

## 遺伝子タイピングによる県内の結核菌の動態

### A Molecular Approach to Studying the Transmission of Tuberculosis in Miyagi prefecture

畠山 敬 矢崎 知子

Takashi HATAKEYAMA, Tomoko YAZAKI

過去に県内から収集された結核菌に、RFLP法とVNTR法を用いた遺伝子解析を行った結果、同じ遺伝子パターンを持つ26組(67株)のクラスターと167株のユニークパターンが得られた。これにより、県内における結核菌の蔓延状況を調べたところ、特定の株が近隣の地区ばかりでなく広域に拡散している実態が明らかとなった。

キーワード：結核；分子疫学；RFLP；VNTR

**Key words** : tuberculosis ; molecular epidemiology ; restriction fragment length polymorphism (RFLP) ; variable numbers of tandem repeat (VNTR)

#### 1 はじめに

古典的な結核疫学は、患者の発症までの経過や行動、関連する人たちとの接触歴などの情報を基礎とした分析であった。しかし、最近の遺伝子解析技術の進歩に伴い、結核菌遺伝子中に存在する特定箇所の遺伝子配列の変化の比較により菌の亜分類が可能となった。これにより、結核疫学は患者側からの情報に加え、原因菌からの遺伝子情報という科学的根拠を基に正確性の高い疫学対応を行うことが可能となった。現在では global standard としての RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism: 制限酵素断片長多型) 法<sup>1)</sup>と、新しい解析方法である VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeat) 法<sup>2,3)</sup>が主流となっている。

RFLP法は、結核菌群遺伝子特有のトランスポゾン (*IS6110*) をサザンハイブリダイゼーションで検出する方法であるのに対し、VNTR法は、菌に存在する一連の遺伝子群が移動や欠損した時に残る数十塩基の DNA の繰り返し配列 (Tandem Repeat: 以下, TR) 数を測定する方法である。変化に富む複数の遺伝子座を標的として PCR を行い、そのアレルプロファイルの違いから菌の区別を行うものである。この方法は喀痰からの直接解析も可能で、複数の有効なプライマーの組み合わせにより RFLP に匹敵する解析力を示すとされている。

宮城県でも平成11年から RFLP法を結核菌遺伝子解析手法として導入しており、院内感染や家族内蔓延の解明など、遺伝子解析により様々な疫学問題の処理を行った。

しかし、RFLP法は、菌の培養から結果を得るまでに長時間を必要とし、加えて手技の複雑さというルーチンを困難とさせる2つの大きな問題を持っている。

そこで、本研究では、簡便で迅速な VNTR法を用いて結核菌遺伝子の比較を行い RFLP法との相関を明らかにすること、および両方法によって得られた結果から、様々な角度で県内の結核菌の発生と蔓延状況を解析することを研究の目的とした。

#### 2 材料および方法

##### 2.1 材料

結核・感染症菌発生动向調査事業により、各保健所が集めた結核菌234株を使用した。

##### 2.2 方法

###### 2.2.1 RFLP 解析

RFLPは Takahashi<sup>5)</sup>らの方法で実施した(図1)。

培養で十分量に達した結核菌から、Isoplant (ニッポンジーン社)で遺伝子を抽出し、制限酵素 *Pvu* II (TaKaRa社)で切断して電気泳動を行った。遺伝子断片をハイブリダイゼーション膜 (Hybond N+: アマシャムバイオサイエンス社)に転写した後に、Biotin Luminescent Detection Kit (Roche社)で化学発光を行い、X線フィルムで検出を行った。

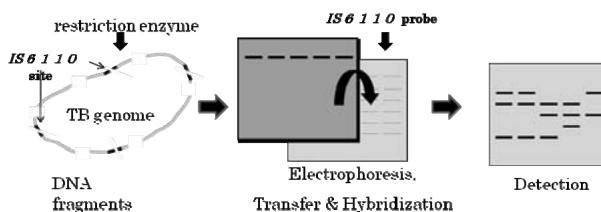


図1 RFLP法の概要

###### 2.2.2 VNTR 解析

VNTRは Sola<sup>2)</sup>, Frothingham<sup>6)</sup>, Skuce<sup>7)</sup>らの方法に従った。すなわち、MIRU (12組: 2・4・10・16・20・23・24・26・27・31・39・40), ETR (4組: A・B・C・F), QUB (4組: Q5・Q11a・Q11b・Q18)の各領域を標的とする合計20組のプライマーを選び、TaKaRa Ex Taq custom ver.1 (2×GC buffer)を使用して各温度条件でPCRを実施した。それぞれの文献に記載されている算出方法に従ってTRのコピー数を決定し、一連の連続データ(アレルプロファイル)として遺伝子情報を表示した(図2)。

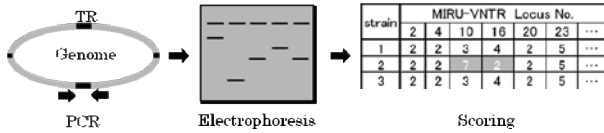


図2 VNTR法の概要

### 3 結果

#### 3.1 VNTR法とRFLP法との比較

両解析方法による分別能力の違いを調べるため、VNTR法でアリルプロファイルが共通であった23組について、RFLP法でのクラスター解析を行った。その結果、アリルプロファイルが共通である株はRFLP解析においてもほぼ全て（22組）がVNTRの場合と同一のグループに含まれた。RFLPで明らかに異なるパターンを示した株は1組（No.9）2株のみであり、その一致率は95%以上であった（図3）。

また、VNTR法はRFLP法で直別困難な株の分別に適しており、県内各地に既に定着している株と流行株を詳細に区別することが可能であった（図4）。

#### 3.2 共通な遺伝子タイプを持つ株の地域的蔓延状況

上記の二つの遺伝子解析方法で県内患者株、および患者関連株の分布との関連性を調査した。その結果、共通事例の一部は同一または近隣の保健所管内ばかりでなく、県内各地に広がっており、他の自治体が関連する例も含め、患者間の広範囲な関連性を疑うべき例が存在することが確認された（図5）。

また、いずれかの患者株と共通パターンを持つ株の存在割合は67株（他自治体関連分2株含む）と全体の約3割であり、特に海岸沿いのA、B保健所管内と県北部のE保健所管内で多い傾向が認められた（表1）。

#### 3.4 時系列による流行のモニタリング

また、同一の遺伝子タイプを持つ株の検出時期を時系列的に解析した場合、既に蔓延を停止していると考えられる株や、現在も活動し今後も患者発生の予想される株などの傾向を推察することが可能であった（図6）。

### 4 考察

結核は、単一血清型原因菌による感染症としてはもっ

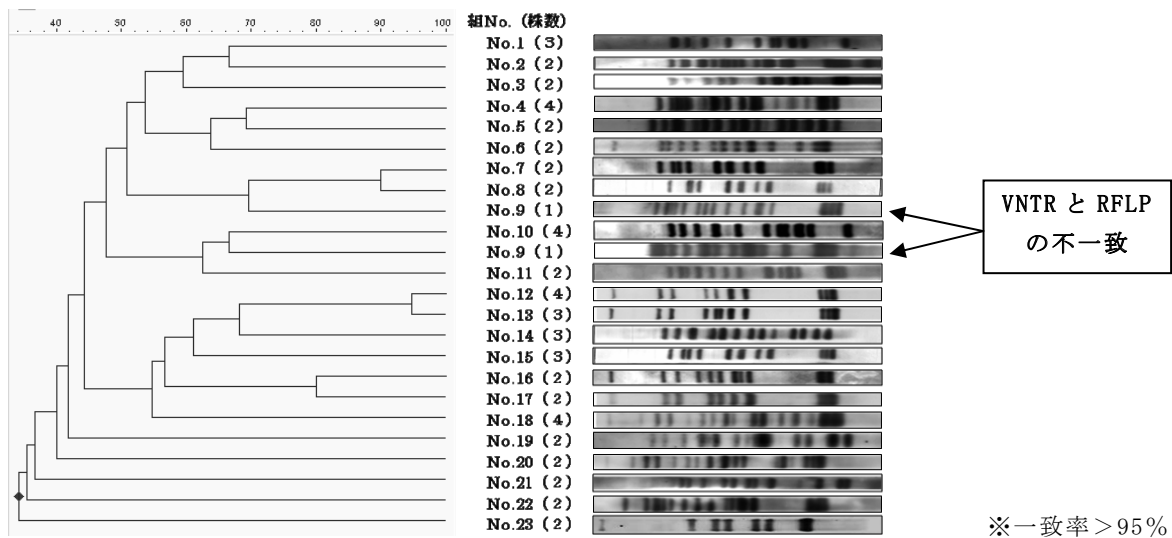
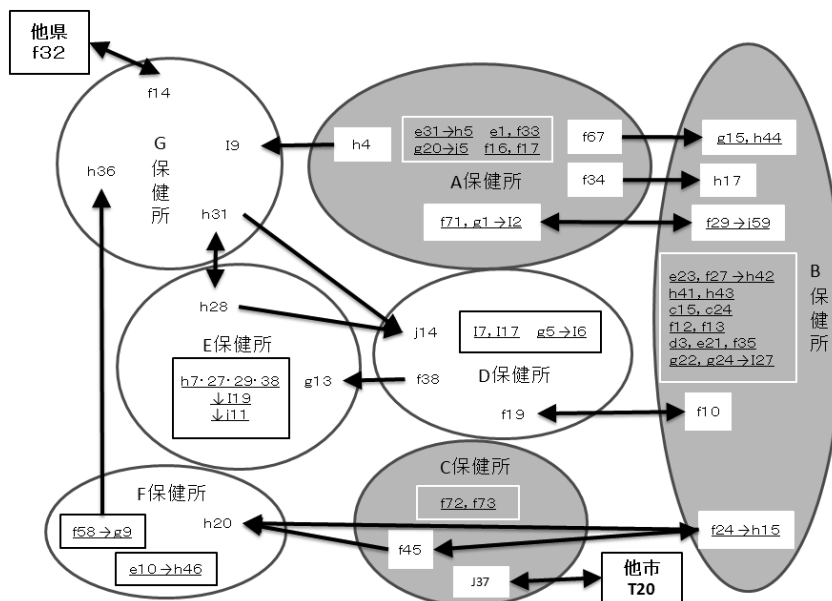


図3 アリルプロファイルが共通な株のRFLP法による再解析例

RFLP pattern	VNTR allele profile																			
	MIRU												ETR				QUB			
	2	4	10	16	20	23	24	26	27	31	39	40	A	B	C	F	5	11a	11b	18
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	3	2	4	3	4	11	7	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	11	7	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	11	7	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	9	6	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	11	11	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	11	8	11
[Pattern]	2	2	1	3	2	5	1	7	3	5	3	3	4	2	4	3	4	11	8	11

※白抜き数字の部分は他と異なるコピー数であることを示す  
 図4 RFLP類似パターンにおけるVNTR法による詳細解析の例



注1：アルファベットは患者の登録年度を示す（Kは平成20年度）  
 注2：矢印は患者間の関係を示す  
 注3：色塗りの保健所は海岸部の保健所を示す

図5 遺伝子タイプ共通事例の県内における蔓延状況

とも感染者が多く、世界では毎年2～300万人が死亡している。また、世界人口の1/3が結核菌に感染していると考えられており、この傾向が続けば、今後も20年間で2億人が結核を発症する危険があるとされる。日本は先進国の中では最も罹患率が高く、結核に関しては後進国である。また、近年の長寿命化により既感染高齢者の発症が増えており、老人介護に関わる人たちが感染するケースが多く報告されている。さらに、最近で

は結核菌への抵抗力の少ない若年層での感染が多く見られるようになったことから、防疫対策は必須である。国内で見ると、宮城県は毎年150人前後と恒常的な発生があるものの人口対10万人比は11.5（2007年）と低蔓延状態（10以下）に近く、このような状況下では接触者検診等による感染源の特定は極めて困難であり、むしろ分子疫学的解析が必要であると言わざるを得ない（図7）。

表1 共通パターン株の保健所別存在割合

保健所名	A	B	C	D	E	F	G	他	計
供試株数	43	54	29	32	25	29	20	2	234
共通パターン株数	14	23	4	7	8	5	4	2	67
割合	0.33	0.43	0.14	0.22	0.32	0.17	0.20	1.00	0.29

※A～C：海岸部，D～F：県中央部・北部，G：県南部  
 他：その他の自治体由来株

RFLP and VNTR information	~2005	2006	2007	...2008~
...	2 (cases)	-	-	終息株?
...	2	-	-	要観察株
...	3	-	-	
...	2	1	-	要注意株
...	1	1	-	
...	-	2	-	
...	1	4	-	要注意株
...	2	2	-	
...	1	-	1	
...	2	-	1	要注意株
...	2	1	1	

図6 特定株の蔓延規模と活動可能性の予測

このような状況に対し、我々は平成10年度からRFLP法を行政検査に導入し、平成17年度にはVNTR法を導入した。RFLP法は結核菌株の代表的な比較方法として多くの地方衛生研究所で実施されており、その解析能力と有効性は高く評価されている<sup>9)</sup>。しかし、RFLPでは多量の結核菌を使用するため培養を必要とし、検出法も複雑であるという問題があった。これに対し、VNTR法はPCR法の応用であることから微量な菌からの検出も可能で、ガフキー陽性者の検体を直ちに試験に供することができるという特徴を持っている。また、遺伝子情報をデジタルデジタル化して提示することが可能なため、多くの施設間で菌株の情報をreal timeに交換し

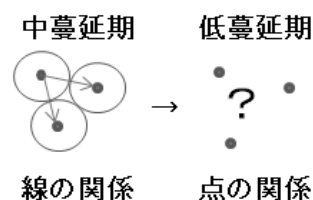


図7 結核蔓延パターンの推移

比較できるという利点を持つ (図 8)。

患者	VNTR(MIRU-ETR-QUB)	RFLP
父(初発)	223326133311-3243-4,4,5,6	
兄	223325173433-4243-4,10,7,9	
母	223326133311-3243-4,4,5,6	
弟	223326133311-3243-4,4,5,6	

図 8 家族内感染事例の VNTR による迅速解析結果

そこで本研究では、比較的古くから海外の研究者により研究されている MIRU, ETR, さらに QUB という 3 つの領域を併せて解析実験を行った。その結果, VNTR による分類と RFLP との一致率が約 95% まで上昇することが判明した。さらに, RFLP では判別不能な類似パターンを TR の相違から再評価することで菌株を詳細に分類することが可能であった。

これらの方法により, 県内の結核の動態を調べた結果, 共通症例は全体の約 3 割で, 地方の都市部 (規模の大きい漁港など) に共通症例が多いことが明らかとなった。さらに, 約 7 割の株には遺伝子の共通性がないことから, これら多くは既感染発病または県外地域からの蔓延である可能性が示された。

また, 院内感染や家族内感染など, 不特定多数株の感染の可能性が否定できる症例の証明は VNTR 単独の比較解析が有効であり, 初発患者が MDR (多剤耐性結核) 株の場合などでは, その迅速性から結果を直ちに関連患者の治療に応用することが可能であると考えられる。

このような有効性から, 今や結核菌遺伝子解析法は VNTR 法が主流となりつつある。現在は, 結核研究所と地方衛生研究所を中心とする研究グループが国内の株の特徴に合わせたプライマーの設計を行っており<sup>10)</sup>, 今後はこれらのプライマーによって結核菌遺伝子解析方法の全国統一化が図られるものと思われる。

### 参考文献

- 1) van Embden JD, Cave MD, Crawford JT, et al. Strain identification of Mycobacterium tuberculosis by DNA fingerprinting: recommendations for a standardized methodology. J Clin Microbiol. 1993 ; 31(2) : 406-9.
- 2) Sola C, Filliol I, Legrand E, Lesjean S, Loch C, Supply P, Rastogi N. Genotyping of the Mycobacterium

tuberculosis complex using MIRUs: association with VNTR and spoligotyping for molecular epidemiology and evolutionary genetics. Infect Genet Evol. 2003 Jul ; 3(2) : 125-33.

- 3) Supply P, Lesjean S, Savine E, Kremer K, van Soolingen D, Loch C. Automated high-throughput genotyping for study of global epidemiology of Mycobacterium tuberculosis based on mycobacterial interspersed repetitive units. J Clin Microbiol. 2001 Oct ; 39(10) : 3563-71.
- 4) Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B, Loch C. Variable human minisatellite-like regions in the Mycobacterium tuberculosis genome. Mol Microbiol. 2000 May ; 36(3) : 762-71.
- 5) Takahashi M, Kazumi Y, Fukasawa Y, Hirano K, Mori T, Dale JW, Abe C. Restriction fragment length polymorphism analysis of epidemiologically related Mycobacterium tuberculosis isolates. Microbiol Immunol. 1993 ; 37(4) : 289-94.
- 6) Frothingham R, Meeker-O'Connell WA. Genetic diversity in the Mycobacterium tuberculosis complex based on variable numbers of tandem DNA repeats. Microbiol. 1998 ; 144(Pt 5) : 1189-96.
- 7) Skuce RA, McCorry TP, McCarroll JF, Roring SM, Scott AN, Brittain D, Hughes SL, Hewinson RG, Neill SD. Discrimination of Mycobacterium tuberculosis complex bacteria using novel VNTR-PCR targets. Microbiol. 2002 Feb ; 148(Pt 2) : 519-28.
- 8) Hunter PR, Gaston MA. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. J Clin Microbiol. 1988 ; 26(11) : 2465-6.
- 9) 大島律子 多田敦彦. 岡山県で分離された結核菌 DNA の IS6110-RFLP パターン分析. Kekkaku. 2002 ; vol77(10) : 629-637.
- 10) Maeda S, Murase Y, Mitarai S, Sugawara I, Kato S. Rapid, simple genotyping method by the variable numbers of tandem repeats(VNTR) for Mycobacterium tuberculosis isolates in Japan-analytical procedure of JATA(12)-VNTR. Kekkaku. 2008 ; 83(10) : 673-678.

## 県内の麻疹・風しん抗体保有状況

### Measles and Rubella Antibodies Prevalence in Miyagi Prefecture

阿部 美和 庄司 美加<sup>\*1</sup> 植木 洋  
佐藤 由紀 上村 弘<sup>\*2</sup> 沖村 容子  
御代田恭子

Miwa ABE, Mika SHOJI, Yo UEKI  
Yuki SATO, Hiroshi UEMURA, Yoko OKIMURA  
Yasuko MIYOTA

平成18年度に予防接種法が改正され麻疹・風しんワクチン定期接種は単独ワクチン1回接種からMRワクチン2回接種に変更された。しかし麻疹は平成19年に10～20歳代を中心に全国的流行が起き、これを受けて平成20年度に再び予防接種法が改正され、平成24年まで5年間3期4期の定期接種が追加された。流行予測調査において得られた平成17年度～20年度の麻疹・風しんのワクチン接種率と抗体保有率を検討したところ、ワクチン接種率は20年度に上昇したが、抗体保有率に大きな変化はみられなかった。麻疹流行の抑制、CRSの予防にはさらに周知が必要と思われる。

キーワード：麻疹；風しん；抗体；ワクチン

**Key words** : measles ; rubella ; antibodies ; vaccine

#### 1 はじめに

麻疹は感染力の強いウイルス感染症で、主な症状は高熱・発疹・カタル症状であるが、肺炎・脳炎等を合併すると死亡に至る場合もあり、中でも亜急性硬化性全脳炎(SSPE: subacute sclerosing panencephalitis)は、進行性の疾患で発症後数ヶ月で死亡する重症の合併症である。麻疹には特異的な治療法はなく、予防にはワクチンが有効である。最近では、平成19年に10～20歳代の患者が多く発生し全国的な大規模流行が起こった。宮城県でも定点医療機関からの報告で100人の患者が報告された<sup>1)</sup>。20年に全国で1万人以上の患者が報告され、麻疹脳炎も9例報告されている(第1～第52週まで)<sup>2)</sup>。宮城県でも全数把握で22人の麻疹患者が報告されている<sup>3)</sup>。19年の流行を受けて「麻疹に関する特定感染症予防指針」<sup>4)</sup>が告示され、平成18年度から導入された麻疹風しん混合ワクチン(MRワクチン)2回接種に加え、平成20年～24年度までの5年間、3期(中学1年)、4期(高校3年)の定期予防接種が実施されることになった。

また、風しんもウイルス感染症で、麻疹と比較すると軽症で感染力も弱い。妊娠初期の妊婦が初感染した場合、胎児にも感染して先天性風しん症候群(CRS: congenital rubella syndrome)を引き起こすことがある。CRSの主な症状は先天性心疾患、難聴、白内障などである。風しんも特異的な治療法は無く、予防にはワクチンが有効である。風しんワクチン定期接種は

平成18年よりそれまでの単独ワクチン1回接種から、MRワクチン2回接種に変更され、平成20年には麻疹と同様に改正された。

当センターでは厚生労働省感染症流行予測調査の一環として、麻疹・風しんの抗体保有状況を調査しているが、その中で過去四年間の抗体保有状況とワクチン接種状況を検討したので報告する。

#### 2 対象および検査方法

##### 2.1 対象

表1 対象者の年齢と人数

	麻疹		風しん	
	年齢(歳)	人数(名)	年齢(歳)	人数(名)
平成17年度	1～55	260	0～59	332
平成18年度	0～59	244	0～59	274
平成19年度	0～65	294	0～65	294
平成20年度	0～63	227	0～66	334

対象は抗体検査を承諾した県内の健康住民で、麻疹は延べ1,025名、風しんは延べ1,234名(表1)である。ワクチン接種の有無は、本人もしくは保護者への調査票に基づいた。

##### 2.2 方法

感染症流行予測調査検査術式<sup>5)</sup>に従い、麻疹抗体価は、富士レビオ(株)社製麻疹ウイルス抗体価測定試薬「セロディア-麻疹」(ゼラチン粒子凝集法)を用いて測定した。風しん抗体価は、ガチョウ血球を用いる赤血球凝集抑制(HI)試験により測定した。

なお、ワクチン接種率は接種歴不明者を除いて算定した。

\* 1 仙南保健福祉事務所

\* 2 仙南・仙塩広域水道事務所

### 3 結果および考察

#### 3.1 麻しんワクチン接種率と抗体保有率

図1にワクチン接種率を示す。宮城県の接種率は、平成17年度に86.5%であったが、ワクチン2回接種が始まった平成18年度は83.6%とやや低下し、平成19年度には82.6%とさらに低下した。平成20年度には91.1%と前年より9.3%上昇したがこれは、平成19年度の全国流行の影響と思われる。全国集計<sup>6)7)</sup>と大きな差はない。なお全国集計は平成19年度分以降未発行のためデータは17年度、18年度のみである。年齢別ワクチン接種率(図2)では、各年度とも定期接種開始以前の年齢群である30歳以降では低い傾向にあるが、平成20年度は40歳以上が75%と上昇している。これは、平成18年度19年度で接種率の高かった30歳代の年齢群が移行したか、あるいは19年の麻しん流行の影響によるものと思われる。

次に抗体保有率(図3)は、この方法の場合、抗体価

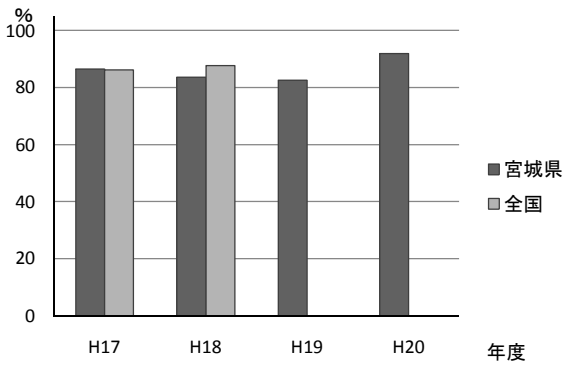


図1 麻しんワクチン接種率

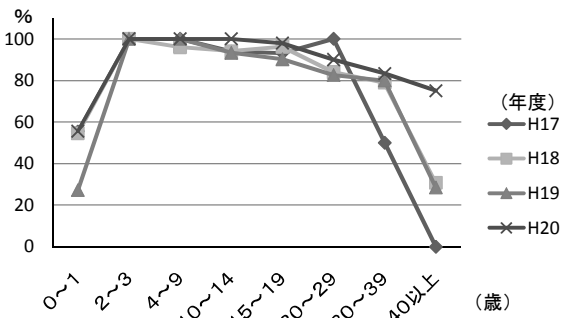


図2 麻しん年齢別ワクチン接種率

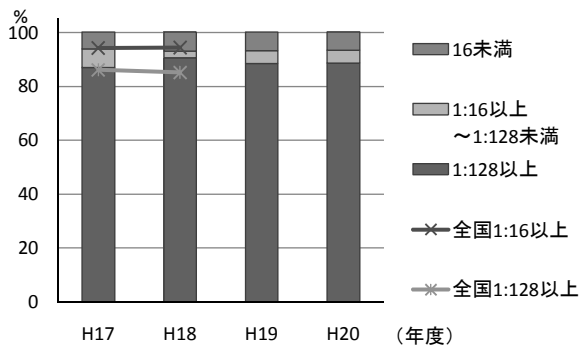


図3 麻しん抗体保有率

16倍以上が抗体陽性であるが、発症の予防には128倍以上が望まれる<sup>8)</sup>。抗体陽性率は平成17年度93.8%、18年度93.0%、19年度93.2%、20年度93.4%とほぼ同程度であり、128倍以上の抗体保有率は平成17年度86.9%、18年度90.6%、19年度88.4%、20年度88.5%で大きな変化はみられない。線グラフは全国集計で16倍以上の抗体陽性率は宮城県も全国集計と同程度であるが、128倍以上では、18年度にやや高い割合を示している。

年齢群別抗体保有率(図4)をみると16倍以上では、0歳1歳をのぞき高い陽性率を示しているが、10歳代でやや低下気味になる。30歳以上のワクチン接種率の低い年齢層は、抗体保有率は高く自然感染によるものと思われる。128倍以上では10代20代で低くなる傾向がみられる。3期4期の定期接種が加わった20年度は10~14歳の群で16倍以上の保有率が若干上昇しているが、128倍以上では顕著な変化はみられない。

また、ワクチン接種歴がある場合の抗体保有率を示す(図5)。全体で16倍以上では95.0%以上、128倍以上では90.0%以上と高い保有率であるが、年齢群別抗体保有率(図6)では128倍以上でやはり10歳代でやや低下

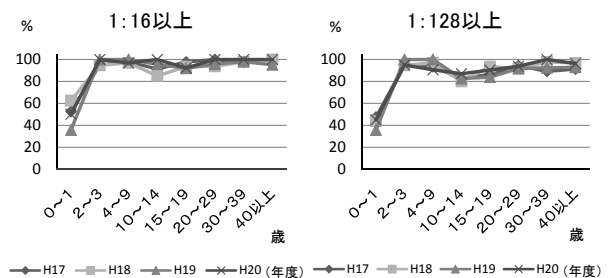


図4 麻しん年齢群別抗体保有率

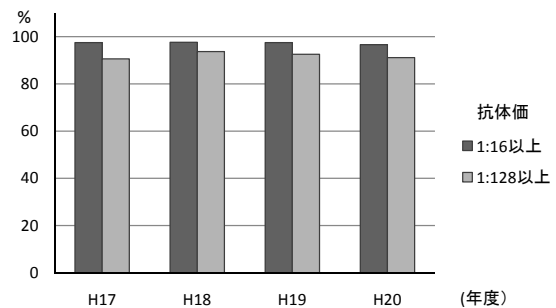


図5 麻しんワクチン接種群抗体保有率

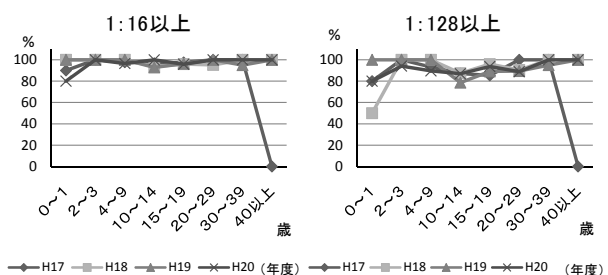


図6 麻しんワクチン接種群年齢群別抗体保有率

する傾向がみられる。

### 3.2 風しんワクチン接種率と抗体保有率

図7にワクチン接種率を示す。全体では平成17年度は77.6%であったのに対し、18年度63.9%、19年度67.8%と低めに推移したが20年度は81.4%と前年に比べ13.6%上昇した。また平成7年以前は女性のみがワクチン対象者であったため、17年度には男女差が12.2%あったが、20年度には0.9%と小さくなっている。これは単独ワクチンからMRワクチンへの変更が要因と思われる。全国集計<sup>6)7)</sup>ではMRワクチン2回接種へ変更となった18年度に男性の接種率が上昇して男女差が小さくなっている。男女別年齢群別ワクチン接種率(図8)では、男女とも年度によってかなりばらつきがみられる。女性の接種率は2~9歳の年齢群で上昇し、以降は上下しながら低下する傾向がみられる。男性はさらにばらつきが大きいMRワクチン2回接種導入以降では、2歳3歳の接種率が上昇している。

次に抗体保有率を図9に示す。風しんは抗体価8倍以上で抗体陽性である。平成17年度から20年度まで男性は80.5%、83.8%、80.9%、82.2%、女性は89.6%、87.0%、88.6%、89.7%、全体では84.9%、85.4%、85.0%、85.9%と特に大きな変化はみられない。男女間差がみられるがやはり平成7年以前に女性のみが定期接種の対象者であったことが要因と推測できる。男女別年齢群別抗体保有率(図10)では女性は4~9歳までに上昇したあと10~14歳でいったん低下し、以降の年齢群で緩やかに上昇する傾向がみられる。18年度20年度では妊娠する可能性の高い15歳から20歳代でやや低くなっている。

また、風しんの感染防御に有効な抗体価については議論されているところであるが、64倍以上が必要と考えられている<sup>7)</sup>。64倍以上の保有率は全体で17年度51.5%、18年度64.2%、19年度60.9%、20年度62.0%と8倍以上に比べかなり低くなっている。男女別年齢別の保有率では、男女とも2~3歳の群でピークとなり、15~19歳の群で保有率が特に低くなっている。15~19歳群は18年度を除きワクチン接種率が低くはない。このデータはワクチン接種歴不明者も含むことから、ワクチン接種者のみの保有率をみると(図13、14)8倍以上では高い保有率であるのに対し、64倍以上ではやはり15~19歳の群で低くなっている。ワクチン接種によって得られた抗体は、その後野生株への暴露もしくは追加接種がなければ抗体価が低下する場合があると考えられている<sup>7)</sup>。平成6年以降風しんの全国的流行はなく、ブースター効果が期待できなかったため抗体価が維持されなかったと思われる。

## 4 まとめ

ワクチン接種率は麻しん・風しんとも平成17年度以降低下していたが、20年度に上昇した。平成20年度に予防接種法が改正され接種の機会が増えたことも要因の一つと考えられるが、18年度にそれまでの単独ワクチン1回接種からMRワクチン2回接種へ改正された際には上昇しなかったため、大きな要因としては平成19年の麻しん全国流行が考えられる。また、男女差がみられていた風しんのワクチン接種率は年度毎にその差は小さくなっている。18年度に麻しんワクチン定期接種とし

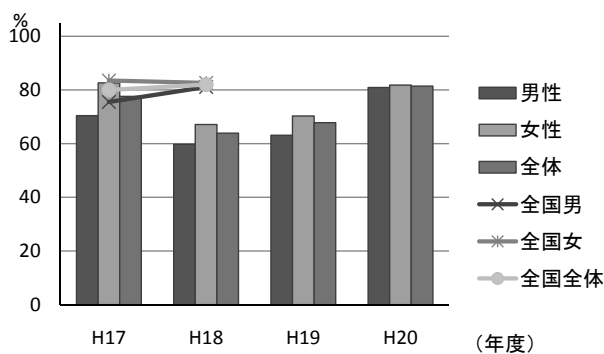


図7 風しんワクチン接種率

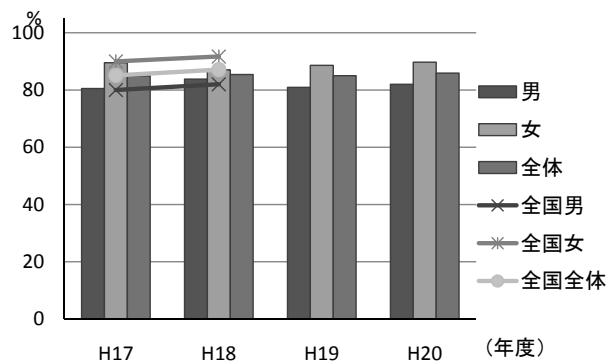


図9 風しん抗体保有率

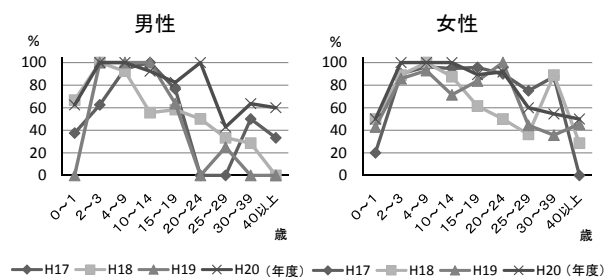


図8 風しん年齢群別ワクチン接種率

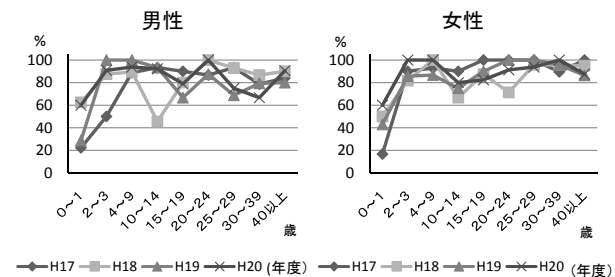


図10 風しん年齢群別抗体保有率

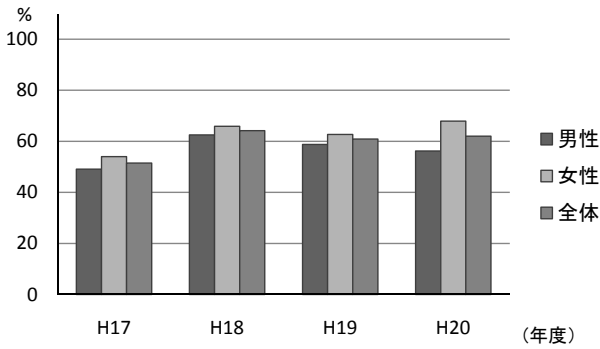


図 11 風しん 64 倍以上抗体保有率

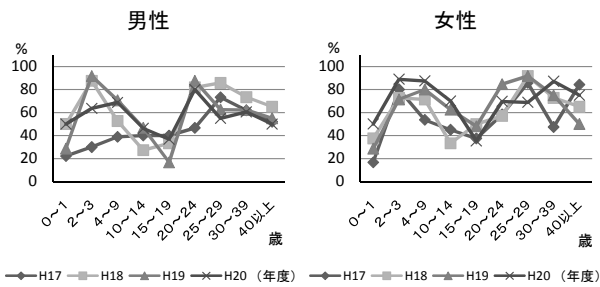


図 12 風しん 64 倍以上年齢群別抗体保有率

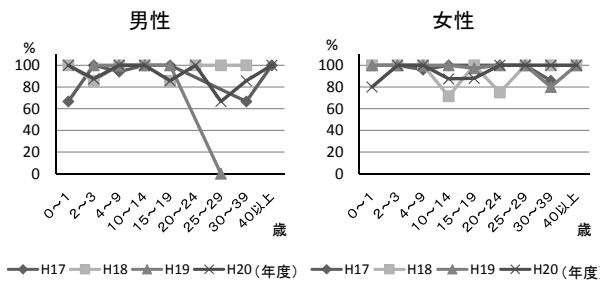


図 13 風しんワクチン接種群抗体保有率

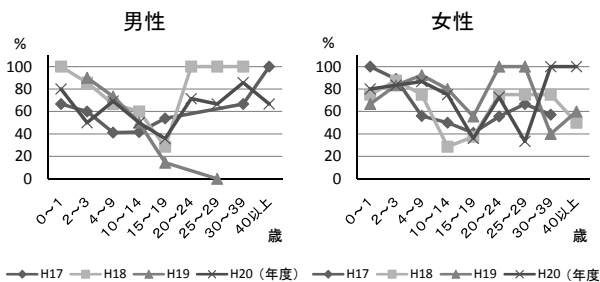


図 14 風しんワクチン接種群 64 倍以上抗体保有率

てMR ワクチンを使用できるようになったためと思われる。

抗体保有率はワクチン接種率が上昇したにもかかわらず、大きな変化はみられなかった。20 年度は予防接種法改正後 1 年目であり、抗体保有率にはまだ反映されていない可能性がある。全体での抗体陽性率（麻しん 16 倍以上、風しん 8 倍以上）は全国集計と大差ないものであったが、感染防御に必要な抗体価の抗体保有率を年齢別でみると麻しんも風しんも 10 歳代で低下する傾向がみられた。20 年度の改正ではこの年齢群も 3 期あるいは 4 期のワクチン接種でカバーできている。「麻しんに関する特定感染症予防指針」に基づき今後 4 年間、3 期 4 期の定期接種が実施される。麻しん排除のためにはワクチン 2 回接種率 95% 以上が望まれる<sup>9)</sup> が宮城県では 1 回以上の接種率が 20 年度に 91.1% であった。また、これから妊娠可能な年齢となる、もしくはその配偶者となりうる 10 歳代の感染防御のための風しん抗体保有率が目立って低かった。このことから、麻しん流行の抑制、CRS 予防のために 1 期 2 期の定期接種も含め、特に 3 期 4 期の定期接種についてはさらに勧奨が必要と思われた。

### 参考文献

- 1) 宮城県保健環境センター年報, No. 26, p95 (2008)
- 2) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局: 病原微生物検出情報, 30, 29 (2009)
- 3) 宮城県保健環境センター“宮城県結核・感染症情報センター”, <http://www.ihe.pref.miyagi.jp/~kansen-center/>
- 4) 厚生労働省告示第 442 号 (2007) “麻しんに関する特定感染症予防指針” 平成 19 年 12 月 28 日
- 5) 厚生労働省健康局結核感染課, 国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会: “感染症流行予測調査事業検査術式”, p40 (2002)
- 6) 厚生労働省健康局結核感染課, 国立感染症研究所感染症情報センター: “平成 17 年度 (2005 年度) 感染症流行予測調査報告書” (2007)
- 7) 厚生労働省健康局結核感染課, 国立感染症研究所感染症情報センター: “平成 18 年度 (2006 年度) 感染症流行予測調査報告書” (2008)
- 8) 国立感染症研究所感染症情報センター: “麻しんの現状と今後の麻しん対策について” (2002)
- 9) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局: 病原微生物検出情報, 29, 179 (2008)



## 宮城県内で検出されたサポウイルスの遺伝子型について

### Genotype of sapovirus detected from patient with gastroenteritis and oyster in Miyagi prefecture.

庄司 美加\*<sup>1</sup> 阿部 美和 植木 洋  
佐藤 由紀 上村 弘\*<sup>2</sup> 沖村 容子  
御代田恭子

Mika SHOJI, Miwa ABE, Yo UEKI  
Yuki SATO, Hiroshi UEMURA, Yoko OKIMURA  
Yasuko MIYOTA

過去2シーズンに県内で発生した食中毒事例や感染性胃腸炎集団発生事例で患者便から検出されたサポウイルス(Sapovirus:以下SV)遺伝子と下水処理水受容河川に垂下したカキおよび市販生食用カキから検出されたSV遺伝子を対象に分子疫学的解析を行った。その結果、2007/08年シーズン(以下07/08年シーズン)は患者便、垂下カキおよび生食用カキから検出されたSV株は、すべてGIV/1近縁株であったのに対し、2008/09年(以下08/09年シーズン)シーズンは患者便と垂下カキから、GI/1とGI/3近縁株が検出された。さらに昨シーズンは生食用市販カキからもSV遺伝子のGIV/1近縁株が検出されており、ヒトから排泄されたウイルスが環境水を汚染していることが示唆された。

キーワード：サポウイルス；遺伝子型；胃腸炎患者；カキ

**Key words** : sapovirus ; genotype ; gastroenteritis ; oyster

#### 1 はじめに

感染性胃腸炎の病原体の一つであるSVはノロウイルス(NoV)と同様に自然界での循環については不明な点が多い。SVによる環境水汚染の実態を明らかにするための一つの方法として、ろ過食性生物であるカキを下水処理水受容河川に垂下し、垂下したカキからRT-PCR法でSV遺伝子の検出を行った。併せて市販生食用カキについてもSV遺伝子の検索を行った。さらに、08/09年シーズンに県内で発生した食中毒・感染性胃腸炎集団発生事例で検出されたSVの遺伝子型を分子疫学的に解析し、07/08年シーズンに検出された株と比較検討した。

#### 2 材料と方法

##### 2.1 対象材料

カキは、下水処理水受容河川に感染性胃腸炎の流行期に約2ヶ月間垂下したものを垂下カキとした。なお、07/08年シーズンは2007年10月下旬、08/09年シーズンは2008年11月上旬に垂下した。検体は2シーズンともに12月に2回(上旬、下旬)、翌年1月に1回(上旬)採取した。07/08年シーズンは合計16個体、08/09年シーズンは合計67個体について検査を行った。

また、市販生食用カキは2007年と2008年の12月にそれぞれ県内で市販されていた16パック48個体(1パック3個体)を調査対象とした。

SVの遺伝子解析は、2007年4月から2009年3月までに県内で発生した胃腸炎事例で、SV遺伝子が検出された事例の内4事例14株を用いた。さらに、07/08年シーズンに垂下カキおよび生食用市販カキから検出された4株についても解析を行った。

##### 2.2 カキからのSV遺伝子の抽出

垂下カキは採取後、1個体ずつ中腸腺を摘出し細胞破碎法<sup>1)</sup>でウイルスを抽出した。市販生食用カキは1パックから3個体取り出しそれぞれ1個体ずつ中腸腺の摘出後、垂下カキと同じ方法でウイルス抽出を行った。ウイルスRNAの抽出はQIAmp viral RNA mini kitを用いて行った。

##### 2.3 SV遺伝子の検出

ウイルスRNAはSV遺伝子のVP1領域の一部を増幅するプライマーを用いたOkadaらの方法でRT-PCRとnested-PCRを行った<sup>2)</sup>。

##### 2.4 分子疫学的解析

電気泳動でSV遺伝子の増幅産物が確認された検体は、ABI310でダイレクトシーケンスを実施して塩基配列を決定した。その後、Clustal Xを用いてアライメントしNeighbor-joining Method(NJ法)で系統樹を作製した。

#### 3 結果および考察

07/08年シーズンは垂下カキ3個体(検出率18.8%)同じく08/09年シーズンは2個体(3.0%)からSV遺伝子が検出された。一方市販生食用カキは、2007年は1個

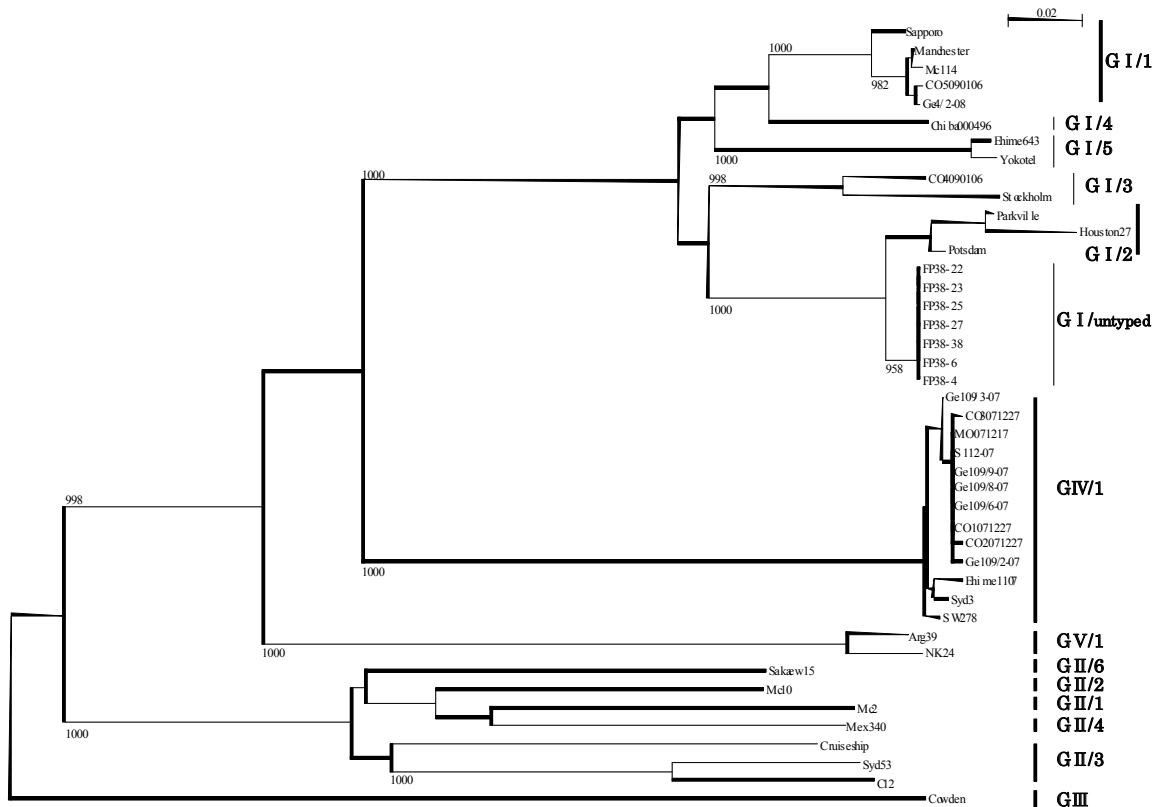
\* 1 仙南保健福祉事務所

\* 2 仙南・仙塩広域水道事務所

表 1 カキからの SV 遺伝子の検出結果

	2007/08年シーズン	2008/09年シーズン	合計
市販生食用カキ	1/14 (2.1%)	0/48 (0%)	1/69 (1.4%)
垂下カキ	3/16 (18.8%)	2/67 (3.0%)	5/83 (6.0%)

( ) 内は検出率



図中、FPは食中毒事例、Geは胃腸炎集団事例、Sは散発事例、COは垂下カキ、MOは生食用市販カキから検出された株を示す。参照株のアクセッション番号は以下のとおり

Arg39, AY289803; Bristol, HCA249939; C12, AY603425; Chiba000496, AJ412800; Chiba010658, AJ606696; Cruise ship, AY289804; Dresden, AY694184; Ehime643, DQ366345; Ehime1107, DQ058829; Houston27, U95644; Manchester, X86560; Me2, AY237419; Me10, AY237420; Me114, AY237422; Mex340, AF435812; NK24, AY646856; Parkville, U73124; PEC, AF182760; Potsdam, AF294739; Sapporo, U65427; SK15, AY646855; StockholmF194182; SW278, DQ125333; SyB, DQ104357; Syd53, DQ104360; and Yokotel, AB253740

図 1 SV 遺伝子の VP1 の一部の塩基配列 (321nt) に基づく系統樹

体 (2.1%) から遺伝子が検出されたが、2008 年には SV 陽性検体は確認されなかった。

SV の VP1 をコードする遺伝子の一部の 321nt について塩基配列を決定しそのデータに基づき解析した系統樹を図 1 に示した。07/08 年シーズンに、感染性胃腸炎患者便、垂下カキおよび生食用カキから検出された SV の遺伝子型はすべて GIV/1 であった。特に、07/08 年のシーズンに SV による胃腸炎の集団事例、散発事例、市販生食用カキおよび垂下カキから検出された SV 株の塩基配列が 100% 一致する株が 6 株確認された。

一方、08/09 年シーズンに患者便と垂下カキから検出された SV 遺伝子は GI/1 と GI/3 の近縁株で、07/08 年シーズンに検出された遺伝子型とは異なっていた。

これまでに、カキが原因食品と推定される SV による食中毒事例の報告はあるが<sup>3)</sup>、カキから SV 遺伝子を検出した例はない。今回の結果は、カキが SV による食中毒の原因食品となり得る可能性を示唆するもので、喫緊に何らかの対策を講ずる必要がある。カキの SV 汚染についてはその原因は明らかではない。しかし、Haramoto らが下水処理施設を対象に行った SV の調査では、流入下水からは通年 SV 遺伝子が検出され、特に処理水からは夏季には検出されないが感染性胃腸炎の流行する冬季には検出頻度が高いことを報告しており<sup>4)</sup>、今回の調査で下水処理水の影響が大きいと考えられる垂下カキから SV 遺伝子が検出されたことと併せて考えると、処理水中に含まれる SV がカキの汚染源となってい

ることも示唆される。病原微生物による環境水の汚染防止の観点から処理場の果たしている役割は非常に大きい。処理水の再利用や、魚貝類を含めた生物に与える影響を十分に考慮した処理法の検討が望まれる。また、07/08年の調査においてSVを原因とした胃腸炎の患者便とカキから検出されたSV株の遺伝子型がGIV/1で、さらに塩基配列においても高い相同性が確認されたことにより、SVもNoVと同じようにヒトで流行した株が環境水を通じてろ過性生物にまで影響を及ぼしている可能性の高いことが推測された。このことは自然界におけるSVの循環メカニズムを解明する上で非常に大きい知見であると考えられる。

さらに、食中毒事例で検出されたSV株（図1中FP38）については、系統解析の結果GI群の新しいgenotypeになり得る可能性が推測された。この事例はカキの喫食が確認されてはいたが、原因推定食品は特定できなかった。また、同一人からGI群NoV遺伝子とSV遺伝子が同時に検出されていた例が6例あり、SVとNoVの混合感染が認められた。本事例で検出されたSV株については、遺伝子のVP1からVP2にかけての領域2.3kntについて塩基配列を決定し遺伝子型を検討する必要がある。

#### 4 まとめ

胃腸炎患者便と処理水放流口付近に垂下したカキや市販食用カキからRT-PCR法でSV遺伝子を検出した。特に市販カキからの検出報告例はこれまでにない。さら

に、これらの検体から検出したSV株を分子疫学的に解析した結果、ウイルス遺伝子のVP1をコードしている一部の領域の塩基配列が100%一致している例が確認された。このことにより、SVによる胃腸炎患者の糞便中に排泄されたウイルスが環境水を通して養殖カキまで汚染している可能性が示唆された。

#### 参考文献

- 1) Ueki Y, Sano D, Watanabe T, Akiyama K, Omura T. Norovirus pathway in water environment estimated by genetic analysis of strains from patients of gastroenteritis, sewage, treated wastewater, river water and oysters. *Water Res.* 2005; **39**: 4271-80.
- 2) Okada M, Yamashita Y, Oseto M, Shinozaki K. The detection of human sapoviruses with universal and genogroup-specific primers. *Arch Virol.* 2006; **151**: 2503-2509.
- 3) Nakagawa-Okamoto R, Arita-Nishida T, Toda S, Kato H, Iwata H, Akiyama M, Nishio O, Kimura H, Noda M, Takeda N, Oka T. Detection of multiple Sapovirus genotypes and genogroups in oyster-associated outbreaks. *Jpn J Infect Dis.* 2009; **62**: 63-66.
- 4) Haramoto E, Katayama H, C. Phanuwat, Ohgaki S. Quantitative detection of sapoviruses in wastewater and river water in Japan. *Lett Appl Microbiol.* 2008; **46**: 408-413.

## 畜産施設排水における薬剤耐性菌の動向

### Environmental Dynamics of Drug Resistance Bacteria in the Stock Raising Drainage

畠山 敬 矢崎 知子 佐々木美江\*<sup>1</sup>  
渡邊 節

Takashi HATAKEYAMA, Tomoko YAZAKI, Mie SASAKI  
Setsu WATANABE

家畜生産の場における薬剤耐性菌の存在実態と一般環境への拡散可能性について考察することを目的に、施設排水中の薬剤耐性菌の調査を行った。その結果、畜産施設排水には使用薬剤に対する高度耐性菌が多く存在することを確認した。同時に、排水等の適正な処理を行うことにより、薬剤耐性菌の一般環境への拡散を最低限に防ぐことができる可能性を示した。

キーワード：畜産排水；薬剤耐性菌

**Key words** : stock raising drainage ; drug resistance bacteria

#### 1 はじめに

抗生剤の発見とその応用は感染症対策に多大な貢献をもたらした一方で、薬剤耐性菌の出現という新たな問題を提起した。医療現場ではバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）やメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、Extended Spectrum  $\beta$ -Lactamase（ESBL）産生大腸菌等の蔓延例が既に多く報告されており、近年では、環境水や下水処理場放流水中からも同様の菌の検出報告が後を絶たない<sup>1)</sup>。現に、2007年度に我々は県内の2河川においてアンピシリン（ABPC）、クロラムフェニコール（CP）、カナマイシン（KM）及びオキシテトラサイクリン（OTC）に対する薬剤耐性菌の分布調査を行ったが、河川には既に多くの薬剤耐性菌が存在し、一部からは薬剤耐性遺伝子（Toho1）が検出されることを明らかにした。また、畜産地帯の河川や大河川の下流域では薬剤耐性菌の出現率が高くなることを報告した<sup>2)</sup>。家畜用抗生剤の国内使用量はヒト用抗生剤の約2倍といわれており、畜産県である宮城県も、家畜伝染病予防の観点から継続的かつ大量に抗生剤を使用しているものと考え

られる。我々の調査結果は、このような地域にある河川環境下での実態を反映している可能性が高い。

そこで、本研究では抗生剤使用施設におけるこれらの実態を把握するため2養豚場をモデルとして選び、施設で使用している抗生物質と施設排水中に存在する菌の薬剤耐性化の状況、および薬剤耐性菌の公共用水域への拡散の可能性を明らかにすることを目的とした。

#### 2 材料と方法

##### 2.1 材料

施設（AおよびB）は、それぞれ異なる水処理工程を持っており、A施設は曝気処理、B施設は凝集沈殿およびラグーン処理を採用している。さらに、両排水は共用で使用している酸化池等（以下、野外共用施設とする。）を経た後に公共用河川に放出される。このことから、図1に示すように場所を設定し採水を行った。また、気温・気候等の環境変化による影響を把握するため、季節ごとに調査を実施した。

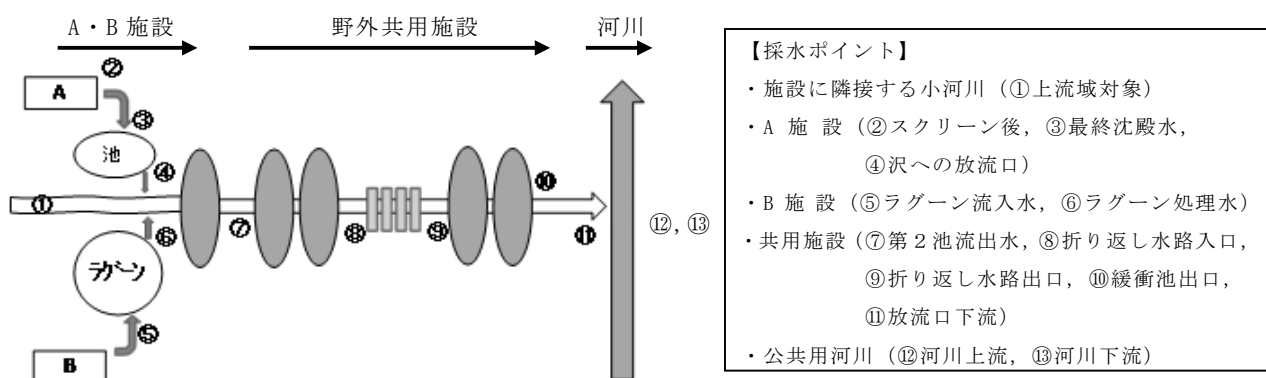


図1 畜舎排水処理施設の概要と採水地点

\* 1 現 仙南・仙塩広域水道事務所

2.2 方法

2.2.1 一般細菌の測定

一般細菌数の測定はミューラーヒントン寒天培地（栄研）を用い、定法に従って細菌数を測定した。

2.2.2 対象菌の選別と薬剤感受性試験

事前のアンケート調査では、両施設ともに LCM（リンコマイシン）、TS（タイロシン）、OTC（オキシテトラサイクリン）を常時使用しており、NFLX（ノルフロキサシン）を冬季間だけ使用していた。

TSと LCM は主にグラム陽性球菌（以下、球菌とした。）、OTCと NFLX はグラム陰性・陽性菌双方に有効な薬剤であることから、薬剤感受性調査の対象を球菌と腸内細菌とし、供試する抗菌剤は球菌では TS、LCM、OTCと NFLX、腸内細菌では OTCと NFLX とした。

菌の分離は、材料 600ml を 6000rpm で 20 分間遠心して 6ml に濃縮後、XSA 寒天培地（日水製薬）に接種して球菌の分離を行い、腸内細菌は DHL 寒天培地（栄研化学）を用いて同様に分離を行った。分離した菌は、グラム染色性およびカタラーゼ、オキシダーゼ等の基本的性状を確認して薬剤感受性試験の被検菌とした。

薬剤感受性試験は、NCCLS<sup>3)</sup>の方法に従って微量液体希釈法で実施した。すなわち、被検菌の菌数を定法に従い調整後、各薬剤に 2 倍希釈系列の濃度勾配を加えて作成した自家製 96 穴プレートに 100μl ずつ接種し、菌の最小発育阻止濃度（MIC）を求めた。

薬剤耐性菌の判定は NCCLS<sup>3)</sup> および関連文献等<sup>4, 5)</sup>に従って行い、TS 8μg/ml、LCM 4μg/ml、OTC 16μg/ml 以上の濃度に発育を認めたものを各薬剤の耐性菌とし、NFLX では球菌で 0.5μg/ml、腸内細菌で 0.06μg/ml 以上を耐性菌とした。

3 結果

3.1 各採水ポイントでの一般細菌数の推移

一般細菌数は施設内を流れる小河川①（図1採水ポイントを参照）を施設の上流域対象とした（10<sup>3</sup>～10<sup>4</sup>CFU/ml）。

A 施設スクリーン後②では菌数が 10<sup>7</sup>～10<sup>8</sup>CFU/ml を示したが、最終沈殿水③では 10<sup>4</sup>～10<sup>5</sup>CFU/ml と最大で 1/1000 程度に菌数が減少した。B 施設でも、ラグーン流入水⑤では 10<sup>6</sup>～10<sup>7</sup>CFU/ml であったものがラグーン処理水⑥では 10<sup>3</sup>～10<sup>5</sup>CFU/ml と減少した。季節的には、両施設とも 1 月の調査時に除菌効率が低下したが、B 施設での能力の低下が顕著であった。

さらに、両施設が共有する第 2 池流出水⑦以降では 8 月に折り返し水路入口⑧で菌数が若干増加したものの、菌数が徐々に減少し、施設最末端である放流口下流⑪では一般細菌数 1700～8400CFU/ml、大腸菌群数も MPN 法で 548～6200/100ml と施設排水基準の 3000/ml を大きく下回った（図 2）。

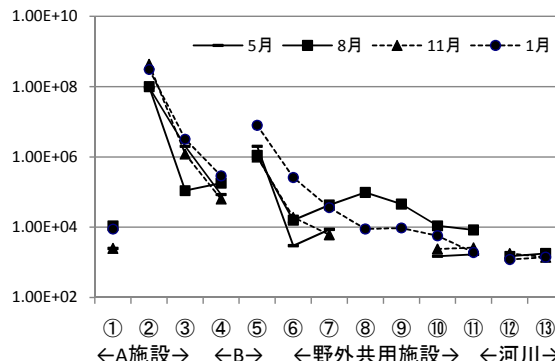


図 2 各採水ポイントにおける一般細菌数 (CFU/ml)

3.2 球菌、腸内細菌の分離状況

被検菌の分離に関して、A 施設②、③では菌を分離することが容易であったが、B 施設⑤、⑥はともに菌の分離が比較的困難であった。第 2 池流出水⑦以降は菌がさらに減少し、特に球菌の減少が顕著であった。緩衝池出口⑩や放流口下流⑪では球菌はほとんど分離できなかった半面、腸内細菌の分離数がやや増加した。

3.3 薬剤感受性試験の結果

各薬剤に対する球菌および腸内細菌の感受性を表 1 に示した。

球菌では、TS、LCM 及び OTC ≥ 32μg/ml を示す株が最も多く検出され、その全分離菌株中の割合は TS 63.5%、LCM 80.2%、OTC 73.4% であった。NFLX では 1μg/ml が最も多く 40.9% であった。腸内細菌では、OTC ≥ 32μg/ml が 53.0% で、NFLX 0.06μg/ml が 42.2% を占めた。そこで、先の基準濃度を参考に球菌全体に占める薬剤耐性菌の割合を調べると TS が 69.2%、LCM 97.3%、OTC 74.6%、NFLX 91.0% で、腸内細菌では、OTC 54.5%、NFLX 65.9% であった。

具体的には、A 施設の球菌では TS 87.9%、LCM 98.9%、OTC 95.4%、NFLX 91.5% で、腸内細菌が OTC 90.7%、NFLX 63.3% であり、B 施設では球菌が TS 47.8%、LCM 97.8%、OTC 71.7%、NFLX 84.8%、腸内細菌が OTC 72.1%、NFLX 64.4% であった。さらに、2 施設での菌の分離状況を比較すると、A 施設では 447 株の球菌が分離されたのに対し、B 施設では 46 株と、B 施設排水からの球菌の分離は困難であった。

表 1 球菌および腸内細菌の薬剤感受性

【球菌】		≤0.06	0.13	0.25	0.5	1	2	4	8	16	≥32	計	
TS		117	nt	95	22	18	438	690					
(%)		17.0		13.8	3.2	2.8	63.5	100					
LCM		19	nt	17	49	55	566	706					
		2.7		2.4	6.9	7.8	80.2	100					
OTC		132	nt	14	5	7	436	594					
		22.2		2.4	0.8	1.2	73.4	100					
NFLX		3	8	43	56	245	183	62				600	
		0.5	1.3	7.2	9.3	40.8	30.5	10.3				100	
※:ntは未実施を示す													
【腸内細菌】		≤0.015	0.03	0.06	0.13	0.25	0.5	1	4	8	16	≥32	計
OTC								249	129	71	15	523	987
								25.2	13.1	7.2	1.5	53.0	100
NFLX		69	249	394	132	52	12	26					934
		7.4	26.7	42.2	14.1	5.6	1.3	2.8					100
※:各薬剤で色付きの部分に含まれる菌は耐性菌を示す													

一方、野外共用施設では、第2池流出水⑦での球菌はTS 56.4%, LCM 97.5%, OTC 71.8%, NFLXで100%が耐性であり、腸内細菌ではOTC 46.6%, NFLX 42.9%であった。折り返し水路出口⑨では、球菌でTS 21.0%, LCM 100%, OTC 21.1%, NFLX 100%, 腸内細菌はOTC 11.1%, NFLX 100%であった。施設最末端の放流口下流⑩では、球菌がTS 6.6%, LCM 83.3%, OTC 20.7%, NFLX 90%, 腸内細菌でOTC 30.1%, NFLX 58.4%であった。

以上の結果から、この施設排水には特にLCMとNFLXに耐性化した球菌の割合が高いことが明らかとなった。そこで、例として各採水ポイントにおけるLCMとOTCに対するMICの変化を比較してみると、LCMでは下流(⑦以降)の採水ポイントでも比較的MICの高い耐性菌(8~16 $\mu\text{g}/\text{ml}$ )が残存するのに対し、OTC耐性菌は急激に減少し、ほとんどの菌がMIC 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以下の薬剤感受性菌に置き換わっていることが判明した(図3)。

### 3.4 球菌の多剤耐性化

球菌の多剤耐性化を調べた結果を表2に示した。分離菌の58.0%が4薬剤に対し耐性を持つ株であった。3剤耐性菌が合計で16.7%, 2剤耐性菌が23.1%であり、特にLCM耐性菌が98.9%, NFLX耐性菌が91.9%を占めた。施設では冬場に限りNFLXを使用しているが、季節的な感受性の変動は認められなかった。

表2 分離された全球菌の多剤耐性化傾向

薬剤耐性数	耐性型	株数	割合(%)
4	TS・LCM・OTC・NFLX	338	58.0
	LCM・OTC・NFLX	56	9.7
3	TS・LCM・OTC	32	5.6
	TS・LCM・NFLX	8	1.4
2	LCM・NFLX	127	21.8
	LCM・OTC	4	0.8
	TS・LCM	4	0.8
	OTC・NFLX	1	0.1
1	OTC	1	0.1
	NFLX	5	0.9
	LCM	4	0.8
合計		580	100

TS:8 $\mu\text{g}/\text{ml}$  LCM:4 $\mu\text{g}/\text{ml}$  OTC:8 $\mu\text{g}/\text{ml}$  NFLX:0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の薬剤濃度で発育したものを耐性菌とした。

## 4 考察

抗生剤は人の治療用以外にも畜水産業用として大量に使用されている。人用としての使用が約520トン(1998年度)であるのに対し、農林水産省のデータ(2001年度)では、約1060トンが動物医薬品として使われており、その他にも飼料添加用として約230トンが生産されている。特にテトラサイクリン系(455トン)やマクロライド系(160トン)の販売量が多く、この2つで全体量の50%を超える。動物における抗生剤の必要性は言うまでもないが、このような状況の継続は畜水産に医療現場と同じ事態を招くことは必至であり、結果的には人の治療に影響を及ぼしかねない。現に、アボパルシンがバンコマイシン類似の化学構造を持つため、鶏に使用されなくなったこと<sup>6,7)</sup>は既知の事実である。そこで、本研究では家畜生産の場における薬剤耐性菌の存在実態と一般環境への拡散可能性について考察することを目的に、施設排水中の薬剤耐性菌の調査を行った。

その結果、分離した全球菌の約7割がTS, LCM及びOTCともに $\geq 32\mu\text{g}/\text{ml}$ に耐性で、NFLXも7割以上が1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性を示した。また、全腸内細菌では、OTC $\geq 32\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上が約5割、NFLXでは約6割が0.06 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性であった。そこで、32 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上の耐性を示した球菌の最終発育濃度を調べたところ、400 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を超えたものがTSで92%以上、LCMでは100%と、当該施設内の菌がこれらの薬剤に高度耐性化を引き起こしていることが明らかになった。さらに、複数の抗生剤に対する耐性化率を調べた結果、球菌では58%がTS, LCM, OTC, NFLXの4剤に耐性を示すことが判明した。

一方、排水処理の側から考察すると、対象2施設の污水処理方法は連続式活性汚泥方式(A施設)と複合ラグーン方式(B施設)であったが、Aの処理排水とBの処理排水中の一般細菌数には差が見られた。B施設では污水原水に凝集剤を添加して脱水・プレスを行っており、この工程で固形物に菌が付着する結果、排水中の菌数が減少したものと推察された。さらに、2施設の排水が合流する野外共用施設以降ではゆるやかに菌数が減少し、場外排水では大腸菌群数も基準値以下であった。これは、一次処理された污水中の菌が野外の緩衝池等を経由していく過程で、他の環境微生物との競合や紫外線等により

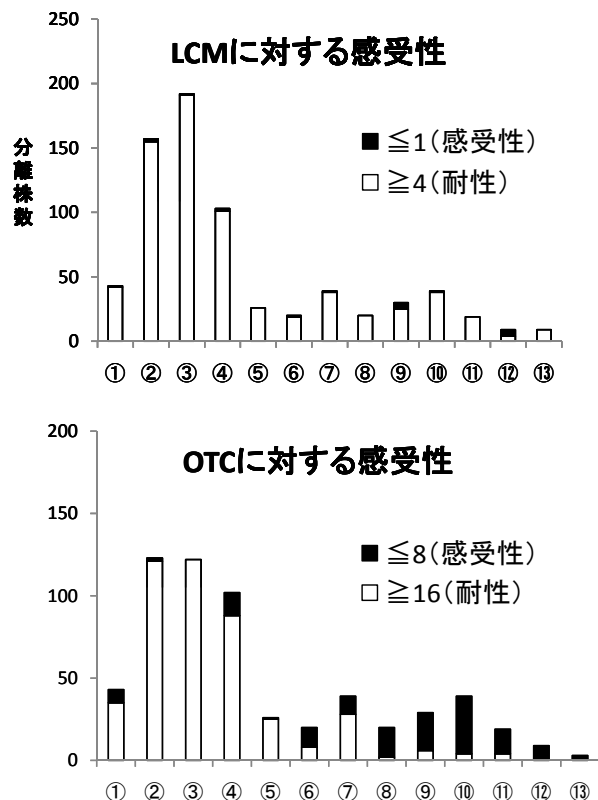


図3 球菌の分離数とLCMおよびOTCに対する薬剤感受性

さらに処理されたためと思われる。球菌や腸内細菌なども一般細菌と同様で、汚水処理が進むに従い分離可能な菌数が激減した。また、野外共用施設以降は分離された菌の各薬剤に対する感受性も変化した。球菌では特にOTC耐性菌の分離率の減少が顕著であったが、LCMとNFLX耐性菌の割合はほとんど変化せず、共用河川への放流口でも80%以上が耐性菌であった。季節的に使用されるNFLXの耐性菌が通年高い割合で分離される理由は不明であるが、LCMは環境中での分解性が低く、比較的高濃度のまま維持するため<sup>8)</sup>、下流の耐性菌の残存に何らかの影響を及ぼしている可能性が推察された。

本研究では、畜産施設排水に使用薬剤に対する高度耐性菌が多く存在することを確認した。それと同時に、畜舎排水等の適正な処理を行うことにより、薬剤耐性菌の一般環境への拡散を最低限に防げる可能性を明らかにした。

### 参考文献

- 1) 清野敦子, 古荘早苗, 益永茂樹: 我が国の水環境中における人用・動物用医薬品の存在, 水環境学会誌, Vol. 27, No. 11, 685-691 (2004)
- 2) 佐々木美江, 矢崎知子, 後藤郁男, 畠山敬, 渡邊節, 谷津壽郎, 齋藤紀行: 宮城県の河川等における薬剤耐性菌, 宮城県保健環境センター年報, 第26号 (2008)
- 3) National Committee for Clinical Laboratory Standards. (1993), 五島嵯智子監修: 好気性菌の薬剤感受性測定のための希釈試験法, 第3版, 日本語版, NCCLS Document M7-A3 Vol. 13, No. 25. NCCLS, Villanova, Pennsylvania.
- 4) 杏林製薬株式会社学術情報部, Chemotherapy, 38 (S-2), (1990)を中心に社内集計, 杏林製薬株式会社社内資料
- 5) McGuire, J. M., Boniece, W. S., Higgins, C. E., Hoehn, M. M., Stark, W. M., Westhead, J. Tylosin a NEW Antibiotic: I. Microbiological Studies. Antibiot. Chemother., 11, 320-324 (1961).
- 6) Wegener, H. C. Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and Enterococcus faecium Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. Emerging Infectious Diseases, 5, 329-335 (1999).
- 7) McDonald, L. C. Vancomycin-Resistant Enterococci Outside the Health-Care Setting: Prevalence, Sources, and Public Health Implications. Emerging Infectious Diseases, 3, 311-317 (1997).
- 8) 遠藤美砂子, 畠山敬, 中村朋之, 川向和雄: 畜舎汚水中の抗菌剤の分析, 宮城県保健環境センター年報, 第27号 (2009掲載予定)

# 食中毒検査から分離されたカンピロバクター菌株の解析結果

## Characteristics of Campylobacter species derived from food poisoning cases

高橋 恵美 佐々木美江\*<sup>1</sup> 有田 富和  
加藤 浩之 小林 妙子\*<sup>2</sup> 畠山 敬  
菅原 優子 谷津 壽郎\*<sup>3</sup> 御代田恭子

Emi TAKAHASHI, Mie SASAKI, Tomikazu ARITA  
Hiroyuki KATO, Taeko KOBAYASHI, Takashi HATAKEYAMA  
Yuko SUGAWARA, Juro YATSU, Yasuko MIYOTA

我が国で食中毒事件数が最も多いカンピロバクター属菌について、平成18年度～20年度に宮城県の食中毒検査で分離された株の薬剤感受性試験、及びパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）による分子疫学解析と制限酵素の組み合わせによる解像力の比較検討を行った。

キーワード：カンピロバクター属菌；血清型；薬剤感受性試験；パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）；制限酵素

**Key words** : Campylobacter species ; Serum groups ; Drug susceptibility test ;

Pulsed field Gel Electrophoresis (PFGE) ; Restriction enzyme

### 1 はじめに

カンピロバクター属菌は、我が国では食中毒の原因菌として発生件数が最も多い。患者数としても、ノロウイルスに次いで2番目（2008年）に多い<sup>1)</sup>。この食中毒は、飲食店を原因とすることと、少数事例が多いという特徴がある。

カンピロバクター属菌は、家禽や牛の腸管に常在しており、流通している鶏肉の半数以上はこの菌に汚染されているとの報告がある。主に鶏肉や牛レバーなどの生食や不十分な加熱での喫食、汚染された飲料水の摂取、保菌動物との接触によって感染する。また、比較的少ない菌量でも感染が成立するため、鶏肉調理後の手指、まな板や包丁の不十分な洗浄による2次汚染が問題とされる。さらに、潜伏期間が2～7日と長いため、原因食品が判明しない事例も多い。主な症状は下痢、腹痛、発熱、嘔吐などであり、多くは1週間程度で治癒するが、まれに重症化し、感染の数週間後に手足の麻痺などを起こすギラン・バレー症候群を発症することもある。

当所でも、平成18年度から20年度の3年間に食中毒及びその関連調査として検査した93事例のうち、13事例からカンピロバクター属菌が検出され、7事例が宮城県内で発生した食中毒事件であった。

近年、カンピロバクター属菌は薬剤耐性化が進んでおり、キノロン系薬剤耐性株の割合が30～40%という報告がある<sup>2)</sup>。養鶏場でのキノロン系薬剤の多用との関連が指摘されており、鶏の腸管内ではこの菌は高頻度に変異を起こしやすいことも一因であるといわれている。

そこで、宮城県で分離されたカンピロバクター属菌の

種類及び薬剤耐性菌の傾向と、事例間の関連性を比較するため、これらの菌株の遺伝子解析を行ったので結果を報告する。

### 2 対象および検査方法

#### 2.1 対象

平成18年度から20年度の3年間に食中毒検査より検出したカンピロバクター属菌83株  
(人由来79株、食材由来4株)

#### 2.2 方法

##### 2.2.1 カンピロバクター属菌の分離同定

当所の食中毒検査マニュアルに基づき、便からの分離は、直接選択培地はCCDA培地を、増菌培養についてはポルトン培地を使用し、42℃で1晩微好気培養後、CCDA培地で分離培養した。食材については、等量のPBSで1分間ストマッカー処理を行った乳剤の1mlをポルトン培地に接種し、同様に42℃で1晩微好気培養後、CCDA培地により分離培養した。CCDA培地はいずれも42℃、2日間微好気培養を行った。CCDA培地上に発育した疑わしいコロニーをグラム染色・オキシダーゼテスト・カンピロバクターLA（デンカ生研）を用いて性状を確認し、PCR-RFLP（Fermerのプライマーと制限酵素 *Alu I* 使用）により菌種同定を行った。

##### 2.2.2 血清型別

*C. jejuni* と同定された菌株について、市販のカンピロバクター診断用免疫血清（デンカ生研）を使用し血清型を決定した。

##### 2.2.3 薬剤感受性試験

*C. jejuni* 及び *C. coli* について、一濃度ディスク法でナリジクス酸 (NA)・ノルフロキサシン (NFLX) (KBディスク：栄研化学) に対する薬剤感受性試験を実施した。

\* 1 現 仙南・仙塩広域水道事務所

\* 2 現 大崎広域水道事務所

\* 3 現 食肉衛生検査所



2.2.4 パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による分子疫学解析

制限酵素 *Kpn* I を用いて同一事例株間の相同性と、異なる事例間での関連性を確認した。プロトコルは八尋ら<sup>3)</sup>の方法を参考とした。

2.2.5 制限酵素の併用による解析 (PFGE 法)

*Kpn* I で同一又は類似する PFGE パターンを持つ株に対して、他の制限酵素との組み合わせによる検討も行った。追加した制限酵素は *Sma* I とし、*Kpn* I と *Sma* I を同時に同量使用した処理 (*Kpn* I + *Sma* I) と、*Kpn* I 処理後に *Sma* I 処理 (*Kpn* I ~ *Sma* I) を行った場合を比較した。なお、*Kpn* I ~ *Sma* I 処理は依田ら<sup>4)</sup>の方法 (double-digestion 法) を参考とした。

電気泳動には BIO-RAD 社製 Chef Mapper (パルスタイム 6.8~38.4 秒、泳動 19 時間) を用い、遺伝子パターンの解析には Fingerprinting II (Dice) を使用した。

3 結果

3.1 カンピロバクター属菌の分離同定

菌種の同定結果を表 1-1 に、菌種の検出事例数を表 1-2 に示した。また、事例毎の分離同定数を図 1 に示した。

表 1-1 菌種の同定結果

菌種	検出事例数	株数
<i>C. jejuni</i>	11	48
<i>C. coli</i>	6	31
<i>C. lari</i>	1	4

表 1-2 菌種の検出事例数

検出された菌種	検出事例数
<i>C. jejuni</i> のみ	7
<i>C. coli</i> のみ	2
<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i>	3
<i>C. jejuni</i> , <i>C. coli</i> , <i>C. lari</i>	1

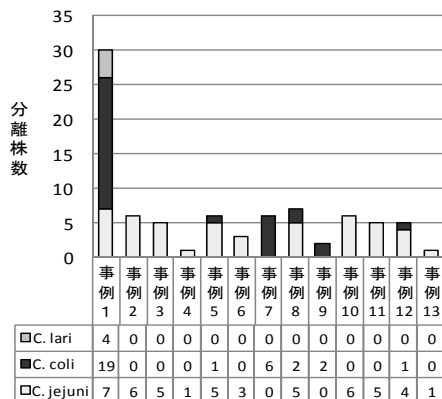


図 1 事例毎の分離株数と菌種

13 事例のうち 11 事例 (85%) から *C. jejuni* が検出され、*C. lari* も 1 事例から分離された。また、約 1/3 の 4 事例から複数の菌種が検出された。そのうち、事例 1 では 1 人から 2 菌種検出された例もあった。

3.2 血清型別

分離された *C. jejuni* の血清型は 8 種類であった。48 株中、R 群が 3 事例 15 株 (事例 1, 8, 10), D 群が 2 事例 9 株 (事例 5, 12), A 群が 2 事例 6 株 (事例 3, 13), 分類不能 (UT) が 10 株であった (表 2)。

3.3 薬剤感受性試験

*C. jejuni* 及び *C. coli* の薬剤感受性試験の結果は図 2-1, 2 に示すとおりであった。いずれの菌株も、NA 耐性株は NFLX にすべて耐性であった。*C. coli* では NA 耐性株が 35%, NFLX 耐性株が 32% であった。*C. jejuni*

表 2 血清型の種類

事例	血清型	株数	事例	血清型	株数
1	R, UT	4, 3	8	F・R	5
2	UT	6	10	R	6
3	A	5	11	0	5
4	UT	1	12	D	4
5	D	5	13	A	1
6	C, B, I (各 1 株)				

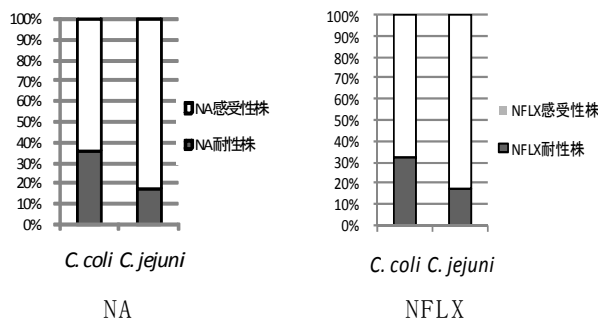


図 2-1 薬剤耐性株の割合

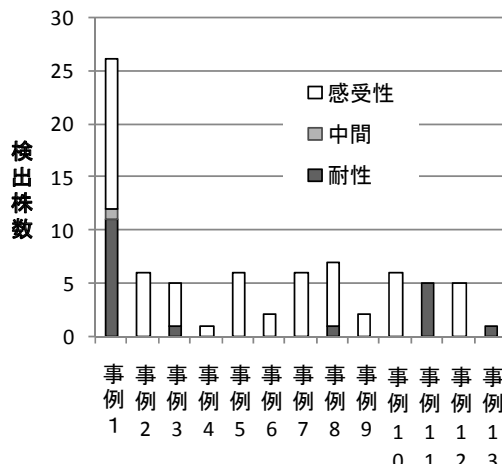


図 2-2 事例毎の耐性株数

ではNA 耐性株, NFLX 耐性株とも 17%であった。

事例でみると, 事例1で26株中11株(42%)がNA耐性株であった。その内訳は, *C. coli*で約50%(19株中10株), *C. jejuni*の血清型R群で25%(4株中1株)であったが, UTでは認められなかった。また, 事例3と8でも耐性株と感受性株が混在していた。

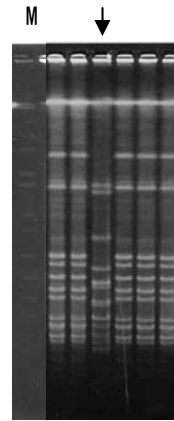
### 3.4 PFGE 法による分子疫学解析

同一事例内で同じ血清型を持つ *C. jejuni* 株は, 遺伝子パターンに若干の変異が見られた事例1を除き, それぞれ相同性は85%以上であり, 異なる事例間での相同性は認められなかった(図3-1)。また, 血清型UTの事例では全く異なるパターンの株が出現した(図3-2)。

### 3.5 制限酵素の併用による解析(PFGE法)

2種類の酵素(*Kpn*I, *Sma*I)を併用することにより, *Sma*Iのみ使用した場合の約2倍数のバンドが出現した。

図4-1は*Kpn*Iで同じパターンであった, 事例7(*C. coli*)の同食材由来の株(1, 2)と人由来の株(3~6)を*Sma*I, *Kpn*I+*Sma*I, *Kpn*I~*Sma*Iで処理したものである。その結果, *Kpn*Iで同じパターンのものは,

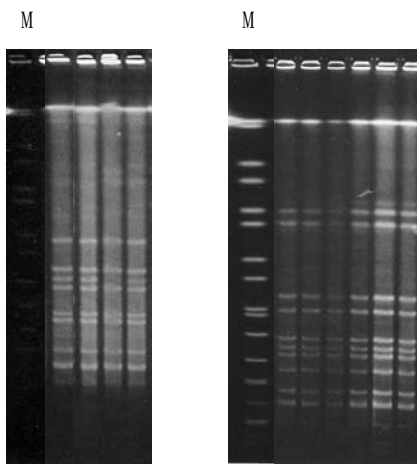


事例2 (血清型 UT)

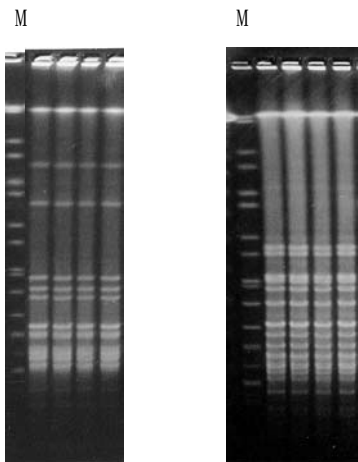
図3-2 1本のみ異なるパターンが出現した事例

他の3処理でも違いは認められなかった。

図4-2は, *Kpn*Iで明瞭ではないが, 数本のバンドの違いが認められた事例8の同食材由来2株(*C. coli*)である。同様に*Sma*I, *Kpn*I+*Sma*I, *Kpn*I~*Sma*I処理でも確認を行った結果, 同様に違いが認められた。



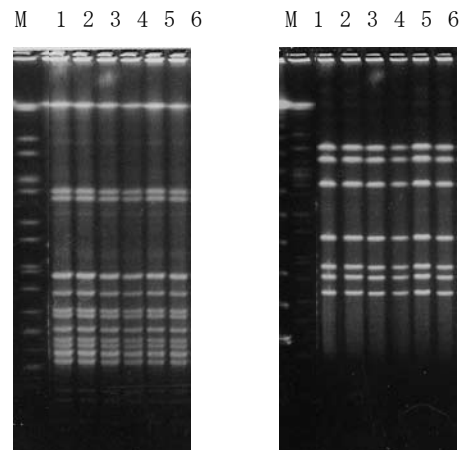
事例1 (血清型 R 群) 事例10



事例5 (血清型 D 群) 事例12

M: *S. Braendrup*

図3-1 異なる事例間での相同性の比較

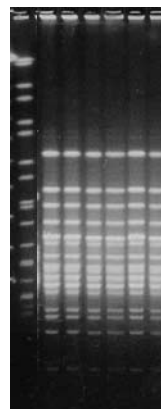


*Kpn*I 処理

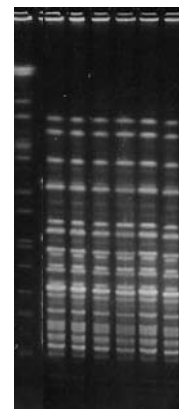
*Sma*I 処理

M 1 2 3 4 5 6

M 1 2 3 4 5 6



*Kpn*I + *Sma*I

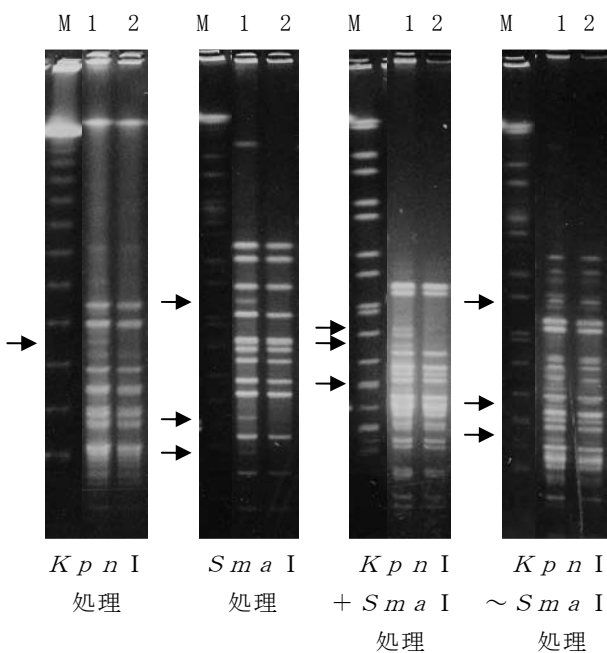


*Kpn*I ~ *Sma*I

処理

処理

図4-1 制限酵素の併用による解像力の比較 (同一パターン: *C. coli* 株)



※ →は株1と2で異なるバンドを示す

図4-2 制限酵素の併用による解像力の比較  
(違いが出現したパターン：C. coli 株)

#### 4 考察

カンピロバクター属菌が検出された13事例中11事例(85%)からC. jejuniが原因菌として検出されており、宮城県でも全国の傾向<sup>5)</sup>と同様の結果を得た。しかし、分離菌の血清型は様々で、一般に多いと言われているB群、D群の優位性は明らかではなかった。また、同一事例でも複数の菌種が検出された事例(4事例)もあり、原因となった食材が複数菌種に汚染されていたことが推察された。

薬剤感受性試験については、NA耐性株がC. jejuniで17%と、全国の傾向<sup>2)</sup>よりやや低めであり、NFLXにもすべて耐性であった。また、同一事例で血清型、遺伝子パターンが同じ株でも、薬剤耐性に違いが認められる株が存在した。キノロン系薬剤は養鶏場で使用されており、比較的耐性を獲得しやすいと考えられるが、今後はキノロン系薬剤だけでなく、治療の第一選択剤であるエリスロマイシンやテトラサイクリン等の薬剤を含め、耐性化の動向を調査していくことが重要であると考えられる。PFGE法による解析では、県内の事例の由来がそれぞれ異なることが示された。また、同一事例で遺伝子パターンが全く異なるC. jejuniもしくはC. coliが検出された

事例もあった(事例1, 2)。これらの事例はC. jejuniは血清型UTであり、C. coliは型別血清がないため、現状ではPFGE法以外に区別の方法がない。

さらに、同一事例で遺伝子パターンが微妙に変化したと思われる株も認められ、原因となった食材もしくは人の体内で比較的早く遺伝子変化が起きている可能性を示している。このような株では単独酵素処理だけでなく、double-digestion法でより詳細な比較解析を行うべきであると考えられた。

#### 5 まとめ

- ・宮城県の平成18年～20年度の食中毒由来のカンピロバクター属菌は3菌種に分類され、複数菌種の感染例も認められた。
- ・C. jejuniの血清型は8種類検出されたが、鶏や牛から多く検出されるB, D群の優位性は認められなかった。
- ・NA・NFLXに対する薬剤耐性株は約25%の割合で認められた。
- ・PFGEの結果、県内の事例の由来がそれぞれ異なることが示された。また、同一事例でも複数遺伝子パターンのC. jejuniもしくはC. coliに汚染されている事例や、同一事例内の遺伝子パターンが微妙に変化した事例も検出された。後者の類似株については、SmaIと、2種類の酵素を使用するdouble-digestion法でも解析を行う方が、より詳細な比較解析が可能になると推察された。

#### 参考文献

- 1) 平成20年食中毒発生状況：厚生労働省食中毒統計
- 2) 国立感染症研究所 感染症情報センター 病原微生物検出情報；27, 173-175 (2006)
- 3) 八尋俊輔, 上野伸広, 山崎省吾, 堀川和美：Campylobacter jejuni分子疫学解析の検討：厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業 広域における食品由来感染症を迅速に察知するために必要な情報に関する研究 平成18年度 総括・分担研究報告書
- 4) 依田清江, 横山栄二, 内村眞佐子：制限酵素 double-digestion法による pulsed-field gel electrophoresis法を用いたCampylobacter jejuni集団食中毒の分子疫学的解析例：感染症雑誌 第80巻 第6号
- 5) 国立感染症研究所 感染症情報センター 感染症の話 カンピロバクター感染症

# プレハブ仮設校舎における室内空気汚染

## Indoor Air Pollution in Temporary Prefabricated School Buildings

氏家 愛子 菊地 秀夫 林 都香  
濱名 徹

Aiko UJIIE, Hideo KIKUCHI, Kunika HAYASHI  
Toru HAMANA

宮城県内 A 高等学校では新校舎建設のため、H20 年 4 月からプレハブ 2 階建ての仮設校舎を使用しているが、供用直後からめまいや頭痛などのシックハウス症候群を発症した職員および生徒が出始めた。原因物質等を探るため揮発性有機化合物（VOC）40 物質について調査を実施した結果、総揮発性有機化合物（TVOCs）濃度は 36～2100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ で、音楽室の室内濃度だけが TVOCs 暫定目標値を超過したが、他の教室等では目標値以下であった。また、指針値が設定されているトルエン、キシレン、エチルベンゼン、スチレン、p-ジクロロベンゼン及びテトラデカンの教室等室内濃度は、全て指針値の 4% 未満であり全体的に非常に低い濃度であった。ロシア産アカマツ材を壁材、巾木などに多用した音楽室等では、 $\alpha$ -ピネン及びリモネンなどのテルペン類が高濃度であったため、VOC 低減対策としてアカマツ材の封じ込めや除去を行い、また全教室への活性炭吸着方式空気清浄機の設置及び換気の徹底などを講じた結果、TVOCs 濃度は 9.3～83 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ （対策前の濃度の 4%～59%）に低下した。また、VOC 個別濃度についても低減対策後には、嗅覚閾値と比較してほとんど無臭レベルまで低下しており、低減対策は有効であったと考えられる。

キーワード：揮発性有機化合物； $\alpha$ -ピネン；テルペン類；シックハウス症候群；アカマツ；GC/MS

**Key words**：Volatile Organic Compound；Alpha-Pinene；Terpene；Sick House Syndrome；Red Pine；GC/MS

### 1 はじめに

宮城県内 A 高等学校では新校舎建設のため、H20 年 4 月からプレハブ 2 階建ての仮設校舎を使用しているが、供用直後からめまいや頭痛などのシックハウス症候群症状を訴える職員および生徒が出始めた。プレハブ仮設校舎供用直前の建設業者が実施した室内空気測定では、ホルムアルデヒド等指針値が設定されている VOC は検出下限値未満の濃度であったが、供用後数ヶ月経た後も症状が改善されることなく継続した。このため、当所に原因物質等についての調査依頼があり、学校の休暇期間内に VOC 濃度について実態調査（対策前調査）を行った。また、この調査結果を受けて講じた VOC 低減対策後の室内空気中の濃度についても調査（対策後調査）を実施したところ知見が得られたので報告する。

### 2 方法

ホルムアルデヒド及びアセトアルデヒド測定については民間分析機関が実施したため、当所はトルエン等 VOC 40 物質（表 1）の調査を行った。

#### 2.1 試料採取

学校における空気環境測定については、学校環境衛生基準<sup>1)</sup>によりパッシブサンプラーでの 8 時間以上の暴露、または 1L/min の流速で 30 分間採取・測定することになっている。業者が実施したパッシブサンプラーによるプレハブ仮設校舎供用前後の VOC 測定では、県有施設のシックハウス対策マニュアル<sup>2)</sup>に定めるホルムアル

デヒド、トルエン、キシレン、スチレン、エチルベンゼンが検出されていなかった。このため、VOC 捕集量を増やすことを目的として、一般住宅と同じ採取方法、すなわち、毎分 100ml で 24 時間連続吸引する方法<sup>3)</sup>を採用した。

- 1) 調査日：a) 対策前調査：H20 年 7 月 29 日～8 月 1 日、室内温度平均 24.3 $^{\circ}\text{C}$ 、室外温度平均 25.0 $^{\circ}\text{C}$ 、b) 対策後調査：H20 年 10 月 25 日～26 日、室内温度平均 21.7 $^{\circ}\text{C}$ 、室外温度平均 20.2 $^{\circ}\text{C}$
- 2) 調査地点：学校が実施したアンケート調査の結果、有症回答数が多かった普通教室 4 教室（1 階：2 教室、2 階：2 教室）、保健室、相談室、体育館、音楽室、トイレ（いずれも 1 階）の 9 地点及び対照としての校舎外（外気）1 地点で実施した。
- 3) 採取方法：エアーサンプラーは(株)ガステック製 GSP-250FT 及び柴田科学(株)製 MP $\Sigma$ 30 を使用し、これらを教室のほぼ中央に床上約 1.5m の高さで設置した。対策前調査では高濃度による破過を想定し、VOC の捕集用に柴田科学(株)製チャコールチューブ 2 本をシリコンチューブで直列に繋いで使用した。捕集管をサンプラーに設置しアルミホイルで遮光した後、100mL/分で 24 時間空気を吸引・採取した。対策後の調査では、音楽室を除く 9 カ所の試料採取はチャコールチューブ 1 本で行った。音楽室は対策前調査で VOC の濃度が特に高い値であったため、対策後調査においてもチャコールチューブ 2 本を直列に繋いで試料採取

を行った。

2.2 標準品

標準原液は関東化学(株)製の VOC 混合標準原液 (室内環境測定用, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 二硫化炭素溶液) 及びトルエン-d8 標準原液 (室内環境測定用, 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を使用した。検量線用標準溶液は VOC 混合標準原液を二硫化炭素でそれぞれ希釈して 0.1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 0.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ , 1.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$  を調製し, 各 1ml に内部標準物質としてトルエン-d8 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を 1 $\mu\text{L}$  加えて検量線を作成した。

2.3 試料溶液調整

試料を採取した捕集管, トラベルブランク及び操作ブランク用の捕集管から活性炭 (全部) を共栓試験管に取り出し, 二硫化炭素 1mL 及びトルエン-d8 (100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) を 1 $\mu\text{L}$  加え時々振とうして 2 時間放置し抽出した。二硫化炭素層を採取して GC/MS 試料溶液とした。

2.4 装置及び分析条件

- 1) 装置: Agilent 社製 GC/MS 6890/5973A
- 2) 分析用カラム: DB-1 (0.25mm i.d.×60m, 膜厚 1 $\mu\text{m}$ )
- 3) 測定条件: 昇温条件: 40 $^{\circ}\text{C}$  (7分)  $\rightarrow$  10 $^{\circ}\text{C}/\text{分}$   $\rightarrow$  280 $^{\circ}\text{C}$  (2分), 注入法: パルスドスプリットレス, 注入口温度: 250 $^{\circ}\text{C}$ , 注入量: 1 $\mu\text{L}$ , 平均線速度: 26cm/秒, 定流量モード, SIM 測定; 表 1 に示す定量イオン及び確認イオンを使用し, 二硫化炭素の溶媒ピークが溶出し終わる 10.5 分からデータの取り込みを開始した。SCAN 測定;  $m/z = 35 \sim 330$ 。

3 VOC 濃度低減対策

供用開始直後の 6 月には発症程度の重い生徒が在籍する普通教室 2 について, 換気扇の増設及びスチームクリーニングを実施した。対策前調査 (7 月) 実施後には, テルペン類の濃度が高かった音楽室等ロシア産アカマツ材を多用した教室を対象に, 石膏ボード貼り付けによるアカマツ材の封じ込め措置及び巾木等の除去・交換を実施した。また, 全ての普通教室や特別教室など 44 教室には活性炭方式空気清浄機を 1 教室当たり 2~3 台, 合計 99 台設置するとともに換気を徹底した。体育館及び 1 階北女子トイレについては特に対策は講じなかった。

4 結果及び考察

4.1 総揮発性有機化合物濃度

調査対象とした VOC は表 1 に示す 40 物質であり, 前調査及び後調査における各測定カ所での濃度範囲を表 1 に示した。40 物質の濃度を合計した TVOCs 濃度は, 対策前調査において既にスチームクリーニングや換気による対策を行った 1 階普通教室 2 での 36 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (最小値) から音楽室での 2100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (最高値) であった。より快適な室内環境を実現するための補完的指標として設定された TVOCs の暫定目標値 400 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にこれらの濃度を比較すると, 目標値の約 5 倍の濃度であった音楽室を除き全地点で暫定目標値以下であった (図 1)。比較対照

として, 当所が測定を実施した, H17 年新築の県有庁舎供用 3 ヶ月後の事務室等 5 カ所の濃度及び一般住宅 (鉄骨プレハブ; 入居 5 ヶ月後) の TVOCs 濃度<sup>4)</sup> を示した。芳香族炭化水素類及び脂肪族炭化水素類を主とした事務所及び一般住宅の室内空気の TVOCs 濃度は, 100~200 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  であったが, 仮設校舎の対策前調査では音楽室, 相談室及び普通教室 1, 3, 4 の 5 カ所でこれらの濃度を上回っていた。一方, VOC 低減対策後の調査では, 全ての教室等で 9.3~83 $\mu\text{g}/\text{m}^3$  (対策前の濃度の 4%~59%) に低下していた。対策前/対策後の濃度比率をみると, ほぼ同じ VOC 対策を実施した普通教室 1, 3, 4 では, 普通教室 1 及び普通教室 4 の TVOCs 濃度が対

表 1 揮発性化合物の定量イオン, 室内濃度および検出下限値

揮発性有機化合物名	定量イオン(イ)	確認イオン(イ)	確認イオン(イ)	室内濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )		検出下限値 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )
				実態調査	VOCs対策後	
2-ブタン	43	72	57	ND~5.0	ND~1.7	0.81
酢酸エチル	61	43	70	0.32~1.8	0.43~1.2	0.20
ヘキサン	86	57	43	0.52~4.9	0.30~1.4	0.10
クロロホルム	83	47	85	ND~0.44	0.14~0.40	0.11
1,2-ジクロロエタン	62	49	98	ND~0.27	ND	0.13
2,4-ジメチルペンタン	43	57	85	ND~0.10	ND~0.11	0.08
1,1,1-トリクロロエタン	97	99	61	ND	ND	0.10
1-ブタン	56	41	43	0.33~7.2	ND~1.7	0.17
ベンゼン	78	52	77	0.25~1.0	0.19~0.90	0.15
四塩化炭素	117	119	121	0.43~0.66	0.28~0.57	0.12
1,2-ジクロロプロパン	63	76	62	ND	ND	0.12
トリクロロエチレン	130	95	132	ND	ND	0.11
2,2,4-トリメチルペンタン	57	41	56	ND~0.18	ND~0.38	0.09
ヘプタン	57	71	43	0.36~6.4	ND~1.0	0.13
メチルイソブチルケトン(MIBK)	43	58	85	0.48~25	0.08~1.2	0.08
トルエン	91	92	65	2.1~10	0.78~5.3	0.07
ジブロモクロロメタン	129	127	131	ND	ND	0.14
酢酸ブチル	43	56	73	1.2~89	0.14~4.6	0.04
オクタン	85	43	57	0.33~7.1	ND~0.83	0.10
テトラクロロエチレン	164	131	166	ND	ND	0.12
エチルベンゼン	91	106	77	0.44~3.4	0.16~1.6	0.10
キシレン	91	106	105	1.2~10	0.19~3.7	0.11
スチレン	104	78	103	ND~0.27	ND~0.33	0.07
ノナン	57	43	85	0.6~13	ND~3.4	0.09
$\alpha$ -ピネン	93	77	91	7.5~1900	1.8~58	0.11
1,3,5-トリメチルベンゼン	105	120	77	0.24~4.0	ND~1.3	0.11
1,2,4-トリメチルベンゼン	105	120	77	0.87~11	0.15~3.6	0.10
デカン	57	43	71	1.2~14	0.12~1.1	0.07
p-ジクロロベンゼン	146	111	148	0.33~1.3	ND~0.61	0.10
1,2,3-トリメチルベンゼン	105	120	77	0.26~1.9	ND~1.0	0.10
リモネン	68	93	136	0.50~160	0.15~4.9	0.09
ノナール	57	70	98	1.8~9.9	0.60~3.7	0.11
ウンデカン	57	71	85	0.61~10	ND~3.3	0.07
1,2,4,5-テトラメチルベンゼン	119	134	91	ND~0.33	ND	0.10
デカナル	57	70	82	0.26~3.9	ND~0.65	0.11
ドデカン	57	71	85	0.41~4.8	ND~2.0	0.08
トリデカン	57	71	85	0.15~3.6	ND~5.3	0.08
テトラデカン	57	71	85	0.12~2.7	ND~3.2	0.08
ペンタデカン	57	71	85	0.21~1.5	ND~0.24	0.08
ヘキサデカン	57	71	85	ND~1.6	ND~0.27	0.10
TVOCs				36~2100	9.3~83	

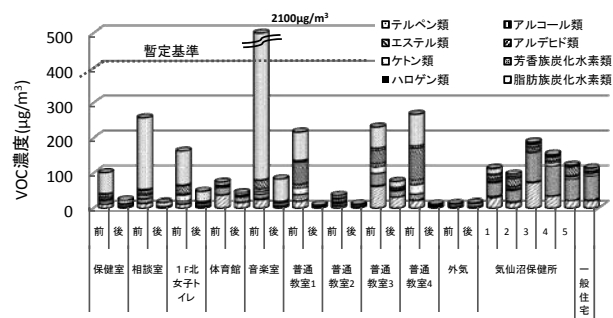


図 1 仮設校舎における VOC 濃度 (対策前後)

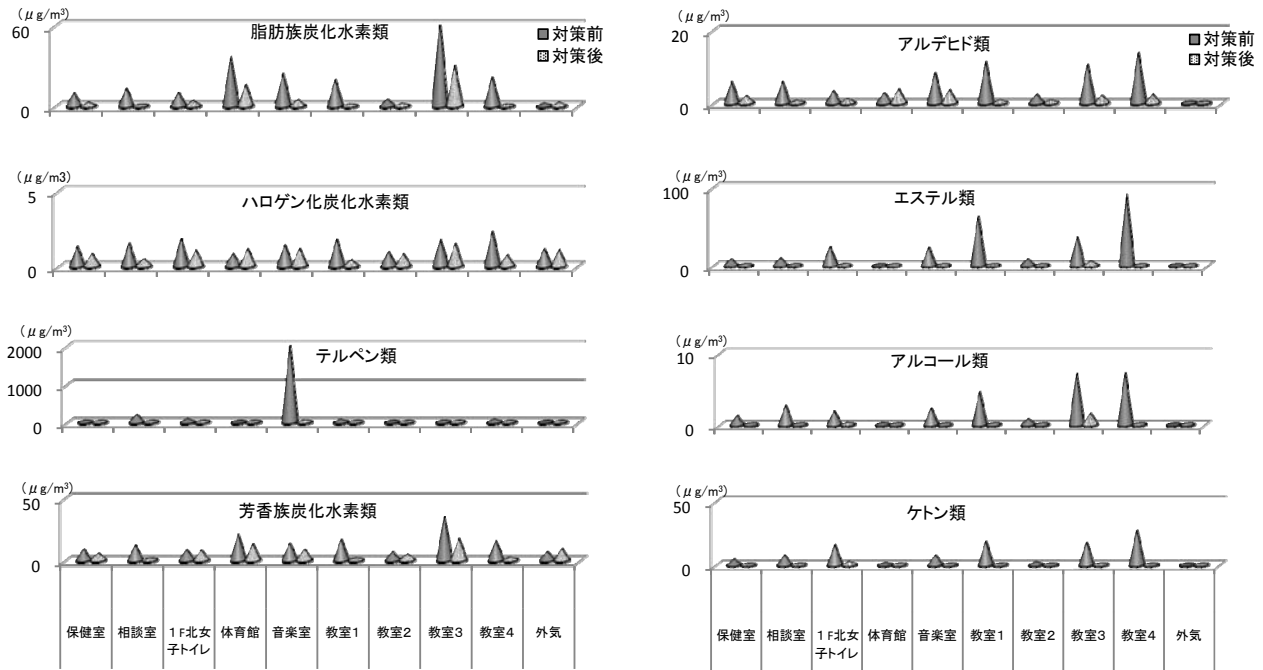


図2 VOC低減対策前後の各教室等における種別VOC濃度

策前の濃度の4%まで減衰した。一方、調査時に、2台設置された空気清浄機のうち1台のみ稼働していた普通教室3では33%であり、他教室に比較してVOC対策後の減衰率が低かった。このことから、活性炭吸着方式空気清浄機がVOC低減対策として非常に有効であることが確認された。

#### 4.2 VOC種類別濃度

検出されたVOCを種類別にみると、対策前調査では音楽室、相談室、保健室及び1階北側トイレの室内空気では、木材等から由来するα-ピネン及びリモネンなどのテルペン類がTVOCs濃度の約60%~96%を占めた。また、体育館ではニス、ワックス由来と考えられるノナン、デカン等の脂肪族炭化水素類濃度が約50%、トリメチルベンゼンが約22%を占めた。普通教室4教室の室内空気ではテルペン類が22%~38%、油性ラッカー、ビニール樹脂用接着剤や壁紙等に含まれる酢酸ブチル、MIBK、ブタノール、トルエン、キシレンが33%~49%を占め、各室内空気中のVOC発生源がそれぞれ異なっていることが示唆された。VOC低減対策前後の濃度について種類別に比較を行ってみると、対策後ではエステル類、アルデヒド類、ケトン類、テルペン類及び脂肪族炭化水素類の濃度の顕著な減衰が認められた(図2)。しかし、普通教室3の室内空気中の脂肪族炭化水素類の減衰は対策前の濃度の約1/2であり、他教室等における減衰割合に比較して低い値となった。これは前項でも述べたとおり、普通教室3の活性炭吸着方式空気清浄機2基のうち1基が調査時に運転されていなかったためと考えられた。塩素化炭化水素類についてみると、1,1,1-トリクロロエタン、1,2-ジクロロプロパン、トリクロロ

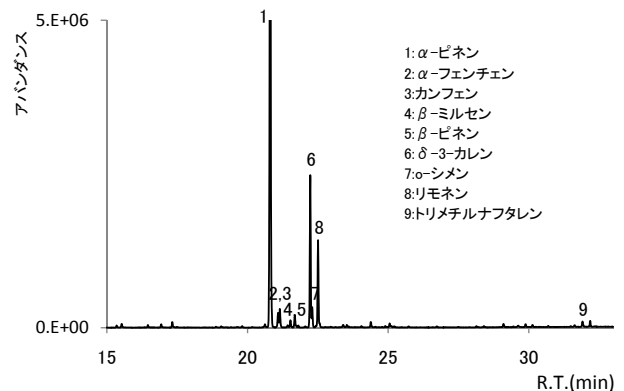


図3 GC/MS-SCAN測定により検出されたVOCのクロマトグラム(音楽室)

表2 VOC室内濃度と嗅覚閾値濃度との比

調査箇所	VOC	室内濃度/嗅覚閾値濃度 (対策前調査)				室内濃度/嗅覚閾値濃度 (対策後調査)			
		酢酸ブチル	α-ピネン	ノナン	デカノール	酢酸ブチル	α-ピネン	ノナン	デカノール
保健室		0.1	0.5	2.3	0.3	0.0	0.1	0.6	0.2
相談室		0.1	1.7	2.3	0.3	0.0	0.1	0.3	0.0
1F北女子トイレ		0.3	0.8	1.4	0.1	0.0	0.2	0.5	0.1
体育館		0.0	0.1	1.2	0.1	0.0	0.1	1.7	0.1
音楽室		0.3	17	3.1	0.6	0.0	0.5	1.6	0.1
普通教室1		0.7	0.7	4.0	1.0	0.0	0.0	0.3	0.1
普通教室2		0.1	0.1	0.9	0.2	0.0	0.0	0.3	0.1
普通教室3		0.4	0.5	3.7	0.9	0.1	0.1	0.7	0.2
普通教室4		1.1	0.7	4.6	1.4	0.0	0.0	0.9	0.2
外気		0.0	0.0	0.2	0.0	0.0	0.0	0.1	0.0

エチレン、ジプロモクロロメタン、テトラクロロエチレンの5物質は、対策前後の両調査において検出されなかった。また、クロロホルム、四塩化炭素及びp-ジクロロベンゼンは低濃度であり、対策前後調査での濃度はほぼ同程度であった。

### 4.3 指針値との比較

指針値が設定されているトルエン、キシレン、エチルベンゼン、スチレン、p-ジクロロベンゼン及びテトラデカンの室内空気中濃度についてみると、対策前調査では全教室等で指針値の4%未満、対策後には2%未満であり全体的に非常に低い濃度であった。キシレン及びスチレン（普通教室3を除く）は、トルエン及びエチルベンゼンに比べて低減対策後の顕著な濃度減衰が認められた。また、暫定指針値が設定されているノナナールは、対策前調査では指針値の5%（普通教室2）～24%（普通教室4）であり、普通教室では教室2を除く3教室で20%以上と他の室内濃度より高い傾向が認められた。対策後調査では全教室等で $3.7\mu\text{g}/\text{m}^3$  (9%) 未満に低下した。

### 4.4 SCAN 分析

対策前調査において試料溶液のGC/MS-SCAN分析を行い、混合標準溶液に含まれていないVOCの検索を行った。この結果、木材を多用している相談室及び音楽室（図3）では木材防腐剤として使用されるトリメチルナフタレンが検出されたほか、 $\delta$ -3-カレン、カンフェン、 $\beta$ -ピネン、シメン等8種類のテルペン類が検出された。これらのテルペン類の多くは混合標準溶液に入っていないため定量はできなかったが、そのピーク面積からテルペン類の濃度はかなり高いと推定された。

### 4.5 嗅覚閾値との比較

VOC 40物質のうち、文献値<sup>5)</sup>による嗅覚閾値が求められる30物質の室内空気中濃度について、「室内濃度/嗅覚閾値濃度」の比率を算出した（表2）。嗅覚閾値との比率が1となる濃度は、ヒトの嗅覚で臭いが感じられる程度の濃度である。表中網掛け部分に示したとおり、VOC対策前調査では酢酸ブチル、 $\alpha$ -ピネン、ノナナール及びデカナールの濃度が1以上の値であった。特に $\alpha$ -ピネンは音楽室において嗅覚閾値の17倍の濃度であった。また、加齢臭の原因物質とされるノナナールは、対策前調査においてスチームクリーニングを実施した普通教室2を除く全教室で1以上の値であり、特に普通教室3教室で高かった。対策後調査では、体育館及び音楽室を除きこれら4物質は全て嗅覚閾値未満となり、VOC低減対策によりほとんど無臭に近い空気環境になったものと考えられた。

## 5 まとめ

プレハブ仮設校舎の室内空気環境について40種類のVOC濃度の調査を実施した結果、音楽室ではTVOCs暫定目標値の5倍を超える $2100\mu\text{g}/\text{m}^3$ であった。その95%以上がテルペン類であり、発生源としては建材として使用されているロシア産アカマツが疑われた。テルペン類は森林浴の主な成分であり、この香りにはストレスを緩和させる効能や消臭・脱臭効果、抗菌・防虫効果がある<sup>6)</sup>が、このような香りでも、高濃度で多量に暴露されると不快感を生起させる。また、テルペン類にはオゾンとの共存下で、反応生成物による気道刺激性が報告<sup>7)</sup>されており、人体に悪影響を及ぼすことが知られている。このため、仮設校舎の室内VOC低減対策として、石膏ボードによるアカマツ材の封じ込めや中木等の除去、換気扇増設や24時間換気などによる換気の徹底及び活性炭吸着方式空気清浄機の設置を行った。この結果、調査対象とした全教室等の室内TVOCs濃度は $9.3\sim 83\mu\text{g}/\text{m}^3$ と暫定目標値の約1/5以下まで低下した。また、嗅覚的にも一部を除きほとんど無臭レベルまで減衰した。以上のことから、VOC低減対策として講じた措置は有効であったと考えられる。

## 参考文献

- 1) 文部科学省スポーツ・青少年局長通知「[学校環境衛生の基準]の改訂について」平成16年2月10日、15文科ス第402号(2004)。
- 2) 宮城県：「県有施設のシックハウス対策マニュアル」,平成19年3月(2007)。
- 3) 厚生労働省医薬局長通知「室内空気中化学物質の室内濃度指針値及び標準的測定方法等について」平成13年7月25日、医薬発第828号(2001)。
- 4) 長船達也, 氏家愛子, 赤間仁, 大江浩: 宮城県保健環境センター年報, 21, 75-79 (2003)。
- 5) 永田好男, 竹内教文: (財)日本環境衛生センター年報, 17, 77-89 (1990)。
- 6) 岩橋基行: 「香りと環境」, 理工図書 (1995)。
- 7) Wolkoff, P., Clausen, P.A., Jensen, B., Nielsen, G.D., Wilkins, C.K.: Indoor Air, 7, 92-106 (1997)。

# 畜舎汚水中の抗菌剤の分析

## Analysis of Antibiotic Residues in Swine Wastewater

遠藤美砂子\*<sup>1</sup> 島山 敬 中村 朋之\*<sup>2</sup>  
川向 和雄\*<sup>3</sup>

Misako TAGIRI-ENDO, Takashi HATAKEYAMA, Tomoyuki NAKAMURA  
Kazuo KAWAMUKAI

畜舎の排水処理設備における抗菌剤の消長を把握するための調査を行った。畜舎汚水をオンライン固相抽出-LC/MS/MSにより迅速簡便に分析する方法により、畜舎汚水の季節毎の抗菌剤濃度を測定した。使用量の多い抗菌剤は畜舎場内水で高濃度に検出される傾向が認められたが、最終放流水の濃度は抗菌剤の種類により異なっていた。抗菌剤の分解性が放流水中の残留量に関係していると考えられる。

キーワード：抗菌剤；豚舎汚水；LC/MS/MS；オンライン固相抽出

**Key words**：Antibiotics；Swine wastewater；LC/MS/MS；Online solid-phase extraction

### 1 はじめに

国内外の水環境中からさまざまな医薬品の検出が報告されている。一級河川の全国調査では人口密度と人用医薬品検出量には正の相関があるとされ、動物用医薬品では畜産由来と思われる特定の医薬品が局所的に検出される事例が報告されている<sup>1)</sup>。医薬品の中でも抗菌剤は薬剤耐性菌の増加を引き起こすことが懸念されており、可能な限り環境中に放出しないことが望ましい。抗菌剤の使用量は動物用が人用の2倍程度であり、畜産業が盛んな本県においては、畜舎から排出される抗菌剤の量を把握しておくことが重要である。

本県では平成19年度に、下水処理水、河川水、畜舎汚水について動物用抗菌剤を中心とした医薬品類の分析方法を検討するとともに、それら医薬品の分布状況について調査した。下水処理水からは、人用の抗菌剤であるクラリスロマイシン、レボフロキサシン、スルファピリジンが200ng/L以上検出され、他県で報告されている例と同様な結果であった<sup>1, 2)</sup>。また、畜舎や水産養殖場が密集する地域の河川水をスクリーニング分析したところ、特に高濃度に検出される医薬品を見つけることはできなかった。一方、畜舎の放流水からは100ng/L以上検出された抗菌剤が存在した。

そこで平成20年度は、畜舎の排水処理設備における抗菌剤の消長を把握するための調査を行った。先に畜舎汚水をオンライン固相抽出-LC/MS/MSにより迅速簡便に分析する方法を確立し報告<sup>3)</sup>した。本報では本分析法により、畜舎場内水の季節毎の抗菌剤濃度を測定した結果および土壌中の抗菌剤の分析方法を検討した結果について報告する。

### 2 方法

#### 2.1 水試料および分析対象物質

県内の畜舎(2カ所)が共同利用している排水処理施設(図1および表1)を流れる水を季節毎(5月, 8月, 10月, 1月)に採水し試料とした。測定対象物質は、畜舎で使用されているフロルフェニコール, リンコマイシン, オキシテトラサイクリン, タイロシン, バルネムリンとした。

#### 2.2 分析条件

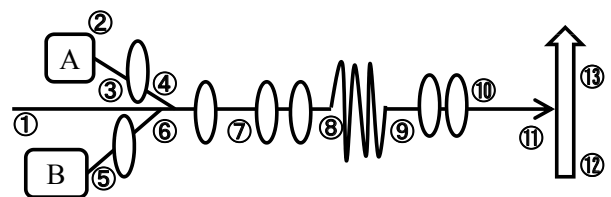
LCはAgilent1100シリーズを用い、精製カラムはOasis HLB(2.1×20mm, 25μm)、分析カラムはAgilent ZORBAX SB-Aq(2.1×100mm, 1.8μm)、移動相は0.2%ギ酸とアセトニトリルのグラジェント溶出とし、試料注入量は100μLとした。MS/MSはApplied Biosystems API 3000を用いた。各物質のMS/MS条件は表2に示した。

#### 2.3 水試料の調製

試料水は、遠心分離後、ディスクフィルターでろ過し、オンライン固相抽出-LC/MS/MSに供した。試料中濃度が1000ng/Lを超える場合は、試料を10倍希釈して再度分析した。添加試料は試料水に2000, 1000, 500, 100ng/Lとなるように標準溶液を加えて同様に操作し、試料中濃度は標準添加法で算出した。

#### 2.4 土壌試料の調製方法

堆肥試料の分析法検討のために、抗菌剤汚染のない土壌試料を用いて添加回収試験を行った。検討対象物質は、



①~⑬：採水場所、□：畜舎、○：ラグーン、≡：河川

図1 畜舎における採水場所

\* 1 現 仙南保健所

\* 2 現 環境生活部原子力安全対策室

\* 3 現 宮城調理製菓専門学校



表1 採水場所における季節毎の抗菌剤濃度

採取月	医薬品	検出下限	沢上流域			A畜舎			B畜舎		緩衝池	折り返し水路		緩衝液	沢下流域	河川			
			①上流域対象	②スクリーン後	③最終沈殿水	④沢への放流口	⑤ラグーン流入水	⑥ラグーン処理水	⑦2池流出水	⑧折り返し水路入口	⑨折り返し水路出口	⑩緩衝池出口	⑪放流口下流	⑫下流	⑬上流				
5月	フロルフェニコール	100	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-		
8月			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
10月			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1月			ND	3,100	250	ND	ND	110	120	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5月	リンコマイシン	10	140	400,000	2,200	4,000	23,000	120	1,400	2,800	2,600	3,200	1,000	-	-	-	-	-	
8月			650	93,000	230	2,200	30,000	160	530	650	750	610	700	83	ND	ND	ND	ND	
10月			69	190,000	350	990	54,000	140	390	470	460	420	360	31	ND	ND	ND	ND	ND
1月			110	210,000	64,000	9,500	150,000	54,000	7,000	4,300	6,300	4,700	4,700	170	ND	ND	ND	ND	ND
5月	オキシテトラサイクリン	100	ND	160,000	3,900	280	18,000	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	
8月			ND	200,000	10,000	310	20,000	180	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
10月			ND	760,000	34,000	700	15,000	240	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1月			ND	420,000	46,000	1,200	3,600	1,200	350	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5月	タイロシン	50	ND	1,400	560	ND	42,000	19,000	620	430	360	340	150	-	-	-	-	-	
8月			ND	830	940	90	11,000	3,600	680	680	420	300	180	ND	ND	ND	ND	ND	
10月			ND	1,700	520	83	13,000	490	89	69	100	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1月			ND	5,700	900	61	970	940	930	50	170	220	120	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5月	バルネムリン	100	ND	ND	ND	ND	120	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	
8月			ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	
10月			ND	ND	ND	ND	2,000	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
1月			ND	ND	ND	ND	250	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

単位:ng/L, ND:検出限界以下

水試料からの検出量が少なかったフロルフェニコールを除く4物質とした。分析方法は、水試料に準じた。

### 3 結果と考察

#### 3.1 水試料の分析

畜舎汚水は試料毎のマトリックスが異なり、MS/MSでの絶対検量線法による測定では、正確な定量値を得ることができない。一方、抗菌剤毎の残留濃度が大きく異なる(1,000,000~10ng/L未満)ため、標準添加法によるオフライン固相抽出は操作が煩雑になる。そこで、オンライン固相抽出法-LC/MS/MSにより分析する方法を開発した<sup>3)</sup>。本法の検出下限値は100~10ng/Lであり、絶対検量線法による真度は87~100%、日内再現性2.1~12%、日差再現性6~17%であった。本法により畜舎で使用されている5種の抗菌剤の排水中の残留濃度を調査した。また、試料中から検出されたオキシテトラサイクリンおよびタイロシンは、標準品とは保持時間の異なる異性体が検出され、標準添加法ではこれらの異性体の確認が容易であった。

年間使用量の多い抗菌剤(リンコマイシン、オキシテトラサイクリン)は排水処理の上流側で高濃度に検出された。また、複数のラグーンおよび折り返し水路を通るうちに排水中の残存濃度が減少する傾向が認められた。季節毎の排出量は大幅に変動することはなかった。畜舎Aと畜舎Bで使用している抗菌剤が異なること、両畜舎の排水処理方式の違いから抗菌剤の排出濃度に違いが

みられた。排水処理が抗菌剤の分解・希釈に影響していることが示唆された。

抗菌剤のうち、リンコマイシン、タイロシンが放流水(採水場所⑩)でそれぞれ1,000および100ng/L程度検出された。リンコマイシンは、畜舎の上流域(採水場所①)からも検出されることや排水路中(採水場所⑦~⑩)でも減少しにくいこと(表1)から、この排水処理により減衰させることが難しい物質と思われる。また、リンコマイシンは汚泥・堆肥中に蓄積し、周辺環境への汚染源となる可能性も考えられる。オキシテトラサイクリンは使用量および排出量が多いにもかかわらず放流水の濃度は100ng/L未満であった。抗菌剤の分解性が放流水中の残留量に関係していると考えられる。

#### 3.2 土壌試料の分析条件の検討

土壌試料の添加回収試験において、有機溶媒のみで抽出した場合リンコマイシンの、緩衝液のみで抽出した場合はオキシテトラサイクリンの回収率が低かったため、緩衝液と有機溶媒の混合液で抽出する方法を検討した。至適条件を図3に示す。土壌試料抽出液を標準添加法で分析する方法を用いた。土壌試料に50ng/g添加した場合の回収率を、表3に示す。回収率は108~132%であった。実際の堆肥や汚泥を分析する場合は、それぞれ試料マトリックスの状態が異なるため、試料への標準添加による分析を行わなければ、誤差が大きくなることが予想される。

表2 MS/MS 測定条件

医薬品名	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)
フロルフェニコール	356.02	184.96
	356.02	336.00
リンコマイシン	407.20	126.30
	407.20	82.27
オキシテトラサイクリン	461.16	426.10
	461.16	201.10
タイロシン	916.52	174.20
	916.52	101.00
バルネムリン	565.37	263.10
	565.37	72.10

上段: 定量イオン、下段: 確認イオン

表3 土壌試料における抗菌剤の添加回収率

抗菌剤	回収率(%)	RSD(%)
リンコマイシン	120	17
オキシテトラサイクリン	108	0.18
タイロシン	132	5.0
バルネムリン	114	4.1

n=3; 50ng/g添加

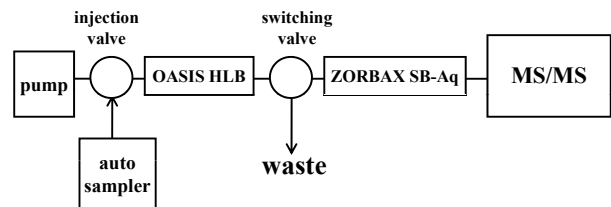


図2 オンライン固相抽出-LC/MS/MSの構成

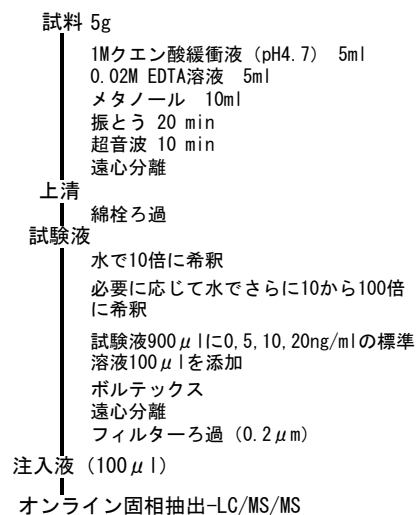


図3 堆肥試料の調製法

#### 4 まとめ

平成19年度の調査で畜舎からの放流水は、検出可能な濃度で抗菌剤が残留している可能性が高いことがわかった。本年度は、畜舎の排水処理設備における抗菌剤の消長を把握するための調査を行った。畜舎汚水をオンライン固相抽出-LC/MS/MSにより迅速簡便に分析する方法により、畜舎汚水の季節毎の抗菌剤量を測定した。年間使用量の多い抗菌剤（リンコマイシン、オキシテトラサイクリン）は排水処理の上流側で高濃度に検出されたが、最終放流水の濃度は抗菌剤の種類により異なっていた。抗菌剤の分解性が放流水中の残留量に関係していると考えられる。特にリンコマイシンは畜舎外の上流付

近からも検出されることから、汚泥・堆肥中に蓄積し、周辺環境への汚染源となる可能性も考えられる。今後は周辺土壌や堆肥への抗菌剤の残留状況についても調査する必要がある。

#### 参考文献

- 1) 清野敦子, 益永茂樹:水環境学会誌, 29, 186 (2006).
- 2) 八十島誠, 山下尚之, 中田典秀, 小森行也, 鈴木穰, 田中宏明:水環境学会誌, 27, 707 (2004).
- 3) M. Tagiri-Endo, T. Hatakeyama, T. Nakamura, K. Kawamukai: *Anal. Bioanal. Chem.* 393, 1367 (2009).

## 宮城県における残留動物用医薬品一斉試験法の 厚生労働省ガイドラインによる妥当性評価

### Validation by Guideline of Ministry of Health, Labor and Welfare of Simultaneous Method of Residual Veterinary Drugs adopted in Miyagi Prefecture

遠藤美砂子\*<sup>1</sup> 清野 陽子 濱名 徹  
Misako TAGIRI-ENDO, Yoko KIYONO, Toru HAMANA

宮城県で導入したオンライン固相抽出-LC/MS/MS 分析法について、平成 19 年 11 月 15 日付け食安発第 1115001 号「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」の基準による検証を行った。検証は分析者 2 名がそれぞれ添加試料を 1 日 2 回、3 日間分析する枝分かれ実験計画により、添加濃度 0.01ppm で行った。その結果、行政モニタリング検査 110 医薬品（報告医薬品数として 107 医薬品）のうち、検査可能な医薬品数は、鶏卵 77、鶏肉 91、豚肉 91、牛肉 99 であった。

キーワード：動物用医薬品；妥当性評価ガイドライン；LC/MS/MS；オンライン固相抽出

**Key words**：Veterinary Drugs；Adequacy evaluation guideline；LC/MS/MS；Online solid-phase extraction

#### 1 はじめに

当所では平成 18 年度から残留動物用医薬品分析にオンライン固相抽出-LC/MS/MS 分析法（以下「SOP 法」という。）を導入し、行政モニタリング検査を実施してきた。分析法の評価は、スクリーニング検査としての許容条件として暫定的に回収率 60～140%，相対標準偏差 20% 以内に設定し、平成 19 年度は鶏卵や畜肉について 80～88 の医薬品を検査することができた。しかし、平成 19 年 11 月 15 日付け食安発第 1115001 号「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（以下「ガイドライン」という。）において、通知試験法以外の方法によって試験を実施しようとする場合の同等な試験法として、このガイドラインの基準に適用していることが確認されたものという具体的な提示がなされた。そこで平成 20 年度は、精度管理においてガイドラインの評価法を導入したので、その結果について報告する。

#### 2 方法

##### 2.1 試料および分析対象医薬品

試料は平成 20 年度残留動物用医薬品モニタリング検査（買い上げ）検体として搬入された鶏卵・鶏肉・豚肉・牛肉の中、各々任意の 1 検体を用いた。分析対象医薬品は表 1 に示した 110 医薬品とした。

##### 2.2 試験溶液の調製

試験溶液の調製方法は SOP 法<sup>1-3)</sup> に準じた。概要を図 1 に示す。添加試料は、添加後直ちに抽出操作を行った。

##### 2.3 装置および測定条件

LC は Agilent 1100 シリーズを用い、精製カラムは

Oasis HLB (2.1×20mm, 25 $\mu$ m)、分析カラムは Agilent ZORBAX SB-Aq (2.1×50 mm, 3.5 $\mu$ m)、移動相は 0.1% 酢酸とアセトニトリルのグラジエント溶出とし、試料注入量は 20 $\mu$ L とした。MS/MS は Applied Biosystems API 3000 を用いた。オンライン固相抽出-LC/MS/MS の分析条件は SOP 法<sup>1-3)</sup> に準じた。分析条件の評価は 0.01ppm の標準溶液のピークが S/N $\geq$ 10 とした。また、試料中医薬品濃度はマトリックス添加法で算出した。

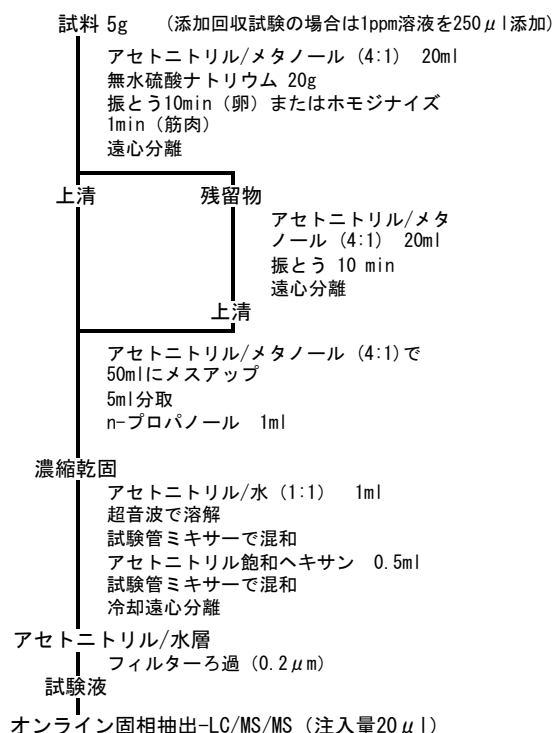


図 1 試験溶液の調製法

\* 1 現 仙南保健所

## 2.4 評価の方法

### 2.4.1 枝分かれ実験

ガイドラインでは5回以上の試行回数による併行精度及び室内精度による評価が必要である。今回は分析者2名がそれぞれ添加試料を1日2回、3日間分析する枝分かれ実験計画（併行条件=2, 室内再現条件=6）により評価することとした。添加濃度は原則として2種類と規定されているが、一斉分析法であることを考慮し、「一律基準の濃度かつ定量限界濃度」である0.01ppmとした。

### 2.4.2 定量限界および選択性の評価

SOP法が一斉分析法であることを考慮し、定量限界を一律基準と同じ0.01ppmとした。0.01ppmの定量限界であれば多くの医薬品の残留基準値以下である。食品、添加物等の規格基準第1のAの1で「含有してはならない」とされる個別に残留基準値が設定されていない抗生物質または化学合成品たる抗菌性物質（以下「不検出基準物質」という。）についても0.01ppmを定量限界として検査を実施した。

選択性の評価は、ブランク試料について操作して定量を妨害するピークが認められた場合は、マトリックス添加法により作成した0.01ppmの検量線用混合標準溶液のピーク高さの1/3よりもブランク試料のピーク高さが小さい場合は許容できる範囲とみなした。

### 2.4.3 真度と精度の評価

添加濃度が0.01ppmであることから、枝分かれ実験から求めた回収率が70～120%、併行精度が25RSD%以下、室内精度が30RSD%以下を許容範囲とした。併行精度及び室内精度はMicrosoft Excelを用いて一元配置の分散分析等を計算することにより求めた。

## 3 結果と考察

添加濃度0.01ppmにおける枝分かれ実験結果を表1に示した。今回検討した110医薬品のうち、ガイドラインに適合する医薬品数は、鶏卵77, 鶏肉91, 豚肉91, 牛肉99であった（5-ヒドロキシチアベンダゾールとチアベンダゾール、ネオスピラマイシンとスピラマイシン、シプロフロキサシンとエンロフロキサシンは和で算出）。また、各試験品目のいずれにおいてもガイドラインに適合しない医薬品はなかった。鶏卵ではセフェム系（セフロキシム、セファピリン、セファゾリン、セフォペラゾン）、ニューキノロン系（シプロフロキサシン、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、エンロフロキサシン、マルボフロキサシン、ノルフロキサシン、オフロキサシン、オルビフロキサシン、サラフロキサシン）抗生物質の回収率が低く、畜肉では逆にそれらの抗生物質は回収率が良好であった。

ガイドラインでは添加を行う食品の種類として、鶏卵と筋肉（牛、豚、鶏等）は別に検証するとしているが、同じ筋肉であっても種類によって回収率に違いが認められた。いずれの畜肉でもガイドラインの基準を満たせなかったものは、ナイカルバジン、キタサマイシンであった。鶏肉のみ検査できなかったものは、フロルフェニコール、レバミゾール、ピランテル、トルフェナム酸、ハロフジノン、モネンシン、ピペロニルブトキシド、ナラシンであり、豚肉のみ検査できなかったものは、アンピシリン、ジョサマイシン、スルファベンズアミド、ノボピオシン、フルアズロン、エトキサゾールであった。牛肉のみ検査できなかったのは、メロキシカムのみであった。今回の結果では、畜肉のうち牛肉が99医薬品で最も検査可能物質数が多かったが、この結果は過去の精度管理の結果と必ずしも一致しなかった。添加回収試験の結果は、筋肉の種類で異なるのはもちろん、検体毎にも異なることが予想される。また、ブランク試料を操作して得られたピークと標準品のピークの判別は目視によるため、異なった種類のブランク試料で判定しようとする誤りが発生しやすくなる。したがって少なくとも筋肉の種類ごとに精度管理を実施するのが望ましく、検証は検査実施と同時に回収率と併行精度により評価する方が良いと考えられる。

## 4 まとめ

行政モニタリング検査で採用しているオンライン固相抽出-LC/MS/MS分析法について、ガイドラインによる検証を行った。添加濃度を0.01ppmとし、枝分かれ実験から求めた回収率が70～120%、併行精度が25RSD%以下、室内精度が30RSD%以下を許容範囲とした。その結果、行政モニタリング検査110医薬品のうち、検査可能な医薬品数は、鶏卵77, 鶏肉91, 豚肉91, 牛肉99であった。検査可能医薬品は、試験品の種類によって異なり、特に鶏卵と畜肉で大きく異なっていた。しかし、畜肉の種類ごとにも異なっていたことから、精度管理は従来と同様に検査実施時に試験品の種類毎に実施した方が良いと思われる。

## 参考文献

- 1) 遠藤美砂子, 柳田則明: 分析化学, 56, 317 (2007)
- 2) 遠藤美砂子, 柳田則明: 宮城県保健環境センター年報, 25, 62 (2007).
- 3) 遠藤美砂子, 佐藤勤: 宮城県保健環境センター年報, 26, 115 (2008).

表 1 枝分かれ実験による真度 (回収率) と精度の結果

医薬品名	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	鶏卵				豚肉				牛肉			
			回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)
2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	-185.9	-138.9	83.8	10.2	11.2	70.4	5.5	19.8	74.5	8.6	28.2	80.3	11.4	21.1
セプロキシム	-423.0	-318.0	36.4	18.7	24.3	88.4	6.4	6.7	85.2	8.7	9.8	78.5	4.3	5.9
クロルスロン	-379.9	-343.8	86.6	5.2	7.3	86.3	5.3	21.4	74.9	13.7	19.8	107.5	8.6	13.3
クロキサシリン	-434.1	-292.9	21.9	22.3	42.2	88.3	9.5	12.2	85.2	9.2	9.4	95.1	5.3	8.7
シクラズリル	-405.1	-333.9	89.3	3.6	10.8	70.4	5.6	6.5	79.7	16.4	18.0	86.3	4.0	15.7
ジフルベンズロン	-309.0	-156.0	93.3	8.4	11.6	79.8	7.0	24.9	83.5	10.8	17.7	88.2	7.1	13.6
エトパベイト	-235.9	-191.9	81.3	14.7	21.2	74.2	10.6	17.2	83.4	8.3	12.7	98.0	13.5	14.2
フロルフェニコール	-355.8	-335.8	89.1	8.2	10.5	92.2	10.1	31.7	89.5	17.3	20.0	89.9	9.2	11.9
モネンシン	-669.5	-87.1	105.5	4.6	11.2	105.5	6.0	33.1	71.3	13.5	14.3	87.2	8.3	9.1
ナイカルマジン	-300.9	-136.9	74.9	9.1	19.5	53.2	12.1	58.5	50.0	26.1	37.4	61.3	20.3	27.1
ニフルスチレン酸ナトリウム	-257.9	-183.8	-	-	-	92.1	18.4	19.3	-	-	-	-	-	-
ナラシン	-763.5	-255.1	92.8	2.8	12.7	225.1	12.1	73.7	84.4	23.5	24.8	108.6	16.6	17.0
ベンジルペニシリン	-332.9	-192.0	-	-	-	90.6	11.1	22.0	82.9	7.4	9.3	96.4	14.6	16.6
フェノキシメチルペニシリン	-349.0	-207.9	-	-	-	91.4	7.0	9.9	86.8	7.0	7.6	82.9	4.1	10.9
スルファモイルダブゾン	-326.0	-169.9	99.1	21.4	22.8	89.4	18.7	22.3	99.0	17.6	38.9	-	-	-
サリナマイシン	-749.5	-241.1	101.3	5.6	10.1	128.0	7.2	47.1	77.5	28.2	31.1	94.2	6.6	14.9
スルファエトラン	-334.1	-136.4	80.8	10.1	12.0	81.4	9.0	13.6	80.5	12.7	21.7	99.4	13.3	14.1
トルフェナム酸	-260.0	-215.9	87.8	3.1	7.4	150.2	8.3	48.2	77.8	12.8	20.5	94.4	6.4	15.2
チアゾフェニコール	-353.8	-185.0	85.1	4.2	7.6	96.6	11.3	20.2	97.7	9.1	20.3	95.4	15.4	15.6
バージニアマイシン	-524.3	-245.1	69.2	39.8	41.8	80.4	11.0	18.6	82.1	13.2	21.8	76.6	15.5	15.6
5-70E1Lスルファエニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	240.0	198.1	84.7	10.9	12.1	83.3	3.9	7.3	84.1	1.2	3.4	80.8	9.6	11.3
アンピシリン	350.1	106.0	-	-	-	80.1	5.0	7.2	58.4	5.6	11.9	70.2	7.0	14.8
アザペロン	328.2	165.0	83.8	23.2	29.4	87.5	10.8	16.0	89.2	4.9	10.0	87.1	7.5	7.8
セファピリン	424.0	292.2	35.4	21.4	27.0	81.3	6.8	12.5	84.8	6.7	7.5	78.2	9.9	11.0
クロピドール	192.0	101.1	89.7	20.7	23.8	94.6	5.1	7.6	92.1	7.9	8.8	83.8	7.4	11.8
シプロフロキサシン	332.1	288.1	40.9	11.9	16.9	85.5	11.9	13.0	87.9	4.2	7.1	80.0	7.4	7.4
ジアベリジン	261.1	123.2	83.1	12.9	15.0	78.9	23.1	26.3	82.4	6.6	7.5	81.0	12.7	14.5
ジブチルサキシネート	231.2	101.1	89.0	20.7	24.1	84.4	8.9	14.9	69.7	11.4	17.9	99.5	10.2	11.1
ジフロキサシン	400.2	356.2	62.6	11.7	21.5	92.1	4.1	4.8	85.4	6.6	7.8	86.1	6.6	7.8
ダノフロキサシン	358.1	314.2	55.3	12.0	18.2	87.0	7.3	7.5	82.6	8.3	15.6	80.4	14.0	16.0
ダイアジン	305.1	169.1	88.3	9.4	13.4	94.2	4.6	23.3	77.7	13.5	14.9	96.9	5.1	6.6
エンロフロキサシン	360.0	316.2	58.3	11.6	14.3	91.6	6.9	7.7	92.1	4.0	7.1	89.2	5.2	7.4
フルアズロン	506.1	158.2	97.9	13.4	20.1	85.3	21.5	28.5	49.7	33.8	46.4	87.6	9.8	17.9
インメタジウム	460.2	298.1	85.7	3.8	22.6	79.4	5.9	27.4	113.0	14.1	17.5	103.9	7.9	9.4
ケトプロフェン	255.2	209.1	75.6	20.5	21.4	84.9	7.9	13.8	81.9	8.5	11.9	112.1	7.5	11.5
キタサマイシン	772.6	109.2	82.1	14.8	18.4	60.0	11.9	22.9	38.7	12.7	33.9	60.9	12.8	13.6
レバミゾール	204.8	178.2	90.7	11.9	12.4	85.5	34.4	36.1	93.0	5.3	6.2	89.9	8.4	10.2

(次ページに続く)

医薬品名	鶏卵				鶏肉				豚肉				牛肉				
	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率 (%)	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)
マルボフロキサシン	363.2	320.1	51.9	16.9	30.9	78.9	12.0	18.4	73.0	18.8	20.8	73.8	18.9	21.1			
モランテル	220.9	123.2	102.1	19.5	24.5	94.5	2.2	6.7	100.1	13.3	15.8	81.1	9.7	16.0			
メロキシカム	352.1	115.1	70.3	8.1	10.5	88.6	4.1	5.4	74.5	5.7	6.8	65.4	14.6	14.7			
ノルフロキサシン	320.2	276.1	38.4	9.0	41.6	78.4	12.2	13.4	84.3	10.7	11.3	78.8	9.7	13.7			
ネオスピラマイシン*1	699.3	174.2	106.6	10.4	25.4	116.9	8.2	19.2	-	-	-	89.7	8.6	12.3			
オフロキサシン	362.1	318.2	60.4	7.6	17.6	86.3	15.0	16.7	92.8	0.9	3.2	87.4	7.6	8.6			
オルフロキサシン	396.1	352.2	-	-	-	86.3	4.6	9.0	92.3	3.9	10.1	78.5	8.4	13.7			
オルメプリム	274.9	123.2	72.8	23.5	24.8	85.8	16.4	17.9	92.3	8.1	8.7	79.3	8.1	15.7			
プロボキスル	210.2	111.1	78.0	11.5	24.7	86.8	2.5	15.4	76.4	3.7	12.1	86.4	6.3	10.6			
ピベロニルプトキジド	356.3	171.2	85.4	8.9	30.0	167.7	8.6	60.8	95.9	15.7	15.9	118.7	9.7	12.9			
ピランテル	207.0	150.2	97.2	6.5	12.7	94.2	32.2	35.5	97.5	5.8	6.1	90.6	8.6	10.1			
プロペタンホス	282.1	138.0	99.7	8.7	15.7	73.6	8.6	10.4	72.1	11.5	16.3	95.7	6.8	24.2			
ピリメタミン	248.8	177.1	80.9	7.0	19.9	85.0	7.1	9.2	78.3	4.9	6.5	80.2	6.0	10.3			
スルファセタミド	215.1	156.0	71.6	10.6	18.3	93.7	8.6	9.8	82.6	8.4	10.7	97.5	11.3	11.5			
スルファジメトキシ	311.0	156.1	78.4	6.7	13.7	84.8	6.5	10.1	75.0	6.6	11.3	90.2	8.0	8.1			
スルファドキシ	311.0	156.1	70.1	8.5	16.8	93.1	4.2	23.8	75.3	7.8	10.7	80.7	6.6	7.3			
スルファジアジン	251.1	156.0	79.3	3.0	13.1	86.9	2.4	10.5	77.0	8.3	9.2	83.2	3.5	8.5			
スルファグアニジン	215.1	92.2	73.6	7.3	16.2	88.2	6.5	7.6	78.2	9.3	10.9	87.5	5.1	5.4			
スルファモノトキシ	281.1	156.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	83.8	9.9	18.2			
スルファメトキシペリダジン	281.0	156.0	77.4	11.5	17.8	95.3	15.3	16.5	88.8	12.9	13.8	91.8	8.8	10.2			
スルファメトキサゾール	254.1	92.2	72.5	5.5	10.8	85.2	3.0	6.7	79.0	11.0	15.5	85.9	5.0	8.6			
スルファピリジン	250.1	156.0	91.2	4.9	15.5	94.2	7.4	7.9	83.9	5.2	9.0	81.5	7.7	9.8			
スピラマイシン*1	843.3	174.3	102.7	10.4	14.5	99.1	9.8	13.5	-	-	-	75.9	15.2	15.5			
サラフロキサシン	386.0	342.1	48.7	9.0	15.1	76.3	6.4	13.7	79.7	8.1	9.4	76.1	7.2	12.3			
スルファチアゾール	256.0	156.0	71.4	6.1	13.2	87.2	3.2	4.1	77.8	7.6	7.8	77.8	8.4	10.1			
チアベンダゾール	201.8	175.0	89.6	4.3	10.3	82.5	10.6	15.1	88.4	6.7	10.3	86.4	7.5	10.6			
5-ヒドロキシチアベンダゾール	217.9	191.0	80.0	20.4	26.3	79.7	10.5	12.4	80.7	5.3	7.3	74.6	7.6	9.3			
トリクロルホン	257.0	127.1	-	-	-	98.3	7.2	12.6	87.0	4.7	13.0	92.2	11.0	12.2			
トリメトプリム	290.9	230.1	85.2	14.6	16.8	83.8	8.7	9.5	87.8	4.6	6.1	78.6	8.4	18.8			
トリベレナミン	256.3	211.1	72.0	17.6	18.9	93.9	4.6	13.0	88.3	11.1	12.3	87.7	5.1	8.3			
ハルネムリン	565.4	263.1	93.2	15.5	20.0	83.0	5.1	9.0	77.4	7.7	8.6	76.4	5.6	13.3			
キシラジン	221.1	90.2	100.0	7.7	18.2	87.0	10.7	11.1	90.3	3.3	7.3	79.4	4.6	16.2			
アルベンダゾール	266.0	234.0	84.0	10.7	11.6	81.2	3.1	8.5	76.3	10.8	12.4	79.5	6.9	7.5			
セファゾリン	455.0	323.0	34.8	15.2	27.8	76.7	12.8	21.1	81.1	6.4	11.9	86.2	7.8	11.2			
セフォペラゾン	646.2	530.2	31.9	15.1	34.4	87.3	7.1	9.7	86.6	11.9	12.2	80.1	6.4	9.2			
ジフロゾン	361.1	222.1	101.7	14.2	14.9	-	-	-	66.2	14.0	23.4	77.2	16.0	18.1			
デキサメタゾン*2	435.2	415.1	-	-	-	75.8	14.3	14.3	78.0	12.3	15.1	93.4	9.7	11.2			
エプリノメクセン	914.5	186.2	81.5	10.7	13.0	82.3	10.6	13.7	77.8	8.7	9.8	89.6	9.5	14.0			

(次ページに続く)

医薬品名	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	鶏卵				豚肉				牛肉			
			回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)	回収率	併行精度 (%RSD)	室内精度 (%RSD)
エリスロマイシン	734.5	156.2	96.6	11.1	14.3	86.1	8.6	8.9	82.0	4.0	6.7	85.3	3.8	5.9
エトキシキン	218.3	148.2	73.8	5.9	7.9	52.9	9.9	44.5	73.7	10.1	10.3	63.3	41.1	42.4
エトキサゾール	360.2	141.1	83.8	8.3	11.8	72.6	5.2	25.1	64.0	20.6	24.6	84.1	6.4	13.9
フェノカルブ	208.1	95.2	87.4	8.3	10.4	72.8	4.9	13.0	70.0	10.5	12.2	85.5	6.1	10.1
フルベンダゾール	313.9	282.0	89.1	6.3	11.4	81.5	6.0	10.0	76.9	7.8	10.6	83.5	4.4	7.8
ファミフォル	326.1	93.1	87.0	11.0	14.7	70.9	8.6	12.3	70.0	13.0	25.6	95.8	10.4	10.8
フルメキン	262.1	202.2	49.4	13.5	15.2	79.2	7.2	9.7	78.2	9.1	10.1	83.0	4.8	13.2
フルニキシン	297.1	264.0	71.8	5.8	10.5	92.6	3.5	13.9	79.6	5.0	8.3	90.6	6.4	6.8
ヒドロコルチゾン	405.2	327.2	90.0	7.7	11.2	75.6	8.0	10.7	80.6	5.6	13.1	86.2	9.4	10.1
ハロフゾン	416.0	138.2	85.0	15.5	19.3	69.2	35.0	39.2	78.9	13.3	25.4	76.2	18.9	21.9
ジョサマイシン	828.6	174.1	87.5	12.7	15.6	78.3	6.1	8.2	62.4	8.7	10.4	70.8	6.5	7.3
メベンダゾール	296.1	264.1	89.5	3.6	9.1	80.6	4.3	5.4	75.9	7.6	8.2	85.1	4.8	8.0
メチルブレドニゾン	375.2	91.2	89.2	10.0	14.1	-	-	-	73.6	13.8	18.9	-	-	-
ナリジク酸	232.9	187.2	53.4	11.7	18.7	77.9	3.4	5.1	80.4	5.3	10.7	84.1	6.7	9.4
ノボピオン	613.3	189.2	47.2	16.1	34.7	73.9	8.5	11.4	61.3	13.2	27.8	71.3	7.4	14.0
オキシベンダゾール	250.2	218.1	71.9	11.6	23.2	87.6	2.8	13.6	79.7	8.3	9.8	85.1	8.8	8.9
オレアンドマイシン	688.5	158.2	79.9	6.4	13.1	83.6	7.9	11.3	87.7	5.6	5.9	84.9	4.5	8.5
オキシリニック酸	262.1	216.0	55.1	11.7	12.1	84.1	10.2	10.5	78.6	9.2	9.8	88.5	6.9	7.4
オキサジン	402.0	160.0	16.7	30.2	84.3	87.6	5.2	7.1	86.3	5.2	5.2	85.7	4.3	4.8
ピロヒド酸	289.1	243.0	48.5	6.4	10.9	78.5	7.3	8.7	79.1	7.5	7.9	86.1	7.6	7.8
ブラジクアンテル	313.2	203.2	92.9	7.5	12.3	75.9	6.9	7.1	78.1	9.5	9.9	88.9	8.0	9.0
ロベニジン	334.1	155.1	80.3	8.0	9.0	70.2	11.8	29.5	71.8	13.7	15.3	80.9	12.1	15.8
リファキシミン	786.4	754.4	75.7	46.7	55.0	95.0	4.3	16.6	88.7	6.5	11.8	99.3	4.8	10.6
スルファベンズアミド	277.1	156.0	71.4	8.9	15.8	81.0	5.9	7.2	67.9	10.0	13.2	69.1	6.7	8.2
スルファクロルピリダジン	285.0	156.0	59.3	10.8	18.2	80.1	5.6	7.5	71.1	10.5	10.6	76.5	9.3	9.5
スルファジミン	279.0	186.0	76.2	14.0	16.6	86.1	7.0	12.6	81.7	5.9	11.3	81.8	6.7	9.4
スルファエトキシピリダジン	295.1	156.1	75.9	12.4	16.0	85.2	6.5	14.6	80.5	7.0	9.4	79.3	5.7	6.8
スルフイソゾール	240.1	156.0	72.4	15.8	19.0	78.2	9.6	13.9	88.5	12.1	17.6	79.9	14.5	18.7
スルファメラジン	265.1	92.2	73.2	14.1	16.2	89.1	8.9	13.6	80.0	11.8	11.8	81.6	13.4	15.5
スルファメチゾール	271.1	156.1	71.2	6.1	6.2	90.8	4.4	11.4	71.5	8.4	9.0	75.2	8.7	8.7
スルファアキノキサリン	301.0	156.0	72.5	4.8	9.5	77.7	6.7	9.5	77.8	6.6	10.8	80.5	4.4	9.0
チアムリン	494.3	192.2	72.5	26.9	35.1	86.0	4.1	18.0	79.6	7.0	8.9	84.1	9.1	9.3
チルモコシン	869.4	174.3	117.3	11.3	23.5	115.2	16.3	21.2	119.7	5.7	8.4	105.0	8.2	9.0
テメホス	467.0	419.1	76.5	12.9	26.7	48.2	12.1	52.2	43.0	53.5	60.3	78.3	8.9	25.3
タイロシン	916.5	174.2	73.0	23.3	24.0	70.7	4.3	7.6	51.7	6.1	9.4	65.1	6.2	11.2

- 1. 定量限界を設定できないもの

\*1 豚肉においてはスピラマイシン I と同等のもの

\*2 鶏卵においては告示試験法による「不検出」



# 新幹線走行に伴うトンネル周辺の住宅における低周波音事例

## Case with Low-frequency Sound in House Around Tunnel According to Running of the Shinkansen Railway

菊地 英男 星川 大介 加賀谷秀樹<sup>\*1</sup>

Hideo KIKUCHI, Daisuke HOSHIKAWA, Hideki KAGAYA

新幹線鉄道が走行することにより沿線住民から騒音等の苦情が申立てられるケースが散見される。ここでは、新幹線鉄道が通過する場合に発生する振動により、家屋内の襖・ガラス戸が揺れるとの申立てについて、現地調査したものである。騒音・振動は問題となるほど大きな数値ではなかったが、低周波音については、新幹線鉄道に起因するトンネルからの衝撃音の影響を受けていることが判明した。

キーワード：新幹線鉄道；低周波音；騒音レベル；振動レベル

**Key words** : shinkansen railway ; low-frequency sound ; noise level ; vibration level

### 1 はじめに

新幹線鉄道がトンネルを通過する際に振動が発生し、自宅が揺れ室内の襖やガラス戸が音を立てるとの苦情申し立てがあり、原因究明及び対策を講じるための資料とするために、苦情者宅において騒音、振動及び低周波音の測定を行った事例について紹介する。

### 2 調査地域等

当該地域は田園地帯から続く山間部の入り口であり、北西側は里山それ以外は田園が開けており、新幹線鉄道が南西側から北東側に貫き住宅が点在している。苦情者宅は図1に示すように、トンネルとトンネルに挟まれており、南西側（東京方向）は岡トンネル（L=1,740m, 東京側に緩衝工有り）、また北東側（仙台方向）は第1小沢田トンネル（L=140m）があり、列車の突入時に出口側から発生する低周波音（微気圧波とも言われており以下「衝撃音」という。）の影響を受けている。新幹線の走行により苦情者宅1階において発生する衝撃音及び列車通過中の低周波音の波形を図2に例示する。苦情者宅の遠隔側（下り側）を列車が通過する22～26秒前に

岡トンネル坑口から発生する衝撃音により室内のガラス戸等がガタツと言う音を発し、その後一時音が止んでから列車通過とともに再びガラス戸、ふすま等がガタガタと鳴り続ける。また、近接側（上り側）については、列車が通過する5～6秒前に第1小沢田トンネルの坑口から発生する衝撃音が到達して室内のガラス戸等が遠隔側と同じようにガタツと言う音を発し、その直後の列車通過時にはガラス戸、ふすま等がガタガタと鳴り続ける状況であった。

### 3 調査測定方法

#### 3.1 騒音レベル

「新幹線鉄道騒音に係る環境基準について（昭和50年7月29日環告第46号）」に定める方法に準じ、苦情者宅屋外及び室内2ヶ所（1階および2階）に騒音計を設置し、連続して通過する列車20本を対象として、平坦特性の音圧レベルをデータレコーダに記録し、後日そのデータを再生して騒音レベルを求めるとともに、周波数分析を行った。

#### 3.2 振動レベル

「環境保全上緊急を要する新幹線鉄道振動対策について（昭和51年3月12日環大特第32号）」に定める方法



図1 調査地点の状況

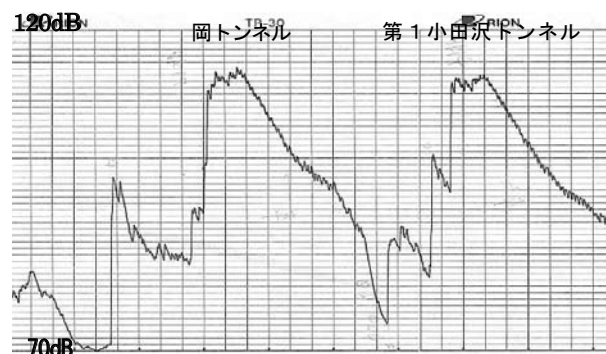


図2 トンネルからの騒音レベルの波形

\* 1 現 原子力安全対策室

に準じ、騒音レベルの測定と同じ屋外、室内の計3ヶ所について振動レベルを測定した。

### 3.3 低周波音

「低周波音の測定方法に関するマニュアル（平成12年10月環境庁大気保全局）」に基づき屋外、室内の3ヶ所において低周波音レベル計を設置し、騒音レベルの測定と同様に平坦特性の音圧レベルをデータレコーダに記録し、後日そのデータを再生し、G特性音圧レベルを求めるとともに、周波数分析を行った。

## 4 測定結果

### 4.1 騒音・振動レベル及び低周波音等の測定結果

今回調査対象にした20本の列車について、苦情者宅の屋外及び室内1階、2階において測定した騒音レベル等の測定結果を表1に示す。表中の評価値の騒音レベル及び低周波音は上位半数のパワー平均、振動レベルは上位半数の平均を示している。

当該地域は新幹線鉄道騒音に係る環境基準のII類型(75dB(A))が設定されており、調査対象とした列車の上位半数のパワー平均は屋外で69dB(A)と環境基準を達成している。また、室内1階で50dB(A)、2階では51dB(A)と屋外より約20dB(A)低い値であった。

また、振動レベルについての指針値は地表面で65dB(鉛直方向)であるが、屋外で37dBと指針値を超過していない。しかし、室内の1階で51dB、2階では50dBと屋外よりも13~14dB増加している。振動規制法の工場事業場に係る規制基準値が、木造家屋の板の間と地表振動の関係を5dB程度の増幅<sup>1)</sup>として設定されていることから考えると、当該建物は増幅しやすい構造であると思われる。

一方、低周波音については、「低周波音問題対応の手引書(平成16年6月 環境省環境管理局大気生活環境室)」では、固定発生源についての物的苦情及び心身に係る苦情(以下「身体的苦情」と言う。)に関する評価指針としての参照値が示されているが、移動発生源については示されていない。しかし、苦情が発生している現実があることから、参考までに人体の感覚特性を考慮したG特性の測定結果を見ると、固定発生源からの低周波音による身体的苦情に関する指針値であるG特性音圧レベル92dBを屋外及び室内1階、2階とも超過しており、影響があることが伺える。

なお、列車の平均速度(屋外の騒音レベルを評価する場合の上位半数に該当する列車速度の平均値)は264km/hであり、気象状況は、時々降雨であったが測定を中断するような状況ではなく、風速も測定に影響を及ぼす状況では無かった。

### 4.2 周波数分析結果

今回は、列車がトンネルに突入した時に出口側から発生する衝撃音と列車通過時に発生する低周波音を対象として検討した。周波数分析は1/3オクターブ分析器を使用し、周波数毎に衝撃音及び列車通過時における音圧レベルの最大値を対象列車のレベルとした。また、これから検討するにあたり、各図中に物的苦情及び身体的苦情の発生する参照値を周波数毎の音圧レベルで示しているが、これは前にも述べたとおり固定発生源に適用すべきものであるが、ここでは参考のためにあえて記載している。

始めに、衝撃音について屋外及び室内1階、2階の1/3オクターブ分析結果を図3に示す。横軸に周波数、縦軸を音圧レベルとして、地点毎に全データの音圧レベル最大値の平均を表しているが、衝撃音に加えられた場合に生ずる影響である気分がいららする、良く眠れない、耳鳴りがする、吐き気がする等の身体的苦情の発生する参照値は超えなかった。

しかし、ガラス戸、障子等の建具がガタガタ振動するという物的苦情が発生する参照値を8Hz以下の周波数帯で超えており、苦情者宅で観測された実態を反映していた。

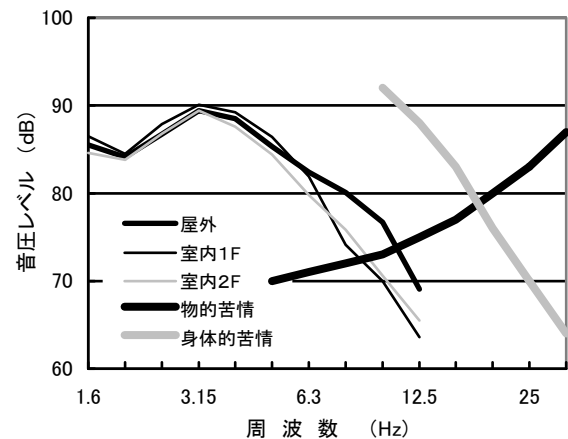


図3 トンネル突入時に発生する衝撃音の周波数分析結果

表1 騒音・振動レベル及び低周波音の測定結果

区分	騒音レベル (dB(A))			振動レベル (鉛直方向 dB)			低周波音 (dB(G))			速度 (km/h)
	屋外	屋内1F	屋内2F	屋外	屋内1F	屋内2F	屋外	屋内1F	屋内2F	
評価値	69	50	51	37	51	50	105	98	97	264
最大値	70	52	53	39	52	50	106	99	98	273
最小値	65	44	48	31	48	47	101	94	92	232

また、列車通過中の低周波音の1/3オクターブ分析結果を図4に示す。全体的に見ると2.5Hzにピークを持ち周波数が高くなるほどレベルが低下する傾向がある。こ

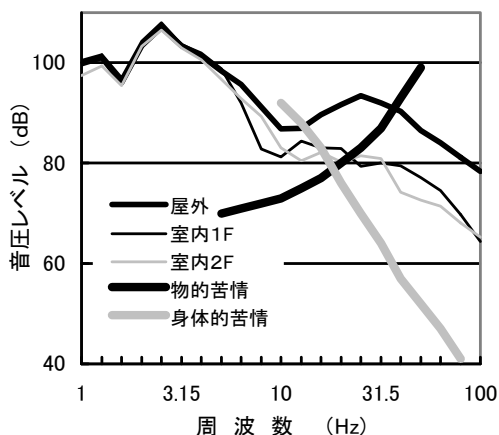


図4 列車通過時に発生する低周波音の周波数分析結果

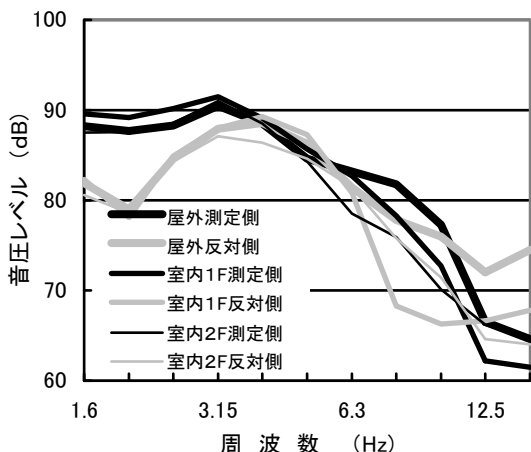


図5 走行車線別衝撃音の周波数分析結果

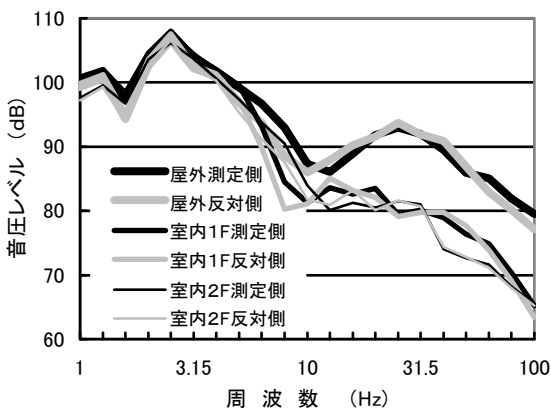


図6 走行車線別列車通過時の周波数分析結果

こでも参考として示した参照値と比較すると、室内においては1階、2階とも16～20Hz以上の周波数帯で身体的苦情の発生するレベルを超過している。また、物的苦情についても室内で25Hz以下の周波数が影響を及ぼしていることが判明した。

最後に、今回対象としたトンネルからの衝撃音と列車通過時の低周波音について走行車線別に周波数毎の音圧レベル最大値の平均を算出した結果を図5及び図6に示す。列車がトンネルに突入した場合に出口から発生する衝撃音は、4Hz以下の周波数については、近接側を通過する列車による影響が大きいことが認められた。

また、列車通過中は走行車線による違いはほとんど見られなかったが、屋外と室内の結果を比較すると10Hzより高い周波数で建物外壁による遮音効果が表れているが、5Hzより低い周波数では屋外及び室内ともほぼ同じ音圧レベルであり建物外壁による遮音効果は認められなかった。

### 5 まとめ

新幹線鉄道から発生する低周波音による苦情が発生したため、騒音レベル、振動レベル及び低周波音について総合的に調査解析した結果、トンネルとトンネルの間に立地している苦情者宅では騒音レベルについては環境基準、振動レベルについては指針値を超過していなかったが、低周波音については、両方のトンネルから影響を受けていることが判明した。新幹線がトンネルに突入することにより出口から発生する衝撃音の影響については、苦情者宅室内において参考とした物的苦情の発生するレベルを超えており、列車通過時には物的苦情のみならず身体的苦情の発生するレベルも超過している状況であった。

また、トンネル突入により発生する衝撃音はトンネルの長短に拘らず発生している。通過中の列車から発生する低周波音の影響については走行車線による違いは認められず、特に5Hz以下の周波数では屋外と室内ではほぼ同じ音圧レベルであることから建物外壁による遮音効果は認められなかった。

### 参考文献等

- 1) 逐条解説振動規制法 環境庁大気保全局特殊公害課 編著 (株)ぎょうせい
- 2) 低周波音の測定方法に関するマニュアル 平成12年10月 環境庁大気保全局
- 3) 低周波音問題対応の手引書 平成16年6月 環境省環境管理局大気生活環境室

# 仙台空港周辺における航空機騒音測定地点の適正配置について

## Proper Placement of the Aircraft Noise Monitoring Point in the Sendai Airport

菊地 英男 星川 大介 木戸 一博

Hideo KIKUCHI, Daisuke HOSHIKAWA, Kazuhiro KIDO

国土交通省所管第二種空港である仙台空港周辺においては、周辺自治体である名取市、岩沼市及び県が34地点の定点を定めて航空機騒音の常時監視を行ってきている。しかし、測定地点が稠密になり地点間の測定結果に大差ないなど測定地点の見直しが必要な時期に来ていると思われる。そこで、効率的な測定を行うために定点を再配置することを目的に、手法としてクラスター解析を適用した結果、飛行場周辺の航空機騒音の状況をよく反映したグループに分割することが可能となった。また、飛行場周辺における測定地点網のあり方、測定地点におけるデータの比較検討が容易に行えるような統一した測定条件の必要性、航空機騒音の影響範囲を把握・評価するための測定データの共有が必要であることを提案している。

キーワード：航空機騒音；クラスター分析；適正配置

Key words : aircraft noise ; cluster analysis ; proper placement

### 1 はじめに

現在、仙台空港周辺地域においては、住宅に対する移転補償や民家防音工事も既に終了し、環境基準も超過していない現状であるが、航空機騒音の監視測定を県及び市において通年測定15地点、短期測定19地点の合計34地点において実施しており、測定地点が稠密になり地点間が近接しているために測定結果に大きな違いが見られないなど、測定局の再配置により測定地点の見直しを行い、効率のよいデータの収集とバランスのとれた測定地点網を構築する必要が生じたために検討したものである。

### 2 仙台空港の概要

仙台空港は名取市、岩沼市にまたがって設置されており、国土交通省所管の第二種空港で、空港の運用時間は平成13年7月から7時30分～21時30分までの14時間に延長された。

仙台空港にはA滑走路(1,200m)とB滑走路(3,000m)が設置されており、A滑走路は主に小型機やヘリコプターが使用し、B滑走路は定期便や航空大学の訓練機が主体的に使用している。B滑走路の使用状況は図1に示すとおり、年間に約16,000回の離着陸があり、海側から着陸し、山側に離陸する回数がほとんどであり、その割合は年々増加の傾向にある。

また、これまで当該飛行場において実施された騒音防止対策は、音源対策として①機材の改良(低騒音型機の導入)、②発着規制(使用事業用小型機等の連続離着陸訓練等の規制)、③運行方法の改善(優先滑走路方式、優先飛行経路方式)を採用しており、空港周辺対策は、①教育施設等騒音防止対策:4件、②住宅騒音防止対策:305件、③移転補償:5世帯、④緩衝緑地帯等の整備を行っている。

### 3 苦情の状況

仙台空港周辺の住民から申し立てられる苦情は、周辺市にも申立てがあるが、多くは発生源である仙台空港事務所に直接申し立てられている。仙台空港への申立て状況を図2に示す。平成15年度をピークに減少傾向にある。平成18年度では、定期便や小型機に起因する苦情は少ないが、ヘリコプターに起因する苦情が約半数を占めている。当該空港には海上保安庁や報道機関のヘリコ

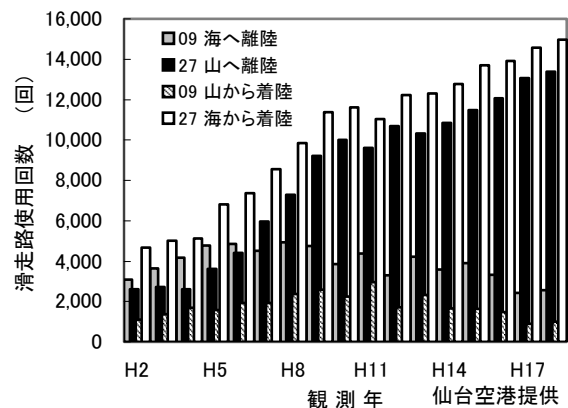


図1 仙台空港のB滑走路使用状況

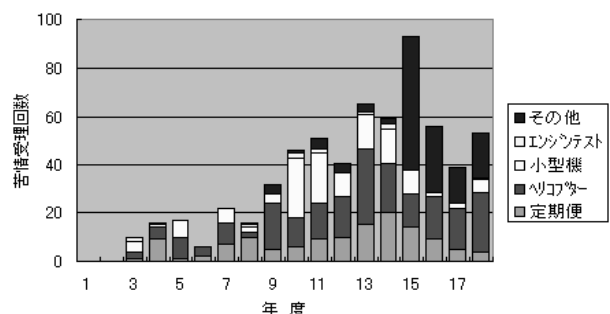


図2 仙台空港への苦情申立て状況

プターが常駐しており、訓練に伴う苦情が相当数を占めているものと思われる。

## 4 航空機騒音の現状

### 4.1 通年測定点における WECPNL の経年変化

県の通年測定点における航空機騒音測定結果の経年変化を図3示す。仙台空港東側に設置されている北釜局について、昭和55年度からのデータを見ると昭和57年度のWECPNL（以下「W値」という。）77.5をピークに年々減少傾向を示している。

山側への離陸の場合に強く影響を受ける飛行場南西側に設置されている本郷局では、平成9年度まではW値が年々上昇していたが、平成11年度には69.8Wと急激に減少し、平成12年度から再び上昇に転じ、現在も増加傾向にある。

また山側から着陸した場合に強い影響を受け、滑走路の最も西側の地域に設置されている館腰局では、平成9年度に一時的にW値の上昇が見られたが、その後は64W程度でほぼ安定している。

これらの傾向は、滑走路の使用状況からも裏付けられる。

### 4.2 測定点のグループ化

名取市、岩沼市及び県の通年測定点（15地点）における1年間の測定データが揃っている平成14年度の測定結果を用いて、飛行場周辺の測定地点をグループ化する方法について検討した。

始めに各測定点の1日毎のW値を用いて、各地点間の相関係数を用いてクラスター分析を行いグルーピングについて検討した。非類似度はユークリッドの距離を用いウォード法によって地点間を結合した結果を図4に示すように8つのグループに分割することが出来た。

各グループについて考察すると、飛行場東側の測定点であるグループ1はA滑走路の影響が大きいところであり、グループ2はB滑走路の影響が大きく、また、グループ3は飛行場北側に位置している。

グループ4及び5は飛行場北西側でいずれも着陸の影響が大きいところあり、距離的にも近い所であるが地理的な要因により2つのグループに分割された。

グループ6は飛行場西側で、山側からの着陸と山側に離陸した場合に影響を受けるところである。

グループ7は飛行場南西側であり、山側に離陸した場合に大きな影響があるところで、グループ8は飛行場南側の飛行経路内側であり、飛行音の継続時間が長い所である。

### 4.3 継続性の検討

短期測定点については、測定データが揃っていないためクラスター分析によるグルーピングが出来なかった。しかし、前項で通年測定点を用いたグルーピングが出来たことから、県の短期測定点である5地点について測定の継続性について検討した。

始めに、当該飛行場において実施している夏季及び冬季（それぞれ7日間測定）の測定結果から下式を用いて年間平均W値を推定した。

$$W_x = W_r - (W_r' - W_x')$$

ここで、

$W_x$ ：任意測定地点における年間平均WECPNLの推定値

$W_x'$ ：任意測定地点における測定期間中の1日毎のWECPNLの期間内エネルギー平均値

$W_r$ ：基準点における年間平均WECPNL

$W_r'$ ：基準点における上記測定地点の測定期間と同時期の1日毎のWECPNLの期間内エネルギー平均値

（出典：航空機騒音監視測定マニュアル（昭和63年7月、環境庁大気保全局））

県の短期測定点である5地点を4.2で検討した直近のグループに属するものとして、通年測定点を合わせた合計20地点を対象としてグループ毎にW値を比較した結果を表1に示す。

この結果を元に各グループ内における各測定点の継続

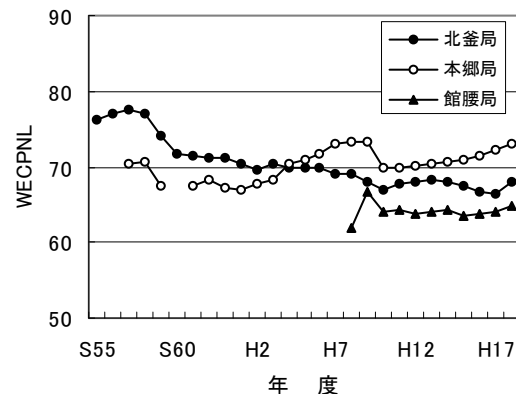


図3 仙台空港周辺における経年変化

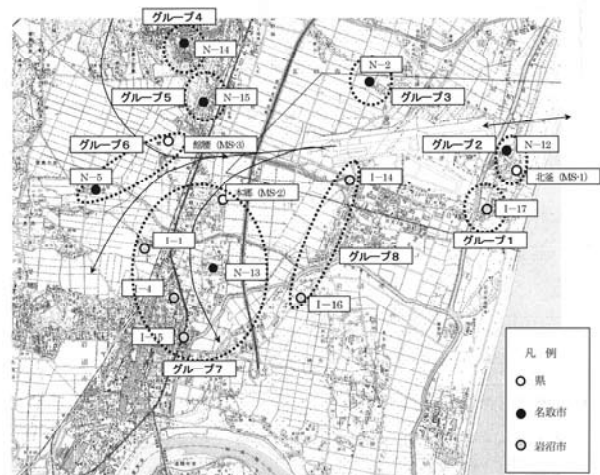


図4 各測定地点のグルーピング

表1 グループ内測定地点のWECPNL年平均値(平成18年度)

グループ	測定地点	区分	WECPNL年平均値	継続性
1	I-17	通年	64.1	○
	M-5	短期	63.6	×
2	MS-1 (北釜局)	通年	68.0	×
	N-12	通年	72.3	○
3	N-2	通年	67.2	○
	M-3	短期	65.1	○
4	N-14	通年	55.0	○
	M-6	短期	54.4	×
5	N-15	通年	59.8	○
6	MS-3 (館腰局)	通年	64.9	○
	N-5	通年	58.4	○
7	M-1	短期	71.6	×
	MS-2 (本郷局)	通年	73.0	○
	N-3	通年	69.8	○
	I-1	通年	61.9	○
	I-4	通年	64.9	△
	I-15	通年	64.2	○
8	I-14	通年	69.4	○
	M-4	短期	64.8	×
	I-16	通年	65.1	○

性について検討した結果は以下のとおりである。

グループ1のI-17とM-5はほぼ同じW値であることから、I-17で代表させることが可能である。

グループ2のMS-1とN-12については、MS-1が約4W低い結果であるが、この地点は離着陸とも住宅の遮へいによる影響が大きいと考えられることから、N-12のほうが地域を代表していると思われる。

グループ3のN-2とM-3は、2W程度の差があり、集落も異なることから2地点とも地域を代表していると思わせるため、今後とも継続測定が必要である。

グループ4はN-4とM-6の2地点であるが、ほぼ同じW値であることから、N-4で代表させることが出来る。

グループ5はN-5のみであるため、今後とも継続測定が必要である。

グループ6はMS-3とN-5の2地点であるが、約7Wの差があり両地点とも地域を代表していることから今後も測定を継続する必要がある。

グループ7は6地点属しているが、M-1とMS-2及びI-4とI-15はW値がほぼ同じであり、かつ測定地点が近いことからそれぞれ1地点ずつで代表させることが可能である。

グループ8のM-4はI-16とはほぼ同じ測定結果であり、岩沼市の短期測定地点が近くにあることから、測定を終了しても問題ないものと思われる。

## 5 まとめ

仙台空港における滑走路の使用状況については、海側から着陸し、住宅が立地している山側に離陸する回数が増加傾向にある。苦情の申立て状況は、平成15年度をピークに減少傾向にあり、苦情の内訳はヘリコプターに起因する苦情が多い状況である。

空港周辺における県の通年測定点による近年のW値の経年変化は、空港東側の地点では、年々減少傾向にあり、反対に飛行コース下の離陸の影響を強く受ける空港南西側の地点では増加傾向にある。又、飛行コース下で着陸の影響を強く受ける空港西側では、ほぼ安定している。

空港周辺地域に設置されている通年測定15地点を用いて、クラスター分析によりグルーピングしたところ、8つのグループに分割することが出来た。このグルーピングは、飛行場周辺の航空機騒音の状況を良く反映していることから、測定地点の再配置を考える上で非常に有用であると思われる。

## 6 今後の課題

### 6.1 測定地点網のあり方

航空機騒音は、飛行場周辺に設置している通年測定点のデータで評価するのが基本であることから、航空機騒音を適切に捉えることが出来る地点に配置する必要がある。これらの測定点で得られた結果を用いて、空港周辺における騒音レベル分布を比較・検討することにより騒音レベルの状況を適切に評価し、騒音防止対策の維持・達成に向けた施策の推進に資することが重要である。

しかし、この考え方は短期測定を排除したものではなく、限りある通年測定地点を補完するためや苦情対応については短期測定で迅速に対応する必要がある。

### 6.2 測定データの精度確保

飛行場周辺に現在設置されている自動測定装置における航空機騒音の識別方法は、測定点周辺の環境条件や測定主体による考え方の相違により、基本的な条件である閾値や継続時間の設定が異なる場合には測定点間のデータを単純に比較することが困難な状況になることから、出来るだけ統一した設定条件にし、データの比較検討が容易に出来るようにする必要がある。

しかし、設定条件を統一して測定したとしても、自動測定により得られたデータは1次スクリーニングしたに過ぎないことから、最終的な確定作業には、測定データの再確認と航空機の運行情報や気象情報等を用いた統一的な処理方法が必要である。

### 6.3 測定データの共有化

空港周辺地域における監視測定点については、これまで測定を実施した自治体がそれぞれデータを管理し、集計・評価してきている。

しかし、航空機騒音は広範囲に影響を及ぼすことから、飛行場周辺の自治体や国土交通省等が測定している航空

機騒音のデータを相互に提供し合うことにより飛行場周辺の状況を一体的に把握・評価することが重要であり、そのためには、共通フォーマットによりお互いにデータ交換する必要がある。

## 謝 辞

本検討を行うにあたり、航空機騒音常時監視データの提供を受けた名取市及び岩沼市に対し、ここに感謝の意を表します。

# 松島湾における藻場の生態系調査結果について（第3報）

## Ecological Survey on Algal-bed in Matsushima Bay (Ⅲ)

鈴木 壽雄 佐々木久雄 久保田龍二\*<sup>1</sup>  
Toshio SUZUKI, Hisao SASAKI, Ryuji KUBOTA

アカモクを中心とする松島湾の藻場の生態系を継続調査し、藻場の生態学的評価を実施した。松島湾における一般的なアカモクの生育は春季に最大成長期とともに成熟を迎えるが、平成20年度の当該調査では、アカモクの個体群には春季成熟群と冬季成熟群が存在し、更に、同じ個体群でも、水温などの環境要因等によりその生育状況に若干の違いがあることが分かった。

キーワード：藻場；生物生産量；アカモク

Key words：Algal-bed；biomass；Sargassum horneri

### 1 はじめに

松島湾は全国の閉鎖性水域と同様に、高度経済成長期以降、産業の発展・都市化に伴い、湾内の水質が悪化し問題視された。そこで、宮城県では湾内の水質を改善するため「松島湾リフレッシュ計画」を策定し、各部局が様々な事業を展開してきた。環境サイドでは、平成14年度から「海藻活用水質浄化事業」を実施し、松島湾に自生する褐藻類アカモクの持つ窒素・リンなどの栄養塩類の吸収・固定能による水質浄化効果を確認している。本報告では、平成20年度の藻場生態系調査結果について報告する。

### 2 調査内容

#### 2.1 調査地点

図1に、平成20年度の調査地点を示した。アカモクの生育状況が異なると考えられる①桂島離岸堤周辺、②在城島周辺、③宮戸島潜ヶ浦の3地点を調査地点とした（以下、「桂島、在城島、宮戸島」と記す）。

#### 2.2 調査時期

調査時期はアカモクの生活史を考慮して、調査地点①

及び②は6月と3月、調査地点③は7月と11月の年2回とした。

現地調査実施日は、以下のとおりである。

- ①桂島：平成20年6月27日、平成21年3月4日
- ②在城島：平成20年6月27日、平成21年3月4日
- ③宮戸島：平成20年7月14日、平成20年11月4日

#### 2.3 調査方法

調査方法は、潜水による目視観察と坪刈り採集である。

##### 2.3.1 目視観察

坪刈り採集で設定した方形枠周辺約5m範囲内のアカモク藻場における植物（海藻草類）およびアカモク藻場に蝟集する大型底生動物、魚類等について種名、個体数等について観察、記録、水中写真撮影を行った。

##### 2.3.2 坪刈り採集

各地点の代表的なアカモク群落に1m×1mの方形枠（コドラート）を設置し、全ての海藻草類及び葉上動物を大型サーベネットで採集し、これを定量試料とした。持ち帰った採集試料の分析項目は、以下のとおりである。

- ①アカモクの株数、全長、湿重量の計測
- ②その他の海藻類は、種の同定と種別湿重量の計測
- ③葉上動物の代表的な種の同定と種別個体数、湿重量計測

### 3 調査結果

#### 3.1 植物

##### 3.1.1 桂島

本地点は、松島湾の湾口部に位置し、桂島南岸沖合の離岸堤であり、周辺の底質は砂地で離岸堤部はコンクリートブロック及び被覆石となっている。調査箇所は、離岸堤の沖側法肩部で水深3～4mである。なお、本地点は、平成17年度から継続観察している。

調査時の環境要因は、6月では透明度が高く、3月では低い状態であった。

##### ①目視観察

6月で22種、3月で20種が確認され、紅藻類が主体

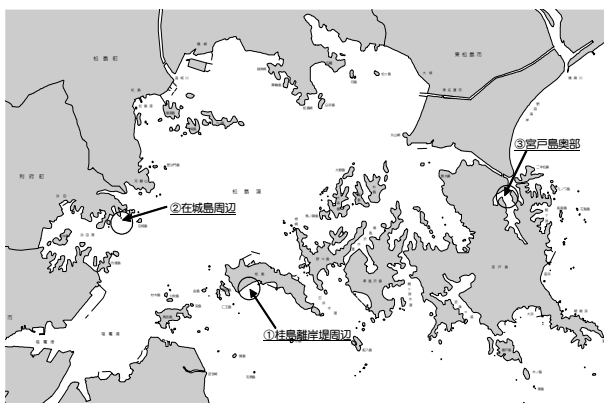


図1 調査位置図

\* 1 三国屋建設コンサルタント株式会社



となっているが、被度ではいずれの時期も多年生のアラメが優占していた。アカモクは成熟期である6月では60%と高い被度を示しているが、3月ではまだ成熟しておらず、被度も20%と低かった。また、アカモク全長は最大でも1m前後で、例年の桂島における3月の状況からすると成長が遅いものと考えられる。

②坪刈り採集

坪刈り採集結果の概要を、表1に示す。出現種数は6月で17種、3月で14種、目視観察結果と同様に紅藻類

表1 坪刈り採集結果概要(植物)

桂島		平成20年6月27日	平成21年3月4日
項目	年月日		
種類数		17	14
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )		12,018.3	1,829.9
類別			
種類数	緑藻類	3	2
	褐藻類	6	3
	紅藻類	8	9
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )	緑藻類	53.1	<0.1
	褐藻類	11,660.3	1,781.2
	紅藻類	304.9	48.7
種別			
湿重量	アカモク	91%	45%
比率	アラメ	3%	51%
	ワカメ	3%	1%
	その他	3%	3%

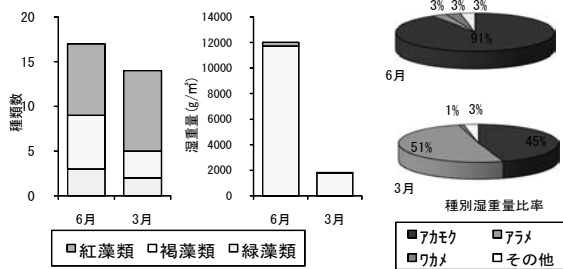
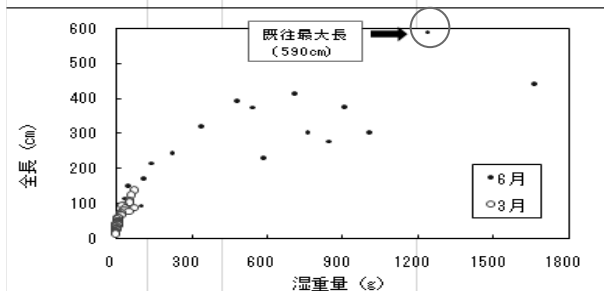
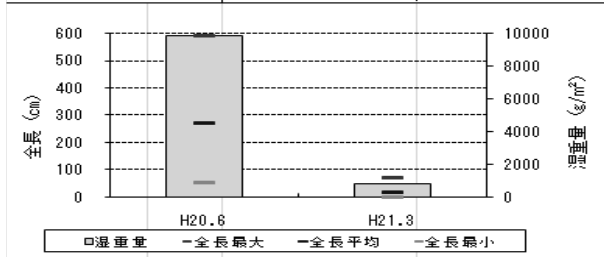


表2 アカモク計測結果概要

桂島		平成20年6月27日	平成21年3月4日
計測項目	年月日		
全長 (cm)	最大	590	138
	最小	53	13
	平均	270.5	56.9
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )	合計	9,856	827
	最大	1,667	77
	最小	6	1
平均	518.7	20.3	
株数 (株/m <sup>2</sup> )		19	39



の種数が多かった。

湿重量は、6月で12,018g/m<sup>2</sup> (アカモク以外:1,057g/m<sup>2</sup>), 3月で1,830g/m<sup>2</sup> (アカモク以外:998g/m<sup>2</sup>)であった。

③坪刈りによるアカモク計測結果

アカモク計測結果の概要を、表2に示す。アカモクは6月では全長最大590cm、湿重量合計9,856g/m<sup>2</sup>に対し、3月では全長最大138cm、湿重量合計827g/m<sup>2</sup>であった。

前述のとおり、3月時の全長、湿重量は例年と比べると小さい(少ない)状況であった。なお、6月に採集された最大全長590cmは既往調査<sup>1)~2)</sup>を含め、これまでの最大の長さであった。

3.1.2 在城島

本地点は、松島湾の湾奥部在城島西方約200mに位置する小島(名称なし)の近傍で、周辺の底質は岩盤(砂岩)の上に泥やカキ殻が堆積しており、水深は1~2mである。

なお、本地点は既往調査<sup>1)</sup>では、平成17年の11月に補足的に調査を実施している。

調査時の環境要因は、6月では透明度が低く、3月では湾奥部にしては高い状態であった。

①目視観察

アカモクは6月調査時にはすでに成熟も終わり、上部は枯れて流失し、根部のみ残っている状態であった。また、3月では生殖器床を持った株は確認されたが、すでに卵を放出し衰退期にさしかかっているようにも見受けられた。

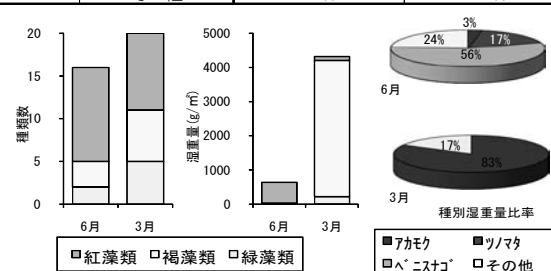
その他の植物は6月で15種、3月で19種、6月では紅藻類のツノマタ属、3月では褐藻類のセイヨウハバノリの被度が高かった。また、アカモクと同じホンダワラ科のホンダワラや海草類であるアマモもアカモクとともに混生していた。

②坪刈り採集

坪刈り採集結果の概要を、表3に示す。出現種数は6

表3 坪刈り採集結果概要(植物)

在城島		平成20年6月27日	平成21年3月4日
項目	年月日		
種類数		16	20
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )		634.7	4,315.9
類別			
種類数	緑藻類	2	5
	褐藻類	3	6
	紅藻類	11	9
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )	緑藻類	3.1	219.9
	褐藻類	29.1	3,984.9
	紅藻類	602.5	111.1
種別			
湿重量	アカモク	3%	83%
比率	ツノマタ	17%	-
	ヘニシナゴ	56%	-
	その他	24%	17%



月で16種、3月で20種と、いずれも紅藻類の種数が多かったが、3月では緑藻類、褐藻類の種数が増加していた。優占種は、6月ではアカモクが枯れ死していたこともあり紅藻類のベニスナゴヤツノマタ、3月ではアカモクだった。また、種構成は、各季で共通する種は全31種中5種(16%)と少なかった。

湿重量は、6月で635g/m<sup>2</sup>(アカモク以外:614g/m<sup>2</sup>)、3月で4,316g/m<sup>2</sup>(アカモク以外:735g/m<sup>2</sup>)であった。

③坪刈りによるアカモク計測

坪刈り採集によるアカモク計測結果概要を、表4に示す。

アカモクは6月では全長最大28cm、湿重量合計21g/m<sup>2</sup>に対し、3月では全長最大200cm、湿重量合計3,581g/m<sup>2</sup>であった。3月時のアカモクはすでに枯れ死して上部が流失している状態のものと、発芽したばかりの新芽が確認された。

3.1.3 宮戸島

本地点は本年度初めて調査を実施した地点で、松島湾の北西部に位置する宮戸島北部の潜ヶ浦であり、地形的には大きな入り江になっている。周辺の底質は泥であるが、カキ殻などが多く堆積しており、水深は1~2mである。

①目視観察

植物は7月で8種、11月で5種が確認され、一般的に海藻類は少ない状況であった。これは、透明度が低く底質が泥であるためと考えられる。

アカモクは7月に大きいものでは1m近くまで成長し、

気泡が形成されている状態で、さらに、11月では成熟した生殖器床を持つ株も確認された。

松島湾での一般的なアカモクの成熟期は春~初夏(5~6月頃)であるが、本地点の成熟期は大きく異なる。これは冬季成熟群<sup>3)</sup>といわれる個体群であると考えられる。

②坪刈り採集

坪刈り採集結果の概要を、表5に示す。出現種数は7月で12種、11月で22種、各季ともに紅藻類が多く出

表5 坪刈り採集結果概要(植物)

宮戸島		年月日	平成20年7月14日	平成20年11月4日
項目	種類数		12	22
	湿重量 (g/m <sup>2</sup> )		374.0	3,881.8
類別種類数	緑藻類		2	4
	褐藻類		1	2
	紅藻類		9	16
類別湿重量 (g/m <sup>2</sup> )	緑藻類		4.1	25.9
	褐藻類		268.8	3,587.2
	紅藻類		101.1	268.7
種別湿重量比率	アカモク		72%	92%
	カハノリ		25%	-
	その他		3%	8%

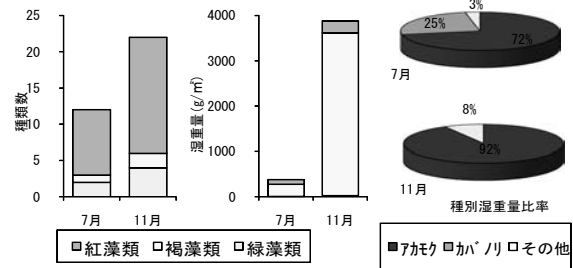


表4 アカモク計測結果概要

在城島		年月日	平成20年6月27日	平成21年3月4日
全長(cm)	最大		28	200
	最小		15	21
	平均		22.0	96.0
湿重量(g/m <sup>2</sup> )	合計		21	3,581
	最大		11	1,011
	最小		1	4
平均		3.5	293.2	
株数(株/m <sup>2</sup> )			5	12

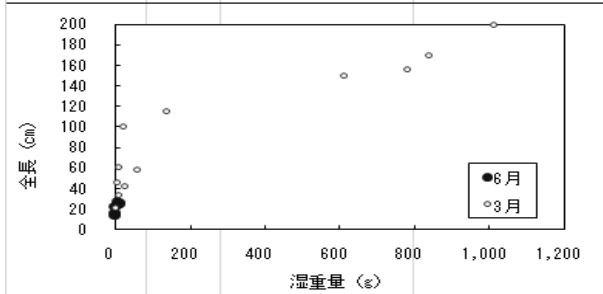
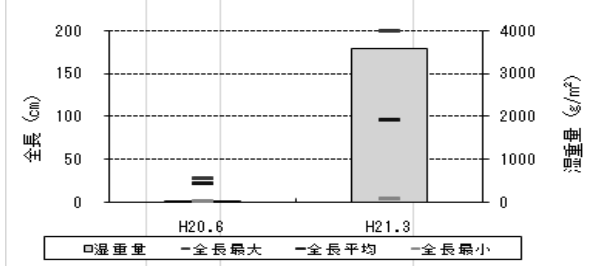
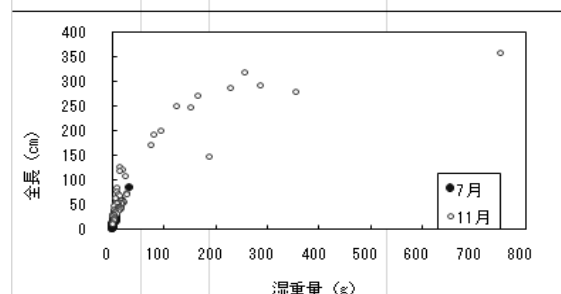
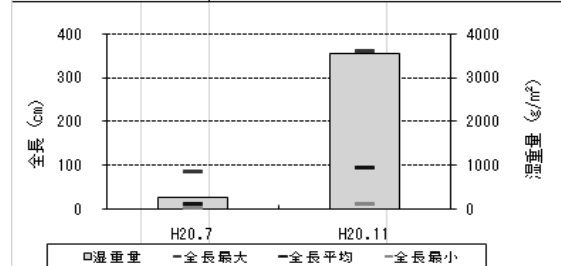


表6 アカモク計測結果概要

宮戸島		年月日	平成20年7月14日	平成20年11月4日
全長(cm)	最大		87	360
	最小		2	12
	平均		12.7	95
湿重量(g/m <sup>2</sup> )	合計		268.8	3,567.9
	最大		32.42	753
	最小		0.01	1.1
平均		2.20	57.4	
株数(株/m <sup>2</sup> )			122	57



現しているが、7月に比べ11月は緑藻類、褐藻類の種数が増加している。

湿重量は7月で374g/m<sup>2</sup>（アカモク以外；105g/m<sup>2</sup>）、11月で3,882g/m<sup>2</sup>（アカモク以外；314g/m<sup>2</sup>）であった。アカモク以外の海藻類も重量が増加していた。

③坪刈りによるアカモク計測結果

坪刈り採集によるアカモク計測結果概要を、表6に示す。

アカモクは7月では全長最大87cm、湿重量合計269g/m<sup>2</sup>に対し、11月では全長最大360cm、湿重量合計3,568g/m<sup>2</sup>であった。前述のとおり、11月では藻体も大きく成熟していた。

地元漁業関係者の話では、本地点では例年この時期には成熟し収穫しているとの事である。本年もすでに収穫を行っていたとのことで、それがなければ湿重量は更に多いものと考えられる。

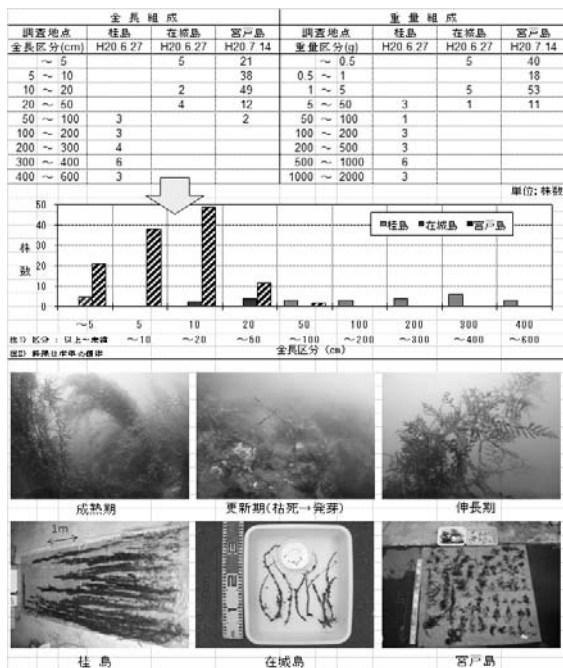
3.1.4 各地点間の比較

前述のとおり、桂島、在城島、宮戸島の各地点間で、アカモクの生育状況に違いがみられる。

6・7月における各地点で採集されたアカモク的全長・重量組成を表7に示した。これによると、6月27日同日における桂島と在城島の全長・重量組成は明らかに異なることが認められた。桂島では、全個体の全長区分は50～600cmの範囲で、平均271cm、最大590cmと成熟期であるのに対し、在城島の全長区分は5～50cmの範囲で平均22cm、最大28cmと藻体の上部はすでに枯れ死して流失している株と発芽したばかりの新芽で構成される更新期となっていた。

一方、宮戸島では、時期はやや後になるが7月14日時点で全長区分は5～100cmの範囲で、平均13cm、最大87cmと、すでに前年の枯れ死した株は存在せず、さ

表7 アカモクの地点別全長・重量組成の比較



らに新芽とともに気泡を形成するまでに成長した株も多く確認された。このことより、在城島の個体群よりもさらに成長（更新）が早いものと考えられる。

以上の結果を、図2に時系列で示した。更に、過年度の同月のデータを加えた月別アカモク生長量を、図3に

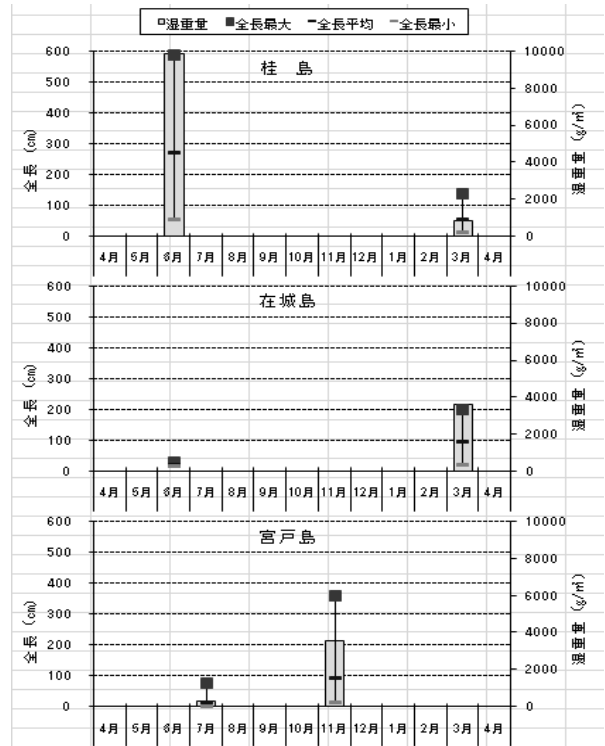


図2 全長・重量の比較

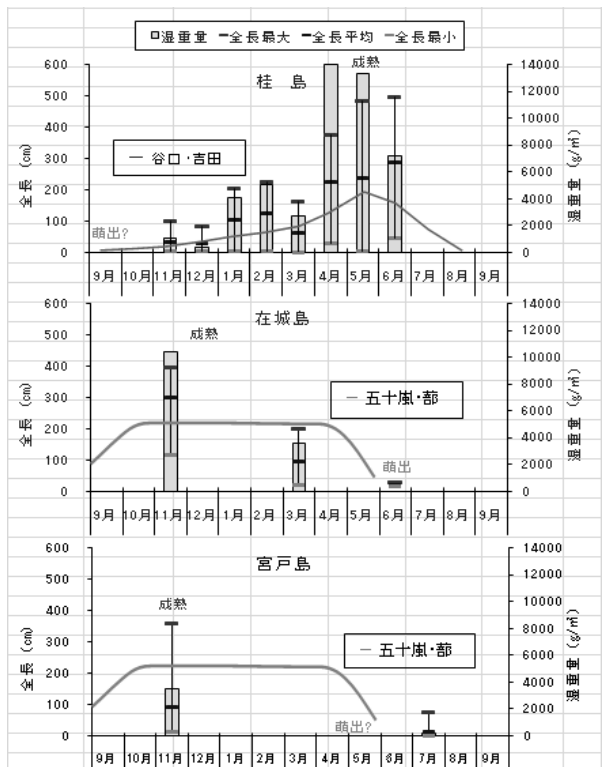


図3 月別アカモク生長量（文献データとの比較）

示した。

これによると、桂島においては、松島湾外海で調査した谷口、山田<sup>4)</sup>の結果とほぼ同様の成長過程<sup>\*1</sup>を示しているのに対し、在城島、宮戸島では五十嵐、薮<sup>3)</sup>による冬季成熟群の成長過程<sup>\*2</sup>に見られる特徴を有している。

また、各地点の環境要因として、調査期間中における各地点の水温も測定した。これを、図4に示す。これによると、6月～9月までの夏季では湾口部の桂島よりも湾奥部の在城島の方が水温は高く、10月以降2月までの秋季～冬季では低い値を示していた。また、宮戸島では7月～10月までのデータしかないが、概ね両地点の中間的な水温となっていた。

湾口部と湾奥部での季節的な水温の違いは、アカモクの生育や成熟等に少なからず影響しているものと考えられる。

\*1 晩夏に萌出し、成長は秋～冬季に穏やかで、春季に早くなり、晩春に年間最大となる。

\*2 10月初旬に全長約2mに達し、11月下旬に成熟、12月上旬には受精後の幼胚をつけた個体が出現。成熟後、末枯れや藻体の老化が進むが3月下旬頃まで持続。

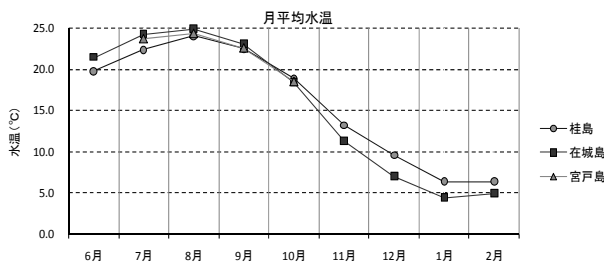


図4 各地点の水温変化

### 3.2 動物

#### 3.2.1 桂島

##### ①目視観察

底生性のもものでは、両季節ともに貝類などの軟体動物やヒトデ類、ナマコ類などの棘皮動物が主体だった。魚類は6月ではアカモク藻場に蛸集するメバルなど6種が確認されたが、水温の低い3月では確認されなかった。

##### ②坪刈り採集

坪刈りによる葉上動物の出現状況を、表8に示す。種類数は6月で26種、3月で19種と6月の方が多いが、類別でみるとその他の種で違いがみられた。これは、主にアカモクの藻体に蛸集するギンポ類などの魚類の出現が3月ではみられなかったことによるものである。

個体数は6月で16,480個体/m<sup>2</sup>、3月で479個体/m<sup>2</sup>と大きな差がみられた。これは、6月ではワレカラ属が大量に出現していたためである。優占種では、各季ともに第1優占種がワレカラ属、第2優占種がカマキリヨコエビ属と同様であった。このワレカラ属の出現個体数は既往調査<sup>1)~2)</sup>でも最大となっている。

湿重量は6月で96g/m<sup>2</sup>、3月で3.2g/m<sup>2</sup>で、個体数同様、

ワレカラ属の出現により6月の湿重量が多くなっていた。

#### 3.2.2 在城島

##### ①目視観察

動物の出現種は6月で11種、3月で4種と比較的に少なく、海底面に固着するイタボガキ科(カキ礁を形成)が多いが、6月ではクロダイ、メバル(いずれも幼魚)などの魚類が確認された。なお、これらの魚類は3月では確認されなかった。

##### ②坪刈り採集

坪刈りによる葉上動物の出現状況を、表9に示す。種類数は6月、3月とも21種で、類別でもほぼ同じ傾向であった。

個体数は6月で478個体/m<sup>2</sup>に対し、3月では1,684個体/m<sup>2</sup>と多く、これは6月におけるアカモクの現存量の違いによるものと考えられる。3月ではゴクゾウヨコエビが1,004個体/m<sup>2</sup>と優占しており全体の60%を占めていた。一方、6月では特異的に多い種はなく、ニッポンヨコエビの105個体/m<sup>2</sup>(22%)が最も多かった。

湿重量は6月で5.3g/m<sup>2</sup>、3月で17g/m<sup>2</sup>であり個体数同様、ゴクゾウヨコエビの出現により3月の湿重量が多かった。

#### 3.2.3 宮戸島

##### ①目視観察

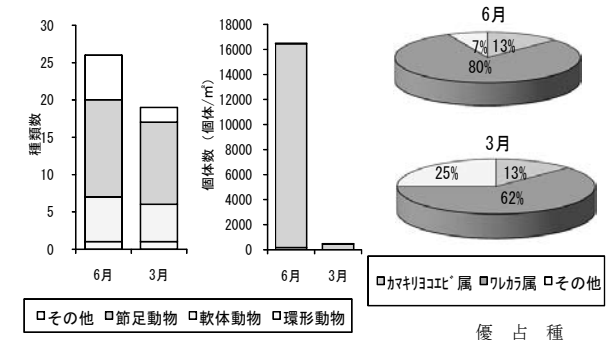
動物は7月で14種、11月で20種と11月でやや多く確認された。これは、魚類や甲殻類などの移動性の動物が比較的11月で多く確認されたためである。

##### ②坪刈り採集

坪刈りによる葉上動物の出現状況を、表10に示す。種類数は7月で19種、11月で18種と、類別でも

表8 葉上動物の出現状況

桂島		年月日	平成20年6月27日	平成21年3月4日
項目				
種類数			26	19
個体数(個体/m <sup>2</sup> )			16,480	479
湿重量(g/m <sup>2</sup> )			95.48	3.23
類別 種類数	環形動物		1	1
	軟体動物		6	5
	節足動物		13	11
	その他		6	2
類別 個体数 (個体/m <sup>2</sup> )	環形動物		3(<0.1%)	14(2.9%)
	軟体動物		163(1.0%)	14(2.9%)
	節足動物		16,285(98.8%)	432(90.2%)
	その他		29(0.2%)	19(4.0%)
優占種 (個体/m <sup>2</sup> )	カマキリヨコエビ属		2,219(13%)	60(13%)
	ワレカラ属		13,186(80%)	292(62%)



ほぼ同様の傾向であった。

個体数は7月で394個体/m<sup>2</sup>、11月で560個体/m<sup>2</sup>と11月で若干多い出現となっており、優占種は7月ではトウヨウヒゲナガやカマキリヨコエビなどの節足動物が多いのに対し、11月ではコウダカチャイロタマキビガイが第1優占種であるため軟体動物の出現比率が高くなっていた。

湿重量は7月で6.66g/m<sup>2</sup>、11月で4.43g/m<sup>2</sup>と、個体数とは逆に11月で少なくなっているが、これは微小な貝類であるコウダカチャイロタマキビガイの出現が多いためである。

#### 4 まとめ

松島湾におけるアカモク藻場の生態系調査を実施した。その結果、アカモクの固体群には春季成熟群と冬季成熟群が存在し、更に、同じ個体群でも水温などの環境要因によりその生育状況に若干の違いがあることが分かった。

湾口部に位置する桂島は、5～6月頃が成熟期となる春季成熟群である。これに対し、湾奥部の在城島や本年度初めて調査を行った松島湾北西部に位置する宮戸島は、冬季成熟群に属する。

同じ冬季成熟群でも、6月末の在城島では流出株と新芽で構成される更新期だった。これに対し、7月中旬の宮戸島では新芽と気泡を形成するまでに生長した株からなる緩成長期に差し掛かっていた。

この若干の生育状況の違いは単に水温などの環境要因によるものなのか、それとも一年生海藻の種の保存戦略なのか、不明な部分が多いが、いずれにしても、アカモク藻体に蟄集する葉上動物の多さから、アカモク藻場は食物連鎖の重要な起点となっていることが確認された。

#### 参考文献

- 1) 佐々木久雄, 小山孝昭, 牧滋, 嵯峨京時, 久保田龍二: “松島湾における藻場の生態系調査結果について”, 宮城県保健環境センター年報, No. 24 2006, p. 98
- 2) 佐々木久雄, 小山孝昭, 久保田龍二: “松島湾における藻場の生態系調査結果について(第2報)”, 宮城県保健環境センター年報, No. 25 2007, p. 110
- 3) 五十嵐輝夫, 蔀太郎: “松島湾でみられたアカモクの冬季成熟群”, 宮城水七研報, 第14号, p. 11 (1995)
- 4) 谷口和也, 山田秀秋: “松島湾におけるアカモク群落の周年変化と生産力”, 東北水研報, No. 50, p. 59 (1988)

表9 葉上動物の出現状況

在城島		年月日	平成20年6月27日	平成21年3月4日
種類数			21	21
個体数 (個体/m <sup>2</sup> )			478	1,684
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )			5.34	17.01
種類数	環形動物		1	1
	軟体動物		5	3
	節足動物		13	17
	その他		2	0
個体数 (個体/m <sup>2</sup> )	環形動物		3(0.6%)	8(0.5%)
	軟体動物		95(19.9%)	12(0.7%)
	節足動物		373(78.0%)	1,664(98.8%)
	その他		7(1.5%)	0(0%)
優占種 (個体/m <sup>2</sup> )	ゴケガクヨコエビ		83(17%)	1,004(60%)
	トウヨウヒゲナガ科		66(14%)	
	ニッポノモハヨコエビ		105(22%)	
	ワレカガ属			196(12%)

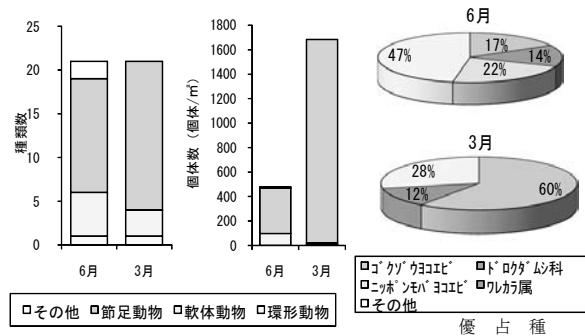
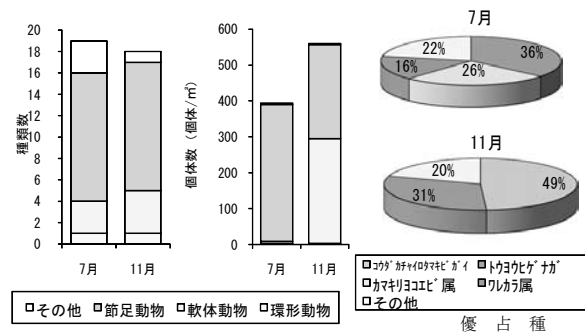


表10 葉上動物の出現状況

宮戸島		年月日	平成20年7月14日	平成20年11月4日
種類数			19	18
個体数 (個体/m <sup>2</sup> )			394	560
湿重量 (g/m <sup>2</sup> )			6.66	4.43
種類数	環形動物		1	1
	軟体動物		3	4
	節足動物		12	12
	その他		3	1
個体数 (個体/m <sup>2</sup> )	環形動物		3(0.8%)	3(0.5%)
	軟体動物		6(1.5%)	292(52.1%)
	節足動物		381(96.7%)	262(46.8%)
	その他		4(1.0%)	3(0.5%)
優占種 (個体/m <sup>2</sup> )	コウダカチャイロタマキビガイ			272(49%)
	トウヨウヒゲナガ		140(36%)	172(31%)
	カマキリヨコエビ属		101(26%)	
	ワレカガ属		62(16%)	



# 環境学習の事例研究からの提案

## Proposal from case study of environmental study

赤崎千香子 大金 仁一\*<sup>1</sup> 佐々木久雄  
Chikako AKASAKI, jinichi OGANE, Hisao SASAKI

環境学習が盛んに行われており、水に関する環境学習だけでも範囲は幅広い。環境修復をテーマとする、実施主体の異なる事例を考察することにより、事例ごとの問題点、課題を整理した。さらに、環境学習の活動が充実し、成熟するために必要な要素、環境学習に対する行政の関わり方などについて整理した。

キーワード：環境学習；発展性；ネットワーク；地域

**Key words**：Environmental study；Development；Network；Region

### 1 はじめに

水に関する環境学習は、水の働き、循環、利用、水生生物など広範囲に及ぶ。当県でも水に関する環境学習がなされているが、その効果について検証されている事例は数少ない。環境問題を解決していくためには県民の自発的な取り組みにより環境修復を行っていくことが重要であり、パターンの異なる事例を考察することにより、環境学習を推進するためには、どのような視点・要素が必要かを考察したので報告する。

### 2 調査内容

学校教育、NPO、行政を実施主体とした環境学習の事例を取り上げ、それぞれの環境学習に参加したり、携わっている方に以下の内容を中心にヒアリング調査を実施した。

#### 2.1 調査対象事例

<学校教育>

- ・汐見台小学校（阿川沼 へちま・水質浄化）
- ・女川第4中学校（五部浦湾 アカモク・磯焼け対策）

<NPO>

- ・NPO 法人十符の里ふるさとづくり集団（利府町 かさすげ・水質浄化）

<行政>

- ・水辺教室（釜房ダム上流 水生生物・水質評価）
- ・環境教育リーダー制度（県内 環境全般・環境保全知識習得）

注：（場所 題材・当初目的）

#### 2.2 調査内容

- ①目的
- ②取組みを始めた時期
- ③取組みを始めることになったきっかけ
- ④主体
- ⑤組織の指導者、構成員
- ⑥年間予算、資金調達方法

- ⑦活動により得られた成果
- ⑧活動内容の情報発信方法

### 3 結果および考察

それぞれの聞き取り内容を取りまとめ、目的、フィールド、他の要素との関係性についてまとめた。

#### 3.1 汐見台小学校（平成18年から）

学校教育による環境学習の事例である。この学校は地元である七ヶ浜町の阿川沼において、小学校4年生を対象とし、「へちま」の水質浄化能を用いた環境学習を行っている。その活動概略を図1に示した。

阿川沼の水を引いて「へちま」を水耕栽培し、植物による水質浄化を学習しようという取組みである。「へちま」を植え、収穫するまで何回か観察会を行い、併せて阿川沼の観察や、水生生物の観察等を行っている。

当初は学校側から提案があったものだが、教員の異動等により主体は移り変わり、今現在は指導者である大学やコンサルタント会社が主となり活動を行っている。

（制約条件）

活動の主体となっている大学、コンサルタント会社、NPO法人の協力である。現状ではへちまを植える苗の

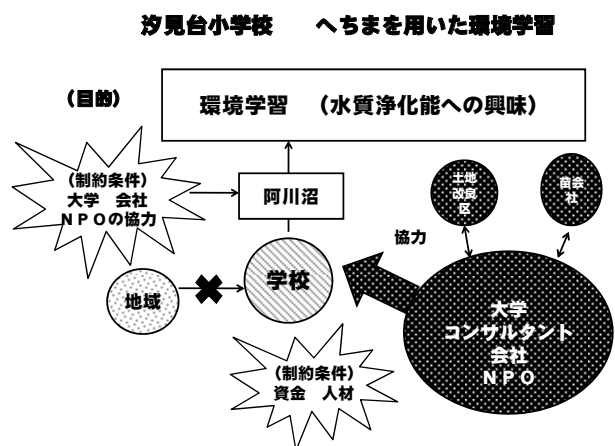


図1 汐見台小学校環境学習概略図

\* 1 現 仙台保健福祉事務所塩釜総合支所

手配から、阿川沼の水を引くポンプ代まで、全てを大学やコンサルタント会社に負担している。これらの協力なしには活動は成り立たない。

(問題点・課題)

題材の理解度についてである。へちまは小学校の理科の題材であり、生徒達にとっては身近な題材ではあるが、水質浄化能力をもつ植物は他にもあり、その中から生徒が自ら納得してへちまを選んでいるとは言い難い。そして、せっかく地元の阿川沼で活動を行っていながら、地域住民との繋がりが無い。大学やコンサルタント会社では人材の不足も懸念しており、今後指導者を地域の中で育成していき、自立した活動として地域の中に溶け込ませる必要があると考えられる。

学校から移動しての活動ということで、事故時の責任の所在についても明確にしておく必要があると考えられた。

この活動は、総合学習の時間を用いて行っていたが、七ヶ浜町では今後、英語に特化した教育を行うこととしており、環境学習に向けた時間の確保が課題となる。

学校を主体として実施する環境学習の最大の問題点は教員の異動である。指導担当のみならず、校長の交代によっても学校の方針は大きく異なる場合が多々あり、本事例も当初は学校主体で行っていた活動が、いつのまにか大学やコンサルタント会社の主体とならざるを得ない状態に陥ってしまった状況が認められている。このため学校の中で明確な位置づけを行う必要があると思われる。これにからんで、資金をどのように確保するか教育現場の中で考えなければならないだろう。

(必要な県の支援)

地域の環境問題に見合った環境学習のメニューの提供や、指導者の育成、紹介などが必要と考えられた。

(本事例の特長)

学習を行う場所を地域の身近な環境の阿川沼に設定したこと。

植物を自ら育て、収穫する喜びを体験できたことによって、環境問題を生物の成長と関連づけられた教育が自然と可能になったこと。

3.2 女川第4中学校(平成18年から)

学校が中心となった環境学習の2つ目の事例として、女川第4中学校の活動状況を図2に示した。この活動は中学校の全校生徒約20名が主体となり、「アカモク」を使用し、地元である女川町の五部浦湾の磯焼けを解消する目的で開始された取組みである。

海の磯焼けは「うに」が海藻を食べることによる食害が原因の一つとして考えられている。磯焼けマップの作成、「うに」の食圧実験や、新たな藻場形成を目的とした「アカモク」の増殖に取り組んでいる。

大部分の親の職業が漁師である生徒達にとって、海の磯焼けは非常に重要な問題であり、地域の課題でもある。父母やPTAの手助けを受け、地域も巻き込んで活動を行っている。

女川第4中学校 アカモクによる環境学習

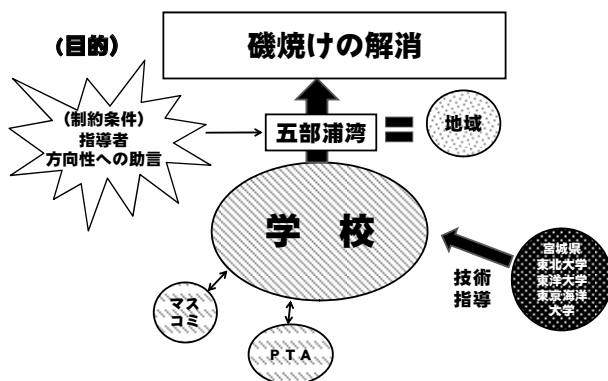


図2 女川第4中学校環境学習概略図

(制約条件)

指導者の確保である。磯焼け修復は非常に高度な学術的課題であり、現在は活動の度に県や大学の先生を講師に招いているが、交通費は各自持ちのボランティアである。学校では今後の活動の方向性を決めていく上でも指導者が欠かせないと認識しており、指導者の確保ができなくなるとこの環境学習が成り立たなくなるものと考えられる。

(問題点・課題)

女川第4中学校は少人数であるため、近い将来統廃合により廃校の危機に立たされている。現在は全校生徒数が少ないので、学校・地域をあげて活動を行うことができるが、統合されて人数が多くなればこのような活動は難しくなる。同時に地域に密着したPTAなどの支援体制なども崩壊するおそれがあると考えられる。

活動内容が広く知れ渡っている割には、同じように磯焼けの問題を抱えている地元の他の学校へ普及が進まない状況も指導者不足に寄るところが大きいと思われるが、このような活動そのものが大規模な学校では困難であることも要因となっている可能性も考えられる。

活動資金は当初2年間は町から必要最小限の比較的自由な助成を受けていたが、平成21年度からは文部科学省関係の助成金(200万円)を獲得した。これにより活動の幅が広がるように思えたが、活動資金を継続して得るために、来年度のスケジュールを事前に細かく決定することが義務づけられ、資金の使い道がその時点で決められてしまうなどの制約がでてきた。平成21年2月末に参加した今年度最後の活動で、来年の活動内容について説明があったが、今まで生徒主体で行っていた活動が、徐々に生徒達の自由な発想が活かされていないものになっているように感じた。

(必要な県の支援)

積極的な指導者(専門的講師)の派遣。

磯焼けという広範囲で重篤な生態系の障害に悩む他の地域の情報を整理し、同様な活動を広範囲に普及する支援策の実施が望まれる。

(本事例の特長)

活動資金は外部資金を確保するなどして非常に円滑である。

マスコミなどを上手く利用し、活動内容を地域のみならず、地域外にも情報発信している。その結果として活動内容が対外的にも評価され、全国的な団体から賞を受賞するなどの目に見える成果が得られた。これらの席上で生徒が大きな会場の大勢の前で発表したり、社会学習的な体験をし、個人個人が積極性を身につけるなど、当初の目的以外の成果も多く得られたことは、今後環境教育を実施するに当たり興味深い。

本活動の最も特徴的なのは磯焼けの解消という地元水産業の大きな課題を環境学習活動の目的として生徒達自身が設定していることである。地元で根差したテーマを選んでいるので、地域や父母の協力が得やすく、学習した内容がそのまま地域の環境活動として根付く可能性がある。

3.3 NPO 法人十符の里ふるさとづくり集団（平成18年から）

利府町を中心に活動するNPO 法人十符の里ふるさとづくり集団（以下「十符の里」）は利府町の文化を伝承し、加えて自然環境保全を目的として設立された。自然の草が絶滅する中で、陸奥の歌枕（十符の菅）としても知られ、利府町が産地とされる「かさすげ」を何とか増やして育てたいということとなった。

一方、宮城県では利府町に建設した惣の関ダムの水質浄化対策に苦慮しており、十符の里の「かさすげ」を利用する水質浄化について検討した。図3に活動概略を示す。

当初は「かさすげ」の水質浄化能力については不明であったが、東北大学やほかのNPO 法人の指導により実施した実験により水質浄化能が大きいことが証明され、本格的にダムの敷地内で「かさすげ」を育てることとなった。ダム事務所は「かさすげ」で水がきれいになり、十符の里は「かさすげ」植える土地を提供してもらえる、町は観光資源が不足しており、観光資源・ふるさとづくりになるので活動を支援している。

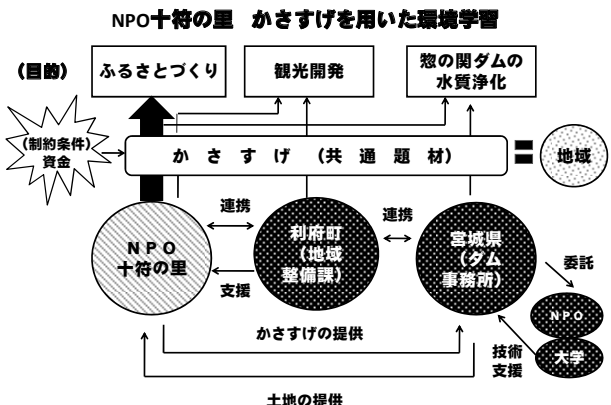


図3 NPO 法人十符の里ふるさとづくり集団概略図

(制約条件)

資金である。十符の里は活動資金を会費でまかなっているが、会員数も減少してきており、活動資金の確保が難しい。

(問題点)

十符の里の活動にある。平成17年に町の支援で設立されたが、会員は高齢の男性が多く、現在は活動資金を会費に全面依存している。活動資金、会員数の確保、後継者不足が問題である。

収穫した「かさすげ」も、定期的な販売ルートが確保されておらず、現在は流通していない。この販路の開拓も課題になる。

当初は町からの資金援助によって運営することを考えていたが、今後収益事業として活動を自立させることが課題となっている。

(必要な県の支援)

単なる組織維持のための補助金ではなく、活動によって収益を上げ、自立できるNPOとしての活動が可能となるような生きた資金の提供が必要と考えられる。また、申請書類等の作成、指導者情報、他のNPOの活動情報、自立できるNPOの組織作りなどの指導が必要で、NPO活動のレベルアップの支援が必要と考えられた。加えて事後のフォローをどのようにしていくかは行政サイドの課題として残る。

この事例ではNPO、町、県の思惑が偶然一致しており、それを仲立ちする他のNPOが存在しているなど、たまたまお互いの目的を満たすようなパートナーが見つかり、ネットワークが形成されたが、パートナーに関する情報提供も重要な課題と考えられた。

(本事例の特長)

地域住民が自ら自分達の住んでいる街おこしに取り組んでいること。また、NPO、町、県がそれぞれの目的を果たしており、三者の活動が相乗効果をもたらしていること。

当初はかさすげを育てて増やすことだけが目的だったが、水質浄化能力という波及効果が得られてからは、浄化した水で米を育てるなど新たな目的もでてきた。この他、惣の関ダムの敷地内には、きれいな湖沼にか生息せず、日本から消えつつある「シャジクモ」の存在が確認された。これは新たなふるさとづくりにつながると思われる。

3.4 水辺教室（昭和61年から）

行政が主体となった事例である。図4に活動概略を示す。水質保全への意識を高める目的で、釜房ダムの上流にある小学校の中から、毎年2校を選定し、川の水質の状況により住む生物が違うことなどの講義の後、川辺に移動し水生生物の観察を行っている。

(制約条件)

資金と実施場所。県の予算措置と対象の学校の活動意志決定に頼らざる得ない活動である。



(問題点)

半日という限られた時間内で講義、生物採取、観察を行うので、時間内で内容を理解し、目的である水を大切にするといいところまで意識を高めるのは難しいと思われる。

そして、一過性であり、地域に結びつくまでには至っていない。

また、当初からの講師が1人だけに限られており、学校の先生や地域住民にも後継者が育っていない。

(県の改良点)

事業の成果を効果的にするための事前または事後学習の時間を設けるなど、学校と協力して、活動の持続性を目指すカリキュラムを検討する必要がある。

水辺教室は開始から20年以上も経過しており、過去に受講した成人にその効果をアンケートしたり、今後の活動の方向性などを自ら企画してもらうなどの自主的な活動に切り替えるような見直しが必要とされている。

(本事例の特長)

水辺教室は昭和61年から開催しており、20年以上も継続されていること。1クラス40人とすると、始めた時から数えれば水辺教室を受けた生徒は延べ1600人に達し、その受講生の数は非常に多い。

3.5 環境教育リーダー制度 (平成20年から)

この制度は環境保全活動を目的として開催する講演会

や学習会などで、県が依頼した講師が申し込みのあった団体のところに向いて地球環境、自然環境保全、廃棄物やリサイクル、省エネルギーなどの話を講演会方式で開催する制度である。図5に活動概略を示す。

県が依頼した講師を環境教育リーダーと呼び、交通費、謝金は県が負担する。以前は環境アドバイザー制度という名前で、平成2年から実施されていた。

(制約条件)

特定の活動フィールドを持たず、講師派遣の依頼がないと環境学習の場を持つことができない。

(問題点・課題)

フィールド活動よりは座学が中心で、知識取得型の性格をもつ活動である。そこで得られた知識は実践を伴わない一過性の環境学習であることが多く、継続性がないこと。

(県の改良点)

現在の環境教育リーダー活動の多くは知識習得型であり、実践活動に結びつきにくいという難点があるので、実践活動のフィールドを持ち、実際に活動していける質の高い環境学習を行っていきけるような指導者の養成が必要である。

これらも踏まえて実際の講師の意見を生かした制度づくりをする必要がある。

以上5つの活動事例を総合的に比較検討するため、以下の6つの項目に関してピックアップし考察した。

- ・目的 (明確であるか)
  - ・活動の湧き上がり方 (自主的かそうでないか)
  - ・資金 (調達方法、不足していないか)
  - ・指導者 (適切な指導者がいるか)
  - ・活動内容広報 (取組みの成果をまとめて情報提供しているか)
  - ・満足度 (自分達の活動の題材について理解しているか)
- 比較結果を表1に示す。

この結果5つの事例のうち、女川第4中学校「アカモク」を用いた環境学習、十符の里の「かさすげ」を用いた環境学習は活動の意欲も高く、活動内容も充実してい

水 辺 教 室

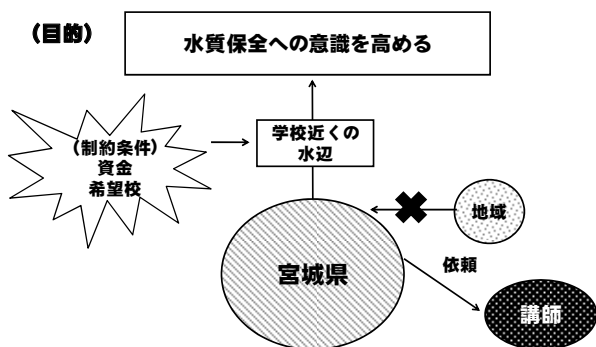


図4 水辺教室関係概略図

環境教育リーダー制度

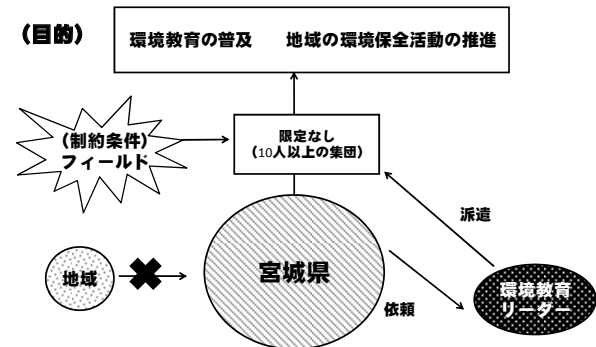


図5 環境教育リーダー制度関係概略図

表1 環境学習の総合考察

事例	項目	目的	活動の湧き上がり方	資金	指導者	活動広報	題材への理解・満足度	総合考察
汐見台小学校		○	×	×	○	△	○	○
女川第4中学校		○	◎	○	◎	◎	◎	◎
NPO法人 十符の里 ふるさとづくり集団		◎	◎	△	○	×	◎	◎
水辺教室		△	×	△	×	×	○	△
環境教育リーダー制度		△	×	△	×	×	○	△

ることが分かった。その要因をさらに分析するため、以下にこの2つの事例を中心に詳細に検討を加えてみる。

その結果、いくつかの共通項が浮かんできた。

①地域の課題をテーマにしている。

「アカモク」は自分達の身近な海の磯焼けを解消しようということ。「かさすげ」は利府町由来の植物であり、絶滅の危機にある「かさすげ」を育てることで、ふるさとづくりをしたいということ。

②環境学習が発展していく。

当初は一つの目的であったものが、方向性や目的が広がって発展している。

女川第4中学校のケースは、磯焼け解消の目的で植えた「アカモク」が藻場を形成し、魚やウニなどの有用生産物を増やすだけでなく、じゃまにされていた未利用の海藻「アカモク」が商品化できることが理解でき、地場産品の一つとして利用する検討にも着手した。以上のようなスパイラル的なステップで広がりを見せた活動の様子を概念的に図6に示した。

NPO 法人十符の里ふるさとづくり集団の活動状況を図7に模式図で示した。

このケースでは利府町の観光資源探しが基点となり、絶滅の危機にある希少植物「かさすげ」を発見し、その保護の目的で育成作業が始まった。育てた「かさすげ」は平安の昔、菅笠のブランド品の原料になっている歴史的な事実としての記録があり、現代によみがえらせて地場産品として売り出そうと考えた。さらに水質浄化実験によりその能力が大きいと判明してからは、浄化した水で米を育てるという地元の夢が大きくふくらんだ。これも当初の目的が活動を継続していくことによって、変革し次々に大きな目的意識を持つようになっていく。

これら2つのケースの場合、どちらも身近な地域の課題に取り組んでおり、そのことが取り組みやすさ、取り組みの深さにつながっている。身近な課題であれば、その活動効果も実感しやすく、これが意欲の向上、継続につながっていると考えられる。

また、もう一つの共通点は行政の関与する立場のあり方である。この2つのケースではどちらも行政が計画や活動の主体にいたるのではなく、指導者や、パートナーとして、ネットワークの構成員の一員として参加している。これらの要因がこの2つのケースにおいては共通して活動の自主性や自立性、発展性を維持し、意欲的な活動の要因となっていると考えられた。

以上により、活動団体が主体性を持ち、充実した環境学習を推進させるためには以下の要素を備えていることが必要であると考えられた。

- ①地域の課題をテーマにしている
- ②環境学習に発展性がある
- ③行政はネットワークの構成員の一員

さらに今回の事例研究を通して、理想的な環境学習について検討した。そのイメージを模式図化して図8に示す。

理想的な環境学習とは、学習して行く過程で新たな目的が出てくること。環境関係から始まったことが、食や産業に関することなど他の分野に広がりを見せること。

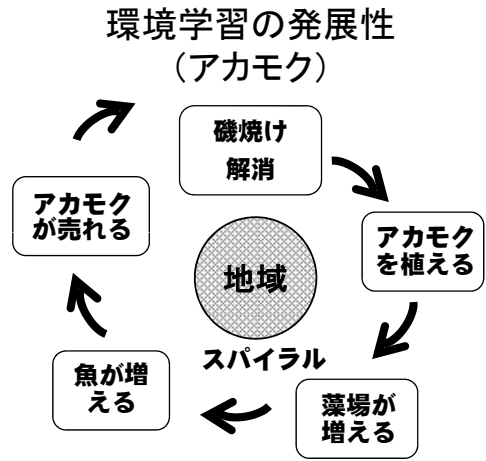


図6 環境学習の発展性<アカモク>

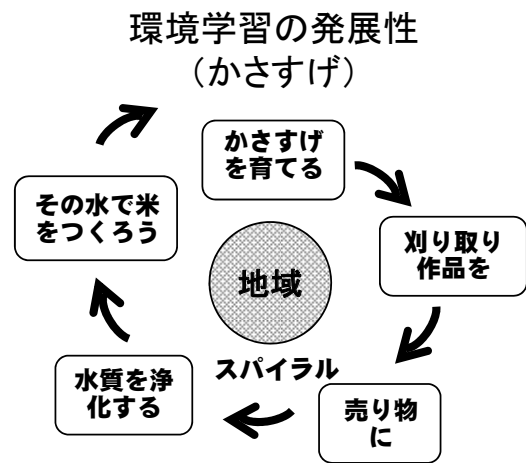


図7 環境学習の発展性<かさすげ>

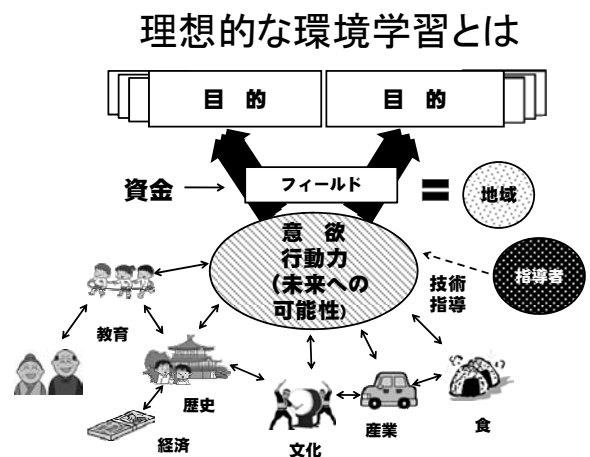


図8 理想的な環境学習のイメージ図

それらが縦横のネットワークを形成してくこと。さらにそのネットワークを通じて協力、共働、改善など影響し合いながら活動が充実していくことなどいくつかの活動の特長が上げられる。

特に行政がこのような理想的な環境学習に関与するに当たって2つの提案をしたい。

1. 行政が主体として環境学習を行うのではなく、ネットワークの構成員としての機能を果たす
2. 地域の課題を扱い、発展性のある環境学習を行う。

さらに行政機関が担う役割を検討すると、行政の持つ情報を総合的に一元化して提供することにあると考えられる。現場の声には様々な情報不足を感じさせる問題があり、行政の持つ技術的、事務的、専門的情報の提供が必要とされている。例えば環境学習の成果品の販売方法、販売時の広報活動。申請書類の記載方法や、指導者たる人や団体の情報等々、環境教育の現場に必要とされる情報が閉ざされがちになっているのは非常に残念なことである。各々の個人や組織の得意分野を生かし、県民に情報を与えることで、県民はそれを活用し、環境学習をさらに発展させることができるものと考えられる。

#### 4 まとめ

事例研究を行うことによって、環境学習にも様々な段階のものがあることがわかった。その中でも、県民の自発的な取組みにより継続して環境学習が行われるようになるために必要な要素を整理した。整理している過程で、理想的な環境学習についてのイメージを描いた。このような理想的な環境学習を行っていくため、行政機関は自らが持つ技術的、事務的、専門的情報を提供することが必要なのではないかと考えた。

理想的な環境学習を行えるフィールドとして、学校教育の現場に魅力を感じた。子供に対する環境学習は既成概念がないので、教育効果が高く、大人や地域を巻き込める可能性がある。

環境学習は協力者、指導者等成り立たせている要素が変わることにより、活動内容も大いに変化する流動的なものであることが解った。その意味でも、地域の中に根付かせ、住民を主体とした活動に発展させ、継続的な環境保全活動として定着させる方策が重要と考えた。そのため、地域の環境問題を自分達の問題として気づかせる初期活動、そこから生まれるネットワークの構築が最大の鍵であるとの結論を得た。