保健学科講義	平17. 2.25	富山県総合衛生学院

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研 修 期 間	研 修 内 容	担 当
新疆医科大学公衆衛生学院 教授 賈寛沙比提	平16.4.1 ～5.31	微量元素と長寿に関する研究	環境保健部
富山県西部家畜保健衛生所 石地智乃	平16.5.10 ～5.14	細菌検査の基本、細菌の同定、PCR 検査の手法	細菌部
Planned Immunization Division Si- chuan Provincial Center for Dis- ease Control and Prevention the people's republic of China Tong wenbin	平16.10. 4 ～10.29	環境サーベイランス	ウイルス部
(有)大井微生物研究所 大井邦夫	平16.6.11,18,25	レジオネラ属菌の検査について	細菌部
中部厚生センター 本間多美子	平17.3.14 ～3.17	食中毒発生時の対応、レジオネラ属 菌の同定及びその他細菌検査技術	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
米 田 豊	平16.7.1 ～7.2	先天性代謝異常症等検査技術研修会 これからの新生児マス・スクリー ング	恩賜財団母子愛育 会	札幌市衛生研究所 福士 勝 他
綿 引 正 則 堀 元 栄 詞 岩 井 雅 恵	平16.7.8 ～7.9	全国微生物技術協議会 第25回研究会	埼玉会館 (さいたま市)	国立感染症研究所 所長 倉田 毅 他
磯 部 順 子	平16.8.2 ～8.5	生命工学トレーニングコース 遺伝子工学・基礎技術	金沢大学学際科学 実験センター (金沢市)	金沢大学 教授 山口和男 他
本田 幸子 林 美貴子	平16.8.28 ～8.29	第11回臨床細胞遺伝学セミナー	日本人類遺伝学会 (東京都)	東京医科歯科大学 池内達郎 他
田 中 大 祐	平16.9.13 ～9.15	平成16年度第2回人材育成 トレーニングコース 富山県バイオ産業振興協会	富山県立大学工学 部生物工学研究セ ンター(小杉町)	富山県立大学工学部 教授 伊藤伸哉 他
小 原 真 弓	平16.9.14 ～10.15	平成16年度特別課程ウイルスコース	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 感染症情報センター 第6室長 西尾治 他
磯 部 順 子 清 水 美 和 子	平16.10.7 ～10.8	平成16年度第3回人材育成 トレーニングコース 富山県バイオ産業振興協会	富山県農業技術セ ンター 農業セン ター(富山市)	アプライドバイオシ テムズジャパン(株) 有賀博文 他
綿 引 正 則	平16.10.6 ～10.8	第6回組換えDNA技術応用食品の 検査に係る実技研修会	国立医薬品食品衛 生研究所(東京都)	国立医薬品食品研究所 食品部 第3室長 稲山浩 他
小 原 真 弓	平16.10.18 ～10.20	蚊検体からのフラビウイルス分離	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 ウイルス第一部 第2室長 高崎智彦 他
堀 元 栄 詞	平16.11.5	平成16年度動物由来感染症対策(狂 犬病予防含む)技術研修会	東京大学 (東京都)	厚生労働省 職員達裕 他
小 原 真 弓	平16.11.11 ～11.13	バイオセーフティ技術講習会 (基礎コース)	NPO 法人バイオ メディカルサイ エンス研究会(東京 都)	バイオメディカルサイ エンス研究会 小松俊彦 他

受講者氏名	研修期間	研 修 内 容	研 修 機 関	講師所属氏名
新 村 哲 夫	平16.11.15 ～11.17	平成16年度第5回人材育成 トレーニングコース 富山県バイオ産業振興協会	富山県薬事研究所 富山医科薬科大学 (小杉町・富山市)	富山医科薬科大学医学 部放射線基礎医学講座 教授 近藤 隆
嶋 智 子	平17.2.14 ～2.25	水道クリプトスポリジウム試験法 実習	国立保健医療科学 院 (和光市)	国立感染症研究所 寄生動物部 遠藤卓郎 他
綿 引 正 則 岩 井 雅 恵	平17.2.21 ～2.22	平成16年度希少感染症診断技術研修 会	国立感染症研究所 戸山庁舎 (東京都)	国立感染症研究所 細菌1部 田村講師 他
田 中 大 祐	平17.3.26	富山県院内感染対策担当者 (TICS) 養成研修	富山医科薬科大学 附属病院 (富山市)	富山医科薬科大学医学 部 感染予防医学 助教授 安岡 彰 他
岩 井 雅 恵	平16. 2.23 ～2.24	ポリオウイルス IgA 抗体測定方法	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 ウイルス第二部 吉田 弘

(14) 客 員 研 究 員 等

客員研究員氏名	所 属 職 名	招へい期間	指 導 内 容 等
徳 永 裕 司	国立医薬品食品衛生研 究所環境衛生化学部第 二室長	平16.5.9 ～5.11	微量元素の生態影響およびヒ素に関する国際的 な疫学調査について指導
民 谷 栄 一	北陸先端科学技術大学 院大学 教授	平16.6.15	診断技術としてのバイオセンサー技術の感染症 分野への応用について、指導、助言
板 橋 豊	北海道大学 教授	平16.7.26 ～7.28	脂質分析について指導
岩 本 愛 吉	東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 感染症分野 教授	平16.7.28 ～7.29	新興感染症とその対策について指導

(15) セ ミ ナ ー の 開 催

衛生研究所、薬事研究所、環境科学センター 3研究機関合同セミナー

演 題	講師氏名	所 属 職 名	年 月 日
尿中ヒ素代謝物の分析とヒ素の生態影響	徳永 裕司	国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部 第二室長	平16.5.10
バイオチップ・センサー先端技術と生物医学分野への 応用	民谷 栄一	北陸先端科学技術大学院大 学・教授	平16.6.15
脂質分析の現状と問題点	板橋 豊	北海道大学 教授	平16.7.27
新興感染症の臨床とその対策	岩本 愛吉	東京大学医科学研究所 先端医療研究センター 感染症分野 教授	平16.7.28

(16) 各種規定等

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

2. 調查研究報告



先天性代謝異常等マス・スクリーニングの成果について (平成16年度の検査成績)

九曜雅子 米田 豊 加藤丈士 石丸敏子¹

A Survey Report on the Neonatal Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism, Congenital Hypothyroidism and Congenital Adrenal Hyperplasia in Toyama Prefecture (April 2004~March 2005)

Masako KUYO, Yutaka YONEDA, Takeshi KATO and Toshiko ISHIMARU¹

要旨 平成16年度の検体総数は10,582件で、スクリーニングの結果、クレチン症の患者4人が発見された。これで、スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症が28年間で38人（フェニルケトン尿症4人、メイプルシロップ尿症1人、ホモシスチン尿症0人、ガラクトース血症0人、ヒスチジン血症33人）、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）が25年間で96人、先天性副腎過形成症が16年間で12人となった。その他の疾病については、現在までに、良性高フェニルアラニン血症10人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症2人、シトリン欠乏症2人が発見されている。

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

富山県では、昭和52年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等6疾病を対象に検査を実施している。平成16年度のスクリーニング結果について報告する。

実施方法

1. 対象疾病

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

2. 対象者

県内で出生した新生児のうち、保護者がこの検査を希望した者を対象とした。

3. 検査期間

本報では、平成16年4月より、平成17年3月までの検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血された濾紙血液を用いた。

(2) 検査方法

①アミノ酸代謝異常症

高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により、濾紙血中のフェニルアラニン、ロイシンおよびメチオニンを迅速分析法（6分法）で測定した[1,2]。

②ガラクトース血症

Microplate・酵素法（バイエルメディカル社製キット「GAL-R」使用）により、濾紙血中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法[3]を用いた。また、全検体について、Beutler法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase 活性の有無を検査した。試薬は、キットの製造が中止されたため、藤本の方法[4]を参考に自家調製した。表1に試薬調製法と測定操作を示した。なお、判定用の濾紙は、短時間でも判定可能である Whatman DE 81を使用した[5]。

③先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）

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

1 富山県厚生部健康課

表1. Beutler 法

試薬の調整 (300アッセイ分)	
0.0057M UDP-glucose 2Na	1.0ml
0.0324M Gal-1-phosphate 2K	1.0ml
0.01188M NADP 2Na	1.0ml
0.75M Tris buffer(pH8)	6.0ml
1% Saponin/0.75M Tris buffer(pH8)	1.0ml
1% EDTA 2Na	0.1ml
D.W.	19.9ml
計	30.0ml

濾紙血液1/8インチ径1枚 + 試薬100 μ l

37°C3hr ↓

濾紙 (Whatman DE81) にスポット
蛍光の有無を判定

④先天性副腎過形成症

ELISA (バイエルメディカル社製キット「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用) を用い17-OHP (17- α -hydroxy progesterone) 値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

Guthrie 法等で使用していた PUNCH INDEXER MODEL VIIA (ファンダメンタル社) を Microplate 法に応用[6]し、検体をサンプリングした。

(4) 判定基準

表2に示した。

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

査でも、直ちに主治医に連絡し、小児科受診を勧奨した。

(5) 結果報告

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

(6) データ処理

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

結果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、10,582件で、県内53か所の医療機関 (おもに産婦人科医院) より送付されてきたものである。

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した。

今年度の出生数は 9,168人であり、初回検体数 10,003件(人)から計算すると受検率は109.1%となるが、初回検体のうち県内在住者は8,664人、県外在住者は1,339人であることから、いわゆる「里帰り分娩」を含めない受検率は94.5%であった。また、県内在住者が他県で受検するケースも考えられるため、県内の新生児のほとんどが、この検査を受けているものと思われる。

初回検体のうち9,591件(95.9%)は正常と判定されたが、203件(2.0%)は疑陽性のため、206件(2.1%)は採血後日数が経っている等の不備検体のため、再採血を依

表2. 判定基準

対象疾病	検査法	測定物質	判定基準値	
			疑陽性	緊急に精密検査が必要
フェニルケトン尿症	HPLC	Phenylalanine (Phe)	$\geq 2.0\text{mg/dl}$	
ホモシスチン尿症	HPLC	Methionine (Met)	$\geq 1.0\text{mg/dl}$	
メイプルシロップ尿症	HPLC	Leucine (Leu)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	$\geq 7.0\text{mg/dl}$
ガラクトース血症	Microplate 酵素法	Galactose (Gal)	$\geq 3.0\text{mg/dl}$	Gal 3.0mg/dl 以上でポイトラー法で蛍光がない
	ポイトラー法	Galactose-1-Phosphate Uridyltransferase	蛍光がない	
先天性甲状腺機能低下症 (クレチン症)	ELISA	Thyroid-Stimulating Hormone (TSH)	$\geq 8.0\mu\text{U/ml}$	$\geq 30\mu\text{U/ml}$
先天性副腎過形成症	ELISA	17- α -Hydroxy Progesterone (17-OHP)	直接法 $\geq 10\text{ng/ml}$ 抽出法 $\geq 3.5\text{ng/ml}$	直接法10ng/ml 以上で何らかの症状がある

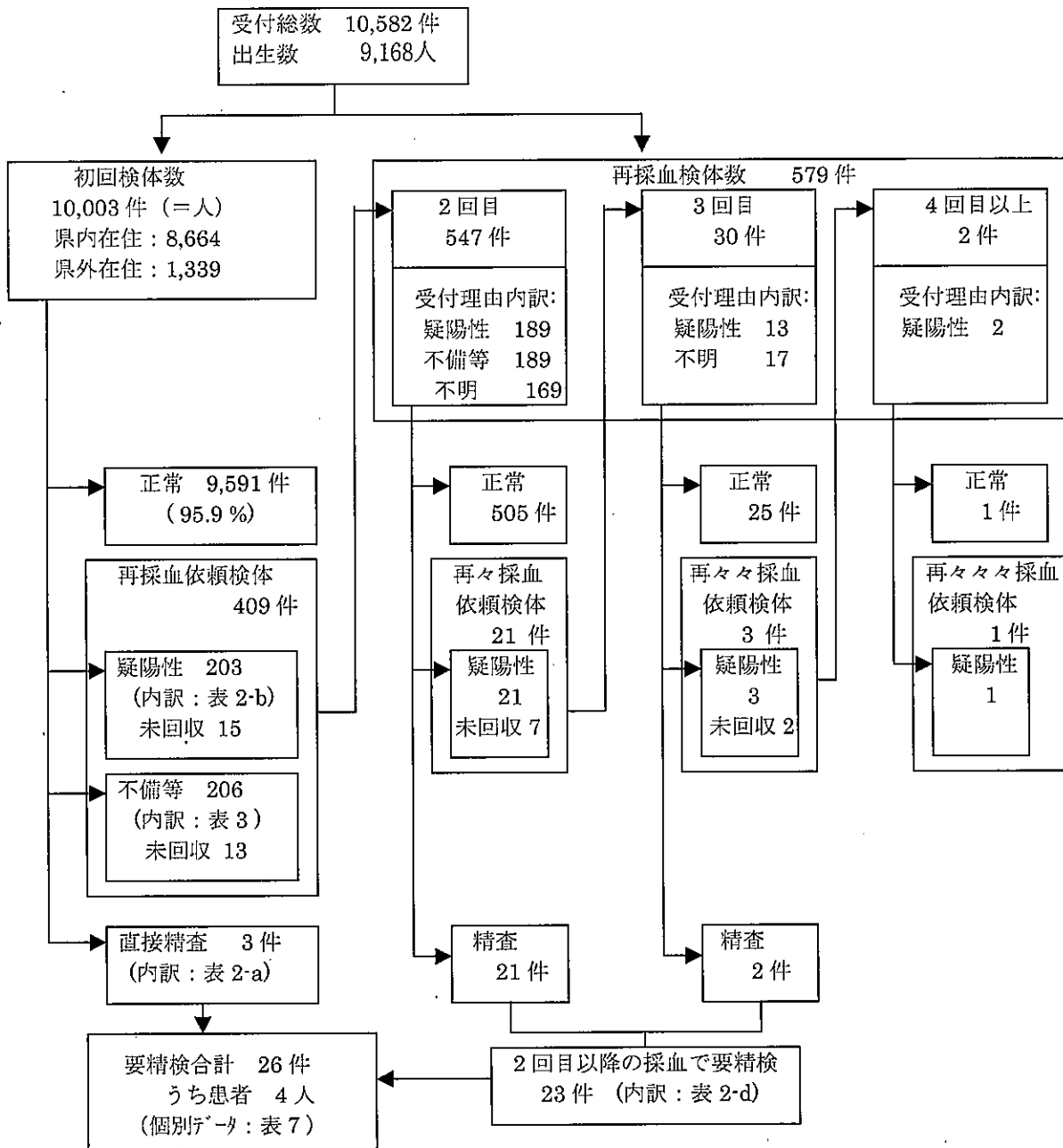


図1 検査の流れ及び検査件数の概要

頼した。また、3件(0.03%)は初回検査で直ちに精密検査が必要(直接精査)と判定された。

再採血検体として受付した579件のうち、23件(4.0%)は要精検と判定され、直接精査分と合わせ、計26件が要精検と判定された。

(2) 疑陽性による再採血

表3に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。再採血率は代謝異常症4疾患で0.28%、クレチ症は1.06%および副腎過形成症は0.85%となり、合計2.20%であった。なお、現在再採血の目安は代謝異常症4疾患で0.5%程度、クレチン症は0.5~1.0%、副腎過形成症は0.3

~0.5%で6項目合わせて2%程度が適当とされている[8]。副腎過形成症の再採血率が少し高い傾向が見られた。

また、1検体で2疾患以上が同時に疑陽性となった検体が4件あり、それらはフェニルケトン尿症とホモシスチン尿症と副腎過形成症の3疾患が1件、フェニルケトン尿症と副腎過形成症が1件、クレチン症と副腎過形成症の同時疑陽性が2件であった。

なお、初回検体で副腎過形成症の疑いにより疑陽性となった72件のうち40件(55.6%)が低出生体重児(2,000g以下)であった。

疑陽性のため再採血を依頼した件数は合計228件で、

表3. 疑陽性による再採血依頼数および要精密検査検体数の内訳

	採血回数					総受付検体		
	直接精査	疑陽性による再採血依頼数	再採血率 (%)	要精検数	疑陽性による再採血依頼数	要精検合計 [患者数] (f)=(a)+(d)	疑陽性総件数 (g)=(b)+(e)	再採血率 (%) (h)
	(a)	(b)	(c)	(d)	(e)			
フェニルケトン尿症	0	5	0.05	2	1	2	6	0.06
ホモシスチン尿症	0	1	0.01	0	0	0	1	0.01
メイプルシロップ尿症	0	10	0.10	0	0	0	10	0.09
ガラクトース血症	0	13	0.13	2	0	2	13	0.12
クレチン症	1	106	1.06	15	6	16(4)	112	1.06
副腎過形成症 (うち低体重児数)	2 (2)	72 (40)	0.72	5 (5)	18 (18)	7 (7)	90 (58)	0.85
合計 (うち2疾患以上の重複数)	3	207 (4)	2.07	24 (1)	25	27 (4) (1)	232 (4)	2.20

そのうち、平成15年5月末現在204件が再採血され、その回収率は89.5%であった。再採血を依頼しても1か月以上検体が送られてこない場合は再依頼しているが、疑陽性で再採血依頼し回収できなかった症例のうち、死亡例1件、病院で検査が5件であった。その他の未回収検体は、すべてNICUや小児科からの送付された検体であり、これらについては医療機関でフォローアップされていると思われる。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表4に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。3日以内に採血された検体が7件、血液が不足している検体が20件、採血後日数が経ち過ぎている古い検体が14件（最長15日）あった。年末年始等の長期の休みとなる場合には、採血医療機関に対し、事前に文書で検体の取り扱いの要領を通知しているが、年末年始期間以外でも、採血後検体を冷蔵庫に保管し、そのまま送付し忘れたケースがほとんどであった。

2,000g未満の低出生体重児については、体重が2,500gに達した時か、1か月時のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している。今年度は150件に対して再採血を依頼した。このうち哺乳不良が7件あった。また、哺乳不良のみの検体は18件であった。

疑陽性以外の理由で再採血を依頼した検体の総数は206件で、このうち再検査できたのが193件（回収率93.7%）であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

検査実施状況の月別比較、年度推移並びに全国集計との比較をそれぞれ表5、表6および表7に示した。

なお、全国集計は、特殊ミルク情報[9, 10, 11]より数を訂正し引用した。富山県における現在までの患

表4. 疑陽性以外の理由による再採血依頼

不備理由	
3日以内に採血	5
血液量不足	19
古い	14
哺乳不良	18
低体重、3日以内に採血	2
低体重、血液量不足	1
低体重、哺乳不良	7
低体重	140
合計	206

者発見率は、検査対象の代謝異常症が1/8,300、クレチン症が1/3,000、副腎過形成症が1/14,300である。全国の患者発見率と比較すると、クレチン症の発生頻度が有意に高いといえる(P<0.05)。

2. 要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は、代謝異常症が30人、クレチン症が112人、先天性副腎過形成症が90人であり、そのうち、それぞれ4人、16人、7人に精密検査の必要が認められた。なお、初回検査で精密検査が必要と認められた3人の内訳は、クレチン症疑い1人、先天性副腎過形成症疑い2人であった。

表8に要精密検査者の検査状況と結果をまとめた。クレチン症の患者と診断されたのは、クレチン症の疑いの症例9, 12, 14および先天性副腎過形成症の疑いとして要精検となった症例2の4人であった。この他に、フェニルケトン尿症疑いの症例1は高フェニルアラニ

表5. 月別検査実施状況

年	平成16年									平成17年			計	
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
受付検体総数 (件)	799	923	903	929	1,008	916	902	851	643	995	795	918	10,582	
内 訳	初回検査数 (件)	758	861	855	879	956	873	847	815	611	942	736	870	10,003
	再採血総数 (件)	41	62	48	50	52	43	55	36	32	53	59	48	579
	再採血内訳													
	2回目	39	55	43	46	52	43	54	34	29	51	55	46	547
3回目	2	7	5	4	0	0	1	2	3	2	3	1	30	
4回以上	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	
疑陽性件数 (要精検数)	フェニルケトン尿症	0	0	0	0	0	0	0	1	4(1)	1(1)	0	6(2)	
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	
	メイプルシロップ尿症	2	1	1	0	1	0	1	2	0	1	0	10	
	ガラクトース血症	0(1)	1	1	0	0	0	1	0	1	4(1)	3	2	13(2)
	クレチン症	7(1)	7	7	8(1)	10(1)	11(2)	15(4)	10(2)	9(1)	7(2)	13(1)	8(1)	112(16)
	副腎過形成症	2	12	4(1)	3	6	3	7	6(3)	5	12(1)	21(1)	9(1)	90(7)
計	11(2)	21	13(1)	11(1)	17(1)	14(2)	24(4)	18(5)	17(1)	28(5)	38(3)	20(2)	232(27)	

表6. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					代謝 異常症	クレチン症	副腎 過形成症	代謝 異常症	クレチン症	副腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(27)	130(25)	—
平成元年度 ～9年度	104,061	97,024	91,923	105.5	1,837	1,463	763	84(7)	264(31)	157(10)
平成10年度	11,639	10,918	10,126	107.8	172	127	83	28(0)	20(6)	14(1)
平成11年度	11,592	11,011	10,173	108.2	51	101	84	4(0)	16(9)	11(0)
平成12年度	11,531	10,930	9,983	109.5	35	107	117	7(0)	18(6)	13(1)
平成13年度	11,574	10,907	10,050	108.5	53	139	135	7(0)	36(8)	12(0)
平成14年度	11,216	10,506	9,766	107.6	42	167	159	8(0)	27(3)	22(0)
平成15年度	11,046	10,374	9,509	109.1	52	134	98	8(0)	25(4)	13(0)
平成16年度	10,582	10,003	9,168	109.1	30	112	90	4(0)	16(4)	7(0)
計	335,311	315,558	317,342	—	4,345*	3,191	1,529	231*(38**)	552(96)	249(12)

() は、対象疾病患者数

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

** : この他に対象疾病以外の患者16人あり(良性高フェニルアラニン血症10人、チロジン血症2人、G6PD異常症2人、シトリン欠乏症2人)

表7. マスクリーニングによる全国および富山県の患者発見状況

区分	富山県				全国	
	平成16年度		昭和52年度～平成16年度		昭和52年度～平成15年度	
受検者数	10,003人		315,558人		34,496,661人	
患者数, 発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
疾病名						
フェニルケトン尿症	0		4	1/ 78,900	445	1/ 77,500
ホモシスチン尿症	0		0		177	1/194,900
ヒスチジン血症	—		33	1/ 6,000 ¹⁾	2,200	1/ 9,600 ²⁾
メイプルシロップ尿症	0		1	1/315,600	67	1/514,900
ガラクトース血症	0		0		951	1/ 36,300
クレチン症	4	1/2,500	96	1/ 3,000 ²⁾	8,334	1/ 3,700 ⁵⁾
先天性副腎過形成症	0		12	1/ 14,300 ³⁾	1,155	1/ 17,000 ⁶⁾

- 1) 昭和52年度～平成5年度 受検者数 197,180人 4) 昭和52年度～平成4年度 受検者数 21,119,892人
 2) 昭和55年度～平成16年度 受検者数 287,108人 5) 昭和54年度～平成15年度 受検者数 31,169,414人
 3) 平成元年度～平成16年度 受検者数 171,673人 6) 昭和63年度～平成15年度 受検者数 19,615,899人

ン血症, ガラクトース血症疑いの症例2はシトリン欠損症と診断された。

なお, 当所では, 精密検査が必要となった場合には, スクリーニング結果連絡の際に, 診断結果記入用紙を同封し, 治療病院名, 主治医名, 精密検査の結果及び診断名を記入し返送してもらうシステムをとっている。この回収率は, 80.8% (21例/26例) であった。表8の診断名は, 主治医から報告された診断名である。

(1) 代謝異常症

フェニルケトン尿症の疑いで2人, ガラクトース血症の疑いで2人が要精密検査となった。フェニルケトン尿症の疑いの症例1は, 尿のプテリン化合物分析, BH4負荷テストを行った結果, 悪性高フェニルアラニン血症は否定されたが, 依然フェニルアラニン高値のため, 定期的にフォロー中である。

ガラクトース血症疑いの症例2は, 日齢5の初回採血でフェニルアラニンが高値で再検査となったが, 日齢14日の再採血の結果はガラクトースとメチオニンが高値であり, この異常値パターンから, 以前経験したシトリン欠損症が考えられたため要精密検査とした。精検病院からの依頼で, 福井大学医学部小児科の重松陽介先生にスクリーニング検体を送付し分析をお願いした結果, シトリン欠損症に特徴的なアミノ酸変化が認められた。家族にインフォームドコンセントをとり, 遺伝子解析を実施する予定とのことである。

(2) クレチン症

患者と診断された4人のほかに, 病気疑いで2人が治療中である。診断名のついた例について, 検査の結果および経過を示す。

<症例3> 日齢5の初回検査で, TSH値が $30 \mu\text{U/ml}$ 以上で直接精査となった。小児科での検査の結果, TSH $100 \mu\text{U/ml}$ 以上, FT₄ 0.31ng/dl , 大腿骨遠位端骨核あり, 甲状腺エコー正常で, 一過性の疑いで, 治療が開始された。

<症例5> 日齢14の再検査で TSH 値が上昇していたため, 要精密検査となった。病院での検査結果は, TSH $23.6 \mu\text{U/ml}$, FT₄ 1.1ng/dl , 大腿骨遠位端骨核ありで症状はないがクレチン症疑いとして治療開始された。

<症例9> 日齢10の再検査でも TSH 値が低下していないため要精密検査となった。日齢27の小児科での検査の結果 TSH $96.4 \mu\text{U/ml}$, FT₄ 0.5ng/dl , 大腿骨遠位端骨核あり, 甲状腺エコー正常で, 先天性甲状腺機能低下症と診断され, 治療開始された。なお病型診断は4～5歳ごろに行う予定とのことである。

<症例11> 日齢15の再検査で TSH 値が高くなっていったため要精密検査となった。この児の母親が甲状腺機能亢進症であったため, 病院でも児の甲状腺機能をチェックしていたが, 日齢5のスクリーニング結果が TSH $12.3 \mu\text{U/ml}$ (全血), 日齢6の病院での結果が TSH82

表8. 要精検患者の検査状況と結果(1)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績	診断名等
フェニルケトン尿症	1		男	5	Phe 3.09 mg/dl 3.065	高フェニルアラニン血症
				13	Phe 2.405mg/dl 2.15 2.65	
	2		男	5	Phe 2.22 mg/dl 2.33	異常なし
				11	Phe 2.11 mg/dl 2.0	
				33	Phe 2.14 mg/dl 2.02	
	ガラクトース血症	1		男	7	Gal 4.11 mg/dl ポイトラー正常 3.46
16					Gal 5.30 mg/dl ポイトラー正常 4.46	
2			男	5	Phe 2.32 mg/dl 2.355	シトリン欠損症
				14	Gal 17.25 mg/dl Met 1.72mg/dl 18.22 1.94 ポイトラー法正常	
クレチン症	1		女	5	TSH 11.4 μU/ml 11.55	異常なし(新生児一過性高TSH血症)
				11	TSH 9.6 μU/ml 9.05 8.75	
	2		女	5	TSH 8.6 μU/ml 10.0	異常なし
				8	TSH 9.5 μU/ml 10.5 12.6	
	3		男	5	TSH 40.7 μU/ml 41.1	一過性高TSH血症疑い(治療中)
	4		女	6	TSH 9.6 μU/ml 8.6	一過性高TSH血症疑い
				13	TSH 14.6 μU/ml 13.4	
	5		女	6	TSH 11.8 μU/ml 13.1	クレチン症(疑)(治療中)
				14	TSH 16.8 μU/ml 16.4 16.95	
	6		女	5	TSH 9.4 μU/ml 8.55	異常なし
				11	TSH 10.1 μU/ml 9.8 9.95	
	7		男	5	TSH 9.3 μU/ml 8.4	一過性甲状腺機能低下症疑い
				12	TSH 8.95 μU/ml 8.3 8.05	
	8		男	5	TSH 8.8 μU/ml 8.15	クレチン症または一過性高TSH血症疑い
				14	TSH 12.9 μU/ml 11.8	

表 8. 要精検患者の検査状況と結果 (2)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績	診断名等
					14.5	
クレチン症	9*		男	5	TSH 10.0 μ U/ml 10.2	クレチン症
				10	TSH 10.4 μ U/ml 10.35 9.1	
	10		男	6	TSH 10.9 μ U/ml 9.35	一過性高TSH血症
				15	TSH 8.95 μ U/ml 8.75	
				31	TSH 10.15 μ U/ml 8.95 8.4	
	11		女	5	TSH 12.3 μ U/ml 11.15	一過性高TSH血症 (母体甲状腺機能亢進症)
				15	TSH 39.9 μ U/ml 37.8	
	12*		女	15	TSH 9.3 μ U/ml 8.95	クレチン症
				22	TSH 26.75 μ U/ml 25.5	
	13		男	9	TSH 8.45 μ U/ml 8.5	一過性高TSH血症疑い
				21	TSH 12.4 μ U/ml 10.9	
	14*		男	5	TSH 11.1 μ U/ml 8.7	甲状腺機能低下症
				10	TSH 10.6 μ U/ml 11.5 10.35	
	15		男	5	TSH 11.4 μ U/ml 11.4	一過性高TSH血症疑い
				11	TSH 13.4 μ U/ml 13.9 14.2	
先天性副腎過形成症	1		男	5	17-OHP 20.5 ng/ml 17-OHP16.95ng/ml 直接法 18.85 抽出法	経過観察中 在胎週数 28.5 週 生下時体重 946 g
				29	17-OHP196.0 ng/ml 17-OHP68.8 ng/ml 直接法 抽出法	
	2*		女	9	17-OHP 19.15ng/ml TSH 14.0 μ U/ml 直接法 21.2 13.5 抽出法 10.35ng/ml	クレチン症、低出生体重児 在胎週数 26 週 生下時体重 1054 g
				26	17-OHP TSH112.0 μ U/ml 直接法106.6 ng/ml 抽出法 41.75ng/ml	
	3		女	16	17-OHP 10.05ng/ml 17-OHP 6.1 ng/ml 直接法 9.4 抽出法	異常なし 在胎週数 26 週 生下時体重 682 g
80				17-OHP 14.55ng/ml 17-OHP 8.55ng/ml 直接法 15.0 抽出法 14.7		
4		女	7	17-OHP 35.3 ng/ml 17-OHP10.8 ng/ml 直接法 38.3 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1254 g	
5		男	5	17-OHP 9.75ng/ml 17-OHP 3.2 ng/ml 直接法 11.2 抽出法	経過観察中 在胎週数 27.5 週	

表8. 要精検患者の検査状況と結果(3)

疾病名	症例	患者	性別	日令	検査成績		診断名等
先天性副腎過形成症	5		男	32	17-OHP 4.6 ng/ml 直接法 5.55	17-OHP 4.3 ng/ml 抽出法	生下時体重 1148 g 経過観察中 在胎週数 27.5 週 生下時体重 1148 g
	6		女	18	17-OHP 39.6 ng/ml 直接法 39.1	17-OHP 20.85ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 28 週 生下時体重 1189 g
	7		男	7	17-OHP 4.8 ng/ml 直接法 6.0	17-OHP 3.75ng/ml 抽出法	異常なし 在胎週数 34 週 生下時体重 1974 g
				21	17-OHP 7.1 ng/ml 直接法 6.9	17-OHP 3.95ng/ml 抽出法	

μU/ml(血清)と1日の違いで大きな差が認められた。検体の取り違えも考慮し再検査を行ったが、結果は同じであった。しかし、日齢15で再採血された検体では、スクリーニング検査の結果と病院での測定結果は一致した。当所と病院では測定法が異なるため詳細は不明であるが、何らかの母体移行抗体が関与したと考えられる。フォローアップの結果、約2カ月でTSH値は正常化し、一過性高TSH血症と診断された。

<症例12>日齢22の再検査でTSH値が上昇していたため要精密検査となった。小児科での検査の結果、TSH71.81μU/ml, FT₄0.5ng/dl, FT₃3.1pg/ml, 甲状腺シンチでは正常位置にやや腫大した甲状腺が確認され、先天性甲状腺機能低下症と診断された。

<症例14>日齢10の再検査でもTSH値が低下していないため要精密検査となった。経過観察されていたが、生後2ヶ月時の検査の結果がTSH10.77μU/ml, FT₄0.98ng/dl, FT₃2.86pg/ml, 生後2ヶ月半ではTSH8.46μU/ml, FT₄1.09ng/dl, FT₃2.37pg/mlと状態は改善されず、甲状腺機能低下症として治療が開始された。

(3) 副腎過形成症

要精検となった7人はすべて2,000g以下の低出生体重児で、そのうち1,000g以下の極小未熟児は2人であった。

症例2は、初回検査では17-OHPが異常高値であったが、主治医と相談の結果、未熟児であるため再検査することになり、日齢26で再採血されたが、さらに17-OHP値は上昇し、TSHも異常高値となったため要精密検査となった。精密検査の結果、生後2ヶ月時でTSH224μU/ml, FT₄0.4ng/dlとなり、クレチン症として治療が開始された。副腎過形成症の疑いについては、経過観察されていたが、生後3ヶ月時の検査の結果では17-OHP値は正常化していた。

3. 精度管理

精度管理センターから毎月10件づつ送付されてくる精度管理検体については、アミノ酸、ガラクトース、TSH、17-OHPの異常検体は全てカットオフ値以上で拾い上げられており、見逃しはなかった。また、事務処理上の記入もれ、記入間違いもなかった。

考 察

富山県でのマス・スクリーニングを契機に発見された対象外疾患の患者で、診断名が確定しているのは、前述のとおり16人である。

そのうち、G6PD異常症は伴性劣性遺伝形式の疾患で、男性のみが発症し薬剤惹起性溶血発作をおこすが、発生率は低い。発見された2人は兄弟であった。この疾患は“早期発見、早期治療開始”の必要はないが、薬剤服用時には十分な注意が必要である。

また、シトリン欠損症としては2人が発見されている。シトリン欠損症の中でも成人発症Ⅱ型シトルリン血症の場合、新生児期に、多種アミノ酸血症、肝機能障害、胆汁うっ滞等の症状NICCD(neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency)がみられるものの一時的で寛解するため、主に20歳を過ぎてから発見される場合が多く、その場合は肝移植しか治療法がない疾患である。今回発見されたシトリン欠損症例は、4年前に発見された成人発症Ⅱ型シトルリン血症例と、マス・スクリーニングにおけるアミノ酸の異常パターンが酷似しており、精密検査医療機関には、シトリン欠損症の疑いとして連絡していたため早期に診断が可能であった。

最近、先天性疾患の病態が明らかになり、これまで原因不明の異常や一過性と診断されていた中にマス・スクリーニングの対象以外の疾患が発見されるように

なってきた。また、タンデム質量分析計による新しい検査法が検討されており、マス・スクリーニングに導入された場合、発見される疾患数はこれまでの5倍以上になると予測されている[12]。これらの中には発生頻度が低く、また有効な治療法も確立されていない疾患も含まれている。新生児のマス・スクリーニングの本来の目的は、一定の発生頻度があり、有効な治療法のある先天性の疾患を早期に発見し、早期に治療開始することにより心身の障害発生を防止することであったが、最近では、新生児マス・スクリーニングの『使命』が『罹患率、死亡率、疾患による機能不全を除くまたは減少させる』ことにあると考えられるようになってきた[13]。すなわち、一定の発生頻度や有効な治療法の有無にかかわらず発見可能な疾患はスクリーニングの対象となりうるというものであり、またスクリーニングを契機に偶然に発見される対象外の疾患についても積極的に情報を提供すべきであると考えられる。これらの発見可能な疾患は、ほとんどが遺伝性であることから、今後マス・スクリーニングの実施にあたっては十分なインフォームドコンセントをとることが必要となってくる。また、我々は、これらの疾患を発見するための検査技術の習得熟練、精度管理体制の整備、フォローアップ体制の充実を図ることが必要となる。

文 献

1. 米田 豊, 九曜雅子(2001). 富山衛研年報, 24, 48-53.
2. 米田 豊, 九曜雅子(2005). 富山衛研年報, 28, 33-40.
3. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212.
4. 藤本昭栄(2003). 日本マス・スクリーニング学会技術部会第22回研修会資料集, 73-75.
5. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三(1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
6. 米田 豊(1998). インターネット URL, <http://screening.hp.infoseek.co.jp/punch.htm>
7. 米田 豊(1999). 富山衛研年報, 22, 54-57.
8. 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.
9. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生省児童家庭局母子保健課 (1999). 特殊ミルク情報, 36, 136-138.
10. 先天性代謝異常検査及びB型肝炎母子感染防止事業実施状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課 (2001). 特殊ミルク情報, 37, 99-101.
11. 先天性代謝異常検査等検査状況 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課 (2004). 特殊ミルク情報, 40, 114-116.
12. DH.Chace, TA.Kalas, EW.Naylor(2003). Clin.Chem, 49, 1797-1817.
13. 松田一郎(2003). 日本マス・スクリーニング学会誌, 13(2), 29-31.

高速液体クロマトグラフィーによる新生児アミノ酸代謝異常症 の迅速マス・スクリーニング検査法の開発

米田 豊 九曜雅子

Rapid Method for Amino Acids Quantification in Dried Blood Specimens
by High Performance Liquid Chromatography for Mass-screening
of Disorders of Amino Acid Metabolism

Yutaka YONEDA and Masako KUYO

要 旨 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)によるアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニング検査[1,2]において、クロマトグラム上には分析対象アミノ酸ピークに加え、未知ピーク(X2)が検出される。前報[3]において、X2の同定を行い、X2は酸化型グルタチオン(GSSG)であることを明らかにした。一方、アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングのHPLCを迅速化する場合、X2がメチオニン(Met)のピークに近接するため、これまで分析時間の短縮は困難であった。そこで、アミノ酸抽出用溶液に還元剤を添加し、GSSGを還元型グルタチオン(GSH)に変換し、X2ピークを消失させることによる、迅速HPLC法の検討を行い、6分サイクルでMet、ロイシン(Leu)及びフェニルアラニン(Phe)を定量できる分析法を確立した。

新生児のアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングにおける一次検査ではメチオニン(Met)、ロイシン(Leu)及びフェニルアラニン(Phe)の効率的検査が必要であり、現在、ガスリー法、酵素法、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)が用いられている。また、近年、タンデム質量分析法(MS/MS)によるマス・スクリーニング検査法も検討されている。HPLCは検査精度、自動化、検査コストの面では優れているが、1台の処理能力が限られている。現行のHPLCでは1分析の所要時間は11-17分間程であることから、仮に1検体12分として処理検体数を計算すると、終夜運転により1日20時間稼働させたとして、年間約20000検体/台の処理能力となる。また全国の検査施設51施設中16施設は年間の処理検体数は20000件を超えており(精度管理センターによる平成15年度の検査法、カットオフ値等の定期報告資料)、複数のHPLC装置を用いてスクリーニング検査を行っている施設もある。先に著者らはカラムスイッチング法によりアミノ酸をHPLCカラムで分離中に、前処理カラムの洗浄を行い、11分サイクルで連続分析が可能なシステム(11分法)[1,2]を報告した。このシステムで移動相中の有機溶媒濃度を高めて、分析時間の短縮化を図ると11分法ではMetとチロシン(Tyr)の間に溶出していたピークX2が、Valとほぼ同じ溶出位置に移動し、Val及び隣接するMetの定量を妨害するため、分析時間の短縮

は困難であった。そこで、これまでにX2の同定を試み、X2は酸化型グルタチオン(GSSG)であると同定した[3]。今回、還元剤を用いてGSSGのSS結合を切断し、X2ピークを除去することによるアミノ酸の迅速分析法を検討した。その結果分析時間が6分間と従来の約1/2に短縮した分析法(6分法)を確立できた。

実験方法

1 装置

HPLC装置は日本分光製 GULLIVER 1500 シリーズを用い、Fig.1に示すカラムスイッチング流路を用いた。

2 試薬

2-メルカプトエタノール(ME)は1級品、ジチオトレイトール(DTT)はSH基酸化防止用のそれぞれ和光純薬製を用い、その他の試薬は前報[1,2]に準じた。また、次の方法によりアミノ酸標準液、抽出液及びOPA反応液を調製した。

アミノ酸標準液：2.5mM アミノ酸混合標準液H型(和光純薬製) 50 μ l 及び2.5mM L-Norleucine(Nle)含有0.1N塩酸溶液50 μ l に5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム(pH2.2)を

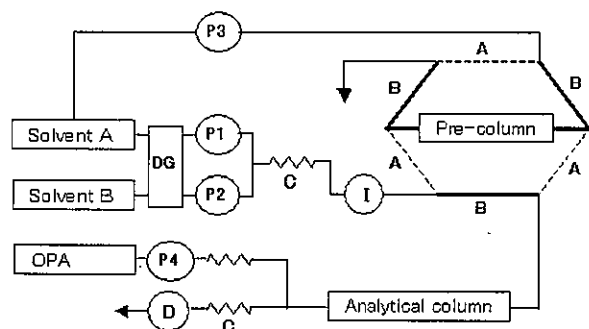


Fig. 1. Flow diagram of HPLC system
 DG ; Degasser, P1,P2,P3,P4 ; Pump,
 C ; Mixing coil, I ; Auto injector,
 D ; Fluorescence detector

加え全量を25mlとした。

抽出用溶液：2.5mM Nle 含有0.1N 塩酸溶液400 μ l 及び ME10ml に5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム (pH2.2)を加え全量を200mlとした。

OPA 反応液：OPA 2g をエタノール80ml に溶解し、これにホウ酸12.3g, 水酸化カリウム12.0g 及び ME 2ml に水を加えて全量を1L にした溶液を加え混和した。

なお、オートサンプラーのシリンジ洗浄溶液は2% エタノール溶液を用いた。

3 試験溶液の調製

96穴U底マイクロプレートの各セルに入れた直径1/8インチの血液ろ紙1枚にエタノール-アセトン-水(7:7:2)を10 μ l 加え、10分間色素をろ紙に固定した後、ME 及び内部標準物質を含有する抽出用溶液100 μ l を加えて10分間超音波抽出を行い、試験溶液を調製した。なお、試験溶液は更に10分間室温に静置後、HPLC に供した。

4 HPLC 条件

分析カラム：資生堂 CAPCELL PAK C18 MG II
 (内径4.6mm, 長さ100mm)

前処理カラム：野村化学 ODS-UG5(内径4.0mm, 長さ10mm)

移動相：A液は5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム溶液(pH2.2)- エタノール(60:40), B液は5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム溶液(pH2.2)-アセトニトリル(95:5)

溶離方式：リニアグラジエント。グラジエントパターン及びカラムスイッチングのタイミングは Table 1 に示した。

なお、データ処理は日本分光製の Borwin/HSS ソフトウェアを用いた。また、OPA 反応液は専用の小型冷蔵庫(10 \pm 3 $^{\circ}$ C)から HPLC 装置に流れるよう配管した。

5 アミノ酸分析条件の検討

5.1 前処理条件の検討

これまでアミノ酸の迅速定量で妨害物質となっていた X2 は GSSG であると同定されたことから、試料の前処理段階で還元剤により、GSSG を分解し、アミノ酸を定量する方法を検討した。還元剤として、DTT 及び ME について予備試験を行ったところ、DTT では Tyr の分解が認められたことから、ME を用いることとし、次の方法により反応条件を更に検討した。すなわち一般新生児の直径1/8インチ血液ろ紙2枚をエタノール-アセトン-水(7:7:2)10 μ l を用い、色素固定後、水100 μ l で抽出した抽出液30検体分をプールした。このプール抽出液200 μ l に ME10 μ l を添加し、室温及び37 $^{\circ}$ C で、経時的に GSSG の分解に必要な温度並びに時間を調べた。また、ME が測定対象アミノ酸に及ぼす影響を調べるため、アミノ酸標準液に ME を1/20量添加した標準液を5日間毎日調製し4 $^{\circ}$ C で保管後、5日目に、それらを一齐に HPLC で測定することで、アミノ酸の安定性を調べた。

5.2 迅速 HPLC 条件の検討

移動相に用いる有機溶媒としてエタノールを単独使用とする方法、アセトニトリルを単独使用する方法並びにエタノールとアセトニトリルを併用する方法について、試験溶液として、ME 含有抽出液により一般新生児の血液ろ紙から抽出したプール抽出液を用いて検討を行った。

(1) エタノール単独の方法

A液と有機溶媒を含まない5mM ペンタンスルホン酸ナトリウム含有25mM 過塩素酸ナトリウム溶液(pH2.2)用いるグラジエント分析を行った。グラジエント条件は0-3分の間はA液13から30%までのリニアグラジエント溶出を行い、3-6分の間でA液を13%に戻し、カラムの平衡化を行った。

(2) アセトニトリル単独の方法

前記のエタノールをアセトニトリルに替えて同様に行った。

(3) エタノールとアセトニトリルの両者を用いる方法

この場合はエタノール-アセトニトリル-水系溶媒の3液グラジエントとなるが、レスポンスの速い高圧グラジエント法を採用し、且つ2台のポンプで3液グラジエントが可能となる Table 1 に示す溶出条件により HPLC を行った。

Table 1 Time programs for determination of amino acids

Pump 3	Time (min)	0~ 1	1~ 4	4~ 6
	Mobile phase (solution A %)	—	100	—
	Flow rate (ml/min)	0.0	1.0	0.0
Pump 1 and 2	Time (min)	0~ 3		3~ 6
	Mobile phase (solution A %)	5.0~17.0 Liner gradient		5.0
	Flow rate (ml/min)	1.7		1.7
Column Selection Unit	Time (min)	0~ 1	1~ 4	4~ 6
	Valve position	A	B	A
	Mode	Head cutting	Separation	Conditioning
Fluorescence Detector	Time (min)	0~ 6		
	Ex/Em(nm)	350/450		
	Gain	1		
Pump 4	Flow rate (ml/min)	0.3		

6 標準血液ろ紙及び新生児検体への応用

アミノ酸のマイクロプレート酵素法用標準ろ紙血液及び一般新生児検体450検体を用い、各血液ろ紙から1/8インチ径のディスクを2枚ずつ切出し、それぞれ別々の装置で11分法及び6分法により測定を行い、定量値の相関を調べた。なお、別に新生児検体317検体を用い、11分法の測定に用いた試験溶液の残液、すなわちMEを含有しない抽出液を用いて調製した試験溶液を同一装置により6分法でも測定を行い、両法の相関を調べた。

7 カラムの耐久性

アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次スクリーニング検査に6分法を導入し、カラム耐久性を調べた。なお、耐久性の指標として、Pheピークの理論段数並びにLeuと内部標準物質との分離度を用いた。

結果

1 試験溶液の調製

1.1 MEによるGSSGの分解条件の検討

Fig.2に示すように室温では20分間で、37℃では10分間でGSSGは完全に分解した。試験溶液を調製する場合、10分間の超音波抽出を行うため、超音波抽出後、更に室温に10分間抽出液を静置することで、合計20分間反応後、HPLCに供することとした。

1.2 MEがアミノ酸の安定性に及ぼす影響

Fig.3に示すようにMetは標準液調製後4日後に、ピーク面積の減少を認めたが、その他のアミノ酸は殆どME添加の影響を受けないことが確認された。

2 迅速HPLC条件の設定

移動相中の有機溶媒としてエタノールのみを用いた場合のクロマトグラムはFig.4 Aに示すようにValとMetの分離がやや不良で、ピーク形状もややブロードであった。しかし、ISとPheの保持時間差が小さく短時間分析法に適していた。一方、アセトニトリルのみを用いる方法はFig.4 Bに示すように、ValとMetの分離が良好であった。しかし、ISとPheの保持時間差が大きく短時間分析には不都合であった。そこで、これらの両溶媒の長所を生かせる分析条件として検討したアセトニトリルとエタノールの両者を用いた場合はFig.5に示すようにValとMetの分離を確保しつつ、同時にISとPheの保持時間差を小さくすることができた。Fig.5 Aは抽出用溶液にMEを入れない場合、Fig.5 BはMEを入れた場合の、それぞれ一般新生児血液ろ紙検体のプール試験溶液のクロマトグラムであり、Fig.5 Cは標準溶液のクロマトグラムである。

3 標準血液ろ紙および新生児検体への応用

3.1 標準血液ろ紙への応用結果

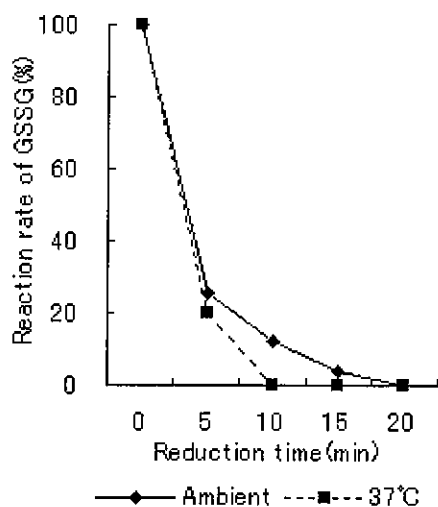


Fig. 2. Time course of reductive reaction of GSSG by ME

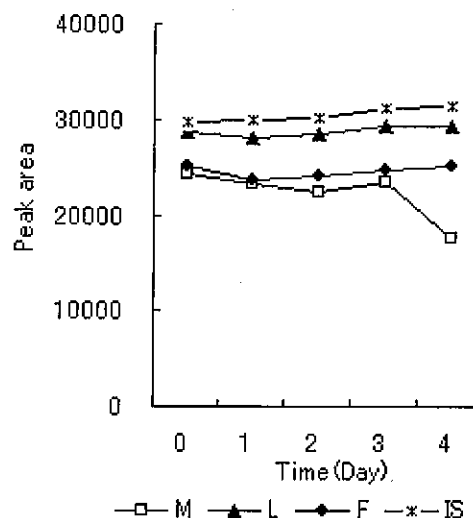


Fig. 3. Stability of amino acids with ME

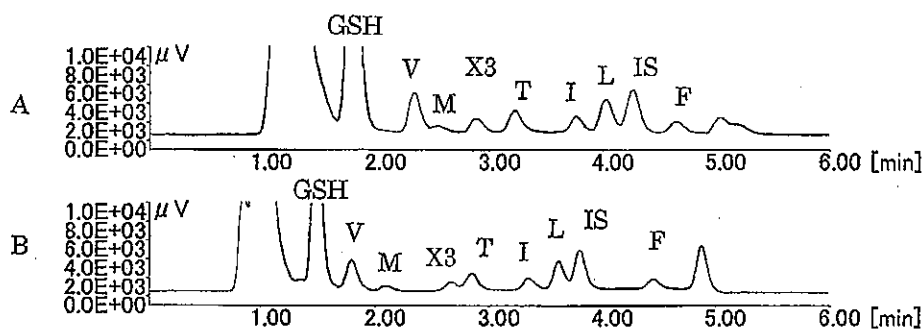


Fig. 4. Chromatograms of pool sample solution using ethanol(A) and acetonitrile(B) in mobile phase.
GSH:Glutathione(Reduced form), V:Valine, M:Methionine, T:Tyrosine, I:Isoleucine, L:Leucine, IS:Internal standard(norleucine) and F:Phenylalanine

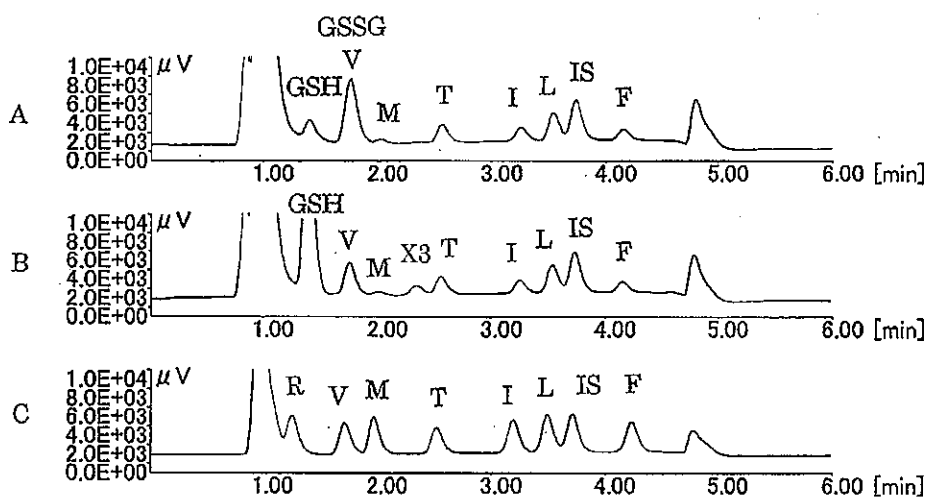


Fig. 5. Chromatograms of normal sample solution without ME(A), with ME(B) and standard solution(C) by 6 minutes method.
GSSG:Glutathione(Oxidized form), R:Arginine and other peaks are described in Fig.4

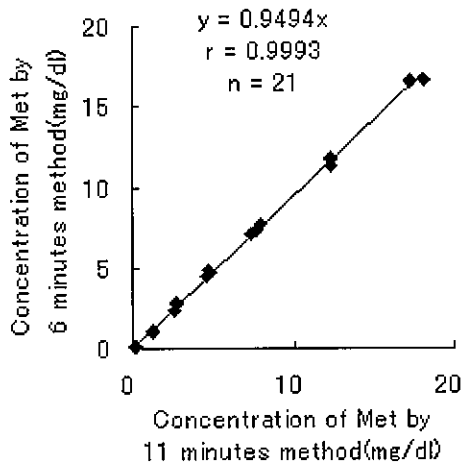


Fig. 6-1. Correlation of concentration of Met in standard discs for HCU between 11 and 6 minutes method.

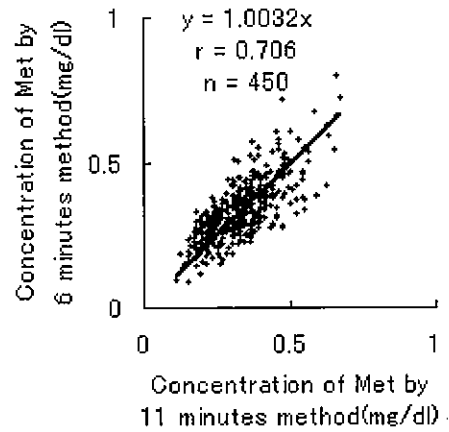


Fig. 7-1. Correlation of concentration of Met in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

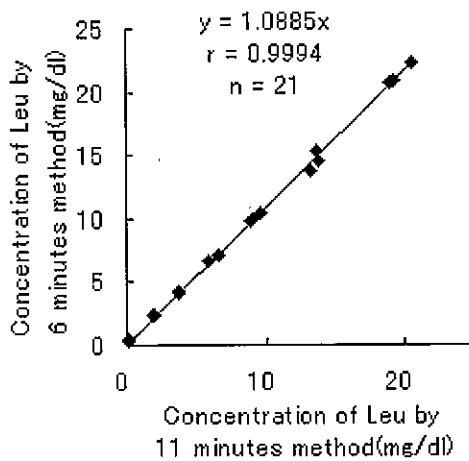


Fig. 6-2. Correlation of concentration of Leu in standard discs for MSUD between 11 and 6 minutes method.

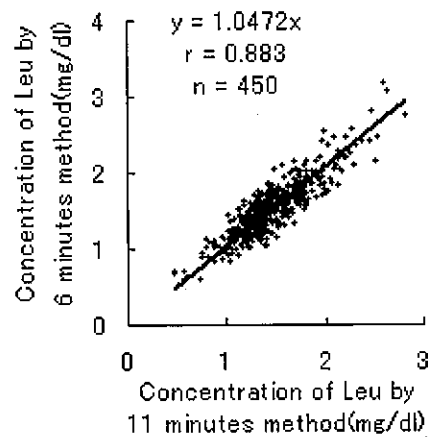


Fig. 7-2. Correlation of concentration of Leu in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

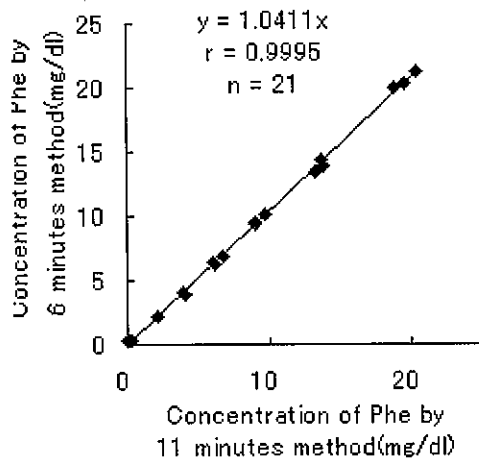


Fig. 6-3. Correlation of concentration of Phe in standard discs for PKU between 11 and 6 minutes method.

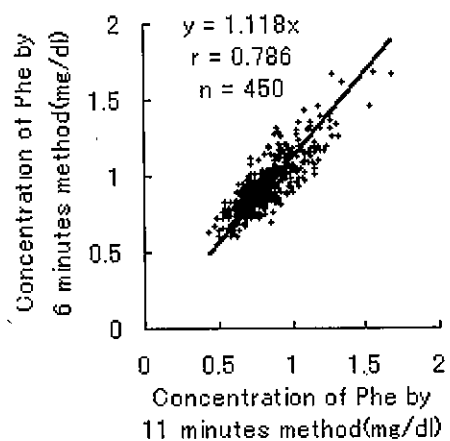


Fig. 7-3. Correlation of concentration of Phe in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

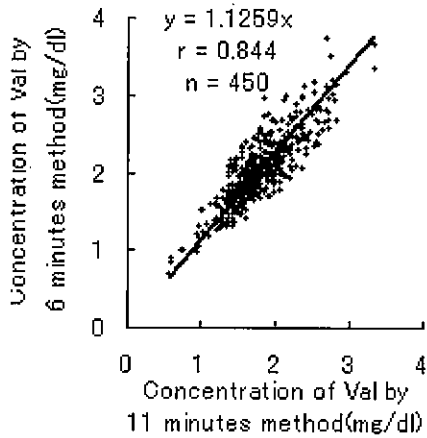


Fig. 7-4. Correlation of concentration of Val in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

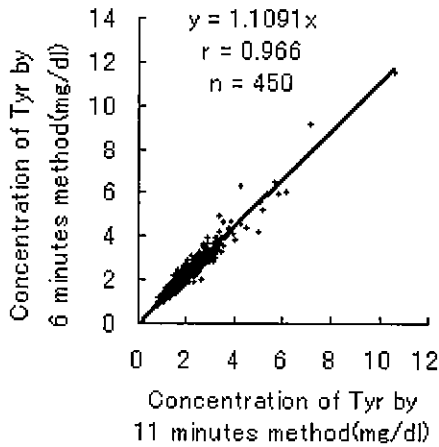


Fig. 7-5. Correlation of concentration of Tyr in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

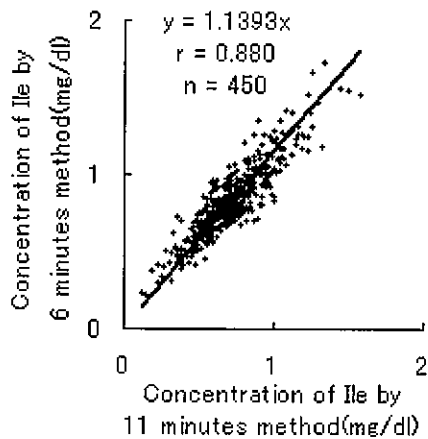


Fig. 7-6. Correlation of concentration of Ile in blood spots of newborn between 6 and 11 minutes method.

標準血液ろ紙へ11分法及び6分法を応用した結果は Fig.6-1,6-2及び6-3 に示すように, Met, Leu 及び Phe のいずれのアミノ酸も相関係数は0.999以上を示し良好な相関が得られた。

3.2 新生児検体への応用結果

一般新生児検体への応用結果は Fig.7-1, 7-2, 7-3, 7-4, 7-5及び7-6 に示すように相関係数は0.706から0.966の範囲にあり, いずれのアミノ酸も11分法と6分法の定量値は良く相関した。また Table 2 に各アミノ酸定量値の平均値と標準偏差を示した。6分法の定量値は11分法より僅かに高値となる傾向が認められた。また, 11分法の測定に用いた残液を同一装置により6分法でも測定を行った場合の各分析法間の相関は Tyr,Ile,Leu 及び Phe の順に, 相関係数0.994, 0.971, 0.992及び0.940であり, 装置間及び血液ろ紙間のバラツキが無い場合, より高度の相関が認められた。但し, この場合 Val 及び Met は GSSG による定量妨害が認められた。なお, メープルシロップ尿症で特異的に生成するとされる L-アロイソロイシン[4]は6分法においても, Ile の直前に溶出され検出可能であった。

3.3 分析条件の安定性

新生児マス・スクリーニングの1次検査に HPLC を用いる場合, 装置の安定性をチェックするため, 内部標準物質のピーク面積の日内変動をモニターする必要がある。また, カラムの劣化状況をモニターするため, Phe の理論段数の変動及び Leu と内部標準物質との分離度の日内変動をモニターしたが, その1例を Fig.8及び Fig.9に示した。それらの変異係数はそれぞれ1.54, 2.83及び1.25%であり, 分析条件の安定性が確認できた。

3.4 カラムの耐久性

Fig.10に Phe の理論段数と内部標準物質との分離度のアッセイ間変動を示した。分析数が, 2000検体を超えた時点で, 急激なカラムの劣化が認められたが, カラムの向きを逆転させることにより, 再度, 使用可能となり, 1本のカラムで, 7,000検体以上の分析が可能であった。なお, 4,500検体付近で理論段数の増大が認められるが, カラム劣化に伴い Phe の保持時間が短縮してきたため, 移動相の B 液の割合を高めて, Phe の保持時間を調整したことによる変化である。

考 察

6分法の前処理は, 11分法と比較するとアミノ酸の抽出用溶液にあらかじめ ME を添加しておくだけの変更であるため, 操作の簡易性を損なわずに試験溶液を調製できた。なお, 6分法では新たな未知ピーク

Table 2 The levels of amino acids in blood spots of 450 newborns

Amino acids	Mean \pm S.D.(mg/dl)	
	11 minutes method	6 minutes method
Val	1.80 \pm 0.43	2.05 \pm 0.46
Met	0.33 \pm 0.10	0.34 \pm 0.10
Tyr	2.04 \pm 0.95	2.28 \pm 1.06
Ile	0.72 \pm 0.22	0.83 \pm 0.24
Leu	1.46 \pm 0.36	1.54 \pm 0.38
Phe	0.84 \pm 0.18	0.95 \pm 0.18

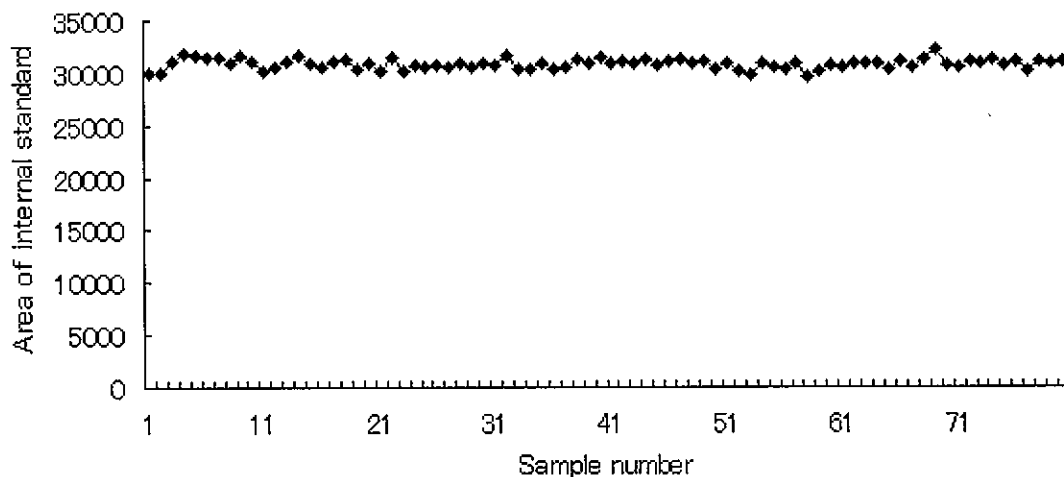


Fig. 8. Change of peak area of internal standard(norleucine) in day

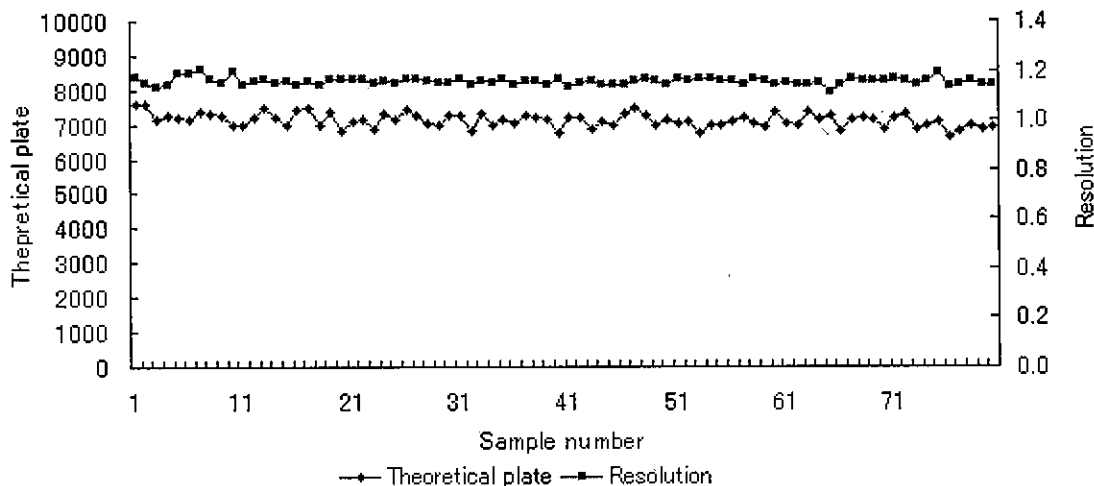


Fig. 9. Variation of theoretical plate number of phenylalanine and resolution of leucine and internal standard(norleucine) in day

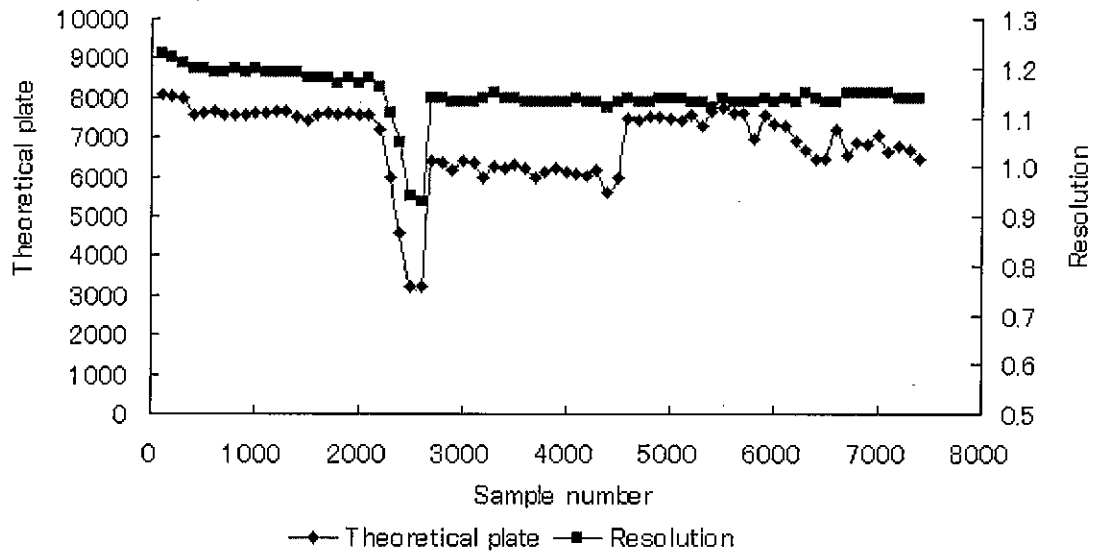


Fig. 10. Endurance test of column using theoretical plate number of phenylalanine and resolution of leucine and internal standard(norleucine)

X3がMetとTyrの中間位置に溶出したが、アミノ酸の定量は妨害しなかった。このピークは恐らくSS結合保有物質が分解して生じた物質と考えられるが、今後、検討を要する。6分法では、1日の検体数が40検体程の場合は、当日中に検査結果を得ることが可能になった。なお、6分法で用いるアミノ酸標準液にもMEを添加し、試験溶液と条件を揃えることが望ましいが、アミノ酸標準液はME無添加の場合は、少なくとも2週間は安定であり、ME添加の場合はFig.3に示すように4日目からMetの分解が始まること、及びアミノ酸標準液へのME添加の有無は定量値に影響を及ぼさないことから、アミノ酸標準液にはMEの添加は行わないこととした。現在、MS/MSによるスクリーニングが注目されているが、HPLCでは、L-アロイソロイシンを含むロイシン異性体を分離できる点は、MS/MSにない特徴であり、MS/MSの支援分析法

としての利用も考えられる。しかし、MS/MSの本格導入には解決すべき課題も多いことから、HPLCの迅速化により、アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングへのHPLCの有用性は更に高まったと考える。

文献

1. 米田 豊, 九曜雅子(1999). 日本マス・スクリーニング学会誌, 9(3),43-55.
2. 米田 豊, 九曜雅子(2001).富山衛研年報, 24,48-53.
3. 米田 豊, 九曜雅子(2004).富山衛研年報, 27,34-39.
4. 犬童康弘, 松田一郎(1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplements 2,46-52,.

ヒト染色体に関する調査研究 —血液, 骨髓液—
(平成16年度)

林 美貴子 本田幸子

Chromosome Analysis of Human Blood and Bone Marrow Cells

Mikiko HAYASHI and Sachiko HONDA

要 旨 平成16年度の血液の染色体分析依頼数は81人であった。依頼理由は不育症の夫婦が最も多かった。その他、発育遅延等を主訴とした児とその家族であった。うち、2人に染色体異常が発見され、内訳はダウン症候群1人とDiGeorge症候群1人であった。その他、正常変異とされる9番逆位保因者が3人発見された。また、昭和48年度から、平成16年度までに検査を行った実人数2,014人中、1,986人が検査可能であり、うち251人に染色体異常が発見されたため、染色体異常率は12.6%になった。

当所では昭和48年より、先天異常の発生原因を明らかにし、その発生を減少する目的で染色体分析法の研究を行うとともに染色体検査を行ってきた。

ここに血液・骨髓液による平成16年度の結果と過去32年間の染色体検査のまとめを報告する。

実施方法

各病院から送られてきた末梢血液(ヘパリン採血)を通常の方法により、3~4日間培養し、染色体標本作製した[1]。また、染色は通常のG分染法と高精度分染法[2]を併用した。核型分析は中期分裂像を5個以上、分析数は20個以上行った。性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性が大きいため、観察数を増加した。また、FISH (fluorescent in situ hybridization) 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。

平成16年度の染色体検査依頼数は81人で、全て県内の病医院からの依頼であり、依頼病院内訳は表1に示した。

結 果

1. 平成16年度

平成16年度の依頼数は血液81人であった。依頼理由と染色体異常の有無等を表2に示した。依頼理由のほとんどは不育症(反復流産)であった。その他は発育遅延等を主訴とした児とその家族であった。うち、染色体異常は以下の2人であった。内訳はDiGeorge症候群1人(症例1)とダウン症候群1人(症例2)であった。さらに、正常変異の9番逆位(inv(9)(p11q13))保因

表1. 医療施設別依頼内訳(昭和48~平成16年度)

病 院 名	年 度	
	H16	S48~H16
県立中央病院	19	1,096
富山赤十字病院	11	343
富山医科薬科大学	13	140
富山市民病院	6	96
高志学園		92
氷見市民病院		32
高岡市民病院	12	26
厚生連高岡病院		24
済生会富山病院	12	20
砺波総合病院		19
富山保健所		17
黒部市民病院		9
済生会高岡病院		9
富山逓信病院		9
国立富山病院		8
他(県外分舎)	8	102
計	81	2,042

表2. 依頼理由別内訳 (平成16年度)

頼 理 由	検査数	判定数	異常数
不育症 (流産を繰り返すため)	69	69	0(2*)
両親 (胎児に奇形等の異常がみとめられたため)	6	6	0
両親 (前子が染色体異常であったため)	2	2	0(1*)
DiGeorge 症候群の疑い	1	1	1
ダウン症候群の疑い	1	1	1
ターナー症候群の否定	1	1	0
Bloom 症候群の疑い	1	1	0
計(人)	81	81	2(3*)

* ; inv(9)

表3. 染色体異常の内訳 (平成16年度)

症例 No.	主訴・主要症状	核 型	診 断 名
1	DiGeorge 症候群の疑い	46,XY,ish del(22)(q11.2q11.2)(D22S75)	DiGeorge 症候群
2	ダウン症候群の疑い	47,XY,+21[6]/46,XY[4]	モザイク型ダウン症候群

正常変異			
3	DiGeorge 症候群の母	46,XX,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)
4	反復流産(夫)	46,XY,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)
5	反復流産(妻)	46,XX,inv(9)(p11q13)	正常変異(9番逆位)

者が3人発見された。

症例1は臨床症状から、DiGeorge 症候群が疑われたため、2歳時、染色体検査および FISH 解析 (N25 (D22S75)プローブ) を行った。その結果、染色体異常は認められなかったが、FISH 解析で22q11.2の微細欠失が確認された。核型は46,XY,ish del(22)(q11.2q11.2)(D22S75)となった(表3)。主な臨床症状として在胎36週、出生時体重1,939g、発達遅滞、顔面非対称等等が認められた。また、両親の染色体検査および FISH 解析を行ったところ、両親に染色体異常および欠失は認められず、児は de novo と判定された。母は inv(9)保因者であった。

症例2はモザイク型ダウン症候群であった(表3)。在胎37週、2,480gで出生し、特異な顔貌(眼裂斜位、エピカンサス(内眼角ぜい皮)等)、小頭、短頸、耳介奇形、猿線、心奇形、筋緊張低下等が認められ、父39歳、母29歳の第1子であった。モザイクの割合は核型分析で+21が64%、FISH 法では60%を占めた。

その他の依頼理由の検体ではいずれも染色体異常は発見されなかった。

2. 昭和48年度～平成16年度

検査開始当初からの受付件数は血液1,983件と骨髄液59件の計2,042件になったが、白血病等による血液・骨髄液の重複、他の病院からの再検査による重複を除

くと実人数は血液1,960人と骨髄液54人の計2,014人であった。そのうち、検査可能であった1,986人中251人に染色体異常が発見され、染色体異常率は12.6%になった(表4)。依頼理由のうち、最も多いものは不育症で48.9%を占めた。そのうち、流産を繰り返した夫婦では判定可能であった862人中33人に染色体異常が発見され、その異常率は3.82%、夫婦単位にすると437組中32組で7.3%、つまり、約14組に1組の割合で染色体異常が認められた(表4)。その染色体異常は男性17人・女性16人とほぼ同じ割合で発見された。また、流産回数と染色体異常の有無について検討したところ、反復流産で検査を受けている人が最も多く、染色体異常のある人は流産歴2～4回に集中していた(表5)。

全染色体異常の内訳については表6に示したが、ダウン症候群が最も多く均衡転座保因者が続いた。

考 察

DiGeorge 症候群では850バンド以上の高精度分染法で、30%に22番染色体の q11.2の微細欠失が認められたと報告されている。しかし、精度と労力の点から、FISH 解析による方が実際的とされているが、通常の G 分染法で他の染色体異常の有無を検討することも必要である。また、22q11.2の微細欠失が認められた

平成17年11月1日

表4. 染色体検査結果一覧(実人数) 昭和48~平成16年度

依頼理由	依頼検査数	検査判定数	染色体異常	その他	染色体異常の主な核型
血液の依頼理由内訳					
①不育症	985	984	33	21*	
流産を繰り返す	863	862	33	20	均衡転座保因者,ターナー症候群
不妊症	104	104	0	1	
子宮内胎児死亡	18	18			
②児の異常疑い	328	321	143	2*	
ダウン症候群の疑い	133	131	106		21トリソミー
先天奇形	106	101	11		r(D),2pトリソミー等
発育不良・発育遅延	53	53	2	2	9pトリソミー
18トリソミー症候群の疑い	16	16	15		18トリソミー
猫なき症候群の疑い	6	6	1		5p部分モノソミー
13トリソミー症候群の疑い	4	4	4		13トリソミー
プラター・ウィー症候群の疑い	4	4	1		15トリソミー
副腎性器症候群の疑い	4	4	1		14トリソミー
Langer-Giedion症候群の疑い	1	1	1		del(8)(q24.11q24.13)
DiGeorge症候群の疑い	1	1	1		del(22)(q11.2q11.2)
③白血病等	46	41	9	0	
白血病	41	36	6		Ph染色体等
ファンconi-貧血	4	4	2		切断,キラーフ° 45,X/46,XX
色素性乾皮症	1	1	1		モザイク型クラインフェルター症候群
④性染色体異常の疑い	140	138	30	6**	
無月経	37	37	3	6	45,X/46,XX等
低身長	33	33	1		
ターナー症候群の疑い	33	33	16		r(X), i(Xp)等
半陰陽	13	11	3		45,X/46,XY, 46,XY/46,XX
膈欠損・鎖膈	7	7	0		
生理不順	3	3	1		45,X/46,XX
クラインフェルター症候群の疑い	8	8	6		47, XXY
他の性染色体異常の疑い	6	6	0		
⑤家族	293	293	14	2*	
染色体異常有り	170	170	14	1	均衡転座保因者等
染色体異常無し	123	123	0	1	
⑥出生前診断	14	14	1	0	
胎児異常の疑い(胎児血液等)	14	14	1		18トリソミー
⑦その他	154	149	6	1*	
心臓病	10	10	1		45,X/46,XX
脆弱X症候群の疑い	4	4	0		
その他	140	135	5	1	均衡転座保因者等
血液の小計	1,960	1,940	236	32	
骨髄液の依頼理由内訳					
①白血病等	54	46	15	0	Ph染色体等
合計(人)	2,014	1,986	251	32	

* ; inv(9)

** ; inv(9)および睾丸女性化症候群

表 6. 染色体異常の内訳

染色体異常	人数	内訳
1. 常染色体異常		
①ダウソ症候群	106	
(トリソミ型)		100
(モザイク型)		3
(転座型)		3
②18トリソミ症候群	15	
(トリソミ型)		12
(モザイク型)		2
(転座型)		1
③13トリソミ症候群	6	
(トリソミ型)		2
(モザイク型)		1
(転座型)		2
(部分トリソミ)		1
④13リング症候群	2	
⑤9pトリソミ症候群	2	
⑥2p部分トリソミ	2	
⑦DiGeorge症候群	1	
⑧猫なき(5pモノソミ)症候群	1	
⑨7p部分トリソミ-7q部分モノソミ	1	
⑩11p部分トリソミ	1	
⑪アザラシ-ウイリ症候群	1	
⑫Langer-Giedion症候群	1	
⑬由来不明部分過剰	6	
⑭均衡転座保因者	45	
⑮逆位保因者	3	
⑯フェソニー貧血	1	
⑰白血病	21	
⑱悪性腫瘍がある	1	
小計(人)	216*	
2. 性染色体異常		
①カーナー症候群	23	
(モノソミ型)		5
(モザイク型)		18
②クラインフェルター症候群	7	
(トリソミ型)		6
(モザイク型)		1
③トリプルX	2	
④半陰陽	3	
小計(人)	35**	
合計(人)	251	

* ; 全体に占める異常率 10.9%(216/1,986)

** ; 全体に占める異常率 1.8%(35/1,986)

表5. 流産回数と染色体異常の有無

児の有無 流産回数	児無し			児有り		計 人	異常率
	夫婦	夫のみ	妻のみ	夫婦	妻のみ		
1	42		1	10		53 (0)	0.00%
2	418 (11)	1	3	80 (3)	1 (1)	503 (15)	2.98%
3	174 (11)	1	4 (1)	62 (3)	1	242 (15)	6.20%
4	26 (3)			14		40 (3)	7.50%
5	6		1	6	1	14 (0)	0.00%
6	4			2		6 (0)	0.00%
7	0					0 (0)	0.00%
8	4					4 (0)	0.00%
計 人	674 (25)	2 (0)	9 (1)	174 (6)	3 (1)	862 (33)	3.83%

() 内染色体異常数

表7. 流産を繰り返す夫婦の染色体異常率の比較

染色体異常の種類	当所			文献例*		
	夫 n=400	妻 n=409	計 n=809	夫 n=16,661	妻 n=16,661	計 n=33,322
相互転座	15(3.75)	9(2.20)	24(2.97)	150(0.90)	265(1.59)	415(1.25)
Robertson 転座	1(0.25)	5(1.22)	6(0.74)	58(0.35)	133(0.80)	191(0.57)
逆位	1(0.25)	0(0.00)	1(0.12)	25(0.15)	35(0.21)	60(0.18)
性染色体異常	0(0.00)	1(0.24)	1(0.12)	7(0.04)	19(0.11)	26(0.07)
由来不明過剰染色体	0(0.00)	1(0.24)	1(0.12)	2(0.01)	9(0.05)	11(0.03)
計	17(4.25)	16(3.68)	33(4.08)	242(1.45)	461(2.77)	703(2.11)

()内は異常率%

* ; De Braekeleer ら('90)による

場合、約25%の例で両親のどちらかに同様の微細欠失が認められる[3]ことから、症例1の両親の染色体分析とFISH解析を行ったが欠失は認められなかった。

染色体検査の最近の傾向として流産を繰り返す夫婦の原因検索や流産胎児における流産の原因検索とともに両親の検索の依頼が多くなってきている。当所において上記の夫婦および両親の染色体異常率は3.82%となったが、男女別の内訳はほぼ同数であった。これは女性に男性の約2倍の割合で染色体異常が発見されるという従来の報告[4]とは大きく異なる結果となった[表7]。しかし、相互転座とロバートソン転座の割合における男女差については既報[5]と同様の傾向がみられた。

不育症の原因検索の中で、夫婦のどちらかが染色体異常である割合は約4%と低いが、他の理由の場合よりも児を得る可能性が高いといわれる。そのため、不育症夫婦の染色体検査を行うことは今後の妊娠指導や遺伝相談に資するものと考えられた。

謝 辞

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

文 献

1. 林 美貴子, 本田幸子, 大江 浩, 北村 敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 56-60.
2. Yunis, J. J., Sawyer, R. and Ball, D. W. (1978). Chromosoma, 67, 293-307.
3. 大橋博文, 金 慶彰(1996). 臨床染色体診断法, 545-547.
4. De Braekeleer MD, Dao TN (1990). Hum. Reprod., 5, 519-528.
5. 三春範夫, 大濱紘三 (2001). 臨床検査, 45, 151 - 160.

ヒト染色体に関する調査研究 —羊水・流産胎児— (平成16年度)

本田幸子 林 美貴子 品川保弘

Chromosome Analyses of Amniotic
Fluid Cells and Fetal cells

Sachiko HONDA, Mikiko HAYASHI and Yasuhiro SHINAGAWA

要 旨 平成16年度の羊水および流産胎児の染色体の検査は、受付件数が羊水53件、流産胎児26件で、昭和49年度からの累計件数は、羊水1,365件、流産胎児273件となった。検査の結果、今年度は染色体異常が、羊水中で8件、流産胎児で14件 見られた。羊水の染色体異常は、例年に比べ多く見られた。今年度までの累計件数では羊水中で72件、流産胎児で121件の異常が見られている。染色体検査の理由(主訴)は、羊水中では高齢妊娠、胎児に異常が疑われる、染色体異常児出産既往等による依頼、流産胎児では流早産既往等による依頼が多かった。

当所において染色体検査は、昭和48年度から血液による検査が始まり、49年度からは羊水、さらに50年度からは自然流産胎児、絨毛等が加わり、検査が行われてきている。ここに平成16年度の羊水、流産胎児の検査結果とともに今年度までの累計結果もあわせて報告する。

べ、培養液を添加し、炭酸ガス培養を行った。倒立顕微鏡下で細胞の増殖状況を観察しながら、適当な時期に培養液の交換を行った。培養液の組成や染色体標本作製等は羊水細胞と同様の方法(表1)で行い、染色体分析を行った。

実施方法

結果および考察

1. 羊水

染色体標本作成のための培養法は、採取された羊水15ml~20mlを静置または軽く遠心し、沈殿した細胞に培養液を加え、再浮遊し、1検体につきシャーレ2枚以上になるように炭酸ガス培養を行った。培養方法、染色体標本作成方法等の詳細は表1および既年報[1]に従った。

染色は通常のギムザ染色およびGバンド分染を行い、必要により、Cバンド法による分染やクロモゾームペインティング法等のFISH法を用いて行った。1検体につき10個以上の中期核板の顕微鏡写真を撮り、判定した。

2. 流産胎児

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

これらの組織をハサミで細切し、シャーレの上に並

1. 羊水

今年度の染色体検査受付総数は53件で、富山県内の医療施設からの依頼であった(表2)。染色体分析はすべて可能であった。検査開始時から平成16年度までの検査受付総数1,365件のうち分析可能数は1,319件で、その分析率は96.6%になった。今年度および検査開始の昭和49年度から今年度までの累積検査数、結果等はそれぞれ表3、表4に示した。

今年度染色体分析の結果、染色体異常8件(症例1~8)が見られた。今年度までの異常累計数は72件であり、その異常率は5.5%となった。

検査依頼の理由として一番多いのは高齢妊娠の28件で、受付総数の52.8%にあたる。その年齢は35歳から46歳であった。今年度、高齢妊娠を主訴とする依頼のなかに染色体異常が2件(症例1、症例2)見られた。

症例1はXX/XYのモザイクの結果が得られたが、羊水採取時に母親血液の混入が多量にあったことから、母親細胞とのモザイクの可能性も考えられる。症例2

表1. 染色体標本作成法(羊水)

羊水	羊水10ml 以上を無菌試験管に入れ3時間～1 晩静置し、羊水細胞を収集
培養液	AmnioMAXTM (GibcoBRL)
培養	シャーレ(Falcon Tissue Culture Dish 35×10mm)で、37°C 5% CO ₂ 培養
細胞遊離	0.025% トリプシン・EDTA 37°C 5分
遠心	1,000rpm 5分
低張処理	0.075塩化カリウム 3 : 0.9% クエン酸ナトリウム 1
コルセミド処理	最終濃度 0.1γ/ml 37°C 2-4時間
固定	カルノア液 (メタノール 3: 酢酸 1)
蒸気乾燥	細胞浮遊液をパスツールピペットでスライドガラス上に落とし、恒温水槽 (60°C) の蒸気上で乾燥し、その後自然乾燥

表2. 染色体検査依頼病院(羊水・流産胎児)

病 院	(平成16年度)		
	羊水	流産胎児	計
黒部市民病院	14	1	15
富山医科薬科大学	8	5	13
富山県立中央病院	10	0	10
済生会富山病院	2	6	8
富山市民病院	3	3	6
富山赤十字病院	4	2	6
厚生連高岡病院	6	0	6
高岡市民病院	0	6	6
おとぎの森レディースクリニック	4	0	4
糸魚川総合病院	0	2	2
済生会高岡病院	1	0	1
砺波総合病院	1	0	1
中曽根産婦人科医院	0	1	1
計	53	26	79

表3. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (平成16年度)

依頼理由 (主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	28	2	
35-39歳	12	1	46,XX/46,XY(症例1)
40歳以上	16	1	47,XY,+21(症例2)
胎児異常の疑い	13	6	
ヘルニア・奇形等	4	2	47,XY,+18(症例3) 47,XX,+18(症例4)
Nuchal translucency	3	0	
胎児水腫	2	2	47,XX,+21(症例5,6)
脳室拡大	2	1	47,XX,+18(症例7)
頸部リンパ腫	1	1	45,X(症例8)
発育不良	1	0	
染色体異常児妊娠・出産既往	6	0	
前子ダウン症候群(+21)	4	0	
前子トリソミー症候群(+18)	1	0	
前子4倍体	1	0	
親類にダウン症等	3	0	
親が転座型保因者	1	0	
前児が異常(水頭症)	1	0	
双胎	1	0	
計	53	8	

表4. 羊水の染色体検査依頼理由と結果 (昭和49年～平成17年3月)

依頼理由 (主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型
高齢妊娠	756	741	16	47,(+18):3件 47,XX,+13/46,XX 47,(+21):6件 47,XY,+21/46,XY 46,XX,-18p 47,XXY 47,XXX 45,XY,t(13;14)mat 46,XX/46,XY
染色体異常児妊娠出産既往	195	190	4	47,XX,+G:2件 47,XY,+E 46,XY/47,XXY
胎児異常の疑い	140	134	26	45,X:3件 47,XX,+13 47,(+18):9件 47,(+21):8件 47,XX,+M 69,XXY 47,XXY 46,XY,del(4) 46,XY,der(20)t(9;20)mat
前子・胎児が異常(染色体異常除く)	55	50	1	47,XX,+21
親類にダウン症や障害児等がいる	51	50	0	
羊水過多・羊水過少	43	40	8	47,XY,+E 47,XX,+D 46,XX,iso psu dic(18) 47,XY,+21:2件 47,XY,+13 47,(+18):2件
転座型染色体保因者	31	30	14	45,XY,t(14;21) 46,XY,t(D;G) 46,XX,t(1;12) 46,XX,t(7;11) 46,XX,inv(3) 46,XX,t(2;17) 45,XX,t(13;15):2件 46,XY,inv(7) 45,XY,t(13;14) 46,XY,t(14;21) 46,XY,inv(8) 47,XY,t(14;20),+21 46,XY,der(20)t(9;20)
流産・死産既往	24	22	2	69,XXX 46,XX,t(5;6)
本人の強い希望	15	15	1	46,XY/45,X
体外受精・顕微授精	9	9	0	
血中アルファプロテイン等の異常	6	6	0	
近親婚	4	3	0	
風疹に感染	4	4	0	
トキソプラズマ症の疑い	2	2	0	
その他	17	14	0	
不明	13	9	0	
計	1365	1319	72	

は母親年齢が41歳でダウン症候群の異常であった。母親の加齢とともに、トリソミー型染色体異常(特にダウン症候群)の発生率が高くなることはよく知られている。検査開始から、今年度までに当所においてみられた染色体異常72件のうち、高齢妊娠を主訴としているのは16件、22.2%で、このうちトリソミー型は11件(ダウン症候群は7件)となる。

次に多いのは、胎児に奇形等の異常が疑われるという理由で13件の依頼があり、そのなかの6件(症例3～8)に異常がみられた。その依頼の内訳は、胎児にヘルニア、多発奇形が疑われるための理由で4件あり、そのうち2件(症例3, 症例4)に18トリソミーの異常がみられた。

症例3は母親年齢が46歳で、妊娠28週、症例4は母親年齢が41歳、妊娠31週、双胎の1子で染色体異常が疑われた症例であった。この2症例はともに高齢妊娠、胎児奇形が疑われてからの妊娠後期での検査、18トリソミー症候群と一致している症例であった。Nuchal translucency (NT) の肥厚がみられた3件には染色体異常がみられなかった。最近の超音波診断の進歩により、胎児の状況がよく診られるようになった。特に、

妊娠10～14週胎児のNTの肥厚が異常の判断の指標として採用され、トリプルマーカー検査より正確ともいわれるようになってきている[2]。当所においても近年NTにかかわる依頼が増加し、異常率も高い傾向があったが[3]、今年度、染色体異常はみられなかった。胎児水腫がみられた2件はともにダウン症候群の染色体異常であった。いずれも妊娠22週、34週と中～後期の検査となっている。胎児に脳室の拡大がみられ、染色体異常が疑われた2件中1件(症例7)に18トリソミーの異常がみられた。この症例も高齢妊娠(35週)、妊娠後期(36週)の検査であった。頸部リンパ嚢腫がみられた1件(症例8)にターナー症候群の異常が見られた。胎児の発育不良には異常がみられなかった。

また、染色体異常児(両親由来ではない染色体異常)を出産・妊娠した経験者からの6件の依頼があった。前(胎)児の異常の内訳は、ダウン症候群4件、18トリソミー症候群、4倍体の異常がそれぞれ1件で、今回は、いずれも染色体異常はみられなかった。

その他、「親類にダウン症等の症例がある」という理由で3件、「転座型保因者であるため」、「前児が水頭症のため」、「双体の1児(症例4)が異常のため」とい

平成17年11月1日

う理由でそれぞれ1件依頼されたが染色体異常はみられなかった。

〈症例1〉

年齢・妊婦：37歳
夫：39歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：
分析結果：46,XY/46,XX
経過・予後等：不明

〈症例2〉

年齢・妊婦：41歳
夫：41歳
羊水採取時の妊娠週数：16週
主訴・依頼理由：高齢妊娠
既往歴・他：流産2回
分析結果：47,XY,+21
経過・予後等：不明

〈症例3〉

年齢・妊婦：46歳
夫：52歳
羊水採取時の妊娠週数：28週
主訴・依頼理由：胎児横隔膜ヘルニア，奇形
既往歴・他：1児出産
分析結果：47,XX,+18
経過・予後等：子宮内胎児死亡（34週）

〈症例4〉

年齢・妊婦：41歳
夫：41歳
羊水採取時の妊娠週数：31週
主訴・依頼理由：多発奇形
既往歴・他：3児出産，今回双胎の1児
分析結果：47,XY,+18
経過・予後等：子宮内胎児死亡（36週）

〈症例5〉

年齢・妊婦：30歳
夫：32歳
羊水採取時の妊娠週数：34週
主訴・依頼理由：胎児水腫
既往歴・他：初妊娠
分析結果：47,XX,+21

経過・予後等：早産

〈症例6〉

年齢・妊婦：28歳
夫：25歳
羊水採取時の妊娠週数：22週
主訴・依頼理由：胎児水腫
既往歴・他：2児出産，3回流産
分析結果：47,XX,+21
経過・予後等：流産

〈症例7〉

年齢・妊婦：35歳
夫：31歳
羊水採取時の妊娠週数：36週
主訴・依頼理由：胎児脳室拡大
既往歴・他：1児出産
分析結果：47,XX,+18
経過・予後等：出生後死亡

〈症例8〉

年齢・妊婦：33歳
夫：34歳
羊水採取時の妊娠週数：18週
主訴・依頼理由：頸部リンパ嚢腫
既往歴・他：1児出産
分析結果：45,X
経過・予後等：流産

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

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

今年度は検査の依頼理由がこのガイドラインに該当しない症例はなかった。しかし例年になくみられたのは、妊娠後期の依頼が多かったこと（7件）、しかもそのうち染色体異常が多かったことである（5件）。またこの異常5件のうち3件が高齢妊娠に該当することも特徴的であった。

検査にあたっては、最近の遺伝子診断技術の急激な

進歩に伴い、高精度分染法やクロモゾームペインティング法、FISH法等により分析精度を上げるよう努力し、異常が疑われる検体については、これらの技術を導入した。しかし、出生前診断としての羊水等の染色体検査には、症例1のような母親細胞混入の危険性があること、培養細胞を分析していること、微細な染色体異常やモザイク症がすべて把握されるわけではないこと、染色体異常が発見されてもほとんどが治療困難であること等多数の問題がある。また、倫理的、社会的な問題も残されており、臨床の場において、十分なインフォームドコンセントがなされたうえでの検査が必要である。

2. 流産胎児

今年度、受付総数は26件で、依頼された流産胎児の週数は6週から21週にわたり、すべて分析可能であった。

平成16年度および検査開始時から平成16年度までの検査依頼病院、理由、結果等を表2、表5、表6に示し

た。今年度は26件中14件(53.8%)に染色体異常がみられた。全年度では50.8%となった。また今回の流産時点の妊婦年齢は19歳~46歳(平均32.7歳)で、数的異常を持つ症例では平均37.8歳となるが、まだ症例数も少ないこともあり、年齢との関係については不明である。

検査理由で一番多かったのは、過去にも流産をしたことがあるための18件で、そのうち11件(61.1%)に異常があった。これらの異常はすべて数的異常(ターナー症候群3件:モザイク1件含む、13トリソミー2件、22トリソミー1件、21トリソミー1件、6トリソミー1件、ターナー症候群と21トリソミーの重複1件、3倍体1件、4倍体1件)であった。

流産の回数は2~4回であった。過去の流産胎児の染色体異常の有無については未調査のため、再発かどうかは不明である。

初めての流産であるがその原因検索の理由で5件依頼があり、うち1件にXX/XYのモザイクがみられた。胎児の表現形は男児であった。真のモザイクか、

表5. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (平成16年度)

依頼理由(主訴)	受付・分析数	異常数	染色体異常の核型
流産経験者	18	11	
流産2回目	11	6	45,X 46,X,+21 47,XX,+13 47,XY,+22 69,XXY 47,XY,+4/46,XY
3回目	3	2	45,X 47,XY,+13
4回目	4	3	47,XY,+6 92,XXYY 45,X/46,XX
初めての流産	5	1	46,XX/46,XY
胎児水腫	2	1	45,X
親が相互転座保因者	1	1	45,X
計	26	14	

表6. 流産胎児の染色体検査依頼理由と結果 (昭和50年~平成17年3月)

依頼理由(主訴)	受付数	分析数	異常数	染色体異常の核型等
過去にも流産をした	142	125	77	45,X:8件 47,(+3):2件 47,(+16):8件
初めての流産(原因不明)	49	41	13	69,XXX:3件 47,XY,+18 45,X
流産胎児に奇形等があった	39	36	12	69,XXY 47,(+18):3件 45,X:4件
体外受精・顕微授精	16	15	8	47,XX,+13 47,XY,+20
親が染色体異常	10	8	6	46,XY,der(4)t(4;15) 45,X
胞状奇胎	7	7	1	69,XXX
羊水検査で染色体異常があった	3	2	2	47,XX,+13/46,XX 47XY,+21/46,XY
前子が染色体異常	2	2	2	48,XX,+15,+16
前子が多発奇形	1	1	0	
羊水過少	1	1	0	
妊娠中に風疹に罹った	1	0		
理由不明	2	0		
計	273	238	121	

平成17年11月1日

母親細胞の混入かは不明である。

胎児水腫であった2件のうち1件にターナー症候群の異常がみられた。

均衡転座型染色体保因者(13/14転座)から依頼の1件にも、ターナー症候群の異常がみられたが、親の転座型染色体との因果関係は不明である。

今年度みられた異常14件中、1件の性染色体モザイクを除く13件すべてが数的異常となっている。

自然流産胎児の染色体異常の頻度が高いことは一般に認められている。染色体異常の発生頻度は、研究材料、収集方法、研究方法による違いで開きはあるものの、池内[4]は46.1%と報告しており、当所の結果も全年度で、50.8%となり、ほぼ一致している。

当所での検査の継続や他機関でのデータ収集と解析を進め、今後の妊娠指導、治療方針の決定や、遺伝相談の資料として母子医療に役立てたいと考えている。

謝 辞

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

文 献

1. 本田幸子, 林 美貴子, 大江 浩, 北村 敬 (2001). 富山衛研年報, 24, 54-60.
2. 佐藤孝道(2001). 臨床検査, 45(2), 161-166, 医学書院.
3. 本田幸子, 林 美貴子, 加藤丈士 (2003). 富山衛研年報, 26, 149 -151.
4. 池内達郎(1999). 遺伝子・染色体検査学(奈良信雄編), p131-135 医歯薬出版.

日本脳炎流行予測調査

渡辺 護 長谷川澄代 小原真弓 米道暁彦¹Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in 2004Mamoru WATANABE, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA
and Akihiko YONEMICHI

要 旨 平成16年度の豚における日本脳炎 HI 抗体保有推移は、7月13日に抗体価が高く新鮮感染を示唆する2頭が認められたが、その後9月14日まで認められなくなった。それ以降は11月22、24日まで途中途切れることが3回あったが、新鮮感染が示唆された。このことから、富山県への日脳ウイルスの侵入は8月中・下旬と推定され、その後、豚の間で感染が急速に、しかも長期間にわたって活発に拡大したと考えられた。一方、ウイルス媒介蚊のコガタアカイエカの発生量は7定点のうち5定点で増加し、とくに、黒部、大山、婦中で顕著であった。また、発消長は8月から9月後半に多くなる消長を示した。このことが、増幅動物(豚)での日脳ウイルスの感染拡大を遅らせた原因と思われた。

コガタアカイエカの発生が多くなった要因には、高く推移した7月の気温が考えられ、幼虫の発育に影響したと推察される。一方で、発生が例年に比べ遅くなった理由には、台風などの突発的な気象変化(大雨、強風)が関与したと思われ、このことが増幅動物(豚)における日脳ウイルスの感染拡大が9月中旬以降になった理由と思われる。これらの状況は患者が発生した1997年と近似しており、患者発生が懸念されたが、幸いに患者発生はみられなかった。

国内における近年の日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかし、豚における日本脳炎ウイルス HI 抗体陽性率をみると、間違いなくウイルスの活動が裏付けられている。富山県においても毎年ウイルスの侵入が確認されており[1, 3-5]、日本脳炎の脅威は消滅していない。また、われわれの長年の調査結果から[1]、コガタアカイエカの多発生傾向がみられると、豚の HI 抗体陽性率も高くなることが明確になり、ウイルスの拡大に媒介蚊の関与が見事に証明された。そこで、患者の発生を未然に防ぐことを目的に、2003年に引き続き日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生状況と、ウイルスの侵入動態を2004年6月から11月にかけて監視調査を行なったので、その結果について報告する。

1. 蚊の発生調査

1. 調査地と調査方法

蚊の捕集定点は表1に示す通りであり、2003年と全く同一である[5]。

調査期間および調査方法は2003年までとほぼ同じで、「富山大井」と「大山東黒牧」は6月1日から10月18日まで、ライト・トラップ(東京エース製、15W 捕虫円型管)による連日捕集を、他の5定点は6月第1・2週から10月2・3週まで、基本的に毎週水曜日にトラップを一晩点灯することで行った。なお、前2定点では畜舎管理者が、毎朝トラップ捕集ケージの捕獲物をクロロホルムで麻酔した後、捕獲物を全て70%エタノールの入ったポリ瓶に移し、それを筆者らが20日毎に回収して捕獲物から蚊類を選り分け、分類・計数した。後5定点は毎週木曜日に捕集ケージを回収・交換して、検査室に持ち帰り蚊類を選別して計数した。なお、捕集時間帯は照度感受スイッチ(ナショナル EE スイッチ)を用いて、夕刻から翌朝まで行なった。

また、「神岡下之本」での調査は野沢式ライトトラップ(6W 捕虫蛍光管)を用いて、隔週の金曜日(7月下旬~9月上旬は毎週)に上述と同一の方法で捕集を行い、翌土曜日に回収し、計数した。

表1. 日本脳炎ウイルス媒介コガタアカイエカ捕集定点の概要 (平成16年度, 2004年)

番号	地点名	類別	地点の概要
1	黒部荻生	豚舎	黒部市荻生, 肥育豚90頭, 親豚30頭. 平野部水田・畑作地帯, 南西側は幅10mほどの黒瀬川に接し, 北東側に養魚場. 水田は最も近いところでも30m離れている.
2	上市湯上野	牛舎	上市町湯上野, 乳牛48頭, 和牛20頭. 水田地帯はずれの丘陵地, 側面は社叢, 背面は杉林と畑. 西100mに厩舎あり, 北東, 東100mに水田, 北300mに上市川.
3	大山東黒牧	牛舎	富山市(大山)東黒牧上野, 乳牛30頭. 丘陵稜線部(162m), 周辺は大学などの教育機関と雑木林, 畑, 民家が点在する. 水田は半径300mの範囲には無い.
4	富山大井	牛舎	富山市大井, 乳牛24頭, 子牛4頭. 平野部水田地帯, 北側200mに新興住宅街がある. 南東1kmに熊野川. 近くには他畜舎は無い.
5	小矢部鷺島	牛舎	小矢部市鷺ヶ島, 乳牛40頭. 平野部水田地帯, 事業所, 人家点在. 近くに他畜舎は無い. 東側に幅4mほどの水量豊富な用水に隣接.
6	婦中友坂	厩舎	富山市婦中町下友坂, 乗用馬9頭. 丘陵部の裾野, 周囲に水田, 畑, 雑木林, 墓, 人家が点在. 南西500mに豚舎(約100頭)あり.
7	小杉山本新	牛舎	小杉町山本新, 肉牛60頭. 丘陵部水田地帯, 人家点在. 近くに同一人の肉牛舎あり. 周囲は溜池および畑, 梨園に隣接.
S	神岡下之本	牛舎	岐阜県飛騨市神岡町下之本, 肉牛4頭. 山間部畑作・水田地帯(標高875m), 人家数軒. 東北200mに他肉牛舎(約60頭)あり. 前面の水田まで約100m, 裏は山林.

2. 調査結果および考察 表2に, 全調査定点における毎週水曜日の捕集成績を示した. 各調査定点において調査開始の6月第1・2週からコガタアカイエカは捕集され, その後徐々に増加を示し, 8月第3週からさらに顕著に増加する消長を示した. 結局, 7月第3~5週に小さなピーク, 8月第4週~9月第1週に大きなピーク, さらに9月3週にも大きなピークを形成する発生活消長を描いた. 年間捕集数は「上市」が最も多く, 最も少なかった「大山東黒牧」の70倍に達した(表3). 次いで多数が捕集されたのは「富山大井」で, 最も少なかった「大山東黒牧」の28倍であった.

表3に, 1991年からのコガタアカイエカの定点別捕集数を示した. 富山県において患者の発生が確認された1997年の捕集数と比べると, 「黒部」と「小矢部」で2004年が明らかに少ないが, 「上市」「富山大井」は2004年の捕集数が明瞭に多くなっている. 2004年と2003年の捕集数を比べると, 「小矢部」と「小杉」が少なくなった他は(減少率はそれぞれ29%, 18%), 「大山」が顕著に増加, 「上市」「黒部」「富山」「婦中」も明らかに増加した.

以下, 各定点別に捕集結果を述べる.

[1.黒部荻生] の捕集数は2003年の2.2倍になった(表3). 日最高捕集数も2003年8月20日の611個体に対し, 8月25日の773個体に増加した. 発生活消長曲線は8月下旬から9月中旬にかけて大きな山, 7月21日に小さな山を形成する年2峰型を示し, 2003年の9月下旬に小さな山, 8月下旬に大きな山を形成する2峰型とは異なり, 2002年のそれと近似した.

[2.上市湯上野] 年間捕集数は前年の1.2倍, 225,945個体に微増した. 日最高捕集数も2003年9月10日の38,784個体に対し, 9月15日の46,351個体と1.2倍に増加した. 発生活消長曲線は8月第3週から明瞭に増加し, 9月2週に減少したが, その後9月5週まで2万個体を越える大きな長い山を形成する年1峰性と推定される消長を示した(表2). 9月2週は全県的に捕集数が減少していることから, 9月7-8日に富山に接近した台風18号の影響と思われる.

[3.大山東黒牧] この定点は後述の「富山大井」から, 直線距離で約2kmしか離れていない丘陵地の稜線上に位置する(標高162m, 標高差90m). また, そのほぼ中間に幅50mほどの熊野川が流れ, それに沿って

表2-1. 7 定点 (畜舎) における蚊雌成虫の捕集数 (平成16年, 2004年)

調査日	1. 黒部					2. 上市				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 9	0	3	1	0	4	1	78	0	3	82
16	0	5	5	0	10	11	135	1	5	152
23	0	8	6	0	14	8	442	2	2	454
30	0	25	15	0	40	33	788	4	2	827
7. 7	0	40	6	0	46	114	3,097	12	7	3,230
14	0	166	4	0	170	82	1,577	10	0	1,669
21	0	446	7	0	453	228	4,883	16	0	5,127
28	0	62	8	0	70	160	3,536	16	3	3,715
8. 4	0	217	4	0	221	148	5,488	29	1	5,666
11	0	35	3	0	38	32	6,101	24	0	6,157
18	0	291	4	0	295	64	20,529	32	0	20,625
25	0	773	4	0	777	65	26,945	33	0	27,043
9. 1	0	737	6	0	743	128	36,225	64	0	36,417
8	0	617	8	0	625	96	12,161	27	0	12,284
15	0	613	6	0	619	57	46,351	32	0	46,440
22	0	323	13	0	336	36	32,062	25	0	32,123
29	0	450	6	0	456	19	22,208	25	0	22,252
10. 6	0	60	3	0	63	24	2,062	3	0	2,089
13	0	9	2	0	11	31	1,216	0	0	1,247
21	-	-	-	-	-	5	61	0	1	67
計	0	4,880	111	0	4,991	1,342	225,945	355	24	227,666

※ 2、上市のその他は、オオクロヤブカであった。

調査日	3. 大山東黒牧					4. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6. 2	0	0	0	0	0	0	15	1	0	16
9	0	1	1	0	2	0	45	2	1	48
16	0	2	0	0	2	0	65	7	0	72
23	0	5	0	1	6	0	437	2	0	439
30	0	0	0	0	0	0	1,230	14	0	1,244
7. 7	0	6	0	0	6	0	2,406	56	0	2,462
14	0	0	0	0	0	0	2,976	71	0	3,047
21	0	13	0	0	13	0	1,493	15	0	1,508
28	0	10	0	0	10	0	5,261	39	0	5,300
8. 4	0	113	3	0	116	0	5,305	21	0	5,326
11	0	24	4	0	28	0	680	7	0	687
18	1	242	8	0	251	0	13,963	0	0	13,963
25	0	103	0	0	103	0	5,796	18	0	5,814
9. 1	0	459	2	0	461	0	17,266	60	0	17,326
8	1	401	7	0	409	0	2,587	13	0	2,600
15	2	1,608	2	0	1,612	0	23,832	75	0	23,907
22	1	157	2	0	160	0	6,084	20	0	6,104
29	1	51	1	0	53	0	918	5	0	923
10. 6	1	10	0	0	11	0	185	2	0	187
13	0	0	0	0	0	0	13	0	0	13
18	1	1	0	0	2	0	21	0	0	21
計	8	3,206	30	1	3,245	0	90,578	428	1	91,007

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。-はトラップの故障などで捕獲が出来なかったことを示す。

平成17年11月1日

表2-2. 7定点(畜舎)における蚊雌成虫の捕集数(2004年, 平成16年)

調査日	5. 小矢部					6. 婦中友坂				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6.2	-	-	-	-	-	0	0	2	1	3
9	0	13	10	0	23	0	1	1	2	4
16	0	17	11	0	28	0	4	1	0	5
23	0	44	23	0	67	0	6	0	2	8
30	0	55	6	0	61	0	68	4	1	73
7.7	0	162	15	0	177	0	155	2	1	158
14	0	103	44	0	147	0	186	1	0	187
21	3	333	12	2	350	0	216	3	0	219
28	0	88	37	1	126	0	351	1	0	352
8.4	1	284	27	0	312	0	1,936	4	2	1,942
11	2	142	23	0	167	0	940	5	0	945
18	2	1,361	33	0	1,396	0	2,896	0	0	2,896
25	24	3,992	21	0	4,037	0	2,593	16	0	2,609
9.1	8	1,776	28	0	1,812	0	1,743	11	0	1,754
8	0	664	9	1	674	0	161	4	0	165
15	2	2,194	15	0	2,211	0	1,059	3	0	1,062
22	0	1,124	60	0	1,184	0	143	6	0	149
29	0	16	0	0	16	0	190	16	1	207
10.6	0	288	6	0	294	0	80	3	0	83
13	0	102	1	0	103	0	3	8	0	11
21	-	-	-	-	-	0	2	3	0	5
計	42	12,758	381	4	13,185	0	12,733	94	10	12,837

As=シナハマダラカ、Ct=コガタアカイエカ、Cp=アカイエカ、その他のヤマトはヤマトヤブカ、オオクロはオオクロヤブカを指す。

- はトラップの故障などで捕獲が出来なかったことを示す。

調査日	7. 小杉山本新					As	Ct	Cp	その他	計
	As	Ct	Cp	その他	計					
6.2	0	5	4	0	9					
9	0	14	2	0	16					
16	0	20	0	0	20					
23	0	77	2	0	79					
30	1	155	0	0	156					
7.7	0	427	2	0	429					
14	0	358	3	0	361					
21	0	945	4	0	949					
28	0	467	2	0	469					
8.4	0	1,185	1	0	1,186					
11	0	1,205	0	0	1,205					
18	0	4,255	0	0	4,255					
25	0	2,369	0	0	2,369					
9.1	0	3,685	0	0	3,685					
8	0	1,601	0	0	1,601					
15	0	2,816	0	0	2,816					
22	0	521	11	0	532					
29	0	499	6	0	505					
10.6	0	71	2	0	73					
13	0	46	1	0	47					
計	1	20,721	40	0	20,762					

表3. 7 定点における近年のコガタアカイエカ雌成虫の捕集数変動

年度	定 点 名								
	1. 黒部	2. 上市	3. 大山東黒牧		4. 富山大井		5. 小矢部	6. 婦中	7. 小杉
1991	1,702	14,322	-	-	7,640	51,218	4,318	-	-
1992	1,968	5,025	-	-	9,998	59,735	5,992	-	-
1993	642	1,100	-	-	8,827	72,509	5,098	-	-
1994	13,655	3,527	-	-	26,275	169,307	94,055	-	-
1995	6,398	1,790	-	-	26,247	161,391	21,751	-	-
1996	2,034	1,562	-	-	36,305	275,957	7,683	-	-
1997	7,054	1,466	-	-	23,743	172,373	45,250	-	-
1998	6,250	5,620	1,843	11,814	96,196	657,900	31,158	-	-
1999	1,954	2,676	1,319	11,379	52,436	344,498	27,944	-	-
2000	1,181	2,965	965	9,147	67,757	495,004	19,477	-	-
2001	1,443	6,574	1,819	10,433	78,846	504,862	12,877	-	-
2002	2,187	1,288	802	7,979	62,135	465,957	1,330	-	-
2003	2,181	195,869	496	2,644	60,527	469,460	17,963	8,555	25,219
2004	4,880	225,945	3,206	18,526	90,578	468,459	12,758	12,733	20,721

注. a. 6月2週から9月末までの、毎週水曜日にライトトラップ一晩捕集による成績。

b. 富山大井、大山東黒牧の右側の数値は、6月1日から9月30日までの連日捕集による成績。

c. 1.黒部は1998年に、2.上市は1994年に定点の場所(畜舎)を変更した。上市はさらに2003年に畜舎が30mほど移設された。3.大山東黒牧は1998年、6.婦中、7.小杉は2003年から調査を開始した。5.小矢部は2003年に畜舎を変更した。

水田が広がっている。定点牛舎に最も近い水田でも300m離れている。その間の標高差50mの斜面は竹林、雑木林、杉植林地などである。また、牛舎の周辺には畑地、杉植林、雑木林や民家および教育施設がある。これらの環境状況が、調査定点7か所の中でコガタアカイエカの捕集数が最も少ない原因と思われる。

表4に連日捕集成績を示した。日最大捕集は9月15日の1,608個体であり、2003年の299個体(8月27日)の5.4倍に達し、ピークは2003年に比べ2週間以上遅くなった。年間捕集数は前年の約7倍に増加した。

[4. 富山大井] 表4に連日捕集成績を示した。調査当初は2003年よりも捕集数は少なかったが[5]、6月中旬からはほぼ多く推移した。しかし、8月中旬以降は再び少なくなり、8~9月の捕集数は2003年よりも少なくなった。日最大捕集数は9月15日の23,832個体であり、2003年の8月30日の22,775個体よりも2週間も遅くなった[5]。2004年は6月から9月まで捕集数が少なく推移したが、年間の捕集数は2003年の99.8%に止まった(表3)。

[5. 小矢部鷺田] 年間捕集数は2003年の71%に減少した。(表3)。日最大捕集数は8月25日の3,992個体で、2003年の5,554個体(9月10日)よりも明瞭に減少した。発生推移は増減を繰り返す複雑な消長を示したが(表2)、おそらく、8月中旬から9月下旬に千個体を超える長い

山を形成する消長を示したと考えられる(表2)。

[6. 婦中友坂] 年間捕集数は12,733個体と2003年の8,555個体よりも増加した。日最大捕集数も8月3週の2,896個体と、2003年の2,077個体よりも増加した。この厩舎の捕集数は他の牛舎定点に比べ少ない傾向を示したが(表2)、その原因は動物種の違いなのか、飼養頭数の絶対数が少ない影響なのかは、今後も調査を継続して明らかにしたい。なお、牛舎定点に比べ、極めてわずかであるがヤマトヤブカが多く捕集される様相がみられた。シナハマダラカは全く捕集されなかった。

[7. 小杉山本新] 年間捕集数は20,721個体で、2003年の25,600個体よりも減少した。日最大捕集数も8月3週の4,255個体に対し、2003年9月10日の6,770個体に比べ減少した。発生推移は8月1週から9月3週まで千個体を超える長い山を形成する消長を示した(表2)。シナハマダラカは6月5週に1個体が捕集されたのみであった。本種が多数採れるとの予想で、この定点において2003年から調査を開始したが、両年とも極めて僅かしか捕集されなかった。その理由は蚊類の休息場所(越冬場所)になる森林、草叢の少なさと、隣接した梨園への薬剤散布が影響していると思われる、今後も調査を継続して明らかにしたい。

[S. 神岡下之本] コガタアカイエカの年間捕集数は556個体で、2003年の1,491個体に比べ顕著に減少した。

平成17年11月1日

表4-1. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成16年, 2004年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
6月1日	1	2	0	1	4	0	33	6	0	39
6月2日	0	0	0	0	0	0	15	1	0	16
6月3日	0	1	0	0	1	0	45	11	0	56
6月4日	0	1	0	0	1	0	57	3	0	60
6月5日	0	0	0	0	0	0	60	0	0	60
6月6日	0	0	0	0	0	0	84	1	0	85
6月7日	0	0	0	0	0	0	55	0	0	55
6月8日	0	3	0	0	3	0	74	6	0	80
6月9日	0	1	1	0	2	0	45	2	1	48
6月10日	0	1	0	0	1	0	140	3	0	143
6月11日	0	2	0	0	2	0	367	2	0	369
6月12日	0	1	1	1	3	0	45	2	0	47
6月13日	0	0	0	0	0	0	25	2	0	27
6月14日	0	1	0	0	1	0	130	3	0	133
6月15日	0	0	0	0	0	0	137	5	0	142
6月16日	0	2	0	0	2	0	65	7	0	72
6月17日	0	0	0	0	0	0	435	7	0	442
6月18日	0	4	1	0	5	0	434	7	1	442
6月19日	0	2	0	0	2	0	267	3	0	270
6月20日	0	4	0	0	4	0	773	36	0	809
6月21日	0	4	0	0	4	0	91	2	0	93
6月22日	0	1	0	0	1	0	305	3	0	308
6月23日	0	5	0	1	6	0	437	2	0	439
6月24日	0	2	0	0	2	0	417	11	0	428
6月25日	0	1	1	0	2	0	596	15	0	611
6月26日	0	0	0	0	0	0	546	30	0	576
6月27日	0	6	2	1	9	0	403	20	0	423
6月28日	0	2	0	1	3	0	996	17	0	1,013
6月29日	0	0	0	0	0	0	544	13	0	557
6月30日	0	0	0	0	0	0	1,230	14	0	1,244
計	1	46	6	5	58	0	8,851	234	2	9,087

※その他 (オオクロヤブカ、カラツイエカ、ヤマトヤブカ)

表4-2. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成16年,2004年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
7月1日	0	3	0	0	3	0	370	11	0	381
7月2日	0	2	0	0	2	0	3,699	42	1	3,742
7月3日	0	0	0	0	0	0	1,864	38	0	1,902
7月4日	0	8	0	0	8	0	2,996	22	0	3,018
7月5日	0	9	0	0	9	0	1,092	18	0	1,110
7月6日	0	14	0	0	14	0	1,708	10	0	1,718
7月7日	0	6	0	0	6	0	2,406	56	0	2,462
7月8日	0	3	0	0	3	0	5,967	60	0	6,027
7月9日	0	0	0	0	0	0	5,412	57	0	5,469
7月10日	0	0	0	0	0	0	5,050	52	0	5,102
7月11日	0	0	0	0	0	0	2,791	39	0	2,830
7月12日	0	9	0	0	9	0	2,014	28	0	2,042
7月13日	0	2	0	1	3	0	2,111	49	0	2,160
7月14日	0	0	0	0	0	0	2,976	71	0	3,047
7月15日	0	0	0	0	0	0	4,055	24	0	4,079
7月16日	1	2	0	0	3	0	6,476	23	0	6,499
7月17日	0	7	0	0	7	0	5,751	40	0	5,791
7月18日	0	3	1	0	4	0	6,378	55	0	6,433
7月19日	0	32	1	0	33	0	9,921	58	0	9,979
7月20日	0	15	0	0	15	0	6,507	56	0	6,563
7月21日	0	13	0	0	13	0	1,493	15	0	1,508
7月22日	0	0	0	0	0	0	6,468	96	0	6,564
7月23日	0	27	1	0	28	0	10,403	33	0	10,436
7月24日	0	60	0	0	60	1	11,046	40	0	11,087
7月25日	0	31	0	0	31	0	10,245	35	0	10,280
7月26日	0	15	0	0	15	0	8,040	17	0	8,057
7月27日	0	15	0	0	15	0	3,175	9	0	3,184
7月28日	0	10	0	0	10	0	5,261	39	0	5,300
7月29日	0	11	0	0	11	0	2,134	11	0	2,145
7月30日	0	9	0	0	9	0	4,814	14	0	4,828
7月31日	0	0	0	0	0	1	1,636	7	0	1,644
計	1	306	3	1	311	2	144,259	1,125	1	145,387

※ その他 (カラツイエカ、ヤマトヤブカ)

平成17年11月1日

表4-3. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成16年,2004年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
8月1日	1	10	0	0	11	0	3,298	9	0	3,307
8月2日	0	31	0	0	31	0	2,927	21	0	2,948
8月3日	0	50	0	0	50	0	10,968	29	0	10,997
8月4日	0	113	3	0	116	0	5,305	21	0	5,326
8月5日	0	62	1	0	63	0	4,746	46	0	4,792
8月6日	0	10	0	0	10	0	1,171	12	0	1,183
8月7日	0	48	1	0	49	0	2,350	1	0	2,351
8月8日	0	46	1	0	47	0	2,149	7	0	2,156
8月9日	0	10	1	0	11	0	1,734	3	0	1,737
8月10日	0	14	2	0	16	0	1,812	7	0	1,819
8月11日	0	24	4	0	28	0	680	7	0	687
8月12日	0	288	2	1	291	0	3,203	7	0	3,210
8月13日	0	0	0	0	0	0	889	0	0	889
8月14日	0	259	0	1	260	0	23,244	64	0	23,308
8月15日	1	142	3	0	146	0	2,315	6	0	2,321
8月16日	1	654	0	0	655	2	7,178	11	0	7,191
8月17日	2	182	0	0	184	2	14,904	6	0	14,912
8月18日	1	242	8	0	251	0	13,963	0	0	13,963
8月19日	0	110	1	0	111	0	1,356	0	0	1,356
8月20日	0	94	0	0	94	0	2,480	0	0	2,480
8月21日	0	421	1	0	422	0	3,768	7	0	3,775
8月22日	0	945	1	1	947	1	17,752	20	0	17,773
8月23日	3	1,133	0	0	1,136	0	7,852	0	0	7,852
8月24日	1	283	0	0	284	0	2,894	3	0	2,897
8月25日	0	103	0	0	103	0	5,796	18	0	5,814
8月26日	0	231	0	0	231	0	10,144	18	0	10,162
8月27日	0	0	0	0	0	0	2,738	0	0	2,738
8月28日	1	437	0	0	438	0	3,203	0	0	3,203
8月29日	1	241	0	0	242	0	3,598	5	0	3,603
8月30日	2	208	2	0	212	0	3,922	8	0	3,930
8月31日	0	185	0	0	185	0	2,969	7	0	2,976
計	14	6,576	31	3	6,624	5	171,308	343	0	171,656

※ その他 (ヤマトヤブカ、トラフカクイカ)

表4-4. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成16年, 2004年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
9月1日	0	459	2	0	461	0	17,266	60	0	17,326
9月2日	0	224	0	0	224	1	2,968	7	1	2,977
9月3日	1	89	0	0	90	0	4,353	3	0	4,356
9月4日	0	114	0	0	114	0	2,884	2	0	2,886
9月5日	1	266	4	0	271	0	4,316	3	0	4,319
9月6日	0	283	5	0	288	0	5,886	2	0	5,888
9月7日	0	332	7	0	339	0	2,079	5	0	2,084
9月8日	1	401	7	0	409	0	2,587	13	0	2,600
9月9日	1	457	3	0	461	0	5,761	3	0	5,764
9月10日	0	100	0	0	100	0	1,895	8	0	1,903
9月11日	0	130	2	0	132	0	1,929	5	0	1,934
9月12日	3	295	0	0	298	0	2,347	2	0	2,349
9月13日	5	773	2	0	780	0	7,866	48	0	7,914
9月14日	3	529	0	0	532	0	10,477	5	0	10,482
9月15日	2	1,608	2	0	1,612	0	23,832	75	0	23,907
9月16日	2	1,256	5	0	1,263	0	13,428	36	0	13,464
9月17日	2	999	4	0	1,005	0	8,838	5	0	8,843
9月18日	0	608	12	0	620	1	1,972	1	0	1,974
9月19日	0	303	3	0	306	0	2,357	1	0	2,358
9月20日	3	563	2	1	569	0	1,661	2	0	1,663
9月21日	0	249	3	0	252	0	1,245	1	0	1,246
9月22日	1	157	2	0	160	0	6,084	20	0	6,104
9月23日	1	219	0	0	220	-	-	-	-	-
9月24日	0	290	4	0	294	0	1,574	4	0	1,578
9月25日	2	196	1	0	199	0	6,938	6	0	6,944
9月26日	1	180	2	0	183	0	915	4	0	919
9月27日	0	153	3	2	158	0	403	3	0	406
9月28日	0	283	8	1	292	0	869	3	0	872
9月29日	1	51	1	0	53	0	918	5	0	923
9月30日	1	31	0	0	32	0	393	1	0	394
計	31	11,598	84	4	11,717	2	144,041	333	1	144,377

注. - 印はトラップの故障等による欠測を示す.

※ その他 (オオクロヤブカ、キンイロヤブカ)

表4-5. 2定点におけるライトトラップの連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成16年, 2004年)

調査日	4-2. 大山東黒牧					5. 富山大井				
	As	Ct	Cp	その他	計	As	Ct	Cp	その他	計
10月1日	0	117	1	0	118	0	844	4	0	848
10月2日	1	58	0	0	59	0	464	3	0	467
10月3日	2	57	0	0	59	0	182	1	0	183
10月4日	0	41	0	0	41	0	387	2	0	389
10月5日	0	56	2	0	58	0	164	2	0	166
10月6日	1	10	0	0	11	0	185	2	0	187
10月7日	1	30	0	0	31	0	310	0	0	310
10月8日	1	12	0	0	13	0	345	0	0	345
10月9日	1	18	0	0	19	0	434	0	0	434
10月10日	3	29	0	0	32	0	448	2	0	450
10月11日	1	14	0	0	15	0	57	0	0	57
10月12日	0	8	0	0	8	0	111	0	0	111
10月13日	0	0	0	0	0	0	13	0	0	13
10月14日	0	0	0	0	0	0	14	0	0	14
10月15日	1	0	0	0	1	0	3	0	0	3
10月16日	0	3	0	1	4	0	7	0	0	7
10月17日	0	1	0	0	1	0	5	0	0	5
10月18日	1	1	0	0	2	0	21	0	0	21
計	13	455	3	1	472	0	3,994	16	0	4,010

※ その他 (ヤマトヤブカ)

日最大捕集数も8月27日の164個体で、2003年の354個体(8月22日)に比べ明瞭に減少した。シナハマダラカも2003年の340個体に対し、250個体に減少したが、その他の蚊種は8種類58個体で、2003年と同じであった。

本年は6～8月の高温・多照度傾向から、典型的な猛暑になり、全国的に稲作が好調になり、前回1994年の猛暑時と同様にコガタアカイエカの発生が多くなる傾向がみられた(表3)。しかし、冷夏であった2003年よりも捕集数が減少する定点もみられ、定点(地域)によっては梅雨前線や台風(調査期間中に8個が接近)などの影響を受けたことが考えられる。

II. 豚血清の日本脳炎 HI 抗体保有調査

1. 調査対象と検査方法

7月6日から11月30日までの5か月間、毎週火曜日に富山食肉総合センターに搬入される生後6か月の県内

産(小矢部市と城端町)の豚を対象として毎回20頭から血液を採取して、日本脳炎の抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年のごとく感染症流行予測調査事業検査術式[6]に従った。被検血清はアセトン処理を2回行い、非特異的赤血球凝集(HA)抑制物質を除去し、市販の日本脳炎CF、HI試薬「生研」JaG Ar01株(デンカ生研)を抗原として、赤血球凝集抑制反応(HI)で抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、HI反応はマイクロタイター法で行った。

2. 調査結果および考察

採血日とHI抗体価の測定結果を表7に示した。豚の採血は例年毎週20頭づつを9月末まで13回行っていたが、本年は11月末まで採血を行い合計22回の調査になった。

第2回目の採血日7月13日に8頭の抗体保有豚が出現し、その抗体価分布は10倍が1例、20倍が3例、40倍が2例、80倍が2例であった。この内40倍以上の4頭につ

表5. 飛騨市神岡町下之本における蚊雌成虫の捕集数 (平成16年, 2004年)

調査日	蚊の種類								計
	As	Ct	Cp	Co	Aea	Oj	Arm	その他	
5.14	0	0	0	0	0	0	0	0	0
21	0	2	0	0	0	0	0	0	2
6.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	0	5	0	0	0	0	0	0	5
7.2	0	9	1	0	1	1	0	0	12
18	2	28	0	0	0	0	0	0	30
23	6	22	0	0	0	1	0	0	29
30	1	3	0	0	1	0	0	0	5
8.6	9	97	0	0	1	1	0	1	109
13	86	42	0	0	0	2	1	1	132
20	66	131	0	0	2	0	0	1	200
27	55	164	0	0	4	2	1	1	227
9.10	20	23	0	0	0	1	0	0	44
24	4	30	0	1	0	0	5	1	41
10.1	1	0	0	0	0	0	1	0	2
計	250	556	1	1	9	8	8	5	838

As はシナハマダラカ, Ct はコガタアカイエカ, Cp はアカイエカ, Co はハマダライエカ, Aea はヒトスジシマカ
Oj はヤマトヤブカ, Arm はオオクロヤブカを表し, その他はキンイロヤブカ2個体とカラツイエカ3個体である。

平成15年	As	Ct	Cp	Co	Aea	Oj	Arm	その他	計
計	340	1,491	4	11	15	22	2	4	1,889

表6. 富山県における近年の月別気象要因の年変動 (富山气象台)

因子	月	年 度												平年値
		1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	
平均気温 (°C)	5	15.7	17.9	16.6	16.3	17.6	18.6	17.6	17.6	18.9	16.9	18.0	18.1	16.7
	6	19.7	20.7	19.3	21.0	21.5	20.7	20.9	21.4	21.1	21.1	21.6	22.0	20.5
	7	23.2	26.9	25.0	25.1	24.8	25.2	24.9	27.0	27.0	26.4	22.5	26.8	24.6
	8	23.3	29.1	27.7	26.0	26.4	25.5	27.7	28.1	26.4	27.2	25.6	26.7	26.0
	9	20.4	23.3	21.0	21.0	21.4	23.3	24.5	23.5	21.6	22.5	22.9	23.6	21.6
日照時間 (hrs)	5	204.9	214.6	160.1	212.1	167.8	207.0	224.9	184.8	201.4	170.6	218.6	133.6	200.9
	6	100.1	154.8	105.9	117.3	162.5	86.5	137.3	148.4	111.6	177.4	120.2	173.3	147.5
	7	100.2	195.4	122.1	192.2	136.3	130.9	134.5	232.7	234.7	170.1	65.4	196.7	160.5
	8	102.0	285.9	232.4	226.4	199.8	101.6	201.8	271.8	203.7	207.1	144.2	213.3	200.4
	9	112.5	(156)	129.2	150.4	95.5	125.5	129.9	151.0	134.0	144.9	151.9	112.9	133.9
降水量 (mm)	5	180.5	(55)	103.0	126.0	197.5	245.5	132.5	48.5	105.0	231.0	68.5	313.5	124.8
	6	179.0	50.0	116.5	305.0	143.0	135.0	247.0	197.0	281.5	117.5	176.5	205.5	183.3
	7	283.0	29.5	536.5	60.5	325.0	161.5	88.0	65.0	108.0	363.0	201.5	214.5	223.1
	8	328.0	18.0	176.0	149.0	129.5	630.5	155.0	39.5	230.5	63.5	283.0	50.0	176.6
	9	243.5	208.5	80.5	159.0	213.0	303.0	424.5	287.0	206.5	210.5	159.0	255.5	233.1

注. 1. 富山地方气象台の「富山県の気象・地震概況」からデータを引用した。
2. 平年値は1971年～2000年の平均値である。
3. () 内の数値は欠測があったことを示し, 参考に伏木气象台のデータを引用した。

平成17年11月1日

いて2-ME感受性を調べたところ2頭が新鮮感染を示した。その後、7月20,27日にも抗体保有豚が出現したが、抗体価は10~20倍と低く、抗体保有率も15~25%と低かった。

8月に入っても、抗体価は10~20倍と低く、保有率も5~35%と低率であった。9月14日になって抗体保有豚が17頭(抗体保有率85%)になり、そのうち2頭は2-ME感受性であった。翌週9月21日は抗体価10倍が2頭、40倍が2頭(抗体保有率20%)で、2-ME感受性は擬陽性であった。しかし、9月28日には抗体保有率は30%になり、抗体価40倍以上の3頭のうち2頭は2-ME感受性で新鮮感染と判断された。

10月6, 8日は陽性豚が8頭になり抗体保有率は40%になった。抗体価40倍以上の3頭のうち、2頭が2-ME感受性であった。その後、10月12,13日も抗体保有率が40%であり、抗体価40倍以上の3頭のうち1頭が2-ME感受性であった。10月19日には抗体保有率が65%に達し、抗体価40倍以上の9頭のうち7頭が2-ME感受性であった。さらに、10月最終週の26日には抗体保有率は80%になり、抗体価40倍以上の12頭のうち、7頭が2-ME感受性で新鮮感染と判断された。このように、10月末になっても新鮮感染の豚が出現したことから、さらに、11月末まで調査を延長した。11月2, 5日の抗体保有率は60%で、抗体価40倍以上の12頭のうち5頭が新鮮感染であった。その後、11月9, 11日の抗体保有率は55%、11月16日も55%であったが、何れも新鮮感染は確認できなかった。11月22, 24日の抗体保有率は50%で、そのうち抗体価40倍以上の9頭のうち1頭が新鮮感染であった。11月最終週の30日は抗体保有率が55%であったが、新鮮感染の豚は確認できなかった。

以上の成績を、昨年と比較すると、昨年は9月2日に新鮮感染の豚が出現し、9月30日に抗体保有率が55%になったが、抗体価は10倍と低いもので、10月になっても抗体保有率は低く、新鮮感染の豚が10月末まで出現することは無かった。しかし、2004年は7月13日に抗体保有率が40%になり、2頭の新鮮感染が確認され、その後9月14日には抗体保有率は85%になり、2頭の新鮮感染の豚が確認された。このように9~10月は抗体保有率も40~85%になり、新鮮感染も確認された。さらに11月に入っても抗体保有率は55~60%と高く、11月22, 24日には1頭の新鮮感染も確認された。このことから2004年は2001年、2002年と同様 [3, 4] 日本脳

炎ウイルスは8月中・下旬ごろに富山県内に侵入し、10月末まで豚の間で感染が拡大したと考えられる。これらの状況は、日本脳炎患者が発生した1997年と近似した様相を示したが、幸い患者の発生はみられなかった。

まとめ

2004年の豚のHI抗体保有推移は、抗体価が高く新鮮感染を示す豚の出現は7月13日に2頭認められたが、継続して認められる様になったのは9月14日以降であった。このことから、富山への日本脳炎ウイルスの侵入は8月中・下旬と推定され、その後豚の間で感染が拡大したと考えられた。2004年は2003年とは異なり、富山県における日本脳炎ウイルスの動きは活発であったと推察された。一方、ウイルスを媒介する蚊の発生量と発生消長も2003年と異なり、8月から9月後半まで多くなる消長を示した。これらの状況は日本脳炎患者が発生した1997年と近似しており、患者発生が危惧されたが、幸いに患者発生はみられなかった。

謝辞

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

文献

1. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 安藤秀二(2004). 富山県における日本脳炎流行予測調査35年間のまとめ, 82p 図版+46pp, 富山県衛生研究所・富山県厚生部健康課。
2. 小林睦生(2003). 感染症, 33, 29-39,
3. 渡辺 護, 長谷川澄代, 高田ちはる(2002). 富山衛研年報, 25, 74-83.
4. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦(2003). 富山衛研年報, 26, 74-84.
5. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 米道暁彦(2004). 富山衛研年報, 27, 56-67.
6. 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。

表7. 平成16年度豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況(2004年)

検体採取日	抗体価								2-ME感受性陽性数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月6日	20 (100)								
13日	12 (60)	1 (5)	3 (15)	2 (10)	2 (10)				2/4 (50.0)
20日	15 (75)	3 (15)	2 (10)						
27日	17 (85)	2 (10)	1 (5)						
8月3日	14 (70)	2 (10)	4 (20)						
10日	17 (85)	2 (10)	1 (5)						
17,18日	13 (65)	4 (20)	3 (15)						
24日	17 (85)	3 (15)							
31日	19 (95)	1 (5)							
9月7日	16 (80)	4 (20)							
14日	3 (15)	7 (35)	8 (40)	1 (5)				1 (5)	2/2 (100)
21日	16 (80)	2 (10)		2 (10)					0/2 (0.0)
28日	14 (70)	3 (15)						3 (15)	2/3 (66.7)
10月6,8日	12 (60)	4 (20)	1 (5)				1 (5)	2 (10)	2/3 (66.7)
12,13日	12 (60)	1 (5)	4 (20)				1 (5)	2 (10)	1/3 (33.3)
19日	7 (35)		4 (20)	2 (10)	1 (5)			6 (30)	4/9 (44.4)
26日	4 (20)	2 10	2 (10)			1 (5)		11 (55)	7/12 (58.3)
11月2,5日	8 (40)					1 (5)	2 (10)	9 (45)	5/12 (41.7)
9,11日	9 (45)	1 (5)	2 (10)			1 (5)	2 (10)	5 (25)	0/8 (0.0)
16日	9 (45)	1 (5)				6 (30)	4 (20)		0/10 (0.0)
22,24日	10 (50)	1 (5)				2 (10)	5 (25)	2 (10)	1/9 (11.1)
30日	9 (45)			1 (5)	1 (5)	3 (15)	3 (15)	3 (15)	0/11 (0.0)
計	273 (62.0)	44 (10.0)	35 (8.0)	8 (1.8)	4 (0.9)	14 (3.2)	18 (4.1)	44 (10.0)	26/88 (29.5)

- 注 1. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清に付いて2-メルカプトエタノール(2-ME)処理を行ない、ウイルスの新鮮感染を検討した。
2. 表中の数字は観察実数を表わし、括弧内の数字はパーセントを示す。

富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査，2004年の成績

渡辺 護 小原真弓 出村尚子¹ 城石将幸¹
長谷川澄代 松澤留美子² 小林睦生³

Ecological Survey of the Vector Mosquitoes in Toyama Prefecture in 2004

Mamoru WATANABE, Mayumi OBARA, Naoko DEMURA, Masayuki SHIROISHI,
Sumiyo HASEGAWA, Rumiko MATSUZAWA and Mutsuo KOBAYASHI

要 旨 富山県では2003年から従来行って来た日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカの発生活長調査に加え，ウエストナイル熱， Dengue熱， マラリアなど，海外からの侵入が懸念される蚊媒介性感染症に関与する蚊の発生実態を把握することを目的に調査を開始した。

2004年度は一般民家を2003年よりも3軒増やし7軒とし，カラスのねぐらは同一の3ヶ所で，5月からドライアイス誘引トラップを用いて調査を開始した。その結果，2004年の捕集数は2003年よりも明瞭に減少したが，全ての定点からウエストナイル熱ウイルス（WNV）， Dengue熱ウイルス（DFV），日本脳炎ウイルス（JEV）を媒介するアカイエカ（WNV），ヒトスジシマカ（DFV），コガタアカイエカ（JEV）などが捕集された。しかし，マラリア原虫を媒介するシナハマダラカは，2003年同様全く捕集されなかった。アカイエカは都市部や周縁部の住宅で多く捕集される傾向がみられ，ヒトスジシマカは郊外団地で，コガタアカイエカは農村地域の民家で多く捕集された。

カラスのねぐら近くでの調査では，都市部のねぐら近くではアカイエカが全般的に多く，ヒトスジシマカは地面に近いトラップでのみ捕集された。郊外にあるねぐら近くでは，コガタアカイエカが多く，アカイエカやヒトスジシマカはわずかであった。

捕集した蚊から，フラビウイルス群の検出を行ったが，ウエストナイルウイルスや日本脳炎ウイルスは検出されなかった。

近年，海外からウエストナイル熱， Dengue熱， マラリアなどの侵入が懸念され[1]，それらを媒介する蚊の生息状況・発生実態を把握することが必要になって来ている。富山県では動物由来感染症の調査事業の一つとして，蚊についても予防体制事業に組み入れ平成15年度(2003年)から調査を開始した。

2004年も2003年に引き続き，地方都市において，どんな所に，どんな蚊が，どれだけ生息するかを明確にすることに目的を置き，実際には2003年同様に住宅立地環境別，および病原微生物の媒介・増幅に関与するカラスなど鳥類の営巣場所の近くにおける蚊類の分布，発生活長を明らかにすることを目的とした。

調査方法

調査定点の選定：一般住宅における蚊相を明らかにするために，住宅が建っている周辺環境を都市部の純住

宅街，都市周縁部の住宅もしくは住宅団地，都市郊外の大規模住宅団地，海岸の商・工・住混合地区，農村地域の住宅，農村水田地域の中規模団地に区分し，それぞれから1軒づつ選定した(表1)。また，ウエストナイル熱ウイルス（WNV）は鳥類，とくにカラスで感受性が高く，しかも増幅動物になる可能性が知られているので，カラスのねぐら近くにおける蚊相を明らかにするために4ヶ所を選定し，トラップを地上部と高い位置に設置した(表1)。

蚊の捕集方法：市販の小型トラップ(猪口型もしくはCDC型；乾電池駆動式)を用いて，それらの脇にドライアイス1kgを発泡プラスチック容器に入れ，誘引源とした。

トラップの設置場所：一般住宅では回収時のことを考え，道路に近い庭などに茂っている樹木の高さ約1m程に吊り下げた。農村地域団地住宅では，この他に庭の奥の柿の地上約1mと3.5mにもトラップを吊り下

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

表1. 富山県における WNV 媒介蚊の発生調査定点の概要 (平成16年)

	住宅区分	住所	トラップ	設置場所
1 一般民家	①都市部住宅街	富山市鹿島町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	②都市部周縁住宅	富山市富岡町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	③都市部新興団地	富山市呉羽町	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	④郊外大型住宅団地	小杉町太閤山	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
	⑤海岸地域混合地区	新湊市海老江	猪口製、ドライアイス、1台	菜園、地上 1m
	⑥農村地域住宅団地	大山町津羽見	CDC型、ドライアイス、4台	庭、地上 1m×3台、3.5m
	⑦農村地域住宅	南砺市安居	猪口製、ドライアイス、1台	庭、地上 1m
2 カラス	①高岡市古城公園	市立動物園	猪口製、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、8m
	②富山市城址公園	市立図書館	猪口製、ドライアイス、3台	回廊、地上 1m、12m、20m
	③衛研隣杉林(鶏舎)	小杉町黒河	CDC型、ドライアイス、2台	立木、地上 1m、6.5m
	④衛生研究所動物舎	小杉中太閤山	E-イス、ドライアイス、2台	壁、地上 2m、6.5m
3 他	①丘陵際農村地域	婦中町友坂	E-イス、ライトトラップ、1台	厩舎(乗馬倶楽部)、2m
	②山間高地農村地域	飛騨市下之本	野沢、ライトトラップ、1台	牛舎(肉牛4頭)、2m

一般民家の②、③、⑦は本年新たに加えた定点であり、それ以外の定点は前年と同一である。

ただ、⑥ではトラップを1台増加した。 2.カラスのねぐら近くと3.その他の定点は前年と全く同じである。

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

	住宅区分	調査期間	調査間隔と調査時間
1 一般民家	①都市部住宅街	6/2~10/28	毎週水曜日の午後2時~翌朝8時
	②都市部周縁住宅	6/2~10/28	毎週水曜日の午前7時30分~翌朝7時30分
	③都市部新興団地	6/2~10/28	毎週水曜日の午前7時30分~翌朝7時30分
	④郊外大型住宅団地	5/12~10/28	毎週水曜日の午後0時30分~翌朝8時
	⑤海岸地域混合地区	5/12~10/28	毎週水曜日の午後1時~翌朝7時
	⑥農村地域住宅団地	5/12~10/28	毎週水曜日の午後2時30分~翌朝7時30分
	⑦農村地域住宅	6/2~10/28	毎週水曜日の午前7時~翌朝7時
2 カラス	①高岡市古城公園	6/2~10/14	毎週水曜日の午前11時~翌朝9時
	②富山市城址公園	5/12~10/14	毎週水曜日の午後2時~翌朝8時30分
	③衛研隣杉林(鶏舎)	5/12~10/28	毎週水曜日の午後0時30分~翌朝8時
	④衛生研究所動物舎	5/12~10/28	毎週水曜日の午後0時30分~翌朝8時
3 他	①丘陵際農村地域	6/2~10/22	毎週水曜日の午後18時30分~翌朝9時
	②山間高地農村地域	5/14~10/10	8月は毎週、それ以外は隔週のほぼ金曜日の午後~翌朝

げ、さらに北側の立木(アオキ)の1mにもトラップを吊り下げた。カラスのねぐら近く定点では、高い樹木を選んで地面近くと出来るだけ高い位置にトラップを吊り下げた。適当な樹木が無い場合には近くの建物の壁面、回廊を利用しトラップを設置した(表1)。

調査期間、時間：早い定点では5月第1週から、遅い定点は6月第1週から調査を開始し、10月1週もしくは4週まで、ほぼ毎週水曜日の13~14時にトラップを設置稼

動し、翌朝8~9時に回収した。

ウイルスの検出方法：捕集蚊を種類別・定点別・捕集日別に分け、最大50個体までを1プールとして細胞維持培地で磨砕し、遠心上清をヒトスジマカ由来のC6/36細胞に接種し28℃、5% CO₂下で培養した。同時にアフリカミドリザル由来のVero9013細胞にも接種し、37℃、5% CO₂下で培養した。6~8日間観察して細胞変性(CPE)の有無を確認後、培養上清を新し

い細胞に接種し、再度同一条件下で培養して観察した。C6/36細胞については継代をもう1回繰り返して観察を続けた。

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて、C6/36細胞の3代目継代培地上清からウイルスRNAの抽出を行った。つぎに、フラビウイルスNS3領域を対象としたプライマーセット Fla-U5004/Fla-U5457[3]を用いてRT-PCRを実施した。温度条件は53°C40分、(92°C1分、53°C1分、72°C1分)×40cycle、72°C5分で行った。

調査結果

一般住宅での捕集成績：表2に、定点別に捕集数を示した。表2-1の一般民家では、都市部住宅で3種55個体が捕集され、その内の67.3%がアカイエカ、29.1%がヒトスジシマカ、3.6%がコガタアカイエカであった。都市周縁住宅でも同じく3種で83個体捕集され、85.5%がアカイエカ、それぞれ7.2%がヒトスジシマカ、コガタアカイエカであった。都市周縁団地住宅では4種60個体が捕集され、アカイエカが最も多く81.7%、ついでコガタアカイエカの10%、ヒトスジシマカの5%、フトシマツノフサカの1.7%であった。

郊外住宅団地の民家では3種41個体が捕集され、その内訳はヒトスジシマカ56.1%、アカイエカ31.7%、コガタアカイエカ12.2%であった。海岸住宅街の民家では330個体と、最も多数の蚊が捕集され、その内訳はアカイエカ85.8%、ヒトスジシマカ12.1%、コガタアカイエカ1.5%、ヤマダシマカ0.6%であった。

農村地域住宅団地の民家では76個体が捕集され、その内訳はコガタアカイエカ76.3%、ヒトスジシマカ10.5%、アカイエカ9.2%、ヤマダシマカ3.9%であった。農村地域住宅では23個体が捕集され、その内訳はコガタアカイエカとアカイエカがそれぞれ47.8%、フトシマツノフサカが4.3%であった。

農村地域の住宅団地の民家における蚊類の小分布

狭い範囲でもトラップの設置場所により捕集される蚊の種類および数に相違がみられるか、農村地域の中規模住宅団地（1982年造成；全数103戸）の一般家屋で観察を行った。敷地面積は約南北18m×東西17mで、南北に幅6mの道路があり、それに面した桜の木（東）、北側の壁際のアオキの高さ約1mにトラップを吊るした（隣家は空き地）。さらに、敷地の南西隅の柿の木1mと3.5mに吊るした。南側は空き地、西側は住宅があり背中合わせになっている。この柿の周辺および下にはツバキ、サンショウ、キイチゴ、ミョウ

ガなど繁茂しており、毎回のトラップ設置稼働や回収の際にヒトスジシマカ？が人へ襲来した。

北壁際のトラップでは3種48個体が捕集され、その85.4%がコガタアカイエカ、8.3%がアカイエカ、6.3%がヒトスジシマカであった（表2-3）。東側桜のトラップの成績は既述の農村地域の団地民家で述べた通り（表2-2）、4種76個体が捕集され、76.3%がコガタアカイエカであった。南西隅の高さ1mトラップでは6種674個体が捕集され、87.8%がコガタアカイエカ、7.9%がヒトスジシマカ、3%がアカイエカ、0.7%がヤマダシマカ、0.4%がヤマトヤブカで、0.1%がカラツイエカであった。高さ3.5mトラップでは5種142個体が捕集され、84.5%がコガタアカイエカ、12%がアカイエカ、2.1%がヒトスジシマカ、ハマダライエカとフトシマツノフサカがそれぞれ0.7%であった。

カラスのねぐら近くでの捕集成績：表2-3に、まとめて示した。高岡古城公園の高さ1mトラップでは23個体が捕集され、その内訳はヒトスジシマカとアカイエカがそれぞれ43.5%、8.7%がコガタアカイエカ、4.3%がヤマトヤブカであった。高さ8mのトラップでは11個体のみの捕集であり、全てがアカイエカであった。

富山城址公園ではトラップを設置するための適当な立ち木が無かったので、2003年と同様に公園内の富山市図書館の回廊にトラップを設置した。高さ1mのトラップは地上の植え込みの中に吊るし、89個体が捕集された。74.2%がアカイエカ、21.3%がヒトスジシマカ、4.5%がコガタアカイエカであった。12mトラップは4階の回廊に吊り下げ、10個体のアカイエカと1個体のフタクロホシチビカが捕集された。20mトラップは6階の回廊に吊り下げ、アカイエカ1個体のみの捕集であった。

衛生研究所隣の杉林は後述の衛生研究所動物舎とは20mほどしか離れていない。この杉林はカラスがねぐらにしており巣がある。また、杉林に隣接して愛玩鶏の鶏舎と番犬の犬小屋がある。それらは高さ1mトラップと10mほどしか離れていない。この1mトラップではわずかにヒトスジシマカ2個体、アカイエカ1個体しか捕集されなかった。6.5mトラップでは21個体が捕集され、その内訳はアカイエカ57.1%、コガタアカイエカ33.3%、ヤマトヤブカとフタクロホシチビカが各1個体（4.8%）であった。

当衛生研究所動物舎の屋上には、前述の杉林からカラスが頻繁に飛来する。ここのトラップは東京エーエス社製（100V15W 誘虫円型管）を用い、一般民家同様にドライアイス1kgを添加した。人の通行の妨げにならない様に地上2mに設置したトラップには28個体が

表2. 各定点における蚊種別の捕集数(雌雄合計, 平成16年)

1 一般民家

住宅区分	トラップ 設置高	蚊の種類						計	
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	ヤマダ	ツノサカ		その他
都市住宅	1m	2	37	16	0	0	0	0	55
都市周縁	1m	6	71	6	0	0	0	0	83
都市団地	1m	6	49	3	0	0	2	0	60
郊外団地	1m	5	13	23	0	0	0	0	41
海岸住宅	1m	5	283	40	0	2	0	0	330
農村団地	1m	58	7	8	0	3	0	0	76
農村住宅	1m	11	11	0	0	0	1	0	23
	計	93	471	96	0	5	3	0	668

コガタカはコガタカイカ、ヒスジはヒスジシカ、ヤマトはヤマトヤブカ、ヤマダはヤマダシカ、ツノサカはツノツノサカを指す。

2 農村地域住宅団地の民家における蚊の小分布

トラップ 設置場所	トラップ 設置高	蚊の種類						計	
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	ヤマダ	ハマダラ		その他
北壁際	1m	41	4	3	0	0	0	0	48
東道路際	1m	58	7	8	0	3	0	0	76
西南隅柿	1m	592	20	53	3	5	0	1	674
西南隅柿	3.5m	120	17	3	0	0	1	1	142
	計	811	48	67	3	8	1	2	940

ハマダラはハマダライカを指し、その他はカツイカ1個体とツノツノサカ1個体である。

3 カラスのねぐら近く

定点名	トラップ 設置高	蚊の種類						計	
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	キノハラ	ハマダラ		その他
高岡古城	1m	2	10	10	1	0	0	0	23
	8m	0	11	0	0	0	0	0	11
富山城址	1m	4	66	19	0	0	0	0	89
	12m	0	10	0	0	0	0	1	11
	20m	0	1	0	0	0	0	0	1
衛研隣杉林	1m	0	1	2	0	0	0	0	3
	6.5m	7	12	1	0	0	0	1	21
衛生研究所	1m	25	2	0	1	0	0	0	28
	6.5m	21	0	0	0	0	0	0	21
	計	59	113	32	2	0	0	2	208

その他はチビカの1種と思われるが未同定である。

4 その他

定点名	畜種 トラップ高	蚊の種類						計	
		コガタカ	アカイカ	ヒスジ	ヤマト	材カ	ツハマ		その他
丘陵際農村	馬、2m	12,739	259	0	9	1	0	0	13,008
高地農村	肉牛、2m	556	1	9	8	8	250	6	838
	計	13,295	260	9	17	9	250	6	13,846

材カは材カヤブカ、ツハマはツハマカを指す。

その他はカツイカ3個体、キノヤブカ2個体、ハマダライカ1個体である。

平成17年11月1日

表3. 蚊種別捕集数の2003年と2004年の比較（雌雄合計）

1. 一般民家

調査地点	コガタカイロ		アカイエカ		ヒスジシマ		ヤマトヤブカ		その他		計	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
①都市部住宅街	7	2	51	37	18	16	0	0	0	0	76	55
④郊外住宅団地	3	5	10	13	66	23	0	0	1	0	80	41
⑤海岸地域住宅	48	5	1,103	283	37	40	0	0	0	2	1,188	330
⑥農村地域団地	82	58	1	7	1	8	0	0	0	3	89	76
計	140	70	1,165	340	122	87	0	0	1	5	1,433	502

その他；2003年はオカロヤブカ、2004年はヤマダシマである。

2. カラスのねぐら近く

調査地点	コガタカイロ		アカイエカ		ヒスジシマ		ヤマトヤブカ		その他		計	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
①高岡古城 1m	6	2	33	10	36	10	0	1	0	0	69	23
① 同 上 8m	1	0	93	11	0	0	0	0	4	0	99	11
②富山城址 1m	1	4	113	66	15	19	0	0	0	0	122	89
② 同 上 12m	0	0	4	10	0	0	0	0	0	1	4	11
② 同 上 20m	0	0	4	1	0	0	0	0	0	0	5	1
③衛研隣杉林 1m	35	0	12	1	14	2	3	0	10	0	72	3
③ 同 上 6.5m	7	7	9	12	0	1	1	0	7	1	22	21
④衛生研究所 2m	37	25	7	2	1	0	0	1	0	0	44	28
④ 同 上 6.5m	14	21	4	0	0	0	1	0	0	0	19	21
計	101	59	279	113	66	32	5	2	21	2	456	208

その他；2003年はハマダライロ、トラフカイロ、キンダライロ、フクロシビカであり、2004年は破損分類不能個体である。

3. 農村地域住宅団地の民家における蚊の小分布

トラップの設置場所	コガタカイロ		アカイエカ		ヒスジシマ		ヤマトヤブカ		その他		計	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
東道路際 1m	87	58	1	7	1	8	0	0	0	3	89	76
西南隅柿 1m	252	592	29	20	22	53	13	3	2	6	318	674
西南隅柿 3.5m	128	120	6	17	5	3	3	0	0	2	142	142
北壁際 1m	-	41	-	4	-	3	-	0	-	0	-	48
計	467	811	36	48	28	67	16	3	2	11	549	940

その他；2003年はハマダライロ、オカロヤブカであり、2004年はヤマダシマ、カマシカ、フシマツバサである。

4. 厩舎と高地農村牛舎

調査地点	コガタカイロ		アカイエカ		ヒスジシマ		シハマダライロ		その他		計	
	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004	2003	2004
丘陵際厩舎 2m	8,603	12,739	164	259	7	0	0	0	8	10	8,783	13,008
高地牛舎 2m	1,491	556	4	1	16	9	341	250	36	22	1,889	838
計	10,094	13,295	168	260	23	9	341	250	44	32	10,672	13,846

その他；ヤマトヤブカ、オカロヤブカ、キンダライロ、ハマダライロ、カマシカなどである。

捕集され、その内訳はコガタアカイエカが89.3%、アカイエカ7.1%、ヤマトヤブカ3.6%であった。動物舎の煙突6.5mに設置したトラップには、21個体が捕集され、全てがコガタアカイエカであった。

その他の定点として、富山市婦中町の乗馬クラブの厩舎と岐阜県飛騨市神岡の牛舎での成績を表2-4に示した。前者は東京エース社製のライトトラップ、後者は野沢製作所製のライトトラップを用い、ドライアイスは添加しなかった。厩舎では4種類の蚊が13,008個体捕集されたが、大部分の97.9%がコガタアカイエカであり、残りはアカイエカの2%とヤマトヤブカの8個体(0.1%)およびオオクロヤブカの1個体であった。標高825mにある飛騨市の牛舎では、838個体の蚊類が捕集され、66.3%がコガタアカイエカ、29.8%がシナハマダラカであり、残りは7種類32個体(3.8%)であった。

2003年と2004年の捕集蚊の比較

表3に、定点別にまとめて示した。表3-1には一般民家の成績を示したが、4定点全てで捕集数が2004年には減少した。都市部住宅と海岸地域住宅ではアカイエカ、郊外団地住宅ではヒトスジシマカ、農村団地住宅ではコガタアカイエカの減少が顕著であった。一方で、郊外団地住宅以外ではヒトスジシマカの減少は顕著ではなく、逆に増加した定点もみられた。

表3-2に示したカラスのねぐら近くにおける調査でも、2004年には減少した定点がほとんどで、富山市城址公園を除いた3地域で明瞭であった。とくに、衛研隣杉林の1mトラップで顕著であった(減少率95.8%)。逆に増加した定点は、富山城址公園の12mトラップで増加率280%、衛生研究所の6.5mトラップの110%であった。

農村地域住宅団地における蚊の小分布の調査では、トラップを吊るした場所により、増加した蚊種と減少した蚊種がみられた。コガタアカイエカは西南隅の1mトラップで2.3倍に増加した以外、他のトラップでは減少した。アカイエカは逆に、西南隅1mトラップで減少したが、他のトラップでは増加した。さらに、ヒトスジシマカは西南隅3.5mトラップで減少したが、他のトラップでは増加した。ヤマトヤブカは2003年も決して多くはなかったが、2004年はさらに減少した。

富山市婦中町の乗馬クラブの厩舎では(表3-4)、2003年に比べ2004年には全般的に捕集数が増加して約1.5倍になったが、ヒトスジシマカのみが捕集されなくなった。岐阜県飛騨市神岡の牛舎では、全般的に捕集数は明瞭に減少し、2004年は2003年の44.4%になった。とくに、コガタアカイエカの減少(37.3%)が顕著であっ

表4. ウイルス保有調査を行った蚊検体(種類別)

蚊の種類	プール数	個体数
アカイエカ	162	911
コガタアカイエカ	137	2,675
ヒトスジシマカ	65	154
ヤマダシマカ	5	5
ヤマトヤブカ	5	5
フトシマツノフサカ	4	4
カラツイエカ	1	1
シナハマダラカ	1	1
ハマダライエカ	1	1
不明(破損個体)	1	1
合計	382	3,758

た。

捕集蚊からのウイルス検出

表4に示すように、雌蚊のみの合計3,758個体382プールについて調べたところ、農村部団地住宅において6月に捕集したヒトスジシマカ2個体1プール、都市部住宅街において8月に捕集したアカイエカ8個体1プール、都市郊外牛舎付近の畑で捕集した7月の2プール(コガタアカイエカ50個体、アカイエカ12個体)、10月のコガタアカイエカ47個体1プール、海岸地域住宅において7月に捕集したアカイエカ4プール(50, 50, 22, 23個体)と、9月の29個体1プールのアカイエカにCPEが観察された(表5, 6)。RT-PCRによるフラビウウイルスの検出を行なったところ、全て陰性であった(表5)。

考 察

一般住宅における捕集蚊の種構成をみると、農村部住宅でヒトスジシマカが捕れなかった以外、他の全ての住宅で、コガタアカイエカ、アカイエカ、ヒトスジシマカの3種が捕集された。この3種の構成割合が住宅立地環境で異なる傾向がみられ、アカイエカは比較的広い範囲(環境)で捕集され、とくに海岸部、都市部、都市周縁部の住宅で多く、ヒトスジシマカは団地などの純住宅街で、コガタアカイエカは農村地域で圧倒的に多数捕集された。ただ、コガタアカイエカは発生源が近辺に見られない様な都市部でも捕集され、飛翔範囲が広いのが再確認された[4,5]。今後は成虫の捕集成績を補完する意味においても発生源の検索が必要である。

カラスのねぐら近くの高岡古城公園、富山市城址公園、衛研隣杉林においてはアカイエカが、他種に比べ

表5. CPEの有無とPCRの結果(地点別)

区分		設置場所	プール数	個体数	細胞変性 (プール)	フラビPCR (C6/36)
民 家	都市部住宅街	富山市鹿島町	24	53	1	-
	都市部周縁住宅	富山市富岡町	21	81	-	-
	都市部新興団地	富山市呉羽町	23	57	-	-
	郊外大型住宅団地	小杉町中太閤山	21	35	-	-
	海岸地域混合地区	新湊市海老江	38	328	5	-
	農村地域住宅団地	大山町津羽見 桜木	19	71	-	-
		大山町津羽見 八手	13	45	-	-
		大山町津羽見 柿上	21	142	-	-
		大山町津羽見 柿下	49	661	1	-
	農村地域住宅	福野町安居	14	23	-	-
カ ラ ス の ね ぐ ら	高岡市古城公園	地上8m	7	11	-	-
		地上1m	15	17	-	-
	富山市城址公園	地上20m	1	1	-	-
		地上12m	5	11	-	-
		地上1m	22	86	-	-
	小杉町鶏杉林	地上6.5m	14	19	-	-
		地上1m	2	3	-	-
	小杉町衛研動物舎	地上6.5m	6	21	-	-
		地上2m	9	28	-	-
	日 脳 定 点	畑(牛舎付近)	富山市大井	33	1,305	3
牛 舎		小矢部市鷺島	25	760	-	-
合 計			382	3,758	10	0

表6. 細胞変性が見られた蚊検体

番号	種 名	数	定点名	捕集日	接種した細胞と CPE の有無	
					C6/36	Vero9013
32	ヒトスジシマカ	2	大山町津羽見 柿下	2004/6/30	+	-
39・40	アカイエカ	50	新湊市海老江	2004/7/7	+	-
41・42	アカイエカ	50	新湊市海老江	2004/7/7	+	-
43	アカイエカ	22	新湊市海老江	2004/7/7	+	-
71・72	コガタアカイエカ	50	富山市大井	2004/7/13	+	-
75	アカイエカ	12	富山市大井	2004/7/13	+	-
79	アカイエカ	23	新湊市海老江	2004/7/14	+	-
250	アカイエカ	8	富山市鹿島町	2004/8/25	+	-
351・352	アカイエカ	29	新湊市海老江	2004/9/8	+	-
541・542	コガタアカイエカ	47	富山市大井	2004/10/6	+	-

多く捕集され、しかも地上よりも高い位置のトラップで捕集されていることから、カラス(鳥)⇒ヒトへのウイルス媒介に重要な役割を果たす可能性がある。

富山城址公園の市立図書館回廊では(12, 20mトラップ)捕集数は極めて少なく、建物の壁面では風などの影響があり、炭酸ガスの飛散が乱れたり、蚊が飛翔しにくいのかも知れない。それは衛生研究所動物舎の壁面トラップでも捕集数が少ないことから、同様と思われる。ただ、この定点はコガタアカイエカの捕集数が前述の高岡古城公園や富山城址公園に比べて多く、付近の環境を把握すると同時に、蚊種による飛翔行動の相違を明らかにする必要があると認められる。

農村地域の新興団地住宅では、道路に面した場所と庭の奥の隣家との境界に設置したトラップでは、明らかに境界設置のトラップで多種多数が捕集され、しかも3.5mトラップでも道路に面したトラップや北側に設置したトラップよりも多く捕集された。このように、一般民家の面積が狭い庭などでもトラップの設置場所が異なると、捕集種・数に相違がみられることから、トラップを設置する場合考慮する必要があると同時に、緊急の成虫駆除を考えた場合、丁寧に徹底した薬剤散布が必要であることを示している。

2004年は2003年よりも捕集数が全般に減少したが、その原因については現時点では明確に出来ない。2004年は明らかに2003年よりも、暑い夏に終始し、水田を主な発生源にするコガタアカイエカは増加傾向を示した(本誌; xx-xx)。今後、さらにこの調査を続け、発生源の確認調査を加えて、アカイエカ、ヒトスジシマカなど人家周辺に生息する蚊の増減機構を明らかにしたい。

捕集蚊からのウイルス検出では、C6/36細胞においてCPEが観察された検体が10プールみられたが、フラビウイルスNS3領域を対象としたPCRで陽性となったものはなかった。すなわち、目的とするウエストナイルウイルス・日本脳炎ウイルスなどのフラビウイルス群は検出されなかった。Vero9013細胞に接種した場合にCPEがみられなかったことから、蚊特有のウイルスが検出された可能性が高いと考えられる。

ま と め

各環境の一般住宅においてWNV, DFV, JEVなどを媒介するアカイエカ、ヒトスジシマカ、コガタアカイエカが捕集された。都市部、都市周縁部および海岸住宅街の民家ではアカイエカ、郊外大規模団地の民家ではヒトスジシマカ、農村地域の民家ではコガタアカイエカが多く捕集され、環境により捕集される蚊種に相違がみられた。

カラスのねぐら近くの調査では、都市部にあるねぐらではアカイエカが全般に多いが、低い位置のトラップではヒトスジシマカの占める割合が、高い位置のトラップよりも明瞭に高くなった。郊外にあるカラスのねぐら近くでは、コガタアカイエカが全般に多く、アカイエカは高い位置のトラップで捕れる傾向がみられた。

捕集蚊からはウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルスなどのフラビウイルス群は検出されなかった。

謝 辞

本調査の実施にあたり、トラップの設置に快諾頂いた富山市図書館、高岡市動物園の関係者の皆様、一般民家での調査にご協力頂いた当研究所元職員の石倉康宏博士、現職員の林 美貴子博士、米田 豊氏、堀元栄詞氏、岩井雅恵氏、さらに高岡古城公園での調査にご協力を頂いた高岡厚生センター高田正耕次長はじめ衛生課の皆様には厚くお礼を申し上げます。

文 献

1. 小林睦生(2003). 感染症, 33,29-39.
2. 渡辺 護, 長谷川澄代, 米道暁彦(2003). 富山衛研年報, 26,74-84.
3. 国立感染症研究所編(2004). ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル(第3版)
4. 伊藤寿美代・藤戸貞男・杜下治三郎・中村 央(1979). 衛生動物, 27:145-152.
5. Wada, Y., Kawai, T., Oda, I., Miyagi, O., Suenaga, J., Nishigaki, J. and Omori, N. (1969). Trop. Med., 15:11-22.

ポリオ流行予測調査

岩井雅恵 長谷川澄代 松浦久美子 堀元栄詞
小原真弓 永井美之 番留忠司¹ 田中桂子²
飛田忠嗣³ 田中有易知⁴ 瀧波賢治⁵

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture

Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Kumiko MATSUURA, Eiji HORIMOTO
Mayumi OBARA, Yoshiyuki NAGAI, Chuji BANDOME¹, Keiko TANAKA²,
Tadatsugu TOBITA³, Yuichi TANAKA⁴ and Kenji TAKINAMI⁵

要旨 平成16年度ポリオ流行予測調査として、感染源調査と感受性調査を実施した。

感染源調査は、ポリオワクチン接種後2カ月以上経過した時点で、0歳から5歳までの乳幼児52名から糞便を採取し、ウイルス分離を実施した。その結果、0才9ヶ月の男児1名からポリオウイルス2型が検出され、1歳8ヶ月の女児1名からアデノウイルス2型が検出された。ポリオウイルス2型が検出された男児は、約3ヶ月10日前にポリオ生ワクチンの初回接種を受けており、検出されたウイルスは、型内型鑑別の結果、ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)であった。VDPVが検出されたことを受けて、VDPVの由来や周囲への感染の有無を調べるために追跡調査として本人および同居家族の便検査や生活歴の聞き取りなどを行った。その結果、ポリオウイルスは検出されず、本人および同居家族は健康であることを確認した。

感受性調査は、全年齢層(0歳～75歳)の202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する抗体価4倍以上の抗体保有率は、1型では95.5%、2型では96.5%、3型では82.7%であった。また、抗体保有者の平均抗体価は、1型は159.4倍、2型が185.3倍、3型では48.1倍であった。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業のひとつとして国からの依頼を受け、昭和38年から毎年実施している調査である。本年度は感染源調査が委託された。感受性調査については、今年度は昨年度から3年間の予定の厚生労働科学研究(主任研究者：加藤達夫；聖マリアンナ医科大学小児科、分担研究者：宮村達夫；国立感染症研究所ウイルス第2部)による調査が行われ、これに参加した。両調査結果を合わせて報告する。

富山県における過去25年間の感染源調査では、1983年度にポリオウイルス1型が1株、1992年度に同3型が1株、1999年度に同2型が1株、2001年度に同2型が2株、分離された。しかしながら、これら5株ともワクチン由来であり、野生型は分離されなかった。一方、抗体保有率から、富山県民は1型、2型、3型ともポリオの流行を十分に阻止しうる免疫保有状態にあると考えられた。しかしながら、1～3型すべてに対する抗体を保有している人は県民の約4分の3であり、残りは少なく

とも1種類またはそれ以上の抗体を保有していないという状況は変わっていない。

1988年に決議された世界保健機関(WHO)によるポリオ根絶作戦により、世界のほとんどの地域でポリオウイルスが駆逐されている。日本の属する西太平洋地域における根絶は2000年10月に宣言された。しかしながら、インドやアフリカなどの一部には依然として野生型ポリオウイルスが存在する。2003年末に野生株による流行国は6カ国(インド、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリア、ニジェール、エジプト)となった[1]。しかしながら、野生株フリーとなっていたアフリカの国々で2003年から2004年に、ナイジェリア由来と考えられるポリオ症例または伝播が起こり[2]、さらに2005年にはイエメンやインドネシアでも集団発生が報告されている[3][4]。また、ワクチン由来ポリオウイルス(VDPV)についても、2000-2001年ハイチおよびドミニカ共和国、2001年フィリピン、2001-2002年マダガスカルなどで流行が報告されている[5][6][7]。これらの国は、野生株フリーが達成され、ワ

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

クチン接種率が低下していた。これらのことから、海外からのポリオウイルス侵入やVDPVの挙動に対する監視体制と、集団および個人レベルでの感染防御を視野に入れて、県民の抗体保有状況を把握することは重要であると考えられる。

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

1 感染源調査
調査および検査方法

健康な乳幼児を対象にして、砺波厚生センター管内は春期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成16年9月に、新川厚生センター管内は秋期ポリオワクチン投与後2ヶ月以上経過した平成17年1月および2月に、調査を実施した。検査対象年齢区分は0~1歳、2~3歳、4~6歳で、男女を問わず各区分20名、計60名を予定したが、実際には、0~5歳合計で52名の検体を採取した。また、検査対象者のポリオワクチン接種歴なども調査した。

ウイルスの検索は「感染症流行予測調査事業検査術式」[8]に準じて行った。採取した糞便にEagle-

MEM培養液(日水製薬KK)を加えて約10%乳剤を作製し、3,000回転30分、10,000回転30分の遠心を行った。得られた上清に抗生物質を加えて、ウイルス分離材料とした。分離用細胞としてはVero, MA-104, RD-18 S, HEp-2を使用し、細胞変性効果を指標とした。

結果および考察

砺波厚生センター管内の小矢部市で0歳児10名、新川厚生センター管内の黒部市で0歳~5歳児42名の合計52名から採取された糞便についてウイルス分離検査を行なった。その結果、0才9ヶ月の男児1名からポリオウイルス2型が、1歳8ヶ月の女児1名からアデノウイルス2型が検出された(Table1)。

ポリオウイルス2型が検出された男児は、約3ヶ月10日前にポリオ生ワクチンの初回接種を受けていた。ポリオウイルス2型は、国立感染症研究所における型内型鑑別試験の結果、VP1領域(903塩基)についてSabin株と比較すると、変異率が1.2%であり、WHOの基準によるVDPVであると判定された。VDPVは、VP1全領域についてSabin株からの変異率が1%以上であるウイルスであると定義されている[9]。

VDPVが検出されたことを受け、VDPVの由来や周囲への感染の有無等を調べるため、追跡調査を行っ

Table 1. Virus isolation from feces of children

Area	Age (Year)	No. of feces	Virus isolation positive		Type of virus		
			No.	(%)	Polio2	Adeno2	unknown
Kurobe	0	0	-	-			
	1	3	1	33		1	
	2	1	0	0			
	3	14	0	0			
	4	6	0	0			
	5	18	0	0			
	6	0	-	-			
	Subtotal	42	1	2			
Oyabe	0	10	3	30	1		2
	1	0	-	-			
	2	0	-	-			
	3	0	-	-			
	4	0	-	-			
	5	0	-	-			
	6	0	-	-			
	Subtotal	10	3	30	1	1	2
Total	52	4	7.69	1	1	2	

Date of surbey : Kurobe ; Jan.31-Feb.4,2005. Oyabe ; Sep.8-9,2004.

* : Polio2; Poliovirus type2, Adeno2; Adenovirus type2

平成17年11月1日

た。すなわち、男児および同居家族の便からのウイルス分離検査、男児の既往歴や男児および同居家族の生活歴（保育園入園の有無、職業等）の聞き取り調査を行った。追跡調査は、男児のポリオ生ワクチン初回接種から約6ヶ月、2回目ワクチンから約2ヶ月10日経過した時期に行った。

聞き取り調査の結果、男児は健康であり、保育園等には入園していなかった。同居家族について、ポリオワクチン歴は不明であるが最近約5年間は接種していないとのことであった。追跡調査における便からのウイルス分離検査の結果、男児からアデノウイルス2型が検出されたが、男児および同居家族ともにポリオウイルスは検出されなかった。VDPVが検出された今回の一例の型内鑑別試験や追跡調査の詳細については、本年報に別記したので参照されたい。

II 感受性調査 調査および検査方法

平成16年6月から9月にかけて、高岡、新川、中部、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、乳児から成人まで合計202名（0～75歳）について採血と予防接種歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[8]に準じて行った。被験血清をEagle-MEM培養液で4倍希釈し、56°C30分間非働化した後、その50 μ lを96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μ lとなるように調製した1～3型の弱毒セービンウイルス50 μ lを加えてよく混和し、37°C、3時間および4°C一晩の中和反応を行った。中和後、Vero細胞浮遊液（1～2 \times 10⁵細胞/ml）を100 μ lずつ加え、37°C、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、中和抗体価を測定した。各血清ごとに同時に2回ずつ測定した。弱毒セービンウイルスは、平成15年度に国立感染症研究所から分与され、当研究所においてVero細胞で2代継代したものを使用した。

結果および考察

ポリオウイルス各型に対する中和抗体価の保有状況をウイルス型別、年齢区別にまとめてTable2に示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が96.5%（195/202）で最も高く、次いで1型が95.5%（193/202）、3型は82.7%（167/202）であった。これらの結果は昨年度の調査結果（1型96.6%、2型100%、3型83.3%）とほぼ同様であり、いずれの型に対しても集団免

疫として十分な状況であった。各年齢区分をみると、1型では0～1歳が72.7%であったが、それ以外の年齢区分では93%以上が抗体を保有していた。2型では、0～1歳が72.7%、50～59歳が90.9%、60歳以上が96.0%であり、それ以外では100%の抗体保有率であった。一方、3型は20～24歳が57.1%と最も低く、次いで0～1歳が63.6%、25～29歳が66.7%、30～39歳が68.0%であり、1型や2型に比べて低く、また年齢区分によってばらつきが認められた。

抗体保有者の平均抗体価（幾何平均）は、1型では40～49歳の64.0倍から2～3歳の588.1倍までを示し、平均は159.4倍であった。2型では40～49歳および50～59歳の90.5倍から0～1歳の1024.0倍までを示し、平均は185.3倍であった。一方、3型では0～1歳は463.7倍であったが、それ以外では20.4倍から85.4倍までを示し、平均は48.1倍であり、1型や2型と比べて低かった。

Table 3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。ワクチン接種者全体の抗体保有率は、1型97.4%（112/115）、2型99.1%（114/115）であり、また、1回のみでも十分な抗体獲得率を示している。しかし、3型の場合の陽性率は81.7%（94/115）にとどまり、1型や2型と比べて低かった。これらの結果も過去の調査結果[10]と同様であった。ポリオ生ワクチンは、日本では1961年から導入され、全国の乳幼児を対象に一斉に投与された。1963年からは引き続き2回接種が定期的に行われている[11]。

個人レベルの型別抗体保有状況を年齢別に示した（Table 4）。1～3のすべての型に対する抗体保有率は、全体では77.7%（157/202）であり、保有率が比較的低い年齢としては0～1歳の54.5%（6/11）、20～24歳の57.1%（4/7）、30～39歳の64.0%（16/25）、25～29歳の66.7%（2/3）であった。今回の調査では、1型に対する抗体保有率が低いとされている昭和50年（1975年）から52年（1977年）生まれ[12]の検体が1名あったが、すべての型の抗体を有していた。一方、すべての型に対する抗体陰性者は0歳1名、1歳1名であり、それぞれワクチン歴無しと不明であった。3種類のいずれかに対する抗体を持っていなかったのは45名（22.3%）で、このうち2回の接種が済んでいる人は15名、1回が3名、0回が2名、回数不明が6名、接種不明が19名であった。

野生型ポリオウイルスは、インドやアフリカなどで依然として感染が続いており、これらの地域からの侵入の可能性があるため、その監視は続けなければならない。一方、生ワクチン接種に由来する2次感染は約580万 dose に1症例発生するといわれている[13]。ワクチンを接種した子供から2次感染によってポリオ麻痺を発症した父親の事例[14]に見られるように、ワク

Table 2. Numbers of sera possessing neutralizing antibodies

Type1														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	11	3	0	2	0	0	0	0	0	0	6	8	72.7	304.4
2~3	10	0	0	0	0	0	0	2	1	0	7	10	100	588.1
4~6	14	0	0	0	0	1	1	0	2	1	9	14	100	512.0
7~9	14	0	0	0	0	0	2	1	1	2	8	14	100	487.3
10~14	31	1	0	0	0	1	4	1	3	6	15	30	96.8	445.7
15~19	7	0	0	0	1	1	0	1	2	1	1	7	100	156.0
20~24	7	0	0	1	0	1	2	1	1	1	0	7	100	78.0
25~29	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	1	3	100	101.6
30~39	25	1	0	0	2	4	7	7	2	1	1	24	96.0	85.4
40~49	22	1	1	1	2	3	6	5	1	1	1	21	95.5	64.0
50~59	33	2	2	2	2	5	6	6	5	2	1	31	93.9	68.4
60~	25	1	1	1	2	3	6	4	2	3	2	24	96.0	87.9
Total	202	9	4	7	9	21	34	28	20	18	52	193	95.5	159.4
(%)	100	4.5	2.0	3.5	4.5	10.4	16.8	13.9	9.9	8.9	25.7	95.5		

Type2														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	11	3	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	72.7	1024.0
2~3	10	0	0	0	0	0	0	1	0	3	6	10	100	675.6
4~6	14	0	0	0	0	0	1	1	2	3	7	14	100	512.0
7~9	14	0	0	0	0	0	1	1	3	3	6	14	100	463.7
10~14	31	0	0	0	1	1	2	8	10	6	3	31	100	218.9
15~19	7	0	0	0	0	2	1	3	0	1	0	7	100	95.1
20~24	7	0	0	0	0	1	0	0	3	2	1	7	100	282.6
25~29	3	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	3	100	406.4
30~39	25	0	0	0	1	2	7	5	6	2	2	25	100	135.3
40~49	22	0	0	3	1	4	2	5	2	3	2	22	100	90.5
50~59	33	3	1	1	3	5	5	7	1	4	3	30	90.9	90.5
60~	25	1	0	1	4	2	5	4	2	3	3	24	96.0	101.6
Total	202	7	1	5	10	17	24	35	31	30	42	195	96.5	185.3
(%)	100	3.5	0.5	2.5	5.0	8.4	11.9	17.3	15.3	14.9	20.8	96.5		

Type3														
Age group (years)	No. of sera	No. of sera with neutralizing antibody titer of										No. of positive sera	Positive rate (%)	Geometric mean titer
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024			
0~1	11	4	0	0	0	0	0	1	2	1	3	7	63.6	463.7
2~3	10	2	2	0	0	1	3	1	0	0	1	8	80.0	45.3
4~6	14	2	0	1	0	3	3	1	3	0	1	12	85.7	85.4
7~9	14	4	1	1	0	3	3	1	1	0	0	10	71.4	39.4
10~14	31	7	4	1	2	8	4	3	1	0	1	24	77.4	33.9
15~19	7	0	0	2	0	3	0	2	0	0	0	7	100	32.0
20~24	7	3	0	0	2	0	0	2	0	0	0	4	57.1	45.3
25~29	3	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	2	66.7	45.3
30~39	25	8	2	4	3	5	2	0	0	1	0	17	68.0	20.4
40~49	22	2	1	3	2	5	3	3	2	1	0	20	90.9	42.2
50~59	33	1	0	3	3	8	7	7	1	2	1	32	97.0	58.7
60~	25	1	2	1	4	5	3	5	1	2	1	24	96.0	52.3
Total	202	35	12	16	17	41	28	27	11	7	8	167	82.7	48.1
(%)	100	17.3	5.9	7.9	8.4	20.3	13.9	13.4	5.4	3.5	4.0	82.7		

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

Type1											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	11	4/4	100	4/5	80.0			0/1	0	0/1	0
2~3	10	10/10	100								
4~6	14	14/14	100								
7~9	14	12/12	100			2/2	100				
10~14	31	27/28	96.4			2/2	100	1/1	100		
15~19	7	5/5	100			1/1	100			1/1	100
20~24	7			1/1	100	4/4	100			2/2	100
25~29	3									3/3	100
30~39	25					9/9	100			15/16	93.8
40~49	22					15/16	93.8			6/6	100
50~59	33			1/1	100	1/1	100	2/3	66.7	27/28	96.4
60~	25							3/3	100	21/22	95.5
Total	202	72/73	98.6	6/7	85.7	34/35	97.1	6/8	75.0	75/79	94.9
				112/115	97.4%						

Type2											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	11	4/4	100	4/5	80.0			0/1	0	0/1	0
2~3	10	10/10	100								
4~6	14	14/14	100								
7~9	14	12/12	100			2/2	100				
10~14	31	28/28	100			2/2	100	1/1	100		
15~19	7	5/5	100			1/1	100			1/1	100
20~24	7			1/1	100	4/4	100			2/2	100
25~29	3									3/3	100
30~39	25					9/9	100			16/16	100
40~49	22					16/16	100			6/6	100
50~59	33			1/1	100	1/1	100	3/3	100	25/28	89.3
60~	25							3/3	100	21/22	95.5
Total	202	73/73	100	6/7	85.7	35/35	100	7/8	87.5	74/79	93.7
				114/115	99.1%						

Type3											
Age group (years)	No. of sera	History of vaccination						No vaccination		Unknown	
		Twice		Once		Unknown		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)
		No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)	No.*	Positive rate(%)				
0~1	11	4/4	100	3/5	60.0			0/1	0	0/1	0
2~3	10	8/10	80.0								
4~6	14	12/14	85.7								
7~9	14	9/12	75.0			1/2	50				
10~14	31	21/28	75.0			2/2	100	1/1	100		
15~19	7	5/5	100			1/1	100			1/1	100
20~24	7			1/1	100	2/4	50			1/2	50.0
25~29	3									2/3	66.7
30~39	25					8/9	88.9			9/16	56.3
40~49	22					15/16	93.8			5/6	83.3
50~59	33			1/1	100	1/1	100	2/3	66.7	28/28	100
60~	25							3/3	100	21/22	95.5
Total	202	59/73	80.8	5/7	71.4	30/35	85.7	6/8	75.0	67/79	84.8
				94/115	81.7%						

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

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

Age group (years)	No. of sera	Negative against all types	Positive against							
			Type1	Type2	Type3	Type1&2	Type2&3	Type1&3	Type1,2&3(%)	
0~1	11	2	1	0	0	1	1	0	6	(54.5)
2~3	10	0	0	0	0	2	0	0	8	(80.0)
4~6	14	0	0	0	0	2	0	0	12	(85.7)
7~9	14	0	0	0	0	4	0	0	10	(71.4)
10~14	31	0	0	0	0	7	1	0	23	(74.2)
15~19	7	0	0	0	0	0	0	0	7	(100)
20~24	7	0	0	0	0	3	0	0	4	(57.1)
25~29	3	0	0	0	0	1	0	0	2	(66.7)
30~39	25	0	0	0	0	8	1	0	16	(64.0)
40~49	22	0	0	0	0	2	1	0	19	(86.4)
50~59	33	0	0	1	0	0	1	3	28	(84.8)
60~	25	0	0	0	0	1	1	1	22	(88.0)
Total	202	2	1	1	0	31	6	4	157	
(%)	(100)	(0.99)	(0.50)	(0.50)	(0)	(15.3)	(2.97)	(1.98)	(77.7)	

チン株から毒性が復帰した株に感染する可能性は考慮しておかなければならない。このような生ワクチン由来の毒性復帰株の根絶は重要な課題となっており、日本においても生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が検討されている[15]。さらに、野生株ポリオフリーが達成され、ワクチン接種率が低下した地域でのVDPVの流行が懸念されている。例えば2000-2001年にはハイチおよびドミニカ共和国において、他のエンテロウイルスと遺伝子組換えを起こしたワクチン由来ポリオウイルス1型による患者集団発生が報告されている[5]。その他、2001年のフィリピン[6]や2001-2002年のマダガスカル[7]などにおける流行も報告されている。これらの地域ではいずれもワクチン接種率が低下しており、高い集団免疫状況を保つことの重要性が示唆される。今回の調査では、22.3%の人が3種類のポリオウイルスのうち、いずれかの型に対する抗体を持っていないことが判明した。これらの人は、海外渡航時や育児に携わる期間には特に注意が必要であると考えられる。

まとめ

感染源調査：平成17年1月、平成16年9月に、それぞれ新川厚生センター管内、砺波厚生センター管内にお

ける健康な乳幼児52名を対象に調査した結果、0才9ヶ月の男児1名からポリオウイルス2型が検出され、1歳8ヶ月の女児1名からアデノウイルス2型が検出された。ポリオウイルス2型が検出された男児は約3ヶ月10日前に生ワクチンの初回接種を受けており、検出されたウイルスは、型内型鑑別の結果、VDPVであることが判明した。VDPVの由来や周囲への感染の有無を調べるために男児および同居家族の便検査や生活歴の聞き取りなど追跡調査を行ったところ、ポリオウイルスは検出されず、男児および同居家族は健康であることが判った。

感受性調査：0歳から75歳までの202名の血清について、ポリオウイルス(弱毒セービンウイルス)に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型95.5%、2型96.5%、3型82.7%であった。また、平均抗体価(幾何平均)は1型159.4倍、2型185.3倍、3型48.1倍を示し、集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から、本県においては、野生型ポリオウイルスの侵淫や、ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。しかし、いずれかの型の抗体を保有していない人が22.3%おり、ポリオウイルス常在地からのウイルス侵入に対する警戒や、海外渡航や育児従事にあたっての注意が必要である。

平成17年11月1日

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取にご協力いただいた保育所、学校、病院、その他関係各位に感謝いたします。

文 献

1. WHO, Weekly epidemiological record, (2004). No.25, 79, 229-234.
2. WHO, Weekly epidemiological record, (2005). No.17, 80, 149-156.
3. WHO, Weekly epidemiological record, (2005). No.18, 80, 157-164.
4. WHO, Weekly epidemiological record, (2005). No.23, 80, 201-212.
5. Kew,O., Morris-Glasgow, V., Landaverde,M. et al. (2002). *science*, 296, 356-359.
6. Shimizu, H., Thorley, B., Paladin, F.J., et al. (2004). *J. Virol.*, 78, 13512-13521.
7. WHO, Weekly epidemiological record (2002). No.29, 77, 241-248.
8. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会, (平成14年), 感染症流行予測調査事業検査術式, 1-8.
9. WHO, Bulletin of the World Health Organization, (2004), vol.82, no.1.
10. 岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 他 (2004). 富山衛研年報, 27, 78-83.
11. 厚生労働省, 国立感染症研究所, (2001), IDWR, 第3巻, 第26号, 8-11.
12. 厚生省通知, (平成8年11月28日), 健医感発第147号.
13. 日本ポリオ研究所, 日本薬局方・経口生ポリオワクチン(セービン) I・II・III型混合, 添付文書
14. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課編, (2001). 病原微生物検出状況月報, 22, 63.
15. 清水博之, 武田直和, 宮村達男, (2004), 総合臨牀. 53, 6, 1860-1865.

ポリオ流行予測調査感染源調査において
ワクチン由来ポリオウイルスが検出された一例について

岩井雅恵 松浦久美子 長谷川澄代 小原真弓
堀元栄詞 永井美之 田中有易知¹
吉田 弘² 清水博之²

Isolation of Vaccine-derived Strain
in Epidemiological Surveillance of Poliovirus

Masae IWAI, Kumiko MATSUURA, Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA,
Eiji HORIMOTO, Yoshiyuki NAGAI, Yuichi TANAKA¹
Hiromu Yoshida², Hiroyuki Shimizu²

要 旨 平成16年度ポリオ流行予測調査感染源調査において、0歳9ヶ月の男児1名の糞便からポリオウイルス2型が検出された。男児は約3ヶ月10日前にポリオ生ワクチンの初回摂取を受けていた。検出されたウイルスについて、型内鑑別試験として、VP1領域および3D領域のPCR-RFLP法、同領域の塩基配列解析、モノクローナル抗体中和試験、ELISA法を行った。その結果、このウイルスは、VP1全領域の塩基配列がSabine2型と比較して1.2%異なることから、ワクチン由来ポリオウイルス (Vaccine-derived poliovirus: VDPV) と判定された。3D領域では1.0%の変異率であったことから、リコンビネーションの可能性は考えられなかった。VDPVが検出されたことをうけて、VDPVの由来や周囲への感染の有無を調べるために、男児および同居家族の便検査や生活歴の聞き取りなど追跡調査を行ったところ、ポリオウイルスは検出されず、男児および同居家族は健康であることが判った。

ポリオ流行予測感染源調査は、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調査事業のひとつとして実施されている。日本を含む西太平洋地域では、2000年にポリオ根絶宣言がされており、ポリオ流行地域からの野生株の輸入およびワクチン由来株の伝播の可能性を調査することを目的として調査が行われている。平成16年度の富山県における実施状況は本年報のポリオ流行予測調査に掲載したとおりであり、平成16年9月、平成17年1月および2月に、ポリオ生ワクチン接種後2ヶ月以上経過した時点で、0歳から5歳までの健康な乳幼児52名の糞便を採取し、ウイルス分離検査を行った。このうち、9月9日に採取した0歳9ヶ月の男児1名の糞便からポリオウイルス2型が検出された。このウイルスは国立感染症研究所で型内鑑別試験を実施したところ、世界保健機関 (WHO) の基準によるワクチン由来ポリオウイルス (Vaccine-derived poliovirus: VDPV) であった。VDPVは、親株である経口ポリオウイルスワクチン

株からのVP1領域の変異率が1-15%であることにより示される。世界では、2000-2001年ハイチおよびドミニカ共和国 [1]、2001年フィリピン [2]、2001-2002年マダガスカル [3] など、野生株ポリオフリーが宣言され、ワクチン接種率が低下した国や地域で、VDPVによるポリオ患者の発生事例が報告されており、世界的なポリオ根絶にむけて、野生株とともにVDPVの伝播の監視が厳しくなっている。このような中で、今回VDPVが分離されたことをうけて、VDPVの由来や周囲への感染等を検討するため、平成16年12月に本人とその家族について追跡調査を行った。この一例について報告する。

材料と方法

(1) 被験者について：

2型VDPVが検出された被験者は健康な0歳9ヶ月男児 (平成16年9月9日当時) である。ポリオワクチン

1. 砺波厚生センター 2. 国立感染症研究所

平成17年11月1日

接種歴は第1回目の接種が平成16年5月27日、第2回目の接種が平成16年10月6日であった。糞便は第1回目ワクチン接種から約3ヶ月10日経過した平成16年9月9日に採取した。

(2) 被験者の住む地域におけるポリオワクチン接種状況：

この地域のワクチン接種は年2回、春と秋に集団接種で行われており、春期は平成16年5月7, 11, 18, 20, 25, 27, 31日に実施され、接種率は94.3%であった。秋期は平成16年10月1, 3, 6, 12, 18, 19, 25日に実施され、接種率は102.2%であった。接種率は、地域で実際に投与されたワクチンの数を、人口動態統計によって調べられた対象年齢者の数で除して算出したものである。

(3) ウイルス分離および同定：

ポリオウイルス2型はRD-18S細胞で分離し、中和試験で同定した。型内鑑別試験には35℃の条件下RD-18S細胞で4代継代したものをを用いた。

(4) 型内鑑別試験 (Intratypic differentiation of polioviruses)：

富山県衛生研究所ではVP1領域PCR-RFLP法、VP1及び3D領域塩基配列解析を行った。

VP1領域PCR-RFLP法は、病原体検出マニュアル(国立感染症研究所、地方衛生研究所全国協議会、平成15年)に準じて行った。ウイルス培養液140μlからQIAamp Viral Mini Kit (QIAGEN)を用いてウイルスRNAを抽出した。RT-PCRは、抽出RNA 2μlとBalantらのプライマーUC1, UG1 (10pmol/μl)各1μlをReady To Go RT-PCR Beads

(Amersham Biosciences)に添加し、VP1領域480塩基を増幅した。増幅物をDde I (6U), Hae III (7.5U), Hpa II (7.5U) (Promega Biotec)各々で消化(37℃, 2時間)し、3.5%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色をしてUV下で観察した。VP1及び3D領域塩基配列解析は、まず抽出したRNAをUC11 [4]とUG1, UC12とUG7のそれぞれのプライマーを用いて上記と同様にRT-PCRを行った。次にPCR産物をMinElute PCR Purification Kit (QIAGEN)で精製し、Big Dye Terminator v.1.1 Cycle Sequencing Kit (ABI)によるシーケンス反応後、オートシーケンサーABI PRISM310により塩基配列を決定した。

国立感染症研究所における型内鑑別試験には、モノクローナル抗体中和試験、VP1及び3D領域PCR-RFLP法、塩基配列解析、ELISA法を用いた。これらの方法はPolio Laboratory Manual (WHO, 2001年)に従った。

(5) 追跡調査：

本人からポリオウイルスが排出されていないかどうか、また、周囲への感染がないかどうかを調べるため、本人及び同居家族5名の糞便を12月15日あるいは16日に採取し、ウイルス分離検査を行った。

本人の既往歴・本人及び同居家族の生活歴の聞き取り調査を実施した。

結果

(1) 型内鑑別試験結果

① PCR-RFLP法

分離株とSabin2型のVP1領域PCR-RFLP法によ

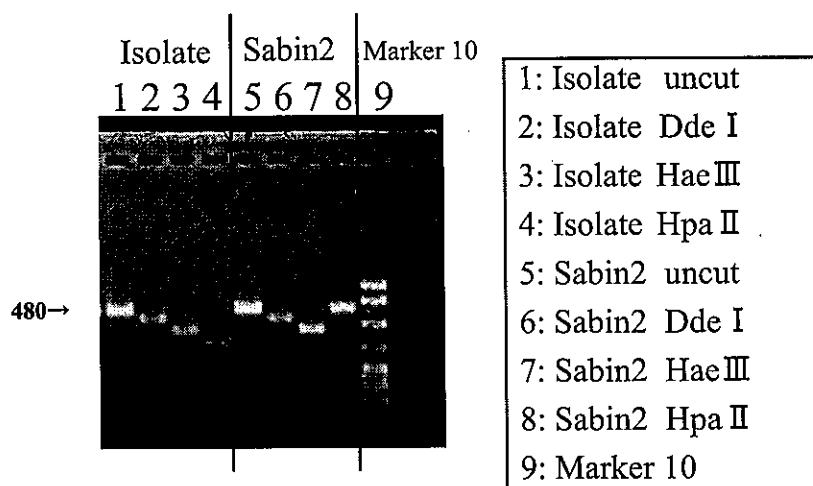


Fig. 1. The RFLP Profiles of Isolate and Sabin2 at VP1 Region.

2482		2551
2004-309-FC	GG AATTGGTG ACATGATTGA GGGGGCCGTT GAAGGGATTA CTAAAAATGC ATTGGTTCCC CCGACTTCCA	
Sabin2 (AY082679)	
2552	2570	2621
2004-309-FC	CCAATAGCCT GCCGGACATA AAGCCGAGCG GTCCAGCCCA CTCCAAGGAG ATACCTGCAT TGACAGCCGT	
Sabin2 (AY082679) T... C	
2622		2691
2004-309-FC	GGAGACAGGG GCTACCAATC CATTGGTGCC TTCGGACACC GTGCAAACGC GCCATGCAT CCAGAGACGA	
Sabin2 (AY082679) G	
2692	2716	2761
2004-309-FC	ACGCGATCAG AGTCCACGGT TGAGGCATTC TTTGCAAGAG GGGCTTGCCT GGCTATCATT GAGGTGGACA	
Sabin2 (AY082679) T	
2762		2831
2004-309-FC	ATGATGCACC GACAAAGCGC GCCAGCAGAT TGTTTTCGGT TTGAAAATA ACTTACAAAG ATACTGTTC	
Sabin2 (AY082679)	
2832		2901
2004-309-FC	ACTGAGACGC AAACCTGGAAT TTTTCACATA TTCGAGATTT GACATGGAGT TCACTTTTGT GGTACCTCA	
Sabin2 (AY082679)	
2902	2909	2971
2004-309-FC	AACTA ^{ACTG} ATGCAAATAA CGGGCATGCA TTGAACCAAG TTTATCAGAT AATGTATATA CCACCCGGAG	
Sabin2 (AY082679) T... A	
2972		3041
2004-309-FC	CACCTATCCC TGGTAAATGG AATGACTATA CGTGGCAGAC GTCCTCTAAC CCGTCGGTGT TTTACACCTA	
Sabin2 (AY082679)	
3042		3111
2004-309-FC	TGGGGCGCCC CCAGCAAGAA TATCAGTGCC CTACGTGGGA ATTGCGAATG CGTATTCCCA CTTTTATGAT	
Sabin2 (AY082679) T	
3112	3134	3181
2004-309-FC	GGGTTTGCAA AAGTACCACT AGTGGTCAA GCCTCAACTG AAGGTGATTC GTTGTACGGT GCTGCCTCAC	
Sabin2 (AY082679) C	
3182		3251
2004-309-FC	TGAACGATTT TGGATCACTG GCTGTTGCGG TGGTAAATGA TCACAACCCC ACGCGGCTCA CCTCCAAGAT	
Sabin2 (AY082679) T	
3252		3321
2004-309-FC	CAGAGTGATC ATGAAGCCAA AGCATGTGAG AGTCTGGTGT CCACGACCTC CAGGAGCAGT CCCATACTTC	
Sabin2 (AY082679) C	
3322		3384
2004-309-FC	GGACCAGGTG TTGATTATAA AGATGGGCTC ACCCCACTAC CAGAAAAGGG ATTAACGACT TAT	
Sabin2 (AY082679)	

Fig.2. Alignment of Nucleotide Sequences at Entire VP1 Region of Isolate Strain and Type2 Sabin.
□ : position amino acid varied.

る泳動パターンを Fig.1に示す。制限酵素 Dde I, および Hae III による切断パターンは分離株と Sabin2型とも同じであったが, Hpa II による切断パターンが異なっていた。

一方, 国立感染症研究所における VP1 および 3D 領域の PCR-RFLP 法の結果からは, Sabin2-like (Slightly different RFLP pattern) と判定された。

② 塩基配列解析

分離株の VP1 全領域 903 塩基 (position: 2482-3384) を Sabin2 型 (Genbank アクセション No.: AY 082679) と比較すると, 11 塩基 (11/903 nt, 1.2%) 異なっており, アミノ酸にすると 4ヶ所異なっていた (Fig.2)。3D 領域の一部 385 塩基 (position: 6108-6492) を Sabin2 型 (Genbank アクセション No.:

平成17年11月1日

2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6108 AGTCCTTACC AAAATGATC CCAGGCTCAG GACAGACTTT GAAGAAGCAA TATTCTCTAA GTATGTAGGC	6177
2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6178 ACAAGATTA CTGATGTGGA TGAGTACATG AAAGAGGCAG TGGATCATTG CGCTGGCCAA CTCATGTCTC	6247
2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6248 TAGACATCAA CACAGAACAA ATGTGCTTAG AGGACGCCAT GTACGGCACC GATGGCCTGG AAGCACTTGA	6317
2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6318 CTTGACCACT AGTGCTGGAT ACCCTTATGT AGCAATGGGA AAGAAAAAGA GAGACATCTT GAATAAGCAG	6387
2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6388 ACTAGAGACA CCAAGGAAAT GCGGAGACTC TTAGATACTT ATGGAATTA TTTACCGCTT GTAACATATG	6457
2004-309-FC Sabin2 (AY184220)	6458 TTAAAGACGA ACTAAGGTCA AAAACTAAGG TGGAG	6492

Fig.3. Alignment of Nucleotide Sequences at partial 3D Region of Isolate Strain and Type2 Sabin.

AY184220) [5] と比較すると、4塩基 (4/385 nt, 1.0%) 異なっていたが、アミノ酸では変異はなかった (Fig.3)。したがって、分離株はVP1領域の変異が1%を超えている (1.2%) ことから、WHOの基準による2型VDPVであり、また、3D領域がSabin2型様であったことからリコンビナントはおこっていないと考えられる。

③ モノクローナル抗体中和試験:

国立感染症研究所において、パスツール研究所 (フランス) 由来のモノクローナル抗体 (MAb), National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC, イギリス) 由来のMAbを用いて中和試験を行った (Table 1)。分離株のウイルス量は $10^{7.25}$ CCID₅₀/0.05ml。ポリクローナル抗体による中和能 (\log_{10} [CCID₅₀/0.05ml] <3) とモノクローナル抗体による中和能 (\log_{10} [CCID₅₀/0.05ml] <3) との差が大きく、分離株はnon-Sabin2-likeと考えられた。今回の中和試験に用いられたモノクローナル抗体のエピトープと、分離株のアミノ酸変異との関係は不明である。

④ ELISA法:

国立感染症研究所においてWHOのELISA法による型内鑑別試験を実施したところ、分離株はSabin2-likeであると判定された。

(2) 追跡調査の結果:

本人および同居家族からはポリオウイルスは検出されなかった。本人からアデノウイルス2型が検出された。

本人の既往歴は特になく健康であった。また、保育園などには通っていなかった。同居家族5名は、44歳男性会社員 (構内作業)、26歳女性パート従業員 (飲食店勤務)、71歳男性農業従事者、69歳無職女性、88歳無職女性であった。

同居家族のポリオワクチン接種歴は不明であるが、最近約5年は接種していないとのことであった。

考 察

健康な乳幼児から2型VDPVが検出された。通常、ポリオ生ワクチン接種後、2週間から1ヶ月 [6]、免疫不全者ではさらに長期間ウイルスが排出されることがある [7] [8] [9]。腸管内でのウイルス増殖が長期間繰り返され、あるいは集団内でのウイルスの循環が起こるほどウイルスの変異は蓄積すると考えられる [10] [11]。神経毒性に関与する遺伝子の変異すれば、弱毒であるワクチン株が毒力を復帰させる可能性がある。これまで報告されたVDPVによるポリオ患者発生例では、いずれもウイルスは神経毒性を復帰させていた [1] [2] [3]。

今回の事例では、VP1領域の遺伝子変異率はワクチ

Table 1. Neutralization Test by Monoclonal Antibody Panel.
(in-house criteria for the Mab-ITD at National Institute of Infectious Disease)

Well	Value(log ₁₀ [CCID ₅₀ /0.05ml])	Criteria	Isolate
Back-Titration(BT)	BT<6.5	Invalid (low titer)	BT=7.25 (Valid)
Anti-monovalent(P)	P>4.5	Invalid (break)	P<3 (Valid)
MAB-P(NT-P)			NT-P=7.0
MAB-N(NT-N)			NT-N=7.0
difference between P and NT Values(D)	0-1.5	Sabin-like	D>4
	≥2.0	non Sabin-like	(non-Sabin-like)

Anti-monovalent: Monovalent anti-poliovirus type2 (30unit)

MAB-P: Monoclonal Antibody from Pastuer Institute

MAB-N: Monoclonal Antibody from NIBSC

ン株である Sabin2型と比較して1.2%であり、3D 領域では1.0%であった。従ってリコンビネーションの可能性は考えられなかった。WHOによると、1%以下の変異率で定義される OPV-like poliovirus は、限られた期間のウイルス排泄、あるいはヒトからヒトへの伝播に由来するウイルスであるとされている。

富山県において、93年から95年に河川水・下水調査を実施して分離された78株のポリオウイルスの VP1 領域遺伝子 (position 2424-2862, 439base) は0%から1.4%の変異率だった [12]。78株中ポリオウイルス2型は31株分離されており、17株は Sabin 株と同じ塩基配列であったが、14株は Sabin 株と0.7%以内の差異であった [13]。

富山県住民のポリオウイルス (Sabin 株) に対する抗体保有率は、0歳から75歳までの血清202件を測定した結果、1型95.5%、2型96.5%、3型82.7%、3つの型すべてに対する抗体保有率は77.7%であり、集団免疫としては十分な抗体保有状況を示している (本年報ポリオ流行予測調査報告参照)。これまで報告されている VDPV の流行が起きた地域ではワクチン接種率がハイチ30%未満、ドミニカ共和国20-30% [1]、マダガスカル37% [3] と低かった。生ワクチンを使用すると VDPV が環境中に生ずる可能性があることを踏まえると、高いワクチン接種率を保持するとともに、一方でウイルスについての監視を行うことが大切であると考えられる。

12月における追跡調査で、本人および同居家族は健康、ポリオウイルスは検出されなかったことから、今回の事例は VDPV 孤発例であったと考えられる。

謝 辞

調査を行うにあたり、ご協力いただきました厚生セ

ンター等関係者各位に深謝いたします。

文 献

1. Kew, O., Morris-Glasgow, V., Landaverde, M., et al. (2002) *science*, 296, 356-359.
2. Hiroyuki, S., Bruce, T., Fem, J. P., et al. (2004) *J. Virol.*, 78, 24, 13512-13521.
3. WHO, (2002) *Weekly epidemiological record*, 29, 77, 241-248.
4. Rico-Hesse, R., Pallansch, M.A., Nottay, B.K., et al. (1987) *Virology*, 160, 311-322.
5. Gennady, V. R., Liju, F., David, M. A., et al. (1999) *Virology*, 258, 152-160.
6. WHO, (2001) *Polio Laboratory Manual*, 13.
7. Cherkasova EA, Korotkova EA, Yakovenko ML, et al. (2002) *J. Virol.*, 76, 6791-6799
8. Kew, O.M., Sutter, R.W., Nottay, B.K., et al. (1998) *J. Clin. Microbiol.*, 36, 2893-2899.
9. Martin, J., Dunn, G., Hull, R., et al. (2000) *J. Virol.*, 74, 3001-3010.
10. Mulders, M.N., Reimerink, J.H., Stenvik, M., et al. (1999) *J. Gen. Virol.*, 80, 907-916.
11. Guillot, S., Otelea, D., Delpeyroux, F. (1994) *Vaccine*, 12, 503-507.
12. Kumiko, M., Mitsuhiro, I., Hiromu, Y., Takashi, N., Sumiyo, H., Shuji, A., Hitoshi, H., Tatsuo, M., Takashi, K. (2000) *Appl. Environ. Microbiol.*, 66, 23, 5087-5091.
13. 松浦久美子, 石倉康宏, 中山 喬, 長谷川澄代, 安藤秀二, 北村 敬. (2000) 富山衛研年報, 23, 108-112.

インフルエンザ流行予測調査

堀元栄詞 松浦久美子 小原真弓 岩井雅恵
長谷川澄代 永井美之 田中桂子¹ 飛田忠嗣²
番留忠司³ 田中有易知⁴ 宮田英喜⁵

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2004-2005

Eiji HORIMOTO, Kumiko MATSUURA, Mayumi OBARA, Masae IWAI,
Sumiyo HASEGAWA, Yoshiyuki NAGAI, Keiko TANAKA¹, Tadatsugu TOBITA²,
Chuji BANDOME³, Yuichi TANAKA⁴, Hideki MIYATA⁵

要旨 インフルエンザ流行期前の富山県住民の抗体保有状況（2004年6～9月）とブタの抗体保有状況（2004年6月～2005年3月）の調査、および流行期のインフルエンザ様患者からのウイルス分離を実施した。その結果、以下の成績を得た。

1. インフルエンザ流行期前における富山県住民202名の血球凝集阻止（HI）価40倍以上の力価を示す抗体保有率は、ワクチン株の A/New Caledonia/20/99（H1N1）株、A/Wyoming/3/2003（H3N2）株および B/Shanghai/361/2002株（山形系統）、そして参考株の B/Brisbane /32/2002株（Victoria 系統）に対して、各々33.2%、33.7%、8.9%、1.5%であった。B型インフルエンザウイルスに対する抗体保有率は依然低く、流行が危惧された。
2. ブタにおける A/swine/Saitama/27/2003（H1N2）株、A/Vietnam /1194/2004（NIBRD-14）（H5N1）株、A/mallard/Netherlands/12/00（H7N3）株および A/Hongkong/2108/2003（H9N2）株に対する HI 価は、冬季に A/swine/Saitama/27/2003（H1N2）株に対する HI 価の上昇が認められた以外に変化は無かった。
3. インフルエンザ患者は1月中旬（第3週）より上昇し、3月上旬（第9週）をピークにして5月上旬（第18週）に終息した。その間に、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が50施設でとられ、届け出累積患者数は1397名であった。
4. A（H3）型インフルエンザウイルス（56株）が1～6月に、B型インフルエンザウイルス（59株）が1～4月に患者検体から分離された。分離ウイルスとワクチン株に対する抗血清との反応性を調べた結果、ワクチン株から大きく変異したと思われる A（H3）型インフルエンザウイルスは検出されず、また、B型インフルエンザウイルスの流行はワクチン株と同じ山形系統であった。

本調査は、インフルエンザウイルスに対する集団免疫の現状把握（感受性調査）とウイルス検索（感染源調査）を行い、ワクチン開発を含めたインフルエンザ流行の予測と予防に資することを目的としている。厚生労働省健康局結核感染症課が主体となり、全国の地方衛生研究所、保健所、医療機関等が協力して実施した。

1 ヒト感受性調査

インフルエンザ流行期前の県民の抗体保有状況を調べ、次シーズンの流行に対する感受性者を予測する。

調査および検査方法

1. 調査期間
2004年6～9月
2. 調査対象
県内住民202名（0～75歳）
3. 検査方法
「感染症流行予測調査事業検査術式」（平成14年発行）に従い、インフルエンザ HI 抗体価を測定した。HI 価は血清希釈1:10から2倍段階希釈により測定し、血清希釈倍数のみで表記した（WHO 方式）。抗原は、

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

ワクチン株の A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株, A/Wyoming/3/2003 (H3N2) 株および B/Shanghai/361/2002株 (山形系統), そして参考株の B/Brisbane /32/2002株 (Victoria 系統) を用いた。ワクチン株はデンカ生研製で, それ以外は国立感染症研究所より配布された。

結果および考察

年齢別検体数は0~4歳:22例, 5~9歳:27例, 10~14歳:31例, 15~19歳:7例, 20~29歳:10例, 30~39歳:25例, 40~49歳:22例, 50~59歳:33例, 60歳以上:25例, 合計202例である。これらの検体について, A (H1) 型, A (H3) 型および B 型インフルエンザウイルスに対する HI 価を測定し, 40倍以上の HI 価を示す抗体保有率を年齢群別に示した (図1)。40倍以上の HI 価は感染防御能があると考えられ, 有効感染防御免疫の指標とみなされている。

A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株に対する抗体保有率:本株に対する HI 価40倍以上は平均33.2% (67/202) であった。年齢別では, 5~9歳が55.6%と

最も高く, 次いで60歳以上, 10~14歳がそれぞれ44.0%, 41.9%と比較的高かった。一方30~39歳, 40~49歳はそれぞれ24.0%, 22.7%と低く, 0~4歳は4.5%と極めて低かった。

A/Wyoming/3/2003 (H3N2) 株に対する抗体保有率:本株は前シーズンの流行株であった。この株に対する HI 価40倍以上の抗体保有率は平均33.7% (68/202) であった。年齢別では, 10~14歳が74.2%と最も高く, 次いで5~9歳, 15~19歳がそれぞれ55.6%, 42.9%と比較的高い値を示した。一方0~4歳, 30~39歳およびそれより高年齢では13.6~24.0%と低かった。

B/Shanghai/361/2002株 (山形系統) に対する抗体保有率:B型インフルエンザウイルスには抗原性および遺伝学的に異なる2つの系統 (Victoria 系統と山形系統) がある。前シーズンに検出された B 型株は山形系統の類似株がほとんどであったため, 本株が本シーズンのワクチン株となった。HI 価40倍以上の抗体保有率は平均8.9% (18/202) であった。年齢別では, 5~9歳から20~29歳まで, および50~59歳で10.0~15.2%であった。30~39歳, 40~49歳および60歳以

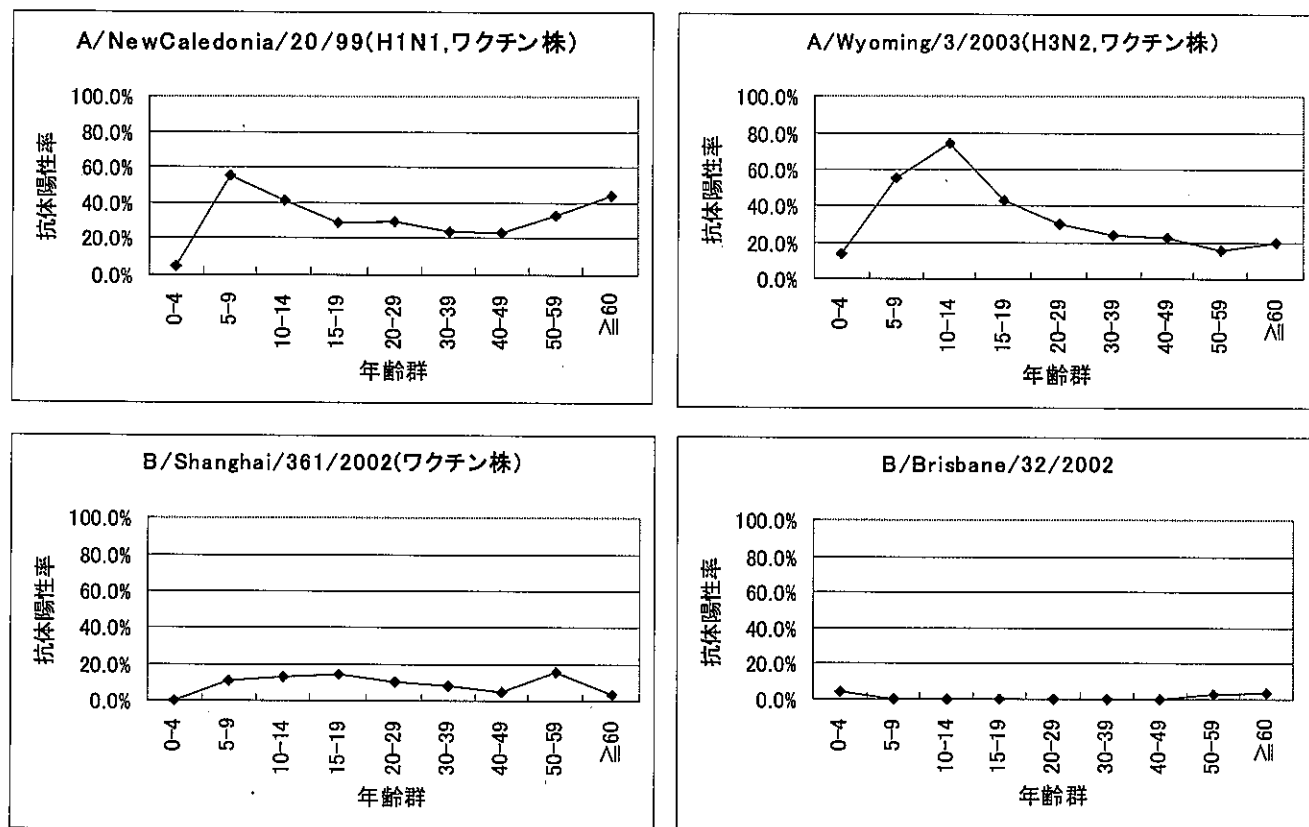


図1. インフルエンザウイルスに対する年齢別抗体保有状況 (2004年6~9月)

平成17年11月1日

上では、4.5～8.0%と極めて低く、0～4歳群に至っては0%であった。

B/Brisbane /32/2002株 (Victoria 系統) に対する抗体保有率：本株は前シーズンでは少数であったが参考株として調査した。HI 価40倍以上の抗体保有率は平均1.5% (3/202) と全ての年齢で極めて低く、特に5～9歳から40～49歳では0%であった。

富山県住民のインフルエンザウイルスに対する HI 価40倍以上の抗体保有率は、A (H1) 型と A (H3) 型に対しては、0～4歳と20～29歳から40～49歳で抗体保有率が低かった。また、B型に対しては、全年齢層にわたって低かった。これらの状況より、インフルエンザに対する抗体価が依然として低い住民が多く、次期シーズンも引き続き注意が必要と考えられた。

II 新型インフルエンザを想定した感染源調査 (ブタにおける HI 価測定)

新型インフルエンザウイルスの侵入を監視するため、ブタでの鳥インフルエンザウイルスに対する HI 抗体保有状況を調査した。

調査および検査方法

1. 調査期間

2004年6月～2005年3月

2. 調査対象

富山県食肉総合センターに搬入された県内産ブタ (生後6ヶ月) 290頭から採血した。対象ブタの飼育地は、小矢部市峠、黒部市荒俣および南砺市滝寺七村の3ヶ所とした。

3. 検査方法

方法は「感染症流行予測調査事業検査術式」(平成14年発行) に従った。即ち、ブタ血清を RDE II で処理し、七面鳥赤血球による吸収処理を行った後、0.5% 七面鳥赤血球を用いて国立感染症研究所より配布された抗原 (A/swine/Saitama/27/2003 (H1N2) 株、A/Vietnam /1194/2004 (NIBRD-14) (H5N1) 株、A/mallard/Netherlands/12/00 (H7N3) 株および A/Hongkong/2108/2003 (H9N2) 株) に対する HI 価を測定した。

結果および考察

ブタにおける抗体保有状況を表1に示す。小矢部市峠で飼育された検体では、12～3月にかけて、A/swine/Saitama/27/2003 (H1N2) に対する HI 価の上昇が認められた (最大値40倍)。また、小矢部市

峠および黒部市荒俣で飼育された検体で、11～2月にかけて、A/Hongkong/2108/2003 (H9N2) に対する HI 価の散発的な上昇が認められた。しかし、それ以外の検体からは、HI 価の上昇は認められなかった。

A (H1) 型は、ブタに常在するウイルスといわれている。今回の調査結果から、冬季に A (H1) 型がブタで流行している可能性のあることが示唆された。しかし、A (H5) 型、A (H7) 型および A (H9) 型に対する HI 価の上昇がほとんど無いことから、現時点では、ブタが感染源となり新型インフルエンザが起る可能性は低いと思われた。

III 感染源調査

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

調査および検査方法

1. 調査期間

2005年1～6月

2. 調査対象

定点医療機関として、二本垣医院 (黒部市)、池田内科医院 (上市町)、小栗小児科医院 (高岡市)、正木医院 (南砺市)、坂本小児科医院 (富山市) の協力を得た。また、柳下小児科医院 (砺波市) のインフルエンザ患者からのウイルス検出・分離を行った。「集団かぜ」については3施設の患者について検討した。

3. 検査方法

ウイルスは咽頭ぬぐい液、一部鼻腔ぬぐい液を MDCK 細胞に接種して分離した。分離したウイルスは国立感染症研究所から配布された抗 A/New Caledonia/20/99 (H1N1) 株血清、抗 A/Moscow/13/98 (H1N1) 株血清、抗 A/Wyoming/03/2003 (H3N2) 株血清、抗 B/Johannesburg/5/99株血清および抗 B/Brisbane/32/2002株血清を用いた HI 試験によって同定した。血球は、A型に対しては0.75% モルモット血球を、B型に対しては0.5% ニワトリ血球を用いた。

結果および考察

1. インフルエンザ様疾患の発生状況

感染症発生動向調査によると、インフルエンザ患者の発生は、2005年第3週 (1月17日～1月23日) から上昇し始め、第9週 (2月28日～3月6日) にピークを迎え

表1. ブタにおけるインフルエンザウイルス抗体保有状況 (平成16年度)

飼育地：小矢部市峠

(単位：件)

採血年月日	検体数	HI 価			
		A/swine/Saitama/ 27/2003 (H1N2)	A/Vietnam /1194/2004(NIBRD- 14) (H5N1)	A/mallard/ Netherlands/12/00 (H7N3)	A/HongKong/2108/ 2003 (H9N2)
		≥10	≥10	≥10	≥10
6/15	10	0	0	0	0
7/13	10	0	0	0	0
8/18	10	0	0	0	0
9/14	10	0	0	0	0
10/13	10	0	0	0	0
11/16	10	0	0	0	0
12/14	10	5	0	0	1
12/21	10	7	0	0	0
1/11	10	6	0	0	0
1/25	10	3	0	0	1
2/9	10	1	0	0	1
2/22	10	3	0	0	0
3/8	10	2	0	0	0
3/22	10	2	0	0	0
合計	140	29	0	0	3

飼育地：黒部市荒俣

(単位：件)

採血年月日	検体数	HI 価			
		A/swine/Saitama/ 27/2003 (H1N2)	A/Vietnam /1194/2004(NIBRD- 14) (H5N1)	A/mallard/ Netherlands/12/00 (H7N3)	A/HongKong/2108/ 2003 (H9N2)
		≥10	≥10	≥10	≥10
6/15	10	0	0	0	0
7/13	10	0	0	0	0
8/17	10	0	0	0	0
9/14	10	0	0	0	0
10/12	10	0	0	0	0
11/16	10	0	0	0	1
12/14	10	0	0	0	0
12/21	10	0	0	0	0
1/11	10	0	0	0	0
1/25	10	0	0	0	0
2/8	10	0	0	0	1
2/22	10	0	0	0	0
3/8	10	0	0	0	0
3/22	10	0	0	0	0
合計	140	0	0	0	2

飼育地：南砺市七村滝寺

(単位：件)

採血年月日	検体数	HI 価			
		A/swine/Saitama/ 27/2003 (H1N2)	A/Vietnam /1194/2004(NIBRD- 14) (H5N1)	A/mallard/ Netherlands/12/00 (H7N3)	A/HongKong/2108/ 2003 (H9N2)
		≥10	≥10	≥10	≥10
2/8	10	0	0	0	0

表2. インフルエンザウイルスの検出状況

厚生セン ター・ 保健所	施 設	被検者数	ウイルス検出検査			
			咽頭ぬぐい液		ウイルス検出	
			採取日	検体数	検出数	型
新川	二本垣医院 (定点)	19	2005.1.20-4.9	19	6	A(H3)
					12	B
中部	池田内科医院 (定点)	11	2005.1.17-3.11	11	4	A(H3)
					7	B
高岡	小栗小児科医院 (定点)	18	2005.1.17-4.28	18	7	A(H3)
					10	B
砺波	正木医院 (定点)	46	2005.1.4-6.1	46	24	A(H3)
					17	B
富山市	坂本小児科医院 (定点)	22	2005.1.29-4.6	22	4	A(H3)
					12	B
富山市	老田小学校 (集団)	1	2005.1.21	1	0	-
富山市	山室中部小学校 (集団)	5	2005.2.14-17	5	5	A(H3)
高岡	博労小学校 (集団)	6	2005.3.9-11	6	6	A(H3)
砺波	柳下内科医院	1	2005.1.24	1	1	B
合計		129		129	56	A(H3)
					59	B

た。その時の定点医療機関当たりの患者数は63.38だった。その後第20週（5月16～22日）まで定点医療機関からの散発的な報告はあったが、5月上旬に流行はほぼ終息した。

また、「集団かぜ」は1月18日の小学校での学級閉鎖に始まり、3月14日までに、休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が50施設でとられた。累積患者数は1397名であった。

2. インフルエンザウイルスの検出状況

2005年1～6月までに採取した定点観測の医療機関等の117症例117検体、3施設の「集団かぜ」症例12検体、合計129検体についてインフルエンザウイルスの検出を試みた。成績を表2に示す。

今冬は、中部および高岡厚生センター管内で1月17日に採取された患者検体から、それぞれA(H3)型およびB型が最初に分離された。その後、6月上旬までにA(H3)型が56株、B型が59株、合計115株が分離された。A(H1)型は昨シーズン同様分離されなかった。

A型の分離株に対する抗インフルエンザ血清のHI価を表3に示す。A(H3)型の分離株（56株）に対す

る抗A/Wyoming/03/2003(H3N2)株血清のHI価は320～2560倍（ホモ価1280倍）であり、ホモ価の1/8以下の低いHI価を示した分離株は認められなかった。

B型の分離株に対する抗インフルエンザ血清のHI価を表4に示す。B型の分離株（59株）に対する抗B/Johannesburg/5/99株血清および抗B/Brisbane/32/2002株血清のHI価は、それぞれ640～2560倍（ホモ価2560倍）および<10～320倍（ホモ価1280倍）であった。HI価に巾が認められるが、抗B/Johannesburg/5/99株血清に対する値がほぼ一定であることから、今シーズン流行したB型は山形系統であったことが示唆された。

富山県における2004/2005インフルエンザシーズンは、患者発生状況からみて昨年よりも流行規模が大きく、また、例年より遅いピークを迎えた[1]。若干B型の分離率が高かったが、A(H3)型とB型とも、ほぼ同レベルの分離状況であった。全国の集計においても同様の傾向（A(H1)型3.2%、A(H3)型39.4%、B型57.4%）が見られた。A(H1)型は全国でも180株しか分離されず、流行は小さなものであった[2]。

表3. 分離された A 型インフルエンザウイルスに対する標準抗血清の HI 価

ウイルス	抗血清	抗 A/New Caledonia /20/99(H1N1)	抗 A/Moscow /13/98(H1N1)	抗 A/Wyoming /03/2003(H3N2)
A/New Caledonia /20/99(H1N1)		640	-	-
A/Moscow/13/98(H1N1)		-	160	-
A/Wyoming/03/2003(H3N2)		-	-	1280
1	A/富山/1/2005	-	-	640
2	A/富山/2/2005	-	-	1280
3	A/富山/3/2005	-	-	1280
4	A/富山/4/2005	-	-	1280
5	A/富山/5/2005	-	-	640
6	A/富山/6/2005	-	-	640
7	A/富山/7/2005	-	-	640
8	A/富山/8/2005	-	-	640
9	A/富山/18/2005	-	-	1280
10	A/富山/19/2005	-	-	640
11	A/富山/20/2005	-	-	1280
12	A/富山/21/2005	-	-	1280
13	A/富山/22/2005	-	-	1280
14	A/富山/23/2005	-	-	1280
15	A/富山/15/2005	-	-	640
16	A/富山/11/2005	-	-	320
17	A/富山/12/2005	-	-	1280
18	A/富山/13/2005	-	-	640
19	A/富山/14/2005	-	-	640
20	A/富山/9/2005	-	-	1280
21	A/富山/10/2005	-	-	640
22	A/富山/16/2005	-	-	1280
23	A/富山/17/2005	-	-	640
24	A/富山/32/2005	-	-	320
25	A/富山/24/2005	-	-	640
26	A/富山/25/2005	-	-	640
27	A/富山/26/2005	-	-	1280
28	A/富山/27/2005	-	-	640
29	A/富山/28/2005	-	-	1280
30	A/富山/29/2005	-	-	640
31	A/富山/30/2005	-	-	640
32	A/富山/31/2005	-	-	640
33	A/富山/33/2005	-	-	640
34	A/富山/34/2005	-	-	640
35	A/富山/35/2005	-	-	640
36	A/富山/36/2005	-	-	1280
37	A/富山/37/2005	-	-	1280
38	A/富山/38/2005	-	-	640
39	A/富山/39/2005	-	-	640
40	A/富山/40/2005	-	-	640
41	A/富山/41/2005	-	-	1280
42	A/富山/42/2005	-	-	1280
43	A/富山/43/2005	-	-	640
44	A/富山/45/2005	-	-	640
45	A/富山/44/2005	-	-	1280
46	A/富山/46/2005	-	-	1280
47	A/富山/47/2005	-	-	1280
48	A/富山/48/2005	-	-	640
49	A/富山/49/2005	-	-	1280
50	A/富山/50/2005	-	-	1280
51	A/富山/51/2005	-	-	2560
52	A/富山/52/2005	-	-	640
53	A/富山/53/2005	-	-	640
54	A/富山/54/2005	-	-	320
55	A/富山/55/2005	-	-	1280
56	A/富山/56/2005	-	-	640

- : HI 抗体価 <1:10

A/New Caledonia /20/99(H1N1) ワクチン株
A/Moscow/13/98(H1N1) 参考株
A/Wyoming/03/2003(H3N2) ワクチン株

平成17年11月1日

表4. 分離されたB型インフルエンザウイルスに対する標準抗血清のHI価

ウイルス	抗血清	抗 B/Johannesburg/5/99	抗 B/Brisbane/32/2002
B/Johannesburg/5/99		2560	160
B/Brisbane/32/2002		160	1280
1	B/富山/1/2005	2650	40
2	B/富山/2/2005	2650	40
3	B/富山/3/2005	1280	-
4	B/富山/4/2005	2650	80
5	B/富山/5/2005	2650	160
6	B/富山/6/2005	1280	-
7	B/富山/7/2005	1280	80
8	B/富山/8/2005	1280	80
9	B/富山/9/2005	2650	320
10	B/富山/10/2005	1280	160
11	B/富山/11/2005	2650	80
12	B/富山/19/2005	2650	160
13	B/富山/20/2005	2560	40
14	B/富山/21/2005	2560	160
15	B/富山/12/2005	2560	160
16	B/富山/13/2005	2560	80
17	B/富山/14/2005	2560	80
18	B/富山/15/2005	2560	80
19	B/富山/16/2005	2560	40
20	B/富山/17/2005	2560	160
21	B/富山/18/2005	2560	160
22	B/富山/22/2005	2560	160
23	B/富山/23/2005	2560	160
24	B/富山/24/2005	2560	80
25	B/富山/25/2005	2560	160
26	B/富山/26/2005	2560	80
27	B/富山/27/2005	2560	80
28	B/富山/28/2005	2560	160
29	B/富山/29/2005	1280	40
30	B/富山/30/2005	2560	160
31	B/富山/31/2005	1280	80
32	B/富山/32/2005	640	80
33	B/富山/36/2005	2560	160
34	B/富山/33/2005	2560	320
35	B/富山/34/2005	2560	320
36	B/富山/35/2005	2560	320
37	B/富山/37/2005	2560	320
38	B/富山/38/2005	2560	320
39	B/富山/39/2005	2560	160
40	B/富山/40/2005	2560	160
41	B/富山/41/2005	2560	80
42	B/富山/42/2005	2560	80
43	B/富山/43/2005	2560	320
44	B/富山/44/2005	1280	80
45	B/富山/45/2005	1280	80
46	B/富山/46/2005	1280	40
47	B/富山/47/2005	2560	80
48	B/富山/48/2005	2560	80
49	B/富山/49/2005	2560	80
50	B/富山/50/2005	2560	80
51	B/富山/51/2005	2560	80
52	B/富山/52/2005	1280	80
53	B/富山/53/2005	1280	80
54	B/富山/54/2005	1280	80
55	B/富山/55/2005	1280	80
56	B/富山/56/2005	1280	40
57	B/富山/57/2005	1280	80
58	B/富山/58/2005	1280	80
59	B/富山/59/2005	2560	320

- : HI 抗体価 <1:10 B/Johannesburg/5/99 (山形系統株) ワクチン株類似株
B/Brisbane/32/2002 (ビクトリア系統株) 参考株

富山県では、ワクチン株から大きく変異した A (H3) 型ウイルスは分離されず、B 型もワクチン株の山形系統が流行した。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた二本垣医院、池田内科医院、小栗小児科医院、正木医院、および坂本小児科医院に深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 安藤秀二, 松浦久美子, 小原真弓, 岩井雅恵, 長谷川澄代, 永井美之, 田中桂子, 飛田忠嗣, 遠藤京子, 田中有易知, 宮田英喜 (2005). 富山県衛生研究所年報, 27, 84-90.
2. 国立感染症研究所感染症情報センター (2005). IASR, <http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>

ウイルス性胃腸炎の集団発生について (2004年度)

長谷川澄代 小原真弓 岩井雅恵
松浦久美子 堀元栄詞 永井美之

Outbreaks of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2004

Sumiyo HASEGAWA, Mayumi OBARA, Masae IWAI, Kumiko MATSUURA,
Eiji HORIMOTO and Yoshiyuki NAGAI

要旨 2004年4月から2005年3月までの1年間に検査したウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。

1. ウイルス性の急性胃腸炎の集団発生事例が20件あった。これら全てがノロウイルス：Norovirus=NV感染によるものであり、そのうち1件はNVとA群ロタウイルス(Rota A)によるものであった。
2. 発生施設別にみると飲食店が8件、保育所・幼稚園・小学校が5件、老人保健施設が6件、障害者施設が1件であった。カキが関与していた事例は全て発生施設が飲食店で、4件であった。
3. 飲食店での発生で、カキが関与していない3事例は、感染者からのNVで食品等が汚染されることによって発生したと考えられた。
4. 保育園・幼稚園・小学校、老人保健施設、障害者施設での発生は食品媒介ではなく、手指が感染者の吐物や糞便で汚染されてヒトからヒトへ直接伝播したと考えられた。
5. 集団発生の原因となったNVの遺伝子型は、カキ関連以外の15件のうち1件が Genogroup I=G Iで、14件が Genogroup II=G IIであった。
6. カキ関連の事例は4件全てがNVのG IとG IIが混在しており、そのうち1件ではRota Aも検出された。

はじめに

NVは、経口感染によりヒトに急性胃腸炎を引き起こすウイルスであり、冬季に多発するウイルス性胃腸炎の主な原因ウイルスとして知られている [1]。NV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NVが含まれている [2]。さらに、感染者から2週間以上にわたり排泄され [3]、環境中でも長期間感染性を維持し、100個以下で感染・発病させるといわれている [4]。また調理従事者の手指を介して食品がNVに汚染され、食品媒介による急性胃腸炎集団発生を引き起こすこともある [5]。ヒトから排泄されたNVは、下水処理場では完全に処理されずに [6] 海に流れ込み、汚染海域で養殖されたカキなどの2枚貝の中腸腺に蓄積される [7]。NVを蓄積した2枚貝を生あるいは加熱不十分で喫食することによって起こる急性

胃腸炎事例は、NVによる食品媒介事例の約40%を占めている [2]。一方、NVは食中毒のみならず、冬季の感染性胃腸炎の流行も引き起こす。毎年末に小児の感染性胃腸炎患者からの検出が増加しており、小児の胃腸炎集団発生もこの時期に増加している [8]。ここ数年、NVによる感染性胃腸炎が多く発生し、ほぼ年間を通してNVの流行が認められる [8]。

材料と方法

検査対象事例および検査材料

- (1) 2004年4月～2005年3月までに調査した集団発生事例は24事例であった。検体採取と疫学的調査は各事例の管轄保健所、厚生センターで実施した。
- (2) ウイルスの検出方法

表1. ウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例番号	発生時期	発生地区・状況 患者数(/喫食者数)	ウイルス検出			推定 伝播経路
			患者	検出数/検査数	検出ウイルス	
1	2004年4月9日 ~4月11日	飲食店 16/41	患者 従業員	14/15 2/11	GII (13) RotaA+GII (1) GI	食品
2	5月12日 ~14日	障害者施設 男子棟 14		2/2	GII	ヒト-ヒト
3	6月10日 ~14日	小学校 17	2, 3年生	3/5	GII	ヒト-ヒト
4	6月14日 ~17日	幼稚園 34	園児・先生	5/5	GII	ヒト-ヒト
5	11月29日 ~12月4日	保育所	園児・先生 弁当従業員	6/7 0/2	GII	ヒト-ヒト
6	12月2日 ~4日	飲食店(弁当屋) 498/1240	患者 従業員	11/12 5/14	GII GII	食品
7	12月15日 ~16日	小学校 18	4年生	4/4	GII	ヒト-ヒト
8	12月19日 ~21日	飲食店 35/66	患者 従業員	7/7 4/7	GI GI	食品
9	2005年1月7日 ~8日	飲食店 21	患者 従業員	9/12 2/5	GII GII	食品
10	1月2日 ~12日	老人保健施設 31	入所者・職員	2/5	GII	ヒト-ヒト
11	1月5日	老人保健施設 16	入所者・職員	3/5	GII	ヒト-ヒト
12	1月11日	飲食店 4/7	患者 従業員	4/4 0/7	GI (1), GII (3)	カキ
13	1月14日 ~16日	飲食店 6	患者 従業員	3/5 0/3	GII (1) GI+GII (2)	カキ?
14	1月28日 ~2月3日	老人保健施設 31	入所者・職員	3/5	GII	ヒト-ヒト
15	1月31日 ~2月1日	飲食店(県外) 6/10		6/6	GI (1), GII (4) RotaA (1)	カキ
16	2月3日 ~7日	老人保健施設 7	入所者	5/5	GII	ヒト-ヒト
17	2月4日 ~14日	老人保健施設 33	入所者・職員	4/5	GII	ヒト-ヒト
18	2月22日 ~3月3日	老人保健施設 12	入所者・職員	2/2	GII	ヒト-ヒト
19	3月8日 ~10日	保育所 45	園児・職員	12/20	GII	ヒト-ヒト
20	3月17日 ~19日	飲食店(県外) 4/6		2/3	GI (1), GII (1)	カキ

GI, GIIはNVGI, NVGIIを表す。
()内は検出人数

糞便からの Rota A, Rota C ウイルスの検索には、デンカ生研のロタ - RPHA「生研」を用いた。

- (3) NV の検出に関する検体（糞便等）からの RNA 抽出法, RT - PCR 法, リアルタイム PCR 法については厚生労働省通知 [9] に準じて行った。PCR 産物の一部については遺伝子解析を行った [10]。

結果および考察

検査を行った感染性胃腸炎の集団発生24事例のうち、20事例からウイルスが検出された(表1)。このうち4事例が、カキ関連の感染であると考えられた。

(1) 月別発生事例数

月別発生状況を示したものが図1である。本年度の集団発生は4, 5, 6, 11, 12, 1, 2, 3月に起きたが、発生件数は1月がピークであった。カキ関連の事例は飲食店で1月に2件, 3月に1件に発生した。非カキ関連の事例は1年を通じて、散発的に発生していた。

(2) 施設別発生事例数(図1)

カキ関連では飲食店が4件であった。非カキ関連事例では老人保健施設が6件, 飲食店4件, 幼稚園・保育所3件, 小学校2件, 身障者施設が1件であった。

飲食店での発生は4, 12, 1, 3月で、1月がピークであった。老人保健施設での発生は1月, 2月に集中していた。身障者施設では5月に1件あった。保育所・幼稚

園, 小学校での発生は6, 11, 12, 3月にみられた。例年 NV の集団発生は11月~2月に多いが、ヒトからヒトへの2次感染が起こりやすい保育所・幼稚園, 学校, 病院, 福祉施設などでは5, 6月までも発生が続いており、これらの施設などでは冬季以外にも NV などのウイルス感染に対する注意が必要であると考えられた。

(3) 施設別発生状況とウイルス検出状況

1) 飲食店(8事例)

事例 No.1: 4月9日夕方6グループ41名が夕方会席料理を食べ、その内16名が10日(土)~11日(日)に嘔吐, 下痢の症状を呈した。患者14名と、従業員12名の糞便が採取されウイルス検査を行った。RT - PCR 法で、患者10名から NVG II, 従業員2名からは NVG I が検出された。NVG II が検出された患者1名で RotaA も検出された。さらに、リアルタイム PCR 法で患者2名が NVG II 陽性となった。患者からの NVG II の塩基配列は一致しており、NVG I が検出された従業員からの感染とは考えられなかった。本事件は、RotaA が検出された患者1名もいたが、NV で汚染された食品等による単一曝露型が考えられた。しかし、感染源は特定できなかった。

事例 No.6: 12月3日, 所轄の厚生センターに S 施設の弁当を食べた事業所職員35名中14名が嘔吐, 下痢の症状を呈しているとの連絡が入った。S 施設は2日に高岡市, 新湊市, 富山市, 小杉町の192事業所に1240食を配達していた。調査の結果、患者は498名のぼり、発生は12月2日~3日がピークであった。患者

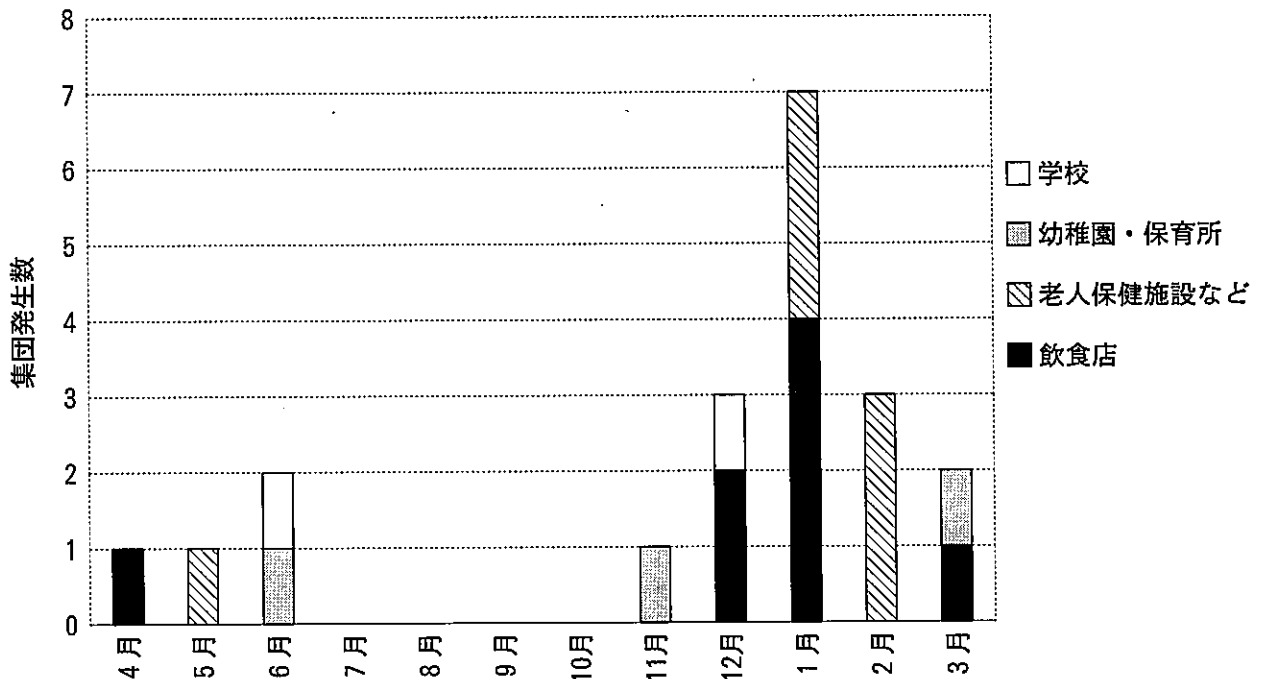


図1. ウイルス性胃腸炎集団発生の月別発生状況 (初発日)

12名と従業員14名の糞便が採取された。RT-PCR法で患者11名、従業員5名から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。弁当の9品目についてウイルス検出を試みたが、検出出来なかった。本事件は軽い症状あるいは無症状の感染従業員が作業に関わることにより、弁当をウイルスで汚染させたと考えられた。

事例 No.8：12月17、18日に Y 飲食店を利用した66名のうち35名が19日～21日にかけて嘔吐、下痢の症状を呈した。患者7名、従業員（有症者3名含む）7名から糞便が採取された。RT-PCRで患者全員7名から NVG I が検出された。また有症者の従業員3名と健常者の従業員1名から NVG I が検出された。これら NVG I の塩基配列は一致した。本事件は感染者からの NV が食品を汚染し、感染が起きたと考えられた。食品6品目についてウイルス検査を試みたが検出出来なかった。

事例 No.9：1月10日、所轄の厚生センターに1月5日に T 旅館で夕食を摂った1事業所の32名中16名が食中毒症状を呈しているとの連絡が入った。調査の結果、7日、8日に喫食した他のグループでも患者が出ているとのことであった。患者12名の糞便、従業員（有症者1名含む）3名の、糞便が採取された。患者9名から NVG II が検出され、従業員2名（有症者1名含む）からも NVG II が検出され、これら NVG II の塩基配列は一致した。今回、無症状の NV 感染者である従業員が作業に関わることにより、食品を汚染させて感染が起きたと考えられた。原因食品と考えられたハマグリの中腸腺2プールについてウイルス検査を行ったが検出出来なかった。

事例 No.12：1月9日に U 飲食店でカキを食べた2グループ4名が11日に嘔吐、発熱、下痢の食中毒症状を呈した。患者4名と従業員7名から糞便が採取され、患者1名から RT-PCR で NVG I、2名から NVG II が検出された。さらにリアルタイム PCR 法で1名が NVG II 陽性となった。従業員からは全く検出されなかった。本事件は NV で汚染されたカキを十分加熱しないで食べたことにより感染したと考えられた。

事例 No.13：1月14日に会社の寮生が飲食店でカキを食べた発症した事件であった。カキを食した4名の患者（カキを食して1時間で発症した者も含む）の糞便と従業員3名を検査した。その内訳は NVG II が1名（カキを食して一時間で発症）、NVG I と NVG II の両方が、2名から検出された。NVG I と NVG II が検出された2名の NVG I の塩基配列は一致していたが、NVG II の相同性は71.5%と低かった。しかし、一方の NVG II の塩基配列は NVG II のみが検出された1名

のそれと一致した。従業員からは検出されなかった。カキを食べた後から1時間で発症した患者はカキ食する以前に NVG II に感染していたと考えられた。他の患者はカキによる感染と他からの感染が考えられた。

事例 No.15：1月30日に石川県の T 飲食店でカキを食べた1グループ10名の内6名が富山に戻って31日午前5時ごろから嘔吐、下痢、腹痛等の症状を呈した。患者6名の糞便が検査された。RT-PCR法とリアルタイム法で1名が NVG I、4名が NVG II 陽性となった。NV が検出されなかった1名から RotaA が検出された。本事例はウイルスに汚染されたカキを十分加熱しないで食し、感染したと考えられた。

事例 No.20：3月17日に石川県 H 飲食店でカキを食べた6名のうち4名が富山に戻って17日から19日にかけて嘔吐、下痢等の食中毒症状を呈した。患者3名の糞便について検査したところ2名（NVG I が1名、NVG II が1名）から NV が検出された。本事例はウイルスに汚染されたカキを食べたことによる感染と考えられた。

飲食店での8事例のうちカキが関与している事例は4事例あり、検出されるウイルスも NVG I、NVG II、RotaA と様々であった。

2) 老人保健施設（6事例）

老人保健施設での発生事例は6件であり、発生時期は1月2月に集中していた。

事例 No.10：患者は12月23日から1月11日まで31名発生し、入所者と職員が発症していた。患者5名（入所者4名、職員1名）の糞便が検査された。2名から NVG II が検出された。これらの塩基配列は一致したことから感染源は1つで、ヒトからヒトに感染が広まったと考えられた。

事例 No.11：患者は1月4日から1月12日頃まで発生しており、1月4～7日は通所者の間で発生していた。16名の患者が発生し、入所者と職員が発症していた。患者（職員）5名の糞便を検査したところ2名から NVG II が検出された。最初、通所者が施設に NV を持ちこみその後ヒト→ヒト感染で拡大したと考えられた。

事例 No.14：患者は1月18日から散発し2月3日頃まで発生していた。患者は31名で入所者と職員が発症していた。患者（入所者4名、従業員1名）5名の糞便を検査したところ3名から NVG II が検出され、これらの遺伝子配列は一致し、同一感染源からのヒト→ヒト感染が考えられた。

事例 No.16：患者は2月3日から2月7日までに7名発生し、患者は入所者のみであった。患者5名の糞便5件、吐物1件についてウイルス検査を行ったところ、5名の糞便から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一

平成17年11月1日

致した。この事例はヒト→ヒト感染と考えられた。

事例 No.17：2月4日から2月15日までに33名の患者が発生した。ショート利用者から有症者が発生し、続いて入所者、職員が発症した。発生は同敷地内にある3施設3棟のうちの1施設に限られていた。患者5名（職員含む）から糞便4件と吐物1件が採取され、糞便3件、嘔吐物1件から NVG II が検出された。これらの塩基配列は一致した。本事件はショート利用者等からのヒト→ヒト感染と考えられた。

事例 No.18：2月22日から3月3日までに12名の患者が発生した。入所者、職員が発症し、患者は当該施設の3階に限られていた。2月22日に嘔吐下痢した長期入所者が病院で NV 感染と診断された。患者2名から糞便を採取し検査した。11病日の患者糞便からは、リアルタイムで NVG II が検出された。10病日の患者糞便からは RT-PCR 法で NVG II が検出された。本事例はヒト→ヒト感染と考えられた。

3) 幼稚園・保育所 (3事例)

事例 No.4：幼稚園（在籍者157名）で6月16日に園児6名、職員（保育士）7名が嘔吐、下痢の症状で医療機関を受診した。園児の欠席状況を見ると、6月14、15日は4～5名であったのが16日は26名、17日は17名であった。患者5名（保育士2名含む）のウイルス検査を行ったところ、5名全員から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。初発（14日発症）の園児の吐物を処理した先生も発症していたことから、NV 患者の嘔吐物、糞便からヒト→ヒト感染が起きたと考えられた。

事例 No.5：11月29日～12月4日までに在籍者35名中22名が発症し、職員6名中2名が発症していた。12月3日の欠席者数が17名と多かったことから、12月2日の弁当が疑われた。患者7名の糞便7件と吐物1件が検査された。患者6名の糞便から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。弁当屋の従業員2名の糞便からは、ウイルスは検出されなかった。11月29日に下痢症状の園児が登所しており、その子の世話をした職員も発症していたことから、本事件は初発の子供の糞便からヒト→ヒト感染が起きたと考えられた。

事例 No.19：3月8日～10日に園児73名中38名、職員14名中10名が発症した。患者20名の糞便17件、嘔吐物3件についての検査を行ったところ RT-PCR では NVG II が2名から検出された。さらにリアルタイムで、12名が NVG II に陽性となった。RT-PCR 法で検出された2件の塩基配列は一致した。3月8日に初発患者（下痢、1歳）が、医療機関を受診した後に、登所していたことがわかった。当施設は、玄関近くに1歳児のいた部屋と調理室が廊下を挟んで向かいあっているこ

とが判った。患者は1、2歳の子供に集中しており、職員（保育士、調理員）も発症していることから、3月8日の子供から、他の子供、職員へと感染が急速にヒト→ヒトで拡大したと考えられた。

4) 小学校 (2事例)

小学校での発生は2件で6月と12月に発生した。

事例 No.3：6月11日に、小学2年生38人のうち7人が吐気や発熱の症状で欠席し、病院で手当てを受けていた。さらに17日には3年生42人のうち6人が同じ症状で欠席した。患者5名の糞便が採取され、3名（2年生2名、3年生1名）から NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。本事件は2年生の NV 感染生徒からヒト→ヒト感染が起きたと考えられた。

事例 No.7：12月16日小学4年生45人のうち18人が嘔吐、下痢で欠席した。患児の糞便4件を検査したところ、全てから NVG II が検出され、これらの塩基配列は一致した。ヒト→ヒト感染と考えられたが、感染源は特定出来なかった。

5) 障害者施設 (1事例)

事例 No.2：入園者50名（男子25名、女子25名）職員25名、臨時職員6名の施設で、5月5日夕方から5月14日まで下痢嘔吐の患者が14名発生した。患者は男子棟に限られた。入園者は、連休中は全員帰宅しており、5月5日夕方に初発の患者が発生した。患者糞便2件が採取され、両者から NVG II が検出された。本事例は帰宅中に NV に感染した患者が施設にもどって発症し、感染源となったヒト→ヒト感染と考えられた。

施設別に発生状況を見ると、飲食店ではウイルスで汚染されたカキが関与した場合と、感染者が食品を二次汚染させた場合があり、カキ関連の事例よりも二次汚染による事例の患者数が多い傾向がみられた。また老人保健施設、幼稚園・保育所、小学校、障害者施設では、患者の吐物や糞便からヒト→ヒトへ伝播したと考えられた。

(4) 検出ウイルス別発生数

本年度のウイルス別発生数を図2に示したが、ウイルス性胃腸炎発生事例数は2003年度の2倍の20事例にのぼり、全て NV が検出された。カキ関連では NV と RotaA の混合が見られ、2枚貝が様々なウイルスを蓄積していることが考えられた。カキ関連以外の事件では NVG II が14件と9割以上を占め、NVG I は1件であった。

富山県感染症発生動向調査によれば、本年度も一昨年・昨年同様に感染性胃腸炎の患者の報告数は多く感染症の報告数の第1位を占めていた。今回報告した20事例は2004年4月から2005年3月にかけて発生しており、

謝 辞

検体採取等にご協力いただきました富山市保健所、高岡厚生センター、高岡厚生センター氷見支所、高岡厚生センター小杉支所、中部厚生センター、中部厚生センター八尾支所、新川厚生センター、新川厚生センター魚津支所、砺波厚生センター、砺波厚生センター小矢部支所の関係者各位に感謝します。

文 献

1. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班：国立予防衛生研究所（1995）。
2. 西尾 治，新川奈緒美（2002）. 日本医事新報，5，6-9.
3. 杉枝正明，新川奈緒美，大瀬戸光明，徳竹由美，山口 卓，秋山美穂，西尾 治（2004）. 臨床とウイルス，32，（3），189-194.
4. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). J. Infect. Dis. 2, S254, 181.
5. 長谷川澄代，小原真弓，岩井雅恵，松浦久美子，安藤秀二，永井美之（2004）. 富山衛研年報，27，106-111.
6. 厚生科学全国ウイルス性食中毒研究班長：厚生科学特別研究事業平成11年度研究報告書「ウイルス性食中毒原因の遺伝子検査標準法確立と全国行政対応整備に関する研究」，岐阜県生物産業技術研究所（2000）。
7. 染谷雄一（2000）ウイルス，50，（2），173.
8. 2003年病原微生物検出情報，月報，12，1-2.
9. 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.
10. 小原真弓，長谷川澄代，堀元栄詞，岩井雅恵，松浦久美子，永井美之（2005）. 富山衛研年報28，99-104.
11. 小野哲郎，小河正雄，塚本伸哉（2000）. 大分県衛生環境研究センター年報，21-23.

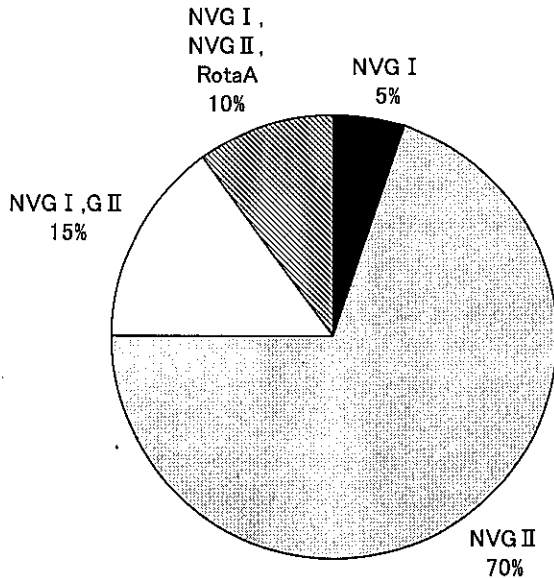


図2. 検出ウイルス別発生数の割合

各々県内に感染性胃腸炎が多発していた時期と一致していた。

本年は老人保健施設（事例 No.10, 11, 14, 16, 17, 18.），幼稚園・保育所（事例 No.4, 5, 19），小学校（事例 No.3, 7），障害者施設（事例 No.2）等の集団生活を行う施設での発生が，全体の半数を占めており，ヒトからヒトへの接触感染が考えられた。

飲食店での事件の半数はカキ関連であったが，それ以外はカキが関与しない食品調理時の2次汚染が原因と考えられた事件であった。なかでも No.6は1240食から498名の患者が発生した規模の大きなものであった。

NV 等の感染経路はウイルスに汚染された2枚貝の喫食による場合の他，患者の汚物を介した接触感染等が考えられている。小野ら[11]は学校給食従事者（健康者）の糞便を検査し，NV の遺伝子が，年間を通じて4.7%の割合で検出されることを報告している。このことは，NV に感染後，無症状や，あるいは発症後回復したヒトが，長期にわたりウイルスを糞便中に排泄し続け，感染源となりうる可能性を示唆している。今回の我々の調査研究から，食中毒に対する注意，手洗い等をさらに強化していく事が大切と考えられた。また，感染症発生動向調査情報により患者発生状況を監視し，特に感染性胃腸炎ウイルスについては，食中毒と感染症の両方の観点から調査研究を進めていく必要があると考えられた。

2004年度に発生した感染性胃腸炎から検出された ノロウイルスの遺伝子解析

小原真弓 長谷川澄代 堀元栄詞 岩井雅恵 松浦久美子 永井美之

Genotyping of Noroviruses from gastroenteritis in Toyama Prefecture
in the fiscal year 2004

Mayumi OBARA, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO, Masae IWAI,
Kumiko MATSUURA and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 2004年度に発生した感染性胃腸炎のうち、ノロウイルス (NV) が検出されたものについて遺伝子解析を行った。遺伝子型別は Genogroup I (G I) が4つ、Genogroup II (G II) が5つのクラスターに分けられた。最も発生が多かったのは G II/4型であった。集団発生19事例の中で、各々の検体間で遺伝子配列が100%一致する事例が13存在した。このことは各事例内では集団発生が同一の NV に起因することを示唆している。一方、異なる事例同士でも遺伝子配列が一致する例が存在し、同じ型のウイルスが別の集団発生や散発例を起こしていることが示唆された。カキ関連事例では数種類の NV が同時に検出されており、カキが複数種の NV を持っていることがわかった。

ノロウイルス (NV) はカリシウイルス科のノロウイルス属に属し、冬季のウイルス性胃腸炎の原因となる。ウイルスに汚染された2枚貝などを食べて食中毒となることが多いが、食品の2次汚染やヒトとヒトとの接触感染による集団発生と思われる事例も多く、近年は両者が同程度の割合となってきている [1]。

NV の塩基配列が明らかとなり、RT-PCR 法による遺伝子検出が可能になってからは、RT-PCR が主な検査法として用いられている。遺伝子解析により、NV は Genogroup I (G I) と Genogroup II (G II) に分けられる。研究者によって若干異なるものの、さらに各 Genogroup 内でいくつかの遺伝子型に分類される [2, 3, 4, 5]。

富山県では NV 検査の際、RT-PCR 法による遺伝子検出を行い、さらに塩基配列決定を行うことで、県内で流行を起こしている主要な遺伝子型や、同一事例で検出された NV の塩基配列の関連性などを調査している。今回、2003年度に引き続き、2004年度に発生した感染性胃腸炎で検出された NV について、polymerase 領域の下流から capsid 領域の上流までの塩基配列を決定した。さらにその結果から分子系統樹を作成し、各 NV 株について遺伝子型別を行った。

材料と方法

2004年4月から2005年3月までの間に発生した感染性胃腸炎集団発生事例（食中毒事例、県内者の県外感染事例を含む）と散発例（感染症発生動向調査、ボランティアを含む）のうち、遺伝子検出で NV が確認された糞便81検体を用いた。表1にその概要を示した。糞便の処理から RT-PCR 法については厚生労働省通知 [6] に準じた。

10%糞便乳剤を15000rpm で遠心し、上清140 μ L から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出した。RT-PCR 反応は抽出 RNA に各プライマー、DDW を加え計50 μ L となるようにし、Ready To Go RT-PCR Beads (Amersham Biosciences) を用いてワンステップで行った。プライマーは G I については G1-SKF, G1-SKR、G II については G2-SKF, G2-SKR のプライマーセット [7] を用い、polymerase 領域から capsid 領域を含む330塩基 (G I) あるいは344塩基 (G II) を増幅した。

PCR 産物は3%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色をして UV 下で確認した。目的のサイズにバンドがみられたものについて、PCR 産物を直接 Min Elute PCR Purification Kit (QIAGEN) で精製するか、1.5% Seakem GTG Agarose にて再泳動した後バンドを切り出し、

表1. 遺伝子解析に用いた検体 (2004年度)

発生状況	発生日/年	集団発生 事例番号	遺伝子解析 実施数	検体番号 (Genogroup)
集団	04/2004	1	11	2004/220-223,226-228,230-232(G II)2004/237(G I)
散発	06/2004	-	1	2004/K36(G II)
集団	06/2004	3	3	2004/254,257,263(G II)
集団	06/2004	4	5	2004/258-262(G II)
集団	11~12/2004	5	5	2004/316,317,319,346,348(G II)
集団	12/2004	6	13	2004/321,323,325-327,330,334,338,340-342,344,345(G II)
集団	12/2004	7	3	2004/367-369(G II)
集団	12/2004	8	10	2004/370-375,378,379,382,383(G I)
集団	01/2005	9	6	2005/2,5,9,12,13,19(G II)
集団	01/2005	10	2	2005/17,22(G II)
集団	01/2005	11	1	2005/23(G II)
集団	01/2005	12*	1	2005/28(G I)
集団	01/2005	13*	5	2005/46,48,49(G II) 2005/48,49(G I)
集団	01~02/2005	14	3	2005/73,74,76(G II)
集団	01~02/2005	15* 県外発生	1	2005/126(G I)
集団	02/2005	16	4	2005/132,134-136(G II)
散発	02/2005	-	1	2005/160(G II)
集団	02/2005	17	3	2005/165,166,168(G II)
集団	02/2005	18	1	2005/210(G II)
集団	03/2005	19	2	2005/225,229(G II)
集団	03/2005	20* 県外発生	2	2005/259(G II) 2005/260(G I)

*はカキ関連事例

検体番号2004/237,330,334,338,340-341,383は無症状調理従事者

QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) にて精製した。精製した PCR 産物は Big Dye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (ABI) によるシーケンス反応後、Centri-Sep スピニングカラム (ABI) で精製してオートシーケンサー ABI PRISM 310 または ABI PRISM 3100 (ABI) により塩基配列を決定

した。得られた塩基配列はプライマー部分を除き、ClustalW (DDBJ) にてアライメントを行った。さらに NJplot により分子系統樹を作成した。参考株は、片山らの分類に従い [4], CaliciNet-J (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calici/>) よりダウンロードした塩基配列を使用した (表2)。

表2. 分子系統樹作成に用いた参考株

Genotype	Accession No.	strain
G I /1	M87661	Norwalk/68/US
G I /2	L07418	Southampton/91/UK
G I /3	U04469	DesertShieldDSV395/90/US
G I /4	AB042808	Chiba407/87/JP
G I /5	AJ277614	Musgrove/89/UK
G I /6	AF093797	BS5/98/GE
G I /7	AJ277609	Winchester/94/UK
G I /8	AB081723	WUG1/00/JP
G I /9	AB039774	SaitamaSzUG1/99/JP
G I /10	AF538679	Boxer/01/US
G I /11	AB058547	SaitamaKU8GI/99/JP
G I /12	AB058525	SaitamaKU19aGI/00/JP
G I /13	AB112132	SaitamaT35aGI/01/JP
G I /14	AB112100	SaitamaT25GI/01/JP
G II /1	U07611	Hawaii/71/US
G II /2	X81879	Melksham/89/UK
G II /3	AB067542	SaitamaU201/98/JP
G II /4	X76716	Bristol/93/UK
G II /5	AJ277607	Hillingdon/90/UK
G II /6	AB039776	SaitamaU3/97/JP
G II /7	AJ277608	Leeds/90/UK
G II /8	AB067543	SaitamaU25/98/JP
G II /9	AY054299	IdahoFalls/378/96/US
G II /10	AY237415	Mc37/99/Thai
G II /11	AB112221	SaitamaT29GII/01/JP
G II /12	AB039775	SaitamaU1/97/JP
G II /13	AY130761	M7/99/US
G II /14	AB078334	Kashiwa47/00/JP
G II /15	AB058582	SaitamaKU80aGII/99/JP
G II /16	AB112260	SaitamaT53GII/02/JP
G II /17	AF195847	Alphatron/98/NE
OUTGROUP		
Sapovirus	X86560	Manchester

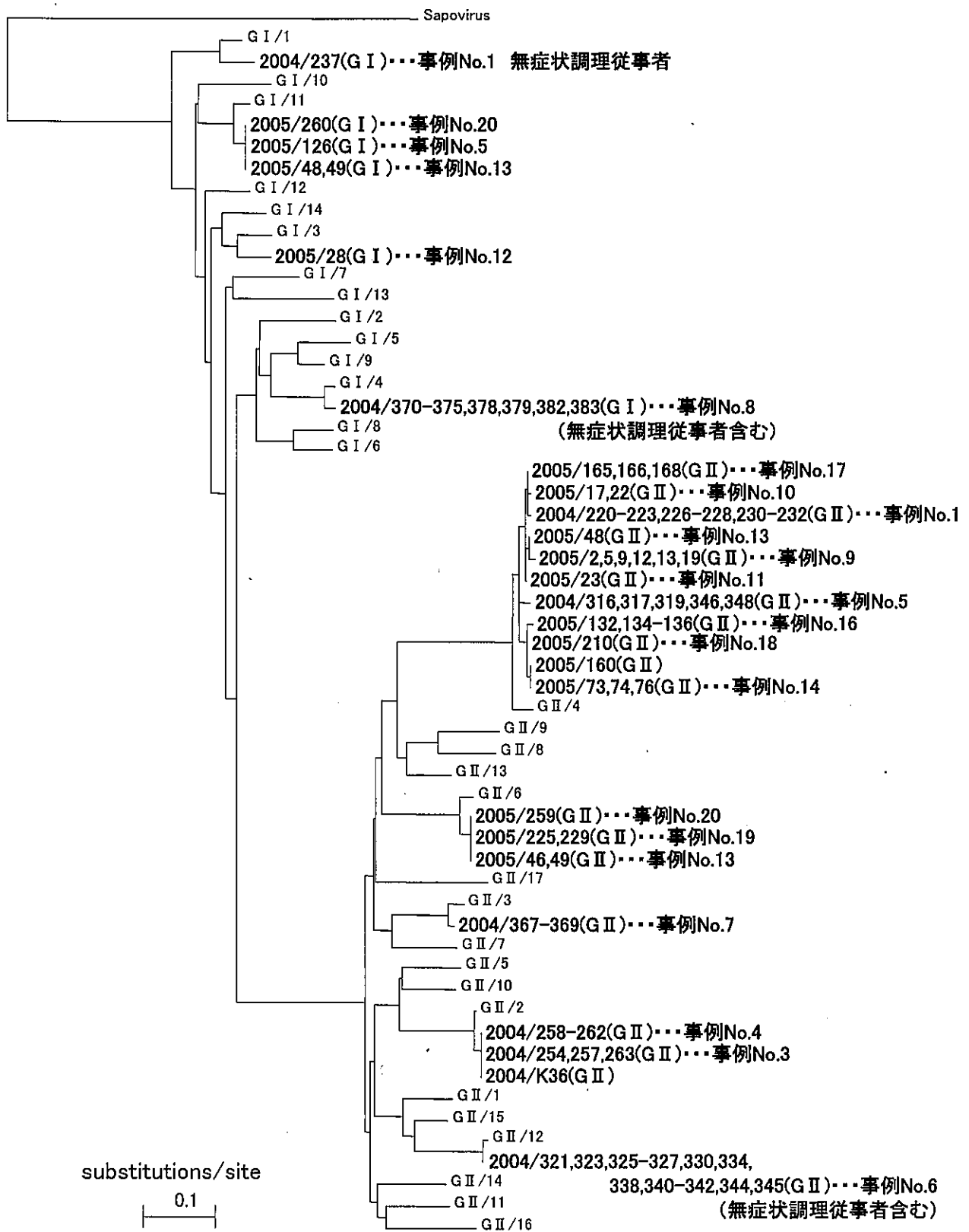


図1. 2004年度の NVG I, NVG II 系統樹

表3. 各事例の NV 遺伝子型 (2004年度)

発生日/年	集団発生事例番号 または検体番号	検出 NV の遺伝子型	G I の一致	G II の一致
04/2004	1	GI/1, GII/4		
06/2004	2004/K36	GI/2		*
06/2004	3	GI/2		*
06/2004	4	GI/2		*
11~12/2004	5	GI/4		
12/2004	6	GI/12		
12/2004	7	GI/3		
12/2004	8	GI/4		
01/2005	9	GI/4		
01/2005	10	GI/4		
01/2005	11	GI/4		
01/2005	12	GI/3		
01/2005	13	GI/11, GII/4, GII/6	△	○
01~02/2005	14	GI/4		☆
01~02/2005	15	GI/11	△	
02/2005	16	GI/4		
02/2005	2005/160	GI/4		☆
02/2005	17	GI/4		
02/2005	18	GI/4		
03/2005	19	GI/6		○
03/2005	20	GI/11, GII/6	△	○

△*○☆の同じ記号は同じ遺伝子配列であったことを示す。

結 果

得られた系統樹を図1に示す。集団発生事例19事例のうち、2つ以上の検体について塩基配列を得られたものは15事例あり、そのうち13事例は各事例内で患者の増幅領域の遺伝子配列が100%一致した。配列が一致しなかった2事例のうち、事例 No.13は、GIIの塩基配列が得られた3検体のうち2検体（検体番号2005/46, 49）が100%一致していたが、残り1検体（2005/48）は異なる配列であり、両者の相同性は71.5%であった。事例 No.20はGIとGIIが1件ずつであった。また、異なる事例であっても遺伝子配列が100%一致した例があった（表3）。得られた遺伝子配列は18種類、9つのクラスターに分けられた。GII/4型が最も多く11事例あり、GI/11型、GII/2型、GII/6型が3事例、GI/1型、GI/3型、GI/4型、GII/3型、GII/12型が1事例であった（表3）。

考 察

2004年度は、富山県でウイルス検査を行った31事例

（県外発生事例を含む、ボランティアを除く）のうち、NVが原因であると考えられたものは21事例であった。GIIの遺伝子解析しか実施できなかった2003年度[8]に対して、2004年度はGIが6事例で検出された。また、GIとGIIの両方が検出された事例もみられた。2004年度にGIが増えたように感じられるひとつの要因として、1月頃より老人保健施設での集団発生が報道されるようになり、全国的な関心の高まりが通報の増加を促進したことが挙げられる。結果として2003年度13事例から2004年度21事例、というようにNVの検出数が多くなり、GIによる事例も見つかりやすくなったと思われる。しかしながらGI単体での集団発生事例もあり（事例 No.8）、実際にある程度GIの流行が起きているかもしれない。

今回、無症状調理従事者からNVが検出され、さらにその遺伝子配列が患者のものと一致した例があった（事例 No.6, 8）。しかしながら、調理従事者は料理を試食していることも多く、これらの従事者が事件の原因かどうかは不明である。また、患者からはGIIが検出され、無症状調理従事者からはGIが検出された例もあった（事例 No.1）。NVでは3割程度不

顕性感染が存在し、症状が出た場合でも治癒後ウイルスを排出しつづけることがわかっている[9]ため、普段から手指の消毒を徹底し、胃腸炎症状があった後にはしばらく食品の取り扱いを控えるなどの二次汚染対策、ヒト-ヒト感染対策が重要である。

一般的にヒト-ヒト感染や二次汚染の場合は各事例内で同一の塩基配列を示す[10]。逆に、カキ等の2枚貝を原因としたNV食中毒では、同一事例中の遺伝子配列が多様で、混合感染していることもある。また、食中毒(二次汚染の場合を含む)の場合、患者発生は短期間に集中するが、手指などを介したヒト-ヒト感染の場合、長期間に渡って患者が発生する[11]。すなわち、疫学情報と遺伝子解析によってヒト-ヒト感染か、二次汚染か、2枚貝等の食中毒か、を推測することができる。

2004年度はカキが原因と疑われた事例が4事例あり、いずれも数種類のウイルスが検出された[12]。No.13では異なる遺伝子型のGⅡがみられた。すなわち、これらの事例は、まだヒトの体内で特定のNVが選択され増殖する前の状態であり、カキから直接感染した例と思われる。事例No.15, 20は県内者の隣県感染事例であり、解析したところ、GⅠやGⅡの塩基配列が事例No.13と一致することが判明した(表3)。No.13は県内発生事例であるが、No.15, 20と同じ隣県産のカキを喫食していたことから、隣県でこれらのウイルスが流行しており、カキが汚染されていたのかもしれない。

カキとは関連しない事例で、異なる集団発生であっても遺伝子配列の一致が見られたものは、ヒトからヒトへ感染して別の集団発生を起こした可能性が考えられる。特に散発例(検体番号2004/K36)と集団発生事例No.3, No.4は同じ6月に発生しており、互いの集団間での接触があった可能性が高いと思われる。

今回、2003年度に引き続き、2004年度についてもNVの遺伝子解析を行ったが、特徴として、GⅠ型が比較的多くみられたことと、カキ関連の事例で複数のウイルスが検出されたこと、GⅡ/4型が多く11事例と半数の原因を担っていたことが挙げられる。このように、感染性胃腸炎、特に集団発生事例において今回行った遺伝子解析は有用であると考えられた。

謝 辞

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

文 献

1. 国立感染症研究所編(2003). 病原微生物検出情報, 24, 309-310
2. Ando, T., Noel, JS., Fankhauser, RL. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S336-348
3. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T. (2001). *J. Med. Virol.*, 64, 569-576
4. Katayama, K., Shirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). *Virology*, 299, 225-223
5. Vinje, J., Green, J., Lewis, DC., Gallimore, CI., Brown, DW., Koopmans, MP. (2000). *Arch. Virol.*, 145, 223-241
6. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長(2003). 食安監発第115001号.
7. 篠原美千代(2000). 第48回日本ウイルス学会学術集会抄録, p264
8. 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 松浦久美子, 安藤秀二, 永井美之(2004). 富山衛研年報, 27, 112-115
9. Graham, DY., Jiang, X., Tanaka, T., Opekun, AR., Madore, HP., Estes, MK. (1994). *J. Infect. Dis.*, 170, 34-43
10. 齋藤幸一, 堤 玲子, 佐藤直人, 高橋朱実, 佐藤成大(2002). 岩手県環境保健研究センター年報, 2, 115
11. 中田修二(2001). *小児科診療*, 64, 1066-1071
12. 長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 堀元栄詞, 永井美之(2005). 富山衛研年報, 28, 93-98

富山県で分離されたヒト由来サルモネラの 血清型と薬剤耐性 (2000-2004)

磯部順子 田中大祐 清水美和子
綿引正則 永井美之

Serovar and Drug Resistance of *Salmonella* Isolated from Human
In Toyama Prefecture, 2000-2004

Junko ISOBE, Daisuke TANAKA,
Miwako SHIMIZU, Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

要旨 2000年から2004年までの5年間に富山県内でヒトから分離されたサルモネラについて、血清型別及び薬剤感受性試験を行い、以下の結果を得た。

1. 2000～2004年の5年間に富山県でヒトから分離されたサルモネラは血清型別不能1株を含む35血清型、214株であった。分離されたサルモネラの血清型は *Salmonella* Enteritidis が108株 (50.5%) ともっとも多く、ついで *S. Typhimurium* 17株, *S. Tennessee* 13株, *S. Infantis* 12株, *S. Paratyphi B* 10株の順であった。
2. 最も多く分離された *S. Enteritidis* についてみると、年次ごとに分離数は減少し、2004年の分離数(10株)は、この血清型が多く分離された1994年の分離数135株の7.4%に過ぎなかった。
3. 分離菌の薬剤感受性試験では、113株 (52.8%) が何らかの薬剤に耐性を示した。
4. 分離数に対する血清型別の耐性株出現率は、分離数が1株であった血清型を除き、*S. Typhimurium* 12/17株70.1%, *S. Infantis* 8/12株66.7%, *S. Enteritidis* 45/96株46.9%の順に高かった。
5. 薬剤耐性パターンをみると、SM単剤耐性が29株、TC・SM 2剤耐性が15株と多く、いずれのパターンでも *S. Enteritidis* が多かった。

厚生労働省食品保健部の食中毒統計[1]によると、2003年に発生したサルモネラを原因とする食中毒は事件数・患者数ともに第2位で、患者数においては細菌性食中毒の39.4%を占めるなど、依然として公衆衛生上最も重要な食中毒原因菌の一つとなっている。われわれはサルモネラ感染症の実態を把握することを目的とし、これまで富山県における環境のサルモネラ汚染とヒトのサルモネラ感染症との関連性等を調査してきた[2]。また、分離されたサルモネラに薬剤耐性を示す菌が増加していることをすでに報告している[3]。今回、これらに引き続き調査した2000～2004年の最近5年間に富山県内でヒトから分離されたサルモネラの血清型および薬剤感受性について結果を報告する。

材料と方法

1. 供試菌株

2000～2004年の最近5年間に、富山県内の7医療機関

および厚生センター(旧保健所)においてヒトから分離され、衛生研究所に集められたサルモネラ214株を供試した。これらの菌株には食中毒として届け出のあった4事例の患者分離38株および海外旅行者分離8株を含んでいる。

2. 血清型別試験

常法[4]に従い、市販の診断用抗血清(デンカ生研)を用いて実施した。

3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、米国臨床検査標準委員会(NCCLS)の抗菌薬ディスク感受性実施基準に基づき、センシディスク(BBL)を用いて実施した。供試薬剤はChloramphenicol(CP), Tetracycline(TC), Streptomycin(SM), Kanamycin(KM), Colistin(CL), Nalidixic acid(NA), Cephalothin(CF), Gentamicin(GM), Aminobenzyl penicillin(ABPC)の9薬剤である。

Table 1. Number of *Salmonella* isolates from humans in Toyama, 2000-2004

Year	No. of isolates				
	Sporadic cases		Outbreak cases	Carrier	Total
	Domestic cases	Imported cases			
2000	36		12	3	51
2001	26	4	20	4	54
2002	30			5	35
2003	33	3		2	38
2004	21	1	10	4	36
Total	146	8	42	18	214

結果と考察

2000～2004年にヒトから分離されたサルモネラは35血清型（型別不能1株），214株であった。これらを年次毎に事例由来別に示した（Table 1）。年間分離数は年次ごとに減少する傾向であった。これは全国のサルモネラ検出状況と同様である[5]。事例由来別にみると，散発下痢症として分離された154株のうち，ほとんどが国内感染事例由来（146株，94.8%）であった。輸入感染事例由来8株（5.2%）は，イギリス旅行者由来の1株を除いて，すべてアジアへの旅行者から分離された。食中毒由来42株のうち，38株は食中毒として届け出のあった4事例の患者から分離されたが，他の4株は医療機関において同一家族から分離された。保菌者由来18株は業態者検便時におもに厚生センターで分離された。

次いで分離菌の血清型別検出状況についてみると，この5年間に分離されたサルモネラの血清型は35型で，1年間に分離される血清型は10～14型と大きな変動はなかった（Table 2）。血清型別にみると *S. Enteritidis* が108株（50.5%）と最も多く，ついで *S. Typhimurium* 17株，*S. Tennessee* 13株，*S. Infantis* 12株，*S. Paratyphi B* 10株の順に多かった。ただし，*S. Tennessee* と *S. Paratyphi B* は，それぞれ1株を除くすべてが同一食中毒患者由来であった。*S. Tennessee* は，わが国でヒトから高頻度に分離されるサルモネラの血清型のひとつである。しかし，全国で1993～2000年の間に分離されたこの血清型の菌株数がサルモネラ全体に占める割合は1%以下と低く[5, 6]，また，富山県においては1990～1999年の10年間で11株分離されているに過ぎない[3, 5]。ところが，富山県でこの *S. Tennessee* による食中毒が発生した2001年は，全国でもこの血清型の分離数が多かった。富山県の事例について原因食品を特定できなかったが，

広域的に汚染食品が流通していた可能性も考えられた。最も多く分離された *S. Enteritidis* についてみると，年次ごとに分離数は減少し，2004年の分離数（10株）は，この血清型が多く分離された1994年の分離数135株の7.4%に過ぎなかった。2類感染症である *S. Typhi* 2株はいずれも海外旅行歴のないヒトから分離され，その感染経路は不明であった。一方，*S. Paratyphi A* 5株のうち4株は海外旅行者から，1株はこれを検査した医療機関の検査室内で感染した事例であった[7]。

分離菌の薬剤感受性では，113株（52.8%）が何らかの薬剤に耐性を示した（Table 2）。さらに薬剤耐性を示した株について，血清型別にその薬剤パターンを示した（Table 3）。ただし，薬剤耐性の傾向を正確に把握するため，食中毒由来株は1株として数えた。分離数に対する血清型別の耐性株出現率は，分離数が1株であった血清型を除き，*S. Typhimurium* 12/17株70.1%，*S. Infantis* 8/12株66.7%，*S. Enteritidis* 45/96株46.9%の順に高かった。これらの結果は他県の状況と同様であった[8, 9]。薬剤耐性パターンをみると，SM単剤耐性が29株，TC・SM 2剤耐性が15株と多く，いずれのパターンでも *S. Enteritidis* が多かった。耐性薬剤数が最も多かったのは *S. Typhimurium* のCP, TC, SM, KM, ABPCとCP, TC, SM, NA, ABPCの5剤耐性パターンであった。われわれは，*S. Typhimurium* に耐性パターンが多く，また，その耐性薬剤数が多いこと，それに比べ *S. Enteritidis* の耐性株は単剤耐性を示す場合が多いことをすでに報告している[3]。しかし，この5年間に初めて4剤耐性の *S. Enteritidis* が分離されたことから，今後この血清型の薬剤耐性の動向には注意しなければならない。

サルモネラの分離数は減少傾向にあるが，これは *S. Enteritidis* の分離数減少によるところが大きい。

平成17年11月 1 日

Table 2. Serovar of *Salmonella* isolates from humans in Toyama,2000-2004

O-group	Year serovar	No. of isolates (resistants)										Total
		2000		2001		2002		2003		2004		
		sporadic cases	outbreak cases	sporadic cases	outbreak cases	sporadic cases	outbreak cases	sporadic cases	outbreak cases	sporadic cases	outbreak cases	
2	Paratyphi A			1				3(2)		2(2)		6 (4)
4	Agona	1				2						3
4	Bredeney							1				1
4	Derby	1(1)										1(1)
4	Heidelberg							1				1
4	Hifa					1						1
4	Paratyphi B									10	9	10
4	Saintpaul	1		1		1		2		1		6
4	Stanley							1				1
4	Typhimurium	4(3)		6(6)				4(2)		3(2)		17 (13)
7	Bareilly					1						1
7	Braenderup							1(1)				1(1)
7	Infantis	2(1)		2(2)		5(4)		2(1)		1		12 (8)
7	Lomita			1								1
7	Montevideo			1								1
7	Ohio	1										1
7	Tennessee				12(12)					1		13 (12)
7	Thompson			1						4		5
7	Virchow							2				2
8	Bardo			1								1
8	bovismorbificans							1				1
8	Corvallis	1(1)										1(1)
8	Manchester	1(1)										1(1)
8	Narasino					1						1
8	Newport					1						1
9	Elisavethville			1								1
9	Enteritidis	25(11)	12(7)	18(9)	8 (5)	19(12)		16(13)		10(6)		108 (68)
9	Moscow	1(1)										1(1)
9	Typhi					1		1				2
13	Havana					1						1
13	Reid/Ajubo	1										1
16	Huittingfass					1						1
3,10	Muenster							1(1)		3		4(1)
3,10	Seegefeld									1		1
3,10	Weltevreden			1(1)				2				3(1)
	UT*					1(1)						1(1)
Total		39(19)	12(7)	34(41)	20 (17)	35(17)		38(20)		36(10)		214(113)

UT:untypable

Table 3. Drug-resistance patterns by serovar of *Salmonella* isolates from humans in Toyama, 2000-2004

Resistance pattern	No. of resistants											Total	
	Muenster	Derby	Braenderup	Tennessee	Typhimurium	Paratyphi A	Enteritidis	Muenster	Corvallis	Manchester	Moscow		Infantis
TC		1		1	1		4					1	8
SM						29							29
NA	1					3	1	1					6
CF						1							1
CP,GM							1				1		2
TC,SM		1			1		7	1	1	1	3		15
TC,KM											1		1
TC,ABPC					2								2
CP,TC,SM					4								4
TC,SM,KM											1		1
TC,SM,NA					1						2		3
CP,TC,SM,ABPC					1								1
CP,TC,NA,ABPC							1						1
TC,SM,KM,ABPC							2						2
CP,TC,SM,KM,ABPC					1								1
CP,TC,SM,NA,ABPC					1								1
Subtotal	1	1	1	1	12	4	45	1	1	1	8	1	78
No. of sensitive strain	3		1	4	4	2	51	3			4	2	70
Total	4	1	1	2	16	6	96	4	1	1	12	3	148

Drugs tested:CP,TC,SM,KM,ST,NA,CF,GM and ABPC

平成17年11月1日

平成10年に食品衛生法施行及び食品、添加物等の規格基準が改正され、鶏卵の表示と液卵の規格基準を設ける等の措置を講じたことが徐々に効を奏していると考えられる。しかし、その一方で薬剤耐性を獲得している株が増加傾向にあり、多剤耐性菌の出現も大きな問題となっている[10]。したがって、今後もサルモネラ感染症の実態を把握し、その動向を監視する必要があると思われる。

文 献

1. 厚生省生活衛生局食品保健課, 食品衛生研究 (2004). 54, 61-144
2. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 清水美和子, 香取幸治 (2002), 富山衛研年報, 25, 103-110
3. 磯部順子, 田中大祐, 細呂木志保, 清水美和子, 香取幸治 (2003). 富山衛研年報, 26, 115-121
4. 田村和満. 微生物検査必携, 細菌・真菌検査, 第3版, D43~D54, 日本公衆衛生協会編、1987
5. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報 (2003). 8, 179-180
6. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報 (2000). 8, 162-163
7. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報 (2004). 10, 259
8. 倉園貴至, 近 真理奈, 大島まり子, 山口正則 (2004). 埼玉県衛生研究所報, 38, 87-89
9. 松下 秀, 河村真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 柳川義勢, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角聖 (2001). 感染症学雑誌, 75, 116-123
10. 石畝 史, 布施田哲也, 重屋志啓盛, 京田芳人, 望月典郎, 泉谷秀昌, 渡辺治雄 (2004). 感染症学雑誌, 79, 989-990

富山湾海洋水の細菌学的特性に関する調査研究

綿引正則 清水美和子 嶋 智子 磯部順子 田中大祐 木全恵子 松永明信¹ 永井美之

Characterization of Bacteriological Traits in Toyama Bay

Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU, Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Keiko KIMATA, Akinobu MATSUNAGA¹ and Yoshiyuki NAGAI

要 旨 平成16年、富山県滑川沖海洋2地点において、海水を8月と11月に深度別に採取、昨年と同様に海洋細菌の生菌数調査を行った。さらに本年度は、分離された任意の細菌について16S rDNA 配列の一部を解析し、遺伝子配列データベースと照合し分類を試みた。この結果をもとに互いの系統関係を調べることにより富山湾に存在する細菌を深度別あるいは地点別に比較し、以下のような結果を得た。8月の表層水付近の温度は、11月と較べると2地点とも高い温度を示し、50m以深の温度は季節による変動は見られず安定していた。また、深層水と呼ばれる300m以深から分離された細菌のうち、放線菌類に属する細菌が深度特異的に存在することが示唆された。

富山県は、北アルプスから富山湾へ大量の水が流れ、多くの湧き水や伏流水を私たちにもたらしてくれる。それはたくさんの地域で古くから「名水」として親しまれており、私たちの生活に欠かせないものになっている。また、近年、富山湾深層水はその清浄性と豊富に含まれるミネラルにより、商業利用が盛んに行なわれており、富山県の新しい「名水」のひとつになりつつある。このような中で富山湾の細菌学的特性、即ちどのような細菌がどの程度存在するのかを把握することは、今後、富山湾深層水を多面的に利用をする上で重要となるという認識の基、平成15年度には富山湾の細菌学的研究を行ない報告した[1]。平成16年度は、富山湾の深度別生菌数だけではなく、分離培地に生育した細菌の同定を16S rDNA の配列解析を行なうことにより試みた。これは様々な特徴を持った多数の細菌の同時解析を可能とする方法であり、細菌の系統解析に利用されるようになってきている。今回の目的のひとつは、富山湾海水中に存在する海洋細菌の特性を定量的に把握しようとする試みであるが、16S rDNA 配列解析する手法を取り入れることにより細菌の同定作業が非常に効率的に行なえるようになると予想される。従って、この手法は、当細菌部の業務である感染症等の危機管理を行なう際の有効な手法の一つになると考えられるため、その有効性について評価を行なうことも目的とした。

実験方法

1. 海水の採取

深度別の海水の採取は、富山県滑川市沖において、富山県水産試験場所有の漁業調査船「立山丸」にて、平成16年8月3日と11月9日に行なわれた。採水地点は、滑川市沖の St.40（東経137度17分、北緯36度50分）及び富山湾の中心に近い St.08（東経137度13分、北緯37度0分）である（Fig. 1）。採水は St.40 においては、0, 3, 10, 15, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 300, 350m 及び St.08 においては、0, 3, 10, 15, 20, 30, 50, 100, 150, 200, 300, 350, 400, 500, 600, 700m の各水深から専用の採水機を用いて、各々100mL ずつ滅菌ポリ容器に採水した。この検体は10°C以下に保ち試験室に搬入し、直ちに生菌数測定に用いた。

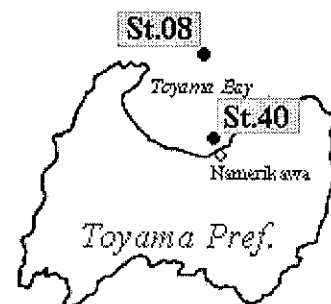


Fig. 1. Sampling Spots in Toyama Bay

1. 現) 救急薬品工業(株)

2. 生菌数の測定

海洋細菌の計数は、マリン寒天培地 (Difco Marine Agar 2216) を用いて、コンラージ法にて試料を200 μ L づつ塗布、20°Cにて1週間培養し、発育してきたコロニー数から生菌数を計算した[1].

3. 分離菌の保存及びDNAの抽出

発育したコロニーから、その性状等を勘案してなるべく偏らないように選択し、新しいマリン寒天培地に移植し、再び20°Cにて培養を続けた。そのコロニーの一部は、マリン培地 (Difco Marine Broth 2216) に懸濁し、滅菌グリセロールを添加し、50%濃度とし、-80°Cで凍結保存した。また、発育した一部の菌体から以下のようにDNAを抽出した[2]。TE緩衝液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.8) 200 μ L に菌体を懸濁し、10%キレックス懸濁液 (W/V; Chelex-100, バイオラド社) 同量を加え、攪拌後、56°C30分、続いて98°C8分間処理し、直ちに遠心 (13,000rpm \times 3分) した。遠心後の上清約200 μ L を新しいチューブに移し、DNA溶液とし、使用まで-20°Cにて凍結保存した。

4. 16S rDNAのPCRと塩基配列決定

分離菌の16S rDNAのPCRは、以下のプライマーを用いた。#519: 5'-CCG AAT TCG TCG ACA ACA GAG TTT GAT CCT GGC TCA G-3' と #520: 5'-CCC GGG ATC CAA GCT TAC GGC TAC CTT GTT ACG ACT T-3'。これらのプライマーは、すべての細菌の16S rDNA 遺伝子を増幅するとされているプライマーである[3]。このPCR産物を鋳型として塩基配列決定を行なうために、QIAquick PCR Purification Kit (キアゲン社) を用い精製した。精製DNAの一部をPCRに使用したプライマー#519とBigDye Terminator Kit V.1.1あるいはV3.1を用いてダイターミネーター反応を行ない、反応産物を精製後、ABI3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystem Japan) を用いて塩基配列を決定した。

5. 塩基配列の解析

得られた配列は、DDBJ ホームページ[4]のBlastnプログラムを用いて相同性検索を行なった。また、得られた配列の系統解析は、大腸菌16S rDNA配列の5'末端側430塩基 (大腸菌MG1655株の1541塩基から成る rrsA 遺伝子の塩基番号91-520) に相当する相同領域を抽出し、MEGA version 3.0 (以下、MEGA3と略) を用いて、系統樹を作成した[5].

結果

1. 深度別生菌数

富山湾の滑川沖の St.40 及び St.08 地点での深度別の温度と生菌数を Fig. 2 に示した。ここで St.08 はほぼ富山湾の中心に近く、水深700mまでの海水を採取した。これに較べて St.40 は、沿岸に近く、350mまでの採取とした。現在、富山の深層水として取水施設のある滑川市及び入善町においてもその取水深度は300及び321mであり、St.40 に近いところに位置していることから、今回、この2箇所を採水地点とした。

深度別の海水温度については、8月と11月で比較すると、St.40 及び St.08 のいずれも8月の表層水付近の温度が11月よりも約8°Cほど高かった。しかし、水深100m以深では、8月、11月の温度はほとんど同じであり、前報[1]の結果と合わせると、季節による変動が

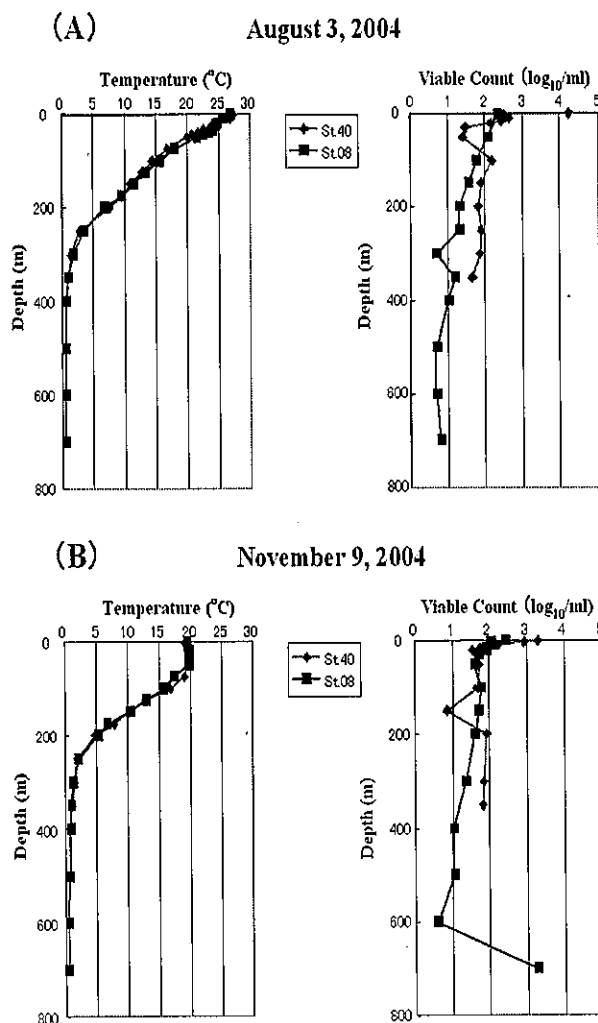


Fig. 2. Depth Profiles of Water Temperature and Bacterial Viable Counts at St.40 and St.08. (A) is the profile on August 3, 2004, and (B) is on November 9, 2004

ほとんど安定していると思われる。生菌数については、St.40はSt.08よりも一桁高いという結果であり、沿岸部に近いことから河川からの生活廃水の流入等の影響を受けやすいことを考えると当然の結果と考えられた。前報[1]の深度300mまでの生菌数調査結果と比較すると、今回のSt.40の結果とほぼ同様であった。すなわち、表層部分は 10^4 cfu/ml程度の生菌数で、以下深度が増すと急速にその数が減り、水深50m以下からほぼ 10^3 cfu/mlで安定していた。しかし、富山湾の中心に近いSt.08は、St.40に較べて表層付近の生菌数だけでなく、全体を通じて少なかった。しかし、今回、11月に採水したSt.08の700mの生菌数が 10^3 cfu/mlを示し、異常に高い値となった。この原因は不明である。海洋中にどのような形態で細菌が存在するのかが不明の点が多いが、複数の細菌が集合して存在している可能性もあるのではないかと考えられるため、今後、注視したいと考えている。

2. 分離菌の16S rDNA 配列解析と Blastn 検索

マリン寒天培地から分離されたコロニーは、DNA抽出後、全ての細菌16S rDNA 遺伝子領域の増幅を可能とするために設計されたプライマーを用いてPCRを行なった。PCR後、約1500塩基対のPCR産物を鋳型として、rDNAの5'-末端側の部分的な塩基配列の決定を行なったところ、700塩基以上の配列が得られ、少なくとも500塩基以上の配列の信頼性が高い配列についてのみ、Blastnプログラムを用いた相同性検索を行なった[4]。今回、St.40及びSt.08から分離された各約100株の分離菌を解析の対象としたが、PCR反応がうまく進行しないものあるいは信頼性の低い配列しか得られなかった株については、今回の試みが環境中の任意に取得した細菌の定量的な解析を目指した試行的なものであるため、それ以上の解析は行なわなかった。従って、最終的には、St.40及びSt.08から、それぞれ60株および88株から16S rDNAの5'-末端配列を得た。この配列をBlastnによる相同性検索を行った結果をTable 1及びTable 2に示した。この表の左のカラムから、採水地点とその深度別、分離された株名(St.40からの分離株は番号の前に“au”及びSt.08は“DB”を付加したもの)、Query(Blastn解析に使用した配列の塩基数)、Score、Ratio(S/Q)及びDefinitionとして最も高いスコアであった細菌名を示した。ここでScore列に示された数字は、見つかった局所配列のビット数で表されるもので、この値の半分の大きさがおよそその局所配列長となる。従って、Ratio(S/Q)の値(Scoreの値をQueryの値で除したもの)が2に近ければ近いほど、

分離株が得られた細菌名である確率が極めて高いことを示している。今回、解析された148株の分離菌のほとんどが、2に近いものであったが、スコアが低いものもいくつか見出された。例えば、St.40 300mから分離されたau16株は、1.18であり、示された細菌名は*Pasteurella testudinis*であった。あるいはSt.40の10mから分離されたDB12株は、1.28であり、Uncultured Cytophagales bacteriumという結果となった。このような低い値のものは、未だ公共データベースに登録されていない新規な微生物である可能性を示していると思われる。

3. 分離菌の深度別16S rDNA 配列の系統解析

得られた配列のお互いの系統関係は、遺伝子の系統関係を定量的に解析するソフトウェアであるMEGA3を用いて解析した。ここで、得られた各分離株の16S rDNAの5'-末端配列は、長さがまちまちであり、このまま系統解析に用いることが出来ないため、大腸菌の16S rDNAのひとつであるrrsA、全長1541塩基長の5'-末端付近の塩基番号91-520の430塩基長を参照配列として、全ての配列からこの参照配列と相同領域を抽出して使用した。解析対象は、Table 1及びTable 2に示したすべての分離株の配列とした。そこで、8月及び11月に採水した海水から分離した細菌の系統関係をFig.3に示した。この系統解析では、St.40とSt.08からの分離株を同時に解析し、ひとつの系統樹とした。図中では、採水地点ごとに該当する分離株番号を黒で塗りつぶし、採水地点毎に比較可能となるように示した。このように作成された分子系統樹は、一般に文献[5]により示されるクラスターに分けることが出来る。今回、解析した細菌は、すべてマリン寒天培地上で生育した細菌であり、その大部分は従属栄養細菌に属するものと考えられる。今回の結果はこれまで報告されている16S rDNA塩基配列に基づく海洋細菌の分子系統樹と矛盾するものではなかった[6]。すなわち α -プロテオバクテリア群、 γ -プロテオバクテリア群、滑走細菌群であるCFB群(Cytophaga / Flexibacter / Bacteroides group)が大きなクラスターであり、小さなクラスターとしてグラム陽性菌であるバチルス群および放線菌類(アクチノバクテリア群)である。このなかで特に γ -プロテオバクテリア群には大腸菌や腸炎ビブリオなどのわれわれに馴染みの深い病原細菌が含まれる。今回の解析では、 β -プロテオバクテリア群は、いずれも検出されなかったが、この群は環境中に存在する割合が先の群よりも少ないため、今回の解析量では検出できなかったと考えられる。

平成17年11月1日

Table 1. Blast Searching of 16S rDNA sequences of Bacterial Isolates by Depth on August 3, 2004.

Site Depth	Isolate No	Query	Score	Ratio(S/Q)	Definition
St. 40 0m	au27	417	819	1.96	AB026492 Alpha proteobacterium
	au35	573	827	1.44	AJ557872 Marine arctic deep-sea bacterium
	au36	571	1116	1.95	AJ227809 Maricaulis sp.
St. 40 3m	au39	570	995	1.75	AF368183 Uncultured Rhodobacter group bacterium
	au40	573	1136	1.98	AB035544 Erythrobacter sp.
	au41	577	1092	1.89	AB121783 Jannaschia cystaugens
	au42	577	954	1.65	AJ309862 Oceanicaulis alexandrii
	au43	650	1263	1.94	AY344375 Erythrobacter sp.
St. 40 10m	au26	574	1130	1.97	AB026492 Alpha proteobacterium
	au44	609	1065	1.75	AF368183 Uncultured Rhodobacter
St. 40 15m	au25	575	1124	1.95	AY349460 Roseobacter sp.
	au45	650	1267	1.95	AY345437 Bacterium K2-12
St. 40 20m	au24	571	1124	1.97	AY292944 Photobacterium leiognathi
	au46	648	1106	1.71	AY580445 Uncultured alpha proteobacterium
	au47	609	1207	1.98	AY258074 Roseobacter sp.
	au48	645	1092	1.69	AB079681 Rhodobacter sp.
St. 40 30m	au49	528	823	1.56	AB038032 Photobacterium sp.
St. 40 50m	au50	493	700	1.42	AY177724 Flavobacteriaceae bacterium
St. 40 100m	au51	529	842	1.59	AY424898 Oceanicola batsensis
	au52	492	809	1.64	AY580443 Uncultured alpha proteobacterium
	au53	497	985	1.98	AJ391181 marine alpha proteobacterium
St. 40 150m	au23	572	1134	1.98	AJ784115 Rhodobacteraceae bacterium
	au54	491	973	1.98	AJ391181 marine alpha proteobacterium
	au55	529	1049	1.98	AJ391182 marine alpha proteobacterium
St. 40 200m	au19	572	1134	1.98	AJ748259 Bacillus sp.
	au20	569	1120	1.97	AY264925 Vibrio harveyi
	au21	572	1134	1.98	AJ784121 Pseudoalteromonas sp.
	au22	574	1138	1.98	AY654834 Mucus bacterium 97
	au56	493	977	1.98	AY553115 Staphylococcus sp.
St. 40 250m	au18	574	876	1.53	AF359548 Marine bacterium SCRIPPS_413
	au57	529	914	1.73	AJ535257 Uncultured Cytophagales
	au58	529	914	1.73	AJ535257 Uncultured Cytophagales
St. 40 300m	au13	606	1005	1.66	AF260716 Cytophaga sp.
	au14	607	1144	1.88	AY136124 Roseobacter sp.
	au15	607	1174	1.93	AJ391182 marine alpha proteobacterium
	au16	606	714	1.18	AY362926 Pasteurella testudinis
	au17	571	1132	1.98	AY264927 Vibrio harveyi
	au59	528	904	1.71	AY332185 Frigoribacterium sp.
St. 08 3m	au60	526	1043	1.98	AY258092 Bacterium DG949

St. 08 50m	au61	528	1047	1.98	AB035544 Erythrobacter sp.
	au62	526	906	1.72	AB121783 Jannaschia cystaugens
	au10	603	993	1.65	AB017046 Cytophaga sp.
	au11	608	912	1.50	AB032502 Tenacibaculum mesophilum
	au12	607	1203	1.98	X74692 Vibriocampbelli
St. 08 100m	au63	566	1082	1.91	AY268257 Uncultured bacterium
	au6	574	1130	1.97	X74686 Photobacterium leiognathi
	au7	573	1112	1.94	AY264924 Vibrio harveyi
	au8	569	1128	1.98	AY374399 Vibrio.campbelli
	au9	609	1199	1.97	AF242271 Vibrio sp. Da2
St. 08 150m	au4	571	1132	1.98	X74686 Photobacterium leiognathi
	au5	573	1112	1.94	AJ784148 Pseudoalteromonas sp.
St. 08 300m	au3	569	1057	1.86	AY580855 Vibrio lentus
St. 08 350m	au64	527	876	1.66	AY038534 Uncultured Cytophagales bacterium
	au65	528	854	1.62	AF143831 Uncultured bacterium
	au2	569	1120	1.97	AY292944 Photobacterium leiognathi
St. 08 400m	au66	530	795	1.50	AY259505 Flavobacteriaceae bacterium
St. 08 700m	au67	525	1005	1.91	AF480590 Mycobacterium tokaiense
	au68	527	894	1.70	AY177723 Flavobacteriaceae bacterium
	au69	562	900	1.60	AJ309862 Oceanicaulis alexandrii
	au1	571	1116	1.95	AB186978 Sphingomonas sp.

Table 2. Blast Searching of 16S rDNA sequences of Bacterial Isolates by Depth on November 9 , 2004.

Site Depth	Isolate No	Query	Score	Ratio(S/Q)	Definition
St.40 0m	DB1	518	944	1.82	AB167030.1 Halomonas sp. NT N114
	DB2	518	815	1.57	AF025568.1 Cytophagales str. MED25
	DB3	660	1207	1.83	AJ308105.1 Glacielcola sp. EL-110
	DB4	532	930	1.75	AY125907.1 Vibrio sp. C4d
St.40 3m	DB5	537	904	1.68	AJ784117.1 Eubacterium sp. KE2-08
	DB6	544	910	1.67	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium AS-19
	DB7	552	940	1.70	AF234741.1 Uncultured sludge bacterium A6
	DB8	677	1205	1.78	AY690709.1 Novosphingobium sp. HZ11
	DB9	635	1189	1.87	AY259121.1 Pseudomonas sp. Hsa.28
St.40 10m	DB10	622	993	1.60	AF507828.1 Uncultured alpha proteobacterium
	DB11	624	1013	1.62	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium AS-19
	DB12	654	839	1.28	AY038534.1 Uncultured Cytophagales bacterium
St.40 15m	DB13	669	1273	1.90	AY745843.1 Bacillus sp. JL-38
	DB14	689	1074	1.56	AB032502.1 Tenacibaculum mesophilum
	DB15	670	1043	1.56	AF114485.1 CVSP bacterium CV1010-362
St.40 20m	DB16	698	1324	1.90	AB009933.1 Staphylococcus arlettae

平成17年11月1日

	DB17	694	1170	1.69	AJ316167.1 <i>Vibrio</i> sp.
St.40 30m	DB18	694	1269	1.83	AF366021.1 Marine gamma proteobacterium
St.40 50m	DB19	702	1112	1.58	AY367750.1 <i>Cytophaga</i> sp.
	DB21	700	1225	1.75	AY167335.1 <i>Octadecabacter</i> sp.
	DB22	712	1322	1.86	AY622232.1 Uncultured actinobacterium
St.40 100m	DB23	727	1405	1.93	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium
	DB24	720	1239	1.72	AY485224.1 <i>Shewanella marisflavi</i>
	DB26	728	1289	1.77	AJ316167.1 <i>Vibrio</i> sp.
St.40 150m	DB27	685	1255	1.83	AY292944.1 <i>Photobacterium leiognathi</i>
	DB28	693	1342	1.94	AY745841.1 <i>Kocuria</i> sp.
St.40 200m	DB30	689	1152	1.67	AJ535257.1 Uncultured <i>Cytophagales</i> partial
	DB31	708	1376	1.94	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium
	DB32	707	944	1.34	AB015262.1 Uncultured <i>Cytophaga</i> sp.
	DB33	723	1415	1.96	AB078044.1 <i>Flexibacter aurantiacus</i> subsp.
	DB35	725	1283	1.77	AF254105.1 Slope strain E11*
St.40 300m	DB36	725	1388	1.91	AJ391182.1 marine alpha proteobacterium
	DB37	626	920	1.47	AF539759.1 <i>Cellulophaga</i> sp.
	DB38	621	1124	1.81	AY028197.1 Marine bacterium
	DB39	629	1015	1.61	AJ535257.1 Uncultured <i>Cytophagales</i> partial
	DB40	609	963	1.58	AF539759.1 <i>Cellulophaga</i> sp.
St.40 350m	DB41	635	1031	1.62	AJ535257.1 Uncultured <i>Cytophagales</i> partial
	DB42	648	1257	1.94	AJ391182.1 marine alpha proteobacterium
	DB43	653	1061	1.62	AJ535257.1 Uncultured <i>Cytophagales</i> partial
	DB44	657	1251	1.90	AF140036.1 <i>Cellulomonas flavigena</i>
St.08 0m	DB45	605	1090	1.80	AY700618.1 Uncultured bacterium
	DB46	608	1197	1.97	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium
	DB47	613	1116	1.82	AY593468.1 Uncultured bacterium clone Napoli-MN16BT2-23
	DB48	626	1225	1.96	AJ391182.1 marine alpha proteobacterium AS-21
St.08 3m	DB49	590	904	1.53	AY922247.1 Uncultured <i>Bacteroidetes</i> bacterium
	DB51	645	1207	1.87	AF114485.1 CVSP bacterium
	DB52	657	1142	1.74	AY771715.1 <i>Pseudoalteromonas porphyrae</i>
St.08 15m	DB54	651	1219	1.87	AF366021.1 Marine gamma proteobacterium
	DB55	552	749	1.36	AJ784142.1 <i>Flavobacteriaceae</i> bacterium
	DB56	549	1074	1.96	AY080971.1 Uncultured <i>Staphylococcus</i> sp.
St.08 20m	DB57	551	1053	1.91	AF114485.1 CVSP bacterium CV1010-362 16S
	DB58	558	1086	1.95	AY712068.1 Uncultured <i>Leisingera</i> sp.
	DB59	568	1037	1.83	AY345425.1 Bacterium K2-29
St.08 30m	DB60	567	1076	1.90	AB078044.1 <i>Flexibacter aurantiacus</i> subsp.
	DB61	579	1136	1.96	AJ391181.1 marine alpha proteobacterium
	DB62	592	1144	1.93	AY712068.1 Uncultured <i>Leisingera</i> sp.

St.08 50m	DB64	536	833	1.55	AB032502.1 <i>Tenacibaculum mesophilum</i>
	DB66	538	1061	1.97	AJ345065.1 <i>Vibrio</i> sp.
	DB67	552	1019	1.85	AB022335.1 obligately oligotrophic bacteria
	DB68	561	892	1.59	AY646155.1 <i>Pseudoalteromonas</i> sp.
St.08 100m	DB69	564	888	1.57	AY646155.1 <i>Pseudoalteromonas</i> sp.
	DB70	578	1120	1.94	AY712068.1 Uncultured <i>Leisingera</i> sp.
	DB71	549	1015	1.85	AY712319.1 Uncultured <i>Flavobacteria</i> bacterium
	DB72	588	912	1.55	AJ784142.1 <i>Flavobacteriaceae</i> bacterium
	DB73	509	999	1.96	D88527.1 <i>Agrobacterium meteori</i>
St.08 150m	DB74	512	793	1.55	AY682201.1 <i>Pseudoalteromonas chazhmella</i>
	DB75	513	936	1.82	AY712185.1 Uncultured <i>Sulfitobacter</i> sp.
	DB76	520	963	1.85	AY697914.1 Uncultured <i>Roseobacter</i> sp.
	DB77	532	1029	1.93	AY922234.1 Uncultured alpha proteobacterium
	DB78	554	878	1.58	X82138.1 <i>A.denitrificans</i>
St.08 200m	DB79	544	1078	1.98	AJ391182.1 marine alpha proteobacterium
	DB80	557	894	1.61	AY580439.1 Uncultured alpha proteobacterium
	DB81	500	825	1.65	AY038534.1 Uncultured <i>Cytophagales</i> bacterium
St.08 300m	DB82	467	773	1.66	AY277554.1 <i>Gordonia rubripertinctus</i>
	DB83	516	936	1.81	AY212613.1 Uncultured bacterium
	DB84	528	894	1.69	AJ784814.1 <i>Gordonia rubripertinctus</i>
St.08 400m	DB85	522	1035	1.98	AF538712.1 <i>Roseomonas mucosa</i>
	DB86	544	1057	1.94	Z26895.1 <i>Staphylococcus equorum</i>
St.08 500m	DB87	555	1084	1.95	AY745815.1 <i>Bacillus</i> sp.
	DB88	551	1015	1.84	AY504446.1 <i>Bacillaceae</i> bacterium
St.08 600m	DB89	495	957	1.93	AY907560.1 Bacterium OVA3.2 16S ribosomal RNA
	DB90	479	831	1.73	AY177722.1 <i>Flavobacteriaceae</i> bacterium BIA 16S
St.08 700m	DB92	499	989	1.98	Y17229.1 <i>Microbacterium aurum</i>
	DB93	497	971	1.95	AY561623.1 <i>Micrococcus</i> sp.
	DB95	546	963	1.76	AY145529.1 <i>Nocardioides</i> sp.
	DB96	507	1005	1.98	AJ244704.1 <i>Brevundimonas</i> sp.
	DB98	547	1068	1.95	AJ717368.1 <i>Micrococcus luteus</i>
	DB99	502	908	1.81	AB167382.1 <i>Sphingomonas</i> sp.

さらに St. 40 の分布の特徴として8月は、系統樹全体のクラスターに一様に分布していた。しかし、St.08では特定の α -プロテオバクテリア群の一部が観察されないという結果になった。これについて生菌数を見ると St.40は St.08よりも一桁ほど多く、解析した分離株の偏り等を考慮すると、今回だけの解析データではこの結果に意味があるのかを判断することはできないと思われる。11月の St.40と St.08からの分離株を

較べると、放線菌類が St.08に偏っていることが示唆された。そこで、2004年の8月と11月すべての分離株の16S rDNA 配列データを統合して、系統樹を作成し、深度別分布を知るために解析した結果を Fig. 4 に示した。

Fig. 4は、今年度解析された分離株16S rDNA 配列すべての系統関係を見たものである。深度は、表層付近の0-30m、中層である50-250m及び一般に300m

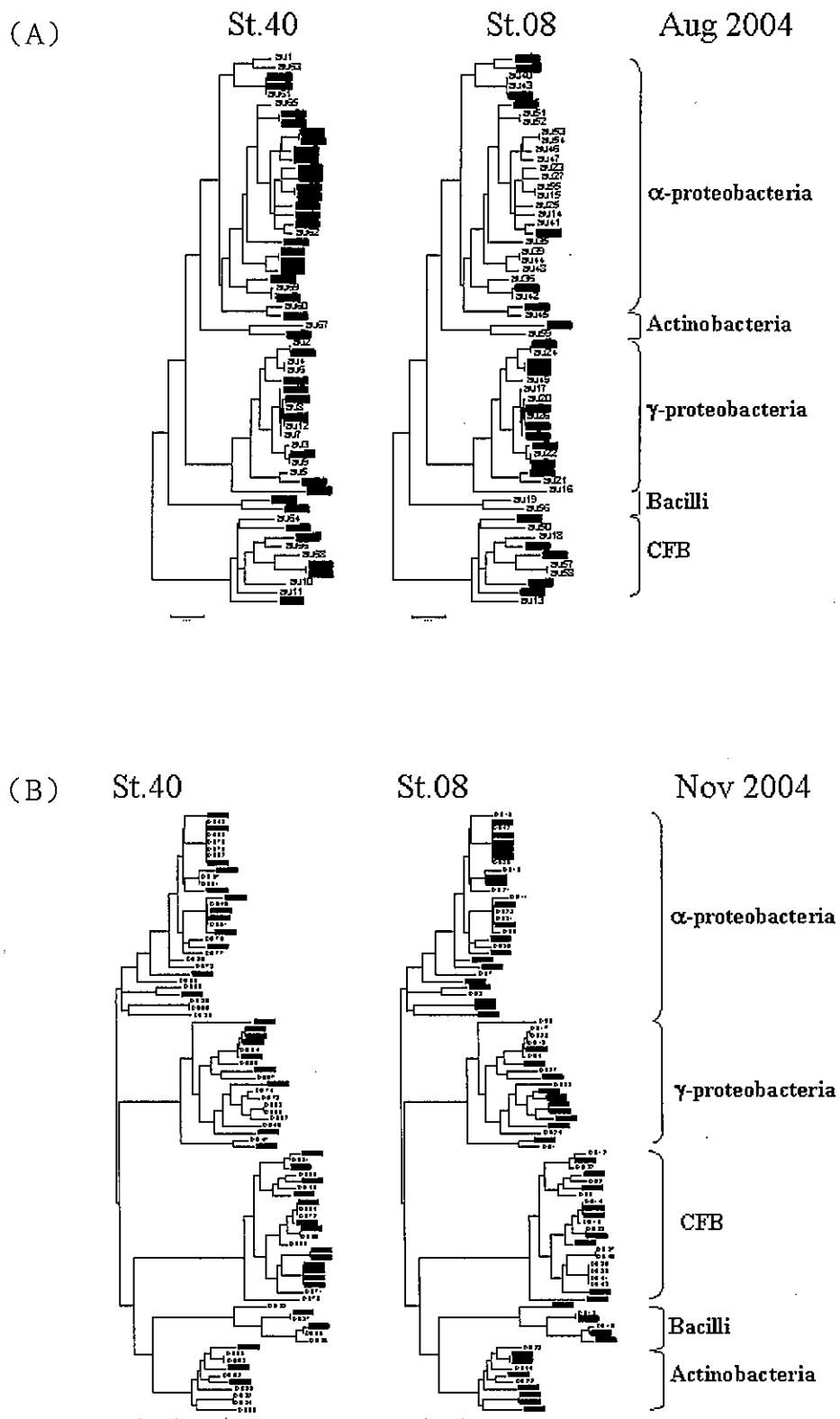


Fig. 3. Phylogenetic Trees of 16S rDNA Sequences from All Marine Bacteria Isolated (A) on August 3, 2004 and (B) on November 9, 2004.

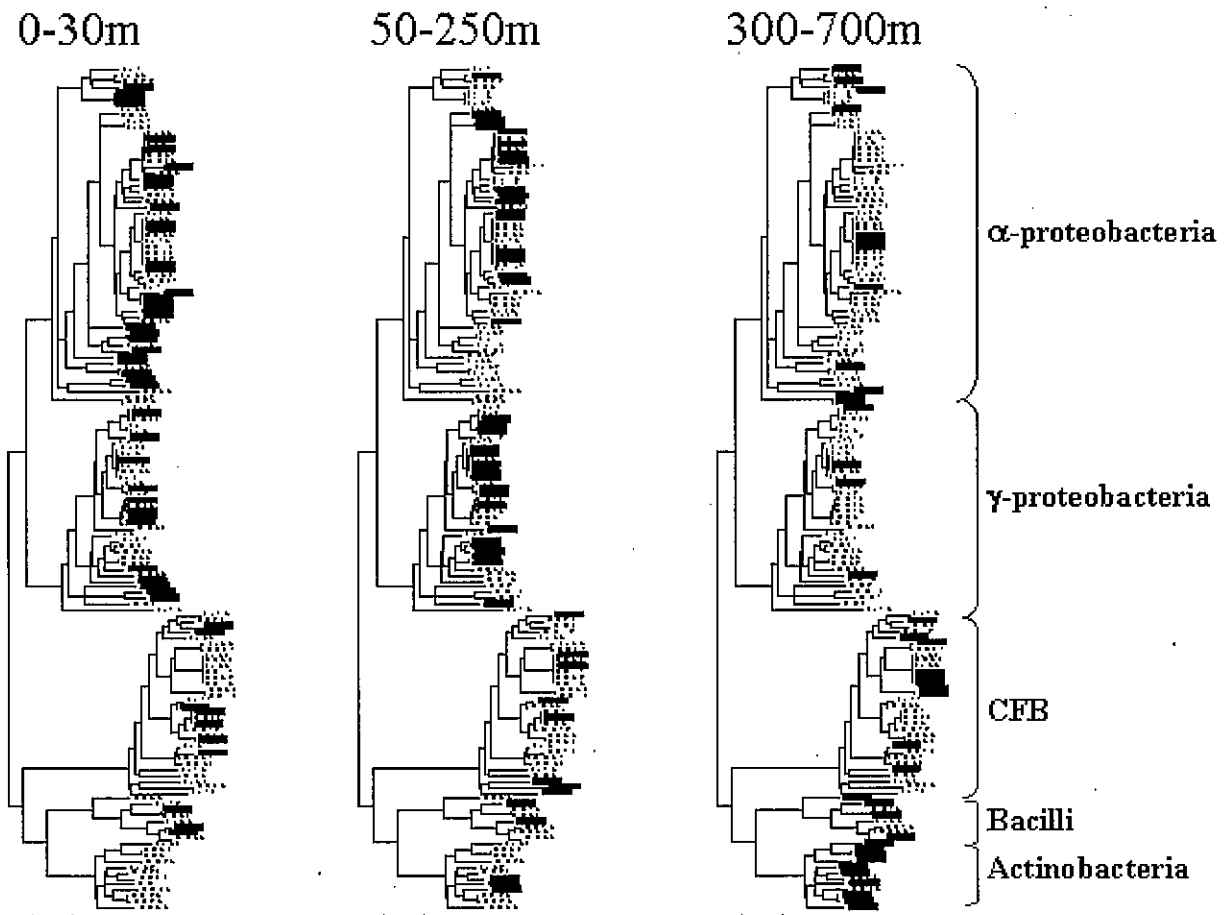


Fig. 4. Phylogenetic Trees of 16S rDNA Sequences for Depicting Distribution of Cultured Isolates by Depth

以深を深層水と呼ばれることを考慮して300-700mの3段階に分けて、各深度から分離された株番号を黒く塗りつぶして示した。この結果、従属栄養細菌である α -プロテオバクテリア群、 γ -プロテオバクテリア群が表層から中層に分布し、300m以深では少ないこと、逆に放線菌類が多いことが示唆された。

考 察

富山湾深層水の特性に関する調査研究は、松永らの化学成分に関する報告[8]があるが、細菌学的な特性に関する報告はない。われわれは、平成15年に富山湾海洋細菌の深度別生菌数調査を行ない報告した[1]。平成16年度においても引き続き生菌数調査を行ない、沿岸に近いほど、表層近くの生菌数は多く、沿岸から離れ、また深度が増すにつれて、生菌数は減少し、 $10\sim 10^2$ cfu/mlのレベルで安定しており、その清浄性を示した。しかし、本年は、新しい試みとして生菌数調査の終了した寒天平板上の様々なコロニー性状を示す細菌の16S rDNA配列を解析し、その系統関係を

明らかにすることによって、富山湾の細菌学的な特性が得られると期待した。

今回200以上の分離株から16S rDNAの配列解析を試み、最終的に全体で148株の分離株の16S rDNAの配列を得た。環境中に生息する細菌の研究において、この数は少ないと思われるが、今回、深層水と呼ばれる深度300-700mの海水から特異的な放線菌と思われる菌が複数分離されたことに注目したい。これまで、海洋性放線菌の研究に関する報告は非常に少なく未知な部分が多い。そしてその多くは好塩性ではなく耐塩性で、陸上の種類と極めて類似していると言われている。従って、陸上由来のものと推定されているが、一方では、深度を増すと深海底土にマイクロモノスポラ属やノカルディアフォルム属が優勢になるという[7]。しかしまだまだ未知な部分が多く、今回分離された放線菌について、さらに研究を進められれば、海洋性の放線菌についての研究が進展するものと思われる。さらにこの特徴が富山湾の特性なのかどうか興味を持たれる。

また一方で、今回行なった細菌の16S rDNA解析、

平成17年11月1日

すなわち分子系統解析手法の習得は、様々な細菌に対して、同定作業の絞込みを迅速化する方法であり、健康危機管理への応用へと繋がるものと期待される。ここで16S rDNAによる分子系統学的な解析手法の特徴は、1) 解析対象配列の普遍性、蛋白質をコードしていないrDNAであり、その機能は2次構造が重要であること。2) rDNAは遺伝子の水平伝播の影響を受けないと考えられていること。3) 一般に細菌ゲノム中には1～15のrDNAオペロンが存在し、未知細菌の分類には注意が必要であると言われている。特に混合培養や培養工程を経ない直接試料から抽出されたDNAを使用する解析は注意が必要である。しかし、今回の分離培養された細菌16S rDNAの解析により、様々な細菌の16S rDNAを解析する手法がほぼ確立したと考えられる。従って、分離培養された細菌であれば、同一プラットフォームで解析できる本法を用いることにより、未知細菌解析方法の1つとして迅速化に貢献するものと考えられる。これは、バイオテロ対策あるいは細菌感染症の危機管理上、有効な方法になると思われる。

謝 辞

本調査を実施するに当たり、富山湾海洋水の採取に協力いただきました富山県水産試験場・漁業調査船「立山丸」の関係者に感謝いたします。

文 献

1. 香取幸治, 磯部順子, 嶋 智子, 木全恵子, 田中大祐, 刑部陽宅, 南條暢聡, 松永明信, 綿引正則, 永井美之 (2004). 富山県衛生研究所年報, 27, 116-120
2. Walsh, PS. Metzger, DA. and Higuchi, R. (1991). *Biotechniques*, 10, 506-513
3. Olsen, GJ. Woese, CR. (1993). *FASEB J.*, 7, 113-123
4. DDBJ <http://www.ddbj.nig.ac.jp>
5. Kumar, S. Tamura, K. and Nei, M. (2004). *Briefings in Bioinformatics*, 5, 150-163
6. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd Edition, Vol. 1 (ed by Garrity, GM), Springer 2001
7. 石田祐三郎 (2001), 海洋微生物の分子生態学入門, p73-77 培風館.
8. 松永明信, 中山恵理子, 大津 順, 南條暢聡, 辻本 良 (2005). 海洋深層水研究, (印刷中)

富山県における溶血レンサ球菌分離株の型別調査

— 流行予測事業分離株と臨床株の10年の集計 —

田中大祐 磯部順子 綿引正則 清水美和子
木全恵子 嶋 智子 永井美之
田中桂子¹ 田中有易知²

Serotyping of Hemolytic Streptococci Isolated from Healthy Children and Patients
in Toyama Prefecture, 1995-2004

Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI, Miwako SHIMIZU,
Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Yoshiyuki NAGAI,
Keiko TANAKA¹ and Yuichi TANAKA²

要 旨 富山県感染症流行予測事業の一環として、1995年～2004年の10年間に県内の保育園児748名について咽頭溶連菌の保菌状況調査を行ってきた。これらの成績を臨床株の型別調査結果と比較して報告する。

保育園児で溶連菌保菌者は81名(10.8%)で、その内A群溶連菌の保菌者が最も多く57名(7.6%)であった。年齢別では、A群溶連菌については5～6歳児をピークとする保菌状況で、咽頭炎患者の年齢分布と同様の傾向を示した。B群、C群、及びG群溶連菌では年齢との関係は認められなかった。A群溶連菌のT型は、多い順に、T12型、T2型とT4型、T1型であり、患者分離菌株の主流菌型とほぼ一致していた。

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起原菌となる。近年、本菌による重篤な劇症型溶連菌感染症も相次いで報告されている[1]。B群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎を引き起こすことで注目されている。また、C群およびG群溶連菌は、ときに上気道炎などの原因となる。

国内では、溶連菌による感染症の流行状況を把握し、将来の流行の拡大を防止することを目的として、溶連菌について健康者の保菌状況を調べた報告が多い。富山県では、保育園児を対象に咽頭溶連菌保菌状況を平成7年(1995年)以来毎年調査を行ってきた。保育園児の咽頭溶連菌保菌状況と、園児分離菌株と患者分離株の血清型を比較した結果について報告する。

児127名であった。また、いずれも溶連菌患者が多発する10～2月にかけて実施した。採取した咽頭ぬぐい液はヒツジ血液寒天培地(BBL)を用いて分離培養を行い、SEB培地(日水)を用いた増菌培養も併用した。群別はストレプトLA「生研」(デンカ生研)を用いた感作ラテックス凝集反応にて行い、A群溶連菌のT型別及びB群溶連菌の型別は市販血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応法で行った。

臨床由来のA群溶連菌は県内2か所の公立病院で1995年～2004年に患者から分離された菌株を用い、A群溶連菌のT型別は前述の県感染症流行予測事業調査と同様な方法で行った。

結果及び考察

調査対象および検査方法

県感染症流行予測事業の溶連菌感染症調査は、1995年～2004年の10年間に県内の東西2ヶ所(東部:魚津市又は黒部市, 西部:小矢部市)の保育所の園児を対象とした。調査対象者は合計748名で、年齢別では2歳児31名, 3歳児124名, 4歳児168名, 5歳児298名, 6歳

1. 流行予測事業における健康園児から分離された溶血レンサ球菌の血清型別

1995年から2004年までの10年間に保育園児の溶連菌保菌状況調査を18回行い、その結果をTable 1に示した。調査した748名の園児の内81名(10.8%)が溶連菌陽性で、A群溶連菌は57名(7.6%)、B群溶連菌は

1. 新川厚生センター 2. 砺波厚生センター

Table 1. Distribution of Hemolytic Streptococci among Nursery School Children, 1995-2004

Date	Place of nursery schools	No. of children examined	Positive		serogroup (No. of isolates)	serotype (No. of isolates)
			No.	%		
Oct. 1995	Uozu	46	1	2.2	B(1)	NT6(1)
Nov. 1995	Oyabe	43	1	2.3	C(1)	
Nov. 1996	Uozu	52	3	5.8	A(1)	T1(1)
					B(2)	I b(1), NT6(1)
Dec. 1996	Oyabe	35	1	2.9	A(1)	T28(1)
Dec. 1997	Uozu	53	7	13.2	A(2)	T1(2)
					G(6)	
Jan. 1998	Oyabe	34	3	8.8	A(3)	T28(3)
Jan. 1999	Uozu	35	2	5.7	A(1)	T6(1)
					G(1)	
Jan. 1999	Oyabe	29	6	20.7	A(6)	T4(4), T22(2)
Dec. 1999	Uozu	50	2	4.0	B(2)	NT6(2)
Jan. 2000	Oyabe	38	4	10.5	A(2)	T4(2), G(2)
					G(2)	
Jan. 2001	Kurobe	58	5	8.6	A(2*)	T1(2)
					B(2)	I a(1), I b(1)
					G(2*)	
Jan. 2001	Oyabe	25	9	36.0	A(8)	T2(8)
					B(1)	NT6(1)
Feb. 2002	Kurobe	48	3	6.3	A(3)	T3(1), T4(1), T28(1)
Jan. 2002	Oyabe	40	10	25.0	A(10)	T12(10)
Jan. 2003	Kurobe	45	9	20.0	A(6)	T1(2), T22(2), TUT(2)
					C(1)	
					G(2)	
Jan. 2003	Oyabe	40	1	2.5	A(1)	TUT(1)
Jan. 2004	Kurobe	28	3	10.7	A(1)	T4(1)
					B(1)	I b(1)
					G(1)	
Feb. 2004	Oyabe	49	11	22.4	A(10)	T12(10)
					G(1)	
Total		748	81	10.8	A(57)	T1(7), T2(8), T3(1), T4(8), T6(1), T12(20), T22(4), T28(5), TUT(3)
					B(9)	I a(1), I b(3), NT6(5)
					C(2)	
					G(14)	

* ; Group A and G isolates were from one child.

9名 (1.2%), C 群溶連菌は2名 (0.3%), G 群溶連菌は14名 (1.9%) から検出された. A 群溶連菌57株で検出頻度の高かった T 型は順に, T12型が20株 (35.1%), T2型と T4型がそれぞれ8株 (14.0%), T1型が7株 (12.3%) であった. また, B 群溶連菌9株では, NT6型が5株 (55.6%), I b 型が3株 (33.3%), I a 型が1株 (11.1%) であった. 今回, 園児から分離された溶連菌では A 群が最も多く, C 群は最も少なかった. この結果は, 健康な小児の咽頭の保菌状況調査を行った中島ら [2], 児玉ら [3], 飯村ら [4] の結果と同様であった. A 群溶連菌の健康な小児における保菌率は10~40%であったとする報告 [4-8] に比べて, 今回の調査の保菌率はやや低かったが, その原因は不明である.

保育園児の溶連菌保菌状況を年齢別に集計した (Fig.1) .A 群溶連菌については5~6歳児をピークとする保菌状況であったが, B 群, C 群, 及び G 群溶連菌では年齢との関係は認められなかった. 全国及び富山県の感染症発生動向調査事業における A 群溶連菌咽頭炎の患者報告によれば, 5歳児をピークとして患者が発生している [9, 10]. A 群溶連菌の健康保菌者と本菌による咽頭炎患者の年齢分布がほぼ一致したことから, A 群溶連菌により5歳前後の小児を中心に感染が広がり, 患者が発生していると考えられた.

2. 富山県における臨床由来株の血清型別

当所は衛生微生物協議会溶血レンサ球菌レファレンスシステムの東海・北陸ブロック支部センターとして, 共同して溶連菌臨床株の集計を行い, 全国集計のため

の役を担っている [11]. 1995~2004年の10年間の富山県の臨床由来 A 群溶連菌862株の T 型別分布を Table 2に示した. 検出率が高かった T 型は, 順に T 12型 (148株, 17.2%), T1型 (145株, 16.8%), T4型 (111株, 12.9%), T3型 (76株, 8.8%), T2型 (74株, 8.6%) であった. T1型, T4型, T12型は10年間連続して検出されたが, T2型と T3型は検出率の多い年もあったが検出されない年もあり, 流行が断続的であった. このような T 型の検出状況は, 全国集計結果 [11] とほぼ同様である.

3. 健康園児及び臨床由来溶連菌の血清型別の比較

1995年から2004年の間に富山県で保育園児と患者から分離された A 群溶連菌の T 型の分布を年次別に集計, 比較した (Fig.2). 園児から分離される溶連菌は多くても年間10株前後であり, 保育園児由来株と患者由来株の年次毎の優勢な菌型が関連しているか否かを判定するには至らなかった. この判定を行うには, 毎年, 検査対象園児の数を増やすといった検討が必要と考えられた. 10年間に分離されたそれぞれの由来株の菌型分布の比較を Fig.3に示した. 保育園児と患者から分離された A 群溶連菌では前述のようにいずれも T12型, T1型, T4型, T2型が優勢であった. このような結果は, 勝川ら [6] が1967年から1987年の21年間に大阪府で患者および健康者から分離された A 群溶連菌の T 型別を実施した成績で報告されている. また, 我々の行った調査では, 園児からの B 群溶連菌の菌型分布を見ると, 患者分離菌の菌型分布 [12] と同様に NT6型が多かった. 従って, 保育園児由来株と

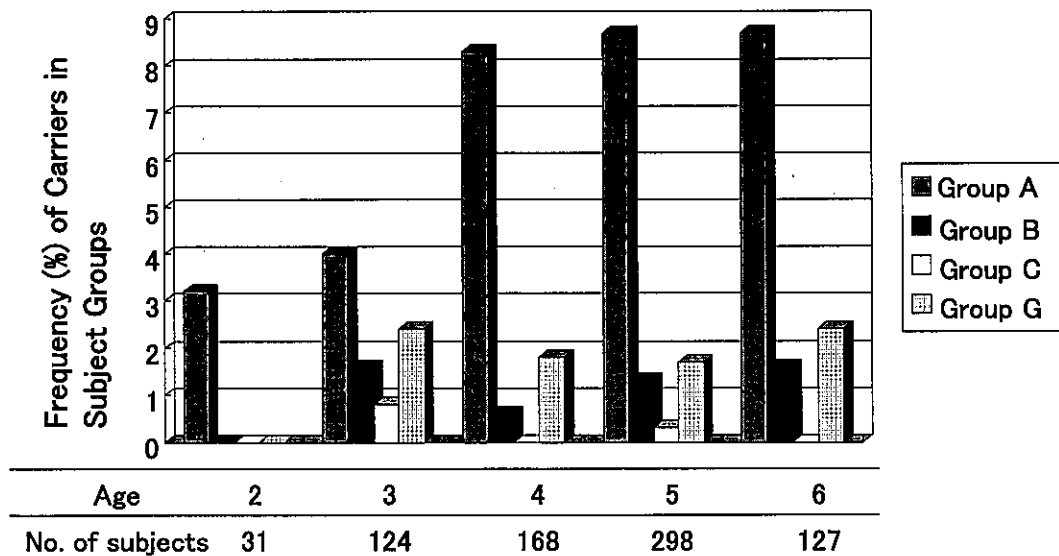


Fig.1. Distribution of Hemolytic Streptococci Among Nursery School Children of Different Ages

Table 2. T Type Distribution of Clinical Group A Streptococci between 1995 and 2004

Year	T type														Total						
	1	2	3	4	6	8	9	11	12	13	18	22	23	25		28	B3264	Imp.19	5/27/44	14/49	UT**
1995	8*	1	12	19					9						5	3				4	61
1996	7	31	2	4			1	2	11	1					5	7				8	79
1997	32	18		4	9			2	15	1				2	9	2				6	100
1998	9	13	1	10	22				25	1				3	5	1				5	95
1999	5	4		3	3		1	1	28	2				3	5	3					58
2000	18	1		9					17	4				7	8	10				3	77
2001	32	2	7	35	1	1	3	2	12		1	1		11	9	11		3		8	139
2002	10	1	31	20	1				5	2				17	3	4				3	97
2003	20	3	22	6	1			2	11	6				11	7	5	2	3		10	109
2004	4		1	1	1			1	15	2				6	8	1				7	47
Total	145	74	76	111	38	1	5	10	148	19	1	1	0	60	64	47	2	6	0	54	862
	16.8%	8.6%	8.8%	12.9%	4.4%	0.1%	0.6%	1.2%	17.2%	2.2%	0.1%	0.1%	0.0%	7.0%	7.4%	5.5%	0.2%	0.7%	0.0%	6.3%	100.0%

*No. of Isolates, **Untypable

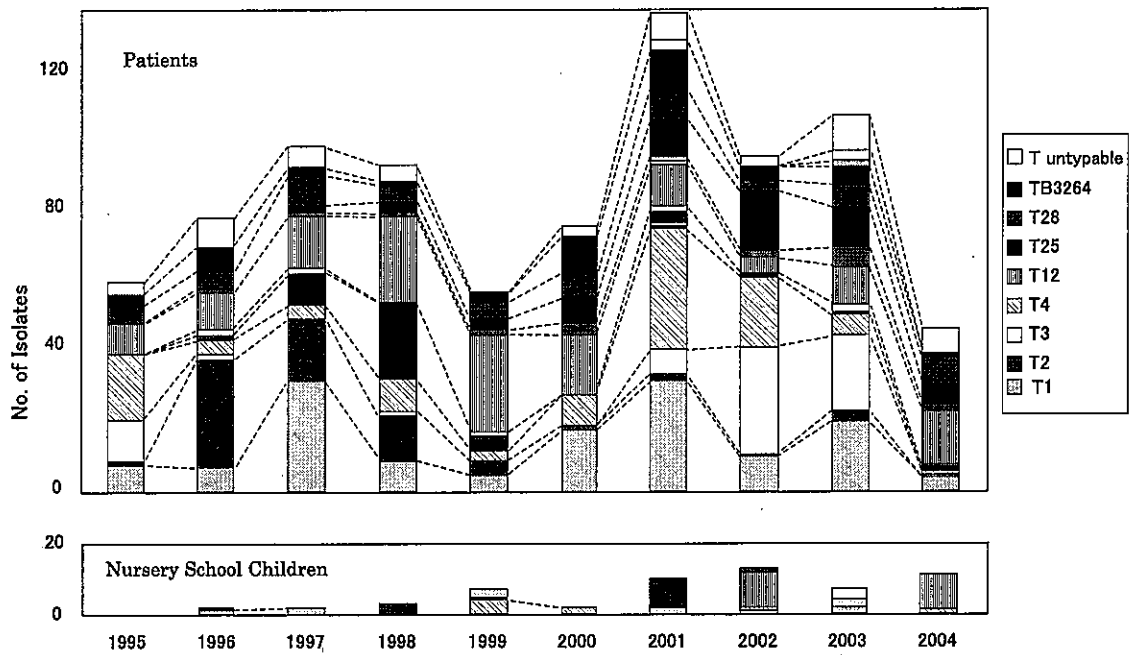


Fig.2. Annual Changes of Type Distribution of Group A Streptococci from Patients (n=862) and Nursery School Children (n=57)

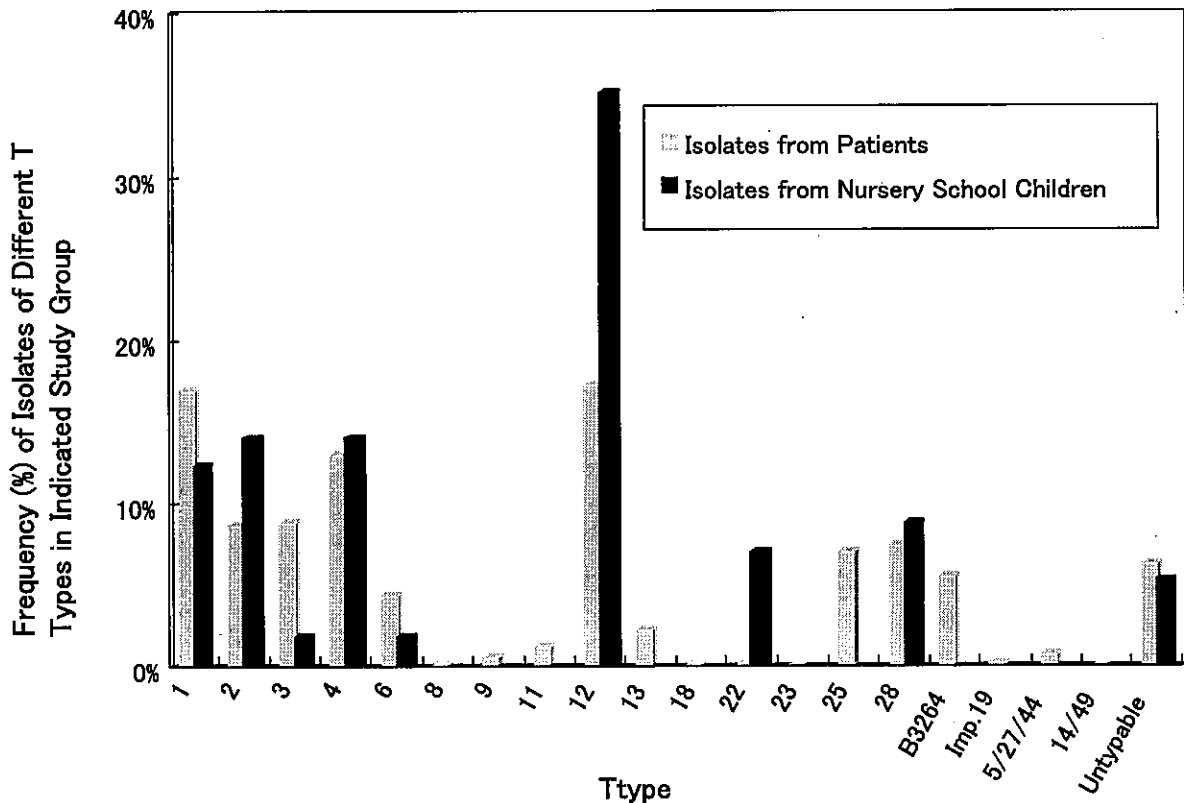


Fig.3. Distribution of T Types of Group A Streptococci from Patients (n=862) and Nursery School Children (n=57)

平成17年11月1日

患者由来株の菌型分布はほぼ一致していると考えられた。富山県内の患者および健康者について長期間調査を継続した今回の結果から、患者発生の背景に多数の健康保菌者が存在していることが推察された。保育所等の施設で溶連菌の流行が疑われる場合は手洗いやうがいなどの励行によって、感染の機会を減らす努力が必要であろう。

最近、A群溶連菌のM蛋白質遺伝子 (*emm*) の塩基配列に基づく新しい型別が報告され[13]、本菌による疾患、感染部位と菌型の関連が検討されつつある[14-16]。我々も、患者由来株について *emm* 型別を行ったところ、同じT型の菌株でも複数の *emm* 型の菌株が存在し、病巣部位によって菌型に違いが認められることを報告した [17]。このような新しい遺伝学的手法をT血清型別と組み合わせて用いることで、本菌の分布状況だけでなく、病原性との関連に示唆を与えると期待される。

謝 辞

本調査にご協力頂いた保育所及び病院の関係各位に深謝致します。また、ご協力頂いた多数の関係各位に深謝致します。

文 献

1. 国立感染症研究所編 (2004). 病原微生物検出情報, 25巻10号, 252-253.
2. 中島邦夫, 奥山道子, 奥田 清 (1983). 感染症誌, 57(12), 1075-1082.
3. 児玉博英, 林 美千代, 刑部陽宅 (1991). 感染症誌, 65(8), 977-982.
4. 飯村 達, 天野祐次, 松江隆之, 小野川 尊, 遠藤久美子, 奥野ルミ, 柏木義勝, 松木一雅 (2001). 感染症誌, 75(4), 314-325.
5. 中島邦夫, 奥山道子, 奥田 清 (1985). 感染症誌, 59(9), 905-913.
6. 勝川千尋, 原田七寛, 中曾根智恵 (1989). 感染症誌, 63(11), 1257-1264.
7. Fazeli M. R., Ghaemi E., Tabarraei A., Kaplan E. L., Johnson D. R., Vakili M. A., and Khodabakhshi B. (2003). Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 22, 475-478.
8. Durmaz R., Durmaz B., Bayraktar M., Ozerol I. H., Kalcioğlu M. T., Aktas E., and Cizmeçi Z. (2003). J. Clin. Microbiol., 41, 5285-5287.
9. IDWR (感染症発生動向調査 週報, <http://idsc.nih.go.jp/idwr/index.html>)
10. 富山県衛生研究所編集・発行 (2004). 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成15年). p.19.
11. 第26回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会議資料 (平成16年溶血レンサ球菌レファレンスセンター報告書, <http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>)
12. 田中大祐, 香取幸治, 綿引正則, 磯部順子, 嶋智子, 木全恵子, 刑部陽宅, 永井美之, 田中桂子, 田中有易知 (2004). 富山衛研年報, 27, 138-141.
13. Beall B., Facklam R., and Thompson T. (1996). J. Clin. Microbiol., 34, 953-958.
14. Beall B., Facklam R., Hoenes T., and Schwartz B. (1997). J. Clin. Microbiol., 35, 1231-1235.
15. Murakami J., Kawabata S., Terao Y., Kikuchi K., Totsuka K., Tamaru A., Katsukawa C., Moriya K., Nakagawa I., Morisaki I., and Ha,ada S. (2002). Epidemiol. Infect., 128, 397-404.
16. Ikebe T., Murai N., Endo M., Okuno R., Murayama S., Saitoh K., Yamai S., Suzuki R., Isobe J., Tanaka D., Katsukawa C., Tamaru A., Katayama A., Fujinaga Y., Hoashi K., Ishikawa J., Watanabe H., and Working Group for Group A Streptococci in Japan (2003). Epidemiol. Infect., 130, 569-572.
17. Tanaka D., Gyobu Y., Kodama H., Isobe J., Hosorogi S., Hiramoto Y., Karasawa T., Nakamura S. (2002). Microbiol. Immunol., 46, 419-423.

成長期女子の牛乳摂取および運動習慣が骨代謝に与える影響

堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 長瀬博文 荒谷哲雄 山上孝司¹

Influence of Milk Intake and Exercise on Bone Metabolism in Adolescent Girls

Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI, Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE,
Tetsuo ARATANI and Takashi YAMAGAMI¹

要旨 中学3年生女子生徒の橈骨骨密度、骨代謝指標、生活習慣を高校2年生まで追跡調査し、牛乳摂取および1日歩数と骨代謝指標、骨密度変化率との関連を検討した。その結果、牛乳摂取量の違いでは骨代謝指標、骨密度変化率に差はみられなかった。歩数との関連では、中学3年生時に1日15,000歩以上歩いていた歩数多群は15,000歩未満の歩数少群に比べて、骨形成指標の骨型アルカリフォスファターゼが高い傾向を示し、中学3年から高校1年までの1年間の骨密度の増加率が有意に大きかった。このことから、運動は骨形成を亢進させるように働くことが示唆され、その結果骨密度が増加したと考えられた。さらに、中学3年に歩数多群であったものについて、高校1年時の歩数が5,000歩以上減少した群と5,000歩未満の群の骨代謝指標（高校1年時）と骨密度変化率（高校1年から2年）を比較したところ、5,000歩以上減少群は骨形成指標が低く、骨密度の増加率は小さく、歩数の減少は骨密度増加に負の要因になると考えられた。

女性の成長期における骨量増加に影響する要因を検討するために、女子中学生を対象とした骨密度、骨代謝指標の追跡調査を実施している。これまでに、女子中学生の骨密度は牛乳摂取量が多く、運動習慣があるもので高いこと、また、その骨代謝指標は将来の骨密度増加の指標になることを報告した [1,2]。そこで今回は、骨密度と関連がみられた牛乳摂取および運動習慣が成長期の骨代謝指標および骨密度増加と関係するか、さらに、生活習慣の変化が骨代謝に影響するか検討した。

対象および方法

対象者は中学2年生から年1回追跡調査している富山県内の女子生徒であり、そのうち中学3年生（中3）、高校1年生（高1）、2年生（高2）時の3回とも調査ができたものである。解析に際しては、骨代謝に影響を与えるような疾患があるもの、1年以内に骨折経験があるもの、初経年齢が10歳未満のものを除き、47名を対象とした。対象者には事前に本調査についての説明を文書により行い、受診者と保護者から承諾書を得た。なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受けた。

骨密度（BMD）の測定はDXA法（DTX-200

OSTEOMETER社製）により非きき腕の前腕骨を測定した。骨代謝指標は骨形成指標として、血清中の骨型アルカリフォスファターゼ（BAP）、骨吸収指標として尿中ピリジノリン（PYD）を測定した。尿中成分は濃度補正のため対クレアチニン比（/Cr）として表した。身長および体重は検診当日に測定し、牛乳摂取状況、運動部参加状況、初経発来の時期を自記式の質問票で調査した。また、運動量の指標として起床時から就寝時までの3日間の歩数を歩数計（タニタ ハローウォーク）で測定した。

結果

表1に各学年別に対象者の骨密度、骨代謝指標値を示した。骨密度は学年が上がるに従って有意に増加した（中3 vs 高1, 高1 vs 高2ともに $p < 0.001$ ）。中3から高1の1年間の骨密度変化率（BMD%）は平均 $5.4 \pm 5.6\%$ 、高1から高2の1年間は平均 $5.1 \pm 5.8\%$ の増加であった。一方、骨代謝指標はBAP、PYDいずれの指標も学年が上がるに従って有意に低下した（BAP、PYDいずれも 中3 vs 高1, 高1 vs 高2ともに $p < 0.001$ ）。

中3、高1、高2時の1日牛乳摂取量および歩数を図1に示した。牛乳摂取量を“飲まないまたは1本に満た

1. 北陸予防医学協会

表1. 対象者の身長, 体重, 骨密度, 骨代謝指標値

		中学3年生時		高校1年生時		高校2年生時	
		平均	標準偏差	平均	標準偏差	平均	標準偏差
身長	(cm)	159.1	± 4.8	159.5	± 4.8	160.0	± 4.8
体重	(kg)	51.1	± 6.9	52.3	± 5.8	52.4	± 5.8
BMD	(g/cm ²)	0.377	± 0.044	0.396	± 0.039	0.415	± 0.031
BAP	(BLU)	2.4	± 0.8	2.0	± 0.6	1.6	± 0.4
PYD [#]	(nmol/mmolCr)	53.2	(1.39)	43.2	(1.29)	34.9	(1.25)

幾何平均と幾何標準偏差

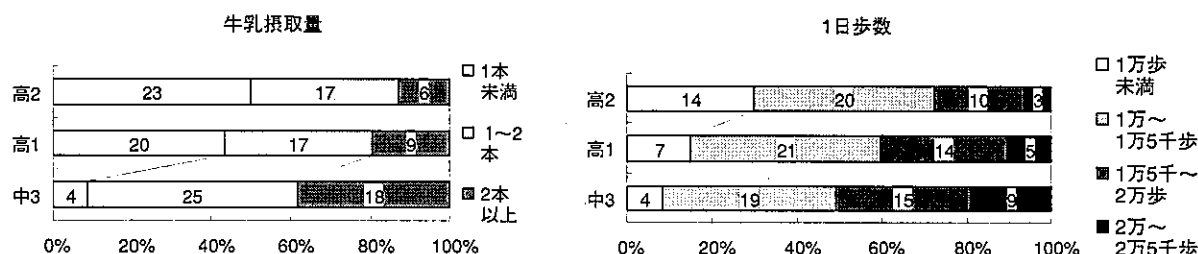


図1 中学3年生時, 高校1, 2年生時の牛乳摂取量, 1日歩数の比較

表2 骨代謝指標と骨密度変化率との相関係数

		n=47	
		骨代謝指標 (中3)	骨代謝指標 (高1)
		と	と
		BMD% (高1-中3)	BMD% (高2-1)
BAP	0.34	p<0.05	0.50
PYD	0.38	p<0.01	0.39

ないもの(1本未満), “1本以上2本未満”, “2本以上”に分け, 各学年で比較したところ, 中3時に比べて高1, 高2時では“2本以上”が減り, “1本未満”が増えた。歩数については, 5千歩ずつに区切って各階級の度数を学年別に比較したところ, 学年が上がるにつれて歩数の多いものが減少し, 各学年の中央値は中3は15,030歩, 高1は13,869歩, 高2は12,868歩であった。中学, 高校生の歩数には運動部活動が占める割合が大きいと考えられ, 対象者の各学年時における運動部活動の参加率を調べたところ, 中3は79%, 高1は52%, 高2は47%で, 中3と高1の間で運動部参加率が低下していた。そこで, 中3時運動部あり(歩数 17,119歩)について高1時の運動部有無別で歩数を比べたところ, 高1時運動部ありは16,986歩, 運動部なしは11,705歩で, 運動を継続していたものでは歩数はほとんど減ってはいなかったが, 高校で運動を止めたものは約-5,400歩と大きく減少していた。

中3時, 高1時の骨代謝指標とその後1年間のBMD%との相関係数を表2に示した。BAP, PYDはともに,

中3, 高1時のいずれの学年においても, 指標測定後1年間のBMD%と有意な正の相関を示した。

次に, 中3時の牛乳摂取量および1日歩数別で中3の骨代謝指標および中3から高1までの1年間のBMD%を比較した。牛乳摂取量については1日2本未満と2本以上群に分けて比較したが(図2), 牛乳摂取量の違いで骨代謝指標, BMD%に差はみられなかった。一方, 1日歩数については中3時のほぼ中央値である15,000歩で分け, 15,000歩以上(歩数多群)と15,000歩未満(歩数少群)の骨代謝指標およびBMD%を比較したところ(図3), 歩数多群では有意な差はなかったもののBAPが高い傾向(p=0.11)を示し, 骨密度の増加率は有意に大きかった(p<0.05)。さらに, 中3時に歩数多群であったものについて, 高1時に歩数が5,000歩以上減少したもの(-5,000歩以上群)とそれ以外(-5,000歩未満群)に分け, 高1の骨代謝指標と高1から高2へのBMD%を比較した(図4)。その結果, -5,000歩以上群では高1のBAPが低い値を示し, 有意な差はなかったがBMD%も低値であった。

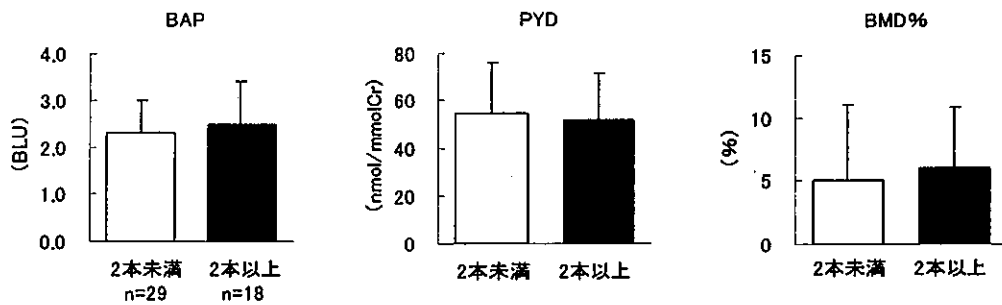


図2. 中学3年生時の牛乳摂取量別骨代謝指標, 骨密度変化率

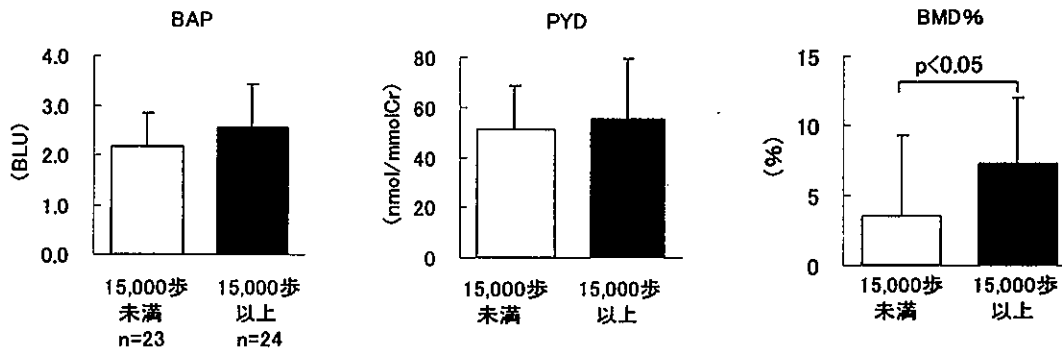


図3. 中学3年生時の歩数別骨代謝指標, 骨密度変化率

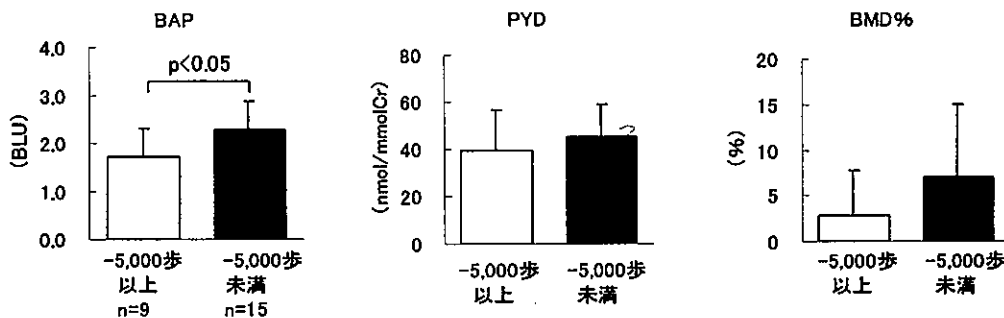


図4. 中学3年生時“歩数多群”における歩数変化と骨代謝指標, 骨密度変化率

考 察

骨代謝指標は将来の骨密度の変化を予測できる可能性があるとわれ、中高齢女性では骨密度の減少との関連が報告されている [3]。しかし、成長期の骨代謝指標と骨密度や生活習慣との関連についてはほとんど報告されていない。我々は前報 [2] で、中学2年生について初経後1年以上のものでは、骨代謝指標は身長伸びに加え骨密度増加との間にも正相関をみとめ、骨密度増加の指標になる可能性があることを報告した。今回解析した中学3年生時においても同様に骨代謝指標は中学3年から高校1年の身長の伸び (BAP $r=0.53$ PYD $r=0.55$ とともに $p<0.001$) と骨密度

増加の両方と有意な相関を示したが、高校1年生時には骨代謝指標は高校1年から2年の身長の伸び (BAP $r=-0.10$, PYD $r=-0.01$) との間には有意な相関は認められなかった。これは、今回の対象者が高校1年から2年にかけてほとんど身長が伸びなかったためと考えられ、高校1年生の骨代謝指標は骨密度の増加とより強く関連していると考えられた。

生活習慣と骨代謝との関連で、牛乳摂取量別では骨代謝指標、骨密度変化率ともに差はみられなかった。Cadogan らは12歳女子を対象に牛乳を日常摂取している量 (150ml) に加え1日に300ml 増やした場合の18ヶ月後の追跡調査をしたところ、コントロール群と比べて骨代謝指標に差はなかったが、骨密度変化に関し

平成17年11月1日

ては全身骨密度が増加したと報告している [4]. 我々は、牛乳摂取量が多い群 (2本以上=400ml 以上) と少ない群 (2本未満) に分けて骨代謝指標を比較したが、やはり指標に差はみられなかった。一方骨密度の増加については、今回の結果で差はみられなかったものの、これまでの検討では牛乳摂取量が多いものは骨密度が高値を示しており、さらに継続して骨密度の変化をみることが必要だと思われる。

運動と骨代謝の関連について栗林らは、女子大生の運動部参加者は骨形成指標のオステオカルシンが高値であり、運動は骨代謝回転に影響すると報告している [5]. 我々の結果でも、歩数を運動量の指標として骨代謝指標と関連をみたところ、中3歩数多群 (15,000歩以上) では骨形成指標が高い傾向を示し、骨形成の亢進が示唆された。さらに、中3から高1にかけての骨密度増加が歩数多群では大きく、骨形成の亢進が骨密度を増やすように働いたと考えられる。そこで、高校時の歩数の減少が骨代謝に影響するか検討するために、中3歩数多群について中3と高1の歩数差別で骨代謝指標、骨密度変化率を比較した。その結果、歩数の減少が大きい群で骨形成指標は低く、骨密度の増加率はやや小さく、5,000歩以上の歩数の減少は骨密度増加に負の要因となっていた。以上のことから、成長期女子においては1日15,000歩以上の運動が骨形成を亢進させることが示唆され、骨密度の増加に有効であると考えられた。また、運動量を減らすと骨代謝に対する運

動の効果がみられなくなったことから、運動の効果は長期に持続するのではなく、さらに骨密度を増加させるためには運動を継続させることが重要であると考えられた。

謝 辞

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

文 献

1. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 西野治身, 山上孝司 (2002). 富山衛研年報, 25, 155-161.
2. 堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司 (2003). 富山衛研年報, 26, 130-135.
3. 伊木雅之, 秋葉 隆, 西野治身, 松本俊夫, 鏡森定信, 香川芳子, 松崎俊久, 米島秀夫, 丸茂文昭 (2002). Osteoporosis Japan, 10, 270-273.
4. Cadogan J, Eastell R, Jones N, Barker ME (1997). BMJ, 315, 1255-1260.
5. 栗林 徹, 鎌田安久, 久保谷康夫, 八巻一浩 (1999). Osteoporosis Japan, 7, 546-553.

ウォーキングによる体重減少と肥満体質遺伝子多型

田中朋子 長瀬博文 堀井裕子 荒谷哲雄
松倉知晴¹ 山上孝司²

The Weight Loss Induced by Walking and Polymorphism in β 3-adrenergic Receptor and Uncoupling Protein-1 Genes in Japanese Men

Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Yuko HORII, Tetsuo ARATANI,
Tomoharu MATSUKURA and Takashi YAMAGAMI

要旨 ウォーキングによる体重減少に対する肥満体質遺伝子の影響を調べるため成人男性を対象とし6ヶ月間の追跡調査を実施し、以下の結果を得た。

1. 肥満体質遺伝子について、 β 3アドレナリン受容体の節約型はBMI、体脂肪率ともに正常型と違いは認められなかったが、脱共役蛋白(UCP)1の節約型は体脂肪率が高かった。
2. 運動による減量について、ウォーキング推進活動中の前半3ヶ月にBMI、体脂肪率の変化は認められなかったが、終了後の後半3ヶ月の歩数が多い者でBMIの減少が認められ自発的な運動が減量に有効と考えられた。しかし、遺伝子多型による違いは明らかではなかった。
3. 期間中BMI、体脂肪率が低下したものでは血清尿酸値、動脈硬化指数の改善が認められた。

これまでの調査により成人男性では日本人に多い肥満体質遺伝子 β 3アドレナリン受容体(β 3AR)の変異を有すると肥満傾向が認められた。しかし、成人後の体重増加の原因としては肥満体質遺伝子の有無より、むしろ運動の中断が影響している可能性が示された[1]。

そこで、運動による体重減少への肥満体質遺伝子多型の影響を検討するため成人男性について6ヶ月間の追跡調査を実施した。

対象と方法

県内のウォーキング推進活動を展開しているN工場従業員でインフォームドコンセントが得られた男性22名(36~56歳)を対象とした。ウォーキング推進活動中の開始時(平成15年9月)、終了時の3ヶ月後、さらに3ヶ月経過時(6ヶ月後)に体重、体脂肪率(%Fat)を測定した。6ヶ月間の運動量はライフコーダ(長期記録型万歩計)で計測した。肥満体質遺伝子多型として、 β 3ARと脱共役蛋白(UCP)1についてPCR-RFLP法で確認した。 β 3ARについては前報[1]と同様に正常型と節約型に分けた。UCP1についてはOppert JMらの方法[2]によりAA、AGを正常型、GGを節約型とした。開始時、3ヶ月後、6ヶ月

後については空腹時に採血し、生化学項目の他、アディポネクチンを測定した。食習慣については厚生省健康指針策定委員会による簡易食物摂取状況調査表[3]により開始時、3ヶ月後、6ヶ月後の3回調べた。なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会の承認を受けた。

結果

全対象者の開始時、3ヶ月後、6ヶ月後のBMI、%Fatを表1に示した。BMI、体脂肪率はともに調査期間内に有意な変化は認められなかった。BMI25以上の肥満者は開始時10名、3ヶ月後12名、6ヶ月目11名であり体脂肪率25%以上はそれぞれ9名、10名、7名であった。 β 3AR、UCP1の節約型はそれぞれ6名、5名であり重複は2名であった。 β 3ARについて、開始時のBMI、%Fatは正常型と節約型に差はなく、さらに調査期間内に変化は認められなかった。一方、UCP1について、節約型は正常型に比し開始時の%Fatが高かったが(図1, $p < 0.05$)、3ヶ月後、6ヶ月後に有意差は認められず、調査期間内の変化もみられなかった。

ライフコーダの記録から前半3ヶ月、後半3ヶ月の1

表1. 全対象者の身体状況

	開始時		3ヶ月後		6ヶ月後	
	平均値	S.D.	平均値	S.D.	平均値	S.D.
年齢	50	5	—	—	—	—
身長(cm)	169.1	5.6	—	—	—	—
体重(kg)	72.7	7.3	73.1	7.2	72.3	7.1
BMI	25.5	2.6	25.6	2.6	25.3	2.5
体脂肪率(%)	24.2	4.1	24.7	4.4	24.3	4.2

表2. 調査期間中の歩行状況

	前半3ヶ月		後半3ヶ月	
	Mean	S.D.	Mean	S.D.
歩数	9850*	2780	9020*	2780
速歩時間(分)	34.5	15.4	32.1	13.6

*:p<0.05 (paired t-test)

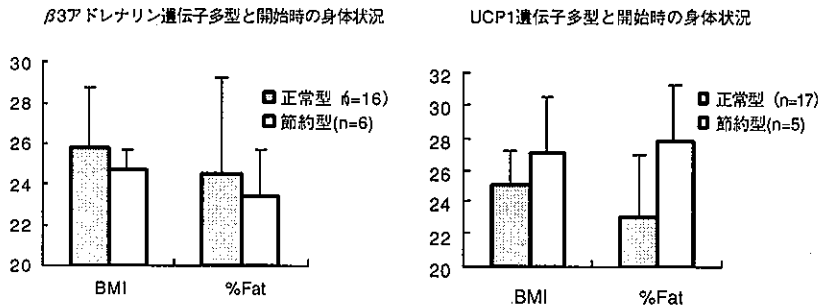


図1. 遺伝子多型と身体状況

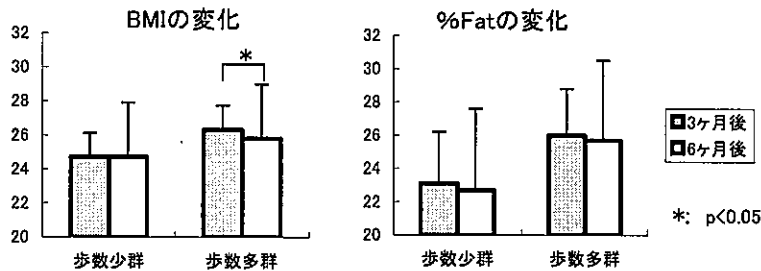


図2. 後半3ヶ月の平均歩数と身体状況の変化

日あたりの平均歩数, 平均速歩時間を算出したところ(表2), 歩数について, 後半は前半に比し有意に減少していた(p<0.05). 前半, 後半の歩数の各平均値でそれぞれ2群に分け3ヶ月間のBMIの変化, %Fatの変化を見たところ, 前半について, 歩数多群(n=10), 歩数少群(n=12)はともに有意な変化は認められなかった. しかし, 後半については歩数少群(n=10)のBMI, %Fatに変化は認められなかったが,

歩数多群(n=12)ではBMIの低下が認められた(図2, p<0.05). 同様に速歩時間についても平均値で2群に分け3ヶ月間のBMIの変化, %Fatの変化を見たが前半, 後半ともに有意な変化は認められなかった(図表なし).

食習慣については, 開始時, 3ヶ月後, 6ヶ月後に有意な変化は認められなかった. さらに, BMI, %Fatの変化との関連もみられなかった(図表なし).

表3. 生化学検査結果

	n	開始時 (H15.9)		3ヶ月後 (H15.12)		6ヶ月後 (H16.3)	
		平均値	S.D.	平均値	S.D.	平均値	S.D.
総コレステロール(mg/dl)	19 ^a	219	33.5	216	27.0	219	35.2
HDLコレステロール(mg/dl)	19 ^a	55	9.4	56	10.3	55	11.9
LDLコレステロール(mg/dl)	19 ^a	142	27.5	139	24.5	142	29.3
動脈硬化指数	19 ^a	3.1	0.79	3.0	0.75	3.1	0.91
中性脂肪(mg/dl)	19 ^a	143	57.0	125	48.6	130	48.9
尿酸(mg/dl)	20 ^b	6.1	1.31	6.0 ⁺	0.99	5.7 ⁺	1.31
アディポネクチン(μg/ml)	22	7.2	3.30	6.8	2.92	7.2	3.89

+: p<0.1 (paired t-test)

a: 高脂血症治療薬服用除く

b: 高尿酸血症治療薬服用除く

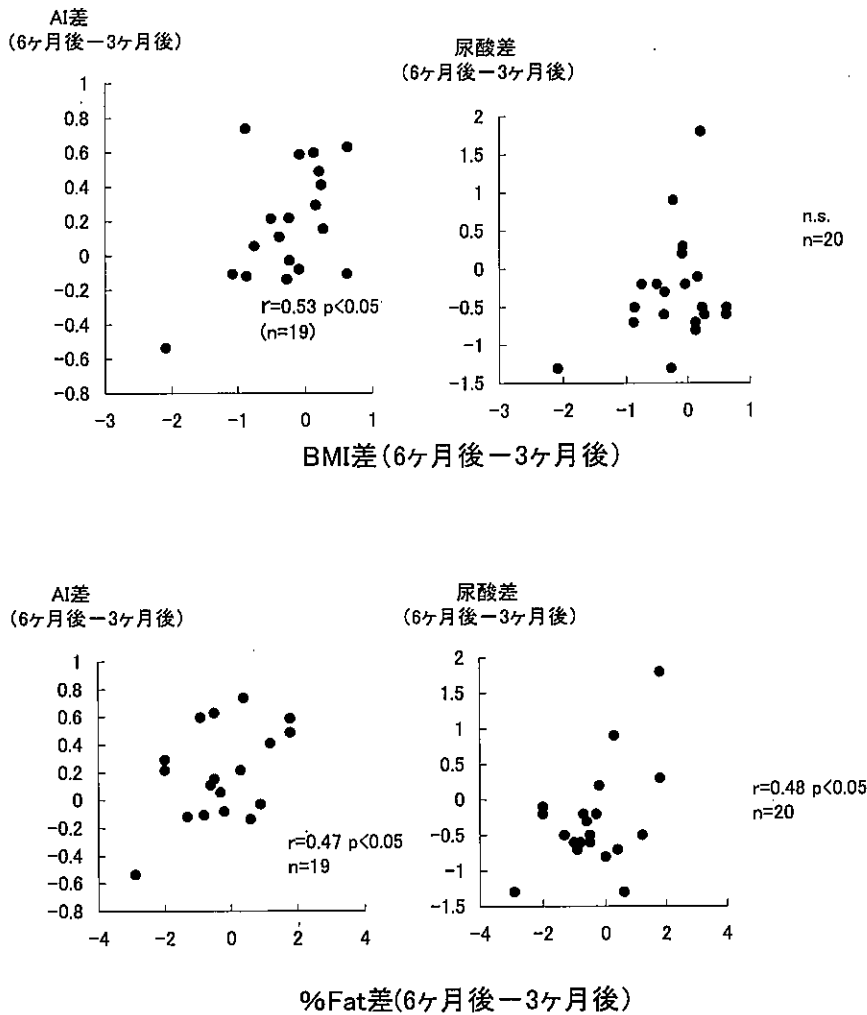


図3. 体格指数の変化と AI, 尿酸値の変化

そこで, BMI 差 (6ヶ月後-3ヶ月後), %Fat 差 (6ヶ月後-3ヶ月後) を基準変数とし, 両遺伝子多型, 後半の歩数, 年齢を説明変数とし重回帰分析を実施したところ, “後半の歩数が多い” が BMI 差 (6ヶ月後-3ヶ月後) を低下させていたが, %Fat 差 (6ヶ月後-3ヶ月後) では採択される項目はなかった。

開始時, 3ヶ月後, 6ヶ月後の生化学検査結果を表3に示した (脂質については高脂血症治療薬服用者を,

血清尿酸値については高尿酸血症治療薬服用者を除いた)。6ヶ月目の血清尿酸値は3ヶ月目に比し低い傾向を示したが (p<0.1), 脂質には変化は認められなかった。アディポネクチンも期間内の変動は認められなかった。

各生化学指標の変化量 (3ヶ月後-開始時), (6ヶ月後-3ヶ月後) と先の%Fat 差, BMI 差との関連をみたところ, 動脈硬化指数差 (6ヶ月後-3ヶ月後), 血

平成17年11月1日

清尿酸値差（6ヶ月後—3ヶ月後）との間に関連が認められた（図3）。

考 察

遺伝子多型と調査開始時の身体状況について、前回の調査では β 3ARの節約型で体脂肪率が高い傾向を示したが、今回はUCP1について開始時のBMIでのみ認められた。肥満に関連する遺伝子多型として現在40~50個が知られているが、各々の肥満遺伝子多型が及ぼす影響は肥満原因の一部を説明できるにすぎないとされている[4]。前回調査、本調査結果にみられた差違はそういったことが原因となっているのかもしれない。

今回の調査では、減量に対する運動量以外の要因として肥満体質遺伝子有無の他、摂取エネルギーの変化についても調べたが、いずれも重要な因子とは言えなかった。さらに、ウォーキング推進活動期間の前半3ヶ月については歩数、速歩時間とBMI、体脂肪の変化との間に関連はみられなかったこと、推進活動終了後の後半の歩数が多いものでBMIが低下していたことから、自発的な運動が減量に繋がったのではないかと推察された。

BMI、体脂肪量の変化と生化学指標との関連について、BMIや体脂肪率の低下により血清尿酸値や動脈硬化指数が改善したものと考えられた。しかし、内臓脂肪量の変動を反映する[5]とされるアディポネク

チンの変化とは今回の調査では関連が認められなかった。

謝 辞

本調査にご協力いただいたN工場の看護師の方々ならびに調査協力者の皆様に心から感謝いたします。

文 献

1. 田中朋子, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 松倉知晴 (2004). 富山衛研年報, 27, 172-173.
2. Oppert JM, Vohl MC, Chagnon M, Dionne FT, Cassard-Doulcier AM, Ricquier D, Perusse L, Bouchard c. DNA polymorphism in the uncoupling protein (UCP) gene and human body fat. Int J Obese Relat Metab Disord 1994; 18: 526-531.
3. 日本医師会 (2002). 食事指導のABC, 日本医事新報社
4. 坂根直樹, 吉田俊秀 (2001) 日衛誌, 56, 110-111.
5. 松下美加, 萩原康二, 小片絵里, 東田寿子, 岩崎裕明, 川村光信, 宮崎 滋 (2002). 肥満研究, 8 (Suppl). 167

尿中アルキルリン酸年間追跡調査

中崎美峰子 新村哲夫 荒谷哲雄

Follow-up Study on Levels of Urinary Alkylphosphate in Healthy Adults

Mineko NAKAZAKI, Tetsuo SHIMMURA, Tetsuo ARATANI

要旨 6名の成人男女について、有機リン系農薬の曝露指標として尿中代謝物である4種のアルキルリン酸を1年間追跡調査した。最も高頻度かつ高濃度に検出されたのはジメチルチオリン酸であり、ジメチル型代謝物はジェチル型代謝物よりも検出率、濃度ともに高かった。

1年間の代謝物濃度の推移をみると、春は低く、秋に高いという変動がみられたが、実際に農作業に伴う農薬散布や家庭での殺虫剤等の使用が多い時期と、代謝物濃度の上昇の時期は一致しなかった。

有機リン系農薬は種類が多く、農業用と同じ成分の薬剤が家庭園芸、庭木・街路樹の防除、建材・畳などの防虫処理剤などとして広く使用されている。このうち、ジメチルリン酸エステル型の化合物群からはジメチルリン酸、ジメチルチオリン酸、ジメチルジチオリン酸が、ジェチルリン酸エステル型の化合物群からはジェチルリン酸、ジェチルチオリン酸、ジェチルジチオリン酸が代謝物として生成する。従って、尿中に観察されるジアルキルリン酸は、多くの有機リン系農薬の曝露指標となる。例えばフェニトロチオンやマラチオンなどからはジメチルリン酸型の代謝物が生成し、ダイアジノンやクロルピリホスなどからはジェチルリン酸型の代謝物が生成する。

有機リン剤に対して職業的な曝露の無い一般住民について、3月と8月の2回尿中のジアルキルリン酸を調査した結果[1]では、いずれの時期も高率に検出され、検出率や濃度が時期によって異なるということではなかった。そこで今回、成人男女6名について尿中ジアルキルリン酸の年間追跡調査を行い、検出状況の変動を調べた。

対象と方法

調査協力の依頼に対して同意が得られた、職業的曝露の無い平日日中勤務のボランティア6名（男性3名、女性3名）を対象とした。毎週1回午前中に採尿し、平成16年2月から平成17年1月まで、53週にわたり延べ314検体を採取、分析した。

測定項目は、ジメチルリン酸（DMP）、ジメチルチオリン酸（DMTP）の他、今回はジェチルリン酸（DEP）、ジェチルチオリン酸（DETP）を追加した。前

処理法は既報[2]を一部改変し、測定感度の向上を図った。すなわち、尿5mlを試験管にとり、無水水酸化カルシウム0.5gを加えて10分放置後遠心分離する。上清に陽イオン交換樹脂1gを加え、遠心分離後の上清2mlをねじ口試験管にとる。アセトン1.5mlを加えて60°C水浴中で気流下乾固する。ベンジル化試薬の1-ベンジル-3-p-トリルトリアゼン5%アセトン溶液0.5mlを加え、キャップをして60°C水浴中で30分反応させる。放冷後、アセトンを留去し、飽和食塩水1mlと6N塩酸5~6滴を加えた後n-ヘキサン1mlで振とう抽出して試験液とし、FPD-GCにて分析した。検出下限値は、DMPが0.7μg/l、DMTP、DEP、DETPは0.5μg/lであった。

採尿に合わせて、直前2日間の殺虫剤等の使用、園芸作業の有無など農薬との接触機会に関するアンケート調査を行った。

なお、本調査は富山県衛生研究所の倫理審査委員会において承認を受けた。

結果

全対象者の各種アルキルリン酸の検出率をTable 1に示した。延べ314検体における検出率は、DMP71.0%、DMTP90.4%、DEP52.2%、DETP39.2%であった。DMPとDMTPを合わせてジメチル型、DEPとDETPを合わせてジェチル型とすると、全検体に対するジメチル型の検出率は94.3%であり、6名の対象者の最も低い例は82.7%、高い例は100%であった。一方ジェチル型は全体では60.5%となり、6名の対象者では42.3%から78.8%と対象者間でややばらつきがあったが、ジメチル型に比べてジェチル型の検出率は

Table 1. Detection rate of urinary alkylphosphates (%)

	DMP	DMTP	DEP	DETP	Methyl type	Ethyl type
'04 Feb	29.2	83.3	33.3	4.2	83.3	33.3
'04 Mar	69.0	100	44.8	10.3	100	48.3
'04 Apr	50.0	83.3	16.7	12.5	83.3	29.2
'04 May	60.0	70.0	43.3	10.0	83.3	43.3
'04 Jun	66.7	91.7	45.8	33.3	91.7	45.8
'04 Jul	79.2	95.8	45.8	33.3	95.8	62.5
'04 Aug	93.3	100	70.0	73.3	100	83.3
'04 Sep	100	95.8	79.2	70.8	100	79.2
'04 Oct	91.3	95.7	82.6	78.3	100	86.9
'04 Nov	86.2	100	58.6	55.2	100	72.4
'04 Dec	91.3	100	39.1	47.8	100	65.2
'05 Jan	90.0	83.3	63.3	50.0	93.3	73.3

Methyl type; DMP or DMTP, Ethyl type; DEP or DETP

Table 2. Selected percentiles of urinary dialkylphosphate concentrations ($\mu\text{g/l}$)

	DMP		DMTP		DEP		DETP	
	50th	90th	50th	90th	50th	90th	50th	90th
Subject 1	2.8	13.4	11.6	81.1	3.5	12.3	0.9	11.6
Subject 2	1.3	4.3	4.9	26.7	<LOD	4.4	<LOD	1.7
Subject 3	2.4	14.9	11.2	48.2	1.9	8.4	<LOD	4.7
Subject 4	1.1	3.5	2.3	12.7	<LOD	2.2	<LOD	2.7
Subject 5	2.1	7.8	5.2	12.8	<LOD	3.2	<LOD	1.7
Subject 6	3.0	10.2	8.2	24.4	0.8	4.4	<LOD	5.0
Total	2.0	6.3	6.4	31.8	<LOD	7.2	<LOD	4.5

<LOD means less than the limit of detection, which is $0.5\mu\text{g/l}$

低かった。1ヶ月ごとの検出率をみると、ジメチル型はいずれも80%以上であり、月による差はみられなかった。一方ジエチル型は、8月と10月は80%以上であるのに対して2月から6月は50%以下と、時期により検出率に違いがみられた。

各アルキルリン酸濃度の50および90パーセンタイル値を対象者ごとに Table 2に示した。最も低い例と最も高い例では約5倍の濃度差がみられたが、いずれの対象者においても DMTP の濃度レベルが最も高く、ジエチル型はジメチル型に比べて低レベルであった。検出限界以下のものに検出下限値の1/2値を与え、ジメチル型、ジエチル型リン酸濃度の月別幾何平均値 ($\mu\text{mol/l}$) を算出してその推移をみたところ (Fig. 1), 8月から11月にかけて高値を示す傾向がみられた。全

体では Fig. 2に示したように、ジメチル型、ジエチル型とも9月を頂点として一致した濃度推移を示し、季節変動が観察された。

考 察

一般健常者6名について、尿中のジアルキルリン酸検出状況を1年間継続して調査したところ、最も高頻度かつ高濃度に検出されたのは DMTP であり、ジメチル型はジエチル型よりも検出率、濃度ともに高かった。平成15年度の化学物質排出移動量届出制度 (PRTR 制度) の集計 [3]によると、全国で使用された有機リン系農薬のうち、PRTR 制度の対象である33種では、その年間移動排出量においてジメチル型が

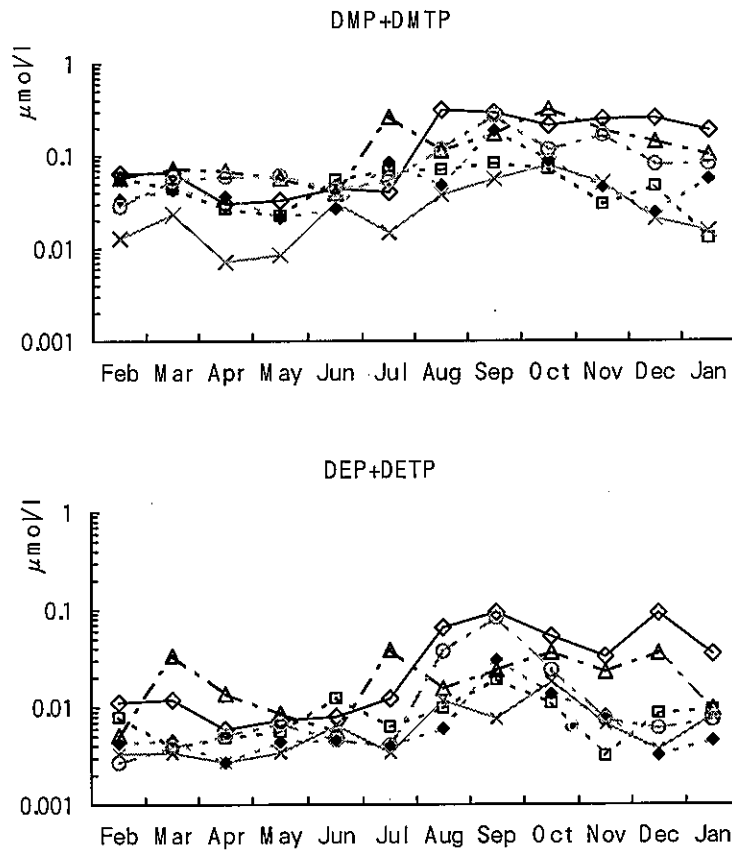


Fig. 1. Urinary alkylphosphate levels of each subject

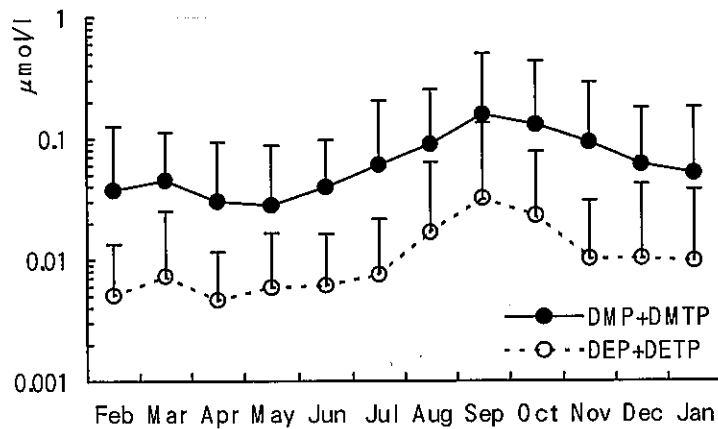


Fig. 2. Urinary alkylphosphate levels of all subjects

64%, ジェチル型が26%を占めており、ジメチル型の使用割合が高かった。尿中のアルキルリン酸濃度は、このような使用される農薬の種類や量を反映している可能性が考えられた。

2003年に発表された米国 CDC の「Second National Report on Human Exposure to Environ-

mental Chemicals」[4]によると、米国の20~59歳の男女814例における尿中アルキルリン酸濃度について、DMP, DMTP, DEP, DETP の50パーセント値はそれぞれ0.68, 2.20, 1.00, 0.48 $\mu\text{g/l}$ と報告されている。Table 2に示した今回の調査結果は、同一人についての53回分のデータであるが、DMP, DMTP

平成17年11月1日

は CDC のデータよりやや高いものの、DEP、DETP についてはほぼ同レベルと考えられた。

アルキルリン酸濃度の月ごとの推移をみると、春低く秋高いという季節による違いがみられた。アンケートでは、実際に殺虫剤を使用したり付近で農薬散布があったりしたのは5月から8月にかけてであり、尿中濃度上昇とは時期が一致しなかった。職業的曝露の無い一般住民では、尿中アルキルリン酸レベルに対して、実際の殺虫剤等の使用は大きな影響を与えていないと考えられる。農薬成分の摂取について、主な曝露源は食品と住宅での使用であるといわれており、今後は実際の食事や室内空気に含まれる農薬成分の分析とリンクした尿中アルキルリン酸の調査が可能であるか、検討したい。また CDC の報告[4]では、成人に比べて小児の尿中アルキルリン酸レベルが高いと述べられており、日本においても、小児を対象とした調査を行う必要があると考える。

文 献

1. 中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄 (2003). 富山衛研年報, 26, 140-143.
2. 城石和子, 西淵富蔵, 堀井裕子, 新村哲夫, 大浦栄次, 川口京子, 寺中正昭 (1990) 富山衛研年報, 13, 177-182.
3. 環境省 PRTR 集計結果概要 <http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/gaiyo.html>.
4. Centers for Disease Control and Prevention (2003). Second National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, 159-172.

濃縮海洋深層水の浮遊浴によるリラクゼーション効果の検討

—「滑川深層水フェア2003・ぶかぶか体験」参加者について—

新村哲夫 張 淼¹ 堀井裕子 中崎美峰子 田中朋子 長瀬博文 荒谷哲雄
堀井雅恵² 広田直美³ 王 紅兵³ 鏡森定信³

Relaxation Effects by Floating Bath Using Concentrated Deep Sea Water at
“NAMERIKAWA DEEP SEA WATER FAIR 2003, PUKAPUKA EXPERIENCE”

Tetsuo SHIMMURA, Miao Zhang¹, Yuko HORII, Mineko NAKAZAKI,
Tomoko TANAKA, Hirofumi NAGASE, Tetsuo ARATANI, Masae HORII²,
Naomi HIROTA³, Hongbing WANG³ and Sadanobu KAGAMIMORI³

要 旨 平成15年7月から8月にかけて、富山県滑川市の深層水体験施設「タラソピア」横の屋外特設プールで開催された「滑川海洋深層水フェア2003・ぶかぶか体験」（塩分濃度30%の濃縮深層水）で行った15分間の浮遊浴によるリラクゼーション効果について検討した。「浮遊浴体験」に参加された、男性29名、女性57名の合計86名（年齢21歳から74歳）を調査対象とした。

浮遊浴前後のストレス感・リフレッシュ感アンケートによるスコアの変化を検討したところ、浮遊浴後のスコアの有意な上昇がみられた ($p < 0.001$)。浮遊浴前後に筋肉部の硬度測定を行ったところ、浮遊浴によって左背部の硬度に有意な低下はみられなかったが、右背部には有意な低下がみられた ($p < 0.001$)。頸部では、左右とも浮遊浴によって有意な低下がみられた (いずれも $p < 0.05$)。

濃縮海洋深層水を用いた浮遊浴によって、精神的なリフレッシュ効果と筋肉のリラクゼーション効果が得られることが示唆された。

古くから海水や海岸環境を利用した療法は、タラソテラピー（海洋療法）としてヨーロッパを中心に行われてきた。この海洋療法に、清浄で、ミネラル分豊富な深層水を利用すれば、優れた効果が期待できると考え、富山県滑川市に世界ではじめての深層水体験施設「タラソピア」が開設された。著者らは、これまで海洋深層水を用いた温浴について、健康成人や夜勤労働者を対象に、生理学的・心理学的効果や睡眠への影響に関して検討を行い、海洋深層水には温熱効果や「寝つき」が良くなる効果があることを報告した[1, 2]。

近年、逆浸透膜を用いた海洋深層水の濃縮技術の進歩により、塩分濃度約15%の濃縮水が得られるようになった。この濃縮水を用いてイスラエル・ヨルダンの「死海」で行われているような「浮遊浴」を試み、それが可能なことを報告した[3]。その成果を踏まえて、滑川市制50周年を記念して「滑川海洋深層水フェア2003・ぶかぶか体験」が開催され、塩分濃度30%の濃縮深層水の屋外プールで浮遊浴が体験できる催しが行

われた。今回、その参加者について浮遊浴によるリラクゼーション効果を検討したので報告する。

対象および方法

平成15年7月から8月にかけて、富山県滑川市の深層水体験施設「タラソピア」横の屋外特設プールで開催された「滑川海洋深層水フェア2003」(Fig. 1)に平日参加され、「ぶかぶか（浮遊浴）体験」された方々から、92名の調査協力が得られた。そのうち、肌トラブルや耳に水が入ったなどの理由で浮遊浴後の調査ができなかった6名を除く86名（年齢21～74歳、平均年齢44.7±15.1歳）を調査対象とした。その内訳は、男性29名（平均年齢44.4±13.6歳）、女性57名（平均年齢44.9±15.9歳）である。

浮遊浴に使用した水は、富山湾海洋深層水を逆浸透膜による濃縮装置で塩分濃度約15%に濃縮し、さらに蒸発法で約30%の塩分濃度にした濃縮水を用いた

1. 現米国テネシー大学ヘルスサイエンスセンター 2. 現富山大学工学部 3. 富山医科薬科大学医学部保健医学



Fig. 1. "Namerikawa Deep Sea Water Fair 2003, Pukapuka Experience".



Fig. 2. Experiment of Floating Using Concentrated Deep Sea Water.

(Table 1). この濃縮水で満たした直径約7m 特製プール(水深1.1m)を使用した。浮遊浴は、浮きなどの補助具は一切使わず、調査員が補助して、仰臥位の姿勢で15分間浮く方法で行った (Fig. 2).

リラクゼーション効果の主観的な指標として、浮遊浴前後にストレス感・リフレッシュ感アンケート調査[4]を行い、スコアの変化を観察した。ストレス感・リフレッシュ感アンケートは30項目90点満点を100点満点に換算した。客観的な指標として、浮遊浴前後に左右の背部(菱形筋)および左右の頸部(僧帽筋)の硬さを筋硬度計(井本製作所製 PEK-1)で測定し、その変化を観察した。

統計学的な解析には、統計学ソフト SPSS を用いた。対象者には、研究の目的を説明し、文書により同意の署名を得た。本研究は、富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受けた。

結果

浮遊浴前後のストレス感・リフレッシュ感アンケートによるスコアを Fig. 3 に示した。浮遊浴前の平均スコアは 60.7 ± 14.0 、浮遊浴後の平均スコアは 70.3 ± 12.3 であり、浮遊浴後に有意な上昇を示した ($p < 0.001$)。アンケートに付記した浮遊浴の感想の自由記述においても気持ち良かったという感想が多かった。

男女別に、浮遊浴前後のストレス感・リフレッシュ感アンケートスコアをみたところ、浮遊浴前のスコアは性別によって差がなく、男女とも浮遊浴後にスコアが有意に上昇した ($p < 0.001$)。

20~39歳、40~59歳、60歳以上の3つの年齢階層別に分けて、ストレス感・リフレッシュ感の変化をみたところ、すべての年齢階層において浮遊浴後に有意なスコアの上昇がみられた(20~39歳、40~59歳は $p < 0.001$ 、60歳以上は $p < 0.05$)。

Table 1. Main Contents in Concentrated Deep Sea Water (mg/L)

Content	Deep Sea Water	Concentrated Deep Sea Water	"Dead Sea" Water
Chlorine	19,300	192,000	224,900
Sodium	10,700	102,000	40,100
magnesium	1,300	9,620	44,000
Calcium	410	2,130	17,200
potassium	370	5,800	7,650
salt concentration	3.4%	30%	34%

Matsunaga et al. [5,6], Kimura et al.[7]

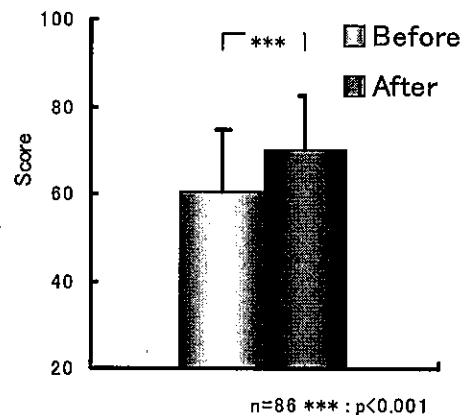


Fig. 3. Results of Stress and Refresh Score before and after Floating in Concentrated Deep Sea Water.

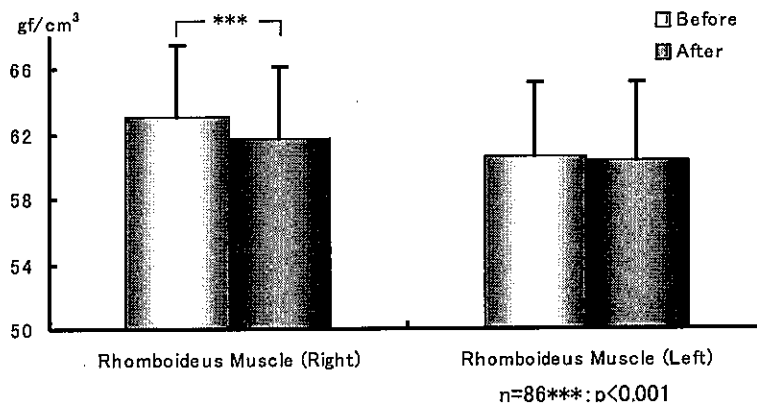


Fig. 4. Results of Stiffness of Right and Left Rhomboideus Muscle before and after Floating in Concentrated Deep Sea Water.

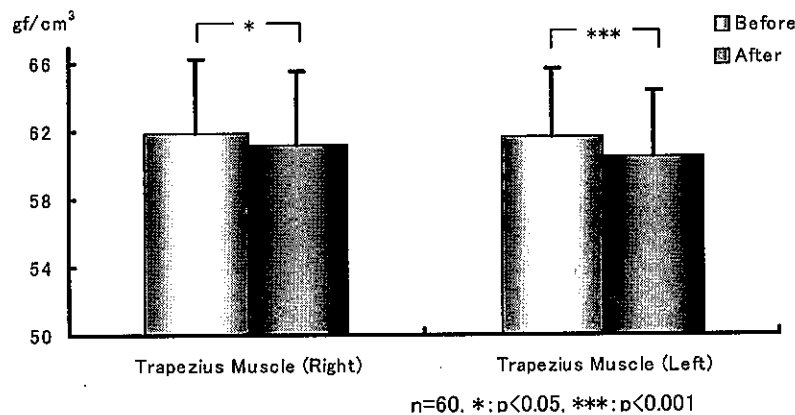


Fig. 5. Results of Stiffness of Right and Left Trapezius Muscle before and after Floating in Concentrated Deep Sea Water.

浮遊浴前後に筋肉部の硬度測定を行った結果を Fig. 4, Fig. 5に示した。Fig. 4は、左右の菱形筋（背）部の硬さの変化を示したもので、浮遊浴前の右の菱形筋部について平均値と標準偏差は63.0±4.5であり、浮遊浴後は60.5±4.6となり有意な低下がみられた（ $p<0.001$ ）。しかし左の菱形筋部では、浮遊浴前が61.7±4.5、浮遊浴後が60.3±4.9で有意な低下がみられなかった。Fig. 5は、僧帽筋（頸）部の硬さ変化をみたもので、僧帽筋右部の硬度は、浮遊浴前が62.0±4.3、浮遊浴後が61.2±4.3で有意な低下を示した（ $p<0.05$ ）。僧帽筋左部の硬度は浮遊浴前が61.7±4.0、浮遊浴後が60.5±4.0で有意な低下を示した（ $p<0.05$ ）。

男女別に浮遊浴が筋肉部位の硬度に与える影響についてみると、左右の菱形筋（背）部および僧帽筋左部については性差がみられなかったが、僧帽筋右部の硬度は、男性では有意な低下がみられたが（ $p<0.05$ ）、女性では有意差がみられなかった。年齢階層別に分けると、全体で有意な変化がみられた菱形筋（背）

右部については20～39歳（ $p<0.01$ ）と40～59歳（ $p<0.05$ ）で浮遊浴後に有意な硬度の低下がみられたが、60歳以上では有意差はみられなかった。僧帽筋右部では、40～59歳で浮遊後に低下する傾向を示したが（ $p<0.1$ ）、他の年齢階層ではみられなかった。僧帽筋左部は、20～39歳と40～59歳で有意な低下（ $p<0.05$ ）がみられたが、60歳以上ではみられなかった。

浮遊浴後の感想

概ね気持ちが良いという感想が多かったが、しみるなど高塩分によると思われる意見もあった。女性では目焼けを気にする声が多かった。以下はアンケート用紙に自由記述された感想である。

- ゆすってもらった時最高の気分。とてもリフレッシュできたと思う。たった15分で！（40代男性）
- 寒かった。（20代男性、7月31日）
- 自分が浮いて動いているのかとまっているのかわか

平成17年11月1日

- らない変な感じでした。まくらをして寝たい。(20代男性)
- ・かなり浮く。(20代男性)
- ・気持ちがよい。(50代男性)
- ・本当に浮くことに感動しました。動かしてもらおうとイイ気持で、何となくリラックスしたように思います。(50代男性)
- ・とてもリラックスできました。もっと広い設備にして年中やって下さい。(30代男性)
- ・体がゆれるとき、流れ(温度差)を感じ気持が良い。(50代男性)
- ・首を持ってゆらすよりも何もしないで浮いていた方がもっとリラックス効果があると思う。(30代男性)
- ・左右にフラれた時は気持ちが良かった。?の時にした方がリラックスできるのでは。(30代男性)
- ・塩水が目にしみる。リラックス感は充分ある。(50代男性)
- ・先生が上手に浮かせていただいたので気持が良かった。(60代男性)
- ・終わり頃には眠気を感じるくらいでした。(40代男性)
- ・15分が短く感じた。(50代男性)
- ・期待したような感じがしなかった。(50代男性)
- ・気持ち良い。浮いたのは初めて。(泳げないので)(60代男性)
- ・ポーッとしているような、うまくできたひるねのあのような、スッキリしているけれど、スカッとしたような、のんびりのような。(リラックスしたというのは、このような感じかな。)(30代男性)
- ・大変ふしぎな感じでした。何度か入るとなれ、リラックスできるかも。予想していた感じとはちがった。(30代男性)
- ・フワフワして、気持ちがよい風や太陽の目ざしを感じて、ウトウト(30代男性)
- ・少し、足と目がしみた。(30代男性)
- ・きもちよかった。(30代男性)
- ・浮遊は楽しいけど手順が悪い。(60代女性、初日)
- ・とてもすばらしい体験ありがとうございました。心身共に軽やかになりました。(50代女性)
- ・首が緊張して首だけ疲れた。(50代女性)
- ・初体験でした。本当に体がらくに浮かぶのにはびっくりしました。(50代女性)
- ・きもちよかった。(20代女性)
- ・途中で鼻に水が入ったのでびっくりした。(30代女性)
- ・とても気持ちがよかった。つかれがとれたようだ。(40代女性)
- ・気持ちよかった。(20代女性)
- ・耳に水の音がきもちよかった。日焼けが気になるが、できれば本でもよみたかった。(40代女性)
- ・とてもリラックスしてねむくなった。耳に水がはいりますよこしこわかった。水面が静かなほうがもっとリラックスできたと思う。(50代女性)
- ・体全体軽くなった。(70代女性)
- ・大変リラックスしている。(50代女性)
- ・とても気持ちよかったです。ソルトレークの感じ。(40代女性)
- ・目に塩分が入る。(60代女性)
- ・リラックスができたような感じがします。(70代女性)
- ・浮いた状態がとても気持ちよくリラックスできた。紫外線が気になりました。(20代女性)
- ・紫外線がきついで日陰で浮くことが出来ればもっと安心したと思う(20代女性)
- ・自分自身で浮く力を感じてみたかった。(50代女性)
- ・日焼けするので、室内のほうがもっとリラックスできるのではないかと思う。音楽も静かな感じの方がよいと思う(20代女性)
- ・プールよりも簡単に体が浮き、安定していてよかった。本当にリラックスするのは、時間やいろいろ気にしないで本を読んだり食事なんかもしてみたり(!!)自由にできたらな、と思いました。後に重く感じるのも不思議でした。ありがとうございました。(30代女性)
- ・不思議な感じだった。(20代女性)
- ・新体験で、体は気持ちよくなりました。(20代女性)
- ・気楽だった。塩気を感じた。(20代女性)
- ・深層水が空気の感じがして水でない感じ 右肩が疲れて終わったら、しんどい感じがした。(50代女性)
- ・気持ちよかったです。(60代女性)
- ・怖かった。もしかするとご迷惑をおかけしたのでは。(20代女性)
- ・眠ったような感じになり、体が休まったような気がします。(20代女性)
- ・最初、慣れるまではちょっと緊張したけど気持ちよかったです。水中に音楽流したりすると更に良いかも・・・ありがとうございました。(20代女性)
- ・おもしろかったです。流れている音楽などによっても気分がちがってくると感じました。(20代女性)
- ・初め少し緊張していた。終りの方はリラックスした。(60代女性)
- ・体が軽くなったような感じで気持ち良かった。15分ではものたりない気がする。(20代女性)
- ・体験終了時の感覚が予想以上にぼーとする。筋肉の

緊張がとけたかどうかは今の時点ではよく判らない。
日が熱いので日除けの下でしたかった。(60代女性)

- 一気持ちよかった。(30代女性)
- 暑かった。頭を支えず自力で浮ければ、もっとリラックスできるかと思う。気持ちよかったです(特に手足)。(30代女性)
- 気持ち良かった。リラックスできた。(30代女性)
- 死海の海のTVを見ていて、本を読んだりしていたのでそう言う事が出来るのかと思っていました。頭を支えていただいたので、反対に肩に力が入ってしまいました。確かに虫に刺された後等、しみる感じがしましたが、それ程痛いと思いませんでした。今度は一人で浮いてみたいですね!!。(30代女性)
- 夢を見ているようで気持ちもリラックスできました。(50代女性)
- 浮いたー!!とビックリした。浮こうと、余計肩に力が入ってしまうかも。(20代女性)
- とても気持ち良かった。ありがとうございました。(20代女性)
- とても眠くなった。暑くてももがあつかった。(30代女性)
- 足と手に日焼け止めをぬって欲しい。(40代女性)
- 首から肩にかけてが、とても楽になったような気がした。(50代女性)
- 少し暑かったけどリラックスできました。(40代女性)
- 頭を下げるとちょっといきぐるしくなったため、ちょっと体に力が入って思うように出来なかった。しかし自分的にはリラックスできたと思います。(30代女性)
- ういている時はきもちがよかった。足をおさえて(もって?)もらったほうがくびをもってもらいよかったです。ゆらしてもらうのがとてもきもちよかったです。くびがおもく感じたがそれ以外はきもちよかったです。(20代女性)

以下15分間浮遊浴出来なかった人

- こわかった(50代女性)
- 顔に血が上った感じ。体は楽になりましたが、気分が悪くなった感じです。車によったのと同じ気分です。(20代女性)
- 始め緊張していたけれど少しリラックスできるようになってきた。耳に水が入って1分前やめる。(60代女性)
- 自分がほんとに浮いているかわからなくて、リラックスはしたかったけど、肩や手足に力が入っていた。アトピーで塩水がしみて肌荒れしてしまい、ご迷惑

をおかけしてしまいました。すいません。(20代女性)

考 察

近年、水の粘性、浮力、水圧などの特性を活かした健康づくりのアクア・エクササイズが盛んである。また、水中における仰臥位浮遊浴のリラクゼーション効果についても注目されている[8]。水中では浮力によって無重力状態に近い環境となり、筋肉の弛緩、自律神経系の安定状態をもたらすと考えられる。しかし、真水(1.0g/cm³)より人体の密度(1.05g/cm³)は高く、真水中で補助具無しで仰臥位に浮遊するのは難しい。

今回、調査を行った「滑川深層水フェア2003・ぶかぶか体験」で使用された濃縮海洋深層水は、富山湾の水深300m以深の「日本海固有冷水塊」から海洋深層水(塩分濃度3.4%)を採取し、逆浸透膜法と蒸発法で塩分濃度約30%に濃縮したものである。比重は約1.2で、真水や深層水に比べて浮力が大きく、容易に浮遊できる。この濃縮水の塩分濃度は浮遊浴ができる「死海」と同レベルであるが、成分は異なる(Table 1)。「死海」はカルシウムやマグネシウムが多く、浮遊した場合には皮膚への刺激が強いとされている。それに対して、濃縮深層水の場合は、皮膚への感じがマイルドであることが、「死海」を経験された方がアンケートで述べられている。

今回の濃縮深層水の浮遊浴によって、ストレス感・リフレッシュ感アンケートのスコアが有意に上昇し、リフレッシュ効果に性や年齢による違いはみられず、老若男女にかかわらず効果があることが示唆された。

浮遊浴前後の筋肉部の硬度測定では、浮遊浴によって右背部の硬度の有意な低下がみられ、頸部では、左右とも浮遊浴によって有意な低下がみられた。性別にみると、男性の方が女性に比べて筋肉部位が柔らかくなる傾向がみられ、若年者や壮年者の方が、高齢者より柔らかくなる傾向がみられた。

筋肉部の硬度が休息によっても低下する可能性を考慮して、男性4名(38.2±15.0歳)、女性6名(41.3±9.9歳)の合計10名を対象として、気温32度、湿度50%の環境下で15分間のベッド休息前後で筋硬度の測定を行ったが、ベッド休息では筋硬度の有意な変化はみられず、筋硬度の低下が浮遊浴の効果であることを否定できないものと考えられた。

濃縮海洋深層水を用いた浮遊浴によって、精神的なリフレッシュ効果と筋肉のリラクゼーション効果が得られることが示唆された。

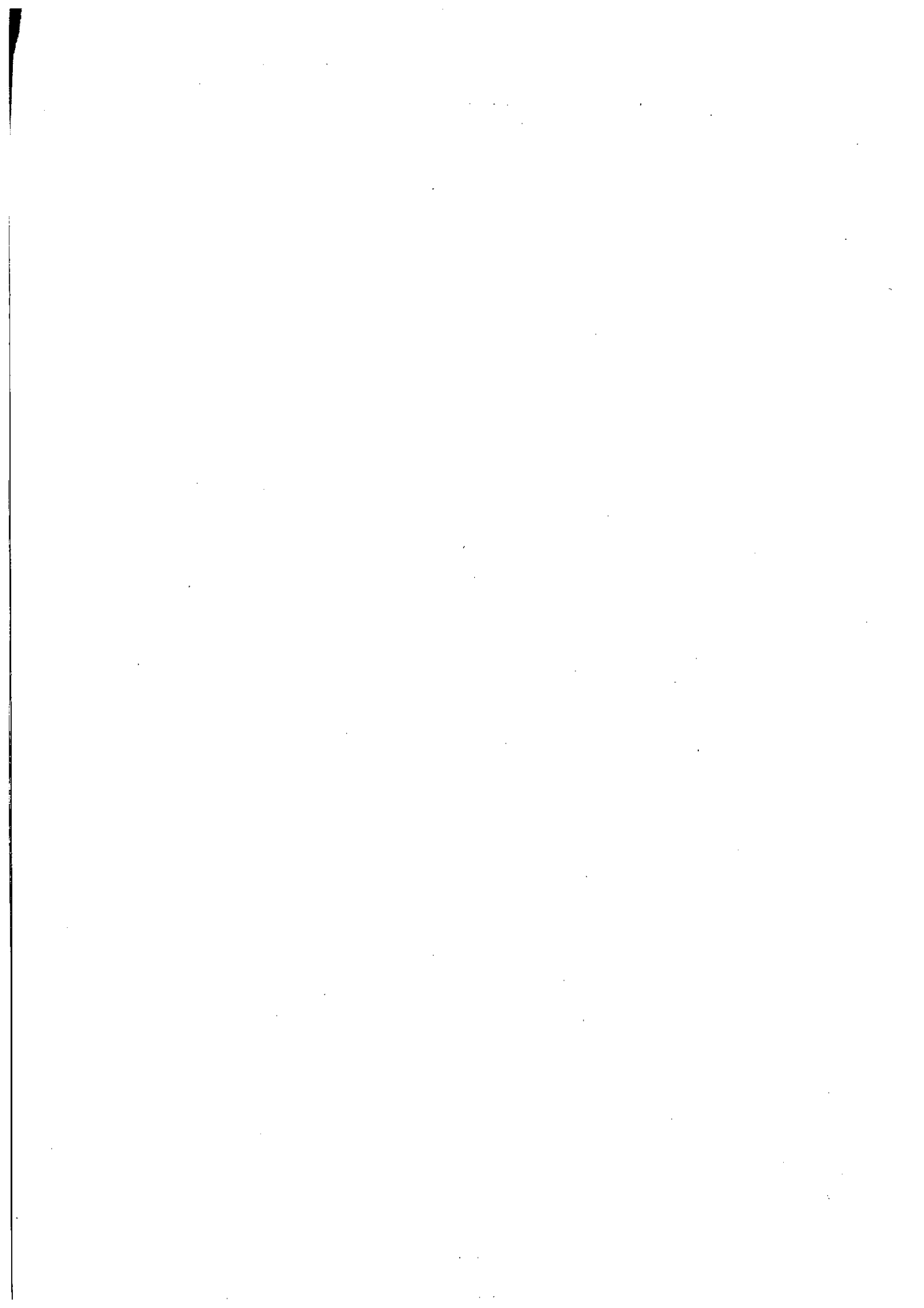
平成17年11月1日

謝 辞

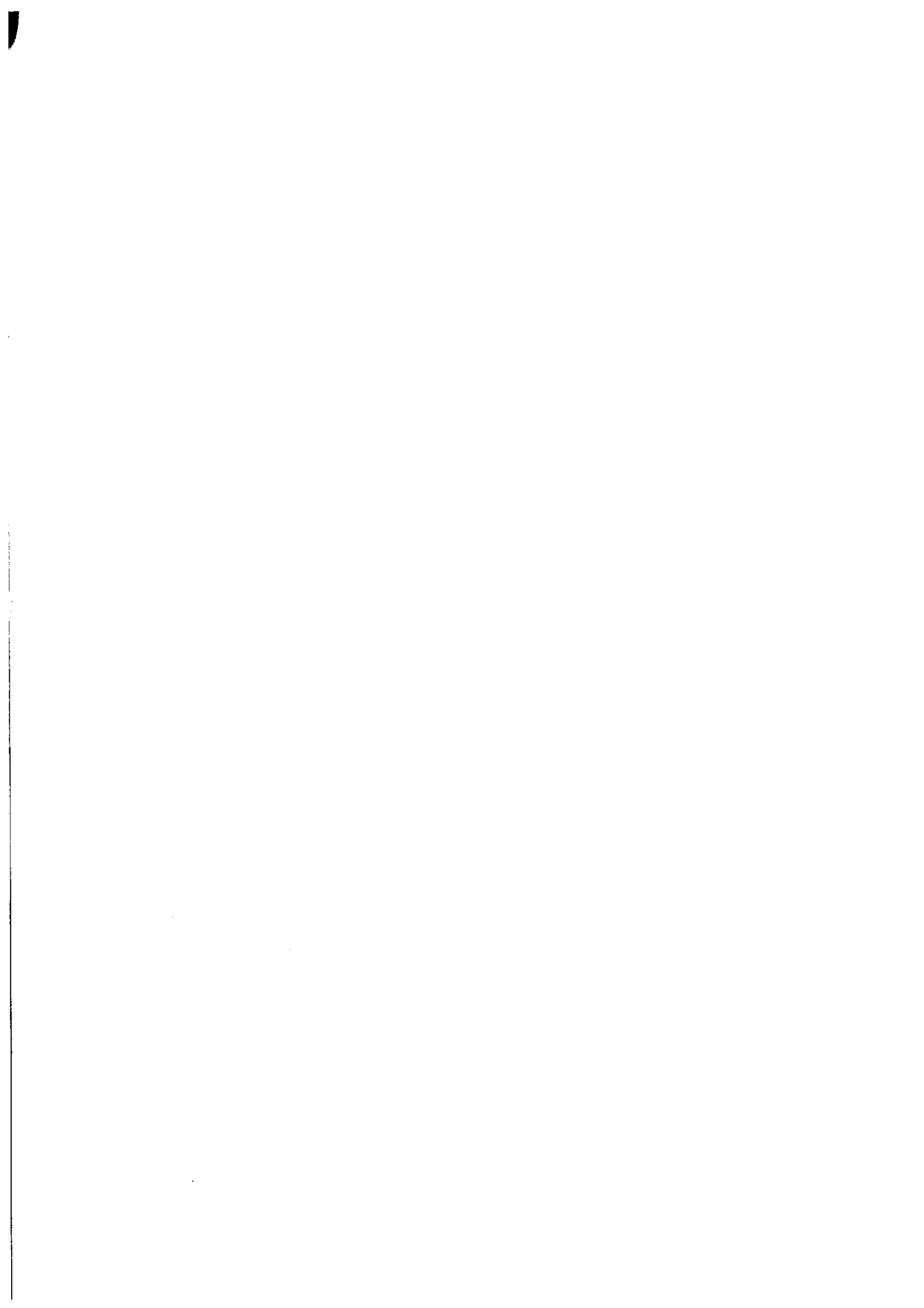
本研究は、富山医科薬科大学医学部保健医学教室との共同研究であり、富山県および滑川市の助成を受けた。調査にご協力いただいた滑川市、「タラソピア」、五洲薬品株式会社、新日鐵株式会社の関係者の皆様、ならびに調査に参加していただいた皆様に深謝いたします。

文 献

1. 鏡森定信, 王 紅兵, アリナセルモアデリ, 張 淼, 関根道和, 堀井裕子, 新村哲夫, 西野治身, 大村 栄 (2002). 日本温泉気候物理医学会雑誌, 65, 73-82.
2. 新村哲夫, 張 淼, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 王 紅兵, アリナセルモアデリ, アレックス ガイナ, 関根道和, 鏡森定信 (2004). 日本温泉気候物理医学会雑誌, 67, 155-164.
3. 新村哲夫, 張 淼, 荒谷哲雄, 王 紅兵, 鏡森定信 (2003). 第7回海洋深層水利用研究会全国大会, 焼津市
4. 中高年労働者ヘルスケア検討委員会 (1986). 産業医学ジャーナル, 9, 61-68.
5. 松永明信 (2001). 21世紀の資源 富山湾深層水 (富山県深層水利用研究会編), p4-6, 桂書房 (富山市).
6. 高柳信孝, 大浦 徹, 斉藤行雄, 山本 敦, 小玉修嗣, 健名智子, 大戸幹也, 松永明信 (2000). 富山衛生研究所年報, 22, 209-214.
7. 木村晴男, 高橋直哉 (2004). 第8回海洋深層水利用研究会全国大会, 富山県入善町.
8. 西村正広, 小野寺昇 (2000). 宇宙航空環境医学, 37, 49-56.



3. 資 料



平成17年11月1日

富山県における平成16年度のウイルス検出状況

岩井雅恵 長谷川澄代 堀元栄詞
小原真弓 松浦久美子 永井美之

Viruses Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2004

Masae IWAI, Sumiyo HASEGAWA, Eiji HORIMOTO,
Mayumi OBARA, Kumiko MATSUURA, Yoshiyuki NAGAI

平成16年度に実施した感染症発生動向調査事業、感染症流行予測調査事業、行政依頼検査、一般依頼検査および調査研究におけるウイルス検出結果を報告する。検査の実施方法は、検体の種類や状態に応じて常法に従って行った。

平成16年4月から平成17年3月までに受け付けた被検者は433例、検体別では便285、咽頭拭い液139、髄液4、血液1、吐物7、鼻汁9の計444であった。また、食中毒事例に関連した食材16件についても検査を行った。被検者433例中237例からウイルスが検出された。以上の成績を疾患別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザおよび呼吸器疾患：県内の定点病院および集団発生の当該厚生センター・保健所から依頼のあった111症例（咽頭拭い液101、鼻汁9）についての検査を行った。昨シーズン（2003/2004）終期の4月にB型インフルエンザウイルス1株が分離された。

6月に咽頭炎1症例（咽頭拭い液、糞便）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

今シーズン（2004/2005）は、平成16年1月から3月の間に、A（H3）型インフルエンザウイルス48株、B型インフルエンザウイルス47株が検出された。さらに、集計には加わっていないが、4月から6月にかけてもA（H3）型インフルエンザウイルスが検出され、B型インフルエンザウイルスも4月まで検出されていた。今シーズンは、A（H3）型とB型の2種類のウイルスがほぼ同数検出された。流行の立ち上がりは例年に比較して遅く、1月中旬から患者報告数が増え、3月上旬をピークにして5月上旬に終息した。休校、学級あるいは学年閉鎖の措置が50施設（届出累積患者数1397名）でとられ、昨シーズン（計20施設）よりも流行の規模は大きかった。

咽頭結膜熱：6、7月に32症例（咽頭拭い液32）の検

査を行い、アデノウイルス（Ad）1型2株、Ad2型2株、Ad3型3株、Ad5型2株、コクサッキーウイルスB（CoxB）1型1株、CoxB2型1株が検出された。今年度は、定点医療機関からの年間患者報告数が1038人、年間定点あたり患者数が35.79人であり、咽頭結膜熱が流行した前年（619人、21.31人）に比べさらに患者数が多かった[1]。

感染性胃腸炎：集団発生16事例（糞便91、吐物6）を含む98症例（糞便96、吐物6）についてウイルス検索を行った。このうちウイルスが検出された62症例のうち55症例（88.7%）からノロウイルス（NV）Geno group（G）IIが検出された。

集団発生または有症苦情例は5月に2事例、6月に2事例、12月に2事例、1月に4事例、2月に3事例、3月に3事例発生した。上記の内5月の1事例、6月の2事例、12月の2事例、1月の2事例、2月の3事例、3月の2事例の計12事例は、NVG IIによる感染性胃腸炎と判断された。1月の1事例では、同一の患者からNVG IとNVG IIの両方が検出された。1月の他の事例では、A群ロタウイルスが検出された。3月の1事例ではNVG IあるいはNVG IIが検出された。

定点医療機関からの散発例の検体（糞便4）は平成16年4月に1症例、平成17年1月に2症例、2月に1症例であった。4月の1名からはA群ロタウイルスが検出され、1月にはアデノウイルス40/41型、サポウイルスが各々1名から検出された。2月の1名からはNVG IIが検出された。

食中毒：9事例の食中毒（糞便125）についてウイルス検索を行った。4月の事例では患者15名中13名からNVG IIが、1名からNVG IIとA群ロタウイルスが検出され、無症状の施設関係者からNVG Iが検出された。8月と9月にまたがる事例の患者4名からはウイルスは検出されなかった。12月の1事例では、患者12名中11名と施設関係者14名中5名からNVG IIが検出さ

表1. 平成16年4月～平成17年3月 疾患別、月別ウイルス検出状況

臨床診断名	検出ウイルス	2004年				2005年							合計	
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月		3月
インフルエンザ 及び呼吸器疾患	(被検者数)	2	1	1							[21]	[48]	[38]	111
	A(H3)型インフルエンザ										10	[20]	[18]	48
	B型インフルエンザ	1									7	23	17	48
咽頭結膜熱	(被検者数)			13	19									32
	アデノ1型			1	1									2
	アデノ2型			1	1									2
	アデノ3型			1	2									3
	アデノ5型				2									2
	コクサッキー-B1型			1										1
	コクサッキー-B2型			1										1
	エコー7型				1									1
感染性胃腸炎*1	(被検者数)	1	[7]*3	[10]						[15]*3	[21]*3	[17]	[27]	98
	ノロGⅠ												[1]	1
	ノロGⅡ		[2]	[8]						[11]	[6]*3	[13]	[15]	55
	ノロGⅠ+ノロGⅡ										[2]			2
	サポ										1			1
	アデノ40/41										1			1
	A群ロタ	1									[1]			2
食中毒	(被検者数)	[26]*3				[3]	[1]			[40]*3	[37]*3	[18]*3		125
	ノロGⅠ	[2]*3								[11]*3	[1]	[1]		15
	ノロGⅡ	[13]								[16]*3	[13]	[4]		46
	A群ロタ											[1]		1
	ノロGⅡ+A群ロタ	[1]												1
脳症	(被検者数)						1						1	2
無菌性髄膜炎	(被検者数)	1		1		1		1						4
手足口病	(被検者数)			1										1
無症状 (ポリオ流行予測調査)	(被検者数)							10		6	10	33		59
	ポリオ2型							1						1
	アデノ2型									1	1			2
	未同定細胞障害因子							2						2
その他*2	(被検者数)											1		1
症例合計	(被検者数)	30	8	26	19	4	12	1		61	89	117	66	433
	ウイルス検出者数	18	2	13	7		3			39	43	62	51	238
食材	(検体数)									15	1			16

*1：感染性胃腸炎には、冬季嘔吐下痢症、冬季下痢症を含む。

*2：その他：2月の症例はQ熱疑い例。

*3：無症状の施設関係者を含む。

[]は集団発生事例を含む。

平成17年11月1日

れた。12月のもう一方の事例では、患者7名中7名と施設関係者7名中4名から NVG I が検出された。1月の3事例中、1事例では、患者16名のうち10名から NVG II が検出され、他の1事例では、患者11名のうち3名から NVG II が、1名から NVG I が検出された。2月の2事例中、1事例では、患者6名のうち4名から NVG II が、1名から NVG I が、1名から A 群ロタウイルスが検出された。

食中毒に関連して食材16件についてウイルス検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

脳症：9月に1症例（2歳男児の便、咽頭拭い液）および3月に1症例（6歳男児の便、咽頭拭い液）の検査を行ったがウイルスは検出されなかった。

無菌性髄膜炎：4、6、8、10月に計4症例（咽頭拭い液3、便3、髄液4）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。今年度、全国の無菌性髄膜炎患者からは、エコーウイルス6型、30型、コクサッキーウイルス B5型、B1型、エコーウイルス18型など様々なウイルスが検出された[2]。

手足口病：6月に1症例（2歳男児の便）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

無症状：ポリオ流行予測調査事業により、0～5歳までの健康な乳幼児の糞便を対象にウイルス検索を行っ

た。9月に採取した0才9ヶ月男児の便からポリオウイルス2型が検出された。被検者は約3ヶ月10日前にポリオワクチンの初回免疫を受けており、検出されたポリオウイルス2型は、VP1領域遺伝子がワクチン株である Sabin2型と1.2%異なるワクチン由来変異株であった。

その他の疾病：3月の Q 熱疑い1症例について、急性期と回復期の血清抗体価を測定したが、4倍以上の上昇は見られなかった。

ウイルス分離検査は結果判明までに時間がかかり、当該患者の臨床診断に間に合わない場合も多いものの、今後の感染症発生動向を知るうえで重要な資料となります。ご多忙の中でウイルスおよびリケッチア検出の意義をご理解、ご協力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。

文 献

1. 富山県厚生部. 富山県感染症発生動向調査事業報告書（平成16年）. 17
2. 厚生労働省 / 国立感染症研究所. (2004) IDWR, 第41週, 第41号, 6.

富山県における2004年の病原微生物検出情報

木全恵子 嶋 智子 田中大祐 清水美和子
磯部順子 綿引正則 永井美之

Detection of Pathogenic Bacteria in Toyama Prefecture in 2004

Keiko KIMATA, Tomoko SHIMA, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE,
Masanori WATAHIKI and Yoshiyuki NAGAI

我々は県内10か所の公立病院検査室、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、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。2004年1月から12月までの検出情報を検出材料別及び菌種別に集計し、表に示した。厚生センター、富山市保健所、衛生研究所で検出された病原細菌は、ほとんどが糞便材料由来であった。また、公立病院検査室で分離された黄色ブドウ球菌については、メチシリン耐性ブドウ球菌(MRSA)の割合を本文中に示した。

表中の○で囲んだ数字は食中毒、家族内発生などの同一フォーカス由来の分離株が含まれることを示している。また、()内の数字は海外旅行者数の再掲である。

【糞便】分離株総数は1,681株で前年比98.1%と減少していた。そのうち最も多かったのは黄色ブドウ球菌607株(そのうちMRSAは59.6%)であり、前年比93.1%であった。次に多かったのは大腸菌586株であるが、前年比90.2%であった。腸管出血性大腸菌(EHEC/VTEC)は22株で、その内訳は血清型O157が9株、O26が10株、O111が2株、O128が1株であった。このO128はEHECにおいて検出されることの少ない血清型であった。カンピロバクターは集団食中毒が3件発生したため、270株で前年比118%と増加した。腸炎ビブリオは、113株で前年比136%と増加していた。これは2件の集団食中毒が発生したためである。サルモネラは63株で、前年比94.0%と減少していた。検出されたサルモネラのうち血清型O4が33.3%を占めた。これは11月に発生したO4型サルモネラ食中毒によるものである。2類感染症では、赤痢菌が4株分離された。その内訳は*S.dysenteriae* 1株、*S.flexneri* 1株、*S.sonnei* 2株であった。分離された赤痢菌のうち*S.sonnei* 1株はエジプト・ギリシャ旅行歴のある患者からの分離であった。他の赤痢菌は全て海外渡航歴のない患者からの分離であった。また、コレラ菌(O1小川型)がフィリピン旅行歴のある患者から分離され

た。

【穿刺液】分離株総数268株、前年比109%で、黄色ブドウ球菌(MRSAは50.7%)、大腸菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌などが多く分離された。

【髄液】分離株総数21株、前年比105%で、肺炎球菌、黄色ブドウ球菌(内MRSAは80%)、インフルエンザ菌が分離された。

【血液】分離株総数795株、前年比99.9%で、大腸菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌(MRSAは58.6%)が多く分離された。また、2類感染症として、パラチフスA菌が2株分離された。これらのファージ型は4型であった。検出されたパラチフスA菌のうち1株はネパール旅行歴のある患者から分離され、もう1株は医療機関における検査室内感染者からの分離であった。

【咽頭および鼻咽喉】分離株総数2,310株、前年比94.7%で、インフルエンザ菌、肺炎球菌、A群溶連菌が多く分離された。

【喀痰、気管吸引液および下気道】分離株総数5,997株、前年比100%で、黄色ブドウ球菌(MRSAは69.3%)、緑膿菌が特に多く、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5,504株、前年比89.3%で、分離株数が最も多い検査材料であった。大腸菌、腸球菌、緑膿菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌が特に多かったが、黄色ブドウ球菌(MRSAは68.1%)、肺炎桿菌、*Candida albicans*なども多かった。

【陰部尿道頸管擦過(分泌)物】分離株総数2,050株、前年比87.9%で、*Candida albicans*が特に多く、その他にB群溶連菌などが分離された。なお、*Chlamydia trachomatis*は抗原検出による報告である。

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、および国立感染症研究所 腸チフス中央調査委員会各位に感謝致し

平成17年11月1日

ま 別・菌種別の病原微生物検出状況（2004年）

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Salmonella Typhi													
Salmonella Paratyphi A													
Salmonella O1	2				1				5	1	(10)	2	21
Salmonella O7				1	1	3	4	1	2	3		1	16
Salmonella O8												1	1
Salmonella O9		2	2		1	2	5	4	2				18
Salmonella その他								4	1	1			6
Salmonella 群不明					1								1
Yersinia enterocolitica	1					1	1	1	1		2		7
Y. pseudotuberculosis							3						3
Vibrio cholerae O1							1(1)						1(1)
Vibrio cholerae O139													
Vibrio cholerae O1,139以外													
Vibrio parahaemolyticus						5	16	63	(27)		2		113
Vibrio fluvialis									1				1
Vibrio mimicus													
Aeromonas	1		5	1	1	1	1	3	2	3	1		19
Plesiomonas shigelloides	1												1
Campylobacter	12	(24)	6	35	10	29	(49)	38	17	12	(32)	6	270
Staphylococcus aureus	54	63	65	41	46	53	59	54	42	39	45	46	607
Clostridium perfringens	1												1
Clostridium botulinum													
Bacillus cereus						(3)				(2)			5
Entamoeba histolytica													
Escherichia coli組織侵入性	2					1	4		2				9
Escherichia coli毒素原性	1		1	1	1	4		7	6	2	6	11	40
Escherichia coli病原大腸菌	30	28	45	36	21	33	24	20	18	42	34	32	363
Escherichia coliEHEC/VTEC		1	1		(4)	1	3	(6)	1	(4)	1		22
Escherichia coliその他、不明	8	10	9	17	17	13	14	16	19	9	9	11	152
Shigella			1			2(1)	1						4(1)
合 計	113	128	135	132	104	151(1)	185(1)	217	146	118	142	110	1681(2)

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）

Escherichia coli	7	3	4	2	2	6	5	6	7	6	2	1	51
Klebsiella pneumoniae	2	1	3	2	2	3	4	4	4		3	1	29
Haemophilus influenzae						3							3
Neisseria meningitidis													
Pseudomonas aeruginosa	4	1	2	2	1	1	3	1	2	2		1	20
Mycobacterium spp.													
Staphylococcus aureus	4	15	11	7	6	6	7	4	6	3		6	75
Staphylococcus コアグラゼ陰性	2	4	5	6	4	4	4	5	7		2	5	48
Streptococcus pneumoniae		1				2							3
Anaerobes	2	3	5	9	12	2		1	3		1	1	39
Mycoplasma pneumoniae													
合 計	21	28	30	28	27	27	23	21	29	11	8	15	268

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>						1					1	1	3
<i>Neisseria meningitidis</i>												1	1
<i>Listeria monocytogenes</i>						1							1
<i>Staphylococcus aureus</i>						1		1	1	1	1		5
<i>Streptococcus, B</i>					1			1					2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	2	2	1	2							1	9
合計	1	2	2	1	3	3	0	2	1	1	2	3	21

4) 分離材料：血液

<i>Escherichia coli</i>	18	9	19	21	25	23	21	21	23	23	24	37	264
<i>Salmonella Typhi</i>													
<i>Salmonella Paratyphi A</i>				1(1)	1								2(1)
<i>Salmonella spp.</i>								2					2
<i>Haemophilus influenzae</i>	1			1							1	2	5
<i>Neisseria meningitidis</i>						1							1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	1	2	3	5	5	6	4	10	10	4	5	57
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	19	11	10	12	22	16	18	18	12	8	25	186
<i>Staphylococcus</i> コガラセ ⁺ 陰性	11	16	20	13	22	19	20	25	22	16	23	17	224
<i>Streptococcus, B</i>	1	1	3		1	2	1	1	2	1			13
<i>Streptococcus pneumoniae</i>		2			3	2		1		2	2	1	13
Anaerobes	4	4	6	1	2	2	2	1	2	1	2	1	28
合計	52	52	61	50(1)	71	76	66	73	77	65	64	88	795(1)

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

<i>Bordetella pertussis</i>													
<i>Haemophilus influenzae</i>	105	129	151	112	144	109	55	42	32	34	69	102	1084
<i>Neisseria meningitidis</i>													
<i>Streptococcus, A</i>	45	73	86	51	33	31	21	16	10	3	14	10	393
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	65	75	83	72	64	101	41	31	26	44	110	121	833
<i>C. diphtheriae</i>													
合計	215	277	320	235	241	241	117	89	68	81	193	233	2310

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	5	5	6	2	5	2	3	2	5	2	3	42
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	55	53	55	48	71	68	55	81	90	81	77	53	787
<i>Haemophilus influenzae</i>	39	41	53	51	50	62	36	36	35	24	40	41	508
<i>Legionella pneumophila</i>		1							1				2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	91	85	98	77	90	99	90	116	104	96	96	85	1127
<i>Staphylococcus aureus</i>	238	232	225	224	222	236	228	227	195	213	241	239	2720
<i>Streptococcus, A</i>	10		1	3	2	6	3	1		1			27
<i>Streptococcus, B</i>	18	18	35	34	22	32	23	27	18	14	23	31	295
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27	57	53	51	36	41	40	34	29	29	46	41	484
Anaerobes	3	1										1	5
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													
合計	483	493	525	494	495	549	477	525	474	463	525	494	5997

平成17年11月1日

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
Escherichia coli	161	161	200	198	153	192	164	173	148	145	159	123	1977
Enterobacter spp.	24	16	11	17	10	7	9	21	13	11	7	14	160
Klebsiella pneumoniae	24	41	42	27	28	28	27	45	47	48	44	22	423
Acinetobacter spp.	3	6	7	1	3	2	5	10	4	6	6	1	54
Pseudomonas aeruginosa	53	41	52	46	45	45	73	65	63	50	51	41	625
Staphylococcus aureus	54	57	62	47	31	44	48	49	27	41	31	38	529
Staphylococcus コクサラーゼ陰性	42	51	77	41	30	45	50	51	46	45	41	35	554
Enterococcus spp.	97	73	81	67	62	70	79	72	70	73	75	93	912
Candida albicans	22	27	25	28	25	19	23	19	29	17	17	19	270
合計	480	473	557	472	387	452	478	505	447	436	431	386	5504

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌）物

Neisseria gonorrhoeae	3	5	6	2	6	2	3	4	6	6	5	3	51
Streptococcus, B	44	44	49	47	44	42	60	48	46	52	49	46	571
Chlamydia trachomatis	18	13	7	8	14	11	11	21	3	8	9	12	135
Ureaplasma													
Candida albicans	90	94	89	90	98	99	161	139	132	108	94	99	1293
Trichomonas vaginalis													
合計	155	156	151	147	162	154	235	212	187	174	157	160	2050

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	32	43	40	26	27	33	33	32	22	20	30	24	362
	MSSA	22	20	25	15	19	20	26	22	20	19	15	22	245
	未検査													
	件数	54	63	65	41	46	53	59	54	42	39	45	46	607
穿刺液	MRSA	3	9	9	5	3	1	2	1	2	2		1	38
	MSSA	1	6	2	2	3	5	5	3	4	1		5	37
	未検査													
	件数	4	15	11	7	6	6	7	4	6	3	0	6	75
髄液	MRSA						1			1	1	1		4
	MSSA								1					1
	未検査													
	件数	0	0	0	0	0	1		1	1	1	1	0	5
血液	MRSA	9	11	6	5	6	13	11	8	9	7	3	21	109
	MSSA	6	8	5	5	6	9	5	10	9	5	5	4	77
	未検査											0		
	件数	15	19	11	10	12	22	16	18	18	12	8	25	186
呼吸器	MRSA	170	162	161	152	146	159	161	164	134	154	159	163	1885
	MSSA	68	70	64	72	76	77	67	63	61	59	82	76	835
	未検査													
	件数	238	232	225	224	222	236	228	227	195	213	241	239	2720
尿	MRSA	36	44	47	32	22	34	27	25	18	24	24	27	360
	MSSA	18	13	15	15	9	10	21	24	9	17	7	11	169
	未検査													
	件数	54	57	62	47	31	44	48	49	27	41	31	38	529
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

漁港における腸炎ビブリオ調査 (2004年)

嶋 智子 磯部順子 田中大祐 清水美和子 木全恵子
綿引正則 永井美之 松澤留美子¹

Vibrio parahaemolyticus Surveillance at Fishing Ports
in Toyama Prefecture in 2004

Tomoko SHIMA, Junko ISOBE, Daisuke TANAKA, Miwako SHIMIZU,
Keiko KIMATA, Masanori WATAHIKI, Yoshiyuki NAGAI
and Rumiko MATSUZAWA¹

2004年の全国の食中毒発生状況によると、腸炎ビブリオは、病因物質別の発生件数および患者数ともに、ノロウイルス、サルモネラ属菌に次いで第3位であった。富山県でも、ノロウイルス、カンピロバクターに次いで第3位であり、本菌による食中毒は全国的に減少傾向にあるといわれているが、依然として、食中毒発生件数の上位を占めている状況である。

県厚生部では、夏期に多く発生する腸炎ビブリオ食中毒防止のため、飲食店等に対する衛生指導に加え、富山湾における腸炎ビブリオの汚染実態調査を実施している。衛生研究所では、1979年から1995年まで市販魚介類の腸炎ビブリオ調査を実施し、1996年からは「Vp (腸炎ビブリオ) マリン実態調査」として、県内の漁港の海水、海泥中の腸炎ビブリオの実態調査を行い、県民への食中毒注意報発令や効率的な監視指導のための基礎資料としている。ここでは2004年の調査結果を報告する。

材料と方法:

1. 調査定点

Fig. 1に示す富山県内の主要5漁港(生地, 魚津, 四方, 新湊, 氷見)で行った。なお、魚津漁港は今年から新漁港が開設されたため、昨年までの旧漁港および新漁港の2地点で採水を行った。各漁港では併設市場前を検体採取場所とした。

2. 調査期間

調査は6~9月の間は隔週月2回, 10月および11月は月1回の計10回実施した。

3. 検体採取

表層と底層の海水を採取した。前者は柄杓で、後者はハイロート採水器で水深2m付近を採取した。検体

は県厚生センターと富山市保健所が採取し、検査は採取後4時間以内に衛生研究所が行った。

4. 腸炎ビブリオ数の測定

食塩ポリミキシンブイオン培地を用いたMPN3本法で測定した [1]。

5. 海水の塩分濃度の測定

赤沼式比重計を用いて測定した [2]。

6. *tdh* 遺伝子の検出

前報 [3]に従った。

7. 海水からのTDH産生性腸炎ビブリオの分離

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

8. 腸炎ビブリオ新型クローンの確認

海水から分離した腸炎ビブリオ O3:K6が新型クロー

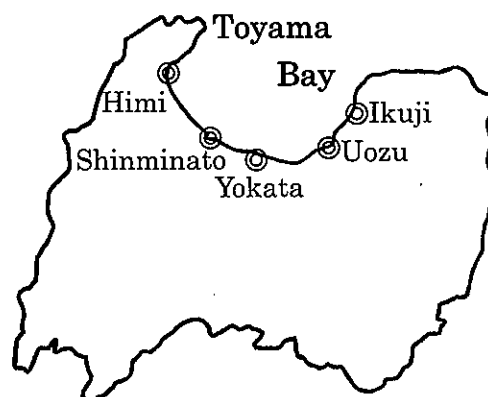


Fig.1. Location of fishing ports for sampling in Toyama Prefecture

平成17年11月1日

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

Fishing Port		Date									
		6 / 7	6 / 21	7 / 5	7 / 20	8 / 9	8 / 23	9 / 6	9 / 13	10 / 4	11 / 8
Ikuji	V.p [Surface]	4.0 *	2.4×10 ²	3.0	2.3×10 ¹	<3	3.4×10 ¹	9.5×10 ¹	7.5×10 ¹	7.5×10 ²	4.3×10 ¹
	WT (°C)	18.0	17.8	20.5	19.3	24.0	20.5	19.0	21.3	19.0	17.0
	Salinity (‰)	10.5	9.0	10.8	4.7	8.5	9.9	8.5	10.1	12.6	18.9
	V.p [Bottom]	<3	4.0	3.0	2.0×10 ¹	<3	5.3×10 ¹	4.3×10 ²	2.8×10 ¹	1.1×10 ³	1.5×10 ¹
	WT (°C)	20.5	21.3	23.0	24.0	28.0	25.2	24.5	24.5	24.0	20.0
	Salinity (‰)	33.6	31.2	32.7	28.6	31.1	34.1	33.2	34.3	33.5	33.6
Uozu (Old)	V.p [Surface]	<3	1.5×10 ¹	1.1×10 ¹	3.6×10 ¹	7.0	9.3×10 ¹	<3	9.0	9.0	2.3×10 ¹
	WT (°C)	21.0	21.4	23.7	24.0	29.0	24.8	23.0	24.6	22.5	20.0
	Salinity (‰)	27.6	25.5	22.6	19.5	24.3	33.4	15.7	26.1	30.6	32.7
	V.p [Bottom]	4.0	9.0	4.0	2.9×10 ¹	4.0	7.5×10 ²	4.0	1.5×10 ¹	1.5×10 ²	4.3×10 ¹
	WT (°C)	20.0	21.5	23.4	25.0	29.5	25.5	24.0	24.8	24.0	21.5
	Salinity (‰)	33.9	31.1	30.2	36.5	30.3	34.9	28.2	31.8	34.4	35.4
Uozu (New)	V.p [Surface]	<3	<3	2.1×10 ¹	1.6×10 ²	<3	2.4×10 ²	9.0	1.5×10 ¹	2.3×10 ¹	4.3×10 ¹
	WT (°C)	19.4	19.9	25.0	22.8	29.0	23.4	22.5	25.1	22.0	18.0
	Salinity (‰)	17.7	10.1	20.6	18.1	19.8	24.8	16.9	26.0	30.1	18.7
	V.p [Bottom]	2.3×10 ¹	4.3×10 ¹	9.0	5.3×10 ¹	<3	2.1×10 ¹	4.3×10 ¹	1.1×10 ¹	1.6×10 ¹	4.3×10 ¹
	WT (°C)	20.0	21.4	25.0	25.0	29.4	25.3	24.0	24.9	24.0	20.5
	Salinity (‰)	34.0	30.9	30.8	29.1	32.2	34.8	30.7	31.2	34.8	35.1
Shin-minato	V.p [Surface]	<3	7.0	1.6×10 ¹	3.0	1.3×10 ¹	2.1×10 ¹	4.3×10 ²	1.6×10 ¹	9.3×10 ¹	2.3×10 ¹
	WT (°C)	21.0	22.0	25.0	24.0	29.0	25.0	23.0	25.0	18.0	18.0
	Salinity (‰)	16.5	15.8	22.7	31.6	30.4	31.3	21.2	26.2	13.3	31.7
	V.p [Bottom]	4.0	<3	3.0	2.0×10 ¹	1.1×10 ¹	2.9×10 ¹	2.4×10 ¹	2.0×10 ¹	2.4×10 ²	4.3×10 ²
	WT (°C)	20.7	22.0	23.5	25.0	28.0	26.0	24.0	25.0	19.5	20.0
	Salinity (‰)	28.5	28.2	33.2	34.2	33.6	33.6	34.8	34.5	20.3	34.3
Himi	V.p [Surface]	<3	1.5×10 ²	7.0	4.0	4.2×10 ¹	6.0	4.0	2.0×10 ¹	1.2×10 ²	2.1×10 ¹
	WT (°C)	22.4	24.0	26.0	25.0	29.0	25.0	24.0	25.0	20.0	19.0
	Salinity (‰)	29.8	29.9	30.0	35.5	35.4	33.7	32.9	34.7	29.7	34.6
	V.p [Bottom]	<3	2.3×10 ¹	9.3×10 ¹	6.0	1.2×10 ¹	1.5×10 ²	1.1×10 ¹	1.6×10 ¹	2.4×10 ²	2.9×10 ¹
	WT (°C)	22.4	24.0	26.0	25.0	29.0	25.0	24.0	25.0	20.0	19.0
	Salinity (‰)	30.4	30.4	29.7	35.2	34.3	33.6	35.1	34.5	29.6	34.8
Yokata	V.p [Surface]	<3	2.3×10 ¹	1.1×10 ¹	1.3×10 ¹	<3	3.6×10 ¹	9.3	7.0	2.1×10 ¹	2.0×10 ¹
	WT (°C)	22.2	23.8	27.8	25.3	30.0	26.6	25.3	26.7	22.5	19.3
	Salinity (‰)	16.5	24.1	23.1	33.5	28.9	32.5	18.4	25.4	30.4	32.9
	V.p [Bottom]	4.3×10 ¹	9.3×10 ²	1.5×10 ¹	1.5×10 ¹	<3	1.1×10 ¹	4.3×10 ²	1.5×10 ²	3.6×10 ¹	2.4×10 ²
	WT (°C)	20.7	23.6	24.5	25.0	29.4	27.1	26.3	26.1	22.5	20.3
	Salinity (‰)	33.4	28.6	32.3	34.3	33.5	34.6	35.7	33.7	30.6	35.1

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

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

Fishing Port		Date										Total
		6 / 7	6 / 21	7 / 5	7 / 20	8 / 9	8 / 23	9 / 6	9 / 13	10 / 4	11 / 8	
Ikuji	<i>tdh</i>	1 / 2*	0 / 2	1 / 2	1 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	5 / 20
	TDH+ O3:K6	1 / 1	N.E**	1 / 1	0 / 1	1 / 2	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	3 / 5
Uozu (Old)	<i>tdh</i>	0 / 2	2 / 2	2 / 2	2 / 2	1 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	10 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	2 / 2	2 / 2	1 / 2	0 / 1	1 / 2	N.E	N.E	0 / 1	N.E	6 / 10
Uozu (New)	<i>tdh</i>	2 / 2	2 / 2	1 / 2	2 / 2	1 / 2	1 / 2	0 / 2	1 / 2	1 / 2	0 / 2	11 / 20
	TDH+ O3:K6	0 / 2	1 / 2	1 / 1	2 / 2	1 / 1	1 / 1	N.E	1 / 1	0 / 1	N.E	7 / 11
Shin-minato	<i>tdh</i>	0 / 2	2 / 2	2 / 2	2 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	2 / 2	0 / 2	11 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	2 / 2	2 / 2	1 / 2	1 / 2	N.E	N.E	1 / 1	0 / 2	N.E	7 / 11
Himi	<i>tdh</i>	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	3 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	N.E	N.E	N.E	N.E	1 / 1	0 / 2	N.E	N.E	N.E	1 / 3
Yokata	<i>tdh</i>	0 / 2	2 / 2	2 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	0 / 2	0 / 2	1 / 2	6 / 20
	TDH+ O3:K6	N.E	2 / 2	2 / 2	N.E	N.E	N.E	0 / 1	N.E	N.E	0 / 1	4 / 6
Total	<i>tdh</i>	3 / 12	8 / 12	8 / 12	7 / 12	6 / 12	4 / 12	3 / 12	2 / 12	4 / 12	1 / 12	46 / 120
	TDH+ O3:K6	1 / 3	7 / 8	8 / 8	4 / 7	3 / 6	3 / 4	0 / 3	2 / 2	0 / 4	0 / 1	28 / 46

* No. of positive / No. of samples examined

** Not examined.

ンかどうかの確認は Matsumoto ら [6] の PCR 法 (group-specific PCR) で行った。

結果：

1. 漁港海水中の腸炎ビブリオ菌数の月別変動

6~11月の間、腸炎ビブリオ数は、 $<3\sim 1.1 \times 10^3$ /100mlであった (Table 1)。2004年は、過去の成績と比べ、6月後半から菌数の増加がみられ、漁港によっては 10^2 /100mlを超える定点もあった。7月以降は増減はあるものの $10^1\sim 10^2$ /100mlレベルの菌数で推移した。県東部の定点 (生地、魚津、四方)において、第5回 (8/9採水) の腸炎ビブリオ数が非常に少なかったが、原因は不明である。10月に入っても、半数の定点で 10^2 /100ml以上の腸炎ビブリオが検出された。魚津港は旧漁港と新漁港について調査を行ったが、顕著な差はみられなかった。

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

海水1L中の *tdh* 遺伝子と TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の検出状況を Table 2に示した。海水120検体中46件 (38%) から *tdh* 遺伝子が検出された。遺伝子は6月前半から検出され、11月に入っても1検体で検出された。

tdh 遺伝子が検出された検体から TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の分離を試みた。*tdh* 遺伝子陽性46検体中28件 (61%) から分離され、過去の成績と比較し

て分離率はかなり高かった。分離された腸炎ビブリオ O3:K6 28株について group-specific PCR を行ったところ、すべて新型クローンであった。漁港別にみると、*tdh* 遺伝子検出率は魚津漁港および新湊漁港で高かったが、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6の分離率に差はみられなかった。

tdh 遺伝子の調査を開始した1999年からの4年間、6月に *tdh* 遺伝子は検出されていなかったが、昨年 [4] に引き続き本年も6月に海水中から *tdh* 遺伝子が検出された。さらに、TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6も6月に分離された。これは6月から病原性腸炎ビブリオが海水中に増加していることを示唆している。事実、富山県では少なくとも1981年からの22年間、6月に腸炎ビブリオによる集団食中毒は記録されていなかったが、2003年には6月に集団食中毒が3件発生している。

考察：腸炎ビブリオによる食中毒は、全国的に2000年頃より減少してきている。2001年 (平成13年) 6月、国により、腸炎ビブリオ食中毒防止対策として、新たに生食用鮮魚介類等について表示基準、成分規格、加工基準及び保存基準等が設けられたが、この規制が功を奏していると思われる。

しかし、本年の富山湾漁港海水中の *tdh* 遺伝子検出率および TDH 産生性腸炎ビブリオ O3:K6分離率は、ともに高い結果であった。これらは調査検体中の陽性率であり定量的なデータではないが、本年の県内漁港海水中には TDH 産生性腸炎ビブリオが例年より

平成17年11月1日

多く分布していたのではないかと推測される。

今後、漁港海水中の腸炎ビブリオの動態と食中毒発生との関連をさらに明らかにするために、本調査を継続していく必要があると思われる。

謝 辞：本調査の検体採取は、富山県食品生活衛生課で作成された計画に基づき、各厚生センター及び富山市保健所職員により行われました。これらの方々に深謝いたします。

文 献

1. 細呂木志保, 田中大祐, 平田清久, 磯部順子, 刑部陽宅, 城石将幸, 長沢憲嗣 (1997). 富山衛研年報, 20, 184-186.
2. 小久保清治 (1969). 海洋生物学, 恒星社厚生閣水産学全集11, 200-202.
3. 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 香取幸治, 刑部陽宅, 永井美之, 竹内 崇 (2002). 富山衛研年報, 25, 179-182.
4. 刑部陽宅, 細呂木志保, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 香取幸治, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2004). 富山衛研年報, 27, 129-137.
5. 刑部陽宅, 細呂木志保, 磯部順子, 田中大祐, 北村 敬 (2000). 日食微誌, 17, 5-10
6. Matsumoto, C., Okuda, J., Ishibashi, M., Iwanaga, M., Garg, P., Rammamurthy, T., Wong, H, C., Depaola, A., Kim, Y, B., Albert, M.J. and Nishibuchi, M. (2000). J. Clin. Microbiol., 38, 578-585.

食中毒患者から分離された *Campylobacter jejuni* の 細菌学的検討

清水美和子 磯部順子 綿引正則

Bacteriological Studies on *Campylobacter jejuni* Isolated from
Food Poisoning Patients

Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI

近年、カンピロバクターによる集団食中毒は全国的に増加している[1]。富山県においても2004年に3件の集団食中毒が発生し、病因物質別ではノロウイルスの4件に次いで多かった。そこで3件のカンピロバクター食中毒の患者から分離された株について、その生化学性状、薬剤感受性試験及びパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による遺伝子解析を行ったので報告する。

材料と方法：

1. 供試菌株：2004年に発生した3件の食中毒の患者から分離されたカンピロバクター(*Campylobacter jejuni*) 25株を用いた。
2. 生化学性状：カタラーゼ試験、42°C及び25°C発育テスト、馬尿酸塩加水分解試験、ナリジクス酸(NA; 30 µg)及びセファロシン(CF; 30 µg)感受性試験、酢酸インドキシル加水分解試験を行った。
3. 薬剤感受性試験：Brain Heart Infusion ブイヨン(Difco)で培養し、ミューラーヒントンII寒天培地(BBL)に塗抹後、センシディスク(BBL)を置き2日間微好気培養して阻止円を測定した。供試薬剤は、ノルフロキサシン(NFLX)、オフロキサシン(OFLX)、シプロフロキサシン(CPFX)、エリスロマイシン(EM)、テトラサイクリン(TC)

の5剤とした。

4. PFGE：伊藤ら[2]、松根ら[3]の方法を参考にし、制限酵素 *Sma* I 及び *Sac* II (Wako) で DNA を切断後、PFGE を行いその泳動パターンを比較した。

結果および考察：富山県における2004年のカンピロバクターによる食中毒発生状況を表1に示した。事件数は3件で、いずれも飲食店での食事が原因であった。原因食品は3事例とも特定できなかったが、カンピロバクター食中毒の原因としてよく知られている鶏肉の関与が示唆された。患者あるいは飲食店の従業員から分離されたカンピロバクターは25株で、すべて *Campylobacter jejuni* (*C. jejuni*) であった。菌株は県内の厚生センターあるいは病院で分離され、当所に搬入された。

分離された *C. jejuni* の主な生化学性状を表2に示した。ナリジクス酸に対する感受性は、事例1の分離菌のみが感受性で、事例2と3の分離菌では耐性であった。*C. jejuni* の同定にはナリジクス酸感受性という性状が広く利用されてきたが、近年、ナリジクス酸耐性の *C. jejuni* が増加してきており[4]、これを補う試験として酢酸インドキシル加水分解試験の併用が薦められている[4]。この試験について当所で実施したところ、25株すべてが陽性となり、*C. jejuni* である

表1. 富山県におけるカンピロバクター食中毒発生事例 (2004年)

事例 No.	発生時期	摂食者数(人)	患者数(人)	分離数(人)	原因食品	原因施設
1	1月	36	7	5	不明	飲食店 (食堂)
2	7月	54	28	12	鶏肉料理 (推定)	飲食店 (軽飲食)
3	11月	84	10	9	炭火焼ささみ 鶏わさ (推定)	飲食店 (軽飲食)

表2. 分離カンピロバクターの生化学性状

事例 No.	供試菌株数	性 状						
		カタラーゼ	42°C発育	25°C発育	馬尿酸試験	NA	CF	酢酸インドキシル
1	5	+	+	-	+	S*	R**	+
2	12	+	+	-	+	R	R	+
3	8	+	+	-	+	R	R	+

* S：感受性

** R：耐性

表3. 薬剤感受性試験

事例 No.	薬 剤				
	NFLX	OFLX	CPFX	EM	TC
1	S*	S	S	S	R**
2	R	R	R	S	S
3	R	R	R	S	R

* S：感受性

** R：耐性

表4. 血清型別

事例 No.	血清型		菌株数
	Lior 型	Penner 型	
1	4	NT*	5
2	UT**	E	10
	UT	UT	2
3	4,TCK26	UT	4
	TCK26	UT	3
	4	B	1

* NT：未検査

** UT：型別不能

ことが確認できた。

表3に薬剤感受性試験の結果を示した。カンピロバクターの下痢症に第一選択薬剤としてマクロライド系のEMが推奨されている[1]。本試験では、EMに対して分離菌はすべて感受性を示した。ニューキノロン剤であるNFLX, OFLX, CPFXには事例2と3のすべての分離菌が耐性を示した。これらのうち事例3の分離菌についてはTCについても耐性を示した。

PFGEの結果を図1および図2に示した。それぞれの事例ごとにパターンは一致した。また、カンピロバクター・レファレンス東海・北陸支部センターの愛知県衛生研究所に血清型別を依頼し、その結果を表4に示した。血清型は事例1ではすべて一致したが、事例

2と3では複数の血清型に分かれた。カンピロバクター食中毒においては同一グループ内で複数の血清型菌の分離例が報告されているが[4, 5]、その原因は明らかにされていない。PFGEと血清型と菌株の関係について更なる検討が必要である。

近年、ニューキノロン系薬剤に耐性のカンピロバクターが増加していることが世界的に問題となっており[1]、今回の食中毒も3事例中2事例からニューキノロン系薬剤耐性菌が分離された。集団食中毒だけでなく、散発下痢症の患者から分離されるカンピロバクターも多く[6]、また、薬剤耐性株も増加してきていることから、今後も動向に注目していきたい。

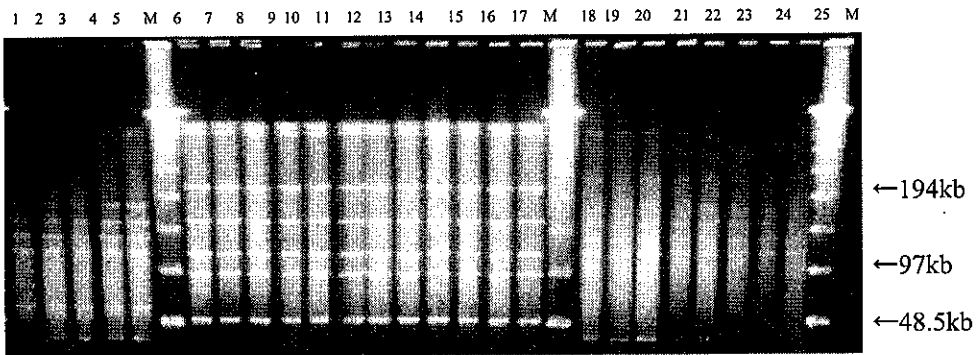


図1. *C. jejuni* の PFGE パターン (*Sma* I 処理)

M: マーカー

レーン1~5: 事例1 患者分離株

レーン6~17: 事例2 患者分離株

レーン18~25: 事例3 患者分離株

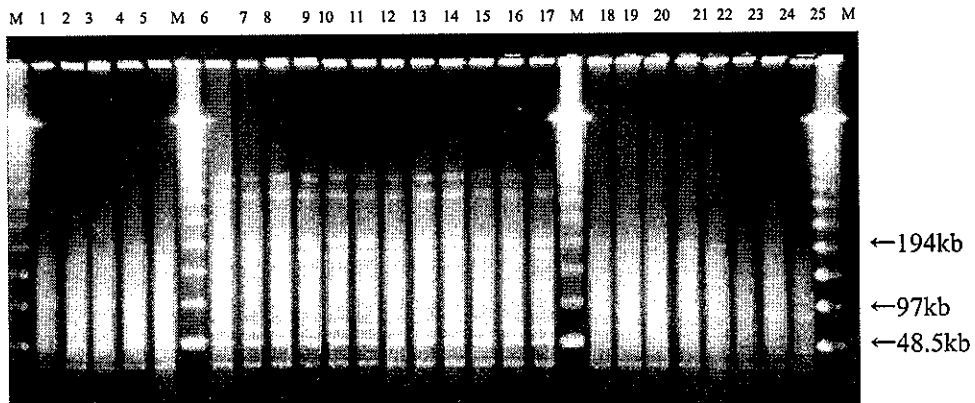


図2. *C. jejuni* の PFGE パターン (*Sac* II 処理)

M: マーカー

レーン1~5: 事例1 患者分離株

レーン6~17: 事例2 患者分離株

レーン18~25: 事例3 患者分離株

謝辞：本調査の実施にあたり，血清型別検査をしていただいた愛知県衛生研究所の平松礼司先生，またご協力いただいた厚生センターの関係各位に深謝いたします。

文 献

1. IDWR, (2005), 第19週, 第19号, 11-13
2. 伊藤喜久治ら, 平成10年度厚生科研 我が国におけるパルスネット構築のための緊急研究 研究報告書 (1999), 51-56
3. 松根 渉, 長 宗学, 梅原成子, 岩崎由紀, 山田和枝, 杉山信子, 林賢一, 辻下宏, 日食微誌 (2000), 17(4), 245-248
4. 国立感染症研究所編, 病原微生物検出情報月報, (1999), Vol.20, No.5, 3 (109)
5. 斉藤香彦ら, 感染症学雑誌 (1992), 66, 340-347
6. 木全恵子, 嶋 智子, 田中大祐, 磯部順子, 綿引正則, 永井美之 (2004). 富山県衛生研究所年報, 27, 152-155

溶血レンサ球菌感染症流行予測調査（平成16年度）

田中大祐 清水美和子 田中桂子¹ 田中有易知²

Epidemiological Surveillance of Hemolytic Streptococcal Infections in Toyama Prefecture

Daisuke TANAKA, Miwako Shimizu, Keiko TANAKA¹ and Yuichi TANAKA²

富山県では、溶連菌による感染症の流行状況を把握し、将来の流行を予測することを目的として、患者から分離された溶連菌について血清型を調べるとともに、健康な保育所園児の咽頭溶連菌保菌状況を調べてきている。ここでは、平成16年度に行った調査結果を報告する。

菌培養を併用した。群別はストレプト LA「生研」（デンカ生研）を用いた感作ラテックス凝集反応にて行い、A群溶連菌のT型別及びB群溶連菌の型別は市販血清（デンカ生研）を用いてスライド凝集反応法で行った。

調査対象および検査方法：調査は県内の東西2ヶ所の保育所で行った。県東部の黒部市T保育所では、平成17年1月31日に、2～5歳の園児37名を、県西部の小矢部市T保育所では、平成17年2月24日に、3～6歳の園児41名を保護者から承諾を得て対象とした。園児の咽頭ぬぐい液を採取し、分離培養はヒツジ血液寒天培地(BBL)を用いて行い、SEB培地（日水）を用いた増

結果および考察：平成16年度の調査における保育所園児の溶連菌保菌状況を Table 1に示した。黒部市内の保育所の園児では37名中3名(8.1%)が溶連菌陽性であった。この保菌率は昨年(10.7%)と比較してやや低かった。検出菌3株の型別結果は、A群T1型2株、A群T型別不能1株であった。菌陽性者3名のうち、2名は感冒様症状を示していたが、1名は無症状であった。また、小矢部市内の保育所では41名中2名(4.9%)が溶

Table 1. Isolation of Hemolytic Streptococci from Throat Swabs of Children during January and February 2005

Place of nursery schools	Age (yr)	No. of children examined	Positive		serogroup and serotype of isolates		No. of isolates
			No.	%			
Kurobe	2	2	0	0.0			0
	3	12	0	0.0			0
	4	6	0	0.0			0
	5	17	3	17.6	A	T1	2
					A	TUT*	1
Subtotal	37	3	8.1			3	
Oyabe	3	1	0	0.0			0
	4	18	1	5.6	C		1
	5	8	0	0.0			0
	6	14	1	7.1	B	I b	1
	Subtotal	41	2	4.9			2
Total		78	5	6.4			5

*T untypable

1. 新川厚生センター 2. 砺波厚生センター

連菌陽性であった。検出菌はB群Ib型1株、C群1株であった。菌陽性者に、感冒様症状は認められなかった。健康学童や保育園児の咽頭溶連菌の菌型は、同じ施設や地域における溶連菌感染症の流行菌型と一致することが報告されている[1, 2]。今年度の本調査では、保育所園児から分離された溶連菌の菌株数は5株と少ないものの、その内2株検出されたA群T1型は、患者由来A群溶連菌のT型別結果でも4番目に検出率の高いT型であった。

謝辞：本調査にご協力頂いた保育所、病院、その他の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 児玉博英, 刑部陽宅, 岡田伊津子, 畑 祥子, 山崎茂一, 久保義博, 高藤 昭, 橋爪淑子, 尾崎一郎 (1983). 感染症学雑誌, 57 (12), 1060-1066.
2. 飯村 達, 天野祐次, 松江隆之, 小野川尊, 遠藤美代子, 奥野ルミ, 柏木義勝, 松木一雅 (2001). 感染症学雑誌, 75 (4), 314-325.

平成17年11月1日

富山県内で患者から分離された溶血レンサ球菌の血清型 (平成16年)

田中大祐 磯部順子 綿引正則

Serotypes of Clinical Hemolytic Streptococcal isolates
in Toyama Prefecture, 2004

Daisuke TANAKA, Junko ISOBE, Masanori WATAHIKI

A群溶血レンサ球菌(溶連菌)は、咽頭炎、膿瘍疹など様々な感染症の起因菌となる。A群溶連菌による咽頭炎は感染症法では小児科定点報告の5類感染症に位置づけられ、富山県では平成16年(2004年)は4,395人が報告されていた[1]。また、近年、本菌による重篤な劇症型溶血レンサ球菌感染症や食品を介した集団発生も報告されている[2]。B群溶連菌は、新生児の敗血症や髄膜炎を引き起こすことで注目されている。ここでは、平成16年(2004年)に富山県で患者から分離された溶連菌について血清型を調べた結果を報告する。

材料と方法：2004年に富山県内2か所の公立病院で患者から分離された溶連菌について調べた。A群のT型別およびB群の型別は、それぞれの型別用抗血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応によって行った。

結果および考察：A群47株のT型別結果をTable 1に示した。検出率が高いT型は、順にT12型(15株, 31.9%), T28型(8株, 17.0%), T25型(6株, 12.8%), T1型(4株, 8.5%)であった。2004年は前年(2003年)と比較して、T12型とT28型が増加し、T1型、T3型、

T4型は減少していた。

B群174株の型別結果をTable 2に示した。検出率が高い型は、順にNT6型(52株, 29.9%), Ib型(36株, 20.7%), V型(22株, 12.6%), JM9型(20株, 11.5%), Ia型(16株, 9.2%)であった。近年、JM9型が減少傾向にある。滝沢ら[3]は、札幌市の病院で分離されたB群溶連菌の菌型分布について調査したところ、1992年から1999年の間に、NT6型、JM9型、III型、Ia型、IV型、Ib型の順に多かったと報告している。我々の結果でも彼らと同様にNT6型が1995年以来毎年最も多かった。

謝辞：本調査にご協力いただいた病院の関係各位に感謝いたします。

文 献

1. 富山県衛生研究所編集・発行(2005) .富山県感染症発生動向調査事業報告書(平成16年), p.13.
2. 国立感染症研究所編(2004). 病原微生物検出情報, 25巻10号, 252-253.
3. 滝沢慶彦, 坂本裕美子, オリベラ恵, 高橋俊司(2001). 感染症学雑誌, 75(3), 174-180.

Table 1. Monthly Distribution of T Types of Clinical Group A Streptococci in 2004

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1						2		1			1		4	8.5
T-2													0	0.0
T-3								1					1	2.1
T-4			1										1	2.1
T-6						1							1	2.1
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11											1		1	2.1
T-12	1	2	2	1	1	2	1	1	3		1		15	31.9
T-13				1								1	2	4.3
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25	1		3					1				1	6	12.8
T-28			1		1	2		2	1		1		8	17.0
T-B3264			1										1	2.1
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable			3			1		2	1				7	14.9
Total	2	2	11	2	2	8	1	8	5	0	4	2	47	100.0

Table 2. Monthly Distribution of Types of Clinical Group B Streptococci in 2004

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
I a		1	1	1	1	2	3	1	3	2	1		16	9.2
I b			5	5	2	1	2	4	1	4	6	6	36	20.7
II	1				1						1	1	4	2.3
III		2	2	1		1	1	1			3	1	12	6.9
IV									1				1	0.6
V			3	3	4	2	3			4	2	1	22	12.6
NT6		4	3	2	4	5	8	6	7	6	2	5	52	29.9
JM9		1	3	1	2	4	3	4		1	1		20	11.5
7271													0	0.0
Untypable		1	1		1	2		1		4		1	11	6.3
Total	1	9	18	13	15	17	20	17	12	21	16	15	174	100.0

平成16年度富山県食品衛生検査の精度管理調査

－微生物学的検査－

磯部順子 清水美和子 田中大祐 綿引正則 坂森寛治

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

Junko ISOBE, Miwako Shimizu, Daisuke TANAKA, Masanori WATAHIKI
and Kanji SAKAMORI

富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として微生物学的精度管理調査を実施している。今年度の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した細菌数の測定及び食品中のカンピロバクター検査を実施した。検査用試料は、当研究所で調製、各検査機関に配布し、各々の検査結果の報告を受けて集計と評価を行ったので報告する。

材料及び方法：

(1) 参加機関

新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所

(2) 調査日程

平成16年1月24日～2月14日

(3) 検査項目と検査試料

菌数測定：菌数が100～1,000 cfu/mlとなるよう市販品「枯草菌6633'栄研」を、牛乳（常温保存可能な市販牛乳）に添加した。牛乳原液の生菌数は0 cfu/mlであった。

カンピロバクター定性試験：模擬食品として鶏肉ミンチ50gにカンピロバクター・コリあるいはカンピロバクター・ジェジュニを添加あるいは無添加の検査用模擬食品を調製した。なお、使用した鶏肉ミンチは、事前にカンピロバクターが含まれていないことを確認した。

試料名	添加細菌
模擬食品1	<i>Campylobacter coli</i>
模擬食品2	菌未接種
模擬食品3	<i>Campylobacter jejuni</i>

(4) 検査方法

菌数測定：各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした。

カンピロバクター定性試験：各機関のSOPに準拠して行うこととした。また、近年、カンピロバクターの分離に有効であるといわれている「ボルトン培地」[2]および「CCDA培地」[3]を配布した。これらの培地はいずれの参加機関のSOPにも記載されていない。従って、今回の精度管理調査で使用する必要はない。しかし、今後カンピロバクターに関連する検査が必要となった時、これらの培地が有効となることを想定しSOPに記載されていない培地を配布した。その使用については担当者の判断とした。

調査結果：

(1) 牛乳中細菌数の測定

結果は表1に示した。成績書に記載された結果は、機関Fを除き、すべてが300以下であった。実測値の平均は273cfu/ml、最大値290cfu/ml、最小値240cfu/mlであった。標準偏差17.1、各機関の実測値の平均に対するZスコアはいずれも2未満であった。

(2) 鶏肉ミンチ中のカンピロバクター検査

食品2に関しては、いずれの機関も「陰性」と結果は同様であった。しかし、食品1及び3に関して、機関によって結果が異なった。結果は表2に示した。食品1について機関Aを除く6機関すべてでカンピロバクターを検出した。食品3については機関Bを除く6機関すべてでカンピロバクターが検出された。た

だし、機関 A, G はボルトン増菌培地から菌を分離し、また機関 C は試料液を10ml 接種するなど、いずれも SOP には記載されていない方法を用いた場合にのみカンピロバクターが検出された。一方、分離された菌株を同定した結果、機関 E, F を除き、すべての機関で生化学的性状試験が確認されていた。機関 F, G は SOP に実施項目が明記されているが、結果の記載はなく、確認できなかった(△;SOP に記載はあるが、実施したことが確認できなかったことを示す)。

結果の解析：

(1) 牛乳の細菌数測定

2 回の測定値について、その実測値と平均値の両方で解析した。なお、実測値の平均は273cfu/ml、標準偏差は17.1で、一般的管理限界範囲である平均値±2×SD の範囲内にあり、いずれの施設も良好に管理されていた。また、データのばらつき度合を評価するため、Zスコアを算出した。Zスコアは別名「標準測度」と呼ばれており、「Z=(測定値-測定値平均)/測定

値標準偏差」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値の評価を行うことができる。判断基準は|Z| ≤ 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 ≤ |Z| のとき「改善措置を要する」となっている。今回の調査において、各機関の実測値の平均に対する Z スコアはいずれも 2 未満で、測定値は「良好」と判断された(図1)。しかし、実測値について各々の Z スコアを求めてみると、機関により差がみられた(表1)。2回の測定で求められた Z スコアだけで最終的な評価はできないが、今回の結果から、日常的に検査結果について客観的に捉え、検査技術の維持に努める必要がある。

一方、生菌数測定検査の場合、成績書の標記方法に留意しなければならない。「食品衛生検査指針」によると誤差を考慮し、1平板あたり30~300の生菌数を示す試料で結果を算出することが望ましいとある。今回、原液(実際は10倍希釈液)の菌数が30以下であったことから、その結果は10倍希釈を計算して300以下とすることが望ましいと思われた。機関 F は30以下の実

表 1. 牛乳中の生菌数の測定結果

機関名	成績書記載	測定値(cfu/ml) a)	log10 b)	偏差 c)	Zスコア d)
A	300以下	240 (270)	2.38 (2.43)	-0.055 (-0.0049)	-2.02 (-0.33)
		300	2.48	0.041	1.5
B	300以下	280 (285)	2.44 (2.45)	0.011 (0.0186)	0.42 (1.24)
		290	2.46	0.027	0.97
C	300以下	280 (280)	2.45 (2.45)	-0.004 (0.0109)	0.42 (0.73)
		280	2.45	0.027	0.42
D	300以下	270 (280)	2.43 (2.45)	-0.004 (0.0109)	-0.16 (0.73)
		290	2.46	0.027	0.97
E	300以下	250 (260)	2.40 (2.42)	-0.038 (-0.0213)	-1.37 (-1.42)
		270	2.43	-0.004	-0.16
F	2.76×10 ²	290 (278)	2.46 (2.44)	0.027 (0.007)	0.97 (0.47)
		265	2.42	-0.012	-0.45
G	300以下	260 (260)	2.42 (2.42)	-0.021 (-0.0213)	-0.76 (-1.42)
		260	2.42	-0.021	-0.76
平均値		273	2.44		
標準偏差		17.1	0.0275		

a) () 内は機関平均値

b) 測定値の自然対数、() 内は機関平均値

c) log10(測定値-平均値)、() 内は機関平均値

d) (偏差/標準偏差)、() 内は機関平均値

平成17年11月1日

表2. 食肉中のカンピロバクター定性検査の機関別検査結果の集計

参加機関名	検体名	増菌培地 a)	分離培地 b)	結果 (菌名)
A	食品 A	P	A, C, D	陰性
		B		陰性
	食品 B	P		陰性
		B		陰性
	食品 C	P		陰性
		B		陽性 (<i>C. jejuni</i>)
B	食品 A		陽性 (<i>C. coli</i>)	
	食品 B	P	B, C, D	陰性
	食品 C		陰性	
C	食品 A	P	A, C, D	陽性 (<i>C. coli</i>)
		B		陰性
	食品 B	P		陰性
		B		陰性
	食品 C	10P c)		陰性
		P		陰性
	食品 C	10P	陽性 (<i>C. jejuni</i>)	
D	食品 A	P	A, C	陽性 (<i>C. coli</i>)
		B		陽性 (<i>C. coli</i>)
	食品 B	P		陰性
		B		陰性
	食品 C	P		陽性 (<i>C. jejuni</i>)
		B		陰性
E	食品 A		D	陽性 (<i>C. coli</i>)
	食品 B	P	陰性	
	食品 C		陽性 (<i>C. jejuni</i>)	
F	食品 A		A	陽性 (記載なし)
	食品 B	P (2倍濃度)		陰性
	食品 C			陽性 (記載なし)
G	食品 A	P	A, C, D	陽性 (<i>C. coli</i>)
		B		陰性
	食品 B	P		陰性
		B		陰性
	食品 C	P		陰性
		B		陽性 (<i>C. jejuni</i>)

a) P:プレストン培地, B:ボルトン培地

b) A:カンピロバクター血液寒天培地 (BBL), B:プレストン寒天培地 (OXID),
C:CCDA 寒天培地 (OXID), D:スキロー寒天培地 (BBL,栄研,日研生物)

c) 10P; 増菌培地に接種する試料液を10mlとした方法

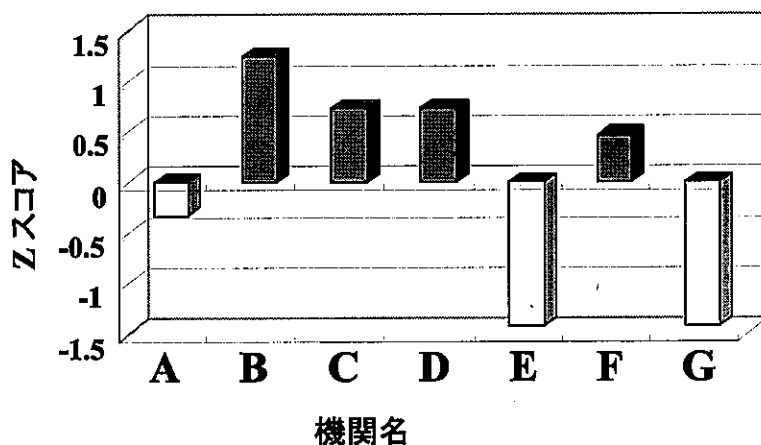


図1. 牛乳中の生菌数測定値における各機関別 Z スコア

測値を得て、その数字を直接成績書に記載し報告している。平板上の実測菌数が今回のように27個であった場合、SOPにある「30個」に対する信頼度と大差はなく、結果に及ぼす影響もほとんど無いと思われる。機関Fがこのような考え方を充分理解した上で、あえてこの結果を記載したのであれば問題は無いと思われる。しかし、日常的に生菌数をそのまま成績書に記載しているのであれば、問題としなければならない。これを機会に結果（数字）の持つ意味や成績書への記載方法を機関として再確認することが望まれる。特に液体材料のように、希釈することなく原液として検査できる食品の場合、その結果の取り扱いについてどのようにすべきか確認する必要があるのではないだろうか。

(2) カンピロバクター定性試験

食品中、特に食肉からカンピロバクターを検出する検査は日常の製品検査で実施することは少ない。しかし、この菌による食中毒は全国的に多発傾向にあり、富山県も例外ではない。従って、カンピロバクター汚染食品の追求、あるいはその結果に基づく業者への対応等のために、迅速かつ正確な検査結果が求められる機会が増加すると予想されることから、今回は敢えて精度管理項目にカンピロバクターを検出することを選んだ。できるだけ実際に即した試料を提供するため、検査試料にカンピロバクターの検出率が高い鶏肉を使用した。しかし、添加回収試験に際して、試料そのものからカンピロバクターが検出されることがないよう、鶏肉の中では検出率の低いミンチを用いた。さらに万全を期すため予備実験をおこない、試料からカンピロバクターが検出されないことを確認した。今回の調査ポイントは、①SOPに準拠した検査がなされているか、②カンピロバクター食中毒の場合、食品中の菌数

はかなり少ないといわれているので、その少ない菌数のカンピロバクターを検出できるかどうか、及び③カンピロバクターの性状を再認識するの3つとした。

調査ポイント①の検査手順については、すべての機関でおおむねSOPに従って実施されていた。ただし、機関FおよびGは性状確認検査の結果の記載がなく、SOPどおりに実施されたか詳細は不明であった。

以下、試料毎に結果を解析する。

食品1：鶏肉50g当たり170cfuのカンピロバクター・コリを添加した。Aを除くすべての機関でカンピロバクターが検出された。A～Gのどの機関もSOPどおりに検査を実施していた。機関Aだけがカンピロバクターを検出できなかった原因は不明である。カンピロバクターは極めて弱い菌であり、室温で放置すると短時間で死滅する。従って、検査開始時間が記載されていないので詳細は不明であるが、検査までの保管状態等について一度確認しておく必要があると思われる。特に冷凍や好氣的条件下にあって損傷を受けている場合には回復率は低下すると考えるべきである。カンピロバクターを目的とした検査の場合、検査材料の取り扱いや保管には十分な配慮と記録が重要である。なお、冷蔵庫内などの低温状態にあると、かなり長く生存できるといわれている。

食品2：いずれの機関においてもSOPどおりに検査が実施され、カンピロバクターは検出されなかった。食品に菌を接種していないのでこれらの結果はすべて正解であった。

食品3：鶏肉50g当たり260 cfuのカンピロバクター・ジェジュニを添加した。Bを除くすべての機関でカンピロバクターが検出された。基本的にすべての機関で検査はSOPに基づき実施されていたが、A, B, C, Gの4機関はSOPにある検査法でカンピロバクターを検出できなかった。調査ポイント②の視点からそれ

平成17年11月1日

それぞれについて見ると、機関 A 及び G はプレストン増菌培地から該菌を検出できず、参考用に配布したボルトン培地から菌を検出した。ボルトン培地はプレストン培地に比べ選択性が弱く、損傷を受けた菌の回復に適しているとされている培地である。したがって、プレストン培地で回復できない菌がボルトン培地では回復するという今回の結果は想定されることであった。「食品衛生検査指針」においても冷凍食品等の検査にこの培地を取り入れていることから、今後 SOP にこの増菌培地を加えることを検討してもよいと思われる。一方、機関 C はプレストン増菌培地に SOP の10倍量にあたる10ml の乳化した試料を接種し、菌を検出した。検査材料が多いほど検出率は高くなるのは事実であるが、このような変法は根拠があいまいで、製品検査にはあくまでも明確な根拠に基づく検査法を用いるべきであろう。今回の調査は、遭遇する場面に応じて、どのような検査法を用いることが検出率を高めるのか、常に問題意識を持つことが重要であることを示唆する結果となった。試料 C について、4機関が SOP の手順で菌を検出できなかった原因として、カンピロバクターが極めて弱い菌であることを考慮すると今回添加したカンピロバクターの菌量では、SOP の検出限界以下になった可能性があったと思われる。

調査ポイント③の分離された菌株を同定する手順については、ほとんどの機関で SOP どおりに実施されていた。カンピロバクターの培養時間は他の細菌検査に比べると長時間を要し、可能な限りグラム染色と顕微鏡観察で早い段階でカンピロバクターをおおよそ鑑別できるように日頃から見慣れておく必要がある。また、近年カンピロバクターのなかに薬剤耐性を獲得した株が増加しており、SOP に示した感受性試験の結果と異なる場合もあることに注意しなければならない。従って薬剤感受性の結果で本菌を否定してはならない。

考察：生菌数の測定は、細菌検査を行う上での基本的な定量法であり、同一試料を用いた測定値を比較することで精度管理調査を行うことは客観的な評価を行いやすいため非常によい管理方法である。今回は2回の測定値について Z スコアを求めたが、機関内部でも随時精度管理を実施し、手技の向上を心がけたい。

カンピロバクターの検出は精度管理にはほとんど用いられない項目である。なぜなら、カンピロバクターの生育条件がかなり限定されており、室温放置では数時間で簡単に死滅する場合があること、発育に要する時間が長いこと等がその理由として挙げられ、配布試料として管理が非常に難しいものとなる。よって全国展開の精度管理調査に本菌が用いられることはほとんどないと思われる。逆に今回のように限られた範囲内の調査として実施するのは可能だと考えた。しかし、菌を検出できなかった機関があり、原因の一つとして配布試料の中ですでに菌が死滅していた可能性は否定できない。一方、今回の調査で、SOP に記載されていない培地が使用可能であると示唆された。そこで、増菌時にプレストン培地を、また、選択分離時に CCDA 培地を使用できるよう SOP を改定した。

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
2. 横山敬子，高橋正樹，河村真保，三井一子，関根整治，石崎直人，金子誠二，甲斐明美，矢野一好，諸角 聖 (2004). p45 第25回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集
3. 杉浦由紀恵，伊藤沙織，佐藤和浩，中山太郎，粥川正勝。(2003) 臨床と微生物，757-761

氷見・高岡地区の温泉の経年変化

高柳信孝 健名智子

Variation of Temperature and Chemical Components of Mineral Springs in Himi and Takaoka Areas

Nobutaka TAKAYANAGI and Tomoko KEMMEI

氷見地区（氷見市及び隣接する高岡市の一部）に湧出する温泉の源泉数は、昭和60年の時点は5源泉であった[1]。しかし、その後の温泉ブームにのって掘削による温泉開発が盛んに行われ、平成7年には15源泉に達した[2]。新規掘削の深度はすべて500m以上であり、2源泉は1000mを超えるものである。掘削のほとんどが海岸地域の延長約15kmの狭い範囲内で行われたため、富山県環境審議会温泉専門部会において、この地区の温泉の枯渇、塩水化、相互影響等が懸念され、温泉資源保護のための調査の必要性が提言された。この提言に基づき平成7年度から調査を開始した。

当初調査対象（未利用は対象外）は14源泉であったが、平成9年に2源泉（新規及び再利用）を追加、平成11年には源泉のケーシングの破損で、平成13年には利用廃止でそれぞれ1源泉ずつ削除された。平成15年には新規1源泉が追加され計15源泉となった。調査開始から10年間（一部は8年）を経過したので、調査年数の短い1源泉を除いて、これまでの調査結果を解析した。

方法：

1. 調査対象

氷見・高岡地区の温泉14源泉

2. 調査内容

現地調査

湧出量、泉温について、県庁食品生活衛生課、高岡厚生センター及び同氷見支所が行った。

温泉成分検査

ナトリウムイオン (Na)、カリウムイオン (K)、マグネシウムイオン (Mg)、カルシウムイオン (Ca)、塩素イオン (Cl)、硫酸イオン (SO₄) 及び炭酸水素イオン (HCO₃) について、衛生研究所が行った。

結果と考察：

1. 源泉の泉質及び調査結果

泉質は、源泉hがナトリウム-塩化物・炭酸水素塩泉、源泉kが泉質なし（メタケイ酸で温泉に該当）であり、他はすべてナトリウム-塩化物泉である。調査開始から10年間（源泉h及びjは平成9年度から8年間）の調査結果を表1に平均 (AV)、標準偏差 (SD) 及び変動係数 (CV (%)) で示した。

2. 湧出量の経年変化

14源泉のうち自噴するものは4源泉であり、他は動力揚湯である。湧出量の変動は、CV (%) の最小値が16%最大値が106%で、14源泉の平均値は47.0%と大きかった。また増減傾向の有無については、経年変化の折れ線グラフを散布図と見なし、有意な相関（危険率 $p < 0.01$ ）が認められるものを増減傾向有と判断した。図1に示すように、源泉d、e（平成10年は測定不能）及びjに減少傾向が認められた。

3. 泉温の経年変化

湧出量と同様の方法で調べた。泉温の変動は小さく、CV (%) が10%を越えたのは源泉i、及びjのみであり、14源泉の平均値は7.3%であった。また、図2に示すように源泉eには低下傾向が認められた。源泉eの湧出量と泉温の間には有意な正の相関 ($p < 0.01$, 相関係数 $r = 0.9426$) があることから、この傾向は、湧出量の減少と連動しており、揚湯中の熱損失によって、泉温が低下するものと考えられる。

4. 成分の経年変化

表1に示したように、概ねミリバル%の大きいNa、Ca及びClは変動が小さく、ミリバル%の小さいK及びMgは変動が大きくなった。

また、源泉ごとに各イオンについての増減傾向の有無を調べたところ、つぎのような傾向が見られた。源泉fでは、図3に示すようにSO₄（不検出）を除くすべてのイオンに増加傾向が認められた。現在のところSO₄は検出されず、海水（SO₄存在量7.68%）の影響はないと考えられる。

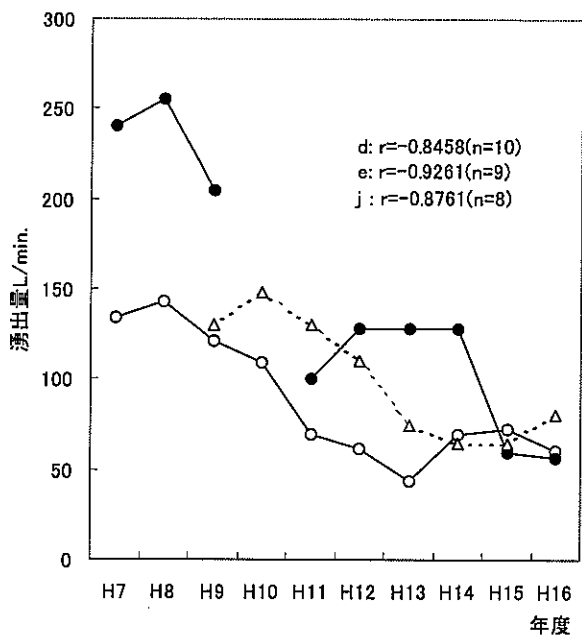


図1. 湧出量の経年変化

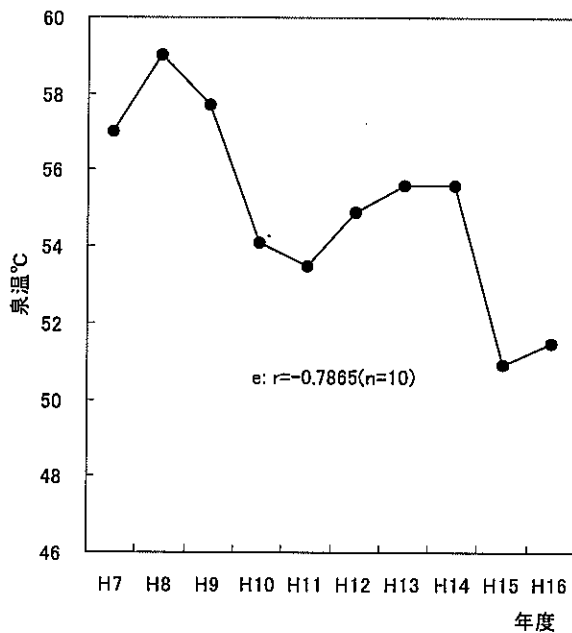
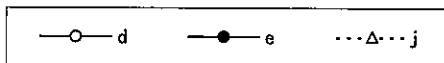


図2. 泉温の経年変化

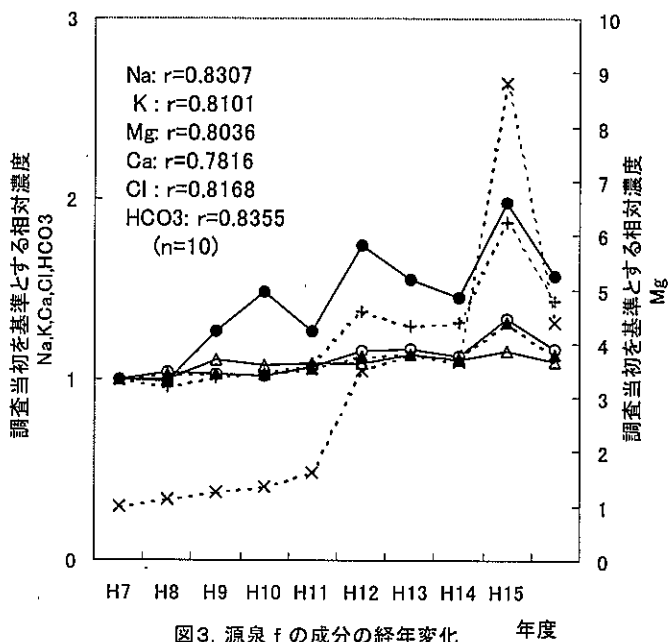
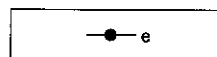


図3. 源泉fの成分の経年変化

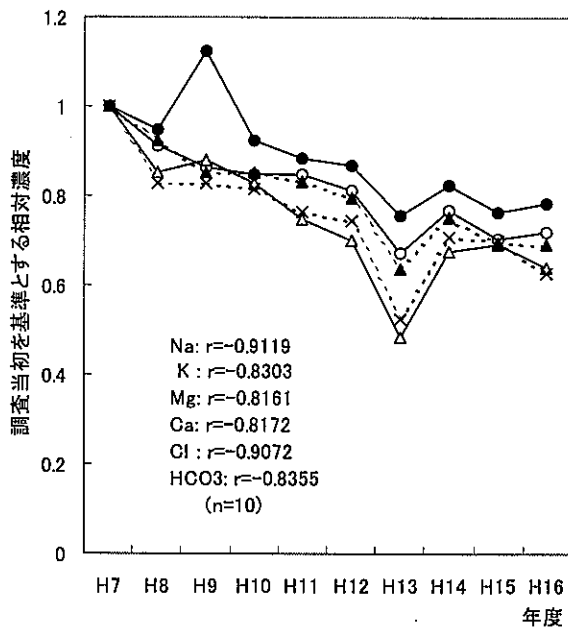
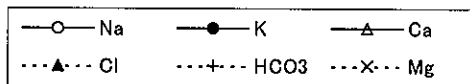


図4. 源泉lの成分の経年変化

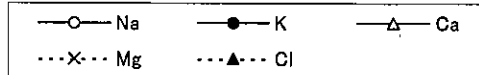


表1. 源泉の成分分析結果

源泉		湧出量 L/m.	泉温 ℃	Na mg/kg	K mg/kg	Mg mg/kg	Ca mg/kg	Cl mg/kg	HCO ₃ mg/kg	SO ₄ mg/kg
a	AV	38	48.2	470.9	4.3	0.2	8.7	578.3	173.8	48.3
	SD	17	2.6	10.0	2.1	0.0	0.2	11.6	3.4	1.7
	CV (%)	44	5.5	2.1	48.8	27.7	2.3	2.0	2.0	3.4
b	AV	160	52.7	2788.0	28.9	5.4	354.2	4913.6	61.5	
	SD	79	4.7	233.8	11.2	4.3	55.9	487.9	20.3	
	CV (%)	50	9.0	8.4	38.9	79.7	15.8	9.9	33.0	
c	AV	158	54.9	2582.0	20.9	1.0	289.2	4470.8	37.5	
	SD	49	3.8	35.8	1.9	0.6	10.1	54.2	3.8	
	CV (%)	31	7.0	1.4	9.2	57.0	3.5	1.2	10.0	
d	AV	89	55.0	2734.0	23.2	4.1	257.0	4671.9	44.0	
	SD	35	2.0	46.2	2.0	0.5	12.1	100.6	1.9	
	CV (%)	39	3.6	1.7	8.8	13.3	4.7	2.2	4.3	
e	AV	145	55.0	3316.5	31.9	4.9	383.8	5799.2	53.1	
	SD	73	2.6	118.4	13.1	1.0	22.7	220.8	3.0	
	CV (%)	50	4.7	3.6	40.9	20.9	5.9	3.8	5.7	
f	AV	106	51.6	3940.0	37.8	11.3	509.8	7041.4	60.5	
	SD	99	3.5	358.3	8.2	8.9	24.0	598.5	13.8	
	CV (%)	93	6.8	9.1	21.7	79.0	4.7	8.5	22.9	
g	AV	223	42.9	1406.0	13.3	1.7	33.7	1955.2	246.0	158.5
	SD	93	2.2	61.9	5.7	0.2	1.9	93.6	23.9	18.8
	CV (%)	42	5.2	4.4	42.7	12.7	5.7	4.8	9.7	11.8
h	AV	18	15.7	378.3	1.8	0.4	1.6	346.4	375.7	23.6
	SD	19	0.9	30.2	1.8	0.0	0.2	26.6	32.8	1.0
	CV (%)	106	5.6	8.0	99.4	11.0	11.3	7.7	8.7	4.2
i	AV	93	33.9	9595.0	119.6	91.1	280.4	15247.0	817.7	
	SD	27	7.8	816.5	19.7	15.0	46.2	1492.8	298.9	
	CV (%)	29	23.0	8.5	16.4	16.5	16.5	9.8	36.6	
j	AV	100	35.2	9287.5	26.7	24.0	2006.3	17902.5	29.8	
	SD	33	4.1	84.8	4.2	3.9	40.0	146.7	1.8	
	CV (%)	33	11.6	0.9	15.7	16.4	2.0	0.8	6.2	
k	AV	14	20.8	12.8	5.3	4.8	7.2	11.8	65.2	8.0
	SD	2	1.4	0.5	0.2	0.2	0.3	0.5	5.1	0.5
	CV (%)	16	6.7	3.8	3.3	4.8	4.8	4.4	7.8	6.5
l	AV	82	34.9	1574.0	106.5	33.4	73.9	2555.6	357.2	
	SD	23	1.4	195.2	14.0	5.7	14.3	357.5	18.2	
	CV (%)	28	4.1	12.4	13.1	17.1	19.4	14.0	5.1	
m	AV	1	14.9	2435.0	45.9	43.0	40.7	3743.5	452.9	
	SD	0	0.5	152.0	5.1	2.8	3.4	247.8	19.5	
	CV (%)	41	3.6	6.2	11.0	6.6	8.3	6.6	4.3	
n	AV	20	43.3	6671.0	55.8	70.1	608.9	11586.0	127.8	
	SD	11	1.9	69.0	8.7	2.1	25.3	108.9	4.3	
	CV (%)	56	4.4	1.0	15.6	3.0	4.2	0.9	3.4	

平成17年11月1日

源泉 l では、図4に示すように SO_4 、 HCO_3 を除くすべてのイオンに減少傾向が認められた。平成13年度には大きな濃度低下もあり、成分濃度の低い浅所の地下水の混入が考えられる。

源泉 g では、 HCO_3 に増加傾向 ($r = 0.7762$, $n=10$) が認められた。この源泉では Na と Cl, Na と泉温, Cl と泉温の間に正の相関 (r はそれぞれ 0.9637 , 0.9743 , 0.9386) があり、 HCO_3 は Na, Cl, 泉温と負の相関 (r はそれぞれ -0.9797 , -0.9505 , -0.9779) がある。このことから、Na 及び Cl を主成分とする高温泉が、 HCO_3 を含む低温の地下水の混入を受けているものと考えられる。

源泉 n では、 HCO_3 に増加傾向 ($r = 0.8395$, $n=10$) が認められた。成分の変動が小さく、成分間の関係が

明確ではないが、源泉 g と同様 HCO_3 を含む地下水の混入を受けているものと思われる。

源泉 k では、K に増加傾向 ($r = 0.8750$, $n=10$) が認められた。これは地中の K を含む鉱物が、二酸化炭素を含有する地下水により化学的風化作用を受けて溶出し、K 濃度が高くなったものと思われる。

文 献

1. 富山県厚生部環境衛生課 (1985). 富山県の温泉, p6
2. 富山県厚生部環境衛生課 (1996). 富山県の温泉, p10

平成16年度水道水質検査の精度管理事業について

健名智子 高柳信孝 齊藤行雄

On the External Quality Control of the Quantification of Chromaticity,
Turbidity and Iron in Water

Tomoko KEMMEI, Nobutaka TAKAYANAGI and Yukio SAITO.

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は、県内の水質検査機関の参加により平成8年度から継続して実施されてきた。平成16年度は色度・濁度および鉄について実施された。当所は配布試料の調製、参加機関からの報告値の集計および解析を担当した。今回、その結果をまとめたので報告する。

調査方法：

- (1) 試料の配布年月日；平成17年1月20日
- (2) 参加機関：水道事業体1機関、水道用水供給事業体2機関、水道法第20条に規定する登録検査機関2機関、厚生センター・保健所5機関及び当所の計11機関である。
- (3) 実施項目：色度・濁度および鉄
- (4) 配布試料：色度・濁度測定用試料は配布当日に採水した環境水であり、各参加機関に1L丸型ポリビンに1～2本配布した。色度・濁度については関東化学製色度標準液（1000度）・濁度標準液（100度）も配布した。鉄測定用試料は当所水道水に鉄標準液及び有害金属測定用硝酸（1Lにつき10ml）を添加して調製した20Lをあらかじめ酸洗した1L角型ポリビンに小分けしたもので、鉄の濃度範囲は0.01～0.30mg/Lであると明示した。なお、色度・濁度試料は、配布後速やかに測定することとした。
- (5) 測定方法及び測定結果：測定は日常の検査業務と同じ方法を用い5回の併行測定を行うこととした。測定結果は、色度については測定間隔1度、濁度については測定間隔0.1度で、鉄については小数点以下2桁まで記載することとした。この結果のほか、測定方法、機器分析における測定データ（試料及び検量線）等についても、所定の様式により当所へ報告することとした。また、色度・濁度を機器分析により測定している機関については、配布した標準液より色度1度、濁度1度の標準水溶液1Lをそれぞれ調製し、5回の併行測定を行い、その結果を色度・濁度ともに測定間隔0.1度で報告することとした。

結果：

(1) 色度・濁度

色度・濁度については、11機関がすべて参加した。このうち色度の測定方法として比色法を用いた機関は1機関、透過光測定法を用いた機関は10機関であり、濁度の測定方法として積分球式光電光度法を用いた機関は10機関、透過光測定法を用いた機関は1機関であった。

色度・濁度用として配布した試料は、配布当日朝、当所近くにあるY池にて採水したもので、1L丸型ポリビン19本に採水し、当所以外の10機関に各1～2本を配布し、当所においては5本それぞれについて色度・濁度を測定間隔0.1度で5回併行測定した（うち、1本についての結果を当所分として報告）。5本についてのビン内変動係数は、色度0.7～1.2%、濁度0.4～0.9%、ビン間変動係数は色度1.1%、濁度1.1%と低く、配布されたビンの中に差はないと考えられた。

色度について、各機関から測定間隔1度で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下1桁まで求め、各機関の測定値とした。この測定値を、小さい方から順に並べA-K機関としてTable 1に示した。各機関とも5回の併行測定値の範囲は0または1度で、室内変動係数は0.0～6.6%と10%未満であった。11機関のうち機関B～機関Iの8機関の測定値は色度6.8～8.0度の範囲内であった。この他の機関は、機関A 4.0度、機関J 10.2度、機関K 13.0度であった。これら3機関の値はGrubbsの異常値検定（危険率5%）の結果棄却され、これら3機関を除いた8機関の測定値の平均値±標準偏差は7.7±0.51度であった。この8機関の測定値の変動係数（室間変動係数）は6.6%と10%を下回っていた。

透過光測定法を用いた10機関において、配布した標準液より調製した色度1度水溶液を5回併行測定（測定間隔0.1度）した平均値を小数点以下2桁まで求め、Table 1に併記した。機関A以外の機関では、0.90～1.10度と定量され、回収率が0.9～1.1となる範囲内に

Table 1. Summary of Quantification of Chromaticity

Laboratory	Sample		1 unit solution		Pre-treatment	Method	Apparatus
	Chromaticity ¹⁾ (unit)	CV (%)	Chromaticity ¹⁾ (unit)	CV (%)			
A	4.0*	0.0	1.28*	3.5	—	Abs ²⁾	WA2000 ⁹⁾
B	6.8	6.6	1.10	0.0	I	Abs	UV1600 ⁹⁾
C	7.0	0.0	0.90	7.9	—	Abs	WA2000
D	8.0	0.0	1.04	5.3	—	Abs	WA2000
E	8.0	0.0	0.96	5.7	II	Abs	UV1600
F	8.0	0.0	1.02	4.4	—	Abs	WA2000
G	8.0	0.0	0.98	4.6	—	Abs	WA2000
H	8.0	0.0	1.10	6.4	—	Abs	WA2000
I	8.0	0.0	0.94	5.8	—	Abs	WA2000
J	10.2*	4.4	0.94	9.5	—	Abs	WA2000
K	13.0*	0.0	—	—	II	Col ³⁾	—
Number of lab.**	8	8	9	9			
Max	8.0	6.6	1.10	9.5			
Min	6.8	0.0	0.90	0.0			
Average	7.7	0.8	1.00	5.51			
SD	0.51	2.33	0.072	2.62			
CV(%)	6.6	—	7.2	—			

* : Abandoned as abnormal values

** : Number of laboratories except for those which have abnormal values

1) : Mean value of 5 runs

2) : Absorptiometry (390 nm)

3) : Colorimetric analysis

4) : Products of Nippon Denshoku

5) : Products of Shimadzu

I : Add turbidity standard as much as sample

II : Pass through a filter paper

あり、良好な結果が得られた。機関 A は Grubbs の異常値検定 (危険率5%) の結果棄却された。

機関 A は配布試料、色度1度水溶液ともに Grubbs の異常値検定で棄却され、昨年度も棄却されていた。機関 A から、測定値の再現性も悪いとの報告があり、後日個別に講習を行ったところ、光源ランプの出力が低くなっており、これが原因であると考えられた。

透過光測定法を用いた10機関のうち8機関が濁度別の色度検量線を内蔵する同一機種により色度を測定していた。

色度を通常の吸光光度計で測定している機関は、検

量線作成に当たり濁質ポリスチレンを検体と同程度 (濁度4度) 添加 (機関 B)、または前処理として検体を No.5ろ紙でろ過 (機関 E) しており、良好な結果が得られていた。

比色法により測定している機関 K は、前処理として検体を No.5ろ紙でろ過していたが、高い測定値であった。

濁度について、各機関から測定間隔0.1度で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下2桁まで求め、各機関の測定値とした。この測定値を、小さい方から順に並べ a-k 機関として Table 2に示した。

Table 2. Summary of Quantification of Turbidity

Laboratory	Sample		1 unit solution	
	Turbidity ¹⁾ (unit)	CV (%)	Turbidity ¹⁾ (unit)	CV (%)
a	3.58	3.1	1.06	5.2
b	3.82	1.2	0.96	0.6
c	4.02	2.7	0.95	0.9
d	4.14	1.3	1.08	2.6
e	4.18	2.0	1.04	5.4
f	4.22	1.1	1.03	0.8
g	4.22	1.1	1.01	0.0
h	4.26	1.3	1.05	1.7
i	4.38	1.9	1.05	0.7
j	4.46	1.2	1.03	0.9
k	4.50	0.0	0.99	0.5
Number of lab.	11	11	11	11
Max	4.50	3.1	1.08	5.4
Min	3.58	0.0	0.95	0.0
Average	4.16	1.53	1.02	1.74
SD	0.273	0.851	0.042	1.888
CV(%)	6.6	—	4.1	—

1): Mean value of 5 runs

この濁度における検査機関 a-k は Table 1 の色度の A-K とは一致しない。各機関とも5回の併行測定値の範囲は0.3度未満で、各機関内での室内変動係数は0.0~3.1%と10%未満であった。11機関の測定値の平均値±標準偏差は4.16±0.273度であり、測定値の変動係数(室間変動係数)は6.6%と10%を下回っていた。

配布した標準液より調製した濁度1度水溶液を5回併行測定(測定間隔0.1度)した平均値を小数点以下2桁まで求め、Table 2に併記した。すべての機関で、回収率が0.9~1.1となる範囲内にあり、良好な結果が得られた。

色度・濁度の精度管理は昨年引き続き2回目であるが[1]、試料として昨年同様環境水を用いた。全11機関のうち7機関が濁度別の色度検量線を内蔵する同一機種により色度・濁度を同時に測定していたが、この機種の内蔵検量線の作成時期について、精度管理検体測定当日または前日のところが2機関、半年前が1機関、不明4機関であった。今回、これら7機関の色度1.0度、濁度1.0度の標準列が正しく測定されたことは確認できたが、内蔵検量線を利用する場合は、より色

度、濁度の高い標準列を含めて定期的に確認する必要があると思われた。

(2) 鉄

鉄については、11機関のうち1機関より2通りの方法の報告があったことから12検査機関として統計処理を行った。このうち、検査方法として誘導結合プラズマ発光分光分析法を用いた機関が2機関、フレームレス原子吸光光度法を用いた機関が3機関、フレーム原子吸光光度法を用いた機関が5機関、誘導結合プラズマ質量分析法を用いた機関が1機関、吸光光度法を用いた機関が1機関であった。

各機関から小数点以下2桁で報告された5回の併行測定値より、平均値を小数点以下3桁まで求め各機関の測定値とした。この測定値を、大きさの順に従い Table 3に示す。全機関の測定値の平均値±標準偏差は0.161±0.0152mg/Lであり、室間変動係数は9.5%と10%を下回っていた。Grubbsの異常値検定(危険率5%)の結果、棄却される値はなかった。各機関内での併行測定における室内変動係数も、0.0~5.7%とすべて10%未満であり、機関内・機関間のばらつきは

Table 3. Summary of Quantification of Iron

Laboratory No.	Concentration (mg/L) Mean value of 5runs	CV(%)	Recovery (= Concentration/0.15 ^{b)})	Method ^{a)}
1	0.148	5.7	0.99	FlameAA
2	0.150	0.0	1.00	ICP
3	0.150	4.7	1.00	FlameAA
4	0.152	2.9	1.01	ICP
5	0.152	2.9	1.01	FlameAA
6	0.154	3.6	1.03	FlamelessAA
7	0.160	0.0	1.07	ICPMS
8	0.160	0.0	1.07	ABS
9	0.160	0.0	1.07	FlameAA
10	0.160	0.0	1.07	FlamelessAA
11	0.190	5.3	1.27	FlamelessAA
12	0.194	2.8	1.29	FlameAA
Number of lab.	12	12	12	
Max(mg/L)	0.194	5.7	1.29	
Min(mg/L)	0.148	0.0	0.99	
Average(mg/L)	0.161	2.3	1.07	
SD(mg/L)	0.0152	2.2	0.102	
CV(%)	9.5	—	9.5	

- a) ICP : Inductively Coupled Plasma Emission Spectrometry
 FlamelessAA : Flameless Atomic Absorption Spectrometry
 FlameAA : Flame Atomic Absorption Spectrometry
 ICPMS : Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry
 ABS : Absorptiometry

- b) Samples were prepared as 0.15mg/L
 by addition of iron standard solution to tap water

小さく、各機関から報告された鉄の検査結果は概ね良好であった。

鉄の \bar{x} -R 管理図を Fig.1に示す。機関 No.12以外の機関の測定値が平均値±2標準偏差の範囲(0.131~0.191mg/L)内に収まった。R管理図においてUCL(上方管理限界)を超えた機関は機関 No.1, 3, 11の3機関であった。

鉄におけるzスコアの順位を Fig.2に示す。機関 No.12以外の機関の|z|は2未満で「満足」と評価された。

鉄の精度管理は今回が4回目となるが[2, 3, 4], これは平成15年に水道法における鉄の測定方法から吸光度法が削除されたことにより[5], 県内の多数の機

関で測定法を変更したことに伴い行なったものである。今回は水道水(鉄濃度0.01mg/L未満であること確認済)に0.15mg/Lとなるよう鉄標準原液を添加した試料を用いた。この値を真の値と仮定した場合の回収率が0.9~1.1である範囲(0.135~0.165mg/L)をはずれた機関は機関 No.11, 12の2機関であった。フレームレス原子吸光光度法を用いた機関 No.11については、高い濃度の検量線範囲を用いて測定しているため、検量線の形状も悪く、測定条件を見直す必要があるのではないかと提案した。

考察：今年度の水道水質精度管理のうち色度・濁度は昨年度に引き続き2回目であり、試料として今回も環

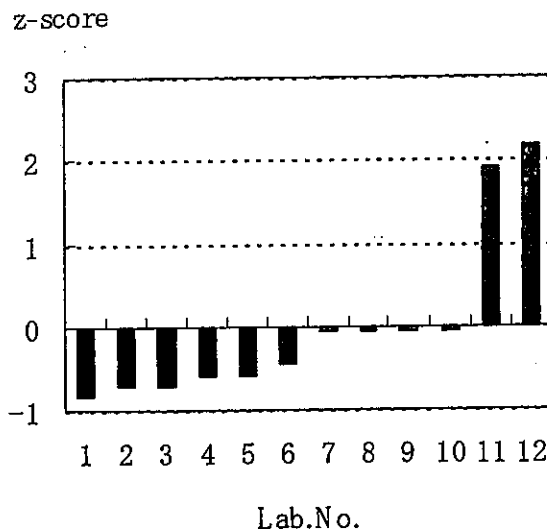
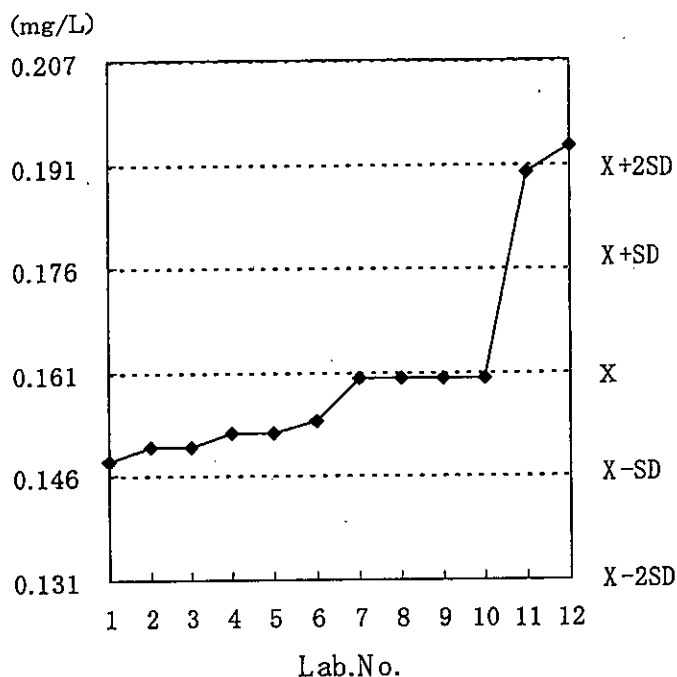


Fig.2 Z-score Order of Iron

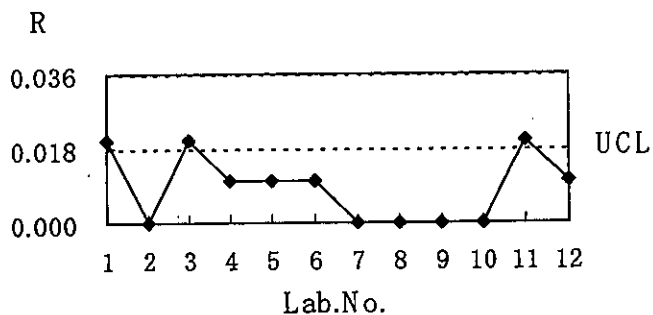


Fig. 1 x bar-R Chart of Iron
 X: Average SD: Standard Deviation
 UCL: Upper Control Limit

境水を使用した。

色度については3機関の値が Grubbs の異常値検定 (危険率5%) の結果棄却され、他の8機関に関しては機関内・機関間のばらつきが小さく良好な結果であった。2年連続棄却された機関に対しては後日個別に標準列の調製法や機器の管理等についての講習を行い、原因が光源ランプの出力低下によるものと推測した。

濁度については、機関内・機関間のばらつきも小さく良好な結果が得られた。

鉄については、水道水に0.15mg/Lとなるよう鉄標準原液を添加した試料を試料とした。機関内・機関間のばらつきともに小さく概ね良好な結果が得られた。精度上問題がある機関に対しては、改善すべき点について解決策を提示した。

文 献

1. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (2004). 富山衛研年報, 27, 167-171.
2. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (1997). 富山衛研年報, 20, 203-207.
3. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (1998). 富山衛研年報, 21, 220-225.
4. 健名智子, 高柳信孝, 松永明信 (2002). 富山衛研年報, 25, 194-199.
5. 厚生労働省告示第261号 (2003).

平成17年11月1日

平成16年度富山県内食品衛生（理化学）検査機関の精度管理調査について

大戸幹也 齊藤行雄 坂森寛治

Quality Control of the Physicochemical Testing of Food for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture

Mikiya OHTO, Yukio SAITO and Kanji SAKAMORI

本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱[1]に基づき、平成11年度から県内の公立食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している[2-6]。今年度は、果実ソース中の安息香酸（BA）、パラヒドロキシ安息香酸ブチル（pHBA）（以上、保存料）及びサッカリンナトリウム（SA）（甘味料）の定量試験について調査を実施した。市販果実ソースに上記3成分を添加した試料を作製後、食品衛生検査機関に配布し、各食品添加物における含有量等の報告を求めた。当所で測定値を集計して解析と評価を行った結果について報告する。

調査方法：

(1) 実施期間：平成17年1月24日～2月11日（測定期間：平成17年1月24日～2月4日）。

(2) 対象および調査項目：果実ソース中のBA及びpHBAとSAの3成分。

(3) 調査試料の作製及び保管方法：市販果実ソース（品名；ウスターソース、賞味期限2006年11月15日）に調査項目成分が無添加であることを予め確認した後、試料配布6日前に、BA、pHBA及びSAを次のように添加して作製した。

標準品のBA（Lot. No. CEP9954）、pHBA（Lot. No. KLG2403）及びSA（Lot. No. ELJ6699）は、それぞれ和光純薬工業㈱製の特級を使用した。SAについては、サッカリンナトリウム・2水和物、特級を予め120℃で18時間乾燥後、デシケータで放冷した後を使用した。これら標準品から、それぞれBA（100mg/mL、アセトニトリル溶液）、pHBA（10.0 mg/mL、アセトン溶液）及びSA（4.36 mg/mL、精製水溶液）の添加用標準溶液を調製し、ソース約790gにBA及びpHBAはそれぞれ2mL、SAは2.75mLを添加後、ソースで最終重量を800gとした。添加濃度は、それぞれBAが0.250g/kg、pHBAが0.0250g/kgおよびSAが0.0150g/kgである。2時間攪拌後、約70gずつをガラス製ねじ口バイアルびんに小分けし、密栓し、

冷蔵庫（庫内温度10℃）で配布時まで保管した。

(4) 測定方法及び検査結果等の処理：各検査機関の標準作業書に基づく各食品添加物の5回併行測定した値（単位はg/kgで、小数点以下3桁までの定量値）及びその検査経過記録の提出を求め、各検査機関の測定結果の集計と評価を行った。

結果と考察：

(1) BA

BAについての集計結果をTable 1に示した。測定機関数は5機関で、測定機関の測定平均値の最大値（Max）は0.2744 g/kg、最小値（Min）は0.2372 g/kg、その平均値（全機関平均値）±標準偏差（ $\bar{x} \pm SD$ ）は、0.2530±0.01377 g/kgであった。機関間の変動係数（CV）は、5.44%であった。各機関内の併行測定における機関内変動係数は、0.200～2.62%の範囲にあり、その平均値は1.10%であった。検量線の濃度範囲は適正であり、かつその検量線は、相関係数が全て0.999以上でほぼ原点を通る良好な直線性が得られていた。BA添加濃度（0.250g/kg）を仮に真の含有量（仮定真値）とした場合、最も測定平均値が低いA機関の誤差率は、-5.1%であり、最も測定平均値が高いE機関の誤差率は、9.8%であった。誤差率はその絶対値が10%の範囲以内であれば、「良好」とすると評価できる[7]。全ての機関の誤差率は「良好」であった。

\bar{x} -R管理図[7, 8]を作成してFig. 1-1に示した。 \bar{x} 管理図においては、検査機関全てが、 \bar{x} から標準偏差の2倍の範囲内にあり、「良好」であった。R管理図においても検査機関全てが、上方管理限界（UCL）以内にあり「良好」と判断できた。

zスコアの順位をFig. 1-2に示した。全てその絶対値は2以内であり、全機関が「充分管理されている」と判断できた。

(2) pHBA

pHBAについての集計結果をTable 2に示した。測定

Table1. Analytical Results of BA in Quality Control Sample

Laboratory	Concentration (\bar{x} , g/kg)	CV (%)	Range (R, g/kg)
A	0.2372	2.62	0.013
B	0.2468	1.84	0.012
C	0.2508	0.520	0.003
D	0.2558	0.327	0.002
E	0.2744	0.200	0.001

Number of lab	5	—	—
Max	0.2744	2.62	0.013
Min	0.2372	0.200	0.001
Average	0.2530	1.10	0.0062
SD	0.01377	—	—
CV(%)	5.44	—	—

Table2. Analytical Results of pHBA in Quality Control Sample

Laboratory	Concentration (\bar{x} , g/kg)	CV (%)	Range (R, g/kg)
A	0.0188	4.5	0.002
B	0.0226	4.0	0.002
C	0.0232	3.6	0.002
D	0.0236	6.4	0.003

Number of lab	4	—	—
Max	0.0236	6.4	0.003
Min	0.0188	3.6	0.002
Average	0.0221	4.6	0.0023
SD	0.00221	—	—
CV(%)	10.0	—	—

Table3. Analytical Results of SA in Quality Control Sample

Laboratory	Concentration (\bar{x} , g/kg)	CV (%)	Range (R, g/kg)
A	0.0142	3.1	0.001
B	0.0152	2.9	0.001
C	0.0156	3.5	0.001
D	0.0162	2.8	0.001

Number of lab	4	—	—
Max	0.0162	3.5	0.001
Min	0.0142	2.8	0.001
Average	0.0153	3.1	0.001
SD	0.000841	—	—
CV(%)	5.49	—	—

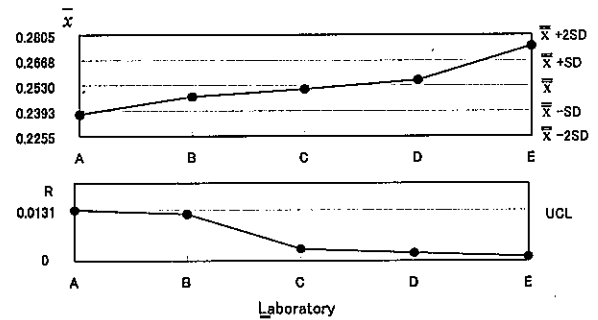


Fig. 1-1. \bar{x} -R control chart of BA

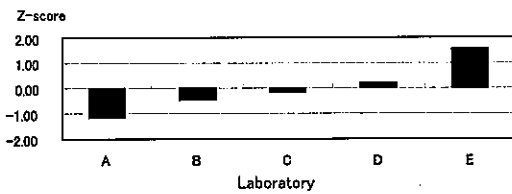


Fig. 1-2. Z-score of BA

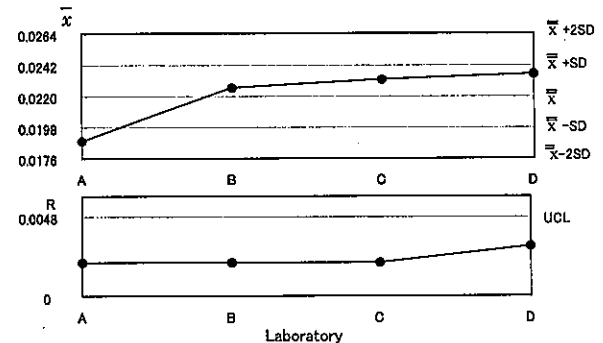


Fig. 2-1 \bar{x} -R control chart of pHBA



Fig. 2-2. Z-score of BA

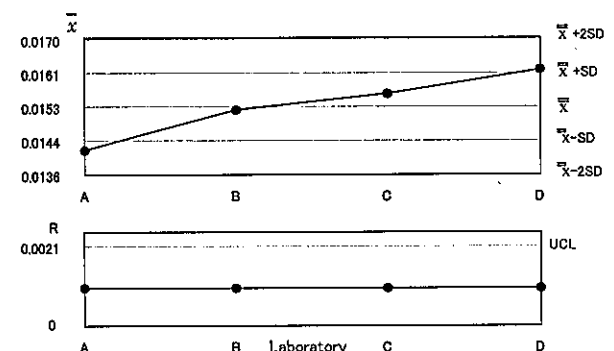


Fig. 3-1 \bar{x} -R control chart of SA

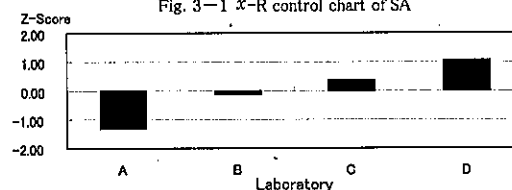


Fig. 3-2. Z-score of SA

平成17年11月1日

機関数は4機関で、測定平均値の最大値は0.0236 g/kg、最小値は0.0188 g/kg、 $\bar{x} \pm SD$ は、0.0221 \pm 0.00221 g/kgであった。機関間のCVは、10.0%であった。各機関内の併行測定における機関内のCVは、3.6~6.4%の範囲にあり、その平均値は4.6%であった。検量線の濃度範囲は適正であり、かつその検量線は、相関係数が全て0.999以上でほぼ原点を通る良好な直線性が得られていた。pHBA添加濃度(0.0250g/kg)を仮定真値とした場合、最も測定平均値が高いD機関の誤差率は-5.6%で、最も測定平均値が低いA機関の誤差率は、-25%であった。A機関を除く他の3検査機関の誤差率の絶対値は全て10%以内であり良好であったが、A機関の誤差は大きく、通常の範囲を超えている可能性が考えられた。

\bar{x} -R管理図をFig. 2-1に示した。 \bar{x} 管理図においては、検査機関全てが、 \bar{x} から標準偏差の2倍の範囲内にあり、「良好」であった。R管理図においても検査機関全てが、UCL以内にあり「良好」と判断できた。

z-スコアの順位をFig. 2-2に示した。全てその絶対値は2以内であり、全機関が「充分管理されている」と判断できた。

ところで、全機関が「充分管理されている」結果が得られたものの、A機関の誤差率については原因調査を検討するレベルと考えられ、検査記録を基に調査を行った。調査試料は、原材料に野菜、果実、醸造酢、糖類、アミノ酸液、香辛料、発酵調味料、カラメル色素、香辛料抽出物等の表示があり、非常に多くの有機物が含まれている。前処理では目的成分を単離させる処理が求められるが、精製には限界がある。このためHPLC条件によっては、クロマトグラム上で目的成分ピークと他の成分ピークとの分離が不十分な場合がある。A機関の検査記録のクロマトグラムでは、pHBAピークは、二つの未知成分ピークに挟まれた位置に存在し、前ピークとの分離度が0.8、高さ比が10.4倍、後ピークとの分離度が0.9、高さ比が11.5倍であった。完全には分離していないが、この程度の分離状態であれば、誤差要因の主因とは考えられない。そこで詳細な調査を行ったところ、読み取り面積値が想定値より小さいことが判明し、ピーク波形処理に問題があると考えられた。ピーク開始点と終了点が不適当であったことから、改善を指示し、再解析後は誤差率が11%上昇した。適正な解析処理の重要性が指摘できた。本点に関しては今後当所が行っている技術研修・基礎教育等に盛り込んで行きたい。

(3) SA

サッカリンナトリウムについての集計結果をTable

3に示した。測定機関の測定平均値の最大値は0.0162 g/kg、最小値は0.0142 g/kg、その $\bar{x} \pm SD$ は、0.0153 \pm 0.000841g/kgであった。機関間のCVは、5.49%であった。各機関内の併行測定における機関内CVは、2.8~3.5%の範囲にあり、その平均値は3.1%であった。SA添加濃度(0.0150g/kg)を仮定真値とした場合、最も測定平均値が高いD機関の誤差率は8.0%で、最も測定平均値が低いA機関の誤差率は、-5.3%であった。検査機関の誤差率の絶対値は全て10%以内であり良好であった。検量線の濃度範囲は適正であった。しかしその相関係数は、A、B及びD機関は全て0.999以上でほぼ原点を通る良好な直線性が得られていたが、C機関は0.994で低かった。

\bar{x} -R管理図をFig. 3-1に示す。 \bar{x} 管理図においては、検査機関全てが、 \bar{x} から標準偏差の2倍の範囲内にあり、「良好」であった。R管理図においても検査機関全てが、UCL以内にあり「良好」と判断できた。z-スコアの順位をFig. 3-2に示した。全てその絶対値は2以内であり、「全機関が充分管理されている」と判断できた。

ところで、全機関が「充分管理されている」結果が得られたが、C機関の検量線の相関係数が0.994と低かったことについて検討を行った。過去の精度管理調査におけるSA検査の検量線について、同じ検量線レベル、ポイント数5、同一SOPによる検査の検量線を過去5年まで遡って調査したところ、検量線の作成条件が同じで比較できる総数は12あった。その相関係数(r値)の平均は、0.99963、その標準偏差の平均は0.000846であった。これと比較すると、今回のC機関の相関係数は、かなり小さい値を示しており、正常な検量線とは考えにくいものであった。そこでポイントを再チェックしたところ、最高濃度ポイントの面積値が異常に高いことが確認できた。このポイントを削除すると、相関係数は0.994から1.000に上昇した。検量線溶液の調製方法、使用した器具の正確性の点検、HPLC装置の安定状態の確認、及びピペット操作方法を含めた基礎技術等の再確認が必要と考えられた。

今回の精度管理調査では、添加物の添加濃度レベルに工夫を講じた。3種類の添加物の定量下限値と成績書の不検出値を参考に、添加レベルをBA \gg pHBA>SAとした。その結果、最も添加レベルが高いBAは課題の数が少なく、添加レベルが低いpHBAとSAは課題が多い傾向が見られた。検査担当者の経験年数や添加物の性質や種類にもよるが、調査の難易性には添加レベルも要検討項目の一つと考えられた。本点は精度管理をする上での今後の課題としたい。

精度管理に関する研究や調査は、地道な作業である

とともに脚光を浴びにくい分野でもある。しかし、検査成績の信頼性の確保と向上のために必要不可欠であり、検査精度の礎となる極めて重要な業務である。今回の調査項目に関しては県内全ての検査管理状態は良好であったが、検査機関への指導や助言は当所が果たすべき役割でもあり、引き続き、県内公立食品衛生検査機関の検査技術水準の向上と本調査を積み重ねた基礎資料の充実に努めていきたい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食第1, 229号. 平成10年12月16日
2. 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2000). 富山衛研年報, 23, 175-177.
3. 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2001). 富山衛研年報, 24, 191-194.
4. 齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 尾崎一郎 (2002). 富山衛研年報, 25, 189-193.
5. 大戸幹也, 齊藤行雄, 松永明信, 坂森寛治 (2003). 富山衛研年報, 26, 179-182.
6. 齊藤行雄, 大戸幹也, 松永明信, 坂森寛治 (2004). 富山衛研年報, 27, 163-166.
7. 日本水道協会 (2001). 上水試験法解説編. p19-29.
8. 日本規格協会 (1994). JIS Z 9021

4. 業

績



平成17年11月1日

(1) 誌 上 発 表

[原 著]

1) アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次検査に用いる高速液体クロマトグラフィーの迅速化

米田 豊, 九曜雅子

日本マス・スクリーニング学会誌, 14(3), 29-39, 2004

高速液体クロマトグラフィー (HPLC) をアミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次検査に用いる場合、多検体を効率的に分析可能なシステムが要求される。しかし、一般に用いられている分析システムでは、1分析終了毎に、カラム洗浄が必要であり、検体処理能力を高める場合の阻害要因となっている。前報で著者らは、分析サイクル時間が11分間のカラムスイッチング法 (11分法) を報告した。この方法をベースに、更に分析時間の短縮化を試みたところ、血液由来の未知ピーク (X2) がメチオニン (Met) のピークに近接するため、これまで分析時間の短縮は困難であった。今回、LC/質量分析法 (LC/MS) 及び酸素反応を併用して X2 の同定を行ったところ、当該ピークは酸化型グルタチオン (GSSG) であることが判明した。そこで、アミノ酸抽出用溶液に還元剤を添加し、GSSG を還元型グルタチオン (GSH) に返還することにより、Met の定量が妨害されることを回避でき、6分サイクルで Met, ロイシン (Leu) 及びフェニルアラニン (Phe) の定量が可能な分析法を確立できた。

2) 姉妹染色分体交換 (SCE) 頻度を指標としたチアノーゼ性先天性心疾患発生要因に関する患者-対照研究

大中正光*, 林美貴子, 本田幸子, 関根道和*, 鏡森定信*

日本小児循環器学会雑誌, 20, 22 - 28, 2004

Background: Sister chromatid exchange (SCE) is a well-known method for evaluating actual DNA damage through the observation of chromatin.

Methods: To examine the high susceptibility to DNA damage under certain environmental conditions in patients with cyanotic congenital heart disease (CHD), we cultured peripheral blood lymph cells obtained from two different patient groups. One group consisted of 21 patients with cyanotic CHD who had recently had surgery (CHD patient group), and the other included 22 age and gender-matched patients without CHD (normal group). The difference in SCE frequency under different environmental conditions was evaluated in the two groups using two-way analysis of variance.

Results: Under 5% O₂, SCE in the patient group was significantly increased compared with that in the normal group after the addition of mitomycin C (MMC). The probability value for the interaction term of the MMC-addition and normal groups was less than 0.01. Under different O₂ concentrations, SCE frequency in the patient group was also significantly increased with increases in O₂ concentration compared with that in the normal groups.

Conclusion: The DNA of cyanotic CHD patients tends to be damaged by environmental factors and high O₂ concentration. The high susceptibility to DNA damage observed in the present study might be related with the incidence of cyanotic CHD.

3) Membrane localization itself but not binding to IICBGlc is directly responsible for the inactivation of the global repressor Mlc in *Escherichia coli*.

Yuya Tanaka*, Fumie Itoh*, Keiko Kimata and Hiroji Aiba*

Mol. Microbiol.,53, 941-951, 2004.

Mlc is a global transcriptional repressor involved in the regulation of genes linked to glucose metabolism. The activity of Mlc is modulated through the interaction with a major glucose transporter IICBGlc in response to external glucose. To understand how IICBGlc-Mlc interaction controls the repressor activity of Mlc, we attempted to isolate Mlc mutants that retain the ability to repress target genes even in the presence of glucose. The Mlc mutants were tested for their ability to interact with IICBGlc. Mutants, in which a single amino acid substitution occurs in the N-terminal portion, were no longer able to bind to IICBGlc, suggesting that the N-terminal region of Mlc is primarily responsible for the interaction with IICBGlc. To examine whether the Mlc-IICBGlc interaction and/or the membrane localization of Mlc per se are essential for the inactivation of Mlc, the properties of several hybrid proteins in which either IIBGlc or Mlc is fused to membrane proteins were analyzed. The cytoplasmic IIBGlc domain failed to inhibit the Mlc action although it retains the ability to bind Mlc in cells. However, it gained the ability to inhibit the Mlc activity when it was fused to a membrane protein LacY. In addition, we showed that Mlc is inactivated when fused to membrane proteins but not when fused to cytoplasmic proteins. We conclude that the IICBGlc-Mlc interaction is dispensable for the inactivation of Mlc and the membrane localization is directly responsible for the inactivation of Mlc.

4) PCR identification of the plasmid-borne enterotoxin gene (*cpe*) in *Clostridium perfringens* strains isolated from food poisoning outbreaks.

Nakamura M*, Kato A*, Tanaka D, Gyobu Y, Higaki S*, Karasawa T*, Yamagishi T*.

Int J Med Microbiol. 294(4), 261-5, 2004.

It is generally accepted that *Clostridium perfringens* strains associated with food poisoning carry their enterotoxin gene, *cpe*, on the chromosome, while *C. perfringens* strains isolated from non-food-borne diseases, such as antibiotic-associated diarrhea and sporadic diarrhea, carry *cpe* on the plasmid. However, we recently encountered a food poisoning outbreak caused by *C. perfringens* bearing a plasmid *cpe*. We therefore investigated a total of 31 clinical and non-clinical *C. perfringens* strains to locate the *cpe* gene by PCR. The *cpe* of nine heat-sensitive (100°C for 10min) strains isolated from three outbreaks of food poisoning were located on the plasmid, while those of six heat-resistant strains from other food poisoning outbreaks were located on the chromosome. Moreover, the *cpe* of 5 heat-sensitive strains isolated from healthy human feces and those of 11 heat-sensitive soil strains were also located on the plasmid. These findings indicate that heat-sensitive, *cpe*-plasmid-borne *C. perfringens* strains should not be disregarded as causative agents of food poisoning.

平成17年11月1日

- 5) Molecular mechanisms of high level tetracycline-resistance in group A streptococcal isolates, T serotypes 4 and 11.

Matsumoto M*, Sakae K*, Ohta M*, Endo M*, Okuno R*, Murayama S*, Hirasawa K*, Suzuki R*, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C*, Tamaru A*, Tomita M*, Ogata K*, Yasuoka T*, Ikebe T*, Watanabe H*; The Working Group for Group A Streptococci in Japan.

Int J Antimicrob Agents. 25(2), 142-7, 2005.

The molecular mechanism of high level tetracycline resistance in T serotypes 4 and 11 group A streptococcal (GAS) isolates was examined in 61 tetracycline-resistant isolates in Japan. PCR and sequencing analyses revealed that the T serotype/*emm* genotype, T4/4 isolates carried *tet*(O) genes, which were genetically homogenous. The T11/11 and T11/89 isolates carried different subtypes of *tet*(M) genes, which were present on transposons Tn916 and Tn1545, respectively. In addition, these T11 isolates may have obtained the *tet*(M) gene after the 1990s, because resistance to tetracycline in T11 isolates was rarely found before then. These results strongly suggested that the T4 and T11 GAS isolates acquired tetracycline-resistance via different molecular mechanisms.

- 6) Antimicrobial susceptibility survey of *Streptococcus pyogenes* isolated in Japan from patients with severe invasive group A streptococcal infections.

Ikebe T*, Hirasawa K*, Suzuki R*, Isobe J, Tanaka D, Katsukawa C*, Kawahara R*, Tomita M*, Ogata K*, Endoh M*, Okuno R*, Watanabe H*.

Antimicrob Agents Chemother. 49(2), 788-90, 2005.

We assessed antimicrobial susceptibility against 211 *Streptococcus pyogenes* strains isolated from patients with severe invasive group A streptococcal infections. Overall, 3.8, 1.4, 1.4, and 0.5% of the isolates were resistant to erythromycin, clindamycin, telithromycin, and ciprofloxacin, respectively, and 10.4% had intermediate resistance to ciprofloxacin. All isolates were susceptible to ampicillin and cefotaxime.

- 7) 下痢患者からの *stx2f* 遺伝子保有志賀毒素産生性大腸菌 O128 : HNM の分離

磯部順子, 木全恵子, 霜島正浩*, 細呂木志保, 田中大祐, 刑部陽宅

感染症学雑誌, 78(12), 1000-1005, 2004

志賀毒素を産生する大腸菌 O128 : HNM が, 2002年7月, 下痢, 腹痛, 粘血便を呈する1歳の男児から, 1997年6月, 下痢, 発熱, 嘔吐を呈する11か月の女児から, それぞれ検出された. 分離菌はいずれも遺伝子 *stx2f* と *eaeA* を保有していた. しかし, 遺伝子 *stx1*, *stx2*, *aggR*, *bfpA*, *STh*, *STp*, *invE*, *astA*, *ureC*, *hlyA* を保有していなかった. 患者からサルモネラなどの腸管系病原菌は検出されなかった. 下痢患者からの *stx2f* 保有大腸菌 O128 : HNM の分離は国内で初めてと思われる.

8) 2004年に分離された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株について

池辺忠義*, 多田有希, 登坂直規*, 岡部信彦*, 渡辺治雄*, 平澤恭子*, 田中大祐, 鈴木理恵子*, 勝川千尋*, 河原隆二*, 富田正章*, 緒方喜久代*, 遠藤美代子*, 奥野ルミ*

病原微生物検出情報, 25(10), 254, 2004

2004年8月31日までに衛生微生物技術協議会レファレンスセンター(全国7カ所の支部ブロックセンター)を通じ, 国立感染症研究所細菌第一部に集められた劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者分離株21株のうち, T12/*emm12*が4株(19%)であった。続いて, T3/*emm3*とT型別不能/*emm89*が3株ずつ(14%), のこりは, T1/*emm1*, T型別不能/*emm49*が2株ずつで, その他7型が1株ずつであった。1992年~2003年まで, 日本においては毎年T1/*emm1*が最も分離頻度が高い型であり, 他の国においてもT1/*emm1*が劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離株の主要な型である。今後, このように様々な型の株が流行する可能性が考えられるので, さらなる調査が必要である。

9) 劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の薬剤感受性と耐性株の遺伝子型の解析

池辺忠義, 渡辺治雄, 平澤恭子*, 田中大祐, 鈴木理恵子*, 勝川千尋*, 河原隆二, 富田正章*, 緒方喜久代*, 遠藤美代子*, 奥野ルミ*

病原微生物検出情報, 25(10), 254-255, 2004

日本における最初の典型的な劇症型溶血性レンサ球菌感染症の症例は1992年に報告されており, 現在までに200人を超える患者が確認されている。このうち約40%が死亡しているという, きわめて致死率の高い感染症である。治療は, 早期診断, 早期治療が原則で, CHDF(持続的血液濾過透析)などを導入した嚴重な循環管理と γ -グロブリン製剤等の投与などの補助療法, 壊死組織の広範囲なデブリードマン等の外科的療法, 抗菌薬としてペニシリン系抗菌薬の大量投与に加えてクリンダマイシンの併用が第一選択とされている。近年, 上気道感染由来の*Streptococcus pyogenes*でマクロライド系の抗菌薬に耐性の株が世界中で見られている。そこで, 1992年~2003年に分離された劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症由来株211株について薬剤感受性試験を行い, その中で得られた耐性株の遺伝学的特徴について紹介した。

10) 医療機関で発生したパラチフスAによる検査室内感染-富山市

磯部順子, 木全恵子, 綿引正則

病原微生物検出情報, 25(10), 256, 2004

5月に富山市内にある医療機関で職員がパラチフスAに感染した。この職員は検査技師として細菌検査を担当しており, チフス患者の検体を検査した時に感染したことが疑われた。パルスフィールドゲル電気泳動による染色体DNAの遺伝子学的解析で, 患者と職員から分離された菌は同一クローンであることが判明した。また, フェージ型もいずれも4型であったことから, 職員は患者分離菌に感染したと断定された。

平成17年11月1日

11) A 群溶血性レンサ球菌の T 型と *emm* 型：咽頭炎および皮膚感染症由来株を中心に

田中大祐, 磯部順子, 綿引正則

病原微生物検出情報, 25(10), 259, 2004

A 群溶血性レンサ球菌による疾患として最も多いのは咽頭炎で, 次に膿痂疹等の皮膚感染症である。近年, M 血清型別のかわりに, M 蛋白遺伝子 (*emm*) の塩基配列の違いに基づく *emm* 型別が用いられるようになってきている。そこで, 患者由来株について T 血清型別と *emm* 型別を行ったところ, 咽頭由来株では T1/*emm*1, T4/*emm*4, T12/*emm*12 が多く, 皮膚由来株では T11/*emm*89, T28/*emm*28, TB3264/*emm*94, T 型別不能/*emm*58 が多かった。皮膚感染症由来株の M 血清型分布は, 咽頭炎由来株のそれとは違いが認められると海外では報告されているが, 国内では報告はほとんどなかった。

12) A 群抗原を有する *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

勝川千尋*, 河原隆二, 田丸亜貴, 田中大祐, 遠藤美代子, 奥野ルミ*, 池辺忠義*

病原微生物検出情報, 25(10), 257, 2004

A 群抗原を保有するレンサ球菌は 1 菌種ではないが, *anginosus* group の一部の菌は血液寒天培地上で β 溶血を示すが, 好気培養での集落は *S. pyogenes* に比べてはるかに小さく容易に判別が可能である。血液寒天培地上で β 溶血を示し, カタラーゼ陰性, グラム陽性の球菌が A 群抗原を保有していれば *S. pyogenes* と同定しても問題は生じなかった。ところが, 1997 年に Bert らが A 群抗原を保有する *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* による菌血症の 1 症例を初めて報告した。わが国でも 2000 年に初めて検出報告があり, その後分離例が相次ぎ, 昨年から今年にかけては劇症型溶血性レンサ球菌感染症の診断基準を満たす症例からも 3 例検出されているので注意が必要である。

13) Direct enantioseparation of catechin and epicatechin in tea drinks by 6-O- α -glucosyl- β -cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Akinobu Matsunaga, Hiroko Yanai*

Electrophoresis, 25, 2892-2898, 2004

Cyclodextrin-modified micellar electrokinetic chromatography was applied to the enantioseparation of catechin and epicatechin using 6-O- α -D-glucosyl- β -cyclodextrin together with sodium dodecyl sulfate and borate-phosphate buffer. Factors affecting chiral resolution and migration time of catechin and epicatechin were studied. The optimum running conditions were found to be 200 mM borate-20 mM phosphate buffer (pH 6.4) containing 25 mM 6-O- α -D-glucosyl- β -cyclodextrin and 240 mM sodium dodecyl sulfate with an effective voltage of +25 kV at 20 °C using direct detection at 210 nm. Under these conditions, the resolution (*R_s*) of racemic catechin and epicatechin were 4.15 and 1.92, respectively. With this system, catechin and epicatechin enantiomers along with other 4 catechins [(–)-catechin gallate, (–)-epicatechin gallate, (–)-epigallocatechin, (–)-epigallocatechin gallate] and caffeine in tea samples were analyzed successfully. The difference of migration time between catechin and epicatechin is discussed.

14) Multiresidue determination of pesticides in Agricultural products by gas chromatography/mass spectrometry with large volume injection

Yukio Saito, Shuji Kodama, Akinobu Matsunaga, Atsushi Yamamoto*

J. AOAC Int., 87, 1356-1367, 2004

A method is described for the rapid determination of pesticide residues in agricultural products. Pesticides were extracted from samples with acetonitrile. To remove pigments and fatty acids, an aliquot of the extract was cleaned up by a minicolumn that was packed both with graphitized carbon black and primary secondary amine. Analysis was performed by gas chromatography/mass spectrometry with programmable temperature vaporizer-based large volume injection using a liner packed with phenylmethylsilicone chemically bonded silica. The method was evaluated for 114 pesticides by spiking into tomato, spinach, Japanese pear, grape, and brown rice at various concentrations of each pesticide (0.02-0.4 $\mu\text{g/g}$). The method, which gave good recovery (>60%) for 108 pesticides, is characterized by high cleanup efficiency and short cleanup time, and is useful as a rapid screening analysis.

15) Chiral ligand exchange capillary electrophoresis using borate anion as a central ion

Shuji Kodama, Atsushi Yamamoto*, Reiko Iio*, Keiji Sakamoto*, Akinobu Matsunaga, Kazuichi Hayakawa*

Analyst, 129, 1238-1242, 2004

Native DL-pantothenic acid, having a 1,3-diol structure, was chirally resolved by ligand exchange capillary electrophoresis using (S)-3-amino-1,2-propanediol as a chiral selector and borate anion as a central ion. The optimum conditions for both high resolution and short migration time of DL-pantothenic acid were found to be 200 mM (S)-3-amino-1,2-propanediol and 200 mM borate buffer (pH 9.2) containing 15 % methanol with an applied voltage of +25 kV at 20 °C, using direct detection at 200 nm. With this system, resolution (R_s) of racemic pantothenic acid was approximately 1.7. When (S)-1,2-propanediol, (S)-1,2,3-propanetriol, (S)-1,3-butanediol or (S)-1-amino-2-propanol were used as chiral ligand instead of (S)-3-amino-1,2-propanediol, DL-pantothenic acid was not enantioseparated. When borate was replaced with Tris or butylborate, no chiral separation was achieved. Therefore, the ionic interaction between the amino and carboxyl groups of the ternary complex may play an important role in the enantioseparation of DL-pantothenic acid by the proposed CE system.

16) 海洋深層水温浴のリラックス作用および睡眠への影響に関する研究—深夜勤務明け後の朝の入浴についての検討—

新村哲夫, 張 焱, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 王 紅兵*, アリナセルモアデリ*, アレックスガイナ*, 関根道和*, 鏡森定信*

日本温泉気候物理医学会誌, 67(3), 155-164, 2004

平成17年11月1日

In order to investigate the effects of deep sea water bathing on relaxation and daylight sleep in night shift workers, electroencephalography, circulatory and cardiac autonomic functionings, visual evoked potential, biochemical markers in urine and saliva, core body temperature, sleep questionnaires, and mood state questionnaires were evaluated in nine subjects to compare with other three kinds of bathing including sham (no water), tap water and surface sea water.

Deep sea water bathing showed better subjective sleep latency for sleep questionnaire ($p < 0.1$) and significantly better vigor status for mood questionnaire ($p < 0.01$) between four kinds of bathing. With regard to the objective data, despite the biggest increase in temperature of eardrum in deep sea water bathing, the highest sleep efficiency and the shortest wake period during sleep in electroencephalography did not reach to the significant level."

17) 喫煙習慣に関連する心理社会的因子の評価と職場の禁煙プログラムの開発

中村裕之*、荻野景規*、長瀬博文、大下喜子*、松崎一葉*、小川幸恵*、烏帽子田彰*

平成15年度産業医学に関する調査研究助成 調査研究報告集, 67-71, 2004

喫煙者の心理社会的因子を評価し、さらに SOC を用いた禁煙プログラムを開発し、その効果を検討した。喫煙者は、従来のストレス指標得点が高いだけでなく、SOC も低かったことから、ストレスに対して健康でいられる行動特性を欠いていることがうかがい知れた。喫煙者に対して SOC を用いて健康教育をほどこすことが有用であると考えられたことから、職場用「スモークバスターズ禁煙プログラム」に SOC を取り入れたプログラムを実施し、その有効性が示唆された。

18) 「滑川深層水フェア2003・ぶかぶか体験」における濃縮海洋深層水の浮遊浴によるリラクゼーション効果の検討

新村哲夫、張 淼、長瀬博文、荒谷哲雄、堀井雅恵*、広田直美*、王 紅兵*、鏡森定信*

深層海水と健康研究会誌, 4, 73-78, 2004

To study the relaxation effect by floating bath during 15 minutes in "Namerikawa deep sea water fair 2003, pukapuka experience" held in outdoor special installation pool in the concentrated deep sea water of the 30% salinity, outside the deep water experience facilities "Thalathopia" in Namerikawa City, Toyama Prefect., over August since July, 2003, sum total of 86 participated persons (74-year-old from ages of 21-year-old) of men of 29 persons, 57 women were examined to be a research object.

When the change of the score according to the questionnaire of the stress and refresh degrees was examined around the floating bath, there was the significant rise of the score after the floating bath ($p < 0.001$).

When the hardness was measured in the muscle division after the floating bath, there was the significant lowering in the right back ($p < 0.001$), but not in the left back. In the neck, there was the significant lowering on right and left by the floating bath (anyway is also $p < 0.05$).

By floating bath using the concentrated deep sea water, it was indicated that mental refresh effect and relaxation effect of the muscle were obtained.

[報 告]

1) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査；成虫の発生動態と捕集蚊からのフラビウウイルスの検出

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓

厚生労働省科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；感染症媒介ベクターの実態，生息防止対策に関する研究，平成16年度総括・分担研究報告書，33-56，2005

平成16年度に調査を行った，一般民家7軒，カラスのねぐら近く4箇所におけるドライアイストラップによる蚊の調査成績を記述し，蚊種の相違および捕集数の多寡などから分布の特徴を考察した．さらに，捕集蚊からフラビウウイルス群の検出を行った成績をまとめた．

2) 富山県における感染症媒介蚊の発生実態調査；幼虫発生源調査

小林睦生*, 渡辺 護, 小原真弓, 堀元栄詞

厚生労働省科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；感染症媒介ベクターの実態，生息防止対策に関する研究，平成16年度総括・分担研究報告書，57-66，2005

平成16年度に当研究所と各厚生センターが協力して調査を行った，蚊幼虫の発生源探索の成績をまとめた．調査地域・環境や調査家屋の種類で，発生する蚊種に相違がみられ，アカイエカが多い溜水環境とヒトスジシマカが多い溜水環境，さらには両種が混生する環境に区別することが可能であった．

3) 自然界における動物由来感染症病原体の浸淫状況の把握

分担執筆(ウイルス部，がん研究部)，富山県厚生部

平成15年度動物由来感染症予防体制整備事業結果報告書，2004

平成13年度から，野生動物とヒトの間での動物由来感染症の発生監視体制の確立を目的に，野生げっ歯類をモデルに動物由来感染症病原体の浸淫状況を調査し，ヒトへの影響の可能性について調査検討してきた．平成15年度は，前年度から引き続き腎症候性出血熱及びライム病の自然界への汚染状況を調査した．また，近年北アメリカを中心に流行が見られるウエストナイル熱及び韓国で発生が見られるマラリア等感染症媒介蚊の分布調査を行った．

4) 東海・北陸地方8地方衛生研究所と豊田市衛生検査所による腸管出血性大腸菌 O157を用いたパルスネット構築のための精度管理

分担研究者：松本昌門*，研究協力者：鈴木匡弘*，倉本早苗*，安田恵子*，田中保知*，田中大祐，石畝 史*，岩出義人*，藪谷充孝*，多和田光紀*

厚生科学研究費補助金：新興・再興感染症研究事業；食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に

平成17年11月1日

関する研究平成16年度総括・分担研究報告書, 93-103, 2005

「パルスネットジャパン」構築のための準備活動として東海・北陸地方8地方衛生研究所と豊田市衛生検査所により腸管出血性大腸菌 O157を用いた精度管理を計2回実施した。これらの内容について報告した。

(2) 特別講演等

- 1) 疾病媒介吸血昆虫・ダニ類の生理生態と疫学的研究
日本動物衛生学会 学会賞受賞講演
渡辺 護
平16. 4. 6, 福井市

(3) 学会発表等

- 1) 新規検出プライマーを用いた multiplex PCR による腸管出血性大腸菌の同定
木全恵子, 田中大祐, 磯部順子, 嶋 智子, 綿引正則, 刑部陽宅
第77回日本細菌学会総会, 平16.4.1~3, 大阪市
- 2) 漁港海水における TDH 産生性腸炎ビブリオの動態
刑部陽宅, 嶋 智子, 田中大祐, 木全恵子, 磯部順子, 綿引正則
第77回日本細菌学会総会, 平16.4.1~3, 大阪市
- 3) A 群レンサ球菌食中毒由来株の *emm* 型と病原因子遺伝子保有状況について
田中大祐, 刑部陽宅, 松本昌門, 磯部順子, 木全恵子, 嶋 智子, 綿引正則
第77回日本細菌学会総会, 平16.4.1~3, 大阪市
- 4) 劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症分離株の薬剤感受性とは感受性株の遺伝子型の解析
池辺忠義*, 鈴木理恵子*, 磯部順子, 田中大祐, 富田正章*, 緒方喜久代*, 遠藤美代子*, 奥野ルミ*, 渡辺治雄*
第77回日本細菌学会総会, 平16.4.1~3, 大阪市
- 5) 群馬県神津牧場におけるアブ相の変遷, 55年および35年前との比較
渡辺 護
第56回日本衛生動物学会, 平16.4.5~7, 福井市
- 6) コガタアカイエカの発生数と豚の日本脳炎 HI 抗体保有率との関係
渡辺 護, 長谷川澄代
第56回日本衛生動物学会, 平16.4.5~7, 福井市
- 7) 海洋深層水温浴のリラックス作用と睡眠への影響の研究—深夜勤務明け後の朝の入浴についての検討—
新村哲夫
第7回環日本海機能水バイオ研究会講演会, 平16.4.24, 富山県小杉町
- 8) 富山湾で揚水されている深層水中の硝酸塩濃度の時間変動
松永明信

第7回環日本海機能水バイオ研究会, 平16.4.24, 富山県小杉町

9) 赤痢菌の同定法に関する検討

磯部順子, 香取幸治, 金森志津子*, 林 喜代志*, 林 淑子*, 笹島亜希子*
第53回日本医学検査学会, 平16.5.14~5.15, 富山市

10) 濃縮海洋深層水による浮遊浴の健康増進効果の検討

新村哲夫, 張 淼, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 王 紅兵*, 堀井雅恵*, 鏡森定信*
第69回日本温泉気候物理医学会総会, 平16.5.28~29, 鹿児島市

11) なぜ、近年日本脳炎患者が減ったか?

渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓
第22回北陸病害動物研究会, 平16.6.5, 福井市

12) 当所で経験したターナー症候群の核型・臨床像と検査を行うにあたっての問題点について

林 美貴子, 本田幸子, 畑 郁江*, 重松陽介*
第44回日本先天異常学会, 平16.7.15~16, 佐賀市

13) 相互転座(14;20)を持つ2家系と羊水分析から判明した21トリソミー合併例について

本田幸子, 林 美貴子, 吉本裕子*
第44回日本先天異常学会, 平16.7.15~16, 佐賀市

14) 富山湾海洋深層水の温浴による生理・心理学的効果の検討

新村哲夫, 張 淼, 堀井裕子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 王 紅兵*, アリナセルモアデリ*, アレックスガイナ*,
関根道和*, 鏡森定信*
第4回「深層海水と健康」研究会, 平16.7.23, 京都市

15) 「滑川深層水フェア2003・ふかぶか体験」における濃縮海洋深層水の浮遊浴によるリラクゼーション効果の検討

新村哲夫, 張 淼, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 堀井雅恵*, 広田直美*, 王 紅兵*, 鏡森定信*
第4回「深層海水と健康」研究会, 平16.7.23, 京都市

16) Food-borne outbreak by *Clostridium perfringens* carrying the *cpe* gene on a plasmid

Tanaka D, Isobe J, Hosorogi S, Kimata K, Shimizu M, Katori K, Gyobu Y, Nagai Y, Yamagishi T*,
Karasawa T*, Nakamura S*
The 7th Biennial Congress of the Anaerobe Society of the Americas, July 19-21, 2004, Annapolis,
USA

17) 富山県における過去10年間の日本脳炎流行予測調査

小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護
日本獣医公衆衛生学会(中部), 平16.8.28~29, 岐阜市

18) ボロスピラン形成に基づく配位子交換ミセル動電クロマトグラフィーによる中性ジオール化合物のキラール分離

小玉修嗣, 山本 敦*, 松永明信, 飯尾麗子*, 早川和一*
日本分析化学会第53年会, 平16.9.1~3, 習志野市

平成17年11月1日

- 19) 富山県脳卒中情報システムを活用したリハビリテーション調査研究事業について
長瀬博文
平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部環境保健部会, 平16.9.30~1, 福井県越前町
- 20) フッ素曝露の骨代謝への影響について—中国・内モンゴル自治区草原地域女性の調査から—
新村哲夫
平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部環境保健部会, 平16.9.30~1, 福井県越前町
- 21) アミノ酸代謝異常症マス・スクリーニングの1次検査に用いる高速液体クロマトグラフィーの迅速化
米田 豊, 九曜雅子
第32回日本マス・スクリーニング学会, 平16.10.8~9, 仙台市
- 22) 富山湾深層水中の硝酸塩濃度の変動(Ⅲ)
中山恵理子, 松永明信, 大津 順*, 南條暢聡, 辻本 良*
第8回海洋深層水利用研究会全国大会, 平16.10.21~22, 富山県入善町
- 23) 富山湾の深度別生菌数調査
清水美和子, 香取幸治, 磯部順子, 嶋 智子, 木全恵子, 田中大祐, 刑部陽宅, 南條暢聡*, 松永明信,
綿引正則, 永井美之
第8回海洋深層水利用研究会全国大会, 平16.10.21~22, 富山県入善町
- 24) 海洋深層水の浮遊浴によるリラクゼーション効果の検討
— [滑川海洋深層水フェア2003・ぶかぶか体験] から—
新村哲夫, 張 淼, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 堀井雅恵*, 広田直美*, 王 紅兵*, 鏡森定信*
第8回海洋深層水利用研究会全国大会, 平16.10.21~22, 富山県入善町
- 25) 濃縮海洋深層水による浮遊浴に関する研究
王 紅兵*, 鏡森定信*, 新村哲夫, 張 淼, 荒谷哲雄
第8回海洋深層水利用研究会全国大会, 平16.10.21~22, 富山県入善町
- 26) 2004年の暑い夏はコガタアカイエカの多量発生を導いたか?
渡辺 護
第56回日本衛生動物学会東日本支部大会, 平16.10.25, 川崎市
- 27) 思春期女子の骨代謝指標と生活習慣との関連
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司*
第63回日本公衆衛生学会 平16.10.27~29, 松江市
- 28) 思春期女子の骨密度増加に影響する要因
堀井裕子, 中崎美峰子, 田中朋子, 長瀬博文, 荒谷哲雄, 山上孝司*
第37回北信越薬剤師学術大会, 平16.11.6~7, 福井市
- 29) トラップの設置場所による蚊捕集数の相違
渡辺 護
第59回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平16.11.12~13, 西宮市
- 30) ボックストラップ誘殺によるイヨシロオビアブの吸血飛来阻止の実際

- 渡辺 護, 谷口敬敏*, 齋藤嘉宏*
第20回ペストロジー学会大会, 平16.11.18~19, 東京都
- 31) アブ誘殺ボックスストラップの改良
谷口敬敏*, 渡辺 護
第20回ペストロジー学会大会, 平16.11.18~19, 東京都
- 32) 富山県で発生したウイルス性胃腸炎の集団発生について (2003年4月~2004年3月)
長谷川澄代, 小原真弓, 岩井雅恵, 松浦久美子, 永井美之
第32回北陸公衆衛生学会, 平16.11.26, 富山市
- 33) 当所で分析した均衡型染色体異常48例について
林 美貴子, 本田幸子
第25回北陸先天異常研究会学術集会, 平16.11.28, 金沢市
- 34) 鎖置換型 DNA ポリメラーゼによる鋳型調製と転写シーケンス法を用いた Multi-locus Sequence Typing (MLST) による迅速な細菌遺伝子型別法の開発
綿引正則, 田中大祐, 磯部順子, 伊澤真樹*, 大島泰郎*, 永井美之
第27回日本分子生物学会, 平成16.12.8~11, 神戸市
- 35) Chiral Ligand Exchange Capillary Electrophoresis using Borate Anion as a Central Ion
S. Kodama, A. Matsunaga, A. Yamamoto*, R. Iio*, K. Nakagomi*, K. Hayakawa*
The First Japan, China, Korea Joint Symposium on Ion-Chromatography, 平16, 12, 14-16, Kasugai
- 36) Analysis of EDTA in Water by Ion Chromatography
T. Kemmei, S. Kodama, N. Takayanagi, A. Matsunaga, A. Yamamoto*
The First Japan, China, Korea Joint Symposium on Ion-Chromatography, 平16, 12, 14-16, Kasugai
- 37) 海水中の臭素酸の分析法
中山恵理子, 松永明信
平成16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17.2.3~4, 名古屋市
- 38) 大量注入方式 GC/MS による食品中の残留農薬分析の迅速化
齊藤行雄
平成16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17.2.3~4, 名古屋市
- 39) 富山県における平成16年の腸管系病原細菌検出情報と食中毒発生状況
清水美和子
平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平17.2.17, 岐阜市
- 40) 「炭疽菌疑い」検査事例
磯部順子
平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平17.2.17, 岐阜市
- 41) Multi-locus Sequence Typing (MLST)法を用いたカンピロバクターの遺伝子型別
綿引正則
平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平17.2.17, 岐阜市

平成17年11月1日

42) 溶血レンサ球菌レファレンス事業

田中大祐

平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部細菌部会, 平17.2.17, 岐阜市

43) 富山県の今冬のインフルエンザ

堀元栄詞

平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部ウイルス部会, 平17.3.3~4, 三重県志摩市

44) ポリオ流行予測感染源調査で分離されたポリオウイルスについての一例

岩井雅恵, 松浦久美子, 長谷川澄代, 小原真弓, 堀元栄詞, 永井美之

平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部ウイルス部会, 平17.3.3~4, 三重県志摩市

45) 富山県で発生したウイルス性胃腸炎について

小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 松浦久美子, 永井美之

平成16年度地方衛生研究所全国協議会 東海・北陸支部ウイルス部会, 平17.3.3~4, 三重県志摩市

46) インドネシア小児における有機リン系農薬の尿中代謝物検出状況

中崎美峰子, 新村哲夫, 荒谷哲雄, 関山牧子*, 渡辺知保*

第75回日本衛生学会総会, 平17.3.27~30, 新潟市

47) 深層海水および濃縮水の温浴による健康作用の検討

新村哲夫, 鏡森定信*

第75回日本衛生学会総会シンポジウムⅦ「海水と健康」, 平17.3.27~30, 新潟市

48) 新規なキャピラリーの開発

小玉修嗣, 山本 敦*, 松永明信, 寺島弘之*, 菅田佳孝*, 多賀 淳*, 本田 進*

日本薬学会第125年会, 平17.3.29~31, 東京都

(4) 受賞, 学位授与, 資格取得

1) 渡辺 護

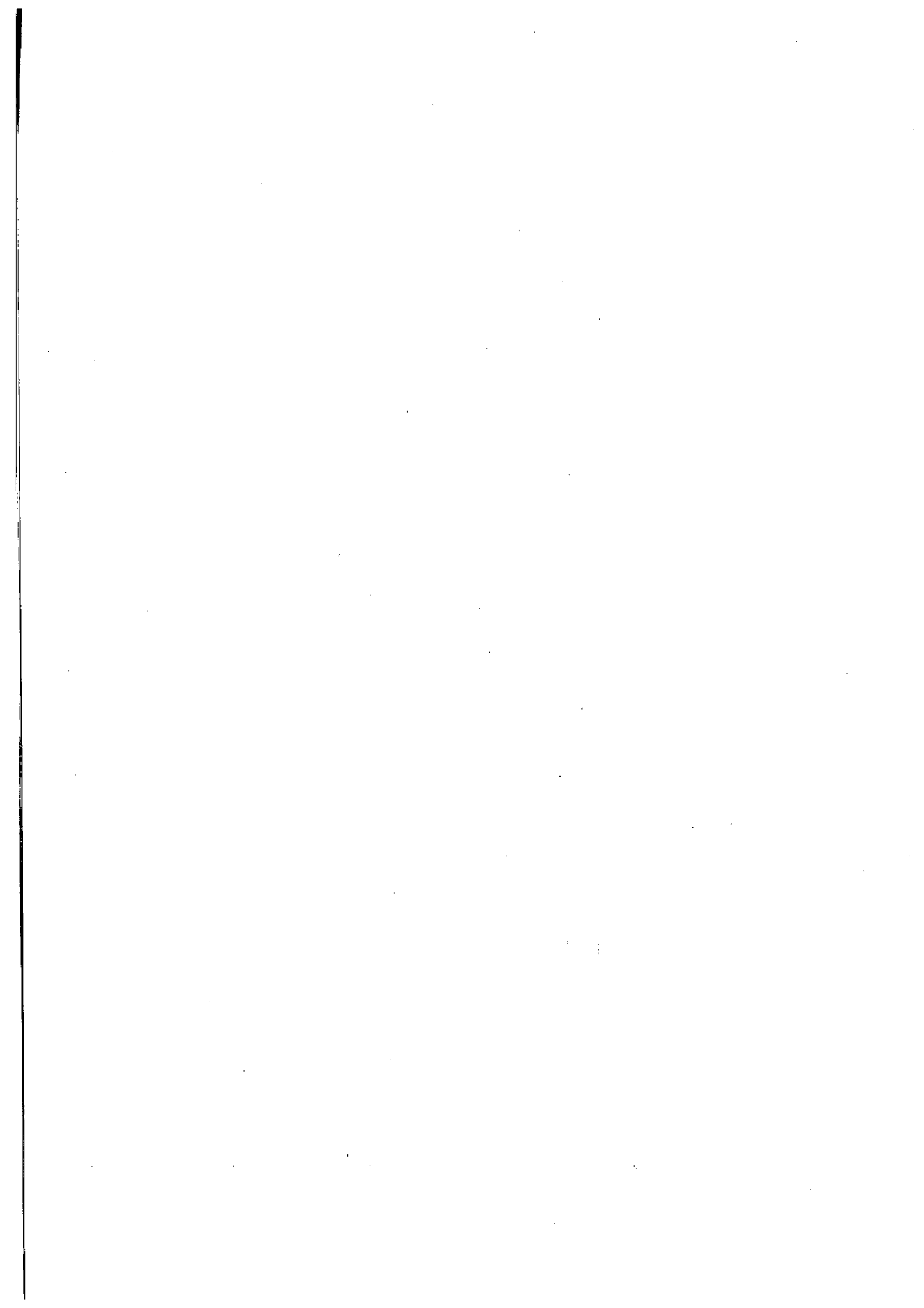
第47回日本衛生動物学会賞

受賞日 平成16年4月6日

2) 本田 幸子

日本公衆衛生協会会長表彰

受賞日 平成16年11月11日



編 集 委 員

委 員 長 荒 谷 哲 雄
委 員 中 村 美千代
林 美貴子
長谷川 澄 代
嶋 智 子
小 玉 修 嗣
堀 井 裕 子

富 山 県 衛 生 研 究 所 年 報

平成16年度(2004)第28号

2005年11月1日

発 行 富 山 県 衛 生 研 究 所
〒939-0363

富 山 県 射 水 市 中 太 閤 山 17 - 1

電 話 (0766) 56-5506(代)

F A X (0766) 56-7326

印 刷 あ け ぼ の 企 画 株 式 会 社

富 山 市 住 吉 町 1 - 5 - 18

電 話 (076) 424-1755

