

ISSN 1882-9139
CODEN:MHKKDS

三重保環研年報

Ann. Rep. Mie Pref.
Hlth & Environ. Res. Inst.

三重県保健環境研究所年報

第15号(通巻第58号)

2013年

Annual Report of Mie Prefecture Health and Environment Research Institute

No. 15(Serial No. 58)

2013



三重県保健環境研究所

はじめに

三重県では、平成24年4月に「県民力でめざす『幸福実感日本一』の三重」を基本理念とする「みえ県民力ビジョン」を策定しました。この「みえ県民力ビジョン」は、長期的な視点に立ち、三重県のあるべき姿を展望し、県政運営の基本姿勢や政策展開の方向性を示すものであり、概ね10年先の将来を見据えた県の戦略計画であります。

政策展開の基本方向は「守る」「創る」「拓く」の三本柱により形成されており、各所属はこれらの基本理念の実現に向け取り組んでいます。

そのなかで、保健環境研究所は、県民の命と暮らしの安全・安心を実感できるための「守る」を基本理念と捉えて地域における科学的・技術的中核機関として、積極的な感染症対策、食の安全・安心の確保等に係る調査研究、試験検査、研修指導、公衆衛生情報の収集・解析・情報提供を行い、公衆衛生の向上に努めてきました。

私たち保健環境研究所の職員は、常に時代の変化や社会経済情勢に対応し、公設試験研究機関としての機能強化に努めなければならないと考えています。戦略計画も2年目を迎え、これまで以上に県民ニーズに合った調査研究・試験検査を進めていくことが重要であり、県民のみなさまには科学的な情報を迅速に提供していかなければならないということを一層強く感じています。そして、環境・衛生行政を支えるための科学的根拠に基づく情報を提供できれば、県民のみなさまの不安の解消に大きく貢献できるものと確信しています。

これからも、職員ひとり一人が、日々「誰のために」「何のために」を念頭におき、調査研究・試験検査に取り組んでいきます。そして、県民のみなさまが「命と暮らしの安全・安心を実感」できるよう努めて参りますので、皆さま方には変わらぬご支援をいただきますようよろしくお願いいたします。

このたび、平成24年度の調査研究結果及び業務実績を取り纏めた「三重県保健環境研究所年報第15号（2013年）」を発刊しましたのでご高覧いただき、忌憚ないご意見をいただければ幸いです。

平成25年9月

三重県保健環境研究所
所長 西中 隆道

目 次

	頁
I 概 要	
1 沿革及び組織	
1.1 沿革	1
1.2 組織	3
2 業務概要	
2.1 研究	4
2.2 試験検査	9
2.3 研修指導	17
2.4 情報の収集・解析・提供	21
2.5 ISO9001:2008品質マネジメントシステムの構築と運用	22
3 学会報告	23
4 他誌掲載論文	27
II 研究報告	
1 原著	
Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法によるボカウイルス迅速検 出法の検討	32
矢野拓弥,前田千恵,小林章人,赤地重宏,松野由香里,山寺基子,楠原一, 永井佑樹,小林隆司,西中隆道	
鶏肉から分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌…	37
永井佑樹,岩出義人,赤地重宏,小林隆司	
味噌の特定原材料検査(小麦)における大麦の影響について……	43
一色 博,竹川雄太,林 克弘,志村恭子	
2 ノート	
三重県独自の調査様式による性感染症サーベイランスの有効性 ～年2か月間の拡大サーベイランス結果について～	50
福田美和,高橋裕明,奈良谷性子,山内昭則	
健康危機事象案対応のための食品中重金属類迅速分析法の検討について……	56
吉村英基,前田千恵,原 有紀,志村恭子	

甲状腺末中の遊離ヨウ素および甲状腺ホルモンの含有量調査……………	59
竹内 浩,佐藤 誠,原 有紀,志村恭子	
イカリインの抽出方法の検討とインヨウカク中の含有量調査……………	63
竹内 浩,林 克弘,志村恭子	
LC-MS/MSによる残留動物用医薬品一斉試験法の検討と妥当性評価……………	66
村田 将,豊田真由美,竹内 浩,原 有紀,林 克弘,志村恭子	
三重県におけるベンゾ(a)ピレンの状況について……………	73
佐来栄治,高士昇吾,西木美紗子,寺本佳宏,西山 亨,吉岡 理	
過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法の効果……………	79
西木美紗子,西山 亨,高士昇吾,寺本佳宏,宮村典仁,佐来栄治,吉岡 理	
3 資料	
三重県における2012年度環境放射能調査結果……………	86
吉村英基,村田 将,森 康則,澤田陽子,前田 明,志村恭子	
2012年度の先天性代謝異常等検査の概要……………	93
小林章人,前田千恵,楠原 一,永井佑樹,小林隆司	
2012年感染症発生動向調査結果……………	97
楠原 一,矢野拓弥,赤地重宏,前田千恵,永井佑樹,岩出義人,小林隆司	
2012年度感染症流行予測調査結果 (日本脳炎, インフルエンザ, 風しん, 麻しん) の概要……………	104
矢野拓弥,前田千恵,楠原 一,赤地重宏,松野由香里,山寺基子,小林隆司, 西中隆道	
“Mieこどもエコフェア”への出展について ～環境教育に関する一考察～……………	110
新家淳治,齋藤麻衣,宇佐美敦子,柘植 亮,巽 正志,市岡高男,秋永克三	

I 概 要

1 沿革及び組織

1. 1 沿 革

1) 衛生研究所

本研究所設立以前は、三重県には衛生試験所と細菌検査所があり、それぞれの目的に従って業務を行っていたが、地方衛生研究所設置に関する厚生省通達（昭和 23 年 4 月 7 日付発予第 20 号）により、昭和 23 年 6 月にこれらを統合して三重県衛生研究所が設立された。

昭和 23 年 6 月 10 日 衛生試験所及び細菌検査所を統合して三重県衛生研究所（津市広明町 310 番地）を設立。

昭和 28 年 7 月 16 日 食品衛生法の規定により検査施設として指定。（昭和 28 年 7 月 20 日三重県告示第 525 号）

昭和 40 年 11 月 1 日 津保健所・衛生研究所・高等看護学院合同庁舎（津市栄町 1 丁目 172 番）に移転。

昭和 58 年 3 月 15 日 三重県津庁舎（津市桜橋 3-446-34：保健所・衛生研究所棟）に移転。

平成 10 年 4 月 1 日 三重県行政組織規程の一部改正により、三重県科学技術振興センター衛生研究所として業務を開始。

2) 環境科学センター

地方公害試験研究機関は、現在ではすべての都道府県、政令指定都市に設置されているが、昭和 42 年に三重県と静岡県に初めて独立した機関として設置されたのがその原点となっている。

昭和 42 年 8 月 1 日 三重県公害センター（四日市市堀木 2-16-24）を設立。

昭和 48 年 2 月 19 日 三重県公害センターを三重県四日市庁舎敷地内（四日市市新正 4-21-5）に移転。

昭和 51 年 4 月 1 日 三重県公害センターを三重県環境科学センターに改組、併せて、南勢支所（津市高茶屋小森町）を設置。

昭和 54 年 10 月 16 日 三重県環境科学センター南勢支所を三重県松阪庁舎（松阪市高町 138）に移転。

平成 5 年 4 月 1 日 三重県環境科学センター南勢支所を廃止し、三重県環境科学センター松阪市駐在に改組。

平成 10 年 4 月 1 日 三重県行政組織規程の一部改正により、三重県科学技術振興センター環境科学センターとして業務を開始。

3) 保健環境研究所

地域保健行政、環境保全行政の原点は「住民の健康の維持増進と生活環境の安全確保」であり、その科学的、技術的な基盤を担う三重県科学技術振興センター保健環境研究所として衛生研究所と環境科学センターの統合がなされ、その後、組織改編に伴い同保健環境研究部と改称した。

平成 11 年 4 月 1 日 三重県環境科学センターと三重県衛生研究所を統合し、三重県科学技術振興センター保健環境研究所として業務を開始。

平成 11 年 8 月 13 日 鈴鹿山麓リサーチパーク内（四日市市桜町 3690-1）に新築移転。

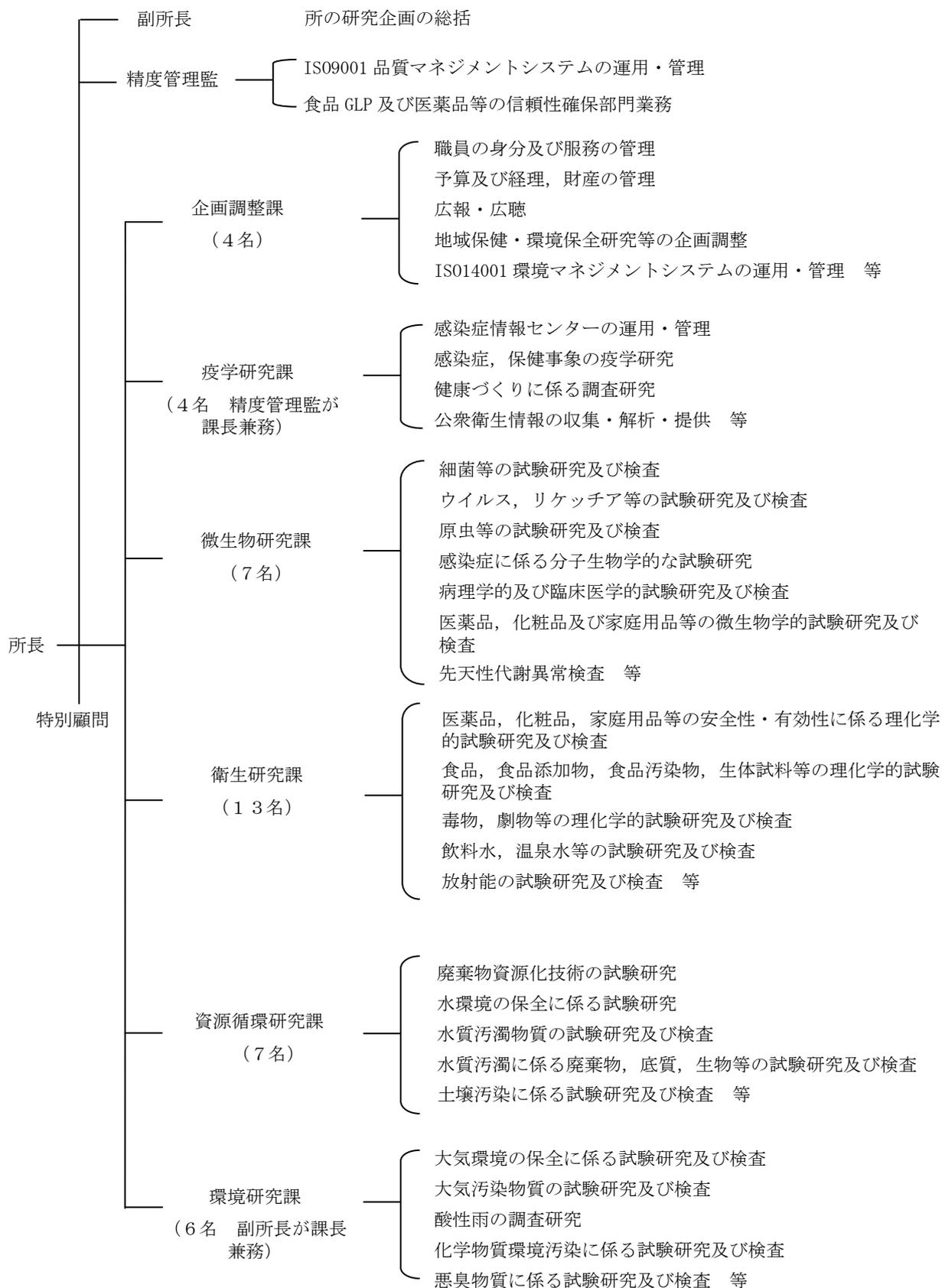
平成 13 年 4 月 1 日 組織改編に伴い三重県科学技術振興センター保健環境研究部と改称。

公設試験研究機関の使命である研究成果を着実に移転し，地域保健・環境保全行政サービスの維持・向上を図るため，平成20年3月末をもって科学技術振興センターが廃止され，同年4月から保健環境研究部は健康福祉部及び環境森林部の共同所管となり，併せて機関名称も保健環境研究所と改称した。

平成20年4月1日 組織改編に伴い三重県保健環境研究所と改称。

1. 2 組 織

(平成25年4月1日現在)



2 業務概要

2.1 研究

1) 疫学研究課

(1) 新たな性感染症サーベイランス確立に向けた先駆的研究（平成 23～25 年度）

性感染症サーベイランスは、性感染症の発生・まん延防止対策に必要となる科学的根拠を提供する手段として重要であり、現在の患者発生状況を考慮すると、特に若年層を中心とした発生動向を正確に把握できる仕組みに改善する必要がある。平成 19 年度から 3 年で実施した研究事業「性感染症予防推進戦略的サーベイランス研究事業」の成果に加え、平成 22 年度事業「エイズ対策に向けたパートナー検診の推進に関する調査研究」により実施した、性感染症患者を診察する可能性のある医療機関を対象としたアンケートの結果等も踏まえ、全国の取組に先駆けて、現状のシステムより有効に機能する先駆的性感染症サーベイランスシステムの構築をめざす。

平成 24 年度は、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に基づき性感染症患者の発生報告を依頼する指定医療機関（以下「定点」）に新方式のサーベイランスについて詳細を説明し、新たな様式によるデータの収集を平成 24 年 1 月より開始した。平成 24 年度は、新方式のサーベイランスを継続するとともに同じ様式による拡大サーベイランス調査を 9 月から 10 月の 2 か月間実施し、その結果 53 機関（皮膚・泌尿器科系 30 機関、産婦人科系 23 機関）から協力が得られた。2 か月間の患者報告数は 263 人（男 114 人、女 149 人）であった。新方式によるサーベイランスの結果を分析・評価し、その結果に基づき所要のブラッシュアップを図り、有効な性感染症サーベイランスシステムの確立をめざす。

(2) 自然災害時を含めた感染症サーベイランスの強化・向上に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）（平成 24～26 年度）

感染症サーベイランスについて、その運用状況や結果を分析し、疾患ごとの目的に応じたサーベイランスの向上の方法について、関係者が具体的に活用できる提言を行うとともに、自然災害時における感染症サーベイランスの効率的運用に向けた手法の開発を行う。1) 現状のサーベイランスの分析 2) 疾患毎の目的に応じたサーベイランスの向上の方法 3) 自然災害時の運用を含めた平常時からのサーベイランスネットワークの維持。これらの課題のうち、性感染症における分担研究班の中で、三重県での研究結果を分析し提案を行う。

2) 微生物研究課

(1) 三重県におけるリケッチア感染症に関する研究

日本紅斑熱は、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により 4 類感染症に指定されているダニ媒介性のリケッチア感染症であり、国内において患者が増加傾向にある。三重県は日本紅斑熱患者報告数が平成 19～24 年の 6 年間連続全国 1 位であり、患者の居住地域から三重県南部に原因となるリケッチア保有ダニの存在が推定されるが、県内全域における実態は不明である。また、日本紅斑熱は比較的新しい疾病であるためか市販検査キット等は存在せず、検査が行われていない可能性も否定できない。そこで、三重県内においてリケッチア保有ダニの分布調査を実施し、地域における日本紅斑熱発生リスク評価を行い、県民への注意喚起の科学的根拠とする。また、検査診断を容易に実施可能とするため、検査キットの理論構築および開発を実施する。手法としてはサンドイッチ ELISA 法、イムノクロマト法を中心に検討し、迅速かつ多検体処理が可能な検査診断キットの開発を目指す。

(2) 遺伝子解析を用いた結核感染動向及び多剤耐性結核菌に関する研究

結核は、三重県でも新規登録患者数が年間 280 人となっており（2011 年）、現在でも公衆衛生上重要な感染症である。また、学校、医療機関、高齢者福祉施設等における施設内集団感染の問題も発生している。

地域における発生状況や集団感染時の発生源感染経路等を明らかにし、発生拡大を防止することは最重要課題であるが、その予防対策の一翼を担う結核菌の遺伝子解析の情報が、県内にはほとんどない状況である。このことから、県内の患者由来の結核菌について遺伝子解析を実施するとともに、そのデータを蓄積し、データベース化することで県の結核予防対策をより効果的に推進することが可能となる。また、多剤耐性結核菌対策として、迅速な遺伝子診断方法についての検討を行い、より迅速に査結果を医療機関に提供することを目的とする。

結核菌の遺伝子解析については、平成 25 年度も引き続き、県内分離株を対象として遺伝子型別を実施してデータを蓄積しデータベース構築を目指す。

迅速な薬剤耐性診断法としては、平成 24 年度において real-time PCR を用いた HRM 解析により結核菌の主要な 4 薬剤に対する遺伝子変異の検出法を検討した。平成 25 年度では、新たにターゲットとする遺伝子を追加し、同様の方法で検出できるかどうかを検討するとともに、より検出効率が高く、精度の高い方法の開発を試みる。

(3) 高感度検出法を用いた病原性腸炎ビブリオの国内産二枚貝の汚染状況調査

魚介類サンプルから腸炎ビブリオ病原性菌株の検出感度を向上させるために、選択的増菌培養および選択的分離培地の使用に加えて、我々は新しい免疫磁気ビーズ法および LAMP 法を追加した方法を用いて、国内産のアサリ、ハマグリ汚染状況を調査した。平成 24 年 6 月から 9 月で、アサリ 14 回、ハマグリ 5 回、シジミ 4 回合計 21 回サンプリングを行い調査したところ、tdh 遺伝子がアサリから 4 回、trh 遺伝子がアサリから 8 回ハマグリから 1 回検出された。

3) 衛生研究課

(1) 健康危機発生時における化学物質迅速検査マニュアル策定検討調査

近年、食の安全・安心を脅かす事案が続発しており、このような健康危機発生時には迅速に原因物質を特定し、的確な検査を実施して行政判断や行政措置のための科学的・技術的根拠を提供することが要求される。

本研究は、健康危機発生時において、迅速かつ正確な検査結果を提供するため、原因物質を特定していくためのスクリーニング法、さらにその特定された物質の定量法などの検査法を確立し、迅速検査マニュアルとして策定するものである。健康被害の原因となる物質について、データベース等により情報収集を行い、影響度・重篤度を考慮し、農薬類、揮発性有機化合物、重金属、ヒスタミンなどの項目を選定し、簡易検査キットの適用性、機器による迅速分析法について検討を行った結果を取りまとめ、「健康被害原因物質（化学物質）迅速検査マニュアル」を策定した。

(2) 無承認無許可医薬品等の網羅的試験法の開発事業費

近年、いわゆる健康食品による健康被害の発生が危惧されている状況が続いており、このような状況を放置しておくとならば全国的に被害がさらに拡大する可能性がある。このため、行政が主体となり買い上げ調査などの規制、無承認無許可医薬品等の危険性に関する情報提供や普及を行う必要があり、早急に未対応の無承認無許可医薬品等成分の試験法開発及び検査体制の整備、継続的な検査対象項目の拡大が求められている。

本研究では、これまで個別分析法で対応していた成分（強壮成分と痩身成分）、新たに加える健康危害成分（局所麻酔薬、消炎鎮痛薬等）及び添加剤の網羅的試験法を確立し、作業の迅速化を図る。研究成果として無承認無許可医薬品の検出事例を調査し、検出事例の多い医薬品成分と食品添加物をターゲット成分として選定した。ターゲット成分について、PDA-HPLC、LC/MS/MS 及び GC/MS で

測定可能か検討した。

(3) 健康づくり支援のための温泉資源の活用と保全に関する研究

高齢者医療や介護の分野に対する社会的需要が高まる中、温泉資源を健康づくり支援に活用可能な地域資源として捉え、効果的な温泉利用のための知見を収集することにより、県民の健康づくりの推進に資することを目的とする。

温泉資源を活用した地域保健施策に積極的に取り組む自治体、医療関係者、研究者、事業者の協力を得ながら、産学官連携のもと、温泉利用のEBM (Evidence Based Medicine) に関する健康科学的知見や温泉資源の保全に関する資源工学的知見を収集する。研究成果として得られた知見をベースとして、地域保健施策、温泉資源保護施策、地域おこし施策への展開の可能性を検討するとともに、積極的な外部発信を行う。

(4) 食品汚染カビ毒の実態汚染調査ならびに生体毒性影響に関する研究

(厚生労働科学研究費補助金)

平成22～24年度の3年間、「食品汚染カビ毒の実態調査ならびに生体毒性影響に関する研究」を厚生労働科学研究費補助金で行う。小麦やとうもろこしなどの主要穀類での汚染が問題になっているフザリウム属毒素のトリコテセン (T-2トキシン、HT-2トキシン) 及びゼアラレノン、また黄変米毒の一つであるペニシリウム属毒素のシトリニンについて、食品原料および加工食品におけるそれらのカビ毒の汚染の有無と残留濃度及び食品加工によるカビ毒濃度の減衰度、実験動物、培養細胞に対する上記カビ毒の単独作用及び一部の実験では複合影響を明らかにし、その上でわが国における上記カビ毒の1日摂取量の推定と人体への健康影響評価のための基礎資料を提供することを目的とする。

平成24年度は、国内流通食品のごま (20検体) と輸入小麦 (12検体) について、トリコテセン (T-2トキシン、HT-2トキシン) 及びゼアラレノンの汚染調査に研究協力者として参加した。

(5) 生産者による自主管理型貝毒監視体制の構築 (水産研究所共同研究)

貝毒の新たなモニタリング体制の構築のための研究を行う。本研究は水産研究所が中心となり、生産者への普及に適した簡易なプランクトン採集法の導入と、それを利用した二枚貝の毒化予測手法の確立、コスト面や労力面で問題となっているマウス試験の負担を軽減するための貝毒簡易測定法の実用化に取り組み、これらの新しいモニタリング技術の活用と生産者との連携による効率的な自主管理型貝毒監視体制の構築を目指すこととしている。当研究所は、モニタリング効率化のための貝毒簡易測定手法の実用化に関する研究を担当する。平成24年度は、三重県沿岸海域におけるマウス試験との相関関係を明らかとするため、ELISA法、HPLC法により3海域における麻痺性貝毒の分析を実施した。

4) 資源循環研究課

(1) 産業廃棄物不法投棄現場の環境修復に関する研究 (平成22年度～24年度)

三重県桑名市にある産業廃棄物の不法投棄に起因するVOC汚染サイトでは、行政代執行により汚染地下水の拡散防止・浄化対策が行われている。今後、当該地の恒久的な浄化促進対策を行うことが課題となっており、そのために、迅速で安価なVOC残存量調査・評価方法および短時間で安価で確実なVOC浄化技術が必要となっている。

そこで、本研究事業では、①ボーリングによる試料採取・化学分析によらない簡易・迅速で安価なVOC残存量調査技術を開発するとともに、汚染残留箇所での確実な浄化技術として、②従来にはない、低温加熱によるpH中性領域での処理を特徴としたVOC除去技術の開発を行った。また、VOC等汚染地下水が拡散した周辺地域の安定化を評価するため、微生物叢の解析を

行い、地下水水質調査結果と比較検討することで、③新たな安定化評価手法の確立を目指した。

研究の実施により、①VOC 残存量調査技術を開発では、従来のコーン貫入試験システムにガス成分分析機能を付加した新機を開発し、VOC 及び 1, 4-ジオキサンの現地迅速測定が可能となった。②VOC 除去技術の開発では、土質材料の破碎・細粒化のための土質改良機であるツイスターと、新たに設計製造した回転ドラムを連結し、熱風送風機能を付加したパイロット設備を製作し、汚染土中の VOC を環境基準以下にまで除去できる技術を開発した。さらに、実際の汚染土壌に即し、A 重油を添加した模擬汚染土を用いた試験でも、同様の浄化効果を得ることが確認できた。③細菌叢調査を取り入れた評価法の研究では、現場汚染地下水中に VOC 分解微生物の存在が明らかとなり、冬期～夏期の温度範囲で VOC の微生物分解が進むことが分かった。さらに、地下水菌叢解析の結果を多変量解析し、その第 1 主成分得点が地下環境の汚染程度を示すことを明らかとした。このことから、汚染地での菌叢解析を取り入れた調査の有効性が実証され、総合的な安定化指標も含めた、新たな評価方法を構築することができた。

なお、この研究は、環境省の「環境研究総合推進費補助金」の交付を受けて事業を行った。

(2) 有害物質による土壌汚染の自然・人為由来推定に関する研究（平成 22 年度～24 年度）

ア 土壌汚染対策行政支援について

土壌汚染対策に係る汚染の自然または人為由来の行政判断に資するため、土壌汚染関連の過去に収集・整理した既存データを、M-GIS（三重県簡易型地理情報システム）を利用して、視覚的に把握できるデータベースシステムを構築し、行政に提供した（平成 22 年度）。

イ 有害物質による土壌汚染の由来推定方法について

本研究では、有害物質として重金属を選定した。土壌中重金属濃度のバックグラウンドが高い場合、行政は時として汚染原因が自然由来か人為由来かの判断を求められる場合がある。由来の判断は、行政による汚染事案の対処方針に大きく影響するので非常に重要である。

土壌中重金属の由来を判断するためには、一般的に多大な労力、時間および費用を必要とする。この判断作業を容易かつ迅速に行うため、容易な由来の推定方法を研究・開発した（平成 22 年度～24 年度）。すなわち、由来の違いによる土壌中重金属の存在形態の違いに着目し、新しく考案した指標 W 値の高低により由来を判断するものである。本推定方法を実際の人為汚染土壌に適用したところ、期待どおりの結果が得られた。

5) 環境研究課

(1) 環境大気中微小粒子状物質 (PM_{2.5}) 発生源推定に関する研究費 (平成 24～26 年度)

環境基準の維持達成に向け効果的な PM_{2.5} 対策を講じていくため、内容成分の詳細解析に加え、気象条件、他汚染質データ等との関連を検討することにより高濃度出現要因、地域特性等の把握を行う。また、PM_{2.5} については県境を越えた広域汚染や大陸からの越境汚染の影響が無視できないとされ、同時期に測定された他府県のデータや気象データ等を解析することによりその影響についても検討する。さらに、PM_{2.5} の発生源は多種多様であることから、各種の発生源からの寄与率算出のため、使用実績のある CMB 法の再検討に加え、新たな算出方法（アメリカ環境保護庁提供の PMF 法）等についても検討を行う。平成 24 年度は愛知県内の研究機関と時期を合わせた試料採取を行い、愛知県を含めた広域的データ解析を共同で進めている。

(2) 環境大気中におけるアルデヒド類の測定方法等に関する研究（平成 24～26 年度）

有害大気モニタリング調査は、昭和 60 年度から環境庁（現環境省）によって実施され、平成 9 年に改正された大気汚染防止法により地方公共団体においても順次実施され、三重県では平成 9 年 11 月から実施してきている。

採取、分析方法等については、有害大気モニタリングマニュアルに示されており、通常時における採取、分析方法等については特に問題は見られないが、アルデヒド類は親水性を示すため、多湿時における採取では、オゾンスクラバーやオゾンスクラバーと捕集管を接続するチュ

ープ内に発生する水滴に吸収されてしまい捕集管に適切に捕集できなかつたり、さらにひどくなると水滴によりオゾンスクラバー等が詰まってしまい採取自体ができなかつたという問題が発生した。

そこで、より適切な方法で調査が実施できるように改善するために、平成 24 年度は、多湿時の環境大気中における測定方法等について、捕集管を加温し水分の影響を少なくできるとされている捕集管加温装置について検討を行った。

(3) 全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会酸性雨全国調査

地球環境問題の一つである酸性雨の県下の実態把握のため、長期的に降雨等の酸性化調査を行っている。平成 24 年度は、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会の第 5 次調査の 4 年目にあたり、当研究所も庁舎（四日市市桜町）の屋上において、降水時開放型捕集装置を用いて降水のサンプリングを実施した。調査項目は pH、電気伝導率、硫酸、硝酸等の陰イオン、アンモニア、カルシウム等の陽イオンおよび降水量で、平成 24 年度の測定結果のうち、pH は 3.89～5.78 の範囲にあり、降水量加重平均値は 4.66 であった。

(4) 全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部共同調査研究（越境／広域大気汚染）

全国環境研協議会による酸性雨全国調査は平成 3 年度からの第 1 次調査に始まり、現在は第 5 次調査を実施している。この調査は全国で約 60 の機関が参加しており、湿性沈着、乾性沈着（フィルターパック法、パッシブ法）のサンプリングを行っている。酸性雨問題は、その要因から地域的な問題であると同時に地球的な問題であり、近年では特に光化学オキシダント問題を含め、大陸からの移流が大きな問題となっており、地域汚染よりも越境汚染の影響が大きな割合を占めてきている。国立環境研究所の試算では、約 49%が中華人民共和国由来と推定している。

支部共同調査研究では、この全国の酸性雨調査に継続して参加すると同時に、現在、独自研究として「雨水中のイオン成分と微量多元素成分の広域調査と長距離輸送の解析」を始めており、「エアロゾル成分分析」について検討している。（共同研究機関：全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部所属の 13 地方環境研究機関）

(5) 地方公共団体環境研究機関等と国立環境研究所との共同研究（Ⅱ型研究）

「PM2.5 と光化学オキシダントの実態解明と発生源寄与評価に関する研究」（平成 22～24 年度）

各地域の PM2.5 による汚染実態の解明及びその発生源寄与率を定量的に評価する研究を実施するほか、全国的に増加傾向にある光化学オキシダントの汚染増加原因を解明する研究を行った。PM2.5 と光化学オキシダントはともに高い地域依存性を持つと同時に、広域汚染の影響も受けるため、全国と地域の両方の視点から研究を進めた。

本研究は、(1)時間値データベースの作成、(2)時間値データの解析、(3)数値モデル解析の 3 つの内容に分けられ、国立環境研究所と地方環境研究所がそれぞれ役割分担し研究を進めた。（共同研究機関：独立行政法人国立環境研究所、52 地方環境研究機関、10 の大学等）

2. 2 試験検査

1) 微生物研究課

(1) 一般依頼検査

市町、医薬品・食品会社、個人等からの依頼により各種微生物分離、同定等の試験の検査を行った。平成11年度から大多数の一般依頼検査は、民間の検査機関へ移行し、民間で対応できない試験検査等について対応している。平成24年度依頼は1件試験検査（温泉水）を行った。

表1 一般依頼検査

検査等の項目	件数	検査項目	検査検体等
食品・水等の検査	1	一般細菌数	温泉水
		大腸菌（群）	温泉水
計	1		

(2) 行政検査

健康福祉部関係の依頼により、感染症発生動向調査事業、感染症流行予測事業及び感染症法に基づく病原微生物の分離、同定、分子疫学マーカーとなるPFGE、RFLP等のDNA検査や、養殖魚、鶏卵、蜂蜜の残留抗生物質検査等を行った。

① 感染症発生動向調査事業

感染症の発生予防や蔓延防止対策の推進及び医療機関における適切な医療に寄与することを目的としたこの病原体等の検査は、桑名市、四日市市、鈴鹿、津市、松阪市、伊賀市、伊勢市、尾鷲市、熊野市等の検査定点医療機関で採取された咽頭拭い液、糞便、髄液、尿、結膜拭い液、血液等からウイルスや細菌を検出するとともに急性期と回復期の血清を用いて検出された微生物に対する抗体価を測定した。検査対象は、麻しん、風しん、感染性胃腸炎及び嘔吐下痢症等の消化器疾患、無菌性髄膜炎、発疹症、インフルエンザ様疾患等である。2012年1月から12月までに県内の病原体検査定点等医療機関から患者683人の検査依頼（951検体）があり、そのうち456人から病原微生物が分離・検出された。主な分離・検出病原体は、ノロウイルス（遺伝子型GⅡ）、サポウイルス（遺伝子型GⅠ、GⅡ）、日本紅斑熱リケッチアインフルエンザ（A/H1N1pdm、A/H3N2、B型、C型）、エコーウイルス（6、7型）、コクサッキーA群（2、4、9、16型）、パラインフルエンザ（1、2、3、4型）、RSウイルス、ボカウイルス、ヒトメタニューモウイルス、コロナウイルス、アデノウイルス（1、2、40/41型）等であった。

表2 感染症発生動向調査事業病原体等検査

検体名	検体数	検出病原体等	検出数（人）
咽頭拭い液	112	インフルエンザAH3	44
鼻 汁	269	インフルエンザB	31
糞 便	216	ノロウイルスGⅡ	35
髄 液	26	ライノウイルス	49
尿	43	コロナウイルス	32
血 清	120	RSウイルス	22
血液等その他	165	ヒトメタニューモウイルス	16
		パラインフルエンザウイルス2型	14
		A群ロタウイルス1型	26
		日本紅斑熱リケッチア	43
計	951		312

② 感染症流行予測事業

日本脳炎（感受性・感染源調査），風しん，麻しん，インフルエンザ感受性調査ならびに新型インフルエンザ感染源調査を実施した。日本脳炎感染源調査については，2012年7月から9月まで，三重県中部で飼育された6ヵ月齢の肉豚（計100頭）の血液を松阪食肉公社で採取し，血清中のHI抗体を測定したが，HI抗体保有豚は確認されなかった。日本脳炎，風しん，麻しん，インフルエンザ感受性調査については，2012年4月から9月に県内医療機関等で採血された血清（計279人）を用いて，日本脳炎は中和抗体，風しん，インフルエンザはHI抗体，麻しんはPA抗体価の測定を実施した。各々の抗体保有率は，日本脳炎59.1%，風しん89.6%，麻しん91.4%であった。インフルエンザはA/California/7/2009（H1N1pdm）56.6%，A/Victoria/361/2011（H3N2）46.6%，B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）33.7%，B/Wisconsin/1/2010（山形系統）23.3%であった。

新型インフルエンザ感染源調査は，冬季に県内の豚を検体に100頭調査したが，陽性例はなかった。

③ 感染症等対策事業

県内で発生した3類感染症の病原菌を感染症に対する防疫の見地から，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に基き，チフス菌及びパラチフス菌についてはフェージ型別を志賀毒素産生性大腸菌については遺伝子解析を実施するため国立感染症研究所に送付した。2012年は，腸管出血性大腸菌77株，細菌性赤痢2株，パラチフス1株，劇症型溶血連鎖球菌1株を送付した。

④ 養殖魚，蜂蜜，鶏卵，はちみつ及び食肉の残留抗生物質検査

β -ラクタム，アミノグリコシド，マクロライド及びテトラサイクリン系の抗生物質について指標菌によるバイオアッセイ法により実施した。検査対象はタイ，ハマチ，ウナギ等の養殖魚30検体，はちみつ5検体，鶏卵22検体，牛乳7検体，食肉10検体の合計74検体で，検査結果は全て陰性であった。

⑤ 先天性代謝異常検査

重症心身障害を未然に防止することを目的として，新生児を対象に先天性代謝異常症（フェニルケトン尿症，メープルシロップ尿症，ホモシスチン尿症，ガラクトース血症）の検査を行っている。

（平成24年度3月からは，検査法がタンデムマス法に代わりアミノ酸代謝異常5疾患，有機酸代謝異常7疾患，脂肪酸代謝異常4疾患を検査）なお，先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）及び先天性副腎皮質過形成症の検査は三重大学医学部小児科において行われている。

平成24年度においては，検査依頼検体数は16,208件であり，このうち疑陽性と判定し，再採血・再検査を行ったものは415件（2.56%），精密検査依頼数は52件（0.32%）であった。

2) 衛生研究課

(1) 一般依頼試験

平成24年度の県民、事業者及び市町等からの一般依頼検査は、以下に示すとおりである。

① 地下水、水道水、温泉水、一般飲料水等試験

県民、事業者等からの依頼により、地下水等の水質について試験を行った。その結果は表1のとおりであった。

表1 水等の依頼検査数

依頼品目	検体数	項目数	不適数
温泉付随ガス	0	0	0
鉱泉分析	1	—	0
その他	3	3	0
計	4	—	—

② 薬品等試験

県内の他検査機関で対応できない、医薬品の日本薬局方適否試験4検体（計36項目）の検査を行ったところ、全て適であった。

(2) 行政検査

① - 1 食品衛生行政検査（健康福祉部関係）

食品の衛生と安全性を確保するため、食品衛生法に基づき食品衛生行政検査を実施した。食品衛生行政検査には、食品添加物検査と食品汚染物検査がある。食品添加物検査の結果は、表2に示すとおりであった。また、食品汚染物検査の結果は表3-1に示すとおりであり、食品添加物検査との合計で、573検体（延べ13,661項目）について検査を実施した。

① - 2 食品衛生行政検査（農水商工部関係、健康福祉部関係）

食品衛生法等に基づき、魚介類の食品汚染物質の検査を行った。有機スズ化合物の検体は、食品汚染物検査の養殖魚を用いた。

表2 食品添加物検査結果

食品添加物	試験品数	試験項目数	不適品数	
調味料等	水溶性Na・グルタミン酸Na	3	6	0
品質保持剤	プロピレングリコール	3	3	0
保存料	ソルビン酸等9項目	29	261	0
防かび剤	イマザリル等4項目	19	76	0
酸化防止剤	BHA等4項目	23	92	0
着色料	合成着色料	12	312	0
甘味料	サイクラミン酸等2項目	19	38	0
漂白剤	二酸化イオウ・亜硫酸塩類	26	26	0
発色剤	亜硝酸ナトリウム	47	47	0
計		181	861	0

表 3-1 食品汚染物検査結果

食品汚染物	試験品数	試験項目数	不適試験品数
農産物等の残留農薬			
103項目	103	10,609	0
有機塩素系農薬	12	60	0
有機リン系農薬	26	520	0
茶農薬	5	210	0
残留動物用医薬品			
養殖魚	22	264	0
鶏卵	32	416	0
輸入肉	35	490	0
溶出試験	2	4	0
蛍光物質	7	7	0
遺伝子組み換え食品			
大豆	6	6	0
とうもろこし	6	12	0
アレルギー物質			
乳	11	22	0
卵	11	22	1
小麦	11	22	0
そば	11	22	0
落花生	11	22	0
えび、かに	11	22	1
放射性セシウム	70	70	0
計	392	12,800	2

表 3-2 食品汚染物検査結果

食品汚染物	試験品数	試験項目数	不適合数
有機スズ化合物	10	20	0
貝毒（麻痺性、下痢性）	34	58	—
総水銀・PCB	3	6	0
計	47	84	0

② 薬務行政検査

医薬品等の品質、有効性及び安全性を確保するため、薬事法に基づき、県内産医薬品及び医薬部外品の収去検査を行う。県内産医薬品4検体及び医薬部外品4検体の規格試験法について試験を行ったところいずれも規格に適合していた。また、後発用医薬品として国指定医薬品1検体について溶出試験を行ったところいずれも規格に適合していた。

健康食品等に医薬品成分を故意に配合した無承認無許可医薬品による健康被害が多数報告されていることから、このようなものが含有されていないか、薬務感染症対策課で買い上げた様々な製品（6検体）について試験（5項目）を行ったところ、不適はなかった。

③ 医薬品等製造承認申請書等の審査

薬事法に基づき、医薬品等製造承認申請書等の規格及び試験方法について21申請書の内容審査を行った。審査項目（含量規格、製造方法、用法用量、効能又は効果、性状、確認試験、重量偏差、崩壊試験、定量法、別紙規格、対比表、資料等）の多くは医薬品等製造承認基準等に適合していた。

④ 家庭用品行政検査

有害物質を含有する家庭用品の安全性を確保するため、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づき家庭用品試買検査を実施した。その結果は表4に示すとおりであり、繊維製品21検体、家庭用エアロゾル製品9検体、住宅用洗浄剤5検体、かつら等接着剤5検体計40検体すべてが規制基準に適合していた。

表4 家庭用品試買検査結果

検査項目	項目数	不適数
ホルムアルデヒド	26	0
メタノール	9	0
塩化水素又は硫酸、水酸化ナトリウム又は水酸化カリウム	5	0
漏水試験	5	0
落下試験	5	0
耐酸性試験	5	0
圧縮変形試験	5	0
計	60	0

⑤ 温泉行政検査

温泉資源の保護の観点から、温泉法に基づく立入検査を実施し、源泉の成分変化の状況等の調査を行い、主要成分の成分分析を実施した。また、温泉の適正利用の観点から、県内の温泉利用施設を対象に調査を実施し、掲示内容が適切であるかの確認及び浴槽水の採水・分析を実施した。

・源泉調査

調査源泉数：12ヶ所

温泉行政検査実施要領に基づき、主に伊勢農林水産商工環境事務所管内において、調査が行われた。

・温泉施設の浴槽水調査

調査施設数：22施設(1次調査)

平成24年度温泉利用施設の浴槽水質検査等実施要領に基づき、調査が行われた。

⑥ 環境放射能測定調査

ア 環境放射能水準調査事業（文部科学省委託事業）

原子力の平和利用の推進及び放射線障害の防止を目的として、文部科学省の委託事業を受託し環境放射能測定を実施した。平成24年度は表5に示した試料の放射能測定を行った。

表5 環境放射能測定の概要

測定種別	対 象	試料数	備 考
全β線測定	降水	99	降雨ごと（1mm以上）
空間線量率測定	—	連続測定	モニタリングポスト
γ線核種分析	降下物	12	1ヶ月間採取
	大気浮遊じん	4	3ヶ月周期でサンプリング
	陸水	2	河川水，蛇口水
	土壌	2	0-5cm，5-20cm
	穀類	1	精米
	農産物	4	茶，ほうれんそう，だいこん
	牛乳	1	生乳
	海産生物	3	まだい，あさり，わかめ

イ 核種分析装置精度管理

模擬牛乳1試料，模擬土壌1試料，寒天5試料の計7試料について109Cd，60Co，131I，137Cs，54Mn，59Fe，144Ce等の放射性核種のγ線核種分析を行い，放射能測定の精度管理を行った。

ウ モニタリング強化

国内外における原子力関係事象発生時には，国の指示に従い環境放射能モニタリングの強化を行うこととなっている。平成24年度も福島第一原子力発電所事故への対応のため，サーベイメータによる空間放射線量率の監視強化と水道水のガンマ線核種分析を継続して実施した。

さらに2月には北朝鮮による核実験実施の発表があり，その対応のため大気浮遊じんおよび定時降下物のガンマ線核種分析を11日間にわたって実施した。

(3) 水道水質精度管理事業

県内の水道水質検査を行っている機関を対象にして，検査データの精確性を維持向上させるため，水質外部精度管理及び内部精度管理を行った。平成24年度は，①硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素 ②色度 ③水銀及びその化合物 ④銅及びその化合物 ⑤有機物（全有機炭素（TOC））の5項目について各項目2試料で実施した。参加機関は，企業庁の5浄水場，厚生労働省登録分析機関の3機関，市町の5水質試験室，保健環境研究所の計14機関である。

その結果，全体的に良好な結果であったが，外れ値として棄却された場合は，必要に応じて分析法の検討・改善を行った。

3) 資源循環研究課

(1) 公共用水域の常時監視

水質汚濁防止法第16条の規定により定められた「平成24年度三重県公共用水域及び地下水の水質測定計画」に基づき，県内主要河川の水質汚濁の状況を常時監視するため，県内32河川41地点の河川水の分析（480検体，延べ5,614項目）を環境研究課と協力して実施した。

(2) 工場・事業場排水の検査

水質汚濁防止法及び三重県生活環境の保全に関する条例に基づく規制対象工場・事業場の排出基準遵守状況を把握するための立入検査に伴う検体の分析（290検体，延べ2,077項目）を実施した。

(3) 問題発生時における原因調査等

へい死魚の発生や水質汚濁事故発生等に伴う原因究明調査等を実施している。平成 24 年度は、へい死魚・水質汚濁事故（46 検体，延べ 281 項目），廃棄物関係（19 検体，延べ 98 項目）に対応するための緊急時の検査を環境研究課と協力して実施した。

(4) 産業廃棄物行政検査

工場・事業場から排出される有害物質を含有する産業廃棄物，あるいは廃棄物の最終処分場浸出液について，農林商工環境事務所又は環境生活部が立入し，採取した検体の分析（30 検体，延べ 164 項目）を実施した。

(5) 伊勢湾広域総合水質調査

伊勢湾の水質汚濁の実態と総合的な水質汚濁防止対策の効果を把握するため，毎年度，水質及び底質調査を次のとおり実施している。

①水質調査

調査地点：13 地点（上層水，下層水），調査回数：2 回／年，調査項目：DO，COD，全窒素，全リン等 18 項目

②底質調査

調査地点：3 地点，調査回数：2 回／年，調査項目：全窒素，全リン等 10 項目

4) 環境研究課

(1) 法・条例に基づく規制対象工場・事業場の検査等

大気汚染防止法および三重県生活環境の保全に関する条例に基づくばい煙発生施設等を有する工場・事業場の立入検査を行い，ばいじん，有害物質，VOC について分析した。

また，他法令等に基づく規制対象工場・事業場の排出基準遵守状況を把握するための立入検査に伴う検体及び産業廃棄物の最終処分場浸出液等についてポリ塩化ビフェニル，農薬等の有害化学物質分析を行った。

① ばい煙発生施設等の検査

ばいじん 25 検体，窒素酸化物 22 検体，塩化水素 13 検体，硫黄酸化物 18 検体，VOC 23 検体，合計 101 検体（32 事業所，42 施設）の分析を行った。

② 工場・事業場排水等の有害化学物質検査

ポリ塩化ビフェニル，農薬（チウラム，シマジン，チオベンカルブ等），有機リン化合物などの分析を行った。

(2) 公共用水域の常時監視

水質汚濁防止法第 16 条の規定により定められた「平成 24 年度三重県公共用水域及び地下水の水質測定計画」に基づき，県内主要河川の水質汚濁の状況を常時監視するため，県内 29 河川 29 地点の河川水の分析（58 検体，延べ 407 項目，分析項目：チウラム等健康項目及びオキシシン銅等要監視項目）を実施した。

(3) 産業廃棄物不適正処理事案に係る調査（行政機関、大学との共同研究）

有害ガスが発生する産業廃棄物不適正処理現場で，発生する硫化水素ガス等の低減を図るため，ドライフォグ発生装置を用いて様々に条件を変えて酸化剤（過酸化水素水）の噴霧を行った。その効果を見るために，噴霧井戸，高濃度井戸及び周辺井戸等でのガス発生量及び硫化水素ガス濃度等のガス調査と噴霧井戸の水質調査（サンプリング）を行った。

（共同研究機関：福岡大学および三重県環境生活部廃棄物対策局廃棄物プロジェクトチーム）

延べ件数（ガス調査）：102 井戸，197 検体，795 項目

(4) アスベスト除去作業周辺モニタリング調査

大気汚染防止法に基づき、特定粉じん排出作業等（アスベスト建材を含む建造物等の取り壊しなど）に伴って発生するアスベスト繊維の敷地境界における環境濃度測定を行った。

調査作業所数：計 23 箇所

(5) 有害大気汚染物質モニタリング調査

大気汚染防止法の規定に基づき有害大気汚染物質（優先取組物質）について、県内 4 地点で毎月 1 回モニタリングサンプリングを実施し、以下の項目について分析した。

有害金属類 6 項目（ニッケル、ヒ素、マンガン、クロム、ベリリウム、水銀）、ベンゼン等 VOC 11 項目、アルデヒド類 2 項目、ベンゾ(a)ピレン及び酸化エチレンの計 21 項目及び浮遊粉じん量の合計 22 項目

(6) 化学物質環境実態調査（環境省委託事業）

化学物質による環境汚染の未然防止を図るため、全国の地方公設環境研究機関等が参加し、環境中（水質、底質、大気）における化学物質の濃度レベルを継続的に把握している。

平成 24 年度は、分析法開発調査として水・底質試料中の 2,4-ジ-tert-ペンチルフェノールの分析法を開発した。また、初期・詳細環境調査として四日市港の水・底質について、2,4-ジ-tert-ブチルフェノール等 7 物質、四日市の環境大気について 2-エチルヘキサン酸等 6 物質の測定分析を、さらに、モニタリング調査として四日市港の水・底質、鳥羽港の底質及び四日市の環境大気について、モノクロロビフェニル類等の POPs の試料のサンプリングを実施した。

2. 3 研修指導

1) 疫学研究課

(1) 地域保健対策関連事務事業への技術支援と協働取組

保健所・市町における地域保健対策関連事務事業への科学的根拠に基づく取り組みを支援するため、平成16年度までは、「健康づくり課が主催する講義・プレゼンテーション方式の短期（1～3日）情報処理研修」に協力してきた。しかしながら、この方式では、基礎的な情報処理技術の研修は行えるものの、実務に活かすためには改善の余地があった。このため、平成17年度から、モデル事業として「健康づくり課の募集に応募した保健所・市町職員が各所属で分掌する地域保健対策関連事業に係る情報処理課題の解決に必要な技術を修得するための研修と、当該事業の解析・取りまとめ等に対する技術支援」をOJT方式で行っている。

平成24年度の研修実績は下表のとおりである。

番号	所属名	受講者	実施内容	受講者数	研修日数
1	三重県健康福祉部医療対策局健康づくり課、伊賀市立上野総合病院、松阪保健福祉事務所、鈴鹿市健康づくり課、いなべ市健康推進課、伊勢保健福祉事務所	保健師、放射線技師、看護師	EXCEL,HALBAUによる統計処理の基礎	9	1
2	三重県健康福祉部医療対策局医療規格課	保健師2名	三重県内の病院看護職員の離職・定着に関する背景要因及び対策の効果についての分析指導	2	1
3	いなべ市健康推進課	保健師2名	妊婦アンケート結果とEPDS・赤ちゃんへの気持ち質問票結果の関連性についての分析指導		
4	伊賀市立上野総合病院	看護師1名	「咳エチケット」についての市民の認識度実態調査の分析指導	1	1
5	伊勢保健福祉事務所	保健師1名(2名)	管内における未熟児・ハイリスク児訪問結果からみえる地域の現状と今後の課題についての分析指導	1	2
6	志摩市健康福祉部健康推進課	保健師1名	1歳6か月児健康診査・2歳6か月児歯科教室の結果より、志摩市における生活習慣とむし歯の関連についての分析指導	1	4
7	尾鷲市福祉保健課健康長寿推進課	保健師2名(3名)	尾鷲市健康指針に関わる「市民健康調査アンケート」の設問項目の設定方法及び分析指導	3	2
8	松阪保健福祉事務所保健衛生室地域保健課	保健師1名	松阪地域における小児慢性特定疾患児の実態についての分析指導	1	1
9	鈴鹿市健康づくり課	保健師1名(2名)	妊娠届け時の「妊婦さんアンケート」の分析指導(H23年度から継続)	2	1
合計				15	13

(2) 食中毒対応床研修

食品衛生監視員等が行う食中毒調査における年齢、喫食から発症までの経過時間の算出、エクセル（ピボットテーブル）による集計・解析、統計解析ソフト(Epi Info) によるデータ処理と解析等の研修を行っている。

平成 24 年度は、食品安全課の依頼により津庁舎において、各保健福祉事務所（桑名 3 名、鈴鹿 1 名、津 2 名、伊勢 2 名）8 名、四日市市保健所 1 名、食品安全課 2 名、合計 11 名の食品監視員等を対象に研修を行った。さらに松阪保健事務所において 6 名の食品監視員等を対象に、また、当所研究員 6 名にも同様の研修を行った。

(3) 新医師臨床研修（疫学研究課、微生物研究課）

医師法第 16 条の 2 第 1 項に規定する臨床研修に関する省令（平成 14 年 12 月 11 日付け厚生労働省令第 158 号）に基づき実施される新医師臨床研修の一環として保健所が公衆衛生研修を行っているが、これに関連する業務として、疫学研究課と微生物研究課が、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に基づく地方感染症情報センター業務、および病原微生物に関する試験検査・調査研究業務に関する半日研修を行っている。

平成 24 年度は、桑名保健所から 8 名の新医師を対象に研修を行った。

2) 微生物研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 6. 9	研修会	食肉衛検・家保職員	6 名	保健環境研究所	赤地
2012. 7. 9	研修会	新任医師	2 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 7. 9～11 7. 13	細胞培養研 修	総合検査室	2 名	保健環境研究所	楠原
2012. 7. 12	研修会	南伊勢町職員・県職員	30 名	南伊勢町役場 (南勢)	赤地、永井
2012. 7. 26	研修会	地球温暖化関係県職員	50 名	吉田山会館	赤地
2012. 7. 30	研修会	新任医師	1 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 8. 20～ 24	研修会	鈴鹿工専	3 名	保健環境研究所	赤地、矢野
2012. 8. 21～ 24	研修会	薬学生（名城・神戸薬・大 阪薬・鈴鹿医療）	9 名	保健環境研究所	楠原、永井
2012. 8. 27	研修会	南伊勢町職員	20 名	南伊勢町役場 (南勢)	赤地
2012. 9. 3～7	研修会	名城大学	1 名	保健環境研究所	楠原
2012. 9. 10	研修会	新任医師	1 名	保健環境研究所	山内、赤地

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 9. 24	研修会	新任医師	2 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 10. 9	研修会	南伊勢町職員・町議	20 名	南伊勢町役場 (南勢)	赤地
2012. 10. 15	研修会	新任医師	1 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 11. 8	研修会	情報化コーディネーター 研修者	40 名	吉田山会館	赤地
2012. 11. 10	研修会	南伊勢町民	40 名	南伊勢町役場 (南勢・南島)	赤地、楠原
2101. 11. 12	研修会	新任医師	1 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 11. 16	施設見学	三重県立看護大学	30 名	保健環境研究所	片山、楠原、 永井
2012. 12. 10	研修会	新任医師	1 名	保健環境研究所	山内、赤地
2012. 12. 12	施設見学	鈴鹿医療	45 名	保健環境研究所	永井、楠原
2013. 3. 5	研修会	ジビエ処理施設関係者	20 名	山畑農事集会所	赤地
2013. 3. 21	研修会	食肉衛研・家保職員	6 名	保健環境研究所	赤地
2013. 3. 26	研修会	ジビエ処理施設関係者	30 名	総合文化センター	赤地

3) 衛生研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 5. 25	新任食品衛生監視員 研修会	新任食品衛生監視員	14 人	保健環境研究所	志村、林
2012. 6. 1	出前トーク(身近な漢 方薬の話)	団体メンバー	25 人	芸濃町	志村
2012. 7. 17	出前トーク(身近な漢 方薬の話)	団体メンバー	39 人	四日市市	志村
2012. 8. 20 ~8. 24	インターンシップ	学生	3 人	保健環境研究所	志村、林
2012. 8. 23	メディカルバレー	学生	10 人	保健環境研究所	志村、林
2012. 9. 3	インターンシップ	学生	1 人	保健環境研究所	志村、林
2012. 11. 20	出前トーク(身近な漢 方薬の話)	団体メンバー	85 人	大安町	志村

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 12. 6	平成 24 年度水道技術 検討会	市町・企業庁水 道検査職員、水 道登録機関職員	29 人	保健環境研究所	志村、前田、 澤田、吉村、 森、村田
2012. 12. 12	施設見学	学生	45 人	保健環境研究所	志村
2012. 12. 13	出前トーク(身近な漢 方薬の話)	団体メンバー	32 人	鈴鹿市	志村
2013. 1. 31	残留動物用医薬品分 析研修	食品衛生監視員	10 人	保健環境研究所	澤田、林、 村田

4) 資源循環研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 8. 23	施設見学	薬学生インターン シップ研修生	10人	保健環境研究所	秋永
2012. 8. 24 (20~24)	職場体験実習	鈴鹿高専学生	3人	保健環境研究所	秋永
2012. 9. 3~9. 7	職場体験実習	名城大学インターン シップ研修生	1人	保健環境研究所	秋永、新家、 市岡、岩崎、 巽、柘植、 宇佐美
2012. 11. 16	施設見学	三重県立看護大学 看護職員研修	30人	保健環境研究所	秋永
2012. 12. 12	施設見学	鈴鹿医療科学大学 薬学科	42人	保健環境研究所	秋永

5) 環境研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2012. 8. 23	施設見学	薬学生インターン シップ研修生	10人	保健環境研究所	吉岡
2012. 8. 24	職場体験実習	鈴鹿高専学生	3人	保健環境研究所	吉岡
2012. 9. 3 ~9. 7	インターンシップ	名城大学生	1人	保健環境研究所	吉岡、佐来、西 山、寺本、西木 高士
2012. 11. 16	施設見学	三重県立看護大学 研修生	30人	保健環境研究所	佐来、西山、寺 本、西木、高士
2012. 12. 12	施設見学	鈴鹿医療科学大学 薬学部学生	42人	保健環境研究所	吉岡
2013. 3. 27	出前トーク(大気中の 微小粒子状物質(PM2.5)について)	三重県建設労働組 合亀山支部組合員 家族	20人	三重県建設労働組 合亀山支部	西山、吉岡

2. 4 情報の収集・解析・提供

1) 三重県感染症情報センター（疫学研究課）

国の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、県内すべての医療機関から直ちに届出される1類感染症～4類感染症（60疾患で、平成18年12月8日付で交付された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（以下感染症法）の一部を改正する法律に基づき、平成19年4月1日から結核を含む）、県内すべての医療機関から7日以内に届出される5類感染症（16疾患）、県内の指定届出機関（定点医療機関）から週単位で届出される5類感染症（19疾患）、月単位で届出される5類感染症（7疾患）、新型インフルエンザ等感染症（2疾患）及び新たに指定感染症となった鳥インフルエンザ（H7N9）合計107疾患の患者発生情報を収集・解析し、週報、月報、年報等として提供した。特に平成21年4月以降に発生した新型インフルエンザの流行に際しては、三重県新型インフルエンザ対策行動計画に基づく各種サーベイランスを行うとともに、迅速な情報収集・解析・提供に努めた。

また、三重県独自の感染症発生動向調査事業として、平成15年1月から、小児科定点の協力によりマイコプラズマ肺炎、クラミジア肺炎、RSウイルス性細気管支炎（平成15年11月5日付けで施行された感染症法の一部を改正する法律に基づき、県独自の調査対象疾患から国の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づく調査対象疾患に移行）の患者発生動向調査を実施するとともに、インフルエンザ定点の協力により迅速診断キットによる病原体診断の実施状況調査を行っている。なお、平成16年9月から、県医師会、県小児科医会、県内医療機関約1,700ヶ所の協力により行っていた三重県の麻疹・風しん患者全数把握調査は、平成20年1月1日付で施行された感染症法に基づく全数把握調査に移行した。平成24年度以降では、平成25年3月4日、重症熱性血小板減少症候群（病原体がフレボウイルス属SFTSウイルスであるものに限る。）が4類感染症に、平成25年4月1日、侵襲性インフルエンザ菌感染症、侵襲性髄膜炎菌感染症、侵襲性肺炎球菌感染症が5類感染症に追加された。また、平成25年5月6日には、鳥インフルエンザ（H7N9）が指定感染症として施行された。

（1）患者情報の収集・解析

1～5類感染症の107疾患、三重県独自の小児科定点把握対象2疾患（マイコプラズマ肺炎、クラミジア肺炎）の患者発生情報等を収集し、厚生労働省（国立感染症研究所感染症情報センター）にオンライン報告するとともに、これらのデータをエクセルデータに変換したのち、クロス集計、時系列解析、地理的解析等を行った。

（2）患者情報の提供

前記により収集・解析した感染症及び結核の患者情報、並びに当研究所微生物研究課による病原体検出情報を三重県感染症情報センターホームページで提供・公開するとともに、県・地区医師会（会員）、指定医療機関、一般医療機関等に感染症情報メーリングリスト、同 eメール、インターネット・ファックスにより情報提供を行った。また、県医師会報（月刊誌）に情報投稿するとともに、2012年（平成24年）版三重県感染症発生動向調査事業報告書（A4版、131頁）を発刊した。

（3）三重県感染症発生動向調査企画委員会の開催

感染症発生動向調査事業等の効果的・効率的な推進を図るため、平成24年10月及び平成25年3月に「三重県感染症発生動向調査企画委員会」を開催し、平成24年における感染症の患者発生状況及び病原体検出状況、並びに結核患者発生状況等の検討を行った。

2. 5 ISO9001:2008 品質マネジメントシステムの構築と運用

当研究所食品衛生検査部門においては、食品衛生法に基づく GLP 基準及び ISO9002:1994 版国際規格に適合する品質システムを構築し、平成 12 年 12 月 22 日付けで(財)日本品質保証機構 (JQA) の認証登録を受けた。また、同月 15 日付けで ISO9001:2000 版の新規格が発効したため、同年 8 月 2 日付けで ISO9001:2000 版規格に基づく移行認証登録を受けた。新システムは、①顧客重視、②経営者のリーダーシップ、③関係職員の参画、④プロセスアプローチによる資源の運用管理、⑤システムアプローチによるマネジメント、⑥継続的なパフォーマンス改善、⑦事実に基づく意思決定へのアプローチ、⑧供給者との互惠関係の確保・維持の 8 原則を柱とし、PDCA (Plan-Do-Check-Action) サイクルを廻転させることにより継続的改善が図られるものである。

平成 20 年 11 月 15 日には、ISO9001:2008 版が発効された。2008 年改訂版の規格要求事項には基本的な変更はないが、2000 年版の「要求事項の明確化」、「公式解釈を必要とするような曖昧さの除去」、「ISO14000 との整合性の向上」が行われた。本システムの品質方針は、「適正で信頼性の高い食品衛生検査を通じて、顧客の信頼と満足を得るとともに、公衆衛生の向上に寄与する」であり、これを実現するため、毎年度、具体的な品質目標並びに品質目標値及び重点施策を策定し、適切な品質活動と、顧客重視の視点等からのシステムの継続的改善に取り組んでいる。

なお、平成 24 年度は(株)日本環境認証機構 (JACO) により 6 月及び 12 月に定期(継続)審査を受けた。

3 学会報告

3. 1 疫学研究課

- 1) 福田美和, 高橋裕明, 平岡稔, 山内昭則, 山口哲夫 他:三重県における老保健診および特定健診データ分析による健康課題の把握について, 第 58 回東海公衆衛生学会 (2012. 7. 21 津市).
- 2) 福田美和, 高橋裕明, 平岡稔, 山内昭則, 山口哲夫: 三重県における老保健診および特定健診データ分析による健康課題の把握, 平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会 (2012. 10. 11-12 名古屋市).
- 3) 平岡稔, 福田美和, 高橋裕明, 山内昭則, 山口哲夫: 三重県における AIDS・HIV 感染症の現状と近隣県との比較, 平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会東海北陸支部環境保健部会 (2012. 10. 11-12 名古屋市).
- 4) 落合仁, 高橋裕明, 庵原俊昭 他: 三重県亀山市におけるインフルエンザの流行とインフルエンザワクチン, 第 16 回日本ワクチン学会 (2012. 11. 17-18 横浜市).
- 5) 二井立恵, 高橋裕明, 庵原俊昭 他: 妊婦と乳児のインフルエンザ HI 抗体の継時的減衰についての検討, 第 16 回日本ワクチン学会 (2012. 11. 17-18 横浜市).
- 6) 中瀬克己, 高橋裕明 他: 性感染症感染者パートナーへの公的検査における働きかけ, 第 25 回日本性感染症学会 (2012. 12. 8-9 岐阜市).
- 7) 山岸拓也, 山内昭則 他: 性感染症発生動向結果活用ガイドライン, 第 25 回日本性感染症学会 (2012. 12. 8-9 岐阜市).

3. 2 微生物研究課

- 1) 永井佑樹: 三重県における VNTR 法を用いた結核菌分子疫学解析, 第 87 回日本結核病学会総会 (2012. 5. 10-11 広島市).
- 2) 楠原 一 他: 三重県における小児のウイルス性下痢症について, 第 58 回東海公衆衛生学会学術大会 (2012. 7. 21 津市).
- 3) 赤地重宏, 他: デング熱症例における NS1 抗原検査有用性の検討, 平成 24 年度獣医学術近畿地区学会 (2012. 10. 14 大阪府泉佐野市).
- 4) 森哲也, 畑ますみ, 為房園実, 藤原香代子,

渡辺晃正, 岩出義人, 和田真太郎, 難波豊彦, 遠山一郎, 大熊周平, 上橋健三, 小沼博隆, 伊藤武: クオリボックス TM システムを用いた腸管出血性大腸菌の検出, 第 33 回日本食品微生物学会 (2012. 10. 25-26 福岡市)

- 5) 矢野拓弥: 2010 年~2012 年に検出された Human bocavirus の分子系統樹解析および LAMP 法による迅速診断法の検討, 第 60 回日本ウイルス学会 (2012. 11. 13-15 大阪市).
- 6) 矢野拓弥, 片山正彦, 山口哲夫: RT-LAMP 法によるオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm2009 迅速検出法の検討, 第 65 回三重県公衆衛生学会 (2013. 1. 11 津市).
- 7) 永井佑樹: 三重県における VNTR 法を用いた結核菌遺伝子型別法, 第 20 回三重細菌真菌感染症研究会 (2013. 2. 16 津市).
- 8) 岩出義人: 東海・北陸における食中毒発生状況と腸管系病原細菌検出状況, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市).
- 9) 矢野拓弥: 三重県におけるインフルエンザの流行 (2012/13 シーズン), 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市).
- 10) 岩出義人: 産業廃棄物不法投棄現場地下水の細菌学的調査, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市).
- 11) 楠原 一: 三重県における 2012 年感染症発生動向調査について, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市).
- 12) 永井佑樹: 2012 年の三重県における食中毒および三類感染症発生状況, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市).
- 13) 赤地重宏: 三重県におけるレプトスピラ症, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会 (2013. 3. 7-8 鈴鹿市) .

3. 3 衛生研究課

- 1) 森 康則, 出口 晃, 美和千尋, 岩崎 靖, 鈴村恵理, 前田一範, 浜口 均, 島崎博也, 田中紀行, 川村陽一: 三重県における放射能泉の水中ラドンに起因する被ばく線量評価, 第 77 回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会 (2012.6.8-9 秋田県) .
- 2) 岩崎 靖, 出口 晃, 鈴村恵理, 前田一範, 島崎博也, 田中紀行, 森 康則, 美和千尋, 浜口 均, 川村陽一: アルツハイマー病患者の入浴習慣と高

- 次機能障害および抑うつ状態との関連についての検討, 第77回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2012.6.8-9 秋田県) .
- 3) 田中紀行, 島崎博也, 出口 晃, 鈴木恵理, 川村直人, 美和千尋, 森 康則, 川村陽一: 神経筋電気刺激療法を用いた慢性期片麻痺患者の足関節機能及び運動能力への効果, 第77回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2012.6.8-9 秋田県) .
 - 4) 水谷真康, 島崎博也, 田中紀行, 出口 晃, 美和千尋, 鈴木恵理, 岩崎 靖, 前田一範, 森 康則, 川村陽一: 当院における温泉運動浴利用者の生活空間と身体機能の関連性, 第77回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2012.6.8-9 秋田県) .
 - 5) 一色 博, 村田 将, 澤田陽子, 吉村英基, 志村恭子, 山口哲夫: 平成23年度に搬入された牛肉等の放射性物質検査について, 平成24年度第1回三重県食品衛生監視員研修会(2012. 7. 6 津市) .
 - 6) 森 康則, 吉村英基, 澤田陽子, 前田 明, 村田 将, 志村恭子, 山口哲夫, 出口 晃, 川村陽一, 美和千尋: 放射能泉利用施設における水中ラドンの存在実態とその利用に伴う被ばく線量, 第58回東海公衆衛生学会学術大会(2012.7.21 津市) .
 - 7) 村田 将, 森 康則, 志村恭子, 山口哲夫: 三重県長島地域の温泉に付随して湧出する可燃性天然ガスの実用化に向けた基礎的研究, 環境技術学会第12回年次大会 (2012.9.3 滋賀県) .
 - 8) 竹内 浩, 吉成知也, 青山幸二, 中島正博, 谷口 賢, 橋口成喜, 甲斐 茂美, 田端節子, 田中敏嗣, 佐藤孝史, 松井好之, 小木曾基樹, 石黒瑛一, 小西良子: 日本に流通する食品中のT-2トキシン、HT-2トキシンおよびデアラレノン汚染実態調査(平成23年度), 第104回日本食品衛生学会学術講演会(2012.9.20-22 岡山県) .
 - 9) 森 康則, 村田 将, 志村恭子, 山口哲夫, 野原精一, 加治佐隆光, 大沼章子: 長島地域の温泉付随ガスにおける炭化水素系可燃性天然ガス濃度および炭素同位体比から推定された生成起源と地下挙動-石油代替エネルギーとしてのフィージビリティスタディー, 第65回日本温泉科学大会 (2012.9.26-29 北海道) .
 - 10) 森 康則, 村田 将, 吉村英基, 前田 明, 澤田陽子, 志村恭子, 山口哲夫, 石川徹夫, 安岡由美: 液体シンチレーションカウンターとPICO-RAD検出器を用いた空気中ラドン分析手法の検討, 第65回日本温泉科学大会 (2012.9.26-29 北海道) .
 - 11) 森 康則, 澤田陽子, 吉村英基, 前田 明, 村田 将, 志村恭子, 山口哲夫: 活性炭型検出器を用いた空気中ラドンの分析検討と放射能泉の利用に伴う被ばく線量評価, 平成24年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部環境保健部会(2012.10.11 愛知県) .
 - 12) 吉村英基, 前田千恵, 原 有紀, 志村恭子, 山口哲夫: 健康危機事案対応のための食品中重金属類迅速分析の検討について, 第49回全国衛生化学技術協議会年会 (2012.11.21-22 香川県) .
 - 13) 澤田陽子, 吉村英基, 前田 明, 一色 博, 志村恭子, 山口哲夫, 畑 直亜, 川津健太郎: ELISA法による麻痺性貝毒スクリーニング検査の検討, 第49回全国衛生化学技術協議会年会 (2012.11.21-22 香川県) .
 - 14) 村田 将, 森 康則, 志村恭子, 山口哲夫: 三重県長島地域をモデルとした温泉付随メタンガスの有効活用を目指した可能性検討, 第49回全国衛生化学技術協議会年会 (2012.11.21-22 香川県) .
 - 15) 竹内 浩, 林 克弘, 志村恭子, 山口哲夫: イカリソウ中のイカリイン含有量調査, 第45回東海薬剤師学術大会(2012.12.2 名古屋市) .
 - 16) 一色 博, 林 克弘, 志村恭子, 山口哲夫: 味噌の特定原材料検査における大麦の影響について, 第 65回三重県公衆衛生学会総会 (2013.1.11 津市) .
 - 17) 村田 将, 井村真由美, 竹内 浩, 原 有紀, 志村恭子, 山口哲夫: 畜水産物中の動物用医薬品検査におけるLC-MS/MSの適用について, 平成24年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会(2013. 2. 7-8 愛知県) .
 - 18) 一色 博, 吉村英基, 村田 将, 志村恭子, 山口哲夫: 三重県における食品の放射能検査について, 平成24年度地方衛生研究所全国協議会東海・北陸支部衛生化学部会(2013. 2. 7-8 愛知県) .
 - 19) Tomoya Yoshinari, Koji Aoyama, Masahiro Nakajima, Masaru Taniguchi, Hiroshi Takeuchi, Shigeki Hashiguchi, Shigemi Kai, Setsuko Tabata, Toshitsugu Tanaka, Yoshiko Sugita-Konishi: Occurrence of T-2 toxin, HT-2 toxin and zearalenone in retail foods in Japan, Society of Toxicology 52nd Annual Meeting and ToxExpo™(2013. 3.10-14 Texas,USA) .
 - 20) 森 康則, 志村恭子, 川村陽一, 出口 晃, 美和千尋, 石川徹夫, 安岡由美: 放射能泉の利用における被ばく線量評価のためのラドン分析検討および実態調査, 平成24年度日本健康開発財団助成研究発表会(2013.3.21 東京都) .

3. 4 資源循環研究課

1) 青木健二¹⁾, 杉山勝彦¹⁾, 西田憲一²⁾, 巽正志³⁾, 古市徹⁴⁾, 石井一英⁴⁾: MIP-CPT法を用いた深度別の VOCs 現地迅速成分分析法の開発, 第 18 回地下水・土壌汚染とその防止対策に関する研究集会 (2012. 6. 14-15 さいたま市)

1) 株式会社環境総合テクノス, 2) 三重県環境森林部, 3) 三重県保健環境研究所, 4) 北海道大学

2) 新家淳治, 片山貴幸, 巽正志, 秋永克三, 山口哲夫: 土壌中重金属の自然・人為由来の判別に関する研究, 第 18 回地下水・土壌汚染とその防止に関する研究集会 (2012. 6. 14-15 さいたま市)

3) 巽正志^{1,4)}, 岩出義人¹⁾, 宇佐美敦子¹⁾, 新家淳治¹⁾, 柘植亮¹⁾, 秋永克三¹⁾, 山口哲夫¹⁾, 西田憲一²⁾, 谷口初美³⁾, 福田和正³⁾, 栗冠和郎⁴⁾: 環境修復サイトでの細菌叢を利用した安定化評価方法の検討, 第 23 回廃棄物資源循環学会研究発表会 (2012. 10. 22-24 仙台市)

1) 三重県保健環境研究所, 2) 三重県環境生活部, 3) 産業医科大学, 4) 三重大学大学院生物資源学研究科

4) 巽正志¹⁾, 秋永克三¹⁾, 山口哲夫¹⁾, 片山辰雄²⁾, 青木健二²⁾, 赤神元英³⁾, 小幡博志³⁾: 揮発性有機化合物汚染サイトの調査・浄化技術開発, 平成 24 年度全国環境研協議会廃棄物資源循環学会年会併設研究発表会 (2012. 10. 23 仙台市)

1) 三重県保健環境研究所, 2) (株) 環境総合テクノス, 3) 日本国土開発(株)

5) 巽正志, 岩出義人, 宇佐美敦子, 秋永克三, 山口哲夫: 環境修復地での細菌叢を利用した安定化評価方法の検討, 第 39 回環境保全・公害防止研究発表会 (2012. 11. 21-22 熊本市)

6) 新家淳治, 巽正志, 秋永克三, 山口哲夫: 土壌中重金属の自然または人為由来の判別に関する研究(2), 第 39 回環境保全・公害防止研究発表会 (2012. 11. 21-22 熊本市)

3. 5 環境研究課

1) 佐来栄治, 西山 亨, 寺本佳宏: 三重県におけるベンゾ (a) ピレンの状況について, 第 53 回大気環境学会年会 (2012. 9. 12-14 横浜市).

2) 西山 亨, 佐来栄治, 寺本佳宏: 三重県北

部地域における PM2.5 環境濃度測定簡易法と標準法との比較 (第 2 報), 第 53 回大気環境学会年会 (2012. 9. 12-14 横浜市).

3) 堀江洋佑¹⁾, 西山 亨²⁾, 岩崎 綾³⁾, 濱村研吾⁴⁾, 山本陽介⁵⁾, 村野健太郎⁶⁾, [全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会]: 全国酸性雨調査 (75) - 湿性沈着 -, 第 53 回大気環境学会年会 (2012. 9. 12-14 横浜市).

1) 財団法人ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター, 2) 三重県保健環境研究所, 3) 沖縄県衛生環境研究所, 4) 福岡県保健環境研究所, 5) 元環境省, 6) 法政大学

4) 山本勝彦¹⁾, 中戸靖子¹⁾, 三田村徳子²⁾, 山神真紀子³⁾, 加藤三奈⁴⁾, 西山 亨⁵⁾, 高倉尚枝⁶⁾, 平澤幸代⁶⁾, 谷口延子⁶⁾, 中坪良平⁷⁾, 板野泰之⁸⁾, 山本重一⁹⁾, 菅田誠治¹⁰⁾, 大原利真¹⁰⁾: 2012 年 1 月における PM2.5 高濃度時の濃度分布とその要因について, 第 53 回大気環境学会年会 (2012. 9. 12-14 横浜市).

1) 地方独立行政法人大阪府立環境農林水産総合研究所, 2) 滋賀県琵琶湖環境科学研究センター, 3) 名古屋市環境科学調査センター, 4) 愛知県環境調査センター, 5) 三重県保健環境研究所, 6) 京都府保健環境研究所, 7) 財団法人ひょうご環境創造協会 兵庫県環境研究センター, 8) 大阪市立環境科学研究所, 9) 福岡県保健環境研究所, 10) 国立環境研究所

5) 西山 亨, 高士昇吾, 寺本佳宏, 佐来栄治, 宮村典仁, 西木美紗子, 吉岡 理, 山口哲夫: 三重県北部地域における PM2.5 環境濃度測定簡易法と標準法との比較, 第 39 回環境保全・公害防止研究発表会 (2012. 11. 21-22 熊本市)

6) 佐来栄治: 4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェノール、4-ノニルフェノール (分岐型), 平成 24 年度化学物質環境実態調査環境化学セミナー, 環境省環境保健部環境安全課 (2013. 1. 17-18 東京都江東区)

7) 西山 亨, 高士昇吾, 寺本佳宏, 宮村典仁, 西木美紗子, 佐来栄治, 吉岡 理, 山口哲夫: 産業廃棄物不適正処理事業現場における硫化水素発生抑制のための過酸化水素水ドライフォグ噴霧法の適用と効果, 第 27 回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部「支部研究会」 (2013. 1. 21-22 金沢市)

8) 山川雅弘¹⁾, 鈴木 元¹⁾, 中川和也¹⁾, 西

山 亨²⁾，高士昇吾²⁾，寺本佳宏²⁾，武下俊宏³⁾，樋口壯太郎³⁾：三重県内産業廃棄物不適正処理事案の霧状酸化剤注入法による硫化水素ガスの発生抑制対策について，第34回全国都市清掃研究・事例発表会（2013. 2. 7-9 北九州市）。

- 1) 三重県環境生活部廃棄物対策局，
- 2) 三重県保健環境研究所，3) 福岡大学

9) 西山 亨：最近の三重県の大気環境について，三重大学大学院生物資源学研究科共生環境学専攻シンポジウム(2013. 2. 21 四日市市)

4 他誌掲載論文

4. 1 疫学研究課

1) 小児におけるインフルエンザ HA ワクチン接種量変更による効果と安全性の検討

高橋裕明, 矢野拓弥, 福田美和, 山内昭則, 大熊和行, 庵原俊昭, 中野貴司, 松田 正, 鳥越貞義, 二井立恵, 伊佐地真知子, 渡辺正博, 落合 仁, 酒徳浩之, 加藤 孝, 前田一洋, 奥野良信, 神谷 齊

日本感染症学雑誌 vol. 87, No. 2, 195-206 2013

【要 旨】

小児におけるインフルエンザ HA ワクチンの年齢別1回接種量の規定を見直す基礎資料を得る目的で, WHO 推奨用量と同一の年齢別接種量に増量した場合の有効性, 安全性を検討した. 国内で承認されているワクチンとして阪大微生物病研究会製, 対照群としてサノフィパスツール社製を用い, 6か月~13歳未満児を対象に0.25mL接種群と0.5mL接種群を設定し, 罹患状況, 副反応発現状況等を調査し, 接種前, 2回接種後のHI抗体価を測定した. また, HI抗体価の結果を補完するため中和抗体価を測定した. その結果, A/H1N1型のHI抗体価は両接種群でビケン製, サノフィ製ともに良好な上昇傾向を示し, 中和抗体価も同傾向を示した. A/H3N2型のHI抗体価はビケン製では全体に低値であったが, 中和抗体価はビケン製, サノフィ製とも良好な上昇傾向を示した. B型のHI抗体価はビケン製, サノフィ製とも顕著な上昇傾向を示さなかったが, 中和抗体価はともに良好な上昇傾向を示した. 当該シーズンのインフルエンザ流行がA/H1N1型のほぼ単独流行であったことからA/H1N1型について発症に関する要因解析を行ったところ, 発症リスクを下げる要因として接種後HI抗体価が40倍以上に上昇していることが有意となった. また, 接種後HI抗体価40倍以上上昇群に対する同20倍以下群の発熱に関する相対危険が有意に高く, 抗体価の高い群で発熱の程度が抑制される傾向がみられたことから, 本研究の接種量で用いた両ワクチンとも発症予防効果を有すると認められ, さらに接種時に重篤な副反応の発現を認めず, 同等の安全性を有すると考えられた. 以上のことから, 小児に対してインフルエンザ HA ワクチンをWHO推奨用量で接種した際の有効性, 安全性を確認することができた.

4. 2 微生物研究課

1) 呼吸器症状(気管支炎等)を呈した小児から検出されたパラインフルエンザウイルスの動向—三重県

矢野拓弥, 前田千恵, 赤地重宏, 片山正彦, 山口哲夫 他
病原微生物検出情報(Vol. 33 .244-245: 2012年9月号)

【要 旨】

小児の急性呼吸器感染症の原因ウイルスであるパラインフルエンザウイルス(PIV)の三重県におけるPIVの流行疫学調査を実施した. 2010~2011年に県内の病院等で採血され, 使用承諾の得られた血清検体(629名)のHI抗体保有率(1:10以上)はPIV1型78.5%, PIV2型77.6%, PIV3型96%, PIV4型71.2%であった. すべての型の年齢群別抗体保有率(1:10以上)の推移から, 5~9歳群以上は大部分が抗体を保有しており, 成人の年齢層においても高い抗体保有率を維持していた. 2009年1月~2012年7月に県内定点医療機関を受診し, 小児の呼吸器系疾患患者から採取した咽頭ぬぐい液, 気管吸引液等503検体を用い, RT-PCR法でPIV検出を実施した. 503検体中87例(17%)からPIVが検出された. 型別内訳はPIV1型47例(54%), PIV2型8例(9.2%), PIV3型24例(28%), PIV4型8例(9.2%)であった. PIVが検出された患児の臨床症状は, 気管支炎47例(54%)で最も多く, 次いで細気管支炎が19例(22%)であった.

2) 2012年3月に検出されたC型インフルエンザウイルスの系統樹解析—三重県

矢野拓弥, 前田千恵, 赤地重宏, 片山正彦, 山口哲夫 他
病原微生物検出情報 (Vol. 33 .199: 2012年7月号)

【要旨】

C型インフルエンザウイルス (InfC) は, インフルエンザウイルス (AH1pdm09, AH3, B型) の流行と同時期, あるいは春先に発生がみられる傾向がある. InfC の鑑別は臨床症状からは困難であるのでウイルス学的診断が必要である. そこで2012年3月に三重県内の感染症発生動向調査検査定点医療機関を受診し, 呼吸器症状を示した患児40名から採取した気管吸入液, 鼻汁および咽頭ぬぐい液を用いて InfC の動向調査を実施した. 40検体のうち7検体 (17.5%) から InfC が分離・検出された. 臨床診断名は気管支炎3例, 喉頭炎2例, 咽頭炎1例, 細気管支炎1例であった. InfC の HE 蛋白は, 抗原性の違いから5グループ (Yamagata/26/81, Kanagawa/1/76, Aichi/1/81, Mississippi/80, Sao Paulo/378/82) に分類される. 2004年頃には Kanagawa76 グループに属する InfC が国内各地で分離・検出され全国規模の流行が確認された. 本県で3月中旬~下旬に検出された InfC のうち5例について HE 遺伝子系統樹解析を実施したところ, C/Sao Paulo/378/82 株を代表とする Sao Paulo82 グループに分類された.

3) Molecular genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* in Mie Prefecture, Japan, using variable numbers of tandem repeats analysis.

Yuhki Nagai, Yoshito Iwade, Eri Hayakawa¹⁾, Manabu Nakano¹⁾, Takashi Sakai¹⁾, Masamichi Tanuma²⁾, Masahiko Katayama, Tetsuya Nosaka³⁾, Tetsuo Yamaguchi.

¹⁾National Hospital Organization Mie-Chuo Medical Center, ²⁾Mie Prefecture, Department of Health and Welfare,

³⁾Department of Microbiology and Molecular Genetics, Mie University Graduate School of Medicine.

Jpn J Infect Dis.65:341-4.

【Abstract】

The variable numbers of tandem repeats (VNTR) analysis is a method frequently employed as a molecular epidemiological tool for *Mycobacterium tuberculosis* genetic fingerprinting. In this study, we characterized the population of *M. tuberculosis* circulating in Mie Prefecture, Japan, and assessed the utility of the proposed JATA12- and 15-VNTR analyses of 158 *M. tuberculosis* clinical isolates using 25 VNTR loci. The results revealed that the ancient Beijing sublineage is the most prevalent *M. tuberculosis* strain in Mie Prefecture, accounting for 85.0% of 113 Beijing lineage isolates. Our results also showed that JATA-VNTR using well-selected loci is as reliable as standardized 15-locus MIRU-VNTR. Furthermore, JATA15-VNTR analysis reliably improved the discriminatory power compared with basic JATA12-VNTR analysis. In summary, our data suggest that JATA-VNTR is a useful tool for discrimination of *M. tuberculosis* in areas where ancient Beijing strains are frequently isolated.

4. 3 衛生研究課

1) 病院施設内の浴槽水質変動における衛生化学的検討 —曝気実験による浴槽水質変動要因の推定と老化現象—

森 康則¹⁾²⁾, 出口 晃³⁾, 美和千尋⁴⁾, 岩崎 靖³⁾, 鈴木恵理³⁾, 前田一範³⁾, 浜口 均³⁾, 島崎博也³⁾, 田中紀行⁵⁾, 川村陽一³⁾

¹⁾三重県保健環境研究所, ²⁾三重大学大学院生物資源学研究所, ³⁾小山田記念温泉病院, ⁴⁾名古屋大学医学部, ⁵⁾主体会病院

日本温泉気候物理医学会雑誌, 75, 195-202, 2012

【要旨】

温泉の湧出後における化学成分の変化, すなわち温泉の「老化現象」は, 温泉の「適応症」の効果の減衰といった影響をもたらす. そこで温泉を利用した病院施設において, 複数の浴槽の成分分析と分析

値の比較等の実地調査を行うとともに、その成分変動の要因を理論的に明らかにするために、源泉水を用いた室内曝気実験を行った。同病院では、同敷地内で湧出するアルカリ性単純温泉を用いている。湧出直後の源泉水と各浴槽水の成分を比較したところ、著しい乖離が認められた項目は、硫酸イオン、亜硝酸イオン、硝酸イオンであった。特に硫酸イオンの濃度上昇が顕著であり、120～450%の濃度上昇が認められた。この変動要因を推定するために、源泉水を空気と窒素でそれぞれ1か月間曝気を継続し、その間の時系列的な成分変動を調べた。その結果、硫酸イオンについては、曝気の継続に伴う濃度上昇の傾向が認められた。その傾向は窒素曝気よりも空気曝気の方が顕著であった。硝酸イオン、亜硝酸イオンについては、曝気に伴う濃度変動は認められなかった。このことから、浴槽における硫酸イオン濃度の上昇は、源泉水中の硫黄化合物の空気酸化による影響が考えられ、また浴槽水における硝酸イオン、亜硝酸イオン濃度の変動は、入浴に伴う発汗等に由来する窒素分の空気酸化によるものであることが示唆された。

2) アルツハイマー病患者における高次脳機能障害および抑うつ状態と入浴習慣の関連についての検討

岩崎 靖¹⁾、出口 晃¹⁾、鈴木恵理¹⁾、前田一範¹⁾、島崎博也¹⁾、田中紀行²⁾、森 康則³⁾、美和千尋⁴⁾、浜口 均¹⁾、川村陽一¹⁾

¹⁾小山田記念温泉病院、²⁾主体会病院、³⁾三重県保健環境研究所、⁴⁾名古屋大学医学部

日本温泉気候物理医学会雑誌, 75, 186-194, 2012

【要 旨】

一般に認知症患者では認知機能障害が進行すると入浴回数が減る傾向があると考えられている。そこで、アルツハイマー病 (Alzheimer disease; AD) 患者における発症前後での入浴習慣について認知機能障害や抑うつ状態との関連を含めて検討した。物忘れ外来を受診し、ADと臨床診断された患者を対象とした。認知症発症前と物忘れ外来初診時の入浴回数について本人および介護者に問診し、高次脳機能検査 (Hasegawa's Dementia Scale-Revised, Mini Mental State Examination, Wechsler Adult Intelligence Scale-Revised (WAIS-R))、および抑うつ状態 (Zung Self-rating Depression Scale) との間の相関性について検討した。入浴回数に変化があった患者には、その理由についても検討した。調査の結果、89例のAD患者 (男性26例、女性63例、63～90歳、平均79.8歳) において認知症発症前に入浴回数は平均6.6回/週であったが、物忘れ外来初診時は平均5.3回/週で入浴回数の減少が示された ($p < 0.001$)。HDSおよびMMSE、抑うつ状態と入浴回数の間には有意の相関はなかったが、WAIS-Rにおける動作性IQおよび総IQと入浴回数の間には統計学的に有意な正の相関関係が示された。入浴回数が減少した例では、面倒くさがる、入浴を忘れる、湯温調節ができなくなった等の理由が聴取された。以上の研究の結果、AD患者では発症後に入浴回数が減少することが示された。主な理由として、実行機能の障害が推定されたが、記憶力障害、抑うつ状態等様々な病態が複合的に関与していることが示唆された。

3) 三重県桑名市の長島地域における温泉付随ガス中炭化水素系可燃性天然ガスの代替エネルギー化の検討

森 康則^{1) 2)}、村田 将¹⁾、志村恭子¹⁾、山口哲夫¹⁾、野原精一³⁾、加治佐隆光²⁾、大沼章子⁴⁾

¹⁾三重県保健環境研究所、²⁾三重大学大学院生物資源学研究所、³⁾独立行政法人国立環境研究所、⁴⁾中部大学生命健康科学研究所

温泉科学, 62, 168-181, 2012

【要 旨】

三重県桑名市長島町内で湧出する温泉付随ガス中の炭化水素系可燃性天然ガスを対象に、石油代替エネルギーとしての活用可能性の検討を目的として、メタンを含むガス組成および炭素同位体比の分析を行った。長島地域の温泉湧出地帯は、かつて天然ガスの採掘を目的として大深度掘削開発がなされた地域で、掘削深度は1,500m前後であり、木曾川ガス田と呼ばれる天然ガス湧出地域の南西端に位置している。温泉付随ガス中のメタン濃度、温泉水のゆう出量およびガス水比から推算したところ、最大の温泉で年間8.7万 m^3 のメタンが放出され、これを金額換算すると年間870万円相当、地域全体では年間1,500

万円相当の燃料ガスが大気放出されていると見積もられた。炭素同位体比分析の結果、同地域で湧出する炭化水素系ガスの多くが微生物起源ガスであると考えられた。これらの温泉付随ガスの利活用は、エネルギー問題への有効な対策のみならず、地球温暖化対策にも資するものと考えられる。

4) Determination of Radon Concentration in Air Using a Liquid Scintillation Counter and an Activated Charcoal Detector

Yasunori MORI^{1) 2)}, Sho MURATA¹⁾, Hideki YOSHIMURA¹⁾, Akira MAEDA¹⁾, Yoko SAWADA¹⁾, Kyoko SHIMURA¹⁾, Tetsuo YAMAGUCHI¹⁾, Yukari TAJIKA³⁾, Tetsuo ISHIKAWA⁴⁾ and Yumi YASUOKA³⁾

¹⁾Mie Prefecture Health and Environment Research Institute, ²⁾Graduate School of Bioresources, Mie University, ³⁾Kobe Pharmaceutical University, ⁴⁾National Institute of Radiological Sciences

J. Hot Spring Sci., **62**, 306-317, 2013

【Abstract】

According to the Japanese Hot Springs Law and the Guideline of Analytical Methods of Mineral Springs, a spring containing more than 74Bq/kg of radon is regarded as a hot spring and that with a radon level more than 111Bq/kg as a medical spring. Radon (²²²Rn) is a rare gas and easily diffuses in air. Therefore, to evaluate the exposure dose due to radioactive spring usage, it is important to establish an easy and accurate method to measure radon concentration in air. Since the Guideline of Analytical Methods of Mineral Springs requires that radon in water is measured using a liquid scintillation counter, the concentrations of radon in air should also be measured using such a counter. In this study, the concentration of radon in air was analyzed using an activated charcoal detector (PICO-RAD) and a liquid scintillation counter (ALOKA LSC LB-5) with an activated charcoal detector (Pico-Rad). The measurements were done at three window settings of 20-2,000, 40-2,000 and 60-2,000keV and a counting rate of 0-2,000keV was extrapolated from these values. This study used DPO + POPOP toluene solution and Insta-Fluor plus as a scintillator. From the measured spectrum, it was judged possible to set the appropriate window width for validation of the scintillator and for calculation of the conversion coefficient and detection limit. As the result, both scintillators were found to provide quantitatively satisfactory results, and the conversion coefficients were 1.55 for DPO + POPOP toluene solution and 1.70 for Insta-Fluor plus.

4) 温泉とは何か —温泉資源の保護と活用—

森 康則

三重大学出版会, ISBN 978-4-903866-16-1, 単行本 A5版 並装 147p, 2013

【要 旨】

現代社会において、水資源、天然資源、地域資源、観光資源、燃料資源、健康資源、熱資源など、様々な側面の資源性のある価値物として、温泉資源が広く活用されている。本書では、この温泉の「資源性」に着目し、温泉資源を有効活用するための方策について、科学的見地、行政的見地から整理した。本書では、浴用としての一般的な利用だけでなく、温泉付随ガスの測定方法や安全規制、天然ガスとしての石油代替エネルギー活用のための可能性検討調査事例、また、健康づくり資源としての高齢者医療への活用事例や、活用を促進するための厚生労働省による制度などについて概説した。また、温泉資源のもうひとつの側面である「有限性」にも着目し、温泉資源の将来的な持続的な活用の在り方として、温泉資源の保護の方策を整理した。温泉資源保護のひとつの方策である集湯能力試験（段階揚湯試験、連続揚湯試験、水位回復試験）の調査方法や結果の解釈、温泉資源の枯渇に係る行政訴訟の判例、温泉資源の枯渇リスク低減のための研究成果などを紹介した。なお、各章の標題は、第1章 温泉の基礎、第2章 温泉付随ガス中の可燃性天然ガス、第3章 温

泉掘削規制の妥当性, 第4章 集湯能力調査と影響調査, 第5章 温泉医療と健康づくり, である。

4. 4 環境研究課

1) 2,4-ジ-tert-ペンチルフェノールの分析法開発

佐来栄治

化学物質と環境 (平成24年度 化学物質分析法開発調査報告書)

【要旨】

水・底質試料中の2,4-ジ-tert-ペンチルフェノール分析法の開発を行った。分析の概要については次のとおりである。

[水質] ピロガロールを添加した水質試料200 mLを固相カートリッジ (Envi-18 Glass Tube) に10 mL/minで通水捕集後、精製水20 mLを通して洗浄し、遠心分離器(3000 rpm, 15 min)を用いて脱水を行い、ジクロロメタン5 mL、ヘキサン5 mLで溶出する。その後、硫酸ナトリウムを用いて脱水を行い、濃縮後、シリカカートリッジでクリーンアップ後GC/MSで測定を行った。水質試料にピロガロールを添加後、固相カートリッジに通水捕集し、溶出、脱水、濃縮後、シリカカートリッジで精製し、シリンジスパイク内標準を添加しGC/MS-SIMで定量する。

[底質] 湿泥 (乾燥試料5 g相当) にピロガロールを添加し、アセトンにより抽出する。抽出液を水層に入れた後、ヘキサンの再抽出する。その後、脱水、濃縮後、シリカカートリッジで精製し、シリンジスパイク内標準を添加しGC/MS-SIMで定量する。

この分析法の検出下限値は、水質 0.98ng/L 底質 0.13ng/g-dry, 定量下限値は、水質 2.5ng/L, 底質 0.32ng/g-dryであった。また、平均回収率(n=5)は、河川水 77% 海水 81% 底質 86%であった。

2) <特集>第5次酸性雨全国調査報告書 (平成22年度)

全国環境研協議会 酸性雨広域大気汚染調査研究部会

解析委員 (執筆担当) 西山 亨 他

全国環境研会誌, 37(3), 2-50(110-158), 2012

【要旨】

全国環境研協議会による酸性雨全国調査は1991年度からの第1次調査に始まり、現在2009年度からの第5次調査を実施している。第1次調査では、ろ過式採取法による降水の調査を行い、第2次調査では流跡線解析による酸性雨物質の移流の可能性を調査し、第3次調査では、湿性沈着調査 (降水時開放型捕集装置) に加えて乾性沈着調査 (4段ろ紙法) を行い、第4次調査では、第3次調査に加えてパッシブ法を導入して調査を行ってきた。

第5次調査の目的は、日本全域における酸性沈着による汚染の実態を把握することであり、①国際標準の方法である降水時開放型捕集装置 (ウェットオンリーサンプラー) による湿性沈着の把握、②自動測定機、国際的モニタリングネットワークでも用いられているフィルターパック法およびパッシブ法による乾性沈着成分 (ガス/エアロゾル) 濃度の把握、③インファレンシャル法による乾性沈着速度算出および乾性沈着量評価、以上の3つが主なテーマである。第5次調査の特徴としては、①第4次調査から準備年をおかずに継続していること、②パッシブ法を0式に統一することにより、広域の解析・とりまとめを目指すこと、③アンモニア・アンモニウムの成分ごとの評価をめざすことなどがあげられる。

この調査研究は、全国約60の地方環境研究所との共同調査研究である。

II 研究報告

原 著

Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法 によるボカウイルス迅速検出法の検討

矢野拓弥, 前田千恵, 小林章人, 赤地重宏,
松野由香里, 山寺基子, 楠原 一, 永井佑樹,
小林隆司, 西中隆道

Examination of the Efficacy of Loop-mediated Isothermal Amplification Method for the Rapid Detection of Human Bocavirus

Takuya YANO, Chie MAEDA, Akihito KOBAYASHI, Shigehiro AKACHI,
Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA, Hajime KUSUHARA, Yuhki NAGAI,
Takashi KOBAYASHI and Takamichi NISHINAKA

ボカウイルス(Human bocavirus : HBoV)のNP1遺伝子を標的としたLAMPプライマーを設計し, Loop-mediated Isothermal Amplification(LAMP)法による迅速検出法を検討した. その結果, HBoV-LAMP法は, Conventional-PCR法(従来法)と同等以上の感度を有し, 他の呼吸器系ウイルスとの交差反応は認められないことを確認した. 従来法と比較すると検査に要する時間が1/4~1/5程度に短縮でき, 簡便かつ高感度にHBoV遺伝子の検出が可能であった. またLAMPプライマーの設計は比較的簡便であり, 簡易迅速診断キットが開発されていない感染症への応用が可能である. 今後, インフルエンザウイルスA(H7N9)およびMERSコロナウイルス等のような新種の感染症発生時の迅速検出ツールとして, LAMP法による迅速診断可能な検査態勢を整備することは公衆衛生の向上に寄与するものと考えられた.

キーワード: 急性呼吸器感染症, ボカウイルス, LAMP法

はじめに

ボカウイルス(Human bocavirus : HBoV)は, パルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類されており¹⁾, 2005年にスウェーデンの呼吸器感染症患者から初めて発見され, その後, 世界的に分布していることが判明したウイルスである¹⁻⁶⁾. HBoVは小児を中心とした急性呼吸器感染症(Acute respiratory infection:ARI)の起因ウイルスの一つであるが, 胃腸炎症状との関連性も報告されているが依然として不明な点があり, 現在国内におけるHBoVの検出情報および疫学情報の蓄積が進められている⁷⁻⁹⁾. 国内において2010年に国立感染症研究所より「ボカウイルス検査マニュアル」¹⁰⁾が示され, 三重県では従来から実施してきた呼吸器系ウイルスの感染症発生動向調査の項目¹¹⁻¹⁴⁾に加え, 2010年からHBoVの動向調査を実施している. 2010年~2013年6月までに調査した654検体中, 23件(3.5%)でHBoVが検出された. HBoVは, 小児の集中治療室での院内感染による

ARI感染症発生時のスクリーニングの対象疾患とすることを考慮すべきと示唆されているが¹⁵⁾, 現在のところHBoV簡易迅速診断キットは開発されておらず, 医療機関での実施は困難である. そこで我々は従来法のPCR法^{1,10)}よりも簡便で迅速性を備え, 数々の応用実績¹⁶⁻¹⁸⁾を有するNotomiら¹⁹⁾のLoop-mediated isothermal amplification(LAMP)法を用いたHBoVの迅速検出系を構築し有用性を検討したので報告する.

材料と方法

1. 供試検体

1) HBoV陽性臨床検体

2012年~2013年に三重県感染症発生動向調査事業にて, 定点医療機関を受診し使用承諾の得られた呼吸器系疾患患者から採取した臨床検体342件より抽出したDNAを用いてAllanderら^{1,10)}のConventional-PCR法によりHBoV(NP1領域およびVP1領域)の検出を実施した. 得られた5件

(No.2012-213, 2012-245, 2012-456, 2013-240, 2013-421)のPCR産物の塩基配列を決定しHBoVであることを確認した¹⁰⁾。これらをHBoV陽性コントロールとして、LAMP法によるHBoV迅速検出系(HBoV-LAMP法)の構築に関する反応温度条件等を検討した。

2) 各種ウイルス株および陽性臨床検体による交差反応性

呼吸器系ウイルス分離株および各種ウイルス陽性者の臨床検体は以下を用いた。インフルエンザウイルス分離株はA/H1N1, A/H1N1pdm, A/H3N2, InfB, InfCについて各々3株を使用した。陽性臨床検体は、パラインフルエンザウイルス I 型, II 型, III 型(PIV I, PIV II, PIV III), RSウイルス(RSV), ヒューマンメタニューモウイルス(Hmpv), ヒューマンコロナウイルス(HCoV), ヒューマンライノウイルス(HRV)を各々3検体用いて交差反応性の有無を検討した。

3) 臨床検体

2013年に三重県感染症発生動向調査事業にて使用承諾が得られ採取された臨床検体129件を用いて、HBoV-LAMP法による検出に関する検討およびConventional-PCR法との検出感度等の検証をした。

2. HBoV-LAMP法プライマーの設計

LAMP法プライマーは、Gene Bank に登録されているHBoV (ACCESSION No: DQ677522)のNP1遺伝子を標的配列とし、ソフトウェア(Primer Explorer Ver.4 FUJITSU LIMITED)を利用してNP1遺伝子の6領域を認識するようにForward outer primer(F3), Backward outer primer(B3), Forward inner primer(FIP), Backward inner primer(BIP), Loop primer-F(Loop-F), Loop primer-B(Loop-B)を設計した。

3. HBoV-LAMP法

LAMP法の反応液は、Loopamp DNA増幅試薬キット(栄研化学)と設計した6つのLAMPプライマー(Table1)を用い、専用のLoopamp反応チューブで以下のように調製した。添付試薬(Reaction Mix 12.5 μ L, Distilled Water 3.5 μ L, Bst DNA Polymerase 1 μ L), LAMPプライマー0.5 μ Lおよび抽出DNA 5 μ Lを含む25 μ L系で反応させた。

測定にはLoopampリアルタイム濁度測定装置LA-320C(テラメックス)を用いて濁度の変化を一定温度(60~65°C)で60分間測定した。60分以内に濁度の上昇が認められた場合を陽性、認められなかった場合を検出限界以下(陰性)とした。

4. HBoV-LAMP 増幅産物の特異性

Table 1. Primers used for LAMP of HBoV.

LAMP primer	Sequence(5' → 3')
F3	GGAATATGAAAGACAAGCATCG
B3	AGCAGTGAAGACGATAG
FIP	AGTTGTCTGCCAGTGTCTCTCTCTACAAAAGAAAAGGGAGT
BIP	GATCCGACACAGTGGGGAGAGTGGGTGATTGGGTGTTTC
LF	GTTCTATTGTCTTTTTTCCCGATG
LB	GTGGTGTGGGTCTACTGGCAC

HBoV-LAMP 法の増幅 DNA 産物を用いて制限酵素処理による特異性試験を行った。制限酵素はHBoV のNP1 領域の遺伝子配列情報から認識部位を有する制限酵素(Sau3AI)を用いた。処理は37°Cで12時間、その後2%アガロースゲルで泳動後の制限酵素切断パターン像を確認した。

結果

HBoV 陽性コントロール(No.2012-245)を用いてHBoV-LAMP 法による反応温度条件を検討した結果、反応温度 65°Cでは44分で濁度増幅曲線の立ち上がりが見られ、陽性と判定した。他の反応温度条件は62.5°Cでは34分であり、60°Cにすると29分と濁度検出に要する時間が最も短かった(Fig1)。また同検体からの抽出DNAで 10^{-7} までの希釈系列を作成し、反応温度60°Cで検出限界を検討したところ、 10^{-4} 希釈が60分以内にHBoV陽性となり、検出限界濃度であった(Fig2)。このHBoV陽性のLAMP増幅産物を用いて特異性試験を実施した。LAMP法の増幅産物は、標的遺伝子の相補的な配列を繰り返す構造で、大きさの異なるサイズの増幅産物ができ電気泳動像はラダー状の特徴的な増幅DNAバンドを示す。今回検討した電気泳動像はラダー状の泳動パターン(Lane1)を示し、制限酵素(Sau3AI)処理後の電気泳動像は2つのバンド(Lane2)に切断され、特異性が確認された(Fig3)。他のHBoV陽性の臨床検体(No.2012-213, 2012-456, 2013-240, 2013-421)についての検討結果は31分~42分の間に4件全てで陽性となった。さらにウイルス分離株(A/H1N1pdm, A/H1N1, A/H3N2, InfB, InfC)と各種陽性検体(PIV I, PIV II, PIV III, RSV, Hmpv, HCoV, HRV)について、反応温度60°Cで交差反応性の検討を実施したが、60分以内には増幅は全く認められず、交差性はないことが確認された。

2013年に三重県感染症発生動向調査事業にて採取された呼吸器系疾患患者の臨床検体129件を用いてConventional-PCR法およびHBoV-LAMP法で検討した結果、Conventional-PCR法での陽性は4検体であったが、HBoV-LAMP法では5検体が陽性と判定された。Conventional-PCR法を基準としたHBoV-LAMP法の感度は100%(4/4)、特異度は99.2%(124/125)、一致率は99.2%(128/129)であった(Table2)。

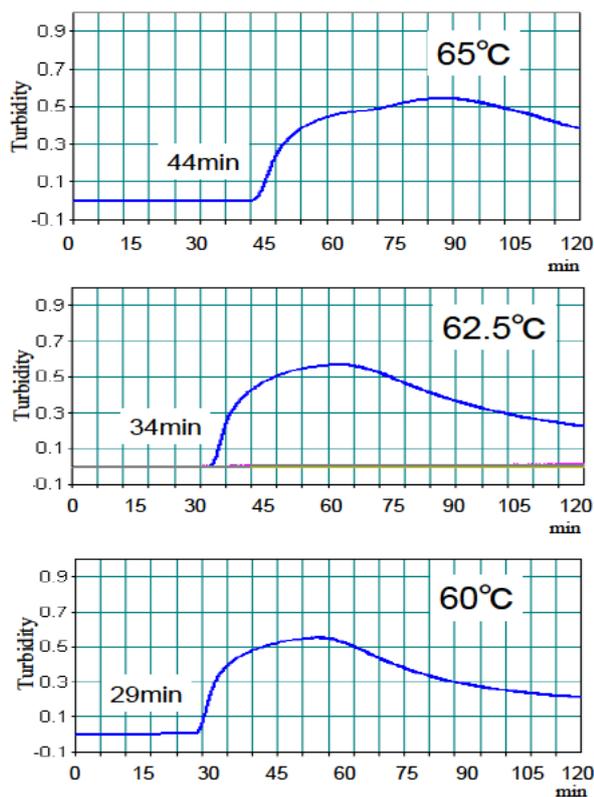


Fig 1. Thermal conditions comparison of LAMP.

考察

HBov-LAMP法はConventional-PCR法と同等以上の感度を有し、増幅反応後の染色および電気泳動が不要であるため、増幅産物による検査室の汚染を防止できるメリットがある。Conventional-PCR法と比較すると検査に要する時間短縮に期待できる。また、増幅産物の検出に電気泳動機や対機などの大型装置を必要としないため、検査室の設備が簡便で、感度が高く、迅速に検査できる。

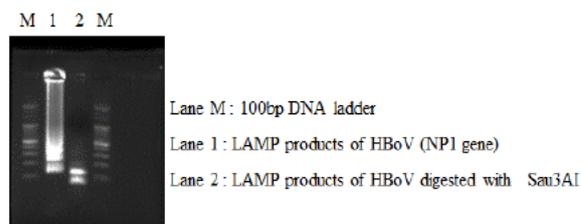
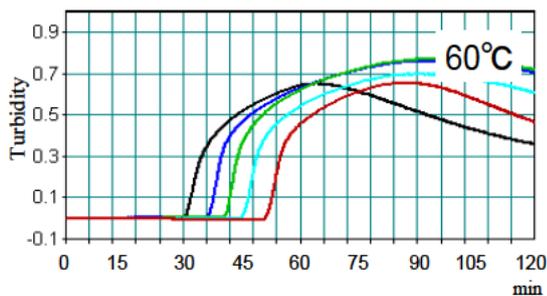


Fig 3. Restriction enzyme digestion of LAMP products.

Table 2. Sensitivity and specificity of LAMP.

HBov-LAMP	Conventional-PCR		Total
	Positive	Negative	
Positive	4	1	5
Negative	0	124	124
Total	4	125	129

公衆衛生の向上に寄与するものと考えられた。

文献

- 1) Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B : Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, *Proc Natl Acad Sci*, **102**, 12891-12896, (2005).
- 2) J.Y.Chung, T.H.Han, C.K.Kim, S.W.Kim : Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea, *Emerg. Infect. Dis*, **12**, 1254-1256, (2006).
- 3) Foulongne V, Olejnik Y, Perez V, Elaerts S, Rodiere M, et al : Human bocavirus in French children, *Emerg. Infect. Dis*, **12**, 1251-1253, (2006).
- 4) Sloots TP, McErlean P, Speicher DJ, Arden KE, Nissen MD, Mackay IM : Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children, *J. Clin. Virol*, **35**, 99-102, (2006).
- 5) Smuts H, Hardie D : Human bocavirus in hospitalized children, South Africa, *Emerg. Infect. Dis*, **12**, 1457-1458, (2006).
- 6) Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED, Ferguson D, et al: Human bocavirus infection in young children in the United States: Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus, *J. Infect. Dis*, **19**, 1276-1282, (2006).
- 7) 国立感染症研究所感染症疫学センター : 年別ウイルス検出状況, 由来ヒト, ヘルペス群 & その他のウイルス, 2009~2013年 (<https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data95j.pdf>)
- 8) 改田厚, 久保英幸, 入谷展弘, 後藤薫, 長谷篤 : 乳幼児呼吸器感染症患者からのヒトボカウイルスの検出-大阪市, 病原微生物検出情報, **29**,

- 161-162, (2008).
- 9) 川上百美子, 嶋田啓司: 徳島県における小児のヒトボカウイルスの罹患状況について, 徳保薬環七年報, No1, 13-17, (2011).
 - 10) 国立感染症研究所: ボカウイルス検査マニュアル, (2010).
 - 11) 矢野拓弥 他: 2012年3月に検出されたC型インフルエンザウイルスの系統樹解析-三重県, 病原微生物検出情報, **33**, 199, (2012).
 - 12) 矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏, 松野由香里, 山寺基子, 岩出義人, 片山正彦, 山口哲夫: 三重県におけるパラインフルエンザウイルスの動向, 三重保環研年報, 第14号(通巻第57号), 52-55, (2012).
 - 13) 矢野拓弥 他: 呼吸器症状を呈した小児から検出されたHuman coronavirus(2013年1~4月)-三重県, 病原微生物検出情報, **34**, 170-172, (2013).
 - 14) 三重県感染症情報センター: 三重県病原体検査情報, (<http://www.kenkou.pref.mie.jp/byougentai/kenshutu.htm>).
 - 15) Durigon GS, Oliveira DB, Vollet SB, Storni JG, Felício MC et al: Hospital-acquired human bocavirus in infants G.S, J. Hosp. Infect, **76**, 171-173, (2010).
 - 16) Hong TC, Mai QL, Cuong DV, Parida MMinekawa H, Notomi T, Hasebe F, Morita K: Development and Evaluation of a Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Rapid Detection of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus, J. Clin. Microbiol, **42**, 1956-1961, (2004).
 - 17) 矢野拓弥, 大熊和行: Reverse Transcription Loop-mediated Isothermal Amplification法による新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)迅速検出法の有用性, 日本環境感染学会誌, **26**, 305-310, (2011).
 - 18) Iwamoto T, Sonobe T, Hayashi K: Loop-mediated isothermal amplification for direct detection of Mycobacterium tuberculosis complex, M. avium, and M. intracellulare, J. Clin. Microbiol, **41**, 2616-2622, (2003).
 - 19) Notomi T, Okayama H, Masubuchi H, Yonekawa T, Watanabe K, Amino N, et al: Loopmediated isothermal amplification of DNA, Nucleic Acid Res, **28**, e63, (2000).

Examination of the Efficacy of Loop-mediated Isothermal Amplification Method for the Rapid Detection of Human Bocavirus

Takuya YANO, Chie MAEDA, Akihito KOBAYASHI, Hajime KUSUHARA, Shigehiro AKACHI,
Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA, Hajime KUSUHARA, Yuhki NAGAI,
Takashi KOBAYASHI and Takamichi NISHINAKA

Keywords: Acute Respiratory Infections(ARI), Human Bocavirus, Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) Method

Primers targeting the NP1 gene of Human Bocavirus (HBoV) for Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) method were designed and applied to the rapid detection of HBoV. The results confirmed that HBoV-LAMP method has a level of sensitivity equal to or higher than that of conventional PCR (conventional methods), and no cross-reactions with other respiratory viruses were observed. In addition, as the design of LAMP primers is relatively simple, our results suggest that simple and rapid diagnostic kits can be applied to the assay of potential infectious diseases. In the future, the preparation and development of rapid diagnostic systems using the LAMP method will contribute to improvement of public health through the detection of new infectious diseases, such as Influenza A (H7N9) virus and Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV).

原 著

鶏肉から分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌

永井佑樹, 岩出義人*, 赤地重宏, 小林隆司

Extended-Spectrum- β -Lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* Isolated from Chicken Meat

Yuhki NAGAI, Yoshito IWADE, Shigehiro AKACHI and Takashi KOBAYASHI

近年、薬剤耐性菌の一つである基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended Spectrum- β -Lactamase: ESBL) 産生菌の増加が問題となっている。そこで今回、県内で流通する鶏肉における ESBL 産生大腸菌の検出ならびに遺伝子型別を実施した。ESBL 産生大腸菌は、国産鶏肉 12 検体中 4 検体、輸入鶏肉 5 検体中 3 検体の計 7 検体から検出され、国産鶏肉からは、CTX-M-1, CTX-M-15, 輸入鶏肉からは CTX-M-2 型の ESBL 産生大腸菌がそれぞれ分離された。感受性試験では、輸入鶏肉由来株で耐性薬剤数が平均 7.3 薬剤となり、国産鶏肉由来 (平均 3.3 薬剤) に比べ多剤耐性化傾向が強いことが明らかとなった。ESBL 産生菌は、臨床上のみならず感染症対策および食品衛生行政上においても重要な課題であり、今後もその動向を監視していくことが重要であると思われる。

キーワード : Extended-Spectrum- β -Lactamase (ESBL), 大腸菌, 鶏肉, 薬剤耐性菌

はじめに

ESBL (基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ) は、主にペニシリン系薬を分解するクラス A の β -ラクタマーゼ遺伝子に変異が起こり、アミノ酸置換によりセフォタキシム (CTX) やセフトジジム (CAZ) 等の第三世代セファロスポリンやモノバクタム系薬のアズトレオナム (AZT) をも分解する能力を獲得した β -ラクタマーゼである。ESBL を産生する菌は、1983 年にドイツで初めてセラチア菌と肺炎桿菌で報告され¹⁾、国内では 1995 年に大腸菌で初めて報告された²⁾。第三世代セファロスポリン系薬は、医療現場で広く使用されているため、ESBL 産生菌は院内感染原因菌としても、市中感染原因菌としても重要な問題となっている。

ESBL にはさまざまな遺伝子型が存在するが、近年は CTX やセフトリアキソン (CTRX) に対して高い耐性を示す CTX-M 型が主流を占めつつある。CTX-M 型は、遺伝子の相同性から主に 4 つの group, 即ち CTX-M-1 group, CTX-M-2 group, CTX-M-8 group および CTX-M-9 group に型別される。

ESBL 産生大腸菌の人への感染源の一つとして食肉、特に鶏肉が重要視されているが³⁾、三重県では食品における ESBL 産生大腸菌の調査報告例はなく、分布状況およびその遺伝子型についても明らかにされていない。そこで今回、三重県内で流通する鶏肉における ESBL 産生大腸菌の分布状況を明らかにするため、ESBL 産生大腸菌の検出ならびに遺伝子型別を試みたので、その結果を報告する。

方 法

1. 被検材料

2013 年 4 月から 7 月にかけて三重県内で購入した鶏肉 17 検体 (国内産 12 検体, 外国産 5 検体) を被検材料とした。

2. 分離と同定方法

鶏肉からの大腸菌の分離は、25g の鶏肉を 225ml のペプトン食塩緩衝液で増菌培養後、EC 培地発酵管 10mL に 1mL および等量をそれぞれ 3 本ずつ、計 6 本に接種し 44.5°C で 24 時間培養した。

*津保健所総合検査室

1) 糞便系大腸菌群の分離

EC 培地においてガス産生が確認された試験管の培養液を 2 μ g/mL の CTX 加 DHL および EMB 寒天培地に画線塗抹し、35 $^{\circ}$ C 24 時間培養後、赤色または金属様光沢を示したコロニーについて大腸菌群陽性とした。

2) ESBL 産生菌の分離

Jarlier の方法⁴⁾に従い、市販の薬剤感受性試験用ディスク (BD) を使用して実施した。すなわち、ミューラーヒントン寒天培地 (栄研) 上にアモキシシリン/クラバン酸 (AMPC/CVA) およびスルバクタム/アンピシリン (S/A) から 25mm 離して、 β -ラクタム系薬剤の CTX, CAZ を配置し、AMPC/CVA, S/A と各薬剤の間に阻止帯 (Fig1) が形成されたものを ESBL 産生陽性と判定した。

3) ESBL 産生菌の同定

分離された ESBL 産生菌は、Api20E (シスメックスピオメリユー) により菌種の同定を行った。

3. ESBL 遺伝子型別

1) PCR 法による ESBL 遺伝子の検出

分離された ESBL 産生菌は、Shibata らの方法⁵⁾に従い TEM, SHV, CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9 group の ESBL 遺伝子検出を行った。また既報に従い、プラスミド介在性 AmpC- β -ラクタマーゼである CMY-2 をはじめ各種 β -ラクタマーゼの検出も同時に実施した⁶⁻⁸⁾ (Table1)。

2) ESBL 遺伝子の variant 型別

PCR により ESBL 陽性となった検体は、ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定し variant 型別を実施した。シーク

エンスは BigDye Terminators v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を使用し、3130 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) により塩基配列を決定した。

4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI; 旧 NCCLS) の抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき、市販の感受性試験用ディスク (センシディスク, BD) を用いて実施した。供試薬剤は、クロラムフェニコール (CP), テトラサイクリン (TC), ストレプトマイシン (SM), カナマイシン (KM), スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST), ナリジクス酸 (NA), ノルフロキサシン (NFLX), ゲンタマイシン (GM), ホスホマイシン (FOM), シプロフロキサシン (CPFX), スルフィソキサゾール (Su), イミペネム (IPM) の 12 薬剤とした。

結果

1. 大腸菌群および ESBL 産生菌の検出

鶏肉 17 検体のうち、7 検体 (41.1%) から ESBL 産生菌が分離された。その内訳として国産鶏肉で 12 検体のうち 4 検体 (33.3%), 輸入鶏肉では 5 検体のうち 3 検体 (60.0%) が陽性となった。また陽性となった 7 検体から分離された 34 株 (国産鶏肉由来: 23 株, 輸入鶏肉由来: 11 株) の ESBL 産生菌は、Api20E による同定の結果、全て大腸菌と判定された。

2. ESBL 遺伝子の遺伝子型別

34 株の ESBL 産生大腸菌の遺伝子型別の結果、国産鶏肉由来の 23 株は、いずれも CTX-M-1-group で、輸入鶏肉由来の 7 株は全て CTX-M-2-group であった。輸入鶏肉由来の残りの 4

Table 1. Primers used for PCR and sequencing

Taret	Nucleotide sequence (5'-3')	primer size(bp)	Product size(bp)
TEM-F	CCGTGTCGCCCTTATTCC	18	824
TEM-R	AGGCACCTATCTCAGCGA	18	
SHV-F	ATTTGTCGCTTCTTTACTCGC	21	1051
SHV-R	TTTATGGCGTTACCTTTGACC	21	
CTX-M-1-group-F	GCTGTTGTTAGGAAGTGTGC	20	516
CTX-M-1-group-R	CCATTGCCCGAGGTGAAG	18	
CTX-M-2-group-F	ACGCTACCCCTGCTATTT	18	779 or 780
CTX-M-2-group-R	CCTTTCCGCCTTCTGCTC	18	
CTX-M-9-group-F	GCAGATAATACGCAGGTG	18	393
CTX-M-9-group-R	CGGCGTGGTGGTGTCTCT	18	
CTX-M-825-F	CGCTTTGCCATGTGCAGCACC	21	307
CTX-M-825-R	GCTCAGTACGATCGAGCC	18	
OXA-1-F	ATATCTCTACTGTTGCATCTC	21	619
OXA-1-R	AAACCCTTCAAACCATCC	18	
CMY-2-F	AACACACTGATTGCGTCTGAC	21	1226
CMY-2-R	CTGGGCCTCATCGTCAGTTA	20	

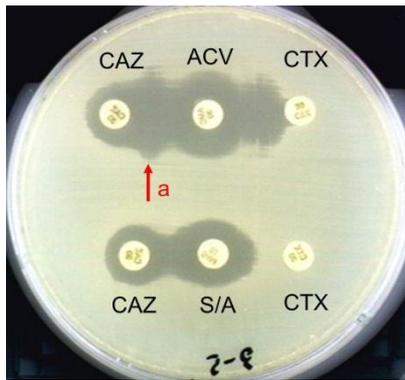


Fig1. Phenotypic test for ESBL producing isolates. Arrows (a) represents ESBL-producing synergy.

Table 2. Antimicrobial resistance profiles of ESBL-producing *E.coli*

Antimicrobial agent	Number of isolates resistant (%)		Total
	Domestic chicken	Imported chicken	
CP	1 (4.3)		1 (2.9%)
TC	23 (100)	11 (100)	34 (100%)
SM	8 (34.8)	11 (100)	19 (55.9%)
KM	3 (13.0)	5 (45.5)	8 (23.5%)
GM		11 (100)	11(32.4%)
ST	8 (34.8)	7 (63.6)	15 (44.1%)
FOM	1 (4.3)	11 (100)	12 (35.3%)
NA	5 (21.7)	5 (45.5)	10 (29.4%)
NFLX	2 (8.7)	4 (36.4)	6 (17.6%)
CPFEX	2 (8.7)	4 (36.4)	6 (17.6%)
Su	23 (100)	11 (100)	34 (100%)
IPM			0 (0%)

株に関しては、今回実施した PCR 法では ESBL 遺伝子の保有が確認されなかった。またシーケンスにより variant 型を調査した結果、CTX-M-1-group の 23 株のうち、CTX-M-15 が 2 株、CTX-M-1 が 21 株であった。一方、CTX-M-2-group の 7 株は、型別調査の結果、全て CTX-M-2 のタイプであった。また 34 株中 21 株で TEM 遺伝子陽性となったが、シーケンスの結果、全てプロトタイプの TEM-1 であった。

3. 薬剤感受性試験

ESBL 産生大腸菌 34 株の 12 薬剤に対しての耐性菌株数は、CP 1 株 (2.9%)、TC 34 株 (100%)、SM 19 株 (55.9%)、KM 8 株 (23.5%)、GM 11 株 (32.4%)、ST 15 株 (44.1%)、FOM 12 株 (35.3%)、NA 10 株 (29.4%)、NFLX 6 株 (17.6%)、CPFEX 6 株 (17.6%)、Su 34 株 (100%)、IPM 0 株 (0%) であった (Table2)。また単剤耐性株はなく、2 剤耐性が 13 株、4 剤耐性が 5 株、5 剤耐性が 2 株、6 剤耐性が 8 株、8 剤耐性が 2 株、9 剤耐性が 4 株であった。また国産鶏肉および輸入鶏肉由来別の耐性薬剤数は、国産鶏肉由来株が平均 3.3 薬剤、輸入鶏肉由来株が、平均 7.3 薬剤であった。

考 察

近年、人および食肉から、ESBL 産生大腸菌の分離報告が増加している。ESBL 産生菌は、現在国内で感染症治療のために広く使われている第三世代セファロスポリン系薬に耐性を示し、特に重篤な基礎疾患や、術後などで免疫力の低下した患者に敗血症、肺炎、尿路感染症などを惹起する場合があります、院内感染原因菌として問題視されている。

日本で ESBL 産生菌が確認されたのは、1995

年が最初であり²⁾、これまでに ESBL 産生大腸菌が分離された動物は、卵用鶏と肉用鶏を含む家禽や牛、豚、家兎などである。これらのうち、特に ESBL 産生菌の検出報告が多い動物は家禽である^{9,10)}。さらに肉用鶏から検出される ESBL 型は、CTX-M 型や TEM 型、SHV 型などでありヒトから検出されるものと同一であるが、現在のところ、肉用鶏から ESBL 産生菌が検出される原因は明らかにされていない。また今回の調査では検出されなかったが、家禽を中心に CMY-2 などクラス C に属するプラスミド介在性 AmpC 産生大腸菌の検出も報告されている⁶⁾。

本研究では、県内で流通する鶏肉における ESBL 産生大腸菌の検出ならびに遺伝子型別を実施し、その分布状況を調査した。その結果、鶏肉 17 検体中 7 検体 (41.1%) から ESBL 産生菌が検出され、国産鶏肉と輸入鶏肉を比較すると、国産鶏肉が 12 検体中 4 検体 (33.3%)、輸入鶏肉が 5 検体中 3 検体 (60.0%) で陽性となり、輸入鶏肉が高い陽性率を示した。また、7 検体から分離された ESBL 産生大腸菌 34 株の遺伝子型は、遺伝子型の判明しなかった 4 株を除いて全て CTX-M 型であり、国産鶏肉では CTX-M1-group、輸入鶏肉では CTX-M-2-group となり、これらの結果は下島ら¹⁰⁾の報告したものと同様の傾向を示した。臨床現場で分離される ESBL 産生菌は、従来、院内感染原因菌として TEM 型および SHV 型の遺伝子を保有する肺炎桿菌や大腸菌が主流であったが、2000 年を境に世界中で CTX-M 型菌の検出頻度が高くなってきている。特に近年は CTX-M-15 型産生大腸菌 O25:H4 ST131 株のパンデミックが報告されている^{11,12)}。今回の調査においても、県内で流通する鶏肉から CTX-M-15 型産生大腸菌が 2 株分離されており、CTX だけでなく CAZ にも耐

性を示していたことから、MLST (Multilocus Sequencing Typing) 解析等詳細な解析が必要である。

ESBL 産生大腸菌の薬剤感受性試験では、平均 4.6 薬剤に耐性を示し、TC および Su に対しては全ての株で耐性を示した。特に輸入鶏肉由来株では、耐性薬剤数が平均 7.3 薬剤となり、国産鶏肉由来の平均 3.3 薬剤に比べ明らかに多く、多剤耐性化傾向が強いことが明らかとなった。なかでも輸入鶏肉由来株は、アミノグリコシド系の SM (100%)、KM (45.5%)、GM (100%) に対して非常に高い耐性率を示した。今回の結果では、ESBL 産生菌治療の第一選択薬であるカルバペネムには全ての株で感受性を示したが、近年カルバペネムを分解する metallo- β -lactamase (MBL) と ESBL を同時に産生する菌も報告されており、今後も警戒が必要である^{13,14)}。

また今回、ディスク法で ESBL 産生菌と判定されながら、PCR により ESBL 遺伝子の保有が確認されなかった大腸菌 (4 株) に関しては、CTX-M-25 や他の薬剤耐性遺伝子を保有している可能性があり、さらに詳細な調査が必要である。

今回分離された CTX-M-1, M-2, M-15 型の ESBL 産生菌については病原性の調査は実施していないが、ESBL 産生菌は、非病原性の大腸菌だけでなく、志賀毒素産生大腸菌 O26 や赤痢菌などでも報告されており^{15,16)}、2011 年に欧州で大規模な outbreak を起こした EHEC O104:H4 も ESBL 産生の CTX-M-15 型であったことが確認されている^{17,18)}。そういったことから、ESBL 産生菌は臨床上のみならず感染症対策および食品衛生行政上においても重要な課題であり、今後さらに薬剤耐性菌の蔓延防止や新たな耐性菌の出現を監視していくことが必要であると思われる。

文 献

- 1) Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al (1983): Transferable resistance to cefotaxime, ceftazidime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*; **11**:315-317.
- 2) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, et al (1995): Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*; **39**:2269-2275.
- 3) Doi Y, Paterson DL, Egea P, et al (2010): Extended-spectrum and CMY-type beta lactamase-producing *Escherichia coli* in clinical samples and retail meat from Pittsburgh, USA and Seville, Spain. *Clin Microbiol Infect*; **16**:33-38.
- 4) Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, et al (1988): Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*; **10**:867-878.
- 5) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, et al (2006): PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*; **50**:791-795.
- 6) Pérez-Pérez FJ, Hanson ND (2002): Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol*; **40**: 2153-2162.
- 7) Colom K, Pérez J, Alonso R, et al (2003): Simple and reliable multiplex PCR assay for detection of blaTEM, bla(SHV) and blaOXA-1 genes in *Enterobacteriaceae*. *FEMS Microbiol Lett*; **223**: 147-151.
- 8) Pitout JD, Hossain A, Hanson ND (2004): Phenotypic and molecular detection of CTX-M-beta-lactamases produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol*; **42**: 5715-5721.
- 9) 石畝史, 永田暁洋, 鈴木里和 他 (2010): 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解析. *日本獣医公衆衛生学会誌*; **63**: 883-887.
- 10) 下島優香子, 井田美樹, 猪股光司 他 (2011): 食肉からの基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌の検出. *東京都健康安全研究センター研究年報*; **62**: 145-150.
- 11) Nicolas-Chanoine MH, Blanco J, Leflon-Guibout V, et al (2008): Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25 H4 ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother*. **61**: 273-281.
- 12) Ewers C, Grobbel M, Stamm I, et al (2010):

- Emergence of human pandemic O25:H4-ST131CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother.*; **65**:651-660.
- 13) Ahmad N, Hashim R, Shukor S, et al (2013): Characterization of the first isolate of *Klebsiella pneumoniae* carrying New Delhi metallo- β -lactamase and other extended spectrum β -lactamase genes from Malaysia. *J Med Microbiol*; **62**: 804-806.
 - 14) Dimude JU, Amyes SG (2013): Molecular characterisation and diversity in Enterobacter cloacae from Edinburgh and Egypt carrying bla(CTX-M-14) and bla(VIM-4) β -lactamase genes. *Int J Antimicrob Agents*; **41** :574-577.
 - 15) Ishii Y, Kimura S, Alba J, et al (2012): Extended-spectrum beta-lactamase-producing Shiga toxin gene (Stx1)-positive *Escherichia coli* O26:H11: a new concern. *J Clin Microbiol.* ;**43**: 1072-1075.
 - 16) Andres P, Petroni A, Faccione D, et al (2005): Extended-spectrum beta-lactamases in *Shigella flexneri* from Argentina: first report of TOHO-1 outside Japan. *Int J Antimicrob Agents*; **25**: 501-507.
 - 17) King LA, Nogareda F, Weill FX, et al (2012): Outbreak of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 associated with organic fenugreek sprouts, France, June 2011. *Clin Infect Dis*; **54**: 1588-1594.
 - 18) Frank C, Werber D, Cramer JP, et al (2011): Epidemic profile of Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany. *N Engl J Med*; **365**: 1771-1780.

Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* Isolated from Chicken Meat

Yuhki NAGAI, Yoshito IWADA, Shigehiro AKACHI and Takashi KOBAYASHI

Keywords: Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL), *Escherichia coli*, Chicken meat, Drug resistant bacteria

To evaluate the prevalence of extended-spectrum β -lactamase (ESBL) in broiler chickens, 17 samples taken from commercial chicken meat were examined. ESBL producing *E.coli* were isolated from 4 of the 12 domestic chicken meats, 3 of the 5 imported chicken meats. ESBL genotypes of the 34 strains from 17 samples were examined by PCR and followed by sequencing. ESBL genotypes of domestic chicken isolates were *bla*CTX-M-1 and *bla*CTX-M-15, and those of imported chicken isolates were *bla*CTX-M-2. The drug susceptibility test showed that all strains were resistant to at least two or more antimicrobial agents. Furthermore, imported chicken isolates showed resistant to 7.3 of 12 antimicrobial agents tested on average, which was higher than domestic chicken isolates (3.3 of 12). ESBL producing bacteria has become a serious concern not only clinical practice but also infection control and food sanitation. Therefore, it is important to monitor the spread of drug resistant bacteria among food-producing animal and human origin.

原著

味噌の特定原材料検査(小麦)における大麦の影響について

一色 博, 竹川雄太, 林 克弘, 志村恭子

Effect of Barley on Detection of Allergic Substances (Wheat) in Miso

Hiroshi ISSHIKI, Yuta TAKEKAWA, Katsuhiko HAYASHI and Kyoko SHIMURA

本県では過去の特定原材料(小麦)の収去検査において, 味噌でELISA法によるスクリーニング検査陽性, 確認試験(PCR法)陰性となる事例が発生している. 消費者庁通知では, ELISAでスクリーニングを実施し, 確認試験はPCRにより実施することになっている. 検査で用いる市販の小麦ELISAキットは大麦等の麦類に交差性があり, 大麦を使用した一部の味噌の検査ではスクリーニング検査陽性となる可能性が非常に高く, 確認検査の実施を余儀なくされる. 一方, 確認試験では小麦遺伝子のみを対象としたPCRを行うため, ELISAの陽性が大麦等いずれの麦類の交差反応が原因であるかの特定には至らない. そこで, 本研究では, 市販の味噌および小麦不使用で大麦を使用して試作した味噌を用いて, DNAの抽出法の確認および大麦検出用プライマーによりPCRを行い, 大麦遺伝子の抽出について検証した. その結果, 味噌からの麦類DNA抽出には通知法のイオン交換樹脂タイプキットよりQIAGEN製DNeasy[®]mericon[™]Foodが有効であり, それを用いて確認を行なったところ, 味噌の仕込みに使用される大麦由来原材料により交差反応が起こることが示唆された.

キーワード: 特定原材料, ELISA, 小麦, 大麦, 偽陽性反応, PCR

はじめに

近年, 食品アレルギーを有する患者数は増加する傾向にあり, 2012年には学校給食でも死亡事例が発生した. 平成13年には食品衛生法が改正され, アレルギー発症例の多い乳, 卵, 小麦およびアナフィラキシーショックを起こす可能性が高く¹⁾ 重篤な症状を示すそば, 落花生を特定原材料として表示が義務付けられた.²⁾ その後, 平成20年に, えび・かきが特定原材料に追加された.³⁾ 食品にはこれら特定原材料がさまざまな形で含まれることが多いので, 食品へのアレルギー表示および製造過程における管理が重要となっている.⁴⁾

これら特定原材料の試験方法は, 現在,

消費者庁通知⁵⁾で定められ, スクリーニング検査をELISA法で実施し, 確認検査を, 乳, 卵はウエスタンブロット法, それ以外の特定原材料はPCR法で実施することになっている.

当研究所では2009年度および2010年度の特定原材料(小麦)を目的とした食品収去検査において, 味噌が6検体あり, そのうち豆味噌の4検体がスクリーニング検査陽性であったが, 確認検査(PCR法)ではすべて陰性となった. これら味噌の原材料表示には, 小麦のELISA法で交差性を有し, 偽陽性と判定される大麦等の表示はなかった.

味噌の製造方法では, 麴に大麦を使用したり, 風味づけとして大麦や小麦の麩(ふ

すま)等を微量ではあるが使用する場合もあるので、味噌に使われている全ての材料を表示から読み取ることにはできない。

また、ELISA 検査キットのメーカーが公表している偽陽性反応の情報には、大麦、ライ麦、麦芽等を含む多くの原材料および加工品について示され、大麦、ライ麦、麦芽等の交差性も記されているが味噌については記載がない。⁶⁻⁸⁾

そのため、大麦を使用した一部の味噌の検査では交差性により、特定原材料(小麦)のスクリーニング検査陽性となる可能性が非常に高く、通知で定められた製造記録の確認等において小麦が使用されていないにもかかわらず、確認検査の実施を余儀なくされる。

一方、確認検査では小麦遺伝子のみを対象としたPCRを行うため、ELISAの陽性が大麦等いずれの麦類の交差反応に起因するかの特定には至らない。

また、検査試料からのDNA抽出の成否については、植物検出用プライマーによるPCRの増幅により確認を行っているが、味噌のような発酵食品では、原材料の種類や配合量および製造方法の違い等によりDNAの分解度合いが異なる⁹⁾と考えられる。小麦あるいは交差性のある麦類のDNAがどの程度抽出できているかの確認を行うことで、交差性のある麦類が検出されれば、製造業者への指導等にも貢献できると考えている。

本研究では、過去の食品収去検査の中から味噌に着目し、市販の味噌および小麦不使用で大麦を使用して試作した味噌を用いて、スクリーニング検査および確認検査を行い、大麦の影響およびDNA抽出について検証した。

また、給食施設、食品製造工場等、多くの現場で使用されているイムノクロマトを用いた簡易検査法の麦類交差性についても報告する。

方法

1. 試料

市販味噌は豆味噌、米味噌、麦味噌お

よび調合味噌を量販店および地場産品取扱店から購入した。試作味噌は、市販大豆、塩および使用原材料が確認できる麴を用いて一般的な味噌の仕込み方法により作製した。

また、味噌の成熟に伴う大麦による交差反応物質の消長を見るために、試作味噌の仕込みはじめに2%程度の大麦由来の香煎(主に大麦を炒った粉末)、大麦麴および小麦麴を添加し、味噌の熟成途中(仕込み直後、62日目および103日目)でサンプリングしたものをを用いた。

2. 試薬

1) ELISA法によるスクリーニング検査
検査キットは、(株)森永生科学研究所製 モリナガ FASPEK 小麦測定キット(グリアジン)および日本ハム(株)製 FASTKIT エライザ Ver. II小麦を使用した。

2) DNA抽出

QIAGEN 製 QIAGEN Genomic-tip 20/G および DNeasy[®] mericon[™] Food を使用した。

3) PCRによる確認検査

AmpliAq[®] Gold, PCR Buffer II, MgCl₂ および dNTP はアプライドバイオシステムズ製、植物DNA検出用プライマーは(株)ファスマック製、小麦検出用プライマーはオリエンタル酵母工業(株)製、大麦(γ -hordein 遺伝子)検出用プライマーは既報¹⁰⁾の塩基配列により合成したものを使用した。

4) イムノクロマト法簡易検査キット

(株)森永生科学研究所製 ナノトラップ II R 小麦、日本ハム(株)製 FASTKIT スリム 小麦を使用した。

3. 装置

マイクロプレートリーダーはThermo Scientific製 Multiskan FC、サーマルサイクラーはアプライドバイオシステムズ製 GeneAmp[®] PCR System 9700、電気泳動装置はコスモバイオ株式会社製 i-Mupid[®] システムを使用した。

4. 検査方法

- 1) スクリーニング検査および確認検査
消費者庁通知 (H22.9.10消食表第286号)⁵⁾ (以下, 通知法) により行った.
- 2) 大麦DNA抽出およびPCR
DNA抽出は, QIAGEN製 DNeasy[®] *mericon*[™] Food (以下, *mericon*法) を用い, 大麦のPCR条件は, 既報¹⁰⁾ の方法により行った.
- 3) 簡易検査
各キットの取扱い説明書により行った.

結果および考察

図1に小麦を対象としたスクリーニング検査で調べた試作味噌の仕込み時に添加した香煎, 大麦麩および小麦麩の抗原タンパク質濃度が味噌成熟過程でどのように変化するかを示した. 添加した仕込み直後から103日目において, 抗原タンパク質は, 香煎と大麦麩で約76%に, 小麦麩で約27%に減少したが, 消滅することはなかった.

表1に味噌の製造で使用する麩, 大麦由来の香煎, 麩および偽陽性 (交差性) を示す可能性のある麦類についてのスクリーニング検査および簡易検査の結果を示した. 大麦, はと麦, ライ麦のうち, はと麦は反応がほとんどなかった. 通常, 豆麩の製造には香煎が使用されているが, 今回検討した豆麩 (番号5) では香煎が使用されていないために陰性となり, 麩の中では麦麩 (番号6) のみ反応した. 表1における番号1,3,6,7,8のモリナガの簡易検査では, イムノクロマト法の原理上, 多量の抗原蛋白が抽出液に含まれる場合に起こる反応性の低下が見られた.⁴⁾ 味噌からのDNA抽出を検討したところ, 通知法のイオン交換樹脂タイプキットを用いたDNA抽出液ではPCRの増幅が見られなかったが, より短いフラグメントDNAの抽出に適した*mericon*法¹¹⁾ ¹²⁾ では増幅が確認できた. そこで, 本研究では*mericon*法によるDNA抽出を行い, 確認検査を実施した. 図2に味噌原料等の*mericon*法によるDNA抽出液のPCR結果を

示した. 大麦のDNAが検出されたのは, D社製市販豆味噌, 大麦, 飼料用麦であり, 小麦, ライ麦とは明らかに区別できた.

表2に市販の味噌および自家製の試作味噌についてスクリーニング検査および簡易検査を実施し, スクリーニング検査で反応があったものについて確認検査の結果を示した. 豆味噌では8検体中7検体 (番号1,2,3,5,7,10,12) で検査キットの検出限界以上となり, うち3検体 (番号1,2,3) でスクリーニング検査陽性であった. 確認検査の結果, 小麦はすべて陰性で, 大麦が検出されたものが5検体あった. このうち, 豆味噌の4検体は豆麩の製造時に香煎が使用されたと考えられる. また, 米味噌1検体 (番号15) についてはモリナガのELISAキットで弱い反応があり, 製造段階での麦, 豆味噌等の混入の可能性が考えられた. なお, 試作の自家製味噌については, 麦麩使用味噌 (番号18) のみモリナガのELISAキットで反応した. 簡易検査については, 検出下限が5 μ g/gであることから, 番号15のようにELISAの定量値が低いものについては検出されなかった. 図3に味噌の*mericon*法によるDNA抽出液のPCRを示した. 大麦が検出されたのは, 大麦由来の香煎を添加した試作味噌, F社製豆味噌, G社製豆味噌, H社製豆味噌, I社製豆味噌の5検体であり, A社製豆味噌, C社製豆味噌, J社製麦味噌, K社製麦味噌, L社製米味噌の5検体からは検出されなかった.

スクリーニング検査法と簡易検査法の結果を比較すると, スクリーニングに用いたELISAキットのメーカー間の定量値の差が簡易検査の感度にもほぼそのまま反映する結果となった.

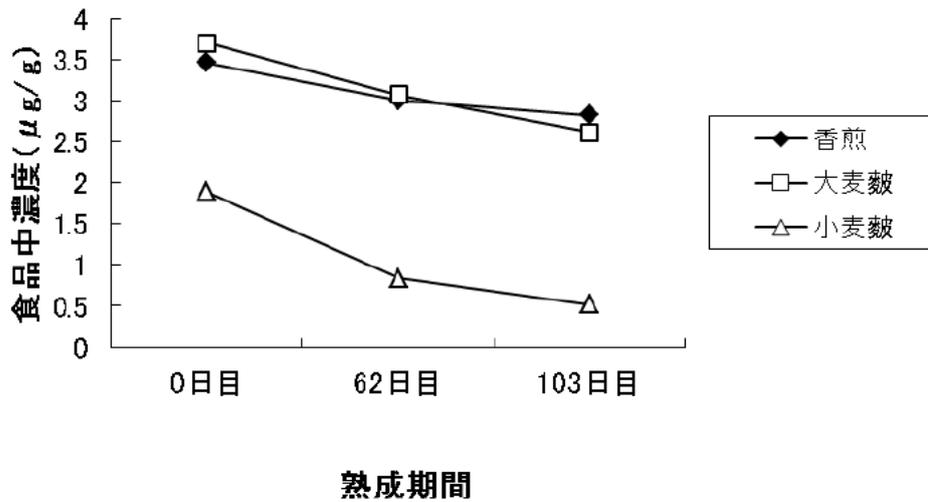


図1 豆味噌の熟成中における抗原タンパク質濃度変

表1 味噌製造原料におけるアレルギー物質（小麦）の反応性

番号	検体	ELISAキットによる定量値(μg/g)		スクリーニング検査	簡易検査(定性)	
		日本ハム	モリナガ		日本ハム	モリナガ
1	大麦	9.6	20以上	+	+	±
2	はと麦	0.6	0.7	± ※1	-	-
3	ライ麦	20以上	20以上	+	+	±~-
4	R社米麩	ND ※2	ND	-	/	/
5	R社豆麩	ND	ND	-	/	/
6	R社麦麩	3.2	14.9	+	-	±~-
7	香煎(大麦)	/ ※3	20以上	+	+	±
8	小麦麩	/	20以上	+	+	±~-

※1: ±は通知上陰性; ※2: NDは不検出; ※3: /は未測定.

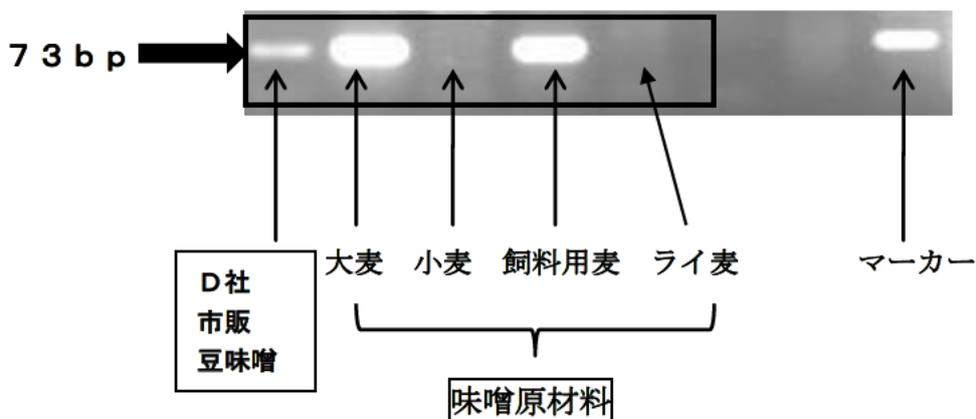
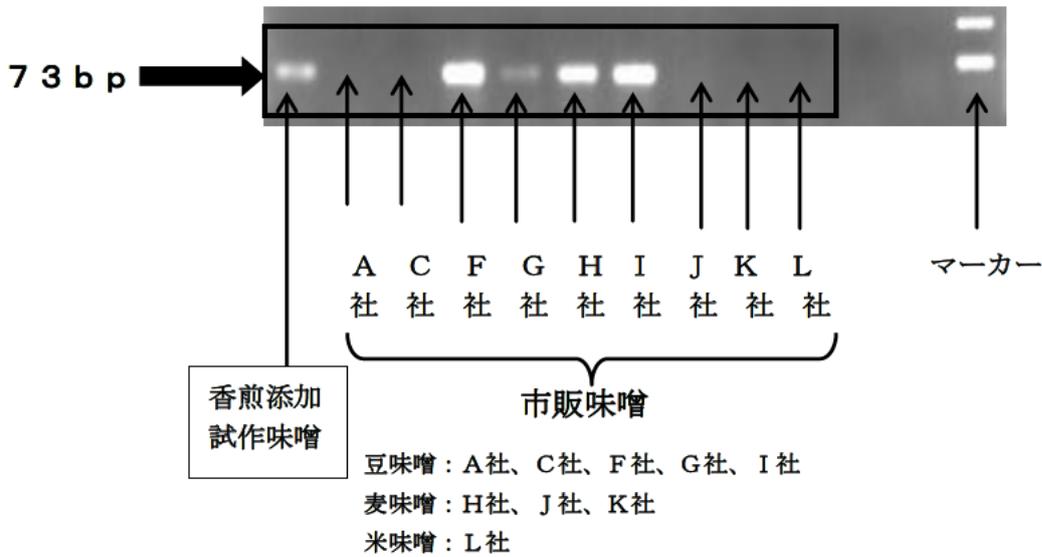


図2 味噌原材料等の mericon 法によるDNA抽出液のPCR

表2 各種味噌におけるアレルギー物質（小麦）の検出状況

試料番号	検体	ELISAキットによる定量値(μg/g)		スクリーニング検査	簡易検査		確認検査	
		日本ハム	モリナガ		日本ハム	モリナガ	小麦	大麦
1	A社豆味噌1	14.0	20以上	+	/	/	-	/
2	A社豆味噌2	14.2	20以上	+	/	/	-	/
3	A社豆味噌3	6.5	20以上	+	-	+	-	-
4	B社豆・米調合味噌	3.6	8.9	± ※1	±~-	+	/ ※3	/
5	C社豆味噌	12.7	14.3	+	-	+	-	-
6	C社米味噌	ND ※2	ND	-	/	/	/	/
7	D社豆味噌	2.7	10.6	+	±~-	+	-	+
8	E社豆味噌	ND	ND	-	/	/	/	/
9	F社豆、米調合味噌	2.2	9.5	±	-	+	-	+
10	G社豆味噌	1.3	3.5	±	-	+	-	+
11	H社麦味噌	4.5	20以上	+	±~-	+	-	+
12	I社豆味噌	3.1	14.2	+	-	+	-	+
13	J社麦、豆調合味噌	3.3	18.8	+	-	+	-	-
14	K社麦、米調合味噌	2.8	11.7	+	±~-	+	-	-
15	L社米味噌	ND	1.6	±	-	-	-	-
16	R社米麴使用試作味噌	/	ND	-	/	/	/	/
17	R社豆麴使用試作味噌	/	ND	-	/	/	/	/
18	R社麦麴使用試作味噌	/	20以上	+	±	+	/	/

※1: ±は通知上陰性; ※2: NDは不検出; ※3: /は未測定.



※香煎添加試作味噌、市販味噌すべて ELISA で反応性のあった試料

図3 味噌のmer icon法によるDNA抽出液のPCR

まとめ

今回、主に量販店等で市販されている各種味噌の特定原材料（小麦）を調査した結果、スクリーニング検査で陽性であったものも、確認検査ではすべて陰性で

あった。また、大麦 DNA 抽出液の PCR の結果、ELISA 法によるスクリーニング検査での偽陽性反応は、大麦に由来する香煎や、麦味噌の原材料として的大麦が原因であると推測された。

イムノクロマト法による特定原材料

(小麦)の簡易検査は食品製造施設等で使用されているが、抗原が多量であると反応性が下がることと、大麦等にも反応することに注意が必要である。また、簡易検査キットは、メーカー間で反応性が異なることから、製造する食品にあわせた簡易検査キットの選定が必要である。

今回、スクリーニング検査で反応があった検体で小麦、大麦ともに検出できなかった味噌があったことから、今後は、麦類のDNAを確実に抽出する最適条件を検討するとともに、一部の地域で製造されているような地場産の豆味噌等を調査する必要がある。

文 献

- 1) 海老澤元宏：食物アレルギーについて，食品衛生研究，Vol. 59，No. 1，17-25 (2009)。
- 2) 平成13年3月15日付け食発第79号厚生労働省通知「食品衛生法施行規則及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令等の施行について」。
- 3) 平成20年6月3日付け食発第0603001号厚生労働省通知「食品衛生法施行通知の一部を改正する省令の施行について」。
- 4) 布藤 聡：アレルギー食品の検査技術，食品工業，Vol. 53，No. 6，43-51 (2010)。
- 5) 平成22年9月10日付け消食表第286号消費者庁次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」
- 6) 土井啓利，高橋美津子，山本貴之，柴田治樹：偽陽性反応を低減した特定原材料小麦測定ELISA法の開発及び複数機関による評価研究，日本食品化学学会誌，17，12-17 (2010)。
- 7) モリナガFASPEK特定原材料測定キット：森永生科学研究所ホームページ (<http://www.miobs.com/product/tokutei/faspek/index.html>)。
- 8) 日本ハム中央研究所：特定原材料検査キットFASTKIT Ver. IIシリーズホームページ (http://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/fastkit_elisa.html)。
- 9) 萩野賀世，松本ひろ子，牛山博文：加工食品中の特定原材料検査（小麦）におけるPCR法の検討，東京都健康安全研究センター研究年報，59，149-153 (2008)。
- 10) HERNANDEZ, M., T. ESTEVE, M. PLA. : Real-Time Polymerase Chain Reaction Based Assays for Quantitative Detection of Barley, Rice, Sunflower, and Wheat, J. Agric. Food Chem. 53, 7003-7009 (2005)。
- 11) 橋本博之，本郷 猛，中西希代子，宮本文夫，林 千恵子，石井俊靖：特定原材料検査におけるDNA抽出キット(DNeasy[®]mericon[™]Food)の検討，第49回全国衛生化学技術協議会年会講演集，172-173，(2012)。
- 12) 橋本博之，本郷 猛，中西希代子，宮本文夫，石井俊靖，安達玲子，穂山 浩，手島玲子：特定原材料検査における海苔製品中のえび・かにDNA検出法の検討（第2報），第48回全国衛生化学技術協議会年会講演集，86-87 (2011)。

Effect of Barley on Detection of Allergic Substances (Wheat) in Miso

Hiroshi ISSHIKI, Yuta TAKEKAWA, Katsuhiro HAYASHI, and Kyoko SHIMURA

Keywords : allergic substance, ELISA, wheat, barley, false-positive reaction, PCR

Recently in Mie Prefecture, when sampling of miso was performed to test for allergic substances (wheat) in accordance with the Food Sanitation Act, the screening test by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was positive but the confirmation test by polymerase chain reaction (PCR) assay was negative. According to a Notice of the Consumer Affairs Agency regarding the detection of allergic substances (wheat), screening by ELISA is performed first, followed by a confirmation test by PCR assay. Since the commercially available ELISA kit for wheat has cross-reactivity with barley, some kinds of miso that contain barley are likely test positive in screening for wheat. In the mandated confirmation test, however, only a PCR assay for specifically detecting wheat is presently used. Therefore, the assay is unable to determine what kinds of wheat and barley are responsible for the cross-reactivity. In the present study, miso purchased from a market and miso produced in the laboratory, which contained barley but not wheat, were used for DNA extraction and PCR testing using a primer for barley gene detection. The results show that, compared with the official method using an anion-exchange resin, DNeasy® *mericon*™ Food Kit (QIAGEN) was more suitable for screening miso for allergic substances (wheat). These findings implicate barley in the reported false-positive screening tests for wheat in miso.

ノート

三重県独自の調査様式による性感染症サーベイランスの有効性 ～年2か月間の拡大サーベイランス結果について～

福田美和, 高橋裕明, 奈良谷性子, 山内昭則

The Effectiveness of STI Surveillance by a New Form Originated from Mie Prefecture

— The Results of Expanded Surveillance for Two Months —

Miwa FUKUTA, Hiroaki TAKAHASHI, Sagako NARAYA and Akinori YAMAUCHI

三重県では、平成19～21年にかけて実施した性感染症4疾患患者全数把握調査結果を踏まえ、近年の性行動の多様性に対応し、有効な予防対策に資することを目的に、県独自の調査様式による新たなSTD定点サーベイランスを平成24年1月から開始している。本定点サーベイランスのさらなる改善のため、報告対象機関を拡大したサーベイランスを平成24年9～10月の2ヶ月間のみ実施したところ、53機関(皮膚・泌尿器科系30機関、産婦人科系23機関)から協力が得られ、2か月間の患者報告数は263人(男114人、女149人)、うち無症状病原体保有者は49人(男11人、女38人)であった。この拡大調査により、各疾患の年齢構成や受診契機などの傾向には大きな違いがなく、定点サーベイランスに一定の妥当性が確認されたほか、定点サーベイランスでこれまで報告されなかった淋菌の咽頭感染例の報告もみられ、無症状病原体保有者、咽頭感染、混合感染の把握に有効であることが確認できた。両者の結果から、さらなる実態把握と感染拡大防止に繋げるには、パートナー健診に積極的に取り組む機関の一層の拡大、潜在する咽頭感染例や無症状病原体保有者を顕在化する検査の推進などが必要と考えられた。

キーワード：性感染症，サーベイランス，無症状病原体保有者，パートナー健診，咽頭感染

はじめに

「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」および「感染症発生動向調査事業実施要綱」に基づく性感染症4疾患(性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、尖圭コンジローマ、淋菌感染症)の定点医療機関によるサーベイランスは、その発生・まん延の状況を明らかにするとともに、防止対策に必要な科学的根拠を提供する手段として実施されているが、厚生労働省告示「性感染症に関する特定感染

症予防指針」¹⁾では、若年層における発生の割合が高いことや性行動の多様化による咽頭感染の増加を踏まえた対策、無症状病原体保有者の存在を考慮した追加調査等の重要性が指摘されている。

一方、三重県においては、平成19～21年にかけて性感染症4疾患患者全数把握調査を実施し、若年層の感染の実態やパートナー健診の重要性を確認した²⁾。この結果を踏まえ、近年の性行動の多様性に対応し、有効な予防対策に資することを

三重県感染症情報センター宛（フリーダイヤルFAX番号：0120-****）

医療機関名		受診者数		検査数		性感染症の患者を診断されなかった場合は、□にレ点を記入し、報告をお願いします。 報告例なし □																							
		人		件		クラミジア					淋菌																		
				梅毒		HIV					件																		
											次の項目で該当するものがあれば番号に○を付けてください。																		
											①その他の疾患 注2)																		
											②受診契機																		
											③その他の状況																		
患者番号	性	年齢	配偶者	国籍	住所	疾患名（該当する欄に有症状は○を、無症状の場合は□にレ点を記入してください。）		性器クラミジア感染症 注1)検査陽性例		性器ヘルペス ウイルス 感染症 (再感染届出不要)		淋菌感染症 注1)検査陽性例		1: 膣トリコモナス症 2: ケジラミ症 3: 梅毒 4: HIV感染症/AIDS 5: HPV感染 6: その他()															
						性器・血清	咽頭			性器・眼	咽頭	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
2	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
3	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
4	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
5	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
6	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
7	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
8	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
9	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
0	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □			無症状 □	無症状 □	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6

特記事項（特微的な事例、患者に関する特記事項等があれば、ご記入ください。）

注1) 性器クラミジア感染症、淋菌感染症について
●報告は、届出基準にある臨床的特徴を有し、かつ下記の検査陽性の患者の他、無症状の患者も届出をお願いします。
●性器クラミジア感染症：次の(1)の①～③、(2)の①～②のいずれかに該当する検査所見を認めるもの
(1)検査材料が尿道、性器から採取した材料の場合、又は咽頭ぬぐい液の場合
①分離・同定による病原体の検出 ②蛍光抗体法又は酵素抗体法による病原体抗原の検出 ③PCR法による病原体遺伝子の検出
(2)検査材料が血清の場合
①ペア血清による抗体陽転又は抗体価の有意の上昇 ②単一血清で抗体価の高値
●淋菌感染症：尿道、性器から採取した材料、眼分泌物、咽頭拭い液で次の①～⑤のいずれかに該当する検査所見を認めるもの
①分離・同定による病原体の検出 ②鏡検による病原体の検出 ③蛍光抗体法による病原体抗原の検出 ④酵素抗体法による病原体抗原の検出 ⑤PCR法による病原体遺伝子の検出
注2) 後天性免疫不全症候群および梅毒は5類感染症全数把握疾患に定められており、患者及び無症状病原体保有者を診断した医師は7日以内に最寄りの保健所に届け出ることになっています。
注3) 用紙が不足する場合は2枚目に記入をお願いします。

図 1. 三重県独自の性感染症 4 疾患患者報告様式

目的に、半期毎に開催する三重県感染症発生動向調査企画委員会の意見を聴いて、県独自の調査様式を作成し、平成 24 年 1 月から新たな STD 定点サーベイランスを開始した。今回、これらの取り組みの有効性を検証し、さらなる改善の資料を得るため、報告対象機関を過去の全数把握調査に協力が得られた機関等に拡大して年 2 か月間のサーベイランスを実施した（以下、「拡大サーベイランス」という）ので、その概要を報告する。

方 法

調査期間は、平成 24 年 9 月から 10 月の 2 か月間とした。

報告は、定点の 17 機関に加え、事前アンケートにて協力可能と回答された 64 機関および過去の全数把握調査で年間 10 回（10 ヶ月）以上かつ 25 人以上の患者発生が報告された 15 機関の計 96 機関（皮膚・泌尿器科系 58 機関、産婦人科系 38 機関）に協力依頼した。

調査様式は、三重県における STD 定点サーベイランスで平成 24 年 1 月から用いているものと同様とした。すなわち、医療機関全体の来院者数とクラミジア、淋菌、梅毒および HIV の検査件数を記入し、患者についてはケースごとに性、年齢、配偶者の有無、国籍、住居地、疾患名（性器クラ

ミジアと淋菌感染症は無症状病原体保有者、咽頭感染の項目を追加）、その他の疾患（膣トリコモナス症等）、受診契機（パートナーが有症状、妊婦健診等）、その他の状況（性風俗産業従事者（Commercial sex worker : CSW）との接触、コンドーム不使用等）を選択又は記入することとした（図 1）。

各医療機関は、1 ヶ月毎に結果を記入した調査票をファクシミリにより県感染症情報センターあてに報告することとした。同センターは、調査票をもとにデータベース様式の Microsoft Excel ファイルに入力し、集計・解析を行い、定点医療機関分については、NESID による月報データ入力のため、国の様式に転記したファイルを作成し、所管保健所に e-メールで送信することとした。

結 果

2 ヶ月間の患者報告数を表 1 に示した。また、診療科により、受診者の主な性別はもとより受診に至る背景も異なるため、同様の形式で皮膚・泌尿器科系と産婦人科系に分けて集計した報告数を表 2、表 3 に示した。

協力依頼した 96 機関中 36 機関（皮膚・泌尿器科系 20 機関、産婦人科系 16 機関）から協力が得られ、定点の 17 機関（皮膚・泌尿器科系 10 機関、

表 1 三重県独自の調査様式による拡大サーベイランス患者情報（平成 24 年 9～10 月）

疾患名	性	年齢階級別患者数														受診契機 [※]					その他の状況 [※]										
		0 9	10 14	15 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 64	65 69	70 以上	計	有 症 状	パ ー ト ナ ー が 有 症 状	妊 婦 健 診	人 工 妊 娠 中 絶	自 己 検 査 陽 性	そ の 他	性 的 接 触	性 的 接 触	同 性 的 接 触	C S W ※	C S W ※ の 接 触	コ ン ド ー ム 不 使 用	バ ー ト ナ ー の 複 数		
有 症 状	性器クラミジア感染症	男			2	7	4	5	5	5	4	3	1	1	1	38	25	1									14		9	9	1
	性器クラミジア感染症	女			2	4	19	17	14	3	2	3	2			66	43	4	2	1	1	5					33	3		3	1
	咽頭クラミジア感染症	男														0															
	咽頭クラミジア感染症	女														0															
	性器ヘルペスウイルス感染症	男			1			2	6	1	1			1	1	13	8	1									4		4	2	
	性器ヘルペスウイルス感染症	女			1	4	6	3	4	1	1	2				22	17										5				
	尖圭コンジローマ	男			1	3	1	1	2	3	5				2	18	3												1	1	
尖圭コンジローマ	女			1	4	3	1	2	1	2				1	15	6		1			1					4		1			
淋菌感染症(咽頭を除く)	男			1	6	3	5	9	4	3	3				34	22										15		9	5		
淋菌感染症(咽頭を除く)	女			1		1									2	2										1					
淋菌感染症(咽頭)	男						1								0																
淋菌感染症(咽頭)	女														0																
小計	男	0	0	5	13	10	13	21	12	11	11	2	2	3	0	103	58	2	0	0	0	0				34	0	0	23	17	1
小計	女	0	2	7	27	27	19	9	4	6	4	0	0	1	0	106	69	4	3	1	1	6				43	0	5	0	3	1
無 症 状	性器クラミジア感染症	男			3	1	5	1	1						11		7				2					6		2	1		
	性器クラミジア感染症	女			6	8	7	5	6	3					35		5	8	2		9					9	2			3	
	咽頭クラミジア感染症	男													0																
	咽頭クラミジア感染症	女													0																
淋菌感染症(咽頭を除く)	男					2		1						3		2									1						
淋菌感染症(咽頭を除く)	女													0																	
淋菌感染症(咽頭)	男													0																	
淋菌感染症(咽頭)	女													0																	
小計	男	0	0	0	3	1	5	1	1	0	0	0	0	0	11		0	7	0	0	0	2			6	0	0	2	1	0	
小計	女	0	0	6	8	9	5	7	3	0	0	0	0	0	38		0	7	8	2	0	9			10	0	2	0	0	3	
その他の感染症:臍トリコモナス	男			1	1	1		1	1						5		1	1			2				3						
その他の感染症:臍トリコモナス	女														0																
総計	男	0	0	5	16	11	18	22	13	11	11	2	2	3	0	114	58	9	0	0	0	2				40	0	0	25	18	1
総計	女	0	2	14	36	37	24	17	8	6	4	0	0	1	0	149	70	12	11	3	1	17				56	0	7	0	3	4
再 掲	クラミジア・淋菌混合感染	男				1		1							3		3									1		2	2		
	クラミジア・淋菌混合感染	女													0																
	その他の混合感染	男			1										1		1									1					
その他の混合感染	女				1	1		1							3		1	1			1					1	1				
混合感染計	男	0	0	1	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	4		4	0	0	0	0	0				2	0	0	2	2	0
混合感染計	女	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	3		1	1	0	0	0	1			1	0	1	0	0	0	

*泌尿器科13機関、皮膚科13機関、産婦人科23機関、その他の診療所(皮膚科を標榜)4機関からの報告数である。

※:「受診契機」及び「その他の状況」は無回答または複数回答を含むため患者数と一致しない。

※※:性風俗産業従事者

産婦人科系 7 機関) と合わせ、計 53 機関から 2 か月間で 263 人(男 114 人, 女 149 人) の患者報告があった。疾患別では性器クラミジア感染症が 150 人(有症状:男 38 人, 女 66 人, 無症状:男 11 人, 女 35 人) と最も多く、淋菌感染症が 40 人(有症状:男 34 人, 女 3 人(うち 1 人は咽頭感染)、無症状:女 3 人)、性器ヘルペスウイルス感染症が 35 人(男 13 人, 女 22 人)、尖圭コンジローマが 33 人(男 18 人, 女 15 人) の順で、その他の感染症として臍トリコモナス症が 5 人であった。混合感染例は男 4 人, 女 3 人(クラミジアと淋菌混合感染:男 3 人, その他の混合感染:男 1 人, 女 3 人) であった。

年齢階級別にみると、男性では、性器クラミジア感染症は 20 代前半、淋菌感染症、性器ヘルペスウイルス感染症は 30 代後半、尖圭コンジローマは 50 代前半と、疾患により好発年齢層にばらつきがあったのに対し、女性では各疾患で 20 代が中心であった。20 歳未満は、男 4% (5 人/114 人) に対し、女 11% (16 人/149 人, うち 2 人は 10 代前半) で、これらのうち女性の性器クラミジア感染症の半数(6 人/12 人)は無症状であった。

咽頭感染について、性器クラミジア感染症の報告はなかったが、淋菌感染症は産婦人科系医療機

関から有症状者 1 人の報告があった。

性器クラミジア感染症について、男性の無症状者は 22% (11 人/49 人) で、その“受診契機”の記載があったものについては「パートナーが有症状」が 7 人、そのうち 4 人は産婦人科系医療機関(うち、3 人は同一機関)からの報告であった。女性の無症状者は 35% (35 人/101 人) で、その“受診契機”は「妊婦健診」が 8 人、「パートナーが有症状」が 5 人(うち、1 人は泌尿器科系医療機関からの報告)、「人工妊娠中絶」が 2 人で、「その他」の 9 人には不妊治療が 2 人含まれていた。

また、検査数は、泌尿器科系ではクラミジア 40 件に対し淋菌 30 件、産婦人科系ではクラミジア 1078 件に対し淋菌 141 件で、産婦人科系における淋菌の検査実施数はクラミジアの 1/8 程度と少なかった。梅毒は 1030 件(泌尿器科系 275 件, 産婦人科系 755 件)、HIV は 693 件(泌尿器科系 6 件, 産婦人科系 687 件)であった。

男性における“その他の状況”への回答は、「CSW との接触」22% (25 人/114 人)、「コンドーム不使用」16% (18 人/114 人) が多かったが、「CSW との接触」は 10~20 代では 1 人のみで、30~40 代が 20 人と多くを占めた。「同性間性的接触」の報告はなかった(表 4)。

表 4 拡大サーベイランスによる診療科区分別 年齢階級と受診契機およびその他の状況

		年 齢 階 級														不明	総計	
性		10 14	15 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 64	65 69	70 以上				
定点医療機関 (皮膚・泌尿器科系)	自覚症状有り	男		6	25	14	27	21	12	17	5	3	2		1	133		
		女														0		
	パートナーが有症状	男			3	2	2									7		
		女							1							1		
	受診契機	妊婦健診	男													0		
		女														0		
	人工妊娠中絶	男														0		
		女														0		
	自己検査陽性	男														0		
		女														0		
	その他	男					1									1		
		女														0		
	定点医療機関 (産婦人科系)	異性間性的接触	男		6	21	9	16	6	1	4	2	1	2		68		
			女								1					1		
同性間性的接触		男		1	1										2			
		女													0			
性風俗産業従事者 (GSW)		男													0			
		女													0			
GSWとの接触		男			5	4	16	15	10	12	5	3			70			
		女													0			
コンドーム不使用		男		3	13	8	21	18	10	13	5	1			92			
		女													0			
パートナーが複数		男		1	2	3	2			1					9			
		女													0			
		年 齢 階 級														不明	総計	
性		10 14	15 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 64	65 69	70 以上				
定点医療機関 (産婦人科系)	自覚症状有り	男														0		
		女		10	22	23	16	8	5	4	5	2		1	1	97		
	パートナーが有症状	男				1										1		
		女		3	5	5	1	4	1	1		1				21		
	受診契機	妊婦健診	男													0		
		女		7	10	10	3	2	1							33		
	人工妊娠中絶	男														0		
		女		3	2		3	1								9		
	自己検査陽性	男														0		
		女					1	1								2		
	その他	男														0		
		女		1	1	1	2	5	2							12		
	定点医療機関 (産婦人科系)	異性間性的接触	男													0		
			女		15	25	29	18	12	1	3	1	2			106		
同性間性的接触		男													0			
		女													0			
性風俗産業従事者 (GSW)		男													0			
		女		2	1			1							4			
GSWとの接触		男													0			
		女													0			
コンドーム不使用		男													0			
		女		1	2	2	2								7			
パートナーが複数		男													0			
		女		1											1			

考 察

拡大サーベイランスの結果、定点の 17 機関に比較し、拡大して協力依頼した 36 機関では“検査件数”，“受診契機”，“その他の状況”などの詳細情報の記載数がやや少なかったものの、全体の傾向には大きな違いがなく、県独自の調査様式による定点サーベイランスに一定の妥当性が確認されたほか、定点サーベイランスでこれまで報告されなかった淋菌の咽頭感染例の報告もみられ、無症状病原体保有者、咽頭感染、混合感染の把握に有効であることが確認できた。また、診療科により、受診者の主な性別はもとより受診に至る背景も異なるため、皮膚・泌尿器科系と産婦人科系に分けて集計したところ、患者把握状況の違いが明らかとなった。特に、性器クラミジア感染症の有症状者と無症状者では男女とも年齢分布状況が異なり、受診に至る背景の違いを反映していることが窺われる結果であった。

性器クラミジア感染症における無症状者の割合をみると、女性では 35%であったのに対し、男性では 22%と少数に止まり、平成 19~21 年にかけて実施した性感染症 4 疾患患者全数把握調査結果と同様²⁾、報告が一部の医療機関に偏る傾向がみられた。パートナー健診の重要性は既に指摘されているところであるが^{3~5)}、実施機関をさらに拡大するには、「性感染症に関する特定感染症予防指針」（平成 24 年改正）に沿った具体的な実施方法を検討する必要がある。

また、男性における“その他の状況”をみると、30~40 代で「CSW との接触」が多くを占めたことから、改めてそのリスクの周知を図る必要があると言えるが、10~20 代では「CSW との接触」の割合が少ないにもかかわらず多くの感染者が報告されたことから、若い世代における性感染症のまん延が示唆された。加えて、不妊治療を契機とする受診者から性器クラミジア感染症の無症状者が確認されていることから、少子化対策の一環としても無症状感染者の把握は重要であり、パートナー健診の勧奨は緊急の課題である。

検査数の報告をみると、淋菌の検査数は、産婦人科系ではクラミジアの 1/8 程度と少なく、女性の淋菌感染症の無症状者の把握が少数に止まる理由の一つと考えられた。また、他の調査で比較的多数が報告されている咽頭感染^{6~8)}が淋菌感染症の有症状者 1 名に止まったのも、咽頭拭い液や

うがい液などの検査が実施されていないことが影響している可能性がある。これらのことは、淋菌感染症の無症状者が潜在している可能性を示しており、これを顕在化するための検査の推進などの対策が必要と考えられた。

今後も定期的に拡大サーベイランスを実施することにより、定点サーベイランスの検証と改善のみならず、県内医療機関における性感染症サーベイランスへの関心を高め、まん延防止に繋げていくことが望まれる。

文 献

- 1) 2012 年 1 月 19 日付 健感発 0119 第 1 号健康局結核感染症課長通知「性感染症に関する特定感染症予防指針の一部改正について」。
- 2) 山内昭則，高橋裕明，福田美和，大熊和行：三重県における 2007~2009 年度の全数サーベイランスによる性器クラミジア感染症，性器ヘルペス感染症，尖圭コンジローマおよび淋菌感染症の発生状況と今後の課題，日本性感染症学会誌，**22(1)**，73-88 (2011)。
- 3) 庄 武彦，濱砂良一，赤坂聡一郎，高橋康一，村谷哲郎，寺戸三千和，山田陽司，飯原清隆，西井久枝，藤本直浩，松本哲朗：北九州地区における性感染症の動向，日本性感染症学会誌，**22(1)**，56-61 (2011)。
- 4) 小島宗門，平山きふ，岡田晃一，兼光紀幸，三矢英輔，早瀬喜正：クラミジア陽性女性の男性パートナーにおけるクラミジアスクリーニング，日本性感染症学会誌，**14(1)**，82-84 (2003)。
- 5) 小島宗門，矢田康文，早瀬喜正：クラミジア陽性女性の無症状男性パートナーに対するクラミジア・スクリーニングと治療，日本性感染症学会誌，**22(1)**，94-98 (2011)。
- 6) 性感染症 診断・治療ガイドライン 2011，日本性感染症学会誌，**22(1)**，36-39 (2011)。
- 7) 佐藤寛子，柴田ちひろ，能登彩，能登舞，能登宏光：地方都市におけるオーラルセックス経験者の *N.gonorrhoeae* および *C.trachomatis* の検出状況，日本性感染症学会誌，**22(1)**，99-107 (2011)。
- 8) 石井亜矢乃，上原慎也，渡邊豊彦，狩山玲子，公文裕巳：淋菌性尿道炎患者での咽頭における淋菌の分離状況に関する検討，日本性感染症学会誌，**22(1)**，108-113 (2011)。

ノート

健康危機事案対応のための食品中重金属類 迅速分析法の検討について

吉村英基, 前田千恵, 原 有紀, 志村恭子

Study on the Analysis of Heavy Metals in Foods for Emergency Response to Health Crisis

Hideki YOSHIMURA, Chie MAEDA, Yuki HARA and Kyoko SHIMURA

健康危機事案対応のための食品中の重金属類迅速分析法の検討を行った。13種の食品に9種類の重金属類を添加した試料を用いて、ICP発光分析法等による一斉分析を行うための前処理法について検討した。その結果、硝酸を用いる振とう抽出法と加熱抽出法を用いることで、検討した食品、重金属類については50%以上の回収率を確保でき、本迅速分析法は健康危機発生時のスクリーニングに利用可能であることを確認できた。

キーワード：重金属，一斉分析，ICP発光分析，前処理

はじめに

近年、食の安全・安心を脅かす事案が続発しているが、このような健康危機発生時に地方衛生研究所には、迅速に原因物質を特定し、的確な検査を実施することにより、行政判断や行政措置のための科学的・技術的根拠を提供することが要求されている。

本研究では、食品・飲料水等による健康危機発生時における原因物質の究明に活用できる重金属類の迅速分析のための前処理法の開発を目的として検討を行った。

食品中の重金属類迅速分析のための前処理法は、硫酸による抽出¹⁾、マイクロウェーブ試料分解装置を用いた方法²⁾などが報告されているが、本研究では高価な機器を使用せず、より簡便でかつICP/MSでの測定も考慮に入れた方法として硝酸のみを用いた前処理法を検討した。

方法

対象とする重金属類は過去の健康危機事例等からCr, Cd, Pb, Hg, As, Se, Sn, Sb, Tlの9種

を選定した。これらの重金属類の関東科学(株)製原子吸光分析用標準溶液(1000mg/L)を混合して濃度が各100mg/Lの添加用溶液を作成し、ホモジナイズした食品試料に濃度が各20 μ g/gとなるように添加し試料を調製した。

前処理法は振とうによる抽出、加熱による抽出(簡易湿式分解)の2つの方法を検討した。

振とうによる抽出は、試料1gをポリプロピレン製遠心管にとり硝酸10mLを加え、振とう機を用いて200rpmで20分間振とうした。

加熱による抽出は、試料1gあるいは0.5gをポリプロピレン製試料分解用チューブ(GLサイエンス社 Digi TUBE)にとり硝酸10mLを加え、アルミブロックを用いて30分間ホットプレート上で加熱を行った。加熱温度は80~90 $^{\circ}$ Cとした。いずれの方法も処理終了後、希釈、ろ過を行い測定用試料とした。ろ過には東洋濾紙(株)製DISMIC-25HP(PTFE, 0.45 μ m)を用いた。

測定用試料はICP発光分析装置により測定し添加した重金属類の回収率を求めた。測定方法は内標準法とし、内標準物質はYを使用した。測定条

件は表1に示したとおりである。内標準はオンラインによる添加は行わず、各標準溶液、測定用試料に一定量添加した。

回収率は、対象物質を添加しないブランク試料を同様に処理し測定を行った結果を差し引いて算出した。

表1 測定条件

ICP 発光分析装置	: 島津製作所製 ICPS-8100
高周波出力	: 1.2kW
プラズマガス	: 1.2L/min(Ar)
キャリアガス	: 0.7L/min(Ar)
クーラントガス	: 14L/min(Ar)
バックグラウンド補正	: 有
測定波長	: Cr 267.716nm, Cd 226.502nm, Pb 220.351nm, Hg 194.227nm, As 193.696nm, Se 196.026nm, Sn 189.989nm, Sb 206.838nm, Tl 190.864nm, Y (内標準) 371.029nm

結果と考察

硝酸中での振とうによる抽出を行った結果を表2に示す。Sn, Seを除く重金属類はすべての食品試料において良好な回収率が得られた。Sn, Seは卵、牛乳等タンパク質の含有量が多い試料において回収率が低下していた。これらの試料では、硝酸添加によりタンパク質が変性したと考えられる不溶物が生成した。この不溶物の生成が回収率の低下に影響を与えていると推定された。

硝酸中での加熱による抽出（簡易湿式分解）については振とうによる抽出において回収率の低い重金属類があった乾燥エビ等5食品について実験を行った。その結果を表3に示した。この条件においてもごはん、卵ではSnの回収率が低かったが、試料の量を0.5gに半減することで50%程度まで上昇させることができた。試料を0.5gとするとAs, Se, Hgの回収率が10%以上低下する場合があったが、その場合でも75%以上の回収率は確保しておりスクリーニング法として充分活用できるものと考えられた。

表2 硝酸中での振とう抽出による重金属類回収率 (%)

	Cr	Cd	Pb	Hg	As	Se	Sn	Sb	Tl
キムチ	94	93	97	93	94	93	84	88	80
ラーメン	95	98	99	99	101	103	96	92	101
鮭	90	82	86	88	81	59	67	63	94
うなぎ蒲焼き	93	90	95	89	87	64	59	73	93
乾燥エビ	96	90	100	95	109	66	31	75	96
コンビーフ	98	93	97	90	83	67	30	83	92
ギョウザ	92	92	91	89	93	89	59	81	75
カレー	94	90	92	89	93	89	74	87	75
ごはん	87	82	83	83	89	86	44	80	84
牛乳	95	92	98	87	90	94	6	93	94
卵	92	94	99	105	88	33	13	80	101
栄養ドリンク	98	99	98	98	95	99	98	96	96
野菜ジュース	102	98	103	98	94	97	74	99	99

表3 硝酸中での加熱抽出による重金属類回収率 (%)

	Cr	Cd	Pb	Hg	As	Se	Sn	Sb	Tl
乾燥エビ	89	94	96	95	87	92	55	88	91
コンビーフ	99	90	98	90	87	87	88	91	90
ごはん	97	95	95	99	95	98	38	92	96
ごはん(0.5g)	89	88	91	89	79	82	55	88	92
牛乳	97	98	99	96	86	91	95	87	92
卵	89	95	95	96	92	81	35	74	89
卵(0.5g)	91	96	89	94	75	88	61	80	92

加熱による揮散の可能性がある As, Se, Hg において回収率の大きな低下が認められなかったのは、過剰の硝酸存在下であり、温度も比較的低温で処理したためと考えている。

まとめ

食品中の重金属類の迅速分析のための前処理法として硝酸による抽出法の検討を、9 種類の重金属について 13 種類の食品を用いて行った。その結果、振とうのみでも概ね良好な結果が得られたが、卵、牛乳等タンパク質の変性のためと考えられる不溶物を生成する試料もあり、これらでは Sn 等の回収率が低下した。これに対しては、試料分解用チューブを用いた簡易な加熱抽出法を用いることで

回収率を 50%程度まで改善でき、スクリーニングとしての利用は可能と思われるが、さらに条件の検討を行っていく必要があると考えている。

参考文献

- 1) 野村千枝, 尾花裕孝, 織田肇, 健康危機対応を目的とした食品中有害重金属等の迅速分析法の検討, 食品衛生学雑誌,**50**,253-255 (2009).
- 2) 芦塚由紀, 岡本華菜, 山本重一, 中川礼子, マイクロウエーブ分解装置を用いた重金属の迅速分析法の検討, 福岡県保健環境研究所年報,**36**,61-66(2009).

ノート

甲状腺末中の遊離ヨウ素および甲状腺ホルモンの含有量調査

竹内 浩, 佐藤 誠, 原 有紀, 志村恭子

Determination of 3,3',5-Triiodo-L-thyronine, L-Thyroxine and Iodine in Dried Thyroid and Health Foods

Hiroshi TAKEUCHI, Makoto SATO, Yuki HARA and Kyoko SHIMURA

乾燥甲状腺は3,3',5-トリヨードチロニン (T3) とチロキシシン (T4) を含有し, 生体の基礎代謝を高める作用があるため, その粉末は甲状腺機能低下症等の治療薬として用いられる。しかし, 乾燥甲状腺末は“やせ薬”として乱用されるようになり, 甲状腺機能亢進症と似た症状の報告がなされるようになった。乾燥甲状腺は動物の甲状腺全体から調製されることからロット間で遊離ヨウ素, T3 および T4 の含有量のバラツキが想定される。そこで本研究では, 日本薬局方に記載されていない乾燥甲状腺末中の T3 および T4 についての分析法を開発し, 乾燥甲状腺中の遊離ヨウ素については日本薬局方の定量法で, T3 および T4 は開発した分析法を用いて含有量調査を実施した。供試した乾燥甲状腺の遊離ヨウ素は, 0.309%で第十五改正日本薬局方の規格基準を満たしていた。T3 は 289 μ g/g, T4 は 1,280 μ g/g であり T4 は T3 の約 4.5 倍高い含量であった。いわゆる健康食品に乾燥甲状腺末を添加した添加回収実験では, ミニカラム精製の有無にかかわらず T3 と T4 は約 77%の回収率であった。

キーワード: 甲状腺末, 3,3',5-トリヨードチロニン, チロキシシン, 遊離ヨウ素, 高速液体クロマトグラフィー

はじめに

乾燥甲状腺は, 第十五改正日本薬局方では食用獣 (ウシ, ブタ, ヒツジ) の新鮮な甲状腺をとり, 脂肪等を除き, 粉末状に乾燥したもの, またはこれに適当な賦形剤を加えたものと定められている。乾燥甲状腺内の 3,3',5-トリヨードチロニン (T3) およびチロキシシン (T4) はタンパク質と結合してチログロブリンの形で胞内に貯蔵されている。チログロブリンはタンパク分解酵素の作用によって分解され, T3 および T4 が血中に遊離し, ホルモン作用を呈する。そのため, 乾燥甲状腺は生体の基礎代謝を高める作用があり, 粘液水腫, クレチン症, 甲状腺機能低下症, 甲状腺腫等の治療薬として用いられる。

乾燥甲状腺は 1965 年頃から本来の使用法ではない“やせ薬”として乱用されるようになり¹⁾,

平成 12~14 年にはダイエット用健康食品²⁾に混入され, 全国的に甲状腺機能亢進症の健康被害が多数発生し, 近年でも健康被害の疑い事例が散発的に発生している³⁻⁵⁾。

甲状腺末を過剰摂取すると, 頻脈, 心悸亢進, 肝機能障害, 無月経, 精神不安定などの甲状腺機能亢進症と似た症状が現れることから, 甲状腺末による健康被害は大きな問題となっている。

そこで本研究では, 甲状腺の遊離ヨウ素含有量を第十五改正日本薬局方医薬品各条「乾燥甲状腺」の定量法で, 甲状腺ホルモン (T3 および T4) を高速液体クロマトグラフィーでそれぞれ定量した。甲状腺末が混入された健康食品については, 妨害成分が存在するため, 固相抽出を用いて精製する方法を検討したので以下に報告する。

実験方法

1. 試料

乾燥甲状腺末はあすか製薬(株)製チラージン末 12ロットを用いた。

いわゆる健康食品には、痩身効果等を標榜する製品 A を用いた。

2. 試薬

1) 甲状腺ホルモン

3, 3', 5-トリヨードチロニンナトリウムおよびチロキシナトリウム 5水和物は SIGMA-Aldrich 製を用いた。

2) 有機溶媒

アセトニトリルは和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフィー用, メタノールは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

3) その他の試薬

28%アンモニア水, 臭素, 炭酸カリウム, フェノール, ヨウ化カリウム, リン酸および Tris(hydroxymethyl)aminomethane は和光純薬工業(株)製特級, でんぷんは同社製一級, 0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム液は同社製容量分析用, PRONASE® Protase, *Streptomyces griseus* は Calbiochem 製, 2-Mercapto-1-methylimidazole は SIGMA 製を用いた。

酵素緩衝液は 0.11mol/L 塩化ナトリウム, 0.04mol/L Tris(hydroxymethyl)aminomethane および 0.05mol/L 2-Mercapto-1-methylimidazole を 6mol/L 塩酸で, pH8.4±0.05 に調整し冷暗所に保存した。

Pronase 溶液は PRONASE® Protease 90mg を秤量し, 酵素緩衝液を加え 30mL としたものを用時調製した。

臭素溶液は臭素 3mL をとり, 冷水 100mL を加えて調製した。

デンプン溶液はデンプン 1g を冷水 10mL とよく混ぜ, これを熱湯 200mL 中に絶えずかき混ぜながら徐々に注ぎ込み, 液が半透明になるまで煮沸し, 放置した後, 上澄液を採取した。

フェノール溶液はフェノール 1mL をとり, 水を加えて 20mL とした。

リン酸水溶液はリン酸と水を等量混合して調製した。

ヨウ化カリウム溶液はヨウ化カリウム 16.5g を秤量し, 水を加えて 100mL とした。

4) 固相抽出ミニカラム

Varian 製の Bond Elut C18 カートリッジ (500mg, 3mL) を用いた。

3. 標準溶液

T3 および T4 標準溶液 : 3, 3', 5-トリヨードチロニンナトリウム 10.3mg, チロキシナトリウム

5水和物 11.4mg を正確に秤量し, 2%アンモニア水-メタノールを加えて 100mL とした (T3 および T4 として 100µg/mL)。

4. 装置および測定条件

1) マッフル炉

ヤマト科学(株) FM-31 型

2) 振とう器

(株)井内盛栄堂 SB-20 型

3) PDA-HPLC

液体クロマトグラフ : (株)島津製作所製 LC-10AD_{VP}

フォトダイオードアレイ検出器 : 同社製 SPD-M10A

カラム : GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3 (4.6mm i.d.×150mm, 5µm)

カラム槽温度 : 40°C

移動相 : 水/メタノール/リン酸混液 (50:50:1)

流速 : 1.2mL/min

検出波長 : 230nm

試料注入量 : 10µL

4) LC/MS

液体クロマトグラフ/質量分析計 : Hewlett-Packard 社製 HP-1100MSD 型

カラム : GL サイエンス社製 Inertsil ODS-3 (2.1mm i.d.×150mm, 5µm)

カラム槽温度 : 40°C

移動相 : 水/アセトニトリル/酢酸混液 (136:64:1)

流速 : 0.2mL/min

試料注入量 : 5µL

イオン化法 : ESI

フラグメンター電圧 : 90V

モニターイオン (m/z) : T3 651.7, T4 777.7

5. 実験操作

1) 乾燥甲状腺末中の遊離ヨウ素含量

第十五改正日本薬局方医薬品各条「乾燥甲状腺」の定量法に従って実施した。

乾燥甲状腺末 1g を精密に秤量し, るつぼに入れ, 炭酸カリウム 7g を加えてよく混ぜ, るつぼを台上で静かにたたいて内容物を密にした。これを 600~700°C で, 25 分間強熱した。室温で放冷後, 水 20mL を加え, 穏やかに煮沸した後, ろ紙 (ADVANTEC 社製 No.5C) でろ過した。残留物に再び水 20mL を加えて煮沸し, 再度ろ過した。次に, るつぼおよび漏斗上の残渣をろ液の全量が 200mL となるまで熱湯で洗い込んだ。この液に臭素溶液 7mL およびリン酸水溶液 40mL を徐々に加えた後, 発生するガスが水で潤したヨウ化カリウムでんぷん紙を青変しなくなるまで煮沸した。煮

沸後容器を水で洗い、さらに5分間煮沸を続けた。煮沸時に水を補い、液量が少なくとも200mLを保つようにした。室温で放冷後、フェノール溶液5mLを加え、再び容器を水で洗い込み、5分間放置した。次いで、リン酸水溶液2mLおよびヨウ化カリウム溶液5mLを加え、直ちに遊離したヨウ素を0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム液で滴定した（指示薬：デンプン溶液3mL）。同様の方法で空試験を行った。

(0.01mol/Lチオ硫酸ナトリウム液1mL=0.2115mg I)

2) 乾燥甲状腺末中の T3 および T4 含量

森田らの方法⁶⁾に従って実施した。

乾燥甲状腺末20mgを10mL容の試験管に秤量し、Pronase溶液3mLを加え、窒素ガスを約1分間吹き付けた。試験管を遮光し、37°Cで18~20時間、時々振り混ぜながら加水分解した。反応終了後のPronase溶液を遠心分離(3,000rpm, 10分間)後、水層を採取し、残渣にメタノール1mLを加え振とうした。遠心分離(3,000rpm, 10分間)後、メタノール層を採取し水層と合一し、2%アンモニア水-メタノールを加えて5mLとした。本溶液を高速液体クロマトグラフィーで測定し定量値を求めた。

3) 甲状腺末を含有するいわゆる健康食品中の T3 および T4 含量 (添加回収実験)

森田らの方法⁶⁾に従って実施した。

健康食品0.2gを10mL容の試験管に秤量し、まずメタノール8mLで30分間2回、次いで、水/メタノール(1:1, v/v)8mLで15分間2回振とう洗浄した。遠心分離(3,000rpm, 10分間)で各洗浄液を除去後、残渣にPronase溶液3mLを加え、窒素ガスを約1分間吹き付けた。試験管を遮光し、37°Cで18~20時間、時々振り混ぜながら加水分解した。Pronase水解物を遠心分離(3,000rpm, 10分間)後、水層を採取した。残渣は2%アンモニア水-メタノール2mLを加え2回振とう抽出した。2%アンモニア水-メタノール抽出液を窒素ガス中40~50°Cで0.8mL以下に濃縮後、水層と合一し、メタノールを加えて4mLとした。

HPLCで妨害成分がある場合は、ミニカラムによる妨害物除去のため以下の前処理を追加した。試料抽出液2mLを採取し、水を加えて5mLに希釈した。これをメタノール2mL、水2mLを順次流しコンディショニングしたBond Elut C18カートリッジに負荷し、T3およびT4を保持させた後、水2mLおよび水/メタノール(8:2, v/v)4mLで洗浄した。2%アンモニア水-メタノール3mLを流しT3およびT4を溶出した(初液5~6滴は捨てる)。溶出液は窒素ガス気流下40~50°Cで1mL以下まで濃縮後、2%アンモニア水-メタノールを

加えて1mLにし試料溶液とした。

添加回収実験では、市販されている製品AにT3およびT4が2μg/gとなるように甲状腺末を添加し、高速液体クロマトグラフィーで定量した。

さらに、HPLCでT3およびT4と思われるピークについてLC/MSで確認をした。

結果および考察

1. 実態調査および回収率

1) 乾燥甲状腺末中の遊離ヨウ素含量

乾燥甲状腺末12ロットの遊離ヨウ素含量を測定した結果、平均値0.309% (0.305~0.313%)で第十五改正日本薬局方の規格0.30~0.35%に入っており、変動係数は0.89%とバラツキが小さいことも分かった(表1)。

表1 乾燥甲状腺末中の遊離ヨウ素含量

試料No.	遊離ヨウ素含量(%)	試料No.	遊離ヨウ素含量(%)
1	0.306	7	0.309
2	0.305	8	0.310
3	0.305	9	0.311
4	0.307	10	0.311
5	0.309	11	0.313
6	0.311	12	0.312

2) 乾燥甲状腺末中の T3 および T4 含量

乾燥甲状腺末12ロットのT3およびT4含量を測定した結果、T3は平均値289μg/g(275~305μg/g)、T4は平均値1,280μg/g(1,120~1,410μg/g)であった(表2)。チラージン末の医薬品インタビューフォームではT4/T3含有比が3~5と一定でないと記載されているが、今回の調査ではT4/T3含有比は平均値4.43(4.00~4.69)変動係数は3.95%と大きなバラツキは確認できなかった。

表2 乾燥甲状腺末中の T3 および T4 含量

試料No.	T3 (μg/g)	T4 (μg/g)	T4/T3
1	280	1,120	4.00
2	275	1,290	4.69
3	295	1,320	4.47
4	290	1,290	4.45
5	285	1,260	4.42
6	298	1,330	4.46
7	298	1,290	4.33
8	283	1,240	4.38
9	275	1,210	4.40
10	278	1,210	4.35
11	305	1,410	4.62
12	303	1,390	4.59

3) 乾燥甲状腺末を含有するいわゆる健康食品中の T3 および T4 添加回収実験

T3 および T4 添加回収実験では、今回用いた試料では、T3 と T4 は妨害成分と良好に分離でき HPLC での定量が可能であった。この時の回収率は T3 77.2%、T4 78.2%であった。今回は、ミニカラム精製が必要でなかったが、ミニカラムでの損失を評価するためにミニカラムの追加精製を行った。この時の回収率は T3 77.6%、T4 76.2%でありミニカラム精製による損失はなかった。また、HPLC で T3 および T4 と疑われるピークが検出された場合の確認方法として LC/MS の分析条件を整備した。

HPLC 法と LC/MS 法の定量限界値は T3、T4 ともに 2.0 μ g/g であった。

まとめ

乾燥甲状腺末中の遊離ヨウ素含量を測定した結果、0.305~0.313%で変動係数は 0.89%とロットによるバラツキが小さいことが分かった。また乾燥甲状腺末中の T3 と T4 の含量を測定した結果、T3 が 275~305 μ g/g、T4 が 1120~1410 μ g/g で T4 は T3 の約 4.5 倍多く含有されることがわかった。今回測定したサンプルの T4/T3 含有比は平均 4.43、変動係数は 3.95%であり、想定していたほどロット間で大きなバラツキは認められなかった。いわゆる健康食品に乾燥甲状腺末を添加した T3 および T4 の添加回収実験では、T3 および T4 は妨害成分と良好に分離でき HPLC での定量が可能であった。この時の回収率は T3 77.2%、T4 78.2%であった。今回は、ミニカラム精製が必要でなかったが、ミニカラムでの損失を評価するためにミ

ニカラムの追加精製を行った。この時の回収率は T3 77.6%、T4 76.2%でありミニカラム精製による損失はなかった。また、HPLC で T3 および T4 と疑われるピークが検出された場合の確認方法として LC/MS の分析条件を整備した。

HPLC 法と LC/MS 法の定量限界値は T3、T4 ともに 2.0 μ g/g であった。

文献

- 1) 日本薬局方解説書編集委員：第 15 改正日本薬局方解説書、(pp. C-1409)；東京：廣川書店、2006。
- 2) 厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知“甲状腺末を含有する痩身用健康食品の監視指導について”平成 13 年 6 月 20 日、医薬監麻第 785 号(2001)
- 3) 熊本県健康福祉部健康局薬務衛生課報道資料：医薬品成分を含有する「ダイエット健康食品」について～販売授与が禁止された無承認無許可医薬品の発見～、平成 22 年 3 月 1 日
- 4) 東京都福祉保健局報道発表資料：「MD クリニックダイエット」と称される製品による死亡事例（疑い）の発生について、平成 23 年 7 月 7 日
- 5) 岡山市保健所衛生課医薬安全係発表資料：タイ製やせ薬による健康被害にご注意ください、平成 24 年 12 月 6 日
- 6) 森田邦正，毛利隆美，中川礼子：甲状腺末を含有する健康食品中の 3,3',5-トリヨードチロニン及びチロキシンの HPLC 分析法,福岡県保健環境研究所年報 **31**, 61-65(2004).

ノート

イカリインの抽出方法の検討とインヨウカク中の含有量調査

竹内 浩, 林 克弘, 志村恭子

Studies on Extraction and Determination of Icariin in *Epimedium* Herba

Hiroshi TAKEUCHI, Katsuhiko HAYASHI and Kyoko SHIMURA

イカリソウは古くから強精, 強壯薬として用いられる漢方薬であり, イカリソウ中のイカリインを特有成分として, 多くの医薬品に配合されている. しかし, 「いわゆる健康食品」と称される無承認無許可医薬品に, 意図的に混入する違法行為が全国的に報告されており, 今後当県でも健康危機事例による分析対応の可能性を否定できない. 本研究でイカリインの分析法を検討した結果, 超音波抽出法で, イカリソウからイカリインが適切に抽出されることが確認された. また, 日本薬局方「インヨウカク」を用いたイカリイン含有量調査を行ったところ, ロットによりその含有量には約2倍近いばらつきがあることが確認された.

キーワード: イカリソウ, インヨウカク, イカリイン, 高速液体クロマトグラフィー

はじめに

イカリソウはメギ科¹⁾の多年草で, 地上部を採取し, 乾燥させたものをインヨウカクと称し, 古くから強精, 強壯薬として用いられてきた. 現在, イカリソウはエキスや流エキスとしてドリンク剤をはじめとする多くの医薬品に配合されているが, いわゆる健康食品と称する無承認無許可医薬品にも混入される可能性のある生薬の一つである²⁻⁴⁾.

いわゆる健康食品にイカリソウの混入が疑われる場合には, イカリソウの特有成分であるフラボノイド配糖体のイカリインを測定し, 混入の有無を判断することになる.

当県の行政検査⁵⁾では, 「いわゆる健康食品」中の無承認無許可医薬品の抽出法として超音波抽出を採用している. この方法は, 健康食品を検査対象としており, インヨウカク中のイカリインについては抽出率の検討を行っていない.

そこで, 本研究では, 当県の行政検査に用いている抽出方法(抽出法Ⅰ)⁵⁾と無承認無許可医薬品の過去の事例で使用している抽出法(抽出法Ⅱ)⁶⁾, イカリソウを対象とした個別試験法の抽出法(抽出法Ⅲ)⁷⁾の3法を比較し, 当県の行政検査

のイカリイン抽出率を評価した. また, 上述の3法のうち最も抽出率の高かった個別試験法を用いて, 日本薬局方「インヨウカク」のイカリイン含有量調査を行ったので以下に報告する.

実験方法

1. 試料

日本薬局方(株)本天海堂製インヨウカク6ロットを用いた.

2. 試薬

1) イカリイン

和光純薬工業(株)製局方生薬試験用を用いた.

2) 有機溶媒

アセトニトリルは和光純薬工業(株)製高速液体クロマトグラフィー用を, メタノールは関東化学(株)製高速液体クロマトグラフィー用を用いた.

3) その他の試薬

リン酸およびリン酸二水素カリウムは和光純薬工業(株)製特級を用いた.

3. 標準溶液

標準溶液：イカリイン 20mg を正確に秤量し、メタノールに溶解して 20mL とした (1,000 μ g/mL)。

4. 装置および測定条件

- 1) 振とう器
ヤマト科学(株)製 SA31 型
- 2) 超音波洗浄器
ヤマト科学(株)製 8510J-MTH 型
- 3) PDA-HPLC
液体クロマトグラフ：(株)島津製作所製 LC-10AD_{VP}
フォトダイオードアレイ検出器：同社製 SPD-M10A
カラム：(財)化学物質評価研究機構製逆相カラム L-column ODS (4.6mm i.d.×150mm, 5 μ m)
カラム槽温度：40°C
移動相：0.1%リン酸水溶液：アセトニトリル (72.5 : 27.5)
流速：1.0mL/min
検出波長：270nm
試料注入量：10 μ L

5. サンプル調製

1) 調製法

(株)栃木天海堂製インヨウカク 6 ロットをフードプロセッサーで細断した後、50 メッシュふるいを通し、ふるい上の小片を試料 1、ふるい下の微細片を試料 2 とした。

6. 試験溶液の調製

1) 抽出法 I

試料 100mg に 70%メタノール 10mL を加え 15 分間超音波抽出した。次いでメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

2) 抽出法 II

通知法のインヨウカク対照溶液の調製法では、インヨウカク 5g に対し、70%メタノール 30mL および 18mL の 2 回振とう抽出しているが、サンプル量が多いため採取量を 50mg とし、以下の操作を行った。

試料 50mg に 70%メタノール 30mL を加え 30 分間振とう抽出した。次いで 25°C 5,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清を分取した。沈殿に 70%メタノール 18mL を加え再度 30 分間振とう抽出した。次いで、同様に遠心分離し上清を分取した。得られた上清を合一し、70%メタノールを加えて 50mL とした。その一部をメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

3) 抽出法 III

試料 100mg に 50%メタノール含有 10mmol/L リ

ン酸緩衝液 (pH3.0) 30mL を加え 10 分間振とう抽出した。次いで 25°C 5,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清を分取した。同様の操作をさらに 2 回繰り返す、上清を合一し、抽出溶媒を加えて正確に 100mL とした。その一部をメンブランフィルター (PTFE 製 0.45 μ m) でろ過し、試験溶液とした。

7. 抽出率の評価

高野ら⁷⁾によれば、50%メタノール含有 10mmol/L リン酸緩衝液 (pH3.0) で 3 回振とう抽出することでイカリインを定量的に抽出できるとされている。そこで抽出法 III の定量値を 100% とし、抽出法 I と II の抽出率を算出した。

8. イカリイン含有量調査

抽出法 III を用いて、日本薬局方「インヨウカク」6 ロットのイカリイン含有量調査を行った。

結果および考察

1. 抽出率の評価

試料 1 と 2 のイカリイン定量値と抽出法の評価を表 1 に示した。さらに、試料全体のイカリイン含有量は、試料 1 と試料 2 のインヨウカク構成比 (55.8%および 44.2%) に基づいて算出した。

表 1 抽出法の違いによるイカリイン含量の差

抽出法	試料	含有量(mg/g)	変動係数(%)
I	1	1.82 (78.1)	6.7
	2	8.32 (91.4)	2.1
	インヨウカク*	4.69 (94.6)	—
II	1	2.13 (100.6)	7.2
	2	8.18 (98.9)	0.7
	インヨウカク*	4.80 (96.7)	—
III	1	2.33 (100)	9.9
	2	8.27 (100)	0.3
	インヨウカク*	4.96 (100)	—

n=6

*インヨウカク構成比率：試料1, 55.8%；試料2, 44.2%

試料 1 では 1 回抽出のみの抽出法 I は 78.1%、2 回抽出する抽出法 II は 91.4%と抽出率に差が見られた。試料 2 では、1 回抽出のみの抽出法 I は 100.6%、2 回抽出する抽出法 II は 98.9%と大差は小さくばらつきは小さかった。

サンプル構成比率で算出したインヨウカクのイカリイン含有量は、抽出法 III に比べて抽出法 I は 94.6%、抽出法 II は 96.7%であった。以上の結果から、抽出法 III の抽出率が抽出法 I および II よりわずかに優れているが、3 法ともほぼ同等であることが確認できた。

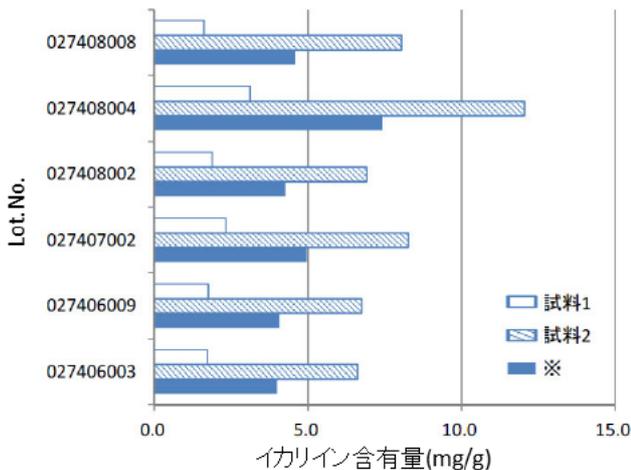
2. イカリイン含有量調査

抽出率の最も高い抽出法Ⅲを用いてインヨウカク 6 ロットのイカリイン含有量調査を行った。6 ロットの試料 1 と 2 の比率は表 2 のとおりで、どのロットも試料 1 が約 54%，試料 2 が約 46%であった。

表 2 インヨウカク各ロットにおける
試料 1 および 2 の比率

Lot. No.	比率(%)	
	試料1	試料2
027406003	53.7	46.3
027406009	53.4	46.6
027407002	55.8	44.2
027408002	52.6	47.4
027408004	51.8	48.2
027405008	53.8	46.1

全てのロットで試料 2 の方が、イカリイン含有量が 6.62~12.05mg/g で高く、試料 1 は 1.61~3.11mg/g であった。試料 1 と 2 の重量比、すなわちサンプル構成比率により単純平均して求めたインヨウカクのイカリイン含量は 3.99~7.42mg/g とロットにより 2 倍近い差があることが確認できた(図 1)。この結果は、これまでに報告⁷⁾された同一メーカーのロット違いの 2.45 倍と近い値になった。



※試料 1 および 2 の比率により算出した値

図 1 インヨウカク各ロット中のイカリイン含有量

まとめ

抽出法 3 種類を比較した結果、抽出法Ⅲが最も高い抽出率であった。抽出法Ⅲを用いて日本薬局方「インヨウカク」中のイカリイン含有量調査を実施した結果、最も含有量が少ないロットで 3.99mg/g、最も含有量が高いロットでは 7.42mg/g とロットにより約 2 倍近い差が認められた。また、当県の行政検査で用いている抽出法Ⅰは、抽出法Ⅲに比べて試料 1 では 78.1%，試料 2 では 100.6%と差が認められたが、インヨウカク全体の試料 1, 2 の比率で算出した場合では、94.6%となり、ほぼ同等の抽出率であることからイカリソウ中のイカリインについても適用できることが確認できた。

文献

- 1) 伊藤美千穂：生薬単，第 2 版，114，2012，株式会社エヌ・ディー・エス，東京
- 2) 神奈川県保健福祉局生活衛生部薬務課記者発表資料：いわゆる健康食品からの医薬品成分の検出について，平成 23 年 5 月 12 日
- 3) 東京都福祉保健局健康安全部薬務課報道発表資料：医薬品成分を含有する製品の発見について，平成 24 年 8 月 7 日
- 4) 大阪府健康医療部薬務課医薬品流通グループ報道発表資料：医薬品成分が検出された健康食品について，平成 24 年 8 月 31 日
- 5) 原 有紀，竹内 浩，林 克弘，志村恭子：強壮目的健康食品中の医薬品成分の一斉分析法の検討，三重県保健環境研究所年報，57，35-40(2012).
- 6) 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課事務連絡：医薬品の該当性について，平成 23 年 5 月 11 日 試験法 (1) イ
- 7) 高野伊知郎，安田一郎，浜野朋子，瀬戸隆子，秋山和幸：イカリソウの試験法に関する研究フラボノイド配糖体イカリインの分析，東京都衛生研究所年報，38，80-84(1987).

ノート

LC-MS/MS による残留動物用医薬品一斉試験法の検討と 妥当性評価

村田 将, 豊田真由美, 竹内 浩, 原 有紀, 林 克弘, 志村恭子

Experimentation and Validation of Simultaneous Analysis of Residual Veterinary Drugs using Liquid Chromatography Coupled with Tandem Mass Spectrometry

Sho MURATA, Mayumi TOYODA, Hiroshi TAKEUCHI, Yuki HARA, Katsuhiko HAYASHI and
Kyoko SHIMURA

畜水産物中の残留動物用医薬品の試験法について, 液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) の導入を検討し, 牛・豚・鶏それぞれの筋肉, 鶏卵および養殖魚を対象として, 合成抗菌剤 11 種と内寄生虫用剤フルベンダゾールを測定する試験法を確立した. 厚生労働省が示す妥当性評価ガイドラインに基づいてこの試験法の性能評価を行った結果, 対象としたすべての食品およびすべての動物用医薬品において真度, 併行精度および室内精度の目標値を満たし, 良好な結果が得られた.

キーワード: 液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS), 残留動物用医薬品, 一斉試験法

はじめに

動物用医薬品は, 畜水産食品の安定的な生産に寄与しているが, その一方で, 食品への残留による人への健康影響が懸念されている. そのため, さまざまな規制による管理がなされ, 食品衛生法では畜水産物における規格基準が定められている¹⁾.

平成 18 年の食品衛生法改正によりポジティブリスト制が施行されたことで規制対象品目が大幅に増加し, 検査機関においてはそれに対応するため, 分析法の開発や改訂が必要になった.

液体クロマトグラフータンデム型質量分析装置 (LC-MS/MS) は, これまで用いられてきた紫外可視分光光度計を検出器とする液体クロマトグラフ (UV/VIS-HPLC) に比べて, 選択性および

感度が非常に高い. そのため, 多成分の同時分析に適した手法として, 残留動物用医薬品の分析にも全国的に適用が進められている²⁻⁴⁾. そこで本研究では, LC-MS/MS を用いた一斉試験法を導入することを目的として, 残留動物用医薬品のなかでも, 本研究所における畜水産物の収去検査対象項目である合成抗菌剤 11 種および内寄生虫用剤フルベンダゾールについて検討を行ったので, その詳細を報告する.

実験方法

1. 試料

牛・豚・鶏それぞれの筋肉, 鶏卵および養殖魚 (マダイ) は, 平成 24 年度の収去検査の残品, もしくはスーパーマーケットで購入したものを, 検査項目の動物用医薬品が残留していないこと

を確認して用いた。

食肉筋肉および養殖魚はフードプロセッサを用いて、鶏卵はスパーテルにより均一化して試料とした。

2. 試薬

1) 標準品

合成抗菌剤のスルファメラジン、スルファジミジン、スルファモノメトキシシン、スルファジメトキシシン、スルファキノキサリン、ピリメタミン、ナイカルバジン、チアンフェニコール、オキシリン酸、ナリジクス酸、ピロミド酸および内寄生虫用剤のフルベンダゾールは関東化学(株)製標準試薬を用いた。

2) 試薬

アセトニトリルは、試験溶液調製には和光純薬工業(株)製 HPLC 用を、検量線の作成に用いる標準溶液の希釈および LC-MS/MS の移動相には関東化学(株)製 LC/MS 用を用いた。水は、試験溶液調製にはメルクミリポア(株)製の超純水装置から得られた超純水を、検量線の作成に用いる標準溶液の希釈および LC-MS/MS の移動相には関東化学(株)製 LC/MS 用を用いた。ギ酸は、鶏卵試料の前処理には和光純薬工業(株)製試薬特級を、LC-MS/MS の移動相には関東化学(株)製 HPLC 用を用いた。無水硫酸ナトリウムは関東化学(株)製残留農薬・PCB 試験用を、n-ヘキサンは和光純薬

工業(株)製残留農薬・PCB 試験用を用いた。

ろ紙は東洋濾紙(株)製定量濾紙 No.5A を用いた。

3. 装置および測定条件

ホモジナイザー

(株)日本精機製作所製エクセルオートホモジナイザーED-7

LC/MS/MS

装置 (HPLC) : (株)島津製作所製 Prominence20A

(MS) : AB SCIEX 製 API4000QTRAP

カラム : (財)化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS (2.1mm i.d.×150mm, 3μm)

ガードカラム : (財)化学物質評価研究機構製 L-column2 ODS (2.0mm i.d.×50mm, 5μm)

カラム槽温度 : 40°C

移動相 : A 液 0.1%ギ酸水溶液

B 液 0.1%ギ酸アセトニトリル溶液

グラジエント条件 : 0分 (A:B=85:15) →1-3.5分 (A:B=60:40) →6分 (A:B=50:50) →8分 (A:B=45:55) →17.5-30分 (A:B=5:95) →33-40分 (A:B=85:15)

流速 : 0.2mL/min

注入量 : 5μL

イオン化法 : ESI (+), ESI (-)

なお、質量分析計の詳細なパラメータは、表 1 および表 2 に示した。

表1 各化合物のLC/MS/MSパラメーターおよび保持時間

イオンモード	No.	化合物	保持時間(min)	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	DP(V)	CE(V)	CXP(V)
ポジティブ	1	スルファメラジン	4.94	265.1	92.1	62	44	14
	2	スルファジミジン	5.18	279.0	186.0	67	26	9
	3	スルファモノメトキシシン	5.41	281.1	156.0	66	28	7
	4	オキシリン酸	6.14	262.0	244.0	59	24	12
	5	ピリメタミン	5.15	249.0	177.0	94	42	8
	6	スルファジメトキシシン	6.69	311.0	156.0	76	30	7
	7	スルファキノキサリン	6.62	300.9	156.0	63	25	7
	8	ナリクジス酸	8.14	233.1	215.0	51	22	11
	9	ピロミド酸	9.19	289.1	271.0	63	28	14
	10	フルベンダゾール	7.64	314.1	282.0	83	31	15
ネガティブ	11	チアンフェニコール	4.94	353.8	184.9	-77	-24	-8
	12	ナイカルバジン	12.75	300.8	137.0	-62	-14	-5

表2 イオン化条件

	ポジティブモード	ネガティブモード
カーテンガス(psi)	40	20
イオンプレー電圧(V)	5000	-4500
イオンソース温度(°C)	700	400
ネブライザーガス(psi)	60	50
ターボガス(psi)	80	80
コリジョンガス	5	4
インターフェースヒーター	ON	ON

4. 試験溶液の調製

試験溶液調製には、田沢らの方法²⁾を参考にした。

試料 5.00g をホモジナイズカップに採り、アセトニトリル(鶏卵試料では 0.5%ギ酸アセトニトリル溶液)20mL と無水硫酸ナトリウム 10g を加え、5,000rpm で 5 分間ホモジナイズした後、50mL 共栓遠沈管に移し、3,000rpm で 10 分間遠心分離した。上清をろ紙によりろ過し、50mL メスフラスコに回収した。残留物にアセトニトリル(鶏卵試料では 0.5%ギ酸アセトニトリル溶液) 20mL を加え、20 分間振とう抽出後、同様に遠心分離とろ過を行い、得られたろ液を合わせてアセトニトリル(鶏卵試料では 0.5%ギ酸アセトニトリル溶液)で 50mL に定容した。ここから 4mL を 10mL 共栓試験管に採り、アセトニトリル飽和 n-ヘキサン 2mL を加え、5 分間振とう後、5 分間静置し、n-ヘキサン層を除去して脱脂した。残ったアセトニトリル層に超純水 6mL を加え、3,000rpm で 20 分間遠心分離した後、さらに分離してきた n-ヘキサンを除去し、超純水で 10mL に定容した。さらに、その 1.6mL を 2mL PP 製マイクロチューブに採り、15,000rpm で 10 分間遠心分離した。この上清から 130 μ L を採り、HPLC 用バイアル内で、0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液(60/40, v/v) 130 μ L と混和して LC-MS/MS 測定溶液とした。

検量線の作成においては、標準溶液を水/アセトニトリル(60/40, v/v) で希釈して目的濃度とした後、ここから 800 μ L 採り、HPLC 用バイアル内で 0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸アセトニトリル溶液(60/40, v/v) 800 μ L と混和して測定に供した。

5. 添加回収試験

添加回収試験における添加濃度は、対象食品において基準値が設定されている場合には「一律基準値(0.01ppm)」と「基準値」の 2 濃度とした。一方、対象食品に基準値が設定されていない、もしくは基準値が「一律基準値」と等しい場合には、「一律基準値」と「(一律)基準値の 10 倍の濃度(0.1ppm)」の 2 濃度とし、いずれの食品についても 2 濃度の評価を行った。

試料 5g を採取し、目的の濃度となるように調製した混合標準溶液 100 μ L をマイクロピペットにより添加し、30 分静置した。この標準添加試料において、上述の 4. 試験溶液の調製に従って操作し、それぞれの動物用医薬品の回収率を求めた。試行回数は、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに基づき、各濃度について 2 併行を 5 日間行った⁵⁾。

実験結果および考察

1. 保持時間、検出限界および検量線の確認

LC/MS/MS 条件における各化合物の保持時間は表 1 に示す通りであった。

本試験法では、抽出液を希釈することで、マトリックスによるイオン化抑制等の妨害を回避している。従って、検体において一律基準(0.01ppm)に相当する濃度は、試験溶液の調製操作を経た LC-MS/MS 測定溶液(バイアル内で 2 倍希釈する前の段階)において 0.4ng/mL となる。しかし、その半分の 0.2ng/mL でもすべての化合物でクロマトグラムの S/N 比が 3 を超えたことから、検出限

表3 畜水産物からの動物用医薬品の添加回収率 (n=5)

化合物	牛筋肉					豚筋肉					
	添加濃度 (µg/g)	検量線*	相関係数	添加回収 率(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	検量線*	相関係数	添加回収 率(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
スルファメラジン	0.01	a	1.0000	97.2	5.3	6.2	a	0.9999	104.7	4.8	6.1
	0.1	b	0.9998	92.0	2.8	4.2	b	1.0000	104.4	2.1	6.6
スルファジミジン	0.01	a	1.0000	104.8	2.5	6.1	a	0.9999	106.0	3.2	8.3
	0.1	b	1.0000	100.1	2.4	4.7	b	1.0000	104.6	3.0	6.8
スルファモノメトキシシ	0.01	a	0.9999	101.8	6.8	8.5	a	0.9999	101.3	1.8	5.8
	0.1	b	1.0000	96.2	3.4	3.5	a	0.9999	101.7	4.2	5.1
オキシソリン酸	0.01	a	0.9999	93.5	4.7	5.0	a	1.0000	96.6	4.1	8.4
	0.1	b	1.0000	94.9	1.6	3.9	a	1.0000	97.5	2.3	7.5
ピリメタミン	0.01	a	0.9999	83.7	3.4	3.9	a	0.9999	87.0	2.2	5.6
	0.1	b	0.9999	82.1	2.7	5.3	b	0.9999	84.4	1.9	5.8
スルファジメトキシシ	0.01	a	1.0000	99.7	3.2	3.8	a	0.9999	102.0	1.8	6.4
	0.05	b	1.0000	94.1	4.0	<4.0	b	1.0000	100.2	1.1	7.0
スルファキノキサリン	0.01	a	1.0000	100.7	3.7	12.4	a	0.9998	102.6	5.8	7.2
	0.1	b	1.0000	95.7	3.4	6.6	b	0.9999	101.5	2.5	5.3
ナリクジス酸	0.01	a	1.0000	95.2	5.4	<5.4	a	1.0000	100.0	1.9	9.0
	0.03	a	1.0000	98.7	1.3	4.7	b	1.0000	103.0	1.9	6.5
ピロミド酸	0.01	a	0.9999	90.4	3.8	7.1	a	0.9999	99.4	4.3	10.1
	0.1	b	1.0000	98.2	1.6	3.6	b	1.0000	103.3	2.3	7.2
フルベンダゾール	0.01	a	1.0000	98.1	3.6	<3.6	a	0.9997	97.4	2.5	3.4
	0.02	a	1.0000	95.4	3.4	<3.4	b	1.0000	98.7	5.3	5.9
チアンフェニコール	0.01	a	0.9999	114.8	5.0	8.7	a	0.9999	115.2	5.6	<5.6
	0.02	a	0.9999	112.5	3.6	5.8	a	0.9999	115.4	5.2	6.2
ナイカルバジン	0.01	a	1.0000	97.7	6.1	<6.1	a	0.9993	96.5	4.6	<4.6
	0.1	b	1.0000	95.3	2.7	3.3	b	1.0000	95.1	3.4	4.7

* (a) 0.005ppm～0.05ppmの範囲で作成したもの、(b) 0.025～0.25ppmの範囲で作成したもの。

表3 (続き)

化合物	鶏筋肉					養殖魚						
	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	検量線*	相関係数	添加回収 率(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	検量線*	相関係数	添加回収 率(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
スルファメラジン	0.01	a	1.0000	97.6	2.3	6.5	0.01	a	1.0000	82.7	3.1	3.7
	0.1	b	0.9999	103.2	1.8	8.4	0.1	b	1.0000	91.1	3.2	7.3
スルフアジミジン	0.01	a	1.0000	102.6	2.5	8.4	0.01	a	0.9998	93.5	3.0	5.6
	0.1	b	1.0000	101.4	2.0	5.3	0.1	b	1.0000	93.7	4.6	9.6
スルフアモノメトキシン	0.01	a	1.0000	99.4	2.4	5.5	0.01	a	0.9995	86.6	5.2	5.3
	0.1	b	1.0000	98.0	1.5	7.4	0.1	b	1.0000	91.5	3.8	4.1
オキシリン酸	0.01	a	1.0000	92.5	1.7	2.0	0.01	a	0.9999	93.2	3.4	4.3
	0.03	a	1.0000	92.0	1.6	3.6	0.06	b	1.0000	92.7	5.2	<5.2
ピリメタミン	0.01	a	0.9998	87.6	2.3	4.8	0.01	a	1.0000	73.7	4.8	10.0
	0.05	b	0.9999	84.3	1.9	3.1	0.1	b	0.9996	74.6	3.0	5.6
スルフアジメトキシン	0.01	a	1.0000	97.5	2.2	5.6	0.01	a	0.9999	92.9	4.2	4.7
	0.05	b	0.9999	96.7	2.0	5.7	0.1	b	1.0000	92.9	4.3	<4.3
スルフアキノキサリン	0.01	a	1.0000	97.1	2.8	5.3	0.01	a	1.0000	82.2	7.0	<7.0
	0.05	b	1.0000	93.9	2.5	8.5	0.1	b	1.0000	92.4	4.8	<4.8
ナリクジス酸	0.01	a	0.9999	92.7	2.4	<2.4	0.01	a	0.9998	97.3	3.6	4.9
	0.1	b	0.9999	93.0	1.4	2.6	0.1	b	1.0000	96.1	4.8	5.6
ピロミド酸	0.01	a	0.9998	91.2	4.2	4.3	0.01	a	0.9998	96.1	2.8	7.6
	0.1	b	0.9997	92.3	1.8	3.2	0.1	b	1.0000	92.7	5.3	6.1
フルベンダゾール	0.01	a	0.9999	93.9	2.7	3.5	0.01	a	0.9998	94.5	4.4	4.7
	0.2	b	1.0000	93.8	1.1	2.9	0.1	b	1.0000	95.4	2.7	3.2
チアンフェニコール	0.01	a	1.0000	108.7	6.3	6.5	0.01	a	0.9997	116.8	2.9	7.7
	0.02	a	1.0000	105.3	2.6	3.9	0.02	a	0.9997	117.6	4.1	12.5
ナイカルバジン	0.01	a	0.9996	92.1	2.5	3.5	0.01	a	1.0000	93.1	15.9	<15.9
	0.2	b	1.0000	91.9	1.4	2.5	0.1	b	0.9999	91.7	5.9	<5.9

* (a) 0.005ppm~0.05ppmの範囲で作成したもの, (b) 0.025~0.25ppmの範囲で作成したもの。

表3 (続き)

化合物	鶏卵					
	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)	検量線*	相関係数	添加回収 率(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
スルファメラジン	0.01	a	0.9989	99.9	9.4	<9.4
	0.1	b	0.9997	107.8	5.1	5.4
スルファジミジン	0.01	a	1.0000	98.0	5.1	6.0
	0.1	b	0.9997	102.7	4.2	<4.2
スルファモノメトキシシ	0.01	a	0.9999	96.6	6.7	7.6
	0.1	b	1.0000	103.4	1.8	2.1
オキシリン酸	0.01	a	0.9999	110.3	3.3	9.3
	0.1	b	0.9999	110.9	3.7	5.7
ピリメタミン	0.01	a	1.0000	96.7	3.5	4.2
	0.1	b	0.9995	95.6	4.4	4.7
スルファジメトキシシ	0.01	a	1.0000	100.9	6.4	<6.4
	1	c	0.9999	102.1	1.8	3.1
スルファキノキサリン	0.01	a	0.9992	97.2	3.2	4.6
	0.1	b	1.0000	116.6	2.8	3.6
ナリジクス酸	0.01	a	0.9996	109.1	5.6	9.3
	0.1	b	1.0000	109.5	2.5	2.9
ピロミド酸	0.01	a	0.9999	109.8	6.0	8.7
	0.1	b	0.9999	112.1	2.8	4.2
フルベンダゾール	0.01	a	1.0000	101.5	3.9	5.2
	0.4	c	1.0000	99.7	1.3	1.9
チアンフェニコール	0.01	a	0.9998	100.2	7.3	<7.3
	0.1	b	0.9998	98.0	4.2	5.5
ナイカルバジン	0.01	a	0.9999	91.8	14.0	14.2
	0.1	b	0.9999	94.9	6.0	<6.0

* (a) 0.005ppm~0.05ppmの範囲で作成したもの, (b) 0.025~0.25ppmの範囲で作成したもの, (c) 0.125~1.25ppmの範囲で作成したもの.

界は検体中濃度として 0.005ppm を下回ることが確認できた.

「一律基準値」と「基準値」の濃度差が大きいため、検量線は、鶏卵を除く食品においては a) 0.005ppm~0.05ppm および b) 0.025~0.25ppm の範囲、鶏卵においては a) 0.005ppm~0.05ppm, b) 0.025~0.25ppm および c) 0.125~1.25ppm の3範囲について作成した。これらの検量線は、各対象食品の測定時において、ほぼすべての化合物および濃度範囲で相関係数が 0.999 以上となり、良好な直線性を示した (表 3)。

2. 添加回収試験

添加回収試験の結果を表 3 に示した。

牛・豚・鶏それぞれの筋肉および養殖魚では、

対象とした 12 化合物のすべてで、回収率が厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに目標値として定められている 70-120%の範囲内に入り、併行精度および室内精度も同ガイドラインに定められている目標値を満たし、良好な結果が得られた。

一方、鶏卵を対象として、牛・豚・鶏それぞれの筋肉および養殖魚と同様の前処理を行ったところ、ピロミド酸およびナリジクス酸の回収率が 70%を下回り、またオキシリン酸では、回収率が 70%は上回るものの低くなる傾向が認められた。これらの化合物はすべて、化学構造にカルボキシル基を持つ酸性医薬品である。鶏卵の卵白には、卵アルブミン (ovalbumin) と呼ばれるタンパク質が豊富に含まれるが、これと類似した生化学的特性を持つ血清アルブミンは、酸性医薬品と結合す

ることで、それらの血中の薬物動態に影響を与えることが知られている^{6,7)}。そのため、卵アルブミンも同様に酸性医薬品と結合する可能性があると考え、抽出溶媒中に酸を添加することで、その結合を乖離させることを試みた。Nakajima らの方法⁸⁾を参考にして、抽出に用いるアセトニトリルに 0.5%ギ酸を添加し、回収率の変動を検討した。その結果、ピロミド酸、ナリジクス酸およびオキシソリン酸のすべての医薬品で、回収率が顕著に改善され、70-120%を満たした。これと同時に、併行精度および室内精度も目標値を満たし、良好な結果が得られた。

以上の結果から、牛・豚・鶏それぞれの筋肉、養殖魚および鶏卵において、対象とした 12 化合物すべてで良好な結果が得られた。本試験法は、厚生労働省の通知試験法である 3 種の「動物用医薬品等の一斉試験法」⁹⁾と異なり、減圧濃縮やカラムクロマトグラフィーによる精製の工程がないため、操作が簡便であり、突沸による試験溶液のロスや、カラムへの吸着による回収率の低下が起こらない。従って、食品の検査に熟練していない者でも短時間で安定した結果が出せる手法として優れていると考えられる。今回報告した動物用医薬品は 12 化合物に限られるため、今後は、畜産事業者と連携して情報を収集し、畜産現場で実際に使用されている薬物をより多く測定できるよう、分析対象とする化合物を拡充していく必要があると思われる。

まとめ

畜水産物中の残留動物用医薬品の試験法について検討した。牛・豚・鶏それぞれの筋肉、鶏卵および養殖魚を対象として、合成抗菌剤 11 種と内寄生虫用剤フルベンダゾールを測定する試験法を確立し、厚生労働省の妥当性評価ガイドラインに基づいてこの試験法の性能評価を行った。その結果、対象としたすべての食品およびすべての医薬品で真度、併行精度および室内精度の目標値

を満たし、良好な結果が得られた。このことから、本法が残留動物用医薬品の行政検査に適することが示された。

文 献

- 1) 食品、添加物等の規格基準，厚生労働省告示 1370 号，昭和 34 年 12 月 28 日。
- 2) 田沢悌二郎，藤本 啓，地主 勝，井上真紀，長南隆夫：LC/MS/MS による畜産食品中残留動物用医薬品等の一斉試験法，北海道立衛生研究所報，No.62，1-10（2010）。
- 3) 村川 弘，福島孝兵，飛野敏明：LC/MS/MS を用いた畜水産食品中の動物用医薬品迅速分析法の検討（第 2 報），熊本県保健環境研究所報，No.39，21-25（2009）。
- 4) 遠藤美砂子，清野陽子，濱名 徹：宮城県における残留動物用医薬品一斉試験法の厚生労働省ガイドラインによる妥当性評価，宮城県保健環境センター年報，No.27，56-59（2009）。
- 5) 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について，食安発 1224 第 1 号，平成 22 年 12 月 24 日付け，厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知。
- 6) Huntington JA, Stein PE : Structure and properties of ovalbumin, *J Chromatogr.*, **756**, 189-198 (2001).
- 7) 岩川清吾，掛見正郎，河島進，玉井郁巳，辻彰，寺崎哲也，宮本悦子，森本一洋：わかりやすい生物薬剤学第 2 版，廣川書店（1992）。
- 8) Takayuki Nakajima, Takeo Sasamoto, Hiroshi Hayashi, Maki Kanda, Kazue Takeba, Setsuko Kanai, Tomoko Kusano, Yoko Matsushima and Ichiro Takano : Screening Assay of Residual Antibiotics in Livestock Samples by LC-MS/MS, *Food Hyg. Saf. Sci.*, **53**, 91-97 (2012).
- 9) 食品に残留する農薬，飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について，食安発第 0124001 号，平成 17 年 1 月 24 日付け，厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知。

ノート

三重県におけるベンゾ(a)ピレンの状況について

佐来栄治, 高士昇吾, 西木美紗子, 寺本佳宏, 西山 亨¹⁾, 吉岡 理

Current Status of Benzo[a]pyrene in Mie Prefecture

Eiji SARAI, Shogo TAKASHI, Misako NISHIKI, Yoshihiro TERAMOTO,
Tooru NISHIYAMA and Osamu YOSHIOKA

1999年4月～2013年3月に測定した有害大気汚染物質であるベンゾ(a)ピレンの調査結果について、解析を行った。ベンゾ(a)ピレン濃度の変動は、年および地点による差はあるものの春～秋期にかけて低く、秋～春期にかけて高い傾向を示しながら調査開始以来減少傾向を示した。このことは、調査地点の三重県北中部地域の一部が2001年に自動車NOx・PM法の対策地域の指定を受け、対策をおこなってきた効果などが現れたと考えられる。また、黄砂飛来によって4月のベンゾ(a)ピレン濃度が、若干高い傾向にあった。大気環境中の物質の挙動は、気温、風向、風速、天候等の影響を受け年間や季節でも変動が大きく傾向等を評価しにくい。今回14年間の測定結果を解析することにより三重県北中部地域の大気環境中ベンゾ(a)ピレン濃度が減少傾向にあると考えられた。

キーワード：ベンゾ(a)ピレン、浮遊粉じん、有害大気汚染物質、黄砂

はじめに

環境省では1996年公布の大気汚染防止法改正により、化学物質や重金属等といった有害大気汚染物質の中から大気環境中に存在していると考えられる物質を234種選定し、その中でも健康に対するリスクが高いと考えられる22物質を「優先取組物質」として選定した。これらの物質は現状の濃度では、直ちに人の健康に被害を与えるものではないが、長期間継続的に暴露された場合には、何らかの健康影響を生じる可能性を否定しきれないため有害大気汚染物質調査として1997年より地方公共団体で調査を開始している。当研究所においても、有害大気汚染物質の測定を1997年の10月から順次実施している。1998年10月から6地点(2012年度は2地点)で測定を行っているベンゾ(a)ピレン(以下、「B(a)P」と略)の1999年4月～2013年3月までの測定結果および、2011年5月の黄砂の飛来時に四日市市桜地点(保健環境研究所)においてB(a)Pの測定を行った結果について、解析を行ったので報告する。

実験方法

1. 調査地点

調査地点は、三重県北中部地域の大気環境常時

表1 調査地点の概要

地点名	測定局の区分	調査期間(年度)
① 桑名上野	一般環境	99～02,04～10
② 北星高校	一般環境	99～04
③ 亀山みなみ保育園	一般環境	99～01
④ 名張小学校	一般環境	99～04
⑤ 津西が丘小学校	一般環境	99～03
⑥ 国道23号松阪菅原	沿道	99～04
1 伊賀緑ヶ丘中学校	一般環境	05～07
2 松阪第五小学校	一般環境	05～07
A 桑名庁舎		11～
B 国道23号鈴鹿	沿道	05～
C 保健環境研究所		10～

監視測定局のうち、表1および図1に示す6地点(①～⑥)において開始したが、2011年度まで地点の変更および減少があり現在は2地点(A,B)となっているなか、2005～2007年度の調査地点を1,2で示した、各地点の調査期間を表1に示し、また①については、2010年度からAに移ったがデ

¹⁾企業庁水質管理情報センター

ータについては連続しているものとして扱った。
また、有害大気汚染物質調査とは別に、2010年8月より、AおよびBサンプリングと同日に保健環境研究所の屋上(C)でのB(a)Pの測定を開始した。

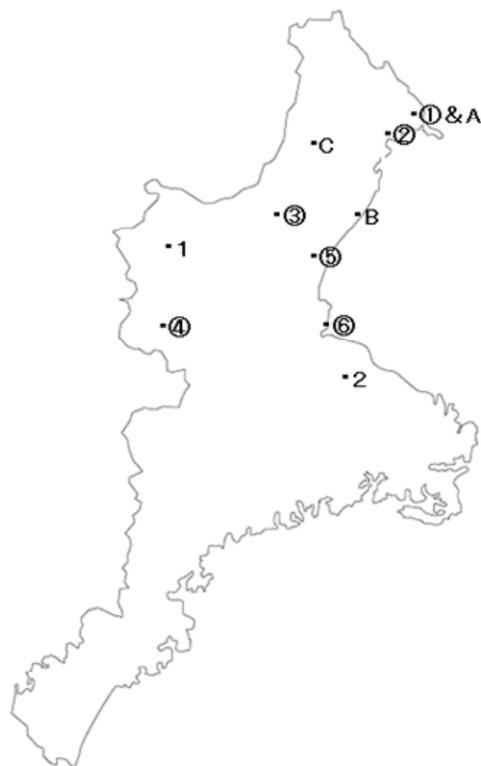


図1 調査地点

2. 調査期間

1998年10月～2013年3月

3. 調査対象物質

ベンゾ(a)ピレン (B(a)P)

4. 試薬・器具・装置

1) 試薬

- ・B(a)P：スペルコ製の混合標準原液を用いた。
- ・トルエン：和光純薬残留農薬分析用(300)
- ・ジクロロメタン，ヘキサン，アセトン：和光純薬残留農薬分析用(5000)
- ・アセトン：関東化学残留農薬分析用(5000)
- ・アセトニトリル：関東化学LC分析用
- ・精製水：ミリQ水 (MILIPORE)を使用した。
- ・ジメチルスルホキシド：和光純薬

2) 装置・器具

- ・高速液体クロマトグラフィー分光蛍光検出器 (HPLC-FLD)：Agilent Tec.社製 1100 シリーズ
- ・分析カラム：SUPELCO SIL LC-PAH (50mm × 4.6mm φ，粒子径 3μm)
- ・高速冷却遠心器：(株)トミー精工 RS-18
- ・超音波発生装置：BRANSON 社製 5510
- ・恒温槽：抽出液の濃縮に 40℃で使用した。
- ・石英繊維フィルタ (以下、「フィルタ」と略)：

PALLFLEX(Membrance Filter) 東京ダイレック
・0.2μm フィルタ：ADVANTEC 製 DISMIC-13HP
を使用した。

5. 採取・分析方法

採取・分析は、有害大気汚染物質測定方法マニュアル¹⁾に従って行った。

1) 試料採取

フィルタをハイボリュームエアサンプラーに装着し、毎月同じ期間に2地点実施し、大気試料を約 1,000L/min で 24 時間吸引し捕集を行った。現在は、桑名庁舎、国道 23 号線鈴鹿、保健環境研究所の3地点を同じ期間に行っている。

2011年5月の黄砂の飛来時には、5月2日～20日まで、保健環境研究所屋上(C)で24～42時間サンプリングを11回行った。

2) フィルタ

使用したフィルタは、サンプリング前後で湿度を 50%に設定したデシケーター内に 24 時間以上保存し、秤量後サンプリングおよび分析に使用した。速やかに分析出来ない場合は、秤量後冷凍保存(-20℃)した。また、フィルタに捕集された粒子を積算流量 (1 気圧, 20℃) で除したものを、浮遊粉じん濃度とした。

3) 前処理 (抽出) 方法

サンプリングを行ったフィルタの 1/4 を、細かく裁断し、遠心沈殿管(50mL)に入れ、ジクロロメタン 30mL を加え、20 分間超音波処理して対象物質を抽出した。この抽出液を 3000rpm で 15 分間遠心処理を行い、上澄み液 10mL をスピッツ管に分取した。その後、ジメチルスルホキシド 30μL を添加し、スピッツ管を恒温槽中で、窒素を吹き付けて乾固直前まで濃縮した。少量のアセトニトリルに再溶解後、1mL にメスアップし、0.2μm フィルタでろ過したものを分析溶液とした。

4) 分析条件

前処理を行った分析溶液は、表 2 の分析条件のとおり HPLC-FLD で分析を行った。

表 2 分析条件

カラム	: SUPELCO SIL LC-PAH(120 Å) 50mm × 4.6mm(3 μm)
移動相	: A: H ₂ O B: CH ₃ CN 0→40min A: B=25: 75
流量	: 0.8mL/min
カラム温度	: 37℃
注入量	: 10μL
FLD条件	1999.4 ~ 2012.9 : 0→40min 励起: 365nm, 蛍光: 410nm 2012.10 ~ : 0→40min 励起: 295nm, 蛍光: 410nm

調査開始当初は、FLD の条件を励起波長:365nm・蛍光波長:410nm で測定を行っていたが、大気環境中の B(a)P 濃度の低下に伴い、現在

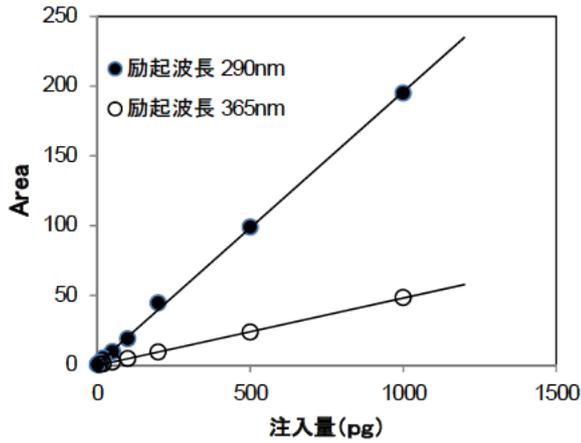


図2 B(a)Pの検量線

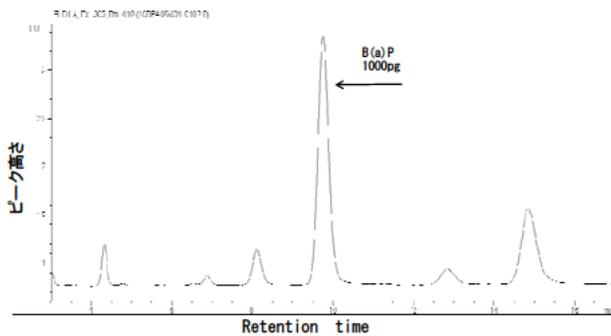


図3-1 調査開始当初のB(a)Pのクロマトグラム
(励起波長:365nm・蛍光波長:410nm)

は励起波長:295nm・蛍光波長:410nmで測定を行っている。図2に、両波長の検量線および図3-1および図3-2にクロマトグラムを示した。

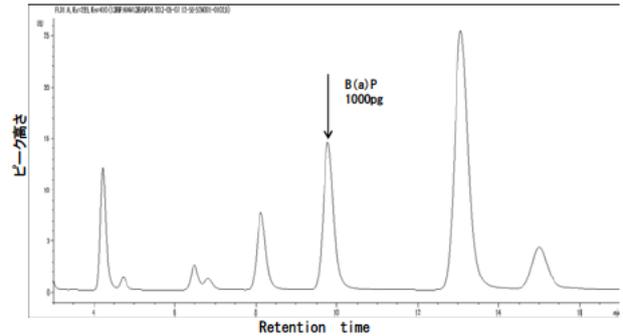


図3-2 現在のB(a)Pのクロマトグラム
(励起波長:295nm・蛍光波長:410nm)

結果および考察

1. B(a)P濃度の経年変化について

図4に1999年4月～2013年3月における各調査地点のB(a)P濃度の経年変化を、表3に各調査地点のB(a)P濃度の年平均値を示した。その結果、1999年4月～2013年3月におけるB(a)P濃度の気中の変動は、年および地点による差はあるものの春～秋期にかけて低く、秋～春期にかけて高い傾向を示しながら調査開始以来減少傾向を示した。また、図5に各調査地点のB(a)P濃度年平均値の経年変化を、図6に一般環境および沿道のB(a)P濃度年平均値の経年変化を示した。2012年度がAとC地点においてB(a)P濃度が僅かに上昇したが、図4に示した経年変化同様1999年度以降B(a)P濃度は減少傾向にあった。このことは、調査地点の三重県北中部地域の一部が2001年に自動車NOx・PM法の対策地域の指定を受け、対策をおこなっている効果などが現れたと考えられる。

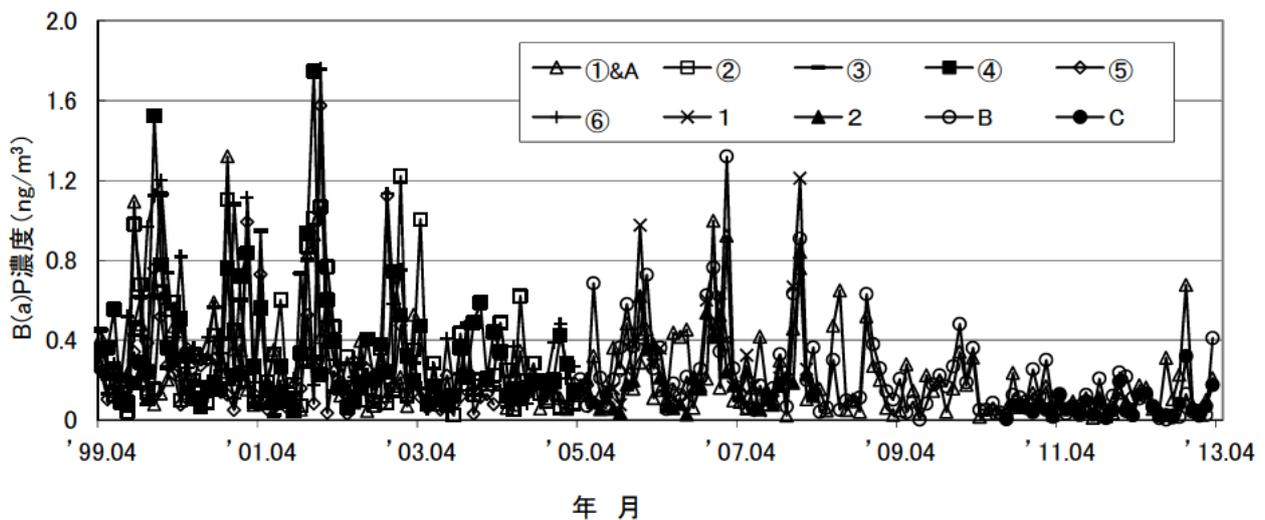


図4 各調査地点のB(a)P濃度の経年変化

表3 各調査地点のB(a)P濃度の年平均値

年度	①&A	②	③	④	⑤	⑥	1	2	B	C
1999	0.32	0.38	0.38	0.43	0.29	0.56				
2000	0.36	0.29	0.31	0.36	0.27	0.41				
2001	0.36	0.47	0.28	0.45	0.31	0.43				
2002	0.18	0.28		0.29	0.26	0.40				
2003		0.24		0.28	0.14	0.21				
2004	0.15	0.21		0.21		0.23				
2005	0.24						0.26	0.21	0.35	
2006	0.35						0.28	0.23	0.39	
2007	0.23						0.30	0.20	0.26	
2008	0.22								0.19	
2009	0.17								0.19	
2010	0.083								0.11	0.048
2011	0.072								0.11	0.068
2012	0.18								0.083	0.092

(単位: ng/m³)

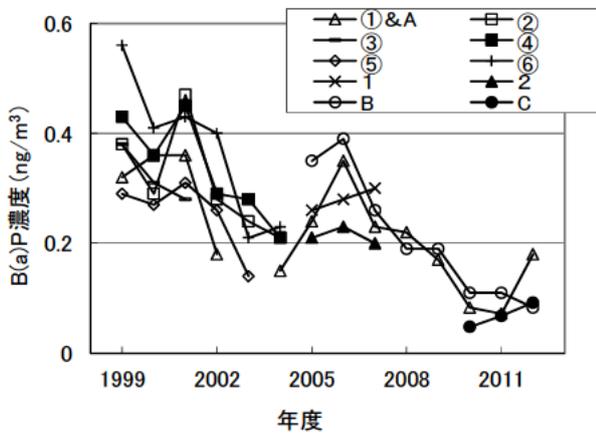


図5 各調査地点のB(a)P濃度年平均値の経年変化

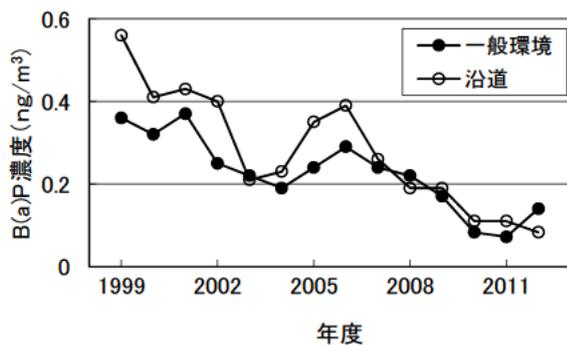


図6 一般環境および沿道のB(a)P濃度年平均値の経年変化

2. B(a)P濃度の季節変化について

図7に1999年4月～2013年3月における各調査地点のB(a)P濃度の月別平均値の推移を示した。その結果、調査を2011年度に開始したC地点を除いては、3～9月にかけて低く、10～2月にかけて高い傾向にあった。このことは、10～2月

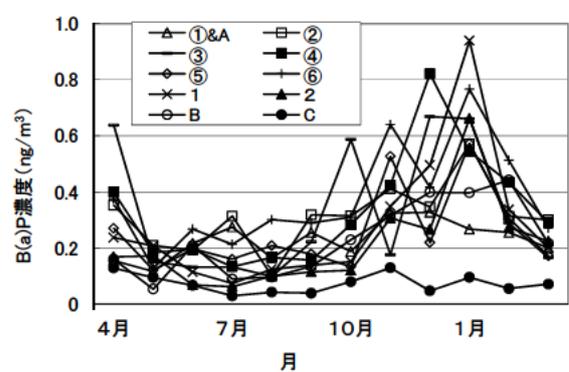


図7 B(a)P濃度の月変化(各地点の平均値)

は気温が低く暖房等の化石燃料の燃焼が多くなることや冬期に大気が安定することによりB(a)P濃度が上昇し、逆に3～9月の気温の高い時期は化石燃料の燃焼が少ないことや紫外線などによる光化学反応で分解されてB(a)P濃度が減少すると考えられる。3～9月のB(a)P濃度の低い期間において、4月のB(a)P濃度が高い傾向にあった。その原因を調べるために、図8に、調査期間中の各地点の浮遊粉じん濃度の月別平均値の推移を示した。砂場に隣接していたため粒子の巻き上げの影響を受け高くなったと考えられる2の調査地点を除いて浮遊粉じん濃度は、年間を通してあまり変化していないが4月に少し高い傾向にあることを示した。このことは、黄砂の飛来により浮遊粉じん濃度が上昇したことによるものと推察され、このことが4月のB(a)P濃度が高い要因と考えられた。次に、浮遊粉じん中B(a)P濃度の月変化を図9に示した。その結果、浮遊粉じん中B(a)P濃度は、大気中濃度と同様に10～2月に若干高い傾向にあった。

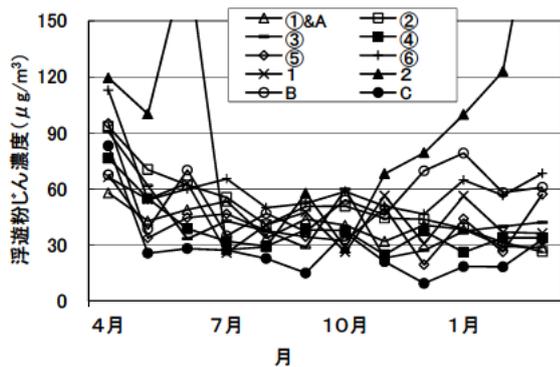


図8 浮遊粉じん濃度の月変化（各地点の平均値）

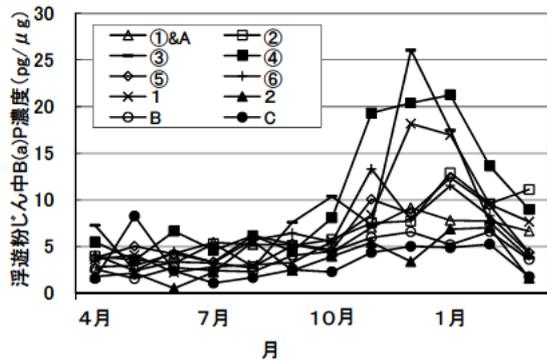


図9 浮遊粉じん中のB(a)P濃度の月変化（各地点の平均値）

3. 黄砂飛来時期のB(a)P濃度について

B(a)P濃度の季節変化において、4月のB(a)P濃度が高い要因として黄砂の飛来が考えられたので、2011年5月の黄砂飛来時にB(a)Pの測定を保健環境研究所で行った。まず、2011年5月の浮

遊粒子状物質(SPM)がどのような状態にあったか知るために、保健環境研究所に一番近い一般環境測定局である西朝明中学校測定局(四日市市北山町1169番地)の5月1日～31日までのSPM濃度および保健環境研究所でのサンプリング期間を図10に示す。その結果、①、②、⑥～⑧、⑩と⑪のサンプリング期間が黄砂影響を受けた期間、③～⑤と⑨が黄砂の影響が少なかった期間と考えられる。表3に、2011年5月にサンプリングを行った①～⑪のB(a)P濃度、浮遊粉じん濃度(表中では粉じん濃度と略)、浮遊粉じん中B(a)P濃度(表中では粉じん中濃度と略)を示した。その結果、粉じん濃度が高い黄砂の影響を受けた期間のB(a)P濃度は $0.092\sim 0.45\text{ng/m}^3$ であり、粒子濃度が低く黄砂の影響を受けていない期間の $0.018\sim 0.053\text{ng/m}^3$ に比べて高い傾向にあった。このことは、既報²⁾にもあるとおり、東アジアの砂漠地帯や黄土地帯の粒子で構成される黄砂が、風によって拡散・移動して来る間に、石炭や石油等の化石燃料の燃焼時に発生するB(a)Pを取り込んで来たと考えられる。また、黄砂の影響を受けた期間中のB(a)P濃度についても濃度差が5倍程度あり、黄砂により含まれるB(a)P濃度に違いがあると推察された。

次に、表5にA～C地点における調査開始以来の5月の平均値と2011年5月のC地点で、黄砂影響を受けた期間および黄砂の影響が少なかった期間の平均値を示した。A～CのB(a)P濃度の値は、黄砂の影響のある期間および影響のない期間の間にあり、黄砂はB(a)P濃度に影響を与えていると推察された。

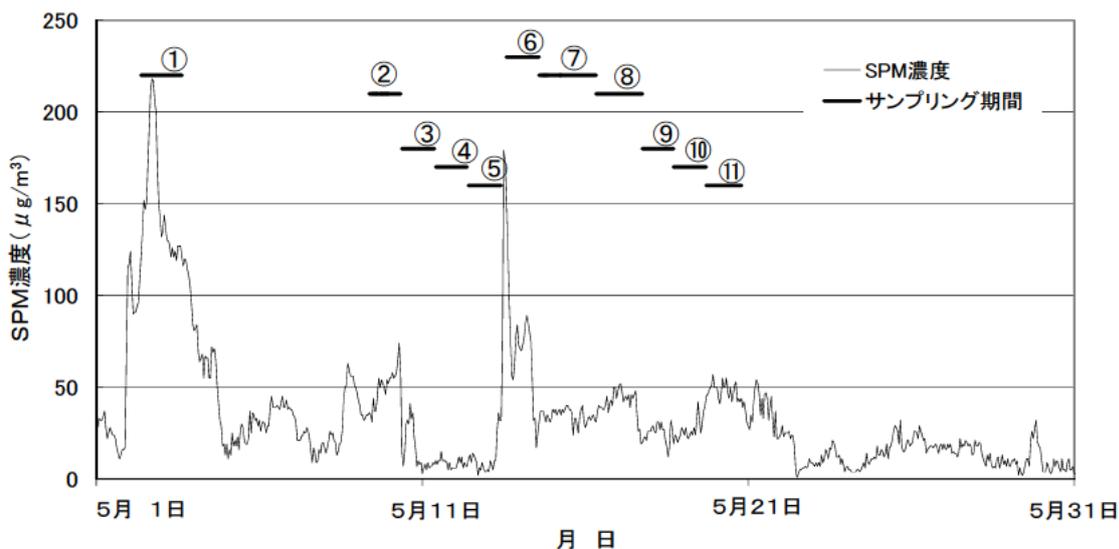


図10 2011年5月1日～31日の西朝明中学校測定局のSPM濃度および保健環境研究所におけるサンプリング期間

表4 2011年5月の保健環境研究所におけるB(a)P濃度，浮遊粉じん，浮遊粉じ人中B(a)P濃度

サンプリング期間	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪
B(a)P濃度	0.092	0.18	0.023	0.053	0.018	0.28	0.31	0.45	0.046	0.21	0.37
粉じん濃度	360	94	13	4.0	11	160	100	84	29	47	75
粉じ人中濃度	0.26	1.9	1.7	13	1.6	1.8	3.1	5.4	1.6	4.4	4.9

単位：B(a)P濃度：ng/m³，粉じん濃度：μg/m³，粉じ人中濃度：pg/μg

表5 A, BおよびC地点の調査開始以来の5月平均値および2011年5月の保健環境研究所でのB(a)P濃度，浮遊粉じん濃度，浮遊粉じ人中B(a)P濃度の平均値

	A地点 (5月の 平均値)	B地点 (5月の 平均値)	C地点 (5月の 平均値)		
			黄砂影響		
			あり	なし	
B(a)P濃度	0.12	0.050	0.094	0.27	0.035
粉じん濃度	43	39	26	130	14
粉じ人中濃度	3.0	1.6	8.3	3.1	4.5

単位：B(a)P濃度：ng/m³，粉じん濃度：μg/m³，粉じ人中濃度：pg/μg

まとめ

1999年4月～2013年3月に測定したベンゾ(a)ピレンの調査結果について，解析および検討を行った結果，次の知見が得られた。

1. ベンゾ(a)ピレン濃度の変動は，年および地点による差はあるものの春～秋期にかけて低く，秋～春期にかけて高い傾向を示しながらいずれの地点も調査開始以来減少傾向を示した。
2. 各調査地点のB(a)P濃度の月別平均値の推移も前述のとおり，3～9月にかけて低く，10～2月にかけて高い傾向にあった。
3. 3～9月のB(a)P濃度の低い期間において，4月のB(a)P濃度が高い傾向にあった。その原

因は，黄砂の影響によるものと推察された。

4. 黄砂の影響を受けた浮遊粉じん濃度が高い期間のB(a)P濃度は，黄砂の影響を受けていない浮遊粉じん濃度が低い期間のB(a)P濃度と比べて約5倍高かった。
5. 大気環境中の物質の挙動は，気温，風向，風速，天候等の影響を受け年間や季節でも変動が大きく傾向等を評価しにくい，今回14年間の測定結果を解析することにより三重県北中部地域の大气環境中B(a)P濃度が減少傾向にあると推察された。

本報告は，第53回大気環境学会年会³⁾で発表した内容に2012年度の測定結果を追加してまとめたものである。

文献

- 1) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定法マニュアル（水銀・ベンゾ[a]ピレン）（平成11年3月）。
- 2) 西山 亨，佐来栄治：黄砂飛来時の多環芳香族炭化水素について，三重保環研年報，第10号，48-54(2008)。
- 3) 佐来栄治，西山 亨，寺本佳宏：三重県におけるベンゾ(a)ピレンの状況について，第53回大気環境学会年会(2012.9.12-14 横浜市)

ノート

過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法の効果

西木美紗子, 西山 亨¹⁾, 高士昇吾, 寺本佳宏,
宮村典仁²⁾, 佐来栄治, 吉岡 理

Effect of Dry Fog Spray using Hydrogen Superoxide on Suppressing Generation of Hydrogen Sulfide.

Misako NISHIKI, Tooru NISHIYAMA, Shogo TAKASHI, Yoshihiro TERAMOTO,
Norihito MIYAMURA, Eiji SARAI and Osamu YOSHIOKA

硫化水素ガスの発生が確認された産業廃棄物安定型最終処分場等において、過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法の効果を検討した。その結果、3%過酸化水素水を噴霧することで硫化水素ガス濃度および発生量が大幅に減少した。また、噴霧を長期間停止しても硫化水素ガス濃度および発生量の増加は見られず、減少した状態を保つことが判明した。この結果を受け、過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法が当該現場における行政代執行の恒久対策第1段階として適用されることになった。

キーワード：硫化水素, 過酸化水素水, ドライフォグ噴霧法, 霧状酸化剤, 廃棄物不適正処理

はじめに

近年、廃棄物の不適正処理現場等からの硫化水素やメタン等の有害ガスの発生により、周辺地域の生活環境への影響が問題になっている。

このような有害ガス発生現場への対策には、廃棄物層へ高圧空気の注入による発生抑制や、吸着剤を含ませた覆土でガスの吸着を行う方法がある。しかし、これらの工法は、地中のガス発生地点の探査方法がなく、特に、高圧空気の注入法では10m以上の大深度になると大規模な掘削が必要になるため、経済的な負担が大きくなる。

また、過酸化水素水やオゾン水などの酸化剤を液状のままガス発生現場に散水することもあるが、廃棄物表面や内部の水みち等の局地的な箇所ではしか酸化反応が起きない可能性が指摘¹⁾されている。

一方、ドライフォグ噴霧法は酸化剤を霧状に噴射させるので、固体に接触しても跳ね返り、すぐに液化せず、廃棄物層内の間隙を通り広範囲に拡散することが可能である。そのため、廃棄物内部まで浸透させることができ、より広域的な箇所での

の酸化反応を可能にしたことにより、前者に比べ、大深度まで注入でき、より経済的負担を少なくできる工法である。このようなことから、廃棄物の安定型処分場等の早期安定化技術として注目を浴びている²⁾。

三重県内の産業廃棄物安定型最終処分場等(面積約20,000m²)において、許可品目外の木くず等の処分や許可面積・容量を超える産業廃棄物の埋立が行われ、廃棄物層内部から高濃度の硫化水素ガス(最大32,000ppm)等の発生が確認されたため、県では、平成19年2月にガス回収処理の行政代執行に着手した。これにより、硫化水素ガス濃度はある程度低下したが、今後も継続してガスの発生が懸念され、硫化水素ガス発生抑制対策が不可欠であった。

今回、低コストで廃棄物の早期安定化が可能であるドライフォグ噴霧法の効果を検討^{3, 4)}したので、その概要を報告する。

1) 三重県企業庁 2) 三重県鈴鹿地域防災総合事務所

調査方法

1. 調査地点

産業廃棄物不適正処理現場図を図1に示す。また、各主要井戸位置は図2のとおりである。

当該現場で最も高く硫化水素ガス濃度が観測された井戸 (b-4) の近傍にある井戸 (H22-5) からドライフォグの噴霧を行った。各井戸の名称および深度は以下のとおりである。

ドライフォグ注入井戸：H22-5 (深度 47m)

高濃度井戸：b-4 (深度 50m)

観測井戸：I, J (深度 10m)

2. 調査方法および項目

当該現場に効果的な過酸化水素水の濃度の検討を行うため、濃度を 0%, 0.1%, 0.3%, 0.5%, 1%, 3% に変化させ、注入井戸 H22-5 から任意の期間、噴霧と停止を繰り返し行い、各調査地点のガス濃度 (H_2S , H_2O_2 , CO_2 , CS_2 , CH_4 , O_2 , CO)、総ガス量のモニタリングを行った。

各ガス濃度測定には検知管 (H_2S , H_2O_2 , CO_2 , CS_2) およびマルチガスメーター (CH_4 , O_2 , CO)、総ガス量には石けん膜流量計を用いた。

併せて、注入井戸 H22-5 の地下水を過酸化水素水噴霧開始前に採取し、共同研究者の福岡大学で分析を行った。分析項目は pH, TOC, COD, BOD, T-N, T-P, F, Cl, NO_2^- , Br^- , NO_3^- , PO_4^{3-} , SO_4^{2-} , Na^+ , NH_4^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , S (硫化物), T-S である。

なお、注入井戸 H22-5 におけるドライフォグ噴霧位置は、2010年9月21日～2011年10月28日、2012年3月13日～2012年4月23日の間は井戸水位付近 (GL から約 20m 下)、2012年7月4日～2012年8月30日の間は GL から約 2m 下、それ以降は井戸宙水中へ行った。

また、2011年10月28日～2012年3月12日の約4ヶ月間、2012年5月11日～2012年7月3日の約2ヶ月間の停止期間を設けた。

使用したドライフォグ装置の構造は図3に示す。

調査結果および考察

1. 硫化水素ガス

1) 高濃度井戸 b-4

硫化水素ガス濃度の変化を図4に、硫化水素ガス発生量の変化を図5に示す。

まず、過酸化水素水を 0～0.5% 濃度で噴霧したところ (2010年6月25日～2011年2月18日)、

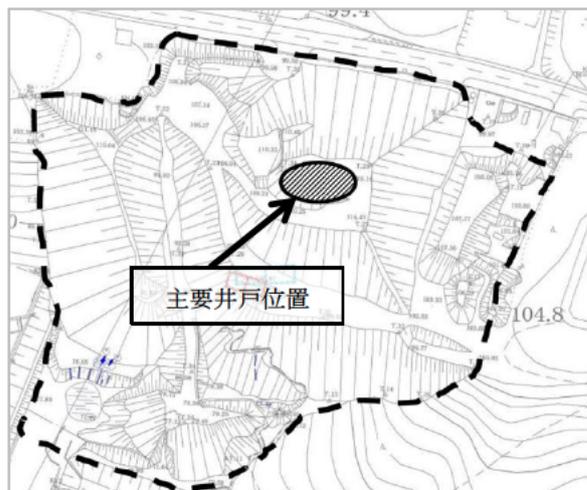


図1 産業廃棄物不適正処理現場図

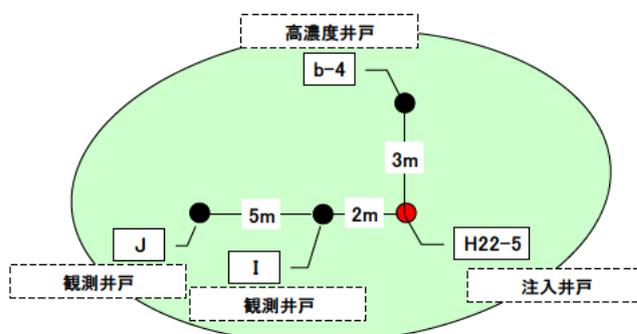


図2 各主要井戸位置関係図

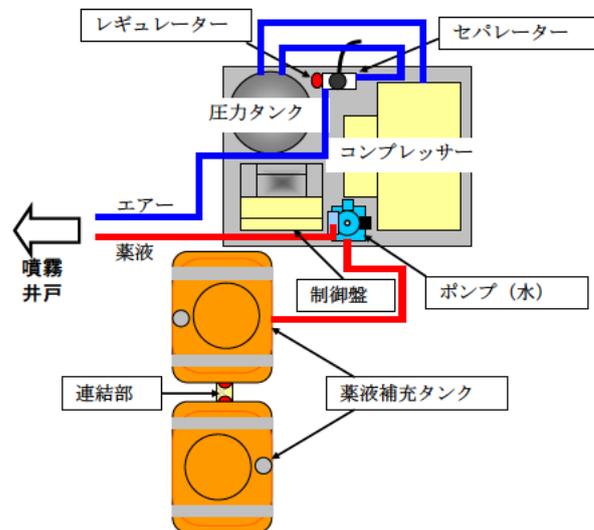


図3 ドライフォグ装置の構造

噴霧の有無により、ガス濃度は 1000～3000ppm、ガス発生量は 15～75mL/h 付近を推移し、不安定な状態であった。

その後、ガス濃度が 5800ppm、ガス発生量が 83mL/h まで増加した (2011年2月21日) ところへ過酸化水素水を 1% 濃度に上昇させ、断続的に

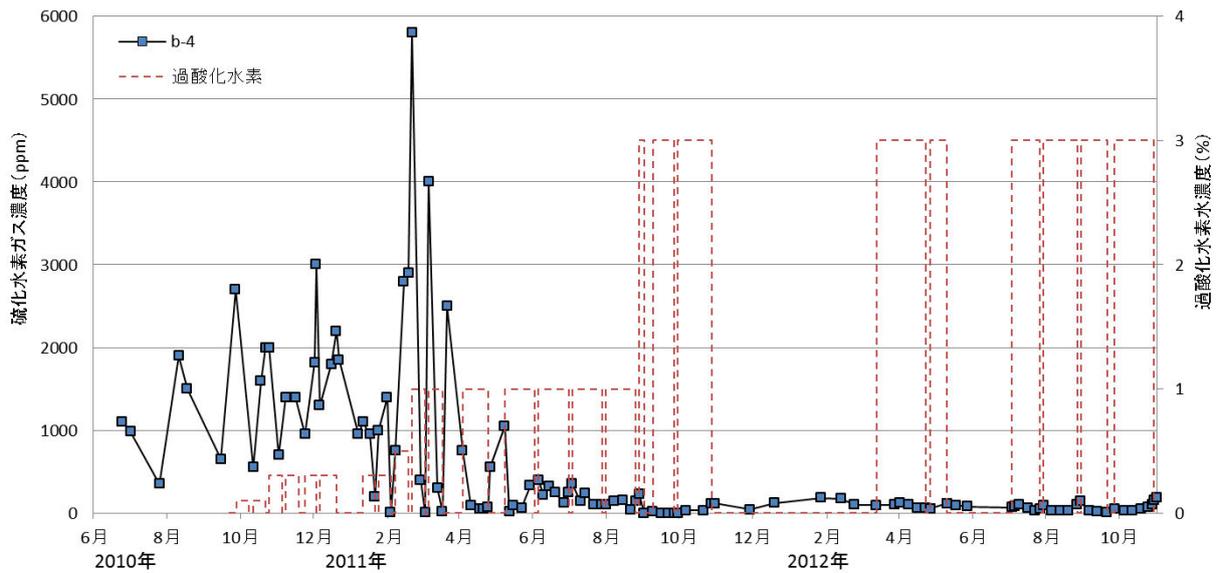


図4 高濃度井戸 b-4 における硫化水素ガス濃度の推移

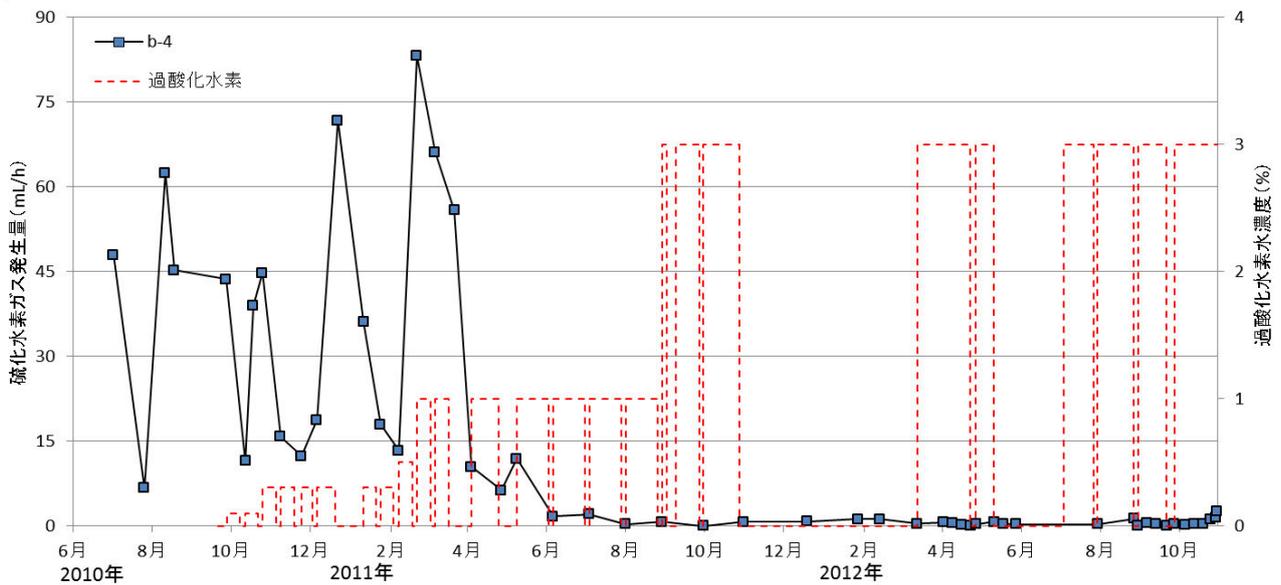


図5 高濃度井戸 b-4 における硫化水素ガス発生量の推移

噴霧した(2011年2月21日～2012年8月26日)。

その結果、ガス濃度は約1週間程度の噴霧停止期間中に増加する傾向にあったが、増加したときの濃度が4000ppm(2011年3月7日)、2500ppm(2011年3月22日)と減少していき、さらには100～300ppmの間を推移し(2011年5月13日～2011年8月26日)、過酸化水素水のドライフォグ噴霧はガス濃度の低減に効果的であると考えられた。ガス発生量については83mL/hから0.3mL/hへ急激に減少した(2011年8月1日)。

しかし、噴霧停止期間中にガス濃度および発生量は増加する傾向にあったため、過酸化水素水濃度をさらに検討する必要があった。

過酸化水素水を3%濃度で噴霧した(2011年8月29日～2012年11月1日)ところ、ガス濃度は約100ppm以下で推移し、約1週間程度の噴霧停止期間を設けても200ppmを超えることはなく、3%濃度の過酸化水素水はガス濃度の低減に大きな効果があった。

また、約4ヶ月の噴霧停止期間中は硫化水素ガス濃度に若干の増加がみられたものの、その変動は200ppm未満であり、以前のような急激な増加と比較すると、かなり微小な変動であるといえる。ガス発生量についても約1.5mL/h未満で安定した推移を示し、ガス発生量の抑制に対しても本法は非常に有効であることが示された。

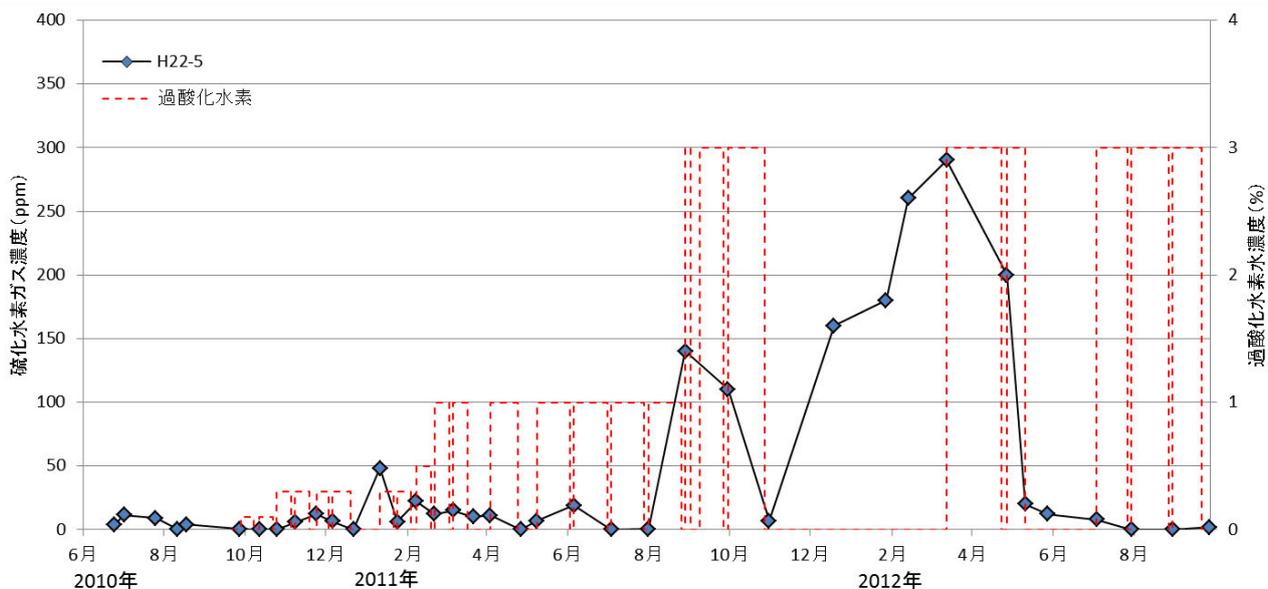


図6 注入井戸 H22-5 における硫化水素ガス濃度の推移

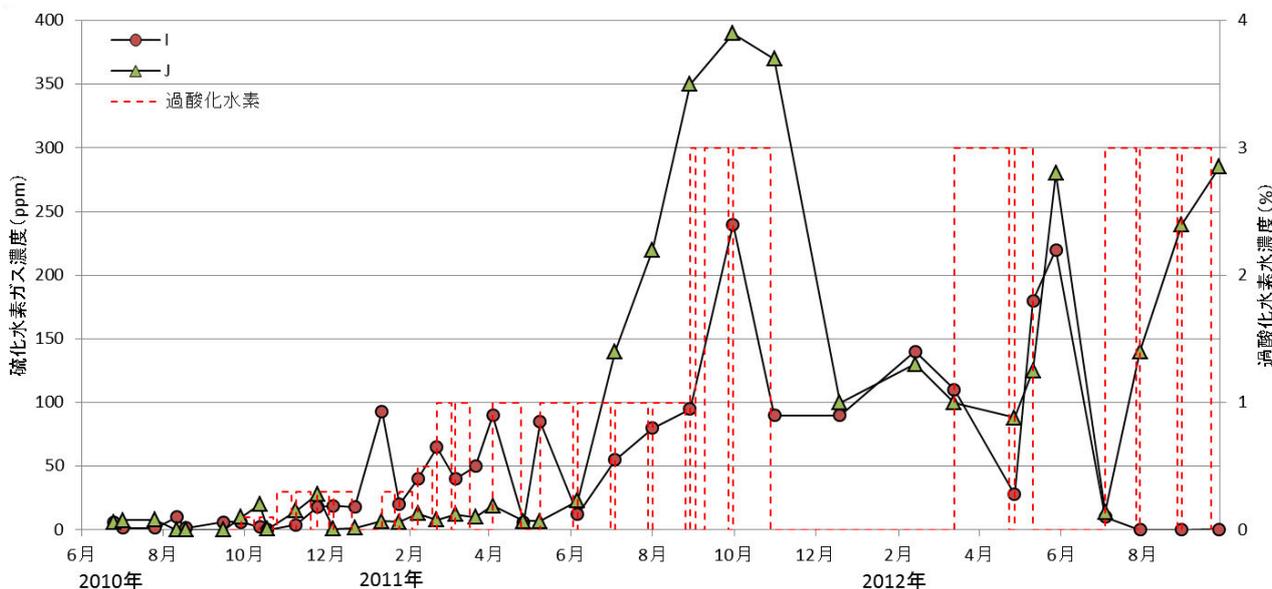


図7 観測井戸 I, J における硫化水素ガス濃度の推移

2) 注入井戸 H22-5

硫化水素ガス濃度の変化を図6に示す。

まず、過酸化水素水を0~0.5%濃度で噴霧してもガス濃度はほとんど変化せず(2010年6月25日~2011年2月18日)、おおむね10ppm付近で推移した。しかし、噴霧を停止すると濃度はやや増加し、ドライフォグ噴霧の効果は得られなかった。

次に、過酸化水素水を1%濃度にして噴霧したとき(2011年2月21日~2012年8月26日)、噴霧中にガス濃度は減少する傾向がみられたが、噴霧を停止するとガス濃度は増加する傾向にあり、約10~20ppm付近を推移した。

その後、噴霧停止期間中にガス濃度が140ppm(2011年8月29日)まで増加したところへ過酸化水素水を3%濃度で噴霧したところ、ガス濃度は7ppmまで急減した(2011年7月31日)。しかし、約4ヶ月の噴霧停止期間中にガス濃度は290ppmまで増加し(2012年3月13日)、高濃度井戸b-4とは異なる変化を示した。再びドライフォグの噴霧を行ったところ20ppmまで急激に減少し(2012年5月11日)、約2ヶ月間の噴霧停止期間中もガス濃度は低減した状態を保ち、さらには0~1.8ppmにまで減少した。

このことから、ドライフォグの噴霧はガス濃度の低減に非常に有効であると考えられる。

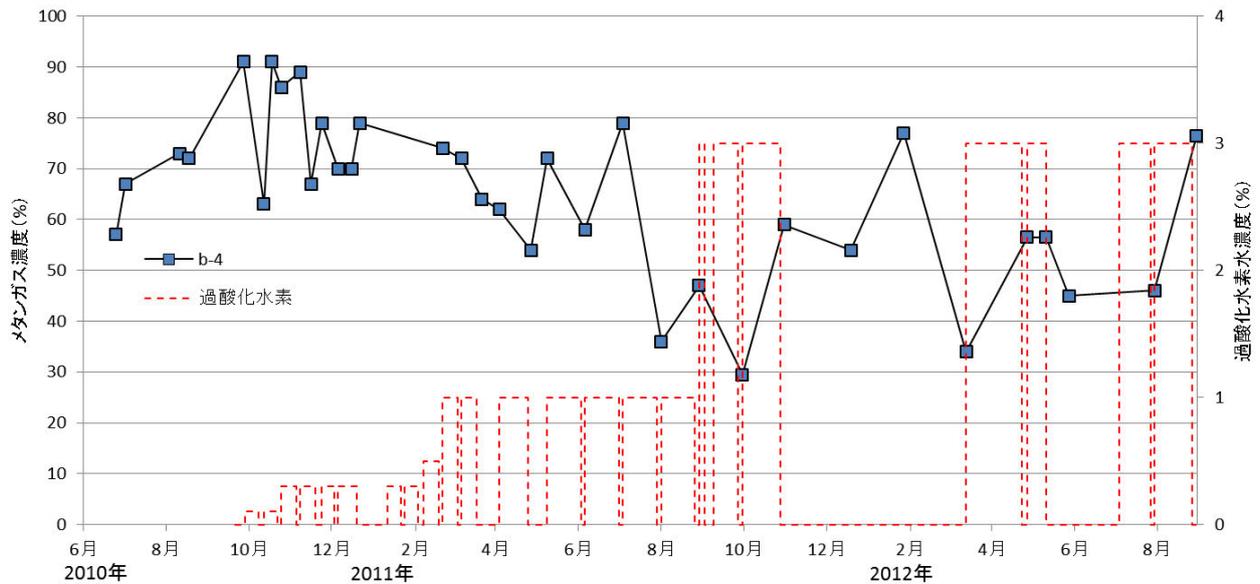


図8 高濃度井戸 b-4 におけるメタンガス濃度の推移

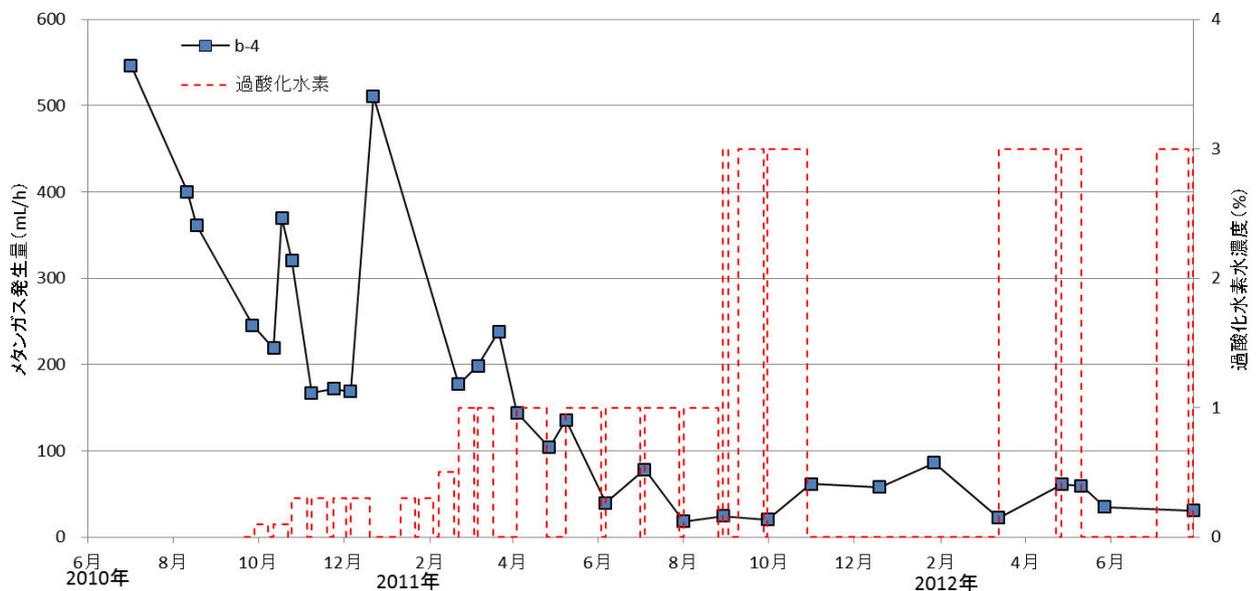


図9 高濃度井戸 b-4 におけるメタンガス発生量の推移

3) 観測井戸 I, J

観測井戸 I, J それぞれの硫化水素ガス濃度の推移を図7に示す。

観測井戸 I について、噴霧する過酸化水素水の濃度が上がるにつれて、ガス濃度が徐々に増加し、一旦は 240ppm を示した (2011 年 9 月 30 日)。その後の約 4 ヶ月間の噴霧停止期間中は急激な増加はなく、90~140ppm で推移し、3% 過酸化水素水の噴霧により 28ppm まで減少した (2012 年 4 月 27 日)。

また、約 2 ヶ月間の噴霧停止期間中に 220ppm まで増加した (2012 年 5 月 28 日)。噴霧を再開する直前には 10ppm まで減少しており (2012 年

7 月 4 日)、その後の噴霧により 0~0.3ppm を推移するようになった (2012 年 7 月 30 日~2012 年 9 月 27 日)。

このことは、観測井戸 I の深度が注入井戸 H22-5 における過酸化水素水噴霧位置に比べ浅いため、低減効果が遅れたのではないかと考えられる。

観測井戸 J は観測井戸 I と同じようなガス濃度推移を示し、390ppm まで増加した (2011 年 9 月 30 日)。約 4 ヶ月間の噴霧停止期間終了時には 100ppm まで減少を見せ (2012 年 3 月 13 日)、噴霧期間中は 100ppm 前後で安定して推移した (2012 年 3 月 13 日~2012 年 5 月 13 日)。

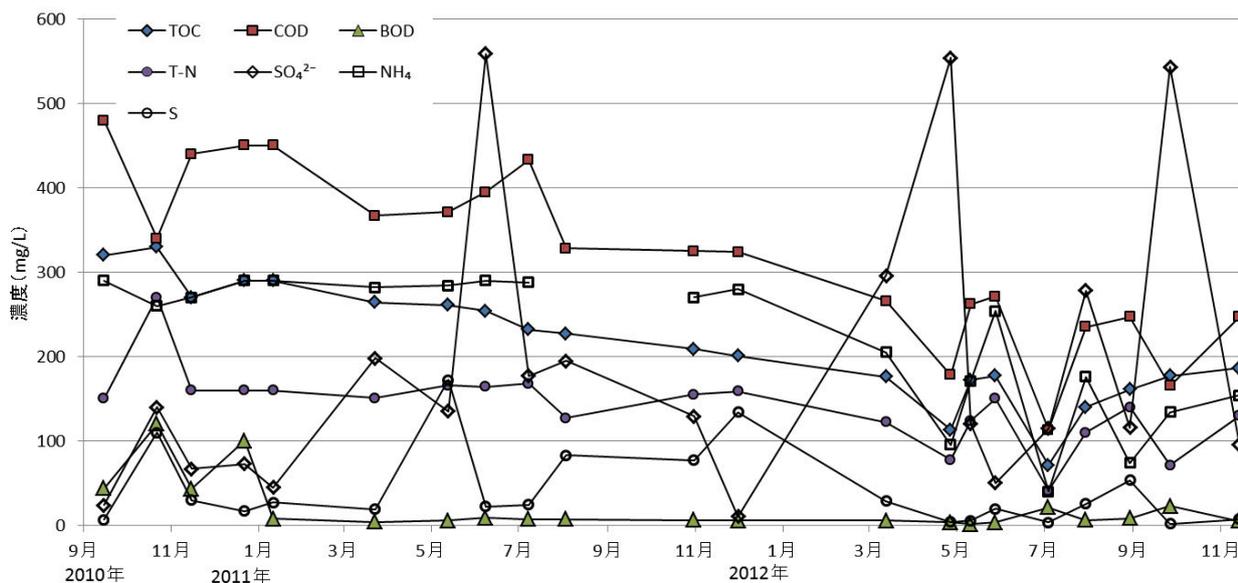


図 10 注入井戸 H22-5 地下水濃度の推移

しかし、約 2 ヶ月間の停止期間中（2012 年 5 月 11 日～2012 年 7 月 3 日）では 280ppm まで増加、その後、3%過酸化水素水の噴霧においても増加傾向を示し、ガス濃度は増減を繰り返す傾向にあり、ドライフォグ噴霧の効果は極めて低いと考えられる。

この原因は、観測井戸 J の深度が注入井戸 H22-5 における噴霧位置よりも浅く、また、注入井戸 H22-5 からの距離が調査井戸の中で最も離れていることが、過酸化水素水の噴霧による直接的な効果を妨げていると考えられる。さらに、過酸化水素水の噴霧によって廃棄物層内のガスの流れが変化し、硫化水素ガス濃度の変動が大きかったのではないかと推察される。

2. メタンガス

高濃度井戸 b-4 のメタンガス濃度の推移を図 8 に、メタンガス発生量の推移を図 9 に示す。

メタンガス濃度に関しては、過酸化水素水の噴霧の有無、および過酸化水素水濃度との関連性は見受けられなかった。

一方、ガス発生量は過酸化水素水を 0.1～0.5% 濃度で噴霧を行うと（2010 年 6 月 25 日～2011 年 2 月 18 日）、増減を繰り返しながら 546mL/min から 177mL/min へ徐々に減少していく傾向にあった。過酸化水素水を 1%濃度、3%濃度に増やすと、ガス発生量はさらに減少し約 20～35mL/min で推移した。さらに約 4 ヶ月間の噴霧停止期間中は約

50～90mL/min を推移し、低減した状態を維持していた。

このことから、過酸化水素水の噴霧はメタンガス濃度に関連性はみられないものの、メタンガス発生量の抑制に著しい効果を示した。

3. 注入井戸 H22-5 における地下水

注入井戸 H22-5 で採取した地下水の主な測定項目の濃度に関して、その推移を図 10 に示す。

TOC, COD, T-N, NH₄ の濃度は過酸化水素水の噴霧開始から徐々に減少していく傾向がみられた。特に COD は減少傾向が著しく、調査開始時に 480mg/L であったものが、113mg/L まで減少した（2012 年 7 月 4 日）。

また、BOD の濃度については、過酸化水素水の噴霧開始当初は SO₄²⁻や S と似たような挙動を示したが、2011 年 1 月以降は約 20mg/L 以下の低い濃度で推移していた。

SO₄²⁻や S は急激な濃度の増加や減少を繰り返しており、硫化水素ガス濃度や発生量、過酸化水素水の噴霧との関連性は見出せなかった。

まとめ

当該現場における過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法を検討したところ、以下のとおりであった。

- 1) 過酸化水素水の濃度を 3%にすることで、硫化水素ガス濃度、ガス発生量が大幅に減少した。また、約 4 ヶ月間の噴霧停止期間を設け

でも急激な増加はみられず、過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法は硫化水素ガスの発生抑制に非常に有効である。

- 2) 過酸化水素水の噴霧によりメタンガス発生量が大幅に減少し、メタンガスの発生が抑制されたといえる。
- 3) 地下水濃度については TOC, COD 等で濃度の減少傾向がみられたが、 SO_4^{2-} や S の濃度変化と硫化水素ガス濃度や過酸化水素水の噴霧との関連性はみられなかった。
- 4) 本研究結果を受けて、低コストで廃棄物の早期安定化が可能である過酸化水素水を用いたドライフォグ噴霧法が、当該現場における行政代執行の恒久対策第 1 段階として適用されることになった。

謝辞

本研究を実施するにあたって、多大なるご協力およびご指導いただきました、福岡大学、樋口壯太郎教授、武下俊宏准教授ならびに三重県環境生活部廃棄物対策局廃棄物プロジェクトチームの関係者各位に深く御礼を申し上げます。

文献

- 1) 為,田一雄, 内田正信, 趙 銀娥, 樋口壯太郎, 花嶋正孝, :ドライフォグ状酸化剤注入による最終処分場の早期安定化技術 その 2, 第 21 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演論文集, 529(2010).
- 2) 川鍋良治, 樋口壯太郎, 内田正信, 為,田一雄, 米村孝介 :霧状酸化剤による環境修復技術の開発と実施研究, 第 23 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演論文集, 525(2012).
- 3) 為,田一雄, 内田正信, 武下俊宏, 樋口壯太郎, 西山 亨, 高士昇吾, 寺本佳宏, 川合啓之, 宮村典仁, 山川雅弘, 吉岡 理 :霧状酸化剤を用いた埋立地の早期安定化に関する研究, 第 22 回廃棄物資源循環学会研究発表会講演論文集, 441(2011).
- 4) 西山 亨, 高士昇吾, 寺本佳宏, 宮村典仁, 西木美紗子, 佐来栄治, 吉岡 理, 山口哲夫 :産業廃棄物不適正処理事案現場における硫化水素発生抑制のための過酸化水素水ドライフォグ噴霧法の適用と効果, 第 27 回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会講演要旨集, 71(2013).

資料

三重県における2012年度環境放射能調査結果

吉村英基, 村田 将^{*}), 森 康則, 澤田陽子, 前田 明, 志村恭子

The Report of Environmental Radioactivity in Mie Prefecture (April 2012~March 2013)

Hideki YOSHIMURA, Sho MURATA, Yasunori MORI, Yoko SAWADA,
Akira MAEDA and Kyoko SHIMURA

文部科学省からの委託を受け2012年度の三重県における, 降水中の全ベータ放射能測定, 降下物, 大気浮遊じん, 河川水, 土壌, 蛇口水および各種食品試料のガンマ線核種分析(I-131, Cs-134, Cs-137, K-40)ならびに空間放射線量率測定を行った。

降水中の全ベータ放射能, モニタリングポストを用いた空間放射線量率の連続測定およびサーベイメータを用いた月1回の空間放射線量率の測定結果では, 異常は認められなかった。核種分析においては, Cs-134, Cs-137の人工放射性核種が降下物試料などから依然として検出されており, 2011年3月11日に発生した東日本大震災による福島第一原子力発電所の事故の影響が継続して確認された。

キーワード: 環境放射能, 核種分析, 全ベータ放射能, 空間放射線量率

はじめに

日本における環境放射能調査は, 1954年のビキニ環礁での核実験を契機に開始され, 1961年から再開された米ソ大気圏内核実験, 1979年スリーマイル島原発事故, 1986年チェルノブイリ原発事故を経て, 原子力関係施設等からの影響の有無などの正確な評価を可能とするため, 現在では全都道府県で環境放射能水準調査が実施されている¹⁾。

三重県でも日常の放射能レベルを把握するため, 1988年度から同事業を受託し, 降水中の全ベータ放射能測定, 降下物, 大気浮遊じん, 淡水, 土壌, 蛇口水および各種食品試料のガンマ線核種分析ならびに空間放射線量率測定を実施している。福島第一原子力発電所事故後は, 国のモニタリング調整会議が策定した「総合モニタリング計画」²⁾に基づき文部科学省が実施する調査もあわせて行っている。

また, 2013年2月12日の北朝鮮の核実験実施発表への対応のため, 文部科学省からの協力依頼を受けてモニタリング強化を実施した。

本報では, 2012年度に実施した調査の結果について報告する。

方 法

1. 調査の対象

調査対象は, 定時降水(降雨), 降下物, 大気浮遊じん, 土壌, 淡水(河川水), 蛇口水, 穀類, 農産物, 牛乳, 海産物および空間放射線量率である。表1に測定項目, 試料の種別, 採取場所等を示す。

2. 採取および測定の方法

試料の採取, 処理および測定は, 「環境放射能水準調査委託実施計画書」(文部科学省)¹⁾に基づき実施した。

1) 全ベータ放射能測定

試料の採取: 三重県四日市市(34°59' 31", 136°29' 06")の当所屋上(地上18.6m)に設置した採取装置で, 24時間の降雨量が1mm以上(毎09:00時点)のとき雨水を採取し, そこから200mL(それ以下の場合は全量)を取り試料とした。

前処理: 試料200mLにヨウ素担体(1mg/mL)1mL, 0.05mol/L硝酸銀2mLおよび硝酸(1+1)数滴を加え加熱濃縮し, ステンレス製蒸発皿(50mmφ)

^{*}) 現三重県総務部(福島県派遣)

で蒸発乾固した。

測定：比較試料は、酸化ウラン (U₃O₈：日本アイソトープ協会製ベータ線比較線源 50Bq) を用い

た。採取 6 時間後にベータ線自動測定装置で測定を行った。測定時間は測定試料，比較試料，バックグラウンド試料（空試料）すべて 40 分とした。

表 1 放射能調査の試料種別の採取時期・場所

項目	試料の種別	採取月等	採取場所
全ベータ放射能	降水（雨水）	降水毎（09:00）	三重県四日市市
ガンマ線核種分析	降下物（雨水+ちり）	毎月（1ヶ月間）	三重県四日市市
	大気浮遊じん	四半期（3ヶ月間）	三重県四日市市
	淡水（河川水）	2012年10月	三重県亀山市（鈴鹿川）
	土壌（草地）	2012年7月	三重県三重郡菰野町
	蛇口水	2012年6月	三重県四日市市
	蛇口水	四半期（3ヶ月間）	三重県四日市市
	穀類（精米）	2012年9月	三重県松阪市
	茶（荒茶）	2012年5月	三重県亀山市，多気郡大台町
	牛乳	2012年8月	三重県度会郡大紀町
	ほうれんそう	2012年11月	三重県四日市市楠町
	だいこん	2012年12月	三重県多気郡明和町
	まだい	2012年4月	三重県北牟婁郡紀北町（熊野灘）
	あさり	2012年4月	三重県伊勢市（伊勢湾沿岸）
	わかめ	2013年2月	三重県鳥羽市（答志島沖）
空間放射線量率	—	連続/毎月1回	三重県四日市市，三重県伊賀市 三重県伊勢市，三重県尾鷲市

2) 核種分析

降下物：三重県四日市市の当所屋上に設置した大型水盤で、1ヶ月間に降下した雨水およびちりを採取し、濃縮後全量を U-8 容器に移し乾固して測定試料とした。

大気浮遊じん：三重県四日市市の当所屋上に設置したハイボリュームエアサンプラを用いて、3ヶ月間で約 13,000m³（流速 54.0m³/h，24h，10回/3ヶ月）の大気を吸引し、浮遊じんをろ紙（ADVANTEC HE-40T）上に採取した。このろ紙試料を円形に打ち抜き分取して U-8 容器に充填したものを測定試料とした。

土壌：三重県三重郡菰野町地内の草地（山砂土）において梅雨明け後、2～3日降雨がない日に深度 0～5cm，5～20cm のものを均一に採取し、これを 105℃で乾燥後、ふるい（2mm メッシュ）を通し乾燥細土を得て U-8 容器に分取したものを測定試料とした。

淡水：鈴鹿川の河川水を、三重県亀山市関町地内（勸進橋下）で 100L 採取し、酸固定（HCl(1+1)2mL/L），濃縮後、全量を U-8 容器に移し乾固して測定試料とした。

蛇口水：三重県四日市市の当所 1 階蛇口水を、100L 採取し濃縮後、全量を U-8 容器に移し乾固して測定試料とした。

さらに、福島第一原子力発電所の事故を受けたモニタリングの一環として、毎勤務日に蛇口水を 1.5L 採取し四半期ごとにまとめて濃縮後、全量を U-8 容器に移して乾固して試料としたものの測定

も実施した。

食品：精米および牛乳は、各年 1 回採取し、約 2kg を 2L マリネリ容器に入れ測定試料とした。農産物（茶，野菜），海産生物（まだい，あさり，わかめ）は、各年 1 回収穫時期に採取し、可食部約 4～8kg を、蒸発皿で炭化後、電気炉（450℃，24 時間）で灰化し、磨砕後、ふるい（0.35mm メッシュ）を通して異物を除去した上で U-8 容器に分取して測定試料とした。

これら測定試料は、Ge 半導体検出器で測定時間を 70,000 秒とし放射性核種の測定を行った。

3) 空間放射線量率測定

2012 年度から NaI シンチレーション式エネルギー補償型モニタリングポストが増設され、県内 4 カ所で空間放射線量率を連続測定する体制となった。既設の 1 基（北勢局）は三重県四日市市内にある当所屋上 18.6m の位置に検出器が設置されている。新設の 3 基はそれぞれ県伊賀庁舎（中勢伊賀局：三重県伊賀市），県伊勢庁舎（南勢志摩局：三重県伊勢市），県広域防災拠点施設（東紀州局：三重県尾鷲市）に設置しており、すべて地上 1m の位置に検出器を置き測定を実施している。4 基の測定データ（10 分値）はオンラインで国へ報告され、ホームページ上で公表されている³⁾。

あわせて、月 1 回（毎月第 2 週水曜日 10:00）当所前駐車場の地上 1m の位置で、シンチレーションサーベイメータによる測定を行った。測定は時定数を 30 秒とし 30 秒間隔で 5 回指示値を読み、平均値を算出することとした。

3. 採取・測定装置

1) 全ベータ放射能測定

採取装置：ステンレス製降水採取装置（受水面積：1,000cm²）

降雨量測定装置：(株)小笠原計器製作所製 C-R543 型雨量計

測定装置：日立アロカメディカル(株)製β線自動測定装置 JDC-3201

2) 核種分析

降下物採取装置：大型水盤(受水面積：5,000cm²)

大気浮遊じん採取装置：柴田科学(株)製ハイボリュームエアサンプラ HV-1000F

核種分析装置：キャンベラ製 Ge 半導体検出器 GC2519-DSA2000, GC2520-DSA1000

3) 空間放射線量率測定

モニタリングポスト：日立アロカメディカル(株)製環境放射線モニタ装置 MAR-21, MAR-22

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(株)製 TCS-171

結果および考察

1. 全ベータ放射能測定

全ベータ放射能の測定は、低レベルの放射能測定には必ずしも適当とは言えないが、放射性降下物、特に人工核種の放射能レベルの相互比較には著しく妥当性を欠くことなく用いることができることから^{1,4)}、年次変化や地域比較に有効な結果が得られる手法である。表2に2012年度に測定を実施した99件の結果を示した。2012年度は北朝鮮の核実験実施発表への対応のためのモニタリング強化により、5検体が欠測となった。降水中の全ベータ放射能は、99試料中19試料から検出された。検出された試料について核種分析を実施したが、人工放射線核種は検出されず、特に異常と判断される結果はなかった。

表2 定時降水中の全ベータ放射能測定結果

採取期間	降水量(mm)	試料数	検出数	降下量(MBq/km ²)
2012年 4月	280.0	12	4	49
5月	149.5	8	4	4.6
6月	484.0	9	-	N. D.
7月	218.5	10	-	N. D.
8月	212.5	11	2	11
9月	858.0	7	-	N. D.
10月	78.5	7	2	16
11月	108.0	11	1	6.7
12月	111.0	7	1	20
2013年 1月	59.5	6	2	9.1
2月	81.5	5 ^(*)	1	2.3
3月	63.5	6	2	22
2012年度	2,704.5	99	19	N. D. ~49
2011年度 ^(**)	2,591.5	22	6	8.8~24
2010年度	2,258.5	90	20	N. D. ~41
2009年度	1,932.5	101	18	N. D. ~30

注) N.D.: 不検出(計数値が計数誤差の3倍を下回るもの)

(*)2013年2月はモニタリング強化対応のため5検体欠測。

(**)2011年度は1~3月のみ測定を実施した。

2. 核種分析

原子力発電所の事故や核実験等により大気中に放出された放射性物質は、大気圏に拡散した場合は比較的短期間に、成層圏に注入された場合は数年程度までの滞留期間を経て徐々に降下するとされている¹⁾。これらによる外部被ばくとともに、呼吸や食物の摂取を通じて放射性核種が体内に取り込まれることによって長期に渡る被ばく(内部被ばく)が発生する⁵⁾。試料はこれを考慮し、体内への摂取量の指標として食品、大気浮遊じんを、

環境への流入量の指標として降下物、大気浮遊じん、淡水(河川水)、土壌を、環境での蓄積状況の指標として土壌、食品を選択した。

通常時から定量対象としている3核種は、大気圏拡散の指標として短半減期の核種⁶⁾のうちI-131(半減期8.02d)、大気圏拡散、成層圏拡散ともに影響の大きい比較的長半減期の核種⁶⁾の指標としてCs-137(半減期30.04y)、比較の指標として天然放射性核種のうちK-40(半減期 1.277×10^9 y)⁷⁾である。

表3 環境試料中の I-131, Cs-134, Cs-137 および K-40 濃度

試料	採取時期	試料数	単位	I-131	Cs-134 ^(*)	Cs-137	K-40		
降下物	2012年	4月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.074	1.96	
		5月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.049	0.83	
		6月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.057	0.90	
		7月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	
		8月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	
		9月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	N. D.	1.01	
		10月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.040	N. D.	
		11月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.051	0.70	
		12月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	
		2013年	1月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	N. D.	0.67
			2月	1	MBq/km ²	N. D.	0.064	0.126	N. D.
			3月	1	MBq/km ²	N. D.	N. D.	0.042	1.91
		2012年度	12	MBq/km ²	N. D.	N. D. ~0.064	N. D. ~0.126	N. D. ~1.96	
	1989~2011年度	276	MBq/km ²	N. D. ~13.3	N. D. ~18.4	N. D. ~17.7	N. D. ~57.9		
大気浮遊じん	2012年	4~6月	1	mBq/m ³	N. D.	N. D.	N. D.	0.249	
		7~9月	1	mBq/m ³	N. D.	N. D.	N. D.	0.264	
		10~12月	1	mBq/m ³	N. D.	N. D.	N. D.	0.258	
	2013年	1~3月	1	mBq/m ³	N. D.	N. D.	N. D.	0.262	
		2012年度	4	mBq/m ³	N. D.	N. D.	N. D.	0.249~0.264	
		1989~2011年度	92	mBq/m ³	N. D.	N. D. ~0.296	N. D. ~0.317	N. D. ~0.565	
淡水	2012年10月	1	mBq/L	N. D.	N. D.	N. D.	66.1		
(河川水)	2003~2011年度	9	mBq/L	N. D.	N. D.	N. D.	58.1~78.9		
土壌	2012年7月	1	Bq/kg 乾	N. D.	N. D.	1.03	744		
(0-5cm)	1989~2011年度	23	Bq/kg 乾	N. D.	N. D.	N. D. ~2.69	556~812		
土壌	2012年7月	1	Bq/kg 乾	N. D.	N. D.	N. D.	733		
(5-20cm)	1989~2011年度	23	Bq/kg 乾	N. D.	N. D.	N. D. ~1.63	593~856		

注) N.D.: 不検出 (計数値が計数誤差の3倍を下回るもの)
過去のデータの採取場所は、表1と異なるものがある。

(*)Cs-134は2010年度以前には測定対象としていないため、過去のデータは2011年度のもののみを記載した。

さらに2012年度から福島第一原子力発電所の事故を踏まえて、Cs-134 (半減期 2.06y)⁶⁾も対象としている。なお、蛇口水、精米、牛乳を除く食品試料は灰化して測定を行うため、I-131は対象としていない。

1) 環境試料

表3に2012年度における三重県内の降下物、大気浮遊じん、淡水、土壌のガンマ線核種分析結果を示す。

降下物からCs-134, Cs-137が、土壌表層(0-5cm)からCs-137が検出された。K-40は降下物の一部、大気浮遊じん、淡水、土壌から検出された。

Cs-134, Cs-137以外の人工放射性核種は検出されなかった。

降下物の結果は、検出濃度は事故前にCs-137が検出されていたレベルと同程度まで低下していたが、Cs-137の検出頻度が事故前と比較して高く、またCs-134が検出される月もあるなど依然事故の影響が観測された。

土壌表層についてはCs-137のみが検出され、その濃度も過去の検出値と同程度であり、平常の範囲内であると言える。

2) 食品試料

表4に2012年度における県内の蛇口水、県内で生産された精米、農産物(荒茶、ほうれんそう、だいこん)、牛乳、県近海でとれた海産生物(まだい、あさり、わかめ)のガンマ線核種分析結果を示す。

茶からCs-134, Cs-137が、まだいからCs-137が検出された。茶については、前年度から引き続きCs-134, Cs-137が検出され事故の影響が依然として確認されたが、検出値は大幅に低下していた。まだいにおけるCs-137の検出値は事故以前の結果⁸⁾と比較して特に高いものではなく平常の範囲であると考えられた。

2012年度の食品試料における検出値は、2012年4月に施行された食品の規格基準(飲料水10Bq/kg, 乳児用食品・牛乳50Bq/kg, 一般食品100Bq/kg)⁹⁾と比較して大きく下回る値であった。

K-40はすべての試料から検出されたが、表4に示した過去の結果および他県の結果⁸⁾との比較から、平常値の範囲と判断された。

食品試料においてもCs-134, Cs-137以外の人工放射性核種は検出されなかった。

表4 食品試料中のCs-134, Cs-137 およびK-40 濃度

試料	採取時期	試料数	単位	Cs-134 ^(*)	Cs-137	K-40
蛇口水	2012年 6月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	24.5
	1989～2012年度	37	mBq/L	0.408	N.D. ～0.434	17.6～69.9
蛇口水	2012年 4～6月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	17.2
	7～9月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	19.5
	10～12月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	20.4
	2013年 1～3月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	18.2
	2012年度	4	mBq/L	N.D.	N.D.	17.2～20.4
	2011年度	1 ^(**)	mBq/L	N.D.	N.D.	21.3
穀類(精米)	2012年 10月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	27.4
	1989～2011年度	23	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	21.9～34.2
茶(荒茶)	2012年 5月	2	Bq/kg 乾	0.370～0.436	0.517～0.643	551～579
	1989～2011年度	44	Bq/kg 乾	3.83～4.42	N.D. ～4.71	417～766
牛乳	2012年 8月	1	Bq/L	N.D.	N.D.	48.8
	1989～2011年度	37	Bq/L	N.D.	N.D.	32.0～51.8
ほうれんそう	2012年 11月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	141
	1989～2011年度	23	Bq/kg 生	N.D.	N.D. ～0.058	58.0～237
だいこん	2012年 12月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	95.7
	1989～2011年度	23	Bq/kg 生	N.D.	N.D. ～0.056	63.0～106
まだい	2012年 4月	1	Bq/kg 生	N.D.	0.165	172
	1994～2011年度	18	Bq/kg 生	N.D.	0.090～0.244	92.5～164
あさり	2012年 4月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	72.3
	2001～2011年度	11	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	31.9～83.2
わかめ	2013年 2月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	231
	1998～2011年度	14	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	105～278

注) N.D.: 不検出(計測値が測定誤差の3倍を下回るもの)

過去のデータの採取場所は、表1と異なるものがある

(*)Cs-134は2010年度以前には測定対象としていないため、過去のデータは2011年度のもののみを記載した。

(**)四半期ごとの蛇口水の測定は2011年度第4四半期から開始している。

表5 2012年度の空間放射線量率1(宇宙線による線量率(約30 nGy/h)を含まない)

測定年月	北勢局モニタリングポスト(nGy/h)				サーベイメータ(nGy/h)(地上1m)						
	測定回数	平均値	最大値	最小値	測定回数	測定値	平均値	最大値	最小値		
2012年	4月	720	47	61	44	1	80	-	-	-	
	5月	744	46	68	44	1	70	-	-	-	
	6月	720	46	59	44	1	66	-	-	-	
	7月	744	47	72	44	1	66	-	-	-	
	8月	744	45	61	44	1	68	-	-	-	
	9月	720	45	70	43	1	72	-	-	-	
	10月	744	46	58	44	1	71	-	-	-	
	11月	720	47	70	44	1	69	-	-	-	
	12月	744	47	70	45	1	69	-	-	-	
	2013年	1月	742 ^(*)	46	61	44	1	69	-	-	-
		2月	696	47	66	44	1	82	-	-	-
		3月	744	47	70	45	1	71	-	-	-
2012年度	8,782	46	72	43	12	-	71	82	66		
2011年度 ^(**)	8,782	47	81	43	199	-	68	90	60		
2010年度	8,757	47	75	41	-	-	-	-	-		
2009年度	8,732	46	70	42	-	-	-	-	-		

(*) 機器点検等のため欠測がある。

(**) 地上1mにおけるサーベイメータによる測定は2011年6月から開始した。

測定頻度は2011年6月から12月までは毎日、2012年1月から3月までは現在と同じ月1回である。

表6 2012年度の空間放射線量率2（宇宙線による線量率(約30 nGy/h)を含まない)

測定年月	中勢伊賀局 (nGy/h)			南勢志摩局 (nGy/h)			東紀州局 (nGy/h)				
	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	最小値		
2012年	4月	64	78	60	53	69	50	92	109	90	
	5月	63	71	61	53	82	51	92	115	90	
	6月	62	73	60	53	66	48	92	104	89	
	7月	63	81	59	53	73	50	92	110	90	
	8月	62	72	59	53	63	51	91	104	89	
	9月	65	84	61	55	78	51	91	125	89	
	10月	66	87	63	53	76	50	92	121	90	
	11月	66	88	64	53	75	50	92	109	90	
	12月	67	108	64	53	77	51	92	108	90	
	2013年	1月	66	82	63	52	79	50	91	102	90
		2月	67	90	63	53	68	50	92	117	90
		3月	66	102	64	52	84	50	91	120	90
2012年度	65	108	59	53	84	48	92	125	89		

3. 空間放射線量率測定

表5および6に2012年度の三重県内におけるモニタリングポストによる連続空間放射線量率およびサーベイメータによる空間放射線量率の測定結果を示す。ここでは、従前から報告してきた1時間値の平均値、最大値、最小値を示している。各局の最大値は降雨時に観測され、天候による上昇によるものと判断された。

ここ数年、北勢局モニタリングポストでの測定結果は、降雨時を除くとほぼ45~50nGy/hの範囲で推移しており、過去3年間の結果と比較しても、2012年の測定結果は平年どおりといえる。

新設の3基のモニタリングポストについては、過去のデータがないため評価はできないが、他都道府県の観測値³⁾と比較して異常な値は観測されていないこと、過去の県内のサーベイメータによる空間放射線量率調査結果¹⁰⁾から、2012年度の観測値が平常の状態としてよいと考えられた。東紀州局が他の局と比較し高い値となるのは、この地域が花崗岩質の地質であるためと推定される¹⁰⁾。

空間放射線量率を測定することで、公衆の線量当量を外部被ばく推定式(1)^{4,11)}により推定することができる。それぞれの地点の2012年度の年平均値を式(1)により換算すると、北勢局46nSv/h、中勢伊賀局65nSv/h、南勢志摩局53nSv/h、東紀州局92nSv/hとなり、すべての局で公衆の年線量当量限度(1mSv/年)⁴⁾の時間換算量(114nSv/h)を下回っており問題のない結果であると言える。

$$\text{Hex(Sv)} = \text{Dex(Gy)} \times 1.0 \cdots (1)$$

Hex(Sv)：時間当たりの(実効)線量当量

Dex(Gy)：時間当たりの(空気)吸収線量

2012年度も福島第一原子力発電所事故を考慮し換算係数は緊急時の1.0を用いた。

地上1mでのサーベイメータによる測定についても、異常値は観測されていず、機器の精度、回数および測定条件等から、結果が変動しやすく、モニタリングポストの測定値より高い値を示す傾向があることを考慮すると、平常値の範囲と判断された。

異常時に的確に対応するためには、さらに観測を継続して平常時における各地域の空間放射線量率の変動幅などについて把握しておく必要があると思われる。

4. モニタリング強化

モニタリング強化の実施内容は「環境放射能水準調査委託実施計画書」(文部科学省)¹⁾に定められており、モニタリングポストによる空間放射線量率連続測定の監視強化と大気浮遊じん、降下物および降水についてガンマ線核種分析を実施することとされている。

2012年度は北朝鮮の核実験実施発表があった2月12日から2月22日まで11日間モニタリング強化を行った。

1)空間放射線量率連続測定の監視強化

モニタリングポストの連続測定データは現在オンラインで国へ報告されているため、10分間値がリアルタイムで公表³⁾されたが、ここでは、期間中の1時間値の最大値、最小値、平均値を表7に示した。降雨による上昇は見られたが、核実験実施発表前と比較し大きな変動はなく、影響は認められなかった。

2)ガンマ線核種分析

①大気浮遊じん

通常のモニタリングで実施する方法と同様に24時間集じんを行ったろ紙を円形に打ち抜き分取してU-4容器に充填したものを測定試料とした。この測定試料を測定時間20,000秒でガンマ線核種分析を行った。

②降下物および降水

通常モニタリングにおいて全β放射能測定に使用している水盤降水採取装置を用い24時間の降下物および降水を採取した。降水が80mL以上採取された場合は80mLを分収し、80mL未満の場合は全量をU-8容器に充填し測定試料とした。降水がなかった場合は採取装置内を少量の純水で洗浄し洗浄液をU-8容器に充填し試料とした。この測定試料を測定時間20000秒でガンマ線核種分析を行った。

大気浮遊じん、降下物および降水とも核種分析の結果、人工放射性核種は検出されず核実験の影響は認められなかった。

表7 モニタリング強化期間の空間放射線量率

	nGy/h	平均値	最大値	最小値
北勢局	期間前	47	61	44
	期間中	47	66	45
中勢伊賀局	期間前	66	89	63
	期間中	68	90	64
南勢志摩局	期間前	53	68	51
	期間中	53	66	51
東紀州局	期間前	92	111	90
	期間中	93	117	90

期間前：2013年2月1日～11日

期間中：2013年2月12日12:00～22日9:00

まとめ

1. 2012年度の三重県定点における降水中の全ベータ放射能測定からは、特に異常なデータは得られなかった。
2. 2012年度の環境試料(降下物、大気浮遊じん、陸水、土壌)および食品試料(蛇口水、農産物、水産物)中のガンマ線放出核種の測定結果では、人工放射性核種であるCs-137、Cs-134が一部試料から検出され、福島第一原子力発電所事故の影響が認められた。検出濃度は前年度と比較して低下しており問題となるものではないと考えられるが、今後も調査を継続し推移を把握していく必要があると考えられる。
3. 2012年度の三重県定点におけるモニタリングポストによる連続測定、サーベイメータを用いた月1回の測定では、空間放射線量率の異常値

は観測されなかった。

4. 2013年2月12日の北朝鮮核実験実施発表への対応として行ったモニタリング強化では、異常は観測されなかった。

本報告は、2012年度エネルギー対策特別会計に基づく文部科学省からの受託事業として、三重県が実施した「環境放射能水準調査」の成果である。

文 献

- 1) 文部科学省科学技術・学術政策局原子力安全課防災環境対策室：環境放射能水準調査委託実施計画書(2012).
- 2) モニタリング調整会議：「総合モニタリング計画」(2011)。
- 3) 原子力規制庁ホームページ「放射線モニタリング情報」<http://radioactivity.nsr.go.jp/ja/>
- 4) 原子力安全委員会：環境放射線モニタリング指針(2008).
- 5) 放射線医学総合研究所：特別研究「環境における放射性物質の動態と被ばく線量算定に関する調査研究」最終報告書(1999).
- 6) (社)日本アイソトープ協会：アイソトープ手帳11版、丸善(2011).
- 7) Measurement of Radionuclides in Food and the Environment / A Guidebook, IAEA, VIENNA (1989).
- 8) (財)日本分析センター：平成5年度～平成22年度環境放射能水準調査結果総括資料.
- 9) 2012年3月15日付け食安発0315第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二の(一)の(1)の規定に基づき厚生労働大臣が定める放射性物質を定める件及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」。
- 10) 尾辺俊之、富森聡子、橋爪 清：三重県内の空間放射線量率について、三重県衛生研究所年報No.39,93-98 (1993).
- 11) 吉岡満夫：公衆の被ばく線量評価、中島敏行編 緊急時における線量評価と安全への対応、放射線医学総合研究所、17-40(1994).

資料

2012年度の先天性代謝異常等検査の概要

小林章人, 前田千恵, 楠原 一, 永井佑樹, 小林隆司

Report of Neonatal Mass-Screening in 2012 Fiscal Year

Akihito KOBAYASHI, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA, Yuhki NAGAI and Takashi KOBAYASHI

三重県における先天性代謝異常等検査事業は三重県先天性代謝異常等検査実施要綱に基づき、アミノ酸代謝異常症3疾患、ガラクトース血症、先天性副腎過形成症および甲状腺機能低下症の6疾患を対象に実施している。2012年度は県内の新生児のうち保護者が希望した16,208件について検査を実施した。そのうち疑陽性と判定し再採血を依頼した検体は計415件であり、精密検査を依頼した検体はガラクトース血症1件、先天性副腎過形成症33件、先天性甲状腺機能低下症17件、有機酸代謝異常症1件の計52件であった。また確定患者数は、先天性甲状腺機能低下症の4人であった。

キーワード：先天性代謝異常等検査、先天性副腎過形成症、先天性甲状腺機能低下症

はじめに

先天性代謝異常症とは遺伝子変異の結果、特定の蛋白質が合成されないために発症する疾患、ある種の酵素の異常や到達経路の異常により代謝されるべき物質の貯留によって発症する疾患であると定義されている¹⁾。現在では、酵素化学的研究および分子遺伝学的研究の進展に伴い遺伝子異常の本態が明らかになりつつあるが、その病態に関しては不明な部分が多く、病因解明に比し治療法の遅れが指摘されている²⁾。

内分泌疾患である先天性甲状腺機能低下症 (Congenital hypothyroidism) と先天性副腎過形成症 (Congenital adrenal hyperplasia, CAH) は特定物質の合成障害に起因する疾患である。一方、フェニルケトン尿症 (Phenylketonuria, PKU)、メープルシロップ尿症 (Maple syrup urine disease, MSUD)、ホモシスチン尿症 (Homocystinuria, HCU)、ヒスチジン血症 (Histidinemia) およびガラクトース血症 (Galactosemia) は中間代謝産物の蓄積に起因する疾患である。先天性代謝異常等症は治療困難なものが多いが、上記7疾患は可及的早期に診断、治療を開始すれば、機能障害などに陥ることを予防できる。

新生児を対象とした先天性代謝異常症マス・スクリーニング事業は、1977年10月から全国

的に開始され、三重県においても1977年11月から県内で出生した新生児を対象に5疾患 (フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、ヒスチジン血症およびガラクトース血症) について検査が開始された。次いで1979年から先天性甲状腺機能低下症、1989年から先天性副腎過形成症がその対象疾患に追加された。しかし、ヒスチジン血症は、1994年に中止され、現在は上記6疾患についてマス・スクリーニングを行い早期発見に努めている。

検査方法と材料

1. 検査方法

検査対象の疾患であるPKU, MSUD, HCUの3疾患については、アミノ酸の代謝過程における酵素または補酵素の欠損によりPKUではフェニルアラニン、MSUDではロイシン、イソロイシンおよびバリン、HCUではメチオニンの血中濃度がそれぞれ高値となることから、検査ではそれぞれのアミノ酸 (MSUDではロイシン) を指標とするBIA法 (Bacterial inhibition assay)³⁾を用いて検査を実施した (表1)。

ガラクトース血症については、表2に示すようにPaigen (吉田) 法⁴⁾により検査を実施し、BIA法と同様に寒天プレート上で判定した。

表1 BIA法 (Bacterial inhibition assay)

測定項目	対象疾患	試薬等		カットオフ値 アミノ酸濃度 (mg/dL)
		枯草菌 (ATCC)	代謝拮抗阻害剤	
Phenylalanine	フェニルケトン尿症	6633	β -2-thienyl-alanine	4
Methionine	ホモシチン尿症	6633	L-methionine-DL-sulfoximine	2
Leucine	メーブルシロップ尿症	6015	4-aza-DL-leucine	4

表2 Paigen法

測定項目	対象疾患	試薬等	カットオフ値 濃度 (mg/dL)
Galactose	ガラクトース血症	吉田法	8

先天性甲状腺機能低下症, 先天性副腎過形成症の2疾患については, ELISA法によりそれぞれ甲状腺刺激ホルモン (Thyroid stimulating hormone, TSH), 17α -水酸化プロゲステロン (17-OHP) の濃度を測定した. (この2疾患については検査を三重大学医学部小児科に委託). 先天性有機酸代謝異常症と先天性脂肪酸代謝異常症については「先天性代謝異常の新しい検査法 (タンデムマス法) について」の通知による16疾患⁵⁾についてタンデムマス法にて実施した.

2. 材料

検体は生後5~7日目 (哺乳開始後4日以降) の新生児血液を規定の濾紙に径1cm位まで充分しみ込ませて採血し^{6,7)}, 涼風乾燥後, 当研究所に郵送されたものを検査材料とした. 検査に

は乾燥した濾紙血液を直径3mmに打ち抜いたディスクを使用した.

結果

1. 検査実施状況

2003年度から2012年度までの10年間の検査実施状況を表3に示した. 2012年度の検査総数は16,208件であり, 少子化を反映して, 2008年度以降減少傾向にある.

10年間の総検査受付数は171,499件, 再検査依頼数は4,589件であった. 検査の結果, 精密検査を依頼した件数は519件であり, 先天性副腎過形成症が318件, 先天性甲状腺機能低下症が190件と多く, ガラクトース血症が9件, フェニルケトン尿症が1件, 先天性有機酸代謝異常症が1件であった.

また確定患者数は63名で, 先天性甲状腺機能低下症が55名と最も多く, 次いで先天性副腎過形成症が6名, フェニルケトン尿症とガラクトース血症が各1名であった⁸⁻¹⁾.

表3 10年間の先天性代謝異常症等検査実施状況

年度	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	計
検査受付数	17,494	17,239	16,947	17,625	17,649	17,572	17,193	16,920	16,652	16,208	171,499
再検査依頼数	429	386	398	425	490	491	478	544	504	444	4,589
精密検査依頼数											
フェニルケトン尿症	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
メーブルシロップ尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ホモシチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ガラクトース血症	2	0	0	1	1	3	0	0	1	1	9
先天性副腎過形成症	19	27	32	32	51	35	34	22	33	33	318
先天性甲状腺機能低下症	40	24	12	11	22	14	23	9	18	17	190
先天性有機酸代謝異常症*										1	1
確定患者数											
フェニルケトン尿症	0	0			1	0	0	0	0	0	1
メーブルシロップ尿症	0	0			0	0	0	0	0	0	0
ホモシチン尿症	0	0			0	0	0	0	0	0	0
ガラクトース血症	1	0			0	0	0	0	0	0	1
先天性副腎過形成症	3	2			1	0	0	0	0	0	6
先天性甲状腺機能低下症	10	8			6	7	10	8	6	4	55
検体不備	138	92	54	83	69	64	58	40	45	67	710

*2013年3月よりタンデムマス法により実施

2. 検査結果

表4に初回で受付した検体（検査受付数－再検査依頼数）の検査結果を示した。初回受付した検体は、15,764件でそのうち疑陽性で再採血依頼となったのが415件、精密検査依頼となったのが30件、検体不備で再採血依頼となったのが67件であった。疑陽性で再採血依頼となった415件の内訳は先天性甲状腺機能低下症が222件と最も多く、次いで先天性副腎過形成症184件、ガラクトース血症4件、先天性有機酸代謝異常症が3件、先天性脂肪酸代謝異常症が1件であった。また、精密検査依頼となった30件のうち最も多かったのは先天性副腎過形成症で22件、先天性甲状腺機能低下症が7件、先天性有機酸代謝異常症が1件であった。

表4 初回受付分の先天性代謝異常等検査結果

受付 件数	結果				
	正常	疑陽性 (再採血 依頼)	精密 検査 依頼	検体不備 (再採血 依頼)	
フェニルケトン尿症		0	0	0	
メープルシロップ尿症		1	0	0	
ホモシスチン尿症		0	0	0	
ガラクトース血症		4	0	0	
先天性副腎過形成症		184	22	0	
先天性甲状腺機能低下症		222	7	0	
先天性有機酸代謝異常症*		3	1	0	
先天性脂肪酸代謝異常症**		1	0	0	
計	15,764	15,252	415	30	67

*, **2013年3月よりタンデムマス法により実施

表5に疑陽性により再採血を依頼した事例について、疾患別の割合を示した。検査受付数に対する再採血依頼数の割合（再採血率）は2.63%で、昨年度と同程度であった。疑陽性による再採血の依頼数は、先天性甲状腺機能低下症が222件（再採血依頼率1.41%）で最も多く、次いで先天性副腎過形成症が184件（同1.17%）、ガラクトース血症が4件（同0.03%）、先天性有機酸代謝異常症が3件（同0.02%）、メープルシロップ尿症および先天性脂肪酸代謝異常症が1件（同0.01%）であった。

再採血依頼数に対して再検査依頼数は、メープルシロップ尿症と先天性甲状腺機能低下症でそれぞれ1件少なかった。これは、精密検査を実施せず治療を開始した事例が1件、死亡による事例が1件であった。

表6に検体不備の内訳を示した。

検体不備により再採血を依頼した数は67件であった。不備となった理由の内訳は、抗生剤等を使用していて判定ができなかった検体が52件と最も多く、全体の77.6%を占めた。他に採血が早い（採血が哺乳開始4日未満）が7件、

ほとんど哺乳不能が5件、染みこみ不足が2件、ろ紙の汚染が1件であった。

検体不備と判定した検体のうち、出生体重2,000g以下の未熟児は20件で、その内訳は抗生剤等による判定不能が19件、ほとんど哺乳不能が1件であった。抗生剤等の使用による判定不能の検体で未熟児の占める割合は36.5%でほとんど哺乳不能の検体で未熟児の占める割合は20.0%であった。

表5 疾患別再採血依頼数

疾患名	再採血 依頼数	再採血 依頼率 (%)	精密 検査 依頼数	再検査 依頼数
フェニルケトン尿症	0	0	0	0
メープルシロップ尿症	1	0.01	0	0
ホモシスチン尿症	0	0	0	0
ガラクトース血症	4	0.03	1	4
先天性副腎過形成症	184	1.17	33	184
先天性甲状腺機能低下症	222	1.41	17	221
先天性有機酸代謝異常症*	3	0.02	1	3
先天性脂肪酸代謝異常症**	1	0.01	0	1
計	415		52	413

*, **2013年3月よりタンデムマス法により実施

表6 検体不備

理由	件数	(%)	うち 未熟児	(%)
抗生剤等による判定不能	52	77.6	19	36.5
採血が早い	7	10.4	0	0
ほとんど哺乳不能	5	7.5	1	20.0
染みこみ不足	2	3.0	0	0
ろ紙の汚染	1	1.5	0	0
計	67	100	20	

表7に再検査依頼で受付した検体の検査結果を示した。

アミノ酸代謝異常の3疾患による再検査は0件であった。ガラクトース血症による再検査で受付した検体は4件であり、1件が精密検査依頼となった。先天性副腎過形成症による再検査で受付した検体は184件で、10件が精密検査依頼となった。先天性甲状腺機能低下症の再検査で受付した検体は221件で、9件が精密検査依頼となった。先天性有機酸代謝異常症および先天性脂肪酸代謝異常症の再検査で受付した検体はそれぞれ3件、1件であったが、精密検査依頼はなかった。また、検体不備で受付した検体は67件のうち、1件が先天性副腎過形成症および先天性甲状腺機能低下症の精密依頼、1件が

先天性副腎過形成症の精密検査依頼となった。

表 7 先天性代謝異常等症の再検査依頼結果

	件数	結果			
		正常	疑陽性 (再々採 血依頼)	精密 検査 依頼	検体不備 (再々採 血依頼)
フェニルケトン尿症	0				
メープルシロップ尿症	0				
ホモシスチン尿症	0				
ガラクトース血症	4	3	0	1	0
先天性副腎過形成症	184	174	0	10	0
先天性甲状腺機能低下症	221	212	0	9	0
先天性有機酸代謝異常症*	3	3	0	0	0
先天性脂肪酸代謝異常症**	1	1	0	0	0
検体不備	67	65	0	3***	0

***2013年3月よりタンデムマス法により実施

***先天性副腎過形成症と先天性甲状腺機能低下症の精密検査が重複する検体が1件あった

まとめ

2012 年度における先天性代謝異常等検査は、検査受付数 16,208 件のうち疑陽性による再採血依頼が 415 件、検体不備による再採血依頼が 67 件、精密検査依頼は先天性副腎過形成症が 33 件、先天性甲状腺機能低下症が 17 件、ガラクトース血症が 1 件、先天性有機酸代謝異常症が 1 件であった。また、確定患者数は先天性甲状腺機能低下症が 4 人であった。

文 献

- 1) 藪内百治：先天性代謝異常，日本医事新報，No.3279，23-28 (1987).
- 2) 北川昭雄：アミノ酸代謝異常症，酵素障害の多様性と脳障害，脳と発達，4，387-500 (1972).
- 3) Guthrie, G. : Blood screening for phenylketonuria, J.A.M.A., 178, 863 (1961).
- 4) 成瀬 浩，松田一郎：新生児マススクリーニングハンドブック，233-239，東京南江堂 (1989).
- 5) 2011 年 3 月 31 日付け雇児母発 0331 第 1 号厚

生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知：「先天性代謝異常の新しい検査法（タンデムマス法）について」。

- 6) Guthrie,G. and Susi,A. : Blood screening for phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large population of new-born infants, Pediatrics, 32, 338-343 (1963).
- 7) 梅橋豊蔵：濾紙血の採取法・採血時期・保存法，日本マス・スクリーニング学会誌，Vol.8，Supplement2，24-27 (1998).
- 8) 山中葉子，橋爪 清：2003 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究部年報，No.6，92-94 (2004).
- 9) 山中葉子，橋爪 清：2004 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究部年報，No.7，95-98 (2005).
- 10) 永井佑樹，山中葉子，橋爪 清：2005 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究部年報，No.8，116-119 (2006).
- 11) 永井佑樹，山内昭則，矢野拓弥，永田克行：2006 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究部年報，No.9，83-86 (2007).
- 12) 永井佑樹，前田千恵，永田克行：2007 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究所年報，No.10，95-98 (2008).
- 13) 永井佑樹，前田千恵，田沼正路：2008 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究所年報，No.11，143-147 (2009).
- 14) 楠原 一，永井佑樹，田沼正路：2009 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究所年報，No.12，122-125 (2010).
- 15) 大久保和洋，楠原 一，片山正彦：2010 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究所年報，No.13，88-91 (2011).
- 16) 前田千恵，楠原 一，永井佑樹，片山正彦：2011 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究部年報，No.14，119-122 (2012).

資料

2012年感染症発生動向調査結果

楠原 一, 矢野拓弥, 赤地重宏, 前田千恵,
永井佑樹, 岩出義人*, 小林隆司

The Reports of Infectious Disease Surveillance in 2012

Hajime KUSUHARA, Takuya YANO, Shigehiro AKACHI, Chie MAEDA,
Yuhki NAGAI, Yoshito IWADA and Takashi KOBAYASHI

2012年1月1日～12月31日までに県内の病原体検査定点医療機関等から検査依頼のあった患者数は683人であった。疾患別の内訳は、感染性胃腸炎214人、リケッチア感染症57人、インフルエンザ46人、ヘルパンギーナ27人、不明発疹症23人の順に多かった。これらのうち、456人(67%)から病原体が分離・検出された。

主な分離・検出病原体はノロウイルスGⅡ型(NV-GⅡ)、ライノウイルス、日本紅斑熱リケッチア、ヒューマンメタニューモウイルス(HMPV)、A群ロタウイルス(RoA)、パラインフルエンザウイルス(Parainf)、RSウイルス、インフルエンザウイルスAH3型(InfAH3)であり、疾患によって様々な病原体が関与していることが明らかとなった。

キーワード：感染症発生動向調査, 病原体検査定点, 感染性胃腸炎, 日本紅斑熱, 風しん

はじめに

感染症発生動向調査の目的は、医療機関の協力を得て、感染症の患者発生状況を把握し、病原体検索により当該感染症を微生物学的に決定することで流行の早期発見や患者の早期治療に資することにある。また、感染症に関する様々な情報を収集・提供するとともに、積極的疫学調査を実施することにより、感染症のまん延を未然に防止することでもある。

そこで三重県では、1979年から30年以上にわたって本事業を続けてきた。その結果、麻しんや風しん等、季節消長の明らかであった疾患が、発生数の減少や流行規模の縮小により最近では季節性が薄れている一方で^{1,2)}、検査技術の進歩により、多くの疾患で新たなウイルスや多様性に富んだ血清型や遺伝子型を持つウイルスの存在が明らかになる等³⁻⁵⁾、これまでの本事業の検査成績から種々の興味深い事実が判明した。

感染症における病原微生物の決定には臨床所見以外にもPCR法、Real time PCR法等の遺伝

子的検査、ウイルス分離および同定を主としたウイルス学的検査、血清学的検査等総合的な検査が必須である。

以下、2012年の感染症発生動向調査対象疾患の検査定点医療機関等で採取された検体について、病原体検査状況を報告する。

方 法

1. 動向調査定点医療機関

感染症発生動向調査5類感染症患者定点および病原体検査定点の医療機関数を表1に示した。昨年に比べて性感染症(STD)定点医療機関数が2機関増え、17ヶ所になった^{6,7)}。

2. 対象疾患および検体

1) 対象疾患

対象疾患は、三重県感染症発生動向調査事業実施要綱⁷⁾に記された対象感染症であるが、一部対象外の疾患(気管支炎、咽頭炎、扁桃炎等)についても必要と判断された場合について検査対象とした。

※津保健所総合検査室

表 1. 感染症発生動向調査 5 類感染症および病原体検査定点医療機関数

定点種別	インフルエンザ		小児科	眼科	STD	基幹	合計
	内科	小児科					
患者定点	27	45	45	12	17	9	155
病原体検査定点	3	6	6	1		9	25

2) 検体

三重県感染症発生動向調査病原体検査指針⁷⁾に基づき、病原体定点および一部定点外の医療機関において 2012 年 1 月から 12 月までの間に採取された咽頭拭い液、鼻汁、糞便、嘔吐物、髄液、尿、血液、皮膚病巣等を検体とした。

3. 病原体の分離・検出方法

腸管系ウイルス、呼吸器系ウイルス、リケッチアなどの病原体検索は、主に国立感染症研究所の病原体検出マニュアル⁸⁾に準拠し、ELISA 法などによる抗原検出や各種 PCR 法による特異遺伝子の検出、血清学的検査等により行った。

ウイルス分離には各種細胞 (HEp-2, MDCK, RD, Vero9013 等) を使用し、必要に応じて継代培養を行い、細胞変性効果 (CPE) をウイルス分離の指標とした。CPE の認められたものについては、抗血清を用いた中和試験法や PCR 法により分離ウイルスの同定を行い、必要に応じて PCR 産物の遺伝子配列解析を実施し遺伝子型別等を決定した。

結 果

1. 疾患別患者数および分離・検出病原体

2012 年疾患別月別検査患者数、疾患別病原体検出患者数および疾患別月別病原体検出患者数を表 2~4 に示す。

疾患別検査患者数は、感染性胃腸炎 214 人、リケッチア感染症 57 人、インフルエンザ 46 人、ヘルパンギーナ 27 人、不明発疹症 23 人の順であった。その他として、気管支炎や咽頭炎、扁桃炎などが 237 人であった (表 2)。月別検査患者数は、感染性胃腸炎は年間を通して検査依頼があった。リケッチア感染症は夏から秋に、インフルエンザ様疾患は冬から春に、ヘルパンギーナは主に夏に、不明発疹症は春から夏に検査依頼が多かった (表 2)。

検査依頼のあった患者 683 人中、病原体が検出されたのは 456 人 (67%) であった。主な分離・検出病原体と検出された人数は、複数の病

原体が検出された患者を含めると、NV-G II が 70 人、ライノウイルスが 63 人、日本紅斑熱リケッチアが 44 人、HMPV が 37 人、Parainf と RoA がそれぞれ 31 人であった (表 3,4)。

1) 感染性胃腸炎

感染性胃腸炎患者 214 人中 129 人からウイルス遺伝子等が検出された。内訳は NV-G II が 70 人、RoA が 31 人 (G1 型 28 人, G3 型 2 人, G9 型 1 人)、サポウイルスが 20 人 (G I 型 10 人, G II 型 10 人) から検出された。その他、アデノウイルス 40/41 型等が検出された (表 4)。

2) リケッチア感染症

リケッチア感染症は、患者 57 人中 44 人より日本紅斑熱リケッチアの病原体遺伝子あるいは有意な抗体が検出された (表 4)。

3) インフルエンザ

インフルエンザ患者 46 人中 37 人からウイルスあるいはウイルス遺伝子が検出された。内訳は主に InfAH3 型が 19 人、InfB 型が 14 人であった (表 4)。

4) ヘルパンギーナ

ヘルパンギーナ患者 27 人中 18 人からウイルスあるいはウイルス遺伝子が検出され、ライノウイルスが 10 人で最も多かった。その他アデノウイルス 2 型、コクサッキーウイルス A2 (CA-2)、CA-4 等が検出された (表 4)。

5) 麻しん・風しん

麻しんもしくは風しんの患者 28 人中 20 人からウイルス遺伝子が検出された。内訳は主に風しんウイルスが 9 人、ヒトヘルペスウイルス 6B 型 (HHV-6B) が 7 人から検出された (表 4)。

6) その他

主に呼吸器系疾患を呈した気管支炎等の患者 239 人中 187 人よりウイルスあるいはウイルス遺伝子が検出された。その内訳は、ライノウイルスが最も多く 47 人、次に HMPV が 37 人、Parainf が 31 人 (1 型 8 人, 2 型 15 人, 3 型 5 人, 4 型 3 人)、RS ウイルスが 24 人と続いた。他に C 型インフルエンザウイルス、コロナウイルス等が検出された (表 4)。

表2. 疾患別月別検査患者数

疾患名	月別検査患者数												合計
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
リケッチア感染症			1	2	3	6	2	14	7	15	4	3	57
デング熱											1		1
デング熱・マラリア							1						1
マラリア					1								1
急性脳炎		1		1	2	2	1	1	1		1	1	11
破傷風										1			1
風しん			1			2	2	3		4	1		13
麻しん		2	2					1		1	2	2	10
麻しん・風しん									1	2	2		5
インフルエンザ	18	11	4	3	1	2					1	6	46
RSウイルス感染症								1					1
咽頭結膜熱	1												1
感染性胃腸炎	28	14	18	26	15	15	10	12	14	12	24	26	214
水痘											1		1
手足口病	1	2		1	2	2	2		2			1	13
伝染性紅斑												1	1
突発性発疹	3	1					1				1		6
百日咳								2	3		1		6
ヘルパンギーナ		1	1	1	7	8	3	2				4	27
無菌性髄膜炎					1	1	2		3				7
不明発疹症	1	1		4	2	2	2	4	2	2	3		23
その他	24	40	40	30	14	9	13	14	14	20	11	8	237
合計	76	73	67	68	48	49	39	54	47	57	53	52	683

表3. 疾患別病原体検出患者数

同定病原体	疾患名および検出数														合計			
	リケッチア 感染症	デング熱 マラリア	急性脳炎	風しん	麻疹	麻疹 風しん	インフル エンザ	RSウイルス 感染症	感染性 胃腸炎	手足口病	突発性 発疹	百日咳	ヘルパン ギーナ	無菌性 髄膜炎		不明 発疹症	その他	
Ad-1																2	2	
Ad-2							1		1				1			4	7	
Ad-40/41									5								5	
AstV-1型									3								3	
CA-2			1										3				4	
CA-4										1			3			1	5	
CA-9														1	1		2	
CA-16										2							2	
CoronaV																11	11	
CytomegaloV						1							1	1			3	
DengueV-Type1		1															1	
E-6									4								4	
E-7									1								1	
HHV-1																1	1	
HHV-6																1	1	
HHV-6B				1	2	2				2							7	
HMPV																36	36	
HBocaV								1								7	8	
InfAH3								19								2	21	
InfB								14									14	
InfC																15	15	
MeaslesV-A型(ワクチン由来株)						3											3	
M. pneumoniae			1														1	
NV-G II									65								65	
Parainf-1型																8	8	
Parainf-2型																15	15	
Parainf-3型																5	5	
Parainf-4型																3	3	
PolioV-2型(ワクチン由来株)									1								1	
PolioV-3型(ワクチン由来株)									1								1	
RhinoV									1	1			7		3	44	56	
R. japonica	44																44	
RoA-G1																23	23	
RoA-G3									1								1	
RoA-G9									1								1	
RSV								1							1		24	26
RubellaV-1E				1														1
RubellaV-2B				5	1	2												8
SV-G I									7									7
SV-G II									5									5
Ad-1 & CytomegaloV																1	1	
Ad-2 & CytomegaloV																1	1	
Ad-2 & CytomegaloV & RhinoV																1	1	
Ad-2 & InfC							1										1	
Ad-2 & RhinoV													2			2	4	
Ad-5 & RhinoV													1				1	
Ad-6 & CytomegaloV																1	1	
Ad-40/41 & SV-G II									1								1	
CytomegaloV & EBV							1									1	2	
EBV & HHV-6			1														1	
EBV & HHV-6B						1										1	2	
HHV-6B & RhinoV																1	1	
HHV-6B & HSV				1													1	
HMPV & HBocaV																1	1	
NV-G I & RoA-G1									1								1	
NV-G II & SV-G I									2								2	
NV-G II & SV-G II									2								2	
NV-G II & RoA-G1									1								1	
RoA-G1 & SV-G I									1								1	
RoA-G1 & SV-G II									1								1	
RoA-G1,3 & SV-G II									1								1	
O. tsutsugamushi-kawasaki型	1																1	
合計	45	1	3	8	8	4	37	1	129	4	2	1	18	2	6	187	456	

Ad: アデノウイルス, AstV: アストロウイルス, CA: コクサッキーウイルスA, CB: コクサッキーウイルスB, CoronaV: コロナウイルス, CytomegaloV: サイトメガロウイルス, DengueV: デング熱ウイルス, E: エコーウイルス, EBV: EBウイルス, HHV: ヒトヘルペスウイルス, HMPV: ヒトメタニューモウイルス, HBocaV: ヒトボカウイルス, HSV: 単純ヘルペスウイルス, InfAH1: インフルエンザAH1型, InfAH3: インフルエンザAH3型, InfB: インフルエンザB型, InfC: C型インフルエンザウイルス, MeaslesV: 麻疹ウイルス, M. pneumoniae: マイコプラズマニューモニエ, NV: ノロウイルス, O. tsutsugamushi: ツツガムシ(病)リケッチア, Parainf: パラインフルエンザウイルス, PolioV: ポリオウイルス, RhinoV: ライノウイルス, R. japonica: 日本紅斑熱リケッチア, RoA: A群ロタウイルス, RSV: RSウイルス, RubellaV: 風しんウイルス, SV: サボウイルス

表 4. 疾患別月別病原体検出患者数

疾患名	検出病原体名	月別病原体検出患者数												合計	総計	依頼患者数
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月			
リケッチア感染症	<i>R. japonica</i>			1	1	3	4	2	9	7	14	3		44	45	57
	<i>O. tsutsugamushi</i> -kawasako型											1		1		
デング熱・マラリア	DengueV-Type1							1						1	1	1
	CA-2								1						1	3
急性脳炎	<i>M. pneumoniae</i>					1								1	1	11
	EBV&HHV-6B												1	1	1	1
風しん	HHV-6B			1										1	8	13
	RubellaV-1E								1					1	1	1
	RubellaV-2B								1	2		2		5	1	3
	HHV-6B&HSV												1	1	1	1
麻疹	CytomegaloV													1	8	10
	HHV-6B												1	1	2	1
	MeaslesV-A型(ワクチン由来株)			2										1	1	3
	RubellaV-2B								1					1	1	3
麻疹・風しん	EBV&HHV-6B												1	1	1	1
	HHV-6B										1	1	1	2	4	5
インフルエンザ	RubellaV-2B									1	1			2	2	2
	InfA/H3	6	7		1									5	19	37
	InfB	6	3	1	2			2							14	46
	Ad-2			1											1	1
	HBocaV					1									1	1
RSウイルス感染症	Ad-2&InfC												1	1	1	1
	CytomegaloV&EBV													1	1	1
感染性胃腸炎	RSV								1					1	1	1
	Ad-2													1	129	214
	Ad-40/41				1	1					1	1	1	1	5	5
	AstV-1型							2	1						3	3
	E-6										1	1	2		4	4
	E-7												1		1	1
	NV-G II	24	6	4	2	1	1	2					6	19	65	65
	PolioV-2型(ワクチン由来株)							1							1	1
	PolioV-3型(ワクチン由来株)							1							1	1
	RhnoV							1							1	1
	RoA-G1			7	3	8									23	23
	RoA-G3				1										1	1
	RoA-G9					1									1	1
	SV-G I		2	1							1	1	2		7	7
	SV-G II														5	5
	Ad-40/41 & SV-G II				1										1	1
	NV-G I & RoA-G1				1										1	1
	NV-G II & RoA-G1			1											1	1
	NV-G II & SV-G I												2		2	2
	NV-G II & SV-G II													1	2	2
RoA-G1 & SV-G I				1										1	1	
RoA-G1 & SV-G II					1									1	1	
RoA-G1,3 & SV-G II					1									1	1	
手足口病	CA-4							1						1	4	13
	CA-16								1					1	2	2
	RhnoV								1					1	1	1
突発性発疹	HHV-6B	2												2	2	6
百日咳	RSV												1	1	1	6
	Ad-2			1										1	18	27
	CA-2						1	2						3	3	3
	CA-4						3							3	3	3
	CytomegaloV								1					1	1	1
ヘルパンギーナ	RhnoV							2	3				2	7	7	7
	Ad-2 & RhnoV												1	2	2	2
	Ad-5 & RhnoV													1	1	1
	CA-9													1	1	1
無菌性髄膜炎	CytomegaloV												1	1	2	7
	CA-9					1								1	6	23
不明発疹症	RhnoV					1	1	1	1					3	3	3
	EBV & HHV-6B				1									1	1	1
	HHV-6B & RhnoV													1	1	1
	Ad-1							2						2	2	2
その他	Ad-2	1	1	1	1									4	4	4
	CA-4													1	1	1
	coronaV		1	1	1	1				2	3	1		11	11	11
	HHV-1	1												1	1	1
	HHV-6												1	1	1	1
	HMPV	3	9	15	4					2	1	1	1	36	36	36
	HBocaV	1	1	2	1	1							1	7	7	7
	InfA/H3	2	2											2	2	2
	InfC	2		9	4									15	15	15
	ParainfV-1型	2	1		1					1		1	1	8	8	8
	ParainfV-2型	2	1						2	5	3	2	2	15	15	15
	ParainfV-3型	2	2						3					5	5	5
	ParainfV-4型	2												3	3	3
	RhnoV	3	3	4	10	9				2	5	1	7	4	44	44
	RSV	2	7							2	5	3	3	1	24	24
	Ad-1 & CytomegaloV	1												1	1	1
	Ad-2 & CytomegaloV & RhnoV				1									1	1	1
	Ad-2 & CytomegaloV					1								1	1	1
	Ad-2 & RhnoV			1		1								2	2	2
	Ad-6 & CytomegaloV													1	1	1
CytomegaloV & EBV													1	1	1	
HMPV & HBocaV													1	1	1	
合計		55	48	55	46	40	25	25	28	23	38	32	41	456	456	683

表 5. 保健所別月別患者数

保健所管内	月 別 検 査 患 者 数												合 計
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
桑 名	2	1	1				1			1	1		7
鈴 鹿	57	63	57	63	34	28	29	29	28	32	34	36	490
津	5	4	1			2	1	2	1	1	1	1	19
松 阪					2	1			1	1	1	3	9
伊 勢	10	5	8	5	8	15	5	22	12	21	13	7	131
伊 賀					1	1	1	1	3			2	9
尾 鷲													0
熊 野													0
四日市	2				3	2	2		2	1	3	3	18
合 計	76	73	67	68	48	49	39	54	47	57	53	52	683

2. 保健所管内別患者数

所管保健所から検体搬入のあった 2012 年の月別患者数を表 5 に示す。保健所管内別では、鈴鹿保健所管内からが 490 人と最も多く、以下、伊勢が 131 人、津が 19 人、四日市市が 18 人、松阪と伊賀が 9 人、桑名が 7 人の順であった。尾鷲と熊野からの検体搬入はなかった。

考 察

2012 年の検査依頼患者数は 683 人で、2011 年の 709 人と比較して僅かに減少したが、疾患別では、流行にともない風しんが 18 倍、感染性胃腸炎が 1.7 倍に増加した。

感染性胃腸炎では依然として NV-GII の検出が多く、検出ウイルスの半数を占めた。国内では NV-GII/4 の新しい変異型が確認され、10 月以降、急速に全国へ広がった⁹⁾。三重県でも、11 月と 12 月に検出された NV-GII の 70% 以上が同じ変異型であることを確認した。NV の大流行は数年ごとに起きていることから、変異型出現を察知するためにも、遺伝子解析を含めた動向調査による NV の監視を全国規模で続けていく必要がある。

風しんは 2008 年に 5 類感染症全数把握疾患に指定されて以降、全国の患者報告数は減少していた。しかし 2011 年に国内で地域流行が発生したのをきっかけに、2012 年は全国的な流行に波及した¹⁰⁻¹²⁾。三重県でも、患者報告数の増加にともなって検査依頼数が増え、7 月から 10 月にかけて遺伝子型 2B および 1E の風しんウイルスが検出された。これらの遺伝子型のウイルスは東南アジア諸国や中国をはじめとして世界的に流行しているが、過去の国内流行株の遺伝子

型とは異なることから、輸入例を発端として急速に全国に広がったものと考えられる。また今回、麻しんや風しんの患者から臨床診断名（疾患名）とは関連のない複数のウイルスが検出されたことは、これらの疾患における類症鑑別の必要性を示唆する。

エンテロウイルスは無菌性髄膜炎を発症させ、重症化するため¹³⁾、動向には注意が必要である。一昨年より手足口病とヘルパンギーナでは、これまであまり流行しなかった血清型である CA-6 が多く検出されていた。しかし、2012 年は 1 例も検出されず、代わってライノウイルスの検出が目立った。多くのエンテロウイルス属のウイルスが手足口病とヘルパンギーナの起因ウイルスとして知られていることから、今後の動向が注目される。

県内における日本紅斑熱の患者報告数・病原体検出数は国内で最も多い。一昨年の熊野保健所管内での発生した 1 人を除いて、これまで伊勢保健所管内での発生しか確認されておらず、特徴的な地域での発生が続いている。しかし、感染源がシカ等の野生動物に寄生するダニであることから、感染地域の拡大等には引き続き警戒する必要がある。

その他の疾患では気管支炎等の呼吸器系疾患からライノウイルス、HMPV、Parainf、RS ウイルスを中心に多くのウイルスが検出され、昨年に引き続いて多様性に富む結果となった。これらのウイルスの年変化や季節集積性等を明らかにするために、継続したデータの収集が望まれる。

文 献

- 1) 丸山勝己, 大川正文, 倉田英雄 : 感染症情報の解析, 三重衛研年報, No.38, 61-70 (1992).
- 2) 麻疹・風疹患者発生情報
http://www.kenkou.pref.mie.jp/MR_srv/MR_srv_results.htm
- 3) 石井堅造, 山中葉子, 広森真哉 他 : エコー9型ウイルス, エコー30型ウイルスが分離された無菌性髄膜炎をはじめとする1991年感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No.37, 53-60 (1991).
- 4) 矢野拓弥, 中野陽子, 西 香南子 他 : 2001年感染症発生動向調査結果, 三重保環研年報, No.47, 120-124 (2002).
- 5) 楠原 一, 矢野拓弥, 赤地重宏 他 : 2011年感染症発生動向調査結果, 三重保環研年報, No.57, 106-112 (2012).
- 6) 三重県保健環境研究所 : 三重県感染症発生動向調査事業報告書, 2011年(平成23年)版.
- 7) 三重県保健環境研究所 : 三重県感染症発生動向調査事業報告書, 2012年(平成24年)版.
- 8) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/lab-manual.html>
- 9) 病原微生物検出情報 (IASR) **33**, 333-334, (2012).
- 10) IASR **32**, 260-262, (2011).
- 11) IASR **34**, 87-89, (2012).
- 12) IASR **34**, 99-100, (2012).
- 13) 国立感染症研究所, 厚生省保健医療局結核・感染症対策室 : 無菌性髄膜炎関連エンテロウイルスの動向 1999~2002, 病原体検出情報, **23**, 193-194 (2002).

資料

2012年度感染症流行予測調査結果 (日本脳炎, インフルエンザ, 風しん, 麻しん)の概要

矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏,
松野由香里, 山寺基子, 小林隆司, 西中隆道

Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2012F.Y.

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA,
Shigehiro AKACHI, Yukari MATSUNO, Motoko YAMADERA,
Takashi KOBAYASHI and Takamichi NISHINAKA

感染症流行予測調査事業では, 人の年齢別抗体調査による免疫保有状況(感受性)と, 動物(豚)に潜伏している病原体(感染源)を把握する調査を実施している. 2012年度に実施した調査結果の概要は次のとおりである.

- (1)日本脳炎感染源調査については三重県中部地域で飼育された豚の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制(Hemagglutination inhibition: HI)抗体保有の有無を調査したがHI抗体保有豚は検出されなかった.
- (2)ヒトの日本脳炎感受性調査における中和抗体保有率は279人中165人(59.1%)であった.
- (3)動物のインフルエンザウイルスの侵入を監視するため, 豚100頭を調査したがインフルエンザウイルスは分離されなかった.
- (4)ヒトインフルエンザウイルスの流行期前の血中HI抗体保有率(HI価40倍以上)は乳児から学童期に対してのA/California/7/2009(H1N1pdm2009)は0-4歳27.4%, 5-9歳50%, A/Victoria/361/2011(H3N2)は0-4歳19%, 5-9歳54.5%であった. B型インフルエンザウイルスのB/Brisbane/60/2008(ビクトリア系統)は0-4歳9.5%, 5-9歳31.8%であった. B/Wisconsin/1/2010(山形系統)では0-4歳0%, 5-9歳4.5%であった.
- (5)風しん感受性調査における全年齢層でのHI抗体保有率は89.6%(男性:83.8%, 女性:93.5%)であった.
- (6)麻しん感受性調査における全年齢層でのPA(Particle Agglutination Test)抗体保有率は91.4%であった.

キーワード: 感染症流行予測調査, 日本脳炎, インフルエンザ, 風しん, 麻しん

はじめに

本事業は集団免疫の現状把握および病原体の検索等を行い, 各種疫学資料と併せて検討することによって, 予防接種事業の効果的な運用を図り, さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的として, 1962年から「伝染病流行予測調査事業」として開始された. その後, 1999年4月「感染症の予防及び感染症の患者に

対する医療に関する法律」の施行に伴い, 現在の「感染症流行予測調査事業」へと名称変更された. ワクチンによる予防可能疾患の免疫保有調査を行う「感受性調査」およびヒトへの感染源となる動物の病原体保有を調査する「感染源調査」を国立感染症研究所との密接な連携のもとに実施している. これまでの本県の調査で, 冬季に日本

脳炎ウイルス (JEV) に対する直近の感染を知る指標である 2-ME 感受性抗体が出現したことなど興味深い現象が確認されてきた。また、当時、伝染病流行予測調査事業 (インフルエンザウイルス) で、1993/94 シーズンに分離されたインフルエンザウイルス B 型(B/三重/1/93 株)が、ワクチン株に採用された等の実績がある。ヒトの感染症における免疫状態は、各個人、地域等、さまざまな要因で年毎に異なる。本年度採取できた血清は、同一人であっても前年あるいは翌年に採取した場合の免疫状態とは必ずしも同じではないことが推察される。これらのことはヒト血清だけでなく動物血清についても同様であり、毎年の流行予測調査事業における血清収集は貴重で意義深い。集団免疫の現状把握と予防接種事業の促進等、長期的な流行予測調査が感染症対策には不可欠であるので、本調査のような主要疾患についての免疫状態の継続調査は、感染症の蔓延を防ぐための予防対策として重要である。以下に、2012 年度の感染症流行予測調査 (日本脳炎、インフルエンザ、風しん、麻しん) について概要を報告する。

方 法

1. 調査材料

1) 豚の日本脳炎感染源調査材料

日本脳炎感染源調査対象は、毎年、三重県中部に位置する玉城町近郊の豚舎で飼育された 6 ヶ月齢の肉豚である。採血期間と採血豚頭数は 2012 年 7 月 2 日から 9 月 3 日の間に採血した 100 頭である (表 1)。

2) 日本脳炎・ヒトインフルエンザ・風しん・麻しん感受性調査材料

ヒトの日本脳炎・インフルエンザ・風しん・麻しん感受性調査は、2012 年 4 月から 9 月に県内の病院等で、インフォームドコンセントのもとに採血された男性 111 人、女性 168 人の合計 279 の血清を用いて行った。

3) 豚からのインフルエンザ感染源調査材料

豚のインフルエンザ感染源調査対象は、三重県の北部に位置する四日市市で飼育された 6 ヶ月齢の豚の鼻腔拭い液である。2012 年 12 月 7 日、2013 年 1 月 22 日に採取した計 100 頭を調査材料とした。

2. 測定方法

1) 日本脳炎 HI 抗体測定

豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し、遠心分離後の血清を HI 抗体測定に供した。被検血清はアセトン処理を行い、非特異的な凝集抑制物質を除去した後、100% ガチョウ血球 50 μ L を加え 4 $^{\circ}$ C で 15 分間静置した。その後 3,000rpm、5 分間遠心分離した上清を測定用試料とした。試料をマイクロプレートの第 1 穴目に 25 μ L 入れ、第 2 穴目から 25 μ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、JEV 抗原の JaGAr 01 株 (デンカ生研) で調製した 4HA 単位の HI 抗原を 25 μ L ずつ加えた。4 $^{\circ}$ C にて一晚感作後、0.33% ガチョウ血球を 50 μ L 添加し、37 $^{\circ}$ C 孵卵器にて 1 時間静置後判定した。HI 抗体 10 倍以上を陽性とし、40 倍以上の血清について、2-ME 処理を行い、処理後の抗体価が処理前の 1/8 以下に減じたものを 2-ME 感受性抗体陽性とした¹⁾。

2) ヒトの日本脳炎中和抗体測定

56 $^{\circ}$ C、60 分間非動化した被検血清 8 μ L を細胞培養液 72 μ L で 10 倍希釈し、中和抗体測定用血清とした。処理血清を 2 倍階段希釈を行い、日本脳炎ウイルス (Beijing-1 株) 100FFU/25 μ L を処理血清 40 μ L に対して等量加え、37 $^{\circ}$ C で 60 分反応させた後、25 μ L を Vero (Osaka 株) 細胞に接種し、37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 下で 46 時間培養後に 99.5% エタノールで固定した。作成した固定細胞プレートを用いて PAP 複合体を用いたフォーカス計数法により測定した¹⁾。

3) 豚からのインフルエンザウイルス分離

豚の鼻腔拭い液を 3,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清をイヌの腎臓由来細胞である Madin-Darby canine kidney (MDCK) 細胞に接種した。培養 7 日目頃に培養上清を採取し、七面鳥血球を用いて赤血球凝集能 (HA) を測定した²⁾。

4) ヒトインフルエンザ HI 抗体測定

被検血清 100 μ L に RDE (Receptor destroying enzyme) II 「生研」 (デンカ生研) 300 μ L を加えて 37 $^{\circ}$ C、20 時間処理した。次に 56 $^{\circ}$ C、60 分間非動化後、滅菌生理食塩水を 600 μ L 添加し、100% ニワトリ血球 100 μ L を加え、室温で 60 分間静置した。その後 2,000rpm、20 分間遠心分離し、その上清を HI 測定用処理血清とした。処理血清を 25 μ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、不活化抗原 4HA 単位を 25 μ L ずつ加えた。室温にて 60 分間

放置後、使用赤血球（0.5%ニワトリ赤血球）を50μL 添加し室温で45分後に判定した。不活化抗原は A/California/7/2009（H1N1pdm2009）、A/Victoria/361/2009(H3N2）、B/Brisbane/60/2008（ビクトリア系統）、B/Wisconsin/1/2010（山形系統）を用いた。HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし、抗体価 40 倍以上を陽性と判定した²⁾。

5) 風しん HI 抗体測定

被検血清 200μL に PBS(-) 600μL, 25%カオリン 800μL を加え混合後、室温で 20 分静置した。2,000rpm, 20 分間遠心分離し、上清をインヒビター除去処理血清とした。これに 50%ガチョウ血球 50μL を加え、氷水中に 60 分間静置した。その後 2,000rpm, 20 分間遠心分離した上清を HI 測定用処理血清とした。処理血清を 25μL ずつの 2 倍階段希釈を行い、市販の風疹 HA 抗原（デンカ生研）を 4 単位に調製後、25μL を加えて室温で 60 分間静置して抗原抗体反応を行った。0.25%ガチョウ血球 50μL を加え 4℃で 60 分静置後判定した。HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし、抗体価 8 倍以上を陽性と判定した³⁾。

6) 麻しん PA 抗体測定

麻しん抗体価の測定には市販キット（富士レビオ：セロディア-麻疹）の粒子凝集反応法（Particle Agglutination Test : PA 法）を用いた。被検血清を第 1 穴目に 25μL 入れ、第 12 穴目まで 2 倍階段希釈を行った。未感作粒子 25μL を第 2 穴目に、感作粒子 25μL を第 3 穴～第 12 穴目に加えた。マイクロプレートを混和し、120 分静置後に判定した。16 倍以上を陽性とした⁴⁾。

結果とまとめ

1. 豚の日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 抗体の経時的推移

JEV に対する豚の血中 HI 抗体価および 2-ME 感受性抗体価の経時的推移を表 1 に示した。2012 年 7 月 2 日から 9 月 3 日の間に採血した 100 頭において HI 抗体保有豚(10 倍以上)は検出されなかった。近年、JEV 抗体保有豚は 2008 年 (79.2%) を境に、2009 年 (39.1%), 2010 年 (2.5%), 2011 年(0.8%), 2012 年(0%)と減少している (表 2)。

2. ヒトの日本脳炎中和抗体測定結果

日本脳炎中和抗体保有率は 279 人中 165 人 (59.1%) が陽性であった。年齢別では 0-4 歳 20.2%, 5-9 歳 86.4%, 10-14 歳 82.6%, 15-19 歳 96.4%, 20-29 歳 89.3%であったが、30-39 歳 53.1%, 40-49 歳 42.9%と低率であった (表 3)。近年の日本脳炎患者数 (全国) は 2011 年(9 例), 2012 年(2 例)の報告があった。過去にワクチン接種後に急性散在性脳脊髄炎 (ADEM) を発症した事例があり、2005 年に日本脳炎ワクチンの「接種勧奨差し控え」となった。その後、新しい日本脳炎ワクチンが承認され、2010 年 4 月には 3 歳児を対象に積極的なワクチンの「接種勧奨」が通知されたが、「接種勧奨差し控え」の数年間に接種機会を逃した対象者の存在が懸念される。なお本県では 2010 年に 1 例報告されており、例年、抗体保有率は 30 歳以降が低く、ワクチンによる対策が急務である。

3. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

2012 年 12 月と 2013 年 1 月に調査を行った豚

表 1. 日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移

採血日	頭数	HI抗体価							HI抗体 陽性率 (%)	2-ME感受性抗体 陽性数/検査数	(%)
		<10	10	20	40	80	160	320			
2012年 7月 2日	10	10							0	-	-
7月 9日	10	10							0	-	-
7月17日	10	10							0	-	-
7月23日	10	10							0	-	-
7月30日	10	10							0	-	-
8月 6日	10	10							0	-	-
8月13日	10	10							0	-	-
8月20日	10	10							0	-	-
8月27日	10	10							0	-	-
9月 3日	10	10							0	-	-

表 2. 過去の日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体保有率

採血年	HI抗体	2-ME感受性抗体
	陽性数 / 検査数 (%)	陽性数 / 検査数 (%)
2006年	30/100(30%)	6/26(23.1%)
2007年	49/130(37.7%)	7/14(50%)
2008年	103/130(79.2%)	30/53(56.6%)
2009年	43/110(39.1%)	6/13(46.2%)
2010年	3/120(2.5%)	1/1(100%)
2011年	1/120(0.8%)	—
2012年	0/100(0%)	—

表 3. 日本脳炎に対するヒトの中和抗体保有率

年齢区分	対象者数	陽性者数
0-4歳	84	17(20.2%)
5-9歳	22	19(86.4%)
10-14歳	23	19(82.6%)
15-19歳	28	27(96.4%)
20-29歳	56	50(89.3%)
30-39歳	32	17(53.1%)
40-49歳	21	9(42.9%)
50-59歳	6	1(16.7%)
60歳～	7	6(85.7%)
合計	279	165(59.1%)

表 4. 豚からのインフルエンザウイルス分離状況

採取日	採取場所	頭数	月齢	分離結果
2012年12月7日	四日市	50	6ヵ月	陰性
2013年1月22日	四日市	50	6ヵ月	陰性

100 頭全てで、インフルエンザウイルスは分離されなかった（表 4）。調査した豚からは AH5 型, H7 型, H9 型等のインフルエンザウイルスが侵入した形跡は見られていない。今後、発生が懸念されている新型インフルエンザウイルスの監視には豚インフルエンザウイルスの継続的なモニタリングが必要である。

4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体分布状況

2012/2013 シーズンのインフルエンザ流行期前

の年齢別 HI 抗体保有率（40 倍以上）は A/California/7/2009 (H1N1pdm2009) 0-4 歳 27.4%, 5-9 歳 50.0%, A/Victoria/361/2011(H3N2)は 0-4 歳 19.0%, 5-9 歳 54.5% であった。B/Brisbane/60/2008 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 9.5%, 5-9 歳 31.8%。B/Wisconsin/1/2010 (山形系統) は 0-4 歳 0%, 5-9 歳 4.5% であった。B 型 (山形系統) における抗体保有率は、0-4 歳 0%, 5-9 歳 4.5% であった（表 5）。

2012/13 シーズンの本県での分離株はワクチン株類似の A/H3N2 型が検出され、流行の主流であった。B 型は B/Wisconsin/1/2010 (山形系統) 類似株が多く検出された。また 2010/2011 シーズンまで流行していた A/H1N1pdm2009 が 2011 年 3 月以来、2 例検出(2013 年 1 月)された。同様に全国の検出状況は前年より増加していたので^{5,6)}今後、抗原変異等による再流行が懸念される。特に A/H1N1pdm2009 の流行を経験していない乳幼児は、流行動態に最も影響を及ぼす年齢層であることからワクチン接種による予防対策は重要である。

5. 風しん年齢別 HI 抗体分布状況

対象者全体（男・女）における風しん年齢別 HI 抗体保有率は 0 歳 29.4%, 1-4 歳 94.0%, 5-9

表 5. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況（40 倍以上）

年齢区分	対象者数	陽性者数(%)			
		A/California /7/2009 (H1N1pdm)	A/Victoria /361/2011 (H3N2亜型)	B/Brisbane /60/2008 (ビクトリア系統)	B/Wisconsin/1/2010 (山形系統)
0-4歳	84	23(27.4%)	16(19%)	8(9.5%)	0(0%)
5-9歳	22	11(50%)	12(54.5%)	7(31.8%)	1(4.5%)
10-14歳	23	16(69.6%)	14(60.9%)	6(26.1%)	6(26.1%)
15-19歳	28	27(96.4%)	21(75%)	13(46.4%)	14(50%)
20-29歳	56	45(80.4%)	33(58.9%)	20(35.7%)	24(42.9%)
30-39歳	32	15(46.9%)	16(50%)	21(65.6%)	10(31.3%)
40-49歳	21	14(66.7%)	8(38.1%)	13(61.9%)	7(33.3%)
50-59歳	6	4(66.7%)	5(83.3%)	3(50%)	1(16.7%)
60歳～	7	3(42.9%)	5(71.4%)	3(42.9%)	2(28.6%)
合計	279	158(56.6%)	130(46.6%)	94(33.7%)	65(23.3%)

表 6. 風しん年齢別 HI 抗体保有状況

年齢区分	対象者数 (男・女)	陽性者数(%)	年齢区分	対象者数 (男)	陽性者数(%)	対象者数(女)	陽性者数(%)
0歳	17	5(29.4%)	0歳	11	3(27.3%)	6	2(33.3%)
1-4歳	67	63(94.0%)	1-4歳	37	36(97.3%)	30	27(90.0%)
5-9歳	22	22(100%)	5-9歳	8	8(100%)	14	14(100%)
10-19歳	51	49(96.1%)	10-19歳	11	10(90.9%)	40	39(97.5%)
20-29歳	56	50(89.3%)	20-29歳	18	14(77.8%)	38	36(94.7%)
30-39歳	32	30(93.8%)	30-39歳	12	10(83.3%)	20	20(100%)
40-49歳	21	21(100%)	40-49歳	4	4(100%)	17	17(100%)
50歳～	13	10(76.9%)	50歳～	10	8(80.0%)	3	2(66.7%)
合計	279	250(89.6%)	合計	111	93(83.8%)	168	157(93.5%)

歳 100%, 10-19 歳 96.1%, 20-29 歳 89.3%, 30-39 歳 93.8%, 40-49 歳 100%, 50 歳以上は 76.9% であった。採血者全体の HI 抗体保有率は 89.6%, 男性は 83.8%, 女性では 93.5% であった。例年, 特に男性の 20-29 歳および 30-39 歳は低値となる傾向がみられ, 男女ともに, 一部の抗体非保有者が存在した (表 6)。特に妊娠初期の女性が罹患すると胎児に白内障や難聴等の障害を起こす先天性風しん症候群 (CRS) が危惧されている。CRS を阻止するには男女問わず, 風しん流行を抑制することと妊娠出産年齢の女性が十分な抗体を保有することが有効である⁷⁾。国内では 2010 年以降, 風しんの発生が報告^{8,9)}され 2012 年春季には関西地方で成人男性を中心に流行がみられ, その後, 関東地方へと拡大し, 全国各地で風しん患者が確認されている¹⁰⁻¹²⁾。三重県内の届出された風しん患者数は成人を中心に 2012 年は 61 人, 2013 年 1 月から 8 月は 96 人であった¹³⁾。当所では 2012 年 7 月から 12 月に 9 件 (2B: 8 件, 1E: 1 件), 2013 年 1 月から 8 月までに遺伝子型 2B が 11 件検出された。2013 年 4 月に県内の流行状況および予防のための情報提供 (注意喚起) を行った¹⁴⁾。遺伝子型別がされた国内検出事例においても, 遺伝子型 2B が最も多く⁵⁾ (2012 年 1 月から 2013 年 8 月現在), 今後の成人男性を中心とした流行拡大が懸念され, ワクチン接種による対策が急務である。

表 7. 麻しん年齢別 PA 抗体保有状況

年齢区分	対象者数	陽性者数(%)
0-1歳	39	20(51.3%)
2-3歳	36	36(100%)
4-6歳	21	21(100%)
7-9歳	10	10(100%)
10-14歳	23	23(100%)
15-19歳	28	28(100%)
20-24歳	26	25(96.2%)
25-29歳	30	27(90.0%)
30-39歳	32	32(100%)
40歳～	34	33(97.1%)
合計	279	255(91.4%)

6. 麻しん年齢別 PA 抗体分布状況

年齢別の麻しん PA 抗体保有率は 0-1 歳 51.3%, 2-3 歳 100%, 4-6 歳 100%, 7-9 歳 100%, 10-14 歳 100%, 15-19 歳以上はそれぞれの年齢区分で 90%-100% であった (表 7)。近年, 欧州や東南アジアなどで流行していた D4, D8, D9 が国内で検出され, 2012 年に D4(6 例), D8 (45 例), D9(11 例) が検出された^{5, 15)}。ワクチン接種による麻しんの排除対策を継続的に実施することが重要である。

謝 辞

流行予測調査事業の実施にあたって, 本調査の趣旨をご理解頂き血清使用について承諾頂いた 279 人 (男性 111 人, 女性 168 人) の方々に厚く御礼申し上げます。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 日本脳炎, 感染症流行予測調査検査術式 27-39(2002).
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: インフルエンザ, 感染症流行予測調査検査術式 9-25(2002).
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 風疹, 感染症流行予測調査検査術式 40-45(2002).
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会: 麻疹, 感染症流行予測調査検査術式 47-52(2002).
- 5) 国立感染症研究所 感染症情報センター: 月別ウイルス検出状況、由来ヒト: インフルエンザ & その他の呼吸器ウイルス、2011 年 12 月～2013 年 07 月

<https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data62j.pdf>.

- 6) 岸田典子, 徐 紅, 高下恵美, 藤崎誠一郎, 今井正樹, 伊東玲子, 佐藤 彩, 土井輝子, 江島美穂, 金 南希, 菅原裕美, 小田切孝人, 田代眞人, 地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ: <速報> 国内インフルエンザ流行株の抗原性解析および薬剤耐性株の検出状況(途中経過): 病原微生物検出情報, <http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrs/3403-pr3991.html>.
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター: 感染症流行予測調査 報告書, 第5 風疹 108-145(2008).
- 8) 国立感染症研究所感染症情報センター: 風疹・先天性風疹症候群: 病原微生物検出情報, **32**, 250-252, (2011).
- 9) 倉田貴子, 井澤恭子, 西村公志, 加瀬哲男, 高橋和郎: 大阪府内における 2011 年の風疹患者発生状況: 病原微生物検出情報, **32**, 255-257, (2011).
- 10) 高橋琢理, 杉下由行, 灘岡陽子, 長谷川道弥, 林 志直: 東京都における風しんの発生状況 (2012 年~2013 年第 8 週): 病原微生物検出情報, **34**, 101-102, (2013).
- 11) 倉田貴子, 上林大起, 駒野 淳, 西村公志, 加瀬哲男, 高橋和郎: 大阪府内における 2012 年の風疹患者発生状況: 病原微生物検出情報, **34**, 97-98, (2013).
- 12) 国立感染症研究所感染症情報センター: 風疹・先天性風疹症候群 2013 年 3 月現在: 病原微生物検出情報, **34**, 87-89, (2013).
- 13) 三重県感染症情報センター: 麻疹・風疹患者発生情報:
http://www.kenkou.pref.mie.jp/MR_srv/MR_srv_results.htm.
- 14) 三重県感染症情報センター: 流行状況および予防のための情報提供(注意喚起):
<http://www.kenkou.pref.mie.jp/topic/fusin/fusintyuikannki20130410.pdf> (2013).
- 15) 国立感染症研究所感染症情報センター: 麻疹 2012 年: 病原微生物検出情報, **34**, 21-23, (2013).

資料

“Mie子どもエコフェア”への出展について ～環境教育に関する一考察～

新家淳治, 齋藤麻衣, 宇佐美敦子, 柘植 亮, 巽 正志, 市岡高男, 秋永克三

Opening a Booth in the “Mie Eco-Fair for Children” ～ Consideration for Environmental Education ～

Junji NIINOMI, Mai SAITOH, Atsuko USAMI, Ryoh TSUGE,
Masashi TATSUMI, Takao ICHIOKA and Katsumi AKINAGA

2013年7月にMie子どもエコフェアが開催され, 三重県保健環境研究所資源循環研究課からブースを出展した。例年, 内容を変えて出展しているが, 本年度は科学的遊びに加え環境教育的な要素も付加した。出展内容は, ①空気砲で風鈴を鳴らすこと, ②団扇で風力発電模型に風を送りLEDランプを点灯させること, の2種類のゾーンを設けた。来場した子供の年齢範囲は4～12才程度であった。②については, 「エネルギーはつながっている」と題して団扇で扇ぐエネルギーが最終的にLEDランプの光に変化したことを説明した。また, エネルギー変化の内容が理解できたかどうかアンケートを行った。アンケートに回答してもらった子供の年齢は7～12才であり, すべての子供が「エネルギーはつながっている」ことを「理解できた」または「なんとなく理解できた」と回答した。

キーワード: 子供, エネルギー, 低炭素社会, 環境教育

はじめに

2012年4月27日に第四次環境基本計画¹⁾が閣議決定された。この中で, 持続可能な社会を達成する要件の一つに「低炭素社会」の実現をうたっている。同計画で重点的に取り組むべき分野の一つとしている「地球温暖化に関する取組」と, 他方で, 東日本大震災による原発事故を契機とする, エネルギー政策の社会的な再検証機運が, 低炭素社会の実現の部分でオーバーラップする。人間が利用するためのエネルギーは, 化石燃料の燃焼や再生可能エネルギーなどから取り出す。この際, どのエネルギーを選択・利用するかは, 経済性, 効率性, 安全性などいろいろな要素を総合的に判断して決定される。ただ, 今後は, 「低炭素社会」および「持続可能な社会」が必須のキーワードとなる。この意味において, 環境教育も上記のキーワードが重要と考えられる。

一方, 時代の流れと共に地方環境研究所(地環

研)を取り巻く情勢は大きく変化してきている。すなわち, 地環研は, これまで各地方での公害問題を解決するために多くの実績を残してきたが, いわゆる「公害」から「環境」へと問題の質が変化してきていることから地環研の求められる役割も変化してきていると考えられる。須藤²⁾によれば, 地環研の目標とする役割の一つに環境意識啓発と環境教育の推進があげられている。

資源循環研究課では, 毎年夏休み期間に開催されるMie子どもエコフェアにブースを出展しているが, 2013年は低炭素社会を意識した, 環境教育的な要素も加味した体験ブースを出展したので, その概要を報告する。

方法

1. Mieこどもエコフェア

- ・主催：三重県環境学習情報センター
- ・開催場所：四日市市桜町3684-11（鈴鹿山麓リサーチパーク内）
- ・開催日時：2013年7月20～21日 各10:00～15:00
（本報告の出展は21日：資源循環研究課担当）

2. 出展内容

2.1 空気砲ゾーン

段ボール箱をガムテープで密封し、一つの面に円形の穴を開けたものを用意した。穴の開いていない側面をたたくことにより、穴から空気塊を放出する。この空気塊により、空気砲の前方に配置した短冊および風鈴を鳴らす。（写真1）

2.2 風力発電ゾーン

風力発電模型を団扇で扇ぐことにより、風力発電模型の風車を回し、発電し、LEDランプを点灯させる。模型の背後にエネルギーのつながりを表現したポスター（図1）を掲示した。さらに、エネルギーがつながっていることを理解できたかを問うアンケート調査を実施した。

・使用した風力発電模型

製品名：ウィンパル12-A（組み立てキット），
5個連続LED，有限会社エコテクノ製）（写真2，3）

・アンケート調査

「エネルギーはつながっている」ことに関し
1)よくわかった，2)なんとなくわかった，3)わからない，4)どちらでもない，の4種類の回答を設定した。他に，年齢および性別の記載項目設定。統計解析を行う予定はないので，無作為に16名に実施。

・ブース内レイアウト

図2のとおり。

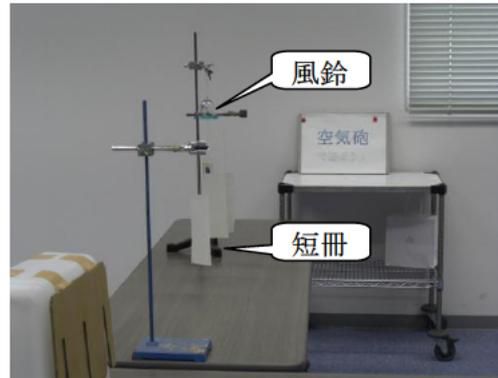


写真1



写真2

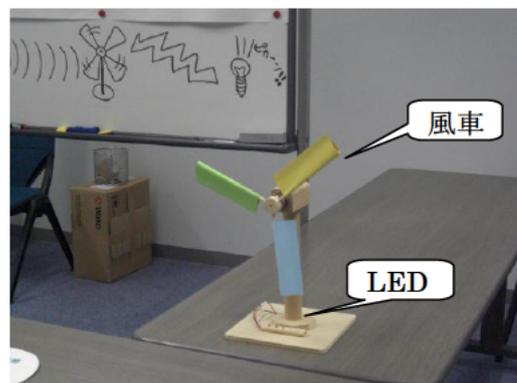


写真3

エネルギーはつながっている

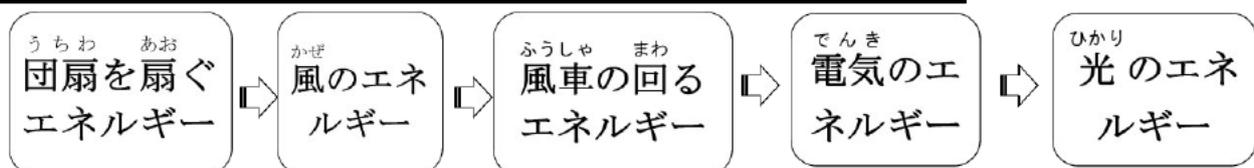


図1 ポスター

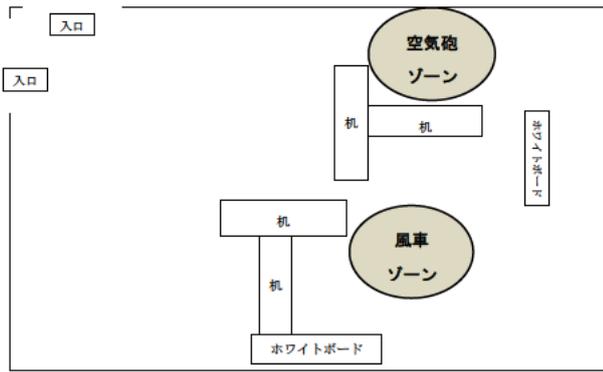


図2 ブース内レイアウト

結果

- ブース来場者数
約300名 (大人含む)
- ブース来場子供年齢
4~12才 (推定)
- アンケート調査
質問内容: 「エネルギーはつながっている」
ことがわかったか?
回答者数: 16名
回答者年齢: 7~12才
回答者性別: 男10名, 女6名
回答内容: 1)よくわかった11名, 2)なんとなく
わかった5名, 3)わからない0名,
4)どちらともいえない0名

空気砲および風力発電の各ゾーンの様子を、
それぞれ写真4および写真5に示した。



写真4 空気砲ゾーン



写真5 風力発電ゾーン

考察

1. 人の流れ

ブース内での来場者の移動の様子は図3に示す
流れが主であった。最初に空気砲ゾーンに行く者
が多く、これは、空気砲ゾーンが入口の正面であ
ったことや、空気砲はテレビなどを通じてよく知
られており、馴染みがあったことも一因と考えら
れる。

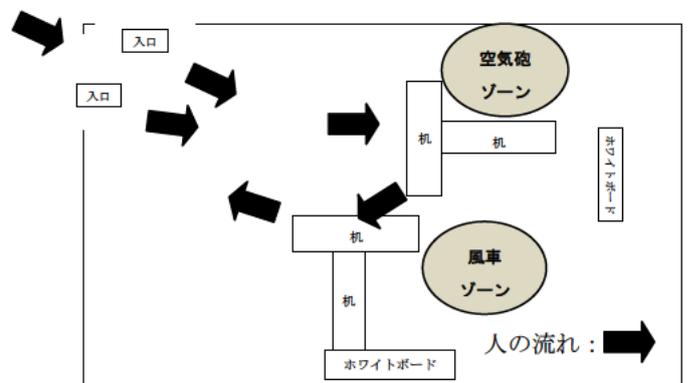


図3 ブース内での人の主な流れ

2. 空気砲ゾーンと風力発電ゾーンとの比較

空気砲の方が風力発電模型よりも人気があった
ように見えた。これは、空気砲の方がゲーム性を
有していたためと考えられた。すなわち、空気砲
から放出される空気塊は指向性があるため、標的
(風鈴)を狙って上手に当てると風鈴が鳴り、空
気の動きが音で確認でき、多少なりとも満足感が
得られるためと考えられた。一方、風力発電模型
は、風車を団扇で扇ぐだけであり、かつ、ある程
度力を込めて扇いで風車を勢いよく回さないとい
う点があった。

当初、筆者は、風力発電模型の方が不思議性がある、空気砲よりも子供の興味を引くと考えていたが、上述のように空気砲の方が人気があった。空気砲には不思議性とゲーム性の両方が備わっていたが、一方、風力発電模型は不思議性はあったがゲーム性が弱かったことにより人気に差が生じたと考えられた。このことから、子供の興味を引くためには、出展内容に科学の不思議性を見せるのは勿論であるが、さらにゲーム性を工夫するとよいことがわかった。この意味で、当初、より出展内容を面白くするために、空気砲の力で風車を回すことを考えていたが、空気砲では強い風が持続的に得られないことから、風車を団扇で扇ぐことにした。

ただ、風力発電ゾーンでは「電気を使うのは簡単だけど、発電するのは一苦勞である。だから、電気を大切に使いなさい。」と子供を諭している親が見受けられ、多少なりとも省エネ活動に貢献できればと考える。

3. アンケート結果

今回、試験的にアンケートを取ってみよう程度の動機で行ったので、アンケート依頼・回答者数は16名と少ない。回答者は小学校中・高学年の子供であったが、全員、「エネルギーはつながっている」ことを「理解できた」または「なんとなく理解できた」と回答した。

小学校低学年（1～2年生）の子供で、「エネルギー」の用語の概念が理解できない子もいたので、用語は、対象とする子供が理解できるように配慮して使う必要がある。また、「電気の利用」について小学6年生で習うことになっているが、その学習内容は電気の性質や働きをとらえることで、他のエネルギーとの結び付きは述べられていない³⁾。子供に電気の性質等は不思議で興味深く感じさせることができるが、電気の世界のみで完結するのではなく、他の分野のエネルギーとの結び付きにまで意識させることは重要であると考えられる。

「エネルギーの移り変わり」は中学校で学習する⁴⁾が、小学生の頃から、エネルギーが変化してもなんとなく保存されるイメージ、すなわち、自然科学の基礎的原理である熱力学第一法則を潜在

意識化させることは、将来のエネルギー問題、ひいては「低炭素社会」すなわち「持続可能な社会」の実現へとつながる可能性を持つと思われる。

まとめ

Mieこどもエコフェアに体験ブースを出展した。これまでも毎年出展しており、科学現象の不思議さを見せたり、体験させる内容であったが、今回は、環境教育的な意味合いを加味した。出展内容は、以下のとおりである。

- 1) 空気砲で風鈴を鳴らす。
- 2) 風力発電模型の風車を団扇で扇いでLEDランプを点灯させる。これにより、「エネルギーはつながっている」ことを意識させ、将来、低炭素社会実現のための思考につながっていくことを期待した。

なお、2)については、「エネルギーはつながっている」ことを理解できたかアンケート調査を行った。アンケートの結果、小学校中・高学年の子供は理解できているようである。

また、出展内容に子供の興味を持たせるには、科学の不思議さを見せ、科学に興味を持ってもらうのは勿論であるが、さらにゲーム性を工夫するとよいことがわかった。

参考文献

- 1) 環境省（2012）：第四次環境基本計画，http://www.env.go.jp/policy/kihon_keikaku/plan/plan_4.html（2013.8.時点）。
- 2) 須藤隆一（2010）：地方環境研究所は今、月刊資源環境対策，**46**(11), 26-28。
- 3) 文部科学省（2008）：小学校学習指導要領解説 理科編，65pp.,http://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/micro_detail（2013.8.時点）。
- 4) 文部科学省（2008）：中学校学習指導要領解説 理科編，52-57，http://www.mext.go.jp/component/a_menu/education/micro_detail（2013.8.時点）。

三重県保健環境研究所年報
I S S N (国際標準逐次刊行物番号) 等履歴

発行年	雑誌名	ISSN	雑誌名	ISSN CODEN
～1998年	三重県衛生研究所 年報 (～通巻43号)	0912-5752	三重県環境科学 センター研究報告 (～通巻19号)	0388-2640
1999年	三重県保健環境研究 所(衛生部門)年報 第1号(通巻44号)	1345-4595	三重県保健環境研究 所(環境部門)年報 第1号(通巻20号)	1345-4587
2000年 (1冊に統合)	三重県保健環境研究所年報 第2号(通巻45号)			1346-1001 MHKKCR
2001年	三重県科学技術振興センター保健環境研究部年報 第3号(通巻46号)			1346-9517 MHKKCR
2002年～	三重県科学技術振興センター保健環境研究部年報 第4号(通巻47号)～			1346-9517 MKGSBH
2008年～	三重県保健環境研究所年報 第10号(通巻53号)～			1882-9139 MHKKDS

三重県保健環境研究所年報
第15号(通巻第58号)

2013年

発行年月 平成25年9月(2013.9)

編集発行 三重県保健環境研究所

〒512-1211 三重県四日市市桜町3684-11

TEL 059-329-3800

FAX 059-329-3004
