

ISSN 1881-6053

秋田県健康環境センター年報

第 8 号

平成 24 年度

ANNUAL REPORT
OF
AKITA RESEARCH CENTER FOR PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENT

No. 8 2012

秋田県健康環境センター

はじめに

秋田県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8年目を迎えています。平成22年度には、保健所でも行われていた試験検査業務が当センターに移管され、本県の保健・環境に関する試験検査体制が一元化されました。

現在当センターは、今後の方向性を定めた「中長期計画」に基づき、秋田県における「健康の保持及び増進」、「健康被害の防止」、「環境の保全」の3つを基本方針として、これらに向けた業務に取り組んでいます。

具体的には、生活習慣病予防、感染症対策、食の安全・安心、八郎湖や田沢湖の水質改善などについての調査研究と試験検査を行っているほか、平成23年3月の東京電力福島第一原子力発電所事故に関わる食品、環境中の放射性物質の濃度などの測定・監視にも力を入れているところです。

また、これらの業務を横断的に下支えするため、職員は日頃から分析技術の向上、行政や県民ニーズの把握、緊急時の迅速な対応に心がけるとともに、その成果を確実に還元することによって、県民の皆様の安全・安心が確保できるよう努めています。

この年報は、主に平成24年度に当センターが行った、感染症、食中毒、化学物質、放射能、大気・水質環境などの分野に関する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様に当センターの活動への御理解と関心を高めていただくとともに、率直な御意見を頂戴することにより、今後の業務に生かしていきたいと考えています。

県民の皆様の温かい御支援、御協力をお願いいたします。

平成25年12月

秋田県健康環境センター所長

高橋 浩

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	9
3.	研究業務実績	15
III	調査研究報告	
・	A 群溶血性レンサ球菌 T 型別の分離状況と薬剤耐性の動向	22
・	秋田県における莢膜型インフルエンザ菌の分離状況と薬剤耐性遺伝子の解析	25
・	平成 22～24 年度における収去食品の細菌検査結果について	28
・	<i>E.coli</i> O104 同定用 PCR の確立と陽性対象専用株の作出	31
・	秋田県の一医療機関で継続的に分離された多剤耐性 <i>Achromobacter xylosoxidans</i> が保有する Class 1 Integron の解析	34
・	秋田県内の医療機関、鶏肉、市中における CTX-M 型基質拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子保有株の分離状況	38
・	秋田県で確認された Shimokoshi 型つつが虫病 15 症例における 臨床、疫学及び診断法の検討	44
・	ヒトパピローマウイルスの検出法における検査精度の向上について	51
・	子宮頸がん検診受診率向上を目指した若い女性の意識に関する検討 —フォーカスグループインタビュー法による質的分析—	55
・	麻疹・風疹及び疑い例からの発疹性ウイルスの検出について	66
・	自家調製したパンソルビン相当品による食品中のノロウイルス検出法の検討	71
・	1,4-ジオキササンを含む埋立処分場地下水等の効率的な処理に関する検討	79
・	東日本大震災後の秋田県における環境放射能調査	85
IV	発表業績	
1.	学会発表	92
2.	他誌掲載論文	103

I 健康環境センターの概要

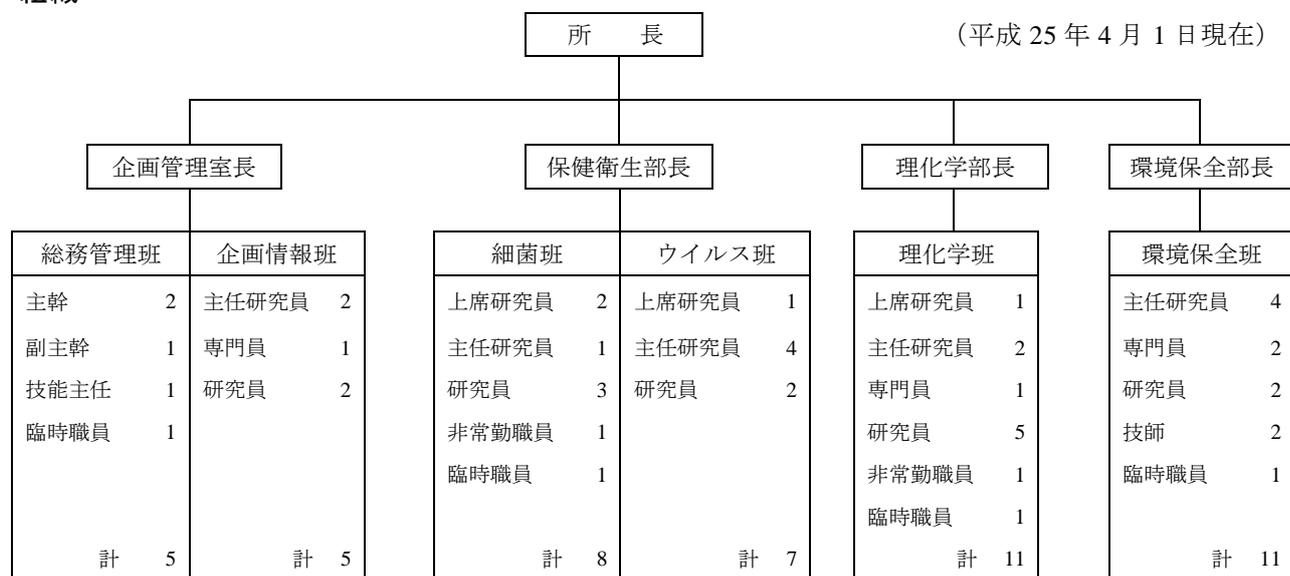
1. 沿革

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 平成12. 4	庁舎を秋田市千秋久保田町に新築移 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再編し、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再編。理化学部には、理化学班を再編した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班を設置。
24. 4	企画管理室の総務・企画班を再編し、総務管理班と企画情報班を設置。保健衛生部の健康科学・管理班を廃止。理化学部の食品理化学班と環境理化学班を統合し、理化学班を設置。

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



総職員数 52 名（正職員 42 名，専門員 4 名，非常勤職員 2 名，臨時職員 4 名）

4. 職員名簿

(平成25年4月1日現在)

	職 名	氏 名
	所 長	高 橋 浩
企 画 管 理 室	室 長	瀬 尾 和 雄
総 務 管 理 班	主 幹 (兼) 班 長	近 江 進
	主 幹	佐 藤 則 子
	副 主 幹	黒 政 太
企 画 情 報 班	技 能 主 任	佐 藤 博 之
	主 任 研 究 員 (兼) 班 長	田 村 高 志
	主 任 研 究 員	藤 谷 陽 子
	専 門 員	佐 藤 穰
	研 究 員	村 山 力 則
	研 究 員	鈴 木 純 恵
保 健 衛 生 部	部 長	齊 藤 志 保 子
細 菌 班	上 席 研 究 員 (兼) 班 長	八 柳 潤
	上 席 研 究 員	和 田 恵 理 子
	主 任 研 究 員	熊 谷 優 子
	研 究 員	高 橋 志 保 之
	研 究 員	高 野 貴 之
	研 究 員	檜 尾 拓 子
ウ イ ル ス 班	上 席 研 究 員 (兼) 班 長	安 部 真 理 子
	主 任 研 究 員	田 中 貴 子
	主 任 研 究 員	斎 藤 博 之
	主 任 研 究 員	秋 野 和 華 子
	主 任 研 究 員	佐 藤 寛 子
	研 究 員	柴 田 ち ひ ろ
	研 究 員	佐 藤 由 衣 子
	(兼) 研 究 員	村 山 力 則
理 化 学 部	部 長	岩 谷 金 仁
理 化 学 班	主 任 研 究 員 (兼) 班 長	小 林 貴 司
	上 席 研 究 員	佐 藤 晴 美
	主 任 研 究 員	珍 田 尚 俊
	専 門 員	大 友 久 利
	研 究 員	松 渕 亜 希 子
	研 究 員	中 村 淳 子
	研 究 員	菅 原 剛
	研 究 員	小 川 千 春
	研 究 員	天 明 さ お り
環 境 保 全 部	部 長	大 淵 志 伸
環 境 保 全 班	主 任 研 究 員 (兼) 班 長	鈴 木 忠 之
	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
	専 門 員	大 畑 博 正
	専 門 員	高 嶋 司
	研 究 員	玉 田 将 文
	研 究 員	高 橋 英 之
	技 師	佐 藤 健
	技 師	生 魚 利 治

5. 業務内容

(平成 25 年 4 月 1 日現在)

企画管理室	総務管理班	<ul style="list-style-type: none"> ・ 人事, 服務 ・ 予算, 決算 ・ 庁舎管理, 庶務一般
	企画情報班	<ul style="list-style-type: none"> ・ 研究の企画・評価・進行管理 ・ センター中長期計画の進行管理 ・ 広報, 研修 ・ 検査業務管理 ・ 精度管理
保健衛生部	細菌班	<ul style="list-style-type: none"> ・ 感染症発生動向調査にともなう病原体検査業務 ・ 細菌感染症と食中毒の試験検査及び調査研究 ・ 薬剤耐性菌に関する調査研究 ・ 医薬品等に関する検査 ・ 収去食品及び環境検体等に関する細菌検査
	ウイルス班	<ul style="list-style-type: none"> ・ 感染症発生動向調査にともなう病原体検査業務 ・ ウイルス感染症と食中毒の試験検査及び調査研究 ・ エイズ・性感染症・B型肝炎・C型肝炎の抗体検査 ・ つつが虫病の抗体検査及び調査研究 ・ 新生児マス・スクリーニング検査及び調査研究 ・ 結核登録者情報調査 ・ 健康づくりに関する調査研究 ・ 感染症情報センター業務
理化学部	理化学班	<ul style="list-style-type: none"> ・ 食品の安全性に係る試験検査及び調査研究 ・ 食品放射能の測定 ・ 有害家庭用品試買検査 ・ 収去食品の理化学的検査 ・ 工場・事業場排水中の化学物質の検査 ・ 廃棄物関係検査 ・ 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	<ul style="list-style-type: none"> ・ 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 ・ 環境放射能の測定 ・ 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 25 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・テクノロジーズ AA-280FS
I C P 発光分光分析装置	サーモフィシャー iCAP6300Duo
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	アジレント・テクノロジー 6890N/5973N
超臨界流体抽出装置	ISCO SFX220
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タンデム型質量分析計	サーモフィシャー TSQ QuantumGC
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
ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 6890N
F I D 付ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 7890A
FPD・ECD付ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 7890A
高速液体クロマトグラフ	日立製作所 D-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タンデム質量分析計	ABサイエックス API4000
ノルマルヘキサン自動抽出装置	ラボテック HX-1000-8
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
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
Ge半導体検出器付波高分析装置	セイコー EG&G GEM25-70, MCA7600
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
空間放射線量モニタリングシステム	東芝 SD22-T
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
航空機騒音自動測定装置	リオン NA-37

Ⅱ 業務実績

1. 試験検査実績

1.1 保健衛生部行政依頼検査

(件数)

項目	年度		平成22	平成23	平成24
細菌・ウイルス等の試験検査	感染症発生动向調査病原体別検査数	ウイルス分離検査	638	737	850
		細菌検査	854	739	1,078
	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	240	286	407
		細菌検査	1,065	2,969	2,699
	HIV抗体検査		6	7	4
	HIV抗体確認検査		6	4	4
	性器クラミジア抗体検査		192	156	155
	梅毒抗体検査		190	154	155
	B型肝炎抗原検査		155	159	133
	C型肝炎抗体検査		154	159	133
	麻疹抗体価検査		47	2	2
	麻疹PCR		17	28	23
	風疹PCR ^{*1}		0	0	3
	新型インフルエンザ		56	10	29
	新型インフルエンザタミフル耐性検査		16	43	0
	3類感染症に係わる病原微生物検査		1,108	589	499
	地研レファレンスセンター業務	カンピロ血清型別	0	0	0
		カンピロ感受性試験	32	66	61
		ジフテリア・百日咳・ボツリヌス	45	83	223
	結核菌RFLP検査, VNTR検査		5	11	96
	つが虫病血清検査		110	108	87
その他微生物学的検査		15	330	826	
食品衛生に係る検査	食品収去検査		1,089	1,021	1,013
	食中毒菌汚染実態調査		325	275	190
	精度管理		1	3	3
生活衛生に係る検査	公衆浴場水, 遊泳プール水の大腸菌検査		32	34	32
	貸しおしぼり検査		32	32	32
	公衆浴場等レジオネラ属菌検査		59	67	56
水質汚濁対策	公共用水域水質環境調査		222	215	243
	八郎湖水質保全調査		79	79	84
	工場・事業場排水基準検査		281	266	244
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		21	20	20
マス・スクリーニング	先天性代謝異常, 内分泌疾患		7,741	7,777	7,362
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)		8	5	5
国民健康・栄養調査 ^{*2}	栄養調査・解析		—	871	828
	食生活状況調査・解析		—	823	—
	身体状況調査・解析 ^{*3}		—	—	627
	生活習慣調査・解析 ^{*3}		—	—	775
	血液検査 ^{*3}		—	—	389
	塩分濃度測定		—	281	120
合 計			15,011	18,579	19,660

*1 風疹PCRについては、平成24年度から新たに項目を起こした。

*2 平成23年度は県民健康・栄養調査を実施したが、平成24年度は国民健康・栄養調査を実施した。

*3 身体状況調査・解析, 生活習慣調査・解析, 血液検査については、平成24年度から新たに項目を起こした。

1.2 保健衛生部一般依頼検査

項目	年度	(件数)			
		平成22	平成23	平成24	
感染症発生动向調査に関わる検査	秋田市保健所依頼分(再掲)	215	340	410	
細菌・ウイルス等の試験検査	ウイルス分離等検査	0	9	3	
	食中毒関係等ノロウイルス検査	4	0	0	
	新型インフルエンザ	13	0	1	
	新型インフルエンザタミフル耐性検査	1	0	0	
	細菌培養同定検査	1	0	0	
	細菌遺伝子解析検査	3	0	0	
	血液製剤無菌試験	真菌否定検査	18	0	0
		細菌否定検査	18	0	0
HIV抗体確認検査	0	0	2		
合計		273	349	416	

1.3 情報提供業務

項目	年度	(件数)				
		平成22	平成23	平成24		
基幹・地方感染症情報センター (感染症発生动向調査依頼業務)	患者情報	週報	収集	468	468	468
			報告	52	52	52
			還元	52	52	52
			解析	52	52	52
		提供	468	468	468	
		月報	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	12	12	12
	解析		12	12	12	
	病原体情報	提供	108	108	108	
		収集	350	350	501	
		報告	350	350	501	
		還元	350	350	501	
	解析	350	350	501		
	解析評価委員会資料提供		6	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
報告				12	12	12
還元				12	12	12
解析				12	12	12
提供			108	108	108	
年報			収集	9	9	9
			報告	1	1	1
			還元	1	1	1
		解析	1	1	1	
提供		9	9	9		
花粉症予防対策依頼業務		スギ花粉予報作成提供	53	53	52	
		スギ花粉測定数	206	202	221	
	スギ雄花芽調査数	15	15	15		
	花粉症患者調査票数	85	85	80		
合計		3,382	3,378	3,995		

1.4 理化学部行政依頼検査

(件数)

項目	年度		平成22	平成23	平成24
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		540	926	324
	残留農薬実態検査		7,379	7,985	7,782
	食品収去検査（食品添加物等）		808	720	657
	精度管理		16	21	36
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	0	0
家庭用品試買検査	有害物質		61	53	55
地熱開発地域環境調査	温泉分析		252	0	0
環境放射能水準調査	空間線量		365	366	2,190
	全ベータ線		156	52	139
	核種分析		84	82	143
	分析確認		55	55	55
福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査	空間線量		460	9,328	12
	核種分析	降下物	14	813	—
		蛇口水 ^{*1,2}	17	831	—
		環境試料 ^{*1,2}	—	638	—
		食品試料 ^{*2}	—	324	942
	畜産試料 ^{*1,2}	—	573	717	
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	62	48	35
		地下水調査	121	0	0
		緊急調査	179	59	0
	工場排水基準検査		111	98	67
土壌汚染対策	汚染土壌処理事業所検査		32	32	22
化学物質対策	化学物質環境調査 ^{*1}		143	167	—
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		364	262	198
	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	489	599	860
		能代産業廃棄物処理センター関連調査	3,456	3,194	1,833
合計			15,166	27,226	16,067

*1 福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査の蛇口水，環境試料，畜産試料の一部及び化学物質環境調査については，平成24年度より理化学部から環境保全部に業務移行した。

*2 福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査については，平成23年度から新たに環境試料・食品試料・畜産試料の項目を起こした。

1.5 環境保全部行政依頼検査

(件数)

項目	年度		平成22	平成23	平成24
大気汚染対策	大気汚染常時監視 ^{*1}	一般環境大気測定局	55 (463,449)	56 (462,149)	57 (477,729)
		自動車排出ガス測定局	15 (118,250)	15 (129,504)	15 (129,750)
		工場局	74 (462,620)	74 (540,341)	74 (584,893)
	ばい煙排出基準検査		29	25	0
	酸性雨調査	酸性雨実態調査	1,420	1,380	1,420
	アスベスト対策	石綿飛散調査	59	43	36
福島原子力発電所事故に伴う 緊急環境放射能調査 ^{*2}	核種分析	蛇口水 ^{*2}	—	—	36
		環境試料 ^{*2}	—	—	1251
		畜産試料 ^{*2}	—	—	38
その他緊急環境放射能調査	核種分析	降下物 ^{*3}	—	—	30
		浮遊じん ^{*3}	—	—	30
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	4,016	4,171	4,107
		地下水調査	137	47	0
		緊急調査	24	91	519
	工場・事業場排水基準検査	工場排水	2514	2,383	2,189
		水浴場水	475	288	336
	八郎湖水質保全対策調査	底質調査	36	36	36
		緊急調査	0	80	158
	玉川酸性水影響調査		216	304	336
	十和田湖水質保全対策調査	十和田湖水質生態系調査	256	256	240
十和田湖流入河川調査		0	0	0	
土壌汚染対策	汚染土壌処理事業所検査		36	36	36
生活衛生に係る検査	遊泳用プール水質検査		40	18	16
	公衆浴場水質検査		64	64	64
	食肉衛生検査所自主検査		20	20	20
騒音対策	航空機騒音調査		735	758	758
化学物質対策 ^{*2}	化学物質環境調査 ^{*2}		143	167	137
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		508	731	543
	能代産業廃棄物処理センター関連調査		1179	1,351	1322
	緊急調査		387	0	0
合 計 (大気汚染常時監視を除く)			12,294	12,249	13,658

*1 大気汚染常時監視は、測定対象項目数（実測データ数）を表す。

*2 福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査の蛇口水、環境試料、畜産試料の一部及び化学物質環境調査については、平成24年度より理化学部から環境保全部に業務移行した。

*3 その他緊急環境放射能調査については、平成24年度から新たに項目を起こした。

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
24.04.13	平成 24 年度食品安全行政講習会	松渕亜希子	東京都
24.04.23	感染症発生動向調査等においてゆうパックにより検体を送付するための研修会	齊藤志保子	宮城県
24.05.10	2012HPC セミナー	天明さおり	東京都
24.07.09～10	アイソトープ・放射線研究発表会	高橋英之	東京都
24.07.13	環境測定分析統一精度管理ブロック会議	生魚利治	山形県
24.07.24～08.02	放射能分析研修	玉田将文	千葉県
24.09.06～07	東北ブロック食品衛生・環境監視員研修会	高橋英之	岩手県
24.09.11	第 19 回全国越境大気汚染・酸性雨対策連絡会議	清水 匠	東京都
24.10.05	平成 24 年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	中村淳子	東京都
24.10.10～12	石綿位相差顕微鏡研修	生魚利治	埼玉県
24.10.16	食品中残留農薬セミナー 2012	天明さおり	宮城県
24.10.18	全国疫学情報ネットワーク構築会議	村山力則	東京都
24.10.25～26	全国環境研協議会北海道・東北支部研究連絡会議	鈴木純恵	福島県
24.11.01	地方感染症情報センター担当者向けブロック疫学研修会・連携会議	村山力則	福島県
24.11.01～02	平成 24 年度北海道・東北・新潟支部公衆衛生情報研究部会研修会	村山力則	福島県
24.12.11	上級管理者向け放射能研修	菅原 剛	千葉県
25.01.10～11	平成 24 年度食品衛生監視員研修会	佐藤晴美 熊谷優子 松渕亜希子 天明さおり	秋田市
25.01.17～18	環境省環境科学セミナー	玉田将文	東京都
25.02.01	平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会・衛生理化学分野研修会	松渕亜希子 天明さおり	東京都
25.02.06	食品分析ソリューションセミナー 2013	松田恵理子	東京都
25.02.12～15	健康・栄養調査の企画・運営・評価に関する研修	栗盛寿美子	埼玉県
25.02.14～15	国立環境研究所シンポジウム	玉田将文	茨城県
25.02.16	独立行政法人国立健康・栄養研究所一般公開セミナー	栗盛寿美子	東京都
25.02.22	平成 24 年度指定薬物分析研修会議	菅原 剛	東京都
25.02.25	産業廃棄物の検定方法に係る金属等の検定方法 告示改正説明会	高橋英之	宮城県
25.02.26～27	平成 24 年度希少感染症技術者講習会	高橋志保 柴田ちひろ	東京都
25.02.28	全環研北海道・東北支部酸性雨広域大気汚染調査研究専門部会	清水 匠	北海道
25.03.01	排水管理等に用いる生物応答手法に関する技術セミナー	玉田将文	茨城県
25.03.07～08	第 18 回国際結核セミナー	田中貴子	東京都
25.03.15	腸管出血性大腸菌 O26 の MLVA 法による分子疫学的解析法に係る技術研修	高橋志保 今野貴之	岩手県
25.03.27	平成 24 年度放射能監視結果収集調査検討会	玉田将文	東京都

2.2 学会等出席

年 月 日	学 会 名	出 席 者 (○発表者)	開催地
24.05.06～09	8th International Symposium on Shiga Toxin-Producing Escherichia coli Infections (VTEC2012)	○八柳 潤	オランダ
24.05.10～11	第 103 回日本食品衛生学会学術講演会	○齊藤志保子 松田恵理子 天明さおり	東京都
24.06.15～17	第 53 回日本臨床ウイルス学会	○斎藤博之 ○佐藤寛子	大阪府
24.06.28～29	衛生微生物技術協議会第 33 回研究会	○八柳 潤 今野貴之 斎藤博之 柴田ちひろ	神奈川県
24.07.06～08	ダニと疾患のインターフェース	○佐藤寛子	徳島県
24.07.11～13	第 21 回環境化学討論会	○小林貴司 ○小川千春	愛媛県
24.07.19～20	第 16 回腸管出血性大腸菌感染症研究会	八柳 潤	秋田市
24.07.27	第 61 回東北公衆衛生学会	安部真理子	宮城県
24.08.22	東北食中毒研究会第 25 回全体会議・研修会	齋藤志保子 八柳 潤	宮城県
24.08.23～24	第 66 回日本細菌学会東北支部総会	○今野貴之	宮城県
24.08.24～25	第 39 回日本マス・スクリーニング学会	秋野和華子	東京都
24.09.10～12	高病原性鳥インフルエンザウイルス同定技術研究会	秋野和華子	東京都
24.09.12～14	第 59 回日本栄養改善学会	○栗盛寿美子	愛知県
24.09.12～14	大気環境学会	生魚利治	神奈川県
24.09.20～21	第 104 回日本食品衛生学会学術講演会	中村淳子	岡山県
24.10.03	第 10 回秋田県公衆衛生学会学術大会	○田中貴子	秋田市
24.10.05～06	第 58 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
24.10.10	平成 24 年度東北地区獣医師大会・日本獣医公衆衛生学会（東北地区）	齋藤志保子	山形県
24.10.10～12	第 61 回日本感染症学会東日本地方会	○今野貴之	東京都
24.10.17～18	平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部微生物研究部会・研修会	齋藤志保子 斎藤博之	北海道
24.10.22～23	第 23 回廃棄物資源循環学会	小林貴司	宮城県
24.10.23～26	日本公衆衛生学会	田中貴子	山口県
24.10.24～26	第 33 回日本食品微生物学会学術総会	○斎藤博之 齋藤志保子 熊谷優子	福岡県

24.10.25～27	第 64 回日本生物工学会大会	菅原 剛	兵庫県
24.11.08～09	第 35 回農薬残留分析研究会	天明さおり	奈良県
24.11.12	第 24 回ウイルス性下痢症研究会	斎藤博之	大阪府
24.11.13～15	第 60 回日本ウイルス学会	○斎藤博之	大阪府
24.11.15～16	第 46 回腸炎ビブリオシンポジウム	八柳 潤	大分県
24.11.21～22	第 49 回全国衛生化学技術協議会年会	松田恵理子 天明さおり	香川県
24.11.21～22	第 39 回環境保全・公害研究発表会	○成田修司	熊本県
24.11.30～12.01	第 5 回日本カンピロバクター研究会	齊藤志保子 高橋志保	大阪府
24.12.07	第 21 回応用生命科学研究会	○斎藤博之	秋田市
24.12.08～09	第 5 回日本リケッチア臨床研究会・第 19 回リケッチア研究会	○佐藤寛子	滋賀県
25.01.23	第 26 回公衆衛生情報協議会	村山力則	沖縄県
25.02.26	平成 25 年度下痢症研究会	斎藤博之	東京都
25.03.11～13	第 47 回日本水環境学会	○小林貴司 ○成田修司 生魚利治	大阪府

2.3 健康環境センター主催研究発表会

開催日：平成 24 年 6 月 19 日（火）

開催場所：秋田県総合保健センター

	演 題 名	発表者
1	母子健康手帳改正にともなう胆道閉鎖症早期発見に向けた便色カラーカードの導入	安部真理子
2	感染症発生動向調査 週報・月報・ホームページに関するアンケート調査について	村山力則
3	秋田県における腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症発生状況（1991-2011 年）	八柳 潤
4	インフルエンザ菌の莢膜血清型別法の問題点と血液から分離された e 型菌について	今野貴之
5	結核菌分子疫学解析法 JATA12 の概要と県内某施設において発生した結核集団感染事例における JATA12 の応用事例	八柳 潤
6	食品検体中の病原ウイルス検出を可能にした汎用型パンソルビン・トラップ法の開発	斎藤博之
7	福島第一原子力発電所事故に伴う秋田県における放射能調査	菅原 剛
8	県内の空間放射線量率に関する新モニタリングポストシステムの概要	玉田将文
9	もみ殻を原料とした選択的リン回収材の利活用	成田修司

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
25.01.25	平成 24 年度保健環境業務研究発表会 ・ ノロウイルス研究をめぐる最新の話 ・ 新規制物質 1, 4-ジオキサンの分析方法の検討 ・ 玉川上流域及び田沢湖における湯水時調査報告	斎藤博之 小川千春 生魚利治	潟上市

2.5 講師派遣等

2.5.1 技術支援

実施日	主 な 内 容	講師氏名	対 象	参加者数
24.04.27	つつが虫病（検査資料）	佐藤寛子	県立博物館	資料提供
24.05.30	つつが虫病（啓発ポスター）	佐藤寛子	埼玉医科大学	パンフレット 送付
24.06.01 ～08.31	もみ殻炭リン回収材の製造工程の改良	成田修司	東北ビル管材（株）	1 名
24.06.14	ボツリヌス菌検査	八柳 潤	新潟県保健環境科学研究所	2 名
24.06.20	パンソルビン・トラップ法について	斎藤博之	宮崎県衛生環境研究所	メール対応
24.08.01	つつが虫病（啓発ポスター）	佐藤寛子	県立博物館	資料提供
24.09.20	パンソルビン・トラップ法について （実技指導）	斎藤博之	大分県生活衛生部中堅技術 職員	20 名
24.10.18	パンソルビン・トラップ法について （実技指導）	斎藤博之	北海道立衛生研究所，青森 県環境保健センター，福島 県衛生研究所	3 名
24.10.23	つつが虫病（血清抗体価測定用抗原の培養 と調整の実技指導）	佐藤寛子	福島県衛生研究所	1 名
24.11.01	つつが虫病（血清抗体価測定用抗原の調整 および IP 法の実技指導）	佐藤寛子	福島県衛生研究所 青森県環境保健センター	2 名
24.11.02	パンソルビン・トラップ法について	斎藤博之	広島大学大学院	メール対応
24.12.01 ～03	リケッチア媒介種調査のための技術支援	佐藤寛子	福島県衛生研究所 青森県環境保健センター	2 名
25.02.14 ～15	赤痢菌同定，下痢原性大腸菌検査等	八柳 潤	宇都宮市衛生環境試験所	2 名
25.02.21 ～22	諫早湾水質浄化試験へのもみ殻炭リン回 収材の利用等	成田修司	長崎県環境保健研究センタ ー	10 名
			合 計	43 名

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
感染症の発生状況について	村山力則	2回	105名
油断できない結核	田中貴子	6回	225名
細菌感染症・食中毒について	高橋志保	2回	90名
	今野貴之	2回	60名
ウイルス性食中毒について	斎藤博之	2回	50名
ウイルス性感染症について	斎藤博之	1回	150名
	佐藤寛子	1回	20名
環境放射能について	松田恵理子	4回	214名
	高嶋 司	8回	448名
合 計		28回	1,362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
福島原発事故による秋田県内環境放射能への影響	24.05.25	松田恵理子	秋田化学工学懇話会	40名
耐性菌について	24.06.23	八柳 潤	秋田県感染症対策協議会	200名
人由来 ESBL 産生菌	24.06.29	八柳 潤	衛生微生物技術協議会	100名
県民健康・栄養調査の概況について	24.07.26	栗盛寿美子	秋田県栄養士会	50名
秋田県の食生活の課題とその解決のために	24.08.06	栗盛寿美子	秋田市教育委員会	32名
放射性物質災害	24.08.20	斎藤博之	消防学校	87名
秋田県の環境について	24.09.04	成田修司	秋田県神社中央支部	80名
特定給食施設等研修会	24.09.06	栗盛寿美子	県北地区福祉環境部	88名
H24年度秋田県結核対策全県研修会における情報提供について	24.09.18	田中貴子	秋田県健康福祉部	200名
個体の反応「生体と微生物」	24.09.24	八柳 潤	秋田大学	130名
危険性物質に係わる基礎知識及び関係法令	24.10.03	斎藤博之	消防学校	17名
県民健康・栄養調査結果からみる食生活の状況	24.10.09	栗盛寿美子	大曲仙北食生活改善推進協議会	123名
平成23年度県民健康・栄養調査報告について	24.10.11	栗盛寿美子	栄養・食生活分科会	13名
平成23年度県民健康・栄養調査聞き取り手法について	24.10.19	栗盛寿美子	秋田中央・由利本荘保健所	22名

平成 24 年度調理師等食育推進者研修会	24.10.25	栗盛寿美子	秋田県雄勝地域振興局福祉環境部	52 名
放射性物質による汚染状況	24.10.29	松田恵理子	秋田県生活衛生営業指導センター	80 名
早め早めの感染症研修会	24.11.16	斎藤博之	秋田県由利地域振興局福祉環境部	64 名
保健情報学 1 (保健衛生ニーズ, 死亡統計)	25.01.10	田中貴子	秋田大学医学部保健学科	80 名
保健情報学 2 (生活習慣病対策の保健情報)	25.01.17	田中貴子	秋田大学医学部保健学科	80 名
保健情報学 3 (結核の情報管理・統計)	25.01.24	田中貴子	秋田大学医学部保健学科	80 名
母子健康手帳改正に伴う便色カラーカードの導入	25.02.17	安部真理子	健康推進課	66 名
合計 22 回				1,684 名

2.6 視察・見学等受入

参加者区分	平成 22 年度	平成 23 年度	平成 24 年度	
			人数	団体数
小・中学生	0	2 (1)	2 (2)	秋田大学附属中学校, 秋田市立河辺中学校 3 年生
インターンシップ	10 (2)	13 (3)	11 (3)	東北薬科大学, 秋田県立大学, 秋田高専
その他の学生	14 (1)	13 (2)	37 (4)	秋大社会医学実習, 聖霊女子短期大学専攻課健康栄養専攻 2 年生, 秋田中央保健所管理栄養士臨地実習生, 秋田県立大学生物科学部応用生物科学科 4 年生
一般県民	0	0	0	
業務関係者 (医師臨床研修含む)	1 (1)	20 (1)	9 (3)	秋田県総合保健事業団, 食肉衛生検査所
県外	3 (1)	4 (1)	10 (7)	新潟県保健環境科学研究所, 長崎県環境政策課, 長崎県県境保健研究センター
国外	9 (2)	3 (2)	3 (2)	吉林省長白山管委會・資源保護局副局長、吉林省白城市鎮山県環境保護局局長
合計	37 (7)	55 (10)	72 (21)	

注) 括弧内の数字は団体数

2.7 受賞・表彰等

受賞日	表彰名	受賞者	授与機関
24.05.24	平成 24 年度全国環境研協議会 北海道東北支部長表彰	松田恵理子	全国環境研協議会北海道東北支部
24.11.01	平成 24 年度生活環境改善功労者表彰	柴田義明	生活と環境全国大会

3. 研究業務実績

細菌班

食用牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の菌学的性状に関する研究

(平成 24 年度～25 年度)

研究概要

腸管出血性大腸菌 (EHEC) の感染源として牛などの反芻動物が重要であるが、当センターでは平成 15 年以降牛の EHEC 保菌率の調査を実施していない。一方、欧州ではこれまで知られていない病原因子の組み合わせを有する EHEC O104 による感染事例が 2011 年に多発し、多数の死者が発生したが、県内における EHEC O104 類似株の侵淫実態は不明である。また、O104 の抗血清は市販品がなく、O104 の確認には時間を要することが問題である。このため、本研究では県内でと殺される肉牛の EHEC 保菌実態を解明するとともに、分離株の菌学的データを集積する。また、EHEC O104 確認用の遺伝子診断法を確立すると共に、EHEC O104 と同様な病原因子を保有する EHEC も重点的に検索することにより、県内における当該菌による感染事例発生リスクについても検討する。

結果

54 頭について EHEC を検索した結果、EHEC O157 が 2 頭、EHEC O113 が 2 頭、O152、O168 が各 1 頭、Out が 3 頭から分離同定され、平成 15 年までの調査と同様に秋田県内でと殺されている牛が EHEC O157 を現在でも保菌していることが確認された。また、県内でと殺された牛がオーストラリアで重篤な感染症を惹起した EHEC O113 を保菌していることが確認され、県内における EHEC O113 による感染症発生リスクが示唆された。一方、EHEC O104 及び EHEC O104 と同様に *aggR* 遺伝子を保有する EHEC は検出されなかった。

国立感染症研究所から分与された腸管凝集付着性大腸菌 O104 2342 株の DNA 溶液から *E. coli* O104 の O-antigen polymerase gene (*wzy*) の全長 (1,113 bp) を増幅して *E. coli* JM109 にクローニングし、O104wzyORF 1,113 bp を保有する JM109/O104-KI/AKITA20110616 を作出した。

O104 特異的 PCR 用プライマーとして O104wzy の 470 bp を増幅する O104wzy_F : ttt act tca cga ggt gtc aag, O104wzy_R : att aac att aat gca gat aaa tgg を設計し、2342 株の抽出 DNA 溶液と JM109/O104-KI/AKITA20110616 のいずれもから 470 bp の断片が増幅されることを確認した。食品衛生法改正により生食用牛肉の規格基準が定められ、牛レバーの生食が禁止されたことにより EHEC 感染症発生が減少したとされているが、EHEC 感染症発生のリスクファクターとしての牛の EHEC 保菌実態については詳細に検討する必要がある。

百日咳とマクロライド耐性マイコプラズマの流行及び百日咳様呼吸器疾患の病原微生物検索結果－地方衛生研究所技術協議会百日咳、ジフテリア、ボツリヌスレファレンスセンター業務－

研究概要

平成 20 年 8 月 12 日付けで健康福祉部長から県医師会会長等宛に健第 1515 号「健康環境センターが実施する LAMP 法による百日咳菌検査の利用について (通知)」が発出され、秋田県では LAMP 法による百日咳迅速検査技術を県内医療機関に提供している。一方、全国的にも百日咳様臨床症状を呈する疾患が流行しているにもかかわらず、その多くが百日咳菌、マイコプラズマ共に陰性であった。このため、国立感染症研究所と連携してこれらの患者にどのような呼吸器系病原微生物が関与しているか詳細に検討した。

結果

百日咳 LAMP 法検査陽性者は 2012 年 3 月から 9 月まで毎月確認され、2012 年 1 月と 2013 年 2 月に確認された陽性者を含み計 19 名の陽性者が確認された。これは、2008 年に本事業を開始して以来、1 年あたりの陽性者数では最多となる。更に、2012 年 6 月から 2013 年 1 月まで毎月マイコプラズマ陽性者が確認され、陽性者数は計 30 名となった。検出されたマイコプラズマは、シークエンスが可能であった検体全てにおいてマクロライド耐性に関与する 23S rRNA の A2063G 変異が確認され、マクロライド耐性マイコプラズマが秋田県において流行していた

事実が初めて確認された。

一方、百日咳様呼吸器症状を呈する患者の多くが百日咳・マイコプラズマ陰性であることから、百日咳菌とマイコプラズマ以外の微生物が発症に関与する可能性が想定されていたが、その実態は不明であった。そのため、2012年7月から2013年6月に128検体についてParainfluenza Virus (PIV), Human Metapneumo Virus (MpV), Bocavirus (BoV), Rhinovirusの検出を試行した。その結果、27検体がRhinovirus陽性(21.1%)、8検体がPIV陽性(6.3%)、6検体がBoV陽性(4.7%)、2検体がhMpV陽性(1.6%)であった。Rhinovirusは検出頻度も高く、10月と11月の秋季と4月と5月の春季に検出頻度が高まる傾向がみられ、百日咳様呼吸器疾患の病原微生物として重要な位置を占める可能性が示された。2013年4月以降の15検体について*Bordetella parapertussis*と*Chlamydia pneumoniae*の検出を試みた結果、*Chlamydia pneumoniae*陽性検体が1検体確認された。なお、本事業において*Chlamydia pneumoniae*陽性検体が確認されたのはこれが初めてである。

Bordetella parapertussis, *Chlamydia pneumoniae*とともに秋田県ではこれまで病原体検索が行われたことはほとんど無く、その感染症学解明のために検討を継続する必要がある。(国立感染症研究所細菌第2部 蒲池一成室長と共同実施)

地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究「アシネトバクター属菌の感染症学解明に関する研究」

(平成24年度～)

研究概要

アシネトバクター(*Acinetobacter*)属菌は湿潤環境を好み、自然環境中に広く分布する。医療機関等で汎用されている自動同定機器や従来の生化学的性状試験ではアシネトバクターの種を正しく同定することは困難であり、このことがアシネトバクター感染対策上の問題の一つとなっている。アシネトバクターは、既に国内で深刻な健康被害を伴う院内感染を惹起しており、健康被害発生予防対策を講じる必要があるが、国内におけるアシネトバクター属菌の分離

実態さえも正確に把握されているとは言い難いのが現状である。本研究は、国内におけるアシネトバクター属菌の感染症学に関する知見を得ることを目的として実施した。

結果

秋田県で分離された148株中*A. baumannii*が68株(45.9%)と最も多く、*A.nosocomialis*が34株(23.0%)、*A.pittii*が22株(14.9%)、菌種未定の*Acinetobacter* sp. Close to 13TUが13株(9.1%)と続いた。分離株の由来では喀痰由来株が69株と最も多く、尿由来株が20株、咽頭由来株が11株と続いた。血液由来株は7株であり、その内訳は*A.nosocomialis*が6株、*A.baumannii*が1株であった。

*A.baumannii*では5剤、6剤、7剤、8剤耐性株がそれぞれ4株、7株、5株、1株認められたのに対して、*A.baumannii*以外のアシネトバクター属菌では6剤耐性株が1株(*A.nosocomialis*)認められたが5剤、7剤、8剤耐性株は認められなかった。感染症法に定める多剤耐性アシネトバクター(MDRA)の届出基準を満たすIPM, AMK, CFX 耐性を獲得した株は認められなかったが、AMKとCFX耐性を示す株が9株認められ、これらは全て6剤以上耐性の*A.baumannii*であった。血液由来株ではAZT, PIPC耐性株が1株、AZT耐性株が1株、感受性株が5株(*A.baumannii* 1株を含む)であった。

rpoB 遺伝子の解析はアシネトバクター属菌の同定に有用であった。今回、感染症法に定めるMDRAは検出されなかったが、5剤以上の薬剤に耐性を獲得した*A.baumannii*が検出され、これらの菌は医療機関において院内感染原因菌などとして問題になる可能性が高い。重篤な感染症に発展する可能性が高いアシネトバクター属菌による血液感染の発生状況について、今後もデータを集積する必要がある。

カンピロバクターレファレンスセンター業務(平成元年度～)

研究概要

地方衛生研究所技術協議会の北海道・東北・新潟ブロックのカンピロバクターレファレンスセンター支部としてカンピロバクター分離株の血清型別依頼に対応している。平成24年は県内

の散発下痢症患者由来の 31 株 (*C. jejuni* 30 株, *C. coli* 1 株) について Penner 法と Lior 法の比較検討を行った。更に、そのうち再培養可能であった 30 株 (*C. jejuni* 29 株, *C. coli* 1 株) については、薬剤耐性化の傾向を把握するため、テトラサイクリン、エリスロマイシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン、シプロフロキサシンの 6 剤について感受性試験を実施した。また、同様にして収去食品の検査及び厚生労働省からの依頼で行っている食品の汚染実態調査において分離された 10 株 (*C. jejuni* 9 株, *C. coli* 1 株), 生活衛生課の依頼で実施した行政検査で死亡したツキノワグマの腸内容物から分離した *C. jejuni* 2 株についても調査した。

結果

散発下痢症患者由来の *C. jejuni* 30 株のうち、Penner 法で単一の血清型に型別可能であったものは 10 株 (33.3%), Lior 法では 19 株 (63.3%) であった。*C. coli* 1 株はいずれの手法でも型別不能であった。また、散発下痢症患者由来の *C. jejuni* 29 株中 14 株 (48.3%) がキノロン系薬剤に耐性を示した。*C. jejuni* におけるキノロン系薬剤への耐性は、以前は 30~40% 程度であったがここ数年その割合が高くなっており、耐性化の進行が危惧される。一方、*C. coli* 1 株はいずれの薬剤にも感受性であった。

また、鶏肉由来の株の中には、患者由来株と同一の血清型を示した株もあり、鶏がカンピロバクターの汚染源として重要であることが改めて示された。ツキノワグマの腸内容物から分離した *C. jejuni* については、1 株が Penner 法で P 群、Lior 法で LIO18、もう 1 株が Penner 法では型別不能であったが、Lior 法で LIO60 であることを確認した。

インフルエンザ菌の遺伝子型別法の検討と分離実態の解明

(平成 23 年度～平成 24 年度)

研究概要

インフルエンザ菌には、莢膜型と無莢膜型があり、莢膜型は更に 6 つの血清型 (a~f) に分けられる。b 型に代表される莢膜型では重症化の危険があるため、血清型を明らかにすること

は本菌による感染症の発生動向を把握する上で極めて重要である。しかしながら、従来の血清型別法では型別が難しい場合が多かった。そこで血清型別法に代わる方法として、PCR 法による莢膜遺伝子の型別法を検討した。更に、県内の分離株を用いて、莢膜遺伝子の型別法を試行し、秋田県内における分離実態を調査した。

平成 23 年度から 24 年度にかけて、平成 20 年~24 年に県内で分離された菌株 666 株について従来法と遺伝子型別法の比較を行った。また、莢膜型のインフルエンザ菌については、薬剤耐性に関わる遺伝子を調査した。

結果

従来法と遺伝子型別法で結果が一致しない例が 32 例 (4.8%), 従来法では複数の血清型に陽性反応を示し型別不能であったが遺伝子型別法で型別された例が 38 例 (5.7%) 確認された。一方、遺伝子型別法で型別不能であったのは 1 例のみであり、遺伝子型別法の有用性が示された。

遺伝子型別法により、43 株の莢膜型インフルエンザ菌を確認し、秋田県では b 型と共に e 型の分離が多い実態を明らかにした。また、今回確認された莢膜型インフルエンザ菌の多くが薬剤の作用するペニシリン結合タンパク質に変異を有しており、薬剤耐性菌であることが分かった。

ウイルス班

食品中のウイルス検査実施に向けてのパンソルビン・トラップ法の汎用化 (厚生労働科学研究費補助金「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」)

(平成 22 年度～平成 24 年度)

研究概要

パンソルビン・トラップ法は、食品検体に含まれるウイルス粒子を黄色ブドウ球菌の表面に吸着させて回収することを基本原理としている。その性質上、抽出された RNA には大量の黄色ブドウ球菌由来の遺伝子が混入し、遺伝子解析の障害となることが前年度の研究で明らかとなった。黄色ブドウ球菌の遺伝子そのものは、極微量のウイルス RNA を安定的に保持するキ

キャリアとして働くため、検出感度に対してはプラスの効果が見込める。従って、それを排除するのではなく、遺伝子解析に影響が及ばないようにする解決策が求められた。

結果

本研究では、逆転写反応時に PCR で用いるものとは異なる専用プライマーを使うことで、遺伝子解析可能な PCR 増幅産物を得ることに成功した。更に、増幅プロセスにホットスタート & タッチダウン PCR を用いることで一層の改善が認められた。また、ノロウイルス GI/4 及びノロウイルス GII/4 で汚染させたポテトサラダにおける本法の検出限界は、両者とも食品 1g 当たり 35 コピーであった。以上のことにより、黄色ブドウ球菌のキャリアとしての長所を活かし、遺伝子解析の障害という短所を顕現させないようにするという目的は達成された。

北海道・東北・新潟ブロックにおけるリケッチア症検査技術の向上・維持及び地域における媒介種調査に関する研究

(平成 24 年度～平成 26 年度)

研究概要

近年の調査研究から北海道・東北・新潟ブロックは様々な血清型によるつつが虫病や紅斑熱群リケッチア症など多様なリケッチア症のリスク地域であることが明らかとなっており、それらに対応する検査体制の整備や媒介種の生息調査などが求められている。今年度は、血清抗体価測定に関する技術研修や新たな遺伝子検査系の評価を複数の地衛研で行い、診断ネットワークの構築にむけた準備を行った。更に、フィールド調査を共同で行うことで調査手法や各県が抱える課題を共有し、新たなリケッチア症の発生に備えた調査体制の整備を行った。

結果

(1) 検査体制整備について

①2012 年 10 月 23 日、11 月 1 日に福島県衛生研究所 P3 実験室において、L929 細胞の培養・維持、*Orientia tsutsugamushi* の接種及び血清抗体価測定用抗原の調整について講師として参加、技術研修を行った。

②現行の病原体検出マニュアルに記載されているプライマーセット (1st ; Pr34⇔Pr55, 2nd ;

Pr10⇔Pr11) では臨床検体から Shimokoshi 型を感度よく検出できないことから、Shimokoshi 型を検出可能なプライマー SH6 を設計し、既存の 1stPCR のプライマーセットに加えた反応系 (Pr34⇔Pr55+SH6) とすることで、Shimokoshi 型を感度よく検出できることを確認した。更にフィールド調査などにおける多検体処理のため、リアルタイム PCR (川森ら) による検査体制の整備を併せて行った。

(2) フィールド調査

雄物川水系の支流の河川敷 29 箇所についてアカツツガムシの生息調査を行い、9 箇所 (7 支流) においてアカツツガムシの生息を確認した。更に過去 3 年間に行われた雄物川水系全体におけるアカツツガムシの生息状況を、調査ポイント毎にアカツツガムシ生息密度を集計した。

この他、福島県において Shimokoshi 型媒介種の探索、青森県において紅斑熱群リケッチアの生息調査を実施した。

今回、技術研修に加え、各県のフィールド調査をコア地衛研が共同で実施し、サポート体制を構築することができた。今後も各地衛研で検査体制の整備を進めるとともに、より広域な診断ネットワークの構築にむけた技術研修やフィールド調査が必要になると思われる。

子宮頸がん検診における受診率及び検査精度の向上に関する研究

(平成 23 年度～平成 24 年度)

研究概要

20 数年連続で秋田県における死因 1 位は悪性新生物 (がん) であり、本研究は子宮頸がん早期発見のために検診受診率及び検査精度向上を目指す。検診受診率向上のためフォーカスグループインタビュー (FGI) 法による意識調査を行い、検診対象者の受診を妨げている理由や問題点を明らかにする。また検診における検査精度向上のため、現在行われている細胞診検査に HPV-DNA 法を導入検討することで、検診結果の精度向上を試みた。

結果

3 グループを対象に行った FGI 法の解析結果より、検診を行う自治体等の関係機関は、集団

検診及び医療機関検診の充実を図り、若い女性が受診しやすい、時代に合わせた検診の社会環境を整えていく必要があることがわかった。また、早期からの健康教育が重要であり、若い女性が関心を持ち受診行動につながる啓発普及及び広報の強化を、関係機関と連携をとり推進していくことが大切であると考えられた。更に無料クーポン券の確実な利用を図ることで、健康意識の醸成につなげることが有効であることが判明した。

また、検査精度向上については、HPV 遺伝子法を独自に改良した結果、HPV 感染の有無、及びハイリスク型 HPV 遺伝子型の判定精度が向上した。この方法を用いて県内の婦人科外来受診者から液状化法により採取した検体について HPV 感染を調査したところ、HPV52 型が最も多く検出され、子宮頸がんワクチンの対象となっている HPV18 型は少数であった。また細胞診において ASC-US と判定された患者からも、その他のハイリスク型 HPV 感染が多く確認された。この結果から細胞診と改良 HPV-DNA 法の導入併用は検査精度を向上させ、ハイリスク型感染者に対して検診機会を増加させることにより、子宮頸がんの早期発見に寄与するものと思われる。また液状化法による細胞診結果は従来法よりも低い判定傾向にあったが、有意差はなかった。しかしながら、子宮頸がん検診における液状化法は、採取検体が HPV 遺伝子法と併用可能であることから非常に有用と考えられる。

理化学班

廃水処理施設における 1,4-ジオキサン最適処理条件の検討

(平成 23 年度～平成 24 年度)

研究概要

1,4-ジオキサンは環境中への残留性があり、発がん性の疑いもあるため、平成 21 年 11 月に公共用水域及び地下水の水質環境基準項目として、平成 24 年 5 月には排水基準項目として追加された物質である。水にも溶剤にも無制限に溶解し、かつ難分解性である 1,4-ジオキサンは、一般的な排水施設では処理できないとされていたが、県内の埋立処分場跡地地下水を処理する

廃水処理施設において、特異的に効率よく処理されていることがわかってきた。

本研究では、この処理施設における各処理工程での 1,4-ジオキサン濃度の挙動を明らかにし、特に有機物の除去効果が期待できる生物処理槽に着目し、水温と 1,4-ジオキサン除去率の関係を調査した。

結果

埋立処分場跡地の浸出水は、3 つの廃水処理施設へ送水されており、施設へ流入する 1,4-ジオキサンの濃度は 1～5 mg/L 程度である。この廃水処理施設での処理工程は、揮散による VOC 除去、沈殿、嫌気及び好気での生物処理、砂ろ過、活性炭吸着等であるが、1,4-ジオキサンの減少が認められたのは、好気条件下での生物処理工程のみであり、除去効率は 90～98% 程度であった。ただし、生物処理槽の水温が低下する冬季には、1,4-ジオキサンはまったく減少しないため、冬季間はヒーターによる加温が必要であった。生物処理槽の水温と 1,4-ジオキサン除去率の関係をみると、水温が 13～15℃ 程度より下がったときに除去率は急激に低下した。一年を通じて適切に 1,4-ジオキサンを処理するためには、水温を 15℃ 以上に保つ必要があることがわかった。

食品中の残留農薬及び残留動物用医薬品の一斉分析法に関する研究

(平成 24 年度～平成 26 年度)

研究概要

農畜産物中の残留農薬及び動物用医薬品の残留基準値による規制は、ポジティブリスト方式が採られており、当センターでは、現在、農薬、動物用医薬品を合わせて約 240 項目を分析している。しかし、食品の多様化に伴い使用される農薬等の種類が多岐にわたっていること、農畜産物に加え、加工食品も検査の必要性が増していることから、更なる検査項目の拡大と、より迅速で高精度の分析が求められている。

また、食品衛生法の適否を判断していく上で、検査結果の信頼性の重要度が増している。そのため、検査結果の信頼性を高めることを目的として精度管理業務に加えて、分析法の妥当性評価試験も行うことが必須となった。

本研究では、検査項目数の拡大を図り、現在の多成分一斉分析法を改良し、より高効率及び高精度な分析法に発展させる。また、検討した分析法の妥当性評価も行い、信頼性に関する裏付けをとる。

結果

検査項目の拡大にあたり、各種文献、本県及び全国の検出事例、使用量が多い農薬品目等を調査し、農薬、動物用医薬品を合わせ、追加項目として約 160 項目を選定した。選定した項目の測定条件等の検討を行い、今までの測定項目を含む約 400 項目の分析が可能となった。

農薬の多成分一斉分析法について、経済的で迅速簡易な残留農薬分析法として欧州や米国で広く普及している手法（クエッチャーズ法）の一部操作を採用し、これに独自の精製を加えて、より感度が高く、効率的な新規分析法を構築した。この新法の妥当性評価試験をハウレンソウ、リンゴ、キャベツ等の一部の食品で実施したところ、概ね良好な結果が得られた。

動物用医薬品について、厚生労働省通知の一斉分析法Ⅲを基にして、更に改良を検討した。抽出液の組成の変更や、精製工程を加えたところ、より低濃度レベルでの測定が可能となった。

環境保全班

湖沼生態系の持続的管理手法の開発に関する研究

（平成 22 年度～平成 24 年度）

研究概要

（独）国立環境研究所の地方公共団体環境研究機関等との共同研究課題募集に応募したもので、同研究所、岡山県環境保健センター、名古屋市環境科学調査センターの共同研究であり、神戸大学の研究者をアドバイザーとしている。生態系操作は、1980 年代に欧米を中心に応用されるようになり、我が国でも '00～'03 年に長野県の白樺湖で行われた試験における透明度の改善が花里孝幸により報告され、近年では諏訪湖においてもアオコ対策の一つとして検討されるなど、新たな技術として注目されるようになってきた。しかし、これを実際に応用しようとするとき、生

態系への慎重な配慮とともに、湖の利水などの利害関係者との合意形成が必要と予測されることから十分な根拠に基づく予測により見通しを示すことのできる技術確立が望まれる。本研究では、この技術の確立を目的に、次のようなモデルの確立を目指し研究を行った。

1. 内部生産の把握手法の確立
2. 生態系内の種の競争関係の定量化手法確立
3. 生態系と水質の関係の定量化手法の確立

結果

平成 24 年度は、藻類 2 種、ミジンコ 2 種、魚 2 種からなるモデルについて検討した。ロトカ・ボウルテラモデルを常微分で計算すると十和田湖における初期の大型魚の安定及び 1980 年以降の優占種の交代までが表せることが明らかになった。また、シミュレーション結果は連続的なモデルより非連続的（離散）モデルの方がより現実に近い結果となることがわかった。検討したモデルは 1990 年以前を再現できたが、1990 年以降の物質量をうまく再現出来なかった。この点については更なる検討が必要であった。

玉川源泉の酸度上昇にも対応した実証的中和処理技術の開発とその対策がもたらす水質改善効果

（平成 22 年度～平成 24 年度）

研究概要

近年、玉川源泉の酸度上昇に伴い、玉川上流部の中和処理施設周辺における渋黒川で観測されている pH 低下の原因は、潜在的酸性成分を含む源泉の混入した強酸性水が湯川を流下し、渋黒川に流入することで生じていることを当センターが行った平成 20 年度～21 年度の研究で明らかにしてきた。そこで本研究では、中和処理施設周辺の酸性水に対して、酸度上昇時においても、効率的に酸性を弱め、田沢湖の水質管理目標である pH6 を達成するための中和技術の開発を目指す。具体的な内容の一つ目は、廃棄物であるホタテ貝の貝殻等を原料とした中和効率の高い中和材の開発とそれらを酸性水域に適用する技術開発、もう一つは、pH 改善を目的と

した中和対策に伴う副次的な水質改善効果について検証を行う。中和によって変化する玉川河川水質におけるヒ素等の環境動態調査を実施し、中和対策がもたらす水質改善について評価する。これと関連して、秋田県立大学の宮田准教授のグループと研究課題名「玉川温泉下流域の金属元素動態に係わる微生物群衆の機能解析」について、共同研究を行った。

結果

平成 24 年度は、5、7、10 月に調査を行い、玉川源泉下流域及び中和処理施設内の調査を行った。これまでの研究で、現行の中和処理によって発生する同施設放流口の茶褐色の堆積物中に、源泉中のヒ素又はクロムからなるオキシ酸が取り込まれることで、それらの濃度減少が明らかとなった。その機構について検討を行ったところ XRD、FT-IR の結果から、上記堆積物は源泉由来の鉄と硫酸イオンから生成したシュベルトマナイト様の化合物であることが明らか

となった。このシュベルトマナイトは構造内部の硫酸イオンがオキシ酸とイオン交換することが知られている。つまり、源泉中のヒ素及びクロムが pH3.5 付近の溶液中でオキシ酸として存在し、中和処理過程においてシュベルトマナイト様化合物の生成と共に取り込まれたことから、上記の濃度減少が生じたと考えられる。また、シュベルトマナイト様化合物の生成機構についても検討した結果、源泉に含まれる鉄及び硫酸イオンの濃度、中和処理条件である pH 約 3.5 及び同処理温度の約 60℃など、一般的なシュベルトマナイトの生成条件と良く一致していることが明らかとなった。つまり、pH を約 3.5 に改善する目的で稼働している中和処理施設は、その稼働条件と源泉の成分が相互にシュベルトマナイト様化合物の形成をもたらし、オキシ酸として存在するヒ素、クロムを取り込んだと考えられる。

Ⅲ 調查研究報告

感染症対策事業

A 群溶血性レンサ球菌 T 型別の分離状況と薬剤耐性の動向

今野貴之 熊谷優子 高橋志保 和田恵理子 八柳 潤

病原体サーベイランス事業として、平成 22 年には 248 株、平成 23 年には 152 株、平成 24 年には 174 株の A 群溶血性レンサ球菌について T 型別を行った。その結果、秋田県内では地域ごとに特徴的な T 型の流行があることが示された。また、溶血性レンサ球菌レファレンスセンターにおいて秋田県内の分離株について薬剤感受性試験を実施した結果、薬剤耐性についても T 型や地域によって特徴があることが示唆された。

1. はじめに

A 群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*: 以下 A 群溶レン菌) が関与する感染症は多種多様で、様々な疾患を引き起こすことが知られている¹⁾。「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(感染症法)」に基づく感染症発生動向調査では、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎は、小児科定点報告の五類感染症に属し、病原体サーベイランス事業の対象疾患となっている。本感染症は、例年、冬季及び春から初夏にかけて流行のピークを迎える。

A 群溶レン菌の菌体表層には、M タンパク及び T タンパク等の抗原物質が存在しており、血清型別が可能である。そのうち T タンパクは病原性と無関係とされているが、T 型と病原性に関わる M タンパクの型は相対すること、M タンパクに比べ安定性があること等から病原体サーベイランス事業では、A 群溶レン菌の疫学的指標として T タンパクの血清型別を行っている。

A 群溶レン菌が関わる感染症の治療薬としては、咽頭炎にはペニシリン系やセフェム系抗菌薬が、これらの抗菌薬にアレルギーのある患者や劇症型レンサ球菌感染症には、マクロライド系やリンコマイシン系抗菌薬が使用されており、溶血性レンサ球菌レファレンスセンターにおいてこれらの薬剤への感受性試験が行われている²⁾。

本報では、平成 22 年から 24 年の 3 年間の秋田県内の T 型別の分離状況と溶血性レンサ球菌レファレンスセンターにおいて実施された薬剤感受性試験の結果について、菌株数が比較的多

かった主な 3 定点医療機関のある地域のデータを基にまとめたので報告する。

2. 方法

2.1 T 型別

平成 22 年 1 月から平成 24 年 12 月に秋田県内の医療機関(大館市立総合病院、秋田組合総合病院、由利組合総合病院、平鹿総合病院、雄勝中央病院)から当センターに提供された A 群溶レン菌 574 株を対象に、市販抗血清を用いて T 型別を行った。

2.2 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、溶血性レンサ球菌レファレンスセンターに平成 22 年 80 株、平成 23 年 50 株、平成 24 年 50 株の解析を依頼し、アンピシリン(ABPC)、セフジニル(CFDN)、セファレキシン(CEX)、セフジトレン(CDTR)、エリスロマイシン(EM)、クラリスロマイシン(CAM)、リンコマイシン(LCM)、クリンダマイシン(CLDM)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)の計 10 薬剤について微量液体希釈法により行われた。

3. 結果と考察

3.1 秋田県内の地域別 T 型の分離状況

平成 22 年から 24 年の A 群溶レン菌分離株数は、秋田県北部が 94 株、21 株及び 27 株、県中央部が 31 株、33 株及び 30 株、県南部が 119 株、91 株及び 102 株であり、その他の医療機関が 2 株、4 株及び 15 株であった。主な地域別の T 型の割合を図 1 に示す。

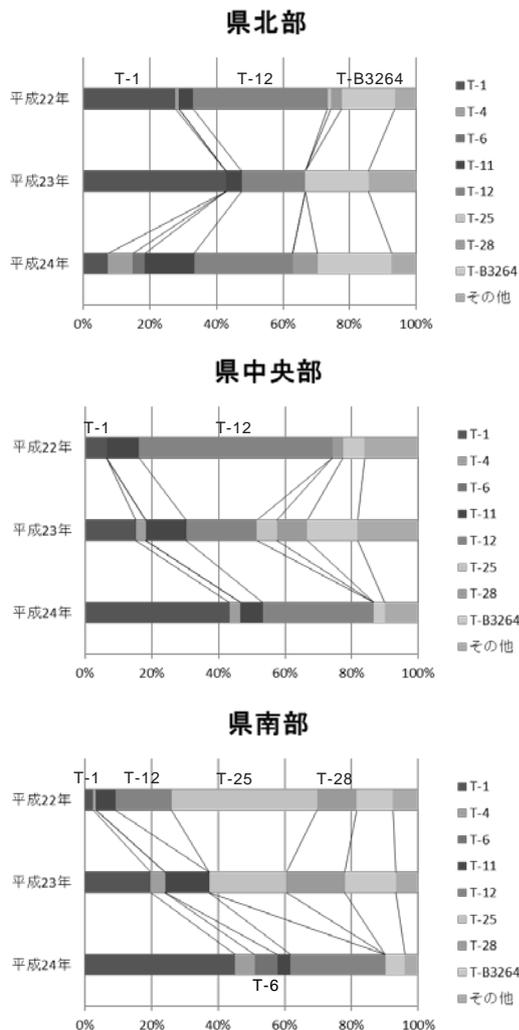


図1 A群溶レン菌の地域別T型分離状況

県北部で分離頻度の高いT型は、平成22年、23年はT-1、T-12及びT-B3264であったが、平成24年には他の地域と異なりT-1の割合が減少した。

県中央部で分離頻度の高いT型は、平成22年はT-12のみで50%以上を占めていたが、平成23年からはT-1が徐々に多くなり、T-12の占める割合は低下した。

県南部で分離頻度の高いT型は、平成22年は他の地域で多いT-12よりもT-25が多く、それ以外にもT-28が他の地域よりも多い傾向があった。平成23年にはT-12は確認されなくなり、T-1が増加した。平成24年には再びT-12が確認されるようになったが、T-1の占める割合は更に多くなり、一方でそれまで主要な菌型であったT-25及びT-28は確認されなくなった。また、平成24年からは平成19年に県南部で流行したT-6が確認されるようになった^{3,4)}。

平成22年から24年の3年間の県内各地域A群溶レン菌の流行をみると、それぞれ特徴的な傾向があることが示された。溶血レンサ球菌レファレンスセンターの全国集計によると、咽頭炎由来のA群溶レン菌では、T-1、T-12及びT-4が従来から主要な3菌型となっている⁵⁾。ただし、T-4に関しては近年減少傾向にあり、秋田県でも平成22年から24年の3年間は各地域とも少ない傾向にあった。また、劇症型溶レン菌感染症患者由来株のT型別では、T-1が全体の50～60%を占めている⁵⁾。平成22年から24年にかけて、県中央部及び県南部ではT-1の割合が増加傾向にあることから、今後注意が必要と考えられる。

3.2 薬剤耐性の動向

耐性パターンと主要なT型の関連について図2に示す。T-1とT-25ではマクロライド系抗菌薬のEM及びCAMの2剤への耐性株が多い傾向にあった。T-28では更にリンコマイシンのLCM及びCLDMへの耐性を加えた4剤耐性が、T-12では更にTCを加えた5剤耐性が多い傾向にあった。一方、T-11とT-B3264では耐性株は数株のみで感受性の株が多かった

今回の調査では、咽頭炎の治療薬として用いられるペニシリン系抗菌薬のABPCやセフェム系抗菌薬のCFDN、CEX及びCDTRに対して耐性の株は検出されなかった。全国的にもこれらの治療薬への耐性は現在までのところ確認されていない²⁾。また、県内ではCPに対する耐性も確認されなかった。しかしながら、県内の分離株を含め、全国的にも劇症型レンサ球菌感染症に汎用されるマクロライド系やリンコマイシ系抗菌薬に耐性の株が散見されており、溶血性レンサ球菌感染症の治療において、抗菌薬の選択には注意が必要と考えられる²⁾。

耐性株の地域別の内訳では、平成22年のT-12において、県北部の株が供試した9株すべてが5剤耐性、県中央部では8株中3株が5剤耐性を示した一方、県南部の株では供試した8株すべてが感受性を示し、T型の中にも更に地域性が確認された。しかしながら、県北部では平成23年からT-12の分離株数は減少し、5剤耐性の株も平成24年には3株中1株となった。県北部の医療機関では平成13年頃からICT（Infection

Control Team) を中心に抗菌薬の使用状況を年単位で取りまとめ、院内で情報共有を進めてきたことに加え、平成 23 年からは院内で分離される病原細菌の抗菌薬感受性をまとめたアンチバイオグラムを作成し、感染症の原因菌が判明する前の初期治療に活用できるよう処方オーダーリングに掲載する等、検査の結果を臨床にフィー

ドバックする取り組みを積極的にすすめ、薬剤の適正使用に努めているとのことであった。このような取り組みがこの地域での耐性株の減少に寄与した可能性が考えられ、耐性菌を監視する上で、医療機関における薬剤の適正使用管理の重要性が改めて示唆された。

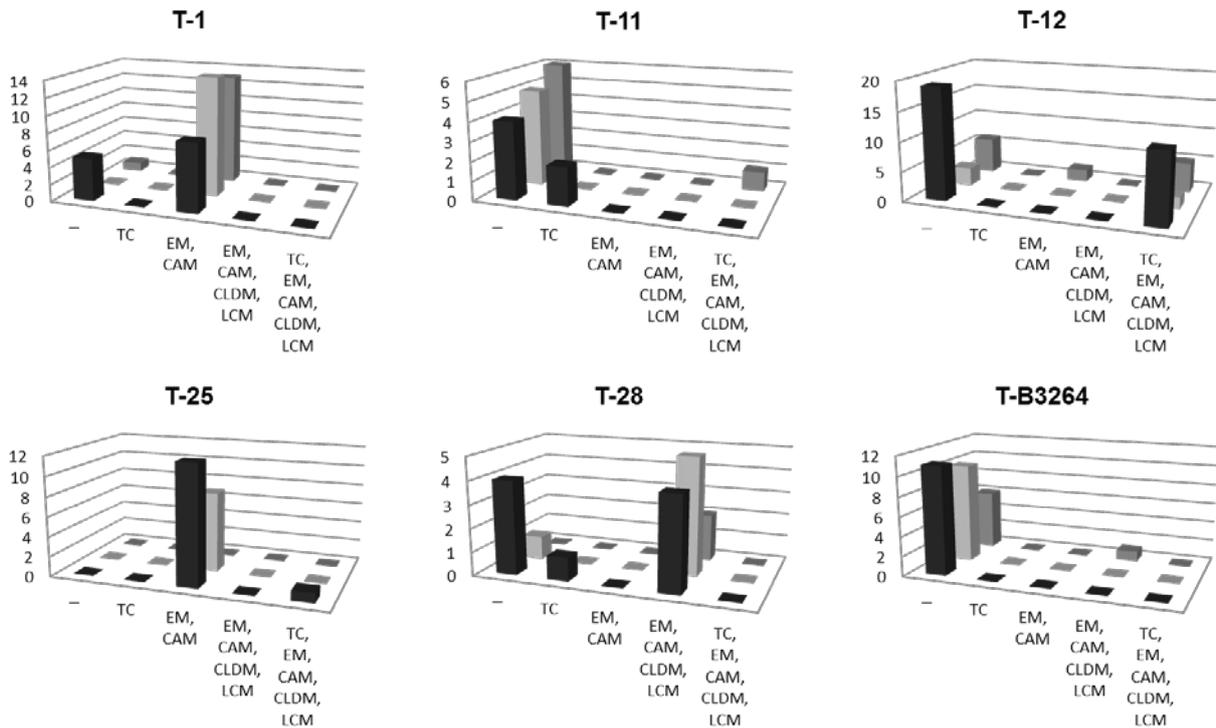


図 2 A 群溶レン菌の主要 T 型の薬剤耐性パターン
 ■平成 22 年 ■平成 23 年 ■平成 24 年

謝辞

本報の内容の一部は、大館市立総合病院の高橋義博先生、太田和子技師長から提供していただいた情報を基に作成致しました。深謝致します。また、薬剤感受性試験を実施していただいた溶血性レンサ球菌レファレンスセンターの先生方に深謝致します。

参考文献

- 1) Parker MT: Streptococcus diseases., *Topley and Wilson's Principles of bacteriology, virology and immunity-7th ed.*, 3, 1984, 225-253.
- 2) 奥野ルミ, 貞升健志, 緒方喜久代, 富永潔, 勝川千尋, 嶋智子, 千葉一樹: A 群溶血性レンサ球菌 (*Streptococcus pyogenes*) の薬剤感受性

2007-2010, *Infectious Agents Surveillance Report*, 33, 8, 2012, 214-215.

- 3) 今野貴之, 八柳潤, 齊藤志保子: 2006 年, 2007 年における A 群溶血性レンサ球菌 T 型の流行状況, *秋田県健康環境センター年報*, 3, 2007, 50-52.
- 4) 今野貴之, 八柳潤, 齊藤志保子, 山脇徳美: 秋田県における A 群溶血性レンサ球菌 T 型の流行状況, *Infectious Agents Surveillance Report*, 29, 3, 2008, 78-79.
- 5) 第 33 回衛生微生物協議会溶血レンサ球菌レファレンスセンター会議資料, http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/H25_Streptococcus.pdf, 2013.

インフルエンザ菌の遺伝子型別法の検討と分離実態の解明（平成 23～24 年度）

秋田県における莢膜型インフルエンザ菌の分離状況と 薬剤耐性遺伝子の解析

今野貴之 高橋志保 熊谷優子 和田恵理子 八柳 潤

インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) のうち、特に莢膜の血清型が b 型の菌 (Hib) は小児の細菌性髄膜炎等の侵襲性感染症の起因菌として知られている。平成 20 年 12 月から国内でも Hib ワクチンの接種が可能になり、それに伴い本菌による感染症の動向が注目されている。平成 23～24 年度の調査研究事業では、遺伝子を基にした莢膜型別法（遺伝子型別法）を検討し、平成 20 年から平成 24 年の 5 年間に秋田県内の医療機関から受領したインフルエンザ菌計 666 株について莢膜の型別を実施した。その結果、検討した遺伝子型別法により 43 株の莢膜型インフルエンザ菌を確認した。また、莢膜型インフルエンザ菌について、薬剤耐性に関与する遺伝子として β -lactamase (bla_{TEM} , bla_{ROB}) 及びペニシリン結合タンパク質の遺伝子 (*ftsI*) の解析を行い、今回確認された莢膜型インフルエンザ菌の多くは、*ftsI* に変異を有する薬剤耐性菌であることを明らかにした。

1. はじめに

インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) は、 $1 \times 0.3 \mu\text{m}$ ほどの多形性のグラム陰性桿菌で、菌体の表面に莢膜と呼ばれる構造を持つ菌（莢膜型）と持たない菌（無莢膜型, non-typable: NT）が存在し、莢膜は血清学的に a～f の 6 型に分けられる。インフルエンザ菌は気管支炎、肺炎、中耳炎、副鼻腔炎といった感染症の起因菌となるが、特に b 型 (Hib) は小児の細菌性髄膜炎等の侵襲性感染症の起因菌として知られている。平成 20 年 12 月からの小児向け Hib ワクチンの販売開始により、ワクチンに含まれない b 型以外による侵襲性感染症の増加が懸念されており、本菌による感染症の今後の発生動向が注目されている。しかしながら、従来の抗血清を用いた莢膜の型別は、培養条件等の影響により型別困難な場合が多いことが知られている。

平成 23 年度から 24 年度の調査研究事業において、我々は莢膜の遺伝子型別法を検討した。本報では、平成 20 年から平成 24 年の 5 年間に秋田県内の医療機関から受領したインフルエンザ菌計 666 株についての莢膜の型別結果と莢膜型インフルエンザ菌については薬剤耐性遺伝子についても解析したので、その結果を報告する。

2. 方法

2.1 莢膜型別

供試した菌株数は平成 20 年 135 株、平成 21 年 126 株、平成 22 年 143 株、平成 23 年 109 株、平成 24 年 153 株の計 666 株であった。

莢膜の型別は、市販の抗血清を用いた免疫学的手法（従来法）と PCR 法（遺伝子型別法）¹⁾ により行った。遺伝子型別法は、まず莢膜の合成に関与する遺伝子である *bexA* を標的とした PCR により、莢膜型か無莢膜型かを判定し、莢膜型であった株について a～f 型に特異的な PCR を行った。また、PCR により莢膜型別できなかった場合は、*bexA* の相同性解析により莢膜血清型を推定した²⁾。

2.2 薬剤耐性遺伝子の検出

PCR 法により β -lactamase として bla_{TEM} ³⁾ 及び bla_{ROB} ⁴⁾ の検出を試みた。また、ペニシリン結合タンパク質遺伝子 (*ftsI*) の変異を検出するため、Ubukata ら⁵⁾ の報告を基に β -lactamase- negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) の group I, II 及び III に対応するプライマーを設計し、PCR を行った⁶⁾。

3. 結果と考察

3.1 従来法と遺伝子型別法の比較

莢膜型別の従来法及び遺伝子型別法による結果を表 1 に示す。従来法と遺伝子型別法の結果が一致しない例は表 1 中に[†]で示したとおり 32 例 (4.8%)、従来法では複数の抗血清に反応するために型別不能 (UT) と判定されたが、遺伝子型別法により型別された例が表 1 中に[‡]で示したとおり 38 例 (5.7%) 確認された。1 株が遺伝子型別法で UT となったが、正確なインフルエンザ菌感染症の発生動向を把握する上で遺伝子型別法は非常に有用であることが示唆された。遺伝子型別法で UT であった 1 株については、*bexA* の相同性解析の結果、b 型であることが示唆された。

表 1 莢膜型別法の結果比較

		遺伝子型別法								total
		a	b	c	d	e	f	UT	NT	
従来法	a								2 [†]	2
	b		15						3 [†]	18
	c								12 [†]	12
	d								7 [†]	7
	e					11			3 [†]	14
	f						7		2 [†]	9
	UT		2 [‡]			5 [‡]			31 [‡]	38
	NT		2 [†]					1 [†]	563	566
	total	0	19	0	0	16	7	1	623	666

UT: 型別不能, NT: 無莢膜型

3.2 莢膜型インフルエンザ菌の分離状況

表 2 に遺伝子型別法により確認された莢膜型インフルエンザ菌の (イ) 診療科別及び (ロ) 検体種別の分離状況を示す。b 型 (UT 含む) は小児科領域からの分離が多く、鼻腔からの分離が目立った。一方、e 型は内科領域からの分離が多く、検体種も喀痰から多く分離されていた。f 型については、分離数は少ないが小児科領域及び内科領域どちらにおいても分離が確認され、検体種は鼻腔若しくは喀痰であった。海外では Hib ワクチンの導入後、a 型による侵襲性インフルエンザ菌感染症の増加が指摘されているが⁷⁾、秋田県において医療機関で分離される莢膜型インフルエンザ菌については b 型と同様に e 型が多い傾向が明らかになった。その多くは、

成人・高齢者と考えられるが、小児からの分離もみられ、小児の症例ではないが菌血症を伴う肺炎の事例も確認された⁶⁾。e 型もその臨床的な特徴は Hib と同様と考えられており⁸⁾、e 型は今後注意すべき血清型と考えられる。

表 2 莢膜型インフルエンザ菌の分離状況 (イ) 診療科別

	b型	e型	f型
小児科	8	4	1
耳鼻科	3	2	3
内科	1	10	3
その他	1		
不明	7		

(ロ) 検体種別

	b型	e型	f型
鼻腔	6	3	4
眼脂	1		
咽頭	2	3	
喀痰	1	9	3
血液	1	1	
その他	2		
不明	7		

3.3 莢膜型インフルエンザ菌の薬剤耐性遺伝子の解析

ftsI の変異のうち、S385T, R517H, N526K のアミノ酸置換を引き起こす変異は特に耐性化に関与することが分かっている⁵⁾。*ftsI* 変異 I, II 及び III はそれぞれ R517H, N526K, S385T と N526K の変異を有し、変異箇所が多いほど耐性が強まる傾向がある。表 3 に莢膜型インフルエンザ菌の薬剤耐性関連遺伝子の検出状況を示す。当センターには、医療機関から薬剤耐性を疑う場合に菌株が送付されてくることが多いため、結果は必ずしも莢膜型インフルエンザ菌の薬剤耐性化の割合を示すものではないが、今回確認された莢膜型インフルエンザ菌の多くは *ftsI* に変異を持つタイプの耐性菌であり、そのほとんどが BLNAR group III に該当した。また、小児科領域の眼脂由来の b 型 1 株は更に TEM 型

の β -lactamase も保有していることが確認された。これら薬剤耐性菌の場合、治療に難渋することが多く、临床上の重大な問題となる。

近年、これら薬剤耐性インフルエンザ菌による侵襲性感染症の増加が危惧されており⁹⁾、莢膜型インフルエンザ菌の薬剤耐性化の状況については今後も注視していく必要がある。

表3 薬剤耐性遺伝子の検出状況

耐性機構		b型	e型	f型
感受性	なし		1	1
耐性	β -lactamase産生			
	<i>ftsI</i> 変異Ⅰ			
	<i>ftsI</i> 変異Ⅱ	6		1
	<i>ftsI</i> 変異Ⅲ	13	15	5
	β -lactamase産生 <i>ftsI</i> 変異Ⅲ	1		

参考文献

- 1) Falla TJ, Crook DW, Brophy LN, Maskell D, Kroll JS, Moxon ER: PCR for capsular typing of *Haemophilus influenzae*, J Clin Microbiol., **32**, 10, 1994, 2382-2386.
- 2) Zhou J, Law DK, Sill ML, Tsang RS: Nucleotide sequence diversity of the *bexA* gene in serotypeable *Haemophilus influenzae* strains recovered from invasive disease patients in Canada, J Clin Microbiol., **45**, 6, 2007, 1996-1999.
- 3) 今野貴之, 八柳潤, 齊藤志保子, 小沼譲, 太田和子, 高橋義博: 秋田県において初めて確認された SHV-12 型 ESBL 産生大腸菌について, Infectious Agents Surveillance Report, **31**, 7, 2010, 209-210.
- 4) Tenover FC, Huang MB, Rasheed JK, Persing DH: Development of PCR assays to detect ampicillin resistance genes in cerebrospinal fluid samples containing *Haemophilus influenzae*, J Clin Microbiol., **32**, 11, 1994, 2729-2737.
- 5) Ubukata K, Shibasaki Y, Yamamoto K, Chiba N, Hasegawa K, Takeuchi Y, Sunakawa K, Inoue M, Konno M: Association of amino acid substitutions in penicillin-binding protein 3 with beta-lactam resistance in beta-lactamase-negative ampicillin-resistant *Haemophilus influenzae*, Antimicrob Agents Chemother., **45**, 6, 2001, 1693-1699.
- 6) 今野貴之, 八柳潤, 高橋志保, 熊谷優子, 和田恵理子, 千葉真知子, 齊藤志保子: 血液から分離されたインフルエンザ菌の解析, 秋田県健康環境センター年報, **7**, 2011, 67-69.
- 7) Bruce MG, Deeks SL, Zulz T, Navarro C, Palacios C, Case C, Hemsley C, Hennessy T, Corriveau A, Larke B, Sobel I, Lovgren M, Debyle C, Tsang R, Parkinson AJ: Epidemiology of *Haemophilus influenzae* serotype a, North American Arctic, 2000-2005., Emerg Infect Dis., **14**, 1, 48-55, 2008
- 8) Cerquetti M, Ciofi degli Atti ML, Cardines R, Giufre M, Romano A, Mastrantonio P: *Haemophilus influenzae* serotype e meningitis in an infant, Clin Infect Dis., **38**, 7, 2004, 1041.
- 9) 生方公子, わが国における侵襲性感染症由来インフルエンザ菌の薬剤耐性化動向, Infectious Agents Surveillance Report, **31**, 4, 2010, 98-99.

食品衛生対策事業

平成 22～24 年度における収去食品の細菌検査結果について

高橋志保 熊谷優子 和田恵理子 今野貴之 八柳 潤 齋藤志保子

平成 22 年度から、当センターは食品衛生検査機関として秋田県食品衛生監視指導計画に基づき、県内 8 保健所管内で収去した食品の細菌検査を行っている。平成 22～24 年度に計 1,226 検体の細菌検査を実施し、成分規格不適合検体は 6 検体、衛生指導基準不適合検体は 43 検体であった。不適合項目のほとんどが汚染指標菌であることから、食品製造現場における衛生管理の難しさが窺える。特に生菓子は不適合検体数が多く、黄色ブドウ球菌が検出された検体もあり、常温保存製品の場合は製品中で黄色ブドウ球菌が増殖し食中毒を引き起こすことが危惧される。過去には、県内でも生菓子による食中毒が発生しており、生菓子製造に対する指導の強化と、消費者への食中毒予防に関する情報の普及啓発を図る必要がある。秋田県における流通食品の安全性確保のためには、食品関連事業者の衛生管理に対する意識の向上が不可欠であり、また消費者の知識と理解を深めてもらうためにも、食品衛生に関連した情報を行政として積極的に提供していくことが重要である。

1. はじめに

食品衛生法施行令が平成 8 年に改正され、平成 9 年度から都道府県等が設置する食品衛生検査機関は、「GLP（Good Laboratory Practice：試験検査業務の適正管理運営基準）」に基づき食品等の検査を行うことが義務付けられた。秋田県では、平成 22 年度から秋田市を除く保健所の試験検査業務が統合されたことにより、当センターが食品衛生検査機関として位置付けられた。それに伴い、食中毒の予防や食品の安全性を確保するため、秋田県食品衛生監視指導計画に基づき、県内 8 保健所管内で収去した食品の細菌検査を当センターが行っている。今回は、この 3 年間で収去した食品の細菌検査結果と、県内全域に共通して見られた傾向について報告する。

2. 対象及び方法

県内 8 保健所管内で収去した食品で、平成 22 年度 431 検体、平成 23 年度 402 検体、平成 24 年度 393 検体の計 1,226 検体を対象とした。

行政処分の対象となる成分規格の定められた食品の検査項目は、汚染指標菌（一般細菌数、大腸菌群、大腸菌、大腸菌最確数）、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、クロストリジウム属菌、乳酸菌、恒温試験・細菌試験、腸炎ビブリオ最確数であり、公定法に従って実施した。

成分規格の定められていない食品の検査項目は、汚染指標菌（一般細菌数、大腸菌群、大腸菌）、腸管出血性大腸菌、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター、クロストリジウム属菌、ボツリヌスであり、秋田県検査実施標準作業書に従って実施した。

3. 結果

成分規格の定められた食品については、平成 22 年度 160 検体、平成 23 年度 162 検体、平成 24 年度 152 検体を検査した（表 1）。そのうち、成分規格に適合しなかったのは、平成 22 年度が氷菓 3 検体、平成 23 年度が氷菓 1 検体、平成 24 年度が乳及び乳製品 2 検体で、不適合検査項目はすべて大腸菌群であった。

成分規格の定められていない食品については、平成 22 年度 271 検体、平成 23 年度 240 検体、平成 24 年度 241 検体を検査した（表 2）。そのうち、秋田県食品等の衛生指導基準に適合しなかった検体数及び項目は表 3 のとおりである。不適合項目は汚染指標菌がほとんどであった。惣菜類や弁当類は一般細菌数の基準値のみ不適合であった。生菓子は一般細菌数及び大腸菌群の不適合検体数が多く、県内のほぼ全域で認められた。複数項目が不適合になった検体や、食中毒起因菌である黄色ブドウ球菌が検出された検体もあった。食肉については衛生指導基準

表1 成分規格の定められた食品の細菌検査数

	検体数			一般細菌数			大腸菌群			大腸菌			大腸菌MPN			黄色ブドウ球菌			サルモネラ属菌			カストリジウム属菌			乳酸菌			恒温・細菌試験			腸炎ビブリオMPN			
	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	
乳及び乳製品	42	41	34(2)	34	33	26	42	41	34(2)																8	8	8							
氷菓	9(3)	7(1)	3	6	7	3	9(3)	7(1)	3																									
食肉製品	30	25	26				1	1	1	29	24	25				23	20	20	23	20	20	1	1	1										
殺菌液卵	6	6	6																6	6	6													
生食用かき	8	13	16	8	13	16							8	13	16																8	13	16	
生食用鮮魚介類	29	29	29							11	11	15																			29	29	29	
魚肉ねり製品	2	1	1				2	1	1																									
清涼飲料水	20	25	19				20	25	19																									
レトルト食品	10	10	10																									10	10	10				
冷凍食品	4	5	8	4	5	8				1	4	5	7																					
計	160	162	152	52	58	53	74	75	59	44	40	47	8	13	16	23	20	20	29	26	26	1	1	1	8	8	8	10	10	10	37	42	45	

()内の数字は不適合数

表2 成分規格の定められていない食品の細菌検査数

	検体数			一般細菌数			大腸菌群			大腸菌			腸管出血性大腸菌			黄色ブドウ球菌			サルモネラ属菌			カンピロバクター			カストリジウム属菌			ボツリヌス					
	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24			
加熱惣菜	30	21	35	30	21	35				30	21	35				30	21	35	15	8	18	3	4	5	3	3	3						
非加熱惣菜	8	10	8	8	10	8				8	10	8				8	10	8	2														
弁当類	33	41	30	33	41	30				33	41	30				33	41	30	25	31	22	12	7	8									
豆腐	27	25	25	27	25	25	27	25	25							8	8	8															
生菓子	50	44	44	50	44	44	50	44	44							50	44	44	20	18	18												
ゆでめん	29	28	30	29	28	30	29	28	30							25	28	30															
漬物	54	34	31							54	34	31				40	25	22							5						4	5	
飯ずし	5	5	5							5	5	5				5	5	5							5						5	5	
食肉(鶏、牛)	21	18	18	12	10					17	14	14	5	4	4				21	18	18	17	14	14									
その他(※1)	14	14	15	8	8	8	6	6	7	6	6	6				5	5	5	3	3	4				1	1	2						
計	271	240	241	197	187	180	112	103	106	153	131	129	5	4	4	204	187	187	86	78	80	32	25	27	14	4	5	0	9	10			

※1:「その他」の食品は、魚介乾製品、ソース類、きりたんぼ、じゅんさい、山菜加工品

表3 衛生指導基準に適合しなかった検体数及び項目

	検体数			一般細菌数			大腸菌群			大腸菌			黄色ブドウ球菌			サルモネラ属菌			カンピロバクター		
	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24	H22	H23	H24
加熱惣菜	1	2	1	1	2	1				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
非加熱惣菜	2	1	2	2	1	2				0	0	0	0	0	0	0	0	0			
弁当類	1	1	2	1	1	2				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
豆腐	0	2	0	0	0	0	0	2	0				0	0	0						
生菓子	12	5	10	6	2	5	8	5	7				0	0	2	0	0	0			
ゆでめん	1	0	0	1	0	0	0	0	0				0	0	0						
食肉(鶏、牛)(※2)	3	0	2	0	0					3	0	1				1	0	0	0	0	1

※2:衛生指導基準は定められていない。数字は検出検体数。

が定められていないが、鶏肉から大腸菌，サルモネラ属菌，カンピロバクターが検出された。

4. 考察

汚染指標菌不適合の原因としては、原材料に由来するもの、調理後の製品の不十分な冷却、調理器具や手指等が汚れていることによる二次

汚染など、様々な要因が考えられる。不適合となる食品の種類も様々であることから、食品製造現場における衛生管理の難しさが窺えるが、食品の取り扱いや器具等の殺菌消毒の徹底、調理過程での衛生管理、あるいは製造施設の環境管理をより適切に行うことで、汚染指標菌が混入するリスクを低減させ、不適合検体数を減ら

すことができると思われる。

特に不適合となった生菓子はケーキ類やゼリーなどがほとんどであり、その製造工程が手作業によるものが多く、食材に生クリームやフルーツなどを使用していることで最終工程における加熱処理がないことなどが、不適合検体が多い主な原因と考えられる。また、生菓子から黄色ブドウ球菌が検出されたことは、常温保存製品の場合、購入後すぐに喫食されなければ製品中で黄色ブドウ球菌が増殖し、食中毒を引き起こすことが危惧される。実際に、県内においても過去に黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌を原因とする生菓子による食中毒事例が発生している。このことから、生菓子の製造に対する指導を強化することが重要であると考えられる。それとともに、消費者に対して家庭における食中毒予防に関する情報の普及啓発を図っていく必要がある。

5. まとめ

収去食品の細菌検査結果から、流通する食品の安全性確保のためには、食品関連事業者の衛生管理に対する意識の向上が不可欠であることが示された。また食品を選ぶ立場である消費者に知識と理解を深めてもらうためにも、食品衛生に関連した情報を行政として積極的に提供していくことが重要である。

食用牛の腸管出血性大腸菌保菌状況と分離株の菌学的性状に関する研究（平成 24～25 年度）

E. coli O104 同定用 PCR の確立と陽性対象専用株の作出

八柳 潤 今野貴之 齊藤志保子

2011 年 5 月から 7 月にドイツ北部で腸管凝集付着性腸管出血性大腸菌(EA_g-EHEC) O104:H4 による甚大な健康被害が発生した。*E. coli* O104 用の型別血清が国内では市販されていないことから、*E. coli* O104 O 抗原合成遺伝子群を標的とした PCR 法の確立と、*E. coli* O104 PCR 用陽性対象専用株の作出を試みた。*E. coli* O104 O antigen polymerase (*wzy*) 遺伝子の一部、470 bp を増幅するプライマー O104wzy_F と O104wzy_R を設計した。また、海外旅行者下痢症由来 EA_gEC O104 2342 株から増幅した *E. coli* O104wzy 遺伝子の ORF 全長をクローニングし、*E. coli* O104 同定用 PCR 陽性対象専用株 *E. coli* JM109/O104wzy 株を作出した。この PCR 反応系の確立により、秋田県内で EA_g-EHEC O104 疑い株が患者から分離された場合、被検菌が O104 抗原を保有する EA_g-EHEC であるかどうかを迅速に決定することが可能となった。

1. 緒言

2011 年 5 月 8 日から 7 月 4 日にドイツ北部を中心に 3,842 例の腸管出血性大腸菌 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*:EHEC) 感染事例が発生した。感染者のうち 855 名が溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発し、53 名が死亡した。この事例の原因菌は血清型 O104:H4、志賀毒素 (Stx)₂ 産生株であった。また、この株は血清型 O157:H7 など多くの EHEC が保有する Locus of Enterocyte Effacement (LEE) 付着因子を保有せず、腸管凝集付着性大腸菌 (EA_gEC) の凝集性付着因子を保有することが明らかとなったことから、腸管凝集付着性 EHEC (EA_g-EHEC) と位置づけられた。PFGE 解析などにより、この株は EA_gEC O104:H4 に Stx₂ フェージが感染することにより派生したものと推察された^{1,2)}。

EA_g-EHEC O104:H4 が欧州において惹起した健康被害は甚大であったことから、国内における本菌の動向を把握することが重要であると考えられる。しかしながら、*E. coli* O104 用の型別血清は市販されていないことから、EA_g-EHEC O104:H4 疑い菌が分離されたとしても血清型の確定までにかかなりの時間を要することが問題であった。

本調査研究事業は、秋田県で EA_g-EHEC O104:H4 疑い株が分離された場合に迅速に血清型を決定するための技術を導入・確立することを目的として実施し、*E. coli* O104 O 抗原合成遺

伝子群を標的とした PCR 法の確立と、*E. coli* O104 PCR 用陽性対象専用株の作出を試みた。

2. 方法

2.1 *E. coli* O104 O 抗原合成遺伝子群を標的とした PCR 用プライマー

E. coli O104 O antigen polymerase (*wzy* : GenBank Accession No. AF361371) 遺伝子の一部、470 bp を増幅する O104wzy_F : 5'-ttt act tca cga ggt gtc aag-3' (79-89) と O104wzy_R : 5'-att aac att aat gca gat aaa tgg-3' (525-548) を設計した。

2.2 *E. coli* O104 PCR 用陽性対象専用株の作出

E. coli O104 PCR 用陽性対象を作出するためには血清群 O104 の大腸菌が必要であることから、国立感染症研究所から海外旅行者下痢症患者由来の EA_gEC O104 2342 株の抽出 DNA 溶液を分与を受け、*E. coli* O104wzy 遺伝子のクローニングに供した。*E. coli* O104wzy 遺伝子のクローニングは図 1 の模式図に示す方法によりクローニングした。プライマー O104wzy_ORF_F : 5'-atg aca tct tat ttc ata tat aat tt-3' と O104wzy_ORF_R : 5'-tta gtg att gat aat tgt tct atc c-3' を使用して *E. coli* O104wzy 遺伝子 ORF の全長 (1,113 bp) を増幅した。得られた増幅断片を QIAquick PCR Purification Kit (QIAGEN) により精製した後、TA クローニングシステム (Amersham) と、トランスフォーメーションキット (ニッポンジーン)

を使用して *E. coli* JM109 株にクローニングし、*E. coli* JM109/O104wzy 株を得た。

3. 結果と考察

プライマーペアー O104wzy_F と O104wzy_R, O104wzy_ORF_F と O104wzy_ORF_R を使用し、EAggEC 2342 株と *E. coli* JM109/O104wzy 株の抽出 DNA 溶液をテンプレートとして実施した PCR の結果を図 2 に示す。プライマーペアー O104wzy_F と O104wzy_R を使用する PCR により、EAggEC 2342 株 (レーン 2) と *E. coli* JM109/O104wzy 株 (レーン 4) のいずれからとも設計どおりの 470 bp 増幅断片が得られた。また、

O104 wzy_ORF_F と O104wzy_ORF_R を使用する PCR により、EAggEC 2342 株 (レーン 1) と *E. coli* JM109/O104wzy 株 (レーン 3) のいずれからとも O104wzy 遺伝子の全長に該当する 1,113 bp 増幅断片が得られた。*E. coli* O 抗原合成遺伝子群のうち、O antigen Polymerase (wzy) 遺伝子と O antigen Flippase (wzx) 遺伝子が O 抗原に特異的であることが知られている。wzy 遺伝子は O 抗原多糖分子の生合成に関与する酵素の構造遺伝子であり、O 抗原の免疫原性決定の根幹に関わる遺伝子である。このため、O 抗原に対する特異性が極めて高く、これまで O157³⁾, O103⁴⁾, O121⁵⁾ など多種類の *E. coli* O 抗原決定用 PCR の

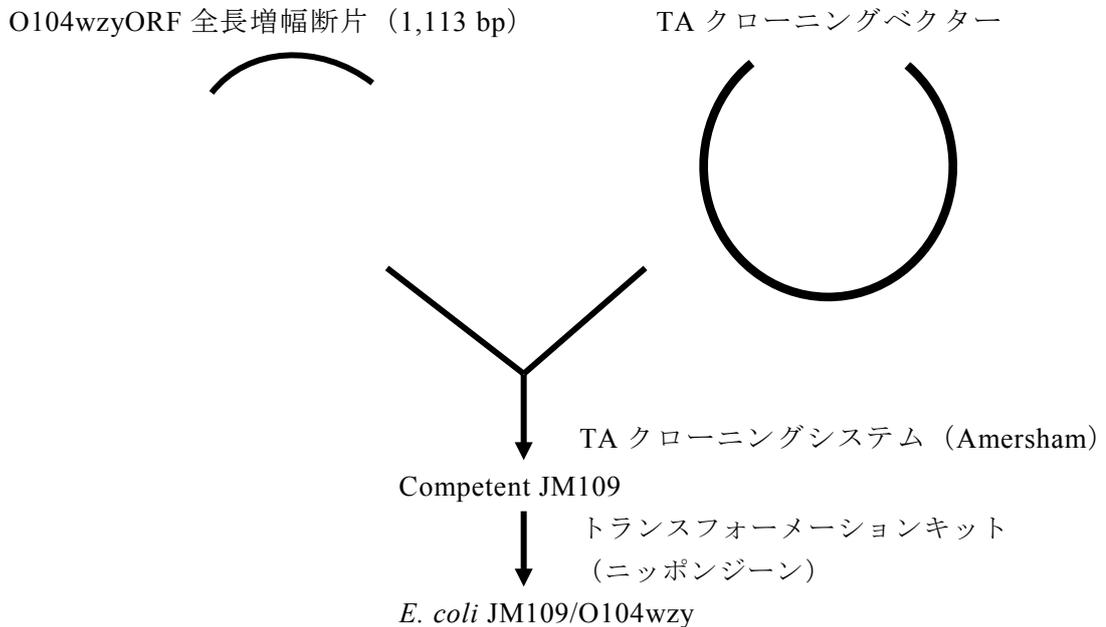


図 1 O104wzy PCR 用陽性対象株の作出方法模式図

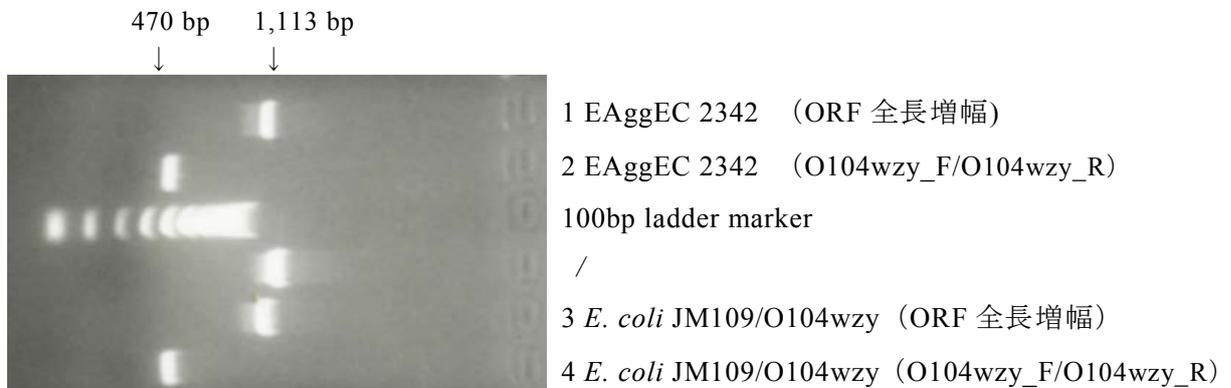


図 2 プライマーペアー O104wzy_F と O104wzy_R による EAggEC 2342 と *E. coli* JM109/O104wzy からの 470bp 断片の増幅

標的遺伝子とされている。実際、*E. coli* O104wzy 遺伝子と O157, O26 などの wzy 遺伝子の塩基配列を比較すると、相同性は認められない。

一方、Genbank には *E. coli* O104wzy が 2 種類登録されており、それらの塩基配列を比較すると相同性は極めて高い。

E. coli O104 O antigen gene cluster の配列は、*E. coli* K9 抗原合成遺伝子の配列と例外的に同一⁶⁾である。このため、*E. coli* O104 同定用 PCR は O104 抗原を保有しない *E. coli* K9 も陽性となる「偽陽性反応」が出現することになる。K9 抗原を保有する大腸菌は O8 と O9 に限られている⁶⁾ことから、O8/O9 と O104 の鑑別が可能であれば *E. coli* K9 による偽陽性の問題を回避することが可能である。この鑑別に利用可能な *E. coli* O8 と O9 の mannosyltransferase B (*wbdD*) 遺伝子の共通配列を標的とした PCR 用プライマーが報告されている⁶⁾ので(#3592:5'-GGC ATC GGT CGG TAT TCC-3', #3594:5'-TGC GCT AAT GCG GTC TAC-3', 増幅断片サイズ 972 bp), O104 の PCR により陽性となった大腸菌については、更にこの PCR を実施して K9 抗原による反応であるか否かを確認する必要がある。

4. まとめ

秋田県内で EA_gg-EHEC O104 疑い株が患者から分離された場合、*stx* 遺伝子、*aggR* 遺伝子などと併せて今回確立した PCR 方を実施することにより、迅速確実に被検菌が O104 抗原を保有する EA_gg-EHEC であるかどうかを決定することが可能となった。国内における EA_gg-EHEC O104 の分離報告は今のところ無いが、本菌が欧州で惹起した健康被害は甚大であったことから、秋田県内での EA_gg-EHEC O104 による感染者の発生状況や秋田県内で食肉用にと殺される牛の EA_gg-EHEC O104 保菌状況に注視する必要がある。

参考文献

- 1) 大西 真, 伊豫田 淳, 三戸部治郎, 寺嶋 淳 : ドイツを中心とした EA_gg-EHEC O104:H4 による大規模集団事例, 病原微生物検出情報, **33**, 2012, 131-132.
- 2) Scheutz F. et. al. : Characterization of the enteroaggregative Shiga toxin / verocytotoxin - producing *Escherichia coli* O104:H4 strain causing the outbreak of haemolytic uraemic syndrome in Germany, May to June 2011. Euro Surveill. 2011;16(24):pii=19889. E-ALERT.
- 3) Maurer J.J. et. Al. : Development of Primers to O-Antigen Biosynthesis Genes for Specific Detection of *Escherichia coli* O157 by PCR. Appl. Envir. Microbiol., **65**, 1999, 2954-2960.
- 4) Fratamico P.M. et al. : DNA sequence of the *Escherichia coli* O103 O antigen gene cluster and detection of enterohemorrhagic *E. coli* O103 by PCR amplification of the *wzx* and *wzy* genes. Can. J. Microbiol., **51**, 2005, 515-522.
- 5) Fratamico P.M. et. Al. : Sequence of the *Escherichia coli* O121 O-Antigen Gene Cluster and Detection of Enterohemorrhagic *E. coli* O121 by PCR Amplification of the *wzx* and *wzy* Genes. J. Clin. Microbiol., **41**, 2003, 3379-3383.
- 6) Wang L. et. al. : Sequence of the *E. coli* O104 antigen gene cluster and identification of O104 specific genes. Gene, **270**, 2001, 231-236.

厚生労働科学研究費補助金「地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究」（平成 18 年度～）

秋田県の一医療機関で継続的に分離された多剤耐性 *Achromobacter xylosoxidans* が保有する Class 1 Integron の解析

八柳 潤 今野貴之 齊藤志保子

我々は前報で秋田市内の 1 医療機関から送付された計 14 株の多剤耐性 *Achromobacter xylosoxidans* が同一起源に由来し、IMP-1 遺伝子を保有すること、また、そのうち 4 株が IMP-1, *aacA4*, *aadA5* 遺伝子の Gene Cassette をコードする Class 1 Integron を保有することを報告したが、14 株の多剤耐性機構の詳細は不明であった。今回、14 株が保有する Class 1 Integron 全ての構造を決定すると共に、多剤耐性機構に薬剤排出ポンプが関与する可能性について検討した。M β -31, 38, 72, 82 株は 2,113 bp と 2,357 bp, M β -51, 61, 64, 65, 95, 125, 127 は 1,196 bp と 2,357 bp の Class 1 Integron を保有することが明らかとなり、その構造から 14 株の Class 1 Integron が Gene Cassette の組み替え、脱落、挿入過程を受けた可能性が示唆された。薬剤排出ポンプ阻害剤である Phe-Arg- β -naphthylamide により、供試した 14 株においては RND 型薬剤排出ポンプ AxyABM が多剤耐性機構に殆ど関与していない可能性が示唆された。14 株の *Achromobacter xylosoxidans* の多剤耐性機構についてさらなる検討が必要である。

1. 緒言

Achromobacter xylosoxidans (*A. xylosoxidans*) は好気性、ブドウ糖非発酵性、グラム陰性桿菌で Immuno-compromised host に敗血症、髄膜炎、肺炎、尿路感染などを惹起¹⁾²⁾する日和見感染菌である。また、嚢胞性線維症 (Cystic Fibrosis) 患者から分離される³⁾。*A. xylosoxidans* は各種の抗生物質に耐性を示す傾向がある⁴⁾が IMP-10⁵⁾, VIM-1⁶⁾, VIM-2⁷⁾, などのメタロ β ラタマーゼを産生する株も報告されており、これらの株はカルバペネムを含む β -ラクタム薬に耐性となる。

我々は前報⁸⁾で 2003 年 7 月から 2006 年 9 月に秋田市内の 1 医療機関から継続的に送付された 14 株のブドウ糖非発酵性グラム陰性桿菌の分子疫学的性状と耐性遺伝子等について検討し、これらの株が同一起源に由来し、IMP-1 遺伝子を保有する多剤耐性 *A. xylosoxidans* であることを示し、これらの株の多くが尿由来であることから多剤耐性 *A. xylosoxidans* が院内感染起因菌として重要である可能性を指摘した。また、14 株のうち 4 株の Class 1 Integron のシーケンスを解析し、これらの 4 株が IMP-1, *aacA4*, *aadA5* 遺伝子の Gene Cassette を組み込んだ Class 1 Integron を保有することを示し、これらの株が

多彩な薬剤耐性遺伝子を保有することを明らかにした。しかしながら、供試した *A. xylosoxidans* は β -ラクタム、マクロライド、モノバクタム、カルバペネム、アミノグリコシド、ニューキノロン、テトラサイクリン、ホスホマイシンに耐性を示す多剤耐性菌であり、検出された耐性遺伝子だけでは多剤耐性機構を十分に説明することはできないと考えられたことから、多剤耐性機構の詳細についてさらなる検討が必要であることを指摘した。今回、14 株が保有する Class 1 Integron 全ての構造を決定すると共に、多剤耐性機構に薬剤排出ポンプが関与する可能性について検討したので、それらの結果について報告する。

2. 方法

2.1 供試株

2003 年 7 月から 2006 年 9 月に秋田市内の 1 医療機関で分離され、当所に送付された 14 株の *A. xylosoxidans* 供試株一覧を表 1 に示す。

2.2 Class 1 Integron のシーケンス解析

前報⁸⁾を踏まえて、表 2 に示すプライマーを次のとおり組み合わせ PCR により供試株の

表 1 供試した IMP 遺伝子陽性
A. xylosoxidans 一覧

菌株 番号 (Mβ-)	受付 年月日	年齢 性別	由来
31	2003.7.17	89F	尿
38	2003.10.6		尿
51	2003.11.14		
61	2004.1.16	77M	尿
64	2004.2.6	87F	尿
65	2004.2.18	84F	尿
72	2004.4.2	78M	
82	2004.7.7		
95	2005.1.12		
125	2005.9.26		
127	2005.9.29		
140	2006.1.16		
156	2006.8.8	80F	尿
161	2006.9.5	90F	

Class1 Integron から増幅断片を得て、それぞれの断片のシーケンスを解析し、Class 1 Integron の構造を決定した。Mβ-31, 38, 72, 82 ; INT5CS/AACA4ORFAS, AACA4ORFS/INT3CS, Mβ-51, 61, 64, 65, 95, 125 ; INT5CS/IMPAS, IMPS/INT3CS, INT5CS/INT3CS。なお、Mβ-127, 140,156,161 株の Class 1 Integron の構造は前報⁸⁾で報告したとおりである。

2.3 薬剤排出ポンプ阻害剤の効果

薬剤排出ポンプの阻害剤には Phe-Arg-β-naphthylamide (Sigma)⁹⁾を使用した。14株について Phe-Arg-β-naphthylamide の毒性を検討したところ、160 μg/ml の濃度で発育が抑制

される傾向が認められた。このため、各供試株について、Phe-Arg-β-naphthylamide を非添加及び 20 μg/ml 又は 80 μg/ml 添加したミューラーヒントンブrossを使用して、ドライプレート栄研 DP31 (栄研化学) に包含されている 18 薬剤について MIC を測定した。

3. 結果と考察

表 3 に *A. xylosoxidans* 14 株が保有する Class 1 Integron の構造を示す。前報⁸⁾に示したように、分離株の PFGE パターンと保有する Class1 Integron の構造には明確な関連は認められなかった。Mβ-31, 38, 72, 82 株は 2 種類の Class 1 Integron (2,113 bp, 2,357 bp) を保有し、それぞれの Integron は株の違いによらず、いずれも同一構造・同一シーケンスであった。また、Mβ-51, 61, 64, 65, 95, 125, 127 は 2 種類の Class 1 Integron (1,196 bp, 2,357 bp) を保有し、それぞれの Integron は株の違いによらず、いずれも同一構造・同一シーケンスであった。更に、以上の株全てが保有する 2,357 bp Class 1 Integron は同一構造且つ同一シーケンスであった。Mβ140 と 156 株が保有する 3,055 bp Class1 Integron では *aacA4* Gene Cassette と IMP-1 Gene Cassette の組み替えが起きた可能性が考えられると同時に、3,055 bp Class 1 Integron は 2,357 bp Class 1 Integron の異なる位置に *aacA4* Gene Cassette が挿入されて派生したとも考えられる。また、2,357 bp Class 1 Integron は 3,055 bp Class 1 Integron から *aacA4* Gene Cassette が脱落することにより派生し得るとも考えられる。同様に、2,113 bp, 1,196 bp, 3,055 bp Class 1 Integron も Gene Cassette の脱落や挿入によりお互いに派生し得る構造となっており、14 株の *A. xylosoxidans* の Class 1 Integron が薬剤耐性遺伝子の Gene Cassette の組み替え、

表 2 Class1 Integron DNA 断片増幅・シーケンス解析用プライマー

名称	配列
INT5CS	5'-CTT CTA GAA AAC CGA GGA TGC-3'
INT3CS	5'-CTC TCT AGA TTT TAA TGC GGA TG-3'
IMPS	5'-ACA GAT ACT GAA AAG TTA GT-3'
IMPAS	5'-TCY CCA AYT TCA CTR TGA CT-3'
AACA4ORFS	5'-ATG ACT GAG CAT GAC GTT GC-3'
AACA4ORFAS	5'-TTA GGC ATC ACT GCG TGT TC-3'

表3 多剤耐性 *A. xylosoxidans* 14 株が保有する Class 1 Integron の構造

菌株番号	Class1 Integron の構造 (サイズ)			
Mβ-31	5'CS - <i>aacA4</i> - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,113 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-38	5'CS - <i>aacA4</i> - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,113 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-51	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-61	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-64	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-65	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-72	5'CS - <i>aacA4</i> - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,113 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-82	5'CS - <i>aacA4</i> - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,113 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS	(2,357 bp)
Mβ-95	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 4'CS	(2,357 bp)
Mβ-125	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 5'CS	(2,357 bp)
Mβ-127	5'CS - <i>aacA4</i> - 3'CS	(1,196 bp)	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 6'CS	(2,357 bp)
Mβ-140	5'CS - <i>aacA4</i> - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS			(3,055 bp)
Mβ-156	5'CS - IMP-1 - <i>aacA4</i> - <i>aadA5</i> - 3'CS			(3,055 bp)
Mβ-161	5'CS - IMP-1 - <i>aadA5</i> - 3'CS			(2,357 bp)

脱落、挿入過程を経て今回確認された構造となった可能性が考えられ、興味深い。供試した *A. xylosoxidans* 14 株は全て β-ラクタム、マクロライド、モノバクタム、カルバペネム、アミノグリコシド、ニューキノロン、テラサイクリン、ホスホマイシンに耐性を示す多剤耐性株であった⁸⁾。

供試した 14 株は IMP-1, *aadA5*, Mβ161 を除き *aacA4*, そしてデータは示さないがオキサシリナーゼ OXA-114 を保有していたが、これらの薬剤耐性遺伝子の存在のみで多剤耐性を説明することは困難であると考えられ、広域な耐性スペクトルをもたらす耐性機構が同時に関与する可能性が推察された。

A. xylosoxidans の多剤耐性機構として、2011 年に Bardo ら¹⁰⁾ は初めて RND 型薬剤排出ポンプ AxyABM の関与を報告した。RND 型薬剤排出ポンプは *Pseudomonas aeruginosa* の多剤耐性機構に関与することが知られている¹¹⁾。データは示さないが、我々は PCR により供試 14 株に AxyABM を構成する遺伝子群が存在することを示し、供試 14 株が実際に RND 型薬剤排出ポンプ AxyABM を保有することを確認した。そこで、我々は薬剤排出ポンプの阻害剤である Phe-Arg-β-naphthylamide を使用して秋田県で分離された *A. xylosoxidans* 14 株の多剤耐性機構に薬剤排出ポンプが関与するかどうかについて検討したところ、Phe-Arg-β-naphthylamide により濃度依存的に MIC の低下が認められた薬剤は DP31

に包含される 18 種類の薬剤の中でミノサイクリンのみであった。以上の結果は、供試した 14 株において RND 型薬剤排出ポンプ AxyABM が多剤耐性機構に殆ど関与していないことを示唆するものと考えられる。

供試した 14 株の *A. xylosoxidans* の多剤耐性機構の詳細は依然として明らかではない。広域な耐性スペクトルをもたらす耐性機構としては多剤排出ポンプの他に Porin の消失などによる薬剤に対する細胞膜透過性の変化が知られており、今後この可能性について検討する必要がある。一方、近年普及してきた次世代シーケンサーを活用して供試株が保有する薬剤耐性遺伝子を網羅的に解析することも多剤耐性機構の解明には有効と考えられ、今後の課題である。

4. まとめ

秋田県内の 1 医療機関で 2003 年から 2006 年に継続して分離された *A. xylosoxidans* は多剤耐性であることと尿路感染を惹起したことから、院内感染原因菌として注目すべき菌であると考えられる。秋田県内の医療機関における多剤耐性 *A. xylosoxidans* の動向には今後も注視する必要があると共に、分離株の多剤耐性機構についてさらなる検討が必要である。

参考文献

- 1) Tena D, Gonzalez-Praetorius A, Perez-balsalobre M et al : Urinary tract infection due to *Achromobacter xylosoxidans* : report of 9 cases. *Scand. J. Infect. Dis.*, **40**, 2008, 84-87.
- 2) Gomez-Cerezo J, Saurez I, Rios J et al : *Achromobacter xylosoxidans* bacteremia : a 10-year analysis of 54 cases. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, **22**, 2003, 360-363.
- 3) saiman L, Siegel J : Infection control in cystic fibrosis. *Clin. Microbial. Rev.*, **17**, 2004, 57-71.
- 4) Sader HS, Jones RN : Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric gram-negative bacilli. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **25**, 2005, 95-109.
- 5) Iyobe S, Kusadokoro H, Takahashi A et al : Detection of a variant metallo- β -lactamase, IMP-10, from two unrelated strains of *Pseudomonas aeruginosa* and an *Alcaligenes xylosoxidans* strain. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **46**, 2002, 2014 - 2016.
- 6) Riccio ML, Pallecchi L, Fontana R et al : In70 of plasmid pAX22, a *bla*_{VIM-1}-containing integron carrying a new aminoglycoside phosphotransferase gene cassette. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 2001, 1249 - 1253.
- 7) Shin KS, Han K, Lee J et al : Imipenem-resistant *Achromobacter xylosoxidans* carrying *bla*_{VIM-2}-containing class 1 integron. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, **53**, 2005, 215-220.
- 8) 八柳 潤, 今野貴之, 齊藤志保子 : 秋田県の1医療機関で分離された多剤耐性 *Achromobacter xylosoxidans* の分子疫学的性状と Class1 Integron の解析. 秋田県健康環境センター年報, **6**, 2010, 46-50.
- 9) Lomovskaya S. et. al. : Identification and Characterization of Inhibitors of Multidrug Resistance Efflux Pumps in *Pseudomonas aeruginosa*: Novel Agents for Combination Therapy. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **45**, 2001, 105-116.
- 10) Baldo J. et al : First description of a RND-type multidrug efflux pump in *Achromobacter xylosoxidans*:AxyABM. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **55**, 2011, 4912 - 4914.
- 11) Kriengkauykiat J, porter E, Lomovskaya O, et al : Use of efflux pump inhibitor to determine the prevalence of efflux pump-mediated fluoroquinolone resistance and multidrug resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **49**, 2005, 565 -570.

厚生労働科学研究費補助金「地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究」（平成 18 年度～）

秋田県内の医療機関，鶏肉，市中における CTX-M 型基質拡張型

β -ラクタマーゼ（ESBL）遺伝子保有株の分離状況

八柳 潤 今野貴之 高橋志保 熊谷優子 和田恵理子 齊藤志保子

CTX-M 型 ESBL 産生菌の感染疫学に関する知見は乏しい。2003 年 1 月 24 日から 2012 年 10 月 5 日に医療機関から送付された 1,427 株中 1,103 株（77.3%）が CTX-M 遺伝子陽性であり、この間、検査依頼数、CTX-M 遺伝子陽性株数共に増加傾向にあった。秋田市内で購入した鶏肉 35 検体中 18 検体から CTX-M 遺伝子保有株が検出され、そのうち 3 株が D240G 変異を有する CTX-M15、又は CTX-M15/27 遺伝子保有株であった。市中検便計 269 検体中 20 検体から CTX-M 遺伝子保有株が分離され、そのうち 2 株が D240G 変異を有する CTX-M15、又は CTX-M27 遺伝子保有株であった。以上の結果は、秋田県において CTX-M 遺伝子保有株、特に D240G 変異により CAZ 耐性も獲得した CTX-M15 等遺伝子保有株が、医療機関だけではなく、市中にも侵淫していることを示しており、その感染源として鶏肉が重要な役割を果たしている可能性を示唆するものと考えられた。当該株が今後も鶏肉を介して秋田県内の市中と医療機関への侵淫を拡大する可能性及び当該株が尿路感染を介した院内感染原因菌として今後更に問題となる可能性について県内の医療機関に周知し、より適切な院内感染防止策の必要性を提起する必要がある。

1. 緒言

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）産生菌とは主にペニシリンを分解する TEM-1、TEM-2、SHV-1 型ペニシリナーゼの基質特異性が構造遺伝子の「ポイントミューテーション」により拡張し、第三世代のセフェム系抗生物質（セフトキシム：CTX、セフトジジム：CAZ 等）を分解する能力を獲得した β ラクタマーゼを指す。また、これらと同様の基質特異性を有し、*Kluyvella* 属菌の染色体に由来するとされる CTX-M 型 β -ラクタマーゼも ESBL に分類されている。近年、CTX-M 型 ESBL 産生菌の分離頻度は世界的にも増加し、欧米においても TEM-型や SHV-型に代わり、CTX-M 型が ESBL の主流となってきている^{1,2)}。

我々は前報³⁾で 2003 年から 2010 年までに県内の医療機関から受領した 963 株の ESBL 疑い株のうち、680 株が CTX-M 遺伝子陽性菌であることを示し、秋田県内の医療機関に CTX-M 型 ESBL 産生株が広く侵淫していることを明らかにした。加えて、CTX-M3 がポイントミューテーション（D240G 変異）により CAZ にも耐性

を獲得した CTX-M15 遺伝子を保有する *E. coli* が県内に侵淫していることを初めて確認した。

CTX-M 型 ESBL 産生菌は既に国内の医療機関に広く侵淫していると推察されるものの、国内における CTX-M 型 ESBL 産生菌の感染疫学に関する知見は乏しい。CTX-M 型 ESBL 産生菌が鶏肉や牛直腸便、外来患者から検出されたとする報告が散見^{4,5)}されることから、CTX-M 型 ESBL 産生菌が食品を介してヒトに感染している可能性や、市中の感染者が感染源となり侵淫を拡大している可能性が考えられるがその詳細は不明である。秋田県においても CTX-M 遺伝子陽性株の医療機関における分離数は我々が調査を開始した 2003 年以降毎年増加し、侵淫が拡大していることは明らかであるものの、その背景と考えられる汚染食品の種別や食品汚染状況、市中への侵淫状況は不明であった。

これらのことから、我々は 2011 年 10 月から 2012 年 12 月にかけて秋田市内で購入した鶏肉、業態者、集団下痢患者等（いずれも市中）について CTX-M 遺伝子陽性株を検索したので、その結果及び分離株の解析結果と、2003 年 1 月 24

日から 2012 年 10 月 5 日に医療機関から ESBL 遺伝子精査依頼をされた 1,427 株の解析結果について報告する。

2. 方法

2.1 供試検体

2003 年 1 月 24 日から 2012 年 10 月 5 日までに県内の医療機関から送付された ESBL 産生疑い株 1,427 株を供試した。2011 年 10 月から 2012 年 10 月に秋田市内のスーパー等で購入した鶏肉 35 検体を食品汚染状況調査に供した。また、2012 年 6 月 (86 検体) と 10 月 (79 検体) に実施した業態者検便計 165 検体、2012 年 8 月から 2013 年 3 月に発生した集団下痢症等患者と家族の検便計 104 検体を市中感染調査に供した。

2.2 鶏肉と業態者・集団下痢症患者等検便からの CTX-M 遺伝子陽性の分離

CTX-M 遺伝子陽性株の分離には CTX を 4 µg/ml 添加したマッコンキー寒天平板を使用し、検便は直接分離培養 (37°C 1 夜) した。鶏肉は 25 g を Buffered Pepton Water 225 ml に投入して攪拌した後、37°C で 1 夜培養し、その培養液を同平板により分離培養 (37°C 1 夜) した。平板上に生じたコロニーを釣菌し、CTX-M 遺伝子の確認に供した。なお、必要に応じて AmpC/ESBL 鑑別ディスク (関東化学, Mast Diagnostics 製造) を使用して ESBL と AmpC 産生を確認した。

2.3 CTX-M 型 ESBL 遺伝子の検出と型別

前報³⁾と同様に、CTX-M 型 ESBL 遺伝子の検出と型別には表 1 に示すプライマーを使用した。CTX-M 遺伝子の検出には Pagani ら⁶⁾が報告した CTX-MU1/MU2 プライマーを使用した。検出された CTX-M 遺伝子は CTX-MIG F/R, CTX-M2 G F/T, CTX-M9G F/R プライマーを使用し、CTX-M1 グループ (CTX-M-1G), CTX-M2 グループ (CTX-M2G), CTX-M9 グループ (CTX-M9G) に型別した。CTX-M1G 遺伝子は CTX-M1G FJYM13Fmod, CTX-M1GRJYM13Rmod プライマーを使用する PCR により遺伝子の全長を増幅し、シーケンスプライマー M13Fmod60, M13Rmod60 を使用して DNA シーケンスを決定し、BLAST により CTX-M 遺伝子の型を決定した。

2.4 感受性試験

鶏肉と検便から検出された CTX-M1G 遺伝子陽性株について、ドライプレート栄研 (栄研化学) DPD-1 を使用して CTX と CAZ に対する MIC を測定した。

3. 結果

3.1 医療機関における CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株の検出状況

図 1 に 2003 年 1 月 24 日から 2012 年 10 月 5 日までの CTX-M 遺伝子陽性株の検出状況を示

表 1 CTX-M 遺伝子検出, 型別, シーケンス用プライマー

名称	配列 (5'→3')	増幅断片
CTX-MU1	ATG TGC AGY ACC AGT AAR GT	
CTX-MU2	TGG GTR AAR TAR GTS ACC AGA	593 bp
CTX-M1GF	ATG GTT AAA AAA TCA CTG CG	
CTX-M1GR	TTA CAA ACC GTA GGT GAC	876 bp
CTX-M2GF	ATG ATG ACT CAG AGC ATT CGC C	
CTX-M2GR	TCA GAA ACC GTG GGT TAC	876 bp
CTX-M9GF	ATG GTG ACA AAG AGA GTG CAA	
CTX-M9GR	TCA CAG CCC TTC GGC GAT	876 bp
CTX-M1GFJYM13Fmod	TT AC TGT AAA ACG ACG GCC AGT ATG GTT AAA AAA TCA CTG CGY C	
CTX-M1GRJYM13Rmod	TT AC CAG GAA ACA GCT ATG ACC TTA CAA ACC GTC GGT GAC GAT	920 bp
M13Fmod60	AC TGT AAA ACG ACG GCC AGT	—
M13Rmod60	AC CAG GAA ACA GCT ATG ACC	—

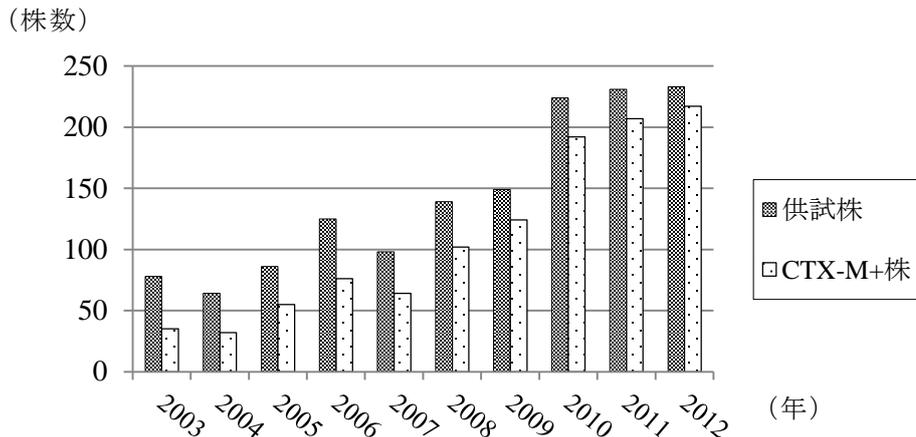


図1 秋田県における CTX-M 遺伝子陽性株の検出状況 (2003. 1. 24-2012. 10. 5)

す。この期間に医療機関から送付された 1,427 株中 1,103 株 (77.3%) が CTX-M 遺伝子陽性であった。この間、検査依頼数、CTX-M 遺伝子陽性株数共に増加傾向にあった。

表 2 に CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株の由来を示す。1,103 株のうち、395 株 (35.8%) が尿由来株であった。これは、由来が記載された 618 株の約 64 株に該当し、CTX-M 遺伝子陽性株が高頻度に尿路感染を惹起していることが示された。また、32 株が血液由来であり、CTX-M 遺伝子陽性株が敗血症の原因となっていることも示唆された。

表 3 に CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株の菌種を示す。1,103 株のうち、*E.coli* が 501 株 (45.4%)、

P.mirabilis が 313 株 (28.4%) であり、この 2 菌種が CTX-M 遺伝子陽性株の 73.8% を占めていた。

3.2 鶏肉と業態者・集団下痢症患者等検便が CTX-M 遺伝子陽性の検出状況

表 4 に鶏肉 35 検体、業態者検便 165 検体、集団下痢症患者等検便 104 検体からの CTX-M 遺伝子陽性株の検出状況を示す。鶏肉 35 検体中 18 検体から CTX-M 遺伝子陽性株が分離され、その内訳は CTX-M1G 11 株、CTX-M2G 4 株、CTX-M9G 3 株であった。一方、業態者 165 名、集団下痢症患者等 104 名の検便計 269 検体 (市中) 中 20 検体から CTX-M 遺伝子陽性株が分離

表 2 CTX-M 遺伝子陽性株 (1,103 株) の由来

由来	株数	(%)
尿	395	(35.8)
喀痰	77	(7.0)
血液	32	(2.9)
膿	18	(1.6)
その他	96	(8.7)
不明	485	(44.0)

表 3 CTX-M 遺伝子陽性株 (1,103 株) の菌種

菌種	株数	(%)
<i>E.coli</i>	501	(45.4)
<i>P.mirabilis</i>	313	(28.4)
<i>K.pneumoniae</i>	27	(2.4)
<i>Providencia stuartii</i>	4	(0.4)
<i>E.cloacae</i>	3	(0.3)
その他	11	(1.0)
不明	244	(22.1)

表 4 鶏肉と業態者・集団下痢症等検便からの CTX-M 遺伝子陽性株検出状況

検体種別	検体数	CTX-M 遺伝子陽性株数		
		CTX-M1G	CTX-M2G	CTX-M9G
鶏肉	35	11	4	3
業態者	165	1	2	11
集団下痢等	104	1	0	5

され、その内訳は CTX-M1G 2 株、CTX-M2G 2 株、CTX-M9 16 株であった。以上の結果から、秋田県内で市販されている鶏肉中に CTX-M 遺伝子陽性株が存在していること及び CTM-X 遺伝子保有株が秋田県内で市中感染を惹起していることが初めて確認された。

表 5 に鶏肉と業態者・集団下痢症等検便から分離された CTX-M1G 遺伝子保有株の CTX-M 遺伝子型、D240G 変異の有無、CTX と CAZ に対する MIC を示す。鶏肉から分離された 11 株のうち 8 株が D240G 変異を保有しない TX-M1、又は CTX-M1/61 遺伝子を保有する株であった。一方、残り 3 株は D240G 変異を保有する CTX-M15、又は CTX-M15/27 遺伝子を保有する株であった。なお、CTX-M1/61 遺伝子とは、今回実施したシーケンス解析では CTX-M1 か CTX-M61 かを決定できなかった遺伝子を指し、CTX-M15/27 遺伝子も同様に、CTX-M15 か CTX-M27 かを決定出来なかった遺伝子を指す。業態者から分離された 1 株は CTX-M79 遺伝子、集団下痢症患者から分離された 1 株は CTX-M15 遺伝子を保有する株であり、いずれも D240G 変異を保有していた。以上の分離株計 13 株のうち、D240G 変異を有しない CTX-M 遺伝子を保有する 8 株の CAZ に対する MIC は ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ か 2 $\mu\text{g/ml}$ であったのに対して、D240G 変

異を有する CTX-M 遺伝子を保有する 5 株の CAZ に対する MIC は 8, 16, 32 $\mu\text{g/ml}$ であった。

4. 考察

近年、CTX-M 型 ESBL が世界的に ESBL の主流となっている^{1,2)}。前回、我々は秋田県の医療機関に CTX-M 型 ESBL 遺伝子保有株が広く浸淫していること、そして分離株数が 2003 年以降、顕著に増加していることを示した。今回示した 2012 年 10 月までの成績においても、秋田県内の医療機関における CTX-M 遺伝子陽性株の増加傾向は続いている。今回示した成績においても、CTX-M 遺伝子陽性株の由来としては尿が最も高頻度であることが示された。尿は院内感染の感染源として重要視されており、CTX-M 遺伝子陽性株による院内感染については、今後さらなる警戒と対策が必要であると考えられる。

今回の成績においても CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株 1,103 株のうち、*E.coli* が 501 株 (45.4%)、*P.mirabilis* が 313 株 (28.4%) を占め、この 2 菌種が CTX-M 遺伝子陽性株の 73.8% を占めることが示された。Shibata らが 2001 年から 2003 年に全国調査をした成績⁷⁾においても類似の傾向がみられ、CTX-M 型 ESBL 遺伝子保有株のうち分離数が多い菌種は上位から *E.coli*、*P.mirabilis*、*Klebsiella pneumoniae* であ

表 5 鶏肉と業態者・集団下痢症等検便から分離された CTX-M1G 遺伝子保有株の CTX-M 遺伝子型、D240G 変異、CTX と CAZ に対する MIC

検体	CTX-M 遺伝子型	D240G	MIC ($\mu\text{g/ml}$)	
			CTX	CAZ
鶏肉 9/24-3	CTX-M1/61	—	32	≤ 1
鶏肉 9/24-5	CTX-M1/61	—	32	≤ 1
鶏肉 10/1-8	CTX-M1/61	—	16	≤ 1
鶏肉 10/1-9	CTX-M1/61	—	8	≤ 1
鶏肉 10/25-10	CTX-M15	+	>32	8
鶏肉 10/15-11	CTX-M1/61	—	16	2
鶏肉 10/15-13	CTX-M1/61	—	16	≤ 1
鶏肉 10/25-13	CTX-M1	—	32	≤ 1
鶏肉 10/29-17	CTX-M1	—	32	2
鶏肉 10/29-20	CTX-M15/27	+	>32	16
鶏肉 10/29-23	CTX-M15/27	+	32	8
業態者 26	CTX-M79	+	16	8
集団下痢 45	CTX-M15	+	>32	32

った。*P. mirabilis* は主に尿路感染症を引き起こす病原微生物である⁹⁾が、ampicillinをはじめとするβ-lactam薬に対する感受性が良好であること、重篤な感染症の原因菌となる頻度が低いことなどから臨床上あまり重要視されてこなかった。しかし、CTX-M2型ESBL産生*P. mirabilis*による院内感染も報告⁹⁾されており、今後、尿を感染源とする院内感染起因菌としてその動向に注視する必要があると考えられる。

前報で我々は、CTX-M15型ESBL産生菌が秋田県の医療機関に侵淫していることを示した。CTX-M15はCTX-M3の基質特異性がポイントミューテーション(D240G変異)により拡張し、CAZ加水分解能を獲得したCTX-M型ESBLであり^{10,11)}、近年、ヨーロッパにおいて問題となっている¹²⁾。国内においてもCTX-M15遺伝子保有株の報告^{13,14)}が少数あるものの、現時点では問題視されるには至っていない。しかしながら、この菌は臨床に汎用されているCAZに耐性を示すことから、今後国内において侵淫を拡大すると臨床で大きな問題となると考えられる。

CTX-M遺伝子保有株は国内の医療機関において侵淫を拡大しているが、その背景となる感染源や市中感染の実態などの感染疫学の多くが不明である。特に、D240G変異によりCAZに対する耐性も獲得したCTX-M15等遺伝子保有株の感染疫学は殆ど調査されていない。

今回、我々は医療機関におけるCTX-M遺伝子保有株の分離状況継続調査に加えて、鶏肉と市中感染の調査を実施し、秋田県におけるCTX-M遺伝子保有株の鶏肉汚染実態と市中感染の発生実態の一端を示すデータを初めて得た。今回供試した市販鶏肉からは、県内の医療機関において入院患者から分離されているCTX-M2GとCTX-M9G遺伝子保有株が分離され、加えて、CTX-M15、CTX-M1、CTX-M1/61遺伝子保有株も分離された。なお、CTX-M61はCAZ耐性に関与するD240G変異を保有せず、CTX-M1遺伝子に1か所の変異が生じて派生したタイプである。前報で我々は医療機関で分離されたCTX-M1G遺伝子保有株36株のうち35株がCTX-M15、1株がCTX-M61遺伝子保有株であることを示しており、同じ型のCTX-M遺伝子を保有する株が入院患者と鶏肉から実際に分離されたことは興味深い。加えて、CTX-M2G、

CTX-M9G遺伝子保有株及びCTX-M15遺伝子保有株は市中からも分離された。鶏肉と市中から分離された、CTX-M15、CTX-M15/27、CTX-M79遺伝子保有株は、D240G変異を有さないCTX-M1、CTX-M1/61遺伝子保有株と比較してCAZに対するMICが顕著に高いことが実際に確認された。市中に検出されたCTX-M79は入院患者由来株に確認されていない型であるが、前報ではCTX-M1G株36株についてのみしかシーケンス解析を実施していないことから、今後さらに多くの株を解析することにより入院患者由来株においてもこの型が確認される可能性がある。

以上の結果は、秋田県においてCTX-M遺伝子保有株が医療機関だけではなく、既に市中にも侵淫していることを示しており、その感染源として鶏肉が重要な役割を果たしている可能性を示唆するものと考えられた。特に、D240G変異を有するCTX-M15等の遺伝子を保有する株が既に市中感染を惹起し、鶏肉からも検出されたことは、当該株が今後も鶏肉を介して秋田県内の市中と医療機関への侵淫を拡大する可能性を示唆するものと考えられる。このため、当該株が尿路感染を介した院内感染原因菌として今後更に問題となる可能性があることについて県内の医療機関に周知し、より適切な院内感染防止策の必要性を提起する必要がある。

5. まとめ

CTX-M遺伝子保有株の鶏肉汚染実態と市中感染の発生実態を調査することにより、秋田県におけるCTX-M遺伝子保有株の感染疫学の一端を初めて明らかにすることができた。特に、今回示されたCTX-M15等D240G変異を持つCTX-M遺伝子保有株の感染疫学の一端は、今後の院内感染対策に資する貴重な知見と考えられる。CTX-M15を含むCTX-M遺伝子保有株の市中感染実態、市販食品の汚染調査、さらには動物の保菌調査も併せて今後も感染疫学解明のための調査を継続する必要がある。

参考文献

- 1) Bonnet R: Growing group of Extended-Spectrum β-lactamases: the CTX-M Enzymes. Antimicrob.

- Agents. Chemother., **48**, 2004, 1-14.
- 2) Canton R, Coque TM: The CTX-M β -lactamase pandemic, Current Opinion in Microbiology, **9**, 2006, 466-475.
 - 3) 八柳 潤, 今野貴之, 齊藤志保子: 秋田県の医療機関における CTX-M 型基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子保有株の分離状況. 秋田県健康環境センター年報, **6**, 2010, 40-45.
 - 4) 石畝 史, 永田暁洋, 鈴木里和 他: 福井県内における人および鶏肉由来基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の分子疫学的解析. 日本獣医公衆衛生学会誌, **63**, 2010, 883-887.
 - 5) 岸 亮子, 熱田純子, 穂葉優子 他: 島根県の医療機関で分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の遺伝子型別. 島根県保健環境研究所報, **50**, 2008, 66-69.
 - 6) Pagani L, Dell'Amico E, Roberta Migliavacca R, et al: Multiple CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases in Nosocomial Isolates of *Enterobacteriaceae* from a Hospital in Northern Italy. J. Clin. Microbiol., **41**, 2003, 4264-4269.
 - 7) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, et al : PCR classification of CTX-M-type β -lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. Antimicrob. Agents Chemother., **50**, 2006, 791-795.
 - 8) Rozalski A, Sidorczyk Z , Kotelko K : Potential virulence factors of *Proteus* bacilli . Microbiol Mol Biol Rev, **61**, 1997, 65-89.
 - 9) Nagano N, Shibata N, Saitou Y, et al : Nosocomial outbreak of infections by *Proteus mirabilis* that produces extended-spectrum CTX-M-2 type beta-lactamase. J Clin Microbiol., **41**, 2003, 5530-5536.
 - 10) Karim A, Poirel L, Nagarajan S et al : Plasmid-mediated extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-3 like) from India and gene association with insertion sequence ISEcp1. FEMS Microbiology Letters, **201**, 2001, 237-41.
 - 11) Poirel L, Gniadkowski M, Nordmann P : Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related β -lactamase CTX-M-3. J. Antimicrob. Chemother. **50**, 2002, 1031-1034
 - 12) Brigante G, Luzzaro F, Perilli M, et al : Evolution of CTX-M-type β -lactamases in isolates of *Escherichia coli* infecting hospital and community patients. Int. J. Antimicrob. Agents, **25**, 2005, 157-162.
 - 13) 大隈雅紀, 村谷哲郎, 松本哲朗 他: UOE-1 (CTX-M-15) type β -lactamase 産生 *Escherichia coli* による敗血症患者の臨床経過と細菌学的検討. 日本化学療法学会雑誌, **52**, 2004, 223-227.
 - 14) 村谷哲郎, 小林とも子, 後藤令子 他: 基質特異性拡張型 β -lactamase 産生 *Escherichia coli* に対する各種抗菌薬の抗菌力. 日本化学療法学会雑誌, **52**, 2004, 556-567.

厚生労働科学研究費補助金「ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築とその基盤となる技術・情報の体系化に関する研究」（平成 24～26 年度）

秋田県で確認された Shimokoshi 型つつが虫病 15 症例における 臨床、疫学及び診断法の検討

佐藤寛子 藤田博己*¹ 柴田ちひろ 斎藤博之 須藤恒久*²

つつが虫病リケッチア *Orientia tsutsugamushi* の Shimokoshi 型による感染例は稀であり、その臨床像や疫学的な特徴については不明な点が多いとされている。しかし、われわれは、秋田県において 1992 年～2012 年に 15 症例の Shimokoshi 型つつが虫病を確認した。これらは、軽症例から重症例を含む多彩な臨床像を示していた。発生時期は春（4 月から 6 月）と秋（10 月と 11 月）で、地域は県の北部から南部にまでおよんでいた。また、Shimokoshi 型検出を目的とした PCR primer を設計し、3 検体からこの型の DNA を検出した。更に、1 例の患者から国内では 2 株目となる Shimokoshi 型リケッチアを分離した。今後、Shimokoshi 型感染例についても、積極的な実験室診断体制の整備が望まれ、またヒトに対する病原性の再評価とベクター解明に向けた調査が課題となる。

1. 緒言

現在、国内におけるつつが虫病リケッチア *Orientia tsutsugamushi* (*O.tsutsugamushi*) は、Gilliam, Karp, Kato, Irie (= Kawasaki), Hirano (= Kuroki) 及び Shimokoshi の 6 血清型に大別されている¹⁾²⁾。このうち、Shimokoshi 型は 1980 年に新潟県の患者血液から分離された 1 株により樹立され、概してヒト病原性は低いものと認識されている。その後、Shimokoshi 型の感染例は、血清学的診断により数症例が確認されていたが³⁾⁴⁾、近年は山形県からの報告⁵⁾のみであり、発生は稀であると考えられてきた。しかし、当センターでの血清学的検査において、Shimokoshi 抗原を追加した 2009 年以降 2012 年までの 4 年間で 5 症例を確認し、これ以前の期間の検体についても検索を試みたところ、1992 年～2012 年に 15 症例を Shimokoshi 型感染と判定した。今回は、これらの Shimokoshi 型症例群の臨床像と疫学的背景の概要に加え、現在の Shimokoshi 型検出系の課題について検討したので併せて報告する。

2. 方法

2.1 対象と材料

1992 年～2008 年に当センターへ

つつが虫病疑いとして検査依頼があった症例のうち、次のような例を対象とした。1) 発熱、発疹及び刺し口の 3 徴候を認めながらも、この期間に使用していた標準 3 型抗原 (Gilliam, Karp, Kato) に対する抗体上昇が確認されない、あるいは軽度の上昇に留まった例、2) 3 徴候全てには合致しないが軽微な抗体上昇が認められた例、以上の条件を満たした対象 104 例の保存血清を材料とした。また、2009 年～2012 年に Shimokoshi 型抗原を加えたことによって確認し得た Shimokoshi 型 5 症例も同様に血清を材料としたが、このうち全血が -80℃ に保存されていた 3 例については血清の他、全血も材料とした。

2.2 方法

初めに、これら症例の回復期血清について、須藤による間接免疫ペルオキシダーゼ法 (IP 法)⁶⁾ を用いたスクリーニング検査を実施した。まず、被検血清を PBS (-) で非特異的な反応がほとんど起こらないとされる 40 倍に希釈し⁷⁾ Shimokoshi 型抗原に対して陽性反応が見られた症例を選別した。次に、これらの急性期と回復期の血清について、標準 3 型抗原に Irie, Hirano 及び Shimokoshi を加えた 6 型抗原に対する抗体価を測定した。これにより Shimokoshi 型に対す

*¹ 馬原アカリ医学研究所, *² 秋田大学

表1 Shimokoshi 型 *Orientia tsutsugamushi* 検出用 Primer

Primers	Sequence(5'-3')	Usage	PCR conditions		
			Denaturing	Anealing	Extention
34	ATT GCT AGT GCA ATG TCT GC	1st. PCR	94°C 30s	57°C 30s	70°C 30s
55	AGG GAT CCC TGC TGC TGT GCT TGC TGC G				
SH6	TAG TAT CTG ACT GCT TCT TAT CCT TAG AG				
10m2	CCD CCT CAR CCT AMT ATR ATG CC	2nd. PCR & Sequence analysis	94°C 30s	57°C 30s	70°C 30s
SH5	GGC CTT GAT CAA CAC CCA A				

34, 55 : Furuya et al. (1988) SH6, 10m2, and SH5 : This study

る抗体価が他の抗原型よりも4倍以上高値を示した場合を Shimokoshi 型感染症例と判定した。これらの症例について、患者調査票を元に感染時の状況、臨床像及び抗体価について解析、比較検討した。更に、全血については、融解後に SPG (sucrose phosphate-glutamic acid) 液で10倍希釈したものを材料として藤田の方法⁸⁾に準じ、培養細胞 L929 によるリケッチア分離を試みた。細胞培養液は L-15 MEDIUM LEIBOVITZ (SAFC BiosciencesTM) を用いた。同材料は QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN 社)により DNA 抽出し、*O. tsutsugamushi* の 56kDa 外膜蛋白遺伝子を標的とした Furuya et al.⁹⁾ の primer 34, 55 及び Shimokoshi 株 DNA (Accession No. M63381) の配列の型特異的な部分を元に今回新たに設計した Shimokoshi 型検出用 primer 10m2, SH5 及び SH6 による nested PCR を実施した(表1)。PCR の反応条件は、94°C 30 秒、67°C - 59°C 30 秒 (-2°C / 1 サイクル タッチダウン)、72°C 30 秒を5サイクル行った後、94°C 30 秒、57°C 30 秒、72°C 30 秒を30サイクル行った。この条件下で予測される 1st PCR での増幅サイズは 1198 bp, 2nd PCR での増幅サイズは 781 bp である。使用した酵素はグライナー社の Taq DNA Polymerase High Yield である。また、DNA 増幅産物を用いてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。細胞培養によって分離された株は、これを抗原とした IP 法によって分離株由来患者血清抗体のホモ価測定を行い、更に DNA 抽出と PCR を血液材料と同様に行い、塩基配列を決定した。

3. 結果

今回、抗体価の再検査によって、1992年～2008年の17年間のうち、1993年に1例、1995年と1997年に各2例、2001年に3例、2002年と2004年に各1例、計10例の Shimokoshi 型つつが虫病を確定した。これにより、2009年と2011年の各2例と2012年の1例の計5症例を合わせると、1992年～2012年の21年間では Shimokoshi 型は15例発生していたことになり、この間の秋田県のつつが虫病届出数759例の2.0%を占めていた。なお、2002年と2004年の2例は当時の検査では抗体陰性と判定され、つつが虫病を否定されていた。以下はこれら15症例の発生状況、臨床及び検査所見である。

3.1 患者の年齢と発症時期及び感染推定地

患者の年齢層は 51 歳から 92 歳で平均 67.8 歳、男性 10 例、女性 5 例であった(表2)。感染推定地は県北部 3 例(20.0%)、県南部 10 例(66.7%)、不明 2 例(13.3%)であり(図1)、発病時期は4月から6月の春季が11例(73.3%)、10月から11月の秋季 4 例(26.7%)であった(表2)。立ち入り場所と作業内容は田畑で

図1 患者感染推定地
(数字は Case No.)

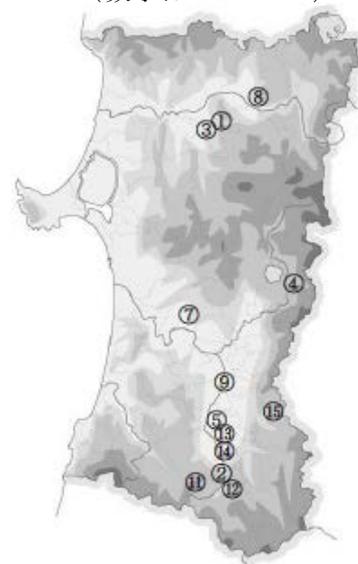


表 2 1993 年から 2012 年までの Shimokoshi 型つつが虫病症例

Case No.	年 齢	性別	発病年月日	感染推定地域、場所	作業内容	臨床所見			
						発熱 ℃	発疹	リンパ節腫脹	刺し口/状態
1	74	男性	不明 (1993.10.26*)	田沢湖町, 田畑	農作業	なし	背, 腹, 両手足	左右腋窩	左胸/水疱
2	64	男性	1995.5.29	湯沢市, 山林	山菜採り	38.0	なし	なし	左大腿/不明
3	59	男性	1995.10.12	合川町, 山林	山林作業	38.0	全身	左右鼠径	肛門/潰瘍
4	53	男性	1997.6.18	田沢湖町, 山林	山菜採り	38.0	なし	不明	右腕/痂皮
5	51	男性	1997.10.18	羽後町, 田畑	農作業	38.0	全身	なし	左手/痂皮
6	80	女性	2001.4.08	不明	不明	39.3	顔, 体幹, 両腕	なし	不明
7	59	女性	2001.6.08	協和町, 田畑	農作業	37.5	全身	なし	不明
8	88	男性	2001.6.19	大館市, 田畑	農作業	38.4	顔, 体幹	なし	不明
9	59	男性	2002.5.24	大森町, 河川敷	不明	40.0	全身	なし	不明
10	70	男性	2004.5.06	不明, 河川敷	レジャー	38.0	全身	なし	不明
11	92	女性	2009.5.08	湯沢市, 不明	不明	37.6	背, 腹	不明	左手/痂皮
12	75	女性	2009.5.17	湯沢市, 河川敷	山菜採り	38.3	背, 胸	左頸部	右手/痂皮
13	57	男性	2011.5.17	羽後町, 田畑	農作業	37.5	全身	なし	背/潰瘍
14	58	男性	2011.11.03	湯沢市, 河川敷	護岸工事	38.5	全身	なし	右腋窩/潰瘍
15	78	女性	2012.5.24	横手市, 田畑	農作業	38.6	顔, 体幹	左右腋窩	左胸/痂皮

* : 初診年月日

表 3 臨床検査データ

Case No.	病日	最高体温 ℃	CRP mg/dL	WBC /μL	AST IU/L	ALT IU/L	LDH IU/L
1	3	発熱無し	2.6	6,100	—	—	—
2	4	38.0	7.7	9,000	—	—	—
3	8	38.0	1.3	5,200	—	—	—
4	10	38.0	2.0	—	—	—	—
5	4	38.0	5.3	—	—	—	—
6	7	39.3	9.2	5,900	—	—	—
7	5	37.5	2.6	7,150	—	—	—
8	2	38.4	9.2	—	314	218	—
9	8	40.0	4.3	—	—	—	—
10	9	38.0	7.3	7,400	—	—	—
11	21	37.6	3.1	3,800	65	28	467
12	7	38.3	2.7	4,800	56	33	341
13	15	37.5	2.1	5,600	62	54	366
14	10	38.5	3.0	3,700	38	—	300
15	2	38.6	17.7	5,200	181	161	440

— : No data

の農作業が7例(46.7%)、河川敷での護岸工事やレジャー等が4例(26.7%)、山林での山菜取りが3例(20.0%)、及び不明1例(6.7%)であった。

3. 2 主要3徴候と臨床検査所見

主要3徴候のうち、発熱は14例(93.3%)、発疹は13例(85.7%)に認められ、部位は7例(53.8%)が全身、6例(46.2%)が背や腹などの体幹部であった(表2)。刺し口は10例(66.7%)に認められ、そのうち8例(80.0%)が上腕や胸、背などの上半身に、2例(20.0%)が肛門部等の下半身であった。刺し口の状態は、痂皮が5例(50.0%)、潰瘍が3例(30.0%)、水疱が1例及び不明が1例(10.0%)であった。

臨床検査所見のうち、白血球数は、3,700/μL～9,000/μLと基準値内にあったが、その他の項目は、症例間の差が大きく、Shimokoshi型感染の従来印象に近い軽症例だけではなく重症例に相当する数値を示すものも含まれていた(表3)。体温では、4例(Case No. 1, 7, 11, 13)が37.5℃～37.6℃の微熱あるいは平熱であった一方、3例(Case No. 6, 9, 15)が38.6℃～40.0℃の高熱であった。CRP値は、全例が基準値よりも上昇していたが、1.3 mg/dl～7.7 mg/dlの軽度～中程度の上昇例が多い中、3例(Case No. 6, 8, 15)が9.2 mg/dl～17.7 mg/dlの高度上昇を認めた。また、AST及びALT値は38 IU/L～65 IU/L、28 IU/L～54 IU/Lの基準値内、あるいは軽微な上昇が4例(No. 11, 12, 13, 14)あった一方、2例が181 IU/L～314 IU/L、161 IU/L～218 IU/Lの著明な上昇を示した。なお、DICや脳炎などを併発した重篤な症例はなかった。

3. 3 血清抗体価

15症例27検体の抗体価を示した(表4)。急性期血清(初回血清)においては、IgM抗体価が80倍以上の場合、確定診断が可能とされているが¹⁰⁾、この条件に合致したのは10例(Case No. 4～12, 15)で、これらのShimokoshiに対する抗体価は160倍～10,240倍であった。このうち、4例(Case No. 5, 9, 12, 15)のShimokoshi以外の5抗原(他5抗原)に対するIgM抗体価は、最高でも40倍であった。残る6例(No. 4,

6, 7, 8, 10, 11)は、KarpとKatoに対するIgM抗体価は、6例全てが80倍以上であったが、Gilliamに対して80倍以上を示したのは、3例(No. 4, 10, 11)、Irieは2例(No. 4, 7)、Hiranoは1例(No. 6)であった。

回復期血清(2回目の血清)においては、初回で全ての抗原に対するIgM抗体価が80倍未満であった5例(No. 1, 2, 3, 13, 14)が、2回目ではShimokoshiに対するIgM抗体価が160倍～10,240倍に達した。しかし、Irie及びHiranoに対するIgM抗体価は、依然40倍未満であった。Gilliam, Karp及びKatoに対しては抗体価上昇が認められたが、40倍～80倍と病日に対し極低値であった。また、No. 1とNo. 2においては、共に10病日未満にも関わらず、Gilliam及びKarpに対するIgG抗体価がIgM抗体価よりも高かった。

各症例の急性期、回復期血清は共に他5抗原に対する抗体価がShimokoshiに対するそれよりも著しく低く、とりわけIrie及びHiranoに対する抗体価上昇例が非常に少数であり、15例中5例及び3例に上昇が認められただけであった。一方、Gilliam, Karp及びKatoに対しては、病日を追うことにより、低値ではありながらも全例で抗体価上昇を認めた。また、15症例について他5抗原に対する抗体価をそれぞれ比較すると1例(No.2)がKatoに対して、3例が(No.4, 5, 15)Gilliamに対して最も高い抗体価を示したが、他11例は他5抗原に対する抗体価に差異がなかった。

3. 4 *O. tsutsugamushi* のPCRと分離

今回設計したprimerを使用したPCR法によって、3症例3検体の全血から*O. tsutsugamushi*が検出され、Shimokoshi型であることが確認された(Accession No. AB840991, AB840992, AB742542)。また、分離培養の結果、1検体で接種後20日目に明瞭な*O. tsutsugamushi*増殖像が観察された。この分離株(Matsui株)を抗原とした分離株由来患者の血清抗体価は、Shimokoshi株抗原とMatsui株抗原に対して同値であった。また、Matsui株の増幅DNA産物で決定された784 bpの塩基配列(Accession No. AB742542)は、国内で初めて分離されたShimokoshi株(Accession No. M63381)と6ヶ

所の相違とアミノ酸 1 個分の挿入が認められ、相同性は 99%であった。なお、この株は、強毒型に近い検査所見を示した Case No.15 由来血液からの分離であった。

4. 考察

Shimokoshi 株は、1980 年に新潟県で発症したつつが虫病患者血液から分離され、新たな血清型として報告された¹⁾。その後、この型は血清

疫学調査等により秋田、福島、福井、新潟、及び山形県において、少数例の患者が確認されたのみであり^{3)~5)}、これまでは「発生は非常に稀な血清型」という位置づけにあった。しかし、今回の調査研究結果によると発生頻度からは決して稀ではないことが示唆された。

秋田県における Shimokoshi 型症例の発生時期は、4 月～6 月の春季と 10 月～11 月の秋季の 2 峰性であり、感染推定地は、河川敷あるいは田

表 4 IP 法による患者血清抗体価

Case No.	病日	IgG 抗体価						IgM 抗体価					
		Shi	G	Kp	Kt	Ir	Hi	Shi	G	Kp	Kt	Ir	Hi
1	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	8	640	160	160	—	—	—	1,280	40	40	—	—	—
2	4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	9	80	80	80	80	—	—	320	—	—	80	—	—
3	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	13	160	40	40	40	—	—	320	40	40	40	—	—
4	10	1,280	80	160	160	160	80	≥10,240	640	320	640	80	—
	17	2,560	40	80	160	160	80	≥10,240	2,560	320	640	40	—
5	4	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—	—
	11	1,280	320	—	—	—	—	10,240	160	160	160	40	40
6	7	1,280	—	80	—	—	40	10,240	—	320	80	—	320
	12	1,280	40	80	80	80	80	10,240	—	320	160	80	320
7	5	640	—	80	80	80	—	5,120	40	80	80	80	—
	9	1,280	—	160	80	160	—	2,560	—	160	80	80	—
8	2	640	—	80	80	80	—	2,560	—	320	320	40	—
	8	1,280	—	160	80	40	—	1,280	—	320	160	80	—
9	8	640	—	—	40	—	—	160	40	40	40	—	—
10	9	320	80	80	80	—	—	640	80	80	160	—	—
11	21	2,560	—	—	—	—	—	5,120	1,280	640	640	—	—
12	7	—	—	—	—	—	—	160	—	—	—	—	—
	14	320	40	40	40	—	—	1,280	80	80	80	—	—
13	8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	15	2,560	40	80	80	40	40	10,240	40	80	80	—	—
14	10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	23	640	80	80	40	—	—	160	40	40	—	—	—
15	1	—	—	—	—	—	—	1,280	40	40	40	—	—
	7	2,560	160	—	—	—	—	≥10,240	640	80	160	—	80

Shi : Shimokoshi G : Gilliam Kp : Karp Kt : Kato Ir : Irie (Kawasaki) Hi : Hirano (Kuroki)

— : <40

畑が多い傾向にあった。多村らが報告した Shimokoshi 株分離症例も発症が 5 月であり、感染推定地は新潟県の河川上流とされている¹⁾。また、近年の山形からの報告も 5 月及び 11 月の山林での感染であった。これらの共通した東日本一帯における Shimokoshi 型つつが虫病の季節的発生消長や感染環境から、現在確定されていない Shimokoshi 型 *O.tsutsugamushi* のベクターは、生息域と幼虫発生時期が同様の種と考えられ、これまで同地域で発生したつつが虫病患者の中には Shimokoshi 型感染例も含まれていた可能性があると思われる。1980 年の Shimokoshi 株は、39℃の発熱と発疹があった患者由来であり、この株を接種したマウスの死亡率は 20～50%であったとされている¹⁾。今回判明した秋田県の Shimokoshi 型 15 症例は、軽症から重症に及ぶ多彩な臨床像を示していた。軽症例の中には、無熱例や発熱は夜間のみで発疹がない、通常のつつが虫症例ではあまり見られない臨床症状が認められた。しかし、このうちの無熱例は、刺し口が水疱状態であったことから、感染後早期につつが虫病が疑われ、治療が迅速に開始されたことによって軽症に留まった可能性がある。また、全症例中に DIC や脳炎等の併発例はなかったものの、AST が 314 IU/L、ALT が 218 IU/L や CRP が 17.7 mg/dl など重症化を示す異常高値の症例もあった。秋田県外で発生した Shimokoshi 型症例として、近年では 2007 年の山形県での報告があるが、8 日間の入院治療を要したこの症例は、急性期の検査所見が CRP 13.8 mg/dl、AST 83 IU/L、ALT 103 IU/L と比較的重症度が高かったとされている。これまで、Shimokoshi 型のヒト病原性は低いとされてきたが、この型のヒトに対する病原性についての評価は、今後も同型症例の発生に注視しつつ、疫学的及び分子生物学的な情報をより多く蓄積した上で判断する必要がある。

つつが虫の確定診断法として、病原体の分離同定と遺伝子の検出及び抗体検出の 3 つの手法が実施されている。今回我々は、3 法全てを実施したが、つつが虫の迅速な診断法として多くの検査機関が採用している血清学的及び遺伝子診断法について、Shimokoshi 型感染患者データを元に検討した。

血清学的診断法は、標準 3 型抗原のみが汎用

され、これに加えて一部機関が Irie と Hirano 等の抗原を使用しているが、Shimokoshi 抗原が常用されることはほとんどないのが実状である。IP 法による IgM 抗体価の一般的な推移について須藤は、再感染例を除けば発病後 10 日～14 日目には 5,120～10,240 倍以上のピークに達するとしている¹¹⁾。また、Ohashi らは IgM 抗体価が主に反応するのは 54-56 kDa 蛋白であり³⁾、型特異的抗原蛋白領域である 56 kDa 蛋白領域を含む全 ORF 領域の標準 6 型間における比較によると、Shimokoshi 型は他型との相同性が最も低いとしている¹²⁾。今回検討した症例群においても、急性期患者血清中の Shimokoshi に対する IgM 抗体価は、病日に比例して速やかな上昇が認められたが、他 5 抗原に対する IgM 抗体価は、未上昇あるいは非常に緩慢な上昇に留まった。更に、ペア血清においても、5 症例で他 5 型抗原に対しては抗体価の有意上昇を認めなかったことから、今回の Shimokoshi 型症例群においても Ohashi らの成績が裏付けられたことになる。この他、他 5 型抗原に対する抗体価においては、IgG と IgM に差異がないか病日が浅いにも関わらず IgG が IgM よりも高いなど、変則的な反応性を示す症例も見られた。Shimokoshi 型の抗原を用いずに Shimokoshi 型感染症例の診断をせざるを得ない場合、ペア血清での検査を基本とし、病日を追って検査することで Shimokoshi 型以外の抗原に対する交差反応を検出できれば、感染型は不明であっても感染者の見落とし等はある程度は防ぐ事が出来ると思われる。したがって、Shimokoshi 型の抗原を用いない場合に、抗体価が病日の割に低く型別の差異がない場合には Shimokoshi 型感染の疑いがあるものとして対応すると感染型の確定につながる可能性があると思われる。また、病日に対し、不相応な低抗体価という前提の他、抗体価が低いながらも Gilliam 型に若干高値である傾向がある、病日が浅いにもかかわらず IgG 抗体価が IgM 抗体価よりも高値である、などといった結果も目安の一つになるであろう。

遺伝子診断法では *O.tsutsugamushi* の 56 kDa 蛋白領域をターゲットとした PCR 法が一般的に用いられているが、Shimokoshi 型を特異的に検出する primer が現行の診断マニュアル¹³⁾に記載されていないことや、「発生が稀である」

という従来からの情報も重なり、日常検査において Shimokoshi 型が除外されているものと思われる。そのため、今回、マニュアルに記載されている Furuya et al.⁹⁾ の 1st primer 34, 55 と共に使用する primer SH6 (今回新たに構築) と 2nd PCR primer 10m2 及び SH5 によって Shimokoshi 型の効率的検出を可能とした。今後は、他型の特異的 primer との組み合わせによる方法等、より利便性と検出効率を高めた反応系の開発も必要であろう。

Shimokoshi 型が稀であるという従来への認識は、この型の感染症例に対する適切な検査が実施されてこなかったことの反映とも思われる。今後は Shimokoshi 型のヒトに対する病原性の再評価とベクター解明に向けた調査に加え、検査体制の整備が望まれる。

5. まとめ

Shimokoshi 型つつが虫病は弱毒性であり発生は稀であるとされていたが、当センターに保存されていた血清の再検査によって、この型の患者が、1992 年～2012 年までに、秋田県内では 15 例発生していたことを確認した。この症例群の病態は軽症から重症まで様々であり、これまでの概念とは異なっていた。また、抗体検査において、Shimokoshi 型の患者血清は標準的に検査対象としている抗原に反応性が低かったことから、今後は、Shimokoshi 型の抗原を日常的に使用することで患者の見逃しを防ぐことが可能と考えられる。遺伝子検査においては、今回設計した Shimokoshi 型特異的検出 Primer を使用することが有用と思われる。

参考文献

- 1) 浦上弘, 多村憲: 恙虫病リケッチア *Orientia tsutsugamushi* と宿主ツツガムシとの共生関係について. 日細菌誌, **51**, 2, 1996, 497-501.
- 2) Tamura A, Takahashi K, Tsuruhara T, Urakami H, Miyamura S, Sekikawa H, et al: Isolation of *Rickettsia tsutsugamushi* Antigenically Different from Kato, Karp, and Gilliam Strains from Patients. *Microbiol Immunol.* **28**, 8, 1984, 876-880.
- 3) Ohashi N, Tamura A, Suto T: Immunoblotting Analysis of Anti-Rickettsial Antibodies Produced in Patients of Tsutsugamushi Disease. *Microbiol Immunol.* **32**, 11, 1988, 1086.
- 4) 多村憲: 恙虫病病原体 *Orientia tsutsugamushi* の微生物学. 日細菌誌 **54**, 4, 1999, 827.
- 5) 大谷勝美, 金子紀子, 青木敏也, 藤田博己: 山形県で発生した Shimokoshi 型リケッチア感染によるつつが虫病の一例. 衛動物 **60**, 4, 2009, 317-321.
- 6) 須藤恒久: 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—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—. 臨とウイルス **11**, 1, 1983, 23-30.
- 7) 須藤恒久: ワイルフェリックス反応と間接免疫ペルオキシダーゼ反応. *Med Technol* **17**, 12, 1989, 1217.
- 8) 藤田博己: 過去 15 年間における培養細胞を用いた病原体分離法の改良と実績. 大原病年報 **48**, 2008, 21-24.
- 9) Furuya Y, Yoshida Y, Katayama T, Yamamoto S, Kawamura A., Jr.: Serotype-Specific Amplification of *Rickettsia tsutsugamushi* DNA by Nested Polymerase Chain Reaction. *J Clin Microbiol* **31**, 6, 1993, 1637-1640
- 10) 古屋由美子, 片山丘: つつが虫病原体の知見—より良い検査へ向けて—. SADI 組織委員会編, ダニと新興再興感染症, 株式会社全国農村教育協会, 東京, 2007, 141-145.
- 11) 須藤恒久: 恙虫病の早期診断の重要性—特に酵素抗体法について. *Medical Way*, **3**, 8, 1986, 119-121.
- 12) Ohashi N, Nashimoto H, Ikeda H, Tamura A: Diversity of Immunodominant 56-kDa Type-specific Antigen (TSA) of *Rickettsia tsutsugamushi*. *J Biol Chem* **267**, 18, 1992, 12733-12735
- 13) 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: ツツガムシ病診断マニュアル. リケッチア感染症診断マニュアル, 2000, 9-16

子宮頸がん検診における受診率および検査精度の向上に関する研究（平成 23～24 年度）

ヒトパピローマウイルスの検出法における検査精度の向上について

村山力則 田中貴子 齊藤志保子

子宮頸がんは、ヒトパピローマウイルス（以下 HPV と記載）に感染することに起因しており、子宮頸がん検診では、より正確な判定のため細胞診と HPV 遺伝子検査の併用が検討され始めている。本研究では、HPV 遺伝子検査の精度向上を図るため、HPV 遺伝子検査法の改良を行い、液状化細胞診法（以下液状化法と記載）により採取した婦人科受診者の検体を用いて、ハイリスク型 HPV の検出を行うとともに、細胞診において従来法と液状化法の判定について比較検討した。その結果 90 検体中 HPV 遺伝子陽性は 68 検体であり、そのうち 48 検体からはハイリスク型 HPV 遺伝子が確認された。検出されたハイリスク型は 52 型が多く、ワクチン対象の 18 型は少数であった。また、細胞診において従来法と液状化法には明らかな差はみられなかったが、液状化法と改良した HPV 遺伝子検査法を組み合わせることにより、子宮頸がんを早期発見する可能性が高くなると考えられた。

1. はじめに

現在我が国では毎年約 10,000 人が子宮頸がんと診断されており、そのうち約 2,500 人が死亡している。子宮頸がんは、HPV に感染することに起因しており、約 100 種ある HPV のうち、子宮頸がんを引き起こすリスクの高い HPV はハイリスク型と言われ十数種が知られている（表 1）。

子宮頸がんの検査診断には婦人科細胞診が行われており、近年ベセスダシステム（図 1）により検査結果を判定することとなった¹⁾。このシステムの導入により細胞診結果に HPV 感染が考慮されるようになり、更に正確な判定のため HPV 遺伝子検査の併用も始まっている。ハイリスク型 HPV 感染が認められた場合、検診間隔を短くするなどの対応により子宮頸がんの早期発見に繋がるものと考えられる。

婦人科細胞診では、採取した細胞を直接スライドグラスに塗抹する従来法がほとんどであるが、近年、海外では細胞を固定液に保存する液状化法の導入が進んでいる。液状化法の利点は細胞の回収性が高いこと、細胞の乾燥や重なりが少ないため、均一な標本が作製できることから、施設間における標準化が可能で、残液を HPV 遺伝子検査に使用することができる。そのため日本においても近年、婦人科細胞診における液状化法が普及しつつある。

このようなことから、本研究では、液状化法

により婦人科受診者から採取した細胞を利用し、子宮頸がん検査の精度向上を図るため、PCR 法による HPV 遺伝子検査法の検討・改良を行い、その改良法を用いて婦人科受診者の HPV 感染状況について検査を行った。更に細胞診における従来法と液状化法の結果について比較を行った。

表 1 ハイリスク型 HPV と
そのオッズ比

HPV geno- type	オッズ比 (95%信頼区間)
HPV(-)	1
16	435 (275-679)
18	248 (138-446)
30	-
31	124 (54-286)
33	374 (47-2986)
35	74 (26-207)
39	-
45	198 (92-426)
51	67 (20-221)
52	200 (68-590)
56	45 (14-145)
58	115 (45-293)
59	419 (54-3243)
66	-

※Munoz ら(2003)より引用

“-”は遺伝子配列による系統樹によりハイリスク型に分類

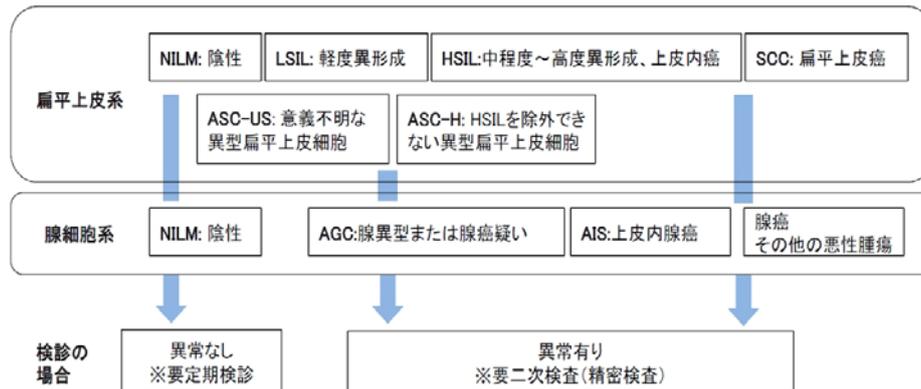


図1 ベセスダシステムにおける細胞診分類

2. 方法

2.1 対象検体

県内医療機関の協力により、婦人科外来受診者から子宮頸部スワブをサーベックスブラシにより採取し、液状化細胞診用の保存液の入った容器（SurePath:BD）に保存した90検体を対象とした。

2.2 HPV 遺伝子検査

1検体につき約10mlある保存液のうち、5mlからQIAamp DNA Mini Kit（Qiagen）により核酸を抽出し、最終的に50μlの抽出DNA溶液を得た。

PCR法によりHPV感染の有無を確認し、その増幅断片からのDNAシーケンスでHPVの型判定をした。更に14種のハイリスク型HPVをPCR法により判定した。HPV感染有無の検出にはGravittら²⁾の方法を改良したPGMY11, GP6+, GP5+法を利用し、各HPV L1遺伝子に存在する共通配列を標的とした。DNAシーケンスは上記PGMY11プライマーにM13配列を付加させ、解読した塩基配列を相同検索しHPVの遺伝子型を同定した。

また、ハイリスク型のHPV型判定は100μlのGoTaqプレミックス、10μlの抽出DNA溶液、50μlの滅菌蒸留水を混和したマスターミックスを作製し、0.2mlの8連PCRチューブに8μlずつ分取した。そしてHPV遺伝子型に特異的な配列に設計したプライマーセット（表2）溶液を5pmol/mlに調整し、終濃度1pmol/mlになるように2μl加え、スピンドウン後PCRを行った。PCR終了後、3%アガロースによる電気泳動で目的サイズのDNAが増幅されているかを確

認後、ハイリスクHPVの型判定を行った。

2.3 液状化細胞診検査

HPV遺伝子検査に用いた残液（約5ml）を専門検査機関に依頼し、液状化細胞診検査を行った。なお、従来法の細胞診検査結果は検体採取機関より提供を受けた。

3. 結果

3.1 HPV 遺伝子検査の結果

PGMY11, GP6+, GP5+法によるHPVの検出は90検体中68検体（75.5%）が陽性であり、そのうちDNAシーケンスによって型別が判明したものは38検体と少なかった。このことは各HPV型の共通配列であるL1遺伝子をPCR増幅の標的としたため、異なるHPV型重複感染の場合、PCRで増幅されるものの、DNAシーケンスでは塩基配列を読み込めなかったと推測された。加えてコピー数の多いHPV型が増幅され、リスクの高いハイリスク型を見落とししまった可能性が疑われた。

そこでさらに、ハイリスク型のHPV14遺伝子型を個別に検出するプライマーを使用し検査を行った（表2）。その結果、68検体中、46検体からハイリスク型HPVが検出され、うち33検体が単感染、10検体が二重感染、2検体が三重感染、1検体が四重感染であった。検出HPV遺伝子型別に見ると、延べ62件検出され、中でもHPV52型が15件、HPV16型が13件と多数を占めていた。また細胞診で前がん段階を示すHSILと判定された14検体中12検体（85.7%）から延べ16件のハイリスク型HPV遺伝子が検出された。

表 2 本研究で使用したハイリスク型 HPV に特異的なプライマーの配列 (Nishiwaki ら³⁾の方法を一部改変)

genotype	F or R ^a	Primer sequence (5'→3')	bp	size
16	F	CGCACAAAACGTGCATCGGCTACC	24	217
	R	TGGGAGGCCTTGTTCCTCCAAATGGA	23	
18	F	AACAGTCCATTAGGGGACGGCTGGA	26	187
	R	TGCCGCCATGTTCGCCATTIG	21	
30	F	ACGCAGACGAAAACGGGCCTCTGCT	25	249
	R	GGCCTAGCAGGGGATGCGTCCACAA	25	
31	F	GCGGTCCAAACGCTCTACAAAACGCA	28	360
	R	GCAGGGGCACCAACATCAACAATTCC	27	
33	F	ACACAGAGGCAGCCCGGCATTGTTT	26	139
	R	CACGGGTTTGCAGCAGCATCAACA	24	
35	F	CCATAACATCGGTGGACGGTGGACAG	27	434
	R	CCATTACATCCCGTCCCTCCCTTC	27	
39	F	CCGACGGAGTGTCCCTGGACCATCTT	27	229
	R	CCAGCGTTTTTGGTTCCTTACCCCGT	28	
45	F	TGTTGGACATCACACCTACCGTGGGA	25	205
	R	TCCGTACCTGACCCAGAAGATGCAA	25	
51	F	CAACTAGCAACGGCGATGGACTIG	23	299
	R	CTGCTTCGCGGGCTGACTAGAA	22	
52	F	GGTGTGGTGCTGGTGCTTTTGCTA	25	517
	R	CAGTTACAGGGGACGAATGGTGGGA	25	
56	F	TGTTGTTTTTCGCCATTITGTACATGC	32	330
	R	TGGCCTACATAGTATTCTGCAAGCC	32	
58	F	ACCACCGAGGCCACCAACAACGAAA	27	128
	R	CGTGGTCTACTGTCCACGGCGCAGTC	27	
59	F	CCGAGCAAGACACCTAAGACAGCAAC	27	169
	R	TCCGAGTCGGAGTCAAGTAATTGCT	25	
66	F	GCGGGCGGCTCCTACCTCTTCCTCTT	27	277
	R	CCACCTAACCTGACACACTGCCCA	29	
IC ^b	F	TTATCCCGAGTCCCGCAGGCCTTCT	26	99
	R	TGGCTTGGCCCAACTTCCATCA	23	
EC ^c	F	CGTGGATGTCCATGAAGGATGAAGG	25	758
	R	GTTCGGGAACAGCGGGGATT	22	

a) F, forward primer R, reverse primer; b) IC, internal control; c) EC, external control

正常を示すNILMでは19検体中4検体(21.0%)から延べ5件,LSILでは21検体中14検体(66.6%)から延べ19件,ASC-USでは32検体中14検体(43.8%)から延べ18件のハイリスク型HPVが検出された。HSIL以外の判定となった検体でもLSIL,ASC-USにおいてはハイリスク型HPVが多く検出され,少数ながらNILMでもハイリスク型HPVが検出された(表3)。

表 3 液状化細胞診結果とハイリスク型 HPV の検出数

HPV genotype	細胞診による分類						計
	NILM (n=19)	LSIL (n=21)	HSIL (n=14)	ASC-US (n=32)	ASC-H (n=2)	AGC (n=2)	
16	2	3	5	2		1	13
18				2	1	1	4
30			1				1
31	1		2				3
33			1				1
35		1					1
39	1	1		2			4
45							0
51	1	2	4	2			9
52		6	2	6	1		15
56		2					2
58		1	1	3			5
59							0
66		3		1	1	1	6
計	5	19	16	18	3	3	64

※重複感染の事例があるため,合計数は一致しない

また検体提供医療機関が外部にハイリスク HPV 型判定を依頼した 11 検体の検査結果と本研究における改良検査法によるハイリスク型 HPV 検索結果を比較したところ,7 検体が一致し,外部検査では単感染と判定された 3 検体が重複感染であることが判明した。しかしながら本検査における検査で 1 検体が検出不能であった(表 4)。

表 4 ハイリスク HPV 型別判定の検査結果比較について

検体No.	検出されたハイリスク HPV の遺伝子型	
	外部検査機関	本研究
12	52	52
16	35, 52	35, 52
17	52	52
22	16	16
27	52	52
28	51	51, 16
32	16	16, 66
37	16	16
40	52	52
42	51	30, 51
43	39	-

3.2 婦人科細胞診における従来法と液状化法の結果の比較について

ベセスダシステムではASC-US及びASC-Hは特定の階級に属さないため,従来法と液状化法の比較にはNILM,LSIL,HSILと判定された26検体を比較した。従来法と液状化法で一致したのは計15検体であり,液状化法で判定された事例のうち従来法よりリスクが高く判定されたのは3検体,低かったものは8検体であった(表5)。

表 5 婦人科細胞診における従来法と液状化法の結果比較について

		従来法		
		NILM (n=4)	LSIL (n=11)	HSIL (n=11)
液状化法	NILM (n=6)	1	4	1
	LSIL (n=12)	2	7	3
	HSIL (n=8)	1	-	7

4. 考察

県内の婦人科外来受診者から液状化法により採取した検体について、改良検査法によりハイリスク型 HPV 感染を調査したところ、HPV52型が最も多く検出され、子宮頸がんワクチンの対象となっている HPV18 型は少数であった。細胞診の判定が LSIL や ASC-US であった検体においても、ハイリスク型 HPV 感染が多く確認された。細胞診の検査法については、従来法と液状化法の判定結果は液状化法が従来法よりも低い判定傾向にあり、どちらの方法でも NILM が HSIL となっている事例が1件ずつあったことから、どちらの方法が特に優れているという確証はなかった。しかしながら液状化法では細胞診の均一な標本の作製が容易であり、残液を HPV 遺伝子検査用検体として使用可能であることから、液状化法は検体採取法として有用であると思われる。また細胞診に加えて HPV 遺伝子検査を併用することにより、ハイリスク型感染者を迅速に明らかにすることは、子宮頸がんの早期発見に寄与するものと思われ、今後は HPV 遺伝子検査の併用を更に推進していく必要があると思われる。

参考文献

- 1) Solomon D, Nayar R (編) 平井康夫 (監修), ベネスダシステム 2001 アトラス, Springer Japan 2007
- 2) Gravitt PE *et al.* Improved amplification of genital human papillomaviruses. *J Clin. Microbiol.* 2000, **38**, 357-361.
- 3) Nishiwaki *et al.* genotyping of Human Papillomaviruses by a Novel One-Step Typing Method with Multiplex PCR and Clinical Applications. *J Clin. Microbiol.* 2008, **46**, 1161-1168.

子宮頸がん検診における受診率および検査精度の向上に関する研究（平成23～24年度）

子宮頸がん検診受診率向上を目指した若い女性の意識に関する検討

ーフォーカスグループインタビュー法による質的分析ー

田中貴子 村山力則 齊藤志保子

秋田県では平成20年4月に「秋田県がん対策推進計画」をスタートさせ、行政、県民、関係団体等が一体となって、がん予防のための啓発普及、早期発見体制の強化等を推進してきている。このような中で当センターでは、子宮頸がんを取り上げ、本県の子宮頸がん検診受診率向上のためにフォーカスグループインタビュー法を用いて、若い女性の子宮頸がん検診に関する意識調査を行った。今回、子育てママ、会社員、大学生の3グループを対象に調査を実施した。その結果、集団検診を受けたいという希望が3グループともに多かった。また、子宮頸がん及び子宮頸がん検診について知らないという人が会社員や大学生では多かった。早期からの健康教育の重要性については、3グループともに同様の意見を述べていた。無料クーポン券については子育てママ層では好評であるものの、会社員、大学生での利用は不十分であった。今後は、集団検診及び医療機関検診の充実を図り、若い女性が受診しやすい、時代に合わせた検診の社会環境を整えていくことが必要と考えられた。また、早期からの健康教育が重要であり、若い女性が関心を持ち受診行動につながる啓発普及及び広報の強化を推進していくことが大切である。更に無料クーポン券により健康意識の醸成を図り、その確実な利用につなげることが大切であると考えられた。

1. はじめに

秋田県の平成23年の死亡状況をみると、悪性新生物（以下、がん）による死亡が4,044人と最も多く、その死亡率377.2（人口10万対）は、全国の283.2よりかなり高い状況にある¹⁾。本県では平成20年4月に「秋田県がん対策推進計画」をスタートさせ、行政、県民、関係団体等が一体となって、がん予防のための啓発普及、がん検診受診率の向上、がん医療・相談支援体制の充実等の総合的ながん対策に取り組んできている²⁾。また、がん検診推進事業では、国が目指すがん検診受診率50%の達成³⁾を目標とし、各市町村から無料クーポン券を送付し受診の促進を図る等の取り組みが行われている。

国立がん研究センターがん対策情報センターの統計によると、近年日本における子宮頸がんの罹患率は20歳代後半から30歳代後半でピークを迎えている⁴⁾。子宮頸がんの罹患要因にヒトパピローマウイルス（HPV）の感染があげられ、性交経験の低年齢化に伴い20歳代の発症率の上昇が問題になっている⁵⁾。このことから、厚生労働省は2004年4月に子宮頸がん検診の開始時期を20歳に引き下げて、定期的な受診の必要性

を謳っている⁶⁾。検診率をみると、日本では子宮頸がん検診の受診率が23.7%と、欧米欧州諸国（70～80%以上）と比較して低い状況にある⁷⁾。

欧州では10代の頃からかかりつけの産婦人科医がいて、その医師や母親が女性の健康教育に重要な役割を果たしており、性交体験の有無に関わらず、検診を受けるのは当たり前のように考えられている⁷⁾。一方、本県の平成23年度の子宮頸がん検診受診率は22.6%と全国の23.9%をやや下回っており⁸⁾、国が目指す受診率50%には遠い状況にあり、受診率向上が、がん対策における一つの課題となっている。

このような中で当センターでは、生活習慣病予防に関する調査研究として子宮頸がんを取り上げ、子宮頸がんの早期発見のための検診受診率の向上を目指した研究を行った。特に、これからの世代を担う若い女性の検診が鍵を握ると考え、20歳から39歳までの女性を対象に、子宮頸がん検診に関する意識調査を行った。方法としてはフォーカスグループインタビュー法^{9,10)}を用い、サービスの主体である住民の生の声を直接聞くことによる質的なデータを収集分析し、検診対象者の考えや受診を妨げている要因及び

課題を明らかにすることを試みた。今回は、子宮頸がん検診に関する若い女性の意識について調査し分析した結果を報告する。

2. 方法

2.1 対象

秋田県内 3 地区の 20 歳～37 歳までの女性（平均年齢 26.0 歳）28 名

*子育てママグループ（以下、ママ）：A 市に在住する 27 歳～37 歳までの女性 7 名

*会社員グループ（以下、会社員）：B 社に勤務する 24 歳～34 歳までの女性 7 名

*大学生グループ（以下、大学生）：C 校に在学する 20 歳～21 歳までの女性 14 名

平成 24 年 2 月に、各会議室及び教室で実施した。

2.2 方法

2.2.1 事前準備

①対象者選定

a.事前に A 市、B 社、C 校の保健師及び教諭へ本研究の趣旨を説明し、フォーカスグループインタビューへの協力依頼をした。

b.その際、パンフ「関係機関へのフォーカスグループインタビューの協力をお願い」を活用した。

c.保健師及び教諭が、パンフ「参加者の皆様へのお願い」を用いて参加者を募った。

d.フォーカスグループインタビューの趣旨を理解し、同意の得られた者を対象者とした（同意書提出）。

②スタッフ用資料として「子宮頸がん検診受診率向上に関するフォーカスグループインタビュー（FGI）の手引き」を各グループに合わせて作成した（資料：手引きの一部を抜粋）。

2.2.2 フォーカスグループインタビューの実施

①フォーカスグループインタビューの手引きに基づき、司会者（執筆者）の進行により約 90 分間のデータ収集¹¹⁾を行った。

②導入のために「自己紹介カード」及び「子宮がん〇×クイズ」を活用した。

③司会者は、参加者が自由に発言し、かつ効率よく討議が進むよう時間配分に留意した。

2.2.3 発言内容の録音

参加者の承諾を得た上で、会話を 2 台の IC レコーダーに録音した。

2.2.4 フォーカスグループインタビューの

テーマ「子宮頸がん検診の受診率をアップさせるには！」

インタビューの質問項目は次のとおりである。

- ①子宮頸がんに関する受診者の行動
- ②子宮頸がんに関する未受診者の行動
- ③子宮頸がん及び子宮頸がん検診に関する情報、啓発
- ④子宮頸がん検診に関する社会環境整備

2.2.5 発言内容をデータ化し逐語記録を作成

発言内容を「フォーカスグループインタビュー逐語記録と分析シート」に入力し電子データ化した。

2.2.6 データの整理と分析

データ（発言内容）を整理し、分類表にそって重要アイテム（意味のある項目）を抽出し、重要カテゴリー（見出し）に体系化し、質的分析¹⁰⁾を行った。

2.2.7 報告と公表

グループ別の報告書を作成し各協力機関へ送付した。全体の報告書を関係機関へ送付し当センターのホームページ上に公表した。

2.2.8 倫理的配慮

参加者には文書及び口頭にて、子宮頸がん検診受診率向上のための意識調査を、フォーカスグループインタビューの手法を用いて行うことを説明した。実施にあたりインタビュー内容を録音し、それを逐語録にすることについて、また、個人情報保護のため氏名を表記しないことを約束し参加者の同意を得た。

3. 結果

結果は参加者の生の言葉をできるだけそのまま用いて記述する「記述分析法」とした。また、複数意見や類似した言葉は統合して分析した。

子宮頸がん検診の受診歴については、子育てママグループでは 7 名全員が受診有、会社員グループでは受診有 4 名・無 3 名、大学生グループ

プでは受診有 3 名・無 11 名であった。

3.1 子宮頸がん検診に関する受診者の行動

* 無料クーポン券による受診

ママ：無料クーポン券でたまたまタイミングよく受けられた。ラッキーだった。

ママ：5 歳毎の無料クーポン券をもっと増やしていけば、受診する人は徐々に増えていくと思う。

大学生：無料クーポン券が届きそれを利用して受診した。（大学生では 8 人に届き、3 名が受診した）。

* 妊婦健診による受診

ママ：子宮頸がん検診を初めて受けたのは 25 歳（他には 26 歳，29 歳）で妊婦健診の時に受けた。ついでにやった方がいいと医師が言うので受けた。

ママ：妊娠を望んだ時に産婦人科で受けて、その後は妊婦健診で受けた。

ママ：結婚をきっかけに受けた。妊娠をきっかけに受けた。特に抵抗なかった。

* 家族・友達等の勧め

ママ：親や周りから受けた方がいいよ、と言われて受けた。子どもはその時は親に見てもらった。

会社員：初めて受けたのは 2 年前。友達と婦人科系の話になることがあって、二人で相談して受けてみた。

大学生：みんなが受けるなら受けた方がいいかなと思う。自分だけだったら受けたい気持ちは半々。

* 定期検診，予防のため

会社員：結婚してからは、子供が欲しいこともあって産める身体でいたいなと思って、真面目に定期的に受けている。最初の妊娠から定期的に毎年受けている。

会社員：検診の時期を忘れそうになるので最初に受けたのが 7 月だったから、私は 7 月は検診を受ける月間って自分で決めている。

* 職場検診で

会社員：前の会社では、検診車が来ていたので集団検診で受けた。

会社員：職場でみんなやるから私もやろうって、感じ。

会社員：検診の時になってしまえば覚悟が決ま

る。

* 自覚症状で医療機関受診時

会社員：23 歳の時に生理が急に多くなって不正出血みたいな感じで、産婦人科を受診した。その時に一緒に婦人科検診受けたほうがいいんじゃないですかって、医師に言われて受けた。

会社員：私は最初、婦人科系の不調があったので行くようになった。実際、受けるのにもあんまり抵抗ない。何回も受けたので。

3.2 子宮頸がん検診に関する未受診者の行動

* 面倒くさい，億劫だから，何となく

会社員：入社した直後は面倒くさくて行かなかった。

会社員・大学生：正直，面倒くさい（複数人が同意見）。

会社員：面倒くさがりだから、最初の一回をどう受けるかがハードルとしてある。

* 怖いから

会社員・大学生：子宮がん検診って何をやられるかが分からない。だから行きたくない。ちょっと怖い。

* 忙しいから

会社員：忙しくて予定もわからない部署にいたこともあるので・・・。やらなきゃいけないんだろうなと思いつつやってない。

大学生：年末は学校が忙しくていけなかった。

* 自分のスケジュールに合わない。タイミングを逃した

会社員：無料クーポン券がちょうど去年届いた。1 年位の有効期限あったが、油断していて受けられなかった。

会社員・大学生：友達が行くなら自分も行こうと思っていたが、タイミングがあわず行かなかった。

* 自分のことだと思わない

会社員・大学生：自分のことだと思ってない、というのにちょっと反省している。

* 忘れてる

会社員・大学生：30 歳の時に秋田市から無料クーポン券をもらっているはずなんですけど、今、E さんが言って初めて思い出したくらい。そういえばもらってたなという感じ。

3.3 子宮頸がん及び子宮頸がん検診に関する

情報，啓発*** 子宮頸がん検診の知識の有無，内容**

ママ・会社員：「まさか自分が！」という思いがどこかであって，どこか人ごとの気がしている。

会社員・大学生：「子宮頸がん検診は二十歳過ぎてから！」っていう意識がなくて，今，話を聞いていて二十歳からこんなに増えているのかとびっくりした。

会社員・大学生：ちゃんと受けなきゃいけないんだよ，っていう情報が 20 歳代のうちに欲しい。今まで公の場でそういう話を聞く機会がなかった。

会社員：最近やっと乳がんのコマーシャルとか見るようになったけど，まだ子宮頸がんってあんまり見ない。触れにくい話題ではあるんでしょうけども子宮がん検診の情報をもっと知りたい。

会社員：乳がんの場合は，進行するとおっぱいとらなきゃいけないみたいなイメージがあって，やばい。子宮頸がんなら「私，別に子供いらないから関係ないわ！」とかちょっと思ったりして。

会社員：子宮頸がんって見えないし，軽く見てしまう。

大学生：実際かかった人から話を聞けると，リアルな感じで大変さとかの実感が持てると思う。

*** 子宮頸がん検診の情報の有無，内容，提供方法**

ママ：プライベートな事だから，広報で「中学生にワクチン接種するようになった」のを見てそれで終わり。人と話すような話題ではない。

ママ：「早期発見で簡単に治せますよ」というと，どうせかかっても簡単に治るんだと，軽く考えて，逆効果でないか。

ママ：確かに，早期発見で治ると言われると，心配しないよなあ。

ママ：早く見つければ治る，はなんとなく危機感ないし，心配しないことにつながるのではないか。

ママ：ママさん達が行く所（例子育てサークル等）にでも，市の検診受けた中から，何人見つかりましたという身近な情報を貼っておけば見ると思う。ちょっと怖いんだけどね。

会社員・大学生：何をされるのかと，どれくらい時間がかかるのか。そういうことが分かれば，ある程度予定も立てやすいし心の準備もできる。

大学生：二十歳になったら検診を受ける事を知らなかった。無料クーポン券で知った。

会社員・大学生：検診で具体的にどういうことをするのかという資料はクーポン券には入ってこなかった。

*** 啓発・広報の方法，インターネット**

ママ：周りで子宮頸がん検診へ行く人がいる，というクチコミの影響が大きい。

ママ：気になる時にネットで調べる。ホームページで検索できるのが，若い人達には便利がいい。

会社員：「何月は何とか月間」，「この月は皆さん，検診を受けましょう！」のようなアピールをするのもいいかな，と思う。

会社員：20 歳代だと声かけるのがかえって悪いかんと思ったりして，私も遠慮してたなあ今まで。（保健師）

*** 教育方法，子どもや親の意識，母子手帳**

ママ・会社員：親が子宮頸がん検診を受けさせるような態勢を作る。予防接種のように受けて当たり前という態勢を作る。

ママ・会社員：親子で一緒に受ける。大きくなったからお母さんと一緒に受ける。

ママ：母子健康手帳に子宮頸がん検診の欄があれば意識は変わる。小さい頃からそういうものだ，と意識を高めるとありふれたことになる。そうすることで 20 歳代になった時に，母子手帳にあったなど，抵抗なく受け入れやすい。

会社員：親は「検査はすぐ終わるし，受けるものだ」と，娘に強引にすり込んでおくのが大事。大学生：高校生だとその前に経験しちゃう人もいるので，その前に知っておいた方がいいと思う。

*** 自分のことだと思わない，関心ない**

会社員：子宮頸がんって言葉聞いたことあっても，自分にも関わるんだって全然分かんなかった。

会社員・大学生：自分自身で子宮頸がんが分からず，まだそんなにがんというものに，ぴんときていない。身近な問題だととらえていない。

大学生：自分から進んで受けたらいい気持ちに

はなっていない。半強制的になら受けるかも。

3.4 子宮頸がん検診に関する社会環境整備

* 子宮頸がん検診の日程, 時間

ママ：自分で予約して医療機関に行くよりは、市で決められた日に受ける方がいい。病院の予約も意外に面倒だ。

ママ：時間をかけずに地元で受けられるのもいい。

ママ：子宮頸がん検診を毎週でなくても土日どこかでやってくれたら、託児に預けなくても主人に子どもを預けて検診を受けられる。

ママ：検診時間の12時から13時は、子どもが眠くなる時間帯なので困る。

会社員・大学生：貴重な休みに検診に行くのも嫌だなあって感じ。

会社員・大学生：検診の期間が長すぎると逆に、「あとでもいいやっ！」となっちゃうので、「この期間なら夜遅くまでとか、土日もあります」とか期間限定であれば、帰りに行くとか朝ちょっと寄ってくとかできる。「サービス期間」的な、そんな検診があればいい。

大学生：できれば18時頃までやっていると助かる。学生タイムみたいな検診があればいい。

会社員・大学生：土日に、すぐ終わる検査のために、わざわざ着替えて出かけたくないし。土日よりは、平日遅くまでやっていて欲しい。

* 子宮頸がん検診の会場, 地区

ママ：デパートだったら、家族で買物に行った時に、主人に子どもを預けて検診を受けられる。

ママ：「△△」がいい。遊ぶ所もあるし。しかし、検診バスはちょっと離れた所においてほしい、さすがに正面は嫌だなあ。

会社員：この職場の近辺には検診車を置くスペースもあるし、「□□地区で子宮頸がん検診を、何日から何日までやりますよ」というように増やしたらどうか。

会社員：B社ひとつの会社のため、ということではなく、近辺の会社の方々等を、広く対象としたらどうか。

* 託児, 家族の協力

ママ：託児があれば気軽に市の子宮頸がん検診を受けられる。

ママ：託児の予約の連絡をするのが煩わしい。

予約しないでパッと行って、パッと見てくれるのがいい。

ママ：託児とか受ける方の希望に配慮して、整っているんだったら、身近な所（地元）で受けられるメリットはある。

ママ：託児付き検診なのはとても魅力です。

ママ：夫の協力、大丈夫、あります。

* 集団検診

ママ：バスで受けた。医療機関に行く時間がとれなかったから。おばちゃんばかりだった。

ママ：すっごく、浮いている。20歳代、30歳代の若いお母さんたちは、数えるほどしかいなかった。

ママ：バスで受ける時、「20歳代から30歳代限定」というように、年代別で日にちが分かれていけば、行きやすくなると思う。

ママ：「子育て世代限定！」とか、いいかもね。

ママ：確かに若い世代限定だと、雰囲気は良く、行きやすくなるね。

会社員：検診バスでも一人ずつ別々なのでいい。前の会社でも検診車が来て受けていたので、別に抵抗はない。

会社員：会社員は集団検診がいいと思う。

会社員：自分だけだと行かなきゃな、と思うのと同時に面倒くさいなと思う。だから集団検診がこの先あったら利用するだろう。

会社員：職場や地域で検診を受けられる機会増やしてもらえばいい。最初の1回目を集団でやっちゃえば後は自分の好みで、集団に行ったり、個人で病院探して行ったりとか。最初の入口が肝心でその後はいろんな形があっていいかな。

大学生：学校健診でみんなが受けるのだったら自分もやる。受けやすいし。

* 医療機関検診

ママ：病院の予約が満杯で、ずっと先の予約になりそうだったので、目処がつかないのでやめた。

ママ：出産した病院でずっと検診を受けている。そこは予約もいらない。混んでいなければ15分位で終わる。

ママ：私はこれからも個人病院で受けるかな？バスでの検診だと、ちゃっちゃとやって終わり、という感じがするので、医療機関検診がいいという感じがする。

会社員：自分で病院を探して自分で予約をして、もし平日だったら会社にも言わなきゃいけないし、かなりいろんなステップを踏まなきゃいけない。だから面倒だ。

* 産婦人科・医師

ママ：産婦人科に行くというのは、若い人達には抵抗があると思う。結婚していない女性が産婦人科に行くのは、勇気がいること。

ママ：予防接種や子宮頸がんワクチンとセットで、子宮頸がん検診も受けるようになればいい。

ママ：婦人科と内科が一緒になっている病院がもっと増えるといい。小さい時からかかっていると連れて行きやすいし、検診も受けやすい。

ママ・会社員・大学生：先生が男性だというのが嫌だ。女性のお医者さんがいるところがいい。

ママ・会社員：私はいつも行っている所なので、男性でもいい。初めて行く時は確かに抵抗あると思う。

ママ・会社員：先生の性別じゃないのでうまい先生に行った方がいいと思う。私も以前は性別重視で絶対男の先生は嫌だったんですけど・・・

* 検診料

ママ：個人医で受けた時は3~5千円かかった。去年は無料クーポン券がきたのでラッキーだった。

大学生：お金かからないのがいい。無料がいい（大学生グループは全員）。

* 無料クーポン券

会社員：去年、25歳で秋田市の無料クーポン券がきたが、結局受診できなかったの、この思いを絶対に伝えたいと思って今日参加した。

会社員：すごい混んで、無料クーポン券の締め切り間際だったので、待ち時間もすごい長くて、大変だった。

会社員：なかなか都合が合わなくて、次次って言っている間に、クーポン券の期限が終わってしまった。

会社員：無料クーポン券の期限は「誕生日から前後2ヶ月」とか「もうちょっと期間短い方」が、逆に行かなきゃっていう気になるのかなと思った。

会社員：無料クーポン券が送られてきて、二十歳で受けなければいけないと知った。結構お金かかるから、無料クーポン券で受けた方がいいと思って受けた。

* 受診しやすい（職場）環境、制度等

会社員：この時間のこの場所に行ってくださいって、会社側から言ってくれてると、受けなきゃという意識になる。

会社員・大学生：強制的に、「この日に行きなさい」とか「行こうよ」と言ってもらった方が行くと思います。

会社員：まず会社で検診をやっちゃうといい。「皆で受けるぞ」という気持ちが高まる。

会社員・大学生：自分では時間が確保しづらいので。会社（学校）のお膳立てというか、やってもらえればいい。

会社員：今、忙しい部署にいるので、貴重な土日の休みを潰したくない。できれば出勤日に、上司から「会社の方針として受けることになってるから、その時間は行って来い。」と言われた方がいい。平日の検診の時間が確保されるのであれば行きたい。

会社員：働き盛りで忙しい人ばかりなので、会社の方でやってくれないと受けられないと思う。ましてや小さい会社だと、検診ができないと思う。県とかから働きかけをしてくれると、会社の方でも気運が高まるのでないか。

4. 考察

参加者から得られた内容を総合的に検討し主な対策について考察した。

4.1 集団検診及び医療機関検診の充実について

「集団検診を受けたい」という希望が3グループともに多かったことは意外な結果であった。プライバシーが尊重される時代でありながら、それよりも時間が優先され忙しい時代だからこそ身近な所で検診を受け、自分の時間を効率的に使いたいという意識の現れと思われた。河合らは、職場検診は子宮頸がん検診を受診するよい機会になっている。自分の健康管理として受診する者も多く、健康への関心の高さが受診行動を高める要因になっている¹²⁾と報告している。また、子宮頸がん検診の初受診や定期受診を促すうえで、自治体や職域での検診の実施は重要な役割を果たしていることが確認されており¹³⁾、今後は、地域、職場、学校等における集団検診並びに医療機関検診の充実を図り、若い世代の女性が受診しやすい、時代に合わせた検診の社会環境を整えていくことが大切である。

以下に今回の研究から得られた具体的な対策案を提示する。

- * 地域においては、既存の検診を元に、子育てママさん検診、若い女性限定検診、予約なし託児付検診、遊びついで・買物ついで検診等のように、若い女性に配慮（ターゲットに）した検診を工夫し、地元や身近で気軽に受けられるメリットをアピールし、地域に密着した柔軟な検診体制を整備していくことが望ましい。
- * 職場や学校においては、平日の集団検診の増大や、経営者の意識を高め企業が自社の女性職員の検診を勧奨する等、組織（職場、学校等）全体の方針として受診を推奨することにより、多くの女性が受けやすくなるような社会環境を整えていくことが望ましい。
- * 医療機関検診においては、平日夜遅くまで検診可能な医療機関の設定や、またその検診期間の設定、仕事や学校帰りに気軽に受けられる「仕事帰り検診」、「学生タイム検診」等、より時代に合わせたサービスを盛り込み、受診者の拡大を図ることが望ましい。

4.2 啓発普及・広報の強化について

子宮頸がん及び子宮頸がん検診について知らないという人が会社員や大学生では多かった。知らないから受けないという人も複数人いた。このことは、子宮頸がんの知識や制度を知らない人の方が受診行動に至っていない^{12,14)} ことと一致していた。また、今回の調査では、早期からの健康教育をすることの重要性について3グループが同様に述べていた。川本は、思春期の認識により、将来の検診行動意向を生む可能性が示唆されることから、子宮頸がんが自分に無関係な病気ではないことをできるだけ早い段階で認識させるべきである¹⁵⁾ と述べている。今後は、若い女性への早期からの健康教育及び啓発普及、広報の強化を図ることが大切である。

具体的な対策案として

- * 母子健康手帳の活用や予防接種の機会を利用して、本人と母親への啓発を早期から働きかけていくことが大切である。
- * 中高校生や20歳代の思春期から青年期にかけて、教育現場での情報提供や啓発する機会を度々設けることが望ましい。

* 結婚や妊娠時の医師等の勧めが受診につながっていることから、保健・医療従事者等の専門家の協力により、子宮頸がんの情報提供及び受診勧奨を行うことが大切である。

* 子宮頸がん検診の内容、方法、所要時間等、受診行動につながるより具体的な情報を提供する。しかし、過剰な恐怖心や、逆に安易な考えを持たないような工夫も必要である。

* 子宮頸がんを自分自身の問題としてとらえられるよう、より身近な罹患データや情報を県民の目に触れやすい場所に掲載する。かつ広報やホームページ、携帯電話等の様々な情報手段により、県民がより利用しやすい情報提供を心がけることが必要である。

* 「若い女性も地元で検診を受けた」というクチコミが検診受診に大きく影響するため、集団検診を好印象につなげるための工夫や実績づくりが大切と思われる。

4.3 無料クーポン券の継続と充実について

無料クーポン券は子育てママ層では好評であるものの、会社員、大学生での利用は不十分であった。野口らは、検診無料券に受診場所の指定や期限があることから無料券を使って受診できず諦めてしまう者も少なくない¹⁶⁾ と述べており、このことは本研究でも同様に見られていた。また、無料券が配布されるだけでは認識はまだ薄く定期的に注意喚起を行っていくことが必要である¹⁶⁾ と報告しており、今後は無料クーポン券の確実な利用と健康意識を育む重要なツールとして考えていくことも大切と思われる。具体的な対策案として

* 県民の経済的負担を軽減するためにも無料クーポン券は有意義であることをアピールし、今後も無料クーポン券の継続と利用しやすいサービスを工夫していくことが必要である。

* 初めての検診が鍵を握ることから、20歳から30歳代の若い女性が関心を示す具体的な情報を無料クーポン券に盛り込み、確実な受診行動につなげていくことが大切である。

* 「二十歳で検診を受ける！」ことを無料クーポン券で初めて知る人も多いことから、無料クーポン券を検診受診につなげる意識醸成の一つのツールと考え、確実な利用につなげるのが大切である。

5. まとめ

1. 集団検診及び医療機関検診の充実を図り、若い女性が受診しやすい、時代に合わせた検診の社会環境を整えていくことが必要である。
2. 早期からの健康教育が重要であり、若い女性に関心を持ち受診行動につながる啓発普及及び広報の強化を、関係機関と連携をとり推進していくことが大切である。
3. 無料クーポン券により健康意識の醸成を図るとともに、確実な利用につなげることが大切である。

最後に、フォーカスグループインタビュー終了後の大学生の感想から、木下¹⁷⁾の報告にあるように、参加者同士が意見を交わすことにより、子宮頸がんや検診受診行動に対する新たな気づきや、考え方の変化があったことが分かった。そして、今回の調査でもフォーカスグループインタビューへの参加そのものが、子宮頸がんを理解し検診受診行動へ影響を及ぼす可能性があることが示唆された。

参考文献

- 1) 秋田県健康福祉部：平成 23 年秋田県衛生統計年鑑，2013 年 3 月。
- 2) 秋田県：第 2 期秋田県がん対策推進計画，2013 年 3 月。
- 3) 厚生労働省：がん対策推進基本計画，2007 年 6 月。
- 4) 国立がん研究センターがん対策情報センター：子宮頸がん検診の勧め，http://ganjoho.jp/public/pre_scr/screening/uterine_cancer.html。
- 5) 三澤俊哉：子宮頸がんの低年齢化について，名古屋掖済会病院健康増進キャンペーン，2010 年 7 月。
- 6) 厚生労働省：平成 25 年度がん検診推進事業の実施について，平成 25 年度がん検診推進事業実施要綱，2013 年 5 月。
- 7) 日経 BP 社：子宮頸がん検診の受診率を高めるために日本は何をすべきか，<http://medical.nikkeibp.co.jp/leaf/all/cancernavi/report/201004/100467.html>，2010，10。
- 8) 厚生労働省：平成 23 年度地域保健・健康増進事業報告，子宮がん検診対象者数・受診者数・受診率，市区町村別。
- 9) S・ヴォーン，J・S・シューム，J・シナグブ：グループ・インタビューの技法，東京，慶応義塾大学出版会株式会社，2002 年 10 月。
- 10) 安梅勅江：ヒューマン・サービスにおけるグループインタビュー法 科学的根拠に基づく質的研究法の展開，東京，医歯薬出版株式会社，2004 年 6 月。
- 11) 川崎千恵，服部真理子，渡邊洋子，他：血糖自己測定を糖尿病境界域へ用いる意義と効果をもたらす要因に関する検討—フォーカス・グループ・インタビューによる質的分析—，日本公衆衛生雑誌，2009，56，12，875-882。
- 12) 河合春奈，高山紗代，今井美和：子宮頸がん検診の受診行動に関わる因子の検討，石川看護雑誌，2010，7，59-68。
- 13) 子宮頸がんから女性を守るための研究会：子宮頸がん検診に関する調査報告書要約版，2008 年 3 月。
- 14) 平井里香子，原川恵子，渡邊万里子，他：子育て中の母親の子宮頸がん検診に関する意識調査，第 49 回静岡県公衆衛生研究会，2013 年 2 月。
- 15) 川本彩多利：高校生に向けた子宮頸がん予防啓発プロモーション研究，神奈川，慶応義塾大学湘南藤沢学会，2011 年 3 月。
- 16) 野口真由，杉浦絹子：看護系大学の女子大学生がもつ子宮頸がん予防に関する知識と意識の現状，三重看護学誌，2011，13，131-139。
- 17) 木下ゆり：フォーカスグループインタビューによる保健医療を学ぶ学生の喫煙意識の質的分析，静岡英和学院大学紀要，2010，8，223-231。

子宮がん〇×クイズ 〇×をつけてください

- Q1 子宮がんには子宮頸がんと子宮体がんの2種類がある
[子宮がんの種類]
- Q2 子宮がんは早期発見・早期治療により、ほぼ100%治る
[子宮がんの予後]
- Q3 子宮がんの原因の一つに、HPV(ヒトパピローマウイルス)感染がある
[子宮頸がんの原因]
- Q4 子宮頸がんの発症年齢が若年化している
(20代からの発症が増加) [子宮頸がんの発症年齢]
- Q5 子宮頸がんの好発年齢は40~50歳である
[子宮頸がんの好発年齢]
- Q6 子宮体がんの原因として女性ホルモン(高エストロゲン状態)が関係している
[子宮体がんの原因]
- Q7 子宮体がんの好発年齢は50~60歳(閉経後)である
[子宮体がんの好発年齢]
- Q8 子宮がん検診は20歳以上が対象である
[子宮がん検診の対象年齢]
- Q9 子宮がん検診を2年に1度、受けたほうがよい
[子宮がん検診の受診間隔]
- Q10 子宮頸がんの初期は、ほとんど無症状である
[子宮がんの症状]
- Q11 ワクチンを接種すれば、子宮頸がん検診を受けなくても大丈夫である
[子宮がん検診とワクチンの必要性]
- Q12 あなたは子宮がんの知識がどの程度あると思っていますか
[子宮がんの知識]
十分ある・ある程度ある・あまりない・全くない

5

情報1 子宮頸がんとは？

子宮がんには子宮の入り口(頸部)にできる「子宮頸がん」と、子宮本体(体部)にできる「子宮体がん」があります。発症する場所だけでなく、その原因や発症しやすい年齢も異なります。



	子宮頸がん	子宮体がん
自覚症状(初期)	無症状	不正出血 褐色のおりもの(帯下)
原因	HPV (ヒトパピローマウイルス)感染	女性ホルモンの異常
発症しやすい年齢	30~40歳代 20歳代急増	50歳代
発見のタイミング	定期的な検診	不正出血 褐色帯下

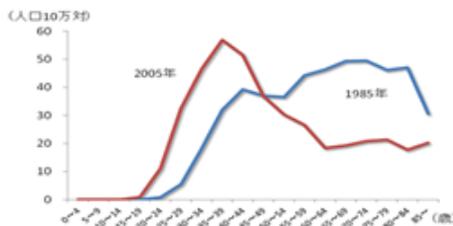
6

情報2 子宮頸がんの発生率

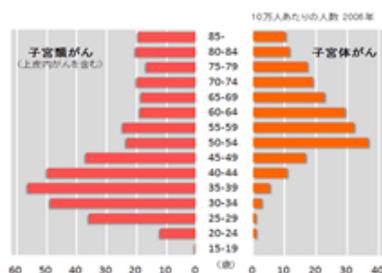
がん情報サービス ganjoho.jp

「がん検診の勧め」より 国立がん研究センターがん対策情報センター

1. 子宮頸がん(上皮内がんを含む)発生率の推移



2. 部位別・年齢別にみた子宮がん発生率

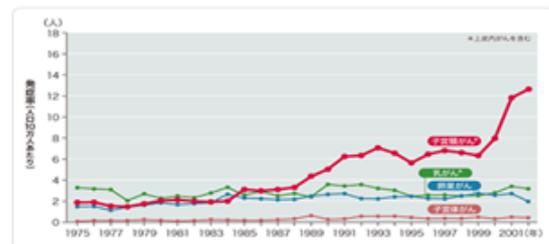


子宮がんにかかる人は年間約18,600人で、このうち子宮頸がんにかかる人は、約9,000人います。

7

情報3 20~39歳日本人女性における女性特有のがん発生率の推移

1. 日本人女性(20~29歳)の各種がん罹患率の推移(10万人あたり)



2. 日本人女性(30~39歳)の各種がん罹患率の推移(10万人あたり)



性交開始年齢が早まったことで、HPV感染が若年化しています。

国立がんセンターがん対策情報センター、地域がん登録全国推計値(地域がん登録による罹患全国推計の方法)

8

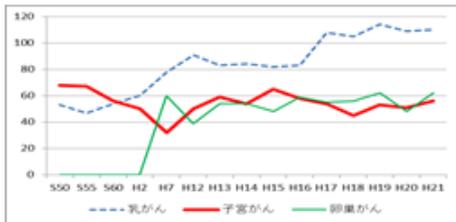
情報4 女性のがん死亡数・率の推移
(秋田県) S50～H21年

	S50	S55	S60	H2	H7	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
乳がん	53	47	54	60	78	91	83	84	82	83	108	105	114	109	110
子宮がん	68	67	56	50	32	30	59	54	65	58	54	45	33	51	56
卵巣がん	-	-	-	-	80	39	54	54	48	59	55	56	82	48	62

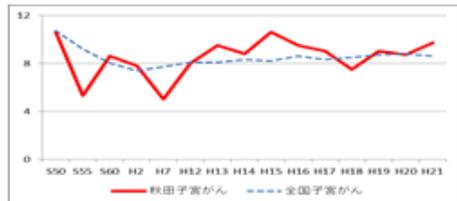
日本では子宮がんで亡くなる人は年間5,900人で、このうち子宮頸がんの死者数は、2,700人となっています。(がん情報センターより)

本県では
S42年から
子宮がん
集団検診
開始。

1. 部位別死亡数 秋田県 (人)



2. 子宮頸がん死亡率 秋田県と全国 (人口10万対)



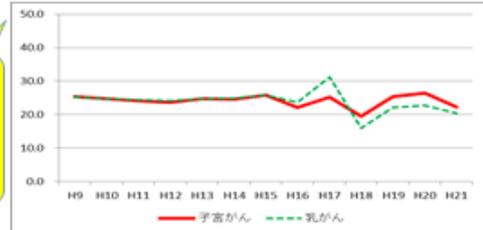
9

情報6 がん検診受診率の推移
(秋田県) H9～H21年

	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17	H18	H19	H20	H21
子宮がん	25.4	24.7	24.2	23.6	24.7	24.6	25.9	22.2	25.2	19.5	25.4	26.5	22.3
乳がん	25.2	24.7	24.5	24.2	24.8	24.9	25.9	23.7	31.2	15.9	22.1	22.7	20.4

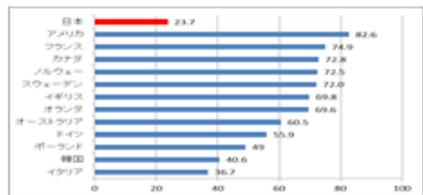
(出典)厚生労働省 地域保健・健康推進事業報告

1. 子宮がんと乳がん検診の受診率 秋田県 (%)



目標は
50%
受診率
22.3%
と低い

2. 各国の子宮頸がん検診受診率 (%)



欧州では性感染症の有無に関わらず、かかりつけの産婦人科医に行く習慣がある

欧州では、回答者の約6割が16歳までに、約2割は15歳以前に診察を受けていた。

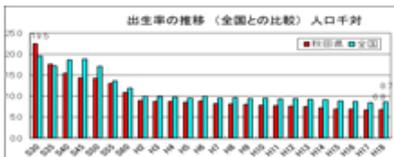
OECD加盟国の子宮頸がん検診受診率(2007年10月発表)

10

情報7 子宮がん検診を受けて、将来は
安心して子どもを産んでよう！

■秋田県の出生率

- H22年の出生数は6,688人で、H21年の7,013人より325人減少した。
- 出生率(人口千対)は6.2で、H21年の6.4より、0.2ポイント減少し、全国では最下位であった。(全国平均 8.5 全国順位47位)
- 合計特殊出生率は、1.31(全国平均1.39 全国順位41位)



■子宮頸がん検診受診率

- 2007年～5年間で、50%達成を目指している(国の指針)。
- 2年に1回の受診の意図：2年に1回でも、同様に死亡率減少効果が期待できる上に、できるだけ多くの人を受診できるように、受診の機会を確保することにした。

○日本の検診率は20%台だが、米国は80%超えている。

カナダ、フランスは70%台。

○特に、20歳代の若い人の検診受診率が低く、約70%が未受診。今後、受診の拡大を図る。

○欧米では、教育が国家レベルで徹底されている。

若い頃から、抵抗なくかかりつけの産婦人科医を受診している。

※レディーのたしなみ という感覚

○20～30歳代の若い世代の女性は、2年に1回の検診が望ましい

○早期にがんを発見できれば、子宮を失うことなく、ほぼ100%の11 治療が期待でき、妊娠や出産にも影響はない。

情報8 がん情報に関するホームページ

● がん情報サービス ganjoho.jp

国立がん研究センター がん対策情報センター

★是非、見てください

平成21年度 第2回市民向けがん情報講演会

『女子大生が学ぶ『子宮頸がん』にならないためのこと』『がんの予防についてできること』

がん征圧 Campaign ～子宮頸がん征圧イベント2009

～愛する人と向き合う未来 内 講義

平成21年11月14日(土) 明治大学和泉キャンパス

第2校舎6番教室にて開催

『当日のビデオ映像』はこちらから [をクリックしてください。](http://ganjoho.jp/public/event/20091114d.html)

<http://ganjoho.jp/public/event/20091114d.html>

● LOVE49

みんな子宮から生まれてきた <http://www.love49.org/>

● 秋田県健康推進課 がん対策推進室

美の国あきたホーム>組織別案内>健康福祉部>

健康推進課がん対策室

本日は、お忙しいところご協力をいただきまして
ありがとうございました

秋田県健康環境センター保健衛生部

健康科学・管理班 tel 832-5005

12

感染症対策事業

麻疹・風疹及び疑い例からの発疹性ウイルスの検出について

安部真理子 齋藤博之 佐藤寛子 柴田ちひろ 村山力則

2012年は日本を含むWHO西太平洋地域における麻疹排除目標年であった。そして、風疹では2015年までに100万対10例以下を制御目標としており、先天性風疹症候群(CRS)発生の予防を100万出生当たり10例以下の達成を提言している。近年、麻疹の発生数は非常に少なくなってきているが、風疹については2013年第1週から第26週までの全国の累積届出数が11,991名であり、2012年と比較して5倍多くなっておりCRSの届出数は7名となっている。秋田県では2012年から麻疹・風疹疑い例について行政対応を行っており、保健所で患者の疫学調査を行い、当センターにおいてウイルス検査を実施している。2012年4月から2013年6月までの麻疹・風疹疑い例において、風疹ウイルスが1名から検出された。検出された風疹ウイルスの遺伝子型はIE型であった。それ以外の麻疹・風疹疑い例では他の発疹性ウイルスが多く検出され、HHV6、HHV7が咽頭拭い液と尿から検出された。

1. はじめに

平成24年12月14日付けで厚生労働省から麻疹に関する特定感染症予防指針の一部改正が各都道府県に通知された¹⁾。改正された指針では、平成27年度までに麻疹の排除を達成し、WHOに要求されている麻疹排除の状態を維持することが目標となっており、現在では、それに近づきつつある。

一方、風疹は2013年6月現在の累積届出数が昨年の5倍となっている²⁾。風疹の流行にともなって、妊婦が妊娠初期に感染することで胎児に感染を起こすCRSの発生は避けなければならない³⁾。近年のCRS報告数は2004年が10名と最多であったが、その後2012年2013年と風疹が全国的に流行した結果2013年の全国の報告数は6月現在で7名となっている。

また、改正された上記指針の中で、届出・検査・相談体制の充実が記載されており、「医師による麻疹の届出にあたっては、可能な限り診断後24時間以内に臨床診断としての届出、血清IgM抗体検査等の血清抗体価の測定の実施及びウイルス遺伝子検査用の検体の提出を求め、麻疹ではないと判断された場合には、届出の変更や取下げを求めることとする。」としている。

また、麻疹・風疹ウイルスが検出されない場合のその他の発疹性ウイルスの検査の実施について明確な通知はないが、真の麻疹、風疹の鑑別診断及び届出の補助的検査として求められることが多いため、当センターでは独自に検査を実施し

ている。今回は2012年4月から2013年6月までに依頼された麻疹・風疹疑い例に対して実施したウイルス検査結果について報告する。

2. 方法

2.1 対象

2012年4月から2013年6月までに県内7保健所から麻疹疑いとして受付した11例、風疹疑いとして受付した8例を対象とした。

2.2 材料

1例につき、咽頭拭い液、血液、尿の3検体を原則とした。1例が咽頭拭い液と血液の2検体のみ、1例が回復期血清を加えた4検体である。

2.3 検査方法

上記検体からRNAを抽出し、麻疹及び風疹については病原体検出マニュアル^{4,5)}によるRT-nested PCR法で行った。その他の発疹性ウイルスについては下記のウイルスを対象として、リアルタイムPCR法により検査を行った⁶⁾。

- ・ Human Herpesvirus 6 (HHV6)
- ・ Human Herpesvirus 7 (HHV7)
- ・ ヒトパルボウイルス B19
- ・ Epstein Barr virus (EBV)
- ・ Cytomegalovirus (CMV)
- ・ エンテロウイルス

ペア血清については富士レジオ社の「セロダイア-麻疹」を使用したゼラチン粒子凝集反応(PA)法による検査を実施した。

3. 検体情報及び検査結果

3.1 麻疹疑い例における検体情報

麻疹疑い例における検体情報を表 1-1 に示した。2012 年の検査受付例数は 7 例で、月別では 5 月、6 月が各 1 例、7 月、8 月が各 2 例、9 月が 1 例であった。2013 年は 4 例で 1 月、3 月が各 1 例、5 月が 2 例であった。患者の年齢は、1 歳 1 ヶ月から 49 歳であった。性別は、男性 7 例、

女性 4 例であった。管轄保健所は、北秋田保健所 1 例、秋田中央保健所 2 例、秋田市保健所 1 例、大仙保健所 3 例、由利本荘保健所 2 例、横手保健所 2 例であった。11 例のうち臨床症状において、麻疹特有のコプリック斑が見られた事例はなかった。6 例については、ワクチン歴があり、1 例はなし、不明は 4 例だった。

表 1-1 麻疹疑い例における検体情報

No.	依頼年月	年齢(歳)	性別	保健所名	症 状	ワクチン歴
1	2012 年 5 月	1.1	男	大仙	発熱, 咳, 湿疹, 嘔吐, 下痢	なし
2	2012 年 6 月	22	男	大仙	発熱, 結膜充血, 発疹, 倦怠感	不明
3	2012 年 7 月	35	男	由利本荘	発熱, 結膜充血, 発疹	あり(回数不明)
4	2012 年 7 月	1.4	女	大仙	発熱, 咳, 発疹	あり(1回)
5	2012 年 8 月	38	男	由利本荘	発熱, 発疹, 眼脂	あり(回数不明)
6	2012 年 8 月	28	女	秋田市	発熱, 鼻汁, 発疹	不明
7	2012 年 9 月	49	男	秋田中央	発熱, 咳, 発疹	不明
8	2013 年 1 月	9	女	横手	発熱, 発疹, 下痢, 目の充血	あり(2回)
9	2013 年 3 月	43	女	秋田中央	発疹, 口腔粘膜疹	不明
10	2013 年 5 月	17	男	北秋田	発熱, 発疹	あり(2回)
11	2013 年 5 月	21	男	横手	発熱, 発疹	あり(2回)

表 1-2 麻疹疑い例における検査結果

No.	麻疹ウイルス			その他のウイルス(風疹含む)			麻疹抗体価 急性期/回復期	コマーシャルラボ(ELISA法) IgM / IgG ***
	血液	尿	咽頭	血液	尿	咽頭		
1	—	—	—	HHV6	HHV6/CMV	CMV		
2	—	—	—	—	—	—		
3	—	—	—	EBV	—	—		IgM (+)
4	—	—	—	—	HHV6	—		IgM (+)
5	—	—	—	—	—	—	1:512 / 1:512	
6	—	—	—	—	—	—		
7	—	—	—	HHV7	HHV6/HHV7	HHV7		
8	—	NT**	—	HHV6	NT	—		
9	—	—	—	—	—	—		IgM (+) IgG (+)
10	—	—	—	—	—	—		
11	—	—	—	—	—	HHV7		

* NT: 検体なし

*** (+): 基準値以上

3.2 麻疹疑い例における検査結果

麻疹疑い例における検査結果を表 1-2 に示した。依頼された 11 例すべてにおいて麻疹ウイルスは検出されなかった。その他の発疹性ウイルスでは、HHV6 が検出された例数が 4 例、HHV7 が 2 例、CMV、EBV が各 1 例であった。検体種類別では、血液において HHV6 は 2 検体、HHV7 は 1 検体、EBV は 1 検体、合計 4 検体から検出された。咽頭拭い液においては、CMV は 1 検体、HHV7 は 2 検体、合計 3 検体から検出された。尿においては、HHV6 が 3 検体、CMV が 1 検体、HHV7 は 1 検体、合計 5 検体から検出された。事例 5 については、麻疹及びその他の発疹ウイルスも検出されず、追試験としてペ

ア血清による麻疹抗体価の測定を実施したが、急性期、回復期共に 512 倍で抗体価の有意上昇は確認されなかった。なお、依頼された 11 例のうち 3 例はコマーシャルラボによる検査結果において麻疹 IgM と麻疹 IgG が陽性となっていた。

3.3 風疹疑い例における検体情報

風疹疑い例における検体情報を表 2-1 に示した。検査受付例数は 2012 年 3 月が 1 例、2013 年 4 月が 2 例、5 月が 5 例だった。患者年齢は 5 歳から 54 歳であった。性別は、男性 6 例、女性 2 例であった。管轄保健所は、大館保健所 2 例、由利本荘保健所 1 例、大仙保健所 1 例、横手保健所 4 例であった。臨床症状をみると、発熱、発疹、リ

表 2-1 風疹疑い例における検体情報

No.	依頼年月	年齢(歳)	性別	保健所名	症状	ワクチン歴
1	2013年3月	15	男	大仙	不明	不明
2	2013年4月	5	男	横手	発疹	あり(回数不明)
3	2013年4月	15	男	横手	発疹、咳、のどの腫れ、微熱	あり(2回)
4	2013年5月	27	女	大館	発熱、発疹	なし
5	2013年5月	54	男	大館	発熱、発疹、咳、鼻汁	なし
6	2013年5月	52	女	横手	発疹、発熱、リンパ節腫腫	不明
7	2013年5月	22	男	由利本荘	上肢発疹、充血、頸部リンパ節腫	あり(1回)
8	2013年5月	21	男	横手	発熱、発疹	あり(2回)

表 2-2 風疹疑い例における検査結果

No.	風疹ウイルス			その他のウイルス(麻疹含む)			コマーシャルラボ(ELISA法) IgM / IgG *
	血液	尿	咽頭	血液	尿	咽頭	
1	—	—	—	—	—	HHV6/HHV7	
2	—	—	—	—	—	EBV	
3	—	—	—	—	—	HHV7	IgM(+)
4	—	—	—	—	—	HHV7	
5	—	—	—	—	—	—	
6	—	—	—	—	HHV6	—	
7	+	+	+	—	—	HHV7	
8	—	—	—	—	—	HHV7	

* (+) : 基準値以上

ンパ節腫脹の典型的な症状を示していた事例は 2 例であった。また、ワクチン歴ありは 4 例、なしが 2 例、不明が 2 例であった。

3.4 風疹疑い例における検査結果

風疹疑い例における検査結果を表 2-2 に示した。風疹ウイルスが検出された事例は No.7 のみであった。その他のウイルスが検出された事例では、2 例が HHV6、5 例が HHV7、1 例が EBV であった。検体種類別では、咽頭拭い液において HHV6 が 1 検体、HHV7 が 5 検体、合計 6 検体から検出された。事例 8 例のうち 1 例はコマーシャルラボによる検査で風疹 IgM が陽性であった。

3.5 風疹ウイルス検出例における遺伝子型

検出された事例 7 の風疹ウイルスの遺伝子配列を Blast 検索した結果、R/Vi/kagawa.JPN/25.12 [1E] (AB789704) とホモロジーが 99% 一致した。

4. 考察

全国的に麻疹は排除目標を達成しつつあるが、風疹は 2013 年 6 月末現在の累積届出数が 2012 年度と比較して 5 倍になっており、それにとまなう CRS の報告数も増加傾向にある。現行の風疹患者の届出基準では、臨床診断のみで届出が可能であり、検査診断も加えるかは医師の判断に委ねられている。風疹では総報告数の 20%~30% が臨床診断のみでの届出となっている⁷⁾。

本県においては、風疹の届出は 2012 年 4 月から 2013 年 6 月末まで 4 例あったが、当センターに検査依頼された事例は 2 例のみで、1 例から風疹ウイルスが検出された(事例 7)。他の 2 例については臨床診断及びコマーシャルラボの検査結果による届出であった。幸いにも、この間に本県において CRS の報告はない。当センターへの麻疹・風疹疑い例の依頼時期は、麻疹は春季から夏季であり、風疹では全例が春季であった。また、患者の年齢は、麻疹、風疹ともに乳幼児から学生、成人までの幅広い年齢層であった。男女比で麻疹は男性 7 例、女性 4 例であった。風疹は、男性 6 例、女性 2 例であった。管轄保健所別では、特定の保健所による偏りはみられなかった。また、臨床症状では、麻疹疑い例で麻疹特有の症状を示した事例はなく、風疹疑い例のうち、風疹の典型的症状を示した事例が 2 例あったが、このうち風疹

ウイルスが検出されたのは 1 例であった。ワクチン歴をみると、麻疹・風疹ワクチン歴がある例が、ワクチン歴なし及び不明を上回っていた。

ウイルス検査については、2012 年 4 月~2013 年 6 月の間に発生した麻疹疑い例 11 例 32 検体から麻疹ウイルスは検出されず、風疹疑い 8 例 24 検体から風疹ウイルスが検出されたのは 1 例 3 検体であった。風疹ウイルスの遺伝子型は、中国、東南アジアで多く検出されている型である 1E 型であった。日本を含む環太平洋地域 29 の国のうち、5ヶ国(カンボジア、パプアニューギニア、ソロモン諸島、バヌアツ、ベトナム)では風疹含有ワクチンが導入されておらず、このうち、ベトナムでは 2011 年に非常に大きな風疹の流行があった⁸⁾。日本での風疹の流行の始まりはこのベトナム等の流行地域で感染した人が国内にウイルスを持ち込んだことによるとみられている。現在日本国内で流行している遺伝子型と同じく遺伝子型 2B、1E 型が主流である。

今回当センターで風疹ウイルスが検出された事例は保健所の調査によると、患者の行動範囲が広がったことから二次感染が危惧されたが新たな感染者の報告はなかった。また、この患者の咽頭拭い液から HHV7 も検出されたが、免疫力が低下している患者では HHV6 や HHV7 等のヘルペスウイルスが咽頭や血中から検出されることは稀ではない⁹⁾。この事例においても同様に HHV7 は風疹感染を起因とする免疫力低下による一過性の出現であると考えられた。この他の事例でも HHV6 や HHV7 の検出数が麻疹では 5/11 例(45.5%)、風疹では 6/8 例(75.0%)と多数であった。検体種類別では、咽頭拭い液及び尿からの検出が多かった。麻疹、風疹疑い例の多くはヘルペスウイルスの再活性による発疹と思われた。

平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金事業の「麻疹流行の全国実態調査に関する研究」の報告では、WHO が示す麻疹の診断基準においても検査により麻疹以外の発疹性疾患が確認できれば麻疹を否定することが可能であるとされているが、各地方衛生研究所のアンケート結果では、その他の発疹性ウイルスの検査結果の評価については異論があった。それは、HHV6、7 又はパルボウイルス B19 が検出されたとしても、これらのウイルスは感染後の回復期にも体内に残存している期間が長いため、病原体診断としてのその

他の発疹性ウイルス検査の有用性には疑問が残るとの意見であった¹⁰⁾。しかし、当センターは、麻疹、風疹ウイルスが不検出である場合、発疹の要因を究明するため、他の発疹性ウイルスの検査も実施している。こうした検査対応から様々な発疹性ウイルスが検出されたが、今後は得られた検査データの解釈、意義を明確にし、行政検査へ反映する必要があると思われた。

5. まとめ

1. 麻疹及び麻疹疑い例において麻疹ウイルスは検出されなかった。
2. 風疹及び風疹疑い例 1 例から風疹ウイルスが検出された。
3. 検出された風疹ウイルスの遺伝子型は 1E 型であった。
4. 麻疹及び風疹疑い例からのその他の発疹性ウイルスの HHV6, 7 が咽頭拭い液と尿から多く検出された。
5. 発疹性ウイルスの検出に際しては、解釈や意義についての明確な指針が望ましい。

参考文献

- 1) 麻疹に関する特定感染症予防指針の一部改正について：厚生労働省健康局結核感染症課長，健感発 1214 第 2 号，平成 24 年 12 月 14 日.
- 2) IDWR:感染症発生動向調査(2013)
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/rubella-m-111/700-idsdsc/2131-rubella-dokohtml>
- 3) 中島節子：子に及ぼす母の感染知っておきたい各疾患の現状風疹 1，臨床と微生物，30，2，2003，141-143.
- 4) 麻疹診断マニュアル（第 2 版）平成 20 年 7 月.
- 5) 病原体検出マニュアル風疹 第二版 2013.3.1.

6) 参考出典

(HHV-6, EB ウイルス, サイトメガロウイルスのリアルタイム PCR)

Wada K, et al. : Simultaneous quantification of Epstein-Barr virus, Cytomegalovirus, and Human Herpesvirus 6 DNA in samples from transplant recipients by multiplex real-time PCR assay. J. Clin. Microbiol., **45**, 2007, 1426-1432

(HHV-7 のリアルタイム PCR)

Lisco A, et al. : Viral interactions in human lymphoid tissue: Human Herpesvirus 7 suppresses the replication of CCR5-tropic Human Immunodeficiency virus type 1 via CD4 modulation. J. Virol., **81**, 2007, 708-717.

(パルボウイルス B19 型のリアルタイム PCR)

Salimas M M M, et al. : Rapid detection of human parvovirus B19 DNA by dot-hybridization and the polymerase chain reaction. J. Virol. Methods, **23**, 1989, 19-28.

(エンテロウイルスのリアルタイム PCR)

Nijhuis M, et al. : Rapid and sensitive routine detection of all members of the genus enterovirus in different clinical specimens by real-time PCR. J. Clin. Microbiol., **40**, 2002, 3666-3670.

7) IDWR:感染症発生動向調査(2013)

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/rubella-m-111/700-idsdsc/3725--rubella-crs-20130710html>

- 8) 樋泉道子他：ベトナム・カンボジア省で多発した先天性風疹症候群の臨床疫学的特徴，病原微生物検出情報月報，**34**，4，2013，6-7.
- 9) 渡邊美樹他：茨城県における麻疹の検査診断，病原微生物検出情報月報，**34**，2，2013，14-16
- 10) 小澤邦壽，調恒明：第 2 回麻疹診断体制に関するアンケート集計結果，平成 23 年度厚生労働科学研究費補助金，2012，3

厚生労働科学研究費補助金「食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究」（平成 22～24 年度）

自家調製したパンソルビン相当品による 食品中のノロウイルス検出法の検討

齋藤博之 東方美保*¹ 岡智一郎*² 片山和彦*² 田中智之*³ 野田 衛*⁴

これまでの研究において、ガンマグロブリン製剤を用いたパンソルビン・トラップ法の汎用プロトコルが完成し、ノロウイルスでは 13 遺伝子型 (GI/3, GI/4, GI/8, GI/9, GI/14, GII/2, GII/3, GII/4, GII/5, GII/6, GII/12, GII/13, GII/18), サポウイルスでは 4 種類全ての型, 他に A 型肝炎とアデノウイルス 41 型において有効であることを確認した (当センター年報第 7 号参照)。これにより、ガンマグロブリン製剤を常用試薬として準備しておくことで、食品中の下痢症ウイルス検査が一通り可能となった。一方で、本法の根幹を成す試薬であるパンソルビンが品薄・在庫切れで入手困難となる局面にしばしば遭遇したことから、その対応が必要となった。本研究では、パンソルビンの原材料である黄色ブドウ球菌を培養して相当品を自家調製するプロトコルを構築した。その結果、市販品と同等以上の品質のものが得られ、コスト面でも大幅に有利となった。

1. はじめに

ウイルス性食中毒の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^{1,2)}。しかしながら、原因として疑われる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。原因物質としてはノロウイルス (NoV) が大部分を占めているが、他にもサポウイルス (SaV) やアデノウイルス 41 型 (Ad41) に代表される腸管系アデノウイルスも含まれている。更に、2010 年 3 月に我が国における A 型肝炎 (HAV) 感染者の報告が急増するなど、食品中のウイルスを検出する方法の確立は急務となっている³⁾。平成 19～21 年度に実施された厚生労働科学研究費補助金「食品中のウイルスの制御に関する研究」において、固形、液状、練り物、油物などの一般的な食品から NoV を検出する手法としてパンソルビン・トラップ法 (パントラ法) を開発し、この問題を解決するための糸口を見出すことができた⁴⁻¹³⁾。その際に各種ウイルスに対する抗体の安定供給が課題となっていたが、平成 22 年度の本研究事業において、市販のガンマグロブリン製剤を利用することで汎用化に成功した¹⁴⁻¹⁸⁾。これまで NoV では 13 遺伝子型 (GI/3,

GI/4, GI/8, GI/9, GI/14, GII/2, GII/3, GII/4, GII/5, GII/6, GII/12, GII/13, GII/18), SaV でヒトに感染する 4 種類全ての型, さらには HAV と AdV41 について、ガンマグロブリン製剤を用いたパントラ法が有効であることが確認されている。パントラ法の汎用プロトコルが完成したことから、実事例への適用も可能となったが、本法の根幹を成す試薬であるパンソルビン (ホルマリン固定された黄色ブドウ球菌) が品薄・在庫切れで入手困難となる局面にしばしば遭遇した。そこで、本研究では原材料の黄色ブドウ球菌を培養して市販試薬の相当品を自家調製し、実用性について検討した。

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きそばを用いた。また、検出対象となるウイルスとして、NoV-GII/4 (AB293424) を含む糞便を用いた。

2.2.2 ヒトプール血清

Kojin Bio 社より購入した。

2.2.3 ガンマグロブリン (化血研)

15%筋注用医薬品を Alfresa Pharma 社より購入した。

*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

2.2.4 ガンマグロブリン（日本製薬）

15%筋注用医薬品を Alfresa Pharma 社より購入した。

2.2.5 Bharglob

インド Bharat Serum and Vaccine Limited 社の10%筋注用ガンマグロブリン製剤（血液ソースは米国）。Advya Chemical 社より購入した。

2.2.6 Gammagard

米国 Baxter 社の5%静注用ガンマグロブリン製剤。Alfresa Pharma 社より購入した。

2.2.7 食品洗滌液

Tris-HCl (pH8.4) - 0.5M NaCl - 0.1% Tween20

2.2.8 パンソルビン

黄色ブドウ球菌を熱処理してホルマリン固定したものの懸濁液で、メルク社から購入した。

2.2.9 フェノール系 RNA 抽出キット

TRIzol-LS (invitrogen)を使用した。

2.2.10 カラム方式の RNA 抽出キット

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

2.2.11 再懸濁液

2.2.12 の抽出キット添付の AVL 液を用いた。

2.2.12 逆転写反応エンハンサー

RTmate (ニッポンジーン) を使用した。

2.2.13 DNase I (RT Grade) 及び RNase inhibitor

ニッポンジーンの製品を使用した。

2.2.14 アミラーゼ

前処理用：枯草菌由来 α -Amylase 粉末（和光純薬）を使用した。

後処理用： α -Amylase Ultrapure（ニッポンジーン）を使用した。

2.2.15 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。

2.2.16 黄色ブドウ球菌（Cowan I 株）

理化学研究所バイオリソースセンターより提供を受けた（JCM No.: 2179）。

2.2.17 抗生物質培地 3

ベクトンディッキンソン社（カタログ番号 224320）より購入した。

2.2.18 Bacto Casitone

ベクトンディッキンソン社（カタログ番号 225930）より購入した。

2.2.19 Bacto Yeast Extract

ベクトンディッキンソン社（カタログ番号 212750）より購入した。

2.2.20 β -Glycerophosphate

メルク社（カタログ番号 35675-50GM）より購入した。

2.2.21 Nicotinic Acid

メルク社（カタログ番号 481918-100GM）より購入した。

2.2.22 Nicotinamide

メルク社（カタログ番号 481907）より購入した。

2.2.23 Thiamine Hydrochloride

メルク社（カタログ番号 5871）より購入した。

2.3 パンソルビン相当品の自家調製プロトコル

Kessler の方法²⁰⁾を参照したが、現在では入手不可能な試薬については代替品を用いた。

2.3.1 培地

「抗生物質培地 3」 52.5 g, 「Bacto Casitone」 15 g, 「Bacto Yeast Extract」 7.5 g, 「 β -glycerophosphate」 7.5 g を蒸留水 3 L に溶解し、121°C で 15 分間高圧滅菌した後冷却した。別に「Nicotinic Acid」 0.1 g, 「Nicotinamide」 0.1 g, 「Thiamine Hydrochloride」 0.2 g を蒸留水 100 mL に溶解して、シリンジフィルターにて濾過滅菌したものを 3 mL, 上記の培地 3 L に添加した。

2.3.2 前培養

2.3.1 で調製した培地 5 mL を試験管に入れ、黄色ブドウ球菌 Cowan I 株を接種したものを 2 本、37°C で一晩震盪培養した。

2.3.3 本培養

三角フラスコに培地を 1 L 入れ、そこに前培養液 5 mL を加えたものを 2 本（合計 2 L）調製し、37°C フラン室内にてマグネティックスターラーで攪拌しながら 48 時間培養した。

2.3.4 黄色ブドウ球菌の菌体処理

図 1 に示した手順に従って、菌体の回収・ホルマリン固定・熱処理を行った。

2.4 パンソルビン・トラップ法の全体の手順

基本的な操作の流れを図 2 に示した。なお、ウイルスと抗体の反応性を確認するための試験（表 1）では、超音波処理と α -Amyrase 前処理は省略した。

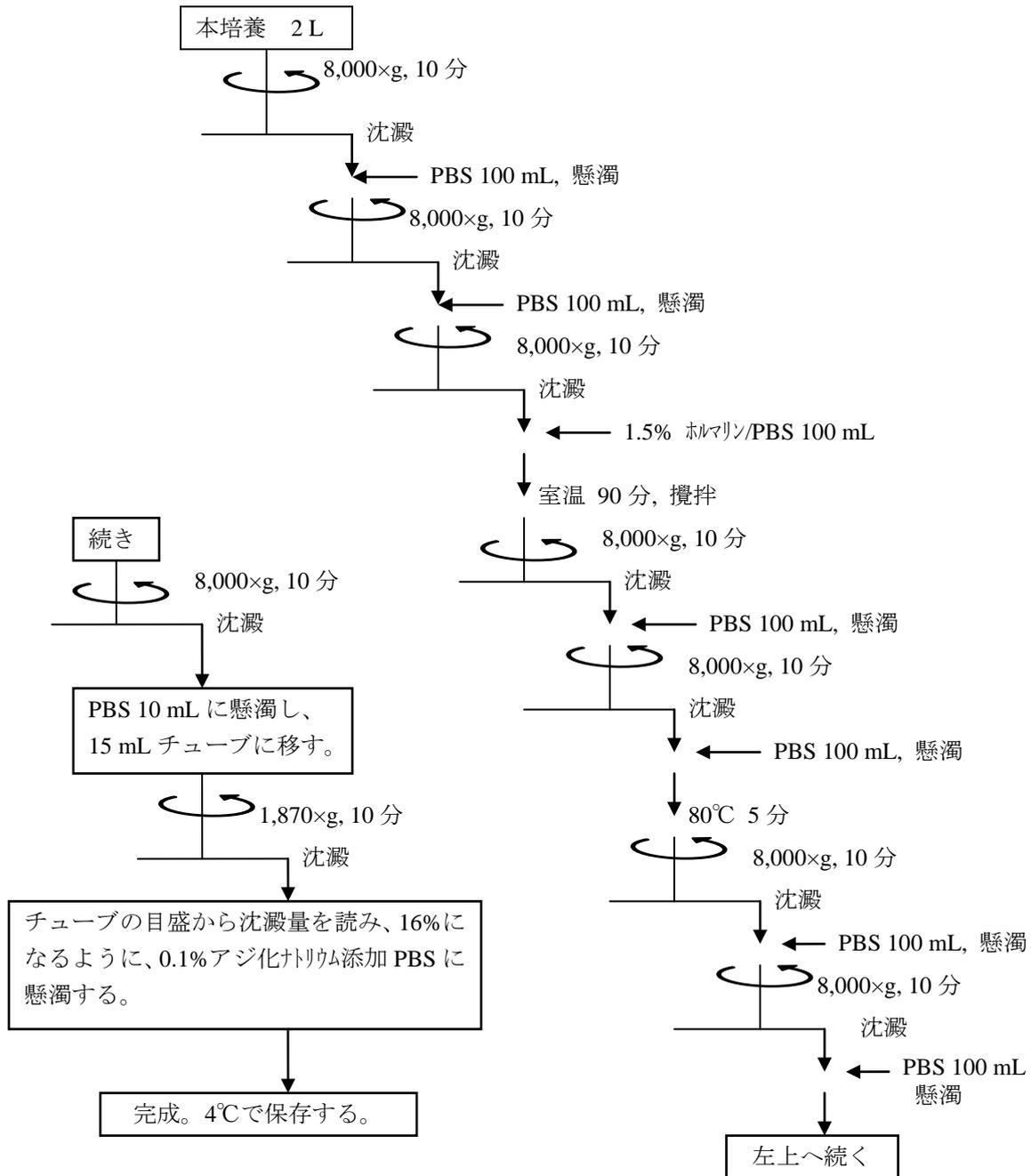


図1 パンソルビン相当品の自家調製手順

2.5 ウイルスの検出

図2で得られた抽出液(60 μL)から8.5 μLを取り、DNase I及びα-Amylase Ultrapureを各1 μL, RNase inhibitorを0.25 μL, 5×逆転写 buffer(添付)を4 μL加えた後、蒸留水で反応量を15.5 μL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、ウイルス特異的プライマー(後述のReal-time PCRと同一のもの)、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 μL)。合成したcDNA溶液を5 μL取り、Kageyamaらの方法²¹⁾によるReal-time PCRによりウイルスを検出した。使用した機器はロシュ製「LightCycler 350S」、及び「LightCycler 480」で反応容量は20 μLである。

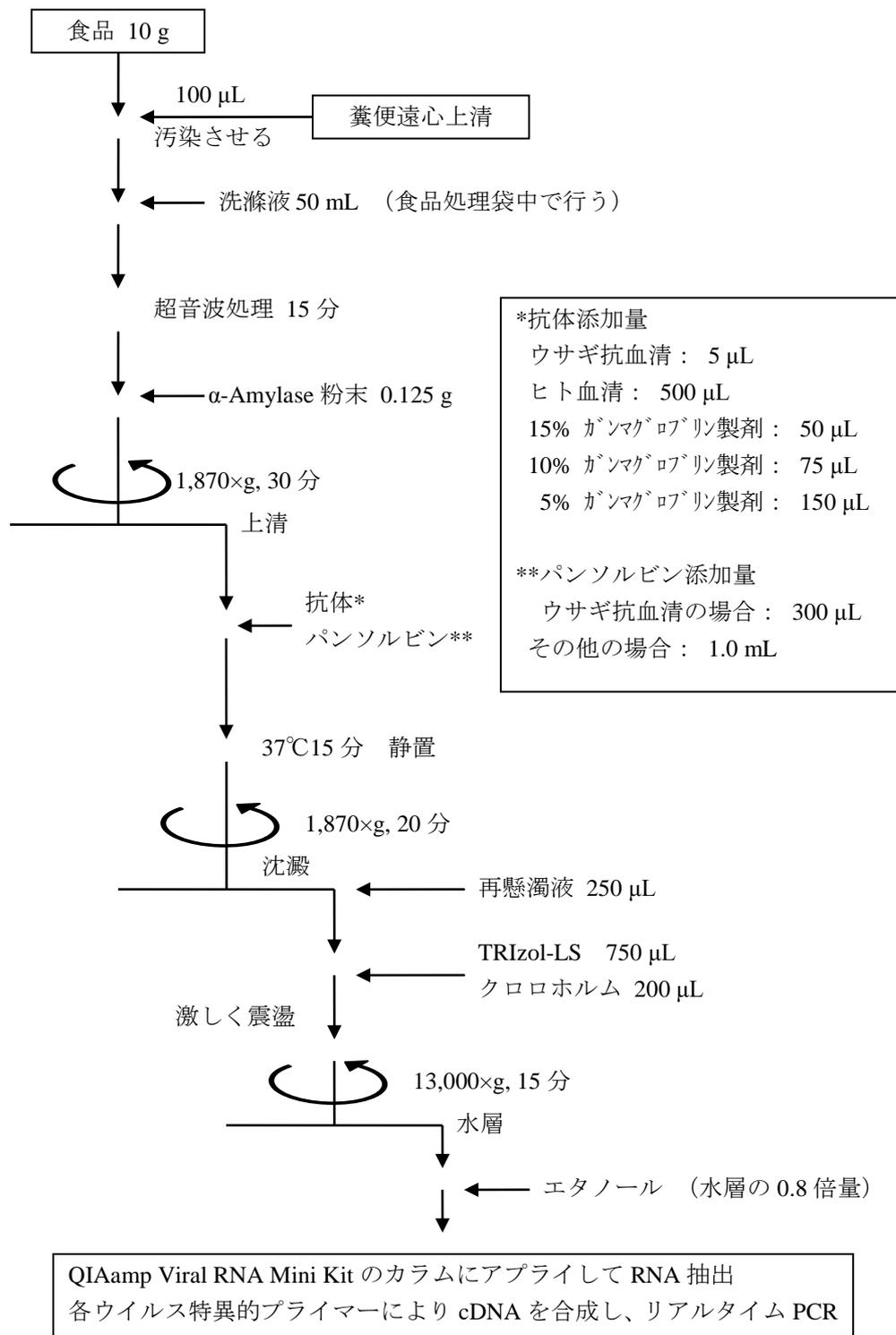


図 2 パンソルビン・トラップ法の操作手順

3. 結果

3.1 自家調製したパンソルビン相当品と市販品との比較

パントラ法の根幹を成すパンソルビンのメーカーはメルク社のみであるため、品薄や在庫切れによって入手困難となる局面にしばしば遭遇した。

また、将来的にメーカーの都合によって製造中止となるリスクも考慮しておく必要があった。そこで、黄色ブドウ球菌を培養してホルマリン固定と熱処理を加えることで相当品を自家調製するプロトコルについて検討した。基本的な手順は Kessler の文献²⁰⁾に記載があるが、現在では入手不可能な

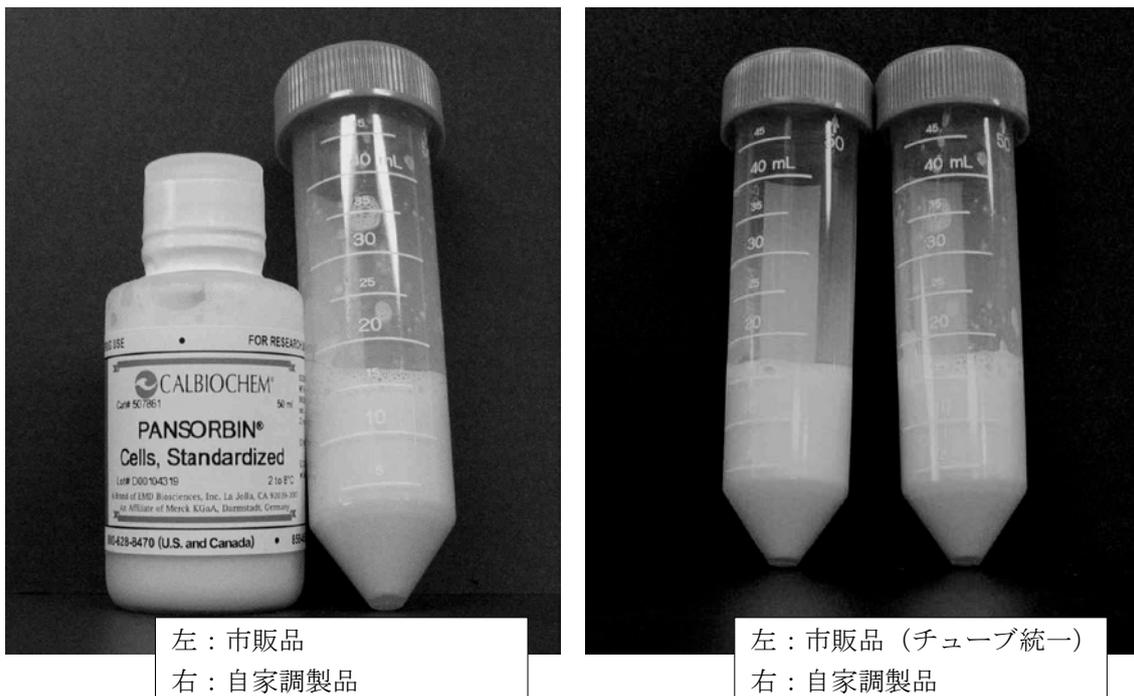


図3 パンソルビン市販品と自家調製品の外見比較

培地もあるため同等の成分となるように市販品を調査した。例えば、原法に記載のある「Penassay Broth」は入手不可能であることから、「抗生物質培地 3」（耐性試験の基礎培地）で代用した。図1に示したプロトコルに従ってパンソルビン相当品を自作したところ、図3に示すとおり市販品と外見上は同一のものを得ることができた。この自家調製品を用いて 2.51×10^6 コピーの NoV を含む洗滌液 50 mL からの回収試験を行ったところ、ウサギ抗血清、ヒトプール血清、各種ガンマグロブリン製剤のいずれを添加した場合でも、市販品と同等以上の回収率が得られた（表1）。また、2Lの培養スケール

におけるパンソルビン相当品の収量は約 20 mL（20 検体分）であった。

3.2 自家調製したパンソルビン相当品を用いた食品からの NoV の回収

NoV で汚染させたポテトサラダと焼きそばから、自家調製したパンソルビン相当品を用いてウイルス検出を試みた結果を図4Aと図4Bに示した。ポテトサラダにおける回収率はウサギ抗血清を添加した場合で、55.2%、Gammagard を添加した場合で 22.9%であった。同様に焼きそばにおける回収率は、それぞれ 71.7%と 31.8%であった。

表1 パンソルビン市販品と自家調製品を用いた場合の回収率の比較

添加抗体	ウイルスの回収率		
	市販品 (%)	自家調製品 (%)	相対比 (自家調製品/市販品)
ウサギ抗血清	56	94	1.7
ヒトプール血清	12	40	3.3
ガンマグロブリン「化血研」	16	39	2.4
ガンマグロブリン「日本製薬」	19	41	2.2
Bharglob (BSV Ltd.)	17	43	2.5
Gammagard (Baxter)	19	57	3.1

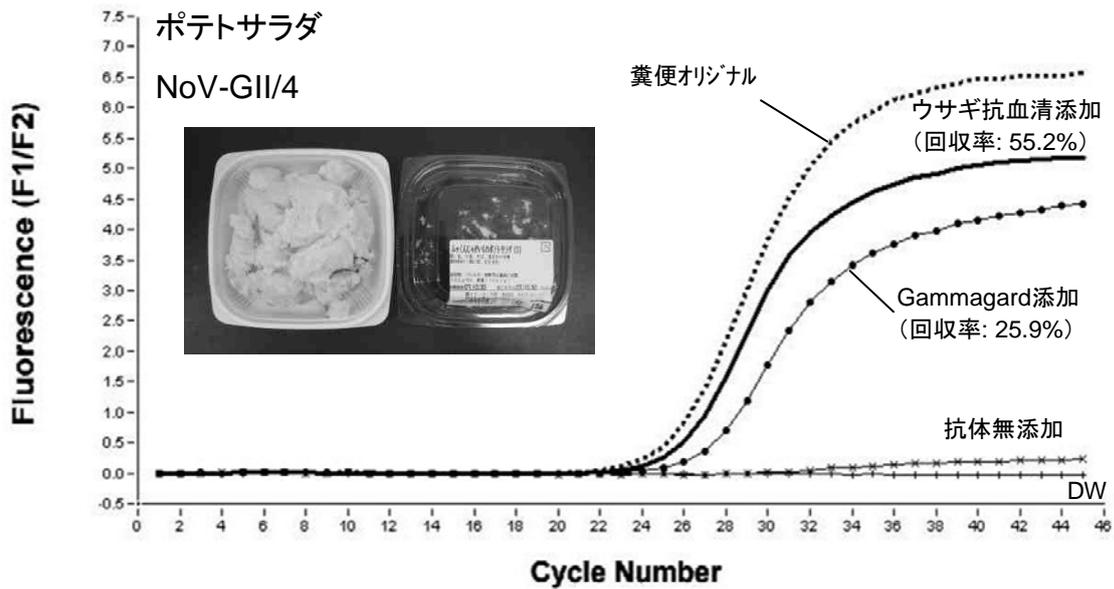


図 4A 自家調製したパンソルビン相当品を用いたポテトサラダからの NoV 回収

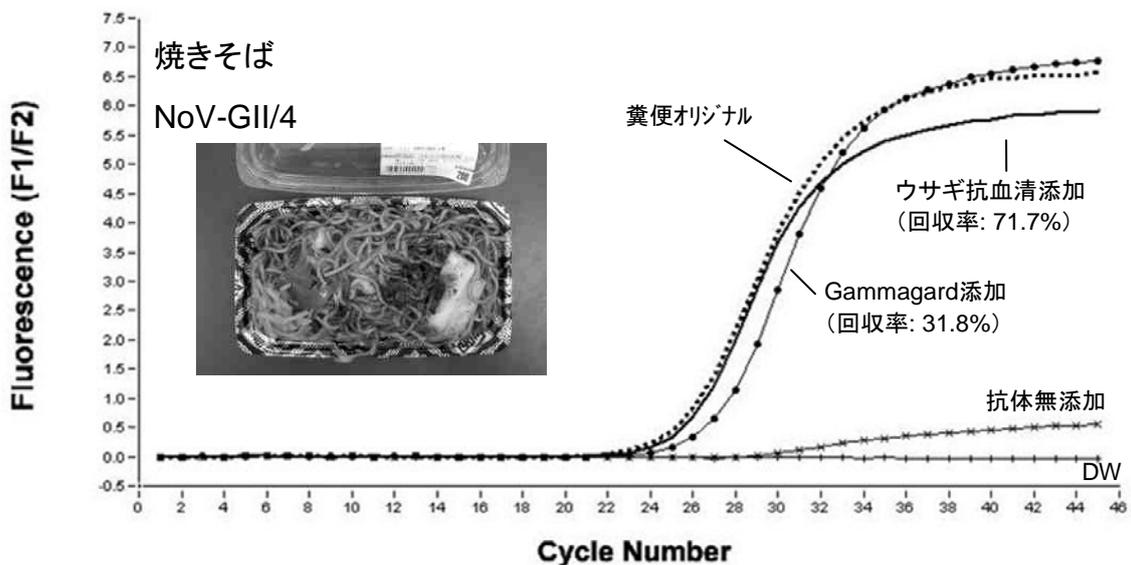


図 4B 自家調製したパンソルビン相当品を用いた焼きそばからの NoV 回収

4. 考察

本研究事業を進める過程において、パンソルビンが品薄・在庫切れの理由によって入手困難となる局面にしばしば遭遇した。また、この試薬はメルク社 1 社でのみ製造・販売されているため、将来的にメーカーの都合で製造中止となる可能性も否定できず、あらかじめ対応策を準備しておく必要があった。そこで、黄色ブドウ球菌を培養して菌体を回収し、ホルマリン固定と熱処理を加えて

相当品を自家調製するプロトコルについて検討した。黄色ブドウ球菌は株によって、プロテイン A を産生しないか、含有量の非常に少ないものも存在するため、プロテイン A の生産用として確立している Cowan I 株を用いた。図 1 に示すプロトコルにてパンソルビン相当品を自家調製したところ、外見上、市販品と全く同一のものを得ることができた (図 3)。また、表 1 に示したとおり、パントラ法に使用した場合の回収率は市販品と同等以上

であることが証明された。実際の食品検体を用いた回収試験では、ウサギ抗血清と Gammagard とともに良好な増幅曲線が認められた (図 4A, 図 4B)。回収率の数値としてはウサギ抗血清を添加したものの方が高いが、ガンマグロブリン製剤の汎用性はそれを上回るメリットを有していることはすでに確認されている¹⁴⁻¹⁸⁾。また、防腐剤であるアジ化ナトリウム存在下で1年間は保存可能であるため、時間的余裕のある時季(流行期外)に大量に調整しておくことで、在庫切れ等の問題に対応することができると考えられる。さらに、市販品のパンソルビンを用いると食品1検体あたり約1,500円が必要であるが、自家調製することで数十円にまでコストを圧縮することができるため費用対効果の面でも有利である。また、実際の事例に適用する場合に備えて食品衛生検査指針への収載が予定されている。

5. まとめ

パントラ法の根幹となる試薬であるパンソルビンの品薄・在庫切れ・将来的な製造中止のリスクに対応するため、各試験研究機関で相当品を自家調製するプロトコルを構築した。自家調製された相当品をパントラ法に用いたところ、市販品と同等以上の回収率が得られ、十分に実用に耐えるものと考えられた。また、市販品では一検体当たり1,500円のコストを要していたが、自家調製することで数十円まで圧縮できることから経費節減に役立つものと考えられた。

参考文献

- 1) 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
- 2) 丸山務 (監修) : 改訂 ノロウイルス現場対策, 2007, 35-36
- 3) 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
- 4) 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
- 5) 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
- 6) 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
- 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(第1報), 福井県衛生環境研究センター年報, 7, 2008, 69-72
- 8) 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
- 9) 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
- 10) 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・トラップ法の実用性向上に関する研究, 秋田県健康環境センター年報, 5, 2009, 54-62
- 11) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築 (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21年度 総括・分担研究報告書, 2010, 45-60
- 12) 東方美保, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築 (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21年度 総括・分担研究報告書, 2010, 187-197
- 13) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品中のノロウイルス検査法の構築, 秋田

- 県健康環境センター年報, **6**, 2010, 59-69
- 14) 斎藤博之, 他: 食品検体の病原ウイルス検出を可能にした汎用型パンソルビン・トラップ法の開発, 秋田県健康環境センター年報, **7**, 2011, 43-53
 - 15) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, **32**, No.12, 2011, 4-5.
 - 16) 斎藤博之, 他: 食品中のウイルス検査に向けてのパンソルビントラップ法の汎用化, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成 22 年度 総括・分担研究報告書, 2011, 45-57
 - 17) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法の実用上の問題点解決に向けた検討, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成 23 年度 総括・分担研究報告書 2012, 43-60
 - 18) 斎藤博之: 食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発, 日本食品微生物学会雑誌, **29**, No.1, 2012, 32-37.
 - 19) Hansman GS et al.: Genetic and antigenic diversity among noroviruses. *J. Gen. Virol.*, **87**, 2006, 909-919.
 - 20) Kessler, SW.: Rapid isolation of antigens from cells with a Staphylococcal protein A-antibody absorbent: parameters of the interaction of antibody-antigen complexes with protein A. *J. Immunol.*, **115**, 1975, 1617-1624.
 - 21) Kageyama T, et. al. : Broady reactive and highly sensitive assay for Norwalk-lile viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 2003, 1548-1577

廃水処理施設における 1,4-ジオキサン最適処理条件の検討（平成 23～24 年度）

1,4-ジオキサンを含む埋立処分場地下水等の 効率的な処理に関する検討

小林貴司 菅原 剛 小川千春 八柳 潤

埋立処分場跡地の地下水等に含まれる 1,4-ジオキサンを効率的に処理するための検討を行った。水に無制限に溶解し、難分解性である 1,4-ジオキサンは、一般的な廃水処理施設では、除去できないとされていたが、この埋立処分場跡地の廃水処理施設では、冬季を除き、効率よく処理されていた。除去されている工程は、好気条件での生物処理工程であり、1,4-ジオキサン分解菌が存在していると考えられた。より効率的に 1,4-ジオキサンを処理する対策として、高濃度地点と低濃度地点の地下水等を区別して処理施設へ流入させたこと、冬季も水温を維持できるように加温設備を整備したことにより、3 か所すべての水処理施設において、一年を通じて排水基準を満たす処理が可能となった。

1. はじめに

平成 21 年 11 月に公共用水域及び地下水の水質環境基準項目として、平成 24 年 5 月に排水基準項目として 1,4-ジオキサンが追加された^{1~3)}。1,4-ジオキサンは、環境中で難分解性であり、水にも溶剤にも無制限に溶解する⁴⁾ため、一般的な廃水処理施設では処理できない^{5,6)}とされていたが、県内の埋立処分場跡地の廃水処理施設において、一般的な処理工程にも関わらず効率よく 1,4-ジオキサンが処理されていることがわかってきた⁷⁾。

この埋立処分場跡地は、昭和 62 年頃からベンゼンやトリクロロエチレン等の VOC（揮発性有機化合物）による高濃度汚染が確認されていた敷地である。そのため県では、敷地を深さ 10～20 m の鉛直遮水壁で囲むことで汚染物質の場外への拡散を防止し、汚染地下水を汲み上げ 3 か所の水処理施設により処理することで汚染区域を浄化する対策を講じてきた。その結果、VOC については、地下水や敷地外への滲出水の汚染は徐々に改善されており、一定の成果を上げている状況であった。しかし、新たな規制物質である 1,4-ジオキサンについて汚染状況を調査したところ、地下水に 1～20 mg/L 程度含有していることが判明したため、浄化対策の見直しが必要となり、1,4-ジオキサンの適正な処理の実現を目指している。

本報では、この埋立処分場跡地からの 1,4-ジオキサン含有地下水等を適切に処理するため、県が講じた対策とその結果について報告する。

2. 方法

2.1 埋立処分場跡地水処理施設の概要と 1,4-ジオキサン対策としての取り組み

埋立処分場跡地の地下水及び滲出水は、場内 3 か所に設置されている水処理施設で浄化処理され、市の下水処理場へと排水される。3 か所の水処理施設 A, B, C それぞれの処理工程を図 1 に示す。3 つの施設で共通しているのは、VOC の除去を目的とした揮散による処理、沈殿処理、砂ろ過、活性炭吸着処理の工程である。異

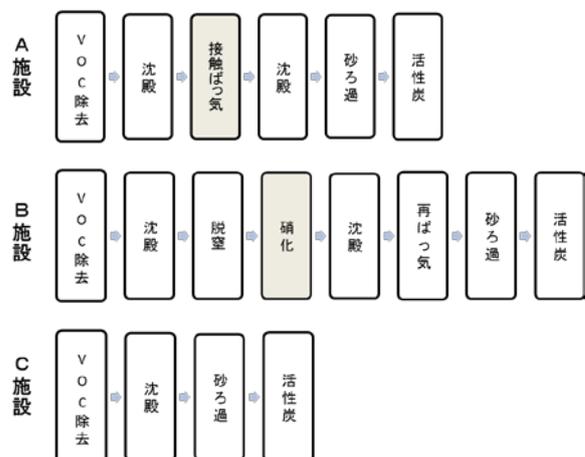


図 1 水処理施設の処理工程

なる工程は生物処理の工程であり，A（活性汚泥法），B（脱窒－硝化），C（生物処理無し）となっている。

1,4-ジオキサンを適切に処理するために県が現在までに講じた対策は，次の3つである。

- ① 1,4-ジオキサン高濃度地点と低濃度地点の地下水等を区別し，水処理施設への流入配管を変更
- ② B 施設の水温調節ヒーターを冬季に連続運転し，水温を調節
- ③ A 施設への水温調節ヒーター新設

これら3つの対策による処理状況の変化を確認するため，水処理施設への流入水及び処理水中の1,4-ジオキサン濃度を継続的に調査した。

2.2 場内の配管流路の変更

各水処理施設で1,4-ジオキサンの処理能力が大きく異なるため，敷地内の1,4-ジオキサン高濃度地点と低濃度地点の分布を整理し，高濃度地点の地下水等はB施設へ，低濃度地点の地下水等はC施設へ流入するように配管流路の変更を行った。

2.3 冬季の流入水加温による効果

A, B 施設では1,4-ジオキサンが処理されているが，水温が低下する冬季には，まったく処理できなくなる。そこで，B 施設の水温調節ヒーターを作動し水温を上げ，処理能力の変化を確認した。

2.4 各処理工程での1,4-ジオキサン濃度の調査

1,4-ジオキサンが処理されているA, B 施設内での濃度推移を把握するために，各処理工程毎の1,4-ジオキサン濃度を調査した。調査は，平成22年10月と平成23年1月に行った。調査時の流入水温度は，10月（A：19.5℃，B：21℃），1月（A：5.5℃，B：3.2℃）であった。

2.5 分析方法

水試料の分析には，ヘッドスペースオートサンプラーTurboMatrix HS-40（パーキンエルマー）を使用し，キャピラリーカラムDB-624（J&W）を取り付けたガスクロマトグラフ質量分析計GCMS-QP5000（島津製作所）により測定を行っ

た。測定試料は22 ml バイアルに試料水10 mLと塩化ナトリウム3.0 g及び内標準液として4-ブromofluorobenzeneを入れ，アルミキャップで密封することで調製した。表1に測定条件を示す^{8,9)}。

表1 ヘッドスペース-GC/MS 測定条件

ヘッドスペースオートサンプラー	TurboMatrix HS-40
気液平衡温度	60℃
気液平衡時間	30 min
ニードル温度	120℃
トランスファーライン温度	120℃
加圧時間	3 min
インジェクション時間	0.15 min
ガスクロマトグラフ質量分析計	GCMS-QP2010
キャリアーガス	He 120kPa
カラム	DB-624 60m×0.32mm 1.8μm
カラム温度	40℃(1min)－10℃/min－200℃(10min)

3. 結果及び考察

3.1 水処理施設での1,4-ジオキサン処理状況

表2に平成19年11月から平成25年2月までの各水処理施設流入水及び処理水中1,4-ジオキサン濃度測定結果を示す。表中にはその他の情報として，1,4-ジオキサン除去率，生物処理槽（好気）の水温，そして各施設での1日当たりの処理水量を示した。生物処理槽（好気）の水温は，A 施設（接触ばっ気槽），B 施設（硝化槽）の水温である。また，3 施設の処理水は1か所に集められ，混合した後に下水道へと放流されている。3 施設へ流入する1,4-ジオキサン濃度は1～7.6 mg/Lの範囲であり，1年を通じて比較的同じ濃度域で施設へと流入している。

平成22年7月以前の1,4-ジオキサン除去率を見ると，A,B 施設では冬季を除くと90%程度と効率よく除去されており，C 施設では除去率0～30%とほとんど除去されていない状況であった。A,B 施設とC 施設で異なる点は，生物処理工程の有無であり，この工程で1,4-ジオキサンが除去されていると考えられた。

3.2 C 施設流入水の配管流路変更の効果

平成22年7月28日，低濃度地点の廃水だけがC施設へと流入するように流路を変更した。それ以後，C 施設での流入水中1,4-ジオキサン濃度は，ほぼ排水基準（0.5 mg/L）以下の濃度で

表2 各水処理施設の流入水および処理水中1,4-ジオキサン濃度と除去率

日付	A 水処理施設				B 水処理施設				C 水処理施設				下水道 放流水*2 mg/L	
	流入水 mg/L	処理水 mg/L	除去率 %	水温*1 ℃	流入水 mg/L	処理水 mg/L	除去率 %	水温*1 ℃	流入水 mg/L	処理水 mg/L	除去率 %	処理水量 m ³ /日		処理水量 m ³ /日
H19.11.28	2.3	2.2	4	9					2.3	2.1	9	243	243	1.0
H20.04.03														2.4
H20.04.17	7.6	4.6	39	13					2.0	1.4	30	103	103	1.1
H20.10.02									1.0	1.3	0	207	207	1.1
H21.04.08	2.7	2.3	15	11	3.7	0.12	97	14	1.2	1.9	0	213	213	0.70
H21.10.08	2.6	0.53	80	18	4.1	0.35	91	20	1.2	1.9	0	213	213	0.70
H22.01.07	5.5	6.8	0	8	4.8	3.7	23	7	1.2	1.3	0	244	244	3.1
H22.01.20					3.9	3.6	8	6						
H22.02.04					4.3	3.3	23	16						
H22.02.09														
H22.03.04					4.3	0.41	90	17	1.1	1.3	0	240	240	0.89
H22.05.12	4.3	0.29	93	15	3.9	0.30	92	18	1.4	1.5	0	230	230	0.54
H22.06.02	2.5	0.11	96	16					①	2.1	2.0	5	114	1.0
H22.07.07					3.5	0.11	97	28	0.41	0.48	0	156	156	0.16
H22.07.28	2.8	0.12	96	23	2.7	0.13	95	27	0.46	0.61	0	124	124	0.27
H22.08.04	2.4	0.05	98	23	3.2	0.16	95	29						0.83
H22.09.08	1.9	0.06	97	23	2.4	0.16	93	21						0.48
H22.10.01	1.5	<0.05	97	19										0.27
H22.10.06					②	3.2	0.99	69	14	0.24	0.22	8	145	0.83
H22.11.10	1.9	0.16	92	14	3.0	0.26	91	17	0.31	0.31	0	148	148	0.48
H22.12.01	1.8	0.19	89	11	2.7	0.40	85	16	0.26	0.24	8	191	191	0.53
H22.12.21	1.7	0.95	44	9	4.6	0.33	93	20	0.41	0.39	5	125	125	0.91
H23.01.26	3.0	2.5	17	6					0.39	0.38	3	132	132	0.61
H23.03.03					5.8	3.0	48	8	0.84	0.68	19	137	137	3.1
H23.03.24	7.4	7.1	4	9	3.3	2.4	27	12	0.34	0.31	9	190	190	1.9
H23.04.13	2.0	1.7	15	11	3.0	0.27	91	16						0.29
H23.05.12	2.6	0.23	91	15	2.8	0.17	94	26	0.40	0.35	13	101	101	0.21
H23.05.12	2.6	0.23	91	15										
H23.08.24	2.4	0.11	95	23	3.4	0.26	92	17	0.62	0.51	18	153	153	0.66
H23.09.01	3.4	0.07	98	22	4.0	0.41	90	16	0.45	0.44	2	108	108	1.2
H23.11.28	3.8	2.4	37	11	3.1	0.29	91	16						
H23.12.07	3.7	2.3	38	10	3.9	0.44	89	17	0.31	0.31	0	114	114	1.3
H24.01.18	3.9	3.5	10	7	3.4	0.41	90	16	0.34	0.27	21	106	106	0.84
H24.03.21					4.0	0.41	90	16	0.41	0.30	27	102	102	1.1
H24.04.25	3.1	4.4	0	13	3.1	0.29	91	16	0.38	0.27	29	106	106	1.0
H24.05.10	2.7	2.4	11	15	3.9	0.44	89	17	0.31	0.31	0	114	114	0.30
H24.05.23	2.8	2.8	0	16	2.6	0.28	89	16	0.34	0.27	21	106	106	0.84
H24.06.05	2.4	2.7	0	25	3.6	0.35	90	19	0.41	0.30	27	102	102	1.1
H24.06.26					3.6	0.24	93	22	0.38	0.27	29	106	106	1.0
H24.09.06	③	2.8	0.08	25	3.0	0.18	94	30	0.39	0.29	26	109	109	0.21
H25.02.12	2.9	0.21	93	24	3.2	0.31	90	16	0.50	0.45	10	131	131	0.31

対策①：高濃度地点と低濃度地点を区別し、配管を変更
 対策②：B施設において冬季間の流入水加温を開始
 対策③：A施設へ加温設備を新設

*1 AB施設の生物処理槽(好気)の水温
 *2 3施設の処理水が混合され、下水道へ放流される

推移している。1,4-ジオキサン高濃度地点の廃水はB施設へと流入させたため、3施設処理水の

合計である下水道放流水の濃度は、冬季を除くと排水基準を満たすように改善することができた。

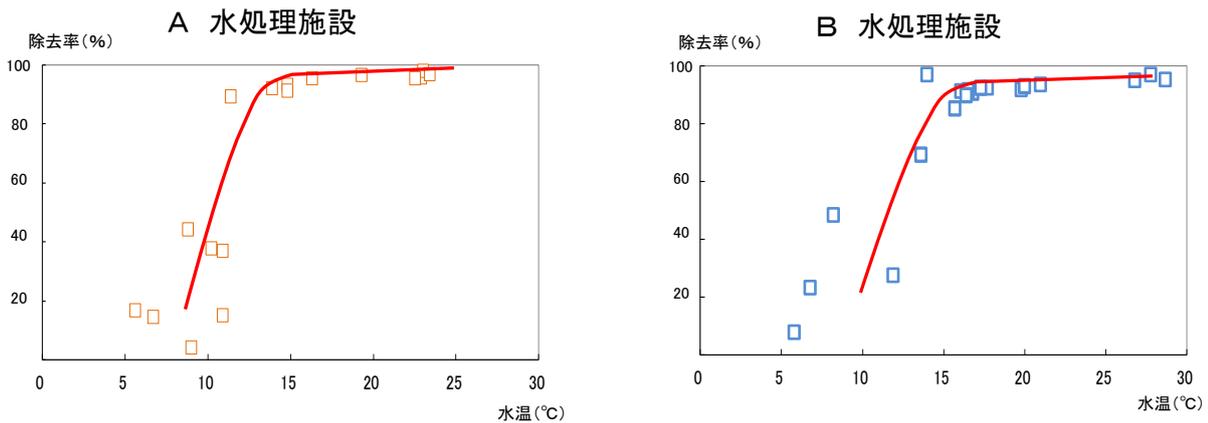


図2 生物処理槽の水温と1,4-ジオキサン除去率の関係

3.3 冬季のB施設流入水加温による効果

平成22年2月4日のB施設での1,4-ジオキサン除去率は8%であり、冬季に水温が低下すると除去率は顕著に低下していた。そこで、2月4日から2月9日までの間、試験的にB施設の水温調ヒーターを作動させた。2月9日には水温16°Cまで上昇したが、1,4-ジオキサン除去率は23%とそれほど変化は見られなかった。5日間程度の加温では効果がほとんど無いことから、水温上昇に伴う揮発による減少の割合は少ないと考えられる。その後、1,4-ジオキサンを分解する菌についての知見がいくつか報告されている^{10~13)}ことがわかり、ラボでの培養試験等を経て、この水処理施設においても1,4-ジオキサン分解菌が存在している可能性は非常に高くなった。

そこで、水温の低下により分解菌が活動を休止しないように、冬が近づき水温が低下し始める平成22年11月20日から継続的に水温ヒーターを作動させた。水温を維持すると順調に1,4-ジオキサンは処理されており、B施設では冬季間も排水基準を満たすことができるようになった。図2にA,B施設の生物処理槽の水温と1,4-ジオキサン除去率の関係を示す。水温が13~15°Cを下回ると顕著に除去率が低下する傾向であった。一年を通じて適切に1,4-ジオキサンを処理するために、水温は15°C以上に保つ必要があると考えられる。

3.4 各処理工程での1,4-ジオキサン濃度推移

図3にA,B施設における各処理工程毎での

1,4-ジオキサン濃度推移を示す。A施設10月の結果を見ると、1,4-ジオキサン濃度はVOC除去、凝集沈殿の工程でまったく減少せず、接触ばっ気の工程で急激に減少していた。そして、その後の沈殿、砂ろ過、活性炭処理の工程では、まったく減少していないことから、生物処理工程でのみ除去されていることがわかる。一方、冬季のA施設1月の結果では、全工程を経てもほとんど減少はしていない。

B施設の場合は、冬季も加温しているため、10月と1月の濃度推移はほぼ同じ傾向であった。VOC除去、凝集沈殿の工程でまったく減少していないのはA施設と同様で、次の脱窒槽(嫌気)で約1/2に、そしてその次の硝化槽(好気)で約1/10の濃度まで減少している。一見すると嫌気条件においても除去されているように見えるが、硝化槽3から脱窒槽1へ常時1/2量の処理水が返送されていることから、1,4-ジオキサンの除去は好気条件の生物処理工程でのみ進行していると考えられる。その他にもB施設の硝化槽の後に、再ばっ気の工程があり、ブローのばっ気により好気条件となっているが、ここでは1,4-ジオキサンはまったく除去されていなかった。

3.5 A施設での1,4-ジオキサン処理状況

A施設には加温設備が無いいため、水温は外気温に左右され、1,4-ジオキサンの除去が確認されるのは、5月上旬頃からであった。ところが、平成24年4月から6月には、水温が25°Cになっても除去されていない時期があった。結果と

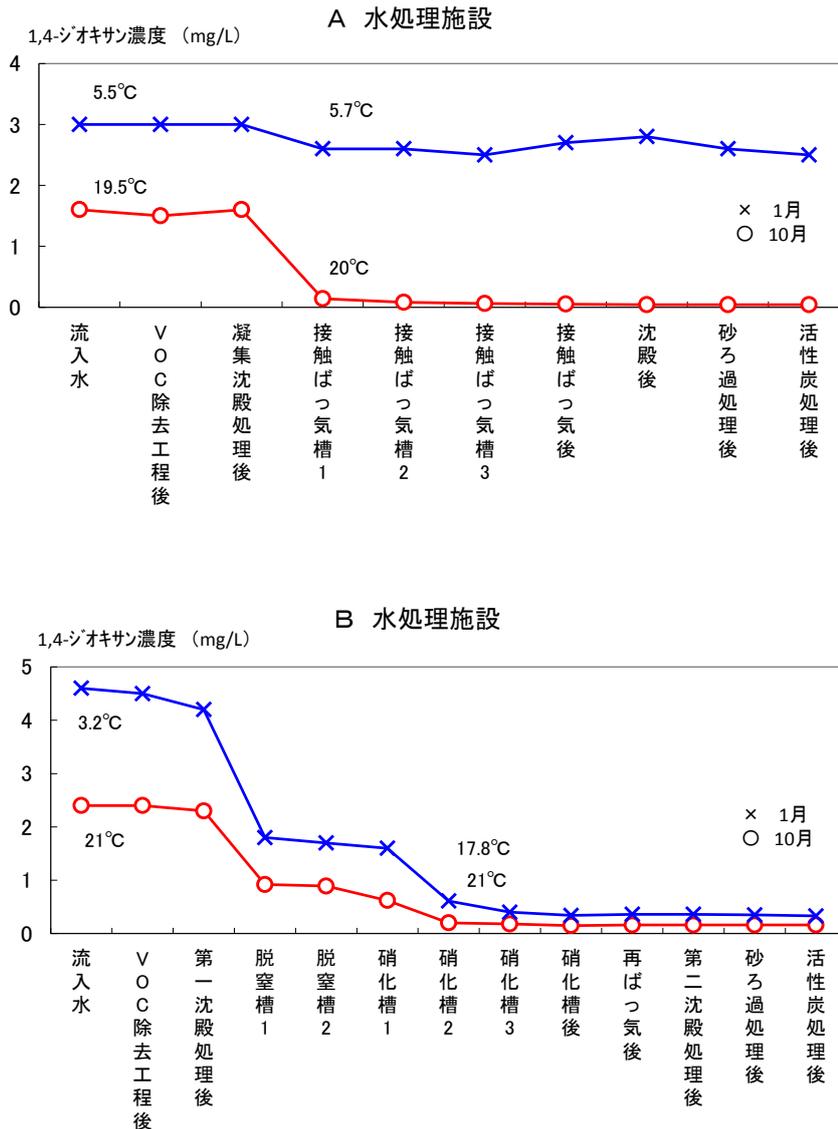


図3 各水処理工程毎での1,4-ジオキサン濃度の推移

して、活性が落ちた原因はブロワーからの通気量不足によるものと考えられたが、いくつかの検討により、短期間で活性を高めるにはリン酸の添加が非常に効果的であることがわかってい。平成24年11月から平成25年1月の期間は、加温設備の設置のために運転を停止していたが、2月7日から運転を再開している。2月12日の除去率は93%であり、今後、A施設においても、一年を通じて1,4-ジオキサンが処理できるようになった。

4. まとめ

VOCs 汚染地域として浄化対策を講じていた埋立処分場跡地地下水等から、難分解性の1,4-ジオキサンが検出された。一般的な廃水処理施設

では、除去が困難とされている1,4-ジオキサンだが、この埋立処分場跡地の廃水処理施設の生物処理工程では、特異的に効率よく処理されていることがわかった。1,4-ジオキサンを適切に処理する対策として、C施設へ流入していた1,4-ジオキサン高濃度廃水をB施設へ流入するように配管変更したこと、冬季でも処理が可能のようにA、B施設の加温設備を運転、新設したことにより、3か所すべての水処理施設において、一年を通じて排水基準を満たす処理が可能となった。

今回の検討を通して、水温以外にも処理能力を維持するための条件について知見が得られており、円滑な施設運転のため、より最適な処理条件の提示を目指している。また、水処理の安

定化と不測の事態への対応のため、1,4-ジオキサン分解菌の単離、培養、保存条件の検討を行う予定である。

更に、1,4-ジオキサン対策として促進酸化施設の導入も計画されており、より確実な1,4-ジオキサン処理体制が構築され则认为している。

参考文献

- 1) 環境省：環境省告示第78号，平成21年11月30日。
- 2) 環境省：環境省告示第79号，平成21年11月30日。
- 3) 環境省：環境省令第15号，平成24年5月23日。
- 4) 環境省環境保健部環境リスク評価室：化学物質の環境リスク評価 第2巻，2003，150。
- 5) 牧野良次，蒲生昌志，佐藤修之，中西準子：1,4-ジオキサンの下水処理場における除去率について，水環境学会誌，**28**, 3, 2005, 211-215。
- 6) 高木総吉，宮野啓一，小泉義彦，安達史恵，渡邊功，織田肇：大阪府内水道水源および淀川水系における1,4-ジオキサンレベルの実態調査，環境化学，**16**, 4, 2006, 669-676。
- 7) 小林貴司，小川千春，菅原剛，八柳潤：1,4-ジオキサンを含む埋立処分場浸出水の効率的な処理に関する検討，第47回日本水環境学会講演集，2013，623
- 8) 小川千春，小林貴司：新規制物質1,4-ジオキサンの固相抽出及びヘッドスペース分析法の検討，秋田県健康環境センター年報，2010，77-80。
- 9) 小川千春，小林貴司，木口倫：ヘッドスペースGC/MS法による水中1,4-ジオキサン分析方法の検討，第21回環境化学討論会，2012，697-698。
- 10) Bernhardt, D., Diekmann, H.: Degradation of dioxane tetrahydrofuran and other cyclic ethers by an environmental *Rhodococcus* strain, *Applied Microbiology and Biotechnology*, **36**, 1, 1991, 120-123
- 11) Parales, R. E., Adamus, J. E., White, N., May, H. D.: Degradation of 1,4-dioxane by an actinomycete in pure culture, *Applied and Environmental Microbiology*, **60**, 12, 1994, 4527-4530,
- 12) 三好益美，藤田久雄：1,4-ジオキサンの生物学的処理特性，香川県環境保健センター所報，**8**，2009，138-141
- 13) Sei, K., Kakinoki, T., Inoue, D., Soda, S., Fujita, M., Ike, M.: Evaluation of the biodegradation potential of 1,4-dioxane in river, soil and activated sludge samples, *Biodegradation*, **21**, 2010, 585-591

環境放射能測定事業

東日本大震災後の秋田県における環境放射能調査

玉田将文 菅原 剛

福島第一原子力発電所事故（以降、原発事故）による秋田県内への放射能の影響を把握するため、当センターでは県内の空間放射線量率の監視体制を強化し、雨やちりなどの降下物、水道水、及び環境試料等に含まれる放射性物質を測定してきた。本調査の結果、福島第一原子力発電所事故前後で空間放射線量率に大きな変化は確認されなかった。また当センター内で採取した定時降下物及び水道水からは、事故直後に一時的に人工放射性核種が検出されたが、その濃度は微量であり、健康への影響を問題にするレベルには至らなかった。環境試料に含まれる人工放射性核種は、ほとんど検出されず、検出されたものでも国が定めた基準等と比較して十分低い値であった。さらに東日本大震災の復興支援として、岩手県宮古市及び野田村の災害廃棄物広域処理に協力し、関連する環境試料の測定も実施した。その結果、全ての試料で放射能濃度は各種基準値を下回っており、処理施設周辺環境への放射性物質の拡散を懸念する必要はないと考えられる。

1. はじめに

平成 23 年 3 月 11 日に発生した東北地方太平洋沖地震及びそれに伴う巨大津波により、深刻な原発事故が発生し、大量の人工放射性核種が環境中に放出された。当センターでは昭和 30 年代から定期的に環境放射能調査を実施してきたが¹⁾、今回の事故による県内への影響を把握するため、放射能に係るモニタリング体制を強化した。具体的には、空間放射線量率の監視を強化したほか、当センターで採取した定時降下物及び水道水の人工放射性核種を毎日測定するとともに、食品試料²⁾や環境試料について調査を実施した。また、東日本大震災の復興支援として、岩手県宮古市及び野田村の災害廃棄物広域処理³⁾に協力し、関連する環境試料の測定も実施した。本稿では、平成 23 年 3 月から平成 25 年 3 月までの当センターにおける環境放射能調査結果について報告する。



図 1 当センター屋上の
モニタリングポスト検出器

2. 調査方法

2.1 空間放射線量率

大気中の空間放射線量率の変化を把握するため、当センター屋上（秋田市千秋久保田町 6-6、地上高 23 m、図 1）のモニタリングポスト（日立アロカメディカル社製 MAR-22、図 2）により、空間放射線量率を 24 時間連続測定し、その結果を 1 時間毎に報告した。また、当センタ

一敷地内及び雄勝地域振興局福祉環境部敷地内の地上 1 m において、NaI シンチレーションサーバイメータ（日立アロカメディカル社製 TCS-171B、図 3）による空間放射線量率の測定を行った。平成 23 年 6 月からは、当センター敷地内（地上 1 m、50 cm 及び 1 cm）の空間放射線量率を毎日午前 10 時に測定し、併せて結



図2 モニタリングポスト計測器
(日立アロカメディカル社製 MAR-22)



図3 エネルギー補償型
NaI シンチレーションサーベイメータ
(日立アロカメディカル社製 TCS-171B)

果を報告した。平成 24 年 4 月からは、新モニタリングポストシステムを導入し、当センターを含む県内 6 地点（鹿角、山本、秋田市、仙北、由利、雄勝）にて測定を開始した。この測定データは 10 分毎に原子力規制庁のサーバへ自動的に送信・集積され⁴⁾、国及び秋田県のウェブサイト（図 4）にて公開されることで⁵⁾、測定結果を迅速に把握するとともに県民への情報提供を速やかに行うことが可能となった。なお、県内 6 地点の測定データは、当センター内の専用サーバにも集積されており、そのサーバには県庁内担当課からアクセス可能となっている。また異常発生時には担当者へメールで連絡される体制が構築されているため、異常値観測時等への対応を早急に行うことができる。

2.2 環境試料概要

表 1 に、原発事故後の環境試料中の人工放射性核種測定概要を示した。平成 24 年 3 月からは、災害廃棄物関連の試料採取及び測定も実施している。

2.3 放射性核種分析

採取した試料は、ゲルマニウム半導体検出器付きガンマ線スペクトロメータ（図 5）により、原発事故由来の人工放射性核種の指標となる放射性ヨウ素 (^{131}I)、放射性セシウム (^{134}Cs 及び ^{137}Cs) 等を分析した。前処理操作は「緊急時におけるガンマ線スペクトロメトリーのための試料前処理法」⁶⁾に、測定操作は「ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリー」⁷⁾に準じた。



図4 秋田県空間放射線量測定結果
公表ウェブサイト



図5 ゲルマニウム半導体検出器付き
ガンマ線スペクトロメータ 1号機
(SEIKO EG&G 社製)

表 1 環境試料中の人工放射性核種測定概要（平成 23 年 3 月～平成 25 年 3 月）

試料種類	測定数	測定容器	測定時間（秒）	備考
定時降下物	299	U-8 容器	21600	環境水準調査
水道水	299	2L マリネリ容器	21600	環境水準調査
プール・水浴場	34	2L マリネリ容器	3600, 7200	
河川水	4	U-8 容器	72000	環境水準調査, 100L 採水
土壌	4	U-8 容器	21600, 72000	環境水準調査, 秋田市内土壌
土壌	10	U-8 容器	3600, 21600	当センター敷地内土壌 2 検体含む, 校庭等
牧草	10	2L マリネリ容器	2000	
稲わら	13	2L マリネリ容器	1000, 2000	県外産 10 検体含む
落葉	9	2L マリネリ容器	2000	
腐葉土	4	U-8 容器	1000	県外産製品
水田土壌	25	U-8 容器	21600	県内 25 地点
地下水・放流水	55	2L マリネリ容器	3600	一般廃棄物・ 産業廃棄物関連
汚泥	22	U-8 容器	2000	
土壌	8	U-8 容器	2000	
焼却灰	82	U-8 容器	2000	
地下水・放流水	210	2L マリネリ容器	3600	災害廃棄物広域処理関連
河川水	43	2L マリネリ容器	3600	
汚泥	52	U-8 容器	2000	
土壌	103	U-8 容器	2000	
底質	9	U-8 容器	2000	
焼却灰	22	U-8 容器	2000	
がれき等	5	2L マリネリ容器	1000, 2000, 3600	

3. 結果

3.1 空間放射線量率（環境水準調査）

図 6 に秋田市（当センター屋上）における空間放射線量率の経日変化を示した。原発事故後のモニタリングポストの空間放射線量率は、原発事故前の測定値範囲内（0.022 ～0.086 Sv/h）¹⁾ にあり、原発事故前後で大きな変化は確認できなかった。また地上付近の空間放射線量率を測定した結果、原発事故由来と考えられる異常値は測定されず、モニタリングポスト測定値と地上付近の測定値を比較しても、大きな違いは認められなかった。

3.2 定時降下物

原発事故の影響により地表付近に降下した人工放射性核種を調査するため、当センター屋上の降下物採取装置により、平成 23 年 3 月 19 日から 12 月 28 日にかけて 1 日分（前日 9 時から当日 9 時まで）の雨・塵等の降下物を毎日採取し、人工放射性核種を測定した。その結果、平成 23 年 3 月 21 日から 4 月 28 日にかけて、原発事故由来の放射性ヨウ素及び放射性セシウムが検出された（図 7）。検出された日はいずれも雨天であるため、上空及び大気中の粒子に付着し浮遊していた人工放射性核種が、雨と共に

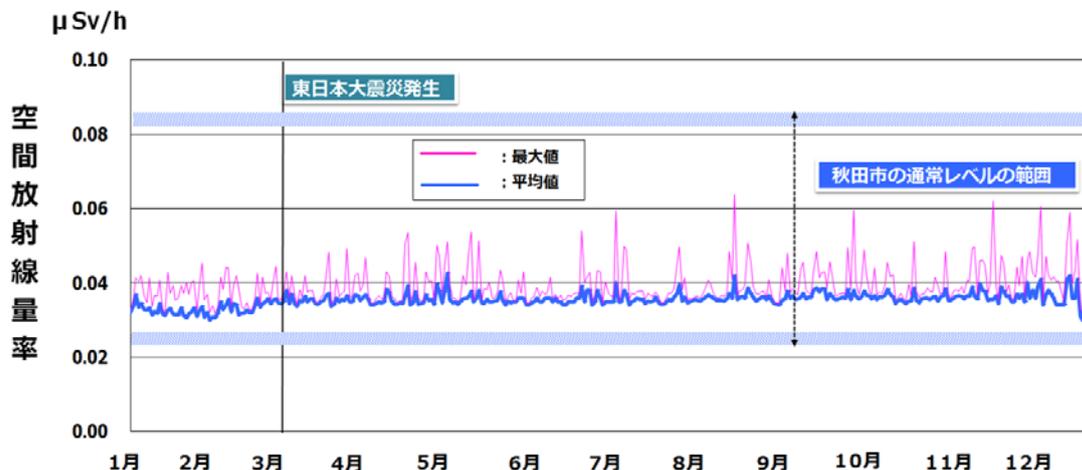


図 6 秋田市（当センター屋上）における空間放射線量率の推移（平成 23 年 1 月～12 月）

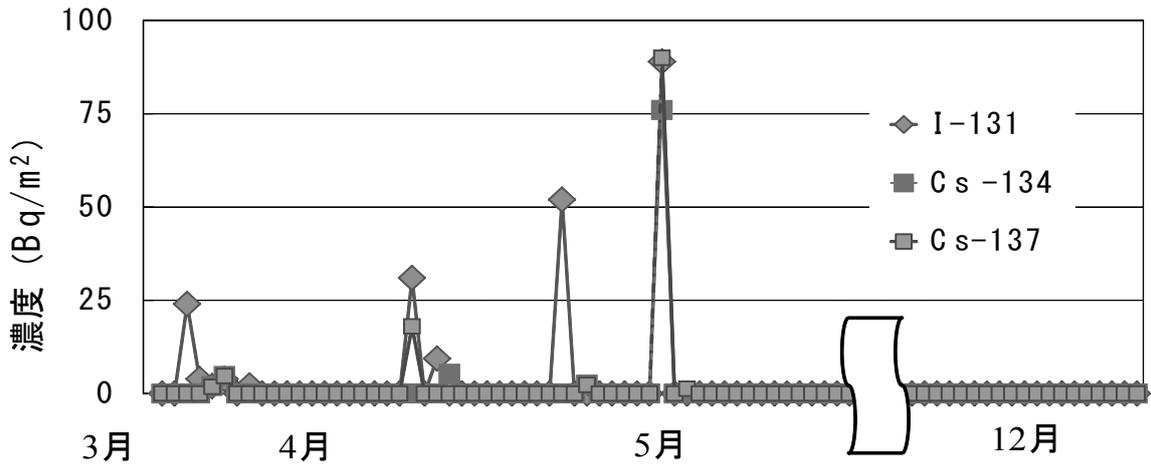


図7 定時降下物中の人工放射性核種濃度の推移（平成23年3月～12月）

に降下したものと考えられる。放射性ヨウ素の最大値は 89 Bq/m^2 、放射性セシウムの最大値は 170 Bq/m^2 であった。この値を空間放射線量(Sv)に換算すると、平常時の1/100程度であるため、放射線被曝量としてヒトへの健康影響を懸念する必要はないと考えられる。なお同年5月以降は、放射性ヨウ素及び放射性セシウムは検出されなかった。

3.3 水道水

原発事故による飲料水への影響を調査するため、平成23年3月18日から12月27日まで当センターの水道水（雄物川水系）を毎日採取し、人工放射性核種を測定した。その結果、放射性セシウムは検出されなかった。放射性ヨウ素は3月22日から4月1日までの間で連続して検出され、原発事故の影響と考えられたが、4月2日以降は検出されなかった（図8）。放射

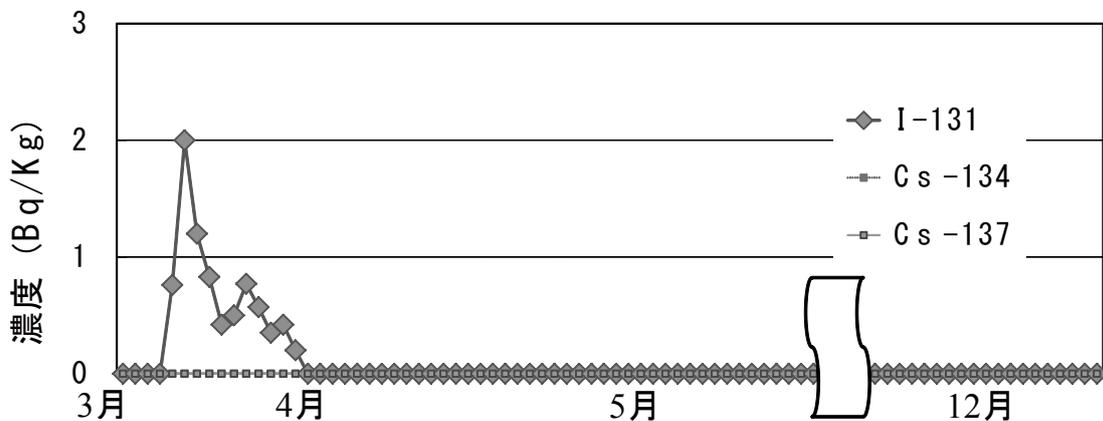
性ヨウ素の最大値は、3月23日の 2.0 Bq/kg であり、この値は、飲料水中の放射性ヨウ素の暫定規制値であった 300 Bq/kg を大きく下回っている。平成24年以降は、月1回の採取・測定を継続しているが、放射性ヨウ素及び放射性セシウムは検出されていない。

3.4 公立学校のプール水及び水浴場環境水

県内の公立学校8ヶ所のプール水及び水浴場4ヶ所の環境水における人工放射性核種の汚染状況を把握するために、試料採取・測定を行った。その結果、全ての試料から人工放射性核種は検出されなかった。

3.5 河川水（環境水準調査）

秋田市旭川上流にて河川水100Lを採取し、人工放射性核種を測定した（図9）。その結果、原発事故以前の調査では殆ど検出されなかつ



た放射性セシウムが、平成 23 年度調査では検出されたが、平成 24 年度調査では不検出であった（図 10）。

3.6 土壌（環境水準調査）

秋田市内の草地土壌試料（表層 0～5 cm，下層 5～20 cm，図 11）を採取し、人工放射性核種を測定した。その結果、原発事故以前の調査では殆ど検出されなかった ^{134}Cs が、表層から 2.5～3.2 Bq/Kg の濃度で検出された（図 12）。

3.7 土壌（校庭）

平成 23 年 10 月 28 日及び 11 月 1 日に、県内公立学校 8 カ所の校庭土壌の試料採取及び人工放射性核種を測定した。その結果、全ての試料から人工放射性核種は検出されなかった。

3.8 牧草

県内産牧草の安全性を確認するため、平成 23 年 5 月 14 日及び 6 月 17 日に、県内 5 カ所で採取した牧草を測定した。放射性ヨウ素は 5 月の調査では、県南部の湯沢市で 4.5 Bq/kg 検出された。放射性セシウムは全地点で微量に検出され

たが、湯沢市では 5 月，6 月共に他の地点よりも高い値を示した。このことは、半減期が短い放射性ヨウ素の検出及び ^{134}Cs と ^{137}Cs が約 1:1 の比率で検出されたことから、福島第一原発事故の影響を反映していると考えられる^{8, 9, 10, 11)}。ただし、検出値は牛用飼料として使用した場合の暫定許容値¹²⁾である 100 Bq/kg 以下であった。

3.9 稲わら

県内産稲わら 3 検体（大館市，大湯村及び湯沢市）及び県外産稲わら 10 検体中の人工放射性核種を測定した。その結果、放射性セシウムは、県内産では不検出であったが、県外産では ^{134}Cs は不検出～20000 Bq/Kg, ^{137}Cs は不検出～23000 Bq/Kg の濃度で検出した¹³⁾。

また、稲わらから 1cm の距離における NaI シンチレーションサーベイメータによる空間放射線量率は、0.42 $\mu\text{Sv/h}$ であった。これら県外産稲わらは、宮城県等で生産され原発事故による影響を受けた後、秋田県内へ販売されたものである。なお、粗飼料の暫定許容値 (300 Bq/Kg) を超える稲わらについては、牛への給与自粛と給与された飼育牛の出荷が自粛された。



図 9 河川水の採取（環境水準調査）



図 11 土壌の採取（環境水準調査）

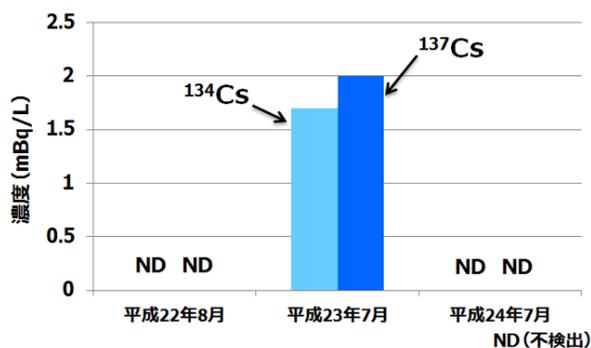


図 10 河川水の測定結果（環境水準調査）

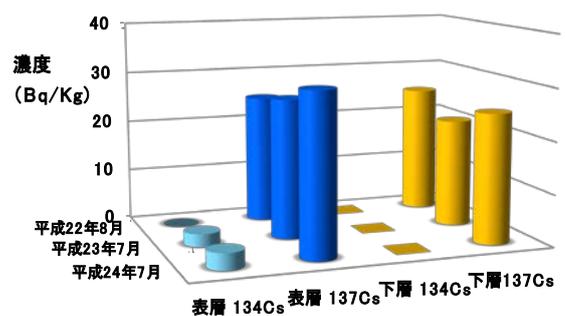


図 12 土壌の測定結果（環境水準調査）

3.10 落葉

県内山間部における人工放射性核種の沈着量を把握するため、平成23年11月に県内山間部8カ所及び秋田市郊外の秋田県森林技術センターの広葉樹落葉を採取し、人工放射性核種を測定した。その結果、5地点で放射性セシウムが2.6～18 Bq/Kgの濃度で検出された。このうち県南部3地点において、比較的高い傾向を示した。牧草と同様に ^{134}Cs と ^{137}Cs が約1:1の比率で検出されたことから、原発事故の影響を反映していると考えられた。また、落葉採取時にNaIシンチレーションサーベイメータにより、山間部における1m高さの空間放射線量率を測定した結果、0.03 - 0.06 Sv/hであり、県内における平常時の範囲内であった。

3.11 腐葉土

平成23年7月下旬、県内で販売されている栃木県産腐葉土製品から比較的高い空間放射線量率が検出されたとの県民からの通報を受け¹⁴⁾、腐葉土中の人工放射性核種を測定した。その結果、490～9100 Bq/Kgの放射性セシウムを検出した。 ^{134}Cs と ^{137}Cs が約1:1の比率で検出されたことから、本製品は栃木県内で原発事故による影響を受けたものと考えられる。なお、これらの腐葉土については、販売が自粛された。

3.12 水田土壌

平成24年4月～5月にかけて、県内25地点の水田土壌試料中の人工放射性核種を測定した。その結果、3.6～28 Bq/Kgの放射性セシウムを検出した¹⁵⁾。当センターでは、平成4年～22年にかけて秋田市内の表層土壌中 ^{137}Cs 濃度を測定しており、12～57 Bq/Kgの濃度であった。



図13 地下水の採取（災害廃棄物）

今回の結果は、過去の測定値以下であり、原発事故による影響は殆ど無いと考えられた。

3.13 災害廃棄物受け入れに伴う環境調査

県内の可燃物焼却施設等及び廃棄物最終処分場等周辺環境にて、各種環境試料を採取し（図13、図14）、人工放射性核種を測定した。その結果、放射性ヨウ素は全ての試料において検出されなかった。放射性セシウムは、地下水・放流水、土壌、底質及び焼却灰等試料で検出されたが、いずれも各種基準値を大幅に下回った。各媒体試料における検出濃度は、地下水・放流水が0.43～0.84 Bq/L、土壌が6.2～42 Bq/Kg、底質が5.9 Bq/Kg及び焼却灰等が8.1～58 Bq/Kgであった³⁾。

4. まとめ

県内の空間放射線量率は、原発事故前後で大きな変化は確認できなかった。定時降下物、水道水及び環境試料を調査した結果、複数試料から原発事故由来と考えられる人工放射性核種が検出されたが、いずれもごく微量であり、ほとんどの検体から人工放射性核種は検出されなかった。

また災害廃棄物受け入れに伴う事前・事後調査において、地下水・放流水、河川水、汚泥、底質試料からは、人工放射性核種はほとんど検出されなかった。土壌試料では放射性セシウムが検出されたが、その濃度は事前調査時と同レベルであることから、施設外部環境への放射性セシウムの飛散を懸念する必要はないと推察された。

これらの結果から、原発事故による県内環境への放射能の影響は、福島県及び隣接自治体と



図14 焼却施設周辺土壌の採取（災害廃棄物）

比較して小さかったものと考えられる。放射能の環境への影響は長期に及ぶことから、県民の安全・安心を確保するため、今後も引き続き調査を実施するとともに、速やかに測定結果等の情報を提供していく予定である。

参考文献

- 1) 珍田尚俊, 柳田知子, 松田恵理子(2009)秋田県における空開放射線量率の連続測定結果, 秋田県健康環境センター年報, Vol5, p88-92.
- 2) 菅原剛, 珍田尚俊, 高橋知子, 高嶋司, 松田恵理子 (2011) 福島第一原子力発電所事故に伴う秋田県における放射能調査, 秋田県健康環境センター年報, Vol7, p91-95.
- 3) 秋田県生活環境部環境整備課 (2012) 災害廃棄物の広域処理支援
<http://www.pref.akita.lg.jp/www/genre/00000000000000/1326263109418/index.html>
- 4) 原子力規制庁 (2012) 放射線モニタリング情報 <http://radioactivity.nsr.go.jp/ja/index.html>
- 5) 秋田県生活環境部環境管理課 (2012) 秋田県空間放射線量測定結果公表ウェブサイト
<http://common.pref.akita.lg.jp/rimonitoring/index.php>
- 6) 文部科学省 (1992) 緊急時におけるガンマ線スペクトロメトリーのための試料前処理法, 文部科学省測定シリーズ No.24
- 7) 文部科学省 (1992) ゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線スペクトロメトリー, 文部科学省測定シリーズ No.7
- 8) 河田燕, 山田崇裕 (2012) 原子力事故により放出された放射性セシウムの $^{134}\text{Cs}/^{137}\text{Cs}$ の放射能比について, *Isotope News*, Vol15, p16-20.
- 9) 小森昌史, 小豆川勝見, 野川憲夫, 松尾基之 (2013) $^{134}\text{Cs}/^{137}\text{Cs}$ 放射能比を指標とした福島第一原子力発電所事故に由来する放射性核種の放出原子炉別汚染評価, *分析化学*, Vol62, No6, p475-483.
- 10) 東京電力 (2011) プレスリリース 3月26日福島第一原子力発電所付近の海水からの放射性物質の検出について (第六報) <http://www.tepco.co.jp/cc/press/11032602-j.html>
- 11) T.Watanabe, N.Tsuchiya, Y.Oura, M.Ebihara, C.Inoue, N.Hirano, R.Yamada, S.Yamasaki, A.Okamoto, F.Nara and K.Nunohara (2012) Distribution of artificial radionuclides (^{110m}Ag , ^{129m}Te , ^{134}Cs , ^{137}Cs) in surface soils from Miyagi Prefecture, northeast Japan, following the 2011 Fukushima Dai-ichi nuclear power plant accident, *Geochemical Journal*, Vol. 46, p279-285.
- 12) 農林水産省 (2011) 通知消安発第 2444 号, 生産第 3442 号, 林政産第 99 号, 水推第 418 号:放射性セシウムを含む肥料・土壌改良資材・培土及び飼料の暫定許容値の設定について, 平成 23 年 8 月 1 日 (平成 24 年 2 月 3 日, 平成 24 年 3 月 23 日一部改正)
- 13) 秋田県農林水産部 畜産振興課 (2011) 肥育牛農家への再調査結果について
<http://www.pref.akita.lg.jp/www/contents/1312958849761/files/kekka.pdf>
- 14) 秋田県生活環境部環境管理課 (2011) 栃木県産腐葉土等からの放射性物質の検出について <http://www.pref.akita.lg.jp/www/contents/1313541715957/files/kannri.pdf>
- 15) 秋田県農林水産部水田総合利用課 (2012) 水田土壌の放射性物質の調査結果について
<http://www.pref.akita.lg.jp/www/contents/1369877065895/index.html>

IV 発表業績

1. 学会発表

BDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票）を用いた高血圧対策のための食パターン分析

栗盛寿美子

第 59 回日本栄養改善学会
2012 年 9 月，愛知県

日本人の 3 大死因のうち，心疾患と脳血管疾患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，「健康秋田 21 計画」では，平成 24 年度までに高血圧症有病者を 10%以上減少（平成 18 年度比）することを目標に掲げている。本調査では，血圧と食パターンとの関連性を明らかにし，高血圧予防のための食生活改善方法を検討することを目的に，BDHQ（簡易型自記式食事歴法質問票：Brief-type self-administered Diet History Questionnaire）による食習慣調査を行い，解析した。調査は，平成 21 年度と 22 年度に実施した。平成 21 年度は，県内 11 事業所に勤務する 20～80 歳代の男女 495 名，平成 22 年度は地域の特定健診受診者 779 名の計 1,274 名を対象とした。本調査で，血圧「正常群」と「要指導群」では，女性で食塩摂取量に有意な差が見られ，更に男性では「主食」，女性では「副菜（野菜を主としたおかず）」の摂取量に差が見られた。「食塩摂取量」は，エネルギー摂取量との相関がみられるとの報告もあり，「要指導群」は「正常群」に比べて BMI が有意に高いことから，肥満改善と減塩を合わせた食生活が高血圧対策に有効であると推察された。しかし，頻度調査では高齢層が若年層に比べ食品の摂取頻度が高い傾向にあり，「要指導群」と「正常群」に見られた差は，年齢の差の影響を受けている部分もあるものと思われた。BDHQ による調査は，対象者の負担が少なく簡便に食事傾向を把握する方法としては優れているものの，今回の調査から高血圧に直接関連すると思われる食パターンを見つけることには限界があった。

牛レバー及び胆汁中の腸管出血性大腸菌汚染

齊藤志保子 八柳 潤 品川邦汎^{*1}第 103 回日本食品衛生学会
2012 年 5 月，東京都

平成 23 年 4 月～5 月，焼き肉チェーン店で発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）集団事件を契機に生食用食肉の規格基準が定められた。一方，牛レバー刺などによる EHEC 食中毒も数多く報告されており，その予防対策の確立が急がれている。しかし，レバー（肝臓）の EHEC 汚染実態については十分明らかにされていない状況である。このことから全国 16 カ所の食肉衛生検査所において，牛肝臓等における EHEC（O157 等），大腸菌，大腸菌群の汚染状況調査を実施した。同一牛から採取した糞便（173 検体，各 1 g），胆汁（186 検体，5 ml），肝臓内部（173 検体，25 g），肝臓表面（193 検体，>100 cm²のふき取り）の各検体を検査に供した。また胆汁（数頭の大腸菌陰性胆汁のプール）中の EHEC O157（2 株）と O26（1 株）の増殖性試験を実施した。

その結果，牛肝臓内部 2 検体から EHEC O157 が分離され，胆汁 1 検体からも VT 遺伝子が検出された。また，胆汁中で EHEC が十分増殖することが明らかとなった。更に，肝臓内及び胆汁からも大腸菌（群）が高率に検出された。これらのことから，EHEC は腸管内から胆嚢（胆管）を経由し，肝臓内を汚染する可能性が示唆された。

なお，本調査は，秋田市，山形県内陸，埼玉県，さいたま市，東京都芝浦，神奈川県，静岡県西部，岐阜県，大阪市，兵庫県，岡山市，鳥取県，徳島県，愛媛県，大分県及び宮崎県都城食肉衛生検査所の共同研究によって行なわれた。

^{*1}：岩手大学Virulence Traits of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* O121

Yatsuyanagi, J., Konno, T., Takahashi, S., Kumagai, Y., Eriko Wada, Machiko Chiba, and Shioko Saito

8th International Symposium on Shiga Toxin (Verocytotoxin) Producing *Escherichia coli* Infections (VTEC 2012), Amsterdam, The Netherlands, 6-9 May, 2012.

Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) O121 has been implicated in several outbreaks of diarrhea in Japan and is the only non-O157 STEC serotype to have been implicated in hemolytic uremic syndrome (HUS) in AKITA prefecture. The virulence characteristics, however, underlying the higher pathogenicity of this particular STEC serotype are still not fully understood. In this study, we examined among the different serotypes the distribution of virulence-associated genes commonly associated with both HUS and epidemic disease, including *stx*, *eaeA*, *norV*, and genomic island (OI) -122 and OI-51 genes identified in STEC serotypes, such as STEC O157. Twenty-three STEC O121 isolates from diarrhea patients (13 diarrhea, 8 bloody diarrhea and 2 HUS), 2 STEC O157 (*stx*-2+, *stx*-1-) isolates from HUS patients, STEC O157 EDL931, and 2 STEC O174 (OX3) isolates from asymptomatic carriers were employed. *stx*, *eaeA*, *norV*, and genes comprising OI-122 and -51 were detected by PCR. *stx*-2 subtyping was performed by PCR-RFLP and sequencing. Augmentation of Stx-2 production by mitomycin C induction was assessed by using commercially available RFLP kit (Denka Seiken Co.). All of STEC O121 and HUS-associated STEC O157 isolates were positive for the *stx*2, *eaeA*, *norV*, and genes comprising OI-122, and OI-51. STEC O157 EDL931 was also positive for all of these genes, but a deletion was found in its *norV* gene. Two STEC O174 (OX3) isolates were also positive for the *stx*-2 and *norV*, but they were negative for the *eaeA*, OI-51, and 3 of 4 genes comprising OI-122 being examined. Subtyping of the *stx*-2 gene revealed all of STEC O121 and STEC O157 ED931 possessed *stx*-2, while both of the 2 HUS-associated STEC O157 possessed both of *stx*-2 and *stx*-2c, and 2 STEC O174 possessed *stx*-2d and *stx*-2c, respectively. Stx-2 production of STEC O121 was drastically augmented in most

of the isolates by mitomycin C induction, ranging from 64 times to more than 32,768 times in RPLA titer comparison. Stx-2 production by 2 HUS associated STEC O157 (both 128 times) and 2 STEC O174 (64 and 512 times, respectively) was also augmented by mitomycin C induction, but to a lesser extent than most of STEC O121 isolates. Our present results suggest that STEC O121 strains share similar virulence gene distribution with STEC O157 strains. It has been proposed that a high level of Stx-2 induction in response to mitomycin C is characteristics of isolates that cause HUS. Present results, thus, suggest that similar distribution of virulence-associated genes with STEC O157, and a high level augmentation of Stx-2 production induced by mitomycin C are involved in the higher pathogenicity of STEC O121, and that the different level of Stx-2 augmentation by mitomycin C induction may be involved in strain to strain difference of virulence.

秋田県における CTX-M 型 ESBL 産生菌分離状況と、CAZ 耐性 CTX-M15 遺伝子保有株の侵淫実態

八柳 潤

衛生微生物技術協議会第 33 回研究会

2012 年 6 月, 横浜市

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) のうち、CTX-M 型 ESBL 産生菌の分離頻度が全国的に増加している。今回は秋田県において 2003 年 1 月から 2011 年 8 月までの CTX-M 型 ESBL の分離状況等について報告する。

2003 年 1 月 24 日から 2011 年 8 月 29 日までに秋田県内の医療機関から送付された 1,112 株の ESBL 疑い株について TEM, SHV, CTX-M 遺伝子を標的とする PCR を実施した。また、2010 年 9 月 13 日から 2011 年 8 月 1 日に同定した 181 株の CTX-M 遺伝子陽性株について、CTX-M1, CTX-M2, CTX-M9 各グループの型別を実施し、CTX-M1 グループの株についてはシーケンス解析により CTX-M 遺伝子の型を決定した。

1,112 株の ESBL 疑い株のうち 816 株 (73.4%)

が CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性であった。その 411 株中 268 株 (65.2%) が尿由来株であり、CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株が尿路感染に關与する頻度が高いことが示された。また、21 株が血液由来であり、CTX-M 型 ESBL 遺伝子陽性株による重篤な感染症が発生していることも伺われた。

CTX-M 遺伝子陽性株 181 株のうち CTX-M9 グループが 69 株と最も多く、CTX-M2 グループが 68 株と続き、CTX-M1 グループが 36 株であった。CTX-M1 グループ 36 株のうち 35 株が CTX-M15、1 株が CTX-M61 であった。CTX-M15 は D240G 変異により CAZ 加水分解能を獲得した CTX-M 型 ESBL であり、近年、ヨーロッパ等において問題となっている。CTX-M15 型 ESBL 遺伝子保有株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から、今後、健常人における侵淫実態調査、そして鶏肉などを対象とした感染源調査が課題となる。

食中毒疑い事例検査での新規病原菌 *Escherichia albertii* の検出

今野貴之 八柳潤 高橋志保 熊谷優子
和田恵理子 千葉真知子 齊藤志保子

第 66 回日本細菌学会東北支部総会
2012 年 8 月、仙台市

Escherichia albertii は、バングラデシュの小児の下痢便から初めて分離され、2003 年に新種として正式に発表された菌種である。2011 年 11 月に秋田県内における食中毒疑い事例発生に伴い検査を実施したところ、対象とした食中毒原因菌及びノロウイルスとは別に、この新規の下痢病原性病原菌とされる *E. albertii* (EC15062) を患者 1 名より分離した。

EC15062 は、各病原大腸菌の主要な病原因子のうち *eae* のみ (+) であり、当初、EPEC と予想された。しかしながら、その生化学的性状はインドール (+)、リジン (+)、運動性 (-)、乳糖 (-)、キシロース (-) であり、大腸菌としては極めて非定型的性状であった。EC15062 の 16S rRNA 遺伝子は、*E. albertii* として登録されている配列と 100% 一致したものの、

多くの大腸菌の配列とも高い相同性を示し、16S rRNA 遺伝子の相同性解析では同定できなかった。次に、*stx*、*eae* に加えて、*uidA*、*lysP*、*mdh* 及び *cdtB* の検出を PCR 法により行った。EC15062 は、EPEC と同じく *stx* (-)、*eae* (+) である一方、EPEC とは対照的に、大腸菌に特徴的な *uidA* が (-)、*E. albertii* 特異的に設計された *lysP* と *mdh* が (+) であり、また、*E. albertii* の病原因子の一つとして報告されている *cdtB* に関しても (+) であった。これらの結果から、EC15062 を *E. albertii* と同定した。*E. albertii* は、通常の検査では見過ごされたり、違う菌に同定される。今回、病原因子の探索に加えて、*uidA* や *lysP* 及び *mdh* といった菌種特異的若しくは菌種により多型性を持つ遺伝子の PCR を併用することで *E. albertii* の同定が可能であった。ただし、本事例において *E. albertii* が検出された患者からはノロウイルスも検出されており、病原性や臨床症状に対する本菌の關与は不明であった。

血液から分離されたインフルエンザ菌の莢膜型別及び薬剤耐性遺伝子の検出

今野貴之

第 61 回感染症学会東日本地方会
2012 年 10 月、東京都

インフルエンザ菌 (*Haemophilus influenzae*) は、 $1 \times 0.3 \mu\text{m}$ ほどの多形性のグラム陰性桿菌で、菌体の表面に莢膜と呼ばれる構造を持つ菌と持たない菌が存在し、莢膜は血清学的に a~f の 6 型に分けられる。インフルエンザ菌は気管支炎、肺炎、中耳炎、副鼻腔炎といった市中感染症の起原菌となるが、特に莢膜 b 型 (Hib) は小児の細菌性髄膜炎等の侵襲性感染症の起原菌として知られており、本菌による感染症の動向を把握する上で莢膜の血清型を明らかにすることは極めて重要である。また、本菌は β -ラクタマーゼの産生やペニシリン結合タンパク質 (PBP) の変異による薬剤耐性化が進行しており問題となっている。

平成 24 年 1 月に秋田県内の医療機関において、肺炎患者の血液からインフルエンザ菌が分離さ

れた。分離株の莢膜の血清型を市販の抗血清及びPCR法を用いて調査したところ、莢膜の型の中でも比較的まれなe型であることを確認した。更に、薬剤耐性に関与する遺伝子としてペニシリナーゼ (bla_{TEM} , bla_{ROB}) 及びPBPのアミノ酸変異の検出をPCR法により行ったところ、分離株は bla_{TEM} , bla_{ROB} に関しては両者とも(-)であったが β -lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) group IIIに該当するPBPの変異が検出され、薬剤耐性菌と考えられた。

e型が分離される症例はまれであるが、その臨床的な特徴はHibと同様と考えられている。また、BLNARの場合、治療に難渋することが多いため、本菌による感染症の動向については莢膜の血清型のみではなく、薬剤耐性の状況も併せて注視していくことが必要と思われる。

子宮頸がん検診受診率向上を目指した若い女性の意識に関するフォーカスグループインタビュー法を用いた検討

田中貴子 村山力則 齋藤志保子

第10回秋田県公衆衛生学会
2012年10月、秋田市

子宮頸がん検診受診率向上を目指して、若い女性の意識を把握する方法としてフォーカスグループインタビュー法を用いて調査を行った。対象は県内の20歳～30歳代(平均年齢26.0歳)の女性28名で、子育てママグループ、会社員グループ、大学生グループであった。

今回の結果から、1.集団検診の更なる充実が重要であり、若い女性が受診しやすい工夫や社会環境を整えることが必要である。2.啓発普及・広報の強化では、中高生の早い時期、あるいは結婚や妊娠期を契機に、若い女性が関心を持ち受診につながるような働きかけが必要である。3.無料クーポン券の継続・充実では、確実な活用とそれを意識の醸成の機会とする等が考えられた。現代はプライバシーが尊重される時代でありながら、3グループともに集団検診を望んでいることは意外な結果であった。しかし、対象が異なるグループから同様の結果が得られたことは、より強く住民の意識を反映している

ことが示唆された。今後は既存の検診を今一度見直し、若い女性に焦点をあてたサービスのあり方や工夫を検討し、実現に向けた取り組みをしていくことで、若い女性がより気軽に受診できるのではないかと考えられた。

フォーカスグループインタビューにより子宮頸がん検診に対する若い女性の意識を深く探ることができた。限られた時間の中で企画側が求める情報を得るためには、事前の調整や準備段階から綿密な計画を立てることが大切であり、更に実施後の解析では多くのデータを系統的に整理することで、地域で生活している住民の立場に立ったサービスについての課題を明らかにすることができたと思われる。

パンソルビン・トラップ法による食品中のウイルス遺伝子検出における血液製剤と感染者血清の利用

齋藤博之 須藤恒久*¹ 田中智之*²
野田 衛*³

第53回日本臨床ウイルス学会
2012年6月、大阪市

ウイルス-抗体-黄色ブドウ球菌の複合体としてウイルス粒子を回収し、Real-time PCRによって遺伝子を検出するパンソルビン・トラップ法(パントラ法)は、食品検体からノロウイルス(NoV)に代表される食品媒介ウイルスを検出するための実践的な手法である。しかし、本法の実用化には抗体の安定供給が障壁となっていた。本研究では、ウイルス特異的抗体の代替品として、ガンマグロブリン製剤、更には感染者の血清を用いた検討を行ったので報告する。

NoV, サポウイルス, アデノウイルス41型, 又はA型肝炎ウイルス(HAV)をモデルウイルスとして用い、市販のポテトサラダと焼きそば1g当たり105-106コピーを加えて添加回収試験を行った。ウイルストラップのために、ウイルス特異的ウサギ免疫血清、国内外4社のガンマグロブリン製剤、及び感染歴のあるヒト血清を用い、添加回収率を比較検討した。

NoV-GII/4を添加したポテトサラダは、ウイルストラップにNoV-GII/4特異的ウサギ免疫血清

を添加した場合78.3±10.8%，国外製ガンマグロブリン製剤であるGammagardの場合24.4±3.6%の回収率をそれぞれ示した。焼きそばにおいてもほぼ同様な結果であった。4社のガンマグロブリン製剤の中では、Gammagardが上記のウイルス全てにおいて安定した回収成績を示した。ガンマグロブリン製剤は、特異抗体の代替えとして有用である。一方、標的ウイルスに感染経歴をもつ患者血清を利用した場合も優れた添加回収率を示した。上記手法は、将来ヒトに感染する未知のウイルスが出現した場合でも、確実にウイルスをトラップすることができる有効な手法であると思われた。

*1：秋田大学

*2：堺市衛生研究所

*3：国立医薬品食品衛生研究所

自家調製したパンソルビン相当品を用いた食品中の病原ウイルス検出法の検討

斎藤博之 東方美保^{*1} 岡智一郎^{*2}
片山和彦^{*2} 田中智之^{*3} 野田 衛^{*4}

第33回日本食品微生物学会学術総会
2012年10月，福岡市

ウイルス性食中毒の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が、原因として疑われる食品からのウイルス検出は困難であった。我々は食品中の病原ウイルスを検出するための実践的な手法としてパンソルビン・トラップ法を開発し、実事例への適用を視野に検討を重ねてきた。実用化に向けての問題点の一つとして、検査の根幹となる試薬であるパンソルビン（ホルマリン固定された黄色ブドウ球菌）の製造メーカーが1社しかなく、在庫切れや製造中止のリスクをはらんでいることが挙げられた。この問題に対処するため本研究では、黄色ブドウ球菌を培養することで相当品の自家調製を試み、市販品との比較検討を行った。

黄色ブドウ球菌（Cowan I株）は理化学研究所バイオリソースセンターより提供を受けた。菌はベクトンディッキンソン社製「抗生物質培地3」2Lで48時間振とう培養し、8,000×g、10分

の遠心によって回収した。菌体ペレットをPBS 100 mLに再懸濁し、8,000×g、10分の遠心によって沈澱させる洗滌操作を2度行った後、1.5%ホルマリンを含むPBS 100 mLに懸濁し、攪拌しながら室温で90分処理した。8,000×g、10分の遠心によって回収した菌体を、前述の方法で1度洗滌し、PBS 100 mLに懸濁後、80°C 5分処理した。その後、8,000×g、10分の遠心によって菌体を回収し、2度洗滌を行って、最終的に16%となるように、0.1%アジ化ナトリウム添加PBSに懸濁した。

2 Lの培養スケールで得られた相当品は約20 mL（食品20検体分）であった。NoV-GII/4特異的ウサギ抗血清を用いた場合の回収率は、市販のパンソルビンで56%であったのに対し、自家調製した相当品で94%と1.7倍であった。また、各種ガンマグロブリン製剤を用いた汎用化プロトコルにおいても、相当品は市販品に対して2.2～3.1倍の回収率を示した。以上のことから、パンソルビンの相当品は有用であり、費用（市販品は食品1検体当たり約1,000円）の面でもメリットがあるものと考えられた。

*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・トラップ法によって食品検体から検出されたノロウイルスの遺伝子解析法の開発

斎藤博之 東方美保^{*1} 岡智一郎^{*2}
片山和彦^{*2} 田中智之^{*3} 野田 衛^{*4}

第60回日本ウイルス学会学術集会
2012年11月，大阪市

パンソルビン・トラップ法（パントラ法）は、食品検体からノロウイルス（NoV）を検出するための実践的な手法である。これまでに、ガンマグロブリン製剤を用いた汎用プロトコルが完成し、実用化への目途を付けることができた。

一方、実際に食品からウイルスが検出された場合には、より詳細な情報を得るために塩基配列を確認できるようにする必要があった。本法

第 21 回秋田応用生命科学研究会

2012 年 12 月, 秋田市

はホルマリン固定された黄色ブドウ球菌を用いることから、菌由来の RNA が大量に混入するという性質があり、これまでの RT-PCR の手法では塩基情報を得ることは困難であった。本研究は、パントラ法で得た RNA 試料から、シークエンス可能な NoV 由来増幅断片を得る方法を検討することを目的としている。

NoV-GI/4 又は NoV-GII/4 を含む糞便を段階希釈して市販のポテトサラダに添加し、汚染レベルの異なる被検体を調製した (105, 35, 10, 3 コピー/g)。次に、ガンマグロブリン製剤を用いたパントラ法によって RNA を得た。得られた RNA から、ランダムプライマー、PCR と共通のプライマー、あるいは新規にデザインした逆転写反応専用プライマー (PANR-G1, 又は PANR-G2) を用いて cDNA を合成した。その後、semi-nested PCR を行い、ゲル電気泳動で予想位置にバンドが認められた場合は切り出してシークエンスを試みた。

ランダムプライマーを用いて逆転写反応を行った場合には、NoV 特異的な増幅が認められなかった。PCR と共通のプライマーを用いた場合は、NoV 遺伝子の増幅が認められたものの、シークエンスは困難であった。逆転写反応専用プライマーを用いると、35 コピー/g の汚染レベルまで増幅バンドが認められ、シークエンスを確認したところ添加したウイルスと同一の配列であった。以上のことから、シークエンス可能な増幅断片を得るためには、逆転写専用プライマーを用いた cDNA 合成が有効であり、他の食中毒起因ウイルスにも応用できるものと考えられた。

*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

黄色ブドウ球菌から自家調製したパンソルビン相当品による食品中の病原ウイルス検出法の検討

齋藤博之 東方美保^{*1} 岡智一郎^{*2}
片山和彦^{*2} 田中智之^{*3} 野田 衛^{*4}

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) は、化膿性疾患などの原因となることから有害微生物として認識されている。一方で細胞壁に含まれる Protein A は IgG と強固に結合する性質を持つため、ホルマリン固定された菌体はパンソルビンという試薬として市販されている。我々は、上記のパンソルビンを利用することで、固形・液状・練り物・油物など多種・多様な食品からノロウイルス (NoV) に代表される食中毒起因ウイルスを検出する技術 (パンソルビン・トラップ法: 以下パントラ法と略) を開発した。一方で、検査の根幹となる試薬であるパンソルビンの製造メーカーが 1 社しかなく、在庫切れや製造中止のリスクをはらんでいることが課題として挙げられた。この問題に対処するため本研究では、黄色ブドウ球菌を培養することで相当品の自家調製を試み、市販品との比較検討を行った。

黄色ブドウ球菌 (Cowan I 株) は理化学研究所バイオリソースセンターより提供を受けた。菌はベクトンディッキンソン社製「抗生物質培地 3」2 L で 48 時間振とう培養し、8,000×g、10 分の遠心によって回収した。菌体ペレットを PBS 100 mL に再懸濁し、8,000×g、10 分の遠心によって沈澱させる洗滌操作を 2 度行った後、1.5% ホルマリンを含む PBS 100 mL に懸濁し、攪拌しながら室温で 90 分処理した。8,000×g、10 分の遠心によって回収した菌体を、前述の方法で 1 度洗滌し、PBS 100 mL に懸濁後、80°C 5 分処理した。その後、8,000×g、10 分の遠心によって菌体を回収し、2 度洗滌を行って、最終的に 16% となるように、0.1% アジ化ナトリウム添加 PBS に懸濁した。

2 L の培養スケールで得られた相当品は約 20 mL (食品 20 検体分) であった。NoV-GII/4 型特異的ウサギ抗血清を用いた場合の回収率は、市販のパンソルビンで 56% であったのに対し、自家調製した相当品で 94% と 1.7 倍であった。また、各種ガンマグロブリン製剤を用いた汎用化プロトコルにおいても、相当品は市販品に対して 2.2~3.1 倍の回収率を示した。以上のことから、パンソルビンの相当品は有用であり、費用

(市販品は食品 1 検体当たり約 1,000 円) の面でもメリットがあるものと考えられた。

*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

秋田県の Shimokoshi 型つつが虫病 13 症例の臨床疫学像と確定診断における問題点

佐藤寛子 斎藤博之 安部真理子
藤田博己^{*1} 須藤恒久^{*2}

第 53 回臨床ウイルス学会
2012 年 6 月, 大阪市

Orientia tsutsugamushi の代表的な血清型のうち、未だベクターが不明である Shimokoshi 型は、症例報告が少なく、感染例は稀であるとされているが、2009 年～2011 年の間に秋田県では 4 症例が確認された。そこで、過去 (1992 年～2008 年) の疑い例を含めたつつが虫病症例を血清学的に再検査したところ、新たに 9 症例を確認し得たため、診断上の問題点と併せて報告する。

各症例の発生地域は県北部 3 例、県中部 3 例、県南部 7 例で、発生時期は春季 9 例と秋季 4 例であった。13 例中に DIC 併発などの重症化例はなく、発熱は多くが 38℃ 台で無熱例もあった。また、刺し口がなく 40℃ の高熱、発疹の症例が当初、抗体陰性と判定されていた。

つつが虫の確定診断は、抗体検査や PCR 検査により行われている。抗体検査は多くの検査機関が Gilliam, Karp 及び Kato の標準 3 抗原を汎用しているが、これらは Shimokoshi 型との交差反応性が低いため、抗体陰性と判定されることもある。また、PCR 検査は、利便性に優れる特異的プライマーが普及していないため、判定に時間と費用を要する。今後は病原性の再評価とベクター解明に向けた調査の進展に加え、検査体制の改善が望まれる。

*1: 馬原アカリ医学研究所, *2: 秋田大学

秋田県の Shimokoshi 型つつが虫病 15 症例の臨床疫学像と確定診断における考察

佐藤寛子 柴田ちひろ 斎藤博之
藤田博己^{*1} 須藤恒久^{*2}

第 20 回ダニと疾患のインターフェース
2012 年 7 月, 阿南市

Shimokoshi 型 *Orientia tsutsugamushi* の感染例は稀であり、概して軽症であるとされている。この Shimokoshi 型が 2009 年～2012 年の間に秋田県では 5 症例が確認された。そこで、過去 (1992 年～2008 年) の疑い例を含めたつつが虫病症例を血清学的に再検査したところ、新たに 10 症例を確認した。

1992 年以降、15 症例の発生地域は県北部 3 例、県中部 3 例、県南部 9 例で、発生時期は春季 11 例と秋季 4 例であった。また、DIC 併発などの重症化例はなく、11 例は軽症傾向であったが、4 例は軽症とは言い難い傾向にあった。

Shimokoshi 型は他の型との交差反応性が低いいため、この型を用いない抗体検査では、つつが虫を否定する結果ともなり得る。また、PCR 検査は現在 Shimokoshi 型に対応できていない検査機関が少なくないようである。Shimokoshi 型が稀であるという従来の認識は、この型の感染症例に対する適切な検査が実施されて来なかったことの反映とも思われる。今後は Shimokoshi 型の人に対する病原性の再評価とベクター解明に向けた調査に加え、検査体制の整備が必要である。

*1: 馬原アカリ医学研究所, *2: 秋田大学

秋田県の夏季発症のつつが虫病患者から分離された *Orientia tsutsugamushi* の性状

佐藤寛子 柴田ちひろ 斎藤博之
門馬直太^{*1} 藤田博己^{*2} 須藤恒久^{*3}

第 58 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
2012 年 10 月, 旭川市

日本国内において、つつが虫病患者から検出あるいは分離されている Karp 系 *Orientia tsutsugamushi* (Ot) は、JP-1 型と JP-2 型に大別される。媒介種はそれぞれアラトツツガムシ、

フトゲツツガムシとされ、患者発生はこれら 2 種の幼虫の消長にあわせて春と晩秋に多い。しかし、2010 年 8 月、秋田県において発生したつつが虫患者の血清抗体価は、Karp が最も高かった。次いで、患者から分離された株（Ono 株）を含め、患者の血清抗体価を比較したところ、Karp, JP-1, JP-2 に対するよりも分離株に対する抗体価のほうが 4 倍以上の高値を示した。また、系統樹解析において Ono 株は従来の Karp, JP-1, JP-2 にも属さない Karp 系の Ono 型（仮称）とも呼ぶべき新たな型別であることが強く示唆され、MLST 法による解析では、Kato 型に属することが判明した。

夏季のつつが虫病は Kato 型 Ot 感染によるものという認識が強いが、秋田県では過去の調査においてフトゲツツガムシ幼虫が夏季にも活動していることが確認されている。本症例における媒介種がフトゲツツガムシかどうかは不明であるが、患者は発症の 5 日前に雄物川河川敷で釣りをしていることから、夏季の河川敷におけるアカツツガムシ以外のツツガムシ種の活動性の再調査が必要と思われる。

*1: 福島県衛生研究所, *2: 馬原アカリ医学研究所, *3: 秋田大学

Shimokoshi 型ツツガムシ虫病症例及び分離株と臨床検体を用いた検査診断の検討

佐藤寛子 柴田ちひろ 斎藤博之
門馬直太*1 藤田博己*2 須藤恒久*3

第 5 回日本リケッチア症臨床研究会・
第 19 回リケッチア研究会合同研究発表会
2012 年 12 月, 大津市

1992 年～2012 年の間に発生した Shimokoshi 型 *Orientia tsutsugamushi* (Ot) 感染症例数は 15 例であった。これらの患者発生域は県北部 3 例、県中部 3 例、県南部 9 例で、発生時期は春季 11 例と秋季 4 例であった。Shimokoshi 型は、概してヒトに対する病原性が低いと推測されており、15 例中に DIC などの重症例はなく、11 例は軽症傾向にあった。しかし、残る 4 例は、軽症とは言い難い傾向にあったことから、今後、Shimokoshi 型のヒトに対する病原性の再評価が

必要と思われる。また、15 例中 1 例から細胞培養において Shimokoshi 型 Ot 株を分離することができた。Shimokoshi 型は抗体検査において、他の型との交差反応性が低いため、病日が 10 日未満での抗体検査においては Shimokoshi 型抗原の使用が推奨される。また、PCR 検査は日常検査において Shimokoshi 型に非対応である検査機関が少なくない。そこで、国内で汎用されている 56kDa を標的とした Furuya ら(1993)の Primer との組み合わせで Shimokoshi 型を特異的に検出する Primer 設計を試みたところ、分離株 DNA と秋田及び福島両県の患者血液、痂皮由来 DNA を全て増幅し、他型 DNA は増幅されなかった。

マツ林に散布されたネオニコチノイド系農薬の挙動

小林貴司 松渕亜希子 松田恵理子
菅原冬樹*1 阿部実*1

第 21 回環境化学討論会
2012 年 7 月, 松山市

松くい虫による松枯れ病を防止するために、秋田県日本海沿岸の松林では 6 月下旬から 7 月上旬にかけて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、急性毒性が低く、ミツバチに対する毒性も低いとされているが、自然環境中での挙動に関する知見は少ない。そこで、平成 21～23 年の 6～11 月の期間、農薬散布後の松林の土壌について農薬含有量を継続的に調査し、マツ林への残留状況を評価した。

林中土壌が落葉で被覆されている状況を考慮し、深さ別（落葉などの被覆物、表土～5cm, 5～7cm 土壌）で 3 分画し、農薬濃度を測定した結果、アセタミプリド、チアクロプリド及びそのアミド体とも、ほとんどが表層の被覆物中に残留していた。被覆物中濃度の経時変化を見ると、6 月下旬から 7 月上旬に散布されたアセタミプリド、チアクロプリドともに散布日から徐々に増加し、1～13 日後に最大濃度で約 1000 ng/g-dry を示したのち、秋に向けて徐々に減少する傾向を示した。チアクロプリドの分解物であるアミド体の濃度が最大になるのは、母体の

チアクロプリドよりもやや遅れて、散布後 13～30 日であった。

*1: 秋田県農林水産技術センター森林技術センター

1,4-ジオキサンを含む埋立処分場浸出水の効率的な処理に関する検討

小林貴司 小川千春
菅原 剛 八柳 潤

第 47 回日本水環境学会
2013 年 3 月, 大阪市

水にも溶剤にも無制限に溶解し、かつ難分解性である 1,4-ジオキサンは、一般的な排水施設では処理できないとされていたが、県内の埋立処分場跡地地下水を処理する廃水処理施設において、特異的に効率よく処理されている。この施設での水処理工程のうち、1,4-ジオキサン濃度が減少するのは、好気条件での生物処理のみであり、揮散による VOC 除去や沈殿、活性炭での処理工程では、1,4-ジオキサン濃度はまったく減少していなかった。また、冬季に生物処理槽の水温が低下すると生物処理工程においても、1,4-ジオキサンは減少しなくなるが、ヒーターで 15℃以上に加温すると冬季でも 90%以上の除去効率を保つことが可能であった。

ヘッドスペース-GC/MS 法による水中 1,4-ジオキサン分析方法の検討

小川千春 小林貴司 木口 倫*

第 21 回環境化学討論会
2012 年 7 月, 松山市

平成 24 年 5 月、1,4-ジオキサンの排水基準設定と同時に、新たにヘッドスペース-GC/MS 法が排水及び環境水中 1,4-ジオキサン分析の公定法として定められた。以前からの公定法である固相抽出-GC/MS 法は、高感度であるが操作が煩雑な方法である。一方、ヘッドスペース-GC/MS 法は、前処理操作が簡便で、多数の検体の分析や複数の揮発性有機化合物との一斉分析

も可能な方法である。そこで、排水及び環境水中 1,4-ジオキサン分析を迅速に効率よく行うため、ヘッドスペース-GC/MS 法による水中 1,4-ジオキサン分析方法を検討した。

定量範囲を確認するため、1,4-ジオキサン濃度 0.005～2 mg/L の 8 段階の標準液をそれぞれ 5 回繰り返し測定した結果、一番低い濃度の 0.005 mg/L で再現性が低かった。0.01～2 mg/L の濃度範囲においては、再現性(変動係数が 10%以内)・正確さ(標準液濃度との適合率の差が ±10%以内)ともに良好であり、この範囲での定量が可能であった。

このヘッドスペース-GC/MS 法と固相抽出-GC/MS 法により、実試料 48 検体(排水 7 検体、地下水 27 検体及び公共用水域 14 検体)を測定し比較した結果、0.01 mg/L 以上の 22 検体について、二法の定量値はよく一致していた。

検討結果から、ヘッドスペース-GC/MS 法での 1,4-ジオキサンの定量下限値は 0.01 mg/L であり、ヘッドスペース-GC/MS 法は排水試料(排水基準: 0.5 mg/L)の分析に適用できると考えられた。また、地下水や公共用水域などの環境試料(環境基準: 0.05 mg/L)の分析についても、スクリーニング法として適用可能と考えられた。

*: 秋田県立大学

玉川源泉から湧出する鉄及びアルミニウムのイオン成分が関与する源泉下流域及び田沢湖の pH 低下機構

成田修司 佐々木純恵
布田 潔*¹ 宮田直幸*²

第 47 回日本水環境学会
2013 年 3 月, 大阪市

秋田県仙北市に位置する玉川源泉の大噴は世界的にも珍しい硫酸-塩酸、鉄(Fe)(II)を主成分とし、pH 約 1.2 の強酸性水 9000 L・min⁻¹を湧出している。この酸性水は、玉川に流入することによって下流の土壌や河川に影響を与えてきた。この対策として、平成 3 年から現在の玉川中和処理施設が運転を開始することにより、下流の pH が改善されてきた。同処理施設には、

源泉の大部分が導入され、pH 約 3.5 まで石灰中和した後、玉川支流の渋黒川に放流されている。この渋黒川の pH2.9~3.9 の流域では、源泉由来の Fe (II)、硫酸イオン (SO₄²⁻) 等が結合し、非晶質水酸化鉄が形成され、源泉中のヒ素 (As) が取り込まれることによる河川水中での As 濃度の減少が報告されている¹⁾。前述の反応条件で生成する非晶質水酸化鉄と考えられる茶褐色の堆積物を、我々は同処理施設放流口で発見した。そこで本研究では、上記堆積物の同定を行うと共に Fe, As, クロム (Cr) 等の成分を定量し、中和処理との関係を明らかにすることを目的とした。

中和処理施設放流口にみられた堆積物の XRD, FT-IR の結果より、オキシ酸化鉄硫酸塩鉱物の一種であるシュベルトマナイトを主成分とするシュベルトマナイト様化合物 (Sch 様化合物) であることを明らかにした。また、源泉、中和処理水、堆積物 (Sch 様化合物) の Fe, As, Cr の組成分析結果を表に示す。

表 源泉、中和処理水、堆積物の Fe, As, Cr 組成

元素 平均値	源泉 (mg・L ⁻¹)	中和処理水 (mg・L ⁻¹)	堆積物 (wt.%)
Fe	150	55	39
As	2.8	0.75	1.7
Cr	0.093	0.025	0.020

源泉中に 150 mg・L⁻¹ 含まれていた Fe は中和処理によって 55 mg・L⁻¹ まで減少した。それに伴い源泉中の As 及び Cr も 2.8, 0.093 mg・L⁻¹ からそれぞれ 0.75, 0.025 mg・L⁻¹ に減少した。また、堆積物 (Sch 様化合物) には Fe, As, Cr をそれぞれ 39, 1.7, 0.020 (wt.%) で含有していたことから、中和処理によって上記 Sch 様化合物が上記元素を取り込みながら形成し、放流口に堆積したと考えられる。これらの結果は、源泉の Fe, SO₄²⁻ 成分や pH 約 3.5, 中和温度約 60℃ など同処理条件が一般的な Sch 様化合物の生成条件と類似していること、Sch が As, Cr のオキシニウムイオンを取り込む性質を有することによって、もたらされたと考えられる。以上の結果から、中和を目的とした同処理施設の副次的効果として、下流域の水環境保全への寄与が明

らかとなった。

*1: 秋田大学大学院工学資源学研究所

*2: 秋田県立大生物資源学部

参考文献 1) 佐藤比奈子ら (2005), NMCC 共同利用研究成果報文集, 13, 128-134.

もみ殻を原料としたリン回収材の開発とそれを活用した八郎湖高濃度リン対策への展開

成田修司 石垣 修 鈴木忠之
第 39 回環境保全・公害防止研究発表会
2012 年 11 月, 熊本市

「米どころ」秋田では、収穫後「もみ殻焼き」が行われ、大気汚染及び健康被害の原因として、長年の懸案事項となっている。秋田県健康環境センターでは、この課題を受け、県民の健康を守るため、もみ殻を未利用資源として有効利用するため、水中に溶存しているリンを除去・回収する素材開発を行い、当センターでは初の特許 (特許第 4840846 号: カルシウムもみ殻炭) を取得した。発表者らは、この素材の効果的な利活用を目指し、次に示す 2 つの実証試験を行った。一つは本県の八郎湖における富栄養化の一因である大瀧村南部の方上地区から湧出する高濃度リン湧出水の除去回収、もう一つは「リンを回収したもみ殻炭」の肥効試験*である。

リンの除去・回収試験は、リン湧出水をカルシウムもみ殻炭を充填したリン除去・回収装置 (図) に引き込むことにより実施し、その試験結果を次に示す。リン湧出水のリン濃度は PO₄-P mg/L で約 1.8 mg/L であるが、処理後の濃度は約 0.5 mg/L と約 1/4 の濃度に減少した。また、水質汚濁の指標である COD (化学的酸素要求量) についても同時に調査したところ、湧出水では約 5 mg/L であったが、4 mg/L 程度まで減少していたことから、20% ほどの除去が確認された。つまり、この回収装置はリンの除去・回収のみの削減を狙ったものであったが、副次的な効果として COD も削減できることが明らかとなった。

また、ブロッコリー栽培において、リン吸着後の「もみ殻炭」と化成肥料の 888 を施肥した場合について肥効試験*を行った。この試験結果

から、初期生育における葉の大きさに著しい違いが見られ、化成肥料と比べ、リン吸着後のもみ殻炭を施肥したものが良好な生育であることがわかった。更に、化成肥料の施肥試験時における、栄養塩の溶脱によると考えられる幼葉、若葉が紫色化は、もみ殻を用いた場合には見られなかった。また、この技術が現在、長崎県の諫早湾の水質浄化対策で活用されることについても報告した。



図 フィールドに設置したリン除去・回収装置

※リン以外の窒素成分及びカリ成分については、化成肥料 888 と同量添加し、施肥を行った

2. 他誌掲載論文

食中毒疑い事例の検査で検出された
*Escherichia albertii*について

今野貴之 八柳潤 高橋志保 熊谷優子
 和田恵理子 千葉真知子 齊藤志保子
 三浦聡子*¹ 小山真人*¹ 金 和浩*¹

Infectious Agents Surveillance Report, **33**, 5, 2012,
 133-134.

平成 23 年 11 月 13 日 (日) Y 市の飲食店においてスポーツ少年団の大会終了後の慰労会を開催した 3 校の児童及び保護者等 170 名のうち、22 名が 13~15 日にかけて嘔吐、下痢、腹痛、発熱等の食中毒様症状を呈した。

施設従業員便 16 検体、患者便 19 検体、施設内ふきとり 10 検体に関して食中毒原因菌及びノロウイルスを調査した。その結果、腸管病原性大腸菌 O 抗原型別不能が患者 1 名から、ノロウイルスが患者 2 名から検出された。また、*E. albertii* がノロウイルスの検出されたうちの 1 名から、病原大腸菌の検査に関連して検出された。

今回、病原大腸菌の病原因子の探索に加えて、*uidA* や *lysP* 及び *mdh* といった菌種特異的、若しくは菌種により多型性を持つ遺伝子の PCR を併用することで *E. albertii* の同定が可能であった。ただし、本事例において *E. albertii* が検出された患者からはノロウイルスも検出されており、病原性や臨床症状に対する本菌の関与は不明であった。*E. albertii* の病原性や疫学、臨床症状との関連については知見が不足しており、その解明のためには今後も更なる事例の集積が必要と考えられる。また、衛生研究所等においては、今後このような非典型的な下痢原性病原菌によって食中毒等が発生した場合であっても、原因不明となって衛生改善指導等に支障をきたすことのないよう確実に分離同定することが重要と考えられる。

*¹: 由利本荘保健所環境・食品衛生班

血液から分離された *Haemophilus influenzae* e 型について

今野貴之 八柳潤 高橋志保 熊谷優子
 和田恵理子 千葉真知子 齊藤志保子
 佐藤謙太郎*¹ 奈良昇悦*¹ 三浦浩子*¹
 太田和子*¹ 高橋義博*¹ 大本直樹*²

Infectious Agents Surveillance Report, **33**, 6, 2012,
 164-165.

76 歳男性の患者において、誤嚥性肺炎から菌血症に至る中で血液培養より *Haemophilus influenzae* を確認した。

分離株の莢膜の血清型を市販の抗血清及び PCR 法を用いて調査したところ、莢膜型の中でも比較的まれな e 型であることを確認した。更に、薬剤耐性に関与する遺伝子としてペニシリナーゼ (*bla*_{TEM}, *bla*_{ROB}) 及び PBP のアミノ酸変異の検出を PCR 法により行ったところ、分離株は *bla*_{TEM}, *bla*_{ROB} に関しては両者とも (-) であったが、β-lactamase-negative ampicillin-resistant *H. influenzae* (BLNAR) group III に該当する PBP の変異が検出され、薬剤耐性菌と考えられた。

e 型が分離される症例はまれであるが、その臨床的な特徴は Hib と同様と考えられている。また、BLNAR の場合、治療に難渋することが多いため、本菌による感染症の動向については莢膜の血清型のみではなく、薬剤耐性の状況も併せて注視していくことが必要と思われる。

*¹: 大館市立総合病院 *²: 大館市立扇田病院

髄膜炎菌同定検査 2 件における検査結果の比較

今野貴之 八柳潤 高橋志保 熊谷優子
 和田恵理子 千葉真知子 齊藤志保子
 齋藤 敦*¹ 佐々木志緒*¹
 深井聡子*¹ 三浦美奈子*¹

Infectious Agents Surveillance Report, **33**, 12,
 2012, 338.

髄膜炎菌 (*Neisseria meningitidis*) は、0.6~0.8

μm のグラム陰性の双球菌で、くしゃみなどによる飛沫感染により伝播し、気道を介して血中に入り菌血症（敗血症）を起こし、更に髄液にまで侵入することにより髄膜炎を起こすことが知られている。今回、2012（平成 24）年 2 月と 7 月の泌尿器科領域の検体から髄膜炎菌を疑う菌株が分離され、その同定を *ctrA* と *sodC* を対象にした TaqMan Real-time PCR 及び 16S rRNA 遺伝子の相同性解析により行った。

2 件の髄膜炎菌同定検査のうちの 1 件において、*ctrA* を対象にした Real-time PCR による偽陰性と考えられる事例を経験した。*ctrA* は、PCR による髄膜炎菌の検出に最もよく利用される遺伝子であるが、遺伝子の多型性による偽陰性の報告が数例あるほか、*ctrA* を含む莢膜遺伝子群は再構成されやすく、*ctrA* を欠く場合がある。*ctrA* のように菌株によって配列に違いの多い遺伝子を対象にした場合、陰性と誤判定してしまう可能性があり注意が必要である。今回、我々は Real-time PCR に加え、16S rRNA の相同性解析を平行して行っていたことにより誤判定をせずに済んだ。また、*sodC* を対象にした Real-time PCR は *ctrA* で同定できなかった菌株にも有効であったことから、*sodC* は *ctrA* に代わる髄膜炎菌検出の対象遺伝子として有用であると考えられる。

*1：秋田県総合保健事業団児桜検査センター

Isolation and identification of *Escherichia albertii* from a patient in an outbreak of gastroenteritis

Takayuki Konno, Jun Yatsuyanagi,
Shiho Takahashi, Yuko Kumagai, Eriko Wada,
Machiko Chiba, Shioko Saito

Jpn J Infect Dis, **65**, 3, 2012, 203-207.

A microbial strain harboring the *eae* gene, which is known as the virulence gene of enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) and most enterohemorrhagic *E. coli*, was isolated from a patient in a gastroenteritis outbreak that occurred in 22 patients in Akita Prefecture, Japan, in November 2011. The biochemical characteristics of the isolate

were more similar to those of a novel *Escherichia* sp., *E. albertii* than *E. coli*. Partial 16S rRNA gene sequences of the isolate were identical to those of a certain *E. albertii* strain, but also showed a high degree of similarity to those of *E. coli* strains. Finally, we identified this isolate as *E. albertii* by performing PCR analysis that targeted the *uidA*, *lysP*, *mdh*, and *cdtB* genes in addition to *stx* and *eae* genes to differentiate between the EPEC and *E. albertii* strains.

アカツツガムシ親和性 Kato 型つつが虫病患者の確認を受けての秋田県雄物川流域における調査成績（2009）

佐藤寛子	柴田ちひろ	斎藤博之
佐藤了悦	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}	須藤恒久 ^{*6}

衛生動物, **64**, 1, 2013, 21-25

1993 年以降、国内において高病原性 Kato 型 *Orientia tsutsugamushi* 感染例の報告がなかったことから、媒介種であるアカツツガムシは絶滅したとも言われていた。しかし、2008 年 8 月、秋田県大仙市において発生したつつが虫病患者は、その血清抗体価と感染時の状況から Kato 型 *Orientia tsutsugamushi* 感染であることが強く示唆された。これを受け、翌 2009 年、感染推定地における調査を開始したところ、アカツツガムシの生息を確認し、捕獲野鼠から Kato 型 *Orientia tsutsugamushi* の分離に成功した。更に、アカツツガムシの生息は、毎年 8 月に大仙市の雄物川河川敷で行われる全国的に有名な花火大会会場においても確認された。地元住民及び観光客を健康被害から守るため、今後も調査を継続し、夏季発生のつつが虫病に関する啓発を地元自治体のみならず全国的にも広める必要があると思われる。

*1 埼玉医科大学 *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 秋田大学

神頼みと人頼み～ツツガムシ対策～

佐藤寛子

ダニ研究, 第7号, 2013, 10-15

アカツツガムシが媒介する Kato 型 *Orientia tsutsugamushi* によって発症するつつが虫病は、新潟、山形、秋田の特定河川流域で発生する風土病だったが、近年、患者発生とアカツツガムシが確認されるのは、秋田県のみである。つつが虫病対策は、行政機関が中心となる啓発活動、医療機関が中心となる早期治療・診断の両面で行われており、前者の一翼を担う私たちは、より効果的な啓発を行うためにツツガムシの分布域や季節的消長等を調査し、その結果を患者情報と併せて発信している。

しかし、過去には別の両面対策が存在した。

第1の対策：神頼み

雄物川沿いの各地域にはケダニ防除のため、あるいは犠牲者を弔うためのケダニ地蔵や神社、祠が点々とあり、我々は今年までに3市1町に神社4か所、寺1か所、祠4基、地蔵5体、石碑2基、計16箇所確認した。それぞれの建立年は異なるが、江戸時代後期～大正のものがほとんどである。秋田のつつが虫病関連の史跡は防水や水神に係るものと一緒に祭られているものが多く、地元住民は、水の神とケダニの神に恐れを抱きつつ、祈りを捧げていたのであろう。

第2の対策：人頼み

神頼み的一方で行われた対策は、特殊な技術を持った人（医師とは限らない）によって行われた「毛掘り」である。人見蕉雨がその著書に「さされて除かされは…死す」と記し、大友玄圭が「沙蟲ヲ摘除スレバ予防ニ効アルコトヲモ教ヘリタ」（秋田県史より抜粋）と記録しているように、ツツガムシを摘出することが有効とされていた時代があった。昨年、この毛掘りが昭和40年頃まで有効であると一部地域で信じられ、実際に行われていたことと、その道具が現存していることが我々の調査で確認された。この道具は、現在、持ち主から秋田県立博物館に寄贈され、保管されている。

男性泌尿器科受診者における尿中ヒトパピローマウイルス遺伝子検出の検討

柴田ちひろ 佐藤寛子 斎藤博之
安部真理子 千葉真知子^{*1} 能登 彩^{*2}
能登 舞^{*3} 能登宏光^{*4}

医学検査, 61, 3, 2012, 585-589.

ヒトパピローマウイルス（HPV）は子宮頸がんの原因ウイルスとして知られているが、男性の尿路・性器がんへの関与も指摘されている。しかし、男性のHPV感染状況については女性ほど研究が進んでおらず、その実態はほとんど分かっていない。そこで、秋田県内の泌尿器科受診者を対象に男性におけるHPV感染状況について調査した。

平成21年6月～平成22年5月に秋田泌尿器科クリニックを受診した尿路・性器感染症の自覚症状のある患者103名、自覚症状の無い患者13名の計120名を対象に、インフォームドコンセントを得た上で初尿検体を採取した。検査は、検体からDNAを抽出した後、内部標準物質であるβ-globinが検出された場合のみを有効検体としてnested-PCRによるHPVの検出を行った。HPV陽性検体はダイレクトシーケンスによりgenotypeを判定した。

120検体中、β-globinが検出された有効検体は98検体であった。このうちHPVは8検体から検出され（検出率8.2%）、いずれも自覚症状のある患者から検出された。Genotypeはハイリスク型が6例（16型2例、18型1例、33型1例、52型1例、58型1例）、中間リスク型が1例（66型）、ローリスク型が1例（11型）であった。

今回、男性からもHPVが検出されたことで、今後は女性だけではなく男性も対象としたHPV感染予防の啓発が必要であると考えられた。

*1：前健康環境センター *2：かづの厚生病院

*3：秋田大学医学部附属病院 *4：秋田泌尿器科クリニック

秋田県健康環境センター年報
第8号 2012

発行日 平成 25 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

