

LC/MSによる食品分析

1. はじめに

高速液体クロマトグラフィー (HPLC)は非常に優れた分離手法であり、一般的にはその検出部に、UVあるいは蛍光検出器が用いられる。しかし、これら汎用の検出器から得られる測定物質の情報は、クロマトグラム上のピークの保持時間のみであり、食品など多くのマトリックスを含む試料の分析には、十分な同定能力を有しているとは言いがたい。一方、質量分析法は、試料の構造に関する情報が豊富に得られることから、試料の同定などの目的には優れた分析法であるが、適用する試料には単一成分であることが要求される。この質量分析法とHPLCを結合することにより、それぞれの弱点がカバーされ、分離能力にも同定能力にも優れた究極とも言える分析手法が実現する。それが、液体クロマトグラフィー/質量分析法 (LC/MS)である。この手法は、古くからその有用性が認識されていたにもかかわらず、HPLCと質量分析計とを結合するためのインターフェースの開発が難しく、実用化されるまでに長い時間を要した。しかし、最近になってようやく実用機が市販されるようになり、少しづつではあるが食品分析にも使われるようになってきた。本稿では、LC/MS法について概説するとともに、LC/MSの食品分析への応用例を紹介する。

2. 質量分析法

LC/MSは、HPLCと質量分析法を組み合わせた分析手法であるため、その原理や特徴を説明する前に、HPLCおよび質量分析法について簡単な説明が必要である。HPLCに関しては、すでに汎用の機器として中心保健所等で日常的に使用されているので本稿では省かせていただき、ここでは、質量分析法について概説する。

質量分析法とは、簡単に言うならば「試料の質量を測定する方法」であるが、正確には「試料分子をイオン化し、生成したイオンを質量/電荷 (m/z) で分離して検出する方法」と言うべきである。マススペクトルとは、質量分析法で試料を分析し、検出されたイオンの m/z 値と検出量の関係を表したグラフである。イオン化とは、試料分子にプラスかマイナスの電荷を持たせることであるが、

試料の構造やイオン化の方法によって、試料はいくつもの電荷を持つ多価イオンとなることもある。多価イオンは、1/電荷の質量数 (例えば、質量数が1000で5価のイオンならば、 $1000/5=200$) に検出されるため、マススペクトルの横軸は、質量数ではなく、 m/z 値が使われる。また、イオン化の過程で試料分子はそのまま電荷を得て分子イオン種となるだけでなく、その一部は開裂 (分裂したり、一部の官能基が脱離すること) して分子量よりも質量数の低いイオンとなることがある。このようにして生成するイオンをフラグメントイオンと呼び、分子イオン種とともにマススペクトルを構成する要素となる。フラグメントイオンを多く含むマススペクトルは、試料の構造に由来する特有のパターンを示すため、試料の同定には非常に有用である。

3. LC/MS装置

LC/MS装置は、図1に示すように、試料を分離するHPLC、分離された試料を検出する質量分析計、および、この両者を結合するLC/MSインターフェースにより構成される。通常のHPLC分析では、カラム分離された試料は、移動相に溶けた状態のまま検出器に導入されるが、LC/MSの場合は異なる。なぜなら、質量分析計は通常 10^{-6} から 10^{-7} mmHgの高真空下に保たれており、試料を溶液状態のまま質量分析計に導入すると、溶媒成分が瞬時に揮発し、質量分析を行うのに必要な真空状態を保つことができなくなってしまうからである。また、HPLCは、難揮発性あるいは熱に不安定な化合物も分離できることが特徴の一つであるが、このような試料に対しては、加熱気化および電子衝撃を利用した従来のイオン化方式を採用することが難しいという問題もある。したがって、LC/MSを実用化するためには、溶液状態で導入される試料から溶媒成分を除去すると同時に、試料分子をイオン化し、質量分析計へ送り込むことができるインターフェースが必要である。現在、このようなインターフェースとして、フリット-高速原子衝撃イオン化法 (Frit-FAB)、サーモスプレー (TSP)、パーティクルビーム (PB)、エレクトロスプレー (ESI)、イオンスプレー (IS)、大気圧化学

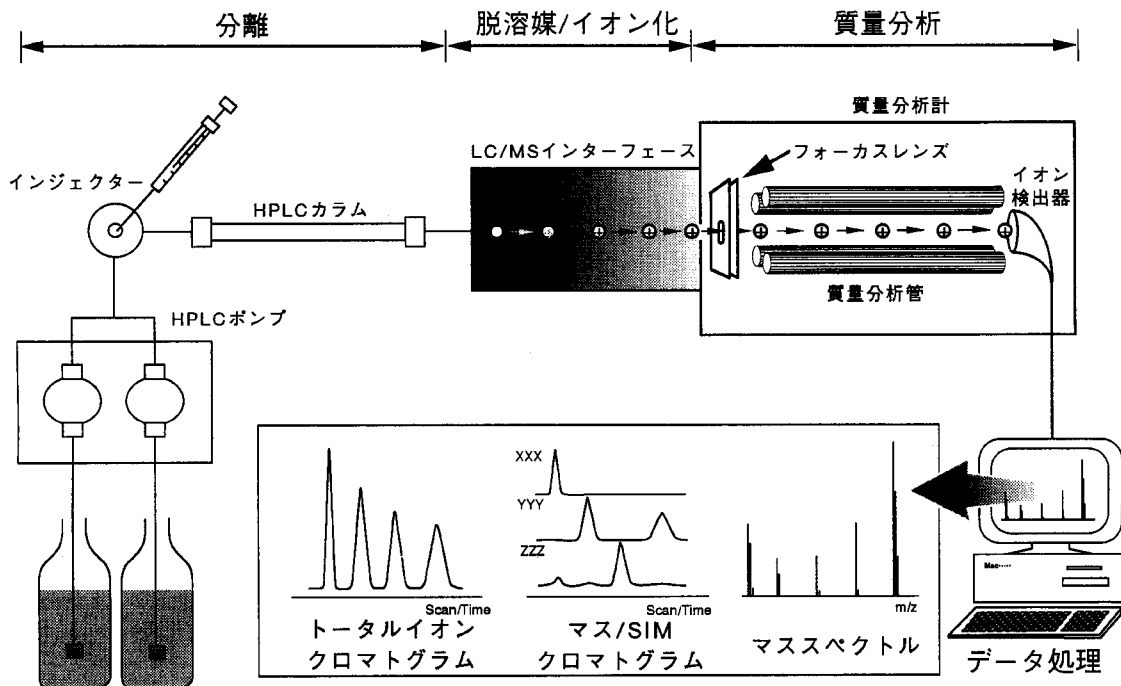


図1 LC/MS分析システム

イオン化法 (APCI)などの方式が開発され、実用に供されている。これらのうち、ESI、ISおよびAPCIが現在のところ最先端と呼べる方式であり、感度、安定性とにも他の方式よりも優れていると評価されている。

4. LC/MSの特徴と問題点

LC/MSとは、HPLCで分離した試料をオンラインで質量分析計に導入して分析を行う分析法であり、次のような2種類の測定が可能である。

その一つは、スキャン型データ測定である。これは、HPLCカラムから質量分析計に送られてくる試料について、連続的にマススペクトルを測定する方法である。この測定で得られたデータをコンピュータで処理することにより、任意の保持時間におけるマススペクトル、任意のイオンの時間的変化を記録したマスクロマトグラム、および、一回ごとの測定で検出された総イオンの時間的変化を記録したトータルイオンクロマトグラム (TIC) などさまざまな形で取り出すことができる。これらの中でマススペクトルは、目的成分の構造解析や同定・確認に有用であり、マスクロマトグラムは目的成分の検索や定量に、また、TICはデータの全体像の把握にそれぞれ使うことができる。

もう一つの測定法は、選択イオン検出 (SIM) である。この方法は、任意の質量数のイオンのみを選択的に検出し、クロマトグラムを得る方法であり、基本的にはマスクロマトグラムと同じである。しかし、SIMは数種類のイオンを検出するためだけに質量分析計が使われるため、

マスクロマトグラムの10~100倍の感度を得ることができる。

LC/MSの実用化により、HPLCで分離できるほとんどの化合物の質量分析が可能になったということは、非常に大きなメリットである。しかし、HPLCで分離できる化合物は、非常に広範囲にわたっており、それらを1種類のインターフェースでカバーすることは現在のところ不可能である。この問題に関しては、2~3種類のインターフェースを相補的に用いることにより解決できるが、1台の装置ですべてをカバーするのが理想であることは間違いない。一方、これまで適当な検出器がないためにHPLC分析できなかった試料が、LC/MSを用いることにより、感度よく分析できるようになったことも、非常に大きな進歩である。しかし、安定性、再現性など定量分析に関する性能面では、まだ汎用の検出器の方が優れている。その原因は、インターフェースが十分に安定して機能していないことにあると推察される。これについては現在でも改良が進められており、近い将来必ず解決されるであろう。それに加えて、現在市販されているインターフェースのほとんどは、HPLC移動相にリン酸緩衝液などの揮発性の溶質が使えないなどの制約があり、HPLCの多彩な分離技術を駆使できないという問題がある。これに関しては、HPLCカラムの改良や、揮発性の緩衝液の開発などによって、ある程度はカバーできるのではないかと考えられる。

5. 食品への応用

LC/MSが実用化された当初は、ほとんど医薬品関係への応用に限定されていたが、その普及に伴い、食品分析へも適用されるようになってきた。表1に最近学術誌等に発表されたLC/MSの食品分析への応用に関する報告をまとめた。

今回調査した文献の中では、畜産物中に残留する動物用医薬品の定量や確認法に関する報告が約半数を占めて最も多く、次いで天然有毒成分、残留農業に関する報告が多かった。これらの測定物質のほとんどはHPLCによる分析が可能であるが、これまで有効な確認法や高感度測定法がなかったものである。その他の測定物質として、天然色素、天然抗酸化物質、ビタミンや油脂などの分析への適用が報告されており、適用対象物質が次第に広がっていることがわかる。用いられているインターフェースは、ESIが圧倒的に多く、次いでTSP、APCI、PBの順であった。数年前まで主流であったTSPやPBから、ESIおよびAPCIへと世代交代しつつあることがうかがえる。また、定量分析の測定モード以前は、SIMが主流だったのに対し、最近ではさらに高感度分析が可能なSRM（選択反応検出）に移行しつつある。

HPLC分離については、ほとんどの報告でシリカベースの逆相系カラムが用いられているが、ポリマーベースの

カラムやマイクロボアのカラムの使用など、新しい試みが目立つ。検出限界については、前処理の方法等にも影響されるため単純に比較はできないが、ほとんどが1ppm以下、なかには1ppbをも下まわっている。試料の前処理法については、溶媒抽出、液-液分配、プレパックカートリッジ処理、ゲル濾過などが主流であり、他の分析手法を適用する場合との違いは見あたらない。

6. おわりに

冒頭で述べたように、質量分析法は同定能力に優れていることから、様々な分離手法との結合が図られてきた。その成功例の代表がガスクロマトグラフィー/質量分析法(GC/MS)である。現在このGC/MSは、非常に安定した高い性能を発揮する分析装置として、農産物中の残留農業や飲料水中のトリハロメタンなどの分析に広く用いられており、かなり高価な機器にも関わらず、汎用の分析機器と呼べるまでの地位を確保するに至っている。このGC/MSに10年以上遅れて実用化されたLC/MSは、現在急成長しているものの、GC/MSのようにその実力を十分に発揮するまでにはもう少し時間がかかりそうである。しかし、LC/MSがGC/MSと肩を並べる日はそれほど遠くはないと信じている。

(食品薬品部 岡 尚男)

表1 LC / MSの食品分析への応用例

分析対象化合物	試料	イオン化/定量法	検出限界	分析対象化合物	試料	イオン化/定量法	検出限界
pirimycin	牛乳、牛肝臓	TSP/SIM	0.025-0.05ppm	熱産生物質	肉	TSP	
ペニシリン系抗生物質 5種	筋肉、腎臓、乳	ESI/SIM	2-100ng/g	下痢性貝毒 4種	貝	IS/SIM	1ng/g
amperozide	豚肝臓	TSP/SIM	40µg/kg	フモニシンB1, B2	コーン	ESI/SRM	0.8ng/g
タイロシン	牛筋肉	PB/SIM	10µg/kg	アフラトキシンB1, B2, G1, G2	ピーナツ	PB/SIM	1.5-5ng
ペニシリン系抗生物質 3種	牛筋肉	PB/SIM	40-50µg/kg	ジフルベンスロン	マッシュルーム	APCI/SIM	0.017mg/kg
サルファ剤 4種	豚筋肉	ESI/SRM	0.8µg/g	有機リン農薬など 17種	牛組織	TSP/SIM	1-100ppm
ラサロシド	卵	ESI/SIM	0.5ng/g	カーバメート系農薬 11種	果実、野菜	APCI	10-100ppb
フラゾリドン	豚組織	TSP/SIM	1µg/kg	イソフラボン配糖体	大豆食品	ESI, APCI, IS	
sarafloxacin	ナマズ組織	IS/SRM	0.2µg/g	リボフラビン類	サトウダイコン	TSP, ESI	
サルファ剤 6種	肉、血液	TSP/SRM	2ppb	カロチノイド化合物 5種	スイートポテト	ESI	1-2pmol
サルファ剤 2種	豚筋肉	TSP	2-10ng/g	クチナン黄色素	生めん、乳飲料	ESI	
成長ホルモン剤 7種	牛筋肉、肝臓	APCI/SIM	10-100ppb	チアミン	ドライイースト	APCI	2ng
ベータラクタム系抗生物質 6種	牛乳	ESI/SIM	10ppb	トリアシルグリセロール類	バターオイル	PB	
ベータラクタム系抗生物質 6種	牛乳	ESI	200pg/mL	トリアシルグリセロール類	魚油	Frit-FAB	
ポリエーテル系抗生物質 3種	鶏筋肉、肝臓、卵	ESI/SIM	1ng/g	不揮発性化合物 20種	レモンピール	TSP	
キノロン系抗菌剤 4種	ナマズ筋肉	APCI/SRM	0.08-0.16ppb	天然抗酸化化合物 19種	ローズマリー等	APCI	
マクロライド系抗生物質 5種	牛組織	PB/SIM	50µg/kg	トリフェニルメタン系色素	なまず組織	PB/SIM	20ng/g
テトラサイクリン系抗生物質 4種	ハチミツ	Frit-FAB	0.1ppm	フェノール類、アルデヒド類	食物繊維	ESI	1.0-6.2pg/inj
アミノグリコシド系抗生物質 6種	牛腎臓	IS/SRM	0.02-0.5ppm	n-ニトロソジアルキルアミン類 6種	ビール	ESI	2-6 ng
フモニシンB1, B2, B3	コーンミール	ESI/SIM	20-100ppb	ヘテロサイクリックアミン類	牛組織	ESI	1-6ng/g

新興、再興感染症対策の重要性

1996年4月、日米首脳会談に際してEmerging and Re-emerging Infectious Diseases(E I D)の予防と制圧を重要課題の一つとして取り上げられた。

またWHOおよび厚生省は1997年の世界保健デーのテーマを「忍び寄る感染症の脅威—世界的な警戒と取り組みを」とし、世界中で猛威を振るうエイズやエボラ等の新型の感染症の流行、ペスト、結核などのすでに制圧されたと考えられていた感染症の再流行を重視し、感染症の流行を水際で防ぐ事の限界から、これら感染症の流行に備えた適切な国内対策の確立が急務であることを訴えている。

実際にこれらの感染症が侵入してきた場合、最初に対応に当たるのは保健所の職員であり、衛生研究所においても未知の病原体の検査にあたらねばならない事態が考えられる。本稿ではE I Dのうちウイルス感染症を中心に懸念される感染症、及びその対策などについて述べる。

1. 懸念されるエマージングウイルス感染症

CDCのEmerging infectious Disease Vol 1:8, 1995年には次のようなウイルスが今最も侵入が心配されるウイルスとして挙げられている。各ウイルスに対する多少の解説を加えて掲載した。

1)フィロウイルス(出血熱)

a) マールブルグウイルス：1967年発見

ドイツのマールブルグで全身からの激しい出血を伴う感染症が発生、31人の感染者中7人が死亡。アフリカから輸入した実験用のサルによって持ち込まれた。

b) エボラウイルス：1976年発見

スーダンのヌザラで原因不明の出血性の疾患が発生した。あらゆる臓器から出血し、死亡していった。感染者は患者の家族、治療に当たった医療スタッフなどであった。感染者284人中151人の死亡者、死亡率53%であった。同年ザイールのヤンブクで感染者318人中280人の死亡者、死亡率88%となり、その驚異的な死亡率に人々は震撼した。

更に、1995年ザイールのキクウィトで感染者318人中244人死亡、死亡率77%を記録し、現在もしばしば発生の報告がある。

一方1989年アメリカのレストン検疫所にてフィリピンから輸入したサルからエボラ様のウイルスを発見、サルを介抱した人に抗体上昇したが、発病しなかった。

2)ラッサ熱ウイルス(出血熱)：1969年発見

ナイジェリアのラッサ村で発生、ネズミの尿から感染、

患者の血液、体液が感染源となる。死亡率40%といわれたが、その後の調査で、年間30~50万人が罹患し、致命率は1~3%といわれる。

3)ニューハントウイルス(肺症候群)：1993年発見

アメリカで発見された。感染者77人中50人が死亡、死亡率65%。昔はニューメキシコ州のナバホインディアンの間の病気であった。原因は砂漠に棲むスナネズミから呼吸器を介して感染する。1996年9月現在で、全米25州に148名の患者を確認。患者は西海岸に多い。腎症候性出血熱(韓国出血熱)と同じグループのウイルス。

4)HIV(エイズ)：1981年発見

アフリカに最初の患者発生。我が国では1997年2月末でHIV感染者の累積報告数が4,000人を越えた。最近の我が国での問題はHIV患者のうち以前にHIV感染者と報告されていた人が少ない事、即ち患者のほとんどが感染の危険があってから発病までの間にHIVの検査を受けていないことである。HIV感染者がエイズ発症前に治療を受けることにより、発症を遅らせる予防治療法の開発が進んでいるので、早期にHIV感染の有無を知る検査を受ける事のメリットがきわめて大きくなっている。

5)HHV8(カポジ肉腫)：1995年発見

AIDS患者より発見。第8番目のヒトヘルペスウイルス。

6)E型肝炎ウイルス(肝炎)：1955年発見

インドにて水系感染による患者2万~4万人。1986年~91年にネパール、インド、中国ウイグル地区、バングラディッシュで数千人~12万人規模の流行。妊婦が罹患すると重篤化する。A型肝炎と同様経口感染する。

7)C型肝炎ウイルス(肝炎)：1989年発見

ノンAノンB型肝炎とよばれていた中からウイルスを遺伝子工学的手法により検出可能にし、広く知られるようになった。日本では全人口の約1%の人が感染している。

8)ベネズエラ出血熱ウイルス(出血熱)：1991年発見。グアナリトウイルスと命名。

ネズミが自然宿主である。灌漑技術の発達により牧草地をトウモロコシなどの穀類畑に転換したために、ネズミが大量に発生し、ウイルスがネズミから人に広がった。

9)ブラジル出血熱ウイルス（出血熱）：1994年発見。
サビアウイルスと命名。

ネズミが自然宿主。同上。

10)新型インフルエンザ（カゼ、肺炎、脳炎、肝障害）：
過去にはほぼ10年ごとに猛威をふるってきた。A香港
型が出てから既に20年以上経過し、新たなウイルスの
出現の可能性が高まっている。すでに中国でアジア型に
近い株がブタで流行中。数年以内に世界に広がる可能性
が大きい。最近ではインフルエンザによる肺炎、脳炎、肝
障害等全身感染を起こす例の報告も多く、病原性の変化
も心配される。

11)モービリウイルス（肺炎、脳障害）：1994年発見。
モービリウイルスとはハシカ、ジステンパー、リンダー
ペストの総称。

オーストラリアにおいてウマの間でウイルス感染症が
流行、多数の馬が死亡した。その後、馬のトレーナーら
2名が感染、1名が死亡した。オーストラリア全域に棲
むオオコウモリが自然宿主と推定される。

モービリウイルスはアザラシ、ライオン、イルカなど
の動物で流行、大量死亡の報告が増えており、変異ウイ
ルスが人に感染する危険性が心配されている。

12)狂犬病ウイルス（狂犬病）：

発生がないのは日本、オセアニア、イギリスのみで、
大陸では感受性野生動物の生息地域が広大なため根絶は
困難である。世界の多くの哺乳動物が感染し、人への感
染例もしばしばある。アジアではキツネ、野犬、北アメ
リカではスカンク、アライグマ、南アメリカでは吸血コ

ウモリ、ヨーロッパではキツネに発生がみられる。発病
すれば100%死亡する。

13)デングウイルス（デング熱・デング出血熱）：

ネッタイシマカ・ヒトスジシマカに刺されて数日後に
発病する。症状は頭痛、眼窩痛、関節痛その他出血傾向、
血小板減少等が特徴。海外で感染し、日本国内で発病し
た例もある。デング出血熱は小児に多く、血管透過性異
常等の症状があり、致死率は40~50%になる。東南アジ
アではモーターゼーションの発達に伴い、民家近くに放
置された古タイヤの溜り水で蚊の発生が増加し、患者は
増加傾向にある。また将来地球の温暖化によりネッタイ
シマカ・ヒトスジシマカの生息地域が広がり、患者が増
加する可能性もある。

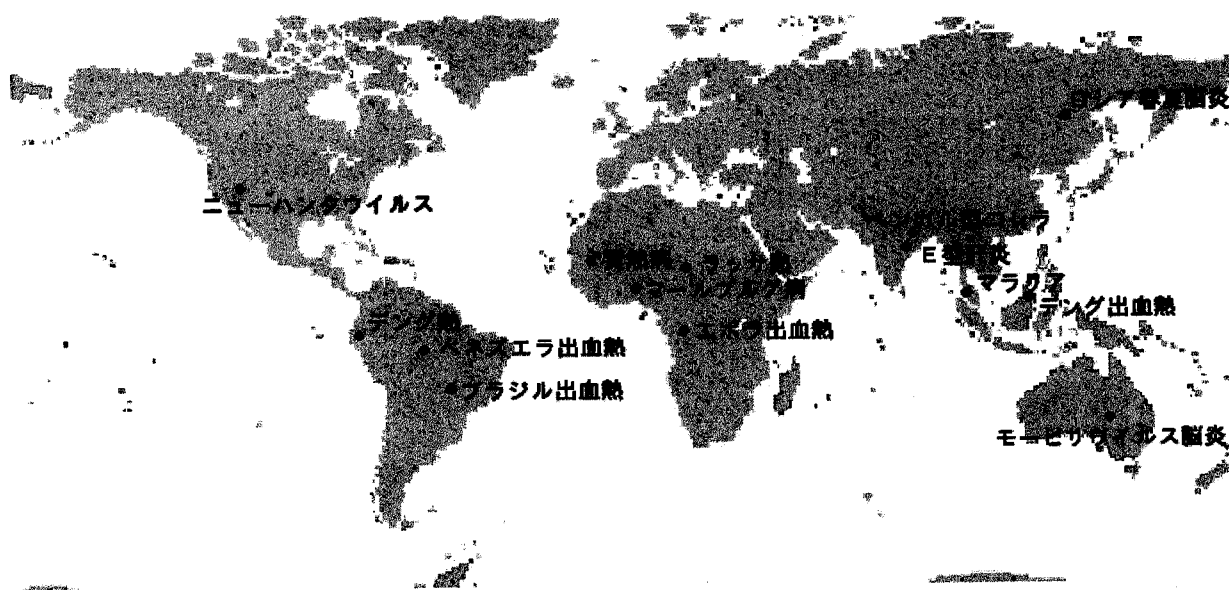
14)黄熱病ウイルス（黄熱病）：

主に西アフリカ、南米大陸に常在する。ネッタイシマ
カによって媒介される。ダム開発により水の流れが止ま
り、蚊が大量発生し、患者が増加した例がある。

15)ロシア春夏脳炎ウイルス（脳炎）：

CDCの報告書には記載されていないが、日本で最近
発見された例として挙げる。ダニが媒介するウイルスで、
1996年に北海道で患者が発見される。患者はすでに
死亡。同地区では飼い犬の間での抗体保有率は高い。ロ
シア国内の状況は不明。

その他マラリア、クリプトスポロディウム、O139
ベンガル型コレラ、Q熱コクシエラ等の原虫、細菌、リ
ケッチアもEIDとして重要である。



世界の振興・再興感染症の分布

2. エマージングインフェクション多発の要因

一度衰えたと思った感染症が再び増加してきた要因として次のような社会的現象が挙げられている。

- 1) 世界的な人口増加、都市化による感染の爆発的拡大
- 2) 未開の地の開発による病原体宿主との接触機会の増加（ラッサ、エボラ）
- 3) 農業の変化による病原体宿主の増加（ベネズエラ出血熱、ブラジル出血熱）
- 4) 難民の増加、移動、集合による衛生環境の劣悪化、医療状況の悪化（コレラ）
- 5) 温暖化、干ばつ、多雨などの気候変動に伴う生態系の変化（デング熱、マラリア）
- 6) 国内、国際間の人口移動の高速化、頻度の増加（エイズ、インフルエンザ）
- 7) 先進国における国民の免疫力の低下

これらの社会的現象は変更することがきわめて困難な事柄が多く、従って感染症の侵入の可能性はこれからもますます増えるものと思われる。

3. 日本における最近のエマージングインフェクションの例

日本において最近発生したエマージングインフェクションの例は幾つもあるが、ごく最近の例を挙げる。

1) 病原性大腸菌O157

1990年埼玉県（患者236人死者2人）

1996年岡山県、岐阜県、広島県、愛知県、大阪府等（患者9,346人死者11人）

1997年に入つてすでに集団発生の報告があり、全国の感染者数は4月20日現在で269名、死者1名となっており、本年も引き続き警戒すべき感染症である。

2) アデノ7型ウイルスによる肺炎等の急性呼吸器疾患

1992年愛知県（11人）

1995年～96年全国流行（274人）

今まであまり報告例のなかったアデノ7型ウイルスが急激に増えてきている。特に基礎疾患のある人では重篤になる例があり、警戒を要する。呼吸器系の疾患であるが、糞便からもウイルスが排泄される事に留意する。

3) クリプトスポロディウム

1986年以降、高知、大阪、東京で散発例。

1994年神奈川県で集団下痢症461人発症。

1996年6月埼玉県で約1,000人の集団発生。いずれも飲料水を介しての感染。

（衛研技術情報 Vol.20 No.4,1996参照）

これらの例は主な感染経路が経口感染である。これらの例では大発生がある数年前に地域小流行あるいは小集団発生が見られている。このことは我が国では経口感染

するEIDが全国に拡大するのに数年を要する事を示唆している。即ち感染症サーベイランスの充実により、地域小流行が把握できれば、備えをする時間的余裕ができるのではないと思われる。

4. エマージングインフェクションへの対応

米国CDCでは懸念されるエマージング・ディーズへの対応戦略として以下の対策がとられた。

- 1) 新たに出現した病原体や感染症および出現に影響を与えた要因の検出、調査。
- 2) 適切な防疫対策を可能とする検査技術と疫学とを統合する応用研究。
- 3) EIDに関する情報交換を促進し、迅速な予防対策を保証する。
- 4) サーベイランス体制の強化、地域、州、連邦の防疫担当者の基盤の強化。CDCではエピデミック・インテリジェント・サービス部門を設立、130人のスタッフで、集団感染が発生すると短時間に現地へ向かい、サンプルを採取し、病原体研究部門に渡す体制がとられている。

CDCのホームページ

<http://www.cdc.gov/>

WHOでは新型伝染病の監視・制圧部門を設立し、情報の収集を始めている。

WHOのホームページ

<http://www.who.cn/programmes/emc/meas.htm>

我が国においては厚生省が感染症対策見直しを行っており、その中の主要検討項目として、新興・再興感染症発生時における有事対応の枠組みの検討を行っている。その検討項目は以下の通りである。

- 1) 対象疾病の見直し
- 2) 対象疾病の性質に応じた防疫体制の見直し
- 3) 防疫活動のあり方の検討
- 4) 防疫体制・防疫行政組織及び国と地方の役割分担の見直し
- 5) 感染症対策の体系の見直し
- 6) 公費負担医療制度の見直しその他

今年度から国立予防衛生研究所は国立感染症研究所と名前を変え、その中に感染症情報センターを設置し、スタッフ20人の予定で発足した。CDCのエピデミック・インテリジェント・サービス部門のような働きをする流行調査部のような組織への移行も検討しているといわれる。

国立感染症研究所のホームページ

<http://www.nih.go.jp/yoken/index-j.html>

5. 愛知県における現在のウイルス検査体制

昨年まで愛知県ではウイルス感染症対策として定点観測、感染症サーベイランス、平常時防疫対策等の事業を行ってきた。その規模は定点観測、感染症サーベイランスの対象患者が年間約1,000名～1,500名、および平常時防疫対策の外来感染症ウイルス調査において名古屋空港を利用した海外渡航者年間約500～700名のウイルス分離検査を行ってきた。この中でエコー30型、エコー33型、アデノ7型等は愛知県が日本で初めて流行の確認をしたもので、その数年後には全国的な流行に発展しており、当県におけるウイルス検査態勢は全国的にも注目されている。

6. 今後の課題

E I D は侵入すれば爆発的な流行となる可能性もあり、早期発見と、迅速な防疫対策が要求される。そのためには予想される感染症に対する知識を深め、次のような対策を考える必要がある。

1) サーベイランス体制の強化、

定点の増加、検査ルート確立、検査の迅速化

2) 対象疾病の性質に応じた防疫マニュアルの作成と訓練
各疾病の性質に応じて分類し、それぞれの患者の防疫措置、二次感染者対策、聞き取り調査の項目と重点等のマニュアルを作成し、訓練を実施、修整を加えながら愛知県の体制に適したマニュアルを完成させる。

3) 知識の普及

侵入が予想される疾病の症状、感染経路、予防法、治療法についてのパンフレットを作成し、関係者に配布するとともに、海外情報の収集につとめ、新しい知見を得る。

4) ワクチン接種率の向上

ウイルス感染症の予防には今のところワクチンが最も効果的である。新型インフルエンザが侵入してきた場合にはワクチンによる防疫対策がとられるであろう。先進諸国ではインフルエンザワクチン接種率は70～80%であるが、日本ではワクチン接種率は数%で、ワクチン製造も縮小されている。もし新型インフルエンザが侵入した場合日本では新しいウイルスに対するワクチンを全国民に接種できるようになるのは大幅に遅れ、先進諸国の中で日本だけが大量の患者と死者を出す結果になることが予想される。現在のワクチンは重症化を予防する上で効果があるので、ワクチン接種率の向上を図り、ワクチン製造体制を維持する必要がある。

5) 科学教育の充実

感染症の集団発生があった場合にその状況をできるだけ詳しく県民に伝えていくことは重要であるが、発表内

容が誤解を生み、パニックを起こすことがないように注意する必要がある。また一方では発表内容が十分に理解されるように県民の科学的な基礎知識の充実も大切である。最近理科離れ現象といったことがいわれ、科学的な基礎知識の不足が心配される。教育関係者と協力し、科学的知識の普及をはかることも必要と考える。

6) 開発途上国の感染症対策援助

ここに挙げた数々の感染症は日本にとってはエマージングではあるが、開発途上国では常在する感染症である。国際交流の活発化により多くの感染症が侵入する機会が増えているが、感染症の予防対策としては流行地域の減少が最も根本的な解決策である。開発途上国の感染症対策援助としては国が中心となるが、人的援助としては保健所の第一線で活躍する職員も必要とされるのではないかと考える。

今年度から実施される環境衛生課の新規事業、振興・再興感染症対策事業が実施されようとしている。E I D の侵入に対して十分な備えができることを望む。

7. 参考資料

感染症関連のインターネットホームページ
厚生省

<http://www.mhw.go.jp/>

東京都立衛生研究所

<http://www.tokyo-eiken.go.jp/index-j.html>

大阪府立公衆衛生研究所

<http://www.jph.Pref.osaka.jp/index.html>

静岡県環境衛生科学研究所

<http://www2.shizuokanet.or.jp/eikanctr>

保健医療関係インターネットサイトリンク

<http://www.age.ne.jp/x/akagi/indexj.htm>

国際保健ネットワーク（サテルライフ）

<http://www.healthnet.org/>

グローバル・ヘルス・ネットワーク

<http://www.pitt.edu/~aksst/GHNet/GHNet-j.html>

米国N I H

<http://www.nih.gov/>

メディカル・トリビューン

<http://www1.medialogy.co.jp/medical-tribune>

(ウイルス部 栄 賢司)

小規模母集団の率の比較 (2)

(第20巻第4号7頁からの続き)

3. 分割表

(1) χ^2 分布

A、B二地区の(陽性)率の比較に分割表が良く用いられる。2×2分割表の χ^2 値の簡易な計算式は式12である。

分 割 表

地区	陽性数	陰性数	調査数
A	n_{11}	n_{12}	$n_{1.}$
B	n_{21}	n_{22}	$n_{2.}$
合計	$n_{.1}$	$n_{.2}$	$n_{..}$

$p_1 = n_{11}/n_{1.}$ 、 $p_2 = n_{21}/n_{2.}$ 、 $p = n_{.1}/n_{..}$ とすると

$$\chi^2 = \frac{n_{..} (|n_{11}n_{22} - n_{21}n_{12}| - n_{..}/2)^2}{n_{.1}n_{.2}n_{1.}n_{2.}}$$

$$= \frac{\{|p_1 - p_2| - 1/(2n_{..})\}^2}{p(1-p)/n_{1.} + p(1-p)/n_{2.}} \quad (12)$$

上の式の下段は、 χ^2 値を二項分布の正規分布近似で計算していることを表している(平方根 χ は、正規分布の標準化に相当する。従って、帰無仮説 $p_1 = p_2$ が成り立つならば、標準正規分布に従う)。また、分子のカッコの中の第3項は離散型分布である二項分布を連続型分布である χ^2 分布(検定)に当てはめるための補正項である(Yates補正式)。従って、 p または $1-p$ に地区A及びBの調査数を乗じて求められる4個の期待値(度数)が小さい(5未満)場合は、検定結果の信頼性は当然低くなる。

更に重要な問題は、もしこの調査が全数調査である場合には $p_1 = p_2$ でない限り、いかなるわずかな違いであっても両地区の陽性率は異なることになる。なぜならば、分割表の総て(9個)の度数が確定するからである。分割表では、これらの問題を解決するために周辺度数(合計及び調査数の欄)を固定して各地区の陽性数(陰性数)は変わり得ると考える。調査で得られた陰性及び陽性の度数の組み合わせが実現する確率を考えることになる。

(2) 超幾何分布

A地区から見ると、陽性率 p の有限母集団 $n_{..}$ 人から $n_{1.}$ 人を調査すると陽性数 r は、0から $n_{1.}$ ($n_{1.} > n_{.1}$ とする)まで取る可能性がある。この r の信頼区間を求め、検定を行うことになる。このような有限母集団からの抽出には、超幾何分布を用いる。

$$f(r/n_{..}, n_{1.}, n_{.1}) = \frac{\binom{n_{.1}}{r} \binom{n_{..} - n_{.1}}{n_{1.} - r}}{\binom{n_{..}}{n_{1.}}} \quad (13)$$

$$\text{期待値 } E(r) = n_{1.} p$$

$$\text{分散 } D^2(r) = \frac{n_{..} - n_{.1}}{n_{..} - 1} p(1-p)$$

信頼度 $1-\alpha$ で信頼範囲を求めるには、上限、下限それぞれ $\alpha/2$ とする。式13を用いて累積確率(式14、15)を計算する。累積確率が $\alpha/2$ 以上になった陽性数が上限値(r_U)、下限値(r_L)となる。

$$\text{下 限 } \sum_{i=0}^{r_L} f(r/n_{..}, n_{1.}, n_{.1}) \quad (14)$$

$$\text{上 限 } \sum_{i=r_U}^{n_{1.}} f(r/n_{..}, n_{1.}, n_{.1}) \quad (15)$$

これがFisherの直接確率計算法(精密法)である。期待度数が小さい場合には、 χ^2 やYates補正式が利用できないので、この方法を用いる。なお、期待度数と実度数を区別していることに注意してほしい。

(保健情報室)