

論文投稿・学会発表

論文 (1)

J Ceramic Soc Japan, 118 (7) : 571-574 (2010)

Antimicrobial effect of porcelain glaze with silver-clay antimicrobial agent

Hideki YOSHIDA¹, Hisao ABE¹, Toshitsugu TAGURI², Fumihiko OHASHI³,
Shigeru FUJINO⁴, and Toshihisa KAJIWARA⁴

¹Ceramic Research Center of Nagasaki, ²Department of Microbiology, Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, ³Materials Research Institute for Sustainable Development, National Institute of Advanced Industrial Science and Technology (AIST), ⁴Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Kyushu University

Antimicrobial activities of porcelain glazes with antimicrobial agents made of clay minerals intercalated with silver chelate and the effect of additives to the antimicrobial agents on those activities were investigated. The glazes with 10 mass% antimicrobial agents, fired at 1573K in a reducing atmosphere, showed negative antimicrobial activities. On the other hand, the antimicrobial activities of the glazes with 110 mass% of the agents fired in an oxidizing atmosphere were positive. The glaze with an agent doped with Zr had a high antimicrobial activity by adding only 0.2 mass% of the agent, which included only 0.008 mass% Ag in the glaze. Wavelength-dispersive X-ray fluorescence, used for ingredient analysis, showed that the negative activity resulted from the disappearance of the Ag in the glaze fired in the reducing atmosphere.

論文 (2)

Jpn.J.Food.Ghem.Safety, 17 (1): 18-26 (2010)

Pharmacokinetics of Orally Administered Alginate Oligosaccharides in the Marine Fish, Sevenband Grouper (*Epinephelus septemfasciatus*), and the Possible Influence on Fish Immune System

Toru NISHIKAWA,^{1,2} Takeshi YOKOSE,^{1,2} Kadoo MIYAKI,³ Kazushi KADOMURA,³ Yosuke TSUKIYAMA,³ Yoshiko YAMAMOTO,⁴ Kenichi YAMAGUCHI,^{2,4} and Tatsuya ODA^{2,4}

¹Nagasaki Prefectural Institute for Environment Research and Public Health

²Graduate School of Science and Technology, Nagasaki University

³Nagasaki Prefectural Institute of Fisheries

⁴Division of Biochemistry, Faculty of Fisheries, Nagasaki University

We have previously developed a sensitive and simple liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) method for the detection of alginate oligosaccharides (AOs) in an *in vivo* mouse model. By this method, in this study, we detected AOs in the plasma from marine fish sevenband grouper which had been fed

diets containing AOs. Based on a calibration curve made with an AO trimer peak area as a standard, the plasma concentration of AOs was estimated to be 6.5 µg/ml and 7.9 µg/ml at 6 h after single administration of the diets containing AOs at 5% or 10% (w/w), respectively. Relatively high level of AOs in the plasma was maintained for at least 54 h. Sevenband groupers, which had been fed control diet, or AO-containing diet for 2 weeks in rearing tanks, were released into the net placed in the coastal water where the risk of prevalence of infectious diseases especially VNN had been increasing. After 60 d culture with control or AO-containing diet, the survival rate of the fish fed diet containing AOs was significantly higher than that of the fish fed control diet. Bio-Plex bead assay, that can detect 23 mouse cytokines at the same time, suggested that intraperitoneal administration of AOs induced the increase in cytokines especially TNF-α in the plasma of sevenband grouper. Our results suggest that orally administered AOs are absorbed by digestive organs, and are retained in the plasma for relatively long time. The long-lasting retention of absorbed AOs in the plasma may be attributed to the activation of fish immune system

論文 (3)

日本食品化学学会誌 17 (1): 27 - 35, 2010

低分子化アルギン酸オリゴマーの哺乳類培養細胞、単細胞植物プランクトン、及び海洋細菌の増殖に対する影響

横瀬健^{1), 2)}、山崎康裕³⁾、西川徹^{1), 2)}、姜澤東²⁾、王亜軍²⁾、山口健一^{2), 3)}、小田達也^{2), 3)}

長崎県環境保健研究センター¹⁾、長崎大学大学院生産科学研究科²⁾、長崎大学水産学部³⁾

アルギン酸オリゴマーの種々の動物細胞株、植物プランクトン、および海洋細菌に対する影響を調べた。種々の動物細胞株および海洋細菌である *Edwardsiella tarda* の 2 株に対するアルギン酸オリゴマー添加の顕著な影響は認められなかった。一方、養殖産業で非常に有用な植物プランクトンである珪藻 *Chaetoceros gracilis* (*C. gracilis*) に対してアルギン酸オリゴマーは濃度依存的に増殖促進効果を示し、アルギン酸オリゴマー濃度 125 µg/ml において、対照区の約 140%という最も高い増殖促進効果が観察された。しかしながら、他の珪藻である *Skeletonema* sp. の増殖はアルギン酸オリゴマーの添加により濃度依存的に抑制された。これらの結果より、アルギン酸オリゴマーは *C. gracilis* の増殖を特異的に促進或は改善する培養技術の確立に有用である事がわかった。

論文 (4)

財団法人 九州環境管理協会 会報 「環境管理」第 39 号 14-24

環境マネジメントシステム エコアクション 21 への取り組み

森 淳子、荒木昌彦、西村 昇、赤木 聡

エコアクション 21 認証・登録制度は、概ね 1000 人以下の規模の中小企業、学校、公共機関などに対して、「環境への取組を効果的・効率的に行うシステムを構築・運用・維持し、環境への目標を持ちながら行動し、その結果を取りまとめ、評価し、報告する」ための方法として、環境省が策定したエコアクション 21 ガイドラインに基づく、事業者のための認証・登録制度である。

当センターは平成 20 年 4 月にエコアクション 21 への取り組みを決定し、エコアクション 21 地方公共団体

向けマニュアル試行版及びエコアクション 21 大学等(教育・研究機関)向けマニュアル試行版に従った取り組みを行い、平成 21 年 3 月 13 日、エコアクション 21 の認証・登録を受けた。

当センターのエコアクション 21 の認証・登録は長崎県で 22 番目、公共機関としては初めてとなった。

公的機関として認証・登録を行った一事業所として、機会をとらえて普及・啓発に積極的に努めていきたい。

論文 (5)

「環境資源対策」Vol46 No11 78-82

特集 / 地方環境研究所の今を探る

科学技術振興局に属する地方環境研究所の整備と運営

西村 昇

長崎県環境保健研究センター(以下「センター」という)は平成19年4月に長崎市から大村市に新築移転し、新たな公設試験研究機関としてスタートした。これに至るまでには、県立の環境・衛生研究所としての在り方について種々議論がなされ整備が進められた。

平成12年度には、「新衛生公害研究所基本構想」が策定された。計画途中に県の組織が再編され、主管部局が県民生活環境部から県立の試験研究機関を束ねる政策調整局を経て科学技術振興局の所管となり、各試験研究機関は「科学技術の振興、新技術開発の推進により、新事業・新産業を創出し、長崎県の雇用促進や県民生活の質の向上に貢献する」ことを目的とすることになった。

今年度は、平成19年度の整備から4年が経過し、当初目標としていた研究機関としての第1期の運営計画が終了することから、次期計画の策定を検討している。

本稿において、センターが辿ったこれまでの経過を検証・報告することにより、次期計画の策定に繋がりたいと考える。

論文 (6)

Journal of Radiation Research, 52 (1): 88–95 (2011)

Current Concentration of Artificial Radionuclides and Estimated Radiation

Doses from ¹³⁷Cs around the Chernobyl Nuclear PowerPlant, the

Semipalatinsk Nuclear Testing Site, and in Nagasaki

Yasuyuki TAIRA^{1,5}, Naomi HAYASHIDA¹, Gopalganapathi M. BRAHMANANDHAN¹, Yuji NAGAYAMA², Shunichi YAMASHITA³, Jumpei TAKAHASHI⁴, Alexander GUTEVITC⁶, Alexander KAZLOVSKY⁷, Marat URAZALIN⁸ and Noboru TAKAMURA¹

Departments of ¹Radiation Epidemiology, ²Medical Gene Technology and ³Molecular Medicine, Radiation Research, Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences, Japan; ⁴Center for International Collaborative Research, Nagasaki University, Japan; ⁵Nagasaki Prefectural Institute for Environmental Research and Public Health, Japan; ⁶Zhitomir Inter-Area Medical Diagnostic Center, Ukraine; ⁷Gomel State Medical University, the Republic of Belarus; ⁸Semipalatinsk State Medical Academy, the Republic of

Kazakhstan

To evaluate current environmental contamination and contributions from internal and external exposure due to the accident at the Chernobyl Nuclear Power Plant (CNPP) and nuclear tests at the Semipalatinsk Nuclear Testing Site (SNTS), concentrations of artificial radionuclides in edible mushrooms, soils and stones from each area were analyzed by gamma spectrometry. Annual effective doses were calculated for each area from the cesium contamination. Calculated internal effective doses of ^{137}Cs due to ingestion of mushrooms were 1.8×10^{-1} mSv/year (y) in Gomel city (around CNPP), 1.7×10^{-1} mSv/y in Korosten city (around CNPP), 2.8×10^{-4} mSv/y in Semipalatinsk city, and 1.3×10^{-4} mSv/y in Nagasaki. Calculated external effective doses of ^{137}Cs were 3.4×10^{-2} mSv/y in Gomel city, 6.2×10^{-2} mSv/y in Korosten city, 2.0×10^{-4} mSv/y in Semipalatinsk city, and 1.3×10^{-4} mSv/y in Nagasaki. Distribution of radionuclides in stones collected beside Lake Balapan (in SNTS) were ^{241}Am (49.4 ± 1.4 Bq/kg), ^{137}Cs (406.3 ± 1.7 Bq/kg), ^{58}Co (3.2 ± 0.5 Bq/kg), and ^{60}Co (125.9 ± 1.1 and 126.1 ± 1.1 Bq/kg). The present study revealed that dose rates from internal and external exposure around CNPP were not sufficiently low and radiation exposure potency still exists even though current levels are below the public dose limit of 1 mSv/y (ICRP1991). Moreover, parts of the SNTS area may be still contaminated by artificial radionuclides derived from nuclear tests. Long-term follow-up of environmental monitoring around CNPP and SNTS, as well as evaluation of health effects in the population residing around these areas, may contribute to radiation safety with a reduction of unnecessary exposure of residents.

論文(7)

長崎医学会雑誌 85 巻原爆特集号: 319-321 (平成 22 年 9 月 25 日発行)

チェルノブイリ、セミパラチンスク及び長崎における放射線被ばくりスクについて

平良文亨^{1,2}、アレクサンダー・グテビッチ³(Alexander Gutevitch)、アレクサンダー・カズロフスキー⁴(Alexander Kazlovsky)、マラット・ウラザリン⁵(Marat Urazalin)、林田直美¹、高村昇¹
 長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻放射線疫学分野¹、長崎県環境保健研究センター²、ジトミール州地区病院³、ゴメリ医科大学⁴、セミパラチンスク医科大学⁵

チェルノブイリ原子力発電所事故の影響があった地域、セミパラチンスク核実験場周辺及び原爆被ばくを経験した長崎における放射線被ばくりスク評価のために、環境試料の核種分析等を実施した。 ^{137}Cs の蓄積傾向があるキノコ類を内部被ばくの指標、土壌及び石を地表面からの外部被ばくの指標とし、Ge半導体検出器で線核種分析を実施後、各試料の実効線量を算出した。チェルノブイリ原子力発電所に近接する地域ほど ^{137}Cs 濃度は高値を示し、内部被ばくの実効線量は最大でコロステンの0.18mSv/yで、公衆の年間被ばく線量限度である1mSv/yの約6分の1程度であった。また、事故の影響が大きかったブリヤンスク及びゴメリ州(ゼレズニキ)の外部被ばくの実効線量が比較的高く、最大0.55mSv/yであった。一方、セミパラチンスク市内では、長崎とほぼ同程度で実効線量は低値を示したが、核実験場敷地内からは、複数の人工放射性核種が検出された。チェルノブイリ原子力発電所近傍及びセミパラチンスク核実験場内では、人工放射性核種が大量に放出された当時に比べて低レベルであるものの、現在も複数の人工放射性核種が環境中に存在し、放射線被ばくりスクが賦存していることが示唆される。

口頭発表 (1)

第 80 回日本衛生学会学術総会 平成 22 年 5 月 9-11 日 仙台市

チェルノブイリ、セミパラチンスク及び長崎における放射線被ばくリスクについて

平良文亨^{1,2}、アレクサンダー・グテビッチ³(Alexander Gutevitch)、アレクサンダー・カズロフスキー⁴(Alexander Kazlovsky)、マラット・ウラザリン⁵(Marat Urazalin)、林田直美¹、高村昇¹
長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻放射線疫学分野¹、長崎県環境保健研究センター²、ジトミール州地区病院³、ゴメリ医科大学⁴、セミパラチンスク医科大学⁵

【目的】1986年4月に発生したチェルノブイリ原子力発電所の事故、あるいは1989年までに450回以上の核実験を実施してきたセミパラチンスク核実験場の閉鎖から20年以上が経過した。チェルノブイリ周辺地域では被ばくによる甲状腺がんの増加などに伴い、国際的な医療援助等が実施されている。一方、環境中の放射能レベルは経時的に減少しているが、フォールアウト核種の中には長半減期核種であるセシウム137(約30年)等が含まれており、それらの慢性的な被ばくによる健康影響が懸念される。そこで、チェルノブイリ周辺地域、セミパラチンスク核実験場周辺及び60年以上前に原爆被ばくを経験した長崎における食物摂取による内部被ばく評価と環境中の放射能レベルの現状把握のために、環境試料の核種分析を実施した。【方法】セシウム137の蓄積傾向があるキノコ類を対象地域の内部被ばくの指標とするとともに、土壌及び石を採取し、それぞれについてゲルマニウム半導体検出器によるガンマ線の核種分析を実施した(文部科学省編「放射能測定法シリーズ」準拠)。核種分析後、キノコ類の内部被ばくの実効線量を算出し、食物摂取による放射線被ばくリスクについて評価した。実効線量の算出に必要なキノコ類の年間摂取量は、国際連合食料農業機関の統計データベース等から推計した。【結果】キノコ類の核種分析から、チェルノブイリ周辺地域では最大で長崎の約1,400倍のセシウム137が検出されたが、チェルノブイリ原子力発電所に近接する地域ほど高値を示し、特にコロステン(ウクライナ)及びゴメリ(ベラルーシ共和国)では短半減期核種であるセシウム134も検出された。また、内部被ばくの実効線量は、コロステン及びゴメリでそれぞれ年間0.18ミリシーベルト及び0.17ミリシーベルトであり、公衆の年間被ばく線量限度である1ミリシーベルトの約6分の1で、胸部レントゲン写真(エックス線)1回当たりの被ばくと同程度であることがわかった。さらに、土壌ではキノコ類と同様の人工核種の分布傾向がみられた。一方、セミパラチンスクでは市内で採取したキノコ類の放射能レベルは、長崎とほぼ同程度で実効線量は低値を示したが、核実験場敷地内の石からは、セシウム137の他コバルト58、60及びアメリカシウム241の合計4種類の人工核種が検出された。【考察】チェルノブイリ原子力発電所近傍及びセミパラチンスク核実験場では、人工核種が大量に放出された当時に比べ、低レベルであるものの、現在も複数の人工核種が環境中に存在していることが示唆された。一方で、これらの人工核種による現時点での住民の被ばくは低線量であり、住民への適切な放射線リスクコミュニケーションの必要があると考えられる。

ポスター発表 (2)

平成 22 年度日本水産学会秋季大会 2010 年 9 月 22 日-25 日 京都大学

緑藻クラミドモナスの増殖に対する低分子化アルギン酸オリゴマーの影響

山崎康裕¹⁾、横瀬健²⁾、西川徹²⁾、山口健一¹⁾、小田達也¹⁾
長崎大学水産学部¹⁾、長崎県環境保健研究センター²⁾

【目的】近年、我々は種苗生産に用いられる海産植物プランクトンの増殖が、酵素分解低分子化アルギン酸オリゴマーによって促進されることを報告した。そこで本研究では、分子生物学的研究のモデル生物として知

られ、バイオ燃料やクリーンエネルギー源の水素を産生する藻類としても注目されている緑藻 *Chlamydomonas reinhardtii* に対する低分子化アルギン酸オリゴマーの影響を調べた。

【材料・方法】低分子化アルギン酸オリゴマーは、キミカ社製のアルギン酸ナトリウムを 0.1 N HCl による酸加水分解あるいはナガセケムテックス社製アルギネートリアーゼによる酵素分解によって調製した。*C. reinhardtii* の増殖に与える低分子化アルギン酸オリゴマーの影響は、ウェルプレートを用いた微量培地検定法によって調べた。

【結果・考察】*C. reinhardtii* の増殖は、酵素分解低分子化アルギン酸オリゴマーの濃度依存的に促進された。一方、酸加水分解低分子化アルギン酸オリゴマーは、*C. reinhardtii* の増殖に影響を与えなかった。さらに、グルコースやガラクトースなどの単糖類は、*C. reinhardtii* の増殖に影響を与えなかった。以上の結果より、分子生物学的研究のモデル生物である *C. reinhardtii* の使用は、今後、酵素分解低分子化アルギン酸オリゴマーによる増殖促進効果の分子レベルでの機序解析やバイオ燃料産業等への応用が期待できると考えられる。

口頭発表 (3)

日本防菌防黴学会第 37 回年次大会 2010 年 9 月 28-29 日 東京都品川区 循環ろ過式入浴施設におけるレジオネラ属菌汚染対策としての 配管洗浄の有効性

○田栗利紹¹、山崎雅之²、山本政博³、小田康雅⁴

¹長崎県環境保健研究センター、²日産化学工業(株)、³(株)オーベックス、⁴シスメックス(株)

〔目的〕我が国では、循環ろ過式入浴施設を感染源とするレジオネラ症集団感染事故の発生により、その防止のために塩素消毒による浴槽水の衛生管理がなされてきた。しかし、塩素剤は、温泉成分、pH、入浴者の汗や垢、および生物膜などの、様々な阻害物質の影響を受けやすく、有効な塩素濃度を維持していても消毒効果が認められないことがある。このような浴槽水では配管やろ過槽内に生物膜が繁茂してレジオネラ属菌に汚染されていることが多く、その対策として配管洗浄やろ過槽内逆洗浄等が行われている。今回、我々がこれまでに開発してきた新たな浴槽水の汚染度の判定方法¹⁾(新評価方法)を用いて循環ろ過式浴槽用配管洗浄剤の除菌効果を評価し、入浴施設の衛生管理技術として有効であった事例を報告する。

〔方法〕入浴者数 1,000 人規模の 3 つの入浴施設において、温泉と白湯を原水とする 6 つの循環ろ過式浴槽を対象として調査した。配管洗浄剤はハイライト SPA-FC3 (日産化学工業)を用い、衛生管理状況に応じて洗浄剤濃度を変えて配管洗浄を行い、その除菌効果を検討した。使用説明書に従って、洗浄前、発泡処理、除菌処理、中和処理、濯ぎ処理、および終了後(翌営業日)の 6 工程に沿って処理し、それぞれの浴槽水を採水した。これらの試料を用いて、遊離/全塩素濃度、アンモニア態窒素濃度、過マンガン酸カリウム消費量、フローサイトメトリー(FCM)による細菌数、従属栄養細菌数、およびレジオネラ属菌数を計測した。ここで、FCM で計測される細菌は生菌も死菌も含まれるので生死菌といい、その定量限界 3000 個/mL を閾値として浴槽水の汚染状態を評価した。これに対して、従属栄養細菌数とレジオネラ属菌数は生菌だけを含むのでそれぞれ生菌および生レジオネラ菌といい、それぞれの定量限界 200 cfu/mL および 10 cfu/100 mL を閾値として、FCM 結果と比較した。

〔結果〕4 浴槽のいくつかの工程から 4,170~879,000 個/mL の生死菌が検出されたが、2 浴槽ではほとんどの工程から検出されなかった。生死菌が検出された浴槽のうち、3 つからは洗浄前と濯ぎ工程において 560~601,000 cfu/mL の生菌と 10~3620 cfu/100mL の生レジオネラ菌が検出された。残りの 1 つからは、洗浄前には全ての細菌が不検出であったにも拘わらず、濯ぎ工程で生死菌とともに生レジオネラ菌が検出された。これらの浴槽のうち 3 つは、終了後に生死菌は不検出となり生菌も生レジ

オネラ菌も検出されなくなった。残りの1つは終了後も生レジオネラ菌が検出されたが、これは配管洗浄後の塩素処理の不具合が原因と考えられた。生死菌が検出されなかった2浴槽からは全工程を通じて少数の生菌が検出されたものの生レジオネラ菌は検出されなかった。これらの調査結果は、ろ過槽内生物膜の存在とその消毒剤に対する影響の大きさを示唆しており、該施設における定期的な配管洗浄の必要性が浮き彫りとなった。また、洗浄工程における細菌、レジオネラ属菌の存否評価手法として、FCMを用いた新評価方法が有効であったことを追記する。

〔文献〕¹⁾ 田栗ら：防菌防黴学会年次大会要旨集, p.146 (2008)

口頭発表 (4)

日本防菌防黴学会第37回年次大会 2010年9月28-29日 東京都品川区

循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミンの消毒効果

杉山寛治¹、神田隆¹、西尾智裕¹、八木美弥¹、田栗利紹²、泉山信司³、八木田健司³、倉文明⁴、
小坂浩司⁵、遠藤卓郎³

¹静岡環衛科研・微生物部、²長崎環保研セ・保健科、³国立感染研・寄生動物部、⁴国立感染研・細菌第一部、

⁵国立保健医療科学院・水道工学部

[目的]

浴槽水におけるレジオネラ属菌の汚染が問題となっているが、高 pH、アンモニア等を含む温泉では遊離残留塩素による消毒が困難であることから、代替消毒法が求められている。そこで水道等のバイオフィーム対策として使用されることがあるモノクロラミン消毒に着目し、現場で作成したモノクロラミンを循環ろ過式浴槽モデルの浴槽水へ間欠的に投入し、その濃度を維持することによる消毒効果を検討した。浴槽水のモノクロラミン濃度は、レジオネラ属菌殺菌の事前評価において、高 pH (pH9.0) で消毒効果が確認できた 3 mg/L を採用した。

[方法]

1. 循環ろ過式浴槽モデルにおけるモノクロラミン消毒実験

循環水量 4 m³/h の浴槽モデルの浴槽水 2 m³ (pH8.4、水温 40) に、用時調製したモノクロラミンを投入し、浴槽水のモノクロラミン濃度を 3 mg/L に調整した。その後、約 2 週間にわたって、1 日 1 回の間欠的なモノクロラミンの投入を繰り返し、濃度 3 mg/L を維持した。浴槽へは 13 日間に、約 20 名が入浴し、浴槽水への有機物の蓄積を行った。これを 2 回繰り返し実施した。

2. サンプルング

モノクロラミン投入前、モノクロラミン濃度一定調整後、モノクロラミン管理入浴中の浴槽水、ろ過器内水を採取した。浴槽水については、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、ならびにアメーバ数の測定、およびフローサイトメトリーによる細菌汚染判定、各種塩素濃度測定、過マンガン酸カリウム消費量や TOC (全有機炭素) などの水質検査を実施した。また、モノクロラミン管理入浴前と、入浴後の集毛器網、塩化ビニール配管の綿棒拭き取り材料、およびセラミックろ過材について、レジオネラ属菌数、従属栄養細菌数、アメーバ数を測定した。

〔結果および考察〕

本実験条件下ではヒトの入浴によってもモノクロラミン濃度の大幅な減少はなく、1~3 割程度、最大 5 割のモノクロラミンを 1 日 1 回補うことで、浴槽水のモノクロラミン濃度 (3 mg/L) を安定的に維持できた。2 週間にわたるモノクロラミン管理入浴中の浴槽水、ろ過器内水のレジオネラ属菌、ア

メーバを不検出に、従属栄養細菌数もほぼ不検出と細菌学的に良好な浴槽水の創出が可能であった。ろ過材等におけるバイオフィーム形成もほとんどみられず、レジオネラ属菌、アメーバも不検出であった。また、ボランティア入浴者によりいわゆる塩素臭がほとんどないことが確認され、従来の塩素消毒に比べ臭気低減も期待できた。浴槽水のモノクロラミン消毒は遊離塩素消毒の代替法として有効であると思われた。

口頭発表 (5)

平成 22 年度日本獣医公衆衛生学会 (九州) 2010 年 10 月 8 日 佐賀市

長崎県で分離された *Vibrio vulnificus* 株の性状

○山崎省吾¹⁾*, 右田雄二¹⁾、吾郷昌信¹⁾

¹長崎県環境保研、*現長崎県県央保健所

[はじめに] *Vibrio vulnificus* (*V. v*) 感染症は、患者発生に地域の特徴があり、わが国ではその多くが有明海沿岸を中心に報告されている。本菌の人に対する病原性については、いくつかの病原性関連因子の候補が見出されているものの、その詳細は未だ不明である。そこで今回、本菌の病原性研究の一環として、長崎県沿岸で分離された *V. v* 株について、病原性関連因子に着目して分離海域毎の菌株性状の解析を行った。

[材料および方法] 臨床分離株 10 株 (うち、長崎県内分離 2 株) 及び 長崎県内で魚介類および海水などから分離された 197 株を用いた。菌株の性状解析は、PCR-RFLP を用いた 16S rRNA 型別、vcg (virulence-correlated gene) 型別の遺伝子型別、病原性候補因子の 1 つである *viuB* (ブルニバクチン・シデロフォア関連) 遺伝子保有の比較及び生化学性状試験による生物型の同定により行った。

[成績および考察] 16S rRNA 型別では、臨床分離株は A-type に 7 株、B-type に 3 株が分類され、有明海由来株は 116 株中 64 株 (55.2%)、他海域由来株は 66 株中 39 株 (59.1%) が A-type に分類された。これまでに、B-type が病原性に強く関連することが示唆されているが、今回用いた株では、A-type が多く検出され、また海域間の差も認められなかった。vcg 型別では、臨床分離株では臨床由来に多いとされる C-type に 5 株、環境由来に多いとされる E-type に 5 株が分類された。有明海由来 119 株のうち 79 株 (66.4%) が、他海域由来 64 株のうち 27 株 (42.2%) が C-type に分類され、有明海由来株が有意に C-type に分類された ($p < 0.005$, χ^2 検定)。*viuB* 遺伝子は、臨床分離株では 10 株中 3 株にその存在が確認され、有明海由来では 123 株中 43 株 (35%)、他海域由来株では 68 株中 10 株 (14.7%) が保有し、有明海由来株が他海域由来株に比べ高率に保有することが確認された ($p < 0.005$)。また生物型では、長崎県内の環境で分離された株はすべて biotype1 に分類された。

以上の結果より、16S rRNA 型別では海域毎に明確な差は認められなかったものの、vcg 型別や *viuB* 遺伝子で海域間の差が見られたことから、海域間の菌株特性が *V. v* の病原性に反映される可能性が示唆された。

*本演題は、日本獣医公衆衛生学会九州地区学会長賞を受賞した。

口頭発表 (6)

第 36 回九州衛生化学技術協議会 平成 22 年 10 月 14 ~ 15 日 佐賀市

食品中水溶性低分子物質の包括的な分析及び解析法の検討

辻村和也¹、橋元大介²、土井康平¹、西川徹¹

1: 長崎県環境保健研究センター

2: 長崎県農林技術開発センター畜産研究部門

1. はじめに

「食の安全・安心の確保」のための理化学分析技術は、消費者要望に伴い、その測定対象が年々多様

化している。その範囲は、「有害性」判断のための農薬、殺虫剤、除草剤、食品の汚染物質等から始まり、「品質・表示の信頼性確保」判断のための栄養成分や機能性成分の分析にも及んでいる。更に、危機管理的側面からは、「迅速」かつ「広範囲」な分析技術及びその中から意味あるものを見つけるデータマイニング技術ももとめられる。それらに対応するためには、物質同定・推定ツール、誘導体化無しでの水溶性低分子物質の包括的な分析及び解析法の開発が必要と考えられる。

本研究では、農薬分析でスタンダードな三連四重極型液体クロマトグラフ質量分析計 (QqQ 型 LC-MS/MS) を用い、当該機器の弱点である「定性」を補うためのツールとして「MRM Transitions List」を作成した。また、「広範囲」な分析のために律速となる水溶性低分子物質 (アミノ酸類、有機酸類、核酸、糖類及びアミン類など) について、誘導体化を行わず、他成分との包括的分析法を検討した。更に今回は、確立した方法で得られたデータをブランド和牛の品質評価に適用した例を示す。

2. 方法

(1) MRM Transitions List 作成

物質の同定は scan 分析を行い、フラグメントパターンから物質を同定しているが、農薬分析などで用いている三連四重極質量分析計では、その分解能は低く、定性に優れている飛行型質量分析計に比べ劣る。それを補い高精度・感度に分析するために MRM Transitions (precursor ion>product ion) の設定が不可欠である。今回、50 報以上の国内外文献・資料及び当センターで今まで分析した物質データから、三連四重極質量分析計で分析した水溶性低分子物質をはじめとする各種化合物とその MRM Transitions List を作成した。

(2) 分析

QqQ 型 LC-MS/MS として、API2000 (Applied Biosystems) を用いた。分析カラムは、逆相系の固定相に特徴的な極性基を導入し、高極性の化合物の保持を可能にするミックスモード固定相カラム (Discovery HS F5, 5 μ m, 25 cm \times 2.1 mm (SUPELCO)) を用いた。

(3) 測定

今回、品質評価の観点から全国のブランド和牛 6 頭について、栄養成分である 23 アミノ酸類、3 核酸及び 1 ジペプチドの包括的分析に本分析を適用し、加えて GC-FID による脂肪酸分析データも用い官能試験との関係解析を行った。

3. 結果

(1) MRM Transitions List 作成

国内外文献・資料、当センター既知データを整理した結果、683 物質について、MRM transitions (precursor ion>product ion) をピックアップできた。それらは、外因性物質 (農薬、医薬品 (健康食品)、医薬品 (環境放出)、添加物など) として 245 物質、内因性物質 (自然毒、アミノ酸類、有機酸類、糖関連物質、核酸類、ホリフェノール類、カテキン類 など) が 438 物質であった (図 1)。

口頭発表 (7)

第 37 回環境保全・公害防止研究発表会 2010 年 11 月 15-17 日 さいたま市

諫早湾干拓調整池におけるヤマトシジミ垂下式養殖の検討について

荒木孝保、川井仁、川口勉、石崎修造 長崎県環境保健研究センター

要旨

【はじめに】諫早湾干拓事業は平成 20 年 3 月に完了し、同年 4 月から本格的な営農が開始されている。干拓地の造成に際し、約 2,600 ha の広大な調整池が創出されたが、平成 20 年 3 月に策定された「第 2 期

諫早湾干拓調整池水辺環境の保全と創造のための行動計画」において、水質保全目標値が設定されており、これを達成するため、行動計画に基づく対策や事業が実施されているところである。本研究では、水質浄化能力が大きいといわれる二枚貝、特にヤマトシジミについて、汽水域である調整池での適用可能性を検討するための現地試験を実施したので、その結果について報告する。

【調査方法】調整池内3地点において、水深約50cmに網カゴを吊るした。1地点の網カゴは4個とし、各網カゴには30個のシジミを入れた。なお、網カゴの底には底質のかわりとしてアンスラサイト(無煙炭)を4~5cm程度敷いた。シジミの生残個数及び重量について、平成21年5月~平成22年1月にかけて、月1回程度調査を実施した。また調整池3地点において、月1回程度採水を行い、シジミの生残に影響を与えるような環境変動要因がないか調査を実施した。さらに、多項目水質計による水温、DO等の連続モニタリングもあわせて実施した。

【結果及び考察】各地点とも50~60%の生残率で推移し、地点による大きな違いはみられなかった。生残率は調査開始後に大きく落ち込み、その後はほぼ横ばいで推移した。生残率が減少した調査日前後の水質データに異変がなかったことから、ヤマトシジミが死滅した要因として、移送、移植によるストレス等が考えられた。また、ヤマトシジミの平均重量は5月~12月にかけて増加しており、特に夏場(5~9月)の成長率が顕著であった。実験に供したシジミの1個あたりの平均重量は3.0g~3.2gだったが、平成22年1月末では4.6g~5.7gに成長し、約1.7倍の重量になった。さらに、網カゴの中に稚貝が確認されたことから、調整池内でも場所によっては再生産の可能性が示唆された。

口頭発表 (8)

日本放射線影響学会第53回大会 平成22年10月20-22日 京都市

チェルノブイリ、セミパラチンスク及び長崎における環境放射能レベルについて

平良文亨^{1,5}、林田直美¹、Gopalganapathi M. Brahmanandhan¹、永山雄二²、高橋純平⁴、Alexander Gutevitec⁶、Alexander Kazlovsky⁷、Marat Urazalin⁸、山下俊一³、高村昇¹

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科放射線医療科学専攻放射線疫学分野¹、同分子設計学分野²、同分子診断学分野³、長崎大学国際連携研究センター⁴、長崎県環境保健研究センター⁵、ジトミール州地区病院⁶、ゴメリ医科大学⁷、セミパラチンスク医科大学⁸

【目的】1986年4月26日に発生したチェルノブイリ原子力発電所事故の影響があった地域、1989年まで450回以上の核実験を実施してきたセミパラチンスク核実験場周辺及び1945年8月9日の原爆被ばくを経験した長崎において、現在の環境放射能レベルについて把握するためにそれぞれの地域で採取した環境試料を核種分析し、さらに実効線量を算出して放射線被ばくリスクを評価した。【方法】内部被ばくの指標として長半減期の人工放射性核種である¹³⁷Cs(約30年)の蓄積傾向があるキノコ類を、外部被ばくの指標として土壌及び石をそれぞれ選択した。試料採取後、ゲルマニウム半導体検出器(測定効率:36%)による線スペクトロメトリーを実施し、放射能濃度を測定後、¹³⁷Csによる実効線量を算出した。【結果】キノコ類の¹³⁷Cs濃度は、チェルノブイリ原子力発電所の近傍地域であるコロステン市(2635.0±1.2Bq/kg)及びゴメリ市で(2449.6±1.7Bq/kg)で高値を示し、セミパラチンスク市(2.8±0.1Bq/kg)及び長崎(1.7±0.1Bq/kg)ではバックグラウンドレベルであり、土壌でも同様の傾向を示した。また、セミパラチンスク核実験場内で採取した石から、4種類の人工放射性核種(²⁴¹Am、¹³⁷Cs、⁵⁸Co及び⁶⁰Co)が検出された。¹³⁷Csによる実効線量は、コロステン市で 2.6×10^{-1} mSv/y(内部被ばく 1.7×10^{-1} mSv/y、外部被ばく 8.9×10^{-2} mSv/y)、ゴメリ市で 2.3×10^{-1} mSv/y(内部被ばく 1.8×10^{-1} mSv/y、外部被ばく 4.8×10^{-2} mSv/y)、ミンスク市で 6.0×10^{-2} mSv/y(内部被ばく 5.6×10^{-2} mSv/y、外部被ばく 4.2×10^{-3} mSv/y)、セミパラチンスク市で 5.7×10^{-4} mSv/y(内部被ばく 2.8×10^{-4} mSv/y、外部被ばく 2.9×10^{-4} mSv/y)及び長崎で 1.3×10^{-4} mSv/y(内部被ばくのみ)であった。【考

察]チェルノブイリ原子力発電所近傍及びセミパラチンスク核実験場内では、人工放射性核種が大量に放出された当時に比べて低レベルであるものの、現在も複数の人工放射性核種が環境中に存在し、放射線被ばくリスクが賦存していることが示唆される。今回の結果は、ICRP が勧告する公衆の年間被ばく実効線量限度である 1mSv/y の最大 3 分の 1 程度であったが、食物摂取による内部被ばくは外部被ばくに比べ減少程度が小さいことなど、今後も地域住民の健康影響評価と環境モニタリングを長期的にフォローし不必要な放射線被ばくの低減化を図る必要がある。

口頭発表 (9)

第 58 回日本ウイルス学会学術集会 2010 年 11 月 7 日～9 日 徳島市

ヒトライノウイルスの高感度検出同定法

吾郷昌信^{1,2} 山口顕徳¹ 平野 学¹ 吉川 亮^{1,2} 西村順裕³ 清水博之³

¹長崎県環境保健研究センター ²長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野 ³国立感染症研究所ウイルス第二部

【目的と意義】普通感冒(かぜ)の代表的な原因ウイルスの一つであるエンテロウイルス(HEVs)属は、200 以上もの血清型が存在し、分離同定は主に中和試験により行われてきたが、煩雑で長時間を要する上に、特にヒトライノウイルス(HRV)では効率良く増殖する細胞株が少ない上に、分離されても抗血清が十分に整備されていないため型別同定まで至らないことが少なくない。近年、RT-PCR で VP4 領域を増幅して塩基配列を解読することにより迅速に型別同定が行われるようになってきたが、比較的保存された領域のため同定できない場合も多い。最近、Nix らによって開発された CODEHOP RT-PCR 法が、より高率に HEVs の型別同定を可能にする方法として注目されているが、HRV における有効性についてはほとんど検証されていない。本研究では、かぜにおける HEVs の侵淫状況を明らかにするために、CODEHOP RT-PCR 法を用いた高感度検出同定法の HRV に対する有効性を検証すると共に、本法を用いて臨床検体からの HRV の検出同定を行った。

【材料と方法】HRV 標準株 48 株を ATCC より入手し、HeLa (Ohio)細胞で増殖させ、使用した。また、臨床材料としては、来院時、かぜ症状を呈した患者より採取された咽頭ぬぐい液 238 検体を用いた。ウイルス RNA を抽出後、Nix らの方法に準じて CODEHOP RT-PCR により VP1 領域を増幅した後、塩基配列を決定して型別同定した。

【結果】ATCC より入手した 48 血清型の HRV 標準株は、すべて CODEHOP RT-PCR 法による型別同定が可能であった。また、臨床検体からの HEVs の検出同定では 202 株が同定され、検出陽性率は 84.9% であった。このうちの 9 割以上、199 株は HEV-A および HEV-B に属するウイルスであった。HRV はすべて下気道炎症状を呈した患者由来検体から 3 株が検出同定され、いずれも HRV-C に属するウイルスであった。

【考察】現在血清型別分類された HRV 約 100 血清型のうち、約半数の供試 48 血清型の標準株すべてが検出同定されたことから、大部分の HRV-A および-B の属する HRV は CODEHOP RT-PCR 法により検出同定可能であると思われる。HEVs に属する HRV は培養細胞による分離が難しい上に従来の中和法による同定が困難な血清型が多いことから、本法による検出同定法は極めて極めて有用な方法であると考えられる。特に、HRV の中で培養が困難な新たな遺伝子型のグループ、HRV-C に属するウイルスも本法により下気道炎患者の臨床材料から検出同定されたことは注目される。

口頭発表 (10)

第 58 回日本ウイルス学会学術集会 2010 年 11 月 7 日～9 日 徳島市

新型および季節性インフルエンザの迅速鑑別診断のための RT-LAMP 法

パネルの開発と、その臨床応用の研究

久保 亨¹ Le. Q. Mai² 吾郷昌信³ 福島喜代康⁴ 西村秀一⁵ 吉川 亮³ 山口顕徳³ 平野 学³
井出昇太郎⁴ 河野 茂⁶ 長谷部 太¹ 森田公一¹

¹長崎大学熱帯医学研究所ウイルス学分野 ²National Institute of Hygiene and Epidemiology, Vietnam
³長崎県環境保健研究センター ⁴日本赤十字社 長崎原爆諫早病院 ⁵国立病院機構 仙台医療センター
臨床研究部ウイルスセンター ⁶長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 感染免疫学講座

【目的と意義】2009 年 4 月より世界的流行の始まった新型インフルエンザウイルスパンデミックの第一波では、わが国においても多数の患者が発生した。治療方針の選択や院内感染制御のために、また今後のパンデミックの推移の監視やワクチン株選定のための正確な地域サーベイランスを継続するためにも、迅速なインフルエンザ鑑別診断法の開発は、有用と考えられる。今回われわれは新型及び季節性インフルエンザの迅速鑑別診断のための RT-LAMP 法パネルを開発し、その臨床応用の可能性を検証した。

【材料と方法】GenBank に登録されている新型及び季節性インフルエンザウイルス(A/H1N1, A/H3N2 及び B 型)の遺伝子配列を解析し、それぞれに特異的な計 4 種類の RT-LAMP プライマーセットを設計した。これらの RT-LAMP 法と既存のリアルタイム PCR 法との検出感度の比較を行った。また、それぞれの RT-LAMP 法が他のインフルエンザサブタイプや他の呼吸器疾患ウイルスと交叉反応を示さないか検証した。材料として、1)長崎大学ベトナム拠点と長崎県環境保健研究センターに保存されていた新型並びに季節性インフルエンザ患者検体由来 RNA、2)長崎県諫早市周辺の医療機関でインフルエンザ疑い患者から集められた検体由来 RNA の計 398 検体を用いた。

【結果】Pandemic (H1N1) 2009 特異的、季節性 A/H1N1 特異的、季節性 A/H3N2 特異的及び B 型インフルエンザ特異的 RT-LAMP 法の各々は、他のインフルエンザウイルスサブタイプや他の呼吸器疾患ウイルスとの交叉反応を示さなかった。また、臨床検体由来 RNA の増幅に関し、既存のリアルタイム PCR 法と比較した場合の感度は、それぞれ 95%、100%、100%、100%であり、特異度はすべて 100%であった。

【考察】今回開発された新型及び季節性インフルエンザウイルス RT-LAMP パネルは、インフルエンザ感染症の迅速確定診断と治療方針の決定、院内感染の制御のために、また正確なサーベイランスを継続的に行っていくために非常に有用であると考えられる。

ポスター発表 (11)

第 47 回全国衛生化学技術協議会 平成 22 年 11 月 11～12 日 神戸市

チョウセンボラの喫食によるテトラミン食中毒事例

西川 徹、土井 康平、辻村 和也 (長崎県環境保健研究センター)

【背景・目的】チョウセンボラはエゾバイ科エゾボラ属の仲間であり、対馬暖流海域に生息していることが知られている。一般的にエゾボラ属巻貝は唾液腺にテトラミンを高濃度含んでいることが知られており、このテ

ラミンは喫食後 30 分から 1 時間程度で激しい頭痛、めまい、船酔い感、酩酊感、足のふらつき、嘔吐感などがみられるのが特徴である。チョウセンボラ以外のエゾボラ属巻貝のほとんどは寒海性であり、テトラミン中毒も北海道や東北地方で多かったが、平成 21 年 12 月、長崎県内においてもチョウセンボラ(*Neptunea arthritica cumingii*)の喫食が原因と疑われる食中毒が発生した。そこで液体クロマトグラフ-タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて検体中テトラミン含有量の調査を行ったので報告する。

【方法・結果】検体(チョウセンボラ全体、筋肉及び剥き身)を細切して均一化し、その 2g を正確に量り取り、メタノール 25mL でホモジナイズ及び超音波抽出を行った(2 回目の抽出は 15mL)。抽出後 1,200g で 10 分間遠心分離し、上清をあわせて 50mL に定容した。この 0.5mL を 100 倍希釈し、0.2 μ m フィルターでろ過したものを試験溶液とし、LC/MS/MS(HILIC モード)により測定した。またチョウセンボラを筋肉と剥き身に分けて採取し、過熱後の部位別濃度についても同様の方法で測定を行った。定量イオンは 74 \rightarrow 58.1 (DP:26, CE:29)、定性イオンを 74 \rightarrow 42.1(DP:29, CE:51)とし、移動相に 0.02%ギ酸含有 50mM ギ酸アンモニウム水溶液及びメタノールを用いることでカラムへ保持させ、イソクラティック分析によりテトラミンを 1 pg の感度で検出することが可能であった。チョウセンボラ全体から検出されたテトラミンの平均含量は約 20mg であった。今回の食中毒事例では患者がそれぞれチョウセンボラを 2~3 個喫食しているため、40mg~60mg のテトラミンにより食中毒症状が起こったこととなる。テトラミン中毒が約 10mg と少量でも発症するという報告もあることから、今回のチョウセンボラに含まれているテトラミンによって食中毒が起こりうることは十分にあり得ると考えられる。また筋肉と唾液腺の部位別に定量したところ、筋肉部位からもテトラミンが検出された。一般的にテトラミンは唾液腺に多く存在することが知られているが、今回の検体は加熱後のものであったため、テトラミンが筋肉組織へ移行していることが考えられた。

ポスター発表 (12)

第 47 回全国衛生化学技術協議会 平成 22 年 11 月 11~12 日 神戸市

長崎県における食品とアレルギーに関する実態調査

土井康平、辻村和也、瀨野敏一 長崎県環境保健研究センター

国民の約 3 人に 1 人がアレルギー疾患に罹患していることが明らかにされており、アレルギーは国民病であるといえる。このような背景を踏まえ、平成 14 年 4 月には、食物アレルギーを防止する観点から食品への特定原材料 5 品目(現在 7 品目)の表示が義務化され、「食」の安全・安心の観点からもアレルギー対策が必要となっている。しかながら、本県においては、アレルギーに関する実態把握が行われていない状況であり、今後食物アレルギー対策に取り組むための基礎資料を得ることを目的に実態調査を行った。

調査対象は、長崎県内の 2 地域(大村市(本土)と五島市(離島))の小学校児童およびその同居の家族(2,272 世帯)を調査の対象とした。調査方法はアンケート方式で実施した。主な調査事項は、アレルギーおよび食物アレルギーの有無並びにアレルギーを起こす食品、食物アレルギーに対する免疫学的寛容の有無等について調査を行った。

アンケートは 1,813 世帯からの回答があり、回収率は 79.8%で、7,681 名のデータを得た。自己診断により何らかのアレルギー症状を有する人は全体の 40.8%であった。アレルギーの有症頻度に関しては、地域間差はほとんど無かった。食物アレルギーの有症率は全体の 9.0%であり、原因食品としては、卵、牛乳に加え魚介類や野菜、果物、ソバによるアレルギー有症頻度が高かった。魚介類アレルギーについて種類別で見ると、平成 20 年 4 月 1 日から特定原材料として追加されたエビ・カニや特定原材料に準ずるサバ、イカの有症数が多かった。魚介類アレルギーに関しては、ヒスタミン等の仮性アレルギーによるアレルギー様症状も影響しているものと考えられた。野菜アレルギーについて種類別にみると、特定原材料に準ずるヤマモの発症数が多かった。ヤマモはシュウ酸カルシウムを含有しており、物理的刺激により皮膚症状を起こしているものと推察さ

れた。果物アレルギーに関しては、特定原材料に準ずるキウイフルーツの他にパイナップル、メロン、スイカで発症数が比較的多かった。食物アレルギーの原因食品ごとに食品間の相関を調べた結果、エビ・カニの甲殻類とキュウリ・スイカ、メロン・スイカのウリ科の食物にアレルギー発症における相関があったが、異なる食品群間では相関は認められなかった。魚介類、特に魚アレルギーに関しては一般的に多種の魚に対して反応を起こす例が多いことが知られているが、今回の調査結果ではエビ・カニを除いて魚介類ではアレルギー発症における種間の相関は低かった。

口頭発表 (13)

第 36 回九州衛生環境技術協議会 2010 年 10 月 14-15 日 佐賀市

ヤマトシジミ垂下式養殖の適応性に関する研究

川口勉、川井仁、石崎修造 長崎県環境保健研究センター

要 旨

【はじめに】諫早湾干拓事業は平成 20 年 3 月に完了し、同年 4 月から本格的な営農が開始されている。干拓地の造成に際し、約 2,600ha の広大な調整池が創出されたが、平成 20 年 3 月に策定された「第 2 期諫早湾干拓調整池水辺環境の保全と創造のための行動計画」において、水質保全目標値が設定されており、これを達成するため、行動計画に基づく対策や事業が実施されているところである。本研究では、水質浄化能力が大きいといわれる二枚貝、特にヤマトシジミについて、汽水域である調整池での適用可能性を検討するための現地試験を実施したので、その結果について報告する。

【調査方法】調整池内 3 地点において、水深約 50cm に 1 地点あたり 4 個の網カゴを吊るした。各網カゴの底には底質のかわりとしてアンスラサイト(無煙炭)を 4~5cm 程度敷き、網カゴには各 30 個のヤマトシジミを入れた。なお、ヤマトシジミは宍道湖で漁獲されたもの(宍道湖漁協から購入)を各種試験に供した。各網カゴ中のヤマトシジミの生残個数及び重量について、平成 21 年 5 月~平成 22 年 1 月にかけて、月 1 回程度調査を実施した。また、各 3 地点において、月 1 回程度採水を行い、ヤマトシジミの生存に影響を与えるような環境変動要因がないか調査を実施した。さらに、多項目水質計による水温、DO 等の連続モニタリングもあわせて実施した。

【結果及び考察】飼育開始 8 ヶ月後の各地点におけるヤマトシジミの生残率は 49~61%であったが、その内訳として、7 月までの生残率が 51~67%、7 月以降の生残率が 91~99%であった。水質の連続測定結果からも貧酸素現象等はみられなかったことから、7 月までの死亡個体については、移送等のストレスによる可能性が示唆された。また、ヤマトシジミは 5~12 月にかけて成長し、その平均重量は約 1.7 倍程度となった。さらに、網カゴの中に稚貝が確認されたことから、調整池内でも場所によっては再生産の可能性が示唆された。

口頭発表 (14)

平成 22 年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会 2011 年 2 月 11 日 岐阜市

長崎県で分離された *Vibrio vulnificus* 株の性状

○山崎省吾¹⁾、*、右田雄二¹⁾、吾郷昌信¹⁾

¹⁾長崎県環境研、*現長崎県県央保健所

【はじめに】

Vibrio vulnificus (*V. vulnificus*) 感染症は、その発生に地域的特徴があり、わが国では有明海を中心に多くの患者が報告されている。本菌の人に対する病原性のついては、いくつかの病原性関連因子の

候補が見出されているものの、その詳細はいまだ不明な点が多く残されている。そこで今回、本菌の病原性研究の一環として、長崎県沿岸で分離された *V. vulnificus* 株について、病原性関連遺伝子に着目して、有明海沿岸およびそれ以外の沿岸に区分し、分離海域毎の菌株性状の解析を行った。

【材料および方法】

使用した菌株は、臨床由来株 10 株（うち長崎県内分離 2 株）および長崎県内沿岸で魚介類および海水などから分離された有明海由来株 126 株および有明海以外の海域（他海域）由来株 69 株の環境由来株 195 株を用いた。菌株の性状解析は、PCR-RFLP を用いた 16S rRNA 型別および PCR 法による *vcg* (virulence-correlated gene) 型別による遺伝子型別、病原性候補因子である *viuB* (ブルニバクチン(シデロフォア関連)) 遺伝子保有の比較および生化学性状試験による生物型の同定により行った。

【成績および考察】

16SrRNA 型別では、臨床分離株で、A-type が 7 株、B-type が 3 株区分された。環境由来の 194 株が型別され、有明海由来の 126 株のうち A-type に 53 株および B-type に 73 株 (57.9%) が分類され、他海域由来 68 株のうち A-type に 44 株および B-type に 24 株 (35.3%) が分類された。これまでの報告では、A-type よりも B-type が病原性に強く関連していると報告されている。今回用いた株では、他海域由来株より有明海由来株が有意に B-type が検出された (χ^2 検定、 $P < 0.005$)。BR

vcg 型別は、臨床分離株では臨床由来に多いとされる C-type が 5 株、環境由来に多いとされる E-type が 5 株であった。環境由来の 183 株が型別され、有明海由来株 120 株のうち C-type に 80 株 (66.7%) および E-type に 40 株が分類された。他海域由来株 63 株のうち C-type に 27 株 (42.9%) および E-type に 36 株が分類され、16SrRNA 型別と同様に、有明海由来株で有意に C-type が検出された ($P < 0.005$)。

viuB 遺伝子は、臨床分離株で 10 株のうち 3 株の保有が確認された。有明海由来の 126 株うち 43 株 (34.1%) および他海域 69 株のうち 10 株 (14.5%) が保有し、有明海由来株が高率に保有することが確認された ($P < 0.005$)。

また生物型では、長崎県内の環境で分離された株はすべて biotype1 に分類された。

以上の結果より、16SrRNA 型別、*vcg* 型別および *viuB* 遺伝子の検索で海域間の差が見られたことは、海域間で *V. vulnificus* の病原性の特性が見出せる可能性が示唆された。