

ISSN 1882-9139  
CODEN:MHKKDS

三重保環研年報

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

# 三重県保健環境研究所年報

第 18 号 (通巻第 61 号)

2016 年

**Annual Report of Mie Prefecture Health and Environment Research Institute**

**No. 18 (Serial No. 61)**

**2016**



三重県保健環境研究所

## はじめに

三重県が長期的な視点に立って策定した「みえ県民力ビジョン」も本年度から第二次行動計画をスタートさせます。保健環境研究所は、「守る」「創る」「拓く」の三つの基本方向のうちの「守る」を基本理念に掲げ、地域における科学的、技術的中核機関として、日々、調査研究、試験検査をはじめ公衆衛生情報の収集・解析と提供などに取り組んでいます。

本年5月には伊勢志摩サミットという大きな事業が開催され、その後も広域的な事業が計画されています。そうした中、人の交流とともにデング熱やジカ熱あるいは麻疹等が近隣アジア圏だけでなく、世界から輸入される恐れが現実のものとなってきています。

また、PM<sub>2.5</sub>などの広域的な大気汚染や、伊勢湾や河川の水質保全といった県民のみならず身近な環境問題などもあります。「命を守る」、「暮らしの安全を守る」、「環境を守る」をキーワードとして、積極的な感染症対策、食の安全・安心の確保や環境保全に係る調査研究、試験検査などがますます重要性を増しています。

一方、人口が減少するなか、地域が持続的、自立的に発展していくことができるよう「新しい豊かさ」の実現をめざして、環境・衛生行政のさまざまな施策が実施されますが、こうした事業や取り組みに対しても、遠因ながらも科学的・技術的な下支えとして、我々職員一人ひとりが貢献できるよう、しっかり研鑽・努力してまいります。

関係行政機関、医療機関、高等教育機関ほか、多く関係の皆様にご指導とご協力をいただいておりますことを深く感謝いたしますとともに、日々進歩する科学技術と変化する社会情勢に目を向けながら、県民の皆さんの命と暮らしの安全・安心の実現に微力ながらも貢献できるよう努めてまいります。

ここに、平成28年度の当所年報を作成しましたので、ご高覧いただき、ご鞭撻賜りますよう重ねてお願いします。

平成28年10月1日

三重県保健環境研究所

所長 米川 徹

# 目 次

## I 概 要

1	沿革及び組織	頁
1. 1	沿革	1
1. 2	組織	3
2	業務概要	
2. 1	研究	4
2. 2	試験検査	8
2. 3	研修指導	16
2. 4	情報の収集・解析・提供	21
2. 5	品質マネジメントシステム運用の経過と現状	21
3	学会報告	23
4	他誌掲載論文	25

## II 研究報告

### 1 原著

三重県における Human Bocavirus の流行疫学および遺伝子系統樹解析 (2010年1月～2016年6月)	30
矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏	
三重県における結核菌分子疫学解析事業について 結核菌 VNTR データベース解析結果から	38
永井佑樹, 小林章人, 赤地重宏	
三重県における腸管出血性大腸菌感染症について Stx バリエーション解析と O157 株のクレード解析	44
永井佑樹, 小林隆司, 小林章人, 赤地重宏	

### 2 ノート

三重県における呼吸器症状を呈した小児患者からのエンテロウイルスD68型の 動向	51
矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏	
環境修復地内に存在する 1,4-ジオキサン分解菌	55
天野晴貴, 赤地重宏, 新家淳治	

伊勢湾底泥中における有機物の鉛直分布およびその特徴について……………	65
谷村讓紀, 天野晴貴, 新家淳治, 国分秀樹, 竹之内健介, 小林利行, 千葉 賢, 大八木麻希	
ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのサンプリング方法について…	74
佐来栄治, 寺本佳宏, 岩崎誠二	
イオンクロマトグラフによるジカルボン酸類測定方法の検討および三重県 北部地域における大気中浮遊粉じんの実態調査 ……………	82
西山 亨, 岩崎誠二, 寺本佳宏, 佐来栄治, 佐藤邦彦, 阪本晶子, 川合行洋	
<b>3 資料</b>	
三重県独自の調査様式による性感染症サーベイランス結果 (2015年) ……	89
岩出義人, 宮下哲雄, 小林隆司, 山内昭則	
2015 年度の先天性代謝異常等検査の概要 ……………	94
小林章人, 前田千恵, 楠原 一, 永井佑樹, 小林隆司, 赤地重宏	
2015 年度感染症流行予測調査結果 ……………	99
(日本脳炎, インフルエンザ, 風疹, 麻疹) の概要	
矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 小林章人, 松野由香里, 赤地重宏	
2015年感染症発生動向調査結果 ……………	105
楠原 一, 小林章人, 矢野拓弥, 前田千恵, 永井佑樹, 赤地重宏	
三重県における 2015 年度環境放射能調査結果 ……………	114
吉村英基, 森 康則, 前田 明, 一色 博, 山本昌宏	
三重県における PM <sub>2.5</sub> 環境濃度測定の結果について (2014 年度) ……………	122
寺本佳宏, 岩崎誠二, 佐来栄治, 佐藤邦彦, 阪本晶子, 川合行洋	



# I 概要

# 1 沿革及び組織

## 1. 1 沿革

### 1) 衛生研究所

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

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

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

昭和 40 年 11 月 1 日 津市栄町 1 丁目 172 番に移転。

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

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

### 2) 環境科学センター

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

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

昭和 48 年 2 月 19 日 三重県四日市庁舎敷地内（四日市市新正 4-21-5）に移転。

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

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

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

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

### 3) 保健環境研究所

県民の健康の維持増進と生活環境の安全確保のための科学的、技術的な基盤を担う三重県科学技術振興センター保健環境研究所として平成 11 年 4 月に衛生研究所と環境科学センターの統合がなされた。その後、地域保健・環境行政サービスの維持・向上を図るため、平成 20 年 3 月末をもって三重県科学技術振興センターが廃止。同年 4 月から保健環境研究所は健康福祉部と環境森林部の共同所管となり、併せて機関名称も保健環境研究所と改称した。

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

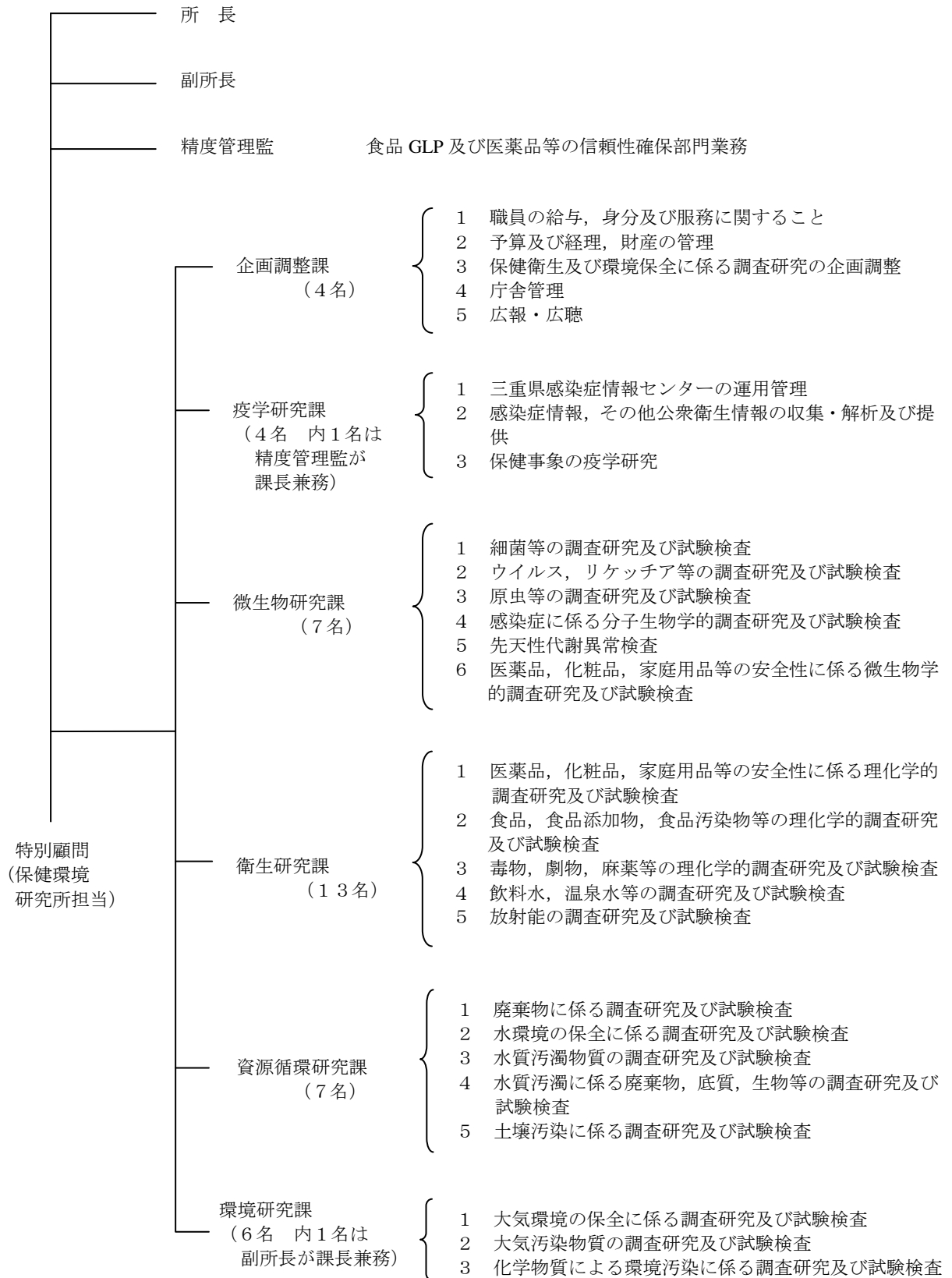
平成 11 年 8 月 13 日 鈴鹿山麓リサーチパーク内（四日市市桜町 3690-1）に新築移転。

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

平成 20 年 4 月 1 日 組織改編に伴い三重県保健環境研究所と改称.

(平成 28 年 4 月 1 日現在)

## 1. 2 組織



## 2 業務概要

### 2.1 研究

#### 1) 疫学研究課

##### (1) 特定健診に基づく三重県の健康状況“見える化”ツールの開発（平成 26～27 年度）

生活習慣病予防は、三重の健康づくり基本計画の全体目標である「健康寿命の延伸」に直結する重要な課題であり、市町や医療保険者などとの連携により、特定健康診査・特定保健指導（以下、「特定健診」とする）の受診率の向上を始めとする地域の健康増進のための様々な取り組みが進められているところである。本県の平均寿命は男女とも延伸傾向がみられるが、高齢化の進行や運動量の減少、食生活の乱れなどにより、生活習慣病有病者・予備群が今後増加する懸念が指摘されている。健康寿命の延伸には、県民の健康状況を継続監視することにより適切に地域健康課題を把握していくことが不可欠で、このためには市町が有する特定健診データの集約が必要となる。本研究において、特定健診に基づく生活習慣病関連項目を中心に、健康づくり関連情報のデータベースの充実を図るべく、市町にデータ提供等の協力依頼を行い、データの可視化をサポートする「三重県の健康状況“見える化”ツール」を作成することにより、三重の健康づくり基本計画の進捗管理ならびに、市町や医療保険者等におけるデータ分析の負担軽減に貢献することを目指す。

##### (2) 成人の侵襲性細菌感染症サーベイランス構築に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）（平成 27 年度）

高齢者に対する肺炎球菌ワクチンの予防効果及び小児用 13 価ワクチンの接種の普及による成人の侵襲性肺炎球菌感染症の予防効果、及びワクチンの接種の普及による成人の侵襲性肺炎球菌感染症の原因血清型の推移を調査するため、感染症発生動向調査の基幹定点医療機関から侵襲性肺炎球菌感染症の届出がされた調査票と菌株を国立感染症研究所に送付する。また、成人における侵襲性インフルエンザ菌感染症についても同様に対応し、患者発生動向、臨床像及び原因菌の血清型分布の推移を明らかにすることで我が国における侵襲性肺炎球菌感染症及び侵襲性インフルエンザ菌感染症サーベイランスに役立てることを目的としている。

#### 2) 微生物研究課

##### (1) 腸炎ビブリオの定量法と病原因子検出法の評価に関する研究（平成 26～27 年度）

腸炎ビブリオを原因物質とする食中毒は激減しているが、食中毒減少の理由が不明確であること、また、現在の統計では散发性下痢症が計上されにくいこと、実際には腸炎ビブリオによる食中毒患者数は統計上よりも多い可能性が示唆されており、腸炎ビブリオ感染のリスクを低下させるためには、病原因子（tdh 陽性株及び trh 陽性株）をもつ腸炎ビブリオの自然界及び生鮮魚介類における分布データの収集が必要と考えられている。そのためには簡便かつ効果的な検査法の確立が不可欠である。そこで、分離培地に改良を加えることにより、簡便に定量が行えないかの検討を行う。また、病原因子遺伝子の検出について、現在行われている PCR 法と新たな LAMP 法について比較評価を行うことにより、効果的な病原因子の検出法を確立することをめざす。

##### (2) 遺伝子解析によるノロウイルス流行株の把握に関する研究（平成 27～30 年度）

県内で発生した食中毒等の健康被害事例や小児の感染性胃腸炎から検出されたノロウイルスの遺伝子を解析することにより流行株の遺伝子型を分類し、その動向を早期に把握するとともに、これらの情報を関係機関と共有することによりノロウイルスの予防対策に資する。また、国立感染症研究所が検討している新しい遺伝子型分類法を導入し、遺伝子解析の精度向上を目指す。

ノロウイルスを原因とする食中毒や、老人施設や保育園などにおける集団感染事例は、毎年冬期を中心に多発し、数年毎に新しい流行株が出現して大流行するなど、社会問題となっている。

流行株の把握にはノロウイルスの遺伝子解析が必須であるが、遺伝子の変異や新しい流行株の出現を察知するには継続的な遺伝子解析とそのデータを蓄積していくことが必要である。

ノロウイルスの遺伝子解析は多くの衛生研究所で行われているが、事例発生後、直ちに実施されることは少ない。そこで本研究では、ノロウイルス検出後は早急に遺伝子解析を行い、リアルタイムに流行株を把握する。

### 3) 衛生研究課

#### (1) 飲料水・食品中の有機物質（農薬等）の迅速検査法に関する研究（平成25～27年度）

健康危機の原因となる物質は、農薬などに代表される有機化学物質、ヒ素化合物などの無機化学物質、さらにはカビ毒などの自然毒など多岐にわたっている。無機化学物質については、食品や飲料水中の化学物質迅速検査マニュアルの整備を行ってきたところであるが、有機化学物質（農薬等）については迅速検査法の整備がなされていないために、現状においては、緊急の健康危機事案に対して、原因物質の特定に時間を要することが懸念される。このため、有機化学物質を対象とした迅速検査法を確立し、検査体制を整備しておくことにより、健康危機発生時における原因物質の特定及び検査の迅速化・効率化を図り、ひいては県民の食の安全・安心を確保することを目的とする。

本研究において、平成25年度から平成27年度までの3カ年で、固相マイクロ抽出法（SPME法）という手法を用いることにより、農薬が原因となる健康危機発生時における原因物質を特定するための迅速検査法を実際の食品を用いて検討した。これにより、食品や飲料水等による健康危機発生時において、通常の分析では考えられない高濃度物質の定性（スクリーニング）に応用できる余地があることが判明し、検査対象項目を早期に絞り込むことで、効率的な検査実施の一助となり得ることと思われる。

#### (2) 地域の温泉資源等を活用した心身の健康感の向上に関する研究（平成26～28年度）

温泉資源に代表される地域資源を活用した健康づくり活動に対し、それらの実施主体である市町等と連携し、当該の健康づくり活動の有効性を科学的に評価し、その結果を連携先や県民にフィードバックすることにより、健康意識の高まりや地域の健康づくり活動を促進し、心身の健康感や幸福実感の向上に寄与する。

本事業により、三重県内の全市町に対し、健康づくり施策における温泉の利活用状況に関するニーズ調査を実施した。アンケート結果を踏まえて、特に温泉を健康づくり施策に積極的に活用する意向が高いと考えられる自治体を優先してヒアリング調査を行い、ニーズの深掘りを行った。津市が所有する公共温泉施設を対象として、健康感に関する介入研究を行った。唾液中コルチゾールを指標として、温泉施設の継続利用に伴う健康感をモニタリングしたところ、非温泉入浴群に比較して温泉入浴群の方が、指標成分濃度が低い傾向が見られた。また、菰野町が実施する温泉地におけるウォーキングを対象として、健康感向上に関する介入研究を行った。その結果、ウォーキングを中心とする健康づくり活動に、リラックス感等のポジティブな感情スコアの上昇と不安感等のネガティブな感情スコアの低下が、それぞれ有意に認められた。

### 4) 資源循環研究課

#### (1) 環境修復地内での有害物質分解菌の探索に関する研究（平成25～27年度）

1,4-ジオキサンは発ガン性の疑いがあるため、平成21（2009）年度から環境基準項目として追加された。県内の廃棄物不法投棄現場で基準を超える1,4-ジオキサンが検出されたため、現在化学的手法により浄化対策が進められている。微生物難分解性物質と考えられてきた1,4-ジオキサンを分解できる菌に関する報告が日本や世界で数件ある。しかし、当現場のような長期間汚染された場所での分解菌報告事例は少ないのが現状である。そこで、本研究では現場の水を用いて1,4-ジオキサンの分解状況を確認し、分解菌の分解至適条件調査、単離及び菌種推定を行った。その

結果、以下のことについて確認できた。①現場試料中での 1,4-ジオキサンの分解菌の存在 ②現場試料での 1,4-ジオキサン分解至適条件 (pH 及び温度) ③長期間集積培養を行うと分解活性が向上 ④細菌の生育に必要な無機塩類を培地に添加すると分解活性が向上 ⑤有機物を培地に添加すると分解活性が低下 ⑥単離した分解菌は複数種でそれらの DNA 塩基配列は、*Micromonospora* 属の放線菌及び *Streptomyces* 属の放線菌の配列と相関性が高い。

## (2) 工場・事業場排水における BOD の簡便な推定法の開発 (平成 27~28 年度)

三重県では、水質汚濁防止法に基づき、工場・事業場排水の水質監視を行っている。監視項目の中で生物化学的酸素消費量 (BOD) は、有機汚濁指標として最も基本的な項目であり、資源循環研究課では年間約 150 検体の工場・事業場排水の分析を行っている。しかしながら、BOD の測定には 5 日間の時間がかかる上、作業が煩雑で、熟練を要するという問題点がある。

BOD の前処理操作において、好気性微生物による 5 日間の溶存酸素の消費量が、0 日目の溶存酸素量の 40~70% の範囲となるようにあらかじめ試料を希釈しておくことが JIS に明記されている。当課では、当該希釈倍率を、過去の測定結果や化学的酸素消費量 (COD) の実測値等を参考にして決定している。BOD と COD は相関がある場合もあるが、COD は酸化剤を用いた化学反応による酸素消費量であるのに対し、BOD は微生物分解による酸素消費量であるという違いがあるため、試料によっては COD から BOD を推測することが困難な場合も多い。適切な希釈倍率の見当がつかない場合は、酸素消費量を JIS に規定する適正範囲内となるように多数の希釈倍率の検体を用意しなければならず、労力も時間もかかっているのが現状である。

そこで、本研究においては、易分解性有機物に着目し、これを簡易に定量する方法を用いて BOD との相関性を調べることによって、簡易かつ精度良く BOD を推測する方法を開発することを目的とする。

## 5) 環境研究課

### (1) ジカルボン酸類を利用した PM<sub>2.5</sub> の発生源寄与解析に関する研究 (平成 27~29 年度)

近年、大気中の有機化合物であるジカルボン酸類が、2 次生成物の指標として注目されつつある。本調査研究では、まず大気中のジカルボン酸類の実態を把握するため、PM<sub>2.5</sub> 等、大気中粒子状物質に含まれるジカルボン酸類の分析法を検討する。また、当所では、これまでに、陰イオン、金属類等を指標として、PM<sub>2.5</sub> の発生源等の解析を試みてきている。本調査研究では、陰イオン等の項目に、ジカルボン酸類を追加することで、PM<sub>2.5</sub> の発生源寄与、高濃度予測等の解析精度の向上を目的とする。

平成 27 年度は、イオンクロマトグラフを用いてジカルボン酸類の分析方法の検討を行った。イオンクロマトグラフの条件は、通常業務 (大気立入検査や PM<sub>2.5</sub> 中の陰イオン成分分析) で使用している分析条件をあまり変更せず、他の陰イオン成分と同時に分析できるものを検討した。その結果、シュウ酸、マロン酸について、他の陰イオン成分と同時に測定できる方法を確立することができた。また、平成 26 年度の有害大気汚染物質モニタリング調査でサンプリングした検体を上記で確立した方法を用いて分析したところ、シュウ酸の経月変化を把握することができた。また、気象条件等からシュウ酸高濃度時の大陸からの原因物質の移流も示唆された。

### (2) 大気中のオゾンとホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの挙動に関する研究 (平成 27~29 年度)

光化学オキシダントは、三重県内の一般環境測定局 24 局で測定を行っているが、近年、環境基準を達成している測定局はなく、全国的にも達成率が非常に悪い。本研究では、光化学オキシダントの主成分であるオゾンと、オゾンと同様に光化学反応で 2 次生成すると考えられるホルムアルデヒド及びアセトアルデヒド (アルデヒド類) との挙動を明らかにしようとしている。

大気のサンプリングには、ポンプを用いて捕集する方法（アクティブ法）とポンプを用いずに捕集する方法（パッシブ法）がある。

平成 27 年度は、パッシブ法によるオゾンの測定法を確立した。オゾンのパッシブ法は、オゾン用捕集管に捕集したオゾンを誘導体化し比色分析することとなっているが、今回 HPLC による UV 分析を検討し、適応できることを確認した。また、大気中のオゾンについて、パッシブ法とアクティブ法で並行サンプリングを行い、オゾン成分を抽出し、分析を行った。測定結果を大気中濃度に換算し、オゾン濃度を比較したところ、相関が得られた。また、大気測定局で観測されている光化学オキシダントと同じ濃度レベル (ppb) にあることを確認した。パッシブ法が屋外においても適応できることを明らかにした。

### **(3) 全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会酸性雨全国調査**

地球環境問題の一つである酸性雨の実態把握のため、全国環境研協議会による酸性雨全国調査が行われている。平成 3 年度からの第 1 次調査に始まり、現在は第 5 次調査を実施している。この調査は全国で約 60 の機関が参加しており、湿性沈着、乾性沈着（フィルターパック法、パッシブ法）のサンプリングを行っている。当研究所も庁舎（四日市市桜町）の屋上において、降水時開放型捕集装置を用いて降水のサンプリングを実施した。調査項目は pH、電気伝導率、硫酸、硝酸等の陰イオン、アンモニア、カルシウム等の陽イオン及び降水量で、平成 27 年度の測定結果のうち、pH は 4.47～5.72 の範囲にあり、降水量加重平均値は 4.72 であった。

酸性雨問題は、その要因から地域的な問題であると同時に地球的な問題であり、近年では特に光化学オキシダント問題を含め、大陸からの移流が大きな問題となっており、地域汚染よりも越境汚染の影響が大きな割合を占めてきている。国立環境研究所の試算では、約 49% が中華人民共和国由来と推定している。

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

### **(4) 地方公共団体環境研究機関等と国立環境研究所との共同研究（Ⅱ型研究）**

#### **「PM<sub>2.5</sub>の短期的/長期的環境基準超過をもたらす汚染機構の解明」（平成 25～27 年度）**

PM<sub>2.5</sub> による汚染実態の解明及びその発生源寄与率を定量的に評価する研究を実施した。PM<sub>2.5</sub> は高い地域依存性を持つと同時に、広域汚染の影響も受けるため、全国と地域の両方の視点から研究を進めた。

本研究は、(1) 高濃度汚染観測、(2) レセプターモデルによる発生源寄与評価、(3) 化学輸送モデルによる地域別汚染寄与評価、(4) データ解析と観測の 4 つの内容に分けられ、国立環境研究所と地方環境研究所がそれぞれ役割分担し研究を進めた。（共同研究機関：独立行政法人国立環境研究所、55 地方環境研究機関、大学等）



## 2. 2 試験検査

### 1) 微生物研究課

#### (1) 一般依頼検査

市町、医薬品・食品会社、個人等からの依頼により各種微生物分離、同定等の試験の検査を行った。1999年度から大多数の一般依頼検査は民間の検査機関へ移行し、当課では民間で対応できない試験検査等を対応している。平成27年度依頼は2件試験検査（温泉水）を行った（表1）。

表1 一般依頼検査

検査等の項目	件数	検査項目	検査検体等
食品・水等の検査	2	一般細菌数	鉱水
		大腸菌（群）	鉱水
計	2		

#### (2) 行政検査

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

##### ① 感染症発生動向調査事業

感染症の発生予防や蔓延防止対策の推進及び医療機関における適切な医療に寄与することを目的としたこの病原体等の検査は、桑名市、四日市市、鈴鹿市、津市、松阪市、伊賀市、伊勢市、尾鷲市、熊野市等の検査定点医療機関で採取された咽頭拭い液、糞便、髄液、尿、結膜拭い液、血液等からウイルスや細菌を検出するとともに急性期と回復期の血清を用いて検出された微生物に対する抗体価を測定した。検査対象は、麻疹、風疹、感染性胃腸炎及び嘔吐下痢症等の消化器疾患、無菌性髄膜炎、発疹症、インフルエンザ様疾患等である。2015年1月から12月までに県内の病原体検査定点等医療機関から患者783人の検査依頼（1010検体）があり、そのうち502人から病原微生物が分離・検出された。主な分離・検出病原体は、ライノウイルス、ノロウイルス（GII）、インフルエンザ（AH3、B型）、パラインフルエンザ（1、3型）、RSウイルス、日本紅斑熱リケッチア、コクサッキーウイルス（A6、A10）、サポウイルス（遺伝子型G 5）、ヒトメタニューモウイルス等であった（表2）。

表2 感染症発生動向調査事業病原体等検査

検体名	検体数	検出病原体等	検出症例数
鼻汁	363	ライノウイルス	70
糞便	231	ノロウイルス GII	65
咽頭拭い液	110	パラインフルエンザウイルス 1 型	45
血清	86	インフルエンザ AH3	38
髄液	24	RS ウイルス	27
尿	21	日本紅斑熱リケッチア	25
その他	175	パラインフルエンザウイルス 3 型	24
		コクサッキーウイルス A6	22
		インフルエンザ B	17
		コクサッキーウイルス A10	15
		サポウイルス G1	14
		ヒトメタニューモウイルス	11
		コクサッキーウイルス A16	9
計	1010	その他	212
			594

## ② 感染症流行予測事業

日本脳炎（感受性・感染源調査），風疹，麻疹，インフルエンザ感受性調査ならびに新型インフルエンザ感染源調査を実施した。日本脳炎感染源調査については，2015年7月から9月まで，三重県中部で飼育された6ヵ月齢の肉豚（計80頭）の血液を松阪食肉公社で採取し，血清中のHI抗体を測定した。抗体価が40倍以上のものについては 2-Mercaptoethanol (2-ME) 感受性抗体の有無を確認した。2015年は2-ME感受性抗体保有豚が7月24日の採材時点から認められ，直近のウイルス感染が疑われた。調査期間中のHI抗体保有率は81.3%(65頭)であった。日本脳炎，風疹，麻疹，インフルエンザ感受性調査については，2015年4月から9月に県内医療機関等で採血された血清（計343人）を用いて，日本脳炎は中和抗体，風疹，インフルエンザはHI抗体，麻疹はPA抗体価の測定を実施した。各々の抗体保有率は，日本脳炎57.1%，風疹81.3%，麻疹93%であった。インフルエンザはA/California/07/2009（H1N1pdm）49.3%，A/Switzerland/9715293/2013(H3N2)55.7%，B/Texas/2/2013（ビクトリア系統）9.9%，B/Phuket/3073/2013（山形系統）21.6%であった。新型インフルエンザ感染源調査は，冬季に県内の豚を検体に100頭調査したが，陽性例はなかった。

## ③ 感染症等対策事業

県内で発生した3類感染症の病原菌を感染症に対する防疫の見地から，感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき，赤痢菌，志賀毒素産生性大腸菌について遺伝子解析を実施するため2015年度は腸管出血性大腸菌38株を国立感染症研究所に送付した。

## ④ 養殖魚，牛乳，鶏卵，はちみつ及び食肉の残留抗生物質検査

$\beta$ -ラクタム，アミノグリコシド，マクロライド及びテトラサイクリン系の抗生物質について指標菌によるバイオアッセイ法により実施した。検査対象はタイ，ハマチ，ウナギ等の養殖魚20検体，はちみつ4検体，鶏卵22検体，牛乳7検体，食肉10検体の合計63検体で，検査結果は全て陰性であった。

## ⑤ 先天性代謝異常検査

重症心身障害を未然に防止することを目的として，新生児を対象に先天性代謝異常症（フェニルケトン尿症，メープルシロップ尿症，ホモシスチン尿症，ガラクトース血症）の検査を行っている。（2013年3月からは，検査法にタンデムマス法を導入し，アミノ酸代謝異常5疾患，有機酸代謝異常7疾患，脂肪酸代謝異常4疾患を検査）なお，先天性甲状腺機能低下症（クレチン症）及び先天性副腎過形成症の検査は三重大学医学部小児科において行われている。

2015年度においては，検査依頼検体数は14,827件であり，このうち疑陽性と判定し，再採血・再検査を行ったものは441件（3.0%），精密検査依頼数は41件（0.28%）であった。内訳は，プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症2件，イソ吉草酸血症11件，先天性副腎過形成症23件，先天性甲状腺機能低下症5件であった。

## ⑥ 結核菌分子疫学解析事業

結核に関する特定感染症予防指針に基づき，結核病床を有する医療機関（伊勢赤十字病院・三重中央医療センター・四日市羽津医療センター）で新たに発生した結核患者から分離された結核菌についてVNTR法による分子疫学的解析を行い，感染源，感染経路等を解明し結核の感染予防につなげる。

2015年度においては，薬務感染症対策課データベースに111件の登録があり，79件の結核菌株もしくは抽出核酸が搬入され71件についてVNTR法による分子疫学的解析を実施した。結果6種類のクラスターを確認した。

## 2) 衛生研究課

### (1) 一般依頼試験

平成27年度の県民，事業者及び市町等からの一般依頼検査は，以下に示すとおりである。

### ① 地下水，水道水，温泉水，一般飲料水等試験

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

表 1 水等の依頼検査数

依頼品目	検体数	項目数
温泉付随ガス	0	0
鉱泉分析	5	—
その他	2	2
計	7	—

### ② 薬品等試験

県内の他検査機関で対応できない，医薬品の日本薬局方適否試験4検体（計36項目）の検査を行った。

## (2) 行政検査

### ① 食品衛生行政検査

食品の衛生と安全性を確保するため，食品衛生法等に基づき食品衛生行政検査を実施した。

食品衛生行政検査には，食品添加物，残留農薬，残留動物用医薬品，アレルギー物質等の検査がある。検査結果は表2に示すとおりであり，食品添加物検査との合計で，495検体（延べ9,626項目）について検査を実施した。

表 2 食品衛生行政検査結果

検査項目名	試験品数	試験項目数	不適合数
食品添加物			
品質保持剤：プロピレングリコール	3	3	0
保存料：ソルビン酸等9項目	31	279	1
防かび剤：イマザリル等4項目	19	76	0
酸化防止剤：BHA等4項目	24	96	0
着色料：合成着色料	12	312	0
甘味料：サイクラミン酸等3項目	19	57	0
漂白剤：二酸化イオウ・亜硫酸塩類	24	24	0
発色剤：亜硝酸ナトリウム	44	44	0
農産物等の残留農薬			
103項目	64	6,592	0
有機塩素系農薬	7	35	0
有機リン系農薬	21	420	0
茶農薬	5	210	0
残留動物用医薬品			
養殖魚	20	280	0
鶏卵	22	330	0
輸入肉	10	160	0
国産肉	27	405	0
総アフラトキシン	12	48	0

(表2の続き)

検査項目名	試験品数	試験項目数	不適合数
溶出試験	2	4	0
蛍光物質	6	6	0
遺伝子組み換え食品			
大豆	6	18	0
とうもろこし	6	12	0
アレルギー物質			
乳	8	16	0
卵	14	28	0
小麦	11	22	0
そば	11	22	0
落花生	11	22	0
えび, かに	11	22	0
有機スズ化合物	10	20	0
貝毒(麻痺性, 下痢性)	31	55	—
総水銀・PCB	4	8	0
計	495	9,626	1

## ② 薬務行政検査

医薬品等の品質、有効性及び安全性を確保するため、薬事法に基づき、県内産医薬品及び医薬部外品の収去検査を行う。県内産医薬品2検体及び医薬部外品2検体の規格試験法について試験を行ったところ医薬品1検体について不適となった。また、後発用医薬品として国指定医薬品7検体について溶出試験を行ったところいずれも規格に適合していた。

健康食品等に医薬品成分を故意に配合した無承認無許可医薬品による健康被害が多数報告されていることから、このようなものが含有されていないか、薬務感染症対策課で買い上げた製品(4検体)について試験(各6項目)を行ったところ、不適はなかった。

## ③ 医薬品等製造承認申請書等の審査

薬事法に基づき、医薬品等製造承認申請書等の規格及び試験方法について26申請書の内容審査を行った。審査項目は、含量規格、製造方法、用法用量、効能又は効果、性状、確認試験、重量偏差、崩壊試験、定量法、別紙規格、対比表、資料等でした。

## ④ 家庭用品行政検査

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

表3 家庭用品試買検査結果

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

### ⑤ 温泉行政検査

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

#### ・源泉調査

調査源泉数：15カ所（特別行政検査含む）

平成27年度温泉行政検査（源泉）実施要領等に基づき，主に四日市地域防災総合事務所管内において，調査が行われた。

#### ・温泉施設の浴槽水調査

調査施設数：19施設（1次調査）・2施設（2次調査）

平成27年度温泉利用施設の浴槽水質検査等実施要領に基づき，調査が行われた。

### ⑥ 環境放射能測定調査

#### ア 環境放射能水準調査事業（原子力規制庁委託事業）

原子力の平和利用の推進及び放射線障害の防止を目的として，原子力規制庁の委託事業である環境放射能測定を実施した。平成27年度は表5に示した試料の放射能測定を行った。

表4 環境放射能測定の概要

測定種別	対象	試料数	備考
全β線測定	降水	105	降雨ごと（1mm以上）
空間線量率測定	—	連続測定	モニタリングポスト
γ線核種分析	降下物	12	1ヶ月間採取
	大気浮遊じん	4	3ヶ月周期でサンプリング
	陸水	2	河川水，蛇口水
	土壌	2	0-5cm，5-20cm
	穀類	1	精米
	農産物	4	茶，ほうれんそう，だいこん
	牛乳	1	生乳
海産生物	3	まだい，あさり，わかめ	

#### イ 核種分析装置精度管理

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

#### ウ モニタリング強化

国内外における原子力関係事象発生時には，国の指示に従い環境放射能モニタリングの強化を行うこととなっている。平成27年度も福島第一原子力発電所事故への対応のため，サーベイメータによる空間放射線量率の監視強化と水道水のガンマ線核種分析を継続して実施した。

また，平成28年1月の北朝鮮の核実験実施発表への対応のためのモニタリング強化も実施した。

### (3) 水道水質精度管理事業

県内の水道水質検査を行っている機関を対象にして，検査データの精確性を維持向上させるため，水質外部精度管理及び内部精度管理を行った。平成27年度は，①臭気 ②トリクロロ酢酸 ③四塩化炭素 ④フッ素及びその化合物 ⑤六価クロム化合物の5項目について各項目2試料で実施した。参加機関は，企業庁の6浄水場，厚生労働省登録分析機関の3機関，市町の5水質試験室，保健環境研究所の計15機関でした。

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

## 3) 資源循環研究課

### (1) 公共用水域の常時監視

水質汚濁防止法第16条の規定により定められた「平成27年度三重県公共用水域及び地下水の水質測定計画」に基づき，県内主要河川の水質汚濁の状況を常時監視するため，県内36河川52地点の河川水の分析(502検体，延べ5,703項目)を環境研究課と協力して実施した。

### (2) 工場・事業場排水の検査

水質汚濁防止法及び三重県生活環境の保全に関する条例に基づく規制対象工場・事業場について，排出基準遵守状況を把握するための立入検査時に採取された検体の分析(265検体，延べ1,935項目)を実施した。

### (3) 問題発生時における原因調査等

へい死魚の発生や水質汚濁事故発生等に伴う原因究明調査等を実施している。平成27年度は，へい死魚・水質汚染事故はなく，廃棄物関係(6検体，延べ71項目)，土壤汚染関係(4検体，延84項目)に対応するための緊急時の検査を環境研究課と協力して実施した。

### (4) 産業廃棄物行政検査

工場・事業場から排出される有害物質を含有する産業廃棄物，あるいは廃棄物の最終処分場浸出液について，地域防災総合事務所，地域活性化局又は環境生活部が立入し，採取した検体の分析(10検体，延べ18項目)を実施した。

### (5) 伊勢湾広域総合水質調査

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

### ① 水質調査

調査地点：13 地点（上層水，下層水），調査回数：4 回／年，調査項目：DO，COD，全窒素，全リン等 18 項目

### ② 底質調査

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

## 4) 環境研究課

### (1) 法・条例に基づく規制対象工場・事業場の検査等

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

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

#### ① ばい煙発生施設等の検査

ばいじんについて 20 検体，有害物質について，窒素酸化物 16 検体，塩化水素 9 検体，硫黄酸化物 15 検体，計 40 検体，VOC について 10 施設の測定を行った。

#### ② 工場・事業場排水等の有害化学物質検査

ポリ塩化ビフェニル 1 検体，農薬（チウラム，シマジン，チオベンカルブ）1 検体，有機リン化合物 2 検体などの分析を行った。

### (2) 公共用水域の常時監視

水質汚濁防止法第 16 条の規定により定められた「平成 27 年度三重県公共用水域及び地下水の水質測定計画」に基づき，県内主要河川の水質汚濁の状況を常時監視するため，県内 33 河川 43 地点の河川水の分析（152 検体，延べ 680 項目，分析項目：LAS 等生活環境項目，チウラム等健康項目及びオキシ銅等要監視項目）を実施した。

### (3) アスベスト除去作業周辺モニタリング調査

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

調査作業所数：計 19 箇所

### (4) 有害大気汚染物質モニタリング調査

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

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

### (5) 化学物質環境実態調査（環境省委託事業）

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

平成 27 年度は，分析法開発調査として水質試料中のホルムアルデヒド，m-ニトロトルエンの分析

法を開発した。また、初期・詳細環境調査として四日市港の水・底質について、2,4-ジアミノアニソール等6物質、四日市の環境大気についてアクリル酸2-ヒドロキシエチル等3物質の測定分析を、さらに、モニタリング調査として四日市港の水・底質、鳥羽港の底質及び四日市の環境大気について、モノクロロビフェニル類等のPOPsの試料のサンプリングを実施した。



## 2. 3 研修指導

### 1) 疫学研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2015.4.9	地域診断統計帳票データシステム作製について	健康福祉部医療対策局健康づくり課	1名	保健環境研究所	高橋
4.14	科学技術週間・施設見学	三重大学学生	9名	保健環境研究所	山内
4.15	科学技術週間・施設見学	一般応募者	7名	保健環境研究所	山内
4.17	科学技術週間・施設見学	四日市大学学生	15名	保健環境研究所	山内
4.21	地域診断統計帳票データシステム作製について	健康福祉部医療対策局健康づくり課	1名	保健環境研究所	高橋
4.24	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	山内、宮下
6.8	新医師臨床研修	新任医師（三重中央医療センター、松阪中央総合病院）	2名	保健環境研究所	山内、宮下
6.22	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）、鈴鹿保健所職員	3名	保健環境研究所	山内、宮下
7.27	自殺対策事業に係る統計について	こころの医療センター	2名	保健環境研究所	宮下、高橋
8.19	薬学生インターンシップ	薬学部学生、県庁職員	10名	保健環境研究所	宮下
9.18	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	3名	保健環境研究所	山内、宮下
9.25	三重県感染症情報センターについて	感染症情報化コーディネーター講座受講者	40名	県医師会館	山内
10.13	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	2名	保健環境研究所	山内、宮下
10.23	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	2名	保健環境研究所	山内、宮下

11.9	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院、三重中央医療センター）	2名	保健環境研究所	山内、宮下
11.24	施設見学	鈴鹿医療科学大学薬学部学生	52名	保健環境研究所	山内
12.7	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	山内、宮下
12.16	食中毒対応研修	食品衛生監視員	8名	県庁	高橋、宮下、奈良谷
12.25	健康寿命推計値算出研修	健康福祉部医療対策局健康づくり課	1名	保健環境研究所	高橋、宮下
2016.1.25	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	山内、宮下

## 2) 微生物研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2015.4.14	科学技術週間・施設見学	三重大学学生	9名	保健環境研究所	楠原
4.15	科学技術週間・施設見学	一般応募者	7名	保健環境研究所	矢野
4.17	科学技術週間・施設見学	四日市大学学生	15名	保健環境研究所	前田
4.24	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	楠原
6.8	新医師臨床研修	新任医師（三重中央医療センター、松阪中央総合病院）	2名	保健環境研究所	赤地
6.19	施設見学	県警、機動隊、四日市西分署	5名	保健環境研究所	赤地
6.22	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）、鈴鹿保健所職員	3名	保健環境研究所	楠原
8.19	薬学生インターンシップ	薬学部学生、県庁職員	10名	保健環境研究所	赤地
9.18	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	3名	保健環境研究所	小林
10.13	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	2名	保健環境研究所	矢野

10.23	新医師臨床研修	新任医師（桑名東医療センター、いなべ総合病院）	2名	保健環境研究所	赤地
10.28	施設見学	県警サミット対策課	2名	保健環境研究所	赤地
11.9	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院、三重中央医療センター）	2名	保健環境研究所	小林
11.24	施設見学	鈴鹿医療科学大学薬学部学生	52名	保健環境研究所	小林
12.7	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	矢野
2016.1.19	微生物実習	県内企業職員	10名	保健環境研究所	赤地
1.25	新医師臨床研修	新任医師（鈴鹿回生病院）	1名	保健環境研究所	赤地
1.25	狂犬病研修	保健所職員	7名	保健環境研究所	赤地
1.27	微生物実習	松阪食肉衛生検査所職員	5名	保健環境研究所	赤地
2.3	狂犬病研修	保健所職員	7名	保健環境研究所	赤地
3.7～3.8	遺伝子解析研修	四日市市保健所職員	1名	保健環境研究所	楠原
3.10	施設見学	県内企業職員	4名	保健環境研究所	赤地

### 3) 衛生研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2015.4.14	科学技術週間・施設見学	三重大学学生	9名	保健環境研究所	山本、一色、吉村、林
4.15	科学技術週間・施設見学	一般応募者	7名	保健環境研究所	山本、一色、吉村、林
4.17	科学技術週間・施設見学	四日市大学学生	15名	保健環境研究所	山本、一色、吉村、林
5.23	出前トーク (温泉による健康づくり)	一般県民	15名	伊賀市	森
7.25	出前トーク (温泉による健康づくり)	一般県民	37名	菰野町	森
8.19	薬学生インターシップ	薬学部学生、県庁職員	10名	保健環境研究所	佐藤、林、清水

9.11	出前トーク (温泉による健康づくり)	一般県民	33名	鈴鹿市	山本
11.24	施設見学	鈴鹿医療科学大学薬学部学生	52名	保健環境研究所	山本、一色、林、清水
11.26	学校環境衛生講習会 (放射能の基礎知識と三重県における環境放射能測定)	教職員、学校保健担当者	50名	三重県薬剤師会館	吉村
12.3	三重県水道水質精度管理技術検討会	行政担当者、事業者	27名	保健環境研究所	前田
2016.2.6	出前トーク (温泉による健康づくり)	一般県民	101名	菰野町	森
3.7	浴場のレジオネラ予防対策研修会	事業者	41名	桑名市	森
3.8	浴場のレジオネラ予防対策研修会	事業者	35名	四日市市	森
3.27	みえ健康住宅セミナー	大学教員等	9名	三重大学	森

#### 4) 資源循環研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2015.4.14	科学技術週間・施設見学	三重大学学生	9名	保健環境研究所	新家
4.15	科学技術週間・施設見学	一般応募者	7名	保健環境研究所	新家
4.17	科学技術週間・施設見学	四日市大学学生	15名	保健環境研究所	新家
6.2	平成27年度分析講習会	新規採用職員、水質汚濁防止法を初めて担当した職員等	12名	保健環境研究所	新家、市岡、天野、柘植、坂口、斎藤、谷村
7.29	出前トーク「わかりやすい水質分析入門」	郡教研環境教育部会	21名	明和町立下御糸小学校	新家、谷村
8.19	薬学生インターンシップ	薬学部学生、県庁職員	10名	保健環境研究所	新家
11.24	施設見学	鈴鹿医療科学大学薬学部学生	52名	保健環境研究所	新家

#### 5) 環境研究課

年月日	内 容	対象者	人 員	場 所	担当職員
2015.4.14	科学技術週間・施設見学	三重大学学生	9名	保健環境研究所	岩崎

4.15	科学技術週間・施設見学	一般応募者	7名	保健環境研究所	岩崎
4.17	科学技術週間・施設見学	四日市大学学生	15名	保健環境研究所	岩崎
7.10	三重県の環境行政と保健環境研究所の役割	ICETT研修生 (中国天津市環境保護局等職員)	13名	ICETT研修室、保健環境研究所	佐藤
8.4	玉城町夏休み子ども体験	玉城町内小学生	15名	保健環境研究所	岩崎
8.19	薬学生インターンシップ (機器の説明等)	薬学部学生、県庁職員	10名	保健環境研究所	岩崎
11.18	三重県保健環境研究所が行っている大気調査と研究	ICETT研修生 (中国天津市環境保護局等職員)	7名	ICETT研修室、保健環境研究所	寺本
11.24	施設見学	鈴鹿医療科学大学薬学部学生	52名	保健環境研究所	岩崎

## 2. 4 情報の収集・解析・提供

### 1) 三重県感染症情報センター（疫学研究課）

国の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、県内すべての医療機関から直ちに届出される1類感染症～4類感染症（63疾患で、平成18年12月8日付で交付された感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（以下感染症法）の一部を改正する法律に基づき、平成19年4月1日から結核を含む）、県内すべての医療機関から7日以内に届出される5類感染症（22疾患、侵襲性髄膜炎菌感染症及び麻疹は、直ちに）、県内の指定届出機関（定点医療機関）から週単位で届出される5類感染症（19疾患）、月単位で届出される5類感染症（7疾患）、新型インフルエンザ等感染症（2疾患）及び指定感染症（現在なし）合計113種類の患者発生情報を収集・解析し、週報、月報、年報等として提供した。特に平成21年4月以降に発生した新型インフルエンザ（後にインフルエンザウイルス AH1N1pdm09）の流行に際しては、三重県新型インフルエンザ対策行動計画に基づく各種サーベイランスを行うとともに、迅速な情報収集・解析・提供に努めた。

また、三重県独自の感染症発生動向調査事業として、平成15年1月から、小児科定点の協力によりマイコプラズマ肺炎、クラミジア肺炎、RSウイルス性細気管支炎（平成15年11月5日付で施行された感染症法の一部を改正する法律に基づき、県独自の調査対象疾患から国の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づく調査対象疾患に移行）の患者発生動向調査を実施するとともに、インフルエンザ定点の協力により迅速診断キットによる病原体診断の実施状況調査を行っている。平成27年度以降では、平成28年2月に四類感染症に「ジカウイルス感染症」が追加された。

#### （1）患者情報の収集・解析

1～5類感染症の113疾患、三重県独自の小児科定点把握対象2疾患（マイコプラズマ肺炎、クラミジア肺炎）の患者発生情報等を収集し、厚生労働省（国立感染症研究所感染症疫学センター）にオンライン報告するとともに、これらのデータをエクセルデータに変換したのち、クロス集計、時系列解析、地理的解析等を行った。

#### （2）患者情報の提供

前記により収集・解析した感染症及び結核の患者情報、並びに当研究所微生物研究課による病原体検出情報を三重県感染症情報センターホームページで提供・公開するとともに、県・地区医師会（会員）、指定医療機関、一般医療機関等に感染症情報メーリングリスト、同eメールにより情報提供を行った。また、県医師会報（月刊誌）に情報投稿を行った。

#### （3）三重県感染症発生動向調査企画委員会の開催

感染症発生動向調査事業等の効果的・効率的な推進を図るため、平成27年10月及び平成28年4月に「三重県感染症発生動向調査企画委員会」を開催し、平成27年における感染症の患者発生状況及び病原体検出状況、並びに結核患者発生状況等の検討を行った。

## 2. 5 品質マネジメントシステム運用の経過と現状

当研究所食品衛生検査部門においては、食品衛生法に基づくGLP基準及びISO9002:1994版国際規格に適合する品質システムを構築し、平成12年12月22日付けで(財)日本品質保証機構（JQA）の認証登録を受けた。また、同月15日付けでISO9001:2000版の新規格が発効したため、平成13年4月からシステムの再構築に着手し、平成14年1月1日付けで新システムの運用を開始し、同年8月2日付けでISO9001:2000版規格に基づく移行認証登録を受けた。新システムは、①顧客重視、②経営者のリーダーシップ、③関係職員の参画、④プロセスアプローチによる資源の運用管理、⑤システムアプローチによるマネジメント、⑥継続的なパフォーマンス改善、⑦事実に基づく意思決定へのアプローチ、⑧供給者との互惠関係の確保・維持の8原則を柱とし、PDCA

(Plan-Do-Check-Action) サイクルを廻転させることにより継続的改善が図られるものである。

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

なお、平成 25 年度は（株）日本環境認証機構（JACO）により 6 月及び 12 月に定期（継続）審査を受け、当所の ISO システムが基準に適合していることが、確認できている。

このように認証から 13 年が経過し、多くの経験とノウハウを蓄積することができたことで、審査機関の介在がなくとも独自で運用が可能と判断した。

地方衛生研究所をはじめとする県の食品衛生検査機関では、平成 10 年度からすべての食品検査について試験検査業務の適正管理運営基準（GLP）に基づく検査を行っているが、ISO で培ったノウハウを維持させながら、GLP の内部監査を実施している。

また、平成 24 年からは、PIC/S（医薬品査察協定及び医薬品査察協同スキーム）に係る公的認定試験検査機関として認定され、試験検査委託先からの適合性調査（毎年）を受けるとともに、平成 28 年 2 月 17 日には PMDA（医薬品医療機器総合機構）の査察を受けた。さらに、感染症法（感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律）に基づく感染症の患者等の検体又は感染症の病原体の検査については、検査の信頼性を確保するための実施体制等が規定され、「検査施設における病原体等検査の業務管理要領」が平成 28 年 4 月 1 日より施行されることとなった。これら食品衛生検査、医薬品等における検査、病原体等の検査を水平展開させ、信頼性確保部門として精度管理に努め検査精度の維持・向上に繋げていくこととしている。

### 3 学会報告

#### 3.1 疫学研究課

1) 中瀬克己<sup>1)</sup>, 山内昭則, 高橋裕明 他: *England* と比較した我が国の性感染症サーベイランスの特徴, 第26回日本性感染症学会(2015.12.5-6 東京都).

1) 岡山大学医療教育統合開発センター

2) 高橋裕明, 奈良谷性子, 宮下哲雄, 山内昭則, 西中隆道: 特定健診に基づく三重県の健康状況見える化ツールの開発, 第68回三重県公衆衛生学会(2016.1.28 津市).

#### 3.2 微生物研究課

1) 楠原 一, 赤地重宏, 西中隆道: 猫から検出された A 群ロタウイルスの分子生物学的特徴と異種間伝播の危険性に関する研究, 平成27年度獣医学術近畿地区学会(2015.10.11 大阪府).

2) 矢野拓弥: 呼吸器症状を呈した小児のパラインフルエンザウイルス流行疫学および病原性の検討—三重県(2009-2014), 第48回日本小児呼吸器学会(2015.10.23-24 岡山県).

3) 西中隆道, 永井佑樹, 楠原 一, 赤地重宏, 小林隆司: 犬および猫の腸管由来病原微生物に関する研究, 第45回東海乳酸菌研究会研究報告会(2016.2.6 名古屋市).

4) 矢野拓弥: 三重県におけるインフルエンザの流行(2015/16 シーズン), 地研協議会東海・北陸支部微生物部会(2016.3.3-4 名古屋市).

5) 小林章人: 三重県における平成27年度食中毒発生状況及び腸管系病原細菌検出状況, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会(2016.3.3-4 名古屋市).

6) 赤地重宏: 三重県における2015年感染症発生動向調査について, 地研協議会東海・北陸支部微生物部会(2016.3.3-4 名古屋市).

#### 3.3 衛生研究課

1) 森 康則, 出口 晃<sup>1)</sup>, 美和千尋<sup>2)</sup>, 鈴木恵理<sup>3)</sup>, 前田一範<sup>1)</sup>, 浜口 均<sup>1)</sup>, 島崎博也<sup>1)</sup>, 水谷真康<sup>1)</sup>, 川村陽一<sup>1)</sup>, 安岡由美<sup>4)</sup>: 放射能泉湧出地域における空气中ラドンの広域的存在実態と線量評価, 第80回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2015.6.20~21 長野県).

1) 小山田記念温泉病院, 2) 愛知医療学院短期大学, 3)

三重県立総合医療センター, 4) 神戸薬科大学

2) 美和千尋<sup>1)</sup>, 島崎博也<sup>2)</sup>, 出口 晃<sup>2)</sup>, 前田一範<sup>2)</sup>, 水谷真康<sup>2)</sup>, 川村陽一<sup>2)</sup>, 森 康則, 川村憲市<sup>3)</sup>, 浜口 均<sup>2)</sup>, 鈴木恵理<sup>4)</sup>: 飲水における温度が自律神経系に及ぼす影響, 第80回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2015.6.20~21 長野県).

1) 愛知医療学院短期大学, 2) 小山田記念温泉病院, 3) 鈴鹿さくら病院, 4) 三重県立総合医療センター

3) 鈴木恵理<sup>1)</sup>, 出口 晃<sup>2)</sup>, 美和千尋<sup>3)</sup>, 森 康則: 入浴または浴室にて発症した救急疾患の検討(第1報), 第80回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2015.6.20~21 長野県).

1) 三重県立総合医療センター, 2) 小山田記念温泉病院, 3) 愛知医療学院短期大学

4) 島崎博也<sup>1)</sup>, 水谷真康<sup>1)</sup>, 中川雅弘<sup>1)</sup>, 美和千尋<sup>2)</sup>, 森 康則, 岩崎 靖<sup>3)</sup>, 中村 毅<sup>1)</sup>, 前田一範<sup>1)</sup>, 出口 晃<sup>1)</sup>, 川村直人<sup>1)</sup>: 機械浴における加温効果の検討, 第80回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2015.6.20~21 長野県).

1) 小山田記念温泉病院, 2) 愛知医療学院短期大学, 3) 愛知医科大学 加齢医科学研究所

5) 中川雅弘<sup>1)</sup>, 島崎博也<sup>1)</sup>, 水谷真康<sup>1)</sup>, 中村 毅<sup>1)</sup>, 岩崎 靖<sup>2)</sup>, 前田一範<sup>1)</sup>, 美和千尋<sup>3)</sup>, 森 康則, 出口 晃<sup>1)</sup>, 浜口 均<sup>1)</sup>: 温泉プールを利用した障害児の父兄に対する調査報告, 第80回日本温泉気候物理医学会総会・学術集会(2015.6.20~21 長野県).

1) 小山田記念温泉病院, 2) 愛知医科大学 加齢医科学研究所, 3) 愛知医療学院短期大学

6) 森 康則, 中村仁美<sup>2, 3)</sup>, 常 青<sup>2)</sup>, 谷水雅治<sup>4)</sup>, 仲井 涼<sup>4)</sup>, 小林裕基<sup>4)</sup>, 木村浩之<sup>5)</sup>, 山本昌宏, 西中隆道: 三重県中南部域に湧出する多様性に富んだ塩類泉・二酸化炭素泉の分布と主溶存元素組成, 第68回日本温泉科学学会大会(2015.9.9~11 山形県).

1) 海洋研究開発機構・地球内部物質循環研究分野, 2) 東京工業大学, 3) 関西学院大学理工学部, 4) 静岡大学理学部

7) 竹内 浩, 林 克弘, 山本昌宏, 西中隆道: いわゆる健康食品に含まれる無承認無許可医薬品の分析法検討, 第48回東海薬剤師学術大会(2015.11.29 四日市市).

8) 吉村英基, 一色 博, 山本昌宏, 西中隆道, 澤田陽子, 藤原正嗣, 畑 直亜, 川津健太郎: 三重県における麻痺性貝毒スクリーニング法の検討について, 第52回全国衛生化学技術協議会年会(2015.12.3~4 静岡県).



### 3. 4 資源循環研究課

- 1) 齋藤麻衣, 坂口貴啓, 柘植 亮, 新家淳治, 西中隆道: 工場・事業場排水におけるBODの簡便な推定法の開発, 第30回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会(2016.1.14~15 滋賀県).

### 3. 5 環境研究課

- 1) 佐来栄治, 寺本佳宏, 西中隆道: ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのサンプリングについて, 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).
- 2) 寺本佳宏, 遠藤昌樹<sup>1)</sup>, 熊谷貴美代<sup>2)</sup>, 長谷川就一<sup>3)</sup>, 宮田朋子<sup>4)</sup>, 花岡良信<sup>5)</sup>, 山神真紀子<sup>6)</sup>, 橋本貴世<sup>7)</sup>, 中島亜矢子<sup>8)</sup>, 菅田誠治<sup>9)</sup>, 2014年5、6月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例の解析, 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).
  - 1) 山形県環境科学研究センター, 2) 群馬県衛生環境研究所, 3) 埼玉県環境科学国際センター, 4) 石川県保健環境センター, 5) 長野県環境保全研究所, 6) 名古屋市環境科学調査センター, 7) 香川県環境保健研究センター, 8) 福岡市保健環境研究所, 9) 国立環境研究所
- 3) 山神真紀子<sup>1)</sup>, 寺本佳宏, 牧野雅英<sup>2)</sup>, 木下 誠<sup>3)</sup>, 木戸瑞佳<sup>4)</sup>, 長谷川就一<sup>5)</sup>, 菅田誠治<sup>6)</sup>: 2015年2、3月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度事例の解析, 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).
  - 1) 名古屋市環境科学調査センター, 2) 石川県保健環境センター, 3) 福岡市保健環境研究所, 4) 富山県環境科学センター, 5) 埼玉県環境科学国際センター, 6) 国立環境研究所
- 4) 熊谷貴美代<sup>1)</sup>, 田子 博<sup>1)</sup>, 山神真紀子<sup>2)</sup>, 寺本佳宏, 橋本貴世<sup>3)</sup>, 牧野雅英<sup>4)</sup>, 木下 誠<sup>5)</sup>, 佐久間隆<sup>6)</sup>, 長谷川就一<sup>7)</sup>, 菅田誠治<sup>8)</sup>: 全国PM<sub>2.5</sub>成分測定結果から見た高濃度日における地域別化学組成の特徴(第2報), 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).
  - 1) 群馬県衛生環境研究所, 2) 名古屋市環境科学調査センター, 3) 香川県環境保健研究センター, 4) 石川県保健環境センター, 5) 福岡市保健環境研究所, 6) 宮城県保健環境センター, 7) 埼玉県環境科学国際センター, 8) 国立環境研究所
- 5) 橋本貴世<sup>1)</sup>, 山神真紀子<sup>2)</sup>, 武田真由子<sup>3)</sup>, 熊谷貴美代<sup>4)</sup>, 寺本佳宏, 宮田朋子<sup>5)</sup>, 長谷川就一<sup>6)</sup>, 菅田誠治<sup>7)</sup>: 2014年4月におけるPM<sub>2.5</sub>高濃度

事例の解析, 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).

- 1) 香川県環境保健研究センター, 2) 名古屋市環境科学調査センター, 3) 神奈川県環境科学センター, 4) 群馬県衛生環境研究所, 5) 石川県保健環境センター, 6) 埼玉県環境科学国際センター, 7) 国立環境研究所
- 6) 梶田奈穂子<sup>1)</sup>, 寺本佳宏, 山神真紀子<sup>2)</sup>, 池盛文数<sup>2)</sup>, 唐澤正宣<sup>3)</sup>: 東海地方の都市域と清浄地域におけるPM<sub>2.5</sub>成分測定(4)2014年春季観測結果, 第56回大気環境学会年会(2015.9.15~17 東京都新宿区).
  - 1) 愛知県環境調査センター, 2) 名古屋市環境科学調査センター, 3) 株式会社豊田中央研究所
- 7) 佐来栄治: 1,2,3-トリメチルベンゼン(水質)の分析法, 平成27年度化学物質環境実態調査環境化学セミナー, 環境省環境保健部環境安全課(2016.1.18-19 東京都台東区).

## 4 他誌掲載論文

### 4. 1 微生物研究課

#### 1) Rapid and simple identification of Beijing genotype strain of *Mycobacterium tuberculosis* using a loop-mediated isothermal amplification assay.

Nagai Y, Iwade Y, Nakano M, Akachi S, Kobayashi T, Nishinaka T.

Microbiol Immunol, **60**, 459-467, 2016.

##### 【Abstract】

Beijing genotype strains of *Mycobacterium tuberculosis* are geographically widespread and pose a notorious public health problem, these strains causing outbreaks of multidrug-resistant tuberculosis (TB); some studies have reported an association with drug resistance. Because the prevalence of Beijing strain has a substantial impact on TB control programs, the availability of a rapid and reliable method for detecting these strains is important for epidemiological monitoring of their circulation. The main methods currently used to identify Beijing genotype strains are IS6110 DNA fingerprinting, spoligotyping and PCR to detect specific deletions such as region of difference (RD)207. More recently, multiplex PCR assay using a Beijing-specific single nucleotide polymorphism (SNP) has been developed for detecting Beijing lineage strains. However, these methods are time-consuming and technically demanding. In the present study, a loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay that allows specific identification of Beijing genotype strain was developed. This Beijing genotype strain-identifying LAMP assay was performed 214 clinical isolates and the results compared with those of conventional PCR that targeted RD207 and Rv0679c-targeting multiplex PCR for Beijing lineage identification. LAMP assay showed 100% sensitivity and specificity compared with RD207-PCR. Furthermore, the sensitivity and specificity were 99.3% and 100%, respectively, compared with Rv0679c-multiplex PCR. This LAMP assay could be used routinely in local laboratories to monitor the prevalence of the Beijing genotype strain and thereby used to help control the spread of these potentially highly virulent and drug resistant strains.

#### 2) Molecular characterization and pathogenicity of a genogroup GVI feline norovirus

Takano T, Kusuhara H, Kuroishi A, Takashina M, Doki T, Nishinaka T, Hohdatsu T.

Vet Microbiol, **178**, 201-207, 2015.

##### 【Abstract】

Norovirus (NoV) has been classified into 6 genogroups, GI-GVI. In the present study, we identified novel feline NoV (FNoV) M49-1 strain. The C-terminal of RNA-dependent RNA polymerase of the FNoV M49-1 strain was highly homologous with GIV FNoV and GIV lion norovirus, whereas VP1 was highly homologous with GVI canine NoV (CNoV). Based on the results of the Simplot analysis, the FNoV M49-1 strain may have been produced by recombination between GIV.2 FNoV and GVI.1 CNoV. In addition, specific pathogen-free cats inoculated with FNoV gene-positive-fecal samples developed diarrhea symptoms, and the viral gene was detected in their feces and blood.

#### 3) An interlaboratory study on efficient detection of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O103, O111, O121, O145, and O157 in food using real-time PCR assay and chromogenic agar.

Hara-Kudo Y, Konishi N, Ohtsuka K, Iwabuchi K, Kikuchi R, Isobe J, Yamazaki T, Suzuki F, Nagai Y, Yamada H, Tanouchi A, Mori T, Nakagawa H, Ueda Y, Terajima J.

Int J Food Microbiol, **230**, 81-88, 2016.

##### 【Abstract】

To establish an efficient detection method for Shiga toxin (Stx)-producing *Escherichia coli* (STEC) O26, O103, O111, O121, O145, and O157 in food, an interlaboratory study using all the serogroups of detection

targets was firstly conducted. We employed a series of tests including enrichment, real-time PCR assays, and concentration by immunomagnetic separation, followed by plating onto selective agar media (IMS-plating methods). This study was particularly focused on the efficiencies of real-time PCR assays in detecting stx and O-antigen genes of the six serogroups and of IMS-plating methods onto selective agar media including chromogenic agar. Ground beef and radish sprouts samples were inoculated with the six STEC serogroups either at 4-6CFU/25g (low levels) or at 22-29CFU/25g (high levels). The sensitivity of stx detection in ground beef at both levels of inoculation with all six STEC serogroups was 100%. The sensitivity of stx detection was also 100% in radish sprouts at high levels of inoculation with all six STEC serogroups, and 66.7%-91.7% at low levels of inoculation. The sensitivity of detection of O-antigen genes was 100% in both ground beef and radish sprouts at high inoculation levels, while at low inoculation levels, it was 95.8%-100% in ground beef and 66.7%-91.7% in radish sprouts. The sensitivity of detection with IMS-plating was either the same or lower than those of the real-time PCR assays targeting stx and O-antigen genes. The relationship between the results of IMS-plating methods and Ct values of real-time PCR assays were firstly analyzed in detail. Ct values in most samples that tested negative in the IMS-plating method were higher than the maximum Ct values in samples that tested positive in the IMS-plating method. This study indicates that all six STEC serogroups in food contaminated with more than 29CFU/25g were detected by real-time PCR assays targeting stx and O-antigen genes and IMS-plating onto selective agar media. Therefore, screening of stx and O-antigen genes followed by isolation of STECs by IMS-plating methods may be an efficient method to detect the six STEC serogroups.

#### 4) オセルタミビル未投与の小児患者から検出されたオセルタミビル耐性 A (H1N1) pdm09 ウイルスに関する考察 - 三重県

矢野拓弥<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>三重県保健環境研究所

日本小児呼吸器学会雑誌, 26, 161-169, 2015.

##### 【要旨】

2009年から2014年までの三重県におけるオセルタミビル耐性 A(H1N1) pdm09 ウイルス (オセルタミビル耐性ウイルス) の発生状況を調査した。調査期間中に 191 例中 6 例(3.1%)からオセルタミビル耐性ウイルスが検出された。このうち 1 例は 2013 年に薬剤未投与の小児患者から検出された。本患児とその家族は 2013 年 12 月に札幌市に滞在していた。同市では 2013 年 11 月～2014 年初めにかけてオセルタミビル耐性ウイルスの地域流行が確認されており、同時期に札幌市で検出されたオセルタミビル耐性ウイルスと本患児から検出されたオセルタミビル耐性ウイルスとの遺伝子配列が一致していた。これらのことから、患児は札幌市で感染したものと推察された。国外のオセルタミビル耐性ウイルスとの関連性を調べたところ、2013 年に中国で検出されたオセルタミビル耐性ウイルスと最も近縁であったことが判明した。

#### 5) 猫から検出された A 群ロタウイルスの分子生物学的特徴と異種間伝播の危険性に関する研究

楠原 一<sup>1)</sup>, 赤地重宏<sup>1)</sup>, 西中隆道<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>三重県保健環境研究所

三重県獣医師会報 しろちどり, 32, 23-25, 2015.

##### 【要旨】

犬猫を対象とした A 群ロタウイルス (RVA) 保有調査を行い、検出された RVA の遺伝子解析から犬猫が保有する RVA がヒトに感染するリスクについて検証した。その結果、猫 61 頭中 5 頭から RVA が検出され、2 頭が G3P[9]型、3 頭が G6P[9]型であることが明らかとなった。犬からは検出されなかった。系統樹解析では、G3P[9]型 RVA は猫由来 Cat2 株と近縁であったが、一方で G6P[9]型 RVA は全てヒト由来 RVA のクラスターに分類され、国内検出株である KF17 株と最も近縁であった。

## 6) ノロウイルス GII.17 型の流行とその特徴について—三重県

楠原 一<sup>1)</sup>, 赤地重宏<sup>1)</sup>, 小林隆司<sup>1)</sup>, 西中隆道<sup>1)</sup>, 小林真美<sup>2)</sup>, 山口江里<sup>2)</sup>, 岩出義人<sup>2)</sup>, 田沼正路<sup>2)</sup>, 野田 衛<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup>三重県保健環境研究所, <sup>2)</sup>三重県津保健所総合検査室, <sup>3)</sup>国立医薬品食品衛生研究所  
病原微生物検出情報誌, **36**, 91-92, 2015.

### 【要旨】

2014/15 シーズンのノロウイルスを原因とする食中毒などの健康被害事例と小児の感染性胃腸炎では, 検出される遺伝子型に明らかな違いがみられた. 健康被害事例からは, これまで検出例の少ない遺伝子型 (GII.17) のノロウイルスが相次いで検出され, GII.17 陽性検体には, 市販のノロウイルス簡易検査キットでは陽性を示さないものもあった.

## 7) 高齢者施設におけるヒトパラインフルエンザウイルス 3 型集団感染事例 (2014 年 7~8 月) および小児におけるヒトパラインフルエンザウイルス流行疫学 (2014 年) —三重県

矢野拓弥<sup>1)</sup>, 前田千恵<sup>1)</sup>, 赤地重宏<sup>1)</sup>, 小林隆司<sup>1)</sup>, 天野秀臣<sup>1)</sup>, 西中隆道<sup>1)</sup>, 加藤ひろみ<sup>2)</sup>, 板羽聖治<sup>2)</sup>, 松村義晴<sup>2)</sup>, 長坂裕二<sup>2)</sup>, 落合 仁<sup>3)</sup>, 菅 秀<sup>4)</sup>, 庵原俊昭<sup>4)</sup>

<sup>1)</sup> 三重県保健環境研究所, <sup>2)</sup> 桑名保健所, <sup>3)</sup> 落合小児科医院, <sup>4)</sup> 独立行政法人国立病院機構 三重病院  
病原微生物検出情報誌, **36**, 163- 164, 2015.

### 【要旨】

三重県 A 市の介護老人保健施設において, 2014 年 7~8 月に発熱, 咳, 鼻汁過多や咽頭痛を主症状とする入所者が計 34 名確認された. 検査を実施した入所者 5 名からヒトパラインフルエンザウイルス 3 型 (HPIV3 型) が検出された. 集団生活を営む施設では, いったん施設内に感染者数が拡大すると, 終息に時間を要することがあるため, 早期の対策が重要であると思われる.

三重県感染症発生動向調査事業における 2014 年に呼吸器症状を呈した小児患者 204 名を対象に呼吸器ウイルスの調査を実施した結果, 204 名中 74 名 (36.3%) で HPIV が検出された. HPIV3 型は下気道炎症状患者からの検出が 69.6%と多く, 月別検出状況は, 初夏から夏季を中心に 23 件検出された.

医療機関で使用可能な HPIV 検出のための迅速簡易キットがなく, 感染拡大防止対策のうえで苦慮するところであるが, 小児での積極的かつ継続的な HPIV 感染症の動向把握の強化が起因病原体の推察へのひとつの手掛かりとして有用な情報となると思われる.

## 8) 2015 年 9 月上旬に上海への渡航歴のある患者から分離された A (H1N1) pdm09 ウイルスの遺伝子解析—三重県

矢野拓弥<sup>1)</sup>, 前田千恵<sup>1)</sup>, 赤地重宏<sup>1)</sup>, 小林隆司<sup>1)</sup>, 天野秀臣<sup>1)</sup>, 西中隆道<sup>1)</sup>, 三原貴照<sup>2)</sup>, 三原武彦<sup>2)</sup>, 谷口清州<sup>3)</sup>, 菅 秀<sup>3)</sup>, 庵原俊昭<sup>3)</sup>

<sup>1)</sup> 三重県保健環境研究所, <sup>2)</sup> 三原クリニック, <sup>3)</sup> 独立行政法人国立病院機構 三重病院  
病原微生物検出情報誌, **36**, 223- 224, 2015.

### 【要旨】

今シーズン (2015/16 シーズン) の初期に上海へ渡航歴のある患者から A (H1N1) pdm09 ウイルスを分離した.この株について, 遺伝子解析を実施したので報告する.

本ウイルス (A/Mie/20/2015 株) はヘマグルチニン (HA) 遺伝子系統樹解析により, HA タンパク質に D97N, S185T のアミノ酸置換を持つクレード 6 に分類された. さらに, 2013/14~2014/15 シーズンに国内外で検出された A (H1N1) pdm09 ウイルス株と同様のアミノ酸置換 K163Q, A256T, K283E, E499K を有するサブクレード 6B に分類された.加えて本ウイルス (A/Mie/20/2015 株) にはアミノ酸置換 S84N を有する特徴がみられた.

ノイラミニダーゼ (NA) 遺伝子系統樹解析では, アミノ酸置換 V264I, N270K を有し, さらにアミノ酸置換 V13I, I314M を有する集団に属した.本ウイルスの HA および NA タンパク質は, インドで流行しているウイルス株と同様のアミノ酸置換を有していた.

## 9) インフルエンザ迅速診断キット「AR・Flu A/B スティック」の基礎的検討および臨床的評価

田中博之<sup>1)</sup>, 西村眞樹<sup>1)</sup>, 田中靖人<sup>2)</sup>, 尾曲克己<sup>2)</sup>, 打矢恵一<sup>3)</sup>, 二改俊章<sup>3)</sup>, 矢野拓弥<sup>4)</sup>, 杉田洋一<sup>5)</sup>, 岡山政由<sup>6)</sup>, 青山弘彦<sup>7)</sup>, 山口悦郎<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 愛知医科大学医学部呼吸器・アレルギー内科, <sup>2)</sup> 名古屋市立大学大学院医学研究科ウイルス学分野, <sup>3)</sup> 名城大学薬学部微生物学研究室, <sup>4)</sup> 三重県保健環境研究所, <sup>5)</sup> 名古屋市医師会, <sup>6)</sup> 東海記念病院, <sup>7)</sup> 青山病院

医学と薬学, **72**, 1885-1894, 2015.

#### 【要旨】

インフルエンザウイルス抗原検出試薬を使用したインフルエンザ迅速診断キット（以下、迅速診断キット）は、多くの医療現場でインフルエンザを診断するのにスタンダードな検査方法となっている。パンデミックインフルエンザウイルス A(H1N1)2009 による新型インフルエンザが流行した際、わが国での死亡率は低く、世界の中でも被害が格段に少なかった。その最大の理由は、迅速診断キットと抗インフルエンザウイルス薬を駆使したインフルエンザ診療の体制にあると考えられており、迅速診断キットが臨床現場で大きく貢献していることは明らかである。迅速診断キットによる検査は特別な機械も技術も必要とせず、短時間で検出することができる。しかし、迅速診断キットのウイルス検出感度は必ずしも十分ではなく、しばしば偽陰性が認められるため、より高感度で短時間に検出できる迅速診断キットが望まれており、毎年のように多くのメーカーから感度や性能を向上させた改良品が発売されている。

### 4. 2 衛生研究課

#### 1) ソーシャルキャピタルの向上を目指した地域の温泉資源による健康づくり活動の推進

森 康則<sup>1)</sup>, 出口 晃<sup>2)</sup>, 島崎博也<sup>2)</sup>, 川村皓生<sup>2)</sup>, 美和千尋<sup>3)</sup>, 一色 博<sup>1)</sup>, 山本昌宏<sup>1)</sup>, 西中隆道<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup> 三重県保健環境研究所, <sup>2)</sup> 小山田記念温泉病院, <sup>3)</sup> 愛知医療学院短期大学

日本健康開発財団研究年報, **36**, 27-34, 2015.

#### 【Abstract】

Mie Prefecture drew up the “Basic Plan for Health Promotion in Mie Prefecture (Fiscal 2013-2022)” in March 2013. The administrative plan was developed in compliance with “Healthy Japan 21 (2nd Ed.),” and has two goals: the “extension of healthy life” and the “enhancement of happiness through an improved sense of mental and physical well-being”. The activation of social capital is important for the advancement of this plan. Furthermore, improving the social environment is considered necessary for health promotion. Regional resources, such as hot springs, are often associated with social organizations that have features of social capital, including residents’ associations and clubs for the elderly. The elderly also have a particularly high need for health services based on hot springs, and there are many cases of the effective use of these facilities. Several of our studies have aimed to provide a scientific basis and support for activities related to local health promotion through the use of hot springs resources. This report reviews the following work: (1) Questionnaire interviews about local health promotion through the use of hot spring resources in cities and towns in Mie Prefecture; (2) scientific evaluation of improvements in quality of life and sense of well-being from regional health promotion and intervention, and (3) education about hot springs for social organizations that have social capital features. Our work will contribute to improving the health and happiness of the residents of Mie Prefecture.

### 4. 3 資源循環研究課

#### 1) 伊勢湾の物質循環に関する一考察

新家淳治, 西中隆道

季刊全国環境研会誌, **40** (2), 29-34, 2015.

#### 【要旨】

伊勢湾では、春季から夏季において、エスチュアリー循環により外洋水と湾口水の混合水が湾内中層に侵入し、下層での貧酸素水塊の発生を助長すると言われている。三重県水産研究

所が公表しているデータを用いて、湾奥、湾央および湾口における上層、中層および下層の Chl.a, 塩分および DO の変化を考察した。春季から夏季において湾央の中層で Chl.a 濃度が上層よりも高値である場合が見られ、また、湾口では外洋水が鉛直混合していると推察された。湾内の物質循環については3次元的把握が重要と考えられた。

#### 4. 4 環境研究課

##### 1) ホルムアルデヒドの分析法開発

佐来栄治

化学物質と環境（平成27年度 化学物質分析法開発調査報告書）。

###### 【Abstract】

An analytical method has been developed for the determination of formaldehyde in water samples by gas chromatography/mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/MS-SIM). Fifty milliliters of sample water is taken into a separatory funnel. The sample is spiked with 1 mL of pentafluorobenzylhydroxylamine (PFBOA) solution, and then is derivatized by shaking for 1 minute and is left for 2 hours at a room temperature. After that 1.6 mL of sulfuric acid (1+1) and 15 g of sodium chloride are added, and then are extracted with 10 mL of hexane. An extract is spiked with internal standard(1000 ng of naphthalene-*d*<sub>8</sub>) and is dehydrated with anhydrous sodium sulfate. Formaldehyde derivatized is determined by GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 260 and 680 ng/L, respectively. Averages of recoveries (n = 5 each) using 50 mL of water sample spiked with 300 ng of formaldehyde are 120% (river water, CV = 5.9%) and 110% (seawater, CV = 4.6%), respectively.

##### 2) m-ニトロトルエンの分析法開発

佐来栄治

化学物質と環境（平成27年度 化学物質分析法開発調査報告書）。

###### 【Abstract】

An analytical method has been developed for the determination of *m*-nitrotoluene in water samples by gas chromatography/mass spectrometry with selected-ion monitoring (GC/MS-SIM). A water sample (200 mL) was passed at a flow rate of 10 mL/min through a solid-phase extraction cartridge (SPE : Waters Oasis HLB) that was pre-conditioned with successively 10 mL of acetone and equal volume of purified water. The cartridge was washed with 10 mL of purified water, and dehydrated through N<sub>2</sub> gas blow (about 1.0 L/min, 1 hour). The extract was eluted with 5 mL of acetone. The eluate was concentrated under a gentle stream of nitrogen gas to 1 mL. Five mL of hexane was added to the concentrate, and was concentrated to 1 mL again. The concentrate was loaded to a LC-Si (Supelclean LC-Si 6 mL Glass SPE Tube 500 mg) cartridge. The cartridge was washed with 5 mL of hexane and eluted with 12 mL of hexane. The eluate was concentrated under a gentle stream of nitrogen gas to 1 mL. Fifty ng of nitrobenzene-*d*<sub>5</sub> was added to the eluate as an internal standard. The final extract was measured by GC/MS-SIM. The method detection limit (MDL) and the method quantification limit (MQL) are 3.2 and 8.3 ng/L, respectively. Averages of recoveries (n = 5 each) using 200 mL of water and seawater spiked with 3.00 ng were 82% (river water, CV = 2.3%) and 87% (seawater, CV = 1.9%), respectively. By the developed method, *o*-nitrotoluene and *p*-nitrotoluene in water samples can be simultaneously determined.

## II 研究報告

原 著

## 三重県における Human Bocavirus の流行疫学 および遺伝子系統樹解析 (2010 年 1 月~2016 年 6 月)

矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏

### Epidemiology of Outbreak of Human Bocavirus (HBoV) and Phylogenetic Tree Analysis in Mie Prefecture (January, 2010~June, 2016)

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA and Shigehiro AKACHI

三重県感染症発生動向調査事業において, 2010年1月~2016年6月までに三重県内の医療機関を受診した小児呼吸器感染症患者1,321名を対象にHuman Bocavirus (HBoV) の流行疫学を把握するために動向調査を実施した. HBoV陽性者は1,321名中46名 (3.5%) であった.

採取年別のHBoV陽性者数は2010年4名, 2011年5名, 2012年9名, 2013年7名, 2014年3名, 2015年9名, 2016年 (1~6月) 9名であった. HBoV陽性者はインフルエンザ終息後の春から初夏 (3~6月) に多数検出される傾向であった.

HBoVのVP1/VP2領域の遺伝子系統樹解析を実施した結果, 2010~2016年に検出されたHBoVは, すべてHBoV1に分類された. 今回, 検出されたHBoV1は遺伝子系統樹上では Group1 から Group3に細分化されることが明らかとなった.

HBoV感染症は流行疫学および臨床症状等において依然として不明な点が多く, さらなるHBoV感染症の理解のためにも, 全国規模のモニタリングを積極的かつ継続的に実施し, 流行疫学および患者臨床情報の蓄積が必要であると考えられる.

キーワード: 急性呼吸器感染症, Human Bocavirus, 流行疫学, 遺伝子系統樹解析

#### はじめに

Human Bocavirus (HBoV) は, 2005年にスウェーデンの呼吸器感染症患者から初めて発見<sup>1)</sup>されたウイルスで, その後, 世界的に分布<sup>2~6)</sup>していることが判明した. HBoVは急性呼吸器感染症 (Acute Respiratory Infections: ARI) の起因ウイルスの一つであり, パルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類され, 現在, HBoVは4タイプ (HBoV1, 2, 3, 4) に分類されている<sup>7)</sup>. 近年, 国内における呼吸器感染症患者からHBoVの検出報告<sup>7~10)</sup>がされているが, 患者臨床情報などの報告は少ない. 一方でHBoVは, 呼吸器系症状だけでなく, 消化器症状を呈した患者の糞便から検出されており<sup>11,12)</sup>, 未だ不明な点が多い. そこで我々は, HBoV感染症を究明するために, 三重県内の小児呼吸器感染症患者の流行疫学および遺伝子系統樹解析を実施したので以下に報告する.

#### 対象と方法

##### 1. 調査対象

2010年1月~2016年6月の間に三重県感染症発生動向調査事業において, 県内の医療機関 (8施設) を受診した小児呼吸器感染症患者 1,321名から得られた患者臨床検体 (鼻汁, 咽頭拭い液, 気管吸引液) を HBoV 調査の対象とした.

採取年別の検査数は2010年88名, 2011年225名, 2012年213名, 2013年237名, 2014年206名, 2015年198名, 2016年 (1~6月) 154名であった.

##### 2. HBoVおよび他の呼吸器系ウイルスの検出

患者臨床検体から抽出した DNA および RNA は使用時まで $-80^{\circ}\text{C}$ に保存し, HBoV 遺伝子の検出には Allander らの Conventional-PCR 法<sup>1,13)</sup>に加え, 一部の検体について HBoV-LAMP 法<sup>14)</sup>による検出を実施した.



HBoV 以外の呼吸器系ウイルスの検出には、国立感染症研究所のウイルス検査マニュアルおよび論文で公表されている方法に準拠した。検出を試みたウイルスはインフルエンザウイルス C 型<sup>15)</sup>、RS ウイルス<sup>16)</sup>、ヒューマンメタニューモウイルス<sup>17)</sup>、パラインフルエンザウイルス<sup>18-20)</sup>、コロナウイルス<sup>20,21)</sup>、エンテロウイルス<sup>22)</sup>、ライノウイルス<sup>22,23)</sup>を対象とし、各ウイルスの特異的遺伝子を PCR 法により検出を試みた。

なお、対象となった小児の保護者から患者情報および患者検体の使用に関する承諾書への署名を得た。当研究所へ検査を依頼した医療機関において記入された調査票（患者情報）の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護などに留意し実施した。

### 3. HBoV 遺伝子系統樹解析

検出された一部の HBoV について、国立感染症研究所の検査マニュアル等<sup>13,24)</sup>に準じて VP1/VP2 領域の遺伝子について塩基配列解析を行った。遺伝子系統樹解析には、塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 5 を用いた。遺伝子系統樹作成には、近隣結合法 (Neighbor-Joining : NJ 法) により行った。Bootstrap test は 1,000 回行った。

## 結果

### 1. HBoV 検出状況

2010~2016年6月に採取された1,321名について HBoV の検査を実施した結果を Table1 および 2 に示した。男児 33 名、女児 13 名の計 46 名 (3.5%) から HBoV 遺伝子が検出された。年別の HBoV 陽性者数は 2010 年 4 名 (4.5%)、2011 年 5 名 (2.2%)、2012 年 9 名 (4.2%)、2013 年 7 名 (3%)、2014 年 3 名 (1.5%)、2015 年 9 名 (4.5%)、2016 年 1~6 月 9 名 (5.8%) で

Table 1. Number of HBoV positive patients by year of specimen collection in patients (January, 2010~June, 2016)

Year of sample collection	Number of patient	Positive patient number (%)
2010	88	4 (4.5)
2011	225	5 (2.2)
2012	213	9 (4.2)
2013	237	7 (3)
2014	206	3 (1.5)
2015	198	9 (4.5)
2016 (Jan.-June)	154	9 (5.8)
Total	1,321	46 (3.5)

あった。

これらの HBoV 陽性者の月別検出数を Table3 に示した。HBoV の主な検出月は 3~6 月で、3 月 6 名 (13%)、4 月 16 名 (34.8%)、5 月 9 名 (19.6%)、6 月 6 名 (13%) であった。

年別の 3~6 月の検出率は 2010 年 2 名 (50%)、2011 年 4 名 (80%)、2012 年 7 名 (77.8%)、2013 年 6 名 (85.7%)、2014 年 2 名 (66.7%)、2015 年 9 名 (100%)、2016 年 (1~6 月) 7 名 (77.8%) であった。

検出された HBoV 陽性者の年齢構成は 0 歳児 11 名 (23.9%)、1 歳児 28 名 (60.9%)、2 歳児 7 名 (15.2%) で 3 歳児以上の年齢では確認されなかった。

### 2. HBoV 陽性者の他のウイルスとの重複検出例

HBoV が検出された 46 名中 24 名 (52.2%) は、他のウイルスとの重複検出例であった。検出月は 2 月 1 名、3 月 3 名、4 月 10 名、5 月 5 名、6 月 3 名、7 月 1 名、10 月 1 名である。その内訳はヒューマンメタニューモウイルス (9 名)、ライノウイルス (9 名)、RS ウイルス (2 名)、パラインフルエンザウイルス (2 名)、コロナウイルス (1 名)、インフルエンザウイルス C 型 (1 名) であった (Table2)。

### 3. HBoV 陽性者の臨床診断名および発熱の程度

HBoV 陽性者の臨床診断名は気管支炎 20 名 (43.5%)、細気管支炎 10 名 (21.7%)、咽頭炎 9 名 (19.6%)、喉頭炎 4 名 (8.7%)、その他 (扁桃炎 1 名、中耳炎 1 名、インフルエンザ様疾患 1 名) が 3 名 (6.5%) であった (Table2)。

HBoV 陽性者の医療機関受診時の平均体温は  $38.6 \pm 0.95^{\circ}\text{C}$  であった。体温別では  $36^{\circ}\text{C}$  台 1 名 (2.2%)、 $37^{\circ}\text{C}$  台 7 名 (15.2%)、 $38^{\circ}\text{C}$  台 20 名 (43.5%)、 $39^{\circ}\text{C}$  台 10 名 (21.7%)、 $40^{\circ}\text{C}$  台 5 名 (10.9%)、不明 3 名であった (Table2)。

### 4. HBoV 遺伝子系統樹解析

塩基配列解析が可能であった HBoV 陽性者 34 名について国立感染症研究所のボカウイルス検査マニュアル記載の方法による VP1/VP2 領域の系統樹解析を実施した結果、各年で検出された HBoV は全てが HBoV1 に分類された (Fig.1)。これらの HBoV1 は Fig.2 で示したとおり、遺伝子系統樹上では 3 つの Group (1~3) に細分化された。Group1 は計 27 名 (79.4%) と調査期間中に最も多く検出された。2012 年および 2016 年は 8 名で最も多く確認され、次に 2013 年 5 名、2011 年 3 名、2015 年 2 名、2010 年 1 名の順であった。Group2 は 2014 年 2 名で、2010 年、2011 年、2015 年は各々 1 名の計 5 名 (14.7%) であった。Group3 は 2015 年のみに計 2 名 (5.9%) 検出された。

**Table 2. Information of HBoV positive patients (January,2010~ June,2016)**

Patient No.	Age <sup>1)</sup>	Gender	Date of sample collection	Clinical diagnosis	Body temperature	Virus detected
1	11M	M	2010. 4.21	Bronchitis	40℃	HBoV & HMPV
2	8M	M	2010. 5.17	Bronchitis	37.4℃	HBoV & HMPV
3	1Y	M	2010. 7.14	Bronchitis	39.5℃	HBoV & HPIV
4	1Y	F	2010.10.19	Pharyngitis	39.5℃	HBoV
5	1Y	M	2011. 5.11	Bronchitis	38.0℃	HBoV & HMPV
6	1Y	M	2011. 5.13	Bronchitis	38.4℃	HBoV & HMPV
7	8M	M	2011. 5.18	Bronchitis	37.8℃	HBoV & HMPV
8	1Y	F	2011. 6. 6	Bronchitis	39.6℃	HBoV
9	1Y	M	2011. 8. 2	Bronchitis	38.7℃	HBoV
10	1Y	M	2012. 2.22	Bronchio litis	37.4℃	HBoV
11	2Y	M	2012. 3.27	Pharyngitis	37.8℃	HBoV
12	1Y	M	2012. 4.10	Pharyngitis	38.6℃	HBoV
13	1Y	F	2012. 4.16	Bronchio litis	38.5℃	HBoV
14	1Y	M	2012. 5. 1	Exudative tonsillitis	38.0℃	HBoV & HMPV
15	2Y	M	2012. 5. 9	Bronchitis	37.2℃	HBoV
16	1Y	M	2012. 5.21	Influenza-like illness	unknown	HBoV
17	9M	F	2012. 6.12	Bronchio litis	unknown	HBoV
18	1Y	M	2012.11.15	Bronchitis	37.0℃	HBoV
19	2Y	M	2013. 4.19	Bronchitis	40.5℃	HBoV
20	11M	M	2013. 4.26	Pharyngitis	39.0℃	HBoV
21	1Y	M	2013. 5. 7	Bronchitis	39.3℃	HBoV
22	1Y	M	2013. 5.13	Otitis media	38.2℃	HBoV
23	1Y	M	2013. 6.10	Pharyngitis	38.4℃	HBoV
24	1Y	F	2013. 6.24	Pharyngitis	39.8℃	HBoV & RSV
25	1Y	F	2013. 7. 3	Pharyngitis	38.7℃	HBoV
26	11M	M	2014. 4.23	Bronchitis	38.6℃	HBoV
27	2Y	F	2014. 4.30	Bronchitis	38℃	HBoV & HRV
28	2Y	M	2014.10. 9	Bronchitis	38.6℃	HBoV & HPIV
29	9M	F	2015. 3.27	Laryngitis	38.2℃	HBoV
30	1Y	M	2015. 3.30	Bronchio litis	38.5℃	HBoV & HMPV
31	2Y	F	2015. 3.30	Bronchio litis	39.8℃	HBoV & HMPV
32	11M	M	2015. 4. 4	Laryngitis	38℃	HBoV & HRV
33	1Y	M	2015. 4.20	Bronchio litis	38.3℃	HBoV & HRV
34	1Y	M	2015. 4.20	Pharyngitis	39.8℃	HBoV & HRV
35	1Y	M	2015. 4.24	Bronchio litis	40℃	HBoV & HRV
36	10M	F	2015. 4.28	Pharyngitis	38.4℃	HBoV & HMPV
37	2Y	M	2015. 6. 5	Laryngitis	40.4℃	HBoV & HRV
38	1Y	M	2016. 1.26	Bronchitis	37.1℃	HBoV
39	1Y	F	2016. 2.17	Bronchitis	39.4℃	HBoV & InfC
40	1Y	M	2016. 3.25	Bronchitis	38.2℃	HBoV
41	1Y	M	2016. 3.26	Bronchitis	39℃	HBoV & HCoV
42	1Y	F	2016. 4. 1	Bronchio litis	38.3℃	HBoV & HRV
43	1Y	M	2016. 4.12	Laryngitis	40.3℃	HBoV & RSV
44	1Y	M	2016. 4.14	Bronchio litis	36.9℃	HBoV & HRV
45	8M	M	2016. 4.30	Bronchio litis	38℃	HBoV
46	6M	F	2016. 6.11	Bronchitis	unknown	HBoV & HRV

1): Y, year old; M, month old

HBoV : Human Boca Virus

HMPV : Human Metapneumo Virus

HPIV : Human Parainfluenza Virus

RSV : Respiratory Syncytial Virus

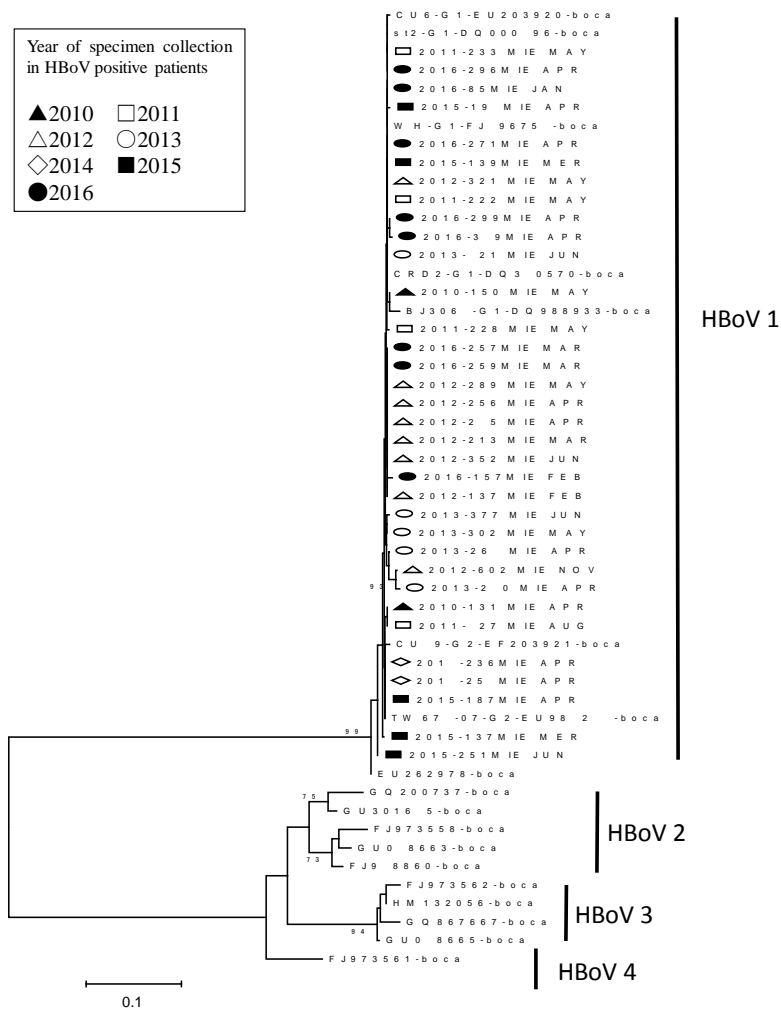
HRV : Human Rhino Virus

HCoV : Human Corona Virus

InfC: Influenza virus C

**Table 3. Number of HBov positive patients by month of specimen collection from patients (January,2010~June,2016)**

Month sample collection	Year of sample collection							Positive patient number (%)
	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	
Jan							1	1 (2.2)
Feb			1				1	2 (4.3)
Mar			1			3	2	6 (13)
Apr	1		2	2	2	5	4	16 (34.8)
May	1	3	3	2				9 (19.6)
June		1	1	2		1	1	6 (13)
July	1			1				2 (4.3)
Aug		1						1 (2.2)
Sep								0 (0)
Oct	1				1			2 (4.3)
Nov			1					1 (2.2)
Dec								0 (0)
Total	4	5	9	7	3	9	9	46



**Fig.1. Typing of HBov according to phylogenetic tree analysis (2010–2016)**

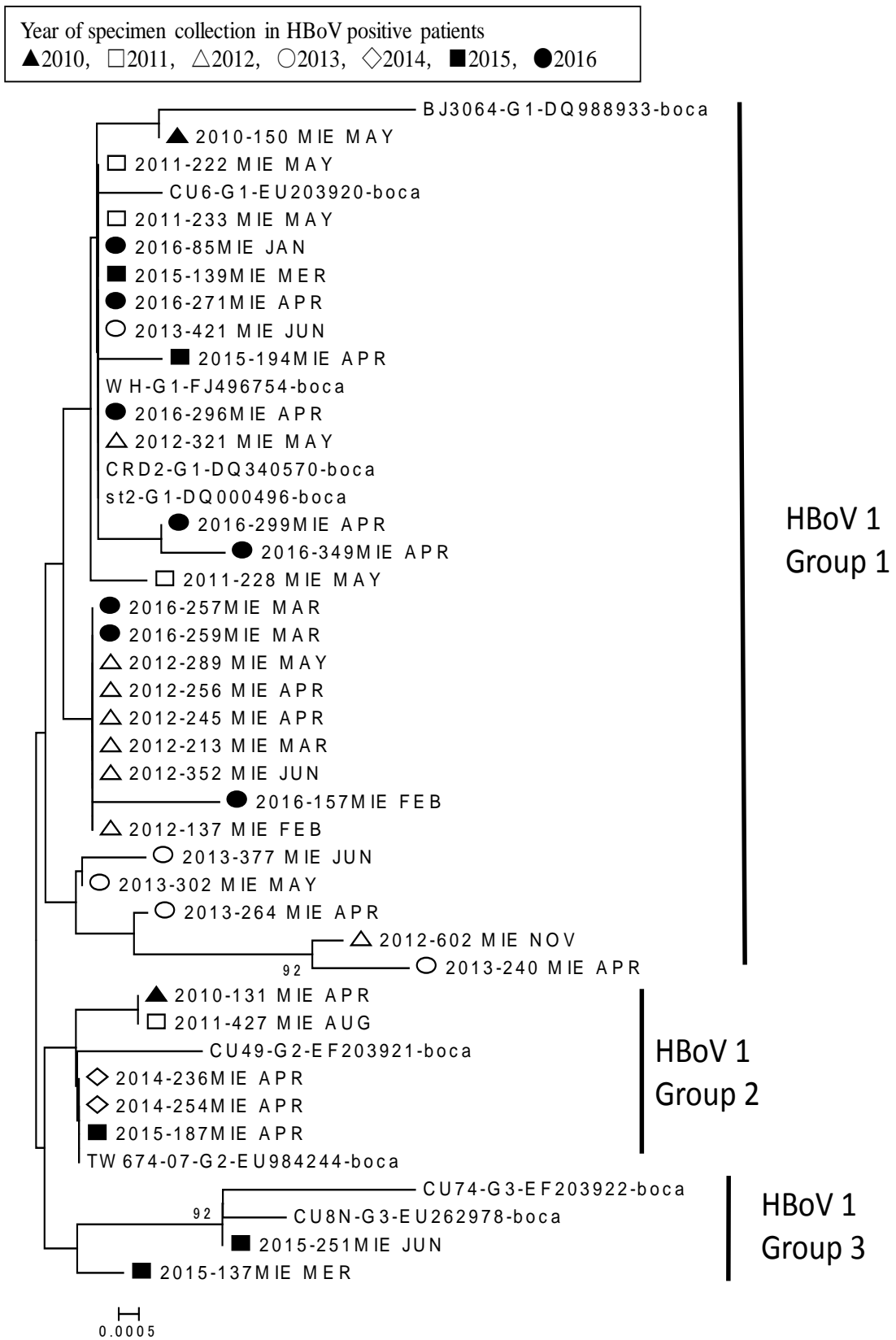


Fig.2. Classification of HBoV1 according to phylogenetic tree analysis (2010–2016)

## 考 察

国立感染症研究所の感染症サーベイランスシステム (NESID) の集計によると、2010～2016年6月までの国内のHBoV陽性者<sup>9)</sup>は1,095名(2016年6月末現在)であった。HBoV調査を実施している自治体数は23府県で、このうち20名以上検出された自治体は12府県と少数の報告であり、依然として国内の患者数および流行像は十分に把握されていないと思われる。本県では2010年からHBoV検査を追加し、継続的な調査を実施しており、2016年6月までの6年半の間に46名(3.5%)からHBoVが検出された。今回、HBoVの流行疫学特性や病原性等について、以下に示す新たな知見を得ることができた。

本調査においてHBoV陽性者46名のうち37名(80.4%)が3～6月に検出されていた。さらに検体採取年別の検出率においても、インフルエンザウイルスの終息後の春から初夏に高い割合で、検出される傾向が認められた。このことは本調査期間中と同時期(2010年1月～2016年6月)のNESIDによるHBoV全国集計<sup>9)</sup>においても1,095名中725名(66.2%)が3～6月に検出されていたことと一致していた。

本研究で解析したHBoV1のGroup1～3の塩基配列相同性は高いものの、HBoV1陽性者(34名)によるHBoV1内のgenotypesについて比較分類したところ、HBoV1のGroup1内には、さらに3つのSubgroupが形成されていた。今後の継続的な調査によってHBoV1-genotypesの変遷などの詳細が判明することで、さらなるHBoVの流行疫学的特徴の究明に繋がるものと思われる。

臨床症状において、様々な呼吸器症状を呈した患児からHBoVが検出されているが、現在、医療機関で迅速検査可能なHBoV簡易診断キットが無く、臨床所見によるHBoVの鑑別は困難である。

本調査において気管支炎、細気管支炎、咽頭炎、喉頭炎等からHBoVが検出されており、中でもHBoV陽性者の65.2%が下気道炎症状を有していたことは、注視すべき呼吸器系感染症の一つと考えられる。さらにHBoV陽性者の37.5℃以上の発熱者は37名(80.4%)で、このうち22名(47.8%)は38.5℃以上であったことから、基礎疾患を有する患児に対する罹患において、考慮されるウイルスであると思われる。

本調査では3歳児以上の年齢からHBoVは検出されておらず、過去の国内外の報告<sup>1,8,25)</sup>と一致した。このことは、6歳児までにHBoV抗体を獲得しているとの報告<sup>26,27)</sup>があることと考え併せ、乳幼児期のHBoV抗体の獲得が、今回のHBoV陽性者の年齢分布との関連性が推察された。

本調査ではHBoVが検出された46名中、他の呼吸器系ウイルスとの重複検出例が24名(52.2%)で確認されている。HBoVと他のウイルスの重複検出における臨床的意義については更なる究明が必要である。HBoV感染症を理解するためには、全国規模のモニタリングを積極的かつ継続的に実施し、流行疫学および患者臨床情報の蓄積が必要であり、今後のHBoV調査の課題であると考えられる。

## 謝 辞

本調査研究を行うにあたり、三重県感染症発生動向調査事業で検体採取を担当された医療機関の諸先生方および関係各位にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A et al : Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, *Proc Natl Acad Sci*, **102**, 12891-12896(2005).
- 2) J.Y.Chung, T.H.Han, C.K.Kim, S.W.Kim : Bocavirus infection in hospitalized children, South Korea, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1254-1256 (2006).
- 3) Foulongne V, Olejnik Y, Perez V, Elaerts S et al : Human bocavirus in French children, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1251-1253 (2006).
- 4) Sloots TP, McErlean P, Speicher DJ, Arden KE et al : Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children, *J Clin Virol*, **35**, 99-102 (2006).
- 5) Smuts H, Hardie D : Human bocavirus in hospitalized children, South Africa, *Emerg Infect Dis*, **12**, 1457-1458 (2006).
- 6) Kesebir D, Vazquez M, Weibel C, Shapiro ED et al : Human bocavirus infection in young children in the United States : Molecular epidemiological profile and clinical characteristics of a newly emerging respiratory virus, *J Infect Dis*, **19**, 1276-1282 (2006).
- 7) Koseki N, Teramoto S, Kaiho M, Endo Gomi R et al : Detection of human bocaviruses 1 to 4 from nasopharyngeal swab samples collected from patients with respiratory tract infections, *J Clin Microbiol*, **50**, 2118-2121 (2012).
- 8) 改田 厚, 久保英幸, 入谷展弘, 後藤 薫 他 : 乳幼児呼吸器感染症患者からのヒトボカウイルスの検出- 大阪市, 病原微生物検出情報, **29**, 161-162(2008).
- 9) 国立感染症研究所感染症疫学センター : 年別ウイルス検出状況, 由来ヒト, ヘルペス群&その他のウイルス. 2012～2016年 (<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/Byogentai/>)

- Pdf/data62j.pdf).
- 10) Moriyama Y, Hamada H, Okada M, Tsuchiya N et al : Distinctive clinical features of human bocavirus in children younger than 2years., *Eur J Pediatr* , **169**, 1087-1092 (2010).
  - 11) Cheng WX, Jin Y, Duan ZJ, Qi HM, et al : Human bocavirus in children hospitalized for acute gastroenteritis, a case-control study, *Clin Infect Dis* , **47**, 161-167 (2008).
  - 12) Jorge Levican, Esteban Navas, Joaquín Orizola, Luis Fidel Avendaño et al : Human bocavirus in children with acute gastroenteritis, Chile, 1985-2010, *Emerg Infect Dis*, **19**, 1877-1880 (2013).
  - 13) 国立感染症研究所：ボカウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/HBoV-manual.pdf>).
  - 14) 矢野拓弥, 前田千恵, 小林章人, 赤地重宏 他 : Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法によるボカウイルス迅速検出法の検討, *三重保環研年報*, **15** (通巻第58号), 32-36(2013).
  - 15) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル (第3版) 平成26年9月  
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>)
  - 16) 国立感染症研究所：RSウイルス  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RS-manual.pdf>).
  - 17) 国立感染症研究所：ヒューマンメタニューモウイルス 平成20年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>).
  - 18) 国立感染症研究所：パラインフルエンザウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/PIV-manual.pdf>).
  - 19) Aguilar J. C, M. P. Pérez-Breña, M. L. Garcia, N. Cruz et al : Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription-PCR, *J Clin Microbiol* , **38**, 1191-1195 (2000).
  - 20) W. Y. Lam, Apple C. M. Yeung, Julian W. Tang, Margaret Ip et al : Rapid multiplex nested PCR for detection of respiratory viruses, *J Clin Microbiol* , **45**, 3631-3640 (2007).
  - 21) Susanna K. P. Lau, Patrick C. Y. Woo, Cyril C. Y. Yip, Herman Tse et al : Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong, *J Clin Microbiol* , **44**, 2063-2071 (2006).
  - 22) 国立感染症研究所：無菌性髄膜炎病原体検査マニュアル  
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/AsepticMening.pdf>).
  - 23) 国立感染症研究所：ライノウイルス検査マニュアル 平成21年7月  
(<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RhinoVirus-manual.pdf>).
  - 24) Chieochansin T, Chutinimitkul S, Payungporn S, Hiranras T et al : Complete coding sequences and phylogenetic analysis of Human Bocavirus (HBoV), *Virus Res* , **129** : 54-57(2007).
  - 25) Ma. X. , R. Endo, N. Ishiguro, T. Ebihara et al : Detection of human bocavirus in Japanese children with lower respiratory tract infections , *J Clin Microbiol* , **44**, 1132-1134 (2006).
  - 26) Don M., Soderlund-Venermo M., Valent F., Lahtinen A et al : Serologically verified human bocavirus pneumonia in children. *Pediatr Pulmonol*, **45**, 120-126 (2010).
  - 27) Guido M, Zizza A, Bredl S, Lindner J et al : Seroepidemiology of human bocavirus in Apulia, Italy, *Clin Microbiol Infect* , **18**, E74-76 (2012).

**Epidemiology of outbreak of Human Bocavirus (HBoV)  
and phylogenetic tree analysis in Mie prefecture (January, 2010~June, 2016)**

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** acute respiratory infections, human bocavirus, epidemic epidemiology, phylogenetic analysis of gene

Surveillance on trend was conducted to grasp the epidemiology of outbreak of Human Bocavirus (HBoV) for 1,321 patients with pediatric respiratory infectious disease who consulted medical institution in Mie Prefecture. Forty six of 1,321(3.5%) patients were found to be HBoV positive.

HBoV positive patients by collection year were found as follows: n=4 in 2010, n=5 in 2011, n=9 in 2012, n=7 in 2013, n=3 in 2014, n=9 in 2015, and n=9 in 2016(January~June). HBoV positive patients tended to be detected in large number from spring after end of influenza to early summer (May~June). Results of phylogenetic tree analysis in VP1/P2 region of HBoV showed that all HBoVs detected from 2010 to 2016 were classified into HBoV1. At present, it was clarified HBoV1 detected were subdivided from Group1 to Group3 on phylogenetic tree. HBoV infectious disease is still unknown for the most part on epidemiology of outbreak, clinical symptoms, and others. Therefore, National scale monitoring should be actively and continuously conducted and information on outbreak epidemiology and patient clinical state is needed for further understanding of HBoV infectious disease.

原 著

## 三重県における結核菌分子疫学解析事業について 結核菌 VNTR データベース解析結果から

永井佑樹, 小林章人, 赤地重宏

### Molecular Epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* using VNTR Analysis in Mie Prefecture; Database of VNTR Analysis

Yuhki NAGAI, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

三重県では平成 26 年度より VNTR 法を用いた結核菌分子疫学的解析事業を実施している。事業の対象となった結核菌 133 株を JATA15-VNTR で解析したところ 8 つのクラスター (クラスター形成率: 16.5%) が確認され, 追加領域を加えた 24 領域の解析では 4 つのクラスター (クラスター形成率: 7.5%) が確認された。また MAP estimation により系統群を推定した結果, 北京型では ST3 が 29 株 (21.8%) と最も多く, 次いで ST25/19 が 24 株 (18.0%), STK が 19 株 (14.3%) となった。一方, 60 歳以下の就労世代に限ると Modern 型が 7 株 (25.9%) と最も多くを占めており, ST25/19 や STK は高齢者に偏在していることが確認された。VNTR 解析の結果は感染対策における科学的エビデンスとなるものであり, 今後も県内分離株の VNTR データを蓄積し, 現場へフィードバックしていくことで, より実効性の高い結核対策を展開していけるものと考えられる。

キーワード: 結核菌 *Mycobacterium tuberculosis*, 分子疫学, VNTR

#### はじめに

感染症の発生に際し, 原因微生物の型別を実施し, 感染源, 感染経路, 感染の広がりなどを明らかにすることは, 公衆衛生対策を推進する上で非常に重要である。結核菌では近年, PCR 法により少量の DNA から迅速・簡便に, そして再現性高く遺伝子型別を実施できる VNTR (Variable number of tandem repeat) 解析法が開発され, 広く利用されている。この VNTR 法は, 結核菌のゲノム上に存在する反復配列領域の多様性を利用した遺伝子型別法であり, 解析結果をデジタル情報として管理できるため, 施設間でのデータの比較や長期間におよぶ継続的なデータ蓄積が容易となる。また近年, 日本国内の株を型別するのに有用な方法として, 結核研究所の JATA-VNTR (Japan Anti-Tuberculosis Association) 法が標準法として提唱されており, 地方衛生研究所等で全国的な普及が始まっている<sup>1, 2)</sup>。

三重県でも, 平成 26 年度より結核に関する特定感染症予防指針に基づき, 「三重県結核菌分子疫学的解析事業」が開始され, VNTR 解析によるデ

ータベースの構築を目指している。この事業は県内で結核病床を有する 3 病院において, 新たに登録された結核患者から分離された菌株を対象として実施している。そこで今回, これまでの VNTR 解析結果の概要について報告するとともに, 系統群解析を含めた詳細な解析を実施したのであわせて報告する。

#### 方 法

##### 1. 検体

平成 26 年および 27 年度に事業の対象となった菌株のうち当所に搬入され, VNTR 解析が可能であった 133 株を対象とした。

##### 2. DNA 抽出

固形培地に発育した菌体を数コロニー相当ディスプレイスプーザブルの白金耳で採取し, 200  $\mu$ l の滅菌水を入れた 1.5ml のスクリュウキャップチューブ内に懸濁した。菌懸濁液を含んだ 1.5ml チューブをヒートブロックにて 100°C で 10 分間加熱した。13,000 rpm, 10 分間遠心分離し, その上清を新たな



Table 1. Profiles of variable number of tandem repeat (VNTR) recognized as cluster type in Mie Prefecture (2014–2015)

Cluster type	Strain No	MAP estimation	JATA12										JATA15			HV loci				International loci								
			J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12	Q11a	EA	Q18	3232	3820	4120	M04	M16	M40	EC	t30	t39		
14M-1	2014007	ST3	4	1	3	2	2	6	2	7	4	5	7	8	5	9	4	10	19	14	12	2	3	3	4	4	3	
	2014008	ST3	4	1	3	2	2	6	2	7	4	5	7	8	5	9	4	10	19	14	12	2	3	3	4	4	3	
	2014009	ST3	4	1	3	2	2	6	2	7	4	5	7	8	5	9	4	10	19	14	12	2	3	3	4	4	3	
	2014023	ST3	4	1	3	2	2	6	2	7	4	5	7	8	5	9	4	10	19	14	12	2	3	3	4	4	3	
14M-2	2014019	non-Beijing	1	4	9	3	8	1	2	4	4	7	7	7	2	11	4	10	1	11	4	5	3	0	4	2	2	
	2014161	non-Beijing	1	4	9	3	8	1	2	4	4	7	7	7	2	11	4	10	1	11	4	5	3	0	4	2	2	
15M-1	2015008	STK	4	3	3	3	2	3	2	3	6	4	3	7	7	4	8	4	8	13	17	13	2	3	3	4	2	4
	2014173	STK	4	3	3	3	2	3	2	3	6	4	3	7	7	4	8	4	8	13	17	13	2	3	3	4	2	4
15M-2	2014036	ST3	4	1	3	2	2	7	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	9	15	11	2	3	3	4	2	3	
	2015057	ST3	4	1	3	2	2	7	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	12	14	12	2	3	3	4	4	3	
	2015045	ST3	4	1	3	2	2	7	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	18	14	9	2	3	3	4	4	3	
	2015109	ST3	4	1	3	2	2	7	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	14	12	6	2	3	3	4	4	3	
	2015176	ST3	4	1	3	2	2	7	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	15	14	14	3	3	3	4	4	3	
	2015107	ST25/19	4	3	3	3	3	3	3	3	7	4	5	7	8	5	8	4	10	13	12	5	2	3	3	4	4	3
15M-3	2014162	ST25/19	4	3	3	3	3	3	3	7	4	5	7	8	5	8	4	10	13	12	5	2	3	3	4	4	3	
	2015046	ST3	4	1	3	2	2	6	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	16	13	12	2	3	3	4	4	3	
15M-4	2015112	ST3	4	1	3	2	2	6	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	16	12	14	2	3	4	4	4	3	
	2015182	ST3	4	1	3	2	2	6	4	7	4	5	7	8	5	9	4	10	16	14	12	2	3	5	4	4	3	
15M-5	2014138	ST3	4	1	3	2	2	6	4	7	4	5	4	8	5	7	4	10	16	14	12	2	3	3	4	4	3	
	2015128	ST3	4	1	3	2	2	6	4	7	4	5	4	8	5	7	4	10	16	14	10	2	3	3	4	4	3	
15M-6	2014143	STK	2	3	3	3	3	3	3	7	4	2	4	8	4	8	4	10	16	12	13	2	3	3	4	2	3	
	2015178	STK	2	3	3	3	3	3	3	7	4	2	4	8	4	8	4	10	14	12	12	2	3	3	4	2	3	

チューブに分取し、PCR 用 template とした。

### 3. VNTR 解析

多重反復配列領域のうち、JATA12 および JATA15 の VNTR 法で用いられている 15 領域を解析対象とした<sup>1,3)</sup>。さらにクラスターを形成した株については、追加領域の解析を実施した。追加領域としては国際的に広く用いられている 6 領域 (international loci ; MIRU4, MIRU16, MIRU40, ETR-C, Mtub30, Mtub39) および超多変領域 (HV: Hyper-variable ; QUB3232, V3820, V4120) の計 24 領域で VNTR 解析を実施した。方法は各菌株のゲノム DNA を template に、それぞれのプライマーと Ex Taq HS version (Takara)を用いた PCR 法で増幅を行い、PCR 産物の増幅サイズからコピー数を測定した。VNTR 解析での分子量測定はアガロースゲル電気泳動法にて実施した。電気泳動は My-Run (Cosmo Bio)を使用し 2%アガロースで 100v, 120 分間行った。また HV 領域の泳動には分子量マーカーとして O'Range Ruler 100+500 bp DNA ladder (Thermo Scientific)を使用した。本研究では、2 株以上の菌株において解析した領域の反復配列数が全て一致した場合、その菌株群をクラスターとして定義した。

### 4. 北京型結核菌の分類

著者らが開発した RD207 をターゲットにした Beijing-identifying LAMP 法を用いて北京型の分類を実施した<sup>4)</sup>。

### 5. MAP estimation による系統分類

MAP (maximum a posteriori) estimation は最大事後確率を用いて結核菌の ST 型を推定する方法である。Seto らの方法<sup>5)</sup>に従い、VNTR の profile から菌株の遺伝系統 (Modern, ST11/26, ST25/19, ST3, STK)を推定した。

## 結 果

#### 1. 検体

解析した 133 株の患者の平均年齢は 73.5 歳 (20~99 歳, SD=20.77) であり、男性が 77 名、女性が 56 名であった。そのうち外国籍患者は 8 名 (6.0%) で、その平均年齢は 33.0 歳 (20~53 歳, SD=12.2) であった。国別ではフィリピンが 5 名と最も多く、次いで中国が 2 名、ベトナム 1 名であった。保健所管内別の患者数は桑名・四日市が 26 名、鈴鹿 19 名、津 22 名、松阪 25 名、伊勢 22 名、伊賀 14 名、熊野・尾鷲 5 名であった。

#### 2. VNTR 解析

Table 2. Lineage distribution of 133 strains of *M. tuberculosis*, Mie Prefecture, 2014–2015

Lineage	No. of strains (%)	No. of foreign nationals	Age years, Mean±SD
Modern	16 (12.0)	2	61.5±28.1
ST11/26	3 (2.3)	0	71±18.7
ST25/19	24 (18.0)	0	79.8±10.3
ST3	29 (21.8)	0	72.6±23.5
STK	19 (14.3)	0	82.7±10.4
Non-Beijing	42 (31.6)	6	71±21.8

JATA15 で VNTR 解析を実施した結果、8 つのクラスター (14M-1, 2, 15M-1, 2, 3, 4, 5, 6) が確認された (Table 1)。最も大きいクラスターは 15M-2 で 5 株で構成され、次いで 14M-1 の 4 株、15M-4 の 3 株となった。それ以外の 5 つのクラスターは 2 株で構成されていた。今回確認されたクラスターにおいて疫学的リンクがみられたのは、14M-1 のみであった。また各保健所管内別でのクラスター形成株を含む割合は、桑名・四日市で 23.1%、鈴鹿 26.3%、津 4.5%、松阪 16.0%、伊勢 18.2%、熊野・尾鷲 40%、伊賀 0%であった。

#### 3. 追加領域による解析

JATA15 の VNTR 解析でクラスターを形成した 22 株について、追加領域を用いて 24 領域での解析を実施した。その結果、JATA15 で形成された 8 つのクラスターのうち、4 つのクラスター (14M-1, 14M-2, 15M-1, 15M-3) では 24 領域でも完全に一致していたが、残りの 4 つのクラスターでは追加領域のうち 1 領域以上でコピー数の違いがみられた。

#### 4. 北京型結核菌の分類

北京型分類を実施した結果、北京型株が 91 株 (68.4%)、非北京型株が 42 株 (31.6%) に分類された。また北京型、非北京型におけるクラスター形成率はそれぞれ 22.0% (20/91)、4.8% (2/42) であった。

#### 5. MAP estimation による系統分類

VNTR の profile から菌株の遺伝系統を推定した結果、Modern 型が 16 株 (12.0%)、ST11/26 が 3 株 (2.3%)、ST25/19 が 24 株 (18.0%)、ST3 が 29 株 (21.8%)、STK が 19 株 (14.3%)、および非北京型が 42 株 (31.6%) に分類された (Table 2)。また 60 歳以下の就労世代に限ると、非北京型が 10 株 (37.0%) と最も多く、次いで Modern 型が 7 株 (25.9%)、ST3 が 6 株 (22.2%) となり、以上の 3 系統で 85.1% を占めていた (Table 3)。また Table 2 に示すように各系統における平均年

Table 3. Lineage distribution by age group of *M. tuberculosis*, Mie Prefecture, 2014–2015

Lineage	age group		
	~29	30~59	60~
Modern	4	3	9
ST11/26		1	2
ST25/19		1	23
ST3	3	3	23
STK		1	18
Non Beijing	4	6	32

年齢は、Modern 型が 61.5 歳、ST11/26 が 71 歳、ST 25/19 が 79.8 歳、ST3 が 72.6 歳、STK が 82.7 歳、非北京型が 71 歳であった。

### 考 察

今回、事業の対象となった結核菌 133 株を JATA15-VNTR で解析したところ 8 つのクラスターが確認され、追加領域を加えた 24 領域の解析では 4 つのクラスター (14M-1, 14M-2, 15M-1, 15M-3) が確認された。14M-1 のクラスターは、鈴鹿保健所管内における病院での事例であり、患者の年齢層も若いことから、比較的近年の感染が疑われた事例であった<sup>6)</sup>。この事例では、保健所の的確な判断により行政検査で VNTR 解析を実施し、早期にクラスターを探知できたことから、それ以降の感染拡大を防ぐことができた事例である。それ以外のクラスターについては、疫学的関連性は明らかになっていないが、15M-1 のクラスターは、平成 20 年および 21 年に行政検査依頼のあったクラスター形成株と同一パターンを示していた。日本では、VNTR 解析法で用いる解析対象領域は、結核研究所より提案された JATA12 という 12 領域 (あるいは JATA15 という 15 領域) が一般的であり<sup>1,2)</sup>、必要に応じて追加領域の解析を組み合わせたという方法が取られている。ただ、わが国で分離される結核菌の大部分を占める北京型株は、遺伝的均質性の高い系統群であり、ほかの遺伝系統群と比べて VNTR による遺伝子型別分析の精度が劣ることが知られている<sup>7-9)</sup>。この問題に対応するため最近、国内の研究施設を含む国際共同研究が実施され、HV 領域を二次解析として用いることにより、北京型結核菌の型別分類の精度が大きく向上することが報告された<sup>10)</sup>。これらのことから三重県の分子疫学解析事業においても、まずは JATA15 の 15 領域で一次スクリーニングを行ったあとに、二次解析として HV 領域を含めた追加領域の解析を行うことにしている。今回の結果からも、二次解析によりクラスター形成率が 16.5% から 7.5% へと大きく低下したことから、サーベイランスにおいては二次解析を行うことが非常に有用であると考えられた。

また MAP estimation により菌株の遺伝系統を推定した結果、北京型では ST3 が 29 株 (21.8%) と最も多く、次いで ST25/19 (18.0%)、STK (14.3%) となった。一方、60 歳以下の就労世代に限ると Modern 型が 7 株 (25.9%) と最も多くを占めており、ST25/19 や STK は高齢者に偏在していることが確認された。今回解析した 133 株のうち Modern 型が 16 株 (12.0%) 確認されたが、その平均年齢が 61.5 歳となり他の系統群より低い傾向がみられた。また確認された Modern 型 16 株のうち外国人由来 (中国、フィリピン) の株が 2 株、さらに多剤耐性株が 1 株含まれていた。2007 年から 2010 年に我々が調査したときの Modern 型分離率の割合は 10.8% (17/158) であり<sup>7)</sup>、それほど増加はしていないが、Modern 型は、北京型結核菌のなかでも若年者に多く、集団感染を誘発するリスクが高いことから、今後も継続的に監視していくことが重要であると考えられた。また Table 2 に示すように、外国人由来の 8 株は Modern 型の 2 株を除いて全て non-Beijing に分類されたが、その要因としては、海外で分離される株は日本とは異なった系統群が多いこと、特にフィリピンでは EAI (East African Indian) とよばれる系統群が主流であることなどが原因と考えられる<sup>11)</sup>。従来、系統群の解析には MLST (multi locus sequence typing) や RD (region of difference) 解析など、一般的な実験室では実施するのが難しかったが、近年開発された MAP estimation では、VNTR の profile から北京型をより詳細に分類することが可能となった<sup>5)</sup>。これにより、VNTR のデータに系統群の情報を加えることで、より正確かつ詳細な菌株の異同判定が可能となり、感染源調査などへの活用も期待される。

事業開始後いくつかの課題もみえてきている。今回 24 領域で一致した 4 つのクラスターのうち 3 つで疫学的関連性が明らかにはならなかった。この要因が、VNTR 解析の分解能の低さによる (本来関連性のない株同士が同じ型になってしまう) ものなのか、あるいは実際の実地疫学調査では把握しきれない何らかの関連性が隠されているのか現段階で把握することは難しい。さらに VNTR 解析やクラスター解析の結果を、患者の人権と個人情報保護法も踏まえたうえで、どのように (どのような型で、どのタイミングで、どこまで) 還元していくか検討していく必要がある。

また今回の対象者のうち外国籍患者が 8 名 (6.0%) 含まれていたが、三重県の県内人口に占める外国人の割合 2.2% (平成 26 年末時点) と比べてもやや多い。しかも今回の外国籍患者 8 名の平均年齢は 33.0 歳と非常に若く、60 歳以下の患者に

おける外国人の占める割合が 29.6% (8/27) であったことから今後、外国人結核の対策を強化していくことがさらに重要になってくるものと思われた。

事業開始から2年が経過し、いくつかの課題も見えてきたが、この VNTR 解析の結果は行政が感染拡大防止策を実施するうえでの科学的エビデンスとなるだけでなく、この VNTR 分析結果をデータベースとして管理していくことで、高精度な結核菌サーベイランスシステムが構築できる。今後さらにデータを蓄積していけば、現段階では把握できない未知の伝播経路の解明や地域内蔓延株の特定ができるようになる可能性もある。これらのことから、今後も県内分離株の VNTR データを蓄積し、現場へフィードバックしていくことで、今まで以上に実効性の高い結核対策を展開していくものと考えている。

### 謝 辞

本研究は、三重県が実施している「三重県結核菌分子疫学的解析事業」(2014年4月1日～2016年3月31日)から得られたデータの一部を解析したものである。当該事業に携わる健康福祉部薬務感染症対策課、保健所、医療機関の各位に深謝致します。

### 文 献

- 1) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗 聡 他 (2008) : 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム. 結核 **83**: 673-678.
- 2) Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, et al., (2009): Promising loci of variable numbers of tandem repeats for typing Beijing family *Mycobacterium tuberculosis*. J Med Microbiol. **57**:873-880.
- 3) 和田崇之, 長谷 篤 (2010) : 結核菌の縦列反復配列多型 (VNTR) 解析に基づく分子疫学とその展望. 結核 **85**: 845-852.
- 4) Nagai Y, Iwade Y, Nakano M, et al., (2016): Rapid and Simple Identification of Beijing Genotype strain of *Mycobacterium tuberculosis* using Loop-mediated isothermal Amplification assay. Microbiol Immunol. **60**:459-467.
- 5) Seto J, Wada T, Iwamoto T, et al., (2015): Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation. Infect Genet Evol. **35**:82-88.
- 6) 高岡祐理佳, 太田茂治, 稲垣 香 他 (2015): VNTR 法により判断された病棟における職員の結核集団感染事例について. 第 67 回三重県公衆衛生学会抄録集 **67**:34-35.
- 7) Nagai Y, Iwade Y, Hayakawa E, et al.,(2012): Molecular Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* in Mie prefecture, Japan, using Variable Numbers of Tandem Repeats Analysis. Jpn J Infect Dis. **65**:341-344.
- 8) Iwamoto T, Yoshida S, Suzuki K, et al., (2007): Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable number tandem repeat typing method on *Mycobacterium tuberculosis* strains predominated by the Beijing family. FEMS Microbiol Lett. **270**:67-74.
- 9) 永井佑樹, 岩出義人, 中野 学 他 (2011) : VNTR 法を用いた結核菌の分子疫学解析 (2007-2009). 三重県保健環境研究所年報 **56**: 30-33.
- 10) Allix-Béguec C, Wahl C, Hanekom M, et al., (2014): Proposal of a consensus set of hypervariable mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem-repeat loci for subtyping of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing isolates. J Clin Microbiol. **52**: 164-172.
- 11) Montoya JC, Murase Y, Ang C, et al., (2013). A molecular epidemiologic analysis of *Mycobacterium tuberculosis* among Filipino patients in a suburban community in the Philippines. Kekkaku. **88**:543-552.

## **Molecular epidemiology of *Mycobacterium tuberculosis* using VNTR analysis in Mie Prefecture; Database of VNTR analysis**

Yuhki NAGAI, Akihito KOBAYASHI, and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** *Mycobacterium tuberculosis*, molecular epidemiology, VNTR

In Mie Prefecture, molecular epidemiological project of TB using VNTR analysis has been started in 2014. We first analyzed 133 clinical isolates using JATA15-VNTR. The use of JATA15-VNTR generated 8 VNTR clusters, with a clustering rate of 16.5%. In contrast, use of 24 loci-VNTR generated 4 clusters, with a clustering rate of 7.5%. Furthermore, a total of 133 strains were subjected to the MAP estimation using VNTR profiles, and the results showed that ST3 was predominant (21.8%) among Beijing lineage, followed by ST25/19 (18.0%), and STK (14.3%). Meanwhile, the major lineage was modern lineage (25.9%) in patients under 60 years of age. This VNTR data support infection control practice based on scientific evidence. Therefore, as the local findings of VNTR analysis are accumulated, this technology will be increasingly effective and useful tool for the molecular epidemiology of TB in Mie Prefecture.

原 著

## 三重県における腸管出血性大腸菌感染症について Stx バリエーション解析と O157 株のクレード解析

永井佑樹, 小林隆司, 小林章人, 赤地重宏

### Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Mie Prefecture Stx Subtyping of EHEC and Phylogenetic Clade Analysis of O157:H7

Yuhki NAGAI, Takashi KOBAYASHI, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

2014 年度に三重県内で届出のあった腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E.coli* 以下 EHEC) 感染者数は 58 名であり, 分離された 58 株の血清型は, O157 が 37 株と最も多く, O26 が 7 株, O111 が 6 株でこれら 3 血清型の占める割合は 86.2% (50/58) であった. Stx のバリエーション解析では, 焼き肉等の喫食率の高かったバリエーションは *Stx2a* (80%) および *Stx1a+Stx2a* (56.5%) であり, さらに重症者の中で *Stx2a* を保持していた人の割合は 88.5% (23/26) であった. また今回解析したなかで *Stx2f* を保有した株も 3 株確認された. クラスタ解析の結果では, 12 のクラスタが確認され, クラスタ形成率は 53.4% (31/58) となったが, そのうち 18 株では疫学的な関連性は確認されなかった. MAMA-PCR によるクレード解析では, 今回解析した株のなかではクレード 8 の株は確認されなかったが, クレード 8 系統株は HUS 発症率が高いことが報告されており, 今後も継続的な監視が必要であると思われた.

キーワード: 腸管出血性大腸菌, 分子疫学解析, Stxバリエーション, クレード解析

#### はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC ; Enterohemorrhagic *Escherichia coli*) 感染症は, 感染症法に基づく 3 類感染症に指定され, 診断した医師の全数届出が義務付けられている. 本感染症は無症状から腹痛, 下痢, 出血性大腸炎 (血便) さらには溶血性尿毒症症候群 (HUS ; Hemolytic Uremic Syndrome) まで様々な臨床症状を呈する重要な感染症であり, EHEC による集団食中毒も毎年のように報告されている. 感染源や感染経路の究明には, 分離菌の分子疫学解析が有用とされており, 三重県においても患者から検出された菌株は保健所の協力のもと地方衛生研究所である当所に搬入され, その後, 厚生労働省通知に基づき国立感染症研究所に送付される. 送付された菌株は multilocus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) 法またはパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による遺伝子解析が行われ,

その結果は各自治体に情報還元されている. また近年, EHEC 感染症による重症化のリスク解析として志賀毒素 (Stx) の変異型毒素 (バリエーション) 解析や, O157 株のクレード解析が注目されている. そこで今回, 2014 年度に感染症発生動向調査で報告された三重県内における EHEC 感染症の概要および分子疫学解析の結果について報告するとともに, Stx のバリエーション解析および O157 株のクレード解析の結果についてもあわせて報告する.

#### 方 法

##### 1. 発生状況

腸管出血性大腸菌感染症の感染者情報は, 三重県感染症発生動向調査事業に基づく届出データにより把握した. 分子疫学解析は国立感染症研究所で実施した PFGE 解析 (O157, O26, O111 以外) および MLVA 解析のデータをもとに検討

した。本研究では、2株以上の菌株において解析した遺伝子型 (MLVA 型および PFGE 型) が一致した場合、その菌株群をクラスターとして定義した。焼き肉等の喫食歴に関しては、保健所の疫学調査の結果をもとに集計した。また患者のうち血便および HUS の症状がみられた患者を重症者と定義し集計した。

## 2. Template DNA の抽出

アルカリ熱抽出法により DNA を抽出した。すなわち平板培地に発育した菌体の数コロニー相当をディスポーザブルの白金耳で採取し、100  $\mu$ l の 25mM NaOH に懸濁し、100°C で 5 分間加熱した。8  $\mu$ l の 1M Tris-HCl 緩衝液を加えて中和後、12,000rpm で 5 分間遠心分離し、その上清を新たなチューブに分取し template とした。

## 3. Stx のバリエーション解析

Scheutz らの方法に従い、Stx のサブタイプ (*Stx1a*, *Stx1c*, *Stx1d*, *Stx2a*, *Stx2b*, *Stx2c*, *Stx2d*, *Stx2e*, *Stx2f*, *Stx2g*) を決定した<sup>1)</sup>。 *Stx1a*, *Stx1c*, *Stx1d*, *Stx2a*, *Stx2d* に関しては、multiplex PCR により実施し、使用したプライマーは Table 1 に示した。

## 4. O157:H7 株のクレード解析

2014 年度に分離された株のうち血清型が O157 と同定された株のみを対象とした。解析は Iyoda らの方法に従い MAMA (mismatch amplification mutation assay)-PCR 法により実施した<sup>2)</sup>。

## 5. 病原性関連遺伝子の検出

Ramírez らの方法に従い病原性関連遺伝子の *eae*、および *astA* を PCR により検出した<sup>3)</sup>。

## 結 果

### 1. 発生状況

2014 年度に三重県内で届出のあった EHEC の感染者数は 58 名であり、患者が 38 名、保菌者が 20 名であった。月別の発生数としては、7 月が 18 名と最も多く、次いで 8 月が 13 名、6 月が 10 名で、6 月から 9 月までの発生数が 44 件 (75.9%) であった。感染者 58 名の平均年齢は 36.6 歳 (0~83 歳, SD=24.45) であり、年齢階級別では 20~29 歳が 10 名と最も多く、次いで 0~9 歳, 10~19 歳, 60~69 歳が各 9 名であった。性別では男性 22 名に対し女性が 36 名であった。また 58 名のうち焼き肉等 (ハンバーグ, ホルモン含む) 喫食歴のある人の割合は 44.8% (26/58) であり、患者に限ると 68.4% (26/38)

Table 1. Primers used for Stx subtyping PCR

Target	Sequence (5'-3')	Amplicon size (bp)
Stx1 subtyping		
stx1a-F1	CCTTTCCAGGTACAACAGCGGTT	478
stx1a-R2	GGAAACTCATCAGATGCCATTCTGG	
stx1c-F1	CCTTTCCTGGTACAACGCGGTT	252
stx1c-R1	CAAGTGTTGTACGAAATCCCTCTGA	
stx1d-F1	CAGTTAATGCGATTGCTAAGGAGTTTACC	203
stx1d-R2	CTCTTCCTCTGGTCTAACCCCATGATA	
Stx2 subtyping		
stx2a-F2	GCGATACTGRGBACTGTGGCC	349
stx2a-R3	CCGKCAACCTTCACTGTAATGTG	
stx2a-R2	GCCACCTTCACTGTGAATGTG	347
stx2b-F1	AAATATGAAGAAGATATTTGTAGCGGC	251
stx2b-R1	CAGCAAATCCTGAACCTGACG	
stx2c-F1	GAAAGTCACAGTTTTATATACAACGGGTA	177
stx2c-R2	CCGGCCACYTTTACTGTGAATGTA	
stx2d-F1	AAARTCACAGTCTTTATATACAACGGGTG	179
stx2d-R1	TTYCCGGCCACTTTTACTGTG	
stx2d-O55-R	TCAACCGAGCACTTTGCAGTAG	235
stx2d-R2	GCCTGATGCACAGTACTGGAC	280
stx2e-F1	CGGAGTATCGGGGAGAGGC	411
stx2e-R2	CTTCTGACACCTTCACAGTAAAGGT	
stx2f-F1	TGGGCGTCACTTCACTGGTTG	424
stx2f-R1	TAATGGCCGCCCTGTCTCC	
stx2g-F1	CACCGGGTAGTTATATTTCTGTGGATATC	573
stx2g-R1	GATGGCAATTCAGAATAACCGCT	

であった。また患者 38 名のうち HUS が 2 名、血便が 24 名みられ、二つを合わせた重症者の割合は 68.4% (26/38) であった。

### 2. 分離菌の血清型

分離された 58 株の血清型の内訳は、O157 が 37 株、O26 が 7 株、O111 が 6 株、O119 が 3 株、O165 が 2 株、O115 が 1 株、O145 が 1 株、O121 が 1 株であった。

### 3. Stx の保有状況およびバリエーション解析

Stx の保有状況を Table 2 に示した。Stx1 のみを保有していたのは 9 株で、Stx2 のみ保有していたのは 20 株、Stx1 と Stx2 の両方を保有していたのは 29 株であった。また Stx のバリエーション解析の結果、最も多かったのが *Stx1a+Stx2a* で 23 株、次いで *Stx2a* 単独が 10 株、*Stx1a* 単独が 9 株、*Stx2a+Stx2c* が 6 株、*Stx1a+Stx2c* が 3 株、*Stx1a+Stx2a+Stx2c* が 3 株、*Stx2f* 単独が 2 株、*Stx2a+Stx2c+Stx2f* と *Stx2c* 単独がそれぞれ 1 株ずつであった。Stx のタイプ別で焼き肉等を喫食していた割合が最も高かったのは *Stx2a* の感染者で喫食率は 80% (8/10) 次いで *Stx1a+Stx2a* で 56.5% (13/23) であった。一方、*Stx1a+Stx2c*, *Stx2a+2c+2f*, *Stx2c* および *Stx2f* の感染者では、焼き肉等の喫食歴のある人はいなかった。また重症者 (HUS+血便) の最も多かったバリエーションは *Stx1a+Stx2a* の 13 株で 50% (13/26) と半数を占めていた。さらに重症者のなかで *Stx2a* (単独以外も含む) を保持して

Table 2. Characteristics of EHEC strains isolated from Mie Prefecture (2014)

Strain No	Serotype	<i>eae</i>	<i>astA</i>	Stx subtype	Patient/ Carrier	Symptom	MLVA	Month	Age	Sex	Epidemiology
2014005	O26	+	-	Stx1a	保菌者		14m2004	4	26	F	
2014010	O111	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m3003	5	9	F	焼き肉
2014011	O157	+	-	Stx2a	患者		14m0024	5	60	F	県外で焼き肉
2014012	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0028	5	35	M	焼き肉
2014013	O111	+	-	Stx1a, Stx2a	患者		14m3003	5	15	M	2014012の兄、焼き肉
2014014	O26	+	-	Stx1a	保菌者		14m2014	5	53	F	保育士、給食担当
2014024	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	HUS	14m0069	6	32	F	重篤
2014025	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0069	6	29	M	2014024の家族
2014026	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者		13m0157	6	16	M	広域事例、味付けホルモン
2014027	O157	+	-	Stx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	6	60	F	旅行、ひつまぶし、うどん
2014028	O157	+	-	Stx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	6	64	F	旅行、ひつまぶし、うどん
2014029	O157	+	-	Stx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	6	65	F	旅行、ひつまぶし、うどん
2014030	O111	+	-	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m3006	6	65	F	
2014031	O157	+	-	Stx2a	患者		14m0016	6	55	F	外食なし
2014032	O157	+	-	Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0061	6	74	F	外食なし
2014037	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0089	7	23	F	焼き肉
2014039	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0107	7	73	M	
2014041	O111	+	-	Stx1a, Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m3010	7	82	F	外食なし
2014042	O111	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m3010	7	62	F	土日ランチ以外、外食なし
2014043	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0148	7	31	M	ホルモン含むバーベキュー
2014044	O165	+	-	Stx2a, Stx2c	患者	血便		7	8	F	週一回手作りハンバーグ
2014045	O157	+	-	Stx1a, Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0137	7	61	M	焼き肉
2014046	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0140	7	30	F	外食なし
2014047	O157	+	-	Stx1a, Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0089	7	19	M	複数の店で喫食
2014048	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者		14m0133	7	10	M	ホルモン喫食
2014049	O119	+	-	Stx2a, Stx2c, Stx2f	患者	血便		7	0	F	離乳食、家族も焼き肉なし
2014050	O157	+	-	Stx2a, Stx2c	保菌者		14m0143	7	26	F	
2014054	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0107	7	81	M	昼食は配食サービス
2014055	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者		14m0211	7	9	F	焼き肉
2014056	O165	+	-	Stx2a, Stx2c	保菌者			8	49	F	2014044の母
2014057	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0232	7	9	M	焼き肉
2014058	O119	+	-	Stx2f	保菌者			8	29	M	2014049の父
2014059	O119	+	-	Stx2f	保菌者			8	3	F	2014049の姉
2014060	O111	+	-	Stx1a, Stx2a	患者		14m3010	7	10	M	肉牛飼育農家
2014061	O157	+	-	Stx2a	患者		14m0016	7	2	M	ハンバーグ
2014062	O145	+	-	Stx2a	患者	血便		8	16	M	焼き肉
2014063	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0234	8	10	M	焼き肉
2014064	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0235	8	41	F	2014063の母
2014084	O157	+	-	Stx2a	保菌者		14m0016	8	62	M	2014088と焼き肉
2014085	O26	+	-	Stx2c	患者	血便	14m2085	7	17	F	外食なし
2014086	O157	+	-	Stx1a	患者		14m0301	8	26	F	バーベキュー
2014087	O157	+	-	Stx1a	保菌者		14m0321	8	57	F	焼き肉
2014088	O157	+	-	Stx2a	患者		14m0016	8	59	F	2014084の接触者、焼き肉
2014089	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0323	8	20	F	焼き肉
2014090	O26	+	-	Stx1a	保菌者		14m2086	8	44	F	2014085の家族
2014091	O26	+	-	Stx1a	保菌者		14m2085	8	69	F	2014085の家族
2014092	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0318	9	2	M	特に喫食なし
2014093	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0319	9	6	M	2914092の兄
2014114	O157	+	-	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0376	9	22	F	焼き肉
2014115	O121	+	-	Stx2a	患者	血便		10	16	F	肉はあまり食べない
2014116	O157	+	-	Stx2a	患者		14m0362	10	49	F	焼き肉
2014117	O157	+	-	Stx2a	患者	血便	14m0362	10	24	M	焼き肉
2014118	O157	+	-	Stx2a	保菌者		14m0362	10	56	F	焼き肉
2014126	O26	+	-	Stx1a	患者		14m2123	11	24	F	外食なし
2014129	O157	+	-	Stx2a, Stx2c	保菌者		14m0143	11	34	M	外食なし
2014130	O26	+	-	Stx1a	患者	血便	13m2195	11	34	F	外食なし
2014146	O157	+	-	Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0266	12	75	M	冷凍ホルモン、カルビなど
2014021	O115	-	-	Stx1a	患者	HUS		6	83	F	HUS

いた人の割合は 88.5% (23/26) であった。

次に血清型の違いによる Stx 保有状況を調べたところ、血清型 O157 での Stx2a 保有率は 86.5% (32/37) であったのに対し、血清型 O157 以外の non-O157 EHEC での保有率は 52.3% (11/21) であ

った。また血清型 O26 に限ると、Stx2a 保有株は 0% (0/7) であった。

#### 4. クレード解析

MAMA-PCR 法によりクレード解析を実施した



Table 3. Profiles of EHEC strains recognized as cluster type in Mie Prefecture (2014)

Cluster	Strain No	Serotype	eae	Stx variant	Patient/ Carrier	Symptom	MLVA/ PFGE	Epidemiological link
M1	2014027	O157	+	Srx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	+
	2014028	O157	+	Stx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	+
	2014029	O157	+	Stx1a, Stx2c	保菌者		14m0061	+
	2014032	O157	+	Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0061	
M2	2014031	O157	+	Stx2a	患者		14m0016	
	2014061	O157	+	Stx2a	患者		14m0016	
	2014084	O157	+	Stx2a	保菌者		14m0016	+
	2014088	O157	+	Stx2a	患者		14m0016	+
M3	2014041	O111	+	Stx1a, Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m3010	
	2014042	O111	+	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m3010	
	2014060	O111	+	Stx1a, Stx2a	患者		14m3010	
M4	2014049	O119	+	Stx2a, Stx2c, Stx2f	患者	血便		+
	2014058	O119	+	Stx2f	保菌者		same as 2014049	+
	2014059	O119	+	Stx2f	保菌者		same as 2014049	+
M5	2014116	O157	+	Stx2a	患者		14m0362	
	2014117	O157	+	Stx2a	患者	血便	14m0362	+
	2014118	O157	+	Stx2a	保菌者		14m0362	+
M6	2014010	O111	+	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m3003	+
	2014013	O111	+	Stx1a, Stx2a	患者		14m3003	+
M7	2014024	O157	+	Stx1a, Stx2a	患者	HUS	14m0069	+
	2014025	O157	+	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0069	+
M8	2014037	O157	+	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0089	
	2014047	O157	+	Stx1a, Stx2a, Stx2c	患者	血便	14m0089	
M9	2014039	O157	+	Stx1a, Stx2a	保菌者		14m0107	
	2014054	O157	+	Stx1a, Stx2a	患者	血便	14m0107	
M10	2014044	O165	+	Stx2a, Stx2c	患者	血便		+
	2014056	O165	+	Stx2a, Stx2c	保菌者		same as 2014044	+
M11	2014050	O157	+	Stx2a, Stx2c	保菌者		14m0143	
	2014129	O157	+	Stx2a, Stx2c	保菌者		14m0143	
M12	2014085	O26	+	Stx2c	患者	血便	14m2085	+
	2014091	O26	+	Stx1a	保菌者		14m2085	+

結果、今回解析した株のなかでは、クレード8の株は確認されず全てクレード1-7の株であることが確認された。

## 5. クラスタ解析

MLVA 解析および PFGE 解析で遺伝子型が一致したものを同一クラスターと判定した結果、全部で12のクラスターが確認された (Table 3), クラスタ形成率は53.4% (31/58) となった。またクラスターを形成した31株のうち18株 (58.1%) で疫学的関連性は確認されなかった。最も大きいクラスターは M1 と M2 でそれぞれ4株で構成されており、次いで M3, M4, M5 が3株, M6 から M12 が2株で構成されていた。またクラスターの M4, M6, M7, M10, M12 に関しては、感染者の疫学的関連性が確認されたが, M3, M8, M9, M11 についてはクラスター内の感染者間で疫学的な関連性は認められなかった。クラスター M1, M2, M5 についてはクラスター内で疫学的に関連性のある感染者と関連性のない感染者が混在していた。

## 6. 病原性関連遺伝子の検出

腸管付着に関与する遺伝子の *eae*, および *astA* をターゲットとして PCR を実施した結果 *eae* は、菌株 No.2014021 (O115) の一株で陰性となったが、それ以外の57株では全て陽性であった (Table 2)。また *astA* は全ての検体で陰性であった。

## 考 察

腸管出血性大腸菌は、現在でも年間3000例以上の感染者が国内で報告されている。分離頻度の多い O 血清群は順に O157, O26, O111 となっており、これら三大 O 血清群は全体の約97%を占めるとされている<sup>4)</sup>。今回解析した58株では O157 が37株と最も多く、次いで O26 が7株, O111 が6株となり、これら3血清型の占める割合は86.2% (50/58) であった。近年、血清型 O157 以外の non-O157 EHEC が増加していることが報告されており<sup>5)</sup>、三重県でも1996年から2001年に実施した調査で EHEC における O157 の占める割合が81.3% (170/209) であったのに対し<sup>6)</sup>、今回の調査では63.8% (37/58) まで減少していた。一般的に腸管出血性大腸菌=O157 というイメージが定

着しているが、富山県での O111 による焼き肉チェーン店での集団食中毒事例や、欧州で多くの死者を出した O104 による集団食中毒事例など、国内だけでなく世界的にも non-O157 による感染事例の増加が問題視されていることから、今後も継続的に監視していくことが重要である。

また今回、腸管付着に関与する遺伝子をターゲットとして PCR を実施した結果、菌株 No.2014021 (O115) の一株で *eae* が陰性となった。*eae* は EHEC や EPEC (腸管病原性大腸菌) の付着にかかわる因子であるインチミンをコードする遺伝子であり、ほとんどの EHEC では *eae* を保有していることが知られている。しかしながら欧州の食中毒事例の原因となった O104 の株のように *eae* を保有しない株でも強い病原性を有する例も報告されている<sup>7)</sup>。今回分離された一株も HUS を起こしていたことから、*eae* 以外の何らかの病原因子を保持している可能性が考えられ、今後詳細な解析が必要である。

EHEC が産生する Stx には Stx1 と Stx2 の 2 種類が存在し、特に Stx2 にはアミノ酸配列の異なる多くのバリエーションの存在が報告されている。また近年の研究では Stx のバリエーションの種類によって病原性に違いがあることが報告されているが<sup>8,9)</sup>、その詳細については不明なところも多い。今回分離された 58 株で Stx のバリエーション解析を実施したところ、焼き肉等の喫食率の高かったバリエーションは Stx2a (80%) および Stx1a+Stx2a (56.5%) であった。さらに重症者の中で Stx2a (単独以外も含む) を保持していた人の割合は 88.5% (23/26) であった。一方で重症化率が低いとされる血清型 O26 では Stx2a を保有した株は確認されなかった。以上のことから Stx2a 保有株は食肉を介した感染が多く、さらに他のバリエーション保有株に比べ病原性が高い可能性が示唆された。しかしながら本研究では、特定の地域で分離された少数の菌株を対象としているので、今後より広範な地域の株を対象とした研究が必要である。また今回解析したなかで Stx2f を保有した株も 3 株確認された。Stx2f 型の分離は非常に稀であり、国内の報告では主に小児の下痢症患者より分離されているが、これらの感染源は明らかになっていない。今回の 3 株の事例は患者とその家族の保菌者 2 名から分離されており (クラスター M4)、患者は 11 か月の女児であった。ただ家族全員に直近の焼き肉等の喫食歴はなく、疑わしい感染源は不明であった。海外の研究では、野鳥、とくに鳩の糞便から多くの Stx2f 型志賀毒素産生大腸菌の分離例が報告されているが<sup>10-13)</sup>、現時点では人への感染は証明されておらず、今後さらなる研究が期待される。いずれにせよ、

Stx のバリエーション型別は、患者の重症度や予後を推察する一つの指標となる可能性があることから、分離株のバリエーション型別を実施する意義は大きいと思われる。

Stx のバリエーション解析と同様、重症化のリスク解析で注目されているのがクレード解析である。近年、Manning らの研究グループによって、96 の遺伝子座の塩基置換をもとにした MLST (multi locus sequence typing) 法が開発され<sup>14)</sup>、O157:H7 株は 9 つの系統 (クレード 1~9) に分類されることが明らかとなった。そのなかでクレード 8 に属する株は他のクレードと比べ HUS 発症率が有意に高いことが報告された<sup>2,14)</sup>。今回解析した検体では、クレード 8 の株は確認されなかったが、クレード 8 の株を特異的に検出できる MAMA-PCR 法は簡便な方法であり、感染者の予後の早期診断に応用できる可能性もあることから、期待が大きい有用な手法と思われる。

MLVA および PFGE によるクラスター解析の結果では、全部で 12 のクラスターが確認されたが、クラスターを形成した 31 株のうち 18 株 (58.1%) で疫学的な関連性は認められなかった。ただ今回確認された 12 のクラスターのうち 4 つのクラスターでは他府県でも同一の遺伝子型の株が確認されている (未公表) ことから、広域的な散発事例の可能性も考えられた。近年、食品流通の国際化、大規模化、広域化に伴い広域散発性食中毒と思われる事例が発生している。広域におよぶ事例を早期に探知してその拡大を防ぐとともに、原因究明に向けた対策を行うことが重要であるが、迅速性に優れた MLVA 法は、よりリアルタイムに近いサーベイランスが可能となることから非常に有用な解析手法であると考えられる。今後も継続して MLVA 解析等の分子疫学解析を実施していくことが重要であるが、それとともに広域事例の調査では自治体間の連携、すなわち行政管轄を超えた協力体制を確立していくことも重要であると考えられた。

## 謝 辞

EHEC 菌株の提供、運搬にご協力いただきました各医療機関、各保健所、津保健所総合検査室ならびに関係各位に深謝致します。また PFGE 解析および MLVA 解析を実施いただきました国立感染症研究所細菌第一部の先生方に感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) Scheutz F, Teel LD, Beutin L, et al., (2012): Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature. *J Clin Microbiol.* **50**:2951-2963.
- 2) Iyoda S, Manning SD, Seto K, et al., (2014): Phylogenetic Clades 6 and 8 of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 With Particular stx Subtypes are More Frequently Found in Isolates From Hemolytic Uremic Syndrome Patients Than From Asymptomatic Carriers. *Open Forum Infect Dis.* **12**:1 ofu061.
- 3) Ramírez Castillo FY, Avelar González FJ, Garneau P (2013): Presence of multi-drug resistant pathogenic *Escherichia coli* in the San Pedro River located in the State of Aguascalientes, Mexico. *Front Microbiol.* **17**:147.
- 4) 伊豫田淳, 寺嶋 淳, 泉谷秀昌 他 (2009) : 日本国内における腸管出血性大腸菌感染症の現況と分離株の性状. *JVM 獣医畜産新報.* **62** : 801-806.
- 5) Gould LH, Mody RK, Ong KL, et al.,(2013): Increased recognition of non-O157 Shiga toxin producing *Escherichia coli* infections in the United States during 2000-2010: epidemiologic features and comparison with *E. coli* O157 infections. *Foodborne Pathog Dis.***10**:453-460.
- 6) 大熊和行, 寺本佳宏, 福田美和 他 (2001) : 三重県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向. *三重保環研年報.* **3**:105-108.
- 7) Grad YH, Lipsitch M, Feldgarden M, et al., (2012): Genomic epidemiology of the *Escherichia coli* O104:H4 outbreaks in Europe, 2011. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **109**:3065-3070.
- 8) Eklund M, Leino K, Siitonen A (2002): Clinical *Escherichia coli* strains carrying stx genes: stx variants and stx positive virulence profiles. *J Clin Microbiol.* **40**:458 5-4593.
- 9) Friedrich AW, Bielaszewska M, Zhang WL, et al., (2002): *Escherichia coli* harboring Shiga toxin 2 gene variants: frequency and association with clinical symptoms. *J Infect Dis.* **185**: 74-84.
- 10) Schmidt H, Scheef J, Morabito S, et al., (2000): A new Shiga toxin 2 variant (Stx2f) from *Escherichia coli* isolated from pigeons. *Appl Environ Microbiol.* **66**:1205-1208.
- 11) Morabito S, Dell'Omo G, Agrimi U, et al., (2001): Detection and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in feral pigeons. *Vet Microbiol.* **82**:275-283.
- 12) Farooq S, Hussain I, Mir MA, et al., (2009): Isolation of atypical enteropathogenic *Escherichia coli* and Shiga toxin 1 and 2f-producing *Escherichia coli* from avian species in India. *LettAppl Microbiol.* **48**:692-697.
- 13) Sonntag AK, Zenner E, Karch H, et al., (2005): Pigeons as a possible reservoir of Shiga toxin 2f-producing *Escherichia coli* pathogenic to humans. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.* **118**:464-470.
- 14) Manning SD, Motiwala AS, Springman AC, et al., (2008): Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc Natl Acad Sci U S A.***105**:4868-4873.

## **Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Mie Prefecture Stx Subtyping of EHEC and Phylogenetic Clade Analysis of O157:H7**

Yuhki NAGAI, Takashi KOBAYASHI, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** EHEC, Molecular epidemiology, Stx subtype, Phylogenetic clade analysis

In fiscal year 2014, 58 patients were reported to have become infected with enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) in Mie Prefecture. The most common serogroups were O157 (37 isolates), followed by O26 (7 isolates) and O111 (6 isolates), and these three major serogroups accounted for 88.5% (50/58). In Stx subtyping, *Stx2a* (80%) and *Stx1a+Stx2a* (56.5%) have a high proportion of eating meat, and 88.5% (23/26) of severe cases carried *Stx2a*. Additionally, 3 isolates carried *stx2f*. In this study, the use of PFGE and MLVA analysis generated 12 VNTR clusters, with a clustering rate of 53.4% (31/58). In addition, 18 isolates out of clustered strain (n=31) had no epidemiological link. We also performed MAMA-PCR assay, which allowed detection of phylogenetic clade 8 strains. As a result, of the 58 isolates used in this study, none was found to belong to clade 8. Since recent studies have documented that clade 8 strains have a predisposition for HUS, it is necessary to monitor emergence of these potentially highly virulent clade 8 strains from a public health perspective.

ノート

## 三重県における呼吸器症状を呈した小児患者からの エンテロウイルス D68 型の動向 (2013 年 1 月～2016 年 6 月)

矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 赤地重宏

### Detection of Enterovirus D68 Type from Children with Respiratory Symptoms in Mie Prefecture (January, 2013～June, 2016)

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA and Shigehiro AKACHI

三重県感染症発生動向調査事業において、2013年1月～2016年6月までに三重県内の医療機関を受診した呼吸器症状を呈する小児患者795名を対象にエンテロウイルスD68型 (EV-D68) の動向を把握するため調査を実施した。調査対象者795名中7名 (0.9%) からEV-D68が検出され、採取年別のEV-D68陽性者数は2013年3名、2015年4名であった。EV-D68陽性者は秋季 (9～10月) に検出される傾向が認められた。EV-D68陽性者の臨床診断名は気管支炎2名、喘息様気管支炎3名、細気管支炎1名、喉頭炎1名であった。EV-D68感染症との関連性が疑われている喘息発作は本調査の対象者からも検出されており関連性が注目される。また急性弛緩性麻痺 (AFP) との関連性は、今後の全国規模の積極的かつ継続的な調査で明らかにされることが期待される。

キーワード：急性呼吸器感染症，エンテロウイルス D68 型 (EV-D68)，喘息様気管支炎，急性弛緩性麻痺 (AFP)

#### はじめに

ヒトのエンテロウイルス (EV) は遺伝子型により A～D (species) に分類され、エンテロウイルス D68 型 (EV-D68) は D 群に属する<sup>1-3)</sup>。EV-D68 は、1962 年に米国カリフォルニア州において気管支炎や肺炎の小児患者 (4 名) から初めて分離されたウイルスであるが、これまで検出数が少なく、極めて稀な呼吸器感染症の原因ウイルスの一つであると考えられてきた<sup>4,5)</sup>。わが国では、2005～2010 年までは毎年数例のみの報告であった。2010 年、2013 年および 2015 年には夏季から初秋にかけて 100 例以上の報告があったが、2015 年はこれまでを上回る 285 例の報告数<sup>6-8)</sup>となった。病原性に関しては急性弛緩性麻痺 (AFP)<sup>9,10)</sup>および喘息発作における入院例が報告され<sup>11,12)</sup>、EV-D68 との関連が疑われた。そこで我々は、三重県内の小児の急性呼吸器疾患患者の EV-D68 感染症の動向を調査したので以下に報告する。

#### 対象と方法

##### 1. 調査対象

2013 年 1 月～2016 年 6 月の間に三重県感染症発生動向調査事業において、県内の医療機関を受診した呼吸器症状を呈する小児患者 795 名 (インフルエンザと診断された患者を除く) から得られた患者臨床検体 (鼻汁、咽頭拭い液、気管吸引液) を EV-D68 調査の対象とした。

採取年別の検査数は 2013 年 237 名、2014 年 206 名、2015 年 198 名、2016 年 (1～6 月) 154 名であった (表 1)。

##### 2. EV-D68 および他の呼吸器系ウイルスの検出

患者臨床検体から抽出した RNA は使用時まで -80℃ に保存し、国立感染症研究所のウイルス検査マニュアル<sup>13)</sup>による EV およびライノウイルス (HRV) 遺伝子の検出を実施した。検出された EV の型同定には、同検査マニュアル<sup>13)</sup>に準じて VP4-VP2 領域の遺伝子について塩基配

列を決定し、BLAST解析によるEVの型同定を行った。

EV以外の呼吸器系ウイルスの検出には、国立感染症研究所のウイルス検査マニュアルおよび論文で公表されている方法に準拠した。検出を試みたウイルスはインフルエンザウイルスC型<sup>14)</sup>、RSウイルス<sup>15)</sup>、ヒューマンメタニューモウイルス<sup>16)</sup>、パラインフルエンザウイルス<sup>17-19)</sup>、コロナウイルス<sup>19,20)</sup>、ボカウイルス<sup>21,22)</sup>を対象とし、各ウイルスの特異的遺伝子をPCR法により検出を試みた。

なお、対象となった小児の保護者から患者情報および患者検体の使用に関する承諾書への署名を得た。検査が依頼された医療機関において記入された調査票（患者情報）の使用にあたっては、倫理的配慮として、個人情報保護などに留意し実施した。

## 結果

### 1. EV-D68の検出状況

2013年1月～2016年6月の間に採取された小児患者795名の検体についてEV-D68検査を実施した結果、男児3名、女児4名の計7名(0.9%)からEV-D68が検出された(表1, 2)。検体採取年別のEV-D68陽性者数は2013年3名、2015年4名であった。

これらのEV-D68陽性者の検出月は2013年9月(1名)、10月(2名)、2015年は9月(4名)であった。検出されたEV-D68陽性者の年齢構成は3歳児4名、4歳児2名、9歳児1名で3歳児未満の年齢では検出されていない。今回、EV-D68が検出された2013年の3名については、HRVとの重複検出例であった(表2)。

表1. 患者検体採取年別のEV-D68陽性者数(2013年1月～2016年6月)

採取年	対象者数	陽性者数 (%)
2013年	237	3 (1.3)
2014年	206	0 (0)
2015年	198	4 (2)
2016年(1-6月)	154	0 (0)
計	795	7 (0.9)

### 2. EV-D68陽性者の臨床診断名および発熱の程度

EV-D68陽性者の臨床診断名は気管支炎2名、喘息様気管支炎3名、細気管支炎1名、喉頭炎1名であった(表2)。

EV-D68陽性者の医療機関受診時の平均体温は $38.3 \pm 1.2^\circ\text{C}$ であった。体温別では $36^\circ\text{C}$ 台1名、 $37^\circ\text{C}$ 台2名、 $38^\circ\text{C}$ 台2名、 $40^\circ\text{C}$ 台2名であった(表2)。

## 考察

国立感染症研究所の感染症サーベイランスシステム(NESID)の集計によると、2010～2016年6月までの国内のEV-D68陽性者は549名<sup>7,8)</sup>

(2016年6月末現在)であった。EV-D68陽性者の検体採取年別内訳は2010年129名、2011年3名、2012年1名、2013年122名、2014年9名、2015年285

表2. EV-D68陽性者の患者情報(2013年1月～2016年6月)

検体No.	年齢	性別	採取日	臨床診断名	受診時体温	検出ウイルス
1	3歳	女	2013. 9.24	気管支炎	38.2°C	EV-D68 & HRV
2	3歳	女	2013. 10. 9	気管支炎	40.0°C	EV-D68 & HRV
3	4歳	女	2013. 10.25	喘息様気管支炎	37.6°C	EV-D68 & HRV
4	4歳	女	2015. 9.14	喉頭炎	40.0°C	EV-D68
5	3歳	男	2015. 9.17	細気管支炎	36.9°C	EV-D68
6	3歳	男	2015. 9.18	喘息様気管支炎	38.0°C	EV-D68
7	9歳	男	2015. 9.29	喘息様気管支炎	37.7°C	EV-D68

EV-D68: エンテロウイルスD68型  
HRV: ヒトライノウイルス

名, 2016年(1~6月)0名で, 2010年, 2013年, 2015年にEV-D68陽性者が増加していた. 本調査(2013~2016年)においても, 2013年3名, 2015年4名からEV-D68陽性者が確認されており, 全国規模の流行が推察された. また, 伊藤らの報告<sup>12)</sup>によると三重県津市の医療機関において2015年9月21日から同年10月17日の間の入院症例を対象にEV-D68調査が実施された. 調査対象者27名中10名(37%)からEV-D68が検出されており, EV-D68陽性者は2015年10月4日までの間に検体が採取された患者に集中していた. それ以降に採取された検体からはEV-D68は検出されていない. このことは本県の感染症発生動向調査事業で呼吸器症状を呈した患児からEV-D68が検出された時期と一致していた(表2).

また, 同調査事業において, 呼吸器症状以外の患者から2015年9月の不明発疹症患者(2歳: 女児), 2015年10月の無菌性髄膜炎疑い患者(3歳: 男児)の呼吸器部位より採取した検体からEV-D68が検出されており, 2015年における県内への浸潤が推測された. 米国では, 2014年にミズーリ州とイリノイ州で呼吸器疾患患者から, 1,153名のEV-D68陽性者が確認され, そのうち14名の死亡例が報告されており<sup>23)</sup>, 重症化の可能性に注視が必要である.

日本小児アレルギー学会は近年のEV-D68の流行に伴い, 喘息入院例を対象にした全国調査を行っており<sup>24)</sup>, EV-D68との関連性が注目される. 喘息に関して斎藤ら<sup>25)</sup>は, アレルギー等の喘息体質を有する小児がHRVに罹患すると気道狭窄等による重症化を引き起こすリスクが高まり, HRVが喘息発症の重要な因子であることを示唆している. 本調査においてEV-D68が検出された7名中3名が, HRVとの重複検出例であり, そのうち1名の患児は喘息性気管支炎であった. この患児のアレルギーおよび他の基礎疾患等の患者情報は不明であるが, EV-D68とHRVの重複検出における臨床的意義の究明が必要であると考えられる.

また, 米国コロラド州ではEV-D68によるアウトブレイクが起こり, その関連の小児患者がAFPあるいは脳神経機能異常を呈していたと報告されている<sup>26)</sup>. 国内においても症例数は少ないもののAFPの散発例が報告<sup>9,10)</sup>され, EV-D68との関連性が疑われている. 厚生労働省はAFPの重篤度を懸念し, 各自治体へ積極的疫学調査の協力依頼を通達<sup>27)</sup>しており, EV-D68とAFPとの関連性は, 今後の全国規模の積極的かつ継続的な調査で明らかにされることが期待される.

## 謝 辞

三重県感染症発生動向調査事業で検体採取を担当された医療機関の諸先生方および関係各位にお礼申し上げます.

## 文 献

- 1) Features Soile Blomqvist, Carita Savolainen, Laura Raman, Merja Roivainen, et al : Human Rhinovirus 87 and Enterovirus 68 Represent a Unique Serotype with Rhinovirus and Enterovirus, *J Clin Microbiol*, **40**, 4218-4223 (2002).
- 2) M. Steven Oberste, Kaija Maher, David Schnurr, Mary R. Flemister, et al: Enterovirus 68 is associated with respiratory illness and shares biological features with both the enteroviruses and the rhinoviruses, *J Gen Virol*, **85**, 2577-2584 (2004).
- 3) Richter Razafindratsimandresy, Marie-Line Joffret, Francis Delpeyroux, Jean-Michel Heraud: First Full Genome Sequence of a Human Enterovirus A120, Isolated in Madagascar, *Genome Announc*, **2**, e00568-14(2014).
- 4) Schieble JH, Fox VL, Lennette EH: A probable new human picornavirus associated with respiratory disease, *Am J Epidemiology*, **85**, 297-310 (1967).
- 5) Centers for Disease Control and revention: Clusters of Acute Respiratory Illness Associated with Human Enterovirus 68 --- Asia, Europe, and United States, 2008-2010, **60**, 1301-1304(2011).
- 6) Ikeda T, Mizuta K, Abiko C, Aoki Y, et al : Acute respiratory infections due to enterovirus 68 in Yamagata, Japan between 2005 and 2010, *Microbiol Immunol*, **56**, 139-143 (2012).
- 7) 国立感染症研究所感染症疫学センター : IASR 過去の集計表ウイルス (<http://www.nih.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/230-iasr-data/5492-iasr-table-v-p.html>).
- 8) 国立感染症研究所感染症疫学センター : 年別ウイルス検出状況、由来ヒト : エンテロウイルス (2) , 2012~2016年 (<http://www0.nih.go.jp/niid/idsc/iasr/Byogentai/Pdf/data60j.pdf>).
- 9) Patrick Ayscue, Keith Van Haren, Heather Sheriff, Emmanuelle Waubant, et al: Acute Flaccid Paralysis with Anterior Myelitis- California, June 2012-June 2014, *MMWR Early Release on the MMWR website* <http://www.cdc.gov/mmwr>.2014 / **63**, 903-906 (2014).
- 10) 島津幸恵, 久恒有里, 池田周平, 東久保 靖他 : エンテロウイルスD-68型が検出された小児・乳児の4症例ー広島県, 病原微生物検出情

- 報, **35**, 295-296(2014).
- 11) 伊藤健太, 堀越裕歩, 舟越 優, 寺川敏郎 他 : エンテロウイルスD68型が検出された小児4症例—東京都, 病原微生物検出情報, **36**, 193-195(2015).
  - 12) 伊藤卓洋, 中村晴奈, 東 礼次郎, 桑原 優 他 : 2015年秋における小児の喘息発作入院増加とエンテロウイルスD68型流行との関連—三重県津市, 病原微生物検出情報, **36**, 250-252(2015).
  - 13) 国立感染症研究所 : 無菌性髄膜炎病原体検査マニュアル (<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/AsepticMening.pdf>).
  - 14) 国立感染症研究所 : インフルエンザ診断マニュアル (第3版) 平成26年9月 (<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>).
  - 15) 国立感染症研究所 : RS ウイルス (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/RS-manual.pdf>).
  - 16) 国立感染症研究所 : ヒューマンメタニューモウイルス 平成20年7月 (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>).
  - 17) 国立感染症研究所 : パラインフルエンザウイルス検査マニュアル 平成21年7月 (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/PIV-manual.pdf>).
  - 18) Aguilar J. C, M. P. Pérez-Breña, M. L. Garcia, N. Cruz et al : Detection and identification of human parainfluenza viruses 1, 2, 3, and 4 in clinical samples of pediatric patients by multiplex reverse transcription- PCR, *J Clin Microbiol* , **38**, 1191-1195 (2000).
  - 19) W. Y. Lam, Apple C. M. Yeung, Julian W. Tang, Margaret Ip et al : Rapid multiplex nested PCR for detection of respiratory viruses, *J Clin Microbiol* , **45**, 3631-3640 (2007).
  - 20) Susanna K. P. Lau, Patrick C. Y. Woo, Cyril C. Y. Yip, Herman Tse et al : Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong, *J Clin Microbiol* , **44**, 2063-2071 (2006).
  - 21) 国立感染症研究所 : ポカウイルス検査マニュアル 平成21年7月 (<http://www0.nih.go.jp/niid/reference/HBoV-manual.pdf>).
  - 22) 矢野拓弥, 前田千恵, 小林章人, 赤地重宏 他 : Loop-mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法によるポカウイルス迅速検出法の検討, 三重保環研年報, 15(通巻第58号), 32-36(2013).
  - 23) Midgley CM, Jackson MA, Selvarangan R, George Turabelidze, et al: Severe respiratory illness associated with enterovirus D68 - Missouri and Illinois, 2014, *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, **63**, 798-799 (2014).
  - 24) 是松聖悟, 三浦克志, 長谷川俊史, 長尾みづほ 他 : エンテロウイルスD68型流行期における小児気管支喘息発作例の全国調査, 病原微生物検出情報, **37**, 31-33(2016).
  - 25) 斎藤博之, 佐藤寛子, 秋野和華子, 藤谷陽子 他 : 1年にわたる気管支炎・肺炎の流行と検出ウイルスの推移—秋田県, 病原微生物検出情報, **32**, 233-234(2011).
  - 26) Messacar K, Schreiner TL, Maloney JA, Wallace A et al : A cluster of acute flaccid paralysis and cranial nerve dysfunction temporally associated with an outbreak of enterovirus D68 in children in Colorado, *Lancet*, **385**, 1662-1671(2015).
  - 27) 厚生労働省健康局結核感染症課, 【事務連絡】急性 弛緩性麻痺 (AFP) を認める症例の実態把握について (協力依頼) ([http://www.jpeds.or.jp/uploads/files/20151021\\_AFP.pdf](http://www.jpeds.or.jp/uploads/files/20151021_AFP.pdf)).



ノート

## 環境修復地内に存在する 1,4-ジオキサン分解菌

天野晴貴, 赤地重宏, 新家淳治\*

### 1,4-Dioxane-decomposing Bacterium Existing in an Environmental Remediation Place

Haruki AMANO, Shigehiro AKACHI and Junji NIINOMI

環境修復地に設置された水処理施設内で, 1,4-ジオキサン分解能力を有する微生物の探索を行うため, 同施設生物処理槽から試料を採取した. 試料に 1,4-ジオキサンを添加した検体の集積培養および 1,4-ジオキサン濃度の経時モニタリングを行った. また, 集積培養後の検体を新たな試料とし, 1,4-ジオキサンの他に無機塩類や有機物を添加した検体の集積培養および経時モニタリングを行った.

その結果, 生物処理槽水の 1,4-ジオキサン濃度の減少が確認できたことから, 1,4-ジオキサン分解菌が存在することが示唆された. また, 集積培養を行うことによって分解活性が向上することが確認できた. さらに, 試料に無機塩類を添加すると, 1,4-ジオキサンの分解は促進されたが, 1,4-ジオキサン以外の有機物を添加すると, 見かけ上分解活性は一時的に低下した.

1,4-ジオキサンの濃度減少が確認できた検体から単離した菌の DNA 塩基配列は, *Micromonospora* 属の放線菌等のものと高い相同性を示した.

キーワード: 環境修復地, 1,4-ジオキサン, 集積培養, *Micromonospora*, DNA 塩基配列

#### はじめに

三重県桑名市内の環境修復現場は, 平成 7 年から平成 8 年頃に廃棄物の不法投棄が行われ, 平成 15 年度から行政代執行による環境修復事業を行っている. その主な内容は, 汚染地下水の拡散防止のための遮水壁設置および地下水浄化のための水処理施設設置である. 平成 21 年に, ヒトに対して発がん性を有する 1,4-ジオキサンが, 地下水水質環境基準を指定されたことから, 同現場の 1,4-ジオキサンのモニタリングを行った. その結果, 遮水壁内外に設置されている観測井戸で地下水基準を超える濃度の 1,4-ジオキサンが検出され, 同物質による汚染が生じていることが確認された. 1,4-ジオキサンは既存の水処理施設における生物処理での浄化が困難であることから, 促進酸化処理施設を追加整備し, 平成 24 年度から 1,4-ジオキサン浄化対策を行っている. 水処理および促進酸化処理に掛かる維

持管理費用は約 4 千万円/年で, これらの処理はある程度長い期間を必要とする. 処理が長期に亘れば, 処理施設は経年劣化し, そのため修繕費用も発生する. また, 遮水壁の劣化は避けられないことから, 汚染拡散防止のための新たな遮水壁を設置しなければならず, 更なる費用が必要となる. このように, 現在行っている環境修復事業は, 事業完了までに多額の費用が見込まれることから, 安全でより安価な浄化対策が望まれる.

近年, 1,4-ジオキサン分解菌の報告事例が数件あり, それらは化学工場の排水路土壌や排水処理汚泥から発見されている<sup>1)</sup>. しかし, 1,4-ジオキサンに汚染された廃棄物不法投棄現場からの報告事例はほとんどない. 微生物を用いた 1,4-ジオキサン浄化処理が可能となれば, 促進酸化処理を行っている現状の処理に係る費用よりも安価に処理を行うことが見込める. また,

\* 公益財団法人 三重県下水道公社

汚染現場に生息している菌を処理に利用できれば、環境への影響もほとんどないと考えられる。今回、廃棄物不法投棄現場での 1,4-ジオキサン分解菌の探索、現場試料を用いた集積培養、集積培養を行った試料中の菌叢の分解能力調査、分解菌の単離および菌種推定を行ったので、その結果を報告する。

## 方 法

### 1. 試験スケジュール

本研究の試験スケジュールを図 1 に示す。

### 2. 試薬

本研究で使用した試薬および調製方法は次のとおりである。

- ・1,4-ジオキサン、塩化鉄(III)(無水)、塩化カルシウムおよび硫酸アンモニウムは関東化学(株)製特級、塩化ナトリウム、硫酸マグネシウム七水和物およびリン酸水素二カリウムは和光純薬工業(株)製特級、寒天は Bacto Agar (Becton Dickinson, USA 社製)。
- ・ソイビーン・カゼインダイジェスト培地(以下、「SCD 培地」という.)は Becton Dickinson, USA 社製のものを処方に従い、用時調製した。
- ・1,4-ジオキサン溶液は 1,4-ジオキサンに滅菌蒸留水を加え、濃度 3,350ppm に調製した。Basal minimum medium 培養液(以下、「BMM 培養液」という.)は  $K_2HPO_4$  1.0g,  $(NH_4)_2SO_4$  1.0g,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.2g,  $FeCl_3$  0.01g,  $NaCl$  0.05g,  $CaCl_2$  0.05g を蒸留水に溶かし、全量 1L とした。SCD 培養液は滅菌蒸留水 250mL に滅菌済の SCD 培地 2.5mL を加えた。

### 3. 試料

環境修復現場の遮水壁内外の井戸から揚水された地下水を処理する地下水浄化処理施設の生物処理槽から採水し、これを試料とした。

### 4. 1,4-ジオキサン分解菌の確認試験

生物処理槽水に存在する菌による 1,4-ジオキサンの分解が起こるか否かを調べるため、図 2 に示した【操作手順 1】により、試料に 1,4-ジオキサン溶液を添加した検体の培養および検体中の 1,4-ジオキサン濃度測定を行った。対照試料として、滅菌蒸留水を用いた。

なお、1,4-ジオキサンの測定は「地下水の水質汚濁に係る環境基準について」(平成 9 年 3

月 13 日付け環境庁告示第 10 号) の別表に定められている方法のうち、ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析法(Agilent Technologies G1888, 5975C および 6890N、カラム Agilent J&W DB-624) により行った。

## 5. 集積培養

### 5. 1 生物処理槽水菌叢の集積培養

生物処理槽水中の 1,4-ジオキサン分解菌を増殖および菌の分解活性を向上させるため次のとおり集積培養を行った。

上記「4. 1,4-ジオキサン分解菌の確認試験」で検体の 1,4-ジオキサン濃度が低下してほぼ分解されたら、検体に滅菌蒸留水を加えて全量 1L とし、1,4-ジオキサン溶液を添加する。引き続き図 2 に示した【操作手順 1】を繰り返し行った。また、対照試料については、【操作手順 1】の 1,4-ジオキサン濃度および吸光度測定を行った。

以下、【操作手順 1】を繰り返して集積培養した検体を「生物処理槽集積水」とする。

### 5. 2 BMM 培養液を用いた集積培養

無機塩類の存在が集積培養に及ぼす影響を調べるため、次の操作を行った。

上記「5.1 生物処理槽水菌叢の集積培養」で得られた生物処理槽集積水から図 3 に示した【操作手順 2】により濃縮物(以下、「濃縮菌叢 A」という.)を作成した。次に、微生物が生育するための必須栄養素である無機塩類を必要最小限度含む BMM 培養液<sup>2)</sup>を作成した。濃縮菌叢 A および BMM 培養液を用いて図 4 に示した【操作手順 3】を行った。また、対照として、濃縮物を添加せずに【操作手順 3】の 1,4-ジオキサン濃度測定を行った。

以下、【操作手順 3】を繰り返して集積培養した検体を「BMM 集積水」とする。

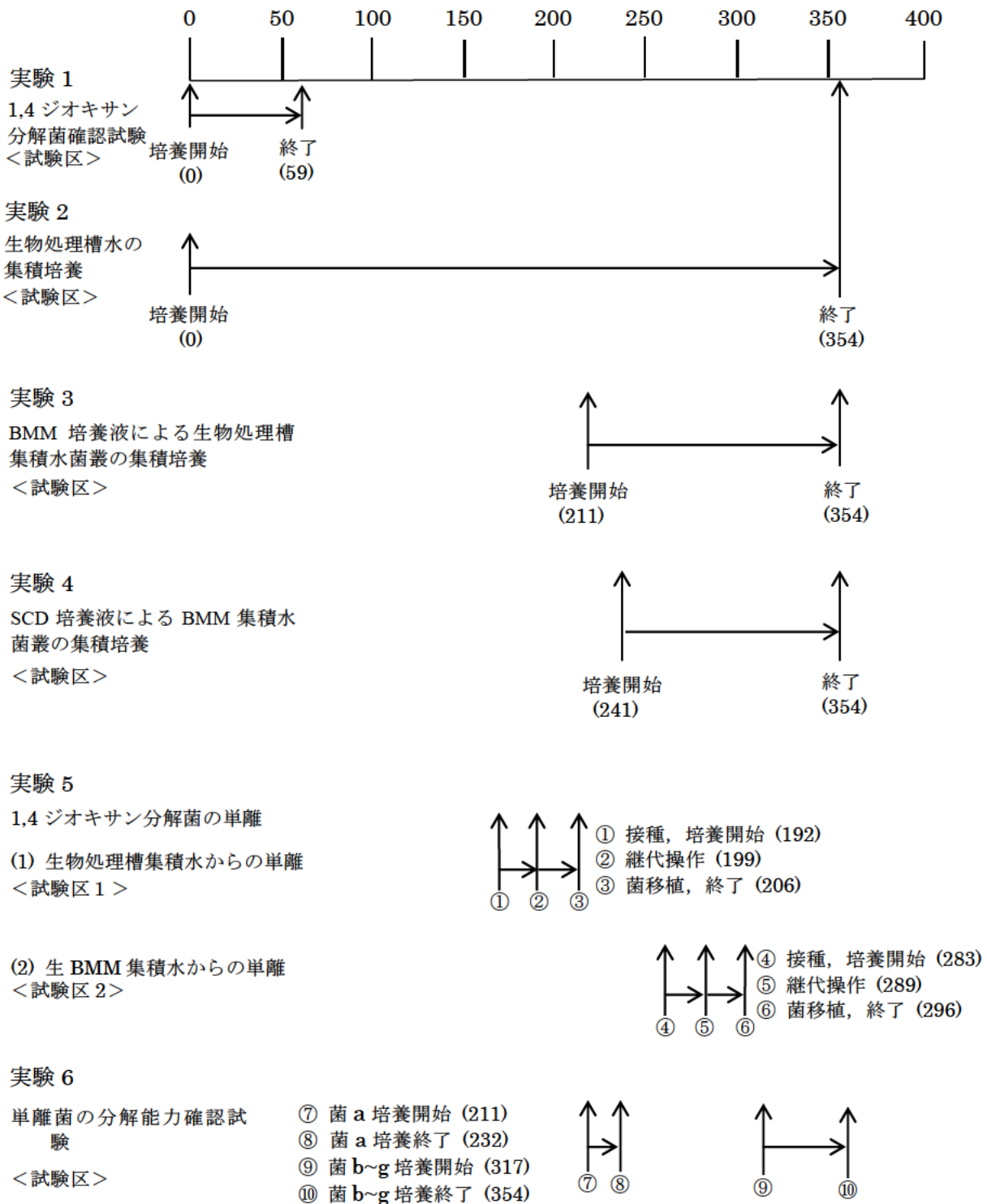
なお、遠心分離に用いた生物処理槽集積水は、【操作手順 1】の培養開始後 211 日目のものである。

### 5. 3 SCD 培養液を用いた集積培養

1,4-ジオキサン以外の有機物の存在が集積培養に及ぼす影響を調べるため、次の操作を行った。

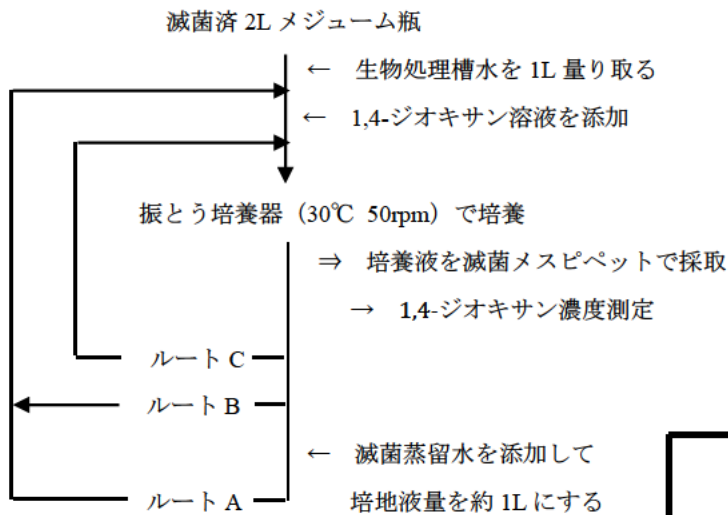
上記「5.2 BMM 培養液を用いた集積培養」で得られた BMM 集積水から【操作手順 2】により濃縮物(以下、「濃縮菌叢 B」という.)を作成した。濃縮菌叢 B を用いて、図 5 に示した【操

生物処理槽水培養日数



( ) 内は生物処理槽水の培養を開始してからの経過日数

図 1 1,4 - ジオキサ分解菌の存否, 集積培養および単離試験スケジュール



ルート A 実施日：59 日，115 日，136 日および 154 日  
 ルート B 実施日：157 日，164 日，172 日，178 日および 184 日  
 ルート C 実施日：0 日および上記以外の日

※日数は操作開始日を 0 日とした培養経過日を表す

図 2 【操作手順 1】生物処理槽水集積培養

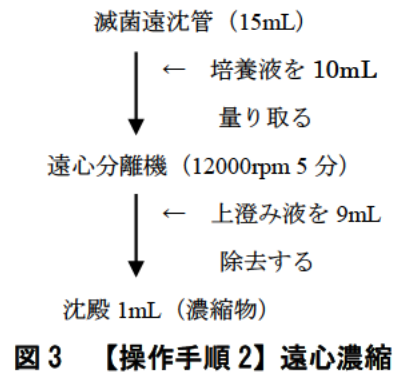
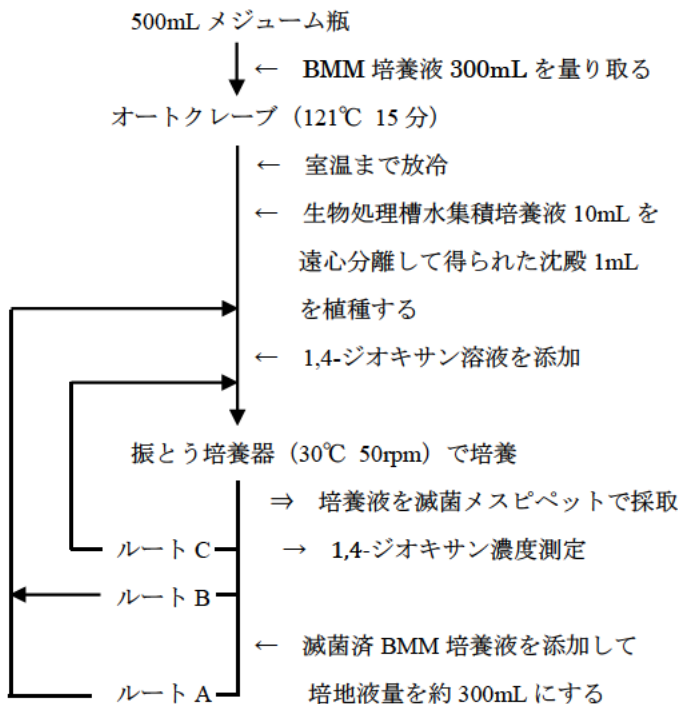


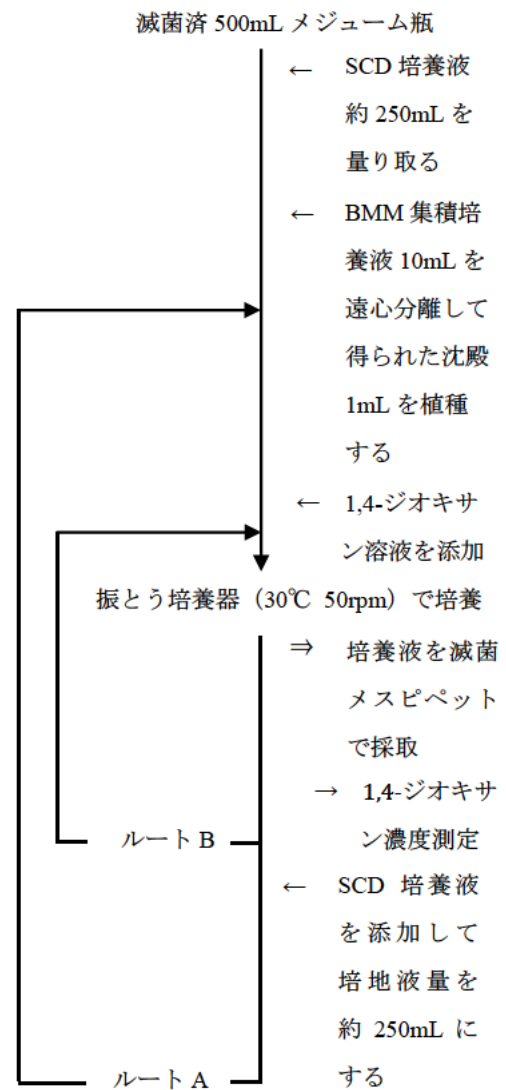
図 3 【操作手順 2】遠心濃縮



ルート A 実施日：14 日，22 日，30 日および 35 日  
 ルート B 実施日：41 日，48 日，54 日，63 日および 69 日  
 ルート C 実施日：0 日および上記以外の日

※日数は操作開始日を 0 日とした培養経過日を表す

図 4 【操作手順 3】BMM 集積培養



ルート A 実施日：29 日および 40 日  
 ルート B 実施日：0 日および上記以外の日

図 5 【操作手順 4】SCD 集積培養

作手順 4】を行った。

以下、【操作手順 4】を繰り返して集積培養した検体を「SCD 集積水」とする。

なお、遠心分離に用いた BMM 集積水は、【操作手順 3】の培養開始後 30 日目のものである。

## 6. 吸光度測定

生物処理槽水の濁度を調べるため、図 2 に示した【操作手順 1】の 1,4-ジオキサン濃度測定に併せて、検体を 600nm で測定した。

なお測定は、島津紫外可視分光光度計 UV-1800 により行った。

## 7. 分解菌の単離

### 7. 1 単離用培地作成

集積培養液から 1,4-ジオキサン分解菌を単離するための寒天培地を、図 6 に示した【操作手順 5】により作成した<sup>2)</sup>。

以下、【操作手順 5】により作成した寒天培地を「単離用培地」とする。

### 7. 2 集積培養液からの分解菌単離

生物処理槽集積水および BMM 集積水から 1,4-ジオキサン分解菌を単離するため以下の操作を行った。

生物処理槽集積水については、【操作手順 1】により 182 日間集積培養を行った検体を用いて、図 7 に示した【操作手順 6】により濃縮物（以下、「濃縮物 A」という。）を作成した。濃縮物 A を単離用培地にコンラージ棒で塗布し、37°C のふらん器で培養を行い、単離用培地に細菌塊（以下、「コロニー」という。）が形成されているか確認した。

BMM 集積水については、【操作手順 3】により 71 日間集積培養を行った検体を用いて、【操作手順 6】により濃縮物（以下、「濃縮物 B」という。）を作成した。濃縮物を単離用培地にコンラージ棒で塗布し、37°C のふらん器で培養を行い、単離用培地にコロニーが形成されているか確認した。

上記のふらん器で培養した単離用培地に生じたコロニーを別の新しい単離用培地に釣菌し、37°C のふらん器で培養を行い、コロニーが継代培養できるか調べた。

継代培養ができたコロニーを用いて、図 8 に示した【操作手順 7】を行い、培養液の 1,4-ジオキサン濃度測定等を行った。

以下、生物処理槽集積水から単離した菌の培養操作を「第 1 培養」、BMM 集積水から単離し

た菌の培養操作を「第 2 培養」とする。なお、培養液の 1,4-ジオキサン濃度の減少が分解によるものであることを確認するため、対照として、コロニーを釣菌せずに【操作手順 7】の 1,4-ジオキサン濃度測定を行った。

## 8. 単離菌の菌種推定

コロニーの菌種推定に必要な DNA 塩基配列データを得るため、次の作業を行った。

上記「7.2 集積培養液からの分解菌単離」で継代培養によって形成されたコロニーの菌株から DNA を抽出した後、16S rDNA を増幅した<sup>3)</sup>。この増幅遺伝子を精製した後、DNA シーケンサーを用いて遺伝子解析を行った。

得られたシーケンスデータを、相同性検索プログラム BLAST<sup>4)</sup>を用いてデータベースと照合し、分解菌の菌種を推定した。

## 9. 検鏡

### 9. 1 暗視野検鏡

生物処理槽集積水、BMM 集積水、SCD 集積水、第 1 培養の培養液および第 2 培養の培養液を遠心分離（10,000G、5 分）で約 10 倍に濃縮し、濃縮物 500 $\mu$ L を暗視野コンデンサーを装着した生物顕微鏡（OLYMPUS BX50）にて検鏡を行い、微生物の状況を確認した。

### 9. 2 グラム染色法検鏡

上記「9.1 暗視野検鏡」と同じ試料をグラム染色して検鏡を行い、グラム陽性菌および陰性菌の有無を確認した。

## 結果および考察

### 1. 1,4-ジオキサン分解菌存在の確認

【操作手順 1】で行った、検体および対照の 1,4-ジオキサン濃度の測定結果を図 9 に示す。

【操作手順 1】の培養開始時には検体中の 1,4-ジオキサン濃度は 5.5mg/L であったが、【操作手順 1】の培養開始から 59 日目には 0.36mg/L まで減少した。一方で、対照中の 1,4-ジオキサン濃度に変化は認められなかった。これらの結果から、試料（生物処理槽水）中には、1,4-ジオキサンを生分解した微生物が存在すると思われる。

### 2. 集積培養

#### 2. 1 生物処理槽水の集積培養

図 9 で、【操作手順 1】の培養開始から 115 日目の検体中の 1,4-ジオキサン濃度は 0.1mg/L で、培養 115 日間で 5.4mg/L 減少した。また、【操作

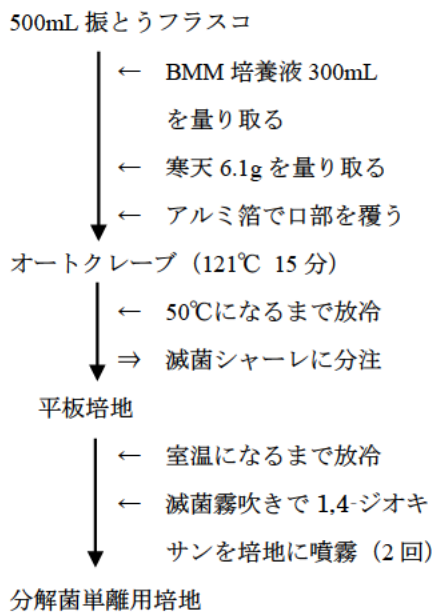


図6 【操作手順5】単離用培地作成

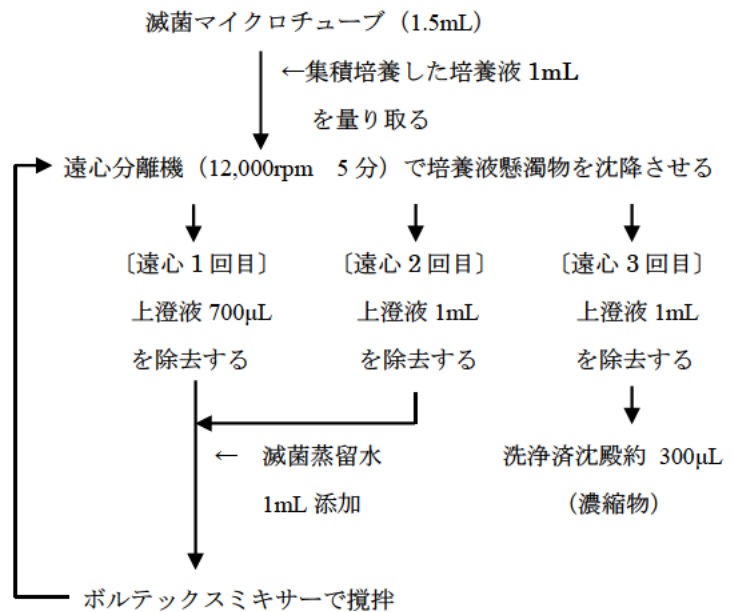
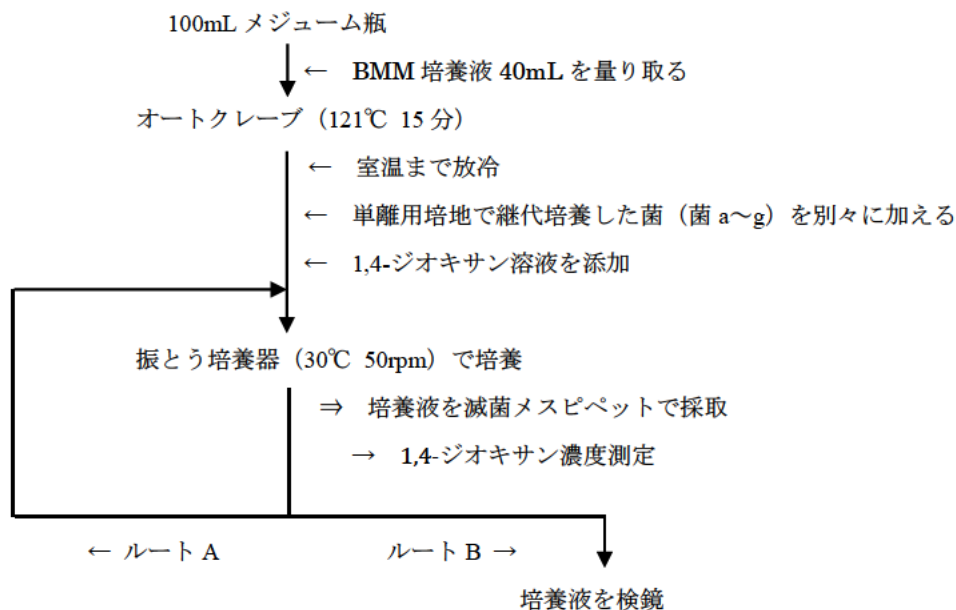


図7 【操作手順6】遠心濃縮・洗浄



ルート A 実施日 :

菌 a については, 0 日, 5 日, 9 日および 14 日

菌 b~g については, 0 日, 12 日, 20 日および 29 日

ルート B 実施日 :

菌 a については, 21 日

菌 b~g については, 37 日目

※日数は操作開始日を 0 日とした培養経過日を表す

図8 【操作手順7】単離菌 BMM 培養

手順1】の培養開始から164日目の検体中の1,4-ジオキサン濃度は5.6mg/L,【操作手順1】開始から172日目は0.3mg/Lであり,培養8日間濃度が5.3mg/L減少した.一方,対照中の1,4-ジオキサン濃度に大きな変化は認められなかった.これらの結果から,【操作手順1】の培養開始から約半年で検体中の1,4-ジオキサン濃度の減少速度は約7倍になった.減少速度が速くなったことから,集積培養により試料(生物処理槽水)中の1,4-ジオキサン分解菌が増殖した,または,菌叢の分解活性が高まったと考えられた.

## 2. 2 BMM 培養液を用いた集積培養

【操作手順3】で行った,検体および対照の1,4-ジオキサン濃度の測定結果を図10に示す.

【操作手順3】の培養開始時には検体中の1,4-ジオキサン濃度は5.1mg/L,【操作手順3】の培養開始から14日目には0.1mg/Lで,培養14日間で5mg/L減少した.また,【操作手順3】の培養開始から14日目の検体に1,4-ジオキサン溶液を添加した後の濃度は5.8mg/L,【操作手順3】の培養開始から22日目は0.1mg/Lであり,培養7日間で濃度が5.7mg/L減少した.一方,対照中の1,4-ジオキサン濃度に変化は認められなかった.これらの結果から,【操作手順3】の培養開始から3週間で検体中の1,4-ジオキサン濃度の減少速度は約2倍になった.

上記「結果および考察 2.1 生物処理槽水の集積培養」に示した結果(培養開始から約半年で検体中の1,4-ジオキサン濃度の減少速度は約7倍になった.)から,無機塩類を添加せずに行った【操作手順1】の培養と比べて,BMM培養液で集積培養を行うと,検体中の菌の増殖速度が早まる,または,菌叢の分解活性がより早く向上すると考えられた.

## 2. 3 SCD 培養液を用いた集積培養

【操作手順4】で行った,検体の1,4-ジオキサン濃度の測定結果を図11に示す.【操作手順4】の培養開始時には,検体中の1,4-ジオキサン濃度は5.6mg/L,【操作手順4】の培養開始から29日目は0.05mg/L未満であり,培養29日間濃度が約5.6mg/L減少した.また,【操作手順4】の培養開始から40日目の検体に1,4-ジオキサン溶液を添加した後の濃度は5.8mg/L,【操作手順4】の培養開始から46日目は0.2mg/Lであり,培養6日間で濃度が5.6mg/L減少した.

上記「結果および考察 2.2 BMM 培養液を用いた集積培養」に示した,1週間の培養で検体中の1,4-ジオキサン濃度を約6mg/L減少させることができるようになった菌叢を,SCD培養液で培養すると,同程度の1,4-ジオキサン濃度減少を起こすのに約1月間を要したことから,検体中の菌叢の分解活性は低下したと考えられた.その後,さらに培養を続けると,菌叢の分解活性は回復した.

## 3. 吸光度測定

【操作手順1】の1,4-ジオキサン濃度測定に併せて,【操作手順1】の培養開始から178日目までの検体の吸光度を測定したが,変化は認められなかった.また,【操作手順1】の吸光度測定を行う際に,採取した検体を目視で確認したが,検体の濁度に変化は認められなかった.これらの結果,集積培養による明確な菌数の増加は確認できなかったことから,集積培養で1,4-ジオキサン濃度の減少速度が早まる事象に,菌の増殖は関与が低いと考えられた.

## 4. 分解菌の単離

### 4. 1 集積培養液からの分解菌単離

上記「方法 7.2 集積培養液からの分解菌単離」において,濃縮物Aを塗布した単離用培地に,培養7日目に,3種類のコロニーが形成されていた.これら3種のコロニーのうち,継代培養できたのは1種類のみであった.これを「菌a」とする.また,濃縮物Bを塗布した単離用培地に,培養を開始してから6日目に,7種類のコロニーが形成されていた.これら7種のコロニーのうち,継代培養できたのは6種類であった.これらを「菌b,c,d,e,f,g」とする.

### 4. 2 単離菌分解能力調査

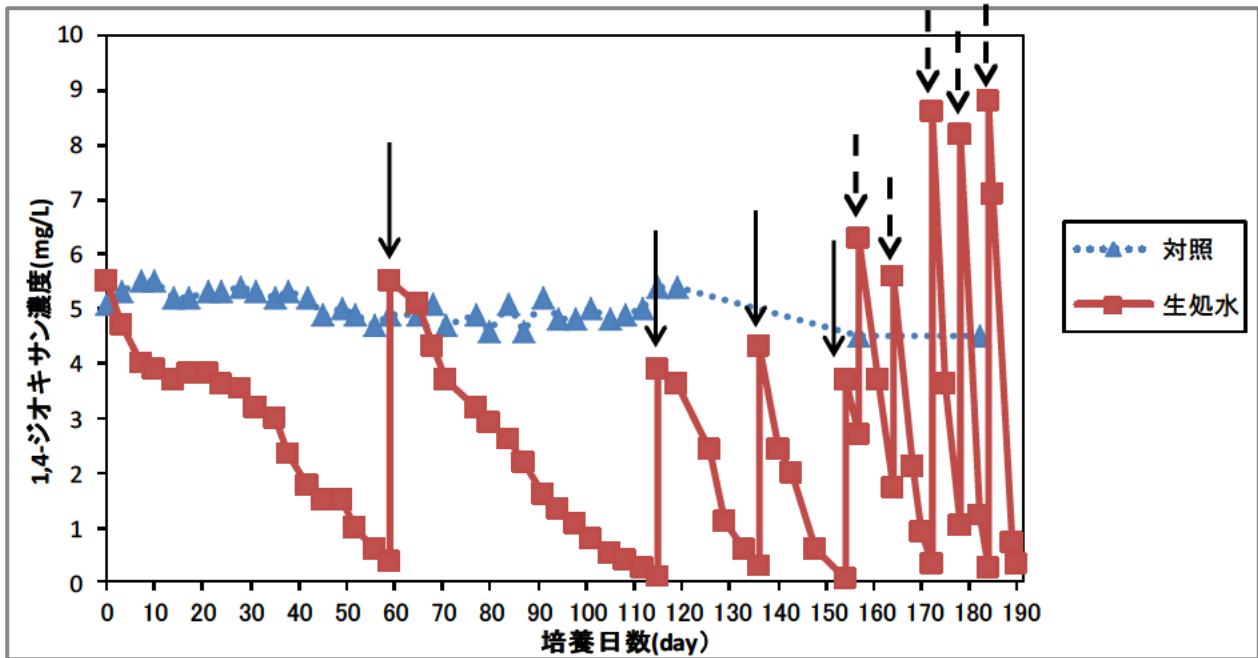
第1培養開始時には,検体中の1,4-ジオキサン濃度は5.8mg/Lであったが,【操作手順7】開始後21日目には4.7mg/Lまで減少した.しかし,それ以降,検体中の1,4-ジオキサン濃度は4.7mg/Lから減少しなかった.また,第2培養開始時には,検体中の1,4-ジオキサン濃度は約7mg/Lであったが,【操作手順7】開始後37日目には5~6mg/Lまで減少した.なお,対照の1,4-ジオキサン濃度に変化はなかった.

## 5. 単離菌の菌種推定

単離菌a~gの相同性検索結果を表1に示す.

単離菌のDNA塩基配列は,*Micromonospora*属の放線菌,*Streptomyces*属の放線菌および

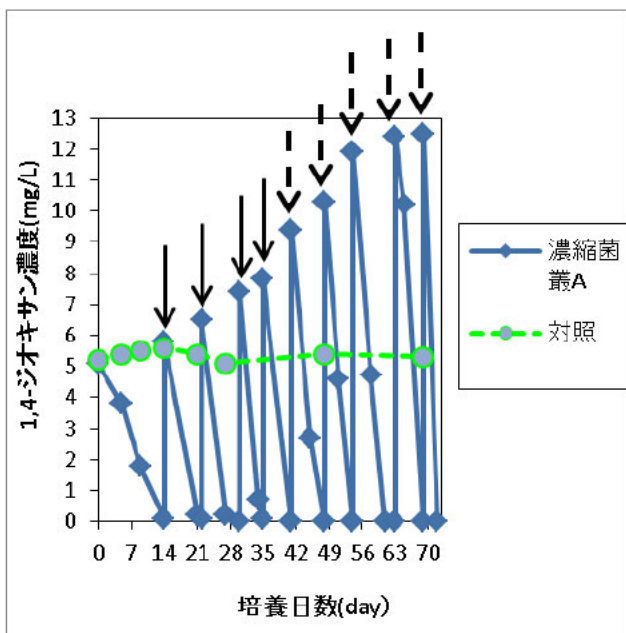




矢印（実線）：1,4-ジオキサン溶液添加

矢印（破線）：滅菌蒸留水添加および1,4-ジオキサン溶液添加

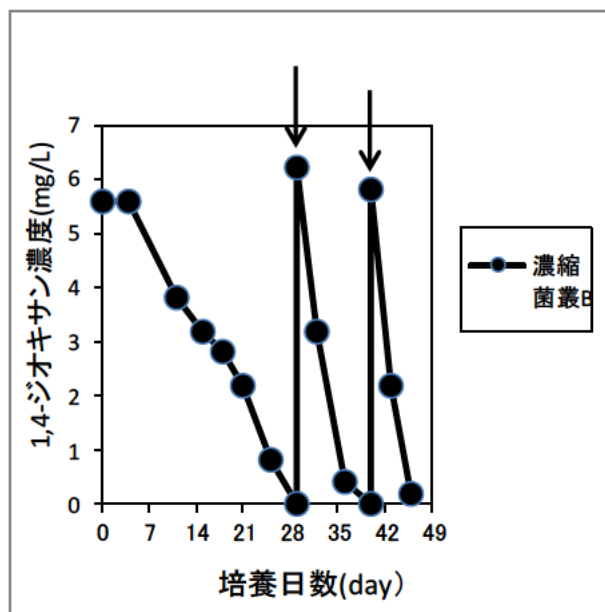
図9 生物処理槽水の1,4-ジオキサン濃度経時モニタリング結果



矢印（実線）：1,4-ジオキサン溶液添加

矢印（破線）：滅菌 BMM 添加および1,4-ジオキサン溶液添加

図10 BMM 集積水の1,4-ジオキサン濃度経時モニタリング結果



矢印（実線）：1,4-ジオキサン溶液添加

図11 SCD 集積水の1,4-ジオキサン濃度経時モニタリング結果



*Phyllobacterium* 属の桿菌の DNA 塩基配列データと高い相同性を示した。

## 6. 検鏡

【操作手順 1】の培養開始から 192 日目の生物処理槽集積水（以下、「検体 1」という。）の暗視野検鏡結果を写真 1 に示す。検体 1 を暗視野顕微鏡で検鏡したところ、放線菌、桿菌、らせん菌および原虫の存在を確認した（放線菌以外の写真省略）。また、【操作手順 1】の培養開始から 283 日目の生物処理槽集積水中の菌叢をグラム染色して検鏡した結果、グラム陽性および陰性の菌を確認した（写真省略）。

【操作手順 3】の培養開始から 71 日目の BMM 集積水（以下、「検体 2」という。）の菌叢をグラム染色した後に検鏡した結果を写真 2 に示す。検体 2 を暗視野顕微鏡で検鏡したところ、放線菌および桿菌の存在を確認した（写真省略）。また、検体 2 の菌叢をグラム染色して検鏡した結果、グラム陽性および陰性の菌を確認した（グラム陰性菌の写真省略）。

【操作手順 4】の培養開始から 45 日目の SCD 集積水（以下、「検体 3」という。）を暗視野顕微鏡で検鏡したところ、放線菌および桿菌の存在を確認した（写真省略）。また、検体 3 の菌叢をグラム染色して検鏡した結果、グラム陽性および陰性の菌を確認した（写真省略）。

第 1 培養を開始してから 22 日目の培養液（以下、「検体 4」という。）を暗視野顕微鏡で検鏡したが菌の存在を確認できなかった（写真省略）。また、検体 4 をグラム染色しても菌の存在を確認できなかった。これらの結果と、第 1 培養 21 日までしか濃度減少が認められなかったことから、1,4-ジオキサン分解が途中で止まったのは、分解を継続するための物質（例えば BMM 培養液を構成する無機塩類）が消失し、菌が死滅、または、休眠したと考えられた。

第 2 培養を開始してから 37 日目の検体を暗視野顕微鏡で検鏡したところ、単離菌 b~g の検体で菌の存在を確認した。検体中の 1,4-ジオキサン濃度が減少している状況で、菌 b~g をそれぞれ植種した検体中に菌の存在が確認できたことから、b~g の菌は 1,4-ジオキサンを分解していると考えられた。

## 結 語

三重県桑名市内の環境修復地に設置された水

処理施設内の生物処理槽水を採取して 1,4-ジオキサン溶液を添加したものを検体とし、この検体を恒温槽で振とう培養を行ったところ、検体中の 1,4-ジオキサン濃度が減少した。このことから、検体中で 1,4-ジオキサンの分解が生じていると考えられ 1,4-ジオキサン分解能力を有する微生物の存在が示唆された。また、この検体の菌叢の特徴を調査したところ、次のことが明らかとなった。

- ・集積培養を行うと分解活性が向上する。
- ・無機塩類の存在は、分解活性を高める。
- ・有機物が存在すると、これが優先して利用されるため、1,4-ジオキサンの分解量が減り、分解活性が一時的に低下した。

また、検体から単離した菌の DNA 塩基配列データを解析して相同性検索を行ったところ、*Micromonospora* 属の放線菌、*Streptomyces* 属の

表 1 相同性検索結果

No.	属名	種類	相同性 (%)
菌 a	<i>Micromonospora</i> 属	放線菌	99
菌 b	<i>Streptomyces</i> 属	放線菌	99
菌 c	<i>Micromonospora</i> 属	放線菌	99
菌 d	<i>Micromonospora</i> 属	放線菌	99
菌 e	<i>Micromonospora</i> 属	放線菌	99
菌 f	<i>Micromonospora</i> 属	放線菌	99
菌 g	<i>Phyllobacterium</i> 属	桿菌	96

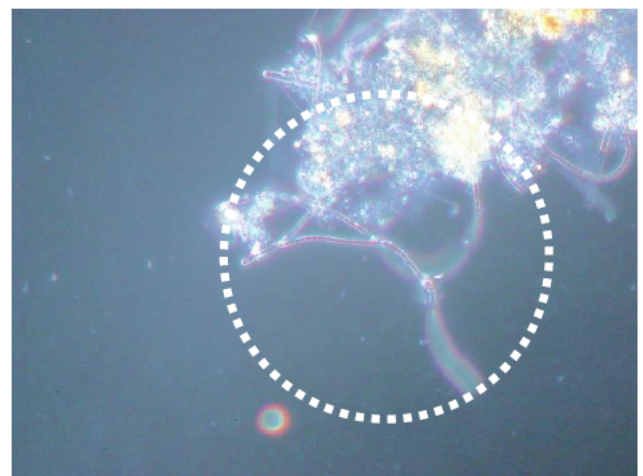


写真 1 生処集積水 暗視野検鏡  
 <操作手順 1>開始後 192 日目  
 破線白丸内の糸状のものは放線菌と思われる

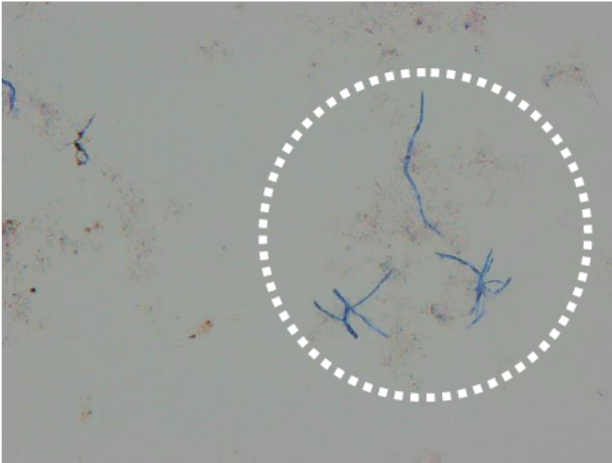


写真2 BMM集積水 グラム染色検鏡

<操作手順4>開始後71日目

破線白丸内の糸状染色物はグラム陽性菌

放線菌および *Phyllobacterium* 属の桿菌のものと高い相同性を示した。

単離菌の分解能力調査は継続中であり、今後集積培養が可能か確認したい。

実際の現場で、微生物による1,4-ジオキサン処理が可能かどうかは、集積培養できた単離菌およびBMM集積培養で得られた菌叢が、現場試料（促進酸化処理施設流入水）中の1,4-ジオキサンを分解できるか調査し、促進酸化処理の費用対効果と比較・検討したうえで判断する必

要がある。

### 謝 辞

本研究は、現場にて試料採取する際に、クボタ環境サービス株式会社桑名KS事業所の職員にご協力を頂いた。ここに記して謝意を表する。

### 文 献

- 1) Kazunari Sei, Takashi Kakinoki, Daisuke Inoue, Satoshi Soda, Masanori Fujita, Michihiko Ike (2010) Evaluation of the biodegradation potential of 1,4-dioxane in river, soil and activated sludge samples, *Biodegradation*, 21:585-591.
- 2) Kazunari Sei, Keiko Miyagaki, Takashi Kakinoki, Kunihiro Fukugasako, Daisuke Inoue, Michihiko Ike (2013) Isolation and characterization bacterial strains that have high ability to degrade 1,4-dioxane as a sole carbon and energy source, *Biodegradation*, 24:665-674.
- 3) 後藤 慶一 (2009) 真菌の分類と同定 2 DNA塩基配列を用いたカビ・酵母の同定, *モダンメディア*, 55巻9号[真菌], 237-242.
- 4) National Center for Biotechnology Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

ノート

## 伊勢湾底泥中における有機物の鉛直分布 およびその特徴について

谷村 譲紀, 天野 晴貴, 新家 淳治\*, 国分 秀樹\*\*, 竹之内 健介\*\*\*, 小林 利行\*\*\*\*  
千葉 賢\*\*\*\*\*, 大八木 麻希\*\*\*\*\*

### Vertical Distribution of Organic Matter in the Sediment of Ise Bay and its Characteristics

Yoshinori TANIMURA, Junji NIINOMI, Haruki AMANO, Hideki KOKUBU,  
Kensuke TAKENOUCI, Toshiyuki KOBAYASHI, Satoshi CHIBA and Maki OYAGI

伊勢湾は、漁業、観光等において地域の重要な環境資源であるが、夏期になると湾内の底層で貧酸素水塊が発生し、漁業生産や観光のみならず生物の生息等にも悪影響を与えており、その対策が課題となっている。貧酸素水塊の発生要因は、底質の有機物の分解による酸素消費が挙げられることから、底質の性状について情報を得るため全有機炭素量 (TOC)、化学的酸素要求量 (COD)、酸揮発性硫化物量 (AVS) 等の底質鉛直分布について調査を行った。その結果、TOCの鉛直濃度の減少傾向から、湾内には未分解の有機物を含む堆積層が表層から20cm以上、地点によっては80cm以上残存していることが示された。

キーワード：伊勢湾、貧酸素水塊、底質、有機物

#### はじめに

伊勢湾は、多種多様な生物が生息する豊かな海であると同時に、潮干狩り、海水浴など人々の憩いの場として、漁業、観光等における重要な環境資源である。しかし、夏期になると湾内の底層で貧酸素水塊が発生し<sup>1)</sup>、生物の生息や漁業生産、水質等に影響を与えている<sup>2)</sup>。特に近年では、貧酸素水塊の発生期間の長期化や発生範囲の拡大が見られ<sup>3)</sup>、その軽減対策が課題となっている。

底層の貧酸素水塊の発生原因については、鉛直方向の温度成層化、エスチュアリー循環によって外洋水が中層貫入することによる底層での水塊の形成、窪地などの地形的要因や深い水深など種々の要因<sup>4)</sup>による水層の停滞と、水中や海底に堆積している有機物が分解される際に酸素を消費することで、底層海水中の酸素濃度が低下することが

挙げられる。伊勢湾の底質にも、陸域からの流入物、プランクトンの死骸など様々なものが堆積しており、これらに含まれる有機物が底層での酸素消費に寄与しているものと考えられる。現在、海域での酸素の消費過程については様々な研究がなされており、特に底質の表面付近における有機物は好氣的に無機化されるが、深度が増すにしたがい嫌氣的に無機化される<sup>5)</sup>ことが知られている。しかし、このような知見も表面近傍での調査結果に基づいたものであり、深部については表面近傍と比較して調査データが少ないのが現状である。

今回の調査では、貧酸素水塊発生の要因と考えられる底質の性状に関する情報を得るため、湾内11地点でTOC、COD、TN、AVS等の項目について底質深度方向の鉛直変化を調査し、有用な知見が得られたので、ここに報告する。

\* 公益財団法人三重県下水道公社

\*\*\* 公益財団法人国際環境技術移転センター

\*\*\*\*\* 四日市大学環境情報学部

\*\* 三重県水産研究所鈴鹿水産研究室

\*\*\*\* 三重県環境生活部大気・水環境課



## 調査地点

平成 5～8 年にかけて国土交通省が調査した地点を参考に、四日市港沖、名古屋港沖、中部空港沖および津沖～知多半島沖にかけて横一直線に 3 地点の計 6 地点 (A1～A6) で底質の調査を 2015 年 10 月 15 日と 2015 年 10 月 29 日に行った。

加えて、四日市大学が実施した海洋実習において、10 地点 (B2～B10) を 2015 年 7 月 24 日～26 日に調査した。ただし、B2～B5 は砂質などで粒度が大きく、表層採取しきれなかったため、今回の解析では対象外とした。

また、位置情報を表1に、底質調査地点を図1に示した。

表1 伊勢湾底質調査地点の位置情報

地点番号	世界測地系	
	北緯	東経
A1	34°57.5'	136°41.5'
A2	34°58.0'	136°44.5'
A3	34°52.0'	136°44.5'
A4	34°44.5'	136°35.0'
A5	34°44.5'	136°41.0'
A6	34°44.5'	136°52.0'
B2	34°24.5'	137°10.1'
B3	34°29.6'	137°03.1'
B4	34°37.0'	136°53.0'
B5	34°40.0'	136°48.1'
B6	34°41.5'	136°41.0'
B7	34°44.7'	136°45.6'
B8	34°48.5'	136°44.0'
B9	34°55.0'	136°43.5'
B10	34°38.5'	136°52.0'

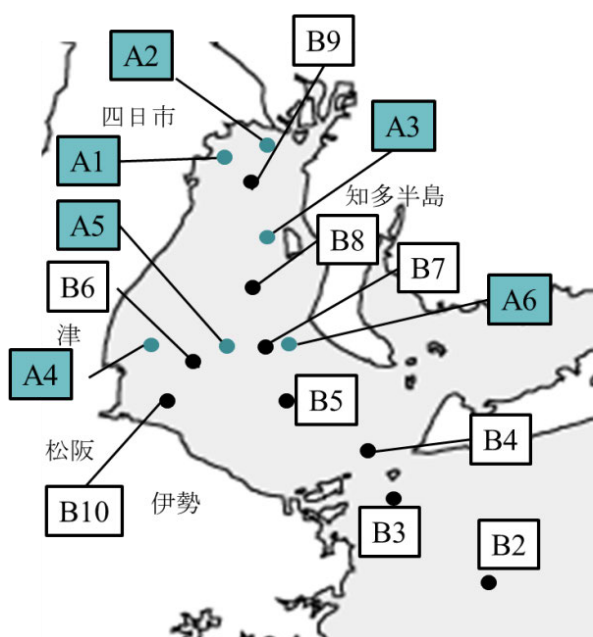


図1 伊勢湾底質調査地点一覧 .

## 調査方法

### 1. 底質採取方法

調査地点 A1～A6 では、ダイバーが海底まで潜水し、アクリルパイプ(直径 8cm, 長さ 1m)を底質に突き刺すことで、円柱状のコアを採取した。採取したコアは表層から深度方向に順次 1, 1, 1, 2, 2, 3, 5, 5, 5, 5, 10, 10, 10, 10, 10cm 幅に切り分け、調査試料とした(15 試料/地点)。

調査地点 B6～B10 では、調査船上からグラビティコア型採泥器を落とし、底質を採取した。採取したコアは A 地点と同様に表層から深度方向に順次 1, 1, 1, 2, 2, 3, 5, 5, 10cm 幅に切り分け、調査試料とした(9 試料/地点)。

### 2. 分析方法

#### 1) 酸化還元電位 (ORP)

湿試料中に ORP 測定電極 (EUTECH 社 ORPTester10) を差し込み、酸化還元電位を測定した。

#### 2) 含水率, 強熱減量 (IL)

2mm メッシュのふるいで湿試料をふるい、2mm 以下の試料を 105℃で 24 時間乾燥させ、乾燥前後の重量の差から含水率を求めた。また、得られた乾燥試料を 550℃で 4 時間強熱し、強熱前後の重量の差から強熱減量を求めた。

#### 3) 酸揮発性硫化物量 (AVS)

湿試料に硫酸(1+5)を加え、発生した揮発性硫化物を検知管 (GASTEC 社, ヘドロテック-S 用検知管, No. 201H)で測定した。

#### 4) 化学的酸素要求量 (COD)

底質調査法<sup>6)</sup>に準じ、湿試料に過マンガン酸カリウム溶液 (20mmol/L) 100mL および水酸化ナトリウム溶液 (300g/L) 5mL を加え、沸騰水浴中で 30 分間加熱した後、ヨウ化カリウム溶液 (100g/L) 25mL および硫酸 (3+7) 10mL を加え室温まで冷却し、遊離したヨウ素をチオ硫酸ナトリウム (0.25mmol/L) で滴定した。

#### 5) 炭酸カルシウム含量

乾燥試料に塩酸 (1+1) を加え試料中の炭酸カルシウムから二酸化炭素を除去した。中和した後、105℃で 24 時間乾燥させ、炭酸カルシウム除去前後の重量を測定することで、炭酸カルシウム含量を求めた。

#### 6) 全有機炭素量(TOC), 全窒素量 (TN)

底質調査法<sup>6)</sup>に準じ、塩酸 (1+1) で炭酸カルシウムを除去した試料および乾燥試料を CHN 計 (Elementar 社, vario MAX) で燃焼し、TOC, TN をそれぞれ測定した。

## 調査結果および考察

各調査地点における分析値を巻末に添付した(表 2)。

### 1. 有機物の底質表層からの鉛直分布について

底質の TOC, COD, TN の底質表層からの鉛直変化を図 2 に, TOC と IL の相関を表 3 にそれぞれ示した。

図 2 から, TOC, COD, TN は, 底質表層部分から深くなるにつれて減少する傾向にあり, 経年的に有機物が分解されていることが推察される。ここで, 試料中の全有機炭素量を表す TOC と試料中の有機物量を表す指標である IL の関係を見ると, 表 3 のとおり B10 以外で比較的良好な相関(0.67~0.96) が得られたため, TOC 濃度の変化を有機

物濃度の変化として考え, B10 以外の有機物の濃度変化を比較する。A4, A5, A6 の TOC 濃度を見ると, A4 での深度 20cm 以深, A5 での深度 40cm 以深, A6 での深度 55cm 以深では TOC 濃度がほぼ一定になっていることから, 有機物の分解が進行した結果, 深度 20cm, 40cm, 55cm 付近で分解が収束したものと考えられる。しかし, 湾奥 A1, A2 では深度 80cm でも TOC 濃度が減少傾向であり, 有機物の分解が収束していないと考えられる。このように, 有機物の減少を分解によるものと仮定した場合, 湾内には未分解の有機物を含む堆積層が 20cm 以上, 湾奥では 80cm 以上残っていることになり, これらの未分解の有機物が, 貧酸素水塊の発生, ひいては長期化の一因となっている可能性がある。また, 2000 年頃から少なくとも 2035

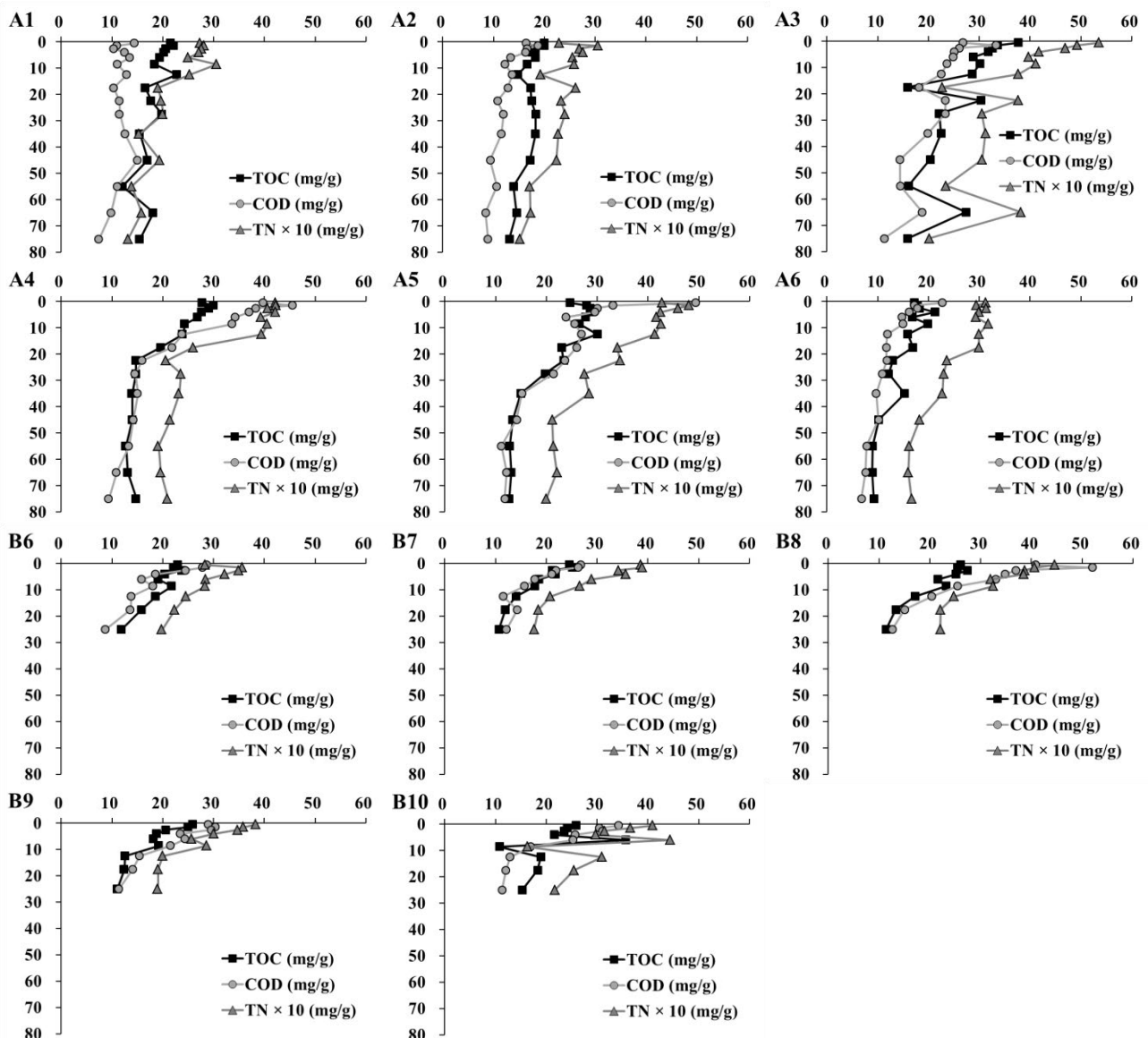


図 2 伊勢湾底質調査地点における TOC, COD, TN の底質表層からの鉛直変化。縦軸は深度 (cm), 横軸は濃度 (mg/g) を示す。

表3 伊勢湾底質調査地点における TOC と IL の相関 (A, n=15 ; B, n=9)

地点番号	相関係数 ( $r^2$ )
A1	0.673
A2	0.811
A3	0.918
A4	0.963
A5	0.736
A6	0.754
B6	0.736
B7	0.954
B8	0.781
B9	0.872
B10	0.342

年にかけて、過剰な有機物が湾内に蓄積していくというシミュレーション<sup>7)</sup>もあることから、今後未分解の有機物層が厚くなることも考えられる。

なお、底質の TOC は、底質表層 (深度 1cm) で A1:21.5mg/g , A2:19.9mg/g および A4:27.8mg/g であり、湾央 (A4) の方が湾奥 (A1, A2) よりも大きく、単位重量あたりの有機物量は湾央の方が多い。しかし、湾央付近での堆積速度 (主に無機物の堆積速度) は湾内全域で最小<sup>8)</sup>であることを考慮すると、単位重量あたりの無機物量は湾央が最少となり、相対的に有機物量は最多となる。このことから、TOC フラックスとしては、湾央が特別高いわけではないと考えられる。

## 2. 伊勢湾湾奥における有機物について

底質の C/N 比, TOC/COD 比の表層からの鉛直変化を図3に示した。なお、各比は重量比である。

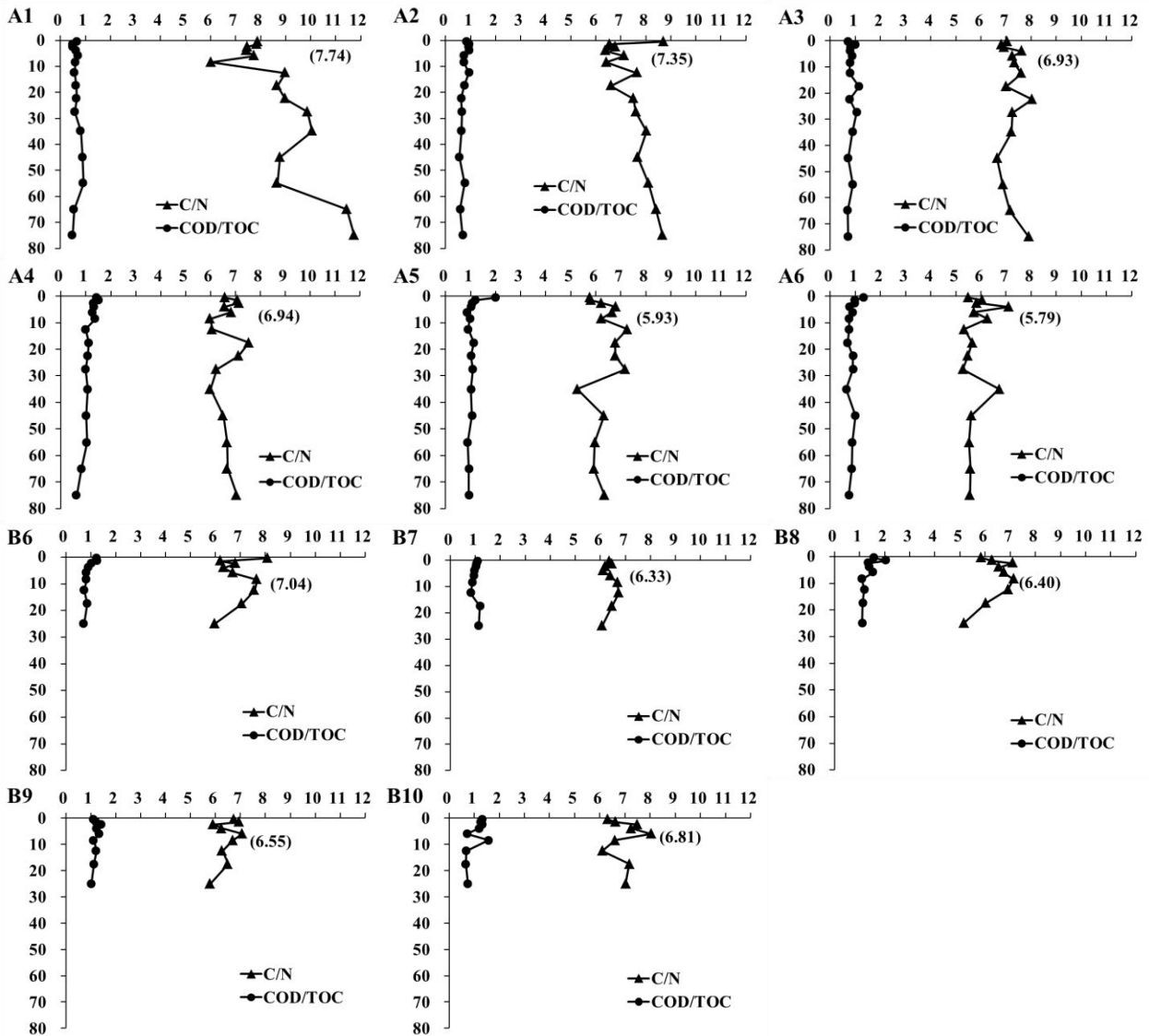


図3 伊勢湾底質調査地点における C/N 比, COD/TOC 比の底質表層からの鉛直変化。

( ) 内は底質表層から 3cm までの C/N 比の平均値を示す。

縦軸は深度 (cm), 横軸は重量比を示す。

一般的に内部生産における有機物の主体となる植物プランクトンの C/N 比は、重量比 3.6~7.7 であり、平均値は 5.3 となる<sup>9)</sup>。今回の調査で、底質表層から 3cm までの平均 C/N 比は、湾奥で A1 (7.7), A2 (7.3) と高く、湾央では A5 (5.9), A6 (5.7), B7 (6.3) と湾奥より低くなったことから、湾奥は湾央に比べて内部生産の有機物の寄与が小さいと考えられる。河川から供給される有機物は多様であり、各々の C/N 比も異なることから断言することはできないが、湾奥 A1, A2 が伊勢湾最大の河川流入量をもつ木曾三川に近いことを考えると、湾奥では陸域由来の有機物の影響を受けているため、C/N 比が高い可能性がある。

また、底質表層における COD/TOC 比をみると、A1 (0.67), A2 (0.82), A3 (0.71) は、他地点

(1.09~2.00) よりも小さく、COD への寄与の大きい易分解性有機物よりも、寄与の小さい難分解性有機物の割合が大きいと推測される。

### 3. AVS の鉛直変化について

AVS の底質表層からの鉛直変化を図 4 に示した。

図 4 から、A1 以外の調査地点の AVS について、底質表層から 15cm 以内で最大値を持ち、この付近で硫酸還元による有機物の分解が盛んであることが示唆された。しかし、A1 では深度約 40~50cm に目立った AVS のピークが見られることから、この堆積層には多量の硫化物が含まれ、堆積当時の硫黄化合物の負荷が大きかった可能性を示唆している。伊勢湾の過去 100 年間での底質堆積速度<sup>10)</sup>を参考にすると、極大ピークは 1970 年代前後のもの

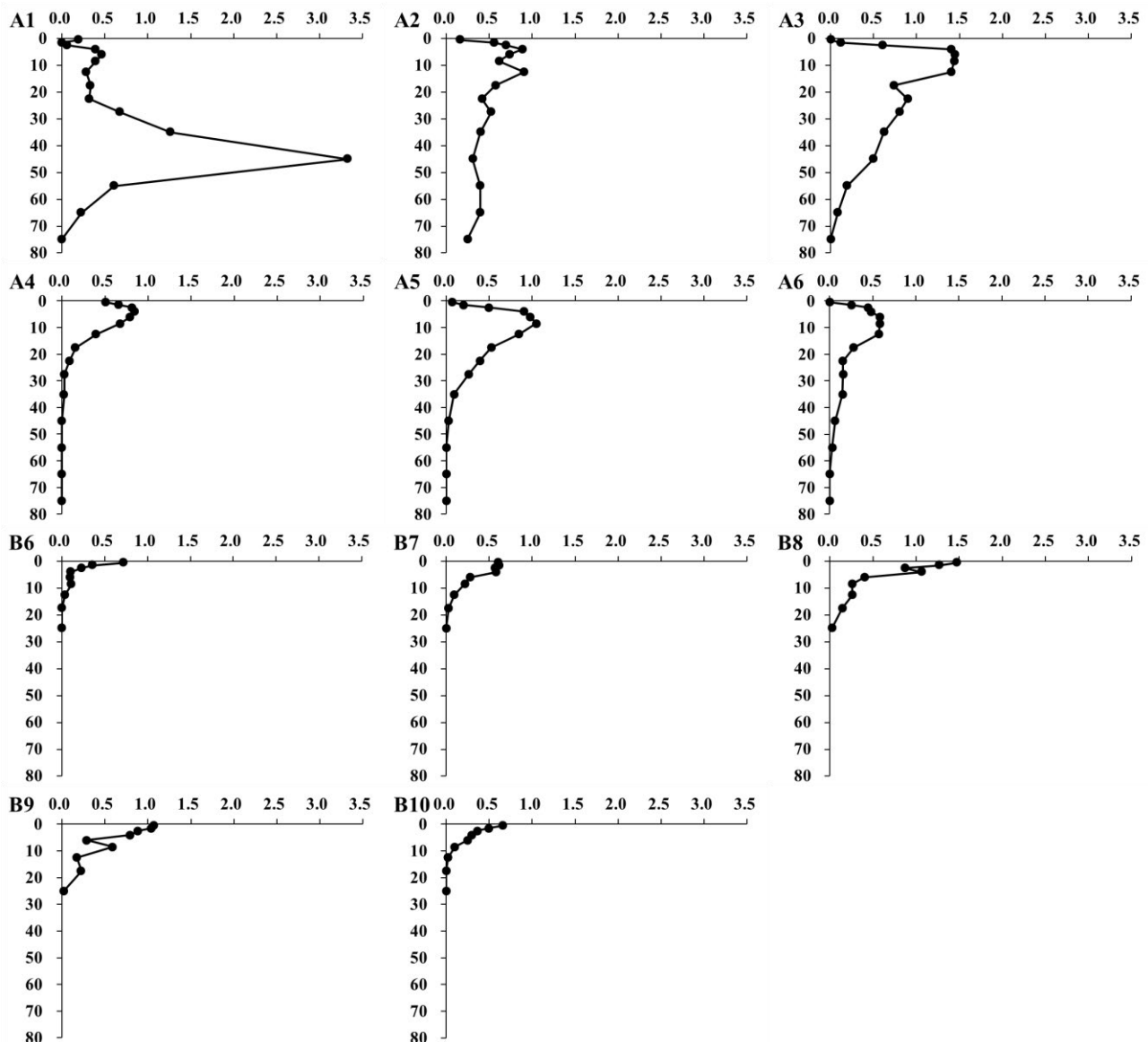


図 4 伊勢湾底質調査地点における AVS の底質表層からの鉛直変化。縦軸は深度 (cm), 横軸は濃度 (mg/g) を示す。

のであると考えられ、経済成長、四日市公害等の時代背景を考えると人為的な負荷による硫化物である可能性がある。また、この時期に人為的負荷が大きかったことについては、四日市沖における底質中のクロム、亜鉛、銅、鉛の鉛直分布について、1973年頃に極大ピークが確認されている<sup>11)</sup>ことから推察することができる。

### まとめ

今回の調査結果から、伊勢湾内には底質表層から20cm以上、特に湾奥では80cm以上もの有機物の未分解層が残っており、湾央では内部生産由来の有機物、湾奥では陸域からの難分解性有機物の寄与が大きい可能性が推察された。

### 文献

- 1)三重県水産研究所, 定線観測結果, 2013~2015.
- 2)丸茂恵右, 横田瑞郎, 貧酸素水塊の形成および貧酸素の生物影響に関する文献調査, 海洋生物環境研究所研究報告書, 第15号(2012), 1-21.
- 3)黒田伸郎, 藤田弘一, 伊勢湾と三河湾の短期変動及び長期変動の比較, 愛知県水産試験場研究報告, 第12号(2006), 5-12.
- 4)大島 巖, 鵜飼亮行, 赤石正廣, 青井浩二, 黒田伸郎, 伊勢湾・三河湾における貧酸素水塊の長期間の挙動とその要因, 海岸工学論文集, 第52巻(2005)土木学会, 901-905.
- 5)相馬明郎, 関口泰之, 桑江朝比呂, 中村由行, 東京湾の底生系における酸素消費メカニズムー内湾複合生態系モデルの解析ー, 海岸工学論文集, 第55巻(2008)土木学会, 1206-1210.
- 6)環境省 水・大気環境局, 底質調査法(2012).
- 7)千葉 賢, 浮遊低次生態系・海底堆積物結合モデルによる伊勢湾水質と底質の長期計算, 土木学会論文集 B2(海岸工学) 71(2), (2015), I\_1255-I\_1260.
- 8) S.Chiba, M.Oyagi, H.Kokubu, Y.Tanimura, H.Amano, J.Niinomi, K.Takenouchi, T.Kobayashi, Field Survey for Refractory Organic Matter Quantity in the Marine Sediment of Ise Bay and Evaluation of its Effect on the Persistency of Hypoxic Water Generation, Proceedings of International Conference "Managing Risks To Coastal Regions And Communities In A Changing World" (EMECS'11 SeaCoasts XXVI), 2016.
- 9)和田秀樹, 中井信之, 堆積物中の有機物の炭素同位体組成とC/N比ー駿河湾表層泥についてー, 静岡大学地球科学研究報告, 第6巻(1981), 73-81.
- 10)廬 学強, 松本英二, 阿部 理, 伊勢湾における年間堆積量の過去100年間の変化, 水文・水資源学会誌, 19(6), (2006), 491-495.
- 11)陶 正史, 柴山信行, 峯 正之, 岩本孝二, 当重弘, 稲積 忍, 伊勢湾海底堆積物の重金属汚染, 水路部研究報告, No. 17(1982), 379-394.



表2 伊勢湾底質調査における各地点の分析値

C/N比, COD/TOC比は, ともに重量比である

A1	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	69.2	11.7	-62	11.7	14.5	0.19	21.58	2.73	7.89	0.67
	1-2	68.5	12.3	-157	12.3	11.0	0.00	22.17	2.82	7.86	0.49
	2-3	65.4	11.3	-133	11.3	10.4	0.06	20.69	2.77	7.47	0.50
	3-5	64.3	10.7	-159	10.7	12.5	0.39	20.22	2.72	7.44	0.62
	5-7	65.5	11.5	-149	11.5	13.5	0.46	19.40	2.51	7.75	0.70
	7-10	64.3	10.5	-120	10.5	11.1	0.39	18.45	3.06	6.03	0.60
	10-15	63.8	10.0	-134	10.0	13.0	0.28	22.79	2.53	8.99	0.57
	15-20	60.3	9.66	-88	9.66	10.4	0.33	16.59	1.91	8.67	0.62
	20-25	57.7	9.63	-121	9.63	11.5	0.32	17.72	1.97	8.98	0.65
	25-30	57.8	9.22	-183	9.22	11.5	0.68	19.82	2.01	9.88	0.58
	30-40	54.9	9.04	-176	9.04	12.6	1.27	15.52	1.54	10.06	0.81
	40-50	60.0	9.42	-224	9.42	15.1	3.33	17.04	1.94	8.78	0.89
	50-60	57.1	7.72	-216	7.72	11.1	0.61	12.08	1.39	8.66	0.92
	60-70	51.7	10.1	-170	10.1	9.86	0.23	18.16	1.59	11.5	0.54
	70-80	49.3	8.23	-108	8.23	7.49	0.00	15.51	1.32	11.7	0.48
A2	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	74.8	12.2	86	19.5	16.4	0.16	19.9	2.29	8.71	0.82
	1-2	71.1	11.9	-97	17.2	18.7	0.55	20.0	3.06	6.55	0.93
	2-3	67.6	11.0	-82	14.8	16.6	0.69	18.2	2.69	6.78	0.91
	3-5	67.6	11.1	-117	12.4	16.3	0.88	17.6	2.76	6.38	0.92
	5-7	66.6	11.6	-110	14.8	13.3	0.73	18.2	2.55	7.14	0.73
	7-10	66.0	10.9	-44	14.2	12.2	0.61	16.6	2.59	6.42	0.74
	10-15	64.6	10.3	-82	13.7	13.7	0.90	14.8	1.93	7.65	0.93
	15-20	65.0	10.7	-60	13.6	12.8	0.57	17.3	2.62	6.60	0.74
	20-25	62.1	10.9	-84	12.0	10.8	0.41	17.5	2.33	7.51	0.62
	25-30	61.6	10.5	-1	12.5	12.0	0.52	18.3	2.41	7.60	0.65
	30-40	60.5	10.5	30	12.2	11.5	0.40	18.2	2.27	8.03	0.63
	40-50	59.9	10.2	-60	10.6	9.37	0.31	17.2	2.24	7.67	0.55
	50-60	56.0	9.66	50	11.0	10.6	0.39	13.9	1.72	8.11	0.76
	60-70	55.3	9.09	75	10.2	8.45	0.39	14.5	1.73	8.41	0.58
	70-80	51.9	8.20	90	9.11	8.89	0.24	13.1	1.51	8.66	0.68
A3	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	84.3	16.5	163	29.8	26.7	0.00	37.7	5.36	7.04	0.71
	1-2	82.3	16.9	29	25.5	33.3	0.11	33.6	4.93	6.82	0.99
	2-3	80.1	15.6	50	23.9	26.1	0.60	32.5	4.70	6.93	0.80
	3-5	79.8	15.4	-194	22.6	25.1	1.40	31.8	4.17	7.62	0.79
	5-7	78.7	15.3	-225	18.3	24.9	1.45	28.8	3.97	7.25	0.86
	7-10	77.8	14.5	-256	20.4	23.6	1.44	30.1	4.11	7.32	0.78
	10-15	76.3	14.6	-285	18.8	22.5	1.40	28.6	3.77	7.60	0.78
	15-20	64.6	11.2	-288	14.0	18.1	0.74	15.9	2.27	7.01	1.14
	20-25	72.7	13.5	-300	15.7	23.3	0.90	30.3	3.77	8.04	0.77
	25-30	71.9	13.1	-303	13.9	23.3	0.80	22.1	3.05	7.26	1.05
	30-40	71.6	12.5	-305	14.2	19.9	0.62	22.5	3.12	7.21	0.88
	40-50	71.1	11.8	-298	16.7	14.4	0.49	20.3	3.06	6.65	0.71
	50-60	67.6	10.8	-300	14.5	14.4	0.19	16.1	2.34	6.87	0.90
	60-70	74.0	14.2	-252	16.1	18.8	0.08	27.3	3.82	7.16	0.69
	70-80	62.3	10.3	-227	13.1	11.3	0.00	15.9	2.01	7.90	0.71
A4	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	83.5	17.7	-157	25.0	39.8	0.51	27.8	4.22	6.58	1.43
	1-2	82.0	17.2	-235	23.0	45.7	0.66	30.0	4.23	7.09	1.52
	2-3	80.8	16.9	-255	21.2	38.4	0.82	29.1	4.07	7.15	1.32
	3-5	79.0	16.5	-240	20.1	37.0	0.85	27.7	4.22	6.56	1.34
	5-7	78.0	16.9	-300	18.8	34.3	0.79	26.9	3.94	6.84	1.27
	7-10	78.2	16.1	-287	17.6	33.7	0.68	24.3	4.06	5.99	1.38
	10-15	73.9	14.8	-301	15.1	23.8	0.40	24.0	3.95	6.07	0.99
	15-20	68.5	13.3	-274	12.9	21.9	0.16	19.6	2.60	7.54	1.12
	20-25	63.0	12.2	-290	11.2	16.0	0.09	14.8	2.07	7.13	1.08
	25-30	63.2	11.5	-247	11.1	14.6	0.03	14.7	2.36	6.24	0.99
	30-40	64.8	11.1	-241	11.6	15.1	0.03	14.0	2.33	6.00	1.08
	40-50	61.9	11.4	-277	8.97	14.3	0.00	14.0	2.15	6.51	1.02
	50-60	58.9	11.4	-266	10.0	13.4	0.00	12.8	1.91	6.67	1.05
	60-70	58.8	10.8	-226	10.6	10.9	0.00	13.1	1.96	6.68	0.83
	70-80	57.2	10.8	-248	9.83	9.40	0.00	14.8	2.10	7.05	0.64

表2 (続き)

A5	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	87.9	17.1	-33	17.1	49.3	0.07	24.7	4.28	5.77	2.00
	1-2	83.7	16.3	-110	16.3	33.1	0.20	27.9	4.81	5.80	1.19
	2-3	81.3	15.1	-165	15.1	30.0	0.50	28.6	4.59	6.22	1.05
	3-5	80.2	14.4	-230	14.4	29.5	0.90	28.9	4.25	6.80	1.02
	5-7	78.8	14.5	-275	14.5	23.8	0.98	27.7	4.17	6.65	0.86
	7-10	77.1	13.8	-286	13.8	25.6	1.05	26.5	4.25	6.22	0.97
	10-15	77.1	13.7	-305	13.7	26.9	0.85	30.0	4.13	7.26	0.90
	15-20	74.4	10.3	-309	10.3	25.9	0.52	23.0	3.40	6.77	1.13
	20-25	73.2	12.6	-240	12.6	23.6	0.39	23.4	3.45	6.79	1.01
	25-30	70.8	11.5	-225	11.5	21.4	0.26	19.7	2.75	7.17	1.08
	30-40	66.8	9.71	-303	9.71	15.2	0.09	14.9	2.84	5.26	1.02
	40-50	66.5	9.60	-295	9.60	14.1	0.03	13.4	2.12	6.32	1.05
	50-60	62.0	9.46	-270	9.46	11.1	0.00	12.7	2.13	5.97	0.88
	60-70	60.1	9.33	-235	9.33	12.1	0.00	13.1	2.20	5.92	0.93
	70-80	60.1	9.77	-240	9.77	11.8	0.00	12.7	2.00	6.34	0.93
A6	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	76.9	11.4	-17	11.4	22.7	0.00	17.2	3.13	5.50	1.32
	1-2	65.9	10.1	-115	10.1	17.2	0.25	17.8	2.94	6.05	0.96
	2-3	65.0	10.2	-160	10.2	17.8	0.44	18.3	3.14	5.82	0.98
	3-5	62.0	10.0	-175	10.0	16.2	0.48	21.2	2.99	7.10	0.76
	5-7	61.3	9.90	-210	9.90	14.8	0.58	16.8	2.93	5.72	0.88
	7-10	59.8	9.67	-221	9.67	15.0	0.59	19.9	3.18	6.26	0.75
	10-15	59.0	9.88	-220	9.88	11.9	0.57	15.9	2.99	5.33	0.75
	15-20	56.1	9.45	-200	9.45	11.7	0.28	16.9	3.00	5.65	0.69
	20-25	55.2	8.79	-189	8.79	11.8	0.15	13.0	2.37	5.48	0.91
	25-30	53.5	8.43	-240	8.43	10.9	0.15	12.1	2.30	5.28	0.90
	30-40	54.1	8.32	-222	8.32	9.72	0.15	15.3	2.27	6.73	0.64
	40-50	54.3	8.12	-218	8.12	10.2	0.06	10.2	1.82	5.61	0.99
	50-60	46.9	6.95	-183	6.95	7.84	0.03	8.98	1.62	5.53	0.87
	60-70	45.1	6.94	-182	6.94	7.59	0.00	8.94	1.60	5.59	0.85
	70-80	44.9	7.18	-217	7.18	6.82	0.00	9.27	1.67	5.57	0.74
B6	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	82.0	16.2	-273	27.3	28.7	0.72	23.0	2.84	8.10	1.25
	1-2	78.4	15.1	-297	24.3	27.9	0.36	22.2	3.58	6.22	1.26
	2-3	74.9	14.4	-309	18.4	24.5	0.23	23.8	3.50	6.81	1.03
	3-5	72.0	13.9	-288	17.6	18.7	0.10	20.5	3.23	6.34	0.91
	5-7	71.2	14.2	-259	15.9	15.9	0.10	19.1	2.85	6.71	0.83
	7-10	69.7	13.1	-301	11.8	18.1	0.11	21.8	2.84	7.68	0.83
	10-15	63.7	12.3	-306	15.7	13.8	0.04	18.6	2.46	7.57	0.74
	15-20	64.6	11.7	-238	14.6	13.7	0.00	15.9	2.24	7.07	0.86
	20-30	57.4	10.9	-296	13.6	8.71	0.00	11.9	1.99	5.98	0.73
B7	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	80.1	15.0	-275	26.2	26.7	0.60	24.5	3.85	6.36	1.09
	1-2	76.7	14.8	-304	21.7	26.3	0.61	25.1	3.89	6.45	1.05
	2-3	73.4	14.3	-307	17.5	21.9	0.57	21.2	3.42	6.18	1.03
	3-5	71.7	13.2	-320	19.0	21.0	0.58	21.8	3.57	6.11	0.97
	5-7	68.6	12.5	-304	17.7	17.7	0.28	18.5	2.89	6.40	0.96
	7-10	64.8	12.7	-307	15.7	15.7	0.21	17.7	2.66	6.68	0.89
	10-15	63.5	10.4	-315	12.7	11.5	0.09	14.0	2.08	6.74	0.82
	15-20	58.8	8.93	-248	13.1	14.3	0.03	11.9	1.85	6.46	1.20
	20-30	55.3	8.54	-162	11.1	12.2	0.00	10.7	1.76	6.07	1.14
B8	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	83.0	16.7	-279	30.4	40.8	1.47	26.1	4.46	5.85	1.57
	1-2	80.7	17.8	-303	25.1	52.0	1.27	25.5	4.06	6.27	2.04
	2-3	79.3	15.4	-292	23.1	36.97	0.87	27.4	3.87	7.09	1.35
	3-5	76.9	15.8	-308	19.4	34.78	1.06	25.2	3.84	6.55	1.38
	5-7	75.1	15.1	-314	17.4	32.95	0.40	21.6	3.20	6.74	1.53
	7-10	74.4	13.4	-272	18.0	25.42	0.26	23.2	3.25	7.13	1.10
	10-15	70.9	13.0	-305	16.3	20.37	0.26	17.1	2.48	6.90	1.19
	15-20	65.9	12.3	-282	16.0	15.06	0.14	13.3	2.21	6.03	1.13
	20-30	60.7	10.8	-298	13.3	12.60	0.02	11.4	2.20	5.16	1.11

表 2 (続き)

B9	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	80.1	15.8	-169	25.1	29.0	1.07	25.9	3.84	6.76	1.12
	1-2	76.9	15.2	-175	20.8	30.5	1.04	25.0	3.60	6.96	1.22
	2-3	76.2	15.5	-220	22.3	29.6	0.89	20.6	3.48	5.93	1.43
	3-5	73.1	14.4	-228	16.2	23.5	0.80	18.9	3.01	6.26	1.25
	5-7	71.7	14.0	-260	16.9	24.4	0.29	18.2	2.58	7.09	1.34
	7-10	68.7	13.3	-212	13.2	21.6	0.59	19.2	2.87	6.71	1.12
	10-15	65.5	12.2	-264	12.4	15.5	0.17	12.6	2.00	6.28	1.23
	15-20	60.3	10.8	-223	12.6	14.1	0.22	12.5	1.91	6.51	1.13
	20-30	61.0	10.4	-151	11.1	11.4	0.02	11.1	1.91	5.80	1.03
B10	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	80.4	16.2	-131	24.0	34.2	0.66	25.9	4.09	6.32	1.32
	1-2	78.1	16.6	-197	21.0	30.4	0.49	24.2	3.65	6.61	1.26
	2-3	75.7	15.8	-132	19.9	31.1	0.36	23.6	3.14	7.50	1.32
	3-5	71.3	14.2	-190	15.4	25.6	0.30	21.6	2.98	7.25	1.19
	5-7	71.4	13.9	-207	12.5	25.2	0.25	35.7	4.43	8.04	0.71
	7-10	63.0	11.8	-272	14.6	16.9	0.10	10.8	1.63	6.61	1.57
	10-15	60.3	10.4	-200	13.4	12.9	0.02	18.9	3.10	6.10	0.68
	15-20	59.0	10.1	-171	13.6	12.0	0.00	18.3	2.55	7.18	0.66
	20-30	55.7	9.62	-190	10.7	11.3	0.00	15.2	2.17	7.03	0.74
B2	深度 (cm)	含水率 (%)	IL (%)	ORP (mV)	炭酸カルシウム (%)	COD (mg/g)	AVS (mg/g)	TOC (mg/g)	TN (mg/g)	C/N比	COD/TOC比
	0-1	27.1	0.56	115	7.29	2.28	0.00	0.89	0.28	3.15	2.57
B3	0-1	13.7	0.36	159	2.10	0.68	0.00	1.63	0.29	5.64	0.42
B4	0-1	79.1	1.64	-71	8.98	24.7	0.18	0.08	0.10	0.82	313.27
B5	0-1	37.6	2.01	-135	20.6	12.2	0.08	0.03	0.06	0.50	423.46

## ノート

# ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの サンプリング方法について

佐来栄治, 寺本佳宏, 岩崎誠二

## Study on Sampling Method for Formaldehyde and Acetaldehyde

Eiji SARAI, Yoshihiro TERAMOTO and Seiji IWASAKI

有害大気汚染物質の「優先取組物質」に選定されているホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドについて, ①ヨウ化カリウムを用いるオゾンスクラバ法(従来法), ②従来法のオゾンスクラバを加熱する方法, ③trans-1,2-ビス(2-ピリジル)エチレン, ④拡散サンプラー(パッシブサンプラー)を用いる方法の4種類についてサンプリング方法の検討を2015年3月~2016年3月の期間に24時間サンプリングにより行った。その結果, 夏期の大気中の水分量が多い時期には4種類のサンプリング方法間で測定濃度差が大きくなった。また, ②の方法を用いた場合, 大気中の水分の影響が排除できた。

キーワード: 有害大気汚染物質, ホルムアルデヒド, アセトアルデヒド

### はじめに

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドは, 1996年の大気汚染防止法の一部改正に基づき「有害大気汚染物質」に該当する可能性のある物質(全248物質)にリストアップされ, さらに有害性の程度や大気環境の状況からみて健康リスクがある程度高いと考えられる物質である「優先取組物質」(全23物質)に選定されている。

三重県(当研究所)では, 1997年度よりダイオキシン類を除く優先取組物質の調査を行っており, ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドはその対象となっている。ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドは, 雨天等の高湿度におけるサンプリング時に, 潮解したヨウ化カリウムがオゾンスクラバから溶け出して捕集管に流出し, 定量操作に影響を与えたりすることがある。また, ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドの測定法には, 大気中の水分が凝縮するおそれのある時には, オゾンスクラバ, 捕集管を気温よりやや高めに加熱するとの記述がある。そこで今回, サンプリング時の水分の影響について4つのサンプリング方法の検討を行ったので報告する。

### 調査概要および測定方法

#### 1. 調査概要

##### 1) 調査地点

調査(サンプリング)地点は, 三重県北部の山間部に位置する当研究所(四日市市桜町3684-11)で行った。

##### 2) 調査期間

2015年3月~2016年3月に24時間サンプリングを行った。調査日については, 結果の表1,3,5,7に示した。

##### 3) サンプリング方法

(1) 従来のおりヨウ化カリウムを使用しているオゾンスクラバを用いて行う。

(2) ヨウ化カリウムを使用しているオゾンスクラバを用いてサンプリングを行うが, オゾンスクラバおよび捕集管を気温よりやや高めに加熱して行う。

(3) オゾンスクラバにヨウ化カリウムの代わりに, trans-1,2-ビス(2-ピリジル)エチレン(BPE)を用いて行う。

(4) 拡散サンプラー(パッシブサンプラー)を用いて行う。

以上の4つの方法でサンプリングを行った。

#### 2. 測定方法

測定方法は, 環境庁(現環境省)の有害大気汚染物質測定方法マニュアルに準拠した固相捕集-1)高速液体クロマトグラフ法<sup>1)</sup>による。

### 3. 器具および装置

加温装置：アルデヒド類捕集管加温装置（型式 GTH-1，ガステック社製）

捕集管：PresepR-C DNPH（Wako 社製）

：BPE-DNPH（SIGMA-ALDRICH 社製）

拡散サンプラー：DSD-DNPH（SIGMA-ALDRICH 社製）

オゾンスクラバ：PresepR-C Ozone Scrubber（Wako 社製）

採取ポンプ：GSP-400FT（ガステック社製）

高速液体クロマトグラフ：Agilent Technologies 1290

### 3. 試料採取および試験溶液の調製

試料採取は、午前 9 時 30 分～翌日の午前 9 時 30 分まで、0.1L/min の流量で 24 時間サンプリングした(サンプリング量, 144L(20°C, 1atm 換算)). なお、PresepR-C DNPH は 2 本を直列に、BPE-DNPH は 1 本を接続して用いた。拡散サンプラーは、容器から取り出し大気を吸収させた。

試験溶液の調整は、回収した PresepR-C DNPH および拡散サンプラーにはアセトニトリル溶液、BPE-DNPH には 80%アセトニトリル水溶液を 5mL 通液してホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのヒドラゾン誘導体を溶出させ、その後 5mL に定容後 HPLC 試験溶液とした。

### 4. HPLC 分析条件

使用カラム：Inertsil ODS-3 3.0mm φ × 150mm (粒径 3.0μm)

移動相：アセトニトリル / 水 = 55 / 45

流量：0.3mL/min

試料注入量：10 μL

カラム温度：40 °C

検出器：UV 検出器（測定波長：360nm）

### 結果および考察

#### 1. サンプリング法の違いによる 2015 年 3 月 11 日～4 月 2 日の測定結果

2015 年 3 月 11 日～4 月 2 日の期間中に、次の 4 条件で環境大気のサンプリングを 12 回行いホルムアルデヒド、アセトアルデヒドの挙動について検討をした。1) オゾンスクラバ、PresepR-C DNPH 捕集管にポンプを接続しサンプリングを行った（以下、DNPH 法と略）。2) オゾンスクラバ、PresepR-C DNPH 捕集管を加温装置の中に設置しポンプを接続し水分を凝縮させないようにサンプリングした（以下、保温 DNPH 法と略）。3) BPE-DNPH 捕集管にポンプを接続してサンプリングした（以下 BPE 法と略）。4) DSD-DNPH 拡散サンプラーは、捕集管とともに風通しの良い直射日

光の当たらないように設置した（以下 DSD 法と略）。

#### 1) ホルムアルデヒド

表 1 に採取期間、期間中の平均気温・湿度、平均気温と平均湿度から算出した 144L 吸引した時の吸引水分量および各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度を示した。また、図 1 にサンプリング方法とホルムアルデヒドの測定濃度の相関を示し、表 2 に各サンプリング方法における測定濃度間の相関係数( $r^2$ )を示した。その結果、4 種類のサンプリング方法と測定濃度間には高い相関があったが、DNPH 法のサンプリング方法に比べて他の 3 つのサンプリング方法の測定濃度の方が高い傾向にあった。また、相関係数については、4 種類のサンプリング方法間で DSD 法が少し低かった。図 2 に、各サンプリング方法における測定値の濃度変化を示した。その結果、各サンプリング方法による測定結果は似かよった変化を示し、気温が高いと濃度も高い傾向にあった。次に、各サンプリング方法の測定結果の標準偏差と吸引水分量の関係を図 3 に示した。その結果、標準偏差と吸引水分量との間には相関があり、吸引水分量が多くなると各サンプリング方法の測定濃度の差が大きくなることが示唆された。このことは、オゾンスクラバにヨウ化カリウムを使用したサンプリング方法ではサンプリング期間中の降雨等の影響で湿度が高いと、潮解したヨウ化カリウムにホルムアルデヒドが吸収され測定濃度が低めに出ることを示すが、今回の測定期間では吸引水分量の差が小さく測定濃度の差は小さかった。

#### 2) アセトアルデヒド

表 3 に採取期間、期間中の平均気温・湿度、平均気温と平均湿度から算出した 144L 吸引した時の吸引水分量および各サンプリング方法におけるアセトアルデヒド濃度を示した。また、図 4 にサンプリング方法の違いによるアセトアルデヒドの測定濃度の相関を示し、表 4 に各サンプリング方法における測定濃度間の相関係数を示した。その結果、4 種類のサンプリング方法による測定濃度には高い相関があった。図 5 に、4 種類の各サンプリング方法の濃度変化を示した。その結果、DSD 法の測定濃度は低い傾向にあったが、各サンプリング法による測定濃度の変化は似かよった傾向を示し、ホルムアルデヒドと同様気温が高いと濃度も高い傾向にあった。次に、各サンプリング方法の測定結果の標準偏差と吸引水分量の関係を図 6 に示した。その結果、標準偏差と吸引水分量との間にはホルムアルデヒドと同様相関があった。今回のサンプリング期間では、DSD 法は平均気温・湿度の気象条件に関わらず測

表1 2015年3月11日～4月2日の採取期間における平均気温・湿度，吸引水分量  
および各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度

検体番号	採取期間	平均気温 (%)	平均湿度 (%)	吸引水分量 (g)	ホルムアルデヒド濃度( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )			
					DNPH法	保温DNPH法	BPE法	DSD法
1	3月11-12日	3.9	48	0.43	0.79	0.74	0.61	0.99
2	3月12-13日	4.8	48	0.46	0.79	0.80	0.72	0.57
3	3月16-17日	11	88	1.3	1.1	1.1	1.4	1.6
4	3月17-18日	14	76	1.3	1.8	1.8	1.8	2.0
5	3月18-19日	15	85	1.6	0.83	1.2	1.0	1.5
6	3月23-24日	4.5	59	0.56	0.58	0.48	0.59	0.63
7	3月24-25日	4.7	60	0.58	0.45	0.51	0.61	0.94
8	3月25-26日	5.5	48	0.49	0.55	0.54	0.54	0.56
9	3月26-27日	8.3	27	0.33	0.89	0.99	0.88	0.65
10	3月30-31日	13	67	0.39	1.9	2.1	1.8	1.9
11	3月31日 -4月1日	15	77	1.1	1.4	2.0	1.8	1.7
12	4月1-2日	11	85	1.2	0.91	0.63	0.52	1.0

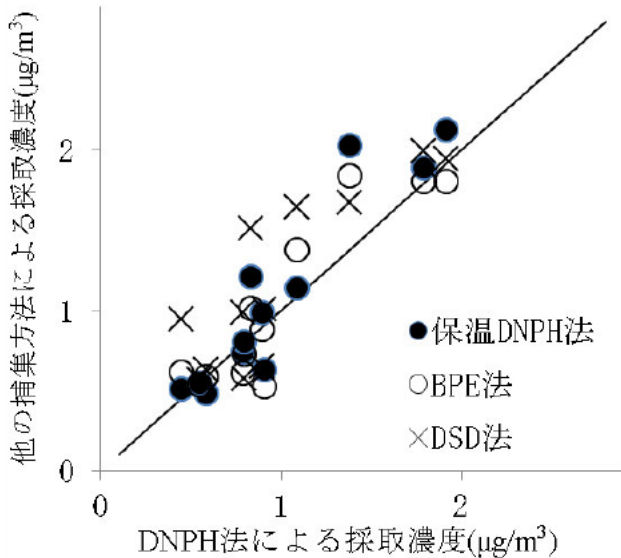


図1 ホルムアルデヒド測定における各サンプリング方法と採取濃度との相関

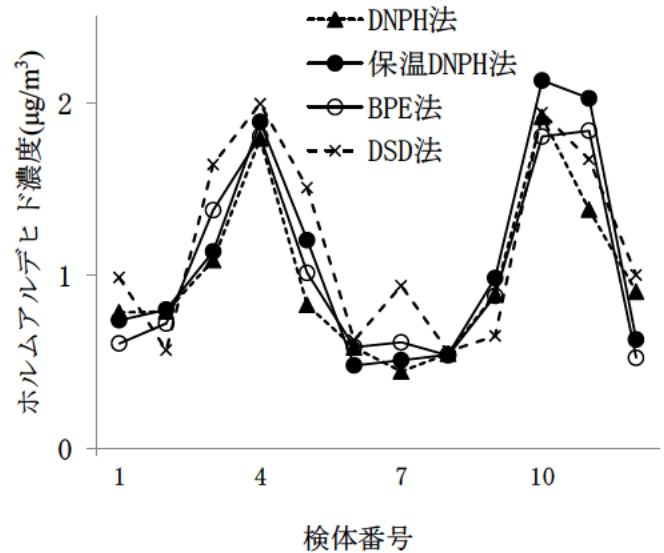


図2 各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度の変化

表2 ホルムアルデヒドの各サンプリング方法における採取濃度間の相関係数

	DNPH法	保温DNPH法	BPE法
DNPH法	-		
保温DNPH法	0.87	-	
BPE法	0.83	0.94	-
DSD法	0.72	0.75	0.80

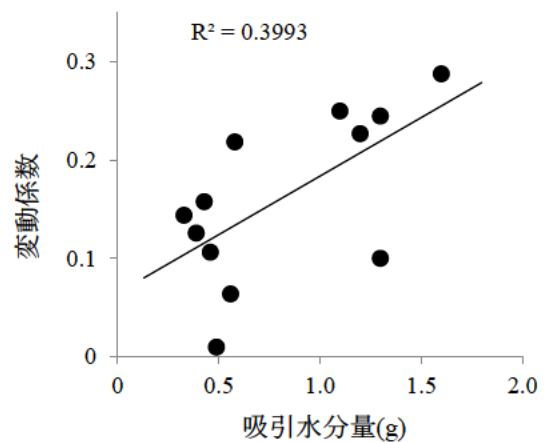


図3 吸引水分量と各サンプリング方法の測定濃度の変動係数との関係

表3 2015年3月11日～4月2日の採取期間における平均気温・湿度、吸引水分量および各サンプリング方法におけるアセトアルデヒド濃度

検体番号	採取期間	平均気温 (%)	平均湿度 (%)	吸引水分量 (g)	アセトアルデヒド濃度(μg/m <sup>3</sup> )			
					DNP法	保温DNP法	BPE法	DSD法
1	3月11-12日	3.9	48	0.43	0.48	0.58	0.7	0.64
2	3月12-13日	4.8	48	0.46	0.79	0.80	0.72	0.47
3	3月16-17日	11	88	1.3	0.96	1.1	1.2	0.57
4	3月17-18日	14	76	1.3	1.4	1.8	1.6	1.0
5	3月18-19日	15	85	1.6	1.1	1.3	1.3	0.56
6	3月23-24日	4.5	59	0.56	0.46	0.47	0.57	0.32
7	3月24-25日	4.7	60	0.58	0.45	0.47	0.8	0.37
8	3月25-26日	5.5	48	0.49	0.74	0.56	0.48	0.32
9	3月26-27日	8.3	27	0.33	0.78	0.72	0.85	0.49
10	3月30-31日	13	67	0.39	1.4	1.7	1.6	0.93
11	3月31日 -4月1日	15	77	1.1	1.5	1.9	1.6	0.98
12	4月1-2日	11	85	1.2	0.99	0.71	0.53	0.55

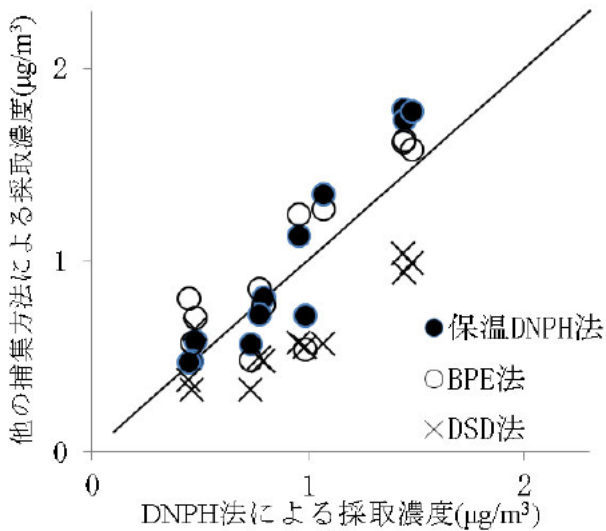


図4 アセトアルデヒド測定における各サンプリング方法と採取濃度との相関

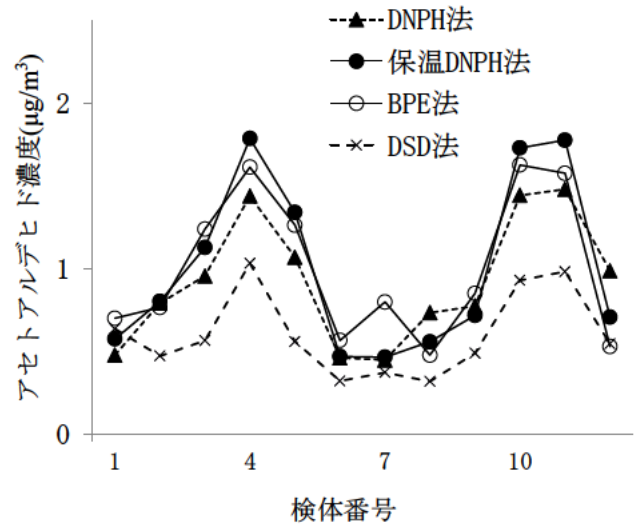


図5 各サンプリング方法におけるアセトアルデヒド濃度の変化

表4 アセトアルデヒドの各サンプリング方法における採取濃度間の相関係数

	DNP法	保温DNP法	BPE法
DNP法	-		
保温DNP法	0.91	-	
BPE法	0.73	0.92	-
DSD法	0.75	0.83	0.76

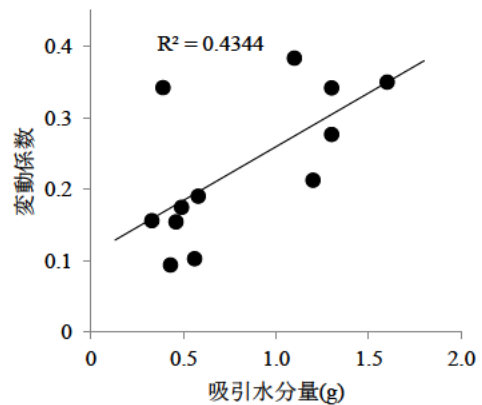


図6 吸引水分量と各サンプリング方法間の採取濃度の変動係数との関係



表5 2015年4月～2016年3月の採取期間における平均気温・湿度、吸引水分量  
および各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度

検体 番号	採取期間	平均気温 (%)	平均湿度 (%)	吸引水分量 (g)	ホルムアルデヒド濃度( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )			
					DNPH法	保温DNPH法	BPE法	DSD法
1	2015年 4月 16-17日	11	80	1.1	1.6	1.9	1.6	1.3
2	5月 13-14日	21	43	1.1	2.4	2.5	2.4	1.4
3	6月 9-10日	20	87	2.1	0.79	1.2	0.93	1.3
4	7月 23-24日	25	90	2.9	4.2	6.2	5.8	7.2
5	8月 19-20日	25	85	2.8	4.1	4.3	1.6	2.3
6	9月 24-25日	19	97	2.3	1.2	2.2	1.5	2.7
7	10月 5- 6日	18	68	1.5	1.4	1.6	1.7	1.7
8	11月 9-10日	19	63	1.5	0.66	1.2	0.85	1.2
9	12月 1- 2日	11	35	0.50	0.86	0.76	0.91	0.84
10	2016年 1月 12-13日	4.0	62	0.58	0.62	0.52	0.42	0.68
11	2月 3- 4日	2.5	56	0.46	0.77	0.58	0.46	0.70
12	3月 8- 9日	14	62	1.1	1.3	1.3	1.2	1.2

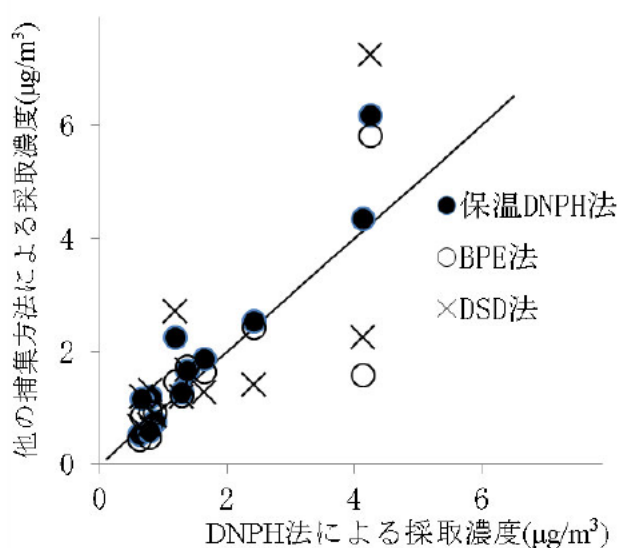


図7 ホルムアルデヒド測定における各サンプリング方法と採取濃度との相関

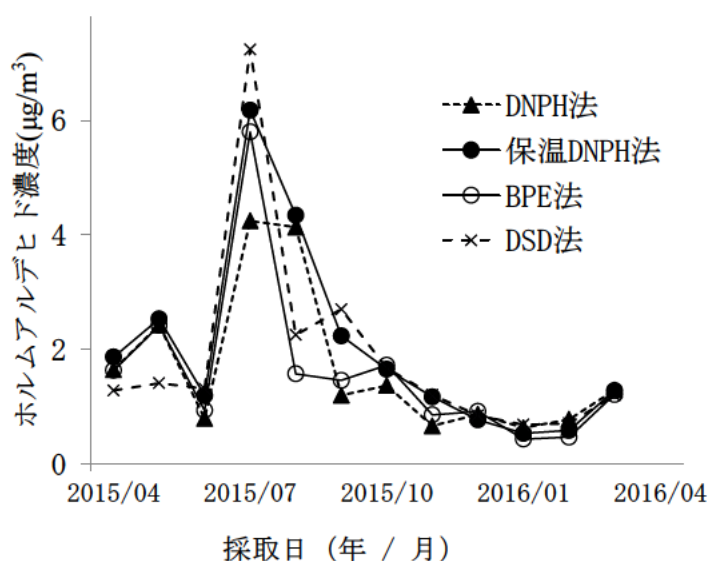


図8 各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度の経月変化

表6 ホルムアルデヒドの各サンプリング方法における採取濃度間の相関係数

	DNPH法	保温DNPH法	BPE法
DNPH法	-		
保温DNPH法	0.91	-	
BPE法	0.60	0.78	-
DSD法	0.54	0.80	0.88

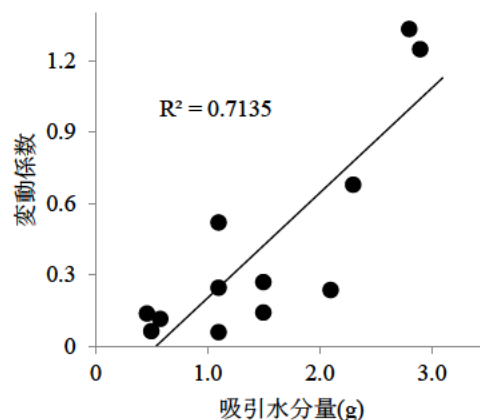


図9 吸引水分量と各サンプリング方法間の採取濃度の変動係数との関係



表7 2015年4月～2016年3月の採取期間における平均気温・湿度、吸引水分量  
および各サンプリング法におけるアセトアルデヒド濃度

検体 番号	採取期間	平均気温 (%)	平均湿度 (%)	吸引水分量 (g)	アセトアルデヒド濃度( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )			
					DNPH法	保温DNPH法	BPE法	DSD法
1	2015年 4月 16-17日	11	80	1.1	1.5	1.5	1.2	0.93
2	5月 13-14日	21	43	1.1	1.9	1.8	1.7	0.98
3	6月 9-10日	20	87	2.1	2.1	0.66	0.70	0.51
4	7月 23-24日	25	90	2.9	3.3	4.1	1.9	2.9
5	8月 19-20日	25	85	2.8	2.2	1.9	0.43	0.63
6	9月 24-25日	19	97	2.3	1.7	2.0	0.88	0.54
7	10月 5- 6日	18	68	1.5	1.5	1.6	1.5	0.93
8	11月 9-10日	19	63	1.5	1.3	1.7	1.1	0.57
9	12月 1- 2日	11	35	0.50	1.5	1.6	0.90	0.47
10	2016年 1月 12-13日	4.0	62	0.58	0.77	0.69	0.52	0.40
11	2月 3- 4日	2.5	56	0.46	0.85	0.65	0.68	0.58
12	3月 8- 9日	14	62	1.1	1.6	1.1	0.92	0.69

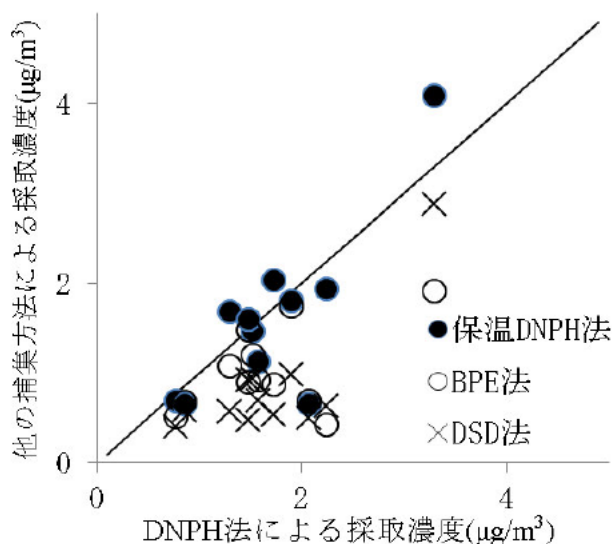


図10 アセトアルデヒド測定における各サンプリング法の採取濃度との相関

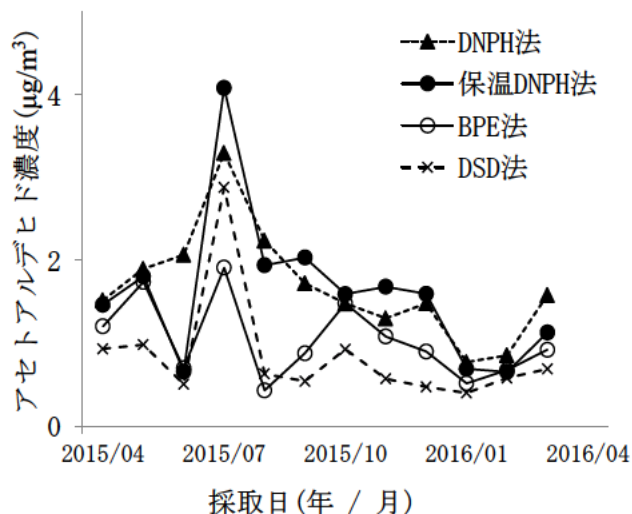


図11 各サンプリング方法におけるアセトアルデヒド濃度の変化

表8 アセトアルデヒドの各サンプリング方法における採取濃度間の相関係数

	DNPH法	保温DNPH法	BPE法
DNPH法	-		
保温DNPH法	0.67	-	
BPE法	0.26	0.45	-
DSD法	0.61	0.75	0.57

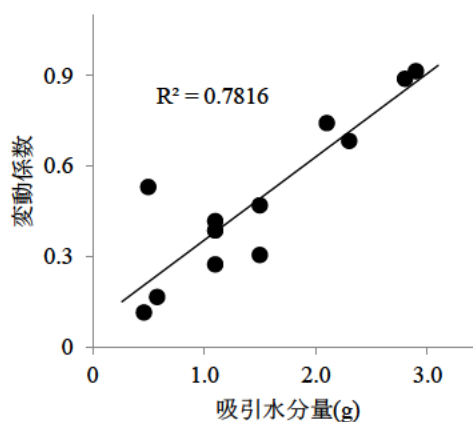


図12 吸引水分量と各サンプリング方法間の採取濃度の変動係数との関係

定濃度は低い傾向であったが、他のサンプリング方法との測定結果の差は小さかった。

## 2. サンプリング法の違いによる 2015 年度の結果(2015 年度中に、1 回/月の割合で環境大気のサンプリングを 12 回行った測定結果について)。

### 1) ホルムアルデヒド

表 5 に採取期間、期間中の平均気温・湿度、平均気温と平均湿度から算出した 144L 吸引した時の吸引水分量および各サンプリング方法におけるホルムアルデヒド濃度を示した。また、図 7 にサンプリング方法の違いによるホルムアルデヒドの測定濃度の相関を示し、表 6 に各サンプリング方法における測定濃度間の相関係数を示した。その結果、4 種類の各サンプリング方法による測定濃度には相関があったが、表 2 に示した 3 月の各サンプリング方法間における測定濃度の相関係数よりも低かった。図 8 に、4 種類のサンプリング方法の経月変化を示した。その結果、ホルムアルデヒド濃度の低い冬期～春期にかけては、各サンプリング法による測定結果の差は小さかった。逆に、濃度の高い夏期は、各サンプリング法による測定結果の差は大きくなった。この原因は、図 9 に示した、吸引水分量と 4 つのサンプリング方法の測定結果の変動係数の相関から、大気中の水分量が多くなる夏期は測定濃度の差が大きくなるためと推察された。

### 2) アセトアルデヒド

表 7 に採取期間、期間中の平均気温・湿度、平均気温と平均湿度から算出した 144L 吸引した時の吸引水分量および各サンプリング方法におけるアセトアルデヒド濃度を示した。また、図 10 にサンプリング方法の違いによるアセトアルデヒド濃度の相関を示し、表 8 に各サンプリング方法における測定濃度間の相関係数を示した。その結果、4 種類のサンプリング方法による測定濃度には相関があったが、表 4 に示した 3 月のサンプリング方法間の測定濃度の相関係数よりも低かった。その結果、4 種類の各サンプリング方法には相関があるが、DNPH 法と BPE 法間は 0.26 と相関係数が低かった。図 8 に、4 種類のサンプリング方法の経月変化を示した。その結果、ホルムアルデヒドと同様冬期に濃度が低く、夏期に濃度が高い傾向があったが、各サンプリング方法によるバラツキが大きかった。この原因は、図 12 に示した、吸引水分量と 4 つのサンプリング方法の測定結果の変動係数の相関が非常に高く、大気中の水分量が多くなるに従って測定濃度の差が大きくなると推察された。

## まとめ

ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのサンプリングについて、4 種類のサンプリング方法について 2 期間について測定および検討を行った結果、次の知見が得られた。

1. 2015 年 3 月 11 日 ～ 4 月 2 日の期間中にサンプリングを行った結果、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドとも各サンプリング方法での測定濃度の相関係数は高かった。
2. 2015 年 3 月 11 日 ～ 4 月 2 日の期間の濃度変化の比較を行ったところアセトアルデヒドについては、DSD 法以外のサンプリング方法では似かよった挙動を示したが、DSD 法では低い傾向にあった。
3. 2015 年 3 月 11 日 ～ 4 月 2 日の期間の 4 種類のサンプリング方法の測定濃度の標準偏差と吸引水分量の関係から、湿度が高くなると 4 種類のサンプリング方法の違いによる測定濃度に差が生じると考えられた。
4. 2015 年度の期間中にサンプリングを行った結果、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドとも各サンプリング方法間での相関があったが、短い期間で行った 2015 年 3 月 11 日 ～ 4 月 2 日に比べて低かった。
5. 2015 年度の期間の経月変化の比較を行ったところホルムアルデヒド濃度の低い冬期～春期にかけては、各サンプリング方法による測定結果の差は小さかった。逆に、濃度の高い夏期は、各サンプリング方法の違いによる測定濃度の差が大きかった。アセトアルデヒドについても、ホルムアルデヒドと同様冬期に濃度が低く、夏期に濃度が高い傾向があり各サンプリング方法の違いによる差も大きかった。
6. 2015 年度の期間の各サンプリング方法による測定濃度の標準偏差と吸引水分量の関係では、短い期間で行った 2015 年 3 月 11 日 ～ 4 月 2 日に比べてホルムアルデヒド、アセトアルデヒドとも強い相関があった。そのため年間を通した結果では、夏期の湿度の高い時期にはサンプリング方法の違いによる測定濃度に差が大きくなることがわかった。
7. ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドとも各サンプリング方法によっては吸引水分等の影響により測定濃度に差が生じることがわかった。DNPH 法と保温 DNPH 法を比べて見るとアセトアルデヒドの 6 月の結果以外は保温 DNPH 法が DHPH 法に比べて高い傾向にあるのは、保温 DNPH がサンプリング時の湿度の影響を排除出来ていると考えられた。
8. DNPH 法を使用したサンプリング方法の大気濃度と比べて、ホルムアルデヒドは BPE 法と

DSD 法についても同程度の傾向を示した。アセトアルデヒドについては、BPE 法は同程度であったが、DSD 法は若干低い傾向を示した。

本報告は、第 56 回大気環境学会年会で発表した内容<sup>2)</sup>の一部に 2015 年度の測定結果を追加してまとめたものである。

### 文 献

- 1) 環境庁大気保全局大気規制課：有害大気汚染物質測定方法マニュアル(1997)。
- 2) 佐来栄治，寺本佳宏，岩崎誠二，西中隆道：ホルムアルデヒドおよびアセトアルデヒドのサンプリングについて，第 56 回大気環境学会年会講演要旨集 p263 (2015.9.15-17 東京都新宿区)。

ノート

## イオンクロマトグラフによるジカルボン酸類測定方法の検討 および三重県北部地域における大気中浮遊粉じんの実態調査

西山 亨, 岩崎誠二, 寺本佳宏, 佐来栄治, 佐藤邦彦, 阪本晶子, 川合行洋

### Study of Analytical Method for Dicarboxylic Acids by Ion Chromatography and Measurement of Dicarboxylic Acids in the Atmospheric Dust at the Northern Part of Mie Prefecture

Tooru NISHIYAMA, Seiji IWASAKI, Yoshihiro TERAMOTO, Eiji SARAI,  
Kunihiko SATO, Akiko SAKAMOTO and Yukihiro KAWAI

近年,  $PM_{2.5}$  の二次生成の指標として注目されている大気中有機化合物であるジカルボン酸類を, 通常業務 (大気立入検査,  $PM_{2.5}$ , 酸性雨等での陰イオン測定) において使用しているイオンクロマトグラフを用いて同時分析をする方法を検討した結果, シュウ酸およびマロン酸について, カラムおよび測定時間等を変更することなく, 溶離液条件を変更するだけで測定できることが明らかとなった. また, 有害大気汚染物質モニタリングを実施している 2 地点 (桑名, 鈴鹿) において, ハイボリウムエアサンプラーにより捕集した大気中浮遊粉じんを上記方法を用いて測定したところ, 地点による差異はあったものの, シュウ酸と一部の金属成分 (Cr, Ni, As, Be, Mn) や大部分のイオン成分 ( $NO_3$ ,  $SO_4$ ,  $NH_4$ , K, Mg, Ca) と相関が高い結果となった. また, 後方流跡線解析を実施したところ, シュウ酸またはその原因物質が移流の影響を受けている可能性があった.

キーワード: 有機マーカー, ジカルボン酸類, シュウ酸, 後方流跡線解析, 微小粒子状物質, 二次生成

#### はじめに

微小粒子状物質 ( $PM_{2.5}$ ) 低減対策のためには, 各種発生源の寄与割合を解析することが重要である. その発生源寄与解析を行うためには, 各種発生源の指標となる有機マーカーの測定が有用であり, 特に, ジカルボン酸類が二次生成の指標として, レボグルコサンがバイオマス燃焼の指標として, 注目されている. 当研究所における環境大気中の  $PM_{2.5}$  等の粒子状物質測定については, 既にレボグルコサンなどについて報告してきた<sup>1-12)</sup>が, 今回はジカルボン酸類に着目して, イオンクロマトグラフを用いる簡易でかつ,  $PM_{2.5}$  の陰イ

オン成分と同時測定できる迅速な測定法を検討した. また, この方法を用いて, 有害大気汚染物質モニタリング調査でハイボリウムエアサンプラーにより捕集した大気粉じん中の含有量について測定したので報告する.

#### 方法

##### 1. 試薬等

- ・陰イオン混合標準液IV: 関東化学株式会社製イオンクロマトグラフィー用
- ・シュウ酸標準液: 関東科学株式会社製シュウ酸

- ナトリウム（試薬特級）より調製
- マロン酸標準液：和光純薬工業株式会社製マロン酸（和光特級）より調製
- コハク酸標準液：関東科学株式会社製コハク酸（特級）より調製
- 超純水：イオン交換水を日本ミリポア株式会社製 Milli-Q Advantage A10 により精製
- ろ紙：東京ダイレック株式会社製ポールフレックスファイバーフィルター TISSUQUARTZ 2500QAT-UP
- フィルター：DISMIC®ディスポーザブルメンブレンフィルターユニット 13HP045CN

## 2. 測定装置および分析条件

- イオンクロマトグラフ：ダイオネクス株式会社製 ICS-2000（図 1）
- ガードカラム：ダイオネクス株式会社製 IonPac AG20
- 分離カラム：ダイオネクス株式会社製 IonPac AS20（4×250mm，基材直径 7.5 μm）
- 流量：1mL/min
- カラム温度：35℃
- サプレッサ：ダイオネクス株式会社製 ASRS 300(リサイクルモード)
- 溶離液：水酸化カリウム溶液(ダイオネクス株式会社製溶離液ジェネレーター (ICS-3000) 使用)
- 溶離液濃度条件：通常業務では，溶離液濃度 10mM のアイソクラティックで約 20 分間測定を行い，その後の洗浄や追い出しを含めて 1 検体 30 分間で終了するように運用している。

上記条件の内，溶離液濃度条件以外を変更せずに 30 分以内で，陰イオンと同時にジカルボン酸類の測定可能な条件を検討した。

## 3. 目標値の設定

ジカルボン酸類の濃度 0.01-0.1mg/L において，



図 1 イオンクロマトグラフ (ICS-2000)

表 1 ジカルボン酸類測定のためのハイボリウムエアサンプラーによる試料採取地点の概要

地点番号	地点名	区分
①	桑名	三重県桑名庁舎屋上
②	鈴鹿	自動車排出ガス測定局

変動係数が 10%以下になるように目標値を設定した。

## 4. 試料採取方法および分析方法

### 1) サンプルング方法

ろ紙をハイボリウムエアサンプラーに装着し，毎月原則同じ期間に 2 地点で，大気試料を吸引流量約 1,000L/min で 24 時間吸引捕集した。

### 2) ろ紙

使用したろ紙は，サンプルング前後で湿度を 50%に設定したデシケーター内に 24 時間以上保存し，秤量後サンプルングおよび分析に使用した。速やかに分析できない場合は，秤量後冷凍保存 (-35℃) した。また，ろ紙に捕集された粒子を積算流量 (1 気圧，20℃) で除算したものを浮遊粉じん濃度とした。

### 3) サンプルング地点および期間

サンプルングは表 1，図 2 に示す地点で，有害大気汚染物質測定方法マニュアル<sup>13)</sup> に従って行った。2014 年 4 月～2015 年 3 月に毎月 24 時間サンプルングを行った。調査日については表 2 に示したとおり，両地点共に 1 月を除いて同じ日とした。

### 4) 前処理 (抽出) 方法

サンプルングを行ったろ紙の 1/4 を細切後，50mL のスクリュウ蓋付きのプラスチック容器に入れ，超純水 50mL を加えて 30 分間超音波処理して対象物質を抽出した。この抽出液をフィルターでろ過したのち，電気伝導度が 10mS/m 付近になるように適宜希釈を行い，イオンクロマトグラフの試料とした。

### 5) 分析条件

前処理を行った分析溶液は，今回の検討結果で確立した溶離液濃度条件を用いて分析をした。

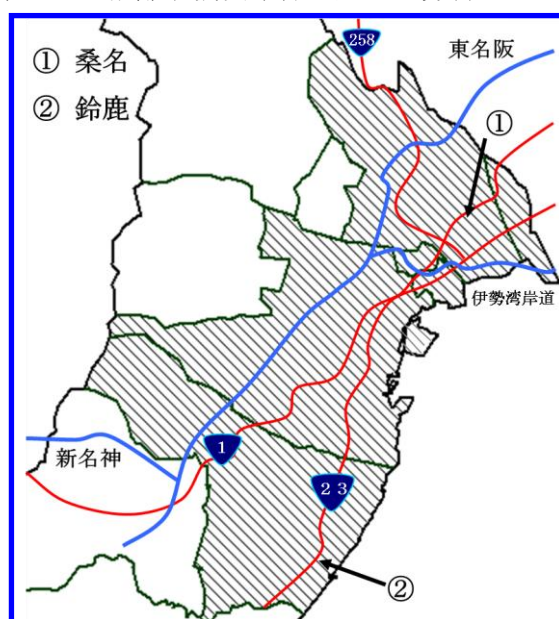


図 2 ジカルボン酸類測定のためのハイボリウムエアサンプラーによる試料採取地点図 (斜線部分は改正 NOx・PM 法適用地域)



表2 ジカルボン酸類測定のためのハイボリウムエアサンプラーによるサンプリング期間

サンプリング月	開始日	終了日
4月	2014年4月8日	～ 4月9日
5月	2014年5月13日	～ 5月14日
6月	2014年6月2日	～ 6月3日
7月	2014年7月9日	～ 7月10日
8月	2014年8月18日	～ 8月19日
9月	2014年9月9日	～ 9月10日
10月	2014年10月8日	～ 10月9日
11月	2014年11月4日	～ 11月5日
12月	2014年12月8日	～ 12月9日
1月 (桑名)	2015年1月21日	～ 1月22日
1月 (鈴鹿)	2015年1月13日	～ 1月14日
2月	2015年2月3日	～ 2月4日
3月	2015年3月2日	～ 3月3日

### 調査結果および考察

#### 1. ジカルボン酸類測定方法の検討結果

通常業務, 特に PM<sub>2.5</sub> 中の陰イオン成分を測定する場合の分析方法は, 既法の夾雑物にモノカルボン酸等があっても完全分離できるように検討した方法<sup>14,15)</sup>, すなわち溶離液濃度条件は, 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:35mM), 29→30min (KOH:10mM), を用いた (図3). その条件下でジカルボン酸類 (シュウ酸, マロン酸, コハク酸) を測定したイオンクロマトグラムを図4に示す. 本図に示すように, 通常業務の方法では, ジカルボン酸類は夾雑物と分離できず, 測定はできないことが判明した. 種々検討した結果, 溶離液濃度条件を 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:10→35mM), 29→30min (KOH:10mM) とすると (図5), シュウ酸 (コハク酸を含む) とマロン酸を分離できることが分かった. この条件下でジカルボン酸類 (シュウ酸, マロン酸, コハク酸) を測定したイオンクロマトグラムを図6に示す. この溶離液濃度条件ではシュウ酸 (コハク酸を含む) とマロン酸を分離し, かつそれらのジカルボン酸類と狭雑物とを分離・定量することができた. しかし, シュウ酸とコハク酸は分離ができなかった. PM<sub>2.5</sub> 中のジカルボン酸類の大部分はシュウ酸であるといわれている<sup>16-20)</sup>ことから, この測定条件であっても, 大気環境中に存在するシュウ酸およびマロン酸は測定できると考えられる. 次に陰イオン混合標準液と混合して, ジカルボン酸類と陰イオンが同時測定できるかを検討した. その結果, この溶離液濃度条件で問題な

くジカルボン酸類が測定できることが分かった (図7). 次に, シュウ酸の検量線を図8に, マロン酸の検量線を図9に示した. また, 変動係数について図10に示した. 検量線は直線性があり, 変動係数も小さく, シュウ酸, マロン酸ともにこの測定条件で定量できると考えられた.

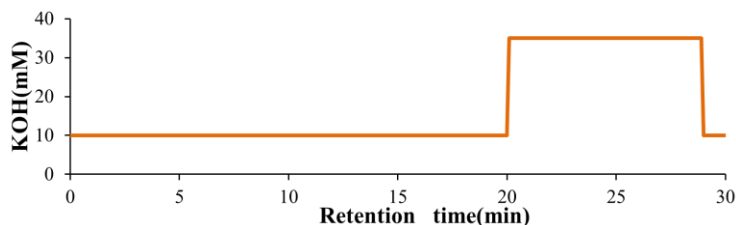


図3 通常業務における溶離液濃度条件

(溶離液濃度条件: 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:35mM), 29→30min (KOH:10mM))

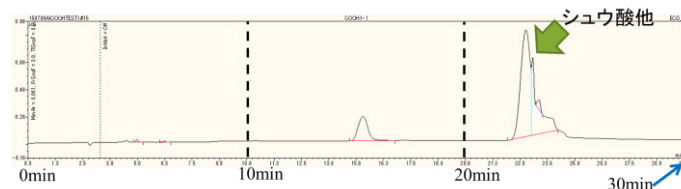


図4 ジカルボン酸類のイオンクロマトグラム

(溶離液濃度条件: 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:35mM), 29→30min (KOH:10mM))

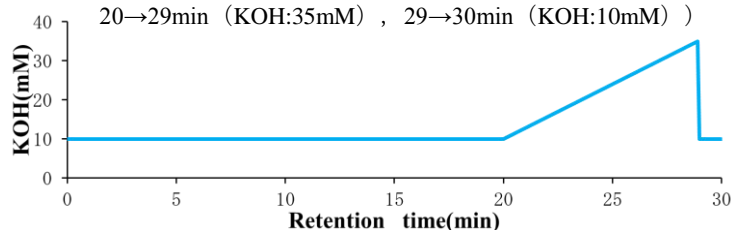


図5 ジカルボン酸類分離検討後の溶離液濃度条件

(溶離液濃度条件: 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:10→35mM), 29→30min (KOH:10mM))

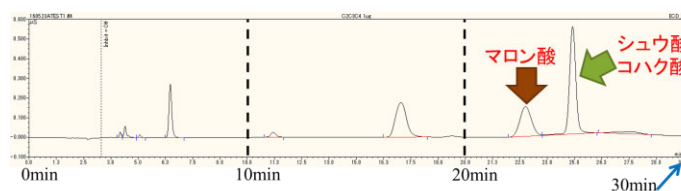


図6 ジカルボン酸類のイオンクロマトグラム

(溶離液濃度条件: 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:10→35mM), 29→30min (KOH:10mM))

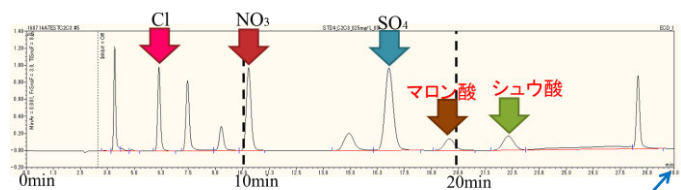


図7 陰イオン混合標準とジカルボン酸類のイオンクロマトグラム

(溶離液濃度条件: 0→20min (KOH:10mM), 20→29min (KOH:10→35mM), 29→30min (KOH:10mM))

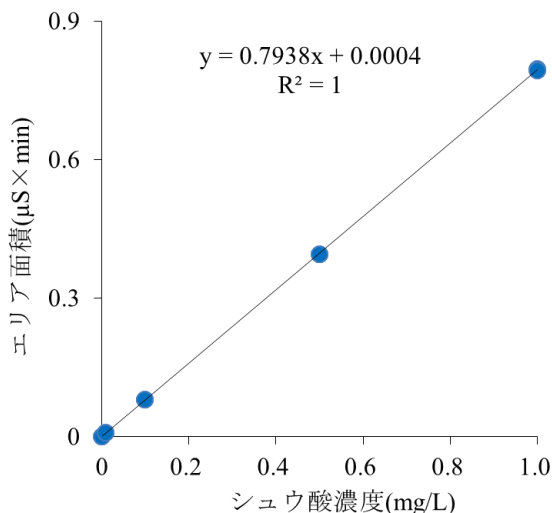


図8 シュウ酸の検量線

(溶離液濃度条件：0→20min (KOH:10mM) ,  
20→29min (KOH:10→35mM) , 29→30min (KOH:10mM) )

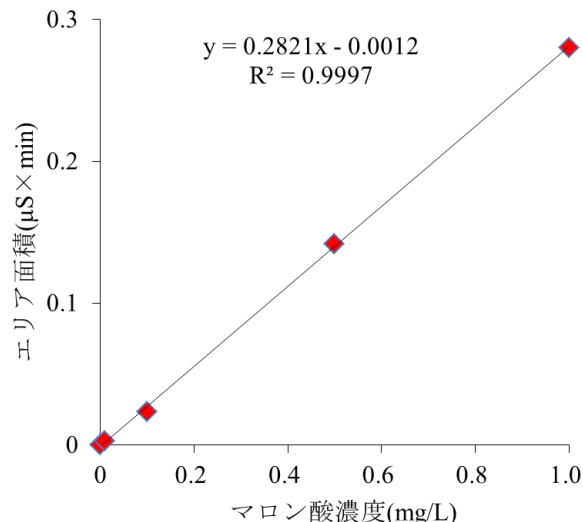


図9 マロン酸の検量線

(溶離液濃度条件：0→20min (KOH:10mM) ,  
20→29min (KOH:10→35mM) , 29→30min (KOH:10mM) )

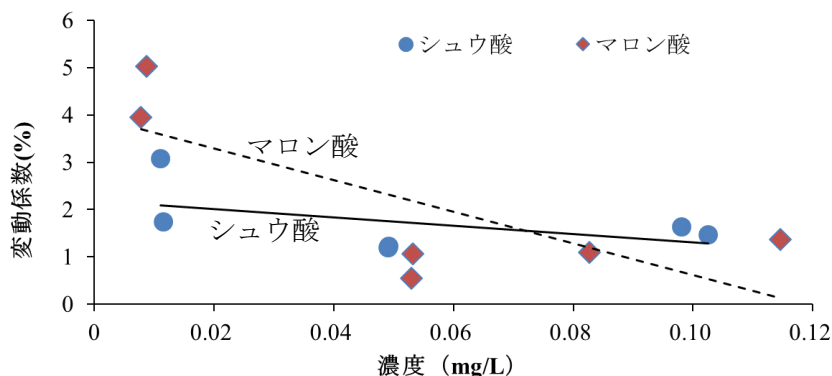


図10 シュウ酸とマロン酸の濃度と変動係数の関係 (各点：n=5)

## 2. 三重県北部における実態調査

2014年度のハイボリウムエアサンプラーによって採取されたシュウ酸濃度を図11に、粉じん濃度を図12に示した。シュウ酸濃度は桑名では0.026-0.271 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、鈴鹿では0.006-0.245 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ の間で推移し、両地点間での相関は低かった。次に粉じん濃度との相関をみると、桑名より鈴鹿の方が相関が高く相関係数が0.7以上あった。図13に鈴鹿でのシュウ酸濃度と粉じん濃度との散布図を示した。

粉じん中に占めるシュウ酸の割合は、桑名では0.17-1.12%の間で推移して年平均は0.38%、鈴鹿では0.02-0.41%の間で推移して年平均は0.24%であった(図14)。また、有害大気汚染物質モニタリングで測定している優先取組物質や同時に測定した陰イオン、陽イオン成分との相関関係を調べたところ、桑名・鈴鹿とも相関係数が0.7以上あったのは、硝酸イオン、カリウムイオン、カル

シウムイオンであった。例として図15に両地点でのシュウ酸濃度とカリウムイオン濃度との散布図、図16に両地点でのシュウ酸濃度とカルシウムイオン濃度との散布図を示した。桑名のみ相関係数が0.7以上あったのは、硫酸イオン、アンモニウムイオン、マグネシウムイオンであった。鈴鹿のみ相関係数が0.7以上あったのは、クロムおよびその化合物のみであったが、鈴鹿ではHg以外の他の金属成分(Ni, As, Be, Mn)とも相関が高く、相関係数が0.591-0.684であった。表3にシュウ酸と優先取組物質の内ハイボリウムエアサンプラー捕集分およびイオン成分との相関係数を示す。両地点のシュウ酸の濃度の平均が最も高濃度であった4月の測定日に後方流跡線解析<sup>21)</sup>を行ったところ、両地点とも流跡線が中国東北部および朝鮮半島上空を通過しており、シュウ酸またはその原因物質が移流の影響を受けている可能性があった。(図17, 18)

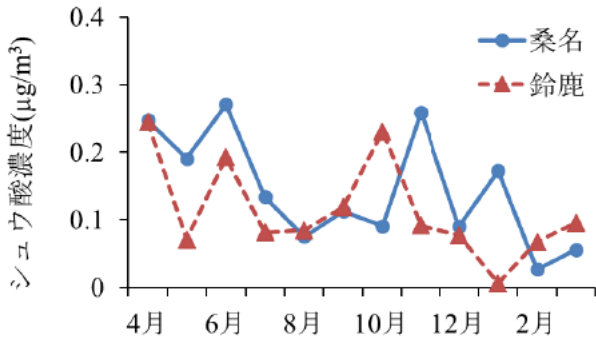


図 11 シュウ酸濃度の経月変化(2014年度)

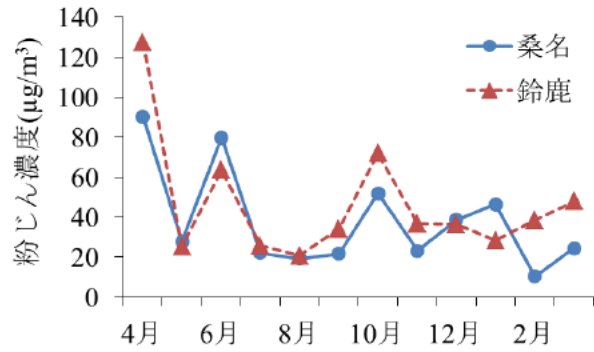


図 12 粉じん濃度の経月変化(2014年度)

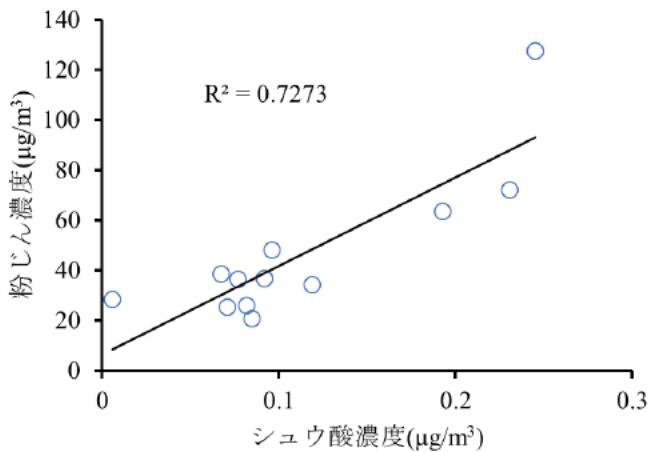


図 13 シュウ酸濃度と粉じん濃度の相関(鈴鹿)

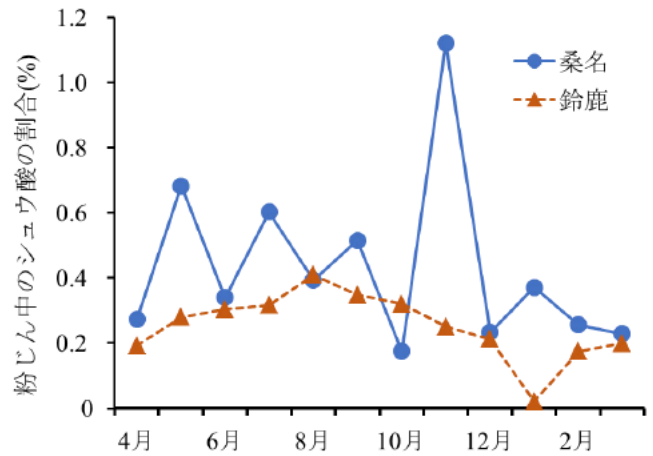


図 14 粉じん量に対するシュウ酸の割合の経月変化

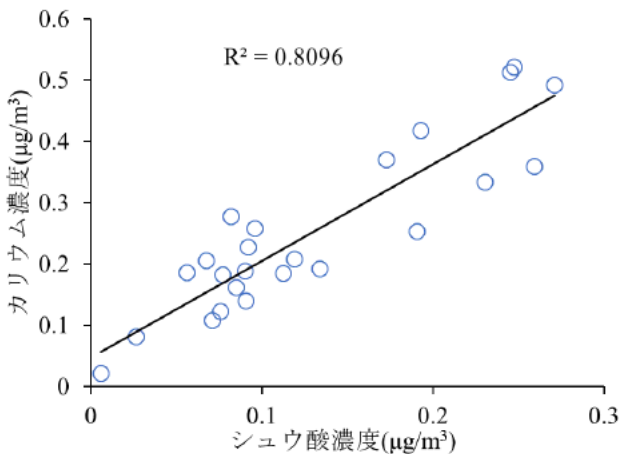


図 15 シュウ酸濃度とカリウム濃度の相関

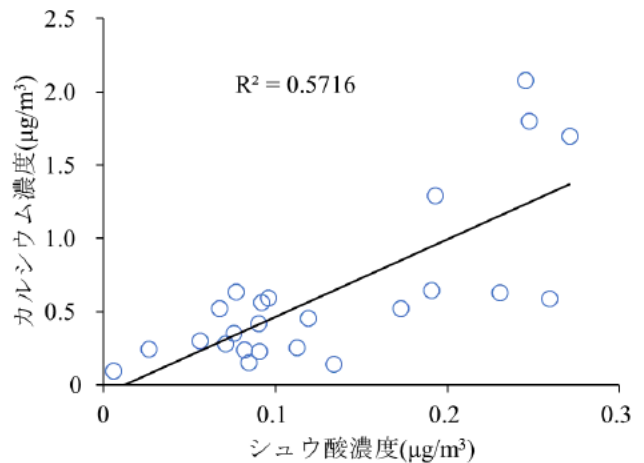


図 16 シュウ酸濃度とカルシウム濃度の相関

表 3 シュウ酸とイオン成分および金属成分の相関係数(ハイボリウムエアサンプラー捕集分, n=12)

	Cr	Ni	As	Be	BaP	Mn	Cl	NO <sub>3</sub>	SO <sub>4</sub>	Na	NH <sub>4</sub>	K	Mg	Ca
桑名	0.204	0.067	0.489	0.631	0.101	0.630	0.046	0.809	0.715	0.461	0.760	0.914	0.841	0.767
鈴鹿	0.767	0.682	0.591	0.663	-0.109	0.684	-0.013	0.776	0.664	0.333	0.685	0.903	0.564	0.793



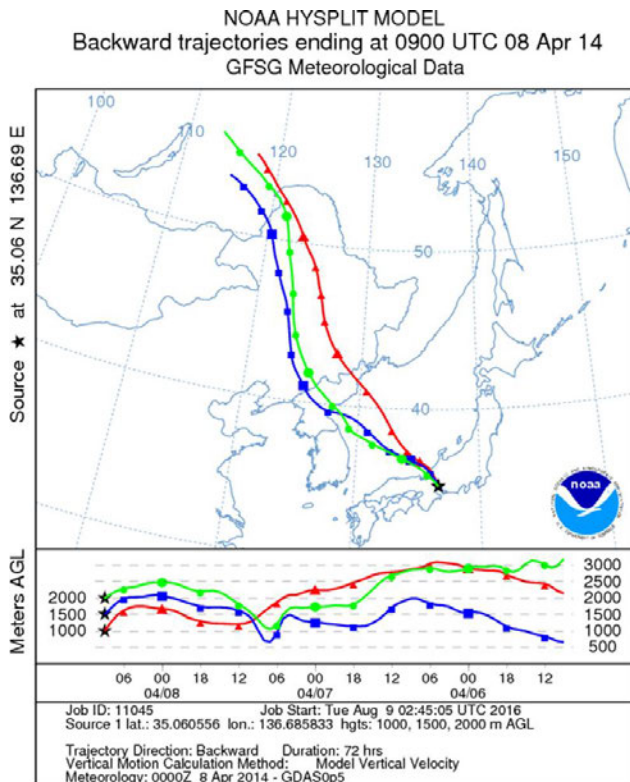


図 17 4月の測定日の後方流跡線解析(桑名)

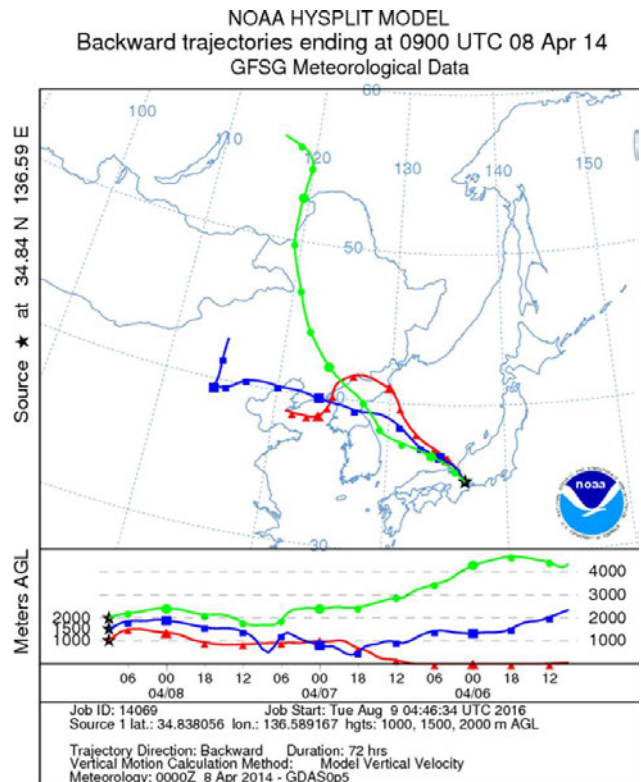


図 18 4月の測定日の後方流跡線解析(鈴鹿)

### まとめ

通常業務で使用する陰イオン測定方法をほとんど変更せずに PM<sub>2.5</sub> 中のジカルボン酸類を測定できる方法の開発を試み、溶離液濃度条件のみを変更することで、ジカルボン酸類の測定方法を確立した。また、その確立した方法を用いて、2014年度の三重県北部における改正自動車 NO<sub>x</sub>・PM法の適用地域でシュウ酸濃度の測定を行った。その結果、以下のことがわかった。

PM<sub>2.5</sub> 中のイオン成分を測定するイオンクロマトグラフを用いてシュウ酸、マロン酸、コハク酸について測定方法を検討したところ、シュウ酸とマロン酸については、カラムや測定時間等の測定条件を変更することなく、溶離液濃度条件のみの変更で測定できる方法を確立した。

三重県北部地域の有害大気汚染物質モニタリングを実施している2地点(桑名、鈴鹿)において、ハイボリウムエアサンプラーにより捕集した大気粉じんをこの方法を用いて測定したところ、地点による差異はあったものの、シュウ酸と一部の金属成分(Cr, Ni, As, Be, Mn)や殆どのイオン成分(NO<sub>3</sub>, SO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>, K, Mg, Ca)との相関が高いことが分かった。

測定地点でのシュウ酸の平均濃度が高い時に後方流跡線解析を実施すると、気塊が満州、華北地方、朝鮮半島を通過してきており、シュウ酸またはその原因物質が移流の影響を受けている可能性があった。

今後は、PM<sub>2.5</sub> 中のジカルボン酸類について測定をして報告する予定である。

### 文献

- 1) 西山 亨, 佐来栄治: 黄砂飛来時の多環芳香族炭化水素類について(大気中粒子状物質の総合的研究—黄砂の広域的分布について—), 三重県保健環境研究所年報, No.10, 48-54(2008).
- 2) 佐来栄治, 塚田 進, 西山 亨, 小山善丸: 浮遊粒状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(1) —フィルタからの抽出について—, 三重県保健環境研究所年報, No.10, 62-68(2008).
- 3) 佐来栄治, 小山善丸, 西山 亨, 塚田 進: 浮遊粒状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(2) —微小粒子からの多環芳香族炭化水素類の抽出について—, 三重県保健

- 環境研究所年報, No.11, 74-82(2009).
- 4) 佐来栄治, 小山善丸, 西山 亨, 吉岡 理 : 浮遊粒状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(3), 三重県保健環境研究所年報, No.12, 63-71(2010).
  - 5) 佐来栄治, 小山善丸, 西山 亨, 吉岡 理 : 浮遊粒状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(4), 三重県保健環境研究所年報, No.13, 60-68(2011).
  - 6) 佐来栄治, 吉岡 理 : 浮遊粒状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(5) - 黄砂飛来時の状況について -, 三重県保健環境研究所年報, No.14, 67-74(2012).
  - 7) 西山 亨, 佐来栄治 : 黄砂飛来時の PAHs 成分について, 第 22 回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部「支部研究会」, 演題 No.16(2008).
  - 8) 佐来栄治, 西山 亨, 塚田 進 : 浮遊粒子状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類(PAHs) について, 第 50 回大気環境学会年会要旨集, p.502(2009).
  - 9) 佐来栄治, 小山善丸, 西山 亨, 塚田 進, 大熊和行 : 浮遊粒子状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について, 第 19 回環境科学討論会講演要旨集, p.94-95(2010).
  - 10) 佐来栄治, 西山 亨, 寺本佳宏 : 浮遊粒子状物質に含まれる多環芳香族炭化水素類について(II), 第 52 回大気環境学会年会講演要旨集, p.454(2011).
  - 11) 佐来栄治, 寺本佳宏, 高士昇吾, 西木美紗子, 西山 亨, 吉岡 理, 西中隆道 : 三重県における PM<sub>2.5</sub> 中の内容成分について - レボグルコサンおよび多環芳香族炭化水素の調査結果 -, 第 54 回大気環境学会年会講演要旨集, p.380(2013).
  - 12) 佐来栄治, 寺本佳宏, 高士昇吾, 西木美紗子, 岩崎誠二, 秋永克三, 西中隆道 : PM<sub>2.5</sub> 中の多環芳香族炭化水素の測定について, 第 55 回大気環境学会年会講演要旨集, p.263(2014).
  - 13) <http://www.env.go.jp/air/osen/manual2/>
  - 14) 棚瀬敦史, 小山善丸, 西山 亨 : 環境汚染物質測定技術の改良に関する研究 - 大気ばい煙発生施設等の有害物質分析 -, 三重県保健環境研究所年報, No.11, 104-107(2009).
  - 15) 西山 亨, 寺本佳宏, 棚瀬敦史, 小山善丸, 吉岡 理 : 環境汚染物質測定技術の改良に関する研究(第 2 報) - 大気ばい煙発生施設等の有害物質分析 -, 三重県保健環境研究所年報, No.13, 69-75(2009).
  - 16) 熊谷貴美代 : 関東内陸における大気エアロゾル中の有機指標成分の挙動, 第 39 回酸性雨問題研究会シンポジウム講演要旨集, p10-13(2013).
  - 17) Kumagai, K., Iijima, A., Shimoda, M., Saitoh, Y., Kozawa, K., Hagino, H., Sakamoto, K. : Determination of dicarboxylic acids and levoglucosan in fine particles in the Kanto plain, Japan, for source apportionment of organic aerosols. *Aerosol and Air Quality Research*, **10**, 282-291 (2010).
  - 18) 河村公隆 : 大気中に存在する有機エアロゾルの組成分布と変質, *地球化学*, **40**, 65-82(2006).
  - 19) Richard Sempéré and Kimitaka Kawamura : Trans-hemispheric contribution of C<sub>2</sub>-C<sub>10</sub> α,ω-dicarboxylic acids, and related polar compounds to water-soluble organic carbon in the western Pacific aerosols in relation to photochemical oxidation reactions. *Global Biogeochemical Cycles* **17**(2), 1069, doi:10.1029/2002GB001980(2003).
  - 20) K.F.Ho, R.-J.Huang, K.Kawamura, E.Tachibana, S.C.Lee, S.S.H.Ho, T.Zhu, and L.Tian : Dicarboxylic acids, ketocarboxylic acids, α-dicarbonyls, fatty acids and benzoic in PM<sub>2.5</sub> aerosol collected during CAREBeijin-2007: an effect of traffic restriction on air quality. *Atmospheric Chemistry and Physics*, **15**, 3111-3123(2015).
  - 21) NOAA: <http://ready.arl.noaa.gov/HYSPLIT.php>

資料

## 三重県独自の調査様式による 性感染症サーベイランス結果 (2015 年)

岩出義人, 宮下哲雄, 小林隆司, 山内昭則

### Report of Sexually Transmitted Infection Surveillance with the Original Investigation Style of Mie Prefecture (2015)

Yoshito IWADE, Tetsuo MIYASHITA, Takashi kobayashi and Akinori YAMAUCHI

性感染症の発生予防やまん延防止には, 10 代後半から 20 代前半の若年層への対策に加え, 無症状病原体保有者への対策の重要性も指摘されているが, 現行の感染症法に基づくサーベイランスでは把握できる情報に限界がある. このことから, 三重県では 2012 年 1 月から独自の調査様式による性感染症 (STI) 定点サーベイランスを開始した.

2015 年 1 月から 12 月分の報告によると, 総数 340 人 (男 119 人, 女 221 人) 中, 性器クラミジア感染症が 238 人 (有症状: 男 63 人, 女 82 人, 無症状: 男 2 人, 女 91 人) と最も多く, 次いで淋菌感染症 (咽頭を除く) が 49 人 (有症状: 男 40 人, 女 6 人, 無症状: 女 3 人), 性器ヘルペス感染症が 42 人 (男 15 人, 女 27 人), 尖圭コンジローマが 20 人 (男 12 人, 女 8 人), 咽頭クラミジア感染症が 2 人 (無症状: 女) であった. 混合感染ではクラミジア・淋菌の混合感染が多く 18 人 (男 13 人, 女 5 人) であった.

年齢階級別では, 男性は 10 代後半から 70 歳以上まで, 女性は 10 代前半から 60 歳代まで報告があり, 10 代後半から 20 代の報告が多かった. 20 歳未満の報告は 10 代前半 1 人 (女), 10 代後半 51 人 (男 8 人, 女 43 人) であった.

また, 受診契機として多いものは, 「有症状」 (男 90 人, 女 105 人), 「妊婦健診」 (48 人), 「パートナーが有症状」 (男 10 人, 女 30 人), 「不妊治療」 (女 28 人), 人口妊娠中絶 (6 人) 等であった. その他の状況として多いものは「異性間性的接触」 (男 53 人, 女 138 人), 「コンドーム不使用」 (男 62 人, 女 2 人), 「性風俗産業従事者 (Commercial sex worker:以下, CSW) との接触」 (男 41 人) 等であった.

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

#### はじめに

「性感染症に関する特定感染症予防指針」<sup>1)</sup> では, 性感染症は感染しても無症状や軽症にとどまる場合が多く, 自覚症状がある場合でも医療機関を受診しないことがあるため, 感染の実態を把握することが困難となっている. また, 全国の感染

症法に基づく発生動向調査で把握される報告数は全体的に減少傾向がみられるものの, 依然として十代半ばから二十代にかけての若年層における発生の割合が高いことに加え, 性行動の多様化により咽頭感染などの増加が懸念され, 対策の必要性が指摘されている. しかし, 現行の発生動向

調査による性感染症サーベイランスでは、無症状病原体保有者、咽頭感染、混合感染などを把握することはできない。このことから、三重県では、

独自の調査様式による性感染症サーベイランスを2012年1月から開始した。以下に、2015年の概要を報告する。

表1. 三重県独自の性感染症4疾患患者報告様式

別記様式7-4

感染症発生動向調査(STD定点) 平成 年 月 分

月 報

医療機関名				総受診者数	検査件数	性感染症の患者を診断されなかった場合は、□に点を記入し、報告をお願いします。 報告なし □							
患者番号	性	年齢	配偶者	国籍	住所	疾患名(該当する欄に有症状は○を、無症状は□に点を記入してください。)				次の項目で該当するものがあれば番号に○を付けてください。			
						クラミジア感染症 注1)検査陽性例	性器ヘルペス ウイルス 感染症 (再感染届出不要)	尖圭コンジ ローマ	淋菌感染症 注1)検査陽性例	1)その他の疾患 注2)	2)受診契機	3)その他の状況	
1	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
2	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
3	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
4	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
5	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
6	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
7	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
8	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
9	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6
0	男女		有 無	日本 外国		無症状 □	無症状 □		無症状 □	無症状 □	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5 6 7	1 2 3 4 5 6

特記事項(特微的な事例、患者に関する特記事項等があれば、ご記入ください。)

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

## 方法

調査の対象として性感染症(Sexually transmitted infection:以下, STI) の4疾患患者情報を、17医療機関(泌尿器科5, 皮膚科4, 産婦人科8:以下, STD(Sexually Transmitted Diseases) 定点医療機関)に依頼した。

報告様式は、国の報告様式にはない調査項目(医療機関の受診者総数, STI 関連検査件数, 患者毎に性, 年齢, 配偶者の有無, 国籍, 住居地, 疾患名(性器クラミジア感染症と淋菌感染症は無症状, 咽頭感染の項目を追加), その他の感染症(膣トリコモナス症等), 受診の契機(パートナーが有症状, 妊婦健診等), その他の状況(性風俗産業従事者(CSW)との接触等)を追加した県独自の様式(表1)を使用し、調査を行った。

## 結果

### 1. STD 定点患者・感染者情報

STD 定点医療機関から2015年1月～12月分として報告された患者情報を表に示した(表2)。2015年のSTI疾患感染者数は340人(男119人, 女221人)であった。なお、混合感染があるため以下の疾患別報告数の合計とは一致しない。

#### 1)クラミジア感染症(性器・咽頭)(有症状・無

## 症状)

性器クラミジア感染症の報告数は、有症状: 男63人, 女82人, 無症状: 男2人, 女91人と、有症状, 無症状を合わせたSTI疾患感染者数の中で最も多く、男女別STI疾患別割合は、男性は55%, 女性は78%を占めた。

男性, 女性ともに20代が多く、受診契機は、男女とも「有症状」が多く、無症状の感染者では、男性は「パートナーが有症状」、女性は、「妊婦健診」、「不妊治療」が多かった。その他の状況で、有症状の男性は、「CSWとの接触」が22人と35%を占めた。なお、2名の女性から咽頭クラミジア感染症の報告があった。(表2)。

女性の有症状, 無症状患者数をグラフ(図1)に示した。20代後半から30代後半にかけて、無症状患者数が有症状患者数を上回っていた。

#### 2)性器ヘルペス感染症(有症状のみ)

報告数は、男15人, 女27人で、男女別STI疾患別割合は、男性は13%あり、女性は12%を占めた。

年齢階級別で、女性は10代後半から60代後半まで幅広く報告があった(表2)。

#### 3)尖圭コンジローマ(有症状のみ)

報告数は、男12人, 女8人で、男女別STI疾

患別割合は、男性 10%、女性は 4%であった。

年齢階級別では、男性は 20 代前半から 70 代まで幅広く報告があり、女性は 20 代から 40 代後半まで報告があった (表 2)。

**4) 淋菌 (咽頭を除く・咽頭) (有症状・無症状)**

報告数は、有症状：男 40 人、女 6 人、無症状：女 3 人で、有症状、無症状を合わせた男女別 STI 疾患別割合は、男性 34%で性器クラミジア感染症に次いで多く、女性は 4%であった。

年齢階級別では、男性は 10 代から 20 代が多く、女性は 10 代が多かった。また、受診契機は、男性は「有症状」、女性は「有症状」または「パートナーが有症状」が多かった。

男性の患者のうち約半数が CSW との接触歴があり (表 2)、年齢階級別で見る 30 代、40 代の殆どが CSW との接触歴があった。

また、淋菌の咽頭への感染の報告はなかった (表 2)。

表 2. 三重県独自の調査様式による STD 定点患者情報 (2015 年)

疾患名	性	年齢階級別患者数													受診契機*						その他の状況**										
		0 9	10 14	15 19	20 24	25 29	30 34	35 39	40 44	45 49	50 54	55 59	60 64	65 69	70 以上	計	有 症 状	が パ ー ト ナ ー が 有 症 状	妊 婦 健 診	人 工 妊 娠 中 絶	自 己 検 査 陽 性	不 妊 治 療	そ の 他	性 異 性 的 接 触	性 同 性 的 接 触	C S W *	C S W と の 接 触	不 コ ン ド ム 使 用	が パ ー ト ナ ー が 有 症 状		
有 症 状	性器クラミジア感染症	男	4	11	11	10	8	8	4	4	2	1	63	53	8										35	1			22	41	3
	女	21	26	16	8	7	4	82	65	8	6	1	1											63		1			2	2	
	咽頭クラミジア感染症	男																													
	女																														
	性器ヘルペスウイルス感染症	男			4		5	1	2		2		1	15	5										2			4	4		
	女	1	3	3	5	3	4	3	2		2	1	27	27											26				1		
	尖圭コンジローマ	男		1	1	2	3				3	1	1	12	5										3			1	1		
女	2	3	1	1		1							8	7		1								6	1						
淋菌感染症(咽頭を除く)	男	6	7	9	4	4	3	3	2	1		1	40	40										15			21	21	2		
女	3	1				1	1						6	4	2		1							4					1		
淋菌感染症(咽頭)	男																														
女																															
小計	男	10	19	24	15	19	15	9	6	8	2	2	1	130	103	8								55	1		48	67	5		
女	25	32	22	14	11	9	5	2		2	1	123	103	10	7	1	2							99	1	1		3	3		
無 症 状	性器クラミジア感染症	男		1		1							2	2																	
	女	20	21	20	17	10	2	1	91	1	17	38	5	1	28	2								34					1		
	咽頭クラミジア感染症	男		1	1								2		1	1															
	女																														
	淋菌感染症(咽頭を除く)	男	1				1	1					3	2																	
女																															
淋菌感染症(咽頭)	男																														
女																															
小計	男		1			1						2		2										2							
女	1	20	22	21	18	11	2	1	96	1	20	39	5	1	28	3								35					1		
その他の感染症: 腫トリコモナス・梅毒	男						2					2	2														2	2			
女	4	1	3	2	1	2	1	14	10	3	2													13				1			
総計	男	8	16	20	14	18	15	9	6	8	2	2	1	119	90	10							1	53	1		41	62	3		
女	1	43	54	46	33	22	11	6	2		2	1	221	105	30	48	6	2	28	3				138	1	1		3	3		
再 掲	クラミジア・淋菌混合感染	男	2	4	4	1	1	1	13	13														4			7	5	2		
	女	3	1		1				5	2	2		1											2					1		
	その他の混合感染	男				1	1		2	2																	2	2			
女	3			1	2	1	7	7	1														7				1				
混合感染計	男	2	4	4	1	2	2	15	15														4			9	7	2			
女	6	1		1	1	2	1	12	9	3		1											9				1	1			

\* 定点数は、泌尿器科5定点、皮膚科4定点、産婦人科8定点の計17定点からの報告数である。

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

\*\*\* : 性風俗産業従事者

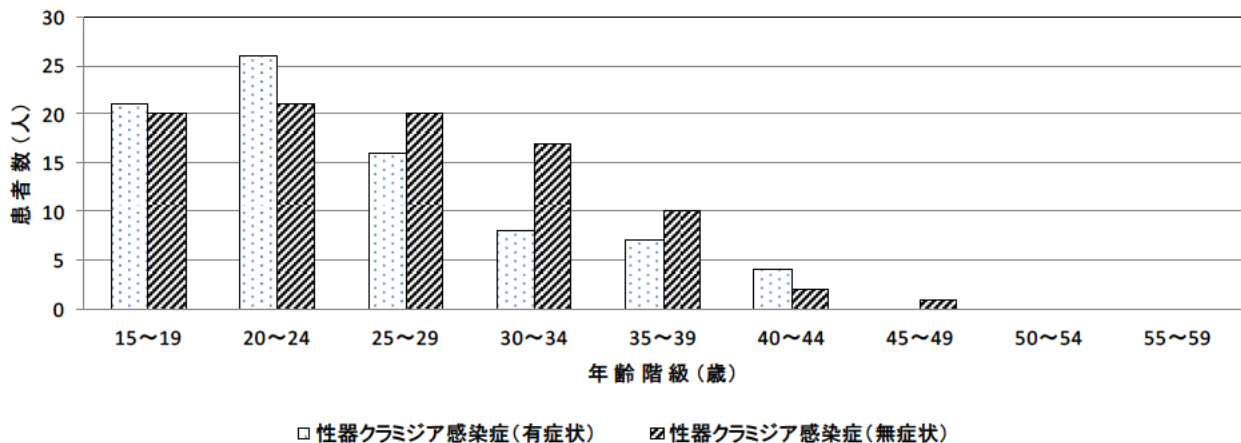


図 1. 性器クラミジア感染症における有症状者と無症状者の年齢階級別患者数 (女性)



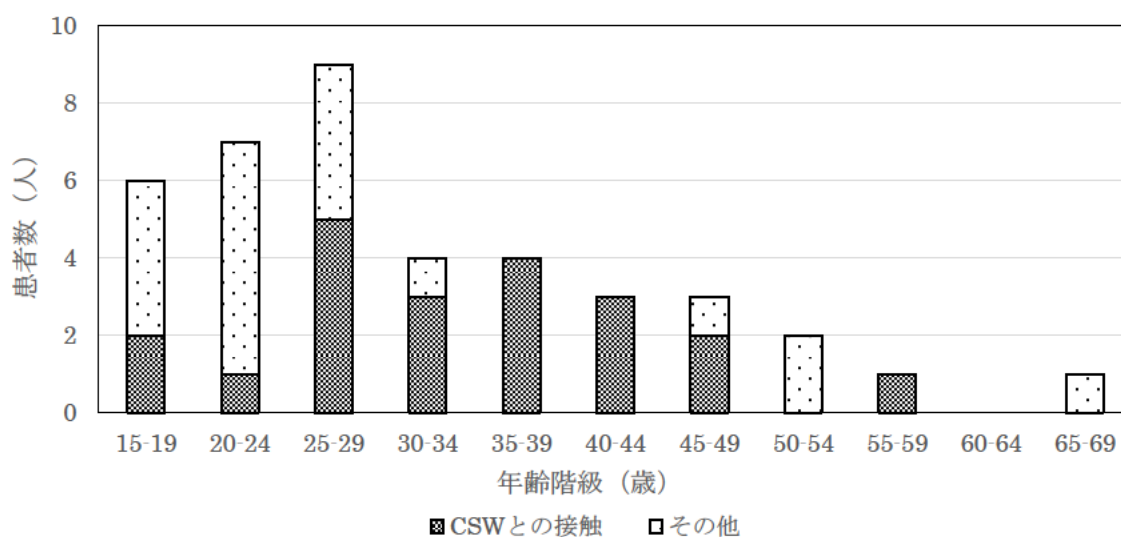


図2. 淋菌感染症における年齢階級別総患者数および性風俗産業従事者(CSW)との接触患者数(男性)

表3. STD 定点サーベイランスによる診療科別患者報告数および検査件数(2015年)

標榜科区分	総患者報告数		検査項目	検査件数*	患者報告数	
	男性	女性			有症状	無症状
泌尿器科 (5定点)	117	2	クラミジア	597	63	2
			淋菌	241	40	1
			梅毒	9496	1	
			HIV	4036	1	
産婦人科 (8定点)	0	223	クラミジア	3388	82	91
			淋菌	188	6	3
			梅毒	3778		
			HIV	3840		
皮膚科 (4定点)	0	0	クラミジア			
			淋菌			
			梅毒	2		
			HIV			

\*検査件数は、各定点医療機関から月報として報告された件数のみ合計し、妊婦健診、不妊治療、手術前検査の件数を含む。

### 5) その他報告された感染症

男性では梅毒、HIVが各1人、女性では膣トリコモナス症が11人、B型肝炎が1人、カンジダ症2人が報告された(表2)。

### 6) 混合感染

クラミジア・淋菌の混合感染報告数が18人(男13人、女5人)であった。9人のその他の混合感染報告数の内訳は、クラミジアとコンジローマ、梅毒とHIVが男各1人、クラミジア・膣トリコモナス症が女4人、ヘルペスとカンジダ症が女2人、淋菌と膣トリコモナス症が女1人であった(表2)。

### 2. 受診契機・その他の状況

受診契機は、「有症状」(男90人、女105人)が最も多く、次いで「妊婦健診」(48人)、「パートナーが有症状」(男10人、女30人)、「不妊治療」(女28人)、「人口妊娠中絶」(6人)、「自己検査陽性」(女2人)であった。その他の状況としては「異性間性的接触」(男53人、女138人)が多く、次いで「コンドーム不使用」(男62人、女2人)、「CSWとの接触」(男41人)、「パートナー複数」(男3人、女3人)、「同性間性的接触」(男1人、女1人)、「CSW」(女1人)であった(表2)。

### 3. 各診療科別患者・感染者報告数及び検査件数

各診療科別に報告された患者・感染者数及び実施された検査件数を表3に示した。

クラミジアに比べて淋菌の検査件数は少なく、特に、産婦人科における淋菌の検査件数はクラミジアの約 1/18 にとどまった。

#### 考 察

三重県独自の調査様式によるサーベイランスの結果として、男性の感染経路として「CSW との接触」が 1/3 を占め、感染拡大が危惧されること、女性は、「妊婦健診」や「不妊治療」等を契機として、多数の無症状クラミジア感染を把握できたこと、男性の無症状のクラミジア感染者や、女性の無症状の淋菌感染者は「パートナーが有症状」であることを契機に受診しており、パートナー検診の重要性が再確認<sup>2)</sup>できた。

一方、女性の淋菌感染報告は極めて少数であったが、妊婦健診で検査費用の公費負担が得られるクラミジアと異なり、検査未実施のため少数の報告に止まった可能性が考えられたこと、性行動の多様化により、淋菌、クラミジアともに咽頭を介した感染例の増加が指摘されている<sup>3,4)</sup>が、咽頭感染の報告は、淋菌はなく、咽頭クラミジア感染症（無症状）は2人であった。このことも、検査未実施に起因するものと考えられ、受診者へよりいっそうの検査勧奨が望まれる。

また、多数の無症状性器クラミジア感染症を把

握することができたが、医療機関受診の動機を持たない若年層では無症状や軽症の感染者であることから多数潜在化していると思われ、医療機関からの報告とは別途、何らかの把握をするための対策が必要となること、「パートナーが有症状」を契機に受診して感染が確認された人々はまだ少数に止まっており、医療機関などにおいてパートナー検診の積極的な勧奨が必要である。

#### 文 献

- 1) 2012年1月19日付 健感発 0119 第1号健康局結核感染症課長通知「性感染症に関する特定感染症予防指針の一部改正について」。
- 2) 山内昭則, 高橋裕明, 福田美和, 大熊和行: 三重県における2007~2009年度の全数サーベイランスによる性器クラミジア感染症, 性器ヘルペス感染症, 尖圭コンジローマおよび淋菌感染症の発生状況と今後の課題, 日本性感染症学会誌, **22**(1), 73-88(2011)。
- 3) 感染症 診断・治療ガイドライン 2011, 日本性感染症学会誌, **22**(1), supplement, 10,36-39(2011)。
- 4) 余田敬子: 特集 性感染症 診断・治療ガイドライン 2011 を読んで, 淋菌の咽頭感染, クラミジアの咽頭感染に関する更新, 改訂について, 泌尿器外科, **25**, 1783-1787, (2012)。

## 資料

# 2015 年度の先天性代謝異常等検査の概要

小林章人, 前田千恵, 楠原 一, 永井佑樹, 小林隆司, 赤地重宏

## Report of Neonatal Mass-Screening in 2015 Fiscal Year

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

三重県における先天性代謝異常等検査事業は三重県先天性代謝異常等検査実施要綱に基づき, アミノ酸代謝異常症 5 疾患, 有機酸代謝異常症 7 疾患, 脂肪酸代謝異常症 4 疾患, ガラクトース血症, 先天性副腎過形成症および先天性甲状腺機能低下症の 19 疾患を対象に実施している. 2015 年度は県内の新生児のうち保護者が希望した 14,827 人について検査を実施した. そのうち再採血を依頼した検体は計 441 件, 精密検査を依頼した検体はフェニルケトン尿症 3 件, メチルマロン酸血症/プロピオン酸血症 4 件, イソ吉草酸血症 11 件, メチルクロトニルグリシン尿症/ヒドロキシメチルグルタル酸血症/複合カルボキシラーゼ欠損症 2 件, 先天性副腎過形成症 32 件, 先天性甲状腺機能低下症 10 件の計 62 件であった. また確定患者数は, 先天性甲状腺機能低下症 6 人であった.

キーワード: 先天性代謝異常等検査, 先天性副腎過形成症, 先天性甲状腺機能低下症  
先天性アミノ酸代謝異常症, 先天性有機酸代謝異常症, 先天性脂肪酸代謝異常症

### はじめに

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

アミノ酸代謝異常症, 有機酸代謝異常症, 脂肪酸代謝異常症はそれぞれアミノ酸, 有機酸, 脂肪酸などの中間代謝産物の蓄積に起因する疾患である. 一方, 内分泌疾患である先天性甲状腺機能低下症(Congenital hypothyroidism)と先天性副腎過形成症 (Congenital adrenal hyperplasia) は特定物質の合成障害に起因する疾患である. 先天性代謝異常等症は治療困難なものが多いが, 可及的早期に診断, 治療を開始すれば, 機能障がいなどに陥ることを予防できる疾患もある.

新生児を対象とした先天性代謝異常症マス・

スクリーニング事業は, 1977 年 10 月から全国的に開始され, 三重県においても 1977 年 11 月から県内で出生した新生児を対象に 5 疾患 (フェニルケトン尿症, メープルシロップ尿症, ホモシスチン尿症, ヒスチジン血症およびガラクトース血症) について検査が開始された. 次いで 1979 年から先天性甲状腺機能低下症, 1989 年から先天性副腎過形成症が追加され, 1994 年にはヒスチジン血症が中止となっている. 2013 年 3 月にアミノ酸代謝異常症 2 疾患 (シトルリン血症 I 型, アルギニノコハク酸尿症), 有機酸代謝異常症 7 疾患 (メチルマロン酸血症, プロピオン酸血症, イソ吉草酸血症, メチルクロトニルグリシン尿症, ヒドロキシメチルグルタル酸血症, 複合カルボキシラーゼ欠損症, グルタル酸血症 I 型), 脂肪酸代謝異常症 4 疾患 (MCAD 欠損症, VLCAD 欠損症, 三頭酵素欠損症, CPT I 欠損症) の計 16 疾患を対象疾患に追加し, 現在は上記 19 疾患<sup>3)</sup>についてマス・スクリーニングを行い早期発見に努めている.

以下に 2015 年度の検査結果を報告する.



## 検査方法と材料

### 1. 検体

三重県内で出生した新生児のうち、保護者が検査を希望する児について採血された検体を使用した。検体は生後4～7日目（哺乳開始後4日以降）の新生児血液を規定のろ紙に径1cm位まで充分染み込ませて採血し<sup>4)</sup>、涼風乾燥後、当所に郵送されたものを検査材料とした。検査には乾燥したろ紙血液を直径3mmに打ち抜いた血液ろ紙ディスクを使用した。

### 2. 検査方法

検査対象疾患名とその検査項目、基準値は表1に示す。

アミノ酸代謝異常症5疾患（フェニルケトン尿症、メープルシロップ尿症、ホモシスチン尿症、シトルリン血症I型、アルギニノコハク酸尿症）、有機酸代謝異常症7疾患（メチルマロン酸血症、プロピオン酸血症、イソ吉草酸血症、メチルクロトニルグリシン尿症、ヒドロキシメチルグルタル酸血症、複合カル

ボキシラーゼ欠損症、グルタル酸血症I型）、脂肪酸代謝異常症4疾患（MCAD欠損症、VLCAD欠損症、三頭酵素欠損症、CPT I欠損症）は、いずれも重松ら<sup>5)</sup>の方法を用いて抽出を行い、LC/MS/MS（HPLC部：（株）島津製作所製、MS部：（株）AB SCIEX製API3200）を用いて測定した。

ガラクトース血症は、マイクロプレート酵素法（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティックス社製キット「エンザプレート GAL」使用）にて測定した。

先天性甲状腺機能低下症、先天性副腎過形成症の2疾患については、ELISA法（栄研化学社製キット「クレチン TSH ELISA II ‘栄研’」および「17-OHP D-ELISA ‘栄研’ II」使用）によりそれぞれ甲状腺刺激ホルモン（Thyroid stimulating hormone, TSH）、17 $\alpha$ -水酸化プロゲステロン（17-OHP）の濃度を測定した。（この2疾患の検査については、国立大学法人三重大学医学部小児科に委託されている）

表1 検査対象疾患

検査対象疾患名		検査項目	基準値		
			要再検査	要精密検査	単位
アミノ酸代謝異常	フェニルケトン尿症	Phe	100	510	nmol/ml
	メープルシロップ尿症	Leu+Ilu	350	600	nmol/ml
		Val	250		nmol/ml
	ホモシスチン尿症	Met	80		nmol/ml
	シトルリン血症I型	Cit	85	255	nmol/ml
アルギニノコハク酸尿症	Cit	85	255	nmol/ml	
有機酸代謝異常	メチルマロン酸血症	C3	3.6	8	nmol/ml
		C3/C2	0.25	0.25	
	プロピオン酸血症	C3	3.6	8	nmol/ml
		C3/C2	0.25	0.25	
	イソ吉草酸血症	C5	1.0	5	nmol/ml
	メチルクロトニルグリシン酸尿症	C5-OH	1.0	2	nmol/ml
	ヒドロキシメチルグルタル酸血症	C5-OH	1.0	2	nmol/ml
	複合カルボキシラーゼ欠損症	C5-OH	1.0	2	nmol/ml
グルタル酸血症I型	C5-DC	0.30		nmol/ml	
脂肪酸代謝異常	MCAD欠損症	C8	0.3	0.6	nmol/ml
		C8/C10	1.0		
	VLCAD欠損症	C14:1	0.4	1.0	nmol/ml
		C14:1/C2	0.011		
	三頭酵素欠損症	C16-OH	0.05		nmol/ml
C18:1-OH		0.05		nmol/ml	
CPT I欠損症	C0/(C16+C18)	80			
ガラクトース血症	ガラクトース	6		mg/dl	
	ガラクトース-1-P	20		mg/dl	
先天性甲状腺機能低下症	TSH	12	30	$\mu$ U/ml	
先天性副腎過形成症	17-OHP(抽出法)	5	10	ng/ml	
	17-OHP(直接法)		50	ng/ml	

## 結果

### 1. 検査実施状況

2015年度の検査総数は初回受付数 14,827

件と再検査受付数 566 件の合計 15,393 件であった。2015年度の確定患者数は、先天性甲状

腺機能低下症 6 人であった。

過去 10 年間での先天性代謝異常等疾患の確定患者数は 63 名で、先天性甲状腺機能低下症が 57 名と最も多く、次いでフェニルケトン

尿症 3 名、先天性副腎過形成症が 2 名、プロピオン酸血症 1 名であった<sup>6)</sup>。内訳を表 2 に示す。

表 2 10年間の先天性代謝異常等検査実施状況

年度	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	計	
初回検査受付数	17,625	17,649	17,572	17,193	16,920	16,652	16,208	15,907	14,927	14,827	165,480	
再検査受付数	622	655	660	669	660	591	550	609	590	566	6,172	
再採血依頼数	425	490	491	478	544	504	444	467	468	441	4,752	
精密検査依頼数	フェニルケトン尿症	0	1	0	0	0	0	3	1	3	8	
	メーブルシロップ尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	ホモシスチン尿症	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	ガラクトース血症	1	1	3	0	0	1	1	0	0	7	
	先天性副腎過形成症	32	51	35	34	22	33	33	39	14	32	325
	先天性甲状腺機能低下症	11	22	14	23	9	18	17	16	18	10	158
	その他代謝異常症							1	16	14	17	48
	計	44	75	52	57	31	52	52	74	47	62	546
確定患者数	フェニルケトン尿症		1	0	0	0	0	1	1	0	3	
	メーブルシロップ尿症		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	ホモシスチン尿症		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	ガラクトース血症		0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	先天性副腎過形成症		1	0	0	0	0	0	1	0	2	
	先天性甲状腺機能低下症		6	7	10	8	6	4	7	9	6	57
	その他代謝異常症							0	1	0	0	1
計		8	7	10	8	6	4	10	10	6	63	
検体不備	83	69	64	58	40	45	67	24	51	20	521	

## 2. 初回採血による検査結果

2015 年度に三重県内で出生された新生児のうち、保護者の希望のあった 14,827 人を受け付け、検査を行った結果、正常となったのは

14,338 件、再採血依頼となったのは 441 件、精密検査依頼となったのは 41 件、検体不備であったのは 19 件であった。内訳を表 3 に示す。

表 3 2015年度の初回受付分の先天性代謝異常等検査結果

受付検査件数	結果					
	正常	再採血 依頼数	再採血 依頼率(%)	精密検査 依頼数	精密検査 依頼率(%)	検体不備 (再採血依頼)
フェニルケトン尿症		4	0.03	0	0.00	
メーブルシロップ尿症		0	0.00	0	0.00	
ホモシスチン尿症		0	0.00	0	0.00	
シトルリン血症 I 型		0	0.00		0.00	
アルギニノコハク酸尿症		0	0.00		0.00	
メチルマロン酸血症						
プロピオン酸血症		47	0.32	2	0.01	
イソ吉草酸血症		39	0.26	11	0.07	
メチルクロトニルグリシン尿症						
ヒドロキシメチルグルタル酸血症		0	0.00	0	0.00	
複合カルボキシラーゼ欠損症						
グルタル酸血症 I 型		0	0.00	0	0.00	
MCAD欠損症		0	0.00	0	0.00	
VLCAD欠損症		1	0.01	0	0.00	
三頭酵素欠損症		0	0.00	0	0.00	
CPT I 欠損症		0	0.00	0	0.00	
ガラクトース血症		0	0.00	0	0.00	
先天性甲状腺機能低下症		155	1.05	5	0.03	
先天性副腎過形成症		195	1.32	23	0.16	
計	14827	441*		41		19

\*再採血依頼項目の重複あり

初回検査で再採血依頼となった441件の内訳は、フェニルケトン尿症4件、プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症47件、イソ吉草酸血症39件、VLCAD欠損症1件、先天性甲状腺機能低下症155件、先天性副腎過形成症195件であった。

精密検査依頼となった41件の内訳は、プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症2件、イソ吉草酸血症11件、先天性甲状腺機能低下症5件、先天性副腎過形成症23件であった。

先天性副腎過形成症により再採血依頼となった195件のうち、基準値を超えたのは48件(25%)のみで、上位5%タイルによる再採血依頼が147件と75%を占めた。また、先天性副腎過形成症により再採血依頼となった195件中の47件(24%)および精密検査依頼となった23件中の21件(91%)は出生体重2,000g以下の低出生体重児であった。先天性副腎過形成症で再採血依頼および精密検査依頼になった検体の内訳を表4に示す。

表4 先天性副腎過形成症で再採血依頼および精密検査依頼になった検体の内訳

	うち、 低出生 体重児			判定理由		
	件数	(%)			件数	(%)
再採血依頼	195	47	24	基準値超え	48	25
				上位5%タイル	147	75
精密検査依頼	23	21	91			

初回検査および再採血検査における検体不備は20件であった。不備の理由は表5のとおりであった。

表5 初回検査および再採血検査における検体不備内訳

	件数	(%)	うち、低出生体重児
郵送の遅延	3	15.0	0
哺乳不能	12	60.0	9
採血が早い	4	20.0	0
ろ紙の汚染	1*	5.0	0
計	20		9

\*再採血検体によるもの

### 3. 再採血による再検査結果

再採血依頼となった児、検体不備および出生体重2,000g以下の低出生体重児の再検査依頼などを含め、計566件の再検査を行った。

再検査の結果、精密検査依頼となったのは21件であった。内訳は表6に示すとおり、フェニルケトン尿症3件、プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症2件、メチルクロトニルグリシン尿症/ヒドロキシメチルグルタル酸血症/複合カルボキシラーゼ欠損症2件、先天性甲状腺機能低下症5件、先天性副腎過形成症9件であった。

なお、再検査により精密検査依頼となった先天性副腎過形成症による9件はすべて出生体重2,000g以下の低出生体重児であり、医師の判断により再々検査を行ったところ、すべて正常であった。

表6 再採血の受付による検査結果

	再採血 受付件数	結果	
		正常	精密検査依頼
フェニルケトン尿症	171	168	3
メープルシロップ尿症	168	168	0
ホモシスチン尿症	168	168	0
シトルリン血症I型	264	264	0
アルギニノコハク酸尿症	264	264	0
メチルマロン酸血症	264	262	2
プロピオン酸血症	264	264	0
イソ吉草酸血症	264	264	0
メチルクロトニルグリシン尿症	264	262	2
ヒドロキシメチルグルタル酸血症	264	262	2
複合カルボキシラーゼ欠損症			
グルタル酸血症I型	264	264	0
MCAD欠損症	264	264	0
VLCAD欠損症	264	264	0
三頭酵素欠損症	264	264	0
CPT I欠損症	264	264	0
ガラクトース血症	168	168	0
先天性甲状腺機能低下症	327	322	5
先天性副腎過形成症	313	304	9
計	566*	544	21

\*再採血受付件数に検体不備1件を含む

また、初回検査でイソ吉草酸血症により再採血依頼となった39件、および精密検査依頼となった11件についても医師からの依頼により当所で再検査を行ったところ、すべて正常であり、ピボキシル基を有する抗生剤を服用すると生ずるピバロイルカルニチンによる偽陽性が強く疑われた<sup>7)</sup>。タンデムマス法導入後の2013年以降、イソ吉草酸血症により再採血および精密検査を依頼する医療機関数は増加している。(2013年度:5医療機関, 2014年度:9医療機関, 2015年度:11医療機関)。これらの抗生剤の小児(特に乳幼児)への投与については、血中カルニチンの低下に伴う低血糖症状をきたすことが知られている<sup>8)</sup>。使用に当たっては注意が必要であり、今後は医療機関に対して、情報提供などのアプローチが課題となる。

### まとめ

2015年度における先天性代謝異常等検査は、15,393件の検査を行い、再採血依頼441件、検体不備20件、精密検査依頼62件であった。

精密検査依頼となった内訳は、フェニルケト

ン尿症 3 件, プロピオン酸血症/メチルマロン酸血症 4 件, イソ吉草酸血症 11 件, メチルクロトニルグリシン尿症/ヒドロキシメチルグルタル酸血症/複合カルボキシラーゼ欠損症 2 件, 先天性甲状腺機能低下症 10 件, 先天性副腎過形成症 32 件であった。そのうち確定診断がついたのは, 先天性甲状腺機能低下症 6 人であった。

## 文 献

- 1) 藪内百治：先天性代謝異常，日本医事新報，No.3279，23-28 (1987).
- 2) 北川昭雄：アミノ酸代謝異常症，酵素障害の多様性と脳障害，脳と発達，**4**, 387-500 (1972).
- 3) 2011 年 3 月 31 日付け雇児母発 0331 第 1 号厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知：「先天性代謝異常の新しい検査法（タンデムマス法）について」.
- 4) 梅橋豊蔵：濾紙血の採取法・採血時期・保存法，日本マス・スクリーニング学会誌，**8**, Supplement2, 24-27 (1998).
- 5) 重松陽介，畑郁江，稲岡一考：タンデムマス・スクリーニングにおける非誘導体化分析，日本マス・スクリーニング学会誌，**21**, 213-218 (2011).
- 6) 前田千恵，小林章人，楠原 一，小林隆司：2013 年度の先天性代謝異常等検査の概要，三重県保健環境研究所年報，No.16, 91-95 (2013).
- 7) 重松陽介：ESI-MS/MS 新生児マススクリーニング事業の再検討，平成 10 年度厚生科学研究費補助金（子ども家庭総合研究事業）分担研究報告書，74-76.
- 8) 医薬品医療機器総合機構 PDMA からの医薬品適正使用のお願い，No.8，2012 年 4 月.

資 料

## 2015 年度感染症流行予測調査結果 (日本脳炎, インフルエンザ, 風疹, 麻疹) の概要

矢野拓弥, 前田千恵, 楠原 一, 小林章人, 松野由香里, 赤地重宏

### Epidemiological Surveillance for Japanese Encephalitis, Influenza, Rubella and Measles in 2015F.Y.

Takuya YANO, Chie MAEDA, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI,  
Yukari MATSUNO and Shigehiro AKACHI

感染症流行予測調査事業では, 人の年齢別抗体調査による免疫保有状況(感受性)および動物(豚)に潜伏している病原体(感染源)の把握を目的として調査を実施している。2015 年度に実施した調査結果は次のとおりである。

- (1) 日本脳炎感染源調査は三重県志摩地域で飼育された豚の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制(Hemagglutination inhibition: HI)抗体の保有状況を調査した。調査期間中に HI 抗体保有豚(10 倍以上)は 81.3% (80 頭中 65 頭)であった。
- (2) ヒトの日本脳炎感受性調査における中和抗体保有率は 57.1% (343 名中 196 名)であった。
- (3) 動物のインフルエンザウイルスの県内への侵入を監視するため, 豚 100 頭を調査したがインフルエンザウイルスは検出されなかった。
- (4) ヒトインフルエンザウイルスの流行期前の血中 HI 抗体保有率(HI 価 40 倍以上)は乳児から学童期に対しての A/California/7/2009 (H1N1pdm2009) は 0-4 歳 16.4%, 5-9 歳 50%, A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) は 0-4 歳 8.2%, 5-9 歳 93.8%であった。B 型インフルエンザウイルスの B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) は 0-4 歳 3.3%, 5-9 歳 12.5%であった。B/Phuket/3073/2013 (山形系統) では 0-4 歳 4.9%, 5-9 歳 12.5%であった。
- (5) 風疹感受性調査における全年齢層での HI 抗体保有率は 81.3% (男性: 74.7%, 女性: 87%)であった。
- (6) 麻疹感受性調査における全年齢層での PA (Particle Agglutination) 抗体保有率は 93%であった。

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

#### はじめに

本事業は 1962 年から「伝染病流行予測調査事業」として開始している。その目的は集団免疫の現状把握および病原体の検索等を行い, 各種疫学資料と併せて検討することによって, 予防接種事業の効果的な運用を図り, さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することである。その後, 1999 年 4 月「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」の施行に伴い, 現在の「感染症流行予測調査事業」へと名称変更された。ワクチンによる予防可能疾患の免疫保有調査を行う「感受性調査」およびヒトへの感染源

となる動物の病原体保有を調査する「感染源調査」を国立感染症研究所および県内関係機関との密接な連携のもとに実施している。これまでの本県の調査で, 晩秋から初冬に日本脳炎ウイルス(JEV)に対する直近の感染を知る指標である 2-メルカプトエタノール(2-ME)感受性抗体が出現<sup>1)</sup>したことなど興味深い現象が確認されてきた。また, 当時, 伝染病流行予測調査事業(インフルエンザウイルス)で, 1993/94 シーズンに分離されたインフルエンザウイルス B 型(B/三重/1/93 株)が, ワクチン株に採用された等の実績がある。ヒトの感染症における免疫状態は, 各個

人、地域等、さまざまな要因で年毎に異なる。本年度採取できた血清は、同一人であっても毎年の免疫状態とは必ずしも同じではないことが推察される。これらのことはヒト血清だけでなく動物血清についても同様であり、毎年の感染症流行予測調査事業における血清収集は重要である。集団免疫の現状把握と予防接種事業の促進等、長期的な流行予測調査が感染症対策には不可欠であるので、本調査のような主要疾患についての免疫状態の継続調査は、感染症の蔓延を防ぐための予防対策として必要性は高い。以下に、2015年度の感染症流行予測調査（日本脳炎、インフルエンザ、風疹、麻疹）の結果について報告する。

## 方 法

### 1. 調査材料

#### 1) 豚の日本脳炎感染源調査材料

日本脳炎感染源調査の対象は、三重県志摩市磯部町近郊の豚舎で飼育された約6ヵ月齢の肉豚である。

2015年7月6日から9月7日の間に採血した80頭の血液を赤血球凝集抑制（Hemagglutination inhibition：HI）試験の調査材料とした（表1）。

なお、従来、対象としていた三重県度会郡玉城町内の養豚場が閉鎖もしくはウインドウレス化により、調査対象として良好でないと考えられたため、今年度より志摩市磯部町の開放型豚舎で飼育された豚を対象とし調査を継続することとした。

#### 2) 日本脳炎・ヒトインフルエンザ・風疹・麻疹感受性調査材料

ヒトの日本脳炎・インフルエンザ・風疹・麻疹感受性調査は、2015年4月から9月に県内の病院等で、感染症流行予測調査事業の実施要項に基づき採血時に本人または保護者から本調査（検体および対象者情報の使用）に書面で同意の得られた男性158名、女性185名の合計343名の血清を用いて抗体価測定を行った。

なお、日本脳炎の抗体価の測定には PAP（Peroxydase-antiperoxydase）複合体を用いたフォーカス計数法を用い、インフルエンザ、風疹は HI 試験、麻疹は粒子凝集反応（Particle Agglutination：PA）法を用いた。

#### 3) 豚のインフルエンザ感染源調査材料

三重県の中部に位置する津市で飼育された約6ヵ月齢の豚を対象とした。2015年11月12日、

同年12月8日、2016年2月3日に採取した計100頭の鼻腔拭い液を調査材料とした。

## 2. 測定方法

### 1) 日本脳炎 HI 抗体測定

豚の動脈血をと殺時に試験管に採血し、遠心分離後の血清を HI 抗体測定に供した。被検血清はアセトン処理を行い、非特異的な凝集抑制物質を除去した後、100%ガチョウ血球 50 $\mu$ L を加え 4 $^{\circ}$ C で 15 分間静置した。その後 3,000rpm、5 分間遠心分離した上清を測定用試料とした。試料をマイクロプレートの第 1 穴目に 25 $\mu$ L 入れ、第 2 穴目から 25 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行い、JEV の HA 抗原（JaGAr 01 株；デンカ生研製）を 4HA 単位に調製し 25 $\mu$ L ずつ加えた。4 $^{\circ}$ C にて一晩感作後、0.33%ガチョウ血球を 50 $\mu$ L 添加し、37 $^{\circ}$ C 孵卵器にて 60 分静置後判定した。HI 抗体 10 倍以上を陽性とし、40 倍以上の血清について、2-ME 処理を行い、処理後の抗体価が処理前の 1/8 以下に減じたものを 2-ME 感受性抗体陽性とした<sup>2)</sup>。

### 2) ヒトの日本脳炎中和抗体測定

非動化（56 $^{\circ}$ C、30 分間）した被検血清 8 $\mu$ L を細胞培養液 72 $\mu$ L で 10 倍希釈し、中和抗体測定用血清とした。処理血清を 2 倍階段希釈し、日本脳炎ウイルス（Beijing-1 株；100FFU/25 $\mu$ L）を処理血清 40 $\mu$ L に対して等量加えた。次に 37 $^{\circ}$ C で 60 分間反応させた後、25 $\mu$ L を Vero（Osaka 株）細胞に接種し、37 $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub> 下で 46 時間培養後に 99.5%エタノールで固定した。作成した固定細胞プレートを用いて PAP 複合体を用いたフォーカス計数法により測定した<sup>2,3)</sup>。

### 3) 豚からのインフルエンザウイルス分離

豚の鼻腔拭い液を 3,000rpm で 10 分間遠心分離し、上清から RNA を抽出し RT-PCR 法<sup>4)</sup>によるインフルエンザウイルス M 遺伝子の検出を実施し、陽性となった場合はイヌの腎臓由来細胞である Madin-Darby canine kidney（MDCK）細胞に上清を接種した。培養 7 日目頃に培養上清を採取し、七面鳥血球を用いて赤血球凝集能（HA）を測定した<sup>5)</sup>。

### 4) ヒトインフルエンザ HI 抗体測定

被検血清 100 $\mu$ L に RDE（Receptor destroying enzyme）II「生研」（デンカ生研製）300 $\mu$ L を

加えて 37°C, 20 時間処理した. 次に非動化 (56°C, 60 分間) 後, 滅菌生理食塩水を 600 $\mu$ L 添加し, 100%ニワトリ血球 100 $\mu$ L を加え, 室温で 60 分間静置した. その後 2,000rpm, 20 分間遠心分離し, その上清を HI 測定用処理血清とした. 処理血清を 25 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行い, 不活化 HA 抗原 (4HA 単位) を 25 $\mu$ L ずつ加えた. 室温で 60 分間静置後, 使用赤血球 (0.5%ニワトリ赤血球) を 50 $\mu$ L 添加し 4°C で 45 分間静置後に判定した. 不活化 HA 抗原は A/California/ 7/2009 (A/H1N1pdm2009), A/Switzerland/9715293/2013 (A/H3N2), B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統), B/Phuket/3073/2013 (山形系統) を用いた. HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし, 抗体価 40 倍以上を陽性とした<sup>5)</sup>. なお, A/Switzerland/9715293/2013 (H3N2) の HI 試験には, 0.75%モルモット赤血球を使用し 4°C で 60 分間静置後に判定した.

## 5) 風疹 HI 抗体測定

風疹 HI 試験は被検血清 200 $\mu$ L に PBS (-) 600 $\mu$ L, 25%カオリン 800 $\mu$ L を加え混合後, 室温で 20 分間静置した. 2,000rpm, 20 分間遠心分離した. これに 50%固定ニワトリ血球 50 $\mu$ L を加え, 氷水中に 60 分間静置した. その後 2,000rpm, 20 分間遠心分離した上清を HI 測定用処理血清とした. 処理血清を 25 $\mu$ L ずつの 2 倍階段希釈を行い, 風疹 HA 抗原 (デンカ生研製) を 4 単位に調製後, 25 $\mu$ L を加えて室温で 60 分間静置して抗原抗体反応を行った. 0.25%固定ニワトリ血球 50 $\mu$ L を加え 4°C で 60 分間静置後判定した. HI 抗体価は HI を起こした最高希釈倍数とし, 抗体価 8 倍以上を陽性と判定した<sup>6)</sup>.

## 6) 麻疹 PA 抗体測定

麻疹抗体の測定には市販キット (富士レビオ: セロディア-麻疹) の PA 法を用いた. 被検血清を第 1 穴目に 25 $\mu$ L 入れ, 第 12 穴目まで 2 倍階段希釈を行った. 未感作粒子 25 $\mu$ L を第 2 穴目に, 感作粒子 25 $\mu$ L を第 3 穴~第 12 穴目に加えた. マイクロプレートを混和し, 120 分間静置後に判定した. 16 倍以上を陽性とした<sup>7)</sup>.

## 結果とまとめ

### 1. 豚の日本脳炎 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移

JEV に対する豚の血中 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体の経時的推移を表 1 に示した. 2015 年 7 月 6 日から 9 月 7 日の間に採血した豚 (80 頭) を調査した結果, HI 抗体保有豚 (10 倍以上) は 65 頭 (81.3%) 確認された. 8 月 14 日以降は全ての豚から HI 抗体が確認された.

最近の感染か否かを把握するための指標である 2-ME 感受性抗体保有豚は 15 頭 (23.4%) で, そのうち 14 頭は 8 月 24 日までに採取された豚であった. このことより対象とした豚舎では 8 月上旬までに大半の豚が JEV 保有蚊の刺咬により感染が成立していたことが推察された.

### 2. ヒトの日本脳炎年齢別中和抗体保有状況

年齢群別の日本脳炎中和抗体保有率は 0-4 歳 27.9%, 5-9 歳 93.8%, 10-14 歳 90.5%, 15-19 歳 95%, 20-29 歳 88.9%, 30-39 歳 55.9%, 40-49 歳 17.5%, 50-59 歳 17.9%, 60 歳以上は 40%であった (表 2). 採血者全体の抗体保有率は 57.1% (343 名中 196 名) であり, 前年度の抗体保有率<sup>8)</sup> (58.5%) とほぼ同等であった. また 30 歳以上の抗体保有率は, 5~29 歳までの年齢と比

表 1. 日本脳炎ウイルスに対する豚 HI 抗体および 2-ME 感受性抗体保有状況

採血日 (2015年)	調査数	HI抗体価								HI抗体	2-ME感受性抗体	
		<10	10	20	40	80	160	320	$\geq 640$	陽性数	陽性数/検査数	陽性率
7月 6日	10	9			1					1	0/1	0
7月24日	10	4	1			2	2	1		6	1/5	20
8月 7日	10	2			1	2	3	1	1	8	3/8	37.5
8月14日	10	0			1	6	2	1		10	2/10	20
8月17日	10	0				5	4		1	10	0/10	0
8月24日	10	0				2	4	4		10	8/10	80
8月31日	10	0				2	4	2	2	10	0/10	0
9月7日	10	0				1	5	4		10	1/10	10
計	80	15	1		3	20	24	13	4	65	15/64	23.4

**表 2. 日本脳炎ウイルスに対するヒトの中和抗体保有状況**

年齢区分	調査数	陽性数
0-4歳	61	17 (27.9%)
5-9歳	16	15 (93.8%)
10-14歳	21	19(90.5%)
15-19歳	40	38(95%)
20-29歳	63	56 (88.9%)
30-39歳	59	33 (55.9%)
40-49歳	40	7 (17.5%)
50-59歳	28	5(17.9%)
60歳～	15	6(40%)
合計	343	196(57.1%)

( )内は抗体保有率.

較し著しく低率であった.

近年の日本脳炎患者（全国）は2011年9名, 2012年2名, 2013年7名, 2014年2名, 2015年2名の報告で, 本県では2013年9月に1名の患者が確認されている<sup>9)</sup>.

### 3. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況

2015年11月～2016年2月の間に計3回の調査を行った豚（100頭）からは, RT-PCR法においてインフルエンザウイルスは検出されなかった（表3）. 対象とした豚からはインフルエンザウイルスは検出されなかったが, 今後, 発生が懸念されている新型インフルエンザウイルスの監視には継続的なモニタリングが有用な情報となる.

**表 3. 豚からのインフルエンザウイルス検出状況**

採取日	飼育地	調査数	月齢	検出結果
2015年11月12日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2015年12月8日	津市	40	6ヵ月	検出せず
2016年2月3日	津市	20	6ヵ月	検出せず

### 4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況

2015/2016シーズンのインフルエンザ流行期前の年齢別 HI 抗体保有率（40倍以上）は A/California/7/2009 (A/H1N1pdm2009) の0-4歳16.4%, 5-9歳50%, A/Switzerland/9715293/2013 (A/H3N2 亜型) は0-4歳8.2%, 5-9歳93.8%であった. B型の B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) は0-4歳3.3%, 5-9歳12.5%で, B/Phuket/3073/2013 (山形系統) は0-4歳4.9%, 5-9歳12.5%であった（表4）.

本県での2015/16シーズンインフルエンザウイルスの抗原性は, A型インフルエンザウイルスのワクチン株と類似の抗原性を示す AH1pdm09 インフルエンザウイルスが多数検出され, 流行の主流であった. 一方で AH3 亜型インフルエンザウイルスは抗原性の異なる株が検出された. B型インフルエンザウイルスはワクチン類似の山形系統株およびビクトリア系統株が検出された.

### 5. 風疹年齢別 HI 抗体保有状況

年齢群別（男性・女性）の風疹 HI 抗体保有率は0歳15.4%, 1-4歳80%, 5-9歳93.8%, 10-19歳93.4%, 20-29歳87.3%, 30-39歳89.8%, 40-49歳75%, 50歳以上は86%であった. 採血者全体の HI 抗体保有率は81.3%で, 男女別の抗体保有率は男性74.7%, 女性87%であった（表5）.

風疹は妊娠女性（胎児）が風疹ウイルスに感染することで引き起こされる先天性風疹症候群（Congenital rubella syndrome ; CRS）の発症が問題となっている.

2013年以降に全国で発生した CRS 患者数は計41名（三重県：2013年2名）で, 2014年第40週の千葉県での症例を最後に国内では報告されていない<sup>10)</sup>. CRS 患者の発生を阻止するためには風疹流行を抑制し, 妊娠出産年齢の女性が風疹ウイルスに対して十分な免疫を有することが有効<sup>11)</sup>とされている. 我々が2009～2013年に実施した抗体保有調査では, 30～40歳台の成人男性の抗体保有率は成人女性と比較し低率で<sup>12)</sup>, 今回の調査においても同様に女性の20～49歳群は85%以上で風疹抗体を保有していたが, 男性の抗体保有率は女性よりも10～20%程度低く, 男性の風疹発症者から抗体非保有女性への感染による CRS 発生リスクが懸念された.

2015年の国内における風疹ウイルスの検出状況は21件で, 2B型10件, 1E型4件, 型不明7件<sup>13)</sup>で, 減少傾向にあるが2015年は渡航歴のある患者を中心に検出された. 本県においてもベトナムからの帰国者から風疹ウイルスが検出<sup>14)</sup>されており, 今後は海外からの帰国者による



表 4. ヒトインフルエンザ年齢別 HI 抗体保有状況 (40 倍以上)

年齢区分	調査数	陽性数			
		A/California /7/2009 (A/H1N1pdm2009)	A/Switzerland /9715293/2013 (A/H3N2亜型)	B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)	B/Phuket/3073/2013 (山形系統)
0-4歳	61	10(16.4%)	5(8.2%)	2(3.3%)	3(4.9%)
5-9歳	16	8(50%)	15(93.8%)	2(12.5%)	2(12.5%)
10-14歳	21	16(76.2%)	18(85.7%)	5(23.8%)	3(14.3%)
15-19歳	40	28(70%)	30(75%)	2(5%)	13(32.5%)
20-29歳	63	46(73%)	36(57.1%)	2(3.2%)	28(44.4%)
30-39歳	59	25(42.4%)	38(64.4%)	10(16.9%)	12(20.3%)
40-49歳	40	15(37.5%)	23(57.5%)	8(20%)	8(20%)
50-59歳	28	15(53.6%)	16(57.1%)	2(7.1%)	3(10.7%)
60歳～	15	6(40%)	10(66.7%)	1(6.7%)	2(13.3%)
合計	343	169(49.3%)	191(55.7%)	34(9.9%)	74(21.6%)

( )内は抗体保有率。

感染拡大予防対策のためにワクチン接種対策により成人男性の抗体非保有者を減らすことが必要であると思われる。

#### 6. 麻疹年齢別 PA 抗体保有状況

年齢別の麻疹 PA 抗体保有率は4-6 歳から10-14 歳群, 20-24 歳群, 30-39 歳群および40 歳群以上は100%と高く推移していた。他の年齢群は0-1 歳群50%, 2-3 歳群90.9%, 15-19 歳群97.5%, 25-29 歳群97.5%で全体の抗体保有率は93%であった(表6)。

我が国は2015年3月に世界保健機関(WHO)より麻疹ウイルス土着株が「排除状態」であることが認定<sup>15)</sup>されたが, 2013年後半~2014年

にかけて, アジア諸国からの帰国者により輸入例(遺伝子型D3型等)による麻疹患者が急増した<sup>15,16)</sup>。2015年に国内で検出された麻疹ウイルスの遺伝子型はD8型11件, H1型5件, D9型およびB3型は各々4件の計24件で, これらのうち15件は海外渡航歴を有する患者で, 主な渡航先は, インドネシア, マレーシア, カタール, インド等である<sup>17)</sup>。今後, 外国からの輸入例による国内での拡散を阻止するため, 積極的疫学調査を実施し, ワクチン接種を徹底することで, 接種率の向上および抗体保有率の保持等に向けた適切な感染拡大予防策を講じることが必要であると考えられる。

表 5. 麻疹年齢別 HI 抗体保有状況

年齢区分	男性		女性		合計(男性・女性)	
	調査数	陽性数	調査数	陽性数	調査数	陽性数
0歳	15	2(13.3%)	11	2(18.2%)	26	4(15.4%)
1-4歳	22	18(81.8%)	13	10(76.9%)	35	28(80%)
5-9歳	8	7(87.5%)	8	8(100%)	16	15(93.8%)
10-19歳	16	14(87.5%)	45	43(95.6%)	61	57(93.4%)
20-29歳	35	29(82.9%)	28	26(92.9%)	63	55(87.3%)
30-39歳	27	22(81.5%)	32	31(96.9%)	59	53(89.8%)
40-49歳	20	13(65%)	20	17(85%)	40	30(75%)
50歳～	15	13(86.7%)	28	24(85.7%)	43	37(86%)
合計	158	118(74.7%)	185	161(87%)	343	279(81.3%)

( )内は抗体保有率。

表 6 麻疹年齢別 DA 抗体保有率

年齢区分	調査数	陽性数
0-1歳	42	21 (50%)
2-3歳	11	10 (90.9%)
4-6歳	15	15 (100%)
7-9歳	9	9 (100%)
10-14歳	21	21 (100%)
15-19歳	40	39 (97.5%)
20-24歳	23	23 (100%)
25-29歳	40	39 (97.5%)
30-39歳	59	59 (100%)
40歳～	83	83 (100%)
合計	343	319 (93%)

( )内は抗体保有率.

## 謝 辞

感染症流行予測調査事業の実施にあたって、本事業の趣旨をご理解いただいた協力者 343 名（男性 158 名，女性 185 名）の方々に厚く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 川田一伸，福田美和，小林真美，矢野拓弥，他：三重県における過去数年間の日本脳炎流行予測調査成績の解析，三重衛研年報第 42 号 69-73 (1996).
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会：日本脳炎，感染症流行予測調査検査術式 27-39 (2002).
- 3) 国立感染症研究所：PAP 法を応用したフォーカス計数法による日本脳炎中和抗体価測定法 (平成 18 年).
- 4) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル(第 3 版)  
(<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/Influenza2014.pdf>)
- 5) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会：インフルエンザ，感染症流行予測調査検査術式 9-26 (2002).

- 6) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会：風疹，感染症流行予測調査検査術式 40-45 (2002).
- 7) 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所 感染症流行予測調査事業委員会：風疹，感染症流行予測調査検査術式 47-52 (2002).
- 8) 矢野拓弥，楠原 一，赤地重宏，小林章人 他：2014 年度感染症流行予測調査結果（日本脳炎，インフルエンザ，風しん，麻疹）の概要，三重保環研年報 第 17 号 94-99 (2015).
- 9) 三重県感染症情報センター：三重県・全国における日本脳炎患者発生状況：  
<http://www.kenkou.pref.mie.jp/topic/nitinou/kanjyasuu.htm>
- 10) 国立感染症研究所：先天性風しん症候群 (CRS) の報告  
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/rubella-m-111/rubella-top/700-idsc/5072-rubella-crs-20141008.html>
- 11) 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 報告書，第 5 風疹 108-145 (2008).
- 12) 矢野拓弥，松野由香里，楠原 一，赤地重宏 他：三重県における風しんの血清疫学に関する考察 (2009～2013 年)，三重保環研年報 第 16 号 55-61 (2014).
- 13) 国立感染症研究所：〈特集〉麻疹・風疹/先天性風疹症候群 2016 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**37**，59-61 (2016).
- 14) 赤地重宏，楠原 一，矢野拓弥，西中隆道：ベトナム帰国者より風疹ウイルスが検出された症例—三重県，病原微生物検出情報 **37**，31 (2016).
- 15) 国立感染症研究所：麻疹 2015 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**36**，51-53 (2015).
- 16) 国立感染症研究所：麻疹 2014 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**35**，93-111 (2014).
- 17) 国立感染症研究所：〈特集〉麻疹・風疹/先天性風疹症候群 2016 年 3 月現在：病原微生物検出情報，**37**，59-61 (2016).

## 資料

# 2015 年感染症発生動向調査結果

楠原 一, 小林章人, 矢野拓弥,  
前田千恵, 永井佑樹, 赤地重宏

## The Report of Infectious Disease Surveillance in 2015

Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI, Takuya YANO,  
Chie MAEDA, Yuhki NAGAI and Shigehiro AKACHI

2015 年 1 月 1 日～12 月 31 日までに県内の病原体検査定点医療機関等から検査依頼のあった患者数は 783 人であった。疾患別の内訳は、感染性胃腸炎 225 人、手足口病 68 人、インフルエンザ 61 人、リケッチア感染症 53 人、ヘルパンギーナ 30 人、不明発疹症 26 人、咽頭結膜熱 14 人等であった。これらのうち、502 人 (64.1%) から病原体が検出された。

主な検出病原体はライノウイルス、ノロウイルス GII 型、インフルエンザウイルス (A および B 型)、パラインフルエンザウイルス、日本紅斑熱リケッチア、コクサッキーウイルス A6、RS ウイルス等であり、各疾患から様々な病原体が検出された。

キーワード：感染症発生動向調査事業、病原体検査定点医療機関、感染性胃腸炎、手足口病、インフルエンザ

### はじめに

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

三重県では、1979 年から 36 年以上にわたって本事業を続けてきた。また、検査技術の進歩に伴い、病原体の検出に必要なウイルス分離や同定を主としたウイルス学的検査や血清学的検査に加え、PCR 法や Real time PCR 法等の遺伝子検査も導入し、検査精度の向上を図ってきた。その結果、麻疹や風疹等、季節消長の明らかであった疾患が、発生数の減少や流行規模の縮小により最近では季節性が薄れている<sup>1,2)</sup>一方で、多くの疾患で新たなウイルスや多様性に富んだ血

清型や遺伝子型を持つウイルスの存在が明らかになってきた<sup>3-5)</sup>。

以下、2015 年の感染症発生動向調査対象疾患の検査定点医療機関等で採取された検体について、病原体検査状況を報告する。

### 方 法

#### 1. 感染症発生動向調査定点医療機関

感染症発生動向調査 5 類感染症患者定点および病原体検査定点の医療機関数を表 1 に示した。昨年同様 25 ヶ所の病原体定点を対象に調査を実施した<sup>5)</sup>。

#### 2. 対象疾患および検体

##### 1) 対象疾患

対象疾患は、三重県感染症発生動向調査事業実施要綱<sup>6)</sup>に記された対象感染症であるが、一部対象外の疾患 (気管支炎、咽頭炎、扁桃炎等) についても必要と判断された場合について検査

表1. 三重県感染症発生動向調査事業定点医療機関数

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

対象とした。

## 2) 検体

三重県感染症発生動向調査病原体検査指針<sup>6)</sup>に基づき、病原体定点および一部定点外の医療機関において2015年1月から12月までの間に採取された咽頭拭い液、鼻汁、糞便、嘔吐物、髄液、尿、血液、皮膚病巣等を検体とした。

## 3. 病原体の分離・検出方法

腸管系ウイルス、呼吸器系ウイルス、リケッチアなどの病原体検索は、主に国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>7)</sup>に準拠し、ELISA法などによる抗原検出や各種PCR法による特異遺伝子の検出、血清学的検査等により行った。

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

## 結 果

### 1. 疾患別患者数および分離・検出病原体

2015年疾患別月別検査患者数、疾患別病原体検出患者数および疾患別月別病原体検出患者数を表2~4に示す。

疾患別検査患者数は、多い順に感染性胃腸炎225人、手足口病68人、インフルエンザ61人、リケッチア感染症53人、ヘルパンギーナ30人、不明発疹症26人、咽頭結膜熱14人であった。その他として、気管支炎や咽頭炎、扁桃炎などが211人であった(表2)。感染性胃腸炎は年間を通して検査依頼があった。また、手足口病およびヘルパンギーナは主に夏、インフルエン

ザは冬から春に、リケッチア感染症や不明発疹症は初夏から秋に検査依頼が多かった(表2)。

検査依頼のあった患者783人中、病原体および有意な抗体等が検出されたのは502人(64.1%)であった。主な分離・検出病原体は、ライノウイルス、ノロウイルスGII、パラインフルエンザウイルス1型、インフルエンザウイルスAH3型等であった(表3,4)。

### 1) 感染性胃腸炎

感染性胃腸炎患者225人中114人からウイルス遺伝子等が検出された。内訳は主にノロウイルスGIIが65人、サポウイルスGI型が13人、アデノウイルス40/41型が9人等であった。またその他、ノロウイルスGIやA群ロタウイルスG1型等が検出された(表4)。

### 2) 手足口病

手足口病患者68人中46人からウイルス遺伝子が検出された。内訳は主にコクサッキーウイルスA6が19人、ライノウイルスが14人、コクサッキーウイルスA16が9人等であった。また、その他にサイトメガロウイルスやアデノウイルス6型等が検出された(表4)。

### 3) インフルエンザ

インフルエンザ患者61人中58人からウイルスあるいはウイルス遺伝子が検出された。内訳はインフルエンザウイルスAH3型が38人、インフルエンザウイルスB型が17人、インフルエンザウイルスAH1pdm09型が3人であった(表4)。

### 4) リケッチア感染症

リケッチア感染症患者53人中25人からリケッチア病原体遺伝子あるいは有意な抗体が検出された。内訳は日本紅斑熱リケッチアが24人、ツツガムシ病リケッチアKawasaki型が1人であった(表4)。

### 5) ヘルパンギーナ

ヘルパンギーナ患者30人中20人からウイルス遺伝子が検出され、コクサッキーウイルス

A10 が 10 人で最も多かった。その他サイトメガロウイルス、コクサッキーウイルス A2、エコーウイルス 18 等が検出された（表 4）。

#### 6) 不明発疹症

不明発疹症患者 26 人中 14 人からウイルス遺伝子が検出され、コクサッキーウイルス A9 が 4 人で最も多かった。その他サイトメガロウイルス、コクサッキーウイルス A6、ライノウイルス、Epsteine-Barr ウイルス等が検出された（表 4）。

#### 7) 咽頭結膜熱

咽頭結膜熱患者 14 人中 7 人からウイルス遺伝子が検出され、アデノウイルス 3 および 54 型がそれぞれ 3 人で最も多かった。その他サイトメガロウイルスとライノウイルスが検出された（表 4）。

#### 8) その他

上記以外に、疑い例を含めた重症熱性血小板減少症候群（SFTS）患者 10 人中 2 人から SFTS ウイルスが検出された。また、臨床的にデング熱と診断された患者 9 名中 2 名からデングウイルス、2 名からチクングニアウイルス、1 名から風疹ウイルスが検出された。

また、その他の疾患として主に呼吸器系疾患を呈した気管支炎等の患者 227 人中 172 人よりウイルスあるいはウイルス遺伝子が検出された。その内訳は主に、ライノウイルスが 76 人、パラインフルエンザ 1 型が 42 人、RS ウイルスが 27 人、パラインフルエンザ 3 型が 24 人等であった。またその他、コロナウイルス、ヒューマンメタニューモウイルス、ヒューマンボカウイルス等が検出された（表 4）。

表2. 疾患別月別検査患者数

疾患名(診断名)	月 別 検 査 患 者 数												合 計
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
コレラ								1					1
A型肝炎			1										1
オウム病					1								1
Q熱						1							1
重症熱性血小板減少症候群							1		1		1		3
リケッチア感染症	1		3	3	8	6	5	7	5	13	2		53
デング熱			2	1		1	2		1	1	1		9
ライム病										1			1
レプトスピラ症	1			1			2		1				5
急性脳炎	2		1	2		1		1	2	1	1		11
風疹				1									1
麻疹	2										1		3
インフルエンザ	11	17	8	4	2		2		1	1	8	7	61
RSウイルス感染症	2	3							1	3			9
咽頭結膜熱			2	1			4	3	1	1	2		14
感染性胃腸炎	10	14	17	10	11	23	16	17	14	14	26	53	225
水痘					1								1
手足口病	3	4		2	5	16	15	11	6	4	1	1	68
伝染性紅斑	1	1											2
突発性発疹			1		1			1					3
百日咳				2	1	2	1	2	1				9
ヘルパンギーナ	1			6	1	3	16	2	1				30
流行性角結膜炎								1					1
細菌性髄膜炎									1				1
無菌性髄膜炎			2	1		2	1		1	2			9
マイコプラズマ肺炎			1						1	6	2		12
不明発疹症			1	1	4	1	3	2	9	1	1	3	26
重症熱性血小板減少症候群・日本紅斑熱			1	1	1	1	1	1	1		1		7
急性脳炎・無菌性髄膜炎								1					1
インフルエンザ・RSウイルス感染症			1										1
感染性胃腸炎・ヘルパンギーナ								1					1
突発性発疹・ヘルパンギーナ								1					1
その他	7	5	14	19	6	25	9	11	29	29	27	30	211
合 計	41	47	53	54	42	87	78	59	84	70	72	96	783

表3. 疾患別病原体検出患者数

検出病原体名	疾患名(診断名)														合計									
	A型肝炎 感染症	リカッチア 感染症	デング熱 感染症	急性肺炎	麻疹	インフル エンザ	RSウイルス 感染症	咽頭 結膜炎	感染性 胃腸炎	手足口病	伝染性 紅斑	突発性 発疹	百日咳	ヘルペス キーン		流行性 角結膜炎	無菌性 髄膜炎	マイコプラ ズマ肺炎	不明 発疹症	重症熱性 血小板減少症候群 ・日本紅斑熱	急性肺炎 ・RSV感染症	ヘルペス ウイルス 感染症 ・その他		
Ad1																						1		
Ad2																							1	
Ad3																							1	
Ad4																							2	
Ad5																							5	
Ad6																							3	
Ad40/41																							4	
Ad54																							4	
Aggregatibacter aphrophilus																							8	
Astrovirus																							2	
Astrovirus type 1																							2	
Bordetella pertussis																							4	
C2																							2	
C4																							2	
C6																							16	
C9																							1	
CA10																							8	
CA16																							7	
CB3																							1	
Chikungunya virus																							2	
Coronavirus																							1	
Cytomegalovirus																							2	
Dengue virus type 1																							3	
E6																							2	
E18																							1	
EBV																							1	
EVD68																							1	
HAV																							1	
HHV8																							1	
HMPV																							1	
HSV2 type 1																							1	
Human Bocavirus																							1	
Influenza A virus pdm09																							3	
Influenza A virus H3N2																							38	
Influenza B virus																							17	
Mycoplasma pneumoniae																							1	
Novel Coronavirus																							7	
Novel Coronavirus type 2																							62	
Otsutsugamushi																							62	
Parainfluenza virus type 1																							1	
Parainfluenza virus type 2																							22	
Parainfluenza virus type 3																							25	
Parainfluenza virus type 4																							2	
Rhinovirus type 1																							18	
Rhinovirus type 2																							18	
Rhinovirus type 3																							38	
Rhinovirus type 4																							57	
Rj																							25	
Rotavirus type 1																							1	
Rotavirus type 2																							6	
Rotavirus type 3																							1	
Rotavirus type 4																							1	
Rotavirus type 5																							16	
Rubella virus																							17	
SFTSV																							2	
SVGI																							2	
SVGI type 1																							12	
SVGI type 2																							1	
SVGI type 3																							1	
SVGV																							1	
小計	1	25	5	6	1	58	5	5	106	39	0	1	4	17	1	5	5	12	3	1	1	0	120	421



表4. 疾患別月別病原体検出患者数

疾患名(診断名)	検出 病原体名	月別病原体検出患者数												小計	合計	依頼 患者数	
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月				
A型肝炎	HAV				1										1	1	1
リケッチア感染症	O.tsutsugamushi Kawasaki型												1		1	25	53
	Rj				2	4	4	2	2	3	6	1			24		
デング熱	ChikungunyaV				1	1									2	5	9
	Dengue V2型							1			1				2		
	RubellaV2B											1			1		
急性脳炎	EBV								1						1	8	11
	HHV6				1										1		
	RhinoV				1					1	1				3		
	SVG1						1								1		
	Ad2&Cyto megalov		1												1		
	Ad6&HHV6				1										1		
麻疹	RubellaV2B											1			1	1	3
インフルエンザ	InfAH1 pdm09				1					1				1	3	58	61
	InfAH3	9	12	4	1			2			1	7	2	38			
	InfB	2	4	3	2	2								4	17		
RSウイルス感染症	ParainfluenzaV1型								1	2					3	6	9
	RhinoV				1					1					2		
	hMPV&RhinoV				1										1		
咽頭結膜熱	Ad3							2							2	7	14
	Ad54						2								2		
	Cyto megalov											1			1		
	Ad3&RhinoV							1							1		
	Ad54&Cyto megalov&RhinoV									1					1		
感染性胃腸炎	Ad1					1									1	114	225
	Ad2			1											1		
	Ad40/41				1				2	1	1	2	1	8			
	AstroVNT						1	1						2			
	AstroV1型												2	2			
	E6								1	1				2			
	hMPV		1											1			
	NVG I				1		1	1					4	7			
	NVG II	3	6	4	1		1	1	1	2		12	31	62			
	RoAG1				3							1	2	6			
	RoAG9			1										1			
	SVG I				1	1	7	1	1					11			
	SVGIV						1							1			
	SVG V		1											1			
	AstroV1型&SVGIV						1							1			
	AstroV2型&SVGIV				1									1			
	AstroV2型&SVG V		1											1			
	NVG I & NVG II & Ad41												1	1			
	NVG II & SVG II & SVG V		1											1			
	NVG II & SVG V		1											1			
	RoAG1 & SVG I				1									1			
	SVG I & SVGIV					1								1			
手足口病	Ad6						1							1	46	68	
	CA6						2	6	5	1	2			16			
	CA9							1						1			
	CA16			1	1		2	2	1					7			
	Cyto megalov		1			1								2			
	E18							1						1			
	EBV								1					1			
	RhinoV		1		1		3	1	2	2				10			
	Ad2&CA16						1							1			
	Ad6&CA16							1						1			
	CA6&Cyto megalov&RhinoV											1		1			
	CA6&RhinoV						1		1					2			
	CA10&HHV6							1						1			
	EBV&HHV6&RhinoV												1	1			
伝染性紅斑	Ad6&ParvoVB19			1										1	1	2	
突発性発疹	Cyto megalov&HHV6			1										1	2	3	
	RhinoV					1								1			
小計		21	30	18	16	14	28	23	18	16	16	27	47	274	274	459	



表4. (続き)

疾患名(診断名)	検出病原体名	月別病原体検出患者数												小計	合計	依頼患者数		
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月					
百日咳	<i>Bordetella pertussis</i>				1	1	1		1					4	4	9		
ヘルパンギーナ	CA2						1	1						2	20	30		
	CA9								1				1					
	CA10						1	7					8					
	CytomegaloV					1		1	1				3					
	E18							2					2					
	RhinoV							1					1					
	CA10&CytomegaloV							2					2					
	Ad6&CA6&CytomegaloV									1			1					
流行角結膜炎	Ad54							1					1	1	1			
無菌性髄膜炎	Ad6									1			1	6	9			
	CB3										1		1					
	E6			1									1					
	EVD68										1		1					
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>							1					1					
マイコプラズマ肺炎	CA10&CytomegaloV							1				1						
不明発疹症	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>							1	4				5	14	26			
	Ad54					1							1					
	CA6									2			2					
	CA9								1	1	1		3					
	CytomegaloV										1		1					
	EBV							1				1	2					
	EVD68									1			1					
	RhinoV							1				1	2					
	CA9&CytomegaloV									1			1					
	EBV&HHV6											1	1					
	重症熱性血小板減少症・日本紅斑熱	RJ									1					1	3	7
		SFTSV							1	1						2		
	急性脳炎・無菌性髄膜炎	HSV2型								1						1	1	1
	インフルエンザ・RSウイルス感染症	RSV			1											1	1	1
	感染性胃腸炎・ヘルパンギーナ	Ad5&CA10							1							1	1	1
その他	Ad3	1								1	1		3	172	227			
	Ad6						1					1	2					
	<i>Aggregatibacter aphrophilus</i>			1									1					
	CA10					1							1					
	CoronaV		2									1	3					
	CytomegaloV		1										1					
	E6								1				1					
	EBV											1	1					
	EVD68									4			4					
	hMPV			2	2	1							5					
	HSV2型				1								1					
	HumanBocaV			1									1					
	ParainfluenzaV1型							4	2	5	2	3	6			22		
	ParainfluenzaV2型		1								1		2					
	ParainfluenzaV3型						14	2	1	1			18					
	RhinoV	1		1	4	1	1		3	7	14	5	1			38		
	RSV			2	1				1		1	6	5			16		
	Ad2&CA10						1						1					
	Ad5&E6						1						1					
	Ad6&CytomegaloV								1				1					
	Ad6&RhinoV					1							1					
	CoronaV&ParainfluenzaV1型										1		1					
	CoronaV&ParainfluenzaV1型&RhinoV			1									1					
	CoronaV&RhinoV&RSV										1	1	2					
	CoronaV&RSV											1	1					
	CytomegaloV&RhinoV											1	1					
	EBV&HHV6								1				1					
	hMPV&HumanBocaV			2	1								3					
	hMPV&RhinoV				1								1					
	HumanBocaV&RhinoV				4		1						5					
	ParainfluenzaV1型&RhinoV							1	1	3	5	1	2			13		
	ParainfluenzaV1型&RSV									1		1	3			5		
ParainfluenzaV2型&RhinoV										1		1						
ParainfluenzaV3型&RhinoV						4				2		6						
ParainfluenzaV4型&RhinoV									2	1	1	4						
RhinoV&RSV											3	3						
小計		6	3	11	15	6	28	26	17	38	29	23	26	228	324			
合計		27	33	29	31	20	56	49	35	54	45	50	73	502	783			

Ad: アデノウイルス, Astro V: アストロウイルス, CA: コクサッキーA群ウイルス, CB: コクサッキーB群ウイルス, ChikungunyaV: チクングニアウイルス, CoronaV: コロナウイルス, CytomegaloV: サイトメガロウイルス, DengueV: デングウイルス, E: エコーウイルス, EBV: Epstein-Barrウイルス, EV: エンテロウイルス, HAV: A型肝炎ウイルス, HumanBocaV: ヒューマンボカウイルス, HHV: ヘルペスウイルス, hMPV: ヒューマンメタニューモウイルス, HSV: 単純ヘルペスウイルス, InfA: インフルエンザウイルスA型, InfB: インフルエンザウイルスB型, NV: ノロウイルス, ParainfluenzaV: パラインフルエンザウイルス, ParvoV: パルボウイルス, RhinoV: ライノウイルス, RJ: 日本紅斑熱リケッチア, RoA: A群ロタウイルス, RSV: RSウイルス, RubellaV: 風疹ウイルス, SFTSV: 重症熱性血小板減少症候群ウイルス, SV: サボウイルス, NT: Not typed

表5. 保健所別月別患者数

保健所管内	月別検査患者数												合計	
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月		
桑名	2		1					1	1		2		3	10
四日市市	1		2	2				2	1	2	2	1	16	29
鈴鹿	29	35	36	41	24	47	35	36	53	42	47	53	478	
津	1		3	1	1	2	1	2	1			1	13	
松阪				1		1	4		1				7	
伊勢	8	12	8	9	16	36	34	16	25	24	23	24	235	
伊賀			2				1	3	2				8	
尾鷲													0	
熊野			1		1	1							3	
合計	41	47	53	54	42	87	78	59	84	70	72	96	783	

## 2. 保健所管内別患者数

所管保健所から検体搬入のあった 2015 年の月別患者数を表 5 に示す。保健所管内別では、鈴鹿保健所管内が 478 人と最も多く、以下、伊勢が 235 人、四日市が 29 人、津が 13 人、桑名が 10 人、伊賀が 8 人、松阪が 7 人、熊野が 3 人の順であった。尾鷲からの検体搬入はなかった。

### 考 察

2015 年の検査依頼患者数は 783 人で、2014 年の 736 人と比較して増加した。疾患別では手足口病と感染性胃腸炎が増加した一方で、インフルエンザやヘルパンギーナ等は減少した。

感染性胃腸炎の検査依頼患者数が増加した原因は、2014/15 シーズンに全国で流行した新型ノロウイルス (GII.17 型) の影響と考えられ、県内でも食中毒事例を中心に多数確認された<sup>8)</sup>。しかし本調査ではノロウイルス GII が検出ウイルスの大半を占めたものの、その多くは従来の流行株であり、GII.17 型は少数であった (解析結果未掲載)。このように食中毒事例と小児の感染症で流行株に違いが見られたことから、今後の動向に注意が必要である。

夏風邪として知られる手足口病やヘルパンギーナの主な原因ウイルスはエンテロウイルス属に属するウイルスである。2015 年は県内だけではなく全国的に手足口病の患者からコクサッキーウイルス A6 の検出が多く報告され、コクサッキーウイルス A6 が隔年で流行している傾向が見られた。検出される主要なウイルスは年に

より異なり、2010 年には中枢神経系合併症の発生率が高いことで知られるエンテロウイルス 71 が高率に検出されている<sup>9)</sup>。このため、手足口病だけではなくヘルパンギーナについても、検出されたウイルスの同定は必須であり、データを蓄積して経年変化を追う必要がある。

三重県におけるリケッチア感染症の多くは日本紅斑熱であり、患者発生地域は伊勢志摩地域が中心となっている。媒介動物がマダニ類であることから、病原体保有マダニが三重県内で偏在している可能性が考えられた。また、同じくダニ媒介性感染症である SFTS が県内で初めて確認されたことから、日本紅斑熱や同様の症状を呈する他の感染症を含めた類症鑑別が重要と考えられた。

2014 年に東京都内で約 70 年ぶりに渡航歴のないデング熱患者が確認され、都内の公園ではウイルスを保有する蚊が見つかった<sup>10)</sup>。その影響により県内でも海外からの帰国者を中心にデング熱の検査依頼が増えているものの、検出されるウイルスの半数は別のウイルスであった。今回、デング熱疑い患者から検出されたチクングニアウイルスや風疹ウイルス<sup>11)</sup>以外にも、ジカウイルスや麻疹ウイルスなど海外には発熱や発疹の原因となるウイルスは多い。検査診断による輸入感染症の鑑別も本調査の重要な課題である。

感染症法の改正に伴い (2016 年 4 月 1 日施行)、感染症に対する情報収集体制が強化され、感染症法に病原体の検査に関する明確な規定が設けられた。これにより検査体制の充実と強化

が図られ、今後、本調査がより発展していくものと期待される。

### 文 献

- 1) 丸山勝己, 大川正文, 倉田英雄 : 感染症情報の解析, 三重衛研年報, No.38, 61-70 (1992).
- 2) 麻疹・風疹患者発生情報  
[http://www.kenkou.pref.mie.jp/MR\\_srv/MR\\_srv\\_results.htm](http://www.kenkou.pref.mie.jp/MR_srv/MR_srv_results.htm)
- 3) 小林真美, 福田美和, 川田一伸 他 : 1994年感染症サーベイランス成績, 三重衛研年報, No.40, 133-138 (1994).
- 4) 山内昭則, 中野陽子, 矢野拓弥 他 : 2004年感染症発生動向調査結果, 三重保環研年報, No.50, 80-85 (2005).
- 5) 赤地重宏, 楠原 一, 小林章人 他 : 2014年感染症発生動向調査結果, 三重保環研年報, No.60, 86-93 (2015).
- 6) 三重県保健環境研究所 : 三重県感染症発生動向調査事業報告書, 2014年(平成26年)版.
- 7) 国立感染症研究所, 病原体検出マニュアル  
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/lab-manual.html>
- 8) 楠原 一, 赤地重宏, 小林隆司 他 : ノロウイルス GII.17 型の流行とその特徴について—三重県, 病原微生物検出情報, No.36, 91-92, (2015).
- 9) 高橋琢理, 砂川富正, 藤本嗣人 他 : 注目すべき感染症「手足口病」, 感染症発生動向調査週報, No.33, 11-13 (2013).
- 10) 関 なおみ : 代々木公園を中心とした都内のデング熱国内感染事例発生について, 病原微生物検出情報, No.36, 37-38, (2015).
- 11) 赤地重宏, 楠原 一, 矢野拓弥 他 : ベトナム帰国者より風疹ウイルスが検出された症例—三重県, 病原微生物検出情報, No.37, 31, (2016).

資 料

## 三重県における 2015 年度環境放射能調査結果

吉村英基, 森 康則, 前田 明, 一色 博, 山本昌宏

### The Report of Environmental Radioactivity in Mie Prefecture (April 2015~March 2016)

Hideki YOSHIMURA, Yasunori MORI, Akira MAEDA,  
Hiroshi ISSIKI and Masahiro YAMAMOTO

原子力規制庁からの委託を受け、降水中の全ベータ放射能測定、降下物、大気浮遊じん、河川水、土壌、蛇口水および各種食品試料のガンマ線核種分析 (I-131, Cs-134, Cs-137, K-40) ならびに空間放射線量率測定を実施し、三重県における環境放射能の水準を把握した。

核種分析において Cs-137 が降下物試料等から検出されたが、以前から検出されているレベルを超えるものではなかった。他の調査においても異常値は観測されなかったことから、2015年度の環境放射能の水準は通常範囲内であったといえる。

北朝鮮の核実験実施に対応したモニタリング強化においても異常な値は観測されなかった。

キーワード：環境放射能、核種分析、全ベータ放射能、空間放射線量率

#### はじめに

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

三重県は1988年度から同事業を受託し、降水の全ベータ放射能測定、環境試料および食品試料のガンマ線核種分析ならびにモニタリングポスト等による空間放射線量率測定を行って県内の環境放射能のレベルの把握に努めている。

さらに福島第一原子力発電所事故後は、国のモニタリング調整会議が策定した「総合モニタリング計画」<sup>2)</sup>に基づき原子力規制庁が実施する調査の一部もあわせて行っている。

また、2015年度は2016年1月6日の北朝鮮の核実験実施発表への対応のため、原子力規制庁からの協力依頼を受けてモニタリング強化を実施した。

本報では、2015年度に実施した調査の結果について報告する。

#### 方 法

##### 1. 調査の対象

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

##### 2. 採取および測定の方法

試料の採取、処理および測定は、「環境放射能水準調査委託実施計画書」(原子力規制庁)<sup>1)</sup>に基づき実施した。

###### 1) 全ベータ放射能測定

試料の採取：三重県四日市市(34°59'31", 136°29'06")の当所屋上(地上18.6m)に設置した降水採取装置で雨水を採取し、24時間の降雨量が1mm以上(毎朝9:00時点)のとき、そこから200mL(それ以下の場合は全量)を取り試料とした。

前処理：試料にヨウ素担体(1mgI/mL)1mL, 0.05mol/L硝酸銀2mLおよび硝酸(1+1)数滴を加え加熱濃縮し、ステンレス製試料皿(50mmφ)で蒸発乾固した。

測定：採取6時間後にベータ線自動測定装置で

測定を行った。比較試料は、酸化ウラン ( $U_3O_8$  : 日本アイソトープ協会製ベータ線比較線源 50Bq)

を用いた。測定時間は測定試料、比較試料、バックグラウンド試料 (空試料) すべて 40 分とした。

表 1 放射能調査の試料種別の採取時期・場所

項目	試料の種類別	採取月等	採取場所
全ベータ放射能	降水 (雨水)	降水ごと (09:00)	三重県四日市市
ガンマ線核種分析	降下物 (雨水+ちり)	毎月 (1ヶ月間分)	三重県四日市市
	大気浮遊じん	四半期ごと (3ヶ月間分)	三重県四日市市
	淡水 (河川水)	2015年10月	三重県亀山市 (鈴鹿川)
	土壌 (草地)	7月	三重県三重郡菰野町
	蛇口水	6月	三重県四日市市
	蛇口水	四半期ごと (3ヶ月間分)	三重県四日市市
	穀類 (精米)	2015年9月	三重県松阪市
	茶 (荒茶)	5月	三重県亀山市, 多気郡大台町
	牛乳	8月	三重県度会郡大紀町
	ほうれんそう	11月	三重県四日市市
	だいこん	12月	三重県多気郡明和町
	まだい	4月	三重県北牟婁郡紀北町 (熊野灘)
	あさり	4月	三重県伊勢市 (伊勢湾沿岸)
わかめ	2016年2月	三重県鳥羽市 (答志島沖)	
空間放射線量率	—	連続/毎月1回	三重県四日市市, 三重県伊賀市 三重県伊勢市, 三重県尾鷲市

## 2) 核種分析

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

大気浮遊じん：当所屋上に設置したハイボリウムエアサンプラを用いて、3ヶ月間で 10回サンプリング (流速  $54.0m^3/h$ , 24h) を行い、約  $13,000m^3$  の大気を吸引して大気浮遊じんを 10枚のろ紙 (ADVANTEC HE-40T) 上に採取した。このろ紙を円形に打ち抜き、U-8 容器に充填して測定試料とした。

土壌：三重県三重郡菰野町地内の草地 (山砂土) において梅雨明け後、2~3日降雨がない日に深度 0~5cm, 5~20cm の土壌を採取した。これを  $105^\circ C$  で乾燥後、ふるい (2mm メッシュ) を通して得た乾燥細土を U-8 容器に充填し測定試料とした。

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

蛇口水：当所1階研究室の蛇口から水道水を 100L 採取し濃縮後、全量を U-8 容器に移し乾固して測定試料とした。

さらに、「総合モニタリング計画」<sup>2)</sup>に基づくモニタリングとして、毎勤務日に水道水を 1.5L 採取し四半期ごとにまとめて濃縮後、全量を U-8 容器に移し乾固して試料としたものの測定も実施した。

食品：穀類 (精米) および牛乳は、それぞれ年 1回採取し、約 2kg をそのまま 2L マリネリ容器に入れ測定試料とした。農産物 (茶, 野菜), 海産

生物 (まだい, あさり, わかめ) は、それぞれ年 1回収穫時期に採取し、可食部約 4~8kg を、蒸発皿で炭化後、電気炉 ( $450^\circ C$ , 24 時間) で灰化した。灰化物を磨砕後、ふるい (0.35mm メッシュ) を通して異物を除去し、U-8 容器に分取して測定試料とした。

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

## 3) 空間放射線量率測定

モニタリングポストによる空間放射線量率の連続測定は県内 4 地点で実施する体制となっている。北勢局は当所の屋上 (地上 18.6m の位置) に検出器を設置している。その他 3 局は県伊賀庁舎 (中勢伊賀局：三重県伊賀市), 県伊勢庁舎 (南勢志摩局：三重県伊勢市), 県広域防災拠点施設 (東紀州局：三重県尾鷲市) に設置しており、すべて地上 1m の位置に検出器を置き、測定を実施している。4 局の測定データ (10 分間値) はオンラインで国へ報告され、ウェブサイト上で公表されている<sup>3)</sup>。

あわせて、月 1 回 (毎月第 2 週水曜日 10:00) 当所前駐車場の地上 1m の位置で、シンチレーションサーベイメータによる測定を行った。測定法は、時定数を 30 秒として 30 秒間隔で 5 回指示値を読み、その平均値をとる方法とした。

## 3. 採取・測定装置

### 1) 全ベータ放射能測定

採取装置：ステンレス製降水採取装置 (受水面積： $1,000cm^2$ )

降雨量測定装置：(株)小笠原計器製作所製

## C-R543 型雨量計

測定装置：日立アロカメディカル(株)製β線自動測定装置 JDC-3201

### 2) 核種分析

降下物採取装置：ステンレス製大型水盤(受水面積：5,000cm<sup>2</sup>)

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

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

### 3) 空間放射線量率測定

モニタリングポスト：日立アロカメディカル(株)製環境放射線モニタ装置 MAR-21, MAR-22  
シンチレーションサーベイメータ：日立アロカ

メディカル(株)製 TCS-171

## 結果および考察

### 1. 全ベータ放射能測定

全ベータ放射能の測定は、同種の試料の放射能レベルの相互比較において、迅速に概略の情報を得られる手法であるため<sup>4,5)</sup>、環境放射能水準調査では降雨ごとに全ベータ放射能を測定し環境中の放射能の推移などを把握することになっている<sup>1)</sup>。

表2に2015年度に測定を実施した105件の結果を示した。105試料中12試料から全ベータ放射能が検出された。全ベータ放射能が検出された試料は核種分析を実施したが、人工放射性核種は検出されず、特に異常と判断される試料はなかった。

表2 定時降水中の全ベータ放射能測定結果

採取期間	降水量(mm)	試料数	検出数	降下量(MBq/km <sup>2</sup> )
2015年 4月	161.5	12	4	35
5月	161.5	6	1	2.7
6月	517.5	11	-	N.D.
7月	225.5	15	-	N.D.
8月	455.0	13	-	N.D.
9月	261.0	12	-	N.D.
10月	64.0	4	1	2.3
11月	134.5	7	-	N.D.
12月	112.5	6	-	N.D.
2016年 1月	59.0	7	2	5.8
2月	67.5	5	2	8.5
3月	81.0	7	2	11
2015年度	2300.5	105	12	N.D.~35
2014年度	2337.5	102	16	N.D.~67
2013年度	1915.0	97	15	N.D.~27
2012年度*	1704.0	99	19	N.D.~49

注) N.D.：不検出(計数値が計数誤差の3倍を下回るもの)。

\*2012年度はモニタリング強化対応のため5検体欠測。

## 2. 核種分析

環境放射能水準調査における核種分析は、原子力発電所の事故や核実験等により大気中に放出された放射性物質による影響を評価するため、大気浮遊じん、降下物、土壌、淡水の環境試料と蛇口水、精米、野菜類、茶、牛乳、水産生物の食品試料について実施している。

定量対象としている核種は、短半減期の核種<sup>6)</sup>のうち甲状腺への内部被ばくの影響が大きく重要とされるI-131(半減期8.02d)、比較的長半減期の核種<sup>6)</sup>の指標としてCs-137(半減期30.04y)、比較的指標として天然放射性核種のうちK-40(半減期1.277×10<sup>9</sup>y)<sup>7)</sup>と2011年度から福島第一原子力発電所の事故を踏まえて追加したCs-134(半減期2.06y)<sup>6)</sup>の合計4核種である。

なお、蛇口水、精米、牛乳を除く食品試料は灰

化して測定を行うため、I-131は定量対象としていない。

### 1) 環境試料

表3に2015年度における三重県内の降下物、大気浮遊じん、淡水、土壌のガンマ線核種分析結果を示す。

降下物及び土壌表層(0-5cm)からCs-137が検出された。K-40は降下物の一部、大気浮遊じん、淡水、土壌から検出された。Cs-137以外の人工放射性核種は検出されなかった。降下物、土壌のCs-137検出濃度は事故前と同程度であった。事故後の全国の環境放射能調査状況<sup>8)</sup>から見ると、2015年度の結果は特に異常は見られず、県内の環境に影響を与えるレベルではないと考えられるが、今後も継続した監視を行っていく必要があると思われる。

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

試料	採取時期	試料数	単位	I-131	Cs-134*	Cs-137	K-40
降下物	2015年 4月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	0.043	1.04
	5月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	1.14
	6月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	7月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.63
	8月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	1.00
	9月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	10月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	11月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	12月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2016年 1月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	N.D.
	2月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.73
	3月	1	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.75
	2015年度	12	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.	N.D.~0.043	N.D.~1.14
	2012~2014年度	36	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.	N.D.~0.631	N.D.~2.00	N.D.~1.96
2011年度	12	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.~13.3	N.D.~18.4	N.D.~17.7	N.D.~1.85	
1989~2010年度	264	MBq/km <sup>2</sup>	N.D.~1.24	-	N.D.~0.348	N.D.~57.9	
大気浮遊 じん	2015年 4~6月	1	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.222
	7~9月	1	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.240
	10~12月	1	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.205
	2016年 1~3月	1	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.276
	2015年度	4	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.205~0.276
	2012~2014年度	12	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.	N.D.	0.227~0.310
	2011年度	4	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	N.D.~0.296	N.D.~0.317	0.239~0.317
	1989~2010年度	88	mBq/m <sup>3</sup>	N.D.	-	N.D.	N.D.~0.565
淡水 (河川水)	2015年 10月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	N.D.	67.9
	2012~2014年度	3	mBq/L	N.D.	N.D.	N.D.	66.1~81.3
	2011年度	1	mBq/L	N.D.	N.D.	N.D.	67.3
土壌 (0-5cm)	2003~2010年度	8	mBq/L	N.D.	-	N.D.	58.1~78.9
	2015年 7月	1	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	1.39	761
	2012~2014年度	3	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	1.03~1.35	706~744
	2011年度	1	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	1.19	775
土壌 (5-20cm)	1989~2010年度	22	Bq/kg 乾	N.D.	-	N.D.~2.69	556~812
	2015年 7月	1	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	N.D.	739
	2012~2014年度	3	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	N.D.	711~733
	2011年度	1	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	N.D.	750
1989~2010年度	22	Bq/kg 乾	N.D.	-	N.D.~1.63	593~856	

注) N.D.: 不検出 (計数値が計数誤差の3倍を下回るもの)。

過去のデータの採取場所は、表1と異なるものがある。

\*Cs-134は2010年度以前には測定対象としていない。

## 2) 食品試料

表4に2015年度における県内の蛇口水、県内で生産された精米、茶(荒茶)、野菜類(ほうれんそう、だいこん)、牛乳、県近海でとれた水産生物(まだい、あさり、わかめ)のガンマ線核種分析結果を示す。

まだいからCs-137が検出されたが、検出値は以前の結果<sup>8,9)</sup>と比較して特に高いものではなく平常の値の範囲内にあると考えられた。

2015年度の食品試料における放射性セシウム

の検出値は、2012年4月に施行された食品の規格基準(飲料水10Bq/kg、乳児用食品・牛乳50Bq/kg、一般食品100Bq/kg)<sup>10)</sup>と比較して大きく下回る値であった。

K-40はすべての試料から検出されたが、表4に示した過去の結果および他県の結果<sup>8,9)</sup>との比較から、平常値の範囲と判断された。

食品試料においてはCs-137以外の人工放射性核種は検出されなかった。

表4 食品試料中のCs-134, Cs-137 およびK-40 濃度

試料	採取時期	試料数	単位	Cs-134*	Cs-137	K-40
蛇口水	2015年 6月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	18.1
	2012~2014年度	3	mBq/L	N.D.	N.D.	16.9~23.1
	2011年度	1	mBq/L	0.408	0.434	24.5
	1989~2010年度	36	mBq/L	-	N.D.~0.313	17.6~69.9
蛇口水	2015年 4~6月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	18.6
	7~9月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	22.5
	10~12月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	19.5
	2016年 1~3月	1	mBq/L	N.D.	N.D.	19.5
	2015年度	4	mBq/L	N.D.	N.D.	18.6~22.5
	2012~2014年度	12	mBq/L	N.D.	N.D.	16.4~25.5
	2011年度	1**	mBq/L	N.D.	N.D.	21.3
穀類(精米)	2015年 9月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	26.6
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	25.9~27.4
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	23.0
	1989~2010年度	22	Bq/kg 生	-	N.D.	21.9~34.2
茶(荒茶)	2015年 5月	2	Bq/kg 乾	N.D.	N.D.	544~600
	2012~2014年度	6	Bq/kg 乾	N.D.~0.436	0.161~0.643	551~738
	2011年度	2	Bq/kg 乾	3.83~4.42	3.87~4.71	623~633
	1989~2011年度	42	Bq/kg 乾	-	N.D.~1.72	417~766
牛乳	2015年 8月	1	Bq/L	N.D.	N.D.	49.7
	2012~2014年度	3	Bq/L	N.D.	N.D.	46.9~49.0
	2011年度	1	Bq/L	N.D.	N.D.	49.0
	1989~2010年度	36	Bq/L	-	N.D.	32.0~51.8
ほうれんそう	2015年 11月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	188
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	141~180
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	146
	1989~2010年度	22	Bq/kg 生	-	N.D.~0.058	58.0~237
だいこん	2015年 12月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	124
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	70.3~95.7
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	77.6
	1989~2010年度	22	Bq/kg 生	-	N.D.~0.056	63.0~106
まだい	2015年 4月	1	Bq/kg 生	N.D.	0.160	156
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	0.156~0.165	152~172
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	0.130	147
	1994~2010年度	17	Bq/kg 生	-	0.090~0.244	92.5~164
あさり	2015年 4月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	76.3
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	72.3~78.6
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	73.0
	2001~2010年度	10	Bq/kg 生	-	N.D.	31.9~83.2
わかめ	2016年 2月	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	264
	2012~2014年度	3	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	219~234
	2011年度	1	Bq/kg 生	N.D.	N.D.	236
	1998~2010年度	13	Bq/kg 生	-	N.D.	105~278

注) N.D.: 不検出(計数値が計数誤差の3倍を下回るもの)。

過去のデータの採取場所は、表1と異なるものがある。

\*Cs-134は2010年度以前には測定対象としていない。

\*\*四半期ごとの蛇口水の測定は2011年度第4四半期から開始している。

### 3. 空間放射線量率測定

表5および6に2015年度の三重県内におけるモニタリングポストおよびサーベイメータによる空間放射線量率の測定結果を示す。モニタリングポストの測定値は、従前から報告してきた1時

間値の平均値、最大値、最小値を記載した。

各局の最大値は降雨あるいは降雪時に観測され、気象現象に伴う変動と判断された。

県内の4局の2015年度の測定結果は、過去3年間の結果および他都道府県の観測値<sup>3)</sup>と比較して異常な値は観測されていないことから、平常



の範囲内にあったと考えられる。

東紀州局の測定値が他局と比較して高い値となるのは、この地域の花崗岩質の地質によるもの推定している<sup>11)</sup>。

空間放射線量率を測定することで、公衆の線量当量を外部被ばく推定式(1)<sup>4,12)</sup>により推定することができる。それぞれの地点の 2015 年度の年平均値を式(1)により換算すると、北勢局 47nSv/h、中勢伊賀局 66nSv/h、南勢志摩局 52nSv/h、東紀州局 83nSv/h となり、すべての局で公衆の年線

量当量限度 (1mSv/年)<sup>4)</sup>の時間換算量 (114nSv/h) を下回っており問題のない結果であるといえる。

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

Hex(Sv) : 時間当たりの(実効)線量当量

Dex(Gy) : 時間当たりの(空気)吸収線量

2015 年度も福島第一原子力発電所事故を考慮し換算係数は緊急時の 1.0 を用いた。

表 5 2015 年度の空間放射線量率 1 (宇宙線による線量率(約 30 nGy /h)を含まない)

測定年月	北勢局モニタリングポスト(nGy/h)**				サーベイメータ(nGy/h) (地上 1 m)						
	測定回数	平均値	最大値	最小値	測定回数	測定値	平均値	最大値	最小値		
2015 年	4 月	720	46	61	43	1	66	-	-	-	
	5 月	741*	46	70	43	1	66	-	-	-	
	6 月	720	47	69	44	1	66	-	-	-	
	7 月	744	47	79	44	1	70	-	-	-	
	8 月	744	47	62	45	1	66	-	-	-	
	9 月	720	48	73	45	1	74	-	-	-	
	10 月	744	47	73	45	1	67	-	-	-	
	11 月	720	47	67	45	1	65	-	-	-	
	12 月	744	46	62	45	1	67	-	-	-	
	2016 年	1 月	715*	46	63	41	1	67	-	-	-
		2 月	695*	46	59	45	1	69	-	-	-
		3 月	744	46	58	45	1	73	-	-	-
2015 年度	8751	47	79	41	12	-	68	74	65		
2014 年度	8751	46	75	40	12	-	67	69	65		
2013 年度	8758	46	67	43	12	-	68	75	63		
2012 年度	8751	46	72	43	12	-	71	82	66		

\* 機器点検等のため欠測がある。

\*\* 北勢局は 2016 年 1 月に日立アロカメディカル(株)製 MAR-21 から同社製 MAR-22 に機器更新を行った。

表 6 2015 年度の空間放射線量率 2 (宇宙線による線量率(約 30 nGy /h)を含まない)

測定年月	中勢伊賀局(nGy/h)			南勢志摩局(nGy/h)			東紀州局(nGy/h)*				
	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	最小値	平均値	最大値	最小値		
2015 年	4 月	66	92	63	52	64	50	83	99	81	
	5 月	66	103	64	53	66	51	83	95	81	
	6 月	66	91	63	53	82	50	84	109	80	
	7 月	66	96	63	52	70	49	84	111	80	
	8 月	66	84	64	53	69	49	84	114	80	
	9 月	66	81	63	53	83	49	84	121	80	
	10 月	66	92	64	53	65	50	83	94	81	
	11 月	66	91	64	52	70	49	83	118	81	
	12 月	66	84	64	51	68	49	83	96	81	
	2016 年	1 月	66	93	64	51	81	49	83	111	81
		2 月	66	78	63	51	74	49	83	101	81
		3 月	66	81	63	51	71	49	83	116	81
2015 年度	66	103	63	52	83	49	83	121	80		
2014 年度	66	110	62	53	80	49	83	115	78		
2013 年度	66	99	55	52	80	43	87	123	78		
2012 年度	65	108	59	53	84	48	92	125	89		

\*東紀州局では 2013 年 9 月に検出器近傍の建屋が撤去され測定環境が変化したため、線量率のレベルに変化が生じた。

地上 1m でのサーベイメータによる測定についても、異常値は観測されておらず、機器の精度、

回数および測定条件等から、結果が変動しやすく、測定地点の違いからモニタリングポストの測定値

より高い値を示す傾向があることを考慮すると、2015年度の測定結果は平常値の範囲と判断された。異常時に的確に対応するためには、さらに観測を継続して平常時における各地域の空間放射線量率の変動幅などについて把握しておく必要があると思われる。

#### 4. モニタリング強化

モニタリング強化は海外で原子力事象が発生した際等に国からの指示に基づき実施することになっており、その実施内容は「環境放射能水準調査委託実施計画書」（原子力規制庁）<sup>1)</sup>に定められている。

2015年度は北朝鮮による核実験実施発表があった1月6日から1月15日まで9日間モニタリング強化を行った。実施内容はモニタリングポストによる空間放射線量率連続測定の監視強化と大気浮遊じん、降下物および降水についてのガンマ線核種分析であった。

##### 1) 空間放射線量率連続測定の監視強化

モニタリングポストの連続測定データは現在オンラインで10分間値が国へ報告されており、その値を元に公表<sup>13)</sup>が行われたが、ここでは、期間中の1時間値の最大値、最小値、平均値を表7に示した。核実験実施発表前と比較して大きな変動はなく、影響は認められなかった。

表7 モニタリング強化期間の空間放射線量率

nGy/h		平均値	最大値	最小値
北勢局	期間前	46	49	45
	期間中	46	49	45
中勢伊賀局	期間前	66	68	65
	期間中	66	69	64
南勢志摩局	期間前	51	53	50
	期間中	51	53	50
東紀州局	期間前	83	92	82
	期間中	83	84	82

期間前：2016年1月1日～5日

期間中：2016年1月6日10:00～15日13:00

##### 2) ガンマ線核種分析

###### ①大気浮遊じん

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

###### ②降下物および降水

通常モニタリングにおいて全β放射能測定に使用している降水採取装置を用い24時間の降下物および降水を採取した。降水が80mL以上

採取された場合は80mLを分取し、80mL未満の場合は全量をU-8容器に充填し測定試料とした。降水がなかった場合は採取装置内を少量の純水で洗浄し洗浄液をU-8容器に充填し試料とした。この測定試料を測定時間20,000秒でガンマ線核種分析を行った。

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

#### まとめ

- 2015年度の三重県定点における降水中の全ベータ放射能測定からは、特に異常なデータは得られなかった。
- 2015年度の環境試料（降下物、大気浮遊じん、陸水、土壌）および食品試料（蛇口水、農産物、水産物）中のガンマ線放出核種の測定結果では、人工放射性核種であるCs-137が一部試料から検出された。検出濃度は問題となるレベルではなかったが、今後も調査を継続し推移を把握していく必要がある。
- 2015年度の三重県定点におけるモニタリングポストによる連続測定、サーベイメータを用いた月1回の測定では、空間放射線量率の異常値は観測されなかった。
- 2015年度の環境放射能水準調査で得られた結果は2014年度の観測結果とほとんど変化はなく平常の状態であったと言える。
- 2016年1月6日の北朝鮮による核実験実施発表への対応として行ったモニタリング強化では、異常は観測されなかった。

本報告は、原子力規制庁からの受託事業として、三重県が実施した「環境放射能水準調査」の成果である。

#### 文 献

- 原子力規制庁監視情報課放射線環境対策室：環境放射能水準調査委託実施計画書(2015)。
- モニタリング調整会議：「総合モニタリング計画」(2013)。
- 原子力規制委員会ウェブサイト「放射線モニタリング情報」<http://radioactivity.nsr.go.jp/ja/>
- 原子力安全委員会：環境放射線モニタリング指針(2008)。
- 文部科学省：放射能測定法シリーズ1「全β放射能測定法」(1976)。
- (社)日本アイソトープ協会：アイソトープ手帳11版、丸善(2011)。

- 7) Measurement of Radionuclides in Food and the Environment / A Guidebook, IAEA, VIENNA (1989).
- 8) ウェブサイト「日本の環境放射能と放射線」  
<http://www.kankyo-houshano.go.jp/>
- 9) (財)日本分析センター：平成5年度～平成22年度環境放射能水準調査結果総括資料.
- 10) 2012年3月15日付け食安発0315第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令, 乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二の(一)の(1)の規定に基づき厚生労働大臣が定める放射性物質を定める件及び食品, 添加物等の規格基準の一部を改正する件について」.
- 11) 尾辺俊之, 富森聡子, 橋爪 清：三重県内の空間放射線量率について, 三重県衛生研究所年報 No.39, 93-98 (1993).
- 12) 吉岡満夫：公衆の被ばく線量評価, 中島敏行編 緊急時における線量評価と安全への対応, 放射線医学総合研究所, 17-40 (1994).
- 13) 原子力規制委員会ウェブサイト「北朝鮮による核実験実施発表に対する放射能影響の観測結果について」  
<http://www.nsr.go.jp/activity/monitoring/monitoring5.html/>

## 資料

# 三重県における PM<sub>2.5</sub> 環境濃度測定の結果について (2014 年度)

寺本佳宏, 岩崎誠二, 佐来栄治, 佐藤邦彦, 阪本品子, 川合行洋

## The Environmental Concentration of PM<sub>2.5</sub> in the 2014 Fiscal Year in Mie Prefecture

Yoshihiro TERAMOTO, Seiji IWASAKI, Eiji SARAI, Kunihiko SATO,  
Akiko SAKAMOTO and Yukihiro KAWAI

三重県内の 2 地点 (津立成局, 尾鷲局) において 2014 年度 PM<sub>2.5</sub> 環境濃度測定および成分分析を実施した。

調査期間中における PM<sub>2.5</sub> 質量濃度の最高値は, 津立成局の 29.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であり, 環境基準 (短期基準: 日平均値 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) を超過した日は 1 日もなく, 調査期間中における平均濃度も環境基準 (長期基準: 年平均値 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ ) 以下であった。

内容成分分析を実施した結果, 元素状炭素 (EC) は調査期間を通じて変動が少なかったが, 有機炭素 (OC) は質量濃度と同様の変動を示した。また硫酸イオン ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) とアンモニウムイオン ( $\text{NH}_4^+$ ) は調査期間中ほとんどの日に検出されたが, 硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ ) は, 秋季と冬季の質量濃度が高くなった日の津立成局のみで検出された。

キーワード: PM<sub>2.5</sub>, 成分分析, 元素状炭素 (EC), 有機炭素 (OC), イオン成分

### はじめに

三重県では, 2010 年度から一般環境測定局と自動車排出測定局において, 自動測定機を使い, PM<sub>2.5</sub> 質量濃度の監視を行っており, 2016 年 3 月末現在, それぞれ 20 局と 4 局の計 24 局 (四日市市が管理しているもの含む) において, 24 時間連続で監視している。

PM<sub>2.5</sub> 対策を行うためには, 発生源を特定することが有効であり, 本県では, 2011 年度秋季から, PM<sub>2.5</sub> 成分分析を実施している。

年度を通じて調査を実施した 2012 年度と 2013 年度の結果については, これまでに大気環境学会で発表<sup>1,2)</sup>してきた。今回は, 2014 年度の本県における PM<sub>2.5</sub> 成分分析結果について報告する。

### 方法

調査地点は, 県中部都市域の一般測定局 (津立成小学校局 (津市久居野村町 560 番地), 以下「津立成局」と略す) と県南部清浄地域の一般測定局 (尾鷲県職員公舎局 (尾鷲市宮ノ上町 7-34),

以下「尾鷲局」と略す) を調査地点とした (図 1)。尾鷲局は, 2011 年度秋季から継続して PM<sub>2.5</sub> 成分分析を実施している地点である。



図 1 調査地点

調査は, 環境省が示した表 1 の統一調査期間に実施した。

表1 調査期間

季節	年月日
春	2014年5月7日～5月21日
夏	2014年7月22日～8月5日
秋	2014年10月21日～11月4日
冬	2015年1月20日～2月3日

試料採取は、Thermo SCIENTIFIC 社製 FRM2025 を使用し、捕集ろ紙は、石英繊維 (PALL 社製 2500QAT-UP) と PTFE (PALL 社製 Teflo) の2種類とし、午前10時から翌午前10時の24時間(1日)連続測定で実施した。

内容成分分析は、炭素成分(OC, EC)は Sunset 社製の Lab Analyzer を、イオン成分(Na<sup>+</sup>, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>)はダイオネクス社製のイオンクロマトグラフ ICS-2000 および ICS-1500 を使用して実施した。

PM<sub>2.5</sub>の採取方法および成分分析方法は、環

境省マニュアルおよびガイドライン<sup>3,4)</sup>に従った。

結果

2012, 2013 年度の調査<sup>1,2)</sup>と異なり、2014 年度は、統一調査期間中に、PM<sub>2.5</sub> 質量濃度が環境基準(短期基準:日平均値 35μg/m<sup>3</sup>)を超過した日は一度もみられず、また各地点の調査期間中における平均 PM<sub>2.5</sub> 質量濃度も環境基準(長期基準:年平均値 15μg/m<sup>3</sup>)以下であった(図2)。一方、当研究所(四日市市桜町 3684-11)屋上で実施している調査では、2014 年度の他の時期(4月, 3月)に 35μg/m<sup>3</sup>を超過する日があることが観測されており<sup>5,6)</sup>、各季2週間の調査では、高濃度事例(日平均値 35μg/m<sup>3</sup>超)を必ずしも捉えることができないことがあることが明らかになった。PM<sub>2.5</sub> 質量濃度は、津立成局と尾鷲局でほぼ同じ傾向を示したが(相関係数 0.68)、都市域である津立成局が、清浄地域である尾鷲局より高く、都市域の地点は、2012 年度(川越局), 2013 年度(伊賀局)と異なるものの、これまでの調査<sup>1,2)</sup>と同じ傾向であった。

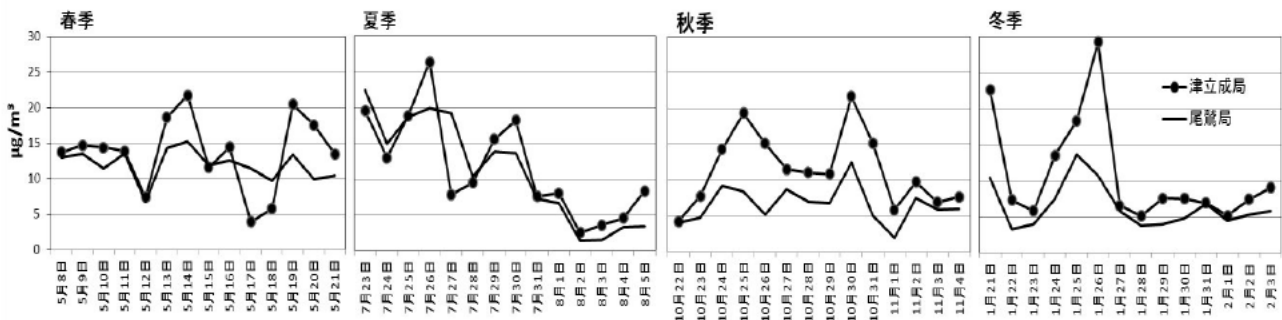


図2 季節毎のPM<sub>2.5</sub>質量濃度の経日変動(日付は試料採取開始日を示す)

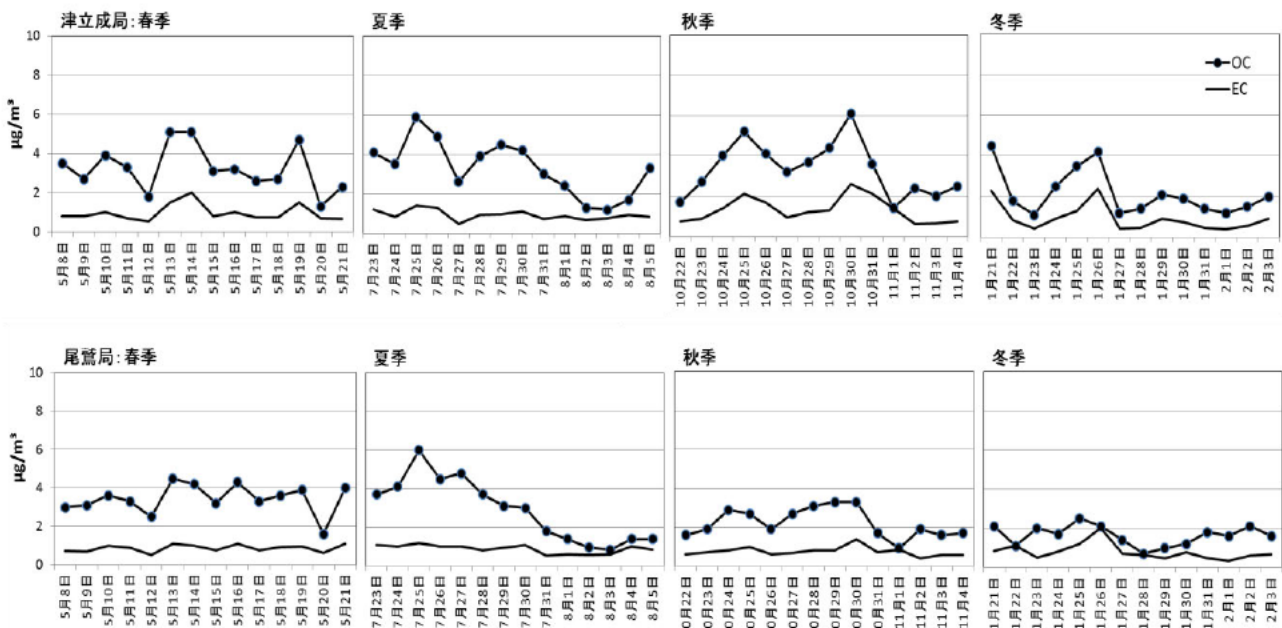


図3 季節毎の元素状および有機炭素成分濃度の経日変動(日付は試料採取開始日を示す)

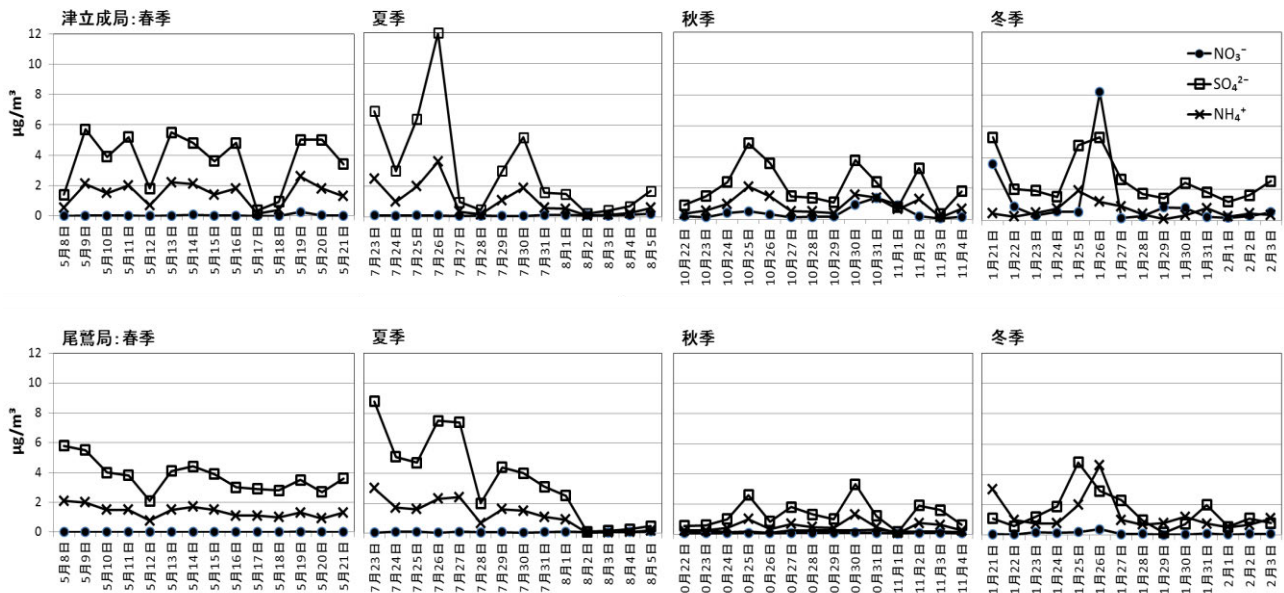


図4 季節毎の3種イオン成分濃度の経日変動（日付は試料採取開始日を示す）

炭素成分のうち、ECは、約 $1\mu\text{g}/\text{m}^3$ 前後（ $0.33\sim 2.6\mu\text{g}/\text{m}^3$ ）で日変動は比較的少なかったが、OCは、 $0.70\sim 6.1\mu\text{g}/\text{m}^3$ と経日変動が大きく、 $\text{PM}_{2.5}$ 質量濃度と似た動き（相関係数0.51）を示した（図3）。

イオン成分は、 $\text{SO}_4^{2-}$ と $\text{NH}_4^+$ が調査期間中毎日検出され、 $\text{PM}_{2.5}$ 質量濃度と似た動きを示した（ $\text{PM}_{2.5}$ 質量濃度との相関係数 $\text{SO}_4^{2-}$ ：0.57、 $\text{NH}_4^+$ ：0.69）。 $\text{NO}_3^-$ は、尾鷲局は全期間を通じてほとんど検出されなかったが、津立成局では、秋季と冬季の質量濃度が高くなった日に検出されることがあり、特に冬季の1月21日に $3.6\mu\text{g}/\text{m}^3$ 、同26日に $8.2\mu\text{g}/\text{m}^3$ と非常に高い濃度が検出された（図4）。

#### まとめ

- 2014年度の三重県では、統一調査期間中に $\text{PM}_{2.5}$ 質量濃度が環境基準（短期基準）を超過した日は一度もなく、また各地点、季節別の平均質量濃度も環境基準（長期基準）以下であった。
- 質量濃度は、津立成局と尾鷲局でほぼ同じ傾向を示したが、都市域である津立成局が、清浄地域である尾鷲局より高くなり、これまでの調査と同じ傾向であった。
- 炭素成分のうち、ECの経日変動は比較的小さかったが、OCの経日変動は大きく、質量濃度の変動と似た動きを示した。
- イオン成分のうち、 $\text{SO}_4^{2-}$ と $\text{NH}_4^+$ が調査期間中ほとんどの日にみられ、質量濃度の変動と似た動きを示した。 $\text{NO}_3^-$ は、尾鷲局では全期間を通じてほとんどみられなかったが、津立成局では、秋季と冬季の質量濃

度が高くなった日にみられることがあった。

#### 文献

- 1) 寺本佳宏, 高士昇吾, 西木美紗子, 西山 亨, 佐来栄治, 吉岡 理, 西中隆道：三重県における $\text{PM}_{2.5}$ 環境濃度測定の結果について（2012年度），第54回大気環境学会年会講演要旨集 p360(2013.9.18-20 新潟県新潟市)。
- 2) 寺本佳宏, 高士昇吾, 西木美紗子, 佐来栄治, 岩崎誠二, 秋永克三, 西中隆道：三重県における $\text{PM}_{2.5}$ 環境濃度測定の結果について（2013年度），第55回大気環境学会年会講演要旨集 p262(2014.9.17-19 愛媛県松山市)。
- 3) 「微小粒子状物質（ $\text{PM}_{2.5}$ ）の成分分析ガイドライン」（平成23年7月環境省水・大気環境局）。
- 4) 大気中微小粒子状物質（ $\text{PM}_{2.5}$ ）成分測定マニュアル(平成24年4月環境省水・大気環境局)。
- 5) 橋本貴世, 山神真紀子, 武田麻由子, 熊谷貴美代, 寺本佳宏, 宮田朋子, 長谷川就一, 菅田誠治：2014年4月における $\text{PM}_{2.5}$ 高濃度事例の解析，第56回大気環境学会年会講演要旨集 p425(2015.9.15-17 東京都新宿区)。
- 6) 山神真紀子, 寺本佳宏, 牧野雅英, 木下 誠, 木戸瑞佳, 長谷川就一, 菅田誠治：2015年2,3月における $\text{PM}_{2.5}$ 高濃度事例の解析，第56回大気環境学会年会講演要旨集 p280(2015.9.15-17 東京都新宿区)。

三重県保健環境研究所年報  
ISSN（国際標準逐次刊行物番号）等履歴

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

---

三重県保健環境研究所年報  
第18号(通巻第61号)

2016年

発行年月 平成28年10月(2016.10)

編集発行 三重県保健環境研究所

〒512-1211 三重県四日市市桜町3684-11

TEL 059-329-3800

FAX 059-329-3004

---