

## 感染症検査情報の効率的な運用に向けて

平成 10 年秋に公布された「感染症の予防及び感染症の患者の治療に関する法律」（感染症新法）を受けて、愛知県においても感染症予防計画が策定され、同法の施行後 1 年を経た平成 12 年 4 月 1 日から、新たな愛知県感染症発生動向調査事業（病原体情報）が実施されています。この病原体情報の実施についての詳細は健康対策課感染症グループから出された「愛知県感染症発生動向調査事業（病原体情報）実施要綱」（12 環第 147 号の別添 2）に記載されています。従来から県の単独事業として実施されていた感染症発生動向調査における検査定点数は 5ヶ所だけであったものが、感染症新法に基づいて実施される今年度からは定点数が大幅に増加し、26 定点で実施されることとなりました。新たに定点に指定された医療機関の関係者や、それらの人々と直接協力してこの事業の実施に参加される各保健所環境衛生課の方々からも様々な疑問、質問、意見が出てくることと思われます。そこで、この紙面を借りて、当衛生研究所においてこの病原体情報に関連して実施される検査の内容を紹介し、収集された検体からの高い病原体の分離率を維持し、この事業の信頼性と成果をより高めるために必要不可欠な検体採取及びその保存、搬送等に関する留意点について述べさせていただきます。

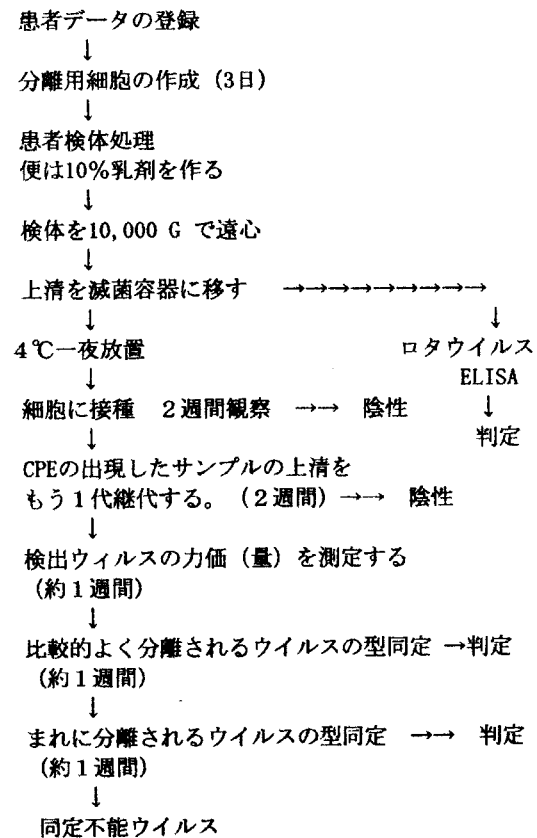
病原体定点の対象感染症の内、細菌感染症については医療機関から検査結果を病原体情報として収集することとし、今回当研究所において検査を実施することとなった発生動向調査事業の対象疾患はウイルス性感染症 8 疾患で、これらの疾患では病因となりうるウイルスが複数存在するため、臨床診断だけでは病原体を特定できないものを主体としています。これら疾患のうち、ヘルパンギーナ、手足口病、無菌性髄膜炎、急性出血性結膜炎は主にエンテロウイルスを、咽頭結膜熱、流行性角結膜炎は主にアデノウイルスを、インフルエンザはインフルエンザウイルスを、

それに感染性胃腸炎についてはロタウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルスをターゲットとしてウイルスの検出検査を実施します。感染性胃腸炎については、ELISA法を用いたノフォークウイルス (SRSV) 検出のための検査キットが開発が進んでおり、完成された時点でこの検査法を導入し、ノフォークウイルスの検査も実施する予定です。

### 1. ウイルス検査法

ウイルス分離検査が細菌分離検査と大きく異なるのは

図 1. 病原体情報ウイルス検出のフローチャート



「ウイルスは培地の中では増殖しない」ということです。ウイルスは生きた細胞、あるいは生きた動物に接種して増殖させなければ分離できません。そのためにまず試験管の中で細胞を増殖しておく必要があります。今回対象とした疾患に対して、インフルエンザウイルスを分離するためにはMDCK細胞（犬の腎臓細胞）、エンテロやアデノウイルスの分離のためにはHeLa細胞（ヒト子宮頸ガン細胞）とRD-18S細胞（ヒト横紋筋腫細胞）を使用します。また、ロタウイルスは培養分離が困難であることから、ELISA法によるウイルス抗原の検出検査のみを行いません。

ウイルス検査のフローチャートを図1に示しましたが検査の手順は以下の通りです。

検査実施日程は原則として、毎月第2、第4週の火曜日までに搬入された検体を、その週の木曜日に処理して検査を開始します。

- 1) 検査検体が搬入されるとまずコンピューターに患者データが入力され、当所における検体番号が付けられます。
- 2) 検査開始3日前に、搬入された検体に付けられている患者の疾患名と検査用検体の数に従って上記の細胞の準備が開始され、培養用試験管内で細胞が十分に増殖するのを待ちます。
- 3) 検査開始1日前に検体の処理を行ない、雑菌を除去します。
- 4) 検体を細胞に接種した後、以降2週間にわたり毎日観察します。

同時にロタウイルス検出のためのELISA検査を実施します。

- 5) 検体が接種された細胞の試験管を顕微鏡で観察し、細胞に変化があるか（細胞変性効果、CPE）否かをチェックし、CPEを起こしたことが確認された試験管は抜き出して凍結します。残りの試験管に付いては週2回の培養液交換を行ない、2週間の連続観察を続行し、CPEが確認されたものについては同様の処理をします。
- 6) CPEがウイルスによるものか否かを確認するために更に同じ細胞にもう1代継代します。
- 7) 1代目と同じようにCPEを起こしたサンプルをウイルス陽性サンプルとします。
- 8) CPEの形態、CPEを起こした細胞の種類、それに検体に付せられた診断名から、同定を試みる血清型を決定し、まず一般的に良く分離されるウイルスの同定を行ないます。
- 9) 8) で同定出来なかった場合には、日本では分離される

ことの少ないウイルスについても、同定を試みます。

10) 9) においても同定できなかったウイルスは「同定不能」という検査結果が報告されることとなりますが、エンテロウイルスについてはPCRによってエンテロであるか否かの判定も実施します。従って検査結果としては、「陰性」、陽性例については「分離されたウイルス名」あるいは「アデノNT」（アデノウイルス型別不能）、「エンテロNT」（エンテロウイルス型別不能）、「同定不能」（エンテロ、アデノ以外のウイルスで現在手持ちの抗血清では同定できない）の何れかが記載されることとなります。

以上のような手順でウイルスの同定を実施し、その結果は検体搬入から2ヶ月以内に報告できるようにします。

## 2. 良いサンプルの採取法について

検体からのウイルス分離を効果的に行なうためには、いかにして良いサンプルを採取するかということが非常に大切になってきます。そこで、検体の採取から搬入までの重要なポイントについて簡単に解説します。

まず疾患の病変部位の検体を採取することは言うまでもありませんが、目的とするウイルスが病変部以外からも排泄される可能性が有れば、その部位からも検体を採取しておく病原ウイルスの推定に役立ちます。例えば無菌性髄膜炎の場合病変部の検体としては髄液が重要ですが、髄液中のウイルスは典型的な症状が出ていても分離されない場合もあります。（髄液中には大量のインターフェロンが出ていて分離を阻害するとも言われています）一方、無菌性髄膜炎の原因ウイルスの一つであるエンテロウイルスは咽頭や腸管でも増殖し、特に糞便からは長期間排泄されるため、これらの検体の検査も効果的にウイルスを分離するためには有効な手段です。したがって、可能な範囲で複数の種類の検体を採取し、検査材料とするように現場の関係者に依頼して下さるようお願いします。

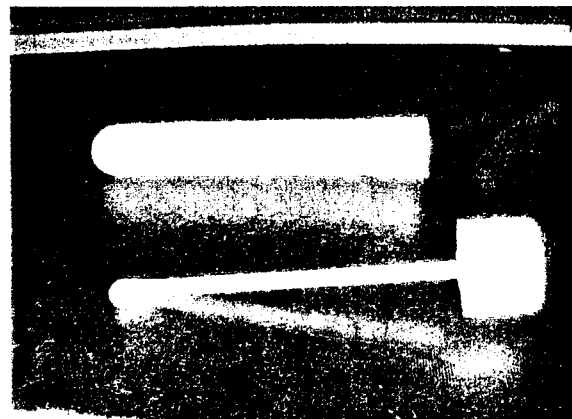


写真1 糞便採取容器

また、検体採取には病原体の不活化を避けるため、出来るだけ衛生研究所から配布された容器を使用するようにお願いしてください。

- 1) 糞便：糞便は親指頭大必要ですが、容器が細くて入れ難いかもしれません（写真1）。できれば2、3回に分けて入れてください。水洗トイレで採取する場合には便器の水のない部分にトイレトーパーを重ねて敷き、その部分に排便してもらい、そこから採取してください。水様便で固形物が採取できないときは便で濡れたトイレトーパーも容器に入れてください。乳幼児で水様便の場合は、紙おむつの内側にティッシュペーパー等を敷き、排便後、便と共に便で濡れたペーパー部分も入れてください。おむつそのもからはウイルスの回収はほとんど出来ません。

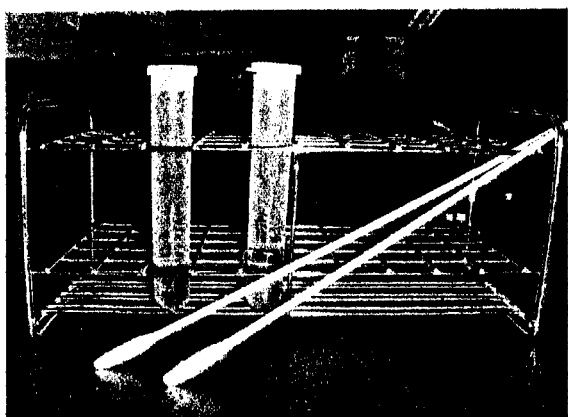


写真2 結膜拭い液（左）、咽頭拭い液（右）及び綿棒

- 2) 咽頭拭い液：咽頭の病変部位を綿棒でよく拭い、添付の保存液（写真2の右側）の中に浸してすすぎ、管壁でよく絞った後、綿棒を取り出してください。綿棒の柄が木製のものには殺菌作用のある物質が含まれている場合がありますので使用しないでください。
- 3) 結膜拭い液：眼瞼結膜を綿棒で強くこすり、結膜保存液（写真2の左側）に入れ、咽頭拭い液と同様の処置をしてください。結膜拭い液の内容は咽頭拭い液と同じものですが、容量が少なくなっています。緊急の場合には咽頭拭い液を代用として使用出来ます。
- 4) 水疱内容：水疱表面をアルコール綿で消毒し、局所を注射針等で突き刺し、内容を吸収し、水疱内容用容器（写真2左）に入れるかまたは局所を綿棒でこすり、結膜拭い液と同様の処置をしてください。
- 5) 髄液：無菌的に採取された髄液を滅菌容器（写真3）に入れて保存してください。容器には1.8 ml入ります。

- 6) 血清：血清からのウイルス分離は原則として行ないませんが、必要に応じて病因ウイルス確認のための抗体

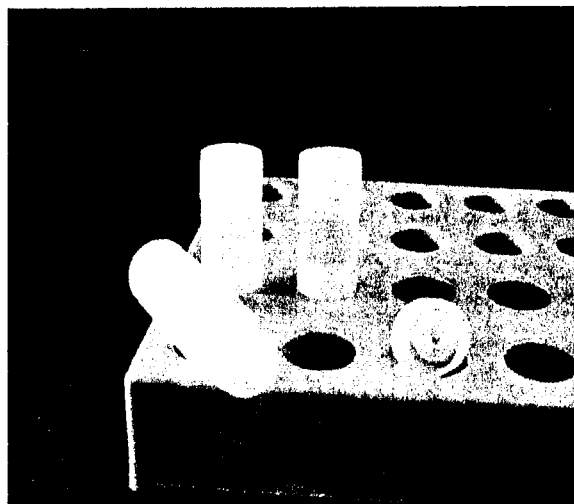


写真3 髄液、血清保存容器

検査に使用します。そのためには、発病初期とその2～3週間後のペア血清が必要となります。血清はまず血液約5mlを分離剤入り採血管で採取し、約30分間室温に静置します。静置後遠心機で3,000回転10分間遠心し、上清を保存容器（写真3）に移しかえます。

保存液の中には抗生物質（ゲンタマイシン 室温でも有効）と凍害防止剤（0.5%牛アルブミン添加Veal infusion broth）が含まれていますので、搬入までに3日以上要する場合は凍結して保存してください。一旦凍結した検体は解凍させることなく衛生研究所に搬入してください。また、何らかの事情で衛生研究所から配布した容器や、咽頭拭い液あるいは結膜拭い液を使用せず生食等を用いた場合は検体を凍結させることなく、検体採取の当日、あるいは翌日中には検体を衛生研究所に搬入してください。また、キャリア・ブリア培地は細菌の搬送用培地で、ウイルス検査には使えませんのでご注意ください。

新しい感染症発生動向調査体制の下、保健所を含めた関係行政機関のみに対してでなく、医療現場をふくめた県民一般の方々にも、より正確かつ迅速に病原体検出情報を提供し、感染症の予防と感染症の患者の医療に役立つ病原体情報にしていきたいと考えていますので、ここで述べたような点に十分留意して、正確・効率的な病原体検出検査の実施に向けて皆様のご協力・ご理解をお願いします。

（微生物部 榮 賢司）

## 統計でよく用いる分布の相互関係 (第6回)

前回(技術情報 24 巻 1 号、平成 12 年 3 月 1 日) G 分布に付いて説明しました。今回は引き続き G 分布関連分布として F 分布及び t 分布の関係を解説します。

### (1) F 分布

このシリーズの第 4 回(23 巻 4 号)で正規分布  $N(\mu, \sigma^2)$  をする母集団から抽出した  $n$  個のサンプルの偏差二乗和  $(S)$  を求めると、 $S/\sigma^2$  は自由度  $n-1$  の  $\chi^2$  分布に従うこと、及び、 $\chi^2$  分布は  $\Gamma$  分布の特殊な場合(尺度パラメータを  $1/2$ 、自由度を  $(n-1)/2$  とする等)であることを説明しました。従って、2つの異なる正規母集団について G 統計量は下式(23)で表される。

$$G = \frac{x_1/p}{x_2/q} = \frac{S_1/\sigma_1^2(n_1-1)}{S_2/\sigma_2^2(n_2-1)} \quad (23) \quad G = \frac{S_1/(n_1-1)}{S_2/(n_2-1)} \quad (23')$$

をそれぞれ  $\phi_1/2$ 、 $\phi_2/2$  と書き換えると F 分布の確率密度関数が得られる。

F 分布は等分散の仮定(帰無仮説)の下に導かれているので、F 検定は分散が等しいか否かを検定(等分散の検定)

$$\text{pdf } f(F/\phi_1, \phi_2) = \frac{1}{B(\phi_1/2, \phi_2/2)} \left(\frac{\phi_1}{\phi_2}\right)^{\phi_1/2} F^{\phi_1/2-1} \left(1 + \frac{\phi_1}{\phi_2} F\right)^{-\frac{\phi_1+\phi_2}{2}} \quad (F > 0)$$

に用いられる。F 分布の上限  $\alpha$  % 点を  $F(\alpha)$  で表すと、式(23、23') から分散比について下記の関係が導かれる。

$$\frac{\sigma_2^2}{\sigma_1^2} = F \frac{\phi_1}{\phi_2}(\alpha) \frac{S_2/\phi_2}{S_1/\phi_1}$$

これは分散比の右側検定上限を表す。分散比の信頼範囲を求めするには、F 分布数値表を用いるが、この数値表には F 値 1 以上(右側 50%以下)しか記載されていない。しかし、下記の関係から 1 未満の F 値を計算できる。

$f(F/\phi_1, \phi_2) = f(1/F/\phi_2, \phi_1)$  (この関係は  $f(F/\phi_1, \phi_2)$  と  $f(1/F/\phi_2, \phi_1)$  の比が 1 となることより

証明できる。)危険率を  $\alpha$  とすると、

$$\int_{F(\alpha)}^{\infty} f(F/\phi_1, \phi_2) dF = \alpha$$

$$\int_0^{1/F(\alpha)} f(1/F/\phi_2, \phi_1) dF = 1 - \alpha$$

従って、式(24)が得られる。

$$F \frac{\phi_1}{\phi_2}(\alpha) = \frac{1}{F \phi_2(1-\alpha)} \quad (24)$$

なお、両側検定の場合は  $\alpha/2$  を用いる。

### (2) t 分布

F 分布において  $\phi_1=1$ 、 $F=t^2$  に置換すると  $t^2$  分布が得られる。更に、この分布の平方根(変数変換)の分布が t 分布となる。変数変換は面積が等しくなるように行われるので、F 分布の t 分布への変換を積分の一部分(確率要素)で表すと式(25)が得られる。

右辺上段の式で F の取り得る値は正のみであるので 2 倍し、 $1/2t$  はヤコビの行列式を表す。右辺下段の  $dt$  を除いた部分が t 分布の確率密度関数を表す。

t 統計量は標準正規分布に従う統計量(U)と  $\chi^2$  分布に従う統計量(V)をその自由度( $\nu$ )で割ったものの平方根との比と定義される。前述の 2つの正規母集団について平均が等しく且つ等分散を仮定し、正規及び  $\chi^2$  分布の加法性(再生成)を用いると式(26)が得られる。

t 統計量に有意差が有る場合、平均が等しいと言う仮説を棄却したのか、等分散の仮説を棄却したのか分からない。このため、t 検定を行う場合には先に F 検定を行い等分散である事を確認しておく必要がある。

(企画情報部 清水通彦)

$$f(F/\phi_1, \phi_2) dF = 2f(t/1, \phi) \frac{dt}{2t}$$

$$= \frac{1}{B(1/2, \phi/2)\sqrt{\phi}} \left(1 + \frac{t^2}{\phi}\right)^{-\frac{1+\phi}{2}} dt \quad (-\infty < t < +\infty) \quad (25)$$

$$\frac{E(t)}{V(t)} = \frac{0}{\phi/(\phi-2)} \quad (\phi > 2)$$

$$t = \frac{U}{\sqrt{V/\nu}} = \frac{\frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sigma \sqrt{1/n_1 + 1/n_2}}}{\sqrt{\frac{(S_1 + S_2)/\sigma^2}{n_1 + n_2 - 2}}} = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{\sqrt{\frac{S_1 + S_2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}\right)}} \quad (26)$$

## 多剤耐性 *Salmonella* Typhimurium フェージ型 DT104 の出現

サルモネラは我が国で年間の食中毒発生病数及び患者発生病数でも常に上位にランクされている代表的な食中毒菌のひとつである。一般にサルモネラと呼ばれヒトに下痢等の臨床症状を起こすものは、その生化学的性状から亜群 I に属する。さらに亜群 I には O (菌体抗原) 及び H (鞭毛抗原) 血清型別分類によって、現在 3000 以上の菌型が知られている。これら亜群 I に属するサルモネラのうち我が国で食中毒等の胃腸炎患者及び健康保菌者から頻繁に分離される代表的な菌型としては、*S. Typhimurium*、*S. Enteritidis*、*S. Agona*、*S. Infantis*、*S. Thompson*、*S. Litchfield*、*S. Anatum* 等がある。これら菌型のうち、最近注目されている菌型としては 1988 年以降検出頻度が急増している *S. Enteritidis* (卵が感染源と考えられている)、それに、過去にはほとんどヒトから分離されたことのなかったものの昨年「バリバリイカ」等のイカ乾燥食品を汚染し、全国的な食中毒の発生を起こした *S. Oranienburg* がある。

一方 *S. Typhimurium* は 1980 年代には我が国のサルモネラ食中毒全体の約 25% を占め、サルモネラ食中毒原因菌の第 1 位であった。しかし 90 年代にはいとその検出率は約 15% に減少し、首位の座を *S. Enteritidis* に明け渡した。ところが同じく 90 年代にはいと英国及び米国より胃腸炎患者からアンピシリン (略号 A)、クロラムフェニコール (C)、ストレプトマイシン (S)、スルフオンアミド (Su)、テトラサイクリン (T) の 5 剤の抗生物質に耐性を示し、しかもそのフェージ型が DT (definitive type) 104 である *S. Typhimurium* が高率に分離されるようになった (文献 1)。さらに DT104 による食中毒事例も英国、オランダ、米国等の欧米諸国で相次いで報告されている。また上述の 5 剤 (ACSSuT) 耐性に加えてナリジクス酸、ピペラシリン、トリメトプリム等の抗生物質にも耐性を示す 7 剤及び 8 剤耐性の高度多剤耐性 *S. Typhimurium* DT104 も検出されている。本菌による症状は他のサルモネラ症に比べ重症であると言われ、1993 年に英国で本菌に感染した患者 295 名中 121 名 (41%) が入院し、10 名 (3.4%) が死亡したとの報告もある。この DT104 は本来牛の病原菌であることから感染源として家畜及び生乳が疑われているが、欧米において公衆衛生上大きな問題となっている本菌によるサルモネラ症の急増の原因については現在なお不明である。

一方、これら多剤耐性 *S. Typhimurium* DT 104 の遺伝子解析が最近広く行なわれるようになり、多くの知見が得られてきている。薬剤耐性を司る遺伝子の一部はプラスミドと呼ばれる小型の遺伝子単位上に存在しているが、大部分は染色体上に一塊

になって存在し、その耐性遺伝子の横にインテグラーゼ遺伝子 (耐性遺伝子の外からの取り込みとその発現 (遺伝子から耐性酵素を作ること) を司る遺伝子) が存在していることが明らかとなっている (文献 2)。そして耐性遺伝子とインテグラーゼ遺伝子はひとつの単位として“インテグロン”と呼ばれ、薬剤耐性の菌から菌への伝播に関与していると考えられている。

我が国では、*S. Typhimurium* は患者及び健康保菌者から分離される代表的なサルモネラのひとつではあるが、現在のところその急増は報告されていない。東京都立衛生研究所の松下らは東京都において 1980 年から 98 年に海外渡航者及び国内事例 (発症前に海外渡航歴のない事例) の下痢症患者から分離された *S. Typhimurium* について薬剤感受性試験及びフェージ型別分類を行なった。その結果、多剤耐性株が 98 株 (全検出株数 647 の 15.1%) 分離された。フェージ型 DT104 は、85 年以前には全く分離されなかったが 86 年以降は年と共に次第に多く分離され、全体としては多剤耐性株の 44.9% (44 株) を占めていた。さらにその薬剤耐性パターンは ACSSuT (43 株) 及び ACSSuT+カナマイシン (K) (1 株) であったと報告している (文献 3)。このことから我が国においても 86 年以降は、欧米で問題となっている多剤耐性 *S. Typhimurium* DT104 が存在していたことが明らかとなった。

そこで我々は愛知県下で 1980 年から 99 年に分離された *S. Typhimurium* 148 株について薬剤感受性試験 (当所ではフェージ型別分類検査の実施は不可能) を行ない、県内における過去 20 年間の薬剤耐性株の検出状況を調べたのでここにその概略を紹介する。用いた菌株は過去 20 年間に県内の保健所、当研究所、及び病院において分離された 148 株で、90 株は健康保菌者 90 名、36 株が散发下痢症患者 36 名、それに 22 株が食中毒 11 事例 (1 事例当たり 1~3 株) に由来するものであった。薬剤感受性試験は 9 種類の抗生物質について寒天平板希釈法にて行なった。試験に用いた抗生物質は、A、C、S、Su、T、ゲンタマイシン (G)、ナリジクス酸 (N)、ピペラシリン (P)、トリメトプリム (Tp) である。

表 1 にその結果を示した。分離年によって 1980 年から 89 年までを前期、1990 年から 99 年までを後期とした。薬剤耐性菌の割合は前期が 56% であったのに対して後期は 74% と大きく増加し、90 年代には 80 年代と比べ *S. Typhimurium* 耐性菌が増加していることが明らかとなった。また、前期には 3 剤までの薬剤に対する耐性菌の割合が耐性菌全体の 73% を占めていたのに対し、後期になるとその割合は 36% と半減し、4 剤以上の薬剤に

表1 薬剤耐性 *S. Typhimurium* の耐性パターン

分離年	供試株数	耐性株数	耐性パターン					
			1剤-3剤	4剤	5剤		6剤	
					ACSSuT	その他	ACSSuT+P	ACSSuT+N
1980-1989	66	37(56.1%)	27(73.0%)	1	4	1	4	0
1990-1999	82	61(74.4%)	22(36.1%)	14	8	5	7	5

に対する耐性菌の割合が64%を占めていた。これらの結果から、90年代における耐性菌の増加の原因は主として *S. Typhimurium* の4剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性菌の増加によるものと考えられた。

愛知県内における分離株からも、諸外国から報告されている5剤耐性 *S. Typhimurium* フェージ型 DT104 と同じ耐性パターンを示す ACSSuT 耐性株が、前期には4株 (1984, 85, 89年)、後期には8株 (90, 99年) 検出された。これら12株は、前期に検出された散発下痢症患者からの2株を除き、そのほとんど (83%) が健康保菌者から検出された。

また、前期には、この5剤耐性にピペラシリ (P) 耐性が加わった6剤耐性株が4株 (88, 89年) 認められたのに対し、後期になると同様の6剤耐性菌7株 (91~93年, 96, 97, 99年) に加え、ACSSuT 耐性にナリジクス酸 (N) 耐性が加わった6剤耐性菌が5株 (90, 99年) 認められた。これら6剤耐性菌のうち ACSSuT+P 耐性11株は、後期の散発下痢症患者からの2株を除き、そのほとんどが (82%) 健康保菌者から検出された。一方、ACSSuT+N 耐性5株は、2株が健康保菌者から検出され、3株は99年に発生した食中毒1事例に由来するものであった。

以上の結果から、愛知県においても ACSSuT 耐性の *S. Typhimurium* が、すでに1980年代に健康保菌者及び散発性下痢症患者より検出されていたことが判明した。また、これら5剤耐性に加えてピペラシリン及びナリジクス酸耐性が付加した6剤耐性株も88年以降には検出されていたことが明らかとなった。

ACSSuT 耐性 *S. Typhimurium* が愛知県において80年代後半に存在していたとの今回の調査結果は、東京都及び欧米諸国からの報告とよく一致している。また本調査において検出された ACSSuT、ACSSuT+P、ACSSuT+N 耐性 *S. Typhimurium* が健康保菌者から多数分離されたことは、下痢症患者だけでなく不顕性患者・健常者も少なからず本菌に感染している可能性を強く示唆するものである。したがって、当研究所としても今後は国立感染症研究所と協力して *S. Typhimurium* のフェージ型別分類が実施可能となるよう体制の整備を行ない、更なる詳細な調査研究を行ない *S. Typhimurium* の県内における侵淫状況の調査、同菌による食中毒発生時の対応体制を整える必要があると考えられた。

(微生物部 松本昌門)

- 【文献】1) Threlfall, E. J., J. A. Frost, L. R. Ward., and B. Rowe. 1996. Increasing spectrum of resistance in multiresistant *Salmonella typhimurium*. Lancet 347: 1053-1054.
- 2) Briggs, C. E., and P. M. Fratamico. 1999. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene cluster *Salmonella typhimurium* DT104. Antimicrob. Agents Chemother. 43: 846-849.
- 3) 松下秀、小西典子、有松真保ら 1999. 散発事例由来 *Salmonella* serovar Typhimurium の薬剤耐性と definitive type 104 の出現状況. 感染症学雑誌 73:1087-1094.

## おことわり

昭和47年より発行してまいりましたこの愛知衛研技術情報は、印刷物としての提供は今回を持ちまして終了いたします。より広く、且つ、より早く最新の情報をお届けするために、次回から愛知県衛生研究所のホームページ【<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>】に掲載することといたしますので、これまでも増してのご利用をお願いいたします。

愛知衛研技術情報 第24巻 第2号 平成12年6月1日発行

ご照会・連絡先 愛知県衛生研究所 電話：052-911-3111 FAX：052-913-3641

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流7番6号

(この技術情報は、再生紙を使用しています)