

福島衛研報CODEN : FEKNA4
ISSN 1349—8193

福島県衛生研究所年報

平成23年度

No. 29, 2011



福島県衛生研究所

はじめに

この度の東日本大震災および原発事故から1年9ヶ月が過ぎようとしています。被災されました皆様、避難生活を余儀なくされている皆様、さらには、平成23年7月新潟・福島豪雨により被災された皆様には一日も早い復旧・復興を心からお祈り申し上げます。

こうした中、当所においては、福島第1原発事故以降、加工食品や飲料水を対象とした放射性物質の検査を開始し、検査結果を迅速に県民に提供することで県民の食の安全と安心を確保すべく業務に取り組んでいます。

この他にも、多様化する行政ニーズに適切に対応するため、試験検査、調査研究、感染症の情報提供など様々な業務に日々励んでおります。また、今年は、近隣の小学生を対象とした体験学習を2年ぶりに行い、所の業務への理解と科学への興味を持ってもらうことができました。地方衛生研究所は、ややもすると住民に見えない存在となってしまっていますので、今後も開かれた研究所となりますよう、復興に向かって前進する本県のために所員一同全力で取り組んでいきたいと考えています。

ここに平成23年度の業務実績を「福島県衛生研究所年報第29号」として取りまとめました。内容をご覧ください、ご意見、ご提言を預ければ幸いです。日頃の当所の業務推進に対する関係機関の皆様のご協力に心からの感謝を申し上げますとともに、今後ともご支援を預けますようお願いいたします。

平成24年12月

福島県衛生研究所長 笹原 賢司

目 次

I 組織機構と決算

1 沿革	1
2 建物概要	1
3 組織と業務	5
4 職員配置	6
5 平成 23 年度歳入・歳出決算	7

II 業務概況

調査研究事業

平成 23 年度調査研究事業の概要	9
-------------------	---

試験検査事業

1 微生物検査	10
1) ウイルス検査	10
2) 細菌検査	13
2 理化学検査	16
1) 食品薬品検査	16
2) 生活科学検査	16
3 試験検査課及び各支所の事業	18
1) 行政検査	18
2) 一般依頼検査	19

技術研修事業及び公衆衛生情報関係事業

1 研修事業	20
1) 職員研修	20
2) 所外の検査担当職員等を対象とした研修	21
3) 所外講師，見学実習等	21
2 精度管理事業	22
1) 福島県試験検査精度管理事業	22
2) 外部精度管理事業への参加状況	22
3 感染症発生動向調査事業	23
4 食品衛生検査施設の業務管理(食品 GLP)	26
5 体験学習教室の開催	26

III 論文・事業報告(微生物)

1 2011/12 シーズンのインフルエンザの流行状況について	27
門馬直太，塚田敬子，北川和寛，二本松久子，結城智子，風間秀元， 金成篤子，佐藤弘子	
2 つつが虫病起因リケッチアの分子疫学的解析について(第 2 報)	32
門馬直太，塚田敬子，北川和寛，五十嵐郁美，柳沼幸，結城智子， 二本松久子，風間秀元，金成篤子，平澤恭子，佐藤弘子	
3 2011 年の福島県におけるノロウイルスの遺伝子型解析	35
塚田敬子，北川和寛，五十嵐郁美，門馬直太，二本松久子，金成篤子， 平澤恭子，佐藤弘子	

4	2011年に福島県で分離された赤痢菌の分子疫学的解析と 薬剤感受性試験について	38
	千葉一樹, 渡邊奈々子, 菅野奈美, 遠藤嘉子, 小黒祐子, 佐藤弘子	
5	福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究	42
	渡邊奈々子, 千葉一樹, 菅野奈美, 遠藤嘉子, 小黒祐子, 佐藤弘子	
6	食品微生物検査における内部精度管理の試み ～一般細菌数～	48
	國井敏, 鈴木理恵, 黒澤久美子, 鈴木智子, 熊田裕子, 須釜久美子	
7	2011年感染症発生動向調査事業報告(ウイルス)	52
	北川和寛, 塚田敬子, 五十嵐郁美, 門馬直太, 二本松久子, 金成篤子, 平澤恭子, 佐藤弘子	
8	2011年感染症発生動向調査事業報告(細菌)	60
	渡邊奈々子, 千葉一樹, 菅野奈美, 遠藤嘉子, 小黒祐子, 佐藤弘子	
IV 論文・事業報告(理化学)		
1	レジオネラ属菌迅速検査法の検討と汚染実態調査	67
	伊藤翔也, 遠藤俊彦, 吉田加寿子, 大越憲幸	
2	サッカリンナトリウム検査手順の改良	72
	須田千咲, 赤城理恵, 鈴木司	
V 学会発表および専門誌への論文投稿		
		79

I 組織機構と決算

- 1 沿革
- 2 建物概要
- 3 組織と業務
- 4 職員配置
- 5 平成23年度歳入・歳出決算

1 沿革

1911年（明治44年）	4月	福島衛生試験所設置（細菌及び化学の試験研究所）
1924年（大正13年）	5月	県庁敷地内に新築移転
1927年（昭和2年）	4月	細菌部門を分離，福島，郡山，若松，平に細菌検査所設置
1948年（昭和23年）	9月	衛生試験所と細菌検査所が合併し，福島県衛生研究所となる
1953年（昭和28年）	7月	保存血液供給業務を追加
1955年（昭和30年）	2月	福島市御山町48番地（福島保健所敷地内）に新築移転
1958年（昭和33年）	4月	所内を化学，微生物，臨床病理，保存血液供給部の4部制とする
1959年（昭和34年）	4月	庶務部を追加，5部制とする
1962年（昭和37年）	9月	庁舎新築のため福島市舟場町18番地（日赤病院跡）に移転
1963年（昭和38年）	8月	新庁舎落成とともに福島市御山町48番地に移転
1964年（昭和39年）	4月	県立衛生検査技師養成所を併設
1967年（昭和42年）	11月	温泉部を新設
1968年（昭和43年）	4月	公害部を新設
1973年（昭和48年）	4月	福島県衛生公害研究所とし，所内組織を事務部，調査研究部，中央検査部，技術研修部に改革
1973年（昭和48年）	8月	福島市方木田水戸内15番地4号に新築移転
1978年（昭和53年）	4月	合筆により地番変更，福島市方木田水戸内16番6号となる
1979年（昭和54年）	4月	技術研修部に技術指導科，疫学情報科の2科を新設
1979年（昭和54年）	6月	技術研修棟増築
1984年（昭和59年）	4月	事務部，微生物部（ウイルス科，細菌科），理化学部（食品科学科，環境科学科），保健部の4部4科体制とする
1994年（平成6年）	4月	食品科学科を食品水道科に改称
1996年（平成8年）	3月	環境放射能分析棟増築
2001年（平成13年）	4月	環境部門を分離し，名称を福島県衛生研究所に改称 事務部，微生物部（ウイルス科，細菌科），理化学部（食品薬品科，生活科学科），保健衛生部の4部4科制とする
2001年（平成13年）	7月	感染症情報センター設置
2002年（平成14年）	1月	BSL3施設の整備
2003年（平成15年）	12月	ホームページを開設
2004年（平成16年）	4月	県内6保健所の検査チームを加え，総務企画，微生物，理化学，試験検査の4グループと，県中，会津，相双3支所に再編
2006年（平成18年）	3月	動物由来感染症検査室の整備 相双支所を閉所
2008年（平成20年）	4月	組織再編があり，グループ制が課制となる
2011年（平成23年）	10月	理化学課で放射能検査が始まる（Ge半導体検出器3台導入）
2012年（平成24年）	10月	理化学課にGe半導体検出器2台導入

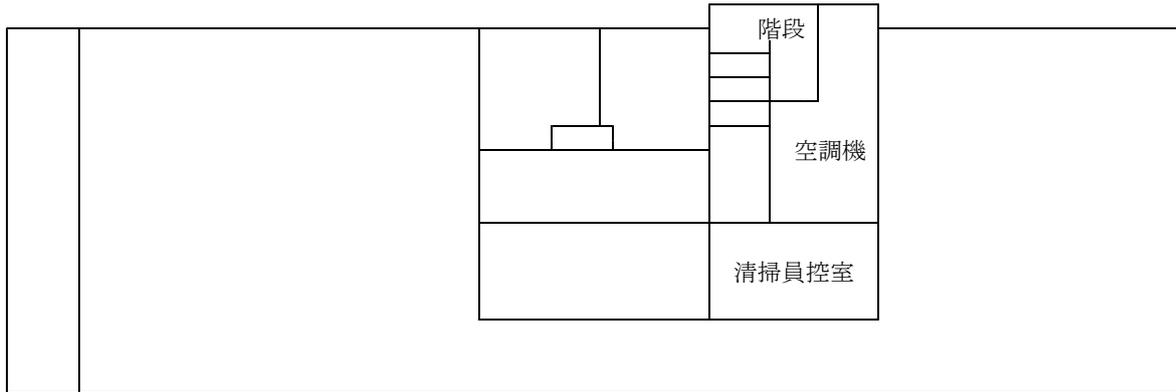
2 建物概要

敷地面積	建築面積	2,478.97 平方メートル
本館	床面積	480.27 平方メートル
	建築面積	1,571.44 平方メートル
機械棟	建築面積	90.00 平方メートル
研修棟	床面積	277.04 平方メートル
		1,037.36 平方メートル

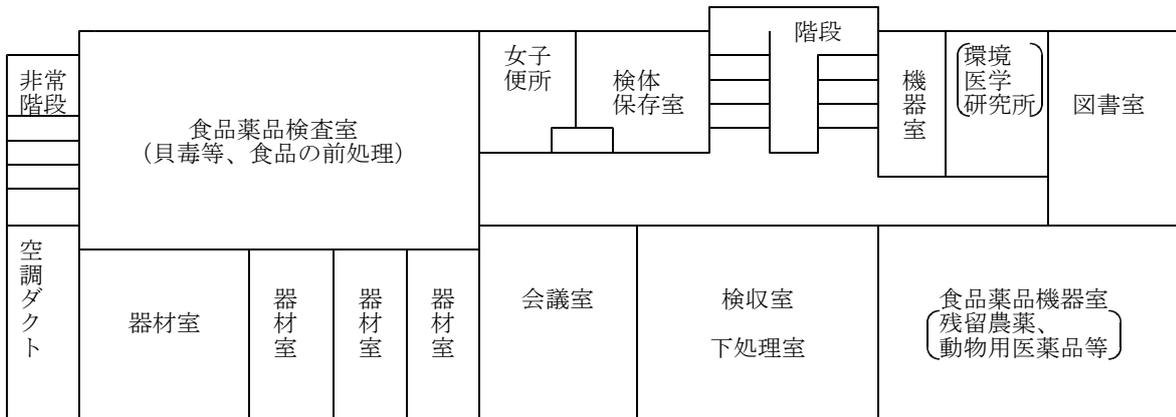
本館平面図

(平成 24 年 11 月 1 日現在)

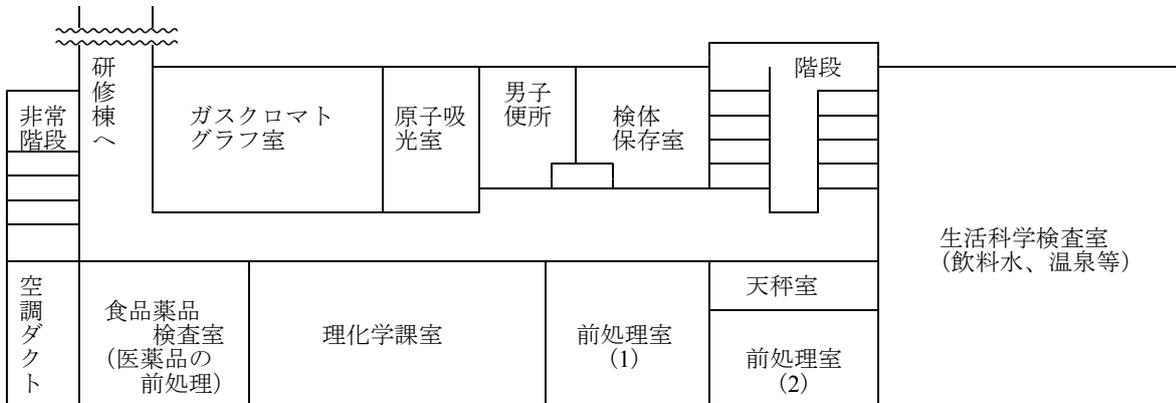
— 4 階 —



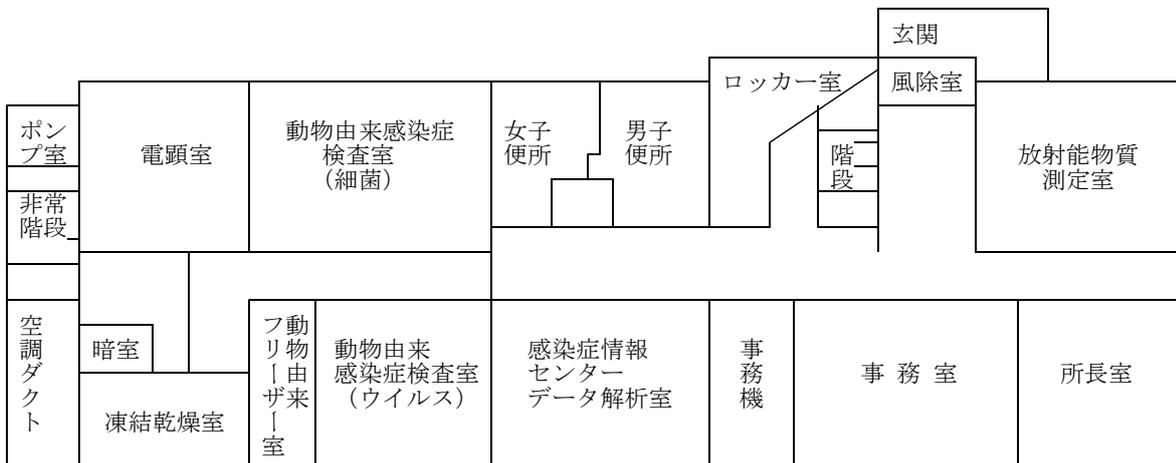
— 3 階 —



— 2 階 —

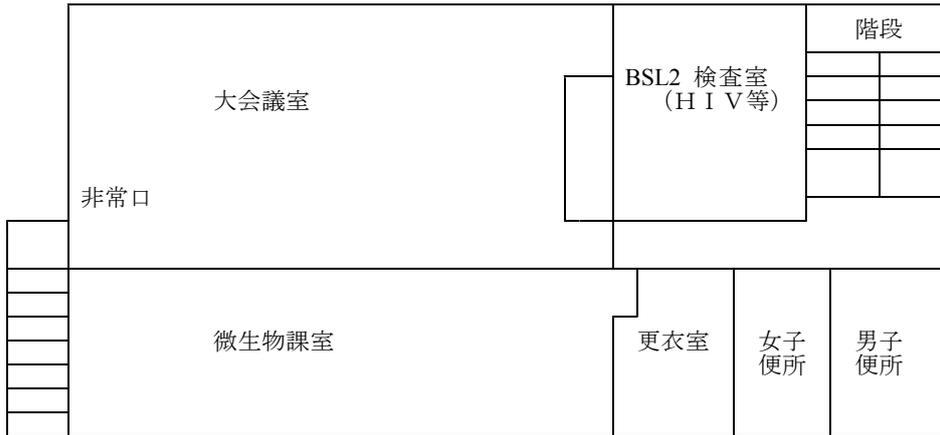


— 1 階 —

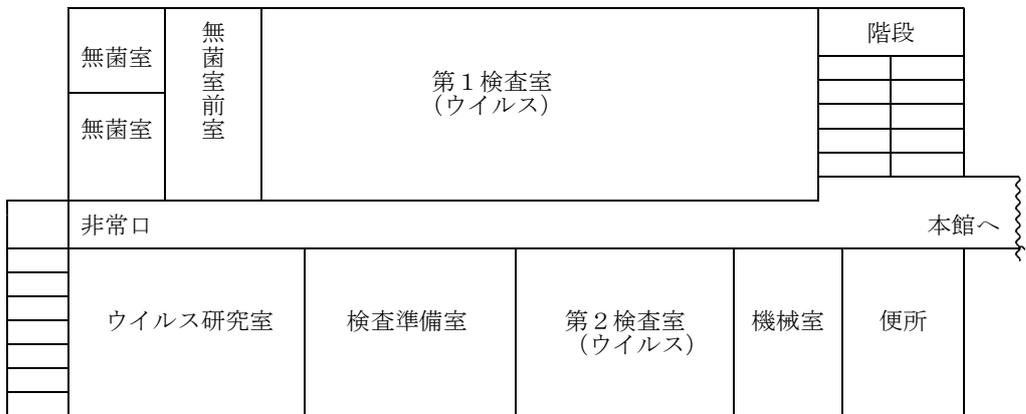


研修棟平面図

－ 3 階－



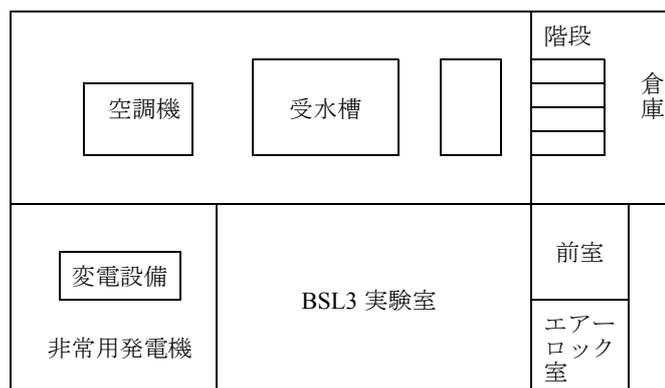
－ 2 階－



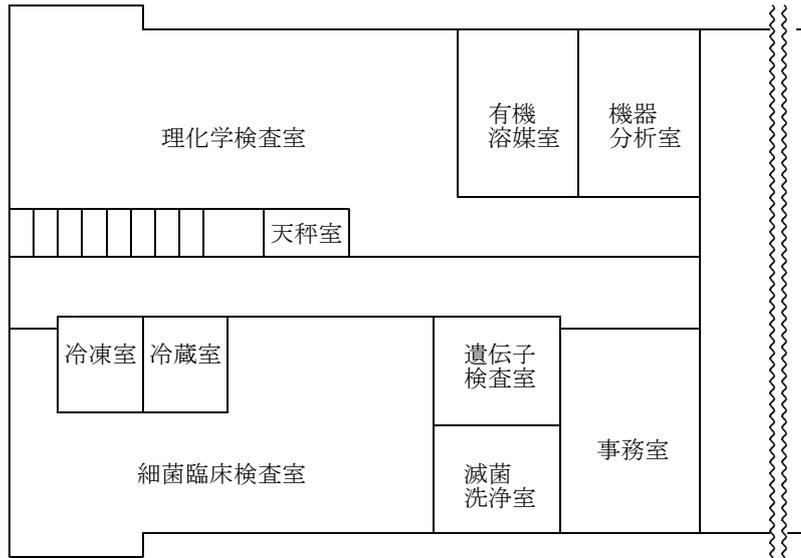
－ 1 階－



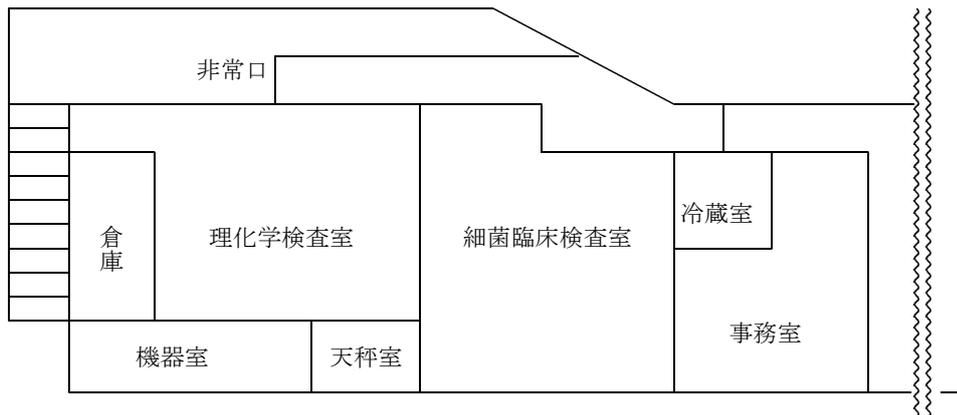
－ 地下室－



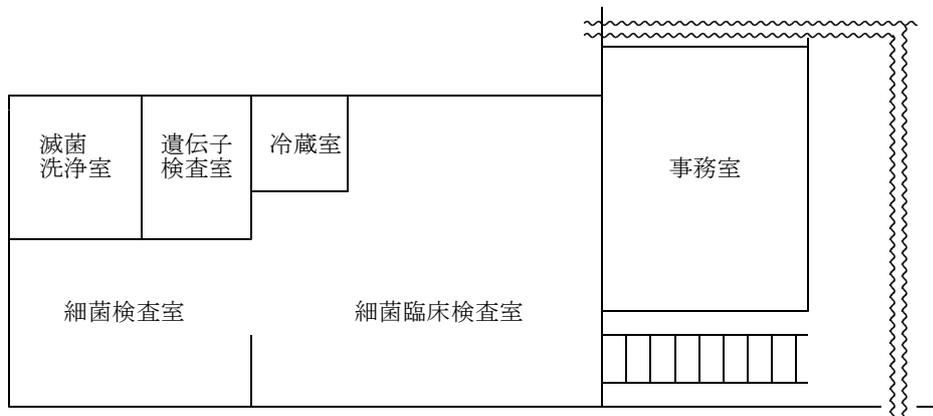
試験検査課平面図



県中支所平面図

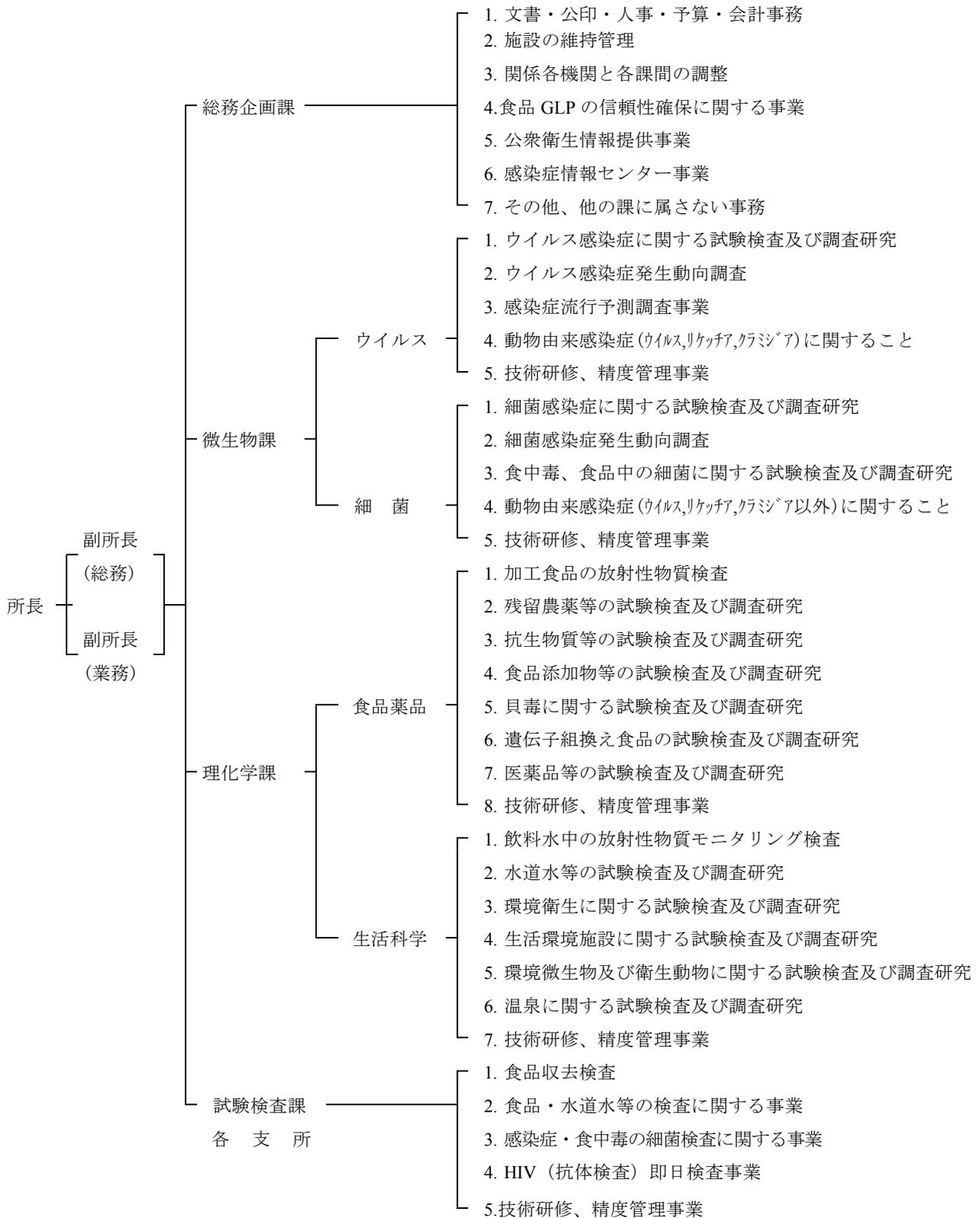


会津支所平面図



3 組織と業務

(平成 23 年 4 月 1 日現在)



4 職員配置

(平成23年6月1日現在)

所 属	職 名	氏 名
	所 長	西 田 茂 樹
	副所長 (総務担当)	小 松 憲 弘
	副所長 (業務担当)	木 村 隆 弘
総務企画課	(兼) 課 長	小 松 憲 弘
	専 門 薬 剤 技 師	風 間 秀 元
	主 任 主 査	津 田 啓 道
	主 任 医 療 技 師	松 山 勝 江
	副 主 任 医 療 技 師	柳 沼 幸 子
	主 任 医 療 技 師	(兼) 結 城 智 子
微生物課	課 長	佐 藤 弘 子
ウイルス	主 任 主 査	金 成 篤 子
	副 主 査	門 馬 直 太
	医 療 技 師	五 十 嵐 郁 美
	医 療 技 師	北 川 和 寛
	医 療 技 師	塚 田 敬 子
	主 任 医 療 技 師	(併) 二 本 松 久 子
細菌	専 門 医 療 技 師	小 黒 祐 子
	副 主 任 医 療 技 師	菅 野 奈 美
	医 療 技 師	渡 邊 奈 々 子
	医 療 技 師	千 葉 一 樹
	主 任 医 療 技 師	(併) 遠 藤 嘉 子
理化学課	課 長	大 越 憲 幸 子
食品薬品	専 門 医 療 技 師	神 尾 典 子
	主 任 薬 剤 技 師	高 野 美 紀 子
	主 任 薬 剤 技 師	河 野 裕 子
	主 任 薬 剤 技 師	伊 藤 純 子
	技 師	石 森 英 樹
生活科学	専 門 医 療 技 師	吉 田 加 寿 子
	主 任 薬 剤 技 師	遠 藤 俊 彦
	技 師	伊 藤 翔 也
試験検査課	課 長	鈴 木 司
細菌	主 任 医 療 技 師	熊 田 裕 子
	医 療 技 師	相 樂 理 慧
	医 療 技 師	三 瓶 步
食品化学	専 門 薬 剤 技 師	赤 城 理 恵
	技 師	須 田 千 咲
県中支所	専 門 医 療 技 師	須 釜 久 美 子
細菌	主 任 医 療 技 師	國 井 敏
	主 任 医 療 技 師	黒 澤 久 美 子
食品化学	主 任 薬 剤 技 師	鈴 木 智 子
	医 療 技 師	鈴 木 理 恵
会津支所	専 門 医 療 技 師	菅 野 正 彦
	主 任 医 療 技 師	羽 賀 節 子
	医 療 技 師	富 田 望

5 平成23年度 歳入・歳出決算

(1) 歳入

(単位：円)

科 目	歳入予算通知額	収 入 済 額	説 明
使用料及び手数料	1,911,950	2,939,540	
衛生研究所 手 数 料	1,911,950	2,939,540	福島県衛生研究所検査手数料条例に基づく手数料
財 産 収 入	4,000	0	
建物貸付料	4,000	0	
諸 収 入	21,000	26,696	
雑 入	21,000	26,696	雇用保険料・管理経費等
計	1,936,950	2,966,236	

(2) 歳出

(単位：円)

科 目	歳出予算令達額	支 出 済 額	説 明
人事管理費	422,160	422,160	赴任旅費
公衆衛生総務費	39,512,425	38,021,400	施設管理、事業の運営に係る経費
結核対策費	543,370	542,937	結核予防対策に係る経費
予防費	15,414,264	15,197,940	感染症予防対策、感染症発生動向調査、エイズ等予防対策に係る経費
衛生研究所費	23,745,135	21,377,430	支所運営、試験検査、調査研究等に係る経費
環境衛生費	1,093,000	980,430	家庭用品安全対策、水道事業指導に係る経費
食品衛生費	5,971,210	5,915,232	食品安全対策に係る経費
医薬総務費	52,278	49,278	管理運営に係る経費
薬務費	463,802	461,453	精度管理、医薬品等成分規格検査に係る経費
原子力安全対策費	7,455	7,455	原子力センター福島支所 NHK 受信料
放射能対策費	14,267,715	14,267,712	放射能物質測定に係る経費
緊急雇用対策費	1,023,070	1,023,070	臨時職員管理に係る経費
畜産研究費	32,105	31,814	水質検査に係る経費
水産業振興費	305,000	281,514	貝類毒化検査（ムラサキガイ）に係る経費
高等学校管理費	119,659	119,205	高等学校プール水質検査に係る経費
特別支援学校費	369,000	101,554	養護学校プール水質検査に係る経費
社会福祉施設災害 復費	649,800	646,800	施設の災害復旧に係る経費
計	103,722,448	99,447,384	

Ⅱ 業 務 概 況

調 査 研 究 事 業

試 験 検 査 事 業

技 術 研 修 事 業
及び公衆衛生情報関係事業

調査研究事業

調査研究事業は、地域における保健衛生、食品衛生及び生活環境等に係る諸問題の化学的・微生物学的解決策を見出し、地域保健対策を効果的に推進すべく地域住民と行政のニーズを考慮しながら実施する事業である。

平成 23 年度調査研究事業として、微生物分野では平成 22 年度から開始した「つつが虫病の分子疫学的調査及び迅速診断法の検討」の継続、また、新たな調査研究として「結核疫学調査における結核菌 DNA デジタルデータベースの構築」を実施している。

理化学分野では平成 22 年度から開始した「人工環境中のレジオネラ属菌汚染実態調査と迅速検査法」を継続している。

平成23年度調査研究事業の概要

1 つつが虫病の分子疫学的調査及び迅速診断法の検討

(期間：平成 22 ～ 24 年度)

本県は全国でも有数のつつが虫病発生県である。つつが虫病はオリエンティアツツガムシを起因菌とするリケッチア症であり、ダニの一種ツツガムシに吸着されることで感染する。近年、古典的つつが虫病だけではなく新型つつが虫の発生が認められる。その発生状況を適切に把握するためには分子疫学的調査が非常に有効である。つつが虫の予防と迅速診断のための基礎調査として、オリエンティアツツガムシ汚染地域の把握及び遺伝子検査法の検討を行う。平成 23 年度は昨年度構築した痲皮検体からの遺伝子検出法により検査を実施し、検査を行った 18 検体全てから、オリエンティアツツガムシ遺伝子を確認した。

(本誌 32 ～ 34 頁参照)

2 結核疫学調査における結核DNAデジタルデータベースの構築

(期間：平成 23 ～ 25 年度)

福島県内においては、結核の罹患率の減少傾向が鈍化し、集団感染事例が散発しているため、結核対策の強化が必要とされている。

平成 20 年度～平成 22 年度に実施した「VNTR 法を取り入れた福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究」により VNTR 分析法が結核菌の分子疫学調査において非常に有用な検査法であることを示すことができた。

平成 23 年度は当所に保存してあるすべての結核菌について JATA12 ローカスを用いて VNTR 分析を実施し、解析データの構築を行った。

(本誌 42 ～ 47 頁参照)

3 人工環境水中のレジオネラ属菌の迅速検査法の検討と汚染実態調査

(期間：平成 22 ～ 23 年度)

レジオネラ症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四類感染症に指定され、集団発生事例や死亡事例が報告されている。感染源としては、入浴施設や空調設備の循環水等の人工環境水が多く、県内の発生事例もこれらの水源によるものと推定されている。

人工環境水の汚染の実態を調査するとともに、より速やかな判定をするため、LAMP 法による迅速検査法を検討した。

(本誌 67 ～ 71 頁参照)

試験検査事業

試験検査事業として、微生物課は感染症発生動向調査、感染症流行予測・予防対策事業、地方衛生研究所微生物協議会支部のレファレンスセンターとしての業務を行っている。また食中毒・感染症発生時のウイルス、細菌検査等を行っている。

理化学課は加工食品等の放射性物質検査、食品の残留農薬、抗生物質、貝毒、食品添加物等に関する検査、医薬品等の検査、家庭用品試買品検査、飲料水の放射性物質モニタリング検査、各種水質検査等を行っている。

試験検査課・各支所は保健所が食品製造所や販売店から収去した食品の細菌、理化学検査、感染症・食中毒等が発生した場合の原因究明のため細菌検査を行っている。また、HIV即日検査を定期的実施している。さらに、一般県民、市町村、企業等から直接依頼されて行う一般依頼検査がある。

各部門が平成 23 年度に実施した試験検査事業の内容は以下のとおりである。

1 微生物検査

1) ウイルス検査

(1) 行政検査

① 感染症発生動向調査事業（暦年）

感染症の病原体情報を提供するため、福島

県感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき毎年実施している。病原体定点医療機関を表 1 に示す。各定点から搬入された 1,080 検体（987 症例）のウイルス検索を実施し、567 株（520 症例）のウイルスを分離、検出した。なお、検出情報は、随時、当所情報センターから関係機関に還元した。

（本誌 52 ～ 59 頁参照）

② 感染症流行予測調査事業

厚生労働省の事業として以下の 4 つの調査を担当した。

a) ポリオ感染源調査

ポリオウイルス野生株が侵入及び伝播していないことを確認するため、健常児の糞便についてウイルス分離を実施した。

時期：平成 23 年 8 月 28 日～9 月 5 日

地区：会津保健所管内の 1 保育施設

対象：0～1 歳，2～3 歳，4～6 歳，各 20 名

検体：糞便 60 件

調査の結果、ポリオウイルスは分離されなかった。また、ポリオウイルス以外の一般的な腸管系ウイルスについても分離されなかった。

b) 日本脳炎感染源調査

日本脳炎ウイルス浸淫の指標としてブタの感染状況を把握するため、ブタ血清の日本脳炎ウイルス赤血球凝集抑制（HI）抗体価を

表 1 感染症発生動向調査の病原体定点医療機関

地域	医療機関名	基幹定点	小児科定点	インフルエンザ定点	眼科定点
県北	大原総合病院	○			
	福島赤十字病院		○	○	
	松木眼科				○
県中	公立岩瀬病院			○	
県南	白河厚生総合病院	○		○	
会津	竹田総合病院	○		○	
	いづかファミリークリニック		○		
南会津	県立南会津病院	○		○	
相双	公立相馬総合病院	○		○	
郡山市	太田西ノ内病院	○	○	○	
	仁寿会 菊池医院		○		
いわき市	いわき市立総合磐城共立病院	○			
	相原小児科医院		○	○	

測定した。

時期：平成 23 年 7 月下旬～9 月下旬
(7 回)

検体：県産ブタ血清 70 件 (10 件/回)

調査の結果、9 月 6 日採取の検体 3 頭及び 9 月 13 日採取の検体 6 頭から採取した合計 9 検体において 2-Mercaptoethanol 感受性抗体 (IgM) が確認された。血清学上、日本脳炎ウイルスの存在が推察され、罹患の可能性が示唆された。

c) インフルエンザ感受性調査

一般人の抗体保有状況を把握するため、インフルエンザウイルスワクチン株 3 株とワクチン株以外の 1 株に対する抗体を赤血球凝集抑制 (HI) 試験法により測定した。

時期：平成 23 年 8 月 28 日～10 月 31 日
地区：県北地区

対象：0～4 歳 26 名、5～9 歳 17 名、
10～14 歳 13 名、15～19 歳 4 名、
20～29 歳 27 名、30～39 歳 28 名、
40～49 歳 24 名、50～59 歳 23 名、
60 歳以上 16 名

検体：血清 178 件

年齢区分別抗体保有状況を図 1 に示した。重症化防止のために有効とされている抗体価 40 倍以上について保有状況を報告する。

(a) A/カリフォルニア/7/2009 (A/H1N1pdm : ワクチン株)

この株に対する抗体保有率は全体で 33 % であった。10～14 歳 62 %、15～19 歳の 4 人中 3 人が抗体を保有しており、高い保有率であった。一方 40 歳以上は 25 % 未満で比較的保有率が低かった。

(b) A/ビクトリア/210/2009 (A/H3N2 : ワクチン株)

この株に対する抗体保有率は全体で 14 % であった。抗体保有率が最も高かったのは 5～9 歳で 35 %、最も低かったのは 4 歳以下で 4 % であった。

(c) B/ブリスベン/60/2008 (B/ビクトリア系統 : ワクチン株)

この株に対する抗体保有率は、全体で 25 % であった。15～19 歳の 4 人中 3 人が抗体を保有しており抗体保有率が高く、10～14 歳でも 54 % と比較的高かったが、4 歳以下

と 60 歳以上では 10 % 未満と低かった。

(d) B/ウイスコンシン/1/2010 (B/山形系統株)

抗体保有率は全体で 7 % であった。最も保有率が高かった 20 歳代でも 26 % であり、10 歳未満と 50 歳以上においては、抗体保有者は認められなかった。

d) 麻疹感受性調査

一般人の抗体保有状況を把握するためゼラチン粒子凝集法 (PA 法) により麻疹抗体を測定した。

時期：平成 23 年 8 月 28 日～10 月 31 日

地区：県北地区

対象：0～1 歳 15 名、2～3 歳 8 名、
4～9 歳 20 名、10～14 歳 13 名、
15～19 歳 4 名、20～24 歳 16 名、
25～29 歳 11 名、30～39 歳 28 名、
40 歳以上 63 名

検体：血清 178 件

抗体保有状況を図 2 に示した。抗体価 16 倍以上及び 256 倍以上について保有状況を報告する。

(a) 抗体価 16 倍以上の保有状況

抗体価 16 倍以上についてみると、抗体保有率は全体で 93 % であった。0～1 歳が 47 %、40 歳以上が 97 % だった以外は、全ての年齢群で 100 % であった。また抗体価 16 倍未満の抗体陰性者は 0～1 歳の 8 名、40 歳以上の 2 名の合計 10 名のみであった。

(b) 抗体価 256 倍以上の保有状況

抗体価 256 倍以上の抗体保有率は全体で 73 % であった。2～19 歳で 85 % 以上と高い抗体保有率であった。0～1 歳では保有率が低く 13 % であった。

③ HIV 抗体検査

保健所から依頼された HIV 抗体検査 52 件を実施した。ゼラチン粒子凝集法 (PA 法) によるスクリーニング検査の結果、全て陰性であった。

④ 肝炎検査 (HBs 抗原・HCV 抗体)

保健所から依頼された HBs 抗原検査 11 件、HCV 抗体検査 11 件について、イムノクロマト法によるスクリーニング検査を実施した。結果は、HBs 抗原検査で 2 件が陽性であった。

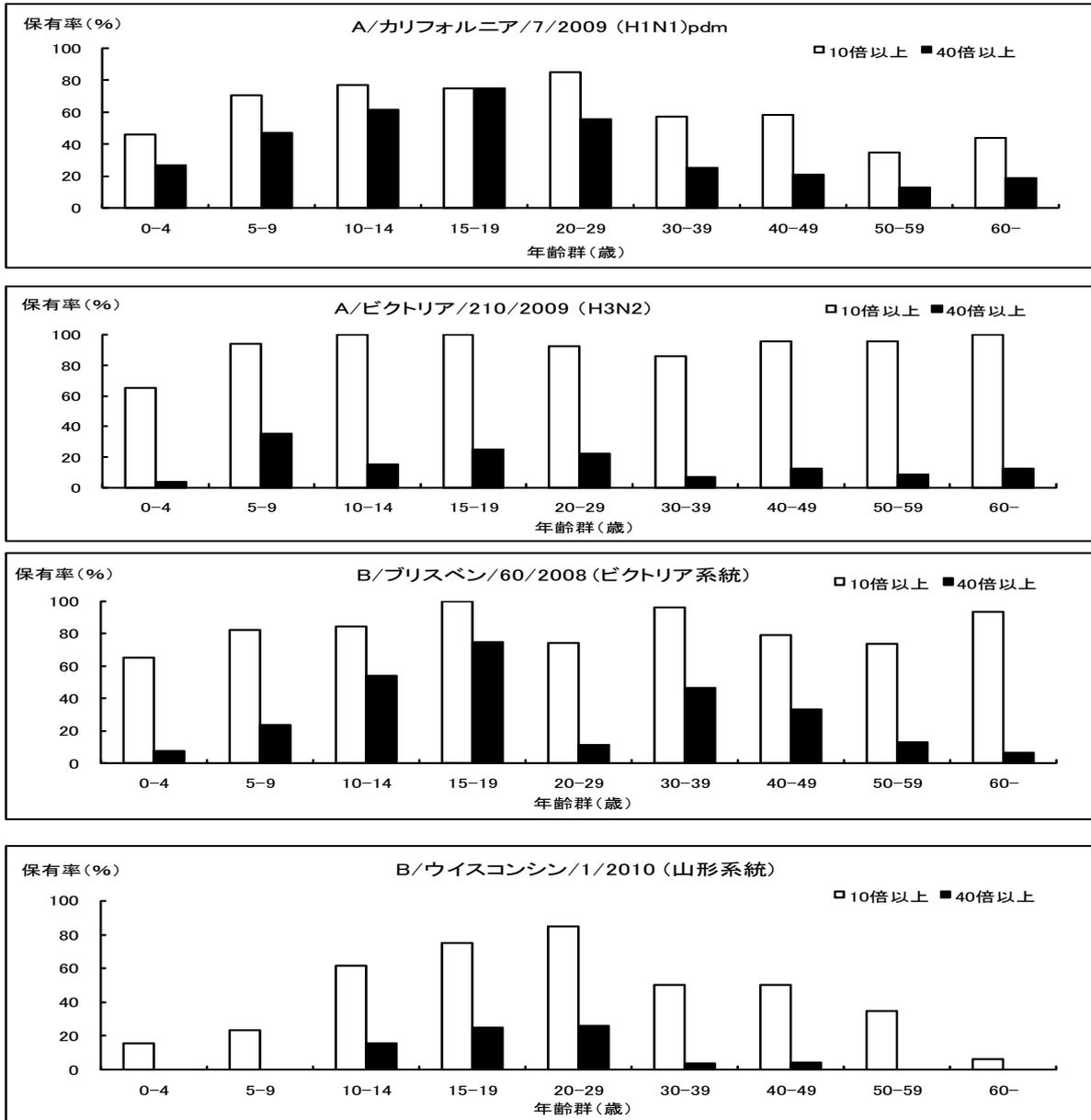


図1 年齢区分別インフルエンザHI抗体保有状況 (感受性調査)

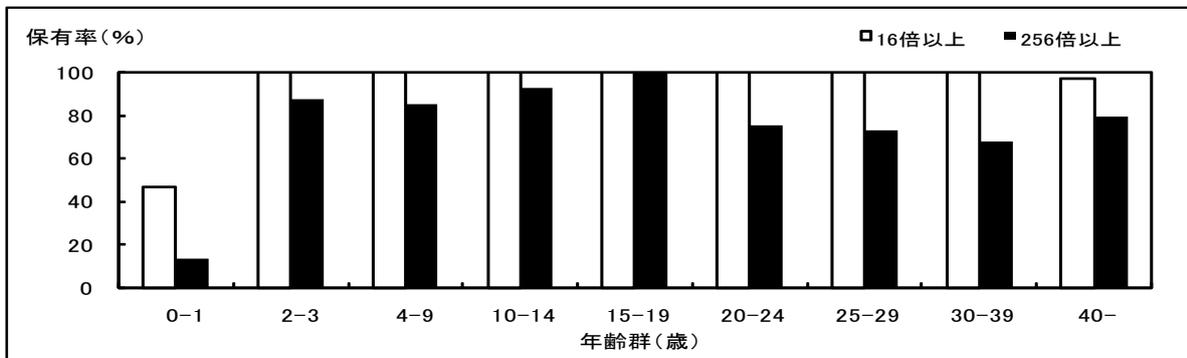


図2 年齢区分別麻疹抗体保有状況

表2 食中毒及び感染症の集団発生事例

No.	保健所	検体採取 月 日	検出数/検体数		備考
			有症者	従事者	
1	会津	5.17	0/10	0/4	
2	県中	5.24～26	0/5	0/2	非発症者 0/4
3	会津	5.30	9/10	1/3	G II
4	県北	6.7	0/11	0/8	
5	県南	6.19	2/2	0/4	食品 1/1 G I・G II
6	県南	6.21	4/4	0/5	非発症者 0/3 G I・G II
7	県南	6.22	4/4	0/1	G I・G II
8	県中	6.23	2/2		G I・G II
9	県北	8.25	0/5		
	県北	8.25	0/1	0/3	
10	県中	8.26	1/1		G II
11	県北	9.28	4/4		G II
	県北	9.29	0/9	4/4	G II
	県北	9.30		0/3	
12	県北	11.22	6/6	1/4	G I・G II
	県北	11.22	3/6	1/3	G I・G II
13	会津	12.11	0/2		
14	県北	12.15	12/12		G II
	県北	12.15		2/2	G II
15	県南	12.15	2/2		G I・G II
	県南	12.16	1/1		G I
14	県北	12.19		1/2	G II
16	県北	12.22	1/1		G I
	会津	12.22	5/5		G I
17	会津	12.23	10/11	1/3	G I
18	会津	12.31	7/7	2/7	G I・G II
19	相双	2.22		0/2	食品 0/1
	相双	2.23	0/8		
20	県北	2.29	5/5	0/4	G II 食品 0/1
	県北	3.1	2/2	1/2	G I・G II
21	会津	3.7		0/1	
22	県中	3.24	4/4		G II
23	県北	3.27	3/4	1/1	G II
		3.28	1/1	0/1	G II

⑤食中毒及び感染症の集団発生原因調査

6 保健所管内から 23 事例 224 件の検査依頼があり、ノロウイルス等の検査を実施した(表 2)。その結果、16 事例でノロウイルスを検出した。遺伝子群別では Genogroup I (以

下“G I”とする)のみの検出が 2 事例、Genogroup II (以下“G II”とする)のみの検出が 6 事例、G I と G II の検出が 8 事例であった。これまで検出がまれであった G I が今年度は多く検出された。

(本誌 35～37 頁参照)

また、郡山市保健所から 3 事例 37 株のノロウイルス G I 及び G II の遺伝子解析の依頼があり結果を報告した。

⑥麻疹検査

麻疹届出患者について、麻疹の正確な診断を目的として、遺伝子検査を実施した。5 保健所から 9 症例(27 検体)の検査依頼があった。麻疹遺伝子検査の結果、1 症例 1 検体から麻疹ウイルスが検出されたが、ワクチン接種後の患者からの検体でワクチン由来株であることが確認された。

(2)一般依頼検査

① HIV 検査

2 件の検査依頼があり、スクリーニング検査の結果、陰性であった。

(3)情報関係業務

地方衛生研究所衛生微生物技術協議会北海道・東北・新潟支部において、エンテロウイルスレファレンス支部センター及びリケッチアレファレンス支部センターの担当として、各県に会議内容を報告し、エンテロウイルスについては同定用抗血清の保管管理を行った。

2) 細菌検査

(1)行政検査

①感染症発生動向調査事業(暦年)

県内の 9 病原体定点において採取された 339 件の検体等について、本事業の対象疾患である A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎、百日咳、細菌性髄膜炎に関連する細菌検査を行った。肺炎球菌、インフルエンザ菌については、薬剤耐性遺伝子の検査を実施した。

また、東日本大震災後避難所となった施設において風邪様症状を呈した 5 人の患者の咽頭拭い液を採取し検査を行った。1 人の患者からインフルエンザ菌を検出した。

これら病原体検査情報を当所内の感染症情報センターに提供している。

(本誌 60～66 参照)

②感染症・食中毒予防対策事業

a) 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症の感染源・接触者等の調査において、腸管出血性大腸菌が 50 株検出された。この中には、隣県の生菓子製造所が原因施設となり、1 名の死者を出した集団食中毒由来株 9 株も含まれる。

これらについて確認検査を実施し、菌株を国立感染症研究所に送付するとともに、その結果について情報還元を行っている(表 3)。

表 3 腸管出血性大腸菌の血清型・毒素型

O 型	VT1	VT2	VT1・VT2	計
O26	20		3	23
O91	1			1
O111	2		2	4
O121		2		2
O145		1	1	2
O157	3	4	11	18
総計	26	7	17	50

b) 細菌性赤痢

集団、散発各 2 事例の細菌性赤痢の患者発生があり、*Shigella sonnei* 23 株が搬入された。この内、1 事例は東北 4 県に及んだ外食チェーン店が原因施設となった大規模な集団感染であった。もう 1 事例は、発生時期や遺伝子解析結果からも前述事例との関連が強く疑われたが、疫学調査において関連を見出すことはできなかった。(本誌 38 ~ 41 参照)

赤痢菌等の菌株の送付については、平成 20 年 10 月 9 日付け厚生労働省健康局結核感染症課長および医薬食品局食品安全部監視安全課長通知に基づき国立感染症研究所に菌株を送付した。

c) パラチフス

東京都の医療機関からパラチフスの発生届け出のあった関連調査について県北保健所から、検査依頼が 1 件あった。結果は陰性であった。

d) 食中毒由来菌株のライブラリー化

試験検査課および支所で分離された菌株を保存している(表 4)。

7 事例から 20 株が分離された。この中の 1 事例は東日本大震災後避難所となった施設に

おいて発生した食中毒事件であり、ウェルシュ菌 10 株を分離した。

表 4 食中毒関連調査分離株

菌種名	菌株数
<i>Clostridium perfringens</i>	10
<i>Campylobacter jejuni</i>	4
<i>Salmonella</i> spp.	4
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1
<i>Morganella morganii</i>	1

③結核対策事業

県内で発生した結核の感染拡大防止対策を講じるため、県が定めた結核菌 RFLP 解析検査実施要綱に基づき、分子疫学的調査を実施している。今年度は結核菌 35 株が搬入された。(本誌 42 ~ 47 参照)

④食品安全対策事業

生乳 2 件について *Listeria monocytogenes* 検査を実施した。結果はすべて陰性であった。

⑤医療機器等安全対策事業

医療機器一斉監視指導による取去検査として、医療機器 1 件の無菌試験を実施した。結果は適合であった。

(2) 一般依頼検査

福島県赤十字血液センターから依頼を受けた 20 検体の血液製剤について無菌試験を実施した。結果はすべて適合であった。

(3) 情報関係業務

①地方衛生研究所衛生微生物技術協議会北海道・東北・新潟支部溶血レンサ球菌レファレンスセンター活動(暦年)

溶血性レンサ球菌レファレンスシステムの北海道・東北・新潟ブロック支部センターとして支部内の劇症型/重症溶血性レンサ球菌感染症に関する情報をとりまとめた。また、検体の血清型および *spe* (A・B・C) 遺伝子検査を行い、さらに国立感染症研究所において *speF* 遺伝子検査及び *emm* 遺伝子型別や薬剤感受性試験を行うために検体を送付した。当所および国立感染症研究所における検査結果は支部内の各衛生研究所に情報を還元している。平成 23 年は、13 例の報告があり平成 22 年と比べると大幅に増加した(表 5)。

②地方衛生研究所衛生微生物技術協議会北海

道・東北・新潟支部ボツリヌスレファレンスセンター活動

現在のところ他施設からの依頼はない。

(4)共同研究

①食品由来感染症調査における分子疫学手法に関する研究

(平成 21 年度～平成 23 年度)

研究代表者：国立感染症研究所 細菌第一部 寺嶋淳

「厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」の協力研究として参加している。

腸管出血性大腸菌 O157 を用いて各地研で PFGE (パルスフィールドゲル電気泳動) 用プラグを作成し、精度管理に参加した。

②新型薬剤耐性菌等に関する研究 - 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究 -

(平成 21 年度～平成 23 年度)

研究代表者：名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学 荒川宜親

「厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」の

協力研究として参加している。

平成 23 年度はメタロβ-ラクタマーゼ (MBL) 遺伝子検出 PCR のコラボレイティブスタディに参加した。

MBL 遺伝子保有臨床分離株について、病原体マニュアルに記載されている共通法と各地研で行っている方法で PCR を実施し、再現性等について検討した。

③バイオテロに使用される可能性のある病原体等の新規検出法と標準化に関する研究

(平成 23 年度～平成 25 年度)

研究代表者：国立感染症研究所 倉根一郎

「厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」の協力研究として参加している。

真菌同定について rRNA 遺伝子間に存在する D1/D2 LSU 及び ITS 領域を増幅するプライマーを用い PCR を行い、その産物についてシーケンスを実施後国際的に公表されているデータベースである BLAST を参照して菌種を同定した。

④病原体等の登録、保管、輸送、廃棄に関する一括管理システムに関する研究

(平成 21 年度～平成 23 年度)

表 5 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

No.	発症月	担当地研	血清群	T/M型別	SPE 型	emm 型
1	1 月	新潟市衛生環境研究所	A 群	1/1	ABF	1.0
2	1 月	新潟県保健環境科学研究所	A 群	1/1	ABF	1.0
3	2 月	岩手県環境保健研究センター	A 群	B3264/型別不能	BF	89.0
4	2 月	新潟県保健環境科学研究所	A 群	12/12	BCF	12.0
5	3 月	新潟県保健環境科学研究所	A 群	1/1	BCF	1.0
6	6 月	青森県環境保健センター	G 群			stG652.0
7	6 月	青森県環境保健センター	A 群	12/12	BF	12.0
8	6 月	北海道立衛生研究所	A 群	1/1	ABF	1.0
9	7 月	新潟県保健環境科学研究所	G 群			stG2078.0
10	10 月	北海道立衛生研究所	A 群	1/1	ABF	1.0
11	10 月	北海道立衛生研究所	A 群	B3264/型別不能	BCF	89.0
12	11 月	札幌市衛生研究所	A 群	1/1	ABF	1.0
13	11 月	北海道立衛生研究所	B 群	I b		

研究代表者：国立感染症研究所 篠原克明
「厚生労働科学研究費補助金 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」の協力研究として参加している。

当所に保管されている菌株を用い、新しく開発された病原体等管理システムの検証を行った。

脱渋柿	15	
乾燥野草	24	6
乾燥きくらげ	3	1
牛肉	4	
魚介乾燥品	4	
その他	243	
合計	1308	41

2 理化学検査

1) 食品薬品検査

平成 23 年 3 月 11 日に発生した東日本大震災及び東京電力株式会社福島第一原子力発電所における事故の影響により、本県は甚大な被害を受け、県では住民の避難等の災害に係る対応を最優先に実施してきたことから、平成 23 年度福島県食品衛生監視指導計画及び医薬品一斉監視指導に係る検査は、実施出来る状況にはなかった。しかし、原子力発電所事故の影響から、住民の食品の安全性を確保するため、急遽、所内にゲルマニウム半導体検出器 3 台を設置し、県内に流通する加工食品等について放射性物質検査を実施した。

(1) 行政検査

①加工食品等の放射性物質検査

県内で生産、流通する加工食品等について暫定規制値超過食品の流通の未然防止と食品の安全確保の目的で放射性物質検査を実施した。平成 23 年 10 月から平成 24 年 3 月まで 1308 検体の検査を行い、このうち 41 検体が暫定規制値を超過した。規制値超過した食品は、乾燥加工したものであった。表 6 に食品区分毎の検体数を示す。

表 6 加工食品の放射性物質検査

区分	検体数	暫定規制値超過
乾燥野菜	334	7
漬け物	212	
干し柿	61	7
あんぼ柿	56	4
干しいたけ	43	15
ジャム類	44	
清涼飲料水	49	
茶葉	33	1
乾燥果実	144	
凍み豆腐	39	

*実施出来なかった検査内容（食品中の残留農薬検査、流通米のカドミウム含有量検査、麻痺性貝毒および下痢性貝毒検査、畜水産物中の抗生物質等モニタリング検査、食品添加物(防かび剤)の検査、遺伝子組み換え食品検査、医薬品等一斉監視指導に関する検査および医薬品含有(疑)食品等検査)

②貝類毒化調査（水産課）

水産課の貝類毒化調査事業として、平成 23 年 4～9 月及び平成 24 年 2～3 月に県内産ムラサキイガイ 11 検体について検査を実施した。平成 23 年 4 月 4 日に採取した検体から麻痺性貝毒 32.5MU/g（規制値 4MU/g）を検出したため、平成 23 年 4 月 7 日付で規制措置が執られた。5 月 31 日および 6 月 13 日採取の検体からは、下痢性貝毒を 0.05MU/g（規制値 0.05MU/g）検出したが、基準値を越すことはなく推移し、麻痺性貝毒も減少傾向を示し、6 月 17 日に規制が解除された。平成 24 年 3 月 26 日に採取した検体から麻痺性貝毒 5.7MU/g（規制値 4MU/g）を検出し、平成 24 年 3 月 29 日付で規制措置が執られた。

(2) 共同研究

食品中に残留する農薬等の成分である物質の試験法開発・検証業務

厚生労働省との委託契約により、「一斉試験法の妥当性評価試験」を受託した。これは既存試験法の妥当性を評価するための試験で、当所では LC/MS(MS)による農薬等の一斉試験法 I（農産物）について 40 化合物の検証業務を分担実施し、結果を国に報告した。

2) 生活科学検査

生活衛生に関わる試験検査事業として平成 23 年度に実施した検査の検体数を表 7 に示す。

表7 試験検査事業検体数

検査区分	検体数
行政検査	
レジオネラ属菌検査	75
家庭用品試買品検査	83
県有施設等水質検査	24
飲料水の放射性物質 モニタリング検査	969
一般依頼	
飲料水等検査	138
検査	

(1) 行政検査

① レジオネラ属菌検査事業

旅館及び公衆浴場の浴槽水によるレジオネラ症発生防止を目的として、浴槽水のレジオネラ属菌検査を実施した。検査結果を表8～10に示す。検査した75施設のうち18施設から *Legionella pneumophila* (以下“*L.pneumophila*”とする) 及び *Legionella* 属菌が検出された。検出率は35.0%で、検出された菌数は $1.0 \times 10^1 \sim 8.4 \times 10^3$ CFU/100mLであった。*L.pneumophila* の血清群は6群の検出率が高かった。

なお、検出された施設に対しては、保健所が指導を行った。

表8 レジオネラ属菌の検出状況

	施設数	検出数	検出率 (%)
県北	15	5	33.3
県中	10	3	30.0
県南	15	1	6.7
会津	20	6	30.0
南会津	15	3	20.0
計	75	18	24.0

表9 検出菌数 (CFU/100mL)

	10 ⁻	10 ² -	10 ³ -	計
施設数	7	6	5	18

表10 *L.pneumophila* の血清群

	1	2	3	4	5	6	9	12	不明	L.sp	計
県北	2					1				1	5
県中		1	1		2	1					5
県南			1			1	1				3

会津	1	1	1	1	2	1	1	8			
南会津		1	1		2	1		5			
計	3	2	4	1	3	7	2	1	2	1	26

② 家庭用品試買品検査

有害物質を含む家庭用品による健康被害防止を目的として、家庭用品試買検査実施要領に基づき家庭用品試買品の検査を実施した。検査項目と検体数を表11に示す。結果は全て基準を満たしていた。

表11 家庭用品試買品検査

検査項目	検体数
ホルムアルデヒド	56
24ヶ月以内乳幼児用繊維製品	(31)
乳幼児用を除く繊維製品	(25)
塩化水素または硫酸	9
NaOHまたはKOH	
メタノール	9
容器試験(4項目)	9
計	83

③ 県有施設等の水質検査

県立高等学校、養護学校等の水道施設およびプール水の理化学項目検査を実施した。また、震災による被災井戸の簡易項目検査を1件行った。内訳を表12に示す。結果はすべて基準値以下であった。

表12 県有施設の水質検査

	高等 学校	養護 学校	その他	計
プール水(総トリハロメタン)	7	5		12
準簡易専用水道(7項目)	3	4	2	9
給水施設(12項目)		1	1	2
簡易項目(9項目)			1	1

(2) 一般依頼検査

一般住民からの依頼により、飲料水等の水質検査を138件実施した。

(3) 飲料水の放射性物質モニタリング検査

10月から、飲料水中の放射性物質測定を開始した。

飲料水については、「福島県飲料水の放射性物質モニタリング検査実施計画」に基づき

10月3日(月)から、相双地区の延べ17カ所の検体について、週3回、16核種について測定を行った。

23年度は、77回、969件測定し、検出された人工核種はなかった。I¹³¹、Cs¹³⁴、Cs¹³⁷の検出限界値については5Bq/kg未満、月に1回は1Bq/kg未満で測定することとなっていたが、2月6日より検出限界値1Bq/kg未満として測定した。

(4) 排水自主検査

当所本館が下水道法による特定事業場に該当しているため、毎月1回排水の自主検査を実施した。6項目(pH, BOD, SS, Pb, Cd, Cr⁶⁺)について検査を行い、結果は全て下水道法に基づく基準値以下であった。

3 試験検査課及び各支所の事業

県の各保健所が実施する食品安全対策事業、食中毒原因調査、感染症予防対策事業において、食中毒や感染症を引き起こす病原菌等の検査を実施した。また様々な食品中の食品添加物が適正に使用されているか理化学検査により確認を行った。

その他、県民からの依頼による、飲料水の検査や、便中の腸管感染症病原菌の検査等を行った。検査実績を表13に示す。

1) 行政検査

(1) 食品収去検査

食品の安全確保のため、食品衛生監視指導計画に基づき、保健所が店頭や製造所から収去した加工食品・水産食品等について、食中毒を引き起こす大腸菌・サルモネラ属菌・黄色ブドウ球菌等の細菌検査や保存料・発色剤・甘味料等の食品添加物の理化学検査を行った。細菌検査、理化学検査の検査検体数を表14に示す。

表14 食品収去検査検体数

	試験検査課	県中支所	会津支所
細菌検査	37	274	150
理化学検査		117	

検査の結果、アイスクリーム類から大腸菌群が検出された成分規格基準不適合事例や、発酵乳の無脂乳固形分の規格基準違反の事例

があり、自主回収等の指導がなされた。また、弁当やそうざい、洋生菓子、生めん、生食用食肉などで細菌数や大腸菌、大腸菌群など、衛生規範の規定値を超えて検出された事例が数件確認され、保健所が行政指導を実施した。

(2) HIV抗体即日検査

HIV(ヒト免疫不全ウイルス)の抗体の即日検査を211件実施した。

(3) 食中毒等検査

食中毒(疑いを含む)が発生した場合、食中毒処理要領に基づき発症者便、食物を提供した施設の食材(保存食)、調理従事者便、施設の拭き取り試料について食中毒菌の検査を実施した。近年ノロウイルスが原因の食中毒の発生が多いため、食中毒菌検査と併せてノロウイルス検査も実施する事例が多かった(ウイルス検査は微生物課で実施)。

また、平成23年8~9月東北六県にまたがる外食チェーン店での食事による細菌性赤痢が県北、県中保健所管内等で複数発生し、疫学調査及び検便検査を実施した。

なお、県内(いわき市、郡山市を除く)の施設を原因とする食中毒が15件発生し、その原因菌等別食中毒事例数を表15に示す。

表15 原因菌等別食中毒事例数

	試験検査課	県中支所	会津支所
事例数計	6	5	4
カンピロバクター	1	1	
ウェルシュ※		1	
腸炎ビブリオ※	1		
ノロウイルス	4	3	3
不明			1

※の事例は、原因施設が不明の食中毒

(4) 感染症検査

腸管出血性大腸菌 O157 や赤痢等の感染症発生届出により、感染症法に基づく患者家族等の保菌状況の検査を行った。

腸管出血性大腸菌 O26, O91, O111, O121, O145, O157, 赤痢の発生がみられた。原因菌別感染症事例数を表16に示す。

表13 平成23年度試験検査課及び各支所の検査実績

検査分類	検体数				検査項目数					
	検体数 合計	試験 検査課	県中 支所	会津 支所	検査 別	項目数 合計	試験 検査	県中 支所	会津 支所	
行政 検査	食品収去 検査	578	37	391	150	細菌 理化学	1,452 209	126 0	900 209	426 0
	HIV即日検査	211	82	52	77	臨床	211	82	52	77
	食中毒検査	366	208	71	87	細菌	4,514	2,211	926	1,377
	感染症検査	124	96	22	6	細菌	124	96	22	6
	プール水	35	3	32	0	細菌	70	6	64	0
						理化学	105	9	96	0
	水道水	9	2	3	4	細菌	18	4	6	8
	浴槽水	29	11	10	8	細菌	21	11	2	8
						理化学	42	22	20	0
	市場等拭取	128	2	14	112	細菌	270	4	42	224
その他	180	132	1	47	細菌	351	56	2	293	
					理化学	114	114	0	0	
合計	1,660	573	596	491		7,501	2,741	2,341	2,419	
一 般 依 頼 検 査	便検査	301	86	143	72	細菌	1,332	365	615	352
	食品等	18	1	15	2	細菌	31	0	28	3
						理化学	4	1	3	0
	井戸水	152	2	114	36	細菌	303	4	228	71
	その他	2	0	1	1	微生物	1	0	1	0
合計	473	89	273	111		1,671	370	875	426	
精 理 度 管	細菌	6	2	2	2	細菌	6	2	2	2
	理化学	2	1	1	0	理化学	2	1	1	0
	合計	8	3	3	2		8	3	3	2
総計	2,141	665	872	604		9,180	3,114	3,219	2,847	

表16 原因菌等別感染症事例数

事例数	試験検査課	県中支所	会津支所
O26	8	2	
O91			1
O111	2	1	
O121	1		
O145	2		
O157	3		
赤痢	2	5	

(5) 環境衛生関連施設等の水質検査

① プール水、水道水の水質検査

県立学校等のプール水や水道水について、プール水 35 件、水道水 9 件の検査を実施した。

② 公衆浴場水の水質検査

県内の公衆浴場について、浴槽水の有機物・濁度・大腸菌群の検査を 29 件実施した。

(6) 市場等の拭き取り検査

公設市場の鮮魚介類取扱施設やと畜場等の拭き取り検査を 128 件実施した。

(7) その他の検査

あんぼ柿水分含有量や福祉施設入所者の検便等 180 件の検査を実施した。

2) 一般依頼検査

県民からの依頼に基づき有料検査として、便・飲料水・食品等 473 件の検査を行った。

技術研修事業及び 公衆衛生情報関係事業

衛生研究所は、地域保健法の施行に伴って策定された「地域保健対策の推進に関する基本的な指針」及び「地方衛生研究所設置要綱」により、保健衛生行政の科学的・技術的中核機関として位置付けられている。そこで当所では、保健衛生行政に寄与し、県民の健康維持、健康増進を図るため、調査研究、試験検

査の他、研修事業、精度管理事業ならびに感染症情報の収集・解析・関係機関への情報提供を行った。

1 研修事業

保健衛生行政担当職員等の人材育成及び資質の向上のため、当所職員、中核市保健所検査担当者、医師、学生等を対象に各種研修、講師派遣による講習を行った。

1) 職員研修

(1) 学会・研究会等への参加状況

学会・研究会の名称	開催期間	開催地	参加者
東北食中毒研究会	H23. 8.17	山形市	2
福島医学検査学会	H23. 9. 9	福島市	1
第 32 回日本食品微生物学会学術総会	H23.10. 6 ~ 10. 7	東京都	2
地方衛生研究所全国協議会総会	H23.10.18	秋田市	1
第 23 回日本臨床微生物学会	H24. 1.21 ~ 1.22	横浜市	2
第 64 回日本衛生動物学会	H24. 3.30 ~ 3.31	上田市	1

(2) 会議等への参加状況

会議等の名称	開催期間	開催地	参加者
全国協議会北海道東北新潟支部総会	H23. 7. 7 ~ 7. 8	秋田市	1
残留農薬等分析法検討会	H23. 8. 8	東京都	1
地方衛生研究所地域ブロック会議	H23. 9. 9	青森市	1
日本感染症学会東日本地方会学術集会	H23.10.26 ~ 10.28	山形市	1
地研支部微生物研究部会総会	H23.11. 1 ~ 11. 2	青森市	2
結核菌分子疫学情報データベースの構築ブロック会議	H23.11.21	仙台市	1
日本バイオセーフティ学会	H23.12. 1 ~ 12. 2	つくば市	1
地域保健総合推進事業地研地域ブロック会議	H23.12.15 ~ 12.16	青森市	1
全国疫学情報ネットワーク構築会議	H24. 1.27	東京都	1
指定薬物分析研修会議	H24. 1.27	東京都	1
統一精度管理会議	H24. 3.12	東京都	1

(3) 研修会・講習会等への参加状況

研修会・講習会の名称	開催期間	開催地	参加者
技術情報セミナー	H23. 7. 6	東京都	1
ゲルマニウム半導体分析装置担当職員研修会	H23. 8.18 ~ 8.19	福島市	7
放射能分析研修会	H23. 8.23	郡山市	2
食品衛生及び経営の合理化に関する講習会	H23. 9. 5	福島市	2
生食用食肉の規格基準設定に関する説明会	H23. 9.12	東京都	1
新規採用職員研修（前期）	H23. 9.14 ~ 9.16 H23. 9.20 ~ 9.22	福島市 福島市	1 1

県南保健所つつが虫病研修会	H23. 9.28	白河市	1
生食用生鮮食品による病因物質不明有症事例への対応試験の説明会	H23.10.20	東京都	1
クオンティフェロン3G検査手技完全習得講座	H23.10.24 ~ 10.25	東京都	1
環境食品分析セミナー	H23.10.25	郡山市	2
第19回ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー	H23.11.3 ~ 11.5	広島市	1
地方感染症情報センターブロック疫学研修会	H23.11.10 ~ 11.11	山形市	1
国立保健医療科学院短期研修（細菌研修）	H23.11.14 ~ 12.2	東京都	1
新規採用職員研修（後期）	H23.11.14 ~ 11.18	福島市	1
信頼性確保部門責任者等研修会	H23.11.18	東京都	1
結核菌分子疫学情報データベースの構築講習会	H23.11.21	仙台市	1
食品安全フォーラム	H23.11.28	東京都	1
新規採用職員研修（後期）	H23.11.28 ~ 12.2	福島市	1
病原体等運搬に関する講習会	H23.11.30	東京都	1
残留農薬分析セミナー	H23.12.1	東京都	1
放射性核種分析装置研修会	H23.12.2	郡山市	2
公衆衛生情報研究協力会議研修会	H24.1.19	東京都	1
残留農薬等研修会	H24.1.20	東京都	2
食品に関するリスクコミュニケーション	H24.1.24	福島市	2
生活衛生関係技術担当者研修会	H24.2.23	東京都	1
希少感染症診断技術研修会	H24.2.22 2.24	東京都	2
地研衛生理化学部門研究会	H24.2.27 ~ 2.28	東京都	1

2) 所外の検査担当職員等を対象とした研修

(1) 試験検査技術研修会

研修内容	開催期間	参加者
①初任者研修（中核市職員） 内容：食品 GLP について，食品添加物、着色料 担当：試験検査課	H23. 6.28 ~ 6.29	1
②初任者研修（中核市職員） 内容：食品 GLP について，試料の調製から判定まで（生菌数・大腸菌群・黄色ブドウ球菌等） 担当：試験検査課	H23. 6.30 ~ 7.1	1
③専任者研修（中核市職員） 内容：生食用生鮮食品による病原物質不明有症事例への対応 担当：微生物課細菌	H23.11.10 ~ 11.11	3

3) 所外講師，見学実習等

(1) 所外講師派遣

派遣先	期間	講師
会津食品三会同定期総会（会津若松市）	H23. 6.24	所長 西田茂樹
総合衛生学院臨床検査学科（福島市） （保健福祉総論講義・血液検査学実習）	H23. 6.13 ~ 7.19 (6回)	主任医療技師 松山勝江

(総合演習)	H24. 1.13		
国立保健医療科学院 (和光市)	H23.12. 1	所長	西田茂樹

(2) 所内見学実習

見学者名称	開催日	参加者
ポラリス保健看護学院	H23.10.18	7
総合衛生学院臨床検査学科学生	H23.10.27	19
福島学院大学短期大学部食物栄養科学生	H24. 2. 1	44

(3) 所内研修会

研修内容	講師	開催期間	対象者	参加者
転入者, 初任者 GLP 研修	総務企画課	H23. 4.22, H23. 6. 3	該当所員	13
初任者研修 (理化学コース)	試験検査課	H23. 6.28 ~ 6.29	該当所員	6
初任者研修 (細菌コース)	試験検査課	H23. 6.30 ~ 7. 1	該当所員	7
第 1 回 GLP 研修	総務企画課	H23. 7.21 ~ 7.22	全所員	41
専任者研修 (細菌コース) 生食用生鮮食品による病原物 質不明有症事例への対応	微生物課 細菌	H23.11.10 ~ 11.11	担当所員	7
ギルソンピペットマン精度管理 講習会	総務企画課	H23.12. 9 H24. 3.29	担当所員 担当所員	21 16
第 2 回 GLP 研修	総務企画課	H23.12. 8 ~ 12. 9	所員他	39
所内発表会	各課, 各支所	H24. 2.24	所員他	47
所内伝達研修	各課, 各支所	H24. 3. 9	所員他	29

2 精度管理事業

精度管理事業については、「福島県試験検査精度管理事業」の実施及び参加、「外部精度管理調査」への参加がある。

福島県試験検査精度管理事業は、昭和 47 年 (1972 年) から、中核市保健所、環境センター及び県内の食品や水等の試験検査機関を対象に、試験検査技術の向上と測定データの精度を確保するために実施している。本事業は、理化学Ⅰ、理化学Ⅱ、食品化学、細菌Ⅰ、細菌Ⅱの 5 部門について担当課が試料を作製、参加機関に配布し、結果については報告書に取りまとめるとともに、2 月に行われる検査技術発表会において公表している。

外部精度管理調査は、検査精度の信頼性の確保のために導入している食品 GLP に対応するため、財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施している外部精度管理事業へ参加することにより行っている。なお、その結果については本庁主務課に報告している。

その他、各種精度管理事業へ積極的に参加

することにより、検査精度の維持管理に努めている。

1) 福島県試験検査精度管理事業

今年度は、東日本大震災の関係で実施を見送りとした。

2) 外部精度管理事業への参加状況

(1) 食品衛生外部精度管理調査

[調査実施機関]

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所

①微生物課

[実施項目及び実施結果]

a) 大腸菌群検査

添加菌を正しく検出できた。

②理化学課

[実施項目及び実施結果]

a) 重金属検査 (カドミウム定量)

X-R 管理図において、測定値の範囲を示す R が管理限界線を上回った。当該測定機器は老朽化が著しく更新予定となっており、新機種導入後は、良好な結果となった。

b) 残留農薬検査Ⅱ (一斉分析)

フルトラニル, マラチオン, クロルピリホスを正しく定性することができた。しかし, 通常検査項目にはないフルトラニルについて, マトリックスの影響から定量値が高くなった。今後, これらの項目についてはマトリックス検量線で確認することとした。

c) 動物用医薬品検査 (スルファジミジン定量)

\bar{X} -R 管理図において, 測定値の範囲を示す R が管理限界線を若干上回ったため, 抽出操作を見直し, 改善した。

③試験検査課

[実施項目及び実施結果]

- a) 黄色ブドウ球菌検査(加熱食肉製品)
添加菌を正しく検出できた。
- b) 食品添加物検査Ⅱ (ソルビン酸定量)
検査結果は良好だった。

④県中支所

[実施項目及び実施結果]

- a) 黄色ブドウ球菌検査(加熱食肉製品)
添加菌を正しく検出できた。
- b) 食品添加物検査Ⅱ (ソルビン酸定量)
検査結果は良好であった。

⑤会津支所

[実施項目及び実施結果]

- a) 黄色ブドウ球菌検査 (加熱食肉製品)
添加菌を正しく検出できた。

(2) 水道水質検査精度管理のための統一試料調査

[参加目的]

分析技術の向上, 精度管理事業に関する情報収集のため。

[調査実施機関]

厚生労働省健康局水道課

[実施項目及び実施結果]

無機物 (鉄), 有機物 (四塩化炭素)
結果はいずれも良好であった。

3 感染症発生動向調査事業

新型インフルエンザの発生等で, 県民の健康への関心は高まっており, 公衆衛生情報の提供は衛生研究所の重要な業務のひとつとなっている。平成 23 年度も感染症発生動向調査事業における感染症情報センターとしての業務を行った。

感染症発生動向調査事業は, 平成 11 年 4 月に施行された「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」に基づいて実施しており, 患者情報・病原体情報の収集, 分析及び提供・公開を行っている。

本県においては「福島県感染症発生動向調査事業実施要綱」が平成 12 年 4 月 1 日に制定されて本事業が開始された。衛生研究所における感染症情報センター業務については, 平成 13 年 7 月より本庁事業課より移管された。

1) 地方感染症情報センター業務

感染症の患者情報及び病原体情報の収集・解析を行い, その結果を関係機関等に感染症週報 (一〜五類全数把握感染症及び五類定点把握感染症等), 感染症月報 (8 疾患等), 感染症年報で還元している。

(1) 情報収集及び還元

全数把握疾患は県内すべての医療機関から, 定点把握疾患は県内の指定届出医療機関から報告されている。

医療機関からの情報は保健所経由でオンラインや FAX で収集している。収集した情報をもとに, 週報は第 1 週から第 52 週まで, 月報は 1 月号から 12 月号まで発行し, 医師会等の関係機関に提供するとともに, 当所のホームページ上に公開している。

なお, ホームページについては, 週報は毎週水曜日に, 月報は感染症情報解析委員会の承認後に発行した。

また, 年間の患者情報をまとめた平成 23 年年報を発行した。

(2) 感染症発生状況

全数報告が義務づけられている一〜四類感染症, 全数報告五類感染症及び県内指定届出医療機関 (インフルエンザ 80 定点, 小児科 48 定点, 眼科 12 定点, 基幹定点 7 定点, STD 定点 16 定点, 疑似症定点 124 定点) から報告される定点把握五類感染症, 疑似症について患者発生情報を解析し, コメント・グラフ等を作成するとともに, 注目疾患の流行状況についてマップで示す等により, 感染症の予防と適切な医療に有用な情報を提供するように努めている。

なお, 東日本大震災および原子力発電所事

故により一部の医療機関からの情報が得られなかった。

①全数把握疾患

平成 23 年の各疾患別患者報告数について表 1 に示す。

結核 342 例，細菌性赤痢 23 例，腸管出血性大腸菌感染症 49 例等の報告があった。

表 1 平成 23 年全数把握疾患累計報告数

分類	疾患名	累計報告数
一類	エボラ出血熱	-
	クリミア・コンゴ出血熱	-
	痘そう	-
	南米出血熱	-
	ペスト	-
	マールブルグ病	-
	ラッサ熱	-
二類	急性灰白髄炎	-
	結核	342
	ジフテリア	-
	重症急性呼吸器症候群（病原体が SARS コロナウイルスであるものに限る）	-
	鳥インフルエンザ（H5N1）	-
三類	コレラ	-
	細菌性赤痢	23
	腸管出血性大腸菌感染症	49
	腸チフス	-
	パラチフス	-
四類	E 型肝炎	1
	ウエストナイル熱（ウエストナイル脳炎を含む）	-
	A 型肝炎	2
	エキノкокクス症	-
	黄熱	-
	オウム病	-
	オムスク出血熱	-
	回帰熱	-
	キャサヌル森林病	-
	Q 熱	-
	狂犬病	-
	コクシジオイデス症	-
	サル痘	-
	腎症候性出血熱	-
五類	西部ウマ脳炎	-
	ダニ媒介脳炎	-
	炭疽	-
	チクングニア熱	-
	つつが虫病	37
	デング熱	-
	東部ウマ脳炎	-
	鳥インフルエンザ（鳥インフルエンザ(H5N1)を除く）	-
	ニパウイルス感染症	-
	日本紅斑熱	1
	日本脳炎	-
	ハンタウイルス肺症候群	-
	B ウイルス病	-
	鼻疽	-
	ブルセラ症	-
	ベネズエラウマ脳炎	-
	ヘンドラウイルス感染症	-
	発しんチフス	-
	ボツリヌス症	-
マラリア	2	
野兎病	-	
ライム病	1	
リッサウイルス感染症	-	
リフトバレー熱	-	
類鼻疽	-	
レジオネラ症	7	
レプトスピラ症	-	
ロッキー山紅斑熱	-	
アメーバ赤痢	12	
ウイルス性肝炎（E 型肝炎及び A 型肝炎を除く）	1	
急性脳炎（ウエストナイル脳炎，西部ウマ脳炎，ダニ媒介脳炎，東部ウマ脳炎，日本脳炎，ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く）	-	
クリプトスポリジウム症	-	
クロイツフェルト・ヤコブ病	1	
劇症型溶血性レンサ球菌感染症	1	
後天性免疫不全症候群	5	
ジアルジア症	-	
髄膜炎菌性髄膜炎	-	
先天性風しん症候群	-	

梅毒	4
破傷風	1
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	-
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	-
風しん	1
麻しん	-

②週報定点把握疾患

平成 23 年の各疾患別患者報告数について表 2 に示す。

a) インフルエンザ

2010/2011 シーズン (2010 年第 36 週～2011 年第 35 週) は、第 48 週に流行を開始し、第 3 週にピークを迎えその後減少した (第 10 週から第 14 週は震災および原発事故の影響で情報収集をしていない)。調査を再開した第 15 週以降多少報告数が増加したが、第 25 週に終息となった。シーズン合計の報告数は 13,602 名で昨シーズンより減少した。迅速診断キットの結果は、A 型が約 88 %、B 型が約 12 %であり、ほとんどが A 型であった。

b) RS ウイルス感染症

平成 23 年の報告数は 2,680 名であった。前年末からの流行に引き続き、3 月頃まで流行が見られたが、震災により第 14 週まで調査不可能となった。年後半は、例年より 2 ヶ月早い 9 月頃から流行が始まり、最初は会津、郡山市、その後県北、県南、相双でも流行が見られた。

c) 感染性胃腸炎

平成 23 年の報告数は 10,879 名であった。前年末からの流行に引き続き、年始から南会津を除く県内全域で流行し、第 3 週以降減少した。また、例年同様、12 月頃から流行が始まった。

d) 手足口病

平成 23 年の報告数は 3,370 名で、前年と比較し約 1.5 倍となった。第 36 週をピークに、相双を除く県内全域で流行が見られた。

e) 流行性耳下腺炎

平成 23 年の報告数は 1,241 名で、前年と比較し約 4 分の 1 に減少した。前年に引き続き県北、郡山市、県南で震災前まで流行が見

られた。調査再開後は、いわき市で 5 月頃から年末まで流行が続いた。

表 2 平成23年定点把握疾患及び疑似症
累計報告数

疾患名	累計報告数
インフルエンザ (鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く) (10/11 シーズン)	13,602
咽頭結膜熱	952
A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎	3,291
感染性胃腸炎	10,879
水痘	3,679
手足口病	3,370
伝染性紅斑	2,178
突発性発しん	1,272
百日咳	4
ヘルパンギーナ	2,622
流行性耳下腺炎	1,241
RS ウイルス感染症	2,680
急性出血性結膜炎	-
流行性角結膜炎	576
細菌性髄膜炎	10
無菌性髄膜炎	43
マイコプラズマ肺炎	469
クラミジア肺炎 (オウム病を除く)	31
インフルエンザ (入院) *	19
摂氏 38 度以上の発熱及び呼吸器症状 (明らかな外傷又は器質的疾患に起因するものを除く)	-
発熱及び発しん又は水疱 (ただし、当該疑似症が二類感染症、三類感染症、四類感染症及び五類感染症の患者の症状であることが明らかな場合を除く)	-

*平成 23 年 9 月 5 日より調査開始

③月報定点把握疾患

平成 23 年各疾患別患者報告数を表 3 に示す。

STD 報告数の全国との年齢構成の比較では、性器ヘルペスウイルス感染症と尖圭コンジローマで若年齢層の占める割合が高かった。

薬剤耐性菌感染症の報告患者の年齢構成

は、全国とほぼ同様であった。

表3 平成23年定点把握疾患累計報告数

疾患名	累計報告数
性器クラミジア感染症	578
性器ヘルペスウイルス感染症	139
尖圭コンジローマ	94
淋菌感染症	295
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 感染症	644
ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	49
薬剤耐性緑膿菌感染症	21
薬剤耐性アシネトバクター感染 症*	-

*平成23年2月1日より調査開始

4 食品衛生検査施設の業務管理（食品GLP）

平成9年の食品衛生法施行令の一部改正に基づき、食品衛生検査業務管理（GLP）の事業を行っている。

平成16年度に組織再編があり、食品GLP業務管理組織体制は、次のとおりとなっている。

信頼性確保部門責任者は副所長（総務担当）、検査部門責任者は副所長（業務担当）及び支所長（保健福祉事務所の生活衛生部長が兼務）、各検査区分責任者は微生物課長、理化学課長、試験検査課長及び支所キャップとなっている。信頼性確保部門担当職員は厚生労働省が主催する信頼性確保部門責任者研修に参加し、質の向上に努めている。

平成23年度は食品GLP委員会を平成24年3月14日に開催、7月と12月に全職員を対象に研修会を開催し、各検査部門における食品衛生検査業務の信頼性確保と向上に努めた。

信頼性確保部門による内部点検は、業務管理要領及び内部点検標準作業書に基づき下記のとおり実施した。

内部点検は、2月～3月に実施した。

機器点検が確実になされているか、各標準作業書に従い検査が実施されているか、記録簿に必要事項が記載されているか等について、チェックリストに基づき点検を行った。指摘項目は、文章による回答を求めるものは、

特になく、点検時に口頭により伝達し、更に文書で通知した。

また、随時、法改正等に伴う各標準作業書等の改訂、整備を行った。

5 体験学習教室の開催

今年度は、東日本大震災の関係で実施を見送りとした。

Ⅲ 論文・事業報告（微生物）

- 1 2011/12 シーズンのインフルエンザの流行状況について
門馬 直太, 他
- 2 つつが虫病起因リケッチアの分子疫学的解析について（第2報）
門馬 直太, 他
- 3 2011年の福島県におけるノロウイルスの遺伝子型解析
塚田 敬子, 他
- 4 2011年に福島県で分離された赤痢菌の分子疫学的解析と
薬剤感受性試験について
千葉 一樹, 他
- 5 福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究
渡邊奈々子, 他
- 6 食品微生物検査における内部精度管理の試み ～一般細菌数～
國井 敏, 他
- 7 2011年感染症発生動向調査事業報告（ウイルス）
北川 和寛, 他
- 8 2011年感染症発生動向調査事業報告（細菌）
渡邊奈々子, 他

2011/12 シーズンのインフルエンザの流行状況について

門馬直太 塚田敬子 北川和寛 二本松久子
結城智子¹⁾ 風間秀元¹⁾ 金成篤子 佐藤弘子
微生物課 総務企画課¹⁾

要 旨

2011/12 シーズンのインフルエンザ患者報告数は 36,941 名と過去 10 年間で最も多く、ピーク時における定点あたりの患者数は 49.4 と過去 10 年間で 2 番目の値であった。

検出されたインフルエンザウイルスは A/H3 亜型が 59.8%, B/Victoria 系統が 32.6%, B/Yamagata 系統が 3.4% であり、3 シーズンぶりに B/Yamagata 系統が検出された。検出された A/H3 亜型の HA 遺伝子はワクチン株 (A/Victoria/210/2009) と異なる位置にクラスターを形成した。

キーワード：インフルエンザウイルス HA 遺伝子 系統樹解析

はじめに

当所は感染症発生動向調査事業に基づき、インフルエンザの地域流行やその規模の把握を目的として、県内 80 定点医療機関から報告される患者の発生状況を週毎に集計すると共に、病原体定点 10 医療機関から搬入される検体からインフルエンザウイルスを分離し、亜型の同定を行っている。

本報では、2011 年 9 月から 2012 年 8 月までに報告されたインフルエンザ患者数とウイルスの分離状況及び分離ウイルスの性状解析について報告する。

材料及び方法

1 患者発生状況

県内 80 定点医療機関においてインフルエンザと診断された患者数を集計した。

2 ウイルス分離及び同定

2011 年 9 月から 2012 年 8 月までに感染症発生動向調査事業並びにインフルエンザウイルスサーベイランスに基づき県内の医療機関から搬入された検体について MDCK 細胞を用いたウイルス分離を行った。細胞変性効果 (CPE) が確認された検体については、国立感染症研究所から配付された抗血清による赤血球凝集抑制 (HI) 試験を行い、下記の同定用抗血清を使用して同定した。

①A/California/7/2009pdm (H1N1pdm)

②A/Victoria/210/2009 (H3N2)

③B/Brisbane/60/2008 (Victoria 系統)

④B/Bangladesh/3333/2007 (Yamagata 系統)

3 ウイルスの塩基配列解析

国立感染症研究所が作成した病原体検査マニュアル¹⁾に従い、インフルエンザウイルスの HA 遺伝子の一部を RT-PCR により増幅し、Applied Biosystems Genetic Analyzer 3130 を用いて塩基配列を解析した。系統樹は遺伝子解析ソフト MEGA5.0 を用いて作成した。

結果及び考察

1 患者発生状況

2011/12 シーズンの患者総報告数は 36,941 名と過去 10 シーズンで最も多く、ピーク時の定点あたりの患者数は 49.4 と過去 2 番目の値となった (図 1)。週毎の患者報告数は第 5 週と第 11 週にそれぞれ定点あたり 49.4, 39.9 とピークを示し、典型的な二峰性となった (図 2)。

2 ウイルス検出状況

感染症発生動向調査事業及びインフルエンザウイルスサーベイランスにより搬入された検体について MDCK 細胞を用いたウイルス分離を行い、HI 試験による同定を行った結果、264 検体からインフルエンザウイルスを検出した (表 1)。亜型別では A/H3 が 158 (59.8%)、

B/Victoria 系統が 86 (32.6%), B/Yamagata 系統が 9 (3.4%), B/not typed が 11 (4.2%) であった。

3 HA 遺伝子の塩基配列解析

検出されたインフルエンザウイルスについて、主な抗原性に関与する HA 遺伝子の塩基配列を解析し、A/H3 亜型、B 型それぞれの系統樹を作成した (図 3, 図 4)。

A/H3 亜型は流行開始時期から 2011/12 シーズンのワクチン株 (A/Victoria/210/2009) と異なる位置に大きく 2 つのクラスターを形成した。

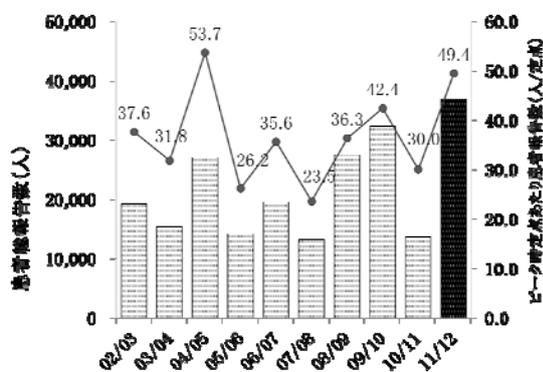


図 1 インフルエンザ患者報告数

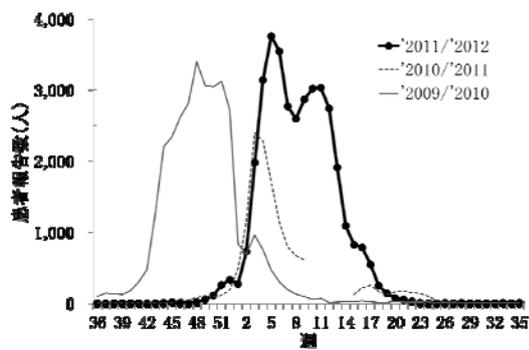


図 2 インフルエンザ患者発生状況

考 察

2011/12 シーズンは過去 10 年間で最も多く患者が報告され、新型インフルエンザが発生した 2009/10 シーズンを上回る流行となった。患者発生状況は 2 峰性を示し、インフルエンザウイルスの検出状況から前半のピークは A/H3 亜型、後半は B 型によるものと考えられた。

HA 遺伝子の系統樹解析から、2011/12 シーズンに検出された A 型インフルエンザウイルス (A/H3) はワクチン株と異なる位置にクラスターを形成しており、ワクチン株と抗原性が若干乖離したウイルスが流行したことが患者増加に影響した可能性が考えられる。なお次シーズンのワクチン株は 2011/12 シーズンの検出株とほぼ同じクラスターに属する A/Victoria/361/2011 が推奨されている²⁾。

一方、B 型インフルエンザウイルスは昨シーズンと同様 Victoria 系統が主に検出されたが、3 シーズンぶりとなる Yamagata 系統が併せて検出された。2011/12 シーズンにおける本県の Victoria 系統と Yamagata 系統の検出割合は概ね 9 : 1 であり、全国の検出割合 (2 : 1) に比べ Victoria 系統が優位に検出されている³⁾。検出された Victoria 系統の HA 遺伝子は概ね 2 つのクラスターを形成したが、シーズンを通して大きな変化はなく、A/H3 に比べ安定していたものと考えられる。

次シーズンの B 型のワクチン株は 3 シーズンぶりに Yamagata 系統の B/Wisconsin/1/2010 が推奨されている²⁾。次シーズンも引き続き両系統の混合流行となる可能性が考えられることから、Yamagata 系統だけでなく Victoria 系統の流行についても注意が必要と思われる。

表 1 月別インフルエンザウイルス検出数

	2011.11	2011.12	2012.01	2012.02	2012.03	2012.04	2012.05	計
Influenza virus A (H3)	1	30	70	37	13	7	0	158
(Victoria)	0	1	11	23	38	10	3	(86)
Influenza virus B	0	0	3	0	4	2	0	(9)
(Yamagata)	0	0	2	2	4	1	2	(11)
(not typed)	0	0	2	2	4	1	2	(11)
計	1	31	86	62	59	20	5	264

謝 辞

本調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました各医療機関の諸先生、国立感染症研究所、保健所職員の方々に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) インフルエンザ診断マニュアル（第 2 版）. 平成 24 年 3 月.
http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza_2003.pdf
- 2) Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2012-2013 northern hemisphere influenza season. February 2012.
http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201202_recommendation.pdf
- 3) 国内のインフルエンザ流行株の抗原性, 遺伝子系統樹解析および薬剤耐性株の検出状況. 2012/3/21.
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/flu-m/flu-iasrd/1801-pr3862-m.html>

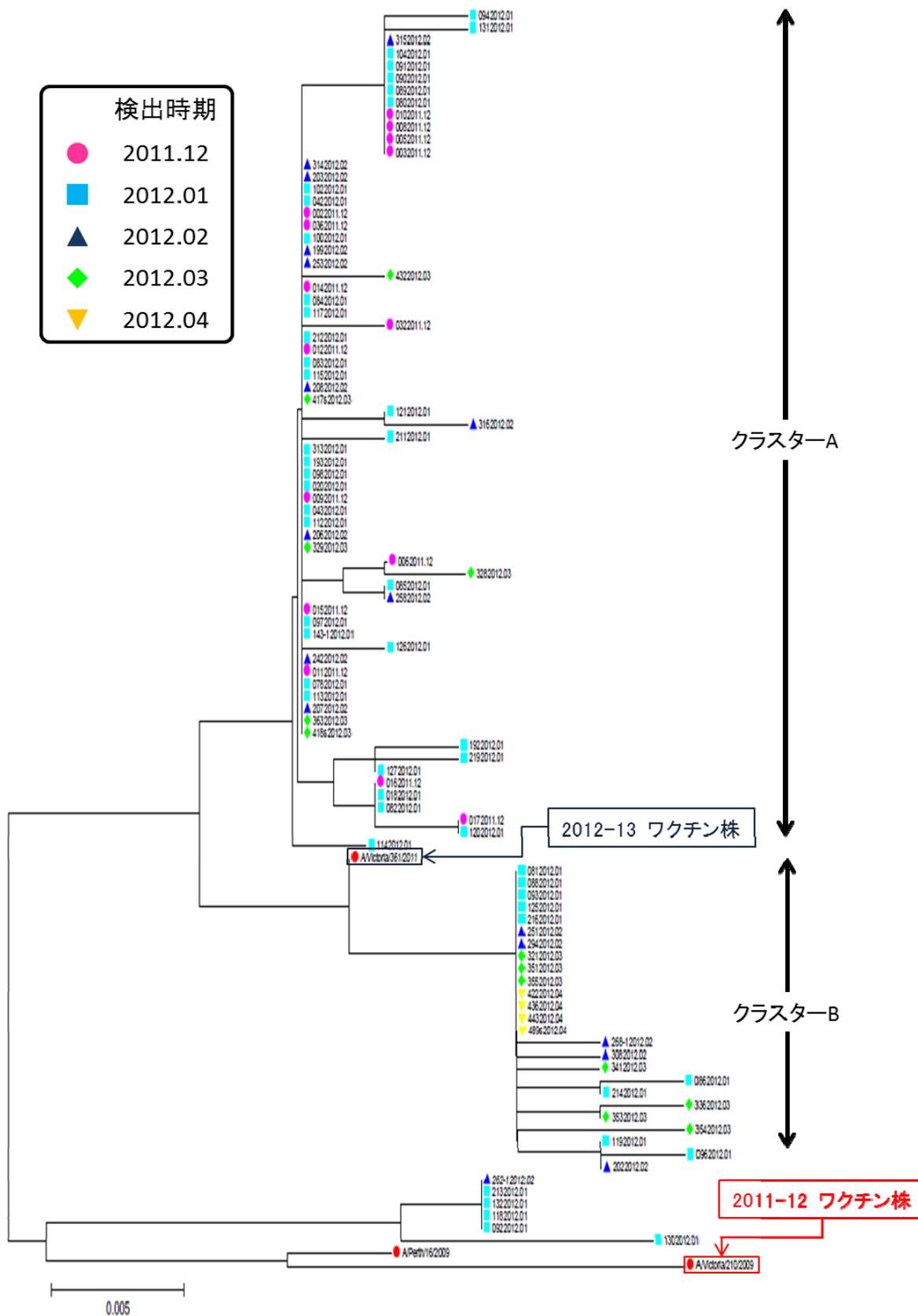


図3 インフルエンザウイルス A/H3 亜型の HA 遺伝子系統樹 (HA1 領域)

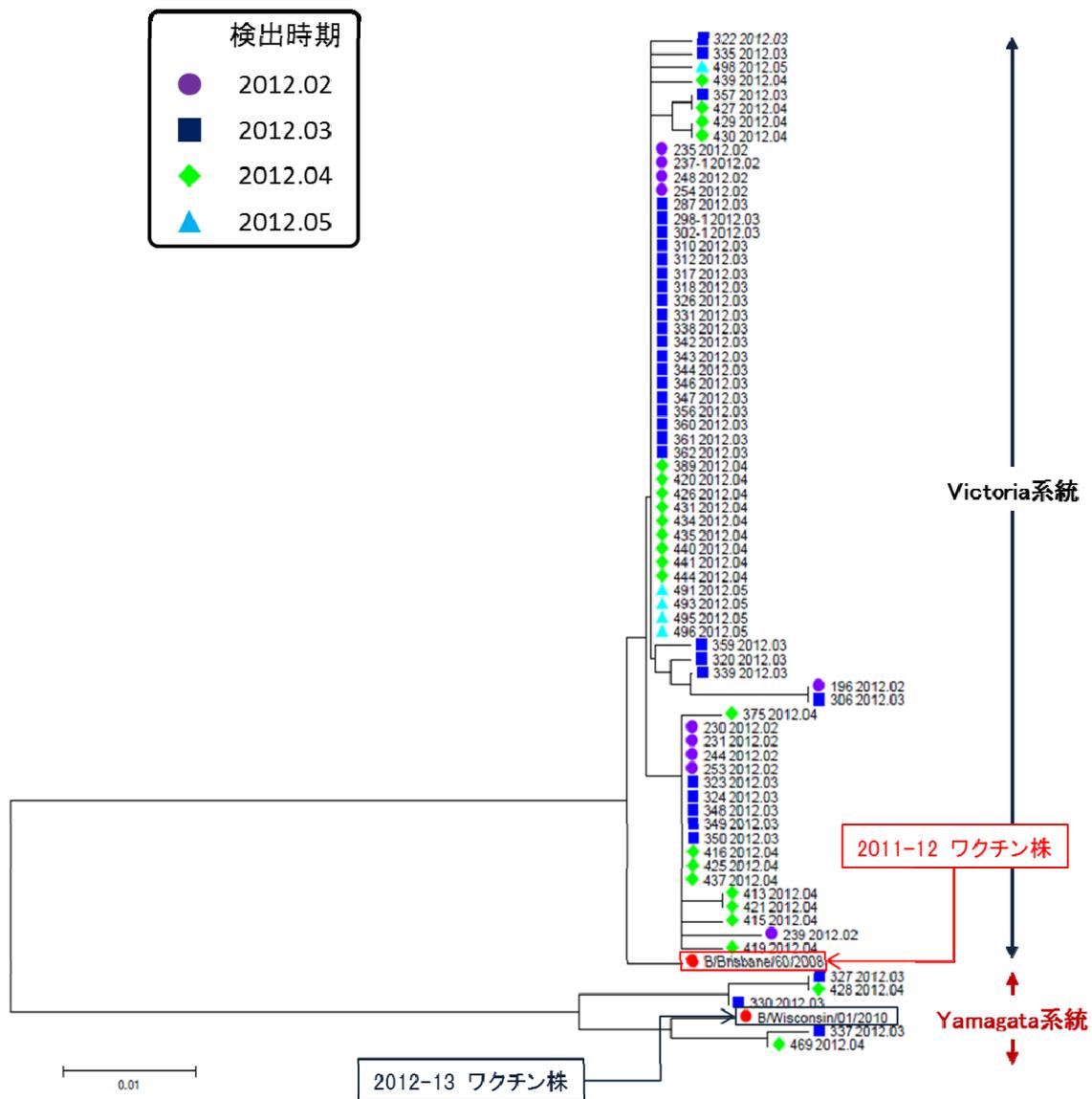


図4 B型インフルエンザウイルスのHA遺伝子系統樹 (HA1領域)

つつが虫病起因リケッチアの分子疫学的解析について (第2報)

門馬直太 塚田敬子 北川和寛 五十嵐郁美 柳沼幸¹⁾
結城智子¹⁾ 二本松久子 風間秀元¹⁾ 金成篤子 平澤恭子²⁾ 佐藤弘子
微生物課¹⁾ 総務企画課¹⁾ 福島県立総合衛生学院²⁾

要 旨

福島県は毎年多くのつつが虫病患者が報告される全国有数の発生県である。2010年度から本県におけるつつが虫病の実態把握を目的として、つつが虫病起因リケッチア *Orientia tsutsugamushi* の分子疫学的解析に関する調査研究事業を実施している。2011年度は県内における本病ベクターの探索を行い、県南地方の広い地域でタテツツガムシの生息を確認するとともに、昨年度構築した痂皮検体からの遺伝子検査を実施し、18検体から *Orientia tsutsugamushi* 遺伝子の増幅産物を確認した。

キーワード：つつが虫病, *Orientia tsutsugamushi*, 遺伝子検査

はじめに

つつが虫病は *Orientia tsutsugamushi* (以下“Ot”とする) を起因菌とするリケッチア症であり、ダニの一種ツツガムシによって媒介される。感染後5~14日の潜伏期間の後、頭痛、発熱、全身倦怠等を伴って急激に発症し、皮膚には発疹及び特徴的な刺し口が認められる。当所では2010年度より3年間の調査研究事業「つつが虫病の分子疫学的調査」を行っている。本報では2011年度に行った遺伝子検査の結果に加え、主に県南地方を中心に行ったタテツツガムシの生息調査結果について報告する。

材料及び方法

1 患者発生状況

2006年から2011年に県内定点医療機関から届出のあったつつが虫病患者数を集計した。

2 タテツツガムシ生息調査

黒布見取り法¹⁾によりタテツツガムシ(幼虫)を捕獲し、実体顕微鏡で確認した。

3 つつが虫病患者皮膚病変組織(痂皮)

県内協力医療機関(6施設)で、つつが虫病と診断された患者のうち、本調査研究に協力の意志を示し、同意書に署名いただいた18名から採取した痂皮を用いた。

4 痂皮からの核酸抽出

1mm×1mmの患者痂皮断片に200 μ LのPBSを加え、ビーズ式細胞破碎装置MS-100R(トミー精工製)で5,000rpm, 3分処理し、QIAamp Viral RNA Mini Kitにより核酸を抽出した。

5 遺伝子検査

Nested PCRによりOtの56-kDa外膜タンパク質の遺伝子を検出し²⁾、塩基配列を解析した。

6 倫理面への配慮

本調査研究は福島県衛生研究所倫理規定(人を対象とする研究)に基づき、福島県衛生研究所倫理委員会の承認のもと実施した。

結 果

1 つつが虫病患者発生状況

本県は日本有数のつつが虫病発生地域であり、毎年50人前後の患者が報告されるが、2011年は37名と過去6年間で最も少ない報告数であった(図1)。本県のつつが虫病発生状況は春と秋の二峰性を示し、春は県内各地域で患者が報告されるのに対し、秋は主に県南地方で患者が報告される。2011年は例年に比べ9~12月の患者報告数が顕著に減少していた。

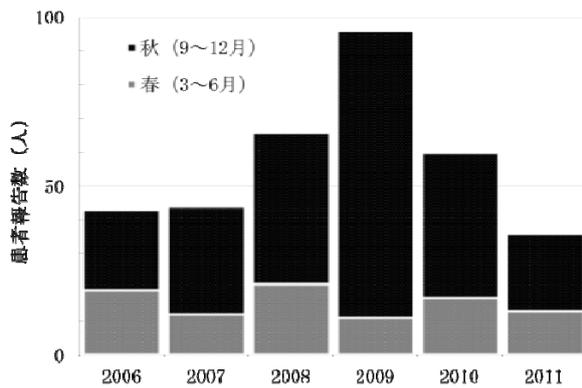


図1 つつが虫病患者報告数 (年次別)

2 タテツツガムシ生息調査

県中・県南地方において地表面や枯草に付着しているツツガムシを捕獲する黒布見取り法を用いて探索した結果、広い地域でタテツツガムシの生息が確認された (図2)。

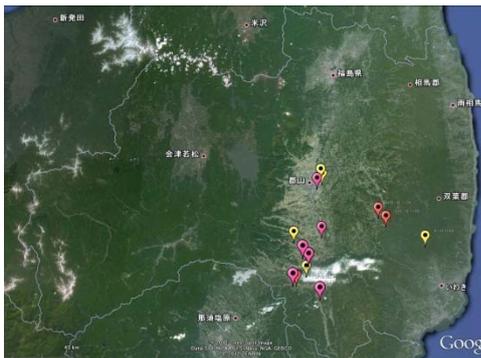


図2 タテツツガムシ生息確認地 (H23)

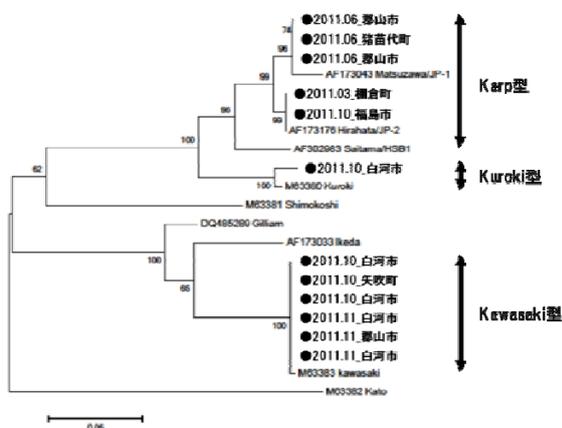


図3 Otの系統樹解析(56kDa 外膜タンパク質)

3 痂皮の遺伝子検査及び系統樹解析

県内医療機関から搬入された痂皮 18 検体について遺伝子検査を行った結果、全ての検体から Ot 遺伝子が検出された。そのうち 12 検体について Ot 遺伝子の塩基配列を解析し、系統樹を作成した結果、Karp, Kawasaki, Kuroki の血清型に分類された (図3)。

考察

2011 年のつつが虫病患者報告数は 37 名と例年に比べ少なく、特に秋の患者が顕著に減少していた。フィールド調査ではタテツツガムシの生息が広い地域で確認されており、患者数の減少はベクターではなく、その他の人的な要因が関係したものと考えられる。また、今回のフィールド調査は患者の推定感染地周辺で行っており、ほとんどの地点でタテツツガムシの生息が確認されたことから、今後は採取したツツガムシの Ot 保有率について調査する必要がある。

2011 年 10 月に白河市で感染したと思われる患者痂皮検体から Kuroki 型の Ot 遺伝子が検出された。一般的に Kuroki 型の患者の血清抗体は Karp 型の抗原とも交叉反応するため、商業的検査施設で行われる 3 種の抗原を用いた血清抗体価測定では Karp 型と混同され、場合によっては抗体価が低く、陰性と判断されることも考えられる。Ot の型別を正確に行うことで地域に生息するベクターが推測でき、季節に応じた注意喚起が可能になるため、今後も積極的に遺伝子検査を行う必要があると考える。

謝辞

本調査を行うにあたり、検体の採取にご協力いただきました県民の皆様、患者の感染推定地に関する情報を提供いただいた県南保健福祉事務所に深く感謝いたします。

引用文献

- 1) 高田伸弘, 藤田博己, 岩崎博道, 矢野泰弘, 大竹秀男, 溝口二郎: 河川敷環境のツツガムシ病「予防の手引き」策定の試み. 大原総合病院年報 1999; 42: 11-25.

- 2) リケッチア感染症診断マニュアル：国立感染症研究所・地方衛生研究所全国協議会編

2011年の福島県におけるノロウイルスの遺伝子型解析

塚田敬子 北川和寛 五十嵐郁美 門馬直太
二本松久子 金成篤子 平澤恭子¹⁾ 佐藤弘子
微生物課 ¹⁾福島県立総合衛生学院

要 旨

2011年に当所で検出されたノロウイルスについて遺伝子型解析を行った。得られた塩基配列により系統樹の作成を行った結果、多様な遺伝子型が検出された。

当所では、散発事例（感染症発生動向調査）・食中毒疑い事例・集団発生事例についてノロウイルスの検査を行っている。今回の解析により、多様な遺伝子型のNVの検出が確認されたが、これら3種類の事例で塩基配列が一致した遺伝子型のノロウイルスが検出された事例もあり、関連性が示唆された。

キーワード：ノロウイルス、遺伝子型解析

はじめに

ノロウイルス（以下、“NV”とする）はヒトに対して急性胃腸炎症状を起こすウイルスで、冬季を中心に流行する。NVはヒトからヒトへの伝播、NVに汚染されたカキ等の二枚貝の摂食、感染した調理従事者からの二次感染等によって集団感染を起こし、毎年多くの事例が報告されている。

NVは、Genogroup I（以下、“GI”とする）とGenogroup II（以下、“GII”とする）の遺伝子群に分類され、GIは14種、GIIは17種あるいはそれ以上の遺伝子型が存在している¹⁾。そのため、集団感染時における疫学解析や原因究明を行うためには、遺伝子型まで同定する必要がある²⁾。

2011年から当所は平成23年度厚生労働科学研究費補助金・食品の安全確保推進研究事業「食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究」に参画している。これは各地方衛生研究所で検出されたNVのシーケンスデータをデータベース上で共有し、広域食中毒やウイルスの変異に対応できるようにすることを目的とするものであり、当所も検出されたNVについて塩基配列の解析を進めている。

2011年は東日本大震災以降、避難所でのNVによる集団感染に加え、食中毒事例が頻発した³⁾。一方、当所にはこのような集団感染事例だけでなく、感染症発生動向調査として毎月県内

定点医療機関から急性胃腸炎等の散発事例検体も搬入される。このため、県内における2011年のNVの流行状況を総合的に解析することを目的として、当所が検出したNVについて遺伝子型解析を行い若干の知見を得たので報告する。

材料と方法

1 材料

- 1) 2011年の散発事例（感染症発生動向調査）においてNVが検出された34事例（34検体）。
- 2) 2011年に食中毒が疑われ当所に搬入されNVが検出された14事例のうち6事例（53検体）。
- 3) 東日本大震災に伴い郡山市に設置された避難所で2011年4月に発生した集団感染1事例（3検体）。

2 NV遺伝子の検出

PBSで10%乳剤とした糞便の遠心上清から、QIAmp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)によりRNAを抽出した。抽出したRNAからcDNAを作製し、「ノロウイルスの検出法」⁴⁾に準じてRT-PCR法を行った。プライマーは構造蛋白（Capsid）領域のCOG1F/G1SKR、COG2F/G2SKRを用いた。

3 NV遺伝子の塩基配列の解析

PCR増幅産物を精製後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。得られた塩基配列はClustalWにてアライメントを行った。

さらにNJ法を用い分子系統樹を作成し、遺伝子型別を行った。

結果および考察

2011年のNVの散発事例・食中毒疑い事例・集団発生事例の3種類の事例（計90検体）について塩基配列を決定し、分子系統樹を作成した（図1）。図1は、1つの検体から2つの型が検出された3検体も含み、◇は散発事例、▲は集団感染事例、●は食中毒疑い事例を示す。記号の後ろは事例発生日、衛生研究所整理番号を表す。また、矢印の後ろに括弧内に「3検体」のように記載されている事例は、同一事例の複数の検体から同一の塩基配列が検出された場合であり、検出された検体数を示す。

散発事例◇からは、GI/1, GI/7, GI/8, GI/11, GI/12, GII/2, GII/3, GII/4, GII/7, GII/12, GII/13型の11種類の遺伝子型が検出され、遺伝子型に多様性がみられた。2010年まではGIIが主流であったが、2011年はGIとGIIの多様な遺伝子型のNVが県内において流行していたと考えられる。

一般的に二枚貝等を原因食品とする食中毒事例ではGIとGIIのNVがそれぞれ検出されることが多く、遺伝子型も多様であることが多い。2011年も二枚貝が関係したと思われる●2011.1.22の食中毒事例からは、GIとGIIがそれぞれ検出され、また遺伝子型も多様であった。

遺伝子型の中でも特にGII/4型は比較的多く検出された。▲で示した2011年4月に郡山市の避難所で発生したNV集団感染事例3検体から検出されたGII/4型のNVは、全て塩基配列が一致しており、同一感染源からの感染であったことが推察される。さらに、避難所でのNV集団感染発生後も、この3株と塩基配列が一致したNVが郡山市の散発事例◇2011.11.s952と食中毒疑い事例●2011.12.15.A1から検出された。2011年には、GII/4型のNVが県内で連続して流行していた可能性が考えられる。

食中毒疑い事例においては、GII/4型の●2011.11.22A8と●2011.12.31D2, GII/13型の●2011.12.31D2と●2011.11.22A7, GI/14型の●2011.12.31D4と●2011.12.23D1と●2011.12.15C1のように、異なる集団発生事例から検出されたNVの塩基配列が一致したものがあり、疫学上何ら

かの関連があった可能性が示唆される。さらには、GI/1型の◇2011.9.s841と●2011.11.22A4, GI/7型の◇2011.12.s46と●2011.11.22A6, GII/13型の◇2011.1.s172と●2011.12.31D3と●2011.11.22A7のように県内定点医療機関から搬入される散発事例と食中毒疑い事例の間で塩基配列が一致することもあり、集団感染とその前後の散発事例が関連していた可能性も示唆された。

まとめ

当所では、散発事例（感染症発生動向調査）・食中毒疑い事例・集団発生事例についてNVの検査を行っている。今回の解析により、これら3種類の事例で塩基配列が一致したNVが検出された事例もあったことから、これらは密接に関連している可能性が示唆された。また、多様な遺伝子型のNVが県内の広範な地域で流行していたことが確認された。

NVは、調理施設における食中毒だけでなく、児童施設や高齢者施設での集団感染を引き起こし、時には重篤な事例となる場合もある。県内での流行を適切に把握し、感染拡大防止策を講ずる上で重要な情報を蓄積するために、今後も、継続的にNVの遺伝子解析を行う必要があると思われる。

謝辞

今回の研究調査を行うにあたり、検体採取にご協力いただきました県民の皆様並びに各医療機関、各保健福祉事務所の皆様に深謝いたします。

文献

- 1) 国立感染症研究所 感染症情報センター
http://idsc.nih.gov/idwr/kansen/k04/k04_11/k04_11.html 2012/2/6
- 2) 国立感染症研究所 感染症情報センター
<http://idsc.nih.gov/pathogen/refer/noro-kaisetu1.html> 2012/2/6
- 3) 福島県 保健福祉部 食品生活衛生課
<http://www.pref.fukushima.jp/eisei/syokuan/syokuanindex.html> 2012/2/7
- 4) ノロウイルスの検出法 平成19年5月14日改正 食安監発第0514004号

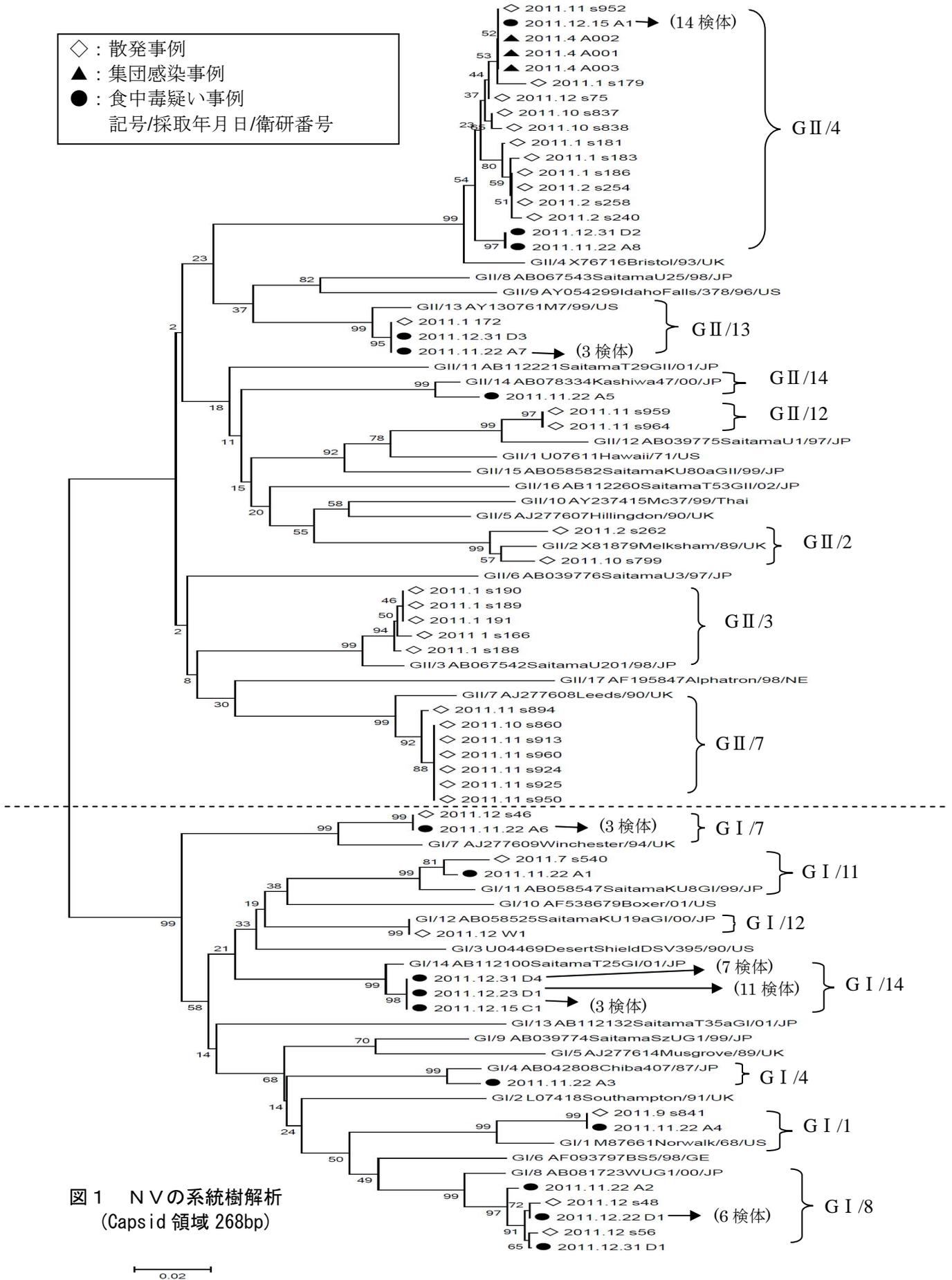


図1 NVの系統樹解析 (Capsid 領域 268bp)

2011年に福島県で分離された赤痢菌の分子疫学的解析と 薬剤感受性試験について

千葉一樹 渡邊奈々子 菅野奈美 遠藤嘉子 小黒祐子 佐藤弘子
微生物課

要旨

2011年1月から12月までに福島県内で分離され、当所に搬入された *Shigella sonnei* (以下 *S.sonnei* とする) について性状確認、パルスフィールドゲル電気泳動 (以下 PFGE とする) による分子疫学的解析および薬剤感受性試験を実施した。分子疫学的解析の結果は、2例の集団感染事例から分離された株で遺伝子切断パターンがほぼ一致した。薬剤感受性試験の結果は、海外渡航者からニューキノロン耐性株が分離され、集団感染事例から基質拡張型 β ラクタマーゼ (以下 ESBL とする) 産生株が分離された。さらに、 β ラクタマーゼ遺伝子の型別を行うと、CTX-M-15型であることが明らかとなった。

キーワード: *S.sonnei*, PFGE, ESBL, CTX-M-15型

はじめに

2011年に本県で報告された細菌性赤痢は全て *S.sonnei* であった。また、*S.sonnei* によって2例の集団感染が起きた。本県における細菌性赤痢感染症の発生報告は、ここ数年、主に海外渡航歴のある患者からの散発例が数件あるだけに留まり、集団発生は、2001年から2002年にかけて、同一居住区の井戸水の使用が原因と疑われた、*Shigella flexneri 2a* による diffuse outbreak が発生して以来、久しく無かった¹⁾。また、近年、我が国では海外からの薬剤耐性菌の流入が問題視されている。

そこで2011年1月から12月までに当所に搬入された *S.sonnei* について、集団感染の関連性の有無や薬剤耐性菌の侵淫実態の把握のため、分離菌の性状確認、PFGEによる分子疫学的解析および薬剤感受性試験を実施したのでその概要を報告する。

材 料

2011年1月から12月までに当所に搬入された23株の *S.sonnei* を用いた。内訳は、インド渡航者からの散発例 (事例1) が1株、外食チェーン店における集団感染例 (事例2) が13株、県内の飲食店における集団感染例

(事例3) が8株、カンボジア渡航者からの散発例 (事例4) が1株である。

方 法

1 性状確認

SS, DHL 寒天培地 (日水製薬) で培養を行い、性状確認用培地の TSI 培地, LIM 培地, シモンズのクエン酸ナトリウム培地 (日水製薬), VP 半流動培地 (栄研化学) 及びバイテック GNI + カード (シスメックス・バイオメリュー) を用いて生化学的性状の確認を行った。また、赤痢菌免疫血清 (デンカ生研) で血清型別試験を行った。さらに、赤痢菌および腸管侵入性大腸菌 (EIEC) 検出用 Primer Set (タカラバイオ) を用いて *invE* 遺伝子と *ipaH* 遺伝子の有無の確認を行った。

2 PFGEによる分子疫学的解析

国立感染症研究所が作成したプロトコールに従って実施した²⁾。また、制限酵素は *Xba* I を使用した。

3 薬剤感受性試験・ β ラクタマーゼ遺伝子型別試験

米国臨床検査標準化協会 (CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute) の抗菌薬デ

ディスク感受性試験実施基準に基づき、センシディスク (BD) を用いて行った。供試薬剤は、アンピシリン (ABPC)、セフェピム (CFPM)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NFLX)、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)、クロラムフェニコール (CP)、ST 合剤 (ST)、ホスホマイシン (FOM)、セフトキシム (CTX)、セフトジジム (CAZ) の計 12 種類を使用した³⁾。

また、CTX あるいは CAZ のいずれかに耐性を示した株については ESBL 産生株を疑い、CTX に CVA を添加した合剤ディスク (ESBLs-CTX/CVA; 栄研化学) および CAZ に CVA を添加した合剤ディスク (ESBLs-CAZ/CVA; 栄研化学) を用いて確認試験を行った。

さらに、ESBL 産生株と判定された供試菌について TEM 型、SHV 型、CTX-M 型の遺伝子型別を行った^{4), 5)}。また、各々のサブタイプについてはシークエンサーによる塩基配列決定によって行った。

結果及び考察

1 性状確認

性状確認培地および同定キットの結果では、23 株全てが *S.sonnei* の性状を示した。血清型と *invE/ipaH* 遺伝子の保有については、表 1 にその結果を示した。

表 1 分離株の血清型と *invE/ipaH* 遺伝子の保有状況について

血清型		保有遺伝子		分離数
多価	単価	<i>invE</i> 遺伝子	<i>ipaH</i> 遺伝子	
D群	第 I 相	(+)	(+)	18株
D群	第 I 相	(-)	(+)	1株
D群	第 II 相	(-)	(+)	4株

第 I 相あるいは第 II 相に凝集が認められるかはコロニーの性状の違いによっておおよその検討が付き、スムーズ型 (以下 S 型) コロニーでは第 I 相に、ラフ型 (以下 R 型) コロニーでは第 II 相に凝集が認められることが多い。また第 I 相の株、第 II 相の株につい

てそれぞれ *invE/ipaH* 遺伝子の保有を調べると、そのほとんどが第 I 相の株で *invE/ipaH* 遺伝子の両方の遺伝子を保有しており、第 II 相の株では *ipaH* 遺伝子のみを保有していることがわかっている。しかし、*S.sonnei* は継代培養の過程で、S 型コロニーから R 型コロニーに解離し易く、プラスミド上にある *invE* 遺伝子が脱落することがしばしばある。

今回の保有遺伝子の検査で第 I 相の株であるものの *invE* 遺伝子が脱落していた株があったが、これは第 I 相から第 II 相へと解離する過程であったことが考えられる。

2 PFGEによる分子疫学的解析

事例 2 および事例 3 に関連して搬入された計 21 株の遺伝子切断パターンを図 1 および図 2 に示した。

図 1 および図 2 の遺伝子切断パターンがほぼ一致したことから、感染源が同一である可能性が示唆された。しかし、事例 3 の喫食者と経営者の家族の 2 名が、喫食日の数日前より下痢症状があったが、事例 2 の外食チェーン店での飲食は無く、また利用者との接触も不明であったので、疫学調査からは、同一感染源であると断定することができなかった。

3 薬剤感受性試験・βラクタマーゼ遺伝子型別試験

23 株の *S.sonnei* の薬剤感受性試験の結果、薬剤耐性パターンは表 2 に示したとおり 4 パターンに分かれた。

表 2 薬剤感受性試験結果について

パターン	耐性を示した薬剤	分離株	
		分離数	事例
A	NA・NFLX・TC・SM・ST	1株	事例1
B	ABPC・NA・TC・SM・ST・CTX	20株	事例2・3
C	ABPC・CFPM・NA・TC・SM・ST・CTX・CAZ	1株	事例3
D	NA・TC・SM・ST	1株	事例4

また CTX あるいは CAZ に耐性を示した株については ESBL 産生株を疑い、CTX, CTX/CVA および CAZ, CAZ/CVA を使用した確認試験を行った。その結果、全ての株で阻止円の拡大が認められたことから、ESBL

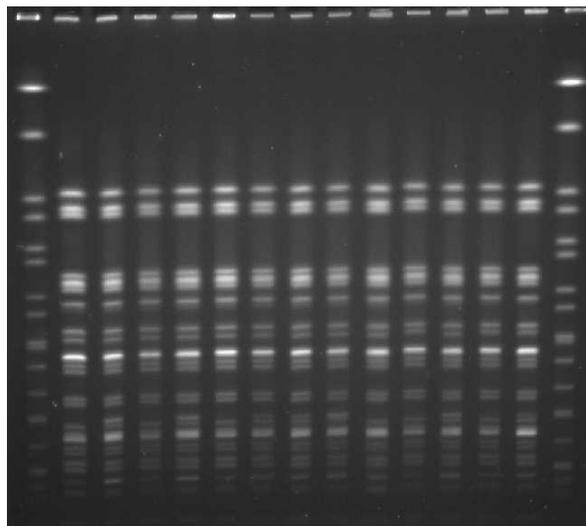


図1 事例2のPFGE遺伝子切断パターン

産生株であると判定された。

さらに、 β ラクタマーゼ遺伝子を検索したところ、全て CTX-M-15 型となった。

ESBL は、主にペニシリンを分解する ClassA β ラクタマーゼの構造遺伝子の変異により拡張し、第3世代のセフェム系 (CTX や CAZ 等) を分解する能力を獲得した β ラクタマーゼを指す。また、 β ラクタマーゼ遺伝子の種類によって TEM 型、SHV 型および CTX-M 型に分かれ、現在では世界的に CTX-M 型が増加傾向にある。

近年の赤痢菌の薬剤耐性傾向は、国内発生、海外由来に関わらず、ABPC・NA・TC・ST に耐性を示す株が多く分離されている⁶⁾。

また、海外渡航者からは、細菌性下痢症の第1選択剤としてよく使用されるニューキノロン系抗菌薬耐性株の検出例も報告されている⁷⁾。さらに、ESBL 産生株が腸内細菌科の菌種に拡大しつつある中、国内での赤痢菌における報告はまだ稀ではあるが、いくつか報告されている^{8), 9)}。

今回、事例2や3で分離された CTX-M-15 型は、CAZ 加水分解能を有し、CTX に加えて CAZ にも耐性を示す ESBL である。昨年、ドイツを中心としてヨーロッパでアウトブレイクを起こし、話題となった大腸菌 O104:H4 も CTX-M-15 型 ESBL 産生株であった¹⁰⁾。国内における CTX-M-15 型 ESBL 産生性の *S. sonnei* によるアウトブレイクは、過去に報

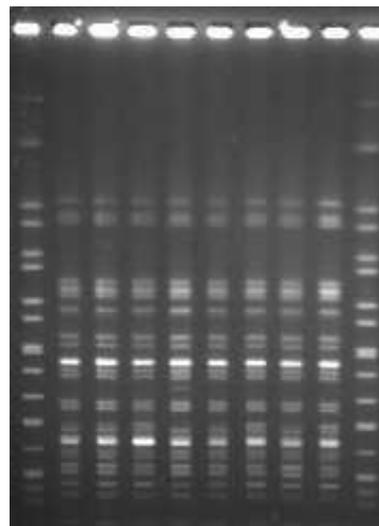


図2 事例3のPFGE遺伝子切断パターン

告がなく、本事例がおそらく初であると思われる。

まとめ

今回の事例検討より、事例2と3が、おそらく国内初となる CTX-M-15 型 ESBL 産生性の *S. sonnei* によるアウトブレイクであると明らかになった。また、分離株の大半が、ABPC・NA・TC・ST 耐性であったことや、海外渡航者からニューキノロン系抗菌薬の NFLX 耐性株が分離されたことは、近年の赤痢菌の薬剤耐性傾向が本県の事例でも確認できたことになる。今後も薬剤耐性傾向を注視する必要があると考える。

謝辞

ご指導いただいた国立感染症研究所第一部第二室長 泉谷秀昌先生へ深謝いたします。

また患者情報を提供いただきました管轄保健所の職員の方々へ深謝いたします。

引用文献

- 1) 福島県衛生研究所. 平成14年度業務概況. 福島県衛生研究所年報, 2002; 20: 15
- 2) 国立感染症研究所細菌第一部 (主任研究者 寺嶋淳). 食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究. 平成17年度総括・分担研究報告書及び平成15~17年度総括・総合研究報告書, 2005: 168-185

- 3) 麻生嶋七美, 本田己喜子, 尾崎延芳, 他.
幼稚園における *Shigella sonnei* の集団感染事例. 福岡市保健環境研究所報, 2010 ; 36 : 83-85.
- 4) Shibata, N., et al. : Antimicrob. Agents Chemother. , 50 (2), 791-795, 2006
- 5) Yagi, T., et al. : FEMS Microb. Lett. , 184, 53-56, 2000
- 6) 国立感染症研究所. 厚生労働省健康局結核感染症課. 病原微生物検出情報, 2009 ; 30 : 311-313
- 7) 吉村和修, 川島一成, 小花光, 他. ニューキノロン系抗菌薬に耐性を示した細菌性赤痢の1例. 感染症学雑誌, 1998 ; 72 : 935-938
- 8) 国立感染症研究所. 厚生労働省健康局結核感染症課. 病原微生物検出情報, 2006 ; 27 : 264-265
- 9) 国立感染症研究所. 厚生労働省健康局結核感染症課. 病原微生物検出情報, 2007 ; 28 : 45-46
- 10) 国立医薬品食品衛生研究所. 食品安全情報 (微生物), 2011 ; 14 : 12-13

福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究

渡邊奈々子 千葉一樹 菅野奈美 遠藤嘉子 小黒祐子 佐藤弘子
微生物課

要 旨

2011年度は、結核菌 35 株について RFLP 分析法および VNTR 分析法を実施し、データベースに蓄積した。

今回の検査では、両法の有用性を確認すると同時に、RFLP 分析法による判定の限界及び VNTR 分析領域の追加の必要性が認められた。よって、今後の VNTR 分析については分析領域を追加して分析を行うこととした。

キーワード：結核菌，VNTR 分析，RFLP 分析，疫学

はじめに

2002 年度より 2007 年度まで結核菌の Restriction fragment length polymorphism (以下“RFLP”とする) 分析による分子疫学的調査研究事業を実施してきた。

2008 年度からは Variable numbers of tandem repeats (以下“VNTR”とする) 分析法を取り入れた福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究事業を行っている。

2011 年度は、結核菌 35 株について分子疫学的検査を実施し、データベースに蓄積した。また、すでにデータベースとして当所に保存してある 177 株の菌株情報を用い、関連調査等を行ったのでその概要を報告する。

方 法

1 結核菌からの DNA 抽出

DNA の抽出は小川培地上の菌体から DNA 抽出キットを用い、バイオセーフティレベル 3 の施設内でクラス II B3 のバイオセーフティキャビネットを使用して行った。

2 RFLP 分析

高橋の方法^{1, 2)}に従い、結核菌 DNA を制限酵素 *Pvu* II で消化後、0.8 % アガロースゲル電気泳動、メンブレンへのトランスファー後、ハイブリダイゼーションを行った。メンブレン上の DNA の検出は、ペルオキシダー

ゼ標識ストレプトアビジン液と反応後、化学発光物質を加え、フィルムに感光させて検出した。プローブは、結核菌群特異的挿入配列 IS6110 由来 245bp の PCR 産物を Random primer DNA labeling kit (コスモバイオ社) でビオチン標識して用いた。DNA マーカーは、ベクター社の Biotynylated DNA molecular weight markers を用いた。

3 VNTR 分析

前田らの方法³⁾に従い、型別法は JATA (12)-VNTR 法で実施した。この方法は前田らが日本国内全域で分離された結核菌を解析対象モデルとして構築したものであり、ゲノム上の 12 カ所について分析をするものである。

ローカスの増幅は、抽出 DNA を PCR 法により前田らの方法³⁾と同様の条件で実施した。PCR 増幅産物は、TBE 緩衝液を用いた 2.0 % アガロースゲルで電気泳動を行い、その分子量を算出し、前田らが示した換算表³⁾を用いてコピー数に換算した。

また、精度管理株として *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv を用いた。

材 料

2011 年度に医療機関等で同定された結核菌 35 株を用いた。

35 株の保健所管内別搬入数を表 1 に示す。患者年齢階級別および男女別菌株数を表 2 に

示す。

表1 結核菌の保健所管内別搬入数

保健所名	菌株数
県北	15
県中	4
県南	1
会津	2
南会津	0
相双	5
郡山市	3
いわき市	5
計	35

表2 年齢階級別および男女別菌株数

年齢階級	男	女	総数
10～19	1	0	1
20～29	3	5	8
30～39	2	1	3
40～49	4	0	4
50～59	7	2	9
60～69	0	1	1
70～79	1	1	2
80以上	6	1	7
計	24	11	35

結果及び考察

患者間の関連調査等を図および表に示す。なお、図の M は DNA マーカーを示している。

1 関連調査事例 1

No.179, 153, 154 の患者は同じ医療機関に勤務していた。2011 年度に搬入された菌株は No.179 である。No.153, 154 については 2009 年度に関連調査の依頼があり、RFLP 及び VNTR の分析結果が一致していたことを報告している⁴⁾。

表3 関連調査事例1 (VNTR分析)

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.179	2	3	1	3	4	2	5	4	4	11	3	3
No.153	2	3	1	3	4	2	5	4	4	11	3	3
No.154	2	3	1	3	4	2	5	4	4	11	3	3

図 1 および表 3 に示すとおり、No.179 についても No.153, 154 と RFLP パターン及び VNTR 分析結果が一致し、患者間の感染または同一の感染源からの感染であることが明らかになった。No.179 は No.153, 154 の発症から 1 年以上経過してからの発症であった。

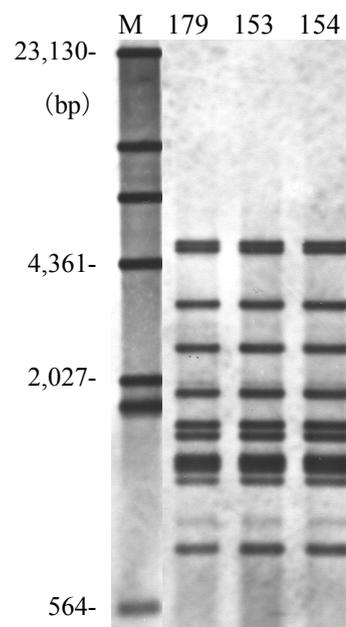


図 1 関連調査事例 1 (RFLP分析)

2 関連調査事例 2

No.184, 140, 141, 183 の患者は同じ医療機関に勤務していた。2011 年度に搬入された菌株は No.184, 183 である。No.140, 141 は 2009 年度に搬入されている。

図 2 および表 4 に示すとおり、RFLP パターンは No.184, 140 が一致し、また、VNTR 分析結果についても No.184, 140 が一致した。よって、No.184, 140 は患者間の感染または同一の感染源からの感染であることが明らかになった。No.141 と No.183 は、No.184, 140 とは RFLP パターン、VNTR 分析結果ともに

表4 関連調査事例2 (VNTR分析)

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.184	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3
No.140	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3
No.141	4	1	3	2	7	4	7	4	4	7	8	5
No.183	4	3	3	3	3	3	6	4	3	7	7	4

異なっていた。通常、同じ職場における発症という疫学的関連があれば、事例1のように同一感染源の可能性を考えるが、この事例では3つの感染源の存在が示唆された。

ことが明らかになった。この事例ではNo.209の患者の診断が遅れ、集団感染事例となった。今後もさらに患者が発生する可能性があり、注意が必要である。

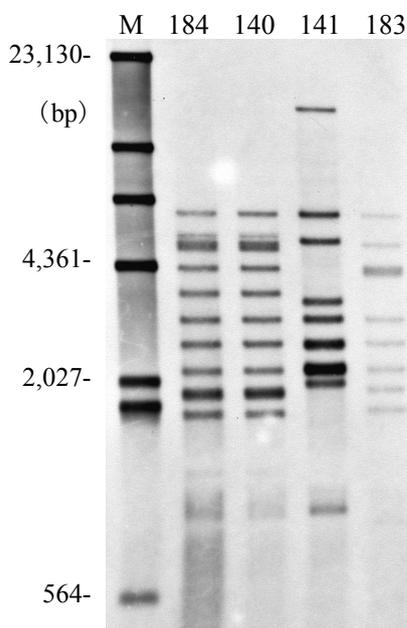


図2 関連調査事例2 (RFLP分析)

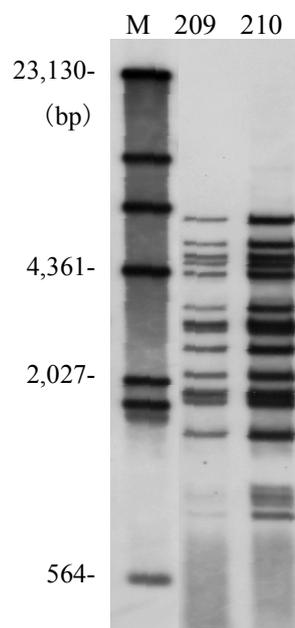


図3 関連調査事例3 (RFLP分析)

3 関連調査事例3

No.209, 210の患者は家族である。

図3および表5に示すとおり、RFLPパターン及びVNTR分析結果が一致し、患者間の感染または同一の感染源からの感染である

4 関連調査事例4

No.166, 168, 182, 189, 197の患者は仕事として共通の職場に出入りしていた。直接の接触が確認されているのはNo.168, 197の患者のみである。また、No.169, 196の患者

表5 関連調査事例3 (VNTR分析)

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.209	3	3	3	4	6	3	7	5	5	7	2	5
No.210	3	3	3	4	6	3	7	5	5	7	2	5

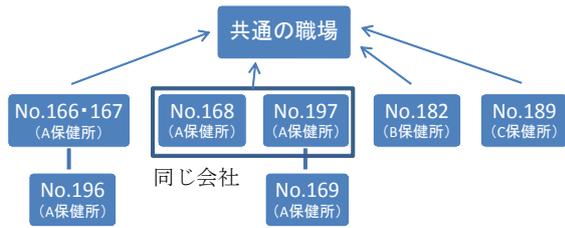


図4 関連調査事例4の相関図

はそれぞれ、No.197, 166 の患者の家族である。この事例の相関図を図4に示した。2011年度に搬入された菌株はNo.182, 189, 196, 197である。No.166, 167については同一人物から分離された結核菌株であり、2010年度に搬入され、報告している⁵⁾。同じくNo.168, 169についても、2010年度に関連調査の依頼があり、RFLP及びVNTRの分析結果が一致していたことを報告している⁵⁾。

図5および表6に示すとおり、RFLPパターンはすべての株が一致し、VNTR分析結果についても、No.189のみ1カ所異なるがほぼ一致した。なお、確認のためにVNTR分析領域を3カ所追加してJATA15とし、さらに高頻度変異領域も追加して、計6カ所の分析を新たに行った。その結果、すべての株が一致した。よって、これらの株は患者間の感染または同一の感染源からの感染であることが明らかとなった。

この事例については複数の保健所から菌株が搬入されていたため、異なる保健所間の菌株情報・関連性等はわかっていなかった。今回の結果は、分子疫学的調査の有用性を改めて示したものと考える。今後の接触者調査等

に役立てられる事を期待したい。

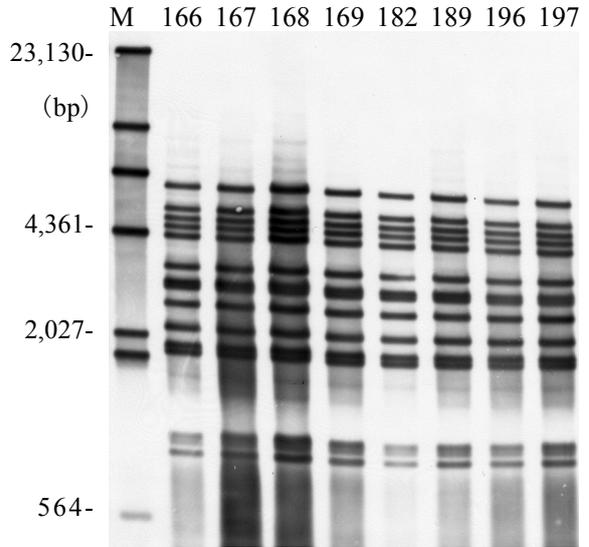


図5 関連調査事例4 (RFLP分析)

5 関連調査事例5

No.190, 208, 211の患者は同じ時期に同じ収容所にいた。まずNo.190の患者が発症し、その接触者検診実施中(約3ヶ月後)にNo.211の患者が発症した。No.208の患者は接触者検診の対象ではなかったが、No.211の患者の約1ヶ月後に発症している。

結果を図6および表7に示す。RFLPパターンはNo.208, 211については完全に一致したが、No.190とNo.208, 211とでは2~3本異なっていた。VNTR分析結果についてはすべて一致した。なお、確認のために、事例4と同じようにVNTR分析領域を6カ所追加して分析を行った。その結果、すべての株が

表6 関連調査事例4 (VNTR分析)

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.166	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.167	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.168	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.169	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.182	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.189	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	4
No.196	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5
No.197	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5

表7 関連調査事例5 (VNTR分析)

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.190	4	1	3	2	6	4	7	4	6	7	8	5
No.208	4	1	3	2	6	4	7	4	6	7	8	5
No.211	4	1	3	2	6	4	7	4	6	7	8	5

一致した。通常、RFLP 分析では 2 本バンド以上異なる場合は別株と判定される³⁾が、この事例では疫学的関連が明白であり、VNTR 分析結果は完全に一致していることから、患者間の感染または同一の感染源からの感染であると判断するべきと考える。

RFLP 分析は工程が繁雑で、かつ、画像データであるため、それぞれの菌株の DNA 量や泳動条件等によりパターン of 現れ方が変化する場合や、パターン of 判読に熟練と経験を要する場合がある。今回の事例では濃いバンドは概ね一致しているものの、薄いバンドの判定に苦慮した。バンドの濃さについては、「個々のコロニーに分離した結核菌の RFLP 解析を行うと、おのおの少しずつ異なった RFLP パターンをもつ結核菌が存在し、そして菌株全体の RFLP パターンは、その中に含まれる個々の結核菌の RFLP パターンの重なりである。バンドが濃い場合は、そのバンドを持つ結核菌の数が多いことを表し、バンドが薄い場合はそのバンドを持つ結核菌の全体に対する割合が少ないことを表すことが多い。」という考え方⁶⁾もあり、No.190 が No.208, 211 に比べてそのバンドを持つ結核菌の割合が少なかった可能性もある。いずれにしても、RFLP 分析法による判定には限界があり、それを補うためには VNTR 分析法が必要不可欠である事を再確認した事例であった。

6 VNTR分析領域追加事例

2011 年度に搬入された菌株 No.180, 184 の患者は疫学的関連は報告されていない。図 7 および表 8, 9 に示すとおり、RFLP は異なるパターンを示したが、VNTR 分析結果は 1 カ所のみ不一致であった。VNTR 分析において、少なくとも 2~3 カ所以上コピー数が異なる場合は別株と判定すべき、との考えを前

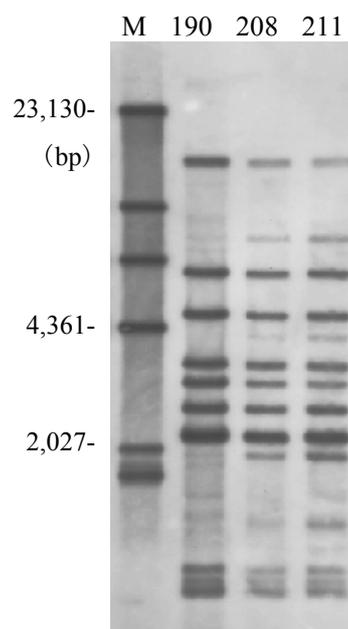


図6 関連調査事例5 (RFLP分析)

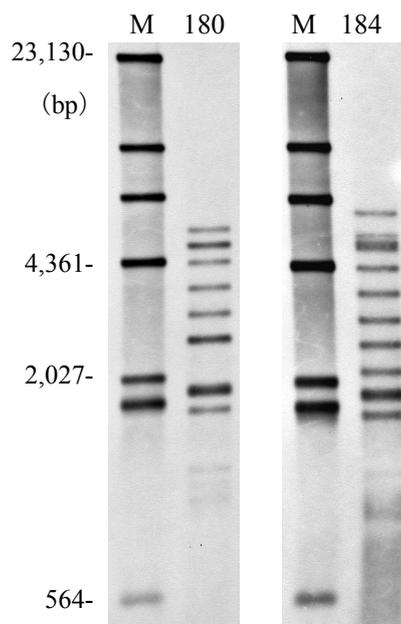


図7 VNTR分析領域追加事例 (RFLP分析)

表8 VNTR分析領域追加事例

JATA No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Alias	Mtub 04	MIRU 10	Mtub 21	Mtub 24	QUB 11b	VNTR 2372	MIRU 26	QUB 15	MIRU 31	QUB 3336	QUB 26	QUB 4156
Locus	0424	0960	1955	2074	2163b	2372	2996	3155	3192	3336	4052	4156
No.180	4	3	4	4	6	3	7	4	5	7	8	3
No.184	4	3	4	3	6	3	7	4	5	7	8	3

表9 VNTR分析領域追加事例（追加領域）

JATA No.	13	14	15
Alias	QUB 18	QUB 11a	ETR A
Locus	1982	2163a	2165
No.180	5	8	5
No.184	8	8	4

田らは報告³⁾しており、この点を踏まえると、No.180, 184 の VNTR 分析結果は一致の可能性が高いといえる。しかし、さらに確認のために分析領域を追加して JATA15 とした結果、2カ所不一致であった。よって、No.180, 184 は VNTR 分析結果においても異なるパターンを示し、それぞれ別の感染源であると推定された。

疫学的関連と分析結果が一致しない場合やさらに確認をしたい場合に、分析領域を増やしてより詳しい分析を進めることができる点は、RFLP 分析にはない VNTR 分析の大きな特徴である。現在 VNTR 分析法は、結核研究所を中心に「全国結核菌分子疫学データベース」構築に向けて、地方衛生研究所での実施が進められており、東北地方では 2008 年度より、宮城県を中心に広域における遺伝子データベースの有効的な活用方法を検討している。その結果、広域サーベイランス分析で VNTR 分析結果を使用する際、より正確に解析するためには、JATA12 から JATA15 へのプライマーの追加が不可欠であるとの報告を受けた。当所は今まで第 1 段階は JATA12 で行っていたが、今後は第 1 段階から JATA15 で行う予定である。加えて、さらに分析が必要となった場合に備え、新たな VNTR 分析領域を揃えて検討を行う必要があると考える。

最後に、2011 年は東日本大震災が起り、それに伴って結核患者数の増加が予想された

が、例年と比較して大きく数値が上がることはなかった。しかし当所に株が搬入された患者の中には、震災復興の激務や避難生活による疲れから発症したと思われる例がいくつかみられ、今後も結核患者数の増加、感染拡大に注意が必要であると思われる。感染拡大の防止には患者の早期発見と共に接触者調査が重要であり、当所の RFLP・VNTR 分析法がその調査の手助けとなるよう努力していきたい。

謝 辞

ご指導いただいた財団法人結核予防会 結核研究所 抗酸菌レファレンス部 結核菌情報科 前田伸司先生を始め、結核菌情報科の皆様へ深謝いたします。

また、疫学情報等の提供をいただいた、県内各保健所の皆様へ深謝いたします。

引用文献

- 1) 高橋光良. RFLP 分析を用いた結核菌の分析疫学. 日本細菌学雑誌 1998 ; 53 : 662-668.
- 2) 高橋光良. 結核分子疫学の成果と展望. 結核 2002 ; 77 : 741-752.
- 3) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 他. 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム. 結核 2008 ; 83 : 673-678.
- 4) 須釜久美子, 菅野奈美, 渡邊奈々子, 他. 福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究. 福島県衛生研究所年報 2009 : 52-58.
- 5) 菅野奈美, 千葉一樹, 横山博子, 他. 福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究. 福島県衛生研究所年報 2010 : 43-50.
- 6) 松本智成. 結核菌の分子疫学. 結核 2007 ; 82 : 933-940.

食品微生物検査における内部精度管理の試み ～一般細菌数～

國井敏¹⁾ 鈴木理恵 黒澤久美子 鈴木智子 熊田裕子²⁾ 須釜久美子
 県中支所 ¹⁾福島県立総合衛生学院 ²⁾試験検査課

要 旨

食品微生物検査における内部精度管理を，厚生省が示したガイドラインに沿って実施するため，保存菌株を用いて一般細菌数の内部精度管理用試料を作製し，その安定性について検討した．作製試料の凍結 1 ヶ月後から 9 ヶ月後までの一般細菌数測定結果は良好であり，内部精度管理用試料としての有用性を示した．

キーワード：食品微生物検査，内部精度管理，一般細菌数

はじめに

指定検査機関における精度管理は，平成 9 年に厚生省（現厚生労働省）から通知された「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」別添の「精度管理の一般ガイドライン」¹⁾（以下，“ガイドライン”とする）により，実施することとなっている．しかしそのガイドラインには，精度管理の一般的な基本的事項の記述しかなく，具体的な試料や方法については示されていない．

今回，食品微生物検査のうち，一般細菌数（以下，“細菌数”とする）の内部精度管理について検討したのでその結果を報告する．

材 料

1 使用菌株

Escherichia coli O86:H51（食品由来）

福島県衛生研究所病原体等安全管理規程に基づく保存菌株を用いた．

2 菌液の調製

郡山らの方法^{2) -4)}に基づき，ブレインハートインフュージョンブイオンを用い，35℃ 24 時間で 2 回継代培養し，更に普通寒天培地で 35℃ 6 時間培養した後に，滅菌生理食塩水で $1 \sim 3 \times 10^8$ cfu/mL の濃度にした．これを 30 %グリセリン加ブレインハートイ

ンフュージョンブイオンで 1×10^7 cfu/mL に調製し，攪拌しながら凍結保存チューブに約 1mL ずつ分注し -80℃ で凍結保存した．この調製保存菌液を一般細菌数内部精度管理用標準菌液（以下，“標準菌液”とする）として検討に用いた．使用時は室温の水浴中におき，解凍後速やかに使用した．

3 模擬食材の作製

市販のマッシュポテト粉末に，規定量の温水を加えてマッシュポテトを作製した後，121℃ 15 分高圧蒸気滅菌し，25g ずつストマックバッグに入れ，ポリシーラーで密封して -80℃ で保存した．使用時には室温の水浴中におき，解凍後速やかに使用した．

方 法

細菌数の測定には，食品衛生法に定められた混積培養法による標準平板菌数測定法を用いた．滅菌リン酸緩衝生理食塩水を希釈液として使用し，10 倍段階希釈の 1mL をシャーレに採取して標準寒天培地にて混積培養した．培養条件は 35 ± 1 ℃， 48 ± 3 時間とした．

1 標準菌液の細菌数直接測定

標準菌液の調製後，凍結前の細菌数を求めるために 12 本の菌液保存チューブについ

て、4名で菌数測定を実施した。

模擬食材への標準菌液添加量は、菌液の直接菌数測定の結果から算定した。

2 模擬食材に添加しての細菌数測定

マッシュポテト 25g に対し目標値として 10,000cfu/g になる量の標準菌液を加え⁵⁾、通常の食品検体と同様に希釈液で 10 倍量とした後ストマッキングしたものを試料原液とし、希釈液による 10 倍段階希釈をして混積平板培養法を行った。

結果及び考察

1 標準菌液の直接菌数測定

1) 凍結前

保存チューブ毎の測定値は表 1 に示すように、チューブ間に大きな差はなく均一な試料と認められた。平均値は 1.7×10^6 cfu/mL であった。

2) 凍結後

凍結後の標準菌液の細菌数を直接測定した (表 2, 3)。

表 1 凍結前の標準菌液細菌数測定結果

実施者	tube No.	1 回	2 回	チューブの平均値
A	1	1.6×10^6	1.6×10^6	1.6×10^6
	2	1.7×10^6	1.6×10^6	1.7×10^6
	3	1.7×10^6	1.7×10^6	1.7×10^6
B	4	1.6×10^6	1.6×10^6	1.6×10^6
	5	1.6×10^6	1.8×10^6	1.7×10^6
	6	1.6×10^6	1.8×10^6	1.7×10^6
C	7	1.6×10^6	1.7×10^6	1.7×10^6
	8	1.5×10^6	1.7×10^6	1.6×10^6
	9	1.3×10^6	1.5×10^6	1.4×10^6
D	10	2.0×10^6	2.2×10^6	2.1×10^6
	11	2.0×10^6	1.6×10^6	1.8×10^6
	12	1.9×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6
全ての測定の平均値				1.7×10^6

単位：cfu/mL

凍結 1 ヶ月から 9 ヶ月までの期間で 5 回測定した。変動係数は 3 % 以下であり、 \bar{X} -R 管理図でも、管理限界値を外れることはなく、安定した測定結果が得られた (図 1, 2)。

表 2 凍結後の標準菌液直接細菌数測定結果

凍結後経過時間	算定数 (cfu/mL)				平均値 (\bar{X})	最大値と最小値の差 (R)
1 ヶ月後	1.9×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	2.0×10^5
	1.9×10^6	1.9×10^6	2.0×10^6	1.9×10^6		
5 ヶ月後	2.0×10^6	1.8×10^6	1.7×10^6	1.5×10^6	2.0×10^6	8.0×10^5
	2.1×10^6	2.3×10^6	2.0×10^6	1.9×10^6		
	2.0×10^6	2.0×10^6	1.9×10^6	2.2×10^6		
	2.2×10^6	2.2×10^6	1.9×10^6	1.8×10^6		
6 ヶ月後	2.0×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	1.8×10^6	2.1×10^6	8.0×10^5
	2.0×10^6	2.1×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6		
	2.0×10^6	2.0×10^6	2.0×10^6	2.1×10^6		
	2.0×10^6	2.3×10^6	2.2×10^6	2.6×10^6		
8 ヶ月後	2.1×10^6	2.1×10^6	2.1×10^6	1.8×10^6	2.1×10^6	5.0×10^5
	2.3×10^6	2.1×10^6	2.0×10^6	1.8×10^6		
	2.1×10^6	2.0×10^6	2.2×10^6	2.1×10^6		
	2.2×10^6	2.2×10^6	2.2×10^6	2.3×10^6		
9 ヶ月後	2.2×10^6	2.0×10^6	1.9×10^6	1.9×10^6	2.1×10^6	4.0×10^5
	2.0×10^6	2.0×10^6	2.1×10^6	2.2×10^6		
	2.2×10^6	1.9×10^6	2.1×10^6	2.1×10^6		
	2.2×10^6	1.9×10^6	2.1×10^6	2.3×10^6		

表3 凍結後の標準菌液直接細菌数測定結果
(統計値)

データ数	5
測定値の平均値の平均値($\bar{\bar{X}}$)	2.1×10^6
測定値の平均値の最大値	2.1×10^6
測定値の平均値の最小値	2.0×10^6
測定値の平均値の標準偏差	4.9×10^4
変動係数	2.4%

測定値単位: cfu/mL

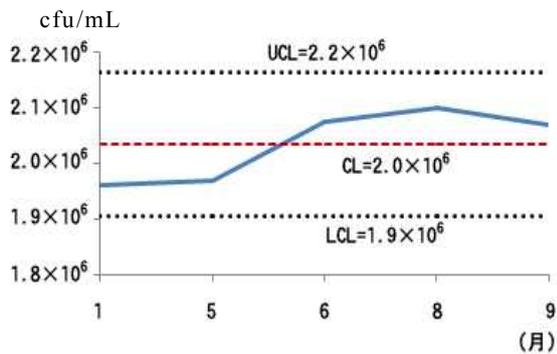


図1 凍結後の標準菌液直接細菌数測定値の \bar{X} 管理図

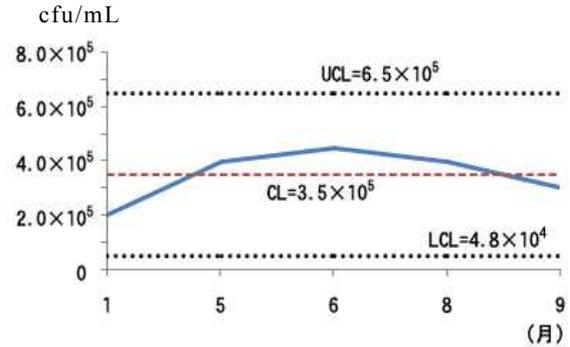


図2 凍結後の標準菌液直接細菌数測定値のR管理図

表5 模擬食材に添加した細菌数測定結果
(統計値)

データ数	6
測定値の平均値の平均値($\bar{\bar{X}}$)	1.0×10^4
測定値の平均値の最大値	1.0×10^4
測定値の平均値の最小値	1.0×10^4
測定値の平均値の標準偏差	0
変動係数	0%

測定値単位: cfu/g

表4 模擬食材に添加した細菌数測定結果

凍結後 経過時間	算定数 (cfu/g)				平均値(\bar{X})	最大値と最小値 の差(R)
	1	2	3	4		
1ヶ月後	9.6×10^3	1.1×10^4	9.2×10^3	1.1×10^4	1.0×10^4	2.4×10^3
	1.1×10^4	1.1×10^4	9.5×10^3	8.6×10^3		
2ヶ月後	9.2×10^3	1.1×10^4	9.6×10^3	9.6×10^3	1.0×10^4	1.8×10^3
	9.6×10^3	9.6×10^3	1.1×10^4	1.1×10^4		
5ヶ月後	1.1×10^4	9.3×10^3	9.9×10^3	1.0×10^4	1.0×10^4	2.7×10^3
	9.4×10^3	9.5×10^3	1.1×10^4	9.4×10^3		
	9.7×10^3	9.3×10^3	1.1×10^4	1.0×10^4		
	9.5×10^3	1.1×10^4	1.2×10^4	1.0×10^4		
6ヶ月後	1.0×10^4	1.1×10^4	1.0×10^4	1.1×10^4	1.0×10^4	2.4×10^3
	1.0×10^4	9.6×10^3	1.1×10^4	1.0×10^4		
	1.2×10^4	1.0×10^4	1.1×10^4	9.8×10^3		
	1.1×10^4	9.8×10^3	1.1×10^4	9.9×10^3		
8ヶ月後	8.9×10^3	9.8×10^3	1.0×10^4	1.1×10^4	1.0×10^4	3.1×10^3
	9.8×10^3	1.0×10^4	1.0×10^4	1.1×10^4		
	1.1×10^4	1.1×10^4	1.1×10^4	1.1×10^4		
	9.4×10^3	9.3×10^3	1.1×10^4	1.2×10^4		
9ヶ月後	1.0×10^4	1.0×10^4	8.3×10^3	9.5×10^3	1.0×10^4	3.9×10^3
	9.4×10^3	1.2×10^4	9.5×10^3	1.1×10^4		
	1.0×10^4	1.0×10^4	9.9×10^3	1.0×10^4		
	8.1×10^3	1.1×10^4	1.0×10^4	1.1×10^4		

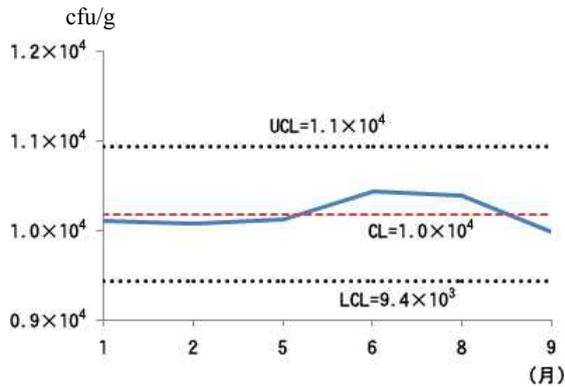


図3 模擬食材に添加した細菌数測定値の \bar{X} 管理図

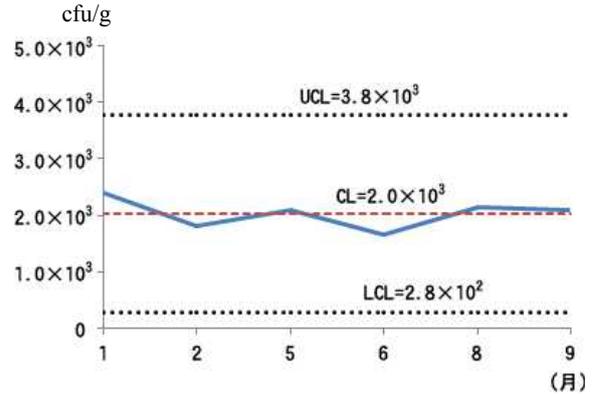


図4 模擬食材に添加した細菌数測定値の R管理図

2 模擬食材に添加した細菌数測定

標準菌液を 120 μ L 添加して調製試料とした。細菌数測定を 6 回実施した結果を表 4, 5 に示す。 \bar{X} -R 管理図では平均値, 範囲共に管理限界を外れることはなかった (図 3, 4)。

まとめ

自施設の保存菌株を用いて内部精度管理用の標準菌液を作製し検討した。

作製した標準菌液の直接菌数測定では, 凍結 1 ヶ月後から 9 ヶ月後までの実施で, 変動係数が 3 %以下であり, \bar{X} -R 管理図でも管理限界値内に収まっており, 内部精度管理のための試料としての安定性が認められた。

標準菌液を添加した模擬食材の細菌数測定でも, \bar{X} -R 管理図においては試験品が良好な管理状態にあることを示した。

また, ガイドラインでは, 精度管理に必要な目標値の設定として, 添加した既知の微生物の回収率を少なくとも 70 %から 120 %を目安として確保すること, と示している。測定数の平均値を基準とした場合, 今回のすべての測定数において回収率はガイドラインの目標を達成した。

今回実施した凍結後 9 ヶ月までの検討では, 食品検査における細菌数測定の内部精度管理手法として有用であると認められた。

引用文献

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課. 食品衛生施設等における検査等の業務の管理の実施について. 衛食第 117 号, 2009.
- 2) 郡山洋一郎, 寒河江春夫, 宮崎健, 他. 食品細菌検査の精度管理に供する細菌の保存に関する検討. 第 11 回食品微生物学会抄録 1990.
- 3) 郡山洋一郎, 青木真里子, 豊岡弥生, 他. 食品微生物学的検査における精度管理用試料の作製と精度管理の実施について. 日本食品微生物学会雑誌. 1998 : 125 - 128.
- 4) 郡山洋一郎, 青木真里子, 濱田有希江, 他. 凍結菌液を用いた食品微生物学的検査における内部精度管理について. 第 79 回食品衛生学会 2000.
- 5) 鈴木理恵子, 山本陽子, 永井 裕, 他. 日常精度管理試料の作製と精度管理の実施について. 神奈川県衛生研究所研究報告 2010 ; 40 : 17 - 20.

2011年感染症発生動向調査事業報告（ウイルス）

北川和寛 塚田敬子 五十嵐郁美 門馬直太 二本松久子 金成篤子 平澤恭子¹⁾ 佐藤弘子
微生物課, ¹⁾ 総合衛生学院

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」に基づき、県内の感染症治療、発生予防に役立つ情報の提供を目的として、対象病原体について感染症発生動向調査を行っている。本報では2011年のウイルス検索結果について報告する。

材 料

2011年1月から12月までの間に、県内の基幹定点7機関、インフルエンザ定点8機関、小児科定点5機関、眼科定点1機関において採取された987症例由来の咽頭拭い液、糞便、髄液、眼瞼拭い液等、計1080件を検体とした。なお、インフルエンザウイルスについては2010年10月から12月、ノロウイルスについては2010年11月と12月も対象とした。

方 法

RD-18S, HEp-2, Vero, LLCMK2, MDCK, B95a の6種類の細胞を用いてウイルス分離を実施した。分離ウイルスの同定には、抗血清を用いた中和試験を基本とし、補助的にダイレクトシークエンス法を行った。また、検体が糞便の場合には、ラテックス凝集反応によるアデノウイルス、ロタウイルスの検索及びRT-PCR法によるノロウイルス、サポウイ

ルス、アストロウイルス、アイチウイルスの検索も併せて行った。さらに、診断名や症状に応じて、細胞分離が困難なライノウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヘルペスウイルス、パルボウイルス等のウイルスについては、遺伝子検査を行った。

結果及び考察

1 地区別ごとの検体症例数

各地区からの月別の検体症例数を表1に示す。また、居住地域別症例数を表2に示す。

郡山地区からの検体が多く、全体の66%を占めた。また、県中地区からの検体数が昨年は6件だったところが本年は99件と11、12月を中心に多く搬入された。なお、3月の大震災の影響により、4月は浜通りからの検体搬入がなく全体の検体数も少なかった。

2 検体の種類別検出状況

ウイルスの検体種類別検出状況を表3に示した。987症例1080件のうち、521症例540件の検体から568株のウイルスが検出され、検出率は50.0%と昨年より約10%上昇した¹⁾(表3)。

種類ごとではその他以外の全てで昨年より検出率が上がり¹⁾、特に流行のあった髄膜炎の患者の髄液からの検出率が高かった。

表1 月別地区別検体症例数

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
県北	7	13	2	1	3	3	4	2	4	5	3	1	48
県中	7	1							5	6	44	36	99
県南	1		1	2	8	1		10	13		1	1	38
会津	18	11	8	2	5							1	45
南会津													
相双	5	11	2		1	4		9	6	3	2	6	49
郡山市	76	33	48	34	26	63	55	45	98	63	49	59	649
いわき市	16	11	5		7	4	1	6	3	3	1	2	59
計	130	80	66	39	50	75	60	72	129	80	100	106	987

表2 居住地域別症例数

地域名	症例数	地域名	症例数
福島市	43	東白川郡	7
本宮市	37	会津若松市	31
二本松市	8	喜多方市	1
伊達市	3	耶麻郡	11
伊達郡	2	河沼郡	2
安達郡	14	相馬市	29
須賀川市	72	南相馬市	9
田村市	17	相馬郡	9
田村郡	28	双葉郡	8
石川郡	38	郡山市	499
岩瀬郡	15	いわき市	59
白河市	22	県外	9
西白河郡	14		
計		987	

表3 検体種類別検出検体数

	咽頭	糞便	髄液	眼瞼	その他	合計
受付検体数	687	271	100	7	15	1,080
検出検体数	376	127	31	2	4	540
検出率(%)	54.7	46.9	31.0	28.6	26.7	50.0

3 月別検出状況

月別検体症例数，検出率を図1に示した。

ウイルス検出症例数は1月が94症例と最も多く，うちインフルエンザウイルスA(H1pdm09)型が53症例を占めていた。

また，9月が64症例と2番目に多く，髄膜炎，手足口病，ヘルパンギーナの患者からそれぞれエコーウイルス9型，コクサッキーウイルスA6型，コクサッキーウイルスA10型が多く分離検出された。

4 ウイルス別検出状況

月別ウイルス検出状況を表4に示した。また，複数ウイルスが検出された27症例を表5に示した。

1) アデノウイルス

年間を通じて42症例から43株が検出された。アデノウイルス3型が最も多く，16症例から16株検出された。次いで，昨年最も多く検出された2型¹⁾が8症例から9株，1型が6症例から8株検出された。なお，アデ

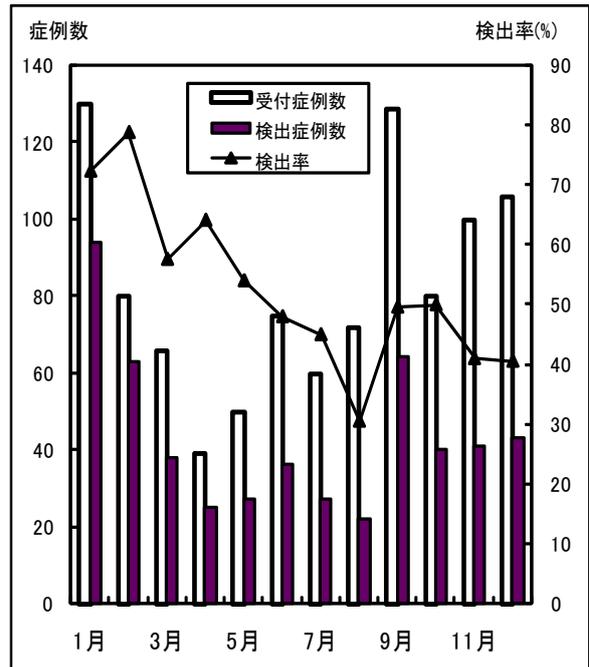


図1 月別検体症例数と検出率

ノウイルス3型は，全て細胞分離ではなく遺伝子検査での検出であった。また，型別が不能であった1症例1株は，遺伝子検索によりアデノウイルスと同定された。

2) エンテロウイルス

エンテロウイルスは150症例から158株検出された。

最も多く検出されたのは，エコーウイルス9型で45症例から53株検出された。7月から11月に採取された髄膜炎症例から51株検出された。他のエコーウイルスは，3型が手足口病症例1症例から1株，6型が髄膜炎症例3症例から3株，25型が胃腸炎と熱性痙攣症例の2症例から3株検出された。

パレコウイルスは，1型が9症例から9株，3型が4症例から5株検出された。1型の1株はヘルパンギーナ症例から，3型の1株は手足口病の症例からの検出であった。

コクサッキーA群ウイルスについて，昨年は全く検出されなかったが，本年は4型，5型，6型，9型，10型，16型の6種類が7月から11月採取の検体から検出された。うち6型は30症例から31株，16型は18症例から19株の検出があり，いずれも主に手足口病症例からの検出であった。また，10型は，

表4 月別ウイルス検出症例数

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
Adeno 1	2☆ (3)				2 (2)			1☆ (2)			1☆ (1)		6 (8)
Adeno 2	4☆ (5)					1 (1)	3☆ (3)						8 (9)
Adeno 3					1 (1)		4 (4)	2 (2)	4 (4)		3 (3)	2 (2)	16 (16)
Adeno 5						1☆ (1)	1 (1)	1 (1)					3 (3)
Adeno 6	2☆ (2)												2 (2)
Adeno 41	1 (1)					1 (1)				2 (2)		2 (2)	6 (6)
Adeno sp.							1 (1)						1 (1)
Coxsackie A4										1 (1)			1 (1)
Coxsackie A5									1 (1)				1 (1)
Coxsackie A6								2☆ (2)	15 (15)	11☆ (12)	1 (1)	1 (1)	30 (31)
Coxsackie A9												1 (1)	1 (1)
Coxsackie A10								4 (4)	15☆ (15)	3☆ (3)			22 (22)
Coxsackie A16									2☆ (3)	6☆ (6)	6 (6)	4 (4)	18 (19)
Coxsackie B2									1 (1)				1 (1)
Coxsackie B4	2☆ (2)												2 (2)
Coxsackie B5									1 (1)		3 (3)	2☆ (2)	6 (6)
Echo 3									1 (1)				1 (1)
Echo 6								1 (1)				2 (2)	3 (3)
Echo 9							9☆ (11)	4☆ (5)	16☆ (19)	6☆ (8)	10 (10)		45 (53)
Echo 25	1☆ (1)	1 (2)											2 (3)
Polio						1☆ (1)	1 (1)	1☆ (1)			1 (1)		4 (4)
Parecho 1									2☆ (2)	4☆ (4)	2 (2)	1 (1)	9 (9)
Parecho 3							1 (1)		3☆ (4)				4 (5)
Influenza A(H1pdm)	53☆ (54)	29☆ (29)	12 (12)	1 (1)									95 (96)
Influenza A(H3)	7 (7)	20 (20)	11 (11)	17 (17)	6 (6)	1 (1)						12 (12)	74 (74)
Influenza B(ビクトリア)	1 (1)	3 (3)	6 (6)	3 (3)	13 (13)	17 (17)	1 (1)						44 (44)
Parainfluenza 3							3 (3)						3 (3)
Herpes simplex type 1				2 (2)		1 (1)							3 (3)
Human herpes 4												1 (1)	1 (1)
Human herpes 5						1 (1)				3☆ (3)			4 (4)
Mumps								1 (1)					1 (1)
Noro G I								1☆ (1)			1 (1)		2 (2)
Noro G II	19☆ (19)	10☆ (10)	5 (5)	1 (1)		1☆ (1)					5☆ (5)	11 (11)	52 (52)
Parvo B19	1 (1)		1 (1)						1 (1)	1☆ (2)			4 (5)
Rhino sp.					1 (1)	1☆ (1)		1☆ (1)	4☆ (4)	6☆ (6)	3 (3)		16 (16)
Human Metapneumo						1☆ (1)	1 (1)		1 (1)	1 (1)			4 (4)
Rota A	4 (4)			1 (1)	4 (4)	12☆ (12)	2☆ (2)	1 (1)					24 (24)
RS A	1 (1)	1 (1)	1 (1)								4 (4)		7 (7)
RS B	3☆ (3)		1 (1)					1 (1)		1☆ (1)	3 (3)	6☆ (6)	15 (15)
Astro			1 (1)			2☆ (2)	2☆ (2)	2 (2)					7 (7)
Sapo	1☆ (1)							1☆ (1)					2 (2)
Rickettsia japonica								1 (1)					1 (1)
症例数 (株数)	94 (105)	63 (65)	38 (38)	25 (25)	27 (27)	36 (41)	27 (31)	22 (27)	64 (72)	40 (50)	41 (42)	44 (45)	521 (568)
受付検体症例数	130	80	66	39	50	75	60	72	129	80	100	106	987
検出率	72.3	78.8	57.6	64.1	54.0	48.0	45.0	30.6	49.6	50.0	41.0	41.5	52.8

☆同一症例複数ウイルス検出を含む

() 検出株数

表5 複数ウイルスが検出された症例(検体)

No.	検出ウイルス	採取月日	診断名	年齢	性別	住所	検査材料	発熱(℃)	医療機関名	保健所
1	RS B Adeno 6	H22.11.30	気管支肺炎	4歳	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	39.0	菊池	郡山市
2	Sapo Adeno 2	H22.12.8	急性胃腸炎 急性気管支炎	8ヶ月	女	郡山市	糞便	38.5	菊池	郡山市
3	Noro G II Echo 25	H22.12.13	感染性胃腸炎	1歳	男	いわき市	糞便	36.9	相原	いわき市
4	RS B Adeno 1	H22.12.14	RSウイルス気管支炎 胃腸炎	1歳	男	相馬市	咽頭ぬぐい液	39.4	公立相馬	相双
	Noro G II Adeno 1	H22.12.14	RSウイルス気管支炎 胃腸炎	1歳	男	相馬市	糞便	39.4	公立相馬	相双
5	Noro G II Adeno 2	H22.12.15	アデノウイルス感染症	1歳	女	郡山市	糞便	40.0	太田西ノ内	郡山市
6	Noro G II Coxsackie B4	H22.12.25	急性胃腸炎	2歳	男	本宮市	糞便	不明	太田西ノ内	郡山市
7	Rota A Astro	H23.5.6	感染性胃腸炎	2歳	女	石川郡 平田村	糞便	37.2	菊池	郡山市
8	Rota A Polio 1	H23.5.19	感染性胃腸炎	1歳	女	郡山市	糞便	39.0	菊池	郡山市
9	Rhino sp. Human Metapneumo	H23.5.21	気管支肺炎	1歳	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	40.0	菊池	郡山市
10	Adeno 5 Noro G II	H23.5.23	感染性胃腸炎	11ヶ月	男	郡山市	糞便	不明	菊池	郡山市
11	Rota A Astro	H23.5.31	感染性胃腸炎 ロタウイルス感染症	1歳	女	郡山市	糞便	37.5	菊池	郡山市
12	Rota A Astro	H23.6.3	感染性胃腸炎	2歳	女	郡山市	糞便	39.0	菊池	郡山市
13	Adeno 2 Astro	H23.6.20	感染性胃腸炎	1歳	男	田村郡 三春町	糞便	38.0	菊池	郡山市
14	Polio 2 Sapo	H23.7.16	けいれん	2歳	女	郡山市	糞便	37.7	太田西ノ内	郡山市
15	Adeno 1 Noro G I	H23.7.20	頸部リンパ腺炎, 急性胃腸炎	10歳	男	郡山市	糞便	39.1	菊池	郡山市
16	Coxsackie A6 Rhino sp.	H23.7.30	手足口病	1歳	男	西白河郡 西郷村	咽頭ぬぐい液	38.2	白河厚生	県南
17	Rhino sp. Coxsackie A10	H23.8.1	手足口病	3歳	男	いわき市	咽頭ぬぐい液	38.0	相原	いわき市
18	Rhino sp. Parecho 3	H23.8.12	手足口病	3歳	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	36.7	菊池	郡山市
19	Parecho 1 Coxsackie A10	H23.8.29	ヘルパンギーナ	8ヶ月	男	安達郡 大玉村	咽頭ぬぐい液	39.4	菊池	郡山市
20	RS B Parecho 1	H23.8.31	RSウイルス感染症	11ヶ月	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	37.8	菊池	郡山市
21	Rhino sp. Coxsackie A10	H23.9.5	ヘルパンギーナ	3歳	女	郡山市	咽頭ぬぐい液	38.5	菊池	郡山市
22	Human herpes 5 Parecho 1	H23.9.7	口内炎	1歳	男	南相馬市	咽頭ぬぐい液	38.9	公立相馬	相双
23	Rhino sp. Coxsackie A10	H23.9.7	ヘルパンギーナ	6歳	女	郡山市	咽頭ぬぐい液	39.1	菊池	郡山市
24	Rhino sp. Coxsackie A16	H23.9.8	手足口病	4歳	女	郡山市	咽頭ぬぐい液	38.0	菊池	郡山市
25	Rhino sp. Coxsackie A16	H23.9.20	手足口病	1歳	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	38.6	菊池	郡山市
26	Adeno 1 Noro G II	H23.10.18	感染性胃腸炎	1歳	男	東白川郡 棚倉町	糞便	39.6	菊池	郡山市
27	RS B Coxsackie B5	H23.10.31	喘息性気管支炎	8ヶ月	男	郡山市	咽頭ぬぐい液	38.0	菊池	郡山市

主にヘルパンギーナ症例から 18 症例 19 株検出された。コクサッキー B 群ウイルスは、2 型が 1 症例から 1 株、4 型が 2 症例から 2 株、5 型が 6 症例から 6 株検出された。いずれも胃腸炎や上気道炎・下気道炎の症例からの検出であったが、5 型については、髄膜炎と手足口病の症例 1 例ずつからの検出があった。

ポリオウイルスは 4 症例から 4 株検出された。3 症例はワクチン投与後の検出であり、ワクチン由来と考えられる。残り 1 症例はワクチン投与者との接触によると考えられ、ポリオ様症状はみられなかった。

3) インフルエンザウイルス (図 2)

2010/2011 シーズン最初に検出されたのは、A (H3) 型であった。その後 A (H3) 型は、2 月の 20 症例からの検出をピークに 4 月まで検出された。一方 A (H1pdm09) 型は、12 月に 7 症例から検出されたのを始めにして 1 月の 53 症例をピークに 4 月まで検出された。また、B 型は 1 月に 1 症例検出があった後 6 月の 17 症例をピークに 7 月まで検出された。2010/2011 シーズンは A (H1pdm09) 型を主流とした A (H3) 型と B 型の 3 種混合流行であった。これは、全国とほぼ同じ状況²⁾であった。2011/2012 シーズンの開始は、12 月に A (H3) 型のみ 12 症例から検出された。

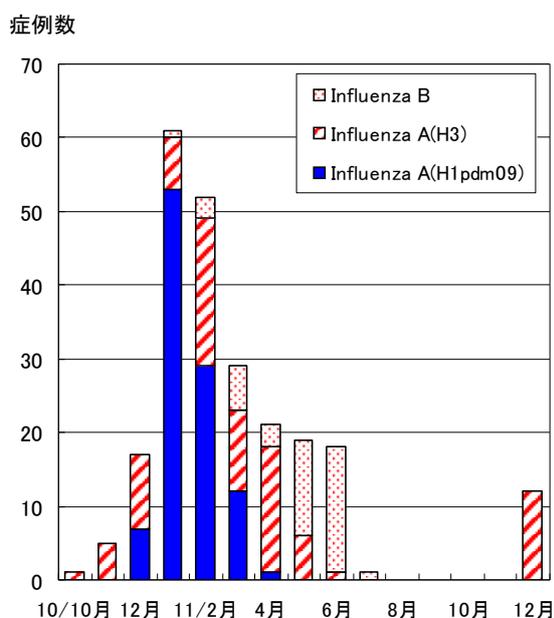


図 2 月別インフルエンザウイルス検出症例数

4) ヘルペスウイルス

単純ヘルペスウイルス 1 型が 3 症例から 3 株検出された。診断名は発疹症と上気道炎であった。

ヒトヘルペスウイルス 4 型が 1 症例から、5 型が 4 症例から検出された。診断名は口内炎、発疹症、上気道炎、下気道炎であった。

5) ムンプスウイルス

ムンプスウイルスは 8 月に採取された相双地区の髄膜炎の 3 歳女子の髄液から 1 株検出された。

6) ノロウイルス (図 3)

2010/2011 シーズンは 11 月に 1 症例、12 月に 14 症例から検出され、1 月の 19 症例をピークに 8 月まで合計 51 症例から 51 株検出された。遺伝子型は、8 月に検出された 1 症例を除いて全て G II であった。

2011/2012 シーズンは 11 月と 12 月で 17 症例から 17 株検出されており、11 月に検出された 1 症例を除いて全て G II であった。

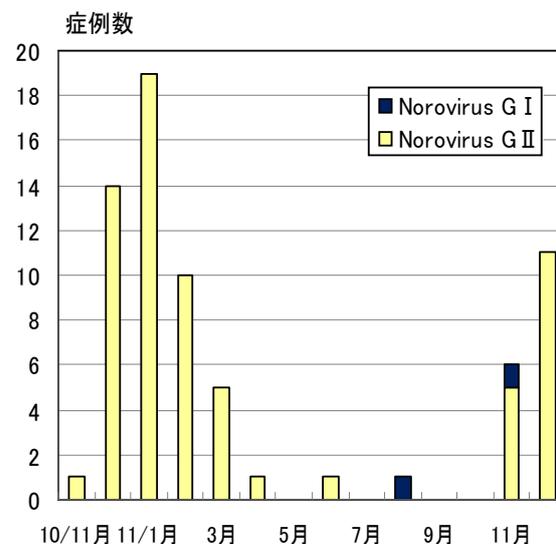


図 3 月別ノロウイルス検出症例数

7) ロタウイルス

1 ~ 8 月にかけて 24 症例から検出された。症例はすべて 1 ~ 8 歳の幼児であった。

8) その他のウイルス

RS ウイルスは全て下気道炎症例からの検出で、A 型は 7 症例から、B 型は 15 症例から検出された。4 歳児と 5 歳児の各 1 症例以外は全て 2 歳未満の乳幼児であった。

パルボウイルス B19 はパルボウイルス感染症疑いと不明熱、上気道炎の 4 症例から 5 株検出された。

胃腸炎原因ウイルスであるサポウイルスは 2 症例から 2 株、アストロウイルスは 7 症例から 7 株検出された。サポウイルスは 1 月に G I, 8 月に G II が 1 株ずつ検出された。

リケッチア・ジャポニカは 8 月に 1 症例から 1 株検出された。診断名は日本紅斑熱で、三重県からいわき市に戻った 11 歳男子の痂皮から検出された。

5 診断名別検出状況

診断名別検出状況を表 6 に示した。

インフルエンザの症例が本年も最も多く、231 症例の検体が搬入され、209 症例からウイルスが検出された。検出率は 90.5%と高かった。検出されたウイルスは 1 件を除いてすべてインフルエンザウイルスであった。この 1 件は糞便検体からノロウイルス G II が検出されたもので、同一症例の咽頭ぬぐい液からは、インフルエンザウイルス A (H1pdm09) 型が検出された。

胃腸炎は 207 症例の検体が搬入され、107 症例からウイルスが検出された。検出ウイルスはノロウイルス、ロタウイルス、アデノウイルス、エコーウイルスなど様々であったが、ノロウイルスが 53 症例と検出症例の 49.5%を占め、次いでロタウイルスが 23 症例 21.5%であった。

手足口病について全国的には 1981 年の感染症発生動向調査開始以来最大の流行であった³⁾が、本県においても過去 10 年では平成 19 年に次ぐ流行^{4) - 7)}で、定点医療機関からの患者報告数が昨年の約 1.5 倍⁴⁾あった。検体も前年の約 3 倍¹⁾の 94 症例の検体が搬入され、このうち 54 症例からウイルスが検出された。検出ウイルスは、コクサッキー A 群ウイルスが 46 症例から検出があり検出症例の 85.2%を占めた。内訳は、6 型が 25 症例、16 型が 16 症例、10 型が 5 症例であった。コクサッキーウイルス A 6 型、16 型を主とした流行は、全国と同様⁸⁾であった。他に、ライノウイルスが 9 症例、コクサッキーウイルス B 5 型とエコーウイルス 3 型及び 9 型及び

パレコウイルス 3 型が 1 症例ずつ検出された。ライノウイルスはコクサッキー A 群ウイルスと複数検出だった症例が 4 症例、パレコウイルスと複数検出だった症例が 1 症例あった。前年に検出され、全国的な流行のあったエンテロウイルス 71 型^{1) 8)}の検出はなかった。

髄膜炎について本年は郡山市において流行があり⁴⁾、77 症例の検体の搬入があった。この内 48 症例からウイルス検出があり、62.3%とインフルエンザに次いで高い検出率であった。検出ウイルスは、エコーウイルス 9 型が 40 症例であり検出症例の 83.3%を占めた。エコーウイルス 9 型は、過去 10 年で 2009 年に 1 症例⁹⁾、2004 年に 4 症例¹⁰⁾、2002 年に 16 症例¹¹⁾から検出されているが、髄膜炎症例からの検出は、2002 年の 2 症例¹¹⁾からのみであった。全国的には、2005 年に最も多く検出された¹²⁾が、その他の年の検出は少なく、本年も他県においてはほとんど検出がみられなかった。他の検出ウイルスは、ムンプスウイルス、コクサッキーウイルス A 群の 4 型、9 型、16 型、B 群の 5 型が各 1 症例ずつ、エコーウイルス 6 型が 3 症例から検出された。12 月にコクサッキーウイルス A 9 型が検出された相双地区の症例以外は、全て郡山市からの症例であった。

ヘルパンギーナは 41 症例の検体が搬入され、17 症例からウイルスが検出された。検出ウイルスはコクサッキーウイルス A10 型が 13 症例から、6 型が 4 症例から検出され、A10 型の検出された症例 3 症例からライノウイルス 1 症例、パレコウイルス 1 型が複数検出された。

上気道炎は 113 症例の検体が搬入され、33 症例からウイルスが検出された。そのうち 17 症例からアデノウイルスが検出された。

下気道炎は 98 症例の検体が搬入され、34 症例からウイルスが検出された。検出ウイルスは RS ウイルスが最も多く 20 症例から検出され、以下ヒトメタニューモウイルスが 4 症例、コクサッキーウイルス B 5 型が 3 症例、パレコウイルスとパラインフルエンザ 3 型が 2 症例などであった。

表6 診断名別ウイルス検出症例数

症例数	インフル エンザ	胃腸炎	手足口 病	髄膜炎	ヘルパン ギーナ	上気道 炎	下気道 炎	口内炎	発疹症	熱性痙 攣	結膜炎	その 他	計
Adeno 1		4☆				2							6
Adeno 2		2☆				5☆			1				8
Adeno 3		8				7					1		16
Adeno 5		1☆				2							3
Adeno 6						1	1☆						2
Adeno 41		5										1	6
Adeno sp.											1		1
Coxsackie A4				1									1
Coxsackie A5									1				1
Coxsackie A6			25☆		4	1							30
Coxsackie A9				1									1
Coxsackie A10			5☆		13☆	4							22
Coxsackie A16		1	16☆	1									18
Coxsackie B2		1											1
Coxsackie B4		1☆					1						2
Coxsackie B5			1	1		1	3☆						6
Echo 3			1										1
Echo 6				3									3
Echo 9		3	1	40		1							45
Echo 25		1☆								1			2
Polio		2☆								1☆		1	4
Parecho 1		5			1☆		1	1☆					9
Parecho 3			1☆			1	1			1			4
Influenza A(H1)	94☆					1							95
Influenza A(H3)	73						1						74
Influenza B(ビクトリア)	41					3							44
Parainfluenza 3						1	2						3
Herpes simplex type 1						1			2				3
Human herpes 4							1						1
Human herpes 5						1		1☆	2				4
Mumps				1									1
Noro G I		2☆											2
Noro G II	1☆	51☆											52
Parvo B19						1			2			1	4
Rhino sp.		2	9☆		2☆	1	1☆					1	16
Human Metapneumo							4☆						4
Rota A		23☆					1						24
RS A							7						7
RS B		2☆					13						15
Astro		6☆								1			7
Sapo		1☆								1☆			2
Rickettsia japonica												1	1
陽性症例数	209	107	54	48	17	33	34	1	7	4	2	5	521
受付検体症例数	231	207	94	77	41	113	98	5	29	42	8	42	987
検出率 (%)	90.5	51.7	57.4	62.3	41.5	29.2	34.7	20.0	24.1	9.5	25.0	11.9	52.8

☆同一症例複数ウイルス検出を含む

謝 辞

検体採取等本事業にご協力いただいた病原体定点医療機関の諸先生方に深謝いたします。

引用文献

- 1) 北川和寛, 塚田敬子, 五十嵐郁美, 他. 2010年感染症発生動向調査事業報告(ウイルス). 福島県衛生研究所年報 2010 : 55-60.
- 2) 国立感染症病原体情報センター
<https://hasseidoko.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data2j.pdf> 2012/2/22
- 3) 国立感染症研究所. <特集>手足口病 2002～2011年. 病原微生物検出情報 2012 ; 33 : 1-2.
- 4) 福島県衛生研究所. 福島県感染症週報 2011年第52週. 2011;52:1-13.
- 5) 福島県感染症情報センター. 平成20年福島県感染症発生動向調査事業報告書 2008;22.
- 6) 福島県感染症情報センター. 平成17年福島県感染症発生動向調査事業報告書 2005;16.
- 7) 福島県感染症情報センター. 平成15年福島県感染症発生動向調査事業報告書 2003;21.
- 8) 国立感染症病原体情報センター
<https://hasseidoko.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data37j.pdf> 2012/2/22
- 9) 五十嵐郁美, 北川和寛, 門馬直太, 他. 2009年感染症発生動向調査事業報告(ウイルス). 福島県衛生研究所年報 2009 : 59-64.
- 10) 金成篤子, 慶野昌明, 水澤丈子, 他. 2004年感染症発生動向調査事業報告(ウイルス). 福島県衛生研究所年報 2004 : 54-58.
- 11) 慶野昌明, 菅野正彦, 金成篤子, 他. 平成14年感染症発生動向調査(ウイルス検出状況). 福島県衛生研究所年報 2002 : 41-45.
- 12) 国立感染症病原体情報センター
<http://idsc.nih.go.jp/iasr/prompt/circle-g/meningi/menin0307j.html> 2012/2/22

2011 年感染症発生動向調査事業報告（細菌）

渡邊奈々子 千葉一樹 菅野奈美 遠藤嘉子 小黒祐子 佐藤弘子
微生物課

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」に基づき、県内の感染症の治療、発生予防に役立つ情報の提供を目的として、対象病原体について感染症発生動向調査を行っている。本報では 2011 年の細菌検索結果について報告する。

材 料

2011 年 1 月から 12 月までの間に、県内の 9 定点医療機関において採取された 339 件を対象とした。なお、輸送培地による検体の搬入は 132 件、菌株による搬入は 207 件であった。

検体・菌株の月別内訳を表 1 に示す。咽頭拭い液 120 件、後鼻腔拭い液 187 件、糞便 7 件、髄液 8 件、その他 17 件であった。

方 法

1 細菌分離

A 群溶血性レンサ球菌（以下、“A 群溶レン菌”とする）、細菌性髄膜炎起因菌、百日咳菌、感染性胃腸炎起因菌等を、厚生省監修「微生物検査必携・第 3 版」に従い検索した。

2 薬剤耐性遺伝子検出、薬剤感受性試験

肺炎球菌、インフルエンザ菌については、薬剤耐性遺伝子の検出を既報¹⁾の方法により実施、判定した。また、薬剤感受性試験は各医療機関で実施した結果を記述した。

A 群溶レン菌の薬剤感受性試験については、当所で分離した 50 株を送付し、東京都健康安全センターで実施した結果を記述した。

表 2 居住地域別検体数

地域名	検体数	地域名	検体数
福島市	2	喜多方市	1
本宮市	5	河沼郡	1
伊達郡	1	南会津郡	5
安達郡	2	相馬市	130
須賀川市	3	南相馬市	35
田村市	1	相馬郡	15
田村郡	2	双葉郡	3
白河市	2	郡山市	120
東白川郡	1	いわき市	1
会津若松市	3	県外	6
		計	339

表 1 月別・検査材料別検体数

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
咽頭拭い液	5	14	13	5	16	19	3	2	1	6	8	28	120
後鼻腔拭い液	15	14	13	12	5	17	22	2	24	23	24	16	187
	(15)	(14)	(13)	(12)	(5)	(17)	(22)	(2)	(24)	(23)	(24)	(16)	(187)
糞便	1					1	1	1	1	1		1	7
						(1)	(1)					(1)	(3)
髄液	1	1	1	1				2			2		8
	(1)	(1)		(1)				(1)			(2)		(6)
その他*	3	1			2	1	1	3	3		2	1	17
	(3)	(1)			(1)	(1)	(1)	(2)	(2)				(11)
	25	30	27	18	23	38	27	10	29	30	36	46	339

*血液 4 件、組織 3 件、尿・結膜拭い液・膿・穿刺液各 2 件、胆汁・喀痰各 1 件、() 菌株数

結果及び考察

1 患者居住地域別症例数

患者居住地域別の検体数では、全検体 339 件のうち相双地区で 183 件 54.0 % を占め、地域に偏りが認められた。郡山地区からの検体が昨年の倍以上に増えた (表 2)。

2 検査材料別検出状況

検体における検査材料別の細菌分離率を表 3 に示す。132 件中 109 件から 112 株の細菌が検出された。検出率は 82.6 % であった。

検出された検査材料の内訳は咽頭拭い液 104 件、糞便 3 件、髄液 1 件、その他 1 件であった。咽頭拭い液の受付検体数が昨年の倍以上に増え、糞便受付検体数は約 1/4 となった。また、その他の検出率は低かった。

表 3 検査材料別分離率

	咽頭	糞便	髄液	他	計
受付検体数	120	4	2	6	132
検出検体数	104	3	1	1	109
検出細菌数	106	4	1	1	112
検出率 (%)	86.7	75.0	50.0	16.7	82.6

3 細菌分離状況

表 4 に月別の細菌分離状況を示す。

1) 溶血性レンサ球菌

A 群溶レン菌は 103 株が分離、あるいは菌株で搬入され、全て上気道拭い液 (咽頭 99 株、後鼻腔 4 株) 由来であった。A 群溶レン菌の血清型は 6 種類に型別され、最も多く分離されたのは T-1 型 38 株 (36.9 %) で、次いで T-12 型 36 株 (35.0 %)、T-28 型 14 株 (13.6 %)、T-4 型 8 株 (7.8 %)、T-B3264 型 3 株 (2.9 %)、T-6 型 1 株 (1.0 %) であった。

図 1 に、本調査による A 群溶レン菌の主要 T 型別年次推移を示した。ここ数年流行の血清型である T-25 型が、2011 年は分離されなかった。それを補うように、2010 年にやや減少した T-1 型が増加した。また、2010 年に大きく増加した T-28 型は、2011 年も引き続き増加傾向であった。

G 群溶レン菌は 5 株分離され、すべて咽頭拭い液由来であった。

B 群溶レン菌は 2 株分離され、どちらも髄

液由来で血清型は I a 型、I b 型であった。

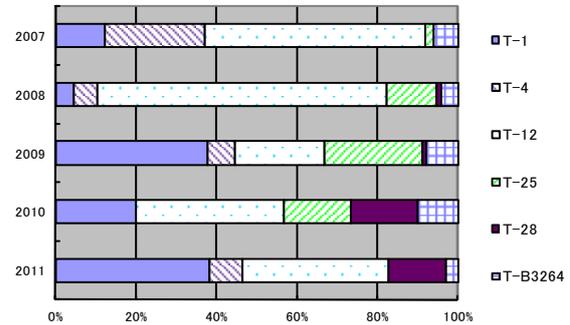


図 1 A群溶レン菌の主要T型別年次推移

2) 糞便・直腸拭い液からの腸管系病原菌

腸管系病原菌は 7 株が分離、あるいは菌株で搬入された。内訳は *Salmonella* 3 株、下痢原性大腸菌 2 株、*Klebsiella oxytoca* 1 株、*Klebsiella pneumoniae* 1 株であった。

Salmonella の血清型は Braenderup 2 株、Typhimurium 1 株であった。大腸菌の血清型は O1, O74 が各 1 株で、どちらも毒素遺伝子は認められなかった。

3) 肺炎球菌

肺炎球菌は 101 株が分離、あるいは菌株で搬入された。後鼻腔拭い液由来が 99 株、髄液由来が 2 株であった。

4) インフルエンザ菌

インフルエンザ菌は 88 株が分離、あるいは菌株で搬入された。後鼻腔拭い液由来が 84 株、結膜拭い液由来が 2 株、髄液由来が 1 株、胆汁由来が 1 株であった。インフルエンザ菌の血清型は、型不明が最も多く 80 株 (90.9 %)、次いで d 型 3 株 (3.4 %)、b 型 2 株 (2.3 %)、c 型、e 型、f 型が各 1 株 (1.1 %) であった。b 型 2 株の由来は、髄液 1 株、後鼻腔拭い液 1 株であった。

5) 髄液からの検出菌

前述の B 群溶レン菌、肺炎球菌、インフルエンザ菌以外に、*Staphylococcus aureus*、*Streptococcus salivarius* が各 1 株分離された。

6) その他の検出菌

血液から 4 種類、*Clostridium perfringens*、*Staphylococcus aureus*、*Neisseria subflava*、*Leclercia adecarboxylata* が各 1 株分離され、*C.perfringens* の血清型は 9 型であった。尿か

表4 月別細菌分離状況 (2011年1月～12月)

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
A 群溶レン菌 T-1	1	2	5	1	8	6	2			3	1	9	38
A 群溶レン菌 T-4			1	2							2	3	8
A 群溶レン菌 T-6												1	1
A 群溶レン菌 T-12	1	8	5	2	4	5				2	2	7	36
A 群溶レン菌 T-28		2	1		1	3	1				2	4	14
A 群溶レン菌 T-B3264	1	1										1	3
A 群溶レン菌 T型不明	1	2											3
B 群溶レン菌		1						1					2
G 群溶レン菌	1		1			3							5

<i>E.coli</i> O1										1			1
<i>E.coli</i> O74								1			1		2
<i>S.Braenderup</i>							1					1	2
<i>S.Typhimurium</i>						1							1
<i>K.oxytoca</i>										1			1
<i>K.pneumoniae</i>									1				1
<i>E.cloacae</i>						1							1
<i>Corynebacterium</i> groupG								1					1
<i>N.meningitidis</i>								1					1
<i>N.subflava</i>					1								1
<i>C.perfringens</i>									1				1
<i>L.adecarboxylata</i>		1											1
<i>S.aureus</i>	4			1									5
<i>S.salivarius</i>											1		1

<i>S.pneumoniae</i> *1													
gPSSP							1		1		1		3
gPISP	4	3	4	3	2	5	6	1	10	4	4	6	52
gPRSP	5	2	2	4	1	1	6		6	9	6	4	46

<i>H.influenzae</i> *2													
gBLNAS	1	1	1			3	1		2	1		1	11
gLow-BLNAR		1		2		1					2	2	8
gBLNAR	4	5	4	4	2	4	7	1	6	5	8	5	55
gBLPAR							1						1
gBLPACR II		1	2							4	5	1	13
計	23	30	26	19	19	33	26	6	27	30	35	45	319

* 1 PSSP : ペニシリン感受性肺炎球菌, PISP : ペニシリン中等度耐性肺炎球菌, PRSP : ペニシリン耐性肺炎球菌

* 2 BLNAS : β ラクタマーゼ陰性アンピシリン感受性インフルエンザ菌, Low-BLNAR : β ラクタマーゼ陰性アンピシリン軽度耐性インフルエンザ菌, BLNAR : β ラクタマーゼ陰性アンピシリン耐性インフルエンザ菌, BLPAR : β ラクタマーゼ陽性アンピシリン耐性インフルエンザ菌, BLPACR-II : β ラクタマーゼ陽性アモキシシリン/クラブラン酸耐性-IIインフルエンザ菌

* 1, 2 遺伝子検査により薬剤感受性判定をした菌は genotype を表す「g」を付けて gPSSP のように表記する

表5 A群溶レン菌の薬剤感受性試験結果 (50株)

		MIC (μ g/ml)															
		0.004	0.008	0.015	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	>64
ペニシリン系	ABPC			32	68												
	CEX							14	86								
セフェム系	CDTR	10	90														
	CFDN		80	20													
テトラサイクリン系	TC						44	18						6	32		
クロラムフェニコール系	CP									6	68	26					
マクロライド系	EM					4	4			2	2	14	22	2			50
	CAM					8			2		2	26	12	50			
リンコマイシン系	CLDM								50			50					
	LCM						14	36									50

* 数値は% * 二重下線は耐性 (CLSI 法において LCM の基準はない)

ら *Neisseria meningitidis*, *S.aureus* が各 1 株, 咽頭拭い液からは *Enterobacter cloacae*, *S.aureus* が各 1 株分離された。また, 組織から *S.aureus*, 喀痰から *Corynebacterium groupG* が各 1 株分離された。

4 A群溶レン菌の薬剤感受性試験

表 5, 表 6 に A 群溶レン菌の薬剤感受性試験結果を示す。

試験をした全ての株が, β ラクタム系薬剤 (ペニシリン系, セフェム系) については良好な感受性を示した。

その他の薬剤については, クロラムフェニコール系以外の薬剤に耐性株が認められた。耐性パターンをみると, EM 単独耐性が 1 株 (2%), EM・CAM の 2 剤耐性が 20 株 (40%), EM・CAM・CLDM の 3 剤耐性が 6 株 (12%), TC・EM・CAM・CLDM の 4 剤耐性が 19 株 (38%) であった。

T 型別の耐性状況を見ると, T-1 型では 16

株 (94%) が 2 剤耐性, T-4 型では 4 株全て (100%) が 2 剤耐性であった。T-12 型は 15 株 (88%) が 4 剤耐性, T-28 型も全ての株が何らかの耐性を示した。一方, T-B3264 型は 2 株とも感受性株であった。

β ラクタム系薬剤は A 群溶レン菌感染症治療の第一選択薬であり, β ラクタム系薬剤アレルギー患者や劇症型溶レン菌感染症患者に対しては, マクロライド系やリンコマイシン系薬剤が使用されている。本調査において, β ラクタム系薬剤に対する耐性株は認められていないが, マクロライド系やリンコマイシン系薬剤に対する耐性株は年々増加傾向にある。その中で EM・CAM の 2 剤に対する耐性株の割合は, 2008 年 43.0%, 2009 年 56.0%, 2010 年 55.0% と推移していたが, 2011 年は 90.0% と耐性率が顕著であった。

主要な T 型別の EM・CAM 耐性株の検出状況を図 2 に示す。

T-1・T-25 型は耐性率が平均的に高いが,

表6 T型別薬剤感受性試験結果

T 型	T-1	T-4	T-12	T-28	T-B3264	計
感受性			2(12)		2(100)	4(8)
EM 耐性				1(10)		1(2)
EM・CAM 耐性	16(94)	4(100)				20(40)
EM・CAM・CLDM 耐性				6(60)		6(12)
TC・EM・CAM・CLDM 耐性	1(6)		15(88)	3(30)		19(38)
菌株数	17	4	17	10	2	50

* () 型別耐性割合%

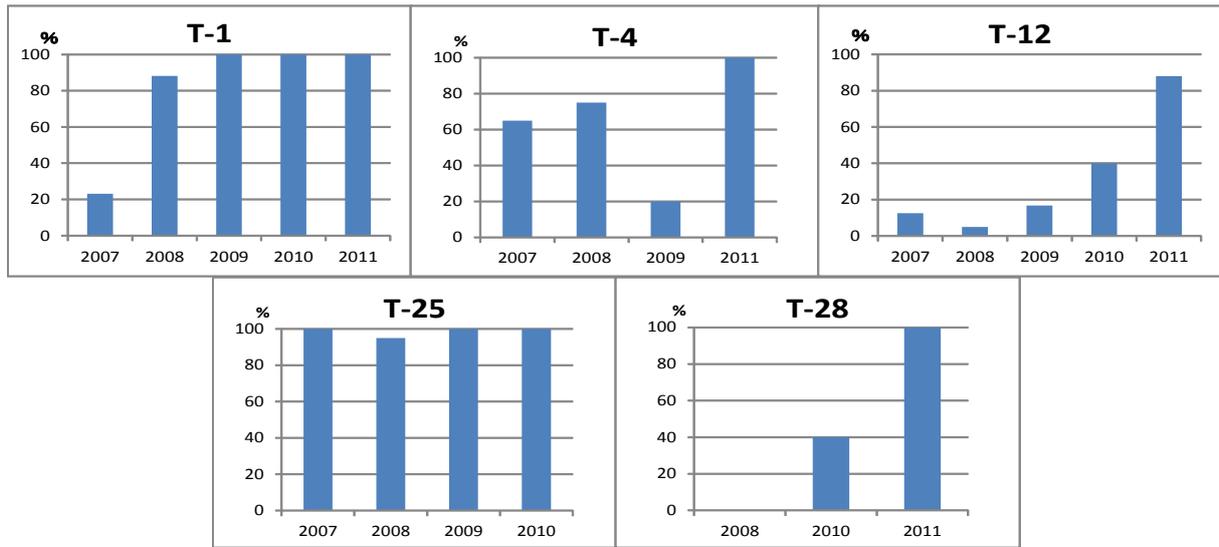


図2 主要T型別のEM・CAM耐性株検出状況

* T-4型 2010年, T-25型 2011年, T-28型 2007年は検出なし

* T-28型 2009年は薬剤感受性試験の実施なし

T-12・T-28型は年々耐性率が高くなっている。特に2010年から2011年にかけての増加は著しい。2011年の耐性率が顕著であった原因として、T-12・T-28型の耐性菌株の分離が多かったことが考えられた。今後も耐性菌の動向に注意が必要である。

5 肺炎球菌, インフルエンザ菌の薬剤耐性遺伝子検出結果

1) 肺炎球菌

薬剤耐性遺伝子の検出結果と Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) による薬剤感受性判定結果を表7, 表8に示す。

遺伝子検査の結果, ペニシリン結合蛋白をコードする3種類の遺伝子 (*pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b*) の内, 何れかに変異が認められた株は101株中98株(97.0%)であった。その

内訳は *pbp1a* 変異 2株, *pbp2x* 変異 14株, *pbp1a+2x* 変異 8株, *pbp2x+2b* 変異 28株, *pbp1a+2x+2b* 変異 46株であった。これらを遺伝子変異に基づいて分類すると, gPSSP 3株(3.0%), gPISP 52株(51.5%), gPRSP 46株(45.5%)であった。なお, 髄液由来の2株はどちらも *pbp2x* 変異の gPISP であった。

一方, CLSI による薬剤感受性試験では PSSP 20株(20.0%), PISP 51株(51.0%), PRSP 29株(29.0%)に分類された。この PSSP 20株の内, 17株(85.0%)に *pbp* 変異が認められ, PISP 51株の内16株(31.4%)に *pbp1a+2x+2b* 変異が認められた。

さらに, マクロライド耐性遺伝子は98株(97.0%)が保有していた。その内訳は, 軽度耐性遺伝子である *mefA* の保有が22株

表7 肺炎球菌の薬剤耐性遺伝子検出結果 (*pbp*変異)

	PCRによる薬剤耐性								計	
	gPSSP		gPISP					gPRSP		
	<i>pbp</i> 変異	変異なし	<i>pbp1a</i>	<i>pbp2x</i>	<i>pbp2b</i>	<i>pbp1a+2x</i>	<i>pbp1a+2b</i>	<i>pbp2x+2b</i>		<i>pbp1a+2x+2b</i>
CLSIによる	PSSP	3		11		5			1	20
薬剤耐性	PISP		2	2		3		28	16	51
	PRSP								29	29
	未実施			1						1
	計	3	2	14		8		28	46	101

表8 肺炎球菌の薬剤耐性遺伝子検出結果
(マクロライド耐性)

	なし	<i>mefA</i>	<i>ermB</i>	<i>mefA+ermB</i>	計
gPSSP			3		3
gPISP	3	5	40	4	52
gPRSP		17	23	6	46
計	3	22	66	10	101

(21.8%)、高度耐性遺伝子である *ermB* 保有が 66 株 (65.3%)、両方を保有していたのは 10 株 (9.9%) であった。

肺炎球菌の *pbp* 変異率は年々上昇傾向にあり、2009 年²⁾ 91.0%、2010 年³⁾ 92.6% と続き、2011 年は 97.0% となった。この背景として、PISP の分離率が上がったこと、PSSP に分類されていたが遺伝子上ではいくつか *pbp* 変異が認められ、gPISP に判定された肺炎球菌が増えたこと、などが考えられた。

また、マクロライド耐性遺伝子の保有率は近年とほぼ同様であった。しかし、その中で *mefA+ermB* の保有率は 9.9% となり、2009 年 22.4%、2010 年 21.0% と比較して激減した。

2) インフルエンザ菌

薬剤耐性遺伝子の検出結果と CLSI による薬剤感受性判定結果を表 9 に示す。

遺伝子検査の結果、ペニシリン結合蛋白をコードする *ftsI* 遺伝子 (*pbp3-1*, *pbp3-2*) の何れかに変異が認められた株は 88 株中 77 株 (87.5%) であった。β ラクタマーゼを産生する TEM 遺伝子を保有していたのは 14 株 (15.9%) であった。これらを遺伝子変異に基づいて分類すると、gBLNAS 11 株 (12.5%)、gLow-BLNAR 9 株 (10.2%)、

gBLNAR 54 株 (61.4%)、gBLPAR 1 株 (1.1%)、gBLPACR-II 13 株 (14.8%) であった。なお、髄液由来の 1 株は gLow-BLNAR であった。

一方、CLSI による薬剤感受性試験では BLNAS 29 株 (33.7%)、Low-BLNAR 10 株 (11.6%)、BLNAR 34 株 (39.5%)、BLPAR 13 株 (15.1%) に分類された。この BLNAS 29 株の内 18 株 (62.1%) に *pbp* 変異が認められた。インフルエンザ菌の *pbp* 変異率は年々上昇傾向にあったが、2011 年は 87.5% で、2010 年 94.0% よりも低くなった。しかし、BLPAR の分離率が例年以上に高く (2009 年 5.6%、2010 年 4.8%、2011 年 15.1%)、またそのほとんどが、β ラクタマーゼ産生性で複数の *pbp* 変異を伴う gBLPACR-II であった。今後経過を注視していきたい。

まとめ

2011 年は 132 件の検体が搬入され、112 株の細菌が分離された。また、菌株として 207 株が搬入された。

分離した主な細菌は A 群溶レン菌 103 株、G 群溶レン菌 5 株、下痢原性大腸菌 3 株などであった。

また、薬剤耐性遺伝子検査を行った結果、肺炎球菌 101 株のうち 98 株から、インフルエンザ菌 88 株のうち 77 株から薬剤耐性遺伝子が検出された。

謝辞

検体採取等本事業にご協力いただいた病原

表9 インフルエンザ菌の薬剤耐性遺伝子検出結果

		PCRによる薬剤耐性							
		gBLNAS	gLow-BLNAR	gBLNAR		gBLPAR	gBLPACR-II		
TEM		-	-	-	-	+	+		
<i>pbp</i> 変異		変異なし	<i>pbp3-1</i>	<i>pbp3-2</i>	<i>pbp3-1+3-2</i>	変異なし	<i>pbp3-2</i>	<i>pbp3-1+3-2</i>	計
CLSI に よる 薬剤 耐性	BLNAS	11	6	1	11				29
	Low-BLNAR				10				10
	BLNAR		1	5	27			1	34
	BLPAR					1	3	9	13
	未実施		2						2
計		11	9	6	48	1	3	10	88

体定点の医療機関の諸先生方に深謝いたします。

引用文献

- 1) 平沢恭子, 須釜久美子, 熊谷奈々子, 他. 2004年感染症発生動向調査事業報告(細菌). 福島県衛生研究所年報 2004; 22: 59-66.
- 2) 小黒祐子, 菅野奈美, 渡邊奈々子, 他. 2009年感染症発生動向調査事業報告(細菌). 福島県衛生研究所年報 2009; 27: 65-71.
- 3) 小黒祐子, 千葉一樹, 菅野奈美, 他. 2010年感染症発生動向調査事業報告(細菌). 福島県衛生研究所年報 2010; 28: 61-66.

IV 論文・事業報告（理化学）

1 レジオネラ属菌迅速検査法の検討と汚染実態調査

伊藤 翔也，他

2 サッカリンナトリウム検査手順の改良

須田 千咲，他

レジオネラ属菌迅速検査法の検討と汚染実態調査

伊藤翔也 遠藤俊彦 吉田加寿子 大越憲幸
理化学課

要 旨

福島県内の浴槽水以外の人工環境水中のレジオネラ属菌の汚染状況について調査を実施した。足湯、修景水など 20 検体を採取し、培養法による検査の結果、6 検体から *Legionella pneumophila* を検出した。うち 1 検体からは *Legionella dumoffii* も同時に検出した。

並行して、検査に 7 日間を要する培養法に代わる迅速検査法の検討のため、LAMP 法による検査も行った。LAMP 法では、19 検体で陽性を示し、培養法より検出率が高かった。

LAMP 法では培養法との検出率の乖離が著しく、その原因が死菌の DNA によるものであると考えた。そこで死菌の DNA の増幅を抑制する働きのあるエチジウムモノアジドブロマイド (EMA) を用いて旅館、公衆浴場等の浴槽水を対象とし、LAMP 法を行った。その結果、若干の効果が見られたが、実用性の点では更に改善が必要と考えられた。

キーワード：レジオネラ属菌、人工環境水、LAMP 法、エチジウムモノアジド

はじめに

福島県では、毎年約 100 件程、旅館や公衆浴場における浴槽水中のレジオネラ属菌検査を行い、衛生管理指導に役立てている。レジオネラ属菌は浴槽水以外の人工環境水中にも生息することが知られているが、その生息状況に関する知見はほとんど無い。そこで、浴槽水以外の人工環境水中のレジオネラ属菌汚染実態調査を行った。

同時に現在 7 日間を要する培養法に代わる迅速検査法として、栄研化学株式会社で開発された遺伝子増幅法である LAMP 法による検査法について検討を行った。

その中で、培養法では陰性であったが LAMP 法では陽性となった検体が多く、結果の乖離が大きかった。その原因について、死菌の DNA を増幅していることが原因であると考え、それを抑制する方法としてエチジウムモノアジドブロマイド (EMA) を用いた EMA-LAMP 法について浴槽水を対象に実施した。EMA は DNA にインターカレートし、その状態で光を照射すると DNA と不可逆的に結合する性質がある。EMA が結合した状態では遺伝子増幅は起きない。これを利用し、LAMP 法において生菌の DNA のみを増幅さ

せる方法について検討した。

材 料

1 人工環境水中の生息状況調査

2010 年 10 月から 12 月にかけて福島県内の屋外修景水施設、足湯施設などから採取した人工環境水 20 検体を試料とした。

2 EMA-LAMP法の検討

平成 23 年度レジオネラ属菌検査事業対象の浴槽水を試料とした。

また、死菌量による EMA-LAMP 法への影響試験ではレジオネラ BCYE α 液体培地に、レジオネラ属菌 (*Legionella pneumophila*) のコロニーを 1 白金耳浮遊させ、24 時間培養したものを使用した。

方 法

濃縮と培養法については、当所の SOP に基づき実施した。LAMP 法については、レジオネラ検出キット E (栄研化学株式会社) を用いた。

1 人工環境水中の生息状況調査

1) 濃縮

試料水 100mL、500mL をそれぞれ孔径

0.4 μ m のメンブランフィルターでろ過濃縮した。そのフィルターを 5mL の滅菌水が入った遠沈管に入れ、1 分間ミキシングし濃縮試料とした。

2) 培養法

原液、濃縮試料それぞれに HCl・KCl 緩衝液 (pH2.2) を等量加え酸処理した。処理液を WYO α 寒天培地 (栄研化学) に 0.1mL 塗布し、36 $^{\circ}$ C で 7 日間培養を行った。培養 4 日目からコロニーの計測を行い、培養 7 日目に菌数を確定した。また、培養中に現れたレジオネラ属菌と思われるコロニーについて、グラム染色、システイン要求性の確認を行った。さらに遺伝子を抽出し、PCR 法を用いてレジオネラ属菌及び *Legionella pneumophila* を確定した。なお、*Legionella pneumophila* については、血清群の確認を行った。

3) LAMP 法

500mL 濃縮試料 2mL を滅菌チューブに入れ、4 $^{\circ}$ C、12,000rpm で 10 分間遠心した後、上澄みを除去して 40 μ L にした。Extract Solution for *Legionella* 50 μ L を添加して混合した後、95 $^{\circ}$ C で 18 分間加熱処理をした。氷上で冷却後、1M Tris-HCL (pH7.0) 8 μ L を加え混合した。4 $^{\circ}$ C、12,000rpm で 10 分間遠心したものを試料とした。あらかじめ調製した反応液 20 μ L に試料 5 μ L を添加し、Loopamp リアルタイム濁度測定装置 LA-320C で測定を行った。

2 EMA-LAMP法の検討

濃縮、培養法については 1 の 1) および 2) に同じ。

1) EMA-LAMP 法による迅速測定

EMA は 5mg を 1mL の滅菌水に溶解して用いた。EMA 処理を行う検体については、500mL 濃縮試料 1.5mL を滅菌チューブに入れた後、EMA 溶液 3 μ L を加え、暗所で 5 分間静置した後、チューブを氷冷しながら、距離 20cm で光を照射した。その後 4 $^{\circ}$ C、12,000rpm で 10 分間遠心した後、上澄みを除去して 40 μ L にした。Extract Solution for *Legionella* 50 μ L を添加して混合した後、95 $^{\circ}$ C で 18 分間加熱処理をした。氷上で冷却後、1M Tris-HCL (pH7.0) 8 μ L を加え混合し、4 $^{\circ}$ C、

12,000rpm で 10 分間遠心したものを試料とした。あらかじめ調製した反応液 20 μ L に試料 5 μ L を添加し、Loopamp リアルタイム濁度測定装置 LA-320C で測定を行った。

なお、対照として EMA 処理を行わない検体も同時に測定を行った。試料 1.5mL を滅菌チューブに入れた後に EMA を加えずに 4 $^{\circ}$ C、12,000rpm で 10 分間遠心を行った。その後上澄みを除去して 40 μ L にした。その後は上記と同様に操作した。

2) 死菌量による EMA-LAMP 法への影響試験

一昼夜培養した培養液を 10 倍ずつ段階希釈して希釈系列を作成し、菌数を測定した。同時にそれらを 100 $^{\circ}$ C、5 分で熱処理し死菌液を作成した。その死菌液及び EMA 処理したのものについて LAMP 法試験を行った。

結 果

1 人工環境水中の生息状況調査

結果を表 1 に示した。培養法では 20 検体中 6 検体で *Legionella pneumophila* が検出された (陽性率 30%)。内訳は足湯が 4 件、修景水が 2 件だった。うち 1 検体では *Legionella dumoffii* も同時に検出された。なお、レジオネラ属菌が検出された試料では、いずれでも残留塩素は検出されなかった。

一方、LAMP 法では、19 検体で陽性を示した (陽性率 95%)。陽性の 19 検体中 13 検体は、培養法では陰性であった。

2 EMA-LAMP法の検討

表 2 に培養法陰性検体のうち LAMP 法陽性を示した検体について EMA-LAMP 法を行った結果を、表 3 には培養法で陽性であった検体の EMA 処理及び EMA 未処理の LAMP 法の結果を示す。表 2, 3 ともに (+) は LAMP 法で陽性、(-) は LAMP 法で陰性を示す。

表 2 に示すように、培養法陰性及び EMA 未処理 LAMP 法陽性の 10 検体の内 4 検体において EMA-LAMP 法で陰性となった。

また、表 3 に示すように、培養法陽性の 8 検体では、菌数 20 ~ 4.4 $\times 10^3$ CFU/100mL の 7 検体において EMA 未処理、EMA 処理の両者の LAMP 法で陽性を示し、菌数が

10CFU/100mL の 1 検体において EMA 未処理の LAMP 法で陽性，EMA-LAMP 法で陰性を示した。

次に液体培地を段階希釈し，それを熱処理した死菌液による試験の結果を表 4 に示す。EMA 未処理の LAMP 法では 10^2 CFU/100mL 未満の濃度では陰性であったが， 3.0×10^3 CFU/100mL 以上の濃度では陽性となった。EMA-LAMP 法では 3.1×10^4 CFU/100mL 以上の濃度では陽性となった。 3.1×10^3 CFU/100mL では陰性であった。

考 察

1 人工環境水中の生息状況について

培養法の結果から，浴槽水以外の人工環境水中にもレジオネラ属菌が生息していることが明らかになった。さらに今回レジオネラ属菌が検出された施設は，いずれも残留塩素が含まれていなかった。この結果から浴槽水と同様，残留塩素の管理がレジオネラ属菌対策に重要であることが示唆された。検出率では，足湯よりも清掃の機会が少ないと考えられる修景水での検出率が，足湯での検出率の半分になっている。この原因は採水を 10 月から比較的寒い時期に行っており，レジオネラ

表 1 レジオネラ属菌測定結果

試料No	試料の種類	残留塩素	培養法	L.pneumophila 血清群	LAMP 法	備考
1	足湯	N.D	<10		陽性	硫黄泉
2	足湯	N.D	<10		陽性	硫黄泉
3	足湯	N.D	<10		陽性	硫黄泉
4	足湯	N.D	<10		陽性	硫黄泉
5	足湯	N.D	30	1 群 6 群	陽性	硫黄泉
6	足湯	N.D	10	3 群	陽性	硫黄泉
7	足湯	N.D	10	3 群	陽性	硫黄泉
8	足湯	N.D	<10		陽性	単純泉
9	足湯	N.D	1.0×10^2	6 群	陽性	単純泉/L.dumoffii 検出
10	温泉水	N.D	<10		陽性	単純泉
11	給湯水	N.D	<10		陽性	
12	修景水	N.D	<10		陽性	
13	修景水	N.D	<10		陽性	
14	修景水	0.24	<10		陽性	
15	修景水	0.42	<10		陽性	
16	修景水	N.D	<10		陰性	
17	修景水	N.D	1.8×10^2	5 群 6 群	陽性	
18	修景水	N.D	<10		陽性	
19	修景水	N.D	<10		陽性	
20	修景水	N.D	3.0×10^2	5 群	陽性	

表2 培養法陰性検体のLAMP法結果

検体 番号	培養法 CFU/100	EMA 未処理 LAMP法	EMA処理 LAMP法	EMAの 効果(*)
1	<10	(+)	(+)	×
2	<10	(+)	(-)	○
3	<10	(+)	(-)	○
4	<10	(+)	(-)	○
5	<10	(+)	(+)	×
6	<10	(+)	(-)	○
7	<10	(+)	(+)	×
8	<10	(+)	(+)	×
9	<10	(+)	(+)	×
10	<10	(+)	(+)	×

○…対照が培養法陰性、LAMP法陽性だった検体が
EMA-LAMP法で陰性に転じた場合

×…対照が培養法陰性、LAMP法陽性だった検体で
EMA-LAMP法でも陽性だった場合

表3 培養法陽性検体のLAMP法結果

検体 番号	培養法 (CFU/100mL)	LAMP法 (EMA無)	LAMP法 (EMA有)
1	5.2×10^2	(+)	(+)
2	1.2×10^2	(+)	(+)
3	5.1×10^2	(+)	(+)
4	1.2×10^3	(+)	(+)
5	5.9×10^2	(+)	(+)
6	10	(+)	(-)
7	4.4×10^3	(+)	(+)
8	20	(+)	(+)

表4 熱処理前の菌量測定済み液体培地の段階希釈によるEMA有効濃度限界検討結果

菌数(熱処理前) (CFU/100mL)	LAMP法 (EMA無)	LAMP法 (EMA有)
($\sim 10^6$)	(+)	(+)
3.2×10^5	(+)	(+)
3.1×10^4	(+)	(+)
3.0×10^3	(+)	(-)
($\sim 10^2$)	(-)	(-)

属菌の増殖が抑えられていたためと考えられた。

今回調査を行った施設では、公衆浴場と異なり管理方法などを規定した法律・条例はないが、足湯の清掃従事者が発症した事例もあるなど、ヒトがエアロゾルを吸引する可能性があるという点では変わりはない。このため施設管理者等に対して適正な管理方法の周知が必要であると考えられる。

2 LAMP法について

今回 LAMP 法では 19 検体で陽性となり、培養法よりも検出率が高い結果となった。この原因として培養法では検出できない死菌又は VBNC 菌（生きてはいるが培養はできない状態の菌）が LAMP 法で検出された可能性が考えられた。

今回の調査の結果、培養法の結果の乖離が著しいため、LAMP 法を培養法の代替としての検査法として用いるには、さらに検討の必要があると思われた。

しかしそれ以外の用途、例えばレジオネラ属菌が検出された浴槽での清掃後に浴槽使用を再開する際の可否の判断としては培養法よりも迅速に結果が出る LAMP 法は適していると判断された。

3 EMA-LAMP法について

培養法、EMA 処理しない LAMP 法ともに陽性の検体 8 件中、7 件については EMA 処理しても生菌には影響を大きく及ぼさないことが確認できた。しかし 1 件（表 3 検体番号 6）については EMA-LAMP 法が陰性に転じた。これは元々の菌濃度が薄かったことから、陰性に転じたものと考えられた。

培養法陰性、EMA 未処理 LAMP 法陽性だった 10 検体において、EMA 処理 LAMP 法で陰性になったのは 4 検体であった。

10 検体中 4 検体のみで陰性となった原因として、検体中の死菌量が多すぎて EMA で処理しきれなくなったことが考えられた。そこで、表 4 の菌量を含む液体培地について熱処理をほどこし、段階希釈して EMA 処理の効果調べたところ、一定以上 (3.1×10^4 cfu/100mL) の死菌量では EMA を加えても

陽性になってしまうことが確認できた。

以上のことから、EMA-LAMP 法陰性の場合には培養法を省略できるスクリーニング法としての用途が考えられる。また死菌の量が少ないと思われる比較的清浄な検体については LAMP 法単体で行うよりも EMA-LAMP 法を使用する方がより優れた結果が得られると考えられ、さらに保健所、浴場営業者等に速やかに情報を提供できることから今後も実用化に向かってさらに改良を加えていきたい。

まとめ

今回の調査では、浴槽水以外の人工環境水にもレジオネラ属菌が生息していることが分かった。レジオネラ菌の感染経路は主にエアロゾルの吸入であるため、浴槽水に比べれば足湯、修景水による感染の確率は低いものの、一定の管理が必要であると判断された。

LAMP 法の実用化については、今後も改良を加えていきたい。

参考文献

- 1) レジオネラ症防止指針第3版. 目黒克之, 編. 東京:財団法人ビル管理教育センター, 2010
- 2) Akira Ohno, Naoyuki Kato, Koji Yamada, 他. Factors Influencing Survival of Legionella pneumophila Serotype 1 in Hot Spring Water and Tap Water. Appl Environ Microbiol. 2003 ; 69 : 2540-2547.
- 3) Takashi Soejima, Ken-ichiro Iida, Tian Quin, et al. Method To Detect Only Live Bacteria during PCR Amplification, Journal of Clinical Microbiology 2008;46 (7) :2305-2313

サッカリンナトリウム検査手順の改良

須田千咲 赤城理恵 鈴木司¹⁾
試験検査課¹⁾ 県南保健福祉事務所

要旨

サッカリンナトリウムの添加回収率とばらつきの改善を目的に、検査手順の見直しを行った。その結果、透析時のかくはんの有無が測定値に大きな影響を及ぼすこと、透析膜を吊すために使用していた留め具に問題があり、十分なかくはんが行われていなかったことが明らかになった。留め具を結束バンドからテフロンたこ糸に変更し、2時間おきに4回かくはんすることで回収率、変動係数が改善した。

キーワード：サッカリンナトリウム、透析法、かくはん

はじめに

サッカリンナトリウムは、我が国で使用が認められている代表的な合成甘味料であり、漬物、ジャム、清涼飲料水、魚介加工品など多くの食品で使用されている。当所では透析法を前処理法に用いた高速液体クロマトグラフ(HPLC)法¹⁾による分析を実施している。

平成22年度財団法人食品薬品安全センター秦野研究所で実施されたサッカリンナトリウムの食品衛生外部精度管理調査に参加した結果、R管理図の管理限界線をわずかに上回り、他施設に比べてばらつきが大きかったため、検査手順の見直しを行った。

問題点として、第一に、透析の際に「ときどき揺り動かしながら」という記述があるが、具体的な間隔や回数が明記されていなかったため、目安を決めることなく透析を実施していたこと、第二に、透析膜を吊すために当課で使用していた留め具が原因でメスシリンダーを密封できず、かくはんが不十分であったことが考えられた。

以上の点を踏まえ、かくはんの回数や間隔、透析膜を吊す留め具の違いが測定値に及ぼす影響について検討したので報告する。

方法

1 試薬・試液等

1) 標準原液(400 μ g/mL)：サッカリンナトリウム二水和物を120℃で4時間乾燥した

後、40mgを量り、水に溶解し全量100mLとした。

2) 標準溶液(20 μ g/mL)：標準原液5mLを量り水を加えて全量100mLとした。

3) 検量線用標準液(0, 2, 4, 6, 8 μ g/mL)：標準溶液を0, 1, 2, 3mLおよび4mLをそれぞれ量り、水を加えて10mLとした。

4) 透析補助液：0.1mol/L塩酸

5) 5mmol/LCTA含有10mmol/Lリン酸緩衝液(pH2.5)：塩化セチルトリメチルアンモニウム(CTA)1.60g及びリン酸二水素カリウム1.36gを水に溶解して1000mLとし、リン酸でpHを2.5に調整し、メンブランフィルターでろ過した。

6) 透析膜：透析用セルロースチューブ36/32〔平面幅44mm、直径28mm、膜厚0.0203mm〕(Viskase Companies)

2 装置

高速液体クロマトグラフ：日本分光(株)製HPLC GULLIVER1500Series, PU-1580型ポンプ、同AS-1555型オートサンプラー、同UV-1570型UV検出器、同CO-1560型カラムオーブン、同DG-980-50脱気装置、及び同BORWIN HSS-1500

3 測定条件

カラム：Inertsil C8-3〔4.6 \times 150mm 5 μ m〕
移動相：5mmol/LCTA含有10mmol/Lリン酸緩衝液(pH2.5)：アセトニトリル(4:3)混液

検出波長：230nm
 流速：1.0mL/min
 カラム温度：40℃
 注入量：20μL

4 試験溶液の調製

- 1) 試料 10g を 50mL のビーカーに量り取った。
- 2) 透析補助液 20mL を用いて、試料を透析膜に移し入れた。
- 3) 透析膜の上端を密封し、250mL のメスシリンダーに入れ、水を入れて全量 200mL にメスアップした。
- 4) 室温で 16～24 時間透析後、透析外液をメンブランフィルター (0.45μm) でろ過し、ろ液を試料液とした。

結果及び考察

1 透析時のかくはんの有無による回収率及びばらつきの検討

試料は食品衛生外部精度管理調査と同様の 0.08g/kg となるように水にサッカリンナトリウムを添加したもので実施した。

8 検体を用い、No.1～3 を無かくはん、No.4～6 をかくはん、No.7 をスターラーで連続かくはん、No.8 をブランクとした。透析開始 1 時間後に 1 回目のかくはんをし、それ以降は 2 時間間隔で少なくとも 2 回以上透析外液をかくはんすると良好な結果が得られるという都田らの報告²⁾に準じて、最初のかくは

んは透析開始 1 時間後に行い、それ以降は 2 時間間隔で 3 回 (計 4 回) かくはんを行った。

かくはんの有無による回収率の差は平均で 11.4 % であり、かくはんの有無が回収率に大きく影響することが明らかになった。

またスターラーを用いて連続でかくはんを行った No.7 が、最も高い回収率であった。

変動係数は、かくはん有りの方がかくはん無しと比べて 0.36 小さく、かくはんにより回収率のばらつきが改善されることも示唆された (表 1)。

2 透析膜留め具の違いによる回収率及びばらつきの検討

1) 水添加試料による回収率及びばらつきの検討

試料は 1 と同一のもので実施した。

当課では利便性の点から幅 3cm の密封クリップに幅 2.5mm の結束バンドを通した器具を作製し、透析膜の留め具 (図 1 上の写真以後 “留め具 B” とする) として使用していた。試料と透析補助液を入れた透析膜の上部をクリップで密封し、結束バンドをメスシリンダー内にテープで固定していた。この留め具 B では、結束バンドの先端がメスシリンダー上端から飛び出してしまい、メスシリンダーの上面をパラフィルムで密封することは困難な状態であった (図 2)。そこで結束バンドを太さ 0.3mm のテフロンたこ糸に替えた

表 1 かくはんの有無による回収率及びばらつき

	試料採取量 (g)	透析液量 (mL)	HPLC注入希釈倍率	試料液サッカリンNa濃度 (μg/mL)	検体中サッカリンNa濃度 (g/kg)	平均 (g/kg)	標準偏差	変動係数 (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	回収率平均 (%)
1 かくはん無し	10.01	200	1	3.372	0.0674				0.08	84.2	
2 かくはん無し	10.02	200	1	3.295	0.0658	0.0661	0.0011348	1.72	0.08	82.2	82.6
3 かくはん無し	10.00	200	1	3.259	0.0652				0.08	81.5	
4 かくはん有り	10.02	200	1	3.783	0.0755				0.08	94.4	
5 かくはん有り	10.00	200	1	3.803	0.0761	0.0752	0.0010219	1.36	0.08	95.1	94.0
6 かくはん有り	10.00	200	1	3.704	0.0741				0.08	92.6	
7 スターラー	10.00	200	1	3.831	0.0766	-	-	-	0.08	95.8	-
8 ブランク	10.01	200	1	0.000	0.0000	-	-	-	-	-	-

留め具(図 1 下の写真以後“留め具 A”とする)を作製し、密封できるように改良した(図 3)。

留め具 A と留め具 B の違いが、かくはん操作に与える影響について検討を行った。

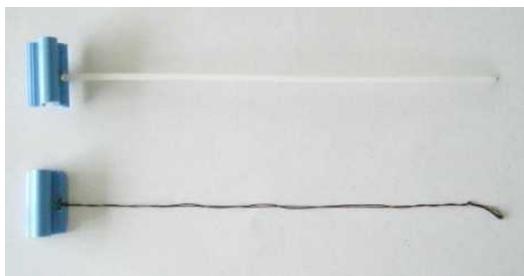
No.1～3を留め具 A, No.4～6を留め具 B で透析を実施した。最初のかくはんは透析開始 2 時間後に行い、以降は 1 時間間隔で計 4 回かくはんを行った。No.7～No.9 については、スターラーで連続かくはんを行った。結果を表 2 に示す。

回収率はスターラーで連続かくはんが最も

高かった。変動係数は留め具 A を用いた場合が最も小さかった。留め具 A により上面が密封され、さらに透析膜が糸とともに上下運動することになったことで(図 4)、かくはん操作が十分行えるようになり、留め具 B を用いた場合より、回収率が上がり、ばらつきも小さくなったと考える。

2) 実試料での測定

試料はサッカリンナトリウムの表示のある漬物で実施した。No.1～5を留め具 A, No.6～10を留め具 B を用いて試験を行った。最初のかくはんは透析開始 1 時間後に行い、以



←結束バンド(留め具 B)

←テフロンたこ糸(留め具 A)

図 1 留め具の種類

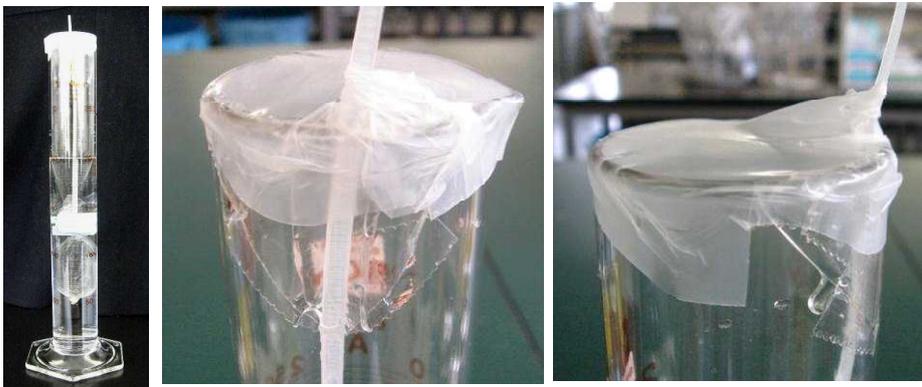


図 2 留め具Bで吊した状態

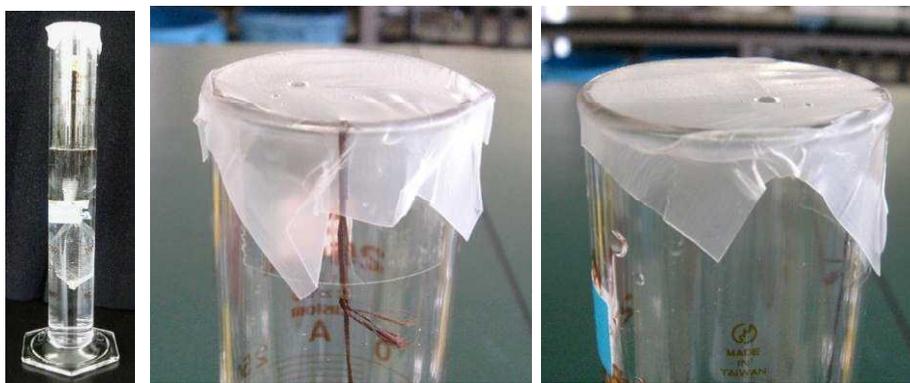


図 3 留め具Aで吊した状態



図4 かくはん時の透析膜の様子(左：留め具 B, 右：留め具 A)

表2 留め具とかくはん方法の違いによる回収率及びばらつき

	試料採取量 (g)	透析液量 (mL)	HPLC注入希釈倍率	試料液 サッカリンNa濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	検体中 サッカリンNa濃度 (g/kg)	平均 (g/kg)	標準偏差	変動係数 (%)	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	回収率平均 (%)
1 留め具A	10.00	200	1	3.886	0.0777				0.08	97.2	
2 留め具A	10.00	200	1	3.930	0.0786	0.0782	0.00044	0.56	0.08	98.3	97.7
3 留め具A	10.01	200	1	3.912	0.0782				0.08	97.7	
4 留め具B	10.00	200	1	3.862	0.0772				0.08	96.6	
5 留め具B	10.01	200	1	3.793	0.0758	0.0764	0.0007773	1.02	0.08	94.7	95.4
6 留め具B	10.00	200	1	3.802	0.0760				0.08	95.1	
7 スターラー	10.01	200	1	3.995	0.0798				0.08	99.8	
8 スターラー	10.00	200	1	3.931	0.0786	0.0790	0.0006813	0.86	0.08	98.3	98.8
9 スターラー	10.01	200	1	3.937	0.0787				0.08	98.3	

降 1 時間間隔で計 4 回かくはんを行った。結果を表 3 に示す。検体中のサッカリンナトリウム濃度測定では留め具 A を使った場合と留め具 B を使った場合で、平均値に大きな

差は認められなかった。しかし、留め具 A を使った方が留め具 B を使った場合より変動係数が低い値を示した。

表3 留め具の違いによる実試料の測定値及びばらつき

	試料採取量 (g)	透析液量 (mL)	HPLC注入希釈倍率	試料液 サッカリンNa濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	検体中 サッカリンNa濃度 (g/kg)	平均 (g/kg)	標準偏差	変動係数 (%)
1 留め具A	10.05	200	1	2.958	0.0589			
2 留め具A	10.01	200	1	2.924	0.0584			
3 留め具A	10.01	200	1	2.890	0.0577	0.0588	0.0007005	1.19
4 留め具A	10.04	200	1	2.987	0.0595			
5 留め具A	10.01	200	1	2.966	0.0593			
6 留め具B	10.00	200	1	2.958	0.0592			
7 留め具B	10.01	200	1	2.942	0.0588			
8 留め具B	10.00	200	1	2.918	0.0584	0.0580	0.001129	1.95
9 留め具B	10.03	200	1	2.827	0.0564			
10 留め具B	10.00	200	1	2.870	0.0574			

3 透析セット後、かくはん開始までの静置時間とかくはん間隔の違いによる回収率及びばらつきの検討

1, 2の結果から、以後留め具 A, かくはん回数は4回で実施することとした。

収去検査の場合、14時～15時頃に検体が搬入されるケースが多いため、翌朝透析をセットし、1時間後からかくはんを開始したものと、搬入当日の夕方に透析をセットし、翌朝からかくはんを開始したものと違い、及びかくはん間隔が1時間と2時間での測定値の違いについて検討した。かくはん無しで静置したものについても検討した。

パターン A(No.1～3)；セット後1時間からかくはん開始、以後かくはん間隔2時間、透析時間23時間

パターン B(No.4～6)；セット後1時間からかくはん開始、以後かくはん間隔1時間、透析時間23時間

静置23時間(No.7)

パターン C(No.8～10)；夕方セット翌日からかくはん開始、以後かくはん間隔2時間、透析時間22時間(4回目かくはん後30分で終了)

静置22時間(No.11)

パターン D(No.12～14)；夕方セット翌日からかくはん開始、以後かくはん間隔1時間、透析時間19時間(4回目かくはん後30分で終了)

静置19時間(No.15)

試料は無添加確認済みの漬物に0.1g/kgになるようにサッカリンナトリウムを添加したもので実施した。

結果を表4に示す。透析セット1時間後にかくはんを開始したものと前日透析セットし翌朝からかくはんを開始したものでは、2時間間隔でかくはんしたパターン A, C については回収率に違いは見られなかった。かくはん間隔については2時間間隔のパターン A, Cの方が、1時間間隔のパターン B, Dよりも回収率が高いことが明らかになった。

かくはん無しの No.7, No.11, No.15 はかくはんしたもの比べると回収率は低かった。透析時間が長くなるにつれて回収率が高い結果となったが、かくはん無しでは透析時間19時間でもまだ透析が不十分であると思われた。

表4 かくはん開始までの静置時間とかくはん間隔の違いによる測定値及びばらつき

	試料採取量 (g)	透析液量 (ml)	HPLC注入 希釈倍率	試料液 サッカリンNa濃度 (μ g/ml)	検体中 サッカリンNa濃度 (g/kg)	平均	標準偏差	変動係数	添加量 (g/kg)	回収率 (%)	回収率 平均 (%)	
1	パターンA	10.00	200	1	4.866	0.0973			0.1000	97.3		
2	パターンA	10.03	200	1	4.842	0.0966	0.0969	0.00039053	0.40	0.0997	96.8	97.0
3	パターンA	10.00	200	1	4.841	0.0968			0.1000	96.8		
4	パターンB	10.02	200	1	4.831	0.0964			0.0998	96.6		
5	パターンB	10.00	200	1	4.791	0.0958	0.0961	0.00032003	0.33	0.1000	95.8	96.2
6	パターンB	10.02	200	1	4.807	0.0959			0.0998	96.1		
7	静置	10.01	200	1	4.602	0.0919	-	-	-	0.0999	92.0	-
8	パターンC	10.01	200	1	4.823	0.0964			0.0999	96.5		
9	パターンC	10.00	200	1	4.864	0.0973	0.0969	0.00046323	0.48	0.1000	97.3	96.9
10	パターンC	10.00	200	1	4.847	0.0969			0.1000	96.9		
11	静置	10.03	200	1	4.585	0.0914	-	-	-	0.0997	91.7	-
12	パターンD	10.00	200	1	4.729	0.0946			0.1000	94.6		
13	パターンD	10.02	200	1	4.701	0.0938	0.0941	0.00039485	0.42	0.0998	94.0	94.2
14	パターンD	10.01	200	1	4.704	0.0940			0.0999	94.1		
15	静置	10.05	200	1	4.385	0.0873	-	-	-	0.0995	87.7	-
	ブランク	10.00	200	1	0.000	0.0000	-	-	-	-	-	-

4 かくはん間隔2時間での添加回収試験 (N=5)

試料は無添加確認済み漬物及びみそに 0.1g/kg になるようにサッカリンナトリウムを添加したもので実施した。結果を表5に示す。なお透析を行った時間は 22 時間であった。漬物は回収率の平均が 95.8% (2009, 2010 年度平均回収率 91.4%), みそは 84.8% (2009, 2010 年度平均回収率 75.6%) となり、漬物、みそともに回収率の改善がみられた。

まとめ

サッカリンナトリウムの分析における透析中のかくはん方法の検討を行い、以下の結果を得た。

- 1 水添加試料で、かくはんの有無とスターラーによる連続かくはんによる添加回収試験を実施した。かくはん無しの添加回収率は 82.6%, かくはん有りの平均回収率は 94.0%, スターラーによる連続かくはんの回収率は 95.8% であり、透析中のかくはんが回収率に大きな影響を及ぼしていることが明らかとなった。
- 2 透析膜を吊す留め具を結束バンドからテフロンたこ糸に変更することで、メスシリンダー上面を密封できるようになり、さらに透

析膜が糸とともに上下運動するようになったことで、十分なかくはん操作が可能となり、回収率及びばらつきが改善した。

3 透析セット後、かくはんの間隔は 1 時間間隔よりも 2 時間間隔で 4 回行った方が、ばらつきが少なく良好な結果が得られた。また、かくはん開始までの静置時間は測定値に影響しない結果が得られた点を考慮すると、透析開始は夕方、朝どちらでも可能であることが明らかになった。

4 透析膜を吊す留め具をテフロンたこ糸に変更し、2 時間間隔で 4 回かくはんを実施した結果、過去 2 年間の添加回収試験の平均値よりも漬物で 4.4%, みそで 9.2% 高い回収率が得られた。この方法で透析を実施することで、今後はより精度の高い試験を行うことができると思う。

参考文献

- 1) 食品衛生検査指針 食品添加物編 2003;233-239. 社団法人 日本食品衛生協会. 都田路子, 青柳陽子, 佐藤寛, 他.
- 2) ジャム及びマーマレード中のサッカリン及びズルチンの HPLC 分析 東京衛研年報 2001;52:57-61

表5 添加回収試験 (N=5)

	試料	透析	HPLC注入	試料液	検体中	平均	標準偏差	変動係数	添加量	回収率	回収率	
	採取量	液量	希釈倍率	サッカリンNa濃度	サッカリンNa濃度	(g/kg)		(%)	(g/kg)	(%)	平均	
	(g)	(mL)		(μ g/mL)	(g/kg)							
1	漬物	10.00	200	1	0.000	0.0000						
2	漬物	10.02	200	1	4.858	0.0970			0.1	97.0		
3	漬物	10.01	200	1	4.776	0.0954			0.1	95.4		
4	漬物	10.00	200	1	4.824	0.0965	0.0958	0.0009258	0.97	0.1	96.5	95.8
5	漬物	10.01	200	1	4.771	0.0953			0.1	95.3		
6	漬物	10.01	200	1	4.739	0.0947			0.1	94.7		
7	みそ	10.01	200	1	0.000	0.0000						
8	みそ	10.00	200	1	4.215	0.0843			0.1	84.3		
9	みそ	10.02	200	1	4.170	0.0832			0.1	83.2		
10	みそ	10.01	200	1	4.299	0.0859	0.0848	0.0016667	1.97	0.1	85.9	84.8
11	みそ	10.01	200	1	4.357	0.0871			0.1	87.1		
12	みそ	10.01	200	1	4.171	0.0833			0.1	83.3		

V 学会発表および専門誌への論文投稿

学会発表および専門誌への論文投稿

1 学会等への発表

- 1) 平成 23 年度 (社) 福島県臨床衛生検査技師会
(福島市：平成 23 年 9 月 25 日)
新血清型赤痢菌 *Shigella flexneri* 88-893 (仮称) の検出例
会津支所 富田 望 他
- 2) 日本衛生動物学会北日本支部合同大会
(山形市：平成 23 年 10 月 1 日)
福島県のつつが虫病発生状況について
微生物課 ウイルス 門馬直太 他
- 3) ダニと疾患のインターフェイスに関するセミナー
(広島市：平成 23 年 11 月 3 日～5 日)
福島県のつつが虫発生状況について
微生物課 ウイルス 門馬直太 他
- 4) 第 64 回日本衛生動物学会大会
(上田市：平成 24 年 3 月 30 日～31 日)
つつが虫病リケッチアの型別と媒介種の対応
微生物課 ウイルス 門馬直太 他

2 衛生研究所研究発表会

- (衛生研究所：平成 24 年 2 月 24 日)
- 1) つつが虫病起因リケッチャの分子疫学的解析について (第 2 報)
微生物課 ウイルス 門馬直太 他
- 2) 2011 年の福島県におけるノロウイルスの遺伝子型解析について
微生物課 ウイルス 塚田敬子 他
- 3) 福島県内の結核菌の分子疫学的調査研究
微生物課 細菌 渡邊奈々子 他
- 4) 2011 年に福島県で分離された赤痢菌の分子疫学的解析と薬剤感受性試験について
微生物課 細菌 千葉一樹 他
- 5) 食品微生物検査における内部精度管理の試み～一般細菌数～
県中支所 國井 敏 他
- 6) サッカリンナトリウム検査手順の改良
試験検査課 須田千咲 他
- 7) レジオネラ属菌迅速検査法の検討
理化学課 生活科学 伊藤翔也 他
- 8) 食品中の放射性物質測定 (新しい基準値について)
理化学課 食品薬品 石森英樹 他

紙上発表

- | | |
|------------------------------|-------------------|
| 9) 総務企画課(企画)業務概況報告 | 総務企画課 松山勝江 他 |
| 10) 微生物課ウイルス業務概況報告 | 微生物課 ウィルス 金成篤子 他 |
| 11) 微生物課細菌業務概況報告 | 微生物課 細菌 小黒祐子 他 |
| 12) 2011年感染症情報センター事業について | 総務企画課 結城智子 他 |
| 13) 理化学課食品薬品業務概況報告 | 理化学課 食品薬品 神尾典子 他 |
| 14) 理化学課生活科学業務概況報告 | 理化学課 生活科学 吉田加寿子 他 |
| 15) 試験検査課及び支所の業務概況報告 | 試験検査課 三瓶 歩 他 |
| 16) 2011年感染症発生動向調査事業報告(ウイルス) | 微生物課 ウィルス 北川和寛 他 |
| 17) 2011年感染症発生動向調査事業報告(細菌) | 微生物課 細菌 渡邊奈々子 他 |



福島県衛生研究所年報編集委員

笹原 賢司
小松 憲弘
木村 隆弘
佐藤 弘子
大越 憲幸
相澤 陽

福島県衛生研究所年報

第29号

平成24年12月発行

発行所：福島県衛生研究所

〒960-8560

福島市方木田字水戸内16番6号

T E L 024-546-7104(代)

F A X 024-546-8364

E-mail eiseikenkyuu@pref.fukushima.lg.jp

U R L [http://www.pref.fukushima.jp/eiseikenkyuu/jp/pcp_portal/
PortalServlet?DISPLAY_ID=DIRECT&NEXT_DISPLAY
_ID=U000004&CONTENTS_ID=10758](http://www.pref.fukushima.jp/eiseikenkyuu/jp/pcp_portal/PortalServlet?DISPLAY_ID=DIRECT&NEXT_DISPLAY_ID=U000004&CONTENTS_ID=10758)

発行者：笹原 賢司

印刷所：株式会社プロセス印刷