

秋田県健康環境センター年報

第 5 号

平成 21 年度

第
5
号

ANNUAL REPORT

OF

AKITA RESEARCH CENTER FOR PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENT

No. 5 2009

平
成
21
年
度
(2009)

秋田県健康環境センター

は　じ　め　に

健康環境センターは、平成１８年度に旧衛生科学研究所と旧環境センターが統合して設立され、現在５年目を迎えています。平成２２年度は、３保健所（大館・秋田中央・横手）で行われていた試験検査業務を当センターに移管し、保健・環境に関する試験検査体制が一元化されました。

さて、平成２１年度は新型インフルエンザの世界的大流行が特筆されます。４月下旬に海外で発生して以降、５月１６日には国内で初感染が、６月１１日には本県においても初感染者が確認されました。グローバル化の進展によって、海外で発生した感染症があつという間に秋田県にまで蔓延します。

当センターでは、保健所を通じて依頼があった新型インフルエンザ疑い患者のＰＣＲによる遺伝子検査を行いました。緊急の検査依頼に迅速に対応するため、２４時間体制を敷くとともに、万一担当職員が罹患し検査職員に不足を生じた場合に備えて、他の県公設試験研究機関から支援を得ることとし、万全の体制で臨みました。また、サーベイランスにより毎週の発生動向をＨＰ等により県民や医療機関に提供しました。

センターには、県民の健康や環境の保全に関する事件・事故が発生した場合に、その状況を科学的に分析し、結果をいち早く県民に提供して安心していただくという重要な役割があります。そのためには日頃からアンテナを高くしておき、感染症にかかわらず、食中毒、大気汚染、水質汚濁、地球温暖化など、当センターの業務に関連する国内外の事件・事故の情報について、本県に影響が及んだ場合の当センターとしての対応を考え、準備しておく必要があります。

この年報は、主に平成２１年度の調査研究や業務実績の概要についてとりまとめたものです。本書を通じて多くの県民の皆さまに当センターの活動への理解と関心を高めていただくとともに、率直なご意見を頂戴することにより、今後の活動に生かしていきたいと考えております。

県民の皆さまの暖かいご支援、ご協力をお願いいたします。

平成２２年１２月

秋田県健康環境センター所長

佐　々　木　健　二

目 次

I 健康環境センターの概要

1. 沿革	1
2. 庁舎の概要	1
3. 組織	1
4. 職員名簿	2
5. 業務内容	3
6. 主要機器	4

II 業務実績

1. 試験検査実績	5
2. 研修・学会等	8
3. 研究業務実績	12

III 調査研究報告

・ 秋田県の結核対策における結核サーベイランスと 健康環境センターの役割について	19
・ 秋田県内における 2009/2010 シーズン新型インフルエンザ (A/H1N1) 流行状況についてーサーベイランスから得られた情報を基にー	28
・ 2007/2008 シーズンから 2009/2010 シーズンまでにおける 感染性胃腸炎集団発生の疫学的解析	33
・ 秋田県に侵淫している多剤耐性緑膿菌の耐性機構と 有効な抗生物質の用法, 分子疫学的解析技術に関する研究 (第2報)	39
・ 秋田県における <i>astA</i> 保有大腸菌の侵淫実態と病原因子保有状況	45
・ 新生児マス・スクリーニング検査における FT4 測定の試み	48
・ 食品検体のノロウイルス検査に向けた パンソルビン・トラップ法の実用性向上に関する研究	54
・ 雄物川流域におけるツツガムシの生息状況と ツツガムシ病原体 <i>Orientia tsutsugamushi</i> の検索 (平成 21 年の調査成績)	63
・ 秋田県におけるヒトパピローマウイルス (HPV) 検出状況	68
・ 加工食品中の残留農薬一斉分析のための C18 固相カラムによる脱脂条件の検討	72
・ LC/MS/MS による加工食品中の有機リン系農薬一斉分析法の検討	81
・ 秋田県における空間放射線量率の連続測定結果	88
・ 玉川温泉の成分変化が田沢湖の pH に及ぼす影響	93

IV 発表業績

1. 学会発表	101
2. 他誌掲載論文	109

I 健康環境センターの概要

1. 沿革

年 月	事 項
明治35. 7 明治末期	衛生試験所を秋田市牛島町に設立。 庁舎を秋田市土手長町に移転。
昭和28. 1	衛生研究所に改称。
39. 4	衛生科学研究所に改称。
39. 6	庁舎を秋田市古川堀反町（現千秋明徳町）に新築移転。
45. 7	公害技術センターを秋田市茨島の工業試験場内に設立。
48. 7	庁舎を秋田市八橋に新築移転。
56. 4	環境技術センターに改称。
61. 8	庁舎を秋田市千秋久保田町に新築移転。
平成12. 4	環境センターに改称。 秋田市山王の県庁第二庁舎に総務班及び監視・情報班を置く。
14. 3	八橋分室敷地内にダイオキシン類分析棟を新築。
18. 4	衛生科学研究所と環境センターを組織統合し、健康環境センターとして発足。 千秋庁舎に企画管理室及び保健衛生部を、八橋庁舎に環境部を設置。
21. 4	八橋庁舎の環境部を千秋庁舎に移転し、庁舎を統合。保健衛生部の理化学部門と環境部の化学物質部門を統合した理化学班を環境・理化学部内に設置。組織を企画管理室、保健衛生部及び環境・理化学部とする。
22. 4	保健所の試験検査課を統合。保健衛生部の微生物班を細菌班とウイルス班に分離し、健康科学班を健康科学・管理班に名称変更。環境・理化学部を理化学部と環境保全部に分離。理化学部には、理化学班を分割して食品理化学班と環境理化学班を設置。環境保全部には環境調査班を名称変更した環境保全部を設置。

2. 庁舎の概要

- 1) 所在地 秋田市千秋久保田町 6 番 6 号
 2) 敷 地 867.75 m²（建物建床面積）
 3) 建 物 鉄筋コンクリート造 5 階建 延床面積 4,553.52 m²

3. 組織

（平成 22 年 4 月 1 日現在）

所 長						
企画管理室長		保健衛生部長		理化学部長		環境保全部長
総務・企画班	健康科学・管理班	細菌班	ウイルス班	食品理化学班	環境理化学班	環境保全部
上席主幹 1	上席研究員 2	上席研究員 2	上席研究員 2	上席研究員 2	上席研究員 1	上席研究員 1
主幹 1	主任研究員 1	主任研究員 2	主任研究員 1	主任研究員 1	主任研究員 1	主任研究員 5
上席研究員 1	研究員 2	研究員 2	研究員 2	研究員 2	研究員 2	研究員 2
副主幹 1	臨時職員 1	非常勤職員 1		技師 1		臨時職員 1
主査 1		臨時職員 1		非常勤職員 1		
主任 1						
研究員 1						
技能主任 1						
臨時職員 1						
計 9 名	計 6 名	計 8 名	計 5 名	計 7 名	計 4 名	計 9 名

総職員数 53 名（正職員 47 名、非常勤職員 2 名、臨時職員 4 名）

4. 職員名簿

(平成22年4月1日現在)

	職 名	氏 名
	所 長	佐々木 健二
企 画 管 理 室	室 長	高 橋 浩
総 務 ・ 企 画 班	上席主幹(兼)班長	須 田 紀 夫
	主 幹	兼 子 茂 則
	上 席 研 究 員	和 田 佳 久
	副 主 幹	泉 公 夫
	主 査	櫻 庭 遊
	主 任	高 橋 育 子
	研 究 員	柴 田 ちひろ
	技 能 主 任	佐 藤 博 之
保 健 衛 生 部	部 長	高 階 光 榮
健康科学・管理班	上席研究員(兼)班長	高 山 憲 男
	上 席 研 究 員	岩 谷 金 仁
	主 任 研 究 員	田 中 貴 子
	研 究 員	村 山 力 則
	研 究 員	佐々木 ひとみ
細 菌 班	上席研究員(兼)班長	齊 藤 志保子
	上 席 研 究 員	和 田 恵理子
	主 任 研 究 員	八 柳 潤
	主 任 研 究 員	熊 谷 優 子
	研 究 員	高 橋 志 保
	研 究 員	今 野 貴 之
ウ イ ル ス 班	上席研究員(兼)班長	千 葉 真知子
	上 席 研 究 員	安 部 真理子
	主 任 研 究 員	斎 藤 博 之
	研 究 員	佐 藤 寛 子
	研 究 員	藤 谷 陽 子
理 化 学 部	部 長	菅 雅 春
食 品 理 化 学 班	上席研究員(兼)班長	松 田 恵理子
	上 席 研 究 員	佐 藤 晴 美
	主 任 研 究 員	珍 田 尚 俊
	研 究 員	松 渕 亜希子
	研 究 員	菅 原 剛
	技 師	天 明 さおり
環 境 理 化 学 班	上席研究員(兼)班長	船 岡 美枝子
	主 任 研 究 員	小 林 貴 司
	研 究 員	玉 田 将 文
	研 究 員	小 川 千 春
環 境 保 全 部	部 長	佐 藤 信 也
環 境 保 全 班	上席研究員(兼)班長	藤 島 直 司
	主 任 研 究 員	鈴 木 忠 之
	主 任 研 究 員	児 玉 仁
	主 任 研 究 員	石 垣 修
	主 任 研 究 員	清 水 匠
	主 任 研 究 員	成 田 修 司
	研 究 員	高 橋 英 之
	研 究 員	佐々木 純 恵

5. 業務内容

(平成22年4月1日現在)

企画管理室	総務・企画班	・人事、服務及び福利厚生に関する業務 ・予算・決算に関する業務 ・検体の受付及び手数料の徴収に関する業務 ・物品の購入、出納及び保管に関する業務 ・庁舎管理に関する業務 ・公印・文書管理に関する業務 ・研究の企画・管理に関する業務 ・センターの中長期計画に関する業務 ・広報に関する業務 ・研修指導に関する業務
	健康科学・管理班	・感染症情報センター業務 ・感染症情報に基づく調査研究 ・結核登録者情報調査に関する業務 ・花粉症予防対策業務及び調査研究 ・生活習慣病予防対策業務及び調査研究 ・公衆衛生情報 ・健康危機管理情報
保健衛生部	細菌班	・細菌感染症に関する試験検査及び調査研究 ・細菌性食中毒に関する試験検査及び調査研究 ・医薬品等に関する細菌検査 ・収去食品及び環境検体等に関する細菌検査
	ウイルス班	・ウイルス感染症に関する試験検査及び調査研究 ・ウイルス性食中毒に関する調査研究及び試験検査 ・性感染症等に関する試験検査及び調査研究 ・ツツガムシ病の血清診断 ・新生児マス・スクリーニング検査及び調査研究
理化学部	食品理化学班	・食品の理化学検査 ・食品の安全性に関する調査研究 ・有害家庭用品試買検査 ・医薬品等に関する理化学検査 ・環境放射能調査
	環境理化学班	・工場・事業場排水中の化学物質の検査 ・廃棄物に関する化学物質の検査 ・環境中の化学物質に関する調査研究
環境保全部	環境保全班	・公共用水域水質調査 ・工場・事業場排水基準検査 ・工場・事業場ばい煙排出基準検査 ・廃棄物関係検査 ・生活衛生関係検査 ・大気汚染常時監視 ・航空機騒音調査 ・酸性雨調査 ・アスベスト環境調査 ・環境保全に関する調査研究

6. 主要機器

(平成22年4月1日現在)

機 器 名	規 格
電子顕微鏡	日本電子 JEM-1010
偏光ゼーマン原子吸光光度計	日立製作所 Z-5000
原子吸光分光光度計	バリアン・テクトロン AA-220FS
原子吸光分光光度計	バリアン・テクノロジー AA-280FS
赤外線分光光度計	日本分光IR-810
小型気象ゾンデシステム	AIR社 TS-3BI
ノルマルヘキサン自動抽出装置	ラボテック HX-1000-8
分離用超遠心機	日立工機 CP70MX
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 QP5000
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 QP5050A
ガスクロマトグラフ質量分析計システム	日本電子社 JMS-700Dほか
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 GCMS-QP2010 Plus
ガスクロマトグラフ質量分析計	アジレント・テクノロジー 6890N/5973N
超臨界流体抽出装置	ISCO SFX220
キャピラリーガスクロマトグラフ	ヒューレットパッカード HP6890
ECD付ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 6890N
FID付ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 7890A
FPD付ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 7890A
ガスクロマトグラフタンデム型質量分析計	サーモフィシャーTSQ QuantumGC
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-7000
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 L-7000
高速液体クロマトグラフ	日本ウォーターズ 2695
高速液体クロマトグラフ	日本ウォーターズ 996アライアンスシステム
高速液体クロマトグラフ	アジレント・テクノロジー DAD・FLD検出器付 1200シリーズ
液体クロマトグラフィー	日立 D-7000
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-120
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-320
高速溶媒抽出装置	DIONEX社 ASE-200
高速溶媒抽出装置	DIONEX社 ASE-300
大量注入溶媒除去システム	SGE社 SCLV
液体クロマトグラフタンデム質量分析計	ABサイエックス API4000
オートアナライザー	日立メディコ 7020
オートアナライザー	ビーエルテック QuAAtro 2-HR
Ge半導体検出器付波高分析装置	セイコーEG&G GEM20P, MCA7700
PCRプロダクト検出定量システム	アプライドバイオシステムズ ABI PRISM 7000
遺伝子増幅装置	日本ロシュ ライトサイクラーシステム3
自動核酸精製装置	日本ロシュ MagNA Pure LC2.0
先天性甲状腺機能低下症等スクリーニングシステム	BSD600
低バックグラウンド放射能自動測定装置	アロカ LBC-4201B
モニタリングポスト	アロカ MAR-22
大型高圧蒸気滅菌装置	平山製作所 HK-530E
大気汚染常時監視テレメータシステム	NEC他
マイクロウェーブ分解装置	マイルストーンゼネラル ETHOS900

Ⅱ 業務実績

4. 試験検査実績

1.1 保健衛生部行政依頼検査

(件数)

年 度			平成19	平成20	平成21	
項 目						
細菌・ウイルス等の試験検査	感染症発生動向調査病原体別検査数	ウイルス分離検査	801	541	459	
		細菌検査	921	722	719	
	感染症流行予測調査	インフルエンザ感染源調査	100	100	100	
		日本脳炎感染源調査	70	70	70	
	食中毒等検査	ノロウイルス検査	962	270	357	
		細菌検査（EHEC）	272	54	162	
		その他の細菌等検査	1,116	221	648	
	HIV抗体検査		39	10	7	
	HIV抗体確認検査		3	2	4	
	性器クラミジア抗体検査		232	266	199	
	梅毒抗体検査		230	268	202	
	B型肝炎抗原検査		969	344	334	
	C型肝炎抗体検査		982	345	338	
	C型肝炎 PCR		2	1	0	
	麻疹抗体価検査		66	9	0	
	麻疹PCR		2	4	4	
	新型インフルエンザ		1	4	372	
	3類感染症に係わる病原微生物検査		1,073	778	714	
	公衆浴場等レジオネラ属菌検査		63	63	61	
	地研レファレンスセンター業務	カンピロ血清型別	7	15	6	
		ジフテリア・百日咳・ボツリヌス	5	102	55	
	結核菌RFLP検査，VNTR検査		19	5	7	
	つづが虫病血清検査		93	93	67	
	その他微生物学的検査		1,474	853	193	
	マス・スクリーニング	先天性代謝異常，内分泌疾患		8,391	8,188	7,999
	医薬品等監視指導業務に係る検査	医薬品，医薬部外品，医療機器（細菌）		4	4	9
	栄養調査等業務	栄養調査・解析		1,171	0	0
		塩分濃度測定		116	0	0
	合 計			19,184	13,332	13,086

1.2 保健衛生部一般依頼検査

		(件数)		
年 度		平成19	平成20	平成21
項 目				
感染症発生動向調査に関わる検査	秋田市保健所依頼分（再掲）	265	80	83
細菌・ウイルス等の試験検査	ウイルス分離検査	0	36	35
	食中毒関係等ノロウイルス検査	249	118	139
	ノロウイルス検査（カキ）	46	68	0
	新型インフルエンザ*	—	—	257
	細菌培養同定検査	61	69	3
	大腸菌検査（定量）	30	0	0
	大腸菌検査（定性）	10	0	0
	一般細菌	40	0	0
	腸管出血性大腸菌	3	0	0
	細菌遺伝子解析検査	0	1	0
	血液製剤無菌試験	17	17	34
	真菌否定検査	17	17	34
	細菌否定検査	17	17	34
	HIV抗体確認検査*	—	—	1
合 計		738	406	585

* 新型インフルエンザ，HIV抗体確認検査については，平成21年度から新たに項目を起こした。

1.3 情報提供業務

				(件数)		
年 度				平成19	平成20	平成21
項 目						
基幹・地方感染症情報センター (感染症発生動向調査依頼業務)	患者情報	週報	収集	468	468	477
			報告	52	52	53
			還元	52	52	53
			解析	52	52	53
			提供	468	468	477
		月報	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	12	12	12
			解析	12	12	12
			提供	108	108	108
		年報	報告	1	1	1
	病原体情報	収集	52	52	53	
		報告	248	275	697	
		還元	24	24	24	
		解析	24	24	24	
	解析評価委員会資料提供			12	6	6
結核登録者情報調査依頼業務	患者情報	月報	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	108	108	108
	年報	収集	9	9	9	
		報告	1	1	1	
		還元(前年分)	1	1	1	
花粉症予防対策依頼業務	スギ花粉予報作成提供			67	83	73
	スギ花粉測定数			144	98	73
	スギ雄花芽調査数			15	20	15
	花粉症患者調査票数			82	83	72
	花粉症予防対策検討会			1	0	0
合 計				2,253	2,249	2,642

1.4 環境・理化学部行政依頼検査

(件数)

年 度			平成19	平成20	平成21
項 目					
大気汚染対策	大気汚染常時監視	一般環境大気測定局	447,744	371,518	382,634
		自動車排出ガス測定局	135,992	103,001	103,977
		工場局	253,803	228,681	219,850
	工場・事業場排出基準検査		34	28	29
	酸性雨調査	酸性雨実態調査	1,560	1,380	1,450
	アスベスト対策	石綿飛散調査	43	62	61
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	3,765	3,740	3,975
		地下水調査	29	19	7
		緊急調査	86	0	0
	工場・事業場排水基準検査		76	89	90
	八郎湖水質保全対策調査	底質調査	36	36	36
		緊急調査	209	0	166
	玉川酸性水影響調査		987	776	533
	十和田湖水質保全対策調査	十和田湖水質生態系調査	336	384	360
		十和田湖流入河川調査	69	93	45
騒音対策	航空機騒音調査		715	722	735
化学物質対策	化学物質環境調査		139	131	136
	ダイオキシン類検査		992	0	0
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		262	334	360
	能代産業廃棄物処理センター環境保全対策	能代地区周辺環境調査	366	374	436
		能代産業廃棄物処理センター関連調査	1,627	1,296	1,710
		能代産業廃棄物処理センター緊急調査	0	11	0
食品監視業務に係る検査	残留抗生物質・残留合成抗菌剤検査		132	120	150
	残留農薬実態検査		12,209	11,834	8,381
	精度管理		10	15	15
医薬品等監視指導業務に係る検査	医薬品, 医薬部外品, 医療機器（理化学）		2	2	2
家庭用品試買検査	有害物質		87	36	86
地熱開発地域環境調査	温泉分析		500	403	300
環境放射能水準調査	全ベータ線		141	140	150
	核種分析		95	95	79
	空間線量		378	377	365
	分析確認		55	55	55
合 計			848,870	725,752	726,173

2 研修・学会等

2.1 研修等参加

年 月 日	研 修 名	参 加 者	開催地
21.06.04	平成21年度食品安全行政講習会	松渕亜希子	東京都
21.07.09～10	衛生微生物技術協議会第30回研修会	齊藤志保子, 八柳潤, 斎藤博之	大阪府
21.07.09～10	平成21年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会	安部真理子	東京都
21.07.10	ダイオキシン類生物検定法研修	玉田将文	兵庫県
21.08.19	東北食中毒研究会第22回全体会議および研修会	高階光榮, 齊藤志保子, 八柳潤	岩手県
21.08.24	平成21年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	原田誠三郎, 松田恵理子	東京都
21.09.29	平成21年度地研協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会	松田恵理子, 松渕亜希子	福島県
21.10.01～02	平成21年度地研協議会北海道・東北・新潟支部微生物研究部会総会・研修会	高階光榮, 齊藤志保子	宮城県
21.10.01～02	第35回全国環境研協議会北海道・東北支部研究連絡会議	小林貴司	山形県
21.10.30～31	薬剤耐性菌解析機能強化技術研修会	八柳潤	東京都
21.12.06～11	環境放射能分析研修「環境放射能モニタリングにおける線量推定」	珍田尚俊	千葉県
21.12.10～11	平成21年度「地域保健総合推進事業」地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟支部専門家会議 微生物部門	齊藤志保子	宮城県
22.01.15	SPSS研修会（医療従事者のための分析1）	村山力則	東京都
22.01.19～20	平成21年度化学物質環境実態調査環境化学セミナー	天明さおり	東京都
22.01.26～29	平成21年度問題解決型分析研修（アスベスト応用研修）	梶谷明弘	埼玉県
22.02.02～10	水道クリプトスポリジウム試験法に係る技術研修	今野貴之	埼玉県
22.02.22～26	アスベスト分析研修	佐々木典子	埼玉県
22.02.23～24	カルシウムもみ殻炭製造の実証試験視察研修	成田修司	宮城県
22.02.25	平成21年度残留農薬等研修会	天明さおり	東京都
22.02.25～26	希少感染症診断技術研修会	佐藤寛子, 今野貴之	東京都
22.03.12	LC/MSユーザーミーティング2010	松田恵理子, 松渕亜希子	東京都
22.03.17	放射能分析確認調査技術検討会	珍田尚俊	東京都
22.03.20	第35回日本マス・スクリーニング学会第28回技術部会研修会	佐藤寛子, 柴田ひろ	大分県

2.3 学会等出席

年 月 日	学 会 名	出 席 者	開催地
21.05.25～26	平成21年度廃棄物資源循環学会研究討論会	成田修司	神奈川県
21.05.29	2009年度日本水環境学会東北支部幹事会・総会・講演会	成田修司	宮城県
21.6.9～10	第18回環境化学討論会	天明さおり	茨城県
21.07.24	第58回東北公衆衛生学会	高階光榮, 田中貴子, 梶谷明弘, 村山力則, 柴田ひろ	秋田市
21.09.14～15	第12回日本水環境学会シンポジウム	成田修司	東京都
21.09.16～18	第50回大気環境学会年会	信太穰	東京都

21.10.01～02	第32回農薬残留分析研究会	松田恵理子，松渕亜希子	島根県
21.10.03	第55回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会北日本支部合同大会	佐藤寛子	北海道
21.10.16～17	腸管出血性大腸菌シンポジウム	八柳潤	大阪府
21.10.19～21	日本食品微生物学会30周年記念学術大会	今野貴之	東京都
21.10.21～23	第68回日本公衆衛生学会	高階光榮	奈良県
21.10.24	第20回ウイルス性下痢症研究会	斎藤博之	東京都
21.10.24～27	第56回日本ウイルス学会学術集会	斎藤博之	東京都
21.10.29～30	第36回環境保全・公害防止研究発表会	小林貴司	富山県
21.10.31～11.01	第50回東北医学検査学会	原田誠三郎，安部真理子，佐藤寛子，柴田ちひろ	秋田市
21.11.06	大気環境学会北海道東北支部第15回総会	玉田将文	福島県
21.11.07	第27回日本クラミジア研究会第16回リケッチア研究会合同発表会	佐藤寛子	東京都
21.11.12～13	第46回全国衛生化学技術協議会年会	松田恵理子，松渕亜希子，泉谷孝英	岩手県
21.11.26～27	第43回腸炎ビブリオシンポジウム	齊藤志保子，八柳潤	岡山県
21.12.03	環境放射能調査研究成果発表会	珍田尚俊	東京都
21.12.12～13	第22回日本性感染症学会学術大会	佐藤寛子，村山力則，柴田ちひろ	京都府
21.12.17～18	第31回全国地域保健師学術研究会	田中貴子	徳島県
22.01.22	第55回日本水環境学会セミナー	成田修司	東京都
22.03.15～17	日本水環境学会年会	菅雅春，梶谷明弘，成田修司，佐々木典子	福岡県

2.3 健康環境センター主催研究発表会

開催日：平成21年8月28日（金）

開催場所：秋田県総合保健センター

	演 題 名	発表者
1	玉川温泉下流域におけるpH低下の要因について	佐々木典子
2	秋田県における新型インフルエンザ・サーベイランス対応について	村山力則
3	LAMP法による百日咳迅速診断の実施状況と検査結果の概要	八柳潤
4	タミフル耐性インフルエンザウイルスの検出状況と簡便な検査法の開発	斎藤博之
5	腸管出血性大腸菌の新たな分子疫学的解析法－MLVA法の有用性について－	今野貴之
6	と畜場における豚のサルモネラ保菌状況と分離菌株の血清型，薬剤感受性	齊藤志保子
7	平成20年度日本脳炎感染源調査結果について	柴田ちひろ
8	農薬残留対策総合調査について	玉田将文
9	八郎湖高濃度リン湧出水の年間変動と湧出量	成田修司
10	生態系操作の本県の湖への適用可能性	佐藤信也

2.4 その他の口頭発表

年 月 日	発 表 会 名 ・ 演 題 名	発表者	開催地
21.10.01～02	第35回全国環境研協議会北海道東北支部研究連絡会議 ・秋田県内の水田と汽水域における農薬残留調査について	小林貴司	山形県
22.02.05	平成21年度保健環境業務研究発表会 ・加工食品中の残留農薬分析について ・大気汚染常時監視の状況について ・玉川温泉下流域におけるpH低下の要因 ・古典的つつが虫病患者の症例と感染推定地におけるツツガムシの生息状況調査	泉谷孝英 児玉仁 成田修司 佐藤寛子	潟上市
22.03.11	異分野研究交流フォーラム（3） ・食品中の病原ウイルスを検出するためのパンソルビン・トラップ法の開発 ・本県の湖における生態系操作の応用可能性について	斎藤博之 佐藤信也	秋田市

2.5 講師派遣等

2.5.1 伝達講習・技術協力

実施日	主な内容	講師氏名	対象	参加者数
21.04.06～09.30	食品理化学検査研修	松田恵理子	総合保健事業団職員	1
21.05.22	新型インフルエンザ検査法に関わる情報提供	斎藤博之	秋田大学医学部	2
21.10.21～22	耐性菌検査法について	八柳 潤	地方衛生研究所細菌検査担当者	28
21.05.28	新型インフルエンザ拡大時のための検査技術講習	斎藤博之	公設試験協力者	7
21.10.01～11.30	食品理化学検査研修	松田恵理子	総合保健事業団職員	1
21.12.21	ボツリヌス菌の検査技術に関わる情報交換	齊藤志保子	総合保健事業団職員	5
21.09.04	ノロウイルス検査法について	斎藤博之	秋田市保健所職員	1
22.02.04～05	ノロウイルス検査法について	斎藤博之	秋田市保健所職員	2
21.06.15	インフルエンザウイルスの細胞分離法について	佐藤寛子	中央家畜保健所職員	2
合 計				49

2.5.2 出前講座

出前講座	講師氏名	実施回数	延べ参加者数
(No.23) 新型インフルエンザについて	斎藤博之	12回	525名
(No.24) ウイルス性食中毒について	斎藤博之 佐藤寛子	4回	160名
(No.26) 細菌性食中毒について	今野貴之	3回	250名
(No.27) 生活習慣病の予防法について	張 勇	1回	30名
合 計		20回	965名

2.5.3 その他講師派遣

主な内容	実施日	講師氏名	依頼元	参加者数
平成20年度秋田県の結核年報結果について	21.06.05	田中貴子	健康推進課	15名
八郎湖の水質について	21.07.03	成田修司	環境計量証明事業所連絡協議会	20名
特殊災害と保安（放射性物質災害）	21.08.17	斎藤博之	秋田県消防学校	73名
腸管出血性大腸菌の食中毒予防対策	21.08.28	今野貴之	秋田市保健所	90名
個体の反応（生体と微生物）	21.09.14	八柳 潤	秋田大学医学部 微生物学3年生	120名
専科教育の特殊災害科	21.10.05	斎藤博之	秋田県消防学校	12名
もみ殻の底ぢから	21.11.26	成田修司	大曲仙北地区環境保全組織連合会	60名
秋田県内におけるインフルエンザの動向について	21.12.05	佐藤寛子	秋田県臨床検査技師会中央支部	30名
新型インフルエンザについて	21.12.19	斎藤博之	秋田県総合保健事業団	30名
秋田県の結核患者の状況	21.12.25	田中貴子	健康推進課	80名
合 計				530名

2.6 視察・見学等受入

参 加 者 区 分	平成19年度	平成20年度	平成21年度
小・中学生	8 (2)	1 (1)	0
インターンシップ	12 (2)	13 (2)	7 (2)
その他の学生	12 (1)	12 (1)	31 (3)
一般県民	0	0	15 (1)
業務関係者（医師臨床研修含む）	11 (4)	1 (1)	25 (5)
県外	0	0	0
国外	0	0	7 (1)
合 計	43 (9)	27 (5)	85 (12)

注）括弧内の数字は団体数

3. 研究業務実績

健康科学班

秋田県央エリア「中・高齢者の心身両面の健康を支える米等を活用した食品の開発と食品産業クラスターの形成」

（平成 19 年度～平成 21 年度）

研究概要

秋田県では、醸造食品、発酵食品などの食品製造に関し、長い伝統と技術蓄積を有している。そこで、秋田県「県央エリア」の食品産業の振興・活性化を図り、食品産業クラスターの形成を目指して、中・高齢者の心身両面の健康を支えることのできる米等を活用した長寿社会対応型食品を開発し、全国に向けて発信することを目的として、県立の研究所や大学及び企業が共同で研究を行った。その一環として健康環境センターは、新たな食品開発を行う際の基礎資料を得るために、中・高齢者の食生活の状況及び食品へのニーズ等について調査を実施した。

結果

調査結果から、中高齢者が求めている食品としては、まず、地場産を利用した安全性を確認できる食品であり、購入時の選択基準を経済性よりも安全性を優先していることが分かった。また、咀嚼能力や血圧等に不安を抱いている人も多いことから、この点にも配慮した食品の開発が求められており、これらについては学会等でも発表した。さらに、開発した試作品について試食してもらい、その評価について調査したところ、おおむね好評であり、特に咀嚼能力の低下した高齢者の栄養補充に利用可能であるとの意見が多かった。また、米の消費を拡大するためにも、新感覚の食品の開発により、中高齢者のみならず若者へも新たなアプローチとなる可能性があると考えられた。今後は、産学官で構築したネットワークを活かし、開発した食品の実用化を推進することとしている。

食パターン分析による高血圧対策に関する栄養疫学研究

（平成 21 年度～平成 22 年度）

研究概要

日本人の 3 大死因の 1 つである循環器疾患（脳卒中と心筋梗塞）には、高血圧が大きな危険因子として関与している。秋田県は、高血圧症有病者の割合が高く、平成 18 年メタボリックシンドローム予備軍調査によると、40～74 歳で男性は 64.2 %、女性は 45.7 %で、健康秋田 21 計画（平成 20 年 3 月改定）においては、平成 24 年度までに高血圧症有病者を 10 %減少することを目標に掲げている。これまでの生活習慣病と食生活に関する研究の多くは、単一の栄養素や食品に関するもので一面的な検討が多く見られたが、本研究ではそれを補う方法として、秋田県における成人の血圧と食生活の状況について調査し「食パターン」を取り入れた食事評価を行う。そして血圧といくつかの食パターンとの関連性を明らかにし、これまで行ってきた減塩などの高血圧の予防方法と併せて、効果的な高血圧予防のための食生活改善方法を検討する。

結果

秋田県南部地域の事業所に勤務している成人男女やその家族（20～74 歳）に、事前に「食習慣に関するアンケート調査」への協力を依頼し、同意が得られた約 500 人を対象に BDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票：brief-type self-administered diet history）による調査を行った。実際に回収した調査票は、佐々木らの開発した栄養解析ソフトにより解析・集計処理を行うことで各人のデータを得た。個人の調査結果は、協力事業所において健康教育を実施し、その際に結果の見方を説明し返却した。22 年度は、市民健診を受診する一般住民（40～74 歳）を対象にしたアンケート調査を予定しており、併せて解析することとしている。

微生物班

LAMP 法による百日咳迅速診断の実施状況と検査結果の概要－地方衛生研究所技術協議会ジフテリア・百日咳・ボツリヌスレファレンスセンター業務－

（平成 15 年度～）

研究概要

百日咳は、特有のけいれん性の咳発作を特徴とする急性気道感染症である。我々は、県内の百日咳対策に資するために、ジフテリア・百日咳・ボツリヌスレファレンスセンターの一環としてLAMP法による百日咳検査を実施する体制を確立し、前回、平成20年8月22日から平成21年5月8日の間に送付された113検体中、17検体がLAMP法陽性であることを報告した。今回は、平成21年5月15日から平成22年3月31日までに送付された43検体について、百日咳菌に加えてマイコプラズマ (*M.pneumoniae*) もLAMP法で検出を試みた結果について報告する。

結果

43検体のうち、百日咳菌陽性の検体は認められず、マイコプラズマは1検体が陽性であった。平成20年に全国的に大規模な百日咳の流行が発生し、本事業により秋田県内においても百日咳患者が確認されたが、その流行は今回の調査期間、既に終息したと考えられた。

秋田県に侵淫している多剤耐性緑膿菌の耐性機構と有効な抗生物質の用法、分子疫学的解析技術に関する研究

(平成20年度～平成21年度)

研究概要

多剤耐性緑膿菌 (MDRP) は、ほぼ全ての抗生物質に耐性であるために院内感染原因菌として重要である。本研究は平成19年3月の改正医療法に基づき、MDRP院内感染対策への行政の関与を科学的に支援するための技術を導入・確立することを目的とする。今回は、MDRPの耐性パターンに及ぼす多剤排出ポンプ阻害剤の効果、PFGE解析用制限酵素、MDRPのプラスミドプロファイルについて検討した。

結果

1. 多剤排出ポンプ阻害剤の効果

多剤排出ポンプ阻害剤 MC207,110 により、MINO と LVFX の MIC が顕著に低下し、一部の MDRP で AZT, IMP の MIC が低下する傾向がみられたことから、テトラサイクリン系とニューキノロン系抗生物質と多剤排出ポンプ阻害剤

の組み合わせが MDRP 感染症の治療に応用し得る可能性が示唆された。

2. MDRP の PFGE の検討

散発事例由来 MDRP は、多彩な *speI* PFGE パターンが観察されたのに対して、院内感染疑い事例由来 MDRP 18 株はほぼ同一の *speI* PFGE パターンを示した。これらの株を供試して *NotI* と *XbaI* PFGE を試行したところ、*XbaI* では一部の MDRP が目視で *speI* よりも良好に識別される傾向が認められたが、*NotI* では DNA の分解によりパターンが得られなかった。複数の制限酵素を組み合わせることは、MDRP の PFGE 解析にも有用と考えられた。

3. 院内感染疑い事例に由来する MDRP のプラスミドプロファイル

起源の異なる緑膿菌が接合伝達性耐性プラスミドの伝達により MDRP 化する可能性が指摘されている。これにより、PFGE パターンは異なるが、同一プラスミドを保有する MDRP が院内感染を惹起することになり、PFGE に基づいた感染事例の疫学解析結果の解釈に混乱が生じる。この可能性の現実性を検討するために、院内感染疑い事例由来 MDRP 18 株のプラスミドプロファイルを検討したところ、いずれもプラスミドが検出されなかった。今後、プラスミドを保有する MDRP を特定してこの可能性について、さらに検討する必要がある。

詳細は本誌 p. 39～44 に報告する。

食中毒対応のための非定型的下痢原性大腸菌侵淫実態の解明

(平成21年度～平成22年度)

研究概要

ヒトに下痢を惹起させる大腸菌は下痢原性大腸菌と総称され、病原性の違いにより腸管出血性大腸菌、腸管病原性大腸菌、腸管侵入性大腸菌、毒素原性大腸菌、腸管集合性大腸菌の5つに大別される。しかしながら、最近の研究により大腸菌の新たな病原因子となりうる種々の遺伝子が報告され、必ずしも上記の5つにあてはまらない下痢原性を持つ大腸菌の存在が示唆されている。これら的大腸菌によって食中毒等が発生した場合には、原因不明となり適切な衛

生改善指導や医療機関における治療法の選択等に支障をきたす可能性があることから問題となっており、本調査研究では適切な検査法を導入し、食品衛生行政における食中毒対応や医療機関における治療をより適切に支援するため、新たな病原因子となりうる種々の遺伝子の検出を試み、非定型的な下痢原性大腸菌の侵淫実態を調査した。平成 21 年度は、これまでに数例の集団下痢症事例の報告があり病原性が注目されている *astA* 保有大腸菌について、平成 19 年から平成 21 年に県内で分離された菌株を対象にその侵淫実態を調査した。また、*astA* 保有大腸菌は分離された菌株によって病原性に違いがあることが指摘されているため、*astA* 以外の 13 種類の病原因子の保有状況も併せて調査した。

結果

供試菌株の総数は、平成 19 年分が 833 株、平成 20 年分が 725 株、平成 21 年分が 610 株であった。そのうち *astA* を保有していた菌株は、平成 19 年が 7 株、平成 20 年が 15 株、平成 21 年が 14 株であった。さらに、そのうちの 20 株については病原因子の保有状況を調査し、腸管出血性大腸菌で報告された新規の付着因子、*astA* 以外の毒素産生に関わる因子、腸管外の組織への付着を引き起こす因子、 α 溶血素、ヒト体内での菌の増殖に関与する siderophore の保有が確認された。*astA* 保有株の病原性については、今後さらなる調査研究が必要である。

わが国におけるスクリーニング外部精度管理システムへのブラインドサンプル導入の検討

(平成 19 年度～平成 21 年度)

研究概要

より精度が高く効果的な外部精度管理の実施を目的に、ブラインドサンプル（以下 BS）導入の可能性について、平成 17 年 9 月からパイロットスタディーが開始された。当センターはそのパイロットスタディー協力機関として平成 19 年度から参加した。参加スクリーニング施設は全国 45 施設中 16 施設である。パイロットスタディー参加施設には、新生児スクリーニング研究開発センター

（以下 NS センター）作成の BS が年数回程度、産科医療機関から施設に送付される。施設は一般検体と同じように検査を行い、結果を産科医療機関に報告する。その後、産科医療機関からそれが BS であったことが後日文書で検査施設に報告されるシステムである。報告内容は NS センターに集約される。

結果

当センターには平成 21 年度に BS 検体が 3 回送付されてきた。1 回目の BS はクレチン症の指標項目である TSH の高値検体、2 回目の BS は正常検体、3 回目の BS はガラクトース高値検体であった。3 検体ともすべて NS センターの期待値と同じ結果であった。また、BS は必ずしも異常値検体とは限らず、正常の検体が正常と判定されるかについてもチェックされる。本研究では通常の外部精度管理検体と異なり一般検体と区別できないことから、効果的な方法であると考えられる。本研究は平成 21 年度で終了し、現在結果報告書を作成中である。今後この事業については各施設から継続の要望もあり、実施について検討中とされている。

食品中のウイルス制御に関する研究

(平成 19 年度～平成 21 年度)

研究概要

昨年度までの研究でパンソルビン・トラップ法（パントラ法）の基本プロトコルはほぼ完成したが、今年度はより汎用性を向上させるために、GⅡ/4 以外の血清型に対する適用を中心に改良を行った。検討・解決すべき点は次の 5 点に集約される。①②③は利便性向上、④⑤は多糖類の血清型への対応に関する検討である。

- ① 油を多く含む食品では油滴にノロウイルス（NV）が包埋されて検出効率が落ちる可能性があること。
- ② 炭水化物混入対策の強化。
- ③ 処理時間短縮の試み。
- ④ ブロードバンド・モノクローナル抗体使用のための条件検討。
- ⑤ プール血清を使用することによる、様々な血清型への対応。

結果

食品を超音波処理することで、NV を洗い出す操作に一定の基準を設けることができ、特に油を多く含む食品に対して有効であった。また、 α -Amylase による前処理を行うことで RNA 抽出液の凍結保存中に炭水化物の沈殿が生じるという問題を解決できた。抗原抗体反応とパンソルビンへの吸着反応はこれまで、別々に 30 分ずつ行っていたが、同時添加 15 分の反応でも検出効率に差が無いことがわかった。これにより反応時間を 4 分の 1 に短縮することができた。食品洗滌液の改良 (0.5 M NaCl の添加) を行うことで、パンソルビンの結合性が向上し、プール血清やブロードバンド・モノクローナル抗体の使用が可能となった。前者については G II/4 以外の血清型でも検出可能であることを確認した。後者については抗体添加量を増やすことで実用可能であることが示された。今後はこれらの抗体の生産・安定供給体制の確立が新たな課題となった。本法を用いることで一般的な食品から NV を検出することが可能となれば、調理従事者の衛生管理意識の一層の向上を促すことに繋がり、食中毒の抑止効果が期待できるものと考えられた。

リケッチアを中心にしたダニ媒介性細菌感染症の総合的対策に関する研究

(平成 21 年度～平成 22 年度)

研究概要

夏季に発生するアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病 (血清型 Kato) はわが国においては秋田、山形、新潟の特定河川流域で多発する風土病として恐れられ、本県では雄物川流域で昭和 50 年代まで多くの患者が報告されている。ところが、その後患者数は激減し、平成 5 年が最後の報告となっていた。そのため、昨今はアカツツガムシの絶滅が示唆されていたが、平成 20 年 8 月、雄物川河川敷での釣りが感染要因とされる患者が発生した。患者は Kato 型の抗体価が有意上昇しており、アカツツガムシに刺咬されたことによるツツガムシ病であると想定された。このことから、感染予防の啓発に資するべく、感染推定地点におけるアカツツガムシの生

息調査と病原体 *Orientia tsutsugamushi* (Ot) の検索・調査を実施した。

結果

患者の感染推定地点を中心とした雄物川河川敷において、多くのアカツツガムシの生息が 7 月～8 月に確認された。さらに、捕獲した野鼠のうち、血清抗体価が Kato 型陽性である個体や、脾臓からは Kato 型 Ot が分離された個体が認められた。4 月、7 月には Gilliam 型 Ot も分離されたことから、同河川敷においては、春～秋の 3 シーズンに渡ってツツガムシ病に感染する危険性が示唆された。また、今回の調査では感染推定地点より下流の河川敷運動公園においても多くのアカツツガムシを確認した。同地点は毎年多くの観光客が訪れるイベントが 8 月に開催されている。よって、今後も当該地域におけるツツガムシの生息調査並びに Ot 保有状況の実態把握と地域社会へのフィードバックに加え、夏季のツツガムシ病の全国的な啓発が必要であると考えられる。

詳細は本誌 p. 63～67 に報告する。

新型インフルエンザ (インフルエンザ A/H1N1swl) 発生への検査、調査についての準備及び初期対応の総括と、病原体検査や感染者調査に関する今後の国と地方との連携協力及び対応能力の強化に関する緊急研究

(平成 21 年度)

研究概要

新型インフルエンザ対策の一環としてウイルス学的サーベイランスが実施され、その項目の中にタミフル耐性の調査が含まれているが、そのためにはノイラミニダーゼ (NA) 遺伝子のシーケンスを決定し、マーカー部位 (H275Y) の塩基置換 (C→T) を確認する必要があった。しかしながら、一連の社会的パニックにより、検査業務を直接担当する地方衛生研究所のマンパワーを遙かに凌駕する検体が連日頻回に渡って搬入されるに至り、シーケンスを確認する余裕が全く無いのが実状であった。本研究では、こうした困難な状況を打開するために、任意の一塩基に焦点を当ててその置換を簡便に判定できる

LCR (Ligase Chain Reaction : リガーゼ連鎖反応) に着目し、焦眉の急であったタミフル耐性鑑別用の反応系を開発した。開発した検査プロトコルについて、地方衛生研究所全国協議会の各支部において実証評価試験を行い、様々な機関で幅広く用いられる手法となることを目指した。

結果

LCR を用いることにより、A ソ連型、新型ともにタミフル耐性株と感受性株を簡便に識別することができた。この検査法について 11 箇所の地方衛生研究所で実証評価試験を行ったところ、A ソ連型 95 検体、新型 158 検体において LCR による鑑別結果はシーケンス解析結果と完全に一致し、簡便法として有用であることが示された。本法は、高価な大型機器を必要としないため、小規模な試験検査機関や途上国においても実施が容易である。また、LCR の反応系はどのような一塩基置換に対しても焦点を当ててデザインできるため、インフルエンザのタミフル耐性問題以外にも幅広く応用が可能であると考えられた。

理化学班

健康危機管理に対応した食品中の化学物質検査体制の基盤強化に関する研究

(平成 21 年度～平成 23 年度)

研究概要

中国製冷凍餃子による中毒事件をはじめとする食の安全を脅かす事件が相次ぎ、県民の食への不安が増大している。健康危機管理上、食中毒の原因である未知の化学物質を迅速かつ的確に特定できる体制を整備することが急務である。加えて、ポジティブリスト制の施行に伴い、基準が設定された農薬項目数が大幅に増大したことから、残留農薬分析の検査体制の強化が課題となった。食品中の残留農薬等を効率的かつ、迅速に分析するためには、一斉分析法の検討が不可欠であり、さらに、食の安全を脅かす事態に対応するためには精度を確保した分析体制の整備を図っていかねばならない。そのうえで分析可能項目数と分析可能な作物数の増加を目指す。一方で、広域

的な食品への毒物混入事件などでは、正確な情報の入手と共有化が鍵を握ることになるため、北東北 3 県で残留農薬等について、情報交換してリストを作成し、緊急時の協力体制を構築する。

結果

冷凍餃子の残留農薬一斉分析法の検討を実施した。4 種の C18 固相カラムの溶離条件を検討した後、最適なカラムを用いて添加回収試験を実施した。添加回収試験は、有機リン系農薬 41 種、カーバメート系 12 種、有機塩素系 10 種、トリアゾール系 27 種、トリアジン系 10 種、ピレスロイド系 26 種、その他 168 種の計 294 農薬を試料あたり 10 ng/g、50 ng/g となるように添加し、繰り返し試験数は 3 で行った。平成 19 年 11 月 15 日付け、厚生労働省通知食安発第 1115001 号に従い、平均回収率 70～120%、添加濃度により相対標準偏差 (RSD) が 15% 及び 25% を良好な回収率と評価した。10 ng/g 添加では 294 農薬中 253 農薬で、50 ng/g 添加では 294 農薬中 262 農薬で良好な回収結果が得られた。脂肪を多く含む冷凍餃子においても、C18 固相カラムで脱脂することにより、一律基準 (10 ng/g) レベルで迅速かつ高精度の残留農薬一斉分析が可能となった。

特用林産物の秋田ブランド化並びに機能性と安全性に関する研究

(平成 21 年度～平成 23 年度)

研究概要

松くい虫による松枯れ病を防止するために、秋田県内の松林ではネオニコチノイド系農薬のアセタミプリド、チアクロプリドが散布されている。これらの農薬は、自然に分解されるように設計されているが、環境中での挙動に関する調査は少ない。特に、松林に植生するキノコや山菜など特用林産物への影響についての調査は皆無である。そこで、松林中の土壌やキノコについて農薬残留量の変動を調査し、環境や特用林産物について安全性の確認を行った。

結果

農薬残留量の分析精度を確認するために、土壌およびキノコについて添加回収試験を行った。対象農薬は、アセタミプリド、チアクロブ

リド及びその分解物のチアクロプリドーアミド体である。試料の抽出は ASE で、測定は LC/MSMS で行った。抽出溶媒をアセトンにした場合、土壌中のチアクロプリドーアミド体を除き、土壌およびキノコ中の農薬回収率は 90% 以上であった。土壌中のチアクロプリドーアミド体の回収率は 60% 程度であった。そのため、アミド体の極性が非常に強いこと、土壌とキノコでは含水量が違いうことに着目し、5% 含水アセトンによる抽出を行った。その結果、アミド体も含め、土壌およびキノコ中農薬回収率はすべて 90% 以上と良好なものとなり、5% 含水アセトンを用いることで、農薬残留量を精度良く分析できることがわかった。

今後は、日本海沿岸の松林 5 地点の土壌やキノコについて、農薬残留量を調査し、安全性を評価する予定である。

環境調査班

玉川源泉の成分変化が田沢湖の pH に及ぼす影響

(平成 20 年度～平成 21 年度)

研究概要

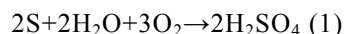
玉川温泉では平成 14 年頃から源泉の総酸度が急激に上昇し、それ以前の濃度レベルの約 1.6 倍となっている。pH 約 1.2 の玉川温泉水は

石灰中和によって一定の pH まで処理された後に放流されているが、下流の田沢湖では pH 低下の傾向がみられている。本研究では、温泉水中の総酸度を構成する、 Fe^{2+} などの潜在的酸性成分が pH に及ぼす影響に着目し、それに微生物が関与している可能性も視野に入れながら、玉川流域及び田沢湖の pH 低下への影響等を明らかにすることを目的としている。

玉川温泉下流域に存在する微生物については、その大部分が把握されていないため、平成 21 年度は、20 年度の調査で鉄酸化細菌の生息が多く確認された湯川末端部の河川底質について微生物群集構造解析を実施し、pH 低下への関与が考えられる微生物について検討した。

結果

上記の解析により、細菌の 16SrDNA を分類した結果、微生物群集は、大きく 4 つのグループから形成されていた。その中の *Acidithiobacillus* 属細菌には、玉川温泉下流域で確認されている鉄酸化細菌 *A. ferrooxidans* に近縁な細菌が含まれ、また、それ以外に、硫黄酸化細菌である *A. thiooxidans* 等に近縁な細菌も含まれていた。新たに生息が確認された *A. thiooxidans* のような硫黄酸化細菌は、無機硫黄化合物の酸化により生じるエネルギーを利用して増殖し、硫酸を生成するため(式1)、pH 低下に影響を与える可能性が示唆された。



Ⅲ 調查研究報告

秋田県の結核対策における結核サーベイランスと 健康環境センターの役割について

田中貴子 高山憲男 高階光榮 成田千秋*

結核の患者数は、医療及び生活水準の向上とともに官民一体となった結核対策の取り組みの結果、戦後順調に減少を続けている。結核対策の成功の要因として、結核サーベイランス体制を作り上げたことも挙げられている。秋田県健康環境センターでは、昭和56年から結核サーベイランス業務を行っており、本稿では結核サーベイランスにおける秋田県健康環境センターの業務を整理し役割について検討したのでその結果を報告する。秋田県健康環境センターは秋田県独自の結核サーベイランスシステムの開発と運用及び厚生労働省の結核登録者情報調査システムの導入と運用等、結核サーベイランスにおける中心的な役割を果たしてきた。結核に関する情報は、秋田県の結核対策を推進するための根拠となる基礎的で科学的かつ重要な情報である。今後も秋田県の結核の低まん延化を目指し、結核対策に反映できる、より有益で精度の高い結核情報を目指すことが大切である。また、結核登録者情報調査から得られた情報を的確に集計・解析し、行政機関や一般住民等に目的に応じて、迅速かつタイムリーに提供していくことが重要である。秋田県健康環境センターは引き続き保健所、関係機関等と連携を取りながら、結核情報に係わる中核的役割を担っていくことが望まれる。

1. 緒言

かつては「国民病」と恐れられた結核は、戦後順調に減少を続けているものの、日本では今なお年間約25,000人が新たに結核を発病し、約2,200人が亡くなっている。また、欧米各国が低まん延（罹患率が人口10万対10以下）を示す中、日本は先進国の中では罹患率19.0と「中まん延国」であり、「結核の征圧までには、最低半世紀はかかる」¹⁾とも言われている。秋田県の状況をみると平成21年の新登録結核患者数は125人、罹患率は11.4であり低まん延まであと一步のところに来ている。さらに、平成21年の都道府県別にみた全結核罹患率では、本県は全国で43位という低い率を示しており、その推移は平成元年10位、平成11年38位、平成21年43位と大きく低下してきた²⁾。

世界的視野で見た結核対策の成功は、WHOの方策によるものであり、「強力な成功の要因は、世界の結核サーベイランス体制を作り上げたことにある。」と大森は述べている³⁾。サーベイランスとは「監視」と直訳されるが、監視することのみならず、定期的に情報を収集し、情報

を集計・解析し、解析結果を還元して初めてサーベイランスと呼ぶ。また阿彦は、「結核サーベイランスは他の感染症のサーベイランスとは違い、患者の発見方法や治療成績などの対策面の質的評価を含んだシステムであることが最大の特徴である。」⁴⁾と強調している。平成19年4月に結核予防法は廃止となり、感染症法（感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律）⁵⁾に統合された。これにより結核固有の対策のこれまで以上の充実強化を図り、さらに低まん延化を目指した新たな戦略が求められており、今日その対策や予防計画の作成に役立つサーベイランス情報が期待されている。

秋田県健康環境センター（以下、当センターとする）では、昭和56年から結核サーベイランス業務を行っており、約四半世紀が経過している。全国に先駆けて構築した秋田県独自の結核サーベイランスシステムの開発では、当センターが中心的に取り組み、その際に果たした役割は大きかった。さらに、平成19年1月に更新した厚生労働省の結核登録者情報調査システムの導入においても重要な役割を担ってきた。本稿

*秋田県健康福祉部健康推進課

では本県の結核対策をより一層推進するために、結核サーベイランスにおける当センターの業務を振り返り、役割について検討したのでその結果について報告する。

2. 方法

厚生労働省の事業である結核サーベイランスシステム及び秋田県結核サーベイランスシステムについて、次の4項目に分けて概要を述べ、併せて実施している業務を見直し整理する。その中から結核サーベイランスにおける当センターの役割について検討する。

- 1) わが国の結核サーベイランスの歴史
- 2) 秋田県結核サーベイランスシステムの開発と運用
- 3) 結核登録者情報調査システムの導入と運用
- 4) 結核登録者情報調査に係わる業務と課題

3. 結果

3.1 わが国の結核サーベイランスの歴史

3.1.1 結核・感染症に関する法令

厚生労働省の結核サーベイランス事業は、法律の改正や時代の流れとともに様々な歴史を経て今日に至っている（表1）。結核に関する情報（以下、結核情報とする）の事業は、昭和56年の結核・感染症サーベイランス事業、平成8年の結核発生動向調査、更には平成19年の結核登録者情報調査と名称変更してきている。システムも時代の変化に合わせて幾度か内容の更新をし今日に至っている。感染症サーベイランスシステム（NESID）は、大別すると6本のシステム⁶⁾があり、結核固有のサーベイランスシステム「結核登録者情報調査システム」もその中に組み込まれた（表2）。また、結核情報の業務については、「感染症の発生の状況及び動向の把握」が、感染症法の第14条に規定され、国

表1 わが国の結核サーベイランスの歴史

国, 結核研究所 法令, 事業, 結核サーベイランス等		秋田県健康環境センター 結核サーベイランス	
S12年	旧結核予防法の一部改正	結核発生の届出が制度化	
S22年	伝染病届出規則の制定	結核の24時間以内の届出義務	
S26年	結核予防法制定	結核対策の体系が確立, 結核対策の本格化	
S36年	結核予防法の一部改正	結核患者を保健所で登録し管理する制度導入	
S37年	結核登録者に関する定期報告開始	・わが国の結核サーベイランスの始まり ・保健所から県市を通し厚生省(現在:厚生労働省)に毎年報告, 分析結果(結核の統計)を還元 ・結核サーベイランスの情報収集, 分析, 還元の基本的機能の確立	
S56年	結核・感染症サーベイランス事業開始	(調査名及びシステム名は, その後幾度か更新)	S56年 結核・感染症サーベイランス事業開始, 現在に至る
S62年	電算化結核サーベイランスシステム事業の導入	世界に先駆けて保健所, 県市, 国をオンラインで結ぶシステム開始	
H4年	結核サーベイランスシステム(MS-DOS版システム)に更新	履歴情報の追加	
H8年	活動性分類の変更 結核発生動向調査に名称変更		H7年 秋田県版結核サーベランスシステムの開発と運用(MS-DOS版システム)
H10年	結核発生動向調査システム(windows版システム)に更新	活動性分類の変更に伴う総合患者分類の導入とコホート情報の追加	
H11年	感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律の制定		
H19年 1月	結核登録者情報調査システムに更新	日本版DOTSの記録可能, 接触者健診システムも取り込んだ包括的なサーベイランス開始, 結核予防法廃止・改正感染症法に統合	H14年 秋田県版結核サーベランスシステムの再開発と運用(windows版システム) ～H18年
H19年 4月	結核予防法廃止, 感染症法の一部改正	結核予防法は感染症法に統合, 結核は全数把握感染症の二類	

表2 感染症サーベイランスシステム(NESID)における
結核登録者情報システムの位置づけ

システム名	内容	結核情報の入力
1 結核登録者情報調査システム	・ 結核発生届出から登録除外まで 全般の情報を入力 (例) 結核患者の病状, 発見の遅れ, 治療方法・成績, 検診等の情報	・ H19.1.1から入力開始
2 感染症発生動向調査システム	・ 結核発生届出の情報を入力	・ H19.4.1から入力開始
3 疑い症例調査支援システム		
4 病原体検出情報システム		
5 感染症流行予測調査システム		
6 症候群サーベイランスシステム		

＊結核登録者情報システム導入研修会より

への報告が明記されている。さらに、「情報の収集及び公表に関する事項」については「感染症法の施行に伴う感染症発生動向調査事業の実施について」（平成 11 年 3 月 19 日健医発第 458 号厚生省保健医療局長通知，平成 19 年 3 月 29 日健発第 0329007 号改正現在）の別添「感染症発生動向調査事業実施要綱」により実施されている。結核情報の業務は，全国的には本庁で実施している県もあれば，地方衛生研究所が実施している県もある。本県においては，昭和 56 年の結核サーベイランス事業の開始当時から，当センターが秋田県健康推進課（以下，健康推進課とする）の依頼により実施してきている。

3.1.2 感染症発生動向調査システム

感染症発生動向調査とは，感染症の発生状況を把握・分析し，情報提供することにより，感染症の発生及び蔓延状況を防止することを目的としている。感染症発生動向調査システムへの結核情報の入力対象は，結核患者確定例の他に，無症状病原体保有者（潜在性結核感染症），疑似症患者，感染症死亡者の死体等も含み，医師から届出のあった全ての報告について発生状況を入力する。平成 21 年の感染症発生動向調査の一類から五類までの全数把握対象疾患報告数（221 件）の中では，結核の報告数は 153 件（69.2%）と約 7 割を占め最も多かった。また二類感染症は全てが結核であった。

3.1.3 結核登録者情報調査システム

結核登録者情報調査システムは国のシステムであり，これまでの結核固有のサーベイランス

として引継いだシステムである。感染症サーベイランスは一般に「流行の監視」と言われているが，結核の場合は他の感染症と異なり，感染後何十年も経過してから発病する場合があることや慢性疾患ととらえられることから，「流行」や「発生」という概念はやや薄い³⁾。また結核サーベイランスは，疾患の発生動向（流行状況）を把握するだけでなく，患者の発見方法や発見の遅れ（初診・診断の遅れ），菌情報や検査結果，治療方法及び治療成績，接触者検診など患者の登録から除外に至るまでの多くの情報を網羅した対策面の質的評価を含んだシステムである。このシステムは幾度か更新しており，平成 19 年には結核登録者情報調査システムに更新された。このシステムから得られる結核情報の公表は「月報」，「年報」というように，月単位，年単位の公表となっている。結核登録者情報調査については 3.3 でさらに詳細を述べる。

3.2 秋田県結核サーベイランスシステムの開発と運用

3.2.1 開発の経緯

当センター（旧衛生科学研究所）では健康推進課の依頼により，調査事業のみならず，他県にはない独自の秋田県結核サーベイランスシステム（以下，秋田県版結核システムとする）の開発を手がけ運用してきた。平成 7 年に MS-DOS 版システム，平成 14 年に Windows 版システムを完成させ，その Windows 版システムの開発については学会等でも発表し，国のシステムを基調とした補足的なシステムとして評価を得た。しかしながら，平成 19 年 1 月に国のシステムが

更新されたことにより、システムの一元化を図る等の理由により、このシステムは平成18年のデータ蓄積をもって終了した。本稿では秋田県版結核システムの開発⁷⁾について述べる。

3.2.2 秋田県版結核システムの概要

秋田県版結核システムは国の結核発生動向調査システムを後追いする形で開発し、さらに国にはない機能を加えた。その当時の国のシステムは当該県及び当該保健所のデータだけの表示であり、出力される帳票（集計表）は印刷物であった。全国と比較する場合は手集計で表を作成しなければならなかった。また、国のシステムは平成10年から結核発生動向調査システムとして再出発したが、これには平成8年のWHOの基準に合わせた「結核症の活動性分類の改定」、さらにはWindows版の改訂を受けて新たな構築が行われており、システムとしては大幅な改訂であった。国の改訂に合わせて秋田県版結核システムもWindows版によるシステムの再開発を行い、平成14年に運用に至った。秋田県版結核システムの特徴は3.2.3で述べるが、特に考慮したのは、結核予防対策に活かせる情報を組み入れたことであった。システムの構成及びデータの流は、当センターでデータの集積（入力・移行等）を行い、国の結核発生動向調査システムの月報・年報データの集積時に、健康推進課のサーバーに情報を送る。課及び保健所では、サーバーから情報を取り込み、開発ソフトを用いて集計表・グラフの帳票を出力し、

そのデータをエクセルでデータ処理できるものであった（図1）。

3.2.3 秋田県版結核システムの特徴

ここではこのシステムの主な特徴を述べる。

- 1) 新活動性分類に基づき、結核発生動向調査システムと連動し、全国データ等と比較できる。
- 2) 基礎的データの一元化及びグラフ化等を行うことができる。（活動性分類別、性・年齢階級別患者数及び罹患率・有病率等が出力できる）（表3、図2）
- 3) 昭和40年からの過去のデータもデータベース化し経年変化で比較でき、さらに平成10年以降も結核患者数及び罹患率を算出できる。

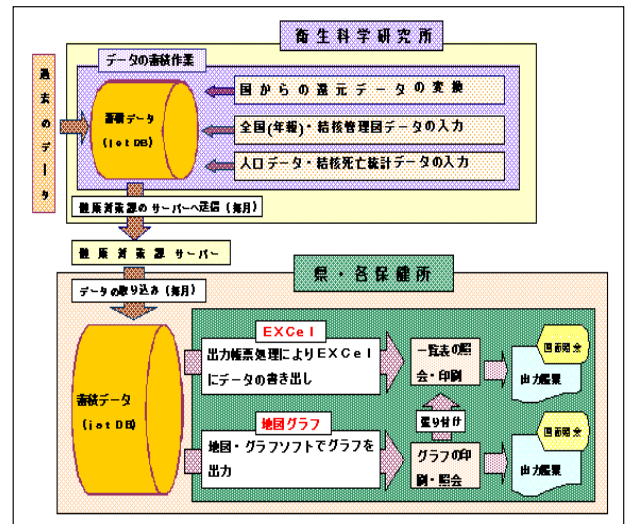


図1 秋田県結核サーベイランスシステムの構成（データの流）

表3 秋田県結核サーベイランスにおける出力帳票例（エクセルデータ）
結核登録者数および率、有病率、罹患率の年次推移—年齢階級、国・県・保健所別

全国、秋田県、大館保健所			年齢区分：年齢総数		昭和60年～平成14年（人口10万対）							
地区	年	10月1日現在総人口	年末実数・率					実数・率				
			登録者数	登録率	活動性結核患者数	有病率	登録時喀痰塗抹陽性患者数	登録時喀痰塗抹陽性有病率	新登録患者数	罹患率	喀痰塗抹陽性患者数	喀痰塗抹陽性罹患率
全 国	平成10年	126,486,000	107,058	84.6	49,205	38.9	18,334	14.5	41,033	32.4	13,405	10.6
	平成11年	126,686,000	104,813	82.7	48,888	38.6	18,189	14.4	43,818	34.6	14,482	11.4
	平成12年	126,925,843	99,481	78.4	41,971	33.1	15,978	12.6	39,384	31.0	13,220	10.4
	平成13年	127,291,000	91,395	71.8	36,288	28.5	14,243	11.2	35,489	27.9	12,656	9.9
	平成14年	127,435,000	82,974	65.1	32,396	25.4	12,820	10.1	32,828	25.8	11,933	9.4
秋 田 県	平成10年	1,201,178	887	73.8	340	28.3	110	9.2	311	25.9	92	7.7
	平成11年	1,196,054	811	67.8	292	24.4	81	6.8	314	26.3	72	6.0
	平成12年	1,190,596	690	58.0	240	20.2	72	6.0	247	20.7	73	6.1
	平成13年	1,183,380	626	52.9	230	19.4	81	6.8	242	20.4	80	6.8
	平成14年	1,175,910	497	42.3	185	15.7	65	5.5	206	17.5	66	5.6
大 館 保 健 所	平成10年	134,825	141	104.6	45	33.4	17	12.6	30	22.3	11	8.2
	平成11年	133,745	141	105.4	41	30.7	8	6.0	39	29.2	9	6.7
	平成12年	132,814	122	91.9	37	27.9	10	7.5	34	25.6	10	7.5
	平成13年	131,642	129	98.0	30	22.8	10	7.6	32	24.3	14	10.6
	平成14年	130,505	83	63.6	18	13.8	5	3.8	21	16.1	4	3.1

注1：平成9年までの数値は、旧活動性分類の数値を新活動性分類の該当する箇所可能な限り表示している。

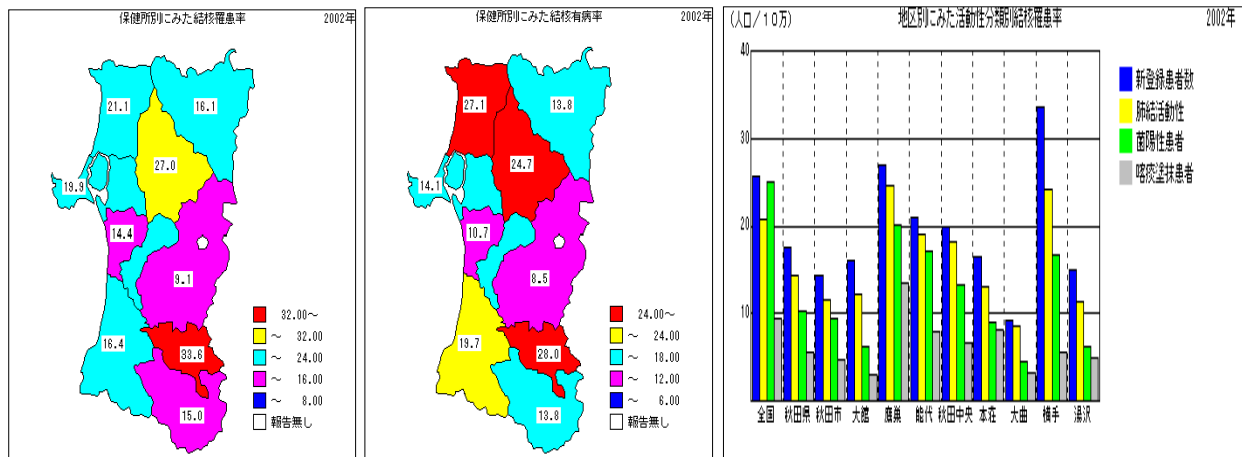


図2 秋田県結核サーベイランスシステムにおける出力帳票例 (マップ、グラフ)

- 4) 予防対策等に活用できるように、発見方法別、菌情報別、職業別、治療状況別等に集計できる。
- 5) 情報は、出力帳票（集計表）の他に、県・保健所でもエクセルで保存・加工ができる。

3.2.4 秋田県版結核システムの果たした役割

国のシステムが平成19年に更新される際に、秋田県独自のシステムの今後の開発について関係機関と検討した。その結果、県庁ネットワークを介するシステムは極力削減するという秋田県情報企画課（以下、情報企画課とする）の方針により、県独自のシステムは更新しないことになり、その後は国のシステムでの情報の一元化を図ることで、業務を進めていくことになった。そのため、平成18年の結核データの作成・蓄積を最後に秋田県版結核システムを終了した。システムのデータについてはエクセルで出力される昭和40年から平成18年までの集計表と、グラフ・マップ等の画像ファイルを含めて全て取り出した。取り出したエクセル集計表には、平成19年以降の結核登録者情報調査システムから得られた情報を追加し、現在も継続してデータを蓄積し活用している。これらの集計・解析した結核情報については、議会对応や会議及び研修会等の資料として、健康推進課や保健所から度々求められることがあり、現在も迅速かつタイムリーに情報提供している。保健所の結核担当者からは、「このような疫学情報は、秋田県の結核対策に活かされてきた、根拠となる最も基礎的で科学的な重要なデータである。」「数字を詳細に見ると、まさしく秋田県の結核

対策の変遷や改善の状況がうかがわれるものであり、無くしてはならないデータである。」という意見があった。しかし一方、保健所では幾度かの機構改革、建物の移動等によりこれらのデータが所在不明になる場合もあり、また人事異動で担当者が度々入れ替わり、一貫した情報の整理が困難な時代もあった。このような状況下で、当センターでは意識的に秋田県全体の結核データを収集・蓄積し、継続的な結核情報の管理に取り組んできた。このように、結核情報の収集・蓄積、集計・解析、還元・公表等の一連の業務は当センターに求められる重要な役割である。

3.3 結核登録者情報調査システムの導入と運用

3.3.1 結核登録者情報調査システム（新システム）の導入

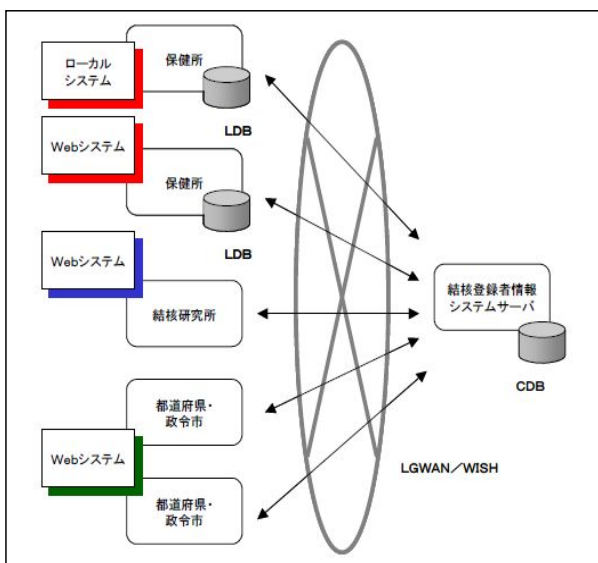
国の結核サーベイランスシステムは、平成19年1月に結核登録者情報調査システムに更新された。県内の保健所へ新しくシステムを導入するにあたり、平成18年度に当センターの担当職員は、国が参集した結核登録者情報システム導入研修会に出席した。その後、健康推進課と連携を取りながら導入に向けて具体的な作業スケジュールをたて進めていった。健康推進課は新システムに対応した容量のパソコン及び付属品購入の予算化、担当業者の入札・調整等、対外的な統括的役割を担った。当センターは説明会を開催し、旧パソコンから新パソコンへのデータ移行・回収、新システムの操作等、移設に伴う詳細な部分を担当した。新システムは総合行

政ネットワーク（LGWAN）を介して結核登録者情報調査システムのサーバー（CDB：国のセントラルデータベース）に接続することから、ネットワーク上の解決すべきいくつかの問題があるため、健康推進課とともに、情報企画課へ説明した上で、指示を得ながらシステムの導入作業を進めていった。

平成19年3月下旬に、厚生労働省から結核登録者情報システムの作業用CDが全国の保健所に送付された。保健所では最初の作業として、旧パソコンに保存されていた過去の蓄積データ（患者の個人情報）の移行作業が慎重に行われた。保健所ローカルアプリケーションのインストール、保健所ローカルシステムとサーバーとの接続確認テスト等はメンテナンス業者が実施した。新システムへの移行が完了した保健所から、結核登録者情報調査システムへの入力業務を開始した。

3.3.2 結核登録者情報調査システムの構成と登録者情報の流れ

保健所システムはローカルシステムとWebシステムから構成され、都道府県システム及び結核研究所システムはWebシステムから構成されている（図3）。保健所システムには患者の個人情報を入力する各保健所固有のローカルシステムと、月報管理及び年報管理を行うWebシステム



*結核登録者情報調査システム操作説明書より

図3 結核登録者情報調査システムの構成

ムがある。当センターで行う都道府県システムは、月報管理及び年報管理を行うWebシステムである。登録者情報の流れについては、各保健所では医師から届出のあった結核患者に関する情報を保健所ローカルシステムに入力する。その情報は、LDB（ローカルデータベースという各保健所固有のデータベース）に登録され、個人情報を除き、自動的にCDBサーバに送信される。その後、保健所及び県の月報、年報データがCDBから自動集計されて、帳票を作成できる。この調査結果から得られる統計情報は、結核対策を推進するための基礎的データである。

3.3.3 結核登録者情報調査システムの定着・運用までの経緯

新システムの運用に際し、操作説明書（マニュアル）が全国の保健所に配布されたものの、全幅な更新であるため当センター職員も、保健所担当者も慣れるまでには時間を要した。特に保健所保健師は結核患者への家庭訪問や保健指導、感染症診査協議会、医療費公費負担事務等、様々な業務を日常的に抱えているために、新たなシステムへの入力作業には苦慮した。また、平成19年4月の感染症法の改正により、感染症発生動向調査システムへの結核情報の入力も開始されたため、これら2つが混同して、一時期業務上の混乱を招いた。当センターにはこれら2つのシステム入力に係わる多くの質問が寄せられ、結核登録者情報調査に係わる質問は結核研究所に確認し、感染症発生動向調査に係わる質問は国立感染症研究所に問い合わせ、システムの不具合や操作上の質問は東芝ソリューションヘルプデスクへ確認した。回答内容は全保健所に共通であるためメールで一斉に送信し、情報の共有化に努めた。その後、保健所担当者は徐々にシステム入力に慣れてきていたものの、新年度になると定期人事異動により、保健所の結核担当者は約半数が替わり、新しい担当者には最初から支援を行った。

新システムによる平成19年の結核年報作成においては、関係機関全てにとって初めてであるために、国及び結核研究所からの連絡もやや

滞り、各保健所でもデータの見直しや修正、エラーチェックに時間を要し、平成20年8月によりやく秋田県の年報が確定した。国の年報は9月下旬に確定した。このように当センターは新システムの導入、運用・管理において、多くの関係機関と連携をとりながら保健所への技術支援を行い中核的な役割を果たした（図4）。

3.4 結核登録者情報調査に係わる業務と課題

結核対策の推進においては、県及び保健所、当センターそれぞれが役割を担っている。当センターで現在実施している業務を見直し整理してみると、実に多岐に渡っている（表4）。ここでは概ね7項目に大別したが、その中でも「集計・解析」、「情報の還元・公表」、「結核対策への反映」が特に重要な業務として考えられる。また、これらの項目別に当センターの役割・課題を評価してみると、表4で述べているように各項目ともに幾つかの課題を例示することができる。例えば、集計・解析の業務においては、「調査結果を基に、的確に結核疫学

情報を解析することが必要。」「結核対策、保健活動に、より有益な情報（調査結果）を広く提供することが大切。」「また、結核対策への反映の業務においては、「目的に応じた的確な資料を作成し、迅速にタイムリーに情報提供することが必要。」「ということが考えられる。

平成21年1月に秋田県は結核研究所による結核レビュー（外部評価）を受けた。その際の一例を紹介すると、「平成20年の結核登録者情

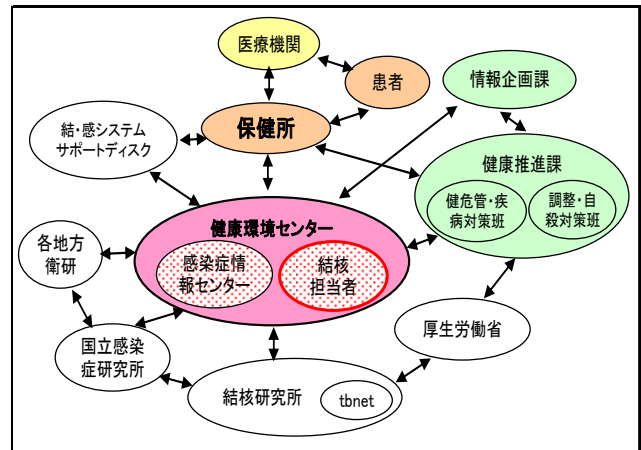


図4 結核情報に係わる関係機関の連携フロー図

表4 結核サーベイランスにおける健康環境センターの業務と役割・課題

主な業務	健康環境センターの役割	現状及び課題
1 情報収集・伝送	結核登録者情報調査 - 結核月報・年報の管理 - 入力情報の確定(年報)によりデータ伝送 感染症発生動向調査 - 随時、確認処理（入力情報の内容確認）	- 保健所ではサーベイランスの調査目的及び入力への認識がやや薄い - 入力情報の質は、保健所間格差がやや大きい ● 保健所への入力技術の支援及び意識づけが必要 ● 保健所における入力情報の精度の向上が重要 結核の統計は保健所の入力の基本となっている 正しい情報を確実に入力することが重要
2 集計・解析	月報の集計結果の検討 - 自動集計後に毎月実施 年報の集計結果の検討 - 昨年との比較、国との比較等の解析 - 結核対策の基礎的なデータの蓄積・管理	● 調査結果を基に、的確に結核疫学情報を解析する ● 結核対策、保健活動に、より有益な情報（調査結果）を、広く提供することが大切 ・ 分かり易い情報のあり方を検討
3 情報の還元・公表	- 担当者会議等で行政へ情報提供 - 研修会で、医療関係者等へ情報提供	・ 情報を公表する機会を、可能な限り持つことが必要 ・ 調査結果の活用、還元を心がける
4 結核対策への反映	課、関係機関へタイムリーな情報提供 ・ 県議会資料として、課へ提供	・ 目的に応じた的確な資料を作成し、迅速かつタイムリーに情報提供することが必要
5 普及啓発	・ 出前講座、広報誌、インターネット等で、一般住民へ結核に関する正しい知識の啓発・普及	・ 依頼に応じて講話を実施する、ホームページに公開する等、一般への啓発・普及が大切 ・ 保健所が実施する研修会等へ役立つ情報の提供
6 集団感染事例の監視	・ 入力されたデータを整理し、感染の広がりを監視 ・ 保健所から情報収集と整理、解析後に課へ報告	● 情報を解析する能力を高め、保健所と連携し感染予防対策に取り組むことが大切 ・ 課への迅速・的確な情報提供及び連携が重要
7 システムの運用・管理 (関係機関との連携)	・ 入力情報の精度向上のために、保健所へ技術支援 ・ 保健所、サポートデスク等関係機関との連絡調整	● 健康環境センターは結核システムの運用・管理に係わる中核的役割を担う

報調査結果では、培養結果入力率（50%）、薬剤感受性結果入力率（3例のみ）が低い。把握されているが入力されていないのか、把握もされていないのか、検討が必要である。」⁸⁾との指摘を受けた。このように、結核登録者情報調査から得られるデータには、保健所や県における結核対策の質に係わる事項が非常に多く含まれている。

4. 考察

「結核はいまだに我が国の主要な感染症である」²⁾と言われている。結核予防法が感染症法に統合し、感染症発生動向調査の全数把握対象疾患全体から結核の報告数を把握したところ、本県では約7割を結核が占めていた。さらに、二類感染症中の全てが結核であることから、いかに結核が多いかがうかがわれ、引き続き対策の手を緩めずに結核予防活動に取り組んでいかなければならない。

一方、本県における結核新登録罹患率は全国より低く、全国における罹患率の順位も大きく低下してきている。このことは本県の結核対策の実績として高く評価されると思われる。ここでその背景として本県の結核対策の取り組みを振り返ってみると、「結核予防活動の中核となって活躍したのが保健所である」⁸⁾と言える。かつて、本県の保健所には、保健師が属する保健指導係と事務職員が属する指導係があり人員も充実していた。家庭訪問や患者への保健指導は保健師、医療費の公費負担申請や結核診査会など事務業務は指導係と、それぞれの専門性を活かしながら業務分担で行っていた。また業務を大別すると母子保健、結核予防、精神保健、成人病予防等であり、結核予防に比較的多くの時間を費やすことができた。そして保健所保健師の業務体制は地区担当制をとり、担当する市町村の結核検診にも参画し、さらには結核予防婦人会への研修会、住民への結核予防の啓発普及を行ってきた。また、保健師同志は担当する市町村の結核予防のために、所内間、そして保健所と市町村保健師間で意見交換をしながらそれを保健活動に反映させてきた。このように保健所を中心として、医療機関、市町村、事業所、結核予防会等の関係者及び関連機関が一丸となって綿密な結核対策を展開し、地道に

取り組んできた結果が、ここに大きく実を結び今日の秋田県の罹患率低下につながったと推察される。これを裏付けるように、全国レベルでみると「我が国において結核が減少してきている背景には、予防から医療および福祉に至る包括的な公衆衛生施策が国全体で組織的に展開されたことが、この蔓延度の改善につながったことは疑う余地もない。」⁴⁾との報告もある。

次に本県の結核対策の今後について考えてみると、残念なことに近年は結核の減少に伴い、結核対策の予算や人員は削減される傾向にある。県の保健所の場合は結核を担当するのは保健師1～2名だけであり、保健所として実施しなければならない保健活動業務、事務的業務の全てを少人数の保健師が行っている現状である。結核レビューでは、「秋田県の状況が国の先端を行くため、今後の対策を進めるために、対策を考える人材が必要である。」「患者数の減少以上にスタッフの人員削減が進みすぎると、ルーチンワークしかできなくなってしまう危険がある。」等の指摘⁷⁾を受けた。現時点では、本県は全国よりも罹患率が低率であり好ましいと評価されているが、このような厳しい人員体制からして今後は順調に低蔓延に向かうのかどうかは不透明である。また、新登録結核患者数そのものは減少し、あたかも改善されたかに見えるが、実は他人に感染させる危険性の高い喀痰塗抹陽性肺結核患者数は横ばいであり、決して楽観視できない現状にあると思われる。さらに、本県における集団感染事例は決して多くないが、小規模な感染事例は度々生じている。特に高齢者間の夫婦の感染、祖父母から孫へ、そして医療・福祉現場では患者から医療従事者、施設の介護職員等の感染が近年目立ってきている。万が一大規模な感染が発生した場合には、現在の保健所の体制では対応しきれない可能性がある。「低蔓延に近づくほど問題が複雑化する。」¹⁾と言われる中で結核対策におけるそれぞれの役割や体制として考えられることは、当センターは日頃より保健所と連絡を取り合い蔓延防止のための監視を強化していく。保健所は健康推進課と密な連携を図るとともに、同じような事例が各保健所で度々発生していることから、保健所間の情報共有に努め、協力体制を強化し対策を講じていくことが重要と思われる。

最後に結核対策における結核サーベイランスについて述べる。結核対策の効果や評価には、往々にして数値や指標が用いられる。それは、結核登録者情報調査の結果によるものが多く、その数値はまさしく、地域における結核対策の質的評価と改善の取り組みを促すための根拠となるデータである⁴⁾。この数値が本当にその地域の状況を反映しているのか、実は不十分な情報入力であるため実態とかけ離れた不本意なものとなっているのか、明確には分からない場合もある。しかし、そうであっても、現実にはその数値を利用して全国や県、そして県内の他保健所とも比較し、当該保健所の疫学的実態を把握し、計画立案に用いることが多い。これらの結核の統計データは、保健所を通して入力された情報が基本となっている。そのためには保健所において正しい情報をいかに収集し、確実にシステムに入力し、反映させていくかが結核情報の精度を向上させるための根本となる。「結核サーベイランスは、重要な業務なので、保健所はその入力情報の精度管理に努めるべきである。」⁴⁾と言われるように、担当者自らがその重要性を意識して今後も入力業務にあたることが望まれる。保健所においても結核サーベイランスシステムから得られた情報を集計・解析することは、当該保健所の現状を把握し、解決していくべき課題を明確にし、効率的重点的に結核予防活動を展開していくことに役立つのではないと思われる。当センターは今後も保健所と連携を取りながら、より有益で精度の高い結核情報を作成し、結核対策の推進に役立つように情報提供を実施していくことが大切である。また、議会や会議等は施策に結びつく可能性があるため、健康推進課や保健所から資料を求められた際には、目的に応じた情報を迅速かつタイムリーに提供していくことが当センターの役割として重要である。最後に、当センター担当者は情報を的確に解析する能力を高め、結核情報の集約及び発信の中核にあることを認識し今後も業務に取り組むことが望まれる。

5. まとめ

1) 結核情報は秋田県の結核対策を推進するための根拠となる基礎的で、科学的かつ重要な情報である。

- 2) 秋田県の結核の低まん延化を目指し、結核対策に反映できる、より有益で精度の高い結核情報を目指すことが大切である。
- 3) 健康環境センターは、結核登録者情報調査から得られた情報を的確に集計・解析し、行政機関や一般住民等に目的に応じて迅速かつタイムリーに提供していくことが重要である。
- 4) 健康環境センターは引き続き保健所、関係機関等と連携を取りながら、結核情報に係わる業務の中核的役割を担っていくことが望まれる。

参考文献

- 1) 石川信克:わが国の結核対策の現状と課題(3) 世界、日本の結核の疫学と課題、日本公衆衛生雑誌, 2008, **55**, 11, 791-794
- 2) 結核の統計 2010 付ー結核登録者情報調査年報集計結果, 東京, 結核予防会, 2010, 5.
- 3) 大森正子:わが国の結核対策の現状と課題 (11) 結核の発生動向調査ーこれまでとこれから, 日本公衆衛生雑誌, 2009, **56**, 8, 530-534.
- 4) 阿彦忠之:わが国の結核対策の現状と課題 (4) 結核対策における都道府県、保健所の役割と課題, 日本公衆衛生雑誌, 2008, **55**, 12, 848-852.
- 5) 感染症法令通知集 平成 21 年版, 一感染症法と予防接種法一, 東京, 中央法規, 平成 20 年 12 月.
- 6) 結核登録者情報システム導入研修, 厚生労働省(健康局結核感染症課), 平成 19 年 1 月.
- 7) 高桑克子, 田中貴子, 成田千秋: 秋田県結核サーベイランス情報システムの新 Windows 版の概要, 秋田県衛生科学研究所所報, 2004, **44**, 69-79.
- 8) 秋田県の結核状況, 自治体結核対策レビュー 外部評価, 結核研究所, 平成 22 年 1 月.
- 9) 島尾忠男:わが国の結核対策の現状と課題 (2) 結核対策のフレームワーク, 日本公衆衛生雑誌, 2008, **55**, 10, 729-732.
- 10) 石川信克: しぶとい結核に地道な長期の対策を, 複十字, 2010, 335, 2.

秋田県内における 2009/2010 シーズン 新型インフルエンザ（A/H1N1）流行状況について ーサーベイランスから得られた情報を基にー

村山 力則 佐々木 ひとみ 高山 憲男

秋田県感染症情報センターでは国および秋田県新型インフルエンザ対策行動計画に基づき、新型インフルエンザ患者の発生状況や推移を把握するためのサーベイランス（監視）を行った。世界で拡大した新型インフルエンザは 2009 年 6 月 11 日には秋田県でも初の患者が確認され、その後、海外旅行から帰国し発症した患者や、県外の患者と接触し発症する県内の患者が増加し、個別の把握は不可能となった。そこで 8 月 10 日、秋田県においても新型インフルエンザ患者の全数把握を中止し、サーベイランスは感染拡大早期探知、重症化患者の発生、ウイルスの性状変化の監視、および全体的な発生動向調査を把握する新たな体制に移行となった。その中で秋田県感染症情報センターは様々なサーベイランスからの情報を集約・解析することで行政の対応に役立て、県民に対して情報提供や注意喚起などを行った。

1. はじめに

サーベイランスとは、疾病の発生状況やその推移などを継続的に監視することにより、疾病対策の企画、実施、評価に必要なデータを系統的に収集、分析、解析するものである。また、その結果を関係者に定期的、および緊急の際は迅速に還元することにより、効果的な対策に結びつけるものである。

秋田県健康環境センターに設置されている秋田県感染症情報センターは感染症発生動向調査事業に基づき、秋田県内の医療機関・保健所等からの患者情報を一元化して国へ定期的に報告するとともに、国から還元される全国の感染症発生状況について県民・関係機関等へ情報提供を行っている。2009 /2010 シーズン新型インフルエンザ発生時においては秋田県新型インフルエンザ対策行動計画に基づき、新型インフルエンザ患者の発生状況や推移の把握を行った。また、得られた情報を基に、県民・医療機関・学校・社会福祉施設等へ週報やホームページ等で流行状況や予防などの話題について情報を提供するとともに、行政と情報共有し新型インフルエンザへの対応を行った。

2. サーベイランス

2.1 県内発生初期

2009 年 6 月 11 日、大仙保健所管内より秋田県内で初めての新型インフルエンザ患者の報告があった。患者情報や接触者情報は「疑い症例調査支援システム」に入力、検査結果などは「病原体サーベイランスシステム」に入力を行い、国・県・保健所などの関係機関と情報共有するとともに、秋田県感染症情報センターではホームページ等で県民・医療機関に対して情報提供・注意喚起を行った。

2.2 県内、国内拡大期

2009 年 7 月 24 日、厚生労働省は新型インフルエンザの全数把握を中止し、医師による届出については「放置すると大規模な流行につながる可能性のある集団発生を重点的に把握する方針」を示した。これらを含めた今後の新たなサーベイランスでは、感染拡大早期探知のためのサーベイランス「(1)クラスター（集団発生）サーベイランス、(2)インフルエンザ様疾患発生報告」、重症化およびウイルスの性状変化の監視のためのサーベイランス「(3)ウイルスサーベイランス、(4)インフルエンザ入院サーベイランス」、および全体的な発生動向調査の把握のた

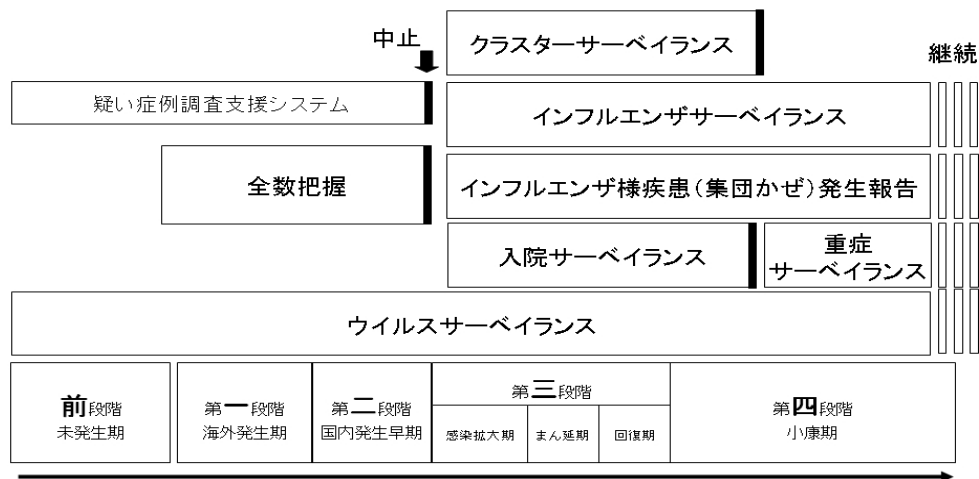


図1 新型インフルエンザに係わるサーベイランス一覧

めのサーベイランス「(5)インフルエンザサーベイランス」とした(図1)。また入力システムとして従来から稼働しているNESIDに加え、新型インフルエンザ暫定サーベイランスシステム(i-NESID)を立ち上げ稼働した。そして秋田県においても2009年8月10日に新型インフルエンザの全数把握を中止し、新たなサーベイランス体制に移行することになった。

2.3 県内、国内小康期

新型インフルエンザ流行の収束にあわせて、国は2010年3月26日の厚生労働省事務連絡により、インフルエンザ様疾患発生報告、ウイルスサーベイランスおよびインフルエンザサーベイランスは当面の休止、および入院サーベイランスを脳炎やICU治療のために入院となった重症者に限り報告することとなった(後に重症サーベイランスと変更)。

3. 秋田県内における新型インフルエンザ発生状況

3.1 県内発生初期・疑い症例調査支援システムおよび全数把握

秋田県内では2009年6月11日、関東からの修学旅行生に接触した大仙保健所管内の女性が新型インフルエンザを発症し、患者発生第一例となった。7月にはハワイからの帰国者、青森県内での集会参加者、および関東近辺でのスポーツ活動中に感染し、県内で発症したと思われる事例が多く報告された。8月に入るとスポー

ツ少年団で初めての二次感染事例が発生し、それ以降、県内における患者の発生が急増し、8月10日の全数把握中止まで疑い症例報告を含めて136件(NESID入力分)の報告があった。

全数把握から得られた臨床症状から、高熱(38度以上の発熱)が82%と最も高く、続いて咳が54%、咽頭痛29%、鼻汁25%、全身倦怠感19%、発熱16%、関節痛13%の順となっていた(図2)。

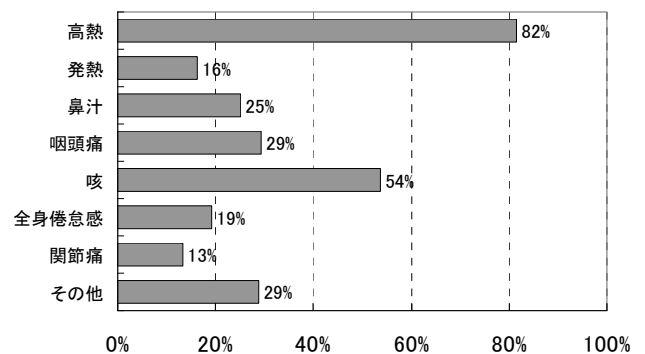


図2 秋田県における全数把握からみた新型インフルエンザ患者の臨床症状

3.2 感染拡大・まん延期

3.2.1 インフルエンザサーベイランス

インフルエンザサーベイランスとは、秋田県における新型インフルエンザ流行状況の把握を目的とし、毎週県内55ヶ所のインフルエンザ定点医療機関から寄せられる報告である。この報告によると、秋田県では全国に比べ、流行の立ち上がりは遅かったものの、全国よりもピークが早く、2009年43週(10月19日～10月25日)から、49週(11月30日～12月6日)までの約

2ヶ月の間、警報の基準である定点当たり30人を超え、44週（10月26日～11月1日）に53.55人とピークを迎えた。その後、12月に入ると定点医療機関からの患者の発生報告は徐々に減少し、第二波や季節性インフルエンザの流行も懸念されたが、2010年8週（2月22日～2月28日）に流行の目安と言われる定点当たり1人を下回った（図3）。

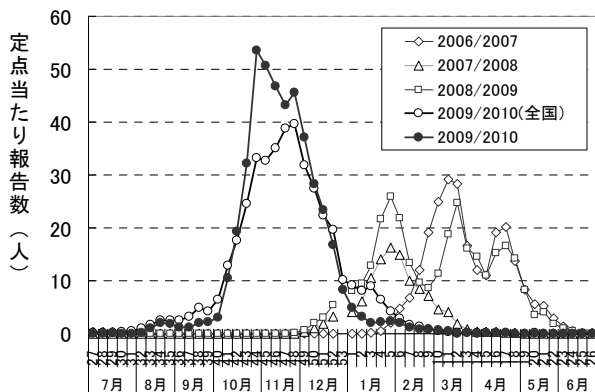


図3 秋田県および全国における定点当たりインフルエンザ患者数

県内の流行を保健所ごとに区分けしてみると、新型インフルエンザの大規模な流行は秋田市保健所や秋田中央保健所管内の県央部から広まり、約1ヶ月で県全体へと拡大し、その後約1ヶ月で流行が収束した（図4）。

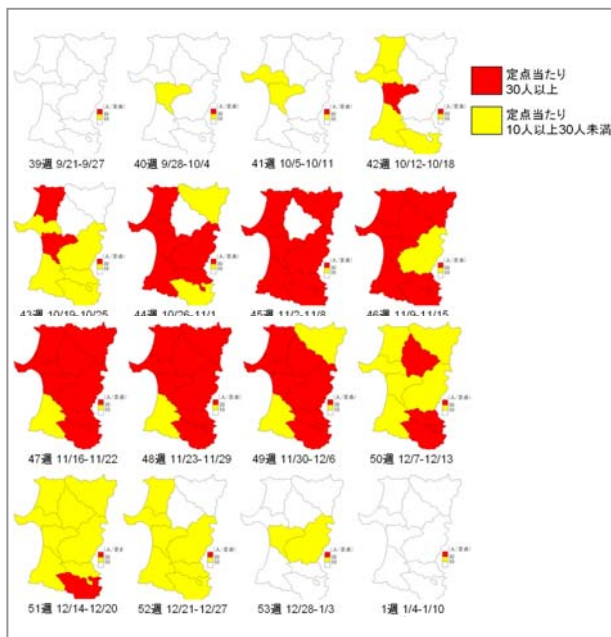


図4 秋田県における新型インフルエンザ保健所別流行状況
(2009年39週から2010年1週まで)

またインフルエンザ定点医療機関からの報告によると年齢層別では20歳未満で全体の83%を占めており、全国の状況とほぼ同様で男女比ではやや男性が多くなっていた（図5）。全国との年齢層別で比較すると、20歳未満は全国とほぼ同じ割合であったが、秋田県では10歳未満は全国よりも割合が低く、10代は全国よりも割合が高くなっていた（図6）。また、各年齢層別の割合を見ると、30代以降で女性の割合が高かった（図7）。

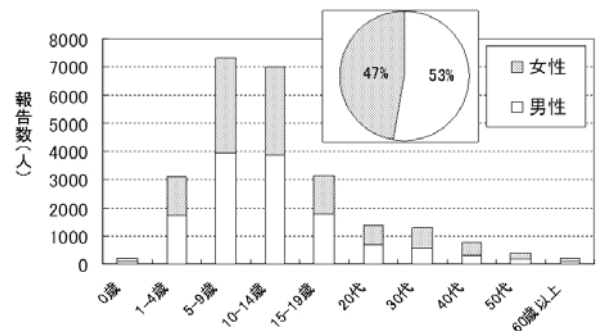


図5 秋田県におけるインフルエンザ定点医療機関からの年齢別・男女報告数

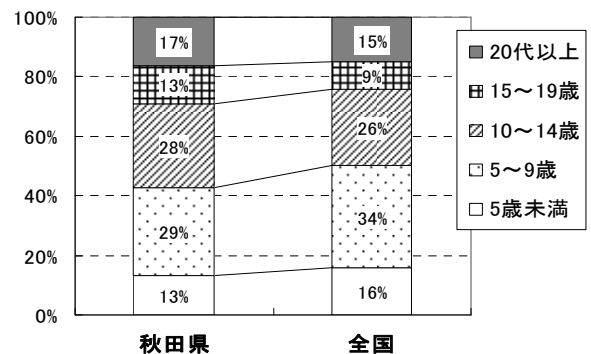


図6 秋田県および全国における新型インフルエンザ患者年齢層別割合

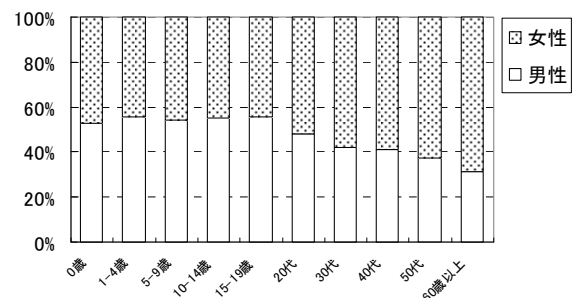


図7 秋田県におけるインフルエンザ患者年齢層別男女比

3.2.2 インフルエンザ様疾患集団発生報告

インフルエンザ様疾患（集団かぜ）発生報告は例年ではインフルエンザシーズンに限定して把握していたが，新型インフルエンザ発生以降は通年においての適用となった。この報告は学級閉鎖等の措置を行った幼稚園・保育所・学校から，管轄する保健所を通して収集した報告である。同一施設から同一週の集団発生報告が重複した場合は，休校，学年閉鎖，学級閉鎖の順で集計した。

新型インフルエンザによる県内の学校措置数および罹患者数の発生報告も，定点当たりと同様で第44週（10/26～11/1）に報告のピークとなり，延べ1319校で措置があり，罹患者数で2万人を超えた（図8，表1）。なお，報告は2010年3月8日が最後であった。

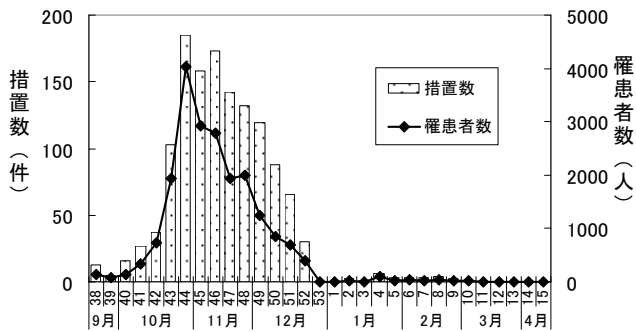


図8 秋田県におけるインフルエンザ様疾患集団（集団かぜ）発生状況

表1 秋田県におけるインフルエンザ様疾患集団（集団かぜ）発生報告数

施設種	措置数(件)			患者数(人)		
	休校	学年閉鎖	学級閉鎖	在籍者数	罹患者数	欠席者数
保育所	53	63	93	9,082	1,937	1,301
幼稚園	23	18	42	4,587	920	775
小学校	86	292	211	47,008	10,588	7,856
中学校	45	126	105	27,036	4,941	3,456
高等学校	3	51	108	14,922	2,106	1,831
合計	210	550	559	102,635	20,492	15,219

3.2.3 インフルエンザ入院サーベイランス

インフルエンザ入院サーベイランスは新型インフルエンザが原因で重症化し，入院となった患者の把握が目的である。対象は県内全ての医療機関であり，患者が入院した医療機関から保健所を通して情報を収集した。入院サーベイランスは開始してから県内で551人の報告があ

り，2010年3月9日が最後の入院患者報告であった。

秋田県における年齢層割合と男女比を見ると，15歳未満で88%を占めており，男性339人，女性212人と男性が6割を占めていた（図9）。また保健所別では秋田市保健所185人が最も多く，続いて横手保健所管内127人，湯沢保健所管内101人であった（表2）。入院患者で肺炎を合併し，重症化した入院患者は全体の17%（91人）であった（図10）。入院患者の基礎疾患の有無については入院患者全体の39%（216人）が基礎疾患を持っており，ほぼその半数が喘息などの慢性呼吸器疾患であった（図11）。

また，新型インフルエンザウイルスが原因と思われる急性脳炎（全数把握五類）の報告は5歳未満が1名，10歳代が2名，20歳代が1名の計4名であった。

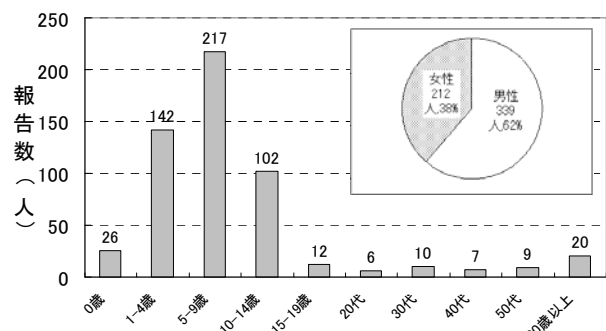


図9 秋田県における入院患者の年齢層割合と男女比

表2 秋田県における保健所別入院患者数

保健所	秋田市	大館	北秋田	能代	秋田中央
累計(人)	185	28	1	0	78
保健所	由利本荘	大仙	横手	湯沢	計
累計(人)	5	26	127	101	551

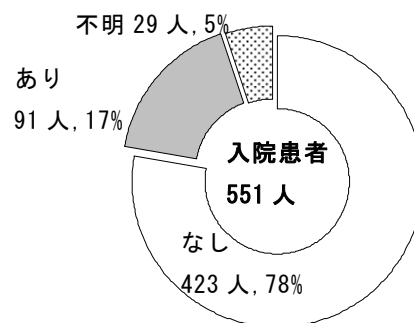


図10 秋田県における入院患者の肺炎合併の有無

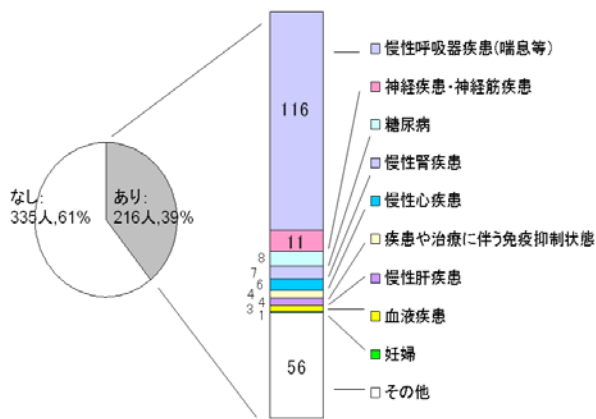


図 11 秋田県における入院患者の基礎疾患の状況

4. 考察

サーベイランスより得られた情報では秋田県内における新型インフルエンザは10月、11月、12月が流行のピークであった。保健所別に定点あたり報告数を見ると、42週（10月5日～10月18日）に初めて秋田市で定点当たり30人を超え、12月下旬まで県内全域で流行が続いたことから、流行は人口の多い県央部から県内全域に広がったと推測される。また報告のあった患者の年齢をみると、未成年、特に15歳以下による患者の報告が非常に多く、流行は集団生活をしている幼稚園・保育所・小中学校が主な感染

伝播の場であったと考えられ、2009年12月から2010年1月に流行が減少した理由については、冬休みに入ったことと、学級閉鎖等の措置が効果的であったことが推測される。一方、高齢者の罹患者・重症者数が少なかった理由は、高齢者が新型インフルエンザに対する免疫を有していると専門家の間で考えられている。また、当初から予想されていたとおり、入院患者は基礎疾患を有する人が多く、特に喘息等の慢性呼吸器疾患を有していた。

今回発生した新型インフルエンザウイルスは弱毒性であったため、強毒性を想定していたガイドラインやマニュアルが機能せず、サーベイランスの一部が実施されない場合や、新たなサーベイランスが実施されるなどの混乱が生じ、初期対応が手探りの状態に対応することとなってしまった。そこで今回の新型インフルエンザ発生事例を踏まえ、秋田県は弱毒性新型インフルエンザの行動計画を策定し、その中でサーベイランスについても検討することとなった。

秋田県健康環境センターでは今後発生する可能性がある強毒性および弱毒性新型インフルエンザの発生に備え、今回の新型インフルエンザの事例を教訓に秋田県における感染症情報センターとしての役割を果たしていきたい。

2007/2008 シーズンから 2009/2010 シーズンまでにおける 感染性胃腸炎集団発生の疫学的解析

佐々木ひとみ 村山力則 高山憲男 高階光榮

感染性胃腸炎は、感染症法における五類感染症として小児科定点医療機関からの感染症発生動向調査の対象であるとともに、社会福祉施設等での感染性胃腸炎の集団発生状況は健康推進課と感染症情報センターにおいて集約されている。2009/2010 シーズン（2009 年第 36 週から 2010 年第 35 週）は、小児科定点医療機関からの感染性胃腸炎の患者報告数は 2008/2009 シーズンを下回ったが、集団発事件数は 2008/2009 シーズンを上回り、特に保育施設での集団発生が約 2 倍に増加した。

高齢者施設での集団発生状況との比較により、保育施設では施設利用者の発症者数が高齢者施設よりも多く、保育施設の利用者及び職員の発症者数は 2007/2008 シーズンから 2009/2010 シーズンにかけて共に増加傾向にあることが明らかとなった。また、保育施設では初発患者から保健所報告までの日数が高齢者施設と比較して約 1 日遅く、報告時点での発症者数及び報告から公表までの発症者数も多いことから、今後の感染症対策の啓発においては、高齢者施設のみならず保育施設に対しての一層の啓発が重要であり、早期探知に向けた取り組みが必要であることが示唆された。

1. はじめに

ノロウイルスやロタウイルス、腸炎ビブリオなどの種々の病原体を原因とする感染性胃腸炎は、「感染症の予防及び感染症の患者に関する医療に関する法律」における五類感染症に位置づけられ、小児科定点医療機関からの患者報告による感染症発生動向調査の対象疾患となっている。

一方、全国における状況では、2004 年頃から高齢者施設における感染性胃腸炎の集団発生が多発し、広島県内の特別養護老人ホームにおいて入所者 42 名が発症、うち 7 名が死亡という事例が発生した。これを受け、厚生労働省健康局長等の連名による「社会福祉施設等における感染症等発生時に係る報告について」（平成 17（2005）年 2 月 22 日付け健発第 0222002 号）が通知され、社会福祉施設等において感染症等発生時の報告が求められることとなった。

秋田県における 2009/2010 シーズンの感染性胃腸炎の発生状況をみると、小児科定点医療機関からの感染性胃腸炎の定点あたり患者報告数は 2008/2009 シーズンよりも減少したが、集団発事件数は増加していた。

そこで本報では、秋田県感染症情報センターにおいて感染性胃腸炎の集団発生状況の集計を開始した 2007 年度以降のデータをもとに、2007/2008 シーズンから 2009/2010 シーズンまでの 3 シーズンの感染性胃腸炎集団発生事例につ

いて解析し、施設種類ごとの発生状況等を比較検討した。

2. 方法

2.1 感染症発生動向調査

感染性胃腸炎の患者報告は、人口及び医療機関の分布等を考慮し選定された小児科定点医療機関（県内 35 カ所）から、1 週間（月曜日から日曜日）を調査対象期間として管轄する保健所に報告される。各保健所で入力されたこれらのデータはコンピュータ・オンラインにより伝送され、地方感染症情報センター（秋田県においては秋田県感染症情報センター）で集約した後、中央感染症情報センター（国立感染症研究所感染症情報センター）へ報告される。

秋田県感染症情報センターでは、集約した発生動向を「秋田県感染症発生情報〈週報〉」（以下、感染症週報）として翌週の木曜日に公表している。

2.2 感染性胃腸炎の集団発生報告

2.2.1 報告基準及び報告内容

秋田県においては、以下の 2 つの基準を満たす事例を集団発生の報告対象としている。

- (1) 同一の感染症の患者又はそれによると疑われる者が 10 名以上又は全利用者の半数以上発生した場合

(2) 感染性胃腸炎として病原体が検出された場合

集団発生の疑いがあると、社会福祉施設等からの連絡を受け、各保健所において積極的疫学調査が行われる。その後、上記の報告基準を満たした場合に各保健所から健康推進課及び感染症情報センターへ表1の内容が報告される。感染症情報センターでは、2008年以降、感染症週報において集団発生状況を公表している。

表1 保健所からの感染性胃腸炎の
集団発生報告内容

項目
1 施設名
2 施設所在地
3 施設概要
施設種類
定員（利用者数、職員数）
4 届出（受信）年月日
5 調査状況
(1) 発生状況
状況把握期間
主症状
発症者数／母数（利用者等及び職員別）
発症者年齢（利用者等及び職員別）
入院患者・死者の有無
(2) 検査状況
検出された病原体
検体採取日
結果判明日
陽性者数／母数（利用者等及び職員別）
6 感染源・感染経路
7 感染拡大の原因
8 指導状況
9 その他（食中毒否定根拠等）

2.2.2 集計方法

感染性胃腸炎のシーズンを第36週（9月初旬）から翌年の第35週までの1年間とし、2007/2008シーズンから2009/2010シーズンまでの3シーズンを集計対象とした。

報告対象となる社会福祉施設等の施設種類を①高齢者施設（特別養護老人ホーム、介護老人保健施設等）、②保育施設（幼稚園、保育所等）、③障害者施設（障害者更正施設、障害者授産施設等）、④学校、⑤その他（宿泊施設等）に分類し、集計した。

2.2.3 統計解析

高齢者施設と保育施設における発症者等の平均値の差の検定には、Mann-WhitneyのU検定を用いた。

3. 結果と考察

3.1 感染症発生動向調査における感染性胃腸炎発生状況

2007/2008シーズンから2009/2010シーズンまでの発生動向を比較すると、2009/2010シーズンは12月のピークが例年よりも小さく、12月から6月上旬にかけて継続的に定点あたり7～8人程度の患者報告があった（図1）。

国立感染症研究所感染症情報センターによると¹⁾、感染性胃腸炎は例年、初冬から増加し始め、12月頃に一度ピークができた後、春にもう一つなだらかな山ができ、その後初夏までだらだらと続き、年によってはもう一度小さなピークができるという流行パターンをとる。これらの流行のうち、12月のピークはノロウイルスによるもの、

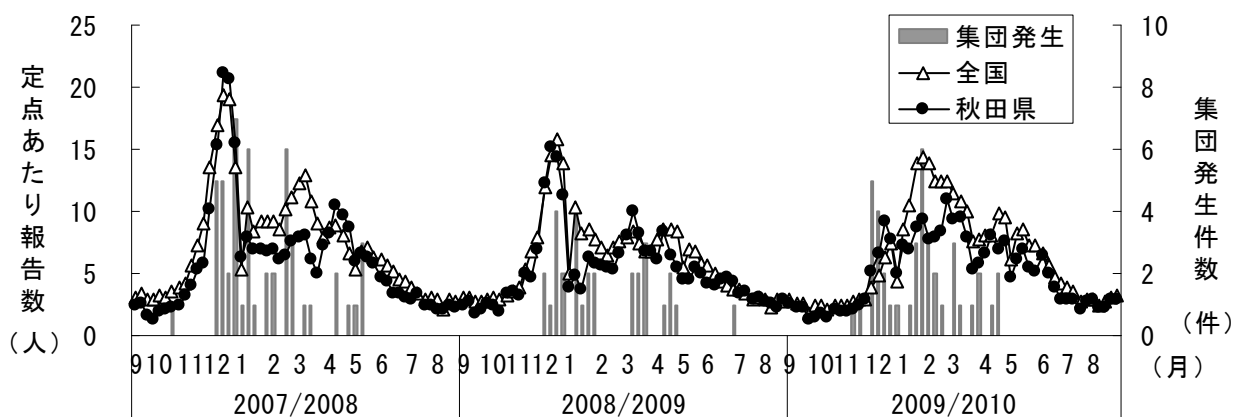


図1 秋田県及び全国における感染性胃腸炎発生状況並びに秋田県における集団発生件数

春のピークはロタウイルスによるもの、夏期は腸炎ビブリオなどの細菌性のものが原因となることが多いとされている。2009/2010 シーズンにおいては、12月のピークが小さいことからノロウイルスの流行が小規模であったと考えられた。

秋田県における各シーズンの小児科定点医療機関からの全報告数は 2007/2008 シーズンは 10,989 人、2008/2009 シーズンは 9,609 人、2009/2010 シーズンは 9,297 人で減少傾向だった。一方、全国の小児科定点医療機関からの全報告数は 2007/2008 シーズンは 1,132,296 人、2008/2009 シーズンは 956,559 人、2009/2010 シーズンは 987,193 人で、秋田県とは異なる傾向だった。2009/2010 シーズンは感染性胃腸炎の流行開始が遅く、全国では年明けの第4週（2010年1月25日から1月31日）に流行のピークを迎えたが、秋田県では年が明けてからも顕著な流行がなかったことが、全国と秋田県の傾向が異なる要因と考えられる。

3.2 集団発生件数の推移

各シーズンの集団発生件数及び発症者数は、2007/2008 シーズンが 50 件 1,100 名、2008/2009 シーズンが 30 件 743 名、2009/2010 シーズンが 41 件 1,008 名であった。2009/2010 シーズンの集団発生件数は 2007/2008 シーズンの 82.0%に減少したものの、発症者数は 91.6%への減少にすぎなかった。

施設種類別の内訳では、高齢者施設における集

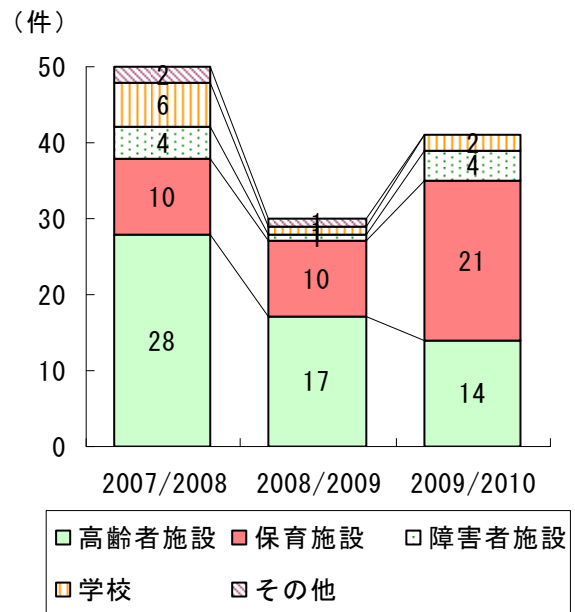


図2 秋田県における感染性胃腸炎集団発生件数

団発生報告は、各シーズンで 28 件、17 件、14 件と減少しているのに対して、保育施設における集団発生報告は、10 件、10 件、21 件で 2009/2010 シーズンは他のシーズンに比べて約 2 倍に増加していた（図2）。

保健所別では、県北3保健所管内と秋田中央保健所管内で集団発生件数は少なく、保育施設での集団発生は県南地区で多発していた（図3）。特に湯沢保健所管内では、2009/2010 シーズンの集団発生6件は全て保育施設におけるもので、うち5施設では3シーズンの間に複数回の集団発生を繰り返していた。

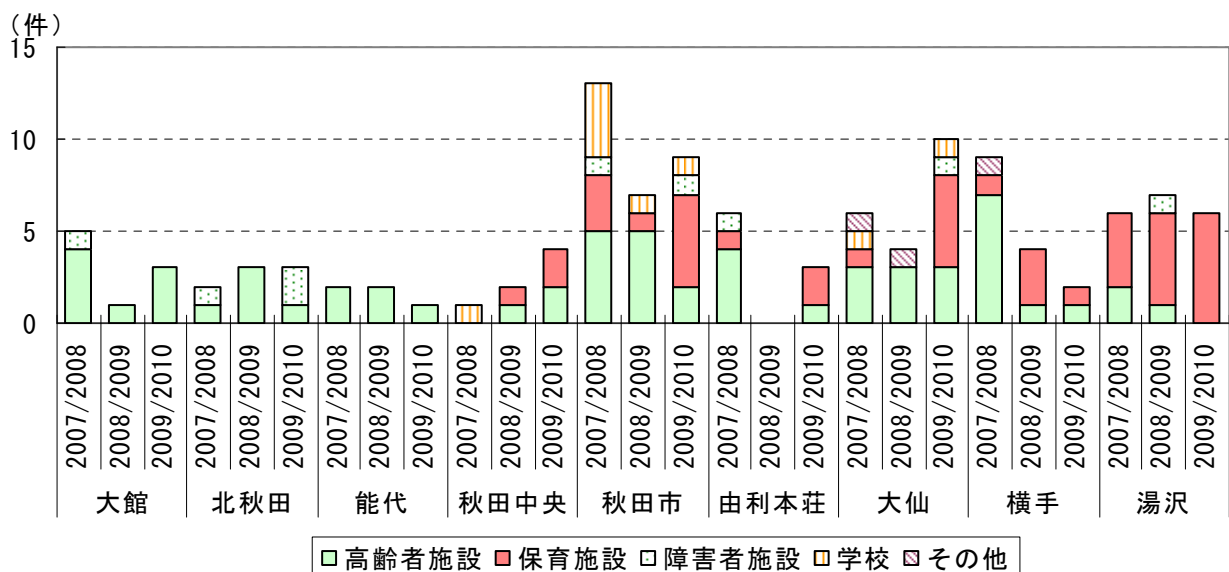


図3 保健所別・シーズン別感染性胃腸炎集団発生件数

3.3 集団発生の原因病原体の同定

3 シーズンの集団発生において検出された病原体 121 件中、ノロウイルスが 116 件で 95.8%を占めた。他の病原体としてアデノウイルス 2 件、ロタウイルス 2 件、サポウイルス 1 件が検出された（表 2）。

感染症発生動向調査の結果からは 2009/2010 シーズンにおける 12 月のピークが小さいことから、ノロウイルスの流行が少ないように思われたが、各シーズンのノロウイルスによる集団発生件数は、49 件/50 件（98.0%）、29 件/30 件（96.7%）、38 件/41 件（92.7%）で、集団発生全体に占める

割合には顕著な差はなかった。

3.4 施設種類別平均発症者数及び平均発症率

集団発生が減少している高齢者施設と増加している保育施設において、公表時点の発症者数及び発症率について比較した（表 3）。

各施設における利用者（入所者または園児）と職員を合わせた平均発症者数は、高齢者施設は 18.9 名、保育施設は 27.0 名で、保育施設で有意に多かった。内訳をみると、利用者の平均発症者数は保育施設で有意に多く、シーズンごとの比較では、高齢者施設の発症者数は減少傾向にあるの

表2 各シーズンの集団発生における施設種類別の病原体の検出状況

検出病原体	合計	内訳				
		高齢者施設	保育施設	障害者施設	学校	その他
2007/2008	50 (100%)	28	10	4	6	2
ノロウイルス	49 (98.0%)	28	10	3	6	2
サポウイルス	1 (2.0%)			1		
2008/2009	30 (100%)	17	10	1	1	1
ノロウイルス	29 (96.7%)	17	9	1	1	1
ロタウイルス	1 (3.3%)		1			
2009/2010	41 (100%)	14	21	4	2	0
ノロウイルス	38 (92.7%)	13	20	3	2	
アデノウイルス	2 (4.9%)		1	1		
ロタウイルス	1 (2.4%)	1				
3シーズン合計	121 (100%)	59	41	9	9	3
ノロウイルス	116 (95.8%)	58	39	7	9	3
アデノウイルス	2 (1.7%)		1	1		
ロタウイルス	2 (1.7%)	1	1			
サポウイルス	1 (0.8%)			1		

表3 高齢者施設及び保育施設における集団発生の平均発症者数、平均在籍者数及び平均発症率

区分	シーズン	合計		内訳			
		高齢者施設	保育施設	利用者		職員	
				高齢者施設	保育施設	高齢者施設	保育施設
平均発症者数 (名)	2007/2008	19.6	22.7	15.5	21.9	4.1 **	0.9
	2008/2009	18.4	25.5	14.8	23.9 *	3.6	1.6
	2009/2010	18.1	29.7 *	13.1	27.4 **	5.0 *	2.3
	3シーズン平均	18.9	27.0 **	14.7	25.2 **	4.2 **	1.8
平均在籍者数 (名)	2007/2008	126.3 *	90.4	80.2	83.3	48.6 *	16.2
	2008/2009	110.1	148.8	65.0	120.5 **	45.1	28.3
	2009/2010	113.3	160.4 *	67.1	132.0 **	46.2	28.4
	3シーズン平均	116.6	147.5 *	72.3	117.3 **	46.6 **	26.7
平均発症率※ (%)	2007/2008	18.8	20.9	23.2	29.3	13.2	4.5
	2008/2009	20.4	18.8	28.9	22.2	9.5	5.8
	2009/2010	23.6	19.1	30.6	21.6	15.5	7.6
	3シーズン平均	20.8	19.3	26.8	23.6	12.5 *	6.7

※発症率：報告時点での利用者及び職員の在籍者に占める発症者の割合

*p<0.05, **p<0.01

に対して、保育施設では増加傾向であった。職員の平均発症者数は高齢者施設で有意に多かったが、保育施設の職員の発症者数は増加傾向にあった。

一方、報告時点での利用者及び職員の在籍者に占める発症者の割合を発症率として比較したところ、各シーズンの利用者の平均発症率は高齢者施設で増加傾向、保育施設で減少傾向となり、平均発症者数と逆の傾向となった。高齢者施設と保育施設の利用者の平均発症率には有意な差はなかった。職員の平均発症率は高齢者施設が保育施設よりも有意に高かったが、両施設種類共に職員の平均発症率は増加傾向にあり、職員に対する感染症対策の更なる啓発が必要と考えられた。

集団発生報告のあった施設の在籍者数を比較すると、高齢者施設の平均利用者数が 72.3 名（最大 157 名，最小 8 名）だったのに対し、保育施設の平均利用者数は 117.3 名（最大 241 名，最小 41 名）で、約 1.5 倍多かった。この施設規模の違いにより、高齢者施設と保育施設における平均発症者数と平均発症率がそれぞれ逆の傾向になったものと考えられた。

3.5 初発患者から保健所への報告及び公表までの発症者数の推移

保健所の疫学調査を通して初発と考えられた発症者から保健所への報告までの日数及び報告時点での発症者数と公表時点での発症者数の比較検討を行った。なお、初発患者が不明の場合には、保健所の状況把握期間（遡及調査実施期間）の始日を初発日とした。

その結果、初発患者から保健所への報告までの日数は、高齢者施設で平均 4.4 日、保育施設では平均 5.4 日で、保育施設において約 1 日遅かった（表 4）。また、報告時点での発症者数は高齢者施設で平均 13.0 名だったのに対し、保育施設では平均 17.0 名であり、約 4 名多かった（表 5）。

また、表 3 と表 5 の比較により、保健所では施設からの報告から公表までに約 2 日間の積極的疫学調査が行われていたが、その間に高齢者施設の発症者数は 13.0 名から 18.9 名へ 5.9 名 (45.4%) 増加し、保育施設では 17.0 名から 27.0 名へ 10.0 名 (58.8%) 増加していることが明らかとなり、探知の遅れが発症者の増加につながっている可能性も考えられた。

表4 初発患者から保健所への報告までの平均日数

シーズン	平均日数（日）	
	高齢者施設	保育施設
2007/2008	4.6	3.2
2008/2009	4.1	8.4
2009/2010	4.2	5.1
3シーズン平均	4.4	5.4

表5 施設から保健所への報告時点の平均発症者数

シーズン	平均発症者数（名）	
	高齢者施設	保育施設
2007/2008	11.1	12.0
2008/2009	11.6	14.5
2009/2010	16.1	19.1
3シーズン平均	13.0	17.0

4. まとめ

2009/2010 シーズンの感染性胃腸炎の発生状況を見ると、小児科定点医療機関からの患者報告数は 2008/2009 シーズンを下回ったものの、集団発生件数は増加しており、特に保育施設における集団発生が約 2 倍に増加していた。また、2007/2008 シーズンと 2009/2010 シーズンを比較すると、集団発生件数は 82.0%に減少したものの、発症者数は 91.6%への減少にすぎなかった。

2007/2008 シーズンと 2009/2010 シーズンにおける集団発生において、高齢者施設の占める割合は 56.0%から 34.1%へ減少し、保育施設は 20.0%から 51.2%へ増加していた。高齢者施設と保育施設における集団発生状況の比較により、保育施設の平均発症者数は高齢者施設の約 1.4 倍であることが明らかとなった。このことから、集団発生における発症者数を減らすためには保育施設への啓発を強化し、集団発生規模の縮小に向けた取り組みが必要となると考えられた。

また、高齢者施設と保育施設の職員の平均発症率は共に増加傾向にあり、職員自らの発症を予防するために日ごろからの教育訓練の充実も必要である。

集団発生の報告基準は施設の種類によらないため、高齢者施設と保育施設における発症者数の違いが何によるものかを検討したところ、保育施設では初発患者から保健所報告までの日数が約 1 日遅く、報告時点での発症者数も約 4 名多かった。また、保健所における約 2 日間の積極的疫学

調査の間の発症者数も保育施設で多く、探知の遅れが発症者数の増加につながっている可能性も考えられた。

集団発生の早期探知においては、地域や施設内での感染症の発生状況に関する職員間の情報共有が重要であるが、高齢者施設の 76%で感染症に対する話し合いの場を有しているのに対して、保育施設では 30%しかないというアンケート調査結果²⁾もあり、各施設における情報共有の場の充実が望まれる。

秋田県で策定した「施設等におけるノロウイルス感染対策Q&A（第3版）」によると、施設内でのノロウイルスの発生を未然に防ぐためには、外部から施設に感染源を持ち込ませないことが感染予防の第一歩であるとされている³⁾。しかしながら、保育施設においては利用者が通所しているため、外部からの持ち込みをなくすことは難しく、登園時や保育中の健康状態の把握が重要である。また、感染拡大を防ぐためには有症者との接触を少なくすることが有効である。厚生労働省が策定した「保育所における感染症対策ガイドライン」では、症状が治まり、普段の食事ができるまで登園を避けるよう保護者に依頼することとされており⁴⁾、平常時からの保護者とのコミュニケーションにより十分な説明と保護者の理解が必要である。

また、行政の対応という点では、「発生～指導」までの期間が「発生～終息」までの期間と正の相

関があることが示唆されており⁵⁾、施設等における集団発生の早期探知に加え、保健所の早期介入と適切な指導が重要である。

以上のことから、今後の感染症対策の啓発においては、高齢者施設のみならず保育施設に対しての一層の啓発が重要であり、早期探知に向けた取り組みが必要であると考えられた。感染症情報センターにおいては、これらの施設における感染症情報の情報交換及び保健所の積極的疫学調査の一助となるよう、リアルタイムでわかりやすい情報提供に努めていきたい。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染症発生動向調査週報, **14**, 2003, 14-16.
- 2) 東京都健康安全研究センター：ノロウイルス対策緊急タスクフォース中間報告（第3報）, 2009.
- 3) 施設等におけるノロウイルス感染対策 Q&A 第3版, 秋田県健康福祉部 秋田県生活環境文化部, 2007年3月改訂
- 4) 保育所における感染症対策ガイドライン, 厚生労働省, 2009年8月
- 5) 北川信一郎他：京都市におけるノロウイルス集団感染事例の検討 2006/07 シーズン, 感染症誌, **82**, 5, 2008, 434-440.

秋田県に侵淫している多剤耐性緑膿菌の耐性機構と

有効な抗生物質の用法，分子疫学的解析技術に関する研究（第2報）

八柳 潤 今野貴之 齊藤志保子

平成19年3月の医療法改正により，地方衛生研究所にはMDRP院内感染が発生した際の行政対応を科学的に支援するための技術を導入・確立する責務が発生した。我々は昨年に引き続きMDRPの多剤耐性機構についてさらに検討すると共に，MDRPのPFGE解析手法について検討した。大腸菌組み換え体を作成して検討した結果，MDRPのアミカシン耐性機構に，従来知られていたaac(6')-Iae遺伝子の他にaac(6')-Ia，aacA7が関与することを明らかにした。一方，薬剤排出ポンプ阻害剤であるMC207,110を使用する生化学的な手法により，MDRPのアズトレアナム，ミノマイシン，レボフロキサシン耐性機構に薬剤排出ポンプが関与していることが示された。また，ミノマイシンと薬剤排出ポンプ阻害剤の併用療法の可能性が示唆された。一方，従来のSpeI PFGEにXbaI PFGEを併用することにより，より詳細な分子疫学解析が可能となることを示した。MDRPが秋田県内の医療機関に侵淫していることが示されたことは，将来的に秋田県内でもMDRPによる院内感染事例が発生する可能性を示唆すると考えられる。その際，本事業により導入・確立したPFGE解析法により感染ルートに関する知見，また，BCプレートにより患者の治療に資する有用な抗生物質に関する知見を得ることなどにより，行政対応を科学的に支援することが可能と考える。

1. 緒言

平成22年9月に多剤耐性アシネトバクターやNDM-1メタロβラクタマーゼ薬剤耐性菌による院内感染が社会問題となった。薬剤耐性菌による院内感染はこれまでもマスコミでとりあげられる社会問題となってきたが，とりわけ，多剤耐性緑膿菌(MDRP)は死者を伴う感染事例を惹起していることから注目されている¹⁾。加えて，MDRPはほぼ全ての抗生物質に耐性であるためにMDRP感染者の治療は困難を極める。平成19年3月に医療法が改正され，MDRPによる院内感染対策に行政も密接に関与する必要が出てきたことにより，地方衛生研究所にはその行政対応を科学的に支援するための技術を導入・確立する必要が生じた。そのため，本調査研究事業はMDRPの分子疫学解析手法の導入・確立，感染者の治療に資する抗生物質併用法について検討すること，さらに多剤耐性機構の解明を目的として実施した。我々はこれまで，MDRPが秋田県内全域の医療機関に侵淫していることを明らかにし，院内感染様事例の発生も示唆した。また，MDRP感染症の治療に有効であることが期待される抗生物質併用法について県内分離株を供して検討し，

クリンダマイシンの有用性と抗生物質併用法の有用性を確認した²⁾。

今回，我々はMDRPの多剤耐性機構についてさらに検討すると共に，MDRPのPFGE解析手法について検討をしたので報告する。

2. 方法

2.1 アミノグリコシド修飾酵素遺伝子のクローニングと組み換え大腸菌の表現型

前報でMDRP 34株のアミカシン耐性遺伝子について検討した結果，23株がaac(6')-Iae遺伝子を保有していることを確認した²⁾。aac(6')-Iae遺伝子陰性株11株のうち，2株がaac(6')-Ia，2株がaacA7を保有することを明らかにしたが，これらのアミノグリコシド修飾遺伝子がアミカシン耐性の発現に関与しているかどうか不明であった²⁾。このため，これらのアミノグリコシド修飾遺伝子をクローニングして組み換え大腸菌を作製し，大腸菌内でその遺伝子を発現させ，その大腸菌のアミノグリコシド耐性表現型を調べることでアミカシン耐性との関連を検討した。なお，遺伝子のクローニングと大腸菌での発現は，既報³⁾に従って実施した。

2.2 薬剤排出ポンプ阻害剤の効果

MDRP の多剤耐性機構に Efflux Pump が関与するかどうかの検討には、県内で分離された MDRP 24 株を供試した。Efflux Pump Inhibitor (EPI) には Lomovskaya らが報告⁴⁾した MC207,110 (Phe-Arg β -naphthyl-amide dihydrochloride) を使用した。MC207, 110 不添加, 40 μ g/ml 添加時におけるアンピシリン, アズトレアナム, ピペラシリン, イミペネム, セファゾリン, メロペネム, セフォチアム, ゲンタマイシン, セフトジジム, アミカシン, セファクリル, ミノマイシン, フルオモキシム, フォスフォマイシン, セフポドキシム, レボフロキサシンの MIC を, ドライブプレート DP21 を使用して測定した。MC207,110 の効果は MIC の低下管数で表現した。

2.3 MDRP の PFGE パターン解析

県内で分離された散发事例由来緑膿菌 19 株および同一医療機関で分離された, 院内感染事例由来疑い MDRP 18 株を供試した。PFGE は Spejer らが報告⁵⁾した *SpeI* PFGE 法に従い実施し, 制限酵素に *XbaI*, *NotI* を使用する解析も試行した。

3. 結果

3.1 アミノグリコシド修飾酵素遺伝子のクローニングと組み替え大腸菌の表現型

アミカシン耐性に関与することが報告されている *aac(6')*-Iae 遺伝子を pBluescriptII ベクターに組み込み, *lacZ* 遺伝子産物との Fusion Protein として発現させた組み換え大腸菌 JM109, *E. coli* : *aac(6')*-Iae のアミカシンに対する MIC は, 表 1 に示すように 32 μ g/ml であった。菌種の違いなどにより同じ遺伝子を保有する緑膿菌と大腸菌の MIC を直接比較して議論することはできないものの, この MIC は感染症法に定めるアミカシンの耐性基準に合致する。前報で述べたように, MDRP に検出された *aac(6')*-Ia と *aacA7* 遺伝子がアミカシン耐性に実際に関与するかどうかは不明である。このことを確認するために, 同様の手法で組み換え大腸菌 *E. coli* : *aac(6')*-Ia と *E. coli* : *aacA7* を調製し, アミカシンに対する MIC を測定検討したところ, どちらの組み換え体の MIC も >32 μ g/ml であった。これらの結果から, *aac(6')*-Ia と *aacA7* 遺伝子はいずれも MDRP のアミカシン耐性機構に関与していると考えられた。

3.2 薬剤排出ポンプ阻害剤, MC207, 110 による抗生物質の MIC 低下

供試した MDRP 24 株中 3 株を除き, EPI である MC207,110 の存在下 (40 μ g/ml) でアズトレアナム (AZT) の MIC が低下することが確認された (表 2)。2 管を上回る MIC の低下と, 3 管を上回る MIC の低下が観察された株がそれぞれ 4 株と最も多く, 5 管を上回る MIC の低下が観察された株も 2 株認められた。ミノマイシン (MINO) については MC207,110 の効果が最も顕著に認められ, 24 株中 5 管を上回る MIC の低下が観察された株が 12 株, 4 管を上回る MIC の低下が観察された株が 10 株, 3 管を上回る MIC の低下が観察された株が 1 株認められ, MC207,110 の効果が認められない株は 1 株に過ぎなかった (表 3)。レボフロキサシン (LVFX) についても MC207,110 の効果が認められたが, 2 管の MIC 低下が観察された株が 14 株と最も多く, 無効の株も 3 株認められ, MIC の低下傾向は顕著ではなかった (表 4)。なお, データは示さないが MC207,110 の効果は 10 μ g/ml, 40 μ g/ml で濃度依存的であった。また, MC207,110 は 40 μ g/ml の濃度で供試株の発育自体には何ら影響を及ぼさなかった。

3.3 MDRP の PFGE パターン解析

MDRP の分子疫学解析手法としては, Spejer らの *SpeI* PFGE が汎用されている。今回, 散发事例由来株 19 株と同一医療機関で分離された MDRP 18 株について Spejer らの *SpeI* PFGE を実施した。図 1 (A) に示すように, 散发事例由来株には多彩な PFGE パターンが認められ, この方法の解析力の高さが確認された。図 1 (B) に示すように, 今回供試した同一医療機関由来 18 株は, 前報²⁾でも指摘したとおり, バンド数本の違いが認められるものの, *SpeI* PFGE パターンがほぼ一致していた。このことは, これらの株が院内感染を惹起していた可能性を示唆していた。この同一医療機関由来株について, *XbaI* を使用して PFGE を試行した結果を図 2 に示す。(A) に示すように, *SpeI* PFGE パターンでは, バンド数本の違いがみられるがその違いは顕著ではない。一方, (B) に示す *XbaI* PFGE パターンでは, 生じるバンドが全体的に低分子量となり, 今回実施した Spejer の泳動条件では必ずしも最適な泳動結

果とはなっていないが、比較的高分子量のバンドに明瞭な違いが生じることがわかった。今後、パルスタイムを調整することにより、より適した泳動条件を確立する必要がある。なお、データは示さないが、*NotI* を使用して PFGE を試行したところ、バンドがスメアーとなり、解析不能な結果が得られた。

4. 考察

MDRP の多剤耐性機構について前報に引き続き検討した。前報の成績と併せて、秋田県内で確認された MDRP 34 株のうち 23 株が *aac(6')-Iae*, 2 株が *aac(6')-Ia*, 2 株が *aacA7* 遺伝子を保有し、これらの遺伝子がアミカシン耐性に関与していることが明らかになったが、残り 7 株のアミカシン耐性機構は不明であった。一方、イミペネム耐性に関与するカルバペネマーゼ遺伝子については、34 株中 31 株が IMP, 1 株が VIM 型メタロ β ラクタマーゼ遺伝子を保有していることが確認されたが、2 株のイミペネム耐性機構は不明であった。このように、MDRP のアミカシンとイミペネム耐性機構はいずれも単一の遺伝子によるものではなく、種々の異なる遺伝子に関与する複雑な機構によることが確かめられた。Sekiguchi らは、神経外科病棟で発生した院内感染の起因菌であった MDRP の耐性遺伝子を解析する過程で、新たな Aminoglycoside Acethyl transferase である *aac(6')-Iae* を見出し⁶⁾、MDRP のマーカーとして *aac(6')-Iae* が適していることを指摘している¹⁾。しかし、秋田県内で分離された MDRP を供試して検討した我々の成績では、34 株の MDRP のうち、この遺伝子を保有していたのは 23 株に過ぎず、この遺伝子を標的とする PCR では MDRP の診断率が約 68%に過ぎないことが明らかとなった。この矛盾の要因は明らかではないが、Sekiguchi らの成績では、PFGE パターン分類により Cluster A に分類された 212 株全てが *aac(6')-Iae* を保有していたのに対して、その他の Cluster に属する 2 株はいずれも *aac(6')-Iae* 陰性となっている。従って、今回我々が供試した秋田県内分離株には、Sekiguchi らの Cluster 分類の ClusterA に該当しない株が多く包含されていたとも推察される。このように、MDRP に特異的な遺伝子が特定されない限り、特異性と検出感度が高い MDRP の遺伝子診断法を確立することは

困難と推察される。なお、今回の検討で耐性機構を特定し得なかった株については、今後、近年急速に応用範囲が広がっている次世代シーケンサーを使用して全染色体のシーケンスを決定することにより、耐性機構に関与する遺伝子を特定するなど、革新的な切り口により、耐性機構の解明にアプローチする必要があると考えられる。

薬剤排出ポンプ (Efflux Pump) が緑膿菌の薬剤耐性機構に重要な役割を果たしていることを指摘する報告は多い^{4,7-10)}。緑膿菌の薬剤排出ポンプは RND (resistance-nodulation-division) efflux pump に分類され、これに属する MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM が薬剤耐性機構に重要な役割を果たしているとされている⁴⁾。一方、MexAB-OprM 以外は緑膿菌の薬剤耐性に殆ど関与していないとする報告⁹⁾もある。これらの薬剤排出ポンプは主にフルオロキノロン系抗生物質に対する耐性に関与するという報告^{4,7)}がある一方、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、キノロン、マクロライド等、多種類の抗生物質に対する耐性に関与するとの報告⁹⁾もある。今回、我々は EPI を使う生化学的なアプローチにより MDRP の耐性機構における排出ポンプの関与を検討した。その結果、テトラサイクリン系抗生物質である MINO の MIC が MC207,110 により顕著に低下することが明らかとなり、MINO の耐性機構に薬剤排出ポンプが深く関与している可能性が示された。ニューキノロン系抗生物質の LVFX 耐性についても、これまでの報告のように排出ポンプの関与が示唆されたが、MC207,110 による LVFX の MIC は顕著ではなかった。今回の結果は、EPI と併用することにより MDRP に対する MINO の効果が顕著に増強することを *in vitro* で示すものであった。このことは、EPI と MINO の併用療法の可能性を示唆しており、今後のさらなる検討が必要と考えられる。

今回の検討により、MDRP の分子疫学解析手法として、現在汎用されている *SpeI* PFGE の有用性が再確認された。また、院内感染等が疑われる株については、*XbaI* PFGE を併用することが場合によっては有効となり得るものと推察される。MDRP の分子疫学的解析手法として、現在は PFGE が汎用されているが、PFGE 解析には結果が得られるまでに時間が掛かる、画像同士の比較

が困難である, 結果をデータベース化することが難しい等の問題がある。最近, MDRP の解析に VNTR を応用した報告が散見されるようになってきており^{11, 12)}, 他の細菌同様に MDRP の解析にも VNTR が今後応用されていくものと考えられる。

5. まとめ

本調査研究事業は, 改正医療法に基づく行政の院内感染対応を支援するための技術を導入・確立することを目的として 2 年間実施した。その結果, MDRP が秋田県内の広域の医療機関に既に侵淫しているだけではなく, 院内感染の可能性が示唆される事例が過去に発生していたことが示された。このことは, 将来的に秋田県内で MDRP による院内感染事例が実際に発生する可能性があることを示すものと考えられる。そのような事例が発生し, 行政がその対応に関与する必要性が実際に発生した際, 本事業により導入した PFGE 解析法により感染ルートに関する知見, BC プレートにより患者の治療に資する知見を得て, 行政対応を科学的に支援することが可能と考える。

参考文献

- 1) Jun-Ichirou Sekiguchi, Tsukasa Asagi, Tohru Miyoshi-Akiyama, Atsushi Kasai, et al.: Outbreaks of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Community Hospitals in Japan, J. Clin. Microbiol., **45**, 3, 2007, 979-989.
- 2) 八柳 潤, 今野貴之, 齊藤志保子: 秋田県に侵淫している多剤耐性緑膿菌の耐性機構と有効な抗生物質の用法, 分子疫学的解析技術に関する研究, 秋田県健康環境センター年報, **4**, 2008, 52-55.
- 3) 八柳 潤, 齊藤志保子, 今野貴之: 適切な治療を目的とした秋田県内における多剤耐性サルモネラ菌の侵淫実態解明と菌学的性状に関する調査研究, 秋田県健康環境センター年報, **3**, 2007, 53-64.
- 4) Olga Lomovskaya, Mark S. Warren, Angela Lee, Jorge Galazzo, et al.: Identification and Characterization of Multidrug Resistance Efflux Pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel Agents for Combination Therapy, Antimicrob. Agents Chemother., **45**, 1, 2001, 105-116.
- 5) Han Spejer, Paul H. M. Savelkoul, Marc J. Bonten, Ellen E. Stobberingh, and Jeroen H. T. Tjhi: Application of Different Genotyping Methods for *Pseudomonas aeruginosa* in a Setting of Endemicity in an Intensive Care Unit, J. Clin. Microbiol., **37**, 11, 1999, 3654-3661.
- 6) Jun-Ichirou Sekiguchi, Tsukasa Asagi, Tohru Miyoshi-Akiyama, Tomoko Fujine, et al.: Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Strain That Caused an Outbreak in Neurosurgery Ward and Its aac(6)-Iae Gene Cassette Encoding a Novel Aminoglycoside Acetyltransferase, Antimicrob. Agents Chemother., **49**, 9, 2005, 3734-3742.
- 7) Jane Kriengkauykit, Edith Porter, Olga Lomovskaya, and Annie Wong-Beringer: Use of an Efflux Pump Inhibitor To Determine the Prevalence of Efflux Pump-Mediated Fluoroquinolone Resistance and Multidrug Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*, Antimicrob. Agents Chemother., **49**, 2, 2005, 565-570.
- 8) Shannon Westbrook-Wadman, David R. Sherman, Mark J. Hickey, Silvija N. Coulter et al.: Characterization of a *Pseudomonas aeruginosa* Efflux Pump Contributing to Aminoglycoside Impermeability, Antimicrob. Agents Chemother., **43**, 12, 1999, 2975-2983.
- 9) Teresa R. De Kievit, Michael D. Parkins, Richard J. Gillis, Ramakrishnan Srikumar, et al.: Multidrug Efflux Pumps: Expression Patterns and Contribution to Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilms. Antimicrob. Agents Chemother., **45**, 6, 2001, 1761-1770.
- 10) Julio Ramos Aires, Thilo Kohler, Hiroshi Nikaido, and Patric Plesiat: Involvement of an Active Efflux System in the Natural Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Aminoglycosides, Antimicrob. Agents Chemother., **43**, 11, 1999, 2624-2628.
- 11) Turton JF et al.: Evaluation of a nine-locus variable-number tandem-repeat scheme for typing of *Pseudomonas aeruginosa*, Clin. Microbiol. Infect., **16**, 8, 2010, 1111-1116.

- 12) Naze F, et al.: *Pseudomonas aeruginosa* high-resolution melting analysis of a variable-outbreak linked to mineral water bottles in a number tandem-repeat locus, J. Clin. Microbiol., neonatal intensive care unit: fast typing by use of 48, 9, 2010, 3146-3152.

表1 *aac(6′)-lae*, *aac(6′)-la*, *aacA7* 遺伝子を発現する
大腸菌組み換え体のアミカシン耐性

組み換え体	アミカシンMIC
<i>E.coli</i> : <i>aac(6′)-lae</i> ¹⁾	32 µg/ml
<i>E.coli</i> : <i>aac(6′)-la</i>	>32 µg/ml
<i>E.coli</i> : <i>aacA7</i>	>32 µg/ml

1) アミカシン耐性に関与証明

表2 EPI MC207, 110 による AZT の MIC (µg/ml) 低下

EPI- ¹⁾	EPI+ ²⁾	効果 ³⁾	株数
>32	>32	無効	3
>32	16	>1	3
>32	8	>2	4
>32	4	>3	4
>32	1	>5	1
16	4	2	1
16	1	4	1
16	0.5	5	1
16	<0.5	>5	1
8	4	1	1
8	1	3	2
8	0.5	4	1
4	1	2	1

1) MC207,110 非存在下における AZT の MIC (µg/ml)

2) MC207,110 40µg/ml 存在下における AZT の MIC (µg/ml)

3) MIC の低下管数

表3 EPI MC207, 110 (40 µg/ml) による MINO の MIC (µg/ml) 低下

EPI- ¹⁾	EPI+ ²⁾	効果 ³⁾	株数
>16	1	>4	1
>16	0.5	>5	1
>16	<0.5	>5	11
8	<0.5	>4	9
4	4	無効	1
4	<0.5	>3	1

1) MC207,110 非存在下における MINO の MIC (µg/ml)

2) MC207,110 40µg/ml 存在下における MINO の MIC (µg/ml)

3) MIC の低下管数

表 4 EPI MC207, 110 (40 μ g/ml) による LVFX の MIC (μ g/ml) 低下

EPI- ¹⁾	EPI+ ²⁾	効果 ³⁾	株数
>8	>8	無効	3
>8	4	>1	2
>8	2	>2	14
>8	1	>3	4
4	<0.5	>3	1

1) MC207,110 非存在下における AZT の MIC (μ g/ml)

2) MC207,110 40 μ g/ml 存在下における AZT の MIC (μ g/ml)

3) MIC の低下管数

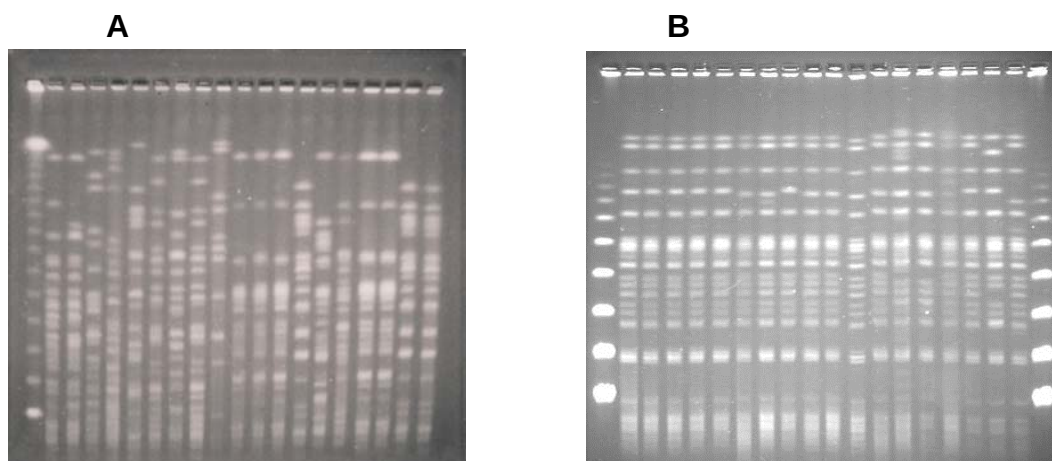


図 1 散発事例由来 *P. aeruginosa* 19 株 (A) と同一医療機関由来 18 株 (B) の *Spel* PFGE パターン (Spejer et al.)

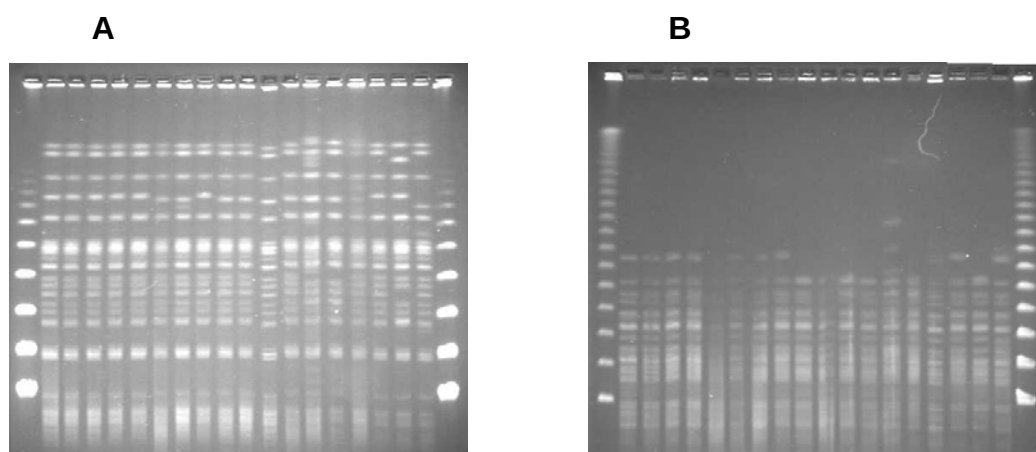


図 2 同一医療機関由来 *P. aeruginosa* 18 株の *Spel* PFGE パターン (A) と *XbaI* PFGE パターン (B)

秋田県における *astA* 保有大腸菌の侵淫実態と病原因子保有状況

今野貴之 八柳 潤 齊藤志保子

astA を保有する大腸菌は、毒素原性大腸菌の耐熱性エンテロトキシン (ST) に類似の毒素 EAST1 を産生し、これまでに数例の集団下痢症事例の報告もあることからその病原性が注目されている。今回、秋田県における *astA* 保有大腸菌による健康被害の実態を把握するため、平成 19 年から平成 21 年までの 3 年間に散発下痢症患者から分離された下痢原性大腸菌疑い株を用いて、その侵淫実態を調査した。また、*astA* 保有大腸菌は分離された菌株によって病原性に違いがあることが指摘されているため、*astA* 以外の病原因子の保有状況も併せて調査した。その結果、*astA* 保有大腸菌の下痢症患者からの分離を確認し、県内への侵淫実態が明らかとなった。また、病原因子の保有状況の調査では、腸管出血性大腸菌で報告された新規の付着因子、組織侵入性および毒素産生に関わる因子、腸管外の組織への付着を引き起こす因子、 α 溶血素、ヒト体内での菌の増殖に関与する siderophore の保有を確認した。これらの結果から、県内で分離された *astA* 保有大腸菌の一部は、様々な病原因子を保有しており、ヒトに下痢症を惹起する可能性があることが示唆された。

1. はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*) は腸内常在菌叢を構成する細菌の一種であるが、その中にはヒトに下痢を惹起させる菌も存在する。それらは下痢原性大腸菌と総称され、病原性の違いにより腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管病原性大腸菌 (AEEC/EPEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管集合性大腸菌 (EAggEC) の 5 つに大別される¹⁾。しかしながら、最近の研究により大腸菌の新たな病原因子となりうる種々の遺伝子が報告され、必ずしも上記の 5 つにあてはまらない病原性を持つ大腸菌の存在が示唆されている^{2, 3)}。これら的大腸菌によって食中毒等が発生した場合には、原因不明となり適切な衛生改善指導や医療機関における治療法の選択等に支障をきたす可能性があり、問題となっている。特に *astA* を保有する大腸菌は、毒素原性大腸菌の耐熱性エンテロトキシン (ST) に類似の毒素 EAST1 を産生し、これまでに数例の集団下痢症事例の報告もあることからその病原性が注目されている³⁾。今回、*astA* 保有大腸菌による県内での健康被害の実態を把握するため、その侵淫実態を調査した。また、*astA* 保有大腸菌は分離された菌株によって病原性に違いがあることが指摘されているため、*astA* 以外の病原因子の保有状況も併せて調査したので、その概要を報告する。

2. 方法

2.1 実験材料

平成 19 年 1 月から平成 21 年 12 月までに秋田県内医療機関等から送付された下痢原性大腸菌疑い株計 2,168 株を調査対象とした。

2.2 実験方法

供試菌株が下痢原性大腸菌に該当するかどうか検査するため、腸管出血性大腸菌については VT1 および VT2、腸管病原性大腸菌については *eaeA*、腸管侵入性大腸菌については *invE*、毒素原性大腸菌については ST 遺伝子および LT 遺伝子、腸管集合性大腸菌については *aggR* を標的にした PCR を行った。また、同時に *astA* を標的とした PCR を行い、*astA* 保有株を探索した。各下痢原性大腸菌の病原因子を保有せず、*astA* のみ保有する菌株について、*daaE*, *afa/dra*, *aid*, *aah*, *iha*, *pilS*, *shf*, *irp2*, *pet*, *pic*, *pap*, *sfa* および *hlyA* の 13 種類の病原因子について PCR により検出を行った⁴⁻⁷⁾。

3. 結果と考察

3.1 *astA* 保有大腸菌の侵淫実態

平成 19 年から平成 21 年までの下痢原性大腸菌疑い株の総数は平成 19 年が 833 株、平成 20 年が 725 株、平成 21 年が 610 株であった。各下痢原性大腸菌の分離状況は表 1(a)に示したとおりである。

各下痢原性大腸菌の病原因子は保有せず、*astA* を保有していた菌株は表 1(b)に示したように、平成 19 年 7 株、平成 20 年 15 株、平成 21 年が 13 株であった。これにより、*astA* 保有大腸菌の秋田県における侵淫が明らかとなった。

表 1 下痢原性大腸菌および
astA 保有大腸菌の分離状況

(a)

Pathotype	H19	H20	H21
EHEC	52	69	20
AEEC/EPEC	18	7	10
EIEC	0	0	0
ETEC	5	5	8
EAggEC	9	15	5

(b)

	H19	H20	H21
<i>astA</i> (+) <i>E.coli</i>	7	15	13

3.2 *astA* 保有大腸菌の病原因子保有状況

astA 保有大腸菌の病原因子保有状況については、調査継続中のため平成 22 年 8 月における暫定的な値を示す。

astA の保有が確認された菌株のうち 20 株について、表 2 に示した 13 種類の病原因子の保有状況を調査し、その結果を表 3 にまとめた。

astA 保有大腸菌の腸管付着性に関わる因子はこれまで報告されてこなかったが、今回の調査で腸管出血性大腸菌において報告された新規の付着因子である *iha* を保有する株が 1 株見つかった。さらに、組織侵入を促進する *pic* を保有する株も 2 株見つかった。また、*pic* 遺伝子の相補鎖には *shET1* (*Shigella enterotoxin 1*) がコードされていることが知られている。

pap, *sfa* は腸管外の組織への付着を引き起こす因子であるが、しばしば腸管集合性大腸菌の病原因子と一緒に保有が確認されている。*pap* および *sfa* の両方もしくはいずれかを持つ株は 20 株中 6 株確認された。これらの因子を持つ *astA* 保有株は腸管感染症のみならず尿路感染症の原因にもなる可能性がある。また、*hlyA* も腸管外感染を起こす大腸菌にみられる病原因子の一つであるが、下痢症との関係が指摘され、

腸粘膜細胞の機能変化を引き起こす作用があり細胞毒性を有することが示されている。*pap*, *sfa* に加えて *hlyA* を保有する株は下痢原性大腸菌としても注意が必要と思われる。

また、20 株中 15 株が *irp2* を持っていた。*irp2* はヒトの体内での増殖に必要な因子であることから、病原性の指標として重要な因子の一つとなりうると考えられた。しかしながら、*astA* 保有大腸菌の病原性に関しては未だ不明な部分もあることから、その解明には今後さらなる感染事例の集積および病原性に関する調査研究が必要と考えられる。

最後に、全国の食中毒統計によると、未だ 1 割程度が原因不明となっている。また、散発の下痢症患者では原因菌が特定できないことも少なくない。本研究が、それらの解決の一助となれば幸いである。

表 2 対象病原因子と特性

Pathogenic factor	Associated property
<i>daaE</i>	diffuse adherence
<i>afa/dra</i>	Afa/Dra adhesin
<i>aid</i>	AIDA- I adhesin
<i>aah</i>	AIDA- I adhesin
<i>iha</i>	IrgA homologue adhesin
<i>pilS</i>	TypeIV pilus major subunit
<i>shf</i>	intercellular adhesin
<i>irp2</i>	siderophore
<i>pet</i>	plasmid encoding toxin
<i>pic/shET1</i>	mucinase/Shigella enterotoxin I
<i>pap</i>	P pili
<i>sfa</i>	S fimbriae
<i>hlyA</i>	α -hemolysin

表3 astA 保有株の病原因子

Strain No.	Serogroup	Pathogenic factor												
		daa	afa/dra	aid	aah	iha	pilS	shf	irp2	pet	pic	pap	sfa	hlyA
EC11935	115	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-
EC11969	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12331	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
EC12397	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12434	18	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12491	153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12535	20	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12580	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12584	153	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12596	151	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-
EC12685	74	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
EC12713	166	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12790	UT	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
EC12817	125	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	-	-
EC12908	8	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC12939	6	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
EC13008	UT	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC13109	1	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-
EC13115	27	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
EC13273	UT	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-

4. まとめ

astA 保有大腸菌の秋田県における侵淫実態および病原因子保有状況が明らかとなった。これにより今後の病原性解明や食中毒等の発生時の原因菌の推定等に活用が期待される。

参考文献

- 1) 日本食品衛生協会：食中毒予防必携，1998，58-64.
- 2) 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒，2000，210-297.
- 3) 渡辺治雄：食中毒検査・診療のコツと落とし穴，2006，11.
- 4) Abe CM., Salvador FA., Falsetti IN., Vieira MAM., Blanco J., Blanco JE., Blanco M., Machado AMO., Elias WP., Hernandez RT., Gomes TA.: Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) strains may carry virulence properties of diarrhoeagenic *E.coli*., *FEMS immunol Med Microbiol.*, **52**, 3, 2008, 397-406.

- 5) Tiba MR., Yano T., Lette DS.: Genotypic characterization of virulence factors in *Escherichia coli* strains from patients with cystitis., *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.*, **50**, 5, 2008, 255-260.
- 6) Niewerth U., Frey A., Voss T., Le Bouguénec C., Baljer G., Franke S., Schmidt MA.: The AIDA Autotransporter System is Associated with F18 and Stx2e in *Escherichia coli* Isolates from Pigs Diagnosed with Edema Disease and Postweaning Diarrhea., *Clin Diagn Lab Immunol.*, **8**, 1, 2001, 143-149.
- 7) Vidal M., Kruger E., Durán C., Lagos R., Levine M., Prado V., Toro C., Vidal R.: Single multiplex PCR assay to identify simultaneously the six categories of diarrheagenic *Escherichia coli* associated with enteric infections., *J Clin Microbiol.*, **43**, 10, 2005, 5362-5365.

新生児マス・スクリーニング検査における FT4 測定の試み

安部真理子 柴田ちひろ

現在、新生児マス・スクリーニング検査の中で、先天性甲状腺機能低下症の検査は、甲状腺刺激ホルモン（TSH）を指標として検査を実施している。自治体、検査施設によってはこの TSH 測定の他に、FT4（遊離サイロキシン）の同時測定や確認検査を行っているところもある。FT4 を検査することで、中枢性の甲状腺機能低下症や遅発型の甲状腺機能低下症を見つけだせるメリットがあるが、コスト的、労力的に難しいのが現状である。今回は平成 20 年度の検査済みろ紙血を使用して FT4 試薬キットによる測定を試みた。その結果、TSH 低値により正常と判定された 575 検体中 16 検体で FT4 値が異常値となったが、そのうち 14 検体は出生体重や採血時体重が影響したと考えられた。TSH がカットオフ近似値で再検査依頼後に正常と判定された 54 検体の FT4 値はすべて正常値であった。また、精密検査を依頼した 8 事例中甲状腺機能低下症と診断された 2 事例は FT4 が異常値を示した。

1. はじめに

我が国では新生児マス・スクリーニング検査として甲状腺機能低下症（以下 CH）の検査を昭和 54 年から実施しており、ほとんどの施設で甲状腺刺激ホルモン（以下 TSH）の測定をしている。甲状腺機能の指標となる物質は、TSH 以外に、T4（総サイロキシン）、FT3（遊離トリヨードサイロニン）、FT4（遊離サイロキシン）などがある。TSH のみの検査では、下垂体性や視床下部性などの中枢性 CH が発見できなかったり、遅発型の CH を見逃すことがある¹⁾。このことから、TSH の他に FT4 などの検査を併用することが望ましい。しかし、コストがかさむことや、治療を必要としないサイロキシン結合グロブリン（TBG）欠損もしくは低下症のために疑陽性が多くなり、再検査数や要精密検査数に影響し²⁾検査施設はもちろんのこと、保護者や医療機関への負担が増すことが考えられる。そのことを踏まえて今回、平成 20 年度に新生児マス・スクリーニング検査を実施した中で、TSH 低値により正常と判定された検体、カットオフ近似値で再検査依頼後に正常と判定された検体、精密検査を依頼した検体について FT4 の測定を試みた。これら対象検体の検査結果から FT4 試薬キットが新生児マス・スクリーニング検査の一補助として活用できるかを検討した。

2. 材料及び方法

2.1 検査材料

平成 20 年度新生児マス・スクリーニング検査済みろ紙血（使用時まで -30℃ 冷凍庫にて保管）を使用した。

2.1.1 TSH 低値正常検体

TSH 値が初回検査で測定下限値 0.50 μ IU/ml 以下を示して正常と判定された 575 検体

2.1.2 再検査依頼後正常検体

TSH 値が 9.00～10.00 μ IU/ml で再検査依頼後に正常と判定された 54 検体

2.1.3 精密検査依頼検体

初回 TSH 高値及び再検査後 TSH 高値で精密検査依頼をした 8 事例 12 検体

2.2 方法

TSH の測定はエンザプレート Neo-TSH（シーメンスヘルスケア・ダイアグノステックス社）を使用し、試薬キットに添付された操作手順に従って測定した。FT4 の測定はエンザプレート N-FT4（シーメンスヘルスケア・ダイアグノステックス社）を使用した。FT4 の検査術式は図 1 に示した。なお、TSH の初回再検査依頼の基準は 9.00 μ IU/ml 以上とし、初回精密検査依頼の基準は 20.00 μ IU/ml 以上とした。また、FT4 は 1.00 ng/dl 未満を異常値とした。

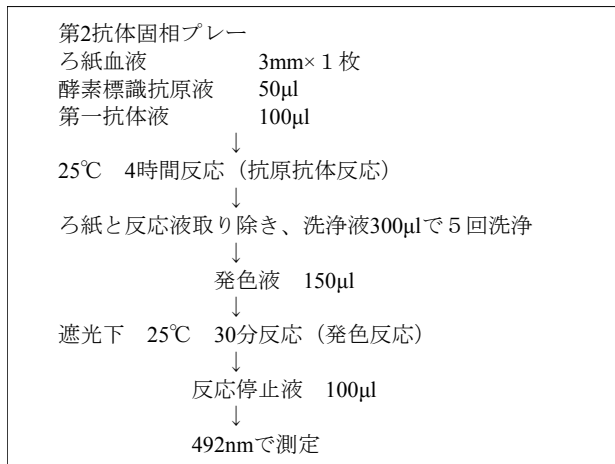


図1 FT4 検査術式

3. 結果

平成20年度に新生児マス・スクリーニング検査を実施した中で、今回の検討対象となった検体について検査対象別に結果を報告する。

3.1 TSH 低値正常検体結果

TSH 値が 0.50 μ IU/ml 以下の低値で正常と判定された 575 検体について FT4 を測定した。結果を図2に示した。575 検体中カットオフ値 1.00 ng/dl 未満の異常値は 16 検体 (2.8%) であった。FT4 値別にみると、1.00~1.99 ng/dl が 347 検体 (60.3%) であり、2.00~2.99 ng/dl が 188 検体

(32.7%) であった。3.00 ng/dl 以上は 24 検体 (4.2%) であった。FT4 値が異常値となった 16 検体の内訳を表1に示した。この表から FT4 値は 0.28~0.99 ng/dl であった。在胎週数は 32~41 週 (平均 36 週) で、出生体重は 1,750~3,055 g (平均 2,230 g)、採血時体重は 1,481~2,730 g (平均 2,074 g) であった。生理的体重減少率は平均で 6.7% であった。出生体重が 2,500 g 未満の検体は 12 検体 (75.0%) であった。16 検体中、出生体重 2,000 g 未満の検体は 6 検体 (37.5%) であった。また、生理的体重減少が 10.0% 以上であった検体は 3 検体であった。

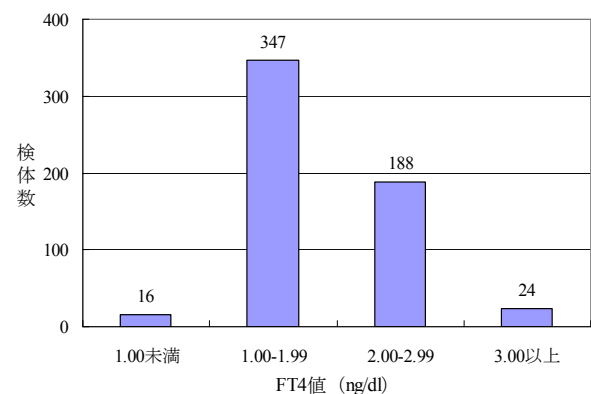


図2 TSH 0.50 μ IU/ml 以下検体における FT4 値別検体数 (n=575)

表1 FT4 値が 1.0ng/dl 未満となった事例一覧表

No.	FT4値 (ng/dl)	在胎週数 (週)	出生体重 (g)	採血時体重 (g)	生理的体重減少率 (%)
1	0.96	35	1,782	1,696	4.8
2	0.84	36	2,058	1,929	6.3
3	0.28	39	2,694	2,730	-1.3
4	0.99	36	2,490	2,266	9.0
5	0.87	33	1,992	1,842	7.5
6	0.94	36	2,346	2,100	10.5
7	0.93	34	2,222	2,016	9.3
8	0.84	41	2,740	2,510	8.4
9	0.46	37	1,820	1,481	18.6
10	0.8	39	2,564	2,408	6.1
11	0.91	39	3,055	2,574	15.7
12	0.89	33	1,750	1,704	2.6
13	0.77	34	1,856	2,008	-8.2
14	0.9	32	1,904	1,864	2.1
15	0.81	34	2,160	2,024	6.3
16	0.74	38	2,258	2,038	9.7

3.2 再検査依頼後正常検体結果

TSH 値が 9.00～10.00 $\mu\text{IU/ml}$ のカットオフ近似値で再検査依頼をした中で再検査後に正常と判定された 54 検体について FT4 値を測定した結果を図 3 に示した。その結果、54 検体中 1.00 ng/dl 未満の検体はなかった。FT4 値 1.00～1.99 ng/dl は 20 検体 (37.0%) であり、2.00～2.99 ng/dl は 31 検体 (57.4%) で 3.00 ng/dl 以上は 3 検体 (5.6%) であった。

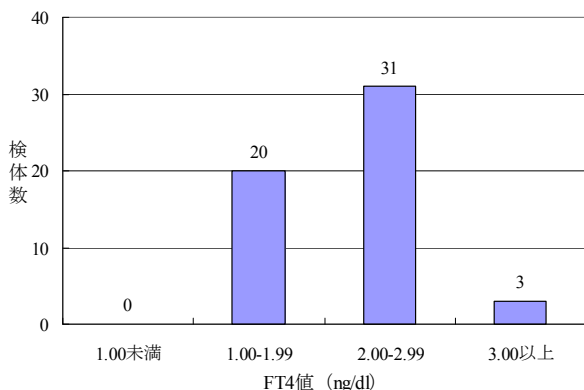


図 3 再検査依頼後正常と判定された検体における FT4 値別検体数 (n=54)

3.3 精密検査依頼検体結果

TSH 高値で精密検査を依頼した 8 事例 (12 検体) の FT4 値を表 2 に示した。精密検査を依頼した検体の内訳は、初回精査事例が 4 事例 (No.1, 2, 3, 6) と、再検査後精査事例が 4 事例 (No.4, 5, 7, 8) であった。事例 3 は初回検査で TSH 値が 82.50 $\mu\text{IU/ml}$ を超え、FT4 値は 0.27 ng/dl の異常値を示した。また事例 4 は、初回 TSH 値は 11.94 $\mu\text{IU/ml}$ で FT4 値は 2.34 ng/dl で正常値を示したが、再検査検体では、TSH 値 39.50 $\mu\text{IU/ml}$ で、FT4 値は 0.96 ng/dl であった。この二つの事例は精密医療機関において CH と診断されていた。CH と診断された事例 5～8 の 4 事例については、FT4 値が 1.19 ng/dl から 1.51 ng/dl (平均値 1.36 ng/dl) であった。一過性高 TSH 血症と診断された事例 1, 2 の FT4 値はそれぞれ 1.72 ng/dl, 2.03 ng/dl であった。また、事例 3 については過去に同胞 (姉) が CH と診断されていた (表 3)。

表 2 精密検査依頼事例における TSH 値, FT4 値

No.	出生体重 (g)	初回TSH値 ($\mu\text{IU/ml}$)	初回FT4値 (ng/dl)	再検査TSH値 ($\mu\text{IU/ml}$)	再検査FT4値 (ng/dl)	診断名
1	3,482	20.98	1.72	—	—	一過性高TSH血症
2	2,934	32.96	2.03	—	—	一過性高TSH血症
3	2,670	>82.50	0.27	—	—	甲状腺機能低下症
4	2,956	11.94	2.34	39.50	0.96	甲状腺機能低下症
5	2,418	20.63	1.49	17.65	1.19	甲状腺機能低下症
6	3,128	26.37	1.20	—	—	甲状腺機能低下症
7	2,868	15.40	1.41	9.00	1.42	甲状腺機能低下症
8	2,552	9.00	1.51	12.07	1.33	甲状腺機能低下症

表 3 同胞における甲状腺機能低下症症例

同胞事例	出生月日	出生体重 (g)	採血時体重 (g)	初回TSH値 ($\mu\text{IU/ml}$)	FT4値 (ng/dl)	診断名
姉	H17.5.16	2,506	2,498	200.15	※0.05	クレチン症
妹	H20.8.8	2,670	1,512	>82.50	0.27	クレチン症

※精密検査機関にて検査

4. 考察

新生児マス・スクリーニング検査における CH の検査に TSH と FT4 の両者を同時に測定することは理想的であり、現在も実施している機関もある³⁾。下垂体から分泌される TSH は甲状腺を

刺激して、甲状腺ホルモンの合成分泌を促進する。甲状腺機能亢進時には TSH はネガティブ・フィードバックにより抑制されて低値となり、逆に機能低下時には高値となる⁴⁾。軽度の CH でも TSH は上昇し、甲状腺ホルモン分泌不足の

鋭敏な指標となりうる。しかしながらこの定義は視床下部－下垂体系が正常である場合に成立するが、中枢性のCHにおいてはTSHの上昇はみられない⁵⁾。

一方、T4はプレアルブミンやアルブミンなどの結合蛋白(TBG)に99.96%が結合して血液中に存在する。結合していないFT4が組織に移行して代謝にかかわると考えられている⁵⁾。T4の場合、同時にTBGの測定や、結合蛋白の状態を知って判断する必要があるため、簡便さなどからみると、スクリーニングにおいて甲状腺機能異常を診断するにはFT4の測定が有用である。今回、平成20年度検査済み紙血を使用した対象検体についてFT4の測定を試みた結果、TSH低値により正常と判定された検体のうち16検体がFT4の異常値を示していた。この16検体中14検体については、在胎週数が比較的短い検体や出生体重が2500g未満もしくはそれに近い体重だった検体、または生理的体重減少の大きかった検体だった。一般に新生児は生理的反応として、生後約30分に寒冷刺激などにより一時的に急激なTSH上昇(TSH surge)をみた後、生後3日から4日で安定した値になる⁶⁾。しかし、在胎週数の少ない児や、低出生体重児では、出生直後のTSH surgeが低く、さらに、甲状腺でのホルモン合成、分泌能が未熟であったり、視床下部－下垂体－甲状腺系のネガティブ・フィードバック機構の未熟性のため、TSHが上昇しない可能性がある⁷⁾。一方、FT4については、TSHの刺激で生後2～3日目に最高値に達し、その後、生後1週目までに徐々に下降する⁷⁾。早産や低体重等で出生した場合はこれらのピーク値が低くなる。今回、低出生体重や生理的体重減少率の高かった検体以外でFT4値が異常値を示した検体はNo.3とNo.8の2検体であったが、出生医療機関に問い合わせた結果、いずれも異常となる疾患や発育・発達障害はその後、認められなかったとの回答を得た。このことからFT4異常値は母体のホルモンによる影響の可能性が考えられた。またTSH値が9.00～10.00 $\mu\text{IU/ml}$ のカットオフ近似値で再検査依頼後に正常と判定された検体についてFT4値を測定したが、すべて正常範囲であったことから、再検査依頼検体については確認検査としてFT4の測定を実施することが有用であることがわかった。

精密検査依頼した8事例中FT4値が1.00 ng/dl未満を示した事例は2事例のみであったが、猪股らのクレチン症マス・スクリーニングのフローチャート⁸⁾によると、直接精査例でのTSH初回精査基準値は30.00 $\mu\text{IU/ml}$ 以上、TSH再検査後精査基準値を20.00 $\mu\text{IU/ml}$ 以上とし、FT4値1.50 ng/dl以下の場合に治療を開始することとなっている。当センターではFT4のカットオフ値は1.00 ng/dl未満に設定したが、TSH値が20.00～30.00 $\mu\text{IU/ml}$ 以上の高値の場合にFT4値1.50 ng/dl以下を要観察値とすれば、今回の精密検査事例8例中CHと診断された6事例はすべてFT4値が要観察値となり、FT4を測定する有用性が得られたと考えられる。また、事例4のように初回TSH値が11.94 $\mu\text{IU/ml}$ でFT4値は2.34 ng/dlで正常値を示し、再検査依頼後にFT4値が異常値を示した検体があったことから、初回FT4値で再検査可否を判断することは難しいことがわかった。事例3については過去に当センターで姉がCHと診断されていた事例である。同胞によるCH事例は過去にも報告^{9,10)}されているが、当センターのように追跡調査を実施している機関では、過去のデータの検索が可能である。また、初回検査値でTSH値が高く、再検査で正常となったとしても、過去に同胞が患児であった場合はより慎重に検査結果の判定を行うとともに、FT4の測定を実施することも見逃しの防止に繋がると考える。

今回は平成20年度に受付をした全検体を対象とはしてないため、TSH値が1.00～8.99 $\mu\text{IU/ml}$ で正常と判定された検体についてのFT4値は不明である。これらの検体の中にFT4値が異常を示した検体がどのくらいあったかは確認できなかったが、今回対象とした検体についてみると、初回検査時の新生児の在胎週数や出生体重、採血時体重がTSH値と同様にFT4値にも影響を与えることが示唆されたため、低体重児に対しては2回目検査の徹底を図ることが必要と考えられた。

今回使用したFT4試薬キットの有効期限は6ヶ月で、固相プレートが5枚同封されており、5回分の測定が可能であるが、抗原液、抗体液、発色液は調整日限りの使用となっている。そのため、FT4キットは少ない検体に使用するにはロスが多い。一方、TSH試薬キットの有効期限

は同様に6ヶ月であるが、抗体液、発色液については、調整する必要がなく、即日の使用とはなっていない。したがって、FT4キットを常備しておくコストを考えると確認検査用に多額の試薬代の確保は難しい。一方で、まとめて検査をするとなると、成績書の発送に遅れがでる。初回検査にFT4の同時測定をしている施設では、患児発見にFT4の測定が大きく寄与すると報告している^{11, 12)}。一方、中枢性CHの発生頻度は原発性CHと比較してかなり少ないとの報告¹⁾もあるが、地域によって偏りがみられる¹³⁾。TSHのみでスクリーニングをするということでは、すべてのCHを拾い出せるということではないということを念頭に置いて検査する必要がある。精密検査医療機関では、児の身体的特徴や発育、発達状況に加えて詳細な検査を実施しており、FT4の検査については必須検査項目となっている¹⁴⁾。新生児マス・スクリーニング検査は一人でも多くの患児を見つけ出すことはもちろんであるが、再検査や精密検査が不用意に多くなることは避けなければならない¹⁵⁾。財源確保が可能な検査施設ではCHスクリーニングに初回からTSHとFT4を同時測定することが望ましいと考えるが、適正な再検査率の維持も図らなければならない。財源確保の難しい施設においては成績書を発送する期間内で確認検査としてFT4の測定を実施し、精密検査依頼時には医療機関と連携を図りながらFT4の測定も行う、TSH値と同様に検査値として報告できるような活用方法が望ましいと考える。

現在、新生児マス・スクリーニング対象6疾患の中で、費用対効果が最も優れている疾患がCHである¹⁶⁾ことからTSHは有用な検査項目であると考えられるが、FT4を検査に加えることで費用対効果率がどの程度変化するかについては、まだ信頼されるデータが確認できていない。しかし、今回の検討結果から高い発見が期待されると思われる。

5. まとめ

- 1) TSH値0.50 μ IU/ml以下で正常と判定された575検体中FT4値が1.00 ng/ml未満になった検体は16検体であった。
- 2) FT4異常値を示した16検体中14検体は出生体重、採血時体重が影響したと考えられた。

- 3) カットオフ近似値で再検査依頼をして正常となった検体のFT4値はすべて正常範囲であった。
- 4) 精密検査依頼した8事例中2事例のFT4値はカットオフ値未満を示しCHと診断された。
- 5) 低体重児については2回目採血の徹底が必要と考えられた。
- 6) 同胞でのCH例が確認された。
- 7) FT4の測定は確認検査や精密検査検体の検査値としての補助的な活用が有効であった。

参考文献

- 1) 南谷幹史他：先天性甲状腺機能低下症，小児科，**48**, 11, 2007, 1630-1639.
- 2) 新美仁男：先天性甲状腺機能低下症，小児内科，**26**, 12, 1994, 15-20.
- 3) 杉原茂孝：甲状腺機能検査，小児内科，**33**, 12, 2001, 1666-1670.
- 4) 松浦信夫：視床下部一下垂体—甲状腺系—その相互作用，小児内科，**30**, 7, 1998, 847-855.
- 5) 志賀健太郎他：甲状腺機能検査法，小児内科，**30**, 7, 1998, 856-860.
- 6) 原田正平：先天性甲状腺機能低下症，小児内科，**40**, 11, 2008, 1767-1771.
- 7) 上瀧邦雄他：甲状腺刺激ホルモン（TSH）—未熟児を含めた陽性者の取り扱い，小児内科，**36**, 12, 2004, 1907-1912.
- 8) 猪股弘明他：クレチン症マススクリーニングのフローチャート.厚生科学研究（子ども家庭総合研究事業）「マススクリーニングの見逃し等を予防するシステムの確立に関する研究」平成12年度研究報告書，2001, 490-492.
- 9) 長崎啓祐他：新生児マススクリーニングで発見されなかった家族性の先天性甲状腺機能低下症の4例，日本マススクリーニング学会誌，**18**, 1, 2008, 69-72.
- 10) 九曜雅子他：新生児マス・スクリーニング要精密検査児の追跡結果-10年間のまとめ-，日本マススクリーニング学会誌，**19**, 3, 2009, 53-62.
- 11) 柴山啓子他：TSH-Free T4同時測定による新生児マス・スクリーニングで発見された重症視床下部性甲状腺機能低下症の検討，日本マス

- ・スクリーニング学会誌, **17**, 3, 2007, 59-64.
- 12) 橘田一輝他: 新生児 TSH・FT4 同時測定によるマス・スクリーニングで発見された重度先天性視床下部性甲状腺機能低下症の2例, 日本マス・スクリーニング学会誌, **20**, 2, 2010, 61.
- 13) 安孫子正敏他: 平成 20 年度先天性代謝異常等のマス・スクリーニング, 山形衛研所報, **42**, 12, 2009, 9-29
- 14) 原田正平: マス・スクリーニング発見例 先天性甲状腺機能低下症, 小児科診療, **70**, 10, 2007, 1696-1702.
- 15) 梅橋豊蔵: クレチン症, 日本マス・スクリーニング学会誌, **8**, Suppl.2, 1998, 82-89.
- 16) 猪股弘明: 新生児マス・スクリーニング検査の実績 先天性甲状腺機能低下症, 産科と婦人科, **69**, Suppl, 2002, 202-205.

食品検体のノロウイルス検査に向けた パンソルビン・トラップ法の実用性向上に関する研究

斎藤博之 東方美保*¹ 田中智之*² 武田直和*³

食品検体からノロウイルス（NV）を検出するための実践的な手法としてパンソルビン・トラップ法の開発を平成 19 年度から着手した。平成 21 年度は実用化に向けた問題点を洗い出し、それを解決するためのプロトコル改良を行った。その結果、全国的に汎用されているカラム方式の RNA 抽出キットに適用させることができ操作性が向上した。また、検出効率の再現性に影響を及ぼす主因となっている炭水化物の混入を抑える方法を取り入れることができた。さらに、低濃度汚染の検体であっても検出効率を維持することができるようになった。実際の検査局面を視野に入れて Nested PCR と組み合わせたとこ、食品 1 g 当たり焼ソバで 13 コピー、ポテトサラダで 44 コピーまで検出が可能であった。本法を用いることでこれまで困難とされてきた一般的な食品から NV を検出することが可能となれば、食中毒事例発生時の原因食品解明に大きく寄与するものと考えられる。また、食品中のウイルスを検査する方法が広く普及することで調理従事者の衛生管理意識の一層の向上を促すことに繋がり、食中毒の抑止効果が期待できる。

1. はじめに

ウイルス性食中毒の大部分を占めるのがノロウイルス（NV）であり、対策として二枚貝の汚染実態調査や、調理従事者への衛生教育等が進められてきている^{1,3)}。しかしながら、一部に飲用水からの検出例が報告されているものの^{4,5)}、一般的な食品からのウイルス検出は、その作業の困難さからこれまでほとんど検討されてこなかったため、具体的な汚染ルートの解明に決め手を欠いているのが実状である。こうした状況に対応するために、平成 19 年度より厚生労働科学研究班（食品の安心・安全確保推進研究事業）において検査法の開発が進められている⁶⁻¹¹⁾。平成 20 年度の本研究事業において、固形、液状、練り物、油物などの一般的な食品から NV を検出する手法としてパンソルビン・トラップ法を開発し、この問題を解決するための方向性を見出すことができた⁶⁻⁹⁾。一方で、開発初期であるがゆえの課題も存在したため、今年度はより実用性を向上させるためのプロトコル改良を行った。

平成 20 年度の時点で残された課題は次の 4 つである。

- ①全国的に汎用されているカラムによる精製方式に合わせることを。
- ②炭水化物の混入を抑えること。
- ③低濃度汚染検体での検出効率を向上させるこ

と。

- ④GⅡ/4 以外の血清型へ対応させること。

本稿では①～③について改良策を報告することとし、④については引き続き今後の研究課題とした。

2. 方法

2.1 研究材料

汚染実験に用いる食品として、市販されているポテトサラダと焼ソバを用いた。また、検出対象となる NV として、平成 18 年 12 月に秋田市で発生した食中毒事例で搬入された糞便（GⅡ/4 型、Accession No.: AB293424）を用いた。

2.2 試薬類

2.2.1 抗 GⅡ/4 血清

国立感染症研究所ウイルス第二部において、組み替えバキュロウイルスによって作成した NV 様中空粒子（VLP）をウサギに免疫したもの（ロット No.: 抗 104 ウサギ 971222, ホモ抗体価: 100 万倍）¹²⁾を用いた。

2.2.2 洗滌液

平成 20 年度は 0.1%の Tween20 を含む PBS を用いたが、本稿では改良の一環として 0.1%の Tween20 を含む Tris-HCl (pH 8.4) を用いた。

*¹ 福井県衛生環境研究センター、*² 堺市衛生研究所、*³ 元国立感染症研究所

2.2.3 パンソルビン

黄色ブドウ球菌を熱処理後、ホルマリン固定して懸濁したもの（和光純薬）を使用した。

2.2.4 再懸濁液

0.1% Na-Citrate (pH 4.2) を用いた。

2.2.5 フェノール系 RNA 抽出キット

TRIzol-LS (invitrogen) を使用した。

2.2.6 カラム方式の RNA 抽出キット

QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) を使用した。

2.2.7 逆転写反応エンハンサー

RTmate (ニッポンジーン) を使用した。

2.2.8 DNase I (RT Grade) 及び RNase inhibitor

ニッポンジーンの製品を使用した。

2.2.9 アミラーゼ

α -Amylase Ultrapure (ニッポンジーン) を使用した。

2.2.10 食品処理袋

サニスペックテストバッグ (アズワン) を使用した。

2.3 パンソルビン・トラップ法の手順

基本的な操作の流れを図 1 に示した。平成 20 年度のプロトコルからの主な改良点は、次の通りである。本稿では、これらの改良に至った経緯について順次考察を加えていく。

①汚染食品を洗滌液で処理する際に、食品処理袋を使用し、その後の遠心を 30 分行うことで残渣を効率的に除去できるようにしたこと。

②TRIzol-LS によるフェノール抽出の後で、水層にエタノールを添加してそのまま QIAamp Viral RNA Mini Kit に移行できるようにしたこと。

③逆転写反応の前に DNase I と α -Amylase 処理を加えたこと。

④逆転写反応のプライマーを特異的プライマー (COG2F/R) に変更したこと。

2.4 NV の検出

cDNA の合成の前に、最終的に得られた RNA 抽出液 (60 μ L) から 8.5 μ L を取り、DNase I 及び α -Amylase を各 1 μ L, RNase inhibitor を 0.25 μ L, 5 $\times$ 逆転写 buffer (逆転写酵素製品に添付されているもの) を 4 μ L 加えた後、蒸留水で反応量を 15.5 μ L とし、37°C 10 分、65°C 5 分のインキュベーションを行った。その後、特異的プライマー (COG2F/R), dNTP, RTmate, 及び逆転写酵素を追加して cDNA を合成した (反応容量 20 μ L)。特異的プライマーとして COG2F と COG2R の両方に加えたのは、引き続いて行われる PCR の際にプライマーの非対称化を避けるためである。合成した cDNA 溶液を 5 μ L 取り、Kageyama らのリアルタイム PCR 法¹³⁾で NV を検出した。使用した機器はロシュ製「LightCycler 350S」で反応容量は 20 μ L である。

2.5 Nested PCR への応用

検出感度の向上策として、Nested PCR への応用の可能性を検討した。2.4 で示した方法の内、特異的プライマーを COG2F/G2-SKR に変更して逆転写を行い、cDNA 溶液を 5 μ L 取って COG2F/G2-SKR を用いた通常の RT-PCR で予備増幅を行った。予備増幅産物を 5 μ L 取り、リアルタイム PCR による判定を行った。この場合、機器にはコピー数が表示されるものの、定量性はないため定性と見なした (ゲル電気泳動後にハイブリダイゼーションによる確認を行ったのと同意義)。

3. 結果

3.1 RNA 抽出キットの比較

汎用されている RNA 抽出キットを糞便検査に用いた場合の増幅曲線を図 2A において比較した。カーブの立ち上がりサイクル数はいずれもほぼ同じである。蛍光強度は糞便検体をそのままカラム精製した場合が最も高く、通常の糞便検査においては適切であることがわかった。一方、汚染されたポテトサラダを PBS で洗滌した後パントラ法を用いて回収した場合の増幅曲線を図 2B に示した。黄色ブドウ球菌の沈澱をキット添付の AVL buffer に懸濁した上清をカラムにそのままアプライしても増幅がほとんど認められず、何らかの改良が必要であることが見て取れる。平成 20 年度のプロトコルで用いたイソプロピルアルコール沈澱

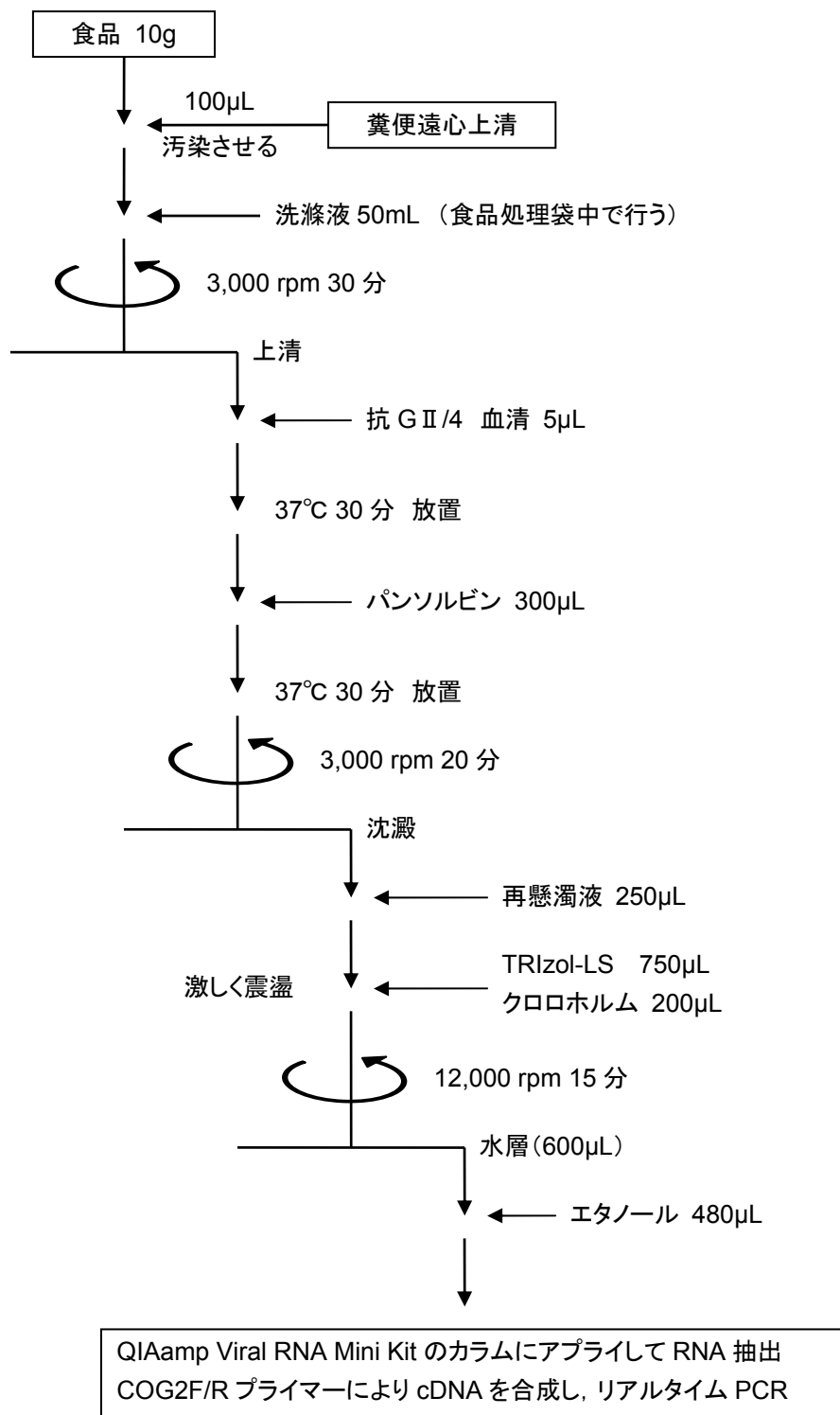


図1 パンソルビン・トラップ法の操作手順 (Ver.2)

による RNA 回収は蛍光強度が高いものの、立ち上がりサイクルに注目すると、TRIzol-LS で抽出した水層をカラムにアプライする方が早いのがわかる。コピー数として反映されるのは立

ち上がりサイクルであるため、感度としては後者が優れている。ただし、蛍光強度が低いままでは低濃度汚染検体において不利になるため、その部分の改良を引き続き行った。

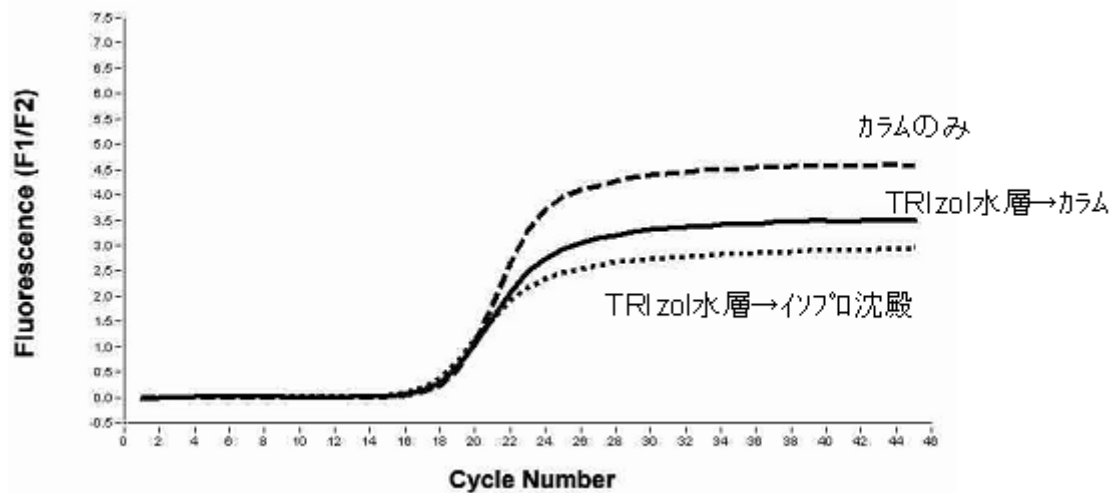


図 2A 糞便検体からの RNA 抽出方法の比較（増幅曲線）

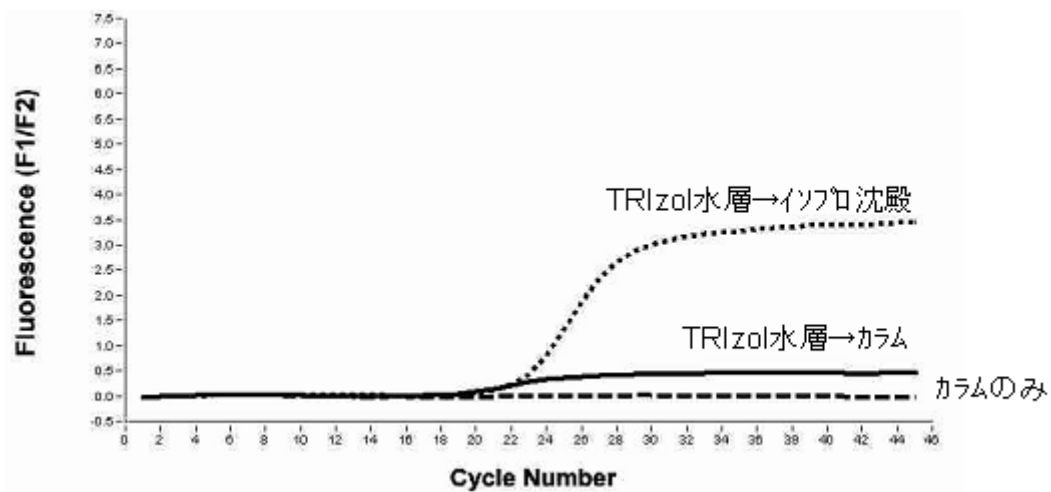


図 2B パンソルビン沈殿（ポテトサラダ）からの RNA 抽出方法の比較（増幅曲線）

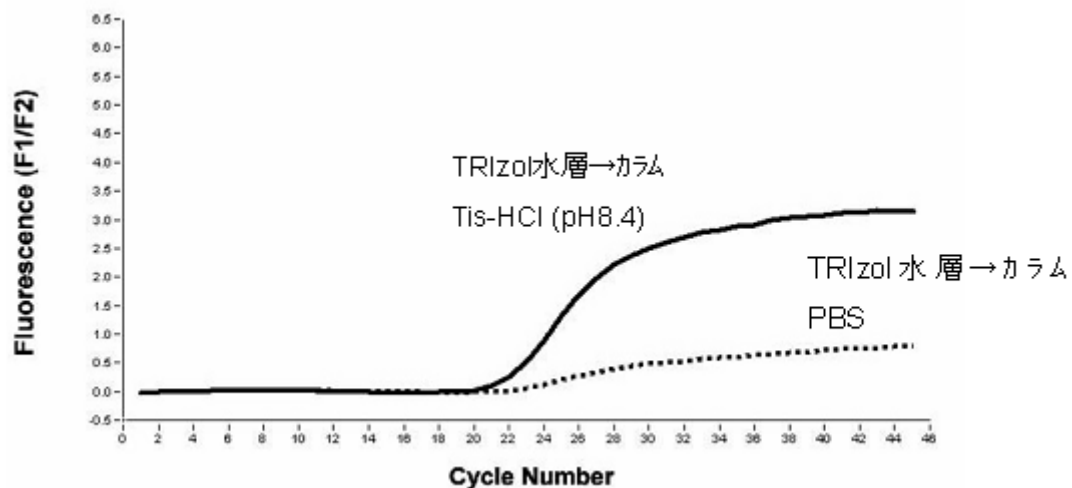


図 3A 食品洗滌液の比較（増幅曲線）

3.2 蛍光強度向上へ向けた改良

IgG とパンソルビン（Protein A）との親和性は pH に依存するため、最適条件である pH 8.4 の食品洗滌液を用いてポテトサラダからの回収実験を行ったのが図 3A である。PBS で洗滌し

た場合と比べて明らかに増幅曲線が改善されているのがわかる。次に逆転写反応の際に添加することで反応効率を向上させるエンハンサー（商品名：RTmate）を使用したのが図 3B である（食品洗滌液は pH 8.4 の Tris-HCl）。結果と

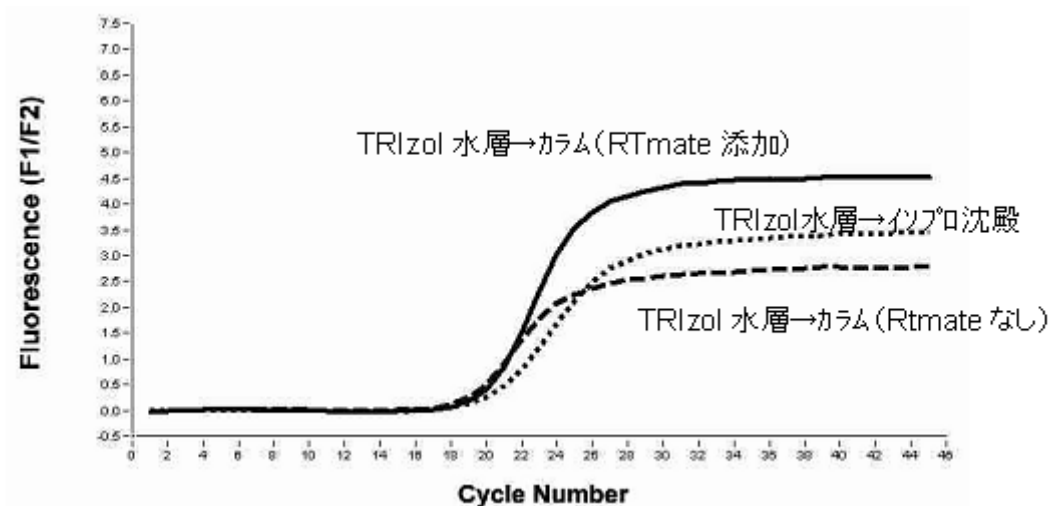
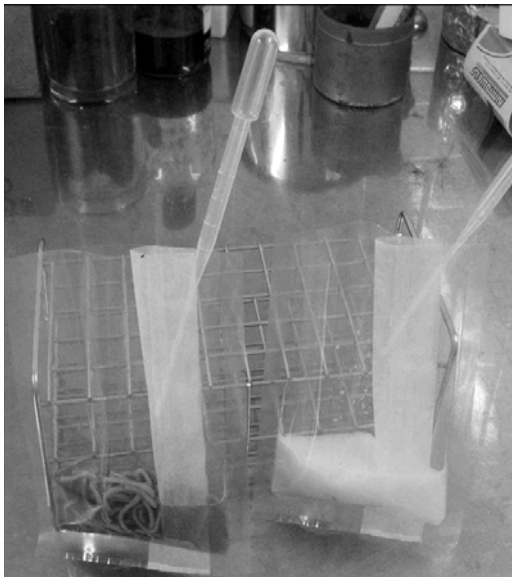


図 3B 逆転写反応エンハンサーの効果（増幅曲線）

図 4A 食品処理袋による処理
(左：焼ソバ，右：ポテトサラダ)

して蛍光強度がさらに増強され、図 2B と比較すると、イソプロピルアルコール沈殿の増幅曲線を上回っているのがわかる。以上のように、食品洗滌液を pH 8.4 の Tris-HCl に替え、逆転写時に RTmate を使用することで立ち上がりサイクルと蛍光強度の両方に優れた抽出法とすることができた。

3.3 炭水化物の混入対策

平成 20 年度からの検討において、同じ食品であるにもかかわらず、著しく検出効率が悪い場合があり、再現性の問題を解決する必要があった。原因として、食品に多く含まれる炭水化物は物理化学的挙動が核酸（ポリリボースが骨格となった複合多糖類）と同じであるため、精製

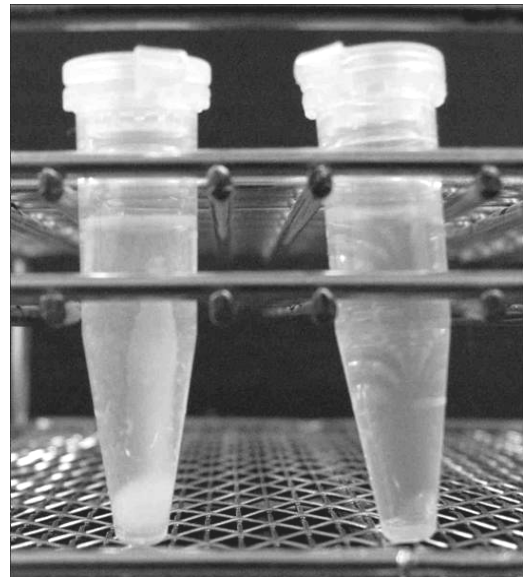


図 4B 食品処理袋使用による炭水化物除去試験

過程で最後まで混入してくることが考えられる。そこで、次の 2 点において改良を加えた。

3.3.1 食品処理袋の使用

最初の洗滌過程で遠心とスポイト等による分取だけでは、食品残渣を除去しきれないため、その程度によっては検出効率に影響が及ぶ。そこで、食品を洗滌液で処理する際に専用の処理袋（図 4A）を用いることで、残渣の混入を最小限に抑えることとした。この袋は内部にフィルターが付いており、濾過された洗滌液だけをスポイトで取り出すことができるようにデザインされている。こうして回収した洗滌液を改めて 3,000 rpm 30 分遠心することで残渣を完全に除去できる。図 1 に示したプロトコルにおいて、

カラムにアプライする直前にエタノールを添加するステップがあるが、炭水化物の混入があるところで沈澱が生じてしまう（図 4B）。この沈澱には核酸が共沈してくるため、安易に除去すると検出効率が落ちることになる。また、懸濁液のままカラムにアプライすると目詰まりを起こすことになる。カラムの説明書に記載されている条件（8,000, rpm 1 分）よりも強い条件（15,000, rpm 1 分）で遠心すると、とりあえずは最後まで精製作業を継続できるが、最終的な RNA 抽出液に大量の炭水化物が混入することにかわりはなく、その後の逆転写反応等に影響が出る。図 4C に示すとおり処理袋を使用することで蛍光強度が増大し、増幅効率向上に寄与しているのがわかる。

3.3.2 アミラーゼ処理

食品処理袋の使用により炭水化物を物理的に除去することが可能であるが、より完全な効果を得るため、逆転写反応直前に α -アミラーゼ処理を行った。この処理は、DNase I 処理と同時に行うことができるため、より精製度の高い RNA を得ることが期待できる。図 5A では効果を確認するために食品処理袋を使わない条件で（大量の炭水化物が混入している）アミラーゼ処理の有無による増幅曲線比較した。これによると、アミラーゼ処理によって増幅曲線が改善されているのがわかる。図 5B は食品処理袋を使用した場合におけるアミラーゼ処理の効果を見たものであるが、処理袋使用の段階で炭水化物のかなりの部分が除去できているため図 5A と比べるとその差は小さい。

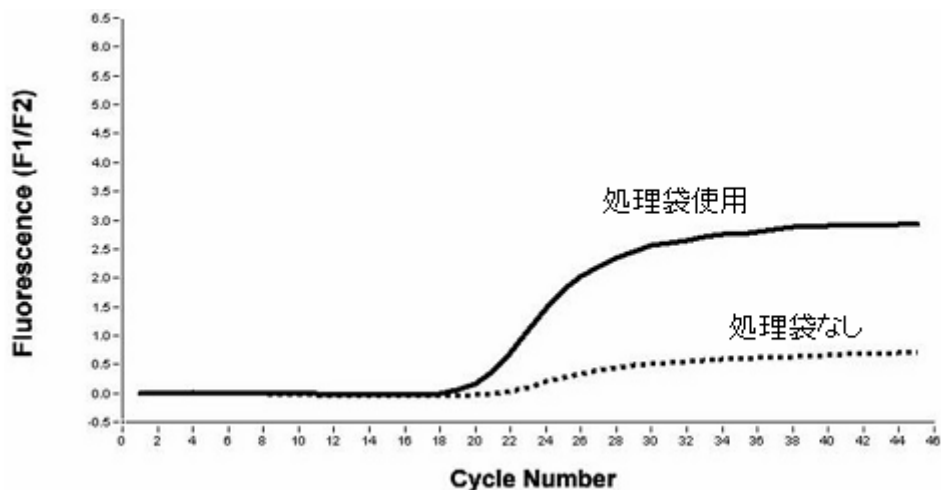


図 4C 食品処理袋の効果（ポテトサラダ）

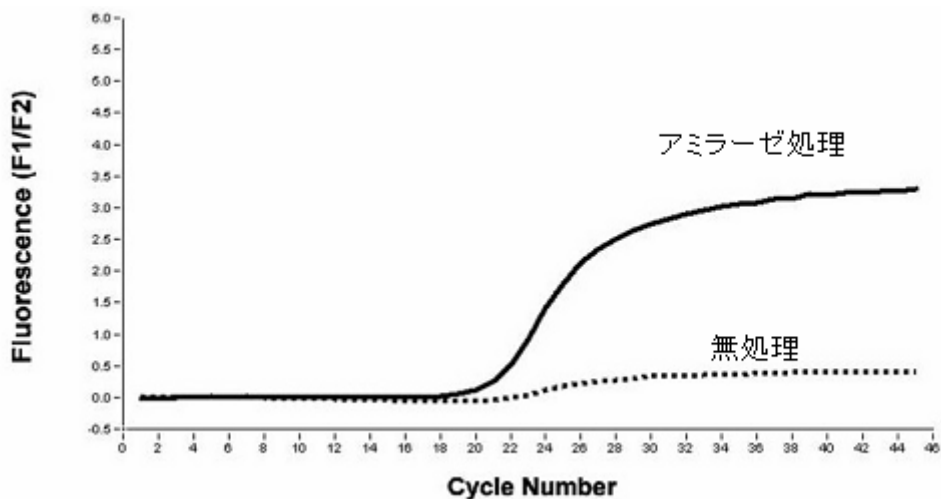


図 5A アミラーゼ処理の効果（ポテトサラダ：処理袋なし）

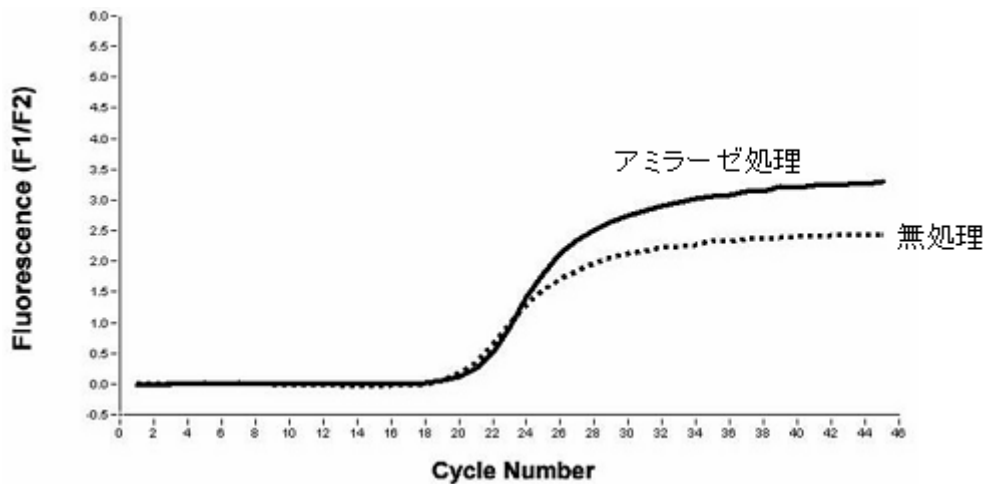


図 5B アミラーゼ処理の効果（ポテトサラダ：処理袋使用）

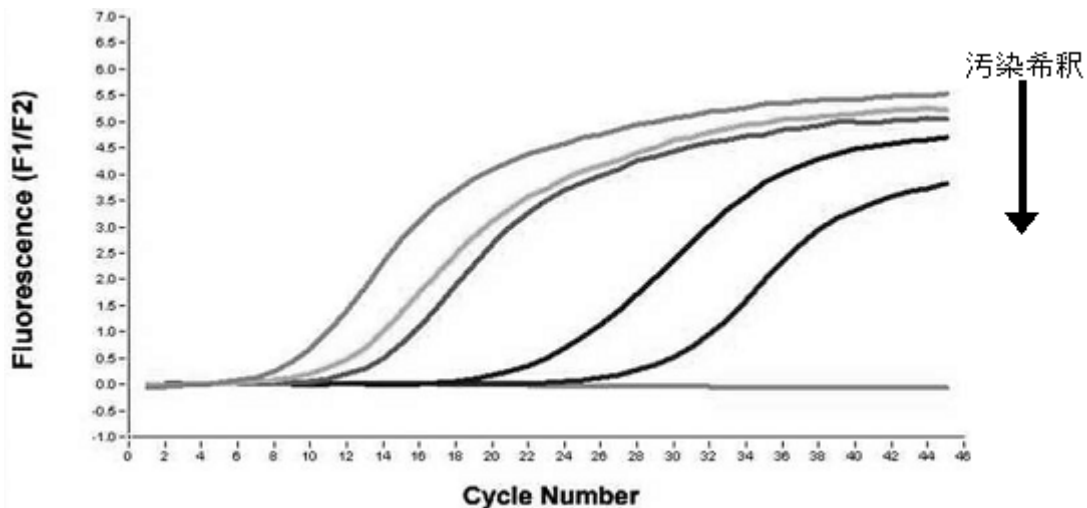


図 6 Nested PCR の例（焼ソバ）

3.4 Nested PCR への応用

パントラ法の開発段階では検出効率等を比較検討する必要があるために、抽出した RNA をそのままリアルタイム PCR で解析している。しかし、実際の検査に用いるようになれば、限界まで感度を高めるために Nested PCR を用いることも視野にいておく必要がある。図 6 は汚染度を段階的に下げた焼ソバからパントラ法で抽出した RNA に対して Nested PCR を行った増幅曲線である。機器に表示されるコピー数そのものは定性と見なすものの、オリジナルの糞便に含まれる NV のコピー数と希釈率から計算した理論上の検出限界は、焼ソバで 13 コピー/g 食品、ポテトサラダで 44 コピー/g 食品であった。

4. 考察

4.1 昨年度における課題とその改良

4.1.1 カラムによる抽出方式への対応

開発の初期段階では黄色ブドウ球菌の沈澱から NV の RNA を抽出する際に TRIzol-LS 等のフェノール抽出系の試薬で処理し、最後にイソプロピルアルコール沈澱によって回収する方法を用いていた。この方法でも一定の効果は認められたが、作業をより簡便化するために全国的に汎用されているカラム方式のキットへの対応を検討した。図 2A と図 2B を比較すると、糞便検体で最適な方法がパントラ法でも最適とは限らないことがわかる。また、評価すべきファクターとしてこれまではコピー数のみに注目してきたが、それは増幅曲線の立ち上がりサイクル数のことであり、見かけ上のコピー数が多くとも蛍光強度が低い場合もあることが図 2B から見て取れる。高濃度汚染では検出効率が高くと、少し汚染度を下げるだけで検出できなくなるケ

ースはここに原因があるものと考えられる。図 3A と図 3B に示したとおり、食品洗滌液の pH を Protein A の最適条件である 8.4 とし、さらに逆転写反応のエンハンサーを用いることで、検出効率を落とすことなくカラム方式に適合させることができた。

4.1.2 炭水化物の混入対策

炭水化物は核酸と同じ挙動を示すため、除去が困難で結果に影響を及ぼすことは以前から知られていた。したがって、同じ食品であっても炭水化物混入の程度によって再現性に問題が生じることとなる。本研究では、最初の洗滌段階で専用の食品処理袋を使用することで食品残渣を取り除く方法（図 4A, 4B, 4C）と逆転写反応直前に α -アミラーゼによって混入した炭水化物を分解する方法（図 5A, 5B）について検討した。両者とも効果が認められたが、実用化にあたっては併用することでさらなる検出効率の向上が期待できるものと考えられる。

4.1.3 低濃度汚染検体への対応

平成 20 年度の研究では、汚染度が下がるほどパントラ法における検出効率が漸減し、従来の PEG 沈澱法の方が良い成績となる場面があった。逆転写時のプライマーをランダムプライマーから特異的プライマーに変更することでこの問題を解決することができた¹¹⁾。

本稿では、別の視点から Nested PCR に相当する手法について検討を行った（図 6）。あらかじめ、通常の PCR で予備増幅（1st. PCR）を行って、その産物をリアルタイム PCR で解析する方法で、定性試験と割り切ることで、ゲル電気泳動をハイブリダイゼーションで確認したのと同等の効果が見込めるものと考えられる。コピー数が既知の糞便を段階希釈して検出限界を調べたところ食品 1 g 当たりに換算して、焼ソバで 13 コピー、ポテトサラダで 44 コピーの汚染まで検出可能であった。平成 19 年 7 月 18 日付けで、薬事・食品衛生審議会食品衛生分科会食中毒部会へ提出するための資料としてのアンケート調査が実施されたが、その中で定量値が回答されていたものもあり、生カキで 36.4, 38.8, 64.6 コピー/g となっている。したがって、パントラ法と Nested PCR を併用することで一般の

食品であっても生カキに相当する検出効率が期待できるものと考えられる。

4.1.4 GⅡ/4 以外の血清型へ対応

開発段階においては状況を単純化するために GⅡ/4 型に的を絞ったが、実用化のためには他の血清型にも幅広く対応させる必要がある。この場合、糞便検査で型を決定してから食品を検査するといったプロセスは時間がかかり過ぎるため行政対応としては現実的ではない。最初の段階で多くの血清型の NV に対応するためには次の 2 通りの方法が考えられる。

①ブロードバンドのモノクローナル抗体を用いる方法：生産と安定供給は比較的容易であるため第一に検討すべき方法である。ただし、Rabbit IgG に比べて Mouse IgG はパンソルビンに対する親和性が弱いので処理条件等を調整する必要がある。

②現在のところ感染研で準備している NV に対する抗血清は、GⅠについては 1,2,3,4,8,11 型の 6 種で、GⅡについては 1-8,10,12,14,15,17 型の 13 種である。理論上はこれらの 19 種類の抗血清を混合使用すれば目的は達成できる。Rabbit IgG であるため、処理条件等は現行のままでも問題ないが、全国的な普及を視野に入れた場合、安定供給に不安が残るのも事実である。

4.2 パントラ法の今後の展開

残された課題としては他の血清型への対応が主眼となり、今後は基本的にはブロードバンド・モノクローナル抗体の使用を検討してゆく。本法は添加する抗体さえあれば NV 以外にも適用可能であるため、サポウイルスや HAV などにも用いることができると考えられる。また、実際に食品検査に用いるようになった場合の効果として、出荷前検査はいかに本法をもってしても限界があり現実的ではない。しかし、食品中のウイルスを検査する本法が広く普及することは、調理従事者の衛生管理意識の一層の向上を促すことに繋がり、食中毒の抑止効果が期待できると考えられる。

参考文献

- 1) 薬事・食品衛生審議会 食品衛生分科会食

- 中毒部会：ノロウイルス食中毒対策について（提言），2007, 1-2.
- 2) 国立感染症研究所感染症情報センター，国立感染症研究所ウイルス第二部：ノロウイルス集団発生事例に対して感染症および食品部局が共同で実施する初期実地疫学調査および微生物学的検査のポイント（第1版：平成19年11月18日付け），2007, 16-17.
 - 3) 丸山務（監修）：改訂 ノロウイルス現場対策，2007, 35-36.
 - 4) M.A.Borchardt et. al.: Incidence of enteric viruses in ground-water from Household Wells in Wisconsin, Appl. Env. Microbiol., **69**, 2, 2003, 1172-1180.
 - 5) 斎藤博之,他：簡易水道が原因と考えられたノロウイルスの流行，病原微生物検出情報，**26**, 6, 2005, 150.
 - 6) 斎藤博之，他：パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収，厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書，2008, 103-111.
 - 7) 東方美保，他：パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収（検討2），厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書，2008, 125-133.
 - 8) 斎藤博之，他：食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の開発，秋田県健康環境センター年報，**4**, 2008, 75-81.
 - 9) 東方美保，他：パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収検討（第1報），福井県衛生環境研究センター年報，**7**, 2008, 69-72.
 - 10) 斎藤博之，他：パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良（検討1），厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書，2009, 27-38.
 - 11) 東方美保，他：パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良（検討2），厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書，2009, 181-190.
 - 12) G.S.Hansman, et al.: Genetic and antigenic diversity among noroviruses, J. Gen. Virol., **87**, 4, 2006, 909-919.
 - 13) T. Kageyama et. al.: Broady reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR, J. Clin. Microbiol., **41**, 4, 2003, 1548-1577.

雄物川流域におけるツツガムシの生息状況とツツガムシ病病原体

Orientia tsutsugamushi の検索（平成21年の調査成績）

佐藤寛子 佐藤了悦 柴田ちひろ 斎藤博之 安部真理子 齊藤志保子 高橋守^{*1}
 藤田博己^{*2} 角坂照貴^{*3} 高田伸弘^{*4} 川端寛樹^{*5} 高野愛^{*5} 国生泰範^{*6} 須藤恒久^{*7}

平成20年8月、秋田県においては15年ぶりとなるアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病患者の発生が確認された。このことから翌平成21年、われわれは感染推定地点を含む雄物川流域において、ツツガムシの生息調査とツツガムシ病病原体*Orientia tsutsugamushi*の検索を実施した。その結果、アカツツガムシの生息を確認し、捕獲した野鼠からKato型*Orientia tsutsugamushi*を検出、分離した。雄物川流域では毎年8月、全国から観光客が集まる大規模イベントが開催されているが、その会場内においてもアカツツガムシの生息を確認した。今後も当該地域におけるツツガムシの生息調査と病原体の実態把握に努め、得られたデータを地域社会へフィードバックするとともに、夏季のツツガムシ病の発生に関する全国的な啓発も必要であると考えられた。

1. はじめに

ツツガムシ病はツツガムシ病病原体*Orientia tsutsugamushi*(*O.tsutsugamushi*)を保有するツツガムシの幼虫に刺咬されることにより発症する急性感染症で、届出を要する四類感染症に含まれる。テトラサイクリン系の薬剤治療が有効であり、予後は比較的良好であるが、治療が遅れた場合は播種性血管内凝固症候群などの重篤な症状を呈し、場合によっては死に至ることもあるため^{1,2)}、初期の診断と治療が重要となる。我が国における患者発生は、全都道府県を合わせると年間400例前後あり、5～6月と11～12月の2つの時期に集中している³⁾。夏季に発生するツツガムシ病は、アカツツガムシが媒介するKato型*O.tsutsugamushi*によるものとされ、かつて本県の他に山形、新潟県で多発する風土病とされていた歴史がある^{4,5)}。しかし、近年は全国的にKato型*O.tsutsugamushi*による患者発生や当該病原体検出の報告はなく^{6,7)}、秋田県においては平成5年の患者発生が最後であった。ところが平成20年8月、血清診断の結果からアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病が強く疑われる患者が確認された⁸⁾。患者は発病の9日前、かつて夏季に多くの患者報告があった大仙市大曲の雄物川河川敷で

釣りをしていたことが判明した。このことを受けて、翌平成21年、われわれは感染推定現場のツツガムシ生息調査と病原体の検索を行ったので報告する。

2. 方法

2.1 調査時期

平成21年4月24日、7月10日、8月6日、8月27日の計4回実施した。

2.2 調査地点

- ①平成21年4月24日 大仙市角間川大中島（感染推定地点）、木内、大曲門目地区
- ②平成21年7月10日 大仙市角間川大中島、川目、大曲長戸呂地区
- ③平成21年8月6日 大仙市角間川大中島
- ④平成21年8月27日 大仙市角間川大中島、川目、大曲西根地区（雄物川河川緑地公園）

2.3 調査方法

2.3.1 野鼠の捕獲

野鼠の捕獲はシャーマントラップを用いた生け捕りによった。1地点あたり20～50個のトラップを午後3時から5時頃までに設置し、翌朝、回

^{*1}埼玉県立川越高等学校、^{*2}大原総合病院附属大原研究所、^{*3}愛知医科大学医学部、^{*4}福井大学医学部、^{*5}国立感染症研究所、^{*6}秋田厚生連平鹿総合病院、^{*7}秋田大学

収した。

2.3.2 野鼠の処理

捕獲した野鼠は種別、性別、体重を記録した後、麻酔屠殺し、心臓穿刺による採血を行い、脾腫の確認と摘脾を行った。脾臓は使用時までドライアイスで凍結した。トラップ内で死亡していた野鼠については採血を行わなかった。

2.3.3 ツツガムシの捕集と同定

野鼠個体を持ち帰り、懸垂法⁹⁾によりツツガムシを捕集し、種別を同定した。また、地表面からのツツガムシ幼虫の直接採取は黒布見取り法¹⁰⁾により行った。

2.4 *O. tsutsugamushi*の検索

2.4.1 野鼠血清抗体価の測定

野鼠の血液は3,000 rpmで遠心後、血清を分離し、須藤の方法による間接免疫ペルオキシダーゼ (IP) 法¹¹⁾に準じて *O. tsutsugamushi* 6抗原 (Gilliam, Karp, Kato, Irie/Kawasaki, Hirano/Kuroki, Shimokoshi型) に対する抗体価を測定し、抗体価10倍以上を示した場合を陽性と判定した。

2.4.2 野鼠脾臓からの *O. tsutsugamushi* のDNA検出と分離

野鼠脾臓は磨砕した後、SPG (sucrose phosphate-glutamic acid) 液で10%乳剤とし、この試料についてマウスへの接種とPCRを行った。発症が認められたマウスの脾臓を野鼠の場合と同様のSPG乳剤とし、L929細胞に接種して培養を行った。未発症マウスについては、さら

に2回継代し、その脾臓についてPCRを実施した。マウス接種は、国立感染症研究所病原体検出マニュアルの病原体検出法¹²⁾に準拠し、ICRマウス (8週齢) を用いて行った。細胞培養は藤田の方法¹³⁾に準じ実施した。PCRはQIAamp DNA Mini Kit (QIAGEN社) を用いてDNA抽出を行い、これを鋳型として *O. tsutsugamushi* の56 kDa外膜蛋白遺伝子を標的にしたFuruyaらの方法^{14,15)}に準じた。

3. 結果

3.1 野鼠の捕獲およびツツガムシ採取の結果

野鼠の捕獲総数は48頭であり、種別ではアカネズミ39頭とハタネズミ9頭であった。そのうち、アカネズミ13頭、ハタネズミ9頭から3属6種のツツガムシ幼虫を採取した。その内訳はフトゲツツガムシ182、アカツツガムシ115、アラトツツガムシ43、ヒゲツツガムシ45、タミヤツツガムシ110、サダスクガーリエップツツガムシ2であった (表1)。なお、アカツツガムシは7月と8月上旬の調査における捕獲野鼠と地表に認められた。

3.2 *O. tsutsugamushi*の検索結果

3.2.1 野鼠血清抗体価

表2に各抗原に対する血清抗体価が10倍以上であった野鼠の個体数を示す。抗体陽性であったのは7月と8月上旬に捕獲した10頭で、そのうち7月の2頭と8月上旬の3頭のアカネズミがGilliam型に対する抗体価が他型より有意に高く、8月上旬に捕獲した2頭のハタネズミがKato型に対する抗体価が有意に高かった。抗体陽性の残り3

表1 捕獲した野鼠の種別と寄生ツツガムシ数

野鼠種別	調査月日				計
	4/24	7/10	8/6	8/27	
アカネズミ	12	19	7	1	39
ハタネズミ	1	0	1	7	9
フトゲツツガムシ	112	0	20	50	182
アカツツガムシ	0	5	81	29	115
アラトツツガムシ	32	2	2	7	43
ヒゲツツガムシ	45	0	0	0	45
タミヤツツガムシ	110	0	0	0	110
サダスクガーリエップツツガムシ	0	0	0	2	2

表2 捕獲野鼠の血清中 *O. tsutsugamushi* 抗体陽性数

	捕獲 野鼠	抗体価 (IP) 10 以上	抗原						
			Gilliam	Karp	Kato	Irie/ Kawasaki	Hirano/ Kuroki	Shimokoshi	UT*
4/24	13	0	0	0	0	0	0	0	0
7/10	19	5	2	0	0	0	0	0	3
8/6	8	5	3	0	2	0	0	0	0
8/27	8	0	0	0	0	0	0	0	0

*UT：型別不可：有意差（抗体価 4 倍以上）なし

表3 野鼠の脾臓PCRと分離培養結果

捕獲月日	野鼠 捕獲数	野鼠種別	性別	体重 (g)	脾臓 PCR	分離培養	Ot* ¹ 抗体価
4/24	13	アカネズミ	♀	37	—	Gilliam* ²	10 未満
		アカネズミ	♂	37	Gilliam		10 未満
		アカネズミ	♂	31	—		NT* ³
		アカネズミ	♀	33	—		NT* ³
7/10	19	アカネズミ	♀	36	Gilliam	Gilliam	160 倍 (Gilliam)
8/6	8	—	—	—	—	—	10 未満
8/27	8	ハタネズミ	♂	27	—	Kato	10 未満
		ハタネズミ	♀	35	Kato	—	10 未満
		ハタネズミ	♀	17	Kato	Kato	10 未満

*1: *Orientia tsutsugamushi* *2: 脾臓プール *3: NT: 死亡個体により採血不可

頭は7月の捕獲個体で、Gilliam, Karp, Katoの3抗原に対し、2個体が20～40倍、1個体が80～160倍であった。よって、抗原の種類間での有意な抗体価の違いが認められず、血清型別は特定できなかった。

3.2.2 野鼠脾臓からの *O. tsutsugamushi* のDNA検出と分離結果

表3に野鼠脾臓におけるPCRあるいは分離培養が陽性であった個体を血清抗体価と共に示す。4月の調査では捕獲した野鼠13頭のうち、抗体陽性の個体は0であったが、PCRで1頭のアカネズミがGilliam型陽性であり、その1頭を含む4頭のアカネズミ脾臓プールからGilliam型を分離した。7月の調査では、Gilliam型の抗体が陽性であったアカネズミ1頭から同型をPCRにより検出、分離した。8月上旬の調査では捕獲した8頭は全てPCR

陰性であり、分離もできなかった。8月下旬の調査では、捕獲した8頭は全て抗体陰性であったが、2頭のハタネズミからPCRにおいてKato型を検出した。また、PCR陽性であったハタネズミ2頭のうち1頭から、陰性であったハタネズミ1頭から、それぞれKato型を分離した。さらに、感染推定現場より下流の河川公園においても多くのアカツツガムシを黒布見取り法により確認し得た。

4. 考察

江戸時代から記録が残る夏季発生のアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病は近年患者報告がなく、アカツツガムシは消滅したと考えられるとする報告もある¹⁶⁾。しかし、今回の調査により本県では15年ぶりに発生した平成20年の同疾患患者の感染推定地点とその周辺地域で多くのアカツツガムシの生息を確認し、捕獲した野鼠脾臓から

アカツツガムシが特異的に保有するKato型を分離したことから、同地域には現在も *O. tsutsugamushi* を保有するアカツツガムシが生息していることが裏付けられた。また、感染推定現場より下流に位置する河川公園では毎年8月に全国から観光客が集まる大きなイベントが開催されているが、我々はその会場でも多数のアカツツガムシの生息を確認した。昭和51年以降の記録によれば秋田県内ではイベントへの参加が感染要因とされているツツガムシ病患者が、19人（主催者側スタッフ4人、立ち入り業者1人、観客14人）届出されている。その届出は平成3年を最後に途絶えていたが、平成20年に同河川域で患者が発生している事実と今回の調査結果から、再びイベント会場への立ち入りを原因とする患者が発生する可能性が示唆された。よって今後も過去に患者報告のある雄物川流域の調査を継続し、現在の病原体保有アカツツガムシの生息状況の実態を把握すると共に、秋田県内はもちろん、全国的な夏季のツツガムシ病の周知と医療機関へ向けての情報提供が重要であると考えられる。さらに、今後イベント開催地の自治体へも情報を提供しつつ、当センターと地元自治体が連携し観光客に向けての啓発と感染予防対策の実施が望まれる。

また、ツツガムシの活動期は環境温度に左右され、Gilliam型を媒介するフトゲツツガムシ幼虫の活動期は秋から初冬・翌春とされている¹⁷⁾。事実、本県においては5～6月と11月頃にその患者報告があり、このことはフトゲツツガムシ幼虫の活動期と合致している。しかし、今回の調査ではフトゲツツガムシが8月にも確認され、7月に捕獲した野鼠脾臓からGilliam型を分離した。このことから、この調査地域においては、古くから言われているアカツツガムシに加え、フトゲツツガムシも夏季に活動していて、病原体媒介に関係していることが明らかとなった。

今回の調査結果から、今後も当該地域におけるツツガムシ生息調査と病原体保有状況などの基礎データを収集し、地域社会へのフィードバックと共に、より積極的ツツガムシ病の啓発活動の実施が喫緊の課題であると考えられた。

参考文献

- 1) 須藤恒久：新ツツガムシ病物語，無明舎出版，1991，22.
- 2) 大谷勝実，村山尚子，早坂晃一，小川正見，木村淳：つつが虫病による死亡例-山形県，病原微生物検出情報，**22**，9，2001，216-217.
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター：つつが虫病・日本紅斑熱 2006～2009，病原微生物検出情報，**31**，5，2010，1.
- 4) 佐々学：恙虫と恙虫病，医学書院，1956.
- 5) 須藤恒久：ツツガムシ病を暴く，秋田魁新報社，1996，5-7.
- 6) 古屋由美子，片山丘：つつが虫病原体の知見ーより良い検査に向けてー，ダニと新興再興感染症，全国農村教育協会，2007，141-145.
- 7) 大谷勝実，金子紀子，青木敏也，村田敏夫：山形県で発生したKawasaki型つつが虫病，感染症誌，**83**，5，2009，496-499.
- 8) 佐藤寛子，國生泰範，柴田ちひろ，斎藤博之，斎藤志保子，藤田博己，須藤恒久：秋田県において15年ぶりに確認された古典型つつが虫の1例，感染症誌，**84**，4，2010，454-456.
- 9) 高田伸弘：病原ダニ類図譜，金芳堂，1990，94.
- 10) 高田伸弘，藤田博己，岩崎博道，矢野泰弘，大竹秀男，溝口二郎：河川敷環境のツツガムシ病「予防の手引き」策定の試み，大原総合病院年報，**42**，1999，11-25.
- 11) 我が国における最近のつつが虫の現状と早期迅速診断法ー特に免疫ペルオキシダーゼ反応による三型IgG,IgM抗体の完全同時測定法についてー，臨とウイルス，**11**，1，1983，25-28
- 12) 国立感染症研究所(レファレンス委員会)地方衛生研究所全国協議会：リケッチア感染症診断マニュアル，平成12年
- 13) 藤田博己：過去15年における培養細胞を用いた病原体分離法の改良と実績．大原総合病院年報，2008，**48**：21-42
- 14) Furuya Y, et al.: Specific amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA from clinical specimens by polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., **29**，11，1991，2628-2630.
- 15) Furuya Y, et al.: Serotype-specific amplification *Rickettsia tsutsugamushi* DNA by nested polymerase chain reaction, J. Clin. Microbiol., **31**，6，1993，1637-1640.
- 16) 国立感染症研究所感染症情報センター：感染

症の話 ツツガムシ病, 2002年第13週号

17)田原研司, 山本正悟: つつが虫病ー多種多彩

な疫学ー, ダニと新興再興感染症, 全国農村教育協会, 2007, 152.

秋田県におけるヒトパピローマウイルス（HPV）検出状況

柴田ちひろ 佐藤寛子 斎藤博之 安部真理子

性感染症を起こす病原体の1つであるヒトパピローマウイルス（HPV）は、子宮頸がんとの関連から発がん性ウイルスとして広く知られている。男性でも一部のがんに HPV の関与が報告されていることから、今回、男性にも着目して秋田県内の HPV 感染状況について調査した。その結果、有効検体 136 検体（男性 73 検体、女性 63 検体）のうち、男性 7 検体（検出率 9.6%）、女性 21 検体（検出率 33.3%）に HPV の感染が確認され、検出された型の大部分はがんとの関連性が高いとされるハイリスク型であった。また、女性陽性者 21 名中 6 名からは同時に異なる 2 つの型が検出されたため重感染が疑われた。今回、男性由来の尿検体からも HPV が検出されたことで、膀胱がん等の尿路系がんにも HPV が関与する可能性が示唆された。

1. はじめに

ヒトパピローマウイルス（HPV）は、男女ともに感染するごくありふれたウイルスで、性行為感染症（STI：Sexually Transmitted Infections）の尖圭コンジローマの原因となる病原体である。その一方で、ハイリスク型と呼ばれる一部の型は発がん性ウイルスとしても知られており、とりわけ子宮頸がんと密接に関連していることが広く認知されている。男性でも陰茎がんの約半数に HPV が関与しているという報告¹⁾があるが、その発生数の少なさから男性における HPV 感染については、女性ほど研究が進んでいないのが現状である。しかし、昨年 12 月から子宮頸がん予防ワクチンが販売されたことで、予防医学の観点からも今後は女性のみならずパートナーである男性の感染状況を知ること重要になってくると考えられる。そこで今回、秋田県における HPV 感染状況について調査したので報告する。

2. 方法

2.1 対象と検査材料

平成 21 年 6 月～平成 22 年 3 月の泌尿器科受診者 100 名（男性 94 名、女性 6 名）および平成 21 年 6 月～10 月の産婦人科受診者 57 名（全て女性）を対象に調査した。男性 94 名の内訳は、尿路・性器感染症の自覚症状を訴える患者 84 名と STI 相談等で受診した自覚症状のない患者 10 名であった。女性 63 名の内訳は、妊婦検診者 47 名、STI 相談者 11 名、膣炎等患者 5 名であった。文書による同意を得た後、検査材料として泌尿器科

受診者からは尿検体、産婦人科受診者からは子宮スワブ検体を採取した。

2.2 実験方法

2.2.1 DNA の抽出

尿検体は自動核酸精製装置（Roche 社、MagNA Pure LC2.0）により尿 200 μ L から 50 μ L の DNA 濃縮抽出液を得た。子宮スワブ検体は D.W.500 μ L に攪拌混合してウイルスを液中に抽出した後、QIAamp DNA Mini Kit（QIAGEN）を使用して DNA の抽出を行った。

2.2.2 β -globin の検出

尿中には PCR 阻害物質の存在が指摘されていることなどから、尿検体については内部標準物質としてヒトゲノム中に存在する β -globin を primer β -GPCO/ β -GPCPO を用いた PCR 法²⁾にて検出し、陽性となった検体のみを有効検体として以後の検討に用いた。

2.2.3 HPV の検出と型判定

HPV の検出には、primer PGMY09/11 と GP5⁺/6⁺ を用いた nested-PCR 法³⁾（以下 MY/GP 法）及び primer L1C1/L1C2M による PCR 法⁴⁾（以下 LC 法）の 2 法を併用した。PCR 陽性検体はダイレクトシーケンスにて型を決定し、性感染症診断・治療ガイドライン⁵⁾に準じ、リスク分類を行った。

3. 結果

3.1 β -globin の検出

尿検体の PCR の結果、男性は 94 検体中 73 検体、女性は 6 検体全てから β -globin が検出された（表 1）。この結果より本調査における検討対象は、子宮スワブ検体を併せて男性 73 検体、女性 63 検体の計 136 検体とした。

表 1 尿検体の β -globin 検出結果

	対象数	β -globin検出数 (有効検体数)	検出率(%)
男 性	94	73	77.7
女 性	6	6	100
計	100	79	79.0

3.2 HPV 検出結果および型別

有効検体 136 検体中男性 7 検体、女性 21 検体の計 28 検体から HPV が検出された（表 2）。一般女性の結果を反映していると考えられる妊婦検診者の陽性率は 19.1%であった。

表 2 HPV 検出結果

	有効検体数	HPV陽性検体数	検出率(%)
男 性	73	7	9.6
自覚症状のある患者	64	7	10.9
自覚症状の無い患者	9	0	0
女 性	63	21	33.3
妊婦検診者	47	9	19.1
STI相談者	11	9	81.8
膣炎等患者	5	3	60.0

HPV が検出された男性 7 例の結果を表 3 に示す。全ての検体において MY/GP 法のみ陽性で LC 法は陰性であった。型別結果は、ハイリスク型が 5 例、中間リスク型 1 例、ローリスク型が 1 例（11 型）であった。11 型は 6 型と共に尖圭コンジローマの主な原因型であるが、この陽性者についても尖圭コンジローマの合併がみられた。

次に、HPV が検出された女性 21 例の結果を表 4 に示す。全例において MY/GP 法陽性であり、うち 8 例は LC 法にも陽性であった。型別の結果、両法で陽性であった 8 例中 6 例において MY/GP 法と LC 法とで異なる型が判定された。

4. 考察

4.1 β -globin 検出率結果

重原らが男性尿道炎患者を対象に行った調査では、尿からの β -globin 検出率は 64%であったと報告している⁶⁾。しかし、同時に行った性器擦過検体および遠位部尿道擦過検体からの検出率はそれぞれ 83%、89%であり、尿よりも検体としての有用性は高いとしている。本調査における尿からの β -globin 検出率は 79.0%（79/100）とやや高い結果であったが、これは検体からの DNA 抽出方法の違いによって生じた差であると考えられた。しかし、性器及び遠位部尿道擦過検体の検出率に比較すると劣る結果であったことから、今後このような調査を行うにあたって尿を検体として採用する場合には、DNA 抽出条件等を検討することで、 β -globin の検出率をさらに向上させることが必須であると考えた。

4.2 HPV 検出結果

性行動の活発な若年女性の HPV 検出率は 30～60%と報告されている⁷⁾が、一方で男性は解剖学上、女性と比較して STI の病原体が定着しにくいと言われている。今回の調査においても、HPV 検出率は男性 9.6%、女性 33.3%であり、明らかな性差が確認された。また、STI 調査において一般女性の結果を反映していると考えられる妊婦検診者の HPV 検出率が 19.1%であったのに対して、STI 相談者の検出率は 81.8%と高率であった。

表 3 HPV 男性陽性者の詳細結果

No.	年齢	主疾患	MY/GP法		LC法		備考
			genotype	リスク分類	genotype	リスク分類	
1	42	慢性前立腺炎	66	中間リスク	—	/	尖圭コンジローマ合併
2	25	急性尿道炎	58	ハイリスク	—		
3	37	慢性尿道炎	11	ローリスク	—		
4	47	急性尿道炎	33	ハイリスク	—		
5	16	慢性尿道炎	16	ハイリスク	—		
6	31	急性尿道炎	52	ハイリスク	—		
7	51	急性尿道炎	16	ハイリスク	—		

表 4 HPV 女性陽性者の詳細結果

No.	年齢	検体種別	受診理由	MY/GP法		LC法	
				genotype	リスク分類	genotype	リスク分類
1	21	子宮スワブ	STI相談	66	中間リスク	—	
2	18	子宮スワブ	STI相談	59	ハイリスク	—	
3	33	子宮スワブ	STI相談	16	ハイリスク	33	ハイリスク
4	26	子宮スワブ	STI相談	16	ハイリスク	70	ローリスク
5	32	子宮スワブ	妊婦検診	52	ハイリスク	—	
6	25	子宮スワブ	妊婦検診	52	ハイリスク	—	
7	30	子宮スワブ	STI相談	45	ハイリスク	89	ローリスク
8	32	子宮スワブ	妊婦検診	66	中間リスク	—	
9	29	子宮スワブ	妊婦検診	33	ハイリスク	51	ハイリスク
10	26	子宮スワブ	STI相談	58	ハイリスク	—	
11	44	子宮スワブ	STI相談	16	ハイリスク	—	
12	20	子宮スワブ	STI相談	18	ハイリスク	18	ハイリスク
13	32	子宮スワブ	妊婦検診	16	ハイリスク	51	ハイリスク
14	26	子宮スワブ	妊婦検診	58	ハイリスク	—	
15	37	子宮スワブ	妊婦検診	39	ハイリスク	39	ハイリスク
16	22	子宮スワブ	妊婦検診	58	ハイリスク	53	中間リスク
17	37	子宮スワブ	妊婦検診	16	ハイリスク	—	
18	27	子宮スワブ	STI相談	16	ハイリスク	—	
19	41	尿	膣炎	68	ハイリスク	—	
20	20	尿	膣炎	62	ローリスク	—	
21	42	尿	膣炎	16	ハイリスク	—	

このことは、STI 相談者の中に一般女性よりも STI に罹患する危険性が高いとされる性風俗産業従事者（CSW）が含まれていたためと考えたが、CSW から男性へ、男性から一般女性へという感染経路も推察されることから、今以上に CSW に対する STI 予防の啓発が必須であると考えた。

検出法については、男女の全陽性例において MY/GP 法陽性であったが、そのうち LC 法にも陽性であったのは女性 8 例のみで、検出率に差がみられた。これは MY/GP 法が増幅操作を 2 度行う nested-PCR であるのに対して、LC 法は増幅操作が 1 度のみであることから、増幅効率に差があるためと考えられた。しかし、MY/GP 法と LC 法とでは検出可能な型が異なり、MY/GP 法では検出できない型が LC 法で検出される場合もあることなどから、LC 法の併用は有用と考える。

型別については、男女ともに検出型の大部分がハイリスク型であった。今回の調査では男性の HPV 陽性例が少なかったものの、過去に女性を対象に行われた調査⁸⁾で高頻度に検出された型

が本調査の男性陽性例からも検出されたことから、男性も女性とほぼ同様の型分布傾向にあることが推察された。女性については、MY/GP 法と LC 法とで異なる型が検出された検体が 6 例あった。いずれの結果も DDBJ (DNA Data Bank of Japan) に登録されている塩基配列との相同性が非常に高いことから、これら 6 名については重感染の可能性が強く疑われた。また、女性陽性者 21 名のうち、現在販売されている子宮頸がん予防ワクチンの対応型である 16, 18 型のみが検出されたのは 5 名 (23.8%) であり、重感染疑い 6 名を含むその他の 16 名からはワクチン非対応型が検出された。このことから、本調査対象における子宮頸がん予防ワクチンの HPV 感染症予防効果は 20～25%程度と推察された。しかし、これまでの報告⁸⁾からも、一般女性と子宮頸がん患者とでは検出される HPV の型別頻度が異なることが知られている。さらに、現在他のハイリスク型を含めた多価ワクチンの研究開発が国内外で進んでおり、今後子宮頸がん予防対策におけるワクチンへの期待はさらに高まっていくものと考え

られる。

今回、尿検体から HPV が検出されたことで、外性器のみならず下部尿路にも HPV の感染が疑われた。男性の HPV 関連がんとして知られている陰茎がん以外に、膀胱がん等の尿路系がんについても HPV が関与しているという報告⁹⁾があるが、本調査の結果からも尿路系がんに関与する可能性が示唆された。

近年、子宮頸がん患者の若年化が社会的に憂慮されており、その予防対策として子宮頸がん予防ワクチンによる HPV 感染予防が注目されている。全国各地の自治体でワクチン接種に対する助成制度が始まっており、その普及に向けた取り組みが進んでいる。しかし、HPV 感染症が STI である以上、女性への感染拡大にはパートナーである男性感染者の関与が存在する。男性の HPV 無症候性感染等についての報告^{10,11)}もあるが、その社会的認知の低さから、男性の HPV 感染については女性ほど研究が進んでいないのが現状である。そのため、HPV に関してはこれまで主に女性の問題として取り扱われることが多く、男性でも HPV の感染によりがんを生じる危険性があることはあまり知られていない。男性における HPV の感染実態を明らかにすることは、男性の感染予防やがん対策はもちろんであるが、ひいては女性の子宮頸がん予防対策等にも資するものであることから、今後の研究の進展が強く望まれている。

5. 謝辞

本調査に御協力を賜りました秋田泌尿器科クリニック 能登宏光先生、朝日ヶ丘レディースクリニック 樋口譲治先生、おーくらクリニック 大倉俊弥先生、いけがみレディースクリニック 池上俊哉先生に心から感謝申し上げます。

参考文献

1) Miralles-Guri C., Bruni L., Cubilla AL., et al.: Human papillomavirus prevalence and type

distribution in penile carcinoma, *J. Clin. Pathol.*, **62**, 10, 2009, 870-878.

- 2) Morre SA., van Valkengoed IGM., Jong A, et al.: Mailed, Home-Obtained Urine Specimens: a Reliable Screening Approach for Detecting Asymptomatic Chlamydia trachomatis Infections, *J. Clin. Microbiol.*, **37**, 4, 1999, 976-980.
- 3) Haws ALF., He Q., Rady PL., et al.: Nested PCR with the PGMY09/11 and GP5+/6+ primers sets improves detection of HPV DNA in cervical samples, *J. Virol. Methods*, **122**, 1, 2004, 87-93.
- 4) Yoshikawa H., Kawana T., Kitagawa K., et al.: Amplification and typing of multiple cervical cancer-associated human papillomavirus DNAs using a single pair of primers, *Int. J. Cancer*, **45**, 5, 1990, 990-992.
- 5) 広瀬崇興, 吉川裕之, 本田まり子: 尖圭コンジローマ, *日本性感染症学会誌*, **19**, 1 suppl., 2008, 67-70.
- 6) 重原一慶, 笹川寿之, 川口昌平, 他: 尿道炎患者における性器部位別の Human Papilloma virus 感染率と細胞診の検討, *日本性感染症学会誌*, **20**, 1, 2009, 185-191.
- 7) 井上正樹: HPV ワクチンの現況, *日産婦誌*, **59**, 9, 2007, 265-271.
- 8) Miura S, Matsumoto K, Oki A, et al.: Do we need a different strategy for HPV screening and vaccination in East Asia?, *Int. J. Cancer*, **119**, 11, 2006, 2713-2715.
- 9) Moonen PM, Bakkers JM, Kiemeny LA, et al.: Human papilloma virus DNA and p53 mutation analysis on bladder washes in relation to clinical outcome of bladder cancer, *Eur. Urol.*, **52**, 2, 2007, 464-468.
- 10) Takahashi S, Takeyama K, Miyamoto S, et al.: Incidence of sexually transmitted infections in asymptomatic healthy young Japanese men, *J. Infect. Chemother.*, **11**, 6, 2005, 270-273.
- 11) Partridge JM, Koutsky LA: Genital human papillomavirus infection in men, *Lancet Infect. Dis.*, **6**, 1, 2006, 21-31

加工食品中の残留農薬一斉分析のための C18 固相カラムによる 脱脂条件の検討

松田恵理子 泉谷孝英*¹ 山元志保*² 小林貴司

加工食品中の残留農薬一斉分析のために、C18 固相カラムを用いた迅速・簡便な脱脂方法を検討した。製法の異なる 4 種の C18 固相カラムを用い、有機リン系農薬 41 種、カーバメート系 12 種、有機塩素系 10 種、トリアゾール系 27 種、トリアジン系 10 種、ピレスロイド系 26 種およびその他 168 種の計 294 農薬について分画試験を行った。製法の異なる 4 種の C18 固相カラムでの農薬溶出パターンが異なり、そのうち 1 種の C18 固相カラムでは、検討した全ての農薬がアセトニトリル 5 mL での溶出が可能であった。この C18 固相カラムを用いて、冷凍餃子に一律基準濃度 (10 ng/g) の農薬標準品を添加し、回収試験を行った。その結果、検討した 294 農薬のうち、252 農薬で良好な回収率が得られた。

1. 緒言

中国製冷凍餃子による中毒事件以来、当センターでも冷凍加工食品の分析が課題となっている。緊急時の対応として、厚生労働省から有機リン剤に関する試験法が通知されたが、これは高濃度混入を前提としているため、低濃度残留に関する試験法は別に検討する必要がある。また、加工食品では残留農薬分析を妨害する脂質を多く含むことが多く、脂質成分を除去しなければ、測定機器への負荷が大きく、高い分析精度は望めない。そこで、残留農薬一斉分析のための脱脂方法の検討を行った。脱脂方法としては、アセトニトリル/ヘキサン分配^{1,2)}、C18 固相カラム^{3,4)}、GPC⁵⁾を用いる方法が報告されているが、使用する溶媒量が少なく迅速な方法である C18 固相カラムにより、脱脂条件を検討した。その結果より、最適と考えられた C18 固相カラムによる脱脂を行い、冷凍餃子を対象とした残留農薬一斉分析を行ったので、その結果を報告する。

2. 方法

2.1 対象農薬

検討対象農薬は、表 2 に示した有機リン系 41 種、カーバメート系 12 種、有機塩素系 10 種、トリアゾール系 27 種、トリアジン系 10 種、ピ

レスロイド系 26 種およびその他 168 種の計 294 種である。

2.2 農薬標準溶液

農薬標準品：o,p'-DDT, p,p'-DDT, アルドリン, エンドリン, ジコホール, スルプロホスおよびディルドリンは、Dr.Ehrenstorfer GmbH 製、イプロジオン代謝物およびインドキサカルブは、林純薬工業製、クロロニトロフェン、ヘプタクロルエポキシドおよびスピロメシフェンは、和光純薬工業製を用いた。

農薬標準原液：上記の各農薬標準品をアセトンに溶解し、10 mg/L に調製した。

農薬混合標準原液：関東化学製の農薬混合標準液 22, 31, 34, 48, 51 を用いた。

農薬混合標準溶液：調製した各農薬標準原液および農薬混合標準原液 22, 31, 34, 48 および 51 を混合し、アセトンで希釈して 500 µg/L および 100 µg/L の農薬混合標準溶液を調製した。ただし、メタミドホスおよびアセタミプリドは、5 倍濃度に調製した。また、異性体の存在する農薬のうち異性体を数字で示したものは、異性体の和が 500 µg/L および 100 µg/L となるように、E 体、Z 体で示したものは異性体ごとに前述の濃度に調製した。検討対象農薬数は、異性体も 1 農薬と数えた。

*¹ 秋田県生活環境部環境整備課, *² (財) 秋田県総合保健事業団

2.3 試薬

アセトニトリル（残留農薬 PCB 試験用・300 倍）、アセトン（残留農薬 PCB 試験用・300 倍）、ヘキサン（残留農薬 PCB 試験用・300 倍）および 1-ヘキサンスルホン酸ナトリウム（イオンペアクロマトグラフ用、以下 HSX と記載）は和光純薬工業製を用いた。C18 固相カラム（1000 mg）は、GL サイエンス社製の InertSepC18、InertSepC18-B および InertSep C18-C の 3 種類と Varian 社製の BondElutC18 を用いた。グラフアイトカーボン固相カラム（300 mg）および SAX/PSA 固相カラム（500 mg/500 mg）は、GL サイエンス社製を用いた。

2.4 装置

ガスクロマトグラフ-質量分析計:Agilent 社製ガスクロマトグラフ HP6890N および質量分析計 5973

超臨界流体抽出(SFE)装置:ISCO 社製 SFX220

2.5 GC/MS 分析条件

カラム:DB-XLB (30 m×0.25 mm, 0.10 μm), カラム温度:80℃ (1min) - 20℃/min - 140℃ (0min) - 4℃/min - 200℃ (0min) - 8℃/min - 300℃ (5min), キャリヤーガス:He, 注入法:パルスドスプリットレス (注入時圧:30psi, 1 min), 注入口温度:230℃, 注入量:4 μL, インターフェース温度:290℃, 検出器温度:230℃, 検出方法:SIM

2.6 SFE 条件

圧力:2000psi, 温度:40℃, リストリクター温度:50℃, スタティック抽出:15 min, ダイナミック抽出:30min, 抽出量:70 mL, 捕集溶媒:アセトン

2.7 分画試験

調製した 500 μg/L 農薬混合標準溶液 200 μL のアセトンを窒素パージで乾固し、アセトニトリル 2 mL に転溶した。これをアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした C18 固相カラムにこの溶液を全量負荷し、アセトニトリル 5 mL ずつ加えて溶出し、10 分画採取した。その後、各画分を窒素パージで乾固し、アセトン 1 mL で定容し、GC/MS で測定した。

2.8 添加回収試験

冷凍餃子を対象に 2 濃度の添加回収試験（添加濃度 10 および 50 ng/g, n=3）を行った。西名らの方法⁶⁾を参考に SFE -GC/MS 法により行った。分析法フローは図-1 に示すとおりである。ホモジナイズした試料 2.0 g を 30 mL ビーカーに量り採り、HSX 0.5 g およびウエットサポート 3.0 g を加え、均一にした。これを SFE 専用カートリッジに詰め、SFE 抽出し、抽出物はアセトンに捕集した。この抽出液をロータリーエバポレーターで濃縮し、窒素パージで乾固後、アセトニトリル 2 mL に溶解した。あらかじめアセトニトリル 10 mL でコンディショニングした C18 固相カラムに全量負荷し、アセトニトリル 10 mL で溶出した。この溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮し、窒素パージで乾固後、アセトン:ヘキサン=3:1 混合溶液 2 mL に溶解した。次に、あらかじめアセトン:ヘキサン=3:1 混合溶液 10 mL でコンディショニングしたグラフアイトカーボン固相カラム (300mg)

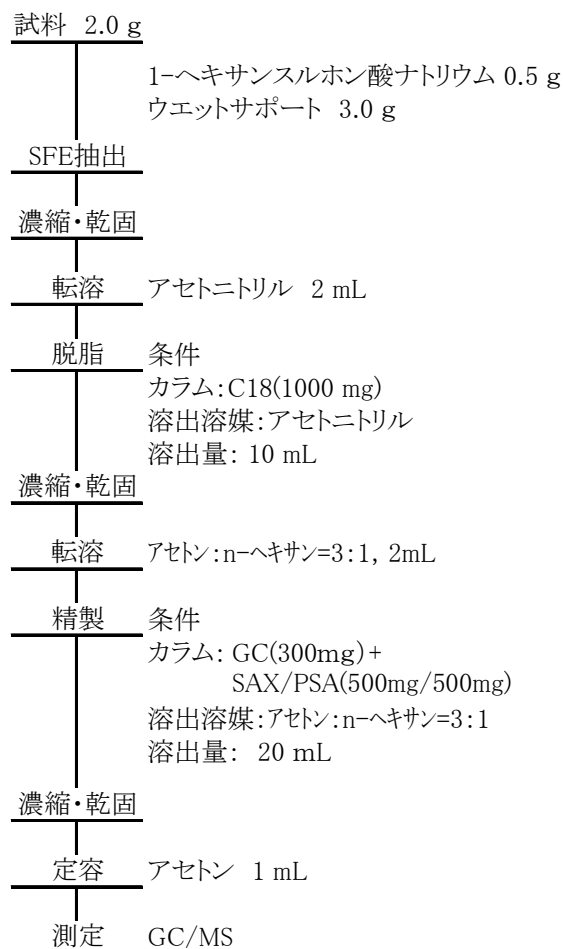


図 1 分析法フロー

+SAX/PSA (500 mg/500 mg) に全量負荷し、アセトン：ヘキサン＝3：1 混合溶液 20 mL で溶出した。この溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮し、窒素パージで乾固後、アセトン 1 mL で定容したものを試験溶液とした。

2.9 マトリックス添加標準溶液の調製

マトリックス添加標準溶液の調製は、500 µg/L 農薬混合標準溶液を 10, 20, 50, 100 および 200 µL 採取し、それぞれ窒素パージによって乾固した。次に、乾固物に 2.8 の方法で調整したマトリックス溶液を 0.5 mL ずつ加えて、10, 20, 50, 100 および 200 µg/L のマトリックス添

加標準溶液とした。0 µg/L の標準溶液は、マトリックス溶液を用いた。添加回収試験は、マトリックス添加標準液を用いて定量した。

3. 結果および考察

3.1 分画試験

分画試験の結果、検討に用いた 294 農薬のうち 250 農薬は、全ての C18 固相カラムでアセトニトリル 5 mL で溶出した。残りの 44 農薬は、C18 固相カラム毎に吸着やテーリングがみられ、溶出パターンが異なった。これら 44 農薬の溶出パターンについて表 1-1～1-4 に示す。4 種の固相カラムは、製品名は記さず、以後 C18-A, C

表1-1. 溶出に違いがみられた44農薬の溶出パターン(C18-A)

農薬名	溶出量(%)										総溶出量 (%)
	分画-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	
Azaconazole	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Ametryn	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Imibenconazole	114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	114
Imibenconazole-desbenzyl	117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	117
Etoazole	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Quinoxifen	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Chlorobenzilate	102	1	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Dicrotophos	113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	113
Difenoconazole-1	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	109
Difenoconazole-2	114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	114
Cyproconazole-1	91	1	0	0	0	0	0	0	0	0	92
Cyproconazole-2	82	1	0	0	0	0	0	0	0	0	83
Dimethametryn	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	105
Simetryn	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Spirodiclofen	123	0	0	0	0	0	0	0	0	0	123
Diazinon	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	110
Tebuconazole	83	1	0	0	0	0	0	0	0	0	84
Terbutryn	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	101
Triadimenol-1	119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	119
Triadimenol-2	122	0	0	0	0	0	0	0	0	0	122
Tricyclazole	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	109
Paclobutrazol	121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	121
Bitertanol	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	115
Pyrifenoxy-(E)	111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	111
Pyrifenoxy-(Z)	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Pirimicarb	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Pyrimidifen	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	109
Pirimiphos-methyl	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Pyrimethanil	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Fenpropimorph	90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	90
Bupirimate	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Buprofezin	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Flusilazole	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	110
Flutriafol	104	1	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Fluridone	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	108
Propiconazole-1	119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	119
Propiconazole-2	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	110
Prometryn	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Bromopropylate	94	1	0	0	0	0	0	0	0	0	95
Hexaconazole	68	2	1	0	0	0	0	0	0	0	71
Hexazinone	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Penconazole	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Methamidophos	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	115
Metalaxyl	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103

18-B, C18-C, C18-Dとした。

C18 カラムは、シリカゲルにオクタデシル基を化学結合させたカラムであり、オクタデシル化やエンドキャップ処理の方法が製品ごとに異なる。このため農薬の溶出には、オクタデシル基の量や残存シラノール量、基盤となるシリカゲルに含まれる微量の金属含量および溶出溶媒として何を用いるかなどによって農薬の溶出パターンが異なる。C18 カラムの吸着・溶出に関しては、農薬の水溶解度⁴⁾やLogPow⁷⁾、分子構造⁸⁾が影響するとされている。そこで、一斉分析した時に農薬成分の吸着がない固相カラムを得るために、各 C18 カラムについて、溶出パターンを比較した。

C18-A は、ポリメリック製法で高度に不活性

化処理されたカラムである。農薬 294 農薬全てがアセトニトリル 5 mL でほぼ溶出した(表 1-1)。

C18-B はモノメリック製法で、中程度に不活性化処理されたカラムである。11 農薬の回収率が 70%未満であり、そのうち、5 農薬が吸着し、30%以下であった(表 1-2)。吸着またはテーリングした農薬は、アザコナゾール、クロロベンジレート、ジフェノコナゾール 1、ジフェノコナゾール 2、シプロコナゾール 1、シプロコナゾール 2、テブコナゾール、パクロブトラゾール、ビテルタノール、ピリミジフェン、フェンプロピモルフ、フルトリアホール、プロピコナゾール 1、プロピコナゾール 2、プロモプロピレート、ヘキサコナゾール、ペンコナゾールの 17 農薬であった。このうち、13 農薬が 5 員環に N 原子が

表1-2. 溶出に違いがみられた44農薬の溶出パターン(C18-B)

農薬名	溶出量(%)										総溶出量 (%)
	分画-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	
Azaconazole	56	7	0	0	0	0	0	0	0	0	63
Ametryn	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Imibenconazole	130	0	0	0	0	0	0	0	0	0	130
Imibenconazole-desbenzyl	98	0	0	0	0	0	0	0	0	0	98
Etoazole	110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	110
Quinoxifen	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Chlorobenzilate	80	6	1	1	0	0	0	0	0	0	87
Diclotophos	126	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126
Difenoconazole-1	32	26	0	0	0	0	0	0	0	0	58
Difenoconazole-2	33	13	0	0	0	0	0	0	0	0	46
Cyproconazole-1	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Cyproconazole-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dimethametryn	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Simetryn	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	105
Spirodiclofen	84	0	0	0	0	0	0	0	0	0	84
Diazinon	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	105
Tebuconazole	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Terbutryn	82	0	0	0	0	0	0	0	0	0	82
Triadimenol-1	78	0	0	0	0	0	0	0	0	0	78
Triadimenol-2	66	0	0	0	0	0	0	0	0	0	66
Tricyclazole	86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Paclobutrazol	35	8	0	0	0	0	0	0	0	0	44
Bitertanol	78	8	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Pyriphenox-(E)	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Pyriphenox-(Z)	108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	108
Pirimicarb	107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	107
Pyrimidifen	44	37	0	0	0	0	0	0	0	0	81
Pirimiphos-methyl	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Pyrimethanil	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Fenpropimorph	0	0	20	52	3	0	0	0	0	0	75
Bupirimate	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Buprofezin	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Flusilazole	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92
Flutriafol	23	3	0	0	0	0	0	0	0	0	26
Fluridone	114	0	0	0	0	0	0	0	0	0	114
Propiconazole-1	75	7	0	0	0	0	0	0	0	0	82
Propiconazole-2	113	6	0	0	0	0	0	0	0	0	119
Prometryn	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	101
Bromopropylate	68	7	2	1	1	0	0	0	0	0	78
Hexaconazole	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hexazinone	99	0	0	0	0	0	0	0	0	0	99
Penconazole	33	29	0	0	0	0	0	0	0	0	61
Methamidophos	109	4	0	0	0	0	0	0	0	0	113
Metalaxyl	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	95

組み込まれた1,2,4-トリアゾール環をもつトリアゾール系農薬で、特に構造内にヒドロキシル基をあわせもつ農薬（シプロコナゾール 1, シプロコナゾール 2, テブコナゾール, フルトリアホール, ヘキサコナゾール）が強い吸着性を示し、30%以下の回収率であった。

C18-C は、ポリメリック製法で不活性度が低いカラムである。C18-B で溶出が遅れた 17 農薬のテーリングがさらに強くなり、加えてイミベンコナゾール, イミベンコナゾール脱ベンジル体, ジクロトホス, トリアジメノール 1, トリアジメノール 2, トリシクラゾール, ピリフェノックス E, ピリフェノックス Z, フルシラゾール, メタミドホスおよびメタラキシルの 11

農薬の合計 28 農薬の溶出が遅れた（表 1-3）。テーリングした 28 農薬のうち 19 農薬がトリアゾール系農薬であった。また、固相の不活性度が低いため、構造内に N 原子を含まないが、シリカゲル基材に微量に含まれる金属と配位化合物を形成するクロルベンジレート, ブロモプロピレート, の吸着が C18-B より強く、回収率が低かった。

C18-D は、モノメリック, エンドキャップありのカラムである。このカラムで溶出が遅れた農薬は、ジフェノコナゾール 1, ジフェノコナゾール 2, テブコナゾール, フルシラゾール, ヘキサコナゾール, ペンコナゾール, アメトリン, ジメタメトリン, シメトリン, テルブトリ

表1-3. 溶出に違いがみられた44農薬の溶出パターン(C18-C)

農薬名	溶出量(%)										総溶出量 (%)
	分画-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	
Azaconazole	0	1	6	4	1	0	0	0	0	0	13
Ametryn	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Imibenconazole	12	32	0	0	0	0	0	0	0	0	44
Imibenconazole-desbenzyl	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	11
Etoazole	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Quinoxifen	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Chlorobenzilate	32	14	4	2	1	1	1	1	0	0	55
Diclotophos	68	6	0	0	0	0	0	0	0	0	74
Difenoconazole-1	0	0	16	14	0	0	0	0	0	0	30
Difenoconazole-2	0	0	8	6	0	0	0	0	0	0	14
Cyproconazole-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cyproconazole-2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Dimethametryn	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	101
Simetryn	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Spirodiclofen	113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	113
Diazinon	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Tebuconazole	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Terbutryn	86	0	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Triadimenol-1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Triadimenol-2	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
Tricyclazole	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	6
Paclobutrazol	1	6	0	0	0	0	0	0	0	0	7
Bitertanol	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	6
Pyrifenoxy-(E)	3	29	0	0	0	0	0	0	0	0	32
Pyrifenoxy-(Z)	0	44	1	0	0	0	0	0	0	0	45
Pirimicarb	105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	105
Pyrimidifen	0	44	8	0	0	0	0	0	0	0	53
Pirimiphos-methyl	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	101
Pyrimethanil	103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	103
Fenpropimorph	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bupirimate	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100
Buprofezin	101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	101
Flusilazole	6	26	1	0	0	0	0	0	0	0	33
Flutriafol	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Fluridone	92	0	0	0	0	0	0	0	0	0	92
Propiconazole-1	0	0	14	3	0	0	0	0	0	0	17
Propiconazole-2	10	18	7	0	0	0	0	0	0	0	35
Prometryn	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102
Bromopropylate	16	9	4	2	2	2	1	1	1	0	39
Hexaconazole	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Hexazinone	94	0	0	0	0	0	0	0	0	0	94
Penconazole	0	0	10	9	2	0	0	0	0	0	21
Methamidophos	39	60	1	0	0	0	0	0	0	0	100
Metalaxyl	20	20	2	1	0	0	0	0	0	0	43

ン、プロメトリン、ダイアジノン、ピリミホス
メチル、ヘキサジノン、エトキサゾール、キノ
キシフェン、スピロジクロフェン、ピリフェノ
ックス E、ピリフェノックス Z、ピリミジフェ
ン、ピリメタニル、フェンプロピモルフ、ブピ
リメート、ブプロフェジン、フルリドンおよび
ピリミカーブの 26 農薬であった（表 1-4）。こ
のカラムでは、トリアゾール系農薬の吸着はみ
られなかったが、N 原子が 6 員環に組み込まれ
た環式アミンに特異的な吸着がみられた。溶出
の遅れた 26 農薬のうち構造内に 1,3,5-トリアジ
ン骨格をもつトリアジン系農薬が 6 農薬、構造
にピリミジン骨格を持つものが 6 農薬、ピリジ

ン骨格を持つものが 1 農薬であった。吸着が強
くほとんど溶出されてこなかったのがジメタメ
トリン、ピリミジフェン、フェンプロピモルフ、
フルシラゾールの 4 農薬だけであったが、溶出
時にテーリングし、溶離のために多くの溶離液
を必要とする農薬が多かった。

4 種のカラムは、残存シラノール基、シリカ
ゲル基材に微量に含まれる金属などの影響によ
り、それぞれ特徴的な溶出パターンを示したが、
最適な C18 固相カラムとして C18-A を選択し
た。また、最適な溶出液量は、ばらつきも考慮
してアセトニトリル 10 mL とした。

表1-4. 溶出に違いがみられた44農薬の溶出パターン(C18-D)

農薬名	溶出量(%)										総溶出量 (%)
	分画-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10	
Azaconazole	98	1	0	0	0	0	0	0	0	0	99
Ametryn	0	12	35	11	0	0	0	0	0	0	57
Imibenconazole	109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	109
Imibenconazole-desbenzyl	131	0	0	0	0	0	0	0	0	0	131
Etiozazole	0	0	14	22	0	0	0	0	0	0	36
Quinoxifen	0	21	25	1	0	0	0	0	0	0	47
Chlorobenzilate	115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	115
Diclotophos	159	0	0	0	0	0	0	0	0	0	159
Difenoconazole-1	98	10	0	0	0	0	0	0	0	0	108
Difenoconazole-2	115	5	0	0	0	0	0	0	0	0	121
Cyproconazole-1	110	3	0	0	0	0	0	0	0	0	112
Cyproconazole-2	90	3	0	0	0	0	0	0	0	0	93
Dimethametryn	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Simetryn	0	6	29	11	2	0	0	0	0	0	48
Spirodiclofen	0	0	13	23	0	0	0	0	0	0	36
Diazinon	111	6	0	0	0	0	0	0	0	0	117
Tebuconazole	73	13	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Terbutryn	0	15	9	6	0	0	0	0	0	0	30
Triadimenol-1	72	0	0	0	0	0	0	0	0	0	72
Triadimenol-2	73	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73
Tricyclazole	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Paclobutrazol	124	0	0	0	0	0	0	0	0	0	124
Bitertanol	104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	104
Pyrifenoxy-(E)	0	0	0	0	0	1	3	5	5	4	17
Pyrifenoxy-(Z)	0	0	0	0	0	1	4	6	5	3	20
Pirimicarb	0	0	0	0	1	10	13	9	4	2	39
Pyrimidifen	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4	7
Pirimiphos-methyl	0	0	7	49	9	1	0	0	0	0	66
Pyrimethanil	33	54	1	0	0	0	0	0	0	0	87
Fenpropimorph	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Bupirimate	0	14	22	3	0	0	0	0	0	0	40
Buprofezin	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
Flusilazole	91	8	0	0	0	0	0	0	0	0	98
Flutriafol	116	1	0	0	0	0	0	0	0	0	117
Fluridone	0	1	43	2	0	0	0	0	0	0	46
Propiconazole-1	110	3	0	0	0	0	0	0	0	0	113
Propiconazole-2	118	3	0	0	0	0	0	0	0	0	121
Prometryn	0	18	35	8	0	0	0	0	0	0	61
Bromopropylate	106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	106
Hexaconazole	56	12	0	0	0	0	0	0	0	0	69
Hexazinone	77	12	0	0	0	0	0	0	0	0	88
Penconazole	75	11	0	0	0	0	0	0	0	0	86
Methamidophos	136	1	0	0	0	0	0	0	0	0	138
Metalaxyl	102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	102

3.2 添加回収試験

添加回収試験の結果を表2に示す。平成19年11月15日付け、厚生労働省通知食安発第1115001号⁹⁾に従い、平均回収率70～120%、添加濃度により相対標準偏差(RSD)が15%以下(50 ng/g)および25%以下(10 ng/g)を良好な結果と判定した。10 ng/gの添加回収試験では、計252農薬、50 ng/gでは、計261農薬で良好な結果であった。判定基準を満たさなかった農薬は、試料由来の妨害成分によって測定できなかったと考えられた。また、クリーンアップに用いたグラファイトカーボンおよびSAX/PSAによる吸着が考えられたため、これらのクリーンアップカラムについても標準溶液を用いた溶出試験を行った。その結果、グラファイトカーボンでは、イミペンコナゾール、キノクラミン、キノメチオネート、クロルベンサイド、クロロネブ、シニドンエチル、ジフルフェニカン、ピコリナフェン、ピリミジフェン、ピリメタニルおよびフサライドの11農薬が吸着された。また、SAX/PSAでも、キノメチオネートが吸着された。

4. まとめ

C18 固相カラムの分画試験を行った結果、C18-A では、294 農薬全てがアセトニトリル 5 mL で溶出した。一方、C18-B、C18-C および C18-D では、アセトニトリル 50 mL 用いても全く溶出しない農薬があった。

最適と考えられた C18-A を用いて、冷凍餃子を対象に添加回収試験を行った結果、10 ng/g の添加濃度で 252 農薬、50 ng/g では 261 農薬で良好な回収率(70～120%)が得られた。以上の結果から、脂肪を多く含む冷凍餃子においても、C18 固相カラムで脱脂することにより、一律基準(10 ng/g)レベルで迅速かつ高精度の残留農薬一斉分析が可能となった。今後、対象加工食品の種類および分析項目を増やすことが課題である。

参考文献

- 1) 北川陽子, 起橋雅浩, 高取聡, 岡本葉, 福井直樹, 村田弘, 住本建夫, 尾花裕孝: GC/MS を用いた加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討, 食品衛生学雑誌, **50**, 5, 2009, 198-207.
- 2) 松本苗緒, 吉川真弓, 江田邦章, 小林あゆみ, 横島真澄, 村上正人, 金来広文: GC/MS および LC/MS/MS による加工食品原材料中 235 農薬分析における簡易前処理法, 食品衛生学雑誌, **49**, 3, 2008, 211-222.
- 3) Kaihara A., Yoshii K., Tsumura Y., Nakamura Y., Ishimitsu S., Tonogai Y.: Multiresidue Analysis of Pesticides in Fresh Fruits and Vegetables by Supercritical Fluid Extraction and HPLC, Journal of Health Science, **46**, 5, 2000, 336-342.
- 4) 厚生労働省通知食安発第 0124001 号: 食品に残留する農薬, 飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について, 平成 17 年 1 月 24 日.
- 5) 中村優美子, 津村ゆかり, 外海泰秀, 柴田正: サラダ油, 玄米及び大豆中のピレスロイド系農薬分析時における脱脂法の検討, 食品衛生学雑誌, **37**, 3, 1996, 151-157.
- 6) 西名武士, 村川弘, 福島孝兵, 飛野敏明: 超臨界流体抽出(SFE)及びGC/MSによる農産物中残留農薬の迅速分析法の検討(第2報), 熊本県保健環境科学研究所報, **33**, 2003, 31-37.
- 7) 奥村為男, 今村清: キャピラリー・GC/MS による農薬の一斉分析について, 水質汚濁研究, **14**, 2, 1991, 109-122.
- 8) 森口泰男, 塩出貞光, 竹中勝信, 福島実, 藤田忠雄, 山口之彦: C18 結合型シリカゲルを用いた固相抽出法による農薬の分析に対する一考察, 水道協会雑誌, **63**, 2, 平成 6 年, 39-48.
- 9) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知食安発第 1115001 号: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 平成 19 年 11 月 15 日.

表2 冷凍餃子への添加回収試験結果

No.	農薬名	グループ	回収率(%, n=3)				No.	農薬名	グループ	回収率(%, n=3)			
			10 ng/g		50ng/g					10 ng/g		50ng/g	
			平均値	RSD(%)	平均値	RSD(%)				平均値	RSD(%)	平均値	RSD(%)
1	1-Naphthyl acetamide	G	-	-	-	-	81	Deltamethrin	F	95.5	9.5	105.0	3.6
2	Acetamiprid	G	-	-	-	-	82	Demeton-S-Methyl	G	85.4	3.1	88.7	0.8
3	Acetochlor	G	89.3	4.9	96.4	1.5	83	Diallate-1	G	95.9	4.5	95.5	2.6
4	Acrinathrin	F	92.0	6.7	99.1	3.6	84	Diallate-2	G	99.0	5.0	93.9	1.9
5	Alachlor	G	95.7	4.9	99.0	1.9	85	Diazinon	A	93.3	2.2	96.6	2.3
6	Aldrin	C	94.0	6.1	94.6	3.1	86	Dichlofenthion	A	93.1	3.0	97.1	1.8
7	Ametryn	E	119.0	7.7	84.4	1.6	87	Dichlorvos	A	96.7	3.7	76.5	8.1
8	Anilofos	G	87.5	3.1	93.2	1.8	88	Diclocymet-1	G	92.5	1.9	97.6	1.3
9	Aramite-1	G	-	-	108.4	6.9	89	Diclocymet-2	G	95.2	2.2	99.5	1.9
10	Aramite-2	G	-	-	101.3	10.4	90	Diclofop methyl	G	93.1	2.1	96.1	2.0
11	Aramite-3	G	94.3	2.8	98.4	1.2	91	Dichloran	G	84.7	0.8	92.1	0.5
12	Aramite-4	G	96.3	1.0	101.2	1.2	92	Dicofol	G	91.7	0.8	93.4	1.3
13	Atrazine	E	90.4	2.5	95.6	1.7	93	Dicrotophos	G	55.2	1.3	59.4	1.1
14	Azaconazole	D	78.0	2.0	95.8	1.4	94	Dieldrin	C	90.8	4.6	97.6	2.1
15	Azinphos-methyl	G	82.8	3.9	89.5	1.8	95	Diethofencarb	B	94.2	2.3	96.5	1.7
16	Benalaxyl	G	91.3	1.3	96.9	1.4	96	Difenoconazole-1	D	94.5	4.6	89.5	4.9
17	Bendiocarb	B	100.5	9.4	108.0	2.2	97	Difenoconazole-2	D	88.8	2.2	95.2	2.3
18	Benfluralin	G	86.9	4.3	94.7	2.3	98	Diffufenican	G	-	-	-	-
19	Benfuresate	G	96.7	2.9	97.4	1.4	99	Dimepiperate	G	88.3	3.1	97.3	1.8
20	Benoxacor	G	91.7	3.1	95.4	1.9	100	Dimethametryn	E	92.3	2.0	97.2	1.9
21	BHC-(α)	C	98.5	3.9	97.1	2.4	101	Dimethenamid	G	91.2	4.5	96.5	1.8
22	BHC-(β)	C	91.3	1.0	95.0	2.0	102	Dimethipin	G	95.0	3.2	95.2	1.2
23	BHC-(δ)	C	89.5	2.5	92.1	2.4	103	Dimethoate	A	59.5	0.7	60.0	2.6
24	BHC-(γ)	C	93.8	4.2	95.7	2.4	104	Dimethylvinphos	A	90.7	1.8	94.7	1.3
25	Bifenox	G	76.8	4.3	90.5	1.5	105	Dioxathion	G	93.7	2.5	93.4	1.6
26	Bifenthrin	F	91.1	2.3	94.3	1.7	106	Diphenamid	G	90.2	2.0	96.4	1.4
27	Bitertanol	D	68.3	2.4	76.6	3.6	107	Disulfoton	A	85.8	2.6	89.6	0.7
28	Bromacil	G	44.8	2.2	33.7	0.5	108	Disulfoton sulfone	G	-	-	-	-
29	Bromobutide	G	88.5	3.6	97.5	1.5	109	Edifenphos	A	90.4	3.9	94.6	2.1
30	Bromophos-ethyl	G	90.3	2.7	94.3	1.9	110	Endosulfan-(α)	G	94.6	6.1	98.2	2.5
31	Bromophos-methyl	G	92.5	2.8	97.7	1.5	111	Endosulfan-(β)	G	90.6	4.3	96.5	1.9
32	Bromopropylate	G	91.0	2.2	96.5	1.6	112	Endosulfan-sulphate	G	92.3	7.2	94.8	2.4
33	Bupirimate	G	90.2	1.3	94.8	1.2	113	Endrin	G	92.1	2.2	96.9	1.7
34	Buprofezin	G	89.5	7.2	95.1	2.0	114	EPN	A	84.8	3.5	90.7	2.3
35	Butachlor	G	91.1	2.3	96.2	1.8	115	Epoxiconazole	D	85.8	5.8	94.0	2.3
36	Butamifos	G	86.4	3.2	93.1	1.7	116	EPTC	G	137.2	3.7	103.3	3.4
37	Butylate	G	119.8	2.7	97.1	2.1	117	Esprocarb	B	93.0	2.1	96.6	1.4
38	Cadusafos	A	120.1	136.5	68.4	5.3	118	Ethalfuralin	G	89.4	4.3	93.9	2.2
39	Cafenstrole	D	93.4	53.0	83.3	2.8	119	Ethiofencarb	B	88.8	2.4	105.0	1.6
40	Carfentrazone-ethyl	G	90.4	2.4	96.3	1.5	120	Ethion	G	88.4	2.5	95.8	1.5
41	Captan	G	-	-	-	-	121	Ethofumesate	G	92.2	3.4	99.5	0.8
42	Carbaryl	B	99.5	5.8	97.9	1.8	122	Ethoprophos	A	89.7	2.9	92.2	3.2
43	Carbofuran	G	107.3	6.1	109.0	3.2	123	Etiofenprox	F	86.8	1.4	90.4	1.8
44	Carbofuran-3-hydroxy	G	-	-	-	-	124	Etoazole	G	106.6	1.9	98.3	2.8
45	Carboxin	G	74.9	0.5	87.9	0.7	125	Etrifmos	A	94.5	2.5	97.0	1.9
46	Chinomethionat	G	9.9	14.0	4.2	1.3	126	Fenamidone	G	90.8	1.2	94.9	1.6
47	Chlorbenside	G	89.8	5.9	94.2	1.6	127	Fenamiphos	A	84.8	1.8	94.2	2.3
48	Chlorbufam	G	94.3	1.6	97.0	1.3	128	Fenarimol	G	86.2	2.0	86.9	2.5
49	Chlorethoxyfos	G	95.8	6.5	93.5	3.9	129	Fenbuconazole	D	75.1	2.1	87.4	1.7
50	Chlorfenapyr	G	908.3	153.6	212.3	22.5	130	Fenchlorphos	G	92.2	3.1	94.6	1.4
51	Chlorfenson	G	93.5	1.5	94.6	1.5	131	Fenitrothion	A	86.5	3.5	93.9	1.8
52	Chlorfenvinphos-1	A	88.2	4.9	101.1	2.4	132	Fenobucarb	B	94.3	3.8	93.0	2.3
53	Chlorfenvinphos-2	A	93.2	3.1	98.4	1.7	133	Fenothiocarb	G	76.3	1.9	99.1	2.1
54	Chlornitrofen	G	87.7	5.0	92.4	1.5	134	Fenoxanil	G	87.3	3.7	98.8	1.3
55	Chlorobenzilate	G	80.2	2.6	88.3	1.1	135	Fenpropathrin	F	91.3	2.6	95.4	0.9
56	Chloroneb	G	101.0	5.0	95.5	3.2	136	Fenpropimorph	G	85.9	2.4	89.9	1.3
57	Chlorothalonil	G	94.8	2.0	97.1	1.2	137	Fensulfothion	A	81.5	2.5	93.3	1.8
58	Chlorpropham	B	101.2	4.9	91.8	2.2	138	Fenthion	A	86.8	1.3	93.3	1.1
59	Chlorpyrifos-methyl	A	91.7	3.6	94.6	2.1	139	Fenvalerate-1	F	83.8	0.5	99.1	2.0
60	Chlorpyrifos	A	96.5	2.5	98.1	1.9	140	Fenvalerate-2	F	94.5	1.8	91.4	2.1
61	Chlorthal-dimethyl	G	91.8	2.4	96.5	1.6	141	Fipronil	G	84.6	3.8	95.6	1.6
62	Chlozolinate	G	91.8	0.6	95.0	1.6	142	Flamprop-methyl	G	89.1	2.9	96.8	1.6
63	Cinidon-ethyl	G	51.6	3.2	48.0	2.8	143	Fluacrypyrim	G	94.5	1.9	96.9	1.2
64	Clomazone	G	92.0	2.6	95.0	2.2	144	Flucythrinate-1	F	92.2	2.7	94.0	1.1
65	Cyanazine	E	71.7	4.0	70.4	0.9	145	Flucythrinate-2	F	87.5	2.1	91.4	2.6
66	Cyanophos	A	91.7	2.7	95.1	1.5	146	Flufenpyr-ethyl	G	95.7	3.3	98.5	1.3
67	Cyfluthrin-1	F	81.7	3.1	101.6	3.0	147	Flumiclorac-pentyl	G	88.3	1.8	93.9	1.6
68	Cyfluthrin-2	F	86.3	3.1	104.1	3.9	148	Flumioxazin	G	77.8	3.4	87.3	1.3
69	Cyfluthrin-3	F	96.3	4.7	91.8	4.9	149	Fluquinconazole	D	89.6	5.2	95.7	1.5
70	Cyfluthrin-4	F	85.0	7.1	82.2	1.5	150	Fluridone	G	25.1	0.6	24.6	0.4
71	Cyhalofop-butyl	G	98.5	4.6	94.0	1.6	151	Flusilazole	D	87.5	3.2	95.7	3.0
72	Cyhalothrin-1	F	88.8	6.7	95.2	1.7	152	Fluthiacet methyl	G	85.0	3.3	89.7	1.0
73	Cyhalothrin-2	F	83.8	0.6	90.3	1.4	153	Flutolanil	G	89.3	0.2	96.7	1.7
74	Cypermethrin-1	F	80.3	4.9	92.3	2.1	154	Flutriafol	D	83.2	4.2	91.3	1.6
75	Cypermethrin-2	F	103.8	7.1	95.3	2.8	155	Fluvalinate-1	F	82.8	5.4	92.7	1.3
76	Cypermethrin-3	F	112.5	8.2	101.4	1.6	156	Fluvalinate-2	F	76.0	6.4	92.3	2.3
77	Cypermethrin-4	F	122.5	2.3	97.3	6.9	157	Formothion	G	72.8	7.9	56.9	5.8
78	Cyproconazole-1	D	89.3	5.5	95.3	1.2	158	Fosthiazate-1	A	105.5	5.6	93.8	2.3
79	Cyproconazole-2	D	85.0	1.5	91.2	1.2	159	Fosthiazate-2	A	80.3	10.3	89.9	5.1
80	DEF	G	93.0	2.4	95.4	1.9	160	Fthalide	G	83.3	0.8	84.8	3.2

表2 冷凍餃子への添加回収試験結果(続き)

No.	農薬名	グループ	回収率(%, n=3)				No.	農薬名	グループ	回収率(%, n=3)			
			10 ng/g		50ng/g					10 ng/g		50ng/g	
			平均値	RSD(%)	平均値	RSD(%)				平均値	RSD(%)	平均値	RSD(%)
161	Halfenprox	F	75.2	2.8	86.0	1.7	228	Profenofos	A	90.8	3.0	95.4	1.7
162	Heptachlor epoxide	G	92.3	2.9	96.8	1.7	229	Prohydrojasmon-1	G	99.4	3.4	93.4	1.3
163	Hexaconazole	D	-	-	87.7	1.6	230	Prohydrojasmon-2	G	-	-	100.4	2.2
164	Hexazinone	E	25.5	0.8	24.7	0.4	231	Prometryn	E	91.7	2.1	96.7	3.1
165	Imibenconazole	D	-	-	-	-	232	Propachlor	G	100.9	3.9	90.0	2.5
166	Imibenconazole-desbenzyl	D	-	-	-	-	233	Propanil	G	41.6	1.0	46.4	1.1
167	Indoxacarb	G	118.7	6.7	109.4	6.0	234	Propaphos	A	88.7	1.5	94.9	1.2
168	Iprobenfos	A	91.6	4.5	96.4	1.6	235	Propargite-1	G	78.3	8.0	95.2	0.9
169	Iprodione	G	103.8	12.5	110.3	2.6	236	Propazine	E	93.7	4.4	97.9	1.2
170	Iprodione Metabolite	G	-	-	-	-	237	Propiconazole-1	D	87.8	2.7	94.8	0.9
171	Isazofos	G	102.2	2.6	99.3	2.4	238	Propiconazole-2	D	80.8	20.7	87.8	4.5
172	Isofenphos	G	93.8	6.2	97.1	2.0	239	Propoxur	G	98.8	4.3	101.9	2.3
173	Isofenphos-oxon	G	90.0	2.5	95.1	2.1	240	Propyzamide	G	91.1	7.7	96.0	1.0
174	Isoproc carb	B	87.0	8.1	94.7	2.6	241	Prothiofos	A	90.7	2.5	96.1	1.0
175	Isoprothiolane	G	93.7	1.7	96.9	1.6	242	Pvraclofos	A	90.7	2.3	94.5	1.3
176	Isoxathion	A	79.8	0.1	90.6	2.0	243	Pvrazophos	G	89.0	1.4	91.6	1.5
177	Kresoxim-methyl	G	91.8	4.5	93.6	1.9	244	Pyributicarb	B	84.6	4.9	93.3	1.4
178	Lenacil	G	20.6	0.2	20.6	0.4	245	Pyridaben	G	87.5	2.2	92.4	1.8
179	Malathion	A	89.3	3.5	94.7	1.8	246	Pyridaphenthion	A	85.8	6.2	94.7	4.7
180	Mecarbam	G	89.9	5.3	95.5	2.1	247	Pyrifenox-(E)	G	84.5	3.9	95.2	1.3
181	Mefenacet	G	90.5	2.2	94.3	2.2	248	Pyrifenox-(Z)	G	89.7	0.9	97.3	1.8
182	Mefenpvr-diethyl	G	91.0	2.9	96.2	1.4	249	Pyrimethanil	G	70.2	1.4	74.2	3.7
183	Mepronil	G	92.3	3.5	95.7	1.0	250	Pyrimidifen	G	11.8	2.8	9.3	0.8
184	Metalaxyl	G	93.6	0.2	96.8	2.1	251	Pyriminobac-methyl(E)	G	92.4	2.8	97.5	1.3
185	Methamidophos	A	-	-	-	-	252	Pyriminobac-methyl(Z)	G	92.4	2.4	98.1	1.8
186	Methidathion	A	88.9	1.5	96.0	1.6	253	Pyriproxyfen	G	91.5	2.3	94.4	1.7
187	Methiocarb	B	107.2	4.2	110.7	2.4	254	Pyroquilon	G	77.4	0.8	81.8	3.2
188	Methoprene-1	G	-	-	99.6	5.3	255	Quinalphos	A	94.5	1.9	97.7	1.7
189	Methoxychlor	G	89.1	2.2	96.0	1.9	256	Quinoclamine	G	15.8	1.6	11.4	0.5
190	Metolachlor	G	89.7	2.8	93.3	1.4	257	Quinoxifen	G	73.4	2.2	79.1	2.2
191	Metominostrobin-(E)	G	86.9	2.5	96.1	1.3	258	Quintozene	G	54.2	4.8	52.9	3.3
192	Metominostrobin-(Z)	G	89.2	1.0	95.3	1.3	259	Resmethrin-1	G	0.0	0.0	67.2	0.5
193	Mevinphos	G	87.1	4.0	88.0	3.0	260	Resmethrin-2	G	71.3	7.0	83.5	6.1
194	Monocrotophos	G	26.8	1.1	10.1	0.5	261	Silafluofen	F	90.0	2.2	90.9	1.7
195	Myclobutanil	D	85.2	3.4	94.0	1.4	262	Simazine	E	85.7	1.2	86.5	0.3
196	Napropamide	G	87.7	10.9	96.8	1.8	263	Simetryn	E	86.7	4.2	90.3	1.5
197	Nitrothal-isopropyl	G	80.8	3.6	92.5	1.2	264	Spirodiclofen	G	89.7	12.0	93.7	4.9
198	Norflurazon	G	47.0	1.7	47.7	1.4	265	Spiromesifen	G	90.0	1.5	91.7	2.6
199	o,p'-DDT	C	92.2	1.6	96.1	1.7	266	Sulprofos	G	89.5	3.1	91.0	1.0
200	Oxadiazon	G	92.6	2.5	97.2	1.4	267	TCMTB	G	42.1	2.8	22.2	3.0
201	Oxadixyl	G	35.8	9.0	47.9	2.6	268	Tebuconazole	D	78.7	3.2	89.4	1.3
202	Oxyfluorfen	G	87.5	8.8	90.8	1.2	269	Tebufenpyrad	G	92.5	3.9	98.4	1.2
203	p,p'-DDD	C	90.8	1.7	94.6	1.7	270	Tecnazene	G	107.6	3.8	100.3	2.6
204	p,p'-DDE	C	94.0	2.2	96.1	1.6	271	Tefluthrin	F	93.3	2.7	94.8	1.9
205	p,p'-DDT	C	90.0	1.5	94.7	2.0	272	Terbacil	G	43.7	4.0	46.9	0.8
206	Paclbutrazol	D	84.2	12.2	97.5	2.4	273	Terbufos	A	92.2	3.8	94.7	2.0
207	Parathion	A	85.2	3.3	91.4	1.5	274	Terbutryn	E	82.0	0.6	93.3	0.6
208	Parathion-methyl	A	88.5	2.9	92.6	1.8	275	Tetrachlorvinphos	G	91.2	3.3	93.9	2.2
209	Penconazole	D	89.8	2.2	97.8	1.8	276	Tetraconazole	D	87.8	2.1	96.5	1.4
210	Pendimethalin	G	85.0	3.6	93.0	1.6	277	Tetradifon	G	88.9	0.4	94.7	1.6
211	Permethrin-1	F	89.3	1.5	92.6	1.6	278	Thenylchlor	G	89.8	7.2	95.6	1.6
212	Permethrin-2	F	89.2	2.1	91.4	1.8	279	Thifluzamide	G	87.4	1.6	95.2	1.6
213	Perthane	G	92.7	1.5	95.3	1.5	280	Thiobencarb	B	94.3	1.2	95.0	2.0
214	Phenothrin-1	G	93.5	3.6	95.7	0.5	281	Thiometon	A	88.8	2.5	88.5	1.0
215	Phenothrin-2	G	87.2	1.9	93.6	1.2	282	Tolclofos-methyl	A	93.7	2.5	96.8	1.6
216	Phenthoate	A	87.8	2.8	95.6	1.3	283	Tolfenpyrad	G	85.5	0.5	92.5	1.8
217	Phorate	G	95.5	2.7	93.1	1.6	284	Triadimefon	D	83.0	2.2	90.6	1.4
218	Phosalone	A	80.5	5.7	90.6	1.3	285	Triadimenol-1	D	-	-	106.0	3.3
219	Phosmet	G	86.0	3.7	92.3	1.6	286	Triadimenol-2	D	109.3	1.7	80.9	4.4
220	Phosphamidon	G	93.1	3.9	93.5	1.3	287	Triallate	G	94.2	3.0	95.4	1.9
221	Picolinafen	G	-	-	-	-	288	Triazophos	D	95.0	2.9	97.0	0.7
222	Piperonyl butoxide	G	94.7	2.2	96.3	1.2	289	Tricvclazole	D	-	-	-	-
223	Piperophos	G	86.0	2.3	95.2	1.2	290	Trifloxystrobin	G	87.2	3.5	94.0	1.4
224	Pirimicarb	B	93.3	5.7	91.7	2.6	291	Trifluralin	G	87.4	4.5	94.3	2.0
225	Pirimiphos-methyl	A	94.5	1.5	96.8	1.7	292	Vinclozolin	G	91.4	2.1	96.2	2.1
226	Pretilachlor	G	114.8	6.4	85.1	1.3	293	XMC	G	116.4	6.2	95.5	2.0
227	Procymidone	G	91.3	5.5	97.4	2.1	294	Zoxamide	G	85.5	7.6	87.3	3.6

*グループ

A:有機リン系農薬, B:カーバメイト, C:有機塩素系農薬, D:トリアゾール系農薬, E:トリアジン系農薬, F:ピレスロイド, G:その他

LC/MS/MS による加工食品中の有機リン系農薬一斉分析法の検討

松渕亜希子 珍田尚俊 松田恵理子

平成 19 年 12 月～平成 20 年 1 月にかけて発生した輸入冷凍食品の有機リン系農薬中毒事件を発端として、加工食品中の残留農薬を迅速かつ精度よく検査することが求められている。そこで、加工食品の検査の取り組みのひとつとして、有機リン系農薬 58 成分について、LC/MS/MS の高感度・高選択性という特性を活かした簡便かつ迅速な分析法を検討した。LC および MS 条件を検討したところ、58 成分中 50 成分について定量分析が可能であった。また、良好な結果が得られた前処理法は、試料を含水アセトニトリルで抽出し、その抽出液を希釈して夾雑物の影響を低減する方法であった。試料に市販の冷凍加工食品を用い、添加回収試験を実施したところ、70～120%の回収率が得られたのは、50 成分中 45 成分であった。

1. はじめに

食品衛生法改正による残留農薬等のポジティブリスト制度が平成 18 年 5 月から施行され、規制農薬等が大幅に増大している。また対象食品も生鮮食品に加え、加工食品にも拡大した。以前にも増して効率的な検査が求められ、主に農産物では、簡便で迅速な分析法が数多く考案され、実施されている¹⁻³⁾。一方、加工食品は、油脂やタンパク質等の分析を阻害する成分を多く含むため、分析自体が難しく、また検出された農薬の起因食材を突き止めるのが困難であり、ほとんど検査されていないのが実情であった。しかし、平成 19 年 12 月～平成 20 年 1 月に発生した輸入冷凍食品の有機リン系農薬中毒事件を契機に、消費者の加工食品に対する不安が大きくなり、加工食品の検査の必要性がより高まることとなった。加工食品の試験法は、有機リン系農薬を対象とした分析法⁴⁾が厚生労働省から提示されている。この試験法は、迅速性を優先しているために、食品の種類によっては分析を阻害する成分の除去が不十分であり、また GC/FPD、GC/MS を用いた測定が中心で、比較的高極性の農薬については良好な結果が得られにくい。そこで今回、加工食品の検査の取り組みのひとつとして、高感度・高選択性の特性を有する LC/MS/MS を用い、有機リン系農薬について、簡便で迅速な一斉分析法を検討したので報告する。

2. 実験方法

2.1 試料

試料は、市販の冷凍加工食品（ギョウザ）を使用し、フードプロセッサーを用いて、磨砕均一化した。

2.2 対象農薬

表 1 および脚注に示した、有機リン系農薬 58 成分を対象とした。

2.3 試薬等

各農薬標準品は、和光純薬工業、関東化学、林純薬工業、Dr.Ehrenstorfer GmbH 社製のいずれかの残留農薬試験用標準品を用いた。

溶媒は、関東化学製のアセトニトリル、メタノール、水（いずれも LC/MS 用）、和光純薬工業製のヘキサン（残留農薬試験用）を用いた。

標準原液は、各標準品をアセトニトリルまたはメタノールに溶解して 500 µg/mL に調製した。また、これらの標準原液を混合し 2 µg/mL となるようにアセトニトリルで調製し、混合標準液とした。

前処理に使用する限外ろ過膜は、Millipore 社製 Amicon Ultra-0.5（分子分画量 30000）、メンブランフィルターは ADVANTEC 社製 DISMIC（孔径 0.2 µm、親水性 PTFE）を用いた。

2.4 装置

高速液体クロマトグラフは Agilent 社製

表1 LC/MS/MSの測定条件

農薬名	保持時間 (min)	MRMトランジション (m/z)	DP ¹⁾ (V)	CE ²⁾ (V)	CXP ³⁾ (V)	定量下限 (ng/mL)
EPN	14.4	324>296	76	19	8	0.05
アジンホスメチル	13.3	318>132	51	21	8	0.01
アセフェート	7.1	184>143	46	13	10	0.05
アザメチホス	12.1	325>183	66	23	12	0.01
アニロホス	13.9	368>199	66	21	14	0.01
イソキサチオン	14.2	314>105	61	21	8	0.01
イソフェンホス	14.1	346>245	41	19	18	0.01
イプロベンホス	13.9	289>91	51	27	8	0.01
エチオン	14.9	385>199	71	15	12	0.01
エディフェンホス	14.1	311>283	61	19	20	0.01
エトプロホス	13.8	243>131	66	29	8	0.01
エトリムホス	14.2	293>125	71	35	8	0.01
オメトート	7.9	214>183	56	17	12	0.01
カスサホス	14.4	271>159	56	21	10	0.01
キナルホス	14.1	299>163	71	35	10	0.01
クマホス	14.2	363>227	81	35	16	0.01
クロルピリホス	15.1	350>198	71	29	14	0.05
クロルピリホスメチル	14.5	322>125	76	29	8	0.05
クロルフェンピホス(Z)	14.0	359>155	71	19	10	0.05
シアノフェンホス	13.8	304>276	71	19	8	0.05
ジクロフェンチオン	15.0	315>259	71	23	18	0.05
ジクロロホス	12.2	221>109	61	25	2	0.05
ナレート	13.0	381>127	61	21	8	0.05
ジメチルピホス	13.5	333>127	61	19	8	0.01
ジメトート	10.9	230>199	26	13	14	0.01
スルプロホス	15.1	323>219	71	23	16	0.05
ダイアジノン	14.2	305>169	66	31	10	0.01
チオメトン	12.9	247>89	31	15	6	0.05
テルブホス	14.8	289>103	41	13	6	0.01
トルクロホスメチル	14.4	301>125	81	25	8	0.05
バミトチオン	10.7	288>146	56	19	10	0.01
ピラクロホス	14.2	361>257	96	33	18	0.01
ピリダフェンチオン	13.5	341>189	76	31	12	0.01
ピリミホスメチル	14.3	306>108	86	43	6	0.01
フェナミホス	13.8	304>217	71	31	14	0.01
フェンシルホチオン	12.9	309>281	71	21	20	0.01
フェンチオン	14.1	279>169	66	25	12	0.05
フェントート	13.9	321>247	51	15	16	0.05
ブタミホス	14.1	333>180	61	15	12	0.01
プロチオホス	16.1	345>241	66	27	16	0.05
プロパホス	14.0	305>221	61	21	16	0.01
プロフェノホス	14.7	373>303	76	27	22	0.01
ホサロン	14.1	368>182	61	19	12	0.01
ホスチアゼート	12.7	284>104	66	29	6	0.01
ホスメット	13.3	318>160	66	17	10	0.01
ホレート	14.3	261>75	41	21	4	0.01
マラチオン	13.5	331>285	71	11	20	0.05
メタミホス	5.8	142>94	51	21	8	0.1
メチダチオン	13.2	303>145	61	15	10	0.01
モノクロホス	9.8	224>193	56	13	12	0.01

※ 上記50農薬の他、8農薬(サリチオン、プロモホス、シアノホス、フェニトロチオン、ホルモチオン、ジスルホトン、パラチオン、パラチオンメチル)についても検討したが、最終的に対象農薬からは削除したため、これらの8農薬の測定条件は示していない。

※ 1)Declustering potential 2)Collision potential 3)Collision cell exit potential

Agilent1100, 質量分析装置は AB Sciex 社製 API4000, 振とう機はヤマト科学製 Shaker A320, 遠心分離機は, 久保田製作所製 KUBOTA8850 を使用した。

2.5 LC 条件および MS 条件

分析カラムは, 農薬分析で用いることの多い ODS 系カラムを使用することとし, 東ソー社製 TSK-GEL ODS-100V (2.0 mm i.d.×150 mm, 粒子径 3 μm), Waters 社製 Atlantis dC18 (2.1 mm i.d.×150 mm, 粒子径 3 μm), および Atlantis T3 (2.1 mm i.d.×150 mm, 粒子径 3 μm) の 3 種類について, 感度, ピーク形状および保持性を比較検討した。

移動相はメタノール, 水, 添加剤はギ酸, 酢酸アンモニウムを用いた。添加剤については, イオン化の促進および安定化のため, 最適な濃度を検討した。

イオン化法はエレクトロスプレーイオン化法ポジティブモード, 分析モードは Multiple Reaction Monitoring (MRM) とした。イオンスプレー電圧 5.5 kV, イオン源温度 500 °C, ネブライザーガス 50 psi, カーテンガス 30 psi, コリジョンガス 6 psi とした。

2.6 検量線の作成と定量下限

検量線は, 0, 0.01, 0.05, 0.1, 1, 10 ng/mL からなる絶対検量線を作成した。定量下限は検量線の直線性が得られる下限の濃度であり, またその濃度のピークの S/N 比が 10 以上であることを条件とした。

2.7 前処理法

2.7.1 抽出溶媒および限外ろ過膜精製における試料の希釈倍率の検討

試料 5.0 g に 90%メタノール溶液 20 mL を加え, 30 分間の振とう抽出後, 3000 rpm で 10 分間遠心分離し, 上清を 90%メタノール溶液を用いて 25 mL に定容した。これを適量分取し, 50%メタノール溶液を用いて, 最終的に試料が 25 および 50 倍に希釈されるよう調製した。次に, 各希釈液を限外ろ過膜に移し, 12000 rpm で 30 分間遠心分離し, 得られたろ液を試験液とした。また, 90%アセトニトリル溶液を用いて抽出し, 上記と同様に処理した試験液も調製した。以上を前

処理 1 とし, 図 1 に示す。

2.7.2 希釈およびヘキサンによる脱脂精製の検討

試料 5.0 g に 90%アセトニトリル溶液 20 mL を加え, 30 分間の振とう抽出後, 3000 rpm で 10 分間遠心分離した。次に, 上清を 90%アセトニトリル溶液で 25 mL に定容した (これを a 液と示す)。

a 液を適量分取し, 50%メタノール溶液を用いて, 試料が 25 倍に希釈されるよう調製し, メンブランフィルターでろ過したものを試験液とした。これを前処理 2 とする。

また, a 液 5 mL を分取し, アセトニトリル飽和ヘキサン 1 mL を加え, 1 分間振とう後, 3000 rpm で 10 分間遠心分離し, ヘキサン層を除去した。次に, 下層を適量分取し, 50%メタノール溶液を用いて, 試料が 25 倍に希釈されるよう調製し, メンブランフィルターでろ過したものを試験液とした。これを前処理 3 とする。前処理 2 および 3 を図 2 に示す。

3. 結果および考察

3.1 LC/MS/MS 条件の検討

3.1.1 LC 条件

3 種の分析カラムについて, 感度, ピーク形状, 保持性を比較検討した。Atlantis T3 は高極性の農薬の保持が良好であったが, 全体的にピーク形状が不良であった。他の 2 種についても, 全体的に良好であったが, 比較的ピークの分離が良かった TSK-GEL ODS-100V を選択することにした。

添加剤の濃度において, ギ酸は, 0.01, 0.05, 0.1%の 3 濃度, 酢酸アンモニウムは 1, 5, 10 mmol/L の 3 濃度を検討し, 至適濃度を求めた。ギ酸は, 0.1, 0.05%のとき, 酢酸アンモニウムは, 5 mmol/L のとき, 感度が良好であった。したがって, ギ酸 0.05%, 酢酸アンモニウム 5 mmol/L とし, 移動相を A 液は 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 0.05%ギ酸水溶液, B 液は 5 mmol/L 酢酸アンモニウム含有 0.05%ギ酸メタノールとした。

また, 移動相のグラジエント条件についても検討し, 最終的に 0 分 (A 95%) →10 分 (A 5%) →19 分 (A 5%) →20 分 (A 95%) →25 分 (A 95%), 流速 0.2 mL/min とした。なお, カラム温度は 40 °C, 試験液の注入量は 5 μL とした。

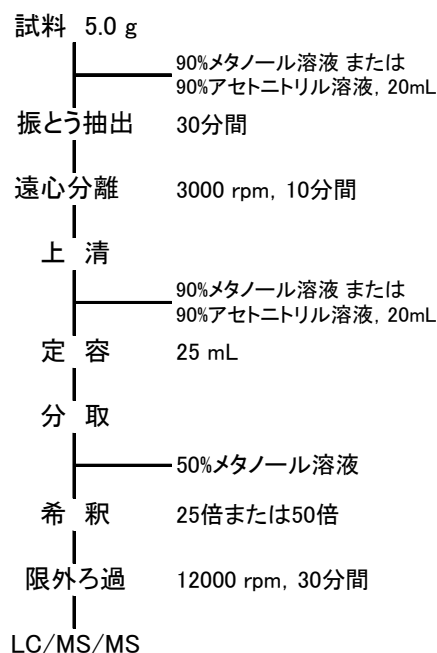


図1 抽出溶媒および限外ろ過膜精製における試料の希釈倍率の検討（前処理1）

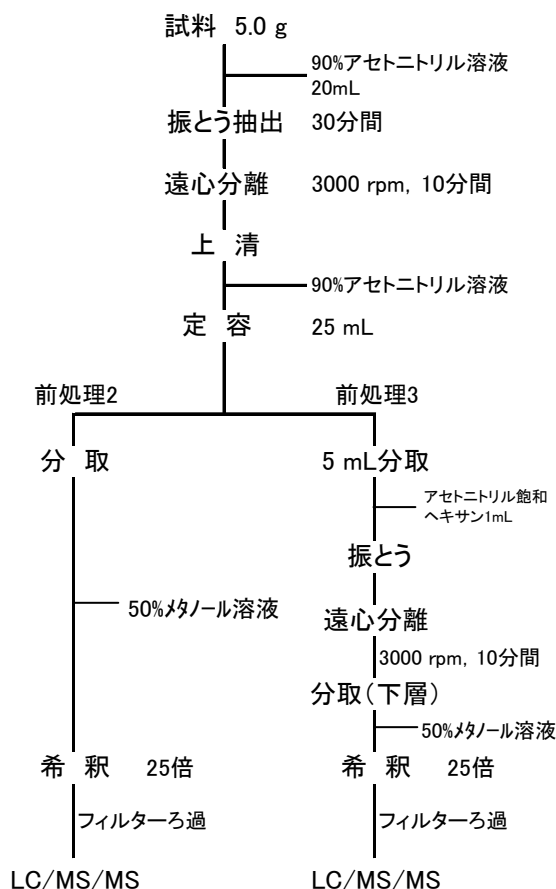


図2 希釈およびヘキサンによる脱脂精製の検討（前処理2, 3）

3.1.2 MS 条件

MRM 条件は、50～100 ng/mL の範囲で調製した各農薬の標準溶液をシリンジポンプを用いて直接 MS/MS に注入し、自動最適化より決定した。自動最適化の結果、感度が最も良好であったイオンを選択し、定量用イオンに用いた（表1）。

サリチオン、プロモホスは最適な定量用イオンと、その MRM 条件が得られなかったため、対象農薬から除外した。

3.1.3 検量線と定量下限

ほとんどの農薬は、概ね 0.01～10 ng/mL の範囲で良好な直線性 ($r = 0.999$ 以上) が得られたが、シアノホス、フェニトロチオン、ホルモチオン、ジスルホトン、パラチオン、パラチオンメチルの6農薬については良好な直線性が得られず、対象農薬から除外した。

定量下限については、0.01～0.1 ng/mL の範囲にあり、各農薬の基準値レベルに対して十分な感度を有していた（表1）。

最終的に、対象とした58成分のうち、感度、定量性および再現性等の観点から、結果が良好でなかった8成分を除く50成分を対象農薬とした。

3.2 前処理法の検討

3.2.1 抽出溶媒および限外ろ過膜精製における試料の希釈倍率の検討

抽出溶媒については、加工食品が野菜、果実類に比べ、脂質、タンパク質を多く含有することを踏まえて検討した。抽出の際、脂質の溶解をなるべく防ぐことと、タンパク質が凝固して試料が不均一になるのを避けるため、抽出溶媒に水を混合することとし、90%メタノール溶液および90%アセトニトリル溶液の2種類について試すことにした。

限外ろ過膜は、比較的大きな分子量で測定妨害となる食品中の夾雑物と、夾雑物より小さい分子量の農薬を分離することができるが、その際、限外ろ過膜の分離能に適するように、試料抽出液を希釈し、夾雑物の粒子径を調節することが必要である^{1,5)}。また、試料を希釈することは、夾雑物の影響を低減することにも繋がる。今回は50%メタノール溶液を用いて、試料を25または50倍に希釈し、限外ろ過膜（分子分画量30000）に通液したものを試験液として試すことにした。

以上の各前処理条件について検討するため、混合標準液を試料あたり 10 ng/g となるように添加し、前処理 1 により試験液を調製して測定し、回収率を求めた。すなわち、90%メタノール溶液で抽出後、25、50 倍に希釈し、限外ろ過膜精製したもの、および 90%アセトニトリル溶液で抽出後、25、50 倍に希釈し、限外ろ過膜精製したものの計 4 種類について添加回収試験を行った。結果を表 2 に示す。

各抽出溶媒の結果を比較すると、EPN、イソキサチオン、エチオン、クマホス、ジクロロフェンチオン、テルブホス、ホサロンについて、90%アセトニトリル溶液で抽出した方の回収率が 25、50 倍ともに良好であった。その他の農薬についても 90%アセトニトリル溶液の回収率が高い傾向にあった。比較的高極性であるアセフェート、メタミドホス等は、90%メタノール溶液でも良好な回収率であった。

また、25 倍と 50 倍の希釈の効果を比較してみると、各抽出溶媒ともに、特に回収率に大きな差はみられなかった。このことから、25 倍希釈でも十分、夾雑物の影響が抑えられていることが示唆された。

これらの結果から、限外ろ過膜による精製効果よりも、90%アセトニトリル溶液による抽出効率や希釈による夾雑物の低減が、高回収率に大きく寄与していると考えられた。

そこで、抽出溶媒を 90%アセトニトリル溶液、希釈倍率を 25 倍とし、より簡便・迅速で精製効果の高い前処理法とするため、限外ろ過膜精製を省略した方法やヘキサンのような脱脂を組み入れた方法を検討してみることにした。

また、フェンチオン、ホレートは、夾雑物由来のピークと重なったため、定量用イオンを変更することにした（表 1 には変更後の MRM 条件を示している）。

3.2.2 希釈およびヘキサンによる脱脂精製の検討

90%アセトニトリル溶液で抽出後、25 倍に希釈し、フィルターろ過を行う方法と、この方法にヘキサンによる脱脂を組み入れた方法の 2 法を検討した。混合標準液を試料あたり 10 ng/g となるように添加し、前処理 2、3 により試験液を調製して測定し、回収率を求めた。

表 2 抽出溶媒および限外ろ過膜精製における試料の希釈倍率の検討結果

農薬名	回収率(%)			
	50倍希釈		25倍希釈	
	メタノール	アセトニトリル	メタノール	アセトニトリル
EPN	49.7	73.0	51.8	81.5
アジンホスメチル	80.5	103.5	78.5	96.3
アセフェート	95.0	104.0	94.3	103.8
アザメチホス	93.5	105.5	96.8	114.0
アニロホス	82.0	91.5	84.8	91.0
イソキサチオン	68.0	81.0	66.5	73.0
イソフェンホス	83.5	86.0	71.0	80.3
イプロベンホス	85.5	96.5	87.5	89.5
エチオン	45.7	76.5	47.3	77.3
エディフェンホス	87.5	96.5	92.3	90.5
エトプロホス	78.0	86.0	72.3	72.0
エトリムホス	69.0	85.5	75.3	82.0
オメエート	82.0	77.0	95.0	96.3
カスサホス	86.5	92.0	84.8	89.0
キナルホス	83.0	93.0	73.0	87.0
クマホス	64.0	80.5	68.8	91.3
クロルピリホス	19.7	55.0	25.0	56.8
クロルピリホスメチル	74.0	96.5	75.5	92.0
クロルフェンビンホス(Z)	80.0	89.5	88.0	93.8
シアノフェンホス	62.5	66.5	52.8	58.0
ジクロロフェンチオン	42.3	94.5	56.0	95.3
ジクロロホス	128.0	137.5	123.0	137.3
ナレド	23.7	30.4	28.5	21.1
ジメチルビンホス	103.0	98.5	82.8	91.3
ジメエート	86.5	90.5	87.5	98.5
スルプロホス	20.9	59.5	19.3	49.5
ダイアジノン	78.5	94.0	72.5	85.5
チオメトン	79.0	105.5	93.5	83.0
テルブホス	53.0	85.5	56.5	80.3
トルクロホスメチル	72.5	95.5	60.8	75.5
バミチオン	94.5	98.5	92.0	95.8
ピラクロホス	82.5	84.0	86.0	76.0
ピリダフェンチオン	82.5	97.5	91.3	94.3
ピリミホスメチル	81.0	98.0	80.0	86.8
フェナミホス	59.5	60.5	54.0	54.3
フェンシルホチオン	102.0	113.0	94.0	102.5
フェンチオン	-	-	-	-
フェントエート	72.5	95.5	71.8	88.5
ブタミホス	76.0	85.5	70.3	88.8
プロチオホス	29.1	47.3	23.8	23.4
プロパホス	83.5	89.5	85.5	93.8
プロフェノホス	75.5	91.5	81.8	91.5
ホサロン	60.0	81.0	59.3	85.8
ホスチアゼート	96.5	97.0	95.3	97.5
ホスメット	162.0	262.5	145.3	260.0
ホレート	-	-	-	-
マラチオン	84.5	87.0	97.5	96.0
メタミドホス	104.0	103.5	91.8	96.8
メタダチオン	85.0	97.0	85.3	97.3
モノクロホス	93.0	105.0	86.8	99.3

* 試料あたりの濃度 10 ng/g

希釈、フィルターろ過処理では、概ね回収率が良好であり、希釈だけでも測定に耐えうることを確認できた。結果を表3に示す。

ヘキサンの脱脂を行ったものについては、全体的に回収率が低く、脱脂効果よりも農薬がヘキサン層へ移行する影響の方が大きいことがわかった。

したがって、最終的に前処理は90%アセトニトリル溶液で抽出し、25倍に希釈する方法（前処理2）を用いることにした。

3.3 シリンジスパイク試験による夾雑物の影響の確認

夾雑物の影響を確認するために、試験液に標準液を添加して測定する方法（シリンジスパイク試験）を実施した。前処理2に従い調製した試験液に、混合標準液を試料あたり10 ng/g, 50 ng/gに相当するよう添加し、測定した。結果を表4に示す。シアノフェンホス、フェナミホス、ホスメットに夾雑物による顕著な影響がみられた。その他の農薬については、概ね70～120%の回収率であり、夾雑物による大きな影響はなかった。

3.4 添加回収試験

前処理2の90%アセトニトリル溶液で抽出し、25倍に希釈する方法を用いて、添加回収試験を実施した。試料あたり10 ng/g, 50 ng/gの2濃度および各試行数 $n=3$ で行った。結果を表5に示す。

シアノフェンホス、フェナミホス、ホスメット、ジクロロボス、ナレドの5農薬を除いて、回収率70～120%、相対標準偏差（以下RSD）が15%以下であり、概ね良好な結果が得られた。

シアノフェンホス、フェナミホス、ホスメットについては、3.3の検討結果から夾雑物の影響を受けていると考えられた。ジクロロボス、ナレドについては、3.3の検討より夾雑物の影響が少ないことから、含水溶媒で抽出する際の水との接触によって、ナレドが分解しジクロロボスに変化する反応が促進され⁶⁾、回収率に反映したものと考えられた。

本法による試料あたりに換算した定量下限は0.25～2.5 ng/gとなり、一律基準（0.01ppm）に対して耐えうる十分な感度と精度を得ることが可能であった。

表3 25倍希釈処理の添加回収試験結果

農薬名	回収率(%)
EPN	86.8
アジンホスメチル	104.3
アセフェート	92.0
アザメチホス	100.3
アニコホス	97.3
イソキサチオン	79.3
イソフェンホス	80.5
イプロホス	99.0
エチオン	82.0
エディフェンホス	90.3
エトプロホス	65.5
エトリムホス	78.3
オメート	93.3
カズサホス	90.5
キナルホス	93.3
クマホス	103.8
クロルピリホス	68.8
クロルピリホスメチル	83.8
クロルフェンピホス(Z)	98.3
シアノフェンホス	52.5
ジクロフェンチオン	97.5
ジクロロボス	139.3
ナレド	3.9
ジメチルピホス	93.3
ジメエート	80.8
スルプロホス	66.0
ダイアジノン	83.5
チオメトン	111.5
テルブホス	74.3
トルクロホスメチル	94.8
バミドチオン	99.3
ピラクロホス	73.3
ピリダフェンチオン	92.3
ピリミホスメチル	84.3
フェナミホス	47.8
フェンシルホチオン	100.8
フェンチオン	85.3
フェントエート	88.3
ブタミホス	82.5
プロチオホス	80.0
プロパホス	93.8
プロフェノホス	84.3
ホサロン	91.0
ホスチアゼート	97.5
ホスメット	131.5
ホレート	92.5
マラチオン	89.0
メタミホス	91.8
メチダチオン	88.3
モノクロホス	97.8

* 試料あたりの濃度 10 ng/g

表4 シリンジスパイク試験結果

回収率(%)	
10ng/g	50ng/g
88.2	93.2
105.2	98.4
96.0	102.0
99.4	102.0
90.4	93.6
85.2	86.8
81.6	90.0
93.6	94.0
76.4	90.0
92.0	91.2
73.2	68.4
82.4	82.8
89.0	95.2
83.6	84.4
94.4	90.4
95.4	97.2
76.4	81.6
96.2	91.2
91.4	94.0
50.2	44.4
78.4	93.6
101.2	98.8
91.4	94.8
93.0	90.0
90.2	85.2
69.6	79.2
85.4	84.8
116.6	96.8
95.0	87.6
98.2	104.0
102.4	98.8
81.4	85.2
89.0	95.6
87.4	90.0
55.8	54.0
100.0	99.2
100.4	96.4
91.0	90.4
78.2	85.6
105.2	100.8
95.2	91.6
77.8	84.4
86.4	90.8
98.6	94.0
135.8	141.2
85.2	89.6
100.8	94.4
92.0	96.0
96.8	92.4
100.4	99.2

* 25倍希釈調製

表 5 添加回収試験結果

農薬名	回収率(%) n = 3			
	10ng/g		50ng/g	
	平均	RSD(%)	平均	RSD(%)
EPN	85.1	7.0	91.3	2.7
アジンホスメチル	93.3	5.7	98.0	1.1
アセフェート	92.2	2.6	97.5	1.7
アザメチホス	97.4	2.4	98.8	0.8
アニロホス	97.4	3.2	95.1	0.5
イソキサチオン	85.9	3.9	85.9	0.3
イソフェンホス	88.6	3.6	82.7	2.4
イプロベンホス	98.1	3.8	93.5	1.1
エチオン	84.9	3.4	87.1	2.4
エチフェンホス	86.3	3.4	90.0	1.6
エトプロホス	72.6	4.4	70.8	2.9
エトリムホス	76.3	3.2	80.8	0.9
オメエート	83.1	1.7	92.7	0.2
カスサホス	87.7	1.9	85.3	2.0
キナルホス	87.3	3.6	88.4	1.2
クマホス	97.1	1.4	98.8	1.1
クロルピリホス	72.6	9.4	74.1	1.4
クロルピリホスメチル	84.3	5.2	95.5	6.8
クロルフェンピホス(Z)	90.3	1.6	95.5	1.1
シアノフェンホス	49.5	2.4	50.1	17.7
ジクロフェンチオン	80.3	12.9	88.8	2.8
ジクロロホス	135.1	2.5	128.4	6.7
ナレド	10.9	49.3	28.7	50.4
ジメチルピホス	91.5	3.0	93.7	2.1
ジメエート	84.2	5.0	82.0	1.3
スルプロホス	75.0	5.4	74.0	7.1
ダイアジノン	86.7	3.2	84.0	2.1
チオメトン	97.4	3.7	87.3	2.4
テルブホス	83.7	2.8	84.8	3.9
トリクロホスメチル	82.7	2.0	97.5	6.4
バミドチオン	95.0	2.1	98.4	2.2
ピラクロホス	86.5	1.8	89.3	1.8
ピリダフェンチオン	95.9	2.8	96.1	1.9
ピリミホスメチル	84.3	2.9	87.7	1.8
フェナミホス	52.4	2.9	53.6	2.7
フェンシルホチオン	97.3	1.2	102.0	1.2
フェンチオン	88.7	1.6	94.9	1.7
フェントエート	89.1	3.8	92.0	1.3
ブタミホス	82.5	1.2	86.0	2.1
プロチオホス	87.9	2.0	83.2	3.8
プロパホス	90.1	1.8	92.3	2.4
プロフェノホス	88.1	3.8	86.4	0.8
ホサロン	93.1	3.2	90.0	1.5
ホスチアゼート	97.9	3.1	97.3	1.3
ホスメット	143.2	7.5	146.3	1.8
ホレート	81.6	5.1	85.6	1.7
マラチオン	85.7	2.5	95.3	1.0
メタミドホス	89.7	2.5	88.8	3.0
メチダチオン	91.2	1.5	94.9	1.9
モノクロホス	95.7	5.1	96.5	0.6

4. まとめ

有機リン系農薬について、LC/MS/MS を用いた一斉分析法の検討をしたところ、90%アセトニトリル溶液を用いて抽出した試料を 25 倍に希釈して測定する方法が最も迅速・簡便で、結果が良好であった。この方法を用いて、試料あたり 10 ng/g および 50 ng/g の 2 濃度、各試行数 n=3 で添加回収試験を実施したところ、70～120%の回収率が得られたのは、50 成分中 45 成分であり、各 RSD は 15%以下であった。以上のことから本法は加工食品中の有機リン系農薬の一斉分析法として有用であると考えられる。

参考文献

- 1) 畠山 えりこ 他：限外ろ過膜を用いた LC/MS/MS による農薬物中の残留農薬一斉分析，食品衛生学雑誌，**47**, 4, 2006, 137-145.
- 2) 石井里枝他：LC/MS/MS による農作物中の残留農薬一斉分析法，食品衛生学雑誌，**47**, 5, 2006, 201-212.
- 3) 平原嘉親他：農作物中 140 農薬の GC, GC/MS および LC/MS/MS を用いたスクリーニング法への適用性の検討，食品衛生学雑誌，**47**, 5, 2006, 225-231.
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課：事務連絡「食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について」，平成 20 年 3 月 7 日.
- 5) 梶田弘子：食品中の残留農薬および動物用医薬品分析における限外ろ過膜の利用とその留意点，食品衛生学雑誌，**48**, 1, 2007, J5-6.
- 6) 伊吹幸代他：LC/MS/MS による果実・野菜中のジクロロホス，トリクロロホンおよびナレドの同時分析，食品衛生学雑誌，**48**, 5, 2007, 139-143.

秋田県における空間放射線量率の連続測定結果

珍田尚俊 柳田知子 松田恵理子

全国で実施されている環境放射能調査の一環として、核実験または原子力災害由来の放射性降下物による秋田県内での放射線の変動を把握・監視するため、空間放射線量率の連続測定を実施している。昭和45年から平成21年度までの40年間実施した測定結果から、天候および季節的な特徴や測定機器の変更・移設による空間放射線量率の変化はみられたものの、放射能汚染等による経年的な変動はほとんどみられなかった。しかし、放射線の経日変化では、昭和47～52年の間に実施された中国核実験や、昭和61年4月のチェルノブイリ原発事故の影響による空間放射線量率の上昇が一定期間みられた。特に昭和51年9月の中国核実験の影響が大きく、核実験実施2日後の9月28日に平常時の約5倍レベルの値を観測した。測定結果から核実験等由来の外部被曝によるおおよその実効線量を試算したところ、推定で中国核実験では0.016 mSv、チェルノブイリ原発事故では0.003 mSv程度と見積もられ、公衆被曝の年間線量限度である1 mSv¹⁾と比べて、1/50以下とかなり低いレベルであった。

1. はじめに

第2次世界大戦で初めて原爆が使用されてから、米ソを中心に核開発の競争が激化し、昭和30年代を中心にたくさんの核実験が世界各地で実施された。特に大気圏内核実験が長年繰り返されたことで、大量の人工放射性物質（人工的に生成された放射性元素、またはそれを含有する物質）が放射性降下物として世界中に飛来したため、放射線被曝による癌や白血病等の被害が懸念されるようになった。秋田県では昭和30年代から環境放射能調査を実施し、県内で採取した試料の全β放射能（試料から放出されるβ線の総量）を分析することで、県内の放射能レベルの把握に努めてきた。しかし、試料採取や前処理に時間がかかることや、放射線に対する人的影響の度合いを算出できないという欠点があった。そこで、昭和45年から放射線の一つであるγ線をリアルタイムで測定可能なモニタリングポストが整備され、地表や大気等の周辺環境から放出されているγ線量（空間放射線量率）が、迅速かつ連続的に把握できるようになった。ここでは、当センターで長年実施してきた空間放射線量率の測定結果を解析し、その特徴や変動要因について考察したので、その概要を報告する。

2. 方法

2.1 使用機器

低線量の空間放射線量率の測定が可能な NaI (TI) シンチレーション検出器を用いたモニタリングポストを使用した。使用時期および機種は次の①～④のとおりである。

- ① 昭和45～58年度：富士通社製 PS-532 型
 - ② 昭和59～平成4年度：アロカ社製 MAR-R-42 型
 - ③ 平成5～16年度：アロカ社製 MAR-21 型
 - ④ 平成17～21年度：アロカ社製 MAR-22 型
- 平成4年度まで使用した機器は、地上に放出されているγ線の計数率（単位：cps）を測定する装置である。平成5年度から使用した機器は、γ線の線量率（単位：nGy/h）を測定できるエネルギー補償型（DBM方式）の装置で、この線量率から人体に対する被曝線量（以後、「実効線量」と呼ぶ）の評価が容易となる。

2.2 観測期間および地点

空間放射線量率の測定を開始したのは昭和45年3月25日からである²⁾が、ここでは昭和45年度から平成21年度までの40年間の測定データについて解析した。観測地点は、昭和61年8月中旬までは旧衛生科学研究所（秋田市千秋明徳町1-40）、8月下旬以降は当センター（秋田市千秋久保田町6-6）の屋上で、そこに設置したNaI (TI) シンチレーション検出器により空間放射線量率を連続測定した。測定結果は室内の監視用モニターへ送信し、日間の最大、最小および平均値を記録した。

3. 結果および考察

3.1 経年変化

平成4年度以前の空間放射線量率（計数率）の年間の平均値および変動幅を図1に示した。測定時期により平均値の大きさが3パターンに変化している。1つ目は昭和58年度以前と59年度以降で平均値が異なっており、58年度以前の方が約1割ほど高い。これは、測定装置の機種変更によるものであり、測定原理は同じであるが、検出器の構造や性能等の違いによって検出感度が若干異なるためである。2つ目は昭和61年の8月を境に計数率が2割以上上昇している。これは、61年8月下旬に装置を旧衛生科学研究所から当センターへ移設したことにより変化したものであり、測定地点によって放射線のレベルが異なるためである。全体的にみると、昭和45～58年度までの年間平均値は12.9 cps、機種変更した昭和59年度から61年8月中旬までは11.4 cps、機種移設した昭和61年8月下旬から平成4年度までは14.5 cps程度であり、おおむね一定の値であった。しかし、昭和51年度は13.7 cpsで、中国核実験の影響で通常よりも1割弱高かった（詳細は3.3で述べる）。また、昭和58年度は12.0 cpsで、地表や建物から発するγ線が、深い積雪により遮断された期間が長かったことで、通常よりも1割弱低くなった。

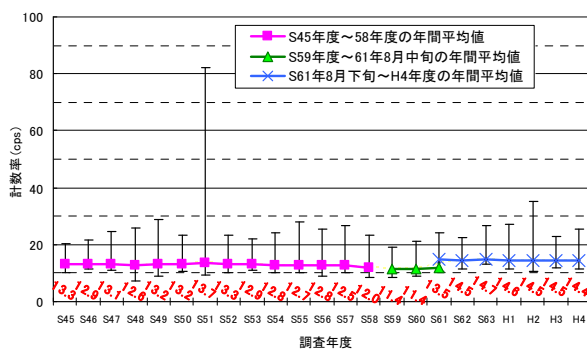


図1 昭和45～平成4年度空間放射線量率（計数率）の年間値

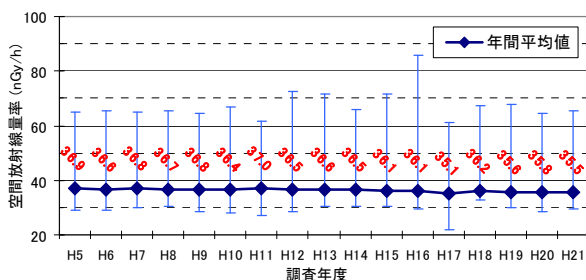


図2 平成5～21年度空間放射線量率の年間値

平成5年度以降の空間放射線量率の年間の平均値および変動幅を図2に示した。年間平均値は約36 nGy/hとほぼ一定であり、変動幅は16, 17年度を除いて約30～70 nGy/hの範囲内であった（図1）。平成5年度以降、最も高かった平成16年度の最大値は、1月25日の86.0 nGy/hで、雷雪や霧によって地表に放射性物質が降下・集積したことが原因として考えられる。また、最も低かった平成17年度の最小値は、1月9日の21.8 nGy/hで、地表や建物から放出されているγ線が、70 cm以上の深い積雪で遮断されたことが原因である。

3.2 季節変化

昭和45～平成4年度（昭和51, 61年度は核実験または原発事故等の影響が無視できないため除いた）の月別測定結果を図3に、平成5～21年度の月別測定結果を図4に示した。共に月間平均値では積雪により、1～2月頃に低値となっていた。また、10～11月が他の月よりわずかに高値になっていた。これは、雨水による全β放射能の降下量が10月から12月にかけて大きく上昇する³⁾ことから、降水による放射性降下物が増加したためと考えられる。月間の最大値については降水の影響³⁾により12月前後が高

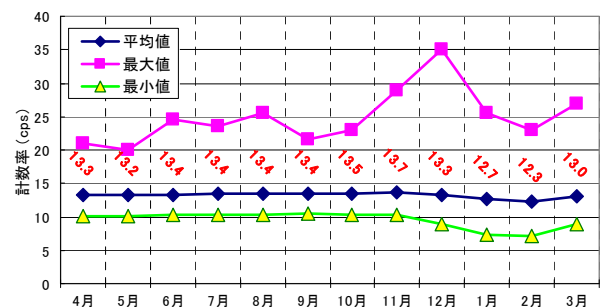


図3 昭和45～平成4年度空間線量率（計数率）の月間値（昭和51, 61年度は除く）

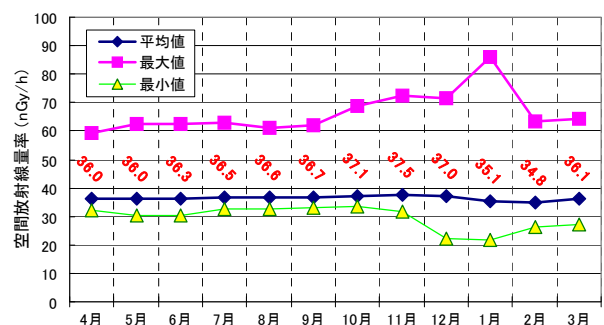


図4 平成5～21年度空間放射線量率の月間値

く、最小値については積雪の影響により 1 月前後が低くなっていた。

3.3 中国大気圏内核実験による影響

中国核実験の影響がみられた時期の空間放射線量率(計数率)の日間値分布を図 5～8 に示し、核実験により上昇した期間の平均値をマルで囲んだ。中でも図 7 に示した昭和 51 年の結果では、はっきりとした核実験による計数率の上昇がみられた。核実験が実施された 9 月 26 日頃から影響がみられ、2 日後の 28 日が最大となった。その最大値は 82 cps、日間平均値は 57.9 cps で、通常(年間平均 12.9 cps)と比べてそれぞれ 6.4 倍、4.5 倍と高値を示した。その後減少していったが、2 ヶ月以上は通常より高い状態が続いていた。図 5, 6, 8 に示したとおり、昭和 47 年 1 月、48 年 7 月、52 年 9 月にも核実験の実施日の 4～5 日後から計数率が上昇しており、その現象がそれぞれ約 10, 7, 20 日間ほど続いた。さらに、これらの時期における雨水の全 B 放射能が、通常よりもかなり高値であった³⁻⁵⁾ことから、核実験の影響を受けて上昇したのは明らかである。

当センターで空間放射線量率(計数率)の測定を開始した昭和 45 年から 55 年まで、中国大気圏内核実験が計 12 回以上実施された⁶⁾。しかし、それらの期間の空間放射線量率(計数率)の測定結果から、図 5～8 に示した時期以外の核実験の影響は確認できなかった(昭和 51 年 1 月に、核実験の影響と考えられる計数率の上昇が観測されたが、上昇幅が小さくかつ積雪の影響も重なり、はっきりと断言できなかったため、図には示さなかった)。

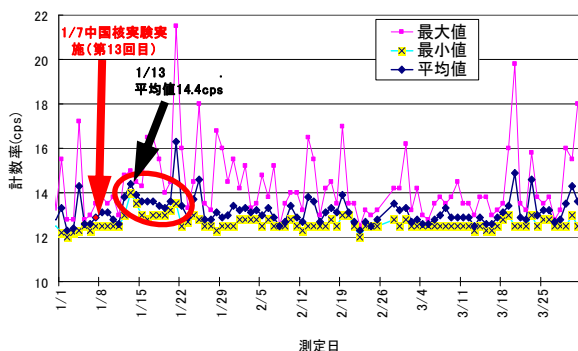


図 5 昭和 47 年 1～3 月の空間放射線量率(計数率)の日間値分布

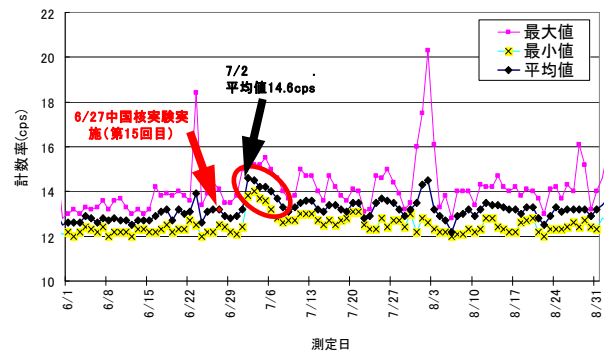


図 6 昭和 48 年 6～8 月の空間放射線量率(計数率)の日間値分布

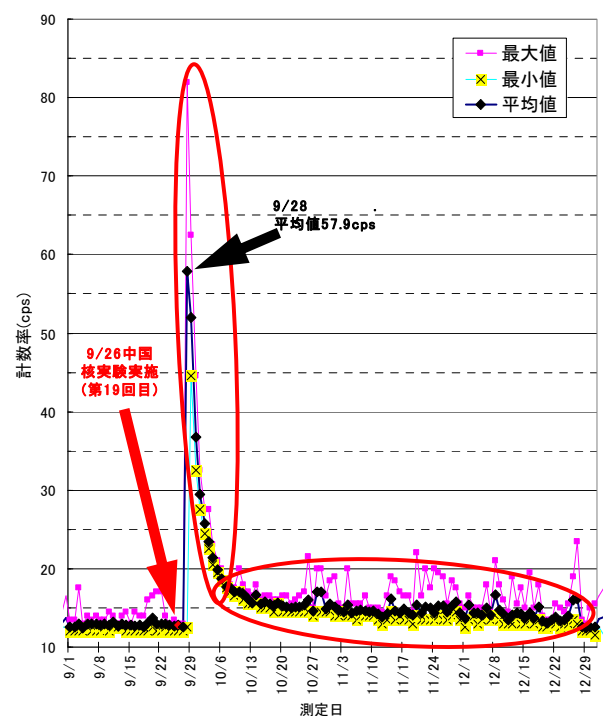


図 7 昭和 51 年 9～12 月の空間放射線量率(計数率)の日間値分布

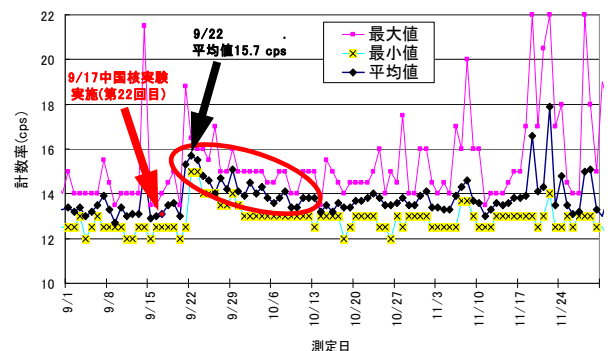


図 8 昭和 52 年 9～11 月の空間放射線量率(計数率)の日間値分布

3.4 チェルノブイリ原発事故による影響

旧ソ連で発生したチェルノブイリ原発事故の影響がみられた期間の空間放射線量率（計数率）の日間値分布を図9に示した。原発事故が発生した昭和61年4月26日から10日後の5月6日頃には影響が出始め、8日に平均値が極大（12.6 cps）となった。通常は11.4 cps前後の計数率であるが、5月6日以降は通常より高い状態が2ヶ月以上も継続しており、核実験時と比べて初期の計数率の上昇幅は小さいが、長期にわたり原発事故の影響がみられた。これは、雨水の全β放射能の測定結果³⁾から、核実験時と比べて人工放射性物質が、長い期間雨水等とともに降下したためであると考えられる。

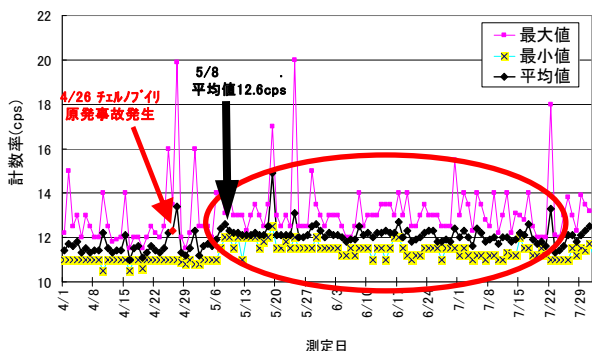


図9 昭和61年4～7月の空間放射線量率（計数率）の日間値分布

3.5 核実験等の外部被曝による実効線量

核実験等による放射性降下物の飛来により、空間放射線量率（計数率）が上昇した時期について、外部被曝による実効線量の算定を試みた。ここで問題となるのは、平成4年度以前まで測定していた計数率から、放射線に対する人への影響を示す実効線量（単位：mSv）を正確に算出することが困難であることである。そこで、大まかな実効線量を推定するために、地点の変更による放射線のバックグラウンドの変化を考慮した上で、計数率（cps）を線量率（nGy/h）に置き換え、核実験等による測定値の上昇分を加算した値から、およその実効線量を算出した。GyからSvへの単位変換には、環境放射線モニタリング指針を参考に、平常時の線量換算係数0.8(Sv/Gy)⁷⁾を用いた。ここで試算した結果（表1）によると、中国核実験による実効線量は4回分を総計して0.016 mSv程度、チェル

ノブイリ原発事故では0.003 mSv程度と推計された。チェルノブイリ原発事故により、実際に日本人が受けた外部および内部被曝を含めた実効線量は、0.005～0.0065 mSvといわれており^{8,9)}、外部被曝による実効線量は0.003～0.0044 mSv（外部被曝の寄与を68%⁹⁾として算出）であることから、ここで試算した0.003 mSvとほぼ一致する結果となった。また、ここで試算した核実験および原発事故の実効線量は、合わせても約0.02 mSv程度であり、一般の日本人が地表から自然に受けている年間実効線量の0.38 mSv⁸⁾や、ICRP（国際放射線防護委員会）が1990年に勧告した公衆被曝の年間線量限度である1 mSv¹⁾よりも、かなり低い値であった。このことから、昭和45年以降から中国核実験およびチェルノブイリ原発事故により受けた外部被曝により、県民への健康被害が起こる可能性は、極めて低いと言える。

表1 核実験等によるおよその外部被曝（実効線量）の推定値（単位：mSv）

中国大気圏内核実験		
第13回	（昭和47年1月実施）	0.0005
第15回	（昭和48年6月実施）	0.0004
第19回	（昭和51年9月実施）	0.014
第22回	（昭和52年9月実施）	0.0013
チェルノブイリ原発事故		
	（昭和61年4月発生）	0.003

4. まとめ

昭和45年～平成21年度の40年間、当センターおよび旧衛生科学研究所で、モニタリングポストを用いて空間放射線量率を連続測定した結果、次のことが明らかになった。

- 1) 年間平均値は、昭和45年から58年度までは12.9 cps、機種変更した昭和59年度から61年8月中旬までは11.4 cps、移設した昭和61年8月下旬から平成4年度までは14.5 cps程度で、各期間ほぼ一定の値であった。また、エネルギー補償型（DBM方式）となった平成5年度以降は、約36 nGy/hとほぼ一定であった。
- 2) 10月から増加する放射性降下物の影響を受けて、月間の平均値は10～11月、最大値は12月前後が高値となり、積雪の影響で1月前

後の月間平均値および最小値が低値となる季節変化がみられた。

- 3) 中国大気圏内核実験により、昭和 47 年 1 月、48 年 7 月、51 年 9 月、52 年 9 月の計数率が実験開始 2～5 日後から上昇した。特に昭和 51 年 9 月の上昇幅が大きく、最も影響が大きかった 9 月 28 日の最大値が 82 cps、日間平均値が 57.9 cps と平常時の 5 倍前後まで上昇した。
- 4) 昭和 61 年 4 月 26 日に発生したチェルノブイリ原発事故から 10 日後の 5 月 6 日頃から影響が出始め、中国核実験時と比べて初期の計数率の上昇幅は小さいが、通常より高い状態が 2 ヶ月以上も継続した。
- 5) 放射性降下物由来の外部被曝によるおおよその実効線量を試算したところ、中国大気圏内核実験による実効線量は総計 0.016 mSv 程度であり、チェルノブイリ原発事故では 0.003 mSv 程度と推定され、公衆被曝の年間線量限度である 1 mSv と比べても、1/50 以下の低いレベルであった。

参考文献

- 1) ICRP: Recommendation of the ICRP on Nov.1990, publication 60, 1991.
- 2) 科学技術庁：第 12 回放射能調査研究成果発表会論文抄録集, 1970, 117-119.
- 3) 珍田尚俊, 柳田知子：秋田県における雨水の全 β 放射能測定結果とその特徴, 秋田県健康環境センター年報, 4, 2008, 91-94.
- 4) 科学技術庁：第 14 回放射能調査研究成果発表会論文抄録集, 1972, 138-143.
- 5) 科学技術庁：第 16 回放射能調査研究成果論文抄録集（昭和 48 年度）, 1974, 184-186.
- 6) 日本分析センター：日本分析センター 20 年の成果, 1994, 25.
- 7) 原子力安全委員会：環境放射線モニタリング指針, 平成 20 年 3 月, 42.
- 8) 日本アイソトープ協会：新・放射線の人体への影響, 2001, 16-17.
- 9) 日本分析センター：原子力事故 公衆防護のための介入レベル, 平成 3 年 9 月, 24-25.

玉川源泉の成分変化が田沢湖の pH に及ぼす影響

成田修司 和田佳久 佐々木典子^{*1} 八柳 潤 布田 潔^{*2} 大下哲生^{*2} 佐久間昂^{*2}

平成 14 年ごろから、玉川源泉の総酸度（PP 酸度）が急激に上昇したのに伴い、下流の田沢湖において pH 低下が観測されるようになった。本研究では、同源泉下流域及び田沢湖における pH 低下の機構を解明することを目的に調査を実施した。その結果、総酸度を構成する弱酸成分の中の Fe^{2+} , Al^{3+} が加水分解することによって、それぞれの水酸化物の沈殿を生成すると共に H^+ を放出する反応が同源泉下流域において起こっていることを明らかにした。源泉付近の酸性河川中における Fe^{2+} の Fe^{3+} への酸化反応には、鉄酸化細菌の関与が明らかとなった。また、源泉の混入する湯川では主に強酸成分、中和放流水では Fe^{2+} , Al^{3+} の弱酸成分の酸性負荷が大きいこと、それら成分が流域環境において加水分解することにより流域及び田沢湖の pH 低下を引き起こしていると考えられる。

1. はじめに

秋田県の仙北市にある玉川源泉の大噴は、pH 約 1.2 の強酸性水を湧出している。その強酸性水は、長い間下流域の土壌や河川に多大な影響を与え、その酸性水が導入された田沢湖では pH が 4 台にまで低下した¹⁾。この酸性水対策として、平成元年には石灰中和処理施設が運転を開始し、源泉の大部分を pH 約 3.5 まで処理した

後、河川に放流することにより田沢湖の pH 改善が進んできた（図 1）¹⁻³⁾。しかし、平成 14 年ごろから源泉の総酸度（PP 酸度）が急激に上昇し¹⁻³⁾（図 2），下流の田沢湖において pH 低下が観測されるようになった³⁾。本研究では、「中和放流水の pH を約 3.5 に維持してきたにもかかわらず、なぜ、田沢湖の pH が低下するのだろうか。」という課題に対して、その機構を解明

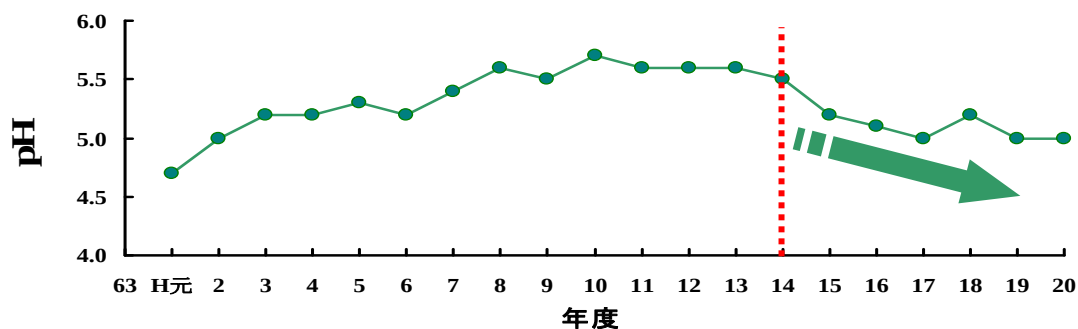


図1 田沢湖(表層, 湖心)のpHの経年変化

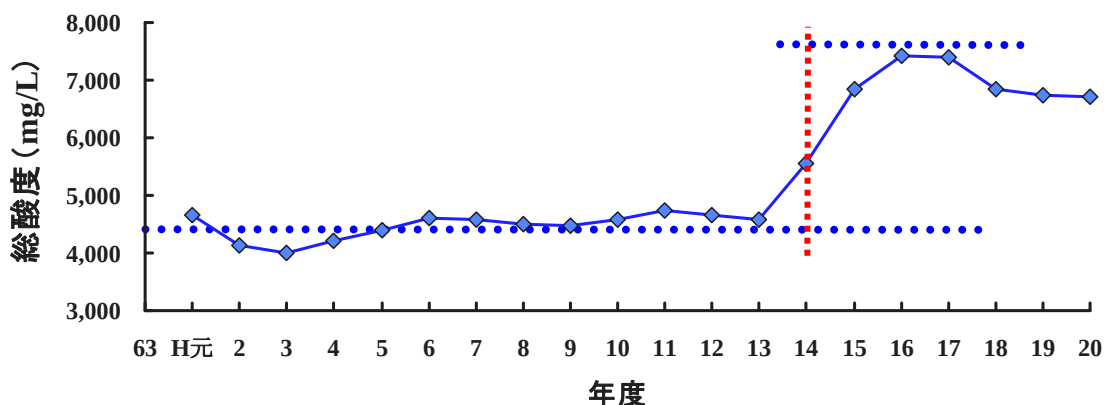


図2 玉川源泉大噴の総酸度の上昇

^{*1} 秋田県生活環境部温暖化対策課, ^{*2} 秋田大学工学資源学部

することを目的に調査を実施した。ここでは、この調査結果をまとめると共に、その結果から導き出された上記の pH 低下に関する対策のねらいについて報告する。

2. 調査方法

源泉及び流域の pH・酸度に関わる成分の実態を調べるため、平成 20 年 5 月に、図 3 に示す中和処理施設周辺の地点 A: 渋黒川(湯川合流前)、B: 湯川末端、C: 中和希釈水、D: 源泉(中和処理導入口)、E: 渋黒川(湯川合流後、中和放流水合流前)、F: 中和放流口、G: 渋黒川(中和放流水合流後)の計 7 地点で調査を実施した。各地点で試料水を採取するとともに、pH、全 Fe (T-Fe) 及び Fe^{2+} 濃度を測定し、T-Fe と Fe^{2+} との差から Fe^{3+} 濃度を算出した。採取した試料水を 9K 培地⁴⁾を用いて 30℃で 20 日間培養した後、MPN 法により鉄酸化細菌数を算出した。

また、玉川酸性水調査でこれまで蓄積された、玉川源泉から田沢湖に至る流域の、主要地点における水質データをまとめ、流域の pH 低下について考察した。

3. 結果と考察

3.1 源泉及び流域 pH・酸度に関わる成分の実態

3.1.1 中和処理施設周辺の pH の実態

中和処理施設周辺の酸性水及び河川水のの流れを図 3 に示す。流量が約 20000 L/min の湯川(地点 B)は、源泉が混入するため、酸性が強いことは昔から知られていた。しかしながら、

渋黒川との合流後(地点 E)及びその合流水が流下して中和処理放流水と合流後(地点 G)の pH やその流量についての調査は、これまでほとんど行われてこなかった。これら調査を本研究では、平成 20 年の 5 月に実施し、地点 A~G の pH 及び実測及び水収支より算出した流量(L/min)の結果を表 1 に示す。源泉の大噴は、9000 L/min の湧出量を有している。中和処理施設では、そのうちの 7000 L/min (地点 D)を直接導入し、石灰石を用いて中和処理を行い、酸性を弱めて(pH 約 3.5)放流(地点 F)している。その処理過程で、石灰石への鉄の水酸化物の沈着を防止するため、酸度をほぼ一定に保つことを目的として渋黒川より希釈水を約 5000 L/min 導入し、中和処理を円滑に行っている。このような流れの中で、渋黒川(地点 A)の pH は 4.21、見積もられた流量は 53000 L/min であった。湯川の酸性水と合流した後の地点 E では pH が 3.06 と低下し、見積もられた流量は 73000 L/min であった。その後、中和処理放流水(pH=3.50)と合流し、pH=3.11、流量 85000 L/min の流れ(地点 G)となって流下する。この中和放流水よりも、地点 G における pH が低下する現象について、前述の pH 及び流量の値を用いて、地点 G における pH の値を H^+ の収支により、算出したところ(式 a) $x=-3.1$ となり、地点 G の pH は 3.1 と導き出され、実測値 pH=3.11 と良く一致していた。つまり、上記の pH が低下する現象は、湯川から流入する酸性水が流入・合流後、混合することにより、生じた現象である

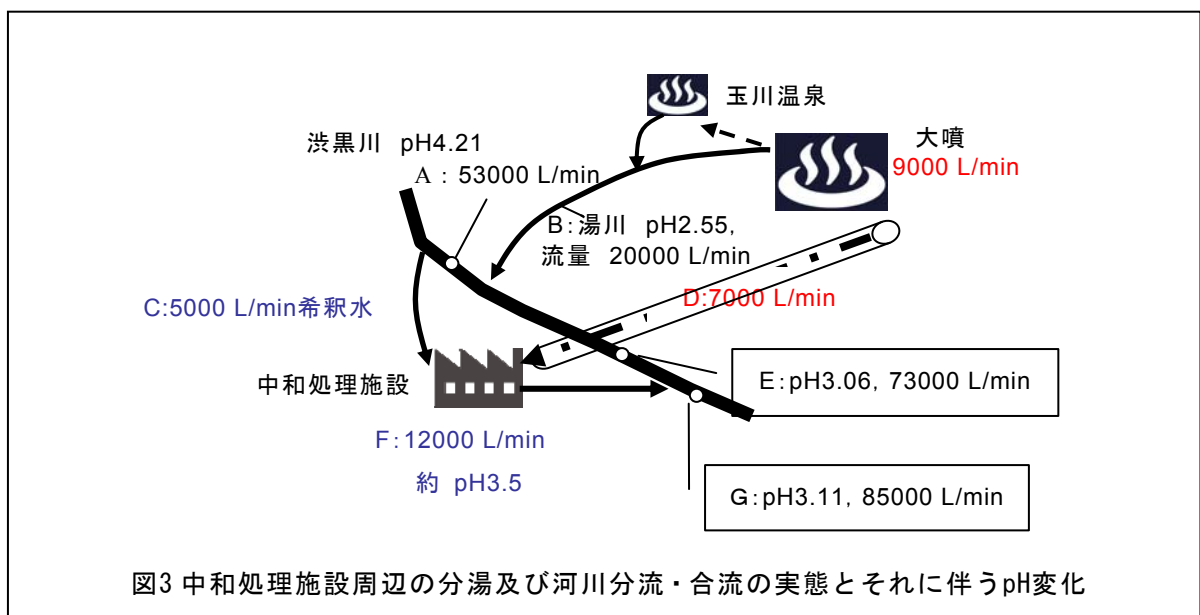


表1 地点A～GのpH及び流量

項目 地点	pH (－)	流量 (L/min)
A	4.21	53000
B	2.55	20000
C	4.21	5000
D	1.2	7000
E	3.06	73000
F	3.5	12000
G	3.11	85000

地点 E、G の流量：水収支により算出

ことが、本調査により明らかとなった。

流量 $E \times 10^{(-pH_E)} + \text{流量 } F \times 10^{(-pH_F)}$

$= (\text{流量 } E + \text{流量 } F) \times 10^{(-x)}$ (式 a)

しかしながら、中和処理施設は湯川酸性水の影響を考慮に入れて設計されており、その結果として、玉川ダムでは平成 13 年まで、田沢湖では平成 14 年まで pH は改善傾向にあった。pH の低下が確認され始めた時に、著しく変化した項目は源泉の酸度である。次節ではこの酸度変化について検討した。

3.1.2 源泉の総酸度及びその構成成分の変化

平成 13 年頃までは、4600 mg/L 程度と安定に推移していた総酸度であるが、平成 14 年頃から急激に上昇し、平成 15 年以降は 7000～8000 mg/L で推移している（図 2）。この総酸度は、強酸成分と弱酸成分により構成されている。強

酸成分については、中和処理施設の石灰中和で処理が可能であるが、弱酸成分については、中和処理施設で処理することが困難であり、同施設を透過している現状である。当センターでは、この弱酸成分の中に存在する Fe^{2+} 、 Al^{3+} （以降、潜在的酸性成分と記述する。）に着目し、それらが、流域に及ぼす影響を検討した。総酸度の上昇に伴う、潜在的酸性成分である鉄とアルミニウムの近年の濃度変化を図 4、5 にそれぞれ示す。鉄は平成 11 年頃まで約 50 mg/L 前後で安定して推移していたが、平成 11～14 年頃まで、80～100 mg/L にゆるやかに上昇後、平成 17 年にかけて約 230 mg/L まで急激に上昇し、現在の濃度は、平成 11 年頃までの約 3 倍の 160 mg/L で推移している。また、アルミニウムも類似の挙動を示し、平成 14 年頃まで約 100 mg/L の濃度で推移していたが、その後、平成 18 年にかけて 300 mg/L まで急激に上昇し、現在は平成 14 年頃の濃度の約 2.5 倍の 250 mg/L 付近を変動している。このような、潜在的酸性成分の変化は、源泉を直接導入する中和処理施設及び源泉が混入する湯川に直接影響を与えると考えられるため、それらから未処理のまま流下する酸度を構成する成分の負荷量の算出結果を図 6 に示す。

湯川及び中和放流水の酸性成分を総酸度（PP 酸度）に等量換算した負荷量（kg CaCO_3 /分）は、それぞれ 6（kg CaCO_3 /分）前後とほぼ同量であるが、総酸度を構成する成分の割合はかなり異なっていた。湯川は全負荷量、約 6（kg CaCO_3 /分）の約 1（kg CaCO_3 /分）を Al^{3+} 及び Fe^{2+} が占

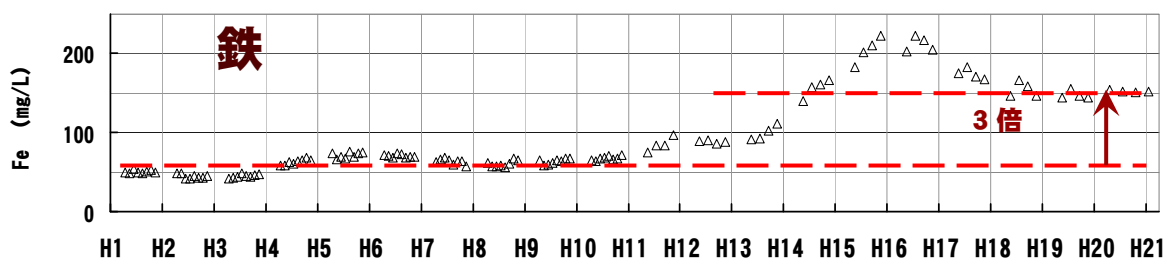


図4 源泉中の潜在的酸性成分である鉄の濃度上昇

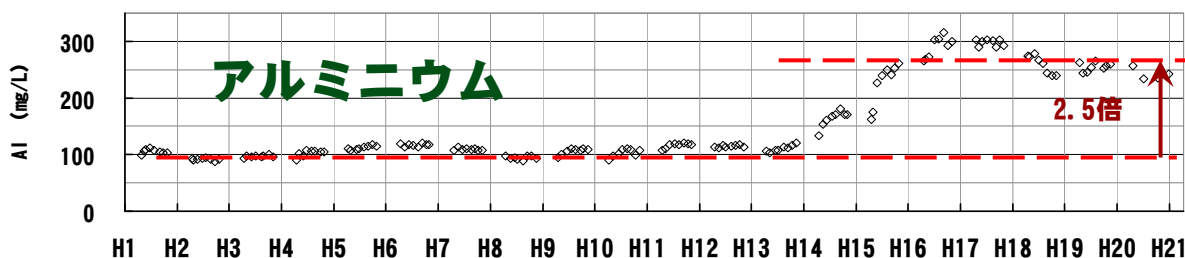


図5 源泉中の潜在的酸性成分であるアルミニウムの濃度上昇

め、残りの約 5 (kg CaCO₃/分) は未処理の強酸成分が占有すると見積もられた。一方、中和放流水では、Al³⁺及び Fe²⁺の和が全負荷量の 2/3 を占め、その中の Al³⁺は Fe²⁺の 4 倍の負荷量を占めていた。また、強酸成分は 1/3 程度と計算上見積もられるが、その中には石灰石中和の処理過程で溶解した炭酸イオン (CO₃²⁻) が含まれて

いると考えられる。これら中和処理施設で処理できない、あるいは同施設を経由しない成分の割合を図 7 の円グラフに示す。その結果から、おおよそ 4 割が湯川の強酸成分で、また約 5 割が Al³⁺と Fe²⁺からなる潜在的酸性成分であり、それらが未処理のまま流下することによって、下流域において pH を低下させる可能性が高い。

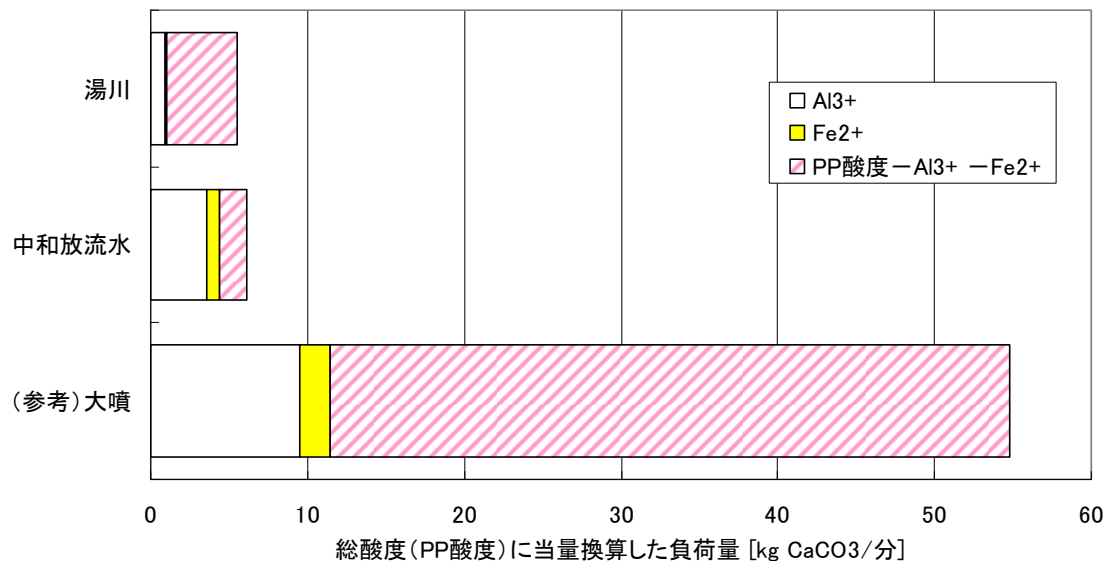


図 6 総酸度 (PP 酸度) に当量換算した未処理酸性成分の負荷量
(平成 21 年 7 月の調査データから算出)

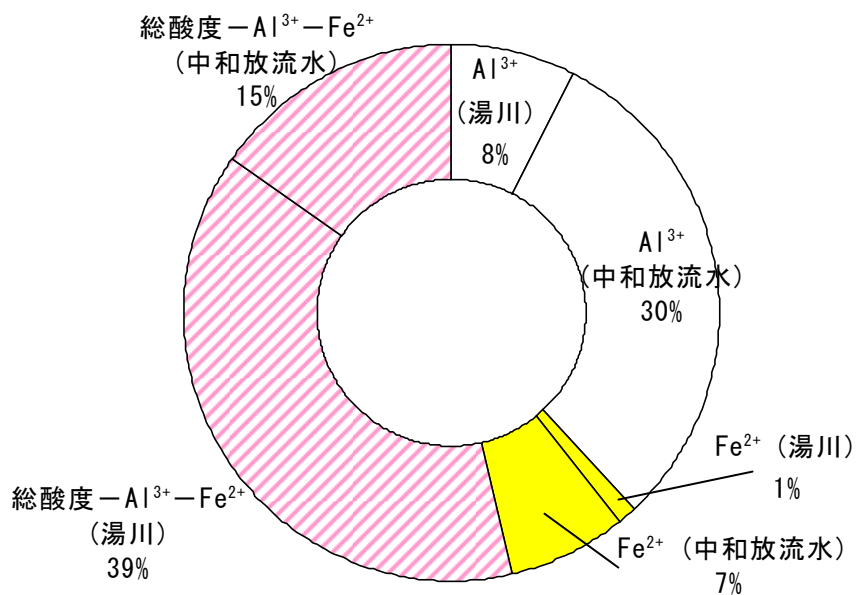
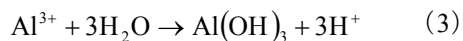
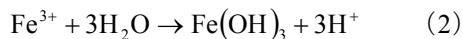
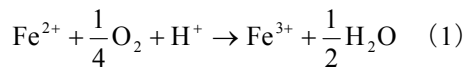


図 7 湯川及び中和放流水における酸性成分の負荷割合
(平成 21 年 7 月の調査データから算出)

3.2 潜在的酸性成分が関与する pH 低下の反応機構

本節では、3.1.2 に記述した潜在的酸性成分が関与する pH 低下の可能性を検討し、考察を行った。その結果、同成分が下流域において、水素イオン (H^+) を放出し、pH を低下させる反応機構（以下、反応式 (1) ～ (3)）を明らかにした。



Fe^{2+} は式 (1) ～ (2) の2段階反応によって H^+ を放出すると考えられる。1段階目の反応は溶存酸素による、 Fe^{3+} への酸化である。2段階目は Fe^{3+} の加水分解による鉄の水酸化物の生成と H^+ の放出である。一方、アルミニウムは両性金属であることから、式 (3) の加水分解による H^+ の放出は pH5～7 の中性付近で生じる反応である。

一般的に (1) の反応は玉川上流部のような酸性溶液中では、極めて遅い反応、すなわち、起こりにくい反応であることが知られている。しかしながら、酸性水が流れる渋黒川上流部では現実に鉄の水酸化物の沈殿が生成し、赤褐色の沈殿として観察されている。そこで、著者らは酸性河川中において (1) の酸化反応に触媒的な関与を疑った。この触媒的に作用するものとして、我々が導いた仮説は、酸性河川中において酸化の反応速度を著しく増大させることが知られている鉄酸化細菌（図8）の関与によるものである。その仮説を確かめるために、酸性水の混入する湯川及び中和処理施設周辺の渋黒川上流部から約5 km 下流にかけて、鉄酸化細菌の生息状況及び流域の鉄の存在形態について調べた結果を図9に示す。

中和放流水が合流前の地点 A, B, E の鉄酸化細菌数はそれぞれ 33, 350, 350[MPN/100ml]であった。源泉には鉄酸化細菌は生息していないことを確認していることから、わずか数百メートルの湯川流域において、同細菌が発生、増殖している可能性が高い。また、図10に示した pH vs ORP の関係より、地点 B の鉄は2価で安定な領域にあり、3価は存在しないはずであるが、上記細菌数の結果と呼応するように3価の割合が全体の1/4を占

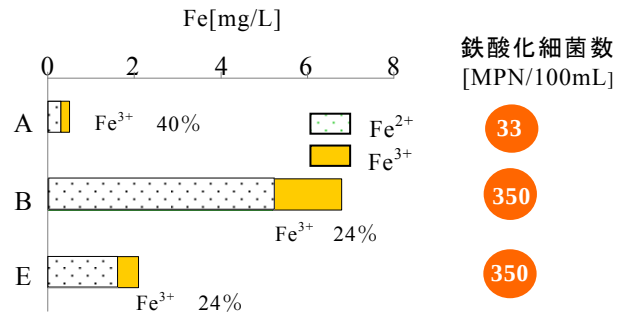


図9 調査地点A, B, Eにおける鉄の存在形態と鉄酸化細菌数



図8 鉄酸化細菌の電子顕微鏡写真

<http://www.okayama-u.ac.jp/user/agr/nougaku0107.htm> (アクセス日 2010/11/11)

めていた。つまり、前述の (1) 式において、鉄酸化細菌の触媒的な関与によって鉄の2価～3価への反応を促進させ、酸性水中においても (2) の反応が生じ、下流域において pH 低下を引き起こすと考えられる。今回の調査では、さらに下流の全調査地点において鉄酸化細菌の存在が確認された。

3.3 潜在的酸性成分の流下の実態とそれら成分が流域及び田沢湖の pH へ及ぼす影響

湯川及び中和放流水に含まれる潜在的酸性成分が上流部から流下に伴って変化する実態を図11に示す。

中和処理施設から約5 km 下流の渋黒川五十曲では、平成14年頃まで、鉄及びアルミニウムの濃度がそれぞれ約5 mg/L、約10 mg/Lと推移していたが、平成14年を境に鉄で10～15 mg/L、アルミニウムで約20 mg/Lに上昇していた。玉川ダムは、pHが4後半であることから、鉄はほぼ沈殿し、低い濃度で推移していた。しかし、アルミニウムの濃度は平成15年頃から急激に上昇し、約2～3 mg/Lで推移していた。

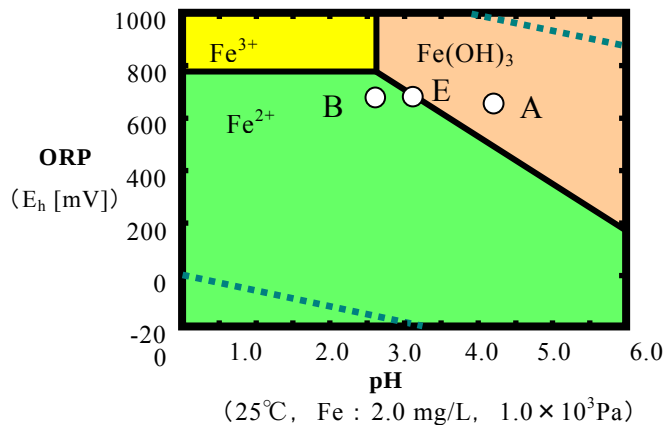


図10 pH及び酸化還元電位(ORP)で決定する鉄の形態

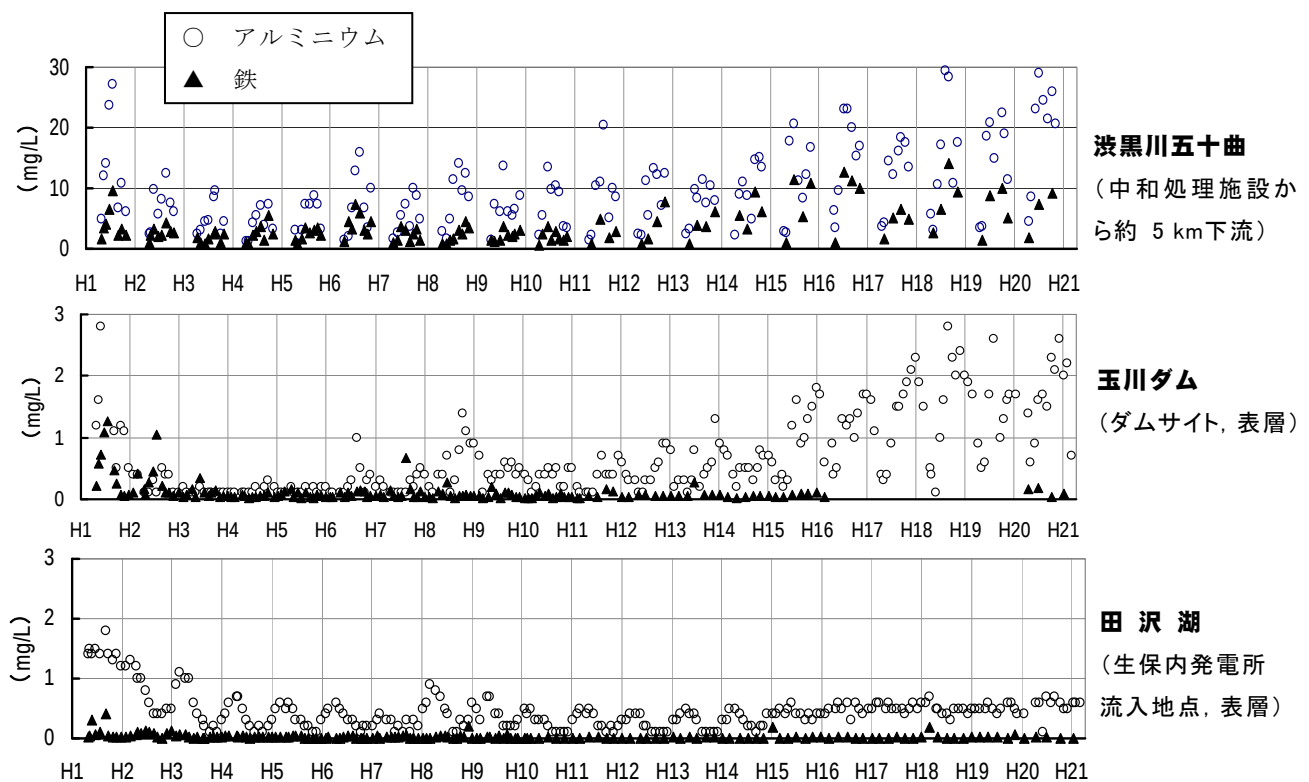
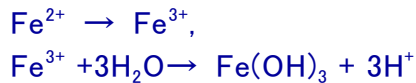


図11 中和処理施設を経由しない、または、同施設で処理できない鉄及びアルミニウムの流下の実態

一方、pH 約 5 の田沢湖の鉄については、玉川ダムと同様に低濃度で観測されていたが、アルミニウムについては、平成 15 年頃から約 0.6 mg/L の濃度でほぼ一定となり、それ以前の季節的な濃度の変動は見られなくなった。この現象は、過剰に供給される Al^{3+} が pH 約 5 の田沢湖内で加水分解し、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ の生成と H^+ が放出する反応式 (3) が進行し、田沢湖内では Al^{3+} の溶解と $\text{Al}(\text{OH})_3$

の生成・沈降が平衡状態となることによって、 Al^{3+} が一定の濃度で観測されていると考えられる。つまり、田沢湖においてアルミニウムの加水分解による pH の低下が進行していることが理解される。以上の結果をまとめ、鉄、アルミニウムの潜在的酸性成分が流下に伴いその流域及び田沢湖において pH 低下を引き起こす機構について、図 12 に示す。

鉄酸化細菌の生息環境における鉄の酸化と加水分解



玉川ダムを透過した Al^{3+} が田沢湖のpH5付近で加水分解



上記の2つの反応により流域のpH低下を引き起こす。

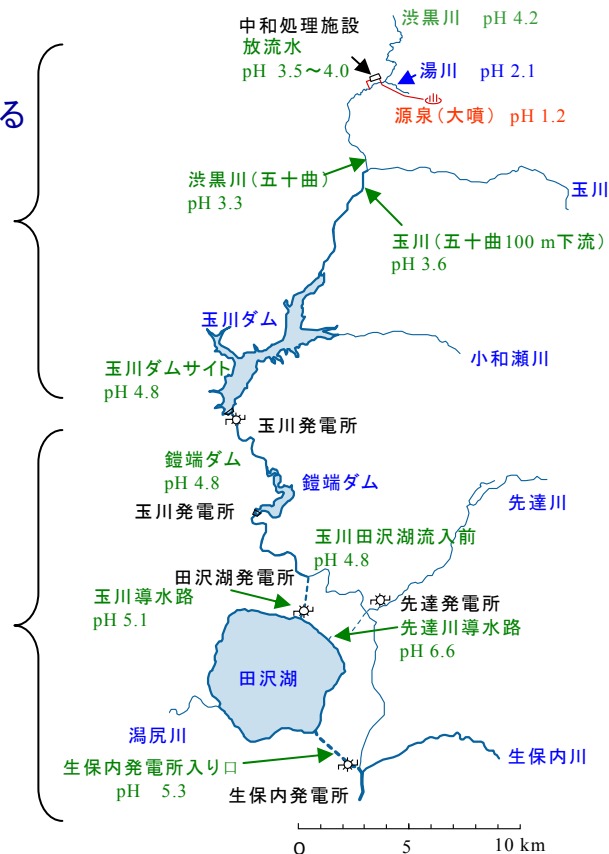


図12 潜在的酸性成分による流域及び田沢湖のpH低下の機構 (pHは20年度の平均値)

未処理の酸性水が混入する湯川及び中和処理施設で処理できない Fe^{2+} 及び Al^{3+} は玉川ダムサイトまでの間に式 (1~2) の反応が進行し、 H^+ の放出により流域の pH を低下させながら、 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ の生成・沈降が終了すると考えられる。ダムサイトにおける pH は約 4.8 であるため、もう一つの潜在的酸性成分であるアルミニウムの一部は、ダムを透過すると考えられる。透過した Al^{3+} は、pH が 5~中性付近で加水分解することから、pH=5 付近の田沢湖において $\text{Al}(\text{OH})_3$ の生成に伴い、 H^+ の放出による pH 低下を引き起こすと考えられる。

4. 湯川酸性水対策への展開

上記の結果を受け、当センターでは未処理の源泉が流入する湯川の酸性水対策に向けた取組を平成 22 年度から実施している。この対策のねらいを次に述べる。

1. 湯川から流入する未処理の強酸成分の酸性を弱め、渋黒川と合流させる。
2. 1 で酸性を弱められた河川水が、中和放流

水と合流した後に、同放流水よりも pH が低下する逆転現象を阻止する。

3. 上記 1~2 のように、上流部の酸性を弱めることにより、潜在的酸性成分である Fe^{2+} が関与する pH 低下 (式 1,2) を現在よりも上流部にシフトさせる。
4. 上記 3 に関連して、 Al^{3+} が関与する pH 低下 (式 3) を玉川ダムサイトまでに終了するために pH を 5 以上に改善し、 $\text{Al}(\text{OH})_3$ をダムでトラップすることにより、田沢湖を含む下流域の pH を改善する。

参考文献

- 1) 後藤達夫: 「続報」神秘的な田沢湖の水質改善化について (4) その 1, 水, **50**, 1, 2008, 33-37.
- 2) 国土交通省東北地方整備局玉川ダム管理所: 玉川中和処理の概要 (平成 20 年度版), 2009.
- 3) 秋田県: 平成 21 年度版環境白書 (本編), 2009, 59.
- 4) Silverman, M. P. and Lundgren, D. G.: STUDIES ON THE CHEMOAUTOTrophic IRON BACTERIUM FERROBACILLUS FERROOXIDANS, Journal of Bacteriology, **77**, 1959, 642.

IV 発表業績

1. 学会発表

中高齢者における飲料に関する調査

高階光榮，原田誠三郎，高山裕子

第 58 回東北公衆衛生学会
2009 年 7 月，秋田市

秋田県では豊かな農産物を活用して産学官が連携し，中高齢者向けに健康を食生活の面から支える機能性の高い食品の開発と食品産業クラスターの形成に取り組んでいる。今回その一環として，清酒をベースとした新たな飲料を開発するための基礎資料を得ることを目的に，中高齢者の飲料の利用状況やニーズ等について，平成 20 年 2 月，秋田県に在住する 40 歳以上の中高齢者 300 名を対象に，質問紙調査を実施した。

その結果，中高齢者が普段よく飲む飲料としては，男女とも多い順に「日本茶・中国茶」，「牛乳」であった。飲酒状況については，週 3 日以上飲む飲酒習慣がある人は男性では約 60%であったが，女性では約 10%であった。男性で年代別に飲酒習慣がある人は，50 歳代が 80%と一番多く，次いで 60 歳代が 60%であり，40 歳代は 43%と一番少なかった。嚥下能力については，ほとんどの人が「支障なし」と答えていた。健康観については，男性で 34%，女性で 21%が「健康であると思わない」と答えており，その理由として血圧，痛み等をあげていた。健康観と飲酒状況との間には特徴的な傾向はあまりみられなかった。飲料開発に対する意見としては「健康に良い」，「安全である」，「低カロリー」，「不足を補う」等をキーワードとした内容がみられた。

中高齢者における加工食品に関する意識調査

高階光榮，高山裕子

第 68 回日本公衆衛生学会
2009 年 10 月，奈良市

秋田県では豊富な農産物を活用して産学官が連携し，中高齢者向けに機能性の高い食品の開発と食品産業クラスターの形成に取り組んでいる。今回，新たな食品を開発するための基礎資料を得ることを目的に，中高齢者の加工食品の使用実態やニーズ等について，平成 21 年 1～2 月，秋田県在住の 40～80 歳代の男女 202 名に，質問紙調査を実施した。

その結果，購入する際一番重視する事項は，「原産地」と答えた人が 39.1%と一番多く，次に「原材料」であった。二番目に重視する事項は，「原材料」，「値段」，「製造・販売会社」と答えた人が約 20%であった。利用している加工食品は，「減塩食品」と答えた人が 43.9%と一番多く，次いで「無添加食品」，「低カロリー食品」であった。開発を望む食品としては，「地場産を利用した食品」，「無添加食品」，「安全な食品」等があげられた。特定保健用食品を知っている人は約半数であった。健康食品を利用している人は，35.7%であり，その内容は，「ビタミン類」が 40.0%と一番多く，次に「コラーゲン」，「ヒアルロン酸」等であった。咀嚼能力については，「支障なし」が 40～64 歳以下では約 6 割であったが，65 歳以上では約 4 割であった。嚥下能力については，年代が上がっても約 9 割が「支障なし」と答えていた。健康状態については，約 2 割の人が「健康ではない」と答え，その理由としては血圧，痛み等であった。

秋田県の結核登録状況と健康環境センターの役割

田中貴子，村山力則，高階光榮，
宮腰玲子*¹，成田千秋*²

第 58 回東北公衆衛生学会
2009 年 7 月，秋田市

今回，結核登録者情報調査システムによる平成 19 年の結核発生状況並びに登録者の状況を解析した。また，結核登録者情報調査事業における当センターの役割や今後のあり方について検討した。平成 19 年の結核新登録患者は 149

人、罹患率は人口10万対13.3（全国19.8）であった（以下、率の単位である「人口10万対」を省略）。最近10年間の年次推移をみると罹患率は、平成10年の25.9から平成19年は13.3に低下し、有病率は平成10年の28.3から平成19年は9.5に低下した。年末登録者中の活動性不明は22.1%（全国18.4%）であったが、68.8%と高い保健所もあった。集団感染事例は平成10年8月以降、6事例発生していた。当センターの役割についてであるが、平成19年の結核新システムの導入、結核の感染症法への統合による感染症システムへの結核入力業務においても、当センターは結核研究所やヘルプデスク等の関連機関と連携を密に取りながら、これらのシステムの安定した運用を図るため保健所を支援してきた。さらに、集計結果から得られたデータを基に、結核月報・年報管理、データの蓄積、情報発信等の業務を行ってきた。今後も当センターは結核情報の集約及び発信の中核にあることを認識し、情報を的確に分析する能力を高め、日ごろの結核対策に活かせる情報提供を心がけていくことが必要であると考えられた。

*1：秋田県秋田地域振興局福祉環境部、

*2：秋田県健康福祉部健康推進課

秋田県における新型インフルエンザ・サーベイランス対応について

村山力則，佐藤美子，原田誠三郎，高階光榮

第58回東北公衆衛生学会
2009年7月，秋田市

世界中に広まった新型インフルエンザは、平成21年5月8日に日本で確認され、約1ヶ月後の6月11日には秋田県でも初の患者が確認された。国内患者の増加に伴い厚生労働省は新型インフルエンザの全数把握を中止し、8月10日には、秋田県においても新型インフルエンザの全数把握を中止した。そしてサーベイランスは拡大感染早期探知、重症化、ウイルスの性状変化の監視、および全体的な発生動向調査を把握する新たな体制に移行した。また入力システムとして従来から稼働しているNESIDに加え、新型

インフルエンザ暫定サーベイランスシステム（i-NESID）を立ち上げ稼働した。

国・都道府県においてはこれまで、新型インフルエンザが発生した場合に備え、行動計画やマニュアル等を作成するとともに、サーベイランス対応についても非常事態に備え体制を構築してきた。しかし今回の新型インフルエンザ患者の発生時には、感染研のシステムの不備または認識不足などから関係機関の連携がうまく取れず、これまで構築してきたサーベイランス体制の一部が十分に機能しない点がみられたが、患者発生状況下で手探りをしながらサーベイランスの体制を整え対応を行った。

今後は、秋以降予想される季節性インフルエンザおよび新型インフルエンザの発生対応にむけて関係機関と連絡を密にとりながら監視体制を強化し、県民への迅速な情報提供を行っていくことが重要であると考えられる。

秋田県におけるスギ花粉飛散測定調査結果（1999年～2009年）について

原田誠三郎，千葉真知子*¹，小川千春*¹，
高山憲男*¹，高橋志保*²

第50回東北医学検査学会
2009年10月，秋田市

当センターでは、スギ花粉飛散長期予報及びスギ花粉飛散期間中におけるスギ花粉飛散予報について、各報道機関を通して県民に情報提供を行っている。今回は、秋田県内の内陸北部（大館保健所）、沿岸部（健康環境センター）、内陸南部（横手保健所）の3箇所ですギ花粉飛散測定調査を行ってきたので報告する。内陸北部の総数は2008年8240個が最多で、1999年376個が最少であった。開始は2000年2月11日が最も早く、2005年3月19日が最も遅かった。ピークは2008年3月27日が最も早かった。終了は2002年と2004年の4月22日が最も早く、2008年5月13日が最も遅かった。沿岸部の総数は2008年4245個が最多で、2002年198個が最少であった。開始は2007年2月20日が最も早く、2003年3月22日が最も遅かった。ピー

クは2004年3月17日が最も早かった。終了は2004年4月18日が最も早く、2006年5月8日が最も遅かった。内陸南部の総数は2009年7060個が最多で、1999年312個が最少であった。開始は2007年2月17日が最も早く、ピークは2002年3月21日が最も早かった。終了は2004年4月22日が最も早く、2005年5月9日が最も遅かった。今回の調査では、各箇所の気象条件等が総数、開始及び終了等へ影響したことが推測され、今後とも精度の高い情報提供を行うには同調査や気象条件等の解析活用が重要と思われる。

*¹：秋田県平鹿地域振興局福祉環境部、

*²：秋田県秋田地域振興局福祉環境部

食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の開発

東方美保^{*1}，斎藤博之，白土東子^{*2}，
田中智之^{*3}，野田 衛^{*4}

衛生微生物技術協議会第30回研究会
2009年7月，大阪府

ウイルス性食中毒の原因の大部分を占めるのがノロウイルス（NV）であることが判明している。しかしながら原因として疑われる食品からウイルスを検出できた例はカキを除けば極めて稀少である。こうした困難な状況を打開するために、固形、液状、練り物、油物などの一般的な食品からNVを検出する方法としてパンソルビン・トラップ法（パントラ法）を開発した。

市販の各種食品をNV陽性の糞便で汚染させたものを被検体とした。汚染食品は10gを計り取って洗滌液50mLで乳剤とし、NVウイルス様粒子（VLPs）で作成した抗血清を添加してNVと抗体の複合体を作らせ、そこにパンソルビン（黄色ブドウ球菌の菌体）を加えて、複合体を菌体表面のプロテインAに吸着させた。遠心によって菌体と一緒に沈殿したNVを回収し、検出効率を評価した。

食品を汚染させるのに用いた糞便乳剤上清から直接NVを検出した場合のコピー数と比較して、ポテトサラダでは78%、焼きそばでは15%

の回収率であった。一方、抗血清を加えない場合は、いずれも非特異吸着の範囲と考えられる数値であった。

本法の特徴として、50mL用のディスポーザブルチューブと3,000rpm程度の通常の遠心機があれば、簡便な操作で検査が可能になることがあげられる。原理的には抗体さえあれば他の下痢症ウイルスへも適用範囲を広げられるものと考えられる。

*¹:福井県衛生環境研究センター，*²:国立感染症研究所，*³:堺市衛生研究所，*⁴:国立医薬品食品衛生研究所

ノロウイルス感染症の診断法の進歩

斎藤博之，三好龍也^{*1}，内野清子^{*1}，
田中智之^{*1}

衛生微生物技術協議会第30回研究会
2009年7月，大阪府

ノロウイルス（NV）は、現在に至るも培養系が確立しておらず、検体中のウイルスを直接観察する様々な手法で検出が行われてきた。それぞれの方法についてはすでにプロトコールが確立しており、長所・短所を理解した上で状況に適した方法を選択することが可能である。その中で、2008年11月に体外診断用医薬品として市場投入された改良型ICキットは、“機器を一切用いない”という点において他の診断法とは一線を画す存在となっている。この特徴は医療機関におけるベッドサイド診断のみならず、行政検査においても“現地での判定”など柔軟な対応を可能にするものと考えられる。

検査のための操作は、糞便が付着した綿棒を前処理液に挿入して攪拌し、3滴をICデバイスに滴下、15分後に目視判定するもので、インフルエンザの簡易検査と同様である。前処理にあたっては遠心操作も不要であるため、このキットのみで全ての検査工程が完結できるようになっている。RT-PCR法との比較検討結果では、感度は81.0%、特異性は100%、一致率は89.2%であった。

NVの行政対応の大部分は集団感染事例であ

り，原因病原体が判明すれば十分な対応の取れる場合がほとんどである。この場合，ICキットを現地に持ち込んでその場でいくつかの検体検査を行えばNVが原因かどうかの迅速な判定ができる。一方，無症状の調理従事者などの検査では，ウイルス量が少ないことが予想されるためReal-Time PCR法の適用となるであろう。すなわち，2つの診断法を状況に応じて柔軟に使い分けることで，行政検査全体としての迅速化と効率化が図れると考えられる。

*1:堺市衛生研究所

秋田県における過去 5 年間のウイルス性肝炎検査実施状況

柴田ちひろ，佐藤寛子，斎藤博之，
安部真理子，齊藤志保子

第 58 回東北公衆衛生学会
2009 年 7 月，秋田市

秋田県では，平成 14 年度よりエイズおよび性感染症等個別相談事業の一環として，ウイルス性肝炎（B 型，C 型）の相談・検査事業を推進してきた。このことについて，過去 5 年間の検査実施状況と陽性者の詳細について報告する。

平成 16～20 年度の過去 5 年間で，B 型肝炎 1,710 件，C 型肝炎 1,770 件の検査依頼があり，陽性数はそれぞれ 21 件（陽性率 1.23%），42 件（陽性率 2.37%）であった。また HCV 抗体が検出された 42 名中 17 名から HCV 遺伝子が検出され，現在も HCV に感染していることが確認された。HBV 陽性者 21 名中 14 名について情報提供が得られたが，このうち 13 名は薬害肝炎の不安から受検していた。しかし，成人期の初感染により HBV の持続感染が成立することは極めてまれであることから，これら 13 名についても薬害肝炎ではなく，最近の感染による急性肝炎，あるいは乳幼児期の感染による持続感染と考えられた。HCV 陽性者については 42 名中 31 名について情報提供が得られ，このうち 27 名が女性であった。これは出産時の大量出血に対し，輸血や，止血剤として血液製剤が広く使用されていたことに起因しているものと考え

られた。また，HBV，HCV とともに以前にも感染を指摘されながら，一度も医師の診察を受けていない陽性者もみられた。今後は検査を呼びかけるだけではなく，治療の重要性や有効性についても啓発し，受診へとつながるような情報提供をしていく必要性が示唆された。

食品のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の実用化の検討

斎藤博之，東方美保*1，白土東子*2，
田中智之*3，野田 衛*4

第 57 回日本ウイルス学会学術集会
2009 年 10 月，東京都

食品検体からノロウイルス（NV）を検出するための実践的な手法として，パンソルビン・トラップ法（パントラ法）の開発に昨年度着手した。本法は検査法として有望であるものの，食品洗滌液の最適化や，結果の再現性に影響する炭水化物の混入対策などの解決すべき課題が多く残されていた。今年度は実用化に向けた問題点を洗い出し，それをプロトコールに反映させることでより安定した検出効率を得ることを目指した。

昨年度からの改良点は次のとおりである。汚染食品からウイルスを洗い出すための食品洗滌液として，0.1%Tween20 加 Tris-HCl (pH8.4) を用いた。食品乳剤を調整する際に，炭水化物を効果的に除去するために専用の処理袋を使用した。逆転写反応時に RT エンハンサーを用いた。Nested PCR についても検討した。

食品洗滌液を改良することで，Real-time PCR の蛍光レベルが従来比 4 倍となった。同様に，専用処理袋を用いて食品からウイルスを洗い出すことで，未使用時と比べて 4 倍，逆転写反応時に α -アミラーゼを添加することで 8 倍，RT エンハンサー（商品名：RTmate，ニッポンジーン）を加えることで 1.5 倍の蛍光レベルとなり，蛍光強度が安定した。さらに nested PCR による検出限界を求めたところ，食品 1 g 当たり焼きソバで 13 コピー，ポテトサラダで 44 コピーまで検出できた。今回の検討では反応の障害とな

る炭水化物について、専用処理袋による物理的除去と、 α -アミラーゼによる化学的分解を組み合わせることで解決を図った。これによって、パントラ法における検出効率の安定と向上が図られ、実用化に向けて大きく前進した。

^{*1}:福井県衛生環境研究センター, ^{*2}:国立感染症研究所, ^{*3}:堺市衛生研究所, ^{*4}:国立医薬品食品衛生研究所

パンソルビン・トラップ法における汚染食品から回収したノロウイルスの遺伝子検出条件の検討

東方美保^{*1}, 斎藤博之, 白土東子^{*2},
田中智之^{*3}, 野田 衛^{*4}

第57回日本ウイルス学会学術集会
2009年10月, 東京都

ノロウイルス (NV) が原因物質と疑われる食中毒検査において、推定原因食品からのウイルス検出が切望されているが、これまでカキ等の二枚貝を除く食品検体からの NV の検出例は少ない。パンソルビン・トラップ法 (以下、パントラ法) は、操作の簡便さ、必要機材の少なさ、所要時間・作業時間の短さなどの特徴を備え、さまざまな形態をとる食品からの効率的な NV 濃縮が期待できるユニークな方法である。本法の実用化に向けてプロトコルの改良を進める中で、遠心沈殿からの RNA 抽出法と逆転写反応時のプライマーの選択が検出効率に大きく影響することが判明したので報告する。

市販の総菜を NV (GII/4 型) 陽性の糞便で汚染させてモデル食品とし、10 g を計り取って食品洗滌液 50 mL で乳剤化した。乳剤の遠心上清に GII/4 型の NV ウイルス様粒子 (VLPs) で作製した抗血清を添加し、NV と抗体との複合体が形成された後にパンソルビン (黄色ブドウ球菌の菌体) へ吸着させ遠心沈殿として回収した。このペレット状の遠心沈殿から NV の RNA を効率よく抽出する方法について、いくつかの RNA 抽出キットを組み合わせた検討を行った。また、抽出した RNA から cDNA を合成する段階で、逆転写反応条件をいくつか設定し、検出効率を

比較した。

遠心沈殿を TRIzol-LS (invitrogen) でフェノール抽出した水層にエタノールを加え、QIAmp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) の QIAmp カラムで精製する RNA 抽出系が最も有効であった。また、逆転写反応を NV 特異的なプライマーで行ったところ、ランダムプライマー使用時の 4.5 ~ 230 倍の検出効率となった。これらの改良を取り入れることで、パントラ法で得られる測定値が大幅に向上し、実用化への可能性がよりいっそう高まった。

^{*1}:福井県衛生環境研究センター, ^{*2}:国立感染症研究所, ^{*3}:堺市衛生研究所, ^{*4}:国立医薬品食品衛生研究所

秋田県における古典的ツツガムシ病患者の症例とツツガムシの生息状況調査の経過報告

佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦,
斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子,
高橋 守^{*1}, 藤田博己^{*2}, 角坂輝貴^{*3},
高田伸弘^{*4}, 川端寛樹^{*5}, 高野 愛^{*5}

第55回日本寄生虫学会・日本衛生動物学会
北日本支部合同大会
2009年10月, 帯広市

秋田県におけるアカツツガムシ媒介性の古典型ツツガムシ病患者は平成5年以降、確認されていなかったが、平成20年8月、雄物川河川敷での感染が推定される症例が確認された。このことから、今年4月、7月および8月に同河川敷周辺においてツツガムシの生息状況を調査したので、その経過を報告する。

調査は野鼠の捕獲を主体に実施した。その結果、これまでに捕獲したアカネズミ38頭とハタネズミ2頭を合わせた野鼠40頭から2属409種のツツガムシ幼虫を採集した。その内訳はアラツツガムシ36, ヒゲツツガムシ45, フトゲツツガムシ136, アカツツガムシ86, タミヤツツガムシ110であった。また、野鼠脾臓から *Orientia tsutsugamushi* (Ot) の分離を試みたところ、2個

体の検体からそれぞれGilliam型Otが分離された。今回は、Kato型Otは分離されなかったが、Kato型の血清抗体価が高い野鼠が2頭確認された。同河川流域は秋田県において重要な観光スポットで、ヒトの出入りの機会が多いことから、Ot感染リスクを把握するためにも、今後ともツツガムシ有毒コロニーの実態調査などの重要性が示唆された。

*¹:埼玉県立川越高校, *²:大原総合病院附属大原研究所, *³:愛知医科大学, *⁴:福井大学, *⁵:国立感染症研究所

秋田県において15年ぶりに確認されたアカツツガムシ媒介性ツツガムシ病と感染推定地におけるツツガムシの生息状況調査

佐藤寛子, 柴田ちひろ, 佐藤了悦,
斎藤博之, 安部真理子, 齊藤志保子,
高橋 守*¹, 藤田博己*², 角坂輝貴*³,
高田伸弘*⁴, 川端寛樹*⁵, 高野 愛*⁵

第27回日本クラミジア研究会
第16回リケッチア研究会 合同研究発表会
2009年11月, 東京都

平成20年8月, 15年ぶりにアカツツガムシ媒介性(古典型)ツツガムシ病患者が発生した。患者は8月13日に雄物川河川敷で釣りをした際, 背中の虫刺されに気づいた。8月22日, 38.5℃の発熱と虫刺され跡, 腋窩の痛みを主訴に4医療機関3診療科を受診したが, ツツガムシ病は指摘されなかった。8月25日入院となり, この時点で発疹はなかったが体温40.1℃, 背中の痂皮状刺し口, 経過等からツツガムシ病が疑われ, ミノマイシンによる治療が開始された。発熱から7日目に採取した血清の抗体検査ではIgM, IgGが共にKato型のみ40倍陽性であった。さらに9日後の血清では, IgMはGilliamとKarp型が160倍, Kato型が640倍, IgGはGilliamとKarp型が320倍, Kato型が2560倍に上昇しており, Kato型*Orientia tsutsugamushi* (Ot)の感染が強く示唆された。

上記症例を受け, 感染推定地点を中心にツツガムシの生息状況と病原リケッチアの調査を平

成21年4月, 7月, 8月に計4回行った。調査は野鼠捕獲を主体に実施した。その結果, 捕獲したアカネズミ39頭とハタネズミ9頭から3属6種のツツガムシ幼虫を497採集した。そのうちアカツツガムシは115(23%)で7月~8月の調査において確認された。野鼠脾臓からOtの分離を試みたところ, 4月と7月に捕獲したアカネズミ2頭からGilliam型, 8月に捕獲したハタネズミ2頭からKato型のOtがそれぞれ分離された。また, 雄物川河川敷の一部では毎年8月, 全国から観光客が集まるイベントが開催されている。今回の調査では, その会場でも多くのアカツツガムシの生息が確認された。

以上の症例と調査結果から, 今後も当該地域におけるツツガムシ実態調査継続と感染予防のための啓発活動が急務と考えられた。

*¹:埼玉県立川越高校, *²:大原総合病院附属大原研究所, *³:愛知医科大学, *⁴:福井大学, *⁵:国立感染症研究所

冷凍加工食品中の残留農薬一斉分析法の検討

泉谷孝英, 山元志保*¹, 小林貴司, 松田恵理子

第46回全国衛生化学協議会年会
2009年11月, 盛岡市

中国製冷凍餃子による中毒事件以来, 当センターでも冷凍加工食品の分析が課題となっている。加工食品は残留農薬分析を妨害する脂質を多く含むことが多く, 脂質成分を除去しなければ, 測定機器への負荷が大きく, 高い分析精度は望めない。そこで, 脱脂を迅速・簡便にするために, 4種のC18固相カラムの溶出パターンを検討したうえで, 最適な固相カラムを選択し, 添加回収試験を実施した。添加回収試験は, 有機リン系農薬41種, カーバメート系12種, 有機塩素系10種, トリアゾール系27種, トリアジン系10種, ピレスロイド系26種, その他168種の計294農薬を試料あたり10 ng/g, 50 ng/gとなるように添加し, 繰り返し試験数は3で行った。平成19年11月15日付け, 厚生労働省通知食安発第1115001号に従い, 平均回収率70~

120%, 添加濃度により相対標準偏差 (RSD) が 15% および 25% を良好な回収率と評価した。10 ng/g 添加では 294 農薬中 253 農薬で, 50 ng/g 添加では 294 農薬中 262 農薬で良好な回収結果が得られた。脂肪を多く含む冷凍餃子においても, C18 固相カラムで脱脂することにより, 一律基準 (10 ng/g) レベルで迅速かつ高精度の残留農薬一斉分析が可能となった。

*1: 財団法人秋田県総合保健事業団

秋田県における大気中金属類モニタリング調査

梶谷明弘

第 58 回東北公衆衛生学会
2009 年 7 月, 秋田市

大気汚染防止法が平成 8 年 5 月に改正され, 地方公共団体による有害大気汚染物質の調査が義務づけられたことから, 秋田県では平成 9 年 10 月から優先取組物質のモニタリング調査を開始し, 平成 12 年 4 月からは重金属類 6 物質 (水銀及びその化合物, ニッケル化合物, ヒ素及びその化合物, ベリリウム及びその化合物, マンガン及びその化合物, クロム及びその化合物) を加えて県内 4 カ所 (大館市, 男鹿市, 由利本荘市, 横手市) で測定を行っており, このうち平成 12~19 年度までに実施した重金属類 6 物質の各年平均値を地方公共団体等における有害物質調査結果の全国平均値, 指針値 (健康リスクの低減を図るための指針となる値) 又は参考値 (濃度評価のための参考値) と比較した結果は次のとおりであった。

水銀及びその化合物: 全国平均を上回った年度は存在するが, すべての年度及び調査地点において各年平均値が指針値又は参考値を上回ったことはなく, 特に問題はないと思われる。

ヒ素及びその化合物: 平成 18~19 年度においてはすべての調査地点で参考値を下回っているが, 過去には大館市と男鹿市で参考値及び全国平均を上回った年度があるため, 継続調査の必要があると考える。

ベリリウム及びその化合物: 全国平均を上回

った年度は存在するが, すべての年度及び調査地点において, 各年平均値が参考値を上回ったことはなく, 特に問題はないと思われる。

クロム及びその化合物: 横手市で平成 17 年度に全国平均を上回ったが, 他はおおむね全国平均以下の濃度で推移していることから早急な対応は必要ないと考える。

ニッケル化合物, マンガン及びその化合物: すべての年度及び調査地点において, 各年度平均値が指針値又は参考値を上回ったことはなく, 特に問題はないと思われる。

玉川温泉下流域の微生物群集構造の解析

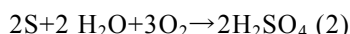
佐々木典子, 成田修司, 和田佳久,
宮田直幸*1, 渡辺祐樹*1, 岡野邦宏*1

第 44 回日本水環境学会
2010 年 3 月, 福岡市

秋田県にある Fe^{2+} や Al^{3+} 等を高濃度で含有する玉川温泉の源泉 (pH 約 1.2) は, 中和処理施設で pH 約 3.5 まで石灰中和された後, 河川へ放流されている。しかし, 近年, 中和処理施設の下流では, 河川水の pH が処理水よりも低い流域も見られ, 源泉の酸度上昇がその原因の一つではないかと考えられた。発表者らは, 酸度を構成する Fe^{2+} 等の潜在的酸性成分の濃度が 3 倍以上に増加していることに着目し, 玉川温泉下流域の pH 低下に, Fe^{2+} 及びその酸化により生じるエネルギーを利用して増殖する鉄酸化細菌の関与 (式 1) を調査し, 玉川温泉及び中和処理施設周辺における *Acidithiobacillus ferrooxidans* を含む鉄酸化細菌の生息状況を明らかにした。
 Fe^{2+} 鉄酸化細菌 $\rightarrow \text{Fe}^{3+}$, $\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+$ (1)
しかしながら, 玉川温泉下流域に存在する微生物については, その大部分が把握されていないため, 本研究では, これまでの調査で鉄酸化細菌の生息が多く確認された湯川末端部の河川底質について微生物群集構造解析を実施し, pH 低下への関与が考えられる微生物について検討した。

上記の解析により, 細菌の 16SrDNA を分類した結果, 微生物群集は, 大きく 4 つのグルー

ブから形成されていた。その中の*Acidithiobacillus* 属細菌には、玉川温泉下流域で確認されている鉄酸化細菌 *A. ferrooxidans* に近縁な細菌が含まれ、また、それ以外に、硫黄酸化細菌である *A. thiooxidans* 等に近縁な細菌も含まれていた。新たに生息が確認された *A. thiooxidans* のような硫黄酸化細菌は、無機硫黄化合物の酸化により生じるエネルギーを利用して増殖し、硫酸を生成するため（式2）、pH 低下に影響を与える可能性が示唆された。



*1：秋田県立大学

八郎湖高濃度リン地下水の流向・流速及び自然湧出量

成田修司，梶谷明弘，和田佳久

第44回日本水環境学会

2010年3月，福岡市

秋田県の男鹿半島の付け根に位置する八郎湖調整池（以下、八郎湖）は、年々水質が悪化し、2006年度に全国のワースト3に位置づけられたことから、2007年12月、指定湖沼の指定を受け、水質保全対策の推進が図られている。この

八郎湖の正面堤防沿いにある自然放任地には、高濃度のリンが湧出する地帯（以下、リン湧出地帯）が存在し、そこから湧出するリンの八郎湖への負荷は、同湖へ流入するリン全量(T-P)の約25%、年間30tを占めると推計されている。また、その源となる地下に埋蔵するリンの濃度は $PO_4\text{-P}$ で約30mg/Lであることが、片野ら（秋田県立大教授）によって確認されている。本研究では、この埋蔵リンの起源を探る手掛かりを得ることを目的として、過去に高濃度のリンが検出され、秋田県立大（同大 佐藤名誉教授ら）が掘削した観測井（深度3m, 7m, 20m）の流向・流速を調査したので報告する。

上記観測井の流向流速調査は、地下水流向流速計 GFD-3A（JFE アレック株式会社製）を用い、単孔法による熱トレーサー方式により測定を行った。ここでは、深度20mの観測井の調査結果について示す。流向は東西南北を16等分した位置に配置された温度センサーにより、流れ方向が温度分布として観測され、それらを統合した流向として西99.1°の矢印方向に流速0.097cm/minを観測した。この観測井の Cl^- , Na^+ , Mg^{2+} 濃度はそれぞれ13000, 7100, 800(mg/L)であることから、八郎湖の西に位置する日本海からの海水を含む水の流れの可能性が考えられる。

2. 他誌掲載論文

マス・スクリーニングで発見された先天性代謝異常症等疾患・神経芽細胞腫患者の追跡調査 (In Akita)

安部真理子, 柴田ちひろ

日本マス・スクリーニング学会誌,
19, 1, 2009, 39-44.

平成 11 年に先天性代謝異常症と神経芽細胞腫検査事業の円滑な推進と早期発見・早期治療の促進, 追跡調査等の強化を図るために対策協議会が設置された。その後, 要綱等の見直しが行われ, 平成 16 年度に「先天性代謝異常等検査対策部会」に改名した。

平成 20 年度現在, 先天性代謝異常症等の追跡調査対象者 (平成 18 年度までの対象者) は 99 名であり, 回収率は 100% であった。通院治療者は 85 名, 経過観察者は 14 名であった。対象者の内訳は, クレチン症関連患者が最も多く, 67 名の通院治療が確認された。また, 平成 16 年度でスクリーニング休止となった神経芽細胞腫の追跡調査は, 平成 18 年度の時点で追跡調査対象者 36 名のうち, 完治・寛解及び追跡終了は合計 12 名, 経過観察 21 名, 県外転出 2 名, 不明 1 名であった。しかし, 平成 20 年度は対策部会において追跡調査の継続の是非が問われ, 追跡調査の実施ができなかった。

ノロウイルス抗原キット “クイック Ex-ノロウイルス” の行政検査における有用性の検討

佐藤寛子, 柴田ちひろ, 斎藤博之
安部真理子, 山脇徳美

医学検査, 4, 58, 2009, 321-325.

ノロウイルス (NV) は冬期に流行する感染性胃腸炎の代表的な原因ウイルスである。感染力が強いことから毎年多くの集団感染を引き起こしているが, 迅速で簡便な検査方法がないため,

原因究明に多大な経費と時間を費やしている。2007 年 11 月, NV の新たな検査法としてイムノクロマト法を利用した NV 抗原検出キット “クイック Ex-ノロウイルス®” (Ex-NV) が発売された。今回, 我々は Ex-NV の集団感染発生時における行政検査での有用性について, リアルタイム PCR 法 (現行法) と比較検討した。その結果, 糞便 50 検体を用いたリアルタイム PCR 法との一致率は 94.0%, 感度は 88.5%, 特異度は 100% であった。リアルタイム PCR 法と一致しなかった糞便 3 検体はすべて genogroup I に属するものであった。また, 直腸スワブ 32 検体を用いた検査では, リアルタイム PCR 法との一致率は 56.3%, 感度 22.2%, 特異度は 100% であった。また, Ex-NV 法の検出感度は糞便 1 g 当たり 10^6 コピーであった。Ex-NV 法はサーマルサイクラーなどの高価な専用機器を必要とせず, 操作が簡便で検体搬入から判定までの所要時間は約 30 分であった。今回の比較検討結果から感染性胃腸炎の集団発生時において, Ex-NV 法は有用であると考えられた。ただし, 検体全てが Ex-NV 法で陰性の場合や, ウイルス量が少ないと見込まれる無症状者の検査を行う場合はリアルタイム PCR で対応に当たるなど Ex-NV 法の運用には工夫が必要であろう。

ツツガムシ病の病原体検査と行政における対応について

佐藤寛子

化学療法の領域, 10, 25, 2009, 5-13.

ツツガムシ病は *Orientia tsutsugamushi* (Ot) を保有するツツガムシの幼虫に吸着されることによって感染・発病する病気である。適切な治療なしに発病から 14 日以上経過すると, 脳炎, 腎不全の症状を呈し, 多くの場合, 播種性血管内凝固症候群 (DIC) の併発により死亡してしまう可能性が極めて高い疾患である。わが国では毎年, 北海道を除く全都府県から 300~400 例の患者報告がある。患者の発生の時期は, その地域のツツガムシの種類や分布, 幼虫の発生時期と密接に関係している。本稿はツツガムシ

病の病原体とそれを媒介するダニおよび実際の
症例について解説する。また、参考までに秋田

県で展開されている検査診断の実際と検査方法
を紹介する。

秋田県健康環境センター年報

第5号 2009

発行日 平成22年12月

発行所 秋田県健康環境センター

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号

TEL: 018-832-5005

FAX: 018-832-5938
