

愛媛県立衛生研究所年報

第 58 号

平成 8 年度 (1996)

Annual Report
of
Ehime Prefectural Institute of Public Health



愛媛県立衛生研究所

愛媛県立衛生研究所年報

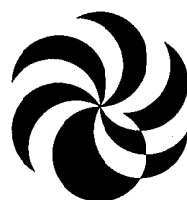
第 58 号

平成 8 年度 (1996)

Annual Report

of

Ehime Prefectural Institute of Public Health



愛媛県立衛生研究所

ま え が き

平成8年度の研究業務成績を御報告申し上げます。

研究報告及び資料等を中心に、職員の一年間の実績を取りまとめました。

関係各位の御参考になれば幸甚です。

さて、本県におきましては平成7年9月に「新しい地域保健体制検討委員会」が設置され、愛媛県の地域保健対策のあり方について総合的な検討がなされてまいりましたが、本年2月にその検討結果が報告されました。

その中で衛生研究所については設置目的である調査研究、研修指導、試験検査、公衆衛生情報の収集・解析・提供、全般にわたる機能強化が提言されています。

また、「地方衛生研究所の機能強化について」（平成9年3月14日厚生省発健政第26号、厚生事務次官から各都道府県知事・指定都市市長宛）により、地方衛生研究所の一層の機能強化を図る趣旨で「地方衛生研究所設置要綱」が改正されたところがあります。

また、明治以来の伝染病予防法の見直しの中、感染症対策における衛生研究所の重要性も再認識されてきました。時代の推移とともに新しい衛生研究所を目指して、我々には一層の努力と研鑽が期待されていると考えます。

現在、当所では食品衛生検査施設業務管理基準（いわゆるGLP）を制定する作業の真っ最中であり、精度管理機能も向上するべく着々と準備中です。

今後とも、関係各位の一層の御指導、御鞭撻をよろしくお願い申し上げます。

平成9年8月

愛媛県立衛生研究所所長

井上博雄

目 次

I	研究報告	
	パルスフィールド電気泳動とRAPD法による腸管出血性大腸菌O157:H7の型別	1
	愛媛県における麻疹ウイルスの血清疫学的研究(2)	5
	愛媛県におけるインフルエンザの流行(1996/97シーズン)	9
	ELISA法によるアストロウイルス血清型別法の開発と地域におけるウイルス型別流行状況	14
	愛媛県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングの現状	19
	愛媛県における先天性副腎過形成症マス・スクリーニング	24
	PCR-RFLP, SSCP法を用いたHLA-A座のDNAタイピング	28
	ポストカラムイオンクロマトグラフによるシアン様物質の検出について	36
	魚類中のホルムアルデヒドについて	41
II	資 料	
	平成8年度法定伝染病事例報告	45
	平成8年度食中毒事例報告	46
	平成8年度伝染病流行予測調査成績	47
	愛媛県感染症サーベイランス事業調査成績	49
	平成8年度先天性代謝異常検査成績	53
	平成8年度神経芽細胞腫検査成績	54
	平成8年度微生物検査精度管理実施結果	55
	平成8年度し尿処理場放流水基準試験結果について	57
	平成8年度松くい虫防除薬剤空中散布に伴う調査について	60
	平成8年度愛媛県産野菜・果実等の残留農薬分析調査成績	62
	平成8年度食品添加物使用実態調査	64
	平成8年度医薬品の品質調査	65
	平成8年度有害物質を含有する家庭用品の調査	66
	平成8年度温泉分析成績	67
	平成8年度理化学試験精度管理実施結果	69
III	抄 録	
	他誌発表論文	71
	学会発表	72
IV	第11回公衆衛生技術研究会(抄録)	75
V	業務実績	
	1 組織及び業務概要	81
	2 微生物試験室の概要	87
	3 理化学試験室の概要	89
VI	技術研修指導, 研究発表の状況	91

I 研 究 報 告

パルスフィールド電気泳動とRAPD法による 腸管出血性大腸菌O157:H7の型別

青木里美 奥山正明 烏谷竜哉 田中 博
近藤玲子 大橋有里 森 正俊 井上博雄

DNA Fingerprinting of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 Strains by both Pulsed-Field Gel Electrophoresis And Random Amplified Polymorphic DNA

Satomi AOKI, Masaaki OKUYAMA, Tatsuya KARASUDANI, Hiroshi TANAKA
Reiko KONDOU, Yuri OOHASHI, Masatoshi MORI, Hiroo INOUYE

Ten isolates of Enterohemorrhagic Escherichia coli O157:H7 were analyzed by both pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) and random amplified polymorphic DNA (RAPD).

PFGE of Xba I-digested DNA fragments clearly separated E. coli O157:H7 strains from nontoxicogenic E. coli strains. However, among the E. coli O157:H7 strains, the restriction patterns either were identical or differed only by a few fragment bands. RAPD allows genetically different bacterial strains to be distinguished with great sensitivity and efficiency. In this study, two isolates from one family and three isolates from the other family had a same PFGE pattern each other, but isolates from epidemiologically unrelated sources had different PFGE patterns. So it is strongly suggested that the two family cases were due to a common source of infection or person to person infection in the family. We conclude that genome typing by PFGE and RAPD is powerful tool for the clonal relationships of E. coli O157:H7.

Keywords: Enterohemorrhagic Escherichia coli, O157:H7, pulsed-field gel electrophoresis, Random Amplified Polymorphic DNA

はじめに

腸管出血性大腸菌O157は、1990年浦和市で発生した集団下痢症以来、子供や老人を中心にほぼ全国的な広がりをみせている。1996年には、岡山県邑久町で学校給食による468人の集団発生が5月にあったのを発端に、全国各地で集団発生が頻発した。特に大阪府堺市の学校給食による集団発生は患者5727人死者2人の世界最大規模となっている。そして1996年8月厚生省はO157を指定伝染病に指定し、伝染病予防法で本菌感染症の対応を行うことにした。

本菌感染症の臨床像は、出血性腸炎を典型とする下痢とそれに続発して起こる溶血性尿毒症症候群(HUS)に代表される。この集団発生には感染源追跡のための疫学調査が不可欠であり、発生地での調査報告には、パルス

フィールド電気泳動法(PFGE)による型別、プラスミドのパターン、Random amplified polymorphic DNA(RAPD)分析等の結果が発表されている。

今回私達は、当所で集められたO157株についてそれが同一であるか否かを識別するため、疫学的調査研究に大変有効だとされているパルスフィールド電気泳動法¹⁻³⁾と簡便性・迅速性に優れたRAPD法⁴⁾を用いて検討したので報告する。

対象と方法

1. 対象

被検菌は、1996年7月～1997年3月に当所で集められた腸管出血性大腸菌O157の菌株10株(健康保菌者を含む人由来8株、食品等由来2株)について検討した。(表1)

表1 対象株の概要

No	分離年月	由来	原因菌(毒素型)	臨床症状
1	1996年7月	10代未満の女性	VT1&VT2	血便
2	1996年8月	90代の女性	VT1&VT2	
3	1996年8月	うどん	VT1&VT2	
4	1996年8月	うどん製造所ふきとり材料	VT1&VT2	
5	1996年11月	男性	VT1&VT2	無症状 *
6	1996年11月	10代未満の女性	VT1&VT2	下痢 *
7	1996年11月	10代未満の女性	VT1&VT2	下痢・腹痛・嘔吐*
8	1996年11月	10代未満の女性	VT1&VT2	下痢 **
9	1996年11月	30代の女性	VT1&VT2	無症状 **
10	1997年3月	女性	VT2	無症状

* , **はそれぞれ同一家族

2. 方法

(1) パルスフィールド電気泳動 (PFGE) 法

被検菌を平板培地で24時間培養後、200 μ lの水で、菌液の濃度をMcFarland 1位になるようにサスペンドした。その後、1000g、4℃で3分遠心し、沈澱菌体にcoldのCell Suspension Bufferと2% Clean Cut Agarose (Bio Rad) 50 μ lずつ混合し、ゲルブロック(1wellあたり70 μ l程度)を作製した。このゲルブロックに37℃、2時間のlysozyme処理と50℃、overnightのproteinase K処理を行った。その後、制限酵素の前処理としてpefabloc SCを含むTE bufferを加え、50℃、30分振とうしながらインキュベートを2回繰り返した。Pefabloc SCを含むTE bufferを、含まないTE bufferにかえ、氷上で30分インキュベート後、酵素処理のためのBuffer (50mM Tris-HCl, 10mM MgCl₂, 100mM NaCl)にかえ、制限酵素Xba I (Boehringer Mannheim)でDNAの切断を4時間行った。そして、1%アガロースゲルを支持体としたパルスフィールド電気泳動 (CHEF Mapper システム; Bio Rad) を行った。泳動用緩衝液は0.5 \times TBEで14℃に設定した。泳動条件は、6V/cm定電圧、4 to 8sec (linear ramp), 11時間 (角度は60度), 8 to 50sec (linear ramp), 9時間 (角度は60度)のランピングパルス法に従った。泳動後、0.5 μ g/mlのエチジウムブロミドで染色し、DNA断片を観察した。

サイズマーカーには、 λ ladder (Bio Rad) を用い、スタンダードとして国立感染症研究所より分与を受けた標準株I~V型を同時に泳動した。

(2) Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) 法

被検菌を普通寒天培地で24時間培養後、200 μ lの滅菌蒸留水に1 μ l定量エーゼ山盛りの菌を懸濁した。DNA抽出にはSepaGene (和光純薬)を用い、純水16.5 μ l, PCR buffer (100mM Tris-HCl pH8.3, 500mM KCl) 2.5 μ l, 25mM MgCl₂ 1.5 μ l, 2.5mM dNTP

2 μ l, プライマー (10 μ M) 1 μ l, Taq DNAポリメラーゼ 0.5 μ lに抽出したDNA溶液1 μ lを加えて全量を25 μ lとし、Perkin-Elmer Gene-AmpSystem 9600にてPCRを行った。PCRのプログラムは、95℃ 3分で熱変性させ、93℃ 30秒, 55℃ 30秒, 72℃ 1分を35回繰り返し、72℃ 3分, 4℃の条件である。プログラム開始後、ヒートブロックの温度が80℃程度になった時点でチューブを装置に入れるようにした。用いたプライマーの塩基配列は、5'-TGCCCGTCGT-3'である。その後、1.2%アガロースゲル, 0.5 \times TBE緩衝液にて電気泳動を行った。染色は、0.5 μ g/mlのエチジウムブロミドで行い、サイズマーカーには、 λ /Hind III digest (Wako)を用いた。

結 果

1. PFGE結果

PFGE像を図1に示した。表2には分類を示してある。この分類は国立感染症研究所の分類法を参考に100kb以下, 100kb-200kbの2か所で行った。対象株は国立感染症研究所に送付し、解析を依頼した株であり、当所でも同一の結果が得られるか調べてみた。100kb以下の部分では、No.2とNo.10は集団発生パターンではなく、分類法にはないパターンあった。No.2は48.5kb~97kbの間に接近した4本のバンドがあり、No.10は97kbの少し下に1本のバンドと61kb付近に非常に接近した2本のバンドがみられた。その他の8株はどのレーンも61kbに明るいバンドを認めたためII型とし、その中で細かい分類のaであった。100kb-200kbの部分では、100kb以下同様No.2およびNo.10は分類法にはない型で、その他を2つのパターン (II b, II c) に分類した。これは国立感染症研究所の結果と同様であった。スタンダードは、II型のみを載せている。

2. RAPD結果

RAPD像を図2に示した。表2には分類が示してある。

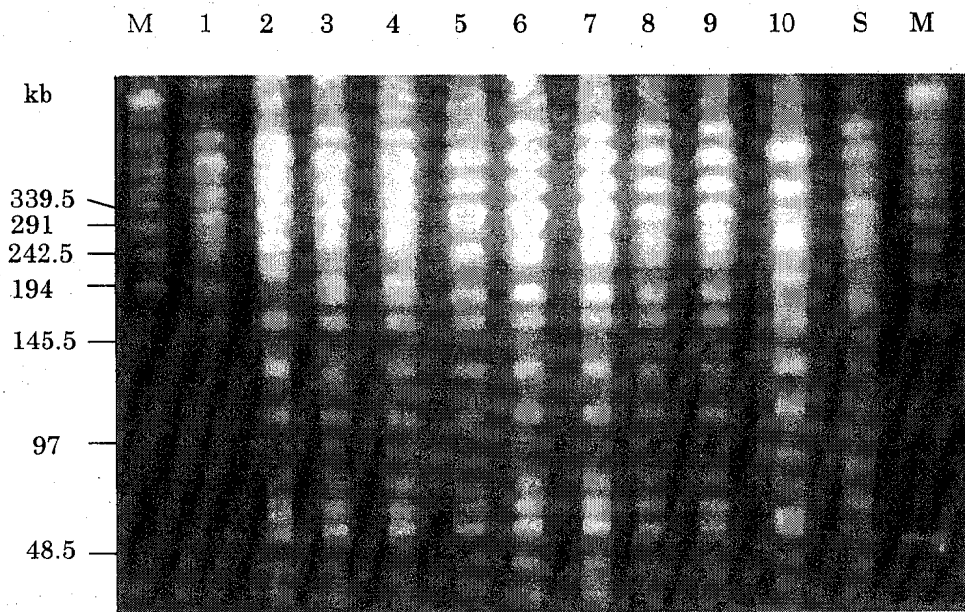


図1 O157のパルスフィールド電気泳動像

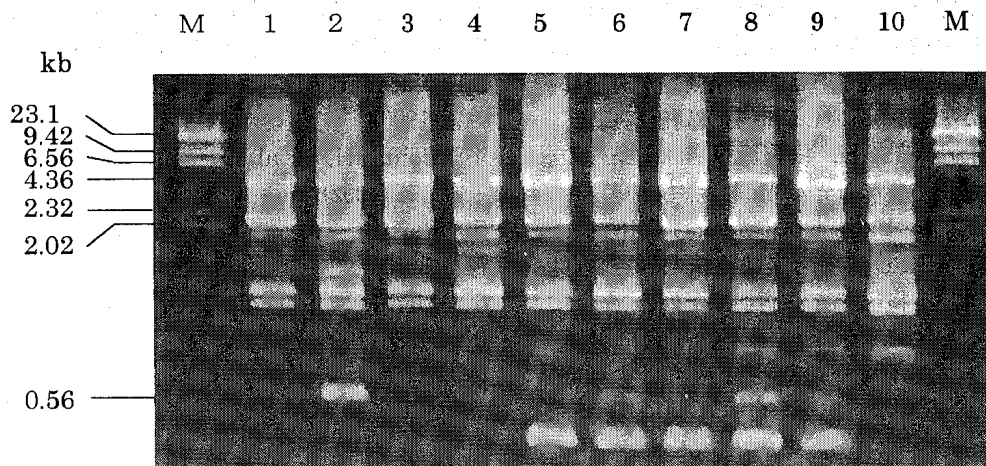


図2 O157のRAPD像

表2 PFGEとRAPDの結果

No	検体名	毒素型	PFGEのパターン		RAPDのパターン
1	患者A	VT1&VT2	II a	II c	II e
2	患者B	VT1&VT2	ND	ND	II f
3	うどん	VT1&VT2	II a	II c	II e
4	ふき取り材料	VT1&VT2	II a	II c	II e
5	患者C	VT1&VT2	II a	II b	II w
6	患者D	VT1&VT2	II a	II b	II w
7	患者E	VT1&VT2	II a	II b	II w
8	患者F	VT1&VT2	II a	II b	II w
9	患者G	VT1&VT2	II a	II b	II w
10	患者H	VT2	ND	ND	ND

PFGEのパターン左…100kb以下
右…100—200kb

NC…分類できない

(国立感染症研究所の分類法参照) 今回の菌株では3つのパターン(Ⅱe, Ⅱf, Ⅱw)に分類した。4.3kbおよび2.3kb, そして1.3kbの3本のバンドが増幅されている場合をⅡeとし, 1.6kb付近が増幅している場合をⅡf, 0.56kb以下に増幅があるものをⅡwとした。No.10は分類法にはないパターンであった。

考 察

今回私たちは, 1996年7月~1997年3月に分離された腸管出血性大腸菌O157のうち10株について制限酵素Xba Iによる菌DNAの切断パターンをパルスフィールド電気泳動で比較すると同時に, RAPD法を使ってこれら菌株間の識別を検討した。2つの方法を用いて調べた10株のうち疫学的に無関係な2家族からそれぞれ分離された3株と2株は, 家族内分離株で同一のパターンであった。このことは感染源が同一であるか, あるいは家庭内での人から人への感染の可能性を示唆するものである。うどん由来株とうどん製造所ふきとり材料由来株についても, 同一の結果であったので, 調理場の汚染がうどん製品汚染につながったと考えられる。

パルスフィールド電気泳動法は, E.coliのDNA解析だけでなく他の微生物の遺伝子解析に応用されている。その遺伝子解析により, 病原因子および感染経路が克明に解析できる可能性がある。しかし, 機器が高価なこと, 所要時間が5~7日かかること, 検査行程や泳動条件の検討にある程度熟達が必要なことなど問題点も多い。今回, 同一菌株を使ってRAPD法も試みたが, PFGE法で結果の異なる菌株はRAPD法でも異なる株と判定された。このことは, 違いを検出できる適切な配列のプライマーを使用し, マグネシウムの濃度, Taq DNA polymeraseおよびプライマーの量を最適値にすれば

RAPDは, 迅速かつ簡便に結果を出すことができ, 疫学的な検討材料を提供するのに十分であることを示唆する。

今後, 愛媛県で検出される他の菌についても検討を重ねていきたい。

ま と め

1. 10株のうち, 2家族から分離された株は各々同一であった。よって, 同一の感染源か, 家族内感染の可能性が高い。
2. 家族以外の患者3株は, 異なる型であったため, 感染源が各々異なっていたと思われる。
3. 今回の調査では, Ⅱ型が多かった。
4. PFGEによる解析結果はRAPDの結果より情報量は多いと考えられているが, 今回の結果では, 同じ様な結果が示された。よって, 複数のプライマーを平行して解析をすれば, 家族内感染や大まかな比較にはRAPD法でも十分判定できると思われる。

文 献

- 1) 諸岡達也他: 感染症学雑誌, 70, 7-9(1996)
- 2) 高木教済他: 医学検査, 46, 11-15(1996)
- 3) Watanabe H, et al: Lancet, 348, 831-832. (1996)
- 4) Bohm H, et al: J Clin Microbiol, 30, 2169-2172(1992)
- 5) Barrett TJ, et al: J Clin Microbiol, 32, 3013-3017(1994)
- 6) Madiko G, et al: J Clin Microbiol, 33, 1534-1536(1995)

愛媛県における麻疹ウイルスの血清疫学的研究 (2)

呼石弘子 大瀬戸光明 高橋一博 森 正俊
井上博雄 中野省三*¹ 石丸啓郎*¹

Sero-epidemiological Study on Measlesvirus in Ehime (2)

Hiroko YOBIIISHI, Mitsuaki OSETO, Kazuhiro TAKAHASHI, Masatoshi MORI,
Hiroo INOUE, Shozo NAKANO*¹, Yoshiro ISHIMARU*¹

The reported numbers of measles patients in 1996 increased six to twelve fold than the annual numbers for the past three years in Ehime prefecture. Then we conducted neutralization test to measure measles virus antibodies of residents in Matsuyama area. The antibodies prevalence curve in 1996 were compared with those in 1994 and 1995. The percent seropositive for measles antibodies for young children in 1996 shifted about 20% from those in 1994 and 1995. It indicated that the major target of measles was non-immunized young children aged 1 to 3 years.

Keywords : measles virus, neutralization (NT) antibody titer, vaccination

はじめに

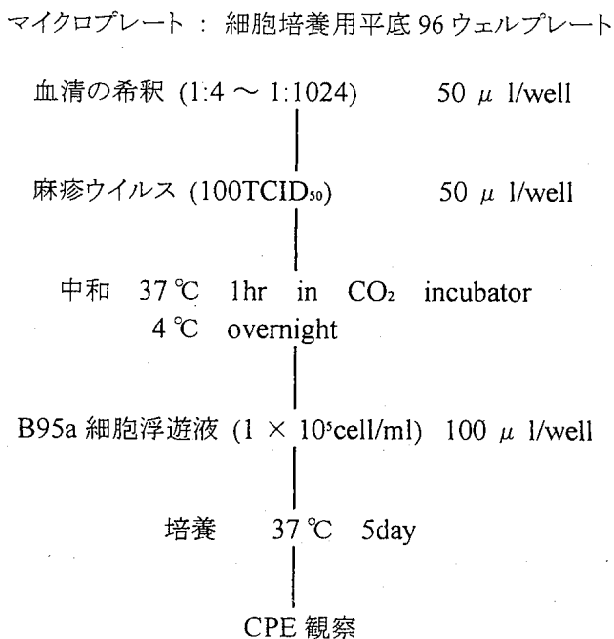
麻疹は小児の重要なウイルス感染症で、我が国においても年間十数件の麻疹による小児の死亡例があるといわれている。開発途上国では致命率が高く、年間100万人の小児が死亡しており、世界各地でワクチンによる根絶計画¹⁾が実施されている。

本県での麻疹ワクチン接種率は60-70%程度で当所では麻疹予防対策の基礎的な資料を得るため1994年から地域住民の麻疹抗体価の測定²⁾⁴⁾を行い免疫状況を調査し、麻疹の血清疫学にはHI抗体に比べ中和抗体が適していることを述べてきた。今回は1996年1月から7月に約2年ぶりに麻疹の小流行がみられたので、松山保健所管内の住民の中和抗体保有状況を調査し、血清疫学的検討を加えたので結果を報告する。

対象と方法

麻疹抗体価測定に用いた血清は1994, 1995, 1996年10月から11月の間に採取した伝染病流行予測調査用の年齢区分別血清を用いた。採取血清数は各年234, 226, 208例であった。また、各年とも1歳から6歳の年齢層についてはワクチン歴の調査も同時に行った。

表1 麻疹ウイルス中和抗体価測定法



愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

* 1 石丸小児科医院

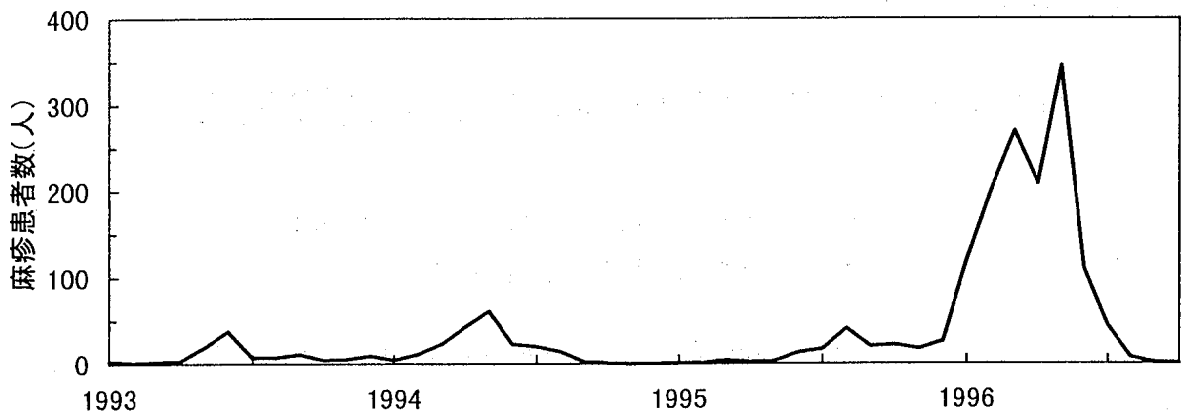


図1 愛媛県感染症サーベイランスの月別麻疹患者報告数（1993年～1996年）

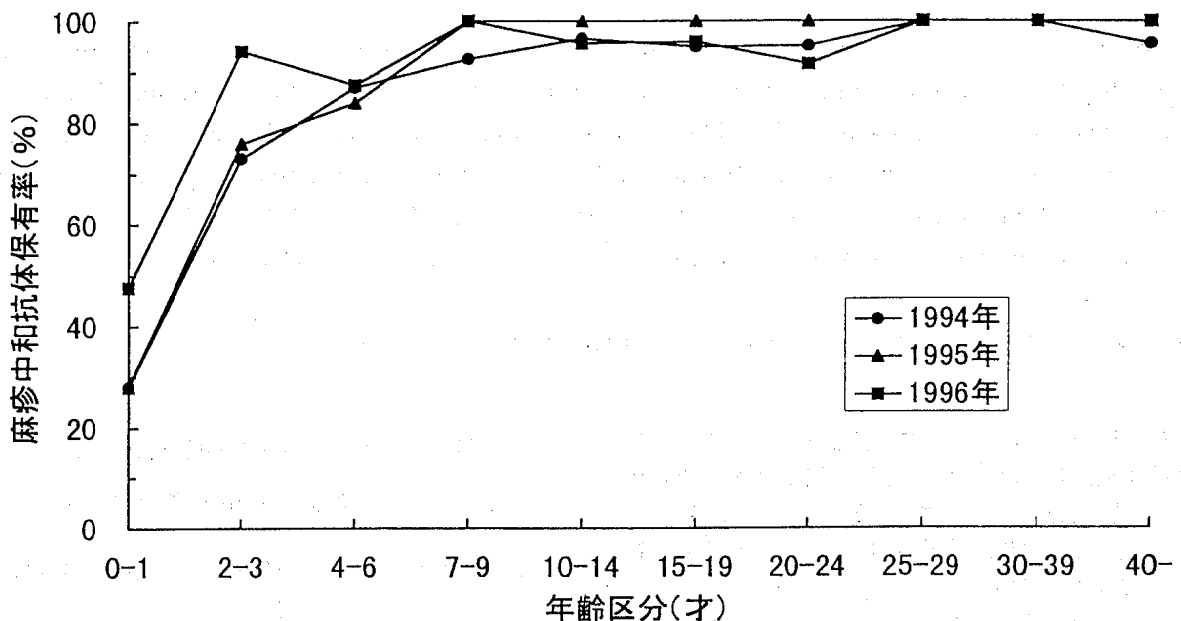


図2 年齢区分別麻疹中和抗体保有状況（1994年～1996年）

麻疹ウイルス中和試験の方法は表1に示した。麻疹ウイルス豊島株およびノ瀬株とB95a細胞（EBウイルスでトランスフォームしたマーマセットB細胞由来）は国立感染症研究所の小船博士から分与されたものを用いた。マイクロプレート上で8倍から1024倍まで2倍段階希釈した血清50 μ lに100TCID₅₀に調整した麻疹ウイルス液を50 μ lずつ各ウェルに加え、つづいて37 $^{\circ}$ CのCO₂インキュベーター内で1時間放置後4 $^{\circ}$ Cで一晩放置し、B95a細胞³⁾浮遊液（1 \times 10⁵cell/ml）を100 μ l加え、5日間培養し、CPEを観察して判定した。

結 果

1. 愛媛県の月別麻疹患者報告数（図1）

図1は感染症サーベイランスにおける月別麻疹患者の報告数で愛媛県ではここ数年流行の閑期が続いていたが

1996年は患者数が1月から7月に多く報告され、10月までに1300人以上にのぼり流行の年にあたった。これは1986年以降最も患者数が多かった。

2. 年齢区分別麻疹中和抗体保有状況（図2、表2、表3、表4）

図2より年齢区分別の麻疹抗体保有状況は1994から1996年の3年間とも年齢とともに抗体陽性者が増加し、7歳から9歳以上ではほぼ100%の抗体保有率を示し高い免疫度が保たれていた。患者発生が非常に少なかった1994年と1995年では保有率曲線にほとんど変動がないのに対し、1996年は0歳から3歳の年齢層で保有率の増加がみられた。これは1996年の患者の多発を反映したためと考えられた。

表2 年齢区分別麻疹中和抗体保有状況（1994年）

年齢区分 (歳)	検査数	NT抗体価 (Toyoshima株)									抗体陽性率 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	>1024	
0-1	25	18	1		1	3	1	1			28.0
2-3	26	7		1	3	4	5	4		2	73.1
4-6	23	3			2	6	5	2	4	1	87.0
7-9	27	2		3	8	6	6	1	1		92.6
10-14	29	1		2	4	5	7	6	3	1	96.6
15-19	20	1			7	5	2	3	1	1	95.0
20-24	21	1		4	5	6	2	3			95.2
25-29	20			3	5	7	2	2	1		100.0
30-39	20			4	6	4	6				100.0
40-	23	1	1	1	6	7	2	4	1		95.7
TOTAL	234	34	2	18	47	53	38	26	11	5	85.5

表3 年齢区分別麻疹中和抗体保有状況（1995年）

年齢区分 (歳)	検査数	NT抗体価 (Toyoshima株)									抗体陽性率 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	>1024	
0-1	25	18	1			1	1	3	1		28.0
2-3	25	6	1			4	3	5	3	3	76.0
4-6	25	4				3	11	2	4	1	84.0
7-9	24			1	4	3	7	5	4		100.0
10-14	23			3	2	2	7	4	4	1	100.0
15-19	20				3	1	5	6	4	1	100.0
20-24	21				1	5	4	8	2	1	100.0
25-29	20			1	2	2	7	6	2		100.0
30-39	21			1	1	3	7	7	1	1	100.0
40-	20				1	2	5	6	4	2	100.0
TOTAL	224	28	2	6	14	26	57	52	29	10	87.5

表4 年齢区分別麻疹中和抗体保有状況（1996年）

年齢区分 (歳)	検査数	NT抗体価 (Toyoshima株)									抗体陽性率 (%)
		<8	8	16	32	64	128	256	512	>1024	
0-1	19	10	1	1	1	1		1	1	3	47.4
2-3	17	1		1	2		4	3	2	4	94.1
4-6	24	3			2	3	5	6	2	3	87.5
7-9	20		1	1	5	5	2	2	1	3	100.0
10-14	23	1		2	4	7	4	1	3	1	95.7
15-19	25	1		3	5	7	5	2	2		96.0
20-24	12	1		1	2	4	3		1		91.7
25-29	16			1	2	6	5	2			100.0
30-39	10				1	5	2	1		1	100.0
40-	14		1		4	4	4		1		100.0
TOTAL	180	17	3	10	28	42	34	18	13	15	90.6

3. ワクチン接種歴別の抗体保有状況（表5）

6歳以下のワクチン接種を受けた者の割合は1994年から1996年の3年間ともほぼ同じで50%弱だった。0歳児でワクチン未接種でかつ抗体陽性例が各年数例みられたが、ほとんどが6ヶ月齢未満で抗体価も低いことから母親からの移行抗体と思われた。1歳以上のワクチン未接種でかつ抗体陽性例はほとんどが自然感染と考えられる。1994年と1995年の1才以上のワクチン未接種者は抗体陰性者が多く1994年は21名中16名（76%）、

1995年は29名中16名（55%）であったが1996年は22名中9名（41%）と抗体陰性者の減少がみられ、自然感染が多かったことが推察された。麻疹の抗体保有率は他のウイルスに比べ非常に高いレベルで保たれているが、麻疹ウイルスは0歳から4歳くらいの幼児におけるわずかな感受性群を標的にして流行をおこし得る伝搬力の強さが伺われた。したがってワクチンによって効果的に麻疹を予防するためには、接種の時期をできるだけ早くする必要のあることを示している。

表5 ワクチン接種歴別の抗体保有状況

年次	ワクチン,抗体の有無別	0歳	1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	計	(%)
1996年	ワクチン(-),抗体(-)	5	5	1		1	1	1	14	23.7
	ワクチン(+),抗体(-)								0	-
	ワクチン(+),抗体(+)		2	5	7	7	4	3	28	47.5
	ワクチン(-),抗体(+)	4	3	2	2	5		1	17	28.8
	計	9	10	8	9	13	5	5	59	100.0
1995年	ワクチン(-),抗体(-)	9	8	3	2		2	1	25	33.8
	ワクチン(+),抗体(-)		1	1					2	2.7
	ワクチン(+),抗体(+)		2	8	6	5	8	3	32	43.2
	ワクチン(-),抗体(+)	2	3		5	2	2	1	15	20.3
	計	11	14	12	13	7	12	5	74	100.0
1994年	ワクチン(-),抗体(-)	11	7	4	2	2		1	27	38.6
	ワクチン(+),抗体(-)		1						1	1.4
	ワクチン(+),抗体(+)		2	10	6	5	6	4	33	47.1
	ワクチン(-),抗体(+)	4		1	1	2		1	9	12.9
	計	15	10	15	9	9	6	6	70	100.0

4. 豊島株と一ノ瀬株に対する麻疹中和抗体価の比較 (図3)

1980年代の流行株で赤血球凝集素に変異がみられ、モノクローナル抗体による解析で抗原変異を示した一ノ瀬株を用いて1995年の血清226例の中和テストを行い、豊島株と比較した。その結果、図3に示すように両者に対する抗体価の相関係数は0.69で大きな差異や偏りは認められなかった。このことから一ノ瀬株の抗原変異は中和抗体価に影響を及ぼすほどではないと考えられた。

考 察

B95a細胞を用いる麻疹中和抗体測定法は、手技的には簡単に実施でき、中和抗体が直接生体防御に関係する抗体であることを考えてもHI(麻疹赤血球凝集抑制)試験4)よりも適していると思われた。現在は麻疹ワクチンにより、以前のように毎年麻疹が大流行することはなくなったが、2,3年ごとに小流行が繰り返されている。愛媛県においては1996年に3年ぶりに麻疹の流行を経験した。地域住民の麻疹中和抗体保有状況をみると4歳以上では、各年ほぼ100%近くであり変化がみられないのに対し、0歳から3歳層では1994,1995年に比べ1996年には保有率が20%も増加した。これは今年の流行による自然感染の機会が多かったことを反映したものと考えられた。今回の血清疫学的調査から特に1歳から2歳児に感染リスクが高いことが示された。また年少児が麻疹に感染した場合、年長児よりもSSPE⁵⁾(亜急性硬化性全脳炎)を起こす確率が高くなるという報告もあり、1歳になった時点でワクチン接種率をできるだけ

中和抗体価(一ノ瀬株)	計	28	2	6	14	26	58	52	30	10	226
≥1024								1	5	6	12
512							1	3	15	4	23
256							11	32	8		51
128				1	7	35	16	2			61
64			1	5	16	9					31
32			1	6	3	2					12
16			4	2							6
8											0
<8		28	2								30
	<8	8	16	32	64	128	256	512	≥1024	計	

相関係数 = 0.69

中和抗体価(豊島株)

図3 豊島株と一ノ瀬株に対する麻疹中和抗体価の比較

100%に近づけることが今後推進すべき対策であると考えられた。

文 献

- 1) 堺春美: 日本公衛誌. 143(10), 73(1996)
- 2) 呼石弘子他: 愛媛衛研年報. 57, 4-6(1995)
- 3) Kobune, F. et al.: J. Virol. 64, 700-705(1990)
- 4) 松浦章雄他: 日本医事新報. 3778, 47-52(1996)
- 5) 上田重晴: 臨床とウイルス. 22(2), S69(1994)

愛媛県におけるインフルエンザの流行 (1996/97 シーズン)

高橋一博 呼石弘子 大瀬戸光明 森 正俊 井上博雄

An Epidemiological Study on Influenza in Ehime Prefecture (1996/97 Season)

Kazuhiro TAKAHASHI, Hiroko YOBISHI, Mitsuaki OSETO,
Masatoshi MORI, Hiroo INOUE

The influenza epidemic during the 1996/97 season in Ehime was due to mixture of type A (H3N2) and type B viruses. Isolation of type A began in December 1996 and ended in February 1997, whereas that of type B began in November and continued until May, and 57 strains of type A (H3N2) and 96 strains of type B were isolated. The majority of strains showed a similar antigenicity to vaccine strain, but two antigenically variant strains related to the epidemic strains before 1987 (B/Victoria/2/87) were isolated in May 1997.

By the HI test of 347 sera collected from residents before the epidemic season, HI antibody positive prevalence ($\geq 1:128$) against the variant strain B/Ehime/86/97 was from zero to twenty-five percent. These results suggested that some epidemic caused by the variant type B might occur in next season.

Keywords : Influenza virus, variant strain, HI antibody, isolates

はじめに

近年のインフルエンザの流行は、Aソ連型ウイルス及びA香港型ウイルスあるいはB型ウイルスを含めた混合流行の形態を示すことが多い。¹⁻³⁾

1996/97シーズンのインフルエンザの流行は、全国的にA香港型ウイルスが主流で、それに追従する形でB型ウイルスが流行した混合流行であった。⁴⁾ 愛媛県においてもA香港型ウイルスとB型ウイルスの混合流行であった。すなわち1996年11月30日採取の検体からB型ウイルスが最初に分離されたが、主流期にはほとんどA香港型ウイルスに入れかわっていた。また、流行の終期にはB型ウイルスに再度入れかわり、B型ウイルスの分離は5月下旬まで続くという特異な流行であった。

我々は、このような流行の実態を把握し、要因を解明するため、疫学的、ウイルス学的、血清学的調査を行ったので報告する。

材料と方法

1. 検査材料

ウイルス分離材料は、1996年10月から1997年6月までに、急性気道疾患およびインフルエンザ様疾患患者から採取した咽頭ぬぐい液743件、うがい液66件、髄液5件の合計814検体を用いた。

2. ウイルスの分離、同定法

ウイルス分離には、MDCK細胞を使用した。採取した咽頭ぬぐい液等を細胞に接種し、CPE(細胞変性効果)陽性のものについて、培養上清のHA価を測定した。一定のHA価を示した分離株を国立感染症研究所から分与されたフェレット感染免疫血清を用いたHI試験により同定及び型別を行った。また、HI試験で同定及び型別が出来なかった株については、既報⁵⁾の山下らの方法に準じたRT-PCR法で同定した。RNAの抽出には、ISOGEN-LSを使用し、RT反応は、42°C 60分、95°C 5分インキュベートしcDNAを複製した。PCRは、94°C 1

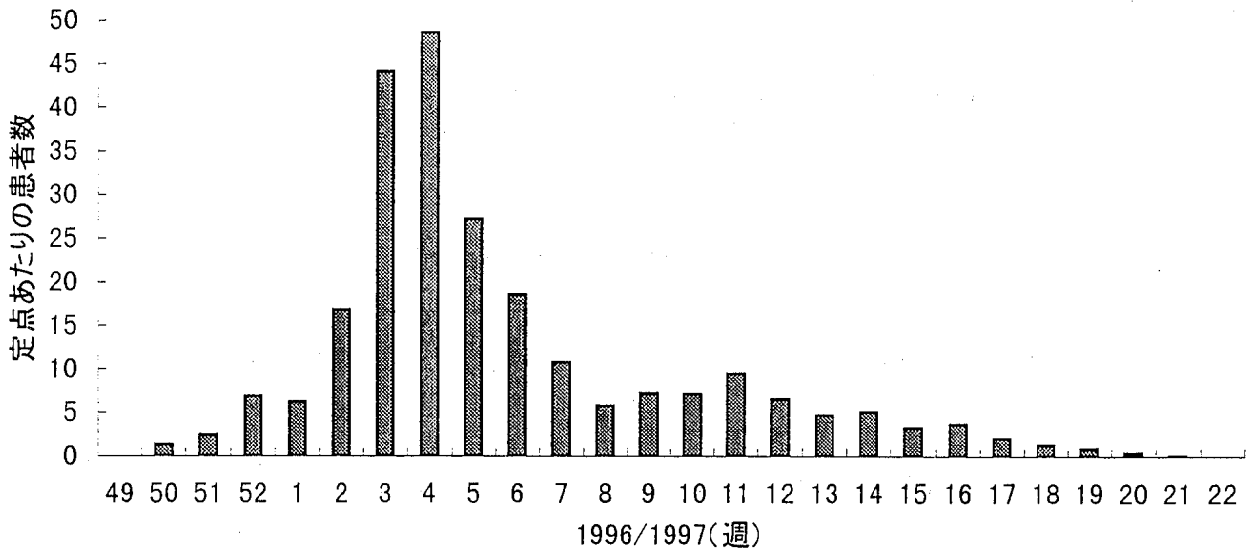


図1 インフルエンザ様疾患患者数の推移

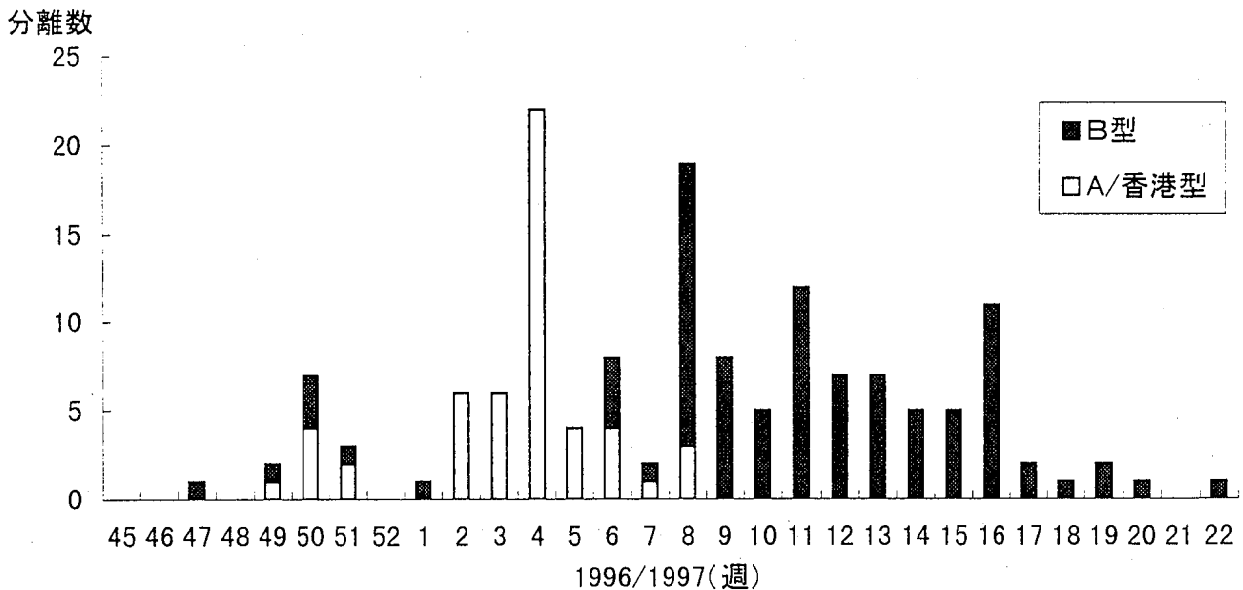


図2 インフルエンザウイルス分離数の推移

分, 55℃1分, 72℃1分20秒を30サイクル行った。

3. HI抗体価測定

1996年10月から11月に採取した年齢別ヒト血清348検体について、ワクチン株A/山形/32/89 (A/ソ連型), A/武漢/379/95 (A/香港型), B/三重/1/93と今シーズンの分離株であるB/愛媛/86/97の4種の抗原を用いてHI抗体価を測定した。ワクチン株HA抗原はデンカ生研製を用い、B/愛媛/86/97はMDCK細胞で3代継代した培養上清を用いた。赤血球は、ニワトリ赤血球を用い、HI試験は伝染病流行予測検査術式に準じた。

結 果

1. インフルエンザ様疾患患者の発生状況

1996/97シーズンにおける患者発生状況を図1に示した。患者発生報告は、1996年第50週から報告があり、1997年第2週から急増し、第4週には定点あたり患者数48.62人でピークに達した。その後第8週まで減少したが、第9週から微増に転じ、第11週の定点あたり患者数9.48人で2回目の小さなピークに達した。その後は、多少の増減を繰り返しながら第21週で終息した。

この期間中の集団発生は、1月14日以降報告があり休校及び学年、学級閉鎖施設数は、25施設であった。

表1 A香港型ウイルス分離株の抗原分析

ウイルス抗原	フェレット感染抗血清			
	A/Siga/2/91	A/Kitakyusyu/159/93	A/Akita/1/94	A/Wuhan/359/95
A/Siga/2/91	128	<32	<32	<32
A/Kitakyusyu/159/93	64	1024	128	32
A/Akita/1/94	64	64	512	256
A/Wuhan/359/95	64	64	256	2048
A/Ehime/118/96	128	128	128	512
A/Ehime/122/96	64	32	64	512
A/Ehime/7/97	128	128	256	1024
A/Ehime/22/97	256	128	256	2048
A/Ehime/32/97	64	64	128	512

国立感染症研究所

2. ウイルスの分離状況

1996/97シーズンにおけるウイルス分離状況を図2に示した。最初のインフルエンザウイルスの分離は、1996年11月30日採取の検体から分離されたB型であった。その後12月14日採取の検体からA香港型が分離されると、A香港型が徐々に増加し、1997年第4週の22株でピークに達した。その翌週には激減し、第9週以降A香港型は分離されなかった。

一方、B型は1997年第2週から第5週の間は、全く分離されなかったが、第6週から再び分離されはじめ、第8週の16株でピークに達した。以後増減を繰り返しながら第22週まで分離された。その間に分離されたA香港型ウイルスは57株、B型ウイルスは96株であった。

3. 分離ウイルスの抗原性

1996/97シーズン中に分離したA香港型ウイルスについて、国立感染症研究所で行った抗原分析結果を表1に示した。

A香港型の分離株であるA/愛媛/32/97は、今シーズンのワクチン株A/武漢/359/95に比較して4倍程度の差異はあったが、ワクチン株とほぼ類似の抗原性を保っていたことが認められた。一方B型では、96株の分離株のうちほとんどは表2に示すとおりワクチン株のB/三重/1/93に類似した株であったが、2株はB/三重/1/93抗血清と全く反応を示さなかった。そこで、この分離ウイルス2株について、感染細胞培養上清を材料としてRT-PCRを行った。その結果、図3のアガロースゲル電気泳動像のとおり、2株ともB型プライマーでのみ627bpの特異バンドが産生され、B型インフルエンザと同定された。さらに、B/神奈川/3/76自家製ニワトリ抗血清を用いたHI試験においても、この2株がB型インフルエンザであることが確認された。この2株について、国立感染症研究所で行った抗原分析結果を表3に示した。

表2 B型分離株のHI価の分布

HI 価	フェレット感染抗血清	
	抗 B/三重 /1/93 (256)	
< 32	2	
32		
64	1	
128	3 1	
256	6 2	
512		
計	9 6	

() ホモ抗体価

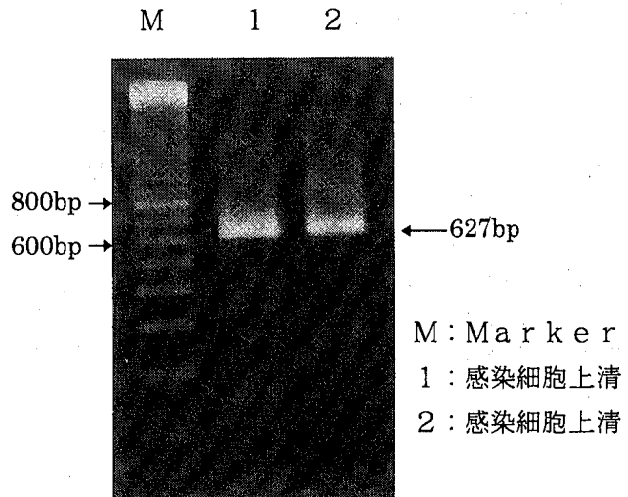


図3 インフルエンザウイルス感染細胞上清からのHA遺伝子の検出

表3 B型ウイルス分離株の抗原性

ウイルス抗原	フェレット感染抗血清					
	B/Aichi/5/88	B/Yamagata/16/88	B/Mie/1/93	B/Osaka/c19/93	B/Guangdong/5/94	B/Harbin/7/94
B/Aichi/5/88	256	<32	<32	1024	512	<32
B/Yamagata/16/88	32	>4096	256	128	32	2048
B/Mie/1/93	64	1024	512	256	32	>4096
B/Osaka/c19/93	512	<32	32	2048	512	64
B/Guangdong/5/94	64	<32	<32	256	512	NT
B/Harbin/7/94	32	256	256	128	32	>4096
B/Ehime/86/97	<32	<32	<32	64	64	<32
B/Ehime/87/97	<32	<32	<32	64	64	<32

国立感染症研究所

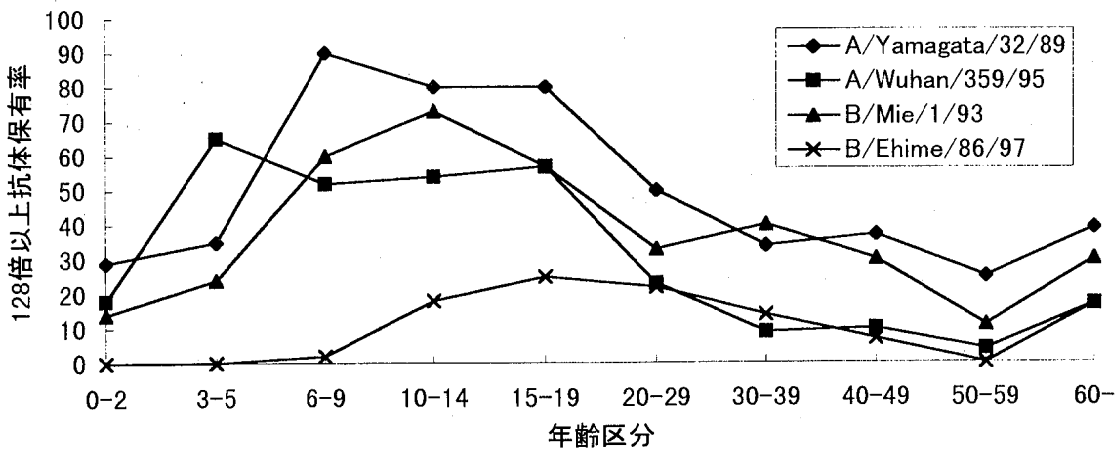


図4 流行前の住民の年齢区分別HI抗体保有状況

この2株は、すでにヒトの世界から消えてしまったと考えられていたB/ビクトリア/2/87ウイルス系統の代表株B/広東/05/94に比較して4倍程度の差異はあるもののほぼ類似の抗原性が認められた。

4. 流行前の健康住民のHI抗体保有状況

1996/97シーズンのワクチン株A/山形/32/89(A/ソ連型), A/武漢/359/95(A/香港型), B/三重/1/93と今シーズン分離のB型変異株B/愛媛/86/97に対する年齢別HI抗体保有状況を、図4に示した。

HI抗体価128倍以上の保有状況をみると、A/山形/32/89に対しては、0~5歳で29~35%と低率であったが、就学年齢である6~19歳で80%以上の高い保有率であった。

A/武漢/359/95に対しては、0~2歳で18%、就学年齢である6~19歳で52~57%、20歳以上で23%以下と全体的に低率であった。

B/三重/1/93に対しては、0~5歳で24%以下と低率であったが、就学年齢の5~19歳では60~70%程度の

保有率を示した。20歳以上では40%以下と低率であった。

今シーズン変異株として分離されたB/愛媛/86/97に対しては、0~5歳で0%、就学年齢の5~19歳で2~25%、20歳以上で22%以下と各年齢層とも低率であった。

考 察

1996/97シーズンの愛媛県におけるインフルエンザの流行を、定点あたりの患者発生報告とウイルス分離成績からみると、最初の患者発生報告は1996年第50週に報告があり、その後1997年第2週から患者発生報告数が急増し第4週に定点あたり患者数48.62人でピークとなり、第21週まで患者の発生報告が続いた。一方、ウイルス分離においては1996年11月30日採取の検体からB型ウイルスが分離されスタートした。12月中はA香港型ウイルスとB型ウイルスの両型が分離されたが、患者発生報告が急増した1997年第2週から第5週の間には分離されたウイルスは全てA香港型ウイルスであった。B型ウイルスは第6週から再び分離されはじめ、第9週以降は

全てB型ウイルスとなり第22週まで分離が続いた。これらのことから、今シーズンの流行はA香港型ウイルスが主流で、その後B型ウイルスによる小流行が長く続く、A香港型ウイルスとB型ウイルスの混合流行であったと考えられた。今シーズンのインフルエンザ集団発生の届け出施設数および患者数は25施設、2197人、昨シーズンが6施設、437人であり、届け出施設数および患者数とも昨シーズンを上回っていた。また、感染症サーベイランスの患者数も昨シーズンの患者数4612人を上回る7014人の報告があり、中規模の流行であったと推測された。これらの傾向は、全国の流行状況⁴⁾と一致するものであった。

次に、今シーズンに分離された株の抗原性は、A香港型については、今シーズンのワクチン株のA/武漢/359/95に類似しているものが大勢を占めたが、A/武漢/359/95から4-8倍程度抗原性が変異した株も低い割合で分離された。一方、B型においてもワクチン株のB/三重/1/93に類似しているものが大勢を占めたが、B/三重/1/93と全く反応を示さない変異株が2株分離された。この2株について、国立感染症研究所で抗原分析を行ったところ、この2株はすでにヒトの世界から消えてしまったと考えられていたB/ビクトリア/2/87ウイルス系統に入るウイルスであり、この系統を代表するB/広東/05/94から4倍程度抗原性が変異したウイルスであった。このようなB型の変異株については、2月以降大阪府、奈良県を中心に全国各地で分離の報告⁴⁾がなされている。

年齢別のHI抗体価128倍以上の保有状況をみるとA/山形/32/89に対しては、就学年齢の6~19歳で抗体保有率が80%以上と高く、昨シーズンのAソ連型の流行時に獲得した抗体が保有率を引き上げていると考えられた。A/武漢/359/95に対しては、0~2歳で18%、就学年齢の6~19歳で55%余り、40歳以上では17%以下で抗体保有率が比較的低かった。B/三重/1/93に対しては、0~2歳で14%と低率であったが、就学年齢の6~19

歳では57~73%とやや高い抗体保有率であったため、A香港型のように急速的な広がりみせず小さな流行が長く続く要因となったと考えられた。また、今シーズン分離されたB型の変異株であるB/愛媛/86/97に対しては、各年齢層で抗体保有率が0~25%と低率であった。このB型変異株による来シーズンの流行が心配されるどころであり、B型変異株の動向には今後さらに注意して監視する必要があると思われた。

まとめ

1. 1996/97シーズンの愛媛県におけるインフルエンザの流行は、A香港型ウイルスとB型ウイルスの混合流行であった。
2. インフルエンザの患者発生報告は、1996年第50週から始まり、1997年第21週で終息した。
3. ウイルス分離検査では、A香港型ウイルス57株、B型ウイルス96株を分離した。大部分の分離株はA香港型、B型ともワクチン株に類似した抗原性を示したが、B型の2株には、著しい抗原変異が認められた。
4. 抗原変異がみられた株B/愛媛/86/97に対する、住民347名のHI抗体保有率(128倍以上)は、0~25%と低率で来シーズンの流行が懸念された。

文 献

- 1) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報15 269-270 (1994)
- 2) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報16 269-270 (1995)
- 3) 国立予防衛生研究所：病原微生物検出情報17 268-269 (1996)
- 4) 国立感染症研究所呼吸器系ウイルス室：1996-97シーズンのインフルエンザ流行の報告 (1997)
- 5) 山下育孝他：愛媛衛研年報54, 5-9 (1993)

ELISA 法によるアストロウイルス血清型別法の開発と 地域におけるウイルス型別流行状況

大瀬戸光明 高橋一博 呼石弘子 森 正俊 井上博雄
中野省三*¹ 石丸啓郎*¹

Development of An Enzyme-Linked Immunosorbent Assay to Identify the Serotype
of Human Astroviruses and the Prevalence of Astrovirus Serotypes
in Ehime Prefecture

Mitsuaki OSETO, Kazuhiro TAKAHASHI, Hiroko YOBISHI, Masatoshi MORI,
Hiroo INOUE, Shozo NAKANO*¹, Yoshiro ISHIMARU*¹

A serotyping enzyme-linked immunosorbent assay (Serotype ELISA) by using anti-astrovirus type 1 to type 7 rabbit anti-sera was developed to determine the antigenic type of astroviruses directly from fecal specimens. Results of serotyping on 147 astrovirus-positive specimens (64 feceses and 83 isolates from 88 acute gastroenteritis children) collected between 1981 and 1996 in Ehime prefecture, showed that serotype 1 was the predominant serotype (49%), followed by type 4 (26%) and type 3 (17%). Other serotypes such as type 2, 5 and 6 were detected very rarely, and none of type 7 were detected during through the study period. The Serotype ELISA can help further our understanding of the epidemiology of astrovirus.

Keywords : astrovirus, serotype, enzyme-linked immunosorbent assay, prevalence of astrovirus serotypes

はじめに

アストロウイルスは直径が30nmのRNAウイルスで、電子顕微鏡では粒子の表面に星形の形態が観察されることからアストロウイルスと命名された¹⁾。アストロウイルスは主に乳幼児の下痢症の起因ウイルスとして認められており、電子顕微鏡法による病原検索では小児の急性胃腸炎の数%から検出される²⁻⁴⁾。その検出頻度はロタウイルスと比較すると著しく低いものの、時に大規模な下痢症の集団発生をおこすことがあるため、SRSV (Small Round Structured Virus) と共に公衆衛生上注目されている。また、アストロウイルスは現在までに少なくとも7種の血清型の存在が報告^{5, 6)} されている。最近、ウイルスの遺伝子構造の解析結果から、新しくアストロウイルス科が設けられた⁷⁾。

従来アストロウイルスの診断は電子顕微鏡法が専ら用いられてきたが、特殊な機器や熟練した技術を必要とし、また、本ウイルスの同定は形態学のみではしばしば困難な場合があった。そのため免疫学的方法⁸⁾ あるいは遺伝子学的方法^{9, 10)} が種々開発された。最近、ELISA法による型別法とPCR産物のヌクレオチドシーケンスによる型別法が報告され¹¹⁾、さらにウイルスの血清型特異プライマーを用いたnested-PCRによる方法¹²⁾ や、各血清型ウイルス抗血清を用いたラテックス粒子凝集法¹³⁾ の開発が進んでいる。我々は、前報¹⁴⁾ で抗アストロウイルス群特異モノクローナル抗体を用いたアストロウイルス検出ELISA法の開発を報告したが、今回1型から7型までの各ウイルスに対する抗血清を作製し、ELISA法による血清型別法を開発したのでその概要を報告する。

また、アストロウイルスの血清型別の流行状況に関する報告は非常に少なく、英国における2地域の状況しか明らかにされていない。特に国内での血清型別の分布状

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

*1 石丸小児科医院

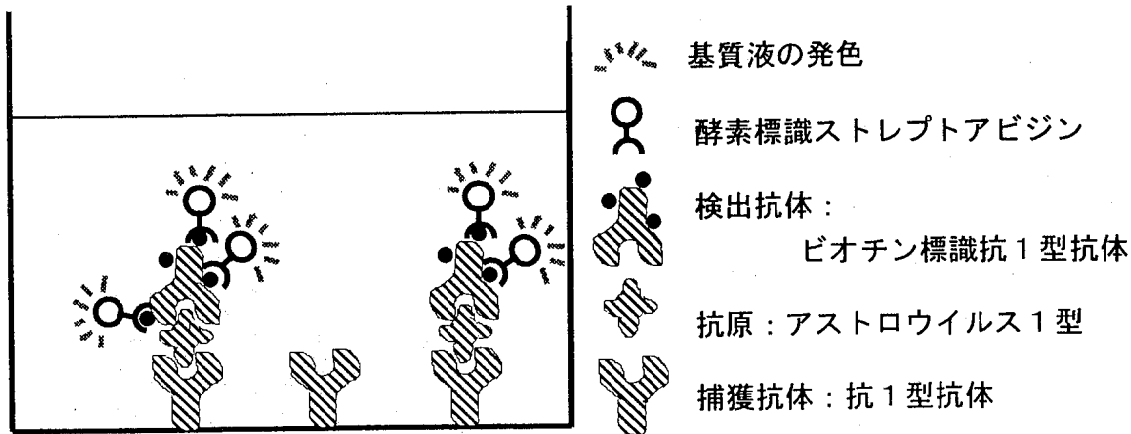


図1 アストロウイルス血清型別ELISA法

況はほとんど分かっておらず、わずかに1991年に大阪府で起きた大規模な集団発生¹⁵⁾の原因としてアストロウイルス6型が同定されているのみである。そこで新たに開発した血清型別ELISAを応用し、愛媛県中部地域のウイルス型の分布を明らかにしたので、その結果を併せて報告する。

材料と方法

1. ウイルスと免疫血清

急性胃腸炎患者の糞便は1981年以降松山市I小児科外来で採取し、電子顕微鏡法でアストロウイルスが陽性の糞便を -20°C で凍結保存してきたものを用いた。また、CaCo-2細胞で分離したアストロウイルス株も併用した。アストロウイルス1型から7型の標準株は、米国CDCのR. Glass博士から分与された。アストロウイルスはCaCo-2細胞に接種後 37°C で2-3日間の培養を行い増殖させた。細胞維持液としては $5\mu\text{g}/\text{ml}$ のトリプシン(SIGMA Type III)を添加したHEPES緩衝Eagle's MEM培地を使用した。

抗血清はアストロウイルス1型から7型の各々の標準型株を、CsCl密度平衡遠心で精製し、ウサギに免疫して

作製した。各型抗血清はN-ヒドロキシサクシニミドビオチンを用いてビオチン標識¹⁶⁾した。

2. アストロウイルス血清型別ELISA法

アストロウイルスの血清型別は捕獲抗体および検出抗体として同一抗血清を用いる1抗体サンドイッチELISA法で行った。図1にこの方法での抗原抗体系を1型について模式的に示した。各型に対する抗血清を捕獲抗体としてマイクロプレートに $100\mu\text{l}$ ずつ分注し 4°C 一夜で固相化した。洗浄後ブロッキング液(3%牛血清アルブミン, 2.5%スキムミルク加PBS-Tween20)を $200\mu\text{l}$ に加え 37°C , 2時間後洗浄し, 10%糞便抽出液または10倍希釈した細胞培養上清を, 1型から7型までの各型捕獲抗体が固相化されたウェルに $50\mu\text{l}$ ずつ加え, プレートミキサー上で1時間振とうした。次いで洗浄後検出抗体として固相化した捕獲抗体と同一の血清型ビオチン標識抗体を $50\mu\text{l}$ 加える。プレートミキサー上で30分振とう。洗浄後ペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジンを $50\mu\text{l}$ を加え30分振とう, 洗浄後 $100\mu\text{l}$ のテトラメチルベンジジン- H_2O_2 の基質発色溶液を加え10分後に停止させ, 450nm の吸光度を測定し判定した。この方法では, マイクロプレートの1列8ウェルで1検体の血清型別ができるのでプレート1枚で12検体の検査が可能である。

結果

1. 捕獲抗体, 検出抗体の使用濃度の検討

抗アストロウイルス3型抗体について捕獲抗体, 検出抗体の使用濃度の検討過程を図2, 3に示した。図2は捕獲抗体として3,000倍希釈した抗体をコーティングしたウェルに, アストロウイルス標準株各型のCaCo-2細胞培養上清を反応させ, 検出抗体の使用濃度の影響を検討したもので, 検出抗体の希釈が300倍の時にみられる他の型に対する反応が, 3,000倍希釈ではほとんど見られなくなった。同様に図3では, 検出抗体を3,000倍で使

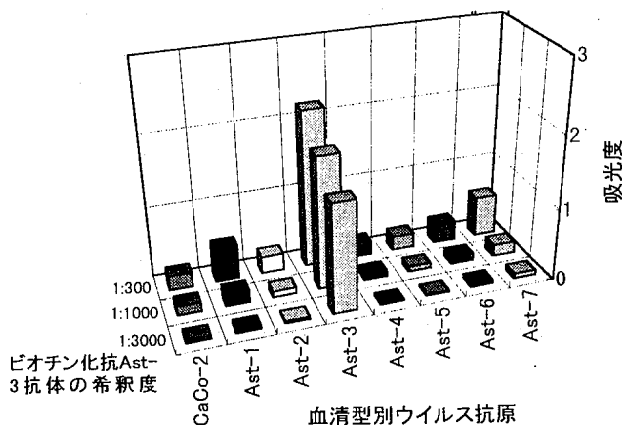


図2 検出抗体の使用濃度の検討

用したときの捕獲抗体の至適使用濃度を検討したもので、この場合は300倍から30,000倍までほとんど他の型株抗原に対する反応はみられなかった。このようにして全ての型株に対する抗血清の使用濃度を決定した。1型から7型株抗血清の捕獲抗体としての使用濃度は順に、1:10,000, 1:10,000, 1:10,000, 1:500, 1:1,000, 1:1,000, 1:1,000で、検出抗体の使用濃度は同じく順に、1:2,000, 1:100, 1:3,000, 1:100, 1:1,000, 1:100, 1:1,000であった。

2. 血清型別ELISAの特異性

アストロウイルス標準株のCaCo-2細胞培養上清をもちいて、前述した使用濃度で型別ELISAを行った結果を図4に示した。抗体の系と同じ型株の培養上清を加えたウェルでのみ高い吸光度を示し、他の型株の抗原を加えたウェルではほとんど発色がみられず、型特異性が非常に高いことが示された。

3. 地域における血清型別アストロウイルス検出状況

1981年以降のアストロウイルス陽性の急性胃腸炎患者88名からの糞便材料64例およびCaCo-2細胞で分離された分離株培養上清83例について血清型別ELISAを行った。糞便材料と分離株の両方の検査材料が揃っていたものが60例あった。そのうち5例は糞便と培養上清との型別結果が異なったので混合感染例とみなしたため、全ウイルス株数としては94株であった。糞便材料についても分離株の培養上清と同じく型別ELISAでの判定は非常に容易で型別できなかつたものは皆無であった。型別の分布調査の結果を表1に示した。調査期間を通じて1型が最も多く46例(48.9%)で、次いで4型が24例(25.5%)、3型が16例(17%)検出された。5型、2型、6型は少数例検出されたが、7型は調査期間を通じてま

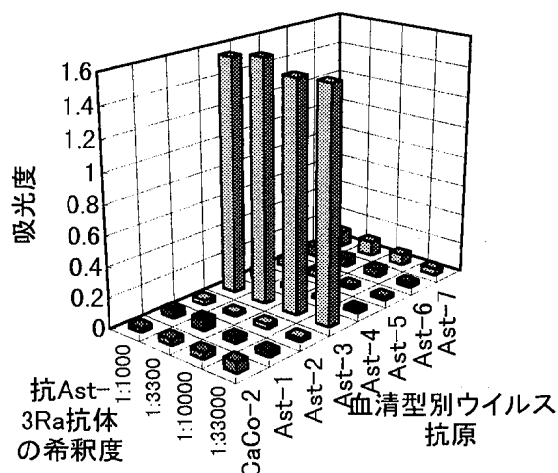


図3 捕獲抗体の使用濃度の検討

ったく検出されなかつた。1型は年次により頻度は異なるもののほぼ毎年検出された。4型は1981年以降ほとんど毎年みられたが、1993年に特に集中して検出された後3年間は全く検出されていない。5型は1991-1992年にのみ4例検出されている。1型、4型、3型は地域にほぼ常在型であり、2型、5型、6型は非常在型と考えられた。

アストロウイルス血清型の季節的消長を図5に示した。全調査期間のウイルスの検出数を月別に累積すると、1型は12月から6月まで広く分布していたが、他の型は4月から7月に比較的集中する傾向がみられ、ウイルス型によりその流行時期に特徴があることが認められた。

次にアストロウイルス血清型と患者年齢との関係を表2に示した。本調査の対象である散发例のアストロウイルス陽性患者は、ほとんどが10歳未満であった。型別

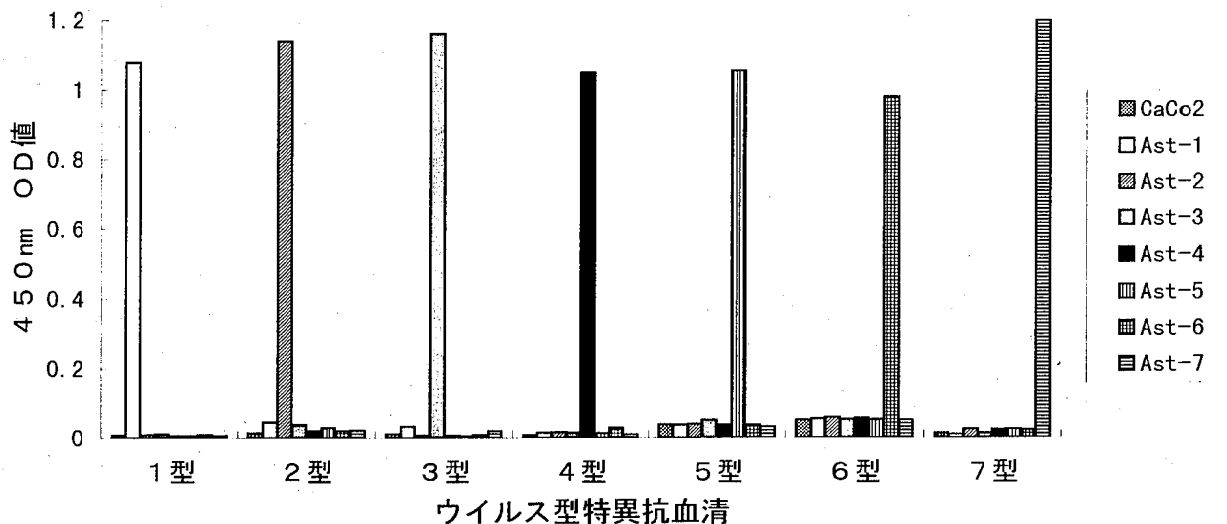


図4 アストロウイルス型別ELISAの血清型特異性

表1 アストロウイルスの流行型の年次推移

年次	血清型別アストロウイルス検出数							合計
	1型	2型	3型	4型	5型	6型	7型	
1981年	2			1				3
1984年	2			1				3
1985年	2	1	4	2				9
1986年	2		1					3
1987年	5		2	1				8
1988年	6		2	5				13
1989年	9			1				10
1990年	1		1	1				3
1991年				3	1			4
1992年	3			1	3			7
1993年	2			8				10
1994年	7							7
1995年	3		4			1		8
1996年	2	2	2					6
合計	46	3	16	24	4	1	0	94
(%)	48.9	3.2	17.	25.5	4.3	1.1	.	100

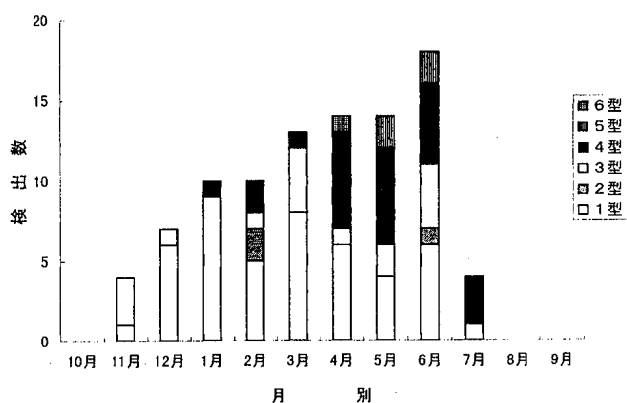


図5 アストロウイルス検出数の季節変動

表1 ウイルス型別の患者年齢分布

ウイルス型	0歳	1歳	2歳	3歳	4-6歳	7-9歳	10歳≤	合計
1型	16	7	4	7	10	2		46
2型					3			3
3型	2	1	2	2	4	5		16
4型	1	3	5	6	5	3	1	24
5型		1			2	1		4
6型				1				1
合計	19	12	11	16	24	11	1	94

の患者の年齢分布をみると、1型では1歳以下が50%であったが、3型や4型では2歳以上の小児が80%以上を占めていた。このようにウイルス型により患者の好発年齢に差異があることが示された。

ウイルス型と発熱、下痢、嘔吐、腹痛等の臨床症状の関係も調べたが、ウイルス型による患者の年齢分布の違いもあり、ウイルス型による症状の差異は認められなかった。

考 察

アストロウイルスの血清型別は、間接蛍光抗体法や固相化免疫電子顕微鏡法を用いて行われ、最初は5つの血清型に分類されていた⁵⁾。最近、ELISA法による血清型別法¹¹⁾が報告されているが、それらの報告では捕獲抗体としてアストロウイルス群特異モノクローナル抗体を用い、検出抗体として各型株に対するウサギ抗血清を使用しているため、他の型株との比較的高い交差反応がみられた。その点我々の方法では、捕獲抗体と検出抗体に各型とも同じ抗血清を用いた1抗体サンドイッチ法で行ったので高い特異性を示し、糞便材料から直接血清型別が可能であった。

アストロウイルスの血清型別法としては、ELISA法やラテックス凝集反応等の免疫学的方法とは別に、ウイルス遺伝子の塩基配列解析による方法や血清型特異プライマーを用いたRT-PCR¹²⁾が開発されている。そこでCaCo-2細胞で分離したアストロウイルス株を用いて、我々の方法とRT-PCRとの比較をしたところ、型別結果

は完全に一致した（データは示さず）。これらのことから1抗体サンドイッチELISA法による血清型別法は、比較的簡便な手技で特異性の高い結果が得られる優れた方法であることがわかる。今後全国的なアストロウイルスの血清型別流行疫学の解明に有用であると考えられる。

世界におけるアストロウイルスの血清型別流行状況に関する報告は多くないが、それらの報告によると、オックスフォード⁶⁾ およびロンドン¹⁷⁾ の両地域共に1型が最も多く60%以上を占めていた。次いで2型、3型、4型が少数例検出されており、その他の型の頻度は非常にまれであった。今回の愛媛県中部地域での型別分布もほぼ同じ傾向を示し、1型が最も多く50%を占めていた。また、英国で1993年に4型が著しく増加¹⁸⁾したが、当地域でも1993年に4型が最も多く検出されており、興味深い現象と思われた。

食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査の報告書¹⁹⁾によれば、アストロウイルスは頻度は少ないものの、患者発生規模の大きい集団発生の原因物質となることがあり、公衆衛生上注目しておくべきウイルスであることが示されている。1991年6月大阪府で発生した4,700名を越える大規模集団発生の原因ウイルスとしてアストロウイルス6型¹⁵⁾が報告されているが、我々の調査では6型は最近10数年来非常に頻度が低かったため、食品や水からの暴露を受ければ多くの患者が発生しても不思議ではないと思われた。

アストロウイルスの血清型別を明らかにしたことにより、型別の流行時期および好発年齢に特徴が示された。季節的には1型は12月から6月頃まで長い流行時期を示すのに比し、3型や4型は3月から7月にかけて、即ち、春から初夏に流行するという特徴的なパターンがみられた。患者の年齢分布は、1型では1歳以下が50%であったのに対し、3型、4型では2歳以上が80%以上を占めていた。流行型の年次推移からは1型、3型、4型は地域常在タイプであり、2型、5型、6型は非常在タイプであると考えられたが、その実証は今後の継続的調査に期待したい。

まとめ

1. アストロウイルス標準株1型から7型のウサギ免疫血清を作製し、捕獲抗体と検出抗体に同一抗体を用いる1抗体サンドイッチELISA法によるアストロウイルス血清型別法を開発した。

2. 本方法を用いて、1981年以降の愛媛県中部地域に

おけるアストロウイルス血清型別流行状況を明らかにした。1型が最も優勢で約50%を占めており、ついで4型3型の順に多かった。2型、5型、6型も少数例検出されたが、7型は全く検出されなかった。

3. アストロウイルスの流行時期や患者の年齢分布に血清型別の特徴的なパターンがみられた。

文 献

- 1) Madeley, C. R, et al. : Lancet ii, 124 (1975)
- 2) 大瀬戸光明他 : 愛媛衛研年報, 43, 11-16 (1982)
- 3) 山下育孝他 : 愛媛衛研年報, 50, 21-25 (1989)
- 4) Monroe, S. S, et al. : J. Med. Virol, 33, 193-198 (1991)
- 5) Kurtz, J. B, et al. : Lancet ii, 1405 (1984)
- 6) Lee, T. W. ,et al. : Epidemiol. Infect, 112, 187-193 (1994)
- 7) Monroe, S. S, et al. : Arch. Virol, sup110, 364-367 (1995)
- 8) Herrmann, J. E, et al. : J. Infect. Dis, 158, 182-185 (1988)
- 9) Moe, C. L, et al. : J. Clin. Microbiol, 29, 2390-2395 (1991)
- 10) Jonassen, T. O, et al. : J. Virol. Method, 52, 327-334 (1995)
- 11) Noel, J. S, et al. : J. Clin. Microbiol. 33, 797-801 (1995)
- 12) 神崎美穂子他 : 第44回日本ウイルス学会口演抄録, 95 (1996)
- 13) 荒木和子他 : 第44回日本ウイルス学会口演抄録, 95 (1996)
- 14) 大瀬戸光明他 : 愛媛衛研年報, 57, 7-11 (1996)
- 15) Oishi, I, et al. : J. Infect. Dis, 170, 439-443 (1994)
- 16) 井上栄 : 厚生省監修 微生物検査必携 ウイルス・クラミジア・リケッチア検査, 第3版第1分冊, 54-55 (1987)
- 17) Noel, J. S, et al. : Epidemiol. Infect, 113, 153-159 (1994)
- 18) Willcocks, M. M, et al. : Epidemiol. Infect, 114, 385-391 (1994)
- 19) 川本尋義他 : 最近5年間の食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生全国実態調査総合報告書 (1995)

愛媛県における神経芽細胞腫マス・スクリーニングの現状

森 正俊 井上 博雄 新開 省二*¹ 小西 正光*¹
大藤 佳子*² 石田 也寸志*²

Present Status of Neuroblastoma Mass Screening in Ehime Prefecture

Masatoshi MORI, Hiroo INOUYE, Shuji SHINKAI, Masamitsu KONISHI,
Kiko OTO, Yasushi ISHIDA

An investigation of Neuroblastoma (NB) patients was put into practice in the 10th year since NB mass screening (Mass) started in Ehime Prefecture. As a result, 29 NB patients (8 cases from Mass positives, 11 cases from Mass negatives, 6 cases before Mass started, and 4 cases less than 6 months old) are found. It is found that the distribution were group 1 in two, that is 0 to 45 months and 48 to 73 months. Adrenal glands, retroperitoneal and cervical mediastinum are the three major parts for tumor generation. Younger cases seems to have better progress, and death from tumor and recurrence were often found in the older patients. After studying re-screening (RS) in Mass negative 4 cases that were clinically found, it is assumable that NB could be detected at an early stage and were enabled to be cured when having RS just before or after 1 year old.

Pilot studies targeting 14-18 months old have already been started in 7 areas such as Sapporo and Tokyo, in which 10 cases were found. It is necessary to further study the effect of RS including timing, method, and cost benefit through more cases.

Keywords : Neuroblastoma, Mass screening, VMA, HVA, HPLC

はじめに

神経芽細胞腫 (Neuroblastoma : NB) は、小児癌の代表的な疾患で、典型的な NB は腫瘍の進展が速く、予後が極めて不良である。NB の約 80~90% は尿中に Vanilmandelic acid (VMA) あるいは Homovanilic acid (HVA) を多量に排泄する¹⁻²⁾。このため、乳児期の VMA, HVA の定量を実施し早期発見・早期治療を行えば進行例を減少させるとともに予後の改善に役立つことから、昭和 59 年に全国的に行政に取り上げられ実施されている。愛媛県では、昭和 60 年 1 月から 6~7 カ月児を対象に NB マス・スクリーニング (マス) が実施されている。今回、平成 7~8 年度にかけて愛媛県でマスが開

始されてからの NB 患者の全県的な実態調査を行い、どの程度予後改善に役立っているかマス・陰性でその後発症する NB 患者 (マス陰性例) の再スクリーニング (再ス) の時期、問題点について検討したので報告する。

材料と方法

1. 対象者 : マス対象者の検査フローを図 1 に示した。検査セットは 3~4 カ月検診時に、保健所及び市町村から保護者へ配布する。保護者は、6~7 カ月時に採尿し直ちに当所へ郵送する。検査の結果、マス・スクリーニング陽性 (マス陽性例) となった乳児については保護者に対し精密検査を受診するよう保健所から通知する。

2. 検査方法 : 昭和 60 年 1 月から平成元年 11 月までは一次検査に dip 法を用いて VMA の定量を行った。しかし、非 VMA 排泄型の NB が発見できないこと、食事の影

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地

* 1 愛媛大学医学部公衆衛生学教室

* 2 愛媛大学医学部小児科教室

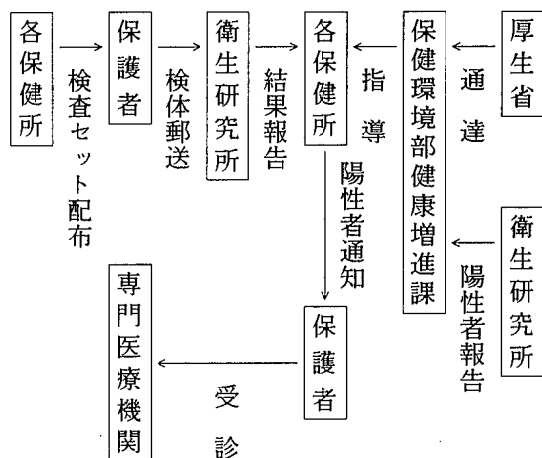


図1 神経芽細胞腫スクリーニングシステム

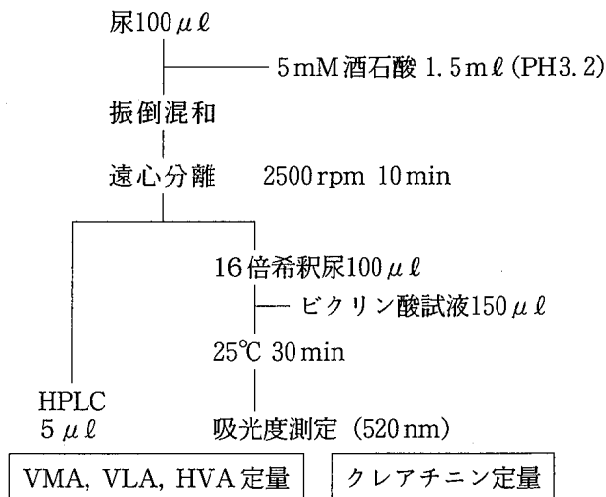


図2 HPLCによる尿中VMA HVA定量検査方法

表1 神経芽細胞腫マススクリーニング実施状況

年度	全 国					愛 媛				
	出生数 (人)	受検者数 (人)	受検率 (%)	患者数 (人)	患者発見 頻度	出生数 (人)	受検者数 (人)	受検率 (%)	患者数 (人)	患者発見 頻度
S 59	1,469,923	124,870	8.5	3	1/41,600	18,354	2,829	15.4	0	
60	1,420,701	834,536	58.7	59	1/14,100	17,664	12,059	68.3	0	
61	1,374,597	997,643	72.6	79	1/12,600	17,226	12,500	72.6	1	1/12,500
62	1,331,407	1,024,841	77.0	88	1/11,600	16,346	12,654	77.4	2	1/6,300
63	1,303,553	1,036,740	79.5	123	1/8,400	15,942	12,907	81.0	0	
H 1	1,224,340	1,033,535	83.1	126	1/8,200	15,170	12,661	83.5	1	1/12,600
2	1,216,388	1,023,005	84.1	175	1/5,800	14,669	11,873	80.9	2	1/5,900
3	1,220,933	1,026,741	84.1	189	1/5,400	14,522	11,922	82.1	0	
4	1,206,340	1,049,905	87.0	194	1/5,400	14,383	12,101	84.1	1	1/12,100
5	1,195,035	1,042,578	87.2	202	1/5,200	14,112	11,762	83.3	0	
6	1,233,072	1,043,953	84.9	208	1/5,000	14,285	12,000	84.0	0	
7						13,850	11,870	85.7	1	1/11,900
合計	12,726,372	10,113,477	79.5	1,443	1/7,000	168,169	134,309	79.9	8	1/16,800

※昭和59年度は年度途中のため各項目に加えていない。

響による疑陽性の問題があり、平成元年12月から図2に示すように高速液体クロマトグラフィー (HPLC) を導入し全検体についてVMA, HVAの定量を実施している。クレアチニンは、ヤッフエ法で測定している。現在の基準値はVMA: 18.0 μg/mg. cre, HVA30.0 μg/mg. cre, クレアチニン: 5mg/dl以下及び120mg/dl以上を判定不能としている。

3. NB患者の実態調査: 当所において、マス開始から平成8年3月までのマス陽性例が受診した病院を調べ、その後全関係病院にお願いし、カルテ上から臨床症状、治療内容、予後等について調査を行った。

結 果

1. マス実施状況: 表1示すようにマス開始から平成8年3月未までに、134309名にマスを実施しマス陽性例から8名が医療機関で精密検査の結果NB患者と診断された。患者発見頻度は平均1/16800あり、これを全国の患者発見頻度1/7000と比較してみると患者発見頻度は2分の1以下で受検率は同等であった。

2. 愛媛県内のNB患者発見状況: 表2示したように、マス開始前にNB患者が6名発見された。発症年齢は11~348カ月で診断時にVMAが高値を示していたものもある。原発部位は副腎2例、頸部後縦隔、頸部骨髄が各1例であった。病期についてはⅢが1例、Ⅳが4例で進行例が多く3名が死亡している。

表2 愛媛県における神経芽細胞発症例（昭和57年度～平成7年度）

	症例NO	発症月診	マス・スクリーニング時		診断時		腫瘍触知	原発部位	病理組織	病期	手術	治療法*	予後		
			VMA	HVA	VMA	HVA									
マス・スクリーニング前	1	348	実施せず		11.5	11.4	-	副腎	神経芽腫	IVa	生後のみ	化	腫瘍死		
	2	63			127.7	29.8	-	頸部後縦隔	神経節芽腫	IVa	不明	化(J)	"		
	3							不明		神経芽腫					
	4	18							+	副腎 頸部縦隔	不明	IVa	未施行	化	死亡
	5	48					124.0	75.8	+	頸部 骨髄	不明	IVa	"	"	不明
	6	11							+		神経芽腫	Ⅲ	全摘出	"	無病生存
マス・スクリーニング開始後	7	9	44.8	73.3	58.3	30.2	+	左後腹膜	神経節芽腫	IVb	部分摘出	化・放	腸重積死		
	8	8	107.5	172.3	103.6	122.0	+	左後腹膜	"	Ⅲ	全摘出	"	無病生存		
	9	8	20.4	52.8	21.9	68.1	-	左副腎	神経芽腫	I	"	化(J)	"		
	10	7	58.7	117.3			+	左副腎	"	I	"	"	"		
	11	11	30.0	44.7	28.8	36.6	-	左副腎	"	Ⅱ	"	"	"		
	12	8	52.3	67.6	75.4	76.9	-	左後縦隔	"	Ⅱ	"	"	"		
	13	7	70.8	52.3	81.3	72.1	+	右副腎	神経節芽腫	I	"	"	"		
	14	7	59.2	68.9	51.6	54.8	-	後腹膜	神経芽腫	IVa	"	化	"		
	15	62	Dip法(-)		279.0	197.0	+	後腹膜	神経節芽腫	IVb	"	化・放	腫瘍死		
	16	68	"				-	副腎	"	I	"	化(J)	無病生存		
	17	36	"		23.0	27.6	+	副腎	"	Ⅱ	"	化	"		
	18	68	"				-	副腎	神経芽腫	Ⅲ	"	"	腫瘍死		
	19	18	"		3.6	3.2	+	後腹膜	"	Ⅲ	部分摘出	"	無病生存		
	20	15	"		27.3	24.6	+	後腹膜	"	Ⅲ	"	"	"		
21	73	16.9	12.0	124.6	257.3	-	副腎	"	IVa	未施行	"	化学療法死			
22	21	6.5	16.9	10.4	169.8	+	副腎	"	IVa	全摘出	"	腫瘍死			
23	30	12.2	20.3			-	副腎	"	IVb	"	化・放	無病生存			
24	10	16.3	14.8	20.0	21.4	-	胸部縦隔	"	I	"	化(J)	"			
25	33	19.9	25.1	362.0	205.0	+	左副腎	"	IVa	"	化	"			
6カ月未満児	26	0	実施せず		29.6	29.5	-	胸部縦隔	神経芽腫	I	全摘出	化	無病生存		
	27	4			155.7	104.9	+	副腎	"	IVs	部分摘出	化(J)	"		
	28	2	11.4	11.3	28.1	26.5	+	左頸部	"	IVs	不明	"	"		
	29	1	88.0	34.8	88.0	125.8	+	胸部縦隔	"	IVb	部分摘出	化	"		

*化：化学療法，化(J) 化学療法中James法を施行，放：放射線療法

3. マス陽性例とマス陰性例のNB患者発生状況：①マス陽性例では8例がNB患者であった。原発部位は副腎4例，後腹膜3例，後縦隔1例であった。病期はI～IIが5例，IIIが1例，IV_a，IV_bが各1例で，手術については全例に施され，7例が全摘出，1例が部分摘出であった。予後は1例が手術直後に腸重積により死亡したが，他は再発もなく良好である。②マス陰性例で11例がその後NB患者と診断された。発症年齢は10～73カ月に分布し，診断時のVMA，HVA値が200～300 μg/mg. creに上昇していた例もあった。

原発部位は副腎7例，後腹膜3例，胸部縦隔1例であった。病期はI～IIが3例，IIIが3例，IV_aが3例，IV_bが2例，で進行例が多かった。手術は11例中10例に施され8例が全摘出，2例が部分摘出，1例が未施行であった。

予後については，予後不良例が多く，4例が死亡し，うち3例が腫瘍死，1例が化学療法死でその他については

再発もなく良好である。③6カ月未満児で4例のNB患者が発見された。発症年齢は0～4カ月で原発部位は副腎1例，胸部縦隔2例，頸部1例であった。病期はIが1例，IV_aが2例，IV_bが1例であった。手術は4例中3例に施行され，全摘出1例，部分摘出2例，不明1例であった。4名とも予後良好で無病生存中であった。

4. NB患者の発症年齢分布：図3のとおり，発症年齢は0～1歳未満14例，2～4歳8例，5～7歳5例，その他2例(29歳，不明)のように分布していた。また，仮に発症年齢4歳を境として見た場合，0～45カ月，48～73カ月の2つのグループに分かれていた。

5. 地域集積性：NB患者29名の出身地を調べ出身地が判明した27名の分布を図4に示した。過去11年間の県下の総出生人口比率でみると全体で1/6200であった。

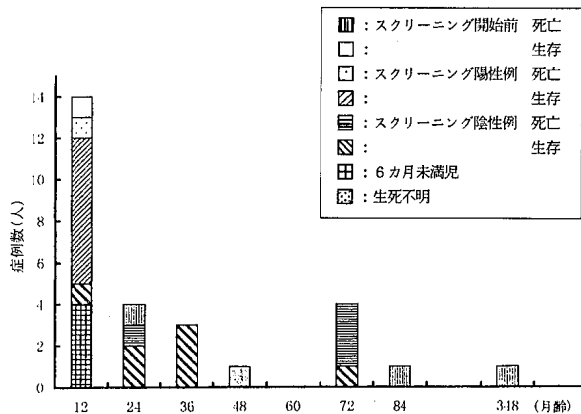


図3 NB患者年齢分布

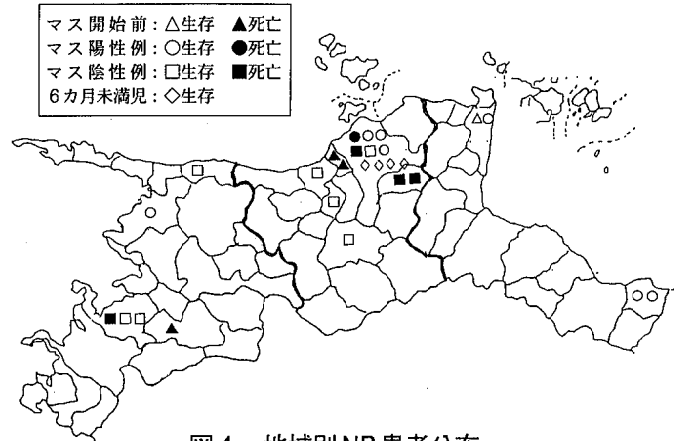


図4 地域別NB患者分布

また県内を東予，中予，南予の各地域分けてみるとそれぞれ1/15200，1/4300，1/5400でNB患者は中予・南予地区に集積していた。

6. 再マスの検討：表2のマス陰性例の中から症例NO21，22，24，25を用いて，尿中VMA，HVA値が生後指数関数的に変化すると仮説³⁾のもとに，マス時の値と診断時の値の2点から基準値を超える月齢を推定した。その結果，NO21は7.5カ月，22，25は11カ月，24は10カ月で基準値を超えることになった。これら4例は，1歳前後の間に再スを行えば，早期発見の可能性があったと推定された。

考 察

NBマスは昭和48年に京都^{2,4)}で開始されて以来，名古屋，札幌市，東京都で相次いで開始された。その後，昭和59年に全国の自治体に普及し，愛媛県では昭和60年1月よりマスが開始された。現在のマスの実施状況を見ると，全国的には，昭和62年までは1/11000~14000の発見頻度であったが，最近の統計資料⁵⁾によると1/7000と発見頻度が高くなっている。これは，平成元年度から一次検査にHPLC法を導入し，それに伴い検査精度，技術等が向上したものと考えられる。愛媛県では，マス開始当所は全国に比べやや高く1/6300~12500であった。HPLCを導入した平成元年後も変化は見られず，現在は全国の1/2以下の発生頻度である。また，受検率は約80%と全国と同様であった。しかし，今後も市町村，保健所を通じて受検率の向上を図る必要がある。

マス陽性例NB患者とマス陰性例NB患者の比較：両者併せて19例が最終的に医療機関で精密検査を受けNB患者と診断された。原発部位はマス陽性例，マス陰性例ともに副腎，後部腹膜に多くみられ，両者ともに全体の約90%を占めていた。病期は，マス陽性例ではI，IIが全体の62%に対して，マス陰性例では，進行例と言えるIII，IVが体の73%を占め，武田⁶⁾や金子ら⁷⁾の成績に類

似していた。手術はマス陽性例で100%，マス陰性例で90%症例に実施され，両者ともに全適出例が大半を占めていた。

治療法として，マス陽性例では化学療法（James療法）が主体であるのに対し，マス陰性例では化学療法（厚生省A1，newA1）によるものが多かった。化学療法と放射線療法を併用し治療を行っているものが前者に2例，後者に3例みられた。また手術についてはマス陽性例，マス陰性例ともに全適手術が大半を占めていた。患者の予後をみると，マス陽性例では予後良好であるのに対し，マス陰性例では全体として予後不良な治療経過を示していた。また，死亡者が4名みられうち3名が腫瘍死，他の1名が化学療法死であった。再発も骨髄原発巣にみられた症例もあった。

NBマスの有効性については，これまでの報告^{7~9)}では有効性があると考えられるものと，有効性を疑問視する報告¹⁰⁾もある。われわれの成績をみてもマス陰性でその後発症したものが多くことから現在のマスの方法の見直しが必要だろうと思われる。

マス以外で発見されたのNB患者：マス開始前で6例，6カ月未満児4例のNB患者が発見された。両者の原発部位は副腎，頸部後縦隔，頸部・骨髄，胸部縦隔と様々で，病期はマス開始前がIII，IVの進行例に対し，6カ月未満例では，予後良好であるI，IVであった。手術は，マス開始前で1例，6カ月未満例で3例が施行されていた。予後については，マス開始前では半数が死亡し，予後が著しく悪かった。発症月齢11カ月の1例が現在も生存中である。これに対し6カ月未満例では，出生時に腫瘤がみられたものばかりであるが，予後は良好で現在も無病生存中である。これは早期発見・治療によるものと考えられる。

地域集積性：県内を東予，中予，南予の各地域に分け，過去11年間の県下の総出生人口比率でみると東予地域に比べて，中予・南予地域に患者が集積していた。疫学調査の結果，関連する要因は明らかにすることは

きなかった。しかし、小児悪性腫瘍の疫学では、高圧線等の近くに発生するとの報告もあるが、NBに関しては、その要因は先天性のものではなく、子宮内での外因子によるものと言われている。

再スの検討：NB患者発見例の尿中VMA、HVAと腫瘍重量が相関するとの報告¹¹⁾、また、腫瘍の増殖を指数関数的であると仮定して、尿中VMA、HVAの増加についても指数関数モデルをとると仮定した報告がある¹²⁾。われわれは、後者の仮説に基づき、1歳以降に出現する予後不良なNB例の早期発見を目的に表2のマス陰性例中4例について、尿中VMA、HVAの排泄増加値をもとに検討した結果、1歳以降に再スを実施することにより、これまで2～3歳で発症していたNB患者を早期発見・治療が可能であると推定できた。すでに札幌市、宮城県、神奈川県、東京都、新潟県、埼玉県、京都市では、14～18カ月を対象とするパイロットスタディが開始され、これまでに札幌市で6例、宮城県で3例、京都市で1例が再スで発見されているとの報告¹³⁾もある。今後、症例を重ね再スの実施時期、方法、経済性を含めた有効性等の検討が必要である。

まとめ

愛媛県において、NBマスが開始されて10年が経過するのを機会に、県内のNB患者の実態調査を実施した。

1. 29名のNB患者（マス陽性例8名、マス陰性例からの発症例11名、マス事業開始前の発症例6名、6カ月未満児4名）が発見された。
2. 年齢分布は、0～45カ月、48～73カ月の2グループに分かれていた。
3. 腫瘍原発部位は副腎、後腹膜、頸部縦隔に多くみられた。

4. 予後については、若齢例で予後良好の経過をとり、加齢とともに予後不良の傾向にあり腫瘍死、再発例も多くみられた。

5. マス陰性例による再スの検討を試みた結果、1歳前後に再スを実施すれば4例が早期発見、治療可能と推定できた。今後、例数を重ね再スの有効性を検討する必要があると考える。

終わりに、今回の実態調査にご協力をいただいた各関係医療機関の諸先生及び愛媛大学医学部公衆衛生学社会医学実習生（1995、1996年度）に深感致します。

文 献

- 1) 沢田 淳：小児科Mook, 26, 226～242, 1982
- 2) 沢田 淳：医学のあゆみ, 164, 625～627, 1993
- 3) 花井 潤師他：小児外科, 24, 84～87, 1992
- 4) 沢田 淳：日本医事新報, 2638, 29～31, 1974
- 5) 厚生省児童家庭局母子衛生課：特集ミルク情報, 31, 85, 1995
- 6) 武田 武夫他：医学のあゆみ, 164, 628～630, 1993
- 7) 金子 安比古他：医学のあゆみ, 164, 634～637, 1993
- 8) 沢田 淳：第92回日本シンポジウム, 79～84, 1991
- 9) 沢田 淳：KARKINOS, 7, 369～377, 1994
- 10) 西平 浩一：医学あゆみ, 117, 534～539, 1996
- 11) 西 基他：小児外科, 17, 1393～1396, 1985
- 12) 花井 潤師他：小児外科, 27, 26～28, 1990
- 13) 越永 従道他：東京都予防医学協会年報, 25, 186～192, 1994

愛媛県における先天性副腎過形成症マス・スクリーニング

今西利花 永井雅子*¹ 浅野由紀子*² 橋本彰夫 森 正俊 井上博雄

Curent Status of Mass Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia in Ehime Prefecture

Rika IMANISHI Masako NAGAI Yukiko ASANO Akio HASHIMOTO
Masatoshi MORI Hiroo INOUYE

Newborn screening for 21-hydroxylase deficiency (21-OHD) measuring the 17-hydroxyprogesteron (17-OHP) in blood adsorbed on a piece of filter paper using enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was started from December 1989 in Ehime Prefecture.

Up to March 1997, 7cases of 21-OHD out of 113446 newborns examined so far were detected. As the results, the frequencies of 21-OHD were 1:16206. All cases were detected at early stage and treated by both the operation and the chemoterapy. For the case profiles, one was the simple virilizing form and six cases were salt-wasting form. All cases showed some pigmentation and six cases showed the clitoris hypertrophy.

In this survey, our data showed that about 40% of newborns with the high 17-OHP values were less than 2000g of the birth weight. Furthermore, we obtained information through a questionnaire concerning blood-collecting conditions to the hospitals. The result showed that blood-collecting conditions differed from at each hospital. Thus, it will be necessary for reliable 17-OHP analysis to examine the influence about the 17-OHP values under the various sampling conditions and to guide the hospital about method of the correct sample collection.

Keywords : mass-screening, 21-hydroxylase deficiency, 17-hydroxyprogesteron

はじめに

先天性副腎過形成症 (congenital adrenal hyperplasia : CAH) は、副腎皮質におけるコルチゾール産生に関与する酵素が先天的に欠損するために起こる病態である¹⁾。欠損する酵素の種類によりいくつかの病型に分類され、中でも21-水酸化酵素欠損症 (21-OHD) によるものが全CAH症例の80-90%を占めておりマス・スクリーニング (以下スクリーニング) の対象となっている²⁻³⁾。

平成元年12月から平成9年3月までに113446名の新生

児についてスクリーニングを実施し、7名の患者を発見したのでその概要を述べるとともに、今回は採血を実施している全医療機関に対し、採血の方法等アンケートを実施、検査への影響を検討したのであわせて報告する。

対象と方法

本県で出生し、保護者が希望した新生児を対象とし酵素免疫測定法 (ELISA法) により乾燥濾紙血液中の17-OHP濃度を測定した。測定には“17-OHP D-ELISA 栄研II”を使用した。

判定基準については図1に示す。

県下全採血医療機関にアンケート調査を実施し採血法のちがいによる17-OHP濃度を比較した。アンケート

愛媛県立衛生研究所 松山市三番町8丁目234番地

*1 現健康増進センター *2 現丹原保健所

項目は下記に示す3項目である。

1. 採血部位
2. 乾燥方法
3. 二重塗布の有無

結果及び考察

① 実施状況について

スクリーニング検査を実施した新生児113446名のうち、再採取検査519名(0.45%)、精密検査116名(0.1%)、発見されたCAH患者7名(単純男性型1名、塩喪失型6名;発見頻度1:16206)であった。臨床所見については、全症例に色素沈着がみられ、女児6例すべてに外性器異常が認められた。その他の所見については表1に示すとおりである。

一般的に低出生体重児(2000g以下)はホルモン等の

分泌の関係により17-OHP高値を呈することが知られている。本県においても、再採取検体のうち約40%が低出生体重児であった。また、2000g未満と2000g以上とで、17-OHP濃度を比較してみたところ、2000g未満では直接法平均値48.9±41.54ng/ml、抽出法平均値20.6±19.58ng/mlとなり、2000g以上では直接法平均値12.96±15.12ng/ml、抽出法平均値6.96±9.96ng/mlとなった。さらに詳しく500gごとに17-OHP濃度平均値を求めたところ、1500gまでは直接法、抽出法ともに比較的高値を示した(図2, 3)。しかしながら、CAHと判明した7名については、1名が2200gと比較的低出生体重児ではあったが全例2000g以上であった。よって今後、偽陽性の精密検査依頼数を減らすためにも、2000g以下の低出生体重児についてはカットオフ値を検討していく必要があると思われる。

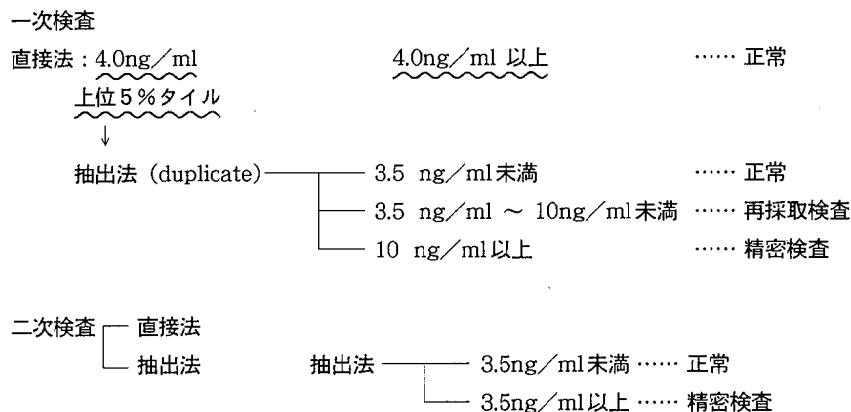


図1 判定基準

表1 患者臨床所見

症 例	1	2	3	4	5	6	7
在 胎 週 数	34	40	38	40	39	40	39
出生体重(g)	2200	2875	3448	3480	3745	3002	3217
性 別	女	女	男	女	女	女	女
病 型	塩喪失型	塩喪失型	塩喪失型	塩喪失型	塩喪失型	単純男性型	塩喪失型
17-OHP値 (ng/ml)							
直 接 法	>300	>300	>300	79.3	>300	>300	107.2
抽 出 法	195	>300	>300	37.8	231	>300	47.3
臨 床 所 見							
色 素 沈 着	+	+	+	+	+	+	+
外 性 器 異 常	+	+	-	+	+	+	+
共 同 尿 生 殖 洞	-	+	-	+	-	-	+
嘔 吐	-	+	-	-	-	-	-
脱 水	-	+	+	-	+	-	-
シ ョ ッ ク	-	-	+	-	-	-	-
電 解 質 異 常	+	+	+	+	+	-	-

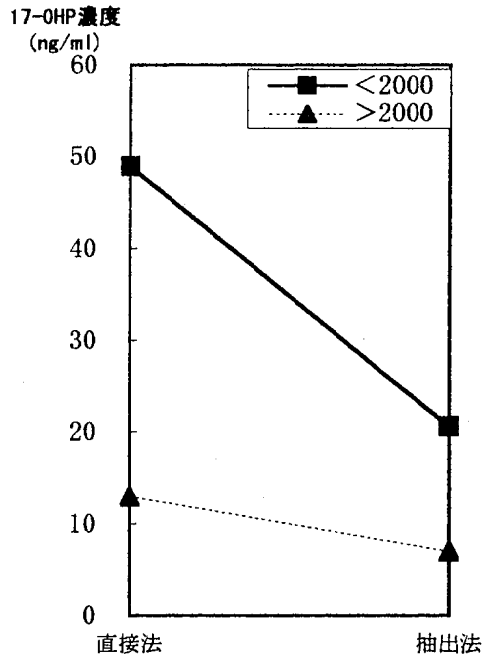


図2 低出生体重児との比較

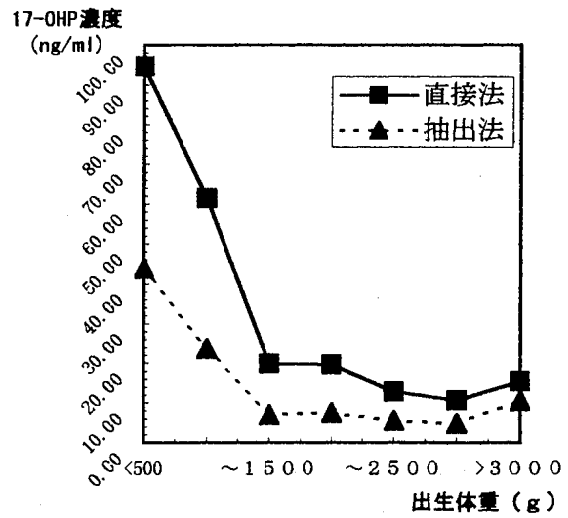


図3 出生体重別の17-OHP濃度

表2 アンケート結果

		乾燥方法 水平な台等		乾燥方法 つるす等	
		足底	手肢	足底	手肢
二重塗布	あり	24	0	11	1
	なし	8	2	3	1
	回答なし	10	0	1	1

※1施設 採血部位が足底・手肢のため件数に計上していない
(乾燥方法: 水平な台等, 二重塗布: “あり”)

②アンケート結果について

全採血医療機関80施設に対してアンケート調査を実施した結果, 63施設 (回収率77%) から回答を得た。

各々の結果については以下のとおりである (表2)。

採血部位: 58施設 (92%) 足底から採血

5施設 (8%) 手肢から採血

乾燥方法: 45施設 (71%) 水平な台等で乾燥

18施設 (29%) つるすなどで乾燥

二重塗布の有無: 37施設 (73%) “あり”

14施設 (27%) “なし”

また, 今回各々の採血条件のちがいによる17-OHP値への影響を検討した。採血部位: 足底, 乾燥方法: 水平な台等, 二重塗布: “なし” の回答を得た施設での

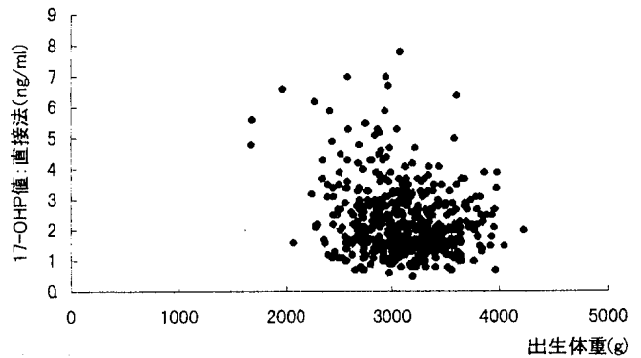


図4-A 採血条件 (足底, 水平, 二重塗布なし)

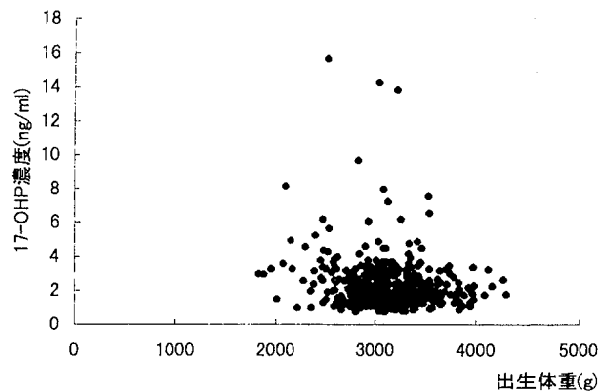


図4-B 二重塗布あり

表3 乾燥方法のちがいによる同一スポット間での差

乾燥方法 17-OHP濃度	水 平 な 台			つ る す な ど		
	上 部	下 部	差	上 部	下 部	差
平 均 値	2.15	2.18	0.24	2.54	2.42	0.32
分 散	0.85	1.04		1.37	1.05	
最 大 値			0.76			1.56

17-OHP 平均値は $2.14 \pm 1.13\text{ng/ml}$ であった。(図4-A)。また、二重塗布“あり”の回答を得た施設の17-OHP 平均値は $2.37 \pm 1.53\text{ng/ml}$ であり、二重塗布“あり”の場合、約10%高値を呈することが判明した(図4-B)。乾燥方法のちがいでは同一スポット間での差がみられた。つるすなどの方法で乾燥した場合、上下部でのバラツキが大きく最大で 1.56ng/ml であった(表3)。

今回のアンケート調査により医療機関で採血方法が統一されておらず、その結果17-OHP値への影響が多少なりともあることがわかった。この点においてはさらに検討を重ねた上で、県下で統一した採血方法を用いた血液ろ紙で検査を行う必要があると思われる。

また、CAH患者は出生後1~2週間で高K血症によるショック症状を起こすため、迅速で適切な対応が必要とされる。そのためには、医療機関、検査機関、行政の密接な連絡と対応が要求されてくると思われる。

文 献

- 1) Pang S Clark A : Screening, 2, 105-139 (1993)
- 2) 諏訪城三 : 先天性副腎過形成症スクリーニング母子愛育会, 15-40(1990)
- 3) 成瀬 浩 : 新生児マススクリーニングハンドブック 南江堂
- 4) 土居重敏 : 愛媛衛研年報 55, 15-19(1994)

PCR-RFLP, SSCP法を用いたHLA-A座のDNAタイピング

烏谷竜哉 奥山正明 青木里美 森 正俊 井上博雄

DNA typing of the HLA-A locus by group specific amplification
followed by RFLP and SSCP analysis

Tatsuya KARASUDANI, Masaaki OKUYAMA, Satomi AOKI,
Masatoshi MORI, Hiroo INOUYE

The polymerase chain reaction (PCR) based techniques have become useful standard clinical typing methods of HLA class II alleles but most laboratories still use serology for class I typing.

Here we present a DNA typing method of the HLA-A locus by group specific amplification followed by restriction fragment length polymorphism (RFLP) and single-strand conformation polymorphism (SSCP) analysis. Eleven sets of primers were used for group-specific amplification identifying the serologically defined HLA-A specificities. The primer pairs are located within one exon, either exon 2 or exon 3, which avoids amplification of polymorphic intron sequences allowing subsequent RFLP or SSCP analysis. All known HLA-A alleles in Japanese, excluding A*0201 and A*0207 for which no restriction enzymes are available to distinguish each from the other, could be defined by RFLP method. On the other hand, most alleles were easily identified by SSCP method, but A*2601 and A*2602 were difficult to distinguish. Because alleles that complicate RFLP typing are different from those that complicate SSCP typing, using both methods increases the reliability of typing. RFLP and SSCP analysis of group-specific PCR fragments allowed complete subtyping of the HLA-A locus.

Keywords : HLA-A, DNA typing, PCR-SSP, PCR-RFLP, PCR-SSCP

はじめに

PCR法の開発に伴いHLAクラスII抗原のDNAタイピング法はほぼ確立され、従来の血清学的あるいは細胞学的手法では区別できない多くのサブタイプの存在が明らかにされた¹⁾。その結果、特定のアリルと疾患との相関^{2, 3)}や、臓器移植成績とマッチング⁴⁾等が詳細に検討され、HLA分子の生物学的意義がDNAレベルあるいはエピトープレベルで論じられるようになってきた。一方、クラスI抗原のDNAタイピングについては、多型性を示す部位がExon2に局在しているクラスII抗原と異なり、クラスI抗原ではExon2, 3に加えてExon4の一

部にも多型が存在していること、HLA-A, B, C, E, F, Gの各分子が類似した配列を持つうえ偽遺伝子が多数存在すること⁵⁾等の問題があり、タイピング方法の確立が遅れていた。近年になり、PCR法を用いたHLA-A遺伝子のDNAタイピング法^{6, 7)}が報告され、本邦の公的骨髄バンクを通じた非血縁者間骨髄移植においても、血清学的に区別できないクラスI抗原サブタイプ間の不一致例に予後不良例が多いとの研究⁸⁾がまとめられた。特に問題となったHLA-A2, A26遺伝子については、1996年8月からアリルタイピングによるマッチングが適用され、以後クラスI抗原のDNAタイピングの必要性が急速に高まることとなった。現在、PCR-SSOP法⁹⁾、PCR-SSP法¹⁰⁾、PCR-SSCP法¹¹⁾を用いたDNAタ

イピングの報告があるが、これらの方法には一長一短があり一般の検査室に普及している段階ではない。そこで、当所がクラスII抗原で行っているPCR-RFLP法及びPCR-SSCP法を用いてHLA-A遺伝子のDNAタイピングについて検討を行ったので報告する。

材料と方法

1. 試料

当所に検査依頼のあった腎移植希望者、骨髄移植希望者とその家族及び健常者の末梢血リンパ球から抽出したDNA並びに、第6回組織適合性学会のQCワークショップで配布されたアレル既知のDNAをパネルとして使用した。

2. 方法

(1) PCRプライマー

各グループを特異的に増幅するPCRプライマーの塩基配列を表1に、プライマーミックス (PM) の特異性と増幅産物のサイズを表2に示す。なお、内部コントロールとしてヒト成長ホルモンの遺伝子を増幅するプライマーを使用した。

(2) PCR反応

PCR反応液の組成は、10mM Tris-HCl (pH8.3), 50mM KCl, 2mM MgCl₂, 0.2mM dNTP, 0.4 μMのプライマー1組から成り、反応液10 μl当たり50ngのゲノムDNAと0.2unitsのTaqポリメラーゼを添加して表2に示した反応液量を調整した。なお、血清レベルのグループ特異的PCRのみ行い、PCR産物をRFLP解析やSSCP解析に使用しない場合に限り陽性コントロールとして0.1 μMのヒト成長ホルモンプライマー1組を添加した。また、PM A11-2及びPM A26-2を用いる際は、2.5mM MgCl₂に調整して使用した。増幅反応にはPerkin-Elmer Gene-Amp PCR System 9600を用い、96℃ 1分の後、96℃ 25秒→70℃ 45秒→72℃ 45秒を5サイクル、96℃ 25秒→65℃ 50秒→72℃ 45秒を21サイクル、96℃ 25秒→55℃ 60秒→72℃ 120秒を4サイクル行い最後に72℃ 3分で反応を完了した。増幅産物は、5%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、0.5 μg/mlのエチジウムブロミドで検出した。

(3) RFLP解析

PCR産物6 μlに10倍反応バッファー1 μl, BSA 1 μl, 制限酵素3-4unitsを加えて全量を10 μlとし、至適温度で2時間以上保温した。処理後の増幅産物は、10%ポリアクリルアミドゲルで電気泳動後、0.5 μg/mlのエチジウムブロミドで検出した。

(4) SSCP解析

表1 プライマーの位置と塩基配列

primer	orientation	sequence(5'-3')	localization
85	sense	TCCTTCGTCCCAGGCTCT	-14-5 Exon2
99	sense	GGCCAGGTCTCAGACCG	-6-12 Exon3
118	sense	TCCATGAGGTATTCTACACC	9-29 Exon2
120	sense	GGCCAGGTCTCAGACCA	-6-12 Exon3
123	sense	CCCGGCCCGCAGTGA	37-53 Exon2
129	sense	TCACCCCTCCAGATGATGTT	5-25 Exon3
137	sense	TCCATGAGGTATTTACCACA	9-29 Exon2
166	sense	CCGGAGTATTGGGAGCGGA	168-186 Exon2
167	sense	GAGCCCGCTTCAAACGCC	54-71 Exon2
P434	sense	CCACTCCATGAGGTATTTAC	4-25 Exon2
90c	antisense	GTGGCCCTGGTACCCGT	273→14 Exon3
98	antisense	GCAGGTCGCCAGGTCCA	226-243 Exon2
119	antisense	CTTCACATTCCGTGTCTCCT	184-203 Exon2
138	antisense	GGCCTTCACATTCGGTGTGTT	186-206 Exon2
163	antisense	GGCCGGGTCACTGACCGT	268→16 Exon2
P234	antisense	CGCTCTGTTGTAGTAGCG	246-264 Exon3
5'hGH	sense	GCCTTCCCAACCATTCCTTA	human growth
3'hGH	antisense	TCACGGATTTCTGTGTGTTT	hormone

表2 プライマーミックスの特異性と増幅産物

primer mix	sense primer	antisense primer	size (bp)	specificity	volume (μl)
2-2 Exon2	85	98	256	A2	50
11-2 Exon2	118	119	195	A11	30
24-2 Exon2	167	P234	211	A24	50
26-2 Exon2	166	163	119	A26	30
31-2 Exon2	P434	119	199	A31	10
33-2 Exon2	137	138	198	A33	30
1sup Exon2	167	163	233	A1,11,26	10
30sup Exon2	123	98	207	A30	10
2-3 Exon3	99	90c	296	A2	50
24-3 Exon3	129	90c	286	A24	30
ex-3 Exon3	120	90c	296	other	50
P.C.	5'hGH	3'hGH	429	hGH	

SSCPの解析は、既報¹²⁾に従い行った。すなわち、PCR産物3 μlに滅菌蒸留水を4.5 μl加えて98℃ 5分、55℃ 1分の加熱処理後25℃まで冷却し、1 μlの泳動マーカー (100mM EDTA-2Na, 0.25% SDS, 50%グリセロール, 0.25% bromophenol blue, 0.25% xylene cyanol)を加えて試料とした。電気泳動には、5%グリセロールと0.5×TBE (45mMトリス, 45mMホウ酸, 1.4mM EDTA: pH8.2)を含んだ8%ポリアクリルアミドゲル (アクリルアミド: ビスアクリルアミド=50:1, ゲルサイズ=90mm×80mm×1mm)を作成し、200V定電圧で60~80分間行った。DNAの検出は、エチジウムブロミドを用いた。

結 果

1. グループ特異的PCR増幅

1995年のWHO nomenclature for factors of the HLA system¹³⁾で報告されたHLA-A遺伝子計61アレルの理論上のPCRパターンを表3に示した。通常は、PM A2-2, A11-2, A24-2, A26-2, A31-2, A33-2, A2-3, A24-3, Aex-3の9組のPCR反応で解析を行い、PM A1sup, A30supはそれぞれ日本人には希⁹⁾なA*0101, A*3001 (ともに出現頻度0.5%)を確定す

表3 PCR増幅パターン

PCR-No	Exon2						Exon3				
	2	11	24	26	31	33	1sp	30sp	2	24	ex
* 0101							+				+
0102											+
* 0201	+								+		
0202	+										
* 0203	+								+		
0204	+								+		
0205	+										
* 0206	+								+		
* 0207	+								+		
* 0210	+								+	+	
0211	+								+		
0212	+								+		
0213	+								+		
0214	+								+		
0215N	+								+		
0216	+								+		
0217	+									+	
* 0301											+
0302											+
* 1101		+					+				+
* 1102		+					+				+
* 2301			+							+	+
* 2402			+							+	+
2403			+							+	+
2404										+	+
2405			+							+	+
2406			+							+	+
* 2407			+							+	+
* 2408			+							+	+
2501		+	+				+			+	+
* 2601			+				+			+	+
* 2602			+				+			+	+
* 2603			+				+			+	+
2604			+				+			+	+
* 2605			+				+			+	+
* 2606			+				+			+	+
2901										+	+
2902										+	+
* 3001								+		+	+
3002										+	+
3003										+	+
3004										+	+
3005										+	+
* 3101					+					+	+
3201		+								+	+
* 3301					+					+	+
3302					+		+			+	+
3303					+					+	+
3401						+				+	+
3402						+				+	+
3601						+				+	+
4301						+				+	+
6601						+				+	+
6602										+	+
6801										+	+
6802										+	+
6901									+	+	+
7401										+	+
8001										+	+

*)日本人に検出されるアリル

る場合のみ使用した。PM A2-2, A11-2, A26-2, A31-2, A33-2は血清学的特異性とPCR反応とが一致しているため、PCR増幅の確認のみで血清レベルのタイピングが可能であり、特にPM A31では増幅すなわちA*3101とタイピングできる。一方、PM A24-2及びA24-3はA*24の他に日本人で0.2%の出現頻度を持つA*2301も増幅されるので注意を要する。

PCRの特異性を確認するため、A1, A2, A3, A11, A24, A26, A30, A31, A33を持つ検体5種のゲノムDNAを用いて、それぞれ11組 (PM A1sup, A30sup含む) のPCR反応を行った結果を図1に示す。すべてのPCR反応において内部コントロールバンド (429bp) が増幅され、特異的増幅産物はコントロールバンドよりも

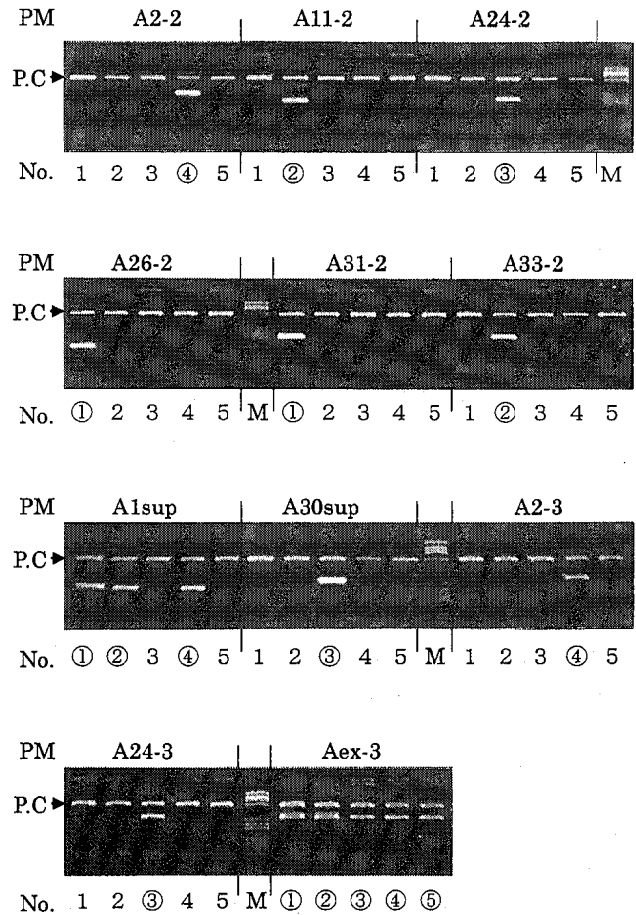


図1 グループ特異的PCR

1: A*26,*31 2: A*11,*33 3: A*24,*30
4: A*01,*02 5: A*03 M: pBR322/HaeIII

表4-1 A11-2

allele	Bsp1286I
a*1101	145,50
b*1102	195

表4-2 A33-2

allele	BsoFI
3301	71,68,39,20
*3303	
b 3302	110,68,20

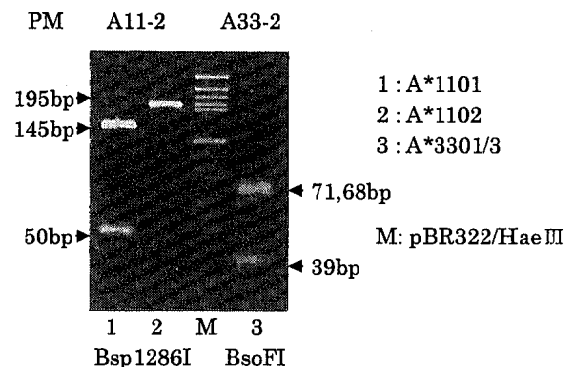


図2-1 A*11, A*33のRFLPパターン

表 4-3 A2-2 (Exon2)

allele	FokI	HphI	MspI
*0201			
*0203			
0204			
*0207			
a 0212	129,100,28	229,28	125,75,52,5
0213			
0215N			
0216			
0217			
b 0202	129,100,28	229,28	82,75,52,43,5
c 0205	157,100	229,28	82,75,52,43,5
0214			
d *0206	157,100	229,28	125,75,52,5
*0210			
e 0211	129,100,28	257	125,75,52,5

表 4-4 A2-3 (Exon3)

allele	FokI	Bsp1286I	BsmBI	BbvI	BsrI
*0201					
*0206					
a *0207	258,38	222,74	258,38	141,94,28,21,12	221,57,18
0211					
0215N					
6901					
b *0203	258,38	222,74	171,87,38	141,94,28,21,12	221,57,18
c 0204	296	222,74	258,38	141,94,28,21,12	221,57,18
d *0210	258,38	222,74	258,38	141,94,28,21,12	221,75
e 0212	258,38	222,74	258,38	141,47,28,21,12	221,57,18
0213					
f 0216	258,38	296	258,38	141,94,28,21,12	221,57,18

表 4-5 A2 判定表

A2-2	A2-3	allele
		0201
a	a	0207
		0215N
a	b	0203
d	a	0206
d	d	0210

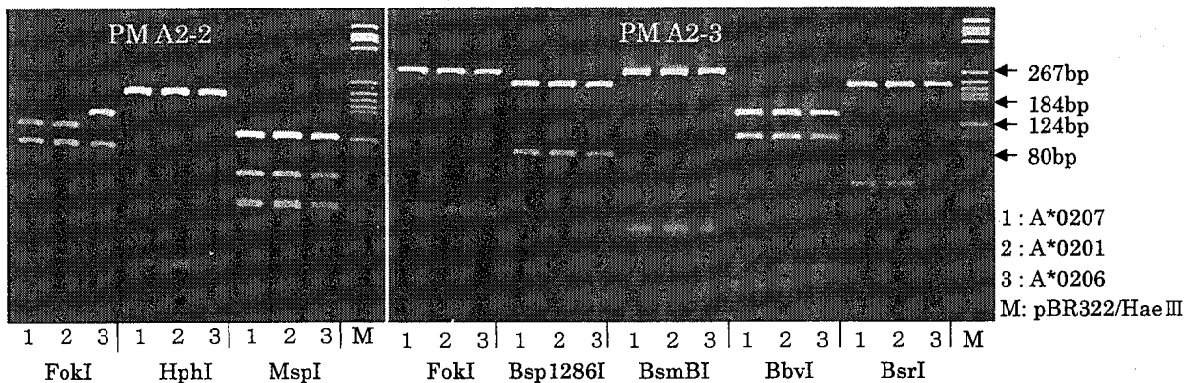


図 2-2 A*02 アリルの RFLP パターン

表 4-6 A24-2

	BsrI	MnlI	MspI
* 2301			
* 2402			
a 2403	211	89,67,34,21	115,96
2405			
2406			
b * 2407	158,53	89,67,34,21	115,96
c * 2408	211	67,34,110	115,96
d 2501	211	89,67,34,21	115,82,14

表 4-7 A24-3

	Bsp1286I	BbvI
a * 0210	212,74	141,94,28,12,11
0217		
b * 2301	212,58,16	235,28,12,11
2406		
* 2402		
2404		
c 2405	212,58,16	188,47,28,12,11
* 2407		
* 2408		
d 2403	212,74	188,47,28,12,11

表 4-8 A24 判定表

A24-2	A24-3	allele
a	b	2301
		2406
a	c	2402
		2405
b	c	2407
c	c	2408

強い蛍光強度のバンドとして明瞭に確認できた。

2. RFLP 解析

HLA-A 遺伝子の塩基配列の解析から、各 PCR グループの RFLP パターンは表 4-1~4-11 に示したとおりであり、それぞれの電気泳動パターンを図 2-1~2-5 に示す。

(1) A*11, A*33 のサブタイピング

A*11 には A*1101 と *1102 の 2 種類のアリルが存在し、日本人における頻度はそれぞれ 17.9%, 0.5%⁹⁾ である。表 4-1 及び図 2-2 に示すように PM A11-2 の増幅産物を Bsp1286 I で処理することで区別できる。A*33 は、A*3301, *3302, *3303 のうち A*3303 のみが日本

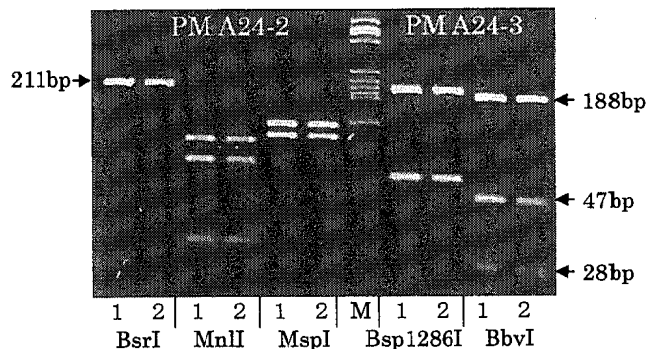


図 2-3 A*2402 の RFLP パターン

表 4-9 A26-2

allele	Ava2
a 2501	119
*2601	
b *2602	68,51
2604	
*2605	
c *2603	60,51,8
*2606	

表 4-10 A26判定

A26-2	Aex-3	allele
b	e	2601
		2605
b	f	2602
c	e	2603
		2606

表 4-11 Aex-3

allele	Bsp1	Fok1	Msp1	Mnl1	Hga1
a *0101	238,58	293,3	147,75,48,26	88,72,60,39,37	185,90,21
0102					
b *0301	296	225,68,3	222,74	115,72,60,37,12	185,90,21
c 0302	296	225,68,3	222,74	127,72,60,37	185,90,21
d *1101	296	293,3	147,75,48,26	88,72,60,39,37	185,90,21
*1102					
2501					
*2601					
*2603					
e *2605	296	258,35,3	173,75,48	88,72,57,37,27,15	185,90,21
*2606					
4301					
6601					
f *2602	296	258,35,3	173,75,48	88,72,57,37,27,15	275,21
2604					
6602					
g 2604	296	258,35,3	248,48	88,72,57,37,27,15	185,90,21
6602					
h 2901	222,74	293,3	222,74	88,72,60,39,37	185,90,21
2902					
*3001					
3002					
i 3003	222,74	293,3	296	88,72,60,39,37	275,21
3004					
3005					
*31011					
*31012					
i 3301	222,74	293,3	296	88,72,60,39,37	185,90,21
3302					
*3303					
k 3201	222,74	293,3	248,48	88,69,60,40,39	185,90,21
7401					
l 3401	222,74	258,35,3	248,48	88,72,57,37,27,15	185,90,21
m 3402	222,74	293,3	222,74	88,72,72,37,27	185,90,21
n 3601	222,74	293,3	222,48,26	88,72,60,39,37	185,90,21
o 68011	222,74	293,3	222,74	88,72,60,39,37	185,90,21
68012					
p 6802	222,74	258,35,3	248,48	88,60,57,39,37,15	275,21
q 8001	238,58	293,3	248,48	88,72,60,39,37	185,90,21

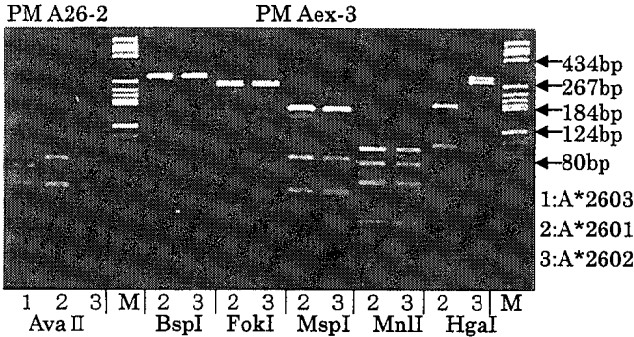


図 2-4 A*26 の RFLP パターン

人に 15.9%の頻度で現れる。表 4-2 に示したように PM A33-2 の増幅産物を BsoF I で処理するが、*3301 と *3303 は Exon2 では同一の塩基配列を持つため区別できない。両者は Exon3 の 1 塩基の違いで分ける必要があるが、この部位を認識する制限酵素がないため PM Aex-3 の PCR 産物を後に述べる SSCP 法で確認する。

(2) A*02 のサブタイピング

A*02 アリルは HLA-A 遺伝子の中では最も多型性に富むグループであり、日本人においては A*0201, *0206 がそれぞれ 19.9%, 15.4% と高頻度に出現し、A*0207 (7.2%), A*0210 (1.3%), A*0203 (0.2%) と続く⁹⁾。A*02 アリルは、多型性を示す部位が Exon2 と Exon3 の両方に存在するため、それぞれを増幅した PM A2-2, PM A2-3 の RFLP 解析を行う必要がある。表 4-3, 4-4 にはそれぞれ 3 種 (Fok I, Hph I, Msp I), 5 種 (Fok I, Bsp1286 I, BsmB I, Bbv I, Bsr I) の制限酵素を用いて a~e, a~f にグループ分けを行う判定表を、表 4-5 は PM A2-2 と PM A2-3 のグループを組み合わせた判定表で日本人に見られるアリルを示す。また、図 2-2 にはその電気泳動パターンを示す。A*0201 と *0207 は Exon3 の 1 塩基の違いのみで分ける必要があるが、この部位を認識する制限酵素がないため RFLP 法では同一パターンを示す。PM A2-3 の増幅産物を SSCP 法で解析することによりタイピングが可能である(後述)。また、A*0207 と A*0215N は Exon4 で 1 塩基のみ異なるので区別は不可能であるが、A*0215N は抗原として細胞表面に出現しない特殊なヌルアリルであり血清学的タイピングで確認は可能である。

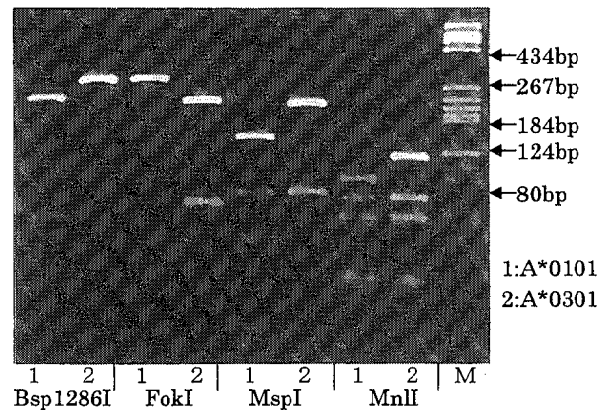


図 2-5 A*01, *03 の RFLP パターン

(3) A*23, *24 のサブタイピング

A*2402 は 60.8% の日本人に見られる最も頻度の高いアリルであり、A*2301, A*2407, A*2408 が出現する例はごく希(共に 0.2%)である⁹⁾。A*24 も A*02 と同様に多型性を示す部位が Exon2 及び Exon3 に存在するので、PM A24-2 と A24-3 両方をそれぞれ 3 種 (Bsr I, Mnl I, Msp I), 2 種 (Bsp1286 I, Bbv I) の制限酵素を用いて RFLP 解析を行う(表 4-6, 4-7, 4-8 及び

表5 HLA-A遺伝子の多型

Exon2																	Exon3																
5 2 2 5 5 7 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2 2																	1 1 2 2 4 4 6 6 7 7 7 8 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1 2 2 2 2 2																
5 9 3 4 1 3 6 6 7 8 8 8 8 9 9 9 0 1 2 2 3 3 4 4 4 4 4 6																	2 9 0 5 2 8 8 9 0 1 5 0 0 4 5 5 6 7 7 8 8 8 9 9 1 1 1 2 2																
0 5 7 0 3 4 6 8 3 7 8 9 8 6 8 4 8 0 1 4 6 8																	5 6 4 9 3 4 8 1 3 4 5 6 2 6 7 7 8																
consensus C A C G G A G G G G C G G G C C T C G A A C A C T G G C																	C G C A C G T G A C T C C G T C G G C G G T C T G A C G T																
0101	C A - - - - A - - - T A - - C - G C - - - - A																ATA	- - - C G G G - - A - A - - T A - C - G - C G C G															
0201	T T A - - - - T - G - - - A G - C T																G	- - - T T C C - - - - A C A A - - A - T - - - - -															
0203	T T A - - - - T - G - - - A G - C T																G	- - - T T C C - - - - A C A A A - A - A T G - - - -															
0206	T - - - - T - G - - - A G - C T																G	- - - T T C C - - - - A C A A - - A - T - - - - -															
0207	T T A - - - - T - G - - - A G - C T																G	- - - T T C C - - - - A C A A - - A - T - - - - -															
0210	T - - - - T - G - - - A G - C T																G	- - - T T C C - - - - A C A A - - A - T - - - - -															
0301	- T A - - C - - - - A - - - T G G - T G G C - - - -																ATA	- T - C C G G G - - - A - - - A - A T - T - - - -															
1101	- - - C - - - - A																ATA	- - - C G G G - - A - A - - - A - C - A - C G - -															
1102	- - A C - - - - A																ATA	- - - C G G G - - A - A - - - A - C - A - C G - -															
2301	C - - - - G A - - G A G - - - - T G C T C																T T - C C - - - - - A - - - - A - - - - - - C G																
2402	C - - - - G A - - G A G - - - - T G C T C																T T - C C - - - - - A - - - - A - - - - - - C G																
2407	C - - - - G A - - G A G G - - - T G C T C																T T - C C - - - - - A - - - - A - - - - - - C G																
2408	C - - - - G - - - - A G - - - - T G C T C																T T - C C - - - - - A - - - - A - - - - - - C G																
2601	A C - T G - C - G C - - - - A																A - - - - - C C - G G T - - - - A - A - A T G - C G - -																
2602	A C - T G - C - G C - - - - A																A - - - - - C C - G A T - - - - A - A - A T G - C G - -																
2603	A C - T G - C T G G C - - - - A																A - - - - - C C - G G T - - - - A - A - A T G - C G - -																
2605	A C - T G - - - - G C - - - - A																A - - - - - C C - G G T - - - - A - A - A T G - C G - -																
2606	A C - T G - C T G G C - - - - A																A - - - - - C C - G G T - - - - A - - - A T G - C G - -																
3001	A - - - - A - T - A - - - - T G G - T																A T A - T - - - - A C - - - - - - - T G T - - - - -																
3101	C A - - - C - A - T - A																A T - - - T - C C - G G - T - - - - - - - T - - - - -																
3303	A - - - C - - - - - A																A T - - - T - C C - G G - T - - - - - - - T - - - - -																

■ - SSCP法でグループ内の多型を確認した塩基配列

図2-3). なお, 表4-8のA*2301と*2406及びA*2402と*2405はRFLP法では区別できないが, 共にExon3の違いをSSCP法で検出できる可能性がある(未確認).

(4) A*26のサブタイピング

A*26はA*02に次いで多型性に富むグループであり, 一般にA*2601(12.7%), A*2602(4.0%), A*2603(5.4%)の3種類のアリルと, 希にA*2605(0.2%), A*2606(0.2%)が見られる⁹⁾. A*26では, Exon2はPM A26-2をAva II処理, Exon3はPM Aex-3をBsp1286 I, Fok I, Msp I, Mnl I, Hga Iで処理してRFLP解析を行う(表4-9, 4-10, 4-11及び図2-4). なお, 表4-10のA*2601とA*2605及びA*2603とA*2606はRFLP法では区別できないが, 共にExon3の違いをSSCP法で検出できる可能性がある(未確認).

(5) A*01, A*03, A*30のサブタイピング

日本人においてはA*0101-0.5%, A*0301-0.7%, A*3001-0.5%と希なアリルであり, 各グループともExon3の増幅産物PM Aex-3をBsp1286 I, Fok I, Msp I, Mnl I, Hga Iで処理してRFLP解析を行う(表4-11, 図2-5). 表4-11でaのグループが検出された場合はPM A1supで増幅した産物をFok Iで処理し, 切断されなければA*0101が確定する. iのグループが検出された場合はPM A30supで増幅の有無を検討し, 増幅があればA*3001が確定する.

以上の方法により, 日本人に検出される21アリル中A*0101, *0203, *0206, *0210, *0301, *1101, *1102,

*2407, *2408, *2602, *3001, *3101の12アリルはhigh-resolutionタイピングが可能であるが, A*0201/A*0207, A*2301/*2406, A*2402/*2405, A*2601/*2605, A*2603/*2606, A*3301/*3303の6組についてはSSCP法による検討が必要である.

3. SSCP解析

表5には日本人に検出されるアリルのうち, 各プライマーミックスで増幅される領域の多型を示す塩基を抜粋して示した. すべてのアリルでExon2, Exon3どちらかの増幅産物内に多型性を示す部位が含まれていることから, この多型がSSCPバンドの移動度の差に反映される可能性が高い. 図3にはアリル既知のパネルDNA及びRFLP法で確定されたDNAのSSCPパターンを示した. SSCP法を用いることにより, RFLP法では分離できなかったA*0201と*0207が, Exon3の25番目の1塩基(AとG)の違いから, PM A2-3の移動度の差として明瞭に区別できた. また, RFLP法で分離できないその他の5組については, 一方が日本人には検出されないアリルのためパターンの比較はできなかった.

同一PMで増幅されたグループ内のSSCPパターンを比較すると, PM A2-2でA*0201/A*0207とA*0206(25, 29番目がTAとAC), PM A11-2でA*1101とA*1102(54番目がGとA), PM A26-2でA*2601/A*2602とA*2603(218, 226, 228番目がGCAとCTG)のように, 1~3塩基のミスマッチで明瞭なバンドの違いとして確認できた. 一方, PM Aex-3のA*2601とA*2602とでは75番目のGとAの相違があるにも関わらず同一パターンとなり, SSCP法単独では区別できなかった.

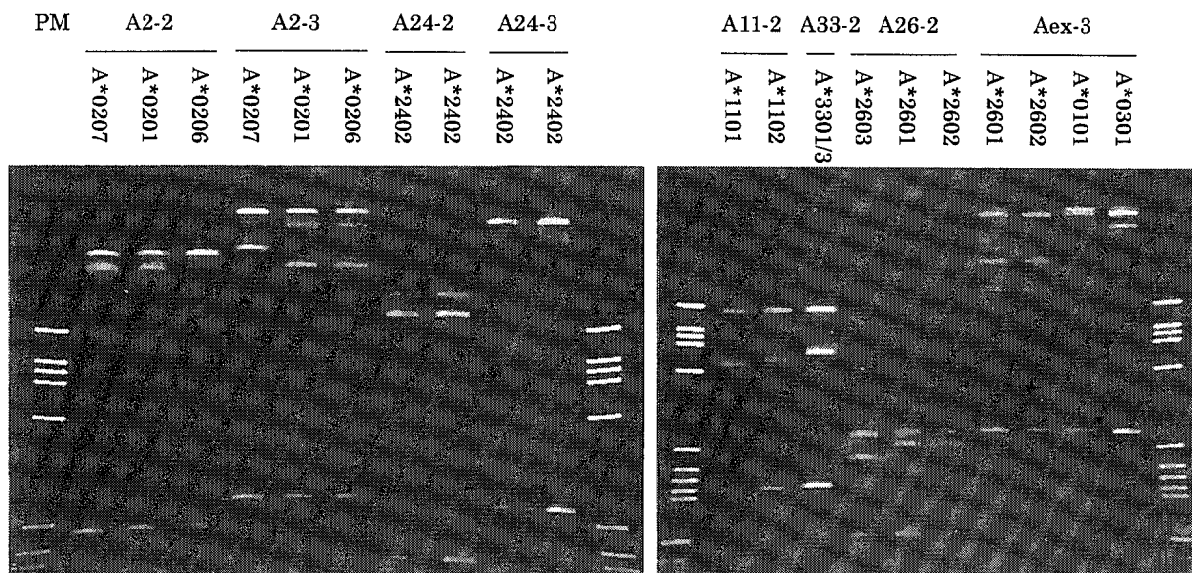


図3 各アリの SSCP パターン

た。

考 察

厚生省の骨髄移植調査研究事業として、1995、96年度の移植成績を笹月らがまとめたところによると⁹⁾、各HLA座と移植成績の関係ではB座とともにA座のアリレベルでの不適合にもっとも影響が見られており、クラスI抗原のアリレベルでのマッチングが要求されてきている。当所においては、骨髄移植に関する検査対象がほとんどの場合同胞間に限られているため、アリレベルの検査精度が求められる症例は少ないが、希に親子間での移植が検討される場合には片方のハプロタイプが異なっている可能性があることからアリタイピングを実施する意義が生じる。

今回我々は、クラスII抗原のアリタイピングに用いているPCR-SSP法、-RFLP法、-SSCP法を併用してHLA-A抗原のアリタイピングを試みた。これらの3法を併用すると、要求する精度に合わせたタイピング方法の選択が可能となる。第1段階は、グループ特異的なプライマーミックスを使用したPCR-SSP法であり、PCR後の増幅産物を電気泳動するだけで血清レベルのタイピングが終了する。献腎移植時に緊急な検査を行う際にはこのステップで十分対応可能である。なお、通常クラスI抗原のSSP法では多型がExon2とExon3の両方に存在しているため、センスプライマーでExon2の多型部分、アンチセンスプライマーでExon3の多型部分を認識させるようにデザインするのが一般的であるが、今回はその後のRFLPあるいはSSCP解析にイントロンの変異が影響を及ぼすのを避けるため、Exon2とExon3を分けて1つのExonのみを増幅させたことと、それぞれのPCR産物がアリの変異部分を含むようにデザイン

したのが特徴である。第2段階は、増幅後の産物を制限酵素で処理して解析を行うRFLP法であり、検査対象を日本人に限定すれば、A*0201、A*0207以外のアリが判定可能である。第3段階は、一本鎖DNAの移動度の違いを比較するSSCP法であり、今回検討した中ではPM Aex-3のA*2601とA*2602が同一のパターンを示したが、A*0201とA*0207やA*1101とA*1102等は明瞭に区別できた。また、本法の利点は、塩基配列の違うアリの違ったパターンとして感度よく検出できる（一部例外あり）ことであり、骨髄移植時のドナーとレシピエントを同一ゲル上で電気泳動する事により、マッチングの確認検査としても使用可能である。なお、今回は未知の検体のタイピングを行う際にRFLP法を先に実施し、その結果に応じてSSCP法を行ったが、検体数を増やして各アリのSSCPパターンが確立された後は、アリ既知のパネルDNAと検体DNAのSSCPバンドを比較することにより、RFLPのステップを省略する事も可能と考えられる。

また、現在骨髄バンクを介した非血縁者間骨髄移植の適合検査時にはHLA-AではA2、A26についてのみアリタイピングを実施していることから、要求される精度に応じてプライマーミックス及び解析方法を選択することも容易である。

ま と め

1. グループ特異的なプライマーミックス（9～11組）を使用したPCR-SSP法を用いて、PCR後の増幅産物を電気泳動するだけでHLA-A locusの血清レベルのタイピングが可能であった。
2. PCR-RFLP法と-SSCP法を併用することにより、HLA-A遺伝子のアリタイピングが可能であった。

文 献

- 1) Bodomer J. G. et al : Tissue Antigens, 46, 1-18(1995)
- 2) Nepom G. et al : Ann Rev Immunol, 9, 493-525(1991)
- 3) Todd J. A. et al : Nature, 329, 599-604(1987)
- 4) Opelz G. : Transplant Int, 5, Suppl. 1, 621-624(1992)
- 5) Cambell R. D. et al : Immunol Today, 14, 349-352(1993)
- 6) Bugawan B. L. et al : Tissue Antigens, 44, 137-147(1994)
- 7) Gao X. et al : Hum Immunol, 41, 267-279(1994)
- 8) 笹月健彦 : 骨髓移植調査研究事業報告書, 平成7年度
- 9) Date Y. et al : Tissue Antigens, 47, 93-101(1996)
- 10) Bunce M. et al : Tissue Antigens, 46, 355-367(1995)
- 11) Blasczyk R. et al : Tissue Antigens, 46, 86-95(1995)
- 12) 烏谷竜哉他 : 愛媛衛研年報, 57, 15-20(1995)
- 13) Bodomer M. J. et al : Tissue Antigens, 46, 1-18(1995)

ポストカラムイオンクロマトグラフによる シアン様物質の検出について

石丸尚志 小笠原光憲 青野 眞 泉 喜子 森 喜一

Detection of Cyanide Like Ions in supplied water
by post column ionchromatography

Takashi ISHIMARU, Mitsunori OGASAWARA, Makoto AONO,
Yoshiko IZUMI and Yoshikazu MORI

Cyanide like ions are often detected by post column ion chromatographic method from several samples of supplied water in several municipal waterworks, but they are not detected by optical density methods (colorimetric analysis) nor by electrochemical detector. It found that non cyanide ions such as chloramines or nitrogen oxide are often misdetected as cyanide ion or thiocyanide or cyan chloride by ion chromatography. We examined the mechanism of their formation experimentally.

We found that organic compounds such as amino acid, amine, ammonia were reacted with residual chlorine in post column reaction coil, and produce chloramine or nitrogen oxide compounds. Temperature of reaction coil and concentration of residual chlorine is mainly effected the yield of cyanide like ions. By reducing reaction temperature and residual chlorine, post column ion chromatographic method was successfully applied to the identification of cyanide ions in water.

Keywords : cyanide like ions, ion chromatograph, chloramine, chlorination byproducts

はじめに

水道水中のシアン(CN)の測定方法は吸光光度法であり、全シアンとして測定することとなっている。即ち SCN^- 、 CN^- 、 CNCl がすべてクロラミンTにより CNCl となるのを比色定量するものである。1993年の上水試験方法にはシアンの試験法として新たにイオンクロマトグラフポストカラム法が搭載され各態シアンの定量が可能となった。当所でもポストカラム反応キットを導入しイオンクロマトによるシアンの測定を開始した。

その中で、イオンクロマト法ではシアン様物質が検出されるが、他の方法(ピリジンピラゾロン法、電気化学検出器)では検出されない例が数例見られた。イオンクロマトグラフの反応コイル中でシアン様物質が生成することが推定されたので、その原因を検索したとこ

ろ、水中の微量のアミノ酸、アミン等と残留塩素が反応コイル中で反応しクロラミンや窒素酸化物等が生成し、これらの化合物がCN化合物として検出されることが分かった。反応コイルの温度を低下させることと残留塩素を除去することでイオンクロマトグラフポストカラム法によって、水中の各態シアンが良好に分析できるようになったので報告する。

調査及び実験方法

1. CN様物質生成例

ルーチン分析の中で、1996年8月～9月にかけて複数の検体からシアン様物質が検出された。検出された例は、表流水を水源としている、複数の自治体のかなり大規模な水道(給水人口数万人)からであり、吸光光度法では、その定量限界値1ppbを下回っていた。検出されたクロマトグラムを図1に示す。

AU

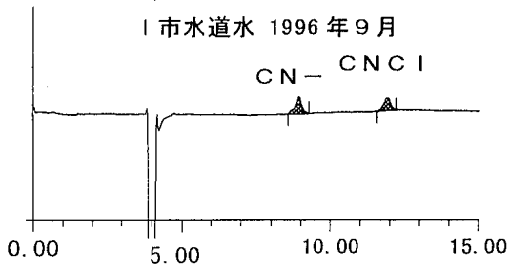


図1 ポストカラムーイオンクロマトグラフにより検出したシアン様ピークの例

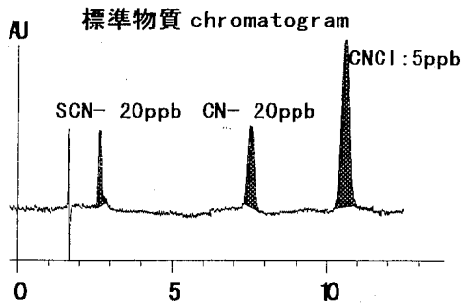


図2 イオンクロマトによる標準物質のクロマトグラフ

表1 イオンクロマトグラフの条件

Column	Dionex Ionpac ICE AS1
Eluent	1.0mM H ₂ SO ₄
Flow of Eluent	1.5mL/min
Detector	UV-Vis Detector (638nm)
Reaction liquid 1	0.1% Chloramine T in 0.02 M Phosphate buffer
Reaction coil 1	500μl 40°C
Flow of Reaction liquid 1	0.5mL/min
Reaction liquid 2	4-pyridine carboxylate acid pyrazolone mixture
Reaction coil 2	1000μl 100°C
Flow of Reaction liquid 2	0.5mL/min
Sample loop	200μl

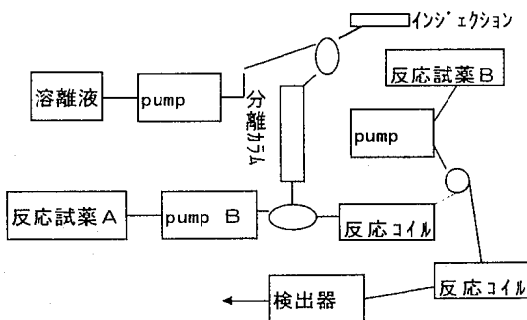


図3 イオンクロマトグラフの構成

また、標準物質のクロマトグラムを図2に示す。

2. イオンクロマトグラフ法の条件

今回検討に用いたイオンクロマトグラフは、日本ダイオネクス社製DX-AQであり、イオンクロマトグラフの構成を図3に示す。また、その条件は表1に示すとおり、イオン排除型カラムにより分離した3種のシアンを塩素化し発色させて吸光度を測定するものである。

シアンイオンを電気化学検出器で検出する方法があるが、その方法では、シアン様物質は検出されなかった。その方法は、銀の電極と錯体を形成する物質のみ検出可能であり、CN⁻に対して良好な検出感度をもっている。

3. CN様物質生成実験

CN様物質を人工的に生成させるために、CとNを含む物質を塩素処理することを考案した。

材 料

CとNを含み環境中に常在する物質として、アミノ酸を選び、L-アスパラギン、L-アルギニン、L-グルタミン、L-システインを用いた。さらに、単純な物質として、Cを含まないが、Nを含む物質としてアンモニア、亜硝酸、硝酸を用いた。

アミノ酸の種類を変更して、シアン様物質を生成するアミノ酸を検索するため、以下のアミノ酸を用いた。

L-グルタミン酸、L-ロイシン、L-フェニルアラニン、DL-トリプトファン、L-アスパラギン酸、L-ヒスタジン、L-アラニン、グリシン

また、アンモニア類似物質としてヒドラジン、アンモニウム塩として塩化アンモニウムを用い、同様の検討を行った。

生成条件

- ・各物質の濃度を変える
- ・塩素処理する次亜塩素酸ナトリウムの濃度変更
- ・塩素化剤と各物質の接触条件（温度、時間）
- ・リアクションコイルの温度
- ・塩素処理の代わりにオゾン処理

- 1) 各1000ppmにNaClO80ppm
室温 2hr (Reaction coil 2; 100°C)
- 2) 各1000ppmにNaClO80ppm
40°C 2hr (Reaction coil 2; 100°C)
- 3) 各1000ppmにNaClO80ppm
40°C 2hr (Reaction coil 2; 40°C)
- 4) 各1000ppmにO₃:2000ppm
室温 0.5hr (Reaction coil 2; 40°C)
- 5) 各40ppmに1)~4)と同様の条件

表2 アミノ酸によるシアン様物質生成の程度

アミノ酸	SCN ⁻ 又はCN ⁻	塩化シアン	他の位置のピーク
L-グルタミン酸			
L-ロイシン			
L-システイン			
L-フェニルアラニン	○		○
DL-トリプトファン	○		
L-アスパラギン酸			○
L-ヒスタジン	○	○	
L-アラニン			
L-アスパラギン	○	○	○
グリシン	○	○	

(○はその部分にピークが出現を意味する)

反応後、ポストカラムIC法にて測定を実施した。また吸光光度法により、各物質の呈色を検討した。

オゾン発生器は、朝日理化(株)製—ラボオゾン250を用いた。オゾン発生量は100mg/hで30分発生し、25mlの液に反応させた。(2000mgO₃/l)

結果及び考察

1. 各種アミノ酸と次亜塩素酸及びオゾンとの反応

各生成条件下における、代表的なクロマトグラムを図4~7に示す。また表2に各種アミノ酸と次亜塩素酸ナトリウム及びオゾンで酸化した場合のシアン様物質(SCN, CN, CNCl様物質)の生成状況を示す。

10種類のアミノ酸のうち、シアン様物質を生成したのはL-フェニルアラニン他4種類であり、L-グルタミン酸他3種類は、シアン様物質を生成しなかった。

図4~6から明らかのように、L-アスパラギンは次亜塩素酸ナトリウムと反応しCN様物質を生成し、その量は、反応温度の上昇に伴って、増加した。

また、L-アスパラギンを次亜塩素酸共存下で強力に酸化すると、SCN様物質、CN様物質、CNCl様物質及び、他の位置にピークを生成したが、CN様物質の生成量は、次亜塩素酸単独で酸化した場合に比べ少なく、SCN様物質が多量生成した。

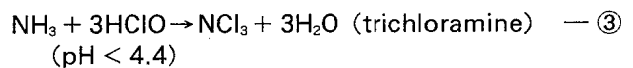
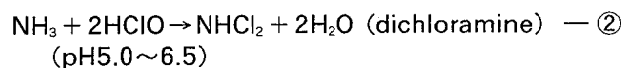
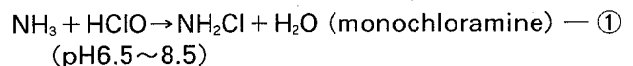
いずれの場合も、生成物をピリジン—ピラゾロン法で比色定量してみると、CNではないことが分かった。そこで、これらのCN様物質は、アミノ酸のアミノ基が酸化脱離した後、次亜塩素酸ナトリウムと反応してできる、クロラミン類ではないかと推定した。

クロラミンを生成しやすい簡単な構造のアミノ酸ほど、CN様物質の生成の程度が大きいことが合わせて推定された。

図7には、CN様物質を生成しない、L-グルタミン酸を塩素処理したクロマトグラムを示した。

2. アンモニアと次亜塩素酸ナトリウムとの反応

そこで、炭素を含まない化合物、アンモニア水と次亜塩素酸ナトリウムを反応させたところ、図8に示すようにCN様物質が生成した。このことから、アミノ酸のアミノ基が酸化脱離した後次亜塩素酸ナトリウムと反応し、クロラミン類ができ、これがCNのピークと重なっていたことが分かった。なお、水中のアンモニアは次式に示すように、次亜塩素酸ナトリウムと反応し、モノクロラミン、ジクロラミン、トリクロラミンを生成するが、イオンクロマトグラフポストカラム法に用いる溶離液のpHは4.4以下であることから、③式により、トリクロラミンが生成しているものと考えられる。



しかし、通常の水処理では、



が主として起こっている。そこで、水道水に出現するCN様物質のうち、最大の出現率を持つCN⁻の位置に出現するピークは、モノクロラミンと考えられるが、この反応は以下のように説明されている。³⁾



pHが低く、塩素添加量がアンモニアに比べて大きいときに②③の反応がスムーズに起きるが、①に比べて③の反応速度は小であるため、モノクロラミンが卓越して生成するものと考えられる。

次に、アンモニア類似物質として、アンモニウム塩もしくはヒドラジンを前駆物質としてシアン様物質が生成するか検討を行った。

塩化アンモニウムを前駆物質として、生成を試みたところ、アンモニアと同様の生成であった。ヒドラジンからは、ほとんど生成しなかったので、前駆物質の条件は、クロラミンを生成しやすい物質であることが推定された。

3. シアン様物質生成の定量的検討

前駆物質に、塩素処理を行って得られるシアン様物質の濃度は、塩素化剤が多量(80ppm)存在する場合は、前駆物質の濃度に比例して増加した。即ち前駆物質10ppm, 40ppm, 100ppmの場合のシアン様物質生成量は2ppb, 5ppb, 10ppbの程度であった。実際の水道水からのシアン様物質の検出濃度は1~2ppb程度であったことから、浄水処理における塩素化剤の濃度(10ppm

程度) から考えて、原水中の前駆物質の量は、数 ppm 程度であったと推測された。

なお、前駆物質濃度が 100ppm 程度以上の場合は、生成するシアン様物質に差はなく、塩素化剤の濃度によって生成量に差が生じた。

4. アンモニアとオゾンの反応

次亜塩素酸共存下オゾンで強力に酸化した場合 SCN 様物質が多量生成した原因を検索するため、炭素を含まないアンモニア水とオゾンとを反応させてみたところ、予想どおり、図9に示すように SCN 様物質が多量に生成した。このことから、この SCN 様物質は、アミノ酸のアミノ基が酸化脱離した後、オゾンで急激に酸化されて生成する NO_x であろうと推定した。

そこで、この物質を確認するために NO₃、NO₂、NO を単独にイオンクロマトグラフに注入してみたところ、NO₃、NO₂ はピークが出ず、NO から、SCN のピークと重なってピークが出現することが分かった。

なお、NO₃ と NO₂ はそれぞれ HNO₃、NaNO₂ を水に溶かしたものを用い、NO は NaNO₂ の水溶液に波長 430nm 以下の紫外線を照射することにより得られたものを使用した。

5. シアン様物質とシアンの識別

シアン様物質を、検出しないために、反応槽の温度が重要である事が示唆されてきた。

図 10 には、反応槽の温度の違いによる標準物質とシアン様物質の検出状況を面積値の変化で示した。反応槽の温度は 20℃ 刻みで変化できて、標準物質は 60℃ でも 100℃ の 40% 程度検出したが、シアン様物質は 60℃ ではほとんど検出されなかった。

また図 11 にはシアン及びシアン様物質の消失曲線を示した。明らかにシアン様物質の消失は早く、シアン類とは異なる物質であることが示された。

シアン様物質は安定性がなく、通常では数時間で消失するが、シアン類は消失しない。逆に、シアン類に、オゾンをあてて酸化させてみたところ、速やかに消失したが、シアン様物質は次々と生成し、消失にはかなりの時間を要した。

6. シアン様物質生成条件

・ CN 様物質が生成する場合をまとめるとアミノ酸、アンモニアまたはアンモニウム塩に酸化処理したら生成する。

・ 次亜塩素酸が大量に存在すれば、生成する

・ 分析途上での生成には、塩素化剤と温度が必要であり、

1) 前駆物質として N が必要、-C の存在は必ずしも必要でない

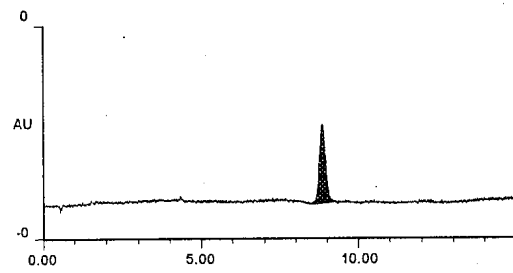


図4 L-アスパラギンを塩素処理 (常温)

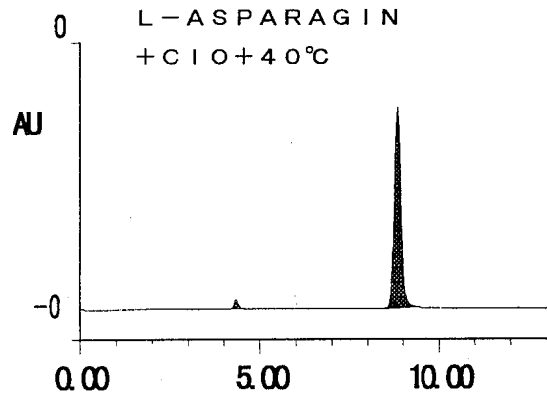


図5 L-アスパラギンを塩素処理 (40℃)

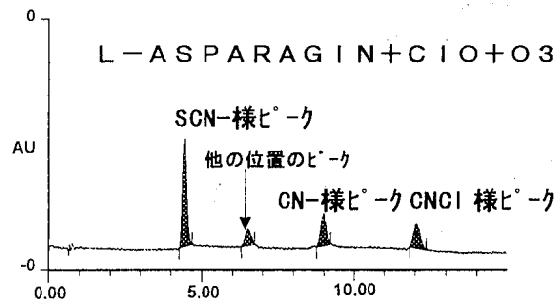


図6 L-アスパラギン塩素処理+オゾン処理

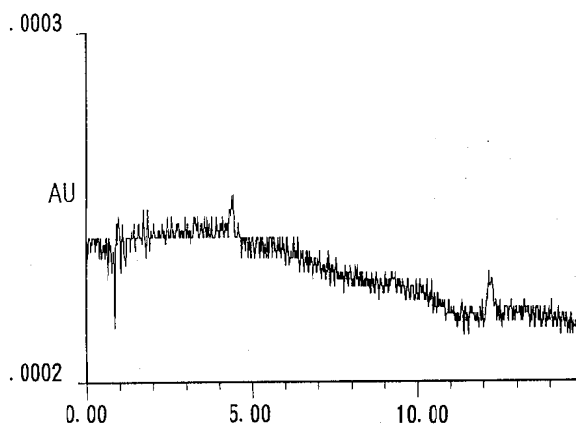


図7 L-グルタミン酸を塩素処理

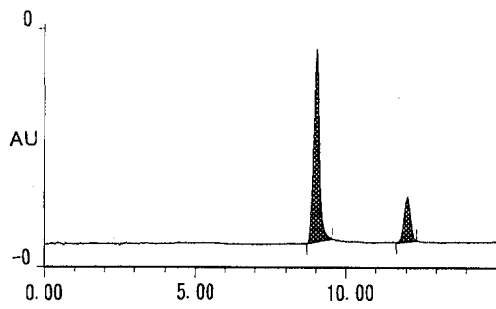


図8 アンモニアを塩素処理

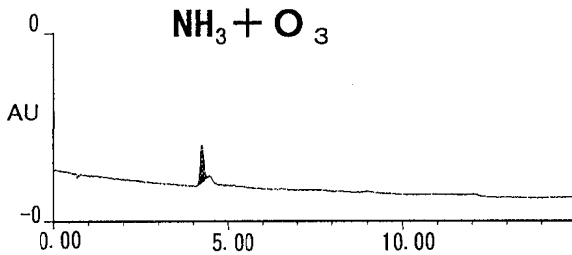


図9 アンモニアをオゾン処理

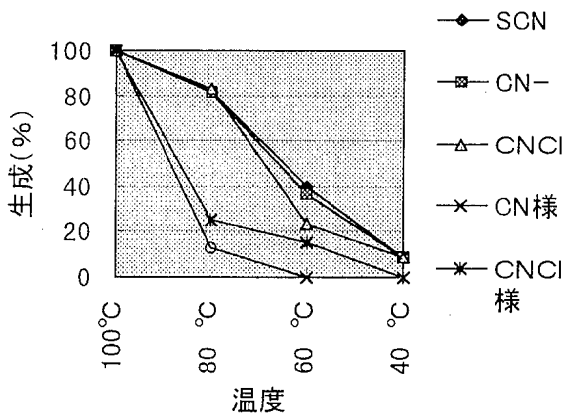


図10 反応槽の温度による検出状況の違い

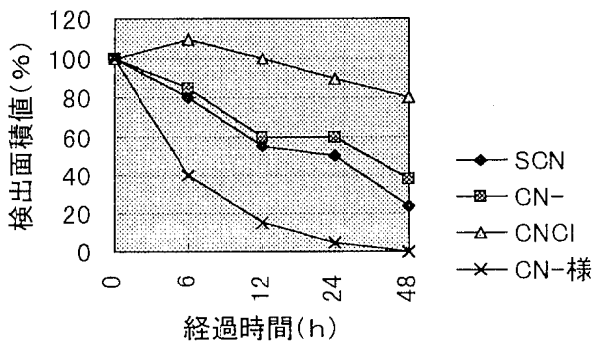


図11 塩化シアンの消失曲線

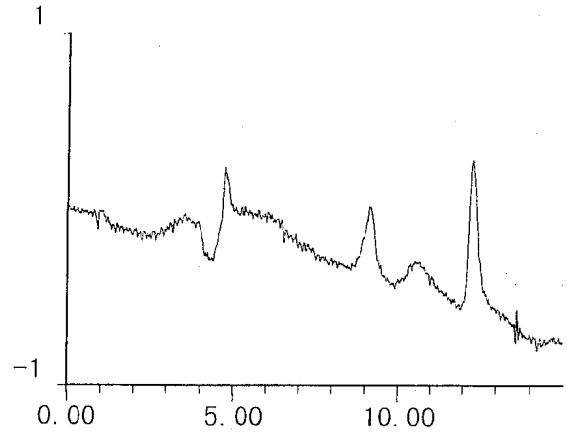


図12 次亜塩素酸ナトリウム単体によるCN様ピーク

- 2) ClOまたはO₃のような酸化剤が必要
- 3) 温度をかけたほうが生成物が多い
- 4) 反応コイルの温度が高いほど生成量が多い

以上のことから、シアン様物質生成には前駆物質の存在よりも、塩素化剤の存在の方が律則条件となると考えられる。

そこで、前駆物質と塩素化剤の濃度を種々変え、シアン様物質生成量の変化を確かめた。その結果、塩素化剤の濃度が5ppm以下では時間をかけてもシアン様物質は生成しない。

また、塩素化剤単体でイオンクロマトにインジェクションしても、シアン様物質のピークが出現した。(図12)

まとめ

ポストカラムIC法でシアンを分析する場合、次のことに注意する必要があることが分かった。

1. アミノ酸、アミン、アンモニアと次亜塩素酸ナトリウムが反応し、シアン様物質が生成する。
2. シアン様物質はクロラミンとNOである
3. シアン様物質の生成量は、反応温度の上昇とともに増加する。

以上のことから、アミノ酸やアンモニアの含まれている水の中のシアンをポストカラムIC法により分析する際には、常法(反応コイル温度100°C)どおり行くとCN様物質をCNと誤判定する危険性があるので、反応コイルの温度を60°C以下で行う必要性が示唆された。

【参考文献】

- 1) 森田久男他：全国衛生化学協議会 55, 128-129 (1996)
- 2) 田中栄次他：水道協会雑誌 65, (12) 18-28 (1996)
- 3) 丹保憲仁・小笠原紘一：浄水の技術pp103,技報堂出版(1985)

魚類中のホルムアルデヒドについて

大野智也佳 大瀧 勝 森 喜一

Formaldehyde levels in edible fishes obtained from Ehime area

Chiyaka OONO, Masaru OTAKI, Yoshikazu MORI

Formaldehyde in edible fishes, cultured and wild puffers and sea breams, were determined as a derivatized product by absorptiometry using 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole (AHMT).

The amount of formaldehyde in muscle and skin of puffers and sea breams were as low as the determination limit ($0.5 \mu\text{g/g}$).

New official method of analysis for the determination of formaldehyde by using 2, 4-dinitrophenylhydrazine (DNPH) was compared with the AHMT method. Formaldehyde derivatized by using DNPH was separated and determined by high performance liquid chromatography.

The sensitivity of the DNPH method was about twice as great as that of the AHMT method in absorbance. But the value of the blank tests in the DNPH method were highly observed as compared with that in the AHMT method. The value of the blank tests in the DNPH method were 0.3 to 0.5 ppm, and the coefficient of variation was 5.4%.

The determination limit of the DNPH method is $1.5 \mu\text{g/g}$ after subtracting the value of the blank test.

There was no difference in the quantities of formaldehyde in edible fishes between AHMT and DNPH method.

Keywords : formaldehyde, edible fish, 4-amino-3-hydrazino-5-mercapto-1, 2, 4-triazole, 2, 4-dinitrophenylhydrazine

はじめに

養殖魚に使用される薬品については、薬事法の規定に基づき動物用医薬品の使用の規制に関する省令が定められており、これを使用者に遵守させることにより養殖魚への薬品の残留を防止している。

ホルムアルデヒドは動物用医薬品の規定がないにもかかわらず、一部の養殖業者の間でトラフグ等の寄生虫の駆虫薬として使用されているのではないかと危惧がある。

この薬剤に対する養殖魚への安全性及び周辺環境への影響について県民の関心が高まっているが、魚類中のホルムアルデヒド量については一部の種類について把握されている¹⁾ものの、トラフグをはじめとする県内産養殖魚の実態は把握されていない。

また、魚類中のホルムアルデヒド分析法については、ホルムアルデヒドと4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1, 2, 4-トリアゾール (AHMT) との反応生成物を吸光光度法により定量する方法²⁾を用いることとされていたが、最近ホルムアルデヒドと2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン (DNPH) の反応生成物ホルム

アルデヒド-2, 4-ジニトロフェニルヒドラゾン (F-DNPH) を高速液体クロマトグラフィー (HPLC) により分離定量する方法³⁾ に改められた。

そこで今回, AHMT法により県内の養殖魚等のホルムアルデヒド量の実態を把握するとともに, DPNH法についてAMHT法との比較検討を行ったので, その概要を報告する。

方 法

1. 装 置

分光光度計: (株)日立製作所製U-2001型

ダブルビーム分光光度計

高速液体クロマトグラフ: (株)日立製作所製

高速液体クロマトグラフ

L-7100形ポンプ

L-7300形カラムオープン

L-7400形UV検出器

D-2500形クロマトデータ処理装置

2. 試 薬

ホルムアルデヒド-2, 4-ジニトロフェニルヒドラゾン標準液 (40 $\mu\text{gHCHO/ml}$): (排ガス分析用 (HPLC用) 和光純薬工業(株)製) 溶媒をメタノールに置換して用いた。

DNPH溶液: 2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン2gを2N塩酸250mlに溶解しガラスフィルター (G2) でろ過して用いた。

AHMT溶液: 4-アミノ-3-ヒドラジノ-5-メルカプト-1, 2, 4-トリアゾール0.5gを0.5N塩酸100mlに溶解した。

過ヨウ素酸カリウム溶液: 過ヨウ素酸カリウム0.75gに0.2N水酸化カリウム溶液100mlを加え, 水浴上で加熱溶解した。

ホルムアルデヒド標準溶液: 前述法²⁾ によりホルムアルデヒド液のホルムアルデヒド含量C (%) を求め, 200/C (g) をとり100mlに希釈し, ついで10倍希釈を4回繰り返して標準溶液とした。

ホルムアルデヒド標準溶液 1ml = 2 μgHCHO

Sep-Pak PS-2 (265mg) (日本ウォーターズ(株)製): メタノール, 水各20mlでコンディショニングし用いた。

メタノール (HPLC用: 和光純薬工業(株)製)

特に但し書きのない試薬及びその他の試薬については特級, 和光純薬工業(株)製を用いた。

3. 実施試料

愛媛県内で養殖されたトラフグの筋肉及び皮各6検体, タイの筋肉6検体, 皮4検体及び天然トラフグの筋肉, 皮各3検体を用いた。

4. 実験操作

試験溶液の調製及び試験操作

前述法^{2), 3)} に準じた。

HPLC条件

カラム: TSK-gel ODS-80T_M (東ソー(株)製)

カラム内径4.6mm, カラム長250mm

移動相: メタノール-水 (7:3) 混液

測定波長: 365nm

カラム温度: 40℃

流速: 1.0ml/分

注入量: 20 μl

結果及び考察

1. AHMT法による魚類中のホルムアルデヒド量

AHMT法による検量線を図1に示した。

ホルムアルデヒドとAHMTとの反応生成物溶液は, 0.05~2.0ppmの範囲で良好な直線性を示した ($r = 0.9991$)。

県内産の天然, 養殖トラフグ及び養殖タイの筋肉及び皮のホルムアルデヒドを定量した。その結果を表1に示した。いずれも定量限界値前後であり, 既報¹⁾ と比較しても低値であった。

魚類筋肉中ではトリメチルアミノオキシドが細菌のもつトリメチルアミノオキシド還元酵素によって還元され, ホルムアルデヒドを生成することが知られており⁴⁾, これらの定量値は, この反応によるものか薬剤によるものかは区別できない。

2. DNPH法とAHMT法の比較検討

DNPH法について, AHMT法との比較検討を行った。水蒸気蒸留は新たに示された方法³⁾ で行い, 留液を300ml採取し, 試験に用いた。

(1) 各方法の検量線

図1に各方法の検量線を示した。また, 反応生成物溶液の吸光スペクトルを図2に示した。

DNPH法は0.2~5.0ppmの範囲で良好な直線性を示した ($r = 0.9998$)。吸光度で比較すると, DNPH法はAHMT法に比べ約2倍の感度であった。

さらにHPLCにより濃度とピーク高の関係をみると, DNPH法は0.05~5.0ppmの範囲で良好な直線性を示した ($r = 0.9999$) (図3)。

(2) ホルムアルデヒドと2, 4-ジニトロフェニルヒドラジンとの反応

ホルムアルデヒドの代わりに水を用いて空試験を行ったところ, 0.3~0.5ppmに相当するピークが検出された。そこで, ホルムアルデヒドを0, 2, 10, 20 μg とり,

表1 魚類中のホルムアルデヒド量

魚	種	HCHO ($\mu\text{g}/\text{g}$)
養殖トラフグ	筋肉	0.76
養殖トラフグ	筋肉	0.78
養殖トラフグ	筋肉	0.77
養殖トラフグ	筋肉	ND
養殖トラフグ	筋肉	0.58
養殖トラフグ	筋肉	0.93
養殖トラフグ	皮	0.77
養殖トラフグ	皮	1.1
養殖トラフグ	皮	0.59
養殖トラフグ	皮	ND
養殖トラフグ	皮	0.95
養殖トラフグ	皮	0.54
天然トラフグ	筋肉	0.51
天然トラフグ	筋肉	ND
天然トラフグ	筋肉	ND
天然トラフグ	皮	0.85
天然トラフグ	皮	0.99
天然トラフグ	皮	0.69
養殖タイ	筋肉	0.55
養殖タイ	筋肉	0.53
養殖タイ	筋肉	0.71
養殖タイ	筋肉	ND
養殖タイ	筋肉	0.59
養殖タイ	筋肉	ND
養殖タイ	皮	1.3
養殖タイ	皮	1.1
養殖タイ	皮	1.6
養殖タイ	皮	0.84

定量限界: $0.5 \mu\text{g}/\text{g}$

2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液10mlと反応させメタノール10mlで溶出させHPLCで定量したところ、すべてピークを検出した。ブランク溶液に0.5ppmに相当するピークが検出され、この値を差し引いた反応率は0%, 88.1%, 95.6%であった。そこで2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液を3mlに減量し同様に定量したところ、ブランク値は0.2ppmに低下したが、10, 50, 100 μg 添加したときの反応率は73.3%, 62.5%, 58.4%に低下した。

このため2, 4-ジニトロフェニルヒドラジン溶液量は10mlとした。また、このときのブランク値の再現性を検討したところ、変動係数(CV%)は5.4%(n=3)であった。

DNPH法の定量限界はブランク値を見込んで設定する必要があり、今回の結果により定量限界を1.5 $\mu\text{g}/\text{g}$ とした。

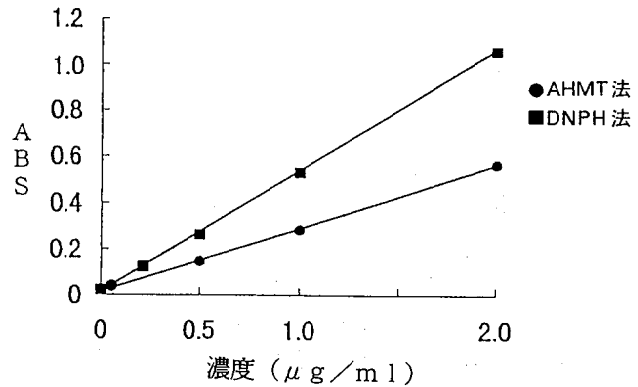


図1 ホルムアルデヒド標準溶液の検量線

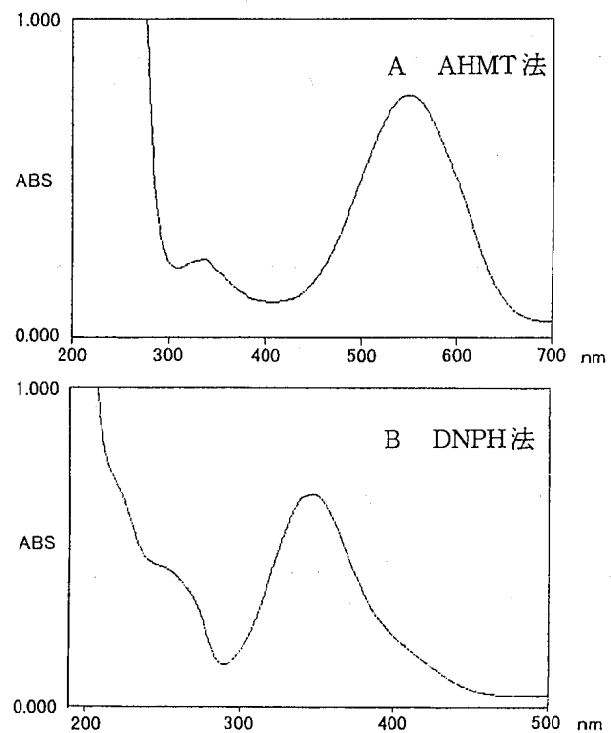


図2 ホルムアルデヒド反応生成物溶液の吸光スペクトル

(3) 各法による試料測定

試料にアジ及びメバルの筋肉を用いて試験溶液を調製し、各方法により定量した。あわせてメバル(筋肉)に15 $\mu\text{g}/\text{g}$ となるようホルムアルデヒドを添加し、添加回収試験を行った。結果を表2に、クロマトグラムを図4に示した。両方法の定量値にはほとんど差がなかった。また回収率はAHMT法で86.8%, DNPH法で64.1%であった。

まとめ

1. 愛媛県内の養殖及び天然トラフグ、養殖タイについてAHMT法によりホルムアルデヒドを定量したが、いずれも定量限界値前後であった。

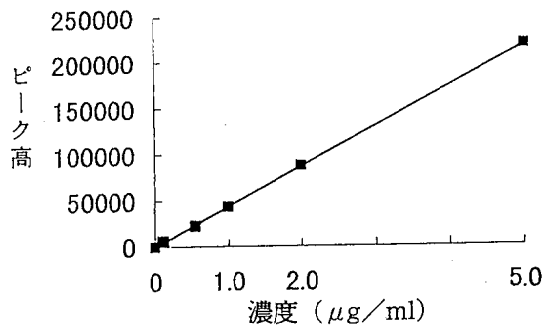


図3 ホルムアルデヒド濃度とピーク高の関係

表2 ホルムアルデヒド量

(単位: $\mu\text{g/g}$)

魚種	AHMT法	DNPH法
アジ 筋肉	1.7	1.9
アジ 筋肉	ND	2.1
メバル 筋肉	ND	ND
メバル 筋肉	ND	1.6

定量限界: $1.5 \mu\text{g/g}$

2. DNPH法はAHMT法に比べ感度は約2倍であり、反応に使用する留液量を増減できることから、DNPH法は有用な方法と考えられる。しかしブランクにピークが検出されることから、定量限界はブランク値を見込んで設定する必要があり、その値を $1.5 \mu\text{g/g}$ とした。

3 アジ及びメバルを用いて両方法を比較したところ定量値にはほとんど差がなかった。

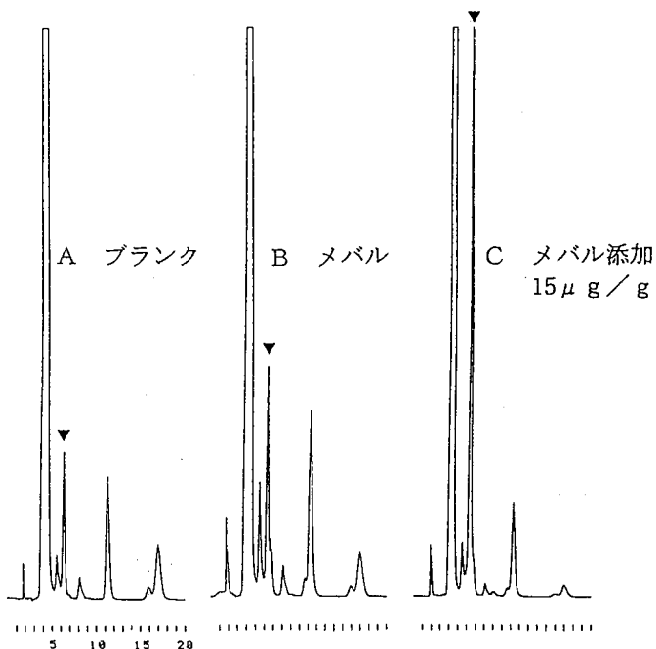


図4 DNPH法による食品試料のクロマトグラム

参考文献

- 1) 細貝祐太郎他: 食品衛生化学物質マニュアル, 104~118, 中央法規出版(1983)
- 2) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課: 畜水産食品中の残留物検査法, 230~232, 中央法規出版(1990)
- 3) 厚生省生活衛生局乳肉課長通知: 平成9年2月5日付衛乳第44号
- 4) 鴻巣章二他: 魚の科学, 70~72(1996)

II 資 料

平成8年度法定伝染病事例報告

細菌科

平成8年度に県内で発生した法定伝染病と腸管出血性大腸菌感染症事例について概要を報告する。

また、当科で実施した糞便の細菌検査の件数を表に示した。

法定伝染病事例

【事例1】

平成8年4月22日、北宇和郡内のT病院において、22才の男性が細菌性赤痢と診断された。

患者は仕事のため同郡内に宿泊しており、4月11日から4月14日までベトナムに旅行している。帰国後の15日悪寒、下痢症状を呈し、16日にT病院を受診、細菌検査で赤痢菌（ソネ菌）が分離された。

【事例2】

平成8年6月29日、今治市内のS病院において、49才の男性が疑似コレラと診断された。

患者は6月14日から25日までインドに旅行し、帰国後激しい下痢を呈している。

【事例3】

平成9年7月1日、松山市内のK病院において、65才の男性が腸チフスと診断された。

患者は肝疾患の検診のため同病院を受診したが、腸チフスの既往歴（9才）があったため細菌検査を実施したところ、尿からチフス菌（フェージ型D1）が分離された。

【事例4】

平成8年8月2日、松山市のN病院において、58才の男性が細菌性赤痢と診断された。

患者は7月21日から7月26日までの6日間、旅行会社の主催した中国ツアーに参加している。県内のツアー参加者について細菌検査を実施したところ10名から赤痢菌（フレキシネルII型菌）が分離されている。

【事例5】

平成8年8月24日、伊予三島市内のS病院において21才の女性が細菌性赤痢と診断された。

患者は8月12日から8月21日までの間、インドに旅行し、帰国後発熱（39.2°）、下痢を呈したため同病院を受診、細菌検査で赤痢菌（ソネ菌）が分離された。

【事例6】

平成8年8月27日、松山市内のM病院において、58才の男性がアメーバ赤痢と診断された。

患者の海外渡航歴はないが、血便を呈したため、同病

院を受診している。

【事例7】

平成8年9月20日、新居浜市内のN病院において、72才の男性がアメーバ赤痢と診断された。

患者の海外渡航歴はないが、血便を呈したため、同病院を受診している。

【事例8】

平成8年9月27日、インドから帰国した松山市内の女性（28才）から赤痢菌を分離した旨、関西国際空港検疫所から通報があった。

患者は8月19日から9月24日までインドに旅行し、9月23日から帰国時まで下痢を呈していた。

【事例9】

平成8年10月11日、松山市内のJ病院において、45才の男性がアメーバ赤痢と診断された。

患者の海外渡航歴はないが、血便を呈したため、同病院を受診している。

【事例10】

平成8年12月28日、今治市内のI病院において、81才の男性がパラチフスと診断された。

患者は12月2日から慢性腎不全により同病院に入院、人工透析を受けていたが、12月22日に発熱、下痢が見られたため、便培養検査を実施した結果、パラチフスA型菌が分離された。

腸管出血性大腸菌感染症事例

【事例1】

平成8年7月21日、大阪市から川之江市に帰省した8才の少女からO 157:H7（VT1, VT2産生株）が分離された。患者は腹痛と下痢（血便）を呈していた。

【事例2】

平成8年8月13日、新居浜市内の83才の女性からO 157:H7（VT1, VT2産生株）が分離された。患者は下痢を呈していた。

【事例3】

平成8年11月15日、松山市内の3才の女兒とその妹（2才）からO 157:H7（VT1, VT2産生株）が分離された。2名とも下痢を呈し、姉はHUSが認められた。さらに家族の検便の結果、患者の父親からも同菌が分離された。なお、父親は無症状（感染者）であった。

【事例4】

平成9年1月11日、学校給食従事者の保菌検査で、松山市内の女性からO 157:H7（VT1, VT2産生株）が分離された。この女性には下痢等の症状は認められていない（無症状感染者）

平成8年度食中毒事例報告

細菌科

平成8年度に県内で発生した食中毒の事例について概要を報告する。

また、当科で実施した食品の細菌検査の件数を表に示した。

【事例1】

平成8年7月1日、松山市内の消防学校訓練生58人のうち14人が食中毒様症状を訴えた。

患者の症状は水様下痢(9人)粘液下痢(5人)悪寒(10人)であり、便から病原大腸菌01が検出された。疫学調査の結果、原因食品は寮の給食と推定された。

【事例2】

平成8年8月3日、東宇和郡内の体験学習に参加した小学生37人のうち、23人が下痢、発熱、嘔吐を主徴とする食中毒様症状を訴えた。

細菌検査で患者の便からサルモネラ(S.Virchow)が検出され、疫学調査で共通食品は昼食を提供した民宿の日向飯であること、さらに民宿の従業員が同様の症状を呈していることから、この昼食を原因とするサルモネラ食中毒と断定した。

【事例3】

平成8年8月26日、東宇和郡内の民家で行われた仏事で行われた仕出し料理を食べた仏事出席者40人のうち

10人が下痢、嘔吐を主徴とする食中毒様症状を訴えた。患者の便から腸炎ビブリオが検出されたことから仕出し料理を原因とする腸炎ビブリオ食中毒と断定した。

【事例4】

平成8年11月3日、西宇和郡内で開催されたバザーの食品を喫食した96人のうち48人が下痢、発熱、嘔吐を主徴とする食中毒様症状を訴えた。

細菌検査で患者の便からサルモネラ(S.Enteritidis)が検出され、疫学調査の結果、原因食品はバザーの食品と推定された。

【事例5】

平成8年12月10日、今治市内の民家で行われた仏事で行われた仕出し料理を食べた仏事出席者6人のうち4人が下痢、嘔吐を主徴とする食中毒様症状を訴えた。

共通食品は仕出し料理のみで、患者2人と調理従事者からウェルシュ菌が検出されたことから仕出し料理を原因とするウェルシュ菌食中毒と断定した。

【事例6】

平成9年2月19日、松山市内の病院入院患者248人のうち45人が下痢、腹痛を主徴とする食中毒様症状を訴えた。

共通食品は同病院で提供された給食に限られており、細菌検査の結果、患者の便、及び「ほうれん草煮浸し」からウェルシュ菌が検出されたことから「ほうれん草煮浸し」を原因食品とするウェルシュ菌による食中毒と断定した。

表 食品の細菌検査成績

()内は陽性検体数

検査項目 品名	一般細菌数 /g	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ	大腸菌	カンピロバクター	腸炎ビブリオ	その他
魚介類とその加工品	73	72(10)	66	48	5		36	カビ・酵母 1, 真菌 6(1) 抗生物質 39 恒温試験 2
食肉とその加工品	77	70(55)	65(9)	64(16)	7	36(4)		抗生物質 1 大腸菌0157 22
乳とその加工品	41	61	1					乳酸菌数 17 カビ・酵母 1 抗生物質 10
穀類とその加工品	22	22(7)	17	5			3	セレウス 3 大腸菌0157 1
野菜・果物その加工品	31	82(9)	1		1			
清涼飲料	3	3						
冷凍食品	199	197	1		2(1)			
複合調理食品	250	245(76)	171(1)	65(1)			4	大腸菌0157 34
計	696	752	322	182	15	36	43	

平成8年度伝染病流行予測調査成績

ウイルス科

本調査は、厚生省からの委託で伝染病予防対策の一環として全国規模で行われている事業で、平成8年度は、日本脳炎感染源調査、ポリオ感染源調査、ポリオ感受性調査インフルエンザ感染源調査、の4事項を分担した。以下に各調査の概要をのべる。

1. 日本脳炎感染源調査

平成8年7月から9月中旬まで、各旬ごとに20件ずつ合計160件のと畜場豚血清を採取し、日本脳炎ウイルスHI抗体価を測定した。主に南予産の7ヶ月齢未満の肥育豚を対象にした。ウイルス抗原は日本脳炎ウイルスJaGAR#01株（デンカ生研製）を用い、HI抗体価が40倍以上の検体については2ME処理を行い、抗体価が1/8以下に低下したものを2ME感受性抗体（新鮮感染例）と判定した。

成績は表1に示したとおり、7月中旬から8月上旬にか

けては、5%から10%の低い日本脳炎抗体陽性率が連続して認められた。8月中旬には陽性率100%を示したが、その後も陽性率が上下し、本年の日本脳炎ウイルスの汚染度が比較的軽度であったことが示された。しかし、2ME感受性抗体は7月中旬から9月中旬まで長期間持続して検出されており、日本脳炎ウイルスの活動時期が長く続いていたことが推察された。なお、本年度は平成3年以来5年ぶりに1名の日本脳炎患者発生の届出があった。

2. ポリオ感染源調査

平成8年9月に今治地区の健康小児から採取された60例の糞便からウイルス分離検査を行った。細胞はFL細胞とRD-18S細胞を用いた。結果は表2に示したが、本年度はポリオウイルスは全く分離されなかった。ポリオ以外のウイルスとして、アデノウイルス5型、コクサッキーウイルスB4型、エコーウイルス7型が各1例分離された。なお、同地区での春期のポリオワクチンの投与は同年5月に実施された。

表1 平成8年度日本脳炎感染源調査（と畜場豚の日本脳炎ウイルスHI抗体保有状況）

採血月日	検査数	HI抗体価の分布								陽性率 (%)	2ME感受性抗体陽性 (%)	飼育地
		<10	10	20	40	80	160	320	640≧			
1996. 7. 8	20	20								0		広見町
7. 15	20	19							1	5	1/1 (100)	津島町・三間町
7. 29	20	18			1				1	10	2/2 (100)	大洲市・津島町
8. 6	20	18						1		10	2/2 (100)	三瓶町
8. 13	20					1	4	10	5	100	3/20 (15)	大洲市
8. 20	20	6				1	9	3	1	70	2/14 (14.3)	三間町
9. 2	20					2	8	8	2	100	2/20 (0)	大洲市
9. 17	20	14						1	5	30	1/6 (16)	大洲市

表2 平成8年度ポリオ感染源調査（ウイルス分離検査）

年齢区分	男					計	女					計
	陰性	ポリオウイルス			ポリオ以外		陰性	ポリオウイルス			ポリオ以外	
		1型	2型	3型				1型	2型	3型		
0歳	3					3	1					1
1歳	5					5	10				1**	11
2歳	4					4	5					5
3歳	4					4	7					7
4歳	3					3	2				1***	3
5歳	3					3	3					3
6歳	4				1*	5	3					3
計	26				1	27	31				2	33

* : アデノウイルス5型, ** : コクサッキーウイルスB4型, *** : エコーウイルス7型

3. ポリオウイルス感受性調査

平成8年5月から11月に採取した松山中央保健所管内の住民血清208例のポリオ中和抗体価の測定を実施した。ウイルスはSabin株を用い、カニクイザル腎臓由来のLLCMK細胞によるマイクロ中和法で測定した。結果は表3に示したが、ポリオ1型、2型、3型の各抗体保有率は、それぞれ84%、95%、75%で、前回の調査とほぼ同じ傾向であった。最近20代の成人のワクチン株によるポリオ罹患例が話題になったが、今回の成績でも、ポリオ1型の抗体保有率が20-24歳群で65%の落ち込みを示していた。この年齢層については今後も注目しておく必要がある。

4. インフルエンザ感染源調査

平成8年4月から6月および10月から平成9年3月の間に、上気道炎患者またはインフルエンザ様疾患集団発生患者からMDCK細胞などを用いてインフルエンザウイルスの分離検査を行った。結果は表4に示したとおり、平成8年4月には95/96年シーズンの後半に散発的に発生したA香港型が3株分離された。96/97年シーズンは平成8年11月下旬にB型が、12月上旬にはA香港型が分離され、両型の混合流行になった。2月以降はB型の散発的発生が長く続き、7株分離された。

表3 平成8年度ポリオ感受性調査（ポリオウイルス中和抗体保有状況）

ウイルス型	年齢区分 (歳)	検査数	中和抗体価の分布									1:4以上		1:64以上		
			<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	例数 (%)	例数 (%)			
ポリオ1型	0-1	20	7		1					1		11	13	65	12	60
	2-3	19	1		1				1		2	13	18	95	17	89
	4-6	21	2			1					8	10	19	90	18	86
	7-9	20	1			1			4	4	3	7	19	95	18	90
	10-14	23		1	2	2	3		2	3	7	3	23	100	15	65
	15-19	25	3	1	2	2	2	4	5	3	3	3	22	88	15	60
	20-24	20	7	1	3	1	2	3	2			1	13	65	6	30
	25-29	20	3	2	3	5	3	1	1	2			17	85	4	20
	30-39	20	3	2	6	3	3			3			17	85	3	15
	40-	20	6	2	5	3	1	1	1	1			14	70	3	15
合計	208	33	9	23	18	14	16	21	26	48	175	84	111	53		
ポリオ2型	0-1	20	6			2		3		3	6	14	70	12	60	
	2-3	19	1					3	3	9	18	95	18	95		
	4-6	21	1		1	1	6	8	3	1	20	95	18	86		
	7-9	20			2	1	8	5	3	1	20	100	17	85		
	10-14	23			1	1	6	6	6	3	23	100	15	65		
	15-19	25			2	6	5	5	3	2	25	100	12	48		
	20-24	20			1	3	4	5	7		20	100	12	60		
	25-29	20	1		1	3	5	4	5	1	19	95	10	50		
	30-39	20	1	1	1	2	2	4	8		1	19	95	13	65	
	40-	20	1	1	4	5	2	2	5			19	95	7	35	
合計	208	11	2	10	25	26	45	50	18	20	197	95	134	64		
ポリオ3型	0-1	20	11	1				2	3	3	9	45	8	40		
	2-3	19	4		2	1	4	1	4	3	15	79	8	42		
	4-6	21	2		1	2	10	3	2	1	19	90	6	29		
	7-9	20	6	4	2	4	4				14	70	0	0		
	10-14	23	5	7	4	3	2	1		1	18	78	2	9		
	15-19	25	6	2	8	4	4	1			19	76	1	4		
	20-24	20	6	7	2	5					14	70	0	0		
	25-29	20	8	2	2	4	3		1		12	60	1	5		
	30-39	20	2	3	4	5	5	1			18	90	1	5		
	40-	20	1	2	5	5	3	2	2		19	95	4	20		
合計	208	51	28	30	33	35	11	12	4	4	157	75	31	15		

表4 平成8年度インフルエンザ感染源調査

調査年月	検査数	インフルエンザウイルス分離数			その他ウイルス
		Aソ連型	A香港型	B型	
平成8年 4月	8		3		
5月	6				
6月	6				
10月	8				
11月	8			1	
12月	10		4	2	
平成9年 1月	20		7		
2月	20		2	4	
3月	8			3	
計	94	0	16	10	

愛媛県感染症サーベイランス事業調査成績

ウイルス科

本事業は、昭和50年8月から県保健環境部の県単独事業「特定流行性疾患（感染症）対策事業」として実施されてきた。昭和56年に開始された厚生省全国感染症サーベイランスの開始にともない、同事業の一環として再編され、今日まで継続的に実施されてきた。その成果として、全国規模の感染症および伝染病情報の収集と解析が可能となり、医療や予防行政に重要な資料を提供できるようになった。さらに、62年1月からは疾病別患者数の収集、還元のコンピュータオンライン化が実現し、情報収集の迅速化が図られ感染症の予防に役立っている。

本事業は、県医師会、愛媛大学医学部、県教育委員会等の多大な協力を得て実施されており、疾患別患者数を報告する定点医療機関は53定点、疾患別欠席者数を報告する定点小学校数は15定点を設けている。

1. 定点医療機関における患者発生数

小児科定点における月別患者数を表1に示した。昨年度と比較して、全般的に患者数が減少した疾病が多かったが、本年度に患者数が増加した疾病は、麻疹、異型肺炎、伝染性紅斑、ヘルパンギーナ等であった。麻疹は最近3年間ほとんど流行がなかったため、感受性者が蓄積していたためと考えられた。また、異型肺炎や伝染性紅斑は今年度がほぼ流行周期の年にあたっていた。

表2に病院定点における患者発生状況を示した。MCLS（川崎病）が昨年に比べ2倍以上多く報告された。

2. ウイルス分離状況

主に小児科検査定点の急性熱性、気道疾患や発疹症などの患者からのウイルス検出結果を表3に示した。分離検査に用いた細胞は、FL, RD18S, Vero細胞を常用し、インフルエンザが疑われる検体にはMDCK細胞を、麻疹の検体にはB95a細胞を併用した。

表1 平成8年定点医療機関における患者発生状況（小児科定点）

疾病名	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
麻しん様疾患	120	200	274	208	346	110	49	7	1	1			1316
風しん	2	4	5	3	11	11	6	2	2	2	7		55
水痘	344	218	234	183	343	251	190	93	74	132	251	364	2677
流行性耳下腺炎	127	64	95	104	137	90	130	61	48	54	36	42	988
百日せき	8	2	10	13	14	6	5	5	7	5	1	3	79
溶連菌感染症	56	42	44	48	91	94	46	26	20	60	61	61	649
異型肺炎	1	9	5	7	16	5	28	39	18	38	37	29	232
感染性胃腸炎	594	617	805	473	606	354	333	160	105	227	225	674	5173
乳児嘔吐下痢症	177	184	266	270	218	57	35	12	6	13	40	312	1590
手足口病	2			1	10	8	13	14	24	58	133	97	360
伝染性紅斑	17	18	17	34	50	52	46	14	13	10	23	23	317
突発性発しん	111	74	107	99	125	86	134	125	129	148	118	126	1382
ヘルパンギーナ	1	3	3		24	206	664	156	80	48	124	109	1418
インフルエンザ	2573	937	107					1				311	3929
MCLS（川崎病）		1	5		2		2	2	1	1	2		16
咽頭結膜熱（内小）	3		7	6	10	6	99	71	18	4	3	7	234
咽頭結膜熱（眼）								4				1	5
流行性角結膜炎	53	27	30	36	24	38	35	34	18	21	33	5	354
急性出血性結膜炎			3	2	1	4	3		2			1	16
不明発しん症	1		1	1	1	2	2	3	4		1	2	18
腎炎・紫斑病													
その他													

インフルエンザウイルスは1月2月にAソ連型が、引き続き2月から4月中旬にかけてA香港型株が散発的に分離された。さらに11月12日にはA香港型とB型が分離され、結局1年のうちに3つの型のウイルスが流行した。ヘルパンギーナからはCA2型、CA4型、CA10型が分離された。カゼ疾患や発疹症からはCB4型、CB5型が多く分離されたが、エコーウイルスは7型、14型、25型が少数例検出されたにすぎなかった。アデノウイルスはほぼ年間を通じて検出され、3型が最も多く、次いで2型、1型の順に多かった。最近、国内各地で流行がみられ、肺炎や髄膜炎等重篤な症状を呈することがあることで注目されているアデノウイルス7型が11月に1例検出された。麻疹が4年振りの多発を反映し多くの株が分離された。

電子顕微鏡法による小児胃腸炎患者からの月別ウイルス検出状況を表4に示した。本年のロタウイルスの検出は例年になく遅く1月には全く検出されず、3、4月にピークを示した。また、平成5年以来のC群ロタウイルスが2月から4月にかけて6株検出された。

3. インフルエンザの抗体保有度調査

平成8年度のインフルエンザの流行は、平成8年11月

の下旬から3月まで続き、流行期中の集団発生届出施設数は、25施設であった。そのうち7施設についてウイルス学的検査を行い結果を表5に示した。4施設ではウイルス分離検査によりA香港型インフルエンザウイルスが12株分離された。血清学的検査は4施設31名について実施し、25名のA香港型の感染が確認された。Aソ連型、B型の感染例は全く認められなかった。今シーズンの集団発生は1月中旬から2月初旬までのA香港型の最盛期に集中しており、集団発生の主たる原因はA香港型であったと推察された。

本年度の流行前の住民（松山中央保健所管内178名、宇和島中央保健所管内170名）のインフルエンザHI抗体保有状況を表6、表7に示した。測定にはウイルス抗原として、A香港型はA/武漢/359/95、Aソ連型はA/山形/32/89、B型はB/三重/1/93をそれぞれ用いた。各型に対する128倍以上の抗体保有率は、一般的に両地区ともに小中学生年齢で最も高かったが、宇和島地区のA香港型に対する抗体保有率は20%から40%しかなく他の型に比べ低かった。また、Aソ連型に対しては両地区ともに昨年度のAソ連型の流行を反映して抗体保有率が高い傾向がみられた。

表2 平成8年定点医療機関における患者発生状況（病院定点）

疾 病 名	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計
MCLS（川崎病）	2	2	4	3	4	1	1	1	1	1	2		22
ウイルス性肝炎		1			1			1		1			4
A型肝炎													
B型肝炎								1					1
その他の肝炎		1			1					1			3
感染性髄膜炎			2			3		1	5	1			12
細菌性髄膜炎													
無菌性髄膜炎			2			3		1	5	1			12
脳・脊髄炎								1					1
脳炎								1					1
脳症													
ライ症候群													
脊髄炎													
淋病様疾患	6	1	2	3	1	2	2	1	4	3	1	2	28
陰部クラミジア	3	2	3	4	3	5	3	1	7	1	2	2	36
陰部ヘルペス		5	2	5	3	1	1	4			6	2	29
尖圭コンジローム		4	3	3	2	1	1	1	1			2	18
トリコモナス症													

表3 平成8年ウイルス分離状況

ウイルス型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
コクサッキーウイルス A群 2型							1						1
6型							1						1
10型						1		1		1	3		6
B群 4型				1		4	21	3					29
5型					1		3	2					6
エコーウイルス 7型									1			2	3
14型			1										1
25型				1									1
ポリオウイルス 1型					1								1
2型						1							1
アデノウイルス 1型	3	2	3	2	2	2		2				2	18
2型	3	3	1	2	1	3			1		3		19
3型		4	3	7	3	7	5	2	1	1	2	1	43
5型										1			1
6型				2	3				1		2	2	12
7型											1		1
ムンプスウイルス						2		1			1		5
RSウイルス	12	1		3	1	4		1		2			30
麻疹ウイルス	1	4		8	10	3	1						37
単純ヘルペスウイルス 1型	3	2		1	1	2		1		1			12
サイトメガロウイルス												1	1
インフルエンザウイルス Aソ連型	79	32											111
A香港型		1	2	3									9
B型											1	6	7
合計	101	49	16	30	23	29	32	13	4	6	13	23	365
検査数	231	179	96	115	111	96	83	57	62	57	96	113	1411

表4 平成8年小児急性胃腸炎患者からの月別ウイルス検出状況（電子顕微鏡検査等）

ウイルス名	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
ロタウイルス		7	12	18	5	1	1						62
アデノウイルス	2			1	2	2	1	1					10
小型球形ウイルス (RSV)	1		1	1	3	1					4	5	17
アストロウイルス		5	3		1								9
その他		1					1						2
合計	3	13	16	20	11	4	3	1	0	0	4	5	100
検査数	25	39	55	35	43	40	53	32	40	34	42	36	509

表5 インフルエンザ様疾患集団発生施設のウイルス学的検査結果

施設名	管轄保健所	検体採取 月 日	ウイルス分離数		血清診断陽性数			
			検査数	Aソ連型	検査数	Aソ連型	A香港型	B型
城川西中学校	野村農村	1月16日	10	2	0			
味生小学校	松山中央	1月16日	10	0	0			
津島中学校	宇和島中央	1月20日	10	0	9	0	8	0
金生第二小学校	伊予三島	1月20日	10	5	7	0	7	0
三崎小学校	八幡浜中央	1月21日	6	4	5	0	5	0
三津浜中学校	松山中央	1月23日	10	0	10	0	5	0
肱東中学校	大洲	2月5日	10	1	0			
合計			66	12	31	0	25	0

表6 インフルエンザH1抗体保有状況(松山中央HC管内)

ウイルス型	年齢区分 (歳)	検査数	インフルエンザHI抗体価								1:16		1:128		
			<16	16	32	64	128	256	512	1024≥	以上 (%)	以上 (%)	以上 (%)	以上 (%)	
A/ソ連型 (A/山形)	0-4	20	15			1	1	1	1	1		5	25	4	20
	5-9	30	2			1	5	7	9	6		28	93	27	90
	10-14	23			3		1	6	5	8		23	100	20	87
	15-19	25				4	4	5	9	3		25	100	21	84
	20-24	19	3		4	4	4	3	1			16	84	8	42
	25-29	21	1	1	2	3	8	5	1			20	95	14	67
	30-39	19	1	1	4	5	1	3	2	2		18	95	8	42
	40-	21	3	3	6	4	2	2		1		18	86	5	24
	TOTAL	178	25	5	19	22	26	32	28	21		153	86	107	60
A/香港型 (A/武漢)	0-4	20	9			2	2	4	1	2		11	55	9	45
	5-9	30	1		2	8	9	6		4		29	97	19	63
	10-14	23	1		4	1	7	8	1	1		22	96	17	74
	15-19	25			2	6	11	6				25	100	17	68
	20-24	19	2		7	4	6					17	89	6	32
	25-29	21	1	3	8	4	3		1	1		20	95	5	24
	30-39	19	8	3	5	2			1			11	58	1	5
	40-	21	8	1	3	6	1	2				13	62	3	14
	TOTAL	178	30	7	31	33	39	26	4	8		148	83	77	43
B型 (B/三重)	0-4	20	16			2		2				4	20	2	10
	5-9	30	6	2		4	8	5	5			24	80	18	60
	10-14	23		1	3	1	7	4	6	1		23	100	18	78
	15-19	25			5	3	5	6	6			25	100	17	68
	20-24	19	5	1	2	4	2	3	1	1		14	74	7	37
	25-29	21	4	2	4	6	1	2	1	1		17	81	5	24
	30-39	19	2	2	1	3	1	4	5	1		17	89	11	58
	40-	21	11		1	4	4	1				10	48	5	24
	TOTAL	178	44	8	16	27	28	27	24	4		134	75	83	47

表7 インフルエンザH1抗体保有状況(宇和島中央HC管内)

ウイルス型	年齢区分 (歳)	検査数	インフルエンザHI抗体価								1:16		1:128		
			<16	16	32	64	128	256	512	1024≥	以上 (%)	以上 (%)	以上 (%)	以上 (%)	
A/ソ連型 (A/山形)	0-4	20	4	1	6	3	3		1	2		16	80	6	30
	5-9	17		1		1	4	4	4	3		17	100	15	88
	10-14	18		1	1	3	6	4	2	1		18	100	13	72
	15-19	19			1	4	8	4	2			19	100	14	74
	20-29	20	1	1	2	8	2	6				19	95	8	40
	30-39	16	3	3	2	4	3	1				13	81	4	25
	40-49	20	6		2	4	6		1	1		14	70	8	40
	50-59	20	7	3	2	2	3	3				13	65	6	30
	60-	20	7	2		3	4	3	1			13	65	8	40
TOTAL	170	28	12	16	32	39	25	11	7		142	84	82	48	
A/香港型 (A/武漢)	0-4	20	15		1	1	2			1		5	25	3	15
	5-9	17		2	3	5	5	2				17	100	7	41
	10-14	18	1	2	4	6	3	1	1			17	94	5	28
	15-19	19		1	2	8	6	1	1			19	100	8	42
	20-29	20	5		9	3	3					15	75	3	15
	30-39	16	4	2	3	5	1	1				12	75	2	13
	40-49	20	7	2	6	4	1					13	65	1	5
	50-59	20	6	3	6	4	1					14	70	1	5
	60-	20	6	4	5	2	1	2				14	70	3	15
TOTAL	170	44	16	39	38	23	7	2	1		126	74	33	19	
B型 (B/三重)	0-4	20	15		2		1	2				5	25	3	15
	5-9	17	1		2	4	5	4	1			16	94	10	59
	10-14	18		1	2	3	4	6	2			18	100	12	67
	15-19	19		3	2	6	3	3	2			19	100	8	42
	20-29	20		3	3	6	1	3	3	1		20	100	8	40
	30-39	16	1	3	5	4	1	2				15	94	3	19
	40-49	20	3	3	6	3	3	2				17	85	5	25
	50-59	20	4	2	3	8	2	1				16	80	3	15
	60-	20	6	4	3	1	4	1		1		14	70	6	30
TOTAL	170	30	19	28	35	24	24	8	2		140	82	58	34	

平成8年度先天性代謝異常検査成績

臨床検査科

昭和52年度より、早期発見・早期治療を目的とし先天性代謝異常症4疾患（フェニールケトン尿症、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）のマス・スクリーニングを愛媛県先天性代謝異常実施要項に基づき実施している。平成元年度からは先天性副腎過

形成症、及び平成4年度からはクレチン症の2疾患を追加し、現在、6疾患について実施している。

平成8年度は、新生児15001名に対して検査を実施し、58名のスクリーニング陽性者を発見した。その疾患別内訳については表1に示すとおりである。

また、専門医療機関での精密検査の結果、現在、ガラクトース血症1名、クレチン症4名、高TSH血症1名の患者が見つかり、治療及び経過観察が行われている（表2）。

表1 平成8年度先天性代謝異常検査実施状況

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
初回検査数	1245	1311	1171	1438	1220	1225	1393	1190	1202	1359	1122	1125	15001
再検査数	76	88	78	75	82	71	77	69	103	82	91	91	983
検査総数	1321	1399	1249	1513	1302	1296	1470	1259	1305	1441	1213	1216	15984
検査結果													
正常	1225	1335	1205	1454	1241	1244	1421	1187	1233	1369	1145	1153	15242
疑陽性	50	44	32	36	43	39	32	50	53	56	54	48	537
判定不能	12	13	10	17	16	10	11	15	11	14	6	12	147
陽性	4	7	2	6	2	3	6	7	8	2	8	3	58
疾患別													
フェニールケトン尿症													
メープルシロップ尿症													
ホモシスチン尿症													
陽性													
ガラクトース血症		1			1				1		1		4
先天性副腎過形成症	1	1		2		1	3	1	4	1	1	1	16
クレチン症	3	5	2	4	1	2	3	6	3	1	6	2	38

表2 精密検査後の陽性者一覧

検体番号	性別	生年月日	初回検査		再検査		精密検査結果
			採血月日	検査結果	採血月日	検査結果	
1116	M	H.8. 4.18	H.8. 4.23	ガラクトース20mg↑	-	ガラクトース20ng	ガラクトキナーゼ欠損症 在胎41週 出生体重3228g
2458	M	H.8. 5.22	H.8. 5.27	TSH 183.77μu/ml F-T4 0.16ng/dl	H.8. 6. 5	TSH 126.04μu/ml F-T4 0ng/dl	クレチン症 在胎40週 出生体重2670g
3650	M	H.8. 6.21	H.8. 6.26	TSH 23.09μu/ml F-T4 1.76ng/dl	H.8. 7. 6	TSH 21.07μu/ml F-T4 1.09ng/dl	クレチン症 在胎39週 出生体重2994g
3953	M	H.8. 6.25	H.8. 7. 1	TSH 12.27μu/ml F-T4 1.89ng/dl	H.8. 7. 9	TSH 12.83μu/ml F-T4 1.73ng/dl	クレチン症 在胎38週 出生体重2380g
10376	M	H.8. 11.27	H.8. 12. 2	TSH 4.87μu/ml F-T4 0.66ng/dl	H.8. 12. 12	TSH 12.69μu/ml F-T4 1.68ng/dl	クレチン症 在胎38週 出生体重3064g

平成8年度神経芽細胞腫検査成績

臨床検査科

小児がんの一種である神経芽細胞腫のマス・スクリーニングを、生後6~7ヵ月児を対象に実施している。初回検査、再検査とも原尿を用い、高速液体クロマトグラフィー (HPLC) によるバニール・マンデル酸 (VMA),

ホモバニリン酸 (HVA) の定量を行っている。

本年度の検査成績は、下表に示すとおりである。初回検査は11,468名について行い、疑陽性130名(1.1%)、判定不能218名(1.9%)に対して再検査を依頼した。再検査は346名について行い、1名のスクリーニング陽性者を発見した。この陽性者については、精密医療機関で受診観察中である。

平成8年度神経芽細胞腫検査実施状況

項目		月												計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	
初回検査	検査件数	957	1054	849	912	916	880	1005	949	857	1102	966	1021	11648
	結果													
	異常なし	934	1015	814	889	888	852	979	929	830	1057	936	997	11120
	擬陽性	17	22	21	14	17	8	1	6	7	7	4	6	130
	陽性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
判定不能	6	17	14	9	11	20	25	14	20	38	26	18	218	
再検査	検査件数	19	30	39	28	23	29	29	21	17	31	50	30	346
	結果													
	異常なし	18	29	34	23	22	29	26	20	16	28	49	30	324
	擬陽性	0	1	4	2	0	0	0	0	1	3	1	0	12
	陽性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
判定不能	0	0	1	3	1	0	3	1	0	0	0	0	9	
検査総数		976	1084	888	940	939	909	1034	970	874	1133	1016	1051	11814

平成8年度微生物検査精度管理実施結果

微生物試験室

本事業は「衛生研究所および保健所で実施している微生物検査について、検査結果の信頼性を確保し、検査技術の向上を図ること」を目的に、14保健所および衛生研究所を対象として、平成3年度から実施している。

本年度は、保健所で主として実施されている伝染病原菌および食中毒原因菌について、分離培養の手技、生化学的試験ならびに血清学的試験に主眼をおき、検討した。

実施結果は表1から2のとおりであったが、平成9年3月に実施した保健所担当者との検討会において、同定方法の手順について再度確認を行った。

表1 検体番号1(菌株A)における各保健所の同定検査結果

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
増菌培養	セレンナイト培地	+	+					+		+				+	-	+	
	SBG培地						+										
	アルカリ性ペプトン水	+	-				+	±		-				-	-	+	
	食塩ポリミキシンブイオン	-	-				+	±		-				-	-		
	NaCl加ブイオン						+									+	
	ノボピオン加ECブイオン		+						+		+						+
分離培地	SS寒天培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	DHL寒天培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	MLCB寒天培地											-	-		-	+	
	TCBS寒天培地	-	-				-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
	ビブリオ寒天培地	-	-													-	
	卵黄食塩寒天培地	-	-				-	-	±		-						+
	卵黄加マンニト食塩寒天培地										-				-	-	
	SIB寒天培地		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+			+
	TSI寒天培地																
確認試験	乳糖・白糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	ブドウ糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	Gas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	硫化水素	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SIM培地・LIM培地																
	リジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	インドール	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	IPA				-	-	-									-	-
	LIG培地																
試験	乳糖		+					+	+			+	+				+
	MUG		+					+	+			+	+				+
	VP反応	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クエン酸利用能	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オキシダーゼ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	グラム染色(陰性桿菌)	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
同定キット	EB	EB		EB	EB	BBL	BBL	EB	EB		EB	EB	EB	EB	EB	EB	
						BBL											
血清型別試験(病原大腸菌)	混合血清	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	
	因子血清			5													
			157			157	157				157			157		157	
			114			114	114				114			114		114	

表2 検体番号2 (菌株B) における各保健所の同定検査結果

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	
増 菌 培 養	セレナイト培地	+	+	+	+	+		+		+				+	+	+	
	SBG培地						+										
	アルカリ性ペプトン水	+	-				+	±		-				-	-	+	
	食塩ポリミキシンブイヨン	+	+				+			-				-	-		
	NaCl加ブイヨン						+	±								+	
分 離 培 地	ノボビオシン加ECブイヨン		±					+		+						+	
	SS寒天培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
	DHL寒天培地	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	MLCB寒天培地					+						+	+		+	+	
	TCBS寒天培地	-	-				-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	
	ビブリオ寒天培地	-	-													-	
	卵黄食塩寒天培地	-	-				-	-	±		-						+
	卵黄加マンニト食塩寒天培地										-		-		-	-	
	SIB寒天培地		+				+	+	+	+	+	+	+	+			+
	TSI寒天培地																
確 認 試 験	乳糖・白糖	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	ブドウ糖	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	Gas	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	
	硫化水素	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	SIM培地・LIM培地																
	リジン	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	運動性	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	インドール	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
	IPA				-	-	-									-	
	LIG培地																
試 験	乳糖																
	MUG																
	VP反応	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-	
	クエン酸利用能	+	+	+		+					+	+	+	+	+	+	
	オキシダーゼ	-	-	-	-	-		-	-	-		-	-	-	-	-	
	グラム染色 (陰性桿菌)	+	+	+		+		+	+	+	+	+	+	+	+	+	
	同定キット	EB	EB		EB	EB	BBL	BBL	EB	EB		EB	EB	EB	EB	EB	
						BBL											
						バイル											
	血清型別試験 (サルモネラ)	○血清	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9	9
H血清				G		G										G	

平成8年度し尿処理場放流水基準

試験結果について

水質化学科

県下のし尿処理場8施設から依頼され実施した96検体の試験結果は、次のとおりであり、廃棄物の処理及び清掃に関する法律等で定められている施設基準等にすべて

適合していた。

T-N, T-Pについてみると、A施設でT-Pが高く、F施設でT-Nが高く、G施設でT-N, T-Pとも高いが、平成10年からの暫定基準を超えるのは、A施設のT-P以外にはなかった。しかし、T-Nに関しては、B, C, D施設での変動係数が大きく、維持管理の必要性が示唆された。

(単位:大腸菌群数(1ml中),その他(mg/l))

A 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4月	6.6	2	14	2	182.1	0	6.56	8.41
5月	6.5	1	11	2	136.7	0	6.48	6.81
6月	7.3	1	14	4	140.4	0	8.67	8.49
7月	7.2	2	11	1	90.0	2	4.36	4.53
8月	6.4	2	6.0	1	116.3	0	8.48	10.3
9月	6.4	3	13	2	181.5	0	9.90	14.8
10月	6.0	2	16	3	180.1	0	14.2	12.8
11月	6.0	1	14	1>	217.0	0	14.9	16.2
12月	7.0	7	12	3	380.0	0	28.9	17.8
1月	7.1	4	23	8	358.8	0	15.3	26.9
2月	7.4	1	12	4	184.3	0	16.7	9.50
3月	6.9	1	12	2	188.6	85	15.4	7.70
最大値	7.4	7	23	8	380.0	85	28.9	26.9
最小値	6.0	1	6.0	1	90.0	0	4.36	4.53
平均値	6.7	2.3	13.2	2.7	196.3	7	12.49	12.02
変動係数(%)	11.0	90.0	52.0	60.3	42.1	165	77.0	70.3

B 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4月	6.8	2	12	1>	255.2	2	1.43	0.10
5月	6.7	2	10	1>	239.6	12	1.74	0.11
6月	6.8	2	10	1>	294.9	9	1.62	0.44
7月	7.1	3	13	1>	293.5	5	1.78	0.21
8月	7.0	3	16	2	283.6	0	2.01	2.05
9月	7.1	4	10	1>	256.7	0	1.49	0.22
10月	7.1	2	5.8	1>	255.2	0	1.02	0.59
11月	7.1	2	12	1>	245.3	0	1.90	0.96
12月	6.9	12	12	1>	251.0	0	13.9	2.23
1月	7.0	5	9.2	1>	216.2	0	2.35	0.20
2月	6.7	2	9.9	1>	256.7	0	3.53	0.28
3月	6.8	4	15	1>	292.8	0	2.47	0.39
最大値	7.1	12	16	2	294.9	12	13.9	2.23
最小値	6.7	1	5.8	1>	216.2	0	1.02	0.10
平均値	6.9	3.6	11.2	1>	261.7	2	2.94	0.65
変動係数(%)	2.3	79.3	24.3	-	9.4	178	119.6	113.7

C 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4 月	7.7	3	36	6	443.8	0	2.90	0.49
5 月	7.6	3	21	1	224.0	0	2.24	0.45
6 月	7.8	2	14	7	129.0	0	1.62	0.34
7 月	7.5	7	11	3	130.5	0	1.17	0.65
8 月	7.0	2	13	1>	182.9	0	2.40	0.58
9 月	7.1	3	6.5	1>	114.9	0	0.84	0.08
10 月	7.0	1	5.9	1>	148.9	0	1.02	0.03
11 月	7.6	2	11	1	253.1	0	1.79	0.48
12 月	7.3	4	15	1>	330.4	0	1.79	0.22
1 月	7.8	3	15	8	223.3	0	2.02	0.58
2 月	8.0	3	7.1	1>	411.2	0	2.27	0.09
3 月	8.1	2	10	1>	561.5	0	55.5	0.17
最大値	8.1	7	36	8	561.5	0	55.5	0.65
最小値	7.0	1	5.9	1>	114.9	0	0.84	0.03
平均値	7.5	2.9	13.8	2.2	262.8	0	6.30	0.35
変動係数 (%)	4.9	51.6	59.4	156.7	54.8	0	246.3	63.6

D 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4 月	7.7	2	9.7	1>	1312	0	1.63	0.06
5 月	7.7	3	8.2	1>	1021	0	5.65	0.05
6 月	7.3	3	6.9	1>	1102	0	2.78	0.04
7 月	7.5	8	5.7	1>	1141	0	6.43	0.05
8 月	7.1	1	3.4	1>	996.1	0	5.19	0.03
9 月	7.4	3	3.3	1	1240	0	20.1	0.05
10 月	7.4	2	3.3	1>	1457	0	41.2	0.07
11 月	7.8	2	5.2	1	932.3	0	31.2	0.18
12 月	7.5	1	3.7	1	1517	0	5.51	0.04
1 月	7.7	2	16	1	1595	0	9.76	0.12
2 月	7.2	1	4.0	1>	1241	0	5.74	0.04
3 月	7.5	1	2.9	1>	1092	0	5.83	0.03>
最大値	7.8	8	16	1	1595	0	41.20	0.18
最小値	7.1	1	2.9	1>	932.3	0	1.63	0.03>
平均値	7.5	2.4	6.0	1>	1221	0	11.75	0.06
変動係数 (%)	3.6	35.1	40.1	-	40.2	0	143.1	214.8

E 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4 月	7.4	2	12	1>	263.0	1	4.72	0.44
5 月	7.3	2	11	1>	179.4	13	5.87	0.47
6 月	7.2	1	10	1>	209.9	6	3.83	1.12
7 月	7.3	6	12	1>	248.9	8	4.08	0.90
8 月	7.5	1>	14	1>	284.3	6	5.13	2.46
9 月	7.4	4	10	1>	191.4	6	5.71	0.40
10 月	7.3	2	10	1>	195.0	0	14.4	0.34
11 月	7.4	2	6.5	1	160.2	19	5.52	0.08
12 月	7.3	3	6.3	1>	173.7	3	19.5	0.29
1 月	7.5	4	8.0	1>	184.3	4	7.32	0.34
2 月	7.3	2	5.7	1	167.3	0	4.56	0.12
3 月	7.3	1	7.3	1>	181.5	5	4.42	0.08
最大値	7.5	6	14	1	284.3	19	19.5	2.46
最小値	7.2	1>	5.7	1>	160.2	0	3.83	0.08
平均値	7.4	2.4	9.4	1>	203.2	6	7.09	0.59
変動係数 (%)	1.2	62.1	28.1	-	19.8	93	68.1	113.8

F 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4月	7.3	17	12	3	146.9	0	53.1	0.34
5月	7.3	15	10	1	114.0	0	49.6	0.22
6月	7.4	4	11	3	129.7	0	66.3	0.12
7月	7.3	6	12	4	145.7	0	74.8	0.15
8月	7.5	12	8.5	1>	141.8	0	67.1	0.06
9月	7.5	14	7.6	1>	136.5	0	38.4	0.04
10月	7.3	20	7.2	1	141.4	0	45.8	0.11
11月	7.4	11	5.7	1>	131.9	0	44.0	0.06
12月	7.1	8	5.5	1	111.3	0	38.9	0.03
1月	6.8	26	5.6	1>	86.9	0	37.4	0.04
2月	7.2	9	5.4	2	133.3	0	54.4	0.03
3月	7.4	6	8.8	1>	146.1	0	61.6	0.05
最大値	7.5	26	12	4	146.9	0	74.8	0.34
最小値	6.8	4	5.4	1>	86.9	0	37.4	0.03
平均値	7.3	12.3	8.3	1.3	130.5	0	52.6	0.10
変動係数(%)	2.6	52.4	30.5	93.5	13.8	0	23.8	90.4

G 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4月	7.7	17	30	13	515.8	0	49.8	6.04
5月	7.6	8	21	5	1120	0	44.4	6.09
6月	7.6	12	23	8	762.2	0	56.3	2.16
7月	7.5	21	21	5	400.6	0	48.1	4.57
8月	7.3	17	23	12	918.2	0	48.4	7.00
9月	7.4	21	20	8	1110	0	35.4	5.32
10月	7.2	4	16	3	1007	0	38.7	5.80
11月	7.3	5	17	2	709.0	25	46.6	6.05
12月	7.4	14	24	6	581.4	0	46.8	5.85
1月	6.9	13	13	2	498.7	0	40.5	6.02
2月	7.3	4	10	4	496.3	0	35.5	7.23
3月	7.7	7	17	4	470.3	0	54.1	7.05
最大値	7.7	21	30	13	1120	25	56.3	7.23
最小値	6.9	4	10	1>	400.6	0	35.4	2.16
平均値	8.1	13.0	21.4	2	780.9	2	49.5	6.29
変動係数(%)	1.9	34.6	30.4	90.9	20.3	318	13.6	21.6

H 施設

	pH値	BOD	COD	S S	塩素イオン	大腸菌群数	T-N	T-P
4月	7.2	2	3.9	1>	158.2	0	1.68	0.03>
5月	7.4	2	4.0	1>	111.7	1	1.80	0.03
6月	7.4	2	4.4	1>	88.6	0	1.56	0.03>
7月	7.5	2	3.0	1>	87.6	0	1.34	0.03>
8月	7.4	1>	3.6	1>	75.9	0	1.34	0.03>
9月	7.4	2	2.9	1>	61.3	0	1.28	0.03>
10月	7.3	1	1.9	1>	63.5	0	1.13	0.03>
11月	7.5	1	2.7	1	70.2	8	1.74	0.03>
12月	7.4	2	4.1	1>	92.2	1	1.41	0.03>
1月	7.3	2	3.9	1>	108.5	0	1.89	0.03>
2月	7.4	1>	0.6	1>	58.1	0	0.98	0.03>
3月	7.6	2	4.5	1>	98.6	0	1.65	0.03>
最大値	7.6	2	4.5	1	158.2	8	1.89	0.03
最小値	7.2	1>	0.6	1>	58.1	0	0.98	0.03>
平均値	7.4	1.5	3.3	1>	89.5	1	1.48	0.03>
変動係数(%)	1.4	28.1	34.8	-	31.4	0	19.0	-

平成8年度松くい虫防除薬剤空中散布
に伴う調査について（県行政検査）

理化学試験室

平成8年度における松くい虫防除のための薬剤散布は、MEP（フェニトロチオン）及びNAC（カルバリル）を使用して、前期（6月3日～9日）と後期（6月25日～7月1日）の2回に分けて実施された。

当所では、これに伴う環境調査の一部として北条市他5地域の河川水の薬剤濃度と、北条市・川内町における大気中の薬剤浮遊量及び落下量の調査を分担した。

調査結果の概要は、次のとおりである。なお、捕集法として、浮遊量についてはフロリジルにグリセリンをコーティングした固体吸収体を、落下量についてはグリセリンを浸潤、風乾させたろ紙を用いた。

(1) 河川水の薬剤濃度

北条市、伊予市、川内町、重信町（散布薬剤はMEP）、久万町、美川村（散布薬剤はNAC）の6地域で散布前後の河川水44件を分析した。

その結果は、前期では散布前の試料から2件検出され、散布後の試料3件からMEP及びNACが検出

された。

後期では、散布前の試料から2件検出され、散布後の試料6件からMEP及びNACが検出された。
(検出限界：MEPは $0.20 \mu\text{g}/\text{l}$ 、NACは $0.20 \mu\text{g}/\text{l}$)

(2) 大気中の浮遊量

北条市、川内町の2地点において、散布前日、当日、3日後及び7日後の4回（32件）にわたって試料を採取し、経時変化を調べた。その結果、すべての試料32件からMEPは検出されなかった。

(検出限界： $0.25 \mu\text{g}/\text{m}^3$)

(3) 落下量

北条市、川内町において、散布前日、当日、3日後及び7日後の4回（61件）にわたって試料を採取し、経時変化を調べた。その結果、前期は7地点で実施し、当日の試料1件から $4.81 \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ のMEPが検出された。

後期では、7地点で実施し、当日の試料2件から $0.319 \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ 、 $2.74 \mu\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$ のMEPが検出された。

(検出限界：MEPの総落下量として $2.0 \mu\text{g}/\text{m}^2$)

平成8年度愛媛県産野菜・果実等の
残留農薬分析調査成績（県行政検査）

食品化学科

昭和45年度から継続して県内産野菜・果実等の残留状

況を調査している。

平成4年10月に食品衛生法が改正され、残留農薬基準については従来の53農産物から132農産物に、26農薬から55農薬に増加した。

その後、農薬の追加が行われ、現在では（平成9年3月末）138農薬について残留基準が設定されている。

農産物	採取年月日	産地	B H C	D D T	パ ラ チ オ ン	デ イ ル ド リ ン	エ ン ド リ ン	E P N	ダ イ ア ジ ノ ン	カ ル バ リ ル	ジ コ ホ ー ル	フ ェ ン チ オ ン	ジ ク ロ ル ボ ス	ジ メ ト エ ー ト	フ ェ ン ト エ ー ト	キ ャ プ タ ン	カ プ タ ホ ー ル	ク ロ ル フ ェ ン ビ ン ホ ス	ホ サ ロ ン
キャベツ	8. 5. 14	松山市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)				(-)	(-)	
いちご	8. 5. 15	宇和町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)								
そらまめ	8. 6. 3	松前町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)							(-)					
茶	8. 6. 4	新宮村	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)								(-)
ピーマン	8. 6. 14	八幡浜市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)										
なす	8. 6. 25	津島町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)										
しそ	8. 7. 22	小松町						(-)	(-)					(-)	(-)				
とうもろこし	8. 7. 25	内子町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)						(-)					(-)	
えだまめ	8. 7. 25	内子町		(-)	(-)								(-)					(-)	
レタス	8. 7. 29	西条市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)										
しろうり	8. 8. 13	宇和町	(-)	(-)	(-)				(-)										
かぼちゃ	8. 9. 18	新居浜市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)				(-)	(-)		
きゅうり	8. 9. 24	野村町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)							
リンゴ	8. 9. 25	久万町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)					0.03	(-)	(-)	
くり	8. 10. 14	中山町																	
玄米	8. 10. 22	西条市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)			(-)			(-)	
チンゲンサイ	8. 10. 24	新居浜市											(-)						
大根(根)	8. 10. 29	今治市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)								(-)	
大根(葉)	8. 10. 29	今治市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)								(-)	
キウイ	8. 11. 6	丹原町											(-)						
やまのいも	8. 11. 12	土居町											(-)						
ライム	8. 11. 20	岩城村											(-)					(-)	
小豆	8. 11. 26	久万町	(-)	(-)	(-)								(-)					(-)	
きゅうり	8. 11. 28	丹原町	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)				0.25		(-)	
みかん	8. 12. 6	八幡浜市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)			(-)	(-)				
みかん	8. 12. 10	今治市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)			(-)	(-)				
にんじん	8. 12. 16	伊予市																	
いよかん	9. 1. 10	松山市																	
夏みかん(皮)	9. 3. 7	宇和島市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)					
夏みかん(実)	9. 3. 7	宇和島市	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)					
夏みかん(全体)	9. 3. 7	宇和島市																	

本事業の概要は、本県で生産されている農産物を対象として使用頻度の高い農薬を選定し、年間30農産物、約40農薬の分析を実施することである。

本年度は、26農産物31検体について38農薬の分析を行った。その結果を次表に示す。

検出された農薬はトリクロロホン（なす）、キャプタン

（リンゴ・きゅうり）で、いずれも残留基準を超えるものはなかった。

注) BHC (α , β , γ , δ の総和)
 DDT (DDD, DDEを含む)
 ディルドリン (アルドリンを含む)

クロロベンゼンジレート	フェニトロチオン	マラチオン	クロロピリホス	臭素	アミトラズ	エチオフェンカルブ	オキサミル	エディフェンホス	キノメチオネート	グリホサート	クロロプロファム	酸化フェンブタスズ	ジクロフルアニド	フルシトリネート	シペルメトリン	ペルメトリン	ダミノジッド	トリクロロホン	ピレトリン	マレイン酸ヒドラジド
	(-)					(-)	(-)		(-)		(-)							(-)	(-)	
(-)	(-)	(-)	(-)						(-)						(-)	(-)				
	(-)	(-)	(-)																	
	(-)		(-)									(-)	(-)	(-)						
	(-)		(-)									(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	
	(-)					(-)	(-)						(-)	(-)	(-)	(-)		0.01	(-)	
																(-)				
	(-)		(-)	(-)		(-)	(-)											(-)		
	(-)	(-)	(-)						(-)	(-)			(-)	(-)					(-)	(-)
	(-)														(-)	(-)		(-)	(-)	
	(-)	(-)	(-)								(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)
									(-)	(-)		(-)							(-)	(-)
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
	(-)	(-)	(-)						(-)									(-)		
		(-)	(-)	(-)			(-)	(-)	(-)						(-)	(-)			(-)	
			(-)			(-)	(-)						(-)	(-)	(-)	(-)		(-)		
	(-)	(-)				(-)	(-)		(-)		(-)				(-)					
		(-)				(-)	(-)								(-)					
		(-)	(-)			(-)	(-)	(-)			(-)	(-)						(-)		
		(-)	(-)																(-)	
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)			(-)	(-)			(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	
			(-)							(-)	(-)	(-)						(-)		
						(-)	(-)		(-)						(-)	(-)		(-)	(-)	(-)
(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)		(-)					(-)	(-)		
(-)		(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)	(-)		(-)					(-)	(-)		
	(-)	(-)	(-)						(-)				(-)		(-)	(-)	(-)			
(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)		(-)		(-)	(-)					(-)	(-)		
(-)		(-)																		
(-)		(-)								(-)										(-)

平成8年度食品添加物使用実態調査
(県行政検査)

食品化学科

食品添加物の使用実態を把握し適正使用を監視する目的で、14種類100検体の食品について調査を実施した。分析結果の概要は次のとおりであった。

1. 合成保存料

チーズ等4食品32検体について分析を実施した結果、いずれも使用基準に適合していた。

2. 防かび剤

かんきつ類及びバナナ20検体について分析を実施した。その結果、グレープフルーツ1検体から検出されたイマザリル(0.0053g/kg)が使用基準を上回っていた

が、その他はチアベンダゾール(12検体)が0.00002~0.0053g/kg、オルトフェニルフェノール(2検体)が0.0010及び0.0016g/kg、イマザリル(12検体)が0.0007~0.0030g/kgであり、いずれも使用基準に適合していた。

3. 酸化防止剤

魚介乾製品21検体、チーズ等10検体について分析を実施した。その結果、魚介乾製品2検体からBHAが0.06及び0.01g/kg検出されたが、いずれも使用基準には適合していた。

4. 漂白剤

栗甘露煮11検体、煮豆10検体及びさといも6検体について二酸化イオウの分析を実施した。その結果、栗甘露煮9検体から0.004~0.025g/kg、煮豆1検体から0.060g/kg検出したが、使用基準には適合していた。

平成8年度食品添加物の調査結果

食品名	検体数	違反数	分析項目	分析結果	
				検出件数	検出状況
チーズ、バター 及びマーガリン	10	0	デヒドロ酢酸	0	
			安息香酸	0	
			パラオキシ安息香酸	0	
			ジブチルヒドロキシトルエン	0	
			ブチルヒドロキシアニソール	0	
しょう油	6	0	デヒドロ酢酸	0	
			安息香酸	0	
			パラオキシ安息香酸	3	0.059~0.093 g/l
食パン	16	0	プロピオン酸	2	0.50, 1.1 g/kg
かんきつ類	18	1	オルトフェニルフェノール	2	0.0010, ~0.0016 g/kg
			ジフェニル	0	
			チアベンダゾール	10	0.00002~0.0085 g/kg
			イマザリル	10	0.0005 ~0.0053 g/kg
バナナ	1	0	チアベンダゾール	0	
			イマザリル	0	
その他の果実	1	0	オルトフェニルフェノール	0	
			ジフェニル	0	
			チアベンダゾール	0	
			イマザリル	0	
魚介乾製品	21	0	ジブチルヒドロキシトルエン	0	
			ブチルヒドロキシアニソール	2	0.01, 0.06 g/kg
さといも	6	0	二酸化イオウ	0	
栗甘露煮	11	0	二酸化イオウ	9	0.004~0.025 g/kg
煮豆	10	0	二酸化イオウ	1	0.060 g/kg
合計	100	1		39	

平成8年度医薬品の品質調査（県行政試験）

薬品化学科

県内で製造されている医薬品、医薬部外品及び原薬等の品質、有効性及び安全性の確保を目的として、薬務課・保健所・衛生研究所の3者により製造所への立入検査・

指導を行うとともに、取去した医薬品等について、製造承認規格基準試験を実施している。平成8年度は次表のとおり、医薬品は12検体（137試験項目）、医薬部外品は26検体（126試験項目）の試験を実施した。その結果、医薬部外品中、生理処理用品1検体（重量偏差）、清浄綿1検体（無菌試験）が不適合であった。

平成8年度 医薬品等試験状況

項目 品名	検 体 数	試 験 項 目 数	試 験 項 目							
			性 状 試 験	物 理 試 験	確 認 試 験	純 度 試 験	定 量 試 験	重 量 偏 差 試 験	生 理 処 理 用 品 基 準 試 験	無 菌 試 験
医 薬 品	12	137	39	3	62		29	4		
胃 腸 薬	1	11	3		5		2	1		
解 熱 鎮 痛 薬	2	25	8	1	7		7	2		
か ぜ 薬	1	15	3		6		6			
内 用 液 剤	2	18	7		9		2			
ビ タ ミ ン 製 剤	1	13	1	1	6		5			
鎮 咳 去 痰 剤	1	11	3		5		3			
消 毒 綿	2	14	6	1	4		2	1		
局 方 脱 脂 綿	2	30	8		20		2			
医 薬 部 外 品	26	126	33	5	7	14	29	19	16	3
生 理 処 理 用 品	16	48					16	16	16	
清 浄 綿	4	29	12	1	5		5	3		3
衛 生 綿	1	11	5		1	4	1			
パーマネント・ウェーブ用剤	4	32	12	4		10	6			
誘 引 殺 虫 剤	1	6	4		1		1			
合 計	38	263	72	8	69	14	58	23	16	3

平成8年度有害物質を含有する
家庭用品の調査（県行政試験）

薬品化学科

課が試買した市販の家庭用品について、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律（昭和48年法律第112号）に基づく検査を実施している。平成8年度は次表のとおり、60検体について14項目（計152試験項目）の試験を実施した。その結果、すべて基準に適合していた。

家庭用品の安全性を確保することを目的として、薬務

平成8年度 家庭用品関係検査状況

品名	検体数	検査項目数	検査項目											
			ホルムアルデヒド		有機水銀化合物	ダイルドリン	D T T B (注1)	塩化ビニル	メタノール	テトラクロロエチレン	トリクロロエチレン	塩化水素	水酸化ナトリウム	容器試験 (注2)
			生後24ヶ月以内用	生後24ヶ月以内用を除く										
繊維製品	50	98	24	22	44	4	4							
寝衣	2	2	2											
くつした	12	24	4	8	12									
おしめ	2	4	2		2									
おしめカバー	4	8	4		4									
よだれ掛け	4	8	4		4									
下着	22	44	8	14	22									
家庭用毛糸	4	8				4	4							
化学製品	10	54						4	4	8	8	2	4	24
家庭用エアゾル製品	4	16						4	4	4	4			
住宅用洗剤	2	10										2		8
家庭用洗剤	4	28								4	4		4	16
合計	60	152	24	22	44	4	4	4	4	8	8	2	4	24

(注1) 4,6-ジクロロ-7-(2,4,5-トリクロロフェノキシ)-2-トリフルオルメチルベンズイミゾール

(注2) 漏水試験, 落下試験, 耐酸性又は耐アルカリ性試験及び圧縮変形試験

平成8年度温泉分析成績

薬品化学科

平成8年度は、5件の鉱泉分析を実施し、次表のとおり結果を得た。

4件が温泉法（昭和23年法律第125号）第2条に規定する温泉に該当し、1件は該当しなかった。

更にそのうち1件が鉱泉分析法指針（昭和53年5月15日付環自施第213号）に規定する療養泉に該当した。

なお、新規分析は2件、再分析は3件であった。

1. 宝泉坊温泉は再分析であり、前回（昭和61年）と同様に温泉該当項目はフッ素イオン・メタホウ酸であった。
2. 丸山温泉は新規分析であり、温泉該当項目はメタケイ酸であった。
3. 道前溪温泉第2号泉は再分析であり、前回（昭和58年）と同様に温泉該当項目は溶存物質・臭素イオン・フッ素イオン・総硫黄・メタホウ酸・炭酸水素ナトリウムであり、療養泉に該当した。
4. 伊予宝塚温泉第1源泉は再分析であり、前回の分析（昭和39年）での温泉該当項目は泉温・フッ素イオンであったが、今回はフッ素イオン・メタホウ酸であった。
5. 伊予病院温泉は新規分析であり、温泉該当項目はなかった。

温 泉 名 称		1 宝泉坊温泉
涌 出 地		東宇和郡城川町大字高野子 75番地
調 査 年 月 日		H 8. 5. 7
泉 温 (°C)		15.3
気 温 (°C)		17.1
深 度 (m)		15
ゆう出量 (ℓ/分)		82
知 覚 的 試 験		無色, 澄明 微弱硫化水素臭, 無味 ガス発生及び沈析物なし
pH 値 (ゆう出地)		7.9
(試 験 室)		7.8
ラドン (M・E/kg)		1.3
密 度		0.9983
蒸発残留物 (g/kg)		0.3085
項 目		濃度 (mg/kg)
陽 イ オ ン	Li ⁺	0.4
	Na ⁺	110.3
	K ⁺	1.7
	NH ₄ ⁺	0.4
	Mg ²⁺	1.1
	Ca ²⁺	6.5
	Sr ²⁺	0.4
	Ba ²⁺	0.6
	Al ³⁺	0.1 未満
	Mn ²⁺	0.1 未満
陰 イ オ ン	Fe ²⁺	0.1 未満
	Fe ³⁺	0.1 未満
	F ⁻	3.6
	Cl ⁻	47.4
	Br ⁻	0.1
	I ⁻	0.1 未満
	OH ⁻	0.1 未満
	SO ₄ ²⁻	7.9
そ の 他	HPO ₄ ²⁻	0.1
	HCO ₃ ⁻	217.8
	CO ₃ ²⁻	1.4
	NO ₃ ⁻	0.1 未満
	CO ₂	6.1
	総硫黄として	0.3
H ₂ SiO ₃	29.2	
HBO ₂	19.3	
溶存物質 (g/kg)		0.4485
成分総計 (g/kg)		0.4546
泉 質 (分 類 名)		(低張性弱アルカリ性 冷鉱泉)
温 泉 該 当 項 目 (○印は療養泉の 基準以上である項目)		F ⁻ HBO ₂

温泉名称	2 丸山温泉	3 道前溪温泉第2号泉	4 伊予宝塚温泉第1源泉	5 伊予病院温泉	
涌出地	川之江市金生町山田井字丸山乙754-49	周桑郡丹原町来見字巨の原258番地	松山市畑寺4丁目65-1	伊予市八倉字八重谷915-2	
調査年月日	H 8. 5. 14	H 8. 7. 2	H 8. 10. 15	H 9. 1. 21	
泉温(°C)	18.1	24.6	22.3	17.2	
気温(°C)	22.2	31.6	23.0	7.3	
深度(m)	107	243	400	1000	
ゆう出量(l/分)	183	測定不能	124	測定不能	
知覚的試験	微弱黄色, 澄明 無臭, 無味 ガス発生及び沈析物なし	微弱黄色, 澄明 無臭, 塩味 ガス発生及び沈析物なし	無色, 澄明 微弱硫化水素臭, 無味 ガス発生及び沈析物なし	薄茶色, 茶色混濁 土臭, 無味 茶色の沈析物あり	
pH値(ゆう出地) (試験室)	7.1 7.2	8.2 7.2	8.9 8.8	8.1 8.0	
ラドン(M・E/kg)	0.31	1.2	0.66	0.34	
密度	0.9975	0.9998	0.9980	0.9983	
蒸発残留物(g/kg)	0.3810	6.940	0.3447	0.1923	
項目	濃度(mg/kg)	濃度(mg/kg)	濃度(mg/kg)	濃度(mg/kg)	
陽イオン	Li ⁺	0.1	0.9	0.5	0.1
	Na ⁺	30.4	2859	144.3	44.8
	K ⁺	3.4	15.3	0.7	3.8
	NH ₄ ⁺	0.6	0.1 未満	0.1 未満	8.2
	Mg ²⁺	5.7	17.2	0.1 未満	6.6
	Ca ²⁺	52.9	25.0	1.1	16.3
	Sr ²⁺	0.3	5.0	0.1 未満	0.2
	Ba ²⁺	0.2	2.9	0.1 未満	0.2
	Al ³⁺	0.1	0.1 未満	0.2	0.1
	Mn ²⁺	0.2	0.1 未満	0.1 未満	0.1
陰イオン	F ⁻	0.1	6.0	10.7	0.2
	Cl ⁻	6.4	4043	50.9	15.9
	Br ⁻	0.1 未満	9.0	0.1 未満	0.1 未満
	I ⁻	0.1 未満	0.1 未満	0.1 未満	0.1 未満
	OH ⁻	0.1 未満	0.1 未満	0.1	0.1 未満
	SO ₄ ²⁻	52.5	1.1	29.7	8.0
	HPO ₄ ²⁻	0.3	0.1 未満	0.1 未満	0.1 未満
	HCO ₃ ⁻	200.0	429.0	202.6	195.1
	CO ₃ ²⁻	0.3	8.1	1.1	1.7
	NO ₃ ⁻	0.1 未満	0.1 未満	0.1 未満	0.1 未満
その他	CO ₂	48.0	4.6	0.5	11.9
	総硫黄として	0.1 未満	2.4	0.8	0.1 未満
	H ₂ SiO ₃	66.7	11.0	26.6	5.8
	HBO ₂	0.1 未満	180.0	17.6	0.4
溶存物質(g/kg)	0.4237	7.617	0.4977	0.3125	
成分総計(g/kg)	0.4717	7.622	0.4986	0.3245	
泉質 (分類名)	(低張性中性冷鉱泉)	ナトリウム-塩化物冷 鉱泉 (低張性弱アルカリ性 冷鉱泉)	(低張性アルカリ性 冷鉱泉)		
温泉該当項目 (○印は療養泉の 基準以上である項目)	H ₂ SiO ₃	○溶存物質 F ⁻ HBO ₂ Br ⁻ ○総硫黄 NaHCO ₃	F ⁻ HBO ₂	該当項目なし	

平成8年度理化学試験精度管理実施結果

理化学試験室

「理化学試験精度管理」の事業は、昭和62年度から引き続き実施しているが、今年度も5中央保健所及び衛生研究所の6機関で実施した。

実施の目的は、中央保健所及び衛生研究所で実施している理化学試験における分析結果の信頼性を確保すると

ともに、分析技術の向上を図ることである。

実施方法については、平成8年9月下旬に衛生研究所が4試料（飲料水2、シロップ2）を調整し、各機関に配布した。

飲料水の分析対象項目は、硝酸性窒素・亜硝酸性窒素、フッ素及び総硬度で、シロップの分析項目は、保存料である安息香酸、ソルビン酸である。

分析結果及び検査方法を相互に比較し検討したがおおむね良好な結果であった。

平成8年度 理化学試験精度管理実施結果

機 関 名	分 析 結 果									
	No.1 飲料水			No.2 飲料水			No.3 シロップ		No.4 シロップ	
	硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素	フッ素	総硬度	硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素	フッ素	総硬度	安息香酸	ソルビン酸	安息香酸	ソルビン酸
A	8.3	0.64	293	4.5	0.93	107	81	299	271	96
B	8.3	0.61	297	4.7	0.95	109	102	338	282	104
C	8.2	0.67	294	4.7	1.1	109	85	294	251	86
D	8.0	0.62	297	4.5	0.96	110	90	297	244	93
E	8.3	0.64	298	4.6	0.96	109	96	303	282	94
F	8.7	0.64	290	4.7	1.1	109	108	343	318	108
平均値	8.3	0.64	295	4.6	1.0	109	94	312	275	97
標準偏差	0.23	0.02	3.1	0.1	0.08	1.0	10.3	22.1	26.4	8.0
変動係数(%)	2.8	3.1	1.1	2.2	8.0	0.9	10.9	7.1	9.6	8.3

単位：試料1, 2はmg/ℓ

試料3, 4はmg/kg

Ⅲ 抄 録

他誌発表論文
学会発表

新居浜市の中学生の麻疹抗体価

新居浜市小児科医会

松浦章雄, 渡辺敬信

愛媛県立衛生研究所

井上博雄, 大瀬戸光明, 山下育孝

愛媛県地域保険対策協議会

学校保健委員会

平成5年9-10月に新居浜市の中学1年生の95.9%に相当する1,539人の麻疹抗体価を測定した。免疫のない感受性者は3.4%であった。

麻疹罹患歴・麻疹予防接種歴を確認できた678人について抗体保有状況から計算すると、予防接種の成功率は83.8%であった。また、麻疹ワクチンの予防効果は99.7%と極めて高い値であった。

麻疹罹患後・麻疹予防接種後の麻疹抗体価の推移を比較検討した。麻疹の抗体保有の有無を判断するには、HI価は不適當でNT価が適當であった。

日本医事新報 3778, 47-52, 1996

Using reverse transcriptase-polymerase chain reaction and sequence analysis, we sequenced gene 8s encoding VP7 from two U.S. strains, and eight other strains isolated from patients on four countries, and compared these with the sequences of four published strains. The gene 8s of the 14 strains were remarkably conserved in size and in predicted primary and secondary structures. When the sequences of the human VP7s were compared with that of the prototype porcine Cowden strain, six regions were found variable in both deduced primary and predicted secondary structures, four of which were predicted to be hydrophilic and might determine serotype specificity. Our sequence analysis indicates that all the human strains characterized to date belong to a single G genotype, which may constitute a single G serotype, pending further antigenic analysis.

Archives of Virology, 141, 381-390, 1996

Sequence conservation and expression of the gene encoding the outer capsid glycoprotein among human group C rotaviruses of global distribution

B.Jiang¹, H.Tsunemitsu², P.H.Dennehy³, I.Oishi⁴, D.Brown⁵, R.D.Schnagl⁶, M.Oseto⁷, Z.Y.Fang⁸, L.F.Avendano⁹, L.F.Saif², and R.I.Glass¹

¹Viral Gastroenteritis Section, CDC; ²Food Animal Research Program, Ohio State University; ³Department of Pediatrics, Brown University School of Medicine; ⁴Osaka Prefectural Institute of Public Health; ⁵Central Public Health Laboratory, London; ⁶School of Microbiology, La Trobe University, Australia; ⁷Ehime Prefectural Institute of Public Health; ⁸Institute of Virology, Chinese Academy of Preventive Medicine, China; ⁹Laboratorio de Virologia, Universidad de Chile

Isolation of Group B Rotavirus in Cell Culture

T.Sanekata¹, Y.Kuwamoto¹, S.Akamatsu¹, N.Sakon¹, M.Oseto², K.Taniguchi³, S.Nakata⁴, M.K.Estes⁵

¹Department Veterinary Microbiology, Faculty of Agriculture, Tottori University; ²Ehime Prefectural Institute of Public Health; ³Department of Hygiene, Sapporo Medical School, School of Medicine; ⁴Division of Molecular Virology, Baylor College of Medicine

While group A and C rotaviruses have been grown in cell culture, group B rotavirus has never been cultured. In this study we successfully isolated porcine group B rotavirus in swine kidney cells. Pancreatin treatment is essential for the propagation of group B rotavirus.

Journal Clinical Microbiology, 34, 759-761, 1996

愛媛県における先天性副腎過形成症 マス・スクリーニングの現況

愛媛県立衛生研究所

○今西利花, 永井雅子, 浅野由紀子
橋本彰夫, 森 正俊, 井上博雄

平成元年12月から平成8年3月までに98,445名の新生児に対して先天性副腎過形成症マス・スクリーニングを実施した結果7名の患者を発見した。7名とも早期に発見し治療が開始されたため予後良好である。一般に低出生体重児は17-OHP高値を呈することが知られており当所においても再採取検体の約40%を占めていた。

また、今回、採血を実施している医療機関に対し、採血方法等のアンケート調査を行った結果、採血部位・乾燥方法・二重塗布の有無などにより検査結果への影響がみられた。今後、さらに検討を重ね統一していく必要があるようにおもわれる。

第24回日本マス・スクリーニング学会
(1996.9. 徳島市)

Bcell クロスマッチ陽性は移植適応か否か

愛媛県立衛生研究所

○奥山正明, 烏谷竜哉, 青木里美, 井上博雄
愛媛県松山中央保健所
坂本尚穂
愛媛大学医学部泌尿器科
大岡啓二, 濱田 斉, 岩田英信, 竹内正文

愛媛県の慢性透析患者数は、平成7年末で1,990人に達しており、毎年100人程増加している。腎移植はこれらの患者の根治療として、またQOL向上の面から行われているが、親族からの腎提供が中心となっている。一方、慢性透析患者は、輸血などにより抗リンパ球抗体が陽性となる例もかなりみられ、我々が行った既存抗体検査では175人中Twarm抗体が22人(12.5%)、Bwarm抗体が59人(33.7%)に検出されている。これらの症例については、死体腎提供者とのHLA適合度が高くてもクロスマッチ検査で不適切となり、移植機会を失う場合もあり、今後解決されなければいけない問題となりつつある。

今回、Bwarm抗体陽性者に血漿交換を行い良好な成

績を得ている生体腎移植の症例について移植後の免疫学的モニタリングを行い、①移植後も抗Bリンパ球抗体が移植前と同様に検出された、②移植後の患者血清中にドナー特異的なMLR抑制因子が観察された、等の結論が得られた。抗Bリンパ球抗体陽性者の生体腎移植は、血漿交換と免疫抑制法により可能と思われ、時間的に余裕のあるクロスマッチ陽性献腎移植の場合にも血漿交換などにより前感作抗体を陰性化して献腎移植を行うために、生体腎移植での症例の検討がさらに必要と思われる。

第5回日本組織適合性学会
(1996.9. 東京都)

ELISA法によるアストロウイルス血清型別法の 開発と地域におけるウイルス型別流行状況

愛媛県立衛生研究所

○大瀬戸光明, 高橋一博, 呼石弘子, 森 正俊
井上博雄
石丸小児科医院
中野省三, 石丸啓郎

アストロウイルスは主に小児の急性胃腸炎の原因の一つとして認められており、時に大規模な食中毒様集団発生を起こすことがあるが、国内でのウイルス型別の流行状況はほとんどわかっていない。新しく開発した血清型別法を用いて、愛媛県中部地域のウイルス型の分布の解明を試みた。

アストロウイルスの血清型別は1型から7型の各血清型抗体を捕獲抗体とし、ビオチン標識したそれぞれの血清型抗体を検出抗体とする1抗体サンドイッチELISA法を用いた。この血清型別ELISA法は、1型から7型の標準株の培養上清に対し血清型特異的反応を示し、また、77例の糞便抽出液は全例極めて明瞭に型別された。

当地域におけるアストロウイルスのウイルス型別の分布は、1型が最も多く、41例(53.2%)で次いで4型、3型が多くそれぞれ21例(27.3%)、9例(11.7%)であり、その他にも少数例であるが5型、2型、6型も検出された。季節的には1型が12月から6月まで分布していたのに比べ、その他の型は4月から7月に比較的集中していた。また、患者の年齢分布にもウイルス型別による差異があり、1型は1歳以下が50%以上であったのに対し、4型や3型では約80%が2歳以上であった。

第44回日本ウイルス学会
(1996.10. 静岡市)

愛媛県における麻疹ウイルスの血清疫学的研究 (2)

愛媛県立衛生研究所

○呼石弘子, 高橋一博, 大瀬戸光明

森 正俊, 井上博雄

石丸小児科医院

中野省三, 石丸啓郎

麻疹は小児の重要なウイルス感染症のひとつで、日本においても年間十数件の死亡例があるといわれており、世界各地でワクチンによる根絶計画が実施されている。

我々は松山市住民の麻疹に対する免疫状況を把握するため、1994年からマイクロプレートでの細胞まきこみ法（マイクロ法）を用いて住民の中和抗体価測定を行ってきた。マイクロ法は攻撃ウイルス量の変動が抗体価に影響するが、手技が簡単で、再現性についても同検体を用いて複数回の抗体価測定を行ったところ相関係数は0.78と中和抗体価測定法としてはほぼ満足してよいと思われる。1994、1995年の両者の松山市住民の麻疹抗体保有率にはほとんど変動がみられなかったが、1996年は0-3才の年齢層で約20%の増加がみられた。ワクチン接種者の割合は3年間ともほぼ同じであること等から1996年の愛媛県における麻疹の流行を反映していたためと思われる。血清疫学的調査でワクチン接種率の低い1-2歳児に感染リスクが高いことが示されており、1才になった時点で接種率をできるだけ100%に近づけることが望まれる。

第66回日本感染症学会西日本地方会
(1996.11.徳島市)

愛媛県における神経芽細胞腫 マス・スクリーニングの現状

愛媛県立衛生研究所

○森 正俊, 井上博雄

愛媛大学医学部公衆衛生学教室

新開省二, 小西正光

愛媛大学医学部小児科教室

大藤佳子, 石田也寸志

神経芽細胞腫 (Neuroblastoma : NB) は小児期における悪性固形腫瘍のなかでもっとも多く、その早期発見、

早期治療を目的として、昭和59年度から全国的に神経芽細胞腫マス・スクリーニング (マス) が開始された。愛媛県では60年1月から6~7カ月児を対象にNBマス事業を実施している。

今回、愛媛県でNBマスが開始されてから10年が経過するのを機会に、県内のNB患者の実態調査を実施した。その結果、29名のNB患者 (マス陽性例8名、マス陰性からの発症例11名、マス事業開始前の発症例6名、6カ月未満児4名) が発見された。年齢分布は0~45カ月と48~73カ月の2つのグループに分かれていた。予後については、若齢例で予後良好の経過をとり、加齢とともに予後不良で腫瘍死、再発例も多くみられた。マス陰性例による再スクリーニング (再ス) の検討を試みた結果、1歳前後に再スを実施すれば4例が早期発見、治療可能と推定できた。今後、例数を重ね再スの有効性を検討する必要がある。

第42回四国公衆衛生学会
(1997.2.松山市)

道路流出水中多環芳香族炭化水素の 動態に関する予測手法

愛媛県立衛生研究所

○石丸尚志, 小笠原光憲, 森 喜一

大阪大学工学部

盛岡 通

道路上の堆積物の量を反映すると考えられる、道路流出水中のPAHsを指標に、濁水年において最大堆積量の推定を行った。

その起源を明らかにするために、大気中の浮遊量、路上塵からの溶出量、自動車表面付着による系からの出入りについて、実態調査をもとに、指標となるPAHsを選定し、流出水への寄与を推定した。また、道路状態の変化が流出水の性状に及ぼす影響を推定するため、新設道路からの流出水の経年変化を測定した。

以上の測定において、PAHsの量を、簡易に推定するために、酵素反応を利用した測定手法と、ブルーレーヨンを用いた濃縮法とを組み合わせることで、効率よく推定できることを示した。

第31回水環境学会年会
(1997.3.札幌市)

IV 第11回公衆衛生技術研究会（抄録）

第 11 回 公 衆 衛 生 技 術 研 究 会

目 的 近年、公衆衛生、環境衛生等に関する試験検査業務は、県民の健康志向や環境保全意識の高揚に伴い、複雑多様化している。さらに、科学技術の急速な進歩と相まって高度な検査技術の確立が要請されている。

これに対応するため、県下の公衆衛生関係機関が、日頃の研究成果の発表や情報の交換を行い、各機関の一層の活性化及び技術の向上を図る。

日 時 平成9年3月7日（金）13：00～17：00

場 所 松山市三番町8丁目234 生活保健ビル
愛媛県立衛生研究所 5階会議室

会 次 第

- | | | |
|---|--------------|---------|
| ○ 開会挨拶 | 衛生研究所 | 井 上 博 雄 |
| ○ 『Up to Date 公衆衛生』—最近の話題— | | |
| 1 「FAZと食品衛生」 | 衛生研究所 | 大 瀧 勝 |
| 2 「腸管出血性大腸菌の疫学と検査法について」 | 衛生研究所 | 田 中 博 |
| 3 「クリプトスポリジウムについて」 | 衛生研究所 | 奥 山 正 明 |
| ○ 研究発表 | | |
| 1 「国庫補助型小型合併処理浄化槽の保守点検における考察」 | (社)浄化槽管理センター | 川 野 武 彦 |
| 2 「愛媛県における酸性雨実態調査結果について」 | 環境保全センター | 藤 田 慎二郎 |
| 3 「水質監視項目である消毒副生成物のGC/MS分析における
キャピラリーカラム特性の検討」 | 銅山川上水道企業団 | 大 西 洋二郎 |
| 4 「西条地方局管内の飲用水の水質について」 | 西条中央保健所 | 玉 井 美 和 |
| 5 「飲料水中の硝酸性窒素定量に関する基礎的検討」 | 宇和島中央保健所 | 上 田 哲 郎 |
| 6 「インターネットを利用した保健情報の提供」 | 西条中央保健所 | 真 鍋 美智雄 |
| 7 「松山市内の幼稚園で発生した結核集団感染について」 | 松山中央保健所 | 廣 瀬 浩 美 |
| 8 「高齢者の生活体力測定について」 | 健康増進センター | 菅 成 器 |
| 9 「HbA _{1c} 試薬の基礎的検討」 | 愛媛県予防医学協会 | 首 藤 隆 |
| 10 「病原性大腸菌O-157にかかる検査方法の比較について」 | 松山中央保健所 | 川 田 利 孝 |
| ○ 誌上発表 | | |
| 11 「廃材木炭を利用した生活排水路の浄化実験」 | 大洲保健所 | 木 村 俊 也 |
| ○ 特別講演 | | |
| 「遺伝情報の翻訳機構」 | | |
| —猛毒に学んだ生命誕生のシナリオと
試験管内進化システム構築の試み— | 愛媛大学工学部教授 | 遠 藤 弥重太 |

FAZ と食品衛生

衛生研究所 奥山 正明

衛生研究所 大滝 勝

平成4年7月「輸入の促進及び対内投資事業の円滑化に関する臨時措置法」(FAZ法)が制定され、愛媛県(松山港地域)は平成5年3月に輸入促進地域の指定をうけた。これに伴い食品輸入の増加に対する食品検疫(輸入食品の届出事務, 自主検査)体制の改善, 整備が必要となった。当県では国の検査機関及び指定検査機関がないことから, 衛生研究所を自主検査機関として活用することになった。その結果, 平成7年度及び平成8年度12月現在, 食品別委託件数は, 冷凍ガニ(56%), 魚介乾製品(26%)等449件となった。生産国(輸入国)別では, 中国, タイ, ベトナム等アジア地域が9割を占めた。また検査項目別では, 細菌検査(56%), 添加物検査(32%)が多く約9割を占めた。

今後は輸入国の拡大, 輸入食品等の増加及び多様化が考えられる。

クリプトスポリジウム感染症は, 海外では93年米国ミルウォーキー市の水道水を介した40万人の発症事例をはじめとしていくつかの大規模事例が報告されている。国内では94年8月に神奈川県の高層ビルで水系感染による初めての集団感染が, また昨年6月に埼玉県で水道水に起因する初めての集団感染が報告された。このことも踏まえ, 厚生省は緊急に「水道におけるクリプトスポリジウム暫定対策指針」をまとめ, 昨年10月各都道府県知事宛に通知した。この中に「暫定的な試験方法」が示されているが, 蛍光観察後の微分干渉観察でのオーシストの確定は困難なことがあるなどの問題点も指摘されている。このような状況の中, 本年2月にクリプトスポリジウムの検査法について, 中国四国ブロックの衛生研究所・保健所等関係者の講習会を愛媛県立衛生研究所で開催する機会に恵まれたので, 講習会の概要, 厚生省指針及び検査法等について紹介した。

腸管出血性大腸菌の疫学と検査法について

衛生研究所 田中 博

腸管出血性大腸菌(EHEC)はベロ毒素を産生し, 出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群を引き起こす。EHECの血清型は0157以外に026, 0111などが知られている。

欧米におけるEHECの集団下痢症は幼稚園や老人ホームなどに多発し, 原因食品としてハンバーガーや生牛乳など畜肉食品とされることが多い。さらに, 牛から分離されるEHECと下痢患者由来のEHECとが血清型において共通性があることから, 感染源として牛が重要視されている。わが国の調査でも, 0157は牛以外にも内臓肉, 和菓子, うどん, ハエなどから分離されており, 広く環境中に分布していることが示唆されている。

一方, 0157の分離法として, 酵素免疫法や免疫磁気ビーズ法が開発され, これらの方法を用いて効率よく分離されている。また, ベロ毒素産生能試験や毒素型別試験には, ラテックス凝集反応やPCR法が応用されている。

〈研究報告〉

国庫補助型小型合併処理浄化槽の維持管理における留意点

(社)浄化槽管理センター 川野 武彦

国庫補助型小型合併処理浄化槽においては多くの機種に移送水量の調整機構を持った「剥離汚泥移送装置」が設けられており, 窒素除去を期待して嫌気床槽への常時移送運転を行っている事例が多い。しかしながら, この移送装置は各メーカーごとに装置の構造が異なる点や, 同一メーカーの装置であっても移送水量の安定性に違いがある点などから接触ばき槽に悪影響を与えているものも度々認められる。そこで今回, 常時移送運転を行う際の維持管理における留意点について考察を行った。その結果, 少なくとも装置の構造と日常の使用状況とが関与している事が確認された。その為常時移送運転を行う際には, 浄化槽の使用状況を十分把握した上で, 装置構造の違いから起きる水量変化を考慮した維持管理を行っていく事が必要とされる。

愛媛県における酸性雨実態調査結果について

環境保全センター 藤田慎二郎

愛媛県では、平成2年度から県内3カ所（松山市・新居浜市・八幡浜市）で酸性雨の通年調査を実施しているが、いずれも都市地域に位置し、局地汚染の影響を受けている。そこで平成7・8年度のうち6月と10月の4カ月間、局地的な汚染物質の影響の少ない大気清浄地域（久万町）を選定し、調査を行った。

その概要は、次のとおりである。

- 1) pHは、7年6月に久万町で5.4の高い値を示したが、他の期間は、各地点間で同程度だった。ECは、各月とも久万町で最低値だった。イオン濃度では、 SO_4^{2-} 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、 Na^+ は各月とも久万町で最低値を示し、 Mg^{2+} 、 K^+ は松山市で最低値を示した。 Cl^- は八幡浜市で最高値を示した。
- 2) 当量降下量は、久万町で全調査期間中最低値を示した。八幡浜市では、海塩粒子による Cl^- 、 Na^+ の降下量が多かった。
- 3) 当量濃度比は、7年6月、10月に久万町で、 Mg^{2+} の占める割合が高かった。

水質監視項目である消毒副生成物のGC/MS分析におけるキャピラリーカラム特性の検討

銅山川上水道企業団 大西洋二郎

新水質基準では、監視項目として消毒副生成物の指針値が設定された。このなかでホルムアルデヒド以外は、ガスクロマトグラフ質量分析計で同時分析を行っている。そこで公定法では無極性のキャピラリーカラムの使用となっている。しかし、無極性カラムでは目的物質同士のピークや他のピークが近すぎ分離度が0.4~0.5前後で低い。このため、中極性のキャピラリーカラムを用いて分析をし検討を行った結果、分離度が向上し良好になることが確認できた。

西条地方局管内の飲用水の水質について

西条中央保健所 玉井 美和

西条地方局管内における飲用水の現状を総合的に把握するため、過去2年間の委託水質検査の結果を統計的に解析した。

市町別不適合率は全体で13%、最も低い市町で10%から高い市町では39%である。項目別では、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素は一定の地区で高値を示し、それは農業における施肥の影響が示唆される。塩素イオンは海岸線で高値を示し、過マンガン酸カリウム消費量はある河川流域に高濃度地区が集中しており、海水や河川との関連性が認められた。

西条地方局管内では平成7年度よりパソコンによるデータ管理を行ってきた。解析したデータの有意性を高めるためにも、今後もデータの集積・解析を引き続き実施しね地域住民への飲料水の安全確保のための資料としたい。また、他機関で実施している水質調査等ともデータをリンクさせ、活用できる体制を確立する必要がある。

飲料水中の硝酸性窒素定量に関する基礎的検討

宇和島中央保健所 上田 哲郎

飲料水等の硝酸性窒素の簡便な定量方法として、紫外部(220nm)の吸収波長を用いた紫外線吸光光度法(以下UV法とする)が利用されることがある。

今回は、このUV法を中心とした他方との比較や共存物質の影響について検討し、以下の結果を得た。

1. UV法はカドミウム・銅カラム還元吸光光度法と有意な相関を得、一定条件では飲料水等の簡便な測定法として有用であると考えられた。
2. UV法を利用した測定吸収波長として、220nmの他に、218nmを用いる方法も考えられた。
3. UV法における共存物質の影響は、色度、濁度、 Fe^{3+} 、 Br^- 、 CO_3^{2-} で正の影響が示された。濁度等の一部の懸濁物質は、濾過等を行うことである程度影響を除外できるものと考えられたが、着色の顕著な水はUV法の利用は慎重にすべきものと考えられた。

インターネットを利用した保健情報の提供

西条中央保健所 真鍋美智雄

保健所は、保健情報の収集・整理・活用をし、地域保健の情報センターとして機能することが求められており、情報機能の充実と迅速な処理には、パーソナルコンピュータ等OA機器を用いる必要がある。また、現在保健所は住民に対し、主に紙面中心の情報提供を行っているが、労力・費用・時間を要し特にタイムリー性に欠けている。この度、住民ニーズを把握するためアンケート調査を実施し、インターネットの普及と保健衛生に関する関心の高さが判明した。そこで、インターネットを用いた情報提供を検討した結果①ホームページへの情報掲載②電子メールによる住民ニーズの収集及び把握③関係機関へのリンクによる連携強化と情報交換等について利用が可能で、住民に対し迅速且つ正確な情報提供と還元ができ有用であると思われる。しかし保健所等行政機関がこのシステムを構築し維持するには、様々な問題点をクリアし企画・情報収集の機能を強化する必要がある。

松山市内の幼稚園で発生した結核集団感染について

松山中央保健所 廣瀬 浩美

平成8年2月、丹原保健所管内に届け出のあった幼稚園教諭の結核患者が松山市内の幼稚園で勤務していたため、園児ならびに教職員に対して結核定期外検診を実施した。その結果、担任していたクラスを中心に園児の感染者24名、教職員の感染者4名、患者1名が現在までに確認されている。また家族検診でも幼児1名の感染者を発見し、感染者に対しては予防的処置を実施することができた。

そして、今回の事例をとおして以下のような問題点や注意点が考察された。

- (1) マル初の届出と感染源把握の不徹底
- (2) 幼稚園職員の健康診断の不徹底
- (3) 定期外検診実施のための保健所間の連携
(発病把握、情報把握と情報交換)
- (4) 結核感染と発病、化学予防と結核治療の混同(無知)による恐怖心と過剰反応
- (5) 感染源と感染者の人権やプライバシーの尊重
- (6) 情報公開(マスコミ等)の時期、内容、対応(メリットとデメリット)

高齢者の生活体力測定について

健康増進センター 菅 成器

高齢者の体力評価には、スポーツや運動能力としての体力要素を評価するよりも、日常生活における主要な動作に関連した動作を評価する方が有意義と考えられる。

我々は、1996年9月に開催した健康増進センター展において、(財)明治生命厚生事業団体力医学研究所種田らの考案した生活体力測定法を用いて、日常動作の遂行能力(起居能力、歩行能力、手腕作業能力、身辺作業能力)を測定し、評価を行った。

体力測定を行った者は111名で、男性19名(17.1%)、女性92名(82.9%)であった。各項目所要時間と年齢、BMI、血圧との相関をみたところ、年齢とは正の相関、血圧とは負の相関がみられたが、BMIとはみられなかった。このことから、生活体力が高齢者の加齢による機能低下を示していると考えられるので、自己の生活体力を知りそれを維持、増進することが、QOLの低下を予防する手段になると考えられた。

HbA_{1c} 試薬の基礎的検討

愛媛県予防医学協会 首藤 隆

(はじめに)

抗原抗体反応を利用するHbA_{1c}の試薬の基礎的検討を行ったので報告する。

(方法) ラピディアオートHbA_{1c}(富士レビオ)の試薬でニプロ社ミラクルエースにて測定、HPLC法は外注検査により実施した。

(結果) ①再現性: 4濃度10回連続測定の結果CV = 1.0 ~ 2.0%, 4濃度10日間連続測定の結果CV = 3.3 ~ 4.5%であった。

②共存物質の影響: ブドウ糖1000mg/dl, 抱合型ビリルビン20mg/dl, 乳ビ2000ホルマジン濁度, アスコルビン酸20mg/dlまで影響は認められなかった。

③血漿成分の影響: 血漿成分の増加に伴い測定値の上昇が認められた。

④溶血時のHb濃度の影響: Hb濃度が高くなるにつれ測定値は低値傾向を示した。

⑤相関性: HPLC法との相関は、 $n = 37$, $r = 0.964$, $Y = 1.094 X - 0.205$ であった。

(まとめ) 再現性、相関は良好であり、共存物質の影響も認められなかった。本法は、処理能力が高くルーチンに有用と思われる。

病原性大腸菌 O-157 にかかる 検査方法の比較について

松山中央保健所 川田 利孝

厚生省から示されている食品中の O-157 に係る検査 3 法（基本法、磁気ビーズ法、酵素免疫法）について、3 段階濃度（ 10^2 , 10^1 , 10^0 ）の O-157 菌液を添加した牛肉ミンチを用いて実験を行い、比較検討したところ、次のとおりであった。

- 1 10^2 オーダーの菌数は 3 法とも検出可能であるが、 10^1 では磁気ビーズ法及び酵素免疫法の 2 法が検出可能である。 10^0 では 3 法とも検出されなかった。
- 2 人が一度に食する量から推測すると、人への感染予防に重要と考えられる菌数は 10^1 オーダーであり、上記 2 法が有効な方法と言える。
- 3 通常検査において数個程度の釣菌数とすれば、O-157 菌の分離の良いノボピオシン添加 mEC 増菌培養液を用いた上記の 2 法が有効な方法と言える。また、多量の検体を検査する場合は、操作の簡便な酵素免疫法が有効な方法である。

〈誌上発表〉

廃材木炭を利用した生活排水路の浄化実験

大洲保健所 木村 俊也

野村町は、下水道施設がなく、合併処理浄化槽の普及率は、4.5% である。そこで、家庭における台所排水対策を推進するため、生活排水路に廃材を利用した簡易木炭浄化施設を設置し、有機物汚濁指標である BOD, T-N, T-P について浄化能力を検討した。

処理前の流入水の経時的な水質変動は、午前中は、時間とともに増加し、11 時をピークにその後減少した。午後からは、14 時まで徐々に増加しその後減少した。

処理水の浄化効果は、BOD, T-N, T-P それぞれ 46.3%~69.5%, 7.5%~30.6%, 9.3%~40.1% の除去率であった。

この結果から、木炭を利用した生活排水の処理は、自然にとけ込んだ施設として住民に受け入れやすく、意識啓発に利用できるものと考えられる。

〈特別講演〉

遺伝情報の翻訳機構

— 猛毒に学んだ生命誕生のシナリオと
試験管内進化システム構築の試み —

愛媛大学工学部教授

遠藤 弥重太

遺伝情報の翻訳装置の本体であるリボソームを中心としたこれまでの研究について、以下の講演があった。

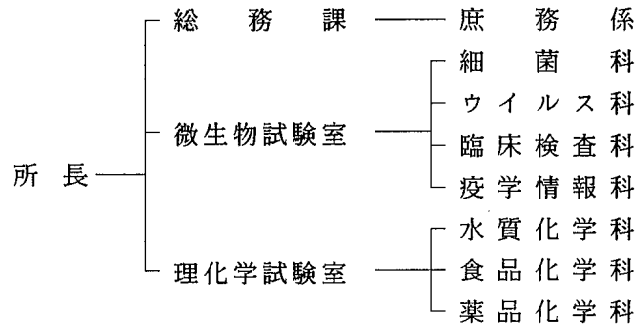
- 1 植物毒素やペロ毒素の作用機構
リボソームのうち、大 rRNA の 5' 末端から 4324 番目の 1 個の N-グリコシド結合を加水分解してリボソームを不活性化させることにより発現する。
- 2 毒素を利用した毒素ドメインの構造と機能
毒素作用部位は大 rRNA の 3' 末端側に位置する小さなステム・ループ構造であり、毒素ドメインはペプチド鎖伸長反応をコントロールする RNA スイッチの役割を担うものであろう。
- 3 RNA ワールド説
RNA は遺伝情報とペプチド結合の合成を触媒する機能の二つを合わせ持つことから、生命誕生の謎の鍵を握る中心物質であり、生命は RNA が支配する RNA ワールドから現在の生命形態である DNA ワールドへと進化してきた。
- 4 リボソーム不活性化タンパク質の生物学的意義
ライシン等の植物毒素（II 型 RIP）の植物学的意義や植物に普遍的に存在する I 型 RIP と植物細胞のアポトーシスとの関連について推論した。
- 5 生体外タンパク質合成システムの開発とその応用
生体の遺伝暗号翻訳系を人工容器内に取り揃え、設計した核酸を鋳型として、多様で高機能性を持つ望みのタンパク質を合成する試みと、その技術の応用（夢）について解説した。

V 業 務 実 績

- 1 組織及び業務概要
- 2 微生物試験室の概要
- 3 理化学試験室の概要

1 組織及び業務概要

当所は、愛媛県における保健衛生の総合的な試験研究機関として昭和27年4月に設置され、一般県民からの保健衛生に関する各種の検査に応じるとともに、行政上必要な調査研究の科学的中枢機関として、各保健所と連携を密にして調査研究、試験検査、研修指導および公衆衛生情報の解析提供を行っている。



組織

当所の組織は、1課（総務課）2室（微生物試験室、理化学試験室）制で、職員は32名である。

(1) 職員配置

組織区分および職種別職員数

(平成8年4月1日現在)

課室名 \ 職種名	事務	医師	獣医師	薬剤師	検査技師	理工系	用務員	計
所長		(1)						(1)
総務課	3						1	4
微生物試験室			1					1
細菌科			1		2		1	4
ウイルス科				1	2			3
臨床検査科				1	3			4
疫学情報科				1	2			3
理化学試験室				1				1
水質化学科				3		1		4
食品化学科				4	1			5
薬品化学科				2				2
計	3	(1)	2	13	10	1	2	(1)31

() は兼務

(2) 職員一覧表

(平成8年4月1日現在)

室 課 名	職 名	氏 名	業 務 分 担
	所長事務取扱	井 上 博 雄	総括
総 務 課 庶 務 係	課 長	渡 辺 住 敬	所長補佐, 人事・給与・服務, 生活保健ビルの運営
	係 長	西 原 明 彦	予算, 生活保健ビルの管理
	専 門 員	金 竹 真由美	給与, 経理事務等
	主任業務員	北 村 秀 俊	動物飼育, 文書送達, 構内清掃等
微生物試験室	室 長	森 正 俊	室内総括
細 菌 科	科 長	田 中 博	病原細菌検査, 結核菌検査
	主任研究員	近 藤 玲 子	梅毒血清反応, 病原微生物の血清検査
	研 究 員	大 橋 有 里	食品の細菌検査, 薬剤感受性検査, 抗酸菌検査, 無菌試験 病原細菌検査, 食中毒菌検査, 飲料水の細菌検査
	主任業務員	伊 藤 康 子	試験検査器材の洗浄滅菌
ウイルス科	科 長	大瀬戸 光 明	病原ウイルス, 肝炎等の検査
	主任研究員	高 橋 一 博	電子顕微鏡検査, 感染症サーベイランス事業, ウイルス血清学的検査
	研 究 員	呼 石 弘 子	組織培養ウイルス分離検査, 伝染病流行予測調査
臨床検査科	科 長	橋 本 彰 夫	先天性代謝異常検査
	主任研究員	永 井 雅 子	先天性副腎過形成症検査
	研 究 員	今 西 利 花	神経芽細胞腫検査, 臨床検査
	研 究 員	浅 野 由紀子	クレチン症検査, 先天性代謝異常検査
疫学情報科	科 長	奥 山 正 明	感染症情報の収集解析, HLA 疫学調査
	主任研究員	烏 谷 竜 哉	HLA 検査及びコンピューター解析
	研 究 員	青 木 里 美	血清免疫検査, HLA 遺伝子検査
理化学試験室	室 長	森 喜 一	室内総括
水質化学科	科 長	小笠原 光 憲	飲料水水質評価
	主任研究員	青 野 真	飲料水, 地下水, 河川等の無機物質試験
	主任研究員	石 丸 尚 志	飲料水水質試験, 下水道及び廃棄物検査
	主任研究員	泉 喜 子	有害有機化合物検査, 残留農薬分析
食品化学科	科 長	大 瀧 勝	食品の品質評価, 食品中の有害化合物試験
	主任研究員	高 見 育 子	食品中の残留農薬等分析
	主任研究員	新 田 祐 子	乳及び乳製品の試験, 食品添加物分析
	主任研究員	大 野 智也佳	栄養分析, 残留医薬品試験
	研 究 員	竹 田 真 彦	輸入食品の検査, 食品容器包装等試験
薬品化学科	科 長	篠 原 正 史	医薬品, 医薬部外品試験
	主任研究員	望 月 美菜子	温泉分析, 毒物・劇物試験, 家庭用品試験

(3) 人事異動

(平成8年4月1日現在)

転入者			転出者		
職名	氏名	転入先	職名	氏名	転出先
総務課長	渡辺住敬	用地課	総務課長	長谷川和男	八幡浜地方局
水質化学科長	小笠原光憲	薬務課	水質化学科長	武智拓郎	薬務課
薬品化学科長	篠原正史	薬務課	薬品化学科長	田頭和恵	薬務課
主任研究員	泉喜子	八幡浜中央保健所	主任研究員	大倉敏裕	西条中央保健所
研究員	大橋有里	大洲保健所	主任研究員	菅成器	健康増進センター
研究員	青木里美	健康増進センター	主任研究員	坂本尚穂	松山中央保健所

決算

(1) 歳入

単位：千円

科目	目	調定額	収入額	説明
使用料及び手数料		51,336	51,336	試験検査手数料

(2) 歳出

単位：千円

項目	総務費				衛生費				農林水産業費			商工費		計		
	総務管理		環境生活費		公衆衛生		環境衛生		医療費		林業費	水産業費	商工業			
	一般管理費	会計管理費	生活福祉推進	生活センター費	生活環境施設整備費	公害対策費	母子保健指導費	保健所費	予防費	衛生研究所費	食品衛生指導費	医薬総務費	医薬業務費		造林費	水産試験場費
報酬	19									2,256						2,275
共済費						210				312						522
賃金						3,241			249	1,009	410		822		89	5,820
旅費	179			59	54	908	86	1,402	2,965	698	75	418	640	222	156	7,862
需用費			232		150	27,740		7,089	35,755	6,600	350	2,687	2,500	350	332	83,825
役員費		140			4	600		178	994	63	260	142	160			2,541
委託料									9,502	1,287	37					10,826
使用料及び賃借料									32,021	3,782						35,803
工事請負費																0
備品購入費						745		1,912	7,096	2,643						12,396
負担金補助及び交付金				20		2			50			50				122
公課費									13							13
計	198	140	291	74	154	33,446	86	10,830	91,973	15,483	722	3,297	4,122	572	577	162,005
職員手当																218,008
合計																380,013

平成8年度試験検査結果実施状況

検査分類	検査項目	行政委託別	使用料単価	件数	金額(円)
食	定量試験	行政委託	2,000	3899	198,000
	物理試験	行政委託	600	016	09,600
	食品添加物試験	行政委託	4,500	234349	1,570,500
	牛乳及び加工乳の成分規格試験	行政委託	4,000	05	20,000
	牛乳及び加工乳の成分規格試験	行政委託	15,000	023	345,000
	一般栄養分析	行政委託	6,000	04	24,000
	残留農薬分析	行政委託	10,000	67281	810,000
	残留動物用医薬品試験	行政委託	11,000	951	11,000
	細菌検査	行政委託	800	962,030	1,624,000
	酵母及びびの検査	行政委託	800	09	7,200
食品容器包装器具その他	規格試験	行政委託	13,000	05	65,000
	細菌検査	行政委託	800	020	16,000
	消毒効力試験	行政委託	4,000	048	192,000
薬品及び化粧品その他	性状試験	行政委託	500	7210	5,000
	物理試験	行政委託	1,000	82	2,000
	確認試験	行政委託	1,000	697	7,000
	純度試験	行政委託	2,000	140	0
	定量試験	行政委託	2,000	587	14,000
	重量偏差試験(散剤,錠剤)	行政委託	1,800	199	16,200
	重量偏差試験(カプセル,注射液)	行政委託	3,100	40	0
	生理処理用品基準試験	行政委託	6,000	160	0
	無菌試験	行政委託	3,000	340	120,000

検査分類	検査項目	行政委託別	使用料単価	件数	金額(円)
家庭用品	確認試験	行政委託	1,000	40	0
	定量試験	行政委託	2,000	1240	0
温泉及び鉱泉	物理試験	行政委託	1,000	240	0
	鉱泉分析	行政委託	26,000	05	130,000
	ラジウムエマナチオン試験	行政委託	4,200	05	21,000
	定性試験	行政委託	900	014	12,600
	定量試験	行政委託	1,700	0243	413,100
飲料	理化学試験	行政委託	3,900	056	218,400
	定量試験	行政委託	1,300	0110	143,000
	細菌検査	行政委託	2,700	068	183,600
水道	無機物質試験	行政委託	3,000	3,576	10,728,000
	一般有機化学物質試験	行政委託	3,000	2,697	8,091,000
	消毒副生成物試験	行政委託	3,100	956	2,963,600
	基礎的性状項目試験	行政委託	500	1,050	525,000
	理化学試験	行政委託	3,900	022	85,800
水	定量試験	行政委託	1,300	048	62,400
	細菌検査	行政委託	2,700	0231	623,700
	農薬分析	行政委託	16,800	0918	15,422,400
プール海水浴場等	大腸菌群最確数検査	行政委託	2,000	27	14,000
地下水・河川水・海水等	定性試験	行政委託	900	08	7,200
	定量試験	行政委託	1,700	110	187,000
	BOD検査	行政委託	2,800	018	53,200
	物理試験	行政委託	700	047	32,900
	細菌検査	行政委託	1,200	02	2,400
	大腸菌群最確数検査	行政委託	2,000	036	72,000
	農薬分析	行政委託	7,000	1389	63,000

検査分類	検査項目	行政委託別	使用料単価	件数	金額(円)
下水又はし尿処理放流水	定量試験	行政委託	1,700	0 384	652,800
	BOD試験	行政委託	2,800	0 96	268,800
	COD試験	行政委託	2,800	0 96	268,800
	物理試験	行政委託	700	0 96	67,200
	大腸菌群数検査	行政委託	1,000	0 96	96,000
PCB等	残留分析	行政委託	28,000	24 0	0
排泄物浸出分泌物等	細菌培養同定検査 消化管からの検体	行政委託	1,680	296 119	199,920
	平板分離培養検査	行政委託	440	0 25	11,000
	抗酸菌検査 分離検査	行政委託	2,960	1 0	0
(梅毒反応その他)	ワッセルマン反応 (諸方法) 定性法	行政委託	230	131 0	0
	沈降反応	行政委託	230	342 0	0
	TPHA反応定性法	行政委託	480	26 0	0
風疹	風疹	行政委託	800	17 0	0

検査分類	検査項目	行政委託別	使用料単価	件数	金額(円)
ウイルス	分離検査	行政委託	5,000	246 0	0
	ウイルス抗体価測定	行政委託	800	1,863 4	3,200
	HIV-1,2抗体 (EIA法, PA法)	行政委託	1,760	283 0	0
電顕	電子顕微鏡検査	行政委託	12,000	120 0	0
免疫学的検査	H L A - A B C 型別検査	行政委託	10,000	0 184	1,840,000
	H L A - D R 型別検査	行政委託	20,000	0 108	2,160,000
	HLA - MLC検査	行政委託	10,000	0 25	250,000
	クロスマッチ検査	行政委託	5,000	0 35	175,000
死体腎提供検査	組織適合性検査 及び感染症検査	行政委託	70,000	0 3	210,000
	先天性代謝 異常検査	行政委託		15,001	
	神経芽細胞腫検査	行政委託		11,814	
	文書料	行政委託	200	6	1,200
合計		行政委託		31,854 14,296	51,336,120

平成8年度購入備品

品名	規格	数量	金額
超純粋製造装置	Mili-Q Plus	1	608,730
高性能マグネチックスタラー	FT-1型	1	135,960
ダブルビーム分光光度計	V-2001型	1	1,133,000
シアン分析用反応ユニット	DRPキット	1	581,950
薬用保冷库	MPR-411F型	1	252,350
PHメーター	F-2型	1	126,690
上皿電子天秤	PB-3002型	1	120,304
パルスフィールド電気泳動装置	CHEF MAPPER	1	4,882,200
ロータリーエバポレーター	R-114-AW	1	190,138
マイクロ冷却遠心機	1920型	1	927,000
トランスイルミネーター	MW FTI-15M型	1	171,340
フード付ポロライドカメラ	ML型	1	129,780
超小型電気泳動装置	ミュービット2	1	32,260
遺伝子増幅装置	PCRサーモサイクラーTP-3100	1	1,072,848
テーパー式CO ₂ 培養器	CPD-1701型	1	933,180
オート高圧滅菌器	HA-300MIV型	1	413,030
メディカルフリーザー	MDF-U422型	1	565,985

2 微生物試験室の概要

当室は細菌科、ウイルス科、臨床検査科、疫学情報科の4科で構成され、細菌検査、ウイルス検査、先天性代謝異常検査等の試験検査、臓器移植の組織適合性検査ならびに業務に関連した調査研究を行っている。また、保健所の検査担当者の研修指導、愛媛大学医学部・愛媛県立医療技術短期大学の講義実習（非常勤講師）も行っている。

細菌科

1. 行政検査

(1) 伝染病の細菌検査：伝染病に関する便、菌株等230検体について細菌検査を実施した。

(資料の頁参照)

(2) 食中毒等の細菌検査：食中毒に関する便、菌株、食品等65検体について細菌検査を実施し、黄色ブドウ球菌、サルモネラ菌、ウェルシュ菌を同定した。

(資料の頁参照)

(3) 環境由来検体の細菌検査：海水浴場水106検体、水質汚濁防止法に伴う海水・河川水174検体の大腸菌群について検査を実施した。

(4) 養殖魚の医薬品残留試験：水産庁の委託事業として、県内養殖のハマチ、マダイ30尾について医薬品残留試験を食品化学科と共同で実施した。

(5) 食品の収去検査：食品衛生法に係る収去検査として県内産養殖魚（ハマチ等）9検体、ウシの生乳10検体について医薬品残留試験（食品化学科と共同）を実施した。

(6) 梅毒血清検査：保健所で実施している健康診断の血液検査のうち、梅毒血清検査489件（沈降反応342件、ワッセルマン反応131件、TPHA反応26件）を実施した。

2. 委託検査

(1) 臨床材料：144検体の便について細菌検査を実施した。

(資料の頁参照)

(2) 環境材料：432検体の飲料水、河川水、し尿処理放流水、海水浴場水等について検査を実施した。

(3) 薬品および衛生用品：69検体の血液製剤および衛生用品について細菌検査を実施した。

(4) 食品関連材料：563検体の食肉、魚介類、調理食品、食品用器具および容器包装について検査を実施した。さらに、FAZに関連した輸入食品187検体についても細菌検査を実施した。

(資料の頁参照)

ウイルス科

1. 行政検査

(1) 伝染病流行予測調査(厚生省委託事業)

本年度は以下の4事項を分担調査した。

- ・日本脳炎感染源調査
- ・ポリオ感染源調査
- ・ポリオ感受性調査
- ・インフルエンザ感染源調査

(資料の項参照)

(2) 愛媛県感染症サーベイランス事業

急性胃腸炎の病原検索：本年度は、456例の電子顕微鏡検査を行った。ウイルス陽性数は、全体で78例で、その内訳の主なもの、ロタウイルスが44例で最も多く、次いでカリシウイルス、アストロウイルスを含めたSRV(小型ウイルス)23例、アデノウイルス10例であった。本年度の特徴は3年ぶりにC群ロタウイルスが検出されたことであった。

インフルエンザ流行調査：本年度(96/97シーズン)のインフルエンザの流行は患者発生状況から中規模の流行であったと推測された。インフルエンザウイルスは平成8年11月末からB型株が分離されはじめ、引き続いてA香港型株も分離され、B型とA型との混合流行であった。本年度の分離株数はA香港型が60例、B型が69例であったが、流行の主流はA香港型であったと推察された。

(研究報告の項参照)

各種感染症のウイルス検索：上気道炎、発疹症、無菌性髄膜炎等のウイルス分離検査を行い、県感染症情報の資料として提供してきた。本年度は春から初夏にかけて麻疹ウイルスが比較的多く分離された。夏季はコクサッキーウイルスB4型やアデノウイルス3型、2型による夏カゼ疾患が多かった。

(3) エイズ抗体検査

昭和62年4月から県保健環境部のエイズ対策事業の一環として、県内の保健所で検査依頼を受けたものについて、エイズ抗体検査を実施している。平成6年1月から中は予の保健所分の検査を担当することになった。

2. 委託検査

ウイルス血清検査：ムンプスHI抗体検査を3例、ヘルペスウイルス中和抗体価測定を4例実施した。

3. 調査研究

(1) アストロウイルスの診断法の開発：アストロウイルス1型から7型までのウサギポリクロナール抗体を用いた血清型別ELISA法を開発し、愛媛県におけるアストロウイルスの血清型別の流行状況を調査した。(研究報告の項参照)

(2) 麻疹ウイルスの血清疫学的研究：本年度は4年ぶりに麻疹患者の多発をみたので、ウイルス分離を行うとともに、松山中央保健所管内の住民を対象に麻疹ウイルス中和抗体価の測定を行った。(研究報告の項参照)

臨床検査科

母子保健事業に伴う先天性代謝異常検査、神経芽細胞腫検査、臨床検査等を行っている。

1. 先天性代謝異常検査

県内の医療機関で出生する新生児を対象に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、先天性副腎過形成症、クレチン症の6疾患についてマス・スクリーニングを実施している。本年度は、15001名の新生児に対してスクリーニングを行った結果、ガラクトース血症1名、クレチン症4名、高TSH血症1名の患者が確認され現在治療及び経過観察が行われている。

(資料の頁参照)

2. 神経芽細胞腫検査

県内の6~7ヶ月乳幼児を対象にマス・スクリーニングを実施している。本年度は、11814名の新生児に対してスクリーニングを行った結果、1名の陽性者が見付き、精密医療機関で経過観察中である。

(資料の頁参照)

疫学情報科

1. 委託検査

(1) HLA(組織適合性)検査

ア HLA検査

献腎移植希望患者27名とその家族5名、生体腎移植希望者6名とその家族9名、骨髄移植のための28家系132名、骨髄移植のためのボランティア63名、肝疾患に係る1家系5名、死体腎提供者7名について行った。

イ リンパ球混合培養検査

腎移植のために21件、骨髄移植のために5件の検査を行った。

ウ クロスマッチ検査

生体腎移植のために23件、死体腎移植希望登録者のために27件の検査を行った。また、7件の死体腎提供時に26件の検査を行った。

2. 調査研究

(1) HLA遺伝子のDNAタイピング

ア HLAクラスII抗原領域

HLA-DR, DQ, DP抗原の同定には、DNAタイピングが有効であると考えられているので、PCR法で増幅させた遺伝子を制限酵素の切断パターンで判別するRFLP法及び特定の塩基配列を増幅させるSSP法を導入した。

DNAタイピングにより、従来の血清学的タイピングでは不明な型が判別できるようになり、検査が行われていなかったDP抗原の検索もできるようになった。この方法を用いて判別したDP抗原がリンパ球混合培養検査に与える影響について検討を行っている。また、SSP法は血清学的レベルの判定であるが、死体腎移植検査等の緊

急検査等に役立てている。

さらに、増幅させた2本鎖DNAを熱変性により1本鎖にして判別するSSCP法について検討をしており、DR4におけるアリの解析に利用している。

イ HLAクラスI抗原領域

この領域のDNAタイピングは、まだ完全に確立された方法がないが、RFLP法、SSP法、SSCP法を応用し血清レベルでは判定が困難な抗原について実用化を試みている。(研究報告参照)

(2) パルスフィールド電気泳動を用いた病原微生物の疫学的検討

病原微生物の疫学的マーカーとして、キロベースの巨大な遺伝子を判定する方法が有効であると考えられているので、平成8年度に購入したパルスフィールド電気泳動装置を用いて、腸管出血性大腸菌O157の遺伝子解析を試みている。(研究報告参照)

3. 結核・感染症サーベイランス事業

県下46定点医療機関からの疾病発生情報、県下15定点小学校からの児童病欠席情報及び当所の病原体検出情報を解析小委員会(県保健指導課、県医師会及び当所で構成)で全国情報と併せて解析し、必要な情報を「愛媛県感染症情報」として月2回保健指導課から県下各医師会、定点医療機関、定点小学校及び西日本各県に提供している。これは愛媛県結核感染症サーベイランス事業実施要綱に従って行っている。

3 理化学試験室の概要

当室は水質化学科、食品化学科、薬品化学科の3科で構成され、飲料水、河川水、食品、温泉水、医薬品等に関する試験検査ならびに業務に関連した調査研究を担当している。

また、県下中央保健所の理化学試験担当者および看護学生、県内企業に対する技術指導も行っている。

水質化学科

1. 行政試験

(1) 松くい虫防除薬剤散布に伴う飛散状況調査(農林水産部): 薬剤散布による汚染状況及び散布区域外への飛散状況調査を2市3町1村について水道水源用河川水等45件、落下量61件、大気中浮遊濃度32件、計138件につき、MEP、NAC剤の飛散状況を調査した。

(資料の頁参照)

2. 委託事業

(1) 飲料水試験

ア 水道法関係試験: 県下の市町村及び一般県民からの委託試験として水道水基準項目(46項目)試験(給水開始前及び定期試験)206件及び一般飲料水理化学試験78件を実施した。

イ 水域環境の農薬等汚染調査: 害虫駆除のために河川に散布された農薬(テメホス)の分析を4件4項目に

ついて実施した。

ウ 水道水源の農薬分析: 県下の水道事業者からの委託試験として、水道水の暫定水質目標にかかる対象農薬等の含量を把握するため41件、94項目について分析を実施した。

(2) し尿処理放流水基準試験: 96件(768項目)について実施した結果、すべて施設管理基準に適合していた。

(3) 環境調査

ア 河川水環境調査: 河川水の生活環境に関する基準試験を町村の委託により21地点(108項目)について実施した。

イ 松くい虫防除薬剤空中散布に伴う飛散状況調査: 河川水5件について農薬分析を実施した。

3. 調査研究

(1) 平成8年度特別研究

水道水中の微量残留化学物質の挙動に関する研究: 近年、各種化学物質による水道水源の汚染が危惧されている。このため、厚生省は平成5年12月に水道法を改正して水質基準の強化を図ってきたが、現在使用されている農薬の多くは基準値や公定分析法が設定されていない。

一方、化学物質の水系への流入の仕方については、流入過程でより毒性の高い代謝産物に変化し、混入することが知られており、水道水の浄水過程での農薬の分解、消毒副生成物の発生、重金属の濃度変化など新たな問題が生じることが予測される。

このような現状から、愛媛県下の水道水中の残留農薬、化学物質等を対象に、分析法の開発や水道水の含量の実態調査を実施することにより、県下の水道水の安全性を確保するための基礎資料に資することを目的とする。

本年度は各種物質の分析法の検討を行った。

食品化学科

1. 行政試験

(1) 食品添加物使用実態調査(保健環境部): 市販食品の添加物使用実態を把握するため、本年度も継続して14種類、100検体の収去食品につき、保存料、防かび剤、漂白剤、酸化防止剤等の試験を実施した。その結果、グレープフルーツ1検体から基準を超えるイマザリルが検出された。(資料の頁参照)

(2) 野菜、果実等残留農薬調査(保健環境部): 昭和45年度からの継続事業として実施しているが、平成4年度以降相次ぐ食品衛生法の改正により残留農薬基準(農薬及び農産物)が大幅に追加されており、本事業も拡大されている。

本年度は、農産物31検体、38種類の農薬の検査を実施した。その結果、残留基準を超えるものは認められなかった。(資料の頁参照)

(3) 油菓子・油処理めんの試験(保健環境部): 本年度

は、油菓子9検体及び油処理めん10検体について油脂の変敗試験（酸価、過酸化値の測定）を実施した。その結果、いずれも指導基準（油菓子）、成分規格（油処理めん）に適合していた。

(4) 魚介類の有機スズ化合物の残留分析（保健環境部）：県内産のはまち、たい、いさき12検体（養殖魚7、天然魚5）のTBTC（塩化トリn-ブチルスズ）、TPTC（塩化トリフェニルスズ）の残留状況を調査した。その結果、TBTCは養殖魚6検体に0.03~0.15ppm、天然魚1検体に0.26ppmが、TPTCは養殖魚からは検出されなかったが、天然魚1検体から0.11ppm検出された。

(5) 養殖魚の医薬品残留試験（保健環境部・水産局）：県内産養殖魚のはまち等の医薬品残留検査を細菌科と共同で実施した。当科ではオキシリン酸（24検体）、オキシテトラサイクリン（15検体）の分析を実施したが、残留は認められなかった。

(6) 食肉中の農薬及び合成抗菌剤の残留試験（保健環境部）：県内産の食肉10検体及び輸入食肉10検体について、農薬（総DDT、ディルドリン、ヘプタクロル）及び合成抗菌剤（スルファジミジン、スルファジメトキシン）の残留状況を調査したが、いずれも検出されなかった。

(7) 淡水魚の残留農薬調査（保健環境部）：淡水魚（あゆ）2検体の残留農薬（クロロニトロフェン）の検査を実施した結果、それぞれ0.011、0.021ppm検出された。

(8) 食品残留農薬実態調査：厚生省の委託により、輸入及び国内産の農産物合計92検体について、プロベナゾール及びエテホンの残留分析を実施した。

2. 委託事業

(1) 一般住民及び食品製造業者等の委託により、104検体の食品等について栄養分析、食品添加物・残留農薬試験等を実施した。

(2) 輸入食品の自主検査：平成7年度から輸入食品の検査を実施しており、食品、容器包装等156検体について、食品添加物、残留農薬、防かび剤、容器包装の規格試験等（380項目）を実施した。

3. 調査研究

(1) 合成抗菌剤に関する研究

魚介類、食肉中の合成抗菌剤について、迅速かつ簡易な分析方法を検討している。

(2) 残留農薬分析法に関する研究

食品衛生法の改正により、基準設定農薬が増加したことから、新規に追加された農薬を中心に分析方法等について、検討している。

(3) 外部精度管理

「行政検査における精度管理システム構築に関する研究」：厚生科学研究（地域保健対策総合研究事業）による

理化学部門（食品）外部精度管理（プロチオホス等6項目）に参画した。結果はいずれも良好な値であった。

薬品化学科

1. 行政試験

(1) 平成8年度医薬品等一斉取り締まり関係試験（保健環境部）：医薬品等の品質、有効性及び安全性の確保を目的として、薬務課・保健所・衛生研究所が製造所への立入検査指導を実施し、収去試験として医薬品12検体（胃腸薬・解熱鎮痛薬・かぜ薬・内用液剤・ビタミン製剤・鎮咳去痰薬・消毒綿・局方脱脂綿）、医薬部外品26検体（生理処理用品・清浄綿・衛生綿・パーマネントウェーブ用剤・誘因殺虫剤）の総計38検体について製造承認規格基準試験（総試験項目数263）を実施した。その結果、医薬部外品中、生理処理用品1検体（重量偏差）、清浄綿1検体（無菌試験）が不適合であった。（資料の項参照）

(2) 平成8年度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く基準試験（保健環境部）：家庭用品の安全性を確保する目的で、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く市販家庭用品の試買試験として、60検体（乳幼児及び成人用繊維製品・家庭用エアゾル製品・住宅用洗剤・家庭用洗剤）について、ホルムアルデヒド・有機水銀化合物・塩化ビニル・トリクロロエチレン・テトラクロロエチレン等の有害物質の基準試験（総試験項目数152）を実施した。その結果、いずれの製品も適合していた。（資料の項参照）

2. 委託試験

(1) 医療用具関係試験：製造業者の委託により、月経処理用タンポン2検体について基準試験（総計28項目）を実施した。その結果、いずれの製品も適合していた。

(2) 温泉関係試験：町及び一般住民の委託により掘削水5検体（新規2検体、再分析3検体）について鉱泉分析（総計80項目）を、湧水等20検体について予試験（総計210項目）を実施した。鉱泉分析5件のうち4件が温泉法に規定する温泉に該当し、更にそのうち1件が鉱泉分析法指針に規定する療養泉に該当していた。

（資料の項参照）

3. 調査研究

(1) 愛媛県下の温泉の泉質特性と経年変化に関する研究

県下各地で新温泉が開発される一方、既存の温泉は、おおむね10年毎に再分析されている。温泉資源保護と適正利用の基礎資料とするため、これらの分析結果をもとにその泉質特性と経年変化を調査研究している。更に、この研究を効率的に進め、温泉行政主管課等への資料提供を目的として分析結果のデータベース化に着手している。

VI 技術研修指導, 研究発表の状況

技術研修指導、講師派遣状況

対象者・会の名称	講義・指導内容	期 間	場 所	参加者数	担 当 者
愛媛大学医学部	ウイルス学	8. 4. 1 ~ 9. 3. 31	同 校	100 人	井上
”	免 疫 学	”	”	”	井上
”	感 染 症 の 疫 学	”	”	”	井上
”	細 菌 ・ ウ イ ル ス 実 習	”	”	”	大瀬戸, 田中
”	社 会 医 学 実 習	”	当 所	4 人	井上, 森正俊
県立医療技術短期大学	臨 床 免 疫 学	8. 4. 1 ~ 8. 9. 30	同 校	”	井上, 大瀬戸, 鳥谷, 奥山
松山看護専門学校	公 衆 衛 生 学	8. 4. 1 ~ 9. 3. 31	”	”	井上
”	成 人 保 健	”	”	”	井上
県内臨床検査従事者等	病原性大腸菌O157 の 検 査 の 実 際	8.11.30	テクノプラザ愛媛	130 人	田中
衛生指導業務(食肉検査) 担当者職員研修会	O157の疫学について	9. 2. 19	松山中央保健所	30 人	田中
保健所微生物検査 担当現任者研修会	微生物検査講義・実習	8. 4. 26	当 所	13 人	微生物試験室
保健所理化学試験 担当現任者研修会	理化学試験講義・実習	”	”	6 人	理化学試験室
保健所衛生試験 初任者研修会	検査・試験法講義・実習	8. 7. 22 ~ 8. 7. 25	”	10 人	微生物及び 理化学試験室
南予地区一般廃棄物(し 尿)処理施設職員研修会	し尿処理放流水自主検査にお ける内部精度管理について	8.10.24・25	西海町	25 人	石丸
今治市役所	水道水試験全般・実習	8. 4. 1 ~ 9. 2. 28	当 所	1 人	水質化学科

技術研修、講習会、学会等出席状況

会 の 名 称	場 所	年 月 日	出 席 者
HLAタイピング共同研究会	東 京 都	8. 4. 12 ~ 8. 4. 13	奥山
HLAタイピング共同研究会及び実務者講習会	東 京 都	8. 5. 9 ~ 8. 5. 10	奥山
第47回全国水道研究発表会	岐 阜 市	8. 5. 15 ~ 8. 5. 18	石丸
日本食品衛生学会総会	大 阪 府 市	8. 5. 15 ~ 8. 5. 18	竹田
第50回地研中四国ブロック会議	松 江 市	8. 5. 22 ~ 8. 5. 24	井上, 西原, 森正俊, 田中, 大瀬戸, 小笠原, 大瀧, 篠原
西日本ブロック内第2回HLAタイパー会議	福 岡 市	8. 6. 5 ~ 8. 6. 6	奥山
残留農薬実態調査打合せ	東 京 都	8. 6. 5 ~ 8. 6. 6	高見
第13回中国・四国ウイルス研究会	米 子 市	8. 6. 15 ~ 8. 6. 16	森正俊
地方衛生研究所試験担当者講習会	東 京 都	8. 6. 23 ~ 8. 6. 25	篠原
全国家庭用品安全対策担当係長会議	東 京 都	8. 6. 27 ~ 8. 6. 28	篠原
衛生微生物技術協議会第17回研究会	京 都 府	8. 7. 3 ~ 8. 7. 6	井上, 森正俊, 田中, 高橋
平成8年度先天性代謝異常症検査技術者研修会	東 京 都	8. 7. 3 ~ 8. 7. 6	橋本, 今西
GC, MS研修(ガスクロマトグラフ質量分析)	東 京 都 市	8. 8. 27 ~ 8. 8. 30	泉
第3回HLAタイピング共同研究会	東 京 都	8. 8. 30 ~ 8. 8. 31	奥山
行政検査における精度管理システム構築に関する研究 第1回研究班会議	横 浜 市	8. 9. 6 ~ 8. 9. 7	井上
(社)日本移植ネットワーク西日本ブロック会議	福 岡 市	8. 9. 2 ~ 8. 9. 3	鳥谷

会 名 称	場 所	年 月 日	出 席 者
第24回日本マス・スクリーニング学会及び第19回技術部会	徳 島 市	8. 9. 12 ~ 8. 9. 15	永井, 今西
日米農業残留ワークショップ	東 京 都	8. 9. 18 ~ 8. 9. 21	大瀧, 高見
平成8年度衛研公害研全国協議会中・四国支部廃棄物研究会	新 居 浜 市	8. 9. 19 ~ 8. 9. 20	森喜一, 石丸
第5回日本組織適合性学会	東 京 都	8. 9. 18 ~ 8. 9. 21	奥山
日本食品衛生学会第72回学術講演会	岡 山 市	8. 10. 2 ~ 8. 10. 5	森喜一, 高見
第35回日本薬学会日本病院薬剤師学術大会中・四国支部大会	出 雲 市	8. 10. 11 ~ 8. 10. 14	森喜一, 篠原
感染症サーベランス事業に係る病原体検出情報オンライン化講習会	東 京 都	8. 10. 15 ~ 8. 10. 17	呼石
全国公衆衛生獣医師協議会	東 京 都	8. 10. 15 ~ 8. 10. 16	森正俊
厚生科学O157研究班会議	東 京 都	8. 10. 21 ~ 8. 10. 23	田中
静岡学術フォーラム及び第41回日本ウイルス学会総会	静 岡 市	8. 10. 21 ~ 8. 10. 25	森正俊, 大瀬戸
分子疫学解析セミナー	大 阪 府 市 豊 中 市	8. 10. 26 ~ 8. 10. 27	近藤, 大橋
HLA タイピング共同研究会会議	東 京 都	8. 10. 28 ~ 8. 10. 29	奥山
平成8年度食品化学講習会	東 京 都	8. 10. 28 ~ 8. 10. 30	大野
第55回日本公衆衛生学会総会	大 阪 府 市 豊 中 市	8. 10. 29 ~ 8. 11. 2	渡部, 西原, 森喜一, 篠原, 高見
平成8年度食品残留農薬講習会	東 京 都	8. 10. 30 ~ 8. 11. 1	竹田
第29回日本薬剤師学術大会	長 崎 市	8. 11. 2 ~ 8. 11. 5	小笠原, 青野
第1回移植推進連絡会議及び日本腎移植ネットワーク中・四国ブロックセンター開所式	広 島 市	8. 11. 8 ~ 8. 11. 9	奥山
第33回全国衛生化学技術協議会年会	京 都 市	8. 11. 13 ~ 8. 11. 16	小笠原, 篠原
第66回日本感染症学会西日本地方会総会	徳 島 市	8. 11. 27 ~ 8. 11. 29	井上, 呼石, 大橋
高速液体クロマトグラフィー講習会	大 阪 市	8. 12. 4 ~ 8. 12. 7	泉
厚生科学O157研究班会議	東 京 都	8. 12. 17 ~ 8. 12. 18	田中
国立公衆衛生院特別課程(ウイルスコース)入学	東 京 都	9. 1. 6 ~ 9. 2. 7	高橋
第7回HIV検査法技術研修会	東 京 都	9. 1. 7 ~ 9. 1. 11	大瀬戸
第1回HIV検査センター実務者会議	広 島 市	9. 1. 10 ~ 9. 1. 11	奥山
新生児マス・スクリーニング検査技術者勉強会	高 松 市	9. 1. 18 ~ 9. 1. 19	橋本, 永井, 今西, 浅野
第8回日本臨床微生物学会総会	神 戸 市	9. 1. 24 ~ 9. 1. 26	森正俊, 近藤
GLPに関する研修会	東 京 都	9. 1. 26 ~ 9. 1. 27	田中, 大瀧

会 名 称	場 所	年 月 日	出 席 者
ヘリコバクター検査法に関する研修	東 京 都	9. 1. 28 ~ 9. 1. 30	大橋
HLA 検査データ解析研修, 第10回公衆衛生情報研究協議会 総会及び研究会	佐 倉 市 高 崎 市	9. 1. 29 ~ 9. 1. 31	鳥谷
農薬残留分析研究会談話会	東 京 都 多 摩 市	9. 1. 31 ~ 9. 2. 1	新田
第14回近畿HLA 研究会	大 阪 市	9. 2. 8 ~ 9. 2. 9	鳥谷, 青木
平成8年度日本獣医三学会年次大会	仙 台 市	9. 2. 9 ~ 9. 2. 12	田中
平成8年度希少感染症診断技術研修会	東 京 都	9. 2. 12 ~ 9. 2. 15	大橋, 呼石
日本マス・スクリーニング学会技術部会第16回研修会	新 潟 市	9. 2. 20 ~ 9. 2. 22	橋本, 浅野
第7回温泉分析研究会及び鉱泉分析業務状況調査	東 京 都	9. 2. 26 ~ 9. 2. 28	篠原
下痢性ウイルスの遺伝子解析及び技術研修	東 京 都	9. 3. 3 ~ 9. 3. 5	高橋
行政検査における精度管理システム構築に関する研究第2回 研究班会議	横 浜 市	9. 3. 4 ~ 9. 3. 5	井上
水道におけるクリプトスポリジウム対策講習会	広 島 市	9. 3. 6 ~ 9. 3. 7	鳥谷, 青木
化学物質と環境講演会	東 京 都	9. 3. 6 ~ 9. 3. 8	青野
平成8年度厚生省疫学研究班総会シンポジウムグループ会 議	横 浜 市	9. 3. 12 ~ 9. 3. 16	井上, 森正俊
病原大腸菌O-157 検査研修	岡 山 市	9. 3. 17 ~ 9. 3. 18	田中
SRSV (小型球形ウイルス) のRT-PCR 法研修	東 京 都	9. 3. 17 ~ 9. 3. 19	大瀬戸
新生児マス・スクリーニング学会技術部会第16回研修会	東 京 都	9. 3. 17 ~ 9. 3. 19	浅野
(社) 日本腎移植ネットワーク通常総会	東 京 都	9. 3. 21	鳥谷
医薬品の安全性に関する諸問題についての研修会	大 阪 市	9. 3. 24 ~ 9. 3. 26	篠原
第31回日本水環境学会年会	札 幌 市	9. 3. 24 ~ 9. 3. 28	小笠原, 石丸
平成9年度残留農薬実態調査説明会	東 京 都	9. 3. 25 ~ 9. 3. 26	新田
日本薬学会第117年会	東 京 都 町 田 市	9. 3. 25 ~ 9. 3. 28	青野, 大野
第20回日本細菌学会総会	宇 都 宮 市	9. 3. 28 ~ 9. 3. 31	近藤

平成8年度衛生研究所集談会開催状況

回数	年月日	演者	演題
第253回	4月18日	井上 博雄 森 正俊 石丸 尚志	Emerging Infection 愛媛県における神経芽細胞種マスキリーニングの問題点の改善について 大気中の農薬動態の簡易推定法について
第254回	5月16日	大瀧 勝 奥山 正明	輸入農産物等における有機リン系農薬の実態調査結果について Bcell クロスマッチ陽性例は移植適応か否か
第255回	6月20日	森 喜一 大瀬戸光明	検査機関における精度管理について -平成7年度厚生科学研究事業報告から- アストロウイルスの血清型別法の開発とその応用
第256回	7月18日	大野智也佳 鳥谷 竜哉	食品中の有機スズ化合物の分析について PCR-RFLP法を用いたHLAクラスI抗原のDNAタイピング
第257回	8月22日	高見 育子 浅野由紀子	レナシルの分析について マイクロプレート微量蛍光定量法を用いたガラクトース血症マス・スクリーニングの検討
第258回	9月26日	新田 祐子 今西 利花	HPLCによるプロピオン酸の分析について 神経芽細胞種スクリーニングにおけるHVA高値検体についての検討
第259回	10月17日	青野 眞 橋本 彰夫	生体金属元素について VMA及びHVA等の定量に影響を与える薬剤について
第260回	11月21日	竹田 真彦 田中 博	高速液体クロマトグラフィーとその分離度について 病原性大腸菌O-157について
第261回	12月19日	篠原 正史 近藤 弘子	漢方ウオッチング -その歴史とエキス製剤の誕生について- サルモネラ感染症
第262回	1月16日	小笠原光憲 呼石 弘子	水道水中のトリハロメタンについて マイクロ法による麻疹中和抗体測定法と住民の抗体保有状況の推移
第263回	2月20日	泉 喜子 高橋 一博 永井 雅子	イミダクロプリドの分析について ウイルス性胃腸炎の流行状況について(1995~1996) 改良キットによるTSHの測定結果について
第264回	3月13日	大橋 有里 青木 里美	Helicobacter pyloriの血中抗体価について パルスフィールド電気泳動法を用いた病原性大腸菌O-157遺伝子型の検討

本年報中の「研究報告」及び「資料」に掲げる内容のうち、その基礎データは当所の責任に属するものであるが、その後の解析、考察などは各報告者個人又はグループの責任に帰するもので、必ずしも県としての公式見解を示したのではない。

編 集 委 員

森 正 俊
森 喜 一
大瀬戸 光 明
篠 原 正 史
青 野 眞
烏 谷 竜 哉

平 成 8 年 度
愛媛県立衛生研究所年報

第 58 号

平成9年11月1日発行

編集発行所 愛媛県立衛生研究所
松山市三番町8丁目234番地(〒790)
電話(089)931-8757(代)
印刷所 (株)タケウチ印刷所
電話(089)925-4227