

ISSN 0513-4706
CODEN YEKHAP

山形県衛生研究所報

REPORT
OF
THE YAMAGATA PREFECTURAL
INSTITUTE
OF
PUBLIC HEALTH

No. 43

2010

山形県衛生研究所

The Yamagata Prefectural Institute of Public Health

はじめに

山形県衛生研究所における平成 21 年度の研究成果および試験検査等の業務実績について、ここに所報第 43 号としてとりまとめました。

本所報は、第 41 号から「電子版」のみで公表しております。地方財政が厳しさを増すなかで、限られた財源を試験研究業務本体に優先的に充ちたいなどの理由で、印刷製本版から転換したものです。電子版自体は、第 39 号から製本版と重複する形で作成しておりましたので、今回で 5 号目となります。

試験研究業務の財源確保面の効果は今のところ疑問ですが検索性に優れており引用・加工が容易にできるといったメリットは実感しております。

私自身、衛研所長のほか、県本庁（健康福祉部）の業務も兼ねており、県庁で執務することが多いのですが、衛研の試験研究の成果等を引用して資料を作成する際に、インターネットを介して研究所のホームページから必要な部分をいつでも閲覧できるので、書棚に収納された製本版よりも重宝しております。

当研究所は、常勤職員 30 名弱の小所帯ですので、大風呂敷は広げず、山形県の特徴や課題を踏まえた試験研究、及び諸先輩が築いた得意分野を活かした研究に焦点を絞り、重点的に取り組んでおります。

具体的には、新興感染症（新型インフルエンザ等）と再興感染症（本県の場合は、恙虫病や結核）への対応の強化、当所が得意とするウイルス分離技術を基盤とした感染症の疫学研究や花粉症の研究および植物性自然毒（トリカブトやツキヨタケ等の毒素）に関する試験研究などの更なる深化を図りたいと考えております。

本号および電子版のバックナンバーを通じて当研究所の業務内容および研究成果をご高覧のうえ、ご批判やご意見等をお寄せいただければ幸いに存じます。

平成 22 年 12 月

山形県衛生研究所

所長 阿彦 忠之

目 次

I 調査研究報告

1 原 著

ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析 和田章伸他 1

2 短 報

県産食材からの抗インフルエンザ活性物質の分離 浅黄真理子他 6

3 資 料

カメを取り扱う動物取扱業施設におけるサルモネラ汚染実態調査 瀬戸順次他 11

Legionella pneumophila の VNTR 解析の試みについて 金子紀子他 14

山形県における新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) 検出状況 池田辰也他 21

2009 年感染症発生動向調査におけるウイルス分離状況 青木洋子他 24

平成 21 年度先天性代謝異常等のマス・スクリーニング 佐藤陽子他 27

4 抄 録

1) 他誌掲載論文

Importation of the evolving measles virus genotype D9 to Yamagata, Japan, from Thailand in 2009
..... Aoki Y et al 32

Phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV) detected from children with acute respiratory infection
in Japan. Hishinuma-Igarashi I et al 32

Cross-antigenicity among EV71 strains from different genogroups isolated in Yamagata, Japan,
between 1990 and 2007. Mizuta K et al 32

Development of assay for the detection and quantitation of measles virus nucleoprotein (N) gene using real-time
reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) Akiyama M et al 33

Evaluation of a new rapid antigen test using immunochromatography for detection of human metapneumovirus
in comparison with real-time PCR assay. Matsuzaki Y et al 33

Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from children with acute
respiratory infections in Yamagata, Japan Mizuta K et al 34

山形県で発生した Shimokoshi 型リケッチア感染によるつつが虫病の 1 例 大谷勝実他 34

山形県で発生した Kawasaki 型つつが虫病 大谷勝実他 35

Development and evaluation of whole virus-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of human
metapneumovirus antibodies in human sera Okamoto M et al 35

A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical
effectiveness of oseltamivir and zanamivir Matsuzaki Y et al 36

Duration of norovirus excretion and the longitudinal course of viral load in norovirus-infected elderly patients
..... Aoki Y et al 37

Characterization of *Legionella pneumophila* isolates from patients in Japan according to serogroups,
monoclonal antibody subgroups, and sequence types Junko Amemura-Maekawa et al 37

自然毒食中毒の防止と公的責任 阿彦忠之他 38

LC/MS/MS によるツキヨタケおよび食中毒原因食品の illudin S の分析 笠原義正他 38

Antioxidant and Neuroprotective Activities of Mogami-benibana (Safflower, *Cartamus tinctorius* Linne)
..... M., Hiramatsu et al 39

2) 学会発表

東北地域で分離されたライノウイルスの分子疫学	平田明日美 他	40
最近検出されたヒトボカウイルス (HBoV) の分子疫学	五十嵐郁美 他	40
レジオネラ症患者等から分離された <i>Legionella pneumophila</i> の VNTR による解析	大谷勝実 他	41
山形県における春のつづが虫病患者数と気象の関係	瀬戸順次 他	42
Lamp 法によるつづが虫病遺伝子の検出	瀬戸順次 他	43
山形県におけるマイコプラズマ感染症の分子疫学的検討	金子紀子 他	43
ツキヨタケの生物活性成分イルジン S の LC/MS/MS を用いた分析及び定量	笠原義正 他	44
LC/MS/MS によるツキヨタケ有毒成分 illudin S の新分析法	笠原義正 他	45
反復配列多型分析法による結核菌の分子疫学解析	瀬戸順次 他	46
2012 年麻しん排除に向けた実験室診断の重要性	青木洋子 他	47
Sequence types of <i>Legionella pneumophila</i> isolates from patients and environments.	前川純子 他	48

II 業務の概要

1 業務の概要	49
2 生活企画部	50
3 理化学部	55
4 微生物部	60
5 研修業務等	63
6 夏休み親子科学教室	64
7 年間動向	65
1) 会議・検討会等出席	65
2) 学会・研究会等出席	65
3) 研修会・講習会等出席	66
4) 講演等	67
5) 表彰等	68

III 衛生研究所の概要

1 沿革	69
2 施設	69
3 主要設備	70
4 業務	71
5 組織機構	71
6 職員配置	72
7 平成 21 年度歳入歳出決算	
1) 歳入	72
2) 歳出	73

投稿規定	74
------	----

Reports of the Yamagata Prefectural Institute of Public Health
No 43 (2010)

CONTENTS

I Reports on Research and Study

1 Originals

- Analysis of Illudin S in *Omphalotus guepiniformis* by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry Akinobu WADA et al 1

2 Notes

- Isolation of antiviral components against Influenza from food in Yamagata Mariko ASAGI et al 6

3 Materials

- Prevalence of *Salmonella* spp. among commercial turtles. Junji SETO et al 11

- VNTR analysis *Legionella pneumophila*. Akiko KANEKO et al 14

- Isolation of pandemic influenza A viruses (A/H1N1pdm) from Patients in Yamagata Prefecture
..... Tatsuya IKEDA et al 21

- The Virus Isolation Situation on Infectious Disease in 2009 Yoko AOKI et al 24

- Mass Screening for Inborn Errors of metabolism in Yamagata Prefecture (2009) Yoko SATO et al 27

4 Abstracts

- 1) Papers in Other Publications
- 2) Presentations in Society Meetings

II Reports of Work

III Outline of Institute

The Yamagata Prefectural Institute of Public Health
1-6-6 Tohkamachi Yamagata City, Yamagata 990-0031
Japan

I 調 査 研 究 報 告

ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析

和田章伸, 笠原義正

Analysis of illudin S in *Omphalotus guepiniformis* by liquid chromatography with tandem mass spectrometry

by Akinobu WADA, Yoshimasa KASAHARA

LC/MS/MS を用いて野生のツキヨタケおよび調理品の illudin S を定量する方法を開発した。前処理としては Oasis HLB を用いて精製し、MS/MS の条件は ESI ポジティブモードを用いた。移動相は 0.1% 酢酸または 5mM 酢酸アンモニウムメタノール (7:3) によるアイソクラティックでよい分離が得られた。今回採取したツキヨタケの illudin S 含量は 8.3~776.2 $\mu\text{g/g}$ であり、自然条件その他によって変動すると考えられた。また、食中毒食品を想定したキノコ汁 (10 分加熱) から illudin S が 74.8% 回収され、illudin S は熱に対して安定であることが推測された。

Key Words : ツキヨタケ, LC/MS/MS, illudin S, 食中毒

I はじめに

山形県におけるツキヨタケの食中毒は過去 10 年間で 18 件、全国では 148 件発生している¹⁾。また、図 1 から分かるように、山形県におけるツキヨタケ中毒は新潟県について多く発生している。このような状況から、県民の健康被害を防止するためにこれまで種々の研究を行ってきた。すでにわれわれはツキヨタケの中毒成分が illudin S であることをつきとめ報告している²⁾。さらに、これまで HPLC-UV および LC/MS を用いた illudin S の分析を検討してきたが³⁾、夾雑物質の影響や感度不足などの種々の問題があり、正確に測定できない場合があった。そこで今回、LC/MS に比べて選択性および相対感度が高い LC/MS/MS を用いた分析法および定量法を検討し、さらにこの方法を用いてツキヨタケの illudin S 含量や食中毒事例の原因と推定された食品の分析などを行ったので報告する。

II 実験方法

1. 試料

2006 年および 2007 年の 9 月~10 月に山形県鶴岡市羽黒、西川町志津、2009 年の 9 月~10 月に羽黒、志津および鶴

岡市田麦俣(湯殿山)に自生していたツキヨタケを採取したもの、および 2006 年 10 月に発生した食中毒の原因食品とされた煮物を用いた。試料は -20°C で凍結保存したものをを用いた。シイタケ、ヒラタケ、ムキタケは産地直売所から購入したものをを用いた。

2. 試薬

標準品：ツキヨタケから分離精製した illudin S を用いた。Illudin S は黄色不定形物質であり、分子量 (TOF-MS) : m/z 265.14401 (M+H)⁺、分子式 $\text{C}_{15}\text{H}_{20}\text{O}_4$ である。Illudin S の構造を図 2 に示した。

試薬：酢酸および酢酸アンモニウムは和光純薬工業(株)

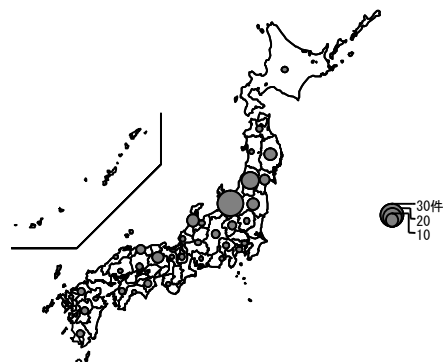


図 1. ツキヨタケによる食中毒の発生状況 (2000~2009)

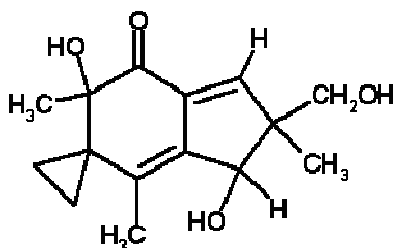


図2. Illudin Sの構造

製の特級を用いた。ギ酸、ギ酸アンモニウム、*n*-ヘキサン、クロロホルム、酢酸エチルは関東化学(株)製の特級、メタノールは関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフィー用を使用した。

固相カートリッジ: Waters社製のOasis HLB 6cc (500mg)を用いた。使用前にメタノールおよび水でコンディショニングした。

標準溶液: Illudin Sを10.0mg秤量し、50mLのメタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

3. 装置

高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC/MS/MS): 高速液体クロマトグラフはAgilent社製Agilent 1100シリーズを用いた。質量分析計はApplied Biosystems社製のAPI 2000を用いた。

高速液体クロマトグラフ/飛行時間型質量分析計(LC/TOF-MS): 高速液体クロマトグラフはAgilent社製Agilent 1200シリーズを用いた。質量分析計はAgilent社製6220を用いた。

4. 測定条件

前報⁴⁾に従いLC/MS/MSを次の条件で測定した。

分析カラム: Inertsil ODS-3 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm), カラム温度: 40°C, 移動相: 0.1%ギ酸または5mMギ酸アンモニウム: メタノール(7:3), 流速: 0.2 mL/min, 注入量: 5μL, イオン化法: ESI(Positive), ターボガス温度: 450°C, 定量用モニタリングイオン(*m/z*): 265→247, 確認用モニタリングイオン(*m/z*): 265→95。

5. Illudin Sの分離精製および同定

ツキヨタケを大量に採取してメタノールで抽出し、そのエキスをシリカゲルカラムクロマトグラフィーに付してヘキサン-酢酸エチル-メタノール系の溶媒でグラジエント溶出し、これをくり返し行い illudin Sを精製した。各種機器データをもとに化学構造および純度の確認を行

った。

6. 試料溶液の調製

ツキヨタケ試料を細切して5gを量り、メタノール50mLを加えてホモジナイズした。これをろ過後減圧濃縮して、メタノール2mLに溶解し、水を加えて20mLとしOasis HLBに負荷した。20%メタノール5mLで洗浄後、メタノール5mLで保持された illudin Sを溶出した。これを減圧濃縮し、1mLのメタノールに溶解して孔径0.45 μmのメンブレンフィルターを通し試料溶液とした(図3)。

7. 検量線および定量

LC/MS/MSでは illudin Sをメタノールで希釈し0.5, 1, 2, 5, 10 μg/mLになるように調製し、その5 μLをLC/MS/MSに注入した。LC/MS/MSの測定で得られたクロマトグラムよりピーク面積を求め、絶対検量線法により検量線を作成した。試料中の illudin Sは試料溶液5 μLをLC/MS/MSに注入し、得られたクロマトグラムのピーク面積から検量線を用いて定量した。

III 結果および考察

1. LC/MS/MS条件の検討

1) MS/MS条件の検討

イオン化はESIを選択した。また、測定はMRMモードで行った。その結果、良好な感度が得られたポジティブモードを選択した。プレカーサーイオンとプロダクトイオンをモニターした際 *m/z* 265 → 95, 247 の特徴的なフラグメントイオンが認められたので、感度が強く得られたプロダクトイオン (*m/z* 247) を定量用に、*m/z* 95 を確認用イオ



図3. 試料溶液の調整法

ンとして設定した。

2) LC条件の検討

カラムについては ODS 系のカラム Inertsil ODS-3 が感度やピーク形状などにおいて最も良好だったのでこれを使用した。

移動相については、HPLC-UV の条件である水 - メタノール (7 : 3) を適用した³⁾。その結果、MS のフラグメントイオンは、 m/z 287, 265, 247, 217 が観察された。Illudin S の分子量は 264 なのでプロトンが付加した $[M+H]^+$ の 265 が分子イオンピークになると推測されたが、この条件では m/z 287 が基準ピークであった。このことを TOF-MS で確認すると m/z 287.12577 であり、同位体の存在比から illudin S に Na が付加したものと考えられた (図 4)。そこで m/z 265 のプロトン化した分子を効率的に生成させるために、水 - メタノール (7 : 3) の溶離液にギ酸、酢酸またはギ酸アンモニウムを添加し検討した。その結果、全ての場合で m/z 265 が基準ピークとなったが、ギ酸またはギ酸アンモニウムを用いた方が感度が良かったので 0.1%ギ酸または 5mM ギ酸アンモニウム - メタノール (7 : 3) を用いることとした。

3) 検量線

Illudin S のイオンピーク面積を用いて絶対検量線法で検量線を作成した。0.5~10 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で直線性を調べたところ相関係数が 0.998 であった。また、illudin S を分析する際に、抽出液によるマトリックスの影響を確認するため、ツキヨタケと誤認されやすいシイタケ、ヒラタケおよびムキタケの試料溶液に 10 $\mu\text{g/mL}$ となるように標準溶液を添加し検討したところ、シイタケ、ヒラタケ、ムキタケの抽出液により illudin S のピークがイオン化阻害を

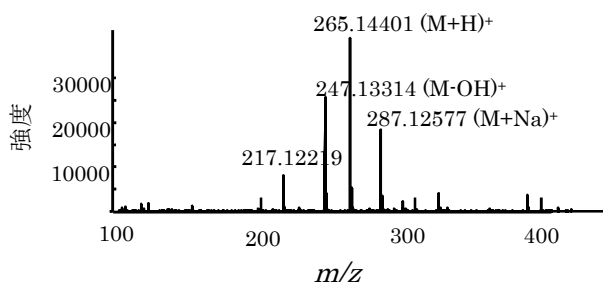


図4. Illudin SのLC/TOF-MSスペクトル図

受けることはなかった。

2. 前処理の検討

前報²⁾でツキヨタケのメタノールエキスを水と酢酸エチルで分配して毒性を確認した際に、酢酸エチル層だけでなく水層にも毒性のあることが示唆された。そこで今回、水層についても分析したところ、illudin S が移行していることが明らかとなった。illudin S の溶解性を確かめるため、illudin S 標準品 10 mg に水、メタノール、酢酸エチル、*n*-ヘキサンおのおのを 0.1, 1.0, 10.0 mL 加え、大まかな溶解性を目視で検討した。その結果メタノールには完全に溶解、酢酸エチルと水には完全には溶解しなかった。*n*-ヘキサンには全く溶けなかった。このことから、illudin S は有機溶媒でも比較的極性の高いものに溶解するため、液 - 液分配による前処理ではなく、固相カートリッジを用いた前処理が必要であることが分かる。

固相カートリッジの Oasis HLB 6cc (500mg) を用い前処理の検討を行った結果、試料の溶解にはメタノール 2 mL に溶解してから水を加えて 20mL としたものが適していることがわかった。さらに、illudin S を Oasis HLB に保持させた後、洗浄する際に最適な溶媒濃度を決定するために 20, 30, 40%メタノールについて検討した。その結果、20%メタノール 5mL では illudin S は溶出せず、30%メタノール 5mL では 9.5%、40%メタノールでは 39%の illudin S が溶出した。このことから 20%メタノール 5mL を用いて洗浄することが適切と判断した。最後に Oasis HLB に保持された illudin S を 5mL のメタノールで溶出することにした。

3. 添加回収試験

ツキヨタケ中毒は、シイタケ、ヒラタケ、ムキタケなどの食用キノコと誤認される場合が多い。そこで、これらのキノコにツキヨタケが混入したことを想定して、夾雑物やマトリックスなどが添加回収に影響がないか LC/MS/MS を用いて検討した。すなわち、試料中の illudin S 含量が 2 $\mu\text{g/g}$ となるように標準溶液を試料のキノコに添加し、回収率を求めた。その結果、全て 84%以上の回収率であった (表 1)。いずれも妨害ピークやノイズがなく良好な結果が得られた。

4. 採取したツキヨタケに含まれる illudin S の定量

表 1. 食用キノコに illudin S を添加した際の回収率

サンプル	回収率 (%) ^{a)}
シイタケ	91.0 ± 3.4
ヒラタケ	94.2 ± 1.7
ムキタケ	84.2 ± 3.1

^{a)} 平均値 ± 標準偏差 (n=3)
食用キノコに illudin S を各々 2 μg/g ずつ添加した

はじめに本法を用いて 2009 年 9 月に県内 3 箇所から採取したツキヨタケに含まれる illudin S の定量を行った。シイタケやムキタケと間違えやすい大きさ (30g 前後) のツキヨタケを 5 個ずつ選んで測定した。illudin S 含量は志津から採取した試料では 32.6 ~ 242.7 μg/g, 湯殿山では 265.7 ~ 361.2 μg/g, 羽黒では 71.5 ~ 295.2 μg/g と同一地域内でも大きく異なっていた (図 5)。

次に湯殿山で採取したツキヨタケ (2.18 ~ 120.3g, 15 個) について大きさの違いによる単位重量当たりの illudin S 含量を測定した。その結果 illudin S 含量は 8.3 ~ 776.2 μg/g と個体差が見られ、ツキヨタケの重量との間にはっきりとした相関は認められなかった (図 6)。これは水分含量や生えている木の種類, 場所, 気象条件など様々な要因が考えられる。

5. 食中毒原因食品およびキノコ汁に含まれる illudin S の定量

本法を用いて、2006 年 10 月に起きたツキヨタケ中毒の食中毒原因食品について illudin S の定量を試みた。その結果、ツキヨタケと考えられるキノコの菌体の illudin S 含量は 15.1 μg/g で、汁は 2.0 μg/g であった。常識的に、煮物の汁を汁椀 1 杯 (180g) およびツキヨタケ 1 個 (30g) を食したと仮定して illudin S の量を算出すると中毒患者は、汁椀から 360 μg, ツキヨタケから 453 μg の合計 813 μg の illudin S を摂取したことになる。

さらに、illudin S 含量が既知のツキヨタケを用いて、調理による illudin S の変動について検討した。シイタケ 50g, シメジ 100g, マイタケ 100g にツキヨタケ 100g (illudin S 含量: 258 μg/g) を混合し、水 2L を加えて 10 分間沸騰させキノコの醤油汁を作製した。これについてキノコの具と、汁について illudin S の定量を行った (表

2)。食用のキノコとツキヨタケを混合したもののキノコの菌体 (均一に混合: 285g) の illudin S 含量は 10.8 μg/g で、汁では 9.1 μg/g であった。これをキノコ汁全体に換算すると、菌体全体の illudin S 量は 3.1mg, 汁中の illudin S 量は 16.2mg となり合計 19.3mg である。はじめの illudin S 総量は 25.8mg なので、回収率は 74.8% になる。

つぎに illudin S の加熱安定性について調べた。水 50ml に illudin S 10 μg を添加して、3, 10, 15 分間 100°C に加熱し前処理を行い定量した。その結果、illudin S 量は加熱 3 分後には 9.7 μg, 10 分後に 9.1 μg, 15 分後に 8.6

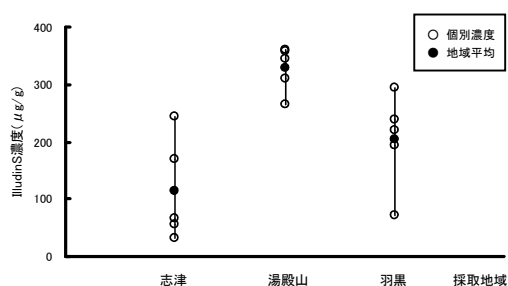


図 5. 採取地域による illudin S 含量の違い
県内 3 ヶ所から採取した 30g 前後のツキヨタケを用いた

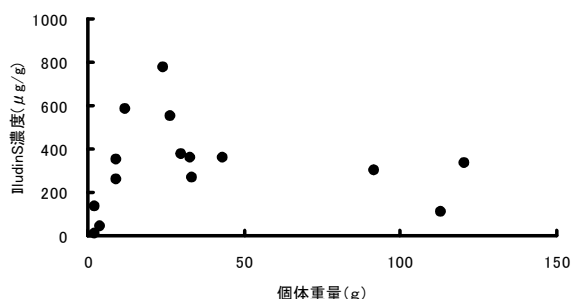


図 6. 大きさによる illudin S 含量の違い
湯殿山から採取したツキヨタケ (2.18 ~ 120.3g, 15 個) を使用

表 2. 食中毒原因食品を想定したキノコ汁に含まれる illudin S の含量

サンプル	重量 (g)	濃度 (μg/g) ^{a)}	総量 (mg)	合計回収率 (%)
キノコ	285	10.8 ± 0.3	3.1	74.8
汁	1785	9.1 ± 0.7	16.2	

^{a)} 平均値 ± 標準偏差 (n=3)
Illudin S 含量が既知のツキヨタケ (illudin S 25.8mg 含有) とシイタケ、ムキタケ、ヒラタケのキノコ汁

μg となり, illudin S は 100°C 15 分間の加熱で 15% 程度分解するものの, 加熱に対して比較的安定であることが確かめられた.

謝辞

LC/TOF-MS を用いて illudin S を測定していただきましたアジレント・テクノロジー株式会社の諸氏に深謝します.

文献

- 1) 厚生労働省 HP (<http://www.mhlw.go.jp/>)
- 2) 笠原義正, 板垣昭浩, 久間木國男, 片桐進 : ツキヨタケの胃腸管毒性及び塩蔵による減毒, 食品衛生学雑誌 37, 1-7, 1996
- 3) 笠原義正 : ツキヨタケの有毒成分 illudin S の定量, 山形県衛生研究所報 31, 5-9, 1998
- 4) 笠原義正, 伊藤健 : LC/MS/MS によるツキヨタケおよび食中毒原因食品中の illudin S の分析, 食品衛生学雑誌, 50, 167-172, 2009

短 報

県産食材からの抗インフルエンザ活性物質の分離

浅黄真理子, 青木洋子, 笠原義正, 水田克巳

Isolation of antiviral components against Influenza from food in Yamagata

by Mariko ASAGI, Yoko AOKI, Yoshimasa KASAHARA, Katsumi MIZUTA

紅花や食用菊をはじめとする山形県産の代表的な食材 10 種類を選択し、それらの水画分と酢酸エチル画分に対し、抗インフルエンザウイルス活性のスクリーニングを行ったところ、アケビの芽水画分など 4 種類の画分が抗ウイルス活性を示した。その中で最も活性が強かったアケビの芽水画分について透析を行い、透析内液である水溶性高分子画分と透析外液である水溶性低分子画分に分画した。この 2 つの画分の抗ウイルス活性試験を行ったところ、水溶性高分子画分が強い活性を示した。

Key Words : インフルエンザ, アケビの芽, 分画, 抗ウイルス活性

I はじめに

インフルエンザは毎年のように流行を繰り返す。インフルエンザウイルスの特徴の一つに、ウイルスの抗原タンパク質が変異することにより、病原性や感染力等が未知の新型ウイルスが出現することが挙げられる¹⁾。2009 年に新型インフルエンザが世界的に流行し、日本においても緊急的な対策が取られた。また、季節性インフルエンザの流行により毎年高齢者を中心に多数の死亡者を出していることや、薬剤耐性ウイルスの出現等も考慮すると、ワクチンや抗インフルエンザ薬以外の新たな予防・治療法の開発が必要になる。

我々は、インフルエンザに感染する前に予防という形で対策を取ることが重要と考え、食材に注目した。食材に含まれる抗インフルエンザウイルス活性（以下抗ウイルス活性）については、緑茶²⁾、メカブ³⁾、カシス⁴⁾、リンゴ及びマルメロ⁵⁾等について報告されている。我々は、普段食している山形県産食材から抗ウイルス活性物質を見出して予防につなげられるよう、県産食材に対し抗ウイルス活性のスクリーニングを行った。その結果、アケビの芽をはじめ数種類の食材や、

その画分が抗ウイルス活性を示したので報告する。

II 実験の部

1 材料等

- 1) 材料 : 紅花, 食用菊, アケビの実, アケビの芽, スベリヒユ, 青菜, クサソテツ, ウコギ, ブナハリタケ, オカヒジキを用いた。各々に対し湿重量の 2 倍量のメタノールに浸漬し、ろ液を減圧濃縮してメタノールエキスとして使用した。
- 2) インフルエンザウイルス株等 : インフルエンザウイルス株は A/yamagata/120/86 (H1N1) を用いた。MDCK 細胞 (イヌ腎由来細胞) は山形大学医学部感染症学講座より分与いただいたものを用いた。
- 3) 試薬 : MEM は日水製薬(株)社製, 7%炭酸水素ナトリウム溶液は大塚製薬(株)社製, L-グルタミン及び抗生物質 (ペニシリン及びストレプトマイシン) は GIBCO 社製, トリプシンは SIGMA 社製, ビタミン液は三光純薬(株)社製, ニワトリ保存血液は(株)日本バイオテスト研究所社製を用

いた。メタノール、酢酸エチル、ジメチルスルホキシド (DMSO)、グルコース、塩化ナトリウム、塩化カリウム、リン酸水素 2 ナトリウム 12 水和物、リン酸 2 水素カリウムは和光純薬工業(株)製の試薬特級を用いた。ろ過滅菌用のフィルターは ADVANTEC 社製で孔径 $0.45 \mu\text{m}$ の 13HP045AN を用いた。透析用のセロハンチューブは和光純薬工業(株)製の Seamless Cellulose Tubing Small Size 24 を用いた。

調製試薬: 3 % グルタミン溶液は L-グルタミンに蒸留水を加え 3 % に調製して用いた。34 % グルコース溶液はグルコースに蒸留水を加え 34 % に調製して用いた。0.25 % トリプシン溶液はトリプシンに蒸留水を加え 0.25 % に調製して用いた。

基礎培地: 蒸留水に MEM 9.4 g, 7% 炭酸水素ナトリウム溶液 20 mL, 3 % グルタミン溶液 10 mL 及び MEM 用抗生物質を加え全量を 1 L に調製して用いた。

維持培地: 基礎培地に 34 % グルコース溶液 3 mL, 0.25 % トリプシン溶液 0.7 mL, ビタミン液 20 mL を加え全量を 500 mL に調製して用いた。

PBS (リン酸緩衝生理食塩水): 蒸留水に塩化ナトリウム 80 g, 塩化カリウム 2 g, リン酸水素 2 ナトリウム 12 水和物 29 g, リン酸 2 水素カリウム 2 g を加え全量を 1 L に調製し, 10 倍希釈して用いた。

0.5 % 鶏赤血球: ニワトリ保存血液に PBS を加え 1200 rpm で 5 分間遠心分離を行い, 上澄みを除去した後, PBS を加え赤血球の容積を 0.5% に調製して用いた。

ウイルス希釈液: インフルエンザウイルスを MDCK 細胞に接種後 7 代継代培養し, 100% の細胞変性効果が確認できる力価に維持培地で調製して用いた。

2 県産食材のメタノールエキスの分画

県産食材のメタノールエキス 10 種類をそれぞれ約 3 g ずつ水に溶解させ, 水と酢酸エチルで分配し, 水画分と酢酸エチル画分を得た。

3 インフルエンザウイルスによる細胞変性効果 (CPE) の抑制試験

分画した水画分と酢酸エチル画分を DMSO に溶解させ 50 mg/mL の溶液を調製した。各画分の 50 mg/mL DMSO 溶液を維持培地で適宜希釈し, MDCK 細胞に接種して, エキスそのものが細胞を破壊する現象である細胞毒性を顕微鏡 (40 倍) で検鏡し確認した。その結果を基に, 各画分が細胞毒性の無い濃度となるよう維持培地で希釈し, ろ過滅菌用のフィルターでろ過してサンプルとした。サンプルとウイルス希釈液を等量混合し, 37 °C で 1 時間インキュベートしたものを MDCK 細胞が単層培養された 24 穴プレートのウェルに 200 μL ずつ接種した。同様に, サンプルと維持培地を等量混合し, 37 °C で 1 時間インキュベートしたものをウェルに 200 μL ずつ接種し対照とした。CO₂ インキュベータ内 33°C で 24 時間培養し, 顕微鏡 (40 倍) で検鏡し, ウイルス感染細胞のプレートからの剥離等が起きる現象である細胞変性効果 (CPE) の有無を確認した。CPE が細胞全体の 0~25% の範囲内であった場合を抗ウイルス活性有り, CPE が細胞全体の 25~75% の範囲内であった場合をやや抗ウイルス活性有り, CPE がほとんど全ての MDCK 細胞に認められた場合を抗ウイルス活性無しとして 3 段階に評価した。

4 インフルエンザウイルスによる赤血球凝集作用 (HA) の抑制試験

CPE の抑制試験後の MDCK 細胞を攪拌して再浮遊させ, これをウイルス溶液とした。96 穴 U 底プレートにウイルス溶液を 50 μL 加えたものを 1 倍希釈とし, 2, 4 倍希釈はウイルス溶液と PBS を全量が 50 μL となるよう混合して調製した。これに 0.5 % 鶏赤血球を 50 μL 加え, 4°C で 1 時間静置後, 赤血球が凝集しウェルの底に沈降しなくなる現象である赤血球凝集作用 (HA) の有無を確認した。HA の抑

制が認められた場合を抗ウイルス活性有り, HA の抑制制が認められなかった場合を抗ウイルス活性無しとして評価した.

5 アケビの芽水画分の透析による分画

アケビの芽水画分 1.0 g をイオン交換水約 50 mL に溶解させ, 分子量約 14,000 を境に分離する透析用セロハンチューブを用い, 3L のイオン交換水により 4°C で透析した. イオン交換水は 2 回交換した. 透析内液および透析外液を合わせたものをそれぞれ減圧濃縮し, 水溶性高分子画分 0.33 g と水溶性低分子画分 0.70 g を得た (図 1).

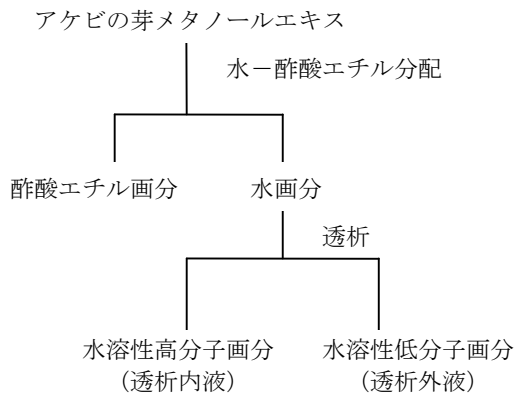


図 1 アケビの芽メタノールエキスの分画

III 結果

1 細胞変性効果 (CPE) の抑制試験によるスクリーニング

県産食材のメタノールエキスの分画により得られた画分の中で, アケビの芽水画分 0.5 mg/mL と酢酸エチル画分 0.5 mg/mL 及びブナハリタケの酢酸エチル画分 5.0 mg/mL が抗ウイルス活性を示した. 0.5 mg/mL の青菜の酢酸エチル画分も抗ウイルス活性を示した (表 1). エキス濃度に注目すると, アケビの芽水画分と酢酸エチル画分は, ブナハリタケ酢酸エチル画分の 10 分の 1 の濃度で, 同程度の抗ウイルス活性を示した. したがって, この 2 つの画分が, スクリーニングを行った中で最も抗ウイルス活性の強い画分であることがわかった.

表 1 細胞変性効果 (CPE) の抑制試験によるスクリーニング

サンプル	濃度 (mg/mL)	活性 ^{a)}
紅花 水画分	5.0	—
紅花 酢酸エチル画分	5.0	—
食用菊 水画分	5.0	—
食用菊 酢酸エチル画分	0.5	—
アケビの実 水画分	5.0	—
アケビの実 酢酸エチル画分	0.5	—
アケビの芽 水画分	0.5	++
アケビの芽 酢酸エチル画分	0.5	++
スベリヒユ 水画分	5.0	—
青菜 水画分	5.0	—
青菜 酢酸エチル画分	0.5	+
クサソテツ 水画分	0.5	—
クサソテツ 酢酸エチル画分	0.5	—
ウコギ 水画分	0.5	—
ウコギ 酢酸エチル画分	0.5	—
ブナハリタケ 水画分	5.0	—
ブナハリタケ 酢酸エチル画分	5.0	++
オカヒジキ 水画分	5.0	—

a) ++ : CPE が細胞全体の 0~25% の範囲内で抗ウイルス活性有り
 + : CPE が細胞全体の 25~75% の範囲内でやや抗ウイルス活性有り
 — : CPE がほとんど全ての MDCK 細胞に認められ抗ウイルス活性無し

2 アケビの芽水画分及び酢酸エチル画分の赤血球凝集作用 (HA) の抑制試験

アケビの芽水画分では, CPE の抑制試験時のエキス濃度 (以下エキス濃度) が 0.250 mg/mL のウイルス溶液の 1 倍希釈, 2 倍希釈, 4 倍希釈及びエキス濃度が 0.050, 0.025 mg/mL のウイルス溶液の 2 倍希釈, 4 倍希釈が HA を抑制し, 抗ウイルス活性を示した (表 2). 酢酸エチル画分は, エキス濃度が 0.250 mg/mL のウイルス溶液の 1 倍希釈, 2 倍希釈, 4 倍希釈では水画分と同様に抗ウイルス活性を示した. しかし, エキス濃度が 0.050, 0.025 mg/mL では活性を示したのは 4 倍希釈のみで, 水画分で活性を示した 2 倍希釈は活性を示さなかった (表 2). 従って, この試験によってアケビの芽水画分の方が酢酸エチル画分よりも抗ウイルス活

性が強いということがわかった。

表2 アケビの芽水画分及び酢酸エチル画分の赤血球凝集作用 (HA) の抑制試験

サンプル	CPE の抑制 試験時の エキス濃度 (mg/mL)	ウイルス溶液の希釈倍率		
		1×	2×	4×
アケビの芽 水画分	0.250	+	+	+
	0.050	-	+	+
	0.025	-	+	+
アケビの芽 酢酸エチル 画分	0.250	+	+	+
	0.050	-	-	+
	0.025	-	-	+

a) + : HA の抑制が認められ抗ウイルス活性有り
- : HA の抑制が認められず抗ウイルス活性無し

3 アケビの芽水溶性高分子画分及び低分子画分の赤血球凝集作用 (HA) の抑制試験

アケビの芽水溶性高分子画分では、エキス濃度が 0.250, 0.100, 0.050 mg/mL のウイルス溶液の 1 倍希釈, 2 倍希釈, 4 倍希釈及びエキス濃度が 0.025 mg/mL のウイルス溶液の 2 倍希釈, 4 倍希釈が HA を抑制し、抗ウイルス活性を示した (表 3)。抗ウイルス活性を示さなかったのは、エキス濃度が 0.025 mg/mL のウイルス溶液の 1 倍希釈のみであった。水溶性低分子画分は、エキス濃度が 0.250, 0.100 mg/mL のウイルス溶液の 4 倍希釈のみ抗ウ

表3 アケビの芽水溶性画分の赤血球凝集作用 (HA) の抑制試験

サンプル	CPE の抑制 試験時の エキス濃度 (mg/mL)	ウイルス溶液の希釈倍率		
		1×	2×	4×
アケビの芽 水溶性高分 子画分	0.250	+	+	+
	0.100	+	+	+
	0.050	+	+	+
	0.025	-	+	+
アケビの芽 水溶性低分 子画分	0.250	-	-	+
	0.100	-	-	+
	0.050	-	-	-
	0.025	-	-	-

a) + : HA の抑制が認められ抗ウイルス活性有り
- : HA の抑制が認められず抗ウイルス活性無し

イルス活性を示し、それ以外では活性は示さなかった。

IV 考 察

1 細胞変性効果 (CPE) の抑制試験によるスクリーニングについて

スクリーニングにより、アケビの芽は水画分と酢酸エチル画分の二つとも抗ウイルス活性を示したことから、アケビの芽には活性を有する極性の高い物質や低い物質等が含まれている可能性が考えられる。また、ブナハリタケ及び青菜は酢酸エチル画分が抗ウイルス活性を示したことから、両者に含まれている抗ウイルス活性物質は極性の低い物質であることが考えられる。

2 アケビの芽メタノールエキスの画分の抗ウイルス活性について

アケビの芽水画分と酢酸エチル画分に対するスクリーニングでは、両者に活性の差は確認できなかったものの、HA の抑制試験で差が確認できた。このことから、水画分の方が活性は強いがその差はわずかであり、酢酸エチル画分にも抗ウイルス活性物質が含まれている可能性が示唆された。アケビの芽水溶性高分子画分 (透析内液) と水溶性低分子画分 (透析外液) に対する HA の抑制試験では、水溶性高分子画分が選択的に抗ウイルス活性を示した。このことから、アケビの芽水画分に含まれている抗ウイルス活性物質は、水溶性高分子に集中していると考えられる。透析用セロハンチューブはおおよそ分子量 14,000 を境に透析内液と透析外液に分離する。したがって、透析内液である水溶性高分子画分に含まれる抗ウイルス活性物質は、分子量 14,000 以上であることが示唆された。

V 文 献

- 1) 本郷誠治：インフルエンザウイルス，インフルエンザとかぜ症候群，加地正朗 編集，南山堂，東京(1997)，pp. 17～41

- 2) Mikio Nakayama, Kenji Suzuki, Masako Toda, Sachie Okubo, Yukihiko Hara et al : Inhibition of the infectivity of influenza virus by tea polyphenols. *Antiviral Res.* 21, 289~299, 1993
- 3) Toshimitsu Hayashi, Kyoko Hayashi, Kenji Kanekiyo, Yuko Ohta, Jung-Bum Lee et al : Promising antiviral glyco-molecules from an edible alga, *Combating the Threat of Pandemic Influenza: Drug Discovery Approaches.* ed. by Torrence P, F., John Wiley & Sons Inc., New York(2007), pp. 166~182
- 4) 野口茜, 武田俊之, 渡辺剛, 保井久子 : カシスエキスの抗インフルエンザ作用, 信州大学農学部紀要, 44(1,2), 1~8, 2008
- 5) 濱渦康範, 保井久子, 印野崇徳, 久米千広, 大豆生田緑 : リンゴおよびマルメロポリフェノールの抗酸化活性および抗インフルエンザウイルス活性の比較, 機能性食品と薬理栄養, 3(2), 103~108, 2005

資料

カメを取り扱う動物取扱業施設におけるサルモネラ汚染実態調査

瀬戸 順次, 金子 紀子, 安孫子 千恵子

Prevalence of *Salmonella* spp. among commercial turtles.

by Junji SETO, Akiko KANEKO and Chieko ABIKO

山形県内のカメを取り扱う動物取扱業施設を対象として、サルモネラ汚染実態調査を行なった。延べ39水槽から78検体を採材し、53検体(67.9%)からサルモネラを検出した。ヒトに病原性を示す血清型が多い生物群Iだけに絞っても、20水槽(51.3%)からサルモネラが検出され、動物取扱業施設におけるカメの飼育環境が高頻度にサルモネラで汚染されていることが示された。

Key Words : カメ, サルモネラ, 動物取扱業

I はじめに

わが国におけるカメ等ハ虫類のサルモネラ保菌率は50~90%とされており¹⁾、国内ではカメとの接触によるヒトのサルモネラ症事例¹⁾が、アメリカではカメを原因とするサルモネラ症のアウトブレイクが報告されている²⁾。このように、カメはサルモネラを高率に保菌し、ヒトの感染症の原因となることが知られているが、県内におけるカメのサルモネラ保有状況は明らかでない。そこで今回、カメとヒトの接触機会が多い県内のカメを取り扱う動物取扱業施設におけるサルモネラ汚染実態調査を行った。

II 材料および方法

平成21年3月、7~8月および平成22年2月、県内でカメの販売を行っている動物取扱業9施設について、当該施設を所管する保健所職員とともに立入りし、採材を行った。カメを飼育している水槽の飼育水(約100ml, 以下「飼育水」)およびカメ拭取り検体(体表100cm²相当, 以下「拭取り」)について、1回1施設

あたり最大2水槽まで採取した。

サルモネラ試験法については、国立医薬品食品研究所の方法(NIHSJ-01-ST4)に準拠した。すなわち、各検体にBuffered Peptone Water (Oxoid社)を加え35°C 22±2時間培養し、その0.1mlをRappaport Vassiliadis enrichment broth (Oxoid社)、1mlをハーナテトラチオン酸塩培地(栄研化学社)にそれぞれ接種後、42°C 22±2時間培養した。その後1白金耳をDHL平板(日水製薬株)およびCHROMagar Salmonella平板(関東化学社)にそれぞれ塗抹し35°C 22±2時間培養した。DHLでは硫化水素を産生する黒色コロニー、CHSでは特有の藤色を呈するコロニーをサルモネラと疑い、1検体あたり最大8コロニーについてTSI、LIMによる性状検査を行った。乳糖非分解、ガス産生、硫化水素産生、リジン陽性、インドール陰性、運動性ありをもってサルモネラとした。なお、典型的なサルモネラの性状を示さなかったコロニーについては、サルモネラ特異的プライマー(invA)によるPCR³⁾を行い、陽性をもってサルモネラとした。

サルモネラと同定されたコロニーについて、OおよびH血清型別を行い、血清型を決定した。O血清型別

が不明であったコロニーについては、マロン酸, ONPG, β グルクロニダーゼ試験により生物群別を行った。

Ⅲ 結果

採材時期, カメの種類, 幼体/成体の別を表1に示した。飼育水, 拭取りとも39検体中32検体(82.1%)が幼体であった。

分離したサルモネラの血清型別(生物群別)結果を表2に示した。全体では78検体中53検体(67.9%), 飼育水では39検体中29検体(74.4%), 拭取りでは39検体中24検体(61.5%)からサルモネラを分離した。幼体/成体の別では, 幼体64検体中48検体(75.0%), 成体14検体中5検体(35.7%)がサルモネラ陽性となり, χ^2 検定により幼体で有意に(p値0.004)陽性率が高い結果となった。また, すべての施設から何れかの時期にサルモネラを分離した。水槽単位でみると39水槽のうち20水槽(51.3%)から生物群Iを分離した。

Ⅳ 考察

今回の調査により, 約7割の検体からサルモネラを分離し, 動物取扱業施設におけるカメの飼育水もしくはカメの体表にサルモネラが高頻度に存在することが

示された。特に, 冷血動物や環境からの分離が多くヒトから分離されることが稀な生物群II, IIIbを除いても, 約半数の水槽からヒトに病原性を示す血清型が多い生物群Iが分離されており, 手洗い等衛生対策の不備により, 従業員, 客を問わずサルモネラに感染するリスクがあると考えられた。また, 今回調査した全ての施設からサルモネラを分離しており, 全ての施設がサルモネラの感染機会を与える可能性が示唆された。

時期別にみると, 同じ動物取扱業施設であっても時期ごとに異なった血清型が分離される傾向にあった。黒木ら⁴⁾が全国のペットショップで販売されていたカメ幼体から分離したサルモネラと比較すると, 今回分離した生物群Iの12種類の血清型のうち9種類(S. ParatyphiB, S. Sandiego, S. Typhimurium, S. Branderup, S. Thompson, S. Litchfield, S. Muenchen, S. Newport, S. Anatum)が一致していた。この結果と, 海外からの輸入が多くを占めるカメの流通形態を併せて考えると, 輸入時, もしくは流通過程でカメが既にサルモネラを保有しており, それが全国に渡っていると類推され, 仕入れ時にカメが保有していたサルモネラが今回の分離結果に反映されたものと推察された。

幼体/成体の別では, 幼体を飼育する水槽から高率にサルモネラを分離した。幼体のカメは手で扱いやすく, 特に小児でサルモネラ感染の危険性が指摘されており

表1 動物取扱業施設における検体採材状況

施設	平成21年3月			平成21年7~8月			平成22年2月		
	No.	種類	幼体/成体	No.	種類	幼体/成体	No.	種類	幼体/成体
A	1	ミドリガメ	幼体	11	クロアチスガメ	成体	26	ミドリガメ/ゼニガメ	幼体
	2	ゼニガメ	幼体				27	キバラガメ	幼体
B	3	ミドリガメ	幼体	12	ミドリガメ	幼体	28	ミドリガメ	幼体
	4	ゼニガメ	幼体	13	ゼニガメ	幼体	29	ゼニガメ	幼体
C	5	ミドリガメ	幼体	14	ミドリガメ	幼体	30	ミドリガメ	幼体
	6	キンセンカメ	成体	15	ゼニガメ	幼体	31	ゼニガメ	幼体
D	7	ミドリガメ	幼体	16	ミドリガメ	幼体	32	ミドリガメ	幼体
	8	ゼニガメ	幼体	17	ゼニガメ	幼体	33	マレーハコガメ	幼体
E	9	ミドリガメ	幼体	18	ミドリガメ	幼体	34	ミドリガメ/ゼニガメ	幼体
	10	クサガメ等	成体	19	ヒコシガメ	成体			
F				20	ミドリガメ	幼体	35	ミドリガメ	幼体
				21	ゼニガメ	幼体	36	ゼニガメ	幼体
G				22	イシガメ	成体	37	ミドリガメ	幼体
				23	ミドリガメ	幼体	38	ミシシビノコガメ	幼体
H				24	クサガメ	成体	39	クサガメ	成体
I				25	ミドリガメ	幼体			

※ すべての検体について飼育水, 拭取りを採材した

表2 サルモネラ血清型別(生物群別)結果

施設	平成21年3月			平成21年7~8月			平成22年2月		
	No.	飼育水	拭取り	No.	飼育水	拭取り	No.	飼育水	拭取り
A	1	S.Matadi	S.Newport	11	-	-	26	S.ParatyphiB SⅢb S.Pomona	S.ParatyphiB SⅢb
	2	SⅢb	SⅢb				27	S.Muenchen	S.Muenchen
B	3	S.Braenderup SⅢb	-	12	SⅢb	SⅢb	28	SⅡ	SⅡ
	4	SⅢb	-	13	S.Newport S.Pomona	SⅢb	29	-	S.Thompson S.Anatum SⅢb
C	5	S.Sandiego	-	14	SⅢb	SⅢb	30	SⅢb	SⅢb
	6	-	-	15	S.Newport	S.Newport	31	S.Thompson S.Anatum	S.Thompson S.Litchfield
D	7	-	-	16	SⅢb	SⅢb	32	S.Muenchen	S.Muenchen
	8	S.Typhimurium S.Fluntern SⅡ(O7:m,t:-) SⅢb	S.Typhimurium S.Fluntern SⅡ(O7:m,t:-)	17	S.Newport	SⅢb	33	-	-
E	9	S.Pomona	-	18	S.Sandiego S.Matadi S.Muenchen	S.Sandiego S.Newport	34	SⅢb	-
	10	-	-	19	SⅢb	-			
F				20	S.Thompson	S.Thompson SⅡ(O7:k:-)	35	-	-
				21	S.Thompson	S.Thompson SⅡ(O7:k:-)	36	-	-
G				22	-	-	37	-	-
				23	S.Pomona S.Thompson	S.Pomona S.Muenchen	38	S.Thompson	S.Thompson
H				24	S.Thompson	S.Thompson	39	S.Thompson	S.Thompson
I				25	SⅢb	SⅢb			

※ SⅡ:生物群Ⅱ(S.enterica subsp.salamae)、SⅢb:生物群Ⅲb(S.enterica subsp.diarizonae)

²⁾、アメリカでは1975年より4インチ(約10センチ)以下のカメは法律で販売が禁止されている。日本においてはそのような規制がないため、今回の結果を踏まえ、動物取扱業施設において小児がカメに触れないような対策が必要と考えられた。

今回の調査により、動物取扱業施設におけるカメの飼育環境が高率にサルモネラで汚染されていることが示された。今後、本調査結果を基に、動物取扱業者に対するさらなる衛生対策の啓発、あるいは県民に対する知識の普及を図っていく必要がある。

参考文献

- 1) ミドリガメ等のハ虫類取扱いQ&A, 厚生労働省ホームページ.
- 2) CDC, MMWR 57:69-72, 2008.

- 3) Chiu LH, et al. J Microbiol. 1996;34:2619-22.
- 4) 黒木俊郎ら. IASR. 2009;30:212-3.

資料

Legionella pneumophila の VNTR 解析の試みについて金子 紀子, 瀬戸 順次, 安孫子 千恵子, 大谷勝実¹⁾, 阿彦 忠之VNTR analysis *Legionella pneumophila*.

by Akiko KANEKO, Junji SETO, Chieko ABIKO, Katumi OOTANI and Tadayuki AHIKO

レジオネラ症患者 13 人から分離された 13 株の *Legionella pneumophila* (*Lp*) 血清群 1 は Variable-number tandem-repeat (VNTR) による解析の結果 11 種のプロファイルに型別された。VNTR 解析の結果は Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) の解析結果とほぼ一致した。また、感染源と考えられた温泉分離株が VNTR 解析により患者分離株のプロファイルと一致することが確認され、レジオネラ症患者発生時における分子疫学解析の有力な手法になると考えられた。さらに、レジオネラ症患者喀痰から直接 VNTR 解析を行い、感染源分離菌との同一性を比較できる可能性が示唆された。

Key Words : *Legionella pneumophila*, VNTR, PFGE

I はじめに

わが国におけるレジオネラ症の感染源は温泉、24 時間風呂、冷却塔などがあるが、感染源の判明していない事例も多い。感染源の中でも温泉を原因とした事例が多く、集団発生も認められている。感染源を特定するため、一般的な疫学調査を行うとともに、患者から分離された株と、患者が暴露を受けたと考えられる環境から分離された株の比較を行い、その一致性を確認することが必要である。菌株の一致性を確認する手法として、血清型別や薬剤感受性といった表現系による方法と PFGE、シーケンス解析等の遺伝子学的方法がある。表現系による型別方法は識別力が低いため利用できないことが多い。PFGE やシーケンス解析は識別力は高いものの時間や費用がかかる欠点がある。今回、最近報告された¹⁾ PCR を用いた VNTR 解析による型別について、レジオネラ症患者から分離された株等を対象に検討したので報告する。

II 方法

1 材料

山形県内の医療機関を受診し、尿中抗原検査でレジオネラ症と確定した患者の喀痰を試料に macrophage infectivity potentiator (*mip*) 遺伝子を標的とした PCR と菌分離を行った。また、感染源調査として患者が利用した温泉水からも菌分離を行った。

2 PCR

mip 遺伝子を標的とする PCR は小出らの方法に準拠して行った²⁾。プライマーセットは *Lmip* L920 (5' -GCTACAGACAAGGATAAGTTG-3') , *Lmip* R1548 (5' -GTTTTGTATGACTTTAATTCA-3') 及び *Lmip* L997 (5' -TAATCCGGAAGCAATGGCTA-3') , *Lmip* R1466 (5' -GGGCCAATAGGTCGCCAAC-3') の 2 セットを使用した。1st PCR 反応はプライマー濃度 0.5 μM, 1.5mM MgCl₂, 160 μM dNTPs, 0.5U Taq DNA ポリメラーゼ (Invitrogen) となるように添付の 10×PCR

1) 山形大学大学院 医学系研究科 公衆衛生学講座

表1-1 供試した菌株

菌株名	分離年月	血清群	備 考
L115 ^a	H12.4	1	日帰り温泉と推定、疫学的に感染源の可能性高い
L403 ^a	H14.7	1	日帰りA温泉確定、PFGE一致
L408 ^a	H14.7	1	不明
L440 ^a	H14.8	1	B温泉プール確定、PFGE一致
L542 ^a	H15.4	1	同上温泉清掃従事者、温泉分離株とはPFGE一致せず
L562 ^a	H15.7	1	温泉利用後発症、温泉から同一血清型株は分離できず
L602 ^a	H17.6	1	温泉利用後発症、温泉から同一血清型株は分離できず
L630 ^a	H17.8	1	不明
L915 ^a	H18.10	1	不明
L917 ^a	H19.2	1	不明
L929 ^a	H19.11	1	不明
L952 ^a	H20.1	1	不明
L992 ^a	H20.9	1	不明
ATCC33152		1	Philadelphia (対照として使用)
L412	H14.8	1	A温泉露天風呂由来
L413	H14.8	1	A温泉露天風呂由来
L414	H14.8	1	A温泉露天風呂由来
L415	H14.8	1	A温泉露天風呂由来
L434	H14.9	1	B温泉プール由来
L435	H14.9	1	B温泉プール由来

a:レジオネラ症患者分離株

Buffer (Invitrogen)に添加23 μ lとし、抽出DNA試料を2 μ l加えた。増幅はMyCycler(BIO-RAD)を用い、94°C30秒、55°C30秒、72°C30秒のヒートサイクルを30回行った。2nd PCR反応は2ndのプライマーを加えた1stと同じ組成の反応液に1stPCR産物を2 μ l加え、同じ条件で増幅した。PCR産物は1.5%アガロースゲルで電気泳動を行い、泳動後臭化エチジウムで染色し泳動像を観察した。

3 *Lp*の分離培養

喀痰はスプタザイム(極東)で処理し、DNA抽出はQIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて行った。菌分離は、雑菌処理をしないもの、50°C、20分間で熱処理したもの、または、熱処理後等量の0.2M HCl-KCl buffer (pH2.2)室温、4分間で酸処理したものを各々WY0 α 培地(栄研化学)に塗布し、37°C湿潤環境下で7日間培養した。発育した灰白色コロニーを釣菌し、性状確認後レジオネラ免疫血清(デンカ生研)で血清型別した。分離した菌株は20%スキムミルク溶液に懸濁し、-80°Cで保存した。また、感染源調査として患者が利用した温泉水からも菌分離を行った。500ml~1,000mlの温泉水を3,500回転、

30分遠心し上清を除去、濃縮した検体を等量の0.2M HCl-KCl buffer (pH2.2)室温、4分間で酸処理し、患者検体と同様に培養、分離及び保存した。

分離された*Lp*の新鮮培養菌を蒸留水に懸濁し、100°C 10分加熱、遠心し上清をテンプレートとして用いた。

4 解析対象

患者から分離した13株及び温泉から分離した6株、並びにVNTR解析のためリピートプロファイルが報

表1-2 供試した患者喀痰検体

検体No	分離菌株No	Lmip遺伝子を標的としたPCR	
		1st	2nd
149	L562	-	+
186	NI	(+)	+
205	NI	-	+
226	NI	-	+
227	L630	-	+
256	NI	(+)	+
257	L915	(+)	+
260	L917	-	+
264	NI	-	+
265	NI	-	+
268	L929	-	+
269	L952	-	+
277	L992	-	+
283	L996	-	+
287	L1002	-	+

(+):薄いバンド

告されている Philadelphia 株 (ATCC33152) を対照として用いた (表 1-1). また, 患者喀痰を試料に *mip* 遺伝子を標的とした nested PCR で陽性となった 15 検体も VNTR 解析を試みた (表 1-2).

5 VNTR

VNTR は Pourcel et al. の報告に準拠して行った
 1). 反復塩基配列を挟み込むプライマーセットは表 2 に示す 10 セットを使用した. PCR 反応は各プライマーセットともに, プライマー濃度 0.4 μM, 1.5mM MgCl₂, 160 μM dNTPs, 0.5U Taq DNA ポリメラーゼ (Promega), PCR バッファーは 5 × GoTaq Flexi Buffer (Promega) を用いた. 増幅は MyCycler (BIO-RAD) を用い, 94°C 5 分のプレヒート後 94°C 30 秒, 60°C 30 秒, 72°C 45 秒のヒートサイクルを 40 回行った. PCR 産物は 2% アガロースゲル (Lpms37 は 4%) で電気泳動を行い, 同時に DNA 100bp ラダー (BIO RAD) をサイズマーカーとして泳動した. 泳動後臭化エチジウムで染色し泳動像を観察し, 増幅産物のサイズを計測, 反復塩基配列の tandem-repeat 数を求め, 喀痰試料と分離菌株の VNTR 解析結果を比較した.

6 PFGE

保存株の新鮮培養菌を蒸留水 100 μl に懸濁し, 1%

表2 VNTR解析に用いたプライマー

No.	プライマー名	塩基配列 (5'-3')	Repeat size (bp)
1	Lpms1_bL	ACGAGCATATGACAAAGCCTTG	45
	Lpms1_bR	CGGATCATCAGGTATTAATCGC	
2	Lpms3L	CAACCAATGAAGCAAAAAGCA	96
	Lpms3R	AGGGGTTGATGGTCTCAATG	
3	Lpms13L	CAATAGCATCGGACTGAGCA	24
	Lpms13R	TGCCTGTGTATCTGGAAAAGC	
4	Lpms17L	CAGCTCACCCCGTATCACTT	39
	Lpms17R	TAACATCAATGACCGCGAAA	
5	Lpms19_bL	GAACTATCAGAAGGAGGCGAT	21
	Lpms19_bR	GGAGTTTGACTCGGCTCAGG	
6	Lpms31L	GCAATCCGGCCTCGCAAGCC	45
	Lpms31R	CAGGCACACCTTGCCCGTCA	
7	Lpms33L	ACCACAGCAGTTTGAACATAAT	125
	Lpms33R	GGGAGAAGTTATAGATCTATTCCG	
8	Lpms34L	GAAAAGGAATAAGGCGCAGCAC	125
	Lpms34R	AAACTCGTTGGCCCTCGCCTT	
9	Lpms35L	CTGAAACAGTTGAGGATGTGA	18
	Lpms35R	TTATCAACCTCATCATCCCTG	
10	Lpms37L	GCTTTTGTTCCTTAATTGCTA	7-8
	Lpms37R	GAATAAATTTTCCTTTAAGCT	

Low Melt Agarose (BIO-RAD) を等量加え, ゲルプラグを作成した. ゲルプラグを 1mg/ml Lysozyme で 4 時間, 1mg/ml ProteinaseK で 1 晩処理した. さらに, 制限酵素 *Sfi* I (10U/プラグ) で 1 晩処理した. 処理したプラグを 1% Pulsed Field Certified Agarose (BIO-RAD) に包埋し, GENE PATH System (BIO-RAD) を用い, 電圧 6.0V, pulse time 5.3-34.9, 角度 120 度, 泳動用緩衝液温度 14°C, 泳動時間 19.7 時間で電気泳動を行った. 泳動後臭化エチジウムで染色し泳動像を観察した. また, Finger Printing II ver.3 (BIORAD) で系統樹解析を行った.

III 結果

1 患者由来株の PFGE 及び VNTR 解析

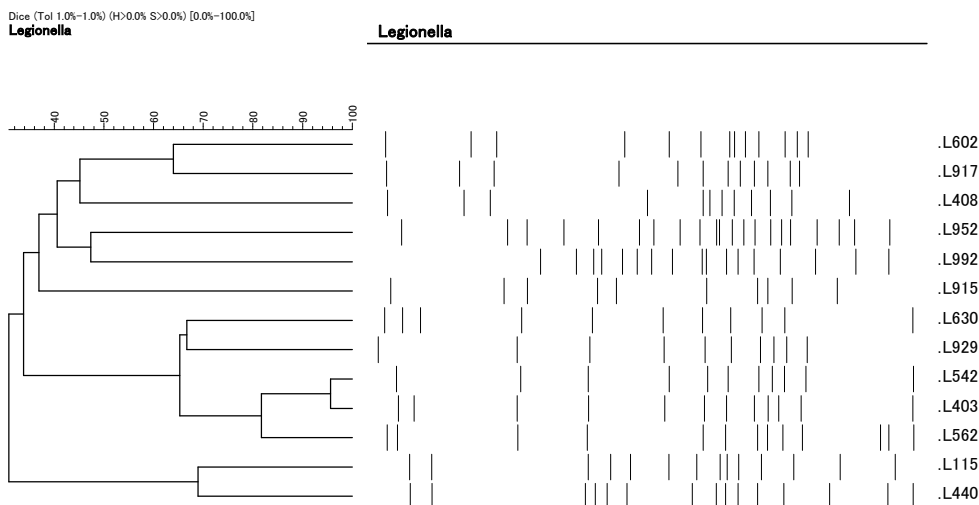


図 1 患者から分離された *Legionella pneumophila* の PFGE 結果及び系統樹解析

表3 患者から分離された*Legionella pneumophila*のVNTR解析結果

菌株名	tandem-repeat数									
	Lpms1_b	Lpms3	Lpms13	Lpms17	Lpms19_b	Lpms31	Lpms33	Lpms34	Lpms35	Lpms37
L115	7	8	11	2	4	16	4	1	23	6
L403	9	8	8	2	4	14	2	3	24	7
L408	7	7	4	2	4	13	4	3	25	22
L440	7	8	11	2	4	16	4	1	23	6
L542	9	8	8	2	4	14	2	3	29	7
L562	9	8	8	2	4	14	2	3	24	7
L602	8	7	11	2	4	13	4	3	31	22
L630	9	8	8	2	4	13.5	2	3	24	7
L915	7	7	11	2	4	13	4	3	18	23
L917	8	7	8	2	4	12.5	2	3	18	7
L929	9	8	8	2	4	14	2	3	24	6
L952	9	8	14	2	4	16	2	1	23	25
L992	8	8	11	2	NA	10	2	1	14	18
ATCC33152	8	8	11	2	4	17	1	1	3	13

NA:PCRで増幅産物得られず

患者から分離された 13 株の血清型はいずれも血清群 1 であったが、PFGE ではそれぞれ異なる切断パターンを示した (図 1)。VNTR 解析の結果を表 3 に示した。菌株 No. L115 と L440 及び L403 と L562 がそれぞれ同じリピートプロファイルを示し、13 株が 11 のプロファイルに分類された。

2 患者分離株と感染源調査

患者 A 及び患者 B から分離された株は感染源と考えられた温泉分離株 (L412~415 及び L434~435) と PFGE でパターン的一致することが確認された (図 2)。

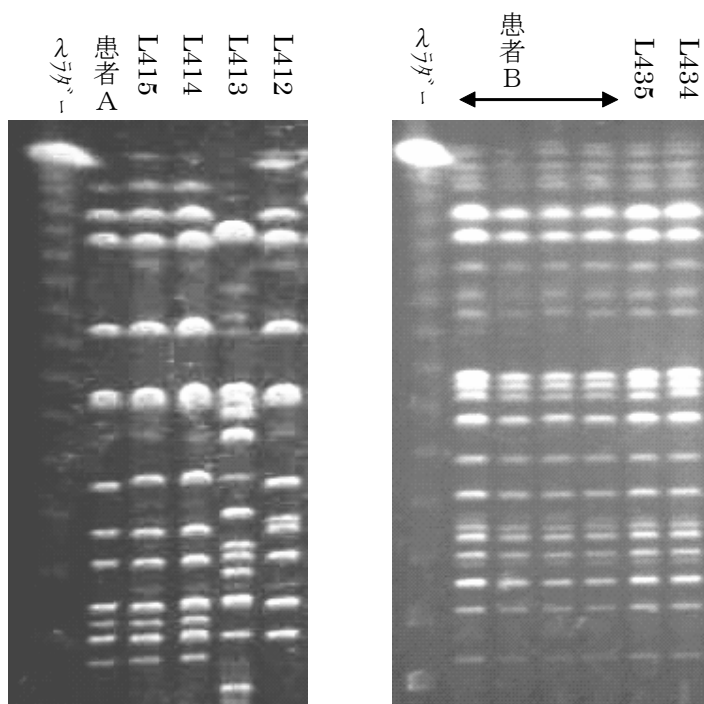


図 2 患者分離株と温泉分離株の PFGE

これらの事例について温泉由来株の VNTR 解析を行った。結果を表 4 に示した。A 温泉由来株の L414 及び L415 は患者 A 分離株と同一のプロファイルであった。しかし、L412 は Lpms13 で患者 A 分離株と異なる tandem-repeat 数を示し、L413 は Lpms1_b, Lpms13 及び Lpms35 の 3 種で患者 A 分離株と異なる tandem-repeat 数を示した。以上の結果は PFGE の結果と一致した。B 温泉由来株 (L434~435) は 2 株とも患者 B 分離株と同一のプロファイルであった。

3 患者喀痰試料の VNTR 解析

VNTR の結果を表 5 に示した。プライマーセット Lpms34 での増幅では 15 検体中 14 検体でバンドが確認された (薄いバンドを含む)。Lpms17 では 13 検体、Lpms1_b, Lpms13, Lpms19_b 及び Lpms33 では 12 検体、Lpms3 では 9 検体でバンドが確認された。しかし、Lpms35 では 2 検体、Lpms37 では 3 検体でしかバンドが確認されなかった。また、Lpms31 ではエクストラバンドが多く、目的のバンドを確認できないものが多かった。一方、検体 No257 は用いた 10 種全てのプライマーセットでバンドが確認されたが、検体 No226 では 3 種のプライマーセットでしかバンドを確認することができなかった。各検体でのバンドが確認されたプライマーセット数の平均は 6.3 (最小-最大: 3

由来	分離株名	マーカ-のリピート数									
		Lpms1 b	Lpms3	Lpms13	Lpms17	Lpms19 b	Lpms31	Lpms33	Lpms34	Lpms35	Lpms37
患者A	L403	9	8	8	2	4	14	2	3	24	7
	L412	9	8	9	2	4	14	2	3	24	7
	L413	7	8	10	2	4	14	2	3	23	7
	L414	9	8	8	2	4	14	2	3	24	7
	L415	9	8	8	2	4	14	2	3	24	7
A温泉	L440	7	8	11	2	4	16	4	1	24	6
	L434	7	8	11	2	4	16	4	1	24	6
	L435	7	8	11	2	4	16	4	1	24	6

10) であった。

対象検体のうち、Lpが分離された9検体(検体No. 149, 227, 257, 260, 268, 269, 277, 283, 287 : 表5で検体Noを※で表示)では喀痰から抽出したDNAと分離菌から抽出したDNAを用いたVNTRで tandem-repeat 数は、全く同一であった。

IV 考察

レジオネラ症は Legionella 属菌の感染により起こる疾病で、かぜ様症状で経過するポンティアック熱と重篤な肺炎症状を引き起こす肺炎型があるが、診断されるのはほとんどが肺炎型である。また、起因菌の約9割はLpで、その7割が血清群1である³⁾。わが国におけるレジオネラ症の患者発生届出件数は平成16年までは年間150件程度であったが、平成17年281件、平成18年518件、平成19年668件、平成20年893件と平成17年以降届出件数が急増している。これは、平成15年にEIA、平成16年にイムノクロマト法の尿中抗原検査が保険適用となり、平成17年には日本呼吸器学会で重度の肺炎患者に

レジオネラ尿中抗原検査を実施する方針が定められたことが影響していると考えられる。実際、平成20年には尿中抗原のみでレジオネラ症と診断されたものが96%にもなっている³⁾。一方、培養検査で診断されたものが3.9%と少なく、臨床株(起因菌)が分離されていない状況にある³⁾。そのため、レジオネラ症の散発患者発生が急増しているにもかかわらず感染源の究明が多く事例で実施されていないのが現状である。

レジオネラ症の患者発生届出があった場合、保健所では患者や家族から聞き取り調査を行い感染源に関する調査を行っている。また、感染源と推定される温泉などの環境における Legionella 属菌汚染状況を検査し、 Legionella 属菌の分離を試みている。患者から Legionella 属菌が分離された場合、菌種、血清型が患者分離株と同じ環境分離株を探し、PFGEパターン等が一致するかを調べ、感染源特定の根拠の一つとしている。レジオネラに対するPFGEは識別力に優れ、再現性も高いことから遺伝子型別の手法として評価されている。しかし、PFGEは特定の機器

表5 患者喀痰試料のVNTR解析結果

検体No	反復塩基配列の領域										
	Lpms1 b	Lpms3	Lpms13	Lpms17	Lpms19 b	Lpms31	Lpms33	Lpms34	Lpms35	Lpms37	
149※	×	×	○	○	○	ND	○	▲	×	▲	
186	○	○	×	○	○	ND	×	○	×	×	
205	○	×	○	○	○	ND	▲	○	×	×	
226	○	×	○	×	×	ND	×	▲	×	×	
227※	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	
256	○	○	▲	○	○	ND	○	○	×	○	
257※	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
260※	×	▲	▲	▲	▲	○	○	○	×	×	
264	○	▲	×	○	○	ND	○	○	×	×	
265	○	×	×	○	▲	ND	○	○	×	×	
268※	×	×	▲	▲	▲	○	×	×	×	×	
269※	○	▲	○	○	○	ND	○	○	×	×	
277※	○	▲	○	×	×	○	○	○	×	×	
283※	○	×	○	○	×	ND	○	○	×	×	
287※	○	○	○	○	○	ND	○	○	○	×	

※:L.p分離された検体 ○:バンド確認 ▲:バンド薄い ×:バンド確認されず ND:エクストラバンドが多く判定不可 L.pが分離された検体と菌株の tandem-repeat 数は同一であった。

を必要とし、また結果が出るまである程度の日数が必要であることなどの難点がある。

VNTR 解析は結核菌の遺伝子型別の手法として認知されている。最近、レジオネラを対象とした VNTR 解析がヨーロッパを中心に検討されている。今回、このワーキンググループが報告した方法¹⁾に準じて患者分離株を中心に VNTR 解析を行い、PFGE の結果と併せ検討した。患者から分離された株は PFGE で全て異なる型であることが示された。VNTR 解析では 13 株が 11 のプロファイルに型別され、PFGE より識別力が低い結果となったものの、*Lp* 血清群 1 の株に対しかなり高い識別力のあることが示された。PFGE の系統樹解析でみると、VNTR 解析で同じプロファイルを示した L115 と L400 及び L403 と L562 は比較的近縁であり、遺伝子的に類似した株であったことが推察された。

Lp 菌株の VNTR 解析結果から、*Lpms17* 及び *Lpms19_b* は 13 株が全て同じ tandem-repeat 数を示し、株の識別力が低い部位と考えられた。逆に、これ等の部位で異なる tandem-repeat 数を示す株は遺伝子的にかなり異なった株である可能性が推察された。*Lpms31*、*Lpms35* 及び *Lpms37* は単独で 13 株を 6~7 種の tandem-repeat 数に分けることができ、株の識別力の高い部位と考えられた。しかし、*Lpms37* はマーカの塩基数が 6~7bp の repeat size であり、アガロースゲル電気泳動で tandem-repeat 数を正確に計測することは難しい。比較したい株の PCR 増幅産物を同時に泳動するなどの工夫が必要である。また、識別力の低い *Lpms17* 及び *Lpms19_b* 並びにマーカの塩基数の少ない *Lpms35* 及び *Lpms37* を除く 6 種のプライマーセットで解析すると 13 株が 9 種のプロファイルに分類され、菌株比較のスクリーニングに有用と思われた。実際、患者 A (L403) が利用した温泉 A 分離株はこの 6 種のプライマーセットで L403 と異なる株を検出することが可能であった。

患者 A 及び患者 B の感染源調査で A 温泉及び B 温泉が疑われた。それぞれの温泉から患者分離株と同

一菌種、血清型の株が分離され、PFGE の結果患者分離株と同一の切断パターンを示す株が確認され、感染源確定の大きな根拠となった。それらの株について VNTR 解析を実施し、PFGE の結果と同じ結果を得ることができた。このような疫学調査において迅速性、簡便性に優れた VNTR は利用価値が高いと考えられた。

PFGE で解析を行うには、試料として菌株が必要である。遺伝子型別法の一つである VNTR は菌株から行うのが基本であるが、今回、レジオネラ症患者喀痰を試料として VNTR 解析を行った。プライマーセット *Lpms1_b*、*Lpms13*、*Lpms17*、*Lpms19_b*、*Lpms33*、*Lpms34* での増幅では 80%以上の検体 (12/15) でバンドが確認された。また、菌株が分離された 9 例において、喀痰を用いた VNTR と菌株を用いた VNTR で同じ結果が得られたことから、喀痰中の遺伝子は起因菌の遺伝子と同一と考えられた。患者からの菌分離が成功しない場合でも喀痰を試料として VNTR 解析を実施し、tandem-repeat 数の組み合わせにより、環境分離株との同一性を比較できる可能性が示唆された。

我々がこれまで行ったレジオネラ症の病原診断に関する検査成績をみると、レジオネラ症と診断された 28 人(検査依頼時に喀痰が提出された)中 18 人 (64.3%) が喀痰を試料とした PCR (2 段階) で陽性であった。菌分離は 28 人中 10 人 (35.7%) から行うことができた。すなわち、レジオネラ症患者の 1/2 の喀痰からは *Legionella* の遺伝子が取れ、1/3 からは菌が分離できる成績であった。尿中抗原陽性でレジオネラ症と診断された患者から喀痰を採取し、菌分離が成功しない場合でも、直接喀痰を試料とした VNTR を行うことにより、患者の感染源特定に寄与することができると考えられた。

最近、新たな感染源として、自動車道路アスファルト上に溜まった雨水からの可能性が示唆されている⁴⁾。*Legionella* 属菌が身近に存在していること、温泉や風呂など利用していかなくとも暴露する可能性があることなども認識しながら、感染源調査を行い、

今後も *Legionella* 属菌の VNTR の検討を継続したいと考えている。

尚、この研究は平成 20 年、21 年度東北乳酸菌研究会の研究助成により行った。

文献

- 1) Christine Pourcel, Paolo Visca, Baharak Afshar, Silvia D'Arezzo, Gilles Vergnaud, et al.: Identification of Variable-Number Tandem-Repeat (VNTR) Sequences in *Legionella pneumophila* and Development of an Optimized Multiple-Locus VNTR Analysis Typing Scheme. J.Clin.Microbiol., 45, 1190-1199 (2007)
- 2) 小出道夫, 斎藤 厚, 比嘉 太, 山城祐子, 伊志嶺朝彦 他 : Two-step polymerase chain reaction 法による *Legionella pneumophila* の検出. 感染症学雑誌, 67, 1062-1067 (1993)
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター : レジオネラ症 2003.1 ~ 2008.9. IASR, 29, 327-328 (2008)
- 4) 大野 章 : 雨の日のアスファルト道路通行はレジオネラ症の危険因子か. 日本医事新報, 4476, 22-23 (2010)

資料

山形県における新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) 検出状況

池田 辰也, 青木 洋子, 安孫子 千恵子, 水田 克巳

Isolation of pandemic influenza A viruses (A/H1N1pdm) from Patients in Yamagata Prefecture

by Tatsuya IKEDA, Yoko AOKI, Chieko ABIKO and Katsumi MIZUTA

2009年5月から2010年3月の期間に山形県内の医療機関で採取されたインフルエンザ感染疑いの患者検体982検体について、Real-time PCR法による遺伝子検査およびMDCK細胞を用いたウイルス分離を実施した。また、分離された新型インフルエンザウイルスの一部については、オセルタミビル耐性株のスクリーニングを実施した。新型インフルエンザウイルスは861検体より検出され、流行のピークは11月であった。耐性株のスクリーニングでは2株の耐性株が確認され、その検出率は0.8%と低値であった。季節性インフルエンザは8月までにA/H3N2が10検体、B型が2検体より検出されたが、A/H1N1は検出されなかった。

Key Words : 新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) , オセルタミビル耐性株

【はじめに】

2009年4月、メキシコに端を発した新型インフルエンザ(A/H1N1pdm, 以下新型)は、その後アメリカ、さらには日本を含む世界各国に感染が拡大し、6月には世界保健機関(WHO)が世界的大流行(パンデミック)を宣言した。山形県でも7月の感染確認以降多くの患者が発生し、学級閉鎖等の感染拡大を防止するための措置が講じられてきた。当所では、これらのインフルエンザ感染が疑われる患者の検体について多数検査を実施してきたので、その概要について報告する。

【材料及び方法】

2009年5月から2010年3月に県内の医療機関で採取されたインフルエンザ感染が疑われた患者の検体(鼻腔または咽頭拭い液)984検体(入院事例240検体, 集団発生事例160事例, 定点医療機関由来551検体, その他33検体)について、ウイルス検査を実施した。

遺伝子学的検査: 国立感染症研究所より示された新型HA遺伝子(SwH1 HA)検出用プライマー、プローブを用いてReal-time RT-PCRを実施した。また、SwH1 HA陰性の一部の検体については、季節性インフルエンザHA遺伝子A/H1(Aソ連型)、A/H3(A香港型)検出用プライマーを用いてOnestep RT-PCRを実施した。

ウイルスの分離培養: ウイルスの分離は、MDCK細胞を用いたプレート培養法により行った。分離されたウイルスについては、新型および季節性4種の計5種類の抗血清を用いた赤血球凝集抑制試験(HI試験)による型別同定を行った。

薬剤耐性株のスクリーニング: 分離された242株のウイルスについて、N1-NA遺伝子領域のシークエンスによりオセルタミビル耐性株の耐性マーカー(H275Y)のスクリーニングを実施した。

【結果】

インフルエンザウイルス検出状況(概要)

2009年5月から2010年3月の期間に採取され

た 984 検体について検査を実施したところ、861 検体から新型インフルエンザウイルスが検出された。7 月に初の患者が確認され、8 月以降検出が増加、11 月にピークを迎えた(298 検体)。その後 12 月以降は減少傾向にあった。季節性インフルエンザウイルスは、A/H3N2(A 香港型)が 5 月(8 検体)、7 月および 8 月(各 1 検体)に、また B 型が 5 月(2 検体)に検出されたが、9 月以降は検出されなかった。A/H1N1(A ソ連型)は検出されなかった(表 1)。

新型が検出された検体の内訳は、入院患者由来 196 検体、集団発生患者由来 140 検体、定点医療機関由来 519 検体であった。県内 4 地域別では、村山地域 259 件、最上地域 239 件、置賜地域 168 件、庄内地域 195 件であり、月別の検出状況は各地域で同様の推移を示した(図 1)。また、年齢別では 0~4 歳 149 検体(17.3%)、5~9 歳 330 検体(38.3%)、10~19 歳 304 検体(35.3%)と 19 歳以下の患者が全体の 90%以上を占めた(図 2)。

遺伝子学的検査およびウイルス分離成績

Real-time PCR 法による遺伝子学的検査では、799 検体で SwH1 HA 遺伝子が検出された(陰性: 131 検体)。このうち 736 検体では細胞培養によりインフルエンザウイルスが分離された(分離率 92.1%)。これらの分離株は HI 試験で新型の抗血清に対し 320~2560HI 価を示し、分離株は全て新型ウイルスであることが確認された。Real-time PCR 法で SwH1 HA 遺伝子が検出されなかった 132 検体にお

表1 山形県内におけるインフルエンザウイルス検出状況

年 月	検体数	A/H1N1pdm (新型)	A/H3N2 (A香港型)	B	陰性
2009 5	17		8	2	7
6	4				4
7	11	4	1		6
8	115	107	1		7
9	80	70			10
10	131	112			19
11	323	298			25
12	171	150			21
2010 1	57	54			3
2	48	42			6
3	27	24			3
計	984	861	10	2	111

いては、13 株のウイルスが分離され、HI 試験により 10 株が新型、3 株が A 香港型と同定された。遺伝子検査を実施しなかった検体では、54 検体からインフルエンザウイルスが分離され、HI 試験により 52 株が新型、2 株が B 型と同定された(表 2)。

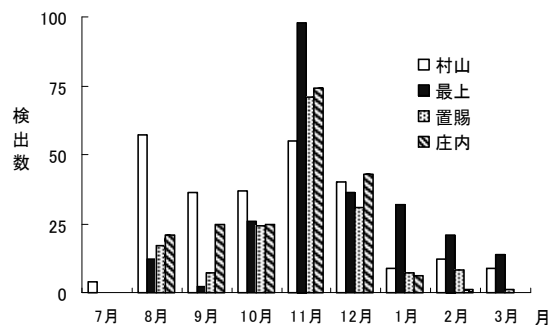


図1 山形県内4地域別新型インフルエンザ検出状況

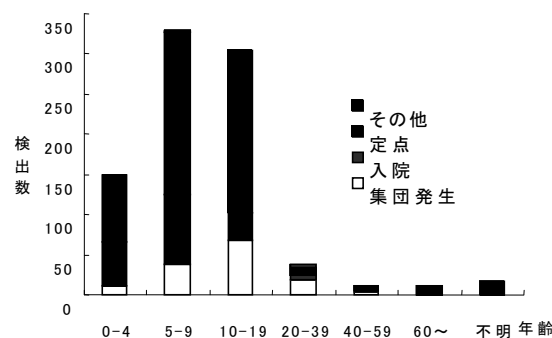


図2 年齢別検体由来別新型インフルエンザ検出状況

表2 リアルタイムPCRおよびウイルス分離成績

リアルタイムPCR法による遺伝子検索成績		ウイルス分離成績	
検出遺伝子	検出数	分離ウイルス	分離数
SwH1 +	799	A/H1N1pdm	736
		-	63
SwH1 -	121	A/H1N1pdm	10
		-	111
SwH1 - A/H3 +※	10	A/H3N2	3
		-	7
NT		A/H1N1pdm	52
		B	2
計			984

NT: 検査実施せず
※Onestep RT-PCR法による

薬剤耐性株のスクリーニング結果

分離ウイルス 242 株についてオセルタミビル耐性株のスクリーニングを行ったところ、2 株(11 月、1 月に各 1 株)から耐性マーカー(H275Y)が検出された(検出率 0.8%)。これらの耐性株が分離された 2 名の患者はともに村山地域の就学前の児童であり、1 名(基礎疾患あり)が予防投与、他の 1 名(基礎疾患なし)が治療投与として、検体採取前にオセルタミビルの投薬を受けた患者であった。なお、この 2 株は国立感染症研究所での確認検査によりオセルタミビルに対し耐性、ザナミビルに対し感受性であることが確認された。

【考察】

2009 年 7 月の感染確認以降山形県内でも猛威をふるってきた新型インフルエンザであるが、2010 年 3 月にはその流行がほぼ終息した状況にあった。県内における新型流行のピークは 11 月であり、例年の季節性インフルエンザの流行よりも早い時期であったが、この流行状況は、全国の状況と同様の推移であった¹⁾。一方、例年 1 月以降多発する季節性インフルエンザは、2009 年 9 月以降 2010 年 3 月まで山形県内では 1 例も確認されなかった。国内においては、A ソ連型は 2009 年 9 月以降 1 例も分離されていないものの、A 香港型、B 型は少数ではあるが分離の報告がある¹⁾。これらの季節性も含めたインフルエンザの動向を今後も注意深く監視する必要がある。

分離ウイルスの薬剤耐性株スクリーニングでは、2 株の耐性株が確認された。この検出率(0.8%)は、全国調査における検出率(1.1%)とほぼ同様に低い値であった^{2), 3)}。国立感染症研究所の報告では、薬剤の服用により耐性株の発生リスクが高くなることが示されているが、県内の 2 例ともに事前投薬を受けた患者であった。このことより県内で検出された耐性株は、薬剤の選択圧による耐性獲得と考えられ、現段階では耐性株が蔓延している状況は確認されなかった。しかしながら、季節性 A/H1N1 においては、2007 年には国内における耐性株検出率が 2.6%であったものが翌年には 99.6%と国内分離株

のほぼ全てを占める状況に至った前例がある⁴⁾。今後も薬剤耐性株のサーベイランスを継続・強化していくとともに、医療機関等への情報提供も重要と考えられる。

(参考文献)

国立感染症研究所 感染症情報センターホームページ 病原微生物検出情報(IASR)

1) インフルエンザウイルス(季節性 + AH1pdm)分離・検出速報

(<http://idsc.nih.gov/iasr/influ.html>)

2) IASR 31: 49-53, 2010 (新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況 [第 1 報])

3) <速報> 新型インフルエンザ(A/H1N1pdm)オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況 [第 2 報]

4) IASR 30: 49-53, 2009(2008/09 インフルエンザシーズンにおけるインフルエンザ(A/H1N1)オセルタミビル耐性株(H275Y)の国内発生状況 [第 1 報])

資料

2009年感染症発生动向調査におけるウイルス分離状況

青木洋子, 池田辰也, 安孫子千恵子, 水田克巳

The Virus Isolation Situation on Infectious Disease in 2009

by Yoko AOKI, Tatsuya IKEDA, Chieko ABIKO, Katsumi MIZUTA

2009年1月から12月に山形県感染症発生动向調査における病原体検査定点等を受診した患者の咽頭拭い液・鼻汁等について培養細胞を用いて呼吸器ウイルスの検査を行なった結果, インフルエンザウイルス, アデノウイルス, エンテロウイルスの各亜型, 血清型を含め約1575株, 31種類のウイルスが分離された。このうち, 47.0%を新型インフルエンザウイルス(AH1N1pdm)がしめた。

山形県におけるインフルエンザウイルスの流行は1月から5月までは, 季節性インフルエンザAソ連(AH1N1)型, A香港(AH3N2)型とB型3種類の混合流行であった。世界的な流行が見られた新型インフルエンザウイルスは, 山形県では7月から流行が始まり, これ以降はすべて新型インフルエンザウイルスの流行であった。

Key Words : 感染症発生动向調査, インフルエンザウイルス, パラインフルエンザウイルス

はじめに

感染症発生动向調査にかかるウイルス検査は, 病原体検査定点を受診した患者の検査材料からウイルスを分離・検出し, 定点医療機関から報告される患者報告数とあわせて情報還元することで感染症対策に役立てられてきた。

2009年は新型インフルエンザウイルス(AH1N1pdm)が人から人へ感染拡大し, WHOが警戒水準を「フェーズ6」に引き上げた。世界的な流行に人々が困惑する中, 日本においてもさまざまな対策がとられた。まさに新型インフルエンザウイルス一色の1年であった。このため, 動向調査のシステムが一時的に破綻することも危惧されたが, 我々は従来どおり呼吸器疾患ウイルスを中心とした分離・検出を続けることができた。

そこで, 新型インフルエンザはもちろん, その他の呼吸器ウイルスも含めて2009年のウイルス分離状況を報告する。

材料および方法

2009年1月から12月までに山形県感染症発生动向調査における病原体検査定点等を受診した患者の咽頭拭い液, 鼻汁等2878検体を対象にウイルス分離を行なった。

ウイルスの分離は, 96wellのマイクロプレート法^{1), 2), 3)}で行い, HEF, HEp-2, VeroE6, MDCK, RD18s, GMK, HMV-IIの7種類の培養細胞を使用した。検体は, 2000rpmで15分間遠心分離した後, この上清75 μ lずつを7種類の細胞に接種した。これを33°CのCO₂インキュベーター内で培養し, 細胞変性効果(CPE)を観察した。CPEが確認された検体について, 赤血球凝集抑制試験, 赤血球吸着試験, 中和試験, 遺伝子検出等により型別同定を行なった。

結果および考察

(1) ウイルス分離・検出状況(表1)

2009年1月~12月のウイルス分離・検出数を月ごとに表1に示した。分離・検出されたウイルスは約1575株であった。ウイルスの種類は, RSウイルス, ヒューマンメタニューモウイルス, ライノウイルス, ムンプスウイルス, サイトメガロウイルス, ヘルペスウイルスと, インフルエンザウイルス亜型4種類, アデノウイルス血清型5種類, エンテロウイルス血清型14種類, パラインフルエンザウイルスを1~3型に分類すると32種類であった。これらのウイルスのうち47.0%をAH1N1pdmがしめた。ついで, エンテロウイルス14.8%, パラインフルエンザウイルスが8.2%, アデノウイルスが5.2%であった。

表1 ウイルス分離状況

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
インフルエンザウイルス	AH1N1	46	6	1	1									
	AH3N2	9	3	1		8		1	1					
	B	2	21	32	19	4								
	AH1N1 pdm							4	107	70	112	298	150	
アデノウイルス	1型	3	4	6	3	3	5	2	2		4		5	
	2型	4	4	1	1	5	3	1		1	4	2	1	
	3型		7	2		1		2						
	5型				2	2		1	1				1	
パラインフルエンザウイルス	1型					1	7	16	4	20	11	2		
	2型	1		3		1					4	2		
	3型				14	5	19	8	10	1				
RSウイルス	4			1					1	1		11	12	
ムンプスウイルス	2	2	3	1	5	7	3	7	3	3	2	5	7	
ヒューマンメタニューモウイルス		1	10	3	1	3	3	3	7	7	2			
エンテロウイルス	CoxA 2型											1		
	CoxA 3型								1		2			
	CoxA 4型									5	4	5		
	CoxA 6型								1					
	CoxA 9型									1	2			
	CoxA 10型												1	
	CoxA 16型									1			2	
	CoxB 2型											4		
	CoxB 3型			3	30	18	74	39	10	1			1	
	CoxB 4型										1	2	7	
	Polio 1型						1							
	Polio 3型			1										
	Echo 11型									1				3
	Enterovirus 71型									5	1	3	2	
ライノウイルス		1	1	1	1	1		2	1	6	2	2		
サイトメガロウイルス	6	6	5	5	1	11	17	7	7	4	9	6	4	
ヘルペスウイルス	4		2	2	6	3	1	1	1	2		1	3	

季節性についてみると、アデノウイルス、ライノウイルス、ムンプスウイルス、サイトメガロウイルス、ヘルペスウイルスでは見られなかったが、インフルエンザウイルス、パラインフルエンザウイルス、エンテロウイルスには季節的な流行が確認された。

また、AH1N1pdm の流行期にインフルエンザを疑う検体の検査をしたところアデノウイルス、エンテロウイルスが重複して分離された例が3件あった。

(2) インフルエンザウイルスの流行 (図1)

亜型別インフルエンザウイルスの流行を見るため、月ごとに分離・検出数を示した。1月～2月にかけては、2007年から分離されていた季節性インフルエンザ AH1N1 型の流行が見られ、2月を境に5月までB型の流行に入れ替わった。また、1月～5月にはAH3N2型の分離もあり、この期間は3種類が混合流行していたと考えられた。しかし、7月からAH1N1pdmの流行が始まると、全てがこれに変わり12月まで他の亜型が分離・検出されることはなかった。このAH1N1pdmの大流行で、県民がどの程度罹患したのかを知るため、間接的な方法として抗体保有調査を進めたいと考える。

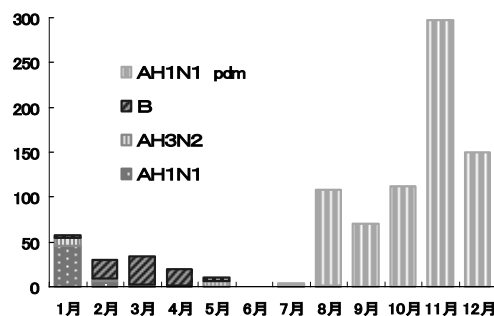


図1 インフルエンザの流行

(3) パラインフルエンザウイルスの流行 (図2)

パラインフルエンザウイルスの流行を見るため、月ごとの分離数を型別に示した。1型は、秋期に流行することが知られている⁴⁾が、われわれの結果でも9月をピークに5月から11月に流行したことがわかった。3型は流行期はなく、年間通じて分離されるとされるが⁴⁾、2009年は6月をピークに4月から10月と分離が比較的長期間に渡って分離され、初夏に流行したと考えられた。2型は、散発的な分離であった。

かねてからの課題であったパラインフルエンザウイルスの分離率向上と継続的な分離を目的に、2008年11月からHMV-II細胞をルーチン検査に取り入れた^{1) 2)}。

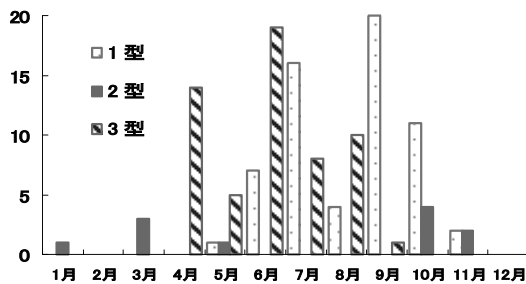


図2 パラインフルエンザの流行

細胞の特性上、通常使用している6種類の培養細胞とは別に扱わなければならないというデメリットもあったが、通年の分離結果から流行をとらえることができた。

ま と め

AH1N1pdm は、人から人へ感染し、発達した交通網が短期間で世界中に流行を拡大させた。日本も例外なくこれに巻き込まれ、多くの罹患者が確認された。このような状況の中、インフルエンザウイルスについては、季節性は淘汰された様子であった。どうしてもインフルエンザに注目が集まるが、その他の呼吸器ウイルスが平行して流行している状況に変化はなかった。

分離されたウイルスについて今後、遺伝子的な解析を行なうことにより、ウイルスの流行を緻細にとらえることができると考えられる。

文 献

- 1) 水田克巳, 安孫子千恵子, : パラインフルエンザウイルスの MDCK 細胞による分離, 山形県衛生研究所所報 (35), 53~55, 2002
- 2) Moriuchi.H., Oshima T., et al : Human malignant melanoma cell line (HMV- II) for isolation of influenza C and parainfluenza viruses, J. Clin. Microbiol. 28 : 1147-1150, 1990
- 3) Katsumi Mizuta, Chieko Abiko, et al : Analysis of Monthly Isolation of Respiratory Viruses from Children by Cell Culture Using a Microplate Method: Two-Year Study from 2004 to 2005 in Yamagata, Japan., J. Infect. Dis., 61 : 196-201, 2008
- 4) David O. White, Frank J. Fenner : 医学ウイルス学, 近代出版, 1996, pp. 415-417

資料

平成21年度先天性代謝異常等のマス・スクリーニング

佐藤陽子,最上久美子,中島暁彦,大泉直子,
安孫子正敏,阿部恵子,工藤明子¹⁾

Mass Screening for Inborn Errors of Metabolism in Yamagata Prefecture (2009)

by Yoko SATO, Kumiko MOGAMI, Akihiko NAKAJIMA, Naoko OIZUMI,
Masatoshi ABIKO, Keiko ABE and Akiko KUDO

平成21年度(平成21年4月~22年3月)は9,826人について先天性代謝異常等6疾患の検査を実施した。スクリーニング検査陽性者延べ51人が,山形大学附属病院等で精密検査を受診した結果,先天性甲状腺機能低下症(クレチン症)の患者が10人,先天性副腎過形成症の患者が1名発見された。

Key Words: マス・スクリーニング, 先天性代謝異常症, 先天性甲状腺機能低下症,
先天性副腎過形成症, 糖代謝異常症

I はじめに

本県の先天性代謝異常等スクリーニング事業は,昭和52年10月より山形県先天性代謝異常検査等実施要綱に基づき,新生児のろ紙血によるマス・スクリーニング検査を行い,疾患を早期に発見することにより,後の治療とあいまって障害を予防することを目的として実施している。検査対象は,県内で出生したすべての新生児である。

現在,アミノ酸代謝異常症(フェニルケトン尿症,ホモシスチン尿症,メイプルシロップ尿症),糖代謝異常症(ガラクトース血症)および内分泌代謝異常症(クレチン症,先天性副腎過形成症)の6疾患について検査を行っている。

本報では平成21年度の検査実施状況について報告する。

II 検査実施方法および判定基準

6疾患の判定基準および検査方法を表1に示した。

検査方法は,フェニルケトン尿症,ホモシスチン尿症,メイプルシロップ尿症及びガラクトース血症は酵素法,クレチン症,先天性副腎過形成症はELISA法により実施した。クレチン症では甲状腺刺激ホルモン(TSH)と遊離サイロキシン(FT_4)を測定した。

TSHは栄研化学株式会社及びシーメンヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社のキットを,それ以外はシーメンヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社のキットを用いて測定した。

検査は,一次検査で判定基準値を超えたものについて二次検査を行い,二次検査の判定基準値を超えたものを再採取検査該当,あるいは即精密検査該当と判定した。なお,クレチン症,先天性副腎過形成症で即精密検査で即精密検査の判定基準値を超えた低出生体重児(以下低体重児)については,再採取検査,精密検査のいずれとするかを主治医に相談した。

再採取検査は,判定基準値を超えたものについて,精密検査該当とした。即精密検査と精密検査に該当した児は,山形大学附属病院等で精密検査を受診した。

III 結果

1 平成21年度の検査実施状況

平成21年度の検査実施状況を表2に示した。

初回検査の9,826人(低体重児:162人,1.6%)について

1)山形県子育て推進部子ども家庭課

一次検査を行った。その結果、一次検査の判定基準値を超えた 3,069 人(一次検査数の 31%)について二次検査を行い、393 人(一次検査数の 4.0%, うち低体重児: 125 人, 32%)が疑陽性となった。

疑陽性のうち 5 人が即精密検査該当(一次検査数の 0.05%, 疑陽性数の 1.3%, うち低体重児: 0 人)となり、3 人(一次検査数の 0.03%, 疑陽性数の 0.76%, 即精密検査数の 60%, うち低体重児: 0 人)が患者と診断された。なお、一次検査以外の計については、複数疾患に該当する児がいるため、延べ数である。

再採取検査は、疑陽性になった 382 人、及び低体重児、哺乳不良、不備検体について行った。その結果、精密検査該当者は 46 人(一次検査数の 0.47%, 疑陽性数の 12%, うち低体重児: 19 人, 41%)で、うち 9 人(一次検査数の 0.09%, 疑陽性数の 2.3%, 精密検査数の 20%, うち低体重児: 0 人)が患者と診断された。

即精密検査と精密検査該当の総数は延べ 51 人(一次検査数の 0.52%, 疑陽性数の 13%, うち低体重児: 19 人, 37%)であり、そのうち患者と診断された者は 12 人(一次検査数の 0.12%, 疑陽性数の 3.1%, 精密検査数の 24%, うち低体重児: 0 人)であった。

疑陽性数、精密検査数および患者数はクレチン症が多かった。

2 疾患別患者発見状況

本県における昭和 52 年 10 月から平成 22 年 3 月までの疾患別患者発見状況を、表 3 に示した。発見率の高い疾患は、全国と同様クレチン症であった。メイプルシロップ尿症については、全国でも発見率は約 50 万人に 1 人と低く、県内で患者は発見されていない。

3 精密検査の結果

精密検査該当者のスクリーニング検査結果及び精密検査結果を表 4 にまとめた。スクリーニング検査後に精密検査該当となった 48 人(実数)は、山形大学医学部附属病院等で精密検査を受診した。

精密検査結果では、クレチン症 10 人、先天性副腎過形成

症 1 人、また新生児バセドウ病 1 人、一過性のあるいは疑いのもの 23 人、特別な処理を要しないもの 8 人、その他疾患 3 名、死亡 2 名であった。

精密検査該当者への精密検査の受診勧奨については、当所より医療機関及び精密検査該当者の居住地を所管する保健所に依頼した。また、精密検査受診後の追跡調査を当所及び当該保健所で実施し、精密検査結果や治療経過等について追跡している。また、本事業の評価を行うため山形大学医学部小児科、保健所等の関係者の出席を得て先天性代謝異常等検査技術検討会を毎年 1 回開催している。

IV まとめ

- 1 平成 21 年度先天性代謝異常等検査実施件数は、9,826 人であり、そのうち疑陽性は 393 人であった。また、精密検査該当者は延べ 51 人であり、そのうち患者と診断されたものが 12 人であった。
- 2 疑陽性数、精密検査該当数はクレチン症が多く、患者数もクレチン症が多かった。
- 3 本県における昭和 52 年の本事業開始から平成 21 年度までのスクリーニング検査では、フェニルケトン尿症 8 人、ホモシスチン尿症 1 人、ガラクトース血症 19 人、クレチン症 163 人、先天性副腎過形成症 12 人、ヒスチジン血症 21 人の患者が発見された。

謝 辞

精密検査結果等について御教示いただいた山形大学医学部早坂清教授、並びに精密検査実施医療機関の山形大学医学部附属病院、山形県立中央病院、山形市立病院済生館、済生会山形済生病院、日本海総合病院、鶴岡市立荘内病院及び米沢市立病院の諸先生方また採血に御協力いただいた県内各医療機関の方々、並びに追跡調査に御協力いただいた村山、最上、置賜、庄内の各保健所の関係職員諸氏に深謝する。

表1 各種疾患の検査法と判定基準

疾患名	初 回 検 査				再採取検査 検査法と判定基準
	一次検査		二次検査		
	検査法	判定基準	検査法	判定基準	
フェニルケトン尿症	酵素法	Phe 2.5 mg/dl以上：二次検査	HPLC 法	Phe 3.0 mg/dl以上：再採血 6.0 mg/dl以上：即精検	初回検査と同じ
ホモシスチン尿症		Met 2.0 mg/dl以上：二次検査		Met 1.0 mg/dl以上：再採血 4.0 mg/dl以上：即精検	
メイプルシロップ尿症		Leu 8.0 mg/dl以上：二次検査		Leu 3.0 mg/dl以上：再採血 6.0 mg/dl以上：即精検	
ガラクトース血症		Gal + Gal-1-P 6 mg/dl以上：二次検査	酵素法 Gal-1-P 14 mg/dl以上：再採血 Gal 6 mg/dl以上：再採血 20 mg/dl以上：即精検		
			ポイトラー法	ウリジルトランスフェラーゼの有無	
クレチン症	ELISA 法	TSH 8 μU/ml以上または 上位5%タイル：二次検査	ELISA 法	ELISA 法による二重測定 TSH 10 μU/ml以上：再採血 30 μU/ml以上：即精検	
		FT ₄ 1.0 ng/dl 未満または 下位5%タイル及び 4.0 ng/dl 以上：二次検査		ELISA 法による二重測定 FT ₄ 1.0 ng/dl 未満または4.0 ng/dl 以上 ：再採血 0.5 ng/dl 未満または5.0 ng/dl 以上 ：即精検	
先天性副腎過形成症		17α-OHP(直接法) 3.5 ng/ml以上または 上位5%タイル：二次検査			17α-OHP(抽出法) 3.5ng/ml以上10ng/ml未満:再採血 10 ng/ml以上 成熟児：即精検 低体重児：再採血または即精検 (主治医に相談)

HPLC 法：高速液体クロマトグラフィー法
即精検：即精密検査(再採取検査せず)

表2 平成21年度先天性代謝異常等検査実施状況

疾患名	初回検査					再採取検査			患者数合計 ①+②	
	一次検査数	二次検査数	疑陽性数 (内低体重児 数)	即精密検査数	患者数 ①	検査数	精密検査数	患者数 ②		
フェニルケトン尿症	9,826(162)	4	0	0	0	0	0	0	0	
ホモシスチン尿症		58	0	0	0	0	0	0	0	
メイプルシロップ尿症		19	4 (0)	0	0	4 (0)	0	0	0	
ガラクトース血症		618	16 (0)	0	0	16 (0)	1 (0)	0	0	
クレチン症		641	112 (2)	3 (0)	TSH 0 FT ₄ 2(0) 両方 1(0)	TSH 0 FT ₄ 1(0) 両方 1(0)	111 (2)	36(16) TSH 10(2) FT ₄ 24(14) 両方 2(0)	9(0) TSH 5(0) FT ₄ 3(0) 両方 1(0)	11(0) TSH 5(0) FT ₄ 4(0)* 両方 2(0)
先天性副腎過形成症		1,041	126 (51)	2(0)	1(0)	123 (50)	9(3)	0	1(0)	
計	9,826(162)	3,069	393 (125)	5(0)	3(0)	382 (123)	46(19)*	9(0)	12(0)	

() は2000g未満の低体重児数
一次検査数以外の計は、複数疾患に該当するため延べ数
*:1名は甲状腺機能亢進症

表3 疾患別患者発見状況

疾患名		山形県 ¹⁾			全国 ²⁾	
		検査実人員数	患者発見数	発見率	患者発見数	発見率
(A) 代謝異常	フェニルケトン尿症	441, 717	8	1/55, 200	541	1/ 74, 400
	ホモシスチン尿症		1	1/441, 700	194	1/207, 500
	メイプルシロップ尿症		0	0	80	1/503, 200
	ガラクトース血症		19	1/23, 200	1, 102	1/ 36, 500
(B)	クレチン症	405, 405	163	1/2, 500	11, 255	1/ 3, 300
(C)	先天性副腎過形成症	237, 108	12	1/19, 800	1, 453	1/ 16, 700

注1) 山形県 (A) 昭和52年10月から平成22年3月までの累計
 (B) 昭和54年12月から平成22年3月までの累計
 (C) 平成2年1月から平成22年3月までの累計
 2) 全国 (A) 昭和52年4月から平成21年3月までの累計
 (厚生労働省資料より抜粋) (B) 昭和54年4月から平成21年3月までの累計
 (C) 昭和63年4月から平成21年3月までの累計

* ヒスチジン血症は、山形県では昭和52年10月から平成4年8月31日まで、240,527人検査を実施し21人(発見率 1/11,500)の患者を発見。
 ヒスチジン血症については、無治療で正常な発育を示す事が明らかにされたことから、国の「先天性代謝異常検査等実施要綱」の検査対象疾病から削除され(平成4年8月26日児発第764号厚生省児童家庭局長通知)、本県においても平成4年9月より検査対象疾病より除かれた。

表4 精密検査等の結果

症例	検体番号	性別	出生体重(g)	管轄保健所	採血日及びびスクリーニング検査結果		疾患
					初回検査	再採取検査	
1	345	男	2486	置賜	2009/4/11 TSH 20.3 FT4 1.08	2009/4/19 TSH 26.1 FT4 1.29	クレチン症(軽症)
2	988	女	2758	庄内	2009/5/4 17α-OHP 直 14.0 抽 14.7	即精密検査	異常なし
3	1472	男	2764	庄内	2009/5/25 TSH 25.2 FT4 2.12	2009/6/1 TSH 13.8 FT4 1.58	TSH不応症(疑)
4	1488	女	641	村山	2009/5/26 TSH 3.0 FT4 0.58 17α-OHP 直 29.5 抽 12.2	2009/6/8 TSH 2.7 FT4 0.69 17α-OHP 直 20.2 抽 7.7	正常
5	1986	男	3216	庄内	2009/6/12 TSH 0.4 FT4 10.32	即精密検査	新生児バセドウ病
6	1399	男	2102	村山	2009/5/22 TSH 1.0 FT4 0.90	2009/6/15 TSH 1.2 FT4 0.90	正常
7	1354	男	1950	村山	2009/5/20 TSH 2.5 FT4 1.50 低出生体重のため再採血	2009/6/23(3回目) TSH 2.0 FT4 0.98	正常
8	1828	女	2834	村山	2009/6/7 17α-OHP 直 8.9 抽 6.5	2009/6/18 17α-OHP 直 10.3 抽 5.1	一過性17OHP血症
9	2239	男	3036	置賜	2009/6/21 17α-OHP 直 6.5 抽 3.9	2009/6/30 17α-OHP 直 6.1 抽 3.6	一過性高17OHP血症
10	1757	男	1794	村山	2009/6/6 TSH 1.6 FT4 1.14 低出生体重のため再採血	2009/7/3(3回目) TSH 1.6 FT4 0.86	正常
11	2231	男	2930	庄内	2009/6/20 TSH 14.9 FT4 1.25	2009/7/3(3回目) TSH 9.4 FT4 0.92	一過性甲状腺機能低下症
12	2594	女	3626	村山	2009/7/6 TSH 11.5 FT4 1.55	2009/7/10 TSH 17.4 FT4 1.56	クレチン症
13	2988	男	3014	庄内	2009/7/17 17α-OHP 直 13.0 抽 4.4	2009/7/25 17α-OHP 直 10.4 抽 3.8	一過性高17OHP血症
14	3475	女	2825	置賜	2009/8/4 17α-OHP 直 79.0 抽 74.5	即精密検査	21水酸化酵素欠損症
15	3668	男	2388	置賜	2009/8/11 17α-OHP 直 5.2 抽 3.7	2009/8/17 17α-OHP 直 10.7 抽 5.7	一過性高17OHP血症
16	1896	女	1454	置賜	2009/6/10 TSH 1.5 FT4 0.42 哺乳開始2日目採血	2009/8/21(3回目) TSH 1.3 FT4 0.72	クレチン症疑 (一過性甲状腺機能低下症)
17	3864	男	2990	置賜	2009/8/18 TSH 16.2 FT4 1.40	2009/8/24 TSH 12.6 FT4 1.90	甲状腺機能低下症
18	3981	女	2208	置賜	2009/8/24 TSH 1.4 FT4 0.69	2009/9/17 TSH 2.5 FT4 0.94	低出生体重児
19	4916	男	3082	村山	2009/9/24 TSH 13.7 FT4 1.92	2009/9/30 TSH 14.6 FT4 1.66	一過性高TSH血症
20	4888	女	2104	置賜	2009/9/21 TSH 1.9 FT4 1.08 哺乳不良のため再採血	2009/10/15(3回目) TSH 2.8 FT4 0.83	中枢性甲状腺機能低下症

症例	検体番号	性別	出生体重(g)	管轄保健所	採血日及びスクリーニング検査結果		疾患
					初回検査	初回検査	
21	4936	男	2772	庄内	2009/9/22 17 α -OHP 直 5.5 抽 3.8	2009/10/15 (3回目) 17 α -OHP 直 7.9 抽 4.4	一過性高 17 α -OHP 血症
22	5828	男	2938	村山	2009/10/28 TSH 2.0 FT4 0.47	即精密検査	一過性高 TSH 血症
23	5714	女	1736	庄内	2009/10/22 TSH 1.3 FT4 0.71	2009/10/29 TSH 0.7 FT4 0.86	新生児一過性甲状腺機能低下症
24	5854	男	3334	置賜	2009/10/28 TSH 1.7 FT4 0.84	2009/11/11 (3回目) TSH 1.0 FT4 0.93	中枢性甲状腺機能低下症 (疑)
25	6071	男	3120	村山	2009/11/6 TSH 3.4 FT4 0.71	2009/11/12 TSH 5.0 FT4 0.75	中枢性甲状腺機能低下症 (疑)
26	6158	男	2676	置賜	2009/11/8 TSH 10.6 FT4 1.72	2009/11/17 TSH 12.2 FT4 1.36	一過性高 TSH 血症 (疑)
27	6292	男	2622	置賜	2009/11/14 TSH 13.8 FT4 1.35	2009/11/20 TSH 13.6 FT4 1.41	クレチン症
28	6703	女	1740	庄内	2009/11/30 TSH 1.3 FT4 0.86	2009/12/7 TSH 1.7 FT4 0.96	新生児一過性甲状腺機能低下症
29	6780	女	2880	村山	2009/12/6 TSH 12.2 FT4 1.35	2009/12/9 TSH 17.6 FT4 1.66	クレチン症
30	6732	男	3218	庄内	2009/12/1 Gal 1.2 G-1-P 24.8	2009/12/9 Gal 0.7 G-1-P 15.4	ガラクトース血症疑
31	6862	男	3055	庄内	2009/12/6 TSH 11.5 FT4 2.79	2009/12/14 TSH 27.2 FT4 0.94	一過性高 TSH 血症
32	6367	女	1694	庄内	2009/11/16 TSH 1.9 FT4 0.66	2009/12/15 (3回目) TSH 1.4 FT4 0.79	一過性甲状腺機能低下症 (疑)
33	7173	女	3664	庄内	2009/12/19 TSH 87.9 以上 FT4 0.50	即精密検査	クレチン症
34	5735	女	792	置賜	2009/10/26 TSH 1.6 FT4 0.45 17 α -OHP 直 25.8 抽 8.8	2009/12/14 (3回目) TSH 1.0 FT4 0.82 17 α -OHP 直 12.5 抽 4.2	超低出生体重児
35	5885	男	348	村山	2009/10/30 TSH 2.8 FT4 0.47	2010/1/18 (3回目) TSH 10.5 FT4 1.16	先天性甲状腺機能低下症 (疑)
36	6412	女	1712	村山	2009/11/19 TSH 1.2 FT4 1.14 低出生体重のため再採血	2010/1/20 (3回目) TSH 0.2 FT4 0.81	染色体異常 46, xx, add(4)(p16)
37	7932	男	2806	村山	2010/1/18 TSH 1.7 FT4 0.89	2010/1/25 TSH 2.5 FT4 0.78	Septo-optic dysplasia に伴う 中枢性甲状腺機能低下症
38	7376	女	2370	最上	2009/12/28 TSH 2.0 FT4 0.91	2010/1/29 TSH 0.4 FT4 0.80	甲状腺機能低下症 (クレチン症)
39	8354	女	2598	置賜	2010/2/2 TSH 0.6 FT4 0.96	2010/2/9 TSH 3.2 FT4 0.60	先天性水頭症 脳形成障害
40	8775	男	2788	庄内	2010/2/17 17 α -OHP 直 8.2 抽 5.2	2010/2/21 17 α -OHP 直 11.2 抽 5.3	170HP 高値
41	7964	男	2006	村山	2010/1/19 TSH 2.9 FT4 0.62	2010/3/10 (3回目) TSH 1.9 FT4 0.53	死亡
42	8928	女	604	庄内	2010/2/24 TSH 2.6 FT4 0.77 17 α -OHP 直 77.7 抽 38.2	2010/3/29 TSH 1.1 FT4 0.88 17 α -OHP 直 45.1 抽 24.6	新生児一過性甲状腺機能低下症 及び未熟性による副腎機能障害 が疑われる
43	9810	男	3062	村山	2010/3/27 TSH 15.3 FT4 1.63	2010/4/7 TSH 13.5 FT4 0.81	クレチン症
44	8542	女	1568	庄内	2010/2/10 TSH 0.7 FT4 0.51 哺乳不良のため再採血	2010/4/13 (4回目) TSH 1.5 FT4 0.46	18 トリソミー 死亡
45	9026	男	1060	村山	2010/3/1 TSH 0.9 FT4 0.79	2010/4/20 (3回目) TSH 2.0 FT4 0.91	正常
46	9107	男	1286	村山	2010/3/3 TSH 4.4 FT4 1.30 低出生体重のため再採血	2010/4/26 (3回目) TSH 10.2 FT4 1.19	21 トリソミー
47	8797	男	1280	庄内	2010/2/19 TSH 1.1 FT4 0.70	2010/4/26 (3回目) TSH 5.5 FT4 0.86	新生児一過性甲状腺機能低下症 (疑)
48	6147	男	868	庄内	2009/11/6 TSH 2.6 FT4 0.56	2010/7/14 (4回目) TSH 1.0 FT4 0.76	一過性甲状腺機能低下症

単位：TSH μ IU/ml FT4 ng/dl 17 α -OHP ng/ml G-1-P mg/dl Gal mg/dl

抄 録

1 他誌掲載論文

Importation of the evolving measles virus genotype D9 to Yamagata, Japan, from Thailand in 2009.

Aoki Y., Mizuta K., Suto A., Ikeda T., Abiko C., Yamaguchi I., Miura K., and Ahiko T.

Jpn.J.Infect.Dis.62:481-482,2009.

抄録なし

Phylogenetic analysis of human bocavirus (HBoV) detected from children with acute respiratory infection in Japan.

Hishinuma-Igarashi I., Mizuta K., Saito Y., Ohuchi Y., Noda M., Akiyama M., Sato H., Tsukagoshi H., Okabe N., Tashiro M., and Kimura H.

抄録なし

Cross-antigenicity among EV71 strains from different genogroups isolated in Yamagata, Japan, between 1990 and 2007.

Mizuta K., Aoki Y., Suto A., Ootani K., Katsushima N., Itagaki T., Ohmi A., Okamoto M., Nishimura H., Matsuzaki Y., Hongo S., Sugawara K., Shimizu H. and Ahiko T.

Vaccine 27:3153-3158,2009.

We isolated and identified six subgenogroups (B2, B4, B5, C1, C2, and C4) of enterovirus 71 (EV71) between 1990 and 2007 in Yamagata, Japan. We measured neutralizing antibody (NT Ab) titers against those subgenogroup strains and the BrCr reference strain for antigenic analysis. Serological analysis of 83 residents in Yamagata in 2004 showed that differences in the NT Ab titer of each individual against the different subgenogroups were mostly within 4-fold. Furthermore, sera from guinea pigs, immunized with the B2 and C1 strains indicated cross-antigenicity among the seven different subgenogroups. In conclusion, our results showed that cross-antigenicity exists among EV71 strains from different subgenogroups circulating in the community through genomic evolution. Our results also suggest that eliciting neutralizing antibodies against one genotype is likely to confer cross-neutralization against other genotypes.

Development of assay for the detection and quantitation of measles virus nucleoprotein (N) gene using real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR)

Akiyama M., Kimura H., Tsukagoshi H., Taira K., Mizuta K., Saitoh M., Nagano M., Sutoh A., Noda M., Morita Y., Sakatsume O., Okabe N. and Tashiro M.
J.Med.Microbiol. 58(Pt 5):638-43,2009

We developed a new quantification method for the measles virus (MeV) nucleoprotein (N) gene using real-time reverse transcriptase PCR. This method allowed us to quantify $10(1)$ - $10(7)$ copies per reaction (corresponding to $5 \times 10(1)$ - $5 \times 10(5)$ copies $\mu\text{l}(-1)$) of the MeV N gene. We also quantified the MeV N gene from the throat swabs of 22 patients with measles as well as the MeV genotypes A, D3, D5, D9 and H1 in viral suspensions derived from MeV-infected cells. As a result, $3.9 \times 10(3)$ - $5.2 \times 10(6)$ copies $\text{ml}(-1)$ and $7.4 \times 10(7)$ - $2.0 \times 10(8)$ copies $\text{ml}(-1)$ of the MeV genomes (N gene) were detected in the throat swabs and viral suspensions, respectively. No other viruses (enteroviruses, respiratory syncytial virus, human metapneumovirus or mumps virus) were detected in the assay. The results suggest that this method is applicable to the detection and quantification of some genotypes of MeV.

Evaluation of a new rapid antigen test using immunochromatography for detection of human metapneumovirus in comparison with real-time PCR assay.

Matsuzaki Y., Takashita E., Okamoto M., Mizuta K., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Nagai Y., and Nishimura H.
J.Clin.Microbiol.47:2981-2984,2009.

A new rapid human metapneumovirus (hMPV) detection kit using immunochromatography (SAS hMPV test) was compared to real-time PCR for 224 nasal swab specimens, 96.4% of which were obtained from children of <15 years of age. The overall sensitivity and specificity were 82.3% and 93.8%, respectively, suggesting that this test is useful for pediatricians to diagnose hMPV infection in a clinical setting.

Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan

Mizuta K., Hirata A., Suto A., Aoki Y., Ahiko T., Itagaki T., Tsukagoshi H., Morita Y., Obuchi M., Akiyama M., Okabe N., Noda M., Tashiro M., and Kimura H.

Virus Res.147:265-274.

We performed phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from 76 children with acute respiratory infection in Yamagata prefecture, Japan during the period 2003-2007. Phylogenetic trees based on the nucleotide and amino acid sequences of the VP4/VP2 coding region showed that the present strains could be classified into 11 and 8 clusters, respectively. The homology among the present strains ranged from 66.6% to 100% at the nucleotide level and 84.7% to 100% at the amino acid level. The interspecies distance (mean \pm standard deviation) was calculated to be 0.235 \pm 0.048 at the nucleotide level and 0.076 \pm 0.033 at the amino acid level. In addition, the phylogenetic trees created based on the nucleotide and amino acid sequences showed that HRV-A strains belonging to some clusters were associated with both upper respiratory infection and wheezy bronchiolitis, while other strains were associated with upper respiratory infection alone. These results suggest that the present HRV-A isolates had a wide nucleotide divergence and were associated with acute respiratory infection, including upper respiratory infection and wheezy bronchiolitis, in Yamagata prefecture, Japan during the investigation period.

山形県で発生した Shimokoshi 型リケッチア感染によるつつが虫病の 1 例

大谷勝実, 金子紀子, 青木敏也, 藤田博己

Med.Entomol.Zool.60:317-321,2009

We reported a case of tsutsugamushi disease occurring in Yamagata Prefecture in Nov,2007. A 70-year old man was admitted to the hospital for fever (38.9°C), skin rash, and an eschar on his neck. Laboratory examination of serum taken 14 days after onset of the illness showed elevated titers of antibodies against the Shimokoshi strain of *Orientia tsutsugamushi* (IgG:1:2,560;IgM:1:5,120). The gene encoding the 56-kDa-protein specific for *O.tsustugamushi* was detected by PCR from the patient's blood. Further sequence analysis of the PCR product (1,768 bp-fragment including ORF region) revealed 99.4%, and 98.5% similarities to the Shimokoshi strain (Accession No:M63381) at the nucleotide and amino acid levels, respectively. Therefore, a very rare case of Shimokoshi-type tsutsugamushi disease was found in Yamagata Prefecture. Identification of the trombiculid species of vectors for this type of tsutsugamushi disease is needed in the future.

山形県で発生した Kawasaki 型つつが虫病

大谷勝実, 金子紀子, 青木敏也, 村田敏夫

感染症学雑誌 83:496-499,2009

1999 年から2006 年の間に, 山形県において95 例のつつが虫病患者の発生があったが, そのうちの4 例が Kawasaki 型 *Orientia tsutsugamushi* 感染によるつつが虫病であることを確認した. これら4 例とも女性で, 発病日は10 月中旬から11 月初旬であった. 刺し口, 発疹, 発熱が共通して認められた. 間接蛍光抗体法による抗体価はKawasaki 型抗原に対してIgG, IgM とも各症例で上昇が認められた. IgG に比べIgM の明らかな上昇がみられた. 4 例中3 例で, *O. tsutsugamushi* の56kDa タンパクをコードする遺伝子がnested PCRで検出された. 型別PCR ではKawasaki 型の増幅産物が得られた. このうちの2 例について, nested PCR産物のダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した. 塩基配列はKawasaki 株 (Accession number :M63383) と99.8% 一致した. 関東以西で主流のKawasaki 型によるつつが虫病が東北地方の山形県においても存在することが確認された.

Development and evaluation of whole virus-based enzyme-linked immunosorbent assay for detection of human metapneumovirus antibodies in human sera.

Okamoto M., Sugawara K., Takashita E., Muraki Y., Hongo S., Mizuta K., Itagaki T.,
Nishimura H., and Matsuzaki Y.

J.Virol.Methods. 164:24-29,2010

We developed a new quantification method for the measles virus (MeV) nucleoprotein (N) gene using real-time reverse transcriptase PCR. This method allowed us to quantify $10(1)$ - $10(7)$ copies per reaction (corresponding to $5 \times 10(-1)$ - $5 \times 10(5)$ copies $\mu\text{mol}(-1)$) of the MeV N gene. We also quantified the MeV N gene from the throat swabs of 22 patients with measles as well as the MeV genotypes A, D3, D5, D9 and H1 in viral suspensions derived from MeV-infected cells. As a result, $3.9 \times 10(3)$ - $5.2 \times 10(6)$ copies $\text{ml}(-1)$ and $7.4 \times 10(7)$ - $2.0 \times 10(8)$ copies $\text{ml}(-1)$ of the MeV genomes (N gene) were detected in the throat swabs and viral suspensions, respectively. No other viruses (enteroviruses, respiratory syncytial virus, human metapneumovirus or mumps virus) were detected in the assay. The results suggest that this method is applicable to the detection and quantification of some genotypes of MeV.

A two-year survey of the oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) virus in Yamagata, Japan and the clinical effectiveness of oseltamivir and zanamivir

Matsuzaki Y., Mizuta K., Aoki Y., Suto A., Abiko C., Sanjoh K., Sugawara K., Takashita E., Itagaki T., Katsushima Y., Ujike M., Obuchi M., Odagiri T., and Tashiro M.

Virology J. 7:53,2010.

BACKGROUND: Oseltamivir is the preferred antiviral drug for influenza, but oseltamivir-resistant A(H1N1) viruses have circulated worldwide since the 2007-2008 influenza season. We aimed to determine the rate of oseltamivir resistance among A(H1N1) isolates from Yamagata, Japan, to compare the virological characteristics between isolates from the 2007-2008 and 2008-2009 seasons, and to evaluate the clinical effectiveness of oseltamivir.

RESULTS: Oseltamivir resistance, determined by detecting the H275Y mutation in the neuraminidase (NA) gene, was observed in 2.5% (2 of 79) and 100% (77 of 77) of isolates from the 2007-2008 and 2008-2009 seasons, respectively. Antigenic analysis suggested that antigenically different variants of A(H1N1) viruses circulated in the 2008-2009 season. Growth testing demonstrated that the ability of the 2008-2009 isolates to replicate in MDCK cells was similar to those of the oseltamivir-susceptible isolates from the 2007-2008 season. A phylogenetic analysis revealed that two oseltamivir-resistant viruses isolated in the 2007-2008 season were closely related to other oseltamivir-susceptible viruses in Yamagata but were different from oseltamivir-resistant viruses isolated in Europe and North America in the 2007-2008 season. The oseltamivir-resistant viruses isolated in Japan in the 2008-2009 season were phylogenetically similar to oseltamivir-resistant isolates from Europe and North America during the 2007-2008 season. Furthermore, the median duration of fever after the start of oseltamivir treatment was significantly longer in oseltamivir-resistant cases (2 days; range 1-6 days) than in oseltamivir-susceptible cases (1.5 days; range 1-2 days) ($P = 0.0356$).

CONCLUSION: Oseltamivir-resistant A(H1N1) isolates from Yamagata in the 2007-2008 season might have acquired resistance through the use of oseltamivir, and the 2008-2009 oseltamivir-resistant isolates might have been introduced into Japan and circulated throughout the country. Influenza surveillance to monitor oseltamivir-resistance would aid clinicians in determining an effective antiviral treatment strategy.

Duration of norovirus excretion and the longitudinal course of viral load in norovirus-infected elderly patients.

Aoki Y., Suto A., Mizuta K., Ahiko T., Osaka K., and Matsuzaki Y.

J.Hosp.Infect. 75:42-46,2010

To prevent dissemination of norovirus in semiclosed environments such as aged-care facilities, it is important to know the period of infectivity in norovirus-infected individuals. We recruited 13 elderly patients aged 60-98 years with norovirus gastroenteritis (11 residents in aged-care facilities and two healthy adults) for this study, and measured the viral loads for norovirus in a total of 63 follow-up faecal samples using a real-time quantitative polymerase chain reaction assay. The average period of norovirus excretion was 14.3 days (range: 9-32 days; median: 13 days). All of the follow-up samples collected between 7 and 10 days after the onset of symptoms tested positive. Viral loads in samples collected between 14 and 18 days after the onset of symptoms were divided into three groups: those testing negative, those with $<10^4$ copies/g stool, and those with $>10^4$ copies/g stool. Stools from the group with $<10^4$ copies/g stool were found to be negative for norovirus up to 21-24 days after the onset of symptoms; however, the group with $>10^4$ copies/g stool showed prolonged norovirus excretion (up to 32 days) in stools. Although the period of infectivity of excreted viruses has not yet been clarified, these results suggest that careful attention should be taken for at least 14 days after the onset of symptoms and that the measurement of viral load in stools around 16 days after onset might be a useful method for following the course of viral shedding for each patient infected with norovirus.

Characterization of *Legionella pneumophila* isolates from patients in Japan according to serogroups, monoclonal antibody subgroups, and sequence types.

Junko Amemura-Maekawa,¹ Fumiaki Kura,¹ Jürgen H. Helbig,² Bin Chang,¹ Akiko Kaneko,³ Yuko Watanabe,⁴ Junko Isobe,⁵ Masafumi Nukina,⁶ Hiroshi Nakajima,⁷ Kimiko Kawano,⁸ Yuki Tada,⁹ Haruo Watanabe,¹ and the Working Group for *Legionella* in Japan[#]

Journal of Medical Microbiology. 59:653-659,2010

We collected 86 unrelated clinical *Legionella pneumophila* strains that were isolated in Japan during the period 1980-2008. Most (80.2%) belonged to serogroup 1, followed by serogroups 5, 3 and 2. Interestingly, the patients with *L. pneumophila* serogroup 1 had a significantly higher male-to-female ratio (12.4) than the patients with other *L. pneumophila* serogroups (2.0) (OR, 10.5; 95% CI, 2.5-44.5). When the serogroup 1 strains were analysed by monoclonal antibody (mAb) typing, the most prevalent subgroup was Benidorm

(34.9% of all isolates). Moreover, 79.7% of the serogroup 1 isolates were bound by mAb 3/1, which recognizes the virulence-associated epitope. When all 86 isolates were subjected to sequence-based typing (SBT) using seven loci, they could be divided into 53 sequence types (STs). The ST with the most isolates (seven) was ST1, to which most isolates from patients and environments around the world belong. However, six of the seven ST1 isolates were isolated before 1994. Other major STs were ST306 (n=6), ST120 (n=5) and ST138 (n=5). All ST306 and ST138 isolates, except for one isolate (ST306), were suspected or confirmed to be derived from bath water, which suggests that these strains prefer bath habitats. The sources of all ST1 and ST120 isolates remain unclear. By combining the SBT and mAb data, the 86 isolates could be divided into 59 types (discrimination index, 0.984). This confirms the usefulness of this combination in epidemiological studies.

自然毒食中毒の防止と公的責任

阿彦忠之, 笠原義正

公衆衛生, 73(5):353-356, 2009

植物性自然毒による食中毒は同じ植物による事例が繰り返されており, 食文化との関連で原因植物の種類には地域的な特徴が見られるので, 各地域の公衆衛生機関が危機管理の一環として, 中毒事例に関する情報を収集分析し, その結果に基づく予防方法の提案や啓発資料の作成, および人材育成などに取り組むことが重要である. 国内における最近の植物毒中毒事例の要因や特徴を概観した上で植物毒中毒を防止するための公的施策のあり方を提案する.

LC/MS/MS によるツキヨタケおよび食中毒原因食品の illudin S の分析

笠原義正, 伊藤健

食品衛生学雑誌, 50:167-172, 2009

LC/MS/MS を用いてツキヨタケおよびその食中毒原因食品に含まれる illudin S の定量法を開発した. 試料をメタノールで抽出し, Oasis HLB を用いて精製し, LC のカラムには Inertsil ODS-3 を使用し, 移動相には 0.1% ギ酸-メタノール (7:3) を用いた. MS/MS の条件は ESI ポジティブモード, 測定は MRM モードで行った. 本法では他のキノコに添加した場合の illudin S の回収率は 84~94% で, 検出限界は 0.08~0.10 $\mu\text{g/g}$ であった. 食中毒原因食品から illudin S の測定は可能であり, 食中毒食品を想定したキノコ汁については illudin S の回収率は 74.8% であった. 本法はツキヨタケおよび食中毒原因食品中の illudin S の分析に有用な方法である.

**Antioxidant and neuroprotective activities of Mogami-benibana (Safflower,
Carthamus tinctorius Linne)**

M., Hiramatsu, T., Takahashi, M., Komatsu, T., Kido, Y., Kasahara
Neurochem. Res. 34:795-805, 2009

Free radical scavenging activity of the extracts of petals (bud, early stage, full blooming and ending stage), leaf, stem, root and seeds of Mogami-benibana (safflower, *Carthamus tinctorius* Linne), the contents of the major active components of carthamin and polyphenols, and neuroprotective effect of the petal extracts and carthamin in the brain of mice and rats were examined. Water extracts of Mogami-benibana petals scavenged superoxide, hydroxyl and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radicals and singlet oxygen. The scavenging activities of the extract of safflower petals with various colors showed the order of orange, yellow and white from high to low. This order is consistent with the contents of carthamin, which is a pigment of orange color and is found highest in orange petals and lowest in white petals. There was also a relationship between DPPH radical scavenging activity and carthamin content in the petal extracts of safflower. The neuroprotective effects were examined in cellular and animal models. Mogami-benibana petal extract inhibited glutamate-induced C6 glia cell death, significantly decreased the formation of malondialdehyde in mouse cerebrum, and inhibited the increase in thiobarbituric acid reactive substances and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) in the cerebral cortex of rats subjected to an injection of FeCl₃ solution into the sensory motor cortex. Carthamin showed similar effects in inhibiting 8-OHdC by the petal extract in rats. These results suggest that the petal extract of Mogami-benibana has free radical scavenging activity and neuroprotective effect and carthamin is one of the major active components.

2 学会発表

東北地域で分離されたライノウイルスの分子疫学

平田明日美, 水田克巳, 五十嵐郁美, 秋山美穂, 木村博一, 岡部信彦, 野田雅博, 田代真人
第 50 回日本臨床ウイルス学会, 2009 年 6 月, 高知市

【目的】

最近, ライノウイルス (HRV) は, 喘息の発症あるいは増悪に密接に関与することが示唆され, 再び着目されつつある. しかし, HRV は血清型および遺伝子型が非常に多いことなどから, このウイルスの分子疫学調査は十分に行われていない. 今回, 東北地域 (山形県・福島県) で分離された HRV の VP4-2 遺伝子の分子疫学解析を行った結果, 若干の知見を得たので報告する.

【材料と方法】

2001~07 年に山形県および福島県で分離された HRV 計 91 株を用い, 常法により VP4-2 遺伝子を RT-PCR 法で増幅後, 増幅産物の塩基配列解析および近隣結合法による系統解析を行った.

【結果および考察】

VP4-2 遺伝子系統樹解析により, 分離株 91 株のうち, 90 株が遺伝子群 A (HRV-A), 1 株が遺伝子群 B (HRV-B) に分類された. 系統樹上, HRV-A はさらに多数のクラスターに分類された. また, 各クラスターのウイルスと患者の年齢, 疾患名, 検体採取年および検体採取時期には有意な相関が見られなかった. 以上の結果から, 2001~07 年に東北地域 (山形県・福島県) で分離されたウイルスは, その多くが HRV-A であり, 季節や患者の年齢などに関係なく, 多彩な遺伝子型の HRV が流行していたことが示唆された.

なお, 本研究は, 厚労省新興再興感染症研究事業「ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベランスシステムの検討」により行われた.

最近検出されたヒトボカウイルス (HBoV) の分子疫学

五十嵐郁美, 水田克巳, 大内好美, 田中千香子, 齋藤義弘, 秋山美穂, 木村博一, 岡部信彦,
野田雅博, 田代真人

第 50 回日本臨床ウイルス学会, 2009 年 6 月, 高知市

【目的】

ヒトボカウイルス (Human bocavirus, HBoV) は 2005 年スウェーデンの急性呼吸器感染症 (ARI) 患者から発見された新興ウイルスである. その後, HBoV は本邦を含む世界各国の ARI 患者から検出されている. 今回, 過去約 2 年間に国内 (山形県, 福島県, 東京都および滋賀県) で検出された HBoV の分子疫学調査を行った結果若干の知見を得たので報告する.

【材料及び方法】

2007年1月から2008年10月まで間に、各都県感染症発生動向調査事業等にて採取・収集された(鼻・咽頭拭い液 ARIs 患者由来 701 検体)を材料とした。HBoV 遺伝子は、常法によって増幅後、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、DDBJ の BLAST により相同性解析を行った。また、検出された HBoV の一部の株について全領域シーケンスを行うとともに系統樹解析を行った。さらに、細胞培養法による他のウイルス分離も試みた。

【結果と考察】

呼吸器症状 701 検体のうち 14 検体(2%)から HBoV 遺伝子が増幅・検出された。これらのすべての株は、シーケンス解析後、BLAST 検索では HBoV と相同性が非常に高かった。7 株の全領域シーケンスの系統樹解析の結果、6 株が group1、1 株が group2 に分類された。HBoV が検出されたのは、0~2 歳までの乳幼児で、検出時期は 4 月から 6 月であった。なお、今回の試料において、細胞培養法では、HBoV 以外の ARIs の原因となるウイルスは分離されなかった。現在のところ、HBoV の病原性や感染後の詳細な臨床症状に関する知見が十分に得られていないのが現状である。したがって、今後、HBoV の検索のみならず、他の臨床ウイルス学的な知見の蓄積が必要と考えられる。

本研究は厚生労働省新興再興感染症事業「ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討」により行われた。

レジオネラ症患者等から分離された *Legionella pneumophila* の VNTR による解析

大谷勝実, 金子紀子, 瀬戸順次, 邵力, 深尾彰

第 58 回東北公衆衛生学会, 2009 年 7 月, 秋田市

【目的】 レジオネラ症患者の感染源を特定するため患者分離株と、患者が暴露を受けたと考えられる環境分離株との比較を行い、その一致性をみる必要がある。菌株の一致性をみる手法として、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) が広く用いられている。しかし、PFGE は特殊な機器を必要とし時間や費用のかかる欠点がある。今回、レジオネラ症患者分離株等を対象に Variable number tandem repeat (VNTR) による型別を行いその有用性について検討した。

【対象と方法】 平成 12 年から平成 20 年の間に山形県で発生したレジオネラ症患者から分離された 13 株の *Legionella pneumophila* (Lp) 血清群 (SG) 1。平成 14 年に患者発生があった 2 事例の疫学調査で環境水から分離された 6 株の LpSG1。PFGE は制限酵素 *Sfi* I を用いて実施した。VNTR は Pourcel らの報告に示された 10 種類のプライマーセットを用い、<http://bacterial-genotyping.igmors.u-psud.fr/> のプロトコールに準じて実施した。また、患者喀痰検体の PCR で *mip* 遺伝子が検出された 13 検体の試料を用い VNTR を試みた。

【結果】 患者から分離された 13 株は PFGE でそれぞれ異なる切断パターンを示した。VNTR では 13 株が 11 種のプロファイルに型別された。また、疫学調査から暴露を受けたと考えられる温泉からの分離株において、PFGE 及び VNTR で患者分離株と型の一致する株が確認された。患者喀痰試料の VNTR をプライマーセット Lpms1_b で試みたところ 13 検体中 12 検体で目的のバンドが確認された。その内 Lp 株が分離された 7 検体の repeat 数は菌株で実施した VNTR の結果と同一の repeat 数であった。

【考察】PFGE は菌株の型別能に優れ、再現性も高いことから細菌感染症の分子疫学解析に広く用いられている。VNTR は結核菌では分子疫学的手法として認知されているが、Lp の VNTR は我が国においてはまだほとんどなされていない。今回、VNTR により患者から分離された 13 株の LpSG1 を 11 種のプロファイルに型別できた。実施した例数は少ないが Lp に対し VNTR は PFGE に近い型別能を有するものと思われた。VNTR は PCR が行える施設であれば実施可能であり、レジオネラ症発生時における分子疫学解析の有力な手法になると考えられた。また、Lp 株の患者からの分離は困難なことが多く、喀痰などの臨床材料から直接 VNTR を行い、感染源調査に役立てられる可能性が示唆された。

【参考】Pourcel C, et al.: J Clin Microbiol. 2007; 45, 1190-9.

山形県における春のつつが虫病患者数と気象の関係

瀬戸順次, 金子紀子, 邵力, 大谷勝実, 深尾彰

第 58 回東北公衆衛生学会, 2009 年 7 月, 秋田市

はじめに: 山形県では平成元年～20 年に 208 人のつつが虫病患者が発生しており, うち 4～6 月の患者数は 169 人と全体の 80%強を占めているが, 毎年の発生数は一定ではない。このことについて, 山形県において主につつが虫病を媒介するフトゲツツガムシの生態(夏～秋にかけて産卵・孵化後, 幼虫が一部越冬して翌春にヒトへ吸着する)が患者数の増減に関連していると考え, 生態に影響を与える気象因子とつつが虫病患者数との関係を解析した。

方法: 平成元年～20 年, 4～6 月における山形県のつつが虫病患者数を従属変数とした。独立変数は, ①前年 7 月～当年 6 月の月平均気温, ②前年 11 月～当年 4 月の月降雪量合計, ③前年 11 月～当年 4 月の月最深積雪量, ④春の生物季節(山形地方気象台データ)を用いた。なお, ①は山形県内 20 気象観測地点, ②, ③については 13 地点の平均値を使用した。解析には SPSS 12.0 を用い, 2 変量の相関を算出した。

結果: 5%水準で有意であった独立変数は, 前年 7 月平均気温 (Pearson の相関係数 0.473), 前年 8 月平均気温 (同 0.682), ツバキ開花日 (同 0.461), 前年 12 月最深積雪量 (Spearman の相関係数 0.479) であった。

考察: つつが虫病患者数と前年 7 月もしくは 8 月の月平均気温が正の相関を示したが, この時期はフトゲツツガムシの産卵の時期と重なる。Takahashi ら[1]は, フトゲツツガムシは 23～25℃で産卵し, 20℃未満あるいは 30℃より高い気温では産卵しなかったとしており, 7, 8 月の気温が低いと産卵数が減り, 結果翌春の患者数が減少するものと考えられた。前年 12 月の最深積雪量と患者数の正の相関については, 初冬に積雪量が多くなると地表温が下がりフトゲツツガムシ幼虫が早期に活動を休止するため, 翌春に未吸着のフトゲツツガムシ幼虫が増え, 患者数が増加するものと考えられた。ツバキの開花日と患者数の正の相関については, 春の訪れを反映するツバキの開花日が早いと, 農作業, 山菜採りなどヒトが野外で活動しはじめる時期(5月初旬前後)より前にフトゲツツガムシ幼虫が野ネズミなどの温血動物で一生涯一回の吸着を終えるために, ヒトに吸着するフトゲツツガムシ幼虫が減り患者数が減少するものと考えられた。今回の結果をもとに今後毎年の患者数を予想することで, 特に患者数が多くなると予想された年について, 春のつつが虫病シーズン前に患者多発の可能性を情報提供するなど応用できるものと思慮された。

参考文献：[1]Takahashi M,et al.J Med Entomol.1993;30:320-5.

Lamp 法によるつつが虫病遺伝子の検出

瀬戸順次，金子紀子，安孫子千恵子，大谷勝実

第 63 回日本細菌学会東北支部総会，2009 年 8 月，盛岡市

【目的】ツツガムシ（ダニの一種）により媒介されるつつが虫病は感染症法において四類感染症に指定される重要な疾患である。今回，本疾患の迅速診断を目的として Lamp 法によるつつが虫病遺伝子の検出を試みた。

【方法】Lamp 法のプライマーは，*Orientia tsutsugamushi* に特異的な 16SrRNA 領域を標的として，PrimerExplorer V4(<http://primerexplorer.jp/>)により設計した。平成 20 年 4 月以降当所に検査依頼のあった 24 検体（全血または刺し口痂皮）から抽出した DNA を鋳型として Lamp 法を実施した。反応条件は 63℃，60 分，検出にはリアルタイム濁度測定装置（LA-320C）を用いた。

[結果及び考察]24 検体中，陽性 11 検体，陰性 13 検体であり，陽性検体の Tt 値（濁度 0.1 に達した時間）は 17 分～37 分であった。また，現在標準の検査法となっている nested-PCR による 56kDa 遺伝子の検出結果と比較したところ，陽性/陰性の結果はすべて一致した。結果の精度，迅速性ともに良好な結果を得たが，今回陽性であった検体はすべて Karp 型であり，今後 *Orientia tsutsugamushi* に認められる他の 5 種類の血清型に罹患した患者検体の解析が求められる。

山形県におけるマイコプラズマ感染症の分子疫学的検討

金子紀子

第 31 回山形県医学検査学会，2009 年 10 月，寒河江市

【目的】

当所で分離した *Mycoplasma pneumoniae* (*M.p*) 臨床分離株の遺伝子型別を行い，その結果に基づき本県におけるマイコプラズマ感染症の流行状況を分子疫学的に検討した。

【材料】

2003 年 10 月から 2008 年 12 月までに，県内の一医療機関(山辺こどもクリニック)において肺炎やマイコプラズマ感染症疑い等の患者から採取された咽頭拭い液 465 検体を材料とした。咽頭スワブを PPL0 液体培地 2ml 中に丹念に絞り出し，その液体培地を検査に用いた。

【方法】

1) 分離培養法

絞り液 0.5ml を PPL0 二層培地に接種して 37℃で培養した。2～4 週後，PPL0 二層培地の液体部分を 1ml 採取し，遠心（12,000rpm20 分），沈渣に STE 緩衝液 0.1ml を加えた後，100℃10 分加熱，さらに遠心（12,000rpm10 分）して，その上清をテンプレート DNA とした。次に，Ieven ら(J Infect Dis, 1996)が記載した方法により，*M.p* の P1

遺伝子を標的として PCR を行なった。

2) 分離培養およびコロニーのクローニング

PCR 陽性検体について *M. p.* の分離培養を行なった。1) でテンプレート DNA を作成した残りの二層培地の液体部分 0.1ml を PPL0 分離平板培地に接種し 37°C で培養してコロニーを形成させた。目玉焼き状の特徴的なコロニーが形成された場合、注射針でコロニーを周辺の培地ごと削り取り、PPL0 増菌培養液に加え 37°C でクローニングした。

3) P1 遺伝子型別

PCR-RFLP による P1 遺伝子型別は Sasaki ら (J Clin Microbiol, 1996) の方法により行った。次に、Dorigo-Zetnma ら (J Clin Microbiol, 2000) の方法を用いて各遺伝子型のサブタイピングを行なった。

【結果と考察】

1) 検査状況

検体数 465 検体のうち *M. p.* 培養陽性率 (14.6%:68/465) だった。年別の陽性率は、約 15% 程度で推移しているが、2006 年は、19.4% だった。この年は、全国的に *M. p.* 感染症が多発したことが報告されている。

2) P1 遺伝子型

M. p. 臨床分離株のうち 68 株のうち 62 株の P1 遺伝子型が可能であった。分離株 62 株は、I 型が 57 株 (91.9%)、II 型が 5 株 (8.1%) であり、II 型はすべて II 型亜型 (II' 型) であった。全国の状況をみても、最近の 10 年間は I 型が優勢で、II 型のほとんどが II' 型であり我々の結果と一致している。

3) P1 遺伝型サブタイプ

P1 遺伝子型サブタイプは、I 型が 1a, 1b, 1c の 3 つのサブタイプに、II' 型は 2a, 2b, 2c, 2e の 4 つのサブタイプにそれぞれ分類され、*M. p.* 62 株には合計 7 種類のサブタイプの存在が確認された。最も検出頻度が高かったのは 1a の 30 株 (48.4%) で、次が 1c の 17 株 (27.4%) であった。

P1 遺伝子型は、毎年 I 型が多く検出された。I 型のサブタイプについて注目すると、1a は 2004 年、2007 年に検出数が多く、1c は 2004 年～2006 年に多く検出された。また、2008 年は、1b のみが検出され、この 6 年間で優勢なサブタイプの入れ替わりがあった。

II' 型は 2004 年に 4 株、2007 年に 1 株検出されたが優勢なサブタイプは認められなかった。

現在、*M. p.* 分離を実施している施設は全国的にも少なく、他地域のこの種のデータは報告されていない。今後データを蓄積していければ、本県のマイコプラズマ感染症の実態が明らかになるものと考えられる。

ツキヨタケの生物活性成分イルジン S の LC/MS/MS を用いた分析及び定量

笠原義正, 伊藤 健, 沼澤聡明

日本生薬学会第 56 回年会, 2009 年 10 月, 京都市

ツキヨタケは、ブナ、ミズナラなどの倒木や朽木などに重なって発生し、ヒラタケ、ムキタケ、シイタケなどと誤認されやすい。全国的に最も食中毒件数の多いキノコである。摂食すると 30 分から 3 時間で発症し、嘔吐、腹痛、下痢などの症状を呈する。われわれは、以前、毒性を指標にツキヨタケのエキスを繰り返し分画し、得られた物質の構造解析を行ってイルジン S が中毒原因物質であることをつきとめた。さらに、この天然の有毒成分

イルジンSおよびその誘導体にヒト白血病細胞や骨髄腫に対して抗腫瘍活性のあることが報告されている。そこで天然のキノコに含まれるイルジンSの含量を正確に知ることが必要と考え、高速液体クロマトグラフ・質量分析計(LC/MS/MS)を用いた分析法を検討した。

HPLC-UVでは感度不足や夾雑成分の影響が大きいので、LC/MS/MSを用いたところ、これらの欠点が解消された。また、自然条件で変動すると考えられるが、ツキヨタケのイルジンS含量は130~318 $\mu\text{g/g}$ の範囲であった。実際に中毒が起きたツキヨタケ中毒原因食品の分析からイルジンS 1mg程度を摂取すると中毒症状が現れる可能性が考えられた。さらに、100°C10分くらいの加熱ではイルジンSはほとんど分解しないことが分かった。

LC/MS/MSによるツキヨタケ有毒成分 illudin S の新分析法

笠原義正, 伊藤 健, 沼澤聡明

第46回全国衛生化学協議会年会, 2009年11月, 盛岡市

材料: 山形県内で採取したツキヨタケを用いた。**標準液の作成:** ツキヨタケから分離精製し、各種機器分析で確認した illudin S を標準品とした。**装置 (HPLC-UV):** 日本分光(株)社製 Gulliver 900 シリーズを用いた。カラムオープンは MODEL556 ジーエルサイエンス(株)製を用いた。**HPLC 条件** 分析カラム: CrestPak C18S (4.6mm i. d. \times 150 mm), カラム恒温層: 40 $^{\circ}\text{C}$, 移動相: メタノール-水 (3:7), 流速: 0.7 mL/min., 検出波長: 200~400 nm, 試料注入量: 10 μL , **(LC/MS/MS):** LCはAgilent社製1100シリーズを, MSはアプライドバイオシステムズ社製API2000を用いた。**測定条件:** カラムはInertsil ODS-3 (2.0 mm i. d. \times 150 mm GL Science社), カラム温度は40 $^{\circ}\text{C}$, 移動相は0.1%ギ酸-メタノール(7:3), 流速は0.2 mL/min, 注入量は5 μL とした。イオン化装置はESI(Positive), 気化温度は450 $^{\circ}\text{C}$ とした。前処理はWaters社製のOasis HLBを用いた。

本法を用いて、2006年10月に起きたツキヨタケ中毒の食中毒原因食品について illudin S の定量を試みた。その結果、ツキヨタケと考えられるキノコの illudin S 含量は15.1 $\mu\text{g/g}$ で、汁は2.0 $\mu\text{g/g}$ であった。中毒原因食品が中毒発生時のままの状態では保存されたものではなく、さらに中毒患者が中毒原因食品を食べた量に関する情報は記録されていないが、常識的に、煮物の汁を汁椀1杯(180g)およびツキヨタケ1個(30g)を食したと仮定して illudin S の量を算出した。その結果中毒患者は、汁椀から360 μg 、ツキヨタケから453 μg の合計813 μg の illudin S を摂取したことになる。本結果から約1mg程度の illudin S を摂取すると中毒症状が現れる可能性が示唆された。

反復配列多型分析法による結核菌の分子疫学解析

瀬戸順次, 金子紀子, 安孫子千恵子, 水田克巳, 大谷勝実, 阿彦忠之

第 36 回山形県公衆衛生学会, 2010 年 3 月, 山形市

【はじめに】

平成 20 年の日本における結核新登録患者数は 24,760 人, 罹患率は 19.4 (人口 10 万対) となっており, 患者数, 罹患率共に年々減少傾向にある。現在, 日本は結核中蔓延国であるが, 低蔓延国 (罹患率 10 以下) に向かう状況の中, 遺伝子タイピングによる分子疫学解析の必要性があげられている。このような中, 当所において結核菌の反復配列多型 (Variable Numbers of Tandem Repeats, 以下「VNTR」) 分析法が可能な環境を整備し, 分子疫学解析の運用を開始した。

【材料および方法】

平成 21 年 8 月以降, 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 (以下「感染症法」) 第 15 条の規定に基づく保健所で実施する積極的疫学調査の一環として, 県内 4 保健所から依頼のあった患者由来結核菌株について解析をおこなった。菌株の運搬にあたっては, 感染症法第 56 条の 25, 感染症法施行規則第 31 条の 36 および特定病原体等の運搬に係る容器等に関する基準 (平成 19 年厚生労働省告示 209 号) に従った。当所に搬入された菌株は感染症法第 56 条の 24, 25 および感染症法施行規則第 31 条の 29, 30 に適合した施設で管理し, 結核菌の DNA 抽出は, 保護手袋, N95 微粒子用マスク, フェースガード, 防護衣等を装着した上で, バイオセーフティレベル 3 施設内クラス II 安全キャビネットにて行った。抽出された DNA を鋳型とした VNTR については, 前田ら [1] の方法に準拠した。すなわち, 結核菌特有の 12 領域のプライマーを用いてそれぞれ PCR を行い, PCR 産物を電気泳動して得られた分子量をリピート数換算表に当てはめ, 各領域のリピート数を決定した。なお, 結果については, 12 個の数字によって表される。

【結果および考察】

平成 22 年 1 月末現在, 48 株の解析を完了した。このうち, 解析結果が疫学的に有用であった 3 事例についての結果および考察を以下に示した。

事例 1: 同居する家族 2 人が結核を発病し, その菌株について VNTR を行ったところパターンが完全一致した。当該事例では, 保健所での実地疫学においても家族内感染を疑っており, 実地疫学の正しさを検証できたという意味で有用と考えられた。

事例 2: 実地疫学では関連性が不明であった 4 人の結核患者について, VNTR を行ったところパターンが完全一致した。このように, 実地疫学で発見困難な点と点の繋がりを新たに見出すことができるのが VNTR の特長の 1 つであり, 実地疫学を補完する手段として非常に有効であると思われた。

事例 3: 感染源不明の結核患者 1 人について VNTR を行ったところ, 国内蔓延株である M4 株および homeless 株と 1 箇所違いのパターンを示した。当該事例については, この結果をもって国内蔓延株が感染源であるとは言いきれないが, 県内菌株の VNTR パターンと国内蔓延株のそれを比較し共通項を見出すことは, より広い視点で感染源を考察することができ意義があると考えられた。

結核菌の VNTR は, 全国に徐々に広がりつつある検査法であり, 今後, 他県の結果との比較を行うことで, さらなる感染源の追跡が可能になると考えられた。また, Wada ら [2] は, 複数の結核菌株の VNTR パターンを Minimum

Spanning Tree 法により系統解析することでクラスター分けが可能であることを報告しており、同様の解析により結果をグループ化していくことで、感染の時期・場所・ルートが類推できるようになるものと思われた。これらを踏まえても、今後持続的に県内結核菌株について VNTR を行い、解析結果を保健所に還元していく仕組みは、結核対策を考える上で重要な位置を占めるものと思慮された。

【参考文献】

- [1] 前田伸司ら.国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多系 (VNTR) 分析システム.結核,83;673-678;2008
[2] Wada T, et al.Genetic diversity of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family in East Asia revealed through refined population structure analysis.FEMS Microbiol Lett 291;35-43;2009.

2012 年麻疹排除に向けた実験室診断の重要性

青木洋子, 池田辰也, 安孫子千恵子, 水田克巳, 阿彦忠之

第 36 回山形県公衆衛生学会, 2010 年 3 月, 山形市

【目的】麻疹の排除を確実に実行するため、我々には精度の高い検査が要求される。実際に依頼された麻疹（疑を含む）患者の検査材料について遺伝子検査、血清 IgM 抗体価測定、ウイルス分離を行った事例からの考察を報告する。

【結果および考察】事例 1 は、発病 5 日後に咽頭拭い液、血液、尿、血清の採取がされた。咽頭拭い液、血液、尿について遺伝子の検査を行ったが検出はされなかった。また、これらの細胞培養の結果、ウイルスの分離はされなかった。血清の IgM 抗体指数は、1.18 であり判定保留域であった。

事例 2 は、発病 4 日後に咽頭拭い液、血液、血清の採取がされた。咽頭拭い液、血液について遺伝子の検査を行ったところ麻疹遺伝子が検出された。これらについて細胞培養を行ったところ、血液からウイルスが分離された。また、血清の IgM 抗体指数は、24.3 の陽性を示した。

事例 1, 2 とも、医療機関での血清 IgM 抗体価測定結果から麻疹の感染が疑われた。しかし、抗体指数が判定保留域の場合は、遺伝子検査、細胞培養では感染の裏づけが取れないことがわかった。

【まとめ】2010 年麻疹排除を実現していくためには、全ての患者について確実な検査診断が行われなければならない。血清 IgM 抗体価を測定する方法では、病日が短いと抗体の上昇が不十分であるため擬陰性の判定をする可能性がある。また、この方法は医療機関等で現在汎用されているが、診断が難しいとされる修飾麻疹などの場合、この検査結果のみで、診断を確定とするのは困難であると推察される。

このため、短い病日でも検査可能で、迅速性のある遺伝子検査や、細胞培養を組み合わせることで検査することにより、確実な検査診断が行われるものと考えられた。

Sequence types of *Legionella pneumophila* isolates from patients and environments.

前川純子¹, 倉 文明¹, 常 彬¹, 菊川紀世己², 渡辺祐子³, 磯部順子⁴, 貫名正文⁵, 中嶋 洋⁶, 河野喜美子⁷, 村井美代², 渡邊治雄¹

会員外共同研究者：古畑勝則⁸, 金子紀子¹⁹, 多田有希¹⁰

第83回日本細菌学会, 2010年3月, 横浜市

We collected 151 clinical *Legionella pneumophila* strains that were isolated in Japan during the period 1980 - 2008. Most (80%) belonged to serogroup 1, followed by serogroups 3, 5, 2, 4, 6 and 9. When all 151 isolates were subjected to sequence - based typing using seven loci, they could be divided into 96 sequence types (STs). The index of discrimination (IOD) of SBT was 0.989 that confirmed the usefulness of this method in epidemiological studies of clinical isolates. The ST with the most isolates (eight) was ST138. Other major STs were ST1, ST120 (each with seven isolates), and ST306 (six isolates). ST138 and ST306 are unique to Japan. All ST306 and ST138 isolates, except for each one isolate, were suspected or confirmed to relate with bath water, which suggests these strains prefer bath habitats. Although most isolates from patients and environments around the world belong to ST1, only one ST1 clinical isolate has been isolated from Japan since 1995. The sources of all ST1 and ST120 isolates remain unclear, except that a ST1 isolate was suspected to relate with a shower. . For comparison, we also analyzed 123 environmental *L. pneumophila* serogroup 1 isolates from bath water (40 strains), cooling tower water (48 strains), and soil (35 strains). The environmental isolates from bath water, cooling tower water, and soil were divided into 28 STs, 6 STs, and 12 STs, respectively. The isolates from bath water were genetically more variable (IOD was 0.972) than those from cooling tower water (IOD 0.401) and from soil (IOD 0.886). The common ST between bath water and cooling tower water, between bath water and soil, and between cooling tower water and soil was only ST1, ST129, and ST48, respectively, suggesting that each environment forms an independent habitat. While common STs of clinical isolates with isolates from bath water were six STs, those of clinical isolates with isolates from cooling tower water and soil were one ST and two STs, respectively, which is consistent with that the major source of infection is bath water in Japan. It was also suggested that the restricted environmental strains are more infectious to human.

Ⅱ 業務の概要

1 業務の概要

部	試験検査等	調査研究等
生活企画部	1 新生児疾患早期発見対策事業	1 潜在的ハチアレルギーサーベイランスのための簡易な検査法の開発
	2 メタボリックシンドローム対策等連携推進事業 (花粉症予防対策事業)	
	3 公衆衛生情報の収集・解析・提供	
	4 山形県感染症発生动向調査事業	
	5 所報、衛研ニュースの編集・発行	
	6 研修等の企画調整	
	7 業務報告会の開催	
理化学部	1 医薬品検査	1 食用菊等県産食材の機能性研究 2 植物性自然毒による健康被害防止のための毒性研究 3 抗インフルエンザ活性の生物検定法確立及び県産食材からの抗インフルエンザ活性物質の分離
	2 医療機器試験	
	3 家庭用品検査	
	4 食品中の残留農薬検査	
	5 畜水産食品中の残留有害物質モニタリング検査	
	6 水道水質検査の外部精度管理	
	7 温泉分析	
	8 環境放射能水準調査	
微生物部	1 感染症、食中毒発生時の病因探索	1 山形県におけるつつが虫病の疫学的研究 2 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 3 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究
	2 感染症流行予測調査事業	
	3 山形県感染症発生动向調査事業	
	4 C型肝炎抗体・B型肝炎抗原検査	
	5 後天性免疫不全症候群対策事業	
	6 結核感染診断のためのQFT検査	
研修業務等	1 保健所試験検査担当職員研修会	
	2 衛生研究所業務報告会	

夏休み親子科学教室

調査研究課題の評価（外部評価）

年間動向

2 生活企画部

1) 先天性代謝異常等検査事業

児童家庭課の依頼により、先天性代謝異常等マス・スクリーニング検査を実施した。

平成21年4月から平成22年3月までの検査実施実人員数は9,826人であった。このうち延べ51人が精密検査該当となり、山形大学医学部附属病院等で精密検査を受診した。その結果、10人がクレチン症、1人が甲状腺機能亢進症、1人が先天性副腎過形成症と診断され治療を受けた。(表1)

本事業開始(昭和52年10月)からの患者発見状況は、表2のとおりである。

2) 花粉症予防対策事業

平成22年のスギ花粉シーズンにおける花粉飛散量を予測し衛研ニュースや衛生研究所のホームページで情報提供した。

スギ花粉シーズン(平成22年2月～4月)には県内4地点(庄内、最上、置賜の各保健所および衛生研究所)のダーラム型花粉捕集器で得られた日々のスギ・ヒノキ科花粉数を衛生研究所と県医師会のホームページで提供した。また日々の飛散情報は日本気象協会東北支局等へFaxサービスした。(表3)

平成21年5月～10月には、衛生研究所および県医師会のホームページで種々の花粉症原因花粉の飛散状況を週ごとに提供した。

さらにスギ花粉アレルゲン(Cry j1)について同ホームページでアレルゲンの濃度を提供した。

3) 公衆衛生情報の収集及び提供事業

学術雑誌等資料を年4回(No.212-215)作成し、保健所等県関係機関に配布した。これに対し保健所等から請求があった73件の文献を収集し提供した。

所報No.42を作成し、衛生研究所ホームページで公開した。No.40までは印刷製本した所報を国内外の専門情報機関及び関係研究機関等に配布していたが、No.41からはPDFファイルによる電子公開とした。(表4)

衛研ニュースを年4回(No.152-155)、各1,000部作成し、県機関、学校、市町村等に配布した。(表5)

4) 図書及び資料等の収集管理

送付された報告書、雑誌、資料等の整理、学術雑誌の定期刊行物の製本(30冊)を行った。

5) 職員研修

(1) 保健所試験検査担当職員の検査技術の向上を図るための技術研修を行った。(内容は「5 研修所業務等」参照)

(2) 第30回衛生研究所業務報告会を実施した。

6) 調査研究

潜在的ハチアレルギーサーバイランスのための簡易な検査法の開発

だ液を用いたハチアレルギー抗体の測定法を開発するため、スギ花粉アレルゲン測定を応用してだ液中のIgE抗体をELISA法、ESR法で測定する方法を検討した。

スギ花粉症の有自覚者6人、無自覚者3人分の血清、だ液を採取し、これに含まれるスギ花粉IgEを測定したところ、血清では測定できたが、だ液ではできなかった。

だ液によって抗原抗体反応が阻害されている可能性があるため、だ液を混ぜた血清中のIgEを測定したが、だ液の影響は確認できなかった。

表 1 平成 21 年度先天性代謝異常等検査の結果

検査対象疾患 (測定物質)	初回検査 実人員数	再採血 検査	精密検査 該当	患者数
フェニルケトン尿症 (フェニルアラニン)	9,826	0	0	0
メイプルシロップ尿症 (ロイシン)	〃	4	0	0
ホモシスチン尿症 (メチオニン)	〃	0	0	0
ガラクトース血症 (ガラクトース)	〃	16	1	0
甲状腺機能低下症 (TSH) (FT4)	〃	111	39 TSH 10 FT4 26 両方 3	11 TSH 5 FT4 4 両方 2
	〃	128		
先天性副腎過形成症 (17 α -OHP)	〃	123	11	1
合計	9,826	382	51	12

**表 2 疾患別患者発見状況 (山形県)
(昭和 52 年 10 月～平成 22 年 3 月)**

検査対象疾患	患者数	検査実人数
フェニルケトン尿症	8	441,717
メイプルシロップ尿症	0	
ヒスチジン血症	21	
ホモシスチン尿症	1	
ガラクトース血症	19	
先天性副腎過形成症	12	237,108
クレチン症	163	405,405
合計	224	

先天性副腎過形成症は平成 2 年 1 月から実施。
クレチン症は昭和 54 年 12 月から実施。
ヒスチジン血症は平成 4 年 9 月に対象疾患から削除。

表 3 ダーラム法によるスギ・ヒノキ科花粉の調査結果 (平成 22 年)

	山形市	新庄市	米沢市	三川町
初観測日	2 月 6 日	2 月 23 日	2 月 20 日	2 月 23 日
飛散開始日	2 月 25 日	3 月 6 日	3 月 4 日	3 月 5 日
飛散終了日	5 月 14 日	*1	5 月 1 日	5 月 11 日
最大飛散日	4 月 10～12 日, 4 月 14 日	4 月 9 日	4 月 7 日	4 月 9 日
最大飛散数 (個/cm ²)	78	102	130	93
総飛散数 (個/cm ²)	966	1012 (*1)	909	708
総飛散数の過去平均値(*2) (個/cm ²)	2,757	2,984	2,793	3,645

*1 5 月 8 日以降データ欠測のため、飛散終了日未確定。総飛散数は 5 月 7 日までの合計数。

*2 過去平均値は、山形市は昭和 58 年～平成 21 年 (n=27)、新庄市および米沢市は平成元年～21 年 (n=21)、三川町は平成 12 年～21 年 (n=10) の平均を示す。

表 4 山形県衛生研究所報 No. 42

No.	題 名	著 者
1	山形県の市町村別にみたつつが虫病罹患率の変化	金子 紀子
2	山形県における春のつつが虫病患者数と気象因子の関係	瀬戸 順次
3	2009 年のスギ・ヒノキ科花粉飛散状況	最上 久美子
4	平成 20 年度先天性代謝異常等のマス・スクリーニング	安孫子 正敏

表5 衛研ニュース

No.	題名	著者
152	つつが虫に気をつけましょう！ にが〜いユウガオに御用心 薬になる植物(83)アカヤジオウについて	微生物部 瀬戸 順次 理化学部 浅黄真理子 理化学部 笠原 義正
153	新型インフルエンザウイルス感染は、もはや免れない!? 北朝鮮の地下核実験に係る環境放射能のモニタリング強化 薬になる植物(84)オオツツラフジについて	副所長 水田 克巳 理化学部 萬年美穂子 理化学部 笠原 義正
154	季節性インフルエンザに向かって 来年のスギ花粉飛散数の予想は?? 薬になる植物(85)ゴシユウについて	副所長 水田 克巳 生活企画部 最上久美子 理化学部 笠原 義正
155	検査の信頼性と精度管理 山形県における新型インフルエンザの流行および検査状況 薬になる植物(86)ハナスゲについて	理化学部 酒井真紀子 微生物部 安孫子千恵子 理化学部 笠原 義正

◇ 感染症情報センター ◇

1. 山形県感染症発生動向調査

感染症法に基づき県内の保健所に届出された疾病について、週(月)単位で集計・図表化を行い、コメントを加え週(月)報を作成して関係機関に配布した。さらに県保健薬務課から毎週マスコミに公表するとともに、当所のホームページで情報提供した。また、事業年報を作成し、関係機関に配布した。

全数把握感染症は、2009年第1週から第53週(2008年12月29日から2010年1月3日)までに13疾病309件報告された(表1)。その中で、最も報告数が多かった疾病は結核で、次に腸管出血性大腸菌感染症であった。結核は2008年に比べ患者数はほぼ同数であったが、無症状病原体保有者は約1/3に減少した。患者では70歳以上の高齢者が約7割を占めたが、無症状病原体保有者では看護師などの医療従事者が多く30~50歳代の女性の割合が高かった。腸管出血性大腸菌感染症は、家族内感染以外で集団発生事例がなかったため患者数は2008年に比べ30人減少したが、事例数はほぼ同数であった。

定点把握感染症(25疾病)の中で最も報告数の多かった疾病はインフルエンザで、次いで感染性胃腸炎、流行性耳下腺炎が多かった(表2)。インフルエンザは新型インフルエンザが流行したため、現行の調査が開始された1999年以降で最も多い報告数となった。流行性耳下腺炎が庄内地区で局地的に大流行した。

表1 全数把握感染症

No.	疾 病 名	報告数
1	結核	186
2	細菌性赤痢	3
3	腸管出血性大腸菌感染症	70
4	A型肝炎	3
5	つつが虫病	9
6	レジオネラ症	9
7	アメーバ赤痢	1
8	急性脳炎	7
9	クロイツフェルト・ヤコブ病	4
10	後天性免疫不全症候群	4
11	ジアルジア症	2
12	梅毒	3
13	麻しん	8
	計	309

2. 病原体検出状況

県内の衛生研究所・保健所4ヶ所・協力医療機関18ヶ所で分離した病原体を月単位で検査材料別に報告を受け、これらを集計し月報を作成して関係機関に提供した。衛生研究所および4保健所からは132件(表3)、18協力医療機関からは22,533件の報告(表4)があった。

表2 定点把握感染症

No.	疾 病 名	報告数
1	インフルエンザ	34,346
2	RSウイルス感染症	301
3	咽頭結膜熱	368
4	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	3,921
5	感染性胃腸炎	10,272
6	水痘	2,795
7	手足口病	1,490
8	伝染性紅斑	149
9	突発性発しん	1,197
10	百日咳	20
11	ヘルパンギーナ	528
12	流行性耳下腺炎	2,874
13	急性出血性結膜炎	5
14	流行性角結膜炎	127
15	クラミジア肺炎	4
16	細菌性髄膜炎	5
17	マイコプラズマ肺炎	105
18	無菌性髄膜炎	29
19	性器クラミジア感染症	210
20	性器ヘルペスウイルス感染症	59
21	尖形コンジローマ	42
22	淋菌感染症	73
23	ペニシリン耐性肺炎感染症	110
24	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	338
25	薬剤耐性緑膿菌感染症	1
	計	59,369

表3 病原体検出状況(衛生研究所・保健所4ヶ所)

病原体	検出数
E. coli 腸管出血性(EHEC/VTEC)	55
E. coli 他の下痢原性	1
Shigella flexneri	1
Shigella sonnei	1
Salmonella 07	2
Campylobacter jejuni	11
Campylobacter coli	1
Clostridium perfringens	4
Bacillus cereus	1
Legionella pneumophila	3
Mycobacterium tuberculosis	1
Mycoplasma pneumoniae	51
計	132

(検査材料: ヒト由来のみ)

表4 病原体検出状況 (協力医療機関18ヶ所)

病原体 菌種・群・型	検査材料別 検出数								合計
	糞便	喀痰	咽頭	穿刺液	髄液	血液	尿	陰部	
E. coli 腸管出血性(EHEC/VTEC)	18								18
E. coli 病原性 (EPEC)	14								14
E. coli 他の下痢原性	223			40	1	142	2,556		2,962
Shigella flexneri 1	1								1
Shigella sonnei	1								1
Salmonella O2	1								1
Salmonella O4	4								4
Salmonella O7	5								5
Salmonella O8	1								1
Salmonella O9	1								1
Salmonella 群不明	2								2
Salmonella spp						1			1
Yersinia enterocolitica	12								12
Vibrio parahaemolyticus	2								2
Vibrio fluvialis	1								1
Aeromonas hydrophila	5								5
Aeromonas hydrophila/sobria 種別せず	1								1
Plesiomonas shigelloides	1								1
Campylobacter jejuni	31								31
Campylobacter jejuni/coli 種別せず	128								128
Klebsiella pneumoniae		1,080		18			449		1,547
Enterobacter spp.							213		213
Acinetobacter spp.							62		62
Enterococcus spp.							1,190		1,190
Clostridium perfringens	20								20
Listeria monocytogenes						1			1
Pseudomonas aeruginosa		1,714		17		38	863		2,632
Haemophilus influenzae		638	1,670	1	3	4			2,316
Mycobacterium tuberculosis		59							59
MAC		288							288
Mycobacterium spp				1					1
MRSA	272	2,298		22	1	80	285		2,958
Staphylococcus aureus (non-MRSA)	137	1,150		54		83	186		1,610
Staphylococcus, CNS				46		283	731		1,060
PRSP/PISP		243	872	1		5			1,121
Streptococcus pneumoniae (non-PR/PISP)		414	819		2	22			1,257
Streptococcus A T1		5	7						12
Streptococcus A T4			17						17
Streptococcus A T12			11						11
Streptococcus A T25			2						2
Streptococcus A T28		1	3						4
Streptococcus A TB3264			1						1
Streptococcus A 型別不能			9						9
Streptococcus A 型別せず		58	298						356
Streptococcus B		511				21		700	1,232
Anaerobes		266		63		21			350
Neisseria gonorrhoeae								37	37
Chlamydia trachomatis								15	15
Candida albicans							253	707	960
計	881	8,725	3,709	263	7	701	6,788	1,459	22,533

3 理 化 学 部

1) 依頼検査

県民等の依頼により、温泉（成分分析）の理化学検査を行った(表 1).

2) 行政検査

(1) 医薬品部門

① 医薬品及び医療機器

保健薬務課の依頼により、厚生労働省の指示に基づく医薬品の全国一斉収去試験を実施した(表2).

その結果、実施した項目において不適品はなかった.

② 家庭用品

家庭用品規制に係る監視指導要領に基づく試買試験を実施した(表3).

その結果、実施した項目において不適品はなかった.

(2) 食品部門

① 農産物検査

食品安全対策課の依頼により、県内に流通する農産物について残留農薬検査を実施した(表4).

その結果、残留基準に違反した農産物はなかった.

② 冷凍加工食品検査

食品安全対策課の依頼により、県内に流通する冷凍加工食品について残留農薬検査を実施した(表5).

その結果、実施した検査項目は検出されなかった.

③ 残留動物用医薬品検査

食品安全対策課の依頼により、県内産畜水産食品の残留有害物質のモニタリング検査として、はちみつ、鶏卵、養殖魚、生乳に残留する抗生物質、合成抗菌剤及び内寄生虫用剤を検査した(表6).

その結果、残留基準に違反したものはなかった.

④ その他の検査

保健所からの依頼により、清涼飲料水（缶コーヒー）の塩素イオン、ヒ素、鉛、カドミウム、スズについて検査を実施した.

(3) 環境部門

① 環境放射能水準調査

全国の環境放射能水準調査の一環として文部科学省の依頼により県内の降水、大気浮遊じん、降下物、上水、土壌、海産物及び空間線量率について調査を実施した.

定時降水試料(雨水)中の全 β 放射能調査結果を表7に、ゲルマニウム半導体検出器による核種分析測定調査結果を表8に、また、空間放射線量率測定結果を表9に示した.

なお、5月25日に北朝鮮で行われた地下核実験に伴い、5月25日から6月5日までの間モニタリングを強化し、1日毎に降下物と大気浮遊じんの採取・分析および空間線量率の観測を強化した.

表 1 依頼検査

検査内容	検査件数	データ数
1 医薬品検査	0	0
2 食品衛生検査	0	0
3 水質検査	0	0
4 環境検査	0	0
5 温泉検査	2	60
合計	2	60

表 2 医薬品収去試験(後発医薬品 溶出試験)

収去試験品目	検査件数	データ数
プロチゾラム	2	12
アロプリノール	21	126
合計	23	138

表 3 家庭用品試買試験

試買試験品目	件数	検査項目	データ数
生後 24ヶ月以下の乳幼児用の繊維製品	14	ホルムアルデヒド	14
		有機水銀化合物	9
合計	14		23

表4 平成21年度県内流通農産物の残留農薬検査結果(1/2)

検査対象農産物 検査対象農薬	トマト	かぶ	なす	ほうれんそう	もも	日本なし	食用ぎく	キャベツ	りんご	アスパラガス
	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体
BHC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
DDT	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
EPN	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
XMC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
γ-BHC	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アクリトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.02(4)	ND	ND	ND	ND
アジノホスメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アセトクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アセフェート	—	—	ND~0.18(1)	—	—	—	—	—	—	—
アゾシクロチン及びジシヘキチン	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—
アトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アマトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
アルトリン及びビテイルトリン	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
イブ ロカダブ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
イブ ロチオラン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
イブ ロホソホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エスブ ロカダブ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エタルフルリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エトキシゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エトフェンブ ロックス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エンドスルファン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
エンドリン	—	—	—	ND	—	—	—	—	—	—
オキサジメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
オキシフルフェン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
カブチホル	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—
キノホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
キノキフェン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
キノクラミン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
キャタン	—	—	—	—	—	ND~0.02(1)	—	—	—	—
キトセリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルピリホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.13(6)	ND~0.03(1)	ND	ND~0.03(3)	ND
クロルピリホスメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルピリホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルピリホスメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルフェニル	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.02(1)	ND	ND	ND	ND
クロルフェニルホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルブ ロファム	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロルベンジレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
クロロタロニル	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—
酸化フェンブタス	—	—	—	—	—	—	—	—	ND	—
シメチン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シアノホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジクロシメット	ND	ND	ND	ND~0.01(1)	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジクロフェンチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジクロホップメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジクロラン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シハトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジフェナミド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジフェノキサゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シフルリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.01(1)	ND
ジブ ロコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シベ ルトリン	ND	ND	ND	ND~0.38(2)	ND	ND	ND~0.66(1)	ND	ND	ND~0.01(1)
シマジン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジメタトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジメチナミド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジメトエート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
シメトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジメビレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ジメチナミド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ダイジメチン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
チオベンカダブ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テトラクロルピリホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テトラコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テトラゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テブコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND~0.01(1)	ND	ND	ND	ND	ND
テブフェニラト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テフルリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テフルトリン及びトリプロトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
テフルトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリアジメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリアジメチン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリアレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリブホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリフルリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
トリプロキシトロピン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.04(1)	ND

ND: 検出せず ()内は検出データ数

表4 平成21年度県内流通農産物の残留農薬検査結果(2/2)

単位: ppm

検査対象農産物 検査対象農薬	トマト	かぶ	なす	ほうれんそう	もも	日本なし	食用ぎく	キャベツ	りんご	アスパラガス
	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10体	10検体	10検体
トルクロホスチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.02(1)	ND	ND
ナブロバミド	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ニトケルイソプロピル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルフルラジン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
バクローラゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
バチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
バチオンメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ハルフェンプロックス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビフェノックス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビフェントリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビペロホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビラジホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビラフルフェンエチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビリダフェンチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビリダベン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビリプロキシフェン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビリニバクメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビリニホスチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビロキロン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ビンクロゾリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェナリモル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェントロチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェンチオカルブ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェントエト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フェンバレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.01(1)	ND	ND	ND	ND
フェンプロバトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.04(5)	ND	ND	ND~0.05(8)	ND
フェンプロピモルブ	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フチラト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ブタクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ブタホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ブビリメト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ブプロキシフェン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルアクリピリム	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.07(3)	ND	ND	ND	ND
フルキシコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルトリネート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルトフェル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルバトリネート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フルリドン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
フレチラクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロジミト	ND~0.01(1)	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロチホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロバジン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロバニル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロバキネット	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.16(1)	ND
プロビコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロビチミト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロビトジメチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロフェノホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロモプロピレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
プロモホス	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ヘキソコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベチナキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベチキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベチメトリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベチコナゾール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベンデメタリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベンフルラリン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ベンフルセート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ホチロン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ホスチアレート	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ホスチミト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
ホホネット	—	—	—	—	—	ND	—	—	—	—
マラチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND~0.08(1)	ND	ND	ND
ミクロプロキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メタミホス	—	—	ND~0.05(1)	—	—	—	—	—	—	—
メタラキシル及びメタラキシル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メチチオン	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メチシクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メトラクロール	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メフェセト	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メフェルシエチル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
メロニル	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
データ数	1410	1410	1430	1440	1410	1450	1410	1410	1430	1410
検出されたデータ数	1	0	2	3	1	21	3	1	14	1
基準値を超えたデータ数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

表5 冷凍加工食品の残留農薬検査結果

検査項目	検査対象					
	餃子	ロールキャベツ	春巻	シューマイ	ブロッコリー	さといも
件数	1	1	1	1	4	2
E P N	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
アセフェート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
エチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
キナルホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
クロルピリホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
クロルピリホスメチル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
クロルフェンビンホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
シアノホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ジクロフェンチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ジメトエート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ダイアジノン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
トルクロホスメチル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
パラチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
パラチオンメチル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ピリダフェンチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ピリミホスメチル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
フェントロチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
フェントエート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブタミホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
プロチオホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
プロフェノホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ホサロン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ホスチアゼート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
マラチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メタミドホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メチダチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
エディフェンホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
エトリムホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
カズサホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ジクロロホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ジメチルビンホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ホスメット	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ホルモチオン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
データ数	33	33	33	33	132	66

表6 残留動物用医薬品検査

検査項目	検査対象	はちみつ	養殖魚	生乳	鶏卵	合計
	件数	6	11	6	12	35
抗生物質	オキシテトラサイクリン	○	○ (注1)	○	○	35
	クロルテトラサイクリン	○				
	テトラサイクリン					
	スピラマイシン	—	○	○	—	17
合成抗菌剤	クロラムフェニコール	○	—	—	—	6
	オキシソリニック酸	—	○	○	○	29
	オルメトプリム	—	○	○	○	29
	スルファキノキサリン	—	○	○	○	29
	スルファジアジン	—	○	○	○	29
	スルファジミジン	—	○	○	○	29
	スルファジメトキシシ	—	○	○	○	29
	スルファメトキサゾール	—	—	○	○	18
	スルファメラジン	—	○	○	○	29
	スルファモノメトキシシ	—	○	○	○	29
	トリメトプリム	—	○	○	○	29
	ピリメタミン	—	—	—	○	12
	フロルフェニコール	—	○	—	—	11
	内寄生虫用剤	チアベンダゾール	—	—	○	○
フルベンダゾール		—	—	○	○	18
データ数		12	132	84	168	396

(注1)養殖魚は、オキシテトラサイクリンのみ

表7 定時降水試料中の全β放射能調査結果

採取年月	降水量 (mm)	降水の定時採取(定時降水)				
		放射能濃度(Bq/L)			月間降下量 (MBq/km ²)	
		測定数	最低値	最高値		
平成21年	4月	88.5	7	N.D	N.D	N.D
	5月	19.5	4	N.D	N.D	N.D
	6月	85.5	9	N.D	N.D	N.D
	7月	205.5	14	N.D	N.D	N.D
	8月	97.5	6	N.D	N.D	N.D
	9月	29.0	9	N.D	N.D	N.D
	10月	101.0	9	N.D	N.D	N.D
	11月	98.0	12	N.D	N.D	N.D
平成22年	12月	77.5	8	N.D	N.D	N.D
	1月	55.5	12	N.D	N.D	N.D
	2月	46.5	11	N.D	N.D	N.D
年間値	3月	69.5	15	N.D	N.D	N.D
	年間値	973.5	116	N.D	N.D	N.D

表8 核種分析測定調査結果

試料名	採取地	件数	¹³⁷ Cs		単位
			最低値	最高値	
大気浮遊じん	山形市	4	N.D	N.D	mBq/m ³
降下物	山形市	12	N.D	N.D	MBq/km ²
陸水(蛇口水)	山形市	1	—	N.D	mBq/L
土壌	0~5cm	1	—	19	Bq/kg乾土
			—	870	MBq/km ²
	5~20cm	1	—	3.7	Bq/kg乾土
			—	590	MBq/km ²
海産生物	サザエ	酒田市	1	—	N.D
	ワカメ	酒田市	1	—	N.D

表9 空間線量率測定結果

測定年月	モニタリングポスト(nGy/h)				
	最低値	最高値	平均値		
平成21年	4月	36	45	37	
	5月	36	43	37	
	6月	36	54	37	
	7月	35	50	37	
	8月	35	44	37	
	9月	35	45	37	
	10月	35	44	37	
	11月	36	51	37	
	12月	32	52	37	
	平成22年	1月	33	50	36
		2月	31	51	36
		3月	34	47	37
年間値	31	54	37		

3) 調査研究

- (1) 機能性食品としての食用菊の利用法開発(所経常研究 H. 18~20)

食用菊(モッテノホカ)のポリフェノール画分に抗ピロリ菌活性を認め、この中から活性画分を分離特定した。さらに、これらについて機器分析を行い、活性物質をルテオリングルコシドなどのフラボン配糖体と推定した。また、ポリフェノールエキスのアルコール代謝に対する作用について動物実験により検討したところ、アルコール代謝促進・吸収抑制作用などを有する可能性が示唆された。

- (2) 植物性自然毒による健康被害防止のための毒性研究(所経常研究 H. 20~21)

4種類のアコニチン類(アコニチン, ヒパコニチン, メサコニチン, ジェサコニチン)が検出されないトリカブトの毒性を、マウスを用いた動物実験で確認した。さらに、中毒原因食品を想定したサンプルを作成し、4種類のアコニチン類をLC/MS/MSにより定量した。また、ツキヨタケについて中毒成分であるイ

ルジンSの含量をLC/MS/MS等を用いて地域、大きさによる違いを調べた。

- (3) 抗インフルエンザ活性の生物検定法確立及び県産食材からの抗インフルエンザ活性物質の分離(所経常研究H. 19~21)

紅花や食用菊をはじめとする山形県産の代表的な食材10種類を選択し、それらの水画分と酢酸エチル画分に対し、抗インフルエンザウィルス活性のスクリーニングを行ったところ、アケビの芽水画分など4種類の画分が抗ウィルス活性を示した。その中で最も活性が強かったアケビの芽水画分について透析を行い、透析内液である水溶性高分子画分と透析外液である水溶性低分子画分に分離した。この2つの画分のウィルス活性試験を行ったところ、水溶性高分子画分が強い活性を示した。

4) 外部精度管理

- (1) 水道水質検査外部精度管理(実施)

平成22年1月に食品安全対策課の依頼により山形市水道部他7機関を対象として実施した(表10)。

- (2) 平成21年度食品衛生外部精度管理調査(参加)

平成21年10, 11月に(財)食品薬品安全センターが実施したにんじんペースト中の残留農薬及び鶏肉ペースト中の残留動物用医薬品検査に参加した。

表10 水道水質外部精度管理

検査項目	参加機関数	データ数 (5回測定)
塩化物イオン	7	35
全有機炭素(TOC)	6	30
色度	7	35

4 微生物部

◇細菌部門◇

1) 一般依頼検査

有料である一般依頼検査では、原虫・寄生虫検査として、水道事業者からの依頼により水道水中のクリプトスポリジウム及びジアルジアの検査を23件行った。血液検査として、医療機関からの依頼によりツツガムシ病の血液検査を9人について行い、5人のツツガムシ病患者が確認された。

表1 一般依頼検査

検査項目	検体数	データ数
(1) 原虫・寄生虫検査 クリプトスポリジウム・ジアルジア	23	46
(2) 血液検査 ツツガムシ病血液検査	9	40
合 計	32	86

2) 行政検査

県保健業務課からの依頼による感染症及び感染症発生動向調査事業に係る検査、並びに県食品安全対策課からの依頼による食中毒に係る検査を行った(表2)。

(1) 感染症対策事業

腸管出血性大腸菌等の精査(性状、病原因子確認、DNA型別)が77件あった。

(2) 感染症発生動向調査

感染症発生動向調査事業として、レジオネラ症、マイコプラズマ肺炎、ライム病、Q熱、レプトスピラ症等が疑われるものについて病原学的検査をおこなった。

(3) 後天性免疫不全症候群対策

後天性免疫不全症候群対策の一環として性器クラミジア感染症血液検査を行った。検査を希望する人を対象に保健所で採血が行われた。313人の検査を行い、60人が陽性であった。

(4) 結核予防対策

結核予防対策の一環として接触者等におけるQuantiFERON TB検査(全血インターフェロニンγ応答測定法)を実施した。また、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第15条の規定による積極的疫学調査の一環として、保健所からの依頼により結核菌のJATA12-VNTRを実施した。

(5) 食中毒予防対策

県内で発生した食中毒のうち、原因菌が分離されたいくつかの事例についてDNA型別などの分子疫学的検査を行った。

(6) 三類感染症発生状況

腸管出血性大腸菌感染症では、72人の感染者が確認された。感染者が多い順に、O157が50人、O26が8人、O111が7人であった。また、細菌性赤痢の散発事例が3件3人確認された。何れの感染者も海外渡航歴があった。

3) 調査研究

食品由来感染症の細菌学的疫学指標のためのデータベースに関する研究(厚生労働科学研究費補助金、新興・再興感染症研究事業、主任研究者寺嶋淳):分担研究として北海道衛生研究所清水俊一氏の協力研究を行った。

表2 行政検査

検査項目	検査内容	検体数	データ数
(1) 感染症予防対策事業	菌株精査(病原因子、DNA型別等)	77	355
(2) 感染症発生動向調査事業	A群溶レン菌、レジオネラ症等	70	250
(3) 後天性免疫不全症候群対策	性器クラミジア	313	626
(4) 食中毒検査	菌株精査(病原因子、DNA型別等)	9	10
(5) 結核予防対策	QuantiFERON TB検査	458	916
	反復配列多型(VNTR)分析	72	864
合 計		999	3021

◇ウイルス部門◇

1) 行政依頼検査

(1) 防疫対策事業

2009/2010 シーズンのインフルエンザの流行を予測するため、県内在住の339名の血清HI抗体価を測定した。Aソ連型のワクチン株 A/プリスベン/59/2007 に対する抗体保有率(1:40以上)は、42.9-100%と全般に高率な抗体保有状況であった。A香港型ワクチン株 A/ウルグアイ/716/2007 に対する抗体保有率は、15-19歳の75%を除き、50%未満(1:40以上)の抗体保有率であった。B/フロリダ/4/2006(山形系統)に対しては10-49歳で50-75%、その他では50%未満の抗体保有状況であった。B型ワクチン株 B/プリスベン/60/2008(ヒクトリア系統)については、15-19歳の50%が最高で、他の年齢層では50%未満であった。新型インフルエンザ A/カリフォルニア

/7/2009 に対しては、一部、1:80以下の抗体陽性者が認められたが、ほとんどの県民は抗体を保有していなかった。その他、237名、238名の皆様にご協力いただき、それぞれ麻疹・ポリオの抗体保有状況調査を実施した。結果は衛生研究所微生物部ホームページを参照。

(2) 感染症発生動向調査事業

検査定点等から送付された、上気道炎由来、胃腸炎由来、眼科疾患由来、神経系疾患由来などのべ3014検体についてウイルス検査を実施した。検査は細胞培養によるウイルス分離と一部PCR法による遺伝子検出により行い、アデノウイルス70株、インフルエンザ923株(うち新型861株)、ノロウイルス39件などが分離または検出された(表)。

表 臨床診断別ウイルス分離・検出数(平成21年度)

診断名	アデノウイルス						インフルエンザ					RS	hMPV	パラインフルエンザ			Mumps	ヘルペス		ノロ		
	1	2	3	5	6	37	AH1	AH3	B	C	新型			Para1	Para2	Para3		CMV	HSV	G1	G2	
インフルエンザ様					1		1	10	10	2	792	1	4		1		1		1			
上気道炎	21	23	4	9	1					11	25	37	22	117		60	10	77	4	64	16	
下気道炎	3	1	1	2						2	1	25	4	16		12	4	9	1	8	1	
ヘルパンギーナ																				1		
手足口病	1												1									
ウイルス性発疹	1												1	1						2		
麻しん																						
流行性耳下腺炎	1															2		2	38	3		
流行性角結膜炎																						
ウイルス性髄膜炎						1																
脳炎・脳症												2										
感染性胃腸炎																						4
その他												5	1			1		1		2		1
合計	27	24	5	12	1	1	1	10	23	28	861	30	138		76	14	92	44	80	19	4	

診断名	ピコルナ														分 離 検 出 せ ず	同 定 不 能	合 計		
	CoxA2	CoxA3	CoxA4	CoxA6	CoxA9	CoxA10	CoxA16	CoxB2	CoxB3	CoxB4	Echo11	Ent71	Polio1	Polio2				Polio3	Rhino
インフルエンザ様										1						3	105		933
上気道炎	3	3	11		3	1	1	3	145	12	12	7	2	2	29	748	10	1483	
下気道炎				3	1			1	9	1		1			2	123	1	235	
ヘルパンギーナ	1	1	1				1		3							5		13	
手足口病							4					10				2		18	
ウイルス性発疹									3			1				25		37	
麻しん																9		9	
流行性耳下腺炎								4		1						28		79	
流行性角結膜炎																28	1	29	
ウイルス性髄膜炎									3							17		20	
脳炎・脳症																10		12	
感染性胃腸炎										1						40		80	
その他							1		2							51		66	
合計	4	4	15	1	3	1	7	4	170	15	12	19	2	2	2	36	1191	12	3014

(3) 後天性免疫不全症候群（HIV）抗体検査

HIV-1 型と HIV-2 型の抗体検査を 13 件実施し、陽性はなかった。

(4) C 型肝炎ウイルス抗体検査

348 件実施し、2 検体が抗体強力価（1:2048 倍以上）であった。

(5) B 型肝炎ウイルス抗体検査

375 件の検査を実施し 0 検体が陽性であった。

(6) 食中毒関連検査

ウイルス起因疑いの食中毒（様）事件の患者便と原因推定食品及びウイルス性感染性胃腸炎疑いの集団発生例について Norovirus（NV）の検査を行った。その結果、のべ 44 事例において患者糞便 415 検体中 182 検体から NV 遺伝子が検出された。

2) 調査研究

(1) ウイルス感染症の効果的制御のためのサーベイランスシステムの検討（平成 19～21 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業）

(2) 発生動向調査及び血清疫学調査のデータ還元

県内のウイルス感染症流行状況のデータを県民の皆様・医療機関に還元し、また県民の皆様の感染症に対する関心を高めるために、毎週、ウイルス検出情報、地区別インフルエンザウイルス検出状況（分離時のみ）を更新した。

5 研修業務等

1) 平成 21 年度保健所試験検査担当職員研修会

研修目的：保健所で行う試験検査等に必要な技術及び知識等の習得と検査精度の向上を目的とする。

(1) 課題研修

前期：平成 21 年 6 月 1 日～6 月 4 日

- ・理化学コース：平成 21 年 6 月 1 日～6 月 3 日
- ・微生物部コース：平成 21 年 6 月 2 日～6 月 4 日
- ・参加者：15 名

・研修内容

業務検討会：

1. EHEC 保菌者検索に用いる分離培地の検討
2. 米沢市におけるスギ・ヒノキ花粉の飛散状況
3. 最上保健所検査室における特定病原体（四種病原体）の運搬について
4. 牛乳等の細菌数測定における試験室内事故の取扱いについて

微生物関係実習：

1. 三類感染症病原体（赤痢菌、コレラ菌、チフス菌）の検査法
2. PCR による病原因子の確認検査

理化学関係実習：

1. 食品中の着色料（食用タール系色素）検査
2. 「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」の概説及び試行
3. 過去の内外部精度管理結果からの事例報告と討議

後期：平成 21 年 11 月 25 日

- ・参加者：14 名
- ・研修内容
 1. 試験検査手数料について
 2. 試験検査業務について

(2) 個別研修（微生物関係）：平成 21 年 10 月 2 日

- ・参加者：4 名
- ・研修内容

微生物関係：

斜光法、コロニーPCR を用いたレジオネラ検出法

(3) 個別研修（理化学関係）：平成 21 年 12 月 16 日 ～12 月 18 日

- ・参加者：12 名
- ・研修内容
 1. 清涼飲料水中のスズの検査
 2. HPLC を上手に使いこなすための講習会

2) 第 30 回山形県衛生研究所業務報告会

平成 22 年 3 月 10 日（水）開催

理化学部

- ・加工食品中の有機リン系農薬試験法に関する検討Ⅱ
酒井真紀子
- ・残留農薬検査における内部精度管理
萬年美穂子
- ・DSR を用いた農産物中残留農薬のスクリーニング分析
本間弘樹
- ・温泉中のストロンチウム
鐘水いずみ
- ・医薬品溶出試験について
齊藤寿子
- ・植物性自然毒による健康被害防止のための毒性研究
—ツキヨタケについて—
和田章伸
- ・抗インフルエンザ活性の生物検定法確立及び県産食材
からの抗インフルエンザ活性物質の分離
浅黄真理子
- ・食用菊等県産食材の機能性研究
沼澤聡明
- ・*Psidium guajava* の抗炎症作用（紙上发表）
笠原義正

微生物部

- ・2010 年に分離された麻しんウイルスについて
青木洋子
- ・山形県における新型インフルエンザウイルス(A/H1pdm)
検出状況
池田辰也
- ・レジオネラ症患者喀痰を資料とした *Legionella pneumophila*
の VNTR 解析
金子紀子
- ・反復配列多型分析法による結核菌の分子疫学解析（紙上
発表）
瀬戸順次

生活企画部

- ・潜在的ハチアレルギーサーベイランスのための簡易な検
査法の開発
中島暁彦
- ・山形県における 2009 年のスギ花粉飛散状況と今シーズンの
飛散予測
最上久美子
- ・先天性代謝異常等マス・スクリーニング検査実施状況
(平成 21 年度)
佐藤陽子

3) 平成 20 年度 JICA 草の根技術協力事業（地域提案型） 「インドネシア共和国パプア州地域保健向上協力事 業」研修員

期 間 平成 21 年 8 月 19 日

研修生 マラリアコントロール 2 名

実習内容

衛生研究所各部の業務紹介

4) 健康福祉企画課インターンシップ

期 間 平成 21 年 8 月 4 日～8 月 5 日

実習生 東北薬科大学薬学科4年生 1名

実習内容

衛生研究所各部の業務について

生活企画部の業務内容説明

先天性代謝異常等スクリーニング検査

花粉症予防対策事業に係る検査

感染症情報（データの集計・統計）

微生物部の業務内容説明

ウイルス検査

細菌検査

理化学部の業務内容説明

残留農薬検査

温泉分析、医薬品検査、環境放射能

食品添加物

食中毒の抗ピロリ菌活性物質の分離実習

植物性自然毒

5) その他

山形南高等学校生徒施設見学

期 間 平成21年9月1日

見学生 山形南高等学校理数科3年生 1名

見学内容

衛生研究所各部の業務について

6 夏休み親子科学教室

開催テーマ：花の色ふしぎワールドにご招待

—紅花染めも体験しよう—

開催日時：平成21年7月30日(木)

13時30分から15時30分まで

参加者：小学生14名，保護者12名

担当：理化学部

内容：花や野菜から採取した色水が、酸性やアルカリ性でどう変化するかの体験実験、ベニバナ色素の利用方法について講義、及びハンカチのベニバナ色素染色を体験した。

成果：酸やアルカリを使用する場面では保護者に操作をお願いし、親子の協力を促して、無理のない計画で参加者に満足してもらえるよう配慮した。

参加者の感想：

- ・ 実験は楽しいのもっと科学教室を増やしてほしい。
- ・ いろいろな染め物をやってみたい。
- ・ 衛生研究所のことを知った。

7 年間動向

1) 会議・検討会等出席

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2009年 5月	山形県温泉協会通常総会	南 陽 市	佐藤和美
2009年 5月	山形県新型インフルエンザ対策本部事務局対策班 班長副班長会議	山 形 市	水田克己
2009年 6月	平成21年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部総会	秋 田 市	阿彦忠之
2009年 6月	平成21年度地方衛生研究所全国協議会 60周年記念事業	東 京 都	笠原義正
2009年 6月	第1回研究評価委員会	山 形 市	水田克己他4名
2009年 6月	東北食中毒研究会平成21年度幹事会	盛 岡 市	安孫子千恵子
2009年 8月	日本細菌学会東北支部総会	盛 岡 市	瀬戸順次
2009年 9月	平成21年度地方衛生研究所全国協議会東北支部総会	福 島 市	笠原義正他1名
2009年 10月	平成21年度地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟支部 公衆衛生情報研究部総会・研修会	仙 台 市	最上久美子
2009年 10月	平成21年度地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟支部 微生物研究会総会・研修会	仙 台 市	青木洋子
2009年 11月	第46回全国衛生化学技術協議会年会	盛 岡 市	笠原義正・萬年美穂子
2009年 11月	新興再興感染症研究班会議	東京都清瀬市	阿彦忠之
2009年 12月	試験研究評価委員会	山 形 市	阿彦忠之他5名
2009年 12月	平成21年度北海道・東北・新潟地方衛生研究所理化学部専門家会議	福 島 市	本間弘樹・萬年美穂子
2009年 12月	平成21年度北海道・東北・新潟地方衛生研究所微生物部専門家会議	仙 台 市	瀬戸順次
2010年 1月	地方衛生研究所地域ブロック会議（第2回）	札 幌 市	阿彦忠之
2010年 1月	公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	埼玉県和光市	平山健一
2010年 1月	地方衛生研究所全国協議会感染症対策部会	東 京 都	水田克己
2010年 1月	地方衛生研究所全国協議会地域ブロック長等会議	東 京 都	水田克己
2010年 1月	地方衛生研究所地域ブロック会議	札 幌 市	阿彦忠之
2010年 1月	平成21年度厚生労働科学研究費補助金分担研究者会議	東 京 都	安孫子千恵子
2010年 3月	平成21年度放射能分析確認調査技術検討会	東 京 都	浅黄真理子
2010年 3月	第49回感染性腸炎研究会総会	東 京 都	金子紀子
2010年 3月	第36回山形県公衆衛生学会	山 形 市	阿彦忠之他11名

2) 学会・研究会等出席

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2009年 5月	第97回日本食品衛生学会	東 京 都	笠原義正
2009年 6月	平成21年度地域保健活動普及委託 広域的健康危機管理対応体制整備事業打合せ	東 京 都	水田克己
2009年 6月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討	東 京 都 武蔵村山市	水田克己

2009年7月	平成21年度地域保健活動普及委託 広域的健康危機管理対応体制整備事業 検討会	東京都	水田克巳
2009年7月	平成21年度地域保健活動普及委託 広域的健康危機管理対応体制整備事業 検討会	東京都	水田克巳
2009年7月	第58回東北公衆衛生学会	秋田市	瀬戸順次
2009年7月	衛生微生物技術協議会第30回研究会	大阪府堺市	阿彦忠之他2名
2009年7月	東北乳酸菌研究会	仙台市	阿彦忠之・金子紀子
2009年8月	東北食中毒研究会第22回全体会議及び研修会	盛岡市	安孫子千恵子
2009年9月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 技術指導・呼吸器ウイルス感染小児に係る検討	宇都宮市	水田克巳・青木洋子
2009年10月	広域的健康危機管理対応体制整備事業 地域ブロック広域連携検討会	札幌市	水田克巳
2009年10月	日本生薬学会第56回年会	京都市	笠原義正
2009年11月	第31回山形県臨床検査学会	寒河江市	金子紀子
2009年12月	第51回環境放射能研究成果発表会	東京都	浅黄真理子
2009年12月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討・技術指導	東京都 山口県山口市	水田克巳
2010年1月	日本獣医師会学会年次大会	宮崎市	安孫子千恵子
2010年1月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討・麻しん小班会議	東京都	青木洋子
2010年1月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討班会議	東京都	水田克巳
2010年2月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 テキストブック編集および研究打合せ	東京都 愛媛県東温市	水田克巳
2010年2月	厚生労働省科学研究 食品の安全・安全確保推進研究シンポジウム	東京都	沼澤聡明
2010年3月	日本薬学会第130年会	岡山市	青木洋子
2010年3月	第83回日本細菌学会総会	横浜市	瀬戸順次
2010年3月	厚生労働省科学研究 動物由来感染症リスク分析手法等に基づく管理の有り方に関する研究	東京都	安孫子千恵子
2010年3月	厚生労働省科学研究 ウイルス感染症の効果的制御のための病原体サーベイランスシステムの検討 未同定ウイルス株の解析とARIs研究	前橋市	水田克巳

3) 研修会・講習会等出席

年月	名称	開催地	出席者
2009年6月	平成21年度食品安全行政講習会	埼玉県和光市	酒井真紀子
2009年6月	山形県獣医技術研修会	山形市	安孫子千恵子他2名
2009年6月	新型インフルエンザ対策講演会	山形市	水田克巳他2名
2009年6月	GE半導体検出器による測定法	千葉県	浅黄真理子
2009年7月	平成21年度先天性代謝異常症等検査技術者研修会	東京都	安孫子正敏
2009年7月	特別管理産業廃棄物管理責任者に関する講習会	山形市	沼澤聡明

2009年7月	鉱泉分析法指針説明会	東京都	鎌水いづみ
2009年8月	平成21年度食品衛生検査施設信用性確保部門責任者等研修会	東京都	本間弘樹
2009年8月	結核感染診断マーカー検査教育セミナー「QFT-2G検査手技」研修	東京都清瀬市	瀬戸順次
2009年9月	新型インフルエンザ公開シンポジウム	東京都	池田辰也
2009年9月	「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」研究協力	札幌市	瀬戸順次
2009年9月	結核菌に係る研修	仙台市	瀬戸順次
2009年10月	マス・スクリーニング基礎技術研修会	東京都	佐藤陽子
2009年10月	国立感染症研究所 新興再興感染症技術研修	東京都 武蔵村山市	青木洋子
2009年10月	国立感染症研究所 薬剤耐性菌解析機能強化技術研修会	東京都 武蔵村山市	金子紀子
2009年11月	第51回温泉経営管理研修会	東根市	鎌水いづみ
2009年12月	結核対策指導者全国研修会	東京都清瀬市	阿彦忠之
2009年12月	国立感染症研究所 シークエンス研修	東京都 武蔵村山市	池田辰也・瀬戸順次
2010年1月	平成21年度指定薬物分析研修会議	東京都	齊藤寿子
2010年1月	特定化学物質及び四アレルギー鉛等作業主任者技能講習	仙台市	瀬戸順次
2010年1月	「迅速・簡便な検査によるレジオネラ対策に係る公衆浴場等の衛生管理手法に関する研究」班会議	東京都	金子紀子
2010年1月	国立感染症研究所 ウイルス研修	東京都 武蔵村山市	池田辰也
2010年1月	動物取扱責任者研修会	新庄市	瀬戸順次
2010年1月	平成21年度全国情報データベース構築担当者研修会	東京都	最上久美子
2010年1月	細胞を受け取るため山形大学医学部感染症学教室	山形市	水田克己
2010年2月	J-DreamⅡ研修会	山形市	安孫子正敏
2010年2月	平成21年度水道クリプトスポリジウム試験法に関する技術研修	埼玉県和光市	瀬戸順次
2010年2月	平成21年度残留農薬・動物用医薬品研修会	東京都	本間弘樹
2010年2月	国立感染症研究所 希少感染症診断技術研修会	東京都	青木洋子他3名
2010年3月	新型インフルエンザに関する研修会	山形市	水田克己
2010年3月	健康博覧会	東京都	和田章伸
2010年3月	LC/MS研修	東京都	本間弘樹
2010年3月	国立感染症研究所 ウイルス研修	宇都宮市	池田辰也
2010年3月	結核菌反復配列多型分析法に係る研修	大阪市	瀬戸順次

4) 講演等

年月	名 称	開催地	出席者
2009年4-8月	山形大学地域教育文化学部講師	山形市	笠原義正
2009年11月	第46回全国衛生化学技術協議会年会「シンポジウム」講師	盛岡市	笠原義正

2009年 9月	山形市学童保育連絡協議会講師	山形市	水田克巳
2009年 11月	平成21年度山形県獣医師会最上支部技術研修会講師	山形県最上町	水田克巳
2009年 12月	結核対策全県研修会講師	秋田市	阿彦忠之
2010年 2月	結核対策研修会講師	東京都清瀬市	阿彦忠之

5) 表彰等

年 月	名 称	開 催 地	受 賞 者
2009年 6月	地方衛生研究所設立60周年記念事業における厚生労働大臣表彰	東京都	笠原義正

Ⅲ 衛生研究所の概要

1 沿革

昭和23年 1月 1日	「地方衛生研究所設置要綱」(昭和23年4月7日付厚生省)により山形市旅籠町301番地県庁構内に山形県細菌検査所と山形県衛生試験所が設置された。
昭和29年 4月 1日	細菌検査所と衛生試験所を統合し、山形県衛生研究所が設置された。理化学科、細菌血清科の2科、専任所長以下21名(内兼務7名)で発足する。
昭和29年 6月26日	山形市桜町7番地17号山形県立中央病院の構内に本館、動物舎、渡廊下等新庁舎竣工。竣工した機会に保健衛生の各領域における調査研究をも併せて行う機関となり、病理科、生理科の2科を加え、総務室がおかれる。
昭和31年 8月 1日	県立中央病院の建物2棟を借り受け、理化学科が県庁構内から移転する。
昭和32年12月21日	生化学科新設される。
昭和39年 4月 1日	次長をおき総務室は総務課となる。
昭和39年10月10日	血液科を新設し、保存血液の製造にあたる。
昭和41年 4月 2日	副所長をおく。
昭和42年 4月 1日	顧問(2名)をおく。
昭和43年 1月30日	血液科採血室が増築される。
昭和44年 4月 1日	生理科廃止される。
昭和45年11月16日	公害科新設される。
昭和46年 9月 1日	血液センター設立のため血液科分離される。
昭和47年 5月18日	日本育英奨学金返還特別免除機関に指定される。
昭和47年 9月30日	山形市十日町一丁目6番6号山形県保健福祉センター構内に新庁舎竣工。
昭和47年10月20日	旧庁舎から移転する。
昭和48年 4月 1日	公害センター設置のため公害科分離される。
昭和49年 4月 1日	部制をとり、理化学、環境医学、細菌血清の3部1課となる。
昭和53年 3月31日	コンクリートブロック造、特殊ガスボンベ格納庫を新築する。
昭和56年10月 1日	特殊医薬品委託試験実施機関に指定される。
昭和57年10月 1日	感染動物実験室が設置される。
昭和62年 4月 1日	環境医学部が生活疫学部、細菌血清部が微生物部に改称される。
平成元年 3月14日	核種分析室が設置される。
平成 3年 9月12日	第43回保健文化賞を受賞する。
平成 4年 4月 1日	疫学情報室が新設され、3部1課1室となる。
平成10年 4月 1日	副所長2人(事務、技術)体制となる。
平成12年 4月 1日	疫学情報室が企画情報室に改称される。感染症情報センターをおく。
平成16年 4月 1日	企画情報室と生活疫学部を統合し、生活企画部が設置される。3部1課となる。
平成18年 4月 1日	技監を置く。
平成20年 3月24日	バイオセーフティーレベル(BSL)3実験室が設置される。
平成20年 3月31日	技監を廃止する。

2 施設

所在地	山形市十日町一丁目6番6号
着工	昭和46年11月26日
完成	昭和47年 9月30日
敷地面積	16,036㎡
建築面積	642.9㎡(194.48坪)
延床面積	3,715.13㎡(1,123.83坪)
建物構造	鉄筋コンクリート造り、地下1階・地上5階
総事業費	2億4,732万7千円

3 主要設備（指定物品）

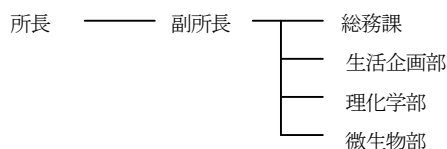
品名	設置場所	購入年度	購入価格 (千円)	摘要
1 非常用蓄電池	総務課	H7	2,949	ユアサ
2 分光蛍光光度計	生活企画部	S60	2,090	島津製作所
3 神経芽細胞腫マスキニング測定システム	生活企画部	H8	12,926	島津製作所
4 蛍光マイクロプレートリーダー	生活企画部	H10	4,116	ダイナテック社
5 神経芽細胞腫マスキニング測定システム	生活企画部	H11	6,930	東ソー
6 ドラフトチャンバー	生活企画部	H17	3,071	ダルトン
7 分光蛍光光度計	理化学部	S52	2,370	日本分光工業
8 原子吸光分光光度計(フレームレス)	理化学部	S56	9,733	日本ジャーレル・アッシュ
9 ゲルマ半導体核種分析装置	理化学部	S63	9,700	セイコーEG&G
10 ガスクロマトグラフ (GC15APF)	理化学部	H2	4,328	島津製作所
11 密度比重計	理化学部	H3	2,148	京都電子工業
12 モニタリングポスト	理化学部	H4	7,320	アロカ
13 GM自動測定装置	理化学部	H5	3,893	アロカ
14 ガスクロマトグラフ (GC14BP s)	理化学部	H5	2,196	島津製作所
15 高速液体クロマトグラフ	理化学部	H5	8,858	
16 ガスクロマトグラフ質量分析計	理化学部	H8	22,866	島津製作所
17 原子吸光分光光度計(フレーム)	理化学部	H9	3,780	島津製作所
18 原子吸光分光光度計(フレームレス)	理化学部	H9	10,962	バリアン・ジャパン
19 残留農薬GPC前処理装置	理化学部	H10	4,830	島津製作所
20 紫外可視分光光度計	理化学部	H10	2,068	島津製作所
21 溶出試験システム	理化学部	H10	5,775	日本分光
22 MCAデータ処理装置	理化学部	H11	5,512	セイコーEG&G
23 全自動カーバメイト系農薬分析システム	理化学部	H11	5,229	島津製作所
24 微量分析用高速液体クロマトグラフ	理化学部	H11	4,945	日本分光工業
25 ドラフトチャンバー	理化学部	H12	3,045	ダルトン
26 消臭・脱煙装置付電気炉	理化学部	H12	4,893	東京技術研究所
27 液体クロマトグラフ質量分析計	理化学部	H14	32,445	アプライドバイオシステムジャパン
28 ガスクロマトグラフ質量分析装置	理化学部	H17	13,650	アジレント
29 ドラフトチャンバー	理化学部	H17	3,071	ダルトン
30 イオンクロマトグラフ	理化学部	H20	6,090	日本ダイオネクス
31 プレハブ冷凍冷蔵庫	微生物部	S53	2,500	宮川科学資材
32 電子顕微鏡	微生物部	S54	24,170	日本電子
33 安全キャビネット	微生物部	S60	2,163	日立製作所
34 落射蛍光顕微鏡	微生物部	S60	3,120	オリンパス
35 超低温槽	微生物部	S61	2,132	宮川科学資材
36 分離用超遠心機	微生物部	H2	3,946	日立工機
37 全自動ガラス器具洗浄機	微生物部	H4	3,564	ドイツミレー
38 水質検査用顕微鏡	微生物部	H9	6,982	カールツァイス
39 安全キャビネット	微生物部	H15	2,992	ダルトン
40 リアルタイムPCRシステム	微生物部	H18	6,069	アプライドバイオシステムズ
41 パルスフィールドゲル電気泳動解析ソフト	微生物部	H18	2,152	日本バイオ・ラッドラボラトリーズ
42 バイオセーフティーレベル3実験室	微生物部	H19	18,417	ダルトン
43 パルスフィールドゲル電気泳動装置	微生物部	H20	3,591	バイオ・ラッド ラボラトリーズ

品名	設置場所	購入年度	購入価格 (千円)	摘要
44 DNAシーケンサー	微生物部	H21	3,854	アプライドバイオシステムズ
45 バイオハザード対策用キャビネット	微生物部	H21	3,308	オリエンタル技研工業
46 リアルタイムPCRシステム	微生物部	H21	7,035	アプライドバイオシステムズ
47 タイムラプス画像取得装置	微生物部	H22	3,000	アステック

4 業 務 (山形県行政組織規則第61条)

1. 薬品その他の理化学的試験検査に関すること
2. 食品試験検査に関すること
3. 環境衛生試験検査に関すること
4. 病理試験検査に関すること
5. 病原の検索及び血清学的検査に関すること
6. 温泉の試験検査に関すること
7. 疫学に関する情報の収集及び分析に関すること
8. その他衛生に必要な調査研究に関すること
9. 保健所その他の衛生に関する試験検査施設の指導に関すること
10. 衛生に関する研究生の指導養成に関すること

5 組織機構〔平成22年4月1日現在〕



職員異動

(転入)

氏名	新	旧
後藤 淳子	総務主査	寒河江工業高校
長岡 由香	主任専門研究員	河北病院
稲村 典子	主任専門研究員	村山総合支庁
正路 直己	研究員	新採

(転出)

氏名	旧	新
佐藤 和美	研究主幹兼理化学部長	(退職)
齊藤 寿子	主任専門研究員	村山総合支庁
伊藤 恵美	主査	村山総合支庁
沼澤 聡明	研究員	工業振興課

6 職員配置

(職種内容)

所 属	職 名	医師	事務	化学	薬剤師	臨床 検査 技師	獣医	合計	摘 要
(6名)	所長	1						1	
	副所長	1	1					2	
	研究主幹				2		1	3	
総務課 (1名)	(総務課長)		(1)					(1)	副所長兼務
	総務主査		1					1	
生活企画部 (6名)	(部長)				(1)			(1)	研究主幹兼務
	研究企画専門員				1			1	
	主任専門研究員			1		1		2	
	専門研究員	1			1			2	*1
	研究員					1		1	
理化学部 (11名)	(部長)				(1)			(1)	研究主幹兼務*2
	主任専門研究員			1	4			5	
	専門研究員			1	1	1		3	
	研究員			2	1			3	
微生物部 (4名)	(部長)						(1)	(1)	研究主幹兼務*2
	主任専門研究員				1		1	2	
	専門研究員					1		1	
	研究員						1	1	
合 計		3	2	5	11	4	3	28	他に嘱託4

*1 医師：保健薬務課健康やまがた推進室主査兼務

*2 安心局食品安全対策課検査主幹兼務

7 平成21年度歳入歳出決算

(1) 歳入

単位：円

予算科目		調 定 額	収入済額	過誤納額又は 不納欠損額	収入 未済額	備考
款 項 目	節又は細節					
8 1 1	土地建物使用料	28,127	28,127	0	0	
8 3 1	証紙収入	512,760	512,760	0	0	
14 8 5	試験検査受託事業収入	2,456	2,456	0	0	
14 8 5	一般社会保険料	1,001,656	1,001,656	0	0	
14 8 5	雑入	300,000	300,000	0	0	研究助成金
計		1,845,001	1,845,001	0	0	

(2) 歳出

単位：円

予算科目				決算額	事業名	
予算主管課	款	項 目	目の名称			
人事課	2	1	2	人事管理費	5,620	職員研修費
職員厚生課	2	1	2	人事管理費	164,000	執務室内の安全対策
財政課	2	1	1	一般管理費	236,648	赴任旅費
管財課	2	1	7	財産管理費	0	指定修繕費
生活安全調整課	4	2	2	食品衛生指導費	11,688,224	食品衛生監視指導費 乳肉営業指導費 県内流通農産物残留農薬検査事業費 食の安全安心推進事業費 食品検査信頼性確保事業費
	4	2	3	環境衛生指導費	158,170	水道維持管理指導費
文化振興課	2	2	2	計画調査費	101,080	夏休み親子科学教室、アドバイザーボード
環境企画課	4	4	4	薬務費	1,800	温泉行政費
健康福祉企画課	4	1	1	公衆衛生総務費	5,956,229	囑託職員費
	4	1	5	衛生研究所費	24,033,655	管理費 試験検査費 調査研究研修費 抗血清費 環境放射能基準調査受託費 施設設備整備費
	4	3	1	保健所費	541,755	保健所情報システム整備事業費
子育て支援課	3	2	3	母子福祉費	22,164,874	報酬職員費 新生児疾患早期発見対策事業費
保健薬務課	4	1	1	公衆衛生総務費	57,708	メタボリックシンドローム対策等連携推進事業費
	4	1	3	予防費	21,248,602	感染症対策費 ウイルス性肝炎総合対策事業費 後天性免疫不全症候群対策費
	4	3	1	保健所費	1,357,975	結核対策費
	4	4	4	薬務費	534,480	医薬品等製造業許認可費
村山総合支庁	2	2	2	計画調査費	100,000	「職と農」総合支援プロジェクト事業費
				計	88,350,820	

山形県衛生研究所報投稿規定

1 投稿者の資格

原則として当所職員とする。ただし、共著者や依頼原稿の場合はこの限りではない。

2 原稿の種類

原稿は、総説、原著、短報、資料（図、表、写真等を含む）および抄録とする。

- (1) 総説：研究・調査論文の総括、解説。内容、形式は自由とする（原稿 20 枚以内）。
- (2) 原著：独創性に富み、新知見を含む研究業績。形式は原則として英文要旨、キーワード、はじめに、材料と方法、結果、考察、文献の区分を設け順に記載する（原稿 20 枚以内）。英文要旨は 250 以内とする。
- (3) 短報：断片的な研究業績で、新知見が認められるもの。形式は原著に準ずる（原稿 10 枚以内）。
- (4) 資料：試験、検査、調査等で記録しておく必要のあるもの。形式は原則として原著に準ずるが、要旨は日本語で 500 字以内とする（原稿 30 枚以内）。
- (5) 抄録：本誌以外の学術雑誌、または学会で発表したもの（800 字以内）。

3 原稿の締め切りおよび受理

採否は所属長が決定する。編集は生活企画部が担当する。原稿の締め切り日は毎年 8 月末日とする。

4 原稿の書き方

- (1) 原稿は“MS-word”や“一太郎”等の文章作成用のソフトを用い作成し、その電子ファイルを衛研ネットワークの所報ホルダーに保存した段階で受け付けとする。
- (2) 原稿は A4 版で作成する。標題は MS ゴシック（12p 太字）、英文標題は MS ゴシック（12p 標準字）、図表の表題は MS ゴシック（10.5p 太字）、著者名は MS-明朝（10.5p 標準字）、英文著者名は Century（10.5p 標準字）、文章は MS-明朝（9p 標準字）とする。1 ページの行数は 37 行とし、余白は上 3.5cm、下、左右 2.5cm とする。ページ番号はつけない。抄録の他誌掲載論文は題名、著者名、雑誌名、巻（号：通し頁の場合は省略）、始頁～終頁、発行年を記載する。学会発表は題名、発表者名、学会名、会場都市名をそれぞれ順に記入する。
- (3) 図表原稿は希望する場所に、貼り付ける。カラー写真や図も受け付ける。
- (4) 原稿は当用漢字、現代かなづかいを用い、簡潔で理解しやすい表現にする。本文は 2 段組とする。文字数は一行 25 字程度とする。行を改めるときは 1 字空けて書き始める。数字は算用数字を用い、単位は（SI）を用いる。
- (5) 文献は、本文の引用ヶ所の右肩に 1)、1)～5) のように示し、引用文献は、次の形式で論文の最後に引用順にまとめて記載する。著者名は原則として 5 名まで記入し、それ以上については、和文では、“他”、欧文では“et al”とする。雑誌名は和文誌名の場合略記せずに完全誌名を記し、欧文誌の場合は国際的慣行に従って略記する。

雑誌の例 番号) 著者名：表題、雑誌名巻（号）、始頁～終頁、発行年

- 1) 堀口申作, 斉藤洋三：栃木県日光地区におけるスギ花粉症 Japanese Cedar Pollinosis の発見, アレルギー 13, 16～18, 1964
- 2) Brewster DH, Broun MI, et al : An Outbreak of Escherchia coli O157 Associated with a Children's Paddling Pool, Epidemiol Infect 112(3), 441～448, 1994

単行本の例 番号) 著者名：表題、書名、出版社、出版地（出版年）、pp. 始頁～終頁、

- 1) 斉藤行生：農薬等による環境汚染、食品衛生ハンドブック、藤原喜久夫、栗飯原景昭 監修、南江堂、東京（1992）、pp. 670～682
- 2) Doll R, Peto R : The Causes of Cancer, Oxford University Press, New York(1981), pp. 120～124

(6) 脚注は、本文に*を用い記述する。

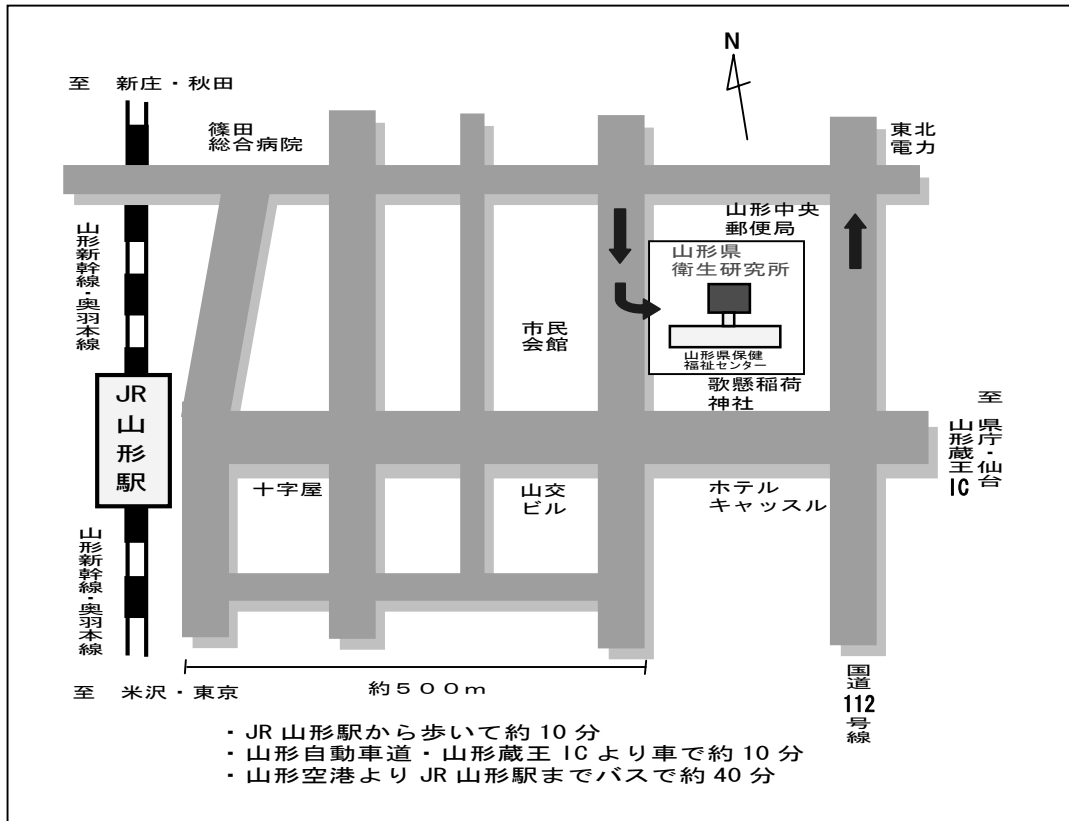
(7) 要旨は原稿の種類にかかわらず本文を読まなくても、内容の要点が理解できるように作成する。キーワードは 5 語以内とする。表題および要旨から抽出する。なお不十分な場合は本文から補充する。キーワードは国際的に広く通用するものにする。

5 その他

編集に関する必要事項は生活企画部が提案し所属長が決定する。著者校正は行わず、所内での決裁時に、投稿者は各自の論文を確認する。ページを付ける作業、PDF 化及びホームページへアップロードする作業は生活企画部が行う。最終決裁後の新たな追加あるいは修正は認めない。

6 適用

この投稿規定は、2008 年 9 月 1 日から適用する。



山形県衛生研究所報 第43号

発行日 平成22年12月24日

編集 山形県衛生研究所生活企画部

発行 山形県衛生研究所

〒990-0031

山形市十日町一丁目6番6号

TEL (023) 627-1358

FAX (023) 641-7486