

ISSN 0917-0707

富山県衛生研究所年報

(平成28年度)

第40号

ANNUAL REPORT
OF
TOYAMA INSTITUTE OF HEALTH

(APRIL 2016~MARCH 2017)

NO. 40

2017



富山県衛生研究所

富山県衛生研究所年報

(平成28年度)

第40号

富山県衛生研究所

は じ め に

年報第 40 号をお届けいたします。本号には、平成 28 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、骨質などに関する検査、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 28 年度は、輸入感染が発端となった麻しんの集団感染事例が、全国各地で発生しました。麻しん排除国に認定されているわが国では、麻しんも、ジカ熱やデング熱のような輸入感染症となりました。麻しんの検査をする機会も減っています。

衛生研究所では、麻しんなどの微生物検査は感染症法に基づいて行っています。検査する機会が減っているとはいえ、麻しんを見逃すようなことは避けなければなりません。そのため、いつ検査を行っても確実な結果が得られるように、平成 28 年度に施行された改正感染症法では、衛生研究所が行う病原体等検査の信頼性を確保するための業務管理が細かく規定されました。

食品中の微生物検査や残留農薬検査などでは、食品衛生法に基づいて平成 9 年度から業務管理が導入されています。業務管理では、検査が標準作業書に従って進められ、適切な結果が導かれているかどうか評価されます。

一方、例えば麻しんの検査が陰性である場合、麻しん以外の発疹症の鑑別検査を行うかどうかなど、感染症では標準的な手順から離れた対応が求められることがあります。このような柔軟な対応にこそ、担当者の技術や経験が活かされることが多く、定法では検出できない病原体が検出された事例も多く報告されています。

感染症に限らず、担当者の経験を活かすことのできる制度が望まれます。

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

平成 29 年 11 月

富山県衛生研究所長

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	15
(10) 科 学 研 究 費 補 助 金 等	18
(11) 講 師 派 遣	19
(12) 研 修 指 導	20
(13) 研 修 受 講	21
(14) 客 員 研 究 員	23
(15) 研 究 成 果 発 表 会	23
(16) 試 験 研 究 機 関 研 究 員 交 流 集 会	23
(17) 地 方 衛 生 研 究 所 全 国 協 議 会	24
(18) 各 種 規 程 等	25

2. 調 査 研 究 報 告

富山県における新生児マススクリーニングの成果について（平成 28 年度）	27
九曜雅子 西永真理 上出 功 角 園子	
ヒト血液の染色体分析結果（平成 28 年度）	39
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 28 年度）	42
金田英亨 高森亮輔 品川保弘 上出 功	
羊水細胞の染色体分析結果（平成 28 年度）	45
高森亮輔 品川保弘 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発例について（平成 28 年度）	49
稲崎倫子 名古屋真弓 森岡誠二 青柳由美子 長谷川澄代 米田哲也 佐賀由美子 板持雅恵 稲畑 良 小淵正次	

環境水中のウイルス濃縮に用いるフィルター吸着溶出法における溶出液の検討	55
板持雅恵 名古屋真弓 稲崎倫子 米田哲也 佐賀由美子 滝澤剛則 小淵正次	
富山県における浴用水中 <i>Legionella</i> 属菌の分離状況 (2016 年)	61
磯部順子 金谷潤一 木全恵子 範本志保 内田 薫 綿引正則	
富山県における病原微生物検出情報 17 年間のまとめ (2000 ~ 2016 年)	67
内田 薫 金谷潤一 木全恵子 範本志保 磯部順子 綿引正則	
大豆製品と骨質の関連について	72
小林直人 石橋悠太 田村恒介 坪野由美 澁谷直美 上野美穂	

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査 (感染源調査) 平成 28 年度	77
佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎倫子 長谷川澄代 青柳由美子 稲畑 良 板持雅恵 米田哲也 小淵正次 竹田亨代	
日本脳炎流行予測調査 (感受性調査) 平成 28 年度	84
稲崎倫子 名古屋真弓 長谷川澄代 青柳由美子 米田哲也 佐賀由美子 板持雅恵 稲畑 良 小淵正次 齋藤知里 平 麻衣子 野澤茉莉 遠藤京子 土田勇太郎 竹田亨代	
ポリオ流行予測調査 (平成 28 年度)	88
板持雅恵 稲畑 良 稲崎倫子 名古屋真弓 米田哲也 佐賀由美子 齋藤知里 平 麻衣子 野澤茉莉 遠藤京子 土田勇太郎 竹田亨代 小淵正次	
インフルエンザ流行予測調査 (平成 28 年度)	94
米田哲也 佐賀由美子 稲畑 良 稲崎倫子 名古屋真弓 板持雅恵 小淵正次 齋藤知里 平 麻衣子 大西さやか 遠藤京子 杉野泰子 竹田亨代	
インフルエンザ発生動向調査 (平成 28 年度)	98
米田哲也 佐賀由美子 稲畑 良 稲崎倫子 名古屋真弓 板持雅恵 小淵正次 齋藤知里 平 麻衣子 大西さやか 遠藤京子 杉野泰子 藤岡俊太郎	
富山県における平成 28 年度のウイルスおよびリケッチア検出状況	101
板持雅恵 米田哲也 稲崎倫子 佐賀由美子 名古屋真弓 稲畑 良 青柳由美子 長谷川澄代 小淵正次	
動物由来感染症浸淫状況調査 (平成 28 年度)	104
佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎倫子 稲畑 良 長谷川澄代 青柳由美子 板持雅恵 米田哲也 小淵正次 平野正人 林 匡史 貴嶋哲郎	
下水流入水中の腸管系ウイルスの次世代シーケンスと細胞培養法による検出 (2011 ~ 2013 年)	110
板持雅恵 名古屋真弓 稲崎倫子 米田哲也 佐賀由美子 滝澤剛則 小淵正次	
富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2016)	116
木全恵子 磯部順子 内田 薫 金谷潤一 範本志保 窪田弘文 綿引正則	

富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株の カルバペネマーゼ遺伝子保有状況について（2016年）	120
範本志保 内田 薫 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 A 群溶血性レンサ球菌の血清型と薬剤感受性（2016年）	122
内田 薫 磯部順子 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 2016 年の病原微生物検出情報	125
内田 薫 磯部順子 範本志保 木全恵子 金谷潤一 綿引正則	
平成 28 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－	129
金谷潤一 磯部順子 範本志保 木全恵子 内田 薫 綿引正則	
LC/MS/MS による加工食品中の農薬分析法の検討	132
堀井裕子 村元達也 山下智富	
平成 28 年度富山県水道水質検査精度管理調査結果	136
村元達也 健名智子 中山恵理子 川尻千賀子	

4. 業 績

(1) 誌上発表	139
(2) 学会発表等	144
(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等	147
(4) 知的所有権	147

Reports

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2016-Mar.2017)	27
Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Isao KAMIDE and Sonoko KADO	
Chromosome Analysis of Human Peripheral Blood Cells (Apr.2016-Mar.2017)	39
Hideaki KANEDA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr.2016-Mar.2017)	42
Hideaki KANEDA, Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA and Isao KAMIDE	
Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr.2016-Mar.2017)	45
Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Hideaki KANEDA and Isao KAMIDE	
Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	49
Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Seiji MORIOKA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA and Masatsugu OBUCHI	

Viral Load in Eluate of Filter Adsorption and Elution Method in Environmental Surveillance	55
Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Takenori TAKIZAWA and Masatsugu OBUCHI	
Isolation of <i>Legionella</i> Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2016	61
Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO, Kaoru UCHIDA and Masanori WATAHIKI	
Pathogenic Microbes Detected in 17 Years, 2000-2016, Toyama Prefecture	67
Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI	
Association between Soy Products and Bone Quality	72
Naoto KOBAYASHI, Yuta ISHIBASHI, Kosuke TAMURA, Yoshimi TSUBONO, Naomi SHIBUYA and Miho UENO	

Notes

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	77
Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Sumiyo HASEGAWA, Yumiko AOYAGI, Ryo INAHATA, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Masatsugu OBUCHI and Michiyo TAKEDA	
Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis Virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	84
Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Sumiyo HASEGAWA, Yumiko AOYAGI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO, Maiko HIRA, Mari NOZAWA, Kyoko ENDO, Yutaro TSUCHIDA and Michiyo TAKEDA	
Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	88
Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Chisato SAITO, Maiko HIRA, Mari NOZAWA, Kyoko ENDO, Yutaro TUCHIDA, Michiyo TAKEDA and Masatsugu OBUCHI	
Serological Investigation of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2016-2017	94
Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO, Maiko HIRA, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO and Michiyo TAKEDA	
Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2016-2017	98
Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI,	

Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO, Maiko HIRA, Sayaka OONISHI, Kyoko ENDO, Taiko SUGINO and Shuntaro FUJIOKA Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	101
Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Ryo INAHATA, Yumiko AOYAGI, Sumiyo HASEGAWA and Masatsugu OBUCHI Epidemiological Surveillance of Zoonosis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016	104
Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Ryo INAHATA, Sumiyo HASEGAWA, Yumiko AOYAGI, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA, Masatsugu OBUCHI, Masato HIRANO, Masashi HAYASHI and Tetsuro KIJIMA Enteric Viruses Detected from Raw Sewage using Next-generation Sequencing and Cell Culture, 2011-2013	110
Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Takenori TAKIZAWA and Masatsugu OBUCHI Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2016	116
Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Shiho NORIMOTO, Hirohumi KUBOTA and Masanori WATAHIKI Report of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Infectious Diseases and Detection of Carbapenemase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2016)	120
Shiho NORIMOTO, Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Junko ISOBE and Masanori WATAHIKI Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2016	122
Kaoru UCHIDA, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Shiho NORIMOTO, Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU, Yoko KATO, Masao NAKAMURA and Rumi OKUNO Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2016	125
Kaoru UCHIDA, 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 (2016)	129
Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA, Kaoru UCHIDA and Masanori WATAHIKI Determination of Pesticides in Processed Foods by LC/MS/MS	132

Yuko HORII, Tatsuya MURAMOTO and Tomohisa YAMASHITA
Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2016)136
Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI, Eriko NAKAYAMA and Chikako KAWASHIRI

1. 運 營

(1) 沿革

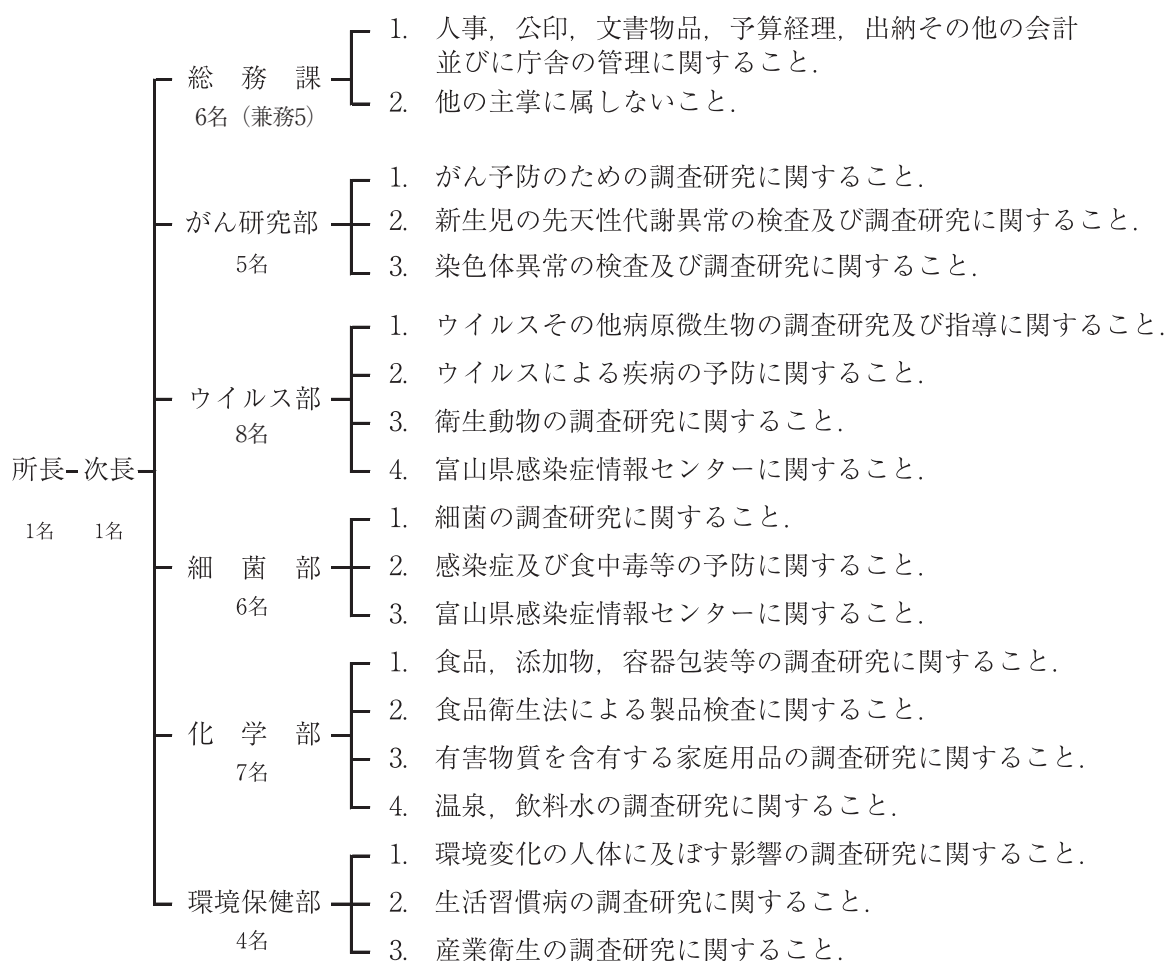
- 昭和 35 年 4 月 1 日 職員 9 名の構成で発足.
- 昭和 36 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 課・係制が設けられ職員 17 名に拡充強化 (庶務係, 細菌課, ウイルス血清課, 食品衛生課, 生活環境課).
- 昭和 37 年 11 月 30 日 旧研究所の増築.
- 昭和 38 年 4 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 所長代理制が設けられ, また, 課名の一部 (庶務係を庶務課に, ウイルス血清課をウイルス病理課) を変更.
- 昭和 39 年 10 月 1 日 富山県行政組織規則の一部を改正する規則の施行により, 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 ぺ 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29年6月1日)



(4) 職 員 数

(平成 29 年 6 月 1 日現在)

区 分	所・次長 部・課長	副主幹	副主幹 研究員	主任 研究員	主任 専門員	研究員	主事	技師	再任用 業務技師	計
所 長	1									1
次 長	1									1
総 務 課	1(兼)	2(兼2)					2(兼1)		1(兼)	6(兼5)
がん研究部	次長 事務取扱		1	2	1	1				5
ウイルス部	1			4		1		2		8
細菌部	1		2	2		1				6
化学部	1		2	3		1				7
環境保健部	1		1			2				4
合 計	7	2	6	11	1	6	2	2	1	38(兼5)

※総務課の課長，副主幹，主事 1 名は環境科学センター・薬事研究所を兼務
再任用業務技師は環境科学センターを兼務

(5) 職 員 一 覧

(平成 29 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)	森	田 雅 章	〃		範	本 志 保
	副主幹(兼)	光	田 美千代	主任	研究員	木	全 恵 子
	〃	京	角 ゆかり	〃		金	谷 潤 一
	主 事	関	井 久 代	研 究 員		内	田 薫
	主 事(兼)	野	島 留 美				
	再任用業務技師(兼)	竹	内 一 彦				
がん 研 究 部	部 長	次長事務取扱		部 長		川	尻 千 賀 子
	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		湊 山 亜 未	〃		村	元 達 也
ウ イ ル ス 部	部 長	小	淵 正 次	研 究 員		安	川 和 志
	主任	研究員	板 持 雅 恵	部 長		上	野 美 穂
	〃		名 古 屋 真 弓	副主幹	研究員	中	崎 美 峰 子
	〃		佐 賀 由 美 子	研 究 員		田	村 恒 介
	〃		稲 崎 倫 子	〃		石	橋 悠 太
	研 究 員		米 田 哲 也				
	技 師		長 谷 川 澄 代				
〃		青 柳 由 美 子					

注 総務課の(兼)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 28 年度予算概要(当初)

事 象 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	923					923	所の運営等
試験研究費	42,633	3,121			510	39,002	所の運営, 維持管理, 試験検査
設備充実費	7,987		7,987			0	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	5,937					5,937	調査研究
合 計	59,070	3,121	7,987		510	47,452	

平成 28 年度 歳入・歳出決算

(歳 入)

科 目	決算額(円)	備 考
衛生手数料	8,120,135	衛生研究所費 3,051,495 環境衛生検査 5,068,640
国庫支出金	7,873,200	設備充実費
財産運用収入	466	特許権等運用収入
雑 入	742,250	
合 計	16,736,051	

(歳 出)

科 目	決算額(円)	備 考
人事管理費	204,240	派遣研修費・客員研究員報償費
財産管理費	955,050	庁舎維持管理費
児童福祉対策費	13,187,000	先天異常児の早期発見
公衆衛生総務費	1,098,692	再任用職員, 臨時的任用職員等の社会保険料
予 防 費	8,637,887	感染症関連調査
環境保健対策費	8,270,088	カドミウム環境汚染地域住民関連調査
衛生研究所費	59,866,831	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	5,055,217	温泉・飲料水等検査
食品衛生指導費	12,277,358	食品安全対策検査
環境衛生指導費	218,354	細菌検査
公害防止対策費	314,692	海水浴場細菌検査
工 鉱 業 総 務 費	202,268	科学技術振興
合 計	110,287,677	

(7) 重 要 備 品

(平成 29 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 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
染色体核型分析用画像処理システム	カールツァイス社製 イカロス	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 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	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 7500	H 20. 12
	アプライドバイオシステム 7500 Fast	H 28. 10
	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 310-I-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 7000	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, カウンターマットフラッシュ	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	GE 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 28 年度の検体総数は 8,501 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、108.9%（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、32 人（イソ吉草酸血症疑い 1 人、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症疑い 1 人、ガラクトース血症疑い 2 人、先天性甲状腺機能低下症疑い 13 人、先天性副腎過形成症疑い 15 人）が要精密検査となり、先天性甲状腺機能低下症の患者 5 人が発見された。

染色体検査

平成 28 年度の検査依頼受付検体数は、羊水 91 件、血液 20 件と自然流産胎児 60 件の計 171 件であった。前年度と比較すると血液は 2 件増、流産胎児は 4 件減、羊水は 67 件減であった。染色体異常を示したものは、羊水 4 件（21 トリソミー症候群 1 件、18 トリソミー症候群 2 件、ターナー症候群 1 件）、4.4%、血液 2 件（構造異常 1 件、21 トリソミー症候群 1 件）、10.0%、流産胎児 38 件（数的異常 25 件、モザイク 3 件、ターナー症候群 4 件、構造異常＋数的異常 2 件、倍数体 1 件、構造異常 3 件）、65.0%の計 45 件であった。染色体検査の依頼理由（主訴）は、羊水では高齢妊娠および胎児異常の疑い、血液・流産胎児では不育症関連が最も多かった。

[調査研究]

がん発生要因に関する研究

地域がん登録システムで集積されたデータと人口動態データとの比較から、胃がん並びに大腸がんの、県内各医療圏ごとの罹患率や死亡率の差異を解析している。さらに、医療圏より単位の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。また、発がんリスクを評価するための方法として、がん化を防ぐために細胞が備えている DNA 修復機構に着目し、培養細胞を用いた DNA 修復能測定法の検討を行った。

先天性代謝異常症等のマススクリーニング検査法に関する研究

タンデムマス法の導入でマススクリーニング検査の対象疾患が拡大したことにより、緊急性の高い疾患が増え、早期の医療対応が必要となる例が多くなった。そこで、緊急性がある疾患かどうかを早期に判別するため、マススクリーニング検査の指標とは別の指標を使った確認検査法について検討している。

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、157 症例中 152 症例からウイルスが検出された（AH1 型インフルエンザウイルス 3 名、AH3 型インフルエンザウイルス 129 名、B 型インフルエンザウイルス 20 名）。上気道炎・下気道炎では、24 症例中 18 症例からウイルスが検出された（パラインフルエンザウイルス 3 型 1 名、パラインフルエンザウイルス 3 型＋ライノウイルス 1 名、メタニューモウイルス 5 名、ライノウイルス 3 名、パレコウイルス 3 型 2 名、パレコウイルス 3 型＋ライノウイルス 1 名、パレコウイルス 3 型＋エコーウイルス 18 型 1 名、ボカウイルス 1 名、RS ウイルス 3 名）。脳炎・脳症・麻痺では、16 症例中

4 症例からウイルスが検出された（ライノウイルス 2 名，パレコウイルス 3 型 1 名，アデノウイルス 1 型 1 名）。感染性胃腸炎では 23 症例中 17 症例からウイルスが検出された（ロタウイルス A 群 7 名，ノロウイルス Genogroup II; NVGII 3 名，サポウイルス 2 名，サポウイルス+エコーウイルス 6 型 1 名，NVGII+アデノ 2 型 2 名，アデノウイルス 2 型 1 名，アストロウイルス 1 名）。麻疹疑い例 7 症例では 1 症例から麻疹ウイルスが検出された。手足口病では，7 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。ヘルパンギーナでは 1 症例からコクサッキーウイルス A6 型が検出された。デング熱では，4 症例中 3 症例からウイルスが検出された（デングウイルス 1 型 1 名，デングウイルス 2 型 2 名）。つつが虫病では，13 症例中 11 症例からつつが虫病リケッチアが検出された。筋炎・筋痛症では 7 症例中 4 症例でパレコウイルス 3 型が検出された。

H I V 抗体検査

平成 28 年 4 月から平成 29 年 3 月までの 1 年間に 120 件の血液について HIV 抗体検査を行ったところ，1 件陽性であった。

感染症流行予測調査

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

感染源調査：豚の抗体保有調査では，9 月中旬から 10 月下旬にかけて抗体保有率が 15%～55% と高く，9 月中旬から下旬には新鮮感染を示す豚が確認された。蚊 2 検体及び豚血清 2 検体から日本脳炎ウイルスが分離された。平成 28 年度は 9 月～10 月に日本脳炎ウイルスの活動が活発であったと考えられた。豚の抗体保有状況を「日本脳炎ブタ情報」として富山県感染症情報センターのホームページに毎回掲載した。

感受性調査：日本脳炎流行予測調査（感受性調査）として，県内住民 262 名の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査した。その結果，抗体陽性者の割合は全体として 60.7% 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，0～4 歳および 40 歳以上は 30% 前後と低かった。「接種歴なし」の割合は，0～4 歳で最も多く 70.6% で，平成 27 年度と同程度であった。「接種歴あり」の割合は 15～19 歳での 92.3% がピークで，5～9 歳でも 90.0% であった。20 歳以上では 40% 以下であった。予防接種歴別の抗体保有率は，「接種歴なし」で 20.8%，「接種歴不明」で 56.9% であったのに対し，1 回以上接種歴のある対象者では 82.9% 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 28 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 28 年 7 月～10 月に，0 歳から 88 歳までの 262 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 97.3%，2 型では 98.1%，3 型では 87.0% であった。また，各型に対する幾何平均抗体価は，1 型は 105.5 倍，2 型は 79.4 倍，3 型は 40.4 倍であり，集団免疫としては良好な抗体保有状況であった。これらの結果から，本県においては，野生型ポリオウイルスの侵淫や，ポリオ流行の可能性は少ないと考えられた。

インフルエンザ：インフルエンザの流行の予測と予防のために，ヒト感受性調査（2016 年 7～10 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 250 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，2016/17 シーズンインフルエンザワクチン株の A/California/7/2009 (H1N1)pdm09，A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)，B/Phuket/3073/2013(山形系統)および B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)に対して各々 65.6%，38.4%，39.2%，14.4% であった。

衛生動物検査

厚生センター等から依頼や問合せがあった 21 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28年4月から平成29年3月の間に、エンテロウイルスはエコーウイルス3, 6, 18, 25型, コクサッキーウイルスB5型が分離された。エコーウイルス6型は平成28年9月～平成29年3月にかけて下水からの検出例が多く、小児の胃腸炎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、患者からほぼ同時期に検出されたGII.2が高頻度に検出され、県内における感染者が多数存在すると推定された。

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例について

富山県内で平成28年4月から平成29年3月までの1年間に発生届のあった、ウイルス性の感染性胃腸炎の集団発生事例についてまとめた。当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生16事例のうち、9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14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11事例、ノロウイルスGIが2事例、ノロウイルスGIとGIIの混合が1事例であった。ノロウイルスの型別は、GII.2が6事例、GII.4が2事例、GI.3, GI.6, GII.3, GII.6, GI.4+GII.17, GII.6+GII.17がそれぞれ1事例であった。GII.2はいずれも11月以降に検出された。

発生施設別にみると、飲食店での発生が5事例、家庭内が2事例、学校が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2プール及びブタ2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11頭からハンタウイルスに対する抗体は検出されなかった。公園等の4地点で優占して捕集された蚊はヒトスジシマカであった。また、ヒトスジシマカの発生ピークは7月上旬から9月下旬であった。観光地6地点中4地点でヒトスジシマカの幼虫が採集されたが、ヒトスジシマカの成虫の採集数は1地点あたり0～5個体と少なかった。

低山地3地点およびニホンジカ等の分布密度が高いと推定される7地域において2016年4月から11月までマダニ類の調査を行った。その結果11種1,869個体が採集された。2013～2014年に採集したマダニのうちの956個体（860検体）について紅斑熱群リケッチアの遺伝子検出を行ったところ、1検体から *ricettsia tamurae* が、48検体から病原性不明の紅斑熱群リケッチアが検出された。2015年に採集したマダニのうちの1,077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。

2016年に県内で捕獲されたイノシシ計34頭より血液、便、付着したマダニを採取した。マダニ4種118個体について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34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6検体（17.6%）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 74 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 28 年は、腸管出血性大腸菌感染症が 11 件 (46 名)、赤痢が 1 件 (5 名)、腸チフスが 1 件 (1 名) 発生した。このうち、腸管出血性大腸菌感染事例の原因菌の血清型は O157 4 件 (4 名)、O26 5 件 (38 名)、O145 1 件 (1 名)、O121 1 件 (3 名、うち 1 名は O121・O26 重複感染者) 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、海外渡航歴のない患者の集団感染であり、*Shigella sonnei* が分離された。腸チフス 1 件は、海外渡航歴のある患者からチフス菌が分離された。

細菌性食中毒検査：平成 28 年は、細菌性食中毒はカンピロバクター・ジェジュニによるものが 1 件あった。

レジオネラ症検査：厚生センター、富山市保健所から搬入された喀痰 30 検体から分離培養を行った結果、8 検体からレジオネラ属菌が分離された。

食品検査：6 月に清涼飲料水 13 件の成分規格試験を行った。すべての検体で大腸菌群陰性であった。また、食品の夏期一斉取締りの一環として、生食用鮮魚介類 (刺身等) 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。7 月に生食用牛肉 5 検体について腸内細菌科菌群の検査を行った。5 検体とも陰性であり、成分規格基準に合致していた。

厚生労働省医薬食品局食品安全部より依頼のあった「平成 28 年度食品の食中毒菌汚染実態調査」に基づき、28 検体、9 項目のいずれかについて検査を実施した。サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌はすべての検体で検出されなかったが、大腸菌が 3 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 8、10 月の 2 回、採水地点はそれぞれ 11 か所、計 24 検体 (重複した検体も含む) 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。2 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。

[病原微生物検出情報]

県内 10 か所の病院と 4 か所の厚生センター、富山市保健所、衛生研究所における糞便からの病原細菌検出数は、1,205 株、前年比 108.5% であった。最も多かったのは大腸菌 561 株で、以下、黄色ブドウ球菌 248 株、カンピロバクター 247 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：県内の医療機関でヒトから分離された菌株の収集、解析を行った。平成 28 年 1 月～12 月までに当所に送付された菌株は 26 株で、それらの血清型の内訳は *S. Typhimurium* (variant) が 4 株、*S. Typhimurium* が 1 株、*S. Enteritidis* が 4 株、*S. Saintpaul* が 4 株、その他 13 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、12 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 の系統樹解析と病原因子の解析を行った。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の耐性遺伝子調査：平成 28 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 18 株（届出株 13 株）についてカルバペネマーゼ遺伝子の検出を行った。1 株が NDM 型の遺伝子を保有していた。

溶連菌の血清型別調査：平成 28 年に県内 1 医療機関で分離された溶連菌を血清型別した。15 株すべてが A 群で、検出率が高い T 型は、順に T12 型、T-B3264 型、T1 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 28 年に県内 1 医療機関で分離されたカンピロバクター 27 株の収集解析を行った。27 株のうち 19 株（70.4%）が *C. jejuni*、3 株（11.1%）が *C. coli* であった。*C. jejuni* について Penner 型別を行ったところ、12 株（63.2%）は型別不能（UT）で、残る 7 株は F 群 3 株、D 群 2 株、B 群 1 株、P 群 1 株であった。

レジオネラ属菌の環境調査：厚生センター、富山市保健所と連携し、協力を得られた 11 浴用施設のレジオネラ属菌調査を行った。その結果、浴用水 8/40 検体（20.0%）、シャワー水 10/29 検体（34.5%）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 6/25 検体（24.0%）からアメーバ共培養増菌法にてレジオネラ属菌が検出された。

[精度管理]

食品内部精度管理：富山県食品衛生検査業務管理要綱に示される精度管理規定に基づき、県内 4 厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の 7 機関について、内部精度管理調査を行った。試料は当所で作製し、それぞれに配布した。調査項目は、牛乳の生菌数測定および模擬食品中の大腸菌検出とした。なお、模擬食品は市販のコーンビーフを原料とし、大腸菌を添加した 1 検体、アルベルティ菌を添加した 1 検体の計 2 検体を各機関に配布した。生菌数および大腸菌検出は、すべての機関が良好であった。この回答結果については本年報にその詳細を掲載している。

食品外部精度管理：前述の精度管理規定に基づき、外部精度管理調査に参加した。

水質検査精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づき、一般細菌について県内の水道水質検査実施機関 22 機関の精度管理を行った。枯草菌 218 cfu/ml を添加した滅菌水を検体とし、陰性対照検体（滅菌水）とともに各機関に配布した。Grubbs 検定により外れ値の検討を行った結果、3 機関が棄却された。棄却された機関を除く 19 機関の平均細菌数±標準偏差は 229 ± 11.0 cfu/ml、変動係数は 4.81% であった。

感染症病原体等検査内部精度管理：「富山県病原体等検査業務管理要綱」に基づき、赤痢菌の検出・同定について、厚生センターおよび衛生研究所細菌部の 4 機関に対して、内部精度管理調査を実施した。いずれの機関も 1 株を赤痢菌と同定し、1 株は赤痢菌を否定し、正しく回答できた。

[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）：2016 年 1～12 月の分離株について、A 群溶血レンサ球菌 39 株（愛知県衛生研究所 24 株および富山県衛生研究所 15 株）の T 型別を愛知県衛生研究所および富山県衛生研究所で実施した。また、東海北陸地区で発生した 30 例の劇症型溶連菌感染症例について国立感染症研究所に菌株を送付した。

レジオネラの東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）：平成 28 年度に患者から分離されたレジオネラ菌 8 株（富山県で分離）について、国立感染症研究所に送付した。8 株とも血清群は *Legionella pneumophila* 血清群 1 であった。

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

薬剤耐性菌の東海・北陸支部レファレンスセンター（衛生微生物協議会、希少感染症研究事業）：平成 28 年 7 月に開催された衛生微生物協議会（広島市）において、レファレンスセンター会議が開催された。当該年度も、昨年度とレファレンス活動としては、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（亜鉛などの重金属類，クロロホルムなどの揮発性有機化合物，硝酸性窒素などの陰イオン性化合物など）及び惣菜等の保存料（安息香酸，ソルビン酸）及び甘味料（サッカリンナトリウム）試験，並びに生めん類等の品質保持剤（プロピレングリコール）の試験を行ったところ，24検体（総項目数560）全てが食品衛生法の規格基準または使用基準に適合していた。

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

残留農薬等：県内産主要農産物の玄米，ぶどう，ほうれんそう等の9種12検体について，有機リン系（フェントロチオン等），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1,041項目）。玄米1検体からトリシクラゾール0.02ppm（基準値3ppm），フラメトピル0.01ppm（同0.5ppm）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，ジクロロボスを含む有機リン系化合物等57農薬を調査したところ，いずれも検出されなかった（定量下限値：0.2ppm）。

重金属等：富山湾産魚介類10魚種12検体（ウマヅラハギ，フクラギ等）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0.02～0.13ppmといずれも暫定規制値（0.4ppm）を下回っていた。また，アジ及びサバ等9魚種10検体について船底や魚網の防汚剤として平成元年まで使用されていたビストリブチルスズオキシドによる汚染調査を行ったところ，全て不検出であった。

家庭用品検査

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

水質検査

水質管理目標設定項目¹⁾：県内の水道事業体の水道原水41検体及び浄水22検体について，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46項目（総項目数326）の農薬類の検査を行った。その結果，2検体からウラン0.0005，0.0009mg/L（目標値0.002mg/L）が，2検体からニッケル0.002mg/L（目標値0.02mg/L）が，1検体からジクロロアセトニトリル0.001mg/L（目標値0.01mg/L）が，5検体から抱水クロラール0.001～0.002mg/L（目標値0.02mg/L）が検出されたが目標値を下回っていた。その他の項目はいずれも不検出であった。

1) 水道水質基準を補完する項目で，水質管理上留意すべき項目

要検討項目²⁾：県内水道事業体の水道原水27検体及び浄水27検体について，銀などの重金属類，スチレンなどの揮発性有機化合物，フタル酸ジ(n-ブチル)などのフタル酸エステル類，ブロモクロロ酢酸などのハロ酢酸類及びトリクロロアセトニトリルなどのハロアセトニトリル類等26項目（総項目数694）の検査を行った。その結果，1検体からモリブデン0.011mg/L（目標値0.07mg/L）が検出された。

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32項目）の検査（総項目数440）を行った。その結果，1井戸から5月及び11月の2回，メチダチオン各0.00007mg/L，0.0001mg/L（目標値0.004mg/L以下）が検出された。

温泉分析

温泉所有者等から依頼のあった県内2ヶ所の源泉について，温泉中分析検査を行ったところ，温泉の定

義に適合していた。

また、温泉資源保護を目的として、氷見・高岡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、成分濃度減少傾向の疑いがあり、周辺の源泉を含め、今後の推移を注視する必要がある。

[調査研究]

HPLCによる品質保持剤（プロピレングリコール）分析法の検討

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

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

現地分析を可能とする分析ツールの開発

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

近年、樹脂やガラス内に3次元流路を自由に作製する技術を開発、この技術について特許を取得している。平成28年度はこの技術を用いて流路内の液体を混合する機構を有するチップを作製した。攪拌機構は流路内での試薬の効率の良い混合を可能にするなど、分析チップを構成する有用な要素の1つであるといえる。本研究では、2本の金属管を縫りあわせたテンプレートを作り、その周囲に樹脂を流し込んで硬化させた後に、このテンプレートを除去することにより2重らせん状の流路を作製、この流路に液体を流して、流路内で液体が混合されることを確認した。また、本研究では、この攪拌機能を有するチップを小型検出器とノートパソコン等を組み合わせることにより、持ち運び可能なシステムを構築した。

また、微生物汚染現場における迅速な微生物の分離同定を目的に、持ち運び可能な電気泳動チップシステムの開発にも取り組んでいる。平成28年度は透明な樹脂で一次元レーン構造を有するゲル電気泳動用チップを作製。このチップには次に挙げる利点がある。○使用するゲル量の節約、○レーンによって異なる濃度のゲルの展開が可能、○保持体が樹脂であるのでゲルの持ち運びが従来よりも容易、○大幅な検出感度の向上。特に、この検出感度については、従来法よりも数倍以上の感度で検出が可能である。その理由としては、紫外波長領域においてゲルよりも透過度の高い樹脂をチップの基材として適用したことにより、光励起効率の上昇が可能となったためであると考えられる。

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16箇所について、水質管理目標設定項目（農薬類）106項目の検査を行った（総項目数1,696）。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4機関を対象に、シロップ中の保存料（ソルビン酸）の定量試験について精度管理調査を行った。その結果、4機関ともに検査結果は良好と判定され、今後もこの良好な管理状況を維持した検査の実施が望まれる。

水質検査の精度管理：「富山県水道水質検査精度管理実施要領」（平成9年3月制定）に基づき、平成8年度から、県内の水道水質検査を実施する機関を対象に精度管理調査を実施している。今年度は、21機関を対象に、「ホルムアルデヒド」（18機関参加）及び「濁度」（21機関参加）の2項目について精度管理調

査を行った。

ホルムアルデヒド測定用検体は、ガスクロマトグラフ質量分析法（GC/MS法）用、高速液体クロマトグラフ法（LC法）用に分けて作製した。GC/MS法用検体は、当所水道水に、チオ硫酸ナトリウム溶液（0.3 w/v%）を検体 1 L あたり 0.3 mL 添加したのち、市販ホルムアルデヒド標準液（0.018 mg/L）を添加して作製した。LC法用検体は、当所水道水に、塩化アンモニウム溶液（1 w/v%）を検体 1 L あたり 4 mL 添加したのち、市販ホルムアルデヒド標準液（0.018 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、2 機関が棄却された。棄却された 2 機関を除く 16 機関の測定値の平均値 ± 標準偏差は 0.01733 ± 0.00213 mg/L、機関間変動係数は 12.3%、機関内変動係数は 0.4～3.6%であった。

濁度測定用検体は、当所水道水に、市販濁度標準液（0.8 度）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。21 機関の測定値の平均値 ± 標準偏差は 0.8094 ± 0.0441 度、機関間変動係数は 5.4%、機関内変動係数は 0.0～5.2%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 28 年度は、対象者 1,226 名中 436 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 -ミクログロブリン濃度が 5.0mg/gCr 以上の陽性を示した者 21 名、及び精密検診対象者 289 名が平成 28 年度の精密検診の対象となった。精密検診は、検診委託医療機関である富山大学附属病院、富山市立富山市民病院、富山県立中央病院の 3 病院で行われ、137 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 4 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）について、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した。尿中アルキルリン酸の分析法を果汁中のアルキルリン酸検出に適用したところ、クロマトグラム上のピークリテンションタイムの変動などのため目的物の同定ができず、定量に至らなかった。

骨質からアプローチする骨粗鬆症研究

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

平成 28 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 126 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

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、数年間における体格指標や糖代謝指標の変化と、運動や食行動などの習慣の変容との関連について検討した（解析対象：男性 90 人、女性 105 人）。男性では、腹囲の変化率と、空腹時インスリン値およびインスリン抵抗性指標値の変化率との間に相関がみられ、肥満の進行・改善と糖代謝指標の増減が関連していた。また、食行動の習慣の変容について、「夕食を腹八分までにするようになった」群では、BMI 及び腹囲の減少がみられた一方で、「夕食を満腹まで

食べるようになった」群ではBMI、腹囲の増加と空腹時血糖値およびヘモグロビン A1c の増加傾向がみられた。インスリン抵抗性改善に効果的な生活習慣について、さらに解析中である。

腎機能低下に伴う骨質劣化に関する調査研究

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

平成 28 年度は「骨質からアプローチする骨粗鬆症研究（平成 25-29 年度実施）」協力者 606 名（厚生連高岡健康管理センター骨粗鬆症検診を受診した女性）の内、平成 25 年度に受診した 156 名の血清 FGF23 の測定を行った。骨質マーカーである血清パントシジン及び血清ホモシステインとの関連について解析中である。

神通川流域住民健康調査結果の地域疫学的検討

富山県と環境省は、神通川流域のかつてカドミウム（Cd）に汚染された地域（旧汚染地域）の住民を対象に骨所見や腎機能の調査（神通川流域住民健康調査（住民健康調査））を行っている。中でも尿中 β_2 ミクログロブリン（尿 β_2 MG）は近位尿細管機能低下の重要な指標であるが、旧汚染地域の中でも近位尿細管機能異常率（ β_2 MG 高値率）の地区偏在性が認められた。そこで、旧汚染地域の近位尿細管機能異常の地理的分布とその背景要因について検討を行った。平成 9～13 年度までの住民健康調査データを使用し、居住地区（90 地区）ごとの β_2 MG 高値率を算出した。この結果、 β_2 MG 高値率に地域集積性が認められた。また、 β_2 MG 高値率と関連が見られた因子を従属変数に重回帰分析を行ったところ、専業農家割合と地区別玄米中 Cd 汚染度が有意に寄与しており、専業農家割合、過去の玄米から推察される Cd 汚染程度が β_2 MG 高値率の地域集積性に影響していることが示唆された。

(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	8,501 (178,521)	
	染色体検査	31 (31)	140 (140)
	小 計	8,532 (178,552)	140 (140)
ウイルス部	感染源検査	611 (611)	
	血清学的検査	1,157 (2,517)	
	衛生動物等検査	21 (21)	0 (0)
	小 計	1,789 (3,149)	0 (0)
細菌部	感染症にかかわる検査	161 (302)	
	食中毒にかかわる検査	17 (236)	
	食品検査	63 (84)	
	水質検査	134 (226)	48 (54)
	小 計	375 (848)	48 (54)
化学部	食品にかかわる検査	93 (3,451)	
	家庭用品検査	15 (20)	
	水質検査	133 (2,972)	36 (516)
	温泉分析	18 (180)	2 (60)
	小 計	259 (6,623)	38 (576)
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	578 (3,133)	
	小 計	578 (3,133)	0 (0)

検 査 内 容

が ん 研 究 部

() 内項目数

[行政検査]

1. 先天性代謝異常検査 8,501 (178,521)

2. 染色体検査

(1) 血液 0 (0)

(2) 羊水 29 (29)

(3) 胎児 2 (2)

[依頼検査]

1. 染色体検査

(1) 血液 20 (20)

(2) 羊水 62 (62)

(3) 胎児 58 (58)

ウ イ ル ス 部

[行政検査]

1. 感染源検査		
(1) インフルエンザ	168 (168)
(2) その他ウイルス	205 (205)
(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	250 (1,000)
(2) ポリオ	265 (795)
(3) 日本脳炎 ヒト	265 (265)
ブタ	235 (235)
(4) エイズ	120 (120)
(5) その他のウイルス	2 (2)
(6) リケッチア	20 (100)
3. 衛生動物等検査		
(1) 衛生・不快動物	21 (21)
(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	74 (74)
(2) 腸管出血性大腸菌	52 (167)
(3) レジオネラ属菌	7 (7)
(4) 喀痰	26 (52)
(5) その他	2 (2)
2. 食中毒にかかわる検査		
(1) カンピロバクター	9 (9)
(2) ウェルシュ菌	7 (226)
(3) 黄色ブドウ球菌	1 (1)
3. 食品検査		
(1) 収去検査	34 (34)
(2) 汚染実態調査における食品	28 (48)
(3) その他	1 (2)
4. 水質検査		
(1) 浴用水	12 (12)
(2) 海水浴場水	80 (100)
(3) 名水	24 (96)
(4) 水道原水	18 (18)

[依頼検査]

1. 水質検査		
(1) 海水浴場水	48 (54)

化 学 部

[行政検査]

1. 食品にかかわる検査

(1) 食品成分および添加物	26 (564)
(2) 残留農薬等	44 (2,864)
(3) 重金属類	22 (22)
(4) その他有害物質	1 (1)

2. 家庭用品検査

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

3. 水質検査

(1) 水質基準項目	0 (0)
(2) 管理目標設定項目	55 (2,074)
(3) 要検討項目	50 (650)
(4) ゴルフ場使用農薬	24 (220)
(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 (252)
(3) 要検討項目	4 (44)
(4) ゴルフ場使用農薬	24 (220)
(5) その他	0 (0)

2. 温泉分析

中分析	2 (60)
-----	---------

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	436 (872)
精密検診 尿, 血液検査	137 (2,182)
(2) イタイイタイ病要観察者の管理検診	
尿, 血液検査	4 (63)
(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
新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント	ウイルス部	小渕 正次 米田 哲也	厚生労働行政推進調査事業費補助金 (新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)
麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室診断および国内ネットワーク構築に資する研究	ウイルス部	稲畑 良 板持 雅恵	国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 委託費 (感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究	細菌部	綿引 正則 範本 志保	国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 委託費 (感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
ゲノム解析に資する下痢原性細菌感染症サーベイランスの強化及びゲノム解析を利用した迅速診断法の開発に向けた研究	細菌部	綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子	国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) 委託費 (感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)
公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究	細菌部	磯部 順子 金谷 潤一	厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)
地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究	所長室 細菌部	滝澤 剛則 磯部 順子	厚生労働科学研究費補助金 (健康安全・危機管理対策総合研究事業)
メタゲノム解析による下水からのノロウイルス・サポウイルスの検出	所長室 ウイルス部	滝澤 剛則 稲崎 倫子 名古屋真弓 板持 雅恵	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)
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に基づく親水性抗生物質の新規な分析法の開発と水環境分析への応用	化学部	健名 智子	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
慢性腎臓病に伴う骨質劣化へのリン調整因子の関与に関する研究	環境保健部	田村 恒介	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
衛生研究所の役割と感染症 －感染性胃腸炎と蚊媒介感染症－	滝澤 剛則	ウイルス感染症制御学 講義	平 28.4.15	金沢大学医学部
疫学（感染症）	小渕 正次 磯部 順子 稲畑 良	保健学科講義	平 28.6.9, 6.24, 7.12, 7.20	県総合衛生学院
微生物学・感染症	滝澤 剛則 綿引 正則 小渕 正次 磯部 順子 稲畑 良 板持 雅恵 金谷 潤一	病態生理・治療論 I	平 28.9.8, 9.13, 9.27, 10.4, 10.11, 10.13, 10.18, 10.20, 10.25, 11.1, 11.15, 11.22, 11.29, 12.6, 12.13	富山赤十字看護専 門学校
最近の気になる感染症とその 対策	滝澤 剛則	高岡市民病院職員研修 会	平 28.9.29	高岡市民病院
レジオネラ属菌検査実習	磯部 順子 金谷 潤一	平成 28 年度新興再興 感染症技術研修	平 28.10.3-6	国立感染症研究所
職場の仕事内容	金谷 潤一	進路学習 「Discover Mt Future」	平 28.10.19	滑川高校
リアルタイム PCR・シーク エンス検査診断実習	小渕 正次	平成 28 年度短期研修 ウイルス研修	平 28.11.14-16	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 19 期）	平 28.11.22	富山県消防学校
CRE 検査の現状と薬剤耐性 （AMR）対策に資する地研の 役割	綿引 正則	平成 28 年度院内感染 対策研修会	平 28.12.2	市立砺波総合病院
一地方衛生研究所におけるか ぜ症候群病原体サーベイラン ス	小渕 正次	健康医療薬学演習	平 28.12.7	北陸大学
ウイルスの特性	小渕 正次	富山県消防学校専科教 育救急科（第 19 期）	平 28.12.13	富山県消防学校
腸管系ウイルスについて	滝澤 剛則	ウイルス学講義	平 29.1.31	富山大学医学部
感染症のいま ～対策、予防、診断、治療等～	滝澤 剛則	高校看護科 3 学年特別 講義	平 29.2.1	富山いずみ高校
ウイルスの特性・バイオテロ	小渕 正次	富山県消防学校専科教 育特殊災害科（第 7 期）	平 29.2.20	富山県消防学校
細菌の基礎知識	磯部 順子	富山県消防学校専科教 育特殊災害科（第 7 期）	平 29.2.24	富山県消防学校
平成 28 年度動物由来感染症 浸淫状況調査結果について	稲畑 良	狂犬病予防対策連絡会 議	平 29.3.23	富山県農協会館

(12) 研 修 指 導

所属および対象者	研修期間	研 修 内 容	担 当
食肉検査所 林原 由美子	平 28.4.18-19	食品に関する理化学検査技術	化学部
平成 28 年度富山県衛生研究所 バイオセーフティ講習会	平 28.5.27 平 28.7.1	バイオセーフティの基礎, 安全 キャビネットの取扱等	バイオセーフティ委員会
平成 28 年度富山県病原体等の 包装・運搬講習会	平 28.6.16	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
厚生センター, 食肉検査所食品 理化学検査担当職員	平 28.6.16	HPLC 基礎セミナー	化学部
厚生センター職員	平 28.6.23-24	蚊類調査方法の説明会	ウイルス部
夏休みこども科学研究室	平 28.7.28-29	身近な細菌を観察しよう	細菌部
岐阜大学応用生物科学部獣医学 課程 4 年生	平 28.8.22-26	衛生研究所における獣医師の業務 と役割の理解	ウイルス部 細菌部
VPcamp 参加獣医学生	平 28.9.2 平 29.3.1	衛生研究所における獣医師の業務 と役割の理解	ウイルス部 細菌部
東京都派遣職員 1 名	平 28.12.5	環境水ウイルス調査について	ウイルス部
新川厚生センター 荻浦 泰也 新川厚生センター 山田 羽純 高岡厚生センター 宮内 由紀	平 29.1.11	濁度計の保守点検	化学部

(13) 研 修 受 講

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
範本 志保 米田 哲也	平 28.5.25	平成 28 年度病原体等の包装・運搬講習会	大阪合同庁舎 4 号館	厚生労働省健康局 結核感染症課
西永 真理	平 28.6.23-24	平成 28 年度新生児スクリーニング検査技術者等研修会	恩賜財団母子愛育会	島根大学医学部小児科 山口 清次 他
健名 智子 堀井 裕子	平 28.6.29	機器分析技術研修会 ～固相抽出の基礎(第 1 回)～	石川県保健環境センター	ジーエルサイエンス株式会社 井口 えい子
高田 博司 田村 恒介	平 28.7.14	元素分析基礎セミナー2016	呉羽ハイツ	サーモフィッシャーサイ ティフィック株式会社
滝澤 剛則 綿引 正則 小淵 正次 磯部 順子 佐賀由美子	平 28.7.21-22	衛生微生物技術協議会 第 37 回研究会	広島南区民文化センター	国立感染症研究所 西条 政幸 倉根 一郎 他
健名 智子 堀井 裕子	平 28.8.4	機器分析技術研修会 ～LCトラブルシューティング (第 2 回)～	石川県保健環境センター	日本 Waters 技術担当 者
高森 亮輔	平 28.8.20-21	第 23 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
中山恵理子 山下 智富 安川 和志	平 28.8.29	Agilent UNIVERSITY 2016 分析機器基礎講座 LC,LC/MS 編	富山県総合情報センター	アジレントテクノロジー 技術担当者
堀井 裕子	平 28.9.12	Agilent UNIVERSITY 2016 分析機器基礎講座 GC,GC/MS 編	石川県地場産業振興センター	アジレントテクノロジー 技術担当者
綿引 正則	平 28.9.15-16	院内感染に関連する薬剤耐性菌の検査に関する研修会	国立感染症研究所 村山庁舎(東京都)	国立感染症研究所 細菌第二部、病原体ゲ ノム解析研究センター
安川 和志	平 28.9.28	マイコトキシン研修会	食品衛生センター	国立医薬品食品衛生研 究所 吉成 知也 他
健名 智子 堀井 裕子	平 28.11.16	機器分析技術研修会 ～最新の LC-MS/MS 講座 (第 5 回)～	石川県保健環境センター	アジレントテクノロジー 山本・滝楚
田村 恒介	平 28.11.27-12.9	地域保健支援のための保健情報処理技術研修	国立保健医療科学院 (埼玉県)	国立保健医療科学院
稲畑 良	平 28.12.6-8	平成 28 年度麻疹実験室検査法の実地研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 森 嘉生 他
金田 英亨	平 28.12.16	平成 28 年度日本マスキリーニング学会検査技術者等基礎研修会	TKP 品川カンファレンスセンター	国立成育医療研究セン ター研究所 松原 洋一 他
中山恵理子	平 28.12.22	資生堂カラム基礎セミナー	(株)資生堂ジャパン 富山オフィス	(株)資生堂 神田 武利

受講者氏名	研修期間	研修内容	研修機関	講師所属氏名
堀井 裕子	平 29.1.20	平成 28 年度地方衛生研究所 全国協議会衛生化学分野研 修会	石川県保健環境セ ンター	東京都健康安全研究セ ンター 木村 圭介 他
稲畑 良	平 29.1.26-27	第 30 回公衆衛生情報研究協 議会総会・研究会	コラッセふくしま	東北大学 押谷 仁 他
中山恵理子 村元 達也	平 29.1.31	Agilent UNIVERSITY 元素 分析編	富山県総合情報セ ンター	アジレントテクノロジー 西山
佐賀由美子 木全 恵子	平 29.2.21-22	希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所 (東京都)	国立感染症研究所 大石 和徳 倉根 一郎 他
高田 博司 堀井 裕子 中山恵理子 山下 智富	平 29.2.23	機器分析技術研修会 ～GC-MS/MS, GC-QTOF の 基礎と応用(第 8 回)～	石川県保健環境セ ンター	アジレントテクノロジー 野原・杉立
村元 達也	平 29.2.24	水道水質検査精度管理に関す る研修会	厚生労働省講堂	水道水質管理室 東 利博 他
堀井 裕子 中山恵理子	平 29.3.2	機器分析技術研修会 ～サンプル前処理セミナー (QuEChERS 法)(第 9 回)～	石川県保健環境セ ンター	アジレントテクノロジー 山下
九曜 雅子 西永 真理	平 29.3.4	日本マスキリーニング学会 技術部会第 35 回研修会	岡山国際交流セン ター	国立病院機構岡山医療 センター小児科 古城 真秀子 他
山下 智富 安川 和志	平 29.3.23	機器分析技術研修会 ～イオンクロマトグラフィー の基礎と応用(第 10 回)～	石川県保健環境セ ンター	島津製作所

(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
齋藤 玲子	新潟大学大学院 医歯学総合研究科 国際健康分野 教授	9月8日～9日	インフルエンザとRSウイルスの 流行疫学と最新情報

(15) 研究成果発表会

- 1 日 時 平成28年11月18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
がん研究部	高森 亮輔	染色体検査の正常と異常
化学部	安川 和志	食物アレルギーについて ～富山県における食物アレルギー物質を含む食品の検査体制～
環境保健部	中崎 美峰子	有機リン系農薬の曝露と生活環境要因

(16) 試験研究機関研究員交流集会

- 1 日 時 平成28年10月26日(水) 14:00～19:00
- 2 場 所 パレプラン高志会館
- 3 主 催 富山県試験研究機関長会
- 4 研究発表
 - (1) 口頭発表
なし
 - (2) ポスター展示

所属	発表者	演 題
がん研究部	九曜 雅子	新生児マススクリーニングについて

(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・総務委員会	平 28.5.10	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
全国地方衛生研究所長会議	平 28.6.2	厚生労働省	滝澤 剛則
臨時総会	平 28.6.3	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
東海・北陸支部総会	平 28.6.24	ウインクあいち (名古屋市)	滝澤 剛則
地域保健総合推進事業 第1回東海・北陸ブロック会議	平 28.8.18	ウインクあいち (名古屋市)	滝澤 剛則 上出 功
第2回理事会・総務委員会	平 28.8.29	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
地域保健総合推進事業 東海・北陸ブロック専門家会議(理化学部門)	平 28.9.29-30	名古屋市衛生研 究所 (名古屋市)	健名 智子 堀井 裕子
東海・北陸支部 環境保健部会	平 28.10.13-14	ルブラ王山 (名古屋市)	上野 美穂 田村 恒介
地域保健総合推進事業 東海・北陸ブロック地域レファレンスセンター 連絡会議	平 28.10.21	名古屋市衛生研 究所 (名古屋市)	佐賀由美子
第67回総会	平 28.10.25	ホテルプリム ローズ大阪 (大阪市)	滝澤 剛則
地域保健総合推進事業 第2回東海・北陸ブロック会議	平 28.12.8	ウインクあいち (名古屋市)	滝澤 剛則 上出 功
地域保健総合推進事業 第2回ブロック長等会議	平 29.1.23	東京都健康安全 研究センター	滝澤 剛則
東海・北陸支部 衛生化学部会	平 29.2.2-3	じばさん三重 (四日市市)	高田 博司
東海・北陸支部 微生物部会	平 29.3.2-3	金沢都ホテル (金沢市)	滝澤 剛則 小渕 正次 板持 雅恵 佐賀由美子 綿引 正則 範本 志保 木全 恵子 内田 薫

(18) 各種規程等

名 称	施 行	最終改正
実験動物管理運営規程・動物実験施設利用規程	昭和 59 年 4 月 1 日	平成 14 年 9 月 1 日
研修生規程	昭和 63 年 4 月 1 日	平成 26 年 4 月 1 日
研修生受入審査会要綱	昭和 63 年 4 月 1 日	平成 26 年 4 月 1 日
病原体等安全管理規程	平成 10 年 4 月 1 日	平成 21 年 6 月 17 日
毒物及び劇物取扱規程	平成 11 年 4 月 1 日	平成 21 年 7 月 1 日
機種選定委員会要綱	平成 13 年 7 月 1 日	
研究評価実施要領	平成 15 年 5 月 28 日	平成 21 年 7 月 31 日
組換え DNA 実験安全管理規程	平成 15 年 9 月 18 日	平成 28 年 3 月 1 日
感染症発生予防規程	平成 19 年 6 月 1 日	
競争的研究資金等に関する取扱規程	平成 19 年 11 月 15 日	平成 26 年 10 月 1 日
放射線障害予防規程	平成 21 年 6 月 15 日	平成 22 年 4 月 1 日
知的財産権検討委員会設置要綱	平成 21 年 8 月 1 日	
競争的研究資金等の不正使用等に関する調査等 実施要綱	平成 26 年 10 月 1 日	
倫理審査要綱	平成 27 年 4 月 1 日	平成 29 年 5 月 30 日
倫理審査委員会運営要領	平成 27 年 4 月 1 日	平成 29 年 5 月 30 日
利益相反管理要綱	平成 27 年 4 月 1 日	
研究倫理基準	平成 27 年 12 月 21 日	
競争的研究資金等における研究活動の不正行為 等調査等実施要綱	平成 27 年 12 月 21 日	

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28年度)

九曜 雅子 西永 真理 上出 功 角 園子¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture
(Apr.2016-Mar.2017)

Masako KUYO, Mari NISHINAGA, Isao KAMIDE and Sonoko KADO¹

要 旨 平成28年度の検体総数は8,501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)5人の患者が発見された。

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40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37年間で179人、先天性副腎過形成症が28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。

また、新生児マススクリーニング検査の実施主体である各自治体と契約を結んだNPO法人タンデムマススクリーニング普及協会が国立成育医療研究センター マススクリーニング研究室に委託して全国的に実施されている外部精度管理の結果では、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28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28年4月から平成29年3月までの1年間の検査実施状況をまとめた。

1. 富山県厚生部健康課

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

1) アミノ酸代謝異常症 (5 疾患)

有機酸代謝異常症 (7 疾患)

脂肪酸代謝異常症 (4 疾患)

タンデムマス法 (装置: ABSciex 社製 API3200・SHIMADZU 社製 Prominence-20 シリーズ, 試薬: シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「MS²スクリーニング Neo」, 非誘導体化法 [3]) により, ろ紙血液中のアミノ酸およびアシルカルニチン (表 1) を測定した。データの解析は, ABSciex 社製 ChemoView を使用した。

2) ガラクトース血症

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

用いた。

また, 全検体について, 自家調製試薬 [5] によるボイトラー法で, Galactose-1-phosphate uridylyl 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 a -OHP」使用) による 17-OHP (17-hydroxy progesterone) 値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

バーコードを利用した自動サンプリング [7] を行った。

(4) 判定基準

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

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	4.1	600	7.9
		Met	210	2.5		
		Cit	67	1.0	340	5.0
		Cit	100		250	
有機酸代謝異常症	タンデムマス法	C3	3.9		8.0	
		& C3/C2	0.24		0.24	
		C5	1.0		5.0	
		C5-OH	1.25 (~H28.4)		2.0	
			1.0 (H28.5~)			
		C5-DC	0.35			
		C8 & C8/C10	0.28		0.28	
脂肪酸代謝異常症	タンデムマス法	C14:1 & C14:1/C2	1.2		1.2	
		C14:1	0.3		0.3	
		C16-OH & C18:1-OH	0.013		0.013	
		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
	ボイトラー法	Gal-1-P Uridyltransferase	蛍光が微弱または無	かつボイトラー法で蛍光無
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 以上で有病状 または抽出法 10ng/mL 以上

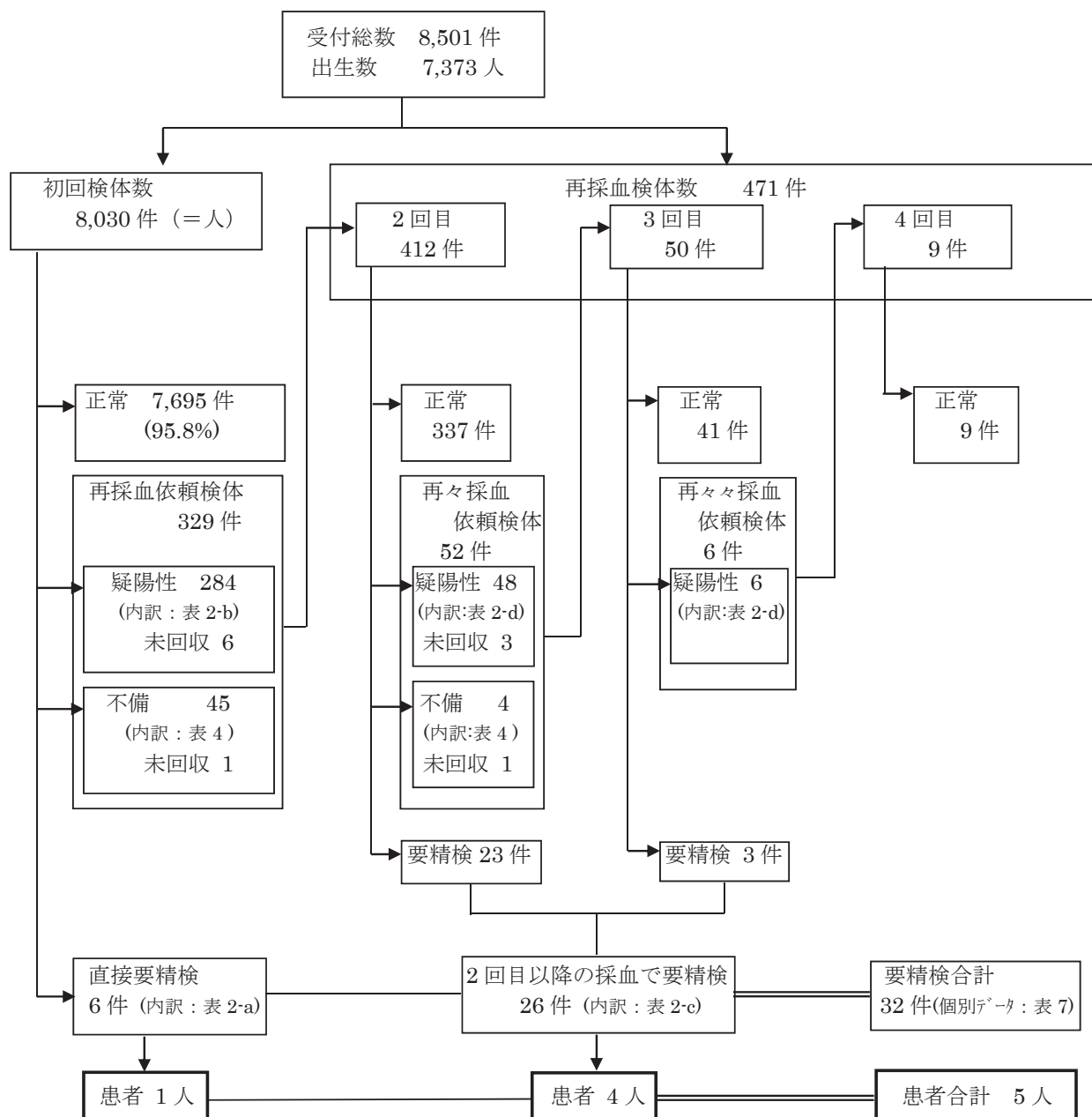


図1. 検査の流れおよび検査数の概要

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。測定値分布、再採血率、全国状況について検討した結果、今年度は、5月より、メチルクロトニルグリシン尿症、ヒドロキシメチルグルタル酸血症、複合カルボキシラーゼ欠損症の指標である C5-OH (3-ヒドロキシイソバレリルカルニチン) の再採血カットオフ値を 1.25 $\mu\text{mol/L}$ から 1.0 $\mu\text{mol/L}$ に変更した。

(5) 結果報告

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

(6) データ処理

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

表 2. 要精検数および疑陽性による再採血依頼数の内訳

[] : 患者数

疾患名	初回検体 8,030 件			再採血検体 471 件		総受付検体 8,501 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	9	0.11	0	0	0	9	0.11
有機酸代謝異常症	0	9	0.11	1	0	1	9	0.11
脂肪酸代謝異常症	1	5	0.06	0	1	1	6	0.07
ガラクトース血症	0	33	0.41	2	4	2	37	0.44
先天性甲状腺機能低下症	1	87 [1]	1.08	12	6 [4]	13 [5]	93	1.94
先天性副腎過形成症 (内 出生体重 2000g 未満児の数)	4 (1)	146 (54)	1.82	11 (2)	43 (26)	15 (3)	189 (80)	2.22
平成 28 年度総計 《内 疑疾患が重複している数》	6	289 [1] 《5》*	3.60	26	54 [4]	32 [5]	343 《5》	4.03

* 重複している疑疾患の内訳 : 先天性副腎過形成症+フェニルケトン尿症 1 件
 先天性副腎過形成症+先天性甲状腺機能低下症 2 件
 先天性副腎過形成症+先天性甲状腺機能低下症+グルタル酸血症 1 型 1 件

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、8,501 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 7,373 人 [8] であり、初回検体数 8,030 件（人）から計算すると受検率は 108.9% となった。100% を超えているのは、県外在住者がいわゆる『里帰り出産』のため県内で出産するケースを含んでいるためと考えられる。また、県内在住者が他県で受検するケースもあることから、正確な受検率は算定できないが、県内で出生した新生児はほぼ全員この検査を受けているものと推定される。

初回検体のうち 7,695 件（人）（95.8%）は正常と判定されたが、284 件（人）（3.5%）は疑陽性のため、45 件（人）（0.6%）は血液量の不足等の検体不備の理由で、再採血を依頼した。また、6 件（人）（0.1%）は初回検査で直ちに精密検査が必要（直接要精検）と判定された。

再採血検体として受付した 471 件のうちでは、26 件（人）（5.5%）が要精検と判定された。今年度の要精検数は、直接要精検の 6 件（人）と合わせて 32 件（人）となった。

(2) 疑陽性による再採血

表 2 に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示

した。タンデムマス法によるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症の計 16 疾患の再採血率は 0.29% 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 0.73% となった。先天性甲状腺機能低下症は 1.94%、先天性副腎過形成症は 2.22% となり、すべての対象疾患の合計は 4.03% であった。再採血率の目安は、タンデムマス法 16 疾患では 0.1~0.6% [9]、先天性甲状腺機能低下症は 0.5~1.0%、先天性副腎過形成症は 0.3~0.5% [10] とされている。タンデムマス法の再採血率は適正であったが、先天性甲状腺機能低下症と先天性副腎過形成症の再採血率は 2~4 倍高かった。先天性甲状腺機能低下症では、初回検体での再採血依頼数（87 件）の約半数（44 件）はカットオフ値付近（8~9 μ U/ml）の検体であり、その中にはその後要精検となり患者と診断された例もあった。また、先天性副腎過形成症では、再採血依頼数の 40% 以上が低体重児（出生体重 2,000g 未満の児）であり、副腎機能が未熟でストレス状態にあるために 17-OHP 値が高くなりやすい例が多かったことが要因のひとつと考えられた。

また、2 疾患以上が重複して疑陽性となった例は 5 件あり、いずれも、副腎過形成症と他の疾患の疑陽性であった。このうち、2 件は生後すぐの緊急検査例であり、あらためて正規の時期（生後 4~6 日）での再採血を依頼した。その他に、低体重および哺乳不良の例が 2 件あった。重複した疑疾患の内訳は、表 2 の注記に示した。なお、

表3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

不備理由	初回検体	再採血検体	総数
3日以内の採血, 哺乳不良	3	0	3
血液量不足	2	0	2
古い	10	1	11
汚染	3	0	3
血液の塊あり	2	0	2
哺乳不良	25	3	28
合計	45	4	49

その他理由	初回検体	—	総数
低体重	81	—	81

これらについては、表2、表4、表5の疑陽性数欄のそれぞれの項目に計上した。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は343件で、そのうち、平成29年7月7日現在334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97.4%であった。

回収できなかった9件のうち、6件は再採血検体を送付せずに医療機関（小児科）で検査が行われていた。また、2件は、小児科（NICU）から届いた検体であり、そのまま小児科でフォローアップされていると考えられた。その他の1件は検査対象疾患以外の理由で亡くなっていた。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表3に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。

3日以内の採血と哺乳不良の理由で再採血依頼を行った3件はいずれも緊急検査が必要と認められた検体であり、生直後に採血されたものであった。ろ紙の裏まで血液が十分にしみ込んでいない等の血液量不足の理由での依頼は2件であった。また、採血後当所に届くまで7日以上経っている場合は検体が「古い」ということで再採血を依頼しているが、このような検体が11件あり、最長15日かかっていた。この中には、採血後にろ紙を冷蔵庫に保管し、そのまま投函し忘れた例があった。また、採血医療機関に検査結果が届かないことで検体が当所で受付されていないことが判明した例もあり、郵送した検体が確実に当所に届いたかどうか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。さらに、ろ紙が汚染していたために再採血依頼を行った例が3件、ろ紙に血液の塊が付着していた

検体が2件あった。汚染については、採血医療機関から検体とともに送付されてくる先天性代謝異常等検査申込書兼同意書検査申込書に油のようなものが付着しており、一部の文字が消えて見えなくなっていた。同封されていた検体に影響がある可能性があり、再採血を依頼した。

このような検体不備のために再採血を依頼した検体は49件で、このうち再検査できたのが47件で、回収率は95.9%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8,030件（人）のうち、低体重児は140人（1.7%）であった。このうち1人が要精検となり、58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81人となった。このうちの12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4、表5および表7に示した。

富山県における現在までの患者発見率については、ガラクトース血症を含めた代謝異常症の患者数は8人（ヒスチジン血症除く）となり発見率は1/52,900、先天性甲状腺機能低下症は1/2,200、先天性副腎過形成症は1/16,400となった（表7）。先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は、全国と同様に高かった。

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61人、先天性甲状腺機能低下症が93人、先天性副腎過形成症が189人であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症4人、先天性甲状腺機能低下症13人、先天性副腎過形成症15人であった。患者と診断されたのは、先天性甲状腺機能低下症の5人であった。

表6に要精密検査者の個別の検査状況と結果をまとめた。

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

平成 29 年 11 月 30 日

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 29 年 7 月 7 日現在、90.6% (29 人 / 32 人) であった。まだ回収できていない 3 人についてはいずれも精密検査実施医療機関を受診しており、当所にフォローアップ検体 [13] が届いている。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体は、54 人延べ 90 件であった。また、今年度要精検となった 32 人のうちでは、20 人延べ 25 検体についてフォローアップ検査を行った。

表 6 の診断名等の欄には、精密検査結果報告書に記載されていた診断名を記した。

要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

(1) 代謝異常症

有機酸代謝異常症の疑いで 1 人、脂肪酸代謝異常症の疑いで 1 人、ガラクトース血症の疑いで 2 人の計 4 人が要精検となった。

有機酸代謝異常症の疑いの症例 1 は、C5 高値のためイソ吉草酸血症疑いで要精検となった。脂肪酸代謝異常症の疑いの症例 2 は、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症の疑いであった。

タンデムマス法で要精査となった例については、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) に分析を依頼することになっている。分析の結果、症例 1 はピボキシル基を有する抗菌薬の使用で上昇するピバロイルカル

ニチンの軽度上昇が認められ、イソ吉草酸血症は否定され、異常なしと診断された。症例 2 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 は正常であったが、同時に測定している Gal-1-p が高値であり、日齢 5 で 23.50 mg/dl、日齢 12 で 26.16mg/dl であった。大阪市立大学発達小児医学 藤本昭榮先生に酵素活性等の測定を依頼した結果、ガラクトース血症関連酵素活性はいずれもほぼ基準値内であった。肝内シャントは認められず、日齢 25 のフォローアップ検体では Gal 2.45mg/dl、Gal-1-p 12.15mg/dl と低下しており、異常なしと診断された。

症例 2 は、日齢 10 でも Gal はカットオフ値 (3mg/dl) 以上であり、要精検となった。フォローアップ検体として日齢 18 に採血された検体では Gal 0.92mg/dl と低下していたが、総胆汁酸が微増しており、門脈体循環シャントの疑いで、経過観察中である。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精検となった 13 人のうち、患者と診断されたのは、症例 2, 3, 5, 6, 8 の 5 人であった。そのうちの症例 6 は、初回検査で TSH 異常高値 (スケールオーバー) のため直接要精検となった例である。

また、症例 3, 7 および 9 は、初回検査での TSH 値がカットオフ値 (8 μ U/ml) 前後では

表 4. 月別検査実施状況

年	平成 28 年									平成 29 年			計		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3			
受検検体総数 (件)	649	700	718	699	821	747	672	713	663	701	643	775	8,501		
内 訳	初回検査数 (件)	610	668	677	669	779	691	646	683	620	656	602	729	8,030	
	再採血総数 (件)	39	32	41	30	42	56	26	30	43	45	41	46	471	
	採 血 回 数	2 回目	35	26	35	27	37	49	24	27	39	37	37	39	412
		3 回目	3	3	6	3	5	6	2	2	3	8	3	6	50
		4 回目以上	1	3	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	9
疑 陽 性 数 ～ 要 精 査 数 ～	アミノ酸代謝異常症	1	0	1	0	2	1	0	0	1	1	2	0	9	
	有機酸代謝異常症	0	1	2(1)	1	0	2	1	2	0	0	0	0	9(1)	
	脂肪酸代謝異常症	2	1	0	0	0	1	1	0(1)	0	0	1	0	6(1)	
	ガラクトース血症	7	2	3(1)	3	1	1	3	1	3	5(1)	4	4	37(2)	
	先天性甲状腺機能低下症	7	4	11(1)	6	13(2)	10(2)	6	6(2)	13(2)	6(2)	6(2)	5	93(13)	
	先天性副腎過形成症	5(1)	20(1)	13(1)	13(1)	26(1)	17(3)	7(1)	19(1)	13(1)	22(2)	18(1)	16(1)	189(15)	
計	22(1)	28(1)	30(4)	23(1)	42(3)	32(5)	18(1)	28(4)	30(3)	34(5)	31(3)	25(1)	343(32)		

表5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分 期間	受付総数 (件)	検査 実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数		
					代謝 異常症*1)	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症	代謝 異常症*1)	甲状腺 機能低下症	副腎 過形成症
昭和52年度 ～54年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6(4)	—	—
昭和55年度 ～63年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75(27)	130(25)	—
平成元年度 ～22年度	243,029	228,379	214,123	106.7	2,561	3,178	2,358	189(9)	559(119)	337(12)
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)
平成28年度	8,501	8,030	7,373	108.9	61	93	189	4(0)	13(5)	15(0)
計	448,276	422,998	417,237	—	4,930*2)	4,519	3,182	298*2)(41*3)	768(179)	412(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)

らつきが認められた。症例3については7.32～11.37 μ U/ml、症例7については7.10～9.00 μ U/ml、症例9については5.49～8.41 μ U/mlの間で変動した。症例3は、再採血検体でTSH値はかなり高値となり患者と診断された。症例7および9については、再採血検体ではTSH値がカットオフ値よりも明らかに高くなり、要精検となった。さらに、精検の結果でもTSH値は高く、経過観察されている。このような例は、初回検査での判断によっては見逃す可能性も考えられた。

症例10は、母親がバセドウ病で服薬中であったが母乳を与えており、母乳中止後の検査結果では、TSH 2.49 μ U/mlと低下していた。

症例13は、精密検査実施医療機関から届いた日齢19で採血されたフォローアップ検体でもTSH 9.3 μ U/mlであり、経過観察中のため精密検査結果報告書は未回収となっている。

(3) 先天性副腎過形成症

要精検となったのは15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1および9は、疾患疑いで経過観察中である。

また、症例11および13については、精密検査

実施医療機関と主治医名は把握できているが、主治医からの精密検査結果報告書が未回収の例であり、診断名は不明である。

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[14]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」[15]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28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

表 6. 要精密検査者の検査状況と結果 (1)

疑病名	症例	患者	性別	日齢	検査成績			診断名	
アミノ酸, 有機酸, 脂肪酸代謝異常症	1		男	5	C5	1.31 nmol/ml		異常なし	
				6	C5	1.21 nmol/ml			
	2		男	4	C14:1	0.35 nmol/ml	C14:1/C2	0.0150	異常なし
ガラクトース血症	1		男	5	Gal	1.56 mg/dl	ポイトラー法	正常	Gal-1-p 日齢5:23.5mg/dl, 日齢12:26.2mg/dl 異常なし
				12	Gal	2.10 mg/dl	ポイトラー法	正常	
	2		男	4	Gal	3.57 mg/dl	ポイトラー法	正常	門脈体循環シャント疑い
				10	Gal	3.43 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	10.15 μ U/ml		異常なし	
				15	TSH	15.30 μ U/ml			
	2	*	女	4	TSH	8.95 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				14	TSH	9.29 μ U/ml			
	3	*	男	4	TSH	11.37 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				12	TSH	31.26 μ U/ml			
	4		男	5	TSH	10.98 μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症疑い	
				13	TSH	9.17 μ U/ml			
	5	*	男	5	TSH	11.10 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
				9	TSH	13.37 μ U/ml			
	6	*	女	4	TSH	150.00 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症	
	7		男	5	TSH	9.00 μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症疑い	
				15	TSH	8.68 μ U/ml			
8	*	男	4	TSH	9.41 μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症		
			10	TSH	11.36 μ U/ml				

表6. 要精密検査者の検査状況と結果 (2)

疑病名	症例	患者	性別	日齢	検査成績				診断名
先天性甲状腺機能低下症	9		女	5	TSH	8.41 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症 疑い
				13	TSH	9.19 μ U/ml			
	10		男	5	TSH	13.63 μ U/ml			異常なし (バセドウ病母 体児)
				8	TSH	11.09 μ U/ml			
	11		女	4	TSH	10.46 μ U/ml			異常なし
				8	TSH	11.25 μ U/ml			
	12		女	4	TSH	10.30 μ U/ml			高TSH血症疑い
				13	TSH	9.00 μ U/ml			
	13		男	4	TSH	10.82 μ U/ml			
				9	TSH	9.49 μ U/ml			
先天性副腎過形成症	1		女	6	170HP直接法	8.86 ng/ml	170HP抽出法	4.60 ng/ml	先天性副腎過形成症疑い 出生体重 2,352g
				15	170HP直接法	7.23 ng/ml	170HP抽出法	4.38 ng/ml	
	2		男	5	170HP直接法	47.72 ng/ml	170HP抽出法	24.22 ng/ml	異常なし 出生体重 1,994g
	3		男	5	170HP直接法	6.10 ng/ml	170HP抽出法	4.03 ng/ml	異常なし 出生体重 2,465g
				14	170HP直接法	12.34 ng/ml	170HP抽出法	7.61 ng/ml	
	4		男	5	170HP直接法	18.25 ng/ml	170HP抽出法	13.22 ng/ml	異常なし 出生体重 2,675g
	5		男	5	170HP直接法	7.94 ng/ml	170HP抽出法	4.92 ng/ml	異常なし 出生体重 2,705g
				13	170HP直接法	4.65 ng/ml	170HP抽出法	4.04 ng/ml	
				20	170HP直接法	7.34 ng/ml	170HP抽出法	4.37 ng/ml	
	6		男	4	170HP直接法	20.89 ng/ml	170HP抽出法	11.31 ng/ml	異常なし 出生体重 2,490g
	7		女	5	170HP直接法	3.52 ng/ml	170HP抽出法	ng/ml	異常なし 出生体重 1,216g
				14	170HP直接法	20.69 ng/ml	170HP抽出法	11.18 ng/ml	

表 6. 要精密検査者の検査状況と結果 (3)

疑病名	症例	患者	性別	日齢	検査成績				診断名
先天性副腎過形成症	8		男	5	170HP直接法	16.27 ng/ml	170HP抽出法	11.21 ng/ml	異常なし 出生体重 2,606g
	9		女	5	170HP直接法	7.86 ng/ml	170HP抽出法	5.53 ng/ml	先天性副腎過形成症疑い 出生体重 2,540g
				12	170HP直接法	8.71 ng/ml	170HP抽出法	5.11 ng/ml	
	10		男	5	170HP直接法	6.50 ng/ml	170HP抽出法	4.04 ng/ml	異常なし 出生体重 2,328g
				9	170HP直接法	12.53 ng/ml	170HP抽出法	6.19 ng/ml	
	11		男	4	170HP直接法	5.68 ng/ml	170HP抽出法	4.45 ng/ml	出生体重 3,120g
				11	170HP直接法	10.05 ng/ml	170HP抽出法	5.13 ng/ml	
	12		男	4	170HP直接法	6.65 ng/ml	170HP抽出法	4.05 ng/ml	異常なし 出生体重 3,654g
				8	170HP直接法	8.04 ng/ml	170HP抽出法	5.13 ng/ml	
	13		女	4	170HP直接法	12.35 ng/ml	170HP抽出法	5.26 ng/ml	出生体重 1,967g
				25	170HP直接法	12.31 ng/ml	170HP抽出法	4.43 ng/ml	
				35	170HP直接法	19.47 ng/ml	170HP抽出法	5.84 ng/ml	
	14		女	5	170HP直接法	8.99 ng/ml	170HP抽出法	4.97 ng/ml	異常なし 出生体重 2,644g
				9	170HP直接法	10.89 ng/ml	170HP抽出法	6.18 ng/ml	
	15		男	4	170HP直接法	11.12 ng/ml	170HP抽出法	3.00 ng/ml	異常なし 出生体重 2,838g
7				170HP直接法	17.80 ng/ml	170HP抽出法	3.97 ng/ml		
15				170HP直接法	13.99 ng/ml	170HP抽出法	3.67 ng/ml		

表7. マスクリーニングによる富山県および全国の新患者発見状況

区 分	富 山 県				全 国			
	平成28年度		昭和52年度～平成28年度		平成27年度		昭和52年度～平成27年度	
受検者数	8,030人		422,998人		1,084,468人		47,995,805人	
患者数, 発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率	患者数	発見率
疾患名	(人)		(人)		(人)		(人)	
アミノ酸代謝異常症	0	—	6 ²⁾	1/ 70,500	17	1/ 63,800	958	1/ 50,100
アミノ酸代謝異常症 (2疾患) ¹⁾	0	—	0	— ⁴⁾	3	1/ 361,500	15	1/ 268,800 ⁸⁾
有機酸代謝異常症	0	—	0	— ⁴⁾	44	1/ 24,600	125	1/ 32,300 ⁹⁾
脂肪酸代謝異常症	0	—	1 ³⁾	1/ 25,500 ⁴⁾	16	1/ 67,800	60	1/ 67,200 ⁹⁾
ガラクトース血症	0	—	1	1/ 423,000	13	1/ 83,400	1,257	1/ 38,200
先天性甲状腺機能低下症	5	1/ 1,600	179	1/ 2,200 ⁵⁾	588	1/ 1,800	15,532	1/ 2,900 ⁹⁾
先天性副腎過形成症	0	—	17	1/ 16,400 ⁶⁾	53	1/ 20,500	1,888	1/ 16,900 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28年度 タンデムマス法受検者数 25,510人
- 5) 昭和55年度~平成28年度 受検者数 394,548人
- 6) 平成元年度~平成28年度 受検者数 279,113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27年度 タンデムマス法受検者数 4,031,517人
- 9) 昭和54年度~平成27年度 受検者数 44,622,226人
- 10) 昭和63年度~平成27年度 受検者数 31,997,301人
- 11) 昭和52年度~平成 4年度 受検者数 21,119,892人

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、記入の誤りもなかったとの評価であった。また、QC検体の測定精度にも問題はないと判定された。

考 察

新生児マススクリーニングは開始されてから40年が経過し、平成28年度までには全国で約4,900万人の新生児が受検している。平成26年度に全国すべての自治体でタンデムマス法が導入されたことにより、新生児マススクリーニングの対象疾患は開始当初のおよそ4倍となる19疾患に拡大し、より多くの患者を早期に発見することができるようになり、早期の治療開始で心身障害の発生を防止・軽減が可能となった。そのため、検査の精度保証体制(検査前、検査時、検査後)は、より重要な課題となっている。

検査前の精度保証に関しては、ろ紙血液検体の状態が検査結果に影響するため、適切に採血、保管、郵送されているかどうかをチェックすることが必要である[15]。我々は、ろ紙上の血液の状態と検査結果の関連を調査したところ、血液がろ紙にこすれたような状態でしみこんでいる検体や明らかに何回か重ねて血液をしみこませたと思われ

る検体については、測定値にばらつきが認められた。測定用のディスクを切り出すスポットの部分によっては、偽陰性となる可能性も考えられた。さらに、このような紙上の血液状態がよくない検体が特定の医療機関に集中していることが判明したことから、該当の採血医療機関へは採血および検体の取扱いについての注意喚起を行った。

検査時の精度保証については、適正な検査が実施されているか検証するために、全国規模での外部精度管理、自施設で行う内部精度管理が重要である。内部精度管理としては、新生児検体の分布の確認、再採血率、要精検率の評価、カットオフ値の見直し等であり、花井らが構築した検査データWeb解析システム[16]を利用した内部精度管理方法は、全国の各施設で行われている。

検査後の精度保証については、精密検査の結果の把握、フォローアップであるが、本県では、タンデムマス法導入を契機に新しい新生児マススクリーニング体制が整備されて、スクリーニング陽性例については、各関係機関が連携してサポートしている。

このような精度保証体制が整備された精度の高い新生児マススクリーニング検査を実施することで、母子保健対策に大きく寄与できると考える。

文 献

1. 雇児母発 0331 第 1 号 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知（平成 23 年 3 月 31 日）
2. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 土肥裕美子 (2014). 富山衛研年報, 37, 25-37.
3. 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考 (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21(3), 13-18.
4. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊 (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212.
5. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 石丸敏子 (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32.
6. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三 (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47.
7. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 吉田智子 (2010). 富山衛研年報, 33, 27-39.
8. とやま統計ワールド「人口移動調査」最新結果, 平成 29 年 4 月 1 日現在, http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko170401/jinko170401.html (アクセス可能)
9. 山口清次 (2012). 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q & A 2012, 厚生労働科学研究 (成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) p14.
10. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿 (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 Supplement 2, 73-81.
11. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸荊 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 27 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, 52, 82-85.
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. 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.
15. 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.
16. 花井潤師, 福士 勝, 石毛信之, 田崎隆二, 重松陽介, 山口清次 (2017). 日本マス・スクリーニング学会誌, 27(1), 35-42.

ヒト血液の染色体分析結果（平成28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. 2016 - Mar. 2017)

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

要 旨 平成28年度の血液の染色体分析依頼数は、20件であった。そのうち18件について検査を完了し、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28年度の出生数が7,373人[2]であることから、約44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28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

検体として、血液を受け入れ、染色体核型分析検査に供した。検査依頼を受けた医療機関名および依頼件数を表1に示した。参考までに平成24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。依頼医療機関数は5施設であり、富山赤十字病院からの依頼が7件(35.0%)で最多であった。

平成28年度の受付件数は20件で、内訳は18件が血液、2件が臍帯血であり、受け付けした検体20件中18件で分析を完了した。血液1件、臍帯血1件は検体の状態が悪く分析を完了できなかった。分析を完了できた検体18件中2件(11.1%)に染色体異常が認められた。

検査依頼理由別の依頼件数と異常件数および染

表1. 血液の染色体検査依頼医療機関名、件数

医療機関名	H24	H25	H26	H27	H28
富山赤十字病院	10	6	8	7	7
済生会高岡病院	6	8	2	8	6
富山大学附属病院	1	4	0	1	3
高岡市民病院	0	0	2	0	2
おとぎの森レディースクリニック	0	0	0	0	2
富山市民病院	2	2	4	2	0
厚生連高岡病院	4	0	0	0	0
済生会富山病院	0	0	2	0	0
さたけ産婦人科医院	0	0	2	0	0
高岡市民病院	0	2	0	0	0
レディースクリニックむらた	0	1	0	0	0
計(件)	23	23	20	18	20

平成 29 年 11 月 30 日

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 14 件 (70.0%) は、7 組の夫婦であり、表 3 に示した。染色体異常は 0 件 (0.0%) だった。夫と妻の平均年齢、平均流産回数は、 30.7 ± 4.0 歳、 31.1 ± 4.6 歳、 2.4 ± 0.5 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 7 件あった。2 件は流産胎児、両親ともに正常であった。ほかの 5 件は両親が正常核型であったが、流産胎児は常染色体数的異常が 4 件、常染色体構造異常が 1 件であった。

先天異常疑いによる依頼が 4 件 (20.0%) あり、そのうちダウン症候群疑いによる常染色体数的異常が 1 件、胎児発育障害による常染色体構造異常が 1 件であった。

性染色体異常疑いによる依頼が 2 件 (10.0%) あった。1 件はターナー症候群疑いによる依頼で、染色体異常は確認されなかった。1 件は半陰陽による依頼で、明らかな染色体異常は確認されなかった。

考 察

平成 23 年度までは 60 件程度あった受付件数が平成 24 年度以降は、およそ 1/3 の 20 件程度に減

少した。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 20 件のうち 18 件の分析を完了することができ、2 件は培養不可となる事例があった。この 2 件は同一の患者さんの検体（静脈血、臍帯血）であったが、一方は抗凝固剤としてヘパリンを使用しており、もう一方は EDTA を使用していた。一般に、抗凝固剤として EDTA を用いた場合、血漿が凝集して培養が困難になることがあるが、今回は EDTA 採血だけでなく、ヘパリン採血のほうも凝集を確認した。そのため今回の 2 件の検体については、検体自体に何らかの原因があるとし、分析不可と判断した。

今年度は半陰陽の患者さんの検査依頼があった。半陰陽とは、同一個体に男女両性の特徴をそなえた異常を意味する。一般的に染色体型として、46,XX が 60%，46,XX/46,XY が 12.5%，46,XY が 12.5%，46,XY/46,XXY が 6%，45,X/46,XY が 4%，その他が 5% とされている [5]。当所では昭和 48 年以来 44 年間で、分析数 12 件、そのうち明らかな異常（モザイク型）は 3 件あり、45,X/46,XY と、46,XY/46,XX が確認されている。性の決定と染色体について改めて考えさせられる事例となった。

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 [6]。今年度の検査によると不育症関連 14 件のうち染色体異常

表 2. 検査依頼理由と検査数, 異常数

依頼理由	検査数	異常数	染色体異常の核型
不育症関連	14	0	
反復流産	8	0	
流産原因精査	4	0	
不育症	2	0	
先天異常	4	2	
18トリソミーの疑い	2	0	
ダウン症候群の疑い	1	1	47,XX,+21
胎児発育障害	1	1	46,XY,inv(12)
性染色体異常	2	0	
ターナー症候群の疑い	1	0	
半陰陽	1	0	(46,XY)
計	20	2	

表 3. 不育症関連検体の流産回数と検査件数, 異常数

不育症関連	検査件数	異常数	染色体異常の核型
生児0人流産2回	6	0	
生児1人流産3回	6	0	
生児2人流産2回	2	0	
計	14	0	

は0件(0.0%)だった。今年度は、染色体異常は確認されなかったが、当所での不育症関連の染色体異常は44年間で、分析数1386件のうち、異常数52件で、比率はおよそ3.8%である。

平成28年度は、7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7件中5件に核型の異常が確認され、5組の両親は正常核型であった。流産胎児の染色体検査の場合には、両親の染色体検査も同時に行うことで不育症等の原因究明の一助になると考えられる。

当所における検査依頼理由の中で、不育症関連を主訴としたものが最も多く、平成28年度は依頼理由中の7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、最近では挙児を望むための検査が多くなってきたため、近年の少子化、晩婚化による影響も考えられた。また、習慣流産・不育症の原因究明の一つとして夫婦の染色体異常の検索は必要不可欠になってきている。

不育症等で悩むカップルや染色体異常疑い、これを治療し支えていく医療者サイドの遺伝相談資料として役立つためには、血液の染色体分析実績をさらに積み重ねていく必要がある。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/jinko170401/jinko170401.html (2017年5月1日アクセス可能)
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. 古庄敏行, 外村晶, 清水信義, 北川照男 (1994). 臨床遺伝医学 [II], 228-229, 診断と治療社.
6. 斎藤滋 (2012) 反復・習慣流産 (いわゆる「不育症」) の相談対応マニュアル

流産胎児の染色体分析結果（平成 28 年度）

金田 英亨 高森 亮輔 品川 保弘 上出 功

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2016 - Mar. 2017)

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

要 旨 平成 28 年度の流産胎児関連の染色体検査受付件数は、60 件であった。そのうち 59 件について検査を完了し、38 件に染色体異常を認めた。検査依頼理由は、不育症、反復流産、流産原因精査などがあった。

一般に自然流産胎児の約半数に、あるいはそれ以上の頻度で染色体異常が認められるとされているが、これまでの当所での経験からも同様の結果を得ている [1]。流産胎児の染色体異常の有無を検索することは、当該流産のみならず、習慣性流産、反復流産、不育症といった用語で括られる産科領域の疾患の治療および克服に、少なからず情報をもたらす、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 28 年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

実 施 方 法

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

詳細な方法等は既年報 [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 24 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 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 件となり、平成 28 年度は多少減少し 60 件となった。依頼医療機関数は 8 施設であったが、富山大学附属病院からの依頼が 44 件（73.3%）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				
	H24	H25	H26	H27	H28
富山大学附属病院	29	35	49	42	44
あいARTクリニック	0	4	1	3	4
済生会高岡病院	5	7	2	5	3
富山赤十字病院	3	1	4	3	3
富山県立中央病院	3	3	2	1	2
おとぎの森レディースクリニック	1	1	0	1	2
さたけ産婦人科	0	0	6	1	1
高岡市民病院	0	1	1	0	1
(黒部市民病院)	0	1	0	3	0
(富山市民病院)	0	1	1	2	0
(厚生連高岡病院)	3	1	0	2	0
(市立砺波総合病院)	0	0	1	1	0
(済生会富山病院)	0	0	1	0	0
(吉本レディースクリニック)	1	0	0	0	0
計	45	55	68	64	60

2. 検体の内訳

平成 28 年度の受付件数は 60 件で、53 件は絨毛のみ、7 件は絨毛+臍帯であった。67 検体中 62 検体の分析を完了した。絨毛 1 検体、臍帯 4 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 5 週から 36 週の範囲（1 件は不明）で、もっとも件数の多かったのは 8 週の 15 件（全体の 25.4%）、次いで 9 週の 12 件（20.3%）であった。10 週未満と 10 週以降で 2 等分すると、10 週未満が 37 件（62.7%）、10

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		
不育症	16	1	2	7	5	0	1	0	10	45,X 45,X,inv(9) 45,XY,-21 47,XX,+9 47,XY,+11 47,XY,+15 47,XY,+16 47,XX,+22 69,XXX 46,XX/92,XXXX
反復流産	12	0	9	2	1	0	0	0	11	45,X[2] 46,XX,dup(10)(q22→qter) 46,XY,del(1)(p36.1),add(18)(q23) 47,XX,+4 47,XY,+9 47,XX,+13 47,XY,+15 47,XY,+16 48,XY,+14,+18 48,XXX,+16
流産原因精査	12	5	2	3	2	0	0	0	10	45,X 46,XX,der(13;14)(q10;q10),+14 46,XX/47,XX,+15 47,XY,+3 47,XX,+13 47,XX,+15 47,XX,+16 47,XY,+21 47,XX,+21 47,XX,+22
習慣性流産	9	0	0	5	2	1	1	0	4	47,XY,+16 47,X,inv(X)(p?22.1q13),+15 47,XX,+21 48,XX,+9,+14
胎児発育障害	3	2	0	1	0	0	0	0	1	胎; 48,XY,inv(12),+2,+16、臍; 46,XY,inv(12)
生化学妊娠の既往	1	1	0	0	0	0	0	0	1	47,XX,+21
高齢妊娠	1	0	0	1	0	0	0	0	1	47,XX,+7
胎児水腫	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
奇形疑い	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
NT肥厚、尿細管嚢胞疑い	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
胎盤異常	1	0	0	1	0	0	0	0	0	
18トリソミー疑い	1	1	0	0	0	0	0	0	0	
合計	59	11	13	22	10	1	2	0	38	

依頼件数: 培養不調のために結果の得られなかった1検体を除く

[2]: 同一核型が2件であることを示す

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=37)	異常なし (n=21)	全体 (n=58)
流産回数	2.6±1.2	2.7±1.3	2.7±1.3
母体年齢	36.6±4.7	35.6±4.9	35.6±4.8
在胎週数	9.3±3.9	11.1±6.5	11.1±6.5

*: 結果の得られなかった1検体, 在胎週数記入なしの1検体を除いて集計

週以降が22件(37.3%)であった。10週未満の37件の週数の平均は 8.0 ± 1.0 週、週数不明の1件を除く58件全体の週数の平均は 11.1 ± 6.5 週であった。

4. 流産母体年齢

流産母体年齢の平均は 35.6 ± 4.8 歳であり、最若年齢は22歳、最高年齢は46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59件中38件(64.4%)に染色体異常が認められた。参考までに、当所での流産胎児染色体検査受付件数は、昭和50年以来42年間で756件を数えるが、分析を完了できた検体708件のうち、異常を確認したのは419件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は59.2%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38件の内訳は、数的異常25件、モザイク3件、ターナー症候群4件、構造異常+数的異常2件、倍数体1件、構造異常3件であった。

流産胎児と両親の血液の染色体検査を依頼された例が7件あった。7件中2件は流産胎児、両親ともに正常核型であった。4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件は流産胎児が構造異常であったが、その両親は正常核型であった。

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表3に示した。染色体異常ありの場合、若干ではあるが、母体年齢が高く、在胎週数が短かった。全体をみても、母体平均年齢は35歳を過ぎており、高齢妊娠の患者さんほど流産の可能性が高くなると推測された。

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 件となり、平成 28 年度は多少減少し 60 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が大半を占めた。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てい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 28 年度は、7 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 7 件中 5 件に核型の異常が確認され、5 件全ての両親は正常核型であった。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。

今年度は培養不可により核型分析できなかった検体が 1 件あった。そのためこの検体以降の培養

では、シャーレ 2 つを 1 組とし、2 組を処理する方法を取り入れた。これにより培養能力に乏しい検体で、十分な培養に達していなくても分析が可能になり、分析不可な検体を減らし、標本作製にかかる日数を短縮することが可能になった。しかし、十分な培養ができていないため分析に困難な標本になること、シャーレを混合することによるモザイク型が発生しやすくなること等が考えられる。より分析しやすく、確実に培養できる方法を検討しなければならない。

検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を少しでも短縮することは、この業務に携わるうえでの重要な課題である。また、流産胎児由来細胞では血液リンパ球や羊水細胞の場合と比較して、分析が容易な染色体標本がコンスタントに作成できているとは未だに言いがたい。培養技術、標本作成技術のみがくことで、核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化が実現されるものと思われる。

文 献

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

羊水細胞の染色体分析結果（平成 28 年度）

高森 亮輔 品川 保弘 金田 英亨 上出 功

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2016 – Mar. 2017)

Ryosuke TAKAMORI, Yasuhiro SHINAGAWA, Hideaki KANEDA
and Isao KAMIDE

要 旨 平成 28 年度の羊水の染色体検査受付件数は 91 件で、そのうちの 4 件に染色体異常を認めた。主な検査依頼理由は、高齢妊娠、NT 肥厚であった。

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 42 年間で、2,639 件の検体を対象として検査を実施してきたが、平成 28 年度に受け付けた羊水検体 91 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 28 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 91 件の検査依頼を受け、月平均は約 7 件であった。参考までに、平成 25 年度から平成 27 年度までに検査依頼のあったすべての医療機関名と依頼件数も示した。

依頼医療機関数は 10 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 7 施設、産科医院 13 施設中 3 施設であった。依頼件数がかつても多かったのは県立中央病院 29 件（31.9%）で、次いで厚生連高岡病院 18 件（19.8%）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 56 件で最も多く、全体の 61.5% を占めた。次いで 17 週 22 件、15 週 10 件であり、

表 1. 医療機関別検査依頼件数（H25～28）

医療機関名	件数			
	H28	H27	H26	H25
県立中央病院	29	66	42	43
厚生連高岡病院	18	19	34	15
富山赤十字病院	13	27	10	13
富山市民病院	10	13	21	18
済生会高岡病院	8	7	6	5
さたけ産婦人科	4	10	8	4
おとぎの森レディースクリニック	4	7	15	7
富山大学附属病院	2	6	7	3
レディースクリニックむらた	2	0	1	1
済生会富山病院	1	1	2	0
(砺波総合病院)	0	1	2	5
(高岡市民病院)	0	1	0	1
(八尾総合病院)	0	0	1	0
(黒部市民病院)	0	0	0	8
計	91	158	149	123

平成 29 年 11 月 30 日

この三週での合計 88 件は全体の 96.7%を占めた。最短は 15 週、最長は 29 週であった。

母体年齢別の検査依頼件数を表 3 に示した。42 歳での依頼が 12 件で最も多く、最低年齢は 22 歳、最高年齢は 43 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 48 件で、全体の 52.7%を占めていた。35 歳以上全体では 71 件で、全体の 78.0%であった。なお、羊水検体受け付けの際に添付される染色体検査依頼書で、検査依頼理由欄に高齢妊娠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。

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 71 件で、全体の 78.0%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 13 件で、全体の 14.3%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 0 件、35 歳以上で 3 件、計 3 件であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体 91 件中 4 件 (4.4%) であった。高齢妊娠、つまり 35 歳以上での検査依頼 71 件のうち 2 件 (2.8%) に異常を認めた。

胎児異常疑いを主訴とする依頼 4 件 (35 歳以上 2 件、35 歳未満 2 件) 中 2 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 13 件 (35 歳以上 2 件、35 歳未満 11 件) であったが、そのうち 2 件 (15.4%) に核型異常を確認した。

母体血液を用いたトリプルマーカーテスト (TM) の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が 6 件 (35 歳以上 5 件、35 歳未満 1 件) があった。

平成 28 年度に判定した異常核型 4 件の内訳は、常染色体の数的異常 3 件 (18 トリソミー：2 件、21 トリソミー：1 件)、性染色体の数的異常 1 件 (45,X：1 件) であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表 5 に示した。各検体から準備されたシャーレ 2 枚を用いて、標本作製は 2 回ずつ行われたが、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 52 件 (57.1%) であった。2 回目の標本作製のピークは培養 12 日目であり、この日を含む前後 3 日間の総数は、40 件 (44.0%) であった。平均培養日数は、標本作製 1 回目が 11.2 ± 2.1 日、2 回目が 11.6 ± 2.2 日であった。

検体受入から、培養、標本作製、顕微鏡下での観察、写真撮影、核型分析を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を、表 6 に示した。最短で 10 日、最長で 20 日、平均は 14.5 ± 2.3 日であった。

以上、平成 28 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 28 年度の検査依頼件数 91 件は、平成 27 年度の 158 件から 67 件減少した。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減少が顕著であった。

県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠数自体も微減傾向にあると推測される。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 [4]。今年度の検

表 2. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	15	16	17	...	26	...	28	29	合計
件数	10	56	22		1		1	1	91

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	22	*	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	合計
件数	1	*	1	2	1	1	2	4	2	3	3	8	7	9	9	6	9	8	12	3	91
	5(5.5%)			15(16.5%)				48(52.7%)					23(25.3%)								
	20(22.0%)										71(78.0%)										

表4. 検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
高齢妊娠	71	2	
高齢妊娠	59	0	
TMで染色体異常疑い	5	0	
染色体異常児出産歴	3	0	
NT肥厚	2	0	
胎児染色体異常疑い	2	2	47,XX,+18
NT肥厚	11	2	45,X 47,XY,+21
本人希望	6	0	
胎児染色体異常疑い	2	0	
TMで染色体異常疑い	1	0	
計	91	4	

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	8日	9日	10日	11日	12日	13日	14日	15日	16日	17日	18日	19日	合計	平均日数
1回目	6	14	20	18	10	11	5	4	2	0	0	1	91	11.2±2.1
2回目	5	10	18	11	19	10	8	6	2	1	0	1	91	11.6±2.2

表6. 検査全工程所要日数別件数

日数	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	計
件数	2	12	7	3	19	18	16	7	2	2	3	91

査依頼件数が100件台を下回り大幅に減少した詳細は不明であるが、平成29年1月から富山大学附属病院で開始された新型出生前診断[5]等が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50%、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91件のすべてについて検査を完了し、4件に異常を見出したが、35歳以上71件中の異常核型判定件数は2件(2.8%)、35歳未満20件中の異常核型判定件数は2件(10.0%)であった。

35歳以上での検査依頼71件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは59件であり、それ以外の12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28年度は0件であり、NT肥厚その他の依頼理由が付随した場合には2件(16.7%)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15.4%(2/13)であったが、35歳以上で0%(0/2)、35歳未満で18.2%(2/11)であった。

NTに関して、学会のガイドラインには、「NT肥厚と胎児形態異常とは関連がある(NT肥厚が確認された児では染色体異常や心形態異常頻度が高い)」と明記されているが、正確な判定には、測定された状況が重要であることも記されている[6]。NT測定は妊娠11週0日から13週6日の間に実施するよう推奨されているが、NT肥厚を主訴とした13検体のうち、9検体は測定週日の記載がなく、記載のあった4検体は、推奨された期間内に測定が行われていた。依頼理由としてのNT肥厚と染色体異常との相関について考察する

平成 29 年 11 月 30 日

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 28 年度に判定した異常核型 4 件の内訳は、18 番染色体トリソミー 2 件、21 番染色体トリソミー 1 件、性染色体の数的異常 1 件 (45,X) 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 12 日であった。全検体の平均培養日数は 1 回目が 11.2 日、2 回目が 11.6 日で、平成 25 年度から 27 年度までの 3 年分のデータ (1 回目：9.8 日、10.3 日、9.9 日、2 回目：11.2 日、11.3 日、10.5 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、検体受け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 28 年度の羊水検体 91 件について、その全工程所要日数の平均は、 14.5 ± 2.3 日であった。過去 3 年間については、平成 27 年度 15.4 ± 2.4 日、平成 26 年度 16.6 ± 2.4 日、平成 25 年度 17.8 ± 2.8 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 年度に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、流産胎児絨毛ではおよそ 10 日程度要する。平成 27 年度の羊水では、1 回目 11.2 日、2 回目 11.6 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、検体受け入れから培養、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 [7] 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. 富山県厚生部健康課 (2016) 母子保健の現況, 11.
5. <http://www.hosp.u-toyama.ac.jp/guide/news/news161221.html>
6. 公益社団法人日本産科婦人科学会・公益社団法人日本産婦人科医会 (2014) 産婦人科診療ガイドライン-産科編 2014, 89.
7. 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28年度)

稲崎 倫子 名古屋真弓 森岡 誠二¹ 青柳由美子
長谷川澄代 米田 哲也 佐賀由美子 板持 雅恵
稲畑 良 小淵 正次

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016

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

要旨 平成28年4月から29年3月までの1年間に検査したウイルス性感染性胃腸炎の集団発生事例および散発例についてまとめた。

当所および富山市保健所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生14事例からウイルスが検出された。発生時期は平成28年11月～12月が多く、平成29年1月～3月は少なかった。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11事例、NoV GIが2事例、NoV GIとGIIの混合が1事例であった。カキの喫食があった事例が2件あった。カキと関連のない食中毒事例1件は、感染者により食品が汚染されることによって発生したと考えられた。

NoVの遺伝子型は、集団発生では平成28年4月～9月までは様々な型が検出されたのに対し、11月以降はGII.2が主流となった。散発例ではGII.2, GII.3, GII.4が検出された。

ウイルス性の感染性胃腸炎や食中毒の集団発生は、主に冬季に多発し、ノロウイルス (NoV)、ロタウイルス、サポウイルス、アデノウイルスなどが原因ウイルスとなる。この中でも発生が多いのはNoVで、厚生労働省の食中毒統計 [1] では、患者数が最も多い。一方、小児の散発例では、NoVとともにロタウイルス A 群の占める割合が多い [2]。

NoVは、冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり、乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する [3]。ヒトに感染するNoVは主にGenogroup I (GI) とGenogroup II (GII) に分けられる。さらに、それぞれが複数の遺伝子型に分類される [4-7]。

NoVはヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄される。吐物には1gあたり $10^3 \sim 10^6$ 個、糞便には 10^9 個ものNoVが含まれている [8]。

NoVは、感染者から2週間以上にわたり排泄され [9,10]、環境中でも長期間感染性を維持するとされる。100個以下で感染・発病させるといわれている [11] ため、調理従事者が感染すると、その手指を介して食品がNoVで汚染され、集団食中毒を引き起こすことがある。また、ヒトから排泄されたNoVは、海に入り、カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積されるため [12]、二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方、NoVは食中毒のみならず、ヒトからヒトへ手指等を介して感染し、散発例、集団発生なども引き起こしている。

近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどがNoVによるものであるため [2,13-21]、主にNoVを対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例および散発例の調査を実施した。

1. 富山市保健所

材 料 と 方 法

1. 集団発生事例

平成 28 年 4 月～29 年 3 月までに当所および富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした。検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

2. 散発例

平成 28 年 4 月～29 年 3 月までに当所で受け付けた散発例を対象とした。検体採取は各定点医療機関および管轄厚生センターが実施した。

3. ウイルスの検出

厚生労働省通知 [22] に準じ、糞便からの RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応および PCR を行った。NoV の検出は、リアルタイム RT-PCR 法および RT-PCR 法を行った。PCR 産物から、ダイレクトシーケンシング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 の増幅領域を用いて、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 [23] 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 28 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、9 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 14 事例の概要を表 1 に示す。原因ウイルスの内訳は NoV GII が 11 事例、NoV GI

が 2 事例、NoV GI と GII の混合が 1 事例であった。NoV の遺伝子型は、GII.2 が 6 事例、GII.4 が 2 事例、GI.3, GI.6, GII.3, GII.6, GI.4+GII.17, GII.6+GII.17 がそれぞれ 1 事例であった。4 月～9 月までは GII.4, GII.6, GII.17 をはじめとした様々な型が検出されたのに対し、11 月～平成 29 年 1 月には GII.2 が主流となった。カキの喫食に関連した事例は 2 件 (No.7, 13) あったが、いずれも食中毒とは判断されず、因果関係は不明であった。その他の食品が原因と疑われた食中毒事例は 1 件 (No.10) あり、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 5 事例、家庭内が 2 事例、学校が 2 事例であり、事業所、寮、講習会、宿泊施設、福祉施設が各 1 事例であった。前年度に引き続き飲食施設における発生が多かった。

3. 月別発生事例数 (図 2)

月別では、過去 5 年間と比較すると 11 月～12 月の発生数が平成 24 年度に次いで多く、例年発生の多い 1 月～3 月は 1 件にとどまった。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 [24]。GII.2, GII.3 が各 2 症例、GII.4 が 1 症例から検出され、GII.4 が最も多かった平成 27 年度 [21] とは発生状況が異なっていた。GII.2 の検出時期は 2 症例とも 12 月であり、集団発生事例 (表 1) と

表 1. 平成 28 年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例No.	発生月	発生/原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源
1	平成28年 4月	事業所	7	NoV GII.4	不明 *
2	4月	家庭内	2	NoV GII.3	不明
3	5月	小学校	38	NoV GI.6	不明 *
4	5月	家庭内	2	NoV GI.3	不明
5	6月	学生寮	7	NoV GII.6、GII.17	不明
6	6月	高校	11	NoV GII.4	不明
7	9月	講習会	9	NoV GI.4、GII.17	不明 **
8	11月	飲食店	6	NoV GII.2	不明 **
9	11月	飲食店	3	NoV GII.2	不明 **
10	11月	民宿	10	NoV GII.6	食品 **
11	12月	飲食店 県外	5	NoV GII.2	不明 *
12	12月	飲食店 県外	40	NoV GII.2	不明 *
13	12月	飲食店	3	NoV GII.2	不明
14	平成29年 1月	福祉施設	41	NoV GII.2	不明 *

*富山市保健所にて検査

**当所および富山市保健所にて検査

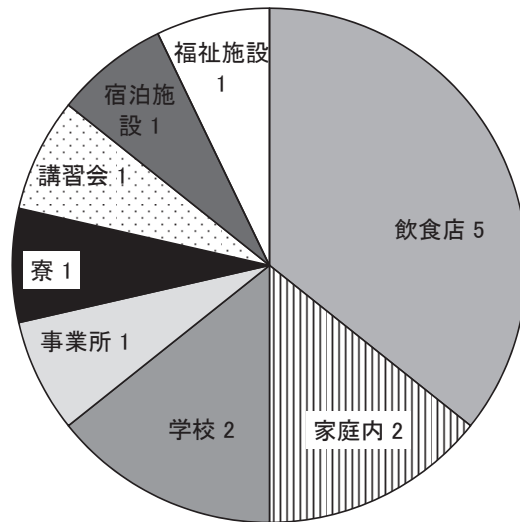


図1. 集団発生事例の施設別発生数

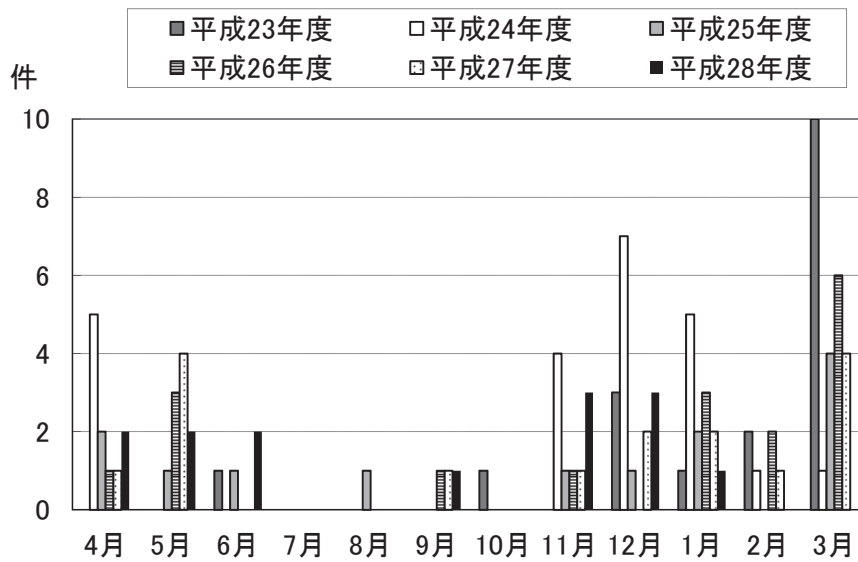


図2. 年度ごとの月別発生数

表2. 平成28年度の胃腸炎散発例からのノロウイルスの検出状況

検出月	NoV型別			計
	GII.2	GII.3	GII.4	
平成28年 4月		1		1
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	2			2
平成29年 1月				0
2月				0
3月				0
計	2	2	1	5

*アデノウイルス2型との混合感染

平成 29 年 11 月 30 日

検出時期が一致していた。

5. NoV の系統樹解析 (図 3)

単一の遺伝子型が原因と考えられた事例のうち、複数の検体から NoV が得られた事例は 12 件あり、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.1, 2, 3, 4, 8, 9, 12, 13, 14) 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 No.10 では患者 1 名の塩基配列の一部が解読できなかったものの、その他の患者と従業員 1 名から塩基配列の 100% 一致する NoV が検出されており、この従業員は事例の感染源であったか、患者と同一感染源から感染した可能性が考えられた。事例 3 では 2 検体から GII.6 が、1 検体から GII.17 が検出されており、複数の感染経路があった可能性が示唆された [25]。事例 7 では 1 検体から複数の遺伝子群の NoV が検出された。当該患者は加熱カキを喫食していたことから、カキに含まれた複数の遺伝子群の NoV に感染した可能性が考えられた。

NoV GII.2 は、平成 28 年 11 月以降の NoV の検出遺伝子型の多数を占め、この遺伝子型の流行が 11 月から 12 月にかけての胃腸炎事例の多発に関与したと考えられた。NoV GII.2 はこれまで県内において流行の主流遺伝子型とはならず、平成 24 年 4 月に発生した集団事例からの検出を最後に平成 27 年度まで確認されていなかった [18-21]。これより、この遺伝子型に免疫を持たない集団が増加していると考えられるため、引き続き発生状況に注意していく必要がある。

平成 27 年度に検出数の多かった GII.17 や GII.4 は、平成 28 年度にも検出数は少ないながらも確認された。GII.17 の株はいずれも GII.17 変異株 (GII.P17-GII.17, 参考株: Kawasaki323/2014/JP, accession no. AB983218) [26] に近縁であり、GII.4 の株はいずれも Sydney 2012 亜型 (参考株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908 に近縁の株) [27] に分類された。この傾向は平成 27 年度の結果 [21] と類似していた。

ま と め

平成 28 年 4 月から 29 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、14 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、NoV GII が 12 事例 (1 事例は GI との混合) と大部分を占めた。

食品を介した感染では、カキ喫食関連事例が 2 件、従業員等によって汚染された食品が感染源として推定された事例が 1 件あった。

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

謝 辞

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

文 献

1. 厚生労働省: 食中毒統計資料. http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (2017 年 7 月 4 日アクセス可能)
2. 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
3. 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).
4. Ando, T., Noel, J. S., Fankhauser, L. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
5. Vinjé, J., Green, J., Lewis, D. C., Gallimore, C. I., Brown, D. W., Koopmans, M. P. (2000). Arch. Virol., 145, 223-241
6. Kawamoto, H., Yamazaki, K., Utagawa, E., Ohyama, T. (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
7. 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
8. 西尾 治, 新川奈緒美 (2002). 日本医事新報, 4105, 6-9
9. 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
10. 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
11. Glass, R. I., Noel, J., Ando, T., Fankhauser, R.,

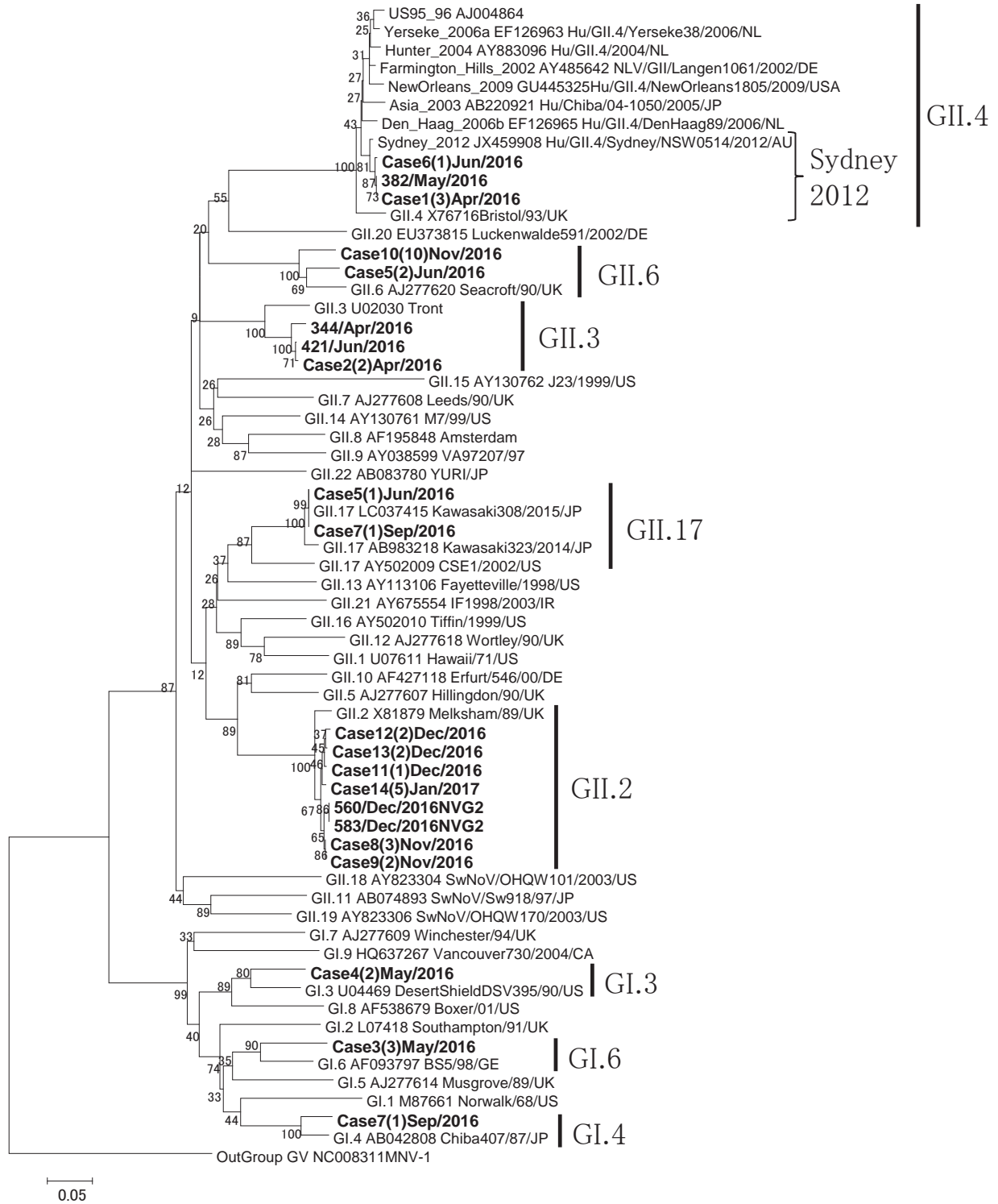


図3. 平成 28 年度に得られたノロウイルスの系統樹

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

- Belliot, G., Mounts, A., Parashar, U. D., Bress, J. S., Monroe, S. S. (2000). *J. Infect. Dis.*, 181, S254-261
12. 染谷雄一 (2000). *ウイルス*, 50, 173-184
 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 (2008). *富山衛研年報*, 31, 104-110
 14. 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
 15. 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
 16. 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
 17. 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
 18. 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
 19. 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
 20. 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
 21. 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, 小渕正次, 滝澤剛則 (2016). *富山衛研年報*, 39, 47-52
 22. 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.
 23. 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> (2017 年 7 月 4 日アクセス可能)
 24. 板持雅恵, 米田哲也, 稲崎倫子, 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲畑 良, 青柳由美子, 長谷川澄代, 小渕正次 (2017). *富山衛研年報*, 40, 101-103
 25. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 米田哲也, 佐賀由美子, 板持雅恵, 稲畑 良, 小渕正次, 三井千恵子, 新保孝治, 加納紅代 (2017). *病原微生物検出状況 (IASR)*, 38 : 443, 8-9.
 26. 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.
 27. van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet (2013). *Euro Surveill.*, 18(1), 8-9.

環境水中のウイルス濃縮に用いるフィルター吸着溶出法における 溶出液の検討

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

Viral Load in eluate of Filter Adsorption and Elution Method
in Environmental Surveillance

Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA,
Yumiko SAGA, Takenori TAKIZAWA, and Masatsugu OBUCHI

要 旨 不顕性感染を含めた地域住民の腸管系ウイルス感染状況を把握することを目的に、各地で環境サーベイランスが実施されている。環境水中のウイルスを「フィルター吸着溶出法」により濃縮する際に用いる溶出液によっては細胞培養法とPCR法で検出感度が異なる可能性があるため、ウイルス溶出液を検討した。下水流入水および生理食塩水に添加したポリオウイルス1型およびコクサッキーウイルスB1型をフィルターに吸着させ、3% Beef Extract 溶液、または 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液中でボルテックスミキサーにより約1分間攪拌したところ、細胞培養法ではそれぞれ31.9%～90.9%、18.3%～62.6%、リアルタイムPCR法ではそれぞれ18.4%～76.1%、3.9%～79.7%のウイルスが回収された。2016～2017年の下水流入水ウイルス調査でも両溶出液は同様のウイルス分離・検出状況を示したことから、細胞培養法、及びPCR法・リアルタイムPCR法のいずれにも使用可能と考えられた。

下水流入水を対象とした環境水ウイルス調査は、地域住民のポリオウイルス等の腸管系ウイルス感染状況を把握するために国内や世界各地で実施されている。特に、小児麻痺（ポリオ）の原因であるポリオウイルスを、世界中から根絶させることを目標として、世界保健機関（WHO）の主導によりAFPサーベイランス（急性弛緩性麻痺患者の報告とウイルス検査）、及びワクチン接種の促進とともに環境サーベイランスが推進されている。ポリオウイルスは麻痺発症率が0.1～1%と低く、不顕性感染例が多い[1]。不顕性感染であっても、腸管で増殖したポリオウイルスは、糞便中に排泄されるため、患者が報告されていない地域でも下水流入水からワクチン由来ポリオウイルスや野生株が検出されることがある[2,3]。そのため、下水流入水を対象とした環境サーベイランスによるポリオウイルスの監視は重要である。

環境水からのポリオウイルス検出方法には、「フィルター吸着溶出法」、ポリエチレングリコール[4]やガラスビーズ[5]を用いる方法、two-phase separation method[6]等、種々の方法があ

り、「フィルター吸着溶出法」はウイルス検出感度が高いことが報告されている[7,8,9]。「フィルター吸着溶出法」に用いるウイルス溶出液は、ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアルではビーフエキストラクトが用いられており[10]、我々は、細胞培養法を用いたウイルス分離では、ビーフエキストラクトを溶出液に用いた場合に高いウイルス回収率が得られることを報告している[7,9]。一方、溶出液から直接PCR法や次世代シーケンサーによりウイルス遺伝子を検出する場合にはビーフエキストラクトがウイルス検出を阻害する可能性が考えられる。フィルター吸着溶出法においてビーフエキストラクトを用いず、 1×10^{-3} N 水酸化ナトリウムを用いてウイルスを溶出する方法はPCRによるノロウイルス及びエンテロウイルスの検出例[11]が報告されているが、細胞培養法による検出感度は不明である。そこで、本研究では溶出液にビーフエキストラクトを用いて溶出する場合と 1×10^{-3} N 水酸化ナトリウムを用いて溶出する場合とで、細胞培養法とリアルタイムPCR法によるウイルス回収量を比較検討した。

材 料 と 方 法

1. ウイルス添加実験によるフィルター吸着溶出法の溶出液別のウイルス回収量の測定

10mL の 0.05M $MgCl_2$ (pH3.5) を含む生理食塩水または 121°C 20 分間高圧蒸気滅菌した下水流入水中に、ポリオウイルス 1 型 (Polio1) Sabin 株またはコクサッキーウイルス B1 型 (CB1) を約 10^4 TCID₅₀/25 μ L となるように加え、陰電荷膜 (Mixed ester type cellulose フィルター) (直径 47mm, ポアサイズ 0.45 μ m, ADVANTEC) に吸着させた。次いで陰電荷膜を細断し、50mL のプラスチックチューブ中で 10ml の 3% ビーフエキストラクト溶液 (pH7.4) または 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液 (pH9) [11] 中に浸して、0 分、30 秒、1 分 30 秒、2 分、2 分 30 秒、5 分間ボルテックスミキサーにより攪拌して、ウイルスを溶出させた。各条件を 3 回ずつ測定した。

マイクロタイター法によるウイルス定量は、Polio1 では RD-18S 細胞、CB1 では MA104 細胞を用いて行い、ウイルス接種後 7 日目の CPE によって TCID₅₀/25 μ L を算出した。リアルタイム PCR 法によるウイルス定量は、Katayama らの方法 [11] を用いた。

2. 下水流入水の採取と濃縮

2016 年 4 月～2017 年 3 月の間に、県内の 1 下水処理場において、月 1 回下水流入水を 2L 採取した。

下水流入水は、3000rpm、30 分間遠心し上清を回収後、遠心上清 1L に $MgCl_2$ を最終濃度 0.05M となるように加え、さらに 0.5N HCl を加えて pH3.5 に調整し、前述の陰電荷膜 (直径 142mm) に加圧ろ過することによりウイルスを吸着させた。前述と同様に陰電荷膜を細断し、3% ビーフエキストラクト溶液 10mL または 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液 10mL を添加してボルテックスミキサーで 1 分間攪拌することによりウイルスを溶出した。溶出液を回収し、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液による溶出液には $100 \times$ TE バッファ 100 μ L と 0.1N 硫酸 50 μ L を加えた。ポアサイズ 0.45 μ m のフィルターに濾過して雑菌を除いたものを、ウイルス検査材料とした (1 番溶出液)。同様の溶出操作を繰り返し、2 番溶出液を得た。

3. ウイルス分離

下水流入水の濃縮液を 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)、細胞変性効果やヒト O 型血球との凝集性を指標としてウイルスを分離した。分離株は、エンテロウイルス、アデノウイルス、レオウイルス抗血清 (国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研、自家製) を用いた中和試験あるいは赤血球凝集抑制試験により同定した。

4. ノロウイルス、サポウイルスの検出

下水流入水の濃縮液から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて、RNA を抽出した。抽出 RNA は DNase 処理後、ランダムヘキサマーおよび Super Script III Reverse Transcriptase (Invitrogen) を加え、逆転写反応で cDNA を作製した。cDNA はプライマーを加え、ExTaq (TaKaRa) を用いて PCR を行った [12, 13]。またノロウイルス GII について、ABI7500 によりリアルタイム PCR を行った [14]。

結 果

1. ウイルス添加実験によるフィルター吸着溶出法の溶出液別のウイルス回収率

表 1 に、「フィルター吸着溶出法」による Polio1 および CB1 の溶出液ごとのウイルス回収率を示した。生理食塩水中および下水流入水中の Polio1 と CB1 は、3% ビーフエキストラクトを用いた場合では、ボルテックスミキサー 1 分間の攪拌により細胞培養法で 31.9%～90.9% のウイルスが回収された (表 1A)。 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合では、上記の条件でウイルス回収率 18.3%～62.6% であった (表 1B)。リアルタイム PCR 法によるウイルス遺伝子の回収量を定量したところ、ボルテックスミキサー 1 分間の攪拌で溶出液に 3% ビーフエキストラクト溶液、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合のウイルス遺伝子回収率は、それぞれ 18.4%～76.1%、3.9%～79.7% であった (表 1C, 1D)。Polio1 を生理食塩水に添加し、溶出液に 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合に、ボルテックスミキサーによる攪拌が 1 分から 2 分で、ウイルス回収率が細胞培養法では 18.3% から 47.2% に、リアルタイム PCR 法では 3.9% から 15.2% にそれぞれ上昇した。その他の条件では 1 分以上の攪拌を行った場合も、ウイルス回収量に大きな差はみられなかった。Polio1 と CB1 を生理食塩水または下水流入水に添加したいずれの場

合も、3% ビーフエキストラクト溶液中のウイルス回収量は、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合とほぼ同等であった。

2. フィルター吸着溶出法の溶出液別の下水流入水からのウイルス検出

2016年4月から2017年3月の調査において、細胞培養法、及びPCR法・リアルタイムPCR法により下水流入水から検出されたウイルスを図1に示す。溶出液に3% ビーフエキストラクト溶液、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いたいずれの場合も、CB5、エコーウイルス3型(Echo3)、Echo6、Echo18、Echo25、レオウイルス2型(Reo2)が分離された。アデノウイルス2型(Adeno2)は溶出液に3% ビーフエキストラクト溶液を用いた場合のみ分離された(図1A, 1B)。

PCR法では、溶出液に3% ビーフエキストラクト溶液、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いたいずれの場合も、エンテロウイルス遺伝子は検出されなかったため、ノロウイルス及びサポウイルスのPCR法を行ったところ、ノロウイルス(NoV) Genogroup (G) I.4, GI.6, GII.2, GII.3, GII.4, GII.17が検出された。NoV GI.3, サポウイルス(SaV) GI.1は溶出液に 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合のみ検出された(図1C, 1D)。溶出液中のノロウイルスGIIのリアルタイムPCRによる定量では、3% ビーフエキストラクト溶液、 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を溶出液に用いた場合で4~10月が $10^4 \sim 10^5$ copy/Lと少なく、11~3月の冬期に $10^5 \sim 10^7$ copy/Lと多い、両方法で同様のウイルス量の増減を示した(図1C, 1D)。

溶出液に3% ビーフエキストラクト溶液、または 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液を用いた場合のウイルス検出結果の一致率(ウイルス検査陽性及び陰性結果が一致した調査月数×項目数/調査月数×項目数)は、90.0%(162/180)であった。

考 察

本調査では、環境水中のウイルスを細胞培養法とPCR法で感度よく検出するために、「フィルター吸着溶出法」のウイルス溶出液を検討した。ウイルス添加実験では、下水流入水および生理食塩水中のポリオウイルス1型およびコクサッキーウイルスB1型を吸着させたフィルターを、3% Beef Extract 溶液、または 1.0×10^{-3} N 水酸

化ナトリウム溶液中でボルテックスミキサーにより約1分間攪拌することで、細胞培養法ではそれぞれ31.9%~90.9%、18.3%~62.6%、リアルタイムPCR法ではそれぞれ18.4%~76.1%、3.9%~79.7%のウイルスが回収され、高い回収率が得られた。ボルテックスミキサーによる攪拌は1~2分間で回収率は上限に達したとみられた。

2016年4月から2017年3月の下水流入水の調査では、溶出液に 1.0×10^{-3} N 水酸化ナトリウム溶液(10mL)を用いた場合には溶出後に100×TEバッファー100μLと0.1N硫酸50μLを加えたが、3% ビーフエキストラクト溶液を用いた場合と同様のウイルス分離・検出状況であり、細胞培養法、及びPCR法・リアルタイムPCR法のいずれの方法も使用可能と考えられた。

先行研究ではポリオウイルスは、0.05M MgCl₂(pH3.5)では、ほぼ100%、陰電荷フィルターに吸着することが確認されている[7]。フィルターからの溶出率を高め、ウイルスを安定的に保存することが、ウイルス検査に求められる。

謝 辞

本調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました富山県都市計画課、及び富山県下水道公社の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 宮村達夫, 日本医師会編(1999). 感染症の診断・治療ガイドライン, 64-65
2. Zurbriggen S, Tobler K, Abril C et al. (2008). Appl. Environ. Microbiol. 74, 5608-5614
3. Roivainen M, Blomqvist S, Al-Hello H et al. (2010). Euro. Surveill. 15, pii/19566. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19566>
4. Lewis GD, Metcalf TG (1988). Appl. Environ. Microbiol. 54, 1983-1988
5. Gantzer C, Senouci S, Maul A et al. (1997). J. Virol. Methods 65, 265-271
6. World Health Organization. Dept. of Vaccines and Biologicals. 2003. Guidelines for environmental surveillance of poliovirus circulation. http://whqlibdoc.who.int/hq/2003/WHO_V&B_03.03.pdf
7. Matsuura K, Hasegawa S, Nakayama, T, et

平成 29 年 11 月 30 日

- al. (1984). *Microbiol. Immunol.* 28, 575-588
8. Iwai, M, Hasegawa S, Obara M, et al. (2009). *Appl Environ Microbiol.* 75, 1264-1270
9. 板持雅恵 (2009). 厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業『ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討』平成 20 年度総括・分担研究報告書, 31-38
10. 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
11. Katayama H, Shimasaki A, Ohgaki S. (2002) *Appl Environ Microbiol.* 68, 1033-1039
12. Kojima S, Kageyama T, Fukushi S, et al. (2002). *J. Virol. Methods.*, 100, 107-114
13. Okada M, Shinozaki K, Ogawa T, et al. (2002). *Arch. Virol.*, 147, 1445-1451
14. Kageyama, T, Kojima S, Shinohara M, et al. (2003). *J. Clin. Microbiol.* 41, 1548-1557

表1. フィルター吸着溶出法による溶出液別の Polio1 および CB1 の回収率

A. マイクロタイター法(溶出液:3%ビーフエキストラクト)

混合時間 (min)	Polio1/生食		Polio1/下水		CB1/生食		CB1/下水	
	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)
Input	6.76×10^3		1.00×10^4		7.50×10^2		4.22×10^3	
0	6.81×10^2	(10.1%)	1.47×10^3	(14.7%)	1.78×10^2	(23.7%)	2.61×10^2	(6.2%)
0.5	2.61×10^3	(38.6%)	4.64×10^3	(46.4%)	8.25×10^2	(110.1%)	2.15×10^3	(51.1%)
1	2.15×10^3	(31.9%)	5.62×10^3	(56.2%)	6.81×10^2	(90.9%)	1.47×10^3	(34.8%)
1.5	1.47×10^3	(21.7%)	5.62×10^3	(56.2%)	8.25×10^2	(110.1%)	1.47×10^3	(34.8%)
2	6.81×10^3	(100.8%)	5.62×10^3	(56.2%)	8.25×10^2	(110.1%)	1.47×10^3	(34.8%)
2.5	3.83×10^3	(56.7%)	3.83×10^3	(38.3%)	1.21×10^3	(161.6%)	1.47×10^3	(34.8%)
5	6.81×10^3	(100.8%)	4.64×10^3	(46.4%)	1.00×10^3	(133.4%)	1.21×10^3	(28.7%)

B. マイクロタイター法(溶出液:1.0 $\times 10^{-3}$ N水酸化ナトリウム)

混合時間 (min)	Polio1/生食		Polio1/下水		CB1/生食		CB1/下水	
	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)	TCID ₅₀ /25 μ L	回収率(%)
Input	3.16×10^3		5.62×10^3		1.00×10^2		3.16×10^2	
0	8.50×10^0	(0.27%)	1.27×10^2	(2.3%)	1.00×10^0	(1.0%)	1.22×10^1	(3.9%)
0.5	1.72×10^2	(5.44%)	1.72×10^3	(30.6%)	1.00×10^2	(100%)	7.08×10^1	(22.4%)
1	5.80×10^2	(18.3%)	2.25×10^3	(40.0%)	6.26×10^1	(62.6%)	6.26×10^1	(19.8%)
1.5	6.26×10^2	(19.8%)	2.23×10^3	(39.8%)	7.08×10^1	(70.8%)	1.57×10^2	(49.8%)
2	1.49×10^3	(47.2%)	1.67×10^3	(29.6%)	62.6×10^1	(62.6%)	7.08×10^1	(22.4%)
2.5	1.78×10^3	(56.2%)	4.80×10^3	(85.4%)	8.54×10^1	(85.4%)	1.11×10^2	(35.2%)
5	1.26×10^3	(39.8%)	1.98×10^3	(35.2%)	7.08×10^1	(70.8%)	1.98×10^2	(62.6%)

C. リアルタイムPCR法(溶出液:3%ビーフエキストラクト)

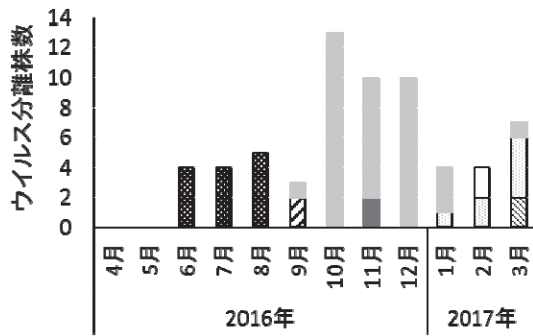
混合時間 (min)	Polio1/生食		Polio1/下水		CB1/生食		CB1/下水	
	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)
Input	3.23×10^4		5.68×10^4		2.14×10^4		1.65×10^4	
0	2.21×10^3	(6.8%)	3.08×10^3	(5.4%)	8.93×10^2	(4.2%)	3.31×10^3	(20.1%)
0.5	1.44×10^4	(44.6%)	1.73×10^4	(30.5%)	5.97×10^3	(27.9%)	1.69×10^4	(102.5%)
1	2.46×10^4	(76.1%)	1.05×10^4	(18.4%)	7.32×10^3	(34.2%)	8.12×10^3	(49.2%)
1.5	2.26×10^4	(70.0%)	1.24×10^4	(21.9%)	1.02×10^4	(47.5%)	1.48×10^4	(89.5%)
2	2.68×10^4	(83.1%)	1.97×10^4	(34.6%)	1.18×10^4	(55.2%)	1.43×10^4	(86.9%)
2.5	3.58×10^4	(110.8%)	1.58×10^4	(27.9%)	1.03×10^4	(48.2%)	1.39×10^4	(84.1%)
5	3.44×10^4	(106.6%)	9.04×10^3	(15.9%)	1.23×10^4	(57.5%)	1.53×10^4	(92.7%)

D. リアルタイムPCR法(溶出液:1.0 $\times 10^{-3}$ N水酸化ナトリウム)

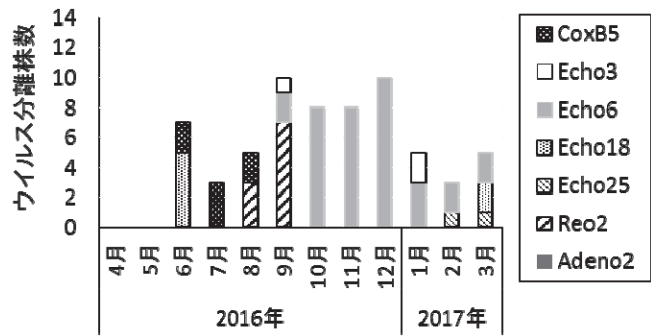
混合時間 (min)	Polio1/生食		Polio1/下水		CB1/生食		CB1/下水	
	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)	Copy number	回収率(%)
Input	5.57×10^5		5.32×10^4		2.00×10^5		4.72×10^5	
0	3.15×10^2	(0.1%)	1.34×10^2	(0.25%)	1.45×10^3	(0.72%)	1.00×10^4	(2.8%)
0.5	6.24×10^3	(1.1%)	3.31×10^4	(62.2%)	7.06×10^4	(35.2%)	1.89×10^5	(7.3%)
1	2.15×10^4	(3.9%)	4.23×10^4	(79.7%)	6.12×10^4	(30.6%)	2.02×10^5	(13.2%)
1.5	5.83×10^4	(10.5%)	3.86×10^4	(72.5%)	4.51×10^4	(22.5%)	1.84×10^5	(9.9%)
2	8.50×10^4	(15.2%)	3.32×10^4	(62.5%)	6.01×10^4	(30.0%)	1.89×10^5	(21.5%)
2.5	8.59×10^4	(15.4%)	4.84×10^4	(91.0%)	5.53×10^4	(27.6%)	1.63×10^5	(5.3%)
5	1.45×10^5	(26.1%)	3.46×10^4	(65.0%)	7.97×10^4	(39.8%)	2.31×10^5	(3.7%)

*Input: 陰電荷フィルターに吸着させたウイルス量

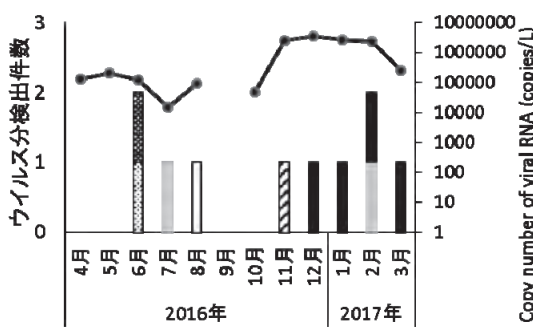
A. 溶出液：3%ビーフエキストラクト



B. 溶出液： $1.0 \times 10^{-3}N$ 水酸化ナトリウム



C. 溶出液：3%ビーフエキストラクト



D. 溶出液： $1.0 \times 10^{-3}N$ 水酸化ナトリウム

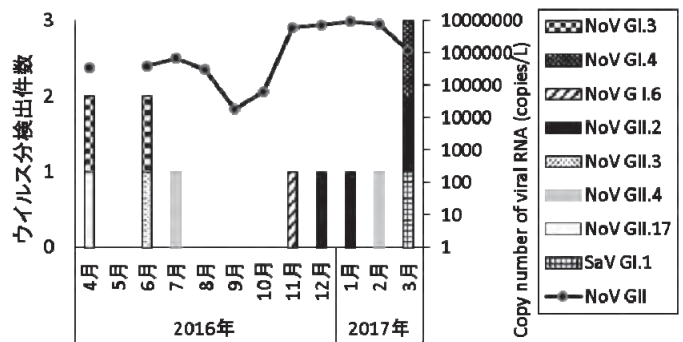


図 1. 下水流入水からのウイルス検出状況 (2016 ~ 2017 年)

ボルテックスミキサーで1分間攪拌することによりウイルスを溶出した。 $1.0 \times 10^{-3}N$ 水酸化ナトリウム溶液による溶出液 (1 検体あたり 10mL) には 100 × TE バッファー 100 μ L, 及び 0.1N 硫酸 50 μ L を加えた。 エンテロウイルス遺伝子は検出されなかった。

富山県における浴用水中 *Legionella* 属菌の分離状況 (2016年)

磯部 順子 金谷 潤一 木全 恵子 範本 志保
 内田 薫 綿引 正則

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water
in Toyama Prefecture, 2016

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

要 旨 2016年8~11月に富山県内の11施設から採取した浴用水40件およびシャワー水29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8/40検体(20.0%)、LAMP法(定性)では10/40検体(25.0%)と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4種類で、*L. pneumophila* SG6が4検体から、SG1が3検体から、SG3が2検体から、SG9が1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10/29検体(34.5%)、LAMP法5/29(17.2%)と、培養法で高く、とりわけ、井戸水使用のシャワー水で8/20検体(38.1%)と高かった。
5. シャワー水から分離された *Legionella* 属菌の血清型は *L. pneumophila* SG5、SG15が4検体から、SG1、SG6が1検体から分離された。

レジオネラ症は高齢者に多く発生し、重篤な場合には死に至るため、注意を要する感染症のひとつである。わが国では2002年7月の宮崎県で7名が死亡する集団感染[1]をはじめ、温泉や循環式浴用施設を感染源とする多くの事例が報告されている[2]。*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を冷却塔や循環式浴場などの人工的な水環境にも広げているが、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、これまで、われわれが注目していなかった感染源が明らかになっている状況である。

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。富山県の患者報告数は2013年からは30人を越え、2015年が42人ともっとも多かった。

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

2016年8~11月に県内11施設から採取した浴用水40検体とシャワー水29検体を試料とした。採水と遊離残留塩素濃度の測定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]を参考に実施した。すなわち、浴用水1,000mLをポリカーボネート製メンブランフィルター(直径47mm, 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滅菌コンカルチュープに入れ10 mLの滅菌蒸留水を加え、ボルテック

平成 29 年 11 月 30 日

スミキサーで 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 800mL で行った。濃縮試料のうち 1.0mL 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 (日水製薬) にコンラージ棒で全面に塗布した。また、1.0mL は 50 $^{\circ}$ C 20 分間ヒートブロックで加熱し、100 μ L を GVPC 寒天培地にコンラージ棒で全面に塗抹した。すなわち、ろ過濃縮 (未処理)、加熱処理、酸処理の 3 通りの培養法をおこなった。また、菌数が多く、平板上で菌数測定が不可能な場合のために未濃縮検体を 100 μ L も同様に培養した。これらの培地を乾燥しないよう湿潤箱に入れ、35 $^{\circ}$ C で 7~10 日間培養した。ただし、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

Legionella 属菌様のコロニーを血液寒天培地 (栄研化学) および BCYE α 寒天培地 (日本ビオメリユー) に再分離した。2 日後に BCYE α 寒天培地のみに発育したコロニーについて、ラテックス、市販抗血清との反応性を確認し、*Legionella* 属菌と同定した。コロニー数は、未処理、加熱処理、酸処理の中で、もっとも多く *Legionella* 属菌と同定された数をもって浴用水 100mL あたりの *Legionella* 属菌数に換算し、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 10 CFU/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 α 寒天に発育した菌を用い、病原体検出マニュアル [7] に従い、加熱抗原を作製した。反応はレジオネラ

免疫血清 (デンカ生研) および *Legionella* Latex Test Kit (オキソイド) を用いて行った。

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 $^{\circ}$ 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、Loopamp[®] リアルタイム濁度測定装置 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「10 CFU/100 mL」の基準値ではなく、遺伝子の増幅が認められた検体を陽性 (定性) とした。

7. ATP 測定法

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

結 果

1. 浴用水の泉種

調査した浴用水全体 (40 件) の泉種の内訳は、白湯が 19/40 (47.5%) 検体、温泉が 16/40 (40.0%) 検体、薬湯が 4/40 (10.0%) 検体であった。「薬湯」とは、薬用成分に関わらず、入浴剤などを添加している浴用水とした。これらの給湯方式は、温泉水の 3 検体のみかけ流しで、残る 37 検体はすべてが循環式であった。

2. 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 5 施設 8 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 4 施設 6 件であった。これに対し、8 施設 26 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 3 mg/L であった。換水は 1~2 回/週が 19/40 件 (47.5%)、毎日が 15/40 件 (37.5%) の順に多かった (データ未掲載)。10 日に 1 回換水している 2 件 (いずれも残塩濃度が 2.0 mg/L) で *Legionella* 属菌は陰性であった。これに対し、2 日に 1 回換水している 3 検体で、10~150 CFU/100 mL の *Legionella* 属菌が検出され、そ

の残塩濃度は0.15~0.46 mg/Lであった。

3. 浴用水の Legionella 属菌検出状況

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8/40検体(20.0%)で、泉種別に見ると、温泉は6/16検体(37.5%)、白湯は2/20検体(どちらも井戸水, 10.0%)で、薬湯の4検体から 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)における検出率は、全体で10/40検体(25.0%)で、温泉は7/16検体(43.8%)、白湯は2/20検体(10.0%)、薬湯1/4検体(25.0%)で、いずれも培養法に比べてわずかに高かった。

培養時の雑菌抑制のための処理法別 Legionella 属菌の検出率を表2に示した。処理法による差異は認められなかった。

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13件について、浴用水

表1. 泉種別 Legionella 属菌検出状況 (GVPC 培地による培養法と LAMP 法の比較)

	培養法		LAMP法(定性)	
	陽性	陰性	陽性	陰性
温泉	6	10	7	9
白湯	2	18	2	18
薬湯	0	4	1	3

の管理状況および定量値と分離された Legionella 属菌の血清型別の結果をまとめた(表3)。

培養菌数は、2検体が11,000 CFU/100 mL ともっとも多く、他の陽性検体は10~200 CFU/100 mL であった。両法の結果が共に陽性となったのは5検体であった。培養法陽性、LAMP 法陰性の3検体は、いずれも培養法での菌数が10、20 CFU/100 mL と少なかった。逆に、LAMP 法陽性、培養法陰性の5検体のうち4検体は、LAMP 法の Tt 値(測定値)が長く、遺伝子量は多くなかった。1検体では Tt 値が短かった(データ未掲載)。

表2. 検体処理別 Legionella 属菌検出数

検体 No.	処理法			
	未処理	加熱	酸	非濃縮(未処理)
2		2*	1	
3	15	11	13	
5	6	20	20	
16		2		
17	1		1	
19	>300	>300	>300	11
20	>300	>300	>300	11
35	1	2	2	
S03	0	4	1	
S04	54	54	48	
S14	5	11	5	
S19	3	2	1	
S21	5	4	22	
S22	14	2	6	
S26	2	3	1	
S27	1	3	0	
S28	12	4	9	
S29	10	8	5	

*: 検出された Legionella 属菌数(CFU/100mL)
太字はもっとも菌数が多いことを示す

表3. Legionella 属菌が検出された浴用水における菌数と血清群(2016年)

No.	泉種、水源	換水頻度	経過日数	採水日の遊離残留塩素濃度(mg/L)	ATP(/10 mL)	LAMP Lysis Buffer	培養結果(CFU/100mL)	血清群										
								SG1	SG2	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	SG9		
1	薬湯	毎日	0	0.2	8	+	<10											
2	温泉	1回/週	5	0.15	646	-	20								SG6			
3	温泉	1回/2日	11	0.15	2215	+	150				SG3							
4	温泉	1回/20日	24	0.1	6328	+	200	SG1		SG3								
5	温泉	1回/週	6	1	3695	+	<10											
6	白湯(井戸水)	1回/2日	1	0.46	84	-	20	SG1										
7	白湯(井戸水)	1回/2日	0	0.26	43	+	10	SG1										SG9
8	温泉	毎日	0	0.02	20225	+	11000								SG6			
9	温泉	毎日	0	0	20159	+	11000								SG6			
10	温泉	毎日	1	0.3	198	-	20								SG6			
11	温泉	1回/週	2	0.1	411	+	<10											
12	温泉	1回/週	2	0.2	175	+	<10											
13	白湯	1回/10日	1	2	77	+	<10											

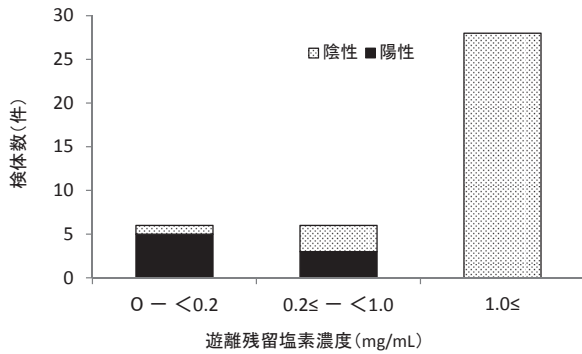


図 1. 浴用水中の遊離残留塩素濃度と Legionella 属菌の陽性率 (2016)

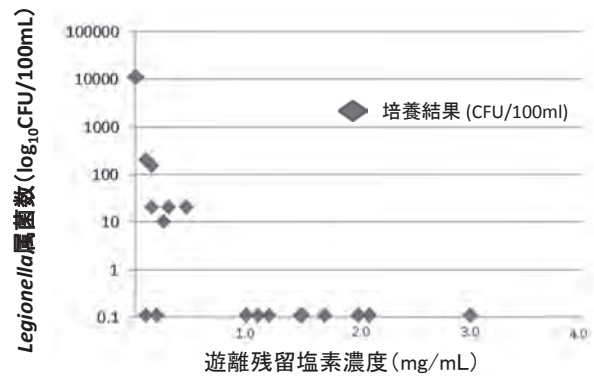


図 2. 浴用水の Legionella 属菌数と 遊離残留塩素濃度 (2016)

表 4. シャワー水の Legionella 属菌検査結果

No.	泉種、水源	泉質、方式	採水日の遊離 残留 塩素濃度 (mg/L)	LAMP Lysis Buffer	培養結果 (CFU/100mL)	SG1	SG2	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	SG9	SG10	SG12	SG15
S01	井戸水(滅菌)	混合水栓	0.2	-	<10												
S02	井戸水(滅菌)	混合水栓	0.2	-	<10												
S03	水道水	混合水栓	0.15	-	40												
S04	温泉水	混合水栓	0.15	+	540												
S05	井戸水	閉鎖型調節箱	3	-	<10												
S06	井戸水	閉鎖型調節箱	3	-	<10												
S07	井戸水	閉鎖型調節箱	2	-	<10												
S08	井戸水	閉鎖型調節箱	2	-	<10												
S09	水道水	混合水栓		-	<10												
S10	水道水	混合水栓		-	<10												
S11	水道水	混合水栓		-	<10												
S12	水道水	混合水栓		-	<10												
S13	井戸水	閉鎖型調節箱	1.59	-	<10												
S14	井戸水	閉鎖型調節箱	0.77	+	110												
S15	井戸水	混合水栓	0.61	-	<10												
S16	井戸水	混合水栓	0.46	-	<10												
S17	井戸水		0.18	-	<10												
S18	井戸水		0.13	-	<10												
S19	井戸水	エコキュート(貯湯タンク・閉鎖型)/熱交換器	0	-	30												
S20	井戸水	エコキュート(貯湯タンク・閉鎖型)/熱交換器	0	-	<10												
S21	井戸水	エコキュート(貯湯タンク・閉鎖型)/熱交換器	0	-	220												
S22	井戸水	エコキュート(貯湯タンク・閉鎖型)/熱交換器	0	+	140												
S23	水道水	貯湯槽	0.1	-	<10												
S24	水道水	貯湯槽	0.2	-	<10												
S25	水道水	貯湯槽	0.1	-	<10												
S26	井戸水	混合水栓	0.3	-	30												
S27	井戸水	混合水栓	0.2	-	30												
S28	井戸水	閉鎖型調節箱	0	+	120												
S29	井戸水	閉鎖型調節箱	0	+	100												

分離された Legionella 属菌の血清型は 4 種類で、*L. pneumophila* SG6 が 4 検体から、SG1 が 3 検体から、SG3 が 2 検体から、SG9 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

5/6 (83.3%), 0.2 ~ < 1.0 mg/L で 3/6 (50.0%), < 1.0 mg/L で 0/28 (0.0%) 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)。また、残塩濃度と Legionella 属菌数の関係を見ると (図 2)、残塩濃度が高くなると検出菌数が低くなる傾向であった。

4. シャワー水の泉種等

シャワー水の調査結果を表 4 に示した。シャワー水 29 検体の泉種は、井戸水が 20 検体 (内 2 検体は滅菌井戸水)、水道水が 8 検体、温泉水が 1 検体であった。シャワーの給水方式は、混合

水栓が12/29件(41.4%)と多く、閉鎖型調節箱8/29件(27.6%)、エコキュート4/29件(13.8%)、貯湯槽が3/29件(10.3%)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10/29検体(34.5%)、LAMP法5/29検体(17.2%)で、培養法で高かった。*Legionella* 属菌数は、もっとも多い検体で540 CFU/100 mLであった。泉質別にみると、*Legionella* 属菌の陽性率は、井戸水が8/20検体(38.1%)、水道水と温泉水がいずれも1検体(11.1%)で、井戸水で高かった。検出された *Legionella* 属菌の血清群は4種類で、*L. pneumophila* SG5, SG15が4検体から、SG1, SG6が1検体から検出された。

考 察

富山県におけるレジオネラ症の罹患率(対人口10万人あたりの患者発生数)は、2007年より今年度まで全国の上位に位置している。このため、2014年から、富山県では厚生部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ている。また、2016年3月にはレジオネラ症患者発生時における対応要領も制定するなど、行政指導を強化している。浴用水の衛生管理は塩素による消毒が基本である。本年の調査結果からも、残塩濃度と *Legionella* 属菌数は概ね相関した。ただし、適切であるとされる濃度の範囲内であっても *Legionella* 属菌が検出されていることから、塩素による消毒だけに頼るのではなく、貯湯槽の温度管理(60℃以上)など、複数の方法を併用することが望まれる。これまでに遊離塩素の効果が減少する理由として、多量の有機物の混在、あるいは高いpHなどが良く知られている。また、バイオフィームが存在する場合、中まで塩素が行き届かないため、*Legionella* 属菌を含め、菌が棲息し続けることが懸念される。従って、塩素消毒を過信することなく、自施設の浴用水の水質等を把握し、日常的にチェックするなどの管理が重要となる。本調査では換水の頻度と *Legionella* 属菌の検出率は相関しなかったが、換水時にぬめりなどを物理的に除去する清掃等の衛生管理手法も必要である。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効果的であることが報告されている[8]。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で認めている。このような情報を施設管理者へも周知し、各施設に最適な方法で衛生管理するような指導と努力が必要である。

富山県では、浴用水の管理指導演法の一つとしてATP値を現場で測定し、数値化された結果で施設管理者、監視員が共に汚染度合いを確認している。ATP測定値とレジオネラ属菌の関係について、シャワー水ではあまり相関しないが、浴用水についてはATP値が高いときに *Legionella* 属菌数も高くなることが報告されている[9]。ATP値の高い浴用水では、アメーバの生息やバイオフィームがあると考えられ、すなわち、*Legionella* 属菌が繁殖するリスクを高めることになるため、ATPを活用した衛生管理は有用であると思われる。また、富山県では、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水の衛生管理についても指導を強化している。東京都文京区が実施した調査結果[3](*Legionella* 属菌の陽性率11/70検体:15.7%)と比較すると、本年度のわれわれの調査結果、陽性率10/29検体(34.5%)は文京区の2倍以上と高かった。とりわけ井戸水での検出率が高く、6検体では残塩濃度が0.2 μg/Lより低かった。リスクの高いシャワー水に井戸水を使用する際には塩素管理の必要性を周知すべきである。

「レジオネラ症防止指針第3版」に遺伝子検査法が記載され、検査の迅速性が高まることが期待されている。しかしながら、遺伝子検査の特性から生じる遺伝子反応阻害や死菌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[10]には、注意が必要である。これとは逆に遺伝子法では、死菌の遺伝子が検出される可能性があり、Etidium mono azide (EMA)による死菌DNAの排除に対応したキットも市販されたことから、今後普及するものと思われる。一方で、死菌の検出は浴用水に *Legionella* 属菌が存在した証拠であることから、衛生管理強化の指導に有用となる場合もあると思われる。ただし、遺伝子検査法では検出できない *Legionella* 属菌が存在することが明らかであるため、培養法を平行して行うことが望ましい。今年度の調査で、LAMP法陰性、培養法陽性となった検体が、浴

用水で 3 検体, シャワー水で 4 検体認められた。浴用水の 3 検体はいずれも 20 CFU/100 mL で, 検出された *Legionella* 属菌数は少なく, 検体の中に存在する *Legionella* 属菌の確率の問題であると思われる。しかしながら, シャワー水の 1 検体では *Legionella* 属菌数が 220 cfu/100 mL と多かった。これは確率論では説明できず, LAMP 法で検出できなかった理由は明らかではない。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 検体認められたが, シャワー水には認められなかった。死菌 DNA の検出が原因だと考えるが, 浴用水では例年このような検体が散見されるのに対し, シャワー水では多くはない。その理由は明らかではないが, 浴用水では表 3 の No.5 のように ATP 値が 3,695 と高く, *Legionella* 属菌以外の菌により発育が抑制された可能性も否定できない。

レジオネラ症では感染源が特定される患者は少なく, 行動調査の中で潜伏期間内に公衆浴場や温泉を利用していた場合に, そ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。*Legionella* 属菌に汚染されている状況が明らかになった場合には行政的に指導が行われるが, やはり, 患者が感染した *Legionella* 属菌との関連性を証明することがもっとも説得力のある指導となるに違いない。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。行政・検査・医療機関が協力しなければ, レジオネラ症罹患率を減少させることはできないと思われる。富山県では, 聞き取り調査などから, レジオネラ症のおよそ 4 割が公衆浴場などを利用していることが判明している。新たな感染源が特定できないまでも, この 4 割の患者を減らすことは大きな目標である。そのためにも, 患者が感染した病原体について詳細を調べることはとても重要になると思われる。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., Yagyu H., Kishi K., Tsuchida F., Oh-hashii S., Yamaguchi K., et al. (2003) Intern Med, 42, 806-811
3. 国立感染症研究所 (2010). 病原微生物検出情報, 31 (11), 331-333 <http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html>
平成 29 年 7 月 10 日アクセス可能
4. 富山県感染症情報センター (<http://www.pref.toyama.jp/branches/1279/kansen/ih430000htm>) 2017 年 5 月アクセス可能
5. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究。(平成 24 年度総括・分担報告書), 93-127
6. 森本 洋, (2010), 環境感染誌, 25, 8-14
7. 病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所, 平成 24 年改定版
8. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究。(平成 20 年度), 77-105
9. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究。(平成 21 年度), 115-119
10. 倉 文明, 厚生労働科学研究費補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業・迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究。(平成 19 年度), 37-55

富山県における病原微生物検出情報 17年間のまとめ (2000～2016年)

内田 薫 三井千恵子¹ 金谷 潤一 木全 恵子
 範本 志保 磯部 順子 綿引 正則

Pathogenic Microbes Detected in 17 Years, 2000-2016, Toyama Prefecture

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

要 旨 2000年から2016年までに県内10か所の公立病院検査部門、県内厚生センター4施設、富山市保健所、衛生研究所から集められた病原微生物検出情報の解析をおこなった。病原微生物検出数は年間15,000～19,000件で推移していた。また、分離された菌株数のほとんどが病院からの報告によるものだった。報告された菌種は43菌種で、特に黄色ブドウ球菌と大腸菌の報告数が多かった。検査材料別では、尿および呼吸器材料からの検出数が多く、それぞれ全体の約30%であった。代表的な食中毒菌については、カンピロバクターが17年間を通して多く検出されていた。

日本における感染症サーベイランスは、患者発生報告と病原体検出報告から成り立っており、国立感染症研究所感染症疫学センター(疫学センター)が中央感染症情報センターとしてその業務を担当している。疫学センターでは、全国の地方衛生研究所(地研)・検疫所から報告される病原体検出報告および都道府県・政令市の保健所から報告される患者発生届出を集計・解析・評価し、情報提供機関への情報還元と公衆衛生関係者・一般国民への情報発信を行っている[1]。

細菌部では、県内10か所の公立病院検査部門、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所及び衛生研究所を定点として病原微生物の検出情報を月ごとに収集し、情報還元している。合わせて、NESID(感染症サーベイランスシステム)のサブシステムである病原体検出情報システムにも報告している。また、単年度ごとに当所年報に報告している。

「富山県における病原微生物検出情報」については、当所年報第6号(昭和57年度)に初めて報告されている[2]。その報告によると、国立予防衛生研究所(現、国立感染症研究所)と都道府県、政令市の衛生研究所のネットワークによる病原微生物検査情報の集計は、1980年(昭和55年)1月から始まった。その後、1981年6月からは都

市立伝染病院(感染症センター)、同年7月からは検疫所の情報が加えられるようになった。また、1982年1月からは医療機関の検査情報が任意参加で加えられるようになった。本県においても、1982年7月から13か所の医療機関の検査情報が追加されるようになった。地研・保健所の検査情報に、医療機関の検査情報が加えられることにより、病原細菌検出情報(現在は「病原微生物検出情報」)は、総数ではないものの、実状を反映するものとなり、その集計は今日まで続いている。

富山県内の病原微生物検出情報の長期にわたる報告を集計して報告したことはこれまでない。時代の変遷に伴う病原体の検出数の推移や富山県で発生した感染症の集団発生などは、病原微生物検出情報に反映されている可能性があり、今後の感染症対策に有益になると思われる。そこで、2000年から2016年の17年間の病原微生物検出情報を解析し、本県の検出状況および特徴について報告する。

材 料 と 方 法

1. 使用検査情報

検体別に病原細菌の検出数の集計が記録されている2000～2016年の17年間にわたる富山県病原

1. 厚生部健康課

微生物検出情報を用いた。菌種名、分離年、分離月、分離材料情報をデータベースソフトであるファイルメーカーに移行し、本ソフトの検索機能を利用した。

結 果

1. 病原体分離施設

本県で分離され、報告される病原微生物検出数は、17年間を通じて、年間15,000～19,000件で推移していた。

施設別の報告は、2004年の集計から区別できるようになっている。その13年間の集計を見ると、医療機関から分離された検出数は217,001件、厚生センター、富山市保健所および衛生研究所から分離された検出数は980件であり、そのほとんどは医療機関におけるものであった。

2. 菌種別分離株の年次推移

報告された分離菌株総数は、17年間に295,246株で、その年次推移を図1に示した。報告された菌種は43菌種であった。特に報告数が多いのは黄色ブドウ球菌と大腸菌で、それぞれ57,252株と57,035株であった。黄色ブドウ球菌については、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)及びメチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA)の合計数である。次に多かったのは緑膿菌26,970株であった。上位13菌種の合計は287,730株で、全体の97%を占めた(図1)。

年次推移として最も変化が激しかったのは黄色ブドウ球菌と大腸菌であった。黄色ブドウ球菌は、2005年までは年間4,000件程度で推移していたが、その後は急激に減少し、2013年からは2,500件程度となった。一方、大腸菌の分離数は、2009年までは年間3,000件程度であったが、その後、増加に転じ、2016年には4,000件を超えた。

3. 検査材料別分離株数の変遷

検査材料別分離株数の割合については、図2に示した。尿および呼吸器材料からの検出が多かった(各約30%)。また、血液からの検出が増加傾向にあった。喀痰からの検出は2000～2005年は6,000件を超えていたが、その後減少傾向となり、2016年には4,000件前後となった(データ掲載略)。

4. 検査材料別分離菌種(データ掲載略)

尿：大腸菌が約40%と最も多く検出されていた。
喀痰・気管吸引液および下気道材料：黄色ブドウ球菌の検出が多く、次いで緑膿菌、肺炎桿菌が多く検出されていた。

咽頭および鼻咽材料：インフルエンザ菌の検出が47%と約半分を占めていた。

陰部尿道頸管擦過物：カンジダ、B群溶連菌でほとんどを占めていた。

糞便：大腸菌、黄色ブドウ球菌、カンピロバクターの順で多く、この3菌種で全体の90%を占めていた。

血液：大腸菌、コアグララーゼ陰性ブドウ球菌がそれぞれ30%を占めていた。

穿刺液(胸水、腹水、関節液等)：黄色ブドウ球菌の検出が30%を占めていた。

5. 代表的な食中毒菌分離状況の推移

代表的な食中毒菌のとしてカンピロバクター、腸管出血性大腸菌(EHEC)、サルモネラ、腸炎ビブリオの分離状況の推移を示した(図3)。

カンピロバクターが若干の増減はあるものの17年間を通して多く検出されている。腸炎ビブリオは近年検出数が減少している。EHECについては、2011年に検出数の一時的ピークが認められた。

月別では、カンピロバクター、サルモネラ、腸管出血性大腸菌、腸炎ビブリオのいずれも8月に検出数のピークがみられた。カンピロバクターは5～8月に、腸炎ビブリオは6～9月に増加する傾向がみられた。(データ掲載略)

考 察

細菌部では、現在、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所、県内10か所の公立病院検査部門から、月毎に報告を受けている。これらの報告は細菌部で取りまとめ、年報にて単年度単位でその集計を報告・還元している。その間、感染症や食中毒の原因となる病原体については、時代とともに変化していることは知られているところである。この病原微生物検出情報については、全ての医療機関は含まれていないため、報告された数字は全数ではないものの、本県の主要な大規模医療機関が含まれているため、本県の流行を反映するものと推察される。また、報告されている数字は、当初は月別、菌種毎の検出数のみであったが、1990年からは検査材料別情報も加わった。

病原体分離施設は、医療機関の検査部門と保健所等の公衆衛生関連の検査部門に大きく分けられる。施設別報告数のデータが残っている平成16年から平成28年の統計では、医療機関からの検

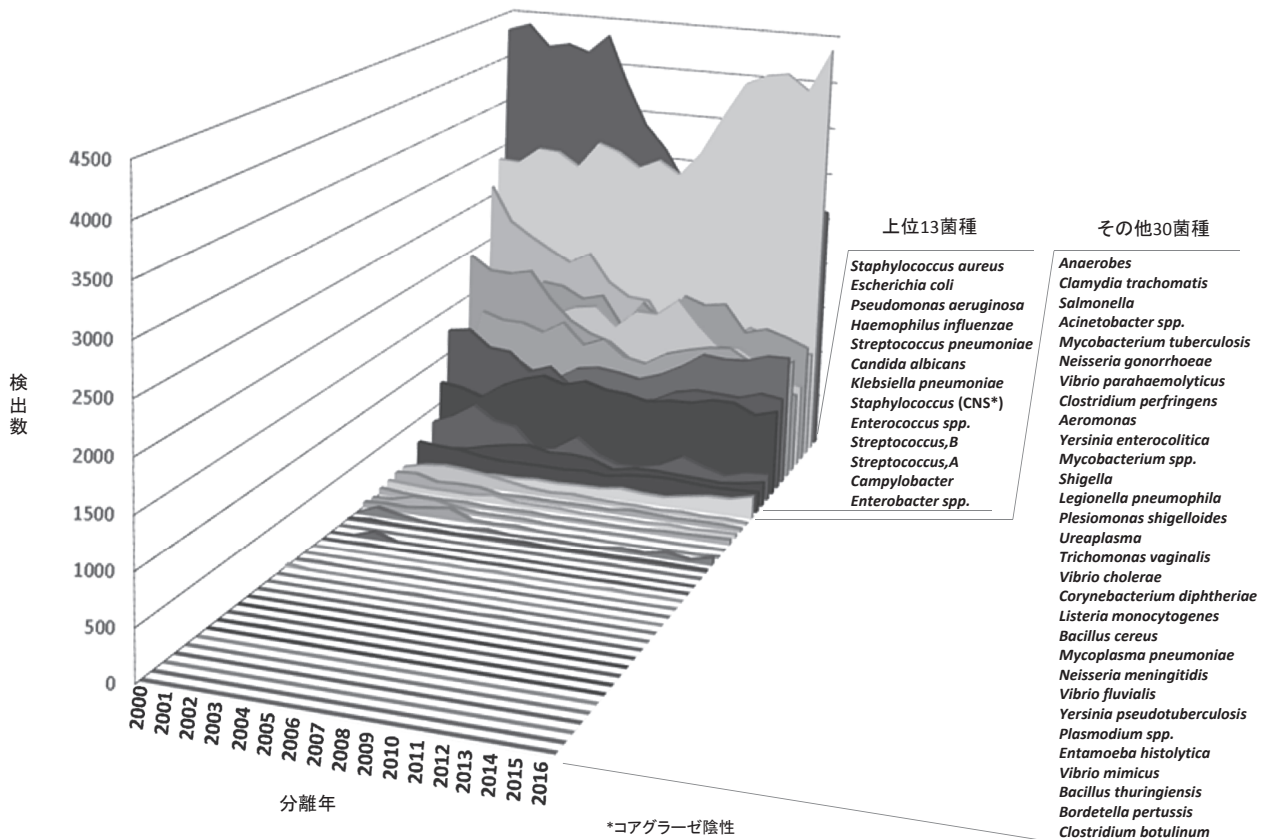


図1. 報告された分離菌株の年次推移

出率は、99.6%であり、ほとんどが医療機関から分離された病原体であった。

17年間で検出された病原体数は、43菌種295,246件であった。この中で特に多かった菌種は、黄色ブドウ球菌（MRSA、MSSAを含む）と大腸菌で、どちらも約57,000株とほとんど同じであった。17年間の推移をみると、黄色ブドウ球菌は近年減少傾向にある。一方、大腸菌は、2009年以降増加傾向にある。黄色ブドウ球菌の検出数減少の大きな原因は、喀痰・気管吸引液および下気道材料からのMRSAの検出数の減少であるが、これらの分離材料からのMSSAの検出数は17年間を通じて年間1,000件程度と大きな変化はみられなかった。MSSAと比べなぜMRSAだけが減少傾向を示しているのかは明らかではない。MRSAは2003年の感染症法一部改正で感染症発生動向調査の5類定点報告対象疾患となったが、法律の改正前後で発生動向調査の報告数に変化は認められなかった。また、2000～2015年における報告数の変化も病原微生物検出情報による分離数の推移とは異なる傾向になった。その原因は明らかではない。しかし、この間MRSAの院内感染対策として、医療法に医療安

全確保が明記され、全国の医療機関において感染制御が推進された時期と重なることから[3]、今回の結果は医療機関を中心とした対策の効果と推察される。

大腸菌については、現在、年間報告数が最も多い菌種となっている。検査材料別の分離率をみても糞便、尿、血液検体材料からの大腸菌の分離率が高くなっている。近年、世界的な薬剤耐性菌の広がりから、2016年、国による薬剤耐性菌対策に向けたアクションプランが発出され[4]、監視を要する菌にはグラム陰性菌である大腸菌をはじめとする腸内細菌科細菌が含まれる。また、報告数の97%を占める上位13菌種の中には、大腸菌以外の腸内細菌科細菌として、肺炎桿菌、エンテロバクター属菌が含まれている。さらに、菌種としてそれほど病原性は強くない日和見菌に属するブドウ糖非発酵菌である緑膿菌やグラム陽性菌である腸球菌なども含まれている。これらの菌種が上位に複数入っていることから、耐性菌の監視をするために、病原微生物検出情報を有効活用することが求められる。

検出された病原体数43菌種のうち30菌種は全体の3%程度であった。この30菌種のなかには、

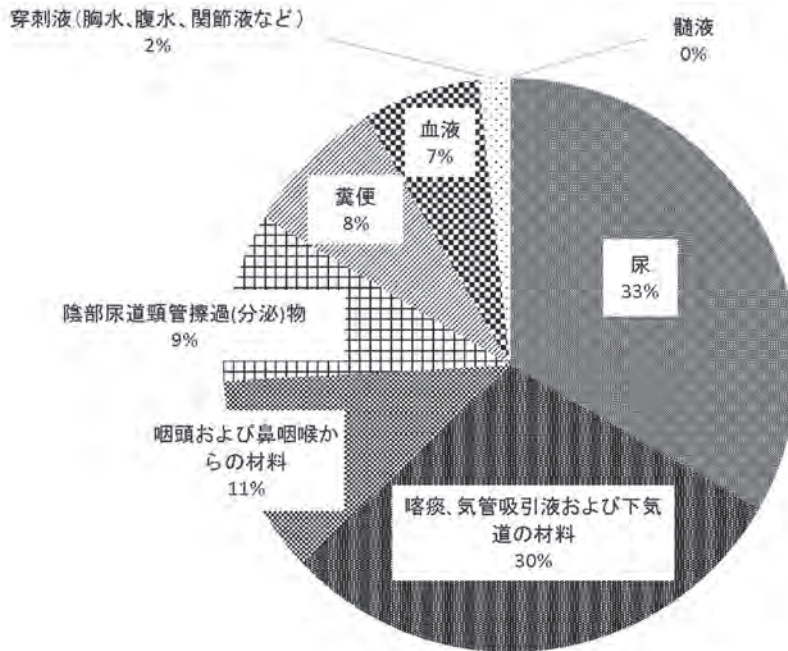


図2. 検査材料別分離株数の割合

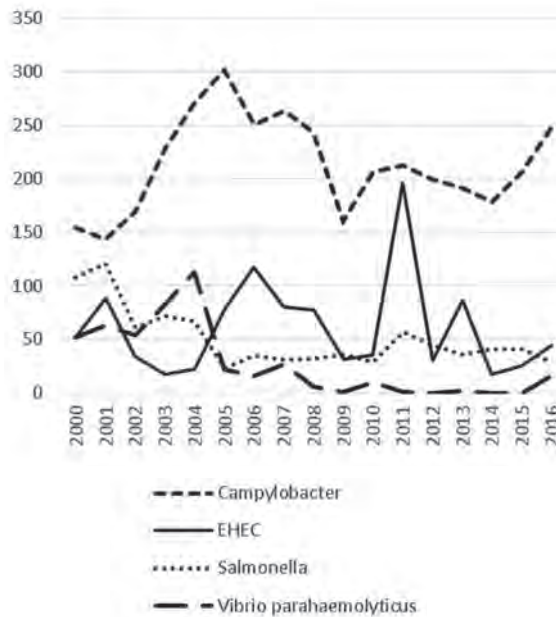


図3. 代表的な食中毒菌分離状況の推移

感染症法により届出される重要な病原体や食中毒原因菌などが含まれ、本県における感染症や食中毒事例のアウトブレイクを反映しているものも存在する。特に、2011年、富山県を中心として福井県、石川県及び神奈川県焼き肉チェーン店を原因施設とする腸管出血性大腸菌の食中毒事例で報告された病原体の検出数は、突出したピークとなっている(図3)。

また、食中毒原因菌として、最も多いカンピロバクターについては、年次ごとの振れはあるもの

の、その報告数は減少していない。他の細菌性食中毒起因菌と同様、調理時の十分な加熱や、調理器具・手指などを介した生食野菜への二次汚染に注意するといった予防の周知が重要である[5]。

病原微生物検出情報としてこれまで収集された情報のうち、ここ最近の17年の情報を解析した。県内のすべての医療機関、民間を含めた検査機関の情報ではないものの、これらの情報は本県の病原体検出状況を反映するものであった。

謝 辞

毎月検出された病原体を集計し、報告していた
だいている以下の施設および関係組織に深謝した
します。

富山県厚生部健康課
富山県新川厚生センター
富山県中部厚生センター
富山県高岡厚生センター
富山県砺波厚生センター
富山市保健所
黒部市民病院
かみいち総合病院
富山県立中央病院
富山市民病院
富山赤十字病院
富山大学附属病院
射水市民病院
高岡市民病院
厚生連高岡病院
市立砺波総合病院

文 献

1. 病原微生物検出情報 (IASR) (2010). 31, 69-72
2. 児玉博英, 徳満尚子, 岡田伊津子, 刑部陽宅, 畑 祥子, 山崎茂一 (1983). 富山衛研年報, 6, 218-219
3. 鈴木明子, 小林寛伊 (2015). 医療関連感染, 8, 1-9
4. 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン 2016-2020. 国際的に脅威となる感染症対策 関係閣僚会議 (2016)
<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000120172.html>
5. 国立感染症研究所 カンピロバクター感 染 症 と は <https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/385-campylobacter-intro.html>

大豆製品と骨質の関連について

小林 直人¹ 石橋 悠太 田村 恒介 坪野 由美²
澁谷 直美² 上野 美穂

Association between Soy Products and Bone Quality

Naoto KOBAYASHI¹, Yuta ISHIBASHI, Kosuke TAMURA, Yoshimi TSUBONO²,
Naomi SHIBUYA² and Miho UENO

要 旨 骨粗鬆症予防に効果があると言われている大豆製品と骨質指標であるペントシジン、ホモシステインとの関連を検討するため、骨粗鬆症検診を受診した女性を対象に味噌汁、豆腐、納豆、おから、煮豆、豆乳の摂取頻度、摂取量のアンケート調査と血清ペントシジン濃度、血清ホモシステイン濃度の測定を行った。ペントシジンは豆腐摂取量が多いほど血中濃度が高く、ホモシステインは納豆摂取量が多いほど血中濃度が低い傾向が認められた。また、重回帰分析の結果、ホモシステインと納豆摂取量に負の関連が認められたことから、納豆を摂取することで血清ホモシステイン濃度が低下し、骨質劣化を予防する可能性が示唆された。

骨粗鬆症は骨の強度が低下することによって骨折しやすくなる疾患である。現在、日本国内では骨粗鬆症患者は推定 1,280 万人と言われている [1]。また、高齢者の骨折は要介護の状態につながり、QOL 低下や介護費増加の原因となる。

富山県内の骨粗鬆症患者数は 10 万人あたり 1,952 人と推定されており [2]、これは全国で 3 番目に多く、富山県での骨粗鬆症の予防は重要な課題である。

骨の強度は、骨密度と骨質の二つの要因から説明されるが、骨質劣化の予防や改善法については明らかにされていない。我々は以前から骨質と生活習慣の関係について調査を行っており、大豆製品の摂取頻度が多い者は、骨質の指標であるペントシジンの血中濃度が高くなる傾向があること [3]、同じく骨質の指標であるホモシステインの血中濃度が低くなること [4] を報告している。

本研究では、大豆製品と骨質との関係をより詳細に明らかにするため、主な大豆製品の摂取量とペントシジン、ホモシステインの関連について検討を行った。

対 象

平成 27 年 7 月～8 月、平成 28 年 4 月～6 月に

厚生連高岡病院健康管理センターで骨粗鬆症検診を受診した女性において、調査に同意した者のうち 40 歳以上の者 289 名を対象とした。

このうち、ペントシジンに関する解析ではアンケート調査に不備のあった者 (n=9) を除いた 280 名を解析対象とした。また、ホモシステインに関する解析ではアンケート調査に不備のあった者 (n=9)、女性ホルモンが血清ホモシステイン濃度に影響を与えると考えられる閉経前の者 (n=32)、同じく血清ホモシステイン濃度に影響を与える葉酸、ビタミン B₆、B₁₂ が含まれるサプリメントを服用している者 (n=18)、血清ホモシステイン濃度が上昇するとされる血管系の疾患（動脈硬化、脳卒中）に既往がある者 (n=1)、同じく血清ホモシステイン濃度が上昇するとの報告がある慢性腎臓病に既往がある者 (n=2) を除いた 227 名を解析対象とした。

方 法

血清ホモシステインは HPLC 法で、血清ペントシジンは酵素結合免疫測定法 (ELISA) で測定した。身長、体重、空腹時血糖は骨粗鬆症検診の際に測定した値を使用し、身長と体重から BMI を算出した。

大豆製品の摂取調査は自記式アンケート調査を行い、一日の味噌汁の平均摂取量を5段階で、豆腐、納豆、おから、煮豆、豆乳の検診前1週間における摂取量を6段階で調査した。

骨質指標（血清ホモシステイン濃度、血清ペントシジン濃度）は幾何平均値（GM）及び幾何標準偏差（GSD）を求めた。それ以外の測定値は算術平均値及び標準偏差を求めた。各測定値の摂取量別代表値の傾向についてはJonckheere-Terpstraの傾向検定を用い、相関分析はピアソンの相関係数(r)を求めた。また、骨質指標を従属変数、単変量解析で骨質指標と関連のあった項目を独立変数とし、重回帰分析（強制投入法）を行った。相関分析と重回帰分析の際、骨質指標は常用対数値に変換した値を使用した。解析には、

IBM SPSS Statistics 19を用い、有意水準は5%未満とし、10%未満は有意傾向とした。

なお、本研究は平成27年度富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を受け実施された。

結 果

1. ペントシジンと大豆製品の関連について

各食品の摂取量別の回答者人数(n)、年齢、身長、BMI、空腹時血糖、血清ペントシジン濃度の値を表1に示す。味噌汁4杯以上、豆腐8丁以上、納豆8パック以上、煮豆小鉢8杯以上、おから小鉢5~6杯、7~8杯については該当すると回答した者はいなかった。

解析の結果、豆腐の摂取量が増加すると血清ペ

表1. 血清ペントシジン濃度と大豆製品の摂取量

味噌汁 (day)	ほぼ飲まない		1杯		2杯		3杯		4杯		trend ^a p-value	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD		
n	41		120		85		34		0			
年齢(歳)*	59.5	9.3	61.1	9.3	64.2	8.0	67.9	4.6			<0.001	
BMI(kg/m ²) [†]	21.3	3.0	22.4	3.4	22.5	3.5	22.4	2.6			0.064	
空腹時血糖(mg/dL)	98.9	13.3	101.2	23.3	107.7	39.5	103.9	21.0			0.172	
Pentosidine(ng/mL) ^b	32.8	1.6	32.6	1.5	34.0	1.5	35.7	1.4			0.491	
豆腐 (week)	食べていない		1~2丁		3~4丁		5~6丁		7~8丁		8丁以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	27		203		42		4		4		0	
年齢(歳)*	61.3	9.2	61.7	8.8	66.9	6.7	73.3	7.1	62.3	11.9		0.001
BMI(kg/m ²)*	20.2	3.1	22.5	3.2	22.0	2.9	22.7	5.6	24.9	2.6		0.018
空腹時血糖(mg/dL)	100.1	22.6	103.0	28.5	106.0	31.5	97.5	5.2	104.8	24.6		0.599
Pentosidine(ng/mL) ^{b*}	31.8	1.5	31.8	1.5	36.8	1.5	43.0	1.6	31.5	1.2		0.036
納豆 (week)	食べていない		1~2パック		3~4パック		5~6パック		7~8パック		8パック以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	73		143		38		13		13		0	
年齢(歳)*	61.2	8.5	62.8	8.7	62.8	9.2	64.2	6.9	67.0	11.6		0.030
BMI(kg/m ²)	21.9	3.1	22.6	3.4	21.8	3.2	22.2	2.8	22.1	4.1		0.925
空腹時血糖(mg/dL)	106.9	39.7	101.0	19.1	103.3	23.0	111.2	50.3	97.8	14.8		0.704
Pentosidine(ng/mL) ^b	32.0	1.5	33.9	1.6	33.9	1.6	36.4	1.3	32.6	1.4		0.396
煮豆 (week)	食べていない		小鉢1~2杯		小鉢3~4杯		小鉢5~6杯		小鉢7~8杯		小鉢8杯以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	135		124		16		3		2		0	
年齢(歳)*	60.0	9.5	64.7	7.4	68.1	6.8	61.3	7.4	70.0	5.7		<0.001
BMI(kg/m ²)	22.1	3.4	22.3	3.2	22.4	3.3	22.6	4.0	23.5	0.1		0.179
空腹時血糖(mg/dL)	102.6	24.9	104.6	32.8	98.3	15.8	93.0	12.5	105.5	7.8		0.694
Pentosidine(ng/mL) ^b	32.2	1.5	34.3	1.5	38.7	1.4	31.8	1.3	33.8	2.6		0.225
おから (week)	食べていない		小鉢1~2杯		小鉢3~4杯		小鉢5~6杯		小鉢7~8杯		小鉢8杯以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	221		52		6		0		0		1	
年齢(歳)*	61.8	8.7	66.0	8.4	66.0	9.8					45.0	-
BMI(kg/m ²)*	22.0	3.3	23.1	3.0	21.4	4.0					26.8	-
空腹時血糖(mg/dL)	101.9	27.0	109.1	33.5	98.7	7.4					94.0	-
Pentosidine(ng/mL) ^b	32.7	1.5	36.9	1.6	33.1	1.8					32.1	-
豆乳 (week)	飲んでいない		100~200mL		300~400mL		500~600mL		600~800mL		800mL以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	225		36		10		3		3		3	
年齢(歳)*	62.1	8.8	64.3	8.4	63.5	10.8	64.7	1.5	67.0	2.6	73.3	4.7
BMI(kg/m ²) [†]	22.1	3.2	22.7	3.4	24.1	3.0	23.6	4.0	20.6	2.0	23.6	4.6
空腹時血糖(mg/dL)	103.6	29.6	102.8	22.4	99.3	11.6	94.7	9.0	92.3	8.1	107.3	27.5
Pentosidine(ng/mL) ^b	33.0	1.5	36.2	1.4	37.9	1.6	37.3	1.2	29.8	1.5	35.9	1.3

a:Jonckheere- Terpstra's trend test, b:GM（幾何平均）, GSD（幾何標準偏差）, *: p<0.05, †: p<0.1

ントシジン濃度が上昇する，正の傾向が認められ (p=0.036) (表 1)，豆腐摂取量と年齢及び BMI の間にも同様に正の傾向が認められた (p=0.001, p=0.018)。

年齢と共に血清ペントシジン濃度が上昇することが知られていることから，血清ペントシジン濃度を従属変数，年齢，BMI 及び豆腐の摂取量を独立変数として重回帰分析を行ったところ，血清ペントシジン濃度と年齢に有意な関連が見られ (p=0.008)，BMI とは有意傾向が見られたが (p=0.079)，豆腐摂取量との関連は認められなかった (p=0.222) (表 2)。

また，ペントシジンは糖尿病患者において高値になることが報告されているため [5]，糖尿病に既往がある者となない者について層別解析を行ったところ，既往がない者では血清ペントシジン濃度と豆腐摂取量の間には傾向はなかったが (p=0.113)，既往がある者においては有意傾向で (p=0.079)，正の傾向が認められた (表 3)。

2. ホモシステインと大豆製品の関連について

各食品の摂取量別回答者人数 (n)，年齢，身長，BMI，空腹時血糖，血清ホモシステイン濃度の値を表 4 に示す。味噌汁 4 杯以上，豆腐 8 丁以上，納豆 8 パック以上，煮豆小鉢 8 杯以上，おから小鉢 5～6 杯，7～8 杯，8 杯以上，豆乳 800mL 以上については該当すると回答した者はいなかった。解析の結果，納豆摂取量が増加すると血清ホモシステイン濃度が低下する負の傾向が認められた (p=0.007)。また，おから摂取量と血清ホモシ

ステイン濃度は有意傾向 (p=0.085) が認められた。加えて，納豆摂取量は年齢と有意傾向が見られ (p=0.085)，おから摂取量は年齢，BMI とそれぞれ有意または有意傾向が見られた。(p=0.001, p=0.088) (表 4)。

血清ホモシステイン濃度は年齢と共に上昇することが報告されていること [6]，また本研究において BMI との正の相関 (r=0.170, p=0.009) が認められたことから，血清ホモシステイン濃度を従属変数，年齢と BMI，納豆摂取量またはおから摂取量を独立変数として重回帰分析を行ったところ，納豆摂取量と血清ホモシステイン濃度には負の関連が認められたが (p=0.015) (表 5)，おから摂取量とは関連が認められなかった (p=0.114) (表 6)。

考 察

1. ペントシジンと大豆製品の関連について

我々はこれまでに，大豆製品の摂取頻度が高いと血清ペントシジン濃度が高値になることを報告し [3]，その中で，ペントシジンをはじめとする終末糖化産物 (AGEs) は酵素を必要としないメイラード反応により生成される [7] ため，味噌や醤油などの大豆発酵食品には多くのペントシジンが含まれていると考えられること，またそれら大豆発酵食品の摂取により血清ペントシジン濃度が上昇した可能性があることを指摘している。しかし，本研究では，大豆発酵食品の主な摂取元と考

表 2. 血清ペントシジン濃度に影響を与える因子 (豆腐)

	B ^a	β ^b	p-value	VIF
年齢(歳)*	0.003	0.159	0.008	1.036
BMI(kg/m ²)†	-0.006	-0.105	0.079	1.019
豆腐摂取量	0.021	0.074	0.222	1.054

R²=0.043, p= 0.007, *: p< 0.05, †: p< 0.1, a:偏回帰係数, b:標準化偏回帰係数

表 3. 糖尿病既往別豆腐摂取量と血清ペントシジン濃度

豆腐 (/week)	食べていない		1~2丁		3~4丁		5~6丁		7~8丁		trend ^a p-value	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD		
糖尿病既往あり	n	3	20		5		0		1			
	年齢(歳)	71.7	4.0	65.7	7.0	67.2	5.5		76.0	-	0.889	
	BMI(kg/m ²)	23.6	3.0	23.6	4.5	25.0	2.8		23.0	-	0.446	
	空腹時血糖(mg/dL)	140.0	53.7	157.8	65.9	160.4	64.9		141.0	-	0.579	
	Pentosidine(ng/mL) ^{b†}	31.3	1.7	32.8	1.5	50.7	1.2		38.3	-	0.079	
糖尿病既往なし	n	24	183		37		4		3			
	年齢(歳)*	60.0	8.9	61.3	8.9	66.9	6.9	73.3	7.1	57.7	9.3	0.000
	BMI(kg/m ²)*	19.8	2.9	22.4	3.1	21.6	2.7	22.7	5.6	25.6	2.8	0.028
	空腹時血糖(mg/dL)	95.1	9.6	97.1	9.0	98.7	14.0	97.5	5.2	92.7	5.5	0.762
	Pentosidine(ng/mL) ^b	31.8	1.5	32.9	1.5	35.3	1.5	43.0	1.6	29.5	1.2	0.113

a:Jonckheere- Terpstra's trend test, b:GM, GSD, * p< 0.05, †: p< 0.1

表4. 血清ホモシステイン濃度と大豆製品の摂取量

味噌汁 (/day)	ほぼ飲まない		1杯		2杯		3杯		4杯		trend ^a p-value	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD		
n	34		96		71		31		0			
年齢(歳)*	60.6	8.6	63.7	7.3	66.2	5.9	67.9	4.7			<0.001	
BMI(kg/m ²) [†]	21.4	3.0	22.3	3.2	22.5	3.5	22.4	2.6			0.091	
空腹時血糖(mg/dL)	99.2	11.8	102.6	24.1	109.1	42.7	105.5	21.3			0.299	
Homocysteine (μmol/L) ^b	4.4	1.3	4.1	1.3	3.9	1.4	4.3	1.4			0.294	
豆腐 (/week)	食べていない		1~2丁		3~4丁		5~6丁		7~8丁		8丁以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	21		164		40		3		4		0	
年齢(歳)*	62.8	8.5	64.2	6.8	66.5	6.5	75.0	7.5	62.3	11.9		0.029
BMI(kg/m ²)	20.1	3.2	22.6	3.1	21.8	2.9	21.5	6.2	24.9	2.6		0.116
空腹時血糖(mg/dL)	103.3	24.6	104.5	30.3	105.6	31.8	97.0	6.2	104.8	24.6		0.518
Homocysteine (μmol/L) ^b	4.2	1.3	4.1	1.4	4.0	1.4	3.0	1.2	4.1	1.5		0.274
納豆 (/week)	食べていない		1~2パック		3~4パック		5~6パック		7~8パック		8パック以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	56		123		32		11		10		0	
年齢(歳) [†]	63.4	7.4	64.6	6.7	65.1	6.8	65.1	6.3	69.0	11.1		0.085
BMI(kg/m ²)	22.0	3.0	22.5	3.3	21.9	3.2	22.6	2.6	21.4	4.0		0.860
空腹時血糖(mg/dL)	109.9	44.3	102.0	18.6	103.7	23.6	114.0	54.5	97.3	16.8		0.529
Homocysteine (μmol/L) ^{b*}	4.4	1.3	4.1	1.4	4.0	1.4	3.6	1.2	3.5	1.6		0.007
煮豆 (/week)	食べていない		小鉢1~2杯		小鉢3~4杯		小鉢5~6杯		小鉢7~8杯		小鉢8杯以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	98		114		13		3		2		0	
年齢(歳)*	62.7	7.7	65.6	6.4	69.3	5.1	61.3	7.4	70.0	5.7		<0.001
BMI(kg/m ²) [†]	22.0	3.4	22.4	3.1	22.1	3.2	22.6	4.0	23.5	0.1		0.078
空腹時血糖(mg/dL)	104.9	26.8	105.3	34.0	96.5	12.3	93.0	12.5	105.5	7.8		0.571
Homocysteine (μmol/L) ^b	4.2	1.4	4.0	1.4	3.9	1.5	3.4	1.5	6.8	1.0		0.170
おから (/week)	食べていない		小鉢1~2杯		小鉢3~4杯		小鉢5~6杯		小鉢7~8杯		小鉢8杯以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	178		47		6		0		0		0	
年齢(歳)*	63.8	7.2	67.1	6.3	69.8	6.1						0.001
BMI(kg/m ²) [†]	22.1	3.2	22.9	2.9	21.4	4.0						0.088
空腹時血糖(mg/dL)	103.2	28.8	109.8	34.7	100.0	7.9						0.168
Homocysteine (μmol/L) ^{b†}	4.2	1.4	3.9	1.4	3.5	1.2						0.085
豆乳 (/week)	飲んでいない		100~200mL		300~400mL		500~600mL		600~800mL		800mL以上	
	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD	mean	SD
n	183		33		8		3		3		0	
年齢(歳)	64.1	7.2	65.6	7.2	66.5	5.3	64.7	1.5	69.5	5.4		0.147
BMI(kg/m ²)	22.2	3.2	22.4	3.3	22.9	2.1	23.6	4.0	20.0	2.0		0.609
空腹時血糖(mg/dL)	105.1	31.7	104.0	23.5	101.9	12.7	94.7	9.0	90.5	7.6		0.479
Homocysteine (μmol/L) ^b	4.1	1.4	4.0	1.3	4.0	1.5	4.2	1.3	3.4	1.2		0.327

a: Jonckheere- Terpstra's trend test, b: GM, GSD, *: p < 0.05, †: p < 0.1

表5. 血清ホモシステイン濃度に影響を与える因子(納豆)

	B ^a	β ^b	p-value	VIF
年齢(歳)	-0.002	-0.087	0.178	1.024
BMI(kg/m ²)*	0.007	0.176	0.007	1.004
納豆摂取量*	-0.022	-0.158	0.015	1.020

R²=0.066, p=0.001, *: p < 0.05, †: p < 0.1, a: 偏回帰係数, b: 標準化偏回帰係数

表6. 血清ホモシステイン濃度に影響を与える因子(おから)

	B ^a	β ^b	p-value	VIF
年齢(歳)	-0.002	-0.084	0.208	1.054
BMI(kg/m ²)*	0.008	0.180	0.006	1.007
おから摂取量	-0.029	-0.106	0.114	1.054

R²=0.05, p=0.009, *: p < 0.05, †: p < 0.1, a: 偏回帰係数, b: 標準化偏回帰係数

えられる味噌汁の摂取頻度と血清ペントシジン濃度の間には関連が見られなかった。

一方で、豆腐摂取量と血清ペントシジン濃度の間には正の傾向が認められた。しかし、一般的に AGEs 含有量の少ないとされる豆腐 [8] を摂取したことによりペントシジンの血清濃度が上昇した可能性は低いと考えられる。一方で、豆腐摂取量と年齢、BMI とも関連がみられたことから、年齢と BMI の影響を除外するために重回帰分析を行ったところ、ペントシジンと豆腐摂取量の関連性が消失した。これらより、豆腐摂取量と血清ペントシジン濃度の関連は年齢、BMI によるものと考えられる。

また、血清ペントシジン濃度が高値になることが報告されている糖尿病 [5] の既往により層別解析を行うと、糖尿病の既往がある者は、豆腐摂取量と年齢、BMI に関連がないにも関わらず、豆腐摂取量と血清ペントシジン濃度に正の傾向が認められた。これは、糖尿病治療のために食事療法として豆腐の摂取量が増加していた可能性が推察されるが、本調査では糖尿病の重症度等の調査を行っていないため、豆腐摂取量と糖尿病の関係については明らかでないことから、更なる検討が必要と考える。加えて、本調査では AGEs 含有量が多い食品である肉類、魚類の焼物や揚げ物 [8] についての調査を行っていないため、食事が血清ペントシジン濃度に与える影響について、今後さらに詳細な検討を行う必要があると考える。

2. ホモシステインと大豆製品の関連について

ホモシステインと大豆製品については、以前、大豆製品の摂取頻度が多い者は血清ホモシステイン濃度が低値を示すことを報告した [4]。

今回の解析結果では、血清ホモシステイン濃度は納豆及びおからの摂取頻度に対して負の傾向が認められた。重回帰分析により、血清ホモシステイン濃度とおから摂取頻度との関連は消失したが、納豆摂取頻度は血清ホモシステイン濃度との独立した関連が認められた。

先行研究においても若年成人男性の血漿ホモシステイン濃度と納豆の摂取についての報告があり、本研究と同様に納豆の摂取量が多い者は血漿ホモシステイン濃度が低いことが報告されている [9]。ホモシステインはビタミン B₆、B₁₂、葉酸を摂取することで血中濃度が低下することが知られているため、今回の結果は、納豆に含まれる葉酸の影響で血清ホモシステイン濃度が低下した可能性が考えられる。納豆は骨密度低下を抑制する効果が報告されている [10] ことから、骨粗鬆症予防効果の高い食材であると考えられる。しかし、本研

究においては栄養調査は行っていないため、実際の葉酸摂取量は不明であり、納豆摂取量の多い者が、他の葉酸やビタミン B₆、B₁₂ 含有量の多い食品を摂取していた可能性を否定できない。よって、納豆が骨強度、とりわけ骨質に与える影響を評価するためには、今後さらに詳細な調査を行う必要があると考える。

結 語

1. ペントシジンと大豆製品の関連について

豆腐摂取量と血清ペントシジン濃度の間には正の傾向が認められたが、年齢と BMI で調整することで関連が認められなくなったことから、この傾向は年齢と BMI の影響による見かけ上のものであると考えられた。

2. ホモシステインと大豆製品の関連について

納豆の摂取量と血清ホモシステイン濃度の間には負の傾向が認められ、納豆の摂取により骨質の劣化を予防することができる可能性が示唆された。

文 献

1. 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン作成委員会, 骨粗鬆症の予防と治療ガイドライン 2011 年版
2. 平成 25 年度国民生活基礎調査
3. 小林直人, 金木潤, 坪野由美, 澁谷直美, 大浦栄次 (2015). 富山衛研年報, 38, 122-124
4. 小林直人, 田中朋子, 金木潤 (2013). 第 72 回日本公衆衛生学会総会抄録集, 60 (10), 307
5. Noboru Yoshida Ki-ichi Okumura, Yoshimasa Aso (2005). Metabolism, 54: 345-50.
6. 橋本隆男, 篠原佳彦, 長谷川弘 (2007). 薬学雑誌, 127 (10), 1579-1592
7. 斎藤 充 (2008): 腎と骨代謝, 21, 325-334
8. AGE 測定推進協会ホームページ, <http://www.age-sokutei.jp/food/> (2017 年 3 月 24 日アクセス可能)
9. 荒木理沙, 丸山千寿子, 山口玲奈, 木村正儀 (2012). 日本栄養・食糧学会誌, 65, 145-153
10. Harumi Hirata, Kaori Kitamura, Toshiko Saito, Ryosaku Kobayashi, Masanori Iwasaki, Akihiro Yoshihara, Yumi Watanabe, Rieko Oshiki, Tomoko Nishiwaki, Kazutoshi Nakamura (2016). Tohoku J. Exp. Med, 95-101

3. 資 料

日本脳炎流行予測調査（感染源調査）平成28年度

佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎 倫子 長谷川澄代
 青柳由美子 稲畑 良 板持 雅恵 米田 哲也
 小渕 正次 竹田 享代¹

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016

Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Sumiyo HASEGAWA,
 Yumiko AOYAGI, Ryo INAHATA, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA,
 Masatsugu OBUCHI, and Michiyo TAKEDA¹

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 [7-16]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、平成28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。

I. 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27年 [16] 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27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1日（第1週）から10月26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、毎週水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

表1. コガタアカイエカ捕集定点（畜舎）の概要（平成28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

1. 富山県厚生部健康課

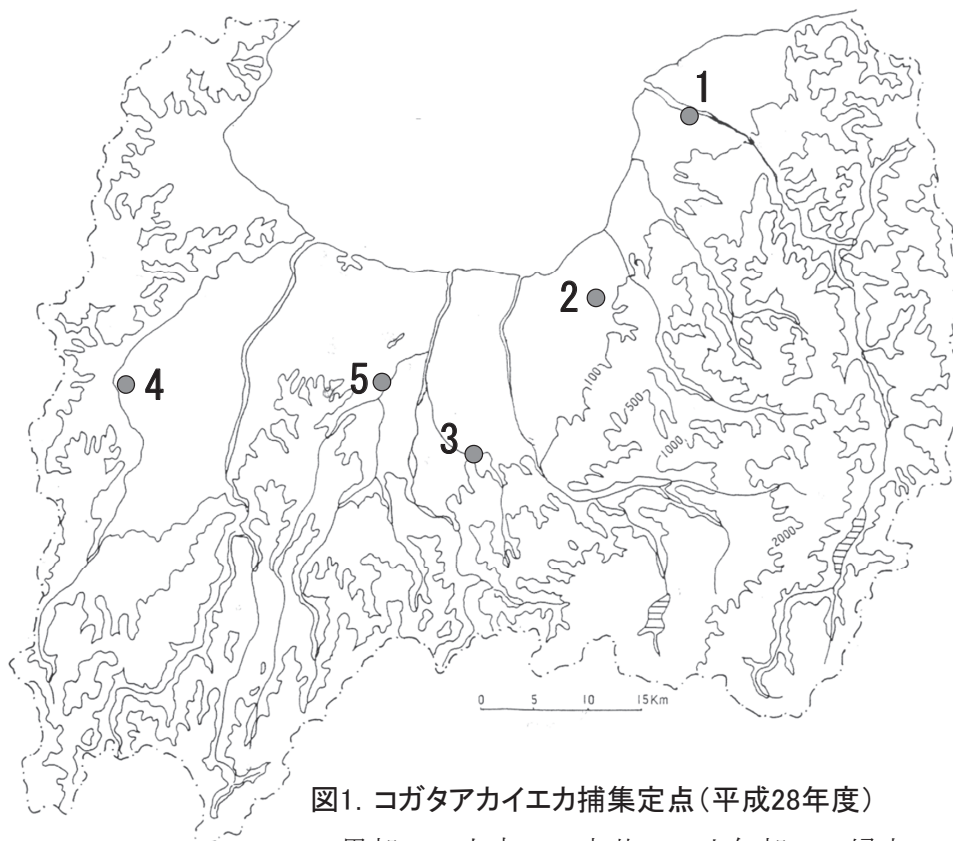


表2. 5 定点 (畜舎) のライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数 (平成 28 年)

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1日	18	29	115	353	1	516
8日	180	1,179	1,106	1,535	8	4,008
15日	378	215	2,446	3,878	48	6,965
22日	261	149	4,725	1,535	38	6,708
29日	585	344	6,959	3,263	107	11,258
7月6日	658	225	12,005	2,736	188	15,812
13日	1,234	-	11,178	1,372	156	13,940
20日	428	378	9,708	2,240	353	13,107
27日	-	493	11,638	1,950	121	14,202
8月3日	215	1,005	15,050	2,122	579	18,971
10日	1,127	2,177	17,103	2,182	700	23,289
17日	991	1,479	15,072	8,132	1,238	26,912
24日	2,190	2,570	21,818	3,270	246	30,094
31日	-	-	11,681	3,892	-	15,573
9月7日	708	531	20,656	7,520	45	29,460
14日	515	327	5,880	5,088	14	11,824
21日	598	724	6,563	4,432	61	12,378
28日	-	335	8,545	1,524	29	10,433
10月5日	92	1	-	382	-	475
12日	10	26	74	145	0	255
19日	6	6	-	57	0	69
26日	0	0	-	16	0	16
計	10,194	12,193	182,322	57,624	3,932	266,265

「-」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 28 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	115	2	0	117	7月1日	0	10,571	4	0	10,575
2日	0	66	0	0	66	2日	0	15,595	0	0	15,595
3日	0	345	2	0	347	3日	0	42,379	0	0	42,379
4日	0	266	3	0	269	4日	0	13,796	2	0	13,798
5日	0	428	7	0	435	5日	0	14,088	2	0	14,090
6日	0	677	5	0	682	6日	0	12,005	3	0	12,008
7日	0	953	4	0	957	7日	0	16,088	0	0	16,088
8日	0	1,106	4	0	1,110	8日	0	26,644	0	0	26,644
9日	0	1,158	2	0	1,160	9日	0	19,213	0	0	19,213
10日	0	1,105	2	0	1,107	10日	0	8,881	2	0	8,883
11日	0	4,743	5	0	4,748	11日	0	13,465	1	0	13,466
12日	0	4,352	3	0	4,355	12日	0	19,513	2	0	19,515
13日	0	2,969	4	0	2,973	13日	0	11,178	5	0	11,183
14日	0	2,717	2	0	2,719	14日	0	12,162	3	0	12,165
15日	0	2,446	2	0	2,448	15日	0	11,393	0	0	11,393
16日	0	1,750	4	0	1,754	16日	0	8,680	2	0	8,682
17日	0	5,111	6	0	5,117	17日	0	7,919	2	0	7,921
18日	0	4,587	3	0	4,590	18日	0	6,003	1	0	6,004
19日	0	1,680	1	0	1,681	19日	0	11,983	0	0	11,983
20日	0	4,218	1	0	4,219	20日	0	9,708	2	0	9,710
21日	0	9,888	5	0	9,893	21日	0	13,977	0	0	13,977
22日	0	4,725	0	0	4,725	22日	0	5,285	5	0	5,290
23日	0	4,575	4	0	4,579	23日	0	9,993	0	0	9,993
24日	0	2,713	5	0	2,718	24日	0	11,643	1	0	11,644
25日	0	5,222	4	0	5,226	25日	0	21,315	0	0	21,315
26日	0	5,858	6	0	5,864	26日	0	18,331	3	0	18,334
27日	0	5,985	8	0	5,993	27日	0	11,638	0	0	11,638
28日	0	6,510	6	0	6,516	28日	0	8,503	2	0	8,505
29日	0	6,959	5	0	6,964	29日	0	7,887	2	0	7,889
30日	0	7,228	9	0	7,237	30日	0	1,588	9	0	1,597
計	0	100,455	114	0	100,569	計	0	416,820	57	0	416,877

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 28 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	-	-	-	-	-	9月1日	0	11,147	0	0	11,147
2日	0	13,541	0	0	13,541	2日	0	9,623	6	0	9,629
3日	0	15,050	0	0	15,050	3日	0	8,701	6	0	8,707
4日	0	22,109	0	0	22,109	4日	0	9,503	4	0	9,507
5日	0	24,188	0	0	24,188	5日	0	18,113	0	0	18,113
6日	0	18,732	0	0	18,732	6日	0	13,948	0	0	13,948
7日	0	21,236	0	0	21,236	7日	0	20,656	0	0	20,656
8日	0	27,171	0	0	27,171	8日	0	24,642	0	0	24,642
9日	-	-	-	-	-	9日	0	15,863	0	0	15,863
10日	0	17,103	0	0	17,103	10日	0	10,307	15	0	10,322
11日	0	13,834	0	0	13,834	11日	0	9,031	17	0	9,048
12日	0	13,237	0	0	13,237	12日	0	9,565	0	0	9,565
13日	0	17,805	0	0	17,805	13日	0	19	1	0	20
14日	0	18,918	0	0	18,918	14日	0	5,880	13	0	5,893
15日	0	21,525	0	0	21,525	15日	0	5,462	8	0	5,470
16日	0	30,616	0	0	30,616	16日	0	3,497	4	0	3,501
17日	0	15,072	0	0	15,072	17日	0	4,133	18	0	4,151
18日	0	20,748	0	0	20,748	18日	0	1,565	5	0	1,570
19日	0	33,040	0	0	33,040	19日	0	2,394	10	0	2,404
20日	0	38,233	0	0	38,233	20日	0	4,829	10	0	4,839
21日	0	48,318	0	0	48,318	21日	0	6,563	18	0	6,581
22日	0	21,335	0	0	21,335	22日	0	12,351	17	0	12,368
23日	0	32,109	0	0	32,109	23日	0	1,864	9	0	1,873
24日	0	21,818	0	0	21,818	24日	-	-	-	-	-
25日	0	65,765	0	0	65,765	25日	0	5,145	11	0	5,156
26日	0	13,417	0	0	13,417	26日	0	1,997	9	0	2,006
27日	0	13,637	0	0	13,637	27日	0	1,826	10	0	1,836
28日	0	23,485	0	0	23,485	28日	0	8,545	19	0	8,564
29日	0	21,193	0	0	21,193	29日	0	4,533	18	0	4,551
30日	0	9,044	0	0	9,044	30日	0	9,236	18	0	9,254
31日	0	11,681	0	0	11,681						
計	0	663,960	0	0	663,960	計	0	240,938	246	0	241,184

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 28 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	3,938	7	0	3,945
2日	0	1,295	8	0	1,303
3日	0	1,120	7	0	1,127
4日	0	173	10	0	183
5日	-	-	-	-	-
6日	0	543	15	0	558
7日	0	232	8	0	240
8日	0	168	9	0	177
9日	1	205	9	0	215
10日	-	-	-	-	-
11日	0	98	5	0	103
12日	0	74	5	0	79
13日	0	49	1	0	50
14日	0	23	2	0	25
15日	0	27	2	0	29
16日	0	32	1	0	33
17日	0	33	1	1	35
18日	0	0	0	0	0
計	1	8,010	90	1	8,102

*ハマダライエカ

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
平成28	10,068	12,131	182,133	56,671	3,931	1,422,590

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。

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5定点全てにおいて捕集され、全体的には6月下旬～9月下旬に発生のピークがみられ、10月上旬から顕著に減少した。週1日捕集を集計した年間捕集数で比較すると「3. 大井」が最も多く、「4. 小矢部」「2. 上市」と続いた。捕集数の増減については、「3. 大井」の連日捕集の成績に詳細を示した。平成28年は、平成27年に比較し、発生ピークに達するのが早かったが、ピーク時の発生数は少なく、ピークの終息も早かった。

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28年の捕集数は、「3. 大井」において平成3年以降で最大の捕集数を記録した平成27年よりも少ないもののそれに次ぐ捕集数を記録し、例年に比べて多かった。その他の定点では、「5. 婦中」において平成27年の捕集数と同程度で、「1. 黒部」「2. 上市」「4. 小矢部」において平成27年の捕集数よりも多かった。全体的にみると、平成28年の捕集数は、平成27年に引き続き、最近10年間の中では多かったといえる。

Ⅱ. 豚血清の日本脳炎 HI 抗体保有調査

調査対象と検査方法：7月4日から10月25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、魚津市、立山町）の豚を対象として、月3回、各15～20頭ずつから血液を採取し、合計235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 [17] 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。

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28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4,5日	20 (100)								
11,12日	20 (100)								
25,26日	20 (100)								
8月1,2,4日	20 (100)								
17,18日	20 (100)								
22,23,25日	20 (100)								
9月5,6日	15 (100)								
12,13日	17 (85)				2 (10)	1 (5)			1/3 (33.3)
26,27日	9 (45)			1 (5)	2 (10)	5 (25)	2 (10)	1 (5)	4/11 (36.4)
10月3,4,5日	15 (75)				2 (10)	2 (10)	1 (5)		0/5 (0.0)
17,18日	11 (55)			2 (10)	3 (15)	4 (20)			0/9 (0.0)
24,25日	10 (50)			1 (5)	6 (30)	3 (15)			0/10 (0.0)
計	197 (83.8)	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (0.0)	15 (6.4)	15 (6.4)	3 (1.3)	1 (0.4)	5/38 (13.2)

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蚊 (平成 28 年度)

番号	種名	雌雄	個体数	調査地	捕集日
4513	コガタアカイエカ	♀	50	牛舎(富山市)	2016/9/5
4583	コガタアカイエカ	♀	50	牛舎(富山市)	2016/10/3

表 7. 日本脳炎ウイルスが分離された豚血清 (平成 28 年度)

番号	動物種	月齢	HI抗体価	調査地	採血日
167	豚	6	<10	黒部市	2016/9/27
198	豚	6	<10	小矢部市	2016/10/17

結果および考察：HI 抗体価の測定結果を表 5 に示した。9 月中旬から 10 月末にかけて抗体陽性の豚が 15%～55% 確認され、抗体価はいずれも 40 倍以上であった。9 月中旬および下旬には新鮮感染を示す豚が確認された。特に 9 月下旬は過去 5 年間で初めて日本脳炎注意報発令基準（豚の抗体保有率が 50% を超え、かつ最近の感染を示す豚が確認される）に達した。全体として、新鮮感染を示す豚の数は 5 頭、抗体価 640 倍以上を示す豚は 1 頭であった。

以上のことから、平成 28 年は、9 月～10 月に日本脳炎ウイルスの活動が活発であり、ヒトへの感染リスクが高い年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 28 年 4 月から 11 月にかけて、県内の富山空港、港湾地区、畜舎、公園、観光地、山間部の計 28 地点で捕集した蚊をウイルス分離に用いた。また、抗体調査に用いた豚血清 235 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 [18] を実施した。

結果および考察：捕集蚊 399 プール (7,281 個体) のうち、9 月 5 日および 10 月 3 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 (表 6)。豚血清からは、表 7 のとおり、9 月 27 日および 10 月 17 日の 2 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 [7-16,19-22] 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 28 年はウイルスの動向は比較的活発であった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 27 年とほぼ同程度であった。豚の抗体保有率は 9 月中旬から 10 月末にかけて 15%～55% で推移し、9 月中旬から下旬には新鮮感染を示す個体が確認された。蚊 2 検体及び豚血清 2 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、9 月～10 月に日本脳炎ウイルスの活動が活発であり、ヒトへの感染リスクが高かったと考えられた。県内において患者は発生しなかった。

謝 辞

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

文 献

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. 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, 大平恵吾 (2016). 富山衛研年報, 39, 69-75
 17. 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.
 18. 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
 19. 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.
 20. 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
 21. 小原真弓, 山内健生, 渡辺 護, 長谷川澄代, 岩井雅恵, 堀元栄詞, 小淵正次, 滝澤剛則 (2011) 富山衛研年報, 34, 97-105

日本脳炎流行予測調査（感受性調査）平成 28 年度

稲崎 倫子 名古屋真弓 長谷川澄代 青柳由美子
米田 哲也 佐賀由美子 板持 雅恵 稲畑 良
小淵 正次 齋藤 知里¹ 平 麻衣子² 野澤 茉莉³
遠藤 京子⁴ 土田勇太郎⁵ 竹田 享代⁶

Epidemiological Surveillance (Serological Investigation) of Japanese Encephalitis Virus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016

Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Sumiyu HASEGAWA,
Yumiko AOYAGI, Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA,
Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO¹,
Maiko HIRA², Mari NOZAWA³, Kyoko ENDO⁴,
Yutaro TSUCHIDA⁵ and Michiyo TAKEDA⁶

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 28 年 7 月から 10 月に、新川、中部、高岡、砺波の各厚生センターおよび富山市保健所管内で、合計 262 名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の測定は、peroxidase-anti-peroxidase (PAP) 法を応用したフォーカス計数法にて行った。血清を 56℃、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と比較して、フォーカス数が 50% 以上減少した最大希釈倍数を中和抗体価とした。抗体価 10 倍以上を抗体陽性とした。

結果および考察：262 名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は 159 名（60.7%）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。これに対し、0～4 歳では 25.5%、40～49 歳では 23.1%、50～59 歳では 30.0%、60 歳以上では 30.4% 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 27 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は 90.0% であった（図 1、図 2）。これは、平成 17 年 5 月に予防接種の勧奨が中止された [3] が、平成 22 年 4 月から第 1 期（通常 3～4 歳）の定期接種 [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

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

会が多かったためと考えられる。しかしながら今回は60歳以上の抗体保有率は50～59歳に比べ0.4%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70.6%と最も多かった。この結果は、平成19～27

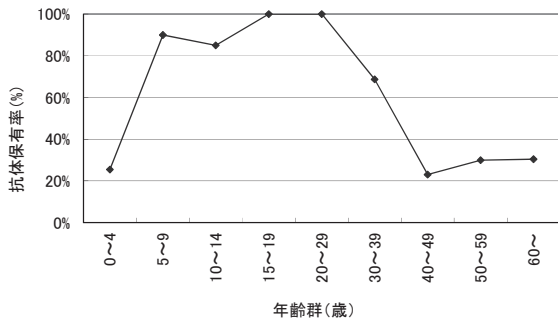


図1. 年齢群別の中和抗体保有率

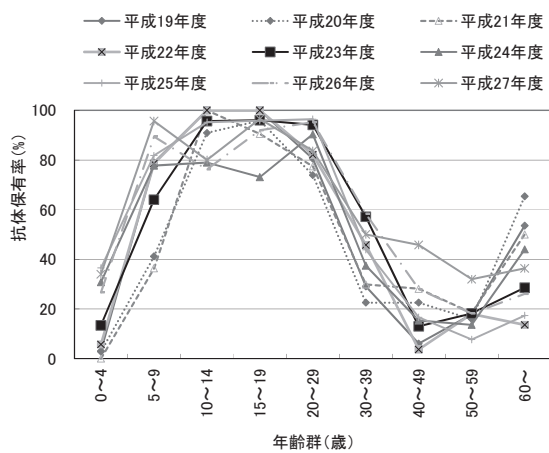


図2. 平成19～27年度の年齢群別中和抗体保有率

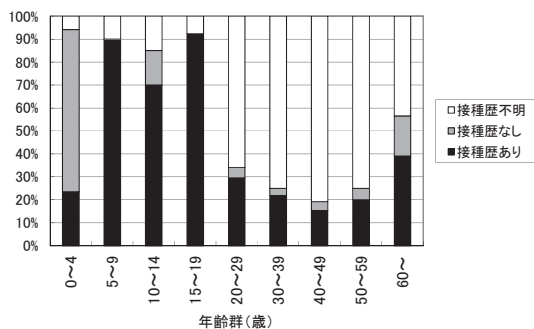


図3. 年齢群別のワクチン接種歴

年度の結果 [1,6-13] と顕著な差はなく、0～4歳に定期接種の対象年齢(通常3～4歳から)未満が多く含まれるためと考えられる。

「接種歴あり」の割合は15～19歳での92.3%がピークで、5～9歳でも90.0%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27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20.8%、「接種歴不明」で56.9%であったのに対し、1回以上接種歴のある対象者では82.9%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] のに比較するとやや増加し、平成27年度の83.5%と同程度であった。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75%以上であるものの、40歳以上では22.2～25.0%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19～27年度 [1,6-13] の結果と同様であった。

「接種歴なし」の中に、抗体陽性者が20.8%存在した(表1)。これは自然感染によるものと推測されるが、罹患歴は全て「なし」または「不明」であり、不顕性感染であったと推定される。中でも、0～4歳の年代で3名確認された。この年齢群の予防接種歴は母子手帳で確認できる場合が多く、他の年齢群より正確と考えられる。詳しく年齢をみると、5か月齢、7か月齢、1歳11か月齢となっており、6か月齢未満の1名は移行抗体が残存していた可能性があるが、それ以上の月齢である2名は不顕性感染であった可能性がある。0～4歳の年齢群では、平成22年度まで「接種歴なし」の抗体陽性者が0名であったのが、平成23年度以降毎年1～6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 [14] 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。

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	9 / 12	75.0%		3 / 36	8.3%		1 / 3	33.3%		13 / 51	25.5%	
5～9	17 / 18	94.4%		0 / 0			1 / 2	50.0%		18 / 20	90.0%	
10～14	14 / 14	100.0%		2 / 3	66.7%		1 / 3	33.3%		17 / 20	85.0%	
15～19	24 / 24	100.0%		0 / 0			2 / 2	100.0%		26 / 26	100.0%	
20～29	13 / 13	100.0%		2 / 2	100.0%		29 / 29	100.0%		44 / 44	100.0%	
30～39	6 / 7	85.7%		1 / 1	100.0%		15 / 24	62.5%		22 / 32	68.8%	
40～49	1 / 4	25.0%		0 / 1	0.0%		5 / 21	23.8%		6 / 26	23.1%	
50～59	1 / 4	25.0%		0 / 1	0.0%		5 / 15	33.3%		6 / 20	30.0%	
60～	2 / 9	22.2%		2 / 4	50.0%		3 / 10	30.0%		7 / 23	30.4%	
計	87 / 105	82.9%		10 / 48	20.8%		62 / 109	56.9%		159 / 262	60.7%	

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% 以上とほぼ勧奨中止前と同程度となり、平成 25 年度に約 70% とやや減少したものの、平成 26 年度には約 80% に回復した。

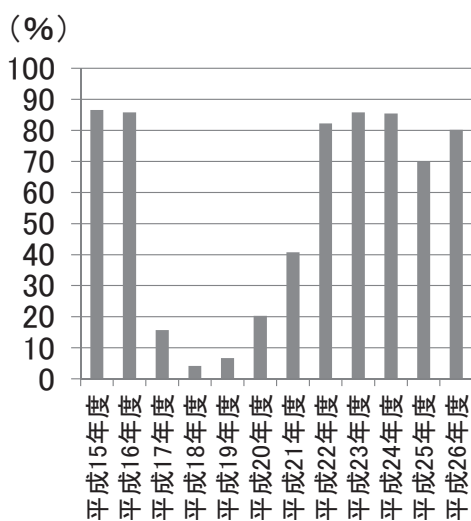


図 4. 富山県における日本脳炎予防接種率
接種率は保健統計年報 [15-26] を参考にした。

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、平成 27 年度と同程度の 60.7% 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、不顕性な自然感染をしている人がいることなどが確認された。0～4 歳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 [27]、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 [27-34]。このことから、ワクチン未接種の乳幼児、40 歳以上の抗体保有率が低い年齢群、及び発症リスクの高い高齢者は、特に蚊に刺されないための注意が必要である。

謝 辞

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

文 献

1. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 小渕正次, 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 (2016). 富山衛研年報, 39, 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. 稲崎倫子, 嶋 一世, 小淵正次, 板持雅恵, 稲畑 良, 滝澤剛則, 大井哲夫, 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
14. 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> (2017年7月4日 アクセス可能)
15. 富山県厚生部 (2005). 保健統計年報 (平成15年度), 55, 306-307
16. 富山県厚生部 (2006). 保健統計年報 (平成16年度), 56, 306-307
17. 富山県厚生部 (2007). 保健統計年報 (平成17年度), 57, 304-305
18. 富山県厚生部 (2008). 保健統計年報 (平成18年度), 58, 311-313
19. 富山県厚生部 (2009). 保健統計年報 (平成19年度), 59, 246-247
20. 富山県厚生部 (2010). 保健統計年報 (平成20年度), 60, 244-245
21. 富山県厚生部 (2011). 保健統計年報 (平成21年度), 61, 244-245
22. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成22年度), 62, 244-245
23. 富山県厚生部 (2013). 保健統計年報 (平成23年度), 63, 244-245
24. 富山県厚生部 (2014). 保健統計年報 (平成24年度), 64, 244-245
25. 富山県厚生部 (2015). 保健統計年報 (平成25年度), 65, 244-245
26. 富山県厚生部 (2016). 保健統計年報 (平成26年度), 66, 232-233
27. 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
28. 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
29. 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
30. 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
31. 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
32. 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
33. 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
34. 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, 大平恵吾 (2016). 富山衛研年報, 39, 69-75

ポリオ流行予測調査（平成 28 年度）

板持 雅恵 稲畑 良 稲崎 倫子 名古屋真弓
米田 哲也 佐賀由美子 齋藤 知里¹ 平 麻衣子²
野澤 茉莉³ 遠藤 京子⁴ 土田勇太郎⁵ 竹田 享代⁶
小淵 正次

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2016

Masae ITAMOCHI, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA,
Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Chisato SAITO¹, Maiko HIRA²,
Mari NOZAWA³, Kyoko ENDO⁴, Yutaro TUCHIDA⁵, Michiyo TAKEDA⁶
and Masatsugu OBUCHI

急性灰白髄炎（ポリオ）は、ポリオウイルスが中枢神経へ侵入することにより弛緩性麻痺を呈する感染症である。ヒトの腸管で増殖したポリオウイルスは糞便中に排泄され、経口感染によってヒトの間を伝播する。1988年に世界保健機関（WHO）によりポリオ根絶計画が提唱されて以来、ポリオウイルス野生株によるポリオ症例数は、当初 125 カ国以上で 35 万例と推計されていたが、2016 年には 3 カ国（アフガニスタン、パキスタン、ナイジェリア）から 37 例の報告となり、99%以下まで減少した [1]。一方、ワクチン株が変異し、地域伝播することにより複数の患者に麻痺を発症させる伝播型ワクチン由来ポリオウイルス（cVDPV）による症例は 2016 年には 5 カ国（パキスタン、ナイジェリア、ラオス、マダガスカル、ウクライナ）で報告されている [1]。このような流行地からの野生株や cVDPV の侵入を阻止するためには、ポリオウイルスに対する高い集団免疫と、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。一方、国内では生ワクチン関連麻痺を防ぐために、平成 24 年 9 月からポリオワクチンは不活化ワクチンに変更された。不活化ワクチンへの移行により集団免疫保有状況がどのように変化したかを評価することは重要である。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労

働省感染症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。平成 28 年度の調査内容は、下水流入水についてポリオウイルスの検索を行う「感染源調査」と、県民のポリオウイルスに対する中和抗体保有状況を調べる「感受性調査」であった。本稿では両調査結果を合わせて報告する。

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

感染源調査

調査方法：平成 28 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」[2, 3] により濃縮した。即ち、下水流入水遠心上清 1L に、最終濃度 0.05M となるように塩化マグネシウムを添加し、0.5N の塩酸を用いて pH3.5 に調整した。この液を陰電荷膜に加圧濾過して吸着させた後、陰電荷膜を細切り、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 番溶出液）。同様の溶出操作を繰り返し、

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

分離ウイルス		平成 28 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	B5型	4	5					9
エコー	6型			1	12	8	10	31
アデノ	2型					2		2
レオ	2型			2				2
計		4	5	3	12	10	10	44

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		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	22	0	1	1	3	3	6	4	0	3	1	22	(100)	66.0
2~3	22	0	0	1	1	1	2	4	6	3	4	22	(100)	192.8
4~9	27	0	1	0	4	2	4	3	3	1	9	27	(100)	153.2
10~14	20	1	0	1	1	1	4	5	2	2	3	19	(95)	137.7
15~19	26	0	1	1	0	4	4	6	2	4	4	26	(100)	131.5
20~24	19	0	0	0	2	1	5	2	3	6	0	19	(100)	137.7
25~29	25	0	0	0	0	3	5	8	4	2	3	25	(100)	151.2
30~34	15	1	1	0	2	2	1	4	2	1	1	14	(93.3)	82.0
35~39	17	1	0	0	0	1	2	4	3	3	3	16	(94.1)	234.8
40~49	26	1	3	3	3	3	3	6	2	2	0	25	(96.2)	43.4
50~59	20	3	1	2	2	3	3	4	0	0	2	17	(85.0)	52.2
60~	23	0	3	2	1	4	3	4	4	0	2	23	(100)	56.7
合計	262	7	11	11	19	28	42	54	31	27	32	255	(97.3)	105.0
(%)		(2.7)	(4.2)	(4.2)	(7.3)	(10.7)	(16.0)	(20.6)	(11.8)	(10.3)	(12.2)	(97.3)		

2型		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	22	0	1	0	1	0	5	3	4	7	1	22	(100)	164.7
2~3	22	0	0	0	0	0	0	2	3	4	13	22	(100)	618.5
4~9	27	0	1	2	2	4	2	8	4	2	2	27	(100)	87.1
10~14	20	0	0	1	1	3	7	6	2	0	0	20	(100)	68.6
15~19	26	0	1	2	4	5	10	3	1	0	0	26	(100)	39.6
20~24	19	0	1	1	2	5	5	2	2	1	0	19	(100)	49.6
25~29	25	0	0	1	3	7	5	4	3	2	0	25	(100)	64.0
30~34	15	0	0	1	1	8	4	1	0	0	0	15	(100)	36.8
35~39	17	0	0	1	0	5	2	4	3	1	1	17	(100)	92.4
40~49	26	0	0	2	3	7	7	2	3	1	1	26	(100)	57.5
50~59	20	3	0	0	1	4	5	5	1	1	0	17	(85.0)	75.3
60~	23	2	1	2	0	8	3	5	1	1	0	21	(91.3)	49.1
合計	262	5	5	13	18	56	55	45	27	20	18	257	(98.1)	79.4
(%)		(1.9)	(1.9)	(5.0)	(6.9)	(21.4)	(21.0)	(17.2)	(10.3)	(7.6)	(6.9)	(98.1)		

3型		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0~1	22	1	1	2	1	2	1	6	1	5	2	21	(95.5)	112.2
2~3	22	0	0	0	0	1	2	4	3	6	6	22	(100)	319.2
4~9	27	2	2	2	1	3	8	3	0	4	2	25	(92.6)	71.5
10~14	20	6	2	2	3	4	2	1	0	0	0	14	(70.0)	20.5
15~19	26	5	6	6	2	5	1	0	0	0	1	21	(80.8)	13.6
20~24	19	2	3	6	4	2	0	2	0	0	0	17	(89.5)	13.6
25~29	25	1	4	6	3	7	1	3	0	0	0	24	(96.0)	18.0
30~34	15	3	0	5	3	2	1	0	0	1	0	12	(80.0)	20.2
35~39	17	3	2	2	2	2	1	2	1	2	0	14	(82.4)	39.0
40~49	26	8	1	1	8	3	1	1	2	1	0	18	(69.2)	32.0
50~59	20	3	0	2	6	3	4	1	1	0	0	17	(85.0)	30.7
60~	23	0	2	0	2	8	4	1	4	2	0	23	(100)	55.0
合計	262	34	23	34	35	42	26	24	12	21	11	228	(87.0)	40.4
(%)		(13.0)	(8.8)	(13.0)	(13.4)	(16.0)	(9.9)	(9.2)	(4.6)	(8.0)	(4.2)	(87.0)		

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、アデノウイルス、レオウイルス抗血清 (国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研、自家製) 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 B5 型、エコーウイルス 6 型、アデノウイルス 2 型、レオウイルス 2 型が分離された。コクサッキーウイルス B5 型は、平成 27 年度に多く検出されたが、平成 28 年度も 7~8 月に分離された。また、平成 28 年度は 9~12 月にエコーウイルス 6 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、感染症発

生動向調査において、脳炎、脳症、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎等の患者からのポリオウイルス検出はなかった。これらのことから、県内におけるポリオウイルスや cVDPV の伝播の可能性は低いと推察された。

県内では、不活化ワクチンが導入された平成 24 年 9 月以降、ポリオウイルスの検出例はないが、他県では国外で生ワクチンを接種した人や下水流入水からポリオウイルスが検出された例がある [4, 5]。すべてワクチン株であり、生ワクチン使用国からの持ち込みによると考えられている。世界で野生株、及び VDPV の検出例や、生ワクチンの使用がある限り、本調査等によるポリオウイルス伝播の監視を継続する必要があると考えられる。

感受性調査

調査方法：平成 28 年 7 月から 10 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 262 名

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		1回	生1回不活化3回		生1回不活化2回		4回以上		3回		2回		1回		回数不明		回数不明		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	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	22								2 / 2 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	2 / 2 (100)	1 / 1 (100)								
2~3	22								19 / 19 (100)	3 / 3 (100)											1 / 1 (100)
4~9	27	12 / 12 (100)			6 / 6 (100)	1 / 1 (100)			6 / 6 (100)									2 / 2 (100)			
10~14	20	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)															1 / 2 (50)			2 / 2 (100)
15~19	26	19 / 19 (100)	2 / 2 (100)															1 / 1 (100)			4 / 4 (100)
20~24	19	3 / 3 (100)																1 / 1 (100)			15 / 15 (100)
25~29	25	4 / 4 (100)																2 / 2 (100)			21 / 21 (100)
30~34	15																	2 / 2 (100)			12 / 13 (92.3)
35~39	17	2 / 2 (100)																			14 / 15 (93.3)
40~49	26	1 / 1 (100)																3 / 3 (100)			21 / 22 (95.5)
50~59	20	0 / 1 (0)																1 / 1 (100)			16 / 18 (88.9)
60~	23																	2 / 2 (100)	3 / 3 (100)		18 / 18 (100)
合計	262	56 / 57 (98.2)	3 / 3 (100)	6 / 6 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	2 / 2 (100)	14 / 15 (93.3)	3 / 3 (100)	124 / 129 (96.1)						

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		1回	生1回不活化3回		生1回不活化2回		4回以上		3回		2回		1回		回数不明		回数不明		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	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	22								2 / 2 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	2 / 2 (100)	1 / 1 (100)								
2~3	22								19 / 19 (100)	3 / 3 (100)											1 / 1 (100)
4~9	27	12 / 12 (100)			6 / 6 (100)	1 / 1 (100)			6 / 6 (100)									2 / 2 (100)			
10~14	20	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)															2 / 2 (100)			2 / 2 (100)
15~19	26	19 / 19 (100)	2 / 2 (100)															1 / 1 (100)			4 / 4 (100)
20~24	19	3 / 3 (100)																1 / 1 (100)			15 / 15 (100)
25~29	25	4 / 4 (100)																2 / 2 (100)			21 / 21 (100)
30~34	15																	2 / 2 (100)			13 / 13 (100)
35~39	17	2 / 2 (100)																			15 / 15 (100)
40~49	26	1 / 1 (100)																3 / 3 (100)			22 / 22 (100)
50~59	20	1 / 1 (100)																1 / 1 (100)			15 / 18 (83.3)
60~	23																	2 / 2 (100)	3 / 3 (100)		16 / 18 (88.9)
合計	262	57 / 57 (100)	3 / 3 (100)	6 / 6 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	2 / 2 (100)	15 / 15 (100)	3 / 3 (100)	124 / 129 (96.1)						

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		1回	生1回不活化3回		生1回不活化2回		4回以上		3回		2回		1回		回数不明		回数不明		
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	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	22								2 / 2 (100)	15 / 15 (100)	1 / 1 (100)	1 / 2 (50)	1 / 1 (100)								
2~3	22								19 / 19 (100)	3 / 3 (100)											1 / 1 (100)
4~9	27	11 / 12 (91.7)			6 / 6 (100)	1 / 1 (100)			6 / 6 (100)									1 / 2 (50)			
10~14	20	10 / 15 (66.7)	1 / 1 (100)															1 / 2 (50)			2 / 2 (100)
15~19	26	15 / 19 (78.9)	1 / 2 (50)															1 / 1 (100)			4 / 4 (100)
20~24	19	2 / 3 (66.7)																1 / 1 (100)			14 / 15 (93.3)
25~29	25	4 / 4 (100)																2 / 2 (100)			20 / 21 (95.2)
30~34	15																	2 / 2 (100)			10 / 13 (76.9)
35~39	17	2 / 2 (100)																			12 / 15 (80.0)
40~49	26	1 / 1 (100)																2 / 3 (66.7)			15 / 22 (68.2)
50~59	20	1 / 1 (100)																1 / 1 (100)			15 / 18 (83.3)
60~	23																	2 / 2 (100)	3 / 3 (100)		18 / 18 (100)
合計	262	46 / 57 (80.7)	2 / 3 (66.7)	6 / 6 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	27 / 27 (100)	18 / 18 (100)	1 / 1 (100)	1 / 2 (50)	12 / 15 (80.0)	3 / 3 (100)	111 / 129 (86.0)						

(0~88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」[6]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50μL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、100TCID₅₀/25μL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)25μL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(1~2×10⁵細胞/mL)を100μLずつ加え、37℃、5%CO₂の条件下で培養した。細胞変性効果を1週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2穴ずつ測定した。ポリオウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所においてVeroE6細胞で1代継代後、さらにVero細胞で1代継代したものを使用した。

結果および考察：表2にポリオウイルスに対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況を示した。4倍以上を陽性とした抗体保有率は、全体では2型が98.1%(257/262)で最も高く、次いで1型が97.3%(255/262)、3型が87.0%(228/262)であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は1、2型については高く維持されていると考えられた。不活化ワクチンの接種は4歳以下、及び、5歳と6歳の一部に、生ワクチン接種は4歳以上でみられるが、年齢区分別の抗体保有率は、0~3歳では1型、及び2型が100%、3型が95.5~100%とすべての型に対して高い抗体保有率を示した。4歳以上の

年齢区分では、1型では50~59歳が85.0%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50~59歳が85.0%、60歳以上が91.3%であったが、それ以外のすべての年齢区分で抗体保有率が100%であった。一方、3型は40~49歳が69.2%、10~14歳が70.0%と低く、それ以外の年齢区分が80%以上であった。ポリオウイルス生ワクチン接種者において、1型、2型に比し3型の抗体保有率が低いのは、これまでの全国の調査でも同様である[5]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、全体では1型105.0倍、2型79.4倍、3型40.4倍であった。年齢区分別の1型、2型、3型に対する幾何平均抗体価は、0~1歳がそれぞれ66.0倍、164.7倍、112.2倍であるが、4回の不活化ワクチンが完了する2~3歳がそれぞれ192.8倍、618.5倍、319.2倍と高くなった。4歳以上の年齢区分では、1型では40~49歳の43.4倍から35~39歳の234.8倍までを示した。2型では30~34歳の36.8倍から35~39歳の92.4倍までを示した。3型では15~19歳、及び20~24歳の13.6倍から4~9歳の71.5倍までを示した。

表3にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。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。一方、2回の生ワクチン接種では、1型で98.2%、2型で100%と高い抗体保有率を示し、3型は80.7%と1、2型に比し低値を示した。

表4に1、2、3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は、全体では83.2%(218/262)であった。2~3歳が100%

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型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	1,2,3型(%)
0~1	22					1			21 (95.5)
2~3	22								22 (100)
4~9	27				2				25 (92.6)
10~14	20				6	1			13 (65.0)
15~19	26				5				21 (80.8)
20~24	19				2				17 (89.5)
25~29	25				1				24 (96.0)
30~34	15			1	2				12 (80.0)
35~39	17				3	1			13 (76.5)
40~49	26				8	1			17 (65.4)
50~59	20		1		2	3		2	12 (60.0)
60~	23							2	21 (91.3)
合計	262		1	1		32	6	4	218
(%)	(100)	(0)	(0.4)	(0.4)	(0)	(12.2)	(2.3)	(1.5)	(83.2)

平成 29 年 11 月 30 日

と高かったが、50～59 歳が 60.0% (12/20), 10～14 歳が 65.0% (13/20), 40～49 歳が 65.4% (17/26) と比較的低い値を示した。同年齢層の 3 型に対する比較的低い中和抗体保有率 (それぞれ 85.0%, 70.0%, 69.2%) 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 [5]。不活化ワクチンの接種スケジュールは、生後 3 ヶ月以上 90 ヶ月未満の間に計 4 回接種する。初回接種として 20～56 日間隔で (標準として 12 ヶ月までに) 3 回接種し、その後追加免疫として初回免疫終了後 12～18 ヶ月の間を標準として 1 回接種する [8]。

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 80.7% (46/57) 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 [9, 10]。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 [11-14]。本調査でも不活化ワクチン接種者は今のところ 3 型も含めて高い抗体保有率を示しているが、不活化ワクチンへの移行が接種後の持続免疫や集団免疫保有状況にどのような影響を及ぼすかは、今後も推移を見ていく必要がある。

2016 年では、パキスタン、アフガニスタン、ナイジェリアの 3 カ国から、37 例の 1 型野生株による麻痺症例が報告されている。2 型野生株は 1999 年以降、3 型野生株は 2012 年 11 月以降報告されていない。世界ポリオ根絶認定委員会は、2015 年 9 月、2 型野生株の根絶を宣言した [1, 5, 15]。一方、世界全体の生ワクチン使用国で発生している cVDPV による症例の多くが 2 型ウイルスによることから、2016 年 4 月には世界的に 2 型の生ワクチンが停止され、2 価 (1 型 + 3 型) 生ワクチン導入が進められた。生ワクチン使用国においては、少なくとも 1 回の不活化ワクチン接種が追加されている [5, 15]。

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 28 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 88 歳までの 262 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 97.3%, 2 型 98.1%, 3 型 87.0% であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は 1 型 105.5 倍、2 型 79.4 倍、3 型 40.4 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 (2017). Weekly epidemiological record, 92, 165-180
2. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2012). ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル, 28-38
3. Iwai, M, Hasegawa S, Obara M, et al. (2009). Appl Environ Microbiol, 75, 1264-1270
4. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2015). 病原微生物検出情報, 36, 86-87
5. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2016). 病原微生物検出情報, 37, 17-31
6. 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

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 (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
9. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997) . J. Infect. Dis., 175, 545-553
10. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩ら (1993) . 臨床とウイルス, 21, 123-131
11. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997) . J. Infect. Dis., 175, S228-234
12. 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
13. 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) . クアトロバックス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
14. 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>)
15. WHO (2017) . Weekly epidemiological record, 92, 293-300

インフルエンザ流行予測調査（平成 28 年度）

米田 哲也 佐賀由美子 稲畑 良 稲崎 倫子
名古屋真弓 板持 雅恵 小渕 正次 齋藤 知里¹
平 麻衣子² 大西さやか³ 遠藤 京子⁴ 杉野 泰子⁵
竹田 享代⁶

Serological Investigation of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2016-2017

Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOCHI, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO¹, Maiko HIRA², Sayaka OONISHI³, Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵ and Michiyo TAKEDA⁶

目的：これまで、インフルエンザの流行の予測と予防に資することを目的に、富山県感染症流行予測調査として、感受性調査と感染源調査を行ってきた。平成 28 年 4 月 1 日の改正感染症法施行に伴い、感染源調査を感染症発生動向調査として通年で実施することになった。そこで、本稿では感受性調査について報告する。

本調査は、厚生労働省結核感染症課が主体となり、全国の地方衛生研究所、保健所、医療機関等が協力して実施した。

対象および方法：2016 年 7～10 月に調査を行った。本年度は県内住民 250 名について調査を行った。年齢群別調査数は 0～4 歳：41 名、5～9 歳：18 名、10～14 歳：20 名、15～19 歳：26 名、20～29 歳：44 名、30～39 歳：34 名、40～49 歳：26 名、50～59 歳：20 名、60 歳以上：21 名であった。

検査方法は、調査対象者から採血し、血清中のインフルエンザウイルス赤血球凝集抑制（HI）抗体価を測定した。抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式（平成 14 年発行）」に準じて行い、血清希釈 10 倍を最低希釈倍数とした。

抗原は、次の 4 種類を使用した（2016/17 シーズンワクチン株）。

1. A/California/7/2009 (H1N1) pdm09
2. A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)
3. B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
4. B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)

抗原はデンカ生研製を使用した。血球は 1, 3,

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

調査の協力が得られた 262 名を対象に、当該シーズン（2016/2017）の予防接種歴とインフルエンザ罹患歴について、年度末にアンケート調査を行った。調査項目は、ワクチン接種回数と接種年月日、インフルエンザの発症年月日と検出された型とした。

年齢群別抗体保有状況

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

(1) A/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 65.6%であった。年齢群別では、5～9 歳、10～14 歳、15～19 歳、20～29 歳、40～49 歳、および 50～59 歳の群ではそれぞれ 72.2%、95.0%、100.0%、79.5%、65.4%、65.0%と高く、30～39 歳および 60 歳以上の群でも 58.8%、52.4%と比較的高かった。一方、0～4 歳の群では 24.4%と比較的低かった。

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

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	41	20	4	7	1	2	1	3	2	1	0	10	24.4
5-9	18	2	2	1	3	4	2	3	1	0	0	13	72.2
10-14	20	1	0	0	4	4	4	5	2	0	0	19	95.0
15-19	26	0	0	0	4	3	6	11	2	0	0	26	100.0
20-29	44	4	1	4	6	13	5	7	3	1	0	35	79.5
30-39	34	3	6	5	4	6	4	4	2	0	0	20	58.8
40-49	26	3	3	3	3	8	6	0	0	0	0	17	65.4
50-59	20	6	0	1	5	5	1	2	0	0	0	13	65.0
≥60	21	7	1	2	8	1	1	1	0	0	0	11	52.4
合計	250	46	17	23	38	46	30	36	12	2	0	164	65.6

A/Hong Kong/4801/2014(H3N2)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数										40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	2560	人数	%
0-4	41	24	9	1	2	2	1	0	0	2	0	7	17.1
5-9	18	4	4	3	1	3	2	1	0	0	0	7	38.9
10-14	20	0	2	2	5	6	5	0	0	0	0	16	80.0
15-19	26	2	1	5	8	2	2	5	1	0	0	18	69.2
20-29	44	5	17	6	5	6	3	2	0	0	0	16	36.4
30-39	34	6	7	6	8	1	5	1	0	0	0	15	44.1
40-49	26	6	5	9	4	1	0	1	0	0	0	6	23.1
50-59	20	11	3	1	2	0	3	0	0	0	0	5	25.0
≥60	21	4	5	6	1	4	1	0	0	0	0	6	28.6
合計	250	62	53	39	36	25	22	10	1	2	0	96	38.4

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	41	24	11	4	2	0	0	0	0	0	0	2	4.9
5-9	18	5	7	3	1	1	1	0	0	0	0	3	16.7
10-14	20	3	6	4	5	2	0	0	0	0	0	7	35.0
15-19	26	0	5	3	8	7	1	2	0	0	0	18	69.2
20-29	44	1	4	9	15	8	6	1	0	0	0	30	68.2
30-39	34	5	4	6	7	8	4	0	0	0	0	19	55.9
40-49	26	9	3	5	6	2	1	0	0	0	0	9	34.6
50-59	20	7	6	3	1	3	0	0	0	0	0	4	20.0
≥60	21	5	6	4	4	2	0	0	0	0	0	6	28.6
合計	250	59	52	41	49	33	13	3	0	0	0	98	39.2

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	41	27	13	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2.4
5-9	18	7	9	1	1	0	0	0	0	0	0	1	5.6
10-14	20	3	6	6	3	2	0	0	0	0	0	5	25.0
15-19	26	4	5	11	3	1	2	0	0	0	0	6	23.1
20-29	44	16	14	7	5	1	1	0	0	0	0	7	15.9
30-39	34	12	4	9	7	2	0	0	0	0	0	9	26.5
40-49	26	10	4	9	1	2	0	0	0	0	0	3	11.5
50-59	20	9	2	7	1	1	0	0	0	0	0	2	10.0
≥60	21	8	8	3	2	0	0	0	0	0	0	2	9.5
合計	250	96	65	53	24	9	3	0	0	0	0	36	14.4

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/Hong Kong/4801/2014 (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	22.2%	25.0%	33.3%	5.0%	5.6%	5.0%	0.0%	5.0%
	5-9	77.8%	62.5%	22.2%	50.0%	22.2%	12.5%	11.1%	0.0%
	10-14	88.9%	100.0%	88.9%	62.5%	33.3%	50.0%	22.2%	37.5%
	15-19	100.0%	100.0%	88.9%	16.7%	83.3%	50.0%	27.8%	16.7%
	20-29	94.4%	68.0%	50.0%	24.0%	77.8%	60.0%	11.1%	20.0%
	30-39	77.8%	40.0%	61.1%	20.0%	77.8%	26.7%	44.4%	6.7%
	40-49	84.6%	50.0%	23.1%	25.0%	61.5%	8.3%	23.1%	0.0%
	50-59	100.0%	55.6%	66.7%	0.0%	66.7%	0.0%	33.3%	0.0%
≥60	70.0%	36.4%	60.0%	0.0%	60.0%	0.0%	20.0%	0.0%	
全体	77.3%	54.4%	54.6%	20.2%	56.3%	25.4%	21.0%	9.6%	

表 3. 年齢別ワクチン接種者 (率) および罹患者 (率)

年齢群	回答人数	ワクチン接種者 (率)		罹患者 (率)			
				ワクチン接種有		ワクチン接種無	
		人数	%	人数	%	人数	%
0-4	15	10	66.7	3	30	2	40
5-9	10	7	70	0	0	0	0
10-14	13	8	61.5	2	25	2	40
15-19	23	22	95.7	1	4.5	1	100
20-29	25	11	44	0	0	0	0
30-39	16	8	50	1	12.5	1	12.5
40-49	18	8	44.4	3	37.5	1	10
50-59	17	2	11.8	0	0	1	6.7
≥60	14	9	64.3	2	22.2	0	0
全体	151	85	56.3	12	14.1	8	12.1

(2) A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 38.4%であった。年齢群別では、10~14 歳および 15~19 歳の群ではそれぞれ 80.0%、69.2%と高く、30~39 歳の群でも 44.1%と比較的高かった。一方、5~9 歳、20~29 歳、50~59 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 38.9%、36.4%、25.0%、28.6%と中程度で、0~4 歳および 40~49 歳の群では 17.1%、23.1%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 39.2%であった。年齢群別では、15~19 歳および 20~29 歳の群ではそれぞれ 69.2%、68.2%と高く、30~39 歳の群では、55.9%と比較的高く、10~14 歳、40~49 歳および 60 歳以上の群ではそれぞれ 35.0%、34.6%、28.6%と中程度であった。一方、5~9 歳および 50~59 歳の群ではそれぞれ 16.7%、20.0%と比較的低く、0~4 歳の群では 4.9%と極めて低かった。

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

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 14.4%であった。年齢群別では、10~14 歳および 30~39 歳の群ではそれぞれ、25.0%、

26.5%と中程度であった。15～19歳、20～29歳、40～49歳および50～59歳の群ではそれぞれ23.1%、15.9%、11.5%、10.0%と比較的低かった。

一方、5～9歳および60歳以上の群ではそれぞれ5.6%、9.5%と低く、0～4歳の群では2.4%と極めて低かった。

予防接種歴別抗体保有状況

結果：調査対象者250名中、予防接種歴不明の17名を除く233名におけるインフルエンザワクチン接種率（採血時に2015/16年シーズンのワクチン接種歴ありと回答した者）は51.1%（119名）であった。年齢群別の接種率は40.0（50～59歳）～75.0（15～19歳）%で、各年齢群間で最大35.0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77.3%：54.4%（接種歴有群：接種歴無群、以下同）、A/Hong Kong/4801/201（H3N2）で54.6%：20.2%、B/Phuket/3073/2013（山形系統）で56.3%：25.4%、B/Texas/2/2013（ビクトリア系統）で21.0%：9.6%と、全ての調査株で接種歴有群は無群と比較して11.4～34.4ポイント高かった。

ワクチン接種歴および罹患状況

結果：回答が得られたのは、262人中151人で回答率は、57.6%であった。ワクチン接種率は、

56.3%であった。年齢群別では15～19歳の群が、95.7%と一番高く、50～59歳の群が11.8%と一番低かった。

罹患率をワクチン接種の有無群で比較すると、15～19歳の群ではワクチン接種歴有の群が低かった。年齢群全体では、接種歴有群と接種歴無群に罹患率の差はほとんどなかった（表3）。

考 察

年齢群別抗体保有率では、B型に対する抗体保有率は、A型と比較して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。

予防接種歴別抗体保有率では、ワクチン株が変更になったAH3以外の3株は、去年より抗体保有率が高かった。

今回のアンケート調査では、年齢群全体では予防接種歴の有無で、罹患歴に差がみられなかった。より正確なデータを得るためには、調査の対象者数を増やして解析する必要があると考えられる。

謝 辞

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

インフルエンザ発生動向調査（平成 28 年度）

米田 哲也 佐賀由美子 稲畑 良 稲崎 倫子
名古屋真弓 板持 雅恵 小湊 正次 齋藤 知里¹
平 麻衣子² 大西さやか³ 遠藤 京子⁴ 杉野 泰子⁵
藤岡俊太郎⁶

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection in Toyama Prefecture, 2016-2017

Tetsuya YONEDA, Yumiko SAGA, Ryo INAHATA, Noriko INASAKI, Mayumi NAGOYA, Masae ITAMOUCHI, Masatsugu OBUCHI, Chisato SAITO¹, Maiko HIRA², Sayaka OONISHI³, Kyoko ENDO⁴, Taiko SUGINO⁵ and Shuntaro FUJIOKA⁶

目的：これまで、インフルエンザの発生状況を把握・分析し、情報提供することにより、感染症の発生およびまん延を防止することを目的として、富山県感染症流行予測調査のなかで感染源調査を行ってきた。平成 28 年 4 月 1 日から改正感染症法が施行したことに伴い、感染症発生動向調査として通年で実施されることになった。そこで、本稿では発生動向調査について報告する。

材料と方法：指定提出機関として、黒部市民病院（黒部市）、中村内科クリニック（上市町）、小栗小児科医院（高岡市）、おおしまこどもクリニック（射水市）、木田小児科医院（射水市）、力耕会金井医院（砺波市）、柳下小児科内科医院（砺波市）、中島こどもクリニック（富山市）、しんたにこどもクリニック（富山市）の協力を得て、合計 157 件の検体について検査を行った。

通年で検査を行い、定点医療機関あたりの患者報告数が 1.0 以上の期間を流行期、それ以外の期間を非流行期とした。今シーズンは、2016 年 6 月～10 月までが非流行期、2016 年 11 月～2017 年 5 月までが流行期であった。

検査方法は、患者から採取した鼻腔拭い液から RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出によって型・亜型の同定を行った。インフルエンザウイルスが検出された検体については、鼻腔拭い液を MDCK 細胞に接種

しウイルス分離を行った。分離ウイルスの型別同定は、2016/17 シーズンワクチン株に対する抗血清を用いた HI 試験により行った。

インフルエンザ患者発生状況

結果および考察：2016/17 シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は 2016 年第 37 週（9/12～9/18）であった。散發流行の後、2016 年第 46 週（11/14～11/20）には定点あたり 1.96 人となり、流行が始まった。2016/17 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 シーズンでは最も早く、過去 5 シーズンで最も遅かった去年度に比べると、7 週早かった。その後、患者報告数が増加し、2017 年第 5 週（1/30～2/5）にピークに達した（30.92 人/定点）。その後は減少し、第 20 週（5/15～5/21）には定点あたり 0.46 人となり、流行は終息した（図 1）。流行の終わりは、例年並みの 5 月下旬であった。今シーズンは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。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、2016 年 10 月 25 日（第 43 週）から 2017 年 5 月 8 日（第 19 週）までに延べ 198 施設でとられた。その内訳は、保育所・幼稚園が 22 施設、小学校が 136 施設、中学校 31 施設、その他が 9 施設であった（図 2）。シーズン中の集団かぜによる、累積患者

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

数は3,914名であった。集団発生による学級閉鎖は、流行の開始が早かったため、第一報も第43週の早い時期となった。学級閉鎖の施設数のピークは、患者報告数のピークとほぼ同じ時期の2月上旬であった。

インフルエンザウイルスの検出・分離状況

結果および考察：非流行期（2016年6月～10月）4検体、流行期（2016年11月～2017年5月）153検体の計157検体についてインフルエンザウイルスの遺伝子検出を試みた。成績を表1に示す。ウイルスの型・亜型別では、AH1pdm09が3件（2.0%）、AH3が129件（84.8%）、B型（山形系統）が10件（6.6%）、B型（ビクトリア系統）が10件（6.6%）の合計152件が検出された。週別の検出状況をみると、非流行期では、第22週にAH1pdm09が1件、第43週にAH3が3件検出された。今シーズンの流行の入りは、第46週からとなり流行期では、AH1pdm09が2件、

AH3が126件、B型（山形系統）が10件、B型（ビクトリア系統）が10件検出された（図3）。

ウイルスの遺伝子が検出された検体のうち、23検体（非流行期1検体、流行期22検体）をMDCK細胞に接種しウイルス分離を試みた。その結果23検体すべて分離することができ、分離率は100%だった。HA価を測定したところ、23株すべて8倍以上の値が得られた。HI試験により、分離したウイルスの型別同定を行った結果、非流行期では、AH1pdm09が1株、流行期では、AH3が22株分離された。

2016/17シーズンは、前シーズンと異なり、AH1pdm09の流行はまったくみられず、AH3が主流であった。AH3の流行は2シーズンぶりとなった。B型における山形系統とビクトリア系統の比率は、同じであった。AH3は、前シーズンと同様に培養細胞での増殖が悪かったが、分離した株は、HI試験が可能なHA価が得られた。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた黒部市民病院、中村内科クリニック、小栗小児科医院、おおしまこどもクリニック、木田小児科医院、力耕会金井医院、柳下小児科内科医院、中島こどもクリニックならびにしんたにこどもクリニックに深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

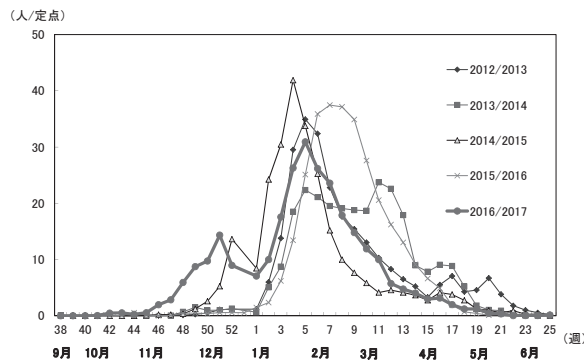


図1. 過去5シーズンの患者報告数の推移(富山県)

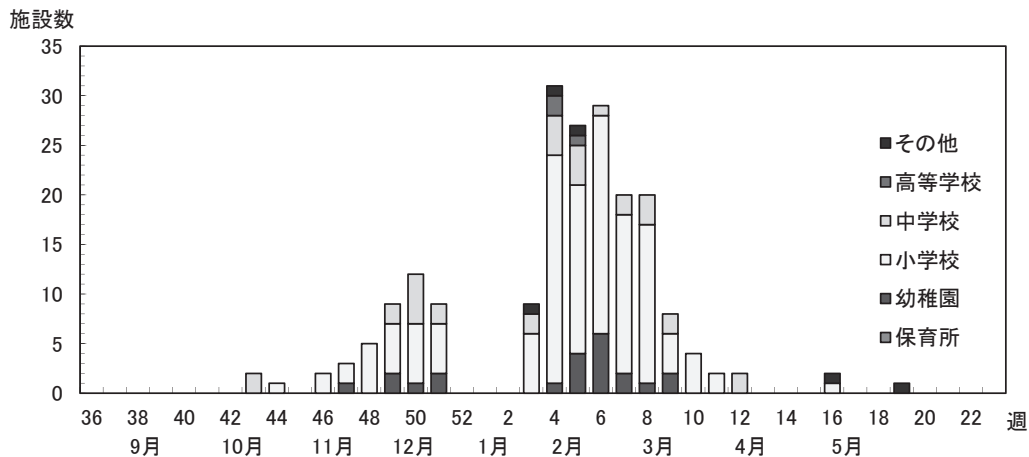


図2. インフルエンザ様疾患の集団発生 富山県 2016/2017年

表 1. 施設別インフルエンザウイルス検出数

管轄厚生センター・保健所等	検体採取施設	区分	ウイルス検査						
			咽頭(鼻腔)ぬぐい液		ウイルス検出				
			採取日	検体数	検出数	型別内訳			
			AH1pdm	AH3	B(山形系統)	B(ビクトリア系統)			
新川	黒部市民病院	指定提出機関	2016.12.5~ 2017.4.17	14	14	0	12	0	2
中部	中村内科クリニック	指定提出機関	2016.7.8~ 2017.3.13	11	9	1	9	0	0
高岡	小栗小児科医院	指定提出機関	2016.11.24~ 2017.5.19	34	34	2	27	4	1
高岡	おおしまこどもクリニック	指定提出機関	2016.11.12~ 2017.3.10	10	10	0	10	0	0
高岡	木田小児科医院	指定提出機関	2017.4.4~ 2017.5.11	6	5	0	3	0	2
砺波	カ耕会 金井病院	指定提出機関	2016.10.25~ 2017.5.8	44	42	0	38	2	2
砺波	柳下小児科内科医院	指定提出機関	2017.3.16	1	1	0	1	0	0
富山市	中島こどもクリニック	指定提出機関	2016.11.26~ 2017.3.25	15	15	0	14	0	1
富山市	しんたにこどもクリニック	指定提出機関	2016.11.11~ 2017.5.9	21	21	0	15	4	2
合計				157	152	3	129	10	10

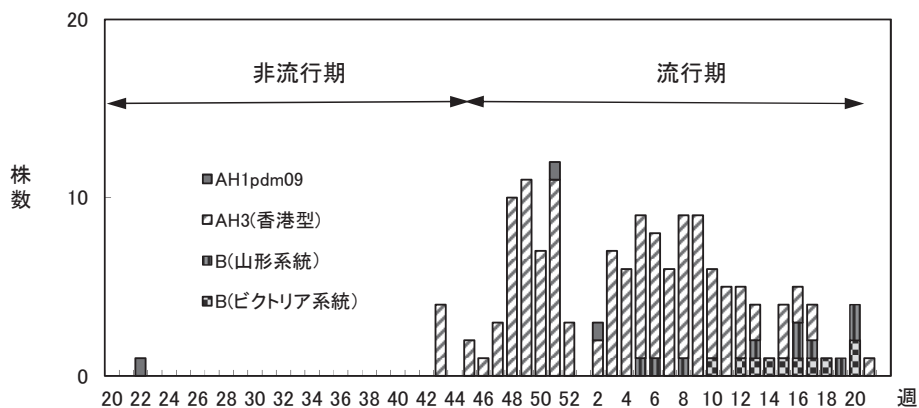


図 3. 週別・型別インフルエンザウイルス検出数

表 1. 平成 28 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28年(2016年)					平成29年(2017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)	30	2	1				4	11	40	33	29	18	168
	AH1型インフルエンザ	3	1	1						1	1			7
	AH3型インフルエンザ							4	9	39	29	28	12	121
	B型インフルエンザ	25	1								2	1	5	34
上気道炎・下気道炎	(被検者数)	1	2	7		1	9	2	1	1				24
	パラインフルエンザ3型		1											1
	パラインフルエンザ3型+ライノ		1											1
	メタニューモ				1		4							5
	ライノ			3										3
	パレコ3型						1	1						2
	パレコ3型+ライノ					1								1
	パレコ3型+エコー18型								1					1
	ボカ									1				1
	RS						3							3
脳炎・脳症・麻痺	(被検者数)	1	1	2				1	1	2	6	1	1	16
	ライノ										1		1	2
	パレコ3型								1					1
	アデノ1型									1				1
無菌性髄膜炎	(被検者数)	1					3			1		1	2	8
	コクサッキーB5型						1							1
	エコー9型									1				1
感染性胃腸炎(集団)	(被検者数)	6	5	16		4	12	2	23	21		7		96
	ノロGI ^a		3	2										5
	ノロGII	4	1	4			1		10	14		5		39
	ノロGI+GII						1							1
感染性胃腸炎(散発)	(被検者数)	1	1	5	1	1	1	1	3	1	3	5	23	
	ロタA群			1							3	3	7	
	ノロGII	1								2			3	
	サポ			1				1					2	
	サポ+エコー6型								1				1	
	ノロGII+アデノ2型		1	1									2	
	アデノ2型										1		1	
	アストロ												1	1
麻疹	(被検者数)					1	2			2	1	1	7	
	麻疹									1			1	
肝炎	(被検者数)	1	2	1			4	5		1			14	
	-												0	
手足口病	(被検者数)					1				1	3		2	7
	コクサッキーA6									1	3		2	6
ヘルパンギーナ	(被検者数)										1		1	
	コクサッキーA6										1		1	
つつが虫病	(被検者数)	1						5	6	1			13	
	つつが虫病リケッチア							5	6				11	
デング熱	(被検者数)			1			1		1		1		4	
	デング1型						1						1	
	デング2型								1		1		2	
筋炎、筋痛症	(被検者数)									4	2	1	7	
	パレコ3型									3		1	4	
SFTS ^b	(被検者数)	1			1	1		1					4	
その他 ^c	(被検者数)	1		1					2		1		5	
	-												0	
症例合計	(被検者数)	44	13	34	2	9	32	22	44	77	48	42	29	396
	病原体検出者数	33	9	14	0	1	13	10	29	65	40	37	25	276
食品	(検体数)						6		8				14	
	ノロGII												0	

■, 灰色の影で記した数は、無症状の施設関係者及び接触者を含む。

a. ノロGI: ノロウイルスGenogroup I

b. SFTS: 重症熱性血小板減少症候群

c. その他: 4月の1症例はライム病疑い。6月及び10月の各1症例はジカ熱疑い。

10月の1症例はサイトメガロウイルス感染症疑い。1月の1症例は心筋炎。

小児科定点等の医療機関からは、計23症例（糞便23）の散発例の検査依頼があった。このうち17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、エコーウイルス6型、アデノウイルス2型、アストロウイルスであった。これらのうち、ロタウイルスA群が7症例からと多く検出された。

麻疹：計7症例（咽頭拭い液7、血漿7、尿4、末梢血単核球7）の検査を行ったところ、1症例（30代男性）の尿から麻疹ウイルスが検出された。麻疹ウイルスの遺伝子型はD8型であった。一方、9月の1症例（1歳児）の血漿からヒトヘルペスウイルス6型が検出された。

肝炎：4～12月に計14症例（糞便9、血液6）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

手足口病：8月、1～3月に計7症例（咽頭拭い液7、糞便1、血清1）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。

ヘルパンギーナ：1月に1症例（咽頭拭い液1）の検査を行ったところ、コクサッキーウイルスA6型が検出された。

つつが虫病：4～12月に計13症例（血液14、痂皮10）の検査を行ったところ、11症例の血液または痂皮からつつが虫病リケッチアのKawasaki型が検出された。

デング熱：6、9、11、1月に計4症例（血清1、血漿3、末梢血単核球3、尿3）の検査を行ったところ、1症例からデングウイルス1型が、2症

例からデングウイルス2型がそれぞれ検出された。これらの症例では発症時または発症数日前にベトナム、フィリピン、モルジブへの渡航歴があった。
筋炎・筋痛症：12～3月に計7症例（糞便5、咽頭拭い液7、血清）の検査を行ったところ、4症例の糞便または咽頭拭い液からパレコウイルス3型が検出された。

SFTS（重症熱性血小板減少症候群）：4～10月に計4症例（血漿4、バフィーコート2）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：4月に1症例（血液1、髄液1）のライム病の検査を行ったが、ライム病ボレリアは検出されなかった。6月、10月に計2症例（血清1、血漿1、バフィーコート1）のジカ熱の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。10月に1症例（咽頭拭い液1、髄液1）のサイトメガロウイルス感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症例の心筋炎（咽頭拭い液、血清、尿）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

食品検体：食中毒事例に関連して、9月、11月に食品14検体のウイルス検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

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

動物由来感染症浸淫状況調査（平成 28 年度）

佐賀由美子 名古屋真弓 稲崎 倫子 稲畑 良
 長谷川澄代 青柳由美子 板持 雅恵 米田 哲也
 小淵 正次 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 2016

Yumiko SAGA, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Ryo INAHATA,
 Sumiyo HASEGAWA, Yumiko AOYAGI, Masae ITAMOCHI, Tetsuya YONEDA,
 Masatsugu OBUCHI, Masato HIRANO¹, Masashi HAYASHI¹, and Tetsurou KIJIMA¹

県内における動物由来感染症の流行および汚染状況把握、海外からの侵入を監視する目的で、哺乳類と媒介節足動物における各種感染症の浸淫状況を調査した。対象疾患はウエストナイル熱、デング熱、ジカウイルス感染症、チクングニア熱、腎症候性出血熱、ハンタウイルス肺症候群とした。日本脳炎については、資料「日本脳炎流行予測調査(感染源調査)」で報告する。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活消長および観光地における蚊の分布状況を調査した。

材料と方法

I. 蚊の発生活消長調査

平成 28 年 5 月～11 月に、県内の訪問者数が多い公園等 4 地点で調査を行った（表 1、図 1）。太閤山ランド以外の 3 地点では月 2 回、太閤山ランドでは週 1 回調査を行った。

蚊の採集は、太閤山ランド以外の 3 地点では 8 分間人囮法のみで行った。太閤山ランドでは、8 分間人囮法と CDC 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. 蚊の分布状況調査

平成 28 年 6 月～9 月に、県内の観光地 6 地点で調査を行った（表 1、図 1）。

蚊成虫の採集は、8 分間人囮法で行った。立山町芦峯寺の 2 地点では、8 分間人囮法に加え、前述のとおり作動させた CDC ライトトラップも併用した。蚊幼虫は、雨水枡やビニルシート等に溜まった水を柄杓またはスポイトで採集した。立山町芦峯寺の 2 地点は 8 月～9 月にオビトラップを設置し、卵および孵化した幼虫を採集した。採集した卵および幼虫は研究室で飼育し、羽化させ

表 1. 蚊の発生活消長および分布状況の調査地点

区分	調査場所	市町村	調査時期(頻度)	成虫調査方法		幼虫調査方法	
				人囮法	CDCトラップ	柄杓等	オビトラップ
発生活消長	1 太閤山ランド	射水市	5～11月(毎週)	○	○		
	2 高岡古城公園	高岡市				ND	ND
	3 呉羽丘陵(白鳥城址)	富山市	5～11月(月2回)	○	ND		
	4 呉羽丘陵(寺院敷地内)	富山市					
観光地の分布	① 宇奈月温泉	黒部市	6/15, 8/2				
	② 瑞龍寺	高岡市	8/3				
	③ 五箇山(相倉集落)	南砺市	7/15, 9/7	○	ND	○	ND
	④ 五箇山(菅沼集落)						
	⑤ 芦峯寺(雄山神社)						
	⑥ 芦峯寺(立山カルデラ砂防博物館)	立山町	6/29, 8/17, 8/31	○	○	○	○

○: 調査実施 ND: 調査せず



図 1. 蚊の発生活消長および分布状況調査地点

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	
空港	富山空港	93	33	
	港湾	19	8	
畜舎	伏木港	5	5	
	富山新港	732	27	
	牛舎	富山市 4,805	102	
	公園等	太閤山ランド	射水市 919	116
	高岡古城公園	高岡市 5	4	
観光地	呉羽丘陵(寺院敷地内)	富山市 218	27	
	呉羽丘陵(白鳥城址)	富山市 258	22	
	衛生研究所	射水市 13	2	
	瑞龍寺	高岡市 15	2	
	相倉	南砺市 15	8	
	雄山神社	立山町 4	4	
	砂防博物館	立山町 40	5	
山間部	利賀村(6地点)	南砺市 12	10	
	芦峯寺(8地点)	立山町 128	24	
合計		7,281	399	

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	4,839	131
ヒトスジシマカ	1,847	123
アカイエカ群	304	50
カタシロヤブカ	123	19
オオクロヤブカ	83	27
ヤマトヤブカ	44	22
キンパラナガハシカ	31	19
カラツイエカ	4	3
ハマダライエカ	3	2
ヤマトクシヒゲカ	1	1
セシロイエカ	1	1
イエカ属(種不明)	1	1
合計	7,281	399

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.

Ⅲ. 蚊からのウイルス分離

平成28年4月から11月にかけて, 県内の富山空港, 港湾地区, 畜舎, 公園, 観光地, 山間部の計28地点で採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. 細胞変性効果が現れた検体の培養上清について, ウエストナイルウイルス, デングウイルス, ジカウイルス, チクングニアウイルスを対象としたリアルタイムRT-PCR[1,2,3,4]を実施した.

Ⅳ. 野生げっ歯類の抗体調査

平成28年5月から平成29年2月に, 富山新港, 伏木港, 富山港, 富山空港においてシャーメントラップまたは捕獲籠を用いて野生げっ歯類の捕獲を行った. 捕獲された2種11頭の血清を用いて, 腎症候性出血熱およびハンタウイルス肺症候群の原因ウイルスを対象としたELISA法[5]により抗体検出を行った. ELISA法で吸光度の高かった検体については, 間接蛍光抗体法(IFA法)による抗体価の測定を行った. IFA法の抗原は, 腎症候性出血熱の原因ウイルス3種(Hantaanウイルス, PuumalaウイルスおよびSeoulウイルス)を用い, 抗体価16倍以上を陽性とした.

結果

I. 蚊の発生活長調査

全調査期間中に, 公園等4地点で採集された蚊の, 各調査地点における種別採集数を表4に示した. 4地点で, 不明1種を含む4属7種1,032個体が採集された. 4地点全てで優占して採集された種はヒトスジシマカ(採集割合80.0~93.8%)であった.

公園等4地点における8分間人囮法によるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別採集数を表5および図2に示した. ヒトスジシマカの発生は, 5月下旬に確認され, 10月下旬に終息した. ヒトスジシマカが多数採集された期間は, 7月初旬から9月下旬であった. 各地点の1日あたりの蚊の平均採集数は, 訪問者の多い公園2地点(調査地点1~2)では0.1~3.8, その他2地点では6.6~9.6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, 28年に8分間人囮法により採集されたヒトスジシマカ雌成虫の調査日別平均採集数を比較した(図3). 調査地点4における平成28年のヒトスジシマカ雌成虫の発生数は, 平成27年に比較すると多く, 平成22年と同程度であり, 平成23年と比較すると少なかった.

太閤山ランドにおける調査方法別の蚊の種別採集数を表6に示した. 8分間人囮法では不明1種を含む4属6種548個体が採集され, 優占して採集された種はヒトスジシマカ(採集割合93.8%)であった. CDCトラップでは5属8種371個体

表 4. 公園等 4 地点における 8 分間人囮法による蚊の種別採集数

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		イエカ属(種不明)		計
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
1 太閤山ランド	434	80	12	3	12	2	2	1	0	1	0	0	0	1	548
2 高岡古城公園	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5
3 白鳥城址	231	10	11	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	258	
4 寺院敷地内	158	47	10	0	2	0	2	0	0	0	2	0	0	221	
計	826	138	34	3	17	2	7	1	0	1	2	0	1	1,032	

表 5. 公園等 4 地点における 8 分間人囮法によるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別採集数

調査場所	調査地点数	5月		6月		7月		8月		9月		10月		11月	計
		4週	1週	3週	1週	4週	2週	4週	1週	4週	2週	4週	1週		
1 太閤山ランド	4	2	5	7	5	9	16	19	43	58	13	3	0	180	
2 高岡古城公園	2	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	3	
3 白鳥城址	2	2	0	4	58	21	8	54	57	18	9	0	0	231	
4 寺院敷地内	2	0	3	4	21	24	4	23	36	36	7	0	0	158	
計	10	39	25	6	7	147	63	75	38	145	38	13	1	597	

表 6. 太閤山ランドにおける蚊の調査方法別採集数

調査場所	調査地点数	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		カラツイエカ		フタクロホシチビカ		イエカ属(種不明)		計
		♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
8分間人囮法	4	434	80	12	3	12	2	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	548
CDCトラップ(ドライアイス誘引)	2	161	4	2	0	23	0	12	6	85	1	73	0	3	0	0	1	0	0	371
合計	6	595	84	14	3	35	2	14	7	85	2	73	0	3	0	0	1	0	1	919

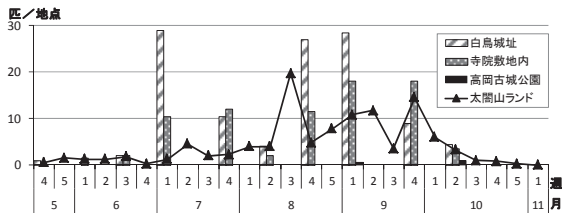


図 2. 公園等 4 地点における 8 分間人囮法によるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別採集数

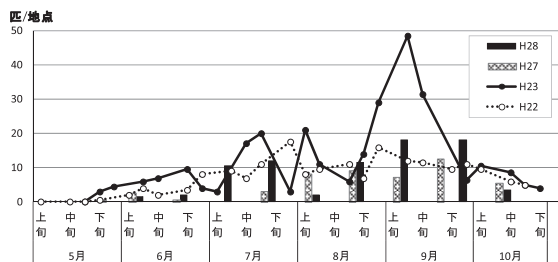


図 3. 調査地点 4 におけるヒトスジシマカ雌成虫の年次別季節消長 (平成 22 年, 23 年, 27, 28 年)

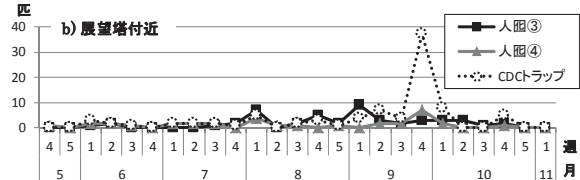
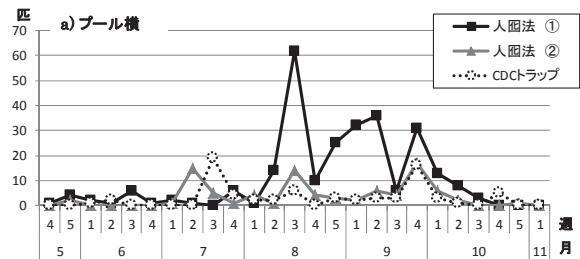


図 4. 太閤山ランドにおける調査方法別のヒトスジシマカ雌成虫採集数

CDC トラップの設置場所は, a) プール横は人囮法②の位置に, b) 展望塔付近は人囮法③の位置に近い。

表7. 観光地における蚊幼虫の採集成績

調査場所	調査日	採集場所	種名					
			ヒトスジ シマカ	ヤマト ヤブカ	キンバラ ナガハシカ	アカイエカ	フタクロ ホシチビカ	トラフ カクイカ
① 宇奈月温泉	6/15	ポール穴	1	73	0	0	0	0
	8/2	ポール穴	6	19	0	0	0	0
		排水溝	0	2	0	0	14	0
		ビニールシート	0	23	0	0	0	0
		バケツ	0	3	0	0	0	0
	合計	7	120	0	0	14	0	
② 瑞龍寺	8/3	茶室用の手水	46	0	0	0	0	0
		盆型の石台	59	0	0	0	0	0
		排水溝	0	0	0	0	0	2
		合計	105	0	0	0	0	2
③ 五箇山(相倉集落)	7/15	ポール穴	12	33	11	0	0	0
		墓の水鉢	4	34	0	0	0	0
		ビニールシート	0	2	0	0	0	0
		梯子	0	4	0	0	0	0
	9/7	ポール穴	0	5	2	0	0	0
		墓の花立	5	0	0	0	0	0
		合計	21	78	13	0	0	0
④ 五箇山(菅沼集落)	7/15	庭の水溜り	0	73	0	1	0	0
	合計	0	73	0	1	0	0	
⑤ 芦峯寺(雄山神社)	8/31	オビトラップ	1	9	34	0	0	0
	合計	1	9	34	0	0	0	
⑥ 芦峯寺(立山カルデラ 砂防博物館)	6/29	雨水枡	0	73	0	0	3	0
		人口容器	0	13	0	0	0	0
	8/17	雨水枡	0	1	0	0	2	0
		人口容器	0	9	0	0	0	0
	8/31	雨水枡	0	0	0	0	5	0
		オビトラップ	0	3	0	0	0	0
		合計	0	99	0	0	10	0

立山町芦峯寺の2地点(⑤、⑥)の9月に回収したオビトラップからは、幼虫は採集されなかった。

表8. 観光地における蚊成虫の採集成績

調査場所	調査日・ 調査方法※	調査 地点数	種名										合計		
			ヒトスジ シマカ		ヤマト ヤブカ		オオクロ ヤブカ		カタシロ ヤブカ		コガタ アカイエカ		♀	♂	
			♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂			
① 宇奈月温泉	6/15	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8/2	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
② 瑞龍寺	8/3	4	11	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	4
③ 五箇山(相倉集落)	7/15	6	1	0	2	1	0	0	1	1	0	0	4	2	
	9/7	9	4	2	0	0	1	0	0	0	0	0	5	2	
④ 五箇山(菅沼集落)	7/15	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	9/7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
⑤ 芦峯寺(雄山神社)	8/17	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	8/17T	1	0	0	0	0	1	0	0	1	0	2	0		
	8/31	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	8/31T	1	0	0	0	0	1	0	1	0	0	2	0		
⑥ 芦峯寺(立山カルデラ 砂防博物館)	6/29	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	8/17	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	8/17T	1	0	0	0	0	8	0	7	0	0	15	0		
	8/31	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	8/31T	1	0	0	0	0	22	0	2	0	1	25	0		
	合計	50	16	6	2	1	33	0	11	1	2	64	8		

※ 「日付のみ」の記載は8分間人囗法で、「日付+T」の記載はCDCトラップを用いて調査した。

表 9. 野生げっ歯類におけるハンタウイルス抗体検出

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
1996	平成28年5月	伏木港	ハツカネズミ	♂	陰性	NT	NT	NT
1997	平成28年5月	富山新港	ハツカネズミ	♀	陰性	NT	NT	NT
1998	平成28年5月	富山新港	ハツカネズミ	♂	陰性	NT	NT	NT
1999	平成28年11月	富山空港	ハツカネズミ	♀	陰性	NT	NT	NT
2000	平成28年11月	伏木港	ハツカネズミ	♂	陰性	NT	NT	NT
2001	平成28年11月	伏木港	ハツカネズミ	♀	要検討	<16	<16	<16
2034	平成29年2月	富山新港	ハツカネズミ	♂	要検討	<16	<16	<16
2035	平成29年2月	富山新港	ドブネズミ	♂	陰性	NT	NT	NT
2036	平成29年2月	伏木港	ハツカネズミ	♀	陰性	NT	NT	NT
2037	平成29年2月	伏木港	ハツカネズミ	♂	陰性	NT	NT	NT
2038	平成29年2月	伏木港	ハツカネズミ	♂	要検討	<16	<16	<16

HTN: Hantaanウイルス、PUU: Puumalaウイルス、SEO: Seoulウイルス、NT: 検査せず

が採集され、最も高い割合で採集された種はヒトスジシマカ（採集割合 44.5%）であった。次いでアカイエカ（23.2%）、コガタアカイエカ（19.7%）が採集された。

II. 蚊の分布状況調査

観光地 6 地点における蚊幼虫の採集成績を表 7 に示した。ヒトスジシマカは、宇奈月温泉、瑞龍寺、相倉集落、雄山神社の 4 地点で確認された。ヤマトヤブカは瑞龍寺を除く 5 地点で確認され、採集数も多かった。

観光地 6 地点における蚊成虫の採集成績を表 8 に示した。8 分間人囮法で蚊成虫が採集されたのは、瑞龍寺と相倉集落の 2 地点のみであった。ヒトスジシマカは瑞龍寺と相倉集落の 2 地点で、ヤマトヤブカは相倉集落のみで採集された。しかし、ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカの両方とも 1 地点あたりの雌成虫採集数は 0~5 個体と少なかった。立山町芦峠寺 2 地点における CDC トラップを用いた調査で蚊は採集されたが、ヒトスジシマカとヤマトヤブカは採集されなかった。

III. 野生げっ歯類の抗体調査

平成 28 年 5 月から平成 29 年 2 月に、富山新港、伏木港、富山空港においてシャーメントラップまたは捕獲籠を用いて 2 種 11 頭を捕獲した。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 3 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 9）。

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、平成 27 年以降に南米で流行したジカ熱も、ヒトスジシマカが媒介することから、日本に侵入する可能性は否めない。その他、ウエストナイルウイルスが米国に侵入した例 [7,8]、日本脳炎ウイルスがオーストラリアに侵入した例 [9]、1970~80 年代に日本へ輸入された実験動物ラットからハンタウイルスが広がった例 [10]、および 1980 年代に全国の港湾地区でハンタウイルスに対する抗体を持つネズミが確認された例 [10] など、動物由来感染症の侵入例が過去にも多数確認されていることから、今後の侵入に備え、引き続き監視体制を維持する必要があると考えられる。

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、本年度のヒトスジシマカの発消長は、5 月下旬に確認され 10 月下旬に終息し、その発生ピークは 7 月初旬から 9 月下旬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、平成 27 年に衛生研究所敷地内で行った 8 分間人囮法と CDC トラップ採集法の比較検討で相違を認めたため、平成 28 年は太閤山ランドで検討を行ったが、両方の採集成績に相違は認められなかった。これは、8 分間人囮法の調査時間帯が平

成 28 年は平成 27 年に比べ日中の暑い時間帯が多かったことが影響している可能性がある。今後も両法の特徴を考慮し、利点を活かした調査法を確立する必要がある。

県内観光地 6 地点中 4 地点でヒトスジシマカの分布が確認された。また、ヒトスジシマカと同じ *Aedes* 属で、ヒトスジシマカと同様にデング熱等を媒介する可能性のあるヤマトヤブカについては、5 地点で分布が確認された。しかしながら、ヒトスジシマカ、ヤマトヤブカとも成虫採集数は少なく、調査地点における生息密度は低かった。しかし、調査時期や調査場所、調査方法については、さらなる検討が必要である。また、蚊の発生状況は気候等の環境要因によって変化するため、調査の継続が求められる。

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 荏和宏明先生、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> (2017年7月11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> (2017年7月11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

下水流入水中の腸管系ウイルスの次世代シーケンサーと細胞培養法による検出 (2011 ~ 2013 年)

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

Enteric Viruses Detected from Raw Sewage using Next-generation Sequencing and Cell Culture, 2011-2013

Masae ITAMOCHI, Mayumi NAGOYA, Noriko INASAKI, Tetsuya YONEDA,
Yumiko SAGA, Takenori TAKIZAWA and Masatsugu OBUCHI

富山県では地域住民における腸管系ウイルスの感染状況、流行状況を把握するために環境水サーベイランスを実施している。環境水サーベイランスでは、河川水や下水中のウイルスを細胞培養法や PCR 法により検出している。しかしながら、ウイルスによって細胞感受性が異なるため、細胞培養法により検出されるウイルスは用いる細胞に影響される可能性がある。そこで、次世代シーケンサーを用いてウイルス遺伝子を網羅的に検出し、細胞培養法と比較した。

材料と方法

下水流入水の採取：2011 年 4 月～2013 年 3 月の間に、県内の 1 下水処理場において、月 1 回下水流入水を 2L 採取した。当該処理場は、分流式であり、計画処理人口が約 26 万人の流域下水道の処理施設である。

下水流入水の濃縮：下水流入水は、3000rpm、30 分間遠心し上清を回収後、遠心上清 1L に MgCl₂ を最終濃度 0.05M となるように加え、さらに 0.5N HCl を加えて pH3.5 に調整し、陰電荷膜 (Mixed cellulose ester type membrane フィルター、直径 142mm、ポアサイズ 0.45 μ m、ADVANTEC) に加圧ろ過することによりウイルスを吸着させた。次いで陰電荷膜を細断して 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 番溶出液)。同様の溶出操作を繰り返し、2 番溶出液を得た [1, 2]。

細胞培養法によるウイルス分離：下水流入水の濃縮液を 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)、細胞変性効果やヒト O 型血球との凝集性を指標としてウイルスを分離した。分離株は、エンテロウイルス、アデノウイルス、レオウイルス抗血清 (国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研、自家製) を用いた中和試験あるいは赤血球凝集抑制試験により同定した。

次世代シーケンサーによるメタゲノム解析：下水流入水の濃縮液から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて、溶解バッファーには Carrier RNA を添加せずに RNA を抽出した。次に、ScriptSeq v2RNA-Seq Library Preparation kit (Epicentre) を用いて RNA ライブラリを作製した。RNA ライブラリは、MiSeq Reagent kit ver 3. 150 Cycles PE (Illumina) を用いて、次世代シーケンサー Miseq により塩基配列の解読を行った。得られた塩基配列は、MePIC [3] を用いてヒト由来遺伝子を除き、megaBLAST 解析を行った。MEGAN ver. 5 (Universität Tübingen) により、NCBI taxonomy を用いた Taxonomy 解析を行った。

結果

次世代シーケンサー Miseq により検出されたウイルス：次世代シーケンサーによる下水流入水 1 検体あたりの総リード数は、1,001,086 ~ 5,670,066 リード (平均：2,846,266 リード) であ

り、そのうち、ウイルスのリード数は1検体あたり136~10,415リード(平均:2,080リード)であった。下水流入水から次世代シーケンサーにより検出されたウイルスを図1に示す。3年間の下水流入水から検出されたウイルス遺伝子は、計74,870リードであり、真菌やアメーバのウイルス、植物ウイルス、ファージ、動物ウイルス等、46科の367種類に分類された。

Animal DNAウイルスでは、*Adenoviridae*のアデノウイルス41型(Adeno41)が115リード、Adeno61が6リード、*Parvoviridae*のヒトボカウイルスが247リード、*Polyomaviridae*のJCポリオーマウイルスが148リード検出された。Animal dsRNAウイルスでは、*Picobirnaviridae*のヒトピコビルナウイルスが75リード、*Reoviridae*のロタウイルスA群が24リード検出された。Animal ssRNA+ウイルスでは、*Astroviridae*のヒトアストロウイルス1型が944リード、4型が312リード、*Caliciviridae*のサポウイルスが394リード、ノロウイルスが384リード、*Picornaviridae*のアイチウイルスが100リード、パレコウイルスが28リード、Saffoldウイルスが11リード検出された。これらのウイルスは、細胞培養法では分離されなかった。

細胞培養法と次世代シーケンサーにより検出されたウイルスの比較:細胞培養法により検出されたウイルス科の次世代シーケンサーによる検出数を表1に示す。細胞培養法では、3年間の下水流入水から、*Adenoviridae*では18株(Adeno1:2株、Adeno2:13株、Adeno5:3株)が主にHEp-2細胞により分離されたが、次世代シーケンサーではこれらのウイルスは検出されなかった。*Reoviridae*では、24株(レオウイルス1型4株、2型20株)が主にVero, MA104, L20B細胞により分離されたが、これらのウイルスは次世代シーケンサーでは検出されなかった。

*Picornaviridae*では、218株のエンテロウイルス(*Enterovirus B*では、コクサッキーウイルスB3(CB3)型18株、CB4:14株、CB5:24株、エコーウイルス1型(Echo1):3株、Echo3:43株、Echo6:28株、Echo7:45株、Echo9:1株、Echo11:12株、Echo25:7株、Echo30:1株、*Enterovirus C*では、ポリオウイルス1型(Polio1)6株、Polio2:8株、Polio3:8株)がVero, MA104, RD, HEp-2細胞により分離された。エンテロウイルスは次世代シーケンサーでも検出さ

れ、*Enterovirus B*ではCoxA9, CoxB3, CoxB4, CoxB5, Echo1, Echo6, Echo7, Echo11, Echo17, Echo24, Echo30, EV97が検出された。細胞培養法では分離されなかった*Enterovirus A*(CoxA2, CoxA5, CoxA6, エンテロウイルス71型(EV71), EV76, EV117)や*Enterovirus D*(EV111)が次世代シーケンサーではそれぞれ1~5リード検出された。次世代シーケンサーではポリオウイルスは検出されなかった。

次世代シーケンサーと細胞培養法によるエンテロウイルスの月別検出状況を表2に示す。次世代シーケンサーでは、CoxB3が2013年8~9月に3リード、Echo6が2013年10月に、Echo7が2011年12月にそれぞれ検出され、検出時期は細胞培養法と一致した。その他のエンテロウイルスでは検出リード数は1~2リードと少なく、検出時期が細胞培養法によるウイルス検出時期と数か月ずれた、または一致しなかった。

細胞培養法でのポリオウイルスは、2012年6月までの春(5,6月)と秋(10~12月)に分離された。

考察

次世代シーケンサーでは、細胞培養法でみられなかったAdeno41, Adeno61, アストロウイルス, ノロウイルス, サポウイルス, アイチウイルス, パレコウイルス, A群エンテロウイルス等を含む多種類のウイルス遺伝子が検出された。次世代シーケンサーでは、細胞培養が困難なウイルスの検出が可能であった。一方、ポリオウイルス, レオウイルス, アデノウイルス1型, 2型, 5型等は、細胞培養法では分離されたが、次世代シーケンサーでは検出されなかった。細胞培養法は、ウイルスの細胞感受性により検出されるウイルスに限られるが、感受性のあるウイルスでは感度が高いことが示された。

本調査において、富山県の下水流入水から次世代シーケンサーにより検出された*Picornaviridae*は3年間で184リードであり、ウイルス全体の0.24%であった。サンフランシスコ, ナイジェリア, カトマンズ, バンコクの調査では*Picornaviridae*はウイルス全体の2~6%の検出率であったことが報告されている[4]。検出率の違いが、地域差によるか、ウイルス検出感度に由来するかは不明である。次世代シーケンサーによるウイルス検出感度を高めるには、ヒト以外のウ

平成 29 年 11 月 30 日

イルス RNA や rRNA, 様々な生物由来の DNA の除去, リード総数の増加等, 工夫が必要と考えられる.

次世代シーケンサーにより下水流入水から検出されたウイルスのうち, *Baculoviridae* は, RNA ライブラリ作製時のキットに含まれる試薬由来と考えられる. また, *Poxviridae* の牛ポックスウイルスは, 下水流入水濃縮時の溶出液に含まれるビーフエキストラクト由来の可能性が考えられた. 下水流入水濃縮時の溶出液の検討は, 本報の別項に記載した他, 今後も検証する必要がある. 次世代シーケンサーでは多種類のウイルス遺伝子が検出されたが, 本調査において次世代シーケンサーにより解析された塩基数は 1 リードあたり約 70 塩基と短いため, 検出されたウイルス遺伝子が正しいかは, 遺伝子の一致率が高いか調べるとともに, ウイルス特異的な PCR 等での確認が必要と考えられる.

謝辞

本調査を行うにあたり, 検体採取にご協力いただきました富山県都市計画課, 及び富山県下水道公社の関係各位に深謝いたします.

文献

1. 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
2. Iwai, M, Hasegawa S, Obara M, et al. (2009). Appl. Environ. Microbiol., 75, 1264-1270
3. Takeuchi F, Sekizuka T, Yamashita A, et al. (2014). Jpn. J. Infect. Dis., 67, 62-65
4. Ng TF, Marine R, Wang C, et al. (2012). J. Virol., 86, 12161-12175

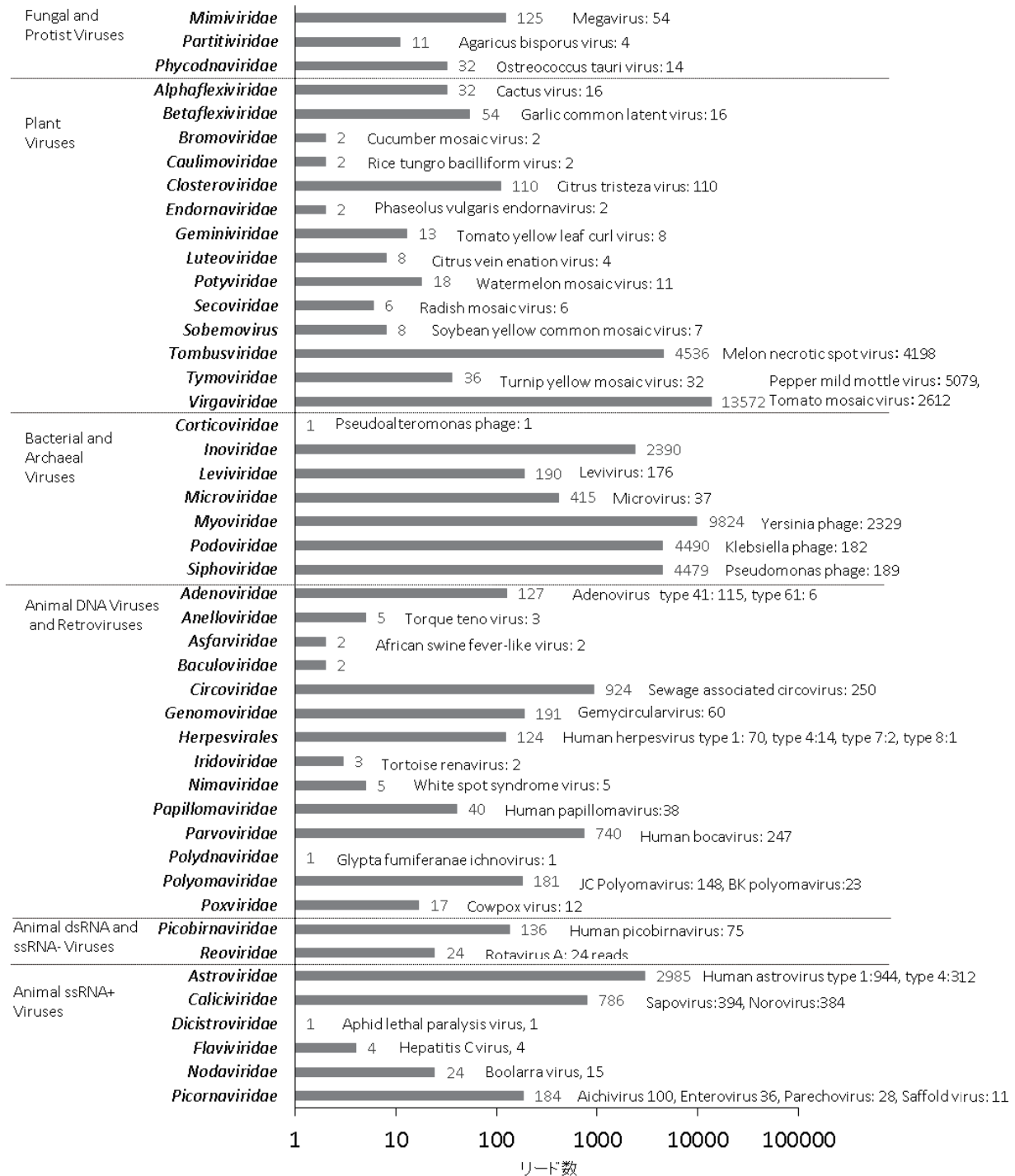


図1. 次世代シーケンサーにより検出されたウイルス
2011-2013年の下水流入水36検体の総計。数値は各科のウイルスリード数を示す。

表 1. 細胞培養法により検出されたウイルス科の次世代シーケンサーによる検出数
(2011-2013 年の下水流入水 36 検体の総計)

Virus		細胞培養法 (分離株数)	次世代シーケンサー (リード数)	
<i>Adenoviridae</i>	Adeno1	2		
	Adeno2	13		
	Adeno5	3		
	Adeno 41		115	
	Adeno 61		6	
<i>Reoviridae</i>	Reo1	4		
	Reo2	20		
	Rota A		24	
<i>Picornaviridae</i>	<i>Enterovirus A</i>	CoxA2	5	
		CoxA5	2	
		CoxA6	2	
		Entero 71	3	
		Entero 76	2	
		Entero 119	1	
	<i>Enterovirus B</i>	CoxA9		3
		CoxB3	18	3
		CoxB4	14	3
		CoxB5	24	1
		Echo1	3	1
		Echo3	43	
		Echo6	28	1
		Echo7	45	1
		Echo9	1	
		Echo11	12	2
		Echo 17		1
		Echo 24		1
		Echo25	7	
Echo30	1	2		
Entero 97		1		
<i>Enterovirus C</i>	Polio1	6		
	Polio2	8		
	Polio3	8		
<i>Enterovirus D</i>	Entero 111		1	
<i>Kobuvirus</i>	Aichi		100	
<i>Cardiovirus</i>	Saffold		11	
<i>Parechovirus</i>	Parecho 1		22	
	Parecho 3		5	
	Parecho 5		1	

表2. エンテロウイルスの月別検出数 (2011-2013年)

A. 次世代シーケンサー

Virus	2011												2012												2013											
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
<i>Enterovirus A</i>																																				
CoxA2																																				
CoxA5																																				
CoxA6																																				
Entero 71																																				
Entero 76																																				
Entero 119																																				
<i>Enterovirus B</i>																																				
CoxA9																																				
CoxB3																																				
CoxB4																																				
CoxB5																																				
Echo 1																																				
Echo 6																																				
Echo 7																																				
Echo 11																																				
Echo 17																																				
Echo 24																																				
Echo 30																																				
Entero 97																																				
<i>Enterovirus D</i>																																				
Entero 111																																				

B. 細胞培養法

Virus	2011												2012												2013											
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec
<i>Enterovirus B</i>																																				
CoxB3																																				
CoxB4	3	3	4	1					1													7	5	2	2	2										
CoxB5	3	2									2	1					7	2	1					3	3											
Echo1					2																	1														
Echo3	5	3	5	3	5	6	5	5	5					3	4	4	1									4	8	2	2							
Echo6																																				
Echo7																																				
Echo9																																				
Echo11																																				
Echo25																																				
Echo30																																				
<i>Enterovirus C</i>																																				
Polio1					2	2									1	1																				
Polio2					4									1					2	1																
Polio3																																				

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況（2016）

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

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture
 2016

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

2016 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 11 件、感染者は 46 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 4 件、4 名、EHEC O26（以下 O26）が 5 件、38 名、EHEC O145（以下 O145）が 1 件、1 名、EHEC O121（以下 O121）が 1 件、3 名（うち 1 名は O121・O26 重複感染者）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。

2016 年における EHEC 感染症発生状況：2016 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（20 件、25 名）比 0.55、1.84 で、事例数は減少したが、集団感染事例（表

1、事例 11）の発生により感染者数は増加した。発生形態は、集団感染事例（家族内感染を含む）3 件、散発事例 8 件であった（表 1）。これらの集団感染事例（表 1、事例 1、事例 6、事例 11）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。2016 年は、6 月に 2 件（感染者 4 名）、7 月に 2 件（感染者 2 名）、9 月に 5 件（6 名）と夏季に感染事例が多発した。また、12 月に集団感染 1 件（感染者 33 名）が発生した。

感染者 46 名における有症者の割合が 34.8%（16 名）、10 歳代の感染者の割合が 77%（33 名）と、であった（図 2）。10 歳代の感染者の割合が高いのは学校寮における集団感染事例（表 1、事例 11）が原因であると考えられる。また、男女比は

表 1. 腸管出血性大腸菌発生状況（2016）

事例No	発生時期	感染者数 (名)	発生形態 (散発・集団)	大腸菌 血清型	stx 毒素遺伝子型
1	2016.6	2	集団	O121:H19	stx2
		1		O121:H19	stx2
				O26:H11	stx1
2	2016.6	1	散発	O26:H11	stx1
3	2016.7	1	散発	O145:HNM	stx2
4	2016.7	1	散発	O26:H11	stx1
5	2016.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
6	2016.9	2	集団	O26:H11	stx1
7	2016.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
8	2016.9	1	散発	O26:H11	stx1
9	2016.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
10	2016.10	1	散発	O157:HNM	stx2
11	2016.12	33	集団	O26:H11	stx1

O157 4件(4名)、O26 5件(38名)、O145 1件(1名)、O121 1件(3名)
 計 11件*(46名*) * O121感染事例ではO26・O121重複感染者1名を含む

1. 富山市保健所

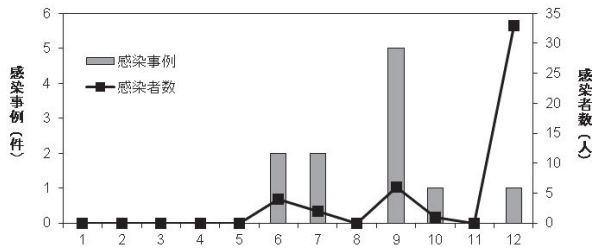


図1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向 (2016)

男性 76.1%, 女性 23.9%と男性の割合が高かった。

分離株の薬剤感受性: 各事例の代表株と事例1の重複感染者由来の O26 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12薬剤 (NFLX, NA, KM, GM, FOM, ABPC, ST, TC, CEZ, CP, CAZ, CTX) で, CLSI のプロトコールに準拠し, Kirby-Bauer 法に基づいたディスク法 (センシ・ディスク, 日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた。

供試菌株のうち, 上記12薬剤のいずれかに耐性を示したのは2株 (16.7%) であった。その内訳は ABPC 耐性1株 (事例10由来), ABPC・ST・TC 耐性1株 (事例3由来) であった。

分離株の病原因子: 各事例の代表株と事例1の重複感染者由来の O26 株について (表1), 接着因子遺伝子 *eae*, ベロ毒素遺伝子 *stx1*, *stx2*, 凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 *astA* 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ベロ毒素遺伝子型は表1のとおりであり, *stx1 stx2* 保有型が3株, *stx2* 保有型が3株, *stx1* 保有型が6株であった。供試した菌株は全て *eae* を保有していた。また, 事例4, 事例10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: O157 感染事例4件の分離株について市販の IS-Printing キット (IS-printing System, TOYOBO) を用いて IS-Printing 法 [1] による遺伝子型別を行った。得られた結果は勢戸らの方法に準じてコード化し, IS-Printing による遺伝子型 (以下 IS コード) とした [2,3] (図3 A)。その結果, 事例7と事例9 (図3 A レーン2, 3) は, IS コードが一致した。

パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による分子疫学解析: 各事例代表株について PFGE を行った。PFGE は制限酵素 *XbaI* を用いた標準

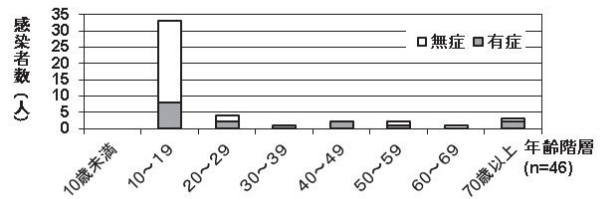


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

化プロトコールに基づいて行った [4]。得られた PFGE パターンは FingerPrinting II (Bio-Rad) を用いて系統解析 (デンドログラム解析) した。デンドログラム解析には UPGMA 法と Dice 係数を用いて行い, トレランス値は 1.2% とした。2016 年に発生した O157, O26 の PFGE パターンの解析は以下のとおりであった。

2016 年に分離された EHEC O157, O26 の PFGE パターンについてデンドログラムを作成した (図3)。

O157 のデンドログラムを図3Aに示した。この PFGE パターンは4事例全てで異なっていた。事例7と事例9は IS-コードは一致していたが, PFGE パターンは4バンド違いであり, Tenoverらの基準 [5] により関連の可能性は示唆された。しかしこれらの事例間の関連性は不明であった。

また, O26 6株 (O26 感染事例5件の代表株と O121・O26 重複感染者由来株1株) 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)。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較:

2016 年の全国における EHEC 感染者数は 3,645 名で, 昨年の 1.02 倍とほぼ横ばいであり, 過去5年における年間感染者数は2番目に少なかった [6]。

国立感染症研究所細菌第一部では2014年より O157, O26, O111 について multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による遺伝子型別を開始した。MLVA はゲノム上の標的遺伝子座における繰り返し配列数の違いにより遺伝子型別を行う方法である [7]。この解析では関連性のある複数の遺伝子型を「コンプレックス」として標記している。この解析から, 2016年に全国5以上の地衛研等から検出された広域流行株の遺伝子型/コンプレックスは25種類であった [8]。

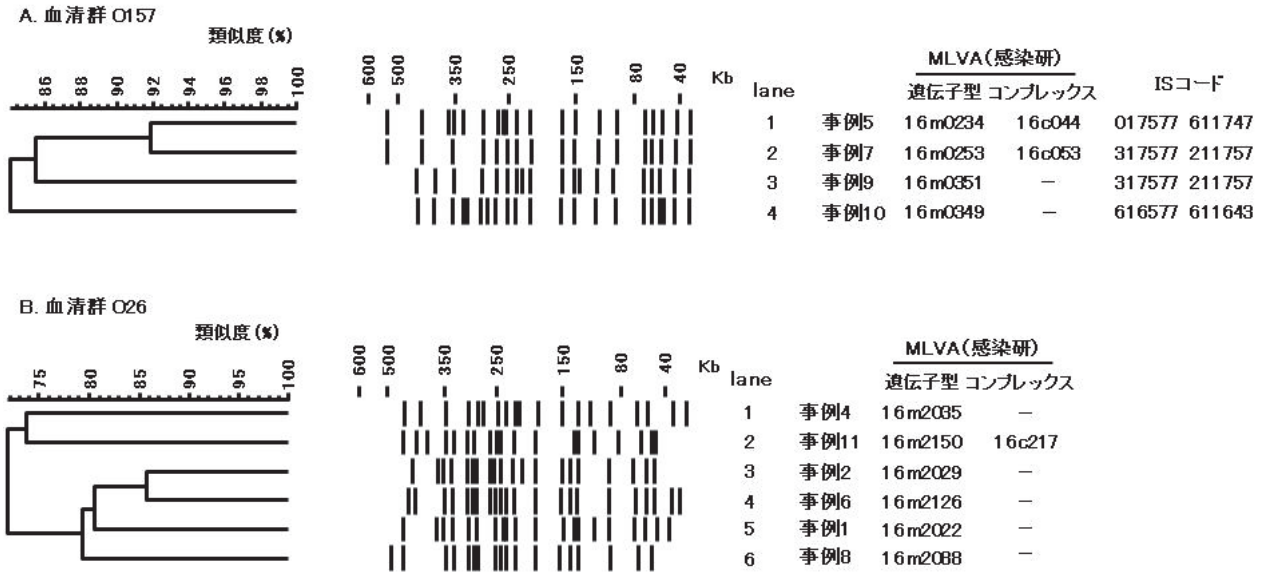


図3. 血清群 O157, O26 における遺伝子型別 (PFGE デンドログラム, MLVA 及び IS コード)

本年県内で発生した O157 4 件, O26 5 件, および O121・O26 重複感染者 1 名の O26 分離株の MLVA 遺伝子型は, O157 が 4 タイプ, O26 が 6 タイプであった。また, 他の MLVA 型と関連性があると認められたコンプレックスが, O157 では 2 種類, O26 では 1 種類検出された (図 3)。このうち, 広域流行株が検出された事例は, 事例 5 (MLVA コンプレックス 16c044) であった。16c044 タイプの株は富山県を含め 6 都県で検出されたが, 他県の同じ MLVA 型が検出された感染事例との関連性は不明であった。

特記すべき事例の報告: 2016 年の感染事例のうち, 上述の広域流行株以外的事例について以下に詳細を報告する。

事例 11- 県内で発生した O26 集団感染事例: 12 月下旬に発生した事例 11 (表 1) は感染者 33 名 (有症者 7 名, 無症状病原体保有者 26 名) の事例であった。分離株 33 株は, 国立感染症研究所

の MLVA 解析において MLVA コンプレックス 16c217 を形成する同一集団感染由来株であった。本事例の感染源は不明であった。

考察: 2016 年の富山県における EHEC 感染症の事例数は 11 件, 感染者は 46 名であり, 過去 5 年間で事例数は最も少なかった (図 4)。

事例 7 と事例 9 は同一 IS コードの O157 が検出された (図 3 A レーン 2, 3)。しかし MLVA 型は異なっており, PFGE パターンは 4 バンド違いであった。これらの原因として, ① IS-Printing は迅速性に優れた遺伝子型別法であるが, 検出される IS-コード数は PFGE で型別される遺伝子型の 68% と PFGE に比べるとやや劣ること [3], ② 型別の対象が遺伝子内の IS や制限酵素切断部位, 繰り返し配列など異なっており, 特定の遺伝子型別では同一型であっても他の遺伝子型別では異なる遺伝子型となる場合もあることが挙げられる。

以上から複数の遺伝子型別 (IS-Printing, PFGE, MLVA) の結果もあわせて考察することにより, より確度の高い遺伝子型の判定を行う必要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。

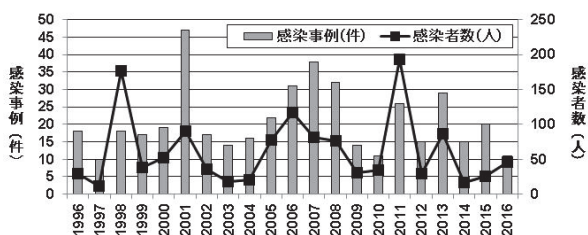


図4. 腸管出血性大腸菌感染症発生年次推移

文 献

1. 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
2. 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
3. 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
4. Watanabe, H., Terajima, J., Izumiya, H., Iyoda, S. and Tamura, K. (2002). *J. Jpn. Assoc. Infect. Dis.*, 76, 842-848
5. Tenover, F. C., Arbeit, R. D., Goering, R. V. J., Mickelsen, P. A., Murray, B. E., Persing, D. H., and Swaminathan, B. (1995). *Clin. Microbiol.*, 33, 2233-2239
6. 病原微生物検出情報 (2017), 38, 87-89
7. 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
8. 泉谷秀昌, 石原朋子, 李 謙一, 伊豫田淳, 大西真 (2017). 病原微生物検出情報, 38, 100-101

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 (2016 年)

範本 志保 内田 薫 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 (2016)

Shiho NORIMOTO, Kaoru UCHIDA, 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 2016 年 1~12 月までの富山県における患者発生動向と、CRE 感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子の保有状況について報告する。

材料と方法

1. CRE 感染症発生動向調査患者数

2016 年 1 月 1 日~2016 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

2016 年 1~12 月に医療機関で CRE 感染症患者から分離された CRE18 株を用いた。内訳は、届出株が 13 株、非届出株が 5 株であった。届出株とは、CRE 感染症として届出があった患者から分離された菌株である。非届出株とは、通常無菌的ではない検体から分離され、感染症の起原菌と判定されなかったなど、届出とならなかった症例から分離された菌株である。これらの菌株は、富山市民病院、富山大学附属病院、済生会富山病院、富山赤十字病院、高岡市民病院、厚生連高岡病院、市立砺波総合病院、公立南砺中央病院、金井医院の 9 機関より分与を受けた。カルバペネマーゼ遺伝子の IMP, NDM, VIM-2, KPC, OXA-48 型の検出は PCR 法 [1] 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 2016 年 1~12 月までに 14 例の届出があった (表 1)。症状は尿路感染症が 6 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。*Enterobacter aerogenes* が 11 件、*Escherichia coli* が 2 件で、菌名の記載

表 1. CRE 感染症の届出状況
(2014 年 9 月~2016 年 12 月)

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

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>	11	尿路感染症(6) 敗血症(3) 肺炎(2) 腹膜炎(1) イレウス(1) 菌血症(1) 蜂窩織炎(1)	尿(4) 血液(4) 喀痰(2) 胃液(1) 膿(1)
<i>Escherichia coli</i>	2	腸炎(1) 胆管炎(1)	便(1) 血液(1)
菌名記載なし	1	気管支炎(1)	喀痰(1)

表3. CRE 患者由来株からのカルバペネマーゼ遺伝子検出状況

菌名	検査数	届出株	非届出株	カルバペネマーゼ遺伝子陽性数(PCR法)				
				IMP型	VIM-2型	NDM型	KPC型	OXA-48型
<i>Enterobacter aerogenes</i>	12	11	1	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	2	0	2	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	3	2	1	0	0	1	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	1	0	0	0	0	0

がないものが1件であった(表2)。

2. CRE 感染症患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況

CRE のカルバペネム耐性はカルバペネマーゼの産生,あるいは外膜タンパクの変化を伴った β -ラクタマーゼの産生量の増加による。*Enterobacter*属菌などは,染色体性のクラスC型 β -ラクタマーゼの産生と膜の透過性低下よりカルバペネム耐性を示すことが知られている。CREとして届出対象となった菌株がカルバペネマーゼを産生するかどうかを鑑別することは院内感染対策上重要である。カルバペネマーゼ遺伝子はほとんどがプラスミド上に存在していることが知られており,腸内細菌科の他菌種に容易に伝播する可能性があり,注意が必要である[2]。

県内の医療機関で分離されたCRE感染症患者由来18株(届出株13株,非届出株5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。そのなかで*Escherichia coli*の1株がNDM型陽性となった。このPCR産物についてシークエンス解析を行ったところ,NDM-5の配列の一部が確認された。NDM型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌は,インドなどアジア諸国への渡航歴のある患者から分離されることが多いとされてきたが,近年では国内での感染事例も報告されている[3]。

平成29年3月,厚生労働省健康局結核感染症課長通知によりカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の届出があった際には,地方衛生研究所等での耐性遺伝子等の試験検査の実施および地域内の医療

機関等への情報提供を行うとともに必要に応じた対策の実施が求められている[4]。

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

謝 辞

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

文 献

1. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 感染研編(平成28年12月改訂版)
2. 病原微生物検出情報(2014), 35, 281-291
3. 病原微生物検出情報(2016), 37, 82-84
4. 厚生労働省健康局結核感染症課長通知「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症にかかる試験検査の実施について」健感発0328第4号,平成29年3月28日

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 (2016 年)

内田 薫 磯部 順子 金谷 潤一 木全 恵子
範本 志保 綿引 正則 百石祐一朗¹ 加藤 陽子¹
中村 政雄¹ 奥野 ルミ²

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2016

Kaoru UCHIDA, Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA,
Shiho NORIMOTO, Masanori WATAHIKI, Yuichirou HYAKKOKU¹,
Yoko KATO¹, Masao NAKAMURA¹ and Rumi OKUNO²

A 群溶血性レンサ球菌（溶レン菌）は、咽頭炎、膿痂疹など様々な感染症の起因菌となる。感染症法では、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 2016 年の患者報告数は、3,305 人（118.04/ 定点）であった。

また、溶レン菌は、症状の進行が早く、致死率の高い重篤な劇症型の疾患を引き起こすことがある。劇症型溶血性レンサ球菌感染症は五類感染症として全数報告が義務付けられている。本県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症報告数は毎年 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レン菌は A 群が最も多いが、近年では B 群や G 群の割合も増えている [1]。劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではない。

近年は A 群溶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 群溶レン菌の血清型別や劇症型溶レン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、2016 年に富山県内で分離された A 群溶レン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、2016 年に富山県内の 1 医療機関で患者から分離された A 群溶レン菌 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（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 群溶レン菌の T 型別

2016 年に分離された A 群溶レン菌の T 型別結果を Table 1 に示した。分離された溶レン菌の T 型は、T-12 型、T-B3264 型（各 5 株、33.3%）、T-1 型（3 株、20.0%）、T-28 型（1 株、6.7%）、型別不能（1 株、6.7%）であった。なお、2016 年

1. 富山市民病院

2. 東京都健康安全研究センター

に富山県内で届出された劇症型溶レン菌感染症は9例で、内A群溶レン菌感染症は2例であった。この2株の血清型はT1型1例、型不明1例であった（Table2）。また、2株とも12薬剤に感受性であった。

(2) A群溶レン菌の薬剤感受性

A群溶レン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）、クロラムフェニコール系薬剤（CP）に対してはすべて感受性を示したが、EM,CAMに対してそれぞれ6株（40.0%）、CLDMに対しては4株（26.7%）が耐性を示した。血清型別にみると、10株（66.7%）はすべての薬剤に感受性であった

が、4株（T12型3株、T28型1株）が4剤耐性（TC, EM, CAM, CLDM）、1株（T1型）が2剤耐性（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. 国立感染症研究所感染症疫学センター. 病原微生物検出情報, 36, 7-8
2. 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永 潔, 勝川千尋, 嶋 智子, 千葉一樹 (2012). 病原微生物検出情報, 33, 6-7

Table 1 Monthly Distribution of T Serotypes of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in Toyama, 2016

T type	No. of Isolates												Total	
	Jan	Feb	Mar	Apr	May	Jun	Jul	Aug	Sep	Oct	Nov	Dec	No.	%
T-1							1	2					3	20.0
T-2													0	0.0
T-3													0	0.0
T-4													0	0.0
T-6													0	0.0
T-8													0	0.0
T-9													0	0.0
T-11													0	0.0
T-12	1				1	1						2	5	33.3
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		1											1	6.7
T-B3264				2			1	1				1	5	33.3
T-Imp.19													0	0.0
T-5/27/44													0	0.0
T-14/49													0	0.0
Untypable	1												1	6.7
Total	2	1	0	2	1	1	2	3	0	0	0	3	15	100.0

Table 2 Cases of Group A Streptococcus-induced Toxic Shock Syndrome in Toyama, 2016

Month	Age	Sex	Outcome	Group	T serotype	M serotype	<i>emm</i>	<i>spe</i>	Resistance to antibiotic
2016/2	67	F	Dead	A	UT*	UT*	<i>emm102.7</i>	BF	
2016/12	72	F		A	T1	M1	<i>emm1.0</i>	ABF	

*: Untypeable

Table 3 Antibiotic Susceptibilities of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2016

MIC (μ g/ml)	Antibiotics									
	ABPC	CEX	CFDN	CDTR	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
>64							4			4
64					1					
32					2					
16					1		1	4*		
8								1		
4						4	1		4†	
2						11		1		
1										
0.5		2							11‡	1
0.25		12			10					6
0.12		1			1		2	2		4
0.06							8	8		
0.03	9							1		
0.015	6									
0.008			14	14						
≤ 0.004			1	1						

\geq double line, resistant; \leq dotted line, susceptible (CLSI: M100-S23).

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

Table 4 Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2016

Table 4. Antibiotic Resistance Patterns of Clinical Group A Hemolytic *Streptococci* in 2016

Resistance pattern	No. of strains (%)
EM,CAM	1(6.7)
TC,EM, CAM,CLDM	4(26.7)
Susceptible	10(66.6)
Total	15 (100.0)

Table 5 Results of MIC for Isolates with Group A Streptococcus in Toyama, 2016

No.	Group	Ttype	ABPC	CEX	CDTR	CFDN	TC	CP	EM	CAM	CLDM	LCM
1	A	UT	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	0.25
2	A	W12	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.12 S	0.12 S	≤ 0.5 S	0.25
3	A	U28	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	32 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64
4	A	TB3264	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
5	A	TB3264	0.015 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
6	A	W12	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	64 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64
7	A	W12	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	4 S	0.12 S	0.12 S	≤ 0.5 S	0.5
8	A	TB3264	0.03 S	0.5 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
9	A	T1	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
10	A	TB3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
11	A	T1	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.12
12	A	T1	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	16 R	8 R	≤ 0.5 S	0.25
13	A	TB3264	0.015 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	0.25 S	2 S	0.06 S	0.06 S	≤ 0.5 S	0.25
14	A	W12	0.03 S	0.25 S	0.008 S	0.008 S	16 R	4 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64
15	A	W12	0.03 S	0.12 S	≤ 0.004 S	≤ 0.004 S	32 R	2 S	> 64 R	> 16 R	> 4 R	> 64

富山県における2016年の病原微生物検出情報

内田 薫 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, 2016

Kaoru UCHIDA, 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。2016年1月から12月までの検出情報を検出材料別及び菌種別に集計し、表に示した。公立病院検査室で分離された黄色ブドウ球菌については、メチシリン耐性ブドウ球菌（MRSA）の割合を本文中に示した。

表中の○で囲んだ数字は食中毒、家族内発生などの同一フォーカス由来の分離株が含まれることを示している。

糞便：分離株総数は1,205株で、前年の108.5%であった。最も多かったのは大腸菌561株で、前年の578株から減少した。腸管出血性大腸菌（EHEC/VTEC）は、血清型O26が37株、O157が3株、O121が3株、O145が1株で合計44株分離された。次に多かったのは黄色ブドウ球菌248株（そのうちMRSAは34.7%）であり、前年の103.4%であった。カンピロバクターは247株で前年の119.9%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5株、チフス菌が1株分離された。

穿刺液：分離株総数は380株で前年の121%であった。黄色ブドウ球菌（MRSAは21.6%）、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、大腸菌などが多く分離された。

髄液：分離株総数は7株で、前年の233.3%であった。

血液：分離株総数は1,969株で前年の114.4%であった。大腸菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、黄色ブドウ球菌（MRSAは29.3%）が多く分離された。また、3類感染症としてチフス菌が1株分離された。

咽頭および鼻咽喉：分離株総数は1,490株で前年の94.9%であった。インフルエンザ菌、肺炎球菌、A群溶連菌が多く分離された。

喀痰、気管吸引液および下気道：分離株総数は4,121株で前年の100.3%であった。黄色ブドウ球菌（MRSAは43.5%）が最も多く、肺炎桿菌、緑膿菌、インフルエンザ菌、肺炎球菌なども多く分離された。

尿：分離株総数は6,326株で前年の104.9%であった。大腸菌が最も多く分離され、腸球菌、コアグラゼ陰性ブドウ球菌、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1,190株で前年の97.1%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。

平成 29 年 11 月 30 日

月別・菌種別の病原微生物検出状況（2016）

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				1									1
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> O4					1	2		4	2		1		10
<i>Salmonella</i> O7	2						1	2		1	1		7
<i>Salmonella</i> O8							1	2					3
<i>Salmonella</i> O9								1	1		1		3
<i>Salmonella</i> O9,46 (D2)									1				1
<i>Salmonella</i> O3,10 (E1,E2,E3)								1					1
<i>Salmonella</i> O1,3,19 (E4)													0
<i>Salmonella</i> O13 (G1, G2)													0
<i>Salmonella</i> O18 (K)													0
<i>Salmonella</i> その他													0
<i>Salmonella</i> 群不明													0
<i>Yersinia enterocolitica</i>					2	1	1	3	1				8
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Ogawa,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Ogawa,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Inaba,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Inaba,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1,139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>						1	1	5	8	1			16
<i>Vibrio fluvialis</i>													0
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>	1	0	2	0	0	3	3	3	2	2	1		17
<i>Plesiomonas shigelloides</i>								1	1				2
<i>Campylobacter</i>	12	7	15	18	18	23	21	27	26	23	33	24	247
<i>Staphylococcus aureus</i>	22	19	32	15	18	31	21	19	25	10	18	18	248
<i>Clostridium perfringens</i>	1	5	15	2	8	2		7	11	12	11	1	75
<i>Clostridium botulinum</i> E													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>													0
<i>Bacillus thuringiensis</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性	2											1	3
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	3		2	3	5	5	3	1		2	2	1	27
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	35	34	36	26	31	25	25	28	26	18	19	28	331
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC						5	2		6				46
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	23	8	12	22	14	13	7	15	9	8	16	9	156
<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>		5											5
<i>Shigella</i> 群不明													0
合計	101	78	114	87	97	111	86	119	119	77	103	115	1207

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>	8	2	8	3	10	2	4	2	9	3	7	2	60
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	3	3	1	5		4	6	6	2	2	2	36
<i>Haemophilus influenzae</i>					1			1					2
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2	2			2	1	1	5	1	2	3	20
<i>Mycobacterium spp.</i>													0
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	3	8	7	8	7	9	18	13	3	6	2	88
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	5	3	5	2	8	5	6	9	14	4	4	3	68
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1										1		2
<i>Anaerobes</i>	4	2	16	7	10	5	8	16	7	7	14	8	104
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	25	15	42	20	42	21	32	53	54	20	36	20	380

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>								1					1
<i>Staphylococcus aureus</i>													0
<i>Streptococcus</i> ,B				1							1		2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1							2			1		4
合計	1	0	0	1	0	0	0	3	0	1	1	0	7

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>	65	61	78	61	67	67	64	89	76	72	56	58	814
<i>Salmonella</i> Typhi				1									1
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> spp.						1			1				2
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1	1	1		1			1		1	1	8
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	4	3	3	6	1	3	4	4	7	9	6	59
<i>Staphylococcus aureus</i>	34	13	37	14	24	16	22	24	21	25	26	27	283
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	49	40	39	31	50	45	65	83	57	49	69	37	614
<i>Streptococcus</i> ,B	1	4	4	8	4	1	2	2	3	2	3	2	36
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	5		2	1	1		1	1	3	2	3	4	23
Anaerobes	4	15	12	13	11	10	10	12	9	11	12	10	129
<i>Plasmodium</i> spp.													0
合計	168	138	176	133	163	142	167	215	175	168	179	145	1969

5) 分離材料：咽頭および鼻咽候からの材料

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>	73	49	64	82	77	80	78	55	33	47	60	67	765
<i>Neisseria meningitidis</i>											1		1
<i>Streptococcus</i> ,A	35	51	34	34	35	14	8	5	6	6	17	12	257
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	31	20	29	52	41	41	54	47	30	53	40	29	467
<i>C. diphtheriae</i>													0
合計	139	120	127	168	153	135	140	107	69	106	118	108	1490

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>	1	4	2	4	3	12	2	4	2	6	9	5	54
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	55	50	62	43	44	40	50	65	116	75	43	48	691
<i>Haemophilus influenzae</i>	50	41	50	47	41	38	27	34	18	24	36	50	456
<i>Legionella pneumophila</i>							1	1				1	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	55	49	53	46	58	45	53	58	81	50	62	46	656
<i>Staphylococcus aureus</i>	162	165	165	126	147	120	111	128	149	127	142	133	1675
<i>Streptococcus</i> ,A	1		1	1	3	1	2	4	1	1	2		17
<i>Streptococcus</i> ,B	20	15	25	17	21	16	12	18	14	16	16	15	205
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	40	29	33	33	37	16	24	23	30	34	24	41	364
Anaerobes													0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合計	384	353	391	317	354	288	282	335	411	333	334	339	4121

平成 29 年 11 月 30 日

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	215	232	272	208	247	237	266	317	233	268	219	251	2965
<i>Enterobacter</i> spp.	8	16	15	13	10	16	13	32	19	28	21	17	208
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	37	40	35	35	39	31	40	73	56	51	44	43	524
<i>Acinetobacter</i> spp.	5	3	6	3	1	3	2	5	4	2	5	1	40
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23	33	30	26	30	32	21	42	34	28	42	32	373
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	25	34	30	22	20	19	20	28	22	18	31	297
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	45	46	66	36	71	46	43	82	62	40	69	51	657
<i>Enterococcus</i> spp.	78	69	93	68	80	83	66	104	77	74	99	62	953
<i>Candida albicans</i>	29	21	33	26	26	24	17	30	32	26	23	22	309
合 計	468	485	584	445	526	492	487	705	545	539	540	510	6326

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		3	3		1	1		1		11
<i>Streptococcus</i> ,B	61	53	54	54	62	54	54	55	50	41	50	50	638
<i>Chlamydia trachomatis</i>		2	1	1	3		2	2	3	3		2	19
<i>Ureaplasma</i>								2	2		2		6
<i>Candida albicans</i>	47	40	48	40	40	35	55	46	44	46	41	34	516
<i>Trichomonas vaginalis</i>													0
合 計	109	95	104	95	108	92	111	106	100	90	94	86	1190

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	6	11	4	4	8	9	10	9	3	6	7	86
	MSSA	13	13	21	11	14	23	12	9	16	7	12	11	162
	未検査													0
	件数	22	19	32	15	18	31	21	19	25	10	18	18	248
穿刺液	MRSA	0	1	0	1	1	1	2	1	7	1	2	2	19
	MSSA	4	2	8	6	7	6	7	17	6	2	4		69
	未検査													0
	件数	4	3	8	7	8	7	9	18	13	3	6	2	88
髄液	MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	未検査													0
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血液	MRSA	8	2	9	8	11	3	9	6	7	4	9	7	83
	MSSA	26	11	28	6	13	13	13	18	14	21	17	20	200
	未検査													0
	件数	34	13	37	14	24	16	22	24	21	25	26	27	283
呼吸器	MRSA	65	70	69	61	63	47	46	65	66	61	61	55	729
	MSSA	97	95	96	65	84	73	65	63	83	66	81	78	946
	未検査													0
	件数	162	165	165	126	147	120	111	128	149	127	142	133	1675
尿	MRSA	14	15	17	15	9	8	6	11	13	9	6	10	133
	MSSA	14	10	17	15	13	12	13	9	15	13	12	21	164
	未検査													0
	件数	28	25	34	30	22	20	19	20	28	22	18	31	297
その他	MRSA													
	MSSA													
	未検査													
	件数													

平成 28 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
内田 薫 綿引 正則

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice
in Toyama Prefecture (2016)

Jun-ichi KANATANI, Junko ISOBE, Shiho NORIMOTO, Keiko KIMATA,
Kaoru UCHIDA 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 28 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）中の大腸菌検査（成分規格 陰性）を実施した。検査用試料は、衛生研究所で調製後、各検査機関に配布した。各々の検査結果の報告を集計・解析し、評価を行ったので報告する。

材料と方法：新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所、富山市保健所および衛生研究所の 7 機関を対象とし、平成 29 年 1 月 24 日～1 月 31 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 1.3×10^4 CFU/ml（牛乳 A）、 1.3×10^3 CFU/ml（牛乳 B）となるよう枯草菌（栄研化学）を調製し、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。Z ス

コアは別名「標準測度」と呼ばれ、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測定値平均}) / \text{測定値標準偏差}$ 」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定値を評価できる。判断基準は $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。

大腸菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフに大腸菌およびアルベルティ菌の培養液を表 1 のように接種して作製した。なお、市販のコンビーフは予備検査において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 1.22×10^4 CFU/ml、最大値 1.32×10^4 CFU/ml、最小値 1.03×10^4 CFU/ml であった。Z スコアの絶対値はすべて 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。各機関の実測値（1 検体あたり 2 回）を見ると、標準偏差 (SD) は 1284.1 となり、各機関の結果は平均値 $\pm 2SD$ ($9.62 \times 10^3 \sim 1.48 \times 10^4$) の範囲内であった。実測値の Z スコアにおいても、すべて絶対値は 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判

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	アルベルティ菌	2.6×10^4 CFU/g
模擬食品 D	大腸菌	4.5×10^4 CFU/g

平成 29 年 11 月 30 日

断された。

牛乳 B については、報告された測定値の平均は 1.24×10^3 CFU/ml、最大値 1.39×10^3 CFU/ml、最小値 1.06×10^3 CFU/ml であった。Z スコアの絶対値はすべて 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。各機関の実測値を見ると、標準偏差は 133.0 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($9.71 \times 10^2 \sim 1.50 \times 10^3$) の範囲内であった。一方、実測値の Z スコアの絶対値はそのほとんどが 2 以

下で、測定値のばらつき度合いは良好と判断されたが、機関 No. 6 の 1 回が 2 を超えた。

平成 24 年度から平成 28 年度までの 5 年間において、生菌数の測定値及び実測値の Z スコアを示した (図 1, 2)。測定値はいずれも 2 未満であったが、実測値については、機関 No. 1 の 1 回、機関 No. 6 の 2 回が $2 < |Z| < 3$ であった。

大腸菌検査については、すべての機関で乳糖非発酵であるアルベルティ菌を接種した食品 C か

表 2. 平成 28 年度富山県食品衛生精度管理調査結果

A. 牛乳A生菌数

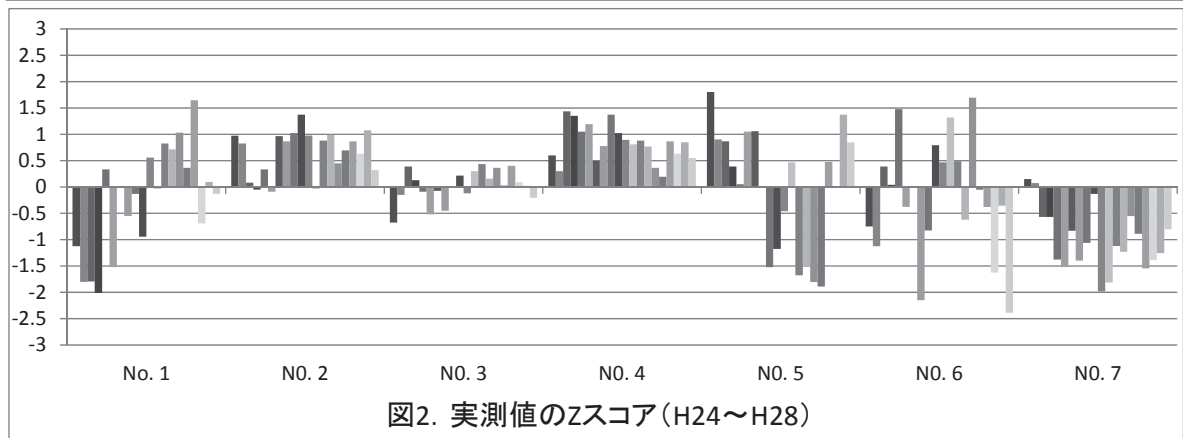
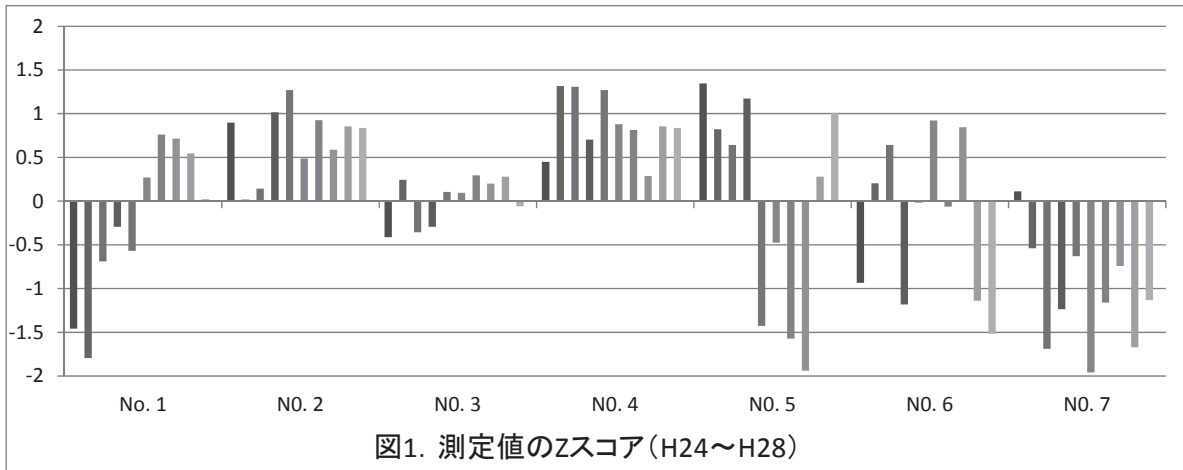
機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	1.28×10^4	14300	2114.3	1.65	12800	614.3	0.54
		11300	-885.7	-0.69			
No. 2	1.32×10^4	13300	1114.3	0.87	13150	964.3	0.85
		13000	814.3	0.63			
No. 3	1.25×10^4	12700	514.3	0.40	12500	314.3	0.28
		12300	114.3	0.09			
No. 4	1.32×10^4	13300	1114.3	0.87	13150	964.3	0.85
		13000	814.3	0.63			
No. 5	1.25×10^4	12800	614.3	0.48	12500	314.3	0.28
		12200	14.3	0.01			
No. 6	1.09×10^4	11700	-485.7	-0.38	10900	-1285.7	-1.14
		10100	-2085.7	-1.62			
No. 7	1.03×10^4	10200	-1985.7	-1.55	10300	-1885.7	-1.67
		10400	-1785.7	-1.39			
平均値 (X)	1.22×10^4	12185.7			12185.7		
標準偏差 (SD)		1284.1			1128.7		
X+2SD		14754.0			14443.1		
X-2SD		9617.4			9928.3		

B. 牛乳B生菌数

機関名	生菌数	実測値	偏差	Zスコア	測定値	偏差	Zスコア
No. 1	1.24×10^3	1250	12.9	0.10	1235	2.9	0.02
		1220	-17.1	-0.13			
No. 2	1.33×10^3	1380	142.9	1.07	1330	97.9	0.84
		1280	42.9	0.32			
No. 3	1.23×10^3	1240	2.9	0.02	1225	-7.1	-0.06
		1210	-27.1	-0.20			
No. 4	1.33×10^3	1350	112.9	0.85	1330	97.9	0.84
		1310	72.9	0.55			
No. 5	1.39×10^3	1420	182.9	1.38	1350	117.9	1.01
		1350	112.9	0.85			
No. 6	1.06×10^3	1190	-47.1	-0.35	1055	-177.1	-1.52
		920	-317.1	-2.38			
No. 7	1.10×10^3	1070	-167.1	-1.26	1100	-132.1	-1.13
		1130	-107.1	-0.81			
平均値 (X)	1.24×10^3	1237.1			1232.1		
標準偏差 (SD)		133.0			116.9		
X+2SD		1503.1			1465.9		
X-2SD		971.2			998.4		

C. 模擬食品からの大腸菌検出

機関名	食品C	食品D
No. 1	陰性	陽性
No. 2	陰性	陽性
No. 3	陰性	陽性
No. 4	陰性	陽性
No. 5	陰性	陽性
No. 6	陰性	陽性
No. 7	陰性	陽性



らは、大腸菌は検出されなかった。一方、すべての機関が食品Dから大腸菌を検出できた。

考察：平成24～28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。これらの機関については、民間機関が実施する外部精度管理にも参加し、適正な範囲に入る結果を得られるか検討することが望ましい。

大腸菌による食中毒は、日本の衛生管理水準が高くなってから減少してはいるが、平成27年には全国で6件（患者数362名）の病原大腸菌（腸管出血性大腸菌を除く）による食中毒が発生している。また、加熱食肉製品（加熱殺菌後包装）や

乾燥食肉製品からは、大腸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。このような背景から、今回の精度管理では大腸菌の検出を検査項目として選定した。

本検査による大腸菌検出は、主に乳糖分解による酸とガスの産生を様々な培地（EC培地、EMB培地、BGLB培地）で確認することで判定する。今回、食品Cに添加したアルベルティ菌は乳糖非発酵であるため、本検査に用いる培地で判別可能である。今年度は、全ての機関で食品Cから大腸菌は検出されなかった、また、全ての機関で食品Dからのみ大腸菌を検出することができ、検査精度に問題はなかった。収去検査で大腸菌を検出する機会が少ないことから、定期的に精度管理を実施し、使用する培地での陽性コントロールの発育を確認することが望ましい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知，薬食1,229号，平成10年12月16日

LC/MS/MS による加工食品中の農薬分析法の検討

堀井 裕子 村元 達也 山下 智富

Determination of Pesticides in Processed Foods by LC/MS/MS

Yuko HORII, Tatsuya MURAMOTO and Tomohisa YAMASHITA

平成 20 年に中国産冷凍餃子への農薬混入事件が発生したことを受け、平成 21 年から輸入冷凍加工食品を対象として農薬分析を行っている。現在は 56 農薬を GC/MS、2 農薬を LC/MS/MS で測定しているが、特に GC/MS では試料中の妨害成分による測定精度の低下が問題となり、これまで試料から妨害成分を除去する前処理法について検討を行った [1]。この前処理法により GC/MS で精度よく測定することが可能となったものの、一部の食品で定量を妨害するピークがみられた。このように加工食品はその成分が非常に多岐にわたり複雑であることから、食品によっては同じ処理をしても特定成分の分析が困難になることがある。このような場合には異なる測定法を用いることにより定量できる可能性がある。さらに、複数の方法による測定は確認検査にも利用でき、より信頼性の高い結果を得ることができる。そこで、これまで GC/MS で測定してきた 56 農薬について LC/MS/MS で測定する方法を検討し、加工食品 4 種類について添加回収試験を行ったのでその結果を報告する。

方 法

1. 試料：冷凍加工食品のスイートコーン、鶏肉竜田揚げ、惣菜（きんぴら、ひじき煮等の混合品）、ピザを対象とした。

2. 対象農薬：測定対象農薬は 58 農薬（現在 GC/MS 測定 56 種、LC/MS/MS 測定 2 種）である。その一覧を表 1 に示した。

農薬標準品はメタミドホス標準品、アセフェート標準物質（和光純薬工業株式会社）および農薬混合標準溶液：PL2005 農薬 GC/MS Mix I、Mix III（林純薬工業株式会社）を使用した。

3. 試験溶液調製：試験溶液は前報で報告した方法 [1] で抽出および精製を行った。この精製液 1 mL を分取し窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去し、

残留物にメタノール 0.2 mL を加えて溶解後、超純水 0.8 mL を加えて 20% メタノール溶液とし、LC/MS/MS 測定用試験溶液とした。

4. 装置及び測定条件

(1) 装置

液体クロマトグラフ：Waters AQUITY UPLC H-Class

質量分析計：Waters Xevo TQ-Smicro

(2) 液体クロマトグラフ条件

分析カラム：AQUITY UPLC HSS T3

（内径 2.1mm、長さ 100mm、粒子径 1.8 μ m）

カラム温度：40 $^{\circ}$ C

移動相 A：0.05% ギ酸含有 5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

移動相 B：メタノール

グラジエント条件

時間 (min)	流速 (mL/min)	A (%)	B (%)
0.00	0.4	99	1
0.75	0.4	50	50
11.00	0.4	1	99
13.00	0.4	99	1
17.00	0.4	99	1

注入量：10 μ L

(3) 質量分析計条件

イオン化法：ESI (+)

測定モード：MRM（条件 表 2）

キャピラリー電圧：3.2kV

脱溶媒ガス流量：1,000L/hr

脱溶媒ガス温度：200 $^{\circ}$ C

コーンガス流量：50L/hr

ソース温度：150 $^{\circ}$ 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 mg/kg になるように添加し試験を行った。検量線用溶液

は農薬標準溶液を20%メタノール溶液で希釈したものを使用し、0.1, 0.3, 1, 3, 10 µg/Lの5点とした。

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. 測定条件の検討：測定対象58農薬(表1)についてイオン化条件の検討を行ったところ、トリフルラリンとピンクロゾリンは検出できなかったため、56農薬についてMRM条件を作成した(表2)。

次に、作成したMRM条件で各農薬標準液を測定したところ、PL2005農薬GC/MS Mix III標準液では、この混合標準液に含まれていない成分のジメトエートが検出された。この原因は、Mix III標準液に含まれているホルモチオン(測定対象としていない)が加水分解でジメトエートになるため[3]、ホルモチオンに由来したものと考えられた。ジメトエートは検査対象農薬であり、Mix I標準液に含まれていることから、農薬標準液はMix I標準液とMix III標準液を混合せず、① Mix I標準液、② Mix III標準液とメタミドホス、アセフェートの混合溶液、の2種類を調製し、別々に測定することとした。

2. 試験溶液調製の検討：試料溶液からの抽出、精製方法は既に報告した方法[1]で行った。精製液溶媒はアセトニトリル/トルエン(3:1)溶液であるため、最終試験溶液は20%メタノール溶液に溶媒置換することとし、次のように行った。

精製液溶媒1 mLを分取し窒素ガスを吹き付けて溶媒を除去し、残留物に20%メタノール溶液1 mLを加えて再溶解した。この試験溶液を測定したところ、回収率が低い成分があり、特に極性が低い成分の回収率が低かったことから、十分に再溶解していないことが予測された。そこで、初めにメタノール0.2mLを加えて溶解し、その後水0.8mLを加えて20%メタノール溶液に調製したところ、回収率が向上した。また、再溶解後の試験溶液1mLをろ過フィルターでろ過したところ、回収率が低い成分がみられたことから、ろ過フィルターは使用しないこととした。

3. 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 mg/kg)を添加し、添加回収試験を行った。表3に回収率及び併行精度を示した。全ての食品で、農薬を添加していない試料の試験溶液から各農薬の定量を妨害するピークは検出されなかった。また、全ての農薬成分の回収率及び併行精度は目標値を満たしていた。

以上のことから、加工食品中の農薬分析においてGC/MSで測定している56農薬のうち54農薬についてLC/MS/MSで精度よく分析できることが示された。

文 献

- 堀井裕子, 村元達也, 山下智富 (2016). 富山衛研年報, 39,119-122
- 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
- 廣田政隆 (2012). 実践残留農薬分析における注意点, p 58 林純薬工業株式会社.

表1. 測定検討農薬

1 アジンホスメチル	2 プタミホス	3 カズサホス	4 クロルフェンビンホスE,Z
5 クロルピリホス	6 クロルピリホスメチル	7 シアノホス	8 ダイアジノン
9 ジクロルボス	10 ジメトエート	11 ジメチルビンホスE,Z	12 EPN
13 エディフェンホス	14 エチオン	15 エトプロホス	16 エトリムホス
17 フェナミホス	18 フェントロチン	19 フェンスルホチオン	20 フェンチオン
21 ホスチアゼート	22 イソフェンホス	23 マラチオン	24 メチダチオン
25 パラチオン	26 パラチオンメチル	27 フェントエート	28 ホレート
29 ホサロン	30 ホスファミドン	31 ピリミホスメチル	32 プロフェノホス
33 プロチオホス	34 ピラクロホス	35 ピリダフェンチオン	36 キナルホス
37 テルブホス	38 トルクロホスメチル	39 アセフェート*	40 シハロトリン
41 シペルメトリン	42 ジスルホトン	43 イソキサチオン	44 メタミドホス*
45 モノクロトホス	46 オメトエート	47 ペンコナゾール	48 ペンディメタリン
49 ペルメトリン	50 ホスマット	51 プロシミドン	52 ピリダベン
53 ピリフェックスE,Z	54 テフルトリン	55 チオベンカルブ	56 チオメトン
57 トリフルラリン**	58 ピンクロゾリン**		

* 現在、LC/MS/MSで測定している農薬

** 測定できなかった農薬

表 2. LC/MS/MS 分析における測定条件

No.	成分名	測定イオン(m/z)		コーン電圧 (V)	コリジョンエネルギー (eV)
		プレカーサー	プロダクト		
1	アジンホスメチル	318.1	132.0	8	20
2	ブタミホス	333.0	180.0	22	8
3	カズサホス	271.1	159.0	16	16
4	クロルフエンビンホスZ	358.9	155.0	28	12
5	クロルフエンビンホスE	358.9	155.0	28	12
6	クロルピリホス	349.9	198.0	27	20
7	クロルピリホスメチル	321.8	125.0	34	20
8	シアノホス	243.9	101.9	54	28
9	ダイアジノン	305.1	169.0	20	22
10	ジクロロホス	221.0	109.0	23	22
11	ジメトエート	229.9	198.8	26	8
12	ジメチルビンホスE	331.0	170.1	30	47
13	ジメチルビンホスZ	331.0	170.1	30	47
14	EPN	324.0	157.0	22	25
15	エディフェンホス	311.0	109.0	23	32
16	エチオン	385.0	199.0	30	10
17	エトプロホス	243.0	131.0	18	20
18	エトリムホス	293.1	125.0	29	26
19	フェナミホス	304.1	217.1	27	24
20	フェニトロチン	277.9	124.8	52	18
21	フェンスルホチオン	309.0	157.1	36	25
22	フェンチオン	279.0	168.9	26	18
23	ホスチアゼート	284.0	104.0	19	22
24	イソフェンホス	346.1	245.1	16	12
25	マラチオン	331.0	127.0	12	12
26	メチダチオン	302.9	144.9	12	8
27	パラチオン	291.9	235.9	38	14
28	パラチオンメチル	263.9	124.9	44	18
29	フェントエート	321.0	79.1	9	40
30	ホレート	261.0	75.1	15	12
31	ホサロン	367.9	181.9	12	14
32	ホスファミドン	300.1	174.1	30	14
33	ピリミホスメチル	306.1	108.1	25	32
34	プロフェノホス	372.9	302.6	25	20
35	プロチオホス	344.9	240.8	24	16
36	ピラクロホス	361.1	138.1	30	55
37	ピリダフェンチオン	341.0	189.0	31	22
38	キナルホス	299.0	96.9	15	30
39	テルプホス	289.0	57.2	18	22
40	トルクロホスメチル	301.1	125.0	30	17
41	アセフェート	184.0	142.8	10	10
42	シハロトリン	466.9	224.9	2	16
43	シペルメトリン	433.3	191.0	10	15
44	ジスルホトン	274.9	89.0	16	20
45	イソキサチオン	314.1	104.9	31	14
46	メタミドホス	142.0	93.6	15	13
47	モノクロトホス	224.0	126.9	38	16
48	オトエート	214.1	183.1	5	10
49	ペンコナゾール	284.0	70.1	15	15
50	ペンディメタリン	282.2	212.2	12	10
51	ペルメトリン1	407.9	183.0	26	16
52	ペルメトリン2	407.9	183.0	26	16
53	ホスメット	317.8	132.9	38	36
54	プロシミドン	283.9	67.0	62	32
55	ピリダベン	365.1	147.1	5	24
56	ピリフェノックスE	295.0	93.1	38	22
57	ピリフェノックスZ	295.0	93.1	38	22
58	テフルトリン	435.9	126.9	34	62
59	チオベンカルブ	258.1	125.1	25	15
60	チオメトン	247.0	89.0	30	10

表3. 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	アジンホスメチル	95	1.2	99	0.1	99	1.7	96	1.7
2	ブタミホス	92	1.1	95	4.9	95	3.0	92	2.4
3	カズサホス	92	0.9	99	2.0	99	0.6	92	3.3
4	クロルフェンビンホスZ	96	2.4	98	3.1	97	1.4	95	1.8
5	クロルフェンビンホスE	94	0.4	96	4.0	96	1.9	94	1.7
6	クロルピリホス	83	1.5	88	2.9	92	1.1	86	1.6
7	クロルピリホスメチル	87	0.9	93	2.7	93	1.0	87	2.4
8	シアノホス	92	7.9	98	4.5	99	8.6	97	7.9
9	ダイアジノン	92	0.4	97	2.5	98	1.1	94	2.9
10	ジクロロボス	80	5.9	93	1.8	90	5.2	75	6.5
11	ジメトエート	97	2.3	100	0.4	99	1.0	96	0.9
12	ジメチルビンホスE	91	4.9	95	2.7	103	4.4	86	1.6
13	ジメチルビンホスZ	88	12.4	102	2.0	104	0.9	99	2.4
14	EPN	89	1.6	92	1.9	96	2.5	85	3.4
15	エディフェンホス	95	1.3	101	1.1	103	1.7	96	1.0
16	エチオン	82	1.9	87	3.1	88	0.6	89	1.3
17	エトプロホス	93	1.1	100	1.4	100	0.8	91	4.2
18	エトリムホス	93	0.4	100	3.5	100	3.1	93	2.4
19	フェナミホス	86	3.8	90	3.1	93	1.5	94	3.3
20	フェニトロチン	93	5.3	97	4.2	94	5.4	92	3.1
21	フェンスルホチオン	96	3.4	102	0.9	101	1.1	98	1.1
22	フェンチオン	84	5.0	90	4.2	92	2.7	87	4.9
23	ホスチアゼート	97	2.7	100	1.4	100	0.6	96	0.4
24	イソフェンホス	94	1.3	98	1.4	98	0.9	94	1.8
25	マラチオン	94	2.7	98	0.2	97	1.4	95	1.4
26	メチダチオン	95	2.9	99	0.9	98	0.4	96	1.9
27	パラチオン	93	4.0	98	3.2	99	5.7	88	2.2
28	パラチオンメチル	100	9.6	118	4.4	108	8.5	103	3.4
29	フェントエート	91	4.6	98	2.6	99	1.2	93	2.3
30	ホレート	68	9.8	85	3.4	81	7.8	76	10.1
31	ホサロン	89	2.7	93	1.8	94	1.5	99	2.2
32	ホスファミドン	96	0.6	100	0.6	98	1.5	95	0.7
33	ピリミホスメチル	94	1.3	96	1.5	99	1.5	93	0.7
34	プロフェノホス	94	0.3	95	1.9	99	0.7	94	0.9
35	プロチオホス	69	3.6	75	5.7	78	3.2	78	2.0
36	ピラクロホス	93	3.1	95	7.4	102	2.8	99	1.7
37	ピリダフェンチオン	93	1.2	98	1.4	101	0.4	97	1.5
38	キナルホス	91	0.8	98	2.1	100	1.1	95	1.2
39	テルブホス	74	6.6	83	3.2	84	3.5	79	6.8
40	トルクロホスメチル	86	1.0	94	2.2	93	2.2	89	2.2
41	アセフェート	98	3.2	100	3.8	101	1.6	95	3.8
42	シハロトリン	72	1.4	94	3.8	89	3.8	95	1.7
43	シペルメトリン	76	4.4	94	1.4	86	2.6	90	2.1
44	ジスルホトン	51	21.8	84	4.3	71	17.8	63	4.9
45	イソキサチオン	92	2.9	97	0.9	97	0.8	90	0.7
46	メタミドホス	99	0.9	105	2.3	103	3.7	96	3.7
47	モノクロトホス	99	4.1	102	0.3	100	1.2	95	2.5
48	オメトエート	96	2.5	98	1.6	100	1.8	90	1.4
49	ペンコナゾール	102	4.7	95	1.9	104	3.2	95	0.4
50	ペンディメタリン	74	7.8	86	8.9	82	9.7	78	2.1
51	ペルメトリン1	79	2.8	85	2.6	84	1.5	85	5.5
52	ペルメトリン2	82	2.3	94	4.9	87	0.7	84	9.1
53	ホスメット	86	25.5	148	0.3	115	8.9	104	3.0
54	プロシミドン	96	6.9	84	4.2	99	1.6	86	2.1
55	ピリダベン	75	4.8	82	1.3	83	2.3	84	1.3
56	ピリフェノックスE	94	3.9	102	1.0	99	1.7	93	0.6
57	ピリフェノックスZ	94	4.7	99	1.4	99	2.0	94	1.8
58	テフルトリン	51	6.1	74	10.0	57	13.9	80	6.3
59	チオベンカルブ	93	1.9	97	2.1	98	1.2	92	2.1
60	チオメトン	60	18.0	87	3.0	80	11.6	73	1.4

平成 28 年度富山県水道水質検査精度管理調査結果

村元 達也 健名 智子 中山恵理子 川尻千賀子

Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2016)

Tatsuya MURAMOTO, Tomoko KEMMEI, Eriko NAKAYAMA
and Chikako KAWASHIRI

目的：富山県では、平成 8 年度より、県内の水質検査機関における試験分析技術及び検査精度の向上を図るため、県内検査機関を対象に、「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理事業を実施している。この事業において、当所は配布検体の作製、参加機関から報告されたデータの集計及び解析を担当している。今回、平成 28 年度に実施したホルムアルデヒドの精度管理事業の調査結果についてまとめたので報告する。

材料及び方法：

- (1) 検査項目：ホルムアルデヒド
- (2) 検体の配布年月日：平成 29 年 1 月 18 日
- (3) 参加機関：富山県内で水道水等の水質検査を実施している検査機関で、水道事業者、水道用水供給事業者、水道法第 20 条に規定する登録検査機関及び地方公共団体の 18 機関
- (4) 配布検体：ホルムアルデヒドの検体は、ガスクロマトグラフ質量分析法（GC/MS 法）用と高速液体クロマトグラフ法（LC 法）用を別々に調製した。

GC/MS 法用の検体は、検体配布前日（平成 29 年 1 月 17 日）に、水道水にチオ硫酸ナトリウム溶液（0.3w/v%）を検体 1L あたり 0.3mL 添加したのち、ホルムアルデヒド標準液を 0.018mg/L 添加して作製した。標準液は、メタノールで 10mg/L に調製した溶液を使用した。あらかじめ任意の 3 本を抜き出してホルムアルデヒドを測定したところ、そのビン間変動係数は 1.6% で、配布検体間の濃度のばらつきは無視できる範囲であると考えられた。また、検体配布 7 日後（平成 29 年 1 月 25 日）にホルムアルデヒドを測定したところ、先に測定した 3 本の平均値と比較して、濃度が 10.0% 増加した。

LC 法用の検体は、検体配布日（平成 29 年 1 月 18 日）に、水道水に塩化アンモニウム溶液（1w/

v%）を検体 1L あたり 4mL 添加したのち、ホルムアルデヒド標準液を 0.018mg/L 添加して作製した。標準液は、メタノールで 10mg/L に調製した溶液を使用した。あらかじめ任意の 2 本を抜き出してホルムアルデヒドを測定したところ、そのビン間変動係数は 2.0% で、配布検体間の濃度のばらつきは無視できる範囲であると考えられた。また、検体配布 7 日後（平成 29 年 1 月 25 日）にホルムアルデヒドを測定したところ、先に測定した 2 本の平均値と比較して、濃度が 24.5% 増加した。

- (5) 検査方法及び検査結果：検査は当該検査項目の検査担当者が日常の検査業務と同じ方法を用いて行うこととした。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。

結果及び考察：参加した 18 機関のうち、GC/MS 法で測定した機関が 14 機関、LC 法で測定した機関が 4 機関であった。

各機関から有効数字 3 桁で報告された 5 回の併行測定値の平均値（ \bar{X} ）を有効数字 4 桁まで求め、各機関の測定値とした。この測定値を大きさの順に並べて表 1 に、またその度数分布を図 1 に示す。Grubbs 検定（危険率 5%）により、統計的外れ値となった 2 機関（Q 及び R）のデータを棄却し、棄却された機関のデータを除いて各計算値を算出したところ、16 機関の測定値の平均値 ± 標準偏差は $0.01733 \pm 0.00213\text{mg/L}$ であった。各機関内での併行測定における室内変動係数は 0.4～3.6%、16 機関間の室間変動係数は 12.3% であった。

\bar{X} -R 管理図を図 2 に示す。P、Q 及び R の測定値が、平均値 ± 2 標準偏差（ $0.01307 \sim 0.02159\text{mg/L}$ ）から外れた。範囲（R）の上方管理限界値（UCL）は 0.00143mg/L で、Q がこれ

表1. ホルムアルデヒド検査結果

検査機関	測定値 (mg/L)	変動係数 (%)	回収率 (=測定値/平均値)	測定方法
A	0.01514	3.0	0.87	GC/MS
B	0.01518	1.0	0.88	GC/MS
C	0.01518	2.6	0.88	GC/MS
D	0.01540	1.4	0.89	GC/MS
E	0.01562	0.5	0.90	GC/MS
F	0.01596	1.4	0.92	GC/MS
G	0.01620	0.4	0.93	GC/MS
H	0.01660	0.7	0.96	GC/MS
I	0.01692	1.3	0.98	GC/MS
J	0.01718	2.9	0.99	GC/MS
K	0.01836	0.8	1.06	GC/MS
L	0.01838	1.1	1.06	GC/MS
M	0.01912	1.9	1.10	LC
N	0.01984	2.0	1.14	GC/MS
O	0.01990	1.0	1.15	GC/MS
P	0.02234	2.3	1.29	LC
Q	0.02778	5.3	1.60	LC 棄却
R	0.03232	1.0	1.88	LC 棄却
機関数	16	16	16	
平均値(mg/L)	0.01733	1.67	1.00	
標準偏差(mg/L)	0.00213	0.91	0.12	
変動係数(%)	12.3	—	12.3	

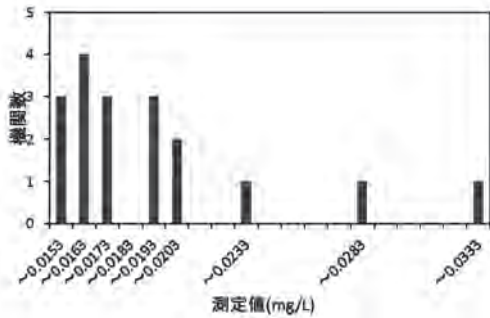


図1. ホルムアルデヒド ヒストグラム

を超えた。

Zスコアの順位を図3に示す。Zスコアは、ISO/IEC ガイド 43-1 (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、棄却された機関を除く 16 機関の測定値を用いて算出した。Zスコアの評価基準は、 $|Z| \leq 2$ の場合を「満足」、 $2 < |Z| < 3$ の場合を「疑義あり」、 $3 \leq |Z|$ の場合を「不満足」とした。15 機関が満足と、P が疑義ありと評価された。棄却された 2 機関以外で不満足と評価された機関はなかった。

P、Q 及び R が、測定値の平均値 0.01733mg/L を真の値と仮定した場合の回収率が 0.8~1.2 の範囲 (0.01386~0.02080mg/L) を外れた。

棄却された 2 機関に原因の究明、是正措置等について報告を求めた。Q は検体の汚染、クロマトグラムピーク形状、検量線の調製濃度、使用した精製水が適正かどうか、検体中の NO_x によるホルムアルデヒド生成の影響について検証を行ったが、棄却された原因は分からなかった。R

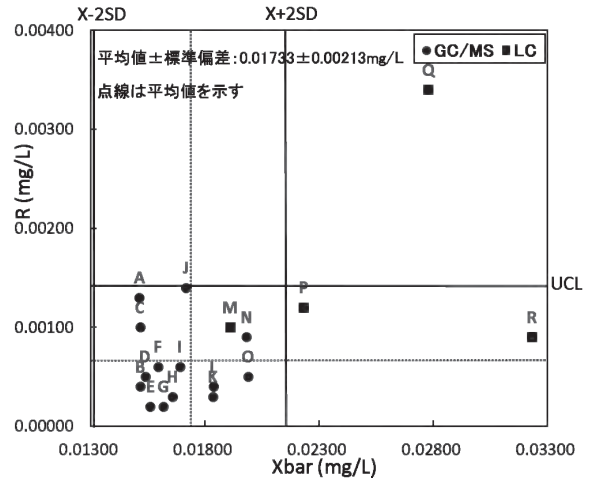


図2. ホルムアルデヒド Xbar-R 管理図

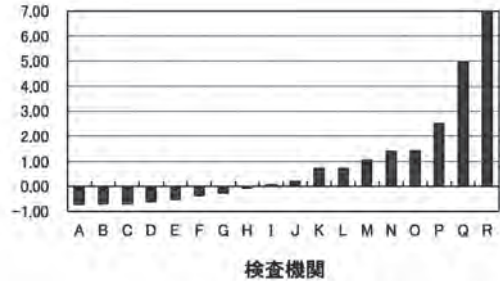


図3. ホルムアルデヒド Zスコアの順位

は試薬、機器、一連の操作について検証を行ったが、明確な原因は分からず、検体開封時に汚染された可能性があり、標準液の調製と検体の前処理を別の場所で行うように是正すると報告があった。

今回の精度管理の配布検体は、GC/MS 法用と LC 法用を異なる方法で作製した。図4に、それぞれ検体作製当日、検体配布7日後にホルムアルデヒドを測定した結果を示す。検体作製当日の測定において、LC 法用の検体の方がやや高い値を示した。また、両検体で経時的な濃度の増加が見られ、LC 法用の検体でその傾向がより顕著であった。

棄却された 2 機関は、いずれも LC 法で測定した機関であった。GC/MS 法で測定した 14 機関の測定値の平均値が 0.01685mg/L、LC 法で測定した 4 機関の測定値の平均値が 0.02539mg/L となり、F 検定及び t 検定 (片側検定、有意水準 5%) を行ったところ、両者に有意差が認められた。そこで、LC 法で測定した 4 機関の測定期間について精査したところ、M 及び Q が検体配布日に前処理・測定を行い、P が検体配布 2 日後に前処理・測定を行い、R が検体配布翌日に前処理を行

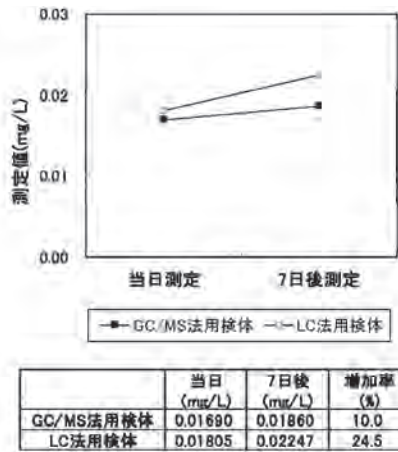


図4. 配布検体のホルムアルデヒド測定結果

い、検体配布2日後に測定を行っていた。いずれも検査方法告示で示される72時間以内に試験を開始しており、試験開始日による測定値の偏りは見られなかった。

4機関の中でRの測定値が最も大きく外れていたことから、検体を前処理後、1日放置することによって、測定値が経時的に変化するかの検証を行った。配布検体と同じ方法で調製したホルムアルデヒド0.020mg/Lの検体Aについて、一方を前処理した当日に、一方を前処理した翌日にLC法で測定した。対照試験として、精製水に対して、配布検体と同じ方法でホルムアルデヒド0.020mg/Lを添加した検体B、配布検体と同じ方法で、アセトニトリルで10mg/Lに調製したホルムアルデヒド標準液を添加し、0.020mg/Lとした検体Cについて、それぞれ検体Aと同じ試験を行った。一連の試験結果を図5に示す。

検体B、Cについては、前処理当日の測定において、測定値は0.0184~0.0204mg/L、前処理翌日の測定において、0.0209~0.0215mg/Lとなり、いずれも添加濃度に対する回収率が0.9~1.1の範囲内にあり、濃度が増加する傾向は見られなかった。検体Aについては、前処理当日の測定で0.0246mg/L、前処理翌日の測定で0.0548mg/Lとなり、いずれも添加濃度に対する回収率が1.2を超え、後者で特に高い値を示した。このことより、LC法用の配布検体において、標準液添加に使用したメタノールまたは水道水中の夾雑成分が、測定値に正の影響を与えたことが疑われた。

なお、GC/MS法で測定した14機関のうち、前処理の翌日以降に測定を行った3機関については、測定値が高くなる傾向は見られなかった。

その他の留意点として、GC/MS法の前処理に

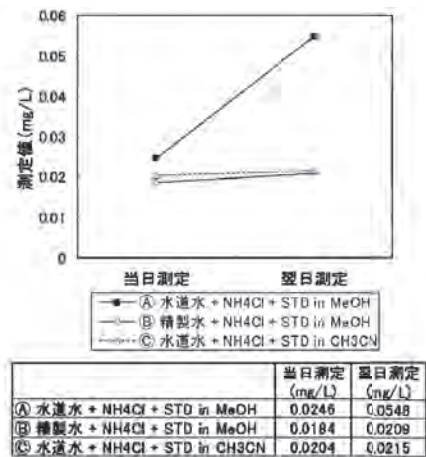


図5. LC法における前処理後のホルムアルデヒドの経時変化

おいて、抽出に用いる溶媒量が少なかった機関、脱水操作を行わなかった機関がそれぞれ1機関あった。また、測定値の算出過程に間違いがあったと思われる機関が2機関あった。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。

まとめ：県内の水質検査機関を対象に、ホルムアルデヒドの精度管理事業を実施した。解析の結果、Grubbs検定により2機関が棄却された。棄却された機関を除く16機関のうち、Zスコアが $2 < |Z| < 3$ の範囲にあり、回収率が0.8~1.2の範囲を外れた機関が1機関あった。その他の機関については、機関内、機関間のばらつきは小さく、検査結果は概ね良好であった。

棄却された2機関はLC法で測定しており、LC法で測定した4機関の測定値の平均値が、GC/MS法で測定した14機関と比較して有意に高い値を示した。LC法用の配布検体について検証した結果、検体中のメタノール又は夾雑成分が、測定値の増加要因となった可能性が高いと考えられた。

以上のことから、LC法を用いてホルムアルデヒドを測定する際には、希釈溶媒などとしてのメタノールの使用を避けること、前処理後はできるだけ速やかに測定を実施することが望ましいといえる。

文 献

1. 厚生労働省健康局水道水質管理室 (2011), 「平成22年度水道水質検査精度管理に関する調査結果」

4. 業 績

(1) 誌 上 発 表

[著書・総説]

- 1) 災害から子供たちをどう守るか～危機管理の観点から～
新生児医療の問題・新生児マスキリーニングをどう維持するか

九曜雅子 (分担執筆)

チャイルドヘルス 19(5) : 56-58, 2016

- 2) 富山県の新生児マスキリーニングネットワーク

九曜雅子

タンデムマス通信 Vol.5 : 14-15, 2016

[原 著]

- 1) 呼吸器症状が長引く乳幼児からの呼吸器ウイルスの検出—保育園低年齢児における遷延する呼吸器症状の解明に向けて

新谷尚久*, 小淵正次

小児科 57(12) : 1483-1488, 2016

小児科一般・夜間救急外来において、保育園入所間もない園児を中心に遷延する風邪症状、いわゆる鼻咽頭炎・扁桃炎などの上気道炎が長引き、副鼻腔炎・中耳炎、さらに気管支炎や肺炎を併発している症例を多く認める。しかし、一部ウイルス迅速診断キットを用い原因の一端を検索する以外に、外来現場でウイルスを同定する手段はない。

当院では、富山県衛生研究所の協力により、特定のウイルスについてPCR法による遺伝子診断を行っている。そこで今回、遷延する呼吸器症状を認める保育園入所間もない園児について、原因と考えられる代表的呼吸器ウイルスの罹患状況を調べてみた。

- 2) 特別養護老人ホームにおけるライノウイルスの集団感染事例—富山県

板持雅恵, 稲畑 良, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 佐賀由美子, 米田哲也, 小淵正次, 三井千恵子*, 新保孝治*, 加納紅代*

病原微生物検出情報 (IASR) 37 : 179-180, 2016

2016年6月中旬から7月中旬にかけて、富山県内の特別養護老人ホームにおいて上気道症状を中心とした呼吸器疾患の集団感染が発生した。発症した入所者のうち3名から検出されたヒトライノウイルス (HRV) はBLAST検索により、すべてHRV-A(HRV species A)と推定され、解析株間の塩基配列は100%一致した。このことから、本事例はHRV-Aを原因とする集団感染と推定された。

平成 29 年 11 月 30 日

3) ノロウイルス GII の複数の遺伝子型が検出された胃腸炎集団事例—富山県

稲崎倫子, 名古屋真弓, 米田哲也, 佐賀由美子, 板持雅恵, 稲畑 良, 小淵正次, 三井千恵子*, 新保孝治*, 加納紅代*

病原微生物検出情報 (IASR) 38 : 8-9, 2017

2016 年 6 月に、富山県内の高等教育機関の学生寮において胃腸炎集団事例が発生した。患者 3 名がリアルタイム PCR 法によりノロウイルス (NoV) GII 陽性となり、NoV GII 共通プライマーを用いた遺伝子解析の結果、1 名の遺伝子型は他の 2 名と異なっていた。患者検出株の遺伝子配列を特異的に検出するプライマーを作成して再度 PCR による検出を試みたところ、いずれの患者も共通プライマーで検出された遺伝子型のみ検出された。これより、患者 3 名は両遺伝子型の共感染ではないことが示され、本事例は複数の感染経路の存在が推定された。

4) 富山県における小学生を中心とした百日咳の流行

前田恵美*, 渡辺麻香*, 犀川朋子*, 飯沼由嗣*, 薄田大輔*, 磯部順子, 綿引正則, 平松征洋*, 蒲地一成*

病原微生物検出情報 (IASR) 38 : 25-26, 2017

2015 年 10 月～2016 年 3 月に蔓延する咳嗽を主訴とした小児 56 名を対象に、培養検査・LAMP 法による遺伝子検査・血清中の PT-IgG 抗体価測定し、確定診断を行った。また、分離された菌により PFGE による分子疫学的解析も行った。これらにより、24 名が百日咳と診断され、複数の学校から分離された百日咳菌の PFGE パターンから、同一菌が地域で流行したことが推定された。LAMP 法による早期診断と疫学調査による感染症の蔓延の把握が重要であることが示された。

5) 2016 年夏から冬にかけて種々の疾患から検出されたヒトパレコウイルス 3 型について—富山県

板持雅恵, 稲畑 良, 稲崎倫子, 米田哲也, 佐賀由美子, 小淵正次, 齋藤知里*, 広明秀一*, 三井千恵子*, 新保孝治*, 加納紅代*, 齊藤 悠*, 柴田 幸*, 篠崎健太郎*, 寺下新太郎*, 津幡真一*, 伊良部 仁*, 谷口千尋*, 小浦友行*

病原微生物検出情報 (IASR) 38 : 64-65, 2017

2016 年 8 月から 12 月にかけて、富山県内の 5 医療機関に通院または入院した無呼吸発作、脳症および筋炎などの患者計 8 名から、ヒトパレコウイルス 3 型 (HPeV3) が相次いで検出された。2016 年夏期は全国的に HPeV3 の検出が多く報告され、富山県においても流行していたことが推察される。また、親子や兄弟など、家族間での感染事例が多いことから、接触感染に対する啓発も必要と思われる。

6) Prevalence of *Legionella* species isolated from shower water in public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan

Jun-ichi Kanatani, Junko Isobe, Shiho Norimoto, Keiko Kimata, Chieko Mitsui, Junko Amemura-Maekawa*, Fumiaki Kura*, Tetsutaro Sata, and Masanori Watahiki

Journal of Infection and Chemotherapy, 23, 265-270, 2017

Aims: We investigated the prevalence of *Legionella* spp. isolated from shower water in public bath facilities in Toyama Prefecture, Japan. In addition, we analyzed the genetic diversity among *Legionella pneumophila* isolates from shower water as well as the genetic relationship between isolates from shower water and from stock strains previously analyzed from sputum specimens.

Methods: The isolates were characterized using serogrouping, 16S rRNA gene sequencing, and sequencebased typing.

Results: *Legionella* spp. were isolated from 31/91 (34.1%) samples derived from 17/37 (45.9%) bath facilities. Isolates from shower water and bath water in each public bath facility were serologically or genetically different, indicating that we need to isolate several *L. pneumophila* colonies from both bath and shower water to identify public bath facilities as sources of legionellosis. The 61 *L. pneumophila* isolates from shower water were classified into 39 sequence types (STs) (index of discrimination = 0.974), including 19 new STs. Among the 39 STs, 12 STs match clinical isolates in the European Working Group for *Legionella* Infections database. Notably, ST505 *L. pneumophila* SG 1, a strain frequently isolated from patients with legionellosis and from bath water in this area, was isolated from shower water.

Conclusions: Pathogenic *L. pneumophila* strains including ST505 strain were widely distributed in shower water in public bath facilities, with genetic diversity showing several different origins. This study highlights the need to isolate several *L. pneumophila* colonies from both bath water and shower water to identify public bath facilities as infection sources in legionellosis cases.

7) Determination of hexitols by reversed phase liquid chromatography using on-line complexation with molybdate ion

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

Analytica Chimica Acta, 958, 71-76, 2017

A new approach is proposed to determine three hexitols (mannitol, sorbitol and dulcitol) by reversed phase liquid chromatography and ultraviolet detection. When molybdate ion is added to the mobile phase, it forms complexes with hexitols that can be separated on a reversed phase C30 column and detected by UV absorption at 247 nm. The mobile phase (pH 3.1) consisted of 0.1 mM disodium molybdate and 1 mM phosphoric acid. Other sugar alcohols, such as erythritol and xylitol, and glucose could not be detected under these conditions. The quantification limits of the examined three hexitols calculated at S/N = 10 were 0.001 mM and the detector response was linear in the range 0.001 to 0.3 mM. The method successfully measured these hexitols in candy samples, and the results obtained by the proposed method agreed well with those obtained by enzymatic methods.

[報 告]

1) 急性呼吸器感染症の病原体サーベイランスの手法の開発

研究分担者：小淵正次，研究協力者：米田哲也

厚生労働行政推進調査事業費補助金：新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業；新興・再興感染症の発生に備えた感染症サーベイランスの強化とリスクアセスメント 平成 28 年度総括・分担研究報告書，pp.236-239

平成 29 年 11 月 30 日

入院例を含む急性呼吸器感染症（ARI）罹患小児から検体を収集し、本研究で開発、改良を重ねた duplex リアルタイム RT-PCR 法により呼吸器ウイルスの検出を行った。過去 2 年間の調査結果も合わせて、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、ウイルス検出例の 1/3 は複数のウイルスが検出され、ライノウイルスとの組合せが多かった。一方で、インフルエンザウイルスや RS ウイルスなど上・下気道炎で検出率に大きな差がみられるウイルスも明らかになった。本法は ARI 起因ウイルスの網羅的検索のみならずインフルエンザ非流行期における病原体サーベイランスにも有用であると考えられる。

2) 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メタゲノム解析による下水からのノロウイルス・サポウイルスの検出

研究代表者：野田 衛*，研究分担者：滝澤剛則，研究協力者：稲崎倫子，名古屋真弓，板持雅恵

平成 28 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 ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究（H 28- 食品 - 一般 -006）平成 28 年度総括・分担研究報告書，pp.71-80

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、2016 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。患者からは NoV GII.4, GII.17, GII.2, SaV GI.1 などが検出された。下水からは NoV GII.4, GII.17, GI.6 などが検出された。1 月～8 月には集団発生事例、小児散发例、下水からは NoV GII.4 が、集団発生事例と下水流から NoV GII.17 が共通して検出された。11 月～12 月には NoV GII.2 が主流であった。2011 年から 2013 年に採取した下水流入水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い、NoV と SaV の検出を試みたところ、NoV GI, GII, GIV, SaV GI, GII, GIV, GV の配列が得られた。ダイレクトシーケンス法では検出されなかった遺伝子群や遺伝子型についても検出された一方で、ダイレクトシーケンス法よりも検出感度が低い場合もあった。メタゲノム解析は、下水検体に含まれる複数種類の NoV, SaV を幅広く検出するには有用であった。

3) 東海・北陸地方 11 施設（地方衛生研究所及び衛生試験所）による IS printing System 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*，岩崎理美*，柴田伸一郎*，野田万希子*，田中保知*，永井佑樹*，山本新也*，中根千鶴*，多和田光紀*

厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」平成 28 年度総括・研究分担報告書，pp.57-61

平成 28 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登録を行った。

4) 感染源解明のための環境調査

研究代表者：前川純子*，研究分担者：磯部順子，研究協力者：金谷潤一

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書，pp.39-50

浴槽水、シャワー水および市中河川水における Legionella 属菌の汚染状況調査と、感染源となり得る環境

検体周辺の空気中の Legionella 属菌の棲息状況について、直接平板培養法だけでなく、アメーバ共培養法も併用して調査した。また、患者検体から最も多く分離されている Legionella pneumophila 血清群 1（以下 Lp1）を環境検体から効率よく検出するため、抗 Lp1 抗体で感作した免疫磁気ビーズ（LP1 IMB）を用いて Lp1 を選択的に濃縮する方法について検討した。

5) レジオネラ属菌迅速検査法の評価

研究代表者：前川純子*，研究分担者：磯部順子，佐々木麻里*，研究協力者：金谷潤一，川野みどり*，田栗利紹*，武藤千恵子*，山口友美*，淀谷雄亮*，中筋愛*，吉崎美和*，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「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書，pp.51-61

レジオネラ属菌迅速検査法の標準化のため，qPCR 法，EMA qPCR 法，PALSAR 法，LAMP 法，LC EMA qPCR 法について，浴槽水などの実検体 349 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。

6) 原湯等の糞便汚染指標菌及び検査法について

研究代表者：前川純子*，研究分担者：黒木俊郎*，森本洋*，磯部順子，緒方喜久代*，研究協力者：倉文明*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書，pp.73-78

水道の水質基準において糞便汚染指標菌を大腸菌群から大腸菌に変更した経緯を参照し，原湯等の水質基準における大腸菌群を水道水の水質基準に準じて大腸菌に変更することの妥当性を検討した。

7) レジオネラ属菌検査法の標準化に向けた取り組み

研究代表者：前川純子*，研究分担者：森本洋*，磯部順子，黒木俊郎*，佐々木麻里*，研究協力者：大屋日登美*，緒方喜久代*，小川恵子*，金谷潤一，倉文明*，田中忍*，千田恭子*，平塚貴大*，武藤千恵子*，山口友美*，吉野修司*，渡邊涼太*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書，pp.85-104

レジオネラ属菌検査法の標準化を目的とし，1) 精度管理，2) 標準的検査法，3) 研修システムの 3 点を柱とし，レジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ（以下 WG）内で検討を行った。

8) 赤痢菌検査の外部精度管理調査に関する事前準備調査

研究代表者：皆川洋子*，研究分担者：村上光一*，大石和徳*，滝澤剛則，四宮博人*，研究協力者：泉屋秀昌*，緒方喜久代*，大西真*，勢戸和子*，磯部順子，世良暢之*，平井昭彦*，河村真保*，小西典子*，貞升健志*，青木美耶子*，鈴木匡弘*，松本昌門*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「地方衛生研究所における病原微生物検査

平成 29 年 11 月 30 日

に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書, pp.Ⅱ-15-21

赤痢菌検査の外部精度管理調査実施に先立ち, 必要な手順や問題点を予め検証することを目的に研究を進めた.

9) 東京都における衛生検査機関を対象とした精度管理調査事業について

研究代表者: 皆川洋子*, 研究分担者: 滝澤剛則, 研究協力者: 平井昭彦*, 河村真保*, 小西典子*, 貞升健志*, 大井 洋*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書, pp.Ⅱ-23-30

平成 27 年度に実施した精度管理調査を中心に東京都における精度管理の概要について報告した.

10) 地方衛生研究所における病原微生物検査体制と「検査の質の確保」に関する研究

研究代表者: 皆川洋子*, 研究分担者: 皆川洋子*, 調 恒明*, 四宮博人*, 岸本壽男*, 佐野一雄*, 滝澤剛則, 山本容正*, 宮崎義継*, 脇田隆字*, 大石和徳*, 研究協力者: 猿木信裕*, 大井 洋*, 香月 進*, 岸本 剛*, 末吉利幸*, 松本昌門*, 伊藤 雅*, 広瀬かおる*, 垣添寛和*, アンケート調査に協力された地方衛生研究所担当者*

厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合事業「地方衛生研究所における病原微生物検査に対する外部精度管理の導入と継続的实施に必要な事業体制の構築に関する研究」平成 28 年度総括・分担報告書, pp.Ⅱ-31-59

地方衛生研究所全国協議会会員(全 81 機関)に宛てて「病原体検査の質確保」体制構築状況の調査を実施し, 80 機関より回答を得て現状を把握した.

(2) 学 会 発 表 等

- 1) 呼吸器症状が長引く乳幼児からの呼吸器ウイルスの検出
小淵正次, 新谷尚久*
第 57 回日本臨床ウイルス学会, 平 28.6.18-19, 郡山市
- 2) 富山県におけるマダニの生息状況および SFTSV 保有状況調査
佐賀由美子, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 稲畑 良, 米田哲也, 板持雅恵, 渡辺 護*, 小淵正次
第 34 回北陸病害動物研究会, 平 28.7.2, 福井市
- 3) 富山県におけるイノシシの SFTS ウイルスおよび E 型肝炎ウイルスの保有状況
稲畑 良, 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 板持雅恵, 小淵正次
平成 28 年度獣医学術中部地区学会, 平 28.8.28, 名古屋市
- 4) モリブデン酸添加移動相を用いた HPLC-UV 法によ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*
日本分析化学会第65年会, 平28.9.14-16, 札幌市

- 5) 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
平成28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28.10.13-14, 名古屋市
- 6) 急性上・下気道炎患児における呼吸器ウイルスの検索と疾患との関連性
小淵正次, 新谷尚久*, 八木信一*, 小栗絢子*, 米田哲也, 稲崎倫子, 佐賀由美子, 名古屋真弓,
板持雅恵, 稲畑 良
第64回日本ウイルス学会学術集会, 平28.10.23-25, 札幌市
- 7) メタゲノム解析による下水からのノロウイルス・サポウイルス検索
名古屋真弓, 板持雅恵, 稲崎倫子, 稲畑 良, 佐賀由美子, 米田哲也, 野田 衛*, 滝澤剛則,
小淵正次
第64回日本ウイルス学会学術集会, 平28.10.23-25, 札幌市
- 8) 細胞培養法と次世代シーケンサーにより下水流入水から検出される腸管系ウイルスの比較
板持雅恵, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 稲畑 良, 佐賀由美子, 米田哲也, 滝澤剛則, 小淵正次
第64回日本ウイルス学会学術集会, 平28.10.23-25, 札幌市
- 9) 富山市の地域クリニックにおける乳幼児の呼吸器ウイルス学的調査からこどものかぜ症候群を考える
八木信一*, 足立雄一*, 小淵正次
第49回日本小児呼吸器学会, 平28.10.28-29, 富山市
- 10) 富山県におけるマダニの発生消長および重症熱性血小板減少症候群ウイルス保有状況調査
佐賀由美子, 稲崎倫子, 名古屋真弓, 稲畑 良, 米田哲也, 板持雅恵, 渡辺 護*, 小淵正次
第71回日本衛生動物学会西日本支部大会, 平28.10.29-30, 松江市
- 11) 比較ゲノム解析手法に基づいた集団食中毒事例で検出されたII型制限修飾酵素をもつStx2ファージ
の特徴
綿引正則, 木全恵子, 磯部順子, 李 謙一*, 伊豫田淳*, 大西 真*
第20回腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症研究会, 平28.11.10, 富山市
- 12) 次世代シーケンサーによる胃腸炎集団事例からのサポウイルスGV.2の検出
稲崎倫子, 名古屋真弓, 米田哲也, 佐賀由美子, 板持雅恵, 稲畑 良, 滝澤剛則, 小淵正次
第44回北陸公衆衛生学会, 平28.11.21, 富山市
- 13) 地方衛生研究所における薬剤耐性菌レファレンスセンターの発足とその役割と現状
綿引正則, 松本裕子*, 鈴木匡弘*, 河原隆二*, 増田加奈子*, 福田千恵美*, 四宮博人*, 調 恒明*,
鈴木里和*, 松井真理*, 柴山恵吾*
第28回日本臨床微生物学会総会・学術集会, 平29.1.20-22, 長崎市
- 14) 富山県におけるウイルス及びリケッチア検出状況(平成28年)
板持雅恵
平成28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29.3.2-3, 金沢市

平成 29 年 11 月 30 日

- 15) 平成 28 年度北陸地区麻疹・風疹レファレンスセンター報告
板持雅恵, 稲畑 良
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 16) 富山県におけるインフルエンザの流行 (2016/17 シーズン)
米田哲也, 佐賀由美子
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 17) 富山県における胃腸炎ウイルス検出状況
小渕正次, 稲崎倫子
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 18) 富山県における平成 28 年の食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況
木全恵子
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 19) 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
範本志保, 綿引正則
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 20) 溶血レンサ球菌レファレンス事業報告
内田 薫
平成 28 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 28.3.2-3, 金沢市
- 21) レジオネラおよび結核レファレンス事業報告
範本志保
平成 28 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 29.3.2-3, 金沢市
- 22) 重症心身障碍児 (者) 病棟でみられた RS ウイルスの集団感染
越野恵理*, 金井正朗*, 浅井 暁*, 高崎麻美*, 土市信之*, 三浦正義*, 滝澤 昇*, 小渕正次
第 319 回日本小児科学会北陸地方会第 37 回日本小児科学会富山地方会, 平 29.3.12, 富山市
- 23) モリブデン酸添加移動相を用いたイオンペア HPLC-UV 法によ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 137 年会, 平 29.3.25-27, 仙台市
- 24) 神通川流域カドミウム汚染地域住民における近位尿細管機能異常の地域集積性
小林直人, 上野美穂
第 87 回日本衛生学会学術総会, 平 29.3.26-28, 宮崎市

(3) 受賞, 学位授与, 資格取得等

1) 受賞

板持 雅恵

地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部長表彰

平成28年6月24日

2) 受賞

九曜 雅子

地方衛生研究所全国協議会会長表彰

平成28年10月25日

(4) 知的所有権

発明の名称	特許権者・出願人	発明者	番号
流路チップの製造方法	富山県	山下智富	特許第5344414号 (平成25年8月23日)

— 編 集 委 員 —

委員長	上野美穂
委員	野島留美
	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28年度 第40号

2017年11月30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 第一共同印刷株式会社

富山県富山市太郎丸西町2-6-11

電話 (076) 421-0196

