

## 保健環境トピックス



## 結核について

### はじめに

結核は、結核菌によって主に肺に病変が起きる感染症の一つです。世界規模でみると、現在でも結核は、全人口の約3分の1が感染し、年間900万人の新規患者と150万人の死亡者を出す、世界でも非常に重要な感染症です<sup>1)</sup>。日本においては、患者数は徐々に減少傾向にあるものの、依然として中蔓延国という状況には変わりなく、他の欧米先進諸国と比較すると、罹患率が高い状態にあります。最近では、結核に罹患したことがない世代での集団感染事例、免疫力が低下した集団での感染事例、薬剤耐性結核など新たな課題が生じています。

### 結核菌とは

結核の原因となる結核菌は、1882年に細菌学者として有名なロベルト・コッホによって発見された細菌です。マイコバクテリウム属に属し、ミコール酸という脂質により細胞壁を構成していることから、酸、アルカリ、アルコール、熱や乾燥に比較的強い抵抗性を示すという特徴を有しています。そのため、結核菌の消毒には一般的な細菌の消毒方法よりも注意して行う必要があります。また、結核菌を小川培地で培養した場合、結核菌の集落が確認できるようになるまで数週間から数か月かかります。このことから、結核の検査には非常に時間がかかります。

### 結核感染

結核菌が人から人へ感染する場合、感染経路として最も一般的なのは空気感染です。排菌している結核患者の咳などによって空気中に飛散した結核菌を含む飛沫核を吸い込むことによって感染します。しかしながら、菌を吸入して感染が成立するのは30%程度で、感染が成立しても発病するのは10%程度とされています。初感染から発病までは半年から2年ぐらいと比較的潜伏期間が長い感染症でもあります。多くの場合、人の免疫力によって発病が抑えられますが、老化など人の免疫力が低下したときに潜伏感染していた結核菌により発病する事例もあります。また、特に免疫力が低下した人では死に至ることもあります。集団感染が疑われた際には、周囲への感染状況を把握し、それ以

上他への感染を広げないように、また、適切な治療が行われるように対策を行う必要があります。

### 当所での結核菌検査

結核菌による集団感染かどうかを判断するには基本的には実地疫学に基づいて行われますが、近年では結核菌株の遺伝子型別によって行う分子疫学的手法が併用されつつあります。分子疫学的手法には、RFLP（Restriction Fragment Length Polymorphism）法やVNTR（Variable Numbers of Tandem Repeats）法等があります。RFLP法は、検査に多量の菌量が必要なことから、検査に時間を要しますし、検査する側の安全性の確保も必要です。また、電気泳動した画像データそのものを扱うことから、実験手技等による影響を受けやすく再現性の確保や施設間の比較が容易ではありません。一方、VNTR法はPCR法をベースとして行うので検査に必要なDNA量が少量で済むこと、結果を数値で表すので他の施設間あるいは時を経ても容易に比較可能であり、データの保存・管理も容易であるという特徴があります。当所で行っている結核菌の分子疫学的手法は主にVNTR法ですが、この方法は、現在、全国の地方衛生研究所等でも結核の感染源調査・集団感染の推定等に使用されつつあります。原理は、結核菌のゲノム上の複数の領域に存在する塩基の繰り返し配列の回数のパターンを菌株間で比較することによって、結核菌の遺伝子型別を行うものです（図1）。

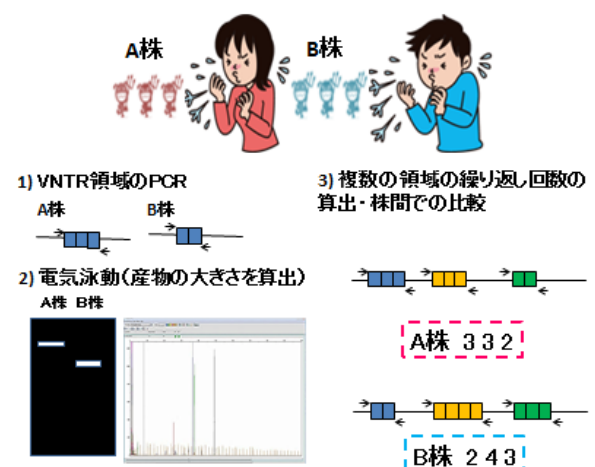


図1 VNTR法の原理

さらに、PCR 産物の大きさを目安に繰り返し回数を決定する際、当所ではシーケンサーのフラグメント解析機能を利用した方法（図2）を採用しており、通常のアガロースゲル電気泳動の煩雑さを解消しています。当所で行っている VNTR 法は、結核研究所が提唱する JATA(12)の 12 領域、JATA(15)の追加 3 領域、超多変領域（HV）の 3 領域、国際比較領域の 6 領域の計 24 領域を対象として行っています<sup>2)</sup>。また、VNTR 法と併せて、東アジア地域でまん延している北京結核菌の割合を比較するため、北京型及び非北京型の系統分類を行っています（図4）。

平成 24 年度及び 25 年度には、「福岡県結核菌病原体サーベイランス事業」として、県内患者から分離された結核菌株約 300 株について、VNTR 法等による遺伝子型別を行い、個人が識別できる情報を除いた疫学情報と連結した結核菌ライブラリーを作成し、県内の結核菌株の分子疫学情報の把握を可能としました（図3及び4）。また、当該期間に発生した集団事例においてもこの手法が実地疫学調査とともに活用されました。結核菌の病原体サーベイランスとしては一旦終了しましたが、今後も、結核の集団感染が

疑われる事例において本手法を用いることによって、実地疫学調査の際に役立っていければと思います。

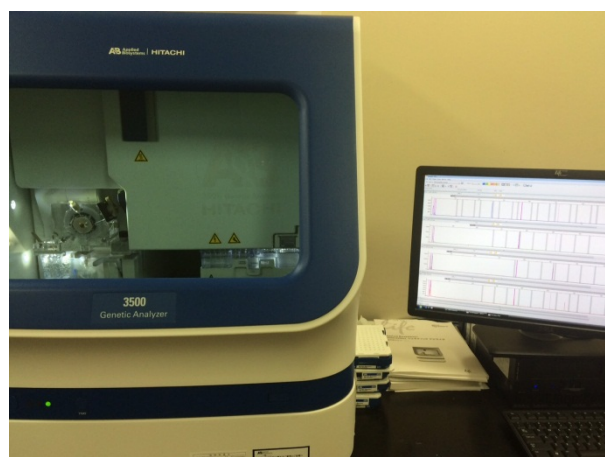


図2 フラグメント解析に使用するシーケンサー

## 文献

- 1) WHO : Global tuberculosis report 2014
- 2) 前田詠里子ら：福岡県保健環境研究所年報, 40, 63-68

| ライブラリーNo |    | 登録時年齢(歳) | 性別 | 出生国コード | 国名コード | 24VNTR クラスターNo. | クラスター内疫学的関連大分類コード | クラスター内疫学的関連小分類コード | 北京型・非北京型の別 | J01 Mtb4 | J02 miru10 | J03 Mtb21 | J04 Mtb24 | J05 QUB11b | J06 VNT372 | J07 miru26 | J08 QUB15 | J09 miru31 | J10 QUB336 | J11 QUB26 | J12 QUB4156 | J14 QUB11a | J15 ETR-A | J13 QUB18 | miru4 | miru16 | miru40 | ETR-C | Mtb30 | Mtb39 | QUB322 | VNT3820 | VNT4120 |   |
|----------|----|----------|----|--------|-------|-----------------|-------------------|-------------------|------------|----------|------------|-----------|-----------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|-----------|-------------|------------|-----------|-----------|-------|--------|--------|-------|-------|-------|--------|---------|---------|---|
| F001     | 90 | 男        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 0          | 2        | 3          | 3         | 2         | 1          | 2          | 4          | 1         | 2          | 3          | 9         | 5           | 8          | 4         | 7         | 3     | 2      | 1      | 2     | 4     | 2     | 3      | 5       | 8       | 7 |
| F002     | 42 | 男        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 0          | 2        | 5          | 2         | 1         | 2          | 4          | 1          | 2         | 3          | 9          | 5         | 7           | 8          | 4         | 7         | 3     | 1      | 2      | 4     | 2     | 3     | 5      | 8       | 4       |   |
| F003     | 83 | 女        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 1          | 4        | 3          | 4         | 3         | 6          | 3          | 7          | 4         | 5          | 9          | 8         | 4           | 8          | 4         | 10        | 2     | 3      | 3      | 4     | 4     | 3     | 14     | 13      | 9       |   |
| F004     | 25 | 女        | 2  | CHN    |       |                 |                   |                   | 0          | 2        | 2          | 0         | 3         | 6          | 2          | 5          | 3         | 3          | 6          | 8         | 3           | 5          | 4         | 0         | 4     | 3      | 2      | 4     | 2     | 1     | 7      | 3       | 2       |   |
| F005     | 90 | 男        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 1          | 4        | 3          | 3         | 3         | 6          | 3          | 7          | 4         | 5          | 7          | 8         | 3           | 10         | 4         | 8         | 2     | 3      | 3      | 4     | 5     | 3     | 6      | 12      | 10      |   |
| F006     | 80 | 男        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 1          | 4        | 1          | 3         | 2         | 7          | 4          | 7          | 4         | 5          | 7          | 8         | 4           | 9          | 4         | 10        | 2     | 3      | 3      | 4     | 4     | 1     | 16     | 12      | 12      |   |
| F007     | 59 | 男        | 1  |        |       | 24              | 3                 |                   | 1          | 4        | 3          | 4         | 3         | 6          | 3          | 7          | 4         | 5          | 7          | 8         | 3           | 6          | 4         | 8         | 2     | 3      | 3      | 4     | 4     | 3     | 10     | 14      | 10      |   |
| F008     | 84 | 男        | 1  |        |       |                 |                   |                   | 1          | 4        | 3          | 3         | 3         | 3          | 3          | 5          | 4         | 5          | 7          | 8         | 4           | 8          | 4         | 22        | 1     | 3      | 2      | 4     | 2     | 3     | 13     | 7       | 16      |   |

図3 福岡県結核菌病原体サーベイランス事業で得られた結核菌ライブラリー上のデータ（一部抜粋して加工）

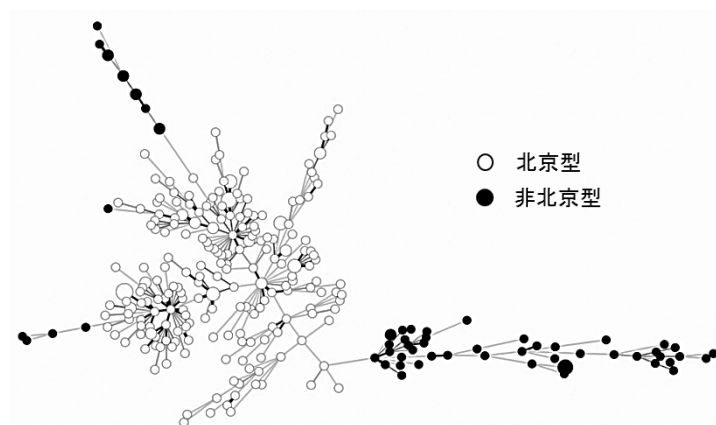


図4 福岡県の結核菌株の Minimum spanning tree (VNTR 法による型別より解析)

## 水生生物の保全に係る水質環境基準について

水質の汚濁に係る環境基準には、人の健康の保護に関する環境基準（健康項目）と生活環境の保全に関する環境基準（生活環境項目）があります。このうち、生活環境項目は、都道府県が、地域の公共用水域（河川、湖沼及び海域）の利用目的に応じて、異なる基準（類型）を当てはめる（指定）こととなっており、このことを類型指定といいます。

従来は、表1に示すように生活環境の保全のために7項目が設定されていました。

表1 生活環境の保全のための目的、項目及び類型数

| 目的      | 項目                 | 河川  | 湖沼  | 海域  |
|---------|--------------------|-----|-----|-----|
| 利水、環境保全 | pH、BOD、SS、DO、大腸菌群数 | 6類型 | 4類型 | 3類型 |
| 富栄養化防止  | 窒素、リン              |     | 5類型 | 4類型 |

ところが、河川や湖沼には、数多くの水生生物（魚介類、底生生物）が生息していますが、それら生物の減少や生物多様性の減少が各地で見られるようになりました。このことから「健全な生態系の維持・再生」、「良好な水環境の保全」のためには、水生生物への影響も考慮した基準が必要であると認識されるようになりました。そこで、生活環境を構成する有用な水生生物及びその餌生物並びにそれらの生息又は生育環境の保全を目的として、水生生物保全水質環境基準が設定されました。この環境基準は、公共用水域ごとに水生生物の生息状況の適応性（表2）に応じて水域類型を設け、個々の水域に対して水域類型を指定するものです。水生生物に影響を及ぼすおそれのある物質として、平成15年に亜鉛、平成24年にノニルフェノール（NP）、平成25年に直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩（LAS）が設定されました。

類型の水生生物の生息状況の適応性を表2に、水生生物の保全のための環境基準を表3に示します。

表2 類型の水生生物の生息状況の適応性

| 項目<br>類型       | 水生生物の生息状況の適応性                                                    |
|----------------|------------------------------------------------------------------|
| 淡水域<br>（河川・湖沼） | 生物A イワナ、サケマス等比較的低温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域                       |
|                | 生物特A 生物Aの水域のうち、生物Aの欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚子の生育場として特に保全が必要な水域      |
|                | 生物B コイ、フナ等比較的高温域を好む水生生物及びこれらの餌生物が生息する水域                          |
|                | 生物特B 生物A又は生物Bの水域のうち、生物Bの欄に掲げる水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚子の生育場として特に保全が必要な水域 |
| 海域             | 生物A 水生生物の生息する水域                                                  |
|                | 生物特A 生物Aの水域のうち、水生生物の産卵場（繁殖場）又は幼稚子の生育場として特に保全が必要な水域               |

福岡県では、順次県内の河川等に対して、類型指定を行う方針であり、科学的な根拠に基づいた類型指定を行うために、保健環境研究所では、公共用水域において水質調査

と水生生物生息調査を行っています。

表3 水生生物の保全のための環境基準

| 物質名                                                                    | 水域  | 類型   | 基準値(mg/L) |
|------------------------------------------------------------------------|-----|------|-----------|
| 全亜鉛                                                                    | 淡水域 | 生物A  | 0.03      |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.03      |
|                                                                        |     | 生物B  | 0.03      |
|                                                                        |     | 生物特B | 0.03      |
|                                                                        | 海域  | 生物A  | 0.02      |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.01      |
| ノニルフェノール<br>(NP1～NP13)                                                 | 淡水域 | 生物A  | 0.001     |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.0006    |
|                                                                        |     | 生物B  | 0.002     |
|                                                                        |     | 生物特B | 0.002     |
|                                                                        | 海域  | 生物A  | 0.001     |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.0007    |
| 直鎖アルキル<br>ベンゼンスルホン<br>酸及びその塩<br>LAS(C <sub>10</sub> ～C <sub>14</sub> ) | 淡水域 | 生物A  | 0.03      |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.02      |
|                                                                        |     | 生物B  | 0.05      |
|                                                                        |     | 生物特B | 0.04      |
|                                                                        | 海域  | 生物A  | 0.01      |
|                                                                        |     | 生物特A | 0.006     |

以下に基準項目や調査方法について解説します。

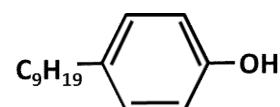
### 1 亜鉛の用途

亜鉛は非鉄金属の中では銅、アルミニウムについて多く生産されている物質です。亜鉛化合物のうち、水溶性化合物の代表的なものとして塩化亜鉛や硫酸亜鉛があります。塩化亜鉛は、マンガン乾電池の電解液に使われるほか、活性炭や染料、農薬を製造する際などに使われます。また、水溶液は金属酸化物を溶かすため、メッキをする際の金属表面を洗うのにも用いられています。硫酸亜鉛は、レーヨンの製造工程では、液体のレーヨンを凝固させるための溶液としても使われます。その他、ボルドー液（殺菌剤）などの農薬には、農作物への薬害を防止するために硫酸亜鉛が混合されています。

このように、亜鉛の使用量は多く、その生産・使用状況や公共用水域における検出状況及び毒性情報を基に、水生生物保全環境基準項目に設定されました。

### 2 NPの用途

NPは、図1に示すような有機化合物で、工業用の洗剤（界面活性剤）などの合成原料として使用されています。産業分野としては、ゴム・プラスチック・繊維工業、機械・金属、農薬工業等で用いられています。また、NPから合成されるノニルフェノールエトキシレートという界面活性剤も多く使用されており、これが水中の微生物で分解されることでNPが副生成することが分かっています。



4-ノニルフェノール

図1 ノニルフェノール（NP）の構造



NP については、水生生物への毒性情報が集積されたこと、また、その生産・使用状況や公共用水域における検出状況を考慮して、水生生物保全環境基準項目に追加されました。

### 3 LAS の用途

LAS (Linear Alkylbenzene Sulfonate の頭文字) は、図 2 に示すような有機化合物で、化学構造の中に水に溶けやすい部分(親水性)と油に溶けやすい部分(疎水性)を併せ持った洗剤(界面活性剤)です。そのため、家庭用の洗濯洗剤や業務用洗剤の主成分として使用されており、私たちの生活においては、身近な物質です。LAS が、水環境中に排出されると NP とは異なり、微生物により分解されて、濃度は徐々に低くなります。

LAS についても、水生生物への毒性情報が集積されたこと、また、その生産・使用状況や公共用水域における検出状況を考慮して、水生生物保全環境基準項目に追加されました。

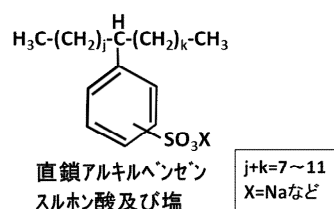


図 2 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及び塩 (LAS) の構造

### 4 福岡県内の公共用水域について

現在、福岡県では、公共用水域の基準点として 128 地点(県内河川 9 水系 (70 地点)、湖沼 3 水域 (それぞれ流入水、流出水、表層、中層、底層 (15 地点)) 及び 4 海域 (それぞれ表層、(中層)、底層 (43 地点)) を設定しています。今後、それぞれの水系毎に水生生物調査を行い、類型指定を行うこととしています。その調査地点について、河川の基準点及び水系を図 3 に示します。

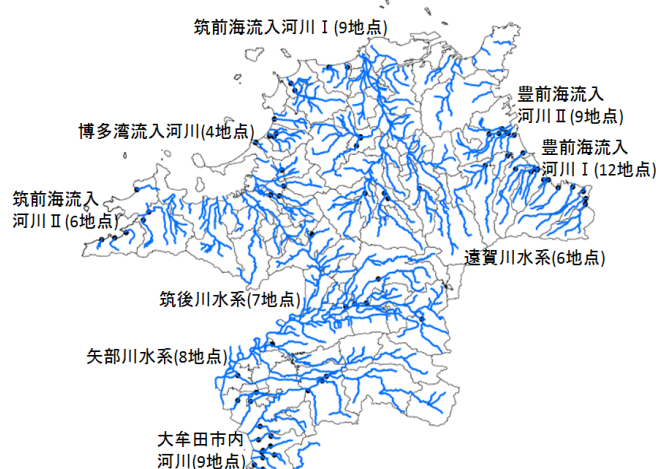


図 3 福岡県内の調査地点及び河川図 (県調査分(政令市及び中核市、その他の市、町の調査分は除く))

### 5 水生生物の生息調査について

水生生物の保全に関する類型指定を行うためには、水質の状況、魚介類の生息状況、産卵場及び幼稚仔の生息場に関する状況などの情報が求められます。このうち、魚介類の生息については、河川毎に、春から夏にかけて 1 回、秋から冬にかけて 1 回の年 2 回行っています。捕獲については、網等による捕獲を行い(図 4)、生息する魚の種類について調査を行っています(図 5)。



図 4 水生生物(魚類)のサンプリング風景

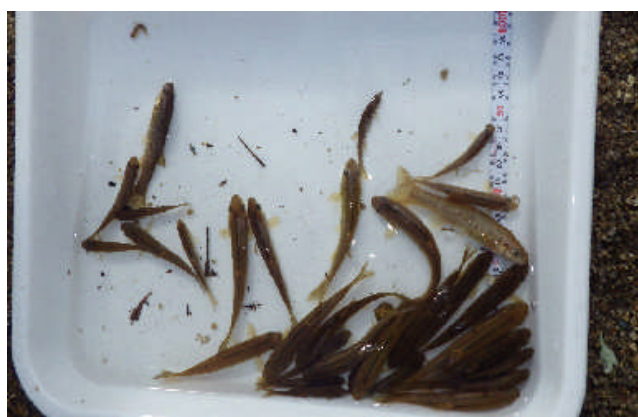


図 5 採取した水生生物(魚類)

### 6 現在の取り組みと今後の課題

福岡県では、水生生物環境基準の設定に向けて、公共用水域の水質調査と水生生物調査を実施しています。ただし、魚の調査には専門的な知識や技術が必要で、すべての河川調査にもかなりの時間を要することから、順次、類型指定を行う予定です。

また、現在、水生生物の保全に係る環境基準項目として 3 項目(亜鉛、NP、LAS)が定められていますが、国の審議会の答申の中で、「今後とも新たな科学的知見等に基づいて必要な追加・見直し作業を継続して行っていくべき」とされており、新たな基準項目の検討がなされています。今後、新たな物質の追加があった場合は、随時、調査、検討を行う予定です。