

ISSN 1343-2370

茨城県衛生研究所年報

第 46 号

Annual Report of ibaraki prefectoral
Institute of Public Health

2008

茨城県衛生研究所

はじめに

近年、「食の安全・安心」が国内で大きな問題となっています。最近では農薬混入餃子事件をはじめ、メラミン混入粉ミルク等生活に身近な事件が発生するなど、国民に大きな不安を与えております。更に目を向けてみると、東南アジアをはじめ、世界各国で高病原性トリインフルエンザ（H5N1）の発生と人への感染が報告されておりまます。又、環境の著しい変化と地球温暖化への急速な進展が本来生息できないであろう動物等が各地域へ拡散し、生態系の乱れによる動物由来の感染症の発生、拡大による健康危機管理も危惧されているところであります。

国、県でも各種の対策や行動が取れるような実践計画を立て、又、地域では保健所等が中心となって県民生活衛生の維持向上或いは健康危機管理を目的とした幅広い分野にわたり様々な対策、様々な試みがなされ始めております。しかしながら世界的大流行が発生した際には、もはや封じ込めは不可能に近く、いかにして拡散を防止するか、罹患者や死亡者を最小限に止める対応が求められております。

このため、食の問題をはじめ、いつでもこの様な状況が起こり得ると言う現実を認識しながら、今後は法律やシステムの整備をはじめ、多くの住民の方々に過度の不安を与えることのないよう、正確な情報の提供と「防災」啓発を行うことが重要と考えられます。

当衛生研究所におきましても、普段から試験、検査、調査、研究はもとより情報の収集、解析を通じて「健康危機管理における技術的中核」としての役割を念頭に置きながら、職員一丸となり高い意識を持って、不断の努力を重ねております。

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、ご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

平成20年12月

茨城県衛生研究所長 真家 則夫

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
4 平成19年度歳入歳出決算書	4
5 重要な機械及び器具	5
6 庁舎平面図	9

第2章 業務の概要

1 企画情報部	11
2 微生物部	15
3 理化学部	20
4 遺伝子科学部	24

第3章 調査及び研究報告

1 平成19年度（2007年度）日本脳炎感染源調査	27
深谷節子、増子京子、土井育子、笠井潔、掛札しげ子	
2 2007／2008年シーズンの茨城県のインフルエンザ流行について	30
深谷節子、増子京子、笠井潔、土井育子、掛札しげ子	
3 保育所で起きた腸管出血性大腸菌O157集団感染事例	36
土井育子、深谷節子、笠井潔、増子京子、掛札しげ子	
4 茨城県におけるブタインフルエンザウイルスの分子進化学的調査（第二報）	40
山崎良直	
5 ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体（GMO）検知法の検討	43
—納豆からのGMO検知方法の検討について—	
山本和則、山本浩嗣、白田忠雄、柳岡知子、村上りつ子	

第4章 学会発表要旨・抄録

1 茨城県内のヒトにおけるH5N2亜型鳥インフルエンザに対する抗体検査について	55
山崎良直	

2 残留農薬試験検査における収去検体の取扱について	57
柳岡知子、久保田京子、山本浩嗣、白田忠雄、山本和則、村上りつ子	

第5章 他誌掲載・論文要旨

1 Effects of oseltamivir phosphate (Tamiflu [®]) in human sera on results of microneutralization and hemagglutinin-inhibition tests for H5N2 avian influenza virus	59
--	----

Yamazaki Y, Doy M, Yamato S, Kawada Y, Ogata T

第6章 研究報告書要旨

1 首都圏及び近郊における薬剤耐性H I Vの調査研究	61
原 孝、増子京子、大石 肇、千野根純子、片岡俊輔、山上隆也、畦上由佳	

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 年頃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 鉄筋コンクリート 2 階建）
- 昭和 34 年 4 月 庶務部、細菌部、化学部及び食品衛生部の 4 部制が敷かれる。
- 昭和 38 年 4 月 庶務部、微生物部、化学部、食品衛生部及び放射能部の 5 部制となる。
- 昭和 40 年 10 月 水戸市愛宕町 4 番 1 号庁舎竣工、移転
- 昭和 47 年 6 月 放射能部が環境局公害技術センターに移管され、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、食品薬品部及び生活環境部の 5 部制となる。
- 平成 3 年 5 月 水戸市笠原町 993-2 新庁舎竣工、移転
- 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、理化学部及び遺伝子科学部と組織が改編される。

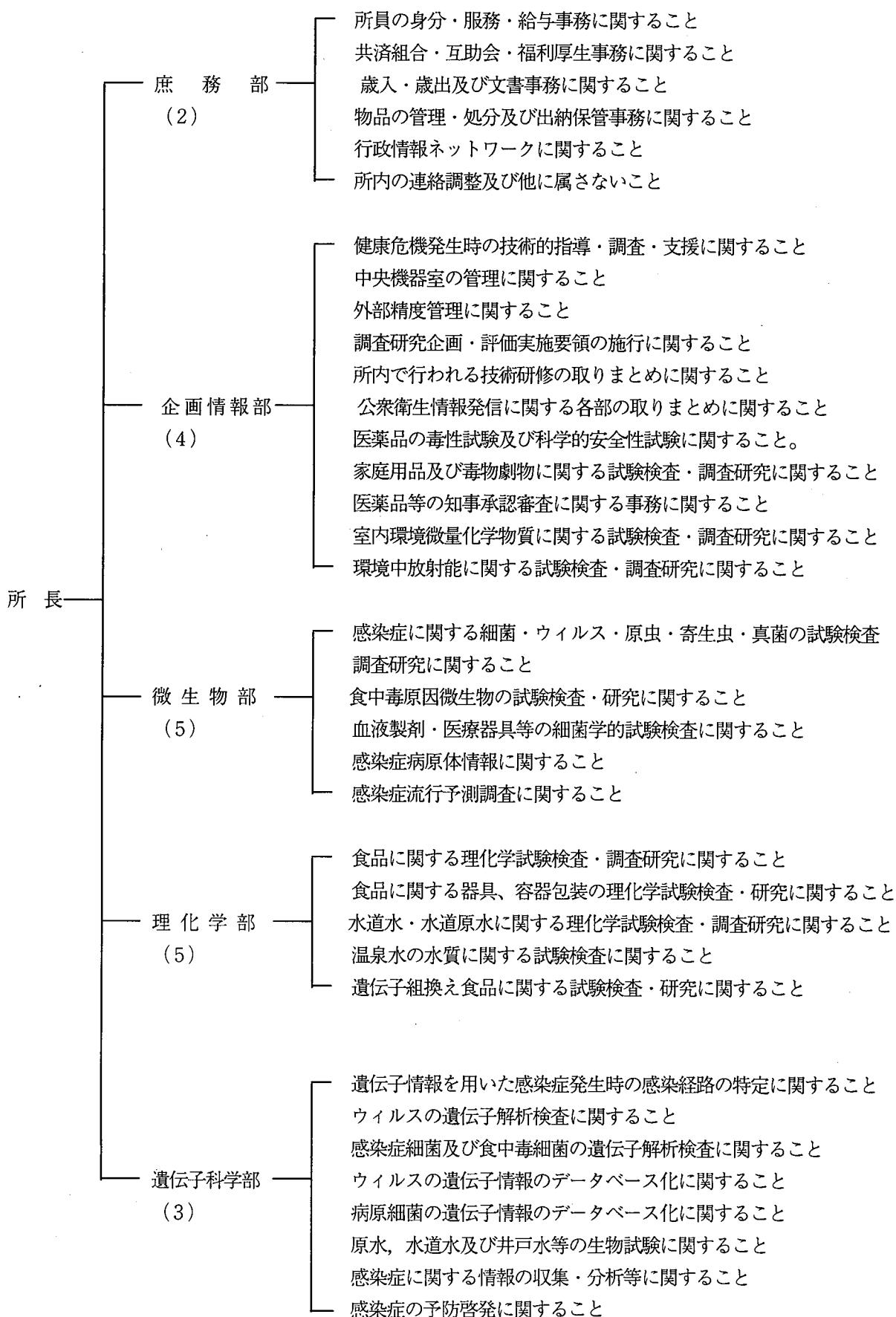
[施設の概要]

所在地 水戸市笠原町 993-2
敷地 「いばらき予防医学プラザ」 22,418 m² 内
建設 平成元年 10 月 26 日着工
平成 3 年 3 月 31 日竣工
建物 庁舎 鉄筋コンクリート 3 階建
2,916.73 m²

[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（衛生研究所長兼務）
土井 幹雄（平 11. 4 ~ 平 18. 3 ）平 17. 4 ~ ひたちなか保健所長兼務
藤枝 隆（平 19. 4 ~ 平 20. 3 ）水戸保健所長（衛生研究所長兼務）
真家 則夫（平 20. 4 ~

2. 組織と業務内容



3. 職員の配置

(1) 部別職員数(平成20.5.1現在)

事務 吏員	技術吏員					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	化学及 農芸化 学					
所長	2		1				1	2	1	13
庶務部			3		1		4			4
企画情報部		2		3			5		1	6
微生物部			1	1	3		6			6
理化学部				1		1	6			6
遺伝子科学部		1		1			3			3
計	2		3	5	4	1	1	21	2	23

(2) 職員一覧

所属	職名	氏名	分担事務	職種
	所長	真家則夫	所総括、GLP部門責任	薬剤師
	研究調整監(兼)	方波見通康	研究調整、試験研究の評価等についての企画・調整	薬剤師
庶務部	主査兼部長	玉造博	庶務部総括、人事・服務、給与・賃金及び福利厚生事務	事務
	係長	中山弘子	歳入・歳出・旅費、物品の管理・処分及び出納保管	事務
	研究調整監兼部長	方波見通康	企画情報部総括	薬剤師
企画情報部	主任研究員	大曾根圭子	部業務精度管理、健康危機発生時の技術的指導	薬剤師
	技師	前田良彦	医薬品の化学的安全性試験、地研全国協議会の事務	化学生
	技師	萩原彩子	家庭用品の安全性試験、健康食品の試験検査	薬剤師
	微生物部	首席研究員兼部長掛札しげ子	微生物部総括、GLP検査区分責任	獣医師
	主任研究員	増子京子	ウイルスの血清学的試験、食中毒ウイルスの試験検査	臨床検査技師
	主任研究員	笠井潔	食中毒検査、寄生虫検査、血液製剤の細菌検査	獣医師
	主任研究員	深谷節子	ウイルスの分離同定、感染症流行予測調査	臨床検査技師
	技師	土井育子	感染症細菌の分離同定、病原体情報	臨床検査技師
	理化学部	首席研究員兼部長小室道彦	理化学部総括、GLP検査区分責任	農芸化学
	主任研究員	山本和則	食中毒・苦情食品の理化学検査、遺伝子組み換え検査	農芸化学
	主任研究員	柳岡知子	輸入野菜中残留農薬検査、国産野菜の残留農薬の検査	薬剤師
	主任研究員	白田忠雄	食品中アレルギー物質検査、畜水産食品残留農薬検査	臨床検査技師
	技師	山本浩嗣	食品中の食品添加物検査、水質化学検査	化学生
	副技師	久保田京子	検査業務の補助	技能労務
遺伝子科学部	部長	原孝	遺伝子科学部総括	臨床検査技師
	主任	山崎良直	ウイルスの遺伝子解析検査、原水・水道水・井戸水等の遺伝子解析検査	獣医師
	技師	白井睦	県内における健康維持・増進に係る技術の整備・開発	化学(任期付)

(3) 人事異動

発令日	職名	氏名	転出入先及び職名
H20.3.31	首席研究員兼理化学部長	村上りつ子	退職
〃	技師	久保田京子	〃
H20.4.1	所長	藤枝隆	衛生研究所長兼務を解く
〃	技師	福田聰	生活環境部環境対策課へ
〃	〃	石井崇司	土浦保健所へ
H20.4.1	所長	真家則夫	保健福祉部薬務課長から
〃	首席研究員兼理化学部長	小室道彦	土浦保健所から
〃	技師	前田良彦	商工労働部産業技術課から
〃	技師	萩原彩子	平成20年度新規採用職員

4. 平成19年度歳入歳出決算書

(1) 歳 入

(単位：円)

科 目	決 算 額	備 考
使用料及び手数料		
手 数 料	688,670	試験検査手数料
諸 収 入		
雜 入	28,330	臨時職員雇用保険料
一 般 会 計	717,000	

(2) 歳 出

(単位：円)

科 目	決 算 額	備 考
一般管理費 一般管理費	3,045	赴任旅費
厚生総務費 医務総務費	1,869,000	
保健所管理費 保健所運営費	688,878	
衛生研究所費 衛生研究所費	56,226,599	
結核対策費 結核対策費	512,710	
予防費 感染症予防費	8,171,829	
保健検査費 保健検査費	329,395	
健康増進費 健康増進対策費	8,847,247	
薬事費 薬事指導費	2,769,211	
水道施設指導費 水道施設指導費	2,210,875	
食品衛生指導費 食品衛生費	18,059,176	
	乳肉衛生費	1,717,154
原子力安全対策費 放射線監視費	1,097,250	
高齢福祉対策費 高齢福祉対策費	6,974	
一般会計 現年計	102,509,343	
合 計	102,509,343	

5. 重要な機械及び器具 (平成19年度末現在)

100万円以上

種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
情報機器	情報処理システム一式	パソコン3台、フィルムレコーダー1台	平11	情報処理
	フィンガープリンティング解析ソフト	BIONUMERICS-VERSION	14	同上
	ネットワーク機器一式	パソコン1台、モニター10台外	16	情報収集処理
	バイオインフォマティクスソフト	日立ソフト	17	情報処理
	所内 LAN システム一式	セキュリティ対策用サーバ外	17	同上
電気機械	低温恒温恒湿槽	平山製作所 FH-60LA	51	低温細菌の分離測定保存
	超低温槽	エバラ ESL-300	54	検査材料の保存
	超低温槽	日本フリーザー CL-3500	63	細胞・ウィルスの保存
	低温恒温槽	タイテック M-210	平3	低温微生物の保存
	電気低温度恒温器	ヒラサワ HL-IS	3	微生物の培養
	冷凍庫(3台)	日本フリーザー CL-50U	3	検査材料、菌株及び試薬の保存
	超低温槽	レブコ ULT-1490	8	O157関連の菌株及び血清保存
	超低温槽	レブコ ULT1386-NO	12	正常細胞及び標準血清等の保管
	超低温槽	ティオン TDF-87304	13	検査材料等の保存
	超低温保存庫	日本フリーザー CL-322U	13	検査材料等の保存
	超低温槽	サーモンエレクトロン社 ULT1186-3	17	同上
	超低温槽	レブコ ULT-1186-3SI	17	同上
	超低温槽	レブコ ULT-1386-5JAF	19	同上
	超低温槽	日本フリーザー CLN-70UW	19	同上
試験及び測定器	落射蛍光顕微鏡	オリンパス BHS-RFK-AI	59	リケッチア、クラミジア検査
	倒立型システム顕微鏡	オリンパス IMT-2-21	61	細胞培養検査
	水銀測定専用装置	マーキュリー-SP-3	63	水・食品・土中の水銀定量
	透過型電子顕微鏡	日立 H-7100	2	微生物検査、理化学検査
	走査型電子顕微鏡	日立 S-2500CX	2	同上
	蛍光分光光度計	日立 F-4010	2	蛍光物質の定量測定
	原子吸光光度計	日立 Z-6100	2	金属元素の測定
	炭素炉原子吸光分光光度計	セイコー SAS7500	2	微量元素の測定
	分光光度計	日立 U-3410	2	化学物質の定量
	微分干渉顕微鏡	オリンパス BHB353-N	2	病理組織の無染色標本の観察
	顕微鏡	オリンパス AHBS3-514	3	嫌気性細菌等の観察
	顕微鏡システム	オリンパス AHBT3-513	3	細菌等の観察
	写真付顕微鏡	オリンパス BHS-324	3	病理標本等の写真撮影
	倒立顕微鏡	オリンパス IMT2-21	3	細胞培養検査
	高速液体クロマトグラフ	島津 LC-10AD	3	有機物質の分離定量
	ガスクロマトグラフ	島津 GC-14A	3	同上
	ハンドフットクロズモニター	アロカ MBR-51	3	放射能測定
	オートウェルガンマシステム	アロカ ARC-301B	3	同上
	ラジオクロマナイザー	アロカ JTC-601	3	同上
	液体シンチレーションシステム	アロカ LSC-3500	3	放射能測定
	微量水分測定装置	平沼 AQ-6	3	薬品中微量水分測定
	システム顕微鏡	オリンパス AHBS3-514	3	細菌及び組織検査
	微量全窒素分析装置	三菱化成 TN-05	5	窒素化合物含有水素飼料の分析
	ガスクロマトグラフ質量分析計	HP5890 II プラス	6	化学物質の定性定量
	顕微鏡	オリンパス BX50-54	6	病原微生物の検査同定
	ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 QP-5000	7	化学物質の定性定量
	ガスクロマトグラフ	HPG1800	7	有機物質の定量
	イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス DX-500	8	有機無機イオン化合物分離定量
	液体クロマトグラフ	日本分光 PU-980	9	有機物質の分離定量
種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
試験及び	微分干渉顕微鏡	オリンパス BX-50-34DIC	9	病原微生物、原虫の検査、同定

測定器	積分球式濁度計	フローセル型 SEP-PT-7060	9	上水の濃度測定
	自動蛍光免疫測定装置	ミニバイダス 1式	10	O157 の測定
	浸透圧計	オズモメーターOM-802-D	10	医薬品等の浸透圧測定
	落射顕微鏡セット	オリンパス BX60-34FLB-SP	10	クリプトスピリジウム原虫の測定
	ガスクロマトグラフ	日立・3000D-SL-F	10	有機物質の分離定量
	高速液体クロマトグラフ	島津 LC-10AS	10	有機物質の分離定量
	クロマトグラフィシステム	BIOLOJIC-HR-BASIC システム	11	食品中の有機物質の分離精製
	G P C クリーンアップシステム	日本分光 HPLC システム	11	残留農薬前処理
	B O D 計測器	BF-1000	12	河川水及び下水処理水の B O D 測定
	I C P 質量分析装置	日立 P-5000	12	ウランの定性定量
	γ 線測定装置	セイコーEG&G	12	γ 線放出核種の定性定量
	食品放射能計測計(γ線) 2台	Berthold LB200	12	放射能の測定
	コンピューター制御生物顕微鏡	顕微鏡本体 DMLA	13	病原微生物検査
	ガスクロマトグラフ	横河 Agilent6890N	13	有機微量汚染物質も測定
	キャビラリー電気泳動システム	横河 AgilentG1600	13	健康被害時の原因物質特定
	高速自動濃縮装置	ユニフレックスターボバッブLV	14	有機溶媒の自動濃縮
	高速液体クロマトグラフ	島津 LC-VP シリーズ	14	有機物質の分離定量
	溶出試験器	日本分光・自動溶出試験器	14	医薬品の品質管理
	実体顕微鏡	オリンパス SZX 12-4131	14	病原微生物の検査同定
	ガスクロマトグラフ装置	島津 GC-20101 式	15	汚染物質の測定
	イオンクロマトグラフポストカラム	日本ダイオネクト社製	15	臭素酸、シアンイオン測定
	D N A マイクロアレイ分析システム	アフィメトリリスク社製	15	遺伝子分析及び遺伝発現解析
	高速液体クロマトグラフ	日立ハイテクノロジーズ L-2000	16	有機物質の分離定量
	水銀測定装置	日本インスツルメンツ マキュリー-RA-3000	16	水銀の定量測定
	倒立方リサーチ顕微鏡	オリンパス 1X71N-11PH	16	病原微生物の検査
	検体管理システム一式	冷凍庫、温度管理記録計、検体管理用 共焦点レーザースキヤン顕微鏡外	16	検査材料等の保存
	組織内蛋白発現解析システム一式	島津 ICPS-8100	16	病理標本の作成と観察
	ICP 発光分光分析装置	サーモンエレクトロン(株)TSQ	17	重金属の測定
	高分解能質量分析システム	テクノセブン製 K731-4	17	化学物質の定性定量
	自動体温測定装置	ブレートリーダー BIO-RAD 社	17	発熱性物質試験
	食品中のアレルギー物質検査システム	島津製作所 TOC-V CPH	18	食品中のアレルギー物質検査
	全有機炭素計	日本ハイテクノロジーズラボラトリーズ	18	水中有機炭素測定
	マイクロプレートリーダー	日本ウォーターズ(株) 2695	18	血液中の各種抗体価測定
	高速液体クロマトグラフ	スーパーオリテクター モデル 5	18	有機物質の分離定量
	高感度過酸化水素計	島津製作所 LC-10AS	18	食品添加物(過酸化水素)の検査
	高速液体クロマトグラフ	島津製作所 LC-10AS	18	有機物質の分離定量
	高速液体クロマトグラフ	島津製作所 GC2010AF/AOC	18	同上
	ガスクロマトグラフ	日本ウォーターズ(株) プレミア XE	18	同上
	液体クロマトグラフタンデム四重極型質量分	島津 GC-2014AF	19	同上
	ガスクロマトグラフ装置	日立ハイテクノロジーズ	19	同上
	高速液体クロマトグラフ		19	同上
衛生・医療	アナエロボックス	平沢 ANB-1	55	嫌気性細菌の分離同定
	サーミスター式体温自動集録装置	タカラ K-923	57	動物の発熱試験集録装置
	クロマトスキヤナ	島津 CS-930	59	薄層クロマト定量
	クリーンアイソレーター	岡崎産業 F-215	59	感染動物の飼育
	安全キャビネット	日立 SCV-1300EC II B	60	微生物検査
	クリーンベンチ	日立 SCV-1903C II B	62	微生物検査
	全自动高压蒸気滅菌装置	平山 HSM-722E	63	器具、培地の滅菌
	微炭酸ガス細胞培養器	平沢 CP02-171M(a)	平元	ウイルスの培養
	アイソレーター	ICT-10	2	感染動物の飼育
	グローブボックス	GRI-90	2	有害物質等の取扱い
	安全キャビネット	日立 SCV-1903EC II A	2	微生物検査
	安全キャビネット	日立 SCV-1303EC II B	2	同上
	真空凍結乾燥機	ラブコンコ LL-12SF	2	微生物検査
	安全キャビネット	日立 SCV-1300EC II W	2	同上
	安全キャビネット	日立 SCV-1300EC II L	2	同上
	高圧蒸気滅菌装置	日立 CCV-1311	2	病原微生物の滅菌
	高圧蒸気滅菌装置	日立 SCV-1303EC II B	2	同上
	クリーンベンチ	日立 SCV-1302EC II C	2	微生物検査

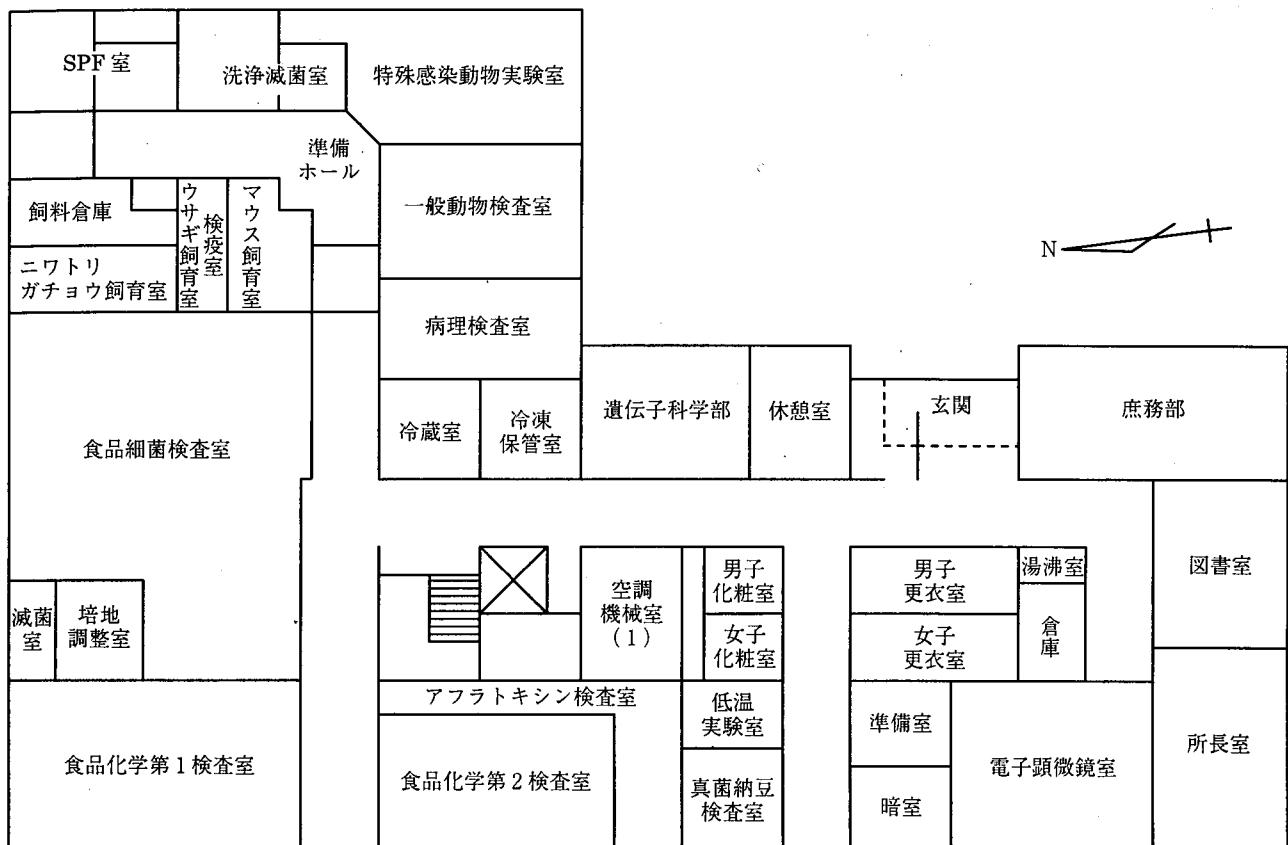
安全キャビネット	日立 SCV-1303EC II	2	同上
安全キャビネット	日立 CCV-1301EC	2	同上
安全キャビネット	サクラ EPT-120BV	2	同上
クリーンベンチ	サクラ DRS-601A	2	無菌操作
凍結切片作製装置	サクラ CM-501	3	病理組織標本の凍結切片の作製
オートクレーブ	平山 HSM-722E	3	器具、培地の滅菌
オートクレーブ付流し台	日立 VS-500	3	感染防止流し台
CO ₂ インキュベーター（2台）	日立 CH-161	3	微生物培養検査
乾燥機（2台）	平山 SW-100	3	器具の乾燥
低温恒温槽付万能振とう培養器	高崎化学 TXY-16RRS	3	微生物の培養

種別	機械器具名	構造の内容	取得年度	用途
衛生医療	テーハー式CO ₂ 培養器	ヒラサワ CPD-W(a)	3	微生物の培養
	クリーンベンチ	日立CCV-1900E	7	細胞継代の無菌操作
	ジーンアンプ	PCR 9600-R	7	核酸断片の増幅
	ノバパスプレートウォシャー	96穴マイクロプレート用	7	抗原抗体反応用プレートの洗浄
	恒温振とう培養器	タイテック BR-3000LF	7	細菌の急速増殖
	超音波洗浄装置	シャープ MU-624A	8	試験器具洗浄
	画像解析装置	FLOUR-S MULTIMAGER	9	PCR等の画像解析
	パルスフィールド電気泳動システム	CHEF-DR IIIチラーシステム	9	遺伝子分離
	遺伝子增幅装置	GENEAMP PCR9700	11	核酸断片の増幅
	遺伝子增幅装置	GENEAMP PCR9700	12	核酸断片の増幅
	精密恒温槽	LX-2300F	12	微生物の培養
	ジェネティックアナライザー	ABI PRISM TM3100-21式	13	DNA塩基配列等の配列
	O ₂ -CO ₂ 培養器	ヒラサワ CP02-1802 記録計	14	ウイルスの培養検査
	自動核酸抽出リアルタイム定量PCIR装置	ロッシュLCワークシステム	14	核酸の自動抽出、定量PCR反応
	パルスフィールド電気泳動システム	CHEF-チ- BASICシステム 170-3695	15	遺伝子学的解析検査
	PCR 増幅装置	Gold96-well GeneAmp PCR System 9700	15	核酸断片の増幅
	CO ₂ インキュベーター	ヒラサワ CPD-1701	16	微生物培養検査
	安全キャビネット	日立 SCV-1305EC II AB	17	微生物検査
	CO ₂ インキュベーター	ヒラサワ製 CPD-2701	18	インフルエンザウイルスの分離培養
産業機械	蛋白分離・精製・解析装置	サイファージェン・バイオシステムズ(株)	18	腫瘍マーカー・腫瘍予知マーカーをスクリーニング的に探索
	マイクロキャビューリー電気泳動解析装置	アジレント 2100	19	核酸断片の解析
	タンパク質同定システム	一式	19	タンパク質の同定
	高速冷却遠心器	日立 20PR-52	54	試料の分離分取
	大容量冷却遠心器	久保田 KR-50FA	56	検査材料の前処理
	自動混合希釀装置	三光純薬 SPR-2	57	血清反応の希釀
	スイングローター	日立 RPS-40T	59	ウイルスの分離
	アングルローター	日立 RP-70T	59	同上
	バーチカルローター	日立 RPV50T-321	60	同上
	アングルローター	日立 RP-65T	60	同上
	多本架冷却遠心器	日立 CR5DL	平元	試料の分離
	ソークスレー抽出装置	FE-AT6A	2	食品中の脂質の抽出量装置
	ドラフトチャンバー	オリエンタル GPA-1800HC	2	有毒ガス排気
	ドラフトチャンバー	オリエンタル GPA-1800HC	2	同上
	ドラフトチャンバー	オリエンタル GAV-2500HC	2	同上
	ドラフトチャンバー（2台）	オリエンタル GAV-2500HC	2	同上
	ドラフトチャンバー	オリエンタル GAV-2100HC	2	同上
	ドラフトチャンバー	FW-120S	2	同上
	ドラフトチャンバー	FHP-180PA	2	同上
	ドラフトチャンバー	FW180S	2	同上
	ドラフトチャンバー	FS-180S	2	同上
	ドラフトチャンバー	ヤマト FHM-180L	3	有機ガス排気
	ドラフトチャンバー	ヤマト FHL-180L	3	同上
	分離用超遠心器	日立 CS-120	3	微生物の分離分取
	ゼットクラッシャー	NA-111C	3	小動物粉碎器
	サンプル前処理装置	ダイミュスターマイクロウェーブ MDS-2000	3	有機物質の灰化
	デハイドベーター	N-2	3	小動物乾燥

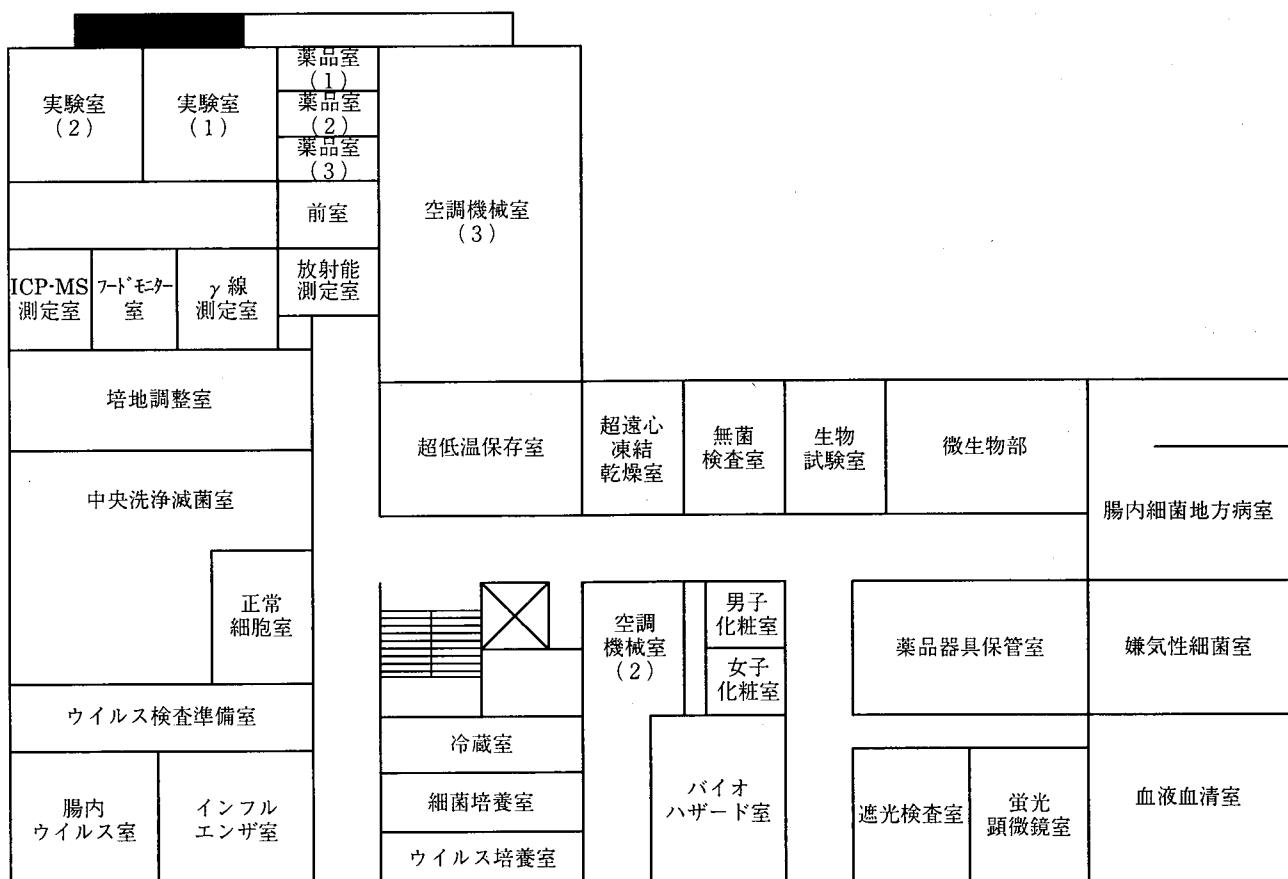
放射性有機廃液燃焼装置	トリスタン	3	有機溶媒の焼却	
高速冷却遠心器	トミーRS-20BH	4	試料の分離分取	
ページトラップ試料濃縮装置	ピークマスターEV	5	検査用前処理装置	
ポリトロンホモジナイザー	PT20TSMKR	6	検査物の粉碎	
超純水製造装置	ミリ QSPTOC	7	超純水の製造	
電気炉	FMKST-325	12	有機物の灰化	
全自動洗浄機	ヤマト科学 AW83	12	ガラス器具類の自動洗浄	
超純水製造装置	ミリポア ZMQA000KT-EQA-3S	12	超純水の製造	
蒸留水製造装置	アトバンテック東洋ケミカルズ RFD332RA	15	蒸留水の製造	
ロータリーエバポレーターシステム	柴田科学	15	有機溶媒の濃縮	
冷却遠心機	日立工機 himac CF9RX	16	試料の分離分取	
リアルタイム濁度測定装置	栄研化学 LA-320C	16	ランプ法による遺伝子の検査	
バイオハザード遠心機	日立 himac CF16RX ローター付	16	試料の分離分取	
超遠心機	日立工機 CP80WX	17	同上	
蒸留水製造装置	ADVANTEC RFD 3 4 3 RA	17	蒸留水の製造	
蒸留水製造装置	ADVANTEC RFD 3 4 3 RA	18	蒸留水の製造	
雑 機 械 及び器具	ラボ保管システム	モーベイ A	平 2	実験器具の保管

序舎平面図

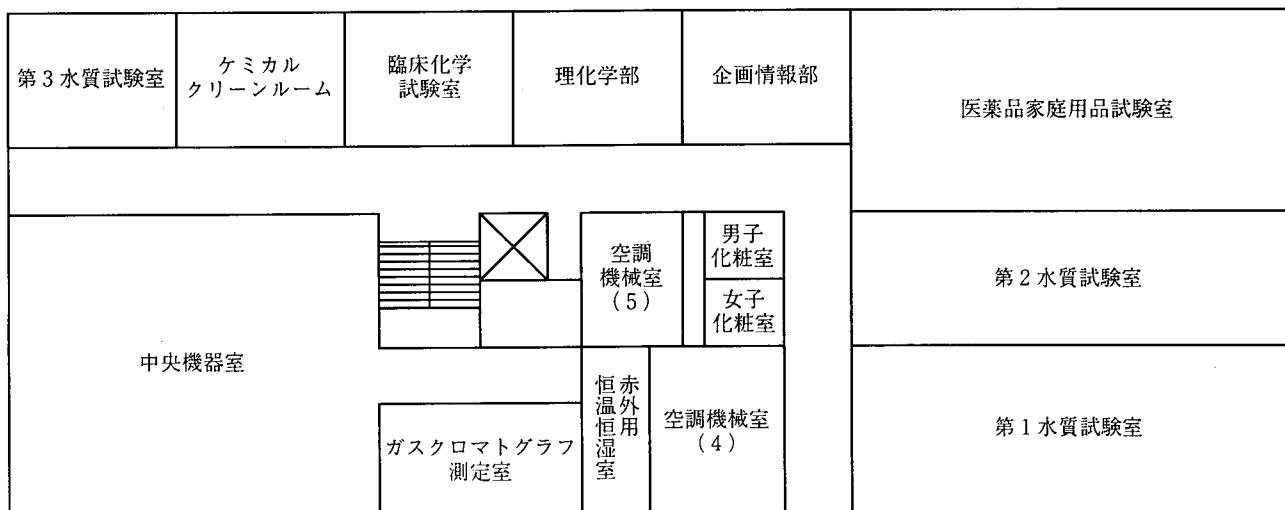
1階 1,044.79m²



2階 1,047.31m²



3階 824.63m²



第2章 業務の概要

1. 企画情報部

1 試験検査の概況

平成 19 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	75	溶出試験 10 定量試験 15 粒度試験 41 重量偏差試験 9	75
医薬品及び医療機器一斉監視指導に係る試験検査	3	溶出試験 2 外観及び無菌試験 1	3
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 トリフェニル錫化合物 27 トリブチル錫化合物 27 有機水銀化合物 27 ホルムアルデヒド 111	204
無承認無許可医薬品試験検査 ダイエット食品 強壮食品	70 (20) (50)	甲状腺ホルモン等 160 シルデナafil等 226	386
健康被害を有する無承認無許可医薬品試験検査	2	プレドニゾロン等 14	14
外部精度管理	2	定量試験 1 製剤均一性試験 1	2
計	302	684	684

上記表の行政検査は、薬務課及び保健所から送付されたものについて実施した。内容は下記のとおりである。

(1) 県内流通医薬品試験検査（75 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、溶出試験、定量試験、粒度試験及び重量偏差試験を実施した。
すべての品目について、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（3 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、トリフェニル錫化合物、トリブチル錫化合物、有機水銀化合物、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（70 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 20 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。3 品目からセンノシドが検出されたが、規制の対象となるセンナ葉等は確認されなかった。

また、強壮目的と推察される製品 50 品目については 5 項目（シルディナフィル、バルディナフィル、タダラフィル、ホンデナフィル、ヒドロキシホモシルデナフィル）の検査を行い、うち 1 品目でホンデナフィル、1 品目でシルデナフィル、ホンデナフィル、ヒドロキシホモシルデナフィルを検出した。

(5) 健康被害を有する無承認無許可医薬品検査（2 品目）

健康被害（ムーンフェイス等）の相談あった健康食品について、原因物質特定のため試験検査を実施した。当該製品 2 品目について、副腎皮質ステロイド 7 項目（プレドニゾロン、メチルプレドニゾロン、ベタメタゾン、デキサメタゾン、コルチゾン、ヒドロコルチゾン、コルチゾン酢酸エステル）の検査を行い、うち 1 品目でベタメタゾンを検

出した。

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。

12 検査機関を対象に水道法の基準項目の鉄及びカルシウム・マグネシウム等（硬度）を用いて外部精度管理調査を実施した。

各機関の変動係数は、各項目とも 10%以下と小さく、精度は良好であった。また回収率は、鉄では 12 機関中 10 機関、カルシウム・マグネシウム等（硬度）ではすべての機関の結果が良好と判断された。

3 調査研究企画・評価委員会実施

当所が行う調査研究事業について、公正かつ適切な企画・評価を行うことにより、効率的・効果的な調査研究を実施し、もって本県における健康危機管理能力の向上と保健衛生の推進に資することを目的として 8 月 22 日(水)に実施した。

新規課題 2 題、継続課題 11 題、完了課題 1 題の計 14 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。

<新規課題>

- 1 有機ヒ素化合物に係る生物検定法の検討
- 2 セレウス菌嘔吐毒セレウリドの HPLC 検出法による簡便化の検討

<継続課題>

- 1 茨城県におけるエイズウイルス(HIV-1)の薬剤耐性変異の動向
- 2 ブタインフルエンザウイルスの分子進化学的調査
- 3 有機ヒ素化合物の酸化ストレスが脂質過酸化に及ぼす影響
- 4 ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体(GMO) 検知法の検討
- 5 農作物中の残留農薬一斉分析法の検討
- 6 食品中残留動物用医薬品の簡易前処理法及び分析法の検討
- 7 腸管ウイルス感染症の免疫応答に関する研究および免疫変容に関する研究～ノロウイルス細胞培養系の確立
- 8 健康食品中に含まれる重金属に関する調査
- 9 健康効果をうたうサプリメントおよび清涼飲料水中のミネラル濃度
- 10 増加する若年者の子宮頸がんとヒトパピローマウイルス(HPV) の感染実態に関する調査研究
- 11 子宮頸がんの新しい診断法の開発

<完了課題>

1 コレステロール代謝からみた肝発癌及び肝癌増殖の制御に関する基礎研究

<評価委員>

委員長 日本薬科大学教授 下條 信弘

委 員 筑波大学教授 大久保 一郎

国立感染症研究所副所長 渡邊 治雄

(財)食品薬品安全センター秦野研究所研究顧問 小野 宏

茨城県立医療大学教授 小池 和子

保健福祉部次長 石濱 孝

保健福祉部参事兼厚生総務課長 橋浦 政幸

保健福祉部保健予防課長 土井 幹雄

保健福祉部薬務課長 真家 則夫

保健福祉部生活衛生課長 村山 正利

保健福祉部食の安全対策室長 石塚 昌揮

水戸保健所長 藤枝 隆

土浦保健所長 大和 慎一

4 学会・論文等発表

研究報告書

ジフェニルアルシン酸(DPAA)分析法の精度向上に関する研究、「平成18年度ジフェニルアルシン酸等の健康影響に関する調査研究」研究報告（財団法人日本科学技術振興財团）, 11-14(2007)

5 学会・研修会等

学会等の名称	開催地	年月日	人員
第44回全国衛生化学技術協議会年会	津市	19.11.15~16	2
第1回日本薬局方に関する説明会	千代田区	19.12.3	1
平成19年度「地方保健総合推進事業」研修会(理化学部門)	静岡市	20.2.7~8	1
平成19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	長野市	20.2.15	1
平成19年度全国薬務主管部課長協議会薬用植物調査部会	小平市	20.2.29	1
日本薬学会第128年回	横浜市	20.3.27	1

2. 微生物部

1 試験検査の概況

平成19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

保健所からの依頼検査による49検体について、コレラ菌、腸管病原性大腸菌、結核菌(非結核性抗酸菌含む)、等の分離同定をおこなった。

イ ウィルス、リケッチア及びクラミジア等の検出検査

感染症発生動向調査及び集団発生関連で検査依頼のあった273検体について病原体の検出を目的とした検査を実施した。

インフルエンザ(様疾患)は感染症発生動向調査病原体定点医療機関から提出された咽頭または鼻腔ぬぐい液78検体および集団事例12事例から提出のあったうがい液110検体、合計188検体について検査を実施した。その結果、AH1亜型インフルエンザウイルス108株、AH3亜型インフルエンザウイルス7株、B型インフルエンザウイルス8株を分離した。

集団事例については、12事例すべてからAH1亜型インフルエンザウイルスが分離された。

麻疹は竜ヶ崎保健所を中心として64検体の検査依頼があった。RT-PCR法で検査し、9検体から麻疹ウイルス遺伝子を検出した。

ポリオワクチン接種後急性弛緩性麻痺をおこした患者について、8検体の検査を実施し、ポリオウイルスを3株分離した。分離したポリオウイルス株について型内鑑別試験を国立感染症研究所に依頼した結果、通常のワクチン株であることが確認された。

日本脳炎が疑われる患者1名から採取した4検体について検査を実施したが、日本脳炎ウイルス・ウエストナイルウイルスは検出されなかった。

無菌性髄膜炎6検体からは、エンテロウイルス71が1株分離された。

発疹症1検体からは1株分離されたが同定出来なかった。

流行性角結膜炎及び手足口病についてそれぞれ1検体依頼されたが、ウィルスは分離されなかった。

ノロウイルスは、99事例の867検体について、RT-PCR法により検査を行った。その結果、398検体からNVが検出された。その他、市販カキ16検体についてNV汚染状況調査を実施したが、いずれも不検出であった。

ロタウイルスは5検体中3検体から検出された。

サポウイルスは7検体中5検体から検出された。

ウ ウィルス、リケッチア、クラミジアおよび細菌の血清反応

感染症発生動向調査関連で34検体の血清について麻疹ウイルスIgM抗体および麻疹ウイルスPA抗体検査を実施した。

日本脳炎疑い患者の血清2検体についてHI抗体検査を実施した。なお、この日本脳炎疑い患者の血清は、日本脳炎ウイルス及びウエストナイルウイルスに対するIgM抗体及びIgG抗体検査を国立感染症研究所に依頼した。

また、「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、103名についてHBs抗原及び111名についてHBs抗体検査を実施した。

エ 食中毒

食中毒及びその疑いの症例で当所が受け付けたのは97検体であり、それら菌株の血清型別、毒素産生能等について検査を行った。

内訳は、大腸菌 11 検体、サルモネラ属菌 12 検体、腸炎ビブリオ 42 検体、カンピロバクター 21 検体、セレウス 11 検体であった。

オ 食鳥肉等の衛生状況調査

県内の認定小規模食鳥処理場 16 施設を対象として 7 月～8 月の夏期と、1 月及び 2 月の冬期に食鳥肉を拭き取り、分離されたサルモネラ属菌、カンピロバクターの検査を実施した。サルモネラ属菌は夏期 6 検体、冬期 3 検体の計 9 検体について血清型別を、カンピロバクターは夏期 36 検体、冬期 19 検体の計 55 検体について同定を行った。

また、この中の 2 施設を対象に、夏期及び冬期の 2 回、処理工程順に食鳥肉を拭き取りカンピロバクター定量検査を実施（計 36 検体）した。

（2）感染症流行予測調査

平成 19 年度感染症流行予測調査については、保健予防課長の依頼によって、日本脳炎感染源調査・インフルエンザ感受性調査・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增幅動物となっていることをを利用してブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体価を測定、その侵淫度を追跡し、夏季の流行を把握するために実施した。

平成 19 年 8 月から 10 月にかけて（株）茨城県中央食肉公社（茨城町）に集荷された生後 6 ヶ月の県内産の豚について毎回 10 頭づつ 8 回採血し、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（H I 抗体）価を測定した。

結果は、検査対象 80 頭全てが抗体不検出であり、H I 抗体が陽転することなく終了した。

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 19 年 9 月～10 月に年齢群ごとに採血した 271 名の血清について 4 種類の HA 抗原を用いインフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体（H I 抗体）検査を実施した。

感染防御の指標となる 1：40 以上の抗体保有状況をみると、A/ソロモン諸島/3/2006 (H1N1) に対しては全年齢群での平均抗体保有率は 34.7% であり、特に 10 歳～34 歳の各年齢群で抗体保有率が良好であった。また、1：160 以上の平均抗体保有率は 12.5%、1：640 以上の平均抗体保有率は 2.2%、と抗体の保有状況は比較的良好であった。

A/広島/52/2005(H3N2) に対する平均抗体保有率は 35.4% であったが、1：640 以上の高い抗体価を保有している者はいなかった。

B/マレーシア/2056/2004（ビクトリア系統）に対する平均抗体保有率は 6.6% であり、4 項目中最も低かった。

B/フロリダ/7/2004(山形系統)に対する平均抗体保有率は 22.1% であったが、4 歳以下及び 60 歳以上の各年齢群での抗体保有率は低かった。

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の予測を行うことを目的として実施した。

平成 19 年 9 月～10 月に各年齢群別に採血した 271 名の協力者の血清について、富士レビオ「セロディア・麻疹®」を用い麻疹 P A 抗体価を測定した。

1:16 以上を麻疹 P A 抗体陽性とし、1:16 未満を麻疹 P A 抗体陰性とした。麻疹 P A 抗体陽性者の幾何平均は 1:512 であった。また、麻疹 P A 抗体陰性者は 8 名と全体の 3% であった。

感染防御の指標となる 1:128 未満であった者は 25 名と全体の 9.2% を占めた。

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) 有料依頼検査

ア 細菌の分離同定検査

総合健診協会等の民間検査センターから 14 件のサルモネラ菌の同定検査依頼があった。

イ その他の感染症検査

総合健診協会等民間検査センターから依頼のあった腸管病原性大腸菌の血清型別検査・腸管出血性大腸菌 O157 関連のベロ毒素等について 3 件の検査を行った。

ウ 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(152 検体)。いずれも大腸菌群陰性であった。

エ 医薬品等細菌検査

血液製剤等の無菌検査を行った(10 検体)。

2 研修指導

(1) 検査課検査業務に係る試験検査技術研修

ア 実施年月日：平成 19 年 10 月 4 日～5 日

イ 参加者：水戸・土浦保健所職員 16 名

ウ 研修内容：大腸菌の易熱性及び耐熱性毒素産生試験

黄色ブドウ球菌エンテロトキシン試験法

腸管出血性大腸菌ベロ毒素産生試験

3 学会・研修会出席

学 会 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
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等の一部を改正する法律に係る病原体等所持施設向けの説明会	東京都千代田区	19.5.8	1
衛生微生物技術協議会第 28 回研究会	岡山県岡山市	19.7.5～6	1
抗酸菌検査実習コース(研修)	東京都清瀬市	19.9.3～7	1
平成 19 年度全国会議「研修及び調査研究発表会」	東京都港区	19.9.7	1
第 22 回地研全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会総会・研修会	水戸市	19.9.27～28	5
平成 19 年度全国食品衛生監視員研修会	東京都中央区	19.10.18～19	1
日本食品衛生学会第 94 回学術講演会	静岡県静岡市	19.10.26～27	1
平成 19 年度動物由来感染症対策技術研修会	東京都千代田区	19.11.2	1
平成 19 年度地域保健総合推進事業 地域ブロック研修会(微生物部門)	東京都清瀬市	20.1.24～25	1
第 20 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会・研修会	千葉県千葉市	20.2.14～15	2

平成 19 年度希少感染症診断技術研修会	東京都新宿区	20.2.19~20	3
感染症と輸送に関するワークショップ	東京都新宿区	20.2.21	1
平成 19 年度 HACCP 講習会	土浦市川口	20.2.21	1
第 12 回腸管出血性大腸菌感染症シンポジウム	東京都港区	20.3.7	2

平成19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
細菌の分離同定	サルモネラ菌	0	14	14
	コレラ菌	1		1
	腸管病原性大腸菌	28	3	31
	ボツリヌス菌	17		17
	結核菌（非結核性含む）	2		2
	破傷風菌	1		1
	小計	49	17	66
ウイルス・リケッチャ及びクラミジア等検出	インフルエンザ様疾患	188		188
	麻疹	64		64
	ロタウイルス	5		5
	サポウイルス	7		7
	ウイルス感染症（インフル、麻疹等を除く）	21		21
	ノロウイルス	867		867
	日本紅斑熱、オウム病等	3		3
	小計	1,155		1,155
ウイルス・リケッチャ及びクラミジア等血清反応	H B s 抗原	103		103
	H B s 抗体	111		111
	日本脳炎（ブタ）	80		80
	インフルエンザ	1,084		1,084
	麻疹	339		339
	日本紅斑熱、オウム病等	3		3
	日本脳炎	2		2
	小計	1,722		1,722
細菌血清反応・毒素検査	腸管病原性大腸菌血清型	28	3	31
	ベロ毒素	28	3	31
	コレラ毒素	1		1
	破傷風抗体	1		1
	小計	58	6	64
疫学解析	結核菌（R F L P）	20		20
	腸管出血性大腸菌（P F G E）	50		50
	バンコマイシン耐性腸球菌(PFGE)	2		2
	多剤耐性緑膿菌(PFGE)	4		4
	小計	76	0	76
食品微生物等	食品細菌		152	152
	ノロウイルス（カキ）	16		16
	食中毒等	97		97
	食鳥処理場関連	100		100
	医薬品等無菌検査		10	10
	小計	213	162	375
	合計		3,273	185
				3,458

3. 理化学部

1 試験検査の概況

(1) 平成19年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

平成19年度試験検査実施状況

項目	品目数	項目数	検体数
食中毒・苦情食品・違反食品等の行政 検査	19	317 (各種総計)	43
遺伝子組換え食品検査	2	2	15
輸入食品残留農薬検査（柑橘類）	3	12	25
輸入食品検査（食品添加物）	5	1	65
県外産農産物残留農薬検査	6	120	19
輸入野菜残留農薬検査	6	120	40
アレルギー物質食品検査	25	4	25
年末食品検査	2	3	27
農産物加工食品残留農薬検査	7	100	8
外部精度管理	3	6	3
中国産餃子農薬混入事件関連検査 (緊急検査)			25
輸入加工食品安全確保緊急対策事業 (緊急検査)			100
小計			395
採水地点	項目数	検体数	
飲料水の苦情・事故等検査	396 (各種総計)		30
水質検査精度管理			1
小計			3
合計			426

(2) 業務内容

- 食品検査について
 - ア 食中毒・苦情食品・違反食品等検査
 - ・ 食中毒

巻貝による食中毒が発生し、テトラミンの検査を実施した。

・ 苦情食品等検査

有症苦情や苦情の届け出のあった、中華菓子、すし、給湯水、イチゴ、山菜、サツマイモ、鍋、つぼ漬、やきとり、魚介類、フライ等の多種・多様の食品について原因究明のための検査を行った。

・ 違反食品

表示違反の可能性のあるゆでたこやしらすについて検査を行い、しらす 1 検体から過酸化水素 4.3mg/Kg を検出し、違反を確認した。

ほかにアレルギー物質混入の疑いで検査したが、不検出であった。

イ 残留農薬検査（県外産農産物）

平成 19 年度は県外で生産された 6 品目（ダイコン、キュウリ、キャベツ、レタス、トマト、ニンジン）の野菜 19 検体について農薬 120 項目の検査を行った。その結果、キュウリ 1 検体からチアメトキサム 0.02 ppm、キャベツ 1 検体からプロシミドン 0.01 ppm、レタス 1 検体からプロシミドン 0.07 ppm、ニンジン 1 検体からフェントエート 0.01 ppm 検出されたが、いずれも基準値以下で、食品衛生法上問題がなかった。

ウ 残留農薬検査（輸入野菜）

輸入野菜 6 品目（カボチャ、ブロッコリー、アスパラガス、未成熟インゲン、パプリカ、ホウレンソウ）40 検体について農薬 120 項目の検査を行った。その結果、カボチャ 1 検体からイミダクロプリドが 0.01 ppm、ブロッコリー 4 検体からフェンバレレート 0.01 ppm およびシハロトリノ 0.01 ppm インドキサカルブ 0.01~0.05 ppm が検出された。また、パプリカについては、6 検体から農薬が検出された。検出農薬は、3 検体でイミダクロプリド 0.02~0.04 ppm、2 検体でインドキサカルブ 0.01~0.03 ppm、1 検体でメトキシフェノジド 0.05 ppm 検出されたが、いずれも基準値を超えるものはなかった。

エ 農産物加工食品残留農薬検査

ジュースおよびその原料、緑茶飲料などの加工食品 8 品目、8 検体について農薬 100 項目の検査を行った。その結果、ブドウジュース 1 検体からチアクロプリドが 0.01 ppm、ブルーベリー果肉ソース 1 検体からジメトエート 0.01 ppm、それぞれ検出されたが、食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

オ 輸入食品残留農薬検査（柑橘類）

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 種類の検査を行ったところ、レモン 4 検体からクロルピリホスが 0.03~0.05 ppm、オレンジ 1 検体からクロルピリホスが 0.04 ppm 検出されたが、いずれも基準値以下であった。

カ 輸入食品検査（食品添加物検査）

輸入食品 65 検体（乾燥果実 2、乾燥かんぴょう 2、シロップ漬け 23、ワイン 21、冷凍魚介類加工品 17）について残存する二酸化硫黄（亜硫酸）の検査を行ったが、基準値

を超えるものはなかった。

キ 遺伝子組換え食品検査

大豆製品 15 検体について大豆 10 検体（ラウンドアップレディ大豆遺伝子）およびトウモロコシ 5 検体（CBH351 トウモロコシ遺伝子）について検査を行ったが、食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

ク 食品中のアレルギー物質検査

加工食品 25 検体について、食品衛生法上表示義務のある特定原材料（卵、乳、そば、小麦）の検査を行ったが、食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

ケ 年末食品検査（食品添加物）

年末に流通する食品 27 検体（食肉製品 12、魚卵 15）について残存する亜硝酸根とソルビン酸の検査を行ったが、基準値を超えるものはなかった

コ 中国産餃子農薬混入事件関連検査（緊急検査）

中国産冷凍餃子にメタミドホス等の有機リン系農薬が混入して健康被害が生じた事件に関連して、県内各保健所へ消費者から相談のあった中国製の製品（冷凍餃子、包装紙、シイタケ等）25 検体について検査を行ったが、食品衛生法上問題のあるものはなかった。

サ 輸入加工食品安全確保緊急対策事業（緊急検査）

中国産冷凍餃子にメタミドホス等の有機リン系農薬が混入して健康被害が生じた事件に関連して、県内に流通する輸入加工食品の安全性を確認するため緊急に有機リン系農薬の検査を行った。輸入加工食品 100 検体について検査を行ったが、食品衛生法上問題のあるものはなかった。

○ 水質検査について

シ 苦情・事故等検査

トリクロロエチレン等揮発性有機化学物質（VOC）による地下水汚染調査について井戸水の分析依頼があり、計 10 検体を検査した。うち、4 検体から水質基準値を超えるテトラクロロエチレンが検出された。

その他飲用井戸水に関する相談では、17 検体について各項目の検査を行い、7 検体について基準超過を確認した。

また、メッキ工場火災に伴う周辺井戸水への追跡調査では 3 検体の井戸水について、クロムを含む金属 4 項目について検査を実施したが、基準を超過するものはなかった。

2 学会発表・論文・著書等

1) 残留農薬試験検査における収去検体の取り扱いについて

平成 19 年度茨城県食品衛生業務業績発表大会、平成 19 年 6 月 20 日、水戸市。

2) 食品中残留動物用医薬品の簡易前処理法及び分析法の検討

第 44 回全国衛生化学技術協議会年会、平成 19 年 11 月 16 日、三重県津市。

3 学会・研修会出席

学 会 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
H18 年度食品安全行政講習会	東京都	19.4.25	1
第 93 回日本食品衛生学会	東京都	19.5.10~11	2
第 68 回分析化学討論会	宇都宮市	19.5.19~20	1
GC/MS,LC/MS 講習会	神奈川県	19.7.26~27	1
全国食監協第 47 回関東ブロック研修会	新潟市	19.8.30~8.31	1
飲料水検査技術講習会	千葉県	19.8.30	1
日本分析学会第 56 年会	徳島市	19.9.19~21	1
農薬残留分析研究会	盛岡市	19.10.4~5	1
全国食品衛生監視員研修会	東京都	19.10.18~19	1
地研全国協議会総会	松山市	19.10.23~24	1
第 93 回日本食品衛生学会	静岡市	19.10.25~27	2
全国衛生化学校議会年会	三重県	19.11.15~16	2
第 30 回日本質量分析学会 TMS 研究部会	大阪府	19.12.20~21	1
全国自然毒食中毒研修会	横浜市	20.1.24~12.25	1
H19 年度地研関東甲信静支部理化学部会研究会	長野市	20.2.15	2
日本薬学会第 127 年会	富山市	20.3.27~28	2

4. 遺伝子科学部

1 試験検査の概況

(1) 平成 19 年度における試験検査の実施状況は下表のとおりである。

試験項目	件数		計
	水道原水	浄水	
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
クリプトスパロジウム	5	5	10
ジアルジア	5	5	10
合計	30	25	55

(2) 業務内容

ア 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、水道原及び浄水中のクリプトスパロ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 19 年度は 5 つの水源(5 施設)について調査したが、クリプトスパロジウム、ジアルジアは検出されなかった。その他の検査項目として pH 及び濁度を測定した。さらに水道水については残留塩素濃度、原水については大腸菌及び嫌気性芽胞菌の検査を行った。

2 感染症情報センター業務

当センターでは、感染症発生動向調査実施要綱(平成 11 年 3 月 19 日健医発第 458 号厚生省保健医療局長通知)に基づいて定められた茨城県感染症発生動向調査事業要領に基づき、保健所を経由し県内の指定医療機関から各種感染症の発生報告を受けて感染症の流行や集団感染予兆の把握に努めている。

平成 19 年度においては、毎週・毎月ごとに県内 12 保健所からの情報提供を取りまとめ、厚生労働省へオンラインで報告を行った。また、還元された情報を茨城県保健福祉部ホームページ (URL: <http://www.pref.ibaraki.jp/bukyoku/hoken/eiseik/>) にて公開し、各種啓蒙を図っている。

平成 19 年度は、海外における感染症発生事情の変化等の理由によって類型の見直しが行われた。類型別に発生状況を見ると、一類感染症の報告はなく、二類感染症で

は結核（522 件）のみ報告がみられた。三類感染症では腸管出血性大腸菌感染症の発生が 51 件と突出し、また、四類感染症ではレジオネラ症（17 件）が増加して最近 5 年間では増加傾向にあることがわかった。五類感染症では後天性免疫不全症候群（エイズ）の報告（20 件）が対前年比 40% 減と大きく減少した。五類感染症のみ定点報告（インフルエンザ等 21 疾患）という制度を設けてその発生動向を調査しているが、本年は、インフルエンザ（23,429 件）が感染性胃腸炎（15,084 件）にかわって再び報告数の第 1 位を占めた。

3 学会・論文等発表

（1）学会発表

茨城県内のヒトにおける H5N2 亜型トリインフルエンザに対する抗体検査について。地方衛生研究所全国協議会第 22 回関東甲信静支部ウイルス研究部会研究会、2007.9、水戸市

（2）論文発表

Effects of oseltamivir phosphate (Tamiflu[®]) in human sera on results of microneutralization and hemagglutinin inhibition tests for H5N2 avian influenza virus. Archives of Virology Vol.153, 945-9(2008)

（3）研究報告書

首都圏及び近郊における薬剤耐性 HIV の調査研究。厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「薬剤耐性 HIV の動向把握のための調査体制確立及びその対策に関する研究」（主任研究者 杉浦 互 国立感染症研究所エイズ研究センター第 2 研究グループ長）平成 19 年度総括・分担研究報告書 98-100(2008)

5 学会・研修会等出席状況

学 会 等 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
衛生微生物技術協議会第28回研究会	岡山市	19.7.5~6	1
Bio-Rad SELDI/Bio-Plex Users Meeting	横浜市	19.8.27~28	2
平成19年度関東・東京地区獣医師大会・三学会 地方衛生研究所全国協議会 第22回関東甲信静 支部ウイルス研究部会研究会	東京都	19.9.2	1
第17回日本健康医学会総会	水戸市	19.9.27~28	2
第30回日本分子生物学会年会、第80回日本生化 学会大会合同大会	東京都	19.11.10	1
	横浜市	19.12.11・14・15	1

第3章 調査及び研究報告

平成 19 年度（2007 年度）日本脳炎感染源調査

深谷節子、増子京子、土井育子、笠井潔、掛札しげ子

Epidemiologic Survey of Japanese Encephalitis in Ibaraki Prefecture 2007

Setsuko FUKAYA, Kyoko MASHIKO, Ikuko DOI, Kiyoshi KASAI and
Shigeko KAKEFUDA

はじめに

わが国の日本脳炎患者数は 1967 年以降急速に減少し、1980 年代には 20~40 例の範囲にとどまっていた。1990 年に 50 例を超えたが、1991 年からは患者数が再び減少し、1992 年以降 10 例を超えることはなかった。茨城県においても患者の発生は少なく、県内受理例は 1990 年（平成 2 年）の 4 例が最後であった。他に、他県からの届出で、茨城県での感染が強く疑われた例が 2006 年度（平成 18 年度）に 1 例あった。

ブタはヒトよりも日本脳炎ウイルスに対する感受性が高く、その大半は食肉用であるために生後 6 ヶ月でと殺される。このため前年の日本脳炎流行期に感染を受けていない免疫の無い若いブタが毎年日本脳炎ウイルスに感染し、わが国における日本脳炎ウイルスの增幅動物となっている。

本事業は、1965 年（昭和 40 年）から伝染病流行予測調査事業として、1999 年（平成 11 年）からは感染症流行予測調査事業の一環として継続的に実施されている事業である。夏季に生後 5~8 ヶ月のブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体を測ることで、日本脳炎ウイルスの浸淫度を追跡し流行を推定する資料となっている。

本報では、茨城県における平成 19 年度（2007 年度）の調査結果について報告する。

調査方法

1. 調査時期及び回数

平成 19 年 8 月 1 日（第 1 回採血）から 10 月 2 日（第 8 回採血）の各旬、合計 8 回について行った。

2. 調査対象

茨城県中央食肉公社に集荷された県内産で、生後 5~8 ヶ月のブタを毎回 10 頭、合計 80 頭について採血し調査を実施した。

3. 調査内容

ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する HI 抗体の測定を行った。HI 抗体値 1:10 以上を HI 抗体陽性とし、HI 抗体値 1:40 以上を示した場合は、2-メルカプトエタノール感受性抗体（2ME 感受性抗体）の検査を実施し、新鮮抗体の確認を行うこととなっている。

検査方法

HI 抗体の検査は、厚生労働省健康局結核感染症課及び国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会監修「感染症流行予測調査事業検査術式」平成 14 年 6 月版に基づき実施した。JaGAr#01 乾燥抗原（デンカ生研株式会社）を使用抗原とし、がちょう血球を 0.33% 濃度で使用した。

結果及び考察

平成 19 年度の調査結果を表 1 に示す。

過去 5 年間の調査結果を見てみると、HI 抗体の上昇は 8 月から 9 月にかけて始まり、9 月中に 2ME 感受性抗体が検出されるというような状況であった（表 2 参照）。そのため、今年度も抗体上昇が遅くなることを考慮し、10 月上旬まで採血を実施したが、8 回調査したすべての血清で日本脳炎ウイルスに対する抗体の陽転化は見られなかった。抗体が検出されなかつたのは、1966 年（昭和 41 年）にこの調査が開始されて初めてのことだった。

国立感染症研究所感染症情報センターの情報（表 3）によると調査に参加した関東地方の都県において HI 抗体陽性のブタが認められた都県は、東京都・千葉県・埼玉県・栃木県であった。この 4 都県中今季の感染を示す 2ME 感受性抗体が認められたのは東京都・千葉県・埼玉県であった。また、東北地方で HI 抗体が認められたのは宮城県と青森県の 2 県であった。この 2 県は 2ME 感受性抗体も検出され、日本脳炎ウイルスが東北地方まで広がったことが示唆された。

日本脳炎ウイルスは、カ（主にコガタアカイエカ）とブタの間で感染環を形成している。コガタアカイエカは、その飛行距離が数キロメートルから30キロメートルと言われ、一晩で10キロメートル移動することもあるとも言われている。また、関東近県・東北地方においても日本脳炎ウイルスの浸淫が確認されたことから抗体が検出されなかった茨城県でも決して安全でないことが示唆された。

2005年（平成17年）の日本脳炎ワクチンの積極的勧奨の差し控えの通知以降日本脳炎ワクチンは定期接種として実施されていない。2006年（平成18年）には、茨城県が感染場所と推定される事例も発生していることから今後の日本脳炎患者の発生が懸念される。

日本脳炎ウイルスの拡散状況の変化は、コガタアカイエカの生育に密接にかかわっており、カの発生には気温・降雨量などの気象状況と密接な関わりがあるといわれている。今年度抗体が検出されなかつたのが、コガタアカイエカの発生に起因するのか、ブタの飼育環境が整備され感染ブタが少なくなった為なのかはこの調査では分からなかつた。

まとめ

平成19年度日本脳炎感染源調査において、8月～10月に時期に80頭のブタのHI抗体を測定し、次の結果を得た。

- (1) 調査した80頭すべてHI抗体が陰性であり、調査を通して抗体が陽転化することはなかつた。
- (2) 茨城県近県で新鮮感染の確認及びコガタアカイエカの飛行距離を考えると茨城県が日本脳炎ウイルスに対し決して安全ではないことが示唆された。

参考文献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所：感染症流行予測調査事業検査術式、平成14年6月
- 2) 国立感染症研究所 感染症情報センターHP：ブタの日本脳炎HI抗体保有状況調査速報、2008年9月現在URL、
<http://idsc.nih.go.jp/yosoku/JEmenu-sw.html>
- 3) 国立感染症研究所 ウィルス第1部 HP：日本脳炎情報、2008年9月現在URL、
<http://www.nih.go.jp/vir1/NVL/JEVMeeting.htm>
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課、国立感染症研究所：平成17年度（2005年度）感染症流行予測調査報告書、110-112、平成19年2月

表1 と畜場搬入ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2007.8.1	10	10								0	0			鈴田市
2	2007.8.7	10	10								0	0			行方市
3	2007.8.21	10	10								0	0			結城市
4	2007.8.28	10	10								0	0			鈴田市
5	2007.9.4	10	10								0	0			行方市
6	2007.9.11	10	10								0	0			鈴田市
7	2007.9.21	10	10								0	0			鈴田市
8	2007.10.2	10	10								0	0			鈴田市
計		80	80								0				

表2 過去5年間のと畜場搬入ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2006.8.16	10	10								0	0			鈴田市
2	2006.8.21	10	9	1							0	0			鈴田市
3	2006.8.30	10	10								0	0			鈴田市
4	2006.9.6	10	10								0	0			鈴田市
5	2006.9.13	10	10								0	0			鈴田市
6	2006.9.20	10	10								0	0			鈴田市
7	2006.9.27	10	7	1	2						3	30	3	3	100
8	2006.10.11	10	10								0	0			鈴田市
計		80	80								0		3	3	

2005年度(平成17年度)

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2005.8.9	10	8	2							2	20			麻生町
2	2005.8.23	10	10								0	0			麻生町
3	2005.9.10	8	1	1							2	20	1	1	100
4	2005.9.13	10	9								1	10	1	1	100
5	2005.9.20	10	3		1	3	1	1	1		7	70	7	7	100
6	2005.9.27	10	1		1						1	7	9	4	44
7	2005.10.4	10	1								1	8	9	9	55
8	2005.10.14	10	5								1	2	5	5	0
計		80	45	3	3	3	2	5	19		32	18			

2004年度(平成16年度)

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2004.6.30	10	10								0	0			旭村
2	2004.7.28	10	10								0	0			旭村
3	2004.8.4	10	10								0	0			旭村
4	2004.8.18	11	11								0	0			旭村
5	2004.8.25	10	10								0	0			旭村
6	2004.9.1	10	10								0	0			旭村
7	2004.9.8	10	10								0	0			旭村
8	2004.9.15	11	11								0	0			旭村
9	2004.9.29	10	8	2							2	20			旭村
10	2004.10.6	10	10								0	0			旭村
計		102	100	2							2				

2003年度(平成15年度)

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2003.8.6	10	10								0	0			北浦町
2	2003.8.20	10	10								0	0			鈴田町
3	2003.8.27	10	10								0	0			旭村
4	2003.9.3	10	10								0	0			旭村
5	2003.9.10	9	9	1							1	10	1	1	100
6	2003.9.17	10	9								1	10	1	0	0
7	2003.10.1	10	9								1	10	1	0	0
8	2003.10.8	9	1								1	10			旭村
計		80	76	2	1	1	1	1	1		4		3	1	

2002年度(平成14年度)

回数	採血年月日	検査 頭数	HI抗体価							HI抗体陽性率		2ME感受性抗体		ブタ 飼育地	
			<10	10	20	40	80	160	320	≥640	頭数	%	検査件数	陽性数	
1	2002.8.7	10	10								0	0			鈴田町
2	2002.8.28	10	10								0	0			鈴田町
3	2002.9.4	10	10								0	0			北浦町
4	2002.9.11	10	7	1							1	30	2	1	50
5	2002.9.18	10	9	1							1	10	1	0	0
6	2002.9.25	10	7								3	30	3	1	33
7	2002.10.2	10	4								1	5	6	2	33
8	2002.10.9	10	4												

表 3 ブタの日本脳炎HI抗体保有状況調査速報（国立感染症研究所・感染症情報センターHPより抜粋）

2007年(平成19年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月23日	鹿児島県	7月31日	高知県	7月4日	広島県	7月17日	兵庫県	7月3日	静岡県	8月6日	東京都	7月17日	宮城県	8月21日
中南部	4月23日	宮崎県	7月23日	愛媛県	7月10日	島根県	7月13日	滋賀県	8月28日	山梨県	9月5日	千葉県	8月6日	青森県	8月14日
		大分県	6月22日	徳島県	8月28日	鳥取県	7月12日	三重県	7月9日	富山県	7月3日	埼玉県	9月25日		
		熊本県	7月23日									栃木県	8月21日		
		長崎県	7月24日												
		佐賀県	8月7日												
		福岡県	8月7日												

2006年(平成18年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月24日	鹿児島県	8月16日	高知県	6月21日	広島県	7月10日	兵庫県	9月5日	静岡県	9月25日	神奈川県	8月29日	宮城県	8月23日
中南部	4月24日	宮崎県	7月10日	愛媛県	7月10日	島根県	8月11日	三重県	8月21日	富山県	7月4日	東京都	4月17日	青森県	8月7日
		大分県	7月5日	香川県	7月24日	鳥取県	7月6日					千葉県	9月19日	北海道	7月26日
		熊本県	8月7日	徳島県	8月8日							栃木県	7月10日	(上富良野)	
		長崎県	8月8日									茨城県	8月21日		
		佐賀県	9月5日												
		福岡県	7月25日												

2005年(平成17年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日 (33都道府県)

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月26日	鹿児島県	7月25日	高知県	6月23日	広島県	7月5日	兵庫県	8月4日	静岡県	7月13日	神奈川県	9月13日	秋田県	9月27日
中南部	4月24日	宮崎県	6月27日	愛媛県	7月5日	島根県	7月27日	滋賀県	8月19日	山梨県	8月25日	東京都	8月29日	北海道	9月15日
		大分県	7月13日	香川県	7月25日	鳥取県	7月26日	三重県	7月25日	石川県	8月11日	千葉県	8月1日		
		熊本県	8月1日	徳島県	8月23日					富山県	7月12日	埼玉県	8月26日		
		長崎県	7月12日							新潟県	9月20日	栃木県	9月29日		
		佐賀県	7月5日									茨城県	8月9日		
		福岡県	7月19日												

2004年(平成16年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月30日	鹿児島県	7月26日	高知県	6月21日	広島県	8月3日	兵庫県	9月16日	静岡県	7月15日	千葉県	8月2日	宮城県	8月3日
中南部	5月6日	宮崎県	7月20日	愛媛県	7月13日	島根県	8月25日	滋賀県	8月19日	石川県	9月15日	栃木県	7月12日	青森県	9月13日
		大分県	7月12日	香川県	8月2日	鳥取県	8月25日	三重県	8月4日	富山県	7月13日				
		熊本県	8月2日	徳島県	8月16日										
		長崎県	7月20日												
		佐賀県	7月8日												
		福岡県	7月15日												

2003年(平成15年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月30日	鹿児島県	8月4日	高知県	7月1日	広島県	8月4日	兵庫県	7月11日	静岡県	9月16日	千葉県	8月18日	秋田県	9月25日
中南部	5月13日	宮崎県	7月28日	愛媛県	8月11日	島根県	8月1日		8月25日	山梨県	9月17日	群馬県	7月22日	宮城県	10月6日
		大分県	8月4日	香川県	8月4日				7月18日	石川県	9月24日	茨城県	9月17日		
		熊本県	7月28日						7月22日	富山県	7月8日				
		長崎県	8月4日												
		佐賀県	7月8日												
		福岡県	7月15日												

2002年(平成14年) HI抗体陽性のブタが認められた県及び調査日

沖縄	九州地方	四国地方	中国地方	近畿地方	中部地方	関東地方	東北地方								
北部	4月18日	鹿児島県	8月5日	高知県	7月15日	広島県	7月29日	和歌山県	8月5日	静岡県	7月15日	東京都	9月30日	宮城県	9月17日
中南部	4月23日	宮崎県	7月15日	愛媛県	7月8日	島根県	9月3日	奈良県	8月26日	石川県	8月21日	千葉県	9月9日		
		大分県	6月5日	香川県	7月29日				兵庫県	7月22日	富山県	7月9日	群馬県	9月3日	
		熊本県	7月25日						滋賀県	8月23日			栃木県	9月17日	
		長崎県	7月9日						三重県	7月30日			茨城県	9月11日	
		佐賀県	8月6日												
		福岡県	7月16日												

: HI抗体保有率が80%を超えた県

: ブタに2ME感受性抗体が検出され、かつHI抗体保有率が50%を超えた県

: ブタに2ME感受性抗体が検出された県

2007/2008 年シーズンの茨城県のインフルエンザ流行について

深谷節子、増子京子、笠井潔、土井育子、掛札しげ子

Epidemiologic Studies of Influenza in Ibaraki Prefecture (2007/2008 Season)

Setsuko FUKAYA, Kyoko MASHIKO, Kiyoshi KASAI, Ikuko DOI and Shigeko KAKEFUDA

はじめに

茨城県では、インフルエンザウイルス流行株の把握をするためにインフルエンザのサーベイランスを行っている。近年インフルエンザの流行は、AH3 亜型単独感染（2005/2006 年シーズン、2003/2004 年シーズン）、AH3 亜型及び B 型の混合感染（2004/2005 年シーズン、2002/2003 年シーズン）、AH3 亜型 AH1 亜型 B 型による混合感染（2006/2007 年シーズン）と AH3 亜型が中心となった流行であることが多かった。このような状況で 2007/2008 年シーズンも病原体検査定点医療機関及び保健所の協力により調査を実施したので患者発生状況も含めて報告する。

検査対象及び方法

感染症発生動向調査病原体定点医療機関で採取した咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液、及び集団発生時期に保健所が採取したうがい液を検査材料とした。

1. 検査対象

検査定点（17 医療機関）：鼻腔ぬぐい液・咽頭ぬぐい液—71 検体

集団感染事例（14 施設）：うがい液・鼻腔ぬぐい液・咽頭ぬぐい液—119 検体

以上、計 190 検体を検査材料とした。

2. ウィルス分離

CaCo2 及び MDCK 細胞を用いた細胞培養法でウィルス分離を実施した。

3. ウィルスの同定

分離ウィルス株の同定には、国立感染症研究所日本インフルエンザセンター分与の「2007/2008 年シーズン用インフルエンザウイルス同定キット」を用いた。

ウィルス分離株の同定は、国立感染症研究所及び全国地方衛生研究所全国協議会編「病原体検査マニュアル」記載の赤血球凝集抑制試験（以下 HI 試験）により実施した。使用血球はモルモット赤血球とし、0.75% の濃度で使用した。

「2007/2008 年シーズン用インフルエンザウイルス同定

キット」構成は下記に示す。

〔免疫血清〕

A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1) フェレット感染血清

A/Hiroshima/52/2005 (H3N2) フェレット感染血清

B/Shanghai/361/2002 フェレット感染血清

B/Malaysia/2506/2004 羊高度免疫血清

〔不活化ウイルス抗原〕

A/Solomon Islands/3/2006 (H1N1)

A/Hiroshima/52/2005 (H3N2)

B/Shanghai/361/2002

B/Malaysia/2506/2004

結果及び考察

1. 患者発生状況

患者発生の状況は、国立感染症研究所感染症情報センター発表の「感染症発生動向調査（週報）」及び茨城県感染症情報センター発表の「茨城県感染症流行状況（週報）」により把握した。学校等での患者発生状況については、厚生労働省健康局結核感染症課発表の「インフルエンザ様疾患発生報告」及び県保健予防課・保健体育課・総務課私学振興室発表の「インフルエンザ様疾患による学級閉鎖等の措置について」により把握した。

全国及び茨城県の定点あたりインフルエンザ患者情報発生数の年次推移を図 1 に示した。茨城県のシーズン別定点あたりインフルエンザ患者情報発生数は図 2 に、保健所別定点あたりインフルエンザ患者情報発生数は図 3 に示した。

全国での 2007/2008 年シーズンは 2007 年 39 週（9 月 24 日～9 月 30 日）沖縄で定点あたり患者発生数が上昇したのを皮切りに流行が始まった。全国平均では 45 週（11 月 5 日～11 月 11 日）に定点あたり患者発生数が 0.5 人/定点となり、46 週（11 月 12 日～11 月 18 日）には 0.94 人/定点、47 週（11 月 19 日～11 月 25 日）には 1.53 人/定点と上昇し本格的なインフルエンザ流行期に突入した。

茨城県においては、定点あたり患者発生数が 47 週（11 月 19 日～11 月 25 日）に 0.28 人/定点、48 週（11 月 26

日～12月2日)に0.44人/定点、49週(12月3日～12月9日)に1.52人/定点と上昇しインフルエンザ流行期に入った。2008年5週(1月28日～2月3日)に定点あたり患者発生数が14.75人/定点とピークを迎えた。5週以後の患者発生数は暫時減少し、19週(5月19日～5月11日)に0.09人/定点となり、流行は終息した。流行の立ち上がりは、全国平均から2～3週遅かったが、流行のピークは同じで終息時期もほぼ同じであった。例年茨城県のインフルエンザ流行開始時期は新年以降であることが多いが、今シーズンは11月下旬から患者の発生があり例年より約1ヶ月早い流行開始となった。また、流行の規模は、2005/2006シーズン・2006/2007シーズンに比べずっと小さいものだった。定点あたり患者発生数を保健所別に見ると患者発生パターンは例年同じパターンを示すが、今シーズンは違うパターンを示した。県南(土浦・つくば・竜ヶ崎)県西(古河・常総・筑西)地区が、他の地区より早い流行の立ち上がりをみせた。特に常総・古河は2007年内に流行のピークを迎えていた。今シーズンは首都圏特に千葉県・東京都・神奈川県が2007年42週(10月15日～10月21日)頃から流行の立ち上がりを見せており、首都圏での流行が首都圏通勤圏である県南・県西地区の流行の立ち上がりに影響したと考えられる。

また、学校での患者発生状況を図4・図5・表1に示した。学校では46週(2007年11月12日～18日)から集団が発生し、50週(12月10日～16日)に急激に増加した。冬休み明けの2008年3週(1月14日～20日)に集団が再び発生し始め、5週(1月28日～2月3日)には集団発生のピークを示した。学校での患者発生数は前シーズンの約3分の1、施設数は前シーズンの約2分の1であった。学校での患者発生状況は感染症発生動向調査の患者情報と同様な傾向を示した。集団発生の措置内容は、休校が3.9%、学年閉鎖学校が33.6%、学級閉鎖学校が62.5%と全国と同様な傾向であった。

2. ウイルス分離状況

医療機関及び集団発生事例からの検査状況を表2及び表3に示した。医療機関から71検体提出がありインフルエンザウイルス63株を分離した。分離インフルエンザウイルス株の割合は、AH1亜型77.8%、AH3亜型7.9%、B型14.3%であった。B型は山形系統とビクトリア系統の二つの系統に分かれることが知られている。医療機関由来のB型インフルエンザウイルス株は、山形系統とビクトリア系統の割合に差はなかった。集団発生からの検体では、シーズン初発の12事例は全てAH1亜型インフルエ

ンザウイルスが分離された。しかし、流行終盤では、B型、AH3亜型による事例もみられた。

シーズン中の全分離株の割合(図6)では、AH1亜型が全体の8割を占めている。また、週数別ウイルス分離状況(図7)でも、シーズン初頭からAH1亜型が分離され茨城県患者情報のピーク(2008年5週)を過ぎても分離され続けた。以上のことから、今シーズンの主流はAH1亜型であったことがうかがえる。しかし、シーズン終盤には、B型及びAH3亜型が分離され、AH1亜型から他の型の流行に移ったことがうかがえた。

茨城県においてAH1亜型の単独流行は、1995/1996年シーズン以来12シーズンぶりのことだった。

3. 分離株の解析

分離株同定の目的で行うHI試験は、同時に分離株の抗原解析のスクリーニングを行うことができる。標準株の不活化抗原とその株で免疫して得た抗血清を反応させたHI値を基準とし、分離株と上記抗血清を反応させたHI値を比べることで標準株と分離株との抗原的な変異を読み取ることが出来る。おおまかな指標は次のとおりである。

標準株のHI値と分離株のHI値が2倍以下の差である場合標準株類似株とし、標準株のHI値と分離株のHI値が4倍の差である場合標準株と小さな変異があるとした。さらに、標準株のHI値と分離株のHI値が8倍以上の差である場合大きな変異があるとした。

亜型/型別に分離株の抗原解析を行った結果を図8に示す。AH1亜型の標準株は、ワクチン株A/Solomon Islands/3/2006(H1N1)である。解析の結果、HI値が2倍以下の差である株は6株(5.7%)、4倍差の株は61株(58.1%)、8倍以上の株は38株(36.2%)であった。分離株の約6割は、ワクチン株からの変異が小さい株であり、残りは変異の程度が大きい株であることからワクチン株からの抗原変異が進んでいることがうかがえた。

AH3亜型の標準株は、ワクチン株A/Hiroshima/52/2005(H3N2)である。この株は2006/2007年シーズンのワクチン株でもある。2006/2007年シーズン分離株は、HI値の差が2倍以下の株が約6割を占め、ワクチン株に類似であったことがうかがえた。今シーズンの分離株は分離数が少なく10株のみであるが、ワクチン株とのHI値の差が4倍以上の株で占められていたことから、今シーズン分離株は前シーズン分離株より変異が進んだことがうかがえた。

山形系統のB型は、前シーズンの1株から10株と分離数が増えた。今シーズンは、40%が標準株類似株であっ

た。30%は変異の小さい株、残り30%が変異の程度が大きい株という結果となり、標準株であるB/Shanghai/631/2002と比べて変異が進んでいることがうかがえた。

ビクトリア系統のB型は、前シーズンの35株から4株と分離数が激減した。標準株は前シーズン同様にワクチン株であるB/Malaysia/2506/2004である。今シーズン分離株は、ワクチン株類似株で占められていた。

茨城県での流行の開始時期は過去3シーズンと比べて4週早かったが、その規模は小さかった。学校等での患者発生数からも学校での流行の規模は小さかったことがうかがえた。分離株の状況から今シーズンの主流行は、全国と同様にAH1亜型によるものであった。インフルエンザの流行開始が11月と早く、ワクチン接種前の感受性者への流行が懸念されたが、爆発的な流行には繋がらなかつた。平成19年度感染症流行予測調査において、ワクチン株A/Solomon Islands/3/2006(H1N1)に対するHI抗体は特定に年齢群を残し比較的よく保有されていた。このことが、流行規模を小さくした一因となった可能性があると考える。また、学校等においては、流行の立ち上がりが始まった時点で冬休みに入ったことも流行にブレーキをかけた一因であると思われる。なお、先の感染症流行予測調査において、ワクチン株A/Hiroshima/52/2005(H3N2)に対する免疫状況はHI抗体保有が充分でなく、かつ、分離株がワクチン株と抗原変異がすんでいたことからAH3亜型の流行が危惧されていたが、今シーズンの主流行株にはならなかつた。しかし、シーズン終了時にAH3亜型が分離され、しかもワクチン株A/Hiroshima/52/2005(H3N2)からの変異を示す株が多かつたことから今後のAH3亜型の動向が気になるところである。

また、ノイラミニダーゼ阻害剤(オセルタミビル)耐性インフルエンザウイルスが出現し、その動向が懸念されている。今シーズン北欧でオセルタミビル耐性AH1亜型株が高頻度(20%以上)で検出された。それを受け日本でもオセルタミビル耐性株のサーベイランスが実施された。日本はオセルタミビルの大量消費国なので結果が注目されたが、結果は発生頻度1.6%とかなり低かつた。オセルタミビル耐性株はヒトからヒトへの伝播力が低いとされていたが、横浜市や鳥取県の事例から耐性株はヒトからヒトに効率よく伝播することが示唆された。当研究所もこの調査に参加し、AH1亜型分離株25株を国立感染症研究所に提出したが、耐性株は検出されなかつた。

インフルエンザの流行を防ぐ手段として、予防接種は重要である。よいワクチンは、よい予防接種候補株の選出が不可欠である。適切な予防接種候補株の選定には、分離株のサーベイランスは欠かせない。医療機関・保健所の協力で得られた情報は、感染症サーベイランスシステム(NESID)を通じ分離株の抗原解析、次シーズンのワクチン候補株の選定等に役立っている。流行時期の検体は勿論のこと、流行時期以外での分離株も次シーズンの流行を予測するため重要な資料となるため、流行時期以外の検体も重要となる。医療機関・保健所の協力を得ながらインフルエンザのサーベイランスをさらに充実させていきたいと考えている。

まとめ

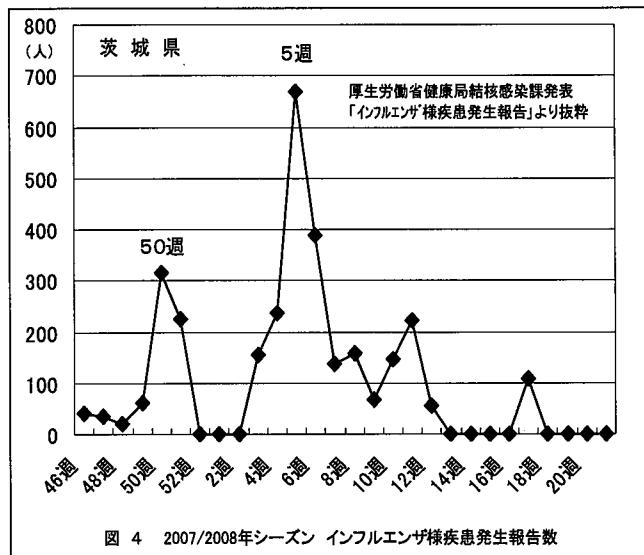
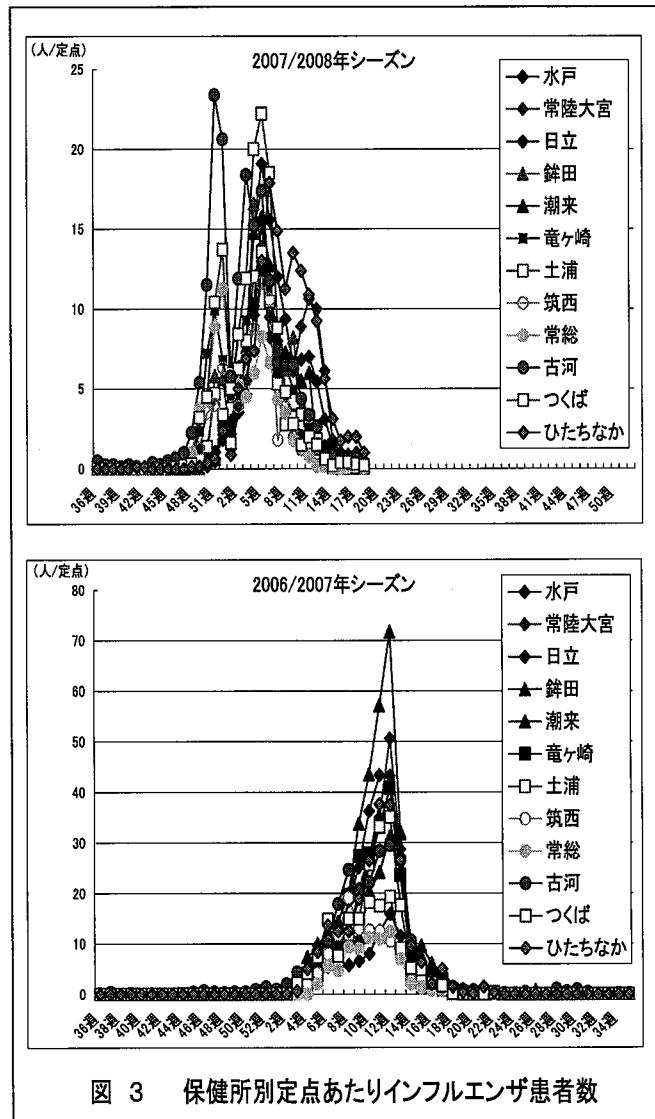
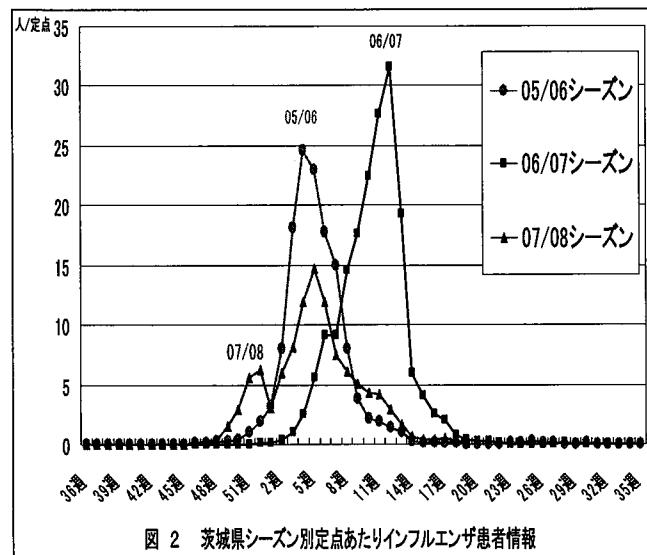
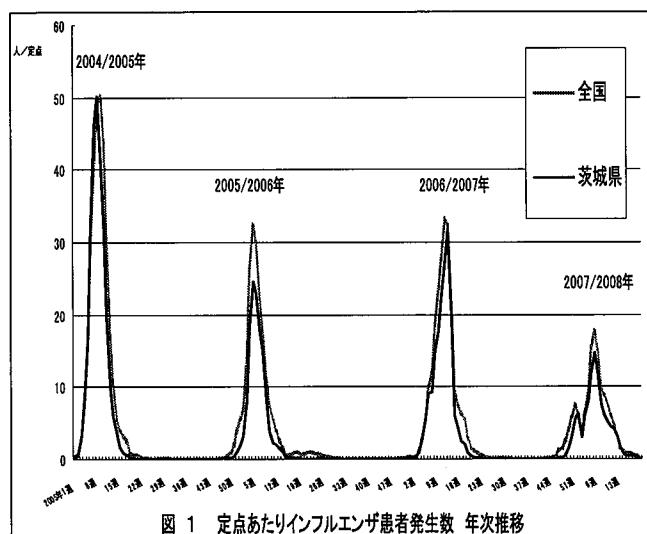
感染症発生動向調査病原体定点および集団感染事例から採取したぬぐい液・うがい液を検査し次の結果を得た。

1. 茨城県での流行開始時期は過去3シーズンと比べて4週間早かったが、その規模は小さかった。また、学校での流行規模も小さかった。
2. 今シーズンの主流行株は、AH1亜型であった。AH1亜型単独での流行は、1995/1996年シーズン以来12シーズンぶりであった。
3. AH1亜型分離株は、A/Solomon Islands/3/2006(H1N1)ワクチン株から抗原的変異が進んでいることが伺えた。
3. オセルタミビル耐性についてAH1亜型分離株25株を国立感染症研究所で検査したが耐性株は検出されなかつた。

参考文献

1. 厚生労働省結核感染症課、国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会：感染症流行予測調査事業検査術式、平成14年6月
2. 茨城県衛生研究所年報：第34号～第45号
3. 国立感染症研究所 感染症情報センターHP：感染症発生動向調査週報、2008年9月現在URL、<http://idsc.nih.go.jp/idwr/index.html>
4. 国立感染症研究所 感染症情報センターHP：感染症流行予測調査インフルエンザ速報 平成19年度(2007年度)調査～2007/08シーズン前～、2008年9月現在URL、http://idsc.nih.go.jp/yosoku/Flu/2007Flu/Flu07_3.htm
5. 病原微生物検出情報：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)、155-159、
2008



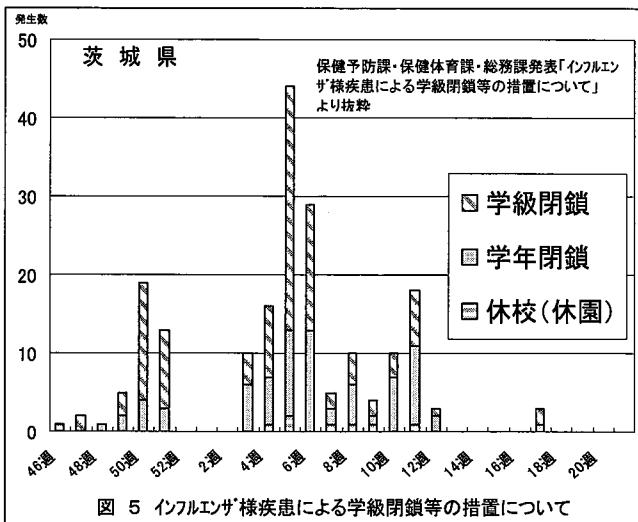


表 1 インフルエンザ様疾患発生報告

	患者数	施設数	休校数	学年閉鎖学校数	学級閉鎖学校数	初発年月日	初発都道府県
2007/2008年シーズン 茨城県	2,475	152	6	51	85	2007/11/14	
全国	142,457	6,855	375	2,049	4,431	2007/10/15	神奈川県
2008/2007年シーズン 茨城県	7,048	362	6	109	248	2007/11/16	
全国	387,516	14,103	381	3,687	10,035	2006/11/6	滋賀県
2005/2006年シーズン 茨城県	2,159	145	3	39	103	2006/11/16	
全国	217,903	9,099	283	2,217	6,599	2005/11/10	山梨県
2004/2005年シーズン 茨城県	9,282	447	16	113	319	2006/11/16	
全国	365,147	12,769	488	3,097	9,183	2005/10/29	大阪府

* 厚生労働省健康局結核感染症課発表「インフルエンザ様疾患発生報告」より抜粋した。

2007/2008年シーズンの情報は、2008年5月30までの情報です。

表 2 2007/2008年シーズン インフルエンザ病原体定点

管轄HC名	医療機関名	検査件数	分離件数	内 許				備考(RT-PCRでの検出)
				AH1	AH3	B(山形系統)	B(ピクトリア系統)	
水戸	県立中央病院	5	2	1				AH1(1), B(1)
	梅里クリニック	5	3	3				
	水府病院	5	5	4				1
	相川内科病院	1	1		1			
ひたちなか	日立製作所 水戸総合病院	3	3	9				
	上久保医院	3	2	1		1		AH3(1)
	渡辺医院	5	5	3		1	1	
常陸大宮	保内橋メディカルクリニック	2	2	2				
	日立製作所 日立総合病院	5	5	8	2			1
結田	高須病院	5	5	4		1		
潮来	白十字総合病院	4	4	4				
竜ヶ崎	牛久愛と総合病院	5	5	4		1		
土浦	佐藤小児科医院	5	4	3		1		
つくば	筑波学園病院	3	3	1				
筑西	上牧小児科医院	5	4	4				
常總	きぬ医師会病院	5	5	4				1
古河	遠藤医院	5	5	4	1			
	小計	71	63	49	5	5		4

※ インフルエンザ病原体定点医療機関名は、2007年10月現在のものです。

表 3 2007/2008年シーズン インフルエンザ集団発生状況

管轄HC	施設名	検体採取日	週数	検体数	検出件数	内 許			備考
						AH1	AH3	B(山形系統)	
常總	幼稚園	2007/11/15	48	9	1	1			AH1(1)*
竜ヶ崎	小学校	2007/12/5	49	10	8	8			
土浦	小学校	2007/12/5	49	6	2	2			
筑西	小学校	2007/12/10	50	8	3	3			
つくば	小学校	2007/12/11	50	10	6	6			
古河	小学校	2007/12/18	51	10	6	6			
結田	小学校	2007/12/18	51	10	2	2			
水戸	小学校	2008/1/15	3	10	6	6			AH1(1)**
日立	小学校	2008/1/15	3	10	6	6			
常陸大宮	小学校	2008/1/21	4	9	6	6			
潮来	小学校	2008/1/21	4	10	6	6			
ひたちなか	小学校	2008/1/28	5	8	4	4			
水戸	医療機関	2008/4/1	14	4	3	1	2		
水戸	知的障害者施設	2008/4/4	14	3	3	3			
つくば	中学校	2008/4/14	15	4	4	4			
	合計			119	66	59	5	5	0
	15 施設								

*:うがい液から直接検出

**:分離ウイルス株から検出

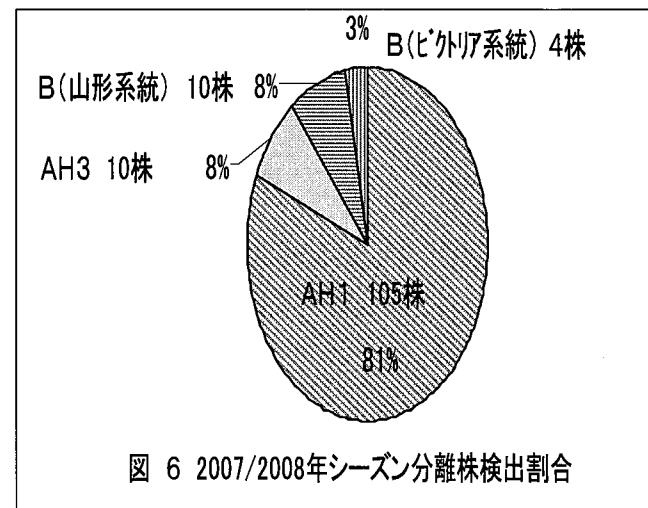


図 6 2007/2008年シーズン分離株検出割合

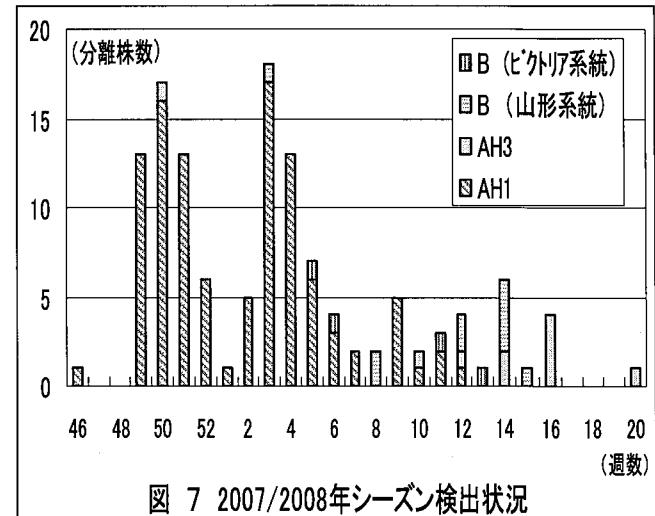
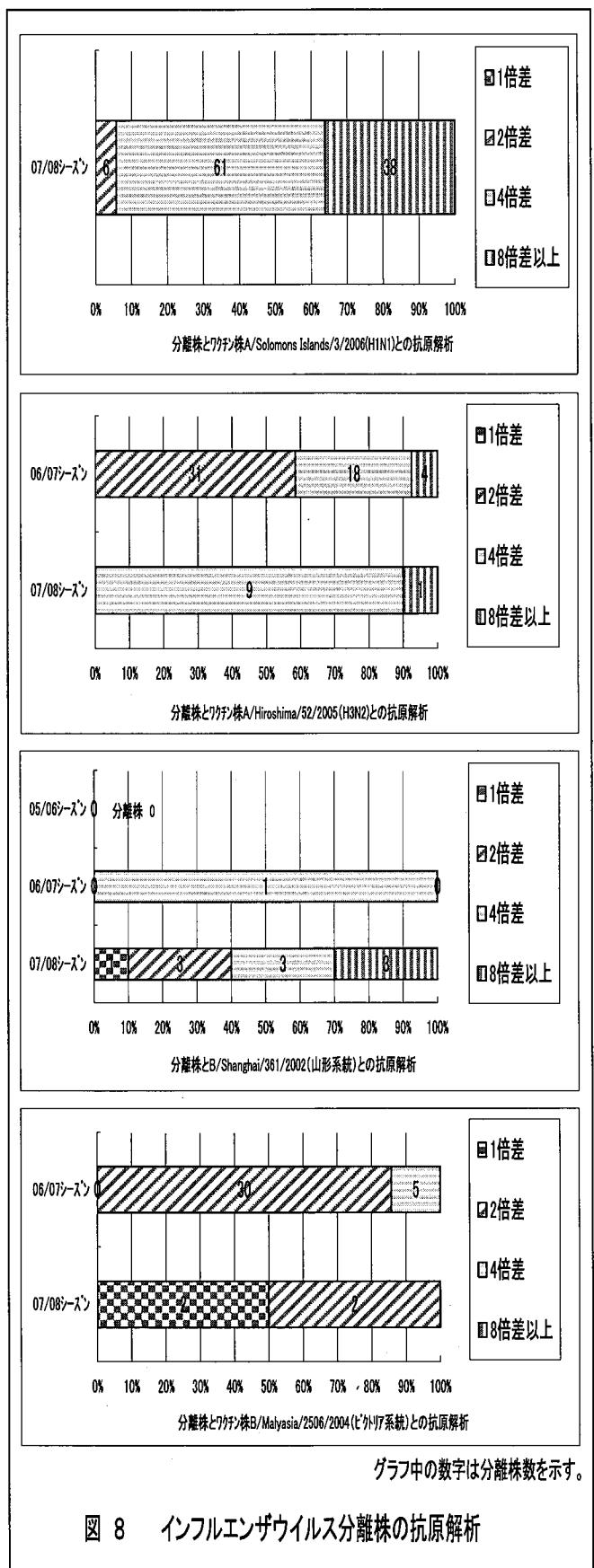


図 7 2007/2008年シーズン検出状況



保育所で起きた腸管出血性大腸菌O 157集団感染事例

土井育子、深谷節子、笠井潔、増子京子、掛札しげ子

(茨城県衛生研究所)

An outbreak of EHEC O157 occurred in nursery school

Ikuko DOI, Setsuko FUKAYA, Kiyoshi KASAI, Kyoko MASHIKO, Shigeko KAKEFUDA

(Ibaraki Prefectural Institute of Public Health)

【はじめに】

腸管出血性大腸菌 (enterohaemorrhagic Escherichia coli : EHEC)は腸管出血性大腸菌感染症の起因病原体であり、下痢原性大腸菌（病原大腸菌）のカテゴリーに属するものであるが、病原性や感染力が他の下痢原性大腸菌より強いことから、腸管出血性大腸菌感染症は三類感染症として位置づけられている。

2007年はEHEC（腸管出血性大腸菌）感染症患者および無症状病原体保有者が全国で4,606例報告され、2006年の3,922例を大きく上回った¹⁾。茨城県においても2007年のEHEC感染者報告数は51件であり2006年の報告数37件を上回る数であった（表1）。全国の週別報告数を見ると2007年は例年同様季節変動が大きく、夏季流行のピークがみられた。

例年、腸管出血性大腸菌感染者全体のうち小児がしめる割合は高く、2007年は0～4歳の感染者が全体の約24%をしめた（図1）。腸管出血性大腸菌の感染菌量は数十個～数百個と考えられており、感染者が小児であった場合にはオムツ換えのときなどに家族や保育所での接触者などにヒト-ヒト感染するケースが多い。また、保育所・幼稚園では夏季の子供用プールの使用による水系感染や、トイレや風呂を介した感染も主な感染経路になると考えられ、そのため保育所・幼稚園での腸管出血性大腸菌の集団感染は全国的に、

特に夏季に多くみられている。2007年は全国で11件の集団感染事例が報告されている（本事例を除く）。

茨城県でも、2007年8月に鹿嶋市の保育園で腸管出血性大腸菌O 157の集団感染が発生したので、報告する。

表1. 腸管出血性大腸菌感染症届出数

年	全国の報告数	茨城県の報告数
2000	3,647	32
2001	4,336	48
2002	3,185	20
2003	2,999	31
2004	3,690	27
2005	3,594	47
2006	3,922	37
2007	4,606	51

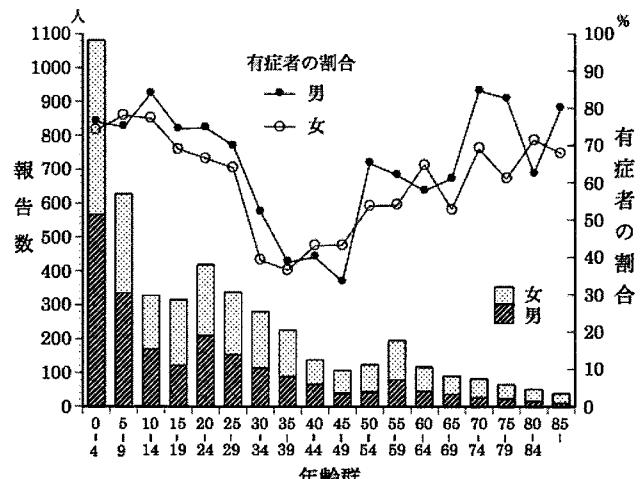


図1. 腸管出血性大腸菌感染症年齢別発生状況
(2007年1月～12月)

【対象及び方法】

1. 対象

8月10日に確定した患者が保育園児であったことから同園児及び職員を対象に潮来保健所で接触者健診を行ったところ園児30人中12名が菌陽性、職員全員陰性となり、さらに園児の家族など計49名に接触者健診を実施した結果5名が菌陽性となった。これに初発の患者を加えた計18名（男性12名、女性6名：表2）から検出された菌株を対象とした。

表2. 感染者の性別・年齢等

感染者No.	性別	年齢	備考
No.1	男	2	
No.2	男	2	
No.3	女	2	
No.4	男	2	
No.5	男	2	
No.6	女	31	No.5の母親
No.7	女	3	
No.8	女	38	No.7の母親
No.9	男	3	
No.10	男	2	
No.11	男	4	
No.12	男	1	
No.13	女	3	
No.14	男	69	No.13の祖父
No.15	男	2	
No.16	男	23	No.15の父親
No.17	女	22	No.15の母親
No.18	男	2	
計		男性12名、女性6名	

2. 方法

1) 血清型別試験

18菌株について、血清型別試験（菌体抗原：O抗原、鞭毛抗原：H抗原）を行った（病原体検出マニュアル²⁾に準拠）。

2) VT（ペロ毒素）の検出

RPLA法（逆受身ラテックス凝集反応）によりVT1及びVT2の検出を行った（微生物検査必携細菌・真菌検査³⁾に準拠）。VET-RPLA「生研」（デンカ生研）を使用した。

3) VT遺伝子の検出

PCR法によりVT1遺伝子及びVT2遺伝子の検出

を行った。プライマーは宝酒造のプライマーセットEVT-1, EVT-2 (VT1遺伝子検出用、増幅産物サイズ349bp)、およびEVS-1, EVS-2 (VT2遺伝子検出用、増幅産物サイズ404bp)を用いた。いずれのプライマーも増幅の塩基配列は不明である。

4) PFGE（パルスフィールドゲル電気泳動）

感染研Newプロトコルにもとづいて、PFGE法により分子疫学解析を行った。泳動装置にはCHEF-DRⅢ(BIORAD)を用い、泳動時間は18.5時間で行った。制限酵素はXba I (Roche)を使用した。マーカーにはSalmonella Braenderup株を用い、同様に制限酵素Xba Iで処理をしたものを使用した。また、菌株を国立感染症研究所細菌第一部に送付し同様にPFGEを行った。

【結果】

18検体すべてにおいて血清型別試験の結果はO157:H7であった。

またVTについてはRPLA法にてVT1は検出されず、VT2のみを検出した。PCR法でもVT1遺伝子は不検出、VT2産生遺伝子のみが検出された。

PFGEの結果は図2のとおりであった。18菌株のうち、No.1~11, 13, 15~18で同様の泳動パターンが見られた。No.12及び14では他とはそれぞれバンドが一本のみずつ異なったが、非常に近似した泳動パターンであった。これより、今回の集団感染は同一由来菌株によるものであると示唆された。

【考察】

2007年に全国で検出されたEHECのうち血清型O157:H7のしめる割合は62%であった。今回検出された菌株血清型は同様にO157:H7であり、本事例は全国的に流行している代表的な血清型のEHECによる集団感染であった。

また、今回の事例で検出されたEHEC O157菌株はVT2のみ産生であったが、2007年に全国で報告

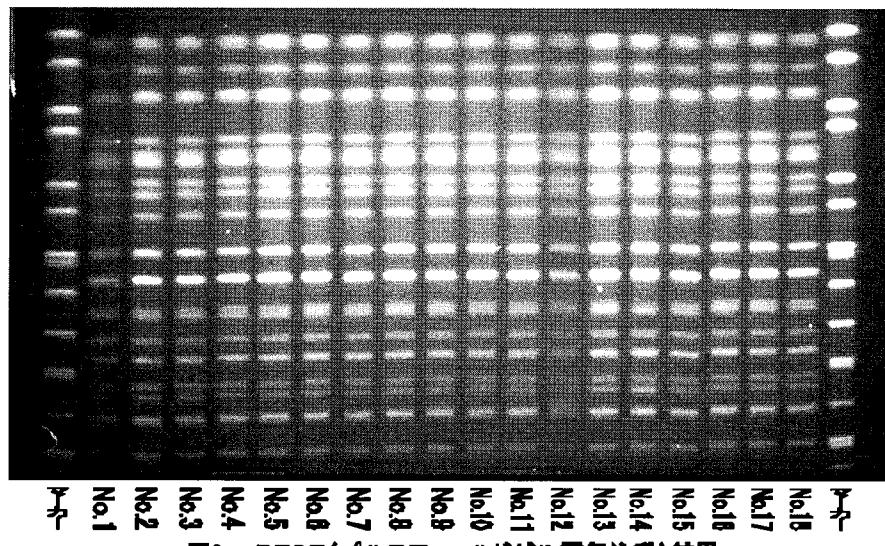


図2. PFGE(パルスフィールドゲル電気泳動)結果

されたEHEC O157 1930例のうちVT1のみ産生株は30例(約1.6%)、VT2のみ産生株は618例(約32%)、VT1,VT2ともに産生株は1282例(約66%)であった。

2007年には国立感染症研究所細菌第一部でXba IによるPFGEパターンがO157で870種類見られ、少なくとも三つ以上の異なる都道府県から分離された同一PFGEパターンが37種類あった¹⁾。しかし今回検出されたO157のPFGEパターンと同一のものは他県では検出されておらず、このことから今回検出されたEHEC O157は全国的に広範囲にわたって流行しているEHEC O157タイプではないと考えられる。

EHEC感染症の臨床症状には激しい血性下痢を伴う重症のものから、軟便または無症状のままに終わるものまで種々にわたる。血便や溶血性尿毒症性症候群(hemolytic uremic syndrome: HUS)を続発する重症例の頻度をみると、血清型O157が検出された例ではその約50%に血便が認められ、3~5%でHUSを続発している。HUSを続発した例は5歳以下の小児に多い⁴⁾。今回の事例では、菌陽性者18名のうち有症状者は7名であったがいずれも軽い下痢や血便がみられていたが、重症化したものは

いなかった。

今回の事例では保育園内での園児から園児へのヒトヒト感染、さらには感染者家族内でのヒトヒト感染により感染が拡大していったと考えられる。小児にはHUS発症のリスクが高いこともあり、保育所等の施設においては集団発生の予防として、普段からの手洗い指導、夏季のプールなどの衛生管理や体調管理等に注意することが必要である。

【まとめ】

8月10日に鹿嶋市でEHEC O157の感染患者が確定された。患者が保育園児であったことから同園児、職員及び園児の家族などを対象に接触者検便を行ったところ、園児12名と接触者5名が菌陽性となった。

初発の患者とあわせて菌陽性者18名からの検出菌はいずれも血清型O157:H7のEHECであった。衛生研究所にてVT産生試験及びVT遺伝子の検出を行ったところ、VT2産生及びVT2遺伝子を検出した。

検出菌株について分子疫学解析(PFGE)を行ったところ、これらの菌は同一由来の菌株であることが示唆された。

【参考文献】

- 1) 病原微生物検出情報 月報 Vol.29 :
117-120,2008.5
- 2) 地方衛生研究所全国協議会・国立感染症研究所 病原体検査マニュアル 腸管出血性大腸菌検査マニュアル
- 3) 微生物検査必携 細菌・真菌検査 第3版:
D-30-42
- 4) 甲斐明美:臨床と微生物 Vol.35 : 233-234,
2008.5

茨城県におけるブタインフルエンザウイルスの分子進化学的調査（第二報）
Investigation of influenza viruses in swine population in Ibaraki Prefecture (second report)

遺伝子科学部 山崎良直

1.はじめに

インフルエンザウイルスはヒトを含むほ乳類、鳥類など多種の動物を宿主とし、その宿主域は幅広い（1,2）。本ウイルスはオルソミクソウイルス科に属し、PB1, PB2, PA, NP, M, NS、赤血球凝集素（HA）、ノイラミニダーゼ（NA）の計9種類の遺伝子をコードしている（1,2）。この中で本ウイルスの抗原性を決定するにあたり古くから重要視されてきたのがHA、NAの二種類の外部性タンパク質である。これらの抗原性を元にしたウイルスの型別試験は最も普遍的に行われており（HI test, NI test），オーソドックスな方法である（3）。HAは16の亜型が、NAは9の亜型が存在しており、理論上は両者の組み合わせにより膨大な数の抗原亜型が誕生することになる。

これらの蛋白、特にHAに関しては頻繁に抗原変異が観察される（いわゆる小変異）。この現象が毎年といつてよいほど人間界において本ウイルスの流行が見られる原因の一つとなっている。ここでいう抗原変異とは遺伝情報の翻訳時に発生するエラー（塩基の置換・消失・挿入等）が原因となっており、様々な抗原性を持つウイルス粒子が作られる。そして生体側の免疫機構に感知されない構造をもつものが次第に集団の中で病原性を發揮し、流行に発展していくものと考えられている。ここで観察される遺伝情報の翻訳・複製時のエラーは（分子の）進化速度という物差しで表現することが出来る。一例として、インフルエンザウイルス HA 分子の進化速度は1塩基あたり 10^{-2} の頻度で起きると言われるが、人間の一般的な構成分子のそれはおよそ 10^{-9} であるという。その差はおよそ1億倍となり、1億年の人間の進化が本ウイルスの1年の進化に相当すると言われている。また前述のように本ウイルスは遺伝情報として8種類の遺伝子を保有しているが、亜型の異なる複数のウイルスが同時に宿主細胞へ感染すると8種類のうちいくつかが入れ替わって新たなウイルス粒子として形成される現象も観察され、これを大変異（Genetic shift）と呼ぶ。

本ウイルスによる人類が体験した3回の大流行（Pandemic）はそれぞれスペイン風邪、アジア風邪、そして香港風邪と呼ばれている。また近年起こった事例としては、1997年に香港で発生したH5N1型ウイルスの人間への感染（4），また2003年から散発的な発生をみているベトナム等における同亜型ウイルスの感染がある。

人間界におけるこれら複数回にわたる流行の源となっているのは動物の世界からもたらされたものである事が明らかになっている。中でもブタが果たした役割はとりわけ大きく、1918年のスペイン風邪はブタの疾病であった本ウイルスが人間の中に突然入ってきたものであり（1,5），1968年の香港風邪ではヒトに感受性のあるウイルスとトリ原発のウイルスの遺伝子が交雑した結果出来たものである（遺伝子再集合）という考えが提唱されている（6）。また、香港風邪が流行している間にもヒトのそれと同じ抗原性を持つブタ由来ウイルスが分離された例も存在し（7）、この遺伝子再集合の舞台となったのがブタの体内であるとされる。また、これに関連してブタの体内において両者由来のウイルスが再集合を起こす可能性を示唆する報告もある（8,9）。その他、ブタの気管内細胞はヒト型およびトリ型ウイルスのいずれもが吸着可能であるという科学的根拠が存在する（13）。また最初に本亜型ウイルスの発生が確認された中国南西部ではヒト、ブタ、そしてトリの三者が物理的に極めて近い距離を保ちつつ生活を営んでいるという事実があり、このことが新型ウイルスの出現に関わっているのでは無いとも言われ（10）、常に本ウイルス研究者の注目を集めている地域でもある。

ブタにおけるインフルエンザウイルスの検出は、アメリカにおけるH1N1型ウイルスの分離報告（11）が最初である。現在日本のブタにおいては主にH1N1、H3N2、そして少数例ではあるがH1N2（12,13）の分布がある。遺伝子解析の結果からは各々の構成遺伝子がヒトおよびブタ型であるとの結果が得られており、未だ日本においてはトリウイルスの遺伝子がウイルス粒子形成に関わっている証拠は得られていない。ヨーロッパ大陸でも同様にH1N1、H3N2、そしてH1N2型ウイルスが確認されているが日本のそれとは少々異なっており、構成遺伝子の一部がトリウイルス由来である（14,15,16）。また、これらの地域では現在でも活発な進化が続いているとされる（17）。これらのことからヨーロッパ大陸においてはトリ↔ブタ間ににおける活発な遺伝子交雫が起こっていることが示唆され、ヒト型ウイルスの関与もある。これらのことから、現在インフルエンザウイルスの世界において世界各地で極めて活発な交流が続いていることが解り、日本においても近い将来これらの現象が起こることは十分に考えられる。先日、日本の養鶏場で発生した高度病原性トリインフルエンザウイルスの例を見ても長い間日本に存在しなかった亜型のウイルスがいつ入って來もおかしくは無いからである。よってブタにおける本ウイルスの動向を調査することによりヒトの世界にどのようなタイプのウイルスが侵入してくるかを察知出来ることが期待でき、この観点において極めて有効であると考えられる。

2. 対象及び方法

1) 検体採取期間

調査期間は平成 18 年 4 月から 19 年 3 月とした。

2) 採取検体および採取方法

県内のと畜場にてと殺された豚の鼻腔より滅菌綿棒を用いて内腔を擦過し、これを滅菌済み Minimum essential medium (MEM) 入りの試験管に採取し、後述する細胞への接種まで 4°C、もしくは -80°C に保存した。また、と殺直後のと体より血液を採取し、血清として -20°C に試験実施まで保存した。

3) 使用細胞

検体の培養については、Matin-Derby-Canine-Kidney (MDCK) 細胞を用いて行った。MDCK 細胞は MEM に 10% 牛胎児血清、2mM L-グルタミン、そして抗生物質を加えたものを培養液として使用した。

4) 検体処理方法

ウイルス培養用の培地として、MEM に 2mM L-グルタミン、10mM HEPES、1% BSA、 $10\mu\text{g}/\text{ml}$ トリプシン、そして抗生物質を加えたもの (Growth medium; GM) を使用した。単層培養した MDCK 細胞に検体を接種し、前述した培地を加えて 5% CO₂ 下で培養すると共に、数日間顕微鏡観察を行い、細胞変性効果の有無を観察した。

5) 血清の処理方法

血清は以下の様に処理した。血清 $100\mu\text{l}$ を $300\mu\text{l}$ の Receptor destroying enzyme (RDE) と混合し、37°C、18 時間放置した後 56°C、30 分間加熱し、これに $600\mu\text{l}$ の GM を加えた。

6) 赤血球凝集抑制(HI)試験

5) で調製した血清を用い、HI 試験を実施した。ウイルス抗原として A/Solomon Island/3/2006 (H1N1)、A/Hiroshima/52/2005 (H3N2) (デシカ生研製不活化抗原) を、また血球は 0.5% ニワトリ血球を用いた。

3. 結果

1) ウイルス分離

平成 18 年 4 月から 19 年 3 月の間に、計 300 検体の豚鼻腔拭い液を採取し、MDCK 細胞に接種し細胞変性効果を観察した。全ての検体において細胞変性効果は認められなかった。

2) HI 試験

HI 試験の結果を表に示す。H1N1 亜型、H3N2 亜型ウイルスに対する陽性率はそれぞれ 22.5%、18.0% となり、比較的高い陽性率が観察された。

4. 考察

インフルエンザはほぼ毎年といって良いほど流行が見られるが、これには様々な要因が絡んでいると思われる。宿主側の集団としての免疫状態が大きな要因の一つ、またウイルス側の要因として考えられるのはウイルスの生態系等の変化が考えられる。両者は共に人間の行動により影響を受けるものであり、これからも注意を払って行かなくてはならないだろう。ブタ生体を日常的に扱うと畜場由来検体を用いたウイルス分離は前年に引き続き陰性であった。このことは分離方法の改変や検体を増やす等の改変が必要なことを示唆すると同時に、やはり安全な家畜が食用に供されているということが改めて実証できたと考えることも出来る。血清疫学的調査においては、過去行われた調査 (18) の結果を上回る数値となっているが、人間におけるブタウイルスの侵入度合いを表すものとしてはそれほど驚くべきものではないと考えられる。今回の試験に用いた血球がニワトリであるということ、またブタの血清は元来非常に非特異的反応を示す傾向があるので、「嵩上げされた」結果である可能性をもることを念頭に入れておく必要がある。今回は都合上 RDE 処理を以て非特異反応因子を除去したとしているが、過ヨード酸カリウムを用いた方法(19) 等により、更に除去を確実にしていくことが肝要になってくるだろう。

今後調査を進めるにあたり検体数を増やしていくこと、試験方法に関して他の方法も取り入れるなどの改変が求められていくことになると思われる所以、より精度の高い結果を目指し調査を行っていきたい。

5. 参考文献

1. Horimoto, T. et.al. 2001. Clin.Microbiol.Rev. 14: 129-149
2. Webster, RG. et.al. 1992. Microbiol. Rev. 56: 152-179
3. Kendal, AP. et.al. 1982. Concepts and Procedures for Laboratory - based influenza Surveillance. Atlanta, GA: US. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention,
4. Subbarao, K. et.al. 1998. Science. 279: 393-395
5. Reid, AH. et.al. 1999. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 96: 1651-1656
6. Kawaoka, Y. et.al. 1989. J.Virol. 63: 4603-4608
7. Kundin, WD. 1970. Nature. 228: 857
8. Nerome, K. et al. 1995. J.Gen.Viro. 76: 613-624
9. Kida, H. et.al. 1994. J.Gen.Viro. 75: 2183-2188
10. Shortridge, KF. Et.al. 1982. Lancet ii: 812-813
11. Shope, RE. 1931. J.Exp.med. 54: 373-385
12. Ouchi, A. et.al. 1996. J.Gen.Viro. 77: 1751-1759
13. Ito, T. et.al. 1998. Arch. Virol. 143: 1773-1782
14. Shu, LL. et.al. 1994. Virology. 202: 825-833
15. Castrucci, MR. et.al. 1993. Virology. 193: 503-506
16. Campitelli, L. et.al. 1997. Virology. 232: 310-318
17. Marozin, S. et.al. 2002. J.Gen.Viro. 83: 735-745
18. 国立感染症研究所 感染症情報センター 平成 16 年度（2004 年）感染症流行予測調査報告書 pp48-92
19. Jensen, KE. 1961. Am Rev Respir Res. 83: 120-124

表. 赤血球凝集抑制(HI)試験の結果

HI titer	Number of specimens (%)/Viral antigens	
	A/S-I/3/2006 (H1N1)	A/Hiroshima/52/2005 (H3N2)
<10	41 (20.5)	50 (25.0)
10	65 (32.5)	68 (34.0)
20	49 (24.5)	46 (23.0)
40	25 (12.5)	23 (11.5)
80	17 (8.5)	11 (5.5)
160	3 (1.5)	2 (1.0)
陽性率(%)	22.5	18.0

ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体（GMO）検知法の検討

— 納豆からの GMO 検知方法の検討について —

山本和則、山本浩嗣、白田忠雄、柳岡知子、村上りつ子

茨城県衛生研究所

はじめに

前報¹⁾で大豆加工食品の大豆煮豆、豆腐、油揚げ、生揚げ、高野豆腐、おから、ゆば、豆乳、納豆、みそについて通知法に基づき DNA の抽出、定性 PCR を行った。

その結果は、大豆煮豆、豆腐、油揚げ、生揚げ、高野豆腐、おから、ゆば、豆乳、みその大豆加工食品 9 品目については、通知法にあるキアゲン社製シリカゲル膜タイプキット（DNeasy Plant Maxi Kit）またはイオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN Genomic-tip 20/G）により精製した DNA を用いて定性 PCR を行なうとき、いずれの抽出でも定性 PCR 反応には十分適用可能な抽出 DNA を得ることができた。 納豆については検査不能であったため、さらに 3 種の納豆製品を用いて DNA 抽出を行ったが、すべての結果で、260 nm/230 nm 比の値が低く、夾雜物の除去が不十分であることが示唆された。内在性遺伝子の增幅断片が得られた場合であっても、非常に增幅効率が悪く、検査精度としては不適切であり、通知法以外の方法による DNA 抽出を行う必要があった。

そこで本年度、東京農林水産消費技術センターの田窪らの報告²⁾を参考にし、ゲル電気泳動法により DNA を回収して定性 PCR を 2 回行うことにより、納豆からの大豆内在性遺伝子および GMO 遺伝子の検知が可能であるか検討を行うとともに、その抽出 DNA を使用した定量試験の可能性についても検討した。

対象及び方法

1. 対象

実験に用いた納豆は、茨城県内の小売店にて購入した。

2. 試薬等

ゲル電気泳動法による DNA の抽出のために、DNA 回収キットは、TaKaRa RECOCHIP、アガロースは、TaKaRa Agarose LO3 を使用した。

DNA 塩基配列測定のために Applied Biosystems 社製 BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit を使用した。 また、ダイズ内在性遺伝子 Le1-n02 および GMO ダイズ系

列別 RRS-01 の 3'側または 5'側プライマーは(株)ファスマックに合成を依頼した。

定量試験のために Roche 社製 Light Cycler FastStart DNA Master Hybridization Probes と(株)ファスマック社製ダイズ内在性 DNA Le1-02 オリゴスクレオチド、GM ダイズ系統別 DNA RRS-01 オリゴスクレオチド、ダイズ内在性 DNA Le1-02 プローブ、GM ダイズ系統別 DNA RRS-01 プローブ、GM ダイズ(RRS)プラスミドセット colE1/TE を使用した。あとの試薬は前報¹⁾と同じである。

3. 装置

前報¹⁾で使用した装置のほか以下のものを使用した。

シークエンサ：3100 Genetic Analyzer

定量 PCR:Roche LightCycler System

4. 納豆からの DNA 抽出

4.1 試料の粉碎

流水で 15 分間洗浄後、滅菌水で洗浄、水切りし、試料重量と等量の滅菌水を加えて粉碎し均質にした。

4.2 ゲル電気泳動を利用した DNA 抽出方法

4.1 で調製した均質化試料を 1.5ml 容エッペンドルフチューブに取り、1,2000rpm,30 分間遠心後、上清を以降の操作に使用した。

上清を 20μl 量り、ゲルローディングバッファー 4μl を加えて混合し 1.5% アガロースゲル(TaKaRa Agarose LO3)に付加し、1×TAE 緩衝液中で 100V 定電圧電気泳動を行った。DNA の回収は、RECOCHIP を用いて 100pb から 3kpb の断片を回収した。すなわち、100V の定電圧で 10 分間電気泳動を行い、プロムフェノールブルー先端位置に不織布プレート(RECOCHIP)をさし、再び 40 分間電気泳動を行った。電気泳動終了後不織布プレートを抜き、専用 2ml チューブに入れた。4,600rpm,2 分間遠心後、プレートを捨て、沈殿した溶液の液量に対して、10 分の 1 量の 3mol/L 酢酸ナトリウムおよび 3 倍量のエタノールを加え、混合した後、−45℃で 1 時間放置し、遠心(1,2000rpm,30 分間,4℃)後、上清を捨てた。洗浄のため 500μl のエタノールを加え、転倒混和し、遠心(1,2000rpm,30 分間,4℃)後、上清を捨て、遠心チューブの蓋を開けたままクリーンベンチ内で風乾した。沈殿を 5μl の TE 緩衝液に溶解し、抽出 DNA 溶液とした。

5. PCR

5.1 定性 PCR

PCR 反応液は、上記抽出 DNA 溶液を 2.5 μL 加えて全量を 25 μL になるようにした。同反応液には、1×PCR 緩衝液、0.20 mmol/L dNTP、3mmol/L 塩化マグネシウム、0.20 μmol/L

プライマー及び 0.625 units DNA ポリメラーゼを含有するように調製した。

PCR 反応は、95°C に 10 分間保持後、95°C 30 秒間、60°C 30 秒間、72°C 30 秒間を 1 サイクルとして 40 サイクルの増幅反応をサーマルサイクラーで行った。

反応後、PCR 反応液 5 μL とローディング緩衝液 1 μL とを混合した混合液を 2.0% アガロースゲル X 付加し、1×TAE 緩衝液中 100 V 定電圧で電気泳動を行った。

泳動後、UV 照射下で断片の有無を確認し、画像解析装置で写真撮影した。

5.2 定量 PCR

PCR 用反応液 20 μl/キャピラリーの組成は以下のとおりである。

Light Cycler FastStart DNA Master Hybridization Probes 2 μl、対象プライマー対溶液(各プライマー 25 μ mol/L) 0.4 μl、対象プローブ(10 μ mol/L) 0.4 μl、超純水 9.8 μl、MgCl₂ 溶液(25mM) 2.4 μl、DNA 抽出溶液 5 μl(50ng)、または検量線用標準プラスミド DNA 溶液 5 μl、あるいは 5ng ColE1/TE 溶液 5 μl である。1DNA 試料液に対して 2 キャピラリーを並行して行った。キャピラリーをカローセルに装填し、専用のカローセル遠心機で遠心後、装置本体にセットした。PCR 反応条件は、95°C、10 分間の条件で加温したホットスタート法により反応を開始した後、95°C 15 秒、59°C 30 秒(1°C/秒)を 1 サイクルとして、50 サイクルの増幅反応を行い、増幅反応終了後、40°C 30 秒の条件で保った。検量線の作成は通知法³⁾に準じて行った。

6. 塩基配列測定

定性 PCR 反応液を定電圧電気泳動にかけた後、目的のバンドを切り出し、GFX PCR and Gel Band Purification Kit(GE Healthcare)で精製後 DNA 量を 50ng/μl に調製した。

塩基配列測定用 PCR 反応液 20 μl の組成は以下のとおりである。(BigDye Terminator V3.1 Cycle Sequencing Kit) Ready Reaction Mix 2 μl、5×Sequencing Buffer 3 μl、Primer(20 μ M) 1.6 μl、PCR Product(50ng/μl) 1 μl、超純水 12.4 μl である。PCR 反応条件は、96°C、90 秒間の条件で加温したホットスタート法により反応を開始した後、96°C 10 秒、60°C 4 分間を 1 サイクルとして、25 サイクルの増幅反応を行った。未反応蛍光物質を Centri-Sep スピンカラムで排除後、全量 22 μl と超純水 50 μl を MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate に入れ、3100 Genetic Analyzer で 5'側または 3'側からの塩基配列を読み取った。

結果および考察

1. ゲル電気泳動を利用した DNA 抽出

図 1 に示したように、納豆の DNA 回収前の電気泳動写真では、300bp~100bp 付近が不鮮明となっており、この付近に分解されたダイズゲノム DNA が多く存在すると考えられた。そこで、アガロースゲルから 100bp~3kb の間の DNA を回収し、DNA 抽出液とした。すなわち、ゲル電気泳動 10 分間後プロームフェノールブルー 先端に DNA 回収キットであ

る RECOCHIP を突き刺し、再度 40 分間電気泳動を行い、DNA を回収した。

電気泳動 10 分後の UV 撮影図では DNA バンドが回収キット前に留まっているが、40 分間電気泳動後では資料の DNA バンドは消失、マーカーも回収キットを通り越しており DNA が RECOCHIP に回収されているのが分かった。(図 2)

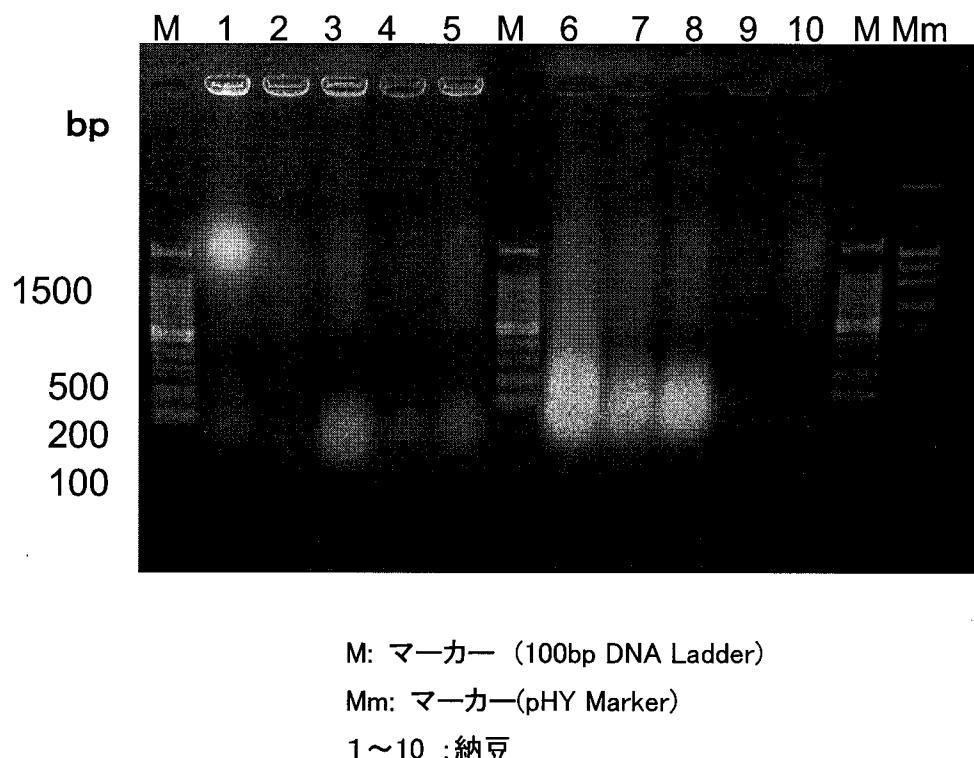


図 1 納豆粉碎試料上清の DNA 電気泳動

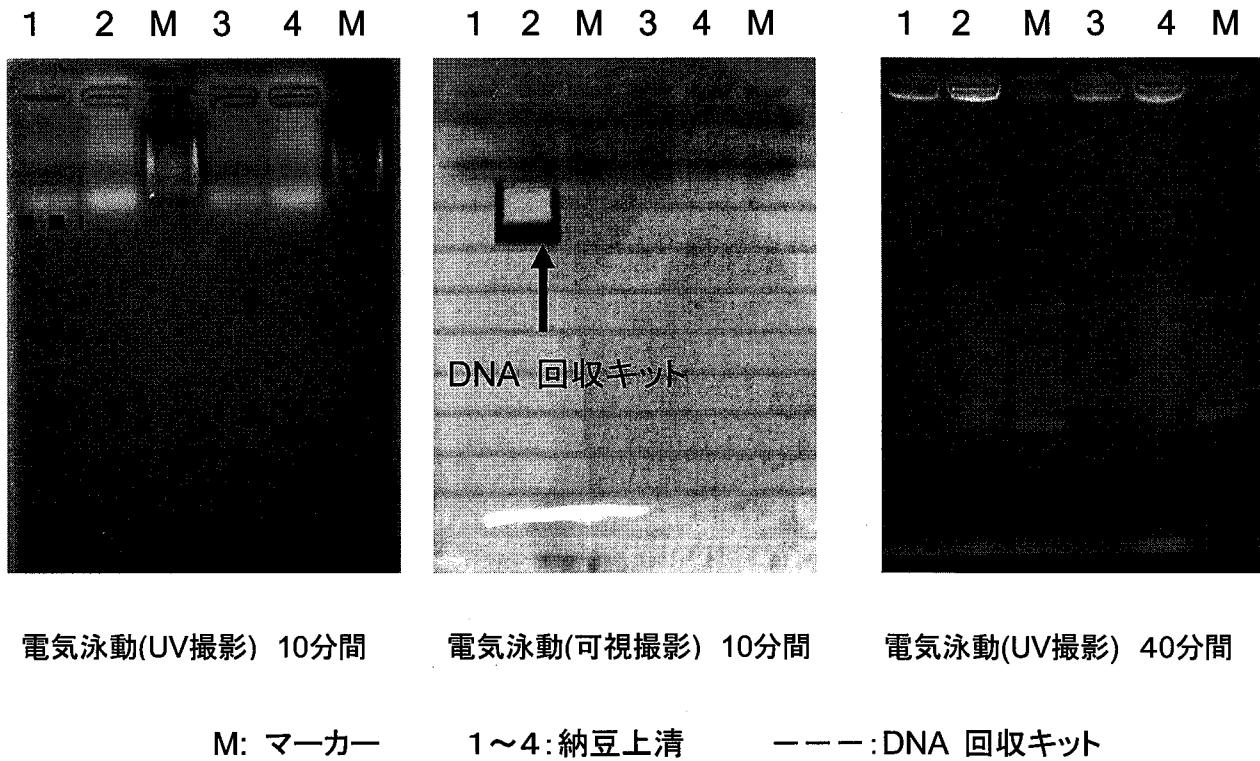
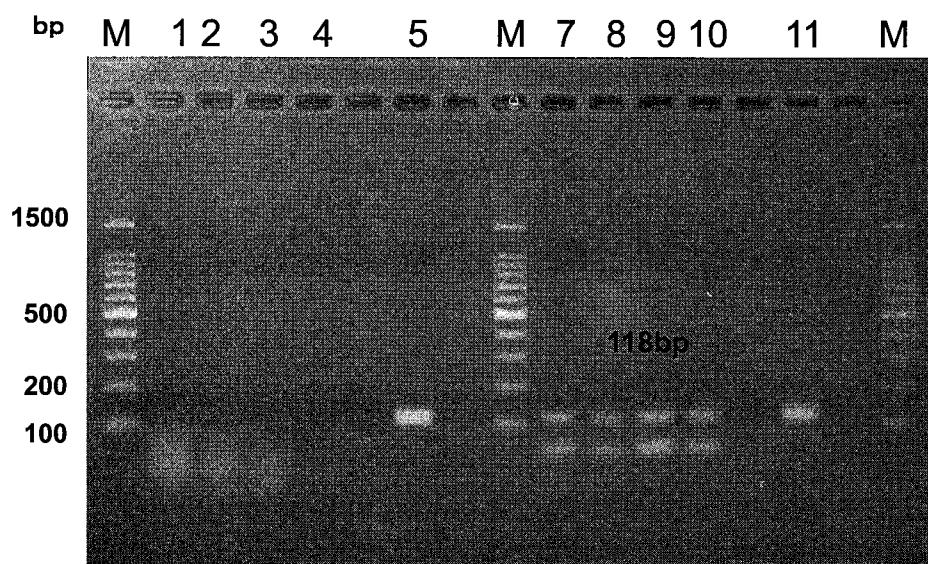


図2 納豆からのDNA抽出(電気泳動法)

2. 定性PCR結果

このDNA抽出液を用いた大豆内在性遺伝子およびGMO遺伝子を検知できることを確かめるため定性PCRを行った。図3および図4に示したように、1回目の定性PCR後、それぞれ予想される位置に薄いバンドが見られた。このPCR反応液を錆型DNAとし、2回目のPCRを行った結果それぞれの予想される位置にバンドが見られた。



M: マーカー
1~4:PCR 1回目
5, 11:陽性コントロール
7~10:PCR 2回目(1~4)

図3 納豆の定性PCR(大豆内在性遺伝子)

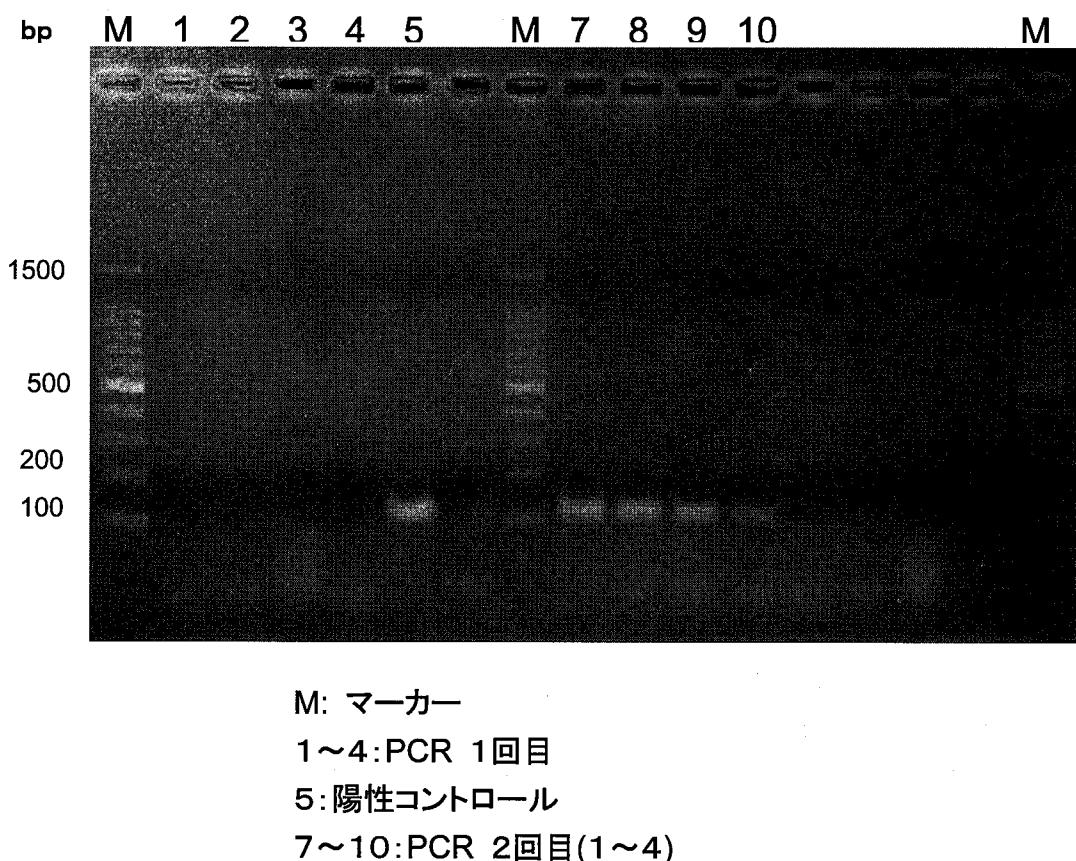


図4 納豆の定性PCR(GMO遺伝子)

3. 目的バンドの塩基配列と相同性検索

このバンドが目的の増幅産物か確認するため、バンド DNA を精製後、5'側および3'側からシークエンサにより塩基配列を読み取り A T G C で比較し全塩基配列を決定した。

得られた塩基配列を DNA Data Bank of Japan の相同性検索 F A S T A により相同性塩基配列を持つものを抽出し目的の遺伝子増幅によるバンドであるかどうかを確認した。

大豆内在性遺伝子検知 PCR から得られたバンドは 1 1 8 塩基対で、図 5 に示したように、大豆レクチン遺伝子の 1 2 1 5 から 1 3 3 2 の塩基と 100% 相同性があり、目的のバンドであることが確認できた。

同様に GMO 遺伝子 PCR から得られたバンドは 1 2 1 塩基対で、ラウンドアップ・レディー挿入遺伝子の 1 8 2 から 3 0 2 の塩基と 100% 相同性があり、目的のバンドであることが確認できた。(図 6)

110 100 90
 5' - GCCCTCTACTCCACCCCCATCCACATTTGG
 : : : : : : : :
 K00821 GGCACCCCAAAACCTCGTCTTGGTCGCGCCCTACTCCACCCCCATCCACATTTGG
 1190 1200 1210 1220 1230 1240
 : : : : : :
 80 70 60 50 40 30
 - GACAAAGAAACCGGTAGCGTTGCCAGCTTCGCCGCTTCCTCAACTTCACCTTCTATGCC
 : : : : : :
 K00821 GACAAAGAAACCGGTAGCGTTGCCAGCTTCGCCGCTTCCTCAACTTCACCTTCTATGCC
 1250 1260 1270 1280 1290 1300
 : : : : : :
 20 10
 - CCTGACACAAAAAGGCTTGAGATGGGC-3'
 : : : : : :
 K00821 CCTGACACAAAAAGGCTTGAGATGGGCTTGCACCAATTGACACTAAG
 1310 1320 1330 1340 1350 1360

斜体太文字：118 bp バンドの塩基配列

K00821：大豆レクチン遺伝子の塩基配列

アンダーバー：プライマー部分

図5 PCR推定バンドの塩基配列と相同性検索結果(内在性遺伝子)

10 20 30

5' -CCTTTAGGATTCAGCATCAGTGGCTACAG

:::.....:::.....:::.....:::

BD0155 AAGATTCAATTATGCAAAAGTTTGTCCTTAGGATTCAGCATCAGTGGCTACAG

160 170 180 190 200 210

40 50 60 70 80 90

CCTGCATGCTTACGGTGCAAGCAGCCGGCCCGCAACCGCCCCGCAAATCCTCTGGCCTT

:::.....:::.....:::.....:::

BD0155 CCTGCATGCTTACGGTGCAAGCAGCCGGCCCGCAACCGCCCCGCAAATCCTCTGGCCTT

220 230 240 250 260 270

100 110 120

CCGGAACCGTCCGCATTCCCGGCGACAAGTC-3'

:::.....:::.....:::

BD0155 CCGGAACCGTCCGCATTCCCGGCGACAAGTCGATCTCCACCGGTCTTCATGTTGGCG

280 290 300 310 320 330

斜体太文字：121bpバンドの塩基配列

BD0155：ラウンドアップ・レディー挿入遺伝子の塩基配列

アンダーバー：プライマー部分

図6 PCR 推定バンドの塩基配列と相同性検索結果 (Roundup Ready Soybean 遺伝子)

4. 定量PCR

電気泳動法により得られたDNA抽出液は定性PCRに用いることが可能であったので、定量PCRにも用いることができるか検討した。

Roche LightCycler Systemによる定量PCRで測定された納豆DNA抽出液中の内在性遺伝子(Lectin)のコピー数は190~19,000とばらつきが見られた。検量線用標準プラスミドのコピー数が40~500,000であることから、遺伝子組換え大豆の定量限界を0.1%とすると内在性遺伝子のコピー数は40,000以上必要であり、コピー数が不足していた。

これは、納豆粉碎試料上清のDNA電気泳動図(図1)からも分かるように加工食品中には裁断された100bp未満のDNAが多数存在し、内在性遺伝子の增幅配列が118bpを検出できないことが通知法による定量³⁾を困難にしていると思われる。

また、通知法³⁾の定量検査に採用されている TaqMan プローブ法が増幅領域を決定する 2 本のプライマーと増幅配列中に相補鎖を形成するように設計された蛍光オリゴヌクレオチドプローブを使用するため、プライマーとプローブは 20bp 前後の長さを持つオリゴヌクレオチドとして設計されるので、必然的に増幅産物は 60bp 以上の鎖長を持つことによる。このことから、適切な領域内で 100bp 未満の増幅産物が得られるようプライマーおよびプローブを設計することは TaqMan プローブ法では困難である。

事実、70bp 程度の増幅産物が得られるようにプライマー対を設計し、インターラーカー法を用いた定量試験を行った宮崎らの報告⁴⁾では、納豆の内在性遺伝子のコピー数が通知法の 20 倍程高く、定量検査に適用できる可能性を指摘している。

対照として行った通知法による DNA 抽出法により精製された豆腐 DNA 抽出液については、内在性遺伝子のコピー数が、67,000～100,000 であり、リアルタイム PCR による定量が可能であることが分かった。このことから、前報¹⁾で通知法³⁾にあるキアゲン社製シリカゲル膜タイプキット (DNeasy Plant Maxi Kit) またはイオン交換樹脂タイプキット (QIAGEN Genomic-tip 20/G) により精製した大豆煮豆、豆腐、油揚げ、生揚げ、高野豆腐、おから、ゆば、豆乳、みその大豆加工食品 9 品目の DNA については、定量 PCR にも使用できる可能性が示唆された。

表 1 Roche LightCycler System による定量 PCR で求めた内在性遺伝子のコピー数

品目	内在性遺伝子(Lectin)コピー数
納豆 A	19,000
納豆 B	190
納豆 C	3,000
納豆 D	2,400
豆腐 A	67,000
豆腐 B	99,000
豆腐 C	100,000
豆腐 D	100,000
豆腐 E	88,000

まとめ

納豆は、蒸煮という高温加圧工程を経て、さらに発酵行っており、300bp～100bp 付近に分解されたダイズゲノム DNA が多く存在すると考えられた。この DNA を回収し、2 回

定性 PCR を行うと大豆内在性遺伝子および GMO 遺伝子のそれぞれの予想される位置にバンドが見られた。また、このバンドが目的の増幅産物であることが塩基配列相同性により確認された。これらのことからゲル電気泳動を利用する方法は精製度の高く簡便な DNA 抽出法であることが示唆された。しかし、定量 PCR を行うには内在性遺伝子のコピー数が不足しており更なる DNA 抽出法と定量 PCR 法の改良が必要である。

参考文献

- 1) 中村美樹、山本浩嗣、白田忠雄、柳岡知子、村上りつ子：茨城県衛生研究所年報 **45**, 33-38 (2007)
- 2) 田窪健、高嶋康晴、法邑雄司、大西貢一、森田正晶：東京農林水産消費センター調査研究報告, **25**, 19-30 (2001)
- 3) 平成 13 年 3 月 27 日付厚生労働省医薬局食品保健部長通知食発第 110 号「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」(2001)
- 4) 宮崎仁志、田村征男：名古屋市衛研報 **53**, 11-16(2007)

第4章 学会発表要旨・抄録

茨城県内のヒトにおける H5N2 亜型鳥インフルエンザに対する抗体検査について

○ 遺伝子科学部 山崎 良直

【背景と目的】

平成 17 年 6 月に水海道市（現常総市）の養鶏場で H5N2 亜型インフルエンザウイルスが発生したが、この際防疫作業に従事した作業員等の健康被害が懸念されている。作業従事者の健康状態の把握のため、被験者の血清を用いて実施された抗インフルエンザウイルス中和抗体（H5N2 亜型）の検査結果からは複数の陽性例が存在することが示唆され、一般的にはヒトへ感染しないと考えられてきた H5N2 亜型インフルエンザウイルスにヒトが罹患した証拠であるとの見解がなされ、注目を集めることとなった。これを受け、茨城県では県内における同ウイルスに対する抗体保有の状況を調査することとなり、このたび検査が終了したのでその概要について報告する。

【材料および方法】

血清については、県内の住民 114 人（男性 60 人、女性 54 人）を茨城県内在住の住民から選抜し、サンプルの提供を受けた。また、県外の住民 100 人（国立感染症研究所；以下感染研 血清銀行から分与、男性、女性共に 50 人ずつ）を全国の平均的なサンプルとして試験に供した。また、鳥インフルエンザウイルスが未検出、もしくは抗体産生鶏が未発生の農場等由来の養鶏従事者の中から県内全域を対象として男性 37 名、女性 15 名を選抜し、サンプルの提供を受けた。次いで 96 穴マイクロプレート上に調製した MDCK 細胞に検体血清と一定感染量に調製した攻撃用ウイルス（A/chicken/Ibaraki/1/2005; H5N2 亜型）を等量混合したものを接種し、細胞変性効果を指標とした中和試験を実施した。なお、検体血清は予め Receptor Destroying Enzyme (RDE) を用いて非特異的凝集物質を除き、試験に供した。

【結果】

中和抗体価は 50% 感染を阻止した検体血清の希釈倍数をもって表した。なお、全ての検体について複

数回測定を実施し、その中で最も高い数値を示したものの中和抗体価として記載した。県内住民由来サンプルを用いた中和抗体価の測定結果について：茨城県由来の検体においては中和抗体価が 40 倍以上を示したものが 114 件中 13 件（11.4%）存在したが、感染研由来の検体におけるそれは 100 件中 4 件（4.0%）であった。また、80 倍と 160 倍の中和抗体価を示した検体は全て男性由来の検体であったが、性別や年齢と抗体価の間には明らかな関連性は見られなかった。未発生農場由来サンプルを用いた中和抗体価の測定結果について：鳥インフルエンザウイルス未発生農場等由来の検体においては中和抗体価が 40 倍以上を示したものが 52 件中 8 件（15.4%）存在し、県内の一般住民を対象とした調査における数値（114 件中 13 件：11.4%）を僅かではあるが上回った。また、80 倍と 160 倍の中和抗体価を示した検体は男女 3 件ずつであったが、性別や年齢と抗体価の間には明らかな関連性は見られなかった。

【考察】

過去、ヒトにおいて H5N2 亜型インフルエンザウイルスに関してはヒトにおける感染が確認されたことはない。よって今回の事例は世界初のヒトへの同ウイルスの感染を示唆するものとして注目された。WHO によるガイドラインでは H5N1 型ウイルスへの感染（=陽性例）の証左の一つとして中和抗体価が 80 倍以上であることを挙げており、この解釈を考慮すると、今回の例も「感染」に該当するケースが在るかもしれない（ウイルスの亜型が完全に一致しないので適用は難しいかもしれない）。今回の試験においては茨城県の健常者と全国の健常者、また茨城県内の健常者と未発生農場従事者との抗体価の比較においては計算上差を認めた。この結果だけを見ると、全国の平均よりも茨城の住民の方が、またまったく家禽との接触がない人よりも未発生農場関係者

(=家禽と接触の機会が少なくとも一般人よりは多いとされる人々)の方が抗体価が高いということを示唆するものとなるかも知れない。通常、インフルエンザウイルスの宿主となるトリや他の動物に接触した人々の同ウイルスに対するリスクは詳細な研究によれば全く接觸のない人々に比べれば高くなる傾向にあるようであるが、これは恒常的にウイルス抗原の暴露を受けた者に見られる現象であると考えられる。また、過去に感染が確認されている亜型であることもこの現象を生じさせる一因となっているかも知れない。更に他の試験結果(HI試験)からは中和試験において高い抗体価を示した検体をみると同様の傾向とは言いがたく(未発表データ)、ある程度のずれを含むと考えられる。また、抗体価を上昇させる要因として、外的要因も考慮に入れる必要がある。端的には血清中に残留した物質等が抗体価に影響を与えることが考えられる。

陽性例者の中にタミフル(オセルタミビル製剤)を服用していた者が多いためから、その可能性は決して無いとは言えない。ボランティアにタミフルを服用してもらい経時に血液を採取して抗体価をチェックすると、試験の方法によっては抗体価に差が生じることも解った(データ未掲載)。このことから、特定の成分が実験的には抗体価に影響を与える可能性が示唆されるものの、今回の抗体価上昇という事象を説明するには証拠が不十分な点が多く、今後の課題の一つとなるだろう。

現在、H5N2亜型のトリインフルエンザウイルスの茨城県における発生は無くなつたが、将来同じ様なパターンで発生が見られた際にはより迅速、かつ的確な対応が急務であり、そのためには更なる知見の蓄積が必要であると考える次第である。

地方衛生研究所全国協議会 第22回関東甲信静支部ウイルス研究部会研究会(水戸市)

残留農薬試験検査における収去検体の取扱いについて

茨城県衛生研究所 ○柳岡知子 久保田京子 山本浩嗣
白田忠雄 山本和則 村上りつ子

1 はじめに

18年5月に農薬等のポジティブリスト制度が施行され、規制対象農薬および対象食品が大きく拡大され、また、「一律基準値」が設定されたことから、原則、全ての農産物に対して全ての農薬の残留が規制されることになった。このため、当研究所でも、検査対象農薬の拡大と低濃度までの分析を図り、質量分析を採用した試験法への変更とそれに伴う分析法バリデーションを進め、18年度は農薬100項目を検査し、19年度も対象農薬の拡大をすべく検討作業を続けている。

農薬の残留基準値は食品の種類により大きく異なるため、異種作物を栽培する隣接圃場からの農薬の飛散によって基準値を超過する恐れがあり、生産者サイドでは飛散防止対策を広く呼びかけている。また、生産時に限らず流通段階以降においても、農産物間の接触により他方に農薬が付着する（以下「移染」という）可能性があり、取扱いには十分な配慮が必要と考えられる。そこで、収去検体である農産物の取扱いについての注意喚起を目的とし、農薬の移染等についての実験を行ったので、その結果を報告する。

2 調査方法

(1) 材料

- 1) 農薬 クロチアニジン（ネオニコチノイド系殺虫剤）0.008%含有液剤
- 2) 農産物 スーパーで購入し、事前に、実験対象農薬が残留基準値未満であることを確認したピーマンおよびアスパラガス（クロチアニジン濃度：ピーマン - 0.01ppm、アスパラガス - N.D.）
- 3) 包装用資材 ポリエチレン袋（透明）、封筒（再生紙）、新聞紙、新聞折込チラシ

(2) 接触による農薬移染実験

農薬を付着させたピーマンにアスパラガスを接触させたのち、通常の方法で農薬濃度を測定しアスパラガスへの移染の有無を確認した。方法の詳細は以下のとおりである。

1) 農薬付着方法

ピーマン約450gに、クロチアニジン含有液剤約15mlを噴霧し、一晩放置後、乾燥器で35°C、2時間乾燥した。噴霧量は、農薬が全て付着してもピーマンの残留基準値3ppmを超えない量とした。

2) 接触方法

購入後、室温で一晩乾燥させたアスパラガス3束（約450g）を、1)の農薬付着ピーマンとともにスーパーのレジ袋に入れ、軽く口を結び3時間接触させた。この間、運搬中の振動を想定し、袋を持ち上げテーブルに置く動作を1時間ごとに3回ずつ繰り返した。

3) 抽出・測定方法

アスパラガスおよびピーマンをそれぞれ全量取り出し、細切後、「LC/MSによる農薬等の一斉試験法Ⅰ」（厚生労働省通知）に準拠し抽出を行い、LC/MS/MSによりクロチアニジン濃度を測定した。

(3) レジ袋の再使用による農薬移染実験

- (2)で使用したレジ袋に、新たにアスパラガス3束を入れ一晩冷蔵保管後、(2)と

同様に抽出、測定を行った。

(4) 包装用資材の浸漬実験

検体運搬・保管時に使用される可能性がある資材からの溶出物が、農薬分析に与える影響をみるため、各資材の浸漬液を通常の農薬試験法により抽出し GC/MS で測定した。詳細は以下のとおりである。

1) 浸漬・抽出方法

ポリエチレン袋、封筒、新聞紙、チラシ、各 200cm²を細切り、精製水 50ml に一晩浸漬した後、ろ過し、そのろ液を「GC/MS による農薬等の一斉試験法」(厚生労働省通知)に準拠し抽出・精製を行い、GC/MS SCAN 法で測定した。

3 結果および考察

(1) 農薬移染実験

クロチアニジン濃度の測定結果を表 1、2 に示した。農薬が付着したピーマンと接触させたアスパラガスからは、残留基準値 (0.02ppm) を超える 0.04ppm が検出された。

表1 アスパラガス中のクロチアニジン濃度

	クロチアニジン濃度(ppm)
接触なし	N.D.
ピーマンと接触後	0.04
レジ袋再使用後	0.02

表2 ピーマン中のクロチアニジン濃度

	クロチアニジン濃度(ppm)
噴霧なし	0.01
噴霧、接触後	1.1

(2) 包装用資材の浸漬実験

各資材浸漬液の GC/MS SCAN 測定の結果、いずれも、フタル酸エステル類である DEHP の大きなピークが検出されたが、ポリエチレン袋が最も小さく、次に封筒、新聞紙、チラシの順であった。また、封筒からは、他には見られないピークが検出された。これは、糊付け用の接着剤が溶出したものと考えられる。これらの溶出物は、SIM 測定においても農薬のイオン化やピーク形状に影響を与える恐れがあるため、検体を包装する場合は、比較的溶出物の少ないポリエチレン袋を使用することが望ましく、他の資材への接触はできるだけ避けるべきと思われた。

4まとめ

表面に水分のない状態で接触させたにもかかわらず、残留基準に適合しているピーマンからアスパラガスへのクロチアニジンの移染が確認された。また、レジ袋を介しての二次的な移染も確認された。農薬の種類や付着状況、接触条件により移染状況は大きく異なることが予想されるが、今回のように、残留基準値に 100 倍以上の開きがある農産物同士の場合、接触による移染が原因で基準値超過となりうることが示唆された。

今回の結果から、正確な農薬残留量を知るためにには、収去、搬送、保存、試験検査前処理において、検体同士の接触はもちろん使用済みの包装・器具や溶出物の多い資材への接触を防ぐことと、迅速に試験検査に供することの重要性を再認識した。この点を十分留意し、今後の試験検査業務を遂行するとともに、あらためて、関係機関に協力を求めていきたい。

第5章 他誌掲載・論文要旨

Effects of oseltamivir phosphate (Tamiflu[®]) in human sera on results of microneutralization and hemagglutinin-inhibition tests for H5N2 avian influenza virus

Yamazaki Y, Doy M, Yamato S, Kawada Y, Ogata T.

Department of Genetic Science, Ibaraki prefectural Institute for Public Health,
993-2, Kasahara-cho, Mito, Ibaraki 310-0852, Japan.

Archives of Virology.Vol.153,945-9(2008)

To determine the influence of oseltamivir phosphate (Tamiflu) on the results of microneutralization and hemagglutinin-inhibition (HI) tests in human sera with H5N2 influenza virus, ten volunteers were administered Tamiflu and blood samples were collected. In the microneutralization test, no consistent effects were observed. However, in the HI

抗ウイルス薬（タミフル）が血清検査に与える影響について調べるため、成年健常者に通常量（1カプセル）のタミフルを服用してもらい、投与前及び投与後4, 7, 24時間後に血液を採取し、赤血球凝集抑制(HI)試験と中和試験を実施した。中和試験においては抗体価には著変は観察されな

test, specimens from all volunteers taken at 4 and 7 h after drug administration showed a higher titer as compared to 0 and 24 h after administration when mammalian cells (horse, guinea pig, and human) were used. These results suggest that the administration of Tamiflu may affect the results of HI tests for H5N2 virus.

かったが、ほ乳類血球を用いた HI 試験においては投与後4, 7 時間後に採取した全ての血清において抗体価が一時的に上昇する現象が観察された。これらのことからタミフルの服用が HI 試験に影響を与えることが示唆された。

第6章 研究報告書要旨

首都圏及び近郊における薬剤耐性 HIV の調査研究

原 孝¹, 増子京子¹, 大石 肇², 千野根純子³, 片岡俊輔⁴, 山上隆也⁵, 畑上由佳⁶

(¹茨城県衛生研究所, ²東京医科大学霞ヶ浦病院, ³栃木県保健環境センター, ⁴宇都宮市衛生環境試験所,
⁵山梨県衛生公害研究所, ⁶長野県環境保全研究所)

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「薬剤耐性 HIV の発生動向把握のための
調査体制確立及びその対策に関する研究」(主任研究者 杉浦 互 国立感染症研究所エイズ
研究センター第2研究グループ長) 平成19年度総括・分担研究報告書 98-100

茨城県、栃木県、山梨県及び長野県を合わせた首都圏近県地域における HIV/AIDS の累積報告数は、全国の 10.9% (1,465/13,470 人) を占め、東京都に次いで多い。

今回、5 県市の地方衛生研究所及びエイズ拠点病院から得られた 2006 年から 2007 年の未治療例の 18 検体について耐性変異の検出を試みた結果、薬剤耐性に関する変異は認められなかった。しかし、捕捉率が 21.7% (2006 年) にすぎないため、耐性変異の発生動向を正しく反映していないおそれがあり、

調査体制の一層の充実を図ることが急務である。サブタイプは B 型が 60%と最も多く、CRF01_AE が 33%, CRF02_AG が 7%であった。

B 型肝炎ウイルス (HBV) 感染症に用いられる抗ウイルス薬は HIV 感染症の治療にも使用されているため、HBV の重複感染は HIV 感染症の治療に大きな影響を及ぼすことがある。そのため、HBV の重複感染の状況についても併せて調査したが、HBV キャリアは認められなかった。

茨城県衛生研究所年報 第46号

平成20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

印 刷 関東印刷株式会社

水戸市吉沢町352-88

電話 029-246-1200
