

茨城県衛生研究所年報

第 51 号

Annual report of Ibaraki Prefectural
Institute of Public Health

2013

茨城県衛生研究所

はじめに

地域保健対策のあり方については、法に基づき定められた「地域保健対策の推進に関する基本的な指針」に述べられておりますが、昨年7月に当該指針が改正され、地方衛生研究所に関しては、地域における科学的かつ技術的な中核機関として、①その専門性を活用した地域保健に関する調査及び研究を推進すること、②強毒性の新型インフルエンザ等の感染症の発生や広域化する食中毒の発生等に備え、サーベイランス機能の強化や迅速な検査体制の確立と検査精度の向上等、機能の一層の充実強化を図ること、が明記されました。

昨年から今年にかけて、世界的には、西アジア地域でのMERS（中東呼吸器症候群）の感染が話題となりました。また、中国において、鳥インフルエンザA（H7N9）の感染者が多く発生したことから、本邦においてもパンデミックの発生が危惧されたところです。更に国内では、西日本を中心として、立て続けに新たなダニ感染症であるSFTS（重症熱性血小板減少症候群）の発生が確認されております。加えて、風しんの流行も大きな問題となり、国においては、風しん対策の強化を図るため、予防指針策定へ向けて、現在、作業が進められている様子です。制度面においては、本邦の感染症対策の充実の観点から、新型インフルエンザ等対策特別措置法の公布・施行もなされたところであり、いずれにしても、地方衛生研究所で感染症対策を担う者には、気の休まらない日々が続いています。

一方、理化学分野の業務においても、食品中に残留する農薬等に関する試験方法の妥当性評価の実施や国のPIC/S（医薬品査察協定及び医薬品査察協同スキーム）加盟に伴い地方の公的認定試験検査機関としての信頼性保証体制の確立も求められており、手順書の整備や作業記録の充実等への対応に追われています。

地方衛生研究所は、このような状況にあります。全国的に見ても、近年、研究所への行政上の風当たりは大変厳しいものがあり、職員数や予算が削減され続けており、当所においても例外ではありません。

これらの実状を改善するための努力は、もちろん必要であり、日ごろから衛生研究所の業務の重要性を各方面に訴える等してありますが、他方、現状を十分認識した取り組みも不可欠と考えています。このため、職員一同、試験検査にあたっては、できる限り効率的・効果的な実施に努めており、また、研究所職員としての資質向上やモチベーション確保に繋がる調査研究の実施についても、調査研究・企画評価委員会の意見をいただきながら、近年の社会のキーワードとなっている「安心・安全」を踏まえ、かつ地域性を活かした特色あるテーマを厳選して取り組む所存です。

関係者の皆様におかれましては、今後ともなお一層のご指導、ご助言をいただきますようお願い申し上げます。

平成 25 年 12 月

茨城県衛生研究所長 氣田 利正

目 次

第1章 総説

1	沿革	1
2	組織と業務概要	2
3	職員の配置	3

第2章 業務の概要

1	企画情報部	4
2	細菌部	8
3	ウイルス部	12
4	理化学部	18

第3章 調査及び研究報告

1	いわゆる健康食品からのセンノシドの検査結果	25
2	カンピロバクター属菌のPFGE法を用いた疫学に関する試験研究事業	27
3	茨城県におけるインフルエンザ検査状況（2012／13シーズン）	32
4	茨城県において検出されたA群ロタウイルスの遺伝子型別結果	38
5	SELDI プロテインチップシステムを用いた子宮頸癌のバイオマーカーの探索	42
6	農産物中の残留農薬の検査結果 —平成20年度～平成24年度—	53

第4章 学会発表要旨・抄録

1	茨城県で発生した集団下痢症から分離された <i>Campylobacter jejuni</i> の疫学解析	60
2	茨城県におけるインフルエンザ検査状況（2011／12シーズン）	61
3	麻疹の非流行期遺伝子検査の重要性	62

第5章 他誌掲載・論文要旨

1	茨城県における麻しんの検査診断	63
---	-----------------	----

第 1 章 総 説

1. 沿革

- 昭和30年12月 厚生省通達に基づき、それまで衛生部に設置されていた細菌検査所及び衛生試験所(昭和6年警察部衛生課所属設置)の2機関が統合されて、茨城県衛生研究所として、設置された。
(所在地:水戸市三の丸県庁構内, 建物構造:鉄筋コンクリート2階建)
- 昭和34年 4月 庶務部, 細菌部, 化学部, 食品衛生部, の4部制が敷かれた。
- 昭和38年 4月 庶務部, 微生物部, 化学部, 食品衛生部, 放射能部, の5部制となる。
- 昭和40年10月 水戸市愛宕町4番1号に庁舎竣工, 県庁構内から移転した。
- 昭和47年 6月 放射能部が環境局公害技術センターへ移管され, 4部制となる。
- 昭和53年 6月 組織改正により, 庶務部, 微生物部, 環境保健部, 食品薬品部, 生活環境部, の5部制となる。
- 平成 3年 5月 水戸市笠原町993番2に新庁舎竣工, 旧庁舎から移転した。
- 平成13年 4月 組織改正により, 庶務部, 企画情報部, 微生物部, 理化学部, 遺伝子科学部, へ改編される。
- 平成22年 4月 組織改正により, 庶務部, 企画情報部, 細菌部, ウイルス部, 理化学部, へ改編される。

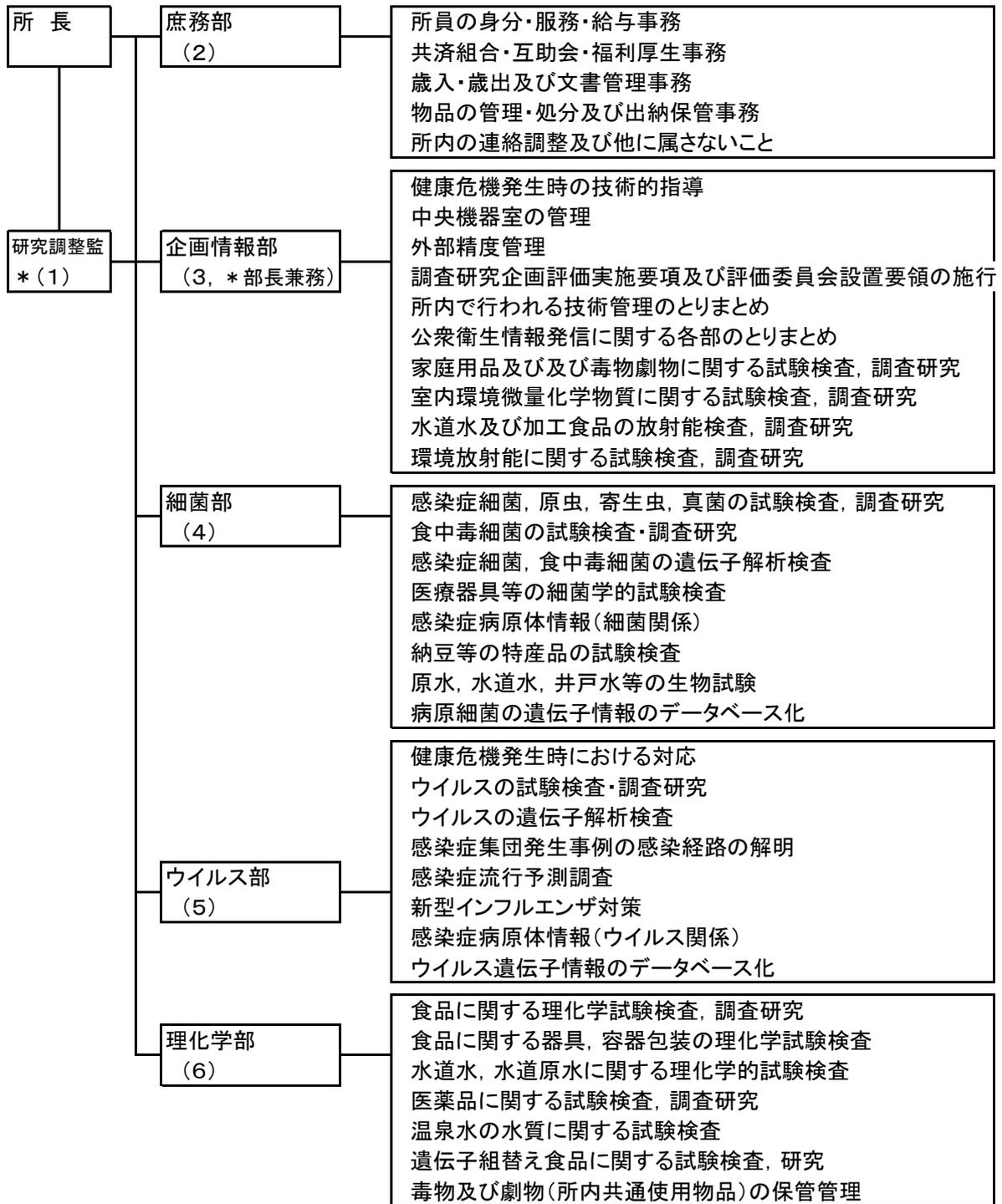
【施設の概要】

所在地	水戸市笠原町993番2
敷地	いばらき予防医学プラザ敷地(22, 418㎡)内
建設	平成 1年10月26日 着工 ~ 平成 3年 3月31日 竣工
建物	いばらき予防医学プラザ内庁舎(鉄筋コンクリート3階建・延べ床面積2, 916. 73㎡)

【歴代所長】

根津 尚光	(昭30. 11 ~ 昭37. 6)	
斎藤 功	(昭37. 7 ~ 昭47. 5)	
野田 正男	(昭47. 6 ~ 昭52. 5)	
藤崎 米蔵	(昭52. 6 ~ 昭56. 9)	
野田 正男	(昭56. 10 ~ 昭60. 8)	
美譽志 康	(昭60. 9 ~ 平10. 3)	
村田 明	(平10. 4 ~ 平11. 3)	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
土井 幹雄	(平11. 4 ~ 平19. 3)	* 平17. 4 ~ ひたちなか保健所長を兼務
藤枝 隆	(平19. 4 ~ 平20. 3)	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
真家 則夫	(平20. 4 ~ 平21. 3)	
大和 慎一	(平21. 4 ~ 平22. 3)	水戸保健所長が衛生研究所長兼務
杉山 昌秀	(平22. 4 ~ 平25. 3)	
氣田 利正	(平25. 4 ~)	

2. 組織と業務内容(平成25年4月1日現在)



* 配置定数19人(事務2, 技術17)に対し, 現員は21人(事務2, 技術19)である。

3. 職員の配置

(1) 部別職員数(平成25年4月1日現在)

所属	内訳 事務	技 術 職					任期付 研究員	技能 労務	計	嘱託及 び臨時 職員	合計
		医師	獣医師	薬剤師	臨床検 査技師	化学農 芸化学					
所長				1					1		1
庶務部	2								2		2
企画情報部				2		1			3		3
細菌部			1		2	1			4		4
ウイルス部			2		3				5		5
理化学部				5		1			6	1	7
計	2	0	3	8	5	3	0	0	21	1	22

第 2 章 業 務 の 概 要

1. 企画情報部

1 試験検査の概況

平成 24 年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

項 目	品目数	行政検査 (件)	合計(件)
県内流通医薬品試験検査	50	定量試験 50	50
医薬品及び医療機器一斉監視指導に係る試験検査	18	溶出試験 16 外観試験及び無菌試験 4	20
家庭用品試買試験検査 家庭用品 (家庭用エアゾル製品, 繊維製品等)	150	メタノール 12 テトラクロロエチレン 12 トリクロロエチレン 12 トリフェニル錫化合物 27 トリブチル錫化合物 27 ホルムアルデヒド 111	201
無承認無許可医薬品試験検査 ダイエット食品 強壮食品	50 (25) (25)	甲状腺ホルモン等 200 シルデナフィル等 175	375
水道関係放射能測定 水道水等	733	4 核種 (Cs134,136,137, I131)	2,932
加工食品の放射性物質試験検査	111	2 核種 (Cs134,137)	222
外部精度管理	1	製剤均一性試験 1 定量試験 1	2
計	1,113		3,802

上記表の行政検査の内容は以下のとおりである。

(1) 県内流通医薬品試験検査 (50 品目)

県内流通医薬品の有効性及び安全性を確保することを目的として、定量試験を実施した。

全ての品目について、基準を満たしていた。

(2) 医薬品及び医療機器一斉監視指導に係る試験検査 (18 品目)

国及び県の年度計画に基づき試験検査を実施した。

全ての品目について、基準を満たしていた。

(3) 家庭用品試買試験検査 (150 品目)

県内における家庭用品の試買試験検査を実施することにより、人の健康に被害を及ぼすおそれのある物質を含有する家庭用品を発見、排除し、県民の健康に係る被害の発生又は拡大防止を図ることを目的として実施した。

メタノール、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン、トリフェニル錫化合物、トリブチル錫化合物、ホルムアルデヒドについて検査を行ったが、いずれも、有害物質は検出されなかった。

(4) 無承認無許可医薬品検査 (50 品目)

県内における健康食品の試買試験検査を実施することにより、無承認無許可の医薬品の流通防止とそれらが原因となる健康被害を未然に防止することを目的として実施した。

県内で販売されているダイエット目的と推察される製品 25 品目について、8 項目(甲状腺ホルモン、フェンフルラミン、N-ニトロソフェンフルラミン、センノシド、エフェドリン、ノルエフェドリン、シブトラミン、脱 N-ジメチルシブトラミン)の検査を行ったが、全て不検出であった。

また、強壮目的と推察される製品 25 品目について、7 項目(シルデナフィル、バルデイナフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、ヒドロキシホモシルデナフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィル)の検査を行ったが、全て不検出であった。

(5) 水道関係放射能測定 (733 品目)

福島第一原子力発電所事故後の水道水等の放射能を測定することにより、水道水の安全性を確認することを目的として実施した。

ゲルマニウム半導体検出器により水道水等(浄水及び原水) 733 品目について、セシウム 134、136、137 及びヨウ素 131 の放射能濃度 (Bq/kg) の検査を行ったが、全て不検出であった。

(6) 加工食品の放射性物質試験検査 (111 品目)

福島第一原子力発電所事故後の加工食品の放射性物質を測定することにより、食品の安心・安全を確認することを目的として実施した。

ゲルマニウム半導体検出器により、加工食品(飲料水、牛乳、乳児用食品、一般食品)

111 品目について、セシウム 134, 137 の放射能濃度 (Bq/Kg) の検査を行ったが、全て基準値未満であった。

2 県内試験検査機関外部精度管理 (水質検査外部精度管理事業)

水道水測定分析に従事する諸機関が、均一に調整された試料を分析することによって得られる結果と前処理条件、測定機器の使用条件等の関係、その他分析実施上の具体的な問題点の調査を行うことにより、分析の精度及び正確さの向上を図り、データの信頼性の確保に資することを目的として実施した。

10 検査機関を対象に水道法の水質基準項目の塩素酸について外部精度管理調査を実施した。

各機関の測定値の変動係数は、10 機関全てで 10%以下と小さい値を示し、測定精度は良好と判断された。回収率については、10 機関全てが 90~110%の範囲内にあり、良好と判断された。

3 調査研究企画・評価委員会及び機関評価委員会の実施

調査研究企画・評価実施要項及び評価委員会設置要項に基づき委員会を開催し、当所が行う調査研究事業について評価を受けるとともに試験研究機関評価を受けた。

平成 24 年 7 月 26 日(木)に実施し、完了報告課題 1 題、計画変更課題 5 題の計 6 課題について評価委員の審査を受けた。いずれも、研究課題として妥当なものとして評価された。

<完了報告課題>

1 茨城県の感染症発生時における検査体制の確立に関する試験研究

<計画変更課題>

1 重症急性呼吸器感染症起因微生物の網羅的検出法に関する検討

2 百日咳の検査体制確立のための調査研究

3 カンピロバクター属菌の菌数測定技術と PFGE 法 (パルスフィールドゲル電気泳動法) を用いた疫学に関する調査研究

4 健康危機管理情報に関する調査研究

5 医薬品類の安全性に関する調査研究

<評価委員>

委員長 筑波大学名誉教授

下條 信弘

委員 筑波大学大学院 人間総合科学研究科教授

大久保 一郎

(財)食品薬品安全センター秦野研究所研究顧問

小野 宏

植草学園大学保健医療学部長

小池 和子

横浜薬科大学教授

石崎 睦雄

保健福祉部次長

森戸 久雄

保健所長会長

大和 慎一

企画部理事兼科学技術振興監

増子 千勝

(独)産業技術総合研究所イノベーション推進本部

清水 聖幸

産学官連携推進部長兼地域連携室長

兼ものづくり基盤技術支援室長

4 人材育成

学会・研修会等

学会等の名称	開催地	年月日	人員
平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会 及び研究発表会	東京都	24.6.8	1
都道府県違法ドラッグ対策連絡会	東京都	24.7.13	1
第 9 回日本薬局方に関する説明会	東京都	24.8.29	1
平成 24 年度食品衛生検査施設信頼性保証部門責 任者等研修会	東京都	24.10.5	1
日本法科学技術学会第 18 回学術集会	東京都	24.11.15～16	1
第 49 回全国衛生化学技術協議会年会	香川県	24.11.21～22	1
第 2 回公衆衛生情報研究部会・総会及び地方感染 症情報センター担当者向けブロック疫学研修会	埼玉県	24.11.30	1
島津質量分析アプリケーションセミナー2012	つくば市	24.12.18	1
バリデーションに係る研修会	東京都	24.12.19	1
島津 PIC/S セミナー	東京都	24.12.20	1
PIC/S 加盟における公的認定試験検査機関の取 り組みに関する意見交換会	東京都	25.1.21	1
第 20 回地域を活かす科学技術政策研修会	水戸市	25.2.6～7	1
平成 24 年度指定薬物分析研修会議	東京都	25.2.22	1
平成 24 年度 GMP 研修会 (バリデーション実習)	埼玉県	24.2.26	1
平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信 静支部第 25 回理化学研究部会総会・研究会	栃木県	24.2.17	3

2. 細菌部

1 試験検査の概況

平成24年度試験検査実施状況を別表に示した。その内容は次のとおりである。

(1) 行政検査

ア 細菌の分離同定検査

感染症法により三類感染症として届出のあった患者から分離され、保健所等から送付された菌株について同定試験、毒素産生性試験等を実施した。分離菌株は、腸管出血性大腸菌（EHEC）50株、赤痢菌4株の計54株で、その試験検査結果は以下のとおりである。

EHEC の血清型は O157 24株、O121 21株、O111 2株、O26 1株、EHEC 型不明 2株であった。

赤痢菌は1株が *Shigella sonnei* , 3株が *S.flexneri* であった。

イ 細菌の分子疫学検査

結核の集団感染事例において、感染源特定に資するために結核菌27株のDNAについて RFLP 解析及び12領域の VNTR 分析を実施した。

ウ 感染症発生動向調査事業

レジオネラ菌同定検査を6検体、同菌分離を2検体、同菌 PCR を9検体実施した。B 群溶血性連鎖球菌の血清型別を10検体、百日咳の PCR を5検体、アシネトバクター分離培養を10検体、マイコプラズマ PCR を5検体、同薬剤耐性 PCR 及び培養を1検体実施した。また、B 群溶血性連鎖球菌の PFGE（遺伝子型別）を8検体、アシネトバクターの PFGE を29検体、*Clostridium difficile* の PFGE を3検体実施した。

更に、ライム病ボレリアの抗体検査7検体及びレプトスピラの同定検査7検体を国立感染症研究所に送付し実施した。

エ 食中毒検査

当所が受け付けた食中毒及びその疑いの症例原因菌株は49株であった。

内訳は、カンピロバクター属菌30株、サルモネラ属菌8株、ウェルシュ菌5株、セレウス菌3株、腸炎ビブリオ3株で、これらの菌株について菌種同定、血清型別、毒素産生能等について試験を行った。

更に、寄生虫のアニサキス同定が1件、*Kudoa septempunctata* 9件の検査を行った。

オ 食品微生物行政検査

食品等輸入者取扱食品26検体について大腸菌群検査(23検体)と芽胞数検査(3検体)を行った。また、食鳥処理場関連および食肉の試験検査により分離さ

れたカンピロバクター属菌39株、サルモネラ属菌16株の総計55株について菌種同定、血清型別等の試験を行った。

カ 病原性微生物等実態調査

病原性微生物等実態調査実施要領に基づき、水道原水及び浄水中のクリプトスポリジウム等の汚染状況の実態を把握し、水道施設の適正な水質管理対策に資した。平成24年度は5つの水源（5施設）について下記項目の調査を行った。

その結果、クリプトスポリジウム、ジアルジア、大腸菌、嫌気性芽胞菌は不検出で、残留塩素と浄水濁度は基準内（原水濁度は基準なし）であった。

検査項目	件 数		計
	水道原水	浄 水	
気温	5	5	10
水温	5	5	10
pH	5	5	10
濁度	5	5	10
残留塩素濃度	-	5	5
大腸菌	5	-	5
嫌気性芽胞菌	5	-	5
クリプトスポリジウム	5	5	10
ジアルジア	5	5	10
合 計	40	35	75

(2) 有料依頼検査

ア 納豆検査

昭和46年環第973号の部長通知により県内納豆製造業者（茨城県納豆商工業協同組合員）が年3回自主検査を行った（113検体）。納豆1検体が大腸菌群陽性であった。

2 研修指導

ア 検査課検査業務に係る試験検査技術研修

実施年月日：平成25年3月7～8日

参加者：水戸・土浦保健所職員 4名

研修内容：・既知菌株を用いた検査課使用培地中コロニーの観察について
・セレウス菌の選択培地について
・その他の微生物関連検査について

イ 「感染症発生動向調査等においてゆうパックにより検体を送付するための研修会」

実施年月日：第1回 平成24年5月21日

第2回 平成24年10月5日

場 所：県立健康プラザ3階大会議室
 対 象：県内医療機関及び保健所等関係者
 参加人数：第1回 82名 第2回 32名

3 人材育成

ア 学会・研修会出席

学会の名称	開催地	年月日	人員
衛生微生物協議会研究会	神奈川県横浜市	24.6.28~29	2
食品衛生監視員協議会関東ブロック研修会	東京都江戸川区	24.8.31	1
平成24年度関東・東京合同地区獣医師会・獣医学術三学会	埼玉県さいたま市	24.9.2	1
第104回日本食品衛生学会	岡山県岡山市	24.9.19~21	1
第33回日本食品微生物学会学術総会	福岡県福岡市	24.10.25~26	1
日本カンピロバクター研究会	大阪府泉佐野市	24.11.30~12.1	1
第24回日本臨床微生物学会	神奈川県横浜市	25.2.2	1
第25回地研全国協議会関東甲信静支部細菌部会総会・研究会	神奈川県横浜市	25.2.7~8	2
平成24年度希少感染症診断技術研修会	東京都新宿区	25.2.26~27	2

平成24年度試験検査実施状況

項目		検査件数		
		行政検査	有料検査	計
感染症細菌の分離同定	腸管出血性大腸菌	50		50
	赤痢菌	4		4
	結核菌	28		28
	百日咳菌 (PCR)	5		5
	レジオネラ属菌 (PCR含む)	17		17
	アシネトバクター	10		10

	マイコプラズマ	6		6
	小計	120		120

細菌血清反応・毒素検査	腸管出血性大腸菌血清型	50		50
	大腸菌ペロ毒素	50		50
	B群溶血レンサ球菌	10		10
	レジオネラ菌血清型別	8		8
	小計	118		118
疫学解析	結核菌 (RFLP,VNTR)	27		27
	B群溶血レンサ球菌 PFGE	8		8
	<i>Clostridium difficile</i> PFGE	3		3
	アシネトバクターPFGE	3		3
	腸管出血性大腸菌 PFGE	10		10
	小計	51		51
食品微生物等	食品細菌		113	113
	食中毒細菌等	59		59
	食鳥処理場関係	32		32
	食品等輸入取扱食品	26		26
	医薬品等無菌検査	2		2
	水環境レジオネラ菌検査	4		4
	小計	123	113	236
総計	412	113	525	

3. ウイルス部

当部の主な業務は、ウイルス及びリケッチアによって引き起こされる様々な感染症や食中毒についての試験検査，調査研究，病原体検出情報の提供である。

試験検査業務は、感染症発生動向調査事業、性感染症対策事業、食中毒対策事業等に関連する業務を行っている。感染症発生動向調査事業では、インフルエンザ及び感染性胃腸炎の検査が多くを占め、その他麻しん、急性脳炎、無菌性髄膜炎等の検査を実施した。

調査研究業務では、国の委託事業である感染症流行予測調査事業において、日本脳炎の感染源調査、インフルエンザ及び麻しんの感受性調査を実施した。

1 試験検査の概況

(1) 感染症発生動向調査事業等に関する試験検査

ア インフルエンザ

病原体定点医療機関から提出のあった127検体，集団発生事例の76検体の合計203検体について遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。その結果，AH3亜型が150件，B型が18件，AH1pdm2009が5件検出された。集団発生事例では、全てAH3亜型であった。

イ 感染性胃腸炎

集団感染53事例等の248検体について検査を行った。

遺伝子検査法によってノロウイルス，サポウイルス，A群ロタウイルス，アデノウイルスを検査した。ノロウイルスが137件（GI：10件 / GII：127件），サポウイルスが12件，A群ロタウイルス27件，アデノウイルスが1件検出された。

ウ 麻しん

麻しん（疑い例を含む）患者59名の血清又は血漿（以下，血清等）及び咽頭拭い液等90検体について，遺伝子検査，抗体検査，分離培養検査を行った。

麻しんウイルスが検出されなかった事例については，風しんウイルス，ヒトパルボウイルスB19，4歳未満の小児についてはさらにヘルペスウイルス6型（HHV6）及びヘルペスウイルス7型（HHV7）等を実施した。麻しんウイルス及び風しんウイルスについては，血清等及び咽頭拭い液を，その他のウイルスについては血清等を検査材料とした。

その結果，風しんウイルスが12件，HHV6及びHHV7が17件，EBVが1件，コクサッキーA9が2件検出された。麻しんウイルスは1件も検出されなかった。

エ 急性脳炎

急性脳炎・脳症（疑い例を含む）の患者23名の血清、髄液、咽頭拭い液等を用いて、遺伝子検査及び分離培養検査を実施した。その結果、HHV6が4件、HHV7+EBVが1件、NV（G2）+AdV-1が1件、AdV-6が1件、ARVが3件、EV71が1件、CB3が1件検出された。

オ その他（無菌性髄膜炎，手足口病，流行性角結膜炎）

・無菌性髄膜炎16検体，手足口病3検体，流行性角結膜炎6検体について検査した。無菌性髄膜炎から7件（エコーウイルス6型が5件，EV71が1件，ムンプスウイルスが1件）、手足口病からは2件（コクサッキーウイルスA9が1件，エンテロウイ

ルス 71 が 1 件)、流行性角結膜炎から 4 件 (アデノウイルス 56 型 1 件、37 型 1 件、4 型 1 件、53 型 1 件) ウイルスが検出又は分離された。

・ デング熱、つつが虫病、A 型肝炎 等

デング熱 3 検体、つつが虫病 4 検体、A 型肝炎 5 検体、重症熱性血小板減少症候群 2 検体、ウエストナイル熱 1 検体について、遺伝子検査を実施した。

デング熱は 1 件からデングウイルス 2 型が検出された。つつが虫病は 1 件からオリエンティアツツガムシ (Karp) が検出された。A 型肝炎は 1 件から A 型肝炎ウイルスが検出された。重症熱性血小板減少症候群及びウエストナイル熱からはウイルスは検出されなかった。

(2) 性感染症対策に関する試験検査

水戸・土浦保健所で実施しているエイズスクリーニング検査 (簡易迅速法) で抗体陽性であった 8 検体について、確認検査 (ウエスタンブロット法及び遺伝子検査を実施) を行った。その結果、3 検体が陽性であった。

(3) 食中毒対策に関する試験検査

ア 食中毒 (疑い) 等

26 事例 203 検体の検査を行った。

203 検体について、RT-PCR 法によりノロウイルスの検査を行ったところ、G I が 11 検体、G II が 36 検体から検出された。

イ 食品検査

4 事例の食中毒で原因食品として疑われたカキについて検査したところ、1 事例からノロウイルスが検出された。

ウ 食品衛生試験検査

茨城県産の二枚貝 (岩カキ) のノロウイルス検査を実施したところ、37 ロット (1 ロット : 10 個) 中、6 ロットからノロウイルス G II が検出された。

(4) 職員の健康管理事業に関する検査

茨城県の「保健所及び衛生研究所に勤務する職員の B 型肝炎検査及びワクチン接種実施要領」に基づき、保健所等職員 88 名について、B 型肝炎の血清学的検査 (HBs 抗原及び HBs 抗体検査) を実施した。

2 調査研究

感染症流行予測調査事業

日本脳炎感染源調査、インフルエンザ感受性調査及び麻疹感受性調査を実施した。

ア 日本脳炎感染源調査

ブタが日本脳炎ウイルスの増幅動物となっていることを利用し、ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体価を測定することでその浸淫度を調査し、日本脳炎の流行を予測するために実施した。

検査材料には、平成 24 年 7 月から 9 月にかけて (株) 茨城県中央食肉公社に集荷

された生後 6 ヶ月の県内産のブタから 8 回 (1 回あたり 10 頭) にわたって採血した。合計 80 検体について、血清中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体) 価を測定した。

その結果、80 検体全てで HI 抗体は陰性であり、日本脳炎の県内の侵入は確認できなかった。

イ インフルエンザ感受性調査

インフルエンザウイルスに対する血清中の抗体を測定することでヒトの免疫状況を把握し、次シーズンの流行予測に役立てるために実施した。

平成 24 年 7 月～10 月に年齢群ごとに採血した 221 名の血清について 4 種の HA 抗原を用いてインフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体) 検査を実施した。

感染防御の指標とされる抗体価は 1:40 以上とされており、その抗体保有状況をみると、A/カリフォルニア/7/2009(H1N1)pdm09 に対する平均抗体保有率は 40.3%であり、各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 13.5%、5～9 歳で 57.1%、10～14 歳で 62.5%、15～19 歳で 80.0%、20～29 歳で 51.1%、30～39 歳で 44.0%、40～49 歳で 33.3%、50～59 歳で 31.8%、60 歳以上で 19.0%であった。

A/ビクトリア/361/2011 (H3N2) に対する平均抗体保有率は 18.6%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 8.1%、5～9 歳で 35.7%、10～14 歳で 31.3%、15～19 歳で 40.0%、20～29 歳で 23.4%、30～39 歳で 20.0%、40～49 歳で 0.0%、50～59 歳で 13.6%、60 歳以上で 14.3%であった。

B/ブリスベン/60/2008 (ビクトリア系統) に対する平均抗体保有率は 20.8%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 8.1%、5～9 歳で 28.6%、10～14 歳で 12.5%、15～19 歳で 13.3%、20～29 歳で 23.4%、30～39 歳で 44.0%、40～49 歳で 20.8%、50～59 歳で 31.8%、60 歳以上で 4.8%であった。

B/ウイスコンシン/1/2010 (山形系統) に対する平均抗体保有率は 14.5%であった。各年齢群における抗体保有率は 0～4 歳で 0.0%、5～9 歳で 16.7%、10～14 歳で 14.3%、15～19 歳で 13.3%、20～29 歳で 34.0%、30～39 歳で 16.0%、40～49 歳で 12.5%、50～59 歳で 13.6%、60 歳以上で 0.0%であった。

なお、この調査は、水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

ウ 麻疹感受性調査

麻疹ウイルスに対するヒト血清中の抗体保有状況を調査し、麻疹ワクチン接種効果を調査するとともに、今後の流行予測を行うことを目的として実施した。

平成 24 年 7 月から 10 月にかけて各年齢群別に採取された 223 名の血清について、「セロディア・麻疹」(富士レビオ)を用い麻疹 PA 抗体価を測定した。抗体陰性者 (<16) は 10 名と全体の 4.5%であった。感染防御レベルは 1:128 とされているが、抗体陽性者のうち 1:128 未満の者は 23 名で全体の 10.3%を占めていた。

なお、この調査は、水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

3 研修指導

ア 技術指導

保健所職員等公衆衛生にかかわる関係者の検査技術の向上を目的として実施している。

対象者	内容	期間	人員
保健所新規感染症担当者	検体の取扱いと搬送について	24.4.26	22人
水戸・土浦保健所検査課職員	ノロウイルスの遺伝子検査法	25.3.7～8	4人

イ 講師派遣

高齢者福祉施設などの社会福祉施設等職員を対象に、感染症の集団感染の予防又は発生時の対応について、正しい知識の普及啓発を図った。

対象者	内容	派遣日	人員
茨城県内の医療機関等	ゆうパックにより検体を送付するための研修会	①24.5.21 ②24.10.5	①90人 ②41人
笠間市高齢福祉課ケアマネージャー	感染症予防対策とインフルエンザ	24.11.15	38人
笠間市社会福祉施設の職員	社会福祉施設における感染症予防対策	24.11.28	20人

4 人材育成

ア 学会・研修会等参加

調査研究の成果を発表するため、また、職員の検査技術や知識の向上を図るため、各種学会等の学術集会や研修会に参加した。

学会の名称	開催地	開催日	人員
第100回日本小児科学会地方会	つくば市	24.6.17	1人
衛生微生物技術協議会第33回研究会	神奈川県横浜市	24.6.28～29	2人
地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会第27回研究会	山梨県甲府市	24.9.27～28	2人
高病原性鳥インフルエンザ(H5N1)同定技術研修会	東京都武蔵村山市	24.9.5	1人
国立保健医療科学院 ウイルス研修	東京都武蔵村山市	H24.10.1～19	1人
平成23年度全国食品衛生監視員研修会	東京都中央区	24.10.20	1人
第44回日本小児感染学会学術集会	福岡県北九州市	24.11.23～25	2人

平成 24 年度動物由来感染症対策技術研修会	東京都新宿区	24. 11. 2	1 人
平成 24 年度希少感染症診断技術研修会	東京都新宿区	25. 2.26	2 人

5 情報の発信

国立感染症研究所の病原微生物検出情報（IASR）に、当研究所の積極的な取り組みやインフルエンザの発生事例等について寄稿し、全国の感染症研究者等に情報提供している。

- ・ 茨城県における麻しんの検査診断

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-vol34/3181-iasr-396.html>

平成24年度 感染症発生動向調査事業に係る検査件数(ウイルス部)

感染症の類型	臨床診断名	検体数(人)	検出病原体名	ウイルス検出件数		
				遺伝子検査	分離培養	
4類感染症 (全数届出疾患)	A型肝炎	5	HAV	1		
	つつが虫病	4	ツツガムシ(Karp)	1		
	デング熱	3	デングウイルス2型	1		
	重症熱性血小板減少症候群	2	SFTSウイルス	0		
	ウエストナイル熱	1	ウエストナイルウイルス	0		
5類感染症 (全数届出疾患)	急性脳炎・脳症	23	HHV6	4		
			HHV7+EBV	1		
			NV(G2)+AdV-1	1		1
			AdV-6	1		1
			ARV	3		
			EV71	1		1
			CB3	1		0
	麻疹等	59	HHV6	14		
			HHV7	2		
			HHV6+HHV7	1		
			Rubella	12		8
			CA9	2		0
			EBV	1		
5類感染症 (定点把握疾患)	感染性胃腸炎等	14	ARV	13		
	手足口病	3	CA9	1	0	
			EV71	1	0	
	インフルエンザ	127	A(H1N1)2009	5	5	
			AH3	97	78	
			B	18	14	
	流行性角結膜炎	6	AdV-56	1	1	
			AdV-37	1	1	
			AdV-4	1	1	
			AdV-53	1	1	
	無菌性髄膜炎	16	Echo6	5	5	
			EV71	1	1	
			Mumpus	1	0	
その他	不明疾患等	27	PVB19	1		
			RSV-A+HRV	1	1(RSV-A)	
			RSV-A	1	0	
			PIV1	1	1	
			PIV3	5	2	
			AdV-1	1	1	
			AdV-3	1	1	
			AdV-41	1	0	
			HRV-A	1	0	
			EV71	1	1	
			CA9	1	1	
			HHV6	1		
			合計(人)		290	
集団感染事例	インフルエンザ	76	AH3	53	12	
	感染性胃腸炎	234	NV(G1)	10		
			NV(G2)	127		
			ARV	14		
			SaV+AstV	1		
			SaV	11		
			AdV-41	1		
合計(人)		310		217	12	

4. 理化学部

1 食品試験検査の概況

(1) 平成24年度食品検査実施状況は、次表のとおりである。

項目	検体数	項目数	件数
ア 輸入加工食品残留農薬試験検査 (有機リン系農薬)	50	42	2,100
イ 遺伝子組換え食品試験検査	10	1	10
ウ 県外産農産物残留農薬試験検査	20	125	2,500
エ 輸入野菜残留農薬試験検査	50	125	6,250
オ 加工食品中アレルギー物質試験検査	50	3	50
カ 輸入食品試験検査			
柑橘類の残留農薬	25	12	300
乾燥果実・煮豆, リン, 菓子の食品添加物	95	3	151
農産物漬物原料の食品添加物	25	1	25
リンゴ果汁	10	1	10
キ 食品等輸入者取扱い食品検査			
ソルビン酸	7	1	7
指定外酸化防止剤 (TBHQ)	7	1	7
ク 食中毒・苦情食品・違反食品等の行政検査	15		23
合計	364		11,433

(2) 業務内容

ア 輸入加工食品残留農薬試験検査 (有機リン系農薬)

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度輸入加工食品の残留農薬試験検査実施要領に沿って、輸入加工食品50検体について42項目の有機リン系農薬の検査を実施したが、食品衛生法上問題のあるものはなかった。

測定項目

E P N, クロルピリホス, シアノホス, ジクロロボス, ダイアジノン, チオメトン, フェニトロチオン, ブタミドホス, マラチオン, メタミドホス, 他32成分

② 成果

輸入加工食品の安全・安心を確保することができた。

イ 遺伝子組換え食品試験検査

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度遺伝子組換え食品の試験検査実施要領に沿って、大豆10検体 (ラウンドアップレディ大豆遺伝子) について遺伝子組換え体の含有検査を実施し、1検体から遺伝子組換え体0.90

%が確認されたが、規制（5.0%以上のものは表示が必要）を受けない量であった。

② 成果

遺伝子組換え食品の流通に関する検査データを示すことにより、食の安全・安心を確保することができた。

ウ 県外産農産物残留農薬試験検査

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度県外産農産物の試験検査実施要領に沿って、県外で生産された野菜20検体（キャベツ、キュウリ各5検体、ニンジン、レタス各3検体、ダイコン、トマト各2検体）について農薬125項目の検査を実施した。

結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、いずれも基準値以下であった。

- ・キャベツの1検体からチアメトキサム、他の1検体からプロシミドンが検出された。
- ・キュウリの1検体からプロシミドン、他の1検体からチアメトキサム及びプロシミドンが検出された。
- ・レタスの1検体からクロチアニジン及びチアメトキサム、他の1検体からシハロトリン及びイミダクロプリドが検出された。
- ・ダイコンの1検体からクロルピリホスが検出された。

測定項目

EPN、アクナトリン、イミダクロプリド、インドキサカルブ、エトプロホス、エトリムホス、オキシカルボキシシン、カズサホス、クロルフェンゾン、シアノホス、他115成分

② 成果

県内を流通する県外産野菜の残留農薬についての検査データを示すことにより、食の安全・安心を確保することができた。

エ 輸入野菜残留農薬試験検査

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度輸入野菜の試験検査実施要領に沿って、輸入野菜を2回に分けて、それぞれ各25検体、計50検体について農薬125項目の検査を実施した。

検査を行った野菜は、第1回は、ブロッコリー5検体、インゲン、たけのこ、パプリカ各4検体、アスパラガス3検体、ほうれん草2検体、カリフラワー、ニンジン、サトイモ各1検体、第2回は、かぼちゃ7検体、エンドウ、サトイモ、たけのこ各3検体、ほうれん草2検体、アスパラガス、インゲン、カリフラワー、ニンジン、パプリカ、ピーマン、ブロッコリー各1検体である。

結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、いずれも基準値以下であった。

(第1回の結果)

- ・インゲンの1検体からイミダクロプリド，他の1検体からシペルメトリンが検出された。
- ・パプリカの1検体からインドキサカルブ，他の1検体からイミダクロプリド及びインドキサカルブ，他の1検体からイミダクロプリド，クロチアニジン，チアメトキサム，フェンバレレート，プロシミドン，メトキシフェノジドが検出された。
- ・ほうれん草の1検体からシペルメトリンが検出された。

(第2回の結果)

- ・かぼちゃの3検体からイミダクロプリド，他の1検体からイミダクロプリド及びシペルメトリン，他の1検体からイミダクロプリド及びビフェントリン，他の1検体からイミダクロプリド，ビフェントリン及びミクロブタニルが検出された。
- ・ほうれん草の1検体とブロッコリーの1検体からイミダクロプリドが検出された。

測定項目はウ県外産農産物残留農薬試験検査と同じ。

② 成果

県内を流通する輸入野菜の残留農薬についての検査データを示すことにより，食の安全・安心を確保することができた。

オ 加工食品中のアレルギー物質試験検査

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度アレルギー物質を含む食品の試験検査実施要領に沿って，加工食品50検体について，食品衛生法上表示義務のある特定原材料（小麦，そば，落花生）の検査を実施したところ，1検体について「そば」の原材料表示がないにもかかわらず当該成分が検出された。

小麦アレルギー物質検査：22検体

そばアレルギー物質検査：20検体

落花生アレルギー物質検査：8検体

② 成果

検査結果を速やかに保健所等へ連絡したことにより，適切な衛生指導につながった。

カ 輸入食品試験検査

① 実績

ア) 柑橘類の残留農薬

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度輸入食品の試験検査実施要領に沿って，柑橘類25検体（グレープフルーツ10，オレンジ8，レモン7）について有機リン系農薬12項目の検査を実施したところ，いずれも基準値以下であった。

測定項目

エトリムホス，キナルホス，クロルピリホス，ジクロロボス，トルクロホスメチル，パラチオンメチル，ピラクロホス，フェニトロチオン，プロチオホス，マラチオン，ピリミホスメチル，クロルフェンビンホス

イ) 乾燥果実・煮豆，ワイン，菓子の食品添加物

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って，輸入食品95検体（乾燥果実15，煮豆5，ワイン19，菓子類56）について残存する二酸化硫黄（亜硫酸塩）を又はTBHQ，THBPの検査を行ったところ，二酸化硫黄（亜硫酸塩）はすべて基準値以下，TBHQ，THBPはすべて不検出であった。

TBHQ：tert-ブチルヒドロキノン（指定外酸化防止剤）

THBP：テトラヒドロキシブチルフェノール（指定外酸化防止剤）

ロ) 農産物漬物原材料の食品添加物

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って，輸入農産物漬物原材料（漬物を含む。）25検体についてソルビン酸の検査を実施したところ，10検体からソルビン酸が検出されたが，いずれも基準値以下であった。

エ) リンゴ果汁のカビ毒

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って，リンゴ果汁10検体についてパツリンの検査を実施したところ，すべて不検出であった。

② 成果

県内に流通する各種輸入食品の残留農薬，食品添加物，カビ毒についての検査データを示すことにより，食の安全・安心を確保することができた。

キ 食品等輸入者取扱食品検査

① 実績

平成24年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成24年度食品等輸入者取扱食品の試験検査実施要領に沿って，輸入食品（菓子，漬物，ワイン等）14検体について，ソルビン酸またはTBHQの検査を実施したところ，3検体からソルビン酸が検出されたが，いずれも基準値以下であった。

② 成果

県内に所在する食品等輸入者の取り扱う食品の食品添加物についての検査データを示すことにより，食の安全・安心を確保することができた。

ク 食中毒・苦情・違反食品等の行政検査

① 実績

ア) 苦情食品検査

保健所等に有症苦情や苦情の届け出のあった食品7検体について，以下のとおり原因究明のための検査を実施した。

芋がら汁（給食）2検体：有症苦情 シュウ酸カルシウムの確認検査を行ったところ，2検体とも同物質の結晶を確認した。

生姜酢漬け4検体：違反食品 アスパルテーム検査を行ったところ，検出されなかった。

杏仁プリン1検体：有症苦情 アレルギー物質検査を行ったところ，落花

生の成分が検出された。

イ) その他

保健所における年末一斉監視指導に係る試験検査で、油菓子8検体について、酸価、過酸化価の検査を実施したところ、酸価については、最高2.50 mg/g、過酸化価については、最高18.20mg/gであった。

② 成果

結果を速やかに保健所へ連絡したことにより、適切な衛生指導につながった。特に杏仁プリンについては、他県の製造所の製品であったため、保健所、生活衛生課を通じて所在県へ通報され、健康被害防止のため製品回収となった。

ケ 外部精度管理

① 実績

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が行う平成24年度食品衛生外部精度管理調査に参加し、重金属検査（玄米中カドミウムの定量）、食品添加物検査（漬物中のソルビン酸の定量）、残留農薬検査（にんじんペースト中のクロルピリホス及びマラチオンの定量）を実施したところ、結果はすべて良好であった。

② 成果

機器の精度、技術レベルの確認を行い、分析技術の向上が図れた。

2 飲用水水質検査の概況

(1) 平成24年度飲用水水質検査実施状況は、次表のとおりである。

平成24年度飲用水水質検査実施状況

項目	検体数	項目数	件数
ア 土浦市 揮発性有機化合物検出事例	10	16	160
イ 日立市 シアン化物イオン検出事例	4	1	4
ウ 牛久市 色度及び濁度に係る事例	10	2	20
エ 牛久市 クロム検出事例	17	5	85
オ 牛久市 色度に係る事例（dクロム検出事例関連）	435	1	435
カ 牛久市 ヒ素検出事例	9	1	9
キ 牛久市 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素 検出事例	12	1	12
ク 牛久市 色度に係る事例	10	4	40
ケ 牛久市 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素 検出事例	26	1	26
合計	533		791

(2) 業務内容

① 実績

ア 土浦市 揮発性有機化合物検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水10検体について、トリクロロエチレン等揮発性有機化合物16項目の検査を実施したところ、3検体でトリクロロエチレンが基準値（0.01mg/1以下）を超過（最高濃度：0.039mg/1）した。

イ 日立市 シアン化物イオン検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水4検体について、シアン化物イオンの検査を実施したところ、4検体すべて不検出であった。

ウ 牛久市 色度及び濁度に係る事例

飲用井戸水10検体について、色度及び濁度の2項目の検査を実施したところ、色度は最高で1度（基準値：5度以下）、濁度はすべて0.1度未満（基準値：2度以下）であった。

エ 牛久市 クロム検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水17検体について、クロム、色度、濁度、PH、臭気の5項目の検査を実施したところ、クロムは最高濃度5.0mg/1（基準値の100倍 基準値：六価クロムとして0.05mg/1以下）であった。また、色度は基準値超過が3検体あり、最高210度（基準値の42倍 基準値：5度以下）であった。

オ 牛久市 色度に係る事例（エ クロム検出事例関連）

エ クロム検出事例に関連して、周辺調査範囲が拡大されたため、生活衛生課からの依頼で、飲用井戸水435検体について、色度の検査を行ったところ、基準値超過が12検体あり、最高24度（基準値：5度以下）であった。

カ 牛久市 ヒ素検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水9検体について、ヒ素の検査を行ったところ、1検体で基準値（0.01mg/1以下）を超過（0.023mg/1）した。

キ 牛久市 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水12検体について、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の検査を行ったところ、1検体で基準値（10mg/1以下）を超過（11.4mg/1）した。

ク 牛久市 色度等に係る事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水10検体について、色度、濁度、pH、臭の4項目の検査を行ったところ、基準値を超過したものはなかった。

ケ 牛久市 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素検出事例

保健所からの依頼で、飲用井戸水26検体について、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素の検査を行ったところ、7検体で基準値（10mg/1以下）を超過（最高濃度28.8mg/1）した。

② 成果

検査結果は速やかに関係機関へ連絡し、飲用指導等に活用された。

3 人材育成

学会・研修会等出席

学会・研修会等の名称	開催地	期日	参加人数
平成24年度水環境学会シンポジウム	佐賀	H25. 9. 10～11	1
第104回日本食品衛生学会学術講演会	岡山	H23. 9. 19～21	1
平成24年度食品衛生検査施設信頼性保証 部門責任者等研修会	東京	H24. 10. 5	1
平成24年度全国食品衛生監視員研修会	東京	H24. 10. 26	1
第49回全国衛生化学技術協議会年会	高松	H24. 11. 21～22	1
平成24年度残留農薬等研修会	東京	H24. 12. 12	1
平成24年度地方衛生研究所全国協議会衛 生理化学分野研修会	東京	H25. 2. 1	2
平成24年度日本薬剤師会行政薬剤師部会 講演会	東京	H25. 2. 13	1
平成24年度地方衛生研究所全国協議会関 東甲信静支部理化学研究部会研究会会	宇都宮	H25. 2. 15	4

第 3 章 調査及び研究報告

いわゆる健康食品中のセンノシドの検査結果

小島 健一, 佐藤 真由美, 岡崎 忠

1 はじめに

最近では、ダイエット用食品や強壯用食品と称して販売されているいわゆる健康食品（以下「健康食品」）の中に医薬品成分が含まれているものもあり、それらの製品を使用した人に健康被害が生じている事例が全国的に発生している。

ダイエット効果を称した製品の中には便秘の解消、改善によってその効果をもたらす製品が販売されており、このような製品には原材料にセンナ茎及びハネセンナが使用されていることが多い。センナ茎及びハネセンナは、昭和 46 年 6 月 1 日付、薬発第 476 号厚生省薬務局長通知「無承認無許可医薬品の指導取締りについて」において、「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）リスト」に記載されているため、食品に使用することができるが、センナ茎及びハネセンナも緩下作用を有するセンノシドを含有している。

このようななか、茨城県衛生研究所では、健康食品が原因となる健康被害を未然に防止することを目的として県内における健康食品の試買試験検査を毎年実施している。その中で平成 21 年度から平成 24 年度の当所でのセンノシドの検出の状況を報告する。

2 分析方法

(1) 試料

県内の店舗及びインターネットで市販されている健康食品 100 製品（年度毎に 25 製品）

(2) 標準品及び試薬

標準品：センノシド A（生化学用）及びセンノシド B（生化学用）を 10mg 量りとり、それぞれ別々に 20mL の 1%炭酸水素ナトリウム溶液に溶解したものを標準原液とした。標準原液を分取し 70%メタノールで適宜希釈して混合標準溶液を作成した。

試薬：メタノール（HPLC 用）、ギ酸、酢酸、酢酸ナトリウム、アセトニトリル（HPLC 用）、炭酸水素ナトリウム、臭化テトラ n-ヘプチルアンモニウム

(3) 方法

平成 14 年 7 月 29 日付、医薬監麻発第 0729009 号厚生労働省医薬局監視指導・麻薬対策課長通知「いわゆる健康食品と称する無承認無許可医薬品の監視指導について」に添付された分析法に準拠して行った。

ダイエット食品を乳鉢ですりつぶし、粉状にし、0.25 g を遠沈管に入れ、12mL の 70%メタノールを加えて超音波で抽出する。激しく振とう後、遠心分離し、上澄液を分取する。さらに、5 mL の 70%メタノールで同様に 2 回抽出し、それぞれ上澄液を分取した。上澄液を合わせ、70%メタノールを加えて 25mL とし、これを試料溶液とした。この試料溶液を高速液

体クロマトグラフ（HPLC）で測定し、センノシド A 及びセンノシド B を定量した。なお、センノシド A とセンノシド B の合計を総センノシドとした。

(4) 装置及び測定条件

装置：LaChrom ELITE（日立）

カラム：Inertsil ODS-4（GL Sciences, 4.6 mm×150 mm, 5 μm）

カラム温度：50℃,

移動相組成：pH5.0 の 1M 酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液（1→10）／アセトニトリル（17:8）

総量 1L に臭化テトラ n-ヘプチルアンモニウム 2.45 g 添加

サンプル注入量：10 μL

流速：1.5 mL/min

検出器：フォトダイオードアレイ（測定波長 340 nm）

3 結果及び考察

各年度の結果を表 1 に示した。

表 1 各年度のセンノシド検出検体数

年度	検体数	センノシド 検出検体数	総センノシド量 (mg/g)	センナ茎及びハネセンナに該当する 表示原材料
平成 24 年	25	1※	1.3	センナ茎エキス
平成 23 年	25	2	2.2	せん那茎エキス
			0.7	対葉豆末
平成 22 年	25	2	2.7	せん那茎エキス
			5.9	センナ茎エキス末
平成 21 年	25	1	1.6	センナ太茎（食用の部位）、 カッシーア・アラタ

※他に原材料としてキダチアロエを使用した製品で、センノシド様の成分が検出された検体が 1 検体あり。

平成 21 年度から平成 24 年度の健康食品の試買試験検査の結果から 100 製品中 6 製品に 0.7～5.9mg/g のセンノシドの含有が確認され、いずれもセンナ茎及びハネセンナまたはその別名が原材料としてパッケージに記載されている製品であった。

センナ茎及びハネセンナは「医薬品的効能効果を標ぼうしない限り医薬品と判断しない成分本質（原材料）リスト」に記載されているため、健康食品に使用することができるが、緩下作用を有するセンノシドを含有しているため、摂取にあたっては注意が必要である。

カンピロバクター属菌の PFGE 法を用いた疫学に関する試験研究事業 —平成 24 年度報告—

細菌部 和田千里, 川又祐子, 山本和則, 笠井潔¹⁾

1)現 県西食肉衛生検査所

【はじめに】

カンピロバクター食中毒は近年最も多く発生している細菌性食中毒であり、様々な感染制御の取り組みにも関わらず、いまだ減少する傾向がみられない。茨城県においても、カンピロバクター食中毒は平成 17 年以降最も多い細菌性食中毒である。また、カンピロバクター食中毒の原因食品の多くは生あるいは加熱不十分の食肉であり、茨城県は全国有数の畜産県であることから、カンピロバクター食中毒対策が強く求められている。

カンピロバクター食中毒の原因究明の手法として、古くから *Campylobacter jejuni* (以下、*C.jejuni*) の血清型別が用いられてきた。近年では、パルスフィールドゲル電気泳動法 (以下、PFGE 法) による遺伝子型別も広く行われている。遺伝子を用いた分子疫学解析は血清型別不明株の解析に有効であり、また、PFGE 解析の結果、同じ血清型の菌株でも泳動パターンが大きく異なる場合もある。

カンピロバクター食中毒対策を強化するためには、茨城県におけるカンピロバクター汚染状況の実態を把握し、感染経路や原因を究明するためのデータベースを構築することが重要である。そのためには、PFGE 法の手法の確立やそれを用いた疫学情報の蓄積が必要とされている。

【目的】

本研究の目的は、県内で分離されたカンピロバクター属菌について、PFGE 法を用いた分子疫学的解析・データベース化を行い、県内のカンピロバクター属菌の由来や病原性を科学的に明確にすることである。そのための取り組みとして、平成 24 年度は PFGE 法による分子疫学解析の有効性の検討および、PFGE 法を改良するためにより最適な制限酵素の検討を行った。

【材料および方法】

1. 材料

PFGE 法の有効性を検討するため、平成 23 年度に細菌部で収集した *C.jejuni* 菌株のうち、食中毒事例由来 29 株、認定小規模食鳥処理場由来 28 株の計 57 株を用いた。また、PFGE 法の改良のため、*Sma* I および *Kpn* I による PFGE 解析の結果が全く同じパターンを示した 3 株、全く異なるパターンを示した 3 株および、どちらかが一致した 3 株の計 9 株を用いた。

2. PFGE 解析

PFGE 法は八尋らの方法に準じて実施した (図 1)。菌液の調製は *Brucella Broth* (42°C24 時間、微好気培養) で増菌後、*BHIA* 培地 (42°C24 時間、微好気培養) に発育したコロニーをかきとり、*MacFarland 5* 程度になるように *PBS* に混濁した。制限酵素は *Sma* I, *Kpn* I をそれぞれ

単独で用いた。標準マーカーは *Salmonella* Braenderup H9812 株を用いた。電気泳動は CHEF-DR[®] III System (Bio Rad) システムで 0.5×TBE buffer, 1%アガロースゲルを用い、泳動条件は 6.0V/cm, 6.8 to 38.4sec, 19 時間, 12.0-14.0°Cとした。また、PFGE 法の改良のため、さらに制限酵素 *Ksp* I および *Sfi* I をそれぞれ単独で用いて PFGE を行った。



図 1 PFGE 法のプロトコール

【結果および考察】

1. PFGE 法による分子疫学解析の有効性の検討

PFGE 解析による分類の結果、供した全菌株から明瞭なバンドが得られ、出現したバンドパターンによって *Sma* I では 32 パターン、*Kpn* I では 1, 2 本のバンドの違いを含めて 38 パターンに分類された (表 1, 2). 実験に供した菌株のうち、血清型別不明株は全体の 32%を占めており、血清型のみでは疫学的な解釈が困難だったが、PFGE 法の結果を疫学マーカーとすることで、より明確に菌株の多様性を把握することができた (表 1, 2).

また、食中毒事例由来菌株について、多様なパターンの菌株が分離される事例があったことから、カンピロバクター食中毒の原因究明には、分離された菌株の疫学マーカーを解析するだけでは不十分であり、喫食調査などの疫学調査が非常に重要であることが考えられた (表 1).

PFGE 解析の結果、食中毒由来菌株のうち、複数の事例から同一パターンを示す菌株が認められた (表 1). 今後、汚染源の遡り調査をより詳しくおこなうことで、広域な *C.jejuni* 汚染の実態が把握できる可能性がある。

2. PFGE 法の改良

Ksp I を用いた結果、供した全ての菌株から明瞭なバンドを得ることができた。

また、制限酵素 *Sma* I および *Kpn* I, *Ksp* I をそれぞれ用いた結果について、「互いに関連のない 2 株が異なる型と判定される確率 (Simpson's Index)」は, *Sma* I で 0.667, *Kpn* I で 0.716, *Ksp* I で 0.790 だった. このことから, *Ksp* I は 3 つの制限酵素の中で最も多様性に富む型別が期待できる制限酵素であることがわかった. *Sfi* I を用いた結果は, 全ての菌株で高分子量のバンドが 1 つ認められたのみで, バンドパターンにより分類することはできなかった.

今後は, さらに最適な制限酵素を検討するとともに, *C.jejuni* 以外のカンピロバクター属菌を用いた PFGE 法の検討を進めていきたい.

【参考文献】

- 1)中馬猛久：カンピロバクター食中毒予防の現状と展望. 食品衛生研究 Vol.6.2,No.3(2012):7-15
- 2)茨城県 保健福祉部 生活衛生課 食の安全対策室
- 3)病原微生物検出情報 Vol.27 No.7(No.317)国立感染症研究所感染症情報センター:1-10
- 4)食品由来感染症と食品微生物(2009)仲西寿男・丸山務 監修 中央法規 (株) :347-364
- 5)中嶋智子ほか：食鳥処理場施設から分離した *Campylobacter jejuni* の性状解析. 京都府保環研年報 第 55 号(2010):25-29
- 6)桜庭恵ほか：下痢症患者由来カンピロバクター属菌の発生状況と遺伝子学的解析, 青森県環境保健センター研究報告, 17(2006):33-37
- 7)食品衛生検査指針 微生物編 2004 社団法人日本食品衛生協会:225-235
- 8)八尋俊輔ほか：厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業「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」18 年度総括・分担研究報告書(2007) :219-230
- 9)堀田剛ほか：宮崎県内のカンピロバクターによる鶏肉汚染および食中毒との関連についての検討, 宮崎県衛生環境研究所年報(2010),22 号:86-91
- 10)Tenover, F.C., et al. : Interpreting Chromosomal DNA Restriction Patterns Produced by Pulsed-Field Gel Electrophoresis : Criteria for Bacterial Strain Typing. J Clin Microbiol., vol.33,No.9:2233-2239

表1 食中毒事例から分離された *C.jejuni* 株の血清型および PFGE 解析の結果

事例	菌株No.	由来	血清型	PFGEパターン	
				<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I
I	1	食品	Y	s1	k1
	2	発症患者便	U	s2	k2
II	3	発症患者便	Y	s3	k3
	4	発症患者便	Y	s3	k3
	5	発症患者便	Y	s3	k3'
III	6	発症患者便	UT	s4	k4
	7	発症患者便	E	s4	k4
	8	発症患者便	E	s4	k4
IV	9	食品	B	s5	k5
	10	発症患者便	F	s6	k6
	11	発症患者便	F	s6	k6'
	12	発症患者便	F	s6	k6''
	13	発症患者便	UT	s7	k7
	14	発症患者便	UT	s8	k8
	15	食品	B	s9	k9
	16	発症患者便	Y	s10	k10
V	17	発症患者便	UT	s11	k11
	18	食品	L	s12	k12
	19	食品	C	s13	k13'
	20	発症患者便	C	s13	k13
VI	21	発症患者便	C	s13	k13
	22	発症患者便	C	s13	k13
	23	発症患者便	C	s14	k14
VII	24	発症患者便	C	s15	k15
	25	発症患者便	UT	s16	k16
VIII	26	発症患者便	UT	s17	k17
	27	発症患者便	D	s18	k18
	28	発症患者便	D	s19	k19
	29	発症患者便	D	s19	k19

PFGE パターン： *Sma* I 切断で得られた異なるパターンを s1～s19, *Kpn* I 切断で得られた異なるパターンを k1～k19 と分類した。

k3', k6', k6'', k13' : *Kpn* I 切断で k3, k6, k13 とバンド数が 2～3 異なる菌株をそれぞれ k3', k6', k13' とし, k6 とバンド数が 2～3 異なりかつ k6' とは異なるパターンを示した菌株を k6'' とした。

表2 認定小規模食鳥処理場から分離された *C.jejuni* 株の血清型および PFGE 解析の結果

分離施設	菌株No.	分離時期	由来	血清型	PFGEパターン	
					<i>Sma</i> I	<i>Kpn</i> I
I	1	10月	糞便	J	s20	k20
	2	2月	糞便	UT	s21	k21
II	3	10月	脱羽後と体	J	s22	k22
	4		解体後と体	J	s22	k22
	5		洗浄後と体	G	s23	k23
	6	2月	脱羽後と体	UT	s24	k24
	7		解体後と体	UT	s25	k25
III	8	10月	解体後と体	K	s26	k26
	9		解体後と体	K	s26	k26
	10	2月	糞便	D	s27	k27
IV	11	10月	洗浄後と体	C	s28	k28
	12		糞便	C	s28	k28
	13	2月	水洗後と体	UT	s28	k29
	14		解体後と体	UT	s28	k29
	15		糞便	UT	s28	k29
V	16	2月	糞便	D	s29	k30
VI	17	2月	糞便	UT	s30	k31
VII	18	2月	脱羽後と体	D	s31	k32
	19		水洗後と体	D	s31	k32
	20		解体後と体	D	s31	k32
	21		まな板	D	s31	k32
	22		包丁	D	s31	k32
	23		糞便	D	s31	k32
VIII	24	2月	脱羽後と体	UT	s32	k33
	25		解体後と体	UT	s32	k33
	26		まな板	UT	s32	k33
	27		包丁	UT	s32	k33'
	28		糞便	UT	s32	k33

PFGE パターン： *Sma* I 切断で得られた異なるパターンを s20～s32, *Kpn* I 切断で得られた異なるパターンを k20～k33 と分類した。

k33'： *Kpn* I 切断で k33 とバンド数が 2～3 異なる菌株を k33' とした。

茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況（2012/2013シーズン）

○土井 育子, 渡邊 美樹, 本谷 匠, 増子 京子, 原 孝

要旨

2012/13 シーズンは全国的に AH3 ウイルスが流行の主流であり、茨城県内における流行も同様であった。2012 年 9 月 1 日から 2013 年 3 月 31 日までの間、茨城県衛生研究所には咽頭・鼻腔ぬぐい液 110 検体、うがい液 76 検体の計 186 検体が搬入された。搬入されたこれらの検体についてリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検査、MDCK 細胞を用いたウイルス分離、分離株の血清型別、遺伝子系統樹解析、薬剤耐性変異ウイルスの検索等を行い 2012/13 シーズンの県内でのインフルエンザウイルスの発生状況をまとめたので報告する。

1. まえがき（序文）

2012/13 シーズンの全国におけるインフルエンザの流行状況は、当初より AH3 ウイルスが主に検出され、2012 年第 47 週以降増加し始め、2013 年第 4 週をピークに以降減少した。B 型ウイルスは 2013 年第 2 週から増加し始め、第 12 週以降は B 型ウイルスの報告数が AH3 ウイルスを上回った¹⁾。

県内の流行状況については、2012 年第 51 週にインフルエンザ流行指数が流行開始の指標である 1.0 を超え 2.04 となり、インフルエンザの流行が始まった。その後 2013 年第 4 週には流行のピークになり県全体のインフルエンザ流行指数が 41.25 となった。昨シーズンの茨城県のピーク時の流行指数は 38.96 であり、今シーズンはそれを上回る流行であった。2013 年第 8 週には県全体のインフルエンザ流行指数は、9.65 となり、終息基準値となる 10.00 を下回ったため、県内全域に発令していた警報が解除され、インフルエンザの流行は終息した²⁾。

2012/13 シーズンは流行開始時期が昨シーズンよりも 2 週早く始まった。しかし警報が解除された時期も第 14 週であった昨シーズンよりも 6 週早く、全体の規模としてはそれほど大

きなものではなかった。

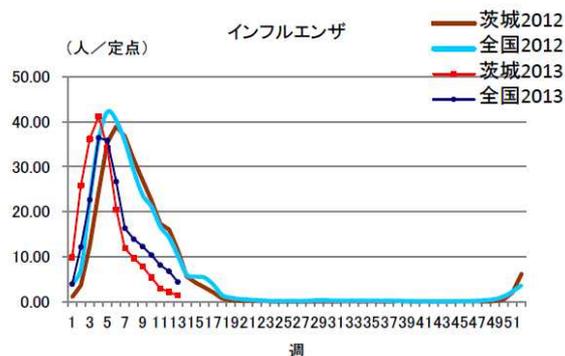


図 1. 定点あたり患者数（茨城県・全国）

衛生研究所では感染症発生動向調査におけるウイルスサーベイランスとして病原体定点医療機関で採取された検体、重症例及び集団サーベイランスで採取された検体について遺伝子検査、ウイルス分離、血清型別等の検査を行っている。また、県内発生事例について抗インフルエンザ薬耐性遺伝子変異の検索を試みており、2012/13 シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

2. 実験（調査）方法

2-1 材料と方法

2012 年 9 月 1 日から 2013 年 3 月 31 日までの間、県内の病原体定点医療機関で採取された

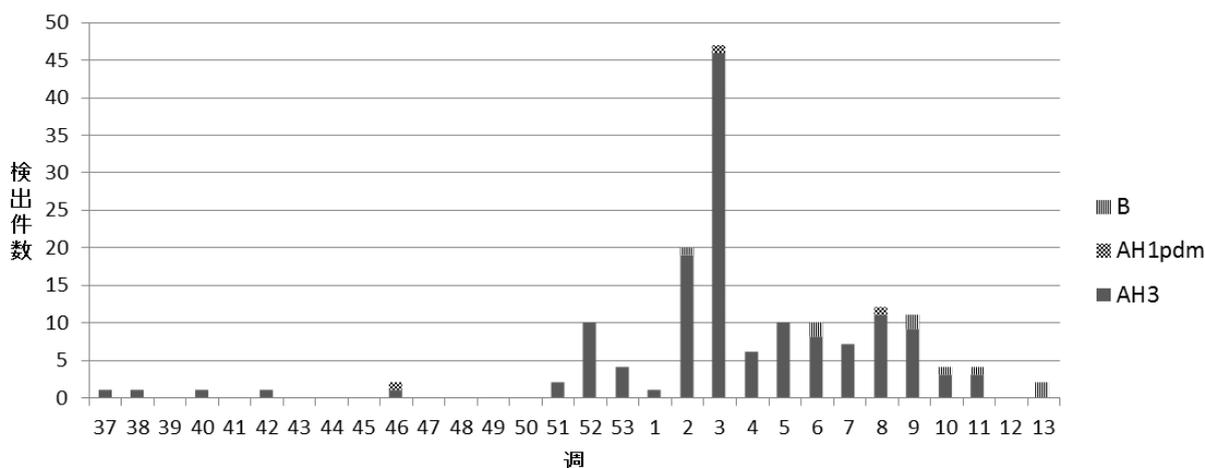


表1. インフルエンザウイルス検出状況

96 検体、重症・入院例で採取された 3 検体、学校等集団発生例で採取された 76 検体 (12 事例)、病院・介護施設等集団発生例で採取された 11 検体 (3 事例) の計 186 検体を検査材料とした。採取された検体の内訳は咽頭・鼻腔ぬぐい液が 110 検体、うがい液が 76 検体であった。

2-2 方法

-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検索

衛生研究所に搬入された臨床検体から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて RNA を抽出し、リアルタイム RT-PCR 法による A 型ウイルス共通の M 遺伝子、AH1pdm09、AH1、AH3、B 型の HA 遺伝子の検索を行った。方法は国立感染症研究所の「インフルエンザ診断マニュアル (第 2 版) (平成 24 年 3 月)」に従って行った。

-2. インフルエンザウイルスの分離

搬入された検体 (咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液およびうがい液) を 48 穴マイクロプレートに培養した MDCK 細胞に接種し、トリプシンを添加した維持培地を用いて 5%CO₂、35°C で 7 日間培養した。このうち細胞変性効果 (CPE) のみられたものについて培養液を回収し、遠心

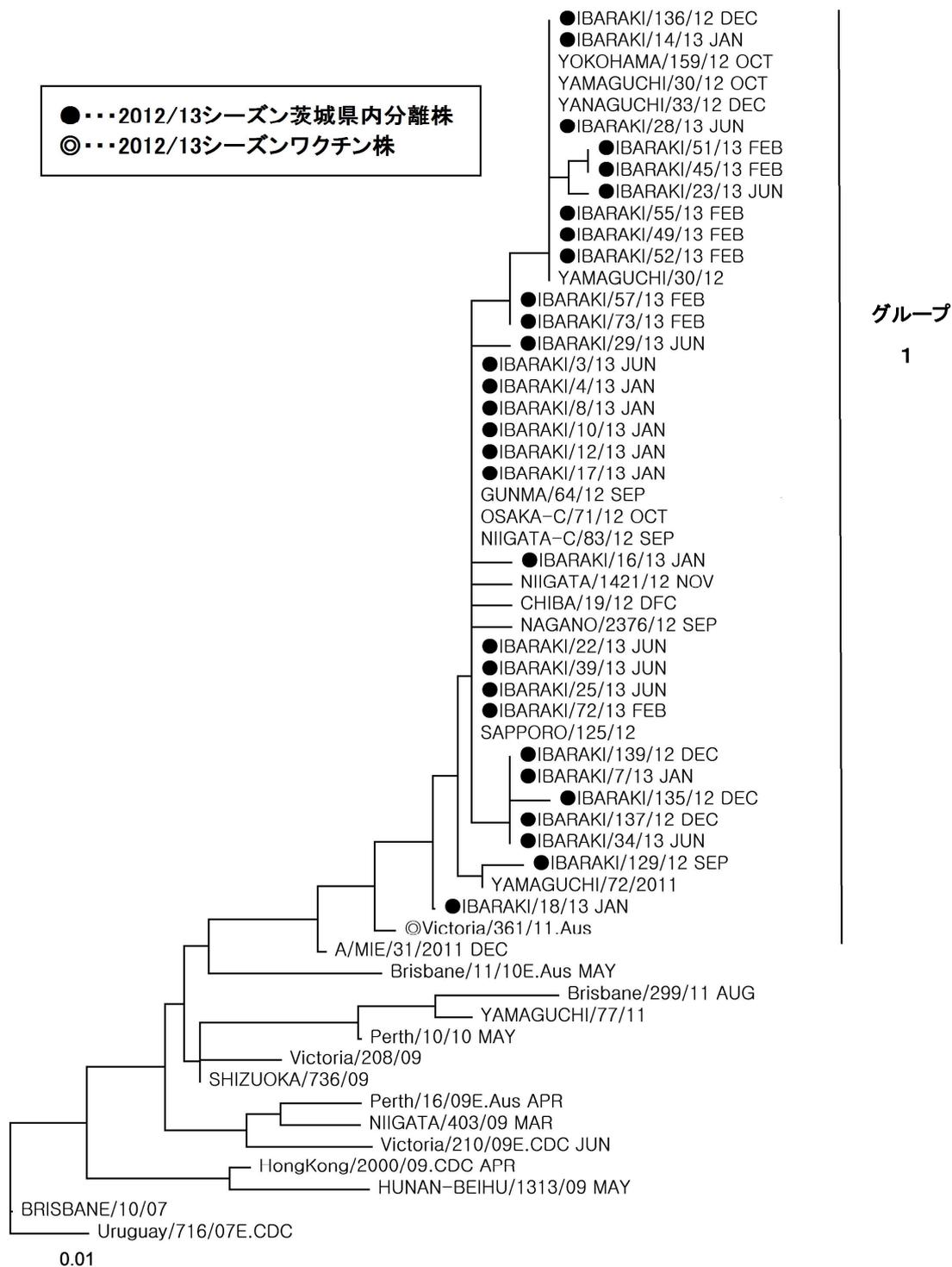
した上清で赤血球凝集 (HA) 試験を行った。赤血球凝集試験には 0.75%モルモット赤血球を用いた。細胞変性効果がみられなかったものについては 3 代目まで継代培養を行った。また、CPE が見られても HA 価が 8 HA 未満であった場合については上清を 100~1000 倍希釈し、再培養を行った。

-3. ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたウイルスは 0.75%モルモット血球を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 試験を行い同定した。HI 試験には国立感染症研究所配布の 2012/2013 シーズン用インフルエンザウイルス同定キット、A/California/7/2009(H1N1pdm2009) A/Victoria/361/2011(H3N2) B/Wisconsin/1/2010 (Yamagata 系統) B/Brisbane/60/2008(Victoria 系統) の各抗原および抗血清 (ウサギ免疫血清) を用いた。

-4. インフルエンザウイルスの遺伝子解析

分離されたウイルスについて、インフルエンザウイルスの抗原性を示す HA 遺伝子の HA1 領域を RT-PCR 法により増幅し、ダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定し Neighbor-Joining 法により系統樹解析を行っ



た。

-5. 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの検索
「病原体診断マニュアル インフルエンザ診断マニュアル第2版（平成24年3月）」を参考に、AH3及びB型についてはダイレクトシーケンス法、AH1pdm09については

One-step RT-PCR(TaqMan Probe法)により、NA阻害薬耐性マーカーの有無について調べた。

AH3については既知のNA阻害薬耐性変異であるR292K、D151E、R152K、R244K、E276D、R371K、H274Y、E199V,Dを、B型

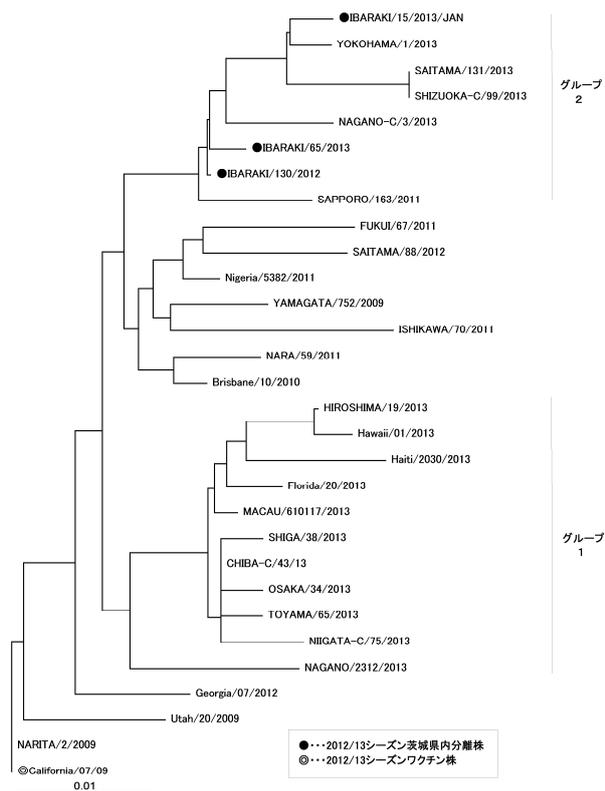


図 3. AH1pdm09 ウイルス HA 領域遺伝子系統樹

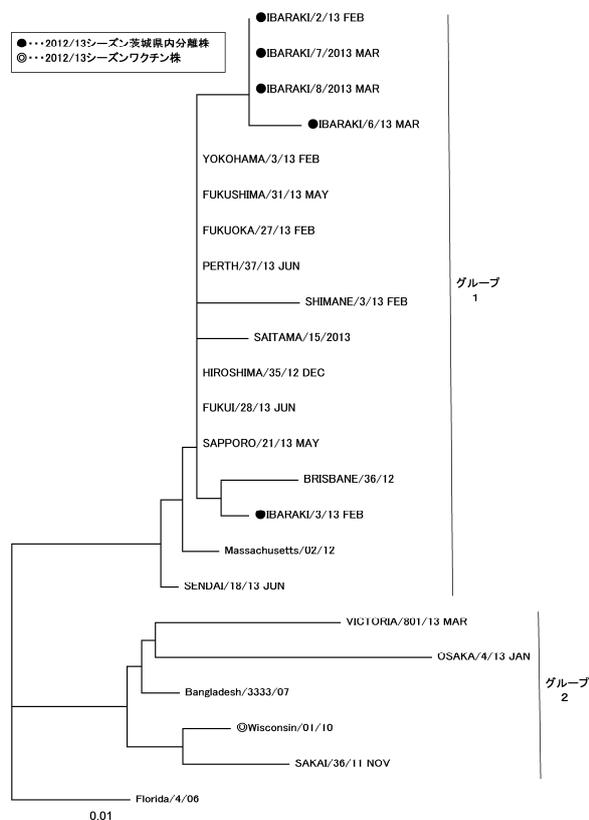


図 4. B 型 Yamagata 系統ウイルス HA 領域遺伝子系統

については E119V,D,G,A, R152K, D198E,N, I222T, R292K, N294S, G402S を、AH1pdm については H274Y 耐性変異について調べた。

3. 結果

1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検出

検査を行った 186 検体のうち、156 検体からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。その内訳は、AH3 が 144 検体、AH1pdm09 が 3 検体、B 型が 9 検体であった。これらウイルスの検出状況を週別に表 1. にしめた。

2. ウイルス分離

搬入された 186 検体を分離培養した結果、97 検体よりウイルスが分離された。検体ごとにみると、咽頭・鼻腔ぬぐい液からの分離が 110 検体中 85 検体、うがい液からの分離が 76 検体中 12 検体であった。

3. 分離株の血清型別および同定

分離されたウイルス 97 株のうち、赤血球凝集抑制試験(HI)による血清型別を行うことができたのは AH3 が 71 株、AH1pdm09 が 2 株、B 型 Yamagata 系統が 5 株、B 型 Victoria 系統が 3 株であった。AH3 分離株 15 株と AH1pdm09 分離株 1 株については希釈して継代培養を 3 代目まで行っても HA 価が上がらず、HI 試験を行うことができなかったために PCR による型別を行った。

4. 分離ウイルスの遺伝子解析

分離されたウイルスの中から AH3 30 株、H1pdm09 3 株、B 型 Yamagata 系統 5 株、B 型 Victoria 系統 3 株について HA 1 遺伝子領域の系統樹解析を行いその結果を図 2~5 にしめた。その結果、AH3 では解析した 30 株すべてが同じグループ 1 (2012/13 シーズンのワクチン株 A/Victoria/361/2011 が含まれるグル

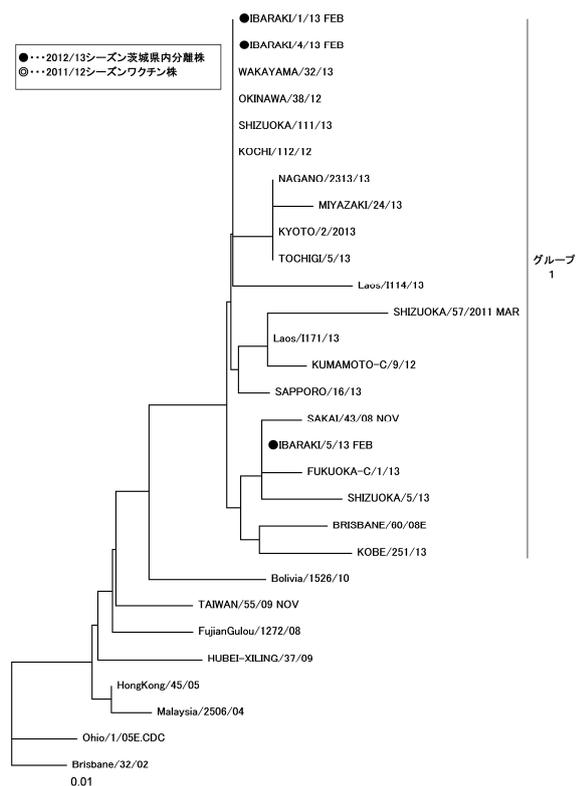


図5. B型 Victoria 系統ウイルス HA 領域遺伝子系統樹 (スケールバーは0.01) に分類された (図2)。また AH1pdm09 は3株すべてがグループ2に (図3)、B型 Yamagata 系統は5株すべてがグループ1に (図4)、B型 Victoria 系統は3株すべてがグループ1に分類された (図5)。

5. 抗インフルエンザ薬耐性マーカーの検索

分離された株の中から AH3 について 43 株をランダムに選び出し、「病原体診断マニュアルインフルエンザ診断マニュアル第2版(平成24年3月)」に基づいてダイレクトシーケンス法により代表的な既知の NA 阻害薬剤耐性変異の有無を調べた結果、1株について D151E の変異がみられた。そこでこの株について、臨床検体から抽出した遺伝子をダイレクトシーケンスしたところ耐性変異は見られなかった。B型分離株8株について調べた結果は、すべて変異はみられなかった。また、AH1pdm09 3株についても One-step RT-PCR(TaqMan Probe法)により H275Y の耐性マーカーの検索

を行った結果、3株とも耐性変異は見られなかった。

4. 考察

今シーズンは県内でも AH3 が多く検出され、流行の状況は全国と同様であった。また今シーズン県内では AH1pdm09 が3件検出され、そのうち2検体は海外渡航歴不明であったが1検体は海外渡航歴なしの患者であった。AH1pdm09 は全国においても AH3 のような大きな流行はなかったものの少ないながらもシーズン通して検出されており、渡航歴のない患者からも検出されたことから今後国内で再流行の可能性も考えられ、その発生動向には引き続き注意が必要である。

ウイルス分離においては咽頭・鼻腔ぬぐい液からの分離率は約77%と良好であった一方、うがい液からの分離は約15%と低い割合であった。うがい液は学校等を対象にしたシーズンの初発集団例において採取されており、シーズンの流行の主流の型をつかむためにも重要な検査であることから今後検体の採取法などなんらかの検討が必要であると考えられる。

今シーズン県内で分離されたウイルスについて HA1 遺伝子領域の系統樹解析を行った結果、AH3 では解析株すべてがワクチン株 A/Victoria/361/2011 と同じグループに分類されるという結果であった。国立感染症研究所に全国から分与されたウイルス株を用いた解析でも同様に、今シーズンの分離株はほぼこのグループに分類されており、県内の流行株と同様の傾向であった³⁾。また、同じく国立感染症研究所でのフェレット感染血清によるワクチン株に対する抗原性状の解析でも AH3 は98%の株がワクチン類似株であった⁴⁾ことから、全国的に遺伝子的にも抗原性状的にもワクチン株と類似の株が流行していたシーズンであった

と考えられた。AH1pdm09 では県内分離の 3 株はグループ 2 に分類された。今シーズン、全国で分離された AH1pdm09 はグループ 1 またはグループ 2 に分類されており、流行の主流としてはグループ 1 に分類されるウイルスが多くをしめた。なお、これら 2 つのグループに属する株の間には抗原性の違いは見られておらず、いずれもワクチン株 A/California/7/2009 の類似株であったため、県内分離株もワクチン株の類似株であったと考えられる。B 型 Yamagata 系統では県内分離株 5 株はいずれもグループ 1 に分類され、全国的な流行と同様の傾向がみられた。2012/13 シーズンの B 型ワクチン株は Yamagata 系統の B/Wisconsin/01/2010 であり、遺伝子系統樹上ではグループ 2 に属しているがグループ 1 と 2 では抗原性の違いは見られていないことから県内分離株はワクチン株と抗原性が類似していたと考えられる。B 型 Victoria 系統では県内分離株 3 株はいずれもグループ 1 に分類され、Yamagata 系統と同様に県内では全国的な流行株と類似した株の流行であったと考えられた。

抗インフルエンザ薬耐性マーカーの検索では AH3 の解析株 30 株中 29 株で耐性変異は確認されなかった。D151E 変異のあった 1 株については臨床検体で行ったダイレクトシーケンスでは変異が見られなかったために、この変異は MDCK 細胞による継代培養の過程で起きた変異であったと推察された。県内分離の B 型でも薬剤耐性変異は確認されず、全国的なサーベイランスにおいてもこれまでのところ抗インフルエンザ薬耐性 AH3 および B 型は検出されていない状況である。また、AH1pdm09 については全国的なサーベイランスで 103 株が解析され、そのうち 2 株でオセルタミビルおよびペラミビルに対する耐性株が検出されて

いる¹⁾。現在は薬剤耐性インフルエンザの全国的な発生および流行は見られていない状況であるが、その発生の動向には今後も注視していく必要があるものとする。

文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物検出情報事務局、インフルエンザウイルス分離・検出状況
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr-inf.html>
- 2) 茨城県感染症流行情報（週報）、茨城県保健福祉部保健予防課、茨城県感染症情報センター、いばらきの感染症情報
<http://www.pref.ibaraki.jp/bukyoku/hoken/yobo/kansen/idwr/index.html>
- 3) 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第一室、NESID 病原体検出情報システム
- 4) 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第一室、国内インフルエンザ流行株の抗原性解析および薬剤耐性株の検出状況（途中経過）、病原微生物検出情報, Vol34 No.5
- 5) 国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター第一室、2012/13 シーズンのインフルエンザ分離株の解析、病原微生物検出情報, Vol34 No.11

茨城県において検出された A 群ロタウイルスの遺伝子型別結果

○本谷 匠 渡邊 美樹 土井育子 増子 京子¹⁾ 原 孝²⁾

1)水戸保健所 2)退職

要旨

A 群ロタウイルスは、全国的にも遺伝子型別が積極的に調べられていないことや、ロタウイルスワクチンの流通が開始されたことから、その状況を把握することは重要となっている。

2009 年度から 2012 年度までの 4 年間に当所において検出された A 群ロタウイルス陽性糞便 71 検体について、抗原性を担う VP7 及び VP4 遺伝子を解析し、遺伝子型別を調べた。

検出された遺伝型は一般的な型であった。検出された施設については乳幼児が関与する施設が多かった。G1P[8]が多く検出されていることから、2 種のワクチンは効果的であると思われる。

キーワード ; A 群ロタウイルス, VP7, VP4

背景

ロタウイルスは、レオウイルス科のロタウイルス属に分類され、11 分節の 2 重鎖 RNA 遺伝子を含むウイルスで、冬季に発生する乳幼児期の嘔吐下痢を伴う胃腸炎ウイルスとして知られている他、食中毒を疑う事例からも検出されることもあるため、公衆衛生上問題となることが多い。ロタウイルスは A から G 群に分類され、広くほ乳類に感染するが、そのうちヒトへの感染が報告されたのは A,B,C 群のみである¹⁾。

その抗原性はカプシドの VP7 領域によって G 遺伝子型, VP4 領域によって P 遺伝子型が決定し、それぞれの血清型に分類される。G 及び P 遺伝子型別は、当初 VP7,VP4 に基づく血清型に対応する型別法として考案された経緯があり、これら外殻蛋白の抗原性の違いを概ね反映していると考えられる²⁾。

ロタウイルスは、1 個の細胞に 2 株以上

のウイルスが同時感染すると、リアソータント（遺伝子組み換え）を比較的高率に生じることが知られている³⁾。G 遺伝子型, P 遺伝子型は国, 地域により流行が異なり、また年により変化することが知られている。我が国のロタウイルス検出例はほとんどが A 群ロタウイルスであり⁴⁾、ロタウイルスワクチンの流通が開始されたことからその状況を把握することは重要となっている。

今回、2009 年度から 2012 年度までの 4 年間に当所において検出された A 群ロタウイルスについて、抗原性を担う VP7 及び VP4 遺伝子を解析し、遺伝子型別を実施したので報告する。

材料及び方法

1. 材料

2009 年 4 月から 2013 年 3 月までに行政検査のために採取され、茨城県衛生研究所において迅速診断キット(イムノクロマト法)

または PCR 法により A 群ロタウイルスと
同定された 糞便 71 検体を供使した。

2. 方法

糞便検体を PBS(-)で 10%乳剤に調整し、
10,000rpm, 20 分間遠心分離した上清を抽出
キット(QIAamp Viral RNA mini kit,
QIAGEN)で抽出し、逆転写反応を行い、
c-DNA を作成した。型別をするために、VP7
領域および VP4 領域で PCR を行い、その
増幅産物を用いた nested-PCR により、
PCR 産物のサイズから遺伝子型を決定する
方法^{4) 8)}および増幅産物をダイレクトシ
ークエンス法により塩基配列を決定し、標
準株と比較して遺伝子型を検索する
ClustalW 解析を実施する方法を併用した。

結果

9 月から翌年 8 月までを 1 シーズンと考
え、検出数を月別にグラフにまとめた結果
を図 1 に示した。陽性検体は 71 検体あり、
シーズンごとに G および P 遺伝子型を解析
した結果を表 1 に示した。小児科定点を散
発事例として、事例数は 40 件あり、シーズ
ンごとに G および P 遺伝子型を解析した結
果を表 2、小児科定点を除いた事例(27 件)
の内容をまとめた結果を表 3、小児科定点
(13 件)の結果を表 4 に示した。

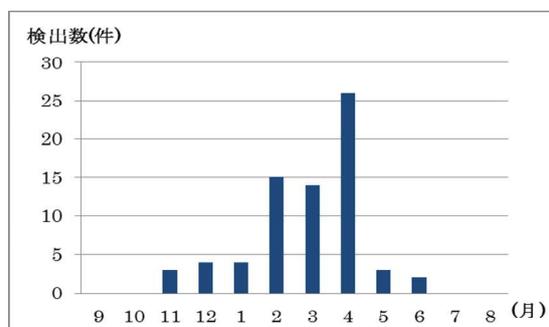


図 1.月別検出数

考察

ロタウイルスの検出時期は 1979 年～84
年頃までは例年 1 月がピークであったが、
99/00 シーズン以降では 3 月、08/09 シーズ
ン以降は 4 月と、ピークが移行している⁵⁾⁶⁾。
今回の調査結果も同様に検出時期は 4 月採
取分が突出して多かった。

世界中で検出される A 群ロタウイルス野
外株の大部分は G1P[8], G2P[4], G3P[8],
G4P[8], G9P[8]の 5 種類で占められる²⁾。
今回の調査では G1P[8]が 41 検体, G2P[4]
が 7 検体, G3P[8]が 19 検体, G9P[8]が 4
検体であり、主要な 5 種類に含まれていた。

陽性検体数と事例数で見ると、茨城県に
おける A 群ロタウイルスによる感染性胃腸
炎の多くは G1P[8]によるものであると考
えられる。G2P[4]も 2010-2011 シーズン
以降、毎シーズン検出されているが、G1P[8]
と比較するとその数は少ない傾向にある。
また、G3P[8]は流行に波があることが推察
された。

一般にロタウイルスは乳幼児の急性重症
胃腸炎の主な原因であり、ノロウイルスよ
りも重症化しやすいといわれており、就学
前の小児がロタウイルスで外来を受診する
リスクは約 50%と推定されている¹⁾。今回
の調査事例を見ると、全体の 90%以上が小
児の関与する保育園、小学校などの事例で
あった。今回の調査結果から一般的な傾向
と同様に小児での発生が多いことがわかっ
た。

小児科定点は 2012 年度から開始し、病院
で A 群ロタウイルスと診断された検体につ
いて遺伝子型別を実施している。今回の調
査では G1P[8]が 12 検体, G2P[4]が 1 検体

であり、散発例及び小児科定点のほとんどは重症化し入院した事例であったことから、ロタウイルスが小児で重症化しやすいことが伺えた。また、小児科定点を加えることによって、検体数の確保と偏りのない流行を把握することができると考えており、2012-2013 シーズンは、G1P[8]と G2P[4]が流行の主流であることが推察される。

ロタウイルスワクチンが我が国でも導入され、ロタリックス (GSK 社) は弱毒化した G1P[8]の 1 種類が、ロタテック (MSD 社) にはウシロタウイルスの VP7 に、ヒトロタウイルスの G1,G2,G3,G4 を組み入れたリアソータントのウイルス 4 種と、ウシロタウイルス VP4 に P[8]遺伝子を組み込んだリアソータントのウイルス 1 種の計 5 種類が使用されている¹⁾。日本においてロタウイルスワクチンは、ロタリックスが 2011 年 11 月に、ロタテックが 2012 年 7 月に発売になったことや、A 群ロタウイルスの流行の主体となる遺伝子型は国や地域ごと、シーズンごとにその比率をゆるやかに変化させながら推移する⁷⁾⁸⁾ことから、A 群ロタウイルスの遺伝子型を解明することで、インフルエンザの流行予測調査のようにワクチンの開発に貢献することも示唆される。ワクチンは販売が開始されてからまだ日が浅く、一般的に浸透していないが、今後ワクチンが浸透していけば、ロタウイルスの重症事例及び流行が減少する可能性と流行

する遺伝子型が変化することが推察される。そのため、ワクチンの浸透状況と併せて今後も遺伝子型がどのような推移を見せるか調査を継続したいと考えている。

参考文献

- 1) 片山和彦 (特集関連情報) ロタウイルス概要, 病原微生物検出情報, Vol.32, No.3, p3-4
- 2) 小林宣道 (特集関連情報) ロタウイルスの遺伝子型-最近の世界的な動向について-, 病原微生物検出情報, Vol.32, No.3, p4-5
- 3) 谷口孝善 レオウイルス-ロタウイルスの多様性とそれに対応した感染防御-, ウイルス, 52(1)141-146(2002)
- 4) 藤井克樹 ロタウイルス感染症について 希少感染症診断技術研修会
- 5) 国立感染症研究所ロタウイルス 2005~2010 年, 病原微生物検出情報, Vol.32, No.3, p1-2
- 6) 国立感染症研究所 ロタウイルス 2004 年現在, 病原微生物検出情報, 26, 1~3
- 7) 井上ゆみ子 奈良県における A 群ロタウイルスの G 血清型解析による継続的疫学調査, 奈良県保健環境研究センター年報, 第 44 号, 83
- 8) 石橋哲也 福岡県における A 群ロタウイルスの遺伝子型別結果, 福岡県保健環境研究所年報, 第 39 号, 97-98

シーズン 遺伝子型	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	合計
G1P[8]	9	3	13	16	41(58%)
G2P[4]		2	3	2	7(10%)
G3P[8]	5		14		19(27%)
G9P[8]	4				4(5%)
合計	18	5	30	18	71

表 1.陽性検体の遺伝子型別結果

シーズン 遺伝子型	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	合計
G1P[8]	3	1	6	15	25(62.5%)
G2P[4]		1	1	2	4(10%)
G3P[8]	3		5		8(20%)
G9P[8]	1				1(2.5%)
混合	1 (G1P[8]と G9P[8])		1 (G1P[8]と G3P[8])		2(5%)
合計	8	2	13	17	40

表 2.検出された遺伝子型の事例数(小児科定点を含む)

シーズン 事例	2009-2010	2010-2011	2011-2012	2012-2013	合計
保育園	5	1	9	1	16(59.3%)
小学校	1	1	1		3(11.1%)
老人ホーム			1		1(3.7%)
養護学校			1		1(3.7%)
散発	2		1	3	6(22.2%)
合計	8	2	13	4	27

表 3.A 群ロタウイルスが検出された事例内容

事例数	2012-2013
G1P[8]	12
G2P[4]	1
合計	13

表 4.小児科定点における遺伝子型別結果

SELDI プロテインチップシステムを用いた子宮頸癌のバイオマーカーの探索

原 孝¹⁾、本多 彰²⁾

1) 茨城県衛生研究所ウイルス部

2) 東京医科大学茨城医療センター共同研究センター

Biomarker discovery for cervical cancer using SELDI Protein Chip System

Takashi Hara¹⁾ and Akira Honda²⁾

1) Division of Virology, Ibaraki Prefectural Institute of Public Health

2) Department of Development for Community Medicine, Tokyo Medical University, Center for Collaborative Research, Department of Internal Medicine, Division of Gastroenterology and Hepatology, Tokyo Medical University Ibaraki Medical Center

1、はじめに

子宮頸癌は、世界中の女性の癌死亡の主要な原因の1つであり¹⁾、わが国では2008年に約9800人が罹患し²⁾、2700人が亡くなっている³⁾。また、子宮頸癌は早期発見に発見されれば死に至ることは少ないが、受診率の低いことが課題である。わが国の2009年の受診率は、24.5%と経済協力開発機構(OECD)加盟国30か国の中でも最も低いレベルに位置している⁴⁾。

子宮頸癌の検診は細胞診によりスクリーニングが行われ、コルポスコピーと狙い組織診、場合によっては、さらに診断的円錐切除術と組織診で確定診断がなされる。最近、スクリーニング検査に子宮頸癌の原因であるヒトパピローマウイルス(HPV)の遺伝子検査が併用されるようになった。わが国でも一部の自治体で導入され、成果が見られている^{5,6)}。

近年、プロテオミクスは基礎研究から臨床研究へ活発に応用範囲を広げている。なかでもバイオマーカーの探索は、疾病や癌の早期診断、個人にあわせた治療方針の確立、予後や薬剤の副作用の予測などで、臨床への実用化が期待されている。研究の手法として、二次元電気泳動をベースとした方法やショットガン法があったが、1993年に初めてプロテインチップシステムによる研究報告が出された。プロテインチップシステムは、SELDI (Surface-Enhanced Laser Desorption/ Ionization) -TOF MS法⁷⁾を根幹技術とする。タンパク質に親和性を持つ官能基がプロテインチップに修飾されており、選択的に吸着したタンパク質を消化せずにイオン化して質量スペクトルを分析するというものである。分子量のほかに試料間の相対的な発現量の比較ができる。この手法を用い、臨床における早期診断のため

卵巣癌、乳癌、前立腺癌などの癌や疾患に関するバイオマーカーの探索研究で多くの成果が報告されている⁸⁻¹⁵⁾。しかし、子宮頸癌を診断するバイオマーカーに関する報告は、細胞診と組織診等による検診方法が確立されているためかほとんどない¹⁵⁾。子宮頸癌検診は、原因であるHPVの遺伝子検査の併用検診の導入が一部で始まったが、なお、判定に時間がかかる例が少なくない。よって、子宮頸癌組織の癌部と非癌部のタンパク質発現プロファイルの比較を行い、診断に有用なバイオマーカー候補を探索することを目的として本研究を実施する。

なお、本研究は、茨城県臨床研究合同倫理審査委員会の承認を得て行った。

2、材料及び方法

2-1 材料

子宮頸部扁平上皮癌患者の癌部及び非癌部の凍結保存組織 (-80°C) 8セットを和光純薬から購入し、用いた。ドナーの年齢は47.6±4.7歳(39-55歳)、臨床進行期はStage I が7人、II aが1人である。

2-2 タンパク質の抽出と調整

組織100mgを液体窒素中で粉末状に破碎した。抽出バッファー(9.5M Urea, 2% CHAPS, 1% DTT) 1mLを加え、tissuelyzer (QIAGEN社)で抽出処理を行った。42,000g、15°C、1時間遠心し、上清を回収後、Bio-Rad Protein Assay (Bio-Rad社)を用いてタンパクの定量を行った。スタンダードとしてBSAを用い標準プロトコールどおりに測定した。タンパク濃度は癌部では5.5から12.4mg、非癌部では3.5から7.5mgであったため、Urea Bufferにより3.5mg/mlに濃度

を揃えた。

2-3 プロテインチップによる測定

プロテインチップは、弱陽イオン交換チップ(CM10)、強陰イオン交換チップ(Q10)、銅修飾チップ(IMAC30)及び逆相チップ(H50)の4種類を用いた。結合・洗浄バッファーはCM10については100mM Sodium Acetate (pH4)と50mM HEPES (pH7)、Q10には50mM Tris-HCl (pH8)、100mM Sodium Acetate (pH5)、IMAC30には100mM Sodium Phosphate+0.5M NaCl (pH7)、H50には50mM HEPES (pH7)を用いた。

はじめに、IMAC30チップに100mM CuSO₄を添加し10分間振とう後、超純水で洗浄し(2×, 2分間/洗浄)、銅をチップ表面に固定化した。さらに0.1M Sodium Acetate (pH4)添加し5分間振とう後、超純水で2分間洗浄した。4種類のチップを結合・洗浄バッファーで洗浄し(2×, 5分間/洗浄)、チップ表面を平衡化させた。次に結合・洗浄バッファーにより調整したサンプルの5倍希釈液を100ul添加し、30分間振とうした。結合・洗浄バッファーを添加して振とうしチップ表面を洗浄した(3×, 5分間/洗浄)後、超純水で脱塩処理を行った。チップを風乾した後、50%飽和シナピン酸(SPA)を1ul添加して風乾させた(2×)。なお、分子量校正タンパク質としてDynorphin(procine)(分子2147.5m/z)、ACTH(1-24)(human)(2933.5)、Insulin(β-chain)(bovine)(3495.9)、Insulin(human)(5807.7)、Hirdin recombinant(6963.5)、Hirdin BHVK(7033.6)、Cytochrome C(Bovine)(12230.9)、Myoglobin(equine)(16951)、

Carbonic Anhydrase (bovine RBC) (29023) 及びEnolase (S.Cerevisiae) (46671) を用いた。

プロテインチップは、プロテインチップリーダー PCS4000(Bio-Rad)により測定し、CIPHERGEN Express™ Data Manager version 3.0(Bio-Rad)によりデータを取得した。測定範囲は、低分子領域データとして 0-100,000 m/z(Focus mass/SPA-Low;6,500)、高分子領域データとして 10,000-200,000 m/z(Focus mass/SPA-High;20,000)とした。測定は duplicateで行った。

2-4 データ解析

CIPHERGEN Express™ Data Manager version3.0によりデータ解析を行った。測定されたスペクトルはベースライン補正後、分子量校正、ノーマライゼーションによりスペクトル間の正規化処理が行われた。解析対象のピークはsignal/ noise(s/n)>2.5とした。癌部と非癌部のピークの相対的な発現強度についてMann-Whitney u-testにより有意差検定を行い、p値が0.05未満であるものを有意差があると判断した。さらに、Receiver Operating Characteristic (ROC)プロットを行い、Area Under Curve(AUC)を算出してシングルマーカー解析の評価を行った。

3、結果

非癌部に比べ癌部で有意に発現が増加していたタンパク質のピークは、質量電荷比(m/z)約 2500 から 28000 の範囲で 163 検出された。

癌部で発現が有意に減少していたピークは、m/z 約 4200 から 79000 の範囲で 85、合計では 248 のピークが検出された。248 ピークの AUC は、すべて 0.8 以上であった。

CM10 チップでは結合・洗浄バーファーマpH7 で 72 ピークと最も多く検出され、結合・洗浄バーファーマpH4 でも 50 ピーク検出された。IMAC30 チップでは 9 ピークしか検出できなかった(表1)。

248 ピークのうち、p 値が 0.01 未満であった 121 ピークについて、癌部で発現が増加したタンパク質を表2に、発現が減少したタンパク質を表3にまとめた。その中の代表的なピークとしてm/z 3089、3111、11512及び12190を図1に示す。非癌部サンプルではピーク強度(相対的発現量)がみられないか低く、癌部ではピーク強度が強い。一方、図2に m/z 4627、30908 及び 31643 を示すが、図1とは逆のパターンを示し、非癌部サンプルでピーク強度が強い。

表1 実験条件別の検出ピーク数

		癌部で 発現増加	癌部で 発現減少	合計
CM10	pH4	31	19	50
	pH7	54	18	72
Q10	pH5	22	14	36
	pH8	27	16	43
H50		24	14	38
IMAC30		5	4	9
合計		163	85	248



m/z3089

m/z 3111

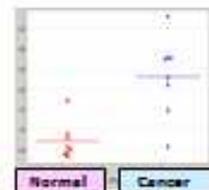
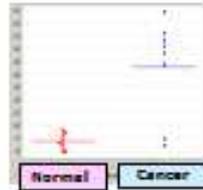
P-value : 0.01172

P-value : 0.00457

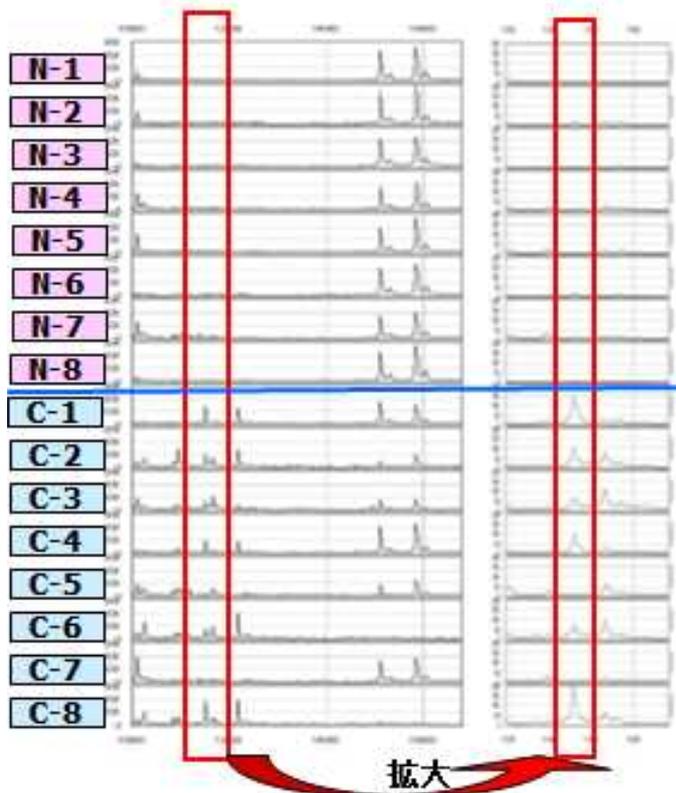
ROC area : 0.89

ROC area : 0.89

Average Peak Intensity



☒1-A
m/z 3089, 3111
(Q10チップ, pH5)



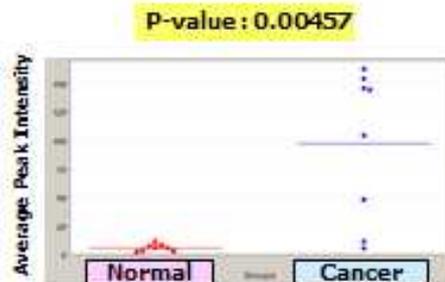
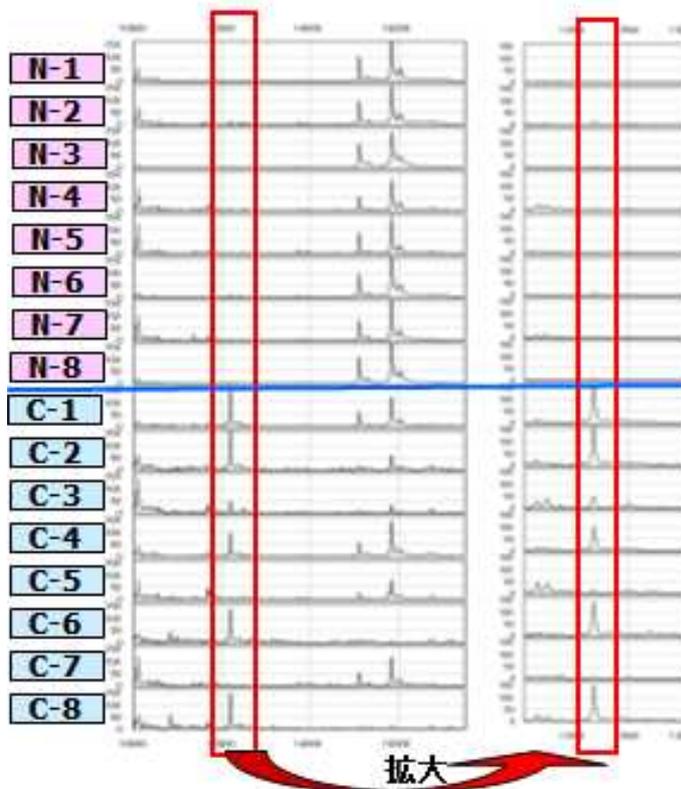
P-value : 0.00328

Average Peak Intensity



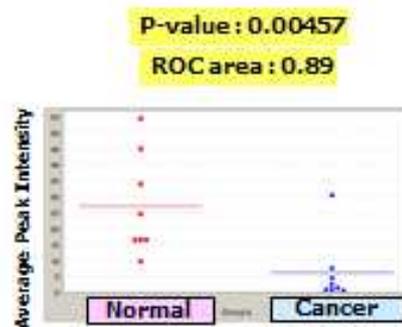
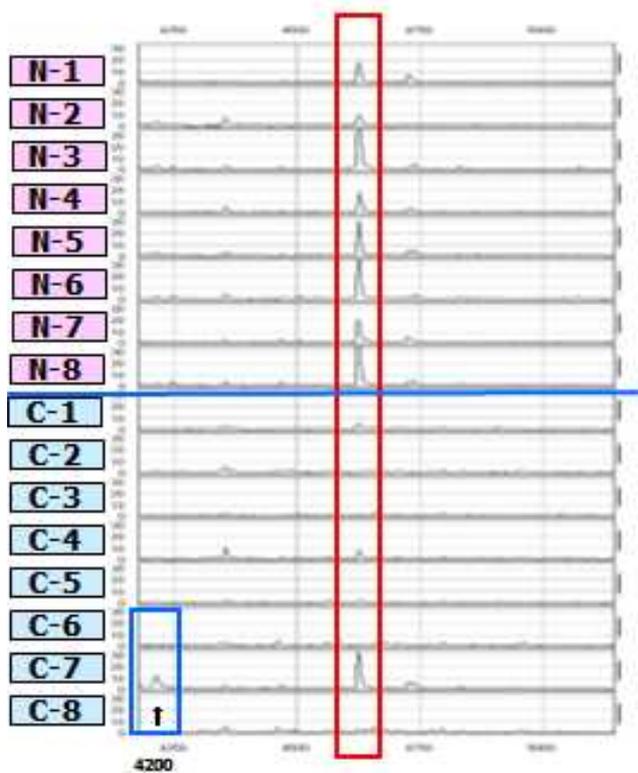
ROC area : 0.89

☒1-B
m/z 11512
(CM10チップ, pH4)



ROC area : 0.94

☒ 1-C
m/z 12190
(Q10チップ, pH8)



☒ 2-A
m/z 4627
(Q10チップ, pH5)

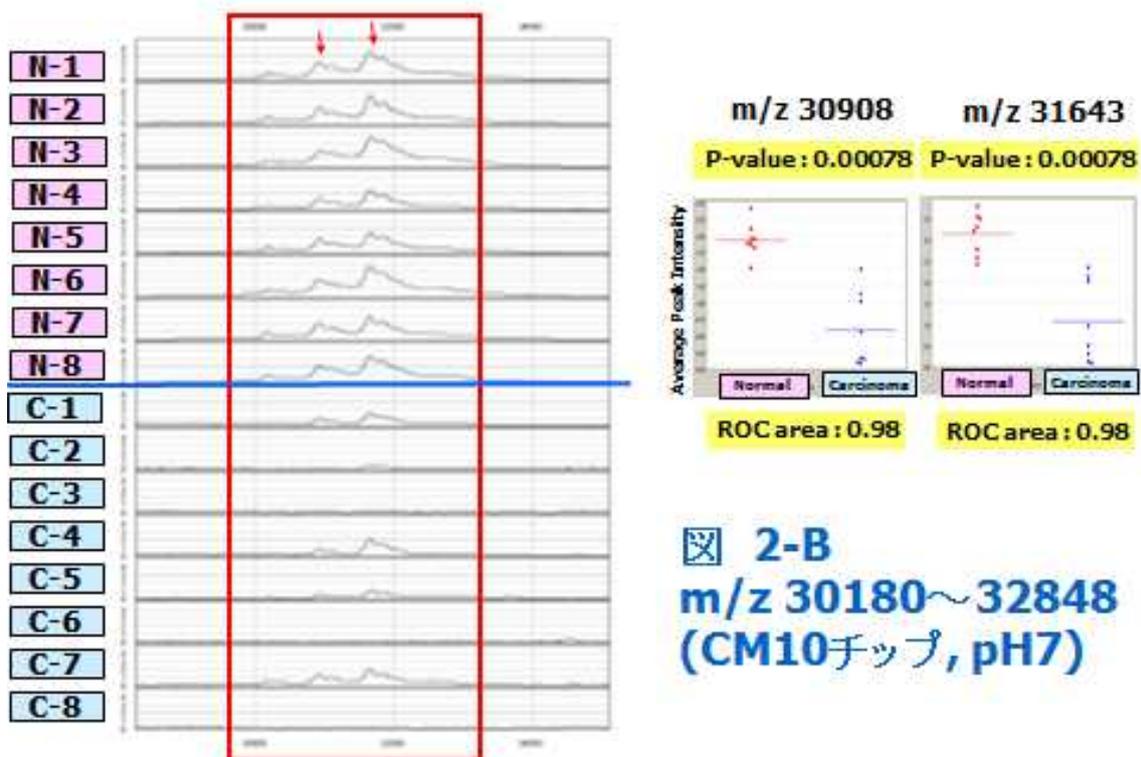


表2 癌部で発現が増加しているタンパク質 (1/2)

Protein Peak(m/z)	チップ, pH	p-value	UAC	Protein Peak(m/z)	チップ, pH	p-value	UAC
2548	銅修飾チップ	0.00865	0.89	6782	Q10, pH5	0.00163	0.94
2967	Q10, pH8	0.00232	0.94	6826	Q10, pH5	0.00232	0.94
2986	Q10, pH8	0.00078	0.98	6944	Q10, pH5	0.00865	0.89
2986	CM10, pH4	0.00328	0.89	7028	Q10, pH5	0.00328	0.94
3051	Q10, pH8	0.00328	0.94	7128	Q10, pH8	0.00163	0.94
3089	Q10, pH5	0.00457	0.94	7157	Q10, pH5	0.00163	0.94
* 3111	CM10, pH7	0.00457	0.89	7833	Q10, pH5	0.00328	0.94
3212	CM10, pH7	0.00457	0.94	8710	Q10, pH5	0.00457	0.94
3240	銅修飾チップ	0.00457	0.89	9226	Q10, pH5	0.00113	0.98
3251	Q10, pH5	0.00163	0.94	9608	Q10, pH5	0.00232	0.94
3605	Q10, pH8	0.00865	0.84	9813	Q10, pH5	0.00163	0.98
3827	Q10, pH8	0.00865	0.89	10130	CM10, pH7	0.00457	0.94
3878	銅修飾チップ	0.00078	0.98	10179	Q10, pH5	0.00163	0.98

—p<0.01, UAC≥0.8—'

表2 癌部で発現が増加しているタンパク質 (2/2)

Protein Peak(m/z)	チップ, pH	p-value	UAC	Protein Peak(m/z)	チップ, pH	p-value	UAC
3892	銅修飾チップ	0.00328	0.89	10244	Q10, pH5	0.00163	0.98
3967	銅修飾チップ	0.00457	0.94	10259	Q10, pH8	0.00632	0.89
4099	逆相チップ	0.00078	0.98	10840	Q10, pH5	0.00328	0.94
4211	銅修飾チップ	0.00232	0.94	10912	CM10, pH7	0.00232	0.94
4228	銅修飾チップ	0.00232	0.94	10946	Q10, pH5	0.00163	0.98
4303	Q10, pH5	0.00232	0.94	* 11512	CM10, pH4	0.00328	0.89
4477	Q10, pH5	0.00163	0.94	11664	CM10, pH4	0.00163	0.94
4573	逆相チップ	0.00865	0.89	11731	CM10, pH4	0.00163	0.98
5002	Q10, pH5	0.00163	0.94	12092	Q10, pH8	0.00078	0.98
5037	Q10, pH5	0.00328	0.94	* 12190	Q10, pH8	0.00457	0.94
5216	Q10, pH5	0.00163	0.98	12279	Q10, pH5	0.00163	0.94
5231	CM10, pH7	0.00113	0.98	12357	CM10, pH4	0.00163	0.94
5274	CM10, pH7	0.00632	0.89	12407	銅修飾チップ	0.00163	0.98
5354	銅修飾チップ	0.00328	0.94	12512	Q10, pH8	0.00328	0.94
5467	CM10, pH4	0.00632	0.89	12673	Q10, pH5	0.00113	0.98
5496	銅修飾チップ	0.00457	0.89	12697	Q10, pH8	0.00163	0.94
5744	銅修飾チップ	0.00078	0.98	12761	Q10, pH5	0.00232	0.94
5785	逆相チップ	0.00078	0.98	13249	銅修飾チップ	0.00457	0.89
5841	銅修飾チップ	0.00163	0.94	13341	Q10, pH5	0.00457	0.94
5984	Q10, pH5	0.00632	0.89	13450	Q10, pH5	0.00232	0.94
6075	Q10, pH8	0.00163	0.98	13555	CM10, pH7	0.00328	0.94
6195	Q10, pH5	0.00632	0.89	13899	Q10, pH5	0.00328	0.94
6262	Q10, pH5	0.00232	0.94	17224	Q10, pH8	0.00457	0.89
6319	銅修飾チップ	0.00113	0.98	17758	Q10, pH5	0.00457	0.89
6338	Q10, pH5	0.00232	0.94	17871	Q10, pH5	0.00232	0.94
6356	Q10, pH5	0.00113	0.98	22173	Q10, pH5	0.00632	0.89
6475	Q10, pH5	0.00865	0.89	22382	Q10, pH5	0.00457	0.94
6516	Q10, pH5	0.00163	0.94	22673	CM10, pH4	0.00457	0.94
6537	Q10, pH5	0.00232	0.94	22944	CM10, pH4	0.00328	0.94
6712	Q10, pH5	0.00163	0.94	27983	CM10, pH4	0.00328	0.94
6740	Q10, pH5	0.00232	0.94				

—p<0.01, UAC≥0.8—'

表3 癌部で発現が減少しているタンパク質

Protein Peak (m/z)	チップ, pH	p-value	UAC	Protein Peak (m/z)	チップ, pH	p-value	UAC
4419	Q10, pH8	0.00865	0.89	16507	CM10, pH7	0.00113	0.98
* 4627	CM10, pH7	0.00457	0.89	16795	CM10, pH4	0.00865	0.89
4843	CM10, pH4	0.00632	0.89	30180	Q10, pH5	0.00113	0.98
5077	CM10, pH4	0.00865	0.89	30380	Q10, pH5	0.00163	0.98
5153	Q10, pH5	0.00457	0.89	* 30908	Q10, pH5	0.00078	0.98
5192	逆相チップ	0.00632	0.94	31084	Q10, pH8	0.00113	0.98
5359	Q10, pH8	0.00865	0.89	31135	銅修飾チップ	0.00232	0.94
7561	銅修飾チップ	0.00163	0.98	* 31643	Q10, pH5	0.00078	0.98
7667	銅修飾チップ	0.00232	0.94	31829	Q10, pH5	0.00078	0.98
7930	Q10, pH8	0.00078	0.98	32618	Q10, pH8	0.00078	0.98
8035	Q10, pH8	0.00078	0.98	32848	Q10, pH8	0.00078	0.98
15129	Q10, pH8	0.00113	0.98	46099	Q10, pH5	0.00163	0.98
15336	銅修飾チップ	0.00078	0.98	46751	Q10, pH5	0.00078	0.98
15863	CM10, pH4	0.00163	0.98	47610	Q10, pH5	0.00078	0.98
16021	Q10, pH5	0.00078	0.98	63341	Q10, pH5	0.00078	0.98
16073	Q10, pH8	0.00078	0.98	65662	CM10, pH7	0.00328	0.94
16359	CM10, pH7	0.00113	0.98	79272	Q10, pH5	0.00865	0.89

—p<0.01, UAC≥0.8—'

4、考察

子宮頸部組織の癌部と非癌部についてタンパク質を網羅的に解析したところ、子宮頸癌の診断に有用であると考えられる 248 のバイオマーカー候補を見いだした。さらにサンプル数を増やし、マーカー候補の絞り込みを行うことによって、感度、特異度等が高いバイオマーカーが発見できると考える。本研究では 6 種類の実験条件を設定したが、CM10 プロテインチップで全体の約半数のタンパク質を検出できた。よって、CM10 が第一選択チップとして適切であると思われるが、必要に応じ

Q10、H50 を使用することで効率的な実験を行うことができると考える。また、マーカーの絞り込みにあたって、決定木クラスタリング解析法などのマルチマーカー解析によるいろいろな癌の診断モデルが報告されている^{8-10, 16-17}。今回多くのマーカー候補が得られたことは、クラスタリング解析を行ううえにおいてバイオマーカーの選択幅を広げるものと期待される。

本研究と同様に、プロテインチップシステムにより子宮頸癌の組織から診断に有用なバイオマーカーを探索した研究に Wong らの研

究¹⁶⁾がある。発見したマルチマーカー7つは、バイオマーカーとして有用である可能性があるが、まだ大規模な実験で検証されていない。また、7つのマーカーはすべて癌部で発現が減少しているため、最終目標である比較的簡易でハイスループットな検出系構築への応用は困難であると思われる。本研究では、癌部で発現が亢進しているマーカー候補を多く見出し、新しい検出系への応用は可能であると考えている。

最近、子宮頸癌検診のスクリーニング方法が変わりつつある。わが国でも、従来から行われている細胞診に加えて HPV-DNA 検査を加えた併用検診が一部の自治体検診や人間ドックに導入され始めた。それにあわせ、日本産婦人科医会がん対策委員会から、結果の解釈と運用について暫定的な検診リコメンデーションが出された¹⁷⁾。判定区分には、異常なし、要精密検査のほか、要経過観察（「細胞診（ASC-US 意義不明異型扁平上皮細胞），HPV(-)」又は「細胞診(-), HPV(+)」）がある。検診方法が改善されても、なお6か月から12か月にわたって経過観察を必要とする患者が、岩成らの報告によると、合わせて6%にのぼる⁵⁾。それに加え、軽度及び中等度の子宮頸部上皮内腫瘍に対する HPV ジェノタイプ判定が保険適応となったが、日本産婦人科医会から平成23年6月に示された暫定的な運用指針では、いずれの判定であっても3か月から12か月のフォローアップが必要とされる。高度前癌病変、上皮内癌さらには浸潤癌が診断できるバイオマーカーが見出すことができればスクリーニング法や精密検査、患者管理のあり方そのものが変わる可能性がある。

サンプル No.7 の癌部組織のバイオマーカー

候補の発現のしかたは、図1や図2を見る限り、非癌部サンプルの発現パターンと同様であった。また、図2(A)の m/z 約4200 のタンパク質は No.7 でのみ発現し、他の癌部・非癌部のすべてのサンプルではほとんど発現がみられなかった。そのため、組織添付の病理組織標本を観察したところ、浸潤癌と判定するには難しいイメージであった。浸潤癌になる前の病変でのみこのようなピークを検出することができれば、このピークタンパク質は高度異形成や上皮内癌を診断できるバイオマーカーとなる可能性がある。

上皮内癌などの組織や細胞を材料にしてバイオマーカーの探索研究を実施することは非常に重要であると考ええる。

血清からバイオマーカー候補を見出し、診断用モデルを作成したという報告がみられる¹⁸⁾。本研究でも多くのバイオマーカー候補を見出すことができたが、その中でペプチドや分子量の小さいタンパク質、膜タンパク質などは血液中に流出している可能性がある。血液検査によって子宮頸癌を診断できるバイオマーカー候補を探索することも重要であると考ええる。

文献

- 1) Forouzanfar MH, Foreman KJ, Delossantos AM, Lozano R, Lopez AD, Murray CJ, Naghavi M : Breast and cervical cancer in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *Lancet* 378 : 1461-1484, 2011.
- 2) Matsuda A, Matsuda T, Shibata A, Katanoda K, Sobue T, Nishimoto H and The Japan Cancer Surveillance

- Research Group : Cancer Incidence and Incidence Rates in Japan in 2007 : A Study of 21 Population-based Cancer Registries for the Monitoring of Cancer Incidence in Japan (MCIJ) Project. Japanese Journal of Clinical Oncology 43 : 328-336, 2013.
- 3) 人口動態統計(厚生労働省大臣官房統計情報部編)
- 4) OECD Health Data 2011
- 5) 岩成 治:子宮頸がん検診受診率向上への取り組みー日本初の細胞診・HPV-DNA検査併用検診で受診率向上・高精度化・効率化達成ー. 臨床婦人科産科 64 : 288-297, 2010.
- 6) 岩成 治, 森山政司, 小村明弘 : 子宮頸がん HPV DNA 検査・細胞診併用検診による子宮頸がん検診 高精度・効率化・若年受診率向上により浸潤がん激減. 臨床婦人科産科 67 : 771-779, 2013.
- 7) Hutchens TW, Yip TT : New desorption strategies for the mass spectrometric analysis of macromolecules. Rapid Commun Mass Spectrom 7 : 576-580 , 1993.
- 8) Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA : Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. Lancet 359 : 572-577, 2002.
- 9) Li J, Zhang Z, Rosenzweig J, Wang YY, Chan DW : Proteomics and bioinformatics approaches for identification of serum biomarkers to detect breast cancer. Clin Chem. 48 : 1296-1304, 2002.
- 10) Adam BL, Qu Y, Davis JW, Ward MD, Clements MA, Cazares LH, Semmes OJ, Schellhammer PF, Yasui Y, Feng Z, Wright GL Jr. : Serum protein fingerprinting coupled with a pattern - matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. Cancer Res. 62 : 3609-3614, 2002.
- 11) Clarke W, Silverman BC, Zhang Z, Chan DW, Klein AS, Molmenti EP: Characterization of renal allograft rejection by urinary proteomic analysis. Ann Surg. 237 : 660-665, 2003.
- 12) Shiwa M, Nishimura Y, Wakatabe R, Fukawa A, Arikuni H, Ota H, Kato Y, Yamori T : Rapid discovery and identification of a tissue-specific tumor biomarker from 39 human cancer cell lines using the SELDI ProteinChip platform. Biochem Biophys Res Commun. 309 : 18-25, 2003.
- 13) Zhang Z, Bast RC Jr, Yu Y, Li J, Sokoll LJ, Rai AJ, Rosenzweig JM, Cameron B, Wang YY, Meng XY, Berchuck A, Van Haaften-Day C, Hacker NF, de Bruijn HW, van der Zee AG, Jacobs IJ, Fung ET, Chan DW : Three biomarkers identified from serum proteomic analysis for the detection of early stage ovarian cancer. Cancer Res. 64 : 5882-5890, 2004.

- 14) Paradis V, Degos F, Dargère D, Pham N, Belghiti J, Degott C, Janeau JL, Bezeaud A, Delforge D, Cubizolles M, Laurendeau I, Bedossa P : Identification of a new marker of hepatocellular carcinoma by serum protein profiling of patients with chronic liver diseases. *Hepatology* 41 : 40-47, 2005.
- 15) Jakob A, Rikke B, Steen G, Jesper O, Benny W, Hans R : Upregulated expression of human neutrophil peptides 1, 2 and 3 (HNP1-3) in colon cancer serum and tumours: a biomarker study. *BMC Cancer* 5 :2005.
- 16) Wong YF, Cheung TH, Lo KW, Wang VW, Chan CS, Ng TB, Chung TK, Mok SC : Protein profiling of cervical cancer by protein-biochips: proteomic scoring to discriminate cervical cancer from normal cervix. *Cancer Lett.* 211 : 227-234, 2004.
- 17) 公益社団法人 日本産婦人科医会がん対策委員会 : 子宮頸がん検診リコメンデーション-HPV-DNA 検査併用検診にむけて-, 平成 23 年度
- 18) Liu C, Pan C, Shen J, Wang H, Yong L, Zhang R : Discrimination analysis of mass spectrometry proteomics for cervical cancer detection. *Med Oncol.* 28 :S553-59, 2011.

農産物中の残留農薬の検査結果

— 平成 20 年度～平成 24 年度 —

萩原彩子^{a)}、柳岡知子^{b)}、山本浩嗣^{c)}、小室道彦^{a)}
野村高峰^{d)}、田邊一隆^{e)}、大曾根圭子^{a)}

平成 20 年 4 月から平成 25 年 3 月の 5 年間に収去された農産物 18 種 330 検体（県外産品 80 検体、輸入品 250 検体）について、厚生労働省通知の試験法¹⁾に準じ残留農薬検査を実施した結果をまとめた。測定対象農薬は 125 種類とした。その結果、農産物全体の検出率（検出検体数／検査検体数）は 25%（県外産品 29%、輸入品 23%）であった。なお、厚生労働省が定める基準値を超過したものはなかった。検出された農薬は 22 種類、農薬の延べ検出数は 122 件であった。

はじめに

最近では、食品の安全・安心について国民の関心が高まっており、放射能汚染や有害微生物による食中毒について、マスコミにも多く取り上げられている。一方、平成 24 年 7 月に食品安全委員会より実施された食品の安全性についてのアンケートでは 63.4%の人が農薬に対する不安があると回答しており²⁾、食品中の残留農薬に対する関心も依然として高い。

当所では、食の安全を確保するため食品衛生監視指導計画に基づき、県内で収去された県外産農産物及び輸入野菜中の残留農薬検査を実施している。今般、平成 20 年度から平成 24 年度までの 5 年間の結果をまとめたので報告する。

実験方法

1. 検査対象試料

平成 20 年度から平成 24 年度にかけて茨城県内で流通していた県外産品 6 種 80 検体と輸入品 13 種 250 検体、計 18 種 330 検体を対象とした。

2. 検査対象農薬

測定対象農薬は、有機リン系、カルバメート系、

ピレスロイド系、有機塩素系、含窒素系及びその他の農薬、計 125 種類とした。GC/MS では 96 種類、LC/MS/MS では 29 種類について測定した。（表 1）

農薬の標準品は林純薬工業（株）製の農薬混合標準液、PL2005 農薬 GC/MS Mix I、PL2005 農薬 GC/MS Mix II、PL2005 農薬 GC/MS Mix III を用いた。

3. 装置

(1) ガスクロマトグラフ質量分析計

(株)島津製作所製 QP-2010、QP-2010 plus、Varian 社製 1200 及び Thermo Fisher Scientific 社製 TSQ Quantum GC を用いた。

(2) 液体クロマトグラフ質量分析計

Waters 社製 Quattro Premier XE を用いた。

4. 検査方法

厚生労働省通知の「GC/MS による農薬等の一斉分析法（農産物）」及び「LC/MS による農薬等の一斉分析法 I（農産物）」に準じ、測定は GC/MS 及び LC/MS/MS により行った。また、GC/MS/MS は検出した農薬の確認に使用した。

a 茨城県衛生研究所 b 現茨城県筑西保健所 c 現茨城県消防安全課 d 現茨城県霞ヶ浦環境科学センター
e 現茨城県潮来保健所

結果及び考察

平成 20 年 4 月から平成 25 年 3 月までに検査した検体数及び検出率等を農産物別にあらわしたものを表 2, 年度別にあらわしたものを表 3 に示した。検査した農産物 18 種 330 検体中 13 種 81 検体（県外産品 6 種 23 検体, 輸入品 8 種 58 検体）から農薬が検出された。厚生労働省が定める基準値を超過したものはなかった。検査した農産物等の検出率（検出検体数／検査検体数）は 25%（県外産品 29%, 輸入品 23%）であった。また, 農産物 5 種 96 検体（すべて輸入品）からは農薬は検出されなかった。年度別では, 平成 20 年度から平成 23 年度にかけて農薬の検出率はやや高くなっているが, 直近の 2 年間では検出率に変化がなかった。また, 県外産品と輸入品の検出率を比較すると, 平成 22 年度を除いては県外産品の方が高い検出率であった。この要因としては, 県外産品のほとんどが生鮮食品であるが, 輸入品の方はブランチングされた食品が多いためとも考えられる。検出率が 0% であった農産物は, アスパラガス, ピーマン, カリフラワー, たけのこ, さといもの 5 種類あるがそのうち, アスパラガスを除く 4 種類はすべてブランチングされた食品であった。

検出率が 50% を超える農産物（5 検体以上検査したものは, パプリカ（77%）, カボチャ（64%）, レタス（60%）の 3 種類であった。パプリカ, レタスは毎年度農薬の検出率が高く, カボチャにおいても検出率が高かった。

検出された農薬及び検出値を表 4 に示した。検出された農薬は 22 種類, 農薬の延べ検出数は

122 件であった。同じ農産物から複数の農薬を検出した割合（農産物ごとに, 2 種以上の農薬を検出した検体数／検出検体数×100）が高かったのは未成熟エンドウ（67%）, レタス（67%）, パプリカ（52%）であった。

検査した農産物 330 検体中, 検出頻度が高い農薬はイミダクロプリド（45 検体）, チアメトキサム（12 検体）, プロシミドン（11 検体）, クロチアニジン（10 検体）, インドキサカルブ（8 検体）等であった。

検出された農薬の検出値は, 基準値の 30% 未満であった。また, 基準値の 10% 未満の検出値が全体の 96% を占めており, 国内だけでなく輸入品でも日本の基準が遵守されている結果となった。

文 献

- 1) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法, 平成 17 年 1 月 24 日付け食安発第 0124001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
- 2) 食品安全モニター課題報告「食品の安全性に関する意識等について」（平成 24 年 7 月実施）の結果 内閣府食品安全委員会

表1 検査対象農薬の項目、定量下限値及び試験法一覧

検査項目	下限値(ppm)	試験法	検査項目	下限値(ppm)	試験法
EPN	0.01	GC/MS法	フェンクロルホス	0.01	GC/MS法
アクリナリン	0.01	"	フェンスルホチオン	0.01	"
アザコナゾール	0.01	"	フェンチオン	0.01	"
アジンホスメチル	0.01	"	フェントエート	0.01	"
アトラジン	0.01	"	フェンハレレート	0.01	"
イサゾホス	0.01	"	フェンプロパトリン	0.01	"
イカルホス	0.01	"	フサライド	0.01	"
イソキサチオン	0.01	"	ブタホス	0.01	"
イソフェンホス	0.01	"	ブピリメート	0.01	"
イソプロチオラン	0.01	"	ブプロフェジン	0.01	"
エチオン	0.01	"	フルキンコナゾール	0.01	"
エディフェンホス	0.01	"	フルシトリネート	0.01	"
エトプロホス	0.005	"	フルトラニル	0.01	"
エトリムホス	0.01	"	フルハリネート	0.01	"
カスサホス	0.01	"	プロシミドン	0.01	"
カフェンストール	0.01	"	プロチオホス	0.01	"
キナルホス	0.01	"	プロバホス	0.01	"
キノキシフェン	0.01	"	プロピザミド	0.01	"
キノクラミン	0.01	"	プロフェノホス	0.01	"
キノキシムメチル	0.01	"	プロモプチド	0.01	"
クオルタージメチル	0.01	"	プロモプロピレート	0.01	"
クオルピリホス	0.01	"	ベルメリン	0.01	"
クオルピリホスメチル	0.01	"	ペンコナゾール	0.01	"
クオルフェンソル	0.01	"	ペンデイメタリン	0.01	"
クオルフェンピホス	0.01	"	ペンフルラリン	0.01	"
クオルプロファミ	0.01	"	ホサロン	0.01	"
シアノホス	0.01	"	ホスチアセート	0.01	"
シアナジン	0.01	"	ホスファミドン	0.01	"
ジクロフェンチオン	0.01	"	マラチオン	0.01	"
ジクロラン	0.01	"	マイクロタニル	0.01	"
ジメトエート	0.01	"	メカルハム	0.01	"
シハロトリン	0.01	"	メチダチオン	0.01	"
シハロホップチル	0.01	"	メピンホス	0.01	"
シヘルメリン	0.01	"	アニコホス	0.01	LC/MS I法
スルプロホス	0.01	"	イソキサフルトール	0.01	"
ダイアジン	0.01	"	イプロバリカルブ	0.01	"
チオベンカルブ	0.01	"	イミダクロプリド	0.01	"
テフルトリン	0.01	"	インドキサカルブ	0.01	"
トリアジメホス	0.01	"	オキシカルホキシ	0.01	"
トリアレート	0.01	"	オリザリン	0.01	"
トリブホス	0.01	"	キサロホップエチル	0.01	"
テトラクロピホス	0.01	"	クロキントセットメキシル	0.01	"
テルブホス	0.005	"	クロチアジン	0.01	"
トリアゾホス	0.01	"	クロマフェジド	0.01	"
トリアラリン	0.01	"	クロメプロップ	0.01	"
トリフロキシストロピ	0.01	"	クロリダゾン	0.01	"
トルクロホスメチル	0.01	"	シフルフェナミド	0.01	"
ニトロタールイソプロピル	0.01	"	シメコナゾール	0.01	"
ハラチオン	0.01	"	ジメチリモール	0.01	"
ハラチオンメチル	0.01	"	チアクロプリド	0.01	"
ハルフェンプロックス	0.01	"	チアベンダゾール	0.01	"
ピフェントリン	0.01	"	チアメトキサム	0.01	"
ピペロホス	0.01	"	ナプロアニド	0.01	"
ピラクロホス	0.01	"	ピリフタリド	0.01	"
ピラゾホス	0.01	"	フェノキシカルブ	0.01	"
ピリダフェンチオン	0.01	"	フェリムゾン	0.01	"
ピリプチカルブ	0.01	"	フェンメテイファミ	0.01	"
ピリミナハックメチル	0.01	"	プタフェナシル	0.01	"
ピリミホスメチル	0.01	"	フラチオカルブ	0.01	"
ピンクロゾリン	0.01	"	ペンゾフェナップ	0.01	"
フェナミホス	0.01	"	メキシフェジド	0.01	"
フェナリモール	0.01	"	ラクトフェン	0.01	"
フェニロチオン	0.01	"			

表2 検査検体数及び検出率

農産物名	検出検体数／検査検体数			検出率 (%)
	県外産品	輸入品	合計	
キュウリ	6/13	-	6/13	46
キャベツ	5/19	-	5/19	26
トマト	2/8	-	2/8	25
レタス	6/10	-	6/10	60
ダイコン	3/15	-	3/15	20
ニンジン	1/15	1/13	2/28	7
ブロッコリー	-	2/37	2/37	5
アスパラガス	-	0/27	0/27	0
未成熟インゲン	-	4/22	4/22	18
カボチャ	-	18/28	18/28	64
ハウレンソウ	-	6/15	6/15	40
ピーマン	-	0/3	0/3	0
パプリカ	-	23/30	23/30	77
未成熟エンドウ	-	3/8	3/8	38
カリフラワー	-	0/9	0/9	0
たけのこ	-	0/36	0/36	0
さといも	-	0/21	0/21	0
えだまめ	-	1/1	1/1	100
合計	23/80	58/250	81/330	25

(平成20年4月から平成25年3月までの5年間の集計)

表3 各年度の農薬の検出状況

年度	検出検体数／検査検体数			検出率 (%)		
	県外産	輸入	合計	県外産	輸入	合計
平成20年度	-	6/50	6/50	-	12	12
平成21年度	5/20	10/50	15/70	25	20	21
平成22年度	4/20	14/50	18/70	20	28	26
平成23年度	7/20	14/50	21/70	35	28	30
平成24年度	7/20	14/50	21/70	35	28	30
合計	23/80	58/250	81/330	29	23	25

表4 検出された農薬及び検出値 (1/3)

農産物名	年度	起源		農薬	検出値(ppm)
		県外産	輸入		
パプリカ	平成 20 年度		○	イミダクロプリド	0.15
			○	インドキサカルブ	0.01
				イミダクロプリド	0.12
			○	クロチアニジン	0.06
				チアメキサム	0.30
			○	イミダクロプリド	0.05
				チアクロプリド	0.02
				イミダクロプリド	0.03
			○	インドキサカルブ	0.03
				メキシフェノジド	0.01
	平成 21 年度		○	イミダクロプリド	0.04
			○	イミダクロプリド	0.01
			○	イミダクロプリド	0.10
			○	メキシフェノジド	0.02
				イミダクロプリド	0.10
			○	クロチアニジン	0.04
				チアメキサム	0.03
			○	インドキサカルブ	0.02
			○	インドキサカルブ	0.03
			○	インドキサカルブ	0.01
	平成 22 年度		○	プロシミドン	0.18
				イミダクロプリド	0.04
				イミダクロプリド	0.02
			○	クロチアニジン	0.03
				チアメキサム	0.01
				イミダクロプリド	0.05
			○	クロチアニジン	0.09
				チアメキサム	0.03
			○	アクリナトリン	0.01
				イミダクロプリド	0.07
平成 23 年度			アクリナトリン	0.02	
		○	イミダクロプリド	0.06	
			クロチアニジン	0.06	
			チアメキサム	0.05	
		○	イミダクロプリド	0.03	
		○	クロチアニジン	0.01	
平成 24 年度			チアメキサム	0.01	
			イミダクロプリド	0.05	
			クロチアニジン	0.03	
		○	チアメキサム	0.11	
			メキシフェノジド	0.20	
			プロシミドン	0.01	
			フェンバレレート	0.01	
		○	イミダクロプリド	0.01	
			インドキサカルブ	0.01	
		○	インドキサカルブ	0.01	

表4 検出された農薬及び検出値 (2/3)

農産物名	年度	起源		農薬	検出値(ppm)	
		県外産	輸入			
カボチャ	平成 21 年度		○	ミクロブタニル	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.01	
			○	イミダクロプリド	0.01	
	平成 22 年度		○	イミダクロプリド	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.07	
				チアメトキサム	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.04	
	平成 23 年度		○	イミダクロプリド	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.03	
			○	ミクロブタニル	0.01	
				イミダクロプリド	0.01	
			○	イミダクロプリド	0.02	
			○	シペルメトリン	0.01	
	平成 24 年度			イミダクロプリド	0.02	
			○	ビフェントリン	0.01	
				イミダクロプリド	0.03	
			○	イミダクロプリド	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.01	
			○	イミダクロプリド	0.01	
レタス	平成 21 年度	○		クロチアニジン	0.04	
		○		クロチアニジン	0.42	
	平成 22 年度			メキシフェノジド	0.73	
			○	フルトラニル	0.24	
	平成 23 年度			フェンバレレート	0.13	
			○	トルクロホスメチル	0.01	
	平成 24 年度		○	クロチアニジン	0.02	
				チアメトキサム	0.03	
	ハウレンソウ	平成 21 年度		○	シハロトリン	0.01
					イミダクロプリド	0.02
			○	ビフェントリン	0.01	
				ペルメトリン	0.19	
平成 22 年度			○	イミダクロプリド	0.03	
				メキシフェノジド	0.15	
			○	イミダクロプリド	0.02	
			○	イミダクロプリド	0.01	
平成 24 年度		○	シペルメトリン	0.01		
		○	イミダクロプリド	0.03		

表4 検出された農薬及び検出値 (3/3)

農産物名	年度	起源		農薬	検出値(ppm)
		県外産	輸入		
キュウリ	平成 21 年度	○		クレソキシムメチル	0.03
	平成 22 年度	○		プロシミドン	0.06
	平成 23 年度	○		プロシミドン	0.13
		○		プロシミドン	0.04
	平成 24 年度	○		チアトキサム	0.01
		○		プロシミドン	0.03
キャベツ	平成 21 年度	○		プロシミドン	0.03
		○		プロシミドン	0.04
		○		プロシミドン	0.02
	平成 24 年度	○		チアトキサム	0.01
		○		プロシミドン	0.01
未成熟インゲン	平成 23 年度		○	シペルメトリン	0.04
			○	マイクロブタニル	0.06
				イミダクロプリド	0.09
	平成 24 年度		○	イミダクロプリド	0.03
未成熟エンドウ	平成 22 年度		○	シペルメトリン	0.04
			○	マイクロブタニル	0.02
	平成 23 年度		○	イミダクロプリド	0.13
			○	マイクロブタニル	0.02
			○	イミダクロプリド	0.01
ダイコン	平成 23 年度	○		イミダクロプリド	0.02
		○		フェンバレレート	0.01
	平成 24 年度	○		フルバリネート	0.01
ニンジン	平成 23 年度	○		クロルピリホス	0.02
			○	ホスチアゼート	0.01
ブロッコリー	平成 23 年度		○	トリフルラリン	0.01
	平成 24 年度		○	イミダクロプリド	0.03
トマト	平成 22 年度	○		イミダクロプリド	0.01
	平成 23 年度	○		シフルフェナミド	0.04
エダマメ	平成 23 年度		○	チアクロプリド	0.02
			○	シペルメトリン	0.05
				インドキサカルブ	0.02

第 4 章 学会発表要旨・抄録

茨城県で発生した集団下痢症から分離された *Campylobacter jejuni* の疫学解析

○和田千里¹⁾ 川又祐子¹⁾ 山本和則¹⁾ 笠井潔¹⁾ 白田忠雄²⁾ 真原進³⁾
1)茨城県衛研 2)水戸保健所 3)県西食肉衛検

I. はじめに

カンピロバクター食中毒は細菌性食中毒の中で近年最も多く発生しており、茨城県においても平成 17 年以降最も発生が多い。カンピロバクター食中毒で検出される菌種の多くは *Campylobacter jejuni* であり、血清型別やパルスフィールドゲル電気泳動法などによる遺伝子型別が疫学解析の手法として広く用いられている。

今回、平成 23 年度に茨城県で発生した集団下痢症事例から分離された *C.jejuni* の疫学的特徴を把握するため、血清型別および PFGE 法による遺伝子型別を用いて疫学解析を試みたので報告する。

II. 材料および方法

平成 23 年度に茨城県で発生した集団下痢症事例から分離・同定された *C.jejuni* 29 株を材料とした。菌株は患者糞便あるいは参考食品から分離した。血清型別は市販の免疫血清を用いて Penner 血清型別を行った。いずれの抗血清にも凝集しない場合を untypable (UT) とした。PFGE 法は八尋ら¹⁾の方法に準じて実施した。制限酵素は *Sma* I、*Kpn* I の 2 種類を用いた。

III. 成績

血清型別試験の結果、8 種類の血清型に分類された。血清型別不明株が 8 株分離され、全体の 27.6%で最も多かった。PFGE 解析による分類の結果、供した全菌株から明瞭なバンドが得られ、バンドパターンによって 19 パターンに分類された。*Sma* I より *Kpn* I の方がバンドを多く得られ、より詳細に分類することができた。しかし、疫学的解釈をする上で分類に差はみられなかった。

IV. 考察

多様な血清型の株が分離されたこと、血清型別不明株が多かったことは過去の報告と一致し、茨城県でもカンピロバクターの全国的傾向がみられたといえる。PFGE 法による遺伝子型別は血清型不明株の解析に有効であり、また、血清型が一致しても遺伝子型別の結果が一致しない例もみられた。今回、疫学的関連が不明であるにも関わらず、別の事例から共通のバンドパターンを示す菌株が分離されたことから、今後さらに多くの菌株について解析することで、汚染源の特定や県内の広域な *C.jejuni* 汚染の実態について把握できる可能性がある。

v. 引用文献

1)八尋俊輔ほか：「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」18 年度総括・分担研究報告書(2007):219-230

平成 24 年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会（埼玉県）

茨城県におけるインフルエンザ検査状況(2011/12 シーズン)

茨城県衛生研究所 ウイルス部

○土井 育子、渡邊 美樹、笠井 潔、増子 京子、原 孝

【はじめに】

茨城県内では 2012 年第 1 週にインフルエンザの流行が始まった。その流行の主流が AH3 であったこと、B 型の流行の主流の 1/3 が山形系統であったことなどが昨シーズンと比較して特徴的であった。2011/12 シーズンの茨城県におけるインフルエンザの検査状況について報告する。

【材料と方法】

2011 年第 46 週から 2012 年第 32 週までの間、県内の病原体定点医療機関等で採取された 287 検体を材料とし、リアルタイム RT-PCR 法によりインフルエンザウイルスの検索を行うとともに、MDCK 細胞を用いてウイルス分離を行った。分離されたウイルスは 0.75%モルモット血球を用いて赤血球凝集抑制 (HI) 試験を行い、同定及び抗原解析を行った。

また、分離株 56 株について HA1 領域を RT-PCR 法により増幅してダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定し、Neighbor-Joining 法により系統樹解析を行った。

さらに、分離株 68 株について「病原体診断マニュアル インフルエンザ診断マニュアル第 2 版」に基づき部分シーケンスにより、NA 阻害薬耐性マーカーの検索を行った。

【結果と考察】

搬入された 287 検体のうち、267 検体からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。その内訳は、AH3 型ウイルスが 195 検体(73%)、B 型ウイルスが 71 検体(26.6%)、AH1pdm09 が 2 検体(0.7%)であり、全国と同様流行の主流は AH3 であった。AH1pdm09 は本格的な流行期には検出されなかったが、2012 年第 25 週と 31 週に 1 件ずつ検出され、今後注目を要するものと思われる。

分離された AH3 ウイルスのうち 114 株について HI 試験を行った結果、ワクチン株の類似株は 28 株(24%)、わずかに抗原性が変異した株は 34 株(30%)、変異株は 52 株(46%)であり、変異株の割合が半分近くをしめた。B 型 Victoria 系統 39 株は、38 株(97%)がワクチン株の類似株であった。

HA1 領域を系統樹解析した AH3 については、19 株すべてが全国的な流行の主流であった T212A のアミノ酸置換を持つグループに分類され、県内の流行の主流も全国と同様であったと考えられた。B 型 Victoria 系統については 21 株すべてが N75K、S172P のアミノ酸置換を持つグループに分類され、AH3 と同様全国の流行の主流と同グループに分類された。B 型山形系統については 16 株中 S150I、N165Y、S229D にアミノ酸置換を持つグループに 11 株、S229G にアミノ酸置換を持つグループに 5 株が分類された。

分離された株の中から AH3 32 株、B 型 Victoria 系統 20 株、B 型山形系統 16 株について、代表的な既知の NA 阻害薬耐性変異の有無を調べた結果、全てのウイルス株において薬耐性変異はみられなかった。国立感染症研究所の薬耐性サーベイランスにおいても 2011/12 シーズンは NA 阻害薬耐性株は検出されていないが、2012/13 シーズンも引き続き発生の動向には注目していく必要があるものとする。

麻しんの非流行期における遺伝子検査の重要性

茨城県衛生研究所 ○渡邊 美樹、原 孝

【はじめに】わが国の麻しん報告数は2008年には11015名であったが、翌年から激減し、2011年には434名になった。これを機に、2010年から麻しん検査診断体制（RT-PCR法）が強化された。

【目的】麻しんの検査診断法として、WHOの推奨するIgM抗体検査に対し、RT-PCR法の優位性を示す。

【材料及び方法】材料は、平成22年度～23年度に麻しんと診断された（疑いを含む）0～15歳児の56検体である。原則として血液及び咽頭ぬぐい液について、RT-PCR法により麻しんウイルスのRNAを、EIA法によりIgM抗体を測定した。必要に応じ、ペア血清についてPA法により抗体価を測定した。併せて、風しんウイルス、ヒトパルボウイルスB19（以下、B19）、4歳未満児については、さらにHHV6及びHHV7遺伝子の検出を血清又は血漿について試みた。

【結果】MRワクチン接種後に発症した1例(1.8%)から麻しんウイルスと風しんウイルスのRNAが検出された。それ以外の55例からは麻しんウイルスRNAは検出されなかったが、IgM抗体は、9例(16.1%)が陽性、3例(5.4%)は判定保留であった。IgM抗体検査キットの感度と陽性反応的中率はそれぞれ50.0%、3.8%であった。麻しん以外のウイルス遺伝子については、IgM抗体陽性又は判定保留の群のうち7例(58.3%)から、陰性群43例では20例(46.5%)から検出された。頻度的には、HHV6(28.6%)、B19(8.9%)、HHV7(5.4%)、風しんウイルス(3.6%)の順に多く検出された。

【考察】IgM抗体検査は感度及び陽性反応的中率がともに低く、麻しんの検査診断法として遺伝子検査の重要性が確認された。抗体陽性群のみならず、陰性群からも麻しん以外の発疹性ウイルスが高率に検出され、臨床診断だけでは麻しんの診断が困難になっていることがうかがわれた。麻しんウイルス以外のウイルス検出の試みは、麻しんサーベイランス体制の質を高めることに役立つと考えられる。

非学会員共同研究者：増子京子、土井育子、笠井潔、永田紀子、杉山昌秀（茨城県衛生研究所）

第 5 章 他誌掲載・論文要旨

茨城県における麻しんの検査診断

茨城県衛生研究所

渡邊美樹 増子京子 本谷 匠 土井育子 原 孝 杉山昌秀

はじめに

茨城県は、2002（平成14）年と2006（平成18）年に発生した麻しんの集団感染を契機に、麻しん排除を目指して積極的に取り組んでいる。第1期を含め、追加して実施することになった第2期～第4期の予防接種のきめ細やかな接種勧奨〔第3期、4期は2012（平成24）年度で終了〕、学校欠席者情報収集システムを導入して2009（平成21）年11月に運用を開始、そして、翌2010（平成22）年4月1日には麻しん（疑い例も含む）の全数検査を開始した。その結果、2011（平成23）年に麻しん排除を達成し、現在まで維持している。排除達成とその維持のため、質の高いサーベイランスが求められているが、排除達成の過程で得られた成果について、これまで2度にわたり報告した（IASR 32: 80-81, 2011&32: 170-171, 2011）。今回は、あらためて本県の検査診断方法について紹介するとともに、平成22年度から約3年間にわたって取り組んできた検査診断の状況について報告する。

検査診断の方法

検体は、原則として血清または血漿（以下、血清等）および咽頭ぬぐい液とし、これらについて、real-time RT-PCR法により麻疹ウイルス遺伝子の検出試験を行っている。さらに、麻しん特異的IgM抗体と抗体価をそれぞれEIA法およびPA法により測

定し、必要に応じてペア血清について抗体価を測定している。

麻しんウイルス遺伝子が検出されなかった症例については、類似の発熱・発疹感染症の起因ウイルスである風しんウイルスおよびヒトパルボウイルスB19（以下、B19）、4歳未満児（平成24年度からは5歳未満児）については、併せてHHV6およびHHV7の遺伝子の検出を血清等を材料にして試みている。なお、平成24年度は、エンテロウイルスの遺伝子検査を試験的に行っている。

検査診断の実施状況

平成22年度～24年度（12月末現在）までに麻しん（疑いを含む）と診断された121名（0～3歳までが58名、4～15歳までが20名、16歳以上が43名）について検査した。発しん出現後8日以上経過してから採取された検体の割合は、平成22年度は8.2%、23年度には23.1%であったが、24年度は3.0%に低下した。

麻しんウイルス遺伝子が検出されたのは2名（検出率：1.7%）であった。平成22年度に検出された1名は上海旅行から帰国した26歳女性、もう1名はMRワクチン接種後に麻しんを発症した1歳5カ月女児である。女児については風しんウイルスの遺伝子も併せて検出され、遺伝子解析の結果、いずれもワクチン株であることが確認

された。また、麻疹特異的 IgM 抗体指数は、26 歳女性では 9.22、1 歳女児では 0.74 であった。なお、検体採取日はそれぞれ発疹出現の翌日、2 日後であった。

IgM 抗体検査の結果は、この 2 名を含め、全体では 26 名 (21.5%) が陽性、14 名が判定保留 (11.6%)、合計 40 名 (33.1%) が陽性または判定保留 (以下、陽性等) であった。判定保留を含めて算出した陽性反応的中率は、2.5% であった。

陽性等であった 40 名のうち 24 名 (60.0%) からウイルス遺伝子が検出されたが、その数は HHV6 (54.2%)、B19 (33.3%)、HHV7 (12.5%)、風疹ウイルス (8.3%) の順に多く検出された。なお、

抗体指数は、ほとんどの症例で弱陽性 ($1.21 \leq \text{IgM} < 5.0$) または判定保留 ($\text{IgM} < 1.21$) であった。IgM 抗体陰性群を含めると、全体で 47.1% にあたる 57 名からウイルス遺伝子が検出された (表 1)。

年齢群別にみると、0～3 歳の群では 58 名中 33 名 (56.9%) でウイルス遺伝子が検出されたが、そのうち 29 名 (87.9%) から HHV6 が検出された。16 歳以上の群では 43 名中 17 名 (39.5%) でウイルス遺伝子が検出され、B19 と風疹ウイルスがほぼ半数ずつ占めていた (表 2)。

表1. 麻疹特異的IgM抗体指数別の発熱・発疹性ウイルス検出状況

ウイルス	陰性	判定保留	陽性			小計	合計
	IgM<0.80	IgM<1.21	$1.21 \leq \text{IgM} < 5.0$	$5.0 \leq \text{IgM} < 8.0$	$\text{IgM} \geq 8.0$		
麻疹*	-	-	-	-	1	1	1
麻疹+風疹**	1	-	-	-	-	-	1
風疹	7	1	-	-	-	-	8
風疹+B19	-	1	-	-	-	-	1
B19	7	1	5	-	-	5	13
HHV6	16	3	7	1	-	8	27
HHV6+HHV7	-	1	-	-	-	-	1
HHV6+B19	-	1	-	-	-	-	1
HHV7	2	-	1	1	-	2	4
小計	33	8	13	2	1	16	57
非検出	48	6	7	2	1	10	64
合計	81	14	20	4	2	26	121

*PCR陽性(H1型), **PCR陽性(ワクチン株の麻疹ウイルスA型と風疹ウイルス1a型)

表2. 年齢群別発熱・発疹性ウイルス検出状況

ウイルス	0～3歳	4～15歳	16歳以上	合計
麻疹	-	-	1	1
麻疹+風疹	1	-	-	1
風疹	-	1	7	8
風疹+B19	-	-	1	1
B19	-	5	8	13
HHV6	27	-	-	27
HHV6+HHV7	1	-	-	1
HHV6+B19	1	-	-	1
HHV7	3	1	-	4
小計	33	7	17	57
非検出	25	13	26	64
合計	58	20	43	121

考 察

遺伝子検査の場合、検体の適切な採取時期は発疹出現後7日以内とされている^{1,2)}。それを超えた検体の割合は、平成22年度は8.2%であったが、23年度には23.1%に増加した。これらの症例については、麻疹IgM抗体とPA抗体価の検査結果、類症感染症の遺伝子検査結果ならびに臨床所見や疫学情報とあわせて総合的に診断されているが、その結果、麻疹と診断された症例はなかった。平成24年度には3.0%と大幅に低下したが、正確な検査診断のため、今後とも感染初期の検体確保が重要であると考ええる。

スクリーニング検査は、一般に有病率が下がると陽性反応的中率(真の陽性の割合)は低下するといわれている。今回、麻疹特異的IgM抗体が陽性等であった者のうち遺伝子が検出されたのは1名だけであり、IgM抗体検査の陽性反応的中率は非常に低かった。一方、遺伝子が検出された他の1名は、IgM抗体は陰性であった。このようなIgM抗体検査の偽陽性や偽陰性の問題に対処するためにも、発症初期検体での遺伝子検査が非常に重要であると考えられる。なお、偽陽性を呈した原因ウイルスの大部分は、HHV6とB19であった。

0～3歳群において、約半数からHHV6が検出された。修飾麻疹とHHV6感染症との鑑別が困難な症例があると報告されている³⁾が、そのことが麻疹(疑い例を含む)診断例からHHV6が多く検出されることに繋がっている可能性が考えられることから、茨城県小児科医会等と情報交換を行っている。

課 題

WHOは、麻疹の診断基準として検査により麻疹以外の発熱・発疹性感染症が確認されれば、麻疹を否定することが可能であるとしている。そのため、発熱・発疹性ウイルスの遺伝子検査を1検体当たり、合わせて5件行っている。平成24年度にはエンテロウイルスの遺伝子検査も試験的に行っており、1回当たり1ウイルス種ずつ遺伝子検査を行うことは、煩雑さの面からも予算的な面からみても課題となっている。最近、これらのウイルスを1回当たり複数種検査可能なmultiplex real-time PCR法が開発された⁴⁾。このような方法の導入・開発により煩雑さ等の改善が期待されるため、検討を進めている。

参考文献

- 1) IASR 32 : 41-42, 2011
- 2) <http://www.nih.go.jp/niid/images/idsc/disease/measles/pdf01/arugorizumu.pdf> (検査診断の考え方)
- 3) 後藤昌英,他,Pediatrics International に投稿中
- 4) Kaida A, et al., Jpn J Infect Dis 65 : 430-432, 2012

(IASR Vol. 34 p. 34-36: 2013年2月号)

茨城県衛生研究所年報 第51号

平成25年12月発行
編集兼発行 茨城県衛生研究所
水戸市笠原町993-2
電話 029-241-6652
FAX 029-243-9550