

富山県衛生研究所年報

(平成27年度)

第39号

富山県衛生研究所

は じ め に

平成 28 年度から、佐多徹太郎前所長の後任として所長に就任いたしました。微力ながら、県民の健康を守る中核研究機関としての富山県衛生研究所の業務推進に尽力していきたいと思います。

年報第 39 号をお届けいたします。本号には、平成 27 年度における感染症、新生児マススクリーニング、染色体分析、残留農薬、水質、骨粗しょう症などに関する調査、研究成果等について掲載しています。ご高覧いただき、お気づきの点がありましたら、ご教示くださいますと幸いです。

さて、平成 27 年度は、新興・再興感染症の大波が一段落したように思えます。中東呼吸器症候群(MERS)により多数の感染者と犠牲者を出した韓国では、平成 27 年 12 月に感染の終息が宣言され、エボラウイルス感染症が猛威を振るった西アフリカでは、平成 28 年 3 月に世界保健機関 (WHO) による公衆衛生上の緊急事態が解除されました。また、平成 26 年に国内感染が広がったデング熱は、輸入事例は続いてはいるものの、平成 27 年には国内感染の報告はありませんでした。同年は、WHO から本邦が麻しん排除国の認定を受けた年でもありました。しかしながら、中東諸国では MERS の患者は引き続き発生し、ブラジルなど南アメリカにおけるジカ熱の流行を受けて、デング熱と同様に輸入事例からの国内感染の発生が懸念されています。油断することなく、引き続き感染症に対応していくことが大事と思います。

今般の改正感染症法を受けて平成 27 年度に公布された省令では、衛生研究所の検査精度管理について詳細に規定されていますが、外部精度管理の具体的実施体制は検討課題となっていました。佐多徹太郎前所長は、外部精度管理事業体制の構築と維持について検討する厚生労働省の研究班長としてこの課題を検討し、外部精度管理の定期的実施は、地方衛生研究所の技術と質の確保、人材育成に役立ち、ひいては自治体・国の危機管理対応の向上につながると報告書にまとめています。病原体の検査方法は従来と変わりませんが、今後はこの報告書の内容に沿った検査精度の維持管理が問われることになります。

末筆ながら、県厚生部をはじめとする行政機関、医療機関、学術研究機関等の皆様には、日頃より多くのご指導ご支援をいただいております。今後とも、ご指導を賜りますよう、よろしくお願い致します。

平成 28 年 12 月

富山県衛生研究所所長

滝澤 剛則

目 次

1. 運 営

(1) 沿 革	1
(2) 施 設 の 概 要	2
(3) 組 織 及 び 業 務	2
(4) 職 員 数	3
(5) 職 員 一 覧	3
(6) 予 算 及 び 決 算	4
(7) 重 要 備 品	5
(8) 各 部 の 業 務 概 要	6
(9) 検 査 状 況	14
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金 等	17
(11) 講 師 派 遣	19
(12) 研 修 指 導	20
(13) 研 修 受 講	21
(14) 客 員 研 究 員	22
(15) 研 究 成 果 発 表 会	22
(16) 試 験 研 究 機 関 研 究 員 交 流 集 会	22
(17) 地 方 衛 生 研 究 所 全 国 協 議 会	23
(18) 各 種 規 程 等	24

2. 調 査 研 究 報 告

富山県における新生児マスキリーニングの成果について（平成 27 年度）	25
九曜雅子 西永真理 高森亮輔 上出 功 角 園子	
ヒト血液の染色体分析結果（平成 27 年度）	36
金田英亨 高森亮輔 品川保弘 上出 功	
流産胎児の染色体分析結果（平成 27 年度）	39
高森亮輔 品川保弘 金田英亨 上出 功	
羊水細胞の染色体分析結果（平成 27 年度）	42
品川保弘 高森亮輔 金田英亨 上出 功	
ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散发例について（平成 27 年度）	47
稲崎倫子 名古屋真弓 森岡誠二 佐賀由美子 板持雅恵 稲畑 良 小淵正次 滝澤剛則	
非典型的な発疹症状を呈する手足口病を起こしたコクサッキーウイルス A6 型の分子疫学および血清疫学	53

板持雅恵 稲畑 良 稲崎倫子 名古屋真弓 佐賀由美子 小淵正次 滝澤剛則	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況 (2015 年)	61
磯部順子 金谷潤一 三井千恵子 木全恵子 範本志保 綿引正則	

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査 (感染源調査) 平成 27 年度	69
佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎倫子 渡辺 護 大平恵吾	
日本脳炎流行予測調査 (感受性調査) 平成 27 年度	76
名古屋真弓 稲崎倫子 小淵正次 板持雅恵 佐賀由美子 稲畑 良 滝澤剛則	
大井哲夫 南部厚子 大西さやか 遠藤京子 島崎忠美 大平恵吾	
ポリオ流行予測調査 (平成 27 年度)	80
板持雅恵 稲畑 良 名古屋真弓 稲崎倫子 小淵正次 佐賀由美子 大井哲夫	
南部厚子 大西さやか 遠藤京子 島崎忠美 大平恵吾 滝澤剛則	
インフルエンザ流行予測調査 (平成 27 年度)	85
小淵正次 佐賀由美子 稲畑 良 稲崎倫子 名古屋真弓 板持雅恵 滝澤剛則	
大井哲夫 南部厚子 大西さやか 遠藤京子 島崎忠美 大平恵吾	
富山県における平成 27 年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	90
板持雅恵 稲崎倫子 名古屋真弓 佐賀由美子 稲畑 良 小淵正次 滝澤剛則	
動物由来感染症浸淫状況調査 (平成 27 年度)	93
佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎倫子 稲畑 良 板持雅恵 小淵正次 滝澤剛則	
平野正人 林 匡史 貴嶋哲郎	
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2015 年)	97
木全恵子 三井千恵子 金谷潤一 磯部順子 範本志保 綿引正則	
富山県におけるヒト由来サルモネラの血清型と薬剤感受性調査 (2011-2015)	101
範本志保 清水美和子 磯部順子 金谷潤一 三井千恵子 木全恵子 綿引正則	
富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株の カルバペネマーゼ遺伝子保有状況について (2014-2015 年)	104
範本志保 三井千恵子 清水美和子 金谷潤一 木全恵子 磯部順子 綿引正則	
富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2014 年)	106
三井千恵子 金谷潤一 清水美和子 木全恵子 磯部順子 佐多徹太郎 綿引正則	
百石祐一朗 加藤陽子 中村政雄 奥野ルミ	
富山県内で分離された A 群溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2015 年)	109
磯部順子 三井千恵子 金谷潤一 木全恵子 範本志保 綿引正則 百石祐一朗	
加藤陽子 中村政雄 奥野ルミ	
富山県における 2015 年の病原微生物検出状況	112

三井千恵子 磯部順子 範本志保 木全恵子 金谷潤一 綿引正則 平成 27 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－	116
金谷潤一 磯部順子 範本志保 木全恵子 三井千恵子 綿引正則 GC/MS による加工食品中の農薬分析法の検討	119
堀井裕子 村元達也 山下智富 富山県水道水質検査精度管理調査結果（平成 23～27 年度）	123
村元達也 健名智子 高田博司 グラフアイトファーン原子吸光光度計を用いた尿中カドミウム定量方法の改良について	127
田村恒介	

4. 業 績

(1) 誌上発表	131
(2) 学会発表等	140
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	143
(4) 知的所有権	143

Reports

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2015 - Mar.2016)	25
Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Ryosuke TAKAMORI, Isao KAMIDE and Sonoko KADO	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr.2015 - Mar.2016)	36
Hideaki KANEDA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2015 - Mar.2016)	39
Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Hideaki KANEDA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2015 - Mar.2016)	42
Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Hideaki KANEDA and Isao KAMIDE	
Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	47
Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Seiji MORIOKA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA	
Morecular and serological epidemiology of coxackievirus A6 caused atypical hand, foot and mouth disease in Toyama Prefecture	53
Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Yumiko SAGA, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2015	61
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Chieko MITSUI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO and	

Notes

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	69
Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Mamoru WATANABE and Keigo OOHIRA	
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	76
Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Masatsugu OBUCHI, Masae ITAMOCHI, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Tadami SHIMAZAKI and Keigo OOHIRA	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	80
Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Masatsugu OBUCHI, Yumiko SAGA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Tadami SHIMAZAKI, Keigo OHIRA and Takenori TAKIZAWA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2015-2016	85
Masatsugu OBUCHI, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA Masae ITAMOCHI, Takenori TAKIZAWA, Tetsuo OOI, Atsuko NANBU, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Tadami SHIMAZAKI and Keigo OHIRA	
Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	90
Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI and Takenori TAKIZAWA	
Epidemiological Surveillance of Zoonosis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015	93
Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Ryo INAHATA, Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Masato HIRANO Masashi HAYASHI and Tetsuro KIJIMA	
Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2015	97
Keiko KIMATA, Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO and Masanori WATAHIKI	
Serovars and Drug Susceptibilities of <i>Salmonella</i> Isolates from the Patients in Toyama Prefecture (2011-2015)	101
Shiho NORIMOTO, Miwako SHIMIZU, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Chieko MITSUI, Keiko KIMATA and Masanori WATAHIKI	
Report of Carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> Infectious Diseases and Detection of Carbapenemase	

Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2014-2015)	104
Shiho NORIMOTO, Chieko MITSUI ¹ , Miwako SHIMIZU ² , Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI	
Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2014	106
Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU, Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO	
Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2015	109
Junko ISOBE, Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO , Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU, Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO	
Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2015	112
Chieko MITSUI ¹ , Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI and Masanori WATAHIKI	
Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2015)	116
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Chieko MITSUI and Masanori WATAHIKI	
Determination of Pesticides in Processed Foods by GC/MS	119
Yuko HORII, Tatsuya MURAMOTO and Tomohisa YAMASHITA	
Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2011-2015)	123
Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI and Hiroshi TAKADA	
Improvement of Quantitative Analysis for Cadmium in Urine by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry	127
Kosuke TAMURA	

1. 運 營

(1) 沿 革

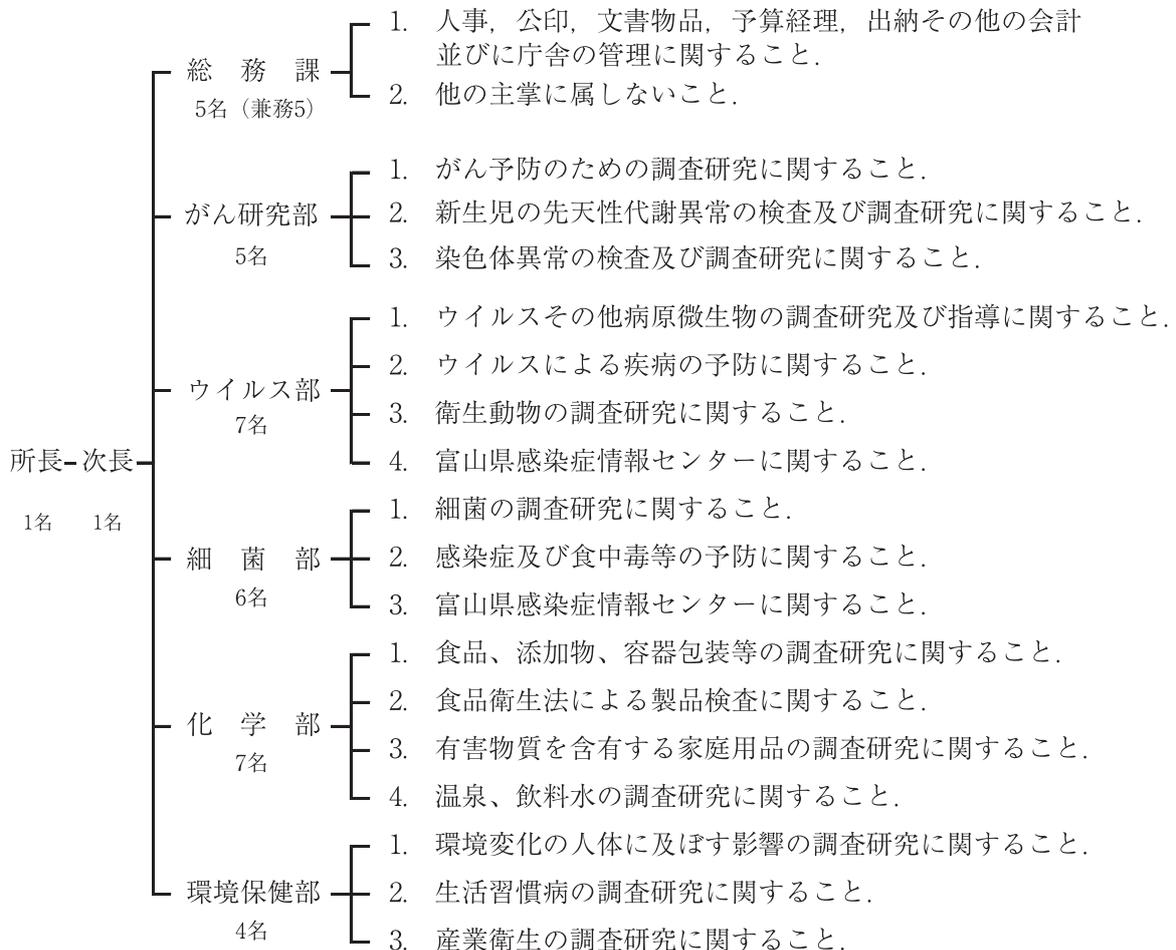
- 昭和 35 年 4 月 1 日 職員 9 名の構成で発足.
- 昭和 36 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員 17 名に拡充強化 (庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
- 昭和 37 年 11 月 30 日 旧研究所の増築.
- 昭和 38 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部 (庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課) を変更.
- 昭和 39 年 10 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査課を新設.
- 昭和 44 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 従来の課制を廃止し, 部制を設置し, 部に主任研究員を配置 (病理生化学部, 微生物部, 食品科学部, 公害調査部).
- 昭和 46 年 4 月 15 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 公害調査部所管の業務が公害センター (現 環境科学センター) に移管され, また, 各部の名称を変更 (病理部, ウイルス部, 細菌部, 化学部, 環境保健部).
- 昭和 55 年 12 月 20 日 研究所新庁舎小杉町 (現 射水市) 中太閣山で建設着工.
- 昭和 57 年 6 月 10 日 小杉町 (現 射水市) 中太閣山に新庁舎完成.
- 平成 元年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 病理部をがん研究部に名称を変更.
- 平成 4 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 庶務課を総務課に名称を変更.
- 平成 12 年 7 月 1 日 衛生研究所内に富山県感染症情報センターを設置.
- 平成 14 年 9 月 4 日 文部科学省から科学研究費補助金取扱規程第 2 条第 4 号の研究機関に指定.
- 平成 15 年 5 月 28 日 富山県衛生研究所倫理審査委員会, 富山県衛生研究所研究評価委員会を設置.
- 平成 23 年 5 月 31 日 富山県衛生研究所利益相反管理委員会を設置.
- 平成 27 年 3 月 31 日 富山県衛生研究所利益相反管理委員会を廃止.
- 平成 27 年 4 月 1 日 富山県衛生研究所倫理審査要綱, 同倫理審査委員会運営要領策定.

(2) 施設の概要

建 物	構 造	延 面 積 (㎡)
研 究 棟	鉄筋コンクリート造3階(1部4階)建	3,044.59
動 物 飼 育 棟	〃 平屋建	241.76
車 庫	鉄骨造平屋建	34.56
薬 品 庫	コンクリートブロック造平屋建	20.60
ポ ン ベ 庫	〃	17.54
R I 排 水 庫	〃	26.65
排 水 処 理 庫	〃	13.57
渡 り 廊 下	鉄 骨 建	40.50
機 械 室	鉄骨造平屋建	39.24
合 計		3,479.01

(3) 組織及び業務

(平成28年6月1日)



(4) 職 員 数

(平成 28 年 6 月 1 日現在)

区 分	所・次長 部・課長	主幹 研究員	副主幹	副主幹 研究員	主 任 研究員	主 任 専門員	主 任	研究員	主 事	(業務) 技 師	計
所 長	1										1
次 長	1										1
総 務 課	1(注1)		2(注1)						1(注1)	1(注2)	5(兼5)
がん研究部	次長 事務取扱			1	2	1		1			5
ウイルス部	1				5			1			7
細菌部	1			2	2			1			6
化学部	1			2	3			1			7
環境保健部	1			1	1			1			4
合 計	7	0	2	6	13	1	0	5	1	1	36(兼5)

※総務課の(注1)は環境科学センター・薬事研究所を兼務

(注2)は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成 28 年 6 月 1 日現在)

職 名		氏 名	職 名		氏 名
所	長	滝澤剛則	部	長	綿引正則
次	長	上出功	副主幹研究員		磯部順子
総務課	総務課長(兼)	中島敏寛	副主幹研究員		範本志保
	副主幹(兼)	光田美千代	主任研究員		木全恵子
	副主幹(兼)	京角ゆかり	〃		金谷潤一
	主事(兼)	宮川幹子	研 究 員		内田 薫
	技能主任(兼)	新木康之			
		部 長	次長事務取扱	部	長
がん研究部	副主幹研究員	九曜雅子	副主幹研究員		健名智子
	主任研究員	西永真理	〃		堀井裕子
	〃	高森亮輔	主任研究員		中山恵理子
	主任専門員	品川保弘	〃		山下智富
	研 究 員	金田英亨	〃		村元達也
		研 究 員	安川和志	部	長
ウイルス部	部 長	小淵正次	副主幹研究員		中崎美峰子
	主任研究員	稲畑良	主任研究員		小林直人
	〃	板持雅恵	研 究 員		田村恒介
	〃	名古屋真弓			
	〃	佐賀由美子			
	〃	稲崎倫子			
	研 究 員	米田哲也			

注 総務課は環境科学センターおよび薬事研究所を兼務

(6) 予 算 及 び 決 算

平成 27 年度予算概要 (当初)

事業名	予算額 (千円)	財 源 内 訳					備 考
		使用料 手数料 (千円)	国支出金 (千円)	受託事業 (千円)	その他 (千円)	一般財源 (千円)	
衛生研究所費	2,133					2,133	所の運営等
試験研究費	45,033	3,121			2,259	39,653	所の運営, 維持管理, 試験検査
設備充実費	2,368					2,368	試験研究及び検査用機械器具
感染症対策特別研究費	1,590					1,590	調査研究
がん等特別研究費	6,971		496			6,475	調査研究
合 計	58,095	3,121	496		2,259	52,219	

平成 27 年度 歳入・歳出決算

(歳 入)

科 目	決算額(円)	備 考
衛生手数料	8,875,593	衛生研究所費 3,945,273 環境衛生検査 4,930,320
国庫支出金	2,098,980	設備充実費
財産運用収入	3,245	特許権等運用収入
雑 入	2,272,707	
合 計	13,250,525	

(歳 出)

科 目	決算額(円)	備 考
人事管理費	174,060	派遣研修費・客員研究員報償費
財産管理費	1,156,000	庁舎維持管理費
児童福祉対策費	13,433,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	1,058,867	再任用職員の保険料
予 防 費	8,389,429	感染症関連調査
環境保健対策費	8,859,044	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	58,144,313	試験検査・研究及びそれに伴う維持管理, 賃金
環境衛生総務費	4,937,786	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	10,926,528	食品安全対策検査
公害防止対策費	314,000	海水浴場細菌検査
工 鉱 業 総 務 費	478,628	海洋深層水研究・知的クラスター・科学技術振興
合 計	107,871,655	

(7) 重 要 備 品

(平成 28 年 3 月 31 日現在)

品 名	型 式	購入年月
ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-2010	H 25. 4
	ヒューレットパッカード HP6890	H 10. 8
	Agilent 6890N	H 15. 6
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津製作所 QP-1100WA	H 5. 11
	島津製作所 P&T GCMS QP-2010	H 17. 10
	Agilent Technologie 7890A/5975C	H 19. 11
	Agilent Technologie 7890B/5977A	H 27. 3
高速液体クロマトグラフ	Waters Alliance e2695_postcolumn_UV_FL	H 28. 3
	Agilent 1100	H 12. 6
高速液体クロマトグラフタンデム四重極質量分析装置	Waters UPLC Xevo TQ-Smicro	H 28. 3
イオンクロマトグラフ	Thermo Scientific ICS-2100/ICS-1100	H 26. 2
全自動ニンヒドリン法アミノ酸分析システム	日本分光	H 9. 3
染色体核型分析用画像処理システム	カールツアイス社製 イカロス	H 13. 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 3DCE	H 7. 9
パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド社	H 12. 12
	バイオラッド社 CHEF Mapper XA	H 23. 8
全自動ゲル浸透クロマトグラフ	O.I.ANALYTICAL AP-512	H 11. 3
全有機炭素計 (TOC計)	島津製作所 TOC-V CSH	H 18. 1
全自動化学発光分析システム	日本分光	H 11. 3
マイクロウェーブ分解装置	アステック MARS 5	H 11. 12
原子吸光光度計	島津製作所 AA-6700	H 8. 11
マイクロプレートリーダー	コロナ	H 9. 2
	BIO-RAD iMark	H 26. 8
分離用超遠心機	日立製作所 CP 101 MX	H 12. 11
透過型電子顕微鏡	日立製作所 H-7600	H 13. 3
落射蛍光顕微鏡	ニコン	H 9. 8
卓上走査型電子顕微鏡	日立ハイテクノロジーズ Miniscope TM3000	H 23. 11
リアルタイムPCRシステム	アプライドバイオシステム	H 20. 12
	タカラバイオ(株) TP9000 【多波長検出用】	H 23. 8
遺伝子増幅装置 一式	C1000 サーマルサイクラー	H 21. 6
自動遺伝子抽出機	QIAsymphony SP	H 21. 6
蛍光式 DNA シーケンサー	パーキンエルマー 3101-TI	H 9. 12
ELISA 測定システム	BIO-RAD 社	H 10. 2
定量 PCR (遺伝子増幅機器)	ABI PRISM 7500	H 15. 10
画像解析装置	日本バイオラッド ChemiDocXRS	H 18. 7
微生物定量システム (スパイラルプレーター)	GSIクレオスWASP, カウンターマッドフラッシュ	H 18. 8
キャピラリー型遺伝子解析システムデータ処理装置	ABI PRISM 3130XL	H 19. 10
次世代型シーケンサー (遺伝子解析装置)	イルミナ MiSeq	H 24. 1
超音波骨密度測定装置	G E横河メディカルシステム A-1000	H 18. 7

(8) 各部の業務概要

がん研究部

[行政および依頼検査]

先天性代謝異常等マススクリーニング

平成 27 年度の検体総数は 8,777 件で、県内 26 か所の医療機関で採血され、送付されたものである。受検率は、109.4%（里帰り出産を含む）となり、前年同様高い割合であった。検査対象疾患は、アミノ酸代謝異常症 5 疾患、有機酸代謝異常症 7 疾患、脂肪酸代謝異常症 4 疾患、ガラクトース血症および内分泌異常症 2 疾患の計 19 疾患である。検査の結果、21 人（メイプルシロップ尿症疑い 1 人、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症疑い 2 人、全身性カルニチン欠乏症疑い 1 人、ガラクトース血症疑い 1 人、先天性甲状腺機能低下症疑い 11 人、先天性副腎過形成症疑い 5 人）が要精密検査となり、先天性甲状腺機能低下症の患者 7 人が発見された。

染色体検査

平成 27 年度の検査依頼受付検体数は、羊水 158 件、血液 18 件と自然流産胎児 64 件の計 240 件であった。前年度と比較すると血液は 2 件減、流産胎児は 4 件減、羊水は 9 件増であった。染色体異常を示したものは、羊水 12 件（21 トリソミー症候群 5 件、18 トリソミー症候群 4 件、構造異常 1 件、ターナー症候群 1 件、トリプル X 1 件）、7.6%、血液 2 件（均衡転座保因者 1 件、トリプル X 1 件）、11.1%、流産胎児 43 件（数的異常 30 件、モザイク 5 件、ターナー症候群 3 件、構造異常+数的異常 3 件、倍数体 1 件、構造異常 1 件）、67.2%の計 57 件であった。染色体検査の依頼理由（主訴）は、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、血液・流産胎児では不育症関連が最も多かった。

[調査研究]

がん発生要因に関する研究

地域がん登録システムで集積されたデータと人口動態データとの比較から、胃がんならびに大腸がんの、県内各医療圏ごとの罹患率や死亡率の差異を解析している。さらに、医療圏より単位のちいさな市町村ごとの比較検討の可能性について検討している。

先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査法に関する研究

タンデムマス法の導入でマススクリーニング検査の対象疾患が拡大したことにより、緊急性の高い疾患が増え、早期に医療対応が必要となる例が多くなった。そこで、迅速に確実に患者を発見するために、スクリーニング検査の指標とは別の指標を使った確認検査法について検討している。

ウイルス部

[行政および依頼検査]

感染症発生動向調査

「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」及び「感染症発生動向調査実施要領」に基づき、県内の医療機関や厚生センター・保健所から依頼を受けた検体について、ウイルスおよびリケッチアの検査を行った。インフルエンザでは、228 症例中 191 症例からウイルスが検出された（AH1 型インフルエンザウイルス 78 名、AH3 型インフルエンザウイルス 19 名、B 型インフルエンザウイルス 94 名）。上気道炎・下気道炎では、13 症例中 7 症例からウイルスが検出された（ライノウイルス 6 名、RS ウイルス 1 名）。脳炎・脳症では、9 症例中 4 症例からウイルスが検出された（サイトメガロウイルス 1 名、RS ウイルス+サイトメガロウイルス 1 名、AH1 型インフルエンザウイルス 1 名、B 型インフルエンザウイ

ルス1名)。感染性胃腸炎では25症例中21症例からウイルスが検出された(ノロウイルス GenogroupII; NVGIII11名, サポウイルス3名, ロタウイルスA群1名, アデノウイルス41型4名, パレコウイルス1型2名)。麻疹疑い例8症例からは麻疹ウイルスは検出されなかったが, 1症例からエコーウイルス18型が検出された。手足口病では, 8症例中6症例からコクサッキーウイルスA6型が検出された。つつが虫病では, 4症例中3症例からつつが虫病リケッチアが検出された。デング熱1症例からデングウイルス1型が検出された。

HIV抗体検査

平成27年4月から平成28年3月までの1年間に141件の血液についてHIV抗体検査を行ったところ, 141件全て陰性であった。

感染症流行予測調査

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

感染源調査：豚の抗体保有調査では, 抗体保有率は10%以下で推移し, 新鮮感染を示す豚は確認されなかった。蚊1検体及び豚血清3検体から日本脳炎ウイルスが分離された。平成27年度の日本脳炎ウイルスの流行は小規模だったと考えられた。豚の抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎回掲載した。

感受性調査：日本脳炎流行予測調査(感受性調査)として, 県内住民277名の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。その結果, 抗体陽性者の割合は全体として61.0%であった。5～29歳では80%以上と高い抗体保有率を示したが, それ以外は40%前後となる年齢群が多かった。「接種歴なし」の割合は, 0～4歳で最も多く70.2%で, 平成26年度と同程度であった。「接種歴あり」の割合は5～9歳での100%がピークで, 15～19歳でも89.7%であった。20歳以上では約40%以下であった。予防接種歴別の抗体保有率は, 「接種歴なし」で23.5%, 「接種歴不明」で53.3%であったのに対し, 1回以上接種歴のある対象者では83.5%であった。

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

感染源調査：平成27年7月～12月に, 富山県内の1下水処理場から毎月下水流入水を採取し, ウイルス分離を行った。その結果, ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：平成27年7月～9月に, 0歳から87歳までの279名の血清について, ポリオウイルスに対する中和抗体価を測定した。ポリオウイルス各型に対して4倍以上の中和抗体価を保有する割合は, 1型では96.8%, 2型では99.3%, 3型では77.1%であった。また, 各型に対する幾何平均抗体価は, 1型は95.5倍, 2型は71.6倍, 3型は31.9倍であり, 集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から, 本県においては, 野生型ポリオウイルスの侵淫や, ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

インフルエンザ：インフルエンザの予防と流行状況の把握のために, ヒト感受性調査(2015年7～10月)と感染源調査(2015年11月～2016年5月)を実施した。

感受性調査：インフルエンザ流行期前における富山県住民278名の抗体保有状況について, 4種類のインフルエンザ抗原を用いて調べた。血球凝集抑制(HI)抗体価40倍以上の力価を示す抗体保有率は, 2015/16シーズンインフルエンザワクチン株のA/California/7/2009(H1N1)pdm09, A/Switzerland/9715293/2013(H3N2), B/Phuket/3073/2013(山形系統)およびB/Texas/2/2013(ビクトリア系統)に対して各々50.4%, 38.8%, 21.6%, 6.1%であった。

感染源調査：インフルエンザウイルスは, AH1pdm09型が82株, AH3型が13株, B型が105株分離され, AH1pdm09亜型およびB型ウイルスの混合流行となった。シーズン後半はB型が分離株の大半を占めた。

衛生動物検査

厚生センター等から依頼や問合せがあった8件について, 衛生害虫の同定検査を行った。

[調査研究]

ウイルスウォッチプログラム

地域で流行を繰り返すエンテロウイルスやノロウイルス等の腸管系ウイルスを対象に, 下水流入水の

ウイルス調査を実施した。平成27年4月から平成28年3月の間に、エンテロウイルスはエコーウイルス7, 11, 18, 25, 30型, コクサッキーウイルスA16, B5型が分離された。エコーウイルス11型は平成27年1～5月にかけて下水からの検出例が多く, 小児の胃腸炎や髄膜炎等からも同時期に検出されていることから, 県内で流行が発生していたと推定された。ノロウイルスは, ほぼ毎月下水流入水から検出された。遺伝子型別では, 患者から高頻度に検出されるGII.4やGII.17以外に, 患者からはほとんど検出されることのないGI.3が高頻度に検出され, 不顕性感染者が多数存在すると推定された。

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で平成27年4月から平成28年3月までの1年間に発生届けのあった, ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生16事例のうち, 14事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えると, ウイルス性胃腸炎の集団発生は計16事例であった。原因と推定されたウイルスの内訳は, ノロウイルスGIIが14事例, ノロウイルスGIが1事例, サポウイルスが1事例であった。ノロウイルスの型別は, GII.17が8事例と最も多く, GII.4が6事例, GI.2, GII.3が各1事例であった。

発生施設別にみると, 宿泊施設での発生が5事例, 飲食店が4事例, 保育所・幼稚園, 福祉施設が各2事例であった。9事例では, 各事例内の検出ウイルスの遺伝子配列が一致し, これらの集団発生は, 同一の感染源である可能性が高いことがわかった。

動物由来感染症実態調査（動物由来感染症予防体制整備事業）

県内における哺乳類と媒介節足動物における日本脳炎, ウエストナイル熱等の蚊媒介性感染症, 腎症候性出血熱, ハンタウイルス肺症候群の浸淫状況を調査した。また, 公園等における蚊の発生状況を調査した。コガタアカイエカ1プール及びブタ3検体から日本脳炎ウイルスが分離された。野生げっ歯類等6頭からハンタウイルスに対する抗体は検出されなかった。公園等の6地点中5地点で蚊が捕集され, 優先して捕集された種はヒトスジシマカであった。また, ヒトスジシマカの発生ピークは7月後半から9月後半であった。調査方法について検討したところ, 人囀法とCDCトラップ捕集法では相違が認められた。

低山地3地点において2015年4月から11月までマダニ類の調査を行った。その結果7種1,960個体が採集された。3地点全てで採集数が多かったのは, キチマダニ, フタトゲチマダニの2種で, ヤマトマダニがこれに続いた。2014年に採集したマダニのうちの577個体についてSFTSVの遺伝子検出を行ったところ, いずれの個体からも検出されなかった。

2014～2015年に県内で捕獲されたイノシシ計56頭より血液, 便, 付着したマダニを採取した。マダニ類は計7種類が得られ, 地域によりマダニの構成種に違いあることが示された。マダニ111匹からのSFTSVの遺伝子検出を行ったところ, いずれも検出されなかった。血清33検体についてSFTSV, E型肝炎ウイルスの抗体検査を行ったところ, SFTSVの抗体は全て陰性であり, E型肝炎の抗体は3検体(9.1%)で陽性であった。

【富山県感染症情報センター】

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

県内および全国の感染症発生動向の情報は, 速報あるいは週報の印刷物として関係機関へ毎週送付するとともに, 富山県感染症情報センターホームページで一般公開した。また, 県厚生部健康課の依頼を受けて, 富山県感染症MLを利用して, 県内全病院, 厚生センター・保健所, 県群市医師会へ感染症に関する国からの通知等を配信した。

細菌部

[行政および依頼検査]

2類感染症検査：厚生センター、富山市保健所から搬入された結核菌株 68 株について、分子疫学的解析方法である VNTR 解析を行い、感染源を追求した。

3類感染症検査：細菌により起因する 3類感染症は、コレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌感染症、腸チフス、パラチフスである。平成 27 年は、腸管出血性大腸菌感染症が 20 件 (25 名)、赤痢が 1 件 (1 名) 発生した。このうち、腸管出血性大腸菌感染事例の原因菌の血清型は O157 13 件 (18 名)、O26 2 件 (2 名)、O111 3 件 (3 名)、O103 1 件 (1 名)、O145 1 件 (1 名) であった。腸管出血性大腸菌による集団感染および家族内感染は 3 件であった。また、分離株について国立感染症研究所 (パルスネット) に全国分離株との比較を依頼し、分離株の送付事務を行った。

赤痢 1 件は、海外渡航歴のある患者の散発感染であり、*Shigella sonnei* が分離された。

細菌性食中毒検査：平成 27 年は、細菌性食中毒の発生はなかった。

レジオネラ症検査：厚生センターから搬入された喀痰 18 検体から分離培養を行った結果、6 検体からレジオネラ属菌が分離された。

食品検査：6 月に清涼飲料水 25 件の成分規格試験を行った。すべての検体で大腸菌群陰性であった。また、食品の夏期一斉取締りの一環として、生食用鮮魚介類 (刺身等) 16 検体について腸炎ビブリオの定量検査を行った。すべての検体が成分規格基準に合致していた。6 月に生食用牛肉 3 検体について腸内細菌科菌群の検査を行った。3 検体とも陰性であり、成分規格基準に合致していた。

厚生労働省医薬食品局食品安全部より依頼のあった「平成 27 年度食品の食中毒菌汚染実態調査」に基づき、62 検体、8～9 項目について検査を実施した。腸管出血性大腸菌はすべての検体で検出されなかったが、大腸菌が 11 検体、サルモネラが 1 検体、カンピロバクターが 1 検体から検出された。

海水浴場水検査：生活環境文化部および富山市の依頼で海水浴場水 (8 定点、のべ 120 検体) の糞便性大腸菌群数測定を行った。いずれも水質が良好な「AA」または「A」ランクで「適」であった。このうち 26 検体について、腸管出血性大腸菌 O157 検索を行ったがすべて陰性であった。

名水調査：県内で飲用利用されているいわゆる「名水」について、細菌学的な調査を行った。調査は 7、10 月の 2 回、採水地点はそれぞれ 10 か所、計 25 検体について、一般細菌、大腸菌定量、嫌気性芽胞菌、従属栄養細菌数を実施した。8 検体で大腸菌が検出された。嫌気性芽胞菌はすべての検体で陰性であった。

[病原細菌検出情報]

県内 10 か所の病院と 4 か所の厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原細菌検出数は、1,111 株、前年比 92.4% であった。最も多かったのは大腸菌 578 株で、以下、黄色ブドウ球菌の 239 株、カンピロバクター 206 株の順であった。

[調査研究]

サルモネラの薬剤感受性動向調査：県内の医療機関、厚生センターでヒトから分離された菌株の収集、解析を行った。2015 年 1 月～12 月までに当所に送付された菌株は 44 株で、それらの血清型の内訳は *S. Thompson* が 10 株、*S. Enteritidis* が 5 株、*S. Narashino* が 5 株、その他 24 株であった。これらヒトから分離されたサルモネラの薬剤感受性試験を行ったところ、18 株が何らかの薬剤に耐性を示し、多いものは 4 薬剤に耐性を示した。

腸管出血性大腸菌の細菌学的解析：病原性遺伝子領域非保有型 EHEC の病原因子の解析を行った。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の耐性遺伝子調査：平成 27 年に県内の医療機関で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 30 株 (届出株 24 株) についてカルバペネマーゼ遺伝子の検出を行った。3 株が IMP 型の遺伝子を保有していた。

溶連菌の血清型別調査：平成27年に県内1医療機関で分離された溶連菌を型別した。15株すべてがA群で、検出率が高いT型は、順にT6型、T11型、T-B3264型であった。

カンピロバクターの臨床分離株に関する調査：平成27年度に県内1医療機関で分離されたカンピロバクター31株の収集解析を行った。32株のうち27株(84.4%)が*C. jejuni*、5株(15.6%)が*C. coli*であった。*C. jejuni*についてPenner型別を行ったところ、18株(66.7%)は型別不能(UT)で、残る8株はそれぞれ異なる血清型を示した。

レジオネラ属菌の環境調査：厚生センター(支所)、富山市保健所と連携し、協力を得られた13浴用施設のレジオネラ属菌調査を行った。その結果、浴用水14/51検体(27.5%)、シャワー水7/36検体(19.4%)からレジオネラ属菌が検出された。浴用施設以外の環境調査では、河川水6/15検体(40.0%)からアメーバ共培養増菌法にてレジオネラ属菌が検出された。

[精度管理]

内部精度管理：富山県食品関係試験検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内4厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の7機関について、内部精度管理調査を行った。試料は当所で作製し、それぞれに配布した。調査項目は、牛乳の生菌数測定および模擬食品中の黄色ブドウ球菌数測定とした。なお、模擬食品は市販のコーンビーフを原料とし、基準値(1,000/g)以上の黄色ブドウ球菌を添加した1検体、ブドウ球菌(卵黄反応およびコアグラゼ試験陰性)を添加した1検体、精製水のみを添加した1検体の計3検体を各機関に配布した。生菌数および黄色ブドウ球菌数の測定は、すべての機関が良好であった。この回答結果については本年報にその詳細を掲載している。

外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

水質検査精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、一般細菌について県内の水道水質検査実施機関21機関の精度管理を行った。枯草菌228cfu/mlを添加した滅菌水を検体とし、陰性対照検体(滅菌水)とともに各機関に配布した。Grubbs検定により外れ値の検討を行ったが、棄却された機関はなかった。21機関の平均細菌数±標準偏差は230±14.6cfu/mlであり、変動係数は6.32%であった。

[レファレンスセンター事業]

レンサ球菌感染症の東海・北陸支部レファレンスセンター(衛生微生物協議会、希少感染症研究事業)：2015年1～12月の分離株について、A群溶血レンサ球菌43株(愛知県衛生研究所28株および富山県衛生研究所15株)のT型別結果を報告した。また、東海北陸地区で発生した20例の劇症型溶連菌感染症例について報告した。

レジオネラの東海・北陸支部レファレンスセンター(衛生微生物協議会、希少感染症研究事業)：平成26年度に患者から分離されたレジオネラ菌9株(富山県で分離)について、国立感染症研究所に送付した。9株とも血清型は*Legionella pneumophila*血清群1であった。

結核の東海・北陸支部レファレンスセンター(衛生微生物協議会、希少感染症研究事業)：6月のレファレンス会議の結果を東海北陸ブロック会議で報告した。

薬剤耐性菌の東海・北陸レファレンスセンター(衛生微生物協議会、希少感染症研究事業)：6月の衛生微生物協議会において、正式に本レファレンス事業が承認され、感染研・細菌第二部及び地衛研ブロック担当者が決定され、当所も担当となった。レファレンス活動としては、感染研・細菌第二部が主催する地衛研を対象とした、耐性菌検査研修会の調整、耐性菌検査マニュアルの配布、陽性コントロールの配布を行った。

化 学 部

[行政および依頼検査]

食品等の検査

成分規格及び添加物等：県内で製造されたミネラルウォーターの成分規格試験（混濁、沈殿物、ヒ素、鉛、カドミウム及びスズ）及び惣菜等の保存料（安息香酸、ソルビン酸）及び甘味料（サッカリンナトリウム）試験、並びに生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）の試験を行ったところ、36検体（総項目数177）全てが食品衛生法の規格基準または使用基準に適合していた。

また、アレルギー物質を含む食品のスクリーニング検査で陽性となった食品3検体（卵陽性2検体、小麦陽性1検体）について定性検査（5項目）を行ったところ、3検体全てで陽性が確認された。

残留農薬等：県内産主要農産物の玄米、ぶどう、ほうれんそう等の9種12検体について、有機リン系（フェニトロチオン等）、ピレスロイド系（ペルメトリン等）、有機塩素系（ディルドリン等）、含窒素系（フルトラニル等）の約90農薬を調査した（総項目数1,051項目）。りんご1検体からクロルピリホス0.02 ppm（基準値1.0 ppm）、玄米1検体からフルトラニル0.02 ppm（同2.0 ppm）、別の玄米1検体からフラメトピル0.01 ppm（同0.5 ppm）が検出されたが、全て基準値以下であった。平成19年12月から20年1月の間に国内で中国産冷凍加工食品中の農薬による食中毒事件が発生したことを受け、県内で市販されている輸入冷凍加工食品32検体について、メタミドホス、ジクロロホスを含む有機リン系化合物等56農薬を調査したところ、いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2 ppm）。

重金属等：富山湾産魚介類10魚種12検体（カマス、スズキ等）について総水銀を測定したところ、12検体全てから検出されたが、濃度は0.02～0.31 ppmといずれも暫定規制値（0.4 ppm）を下回っていた。

また、サワラ及びフクラギ等9魚種10検体について船底や魚網の防汚剤として平成元年まで使用されていたビストリブチルスズオキシドによる汚染調査を行ったところ、全て不検出であった。

家庭用品検査

家庭用洗浄剤及び家庭用エアロゾル製品10検体について、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン及びメタノールの試験を、また、羊毛製品（衣類等）5検体についてディルドリンの試験を行なったところ、いずれの製品からも検出されず、家庭用品の規制基準に適合していた。

水質検査

水質管理目標設定項目¹⁾：県内の水道事業体の水道原水28検体及び浄水21検体について、亜硝酸態窒素、アンチモン及びトルエン等12項目（総項目数204）並びにフサライド等のべ43項目（総項目数200）の農薬類の検査を行った。その結果、3検体からウラン0.0002～0.0005 mg/L（目標値0.002 mg/L）が、1検体からニッケル0.004 mg/L（目標値0.02 mg/L）が、1検体からジクロロアセトニトリル0.001 mg/L（目標値0.01 mg/L）が、7検体から抱水クロラール0.001～0.003 mg/L（目標値0.02 mg/L）が検出されたが目標値を下回っていた。その他の項目はいずれも不検出であった。

1) 水道水質基準を補完する項目で、水質管理上留意すべき項目

要検討項目²⁾：県内水道事業体の水道原水19検体及び浄水19検体について、銀などの重金属類、スチレンなどの揮発性有機化合物、フタル酸ジ(*n*-ブチル)などのフタル酸エステル類、プロモクロロ酢酸などのハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどのハロアセトニトリル類等25項目（総項目数467）の検査を行った。その結果、全ての検体について、いずれの項目も不検出であった。

2) 毒性評価が定まらない物質や水道水中での検出実態が明らかでない項目

ゴルフ場使用農薬：県内ゴルフ場周辺の飲用井戸水24件について、5月及び11月の2回、当該ゴルフ場で使用されている農薬（ダイアジノン等のべ35項目）の検査（総項目数452）を行った。その結果、全ての検体について、いずれの項目も不検出であった。

温泉分析

温泉所有者等から依頼のあった県内3ヶ所の源泉について、温泉中分析検査を行ったところ、全て温泉お

よび療養泉の定義に適合していた。

また、温泉資源保護を目的として、氷見・高岡地区温泉密集地域の18源泉の主要成分等について、経年変化調査を行った。海水化が懸念される温泉はなかった。1源泉について、成分濃度の減少傾向が確認されており、今後の推移を注視する必要がある。

[調査研究]

動物性自然毒の迅速分析法の開発

エゾバイ科巻貝の唾液腺に含まれるテトラミンは、第4級アミン構造を有する自然毒で、毎年全国で数件程度の食中毒が発生している。試料をホモジナイズ抽出後、テトラミンの有するイオン性を利用し、陽イオン交換カラム(MC-2)を用いて精製した試験溶液を、イオンクロマトグラフで分析することで、試料から抽出された全ての陽イオンピークを分離し、テトラミンを迅速に分析することに成功した。

現地分析を可能とする分析ツールの開発

従来の分析機器は大型であるとともに分析コストが高いという問題点がある。化学部では、その問題点を解決するために、安価で分析コストが低く持ち運びも可能な分析チップの開発に取り組んでいる。近年、流路のテンプレートを用いて樹脂やガラス内に3次元流路を作製可能な技術を新たに開発、特許を取得した。本研究では、この特許技術を応用してチップを製作している。

平成27年度は、チップ内に液体クロマトグラフィー用の分離媒体を設置する方法について検討。ここでは分離媒体として有機ポリマーモノリスを適用した。有機ポリマーモノリスは多孔質のポリマーであり、シリカに比べて塩基等に強いという特長がある。ただし、分離媒体としてモノリスを使用するためには、カラム壁面とモノリスを化学的に結合して固定するという手法が一般的であるが、この工程は煩雑である。そこで、本研究ではモノリスを容易にカラム内部に固定化する方法について検討した。流路を模したガラス管中にらせん状の金属骨格を配置後、このガラス管内で有機ポリマーモノリスを重合することにより、分離カラムを作製。このカラムを測定に用いた結果、送液に伴う圧力存在下においても有機ポリマーモノリスは安定した分離能を示した。

また、微生物汚染現場での迅速な微生物の分離同定を目的に、持ち運び可能なマイクロチップ分析型キャピラリー電気泳動装置の開発に取り組んでいる。平成27年度は、4種類の非病原性大腸菌株が、キャピラリー電気泳動上で異なる電気泳動度を示す条件をいくつか見出した。従来、同属種の株をキャピラリー電気泳動で分離することは、微生物表面構造が似ているため困難とされていたが、本結果からキャピラリー電気泳動法による病原性大腸菌株などの一斉分析法の開発に期待がされる。

飲用されている「とやまの名水」の調査

平成15年度から、飲用されている「とやまの名水」の環境保全や衛生管理・飲用対策の基礎資料とするための水質調査を行っている。今年度は名水15箇所について、水質管理目標設定項目(農薬類)109項目の検査を行った(総項目数1635)。その結果、検査した全ての項目について定量下限値未満であった。飲用されている「とやまの名水」については、名水の管理者、市町村、県が連携して衛生管理・飲用対策に取り組んでおり、調査結果はその良好な水環境を保つために役立っていると考えられる。

[精度管理調査]

食品検査の精度管理：「富山県食品衛生検査業務管理要綱」(平成10年12月制定)に基づき、平成11年度から県内の厚生センター等の食品の理化学検査を実施している公的機関の検査水準の維持、向上を目的として、精度管理調査を実施している。今年度は5機関を対象に、しょう油中の保存料(安息香酸)の定量試験について精度管理調査を行った。その結果、4機関の検査結果は良好と判定されたものの1機関においては添加量の10倍の報告値であり、計算または記載の誤りによるものと考えられた。今後このような単純な誤りが起こらないように検査実施から結果報告までの検査体制について検討し、正確な検査が実施できるよう努める必要がある。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」(平成9年3月制定)に基づき、平成8年度

から、県内の水道水質検査を実施する機関を対象に精度管理調査を実施している。今年度は、19機関を対象に、「トリクロロ酢酸」(16機関参加)及び「硝酸態窒素」(19機関参加)の2項目について精度管理調査を行った。

トリクロロ酢酸測定用検体は、当所水道水に、市販トリクロロ酢酸標準液(0.006 mg/L)およびアスコルビン酸ナトリウム(20 mg/L)を添加して作製した。Grubbsの異常値検定(危険率5%)により棄却される機関はなかった。16機関の測定値の平均値±標準偏差は 0.009477 ± 0.000696 mg/L、機関間変動係数は7.3%、機関内変動係数は0.4～34%であった。

硝酸態窒素測定用検体は、当所水道水に、市販硝酸態窒素標準液(0.2 mg/L)およびエチレンジアミン(50 mg/L)を添加して作製した。Grubbsの異常値検定(危険率5%)により棄却される機関はなかった。19機関の測定値の平均値±標準偏差は 0.3746 ± 0.0108 mg/L、機関間変動係数は2.9%、機関内変動係数は0.1～2.6%であった。

環 境 保 健 部

[行政検査]

カドミウム汚染地域住民健康調査(神通川流域住民健康調査)

一次検診：平成9年に環境庁から示された健康調査方式により実施。平成27年度は、対象者1,824名中592名が一次検診を受診した。

精密検診：一次検診の結果、尿中 β 2-マイクログロブリン濃度が5.0 mg/gCr以上の陽性を示した者24名、および平成23年度以降の精密検診対象者310名が平成27年度の精密検診の対象となった。精密検診は、指定医療機関である富山大学附属病院、富山市立富山市民病院、富山県立中央病院の3病院で行われ、152名が受診した。当所では、尿・血液について所定の検査を行った。

管理検診：イタイイタイ病要観察者2名に対して管理検診が実施され、該当する尿及び血液検査を実施した。

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

[調査研究]

有機リン系農薬の代謝物の残留と摂取の可能性に関する研究

有機リン系農薬の職業的な曝露がない人の尿中に観察される代謝物(アルキルリン酸)は、ほとんどが経口摂取に由来すると考えられる。一方で実際に食品から検出された有機リン系農薬の推定摂取量では、尿中の代謝物レベルを説明するのに十分ではないことから、農薬成分ではなく代謝物として日常的に摂取されている可能性について検討するため、食品からのアルキルリン酸の検出法について検討中である。

骨質からアプローチする骨粗鬆症研究

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

平成27年度は厚生連高岡病院健康管理センターの協力のもと、女性165名の調査を実施した。

健康診断受診者におけるインスリン抵抗性の追跡的観察

「肥満体質遺伝子と生活習慣病予防に関する疫学的研究」のこれまでの調査から、成人以降の体重増加、運動不足、早食いや夕食後の間食などの生活習慣を有する者は、インスリン抵抗性の指標が高いことなどがわかった。そこで、継続して健康診断を受診している集団について追跡調査を行い、数年間における生活習慣の変容が糖代謝の指標をどのように変化させるかを明らかにし、インスリン抵抗性改善に効果的な生活習慣について検討することとした。厚生連高岡健康管理センターの協力を得て、H27年12月からH28年2月にかけて職域の健康診断受診者から血液サンプルの提供を受け、271人について血清のインスリンを測定した。このうちH24年度の上記調査に参加し、継続的に健康診断を受診している者で、両年度とも受診した者は男性99人、女性109人の計208人であった。

(9) 検 査 状 況

() 内項目数

部 名	区 分	行政検査	依頼検査
が ん 研 究 部	先天性代謝異常検査	8,777 (184,317)	
	染色体検査	67 (67)	173 (173)
	小 計	8,844 (184,384)	173 (173)
ウ イ ル ス 部	感染源検査	614 (614)	
	血清学的検査	1,238 (2,668)	
	衛生動物等検査	8 (8)	0 (0)
	小 計	1,860 (3,290)	0 (0)
細 菌 部	感染症にかかわる検査	116 (292)	
	食中毒にかかわる検査	11 (143)	
	食品検査	109 (371)	
	水質検査	150 (276)	48 (54)
	小 計	386 (1,082)	48 (54)
化 学 部	食品にかかわる検査	105 (3,068)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	118 (2,718)	36 (504)
	温泉分析	18 (180)	3 (90)
	小 計	256 (5,986)	39 (594)
環 境 保 健 部	カドミウム環境汚染にかかわる 地域住民健康調査等	747 (3,664)	
	小 計	747 (3,664)	0 (0)

検 査 内 容

が ん 研 究 部

() 内項目数

[行政検査]

[依頼検査]

1. 先天性代謝異常検査 8,777 (184,317)

2. 染色体検査

(1) 血液 0 (0)
 (2) 羊水 66 (66)
 (3) 胎児 1 (1)

1. 染色体検査

(1) 血液 18 (18)
 (2) 羊水 92 (92)
 (3) 胎児 63 (63)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査

(1) インフルエンザ	228 (228)
(2) その他ウイルス	148 (148)
(3) リケッチア	10 (10)
(4) 食中毒および集団発生	228 (228)

2. 血清学的検査

(1) インフルエンザ	278 (1,112)
(2) ポリオ	279 (837)
(3) 日本脳炎 ヒト	277 (277)
ブタ	240 (240)
(4) エイズ	141 (141)
(5) その他のウイルス	10 (10)
(6) リケッチア	13 (51)

3. 衛生動物等検査

(1) 衛生・不快動物	8 (8)
(2) 食品混入異物	0 (0)

[依頼検査]

1. 衛生動物等検査

(1) 衛生・不快動物	0 (0)
(2) 食品混入異物	0 (0)

細 菌 部

[行政検査]

1. 感染症にかかわる検査

(1) 結核菌	68 (68)
(2) 腸管出血性大腸菌	29 (186)
(3) 喀痰	18 (36)
(4) その他	1 (2)

2. 食中毒にかかわる検査

(1) 糞便	11 (143)
--------	-----------

3. 食品検査

(1) 収去検査	41 (66)
(2) その他	68 (305)

4. 水質検査

(1) 海水浴場水	80 (100)
(2) 名水	25 (100)
(3) 浴用水	28 (56)
(4) 水道原水	16 (16)
(5) その他	1 (4)

[依頼検査]

1. 水質検査

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

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品成分および添加物	39 (182)
(2) 残留農薬等	44 (2,864)
(3) 重金属類	22 (22)
(4) その他有害物質	0 (0)

2. 家庭用品検査

(1) メチルアルコール	5 (5)
(2) テトラクロロエチレン及び トリクロロエチレン	5 (10)
(3) デイルドリン	5 (5)

3. 水質検査

(1) 水質基準項目	0 (0)
(2) 管理目標設定項目	56 (2039)
(3) 要検討項目	34 (425)
(4) ゴルフ場使用農薬	24 (226)
(5) その他	4 (28)

4. 温泉分析

(1) 中分析	0 (0)
(2) その他	18 (180)

[依頼検査]

1. 水質検査

(1) 水質基準項目	0 (0)
(2) 管理目標設定項目	8 (236)
(3) 要検討項目	4 (42)
(4) ゴルフ場使用農薬	24 (226)
(5) その他	0 (0)

2. 温泉分析

中分析	3 (90)
-----	---------

環 境 保 健 部

[行政検査]

1. カドミウム環境汚染にかかわる地域住民健康調査

(1) 神通川流域住民健康調査	
1次検診 尿検査	592 (1,184)
精密検診 尿, 血液検査	152 (2,432)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診	
尿, 血液検査	2 (32)
(3) イタイイタイ病患者認定申請に基づく検査	
尿, 血液検査	1 (16)

[依頼検査]

(10) 科学研究費補助金等

研究課題	所属	研究者	補助金等事業名
科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する研究	所長室	佐多徹太郎	厚生労働科学研究費補助金(特別研究事業)
地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続的実施のための事業体制の構築に関する研究	細菌部 ウイルス部	佐多徹太郎 磯部 順子 小渕 正次 綿引 正則	厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)
地方衛生研究所の連携による食品由来病原体微生物のゲノム解析に基づく新たな食品の安全確保対策に対する研究	細菌部	佐多徹太郎 綿引 正則	厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
エビデンスに基づくバイオリスク管理の強化と国際標準化及び事故・ヒヤリハット事例の共有データベース構築に関する研究	ウイルス部 他各部	佐多徹太郎 名古屋真弓 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 山下 智富 高森 亮輔 田村 恒介	厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症および予防接種政策推進研究事業)
地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究	ウイルス部	滝澤 剛則 小渕 正次	厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症および予防接種政策推進研究事業)
新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント	ウイルス部	佐多徹太郎 小渕 正次 滝澤 剛則	厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症および予防接種政策推進研究事業)
食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究	ウイルス部	滝澤 剛則 名古屋真弓 稲崎 倫子 板持 雅恵 嶋 一世 長谷川澄代	厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)
薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究	細菌部	綿引 正則 範本 志保 佐多徹太郎	国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)委託費(感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
ゲノム解析に資する下痢原性細菌感染症サーベイランスの強化及びゲノム解析を利用した迅速診断法の開発に向けた研究	細菌部	綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子	国立研究開発法人日本医療研究開発機構(AMED)委託費(感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一	厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)

研 究 課 題	所 属	研 究 者	補助金等事業名
網羅的解析による地域におけるノロウイルスの遺伝子変化の把握と病態との関連	ウイルス部	滝澤 剛則	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究C 研究代表者
集団食中毒事例で検出された新規 Stx2 フェージの機能解析と疫学研究	細菌部	綿引 正則	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究C 研究代表者
金属イオンとの配位を利用した新規分析法の開発－親水性化合物の水環境中での動態解析	化学部	健名 智子	文部科学省（日本学術振興会） 基盤研究C 研究代表者
手足口病の原因ウイルスの抗原性状変化と周期的流行に関する分子疫学的研究	ウイルス部	板持 雅恵	文部科学省（日本学術振興会） 若手研究B 研究代表者
富山県におけるRSウイルス感染症と流行ウイルスの分子疫学	ウイルス部	小渕 正次	公益財団法人 大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成 研究代表者

(11) 講 師 派 遣

主 題	講 師	会 合 名	年 月 日	場 所
狂犬病 ウイルス感染症への対応	佐多徹太郎 滝澤 剛則	ウイルス感染症制御学 講義	平 27. 4. 16	金沢大学
疫学（感染症）	三井千恵子 滝澤 剛則 稲畑 良	保健学科講義	平 27. 6. 4, 6. 11, 6. 18, 6. 26	県総合衛生学院
バイオセーフティ、富山県衛生研究所における実験室診断の実際について	佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則	JICA 国際研修 ベトナム	平 27. 9. 8	富山県衛生研究所
微生物学・感染症	佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 小淵 正次 金谷 潤一 稲畑 良	病態生理・治療論 I	平 27. 9. 10, 9. 17, 9. 24, 10. 1, 10. 6, 10. 15, 10. 22, 10. 29, 11. 5, 11. 12, 11. 19, 11. 26, 11. 29, 12. 3, 12. 10, 12. 17	富山赤十字看護 専門学校
病原体管理の例 病原体管理システム (セッション I 安全管理全般)	綿引 正則	第 15 回日本バイオセーフティ学会総会・ 学術集会プログラム	平 27. 9. 15	日本バイオセーフティ学会
麻疹・風疹検査診断実習 他	小淵 正次	平成 27 年度短期研修 新興再興感染症技術研修	平 27. 10. 6-8	国立感染症研究所
細菌の特性	磯部 順子	富山県消防学校専科教育救急科（第 18 期）	平 28. 11. 10	富山県消防学校
ノロウイルスの流行と遺伝子型	滝澤 剛則	富山市感染症危機管理 医師研修会	平 27. 11. 27	富山市医師会健康 管理センター
注意したい感染症	稲畑 良	黒部市民大学講座	平 27. 11. 29	黒部市立中央公民館
環境汚染と健康影響	金木 潤	きらめきエンジニア事業	平 27. 12. 7	県立富山北部高校
ウイルスの特性	滝澤 剛則	富山県消防学校専科教育救急科（第 18 期）	平 27. 12. 15	富山県消防学校
バイオテロを理解するための微生物の基礎知識細菌の特定について及び汚染時の対応について	綿引 正則 小淵 正次	部外講師を招聘した特別 教養	平 28. 1. 27	富山県警察本部 警備部機動隊
浴用施設におけるシャワー水のレジオネラ属菌分離状況	磯部 順子	平成 27 年度生活衛生 関係技術担当者研修会	平 28. 2. 5	厚生労働省
狂犬病について	稲畑 良	狂犬病予防対策連絡会 議	平 28. 3. 1	富山県農協会館
マダニ・蚊媒介性感染症について	佐賀由美子	狂犬病予防対策連絡会 議	平 28. 3. 1	富山県農協会館
動物由来感染症	稲畑 良	平成 27 年家畜衛生及び公衆衛生に関する研 修会	平 28. 3. 11	富山国際会議場

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研修期間	研 修 内 容	担 当
ミャンマー政府研究者1名 (富山大学のJICA委託事業の一環)	平 27. 4.20-21 4. 27-28	微生物試験に関する技術指導研修	細菌部
平成 27 年度富山県衛生研究所 バイオセーフティ講習会	平 27. 5. 28	バイオセーフティの基礎, 安全 キャビネットの取扱等	バイオセーフティ委員会
厚生センター職員	平 27. 6. 11,25	蚊類調査方法の説明会	ウイルス部
平成 27 年度富山県病原体等の 包装・運搬講習会	平 27. 7. 27	病原体等の包装・運搬に関する講 義及び実習等	バイオセーフティ委員会
海外技術研修員・張肖冰(中華 人民共和国)	平 27. 7. 8 ~ 11. 19	平成 27 年度海外技術研修員専門 研修 微生物検査	細菌部
夏休みこども科学研究室	平 27. 8. 7	ダニ・蚊を知って, 病気を予防し よう!	ウイルス部
川崎市派遣職員 3 名	平 27. 8. 7	当所のバイオセーフティ・バイオ セキュリティ管理について	バイオセーフティ委員会

(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
三井千恵子 佐賀由美子	平 27. 5. 18,19	平成 27 年度病原体等の包装・ 運搬講習会	国立感染症研究所 (東京都)	厚生労働省健康局 結核感染症課
木全 恵子	平 27. 6. 5	厚労省通知法による腸管出 血性大腸菌検査実習	(公社) 日本食品 衛生研究所	国立医薬品食品衛生研 究所 工藤由起子 他
金谷 潤一	平 27. 6. 29-7. 1	バイオセーフティ技術講習会 基礎コース	幕張セミナーハウス	国立感染症研究所 杉山 和良 他
佐多徹太郎 滝澤 剛則 綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子 稲畑 良	平 27. 7. 9,10	衛生微生物技術協議会 第 36 回研究会	仙台国際センター	国立感染症研究所 倉根 一郎 他
金田 英亨	平 27. 8. 22,23	第 22 回臨床細胞遺伝学セミ ナー	家の光会館コンベン ションホール	神奈川県立こども医療 センター 黒澤 健司 他
範本 志保	平 27. 10. 20 ～ 22	平成 27 年度院内感染に関す る薬剤耐性菌の検査に関す る研修	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 細菌第二部
佐賀由美子	平 27. 10. 28	平成 27 年度感染症対策指導 者講習会	岐阜市文化セン ター	公益社団法人 日本ベ ストコントロール協会 谷川 力 他
佐賀由美子	平 27. 10. 30	平成 27 年度動物由来感染症 対策技術研修会	赤坂区民センター	国立感染症研究所 石井 孝司 他
佐賀由美子	平 27. 11. 17,18 平 27.12.16～18	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 沢辺 京子 他
金谷 潤一	平 27. 11. 20	結核菌 VNTR 技術研修会	東京都健康安全研 究センター	長崎大学熱帯医学研究所 和田 崇之 他
田村 恒介	平 27. 12. 3	原子吸光と ICP の上手な使 い方	(株)島津製作所東京 支社	(株)島津総合サービス
健名 智子	平 27. 12. 16	HPLC 基礎講座	ボルファート富山	日本 Waters 株式会社
堀井 裕子	平 28. 2. 10	平成 27 年度地方衛生研究所 全国協議会衛生化学分野 研修会	国立医薬品食品衛 生研究所	川崎市健康安全研究所 赤星 千絵 他
稲畑 良 三井千恵子	平 28. 2. 17,18	希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 倉根 一郎 他
安川 和志	平 28. 3. 10	水道水質検査精度管理に関 する研修会	厚生労働省講堂	厚生労働省健康局水道課 川崎 博康 他
村元 達也	平 28. 3. 11	放射線取扱技術研修会	金沢都ホテル	広島大学自然科学研究 支援開発センターアイ ソトープ総合部門 中島 覚 他
九曜 雅子 西永 真理	平 28. 3. 12	日本マスキング学 会技術部会第 34 回研修会	パレスイン鹿児島	琉球大学医学部小児科 知念 安紹 他

(14) 客員研究員

客員研究員氏名	所属職名	招へい期間	指導内容等
服部 正平	早稲田大学理工学術院 先進理工学研究科 共同先進健康科学教授	10月15日～16日	網羅的ゲノム解析から見えてきた腸内フローラの新たな全体像と生理機能

(15) 研究成果発表会

- 1 日 時 平成 27 年 11 月 13 日（金） 15：00～17：00
- 2 場 所 富山明治安田生命ホール
- 3 対 象 一般県民等 100 名
- 4 研究所の概要紹介 次長 上出 功
- 5 研究成果発表

所属	発表者	演 題
細菌部	綿引 正則	集団食中毒事例で分離された腸管出血性大腸菌の特徴
細菌部	金谷 潤一	富山県における結核菌分子疫学調査
ウイルス部	佐賀 由美子	富山県におけるマダニ・蚊の分布状況と病原体保有状況
ウイルス部	稲崎 倫子	富山県におけるノロウイルス・サポウイルスの検出状況

(16) 試験研究機関研究員交流集会

- 1 日 時 平成 27 年 10 月 29 日（木） 14：00～19：00
- 2 場 所 パレブラン高志会館
- 3 主 催 富山県試験研究機関長会
- 4 研究発表

(1) 口頭発表

所属	発表者	演 題
化学部	山下 智富 安川 和志	3次元流路チップの新規作成法とその応用

(2) ポスター展示

所属	発表者	演 題
環境保健部	小林 直人	骨質からアプローチする骨粗鬆症予防の食習慣

(17) 地方衛生研究所全国協議会

会 合 名		年月日	開催場所	会議出席者等
第1回理事会		平 27. 5.11	東京都健康 安全センター	佐多徹太郎
東海・北陸支部総会	会議主催	平 27. 6.19	富山県民会館	佐多徹太郎 上出 功 中島 敏寛 滝澤 剛則 高田 博司
第2回理事会		平 27. 8.31	東京都	佐多徹太郎
東海北陸支部・ 環境保健部会	会議主催	平 27.10.8-9	パレプラン高志会館 県立イタイイタイ病 資料館	環境保健部（事務局） 佐多徹太郎 上出 功 三井千恵子（研究発表）
第66回総会 学術委員会・精度管 理部会		平 27.11. 2-4	長崎市	佐多徹太郎
東海北陸支部・ 衛生化学部会		平 28. 2. 2-4	岐阜市	高田 博司 安川 和志（研究発表）
東海北陸支部・ 微生物部会		平 28. 3. 3-4	名古屋市	磯部 順子 金谷 潤一 小淵 正次 稲崎 倫子

(18) 各 種 規 程 等

名 称	施 行	最終改正
実験動物管理運営規程・動物実験施設利用規程	昭和 59 年 4 月 1 日	平成 14 年 9 月 1 日
研修生規程	昭和 63 年 4 月 1 日	平成 26 年 4 月 1 日
研修生受入審査会要綱	昭和 63 年 4 月 1 日	平成 26 年 4 月 1 日
病原体等安全管理規程	平成 10 年 4 月 1 日	平成 21 年 6 月 17 日
毒物及び劇物取扱規程	平成 11 年 4 月 1 日	平成 21 年 7 月 1 日
機種選定委員会要綱	平成 13 年 7 月 1 日	
研究評価実施要領	平成 15 年 5 月 28 日	平成 21 年 7 月 31 日
組換え DNA 実験安全管理規程	平成 15 年 9 月 18 日	平成 28 年 3 月 1 日
感染症発生子防規程	平成 19 年 6 月 1 日	
競争的研究資金等に関する取扱規程	平成 19 年 11 月 15 日	平成 26 年 10 月 1 日
放射線障害予防規程	平成 21 年 6 月 15 日	平成 22 年 4 月 1 日
知的財産権検討委員会設置要綱	平成 21 年 8 月 1 日	
競争的研究資金等の不正使用等に関する調査等 実施要綱	平成 26 年 10 月 1 日	
倫理審査要綱	平成 27 年 4 月 1 日	
倫理審査委員会運営要領	平成 27 年 4 月 1 日	
利益相反管理要綱	平成 27 年 4 月 1 日	
研究倫理基準	平成 27 年 12 月 21 日	
競争的研究資金等における研究活動の不正行為 等調査等実施要綱	平成 27 年 12 月 11 日	

2. 調查研究報告

富山県における新生児マススクリーニングの成果について (平成27年度)

九曜 雅子 西永 真理 高森 亮輔 上出 功
角 園子¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture
(Apr.2015-Mar.2016)

Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Ryosuke TAKAMORI, Isao KAMIDE
and Sonoko KADO¹

要 旨 平成 27 年度の検体総数は 8,777 件で、先天性代謝異常症等 19 疾患を対象とした新生児マススクリーニング検査の結果、先天性甲状腺機能低下症（クレチン症：CH）7 人の患者が発見された。このうちの 2 人は、疑陽性で再採血を依頼したが再採血検体が届かなかった未回収例で、医療機関での再検査により患者と判明した例であった。

スクリーニング開始当初から現在までの患者数は、代謝異常症（アミノ酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症、ヒスチジン血症）が 39 年間で 41 人（フェニルケトン尿症 5 人、メイプルシロップ尿症 1 人、VLCAD 欠損症 1 人、ガラクトース血症 1 人、ヒスチジン血症 33 人）、先天性甲状腺機能低下症が 36 年間で 174 人、先天性副腎過形成症が 27 年間で 17 人となった。検査対象外の疾患については、今年度までに、高フェニルアラニン血症 15 人、チロジン血症 2 人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素（G6PD）異常症 2 人、シトリン欠乏症 2 人が発見されている。

全国的に実施されている外部精度管理の結果は、検査精度、結果の判定とも適正であり、事務処理上の誤りもなく、測定精度も問題はないと評価された。

先天性代謝異常マススクリーニングは、昭和 52 年 4 月に厚生省母子保健事業の一環として導入された。実施主体は都道府県および政令市で、代謝異常症等の早期発見、早期治療により心身障害の発生を防止・軽減することを目的としている。

富山県では、昭和 52 年 10 月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等を対象に検査を実施してきた。平成 26 年 3 月からは、厚生労働省の通知 [1] を受けて、タンデムマス法を追加し、スクリーニングの対象疾患は 19 疾患(表 1)となった。これに伴い、富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルが、新たに作成された。また、富山県先天性代謝異常等検査事業検討会が設置され、検査やフォローアップ体制、普及啓発、保健指導等について検討し、事業全体の評価を行っている。

本報では、平成 27 年度のスクリーニング結果について報告する。

実 施 方 法

1. 対象疾患

アミノ酸代謝異常症 5 疾患、有機酸代謝異常症 7 疾患、脂肪酸代謝異常症 4 疾患、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の計 19 疾患（表 1）を対象とした。

2. 対象者

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

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

3. 検査期間

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までの 1 年間

1. 富山県厚生部健康課

の検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

1) アミノ酸代謝異常症 (5 疾患)

有機酸代謝異常症 (7 疾患)

脂肪酸代謝異常症 (4 疾患)

タンデムマス法 (装置: ABSciex 社製 API 3200・SHIMADZU 社製 Prominence-20 シリーズ, 試薬: シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「MS²スクリーニング Neo」, 非誘導体化法 [3]) により, ろ紙血液中のアミノ酸およびアシルカルニチン (表 1) を測定した。データの解析は, ABSciex 社製 ChemoView を使用した。

2) ガラクトース血症

マイクロプレート・酵素法 (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレート GAL」使用) により, ろ紙血液中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には, トランスファープレートを使用する改良法 [4]

を用いた。

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

3) 先天性甲状腺機能低下症

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

4) 先天性副腎過形成症

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

(3) 検体のサンプリング

バーコードを利用した自動サンプリング [7] を行った。

(4) 判定基準

表 1 に示した判定基準に従い, 疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し, 再検査を行った。再検査でも疑陽性となった場合は, 直ちに精密検査機

表 1. 対象疾患および判定基準

疾患名	検査法	指標	再採血カットオフ値		即精密検査カットオフ値	
			(μ mol/L)	アミノ酸(mg/dl)	(μ mol/L)	アミノ酸(mg/dl)
アミノ酸代謝異常症	タンデムマス法	Phe	120	2.0	500	8.3
		Leu+Ile & Val	315 210	4.1 2.5	600	7.9
		Met	67	1.0	340	5.0
		Cit	100		250	
		C3 & C3/C2	3.9 0.24		8.0 0.24	
有機酸代謝異常症	タンデムマス法	C5	1.0		5.0	
		C5-OH	1.25		2.00	
		C5-DC	0.35			
		C8 & C8/C10	0.28 1.2		0.28 1.2	
		C14:1 & C14:1/C2	0.3 0.013		0.3 0.013	
脂肪酸代謝異常症	タンデムマス法	C16-OH & C18:1-OH	0.100 0.100		0.100 0.100	
		C0/(C16+C18)	75		75	

疾患名	検査法	測定物質	再採血カットオフ値	即精密検査カットオフ値
糖代謝異常症	マイクロプレート・酵素法	Gal	3mg/dL	Galが3mg/dL以上かつポイトラー法で蛍光無
	ポイトラー法	Gal-1-P Uridyltransferase	蛍光が微弱または無	
内分泌異常症	エンザイムイムノアッセイ法 (ELISA)	TSH	8 μ U/mL	30 μ U/mL
	エンザイムイムノアッセイ法 (ELISA)	17-OHP	直接法 10ng/mL 抽出法 4ng/mL	直接法 10ng/mL 以上で有症状または抽出法 10ng/mL 以上

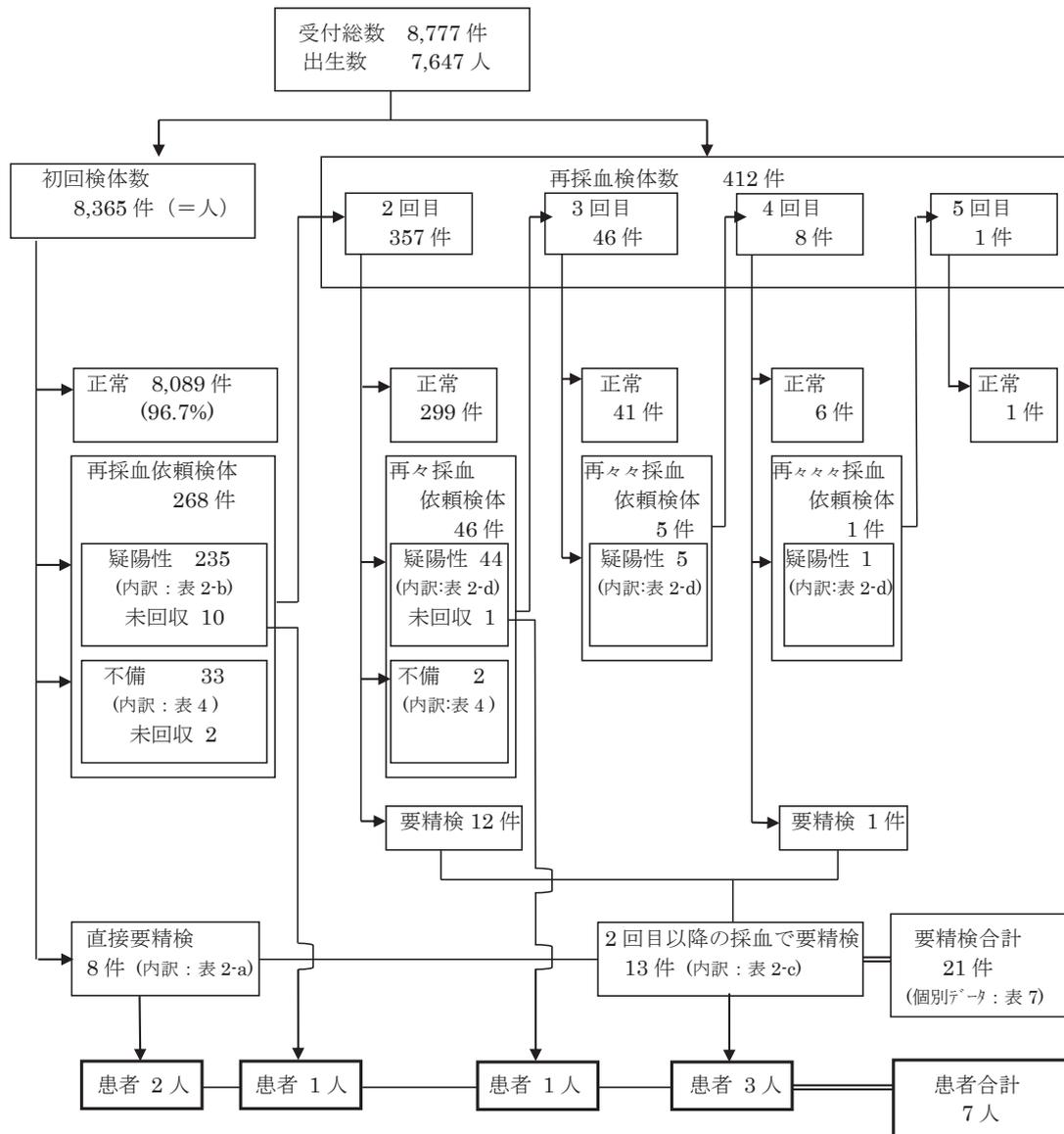


図 1. 検査の流れおよび検査数の概要

関を受診するよう主治医に報告した。緊急に精密検査を要する場合は、初回検査でも、直ちに主治医に連絡し、小児科受診を勧奨した。

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

(5) 結果報告

毎週金曜日に、その前週の月～金曜日に受付したすべての検体の結果個票を各医療機関に郵送した。保護者には、各医療機関から、結果個票の受診者用の部分が渡されることになっている [2]。

(6) データ処理

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

結 果

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、8,777 件で、県内 26 か所の医療機関（おもに産婦人科医院）から送付されてきたものである。

図 1 に検査の流れと検査件数の概要を示した。今年度の出生数は 7,647 人 [8] であり、初回検体数 8,365 件（人）から計算すると受検率は 109.4% となった。100% を超えているのは、県外在住者がいわゆる『里帰り出産』のため県内で出産するケースを含んでいるためと考えられる。また、県内在住者が他県で受検するケースもあることから、正確な受検率は算定できないが、県内で

表 2. 要精検数および疑陽性による再採血依頼数の内訳

[] : 患者数

疾患名	初回検体 8,365 件			再採血検体 412 件		総受付検体 8,777 件		
	直接要精検数 [a]	疑陽性による 再採血依頼数 [b]	再採血率 (%)	要精検数 [c]	疑陽性による 再採血依頼数 [d]	要精検数合計 [a]+[c]	疑陽性による 再採血依頼合計 [b]+[d]	再採血率 (%)
アミノ酸代謝異常症	0	10	0.12	1	1	1	11	0.13
有機酸代謝異常症	0	8	0.10	0	2	0	10	0.11
脂肪酸代謝異常症	2	14	0.17	1	3	3	17	0.19
ガラクトース血症	0	28	0.33	1	3	1	31	0.35
先天性甲状腺機能低下症	3	72 [1]	0.86	8	4 [1]	11 [5]	76	0.87
先天性副腎過形成症 (内 出生体重 2000g 未満児の数)	3 (2)	108 (48)	1.29	2 (1)	40 (34)	5 (3)	148 (82)	1.69
平成 27 年度総計 (内 疑疾患が重複している数)	8	240 [1] 《5》 ¹⁾	2.87	13	53 [1] 《3》 ²⁾	21 [5]	293 《8》	3.34

1) 重複している疑疾患の内訳 : 先天性副腎過形成症+メイプルシロップ尿症 1 件
先天性副腎過形成症+フェニルケトン尿症 2 件
先天性副腎過形成症+ガラクトース血症 1 件
先天性副腎過形成症+先天性甲状腺機能低下症 1 件

2) 重複している疑疾患の内訳 : 先天性副腎過形成症+全身性カルニチン欠乏症 2 件
先天性副腎過形成症+先天性甲状腺機能低下症 1 件
(3 例いずれも初回は先天性副腎過形成症の疑陽性)

出生した新生児はほぼ全員この検査を受けているものと推定される。

初回検体のうち 8,089 件 (96.7%) は正常と判定されたが、235 件 (2.8%) は疑陽性のため、33 件 (0.4%) は血液量の不足等の検体不備の理由で、再採血を依頼した。また、8 件 (0.1%) は初回検査で直ちに精密検査が必要 (直接要精検) と判定された。

再採血検体として受付した 412 件のうちでは、13 件 (3.2%) が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接要精検の 8 件と合わせて 21 件となった。

(2) 疑陽性による再採血

表 2 に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。タンデムマス法によるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症の計 16 疾患の再採血率は 0.43% であった。ガラクトース血症も合わせた代謝異常症の再採血率は 0.78% となった。先天性甲状腺機能低下症は 0.87%、先天性副腎過形成症は 1.69% となり、すべての対象疾患の合計は 3.34% であった。再採血率の目安は、タンデムマス法 16 疾患では 0.1 ~ 0.6% [9]、先天性甲状腺機能低下症は 0.5 ~ 1.0%、先天性副腎過形成症は 0.3 ~ 0.5% [10] とされており、ほぼ適正な再採血率であったが、先天性副腎過形成症の再採血率のみ約 4 倍高くなった。これは、先天性副腎過形成症疑いでの再採血依頼数の半数が低体重児 (出生体重 2,000g 未満の児) であり、副

腎機能が未熟でストレス状態にあるため 17-OHP 値が高くなりやすい例が多かったことが要因のひとつと考えられた。

また、2 疾患以上が重複して疑陽性となった例は 8 件あり、いずれも、副腎過形成症と他の疾患の 2 項目での疑陽性であった。このうち 7 件は低体重もしくは哺乳不能の例であった。疑疾患の 2 項目の内訳は、表 2 の注記に示した。なお、これらについては、表 2、表 5、表 6 の疑陽性数欄のそれぞれの項目に計上した。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は 293 件で、そのうち、平成 28 年 7 月 1 日現在 282 件の再採血検体を回収した。再採血を依頼しても 1 か月以上検体が届かない場合は再依頼しているが、回収率は 96.2% であった。

回収できなかった 11 件のうち、2 件は検査対象疾患以外の理由で亡くなっていた。また、6 件は医療機関 (小児科) で再検査が実施されており、このうち、初回検体と再採血検体で 1 件ずつ 2 件 (人) が先天性甲状腺機能低下症の患者と診断された (図 1、表 2)。

この 2 人の結果および経過を表 3 に示した。症例 1 は、日齢 5 の初回検体で TSH 15.48 μ U/ml (全血値) であり、疑陽性として再採血を依頼した。この値は新生児期の全血中の血清成分と細胞成分の比をもとに血清値に換算すると 24.8 μ U/ml となる。医療機関での検査の結果は、日齢 8 で 48 μ U/ml、日齢 15 で 100 μ U/ml 以上 (いず

表3. 疑陽性で再採血を依頼したが再採血検体が届かなかった未回収例のうち、医療機関での再検査により患者と診断された2症例

症例	日齢	結果および経過
1	5	総合病院産婦人科で採血
	6	検体受付 新生児マススクリーニング結果 TSH 15.48 μ U/ml (全血値)
	8	疑陽性として再採血依頼
	(15)	担当医より連絡)
	8	同病院小児科受診 <u>検査結果 TSH 48 μ U/ml、FT₄、FT₃正常 (血清値)</u>
	15	同科で再検査 <u>検査結果 TSH 100 μ U/ml 以上、FT₄ 0.6ng/dl (血清値)</u> 先天性甲状腺機能低下症として治療開始
2	5	総合病院小児科 NICU で採血
	6	検体受付 新生児マススクリーニング結果 TSH 1.77 μ U/ml (全血値) 低体重児 (1,222g) のため再採血依頼
	31	同科で再採血
	32	検体受付 新生児マススクリーニング結果 TSH 12.44 μ U/ml (全血値)
	34	疑陽性として再々採血依頼
	(44)	担当医より連絡)
		同科で再検査 <u>検査結果 TSH 30 μ U/ml 以上 (血清値)</u> 先天性甲状腺機能低下症として治療中

表4. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

不備理由	初回検体	再採血検体	総数
3日以内に採血	1	0	1
血液量不足	4	0	4
古い	13	0	13
汚染	1	0	1
哺乳不良	14	2	16
合計	33	2	35
その他理由	初回検体	—	総数
低体重	101	—	101

れも血清値)と漸増しており、FT₄値も低下してきたため、患者と診断された。症例2は、初回検体(日齢5)では正常であったが、低体重児のための再採血検体(日齢31)でTSH 12.44 μ U/ml(全血値)(血清値表示では19.9 μ U/ml)と高くなっていたため疑陽性として再々採血を依頼した。医療機関で行われた再々検査の結果、TSHはさらに高値となり、患者として治療が開始された。

(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日以内の採血が1件、血液量の不足は4件であった。また、採血後当所に届くまで7日以上経っている場合は、検体が「古い」ということで再採血を依頼しているが、このような検体が13

件あり、最長10日かかっていた。当所に届くのが遅くなった原因は不明であったが、郵送した検体の追跡ができるように、配達記録や書留速達等を利用する医療機関が増えている。

このような検体不備のために再採血を依頼した検体は35件で、このうち再検査できたのが33件で、回収率は94.3%であった。

また、2,000g未満の低体重児については、①生後1か月時②体重が2,500gに達した時期③医療施設を退院する時期のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している[11]。今年度の初回検体8,365件(人)のうち、低体重児は153人(1.8%)であった。このうち2人は要精検となり、50人は疑陽性として再採血を依頼した。そのため、低体重児を理由として再採血を依頼したのは101人となった。このうちの6人は哺乳不良であった。これらの回収率は100%であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

検査実施状況の月別比較、年度推移並びに全国集計[12]との比較をそれぞれ表5、表6および表8に示した。

富山県における現在までの患者発見率については、ガラクトース血症を含めた代謝異常症の患者数は8人(ヒスチジン血症除く)となり発見率は1/51,900、先天性甲状腺機能低下症は1/2,200、先天性副腎過形成症は1/15,900となった(表8)。先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は、全国と

同様に高かった。

2. 要精密検査者の検査結果

今年度の疑陽性人数は、代謝異常症（アミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症）が 69 人、先天性甲状腺機能低下症が 76 人、先天性副腎過形成症が 148 人であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症 5 人、先天性甲状腺機能低下症 11 人、先天性副腎過形成症 5 人であった。

患者と診断されたのは、表 3 に示した 2 人を含めて先天性甲状腺機能低下症の 7 人であった。

表 7 に要精密検査者の個別の検査状況と結果をまとめた。

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

精密検査結果報告書の回収率は、平成 28 年 7 月 1 日現在、90.5%（19 人 / 21 人）であった。まだ回収できていない 2 人についてはいずれも小児科を受診しており、そのうち 1 人は当所にフォローアップ検体 [13] が届いている。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体は、41 人延べ 82 件であった。また、今年度要精検となった 21 人のうちでは、12 人延べ 23 検体

についてフォローアップ検査を行った。

表 7 の診断名等の欄には、精密検査結果報告書に記載されていた診断名を記した。

要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

(1) 代謝異常症

アミノ酸代謝異常症（メイプルシロップ尿症）の疑いで 1 人、脂肪酸代謝異常症の疑いで 3 人、ガラクトース血症の疑いで 1 人の計 5 人が要精検となった。

脂肪酸代謝異常症の疑いの 3 人について、症例 1 は全身性カルニチン欠乏症疑い、症例 2 と症例 3 は極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症の疑いであった。全身性カルニチン欠乏症はタンデムマス法の 2 次対象疾患であるが、検査指標が異常に低かったことと母親が疾患の保因者の可能性もあることから、疑陽性、要精査の対象とした。

タンデムマス法で要精査となった例（症例 1 ～ 4）については、確定診断のため、精密検査医療機関から福井大学 重松陽介先生（本県先天性代謝異常等検査事業検討会コンサルタント医）に分析を依頼した結果、いずれも異常なしと診断された。

ガラクトース血症の疑いの症例 1 は、Gal が漸増し、日齢 13 で 17.72mg/dl、フォローアップ検体として日齢 22 に採血された検体では 30.24mg/dl と異常高値となっていた。ポイトラー法（UT

表 5. 月別検査実施状況

年	平成 27 年									平成 28 年			計		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受付検体総数 (件)	676	671	747	798	766	738	773	682	755	665	681	825	8,777		
内訳	初回検査数 (件)	642	642	722	762	731	705	736	655	723	624	655	768	8,365	
	再採血総数 (件)	34	29	25	36	35	33	37	27	32	41	26	57	412	
	採血回数	2 回目	29	27	23	32	31	30	34	26	27	33	21	44	357
		3 回目	1	2	2	4	4	3	3	0	5	7	4	11	46
4 回目以上		4	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	2	9	
疑陽性数（要精検査）	アミノ酸代謝異常症	1	0	0	1	0	1	0	0	3	2	1	2(1)	11(1)	
	有機酸代謝異常症	1	0	1	1	2	0	2	0	2	0	1	0	10	
	脂肪酸代謝異常症	3(1)	1(1)	0	1	1	2	1	2	2(1)	1	0	3	17(3)	
	ガラクトース血症	2	0	2	2	2	3	2	1	2	1	6(1)	8	31(1)	
	先天性甲状腺機能低下症	2	5(4)	11	3(1)	5	11(1)	7(1)	4	11(1)	5(1)	3	9(2)	76(11)	
	先天性副腎過形成症	6	11	6	14(1)	9(1)	6(1)	10(1)	11	19	19(1)	18	19	148(5)	
計	15(1)	17(5)	20	22(2)	19(1)	23(2)	22(2)	18	39(2)	28(2)	29(1)	41(3)	293(21)		

表 6. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分 期間	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					代謝 異常症*1)	甲 状 腺 機能低下症	副 腎 過形成症	代謝 異常症*1)	甲 状 腺 機能低下症	副 腎 過形成症
昭和 52 年度 ～54 年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
昭和 55 年度 ～63 年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(27)	130(25)	—
平成元年度 ～21 年度	233,677	219,502	205,871	106.6	2,525	3,060	2,182	182(8)	536(114)	316(12)
平成 22 年度	9,352	8,877	8,252	107.6	36	118	176	7(1)	23(5)	21(0)
平成 23 年度	9,151	8,754	8,013	109.2	26	102	124	3(0)	16(9)	18(2)
平成 24 年度	9,006	8,606	7,885	109.1	33	89	134	4(0)	11(3)	12(0)
平成 25 年度	8,898	8,519	7,855	108.5	56	81	106	5(0)	17(4)	15(3)
平成 26 年度	8,844	8,460	7,697	109.9	51	59	123	7(1)	11(7)	10(0)
平成 27 年度	8,777	8,365	7,647	109.4	69	76	148	5(0)	11(7)	5(0)
計	439,775	414,968	409,864	—	4,869*2)	4,426	2,993	294*2)(41*3)	755(174)	397(17)

() は、対象疾病患者数

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

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

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

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

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

活性)は正常、Gal-1-p は検出されていることから、ガラクトース血症 I 型および II 型は否定されたが、乳糖制限無しでは Gal が高くなることから、経過観察中である。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった 11 人のうち、患者と診断されたのは、症例 1, 4, 5, 8, 10 の 5 人であった。

症例 1 および 5 は、初回検査で TSH 異常高値のため即精密検査となった。

また、症例 4 および 8 については、初回検査で TSH 値がカットオフ値 ($8 \mu\text{U/ml}$) 前後でばらつきが認められた。症例 4 については $4.83 \sim 8.56 \mu\text{U/ml}$ 、症例 8 については $7.86 \sim 9.93 \mu\text{U/ml}$ の間で変動した。しかし、2 例とも再採血検体では TSH 値はかなり高値となっており要精検とした。精検の結果、患者と診断されたが、初回検査での判断によっては見逃す可能性も考えられた。

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となったのは 5 人で、今年度は患者は発見されなかった。2,000g 未満の低出生体重児は 3 人であった。

症例 5 は、経過観察中で定期的にフォローアップ検体が送付されてきて検査を行っているが、17-OHP 値は低下してきている。

その他の症例については、精密検査の結果、異常なしであった。

(4) 対象外疾患

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

3. 精度管理

平成 26 年度から、精度試験 (Quality Control : QC) 用検体と技能試験 (Proficiency Test : PT) 用検体の 2 種類による外部精度管理 [16] が行われている。これによる評価は、タンデムマス法の導入に伴い制定された「タンデムマス・スクリーニングの検査施設基準および検査実施基準」[17] に準拠しているかどうかを判断するための一手段となる。

平成 27 年度は、PT 検体による精度管理が 3 回 (5 月, 7 月, 1 月)、QC 検体による精度管理が 1 回 (11 月) 実施された。今年度の外部精度管理の結果については、検査精度は適正であり、正常・異常の判定も適切で、記入の誤りもなかつ

表 7. 要精密検査者の検査状況と結果(1)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績				診断名
アミノ酸、有機酸、 脂肪酸代謝異常症	1		男	4	C0	6.95 nmol/ml		異常なし	
				9	C0	7.65 nmol/ml			
	2		男	5	C14:1	0.31 nmol/ml	C14:1/C2	0.0160	異常なし
	3		男	4	C14:1	0.49 nmol/ml	C14:1/C2	0.0160	異常なし
	4		女	5	Val	219.7 nmol/ml	Leu+Ile	332.3 nmol/ml	
13				Val	212.4 nmol/ml	Leu+Ile	342.2 nmol/ml		
ガラクトース血症	1		男	5	Gal	5.29 mg/dl	ポイトラー法 正常		経過観察中
				13	Gal	17.72 mg/dl	ポイトラー法 正常		
先天性甲状腺機能低下症	1	*	男	5	TSH	47.23 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				2		男	4	TSH	9.93 μ U/ml
	3		女	5	TSH	21.65 μ U/ml		甲状腺機能低下症疑い (治療有)	
				11		女	11		TSH
	4	*	男	5	TSH	8.56 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				19		男	19		TSH
	5	*	男	4	TSH	121.88 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
	6		男	4	TSH	12.62 μ U/ml		異常なし(経過観察中)	
				8		男	8		TSH
	7		女	4	TSH	57.85 μ U/ml		異常なし	
	8	*	男	5	TSH	9.43 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				14		男	14		TSH
	9		女	4	TSH	24.20 μ U/ml			

表7. 要精密検査者の検査状況と結果(2)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検査成績			診断名	
先天性甲状腺機能低下症	9		女	9	TSH	27.71 μU/ml			
	10	*	女	43	TSH	5.55 μU/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				53	TSH	8.71 μU/ml			
				67	TSH	38.40 μU/ml			
	11		男	4	TSH	8.05 μU/ml		一過性甲状腺機能低下症 疑い	
14				TSH	10.98 μU/ml				
先天性副腎過形成症	1		男	5	170HP直接法	20.64 ng/ml	170HP抽出法	6.47 ng/ml	異常なし 出生体重 1,260g
				40	170HP直接法	43.69 ng/ml	170HP抽出法	20.46 ng/ml	
	2		男	7	170HP直接法	29.73 ng/ml	170HP抽出法	11.17 ng/ml	異常なし 出生体重 1,998g
	3		男	5	170HP直接法	17.71 ng/ml	170HP抽出法	16.84 ng/ml	異常なし 出生体重 1,494g
	4		男	4	170HP直接法	15.08 ng/ml	170HP抽出法	4.20 ng/ml	異常なし 出生体重 2,904g
				11	170HP直接法	24.59 ng/ml	170HP抽出法	4.54 ng/ml	
	5		男	5	170HP直接法	29.25 ng/ml	170HP抽出法	15.12 ng/ml	経過観察中 出生体重 2,880g

表8. マスクリーニングによる富山県および全国の子供患者発見状況

区分	富山県				全国			
	平成27年度		昭和52年度～平成27年度		平成26年度		昭和52年度～平成26年度	
受検者数	8,365人		414,968人		1,075,613人		46,911,337人	
患者数, 発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率
	(人)	(%)	(人)	(%)	(人)	(%)	(人)	(%)
アミノ酸代謝異常症	0	—	6 ²⁾	1/ 69,200	10	1/ 107,600	941	1/ 49,900
アミノ酸代謝異常症(2疾患) ¹⁾	0	—	0	— ⁴⁾	5	1/ 215,100	12	1/ 245,600 ⁸⁾
有機酸代謝異常症	0	—	0	— ⁴⁾	33	1/ 32,600	81	1/ 36,400 ⁹⁾
脂肪酸代謝異常症	0	—	1 ³⁾	1/ 17,500 ⁴⁾	19	1/ 56,600	44	1/ 67,000 ⁹⁾
ガラクトース血症	0	—	1	1/ 415,000	24	1/ 44,800	1,244	1/ 37,700
先天性甲状腺機能低下症	7	1/ 1,200	174	1/ 2,200 ⁵⁾	597	1/ 1,800	14,944	1/ 2,900 ⁹⁾
先天性副腎過形成症	0	—	17	1/ 15,900 ⁶⁾	48	1/ 22,400	1,835	1/ 16,800 ¹⁰⁾
ヒスチジン血症	—	—	33	1/ 6,000 ⁷⁾	—	—	2,200	1/ 9,600 ¹¹⁾

1) シトルリン血症I型, アルギノコハク酸尿症

2) 患者内訳: フェニルケトン尿症 5人, メイプルシロップ尿症 1人

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

4) 平成25年度(平成26年3月)～平成27年度 タンデムマス法受検者数 17,480人

5) 昭和55年度～平成27年度 受検者数 386,518人

6) 平成元年度～平成27年度 受検者数 271,083人

7) 昭和52年度～平成5年度 受検者数 197,180人

8) 平成23年度～平成26年度 タンデムマス法受検者数 2,947,049人

9) 昭和54年度～平成26年度 受検者数 43,537,758人

10) 昭和63年度～平成26年度 受検者数 30,912,833人

11) 昭和52年度～平成4年度 受検者数 21,119,892人

たとの評価であった。また、QC 検体の測定精度にも問題は無いと判定された。

また、昨年度に引き続き、研究レベルでのブラインドサンプルによる外部精度管理 [14, 15] を実施した。今年度は 2 回 (12 月, 2 月), 2 か所の医療機関から検体を送付され, 12 月は TSH 異常検体, 2 月は正常検体であった。TSH の異常は的確に検出され, 報告についても問題はなかったが, 2 月実施の際に検体が『ブラインドサンプルです』のラベル付きの袋に入って届き, 事前に精度管理検体であることが判明してしまった。ブラインドサンプルによる外部精度管理の目的は, 検体送付から受付, 検査, 判定, 結果報告, 結果受領までのすべての工程での精度保証であり, 医療機関とも連携した精度管理体制が必要であると考えられた。

考 察

タンデムマス法が全国すべての自治体で導入されたことにより, どこで子どもが生まれても同じ内容の検査が受けられるようになった。これからは, 検査施設間の差が出ないような適切な検査の実施, 精度保証体制の整備等新生児マススクリーニングの標準化が重要になってきている。そのためには, 適正な再採血率や精査率, 内部精度管理体制, フォローアップ体制等について, 日本マススクリーニング学会で制定されている検査施設基準や検査実施基準 [17,18] に準拠する必要があると考えられる。

例えば, 偽陽性例による再採血率を低くするために, 患者との鑑別が可能となる新たな指標の設定や 2 次検査法等の検討, さらに医療機関やコンサルタント医等との連携による確実なフォローアップ体制の構築等が必要となる。

本県では, タンデムマス法導入を契機に整備された新しい新生児マススクリーニング体制のもとで, 各関係機関が連携して新生児やその保護者をサポートしている。また, 患者を鑑別する検査法の検討も進めており, 新生児マススクリーニングに関する様々な基準に準拠したかたちで精度の高い検査を実施することにより, 母子保健対策に寄与したいと考える。

文 献

1. 雇児母発 0331 第 1 号 厚生労働省雇用均等・

児童家庭局母子保健課長通知 (平成 23 年 3 月 31 日)

2. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 土肥裕美子 (2014). 富山衛研年報, 37, 25-37.
3. 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考 (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21 (3), 13-18.
4. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1 (1), 211-212.
5. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 石丸敏子 (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
6. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三 (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
7. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 吉田智子 (2010). 富山衛研年報, 33, 27-39.
8. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」, http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko160401/jinko160401.html
9. 山口清次 (2012). 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q & A 2012, 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) p14.
10. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿 (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
11. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸苺 創 (2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16 (3), 6-7
12. 先天性代謝異常検査等検査状況 (平成 26 年度) 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課 特殊ミルク情報, 51, 37-40.
13. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 二谷 武, 津幡眞一, 倉本 崇, 齋藤万里子, 三浦正義, 松倉裕喜, 今村博明, 辻 隆男, 吉田智子 (2009). 日本マス・スクリーニング学会誌, 19 (3), 53-62.
14. 原田正平 (2007). 平成 18 年度厚生労働科学研究費補助金 (子ども家庭総合研究事業) 分担研究報告書, 161-164.
15. 鈴木恵美子, 渡辺倫子, 成瀬 浩, 望月孝一, 山上祐次, 安片恭子, 田崎隆二, 九曜雅子, 須山範子, 吉井千代子, 安部真理子, 中村多加良, 栗原秀子, 佐々木純子, 木谷美枝, 松

- 本智津子, 河地 豊, 松崎宏子, 平原史樹, 森 臨太郎, 松井 陽, 原田正平, 山口清次 (2013). 平成 24 年度厚生労働科学研究費補助金 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) 平成 24 年度総括・分担研究報告書, 108-111.
16. 九曜雅子, 米田 豊, 西永真理, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 角 園子 (2015). 富山衛研年報, 38, 25-36.
17. 日本マス・スクリーニング学会精度保証システム委員会, 日本マス・スクリーニング学会技術部会 (2013). 日本マス・スクリーニング学会誌, 23 (3), 85-95.
18. 山口清次, 重松陽介, 河地 豊, 福士 勝 (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21 (3), 7-9.

ヒト血液の染色体分析結果（平成 27 年度）

金田 英亨 高森 亮輔 品川 保弘 上出 功

Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr. 2015 – Mar. 2016)

Hideaki KANEDA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA,
and Isao KAMIDE

要 旨 平成 27 年度の血液の染色体分析依頼数は、18 件であった。全例検査を完了し、2 件に染色体異常（数的異常 1 件、構造異常 1 件）を認めた。検査依頼理由（主訴）の大半は、「不育症関連」であった。

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

一般に出生児の約 0.6% に染色体異常を有しているといわれている [1]。これを富山県に単純に当てはめると、平成 27 年度の出生数が 7,647 人 [2] であることから、約 46 人の染色体異常児が毎年出生することになる。しかし、先天異常を伴う場合には染色体検査を行い、確定診断が行われるが、先天異常を伴わない性染色体異常者や均衡転座保因者では新生児期に発見されないことが多く、長じて、低身長や原発性無月経、習慣性流産を主訴として初めて発見されることが多い。また、分染法の発達と特定の遺伝子近傍の DNA プローブを用いた蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 法の開発により、最近の染色体分析技術は従来に比較し、著しく向上してきており、微細な異常と臨床像をあわせて判定できる範囲が広がってきている現状である。

ここに、平成 27 年度の血液検体の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

主に県内の医療機関より染色体検査依頼のあった末梢血液（ヘパリン採血）を通常の方法により、3～4 日間培養し、染色体標本を作製した。また、染色法は通常の G 分染法と高精度分染法 [3] を併用した。核型分析は中期分裂像を 20 個以上、数の分析は 20 個以上について行った。性染色体異常を疑われた場合はモザイクの可能性を考え、

観察数を 50 個以上に増加した。また、FISH 法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。

詳細な方法等は既年報 [4] に従った。

結 果

血液検体として、血液、臍帯血を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表 1 に示したが、平成 24 年度から依頼件数が大幅に減少したので、参考までに平成 23 年度から平成 26 年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。依頼医療機関数は 4 施設であり、済生会高岡病院からの依頼が 8 件（44.4%）で最多であった。

平成 27 年度の受付件数は 18 件で、内訳は 17 件が血液、1 件が臍帯血であり、受け付けした 18 検体全ての分析を完了した。検査を完了できた検体 18 件中 2 件（11.1%）に染色体異常が認められた。

表 1. 血液の染色体検査依頼医療機関名、件数

医療機関名	H23	H24	H25	H26	H27
富山赤十字病院	9	10	6	8	7
富山市民病院	2	2	2	4	2
済生会高岡病院	10	6	8	2	8
済生会富山病院	0	0	0	2	0
さたけ産婦人科医院	2	0	0	2	0
高岡市民病院	0	0	0	2	0
厚生連高岡病院	2	4	0	0	0
富山大学附属病院	30	1	4	0	1
おとぎの森レディースクリニック	4	0	0	0	0
あわの産婦人科医院	2	0	0	0	0
富山県立中央病院	2	0	0	0	0
高岡市民病院	0	0	2	0	0
レディースクリニックむらた	0	0	1	0	0
計(件)	63	23	23	20	18

検査依頼理由別の依頼件数と異常件数および染色体異常の核型を表2に示した。依頼理由は、原則として検査依頼書の記入内容に依拠した。染色体異常2件の内訳は、数的異常1件、構造異常1件であった。

不育症関連の検体16件(88.9%)は8組の夫婦であり、表3に示した。そのうち染色体異常2件(12.5%)を確認した。夫と妻の平均年齢、平均流産回数は、 33.8 ± 4.1 歳、 35.9 ± 8.7 歳、 2.5 ± 1.1 回であった。

流産胎児由来組織の染色体検査と同時に夫婦の血液検査を依頼された例は6件あった。2件は流産胎児、両親ともに正常核型であった。ほかの2件は両親は正常核型であったが、流産胎児は性染色体数的異常が1件、常染色体数的異常が1件であった。残りの2件は両親と流産胎児の両方に染色体異常が確認された。そのうち1件は妻が[45,XX,der(13;14)(q10;q10)]の転座保因者で、流産胎児が[46,XX,+4,der(13;14)(q10;q10)]であった。もう1件は妻が47,XXXの性染色体数的異常で、流産胎児が47,XY,+22の常染色体数的異常であった。

性染色体異常疑いによる依頼が1件(5.6%)あったが、染色体異常は確認されなかった。

考 察

平成23年度は60件程度あった受付件数が24

年度以降は、およそ1/3の20件程度に減少した。これは、富山大学附属病院からの依頼が減少したことや依頼医療機関数の減少のためであった。

受付検体18件全ての分析を完了することができたが、そのうち2件においては、1回目の培養が、培養不可となる事例があった。これは、採血管の抗凝固剤が原因であった。採血管を調べたところ、抗凝固剤としてヘパリンではなくEDTAが使われており、これにより血小板凝集を起こしたと考えられた。依頼医療機関に事情を説明し、ヘパリン採血で再提出を依頼したところ、問題なく培養することができた。今後は、定期的に各医療機関にヘパリン採血の通知をすること、培養前に提出された採血管の抗凝固剤がヘパリンであるかどうかを確認することで再発防止に努めていきたい。

一般的に、不育症の原因としての染色体異常の比率は、およそ4.6%とされている[5]。今年度の検査によると不育症関連16件のうち2件(12.5%)の染色体異常を確認した。当所の検査で染色体異常の割合が高い理由としては、医療機関における不育症原因探索の過程で他の要因が見つからず、染色体異常のリスクが高いと推定される症例が多いことによると考えられる。

平成27年度は、6組の夫婦とその流産胎児について染色体核型を分析、もしくは比較することができた。流産胎児6件中4件に核型の異常が確認された一方で、そのうち2組の両親は正常核型であり、もう2組は母親に核型異常を認めた。流

表2. 検査依頼理由と検査数, 異常数

依頼理由	検査数	異常数	染色体異常の核型
不育症関連	16	2	
反復流産	10	1	45,XX,der(13;14)(q10;q10)
習慣性流産	4	1	47,XXX
流産原因精査	2	0	
先天異常			
胎児心筋症疑い	1	0	
性染色体異常			
低身長	1	0	
計(人)	18	2	

表3. 不育症関連検体の流産回数と検査件数, 異常数

不育症関連	検査件数	異常数	染色体異常の核型
流産2回	6	0	
生児1人流産2回	2	0	
生児1人流産3回	2	1	45,XX,der(13;14)(q10;q10)
生児1人流産4回	2	0	
生児2人流産1回	2	0	
生児2人流産4回	2	1	47,XXX
計	16	2	

平成 28 年 12 月 1 日

産胎児の染色体検査の場合には、両親の染色体検査も同時に行うことで不育症等の原因が染色体異常に影響する可能性について明確になると考えられた。

当所における検査依頼理由の中で、不育症関連を主訴としたものが最も多く、平成 27 年度は依頼理由中の約 9 割を占め、検査を開始した昭和 48 年度からの総合では約 6 割になった。これは染色体検査開始当初は、先天異常児の原因追求のための検査が大部分を占めたのに対し、最近は挙児を望むための検査が多くなってきたため、近年の少子化、晩婚化による影響も考えられた。また、習慣流産・不育症の原因究明の一つとして夫婦の染色体異常の検索は必要不可欠になってきている。

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

謝 辞

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

文 献

1. 大濱紘三, 三春範夫 (1996). 染色体異常の発生頻度, 64-74, 臨床染色体診断法, 金原出版.
2. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」, http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko160401/jinko160401.html
3. 池内達郎 (1996). 高精度分染法, 144-151, 臨床染色体診断法, 金原出版.
4. 高森亮輔, 林美貴子, 品川保弘, 高田吉弘 (2011). 富山衛研年報, 34, 35-38
5. 斎藤滋 (2012) 反復・習慣流産 (いわゆる「不育症」) の相談対応マニュアル

流産胎児の染色体分析結果(平成 27 年度)

高森 亮輔 品川 保弘 金田 英亨 上出 功

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2015-Mar. 2016)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Hideaki KANEDA,
and Isao KAMIDE

要 旨 平成 27 年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は、64 件であった。そのうち 63 件について検査を完了し、43 件に染色体異常を認めた。検査依頼理由は、流産原因精査、反復流産、不育症などがあつた。

一般に自然流産胎児の約半数に、あるいはそれ以上の頻度で染色体異常が認められるとされているが、これまでの当所での経験からも同様の結果を得ている [1]。流産胎児の染色体異常の有無を検索することは、当該流産のみならず、習慣性流産、反復流産、不育症といった用語で括られる産科領域の疾患の治療および克服に、少なからず情報をもたらす。次回の妊娠およびその継続、さらには出産に向けた指針となりうる。富山県では、総合母子保健対策の一環として昭和 48 年度から染色体検査事業に取り組んでおり、血液および羊水に続いて、昭和 50 年度からは、自然流産胎児の染色体検査を実施している。平成 27 年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

主に県内の医療機関から染色体検査依頼のあつた流産胎児検体を貼り付け法や酵素処理法により、10 日間程度培養し、染色体標本を作製した。また、染色法は通常の G 分染法を併用した。核型分析は中期分裂像を 5 個以上、数の分析は 20 個以上について行った。FISH 法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。詳細な方法等は既年報 [2] に従った。

結 果

1. 依頼医療機関と検体数

流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織、臍帯、皮膚等を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数

を表 1 に示した。参考までに平成 23 年度から平成 27 年度までの依頼医療機関名と依頼件数も示した。平成 23 年度から平成 25 年度までは 50 件前後となっていた受付件数が、平成 26 年度は 68 件、平成 27 年度は 64 件となった。依頼医療機関数は 11 施設であったが、富山大学附属病院からの依頼が 42 件 (65.6%) と多かった。

表 1. 医療機関別検査依頼件数

医療機関名	件数				
	H23	H24	H25	H26	H27
富山大学附属病院	36	29	35	49	42
済生会高岡病院	7	5	7	2	5
富山赤十字病院	3	3	1	4	3
あいARTクリニック	0	0	4	1	3
黒部市民病院	2	0	1	0	3
富山市民病院	1	0	1	1	2
厚生連高岡病院	1	3	1	0	2
さたけ産婦人科	3	0	0	6	1
富山県立中央病院	2	3	3	2	1
市立砺波総合病院	0	0	0	1	1
おとぎの森レディースクリニック (高岡市民病院)	0	1	1	0	1
(済生会富山病院)	0	0	0	1	0
(吉本レディースクリニック)	0	1	0	0	0
計	55	45	55	68	64

2. 検体の内訳

平成 27 年度の受付件数は 64 件で、55 件は絨毛のみ、7 件は絨毛+臍帯、1 件は絨毛+皮膚、1 件は絨毛+臍帯+臍帯血であった。73 検体中 66 検体の分析を完了した。臍帯 5 検体、皮膚 1 検体、臍帯血 1 検体は増殖能力がなく分析を完了できなかった。

3. 検体の週数

依頼された流産胎児の週数は 4 週から 39 週の範囲 (2 件は不明) で、もっとも件数の多かったのは 8 週の 18 件 (全体の 29.0%)、次いで 9 週の 14 件 (22.6%) であった。10 週未満と 10 週以降

表 2. 検査依頼理由，流産回数と検査結果

依頼理由(主訴)	依頼件数	合計流産回数							異常件数	染色体異常の核型
		1	2	3	4	5	6	7		
流産原因精査	25	4	7	12	3	0	0	0	18	47,XX,+2 47,XX,+11 47,XX,+13,der(13;14)(q10;q10) 47,XX,+15[2] 47,XY,+15[3] 47,XY,+16 47,XX,+18[2] 47,XY,+21[2] 47,XX,+22[2] 48,XY,+16,+22 69,XXX 47,XY,+8/46,XY
反復流産	13	0	10	2	0	1	0	0	10	45,X[2] 46,XX,+4,der(13;14)(q10;q10) 47,XX,+16 47,XY,+16 47,XX,+21[2] 47,XX,+22 47,XX,+15/46,XX 47,XX,+22/46,XX
不育症	9	0	0	4	2	2	0	1	5	47,XY,+15 47,XX,+21 47,XX,+22[2] 46,XY,der(10)t(3;10)(q26.2;q25.2)
子宮内胎児死亡	8	4	2	0	1	0	1	0	3	47,XY,+18 47,XY,+21 69,XXX/46,XX
習慣性流産	7	0	1	1	3	2	0	0	7	45,X 46,XY,+9,der(13;14)(q10;q10) 47,XY,+17 47,XY,+21 47,XY,+22[2] 47,XX,+15/46,XX
胎児水腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
合計	63	8	20	20	9	5	1	1	43	

依頼件数: 培養不調のために結果の得られなかった1検体を除く

[2]: 同一核型が2件であることを示す

[3]: 同一核型が3件であることを示す

表 3. 染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数

	異常あり (n=42)	異常なし (n=19)	有意差	在胎週数
流産回数	3.0±1.4	2.5±1.1	-	10.3±5.7
母体年齢	37.6±3.7	34.7±5.2	p < 0.05	15.0±8.7
在胎週数	10.3±5.7	15.0±8.7	p < 0.05	11.7±7.0

* : 結果の得られなかった1検体，在胎週数記入なしの2検体を除いて集計

表 4. 染色体標本作成までの培養日数

															合計	平均日数
	5日	6日	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日	17日			
標本作製1回目	1	1	4	18	16	4	9	4	2	2	0	1	1	63	9.6±2.3	
標本作製2回目*	0	0	0	8	15	7	7	9	4	5	2	0	0	57	10.6±2.0	

注: 培養が不調(増殖不良)のため、標本作製ができなかった1検体を除いて集計

* : 培養が不調(増殖不良)のため、標本作製2回目を行うことができなかった7検体を除いて集計

で2等分すると，10週未満が37件(59.7%)，10週以降が25件(40.3%)であった。10週未満の37件の週数の平均は8.2±1.1週，週数不明の2件を除く62件全体の週数の平均は11.7±7.0週であった。

4. 流産母体年齢

流産母体年齢の平均は36.6±4.4歳であり，最若年齢は25歳，最高年齢は44歳であった。

5. 染色体異常検体の割合

検査を完了できた検体63件中43件(68.3%)に染色体異常が認められた。参考までに，当所での流産胎児染色体検査受付件数は，昭和50年以來41年間で696件を数えるが，分析を完了できた検体649件のうち，異常を確認したのは381件であり，検査完了件数に占める異常検体の確認率は58.7%となっている。

6. 検査依頼理由

検査依頼理由別の依頼件数と流産回数内訳，異

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

7. 染色体異常検体の内訳

染色体異常43件の内訳は，数的異常30件，モザイク5件，ターナー症候群3件，構造異常+数的異常3件，倍数体1件，構造異常1件であった。流産胎児と両親の血液の染色体検査を依頼された例が6件あった。6件中2件は流産胎児，両親ともに正常核型であった。1件は流産胎児が常染色体トリソミー型であり，その両親は正常核型であった。1件は流産胎児が[45,X]であったが，その両親は正常核型であった。

1件は流産胎児が常染色体トリソミー型であり，母親が[47,XXX]であった。

1件は流産胎児が[46,XX,+4,der(13;14)(q10;q10)]であり，母親が[45,XX,der(13;14)

(q10;q10)] の均衡転座保因者であった。

8. 染色体異常と総流産回数、母体年齢、在胎週数の比較

染色体異常の有無と、依頼時の流産を含む総流産回数、検査依頼時の母体年齢、流産確認時までの在胎週数について t 検定を行った。表 3 に示したとおり、母体年齢と在胎週数では有意差を認めた。

9. 検体培養日数

受入検体 64 件の中で検査を施行できた 63 件について、標本作製開始までの培養日数の分布と平均日数を表 4 に示した。標本作製 1 回目は培養 8 日間が多く、平均培養日数は 9.6 ± 2.3 日間（昨年度は 9.6 ± 2.0 日間）であった。また、標本作製 2 回目は培養 9 日間が多く、平均培養日数は 10.6 ± 2.0 日間（昨年度は 10.6 ± 2.0 日間）であった。

10. 検体処理日数

検体受入から、すべての作業工程を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付または手交するまでの日数は、核型判定にまで至った 63 検体についてみると最短で 12 日間、最長で 23 日間、平均は 17.8 ± 2.6 日間であった。前年の平均日数は 18.7 ± 3.1 日間であったことから、およそ 1 日、工程に要する日数を短縮できた。これは、検体の培養日数が短縮されたことや検査担当者の検査処理能力が向上したことに起因するものと思われた。

考 察

平成 23 年度から平成 25 年度までは 50 件前後となっていた受付件数が、平成 26 年度は 68 件、平成 27 年度は 64 件となった。今年度も不育症治療に積極的に取り組んでいる富山大学附属病院からの依頼を中心に、60 件を超える受入れ件数となった。習慣性流産や不育症と診断されながらも挙子を望むカップルは多く、治療方針の策定に有効であるとの観点から、今後も検査依頼件数は高い水準で推移するものと予想されている。

検査を完了した検体のおよそ 6 割に染色体異常を認めたが、この割合は、多くの報告 [3, 4] の記述と合致していた。

一般的に、流産の原因が両親に、とりわけ母体側にあると思われることがまだ多いが、原因が胎児レベルに限局した染色体異常によるものと判明することによって、当事者の精神的な苦痛や負担を軽減されるものと考えられる。平成 27 年度は、6 組の夫婦とその流産胎児について染色体

核型を分析、もしくは比較することができた。流産胎児 6 件中 4 件に核型の異常が確認された一方で、そのうち 2 組の両親は正常核型であり、2 組が母親に核型異常を認めたケースであった。いずれのケースについても、将来的な妊娠およびその継続と挙子の可能性が残されていることが示されたものと考えられる。不育症等で悩むカップルと、これを治療し支えていく医療者サイドの遺伝相談資料として役立つためには、流産胎児の染色体分析実績をさらに積み重ねていかねばならない。そして資料としての精度を高めるためにも、可能であるならばすべての流産胎児検体に関し、ご両親の血液についての染色体検査も並行して実施することが望まれる。

当所では、検体受入れ日から 3 週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を調整しながら作業を進めている。平成 27 年度の実績では平均で 18 日弱となり、前年比でおよそ 1 日短縮できたが、目安とする 3 週間、つまり 21 日以内の結果報告を実現できなかったケースもあった。その大半が短期間に検査依頼が集中したケースであったことから、依頼医療機関に対しては検査の進行予測を説明し、報告日の遅延がありうることを説明した後で受け付けた。検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を少しでも短縮することは、この業務に携わるうえでの重要な課題である。また、流産胎児由来細胞では血液リンパ球や羊水細胞の場合と比較して、分析が容易な染色体標本がコンスタントに作成できているとは未だに言いがたい。培養技術、標本作成技術をみがくことで、核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化が実現されるものと思われる。

文 献

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

羊水細胞の染色体分析結果 (平成 27 年度)

品川 保弘 高森 亮輔 金田 英亨 上出 功

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2015 – Mar. 2016)

Yasuhiro SHINAGAWA, Ryosuke TAKAMORI, Hideaki KANEDA
and Isao KAMIDE

要 旨 平成 27 年度の羊水の染色体検査受付件数は 158 件で、そのうちの 12 件に染色体異常を認めた。主な検査依頼理由は、高齢妊娠、胎児異常疑いであった。

当所では、富山県の総合母子保健対策の一環として昭和 48 年度から血液の染色体検査を開始し、昭和 49 年度からは羊水の染色体検査を実施している。出生前診断領域の一翼を担う羊水検査は、染色体異常に起因する何らかの異常が存在するかどうかを、核型分析により検索し、進行中の妊娠の継続や中断の決定、出生後のケアや治療の方向付けのための判断資料を医療機関に提供することを目的として実施されている。これまでの 41 年間で、2,548 件の検体を対象として検査を実施してきたが、平成 27 年度に受け付けた羊水検体 158 件について、検査状況および結果の概略を報告する。

実 施 方 法

1. 検体の培養方法

羊水細胞の培養は、成書 [1] および当所にて長年採用されてきた方法 [2] を参考にしておこなった。詳細については、既年報 [3] に従った。

2. 染色体標本の作製方法

前項で準備し、培養に供した 1 検体あたり 2 枚のシャーレそれぞれについて、標本を作製した。詳細については、既年報 [3] に従った。

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

3. 試薬および機材等

既年報 [3] に従った。

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

結 果

平成 27 年度に羊水検体についての染色体核型分析検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を、表 1 に示した。計 158 件の検査依頼を受け、月平均は約 13 件であった。参考までに、平成 24 年度から平成 26 年度までに検査依頼のあったすべての医療機関名と依頼件数も示した。平成 27 年度の依頼件数は、平成 24 年度の依頼件数をわずかに上回り、これまでで最多であった。過去 4 年間分を平均すると、年間 146 件余り、月平均は約 12 件であった。

依頼医療機関数は 11 施設で、ここ数年ほぼ同数であり、県内で分娩を取り扱う 25 施設 (1 助産院を除く) のおよそ半数であった。その内訳は、総合病院 12 施設中 9 施設、産科医院 13 施設中 2 施設であった。依頼件数の増加が著しかったのは県立中央病院と富山赤十字病院で、対前年比で、

表 1. 医療機関別検査依頼件数 (H24 ~ 27)

医療機関名	件数			
	H27	H26	H25	H24
県立中央病院	66	42	43	31
富山赤十字病院	27	10	13	20
厚生連高岡病院	19	34	15	21
富山市民病院	13	21	18	17
さたけ産婦人科	10	8	4	7
おとぎの森レディースクリニック	7	15	7	11
済生会高岡病院	7	6	5	14
富山大学附属病院	6	7	3	13
砺波総合病院	1	2	5	1
済生会富山病院	1	2	0	0
高岡市民病院	1	0	1	0
(レディースクリニックむらた)	0	1	1	0
(八尾総合病院)	0	1	0	0
(黒部市民病院)	0	0	8	18
(菅田産婦人科医院)	0	0	0	1
計	158	149	123	154

県立中央病院が24件(57%)、富山赤十字病院が17件(170%)の増加であった。

妊娠週数別の検査依頼件数を表2に示した。16週での依頼が82件で最も多く、全体の51.9%を占めた。次いで17週45件、15週18件であり、この三週での合計145件は全体の91.8%を占めた。最短は15週、最長は32週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表3に示した。40歳での依頼が19件で最も多く、最低年齢は24歳、最高年齢は45歳であった。高齢妊娠の一般的な節目年齢である35歳を基準に6歳刻みで4区分すると、35歳から40歳までが94件で、全体の59.5%を占めていた。35歳以上全体では125件で、全体の79.1%であった。なお、羊水検体受け付けの際に添付される染色体検査依頼書で、検査依頼理由欄に高齢妊娠以外の依頼理由のみが記載されている場合であっても、実際に35歳以上であれば高齢妊娠の区分に含めて解析した。一方、羊水採取時点で34歳である被検査者11名中4名は、分娩予定日が35歳の誕生日以降であり、そのうちの2名については担当医の判断で検査依頼理由に高齢妊娠と明記されていたが、当所におけるこれまでのデータ分析に際しては、常に35歳の誕生日以降の羊水採取を高齢妊娠として取り扱ってきたことから、本報においても、便宜上、35歳をもって高齢妊娠に区分した。

検査依頼理由別の受付件数、核型の異常を確認した検体数、および判定した異常核型を表4に示した。高齢妊娠および、これにその他の依頼理由が付随したものは、表3でも示したとおり125件で、全体の79.1%を占めていた。

母体が35歳未満でありながら、超音波検査等により、胎児に何らかの染色体異常や形態異常が疑われることを主訴とした依頼は19件で、全体の12.0%を占めた。

染色体異常や奇形を有する児の出産あるいは妊娠既往を依頼理由としたのは、35歳未満で3件、

35歳以上でも3件、計6件であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体158件中12件(7.6%)であった。高齢妊娠、つまり35歳以上での検査依頼125件のうち9件(7.2%)に異常を認めた。

胎児異常疑いを主訴とする依頼41件(35歳以上22件、35歳未満19件)中8件(19.5%)に核型異常を確認した。

近年、胎児の染色体異常を疑うきっかけとして大きなウェイトを占めているNT肥厚の記載のある依頼は21件(35歳以上7件、35歳未満14件)であったが、そのうち3件(14.3%)に核型異常を確認した。

母体血液を用いたトリプルマーカーテスト(TM)あるいはクアトロテスト(QT)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が12件(いずれも35歳以上)あったが、高齢かつQTにより染色体異常が疑われた1例と、高齢かつTMおよびNTの二つの要因で異常が疑われた1例の計2件で、異常核型を確認した。

平成27年度に判定した異常核型12件の内訳は、常染色体の数的異常9件(18トリソミー:4件、21トリソミー:5件)、性染色体の数的異常2件(47,XXX:1件、45,X:1件)、常染色体部分欠失1件(46,XX,del(18)(p11))であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表5に示した。各検体から準備されたシャーレ2枚を用いて、標本作製は2回ずつ行われた(一方のシャーレの培養が不調であった1検体については、2回目は行われなかった)が、1回目の標本作製のピークは培養10日目であり、この日を含む前後3日間の総数は118件(74.7%)であった。2回目の標本作製のピークは培養11日目であり、この日を含む前後3日間の総数は、106件(67.5%)であった。平均培養日数は、標本作製1回目が9.9±1.4日、2回目が10.5±1.4日であった。

検体受入から、培養、標本作製、顕微鏡下での

表2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	18	19	20	...	25	...	27	...	29	...	32	合計
件数	18	82	45	4	2	1	...	2	...	1	...	2	...	1	158

表3. 母体年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	24	25	*	27	*	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	合計
件数	1	2	*	3	*	2	3	4	4	3	11	17	12	18	12	16	19	10	15	4	1	1	158
	6(3.8%)			27(17.1%)				94(59.5%)						31(19.6%)									
	33(20.9%)											125(79.1%)											

表 4. 検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
高齢妊娠	125	9	
高齢妊娠	100	4	47,XX,+18, 47,XX,+21【2件】, 47,XY,+21
染色体異常疑い	4	3	47,XX,+18【2件】, 47,XY,+18
QTで染色体異常疑い	6	1	47,XY,+21
TMで染色体異常疑い	5	0	
NT肥厚	5	0	
NT・TMで染色体異常疑い	1	1	47,XY,+21
NT肥厚・奇形疑い	1	0	
染色体異常児出産歴	3	0	
胎児異常疑い	19	3	
NT肥厚	14	2	47,XXX, 46,XX,del(18)(p11)
染色体異常疑い	5	1	45,X
異常児出産・妊娠既往	3	0	
奇形出産歴	1	0	
染色体異常児出産歴	2	0	
本人希望	11	0	
計	158	12	

QT: quatro (marker) test (母体血清4成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)
 TM: triple marker (test) (母体血清3成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)
 NT: nuchal translucency (後頸部低エコー域)

表 5. 培養日数別標本作製件数

培養日数	7日	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	ND	合計	平均日数
1回目	2	22	42	45	31	9	4	3	0	0	158	9.9±1.4
2回目	1	9	28	43	45	18	6	5	2	1	158	10.5±1.4

ND: 増殖が認められず培養を中止. 平均日数の計算には含まず.

表 6. 検査全工程所要日数別件数

日数	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	計
件数	1	2	4	9	16	32	22	19	19	17	10	6	1	158

観察, 写真撮影, 核型分析を経て検査成績報告書を作成し, これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を, 表 6 に示した. 最短で 9 日, 最長で 21 日, 平均は 15.4 ± 2.4 日であった.

以上, 平成 27 年度に当所で実施した羊水の染色体検査について, 概要をまとめた.

考 察

平成 27 年度の検査依頼件数 158 件は, 平成 24 年度の 154 件を上回り, 本検査事業が開始された昭和 49 年度以降の最多を記録した. 医療機関別

にみると, 県立中央病院と富山赤十字病院からの依頼件数の増加傾向が顕著であった. なかでも県立中央病院の依頼件数の増加が著しく, 一医療機関での増加幅としては過去最大であった. また, 年度の全依頼件数に占める割合は 41.8% (66/158) であり, 平成 23 年度以前は 10% 台で推移していた [4] ことを考え合わせると, その背景の検証自体に, なんらかの意義が見出せるものと想定される.

その他の医療機関については, 平成 24 年度以降の推移をみるとほぼ横ばいであったが, 対前年比で見ると, 厚生連高岡病院, 富山市民病院, おとぎの森レディースクリニックの各病医院で減少

傾向が認められた。

県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠満 12 週以降 22 週までの自然および人工死産数も減少傾向にあることから [5]、妊娠数自体も微減傾向にあると推測される。一方、母の年齢階級別出生割合をみると、35 歳以上での出産、いわゆる高齢出産は県内でも着実に増加しており、すでに 27% を超えている [6]。検査依頼件数が平成 25 年度に前年から若干減少したにもかかわらず、平成 26 年度以降、再び増加に転じた背景には、高齢妊娠の増加が密接に関連しているものと考えられる。

出生前診断を目的とする羊水検査は、羊水採取に際しての安全面、培養に必要な細胞数の確保、母体への負荷や精神的なストレスの低減等の観点から、妊娠 16 週前後での実施が最適であるとされているが、当所で受け付けた検査依頼も、16 週のみで過半数、これに前後 1 週ずつを加えた 15 週から 17 週までの三週で、9 割以上を占めた。

母体年齢別の検査依頼件数については、35 歳から 40 歳の年齢階級だけで全体のおよそ 60%、一般的に高齢妊娠という表現が用いられる 35 歳以上の全年齢で 80% 近くを占めていた。

受付検体 158 件のすべてについて検査を完了し、12 件に異常を見出したが、35 歳以上 125 件中の異常核型判定件数は 9 件 (7.2%)、35 歳未満 33 件中の異常核型判定件数は 3 件 (9.1%) であった。

35 歳以上での検査依頼 125 件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのはちょうど 100 件であり、それ以外の 25 件では NT 肥厚や母体血液検査による胎児染色体異常疑い等の依頼理由が加わっていた。高齢妊娠のみで異常核型を認めたケースは、平成 27 年度は 4 件 (4.0%) であり、NT 肥厚その他の依頼理由が付随した場合は 5 件 (20.0%) であった。一般的に 35 歳以上での高齢妊娠において胎児の染色体異常の発生頻度が高まるとされるが、当所で扱った検体に限れば、検査依頼書に記される依頼理由が高齢妊娠のみの場合と比べて、それ以外の依頼理由が付随することで異常核型検出の発生頻度が格段に高まると考えられた。

NT 肥厚を依頼理由とする検体の異常確認率は 14.3% (3 / 21) であったが、35 歳以上で 14.3% (1 / 7)、35 歳未満でも 14.3% (2 / 14) であった。

NT に関して、学会のガイドラインには、「NT 肥厚と胎児形態異常とは関連がある (NT 肥厚が確認された児では染色体異常や心形態異常頻度

が高い)」と明記されているが、正確な判定には、測定された状況が重要であることも記されている [7]。NT 測定は妊娠 11 週 0 日から 13 週 6 日の間に実施するよう推奨されているが、NT 肥厚を主訴とした 21 検体のうち、14 検体は測定週日の記載がなく、記載のあった 7 検体中 3 検体は、10 週時点で測定が行われていた。依頼理由としての NT 肥厚と染色体異常との相関について考察するためには、より詳細なデータの収集とさらなるデータの蓄積が必要と思われる。

平成 27 年度に判定した異常核型 12 件の内訳は、18 番染色体トリソミー 4 件、21 番染色体トリソミー 5 件、性染色体の数的異常 2 件 (47,XXX, 45,X)、常染色体部分欠失 1 件であった。

常染色体部分欠失と判定したケースは、測定週日は不明ながら NT が 10.0mm であり、NT 肥厚を主訴とする 21 検体中、測定数値の記載があった 16 検体のなかでも最大であった。

検体受け入れから染色体標本作製までに要した培養日数のピークは、標本作製 1 回目が 10 日、2 回目が 11 日であった。全検体の平均培養日数は 1 回目が 9.9 日、2 回目が 10.5 日で、平成 24 年度から 26 年度までの 3 年分のデータ (1 回目: 9.1 日、9.8 日、10.3 日、2 回目: 10.7 日、11.2 日、11.3 日) と比較すると有意な差異は認められなかった。

当所では、染色体核型分析の対象となっている羊水、血液、流産胎児絨毛のいずれについても、検体受入れ日から三週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を調整しながら作業を進めている。平成 27 年度の羊水検体 158 件について、その全工程所要日数の平均は、 15.4 ± 2.4 日であった。過去 4 年間については、平成 26 年度 16.6 ± 2.4 日、平成 25 年度 17.8 ± 2.8 日、平成 24 年度 18.9 ± 2.5 日、平成 23 年度 19.1 ± 2.3 日となっていた。培養日数の短縮が図られないにも関わらず、全工程の平均所要日数が 3 年続けておよそ 1 日ずつ短縮された背景として、標本作製後の核型分析技術の習熟による作業効率向上が考えられた。また、染色体核型分析システム Ikaros を用いたパソコン画面上での核型分析・フィルム撮影・印画紙焼付け・染色体切り出しによる核型分析という流れのうち、平成 23 年度までは印画紙からの切り出しによる核型分析に重きがおかれていたのを、平成 24 年度から Ikaros での核型分析に重きをシフトさせたこと、さらに、平成 27 年度の早い時点で、フィルム撮影から焼付け・切

り出しによる分析を廃し、Ikaros での核型分析のみによる作業工程の簡略・省力化を実現したことが挙げられる。

全工程所要日数の着実な短縮化が図られたことにより、目安とする三週間、つまり検体受領から 21 日以内の結果報告を実現できなかったケースは、皆無であった。

標本作製までの平均培養日数を検体別に比較すると、血液は基本的に 3 日、流産胎児絨毛では平成 27 年度実績で、1 回目 9.6 日、2 回目 10.6 日であった[8]。平成 27 年度の羊水では、1 回目 9.9 日、2 回目 10.5 日となり、流産胎児絨毛とほぼ同じであった。

検体の種類に関わらず、検査結果の正確性こそが最重要であるが、血液や流産胎児組織とは大きく異なり、羊水検査に関しては判定結果が妊娠の継続の可否をも左右しかねないゆえに、母体保護ならびに倫理的な観点からも、その迅速性が厳に問われている。それゆえ、検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数をたとえ 1 日でも短縮することは、この業務に携わるものにとっての重要な課題である。平均値としての培養日数の短縮は困難を極めるとしても、検体間で培養日数に 7 日以上もの差異があることも、経験上、歴然たる事実である。羊水量や細胞濃度、培養開始時点でのシャーレへの播種生細胞数と培養日数との相関の有無を明確にすることが、出生前診断において重要な役割を担う染色体検査業務における、今後の課題であろう。

最後に、35 歳以上での出産が想定される場合を高齡妊娠と定義するのが一般的 [9] であるが、上述したとおり、本稿においては便宜上、検査依頼受け付け時点で 35 歳以上の場合を高齡妊娠と

して取り扱っていることを、あらためてお断りしておく。

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

文 献

1. 鈴森薫 (1996) 臨床染色体診断法, 260 - 263. 金原出版
2. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子, 前多隆志 (2010) 富山衛研年報, 33, 54.
3. 品川保弘, 高森亮輔, 西永真理, 齊藤尚仁 (2015) 富山衛研年報, 38, 43 - 44.
4. 品川保弘, 高森亮輔, 林美貴子, 高田吉弘 (2012) 富山衛研年報, 35, 45.
5. 富山県厚生部 (2015) 保健統計年報, 65, 32 - 33.
6. 富山県厚生部健康課 (2016) 母子保健の現況, 11.
7. 公益社団法人日本産科婦人科学会・公益社団法人日本産婦人科医会 (2014) 産婦人科診療ガイドライン-産科編 2014, 89.
8. 高森亮輔, 品川保弘, 金田英亨, 上出 功 (2016) 富山衛研年報, 39, 39 - 41.
9. 日本産科婦人科学会 (2007) 日産婦誌, 59, 7, N-224.

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について(平成27年度)

稲崎 倫子 名古屋真弓 森岡 誠二¹ 佐賀由美子
板持 雅恵 稲畑 良 小渕 正次 滝澤 剛則

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015

Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Seiji MORIOKA¹, Yumiko SAGA,
Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI,
and Takenori TAKIZAWA

要 旨 平成 27 年 4 月から 28 年 3 月までの 1 年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例及び散発例についてまとめた。

当所及び富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生 16 事例からウイルスが検出された。平成 27 年 5 月, 12 月～28 年 3 月の発生が多く, 全体の発生数は例年並みであった。原因と推定されたウイルスの内訳は, NoV Genogroup (G) II が 14 事例, NoV GI が 1 事例, SaV が 1 事例であった。生ガキの喫食があった事例が 3 件あった。カキと関連のない食中毒事例 4 事例は感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。

NoV の遺伝子型は, 集団発生では GII.17, GII.4 の順に多く, 散発例では GII.4 が最も多かった。GII.4 の亜型は Sydney2012 亜型が主であった。

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

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

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

100 個以下で感染・発病させるといわれている [10] ため, 調理従事者が感染すると, その手指を介して食品が NoV で汚染され, 集団食中毒を引き起こすことがある。また, ヒトから排泄された NoV は, 海に入り, カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積されるため [11], 二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方, NoV は食中毒のみならず, ヒトからヒトへ手指等を介して感染し, 散発例, 集団発生なども引き起こしている。

近年, 本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどが NoV によるものであるため [1,12-19], 主に NoV を対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例の調査を実施した。

材料と方法

1. 集団発生事例

平成 27 年 4 月～28 年 3 月までに当所及び富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした。検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生セン

1. 富山市保健所

ター、富山市保健所で実施した。

2. 散発例

平成 27 年 4 月～28 年 3 月までに当所で受け付けた散発例を対象とした。検体採取は各定点医療機関及び管轄厚生センターが実施した。

3. ウイルスの検出

厚生労働省通知 [20] に準じ、糞便からの RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応及び PCR を行った。NoV の検出は、リアルタイム PCR 法及び RT-PCR 法を行った。PCR 産物から、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定した。NoV の型別判定にはカプシド領域を対象とした G1-SKF/G1-SKR, G2-SKF/G2-SKR の部分を用いて、Norovirus Genotyping Tool (<http://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool>) により行い、遺伝子型番号は、新しい遺伝子型分類法 [21] により表記した。

結果および考察

1. 集団発生事例の概要

平成 27 年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生 16 事例のうち、14 事例からウイルスが検出された。これに富山市保健所で検査した事例を加えた計 16 事例の概要を表 1 に示す。原因ウイルスの内訳は NoVGII が 14 事例、NoVGI が 1 事例、SaV が 1 事例であった。NoV の遺伝子型は、

GII.17 (昨年度までの報告における GII/11 に相当) が 8 事例と最も多く、検出時期は平成 27 年 4 月、5 月、28 年 3 月に集中していた。次いで GII.4 (GII/4 に相当) が 6 事例と多く、GI.2 及び GII.3 (順に GI/2, GII/3 に相当) が各 1 事例であった。カキの喫食に関連した事例は 3 件 (No.3, 5, 14) あったが、いずれも食中毒とは判断されず、因果関係は不明であった。その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は 4 件あり、これらは感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。

2. 施設別発生事例数 (図 1)

施設別の発生数は、多い順に飲食店による発生が 4 事例、宿泊施設宴会場が 3 事例、宿泊施設、保育園・幼稚園、福祉施設が各 2 事例であり、前年度に引き続き飲食施設及び宿泊施設における発生が多かった。3 事例では患者が複数施設を利用しており、発生施設が特定されなかった。

3. 月別発生事例数 (図 2)

月別では、平成 27 年 5 月、12 月～28 年 3 月の発生が多く、全体としては例年と同程度であった。

4. 散発例からの遺伝子型別 (表 2)

感染症発生動向調査定点医療機関からの感染性胃腸炎 (主として散発例) より検出された NoV について遺伝子型別を行った。なお、その他の検出ウイルスの詳細については別途示す [22]。最も多かったのは GII.4 であり、GII.17 が最も多かった集団発生事例の状況 (表 1) とは異なっていた。

表 1. 平成 27 年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例No.	発生日	発生/原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源
1	平成27年 4月	保育所	35	NoV GII.17	不明 *
2	5月	ホテル宴会場 県外	6	NoV GII.17	不明
(県内患者のみ)					
3	5月	飲食店	4	NoV GII.17, GII.4	不明
4	5月	宿泊施設	12	NoV GI.2	不明
5	5月	飲食店	2	NoV GII.17	不明
6	9月	不明(複数施設) 県外	18	NoV GII.4	不明 **
7	11月	幼稚園	13	SaV GI.1	ヒト→ヒト
8	12月	旅館宴会場	23	NoV GII.4	不明 *
9	12月	飲食店	6	NoV GII.3	不明
10	平成28年 1月	障害者支援施設	22	NoV GII.4	食品
11	1月	高齢者福祉施設	31	NoV GII.4	食品
12	2月	旅館宴会場	13	NoV GII.4	不明
13	3月	旅館 県外	30	NoV GII.17	食品 **
14	3月	不明(複数施設) 県内・県外	4	NoV GII.17	不明
15	3月	不明(複数施設) 県外	4	NoV GII.17	不明 **
16	3月	飲食店	13	NoV GII.17	食品

*富山市保健所にて検査

**当所及び富山市保健所にて検査

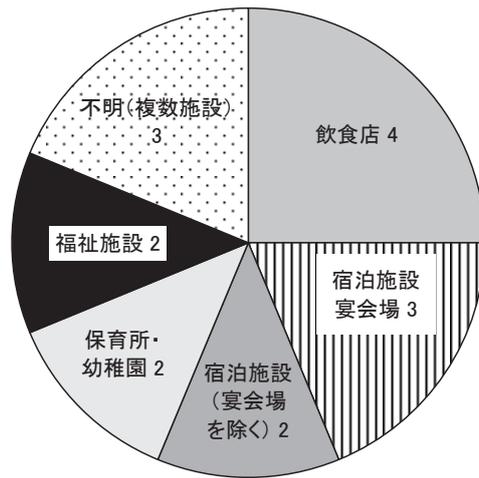


図 1. 集団発生事例の施設別発生数

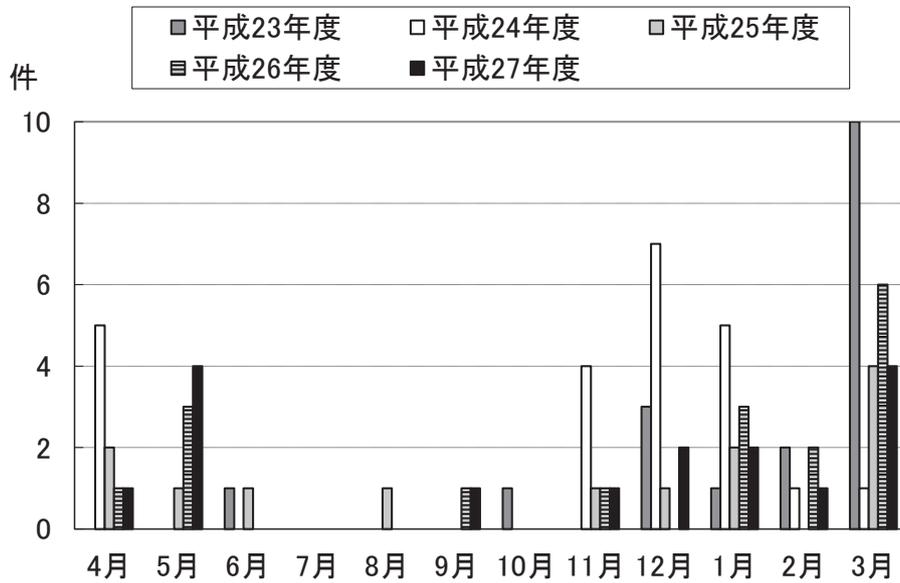


図 2. 年度ごとの月別発生数

表 2. 平成 27 年度の胃腸炎散発例からのノロウイルス検出状況

検出月	NoV型別			計
	GII.4	GII.17	GII型不明	
平成27年				
4月				0
5月		1		1
6月	1			1
7月				0
8月				0
9月				0
10月				0
11月				0
12月	6*	1*	1	8
平成28年				
1月	1			1
2月				0
3月	1			1
計	9	2	1	12

*1件は GII.4 と GII.17 の混合感染

5. NoV の系統樹解析 (図 3)

単一の遺伝子型が原因と考えられた事例のうち、複数の検体から NoV が得られた事例は 13 事例あり、そのうち NoV の塩基配列が 100% 一致していた事例は 9 件 (事例 No.4, 6, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 16) であった。これらは同じ感染源から感染したと考えられた。事例 3 では 1 検体から他の検体と異なる遺伝子型の NoV が検出された。当事例は生岩ガキ喫食事例であることから、複数の遺伝子型の NoV に汚染された岩ガキが感染源である可能性が考えられた。事例 1, 2, 15 では同じ遺伝子型であってもわずかに異なる配列を示す検体が存在した。異なる配列の NoV をもつ患者が他の感染源から感染した可能性も否定できないが、患者の腸内で、NoV がわずかに変異した可能性も考えられた。また、これら 3 事例の遺伝子型はいずれも GII.17 であり、GII.17 は変異しやすいことが示唆される。

NoV GII.17 はこれまで県内における検出例が少なく、平成 26 年以前には平成 25 年 1 月に発生した集団事例 1 件から検出されたのみであった [17] (NoV GII 型不明として報告)。しかし、平成 27 年 3 月より集団事例を中心に検出され始め [19]、平成 27 年度には集団事例検出株の多数を占めた。検出された NoV GII.17 株はいずれも、平成 26 年に報告された GII.17 変異株 (GII. P17-GII.17, 参考株: Kawasaki323/2014/JP, accession no. AB983218) [23] と同一のクラスターに属していたことから、いずれもこの変異株に分類されると考えられた。GII.17 は平成 27 年 1 月以降に国内での広域流行が確認されており [23]、県内においても同様に流行が起きていたと考えられた。この遺伝子型は平成 26 年以前には県内における大流行はなく、免疫を持たない集団が多いと考えられるため、引き続き発生状況に注意していく必要がある。

GII.4 の株は、十分な塩基配列が得られず亜型不明であった散発症例 1 件を除いたすべての検体で Sydney 2012 亜型 (参考株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908 に近縁の株) [24] が検出された。この傾向は、平成 25 年度及び 26 年度の結果 [18, 19] と類似していた。平成 26 年度に検出例のあった 2006b 亜型 [25] は検出されなかった。Sydney 2012 亜型は県内では平成 24 年 11 月に初めて検出された亜型であり、平成 25 年度以降は Sydney 2012 亜型が GII.4 の流行の中心となったと推測された。こ

の亜型は平成 25 ~ 26 年の NoV の主流遺伝子型であり、GII.17 の流行が始まった平成 27 年以降も GII.17 に次いで検出数が多く、引き続き流行型の 1 種であったと考えられた。

ま と め

平成 27 年 4 月から 28 年 3 月までの 1 年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例のうち、16 事例からウイルスが検出された。発生数は例年と同程度であった。検出されたウイルスは、NoVGII が 14 事例と大部分を占め、NoVGI, SaV が各 1 事例であった。

食品を介した感染では、生ガキ喫食関連事例が 3 件、従業員等によって汚染された食品が感染源として推定された事例が 4 件あった。

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

謝 辞

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

文 献

1. 宗玄俊一, 小原真弓, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 滝澤剛則 (2010). 小児感染免疫, 22, 23-28
2. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班: 国立予防衛生研究所 (1995).
3. Ando, T., Noel, J. S., Fankhauser, L. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
4. Vinjé, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. I., Brown, D. W., Koopmans, M. P. (2000). Arch. Virol., 145, 223-241
5. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T. (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
6. Katayama, K., Sirato-Horikoshi, H., Kojima, S., Kageyama, T., Oka, T., Hoshino, F., Fukushi, S., Shinohara, M., Uchida, K., Suzuki, Y., Gojobori, T., Takeda, N. (2002). Virology, 299, 225-223

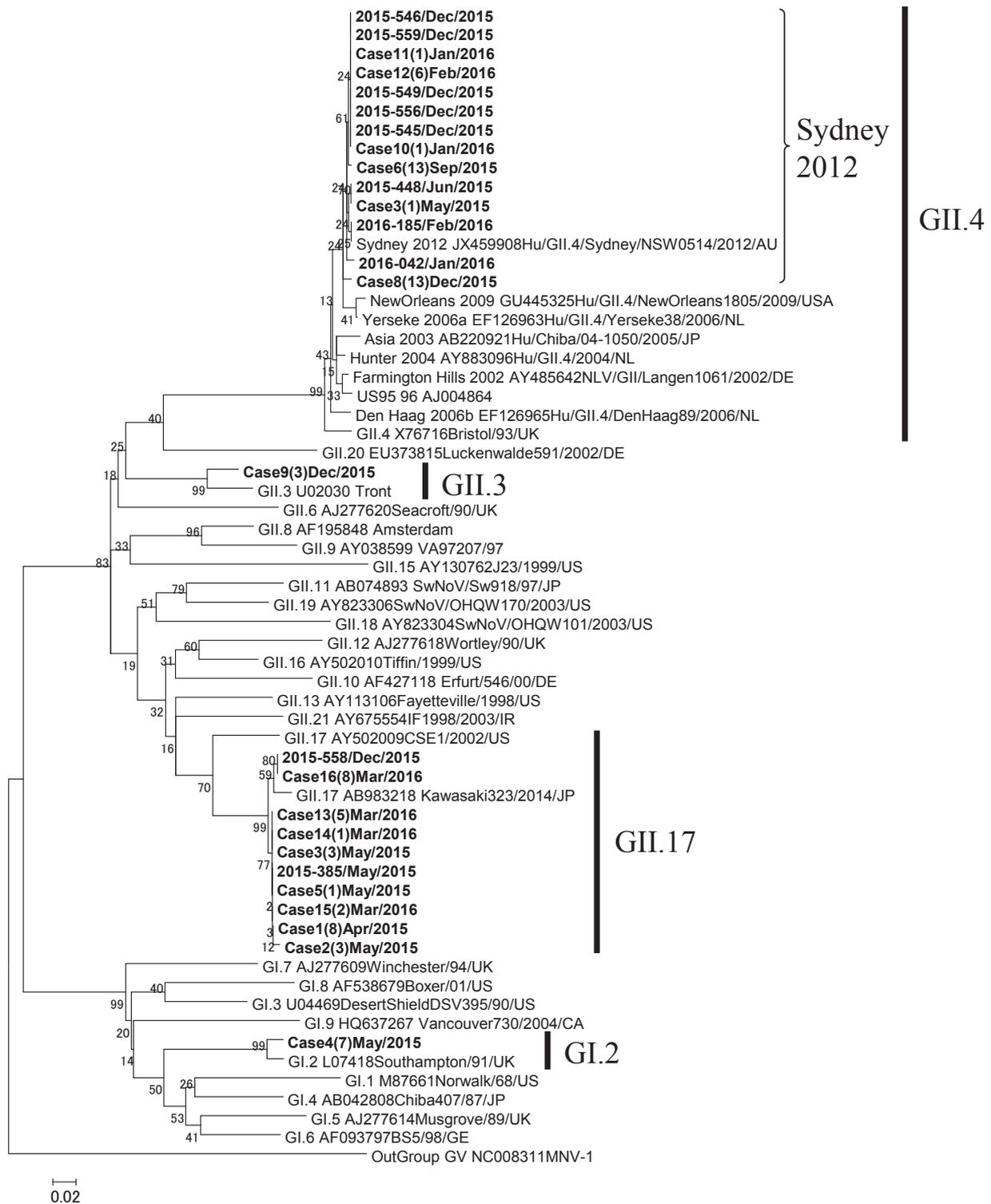


図 3. 平成 27 年度に得られたノロウイルスの系統樹

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

7. 西尾 治, 新川奈緒美 (2002). 日本医事新報, 4105, 6-9
8. 杉枝 正明, 新川奈緒美, 大瀬戸 光明, 徳竹由美, 山口 卓, 秋山美穂, 西尾 治 (2004). 臨床とウイルス, 32, 189-194
9. Obara, M., Hasegawa, S., Iwai, M., Horimoto, E., Nakamura, K., Kurata, T., Saito, N., Oe, H., Takizawa, T. (2008). J. Clin. Microbiol., 46, 3397-3403
10. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R., Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). J. Infect. Dis., 181, S254-261
11. 染谷雄一 (2000). ウイルス, 50, 173-184
12. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則 (2008). 富山衛研年報, 31, 104-110
13. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則 (2009). 富山衛研年報, 32, 90-96
14. 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 中村一哉, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 倉田 毅, 滝澤剛則 (2010). 富山衛研年報, 33, 97-102
15. 小原真弓, 森岡誠二, 小渕正次, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 滝澤剛則 (2011). 富山衛研年報, 34, 74-79
16. 名古屋(小原)真弓, 森岡誠二, 堀元栄詞, 板持(岩井)雅恵, 小渕正次, 滝澤剛則 (2012). 富山衛研年報, 35, 74-79
17. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 石田 徹, 堀元栄詞, 小渕正次, 嶋 一世, 板持雅恵, 滝澤剛則 (2013). 富山衛研年報, 36, 51-57
18. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 石田 徹, 堀元栄詞, 小渕正次, 嶋 一世, 板持雅恵, 滝澤剛則 (2014). 富山衛研年報, 37, 53-59
19. 稲崎倫子, 森岡誠二, 稲畑 良, 小渕正次, 嶋 一世, 長谷川澄代, 板持雅恵, 滝澤剛則 (2015). 富山衛研年報, 38, 49-54
20. 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.
21. 片山和彦, 木村博一. ノーウォークウイルス(ノロウイルス)の遺伝子型(2015年改訂版). 2015. <http://www.nih.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html> (2016年6月30日アクセス可能)
22. 板持雅恵, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 佐賀由美子, 稲畑 良, 小渕正次, 滝澤剛則 (2016). 富山衛研年報, 39, 90-92
23. 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 駒根綾子, 清水英明, 松尾千秋, 三崎貴子, 岡部信彦, 篠原美千子, 峯岸俊貴, 他 (2015). 病原微生物検出状況 (IASR), 36 : 427, 175-178.
24. 田村 務, 渡邊香奈子, 田澤 崇, 渡部 香, 広川智香, 吉澄志磨, 横井 一, 森 功次, 入谷展弘, 藤井慶樹, 木内郁代, 加藤聖紀, 仁平 稔, 野田 衛 (2012). 病原微生物検出状況 (IASR), 33 : 394, 333-334
25. Motomura, K., Oka, T., Yokoyama, M., Nakamura, H., Mori, H., Ode, H., Hansman, G. S., Katayama, K., Kanda, T., Tanaka, T., Takeda, N., Sato, H. (2008). J. Virol., 82, 11247-11262

非典型的な発疹症状を呈する手足口病を起こした コクサッキーウイルス A6 型の分子疫学および血清疫学

板持 雅恵 稲畑 良 稲崎 倫子 名古屋真弓
佐賀由美子 小渕 正次 滝澤 剛則

Morecular and serological epidemiology of coxackievirus A6 caused atypical hand,
foot and mouth disease in Toyama Prefecture

Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA,
Yumiko SAGA, Masatsugu OBUCHI, and Takenori TAKIZAWA

要 旨 全国的にコクサッキーウイルス A6 型による非典型的な発疹症状を呈する手足口病が流行した 2011 年に、富山県においても手足口病が流行し、患者からコクサッキーウイルス A6 型が検出された。これらのウイルスについて、GenBank から得られた国内外 38 株のコクサッキーウイルス A6 型と VP1 領域遺伝子を比較したところ、富山県で検出されたウイルスは、2008 年以降に世界各地で非典型的な手足口病患者から検出されたウイルスと同じクラスターに属し、相同性が高かった（一致率 93% 以上）。一方、流行要因を調べるためにコクサッキーウイルス A6 型の血清疫学調査を実施したところ、コクサッキーウイルス A6 型に対して 4 倍以上の抗体価を保有する割合は、2007 年では 0-1 歳が 35.7%、2-3 歳が 66.7%、4-6 歳が 50%、2009 年では、0-1 歳が 0%、2-3 歳が 22.2%、4-6 歳が 38.5% と、2009 年の方が 2007 年よりも抗体保有率が顕著に低かった。これらのことから、コクサッキーウイルス A6 型の流行が富山県でも発生したのは、2009 年の 0～6 歳における抗体保有率の低さが一因と考えられた。

コクサッキーウイルス A6 型は、ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属し、接触感染や糞口感染によって感染する [1]。コクサッキーウイルス A6 型はヘルパンギーナの原因として知られており、全国の感染症発生動向調査病原体検査において毎年のように検出が報告されている [2]。一方、手足口病は、手足や口内に水疱性の発疹が生じる疾患であり、主な原因はコクサッキーウイルス A16 型やエンテロウイルス 71 型であった [3]。しかしながら、コクサッキーウイルス A6 型による手足口病が 2008 年にフィンランド [4] やスペイン [5, 6]、2010 年にフランス [7] や台湾 [8]、2011-2012 年にアメリカ [9]、2012 年にタイ [10]、2012-2013 年に中国 [11]、2014 年にイギリス [12] 等、世界各地で発生した。国内では 2011 年の夏にコクサッキーウイルス A6 型による手足口病例が急増した [3, 13-24]。手足口病の典型的な症状は、発熱、食欲不振、のどの痛み等で始まり、発熱から 2 日ぐらい過ぎた頃から、手掌、足底にやや紅暈を伴う小水疱が多発し、舌

や口腔粘膜に浅いびらんアフタを生じる。水疱はやや楕円形を呈し、臀部、膝部などに紅色の小丘疹が散在することもある。皮疹は 1 週間から 10 日で自然消退する [14, 25]。一方、コクサッキーウイルス A6 型による手足口病は、水疱が従来の手足口病より大きい場合があり（10mm 以上に及ぶものもある）、大腿部、体幹等、体の広範囲に出現することが報告されている [8, 11-14, 24, 26]。また、回復後に爪甲が脱落する例も報告されている [4-6, 8, 27]。富山県においても、2011 年夏に手足口病が流行し、その発疹症状が非典型的であること（皮疹が全身性に拡がりを認める例）が多かった [28]。そこで、富山県における手足口病の流行の要因や国内外における流行との関連性を解析するために、手足口病患者から検出されたコクサッキーウイルス A6 型の VP1 領域遺伝子解析、及び流行前後の富山県住民の血清疫学調査を実施したので報告する。

材料と方法

1. 手足口病患者発生状況

過去 10 年間（2006 年から 2015 年まで）の富山県における手足口病患者数は、感染症発生動向調査として富山県内の 29 小児科定点医療機関から毎週報告される報告数を集計した。

2. 手足口病ウイルスの検出と遺伝子解析

(1) 検体

2006 年から 2015 年に、県内の 5 医療機関（富山市 2 医院、1 病院、高岡市 1 医院、砺波市 1 医院）から検査依頼を受けた手足口病 123 症例（糞便 97、鼻腔または咽頭拭い液 108、水疱内容物 13、爪甲 2）について検査を行った。

(2) 手足口病患者からのウイルス検出

糞便及び爪甲は、Eagle MEM（日水製薬 K.K.）を加えて 10% 乳剤とし、8,000 回転 1 分間遠心した上清をフィルター濾過して雑菌を除いた。鼻腔または咽頭拭い液、及び水疱内容物は、ブイヨンを加えて攪拌後、8,000 回転 1 分間遠心した上清をフィルター濾過して雑菌を除いた。これらの検体は、遺伝子解析用に RNA を抽出するとともに、ウイルス分離用に、24 ウェルプレートに培養した Vero, MA104, RD 細胞（国立感染症研究所及び鳥取県衛生環境研究所より分与）に 0.1ml ずつ接種した。分離されたウイルスは、抗エンテロウイルスプール血清（国立感染症研究所分与およびデンカ生研）、エンテロウイルス単味抗血清（デンカ生研）を用いた中和試験により同定した。

(3) コクサッキーウイルス A6 の遺伝子解析

検体または分離株から RNA 抽出キット（QIAamp Viral RNA Mini Kit, QIAGEN）を用いて RNA を抽出した。抽出 RNA にランダムプライマーまたはプライマー AN32-35 [29] および RT reagent kit（TaKaRa）を加え、逆転写反応で cDNA を合成後、ExTaq（TaKaRa）を用いて Polymerase chain reaction（PCR）を行った。PCR プライマーは、Oberste らの 189, 011 [30] および Nix らの 224, 222, AN89, AN88 [29] を用いた。得られた PCR 産物を精製し、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。得られた VP1 領域 915 塩基（Gdula の Position: 2441-3355）について、MEGA5 [31] を用いて、標準株（Gdula）及び国内外のコクサッキーウイルス A6 型 38 株の塩基配列 [4, 5, 7, 13, 26, 32-36] とアライメントを行った。進化距離は Kimura-2-parameter 法を用いて計算し、Neighbor-joining 法により分子

系統樹を作成した。GenBank から得た国内外のコクサッキーウイルス A6 型は、株名をアクセッション番号/株番号/国または都市/年で表した。

3. 富山県住民の血清中のコクサッキーウイルス A6 型に対する中和抗体の測定

(1) 検体

2007 年、2009 年、2011 年、2013 年にそれぞれ 189 名、224 名、250 名、299 名、合計 962 名の富山県住民の血清を用いた。血清の年齢分布を表 1 に示す。

表 1. 中和抗体測定用の血清検体数

年齢 (歳)	検体数			
	2007 年	2009 年	2011 年	2013 年
0-1	14	21	20	25
2-3	12	18	20	22
4-6	14	13	13	14
7-9	9	12	14	13
10-14	20	20	20	21
15-19	20	20	20	22
20-29	21	20	40	56
30-39	19	40	35	41
40-49	20	20	23	36
50-59	20	20	22	26
60-	20	20	23	23
計	189	224	250	299

血清は感染症流行予測調査事業により採血後保存されたものであり、調査内容は富山県衛生研究所倫理審査委員会により承認を受けた（承認番号:H22-2）。

(2) 中和抗体測定方法

血清を Eagle-MEM で 4 倍希釈し、56℃ 30 分間非働化した後、その 25 μ l を 96 穴マイクロプレート上で 2 段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μ l のコクサッキーウイルス A6 型（富山県分離株 2011-520-NP）を 25 μ l 加えてよく混和し、37℃ 3 時間の中和反応を行った。中和後、RD 細胞の浮遊液（1～2 × 10⁵ 細胞/ml）を 100 μ l ずつ加え、37℃、5%CO₂ 条件下で培養した。1 週間観察し、50% の細胞変性効果を示した血清の最高希釈倍数の逆数を中和抗体価とし、中和抗体価 4 倍以上を陽性とした。各血清は同時に 2 回ずつ測定した。

結 果

1. 手足口病患者発生状況

2006年から2015年までの富山県における週別1小児科定点医療機関あたりの手足口病患者数を図1Aに示す。手足口病の患者数は、2015年に最も多く(計3360名, ピークは第31週: 11.1人/定点), 次いで2013年(計3063名, ピークは第29週7.62人/定点), 2011年(計2398名, ピークは第35週8.69人/定点)だった。一方, 2009年, 2012年, 2014年は患者数が少なかった(それぞれ計313名, 681名, 604名)。2006年から2015年までの手足口病患者の年齢分布を図1Bに

示す。いずれの年も, 0歳から3歳が患者の6割から8割を占めた。また, 20歳から29歳の親世代も各年2名から32名が手足口病患者として報告された。

2. 手足口病患者からのウイルス検出状況

2006年から2015年までの富山県における手足口病患者からのウイルス検出状況を図1Cに示す。手足口病123症例のうち, 105症例からウイルスが検出された。内訳は, コクサッキーウイルスA6型が42症例, コクサッキーウイルスA10型が2症例, コクサッキーウイルスA16型が40症例, エンテロウイルス71型が18症例, コクサッキーウイルスB2型が1症例, エコーウイル

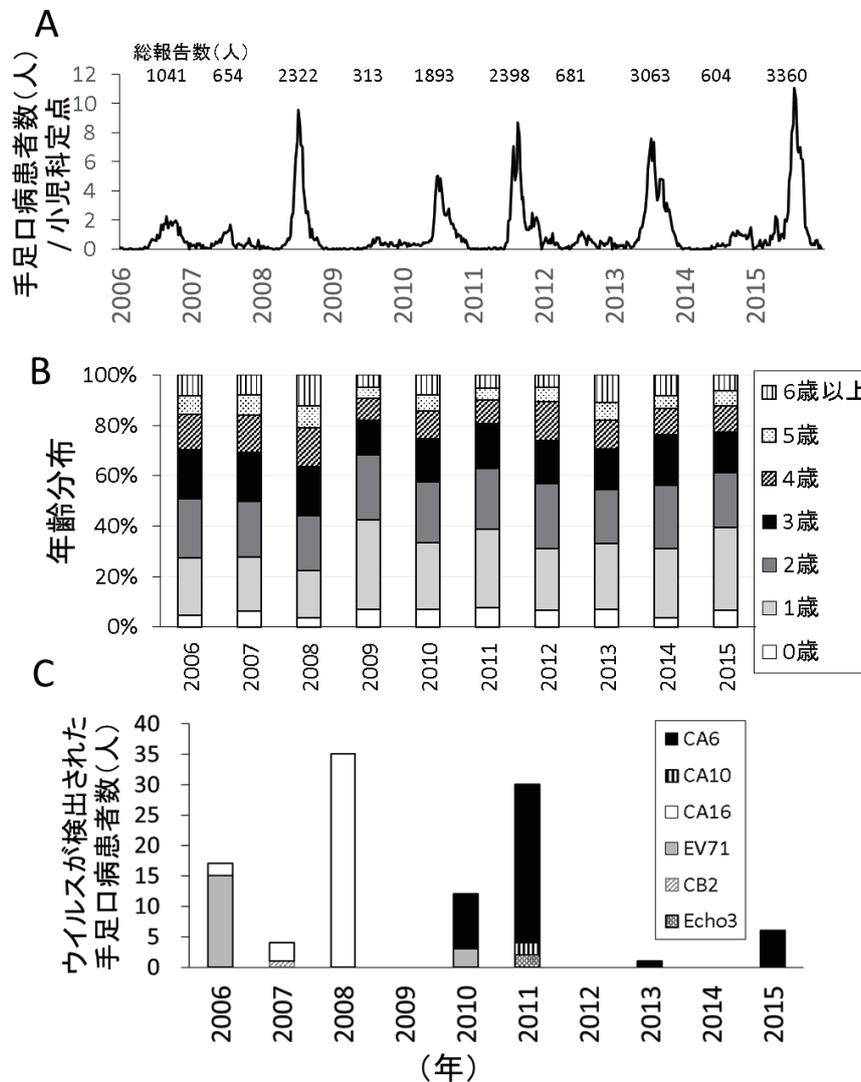


図 1. 富山県における手足口病の発生状況 (2006-2015年)

1-A, 週別1定点医療機関あたりの手足口病患者数。1-B, 手足口病患者の年齢分布。1-C, 手足口病患者から検出されたウイルスの種類。CA6:コクサッキーウイルスA6型, EV71:エンテロウイルス71型, CB2:コクサッキーウイルスB2型, Echo3:エコーウイルス3型。

ス 3 型が 2 症例であった。コクサッキーウイルス A16 型, エンテロウイルス 71 型, コクサッキーウイルス B2 型, エコーウイルス 3 型はすべて細胞培養法で分離された。コクサッキーウイルス A6 型は 3 株が RD 細胞で分離されたが, それ以外は PCR 法で検出された。年別では, コクサッキーウイルス A6 型は, 2010 年, 2011 年, 2013 年, 2015 年にそれぞれ 8 名, 26 名, 1 名, 6 名の手足口病患者から検出され (図 1C), また, 2010 年にはヘルパンギーナ患者 1 名 (1 歳男児) から検出された。

表 2 に富山県において検出されたコクサッキーウイルス A6 型, A16 型, エンテロウイルス 71 型について, ウイルス別の症例数を示す。コクサッキーウイルス A6 型が検出された患者の年齢は 0 歳 5 名 (月齢 6 ~ 11 か月), 1 歳 22 名, 2 歳 9 名, 3 歳 3 名, 5 歳 2 名, 7 歳 1 名であり, コクサッキーウイルス A16 型やエンテロウイルス 71 型検出例に比べて 1 歳児の割合が多く, 年齢が低かった。男女別では男 22 名, 女 20 名であった。検査材料別では, 糞便 28, 鼻腔または咽頭拭い液 34, 爪 1 検体であった。

表 2. ウイルス別の症例数 (2006-2015 年)

	CA6	CA16	EV71
手足口病	42	40	18
ヘルパンギーナ	1		
無菌性髄膜炎			2
0 歳	5	2	1
1 歳	22	8	5
2 歳	9	7	3
3 歳	3	10	1
4 歳		3	2
5 歳	2	7	5
6 歳以上	1	3	2
男	22	23	14
女	20	17	6
糞便	28	38	15
鼻腔/咽頭拭液	34	30	16
水疱内容物		8	1
その他	1 (爪)		1 (髄液)

CA6: コクサッキーウイルス A6 型, EV71: エンテロウイルス 71 型

3. コクサッキーウイルス A6 型検出例の臨床症状

表 3 に富山県における 2010 年から 2015 年までのコクサッキーウイルス A6 型感染症例の臨床症状を示す。コクサッキーウイルス A6 型が検出された手足口病患者 42 名中, 典型例 (皮疹が米粒大前後の紅暈を伴う小水疱や赤色丘疹の症例) 6 名, 非典型例 (皮疹が全身性に拡がりを認める症

例) 21 名, 典型/非典型の記載なし 15 名であった。38℃ 以上の発熱がみられた患者は 32 名 (76.2%) であった。非典型例の手掌, 足底・下腿, 口内以外の発疹の部位は, 上腕・腕が 5 名, 大腿 8 名, 臀部 9 名, 軀幹 (腹・背中) 6 名であった。口腔内に発疹が認められなかった患者は 6 名であった。その他, 手足口病治癒後 2-3 週間後に爪甲が脱落した例が 2 例みられた。下痢症状を呈した 2 名では, 他の胃腸炎ウイルス (ノロウイルス, サポウイルス, アデノウイルス, アストロウイルス) は検出されなかった。

表 3. コクサッキーウイルス A6 型感染症例の臨床症状

臨床診断名	症状	発疹の部位	症例数
手足口病			42
	発熱(38℃以上)		32
	発疹		42
		手	35
		上腕・腕	5
		足底・下腿	37
		大腿	8
		ひざ	2
		口内	37
		口唇周囲	1
		顔	1
		臀部	9
		軀幹(腹・背中)	6
		肛門周辺	2
		頭皮	1
		足先の皮むけ	1
		爪甲脱落	2
		下痢	2
ヘルパンギーナ			1

4. コクサッキーウイルス A6 型の遺伝子解析

富山県において検出されたコクサッキーウイルス A6 型と国内外のウイルスとの関連性を調べるために, ウイルス表面のカプシドタンパク質をコードする VP1 領域の 915 塩基(Gdula [GenBank アクセッション番号 AY421764] の Position: 2441-3355) を比較した。図 2 に VP1 領域塩基配列の分子系統樹を示す。2010 年から 2015 年の富山県において検出されたコクサッキーウイルス A6 型の塩基配列は, 93.6% から 100% の一致率であり, 2008 年以降に国内外で非典型的な手足口病を起こしたコクサッキーウイルス A6 型と系統樹上の同じクラスターに属した (一致率: 93% 以上)。富山県における検出ウイルスと標準株 Gdula の塩基配列は 82.0% から 84.0% の一致率であった。2010 年にヘルパンギーナ患者と手足口病患者からそれぞれ検出されたコクサッキーウイルス A6 型は, VP1 領域の塩基配列には差がみられなかった。また, 非典型的な発疹症状を呈した

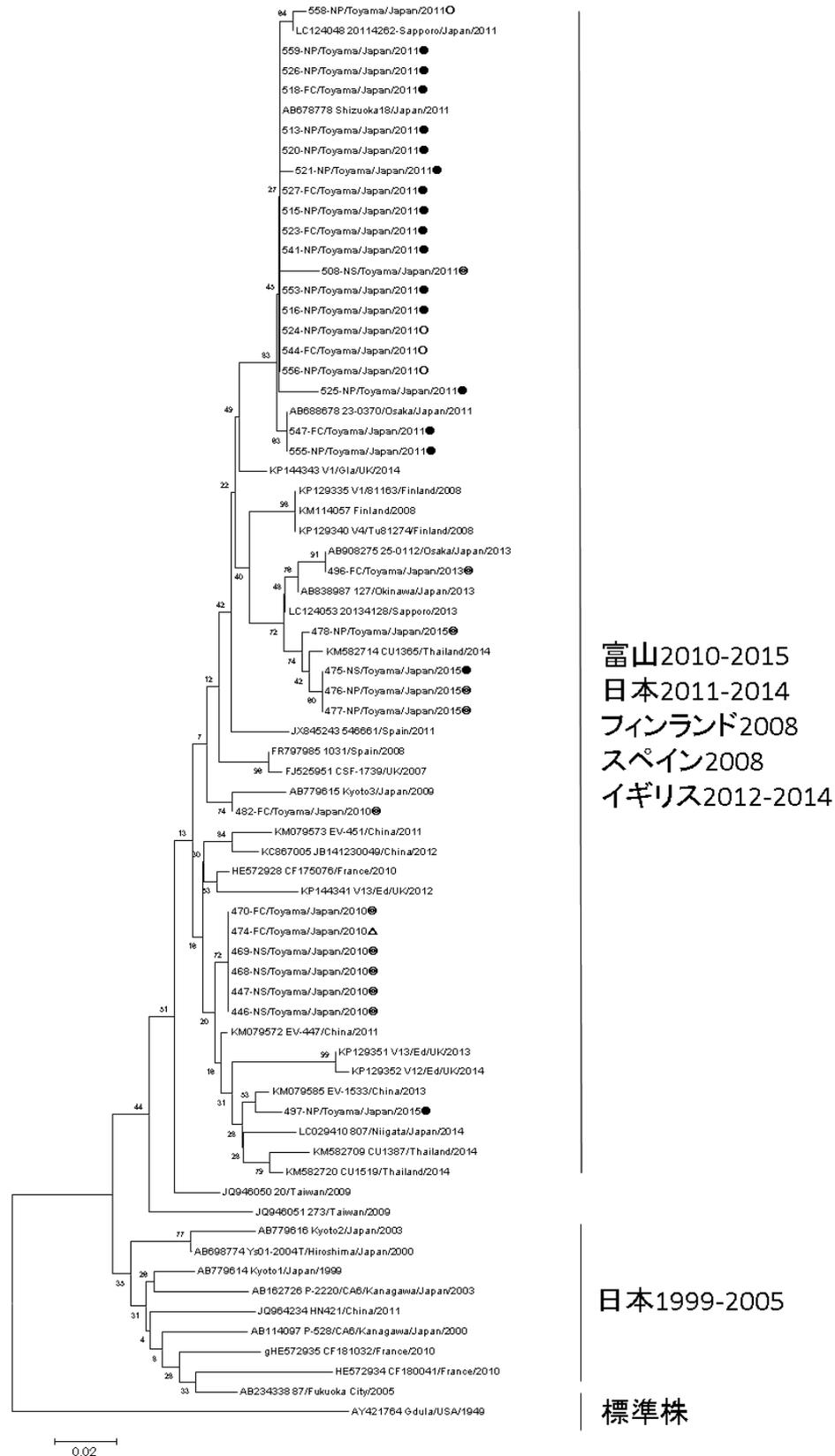


図 2. コクサッキーウイルス A6 型 VP1 領域塩基配列の分子系統樹.

○:手足口病典型例, ●:手足口病非典型例, ◎:典型 / 非典型の記載のない手足口病例, △:ヘルパンギーナ.

手足口病患者と典型例とも VP1 領域の塩基配列に差がみられなかった。

5. 富山県住民のコクサッキーウイルス A6 型に対する中和抗体保有率

2007 年, 2009 年, 2011 年, 2013 年の富山県住民のコクサッキーウイルス A6 型に対する中和抗体保有率を図 3 に示した。コクサッキーウイルス A6 型に対して 4 倍以上の抗体価を保有する割合は, 2007 年では 0-1 歳が 35.7%, 2-3 歳が 66.7%, 4-6 歳が 50.0% であった。2009 年では, 0-1 歳が 0%, 2-3 歳が 22.2%, 4-6 歳が 38.5% であった。2011 年では, 0-1 歳が 22.0%, 2-3 歳が 35.0%, 4-6 歳が 53.8% であった。2013 年では, 0-1 歳が 36.0%, 2-3 歳が 40.9%, 4-6 歳が 64.3% であった。2009 年の 0 歳から 6 歳の抗体保有率は, 2007 年や 2013 年に比較すると低かった。2007 年から 2013 年のいずれの年も, 乳幼児では年齢が上がるに従って抗体保有率は高くなり, 10-19 歳では 80% 以上の方が抗体を保有していた。しかしながら, 2009 年の 30-39 歳, 2011 年の 20-29 歳, 40-49 歳, 50-59 歳の抗体保有率がそれぞれ 57.5%, 57.5%, 47.8%, 50.0% と低く, 成人でも抗体を保有していない人が存在した。

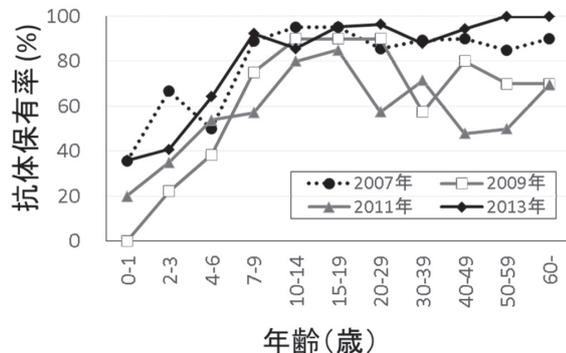


図 3. コクサッキーウイルス A6 型に対する中和抗体保有率

抗体陽性者の幾何平均抗体価は, 2007 年 20.2 倍, 2009 年 19.1 倍, 2011 年 21.2 倍, 2013 年 45.7 倍であった。いずれの年も低年齢層で幾何平均抗体価が高く, 最も高かった年代は 2007 年が 4-6 歳で 95.1 倍, 2009 年が 2-3 歳で 152.2 倍, 2011 年が 0-1 歳で 152.2 倍, 2013 年が 2-3 歳で 149.3 倍であった。

なお, 標準株 Gdula を用いて作製された抗血清 (国立感染症研究所分与) は, 分離株 2011-520-NP と標準株 Gdula とに対して, 同じ中和抗体価を示した。

考 察

2010 年から 2015 年に富山県において手足口病が流行し, 患者からコクサッキーウイルス A6 型が多く分離されたことから, 県内でウイルスが伝播していたことが考えられた。コクサッキーウイルス A6 型による手足口病の発疹が, 四肢末端に限局せずに, 大腿や臀部, 軀幹の広範囲に生じることや, 爪甲脱落症がみられることは, 既報と合致している [4-6, 8, 11-14, 24, 26, 27]。

富山県のコクサッキーウイルス A6 型の VP1 領域の塩基配列は, 世界各地で 2008 年以降に検出されたコクサッキーウイルス A6 型とも同源性が高く, 分子系統樹では同じクラスターに入ったことから, 富山県における手足口病の流行は, 世界的に流行した手足口病と関連があると推測された。また, ウイルスの VP1 領域遺伝子は, 典型的な手足口病, 非典型的な手足口病, ヘルパンギーナで違いがみられなかった。Feng ら [11] は, コクサッキーウイルス A4 型類似株と 2C 領域で組み換えを起こしたコクサッキーウイルス A6 型が中国において 2012 年 11 月以降に検出例が増え, 組み換えウイルスは非組み換えウイルスに比べて発疹が体の広範囲に生じる例が多いことを報告している。Gaunt ら [35] は, コクサッキーウイルス A6 型の非構造遺伝子領域 2A, 2B/2C で生じた組み換えと臨床症状 (ヘルパンギーナ, 手足口病, 広範囲の発疹症) との関連性について報告している。Osterback ら [32] は, 2008 年にフィンランドで検出されたコクサッキーウイルス A6 型の 2A 領域 cis-acting replication element がコクサッキーウイルス A16 型やエンテロウイルス 71 型の塩基配列に類似していること, 3A 領域の Asn1467 及び 3D 領域の Ser2109 がコクサッキーウイルス A16 型やエンテロウイルス 71 型と同じ Ser, Pro に置換していることから, いくつかの遺伝子配列の違いが宿主内におけるウイルスの複製サイクル等に影響し, ヘルパンギーナからより重篤な手足口病へと症状の変化につながった可能性を述べている。富山県において検出されたコクサッキーウイルス A6 型の非構造領域も上記と同様の置換を起こしていた可能性が考えられ, 今後の検討が必要である。

血清疫学調査では, 0 歳から 6 歳におけるコクサッキーウイルス A6 型に対する中和抗体保有率が, 2009 年は 2007 年, 及び 2013 年に比較して低かった。特に, 2009 年は 0-1 歳が 0%, 2-3 歳

が 22.2% と顕著に低かった。2011 年, 2013 年と 0 歳から 6 歳における中和抗体保有率が上昇していることから, 同年齢層の感受性者を中心としたコクサッキーウイルス A6 型による手足口病が流行したものと考えられた。なお, 2007 年の若年者での抗体保有率が高かったのは, 同年に全国的にコクサッキーウイルス A6 型によるヘルパンギーナが流行したことによると考えられる [38]。中村ら [39] は, 1984 年にコクサッキーウイルス A6 型の血清疫学調査を実施し, コクサッキーウイルス A6 型は, 3~5 年間隔でヘルパンギーナの原因として流行し, 4~5 歳までに 65% 程度が感染を受けていることを報告している。本調査では, 富山県においても, 年齢が上がるに従って抗体保有率は高くなり, 10-19 歳では 80% 以上の人が抗体を保有していた。しかしながら, 20 歳以上の成人でも 2009 年や 2011 年で抗体保有率が低く, 2013 年では同年齢層の抗体保有率が高くなっていることを考えると, 多くの成人がウイルスに感染していた可能性が考えられる。2006 年から 2015 年の富山県における感染症発生动向調査では, 各年 2 名から 32 名の成人の手足口病患者が小児科定点医療機関から報告された。Vuorinen ら [40] は, 17 歳男性のコクサッキーウイルス A6 型による精巣炎を報告している。親子でのコクサッキーウイルス A6 型による手足口病が, 小児よりも大人で症状が重篤になった事例も報告されており [18], 成人におけるコクサッキーウイルス A6 型の感染予防も, 公衆衛生上重要であると考えられる。

富山県における血清疫学調査と分子疫学調査の結果から, 2010 年から始まり 2011 年に最多となったコクサッキーウイルス A6 型による手足口病の流行は, ヨーロッパ等における流行株が県内に入ったことと, 特に 2009 年における 0~6 歳における抗体保有率が低かったことが原因であったことが考えられた。

謝 辞

調査を実施するにあたりご協力下さいました富山県の皆様, 八木小児科医院の八木信一先生, しんたにこどもクリニックの新谷尚久先生, 小栗小児科医院の小栗絢子先生, 住田小児科医院の住田亮先生, 県内厚生センター, 保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. Knipe, D.M., Howley, P.M. (2013). *Fields Virology* - 6th edition, 490-530 Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.
2. 国立感染症研究所感染症情報センター (2005). 病原微生物検出情報, 26, 235-236
3. 国立感染症研究所感染症情報センター (2012). 病原微生物検出情報, 33, 55-56
4. Österback, R., Vuorinen, T., Linna, M., et al. (2009). *Emerging Infect. Dis.*, 15, 1485-1488
5. Bracho MA, Gonzalez-Candelas, F., Valero, A., et al. (2011). *Emerging Infect. Dis.*, 17, 2223-2231
6. Davia JL, Bel, P.H., Ninet, V.Z., et al. (2011). *Clinical and laboratory investigation*, 28, 1-5
7. Mirand, A., Henquell, C., Archimbaud, C., et al. (2012). *Clinical Microbiology and Infection*, 18, E110-E118
8. Wei, S.H., Huang, Y.P., Liu, M.C., et al. (2011). *BMC Infectious Diseases*, 11, 346
9. CDC of US (2012). *MMWR*, 61, 213-214
10. Puenpa, J., Chieochansin, T., Linsuwanon, P., et al. (2013). *Emerging Infect. Dis.*, 19, 641-643
11. Feng, X., Guan, W., Guo, Y., et al. (2015). *Scientific reports*, 5, 117000
12. Sinclair, C., Gaunt, E., Simmonds, P., et al. (2014). *Eurosurveillance*, 19 (12) :pii=20745
13. Fujimoto, T., Iizuka, S., Enomoto, M., et al. (2012). *Emerging Infect. Dis.*, 12, 337-338
14. Kobayashi, M., Makino, T., Hanaoka, N., et al. (2013). *Jpn. J. Infect. Dis.*, 66, 260-261
15. 榎本美貴, 高井伝仕, 近平雅嗣ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 196
16. 阿部勝彦, 山本美和子, 藤井慶樹ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 228-230.
17. 増本久人, 南 亮仁, 野田日登美ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 232-233
18. 中田恵子, 山崎謙治, 加瀬哲男 (2011). 病原微生物検出情報, 32, 231
19. 松本一繁, 谷 脇妙, 藤戸亜紀ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 268
20. 仲 浩臣, 寺杣文男, 青木一人ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 269

21. 白井僚一, 山本香織, 浅野康子ら (2011). 病原微生物検出情報, 32, 270
22. 飯塚節子, 木内郁代, 日野英輝 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 58-59
23. 秋吉京子, 須賀知子, 森 愛ら (2012). 病原微生物検出情報, 33, 59-60
24. 松岡高史, 内山友里恵 (2013). 病原微生物検出情報, 34, 306-308
25. 厚生労働省. 感染症発生動向調査事業実施要綱. 別紙. 医師及び指定届出機関の管理者が都道府県知事に届け出る基準
26. Chatproedprai, S., Tempark, T., Wanlapakorn, N., et al. (2015). *pringerPlus*, 4, 362
27. 渡部裕子 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 62-63
28. 新谷尚久. (2011) 外来小児科, 14, 340-343
29. Nix, W.A., Oberste, M.S., Pallansch, M.A., et al (2006). *J. Clin. Microbiol.*, 44, 2698-2704.
30. Oberste, M. S., Maher, K., Pallansch, M. A. (2004). *J. Virol.*, 78, 2, 855-867
31. Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., et al. (2011). *Mol. Biol. Evol.*, 28, 2731-2739
32. Österback, R., Koskinen, S., Merilahti, P., et al. (2014). *Genome Announc.*, 2 (5) . pii: e01004-14
33. Oberste, M.S., Penaranda, S., Maher, K. et al. (2004). *J. Gen. Virol.*, 85, 1597-1607
34. Chen, Y.J., Chang, S.C., Tsao, K.C., et al. (2012). *PLoS ONE.*, 7, E52432
35. Gaunt, E., Harvala, H., Osterback, R., et al. (2015). *J. Gen. Virol.*, 96, 1067-1079
36. He, Y.Q., Chen, L., Xu, W.B., et al. (2013). *J. Clin. Microbiol.*, 51, 3560-3566
37. Montes, M., Artieda, J., Pineiro, L.D., et al. (2013). *Emerging Infect. Dis.*, 19, 4
38. 国立感染症研究所. (2011). 病原微生物検出情報. 週別ヘルパンギーナ患者からの主なコクサッキーウイルス分離・検出報告数, 2007-2011 年.
39. 中村忠義, 赤見正行, 高橋ふさ子ら (1988). *臨床とウイルス*, 16, 359-364
40. Vuorinen, T., Österback, R., Kuisma, J. et al. (2014). *J. Clin. Microbiol.*, 52, 4412

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況 (2015 年)磯部 順子 金谷 潤一 三井千恵子¹ 木全 恵子
範本 志保 綿引 正則Isolation of *Legionella* Species from
Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2015Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Chieko MITSUI¹,
Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO and Masanori WATAHIKI

要 旨 2015 年 8～11 月に富山県内の 13 施設から採取した浴用水 51 件およびシャワー水 36 件について、*Legionella* 属菌による汚染実態調査を実施した。結果は以下のとおりであった。

1. 浴用水の *Legionella* 属菌の検出率は、培養法では 12/51 件 (23.5%)、LAMP 法 (定性) では 18/51 件 (35.3%) で、LAMP 法で高かった。
2. 浴用水における *Legionella* 属菌の検出率は、遊離残留塩素濃度が高いほど低くなる傾向が認められたが、一部に残留塩素濃度が高いにも関わらず、*Legionella* 属菌数の多い検体が認められた。
3. 浴用水から検出された *Legionella* 属菌の血清型は 7 種類で、*L. pneumophila* SG1 と SG6 が 4 検体から、SG5 が 3 検体から、SG2, SG3, SG9, SG15 がそれぞれ 2 検体から分離された。
4. シャワー水における *Legionella* 属菌の検出率は培養法、LAMP 法どちらも 7/36 (19.4%) であった。
5. シャワー水から検出された *Legionella* 属菌数は、もっとも多い検体では 730 CFU/100mL で、平均は 256 CFU/100mL と、浴用水 (30CFU/100mL) のおよそ 10 倍であった。
6. シャワー水から分離された *Legionella* 属菌の血清型は *L. pneumophila* SG3 が 3 検体、SG6, SG10 が 2 検体、SG5, SG8 が 1 検体からそれぞれ分離された。

Legionella 属菌は土壌や淡水などの自然環境に棲息し、エアロゾルや粉塵と一緒に吸入され、マクロファージの中で増殖してヒトに経気道感染 (レジオネラ症) を起こすことが知られている。近年ではその生息域が冷却塔や循環式浴場などの人工的な水環境にも広がっており、日本では 2002 年 7 月に宮崎県で発生した 7 名が死亡する集団感染 [1] をはじめ、温泉や循環式浴用施設を感染源とする事例が多く報告されている [2]。さらに、2009 年には公衆浴場のシャワー水を感染源とする事例 [3] も発生するなど、レジオネラ症の発生と浴用施設は強く関連することが明らかとなっている。

このような背景の中、レジオネラ症の患者報告数は、全国的に増加傾向が続いており [4]、富山県でも同様の傾向を示している。とりわけ 2015 年の報告数は 42 人と 2006 年からの 10 年間で最

も多く、対策が急務となっている。

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

材料と方法

1. 対象と材料

2015 年 8～11 月に県内 13 施設から採取した浴用水 51 検体とシャワー水 36 検体を試料とした。採水は厚生センターの担当者に依頼した。浴用水は採取後直ちにハイポ入り滅菌採水瓶に入れ、採水当日に当所へ搬入された。

2. 浴用水の濃縮と培養

検査は厚生労働科学研究の報告書 [5] を参考

1. 現厚生部健康課

に実施した。すなわち、浴用水 900 mL をポリカーボネート製メンブランフィルター（直径 47 mm, 0.22 μ m, 日本ミリポア）で吸引ろ過した。このフィルターを 50 mL 滅菌コニカルチューブに入れ 9.0 mL の滅菌蒸留水を加え、ボルテックスで 1 分間振盪し、100 倍濃縮試料とした。また、シャワー水については、浴用水と同様の工程で検査を実施したが、検査試料は 400 mL でおこなった。濃縮試料のうち 1.0 mL は、*Legionella* 属菌以外の細菌の発育を抑制するために、pH2.2 の 0.2M KCl - HCl（レジオネラ検体用前処理液：極東製薬工業）を等量加え 5 分間静置した酸処理試料として、200 μ L を GVPC 寒天培地（日研生物）にコンラージ棒で全面に塗布した。これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ、35°C で 7～10 日間培養した。ただし、*Legionella* 属菌を早期に検出するため、培養 3 日もしくは 4 日目に斜光法 [6] により平板上の発育菌を観察した。斜光法とは実体顕微鏡を用いて *Legionella* 属菌のモザイク模様、カットガラス様の形態を観察するもので、菌種や血清型は区別できないが、色調や模様の相違から釣菌する株を選ぶ目安となる場合がある。また、観察までの培養時間が短いため、かびなどが広がる前に、*Legionella* 属菌を釣菌できる点でも有用な方法である。

3. 同定および菌数測定

斜光法により観察されたモザイク模様、カットガラス様の形態を示すコロニーを血液寒天培地（栄研化学）および BCYE *a* 寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離した。2 日後に BCYE *a* 寒天培地のみで発育したコロニーについて、ラテックス、市販抗血清との反応性を確認し、*Legionella* 属菌と同定した。同定されたコロニー数をもって浴用水 100 mL あたりの *Legionella* 属菌数に換算し、10CFU 以上を陽性とした。ただし、発育したコロニー数が極めて多い場合は 10～20 コロニーのみを同定し、その *Legionella* 属菌の割合をもって、全 *Legionella* 属菌数を計算した。あるいは、未濃縮検体の培養平板に発育したコロニー数からその数を算出した。培地上に *Legionella* 属菌を認めない場合は計算上、菌数は 10CFU/100 mL 未満とした。

4. 血清型別試験

浴用水 1 検体あたり 1～10 個の BCYE *a* 寒天に発育した菌を用い、病原体検出マニュアル [7] に従い、加熱抗原を作製した。反応はレジオネラ免疫血清（デンカ生研）および *Legionella Latex*

Test Kit（オキシイド）を用いて行った。

5. DNA 抽出法

抽出は新鮮分離株を 5% キレックス液（日本バイオラド）に懸濁し、100°C 10 分の加熱処理を行い、遠心（10,000 rpm, 5 分）して得られた上清を DNA 溶液とした。

6. LAMP 法による遺伝子検査

Loopamp レジオネラ検出試薬キット E（栄研化学）を用い、濁度装置 LA320C で判定した。倉らの厚生科学研究 [8] により、LAMP 法は菌数の少ない検体では定量性の精度が劣ることが明らかになっているため、LAMP 法による結果の表記は、レジオネラ症防止指針に記載されている「10CFU/100 mL」の基準値ではなく、遺伝子の増幅が認められた検体を陽性（定性）とした。

7. ATP 測定法

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

結 果

1. 浴用水の管理状況

採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩濃度）は 0.0～<0.2 mg/L の浴用水が 7 施設 10 件、適切な濃度として推奨されている ≤ 0.2 ～<1.0 mg/L の浴用水が 9 施設 20 件であった。これに対し、10 施設 21 件では残塩は 1.0 mg/L より高く、もっとも高い残塩濃度は 2.11 mg/L であった。換水は毎日～1 回/週の頻度で実施されており、1 回/週が 22/51 件（43.1%）ともっとも多く、次いで毎日が 7/51 件（13.7%）の順に多かった（データ未掲載）。

2. 浴用水の泉種

未調査の 5 件を除く浴用水 46 件の泉種の内訳は、白湯および温泉がそれぞれ 21/46（45.7%）、薬湯が 3/46（6.5%）、井戸水 1/46（2.2%）であった。ここでいう「薬湯」とは、薬用成分の有無に関わらず、入浴剤などを添加している浴用水とした。これらの給湯方式について、4 検体のみかけ流しで、残る 40 検体はすべてが循環式であった。

3. *Legionella* 属菌の検出状況

① *Legionella* 属菌の検出率

浴用水の *Legionella* 属菌検出率の結果を表 1 に示した。*Legionella* 属菌の検出率は培養法全体

では12/51 (23.5%) で、温泉と白湯がいずれも6/21件 (28.6%)、それに対し、薬湯3件と井戸水1件から *Legionella* 属菌は検出されなかった。一方、遺伝子検査法であるLAMP法 (定性試験) では、検出率は全体で18/51件 (35.3%) で、温泉と白湯はいずれも7/21件 (33.3%)、井戸水1/1件 (100.0%) で、いずれも培養法に比べて高かった。

② *Legionella* 属菌数と血清群

培養法、LAMP法いずれか一方、もしくは両法で陽性となった浴用水23件について、その定量値と分離された *Legionella* 属菌の血清型別をまとめた (表2)。両法の結果が共に陽性となったのは太字で示す9検体で、培養菌数の平均は702 CFU/100 mLであった。培養法陽性、LAMP法陰性は5検体で、いずれも培養法での

菌数 (10 ~ 30 CFU/100mL) は少なかった。逆に、LAMP法が陽性で培養法が陰性の検体について、LAMPのTt値 (測定値; 秒) はいずれも30分を越えており、両法で *Legionella* 属菌が陽性となった検体のTt値の20分以内より長かった (データ未掲載)

分離された *Legionella* 属菌の血清型は5種類で、*L. pneumophila* SG1, SG6が4検体から、SG5が3検体から、SG2, SG3, SG9, SG15がそれぞれ2検体から分離された。型別できなかった (UT) 菌が1検体から分離された。

③ *Legionella* 属菌と残塩濃度

Legionella 属菌の検出率と菌数について、残塩濃度との関連性を図1、図2に示した。残塩濃度はレジオネラ症防止指針の中で望ましいとされる残塩濃度「0.2 ~ 0.4、高くても1.0 mg/L」まで

表1. 泉種別 *Legionella* 属菌検出率 (GVPC 培地による培養法とLAMP法)

	培養法 (%)		LAMP法 (%)	
	10cfu/100mL以上		定性*	
温泉	6/21	(28.6%)	7/21	(33.3%)
白湯	6/21	(28.6%)	7/21	(33.3%)
薬湯	0/3	(0.0%)	0/3	(0.0%)
井戸水	0/1	(0.0%)	1/1	(100%)
不明	2/5	(40.0%)	3/5	(60.0%)
計	12/51	(23.5%)	18/51	(35.3%)

* 定性; 1CFU/100mL以上

表2. *Legionella* 属菌が検出された浴用水における菌数と血清群 (2015年)

No.	泉種、水源	循環/かけ流し	pH値	換水頻度	経過日数	採水日の遊離残塩素濃度 (mg/L)	ATP (/10 mL)	LAMP時間	培養結果 (CFU/100mL)	SG1	SG2	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	SG9	SG10	SG12	SG15	2~14	UT
1	白湯	循環	8.07	毎日	0	0.2	15	陰性	10					SG5									
2	白湯	循環	7.94	1回/週	1	0.8	26	陽性	1960	SG1				SG6					SG12				
3	白湯	循環	7.86	1回/週	1	0.1	15	陽性	150	SG1				SG5									
4	温泉	循環	7.53	1回/週	1	0.2	1569	陽性	<10														
5	温泉	循環	7.10	1回/5日	2	0.92	18763	陽性	<10														
6	白湯	循環	7.31	2日おき	0	0.6	6	陽性	<10														
7	白湯	循環	7.31	毎日	0	0.6	299	陽性	<10														
8	白湯	循環	7.57	2日おき	1	0.5	56	陰性	10	SG1													
9	白湯	循環	7.36	毎日	0	0.8	351	陰性	10									SG9					
10	温泉	循環	7.77	1回/週	1	0.6	5	陰性	10										SG10		SG15		
11	温泉	循環	8.70	1回/週	1	>2.0	10	陽性	60					SG6		SG8					SG15		UT
12	白湯	循環		1回/週		1.63	46	陽性	<10														
13	白湯	循環		毎日	1	>2.2	74	陽性	10													2~14	
14	白湯	循環		毎日	1	0.4	40	陽性	<10														
15	井戸水 (加次亜塩素酸)					0.13	8	陽性	<10														
16	不明	不明			2	0.6	1239	陽性	10					SG5									
17	不明	不明			0	2	13	陽性	<10														
18	不明	不明			0	0.1	166	陽性	80	SG1													
19	温泉	循環	8.11	1回/週	7	0	18	陽性	40			SG3		SG6			SG9						
20	温泉	循環	8.16	1回/週	4	0.05	9	陰性	30			SG3		SG6									
21	温泉	循環	8.31	1回/週	10	>2.0	13	陽性	<10														
22	温泉	循環	8.28	1回/週	7	0.05	3677	陽性	630											SG2			
23	温泉	循環	8.28	1回/週	13	0.05	4272	陽性	3340											SG2			

を基準として、濃度別で検出率を比較した。その検出率は、残塩濃度が0～<0.2 mg/Lで6/10 (60.0%)、0.2～<0.4 mg/Lで1/5 (20.0%)、0.4～<1.0 mg/Lで5/15 (33.3%)、1.0 mg/L以上で3/21 (14.3%)で、残塩濃度が高くなるにつれ、検出率が低くなる傾向であった(図1)。

残塩濃度と *Legionella* 属菌数の関係を見ると(図2)、残塩濃度と菌数は概ね相関したが、残塩0.8mg/mLの浴用水で菌数が1,960 CFU/100mLを示した検体が1件認められた(表2, No.2)。

4. シャワー水の泉種等

シャワー水36検体の泉種は、水道水が18件、井戸水が16件、不明が2件であった(表3)。シャワーの給水方式は、混合水栓が24/36件(66.7%)と多く、調節箱の無い方式のものが6件(16.7%)、シャワー水を感染源とするレジオネラ症の報告[3]で指摘されているような開放型の調節箱は4件(11.1%)であった。

5. シャワー水の *Legionella* 属菌汚染状況

シャワー水における *Legionella* 属菌の検出率は培養法、LAMP法いずれも7/36(19.4%)で、どちらか一方のみが陽性となった検体はそれぞれの方法で1検体と、培養法、LAMP法はよく相関した。検出された *Legionella* 属菌数は、もっとも多い検体では760 CFU/100mLで、平均は256 CFU/100mLで、浴用水(454 CFU/100mL)のおよそ1/2倍であった。*Legionella* 属菌陽性となったシャワー水は、井戸水が5検体(31.2%)、水道水が2検体(11.1%)で、わずかに井戸水で検出率が高かった。一方、シャワー水におけるATP値は、多いものでも371と、浴用水に比べ少なかった。シャワー水から検出された *Legionella* 属菌の血清型は5種類で、*L. pneumophila* SG3が3検体、SG6、SG10が2検体、SG5、SG8が1検体から検出され、血清型別できなかつた(UT)株が4検体から分離された。レジオネラ患者からもっとも多く分離される *L. pneumophila* SG1は分離されなかつた。

考 察

2014年、富山県では県生活衛生課の主導のもと、レジオネラ症の減少を目的として、浴用水の管理、とりわけ *Legionella* 属菌による汚染状況を監視する体制を強化した。その中で採用されたスクリーニング法は浴用水のATPを測定することであった。ATPの測定は、現場で結果を確認

できること、結果が数値化されるので、施設管理者、監視員共に汚染度合いがよく理解できるという利点があるものと思われる。当所で搬入された検体についてもATPを測定したところ、1,000以上を示した浴用水5検体中、2検体は培養法が<10 CFU/100mL、1検体では10 CFU/100 mLを示し、必ずしも *Legionella* 属菌の汚染度合と一致しなかつた。*Legionella* 属菌以外の細菌の存在を示すものと思われるが、このような浴用水ではアメーバの生息やバイオフィルムの形成により、*Legionella* 属菌が繁殖するリスクが高いため、ATPを活用した衛生管理は有用であると思われる。また、ATPが高い検体では、*Legionella* 属菌以外の菌により、平板上で *Legionella* 属菌の発育が抑制されることも考えられることから、注意が必要である。

シャワー水では、過去の報告[9]にあるとおり、ATP値と *Legionella* 属菌の検出数は相関せず、全体的にATP値は小さかつた。ATP値は浴用水の管理には有用であるが、シャワー水の衛生管理には有用でないことが改めて示された。

Legionella 属菌の検出率は残塩濃度による衛生管理は有用であるが、本年の調査では、*Legionella* 属菌が検出された浴用水のうち4検体で残塩濃度が0.2mg/L以上を示した。うち1検体では残塩濃度0.8mg/Lにも関わらず、検出菌数が1,960 CFU/100mLであった。これらの結果は、浴用水の衛生管理が塩素剤だけでは十分でないことを示している。これまでに遊離塩素の効果が減少する理由として、多量の有機物の混在、あるいは高いpHなどが良く知られている。もちろん、バイオフィルムの存在は、重要な懸念材料である。一方、残塩濃度と菌数が相関しない理由のひとつとして、簡易キットによる残塩濃度の誤判定も忘れてはならない。これを用いた残塩濃度測定は、浴用水に試薬を入れた直後に濃度を測定することになっているが、判定時間が遅れた場合に赤色が強くなり、塩素濃度を高く評価するリスクが指摘されている。また、アンモニア態窒素を多く含む浴用水でも同様の誤判定のリスクがあり、適切な方法での測定が必須である。残塩濃度が適切に管理されているにも関わらず *Legionella* 属菌が多く検出された理由は明らかではないが、これらの理由について検討し、適切に管理できるよう改善が必要である。

一方、近年は遊離塩素に頼らない消毒法として、モノクロラミン消毒が検討され、効果的であるこ

とが報告されている [10]。この方法は塩素のような異臭がないため、浴用施設でも導入に抵抗がないことが予想される。静岡市では、塩素による衛生管理が難しいとされる pH の高い泉質等の浴用施設について、この方法による衛生管理を条例化している。

レジオネラ症防止対策として、エアロゾルが多く発生するシャワーなどの衛生管理はきわめて重要である。東京都文京区が実施したレジオネラ汚染実態調査結果[3](検出率 11/70 検体:15.7%)は、本年度のわれわれの調査結果(検出率 19.4%)と同様であった。この結果は昨年度の結果(検出率 29.4%)より低く、先に述べた監視体制が効を奏したものであると思われる。文京区の報告では、シャワー水の配管で使用されていた調節箱が開放型で、そこに外部から *Legionella* 属菌が入り込むリスクがあったと報告しているが、この方式に限らず *Legionella* 属菌は分離されるため、配管やホース、シャワーヘッドなど、徹底した衛生管理が求められる。まずはシャワーヘッドのぬめりを取るなどの早急な対応が必要と思われる。シャワーは設置数が多く、衛生管理には時間と費用がかかるが、リスクと管理の徹底について広報しなければならない。

「レジオネラ症防止指針第 3 版」に遺伝子検査法が記載され、検査の迅速性が期待されている。しかしながら、遺伝子反応阻害物質や死菌 DNA の検出の問題があり、とくに、温泉や地下水などを水源とする場合の泉質(たとえばフミン等)による反応阻害 [11] では偽陰性に注意が必要である。一方、死菌の遺伝子による偽陽性については、Etidium mono azaid (EMA) による死菌 DNA の排除法が示され、市販キットもあることから、今後普及するものと思われる。さらに、遺伝子検査法では検出できない *Legionella* 属菌が存在するため、培養法は必ず平行して行うべきである。今年度の調査で、LAMP 法陰性、培養法陽性となった検体が、浴用水で 4 検体、シャワー水で 1 検体認められた。いずれも検出された *Legionella* 属菌数は 10cfu/100mL と少なく、*Legionella* 属菌が検体中に存在する確率の問題であると考えられ、遺伝子検査法の問題点とは異なるものと考えている。逆に、LAMP 法陽性で、培養法で陰性となった検体は、浴用水で 9 検体、シャワー水で 1 検体認められた。その理由のひとつとして死菌 DNA の検出が考えられるが、浴用水について言えば、2 検体は ATP 値が高かったため、

Legionella 属菌が抑制された可能性もあり、再確認することが望ましい。

レジオネラ症では感染源が特定される患者は少ない理由として、感染源調査が公衆浴場や温泉を利用していった場合の浴用施設の衛生管理状況や *Legionella* 属菌検査を実施するにとどまっていることが考えられる。しかし、現実的に *Legionella* 属菌が棲息するわれわれの生活環境 [12] のすべてについて調査することは不可能である。患者らが、短期間に複数の浴用施設を利用することは珍しいことではないことも挙げられる。

近年、SBT (Sequence-Based Typing) という手法で、*Legionella* 属菌の由来、すなわち棲息環境を推定することが可能となっている [13]。われわれの調査で、一部の患者から分離された *Legionella* 属菌が、アスファルト道路にある水たまりから分離された *Legionella* 属菌と、遺伝的にきわめて近い関係にあることが明らかになった [14]。患者が直接水たまりからのエアロゾルを吸入したかは不明であるが、新しい感染源の可能性を指摘することができた。一方、富山県の患者から分離された *Legionella* 属菌について、国立感染症研究所で解析した結果によると、SBT による遺伝子型から類推する感染源は、12/20 株 (60.0%) が土壌由来株のグループに、6/20 株 (30.0%) が浴用水由来グループに近い菌であることが明らかとなった。これらのうち、行動調査で潜伏期間内に公衆浴場や温泉などを利用しなかった患者から分離された 9 株のうち、5 株は土壌のグループに、2 株は浴用水のグループに近いことが示された(データ未掲載)。このように、患者が感染した *Legionella* 属菌から感染源が類推できた場合、更なる行動調査などを実施できれば、感染源が特定することができるかもしれない。しかしながら、近年は患者から *Legionella* 属菌が分離されないために、原因施設や感染源を特定できない状況が続いている。これはレジオネラ症が尿中抗原検出で診断できるようになり、また、保険適用となったことで、この方法により診断される患者が増加しているからである。私達は 2013 年からレジオネラ症患者の喀痰検査を積極的に実施し、感染源調査のために培養検査を実施している。今後は、レジオネラ症を疑う場合には、積極的に培養検査を実施していただくよう、医療機関に対して広報していきたい。

謝 辞

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

なお本研究は、厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業の研究の一環として行った。

文 献

1. 岡田美香, 河野喜美子, 倉 文明, 前川純子, 渡辺治雄, 八木田健司, 遠藤卓郎, 鈴木 泉 (2005), 感染症誌, 79, 365-374
2. Nakamura H, Yagyū H, Kishi K, Tsuchida F, Oh-hashī S, Yamaguchi K, et al. (2003) Intern Med ,42,806-11
3. 国立感染症研究所 (2010). 病原微生物検出情報, 31 (11), 331-333 <http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>
平成 28 年 6 月 28 日アクセス可能
4. 富山県厚生部 富山県感染症発生動向調査事業報告書 (平成 21 年), 12
5. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究. (平成 24 年度総括・分担報告書), 93-127.
6. レジオネラ症防止指針第 3 版, 財団法人ビル管理教育センター, (2009) 28-36 森本 洋 (2010), 環境感染誌, 25, 8-14
7. 感染症マニュアル, 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所, 平成 24 年改定版
8. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成 20 年度), 77-105
9. 国立感染症研究所 (2010). 病原微生物検出情報 ,34 (6), 331-333 <http://idsc.nih.gov.jp/iasr/index-j.html>
平成 28 年 6 月 28 日アクセス可能
10. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成 22 年度), 25-28
11. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究. (平成 19 年度), 37-55
12. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究. (平成 24 年度総括・分担報告書), 151-160
13. Amemura-Maekawa J, Kikukawa K, Helbig JH, Kaneko S, Suzuki-Hashimoto A, Furuhashi K, et al. Appl Environ Microbiol. 2012;78:4263-70.
14. Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu M, Kura F, Sata T, Watahiki M. (2013), Appl. Environ. Microbiol. 79 : 3959-66

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査(感染源調査)平成 27 年度

佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎 倫子 稲畑 良
板持 雅恵 小渕 正次 滝澤 剛則 大平 恵吾¹

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015

Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Ryo INAHATA,
Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, and Keigo OOHIRA¹

目的：近年の国内における日本脳炎患者発生数は少なく推移している。しかしながら、全国での日本脳炎流行予測調査の結果から、ウイルスは確実に活動しているといえる [1-6]。富山県においても毎年ウイルスの流行が確認されており [7-15]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、平成 27 年度も本研究を継続し、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* の発生状況とウイルスの浸淫状況を調査したので報告する。

1. コガタアカイエカ雌成虫の発生調査

調査地と調査方法：蚊の捕集定点は平成 26 年 [15] と同様 (表 1, 図 1) であった。

調査期間および調査方法も平成 26 年とほぼ同様であった。すなわち、「3. 大井」では 6 月 1 日から調査を開始し、10 月 18 日まで、ライトトラップ (東京エース製, 15W 捕虫円型管) により毎日捕集を行なった (連日捕集)。なお、ライトトラップの作動は照度感受スイッチ (EE8113K ニュー EE スイッチ, National 松下電工) によってコン

トロールされるため、捕集時間帯は日没 (照度約 40 ルクス) から日の出 (照度約 120 ルクス) までである。他の 4 定点では 6 月 3 日 (第 1 週) から 10 月 28 日 (第 4 週) まで、毎週水曜日のみトラップを一晩点灯し、捕集を行なった (週 1 捕集)。なお、「3. 大井」では、畜舎管理者が毎朝トラップ捕集籠の捕獲物を酢酸エチルで麻酔した後、70%エタノールの入った 500ml ポリ瓶に移した。その他の 4 定点では、電源タイマー (PT50DW デジタルプログラムタイマー II, REVEX) によりライトトラップが毎週水曜日 18 時から翌朝 6 時まで点灯するよう設定し、毎週木曜日に筆者らが捕集籠を回収・交換した。このようにして得られた捕集籠内の蚊類を、検査室にて分類・計数した。

結果：表 2 に、全調査定点における週 1 日捕集の成績を、表 3 に「3. 大井」における連日捕集の成績を示した。コガタアカイエカは、調査を開始した 6 月第 1 週から 3 定点において捕集され、全体的には 7 月下旬～9 月上旬に発生のピークがみられ、9 月下旬から顕著に減少した。週 1 日捕集

表 1. コガタアカイエカ捕集定点 (畜舎) の概要 (平成 27 年)

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

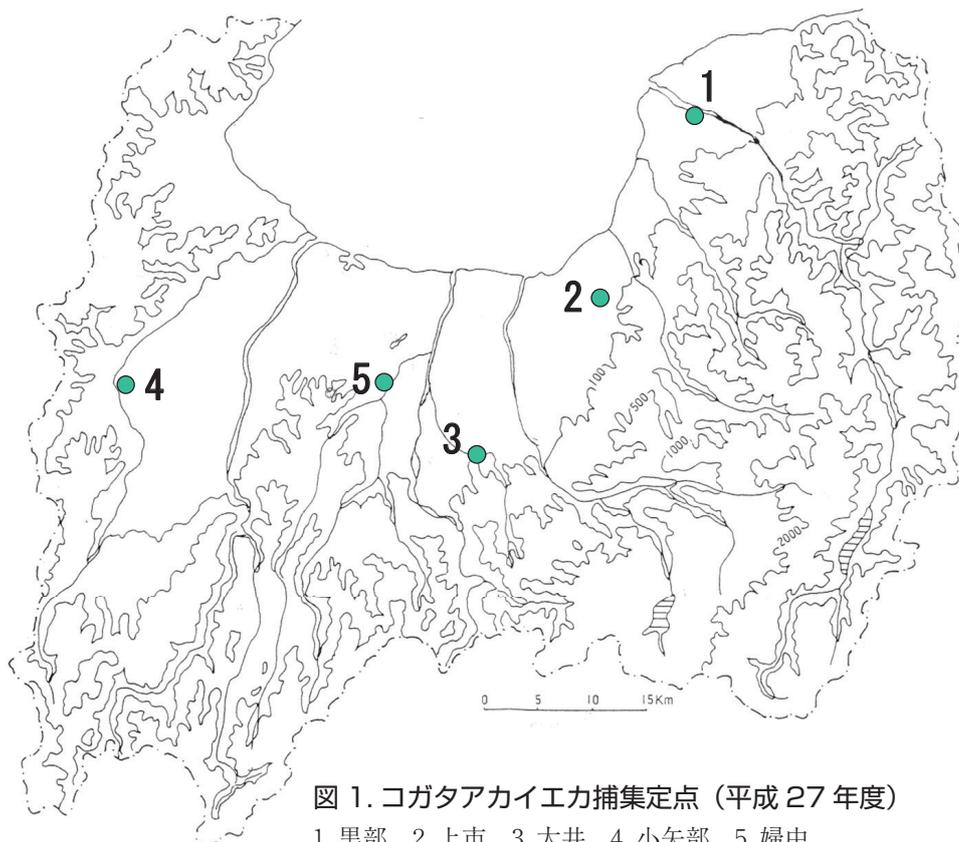


表 2. 5 定点 (畜舎) のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数 (平成 27 年)

調査日	調査地点					合計
	1. 黒部	2. 上市	3. 大井	4. 小矢部	5. 婦中	
6月3日	8	0	87	42	0	137
10日	55	3	578	195	6	837
17日	118	7	983	362	3	1,473
24日	128	23	1,703	320	51	2,225
7月1日	442	2	6,620	256	24	7,344
8日	400	-	7,893	246	87	8,626
15日	167	48	34,230	676	245	35,366
22日	266	39	14,630	471	111	15,517
29日	211	236	17,535	2,363	212	20,557
8月5日	98	60	19,268	1,522	153	21,101
12日	610	396	20,370	3,999	1,368	26,743
19日	1,314	517	26,390	9,411	802	38,434
26日	-	770	32,900	-	290	33,960
9月2日	-	-	17,465	8,712	-	26,177
9日	1,497	1,301	19,828	3,080	754	26,460
16日	453	525	9,958	4,548	96	15,580
23日	407	-	5,757	1,471	29	7,664
30日	48	73	866	149	3	1,139
10月7日	11	30	394	58	1	494
14日	1	-	37	34	6	78
21日	0	0	-	3	1	4
28日	2	1	-	5	0	8
計	6,236	4,031	237,492	37,923	4,242	289,924

「-」はトラップの故障等による欠測を示す。

表3-1. 一定点(3. 大井)のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(平成27年6~7月)

調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
6月1日	0	106	5	0	111	7月1日	0	6,620	14	0	6,634
2日	0	85	3	0	88	2日	0	727	4	0	731
3日	0	87	6	1	94	3日	0	4,707	7	1	4,715
4日	0	117	5	1	123	4日	0	1,995	1	0	1,996
5日	0	184	5	0	189	5日	0	4,944	16	0	4,960
6日	0	296	6	0	302	6日	0	4,358	16	1	4,375
7日	0	667	4	0	671	7日	0	6,563	19	1	6,583
8日	0	615	9	0	624	8日	0	7,893	0	1	7,894
9日	0	468	13	0	481	9日	0	6,913	5	0	6,918
10日	0	578	16	2	596	10日	0	5,163	24	0	5,187
11日	0	1,177	14	0	1,191	11日	0	7,595	3	0	7,598
12日	0	1,373	14	0	1,387	12日	0	13,834	0	0	13,834
13日	0	1,180	18	0	1,198	13日	0	878	1	0	879
14日	0	1,210	26	0	1,236	14日	0	16,581	0	0	16,581
15日	0	1,105	18	0	1,123	15日	0	34,230	2	0	34,232
16日	0	1,177	7	0	1,184	16日	0	5,285	0	0	5,285
17日	0	983	25	2	1,010	17日	0	5,416	11	0	5,427
18日	0	2,128	19	0	2,147	18日	0	8,619	7	0	8,626
19日	0	965	13	0	978	19日	0	3,868	5	0	3,873
20日	0	2,172	11	0	2,183	20日	0	2,936	3	0	2,939
21日	0	1,446	19	0	1,465	21日	0	3,850	3	0	3,853
22日	0	2,045	15	0	2,060	22日	0	14,630	0	0	14,630
23日	0	783	10	0	793	23日	0	1,820	0	0	1,820
24日	0	1,703	17	0	1,720	24日	0	7,026	9	0	7,035
25日	0	2,579	30	0	2,609	25日	0	9,599	1	0	9,600
26日	0	2,358	17	0	2,375	26日	0	21,752	0	0	21,752
27日	0	2,659	27	0	2,686	27日	0	16,178	0	0	16,178
28日	0	2,900	4	0	2,904	28日	0	28,822	0	0	28,822
29日	0	2,380	6	2	2,388	29日	0	17,535	0	0	17,535
30日	0	1,514	2	0	1,516	30日	0	19,328	0	0	19,328
31日	0	1,514	2	0	1,516	31日	0	13,186	4	0	13,190
計	0	37,040	384	8	37,432	計	0	302,851	155	4	303,010

*オオクロヤブカ, ハマダライエカ, カラツイエカ, ヤマトヤブカ.

表3-2. 一定点(3. 大井)のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績(平成27年8~9月)

調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計	調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
8月1日	0	22,295	0	0	22,295	9月1日	0	15,169	34	0	15,203
2日	0	17,456	0	0	17,456	2日	0	17,465	2	0	17,467
3日	0	12,626	2	0	12,628	3日	0	24,663	52	0	24,715
4日	0	20,353	0	0	20,353	4日	0	30,625	70	0	30,695
5日	0	19,268	13	0	19,281	5日	0	24,868	0	0	24,868
6日	0	17,815	0	0	17,815	6日	0	24,045	0	0	24,045
7日	0	25,708	0	0	25,708	7日	0	41,143	0	0	41,143
8日	0	14,543	0	0	14,543	8日	0	70,132	102	0	70,234
9日	0	18,568	0	0	18,568	9日	0	19,828	1	0	19,829
10日	0	24,483	0	0	24,483	10日	0	25,655	0	0	25,655
11日	0	21,245	0	1	21,246	11日	0	35,910	18	0	35,928
12日	0	20,370	1	0	20,371	12日	0	12,285	0	0	12,285
13日	0	36,103	2	0	36,105	13日	0	20,440	0	0	20,440
14日	0	28,578	0	0	28,578	14日	0	8,908	34	0	8,942
15日	0	39,806	6	0	39,812	15日	0	7,560	34	0	7,594
16日	0	52,565	8	0	52,573	16日	0	9,958	0	0	9,958
17日	0	32,475	7	0	32,482	17日	0	27,090	0	0	27,090
18日	0	27,869	10	0	27,879	18日	0	21,228	0	0	21,228
19日	0	26,390	4	1	26,395	19日	0	9,310	0	0	9,310
20日	0	41,475	0	0	41,475	20日	0	9,310	18	0	9,328
21日	0	38,448	0	0	38,448	21日	0	8,138	0	0	8,138
22日	0	31,360	0	0	31,360	22日	0	4,436	18	0	4,454
23日	0	30,918	9	0	30,927	23日	0	5,757	35	1	5,793
24日	0	34,998	10	0	35,008	24日	0	603	61	0	664
25日	0	33,382	17	0	33,399	25日	0	824	0	0	824
26日	0	32,900	0	0	32,900	26日	0	817	23	0	840
27日	0	40,363	34	0	40,397	27日	0	2,041	1	0	2,042
28日	0	49,053	0	1	49,054	28日	0	495	6	0	501
29日	0	36,698	0	0	36,698	29日	0	746	7	0	753
30日	0	13,975	34	0	14,009	30日	0	866	7	0	873
31日	0	21,294	52	0	21,346	計	0	480,315	523	1	480,839
計	0	883,380	209	3	883,592						

*オオクロヤブカ.

表 3-3. 一定点 (3. 大井) のライトトラップ連日調査による蚊雌成虫捕集成績 (平成 27 年 10 月)

調査日	シナハ マダラカ	コガタアカ イエカ	アカ イエカ	その他*	計
10月1日	0	235	7	0	242
2日	0	451	7	1	459
3日	0	799	14	3	816
4日	0	725	10	1	736
5日	0	667	3	1	671
6日	0	534	6	0	540
7日	0	394	1	0	395
8日	0	320	2	0	322
9日	0	446	4	0	450
10日	0	198	4	1	203
11日	0	64	3	1	68
12日	0	155	7	0	162
13日	0	86	2	1	89
14日	0	37	0	0	37
15日	0	18	0	1	19
16日	0	23	4	2	29
17日	0	54	3	4	61
18日	0	33	4	0	37
計	0	5,239	81	16	5,336

*オオクロヤブカ, ヤマトヤブカ, ヒトスジシマカ.

表 4. 5 定点のライトトラップにおける平成 3 年以降のコガタアカイエカ雌成虫の年間捕集数

年	6月2週から9月30日までの毎週水曜日に捕集した総数					6月1日から9月30日 までの連日捕集の総数
	1. 黒 部	2. 上 市	3. 大 井	4. 小矢部	5. 婦 中	3. 大 井
平成3	1,702	14,322	7,640	4,318	-	51,218
平成4	1,968	5,025	9,998	5,992	-	59,735
平成5	642	1,100	8,827	5,093	-	72,509
平成6	13,655	3,527	26,275	94,055	-	169,307
平成7	6,398	1,790	26,247	21,751	-	161,391
平成8	2,034	1,562	36,305	7,683	-	275,957
平成9	7,054	1,466	23,743	45,250	-	172,373
平成10	6,250	5,620	96,196	31,158	-	657,900
平成11	1,954	2,676	52,436	27,944	-	344,498
平成12	1,181	2,965	67,757	19,477	-	495,004
平成13	1,443	6,574	78,846	12,877	-	504,862
平成14	2,187	1,288	62,135	1,330	-	465,957
平成15	2,181	195,869	60,527	17,963	8,555	469,460
平成16	4,880	225,945	90,578	12,758	12,733	468,459
平成17	8,392	295,817	88,321	12,088	11,424	735,891
平成18	891	16,462	15,295	4,569	3,780	117,306
平成19	13,819	203,488	73,227	50,777	16,337	516,504
平成20	10,089	35,478	78,052	16,199	23,581	492,617
平成21	5,011	6,119	46,180	9,893	12,423	373,502
平成22	8,758	14,074	146,861	70,400	50,790	841,733
平成23	36,900	20,612	150,365	45,532	36,508	933,761
平成24	5,883	4,836	115,041	39,225	16,359	813,944
平成25	11,498	7,268	106,487	27,956	20,513	1,022,161
平成26	1,282	880	72,879	12,692	4,323	489,610
平成27	6,214	4,000	336,974	37,781	4,234	1,704,873

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

を集計した年間捕集数で比較すると「3. 大井」が最も多く、「4. 小矢部」「1. 黒部」と続いた。

表4に、平成3年以降のコガタアカイエカ雌成虫の定点別捕集数を示した。平成27年の捕集数は、「5. 婦中」において平成26年の捕集数と同程度で、その他の4定点において平成26年の捕集数よりも多かった。それらの中でも「1. 黒部」「2. 上市」「3. 大井」では、平成27年の捕集数は平成26年の5倍以上であった。特に「3. 大井」では、平成27年の捕集数は平成3年以降で最大であった。全体的に、平成27年の捕集数は、平成26年よりも大幅に多かった。

II. 豚血清の日本脳炎 HI 抗体保有調査

調査対象と検査方法：7月7日から10月29日までの約4ヶ月間、富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産（小矢部市、南砺市、上市町、黒部市）の豚を対象として、月3回、各20頭ずつから血液を採取し、合計240頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式 [16] に従った。すなわち、アセト

ン処理を2回行うことにより、被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後、日本脳炎CF、HI 試薬「生研」JaGAR01株（デンカ生研）を抗原として、赤血球凝集抑制（HI）反応により抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、マイクロタイター法で行った。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。さらに、抗体価40倍以上を示した血清について37℃で1時間2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行い、抗体価が8倍以上下がれば2-ME感受性陽性（= IgM抗体陽性）とし、新鮮感染とみなした。

結果および考察：HI抗体価の測定結果を表5に示した。全体として、新鮮感染を示す豚は確認されなかった。

以上のことから、平成27年は、日本脳炎ウイルスの流行は小規模であったと推測される。

III. 蚊と豚からの日本脳炎ウイルス分離

調査対象と検査方法：平成27年4月から11月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、公園の計11地点で捕集した蚊をウイルス分離に用い

表5. 豚血清における日本脳炎ウイルスのHI抗体保有状況（平成27年度）

検体採取日	抗体価								2-ME感受性陽性数/検査数
	<10	×10	×20	×40	×80	×160	×320	≥640	
7月7日	20 (100)								
13日	20 (100)								
21日	20 (100)								
8月3,4日	20 (100)								
17,18,20日	20 (100)								
25日	20 (100)								
9月7,8日	20 (100)								
14,15日	20 (100)								
23日	20 (100)								
10月5,6日	19 (95)						1 (5)		0/1 (0.0)
13日	20 (100)								
26,29日	18 (90)					2 (10)			0/2 (0.0)
計	237 (98.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (0.8)	1 (0.4)	0 (0.0)	0/3 (0.0)

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

表 6. 日本脳炎ウイルスが分離されたブタ血清 (平成 27 年度)

番号	種 名	月 齢	HI抗体価	調査地	採血日
178	ブタ	6	<10	南砺市	2015/9/23
233	ブタ	6	<10	南砺市	2015/10/26
237	ブタ	6	<10	上市町	2015/10/29

た。また、抗体調査に用いた豚血清 240 検体についてもウイルス分離を行った。分離には、ヒトスジシマカ由来の C6/36 細胞とアフリカミドリザル由来の Vero9013 細胞を用いた。細胞変性が現れた検体の培養上清について、日本脳炎ウイルス NS3 領域を対象としたリアルタイム RT-PCR[17]を実施した。

結果および考察：捕集蚊 350 プール (8,070 個体)のうち、9月17日に畜舎で捕集したコガタアカイエカから日本脳炎ウイルスが分離された。豚血清からは、表 6 のとおり、9月23日～10月29日の3検体から日本脳炎ウイルスが分離された。

これまでの調査結果 [7-15,18-20] より、ウイルスが濃厚に存在している年と、不活発な年があると考えられ、平成 27 年はウイルスが分離されたものの、ウイルスの動向はそれほど活発ではない年であったと思われる。

ま と め

コガタアカイエカの捕集数は、平成 26 年よりも大幅に多かった。豚の抗体保有率は 10% 以下で推移し、新鮮感染を示す個体は確認されなかった。蚊 1 検体及び豚血清 3 検体から日本脳炎ウイルスが分離された。これらの結果から、ウイルスの活動は小規模であり、日本脳炎患者が発生する可能性は低いと考えられた。県内において患者は発生しなかった。

謝 辞

本調査の実施にあたり、蚊検体の採集と分類・計数にご協力いただいた国立感染症研究所昆虫医科学部の渡辺護先生に深謝いたします。また、ご協力いただいた各定点畜舎、食肉総合センター、食肉検査所の各位に感謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2011). 平成 20 年度感染症流行予測調査報告書, 80-106
2. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2012). 平成 21 年度感染症流行予測調査報告書, 128-156
3. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2013). 平成 22 年度感染症流行予測調査報告書, 83-111
4. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2014). 平成 23 年度感染症流行予測調査報告書, 119-147
5. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2015). 平成 24 年度感染症流行予測調査報告書, 123-149
6. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2016). 平成 25 年度感染症流行予測調査報告書, 126-153
7. 渡辺 護, 長谷川澄代, 小原真弓, 道谷真由美 (2007). 富山衛研年報, 30, 62-74
8. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 川尻千賀子 (2008). 富山衛研年報, 31, 65-75.
9. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 林 達哉 (2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
10. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 植田陽子 (2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
11. 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
12. 山内健生, 名古屋(小原)真弓, 渡辺 護, 關口健治 (2012). 富山衛研年報, 35, 48-57
13. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2013). 富山衛研年報, 36, 89-95
14. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 82-88
15. 稲崎倫子, 嶋 一世, 渡辺 護, 大平恵吾 (2015). 富山衛研年報, 38, 69-75
16. 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.

17. Huang, J. L., Lin, H. T., Wang, Y. M., Weng, M. H., Ji, D. D., Kuo, M. D., Liu, H. W., Lin, C. S.(2004). J. Med. Virol., 74, 589-96
18. Watanabe, M., Hasegawa, S., Obara, M., Ando, S., Yamauchi, T. and Takizawa, T. (2011) Long-term analyses of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*, and serological surveys of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 – a review of surveys for the prediction of epidemics of Japanese encephalitis in Toyama Prefecture over 35 years -. 159 pp. Skarafactory. Ltd., Toyama.
19. Obara, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Ueda, Y., Matsuno, K., Iwai, M., Horimoto, E., Kurata, T., Takizawa, T., Kariwa, H., Takashima, I. (2011) . Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708
20. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 滝澤剛則 (2011) 富山衛研年報, 34, 97-105

日本脳炎流行予測調査(感受性調査)平成 27 年度

名古屋真弓 稲崎 倫子 小淵 正次 板持 雅恵
佐賀由美子 稲畑 良 滝澤 剛則 大井 哲夫¹
南部 厚子² 大西さやか³ 遠藤 京子⁴ 島崎 忠美⁵
大平 恵吾⁶

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese
Encephalitis virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015

Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Masatsugu OBUCHI,
Masae ITAMOCHI, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Takenori TAKIZAWA,
Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU², Sayaka OONISHI³, Kyoko ENDO⁴,
Tadami SHIMAZAKI⁵ and Keigo OOHIRA⁶

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

調査および検査方法: 平成 27 年 7 月から 10 月に、新川、中部、高岡、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、合計 277 名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

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

結果および考察: 277 名のうち、日本脳炎ウイル

スに対する抗体陽性者は 169 名(61.0%)であった。図 1 に年齢群別の抗体保有率を示した。5～29 歳では 80% 以上と高い抗体保有率を示した。それ以外は 40% 前後となる年齢群が多く、特に 0～4 歳で 34.0%、50～59 歳で 32.0%、60 歳以上で 36.4% と低かった。結果として、抗体保有率は N 字型と山型の中間の曲線を描いていた。この形は平成 26 年度の結果 [1] や近年の全国の結果 [2] と同様であった。

0～4 歳の乳幼児における抗体保有率の低さは、ワクチン未接種のためと考えられる。5～9 歳の抗体保有率は平成 19 年度に 78.9% であったが、平成 20 年度に 41.2%、平成 21 年度に 36.4% と一時減少し、平成 22 年度以降は回復して今回 95.7% と調査開始以来最も高かった(図 1, 図 2)。これは、平成 17 年 5 月に予防接種の勧奨が中止された [3] が、平成 22 年 4 月から第 1 期(通常 3～4 歳)の定期接種 [4] の積極的勧奨が再開されたことと、平成 22 年 8 月より第 2 期(通常 9 歳)の定期接種が再開され [5]、さらに第 1 期を受けそびれていた人も接種を受けられるようになったことによると考えられる。いずれの調査年でも 30～59 歳で抗体保有率が低い理由は、加齢に伴いワクチン効果が減弱したことが考えられる。逆に 60 歳以上で抗体保有率がやや増加するのは、自然感染の機会が多かったためと考えられ

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

る。しかしながら今回は60歳以上の抗体保有率は50～59歳に比べ4.4%高いのみで、自然感染の機会が徐々に減っていると考えられる。

調査対象者の予防接種歴を年齢群別に示すと(図3)、「接種歴なし」の割合は、0～4歳で70.2%と最も多かった。この結果は、平成19～26年度の結果[1,6-12]と顕著な差はなく、0～4歳に定期接種の対象年齢(通常3～4歳から)未満が多く含まれるためと考えられる。

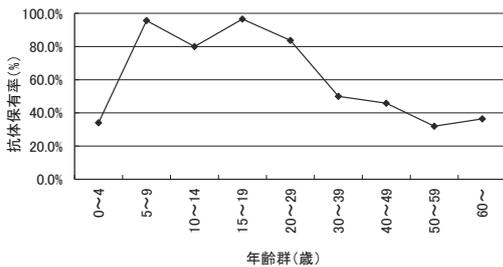


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

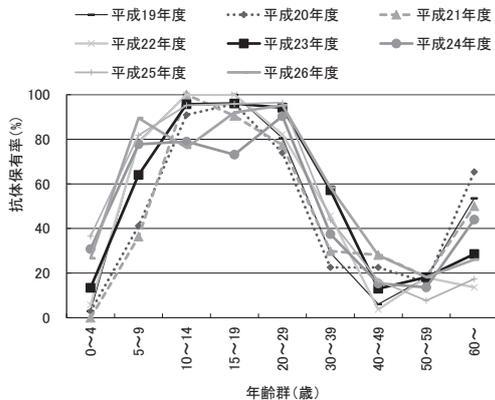


図2. 平成19～26年度の年齢群別中和抗体保有率

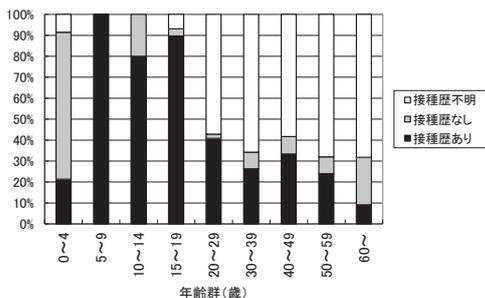


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

「接種歴あり」の割合は5～9歳での100%がピークで、15～19歳でも89.7%であった。これらの年齢層で抗体保有率が高いのは、接種歴が高かったためと考えられる。10～14歳で接種率及び抗体保有率がやや低かったのは、これらの年齢群が通常第1期接種を受けるはずの3歳頃、平成17～21年頃に、日本脳炎ワクチンが積極的勧奨中止となったことが要因の一つかもしれない。平成26年度[1]と同様、20歳以上では「接種歴あり」は約40%以下であり、多くは「接種歴不明」であった。

予防接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」で23.5%、「接種歴不明」で53.3%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では83.5%であった(表1)。予防接種歴のある人の抗体保有率は、平成19～26年度には72.7～80.6%であった[1,6-12]の比較するとやや増加した。年齢群別にみると、1回以上接種歴のある対象者のうち、抗体陽性者の割合は、39歳以下では70%以上であるものの、40歳以上では12.5～50%となっている。これは、加齢に伴いワクチンの効果が減弱しているためと思われる。この傾向は平成19～26年度[1,6-12]の結果と同様であった。

「接種歴なし」の中に、抗体陽性者が23.5%存在した(表1)。これは自然感染によるものと推測されるが、罹患歴は全て「なし」であり、不顕性感染であったと推定される。平成19～26年度には5.6～21.7%であったの比較すると、今回最も多かった。また、0～4歳での人数が6名とこれまでの調査で最も多かった。なお、この年齢群の予防接種歴は母子手帳で確認できる場合が多く、他の年齢群より正確と考えられる。詳しく年齢をみると、11か月齢～2歳1か月齢となっており、移行抗体が残存していたとは考えにくく、前述のとおり不顕性感染であった可能性がある。0～4歳の年齢群では、平成22年度まで「接種歴なし」の抗体陽性者が0名であったのが、平成23年度以降毎年1～5名であった。全国ではこれまでに1～3歳児の日本脳炎患者も報告されている[13]ため、本年齢群の患者発生に注視するとともに、引き続き感受性調査を実施していく必要がある。

参考に、富山県における予防接種率を図4に示す。平成16年度までは80%前後であったが、平成17年のワクチンの勧奨中止[3]により、平成17年度には10～20%、18年度、19年度は数%と激減した。しかしながら、20年度以降接種率は回復し始め、平成22～24年度は80%以上と

表 1. ワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり			接種歴なし			接種歴不明			合計		
	陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率		陽性数/検査数	陽性率	
0～4	10 / 10	100.0%		6 / 33	18.2%		0 / 4	0.0%		16 / 47	34.0%	
5～9	22 / 23	95.7%		0 / 0			0 / 0			22 / 23	95.7%	
10～14	15 / 16	93.8%		1 / 4	25.0%		0 / 0			16 / 20	80.0%	
15～19	26 / 26	100.0%		0 / 1	0.0%		2 / 2	100.0%		28 / 29	96.6%	
20～29	17 / 20	85.0%		0 / 1	0.0%		24 / 28	85.7%		41 / 49	83.7%	
30～39	7 / 10	70.0%		0 / 3	0.0%		12 / 25	48.0%		19 / 38	50.0%	
40～49	1 / 8	12.5%		1 / 2	50.0%		9 / 14	64.3%		11 / 24	45.8%	
50～59	2 / 6	33.3%		1 / 2	50.0%		5 / 17	29.4%		8 / 25	32.0%	
60～	1 / 2	50.0%		3 / 5	60.0%		4 / 15	26.7%		8 / 22	36.4%	
計	101 / 121	83.5%		12 / 51	23.5%		56 / 105	53.3%		169 / 277	61.0%	

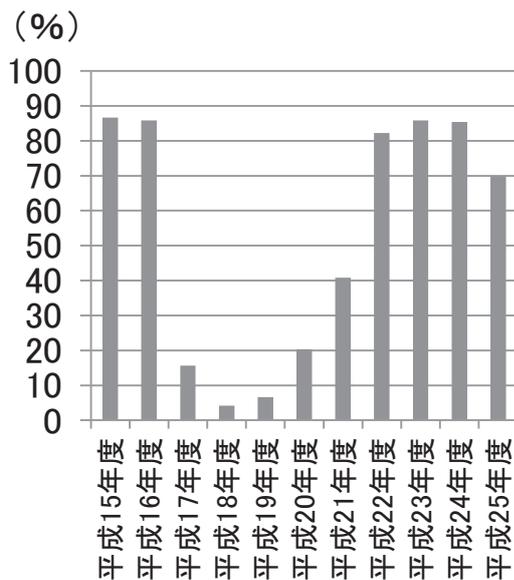


図 4. 富山県における日本脳炎予防接種率
接種率は保健統計年報 [14-24] を参考にした。

ほぼ勧奨中止前と同程度となった。平成 25 年度に約 70% と減少しているが、その理由については不明である。

まとめ：今回の調査では、県民の抗体保有率は平成 19～26 年度の約 50% よりやや高く、61% であった。日本脳炎ワクチンの勧奨中止 [3] に伴い減っていた接種率が回復し、過去に定期接種を受けられなかった人も改めて受けることができるようになり、その影響が大きくなってきたためかもしれない。今後も高い接種率と抗体保有率を維持することが期待される。

予防接種歴のある人の抗体保有率は例年同様、8 割程度であった。また、同じく例年と同様、乳幼児の抗体保有率が低いこと、不顕性自然感染をしている人がいることなどが確認された。

0～4 歳の不顕性感染と思われる抗体保有者については、今後の動向に注意が必要である。

富山県では平成 9 年度を最後に日本脳炎患者は発生していないものの [25]、日本脳炎流行予測調査の感染源調査やウイルス分離調査において、県内での日本脳炎ウイルスの存在が確認されている [25-31]。このことから、ワクチン未接種の乳幼児、50 歳以上の抗体保有率が低い年齢群、及び発症リスクの高い高齢者は、特に蚊に刺されないための注意が必要である。

謝 辞

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

文 献

1. 稲崎倫子, 嶋 一世, 小渕正次, 板持雅恵, 稲畑 良, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 大西さやか, 遠藤京子, 江本かおり, 關口健治 (2015). 富山衛研年報, 38, 76-79
2. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター (2016). 平成 25 年度感染症流行予測調査報告書, 126-153
3. 厚生労働省健康局結核感染症課長 (2005). 健感発第 0530001 号
4. 厚生労働省健康局長, 厚生労働省医薬食品局長 (2010). 健発 0401 第 19 号, 薬食発 0401 第 25 号
5. 厚生労働省健康局長, 厚生労働省医薬食品局長 (2010). 健発 0827 第 10 号, 薬食発 0827 第 4 号

6. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 田中桂子, 南部厚子, 田中有易知, 上田順子, 嶋尻悟志 (2008). 富山衛研年報, 31, 76-78
7. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 高田厚史, 南部厚子, 原田慎太郎, 清原美千代, 嶋尻悟志 (2009). 富山衛研年報, 32, 65-67
8. 小原真弓, 長谷川澄代, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 中村一哉, 滝澤剛則, 倉田 毅, 高田厚史, 南部厚子, 中村純香, 清原美千代, 春木加奈, 植田陽子 (2010). 富山衛研年報, 33, 79-81
9. 小原真弓, 堀元栄詞, 岩井雅恵, 小淵正次, 滝澤剛則, 高田厚史, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 嶋尻悟志, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 58-61
10. 名古屋(小原)真弓, 堀元栄詞, 板持(岩井)雅恵, 小淵正次, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 馬淵俊輔, 川越久美子, 星山典江, 關口健治 (2012). 富山衛研年報, 35, 58-61
11. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 堀元栄詞, 小淵正次, 嶋 一世, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 大西さやか, 川越久美子, 高道江里子, 關口健治 (2013). 富山衛研年報, 36, 96-99
12. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 堀元栄詞, 小淵正次, 板持雅恵, 嶋 一世, 滝澤剛則, 大井哲夫, 南部厚子, 大西さやか, 遠藤京子, 江本かおり, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 89-92
13. 国立感染症研究所ウイルス第一部. 日本脳炎 2015. <http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/JEVMeeting.htm> (2016年6月3日アクセス可能)
14. 富山県厚生部 (2005). 保健統計年報 (平成15年度), 55, 306-307
15. 富山県厚生部 (2006). 保健統計年報 (平成16年度), 56, 306-307
16. 富山県厚生部 (2007). 保健統計年報 (平成17年度), 57, 304-305
17. 富山県厚生部 (2008). 保健統計年報 (平成18年度), 58, 311-313
18. 富山県厚生部 (2009). 保健統計年報 (平成19年度), 59, 246-247
19. 富山県厚生部 (2010). 保健統計年報 (平成20年度), 60, 244-245
20. 富山県厚生部 (2011). 保健統計年報 (平成21年度), 61, 244-245
21. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成22年度), 62, 244-245
22. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成23年度), 63, 244-245
23. 富山県厚生部 (2014). 保健統計年報 (平成24年度), 64, 244-245
24. 富山県厚生部 (2015). 保健統計年報 (平成25年度), 65, 244-245
25. Obara, M., Yamauchi, T., Watanabe, M., Hasegawa, S., Ueda, Y., Matsuno, K., Iwai, M., Horimoto, E., Kurata, T., Takizawa, T., Kariwa, H., Takashima, I. (2011). *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 84, 695-708
26. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 林 達哉 (2009). 富山衛研年報, 32, 55-64
27. 山内健生, 小原真弓, 長谷川澄代, 渡辺 護, 植田陽子 (2010). 富山衛研年報, 33, 69-78
28. 山内健生, 小原真弓, 小淵正次, 渡辺 護, 關口健治 (2011). 富山衛研年報, 34, 48-57
29. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則 (2011). 富山衛研年報, 34, 97-105
30. 山内健生, 名古屋(小原)真弓, 渡辺 護, 關口健治 (2012). 富山衛研年報, 35, 48-57
31. 山内健生, 名古屋真弓, 渡辺 護, 稲崎倫子, 關口健治 (2014). 富山衛研年報, 37, 82-88

ポリオ流行予測調査(平成 27 年度)

板持 雅恵 稲畑 良 名古屋真弓 稲崎 倫子
小淵 正次 佐賀由美子 大井 哲夫¹ 南部 厚子²
大西さやか³ 遠藤 京子⁴ 島崎 忠美⁵ 大平 恵吾⁶
滝澤 剛則

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015

Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI,
Masatsugu OBUCHI, Yumiko SAGA, Tetsuo OOI¹, Atsuko NANBU²,
Sayaka OONISHI³, Kyoko ENDO⁴, Tadami SHIMAZAKI⁵, Keigo OHIRA⁶
and Takenori TAKIZAWA

急性灰白髄炎(ポリオ)は、ポリオウイルスが中枢神経へ侵入することにより弛緩性麻痺を呈する感染症である。ヒトの腸管で増殖したポリオウイルスは糞便中に排泄され、経口感染によってヒトの間を伝播する。1988年に世界保健機関(WHO)によりポリオ根絶計画が提唱されて以来、ポリオウイルス野生株によるポリオ症例数は、当初125カ国以上で35万例と推計されていたが、2015年には2カ国から74例の報告となり、99%以下まで減少した[1]。しかしながら、パキスタン、アフガニスタンの2カ国では現在も野生株の伝播が続いている[1]。一方、ワクチン株が変異し、地域伝播することにより複数の患者に麻痺を発症させる伝播型ワクチン由来ポリオウイルス(cVDPV)による症例は7か国で報告されている[1,2]。このような流行地からの野生株やcVDPVの侵入を阻止するためには、ポリオウイルスに対する高い集団免疫と、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。平成24年度までの調査内容は、健康な乳幼児の糞便についてポリオウイルスの検索を行う「感染源調査」と、県民のポリオウイルスに対する中和抗体保有状況を調べる「感受性調査」で

あった。平成24年度9月からの生ワクチンから不活化ワクチンへの切り替えに伴い、平成25年度からは「感染源調査」は乳幼児の糞便に代わり、下水流入水についてポリオウイルスの検索を行うこととなった。「感受性調査」の方法には変更はなく、本稿では両調査結果を合わせて報告する。

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

感染源調査

調査方法：平成27年7月から12月まで、富山県内の1下水処理場(分流式)において、月1回下水流入水を約2L採取した。下水流入水は4℃で3000rpm、30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」[3,4]により濃縮した。即ち、下水流入水遠心上清1Lに、最終濃度0.05Mとなるように塩化マグネシウムを添加し、0.5Nの塩酸を用いてpH3.5に調整した。この液を陰電荷膜に加圧濾過して吸着させた後、陰電荷膜を細切し、3% Beef Extract液10mLを添加してボルテックスミキサーによりウイルスを溶出した。溶出液を回収しポアサイズ0.45 μ mのフィルターに濾過して得られた濾液を100倍濃縮下水検体とした(1

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

表 1. 下水流入水からのウイルス分離株数

分離ウイルス		平成27年						計
		7月	8月	9月	10月	11月	12月	
ポリオ	1型							0
	2型							0
	3型							0
コクサッキー	A16型	1						1
	B5型				9	3	1	13
エコー	7型		1					1
	18型						1	1
	25型				1			1
	30型						4	4
アデノ	1型					3		3
	2型	1						1
	41型	7						7
計		1	1	0	10	6	6	24

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

1型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	23	0	2	2	2	3	3	2	4	4	1	23	(100)	74.4
2~3	22	0	1	0	1	0	5	7	4	2	2	22	(100)	132.1
4~9	27	0	0	0	1	3	5	2	3	6	7	27	(100)	225.2
10~14	20	0	0	0	0	4	6	0	5	1	4	20	(100)	152.2
15~19	29	0	2	1	1	4	5	6	2	6	2	29	(100)	100.8
20~24	22	1	0	3	0	1	3	3	5	5	1	21	(95.5)	132.3
25~29	27	1	2	1	1	3	4	8	2	3	3	27	(100)	99.0
30~34	21	2	1	3	2	2	2	2	5	2	0	19	(90.5)	61.7
35~39	17	1	1	1	1	5	2	3	2	1	0	16	(94.1)	53.8
40~49	24	3	2	0	7	2	2	1	3	1	3	21	(87.5)	59.9
50~59	25	2	1	1	2	3	6	4	2	2	2	23	(92.0)	81.4
60~	22	0	0	2	6	2	5	2	2	3	0	22	(100)	54.7
合計 (%)	279	10	12	14	24	32	48	40	39	36	25	270	(96.8)	95.5
		(3.6)	(4.3)	(5.0)	(8.6)	(11.4)	(17.1)	(14.3)	(13.9)	(12.9)	(8.9)	(96.8)		

2型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	23	0	0	0	1	4	2	4	2	3	7	23	(100)	207.3
2~3	22	0	0	0	1	0	1	5	4	5	6	22	(100)	309.3
4~9	27	0	1	2	3	2	6	2	3	5	3	27	(100)	99.0
10~14	20	0	0	0	2	4	5	5	1	3	0	20	(100)	84.4
15~19	29	0	0	0	4	7	8	3	5	1	1	29	(100)	72.1
20~24	22	0	2	1	2	7	7	2	0	1	0	22	(100)	37.5
25~29	27	0	1	1	4	8	6	4	2	1	0	27	(100)	47.0
30~34	21	0	1	2	1	8	4	3	2	0	0	21	(100)	41.7
35~39	17	0	0	3	5	1	2	2	2	1	1	17	(100)	48.1
40~49	24	0	1	1	3	7	4	4	3	0	1	24	(100)	53.8
50~59	25	1	0	4	3	1	7	7	1	1	0	24	(96.0)	52.3
60~	22	1	1	5	0	3	6	3	2	1	0	21	(95.5)	43.1
合計 (%)	279	2	7	19	29	52	58	44	27	22	19	277	(99.3)	71.6
		(0.7)	(2.5)	(6.8)	(10.4)	(18.6)	(20.7)	(15.8)	(9.6)	(7.9)	(6.8)	(99.3)		

3型

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
		<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	23	0	0	2	1	1	4	6	3	3	3	23	(100)	131.9
2~3	22	0	0	0	2	0	4	3	4	4	5	22	(100)	218.7
4~9	27	8	1	2	5	5	3	1	1	0	1	19	(70.4)	33.2
10~14	20	7	3	5	3	0	1	1	0	0	0	13	(65.0)	11.6
15~19	29	5	7	5	5	3	3	1	0	0	0	24	(82.8)	13.1
20~24	22	7	1	7	1	2	4	0	0	0	0	15	(68.2)	16.8
25~29	27	6	5	5	4	2	3	1	1	0	0	21	(77.8)	16.0
30~34	21	9	1	4	1	2	3	1	0	0	0	12	(57.1)	21.4
35~39	17	9	3	2	0	1	0	1	1	0	0	8	(47.1)	16.0
40~49	24	6	1	4	3	3	4	1	2	0	0	18	(75.0)	29.6
50~59	25	4	2	3	5	5	3	0	2	1	0	21	(84.0)	28.0
60~	22	3	2	3	2	7	2	2	0	1	0	19	(86.4)	27.7
合計 (%)	279	64	26	42	32	31	34	18	14	9	9	215	(77.1)	31.9
		(22.9)	(9.3)	(15.0)	(11.4)	(11.1)	(12.1)	(6.4)	(5.0)	(3.2)	(3.2)	(77.1)		

番溶出液)。同様の溶出操作を繰り返し、2番溶出液を得た。24穴プレートに培養した細胞(Vero, MA104, RD, HEp-2, L20B)に、1番溶出液は各細胞当たり5穴、2番溶出液は3穴の計8穴(総計40穴)接種し(180 μ l/穴)、細胞変性効果を指標にウイルスを分離した。分離株は、エンテロウイルス、及びアデノウイルス抗血清(国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研)を用いた中和試験により同定した。

結果および考察：下水流入水からは、ポリオウイルスは分離されなかった(表1)。その他のウイルスでは、コクサッキーウイルスA16型、B5型、エコーウイルス7型、18型、25型、30型、アデノウイルス1型、2型、41型が分離された。特に10～12月にコクサッキーウイルスB5型の分離数が多く、県内での流行が考えられた。

富山県内ではワクチン関連麻痺を含め、急性弛緩性麻痺患者の報告はなかった。また、脳炎・脳症、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎の患者からのポリオウイルス検出はなかった。これらのことから、

県内におけるポリオウイルスやcVDPVの伝播の可能性は低いと考えられた。

感受性調査

調査方法：平成27年7月から9月にかけて、高岡、新川、中部、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、乳児から成人まで合計279名(0～87歳)について、採血と予防接種歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[5]に準じて行った。すなわち、被験血清をEagle-MEM培養液で4倍希釈し、56℃30分間非働化した後、その50 μ lを96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100TCID₅₀/50 μ lとなるように調製した1～3型のポリオウイルス(弱毒セービンウイルス)50 μ lを加えてよく混和し、35℃、3時間の中和反応を行った。中和後、Vero細胞浮遊液(1～2 \times 10⁵細胞/ml)を100 μ lずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1

表 3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化ワクチン接種歴あり			ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明			
年齢区分(歳)	検体数(人)	2回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化3回接種		生1回不活化2回接種		生1回不活化1回接種		4回以上接種		3回接種		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数		保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	23															
2～3	22					3 / 3	(100)	1 / 1	(100)							
4～9	27	23 / 23	(100)							1 / 1	(100)					
10～14	20	17 / 17	(100)		2 / 2	(100)									1 / 1 (100)	
15～19	29	24 / 24	(100)		1 / 1	(100)									4 / 4 (100)	
20～24	22	5 / 5	(100)													
25～29	27	3 / 4	(75.0)		2 / 2	(100)								0 / 1 (0)	16 / 16 (100)	
30～34	21				1 / 1	(100)								1 / 1 (100)	20 / 20 (100)	
35～39	17				1 / 1	(100)								2 / 2 (100)	16 / 18 (88.9)	
40～49	24			1 / 1 (100)	2 / 2	(100)								3 / 3 (100)	12 / 13 (92.3)	
50～59	25	2 / 2	(100)		3 / 3	(100)								2 / 2 (100)	16 / 19 (84.2)	
60～	22													1 / 1 (100)	17 / 19 (89.5)	
合計	279	74 / 75	(98.7)	1 / 1 (100)	12 / 12	(100)	3 / 3	(100)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	26 / 26	(100)	18 / 18	(100)	16 / 17 (94.1)	117 / 125 (93.6)
		136/137 (99.3%)														
2型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化ワクチン接種歴あり			ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明			
年齢区分(歳)	検体数(人)	2回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化3回接種		生1回不活化2回接種		生1回不活化1回接種		4回以上接種		3回接種		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数		保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	23															
2～3	22					3 / 3	(100)	1 / 1	(100)							
4～9	27	23 / 23	(100)							1 / 1	(100)					
10～14	20	17 / 17	(100)		2 / 2	(100)									1 / 1 (100)	
15～19	29	24 / 24	(100)		1 / 1	(100)									4 / 4 (100)	
20～24	22	5 / 5	(100)													
25～29	27	4 / 4	(100)		2 / 2	(100)								1 / 1 (100)	16 / 16 (100)	
30～34	21				1 / 1	(100)								1 / 1 (100)	20 / 20 (100)	
35～39	17				1 / 1	(100)								2 / 2 (100)	18 / 18 (100)	
40～49	24			1 / 1 (100)	2 / 2	(100)								3 / 3 (100)	13 / 13 (100)	
50～59	25	2 / 2	(100)		3 / 3	(100)								2 / 2 (100)	19 / 19 (100)	
60～	22													0 / 1 (0)	19 / 19 (100)	
合計	279	75 / 75	(100)	1 / 1 (100)	12 / 12	(100)	3 / 3	(100)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	26 / 26	(100)	18 / 18	(100)	16 / 17 (94.1)	124 / 125 (99.2)
		137/137 (100%)														
3型		生ワクチン接種歴あり			生、及び不活化ワクチン接種歴あり			不活化ワクチン接種歴あり			ワクチン接種歴なし		ワクチン接種歴不明			
年齢区分(歳)	検体数(人)	2回以上接種		1回接種	回数不明	生1回不活化3回接種		生1回不活化2回接種		生1回不活化1回接種		4回以上接種		3回接種		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数		保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	23															
2～3	22					3 / 3	(100)	1 / 1	(100)							
4～9	27	15 / 23	(65.2)							1 / 1	(100)					
10～14	20	11 / 17	(64.7)		1 / 2	(50.0)									1 / 1 (100)	
15～19	29	19 / 24	(79.2)		1 / 1	(100)									4 / 4 (100)	
20～24	22	2 / 5	(40.0)													
25～29	27	3 / 4	(75.0)		2 / 2	(100)								1 / 1 (100)	12 / 16 (75.0)	
30～34	21				1 / 1	(100)								1 / 1 (100)	15 / 20 (75.0)	
35～39	17				1 / 1	(100)								2 / 2 (100)	9 / 18 (50.0)	
40～49	24			1 / 1 (100)	2 / 2	(100)								1 / 3 (33.3)	6 / 13 (46.2)	
50～59	25	2 / 2	(100)		3 / 3	(100)								1 / 2 (50.0)	14 / 19 (73.7)	
60～	22													1 / 1 (100)	15 / 19 (78.9)	
合計	279	52 / 75	(69.3)	1 / 1 (100)	11 / 12	(91.7)	3 / 3	(100)	1 / 1 (100)	1 / 1 (100)	26 / 26	(100)	18 / 18	(100)	14 / 17 (82.4)	88 / 125 (70.4)
		113/137 (82.5%)														

週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2穴ずつ測定した。ポリオウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所においてVeroE6細胞で1代継代後、さらにVero細胞で1代継代したものを使用した。

結果および考察：表2にポリオウイルスに対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況を示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、2型が99.3% (277/279) で最も高く、次いで1型が96.8% (270/279)、3型が77.1% (215/279) であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は1, 2型については高く維持されていると考えられた。各年齢区分をみると、1型では40～49歳が87.5%であったが、それ以外の年齢区分は90%以上の抗体保有率であった。2型はすべての年齢区分で95%以上の抗体保有率を示した。一方、3型は35～39歳が47.1%、30～34歳が57.1%、10～14歳が65.0%、20～24歳が68.2%と1型、2型に比べて低い年齢層が多かった。1型、2型に比し3型の抗体保有率が低いのは、これまでの全国の調査でも同様である [6]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、1型では35～39歳の53.8倍から4～9歳の225.2倍までを示し、平均は95.5倍であった。2型では20～24歳の37.5倍から2～3歳の309.3倍までを示し、平均は71.6倍であった。3型では10～14歳の11.6倍から2～3歳の218.7倍までを示し、平均は31.9倍であった。

表3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。2回の生ワクチン接種では、1型で98.7%、2型で100%と高い抗体保有率を示し、3

型は65.3%と1, 2型に比し低値を示した。一方、2回以上の不活化ワクチン接種では、1, 2, 3型のいずれも100%と高い抗体保有率を示した。

表4に1, 2, 3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では73.8% (206/279) であったが、35～39歳が47.1% (8/17) と比較的低い値を示した。同年齢層の3型に対する比較的低い中和抗体保有率 (47.1%) を反映しているものと考えられた (表2)。

ポリオ生ワクチンは、1961年に全国の乳幼児を対象に一斉に接種が開始され、1963年からは2回接種が定期的に行われてきた [7]。さらに、2012年9月からは不活化ワクチンの個別接種に切り替えられた [8]。不活化ワクチンの接種スケジュールは、生後3ヶ月以上90ヶ月未満の間に計4回接種する。初回接種として20～56日間隔で (標準として12ヶ月までに) 3回接種し、その後追加免疫として初回免疫終了後12～18ヶ月の間を標準として1回接種する [8, 9]。

従来の生ワクチンの2回接種では、1型、2型ではほぼ100%と高い抗体保有率を示したのに対して、3型では72.7% (64/88) と1, 2型に比べ低値であった。生ワクチンは3種類のウイルスを同時に接種するため、ウイルスの干渉作用により、2型に比べ1型、さらに3型のポリオウイルスに対する免疫が得られにくいことが報告されている [10, 11]。不活化ワクチンの臨床試験では、4回の接種で生ワクチン接種と同等の免疫原性を有した結果が報告されている [12-15]。不活化ワクチンの接種者数はまだ少ないため、不活化ワクチンへの移行が、接種後の持続免疫や集団免疫保有状況にどのような影響を及ぼすかは、今後の推移を

表4. 1・2・3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 ともに 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数						1,2,3型(%)
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	
0～1	23								23 (100)
2～3	22								22 (100)
4～9	27					8			19 (70.4)
10～14	20					7			13 (65.0)
15～19	29					5			24 (82.8)
20～24	22					7	1		14 (63.6)
25～29	27					6	1		20 (74.1)
30～34	21			2		7			12 (57.1)
35～39	17		1			8			8 (47.1)
40～49	24					6	3		15 (62.5)
50～59	25					4	2	1	18 (72.0)
60～	22					3		1	18 (81.8)
合計 (%)	279 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (1.1)	0 (0)	61 (21.9)	7 (2.5)	2 (0.7)	206 (73.8)

見ていく必要がある。

2015 年では、パキスタン、アフガニスタンの 2 カ国から、74 例の 1 型野生株による麻痺症例が報告されている [1]。2 型野生株は 1999 年以降、3 型野生株は 2012 年 11 月以降報告されていない [1]。世界ポリオ根絶認定委員会は、2015 年 9 月、2 型野生株の根絶を宣言した [16]。一方 cVDPV では、2015 年には、マダガスカル、ウクライナ、ラオスから 1 型が、ナイジェリア、ギニア、パキスタン、ミャンマーからは 2 型が報告されている [1, 2]。世界全体の生ワクチン使用国で発生している年間 250～500 例のワクチン関連麻痺症例の約 40% が 2 型ウイルスによるため、2016 年 5 月までに 2 型の生ワクチンが世界的に停止され、2 価（1 型 + 3 型）生ワクチン導入が進められた。これらの生ワクチン使用国においては、少なくとも 1 回の不活化ワクチン接種が追加される [16]。

本調査結果は、県内においてポリオウイルスに対する高い抗体保有率が維持されていることを示している。したがって、県内への野生株、cVDPV の侵入及び伝播の可能性は、現時点では低いものと考えられた。しかしながら、世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチンが使用されなくなるまでは、ウイルスの侵入や地域伝播を防ぐために、今後もすべての型に対する高い集団免疫を保ち、高感度のサーベイランス体制を維持していくことが重要であると考えられる。

ま と め

感染源調査：平成 27 年 7 月～12 月に毎月 1 回、下水流入水についてポリオウイルスの検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：0 歳から 87 歳までの 279 名の血清について、ポリオウイルス（弱毒セービンウイルス）に対する中和抗体価を測定した。抗体価 4 倍以上の抗体保有率は 1 型 96.8%、2 型 99.3%、3 型 77.1% であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は 1 型 95.5 倍、2 型 71.6 倍、3 型 31.9 倍を示した。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた医療機関、下水処理場、その他関係各位に深く感謝申し上げます。

文 献

1. WHO (2016) . Weekly epidemiological record, 91, 193-208
2. WHO (2016) . Weekly epidemiological record, 91, 71-72
3. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2012) . ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル, 28-38
4. Iwai, M. et al. (2009) . Appl Environ Microbiol, 75, 1264-1270
5. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会 (2002) . 感染症流行予測調査事業検査術式, 1-8
6. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2009) . 病原微生物検出情報, 30, 178-180
7. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001) . 感染症発生動向調査週報, 3 (26), 8-11
8. 厚生労働省 (2012) . ポリオワクチン (<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/polio/>)
9. 厚生労働省 (2013) . 予防接種法第 5 条第 1 項の規定による予防接種の実施について, 平成 25 年 3 月 30 日付健発第 0330 第 2 号厚生労働省健康局長通知, 定期接種実施要領
10. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997) . J. Infect. Dis., 175, 545-553
11. 土居 穰, 鎗水 宏, 山本 浩ら (1993) . 臨床とウイルス, 21, 123-131
12. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997) . J. Infect. Dis., 175, S228-234
13. 一般財団法人阪大微生物病研究会, 田辺三菱製薬株式会社 (2013) . テトラビック皮下注シリンジ医薬品インタビューフォーム, 改訂第 4 版, 14-29
14. 一般財団法人科学及び血清療法研究所, アステラス製薬株式会社 (2013) . クアトロバック皮下注シリンジ医薬品インタビューフォーム, 改訂第 3 版, 7-21
15. 厚生労働省 (2012) . 第 4 回不可化ポリオワクチンの円滑な導入に関する検討会資料. (<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002gxwd.html>)
16. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2016) . 病原微生物検出情報, 37, 17-31

子の検出によって同定した。

1. 抗 A/California/7/2009 (H1N1) pdm09 血清
2. 抗 A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) 血清
3. 抗 B/Phuket/3073/2013 (山形系統) 血清
4. 抗 B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) 血清

血球は 0.75%モルモット血球浮遊液を使用した。

結果および考察

I 感受性調査

1. 年齢群別抗体保有状況

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

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

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 50.4%であった。年齢群別では、5～9 歳、10～14 歳、15～19 歳および 20～29 歳の群ではそれぞれ 69.6%、65.0%、86.2%、67.3%と高く、30～39 歳の群でも 44.7%と比較的高かった。一方、40～49 歳、50～59 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 37.5%、32.0%、36.4%と中程度で、0～4 歳の群では 22.9%と比較的低かった。

(2) A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 38.8%であった。年齢群別では、5～9 歳および 10～14 歳の群ではそれぞれ 82.6%、70.0%と高く、15～19 歳、50～59 歳および 60 歳以上の群でもそれぞれ 48.3%、40.0%、40.9%と比較的高かった。一方、0～4 歳、20～29 歳および 30～39 歳の群ではそれぞれ 27.1%、26.5%、31.6%と中程度で、40～49 歳の群では 16.7%と比較的低かった。

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

B 型インフルエンザウイルスには、抗原的および遺伝系統的に異なる 2 つの系統 (山形系統とビクトリア系統) がある。本株に対する HI 抗体

価 40 倍以上の抗体保有率は平均 21.6%であった。年齢群別では、15～19 歳の群では 41.4%と比較的高く、10～14 歳、20～29 歳、40～49 歳および 50～59 歳の群ではそれぞれ 30.0%、28.6%、29.2%、28.0%と中程度であった。一方、30～39 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 21.1%、18.2%と比較的低く、5～9 歳の群では 8.7%と低かった。さらに、0～4 歳の群では 0%だった。

(4) B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 6.1%であった。年齢群別では、10～14 歳、15～19 歳、30～39 歳、40～49 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 10.0%、10.3%、10.5%、12.5%、13.6%と比較的低かった。一方、50～59 歳および 20～29 歳の群ではそれぞれ 2.0%、4.0%と極めて低く、0～4 歳および 5～9 歳の群では 0%だった。

B 型に対する抗体保有率は、A 型と比較していずれの年齢群においても低い傾向がみられた。特にビクトリア系統株に対する抗体保有率は全年齢群で低かった。また、従来からの調査と同様に、0～4 歳の年齢群においては他の年齢群よりも抗体保有率が低いことから、インフルエンザに対する注意が必要であると考えられた。

2. 予防接種歴別抗体保有状況

調査対象者 278 名中、予防接種歴不明の 13 名を除く 265 名におけるインフルエンザワクチン接種率 (採血時に 2014/15 年シーズンのワクチン接種歴有りとは回答した者) は 55.5% (147 名) であった。年齢群別の接種率は 46.5 (0～4 歳)～67.9 (15～19 歳) %で、各年齢群間で最大 21.4 ポイントの差がみられた。

予防接種歴別抗体保有率を表 2 に示す。全年齢群における平均抗体保有率を予防接種歴別に見ると、A/California/7/2009 (H1N1) pdm09 で 61.2% : 38.1% (接種歴有群 : 接種歴無群, 以下同)、A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) で 48.3% : 28.8%、B/Phuket/3073/2013 (山形系統) で 23.8% : 17.8%、B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) で 8.2% : 4.2%と、全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して 4.0～23.1 ポイント高かった。特に、A 型ウイルスに対する抗体保有率でその差が顕著であった。以上の結果から、インフルエンザの予防にはワクチンの接種が有効であることが示唆された。

表1. 年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況

A/California/7/2009 (H1N1)pdm09

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	48	29	6	2	7	2	1	1	0	0	0	0	11	22.9
5-9	23	1	2	4	3	8	3	2	0	0	0	0	16	69.6
10-14	20	0	4	3	1	6	5	1	0	0	0	0	13	65.0
15-19	29	2	0	2	2	9	8	5	1	0	0	0	25	86.2
20-29	49	5	5	6	12	11	6	4	0	0	0	0	33	67.3
30-39	38	10	8	3	5	7	5	0	0	0	0	0	17	44.7
40-49	24	3	2	10	6	1	2	0	0	0	0	0	9	37.5
50-59	25	6	5	6	2	5	0	1	0	0	0	0	8	32.0
≥60	22	10	0	4	5	2	0	1	0	0	0	0	8	36.4
合計	278	66	32	40	43	51	30	15	1	0	0	0	140	50.4

A/Switzerland/9715293/2013(H3N2)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	48	30	3	2	7	4	1	1	0	0	0	0	13	27.1
5-9	23	2	2	0	8	5	5	1	0	0	0	0	19	82.6
10-14	20	1	1	4	5	5	1	2	1	0	0	0	14	70.0
15-19	29	2	5	8	9	3	1	1	0	0	0	0	14	48.3
20-29	49	18	7	11	9	3	1	0	0	0	0	0	13	26.5
30-39	38	13	9	4	9	2	0	1	0	0	0	0	12	31.6
40-49	24	6	5	9	2	2	0	0	0	0	0	0	4	16.7
50-59	25	6	5	4	3	6	1	0	0	0	0	0	10	40.0
≥60	22	5	5	3	3	3	2	1	0	0	0	0	9	40.9
合計	278	83	42	45	55	33	12	7	1	0	0	0	108	38.8

B/Phuket/3073/2013(山形系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	48	43	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	23	19	2	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	8.7
10-14	20	2	5	7	4	2	0	0	0	0	0	0	6	30.0
15-19	29	4	7	6	9	3	0	0	0	0	0	0	12	41.4
20-29	49	6	11	18	13	1	0	0	0	0	0	0	14	28.6
30-39	38	12	6	12	6	1	1	0	0	0	0	0	8	21.1
40-49	24	9	4	4	6	1	0	0	0	0	0	0	7	29.2
50-59	25	7	6	5	7	0	0	0	0	0	0	0	7	28.0
≥60	22	12	4	2	4	0	0	0	0	0	0	0	4	18.2
合計	278	114	48	56	50	9	1	0	0	0	0	0	60	21.6

B/Texas/2/2013(ビクトリア系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数											40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%	
0-4	48	40	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
5-9	23	13	8	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.0
10-14	20	3	9	6	2	0	0	0	0	0	0	0	2	10.0
15-19	29	8	10	8	2	1	0	0	0	0	0	0	3	10.3
20-29	49	24	18	6	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2.0
30-39	38	16	15	3	4	0	0	0	0	0	0	0	4	10.5
40-49	24	5	9	7	3	0	0	0	0	0	0	0	3	12.5
50-59	25	9	12	3	1	0	0	0	0	0	0	0	1	4.0
≥60	22	12	5	2	2	1	0	0	0	0	0	0	3	13.6
合計	278	130	94	37	15	2	0	0	0	0	0	0	17	6.1

表 2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率 (抗体価 40 倍以上)

抗原	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09		A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2)		B/Phuket/3073/2013(山形系統)		B/Texas/2/2013(ビクトリア系統)		
	有	無	有	無	有	無	有	無	
年齢区分	0-4	40.0%	8.7%	40.0%	17.4%	0.0%	0.0%	0.0%	0.0%
	5-9	61.5%	77.8%	84.6%	77.8%	0.0%	11.1%	0.0%	0.0%
	10-14	66.7%	62.5%	83.3%	50.0%	25.0%	37.5%	8.3%	12.5%
	15-19	100.0%	55.6%	47.4%	55.6%	57.9%	11.1%	10.5%	11.1%
	20-29	78.3%	56.0%	34.8%	16.0%	13.0%	36.0%	4.3%	0.0%
	30-39	70.0%	17.6%	45.0%	17.6%	30.0%	11.8%	15.0%	5.9%
	40-49	41.7%	33.3%	16.7%	16.7%	41.7%	16.7%	25.0%	0.0%
	50-59	33.3%	25.0%	53.3%	25.0%	26.7%	25.0%	0.0%	12.5%
≥60	38.5%	42.9%	46.2%	42.9%	23.1%	14.3%	15.4%	14.3%	
全体	61.2%	38.1%	48.3%	28.8%	23.8%	17.8%	8.2%	4.2%	

表 3. 施設別インフルエンザウイルス検出・分離数

管轄厚生センター・保健所等	検体採取施設	区分	ウイルス検査					
			咽頭(鼻腔)ぬぐい液		ウイルス検出			
			採取日	検体数	検出数	型別内訳		
					AH1pdm	AH3	B	
新川	二本垣医院	定点	2015.12.25~ 2016.1.19	3	2	1	0	1
中部	中村内科クリニック	定点	2016.1.9~ 2016.5.17	12	12	8	1	3
高岡	小栗小児科医院	定点	2016.1.4~ 2016.5.12	31	30	12	1	17
高岡	おおしまこどもクリニック	定点	2015.12.9~ 2016.4.21	34	27	13	1	13
砺波	力耕会 金井病院	定点	2015.11.27~ 2016.4.25	74	67	29	7	31
砺波	柳下小児科内科医院	定点	2015.11.26~ 2016.1.30	7	4	1	2	1
砺波	砺波総合病院	定点外	2016.2.22	1	1	0	0	1
富山市	中島こどもクリニック	定点	2016.1.29~ 2016.3.22	20	14	5	0	9
富山市	しんたにこどもクリニック	定点	2016.1.26~ 2016.4.20	52	43	13	1	29
合計				234	200	82	13	105

II 感染源調査

1. インフルエンザ患者の報告数

富山県感染症発生動向調査によると、2015/16 シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は 2015 年第 36 週 (8/31 ~ 9/6) であった。散発流行の後、2016 年第 1 週 (1/4 ~ 7) には定点あたり 1.46 人となり、流行が始まった。その後、患者報告数が急増し、第 7 週 (2/15 ~ 21) にピークに達した (37.46 人 / 定点)。その後は減少し、第 18 週 (5/2 ~ 8) には 0.69 人 / 定点となり、流

行は終息した。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、2016 年 1 月 19 日 (第 3 週) から 4 月 27 日 (第 17 週) までに延べ 182 施設でとられた。シーズン中の累積患者数は 3,499 名であった。

2015/16 シーズンの富山県におけるインフルエンザの流行開始時期は、過去 5 シーズンでは最も遅く、ピークの時期も 2 月後半であった。前々シーズンのような二峰性のピークはみられなかったため、流行規模はさほど大きくなかった [1]。

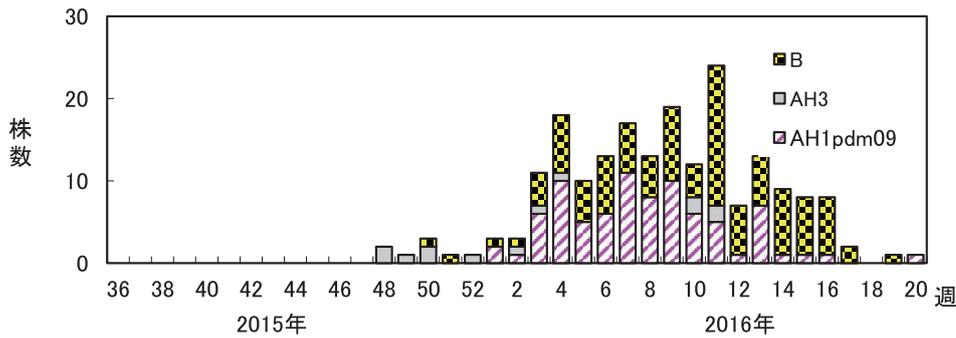


図 1. 週別・型別インフルエンザウイルス検出・分離数

2. インフルエンザウイルスの検出・分離

2015年11月～2016年5月までに、定点および定点外医療機関で採取された234検体についてインフルエンザウイルスの分離・遺伝子検出を試みた。成績を表3に示す。ウイルスの型・亜型別では、AH1pdm09が82株（41%）、AH3亜型が13株（6.5%）、B型が105株（52.5%）の合計200株が分離された。AH1pdm09とB型が流行株の主流であった。シーズン後半はB型分離株が大半を占めた（図1）。AH1N1pdm09の流行は2シーズンぶりとなった。B型分離株における山形系統とビクトリア系統の比率はそれぞれ82.9%、17.1%で、前シーズンと同様に山形系統が主流であった。

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

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた二本垣医院、中村内科クリニック、小栗小児科医院、おおしまこどもクリニック、力耕会金井医院、柳下小児科内科医院、中島こどもクリニック、しんたにこどもクリニックならびに市立砺波総合病院に深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 富山県衛生研究所感染症情報センター(2016). 感染症発生動向調査速報 <http://www.pref.toyama.jp/branches/1279/kansen/sokuhou/sokuhou.html>

富山県における平成 27 年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

板持 雅恵 稲崎 倫子 名古屋真弓 佐賀由美子
稲畑 良 小淵 正次 滝澤 剛則

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2015

Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Yumiko SAGA,
Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, and Takenori TAKIZAWA

富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生動向調査や行政依頼検査、一般依頼検査など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、平成 27 年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する。検査は、検体の種類や状態に応じて、常法に従い実施した。

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までに受け付けた被検者は延べ 516 例、検体別では糞便（直腸拭い液を含む）194、咽頭または鼻腔拭い液 274、気管吸引液 1、髄液 13、尿 11、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球など）47、痂皮 3、糞便由来 cDNA 31 の計 574 件であった。被検者 516 例中 340 例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。

以上の成績を臨床診断名別、患者別に表 1 に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザ：県内の医療機関を受診した患者 228 症例（咽頭または鼻腔拭い液 228）について検査を行った。

昨シーズン（平成 26/27）終期の 4～5 月に 6 症例から AH3 型インフルエンザウイルスが、16 症例から B 型インフルエンザウイルスが検出された。平成 27/28 シーズンでは、11 月～3 月に 78 症例から AH1 型インフルエンザウイルスが、19 症例から AH3 型インフルエンザウイルスが、94 症例から B 型インフルエンザウイルスが検出された。

上気道炎・下気道炎：7、8、10、12 月に計 13 症例（咽頭または鼻腔拭い液 14、気管吸引液 1）について検査を行ったところ、6 症例の咽頭拭い液からライノウイルス（A 群）が、1 症例の咽頭拭い液から RS ウイルスが検出された。

脳炎・脳症：計 10 症例（髄液 9、咽頭拭い液 8、

血清 8、糞便 4、尿 3、気管吸引液 1）の検査を行ったところ、それぞれ 1 症例の咽頭拭い液からサイトメガロウイルス、AH1 型インフルエンザウイルス、B 型インフルエンザウイルスが検出された。また、1 症例の咽頭拭い液と尿から RS ウイルスとサイトメガロウイルスがそれぞれ検出された。

無菌性髄膜炎：計 2 症例（髄液 2、咽頭拭い液 2）の検査を行ったところ、1 症例の咽頭拭い液からライノウイルスが、1 症例の髄液から水痘・带状疱疹ウイルスがそれぞれ検出された。

感染性胃腸炎：集団発生事例では、平成 27 年度に発生した食中毒および有症苦情事例を含む 18 事例（192 名、糞便 161、糞便由来 cDNA 31）について検査を行ったところ、1 事例の 7 症例からノロウイルス GI が、14 事例の 81 症例からノロウイルス GII が、1 事例の 6 症例からサポウイルスが検出された。無症状の施設関係者からはウイルスは検出されなかった。月別では、平成 27 年 4 月に 1 事例、5 月に 5 事例、6 月に 1 事例、9 月に 1 事例、11 月に 1 事例、平成 28 年 1 月に 4 事例、3 月に 5 事例それぞれ発生した。

小児科定点医療機関からは、計 25 症例（糞便 25）の散発例の検査依頼があった。このうち 21 症例がウイルス検査陽性となった。検出されたウイルスの種類はロタウイルス A 群、ノロウイルス GII、サポウイルス、パレコウイルス 1 型、アデノウイルス 41 型であった。これらのうち、ノロウイルス GII が 11 症例から、アデノウイルス 41 型が 4 症例からと多く検出された。

麻疹：計 8 症例（咽頭拭い液 8、血漿 8、尿 7、末梢血単核球 8）の検査を行ったところ、麻疹ウイルスは検出されなかった。一方、5 月の 1 症例の血漿からエコーウイルス 18 型が検出された。

風疹：9 月に 1 症例（咽頭拭い液 2、血液 1）の

表 1. 平成27年度 疾患別, 月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

臨床診断名	検出病原体	平成27年(2015年)										平成28年(2016年)			合計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月		
インフルエンザ	(被検者数)	24	3							3	8	45	75	70	228
	AH1型インフルエンザ											19	33	26	78
	AH3型インフルエンザ	5	1						3	3	3			4	19
	B型インフルエンザ	15	1							2	13	25	38		94
上気道炎・下気道炎	(被検者数)				1	10		1			1				13
	ライノ					6									6
	RS									1					1
脳炎・脳症・麻痺	(被検者数)		1			1	1				1	1	3	1	9
	サイトメガロ		1												1
	RS+サイトメガロ									1					1
	AH1型インフルエンザ											1			1
	B型インフルエンザ											1			1
無菌性髄膜炎	(被検者数)		1	1											2
	ライノ		1												1
	水痘・带状疱疹				1										1
感染性胃腸炎(集団)	(被検者数)	15	46	19				13		8		49		42	192
	ノロGI ^a		7												7
	ノロGII	13	9					13				22		24	81
	サポ									6					6
感染性胃腸炎(散発)	(被検者数)	2	2	1	1	1	2	1	3	8	2	1	1	1	25
	ロタA群	1													1
	ノロGII		1	1							7	1		1	11
	サポ		1							1	1				3
	パレコ1型						2								2
	アデノ41型							1	1	1	1		1		4
麻疹	(被検者数)	2	1	2			1		1	1					8
	エコー18型		1												1
風疹	(被検者数)							1							1
	-														0
手足口病	(被検者数)				4	2	2								8
	コクサッキーA6				3	2	1								6
つつが虫病	(被検者数)									4					4
	つつが虫病リケッチア									3					3
デング熱	(被検者数)					1									1
	デング1型					1									1
心筋炎	(被検者数)								1	2					3
	コクサッキーB4									1					1
SFTS ^b	(被検者数)			1	1	1	1			2					6
	-														0
その他 ^c	(被検者数)			1				2	2			1			6
	-														0
症例合計	(被検者数)	43	54	25	7	16	23	5	23	19	98	79	114	506	
	病原体検出者数	34	23	2	3	9	16	1	15	15	59	61	93	331	
食品、ふきとり	(検体数)		7								1	13	15	36	
	ノロGII											1		1	

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

a. ノロGI: ノロウイルスGenogroup I

b. SFTS: 重症熱性血小板減少症候群

c. その他: 6, 9, 10月の計4症例はライム病疑い, 1月の1症例はE型肝炎疑い, 10月の1症例はギラン・バレー症候群

検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。
手足口病: 7~9月に計8症例(咽頭拭い液8)の検査を行ったところ, 6症例からコクサッキーウイルス A6型が検出された。
つつが虫病: 11月に計4症例(血液7, 痂皮3)の検査を行ったところ, 3症例の血液または痂皮からつつが虫病リケッチアの Kawasaki型が検出された。
デング熱: 8月に1症例(血液1)の検査を行ったところ, デングウイルス1型が検出された。
心筋炎: 10~11月に計3症例(糞便3, 咽頭拭

い液3, 血清3, 髄液1)の検査を行ったところ, 1症例の糞便, 咽頭拭い液, 血清, および髄液からコクサッキーウイルス B4型が検出された。
SFTS (重症熱性血小板減少症候群): 6~11月に計6症例(血液7)の検査を行ったが SFTS ウイルスは検出されなかった。
その他: 6月, 9月, 10月に計4症例(血液10, 髄液2)のライム病の検査を行ったが, ライム病ボレリアに対する抗体は検出されなかった, 10月に1症例(糞便1, 咽頭拭い液1, 髄液1, 血清1, 尿1)の麻痺(エンテロウイルス D68型感

平成 28 年 12 月 1 日

染症疑い) の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

1 月に 1 症例 (血液 1) の E 型肝炎疑いの検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

食品, 拭き取り検体: 食中毒事例に関連して, 5 月, 12 月, 1 月, 3 月に拭き取り 11 検体, 食品 25 検体のウイルス検査を行ったところ, 1 月の事例に関連して食品 1 検体(セロリとイカの酢味噌あえ) からノロウイルス GII が検出された。

謝辞: 本調査を実施するにあたり, ご理解ご協力をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深くお礼申し上げます。

動物由来感染症浸淫状況調査（平成 27 年度）

佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎 倫子 稲畑 良
 板持 雅恵 小淵 正次 滝澤 剛則 平野 正人¹
 林 匡史¹ 貴嶋 哲郎¹

Epidemiological Surveillance of Zoonosis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2015

Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Ryo INAHATA,
 Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Takenori TAKIZAWA, Masato HIRANO¹,
 Masashi HAYASHI¹, and Tetsurou KIJIMA¹

県内における動物由来感染症の流行及び汚染状況把握、海外からの侵入を監視する目的で、哺乳類と媒介節足動物における各種感染症の浸淫状況を調査した。対象疾患はウエストナイル熱、デング熱、ジカウイルス感染症、チクングニア熱、腎症候性出血熱、ハンタウイルス肺症候群とした。日本脳炎については、資料「日本脳炎流行予測調査（感染源調査）」で報告する。また、デング熱等の蚊媒介感染症対策として、訪問者の多い公園等における蚊の発生状況を調査した。

材料と方法

I. 蚊の発生消長調査

平成 27 年 5 月 21 日～11 月 5 日に月 2 回、県内の訪問者数が多い公園等 6 地点及び衛生研究所敷地内で調査を行った（表 1、図 1）。

蚊の捕集は、公園等 6 地点では 8 分間人囿法で行った。衛生研究所敷地内では、8 分間人囿法と

CDC ライトトラップ（ライトを取り外し吸引トラップとして用い、誘引源のドライアイス約 1kg と共に地上約 1～1.5m の高さに設置し、一晩作動）を用いた。このようにして得られた蚊類を、検査室にて分類・計数した。

II. 蚊からのウイルス分離

平成 27 年 4 月から 11 月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、公園の計 11 地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた（表 2、3）。分離には、ヒトスジシマカ由来の C6/36 細胞とアフリカミドリザル由来の Vero9013 細胞を用いた。細胞変性が現れた検体の培養上清について、ウエストナイルウイルス、デングウイルス、ジカウイルス、チクングニアウイルスを対象としたリアルタイム RT-PCR [1,2,3,4] を実施した。

III. 野生げっ歯類の抗体調査

平成 27 年 5 月から平成 28 年 2 月に、富山新

表 1. 蚊の発生消長調査地点

地名	市町	調査地点数	備考
① 富岩運河環水公園	富山市	2～3	大規模公園
② 太閤山ランド	射水市	2～6	大規模公園
③ 高岡古城公園	高岡市	2～3	大規模公園
④ 呉羽丘陵（寺院敷地内）	富山市	2～3	過去の調査実績有り
⑤ 呉羽丘陵（白鳥城址）	富山市	2～3	マダニ調査と併せて実施
⑥ 朝日山（ふれあいの森）	氷見市	2～3	マダニ調査と併せて実施
★ 衛生研究所	射水市	2	調査方法の比較検証

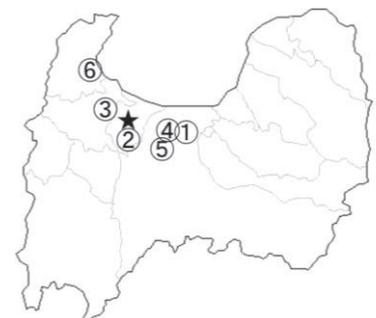


図 1. 蚊の発生消長調査地点

1. 新潟検疫所富山空港出張所

表 2. ウイルス分離に用いた蚊 (地点別)

採取地		個体数	プール数	
港湾	伏木港	70	14	
	富山新港	427	26	
	富山港	90	15	
空港	富山空港	87	28	
畜舎	牛舎	富山市	6,539	134
公園等	富岩運河環水公園	富山市	19	9
	太閤山ランド	射水市	186	20
	高岡古城公園	高岡市	72	18
	呉羽丘陵(寺院敷地内)	富山市	175	27
	呉羽丘陵(白鳥城址)	富山市	186	20
	衛生研究所	射水市	219	39
	合計		8,070	350

表 3. ウイルス分離に用いた蚊 (種類別)

種名	個体数	プール数
コガタアカイエカ	6,524	151
ヒトスジシマカ	933	118
アカイエカ群	585	59
ヤマトヤブカ	16	12
オオクロヤブカ	8	6
キンバラナガハシカ	3	3
カツライエカ	1	1
合計	8,070	350

表 4. 公園等 6 地点における蚊の種別捕集数

調査場所	ヒトスジシマカ		ヤマトヤブカ		オオクロヤブカ		キンバラナガハシカ		アカイエカ		コガタアカイエカ	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
① 富岩運河環水公園	10	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
② 太閤山ランド	135	48	2	0	0	0	0	0	1	0	0	0
③ 高岡古城公園	26	8	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
④ 寺院敷地内	98	66	7	0	1	0	2	0	0	0	1	0
⑤ 白鳥城址	197	19	1	0	4	0	1	0	0	0	0	0
⑥ ふれあいの森	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
計	466	148	13	0	5	0	3	0	1	0	1	0

表 5. 公園等 5 地点におけるヒトスジシマカの発生状況

調査場所	捕集数 / 捕集地点数												計
	5月後半	6月前半	6月後半	7月前半	7月後半	8月前半	8月後半	9月前半	9月後半	10月前半	10月後半	11月前半	
① 富岩運河環水公園	0 / 3	0 / 2	0 / 2	1 / 2	7 / 2	0 / 2	0 / 2	0 / 2	6 / 2	1 / 2	2 / 2	0 / 2	17 / 25
② 太閤山ランド	5 / 2	2 / 4	1 / 4	2 / 4	50 / 4	25 / 4	2 / 4	17 / 4	64 / 4	11 / 4	4 / 6	0 / 2	183 / 46
③ 高岡古城公園	4 / 2	1 / 2	1 / 2	2 / 2	3 / 2	1 / 2	7 / 2	6 / 2	4 / 2	2 / 2	3 / 3	0 / 2	34 / 25
④ 寺院敷地内	21 / 3	14 / 2	3 / 2	0 / 2	19 / 2	22 / 2	24 / 2	14 / 2	33 / 2	11 / 2	2 / 2	1 / 2	164 / 25
⑤ 白鳥城址	9 / 3	8 / 2	1 / 2	3 / 2	75 / 2	15 / 2	42 / 2	1 / 2	44 / 2	14 / 2	4 / 2	0 / 2	216 / 25
計	39 / 13	25 / 12	6 / 12	8 / 12	154 / 12	63 / 12	75 / 12	38 / 12	151 / 12	39 / 12	15 / 15	1 / 10	614 / 146

港, 伏木港, 富山港, 富山空港, 入善町においてシャーメントラップ, 捕獲籠または粘着シートを用いて野生げっ歯類の捕獲を行った。捕獲された3種6頭(1頭は捕獲対象ではないジネズミの死亡個体であった)の血清を用いて, 腎症候性出血熱及びヒンタウイルス肺症候群を対象としたELISA法[5]により抗体検出を行った。ELISA法で吸光度の高かった検体については, 間接蛍光抗体法(IFA法)による抗体価の測定を行った。IFA法の抗原は, 腎症候性出血熱のHantaan型, Puumala型及びSeoul型を用い, 抗体価16倍以上を陽性とした。

結 果

I. 蚊の発生活長調査

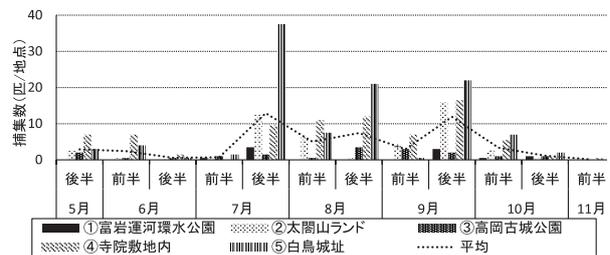


図 2. 公園等 5 地点におけるヒトスジシマカの季節消長

全調査期間中に, 公園等 6 地点で捕集された蚊の, 各調査地点における種別捕集数を表 4 に示した。調査期間を通じて, 蚊が捕集されなかった氷見市ふれあいの森(調査地点 6)を除く 5 地点で, 4 属 6 種 637 個体が捕集された。蚊の捕集された 5 地点全てで優先して捕集された種はヒトスジシマカ(捕集割合 91.9 ~ 100%)であった。

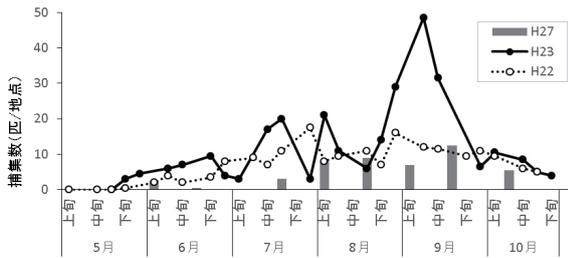


図3. 調査地点4におけるヒトスジシマカ雌成虫の年次別季節消長 (平成22年, 23年, 27年)

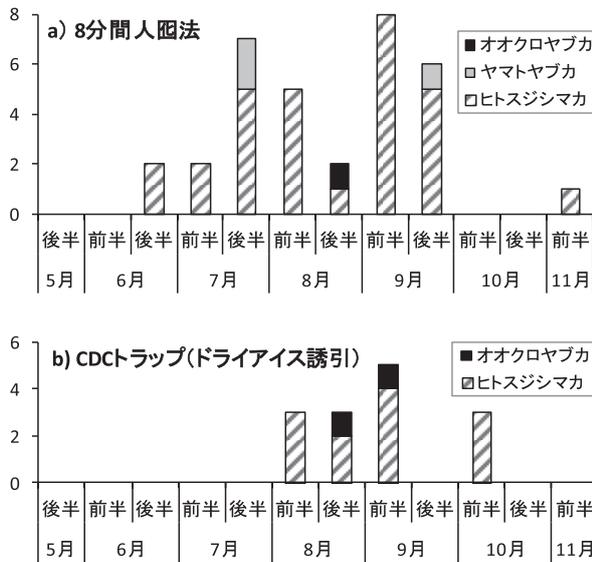


図4. 衛生研究所における調査方法別の蚊捕集数*

* イエカ属を除いて集計した

蚊の捕集された公園等5地点におけるヒトスジシマカの調査日別捕集数を表5及び図2に示した。ヒトスジシマカの発生は、5月後半に確認され10月後半に終息した。ヒトスジシマカが多数捕集された期間は、7月後半～9月後半であった。各地点の1日あたりの平均蚊捕集数は、訪問者の多い公園3地点(調査地点1～3)では0.7～4.0, その他2地点では6.6～8.6であった。

調査地点4(寺院敷地内)において、平成22年, 23年, 27年に8分間人囮法により捕集されたヒトスジシマカ雌成虫の調査日別平均捕集数を比較した(図3)。調査地点4における平成27年のヒトスジシマカ雌成虫の発生数は、平成22年, 23年と比較すると少なく、特に平成23年との差は顕著であった。

衛生研究所における調査方法別の蚊の種別捕集数を表6に示した。8分間人囮法では2属3種33個体が捕集され、優先して捕集された種はヒトスジシマカ(捕集割合87.9%)であった。CDCトラップでは3属5種186個体が捕集され、最も高い割合で捕集された種はコガタアカイエカ(捕集割合66.1%)であった。次いでアカイエカ(25.8%), ヒトスジシマカ(6.5%)が捕集された。

主に夜間に飛来すると考えられるイエカ属を除いた蚊類について、8分間人囮法とCDCトラップを用いた場合の捕集数を比較した(図4)。8分間人囮法の方が捕集された期間、数ともにCDCトラップよりも多かった。しかし、CDCトラップもヒトスジシマカの月毎の捕集数は8分間人囮

表6. 衛生研究所における蚊の調査方法別捕集数

調査方法	ヒトスジシマカ		ヤマトヤブカ		オオクロヤブカ		アカイエカ		コガタアカイエカ		カラツイエカ	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
8分間人囮法	22	7	3	0	1	0	0	0	0	0	0	0
CDCトラップ (ドライアイス誘引)	12	0	0	0	2	0	48	0	123	0	1	0

表7. 野生げっ歯類における抗体検出結果

番号	捕獲月	調査地点	種類	性別	ハンタウイルス		ハンタウイルス IFA抗体価		
					ELISA		HTN	PUU	SEO
1990	2015年11月	富山新港	ハツカネズミ	♂	陰性		NT	NT	NT
1991	2015年11月	伏木港 右岸	ハツカネズミ	♂	要検討		<16	<16	<16
1992	2015年11月	富山新港	ハツカネズミ	♀	陰性		NT	NT	NT
1993	2015年12月	入善町	ドブネズミ	♂	陰性		NT	NT	NT
1994	2016年2月	富山新港	ジネズミ	♂	陰性		NT	NT	NT
1995	2016年2月	富山新港	ハツカネズミ	♀	陰性		NT	NT	NT

HTN: Hantaan型、PUU: Puumala型、SEO: Seoul型、NT: 検査せず

平成 28 年 12 月 1 日

法と同様の傾向を示した。

II. 蚊からのウイルス分離

捕集蚊 350 プール (8,070 個体) から、蚊媒介性ウイルスは分離されなかった。

III. 野生げっ歯類の抗体調査

平成 27 年 11 月から平成 28 年 2 月に、富山新港、伏木港、入善町においてシャーメントラップ、捕獲籠または粘着シートを用いて 3 種 6 頭 (1 匹は捕獲対象ではないジネズミの死亡個体であった) を捕獲した。

ELISA 法でハンタウイルスに対する抗体検出を行ったところ、ハツカネズミの 1 検体で吸光度がやや高かった。IFA 法による追加検査を行ったところ、抗体陰性であった (表 7)。

考 察

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

県内におけるヒトスジシマカの発生数は、訪問者の多い公園では比較的少なかった。また、ヒトスジシマカの発消長は、5 月後半に確認され 10 月後半に終息し、発生ピークは 7 月後半から 9 月後半であることが示された。しかしながら、蚊類の発生数は気候等の環境要因により年次変動がみられるので、調査を継続する必要があると考えられる。また、調査方法についても人囹法と CDC トラップ捕集法の相違が認められ、両法の利点を考えた調査法を確立する必要がある。さらに、外国人観光客が病原体を持ち込む可能性が考えられ

ることから、公園以外の県内観光施設についても蚊の発生リスクを調査することが求められる。

謝 辞

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

文 献

1. Lanciotti RS, Kerst AJ, Nasci RS, Godsey MS, Mitchell CJ, Savage HM, Komar N, Panella NA, Allen BC, Volpe KE, Davis BS, Roehrig JT. (2000). J Clin Microbiol. 38:4066-4071
2. 国立感染症研究所. デングウイルス感染症診断マニュアル. 2014. <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Dengue2014.pdf> (2016 年 7 月 13 日アクセス可能)
3. Lanciotti RS, Kosoy OL, Laven JJ, Velez JO, Lambert AJ, Johnson AJ, Stanfield SM, Duffy MR. (2008). Emerg Infect Dis. 14, 1232-1239
4. 国立感染症研究所. チクングニアウイルス検査マニュアル. 2013. <http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/CHIKV.v1.1.pdf> (2016 年 7 月 13 日アクセス可能)
5. Sanada T, Kariwa H, Saasa N, Yoshikawa K, Seto T, Morozov VG, Tkachenko EA, Ivanov LI, Yoshimatsu K, Arikawa J, Yoshii K, Takashima I. (2012). J Vet Med Sci. 74:1237-1242
6. 国立感染症研究所 (2015). IASR, 36, 136.
7. Asnis DS, Conetta R, Teixeira AA, Waldman G, Sampson BA. (2000). Clin Infect Dis., 30:413-418
8. Petersen LR, Roehrig JT. (2001). Emerg Infect Dis., 7, 611-614.
9. Williams DT, Wang LF, Daniels PW, Mackenzie JS. (2000). J Gen Virol., 81, 2471-2480
10. 有川二郎 (1999). 日獣会誌. 52: 225-229

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2015年)

木全 恵子 三井千恵子¹ 金谷 潤一 磯部 順子
 範本 志保 綿引 正則

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2015

Keiko KIMATA, Chieko MITSUI¹, Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE,
 Shiho NORIMOTO, and Masanori WATAHIKI

2015年1月から12月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染事例は20件、感染者は25名であった。これらの事例数、感染者数の内訳は、EHEC O157 (以下 O157) が13件、18名、EHEC O26 (以下 O26) が2件、2名、EHEC O111 (以下 O111) が3件、3名、EHEC O103 (以下 O103) が1件、1名、EHEC O145 (以下 O145) が1件、1名であった (表1)。以下に

これらの感染事例についてその概要、疫学的解析結果を報告する。

2015年における EHEC 感染症発生状況：2015年の富山県における EHEC 感染症の事例数、感染者数はそれぞれ前年 (15件、17名) 比 1.3、1.5 で、事例数、感染者数ともやや増加した。発生形態は、家族内感染事例2件、集団感染事例1件、散発事

表 1. 腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2015)

事例No	発生時期	感染者数 (名)	発生形態	大腸菌 血清型	ペロ毒素遺伝子型
1	2015.4	1	散発	O111:HNM	<i>stx1</i>
2	2015.6	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
3	2015.6	1	散発	O157:HNM	<i>stx1stx2</i>
4	2015.6	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
5	2015.6	1	散発	O103:H2	<i>stx1</i>
6	2015.6	1	散発	O111:HNM	<i>stx1</i>
7	2015.7	2	家族内感染	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
8	2015.7	1	散発	O111:HNM	<i>stx1</i>
9	2015.7	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
10	2015.7	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
11	2015.7	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
12	2015.7	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
13	2015.7	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
14	2015.8	3	家族内感染	O157:H7	<i>stx2</i>
15	2015.8	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
16	2015.8	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
17	2015.8	3	集団感染	O157:H7	<i>stx2</i>
18	2015.8	1	散発	O145:HNM	<i>stx2</i>
19	2015.9	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
20	2015.12	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
O157 13件(18名)、O26 2件(2名)、O111 3件(3名)、O103 1件(1名)、 O145 1件(1名) 計 20件(25名)					

1. 富山県厚生部健康課

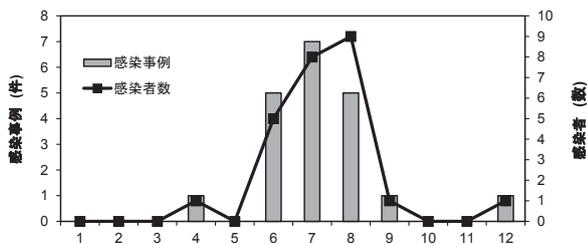


図 1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向 (2015)

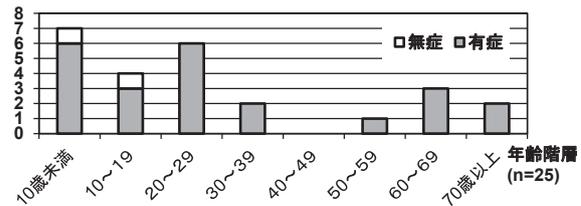


図 2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

例 17 件であった (表 1)。これらの家族内感染事例 (表 1, 事例 7, 事例 14), 集団感染事例 (表 1, 事例 17) の感染源は不明である。

EHEC 感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図 1 に示した。2015 年は, 6 月に 5 件 (感染者 5 名), 7 月に 7 件 (感染者 8 名), 8 月に 5 件 (9 名) と夏季に感染事例が多発した (図 1)。

感染者 25 名における有症者の割合は 92% (23 名) で, うち 1 名が HUS であった。年齢別にみると, 10 歳未満から 20 歳代までの感染者があわせて 17 名と, 感染者全体 (25 名) の 68% であった (図 2)。無症状病原体保有者 2 名は接触者検便で探知された。

感染者における男女比は男性 40%, 女性 60% と女性の割合がやや高かった。

分離株の薬剤感受性: 各事例の代表株について (表 1), 薬剤感受性試験を行った。対象とした薬剤は 13 薬剤 (NFLX, OFLX, NA, KM, GM, FOM, ABPC, ST, TC, CEZ, CP, CAZ, CTX) で, CLSI のプロトコルに準拠し, Kirby-Bauer 法に基づいたディスク法 (センシ・ディスク, 日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた [1]。

供試菌株のうち, 上記 13 薬剤のいずれかに耐性を示したのは 5 株 (25%) であった。その内訳は TC 耐性 1 株 (事例 19 由来), TC・CP 耐性 1 株 (事例 18 由来), TC・ABPC・CP 耐性 1 株 (事例 10 由来), KM・TC・ABPC・CP・ST・CEZ・CAZ・CTX 耐性 2 株 (事例 6, 8 由来) であった。

この CAZ・CTX 耐性 2 株についてクラブラン酸による ESBL 産生菌の鑑別試験と, ボロン酸による AmpC 産生菌鑑別試験を行ったところ, 後者試験のみ阻止円拡張が観察された。この結果から, CAZ・CTX 耐性 2 株は AmpC 産生菌と鑑別された。また, PCR による AmpC 遺伝子の検出 [2] から CIT 型であることが判明した (文献 2 はマルチプレックス PCR であったが, 本試験は標的遺伝子ごとに PCR を行った)。

分離株の病原因子: 各事例代表株について接着因子遺伝子 *eae*, 志賀毒素遺伝子 *stx1* (VT1 遺伝子), *stx2* (VT2 遺伝子), 凝集附着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 *astA* について PCR により病原因子遺伝子の検索を行った。

各事例代表株におけるペロ毒素遺伝子型は表 1 のとおりであり, *stx1 stx2* 保有型が 9 株, *stx2* 保有型が 5 株, *stx1* 保有型が 6 株であった。供試した 20 株は全て *eae* を保有していた。また, 事例 9 の代表株は *astA* も保有していた。

O157 の IS-Printing による遺伝子型別: 本年発生した O157 感染事例 13 件の分離株について市販の IS-Printing キット (IS-printing System, TOYOBO) を用いて IS-Printing 法 [3] による遺伝子型別を行った。得られた結果は勢戸らの方法に準じてコード化し, IS-Printing による遺伝子型 (以下 IS コード) とした [4,5] (図 3 A)。その結果, 事例 12 と事例 13 (図 3 A レーン 1, 2), 事例 11 と事例 4 (図 3 A レーン 4, 5), 事例 16 と事例 7 (図 3 A レーン 3, 6), 事例 14, 15, 17, 2 (図 3 A レーン 8, 9, 10, 11) は, それぞれ IS コードが一致した。事例 16 と事例 7 の IS コードは, 事例 11 と事例 4 の IS コードと 1ヶ所のみ異なっていた。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による分子疫学解析: 各事例分離株について PFGE を行った。PFGE は制限酵素 *XbaI* を用いた標準化プロトコルに基づいて行った [6]。得られた PFGE パターンは FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて系統解析 (デンドログラム解析) した。デンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い, トレランス値は 1.2% とした。

2015 年に発生した O157, O26, O111 の PFGE パターンの解析は以下のとおりであった。

2015 年に分離された EHEC O157, O26 及び O111 の PFGE パターンについてデンドログラムを作

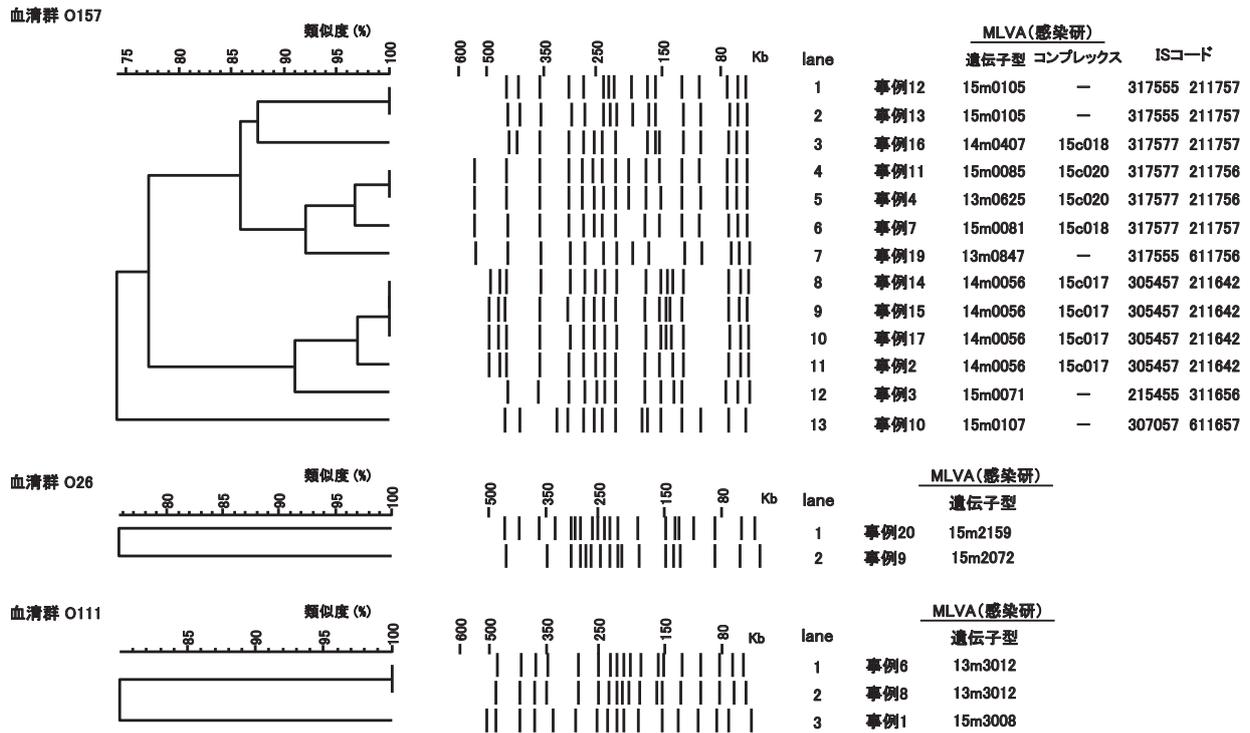


図 3. 血清群 O157, O26, O111 における遺伝子型別 (PFGE デンドログラム, MLVA 及び IS コード)

成した (図 3)。

O157 の PFGE パターンについてデンドログラムを図 3A に示した。O157 の PFGE パターンは事例 12, 13 で一致していた (図 3 A レーン 1, 2)。また、事例 11, 4 の PFGE パターン (図 3 A レーン 4, 5), 事例 14, 事例 15 と事例 17 (図 3 A レーン 8, 9, 10) の PFGE パターンも一致していた。これらは上述の IS コードも一致したが、事例間の関連性は不明であった。事例 2 は IS コードは一致していたが、PFGE パターンは 1 バンド違いであった。Tenover らの基準 [7] により極めて関連性が高く同一集団株であると考えられた。

また、O26 2 事例の PFGE パターンについてデンドログラム解析を行った。その結果、異なる PFGE パターンであった (図 3 B レーン 1, 2)。

O111 3 事例の PFGE パターンについてデンドログラム解析を行った。事例 6 と事例 8 の PFGE パターンが一致した (図 3 C レーン 1, 2)。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較：
2015 年の全国における EHEC 感染者数は 3,565 名で、昨年の 85.8% と減少し、過去 5 年における年間感染者数は最も少なかった [8]。

国立感染症研究所細菌第一部では 2014 年より O157, O26, O111 について multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) によ

る遺伝子型別を開始した。MLVA はゲノム上の標的遺伝子座における繰り返し配列数の違いにより遺伝子型別を行う方法である [9]。MLVA による解析では関連性のある複数の遺伝子型を「コンプレックス」として標記している。この MLVA による解析から、2015 年に全国 5 以上の地衛研等から同一の遺伝子型もしくはコンプレックスとして検出された広域流行株の遺伝子型 / コンプレックスは 24 種類であった [10]。

本年県内で発生した O157 13 件、O26 2 件、O111 3 件の分離株の MLVA 遺伝子型は、O157 が 9 タイプ、O26 が 2 タイプ、O111 が 2 タイプであった。このうち、O157 では他の MLVA 型と関連性があると認められたコンプレックスが 3 種類検出された (図 3A)。このうち、広域流行株が検出された事例は、事例 4・事例 11 (MLVA コンプレックス 15c020)、事例 14・事例 15・事例 17・事例 2 (MLVA コンプレックス 15c017)、事例 3 (MLVA 遺伝子型 15m0071)、事例 10 (MLVA 遺伝子型 15m0107) であった。15c020 タイプの株は富山県を含め 23 都道府県で検出された。また、15c017 は富山県を含め 11 都府県で、15m0071, 15m0107 はそれぞれ 6 県で検出された。本年は、20 事例のうち 8 事例 (40%) から広域流行株が分離されたが、県内及び他県の同じ MLVA 型が検出された感染事例との関連性は不

明であった。

特記すべき事例の報告：2015 年の感染事例のうち、上述の広域流行株以外に他の事例との関連性が疑われた事例について以下に詳細を報告する。

事例 12, 13 ー県内で発生した 2 件の O157 (stx1 stx2) 散発感染事例：7 月下旬に発生した事例 12, 13 (表 1) の分離株は IS コード, PFGE パターンが一致していた (上述及び図 3 A レーン 1, 2)。また, 国立感染症研究所の MLVA 解析においても遺伝子型が一致していた。これらの結果から 2 事例の分離株は菌株間の類似性が極めて高いと考えられた。しかし, これらの事例間の関連性は不明であった。

事例 7, 16 ー同一 IS コード, MLVA コンプレックス型が検出された 2 件の O157 (stx1 stx2) 感染事例：事例 7 と事例 16 は同一 IS コード, MLVA コンプレックス型の O157 が検出された (図 3 A レーン 3, 6)。しかし PFGE パターンは 3 バンド違いであった。これは Tenover らの基準 [7] により, 同一集団の由来の可能性があると考えられた。

事例 6, 8 ー県内で発生した O111 (stx1) による 2 件の感染事例：この 2 つの事例は 6 月下旬から 7 月上旬に発生した散発感染である (表 1)。上述したとおり, これらの 2 件の分離株の PFGE パターンの一致から, 菌株間の類似性が極めて高い [7] と考えられた。また, 国立感染症研究所の MLVA 解析の遺伝子型も一致していた (図 3 C レーン 1, 2)。しかし, これらの事例間の関連性は不明であった。

考察：2015 年の富山県における EHEC 感染症の事例数は 20 件, 感染者は 25 名であり, 1996 年以降において感染者数は過去 5 番目に少なかった (図 4)。本県で発生した O157, O26, O111 について PFGE, IS-Printing, MLVA による遺伝子型の相関性が高く, IS-Printing, MLVA は,

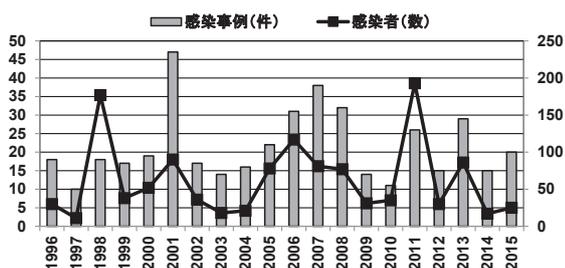


図 4. 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

PFGE と比べて迅速性, 多数の遺伝子型比較に優れた遺伝子型別であることが改めて認識された。

謝 辞

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

文 献

1. Performance standards for antimicrobial susceptibility test. M100-S15, CLSI
2. Pérez-Pérez, F., Hanson, N.D. (2002) J.Clin. Microbiol., 40, 2153-2162
3. Ooka, T., Terajima, J., Kusumoto, M., Iguchi, A., Kurokawa, K., Ogura, Y., Asadulghani, Md., Nakayama, K., Murase, K., Ohnishi, M., Iyoda, S., Watanabe, H. and Hayashi, T. (2009) J.Clin. Microbiol., 47, 2888-2894
4. 勢戸和子, 河野智美, 野村憲一, 平野 隆, 小笠原準ほか (2008) 厚生労働科学研究費補助金 平成 19 年度総括・分担研究報告書, 101-124
5. 木全恵子, 嶋 智子, 金谷潤一, 磯部順子, 嶋 一世, 綿引正則, 佐多徹太郎 (2012) 富山県衛生研究所年報, 35, 85-91
6. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K. (2002) J.Jpn. Assoc. Infect. Dis., 76, 842-848
7. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V. J., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., and Swaminathan, B. (1995) Clin. Microbiol., 33, 2233-2239
8. 病原微生物検出情報 (2016), 37, 85 - 87
9. Pei, Y., Terajima, J., Saito, Y., Suzuki, R., Takai, N., Izumiya, H., Morita-Ishihara, T., Ohnishi, M., Miura, M., Iyoda, S., Mitobe, J., Wang, B. and Watanabe, H. (2008) Jpn. J. Infect. Dis., 61, 58-64
10. 泉谷秀昌, 石原朋子, 李 謙一, 伊豫田淳, 大西真 (2016) 病原微生物検出情報, 37, 93 - 95

富山県におけるヒト由来サルモネラの血清型と薬剤感受性調査 (2011-2015)

範本 志保 清水美和子¹ 磯部 順子 金谷 潤一
三井千恵子² 木全 恵子 綿引 正則

Serovars and Drug Susceptibilities of *Salmonella* Isolates from the Patients in Toyama Prefecture (2011-2015)

Shiho NORIMOTO, Miwako SHIMIZU¹, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI,
Chieko MITSUI², Keiko KIMATA and Masanori WATAHIKI

2016年の厚生労働省食中毒統計 [1]によると、2015年に発生したサルモネラを原因とする食中毒は、事件数ではカンピロバクター、ブドウ球菌に次いで3位、患者数では2位であった。近年では、発生数、患者数とも減少しているが、細菌性食中毒患者数の39.4%を占めており、依然として公衆衛生上重要な食中毒原因菌のひとつとなっている。

当所では富山県におけるサルモネラ感染症の実態を把握することを目的として、これまで環境のサルモネラ汚染と人のサルモネラ感染症と関連を調査してきた [2,3]。

ここでは、2011～2015年に富山県でヒトから分離されたサルモネラの血清型別、薬剤感受性試験の結果を報告する。

材料と方法

1. 供試菌株：2011～2015年に、富山県内の医療機関及び厚生センター、保健所など、11機関においてヒトから分離され、衛生研究所に搬入されたサルモネラ186株を供試した。これらの菌株には食中毒として届出のあった1事例の患者から分離された3株、および海外旅行者から分離された6株を含む。
2. 血清型別試験：市販のサルモネラ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いて実施した。
3. 薬剤感受性試験：臨床検査標準協会（CLSI）の抗菌薬ディスク感受性実施基準に基づき、BDセンシ・ディスク（日本ベクトン・ディッキンソン）

を用いて実施した。使用薬剤はアミノペニシリン（ABPC）、セファロチン（CET）、セフトジジム（CAZ）、コリスチン（CL）、ストレプトマイシン（SM）、ゲンタマイシン（GM）、カナマイシン（KM）、テトラサイクリン（TC）、ミノサイクリン（MINO）、ナリジクス酸（NA）、クロラムフェニコール（CP）の11薬剤である。

結果と考察

血清型別分離状況を表1に示した。分離された186株は*S.* III b 2株と型別不能2株を除き35の血清型に分けられた。*S.* Enteritidisが40株(21.9%)と最も多く、次いで*S.* Thompsonが32株(17.5%)、*S.* Infantisが16株(8.8%)であった。全国の血清型別報告 [4]においても*S.* Enteritidisが最も多く分離され、2011年～2015年の年次による多少の変動はあるが、*S.* Infantis、*S.* Thompson、*S.* Thyphimuriumなどが多く分離された。富山県内における分離も全国と同様の傾向であった。

分離株の薬剤感受性試験結果を表2に示した。186株のうち67株(36.0%)が使用した薬剤いづれかに耐性を示した。SM耐性が34株、SM,TC耐性とSM,KM,TC耐性が5株、ABPC,SM,TC、MINO耐性が3株であった。血清型ごとに薬剤耐性パターンをみると、*S.* Enteritidisは分離された40株のうち30株(75.0%)が耐性を示し、28株はSM単剤耐性であった。*S.* Infantisは16株のうち8株(50.0%)が耐性を示した。SM,TC耐性が3株、SM,KM,TC耐性が2株

1. 厚生部生活衛生課 2. 厚生部健康課

表 1. 富山県で分離されたサルモネラの血清型別分離状況

血清型	2011	2012	2013	2014	2015	合計
O4						
Saintpaul	2	6	1	2	2	13
Typhimurium	3	1	2		2	8
I O4:i-			2		2	4
Paratyphi B	2	1				3
Derby			1		1	2
Stanley		2				2
Schleisseheim			1			1
Schwarzengrund					1	1
O7						
Thompson	4	8	7	3	10	32
Infantis	4	4	5	2	1	16
Braenderup	2	1	2	1	2	8
Potsdam	2	2			1	5
Montevideo	1	1		1		3
Bareilly	1				1	2
Oslo				1		1
Singapore					1	1
Virchow	1					1
O8						
Narashino	1		1		5	7
Newport	1		2		2	5
Corvallis	1		1	2		4
Litchfield				1	2	3
Bovismorbificans			1		1	2
Kentucky			1	1		2
Kottobus		1			1	2
Manhattan			1	1		2
Nagoya	1				1	2
Korbol		1				1
Muenchen		1				1
Pakistan		1				1
O9						
Enteritidis	10	14	10	1	5	40
Panama	1					1
Typhi				1		1
O3,10						
Weltevreden			1		1	2
O1,3,19						
Dessau				1		1
O13						
kedougou	1					1
Poona/Farmsen					1	1
IIIb		1			1	2
UT	1	1				2
合計	39	46	39	18	44	186

であった。ABPC,CET,SM,GM,TC 耐性の S.Thompson が 1 株、ABPC,CET,CAZ,SM,TC 耐性の S.Manhattan が 1 株分離された。血清型により耐性率に差が認められた。年次ごとの耐性率は表 3 に示したように 2011 年～2015 年の 5 年間は 30%前後を推移した。

近年、サルモネラにおいて薬剤耐性菌の出現が問題となっている。今後もサルモネラの発生状況と併せて薬剤耐性の動向調査も継続する必要がある。

謝 辞

本調査の実施にあたり、菌株を分与いただきました黒部市民病院、県立中央病院、富山市民病院、富山赤十字病院、富山協立病院、厚生連高岡病院、高岡市民病院、市立砺波総合病院、富山市保健所、高岡厚生センター、砺波厚生センターの検査担当各位に深謝いたします。

表 3. 薬剤耐性率の年次推移

	2011	2012	2013	2014	2015	合計
耐性	15	14	18	4	16	67
感性	24	32	21	14	28	119
合計	39	46	39	18	44	186
耐性率(%)	38.5	30.4	46.2	22.2	36.4	36.0

表 2. 富山県内で分離されたサルモネラの薬剤感受性

血清型	感性 (株数)	耐性(株数)																				耐性 合計	耐性率 (%)
		ABPC	SM	TC	NA	ABPC, TC	SM, TC	TC, MINO	SM, KM, TC	SM, KM, TC, TC	SM, KM, TC, TC, TC	ABPC, TC, CP	ABPC, TC, CAZ	ABPC, TC, MINO	ABPC, TC, CP	SM, TC, MINO	SM, TC, NA	SM, TC, CP	SM, TC, CAZ	SM, TC, GM, TC			
Saintpaul	10							1	2													3	23.1
Typhimurium	5	1												1							1	3	37.5
I O4:i-	0		1																			4	100
Derby	0					2																2	100
Schwarzengrund	0								1													1	100
Paratyphi B	3																					0	0.0
Stanley	2																					0	0.0
Schleisseheim	1																					0	0.0
Thompson	27		1				1														1	5	15.6
Infantis	8				1		3		2					1								8	50.0
Braenderup	8																					0	0.0
Potsdam	5																					0	0.0
Montevideo	3																					0	0.0
Bareilly	2																					0	0.0
Oslo	1																					0	0.0
Singapore	1																					0	0.0
Virchow	1																					0	0.0
Narashino	4		3																			3	42.9
Corvallis	3																				1	1	25.0
Kentucky	1													1								1	50.0
Manhattan	0			1																		2	100
Muenchen	0														1							1	100
Newport	5																					0	0.0
Litchfield	3																					0	0.0
Bovismorbificans	2																					0	0.0
Kottobus	2																					0	0.0
Nagoya	2																					0	0.0
Korbol	1																					0	0.0
Pakistan	1																					0	0.0
Enteritidis	10		28		1	1																30	75.0
Panama	0													1								1	100
Typhi	1																					0	0.0
Weltevreden	2																					0	0.0
Dessau	1																					0	0.0
kedougou	1																					0	0.0
Poona/Farmsen	1																					0	0.0
IIIb	1		1																			1	50.0
UT	1														1							1	50.0
合計	119	1	34	1	2	1	5	2	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	67	36.0

文 献

1. 厚生労働省 (2016) . 食中毒統計資料,
<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>.
2. 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-
119
3. 磯部順子, 田中大祐, 清水美和子, 綿引正則,
永井美之 (2005). 富山衛研年報, 28, 105-
109
4. 国立感染症研究所 (2016) .ISAR,
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html>.

富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況について (2014-2015 年)

範本 志保 三井千恵子¹ 清水美和子² 金谷 潤一
木全 恵子 磯部 順子 綿引 正則

Report of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Infectious Diseases and Detection of Carbapenemase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2014-2015)

Shiho NORIMOTO, Chieko MITSUI¹, Miwako SHIMIZU², Jun-ichi KANATANI,
Keiko KIMATA, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI

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

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

ここでは2014年9月～2015年12月までの富山県における患者発生動向と、CRE感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子の保有状況について報告する。

材料と方法

1. CRE 感染症発生動向調査患者数

2014年9月19日～2015年12月31日に県内の医療機関から報告された症例に対し、患者の症状、分離検体、菌種名の疫学情報を集計した。

2. CRE 感染症患者由来株

2014年9月～2015年12月に医療機関でCRE感染症患者から分離されたCRE 30株を用いた。内訳は、届出株が24株、非届出株が6株であった。届出株とは、CRE感染症として届出があった患者から分離された菌株である。非届出株とは、通常無菌的ではない検体から分離され、感染症の起

因菌と判定されなかったなど、届出とならなかった症例から分離された菌株である。これらの菌株は、厚生連滑川病院、県立中央病院、富山市民病院、富山大学附属病院、富山赤十字病院、厚生連高岡病院、市立砺波総合病院、公立南砺中央病院の8機関より分与を受けた。カルバペネマーゼ遺伝子のIMP-1,2, NDM, VIM-2, KPC, OXA-48型の検出はPCR法 [2] により行った。

結果と考察

1. CRE 感染症発生動向調査患者数

富山県内では全数報告となった2014年9月～2015年12月までに26例の届出があった。症状は尿路感染症が8例 (30.8%) と最も多く、菌血症・敗血症が4例、肺炎が2例であった。すべてが *Enterobacter* 属菌による感染症で、分離菌は *Enterobacter cloacae* が14件、*Enterobacter aerogenes* が12件であった。全国の集計 (2014年第38週～2015年第35週) では *Enterobacter cloacae* が32.6%、*Enterobacter aerogenes* が25.0%であり、*Enterobacter* 属菌が報告の半数以上を占めている [1]。

表1. CRE 感染症の届出状況
(2014年9月～2015年12月)

診断年	富山県	全国
2014年 (39週～52週)	5	313
2015年 (1週～53週)	21	1,654

表 2. 富山県における CRE 感染症届出状況

菌名	届出数(件)	症状(件)	検体(件)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	14	尿路感染症(8) 肺炎(3) 菌血症(3) 敗血症(1) 胆管炎(1) 近視性脈絡膜新生血管増加(1)	尿(6) 血液(5) 喀痰(2) 胆汁(1) 涙液(1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	12	尿路感染症(5) 腹膜炎(2) 肺炎(1) 敗血症(1) 髄膜炎(1) 臍液漏(1) 気腫性膀胱炎(1) 多呼吸(1)	尿(5) 血液(2) ドレーン排液(2) 髄液(1) 腹水(1) 腹膜透析液(1) 胎脂(1)

表 3. CRE 患者由来株からのカルバペネマーゼ遺伝子検出状況

菌名	検査数	届出株	非届出株	カルバペネマーゼ遺伝子陽性数(PCR法)					
				IMP-1 型	IMP-2 型	VIM-2 型	NDM 型	KPC 型	OXA-48 型
<i>Enterobacter aerogenes</i>	14	13	1	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	11	3	2	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	1	0	1	0	0	0	0	0	0

2. CRE 感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況

県内の医療機関で分離された CRE 感染症患者由来 30 株(届出株 24 株, 非届出株 6 株)のカルバペネマーゼ遺伝子の保有状況を表 3 に示した。*Enterobacter cloacae* で 2 株, *Klebsiella oxytoca* で 1 株が IMP-1 型陽性となった。IMP 型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子は配列が異なる遺伝子型が報告されており [2], IMP-1 型のプライマーでは国内で報告例の多い IMP-1, IMP-6 などが検出される。これら 3 株の PCR 産物についてシーケンス解析を行ったところ, *Enterobacter cloacae* は 2 株とも IMP-1, *Klebsiella oxytoca* は IMP-10 であった。

CRE のカルバペネム耐性はカルバペネマーゼの産生, あるいは外膜タンパクの変化を伴った β-ラクタマーゼの産生量の増加による。*Enterobacter* 属菌などは, 染色体性のクラス C 型 β-ラクタマーゼの産生と膜の透過性低下よりカルバペネム耐性を示すことが知られている。また, 国内で分離されるカルバペネマーゼ産生菌のカルバペネマーゼ遺伝子は IMP 型メタロ-β-ラクタマーゼの報告が最も多い [3]。今回, 県内で分離されたカルバペネマーゼ産生菌もすべて IMP 型であった。

CRE として届出対象となった菌株がカルバペネマーゼを産生するかどうかを鑑別することは院

内感染対策上重要である。国内の集団感染事例で検出された IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子はほとんどがプラスミド上に存在していることが知られており, 腸内細菌科の他菌種に容易に伝播する可能性があり, 注意が必要である。特に IMP-6 はカルバペネム系薬剤のイミペネム感性, メロペネム耐性となり, 早期探知が難しいことが知られている。また, 人的移動が広範囲である現在においては, 海外からの耐性菌の持ち込み例が増加している [3]。さらにカルバペネマーゼ産生性の鑑別やカルバペネマーゼ遺伝子の型別の必要性が増している。CRE の発生動向には今後も注視する必要がある。

謝 辞

本調査の実施にあたり, 検体収集等にご協力いただきました富山県医務課, 健康課および各厚生センター, 富山市保健所, また菌株を分与いただきました県内の医療機関の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 病原微生物検出情報 (2016), 37, 15-16
2. 病原体検出マニュアル カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 感染研編
3. 病原微生物検出情報 (2014), 35, 281-291

富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2014 年)

三井千恵子¹ 金谷 潤一 清水美和子² 木全 恵子
磯部 順子 佐多徹太郎 綿引 正則 百石祐一朗³
加藤 陽子³ 中村 政雄³ 奥野 ルミ⁴

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2014

Chieko MITSUI, Jun-ichi KANATANI, Miwako SHIMIZU, Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Tetsutaro SATA, Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU², Yoko KATO², Masao NAKAMURA² and Rumi OKUNO³

A 群溶血性レンサ球菌 (溶連菌) は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起因菌となる。感染症法では、本菌による咽頭炎が小児科定点報告の 5 類感染症に位置づけられており、富山県における 2014 年の A 群溶連菌咽頭炎患者報告数は、3,702 人 (127.7/ 定点) であった。

また、A 群溶連菌の感染によって起こる疾患のひとつである劇症型溶連菌感染症は、致命率の高い重篤な疾患であり、全数報告の 5 類感染症に位置づけられている。本県でも、毎年 2～9 例の届出がある。本感染症で検出される溶連菌は A 群が最も多く、約 7 割を占めるが [1]、劇症型となる要因やその発生機序は未だ明らかではない。さらに近年、A 群溶連菌のマクロライド系やリンコマイシン系薬剤に対する耐性株の増加が問題となっている [2]。

当所では、衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A 群溶連菌の血清型別や劇症型溶連菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2014 年に富山県内で分離された A 群溶連菌の血清型別および薬剤感受性検査の結果について報告する。

材料と方法

2014 年に富山県内 1 か所の公立病院で患者か

ら分離された溶連菌 (A 群 24 株) について、A 群の T 型別を実施した。A 群の T 型別は、T 型別用免疫血清 (デンカ生研) を用いてスライド凝集反応にて行った。

薬剤感受性試験は、2014 年に分離された A 群溶連菌 24 株について実施した。アンピシリン (ABPC)、セファレキシム (CEX)、セフジトレン (CDTR)、セフジニル (CFDN)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、エリスロマイシン (EM)、クラリスロマイシン (CAM)、クラリダマイシン (CLDM)、リンコマイシン (LCM) の 10 薬剤について、ドライプレートおよび IA-20 (栄研化学) を用いて測定した。測定は東京都健康安全研究センターにて行った。MIC 値は、CLSI の判定基準に従い判定した。

結果と考察

(1) A 群溶連菌の T 型別

2014 年に分離された A 群溶連菌の T 型別結果を Table 1 に示した。分離率が高い T 型は、順に T6 型 (10 株, 41.7%), T1 型 (5 株, 20.8%), T25 型 (3 株, 12.5%), T3 型 (2 株, 8.3%) であった。なお、2014 年に富山県内で届出があった劇症型 A 群溶連菌感染症は 3 例で、患者から分離された菌の血清型は T1 型 1 例、T3 型 1 例、T28 型 1 例であった (Table 2)。

1. 現富山県厚生部 健康課 2. 現富山県厚生部 生活衛生課 3. 富山市民病院
4. 東京都健康安全研究センター

(2) A群溶連菌の薬剤感受性

A群溶連菌の薬剤感受性の結果をTable 3に、薬剤耐性パターンをTable 4に示した。

β -ラクタム系薬剤 (ABPC, CEX, CFDN, CDTR) に対してはすべて感受性を示したが、EMおよびCAMに対して25.0%, TCに対して4.2%, CLDMに対して8.3%が耐性を示した。マクロライド系薬剤に対する耐性株は近年増加し、2008年以降は60%を超える耐性率で推移している (Fig. 1)。血清型別にみると、EMおよびCAMに対して耐性を示したのはT1型、T25型、28型であった。

薬剤耐性パターンでは、70.8% (17株) はすべてに感受性であったが、3剤耐性 (EM・CAM・CLDM) が2株 (T1型, T25型)、2剤耐性 (EM・

CAM) が4株 (T1型1株, T25型1株, T28型1株) であった。

マクロライド系薬剤は、本菌の第一選択薬であるペニシリン系薬剤にアレルギーを示す患者に対し使用が推奨されていることから、治療薬選択の際には十分な注意が必要であると思われる。

文 献

1. 感染症発生動向調査 週報 IDWR (2012). 第12号, 9-14
2. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 6-7

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2014

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1	2	1			1					1			5	20.8
T-2													0	0.0
T-3	1	1											2	8.3
T-4													0	0.0
T-6	1	1		1	1	1	2	1				2	10	41.7
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12		1											1	4.2
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25			2		1								3	12.5
T-28					1								1	4.2
T-B3264													0	0.0
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypeable									1	1			2	8.3
Total	4	4	2	1	4	1	2	1	1	2	0	2	24	100.0

Table 2. Cases of Group A Streptococcus-induced Toxic Shock Syndrome in Toyama, 2014

Month	Age	Sex	Outcome	Group	T serotype	M serotype	<i>emm</i>	<i>spe</i>	Resistance to antibiotic
2014/1	60	F	Alive	A	T3	M3	<i>emm3.1</i>	ABF	
2014/3	75	M	Alive	A	T28	UT*	<i>emm28.0</i>		
2014/7	57	M	Dead	A	T1	M1	<i>emm1.0</i>	ABF	EM

*: Untypeable

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2014

MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
	ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
>64							2			3
64										
32					1					
16							2	3*		
8								1		
4					1	5	1		2†	
2					1	18	1	1		
1						1		1		
0.5		9			1				22‡	6
0.25		15			12					15
0.12					8		18			
0.06								17		
0.03	23							1		
0.015	1		1							
0.008			22	23						
≤ 0.004			1	1						

\geq double line, resistant; \leq dotted line, susceptible (CLSI: M100-S21).

*: $> 16 \mu$ g/ml, †: $> 4 \mu$ g/ml, ‡: $\leq 0.5 \mu$ g/ml

Table 4. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2014

Resistance pattern	No. of strains (%)
EM, CAM,CLDM	2(8.3)
EM, CAM	4(16.7)
TC	1(4.2)
Susceptible	17(70.8)
Total	24 (100.0)

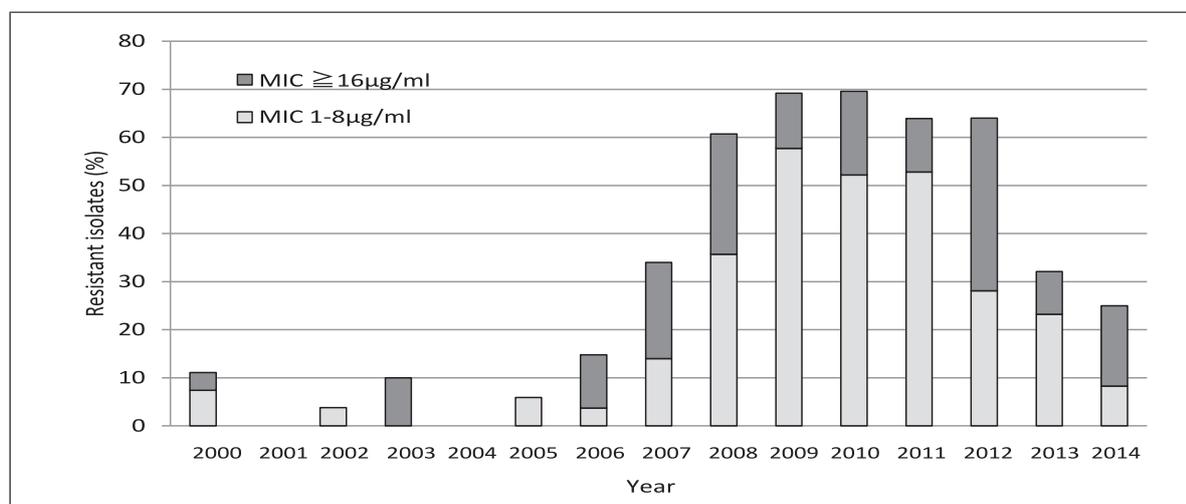


Fig. 1 Frequency of Clinical Group A Hemolytic Streptococci Resistance to Erythromycin in Toyama from 2000 to 2014

富山県内で分離された A 群溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性 (2015 年)

磯部 順子 三井千恵子¹ 金谷 潤一 木全 恵子
 範本 志保 綿引 正則 百石祐一朗³ 加藤 陽子³
 中村 政雄³ 奥野 ルミ⁴

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2015

Junko ISOBE, Chieko MITSUI¹, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO, Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU², Yoko KATO², Masao NAKAMURA² and Rumi OKUNO³ and Rumi OKUNO³

A 群溶血性レンサ球菌（溶連菌）は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起原菌となる。感染症法では、本菌による咽頭炎は小児科定点報告の 5 類感染症に位置づけられており、富山県における 2015 年の患者報告数は、3,833 人（132.2/ 定点）であった。

一方、溶連菌は、症状の進行が早く、致命率の高い重篤な劇症型の疾患を引き起こすことがあり、そのような劇症型は五類感染症として全数報告が義務付けられている。本県における劇症型溶連菌感染症報告数は毎年 2～9 例が届けられている。これらの患者から分離される溶連菌は A 群がおよそ 7 割と多いが [1]、劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではない。

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

当所では、衛生微生物技術協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A 群溶連菌の血清型別や劇症型溶連菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2015 年に富山県内で分離された A 群溶連菌の血清型別および薬剤感受性検査の結果について報告する。

材料と方法

供試菌株は、2015 年に富山県内の 1 医療機関で患者から分離された A 群溶連菌 15 株である。

【T 型別試験】供試菌株 15 株について、T 型別を実施した。型別は「T 型別用免疫血清」（デンカ生研）を用いてスライド凝集反応にて行った。

【薬剤感受性試験】供試菌株 15 株について薬剤感受性を調べた。測定は東京都健康安全研究センターにて実施した。使用薬剤はアンピシリン (ABPC)、セファレキシン (CEX)、セフジトレン (CDTR)、セフジニル (CFDN)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、エリスロマイシン (EM)、クラリスロマイシン (CAM)、クリンダマイシン (CLDM)、リンコマイシン (LCM) の 10 薬剤である。測定にはドライプレートおよび IA-20（栄研化学）を用い、MIC 値は、CLSI の判定基準に従い判定した。

結果と考察

(1) A 群溶連菌の T 型別

2015 年に分離された A 群溶連菌の T 型別結果を Table 1 に示した。分離された溶連菌の T 型は、T-6 型、T-12 型、T-B3264 型（各 4 株、26.7%）で、T1 型、T-4 型、T-11 型（各 1 株、6.7%）であった。なお、2015 年に富山県内で届出された劇症

1. 現富山県厚生部 健康課 2. 富山市民病院
 3. 東京都健康安全研究センター

型溶連菌感染症は 10 例で、内 A 群溶連菌感染症は 4 例であった。この 4 株の血清型は T3 型 2 例、T-B3264 型 1 例、型不明 1 例であった (Table 2)。また、4 株全てが 10 薬剤に感受性であった。

(2) A 群溶連菌の薬剤感受性

A 群溶連菌の薬剤感受性の結果を Table 3 に、薬剤耐性パターンを Table 4、Table 5 に示した。 β -ラクタム系薬剤 (ABPC, CEX, CFDN, CDTR) に対してはすべて感受性を示したが、CAM、EM、TC に対してそれぞれ 4 株 (26.7%)、CLDM に対しては 3 株 (20.0%) が耐性を示した。血清型別にみると、11 株 (73.3%) はすべての薬剤に感受性であったが、3 株 (T12 型) が 4 剤耐性 (TC, EM, CAM, CLDM)、1 株 (T11 型)

が 3 剤耐性 (TC, EM, CAM) であった。マクロライド系薬剤は、本菌の第一選択薬であるペニシリン系薬剤にアレルギーを示す患者に対し使用が推奨されていることから、治療薬選択の際には十分な注意が必要であると思われる。

文 献

1. 感染症発生動向調査 週報 IDWR (2012). 第 12 号, 9-14
2. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 6-7

Table 1. Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2015

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1												1	1	6.7
T-2													0	0.0
T-3													0	0.0
T-4							1						1	6.7
T-6	1	1	1						1				4	26.6
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11								1					1	6.7
T-12										2	2		4	26.6
T-13													0	0.0
T-18													0	0.0
T-22													0	0.0
T-23													0	0.0
T-25													0	0.0
T-28													0	0.0
T-B3264			1	1		1		1					4	26.7
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypeable													0	0.0
Total	1	1	2	1	0	1	1	2	1	2	2	1	15	100.2

Table 2. Cases of Group A Streptococcus-induced Toxic Shock Syndrome in Toyama, 2014

Month	Age	Sex	Outcome	Group	T serotype	M serotype	<i>emm</i>	<i>spe</i>	Resistance to antibiotic
2014/12	55	F	Dead	A	T3	M3	<i>emm3.95</i>	ABF	
2015/2	72	M	Alive	A	T3	M3	<i>emm3.95</i>	ABF	
2015/3	67	F	Dead	A	TB3264	UT*	<i>emm89.0</i>	BCF	
2014/7	88	M	Dead	A	UT	UT	<i>stg643.0</i>		

*: Untypeable

Table 3. Antibiotic Susceptibilities of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2015

MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
	ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
>64							3			2
64					2					1
32					2					
16								3*		
8										
4						5	1		3†	
2						10		1		
1										
0.5		7			2				12‡	1
0.25		8			5					8
0.12					4		7	1		3
0.06							4	9		
0.03	8							1		
0.015	7									
0.008			15	15						
≤ 0.004										

\geq double line, resistant; \leq dotted line, susceptible (CLSI: M100–S21).

*: $> 16 \mu$ g/ml, †: $> 4 \mu$ g/ml, ‡: $\leq 0.5 \mu$ g/ml

Table 4. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2015

Resistance pattern	No. of strains (%)
TC,EM,CAM	1(6.7)
TC,EM, CAM,CLDM	3(20.0)
Susceptible	11(73.3)
Total	15 (100.0)

Table 5. Results of MIC for Isolates with Group A *Streptococcus* in Toyama,2015

No.	Group	Ttype	ABPC	CEX	CDTR	CFDN	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
1	A	6	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
2	A	6	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
3	A	6	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
4	A	B3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.12 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
5	A	B3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
6	A	B3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.12 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
7	A	4	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.12 S	2 S	0.06 S	0.03 S	≤ 0.5 S	0.25
8	A	11	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	32 R	2 S	4 R	2 R	≤ 0.5 S	0.25
9	A	B3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
10	A	6	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.12 S	2 S	0.12 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
11	A	12	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	64 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64
12	A	12	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	32 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	64
13	A	12	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	64 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64
14	A	12	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.5 S	4 S	0.12 S	0.12 S	≤ 0.5 S	0.5
15	A	1	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.5 S	4 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25

富山県における 2015 年の病原微生物検出情報

三井千恵子¹ 磯部 順子 範本 志保 木全 恵子
 金谷 潤一 綿引 正則

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2015

Chieko MITSUI¹, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
Jun-ichi KANATANI and Masanori WATAHIKI

われわれは県内 10 か所の公立病院検査室、4 か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集している。2015 年 1 月から 12 月までの検出情報を検出材料別及び菌種別に集計し、表に示した。公立病院検査室で分離された黄色ブドウ球菌については、メチシリン耐性ブドウ球菌（MRSA）の割合を本文中に示した。

表中の○で囲んだ数字は食中毒、家族内発生などの同一フォ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 1,111 株で、前年の 92.4%であった。最も多かったのは大腸菌 578 株で、前年の 632 株から減少した。腸管出血性大腸菌(EHEC/VTEC) は、血清型 O157 が 18 株、O26 が 2 株、O111 が 3 株、O103 が 1 株、O145 が 1 株で合計 25 株分離された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌 239 株（そのうち MRSA は 48.1%）であり、前年の 92.6%であった。カンピロバクターは 206 株で前年の 115.7%であった。また、腸管出血性大腸菌以外の 3 類感染症からは、赤痢菌が 1 株分離された。

穿刺液：分離株総数は 314 株で前年の 93.5%であった。コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は 28.4%）、大腸菌などが多く分離された。

髄液：分離株総数は 3 株で、前年の 37.5%であった。

血液：分離株総数は 1,721 株で前年の 105.3%であった。大腸菌、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSA は 32.9%）が多く分離された。

咽頭および鼻咽喉：分離株総数は 1,570 株で 1,714 株で前年の 91.6%であった。インフルエンザ菌、肺炎球菌、A 群溶連菌が多く分離された。

喀痰、気管吸引液および下気道：分離株総数は 4,108 株で前年の 95.6%であった。黄色ブドウ球菌（MRSA は 41.2%）が最も多く、緑膿菌、肺炎桿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌なども多く分離された。

尿：分離株総数は 6,033 株で前年の 99.4%であった。大腸菌が最も多く分離され、腸球菌、コアグラールゼ陰性ブドウ球菌、肺炎桿菌、緑膿菌なども多く分離された。

陰部尿道頸管擦過（分泌）物：分離株総数は 1,226 株で前年の 92.1%であった。B 群溶連菌、*Candida albicans* が多く分離された。なお、*Chlamydia trachomatis* は抗原検出による報告である。

謝 辞

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

月別・菌種別の病原微生物検出状況（2015）

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> 04				1			2	2		3		1	9
<i>Salmonella</i> 07	3				1	2	1		1	1		1	10
<i>Salmonella</i> 08							1	3	2			2	8
<i>Salmonella</i> 09						1	3	2		1			7
<i>Salmonella</i> 09,46 (D2)								1					1
<i>Salmonella</i> 03,10 (E1,E2,E3)													0
<i>Salmonella</i> 01,3,19 (E4)													0
<i>Salmonella</i> 013 (G1,G2)													0
<i>Salmonella</i> 018 (K)													0
<i>Salmonella</i> その他							1						1
<i>Salmonella</i> 群不明											1		1
<i>Yersinia enterocolitica</i>		1				1	1					1	4
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :El Tor,Ogawa,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :El Tor,Ogawa,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :El Tor,Inaba,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01 :El Tor,Inaba,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 0139,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> 01,139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>													0
<i>Vibrio fluvialis</i>													0
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>	0	0		1	0	1	0	7	7	1	3	1	21
<i>Plesiomonas shigelloides</i>								1	1				2
<i>Campylobacter</i>	14	14	26	13	12	34	18	20	18	7	15	15	206
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	19	17	15	17	18	19	27	19	28	19	21	239
<i>Clostridium perfringens</i>			1	1	7	1	1	1	4		6		22
<i>Clostridium botulinum</i> E													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>					1								1
<i>Bacillus thuringiensis</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性						1				1			2
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	1					5	3	1	1	4	7	1	23
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	41	27	34	29	23	32	32	32	27	26	25	45	373
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC				1		5	8	9	1			1	25
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	10	11	24	16	20	12	7	17	10	15	5	8	155
<i>Shigella dysenteriae</i> 型 ()													0
<i>Shigella dysenteriae</i> 型 ()													0
<i>Shigella flexneri</i> 型 ()													0
<i>Shigella flexneri</i> 型 ()													0
<i>Shigella boydii</i> 型 ()													0
<i>Shigella boydii</i> 型 ()													0
<i>Shigella sonnei</i>							1						1
<i>Shigella</i> 群不明													0
合計	89	72	102	77	81	113	98	123	91	87	81	97	1111

注：（ ）内は海外旅行者分再掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

2) 分離材料：穿刺液（胸水、腹水、関節液など）

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	5	3	4	8	4	4	3	6	7	9	4	1	58
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1	2	2	2	3	4	1	5	1	1		23
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5		1	1	2	1	2	1	3	2	3		21
<i>Mycobacterium spp.</i>													0
<i>Staphylococcus aureus</i>	9	3	7	3	3	3	5	6	14	9	9	3	74
<i>Staphylococcus</i> コリナラセ 陰性	5	3	6	5	8	6	9	3	10	7	12	3	77
<i>Streptococcus pneumoniae</i>				3	1								4
Anaerobes	8	2	5	8	1	3	1	11	4	6	6	2	57
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	33	12	25	30	21	20	24	28	43	34	35	9	314

平成 28 年 12 月 1 日

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>													0
<i>Staphylococcus aureus</i>													0
<i>Streptococcus, B</i>													0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>				2		1							3
合計	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	3

4) 分離材料：血液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	67	38	53	42	54	59	62	59	71	53	43	50	651
<i>Salmonella Typhi</i>													0
<i>Salmonella Paratyphi A</i>													0
<i>Salmonella spp.</i>								1	1		2		4
<i>Haemophilus influenzae</i>	1				1				1			4	7
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	7	4	6	2	4	4	2	7		4	4	50
<i>Staphylococcus aureus</i>	35	19	16	15	24	22	17	25	16	25	25	19	258
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	46	39	49	45	57	50	58	73	46	27	50	44	584
<i>Streptococcus, B</i>	2	2	1	3	2		2	2	5			3	22
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2		6	4	3	1	2	2	3	1	2	29
Anaerobes	7	7	11	13	6	10	8	14	8	6	13	13	116
<i>Plasmodium spp.</i>													0
合計	167	114	134	130	150	148	152	178	157	114	138	139	1721

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Bordetella pertussis</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>	84	64	90	103	85	55	48	50	46	48	90	77	840
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Streptococcus, A</i>	12	25	36	43	16	25	8	10	13	17	18	15	238
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	20	41	32	56	43	35	29	26	33	52	69	56	492
<i>C. diphtheriae</i>													0
合計	116	130	158	202	144	115	85	86	92	117	177	148	1570

6) 分離材料：喀痰、気管吸引液および下気道の材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	6	5			6	3	6	4	3	7	5	47
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	37	47	44	61	52	53	60	56	55	55	42	618
<i>Haemophilus influenzae</i>	57	48	49	54	53	38	28	38	22	23	35	27	472
<i>Legionella pneumophila</i>	2	3	1			1		1					8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53	42	37	54	49	51	51	67	68	57	58	45	632
<i>Staphylococcus aureus</i>	180	165	163	163	148	146	135	128	141	152	117	128	1766
<i>Streptococcus, A</i>	3	3		3	1	4	2	3	1	4	1		25
<i>Streptococcus, B</i>	15	16	20	13	12	3	12	15	12	14	16	16	164
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	40	27	33	46	40	32	14	21	27	35	29	29	373
Anaerobes								3					3
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	408	347	355	377	364	333	298	342	331	343	318	292	4108

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	255	197	218	208	239	244	228	212	219	229	214	196	2659
<i>Enterobacter</i> spp.	10	14	12	16	21	18	19	13	22	20	14	19	198
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39	41	40	31	46	40	38	41	43	40	48	41	488
<i>Acinetobacter</i> spp.	3	3	1		4	2	4	4	6	9	1		37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36	30	27	36	34	23	38	41	29	31	40	30	395
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	32	30	31	27	30	21	25	23	21	21	18	311
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	45	44	50	60	83	55	61	54	61	53	63	43	672
<i>Enterococcus</i> spp.	96	79	85	88	92	72	77	68	87	66	92	82	984
<i>Candida albicans</i>	25	21	16	16	28	14	32	28	34	26	28	21	289
合計	541	461	479	486	574	498	518	486	524	495	521	450	6033

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過（分泌物）

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	1	2	1			1	1			3	11
<i>Streptococcus</i> , B	51	48	64	62	56	64	43	50	51	49	44	47	629
<i>Chlamydia trachomatis</i>	3	3	4	3		2	6	3	2	2	3	2	33
<i>Ureaplasma</i>											1		1
<i>Candida albicans</i>	50	37	45	26	48	53	42	45	54	48	54	50	552
<i>Trichomonas vaginalis</i>													0
合計	105	89	114	93	105	119	91	99	108	99	102	102	1226

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	9	5	8	7	5	11	9	18	9	14	9	11	115
	MSSA	11	14	9	8	12	7	10	9	10	14	10	10	124
	未検査													0
	件数	20	19	17	15	17	18	19	27	19	28	19	21	239
穿刺液	MRSA	5	0	2	1	0	1	2	0	5	3	1	1	21
	MSSA	4	3	5	2	3	2	3	6	9	6	8	2	53
	未検査													0
	件数	9	3	7	3	3	3	5	6	14	9	9	3	74
髄液	MRSA	0			0	0		0		0	0	0	0	0
	MSSA	0			0	0		0		0	0	0	0	0
	未検査													0
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血液	MRSA	15	11	6	5	10	8	4	5	3	5	9	4	85
	MSSA	20	8	10	10	14	14	13	20	13	20	16	15	173
	未検査													0
	件数	35	19	16	15	24	22	17	25	16	25	25	19	258
呼吸器	MRSA	63	64	74	64	70	65	53	57	63	56	49	49	727
	MSSA	117	101	89	99	78	81	82	71	78	96	68	79	1039
	未検査													0
	件数	180	165	163	163	148	146	135	128	141	152	117	128	1766
尿	MRSA	13	14	11	18	11	13	6	8	8	9	9	11	131
	MSSA	19	18	19	13	16	17	15	17	15	12	12	7	180
	未検査													0
	件数	32	32	30	31	27	30	21	25	23	21	21	18	311
その他	MRSA													0
	MSSA													0
	未検査													0
	件数													0

平成 27 年度富山県食品衛生検査の精度管理調査 －微生物学的検査－

金谷 潤一 磯部 順子 範本 志保 木全 恵子
 三井千恵子¹ 綿引 正則

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for
Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2015)

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
Chieko MITSUI and Masanori WATAHIKI

目的：本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱 [1] に基づき、平成 11 年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している。平成 27 年度の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した生菌数測定および模擬食品（加熱食肉製品加熱殺菌後包装）中の黄色ブドウ球菌検査（成分規格 1000 以下/g）を実施した。検査用試料は、衛生研究所で調製後、各検査機関に配布した。各々の検査結果の報告を集計・解析し、評価を行ったので報告する。

材料と方法：新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の 7 機関を対象とし、平成 28 年 1 月 19 日～1 月 27 日に実施した。

生菌数測定用の検体は、牛乳 10 ml、2 検体の菌数がそれぞれ 1.4×10^4 CFU/ml（牛乳 A）、 7.0×10^2 CFU/ml（牛乳 B）となるよう枯草菌（栄研化学）を調製し、市販品牛乳（常温保存可）に添加し作製した。なお、牛乳原液の生菌数は 0 CFU/ml であった。菌数測定は各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした。得られた各機関の 2 回の実測値を用いて、標準偏

差（SD）、変動係数、Z-スコアを算出した。

黄色ブドウ球菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフに黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌（卵黄反応およびコアグラゼ試験陰性）の培養液を表 1 のように接種して作製した。なお、市販のコンビーフは予備検査において該菌が検出されないことを確認した。検査法は各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした。

結果：各機関の成績は表 2 に示した。牛乳 A については、報告された測定値（各機関の実測値 2 回を平均した値）の平均は 1.50×10^4 CFU/ml、最大値 1.67×10^4 CFU/ml、最小値 1.22×10^4 CFU/ml であった。標準偏差（SD）は 1842.8 となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($1.13 \times 10^4 \sim 1.87 \times 10^4$) の範囲内であった。

牛乳 B については、報告された測定値の平均は 8.86×10^2 CFU/ml、最大値 9.85×10^2 CFU/ml、最小値 6.60×10^2 CFU/ml であった。標準偏差（SD）は 116.8 となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($6.52 \times 10^2 \sim 1.12 \times 10^3$) の範囲内であった。

牛乳 A、B について、データのばらつき度合を評価するため、Zスコアを算出した。Zスコアは別名「標準測度」と呼ばれ、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測$

表 1. 模擬食品における添加細菌と菌数

試料名	添加細菌	菌数
模擬食品 C	黄色ブドウ球菌	1.32×10^4 CFU/g
模擬食品 D	ブドウ球菌	8.00×10^3 CFU/g
模擬食品 E	黄色ブドウ球菌	1.32×10^2 CFU/g

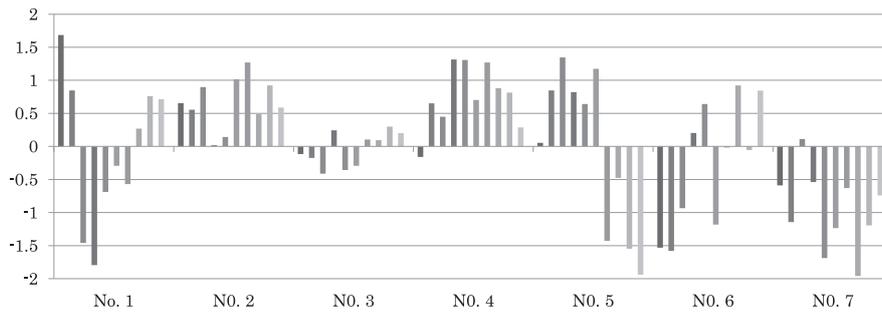


図 1. 測定値の Z スコア (H22 ~ H26)

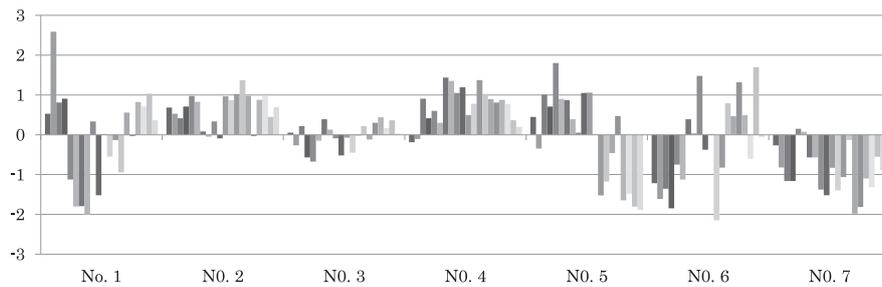


図 2. 実測値の Z スコア (H22 ~ H26)

定値平均) / 測定値標準偏差」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値を評価できる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。牛乳 A、B において、全機関の Z スコアはいずれも 2 未満で、測定は「良好」と判断された。各機関の実測値 (1 検体あたり 2 回) においても、Z スコアはすべて 2 未満で、ばらつき具合は良好と判断された。

平成 23 年度から平成 27 年度までの 5 年間に於いて、生菌数の測定値及び実測値の Z スコアを示した (図 1, 2)。測定値はいずれも 2 未満であったが、実測値については、機関 No. 1 の 2 回、機関 No. 6 の 1 回が $2 < |Z| < 3$ であった。

黄色ブドウ球菌検査については、すべての機関が食品 C から基準値 (1000 以下 / g) を上回る黄色ブドウ球菌数を検出できた。一方、卵黄反応およびコアグラゼ試験陰性のブドウ球菌を接種した食品 D からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌は検出されなかった (100 未満 / g)。また、精製水のみを接種した食品 E からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌数不検出 (100 未満 / g) となり、検査精度に問題はなかった。

考察：平成 23 ~ 27 年度において、一般細菌数の測定値の Z スコアをみると、いずれの年も「良好」とされる範囲内であり問題はなかった。ただし、

実測値 (1 検体あたり 2 回) をみると、2 つの機関 (計 3 回) で Z スコアが $2 < |Z| < 3$ の範囲であった。Z スコアが 2 を越えた場合、機関内でその原因を精査し、ばらつきが小さくなるよう改善する必要がある。しかし、この精度管理調査の参加機関は多くないため、全体的な測定値のばらつきが小さい場合、少しの変動が Z スコアに大きく影響する場合があるので、本調査における Z スコアだけでその測定方法等を否定できない。また、これら 2 つの機関については、民間機関が実施する外部精度管理にも参加しており、適正な範囲に入る結果を得ているため、直ちに改善が必要ではないと考えられる。

黄色ブドウ球菌による食中毒は、日本の衛生管理水準が高くなってから減少しているため、食中毒の検査として黄色ブドウ球菌を検出することはまれになった。しかし、洋生菓子からこの菌を検出してはいけないこととなっているため、この検査の必要性は高い。また平成 27 年には、国際整合性を図る観点から試験法が改正され、選択分離培地として ISO 6888-1 にあるベアード・パーカー寒天培地が盛り込まれた (従来から広く用いられている 3% 卵黄加マンニット食塩寒天培地も使用可能)。このような背景から、今回の精度管理では黄色ブドウ球菌数の測定を検査項目として選定した。

黄色ブドウ球菌は、卵黄反応およびコアグラゼ試験によって同定される。今回、食品 D に添

表 2. 平成 27 年度富山県食品衛生精度管理調査結果

A. 牛乳A生菌数							
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	1.64×10 ⁴	16500	1500.0	0.82	16400	1400.0	0.76
		16300	1300.0	0.71			
No. 2	1.67×10 ⁴	16600	1600.0	0.88	16700	1700.0	0.92
		16800	1800.0	0.99			
No. 3	1.56×10 ⁴	15800	800.0	0.44	15550	550.0	0.30
		15300	300.0	0.16			
No. 4	1.65×10 ⁴	16600	1600.0	0.88	16500	1500.0	0.81
		16400	1400.0	0.77			
No. 5	1.22×10 ⁴	12000	-3000.0	-1.65	12150	-2850.0	-1.55
		12300	-2700.0	-1.48			
No. 6	1.49×10 ⁴	15900	900.0	0.49	14900	-100.0	-0.05
		13900	-1100.0	-0.60			
No. 7	1.28×10 ⁴	13000	-2000.0	-1.10	12800	-2200.0	-1.19
		12600	-2400.0	-1.32			
平均値 (X)		15000.0			15000.0		
標準偏差 (SD)		1820.0			1842.8		
X+2SD		18639.9			18685.6		
X-2SD		11360.1			11314.4		
B. 牛乳B生菌数							
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	9.70×10 ²	1010	123.6	1.03	970	84.3	0.72
		930	43.6	0.36			
No. 2	9.55×10 ²	940	53.6	0.45	955	69.3	0.59
		970	83.6	0.70			
No. 3	9.10×10 ²	930	43.6	0.36	910	24.3	0.21
		890	3.6	0.03			
No. 4	9.20×10 ²	930	43.6	0.36	920	34.3	0.29
		910	23.6	0.20			
No. 5	6.65×10 ²	670	-216.4	-1.81	660	-225.7	-1.93
		660	-226.4	-1.89			
No. 6	9.85×10 ²	1090	203.6	1.70	985	99.3	0.85
		880	-6.4	-0.05			
No. 7	8.00×10 ²	820	-66.4	-0.55	800	-85.7	-0.73
		780	-106.4	-0.89			
平均値 (X)		886.4			885.7		
標準偏差 (SD)		119.8			116.8		
X+2SD		1126.1			1119.3		
X-2SD		646.7			652.2		
C. 模擬食品からの黄色ブドウ球菌検出							
機関名	食品C		食品D		食品E		
No. 1	陽性 (15000/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 2	陽性 (14000/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 3	陽性 (14000/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 4	陽性 (12500/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 5	陽性 (8950/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 6	陽性 (12000/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		
No. 7	陽性 (11250/g)		陰性 (100未満/g)		陰性 (100未満/g)		

加したブドウ球菌は卵黄反応陰性であるため、選択培地上で判別可能である。今年度は、全ての機関で食品 D から黄色ブドウ球菌は検出されなかった。また、全ての機関で食品 C からのみ基準値 (1000 以下 / g) を上回る黄色ブドウ球菌数を検出することができ、検査精度に問題はなかった。3 機関ではベアード・パーカー寒天培地を使用していたが、判定に問題はなかった。黄色ブドウ球菌は選択培地での発育が遅い場合もあり、ま

た、市販生培地での発育形態に特徴があることから、定期的に精度管理を実施し、使用する培地での陽性コントロールの発育を確認することが望ましい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食 1,229 号, 平成 10 年 12 月 16 日

min) -3 °C /min-200 °C (0 min)
 -8 °C /min-280 °C (10 min) -10 °C
 /min-300 °C (5 min)

注入方式：大量注入法（アイステイサイエンス
 社製 LVI-S200）

注入量：100 μl

注入口温度：50 °C (0.7 min) -120 °C /min-250
 °C (0 min) -50 °C /min-280 °C (43
 min)

イオン化モード：EI 70 eV

インターフェース温度：250 °C

イオン源温度：230 °C

5. 添加回収試験：農薬が不検出の試料（冷凍加工食品 4 種類）に農薬混合標準溶液を 0.2 ppm になるように添加し試験を行った。

回収率、精度の評価については加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の性能評価 [2] を参考に、1 種類の試料につき添加試料 3 個を試験し、回収率の目標値は 50 ~ 200%，併行精度の目標値は 30% 未満とした。

結果及び考察：

1. 試験溶液調製法の検討：試験溶液中の脂質の含有量を把握するために、従来法で調製した精製液の溶媒を除去し、その残留物重量（20 ml 中の mg）を脂質等不純物量の指標として測定した（表 1）。脂質含有量が最も多かったのは鶏肉竜田揚げで 148 mg であり、加工度の低いスイートコーンで最も少なく 8 mg であった。

初めに、脂質含有量の多い鶏肉竜田揚げについて脂質除去の検討を行った。精製液からの脂質を除去するために、従来法で精製に使用している GCB+NH₂ カラムの充填剤量を 2 倍（カラム 2 本を連結）にして精製を行った。その結果、残留物重量は 148 mg から 120 mg へと減少したもののまだ残留物が多く十分な精製はできなかった。

次に、抽出液の酢酸エチル溶液から脂質を除去するために、C18 ミニカラムで抽出液を精製する方法を検討した。抽出液 2 ml を C18 ミニカラムに注入後、アセトニトリル 5 ml で溶出し、C18 ミニカラム精製前後の溶液中に含まれる残留物量を比較した。精製前の抽出液 2 ml 中に含まれていた残留物は 181 mg、精製後は 103 mg であり、脂質を十分には除去できていなかった。

抽出液溶媒の酢酸エチルは極性が低く、脂質が C18 ミニカラムに十分に保持されずに溶媒と共に溶出したものと考えられたため、溶液の極性を高

表 1. 試験溶液中の脂質量

試料	脂質量 (mg)
スイートコーン	8
鶏肉竜田揚げ	148
惣菜	62
ピザ	87

脂質量は試験溶液 20 ml の溶媒除去後の残留物重量とした

くして精製を試みた。抽出液 2 ml にアセトニトリル 8 ml を加え全量を C18 ミニカラムに注入後、アセトニトリル 5 ml で溶出し、精製後の残留物を測定したところ 3 mg（抽出液 2 ml 相当）となり、脂質の除去が可能となった。そこで、試験溶液からの脂質除去法として、酢酸エチル抽出液をアセトニトリルで希釈してから C18 ミニカラム精製を行う工程を従来法に加えることとし（改良法：図 1）、改良法で調製した各種試料の試験溶液の残留物重量を測定した。その結果、改良法ではいずれの試料においても試験溶液中の残留物重量は 1 mg 未満となり、脂質等不純物が除去されていることが確認された。

次に改良法を用いてスイートコーンについて回収率を検討したところ、ホレート（22%）、テルブホス（42%）、チオメトン（39%）が回収率 50% 未満、ジスルホトン（54%）、ジクロロボス（51%）も低い傾向を示した。ジクロロボスは揮発性が高く、溶媒除去の際は窒素気流で緩やかに溶媒を蒸発させることが推奨されている [3]。また、ジスルホトンは酸化されるという性質があることから、溶媒除去後、直ちにアセトン/ヘキサン溶液で再溶解したところ、全ての成分で回収率 50% 以上となった。また、溶媒を完全に除去せずにアセトン/ヘキサン溶液で再溶解する方法を検討したところ、ホレート、テルブホス、チオメトン、ジスルホトンの回収率は 50% 以上となったがジクロロボスは 34% に低下したことから、溶媒置換時は溶媒除去後速やかに再溶解する方法をとることにした。

2. 添加回収試験：冷凍加工食品 4 種類（各 n=3 で実施）に農薬標準液（0.2 ppm）を添加し、添加回収試験を行った。表 2 に回収率及び併行精度を示した。

スイートコーン、惣菜、ピザでは全ての農薬成分で回収率及び併行精度の目標値を満たしていた。鶏肉竜田揚げでは EPN に妨害ピークがみら

れ回収率が 275%となったものの、その他の農薬成分は回収率、併行精度ともに目標値を満たしていた。

以上のことから、C18 ミニカラムを使用した改良法は簡便に実施でき、また、回収率および精度も目標値を満たしており、多様な加工食品を対象とした農薬迅速検出法として有用であることが示された。

文 献

1. 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡：食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について，平成 20 年 3 月 7 日
2. 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡：加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について，平成 25 年 3 月 26 日
3. 廣田政隆 (2012). 実践残留農薬分析における注意点, p 67 林純薬工業株式会社.

表2. 測定対象農薬の添加回収試験結果

No.	成分名	スイートコーン		鶏肉竜田揚げ		惣菜		ピザ	
		真度 回収率%	併行精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%	真度 回収率%	併行精度 RSD%
1	ジクロロボス	74	5.8	113	3.4	63	3.2	74	20.9
2	エトプロホス	93	6.4	138	2.8	83	2.4	98	8.1
3	カズサホス	90	4.1	135	9.8	85	5.2	99	7.4
4	ホレート	50	18.0	114	4.8	54	18.9	77	13.2
5	ジメトエート	99	7.1	104	1.5	96	0.4	100	5.0
6	シアノホス	96	4.8	107	3.6	93	2.2	100	4.1
7	テルブホス	77	5.2	115	4.7	73	9.9	91	7.5
8	ダイアジノン	97	3.5	111	1.7	91	1.7	98	4.9
9	エトリムホス	99	3.5	107	2.8	94	2.6	100	5.5
10	ホスファミドン	94	5.2	121	1.9	93	0.7	98	4.6
11	パラチオンメチル	76	5.1	119	2.3	83	5.2	88	1.4
12	クロルピリホスメチル	89	3.7	101	2.1	91	4.6	96	4.6
13	トルクロホスメチル	95	1.1	103	2.3	96	2.7	102	4.2
14	フェニトロチン	82	4.0	123	3.2	87	1.7	90	2.9
15	ピリミホスメチル	98	3.1	108	1.8	92	2.9	98	3.3
16	ジメチルビンホスE	99	2.9	107	3.4	94	2.1	96	4.0
17	マラチオン	92	3.9	120	1.4	93	0.7	96	2.7
18	フェンチオン	83	1.9	109	4.0	91	4.0	95	1.4
19	ジメチルビンホスZ	97	0.8	118	0.6	103	1.6	105	2.9
20	クロルピリホス	95	3.6	105	2.5	93	2.9	99	3.9
21	パラチオン	79	4.8	130	1.3	84	2.0	88	2.7
22	ホスチアゼート1	96	6.0	107	5.0	99	2.3	102	2.0
23	ホスチアゼート2	104	8.1	115	3.9	100	0.9	101	6.5
24	クロルフェンビンホスZ	101	5.8	126	1.4	95	1.4	96	3.1
25	クロルフェンビンホスE	93	4.2	125	1.3	92	1.4	94	3.7
26	イソフェンホス	94	4.1	113	1.7	94	1.5	95	2.3
27	キナルホス	96	6.4	115	1.0	95	1.7	95	4.0
28	フェントエート	93	3.6	114	1.3	92	2.6	95	2.5
29	メチダチオン	85	3.3	106	1.4	97	6.1	94	3.9
30	ブタミホス	78	4.5	129	2.6	88	1.8	88	2.0
31	フェナミホス	86	5.1	185	1.6	93	0.7	95	3.8
32	プロチオホス	95	3.8	109	1.9	94	1.6	98	2.4
33	プロフェノホス	94	3.7	112	1.5	95	1.7	98	2.6
34	フェンスルホチオン	77	6.7	151	1.0	88	1.9	84	3.0
35	エチオン	88	4.2	113	1.8	94	2.3	94	2.1
36	エディフェンホス	91	5.9	97	1.5	94	1.3	96	2.1
37	ピリダフェンチオン	91	6.8	124	1.2	93	3.4	105	4.0
38	EPN	73	8.9	275	11.2	87	6.9	93	3.7
39	アジンホスメチル	81	2.8	100	2.5	93	3.5	90	2.3
40	ホサロン	92	3.7	102	0.7	95	2.9	96	1.6
41	ピラクロホス	91	7.0	95	1.7	94	4.1	98	2.1
42	オメトエート	75	1.4	61	1.9	108	20.5	100	2.0
43	トリフルラリン	66	5.0	91	6.4	76	9.8	78	3.6
44	モノクロトホス	75	3.4	76	6.1	87	9.8	87	4.4
45	チオメトン	57	8.2	65	11.8	76	18.0	88	8.1
46	ジスルホトン	66	9.2	69	5.4	87	13.6	94	4.5
47	テフルトリン	86	1.7	96	4.0	94	8.4	92	2.4
48	ピンクロゾリン	83	2.7	95	3.6	91	10.3	89	3.0
49	ベンチオカルブ	82	3.7	96	4.9	90	9.2	85	4.6
50	ペンディメタリン	64	4.2	91	12.0	93	8.4	75	3.7
51	ベンコナゾール	87	0.5	95	5.6	96	6.6	89	2.3
52	ピリフェノックスZ	81	1.3	92	9.0	91	8.8	83	1.7
53	プロシミドン	90	0.4	97	5.5	94	6.9	89	1.0
54	ピリフェノックスE	75	2.6	91	6.1	82	12.0	80	2.1
55	イソキサチオン	68	0.5	100	5.5	79	9.7	73	1.4
56	ホスメット	77	0.3	88	5.2	91	8.3	85	1.0
57	シハロトリン1	59	9.9	99	6.2	90	12.8	89	4.2
58	シハロトリン2	82	1.7	106	4.5	93	6.5	86	1.4
59	ペルメトリン1	76	3.4	99	7.3	90	10.8	86	1.8
60	ピリダベン	78	1.0	102	4.2	90	8.2	85	0.2
61	ペルメトリン2	77	2.5	106	9.6	88	4.4	83	4.3
62	シペルメトリン1	72	1.3	103	1.5	90	11.7	82	2.6
63	シペルメトリン2	73	1.8	93	10.2	87	12.6	87	1.0
64	シペルメトリン3	73	2.2	103	6.8	87	12.6	86	1.8
65	シペルメトリン4	71	6.3	97	4.1	87	10.3	90	3.4

富山県水道水質検査精度管理調査結果(平成 23 ～ 27 年度)

村元 達也 健名 智子 高田 博司

Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2011-2015)

Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI and Hiroshi TAKADA

目的：富山県では、県内の水質検査機関における試験分析技術及び検査精度の向上を図るため、県内で水道水等の水質検査を実施する検査機関を対象に、「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理事業を、平成 8 年度より実施している。この事業において、当所は配布試料の作製、参加機関から報告されたデータの集計及び解析を担当している。今回、平成 23 年度から平成 27 年度までの 5 年間にかけて実施した理化学検査項目の調査結果についてまとめたので、報告する。

材料及び方法：

- (1) 参加機関：富山県内で水道水等の水質検査を実施している検査機関で、水道事業者、水道用水供給事業者、水道法第 20 条に規定する登録検査機関及び地方公共団体（機関数は年度によって異なる）。
- (2) 測定項目：水質基準項目の中から、各年度 2 項目について実施。
- (3) 配布試料：各年度の配布試料について、表 1

に示す。硬度、鉄及び塩化物イオンの調査においては、河川水及び市販のミネラルウォーターをそのまま試料とした。その他の調査においては、水道水に標準溶液を添加して試料を調製した。測定項目が水道水中の残留塩素に影響を受けることが予想される場合は、あらかじめ検査方法告示で指定された試薬を添加して塩素を除去した後に、標準溶液を添加した。水銀の調査では、水銀の揮散、容器への付着等を防ぐため、L-システインを添加した。試料配布前日に、任意の 3 本を抜き出して濃度を測定し、そのビン間変動係数から配布試料間に濃度のばらつきがないことを確認した。また、試料の経時変化を見るために、調製後 1～3 週間の濃度を測定し、濃度に変化がないことを確認した。

(4) 検査方法及び検査結果：検査は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用いて行うこととした。測定は 5 回の併行測定とし、その併行測定値を検査結果として、有効数字 3 桁で報告することとした。

表 1. 各年度の配布試料

年度	測定項目	配布量 (mL)	添加対象 試料	添加濃度 (mg/L)	その他添加試薬
23	臭素酸	100	水道水	0.0019	なし
	硬度	500	ミネラルウォーター	—	なし
24	鉄	1000	河川水	—	硝酸 10ml/L
	水銀	500	水道水	0.00023	L-システイン 10mg/L 硝酸 10ml/L
25	TOC	1000	水道水	0.3	なし
	塩素酸	1000	水道水	0.37	エチレンジアミン 50mg/L
26	亜硝酸態窒素	500	水道水	0.008	エチレンジアミン 50mg/L
	塩化物イオン	500	ミネラルウォーター	—	なし
27	トリクロ酢酸	500	水道水	0.006	アスコルビン酸ナトリウム 20mg/L
	硝酸態窒素	500	水道水	0.2	エチレンジアミン 50mg/L

表 2. 各年度の精度管理における主な解析結果

年度	測定項目	参加 機関数	平均値±標準偏差 (mg/L)	変動係数 (%)	2< Z <3 機関数	3≦ Z 機関数	棄却 機関数
23	臭素酸	15	0.002246±0.000160	7.1	0	0	0
	硬度	20	69.89±0.753	1.1	0	1	1
24	鉄	21	0.09519±0.00803	8.4	2	1	1
	水銀	16	0.0002385±0.0000215	9.0	2	2	2
25	TOC	21	0.5623±0.0300	5.3	4	0	0
	塩素酸	16	0.3729±0.0121	3.2	2	0	0
26	亜硝酸態窒素	16	0.008271±0.000438	5.3	0	0	0
	塩化物イオン	21	4.146±0.140	3.4	1	1	1
27	トリクロ酢酸	16	0.009476±0.000696	7.3	0	0	0
	硝酸態窒素	19	0.3746±0.0108	2.9	2	0	0

表 3. 各年度の主な指摘事項及び棄却された原因

年度	測定項目	主な指摘事項	棄却された原因
23	臭素酸	<ul style="list-style-type: none"> 標準溶液を用時調製していない 検量線の原点を通過させている 検量線の範囲外で定量を行った 	
	硬度	<ul style="list-style-type: none"> 滴定法で、試料採取量が 50mL であった 	<ul style="list-style-type: none"> ICP-MS 法で、検量線の範囲の上限付近で定量を行った
24	鉄	<ul style="list-style-type: none"> 加熱処理を実施していない 	<ul style="list-style-type: none"> ガラスピーカーからのコンタミネーション
	水銀	<ul style="list-style-type: none"> 加熱処理を実施していない 	<ul style="list-style-type: none"> 加熱処理を実施しなかった 測定が長時間にわたり、装置の感度が変化した
25	TOC	<ul style="list-style-type: none"> 装置の補正方法に従った検量線に相当する補正を行っていない 試料採取から試験開始までの期間（72 時間以内）が守られていない 	
	塩素酸	<ul style="list-style-type: none"> ろ過を実施していない 検量線の原点を通過させている 	
26	亜硝酸態窒素	<ul style="list-style-type: none"> ろ過を実施していない 検量線の原点を通過させている 	
	塩化物イオン	<ul style="list-style-type: none"> 標準溶液を用時調製していない ろ過を実施していない 空試験を実施していない 検量線の点数が不足している 検量線の原点を通過させている 	<ul style="list-style-type: none"> 試料を取り間違え、亜硝酸態窒素用試料を測定した
27	トリクロ酢酸	<ul style="list-style-type: none"> 標準溶液を用時調製していない 前処理で pH を 0.5 以下に調製していない 	
	硝酸態窒素	<ul style="list-style-type: none"> 標準溶液を用時調製していない ろ過を実施していない 	

結果及び考察：5 年間の精度管理における主な解析結果について、表 2 に示す。Grubbs 検定（危険率 5%）により、統計的外れ値となった機関のデータは棄却し、棄却された機関のデータを除いて各計算値を算出した。Z スコアは、ISO/IEC ガイド 43-1（JISQ0043-1）及び厚生労働省の水道水質検査精度管理に関する調査結果 [1] に基づき算

出した。Z スコアの絶対値が 2 以下の場合を「満足」、2 より大きく 3 より小さい場合を「疑義あり」、3 以上の場合を「不満足」と評価した。

臭素酸、TOC、トリクロ酢酸及び硝酸態窒素の精度管理における平均値が、添加濃度より 10% 以上高い値を示したが、これは添加対象となる水道水に含まれていた量と合算されたためで、

測定誤差によるものではないと考えられた。変動係数は、いずれの調査においても 10% 未満と良好であった。Z スコアの分布は調査によってばらつきがあるが、金属類（鉄及び水銀）及び TOC の精度管理で、絶対値が 2 を超える機関が多かった。Z スコアの絶対値が 3 を超えた機関は、いずれも棄却された機関であった。

解析の結果、棄却された機関については、原因の究明、是正措置等について報告を求め、それぞれ回答を得た。また、結果は良好であっても、検査方法告示を遵守していない等、検査方法に問題があった機関については、コメントを付けて注意喚起を行った。5 年間の調査で行った各機関への主な指摘事項及び各機関から回答のあった棄却された原因について、表 3 に示す。以下に、年度ごとにその詳細について記述する。

平成 23 年度

臭素酸、硬度について精度管理を実施した。臭素酸はイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光度法で、硬度は滴定法、イオンクロマトグラフ法、誘導結合プラズマ-質量分析法（ICP-MS 法）及び誘導結合プラズマ発光分光分析法（ICP-AES 法）で測定が行われていた。

臭素酸の精度管理において、標準溶液を測定日 2 日前に調製した機関が 2 機関あった。検査方法告示では、使用の都度調製するとされている。また、検量線を作成するにあたり、原点を強制的に通過させた機関が 5 機関、検量線の最低濃度以下の範囲で定量を行った機関が 2 機関あった。硬度の精度管理においては、ICP-MS 法を用いた機関で、検量線の上限付近で定量を行った機関の結果が棄却された。検量線の直線性に問題がなくても、検量線の範囲外及びその付近ではズレが生じやすく、原点を通過させると、検量線の低濃度範囲において同様の問題が起きる。検量線は、検査方法告示に従って適切に作成する必要がある、その中央付近で定量を行うことが望ましい。

平成 24 年度

鉄、水銀について精度管理を実施した。鉄は ICP-MS 法、ICP-AES 法、フレームレス原子吸光度法及びフレーム原子吸光度法で測定が行われ、4 種類の測定方法の間に有意差は見られなかった。水銀は還元気化-原子吸光度法で測定が行われた。

加熱処理を行っていない機関が 1 機関ずつあり、そのうち 1 機関の結果が棄却された。鉄の精度管理は平成 19 年度にも実施しており、この時

は加熱処理を行った 20 機関と、行っていない 5 機関の平均値の間に有意差が確認された [2]。金属類の測定においては、有機金属等の分解や溶解、金属イオン等の価数を統一するため、測定方法によらず、加熱処理を行う必要がある。

鉄の精度管理において、ガラスビーカーを用いて試料を分取した機関の結果が棄却された。ガラス製の器具からは金属類のコンタミネーションが起りうるため、あらかじめ酸洗した器具を使用すること、測定する金属の種類や濃度によっては、ポリ製やテフロン製の器具を使用することなどが望まれる。

また、水銀の精度管理において、測定が長時間にわたり、装置の感度が増したことを原因として棄却された機関があった。これは、同年に通知された厚生労働省告示第 66 号で定められた濃度既知溶液の差し込み試験を行っていれば、測定のやり直しにより対応できたと考えられた。

平成 25 年度

TOC、塩素酸について精度管理を実施した。TOC は全有機炭素計測定法で、塩素酸はイオンクロマトグラフ法で測定が行われた。

TOC の検量線については、検査方法告示で、装置の補正方法に従い補正を行うこととされている。例えば、検量線はその勾配を保ったままゼロ点を通るように平行移動させる“ゼロ点移動処理”等がこれに当たるが、TOC の精度管理において、これに従っていない機関が 6 機関あった。TOC はブランク水に高濃度で含まれることもあることから、測定に際して、使用する装置の補正方法に従った補正を行う必要がある。

前述した告示第 66 号では、試料採取から試験開始までの期間について明確化されたが、TOC の精度管理において、その期間内（72 時間以内）に試験を行わなかった機関が 3 機関あった。これらの機関はいずれも測定値が高くなり、Z スコアが 2 を超えた。このときの配布試料のように濃度が低い場合、TOC は汚染の影響を受けやすいため注意が必要である。

平成 26 年度

亜硝酸態窒素、塩化物イオンについて精度管理を実施し、いずれもイオンクロマトグラフ法で測定が行われた。

この年は、塩化物イオンの精度管理で検量線の点数が不足している機関が 4 機関あるなど、検査方法告示を遵守せず、試験の手間を省く機関が多く見られた。また、塩化物イオンの測定値が比較

平成 28 年 12 月 1 日

的高い値をとったことから、検量線の濃度範囲を高めにとって作成する機関が見られた。これらの機関は空試験についても同じ検量線を使用していたが、空試験を実施するにあたり、検査方法告示で示される濃度範囲の下限値を下回ることを確認する必要がある。このため、検量線は下限値付近までプロットすることが望ましい。

塩化物イオンの精度管理では、試料の取り間違いにより棄却された機関があった。このような人為的ミスを防止するには、試料採取から検査結果の提出にいたるまで、複数名によるチェック体制を整備することが重要であると考えられた。

平成 27 年度

トリクロロ酢酸、硝酸態窒素について精度管理を実施した。トリクロロ酢酸はガスクロマトグラフ-質量分析法及び液体クロマトグラフ-質量分析法で測定が行われ、硝酸態窒素はイオンクロマトグラフ法で測定が行われた。

事前に注意喚起を行ったこともあり、検量線の作成に関しては、前年に比べおおむね適正に行われていた。標準溶液を用時調製していない、前処理を検査方法告示どおりに実施していない機関が、それぞれの調査で確認された。

まとめ：平成 23 年度から平成 27 年度にかけて、県内の水質検査機関を対象に、精度管理を実施した。平均値や変動係数からはおおむね良好な結果が多かったが、平成 23、24、26 年度の調査では棄却された機関があった。棄却原因としては、加熱前処理の未実施、不適切な検量線の作成、試料のコンタミネーション、試料の取り間違いなどがあった。これらの機関に対しては、個別に結果を通知し、是正措置等について報告を受けた。また、結果は良好であったが、検査方法告示を遵守していない等の問題がある機関が見られ、これらについては、精度管理の結果に関わらず、改善が必要であると考えられた。

文 献

1. 厚生労働省健康局水道水質管理室 (2011). 平成 22 年度水道水質検査精度管理に関する調査結果
2. 健名智子, 大戸幹也, 村元達也, 高柳信孝 (2008). 富山県衛生研究所年報, 31, 195-200

グラファイトファーネス原子吸光光度計を用いた 尿中カドミウム定量方法の改良について

田村 恒介

Improvement of Quantitative Analysis for Cadmium in Urine
by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry.

Kosuke TAMURA

当所では神通川流域住民健康調査において、原子吸光光度計を用いた尿中カドミウム (Cd) の定量を昭和 40 年代から継続して行っている。尿中 Cd の定量は、夾雑物の影響を受けやすく、以前は湿式灰化や抽出操作 [1,2] といった煩雑な前処理操作を行っていた。近年、ファーネス法が登場し、パラジウム (Pd) マトリックス修飾剤を用いた直接定量法 [3] により、簡便な操作で多数の検体を短時間で測定可能となった。

1968 年にイタイイタイ病が公害病として認定されてから約 50 年が経過し、その間、水道の普及、汚染農地の復元等があった。現在では、神通川流域地区の玄米中 Cd は 0.05 mg/kg であり、食品衛生法による基準値 (0.4 mg/kg) 以下である [4]。住民の尿中 Cd 濃度もまた低下傾向であり、従来の測定方法 (表 1.2) では、濃度が低い為、十分な測定精度が得られない検体が見受けられるようになった。そこで、測定精度の向上を目的に定量方法を改良し、通常条件及び低濃度条件を用いて測定を試みたので報告する。

方 法

1. **試料**：富山県衛生研究所で保管する尿試料の内、連結不可能匿名化の状態にあるものを、事前に従来法で測定し、1.0 µg/L 以上の 8 試料を通常条件の検討に、1.0 µg/L 未満の 8 試料を低濃度条件の検討に用いた。尚、尿試料は 50 mL 当たりに 68% 硝酸 1.25 mL 添加後室温で保存した。

2. **試薬**：Cd 標準液は市販の 1000 mg/L Cd 標準液 (和光純薬(株)製) を用いた。マトリックス修飾剤は市販の 10000 mg/L Pd マトリックス修飾剤 (関東化学(株)製) を超純水で 1000 mg/L に希釈し用いた。硝酸は市販の 68% 硝酸 TAMAPURE-AA- (多摩化学工業(株)製) を超

純水で 0.4 N に希釈し用いた。

3. **装置**：Perkin Elmer 社 AAnalyst 800 にオートサンプラー AS 800 を取り付けて用いた。光源に Cd 測定用 EDL ランプを使用した。

4. **測定条件**：表 1 に示す。

5. **測定試料の調製**：測定試料の調製法について表 2 に示す。尿は水と比較し粘性が高い為、ピペット操作による誤差を生じやすい。そこで従来法の尿量 100 µL を 200 µL に増量することで誤差を減らし、加えて試料濃度を上げて測定感度の向上を試みた。

低濃度条件では、試料濃度を更に上げ、尿 500 µL を全量 1000 µL に希釈し、測定試料とした。

6. **検量線用標準液の調製**：1000 mg/L Cd 標準液 10 mL を 0.4 N 硝酸を用いて 100 mL とした。

表 1. 測定条件

Lamp Current	230 mA	
Wave length	228.8 nm	
Slit	0.7 nm	
Injection Volume	20 µL	
繰返し回数	2 回	
加熱条件		
Drying-1	110 °C	30 s
Drying-2	150 °C	30 s
Ashing	500 °C	20 s
Atomizing	1500 °C	5 s
Cleaning	2450 °C	3 s

表 2. 試料調製方法

	通常条件		低濃度条件
	従来法	改良法	
尿, Cd 標準液	100 µL	200 µL	500 µL
Pd マトリックス修飾剤 (1000 mg/L)	200 µL	200 µL	200 µL
0.4 N 硝酸	700 µL	600 µL	300 µL
総量	1000 µL	1000 µL	1000 µL

表 3. 低濃度条件標準液調製法 (μL)

濃度 ^{a)} (μg/L)	2.5 μg/L Cd 標準溶液	1000 mg/L Pd マトリックス修飾剤	0.4 N 硝酸	総量
blank	0	200	800	1000
0.1	20	200	780	1000
0.2	40	200	760	1000
0.4	80	200	720	1000
0.8	160	200	640	1000
1.2	240	200	560	1000
1.6	320	200	480	1000

a) 尿試料に換算した濃度.

この操作を 4 回繰り返す、100 μg/L 標準液を調製した。これを各々 2.5, 5, 10 及び 15 mL 量り、0.4 N 硝酸を用いて 100 mL とし、2.5, 5.0, 10.0 及び 15.0 μg/L 標準液を調製し、通常条件の検量線に用いた。

低濃度条件の標準液として、表 3 に示すように 2.5 μg/L 標準液を用いて、0.1, 0.2, 0.4, 0.8, 1.2 及び 1.6 μg/L の各検量線用標準液を調製した。

7. 検討方法：絶対検量線法により定量し、用いる検量線は決定係数 (R²) 0.995 以上とする。精度は変動係数で評価し、10 % 未満を目標とする。

測定感度は JIS K 0121 (原子吸光分析通則) [5] に従い、方法定量下限値 (MLOQ) を次式より求めた。尚、操作ブランクとして、Cd を含まない尿試料の準備が困難な為、超純水を用いた。

$$MLOQ = \sqrt{2} \times 10 \times S_b / k$$

- k : 検量線の傾き [(X_i - X_b) / C_i]
- X_b : 操作ブランクの表示値 (n=10)
- S_b : 操作ブランクの標準偏差
- X_i : 検量線の間濃度標準溶液の表示値 (n=5)
- C_i : 検量線の間濃度

測定精度は日内変動及び日間変動を確認した。日内変動は 5 回試料調製、測定した。日間変動は 1 日 3 回試料調製、測定した平均値について 5 日間の変動係数を確認した。

真度の確認は添加回収試験を行った。標準品添

加前及び添加後の試料をそれぞれ 3 回調製、測定し、回収率を確認した。

尿試料の測定は夾雑物の影響を受け直線性が損なわれる恐れがある。そこで尿試料測定時の直線性を確認する為、1 試料に異なる量の Cd 標準液を添加、各 3 回測定し、その回収量から R² 値を確認した。

結果及び考察

1. 方法定量下限値 (MLOQ) : MLOQ を求めた結果を表 4 に示す。従来法の MLOQ 0.84 μg/L から、改良法では 0.47 μg/L に低下した。更に試料濃度を上げた低濃度条件において、MLOQ は 0.17 μg/L であった。操作ブランクとして Cd を含まない尿試料の準備が困難な為、今回は超純水を用いた。しかし、実際に測定する尿試料では、夾雑物の影響や物性の差から、MLOQ は今回の結果より高値を示す可能性が考えられる。

2. 日内・日間変動 : 各測定条件 3 試料を用いて日内及び日間変動を確認した。結果を表 5 に示す。どの試料も日内・日間共に十分な精度であった。低濃度条件では日内変動と比較し、日間変動が大きい傾向が認められた。低濃度域を測定する際は通常条件以上に日常の精度管理に注意が必要と考えている。

3. 添加回収試験 : 各測定条件 5 試料を用いて添加回収試験を行った。結果を表 6 に示す。回収率 88.0-107.0 %、変動係数 7 % 未満であり、両条件

表 4. 方法定量下限値 (MLOQ)

測定条件		ブランクの表示値 (Abs*s, n=10)	ブランクの標準偏差 (Abs*s, n=10)	標準溶液の 濃度(μg/L)	標準溶液の表示値 (Abs*s, n=5)	MLOQ (μg/L)
通常条件	従来法	0.00070	0.00033	10.0	0.0560	<u>0.84</u>
	改良法	0.00069	0.00036	10.0	0.1079	<u>0.47</u>
低濃度条件		0.00063	0.00034	0.80	0.0227	<u>0.17</u>

表 5. 日内・日間変動

試料	測定条件	濃度 ($\mu\text{g/L}$)	変動係数(%)	
			日内変動 (n=5)	日間変動 (n=3×5日)
尿-1	通常	1.39	5.04	4.02
尿-2	通常	3.34	1.83	1.83
尿-3	通常	4.45	1.66	1.21
低 Cd 尿-1	低濃度	0.61	1.35	8.34
低 Cd 尿-2	低濃度	0.35	3.91	9.25
低 Cd 尿-3	低濃度	0.67	1.76	3.96

表 6. 添加回収試験

試料	測定条件	添加前 (n=3, $\mu\text{g/L}$)	添加量 ($\mu\text{g/L}$)	測定値 (n=3, $\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)
尿-4	通常	1.36	2.00	3.50	107.0	1.08
尿-5	通常	0.96	2.00	2.92	98.0	6.21
尿-6	通常	4.03	2.00	5.82	89.7	2.95
尿-7	通常	3.06	2.00	5.07	100.2	2.75
尿-8	通常	6.10	2.00	8.07	98.3	2.33
低 Cd 尿-4	低濃度	0.653	0.50	1.099	89.2	1.89
低 Cd 尿-5	低濃度	0.506	0.50	0.946	88.0	2.37
低 Cd 尿-6	低濃度	0.728	0.50	1.221	98.5	3.34
低 Cd 尿-7	低濃度	0.521	0.50	0.981	92.0	2.69
低 Cd 尿-8	低濃度	0.761	0.50	1.219	91.5	0.66

表 7. 尿試料測定時の直線性について

測定条件	添加量 ($\mu\text{g/L}$)	回収量 (n=3, $\mu\text{g/L}$)	回収率 (%)	変動係数 (%)	回帰分析
a) 通常	10.0	9.24	92.4	0.19	Y=0.920X+0.0017 (R ² =0.9994)
	5.0	4.74	94.9	2.43	
	2.0	1.90	94.8	1.10	
	1.0	0.93	92.7	6.50	
	0.5	0.47	93.3	11.80	
	0.1	0.07	70.0	29.74	
b) 低濃度	1.00	1.006	100.6	0.82	Y=1.030X-0.0260 (R ² =0.9993)
	0.50	0.482	96.4	2.35	
	0.20	0.184	92.0	6.95	
	0.10	0.071	71.5	11.25	
	0.05	0.031	61.5	18.93	

a) Cd 濃度 3.20 $\mu\text{g/L}$ の尿試料を用いた。b) Cd 濃度 0.79 $\mu\text{g/L}$ の尿試料を用いた。

共に、十分な真度と精度であった。

4. 尿中 Cd 測定時の直線性について：尿試料に通常条件では、0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 及び 10.0 $\mu\text{g/L}$ 、低濃度条件では、0.05, 0.10, 0.20, 0.50 及び 1.00 $\mu\text{g/L}$ に相当する Cd 標準溶液をそれぞれ添加し、回収量の直線性、回収率、変動係数を確認した。結果を表 7 に示す。

通常条件では、0.1-10.0 $\mu\text{g/L}$ の範囲で R²=0.9994 であり、尿中の夾雑物の影響等により直

線性が損なわれることはなかった。回収率は 0.5-10.0 $\mu\text{g/L}$ の範囲で 92.4-94.9 % と十分な真度を示したが、0.1 $\mu\text{g/L}$ では 70.0 % と著しく低下した。変動係数は添加量が低い程大きく、1.0-10.0 $\mu\text{g/L}$ の範囲では 10 % 未満であったが、0.5 $\mu\text{g/L}$ では 11.8 % であった。

低濃度条件では、0.05-1.00 $\mu\text{g/L}$ の範囲で R²=0.9993 と良好な直線性を示した。試料濃度を通常条件の 2.5 倍にしたが、尿中の夾雑物の影響等に

平成 28 年 12 月 1 日

より直線性が損なわれることはなかった。添加量が低い程、回収率は低くなり、変動係数は大きくなった。回収率は 0.20-1.00 $\mu\text{g/L}$ の範囲で 90 % 以上と十分な真度を示したが、0.10 $\mu\text{g/L}$ では回収率 71.5 % と著しく低下した。変動係数も同様に 0.20-1.00 $\mu\text{g/L}$ では 10 % 未満であったが、0.10 $\mu\text{g/L}$ では 11.25 % と十分な精度が得られなかった。

ま と め

グラファイトファーネス原子吸光光度計を用いた尿中 Cd の定量について、試料濃度を上げ、測定感度の向上を試みた。結果、MLOQ は従来法の 0.84 $\mu\text{g/L}$ から、通常条件では 0.47 $\mu\text{g/L}$ 、低濃度条件では 0.17 $\mu\text{g/L}$ となった。また、尿試料を用いた測定を行い、十分な真度、精度及び直線性を確認した。

文 献

1. 川崎軍治, 千田逸郎, 前田左門, 西野治身, 荒井優実, 久保田憲太郎 (1970). 日衛誌, 25, 230-235.
2. 永田 正, 志村 博, 寺島敏雄 (1969). 食衛誌, 10, 348-349.
3. 細田加那江, 大前和幸, 小野寺みつ子, 小田健一, 桜井治彦 (1994). 産業医学, 36, 102-103.
4. 青島恵子 (2012). 日衛誌, 67, 455-463.
5. 原子吸光分析通則 (2006). JIS K0121.

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表

[原 著]

1) Outbreak of human bocavirus 1 infection in young children in Toyama, Japan

Obuchi M, Yagi S*, Oguri A*, Takizawa T, Kimura H*, Sata T

Jpn. J. Infect. Dis., 68:259-261, 2015

No abstract

2) Host adaptation and the alteration of viral properties of the first influenza A/H1N1pdm09 virus isolated in Japan

Ainai A*, Hasegawa H*, Obuchi M, Odagiri T*, Ujike U*, Shirakura M*, Nobusawa E*, Tashiro M*, Asanuma H*

PLoS One, 2015 Jun 16;10 (6): e0130208. doi: 10.1371/journal.pone.0130208. eCollection 2015

A/Narita/1/2009 (A/N) was the first H1N1 virus from the 2009 pandemic (H1pdm) to be isolated in Japan. To better understand and predict the possible development of this virus strain, the effect of passaging A/N was investigated in Madin-Darby canine kidney cells, chicken eggs and mice. A/N that had been continuously passaged in cells, eggs, or mice obtained the ability to grow efficiently in each host. Moreover, A/N grown in mice had both a high level of pathogenicity in mice and an increased growth rate in cells and eggs. Changes in growth and pathogenicity were accompanied by amino acid substitutions in viral hemagglutinin (HA) and PB2. In addition, the adapted viruses exhibited a reduced ability to react with ferret antisera against A/N. In conclusion, prolonged passaging allowed influenza A/N to adapt to different hosts, as indicated by a high increase in proliferative capacity that was accompanied by an antigenic alteration leading to amino acid substitutions.

3) Molecular evolution of the hypervariable region of the attachment glycoprotein gene in human respiratory syncytial virus subgroup B genotypes BA9 and BA10

Nagasawa K*, Hirano E*, Kobayashi M*, Ryo A*, Oishi K*, Obuchi M, Ishiwada N*, Noda M*, Kuroda M*, Shimojo N*, Kimura H*

Infect. Genet. Evol., 36:217-23, 2015

We studied the molecular evolution of the C-terminal 3rd hypervariable region in the attachment glycoprotein gene of human respiratory syncytial virus subgroup B (HRSV-B) genotypes BA9 and BA10. We performed time-scaled phylogenetic analyses using Bayesian Markov chain Monte Carlo methods. We also performed a genetic distance analysis (p-distance analysis), positive and negative selection analyses, and a Bayesian skyline plot (BSP) analysis. We found that genotype BA9 diverged from the common ancestor of genotypes BA7, BA8, and BA10, while genotype BA10 diverged from

平成 28 年 12 月 1 日

the ancestor of genotypes BA7 and BA8. Strains of both genotypes were distributed worldwide. BA9 and BA10 diverged between 1999 and 2001. Both BA9 and BA10 evolved rapidly (about 4.8×10^{-3} substitutions/site/year) and formed three distinct lineages in a 10-year period. BA10 strains belonging to lineage 3 had large genetic distances (p-distance>0.07). Thus, it may be possible to classify these strains as a new genotype, BA11. No positive selection site was detected in either genotype. Phylodynamic analyses showed that the effective population size of BA10 decreased gradually since 2010 and BA9 slightly decreased since 2009. The results suggested that the recently prevalent HRSV-B genotypes BA9 and BA10 evolved uniquely, leading to epidemics of HRSV-B worldwide over a 15-year period.

4) Characterization of an A (H1N1) pdm09 virus imported from India in March 2015

Takashita E*, Fujisaki S*, Shirakura M*, Nakamura K*, Kishida N*, Kuwahara T*, Ohmiya S*, Sato K*, Ito H*, Chiba F*, Nishimura H*, Shindo S*, Watanabe S*, Odagiri T*, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan

Jpn. J. Infect. Dis., 69:83-86, 2016

No abstract

5) 保育園入園後の呼吸器ウイルス重複感染に関する考察

新谷尚久*, 小淵正次

外来小児科 23(1): 93-96, 2016

要旨なし

6) A False Positive Dengue Fever Rapid Diagnostic Test Result in a Case of Acute Parvovirus B19 Infection

Toshihide Izumida*, Hidenao Sakata*, Masahiko Nakamura*, Yumiko Hayashibara*, Noriko Inasaki, Ryo Inahata, Sumiyo Hasegawa, Takenori Takizawa, Hiroyasu Kaya*

Intern Med., 55:1379-1382, 2016

An outbreak of dengue fever occurred in Japan in August 2014. We herein report the case of a 63-year-old man who presented with a persistent fever in September 2014. Acute parvovirus B19 infection led to a false positive finding of dengue fever on a rapid diagnostic test (Panbio Dengue Duo Cassette™). To the best of our knowledge, there are no previous reports of a false positive result for dengue IgM with the dengue rapid diagnostic test. We believe that epidemiological information on the prevalence of parvovirus B19 is useful for guiding the interpretation of a positive result with the dengue rapid diagnostic test.

7) An interlaboratory study on efficient detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli O26, O103, O111, O121, O145, and O157 in food using real-time PCR assay and chromogenic agar.

Yuko Hara-kudo *, Noriko Konishi *, Kayoko Otsuka *, Kaori Iwabuchi *, Rie Kikuchi *, Junko Isobe, Takumiko Yamazaki *, Fumie Suzuki *, Yuhko Nagai *, Hiroko Yamada *, Atsuko Tanouchi *, Tetsuya Mori *, Hiroshi Nakagawa *, Yasufumi Ueda *, Jun Terajima *

International Journal of Food Microbiology, 230, 81-88, 2016

A collaborative study was conducted to establish a rapid and sensitive method for the detection of Shiga toxin (Stx, also called verotoxin) -producing Escherichia coli (STEC) O26, O103, O111, O121, O145, and O157 in food. The aim of this study was to determine the efficiency of real-time PCR assays in detecting stx and O-antigen genes from the six STEC serogroups and of plating methods with concentration by immunomagnetic separation (IMS-plating methods) onto selective agar media in combination with enrichment with the modified EC broth at 42°C for 20-24 h for detecting STEC. Ground beef and radish sprouts samples were inoculated with six STEC serogroups either at 4-6 CFU/25 g (low levels) or at 22-28 CFU/25 g (high levels). The sensitivity rate of stx detection in ground beef at both levels of inoculation with all six STEC serogroups was 1.000. The sensitivity rate of stx detection was also 1.000 in radish sprouts at high levels of inoculation with all six STEC serogroups, while it was 0.667-0.917 at low levels of inoculation. The sensitivity rate for detection of O-antigen genes was 1.000 in both ground beef and radish sprouts at high levels while it was 0.958-1.000 in ground beef and 0.667-0.917 in radish sprouts at low levels. The sensitivity rates of detections with IMS-plating were either the same or lower than those of stx and O-antigen genes. It was observed that all six STEC serogroups in food contaminated with more than 22 CFU/25 g were detected by real-time PCR assays targeting stx and O-antigen genes and IMS-plating onto selective agar media. The detection rates in radish sprouts at low levels of inoculation, however, were relatively lower. Since screening for stx and O-antigen genes by real-time PCR assays was superior to IMS-plating methods, screening of stx and O-antigen genes following isolation of STECs by IMS-plating methods would be an efficient method to detect STECs.

8) B 群溶血レンサ球菌による遅発型髄膜炎の乳児例

林原由美子* 磯部順子

富山県臨床検査技師会誌 36, 28-32, 2015

月齢4か月で発症したB群溶血レンサ球菌 (groupBStreptococcus:GBS) による莢膜血清Ⅲ型髄膜炎を経験した。入院直後より meropenem (MEPM) と ceftriaxone (CTRX) の併用で治療が開始された。髄液培養で GBS と判明後は MEPM から ampicillin (ABPC) に変更された。患児家族の保菌調査で母親の膣・肛門・尿よりⅢ型 GBS が分離され、患児の髄液由来 GBS と疫学解析結果より同一由来株であることが示唆され、母親からの水平感染と推察された。GBS 検出率向上のためには妊娠中の複数回の GBS 検査の実施が有用と考えられる。また、莢膜Ⅲ型株は病原性が高いとされ、本症例のような基礎疾患を有していなくても侵襲性 GBS 感染症を発症することがあるため、今後も GBS 感染症の動向を注視していくことが肝要であると思われた。

9) Quantitative detection of Shiga Toxins Directly from Stool Specimens of Patients Associated with an Outbreak of Enterohemorrhagic Escherichia coli in Japan--- Quantitative Shiga toxin detection from stool during EHEC outbreak.

Eiki Yamasaki *, Masanori Watahiki, Junko Isobe, Tetsutaro Sata, G.Balakrish Nair * and Hisao Kurazono *

平成 28 年 12 月 1 日

Toxins, 7, 4381-4389, 2015

Detection of Shiga toxins (Stx) is important for accurate diagnosis of Enterohemorrhagic Escherichia coli infection. In this study, we quantitatively analyzed Stx protein in nine patients' stool during an outbreak that occurred in Japan. Highly sensitive immunoassay (bead enzyme-linked immunosorbent assay (bead-ELISA)) revealed that the concentrations of toxins in stool of patients ranged from 0.71 to 10.44 ng/mL for Stx1 and 2.75 to 51.61 ng/mL for Stx2. To our knowledge, this is the first report that reveals the range of Stx protein concentrations in human stools.

10) Reversed phase liquid chromatographic determination of organic acids using on-line complexation with copper (II) ion

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

Analytica Chimica Acta, 886, 194-199, 2015

We describe a simple and sensitive liquid chromatographic method for the analysis of organic acids using on-line complexation with copper (II) ion. Organic acids complexed with copper (II) ion were separated on a reversed-phase C18 column and detected by UV absorption at 240 nm. The copper (II) ion concentration in the mobile phase had a great influence on separation and sensitivity. A mobile phase consisting of 10 mM copper (II) sulfate in 5 mM sulfuric acid (pH 2.3) was used to separate nine organic acids (tartaric, malic, malonic, lactic, acetic, citric, maleic, succinic and fumaric acids). The detection limits of the examined organic acids calculated at S/N = 3 ranged from 0.6 to 100 μ M. The detector signal was linear over three orders of magnitude of organic acid concentration. The method successfully measured organic acids in juice and vinegar samples.

11) Low-cost methods for making 3D fluidic polymer and glass chips using metal templates

Tomohisa Yamashita, Kazuyuki Yasukawa, Tomoko Kemmei, Yuuko Horii, Eriko Nakayama, Tatsuya Muramoto, Hiroshi Takada

Analytical Science, 31, 1261-1266, 2015

Microfluidics is a rapidly growing field in which small volumes of liquid are moved through channels in a large variety of applications. Fabricating such channels can be expensive. Here, we describe an inexpensive method for making 3D channels in fluidic chips by using a sacrificial template made of coated metal wire or metal tubes. A 3D template is embedded in polymer or glass and then dissolved, leaving channels in the chip, without the need for expensive instruments. By changing the mold, chips of various shapes can be made.

[報 告]

1) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況及び胃腸炎集団発生事例の次世代シーケンサーによる解析

研究代表者:野田 衛*, 研究分担者:滝澤剛則, 研究協力者:名古屋真弓, 稲崎倫子, 板持雅恵, 嶋 一世, 長谷川澄代

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究 (H 25- 食品 - 一般 -012) 平成 27 年度総括・分担研究報告書, pp. 39-48

富山県におけるノロウイルス (NoV), サポウイルス (SaV) の浸淫状況を調査するため, 2015 年の感染性胃腸炎患者, 下水流入水からウイルスを検出した. 集団発生事例の患者と下水流入水からは NoV GII.17, NoV GII.4 が順に多く検出された. NoV GII.17 は, 3 月~5 月の集団発生事例及び 4 月~12 月の下水流入水から多く検出された. 小児散発例からは NoV GII.4 が最も多く検出された. NoV が検出された集団胃腸炎事例検体について次世代シーケンサーを用いたメタゲノム解析を行ったところ, ディレクトシーケンスで複数の NoV 遺伝子型が検出されていた 2 事例について, 感染源の推測ができた. また, カキ喫食事例では複数の NoV 遺伝子型のほか, SaV やアイチウイルスの遺伝子も検出され, カキに含まれた複数種のウイルスへの暴露を反映していると考えられた.

2) 富山県におけるノロウイルス・サポウイルス検出状況及び胃腸炎集団発生事例の次世代シーケンサーによる解析

研究代表者:野田 衛*, 研究分担者:滝澤剛則, 研究協力者:名古屋真弓, 稲崎倫子, 板持雅恵, 嶋 一世, 長谷川澄代

平成 25 年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究 (H 25- 食品 - 一般 -012) 平成 25 年度~27 年度総合研究報告書, pp. 51-62

2013~2015 年に胃腸炎患者, 下水流入水, 岩ガキからノロウイルス (NoV)・サポウイルス (SaV) の検出を試みたところ, 患者からも下水からも NoV GII.4 が最も多く検出された. GII.4 の亜型は Sydney 2012 亜型が中心であった. NoV の GI, 特に GI.4, GI.6 は下水から多数検出されたものの患者は少なく, 不顕性感染が多いと考えられた. 岩ガキから NoV が検出されたことで, 生食による感染リスクが改めて示唆された. NoV が検出された集団胃腸炎事例検体について次世代シーケンサーを用いた PCR 産物のディープシーケンスとメタゲノム解析を行ったところ, ディープシーケンスにより NoV の複数遺伝子型への重複感染例が確認できた. また, メタゲノム解析ではディレクトシーケンスで複数の NoV 遺伝子型が検出されていた事例について感染源の推測ができたほか, カキ喫食事例ではカキに含まれた複数種のウイルスへの暴露が示唆された.

3) 事故・ヒヤリハット事例の地方衛生研究所等での病原体取扱い教育訓練への活用

研究代表者:棚林 清*, 研究分担者:佐多徹太郎, 研究協力者:名古屋真弓, 滝澤剛則, 綿引正則, 磯部順子, 山下智富, 高森亮輔, 田村恒介, 杉本光伸*, 三好龍也*, 小林和夫*

厚生労働科学研究費補助金 (新興再興感染症および予防接種政策推進研究事業) 「エビデンスに基づくバイオリスク管理の強化と国際標準化及び事故・ヒヤリハット事例の共有データベース構築に関する研究」平成 27 年総括・分担研究報告書, pp. 35-43

実験室等のバイオセーフティではハード面とともにソフト面の充実が課題である. これまでに, 実験者等のソフト面の充実に役立つ目的で, バイオハザードの事故例やヒヤリハット事例を収集したのち, 議論しながら編集し, 教育訓練用の資料を作成してきた. 今回, 昨年度作成したヒヤリハット事例を参考にし

平成 28 年 12 月 1 日

た研修会資料（ウイルス検査室編）をさらに追加修正し、実際に講習会・研修会で使用した。受講者等へのアンケートの結果、全員が内容に興味をもち、またよく理解できたもしくは少し理解できたという評価であった。さらに本年度は、他の地衛研にもヒヤリハット事例の収集解析を依頼し 8 事例を収集することができた。今後も事例の集積と解析を行い、研修会資料に適宜、組み込みながら改善を加え、さらに有効活用できるようにしたい。

4) 昨年度のリアルタイム PCR 外部精度管理調査後のトラブルシューティング研修

研究協力者：小淵正次，佐多徹太郎，貞升健士*，塚越博之*，水越文徳*，長澤耕男*，研究分担者：木村博一*

厚生労働科学研究費補助金：健康安全・危機管理対策総合研究事業；地方衛生研究所における病原微生物検査の外部精度管理の導入と継続の実施のための事業体制の構築に関する研究 平成 27 年度総括・分担研究報告書，pp. 41-80

昨年度のノロウイルスリアルタイム PCR に関する外部精度管理調査をフォローし、検査の質確保および人材育成につなげるための研修を実施した。昨年度の調査より判定基準値をもとに参加機関を 3 群に分け、各群から代表を選んで 10 機関を研修の対象とした。平成 27 年 9 月 10、11 日のおよそ 1 日半の日程で、On the Job Training (OJT) を模したトラブルシューティング研修を行った。参加者 5 名とファシリテーター 1 名からなる計 2 グループに分け、グループミーティング形式で各トラブルシューティングを行い、次いで全体討論により全体のトラブルシューティング集をまとめた。さらに、ラボ実習と講義により、各自トラブルシューティングを完成させた。研修後、参加者にアンケートならびにトラブルシューティング集を送付し、職場での復命や研修の効果についてのフォローアップ調査も行った。その結果、職場での技術向上につながったことが確認できた。一方で、今回の研修やアンケート等を通して検査の質を確保するためには、新規職員の教育研修が重要であることがわかった。

5) インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間及び国立感染症研究所との連携強化に関する研究

研究分担者：皆川洋子*，協力研究者：高橋雅輝*，長島真美*，秋場哲也*，貞升健志*，森川佐依子*，廣井 聡*，加瀬哲男*，山下育孝*，四宮博人*，芦塚由紀*，千々和勝己*，駒込理佳*，三好正浩*，長野秀樹*，川上千春*，小淵正次，滝澤剛則，三好龍也*，喜屋武向子*，久場由美仁*，安井善宏*

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研及び予防接種政策推進研究事業；地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究 平成 27 年度総括・分担研究報告書，pp.9-20

平成 28 年 4 月の感染症法改正に伴い、五類定点把握疾患の季節性インフルエンザ及び二類感染症の鳥インフルエンザの病原体検査は、質の確保が求められることとなった。検査の「質」確保のために新たに必要となる検査関連書式等について検討し、ひな形等を作成した。血球凝集性の低下等流行ウイルス株の変化に対するウイルスサーベイランス上の対応や、影山分担研究者による遺伝子検出外部精度管理の設問等実施要領や、高下博士による抗インフルエンザ薬感受性監視株数の確保について、感染研に現場の立場で協力した。各研究協力者はインフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行った。

6) インフルエンザウイルス検査研究体制における地方衛生研究所間及び国立感染症研究所との連携強化

に関する研究

研究分担者：皆川洋子*，協力研究者：高橋雅輝*，齋藤幸一*，長島真美*，新開敬行*，原田幸子*，林志直*，秋場哲也*，貞升健志*，森川佐依子*，廣井 聡*，加瀬哲男*，戸田昌一*，調 恒明*，山下育孝*，四宮博人*，芦塚由紀*，吉富秀亮*，千々和勝己*，駒込理佳*，三好正浩*，長野秀樹*，川上千春*，宇宿秀三*，森田昌弘*，小淵正次，滝澤剛則，岡山文香*，三好龍也*，内野清子*，田中智之*，喜屋武向子*，久場由美仁*，仁平 稔*，安井善宏*

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研及び予防接種政策推進研究事業；地方自治体との連携による新型インフルエンザ等の早期検出およびリスク評価のための診断検査、株サーベイランス体制の強化と技術開発に関する研究 平成 25～27 年度総合研究報告書， pp.19-26

インフルエンザウイルスサーベイランスにおいては、「コア・サポート地衛研体制」として感染研—地研ネットワークが可視化され、検査体制の維持強化が図られている。平成 25-27 年度の間に本体制を活用して急きょ配布された H7 遺伝子検出試薬の感度の検証やウイルス検査の「質」確保に必要な書式等の検討を行うとともに、各研究協力者はインフルエンザウイルス動向に関する迅速な情報提供及び関連調査研究に努め、研究会・学会発表や雑誌等への論文投稿を積極的に行なった。また血球凝集活性の低い分離株の型別対応、影山分担研究者によるウイルス遺伝子検出試験の外部精度管理、高下博士による抗ウイルス剤感受性監視のうち H275Y オセルタミビル耐性変異サーベイランスの維持強化に協力した。平成 25 年度はインフルエンザウイルス検査体制に関するアンケート調査解析結果を報告した。平成 26-17 年度は平成 28 年 4 月に施行される感染症法改正に伴って、新たに必要となる検査関連書式等について検討し、ひな形等を作成した。

7) 急性呼吸器感染症の病原体サーベイランスの手法の開発

研究分担者：佐多徹太郎，研究協力者：小淵正次，滝澤剛則

厚生労働科学研究費補助金：新興・再興感染症研及び予防接種政策推進研究事業；新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント 平成 27 年度総括・分担研究報告書， pp.162-164

入院を含む急性呼吸器感染症患児検体を収集して呼吸器ウイルスの検出を行った。その結果、上・下気道炎いずれの検体からもライノウイルスが最も多く検出された。さらに、呼吸器症状が長引く 2 歳未満児においてもライノウイルスが高率に検出された。2014/15 年シーズンに富山県内で RS ウイルス感染症の大きな流行がみられ、その流行に変異ウイルス ON1 が関わっている可能性が示唆された。以上のことから、今後も高感度な duplex リアルタイム RT-PCR 法を用いてこれらウイルスの動向を監視していく必要があると考えられた。

8) 東海・北陸地方 11 施設（地方衛生研究所及び衛生試験所）による IS printing System 等活用状況調査および情報共有に関する研究

研究代表者：泉谷秀昌*，分担研究者：鈴木匡弘*，研究協力者：松本昌門*，山田和弘*，木全恵子，北川恵美子*，東方美保*，柴田伸一郎*，野田万希子*，田中保知*，永井佑樹*，山本新也*，中根邦彦*，多和田光紀*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「食品由来感染症の病原体

平成 28 年 12 月 1 日

情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」平成 27 年度総括・研究分担報告書, pp. 50-57

平成 27 年度東海・北陸ブロック研究班活動として, IS printing System の精度管理と分子疫学解析実施状況調査に参加した。また, IS printing System の解析結果についてデータベースの試行を行った。

9) レジオネラ生菌迅速検査法の評価

研究代表者: 倉 文明*, 研究分担者: 磯部順子, 佐々木麻里*, 研究協力者: 山口友美*, 武藤千恵子*, 淀谷雄亮*, 金谷潤一, 浦山みどり*, 田栗利紹*, 原口浩幸*, 森中りえか*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 27 年度総括・分担報告書, pp. 61-69

レジオネラ属菌迅速検査法の標準化のため, LAMP 法, LC EMA qPCR 法, PALSAR 法について, 浴槽水などの実試料 441 検体を用いて, 平板培養法に対する感度, 特異度などの評価を行った。

10) レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み

研究代表者: 倉 文明*, 研究分担者: 森本 洋*, 磯部順子, 黒木俊郎*, 佐々木麻里*, 中島 洋*, 前川純子* 研究協力者: 浦山みどり*, 大屋日登美*, 緒方喜久代*, 小川恵子*, 金谷潤一, 久保田晶子*, 田中 忍*, 千田恭子*, 武藤千恵子*, 山口友美*, 吉野修二*, 渡邊涼太*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」研究代表者: 倉 文明*, 平成 27 年度総括・分担報告書, pp. 71-102

精度管理調査の実施母体を日水製薬(株)とし、公的、民間を問わず、全国 189 の検査機関(延べ 192 試料配布)に対して調査を実施した。全国 68 の行政機関(地研・保健所など)を対象に WG でも解析を行った。

11) 厚生科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「水試料からのレジオネラ属菌検出法のマニュアル作成」

倉 文明*, 黒木俊郎*, 森本 洋*, 磯部順子, 緒方喜久代*

「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 27 年度総括・分担報告書, pp. 97-102

水試料におけるレジオネラ属菌検査の操作には細かい配慮が必要である。そのため、検査技術の向上が期待されるため、研修が必要となってくる。今年度は検討グループを構成し、マニュアルの作成を開始した。レジオネラ属菌の培養法等について、活用が期待される。

12) 富山県の不明感染源解明のための環境調査

研究代表者: 倉 文明*, 研究分担者: 磯部順子, 研究協力者: 金谷 潤一

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係

る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究」平成 27 年度総括・分担報告書, pp. 123-130

今年度の調査対象は平成 18 年度から継続している浴用水に加えて, シャワー水 36 検体, 河川水 15 検体とした。 *Legionella* 属菌の検出率は浴用水で 14/51 検体 (27.5%), シャワー水では 7/36 検体 (19.4%),

河川水では 6/15 検体 (40.0%) であった。 シャワー水の検出率はシャワー水の調査を始めた平成 24 年からの 4 年間でもっとも低かった。 また, シャワー水で陽性となった 7 検体のうち, 5 検体は井戸水, 2 検体は水道水で, 昨年同様, 井戸水での検出率が高かった。 河川水については, 昨年度までと採水地点が大きく変更となったにも関わらず, 昨年 (44.1%) 同様の検出率であった。

今年度は浴用水とシャワー水から分離された, もしくは厚生センターで分離された *L. pneumophila* SG1 の ST と *lag-1* 遺伝子の保有状況について調べた。 調査した 14 株中, 3 株が ST502 であったが, 分離施設間の関連性は不明であった。 *lag-1* 遺伝子について, 本遺伝子を保有したのは 7 株 (50.0%) であった。 2011 ~ 2015 年の 5 年間に浴用水から分離された *lag-1* 遺伝子を保有する *L. pneumophila* SG1 の検出状況は, *Legionella* 属菌が検出された 71 検体のうち, 42 検体 (59.2%) から *L. pneumophila* SG1 が検出され, その 33.3% (14 検体) は *lag-1* 遺伝子を保有した。 この結果は他の 1 県と比べ, 高い傾向であった。

本年度の調査結果からレジオネラ症と河川水の関連性は明らかにはならなかった。 しかしながら, 全ての調査地点で *Legionella* 属菌が分離されたこともあり, 継続して調査する必要があると思われる。 また, 浴用水やシャワー水から分離される *L. pneumophila* SG1 について, *lag-1* 保有株に注目した調査が必要であると思われる。

13) 食品分離株及び臨床分離株のゲノム解析

研究代表者: 調 恒明*, 分担研究者: 佐多徹太郎, 協力研究者: 綿引正則, 磯部順子, 範本志保, 木全恵子, 三井千恵子, 金谷潤一

厚生労働科学研究費補助金 (食品の安全確保推進事業) 「地方衛生研究所の連携による食品由来病原微生物の網羅的ゲノム解析を基盤とする新たな食品の安全確保に関する研究」平成 26 年度総括・分担研究報告書, pp. 12-37

大量の塩基配列データが得られる次世代シーケンサー (NGS) の公衆衛生分野, 特に地方衛生研究所 (地衛研) での活用方法について, 検討してきた。 最終年度は, 食中毒原因菌として重要である *Salmonella* *Infantis* 77 株のゲノム配列を取得し, 比較ゲノム解析手法を用いて, 遺伝的背景と保有遺伝子の状況の相関を調査した。 しかし, 遺伝学的背景と保有遺伝子の関係は明らかにならなかった。 また, 食中毒事例で分離された *Campylobacter lari* のゲノム解析を実施し, 病原性に関連する遺伝子の探索を行い, 53 遺伝子が検出された。 このように NGS の有用性は明らかになってきたが, 得られる配列は, ドラフト配列であり, その活用法について注意が必要である。 このドラフト配列を定量的に理解するために, 既に完全配列が明らかになっているかを解析して, ドラフト配列の定量的な解析を試みた。 その結果, コーディング領域の約 85% が一致した。 以上の解析は, 普段使い慣れた Windows 環境の利用を念頭に入れて実施した。 このことは高い専門性が必要とされていたゲノム解析手法が, 地衛研でも充分利用できるということを示しており, さらに公衆衛生学分野での活用に応用できると思われる。

14) 食品分離株及び臨床分離株のゲノム解析

研究代表者: 調 恒明*, 分担研究者: 佐多徹太郎, 協力研究者: 綿引正則, 磯部順子, 範本志保, 木全恵子, 三井千恵子, 金谷潤一

平成 28 年 12 月 1 日

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進事業）「地方衛生研究所の連携による食品由来病原微生物の網羅的ゲノム解析を基盤とする新たな食品の安全確保に関する研究」平成 25 年度～ 27 年度 総合研究報告書, pp. 18-49

大量の塩基配列データが得られる次世代シーケンサー（NGS）の公衆衛生分野、特に地方衛生研究所（地衛研）での活用方法について検討した。食中毒原因菌として重要なサルモネラ属菌分離株 36 株、カンピロバクター分離株 20 株についてゲノム解析を行い、比較ゲノム解析手法を用いて解析した。さらに大量の細菌ゲノムの解析を行うことができるかどうか検証するため、*Salmonella* *Infantis* 77 株のゲノム配列を取得し、遺伝的背景と保有遺伝子の状況の相関を調査した。しかし、遺伝的背景と保有遺伝子の関係は明らかにならなかった。また、食中毒事例で分離された *Campylobacter lari* のゲノム解析を実施し、病原性に関連する遺伝子の探索を行い、53 遺伝子が検出された。このように NGS の有用性は明らかにしてきたが、得られた配列はドラフト配列である。このドラフト配列を定量的に理解するために、既に完全配列が明らかになっている株を解析から、ドラフト配列の定量的な考察を試みた。その結果、コーディング領域の約 85% が一致した。結論として、NGS データは、高精度疫学マーカーとしての SNP の活用、比較ゲノム学的手法を利用した分離株の性状解析について有用であることが分かった。また、これらの結果は、地衛研での NGS 技術の普及を考慮して、Windows 環境の利用を念頭に入れて検討した結果であり、高い専門性が必要とされていたゲノム解析手法が、地衛研でも十分活用できるということを示しており、さらに公衆衛生学分野での活用に応用できると思われる。

15) 網羅解析を必要とする感染症患者検体収集および網羅解析ネットワークの構築

研究開発担当者：黒田 誠*⁰，研究開発分担者：佐多徹太郎

国立研究開発法人日本医療研究開発機構：新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業；迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究 平成 27 年度委託研究開発成果報告書

(2) 学 会 発 表 等

- 1) 銅添加移動相を用いた有機酸の逆相液体クロマトグラフィーによる分析
健名智子, 小玉修嗣*, 山本 敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
第 75 回分析化学討論会, 平 27.5.23-24, 甲府市
- 2) Detection of sapovirus GV.2 by the next generation sequencer in the stool specimens of patients of gastroenteritis outbreak from which pathogen had not been identified
Noriko Inasaki, Mayumi Nagoya, Masae Itamochi, Ichiyo Shima, Masatugu Obuchi, Ryo Inahata, Sumiyo Hasegawa, Makoto Kuroda *, Tetsutaro Sata, Takenori Takizawa
FEMS 2015, 平 27.6.7-11, Maastricht, Nederland
- 3) 2011 集団食中毒事例で分離された腸管出血性大腸菌 O111 及び O157 の Stx2 プロファージの多様性解析 (第 2 報)
木全恵子, 磯部順子, 三井千恵子, 範本志保, 金谷潤一, 大西 真*, 佐多徹太郎, 綿引正則
第 19 回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 平 27.7.9-10 東京都世田谷区
- 4) タンデムマススクリーニングにおける複数の指標設定の効果

九曜雅子, 高森亮輔, 西永真理, 上出 功, 角 園子*, 五十嵐 登*, 重松陽介*
第 42 回日本マスキリーニング学会, 平 27.8.21-22, 東京都千代田区

- 5) モリブデン酸添加移動相を用いた糖アルコール分析
健名智子, 小玉修嗣*, 山本 敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
日本分析化学会第 64 年会, 平 27.9.9-11, 福岡市
- 6) Prevalence of *Legionella* species in shower water from public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan
Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, Keiko Kimata, Chieko Mitsui, Junko Amemura-Maekawa*, Fumiaki Kura*, Tetsutaro Sata, Masanori Watahiki
ESGLI 2015, 平 27.9.16-17, London
- 7) Case report of legionellosis with infections at two different bath facilities within a single incubation period
Junko Isobe, Jun-ichi Kanatani, Tatsuya Nakagawa*, Keiko Kimata, Chieko Mitsui, Junko Amemura-Maekawa*, Fumiaki Kura*, Tetsutaro Sata, Masanori Watahiki
ESGLI 2015, 平 27.9.16-17, London
- 8) 富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症について
三井千恵子
平成 27 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 27.10.8-9, 富山市
- 9) 富山県における RS ウイルス感染症の流行と流行ウイルスの分子疫学
小淵正次, 小栗絢子*, 新谷尚久*, 八木信一*, 稲畑 良, 稲崎倫子, 佐賀由美子, 名古屋真弓, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 平 27.11.22-24, 福岡市
- 10) 胃腸炎集団発生事例のメタゲノム解析によるノロウイルスの検索
名古屋真弓, 稲崎倫子, 嶋 一世, 板持雅恵, 稲畑 良, 小淵正次, 野田 衛, 佐多徹太郎, 滝澤剛則
第 63 回日本ウイルス学会学術集会, 平 27.11.22-24, 福岡市
- 11) マイクロチップ分析型キャピラリー電気泳動装置を用いた病原性大腸菌の検出
安川和志, 山下富智, 高田博司
平成 27 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 28.2.4-5, 岐阜市
- 12) 富山県における手足口病の流行とコクサッキーウイルス A6 型の血清疫学
板持雅恵, 稲畑 良, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 小淵正次, 佐賀由美子, 滝澤剛則
第 50 回富山県公衆衛生学会, 平 28.2.9, 富山市
- 13) 富山県における過去 3 シーズンのウイルス性胃腸炎
名古屋真弓, 稲崎倫子, 板持雅恵, 小淵正次, 稲畑 良, 佐賀由美子, 滝澤剛則
第 50 回富山県公衆衛生学会, 平 28.2.9, 富山市
- 14) 腸管出血性大腸菌感染症の現状と衛生研究所の取り組み

平成 28 年 12 月 1 日

木全恵子, 磯部順子, 三井千恵子, 範本志保, 金谷潤一, 佐多徹太郎, 綿引正則
第 50 回富山県公衆衛生学会, 平 28.2.9, 富山市

- 15) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症に対する衛生研究所の取り組み
範本志保, 三井千恵子, 磯部順子, 木全恵子, 金谷潤一, 辻田由香利*, 高橋宏三*, 彼谷裕康*, 中村正雄*, 百石祐一朗*, 柴山直美*, 坂本純子*, 手丸恵美*, 浦田孝之*, 竹村さおり*, 前田恵美*, 渡辺麻香*, 佐多徹太郎, 綿引正則
第 50 回富山県公衆衛生学会, 平 28.2.9, 富山市
- 16) 富山県における平成 27 年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況
磯部順子
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 17) 喀痰検体からのレジオネラ属菌検査
金谷潤一
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 18) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
磯部順子
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 19) レジオネラおよび結核レファレンス事業報告
金谷潤一
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 20) 富山県における胃腸炎ウイルス検出状況
稲崎倫子
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 21) 富山県におけるインフルエンザの流行 (2015/16 シーズン)
小淵正次
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 22) 富山県のウイルス及びリケッチア検出状況 (平成 27 年)
稲崎倫子
平成 27 年度地方衛生研究所全国協議会 東海北陸支部微生物部会, 平 28.3.3-4, 名古屋市
- 23) 保育園入園後の呼吸器ウイルス重複感染に関する考察
新谷尚久*, 小淵正次
第 316 回日本小児科学会北陸地方会, 平 28.3.13, 富山市
- 24) タンデムマス法による新生児マススクリーニングの成果と検査指標についての考察
九曜雅子, 西永真理, 上出 功, 角 園子*, 五十嵐 登*, 重松陽介*
第 19 回富山県母子医療研究会, 平 28.3.16, 富山市
- 25) 内部金属骨格による有機ポリマーモノリス固定化の検討

山下智富, 安川和志, 健名智子, 堀井裕子, 中山恵理子, 村元達也, 高田博司
日本化学会第 96 春季年会, 平 28.3.24-27, 京田辺市

- 26) キャピラリー電気泳動を用いた大腸菌株の分離
安川和志, 山下智富, 高田博司
日本化学会第 96 春季年会, 平 28.3.24-27, 京田辺市

- 27) モリブデン酸添加移動相を用いる糖アルコール分析
健名智子, 小玉修嗣*, 山本敦*, 井上嘉則*, 早川和一*
日本薬学会第 136 年会, 平 28.3.27-29, 横浜市

(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 受賞

Analytical science 誌の Hot article award (2015 年 12 月) を受賞
山下智富, 安川和志, 健名智子, 堀井裕子, 中山恵理子, 村元達也, 高田博司
論文タイトル “Low-cost methods for making 3D fluidic polymer and glass chips using metal templates” Analytical Science, 31, 1261-1266, 2015

2) 受賞

綿引 正則
一般社団法人日本公衆衛生協会会長表彰
平成 28 年 3 月 8 日

3) 受賞

論文賞
受賞論文: 富山県における市販魚介類および漁港海水の腸炎ビブリオ菌数の推移と食中毒事例数との
相関 (1979 ~ 1995, 2008 ~ 2012 年)
発表雑誌: 日本食品微生物学会雑誌, 第 31 巻第 2 号, 93-99, 2014.
著者: 金谷潤一, 磯部順子, 木全恵子, 清水美和子, 佐多徹太郎, 綿引正則 (富山県衛生研究所)

(4) 知的所有権

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

編 集 委 員

委員長	上野美穂
委員	宮川幹子
	品川保弘
	小淵正次
	木全恵子
	中山恵理子
	中崎美峰子

富山県衛生研究所年報

平成27年度 第39号

2016年12月1日

発行 富山県衛生研究所
〒939-0363

富山県射水市中太閤山17-1

電話 (0766) 56-5506(代)

F A X (0766) 56-7326

印刷 中央印刷株式会社

富山県富山市下奥井1-4-5

電話 (076) 432-6572