

低いとされている。従って、本調査においては、小粒径微生物粒子までを捕集できる、新たに開発された測定器である BIOSAMP MBS-1000 を用いた。本測定器は JIS K 3836「空中浮遊菌測定器の捕集性能試験方法」規格にて 99%の捕集率を持ち、1 μ m 以下の粒子まで捕集できるものである。微生物の測定には以下に示す 3 種類の培地を

使用した。

① トリプトソーヤ寒天培地（以降 SCD と呼ぶ）。SCD は一般細菌用として用いられ、ダイズペプトンおよびカゼインのトリプシン消化ペプトンが含まれているため、極めて広範囲の菌の発育に適する。以降、SCD 培地培養後の観察コロニー数を総菌数と呼ぶ。

② CP 加ポテトデキストロース寒天（以降 PDA と呼ぶ）。本培地はポテトデキストロース寒天培地に抗生物質クロラムフェニコール 100mg/L を添加して調製したものであるため、主として真菌の測定に用いられる。実際に、PDA 培地に形成したコロニーの中に、耐性細菌が含まれる可能性もあるが、真菌が主であるため、以降便宜上 PDA 培地培養後の観察コロニー数を真菌数と呼ぶ。

③ チョコレート寒天培地（以降チョコレート培地と呼ぶ）。本培地は、GC 基礎培地に発育素とヘモグロビンを加えたチョコレート寒天培地で、

表-1 測定対象住宅の概要

	所在地	築年数	間取り	階	居住者数	床面積	測定日
A宅	北区	3	3LDK	8F	4人	67m ²	2月5日
B宅	港区	20	2LDK	4F	2人	68m ²	2月6日
C宅	品川区	5	2LDK	6F	2人	58m ²	2月16日
D宅	杉並区	15	2LDK	2F	3人	45m ²	2月17日

表-2 測定項目と測定装置

測定項目	測定装置	備考
浮遊微生物 パスツレラ属菌 総菌 真菌	BIOSAMP MBS-1000	ミドリ安全製
堆積微生物 堆積アレルゲン イヌアレルゲン ダニアレルゲン	ハンドクリーナ	National製
イヌ口腔中 パスツレラ属菌	シードスワブγ1号	栄研製
浮遊粒子	パーティクルカウンターKR-12A	リオン製。測定粒径範囲： 0.3~0.5 μ m、0.5~0.7 μ m、 0.7~1.0 μ m、1.0~2.0 μ m、 2.0~5.0 μ m、5.0 μ m~
化学物質 VOCs HCHO	AIR SAMPLER S-21	Kamya製
換気回数	1302型マルチガスモニター	B&K製。トレーサガスSF ₆
温湿度	THERMO RECORDER RS-11	ESPEC MIC製

血液寒天培地に発育困難な栄養要求の厳しい菌に対する発育性に優れ、またコロニーの鑑別能良好とされる。

SCD と PDA 培地の培養条件はそれぞれ 32℃・48hr、25℃、72hr とした。パストツレラ菌の分離と同定方法を図-1 に示す。

2.3 測定方法

① 浮遊微生物

各対象室のテーブルの上に BIOSAMP MBS-1000 を用いて空気 200L 中の微生物を SCD、PDA 培地各 2 枚、500L 中の空気をチョコレート培地 2 枚に捕集した。各 2 枚の SCD、PDA 培地培養後の観察コロニー数から求めた平均値を 5 倍、チョコレート培地の平均値を 2 倍にし、それぞれ浮遊総菌数と浮遊真菌数またはパストツレラ属菌数を求めた。

② 堆積微生物・堆積アレルゲン

各種の浮遊微生物、浮遊粒子、化学物質、換気回数の測定が終了後、床面約 2 畳の堆積じんをハンドクリーナを用いて 2 分間かけて採集した。採取した堆積じんをパストツレラ属菌とダニアレルゲン (Der 1)、イヌアレルゲン (Can f1) の分析に用いた。Der1 を測定したのは Can f1 と比較するためである。なお、パストツレラ属菌は図-1 に示す方法で、Der 1 と Can f1 は免疫法により定量分析を行った。

③ 居住者とイヌ口腔中のパストツレラ属菌

住宅 B は 10 才のオス一頭、住宅 C は 5 才のオスと 6 才のメス各一頭を飼っている。イヌ口腔中のパストツレラ属菌の検体を口腔中の粘液とし、それをシードスワブ ユ 1 号 (栄研製) を用いて採取した。また、居住者に協力を得て、上記同様の方法で検体を採取した。

④ 浮遊粒子

空中浮遊する微生物は単体または浮遊粒子に付着して浮遊すると考えられている。浮遊粒子濃度と浮遊微生物濃度との関係を把握するために、1 つの培地を用いて浮遊微生物の測定期間中、浮遊粒子濃度を測定した。

⑤ 化学物質

対象室内の HCHO と VOCs 濃度を、ポンプ AIR SAMPLER S-21 各 1 台を用いて前記した微生物の測定箇所での空気 15L を 30 分間でビニル製チューブを介して測定した。HCHO の測定には Sep-

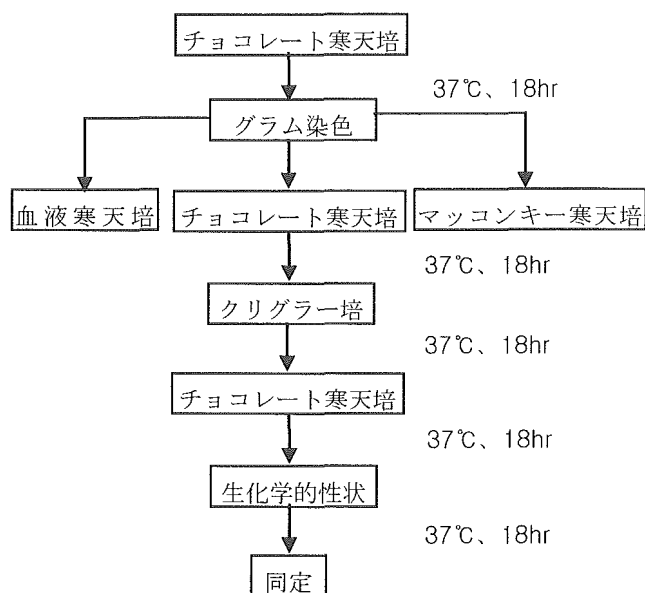


図-1 パストツレラ属菌分離・同定

表-3 HCHO と VOCs の分析条件

アルデヒド類<HPLC分析条件>	
HPLC	LC-10AT(島津製作所)
検出器	紫外分光光度計検出器
カラム	SUMIPAX PG-ODS 150mm*4.6mmΦ (粒径7μm)
移動相	アセトニトリル/水=50/50
カラム温度	40℃、注入量 20μL
検出波長	365nm
分析時間	20min
VOCs<GC-MS分析条件>	
GC-MS	6890-5973N (Agilent)
カラム	DB-5、0.25mm*60m*0.25μm
カラム温度	40℃ (5min) - (10℃/min) - 250℃ (15min)
キャリアガス	ヘリウム 1mL/min
モード	SIM

-Pak Cartridges (Waters 製)、VOCs の測定には Charcoal Tubes (柴田科学製) を用いた。

HCHO と VOCs の分析条件を表-3 に示す。

⑥ 換気量

換気量 (取入外気量) は室内空気環境において極めて重要な要素であるため、各対象住宅におい

トレーサガス SF₆ の減衰法により換気回数の測定を行った。対象室内に SF₆ の濃度が数十 ppm になるように、SF₆ を少量放出した後、その放出を止める。マルチガスモニターを用い手 SF₆ が放出される前から、放出停止後 1～2 時間までに室内 SF₆ の濃度 (C) を連続測定した。換気回数 (室容積に対する取入外気量の割合) は以下の式より求めた。

$$K = (\text{LnCo} - \text{LnC}) / \Delta t$$

Δt は測定時間 (h) である。

住宅においては窓を開けることがもっとも有効な換気手段であることから、最初に測定を行った A 宅において、窓の開閉による換気量、浮遊微生物粒子濃度、化学物質濃度の影響を把握するための測定を行った。

⑦ 温湿度

対象室内の空気環境条件を把握するために、上記の測定を開始するとともに、5 分間隔の 1 週間連続測定を行った。

写真-1 に測定時の風景を示す。



2.4 アンケート調査

B、C 宅を対象にヒトとペットのかかわり合いに関するアンケート調査を行った。表-4 にアンケート内容の一部を示す。なお、アンケートを測定当日居住者に説明した上で手渡し、後日郵送にて回収した。

3. 研究結果

3.1 換気回数

各住宅における換気回数の測定結果を表-5 に示す。築 15 年の D 宅と築 20 年の B 宅の換気回数はそれぞれ 0.88 と 0.68 回/hr であるのに対して、築 3 年の A 宅の換気回数は 0.11 回/hr しかなく、近年住宅の気密化の裏付けられた結果となった。一方、築 5 年の C 宅は 1.30 回/hr と最も高い値を示したが、これは換気回数を測定する期間中に、在室者の出入りがあったためである。

A 宅では、窓を開けることによって、換気回数が 34.5 回/hr に上昇した。外気の気候条件にもよるが、本測定の結果では、窓を開ければ、2 分弱で室内の空気を外気と 1 回入れ替えられることを明らかにした。図-2 にトレーサガス濃度の減衰を示す。

写真-1 測定風景

表-4 ヒトとペットのかかわり合いに関するアンケート（抜粋）

1. ペットの飼育環境は？
- イヌ 主に（屋内[ゲージの中、放し飼い]、屋外、屋内屋外両方）
 ネコ 主に（屋内[ゲージの中、放し飼い]、屋外、屋内屋外両方）
 ウサギ 主に（屋内[ゲージの中、放し飼い]、屋外、屋内屋外両方）
 トリ 主に（屋内[ゲージの中、放し飼い]、屋外、屋内屋外両方）
-
2. 飼い始めたきっかけ、動機は？
- a 生活に潤いを求めて
 b 子供の情操教育のため
 c 捨てられたり迷子になっていたので保護
 d その他（ ）
-
3. 現在のペットの飼育目的は？
- a 使役（番犬、猟犬、ネズミ駆除、その他）
 b 家族の一員として生活にとけこんでいる
 c なんとなく飼っている
 d その他（ ）
-
4. 次の文中であなたにとって適切と思われる語句を選んで○印をして下さい。
- a ペットがいないと（寂しい、寂しくない、どちらともいえない）
 b ペットの健康状態について（常に気になる、ときどき気になる、全く気にならない）
 c ペットは今の生活に（必要である、必要でない、どちらともいえない）
 d ペットのいることで、家族との共通の話題が増えていると（思う、思わない、どちらともいえない）
 e ペットのいることで、生活の潤いがあると（思う、思わない、どちらともいえない）
 f ペットから病気をうつされたらと不安に（思う、思わない、どちらともいえない）
 g ペットに自分または家族が、口をなめさせたり、口移しで食物を与えることが（頻繁にある、時々ある、ない）
 h ペットが自分または家族の寝床に入って一緒に寝ることが（頻繁にある、時々ある、ない）

表-5 換気回数【回/hr】

	窓閉	窓開
A宅	0.11	34.5
B宅	0.68	測定せず
C宅	1.30	
D宅	0.88	

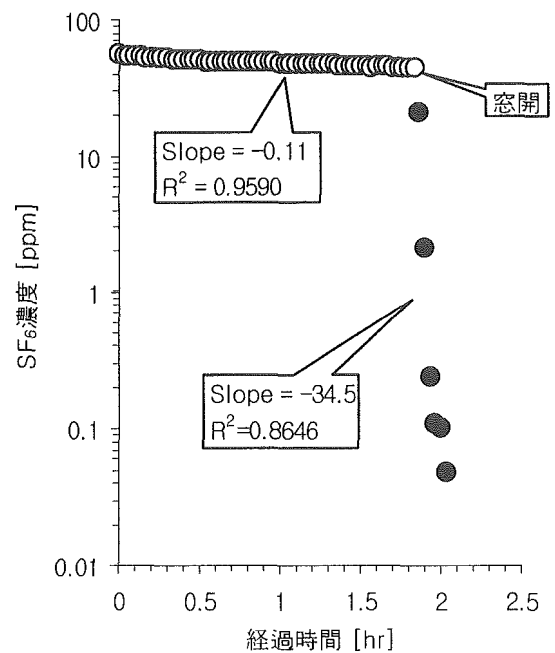


図-2 A宅の換気回数

3.2 温湿度

各住宅における 1 週間の温湿度測定結果を図-3~図-6 に示す。A、B 宅の何れも温度 20℃前後、相対湿度 50%前後であった。C 宅の温度は 20℃前後、相対湿度は 60%前後であった。D 宅の相対湿度は上記の A~D 宅と大きく変わらないが、温度は 16℃前と低い値を示した。事後に D

宅の居住者に温度低い原因を聞いたところ、“当該住宅は古く、断熱性もよくない。また、夜になると窓近辺でドラフトを感じる”との回答が得られた。

冬期の屋外の相対湿度が 20%前後であるのに対して、室内湿度は意外と保たれていることが分かった。

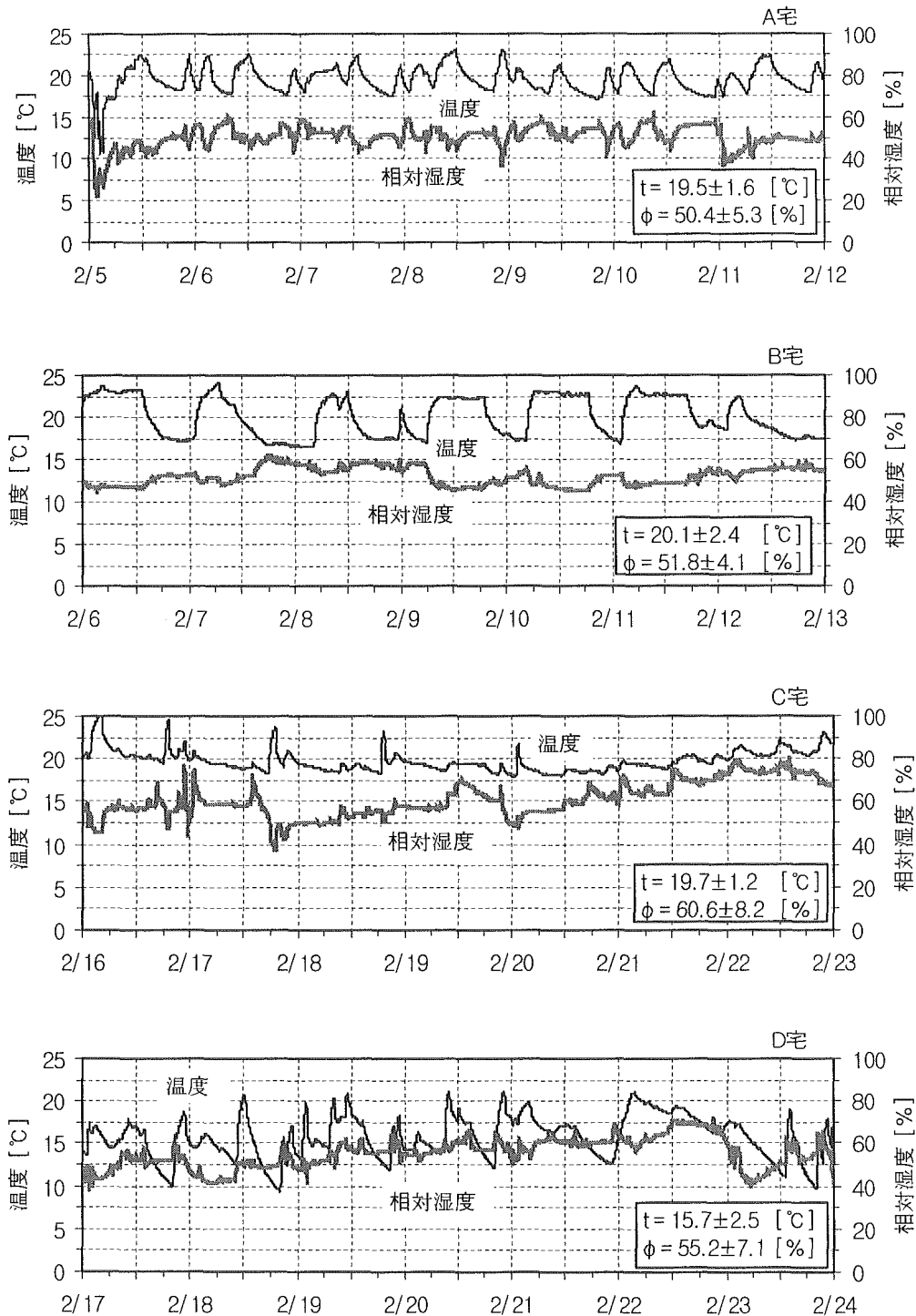


図-3 温湿度

3.3 浮遊微生物

表-6 に浮遊総菌と真菌の測定結果を示す。

外気については、C 宅の総菌と真菌の何れも高い値を示したが、ほかの 3 宅は総菌 40~60 [cfu/m³]、真菌 20~30 [cfu/m³]であった。

室内については、A~C 宅の総菌数約 340~620 [cfu/m³]であるのに対して、D 宅は約 50 [cfu/m³]であった。また、C 宅の真菌は約 200 [cfu/m³]であったが、その他は 30~40 [cfu/m³]であった。室内の濃度差はともかく、C 宅屋外の高濃度について不明である。

また、A 宅換気後の室内浮遊総菌と真菌濃度はそれぞれ 46 と 23 [cfu/m³]になり、主な発生源が室内にある総菌に対する換気効果を確認できた。

3.4 パスツレラ属菌

B 宅のイヌの口腔から *P.canis*、C 宅の 2 頭共に *P.dagmatis* が検出された。写真-2 に *P.canis* の写真を示す。一方、居住者の口腔内、住宅の空气中、堆積じん中の何れにおいてもパスツレラ属菌が検出されなかった。

3.5 イヌアレルギー

ペットアレルギーについて、ペットの有無によって顕著な差が認められた。図-4 その結果を示す。A 宅からダニアレルギー Der1 とイヌアレルギー Can f1 の何れも検出されなかった。同じペットを飼っていない D 宅から Der1 が検出されず、Can f1 はほぼ検出限界程度の 1 [μg/g fine dust] が検出された。一方、イヌを飼っている B、C 宅の堆積じん 1g 当たりの Der1 が数 μg 検出された。さらに、Can f1 は 100~1000 [μg/g fine dust] であり、Der1 よりも 1~2 桁高かった。

3.6 浮遊粒子

微生物の測定と同時にを行った浮遊粒子濃度の測定結果から求めた各住宅室内浮遊粒子の粒径別濃度の平均値を図-5 に示す。A 宅では何れの粒径範囲において低い値を示した。D 宅の粒径別濃度に比較して、B、C 宅は、1 μm 以下の粒子濃度がやや低くなっているが、1 μm を超えると、粒径が大きくなるにつれ、高くなることが分かった。

表-6 浮遊総菌と真菌 [cfu/m³]

		A宅	B宅	C宅	D宅
室内	総菌	344	615	533	53
	真菌	33	40	205	38
外気	総菌	48	63	705	55
	真菌	24	20	165	30

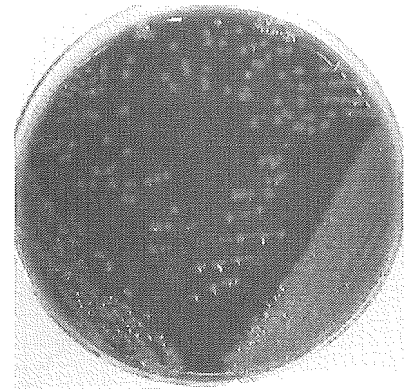


写真-2 イヌ口腔内の *P.canis*

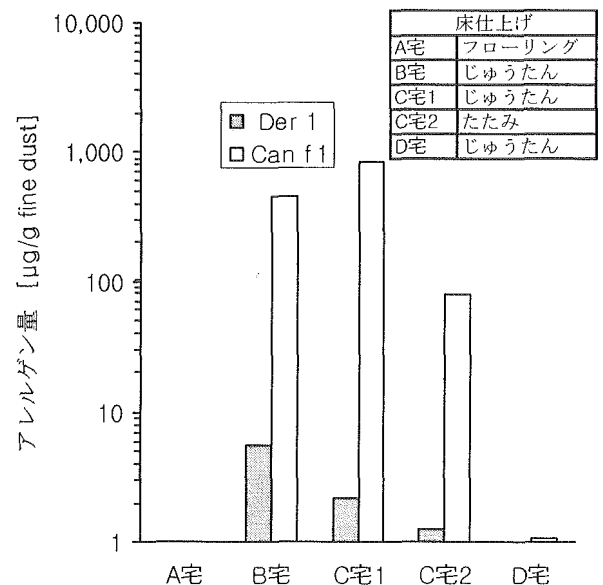


図-4 アレルゲン量

表-7 化学物質濃度

	ホルムアルデヒド		アセトアルデヒド		TVOC	
	[$\mu\text{g}/\text{m}^3$]		[$\mu\text{g}/\text{m}^3$]		[$\mu\text{g}/\text{m}^3$]	
	室内	屋外	室内	屋外	室内	屋外
A宅	70	<10	70	<10	360	570
B宅	20	<10	20	<10	380	340
C宅	40	<10	30	<10	280	260
D宅	10	10	20	<10	410	410

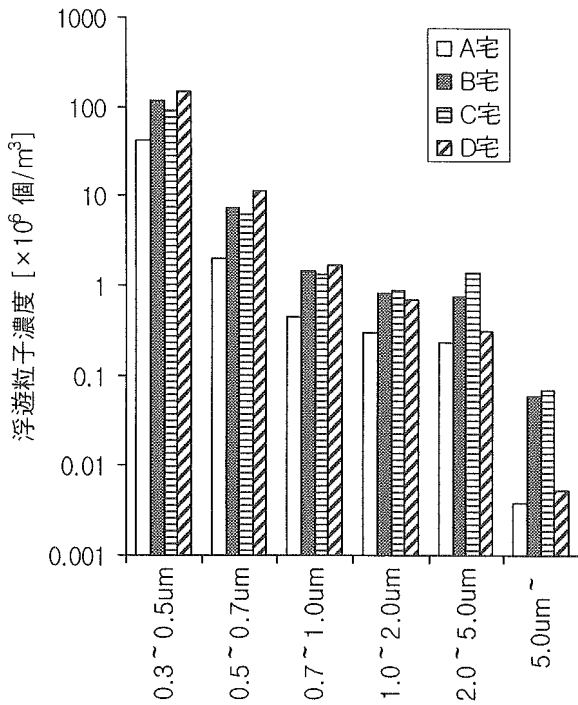


図-5 浮遊粒子濃度

3.7 化学物質

各住宅における測定したホルムアルデヒド、アセトアルデヒド、及びTVOCの濃度を表-7に示す。ホルムアルデヒドの濃度は何れも厚生労働省から出された指針値 $100[\mu\text{g}/\text{m}^3]$ を下回っている。また、TVOCは同暫定目標値 $400[\mu\text{g}/\text{m}^3]$ をほぼ満足している。

VOCの成分分析については、TVOC測定時に検出された成分のうち、トルエンに換算して算出した上位10成分について、電子衝撃イオン化(EI)マス・スペクトルライブラリー検索を行った。その結果全てにおいてベンゼンのみがヒットされた。今回の分析方法の関係で定量分析の下限値が $70[\mu\text{g}/\text{m}^3]$ となっているためである。この結果から、次年度の測定に加熱脱着法に変更した方がよいと考えられる。

3.8 アンケート調査結果

質問1「ペットの飼育環境は？」について、B、C宅共に“室内の放し飼い”と答えた。

質問2「飼い始めたきっかけ、動機は？」について、B宅は“動物愛護協会の里親さがしに出会って、こどもがどうしても飼いたいとの希望で買

い始めた”、C宅は“生活に潤いを求めて”と回答した。

質問3「現在ペットの飼育目的は？」について、B、C宅ともに“家族の一員として生活にとけこんでいる”の解答欄を選んだ。

質問4について、B、C宅がa~eに対する答えは同じであった。即ち、“ペットがいないと寂しい”、“ペットの健康状態について常に気になる”、“ペットは今の生活に必要である”、“ペットのいることで、家族との共通の話題が増えていると思う”、“ペットのいることで、生活に潤いがあると思う”。fの質問「ペットから病気をうつされたらと不安に」に対して、B宅の答え“どちらともいえない”に対して、C宅は“思わない”と答えている。gの質問「ペットに自分または家族が、口をなめさせたり、口移しで食物を与えることが」に対して、B宅の“ない”に対して、C宅は“時々ある”と答えている。hの質問「ペットが自分または家族の寝床に入って一緒に寝ることが」に対して、B、C宅共に“頻繁にある”と答えている。因みに、B宅の居住者に聞いたところ、最近ほぼ毎日ペットと一緒に寝ているとのことであった。

4. 考察

4.1 パスツレラ属菌について

現在、パスツレラ症の病原体であるパスツレラ属菌として、*P.multocida*、*P.canis*、*P.dagmatis*、*P.stomatidis*の4種が確認されている。本調査の結果ではB宅に飼われているイヌの口腔から*P.canis*、C宅に飼われているイヌ2頭とも*P.dagmatis*が分離同定されたことから、イヌの高保有率を確認することができた。

しかし、空気中や堆積じん中の何れにおいてもパスツレラ属菌が検出されなかった。これについては、次年度ではサンプリング量や測定季節など

検討したうえで実施する予定である。

4.2 ペットアレルギーについて

本調査の結果、ペットを飼っていないA、D宅の堆積じんからイヌアレルギー Can f1 が検出限界値以下であるのに対して、イヌを飼っているB、C宅の1g当たりの堆積じんから100~1000 μ gのCan f1 が検出された。このレベルはダニアレルギーのDer1よりも1~2桁高いことから、次年度ではその空中への飛散量や居住者の被曝量を推定し、対策を検討する必要があると思われる。また、ネコを飼っている住宅内のネコアレルギー Fel d1 も Der f1 と同じような高い値を示すとの報告があり、次年度においては、イヌのみならず、ネコを飼っている住宅の測定も必要である。

4.3 室内浮遊総菌と真菌

A、B宅の調査結果、浮遊真菌濃度は室内と屋外が同程度で、浮遊総菌は屋外より室内の方が約1桁高い。この結果は、従来言われている「住宅内浮遊微生物の主な発生源について、総菌は室内、真菌が屋外にある」と一致している。

しかし一方、C、D宅は室内、屋外の浮遊総菌と真菌濃度が同じレベルになっていることから、室内主な発生源はない結果となった。

以上の結果より住宅内浮遊微生物の汚染実態を把握するために、次年度の調査において、測定対象住宅数を増やす必要があると思われる。

4.4 浮遊真菌数と浮遊粒子濃度の関係

浮遊真菌数と粒径別浮遊粒子の相関を求めたところ、5 μ m以上の粒子との間に有意な相関関係が認められた。図-6に室内、図-7に屋外における浮遊真菌数と浮遊粒子濃度の関係を示す。また、回帰式から、1000個の浮遊粒子中に4~5個の真菌が含まれることが読み取られる。

4.5 アンケート結果について

本研究のテーマは「人畜共通感染症に関する研究—建築物衛生の観点から」であり、アンケート調査の結果から、居住者とペットが住宅内で共存している実態が分かった。B宅の居住者に「ペットについてあなたの思うこと、感じたことをお書き下さい」と尋ねたら、「飼い始めた頃は家の外で飼うつもりでしたが、寂しそうに鳴く声とビル

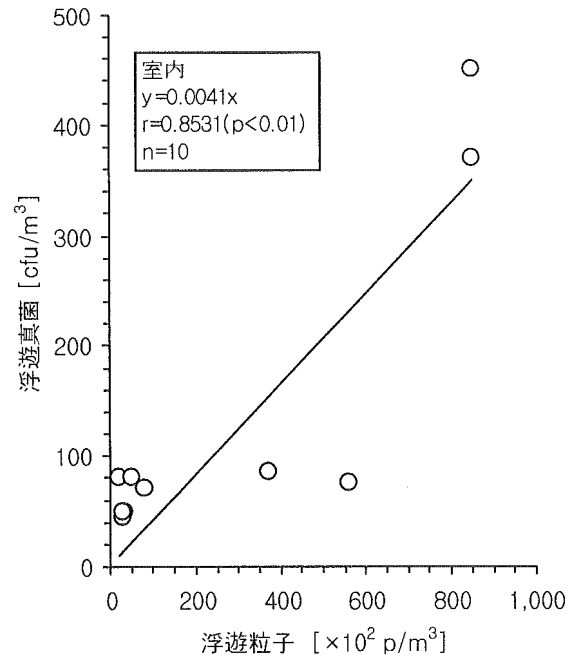


図-6 室内浮遊微生物と浮遊真菌濃度の関係

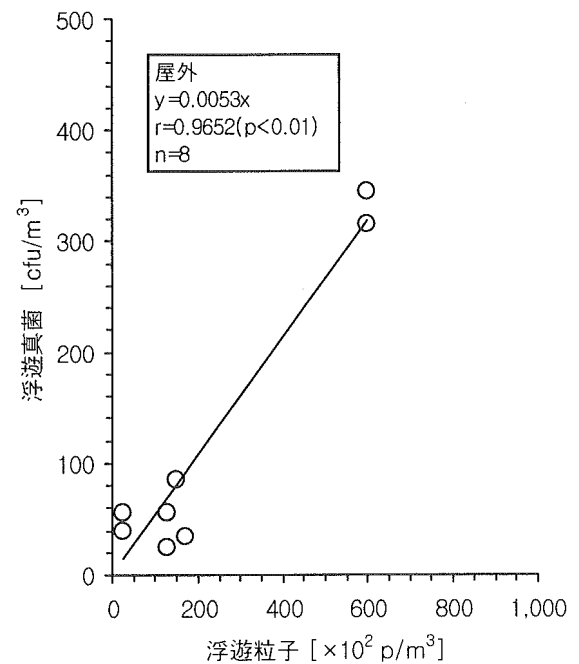


図-7 屋外浮遊微生物数と浮遊真菌濃度の関係

なので会社の方に迷惑がかかることで、うちに入れて買い始めたら、家族になってしまいました。”と答えた。この答えは、ペットと共存するようになったのが近年居住環境の変化が一因であることを

物語っている。

一方、ペットは精神的な癒しや安らぎを与えてくれて、生活に潤いがあることがアンケート調査の結果からも分かる。従って、居住者とペットの正しい接し方が重要となる。イヌがくしゃみをすると多くのパスツレラ属菌が放出されることが知られている。ペットと一緒に寝るということは、室内空気汚染の観点から、居住者が汚染源に近かつくことであり、とくに高齢者や糖尿病など抵抗力が低下した居住者はそれを避けるべきであると思われる。

5. 結論

本研究では、イヌを飼っている住宅と、ペットを飼っていない住宅各 2 軒における室内パスツレラ属菌とイヌアレルギーを中心とした室内空気環境の調査を行った結果を中心に述べた。以下に得られた主な結論を示す。

- [1] 調査対象住宅の何れにおいても空気中と堆積じんにパスツレラ属菌が検出されなかったが、全てのイヌ（計 3 頭）から *P.canis* または *P.dagmatis* が検出され、イヌの口腔内にパスツレラ菌が高い率に常在していることを確認できた。
- [2] ペットを飼っていない住宅内にダニアレルギー Der1 とイヌアレルギー Can f1 が殆ど検出されなかったのに対して、イヌを飼っている

住宅の堆積じん 1g 中 Der1 は 1~10 [$\mu\text{g/g}$ fine dust]、Can f1 は 100~1000 [$\mu\text{g/g}$ fine dust] であった。イヌを飼っている住宅内のアレルギー量が多いことが分かった。

- [3] イヌを飼っている住宅において、 $1\mu\text{m}$ 以上の浮遊粒子濃度が高い傾向にある。
- [4] 浮遊真菌数と $5\mu\text{m}$ 以上の浮遊粒子濃度の間に有意な相関関係が認められた。1000 個の浮遊粒子中に 4~5 個の真菌が含まれることが読み取られる。
- [5] 気候条件にもよるが、本調査の結果、窓を 2 分弱で開ければ、室内の空気を外気と 1 回入れ替えられ、換気による室内汚染物質の対策が有効であることを確認した。
- [6] 以上の結果を踏まえて次年度では、詳細な研究を行う必要がある。

参考文献

- 1) 平成 15 年度東京都健康安全研究センター公開セミナー、2003.9
- 2) 平成 15 年度「ヒトと動物の共通感染症都民公開シンポジウム」、社団法人東京都獣医師会・東京都医師会、2004.2
- 3) 宮下琢：パスツレラ肺炎、感染症症候群 I、pp.384-386
- 4) 阪口雅弘、蟻川奈緒子、岩崎利郎：環境中のペットアレルギーのモニターリングと環境整備、アレルギーの臨床 22(9)、pp.38-42 (2002)

研究要旨

インフルエンザ流行と居住環境との関連について、感染症情報を基にした地理情報システム(geographic information system、GIS)を用い、インフルエンザの流行、伝播状況を解析し以下の結果が得られた。1)厚生労働省感染症サーベイランス情報により、インフルエンザ流行のピークは毎年東北・北海道からではなく西日本からゆっくりないしは急速に北上し、特にA/H3N2型が変異した際には大きな流行となり、日本全体に短期間に伝播する事が示唆され、流行とウイルス株の変異の関与が再確認された。2)新潟県内と隣県との関連、県内での伝播について、インフルエンザによる県内小中学校の学校・学級閉鎖情報から解析を行った。流行は近県から入り、人口密集地の都市部から爆発的に、平野部分と狭い山間部のいずれも交通網に沿って拡散する伝播様式が明示され、人口密度と交通網発達に関与の重要性が示唆された。3)気象との関連を検討し、流行の大小は特にエルニーニョやラニーニャとの関連性はなかった。4)これと関連してのテレコネクションからの検討では、1月の平均気温の高さが流行程度と関連性が示唆されたが、今後の検討と思われた。5)全国の全県での気温、絶対湿度、相対湿度を検討し、相対室温ではなく10℃以下の気温と10g以下の絶対湿度が流行開始の必要条件と思われたが、更なる検討が必要と思われた。

A 研究目的

インフルエンザは毎年冬季に発生し、通常の流行でも5-10%の国民が罹患し、年齢的にも小児が多く、罹患後の死亡では高齢者が多数を占める。この数年、高齢者を中心としたワクチン接種、迅速診断の導入と共に新しい抗ウイルス剤が市販され、予防と治療への対策は大きく進歩した。このようにインフルエンザは医療面で多くの影響を与え、特に日本を含めアジア地区で猛威をふるっている高病原性鳥インフルエンザからの新型インフルエンザ発生の危険性が増加し、今日その対策は急務となっている。

本研究課題であるインフルエンザ感染と居住関係としては、in vitroでの検討もありこれまで特に湿度との関連性が示唆されてきた。しかし、季節性や流行との関連を含めると、多くの点が不明なままであり、ウイルス学の進展もあり、もう一度それらの関係を検討する必要があると思われた。

今回の研究に際し、感染者数、場所、動向、様式などを視覚的に地図上に捉える地理情報システム(GIS, geographical information system)を基本的な解析手法とした。感染症疫学解析に地理情報を入れる方法は、歴史的には英国のJ.Snowがコレラ

の発生と共同井戸とが明確に関連することを地図上で解析し、本手法の有用性を示している。これまでの手作業による患者等の地図上への表示から、最近では IT 革命により、詳細な地理情報と種々のデータをコンピュータ上で統合することが可能となり、多面的な分析を容易に行える状況になりつつある。

我々は過去の流行時におけるインフルエンザの地域内伝播状況を空間的、時系列的に解析すべく、複数のインフルエンザ発生情報と地理情報とを連結し、更には気象庁からの気象情報をも加えて GIS による解析を行った。これは、流行、伝播システムを解明し、今後の感染制御の一助になる可能性を追求することと、新興・再興感染症などへの危機管理システムの一部とし、感染症の予防・制御への資料作成を目指すことである。

B 研究方法

二つの感染症情報を基にした GIS を用いインフルエンザの流行、伝播状況を解析した。

1. 厚生労働省感染症サーベイランス情報のインフルエンザ患者発生情報を基にした GIS による感染症の疫学的分析

過去 10 年間の厚生労働省感染症サーベイランス情報から、各都道府県の週別の患者発生情報を用いた。GIS 解析に当たっては、各県庁の住所を基本定点とし、GIS ソフトウェア ArcView 内で Kriging 法により患者発生動向を週毎に画面表示した (図 1)。更に、1992 年からの 7 シーズンにおいては、各都道府県の患者発生ピークの週を調べ、各シーズンの最初のピークを認めた週を第一週とし、最後にピークを認めた週まで順を追って番号を付け、県毎のピーク移動を kriging 法で提示した。

2. 新潟県の小中学校のインフルエンザによる学校・学級閉鎖情報からの GIS による感染症の疫学的分析

GIS を用い、県内小中学校学校 (約 878 カ所) の学校・学級閉鎖状況を、学校の住所を基に地図上に表示した (図 2)。GIS 上では学校での感染症発生と人口密度、交通路線などの情報も加えて時系列的に地図上に患者発生について動的な解析・表示を行った。

3. 気象情報とインフルエンザ流行

上記の 1) のインフルエンザ患者発生情報と気象庁から得られる気象情報と季節性、年毎の流行形態の違い等の関連性を検討した。

C 結果・考察

1. 厚生労働省感染症サーベイランス情報のインフルエンザ患者発生情報を基にした GIS による感染症の疫学的分析

感染症サーベイランス情報と全国の小中学校のインフルエンザによる学校・学級閉鎖情報から、インフルエンザ流行は毎年東北・北海道からではなく西日本からゆっくりないしは急速に北上することが示された (図 3)。

更には、各都道府県における流行ピーク移動からの解析を検討し、特に A/H3N2 型が変異した際には大きな流行となり、ピーク移動は 3-5 週と短時間 (図 4)、それ以外の際には 12-15 週と 2 種類の伝播系形態を示した (図 5)。なおピーク移動は患者動向から最初に患者のピークを示した県の週を第 1 週とし (黒)、最後の県のピークを認めた週 (灰色) まで順を追って濃淡により図示した。

以上、流行とウイルス株の変異の関与が再確認された。

2. 新潟県の小中学校のインフルエンザによる学校・学級閉鎖情報からの GIS による感染症の疫学的分析

1) の解析において、インフルエンザの国内の流行伝播はある地域から同心円上に伝播する傾向も見られた(図1, 3, 4, 5)。サーベイランス定点は約100, 一方小中学校は約900と9倍近くあり(図2)、しかも全県を漏れなく網羅しているという背景から、新潟県内と隣県との関連、県内での伝播についての解析をインフルエンザによる県内小中学校の学校・学級閉鎖情報から5シーズンについて行った。

例えば北陸部分から流行したシーズンでは、新潟県の上越地区で最初に流行を認めたと、学校・学級閉鎖数の増加は人口密集地の都市部を経て、爆発的に道路沿いに伝播する様子が明らかに示された(図6, 7)。この傾向は山間部だけでなく、平野部分でも同様の傾向であった。

以上インフルエンザ流行は交通網に沿って拡散する伝播様式が明示され、人口密度と交通網発達の関与の重要性が示唆された。

3. 気象情報とインフルエンザ流行

インフルエンザと関係が強い超過死亡とエルニーニョやラニーニャとの関連性をフランスのグループが検討し、ラニーニャと関連性があると報告している。日本では1987年1999年まで1回のラニーニャと4回のエルニーニョがあるが、これらの5回の場合と流行との関連性はなかった(図8)。

日本を含む東アジアの冬の天候に最も影響を及ぼすテレコネクションパターンとして西太平洋パターン(WP:western Pacific)がある。これは海面気圧や500hPaの等圧面高度のデータを体系的にしたものである。これは日本の気候が、ユーラシア大陸の東端

との地理的条件から、大陸と海洋の療法からの影響を得ている背景がある。WPではなく1月の平均気温の高さが流行程度と関連性が示唆されたが、今後の検討と思われた(図8)。更に、全国の全県での気温、絶対湿度、相対湿度を検討し、相対室温ではなく10°C以下の気温と10g以下の絶対湿度が流行開始の必要条件と思われたが、更なる検討が必要と思われた(図9)。

D 結果

第一には厚生労働省感染症サーベイランス情報により、インフルエンザ流行のピークは毎年西日本からゆっくりないしは急速に北上し、特にA/H3N2型が変異した際には大きな流行となり、日本全体に短期間に伝播する事が示唆され、流行とウイルス株の変異の関与が再確認された。第二に、インフルエンザによる県内小中学校の学校・学級閉鎖情報から県内での伝播について解析を行い、近県から入った流行は、人口密集地の都市部から爆発的に、平野部分と狭い山間部のいずれにおいても交通網に沿って拡散し、人口密度と交通網発達の関与の重要性が示唆された。

更に気候との関連では、1月の平均気温の高さが流行程度と関連性が示唆され、全県での気温、絶対湿度、相対湿度を検討し、相対室温ではなく10°C以下の気温と10g以下の絶対湿度が流行開始の必要条件と思われた。

E. 健康危機情報

1) 新型インフルエンザは短時間に日本を覆い尽くすことが示唆され、ワクチン以外に抗ウイルス剤の備蓄・使用の緊急性が指摘された。

2) インフルエンザの地域での流行伝播形

式は人口密集地の都市部が大きな役割を演じ、此処を起点として、爆発的に道路沿いに伝播する可能性が強く示唆された。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木宏、坂井貴胤、齋藤玲子、古俣修、佐藤勇。GIS（地理情報システム）によるインフルエンザ感染症の疫学解析インフルエンザ。14：35-41,2003.
- 2) 齋藤玲子、佐野康子、坂井貴胤、佐藤瑞穂、鈴木宏。小児及び高齢者におけるRSウイルス感染症の分子疫学的解析と地理情報システム（GIS）への応用。新潟県医師会報 636 1-2, 2003.
- 3) Hiroshi Suzuki, Reiko Saito, Hiroki Masuda, Hitoshi Oshitani, Mizuho Sato, Isamu Sato. Emergence of amantadine-resistant influenza A viruses: Biological study. J Infect Chemother 9:195-200, 2003.

2. 学会発表

日米医学協力計画急性呼吸器部会日米合同会議。東京（1月、2004）、サンフランシスコ（3月、2004）

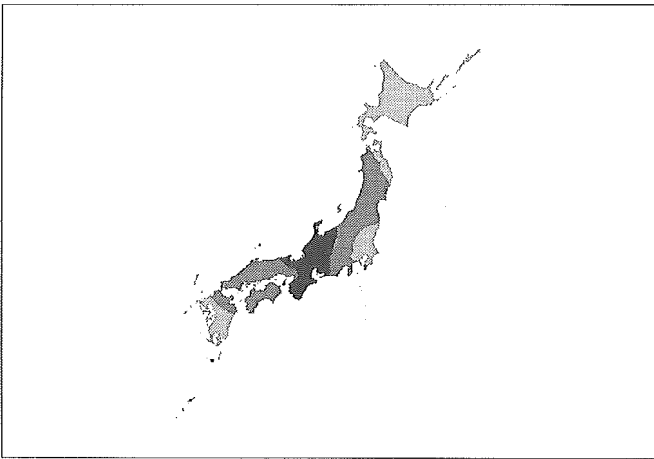


図 1

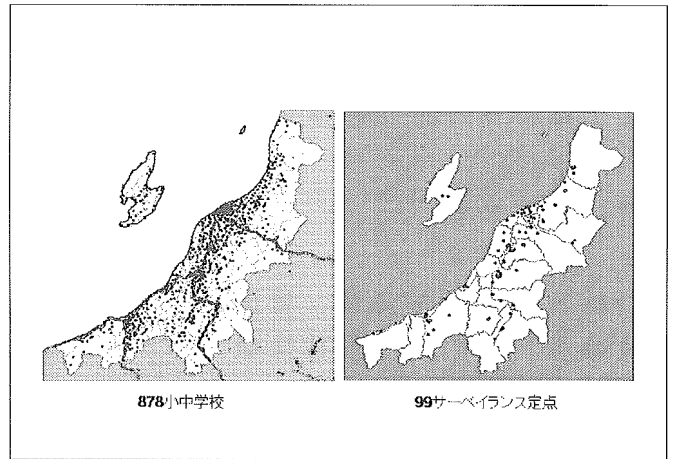


図 2



図 3

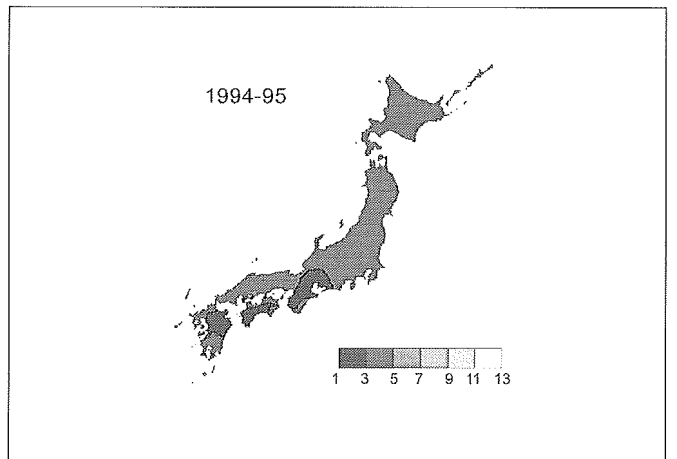


図 4

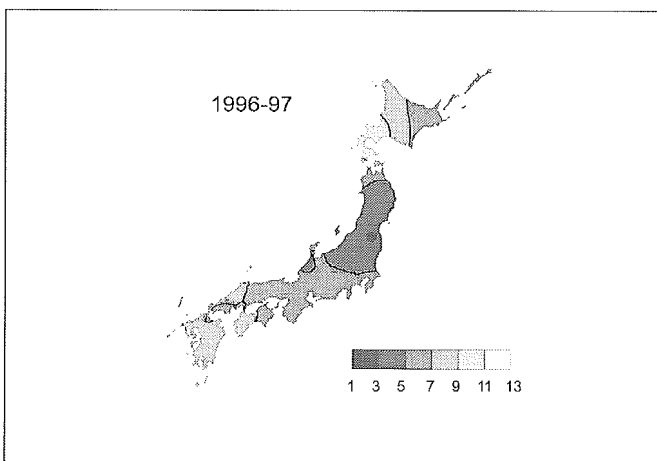


図 5

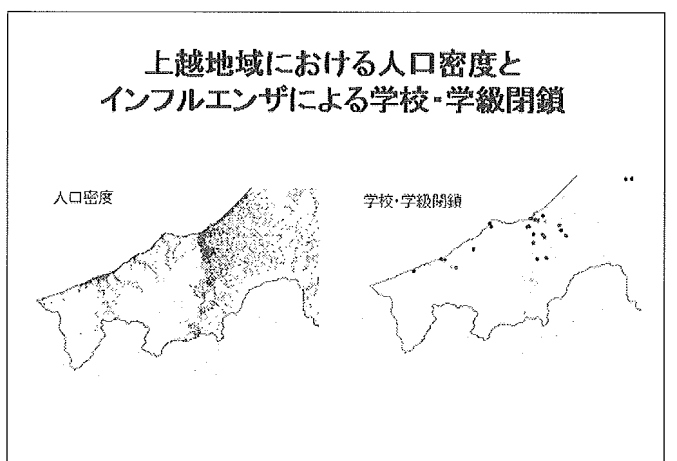


図 6

上越地域におけるインフルエンザによる学校・学級閉鎖(2000-2001年)

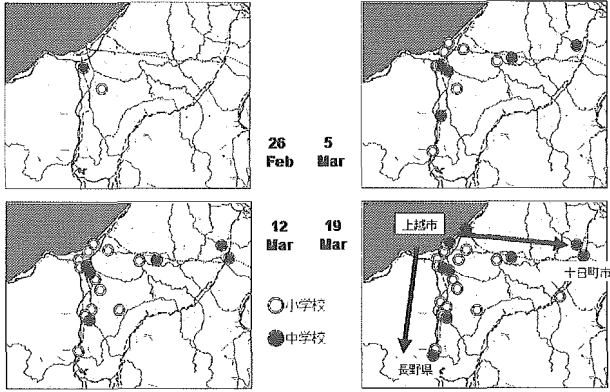


図 7

各地域における絶対湿度、気温、相対湿度との関連(2002年)

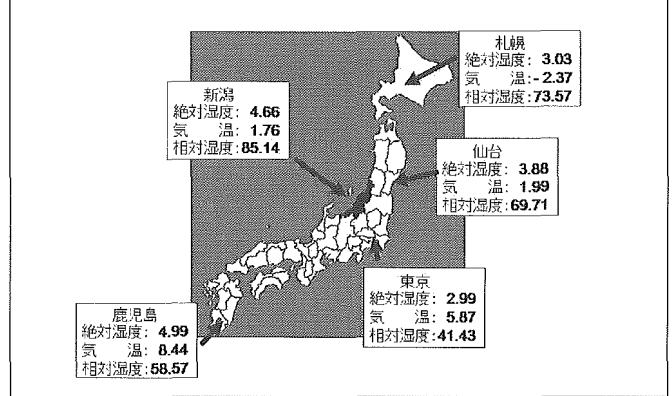
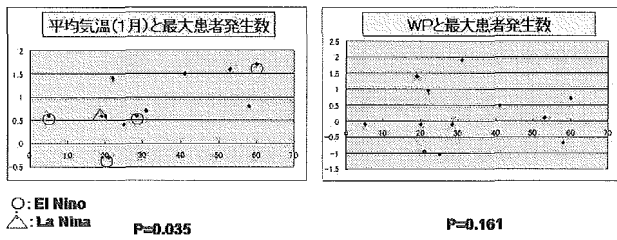


図 8

冬季の西日本平均気温、WPパターン(西太平洋)と最大インフルエンザ患者発生数との関係(1987/88-1998/99)



テレコネクションパターン: 大気の流れとし、500 hPaの等圧面高度を体系的に解析

図 9

平成 15 年度厚生科学研究費補助金（がん予防等健康科学総合研究事業）

分担研究報告書

抗酸菌感染症についての実態調査

分担研究者 高橋光良 財) 結核予防会結核研究所 細菌学科科長

共同研究者 鹿住 裕子 財) 結核予防会結核研究所

【研究要旨】抗酸菌は人に対してアレルゲンになることから、喘息や炎症性疾患との因果関係が取り上げられている。また、HIV 患者間および免疫不全患者の抗酸菌症が報告されている。一方、居住環境における抗酸菌感染症に関する研究はあまり成されていない。そこで居住環境中に存在する抗酸菌を分離同定し、水周り、house dusts 等の分布の状況を把握すると共にヒトへの病原性に関して考察する。また、この知見より、どの様な環境改善や対策を講ずれば良いかについて検討した。その結果、全体のサンプル中 80 株の 30%に抗酸菌が検出された。ヒトに病原性の高い一般的な環境由来抗酸菌としては 24 時間風呂の *M. avium* が知られているが、今回の調査では検出されなかった。一方、他の病原性のある菌種として報告のある *M. abscessus*, *M. fortuitum*, *M. mucogenicum* が検出された。このことは居住環境中の抗酸菌は免疫不全や免疫機能の低下した宿主に対しては十分病原性を保有すると考えられた。対策としては消毒剤あるいは熱処理等による滅菌が必要となると考えられた。

A. 研究目的

世界的に HIV 患者や immunocompromised host 間で肺、皮膚および頸部リンパ節に非結核性抗酸菌による感染事例が報告されている¹⁾。一般的に、非結核性抗酸菌は水、土壌、house dusts 等から分離される^{2,3)}。また、ヒトに感染性のある抗酸菌種は > 50 種存在していると報告されている⁴⁾が、これら菌種の感染源の特定は推測の域を出ない。抗酸菌の中でもヒトに病原性の高い結核菌は空気感染を

起こし、ヒトからヒトへと伝播して感染することが判っている。一方、*M. avium* complex による感染は環境中から腸管で感染し肺に移行すると考えられており、空気感染による伝播は無いと考えられている。最近、居住環境中での微生物のヒトに対する疾病が問題にされるようになった。抗酸菌もその中の一微生物である。しかし、抗酸菌症では結核菌による死亡率が高いため非結核性抗酸菌症をクローズアップした研究は僅かである。今

回、居住環境中の抗酸菌種の分離培養後、16s rRNA および *RpoB* 遺伝子の塩基配列から菌種の同定を行い、検出された抗酸菌種に関するヒトに対する病因に関して考察した。

B. 研究方法と材料

1) 居住環境中からの抗酸菌の分離培養

材料は居住環境中の浴室周り、台所周り、洗面台周り、クーラーパネル、掃除機内ダスト、窓結露および空中浮遊細菌を出発材料にした。他の材料は無菌綿棒で拭き取り NALC 処理後、遠心回収した沈澱物を用いた。一部はチール・ネルゼン染色した後、1%小川培地に接種して観察した。

2) 空中浮遊抗酸菌の分離

空中浮遊細菌にはミリポア・エアーク・テスターを用いた。培地は 7H10 寒天に cycloheximide を加えたものを使用し、各家庭の居間で 1000 L 分取し 3 日から 4 週間培養した。

3) DNA の抽出と精製

DNA の抽出と精製は直接小川培地から菌を分取してベンジルククロライド法により調製した⁵⁾。

4) 16SrRNA による遺伝子解析

対象となる各菌株について、卵培地発育菌 1 エーゼ (3mm のループを滅菌蒸留水 500 μ l に浮遊させ、95°C にて 10 分間加温した。10000r.p.m にて 10 分間遠心後、上清のゲノム DNA 2.5l を用いて PCR の反応を行った。PCR 反応には 10 倍 Buffer 5 μ l, 10mM dNTP 2 μ l、滅菌蒸留水 38 μ l、Ampli taq

Gold (Rosch diagnostics, 東京) 0.5 μ l (2.5units)、プライマー 2 μ l を混和して反応溶液とした。16S rRNA coding gene の増幅にはプライマー 264 (5'- TGC ACA CAG GCC ACA AGG GA -3') およびプライマー 285 (5' -GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG- 3')、を各々 3.2pmole 使用した。PCR 反応条件は、denaturation 16Sr RNA は 94°C 30 秒、annealing 温度は 16S rRNA は 60°C 30 秒間、extension 72°C を 1 分 30 秒間、40 サイクル行った。PCR 産物をアガロースゲル電気泳動にて確認後、精製をスピンカラム (SUPRECTM-02, TAKARA, TAKARA SHUZO Co.,LTD) を用いた。ダイレクトシーケンスは Big Dye terminator (ABI 4303153 Big Dye Terminator cycle Fs Ready Reaction Kit 1000) を用いて ABI 377 にて実施し、プライマーには 16S rRNA はプライマー 285 を用い、得られた塩基配列データは Ribosomal Differentiation of Microorganisms: RIDOM⁶⁾ で塩基配列の相同性を検索し、98%以上の塩基配列の一致を以て菌種同定を行った。

5) *rpo B* による遺伝子解析

ゲノム DNA の作製と PCR 反応溶液は 16SrRNA に準じた。*rpoB* の増幅にはプライマー P1 (5'- CGA CCA CTT CGG CAA CCG-3') およびプライマー P2 (5'-TCG ATC GGG CAC ATC CGG-3') を各々 3.2pmole 使用した。PCR 反応条件は、denaturation は 1 分。annealing 温度は 66°C で 1 分間、 extension 72°C を 1 分間、40 サイクル行った。PCR

産物を確認後、精製をスピнкаラムで用い、ダイレクトシーケンスは Big Dye terminator を用いて ABI 377 にて実施した。プライマーには P1 と P2 プライマーをそれぞれ用いた。*RpoB*^{7,8)} については ATCC 標準株を用いて当研究所で作成した *rpoB* のデータベースと GENETYX-PDB Ver.4.1 (Software development 社) を使用して相同性を検索し、99%以上の塩基配列一致を以って菌種を決定した。

C&D. 結果と考察

本年度は非定型抗酸菌症お中心に実験を行った。その結果、表.1 から全体のサンプル 80 検体中 30%に抗酸菌が検出された。16S rRNA の塩基配列決定後菌種同定を行った結果、水周りを中心に *M.gordoniae*, *M.fortuitum*, *M.abcessus*, *M.neoaurum*, *M.mucogenicum*, *M.mageritense*, *M.vaccae*, *M.obuense*, および他 3 菌種の同定困難な抗酸菌種が分離された。ヒトに病原性の高い一般的な環境由来抗酸菌としては 24 時間風呂の *M.avium* が知られているが⁹⁾、今回の調査では検出されなかった。また、冬に行った試験であるため本来多く検出するクーラーの結露やパネルでの検出率が低かったと考えられる。一方、表中でヒトに病原性のある *M.abcessus*, *M.fortuitum*, *M.mucogenicum* が検出された。このことは免疫不全や免疫機能の低下した宿主に対しては十分病原性をもつ

と考えられる。Tortori とも環境中の抗酸菌叢を把握することは新たなヒトに疾病をもたらす抗酸菌が出現した場合に臨床的あるいは細菌学的に重要であると報告している¹⁾。Primm は環境中の抗酸菌はヒトや動物の日和見感染症で新興の病原体であり、塩素処理した水道水中で生存可能なことを報告した。また、もともと塩素に対して抵抗性なのは、小児の頸部リンパ節腫脹の原因菌である *M.scrofulaceum* と *M.avium* であることを報告している。また、環境中の抗酸菌はユニークな細胞壁構造で殺菌剤、抗生物質耐性であり、栄養摂取、biofilm の形成、そしてエアロゾールによって広がると報告している。同様に Rook ともその結果として、chronic bowl disease, アレルギーおよび他の肺疾患の免疫に寄与していると報告している^{10,11)}。一方、Black ともクーリングタワーからの抗酸菌を分離して環境中の抗酸菌のヒトからヒトへの感染ルートについて考察した。その結果、ヒトからヒトへの伝播は認められなかったが、ヒトに疾病を起こすと考えられている *M.intracellulare*, *M.szulgai*, *M.bohemicum*, *M.gordoniae*, *M.nonchromogenicum* が分離され、抗酸菌の感染源と考えられることを報告している²⁾。我々の知見もヒトの臨床材料から分離される抗酸菌と同種の菌が含まれており、居住環境中の抗酸菌はアレルギーや肺疾患に関与していると考えられた。一方、空中浮遊抗酸菌の同定は培地汚染

がひどく(図.1)培地の選択性を向上する必要があることが判った。この課題に関しては現在検討中である。抗酸菌対策としては消毒剤あるいは熱処理等による滅菌が必要となると考えられる。

E. 結語

ここ 10 年、世界的に非結核性抗酸菌症が増加傾向にあることが判ってきた。中でも、環境中に多く検出される菌種との因果関係が報告されている。今回、居住空間を標的にした分析から、ヒトに感染性があるとされている抗酸菌が検出・同定された。病因との関与は一致しないがアレルゲンとしての役割は保有していると考えられる。今後、疾病との関連を追跡するため種々挿入断片をプローブとした分子疫学を展開してハイリスク集団である高齢者の口腔内での抗酸菌の分布や土壌・空中浮遊抗酸菌の分布状況を検討する予定である。

F. 健康危険情報

免疫不全患者、T 細胞の未熟な小児および CD4 陽性 T 細胞の数の低い高齢者は今回検出された非結核性抗酸菌に対して感染のリスクが高いと考えられ、台所、風呂等の水周りの biofilm に対して清掃除菌(家庭用のカビ取り剤等での)が必要であると考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

a. Itoh, S., Y. Kazumi, C. Abe, and M.

Takahashi. 2003. Heterogeneity of RNA polymerase gene (*rpoB*) sequences of *Mycobacterium gordonae* clinical isolates identified with a DNA probe kit and by conventional methods. J. Clin. Microbiol. 41: 1656-1663.

b. Yuko Kazumi, Satoshi Mitarai, Mitsuyoshi Takahashi. The evaluation of an identification algorithm for *Mycobacterium* species using the 16S rRNA coding gene and *rpoB*. J Clin Microbiol 投稿中

2. 学会発表

a. 鹿住裕子、高橋光良. 同定困難な抗酸菌のシーケンスによる評価. 結核. 2003. 78(3): 272.

b. 平野和重、青野昭雄、浜崎園美、高橋光良、鹿住裕子、阿部千代治. キャピリア TB 陰性結核菌と MPB64 遺伝子の変異. 結核. 2003. 78(3): 275.

c. ザンビア国刑務所における結核感染の分子疫学的解析. 2003. 78(3): 327.

H. 知的所有権の取得状況 なし

【文献】

1) Tortoli E. Impact of genotypic studies on mycobacterial taxonomy: the new mycobacteria of the 1990s. Clin Microbiol Rev. 2003;16(2):319-54.

2) Black WC, Berk SG. Cooling towers—a potential environmental source of slow-growing

- mycobacterial species. *Microbiol.* 39: 2102-2109.
- 2003;64(2):238-42.
- 3) : Emtiazi F, Schwartz T, Marten SM, Krolla-Sidenstein P, Obst U. *Water Res.* Investigation of natural biofilms formed during the production of drinking water from surface water embankment filtration. 2004 ;38(5):1197-206.
- 4) Saiman L. The mycobacteriology of non-tuberculous mycobacteria. *Paediatr Respir Rev.* 2004;5 Suppl A:S221-3.
- 5) Anil K. Jhingan, 1992. A novel Technology for DNA isolation. *Methods in Molecular and cellular Biology.* 3:15-22.
- 6) CHRUSTINE Y. TURENNE. 2001. Necessity of Quality-Controlled 16s rRNA Gene Sequence Databases: Identifying Nontuberculosis Mycobacterium Species *J., Clin., Microbiol.* 2001;39(10):3637-36487.
- 7) Kim, B. J., K. H. Lee, B. N. Park, S. J. Kim, G. H. Bai, S. J. Kim, and Y. H. Kook. 2001. Differentiation of mycobacterial species by PCR-restriction analysis of DNA (342 base pairs) of the RNA polymerase gene (*rpoB*). *J. Clin. Microbiol.* 39: 2102-2109.
- 8) Kim, B. J., S. H. Lee, M. A. Lyu, S. J. Kim, G. H. Bai, G. T. Chae, E. C. Kim, C. Y. Cha, and Y. H. Kook. 1999. Identification of mycobacterial species by comparative sequence analysis of the RNA polymerase gene (*rpoB*). *J. Clin. Microbiol.* 37: 1714-1720.
- 9) Saito H, Takahashi M, Sato A: Serotyping and IS1245 restriction fragment length polymorphism typing of *Mycobacterium avium* isolated from the "24-hour bath" in Japan. 101st general Meeting, ASM, U-12, May 21, 2001, Orlando.
- 10) Primm TP, Lucero CA, Falkinham JO 3ed. Health impacts of environmental mycobacteria. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17(1):98-106.
- 11) Rook GA, Adams V, Hunt J, Palmer R, Martinelli R, Brunet LR. Mycobacteria and other environmental organisms as immunomodulators for immunoregulatory disorders. Springer Semin Immunopathol. 2004 ;25(3-4):237-55.