

青森県環境保健センター一年報

Annual Report
of
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center

No.31 2020

青森県環境保健センター

はじめに

青森県環境保健センターは、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために、平成2年に設置された地方衛生研究所と地方環境研究所の機能を併せ持った研究機関です。

環境分野の業務としましては、テレメーターシステムによる大気汚染常時監視、有害大気汚染物質・PM2.5等に関する調査研究、アスベスト等の環境調査、十和田湖の水質調査などを行っています。

また、保健衛生分野の業務としましては、病原微生物（細菌・ウイルス等）の試験検査及び研究、県内の感染症の発生及び流行状況の取りまとめと公表、食品中の化学物質等の試験検査及び研究、毒劇物・医薬品等の試験検査及び研究、対EU輸出ホタテガイ生産海域モニタリングの一環としての貝毒検査などを行っています。

さて、令和2年を振り返りますと、何と申しましても新型コロナウイルス感染症の世界的な流行ということが第1に挙げられるかと思えます。3密を避けるなどの生活習慣の変換も含め、その抑止に向け、多くの方々が様々な対応に真剣に取り組んだ激動の1年であったと言えると思います。我が国も、現時点まで複数回に渡る流行の大きな波に見舞われ、次第にその波が大きくなっている感があります。当所においても令和2年2月の初検査以来、日々、新型コロナウイルス感染症のPCR検査業務を実施しておりますが、残念ながら現時点では未だ終息の兆しが見えていない状況にあります。引き続き、感染の拡大防止のため、緊張感を持って検査体制を維持し、関係機関と協力しながら地方衛生研究所として求められる責務を果たしてまいります。

また、当然のことではありますが、今後とも新型コロナウイルス感染症の検査以外の当所が行うすべての試験検査においても、引き続き技術と信頼性を高い水準で維持し、日々の業務を遂行してまいります。

ここでは、当所の業務概要と、職員が通常業務として試験検査を行っている中で見つけた課題をテーマとして取り組んだ研究報告を「青森県環境保健センター年報（No.31 2020）に取りまとめました。御高覧の上、皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

令和3年3月

青森県環境保健センター
所長 工藤 隆治

目 次

I 環境保健センターの概要

1 沿 革	1
2 組織、所掌事務及び職員の状況	2
3 ISO/IEC17025 に基づく試験所認定	4

II 業務の概要（令和元年度実績）

1 総務室	5
2 微生物部	6
3 理化学部	11
4 公害部	16
5 研修等業務（所内研修会）	19
6 年間動向	21
1) 講師等派遣	21
2) 委員会、協議会等の委員	21
3) 令和元年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」	22
4) 会議・学会・研修会等出席状況	23

III 研究報告

1 報 文

青森県におけるRSウイルスの遺伝子解析（2012～2019年） 菩提寺 誉子 山上 剛志 福田 理 坂 恭平 筒井 理華	26
中南地域でヒトから分離された下痢原性大腸菌等の性状解析（2018年4月～12月） 高橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美	33
健康危機管理に係る加工食品の試験法検討 ～ベビーフードを用いた予備検査～ 福士 貴史 山本 明美	40
健康危機管理に対応した食品中の不揮発性アミン類分析の検討 花石 竜治 山本 明美	49

2 ノート

青森県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）のバンコマイシン耐性型とPFGE 分析（2019年） 高橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美	56
青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性（2019年） 橋本 恭奈 山上 剛志 高橋 洋平 武差 愛美	59
青森県における酸性雨実態調査結果 ～平成26年度から令和元年度まで～ 田村 麻衣子	63

Table of Contents

I Reports

Phylogenetic analysis of respiratory syncytial virus in Aomori Prefecture (2012–2019)	
Motoko Bodaiji, Osamu Fukuda, Kyohei Saka, Rika Tsutsui	26
Characteristic analysis of diarrheagenic <i>Escherichia coli</i>, etc., isolated from human being in the South Central region of Aomori Prefecture (April–December 2018)	
Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi	33
An examination of the testing method for processed foods related to health risk management: A preliminary test using baby foods	
Takafumi Fukushi, Akemi Yamamoto	40
An examination of the analytical method for the determination of non-volatile amines in foods for health risk management	
Ryuji Hanaishi, Akemi Yamamoto	49

II Notes

Vancomycin resistance type and PFGE analysis of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) detected in Aomori Prefecture (2019)	
Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi	56
Serotype and drug sensitivity of <i>Salmonella</i> isolated from human being in Aomori Prefecture (2019)	
Yukina Hashimoto, Takeshi Yamagami, Yohei Takahashi, Manami Musashi	59
Results of the fact-finding investigation on acid rain in Aomori Prefecture (from fiscal year 2014 to fiscal year 2019)	
Maiko Tamura	63

I 環境保健センターの概要

1 沿革

(1) 設置の目的

青森県環境保健センターは、県民のニーズに的確に対応するため、平成2年に衛生研究所、公害センター及び公害調査事務所を統合し、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために設置された。

(2) 沿革

【環境保健センター】

年 月 日	概 要
平成2年4月1日	青森県環境保健センター、青森県環境保健センター八戸公害事務所、青森県環境保健センター六ヶ所放射線監視局設置
平成12年4月1日	センター内に環境管理部新設、弘前市・八戸市・むつ市に環境管理事務所新設(八戸公害事務所廃止)
平成13年4月1日	センター内に青森県感染症情報センター設置
平成15年4月1日	組織改正により、環境管理部が青森環境管理事務所に、放射能部及び六ヶ所放射線監視局が青森県原子力センターに移行
平成19年4月1日	組織改正により、青森・弘前・八戸・むつ環境管理事務所が地域県民局に移行

【旧衛生研究所】

年 月 日	概 要
昭和24年6月1日	庶務係、細菌検査係、化学試験係、病理臨床試験係、食品検査係の5係制で発足
昭和29年7月1日	血液銀行係を加え6係制となる
昭和31年1月25日	青森県衛生研究所弘前出張所を設置する
昭和32年6月1日	青森県血液銀行設置に伴い衛生研究所弘前出張所及び血液銀行係を廃止する
昭和33年5月1日	処務規程の全面改正により、庶務係、試験検査係となる
昭和34年3月3日	試験検査係を細菌病理臨床試験係、化学食品検査係に改め3係制となる
昭和39年4月1日	庶務室、微生物科、理化学科の1室2科となる
昭和43年3月25日	青森県保健衛生センター合同庁舎完成し移転
昭和44年4月1日	公害科が新設され1室3科となる
昭和48年4月1日	室及び科制を課制に改める
昭和49年4月1日	公害調査事務所設置に伴い公害課は廃止される

【旧公害センター】

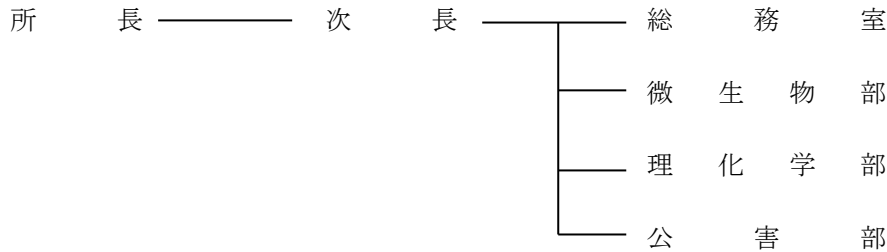
年 月 日	概 要
昭和46年4月1日	青森県公害センター開設

【旧公害調査事務所】

年 月 日	概 要
昭和49年 4月 1日	青森公害調査事務所開設 庶務課及び調査規制課の2課制が設けられ、調査規制課に大気係及び水質係が置かれる
昭和55年 4月 1日	組織改正により調査規制課が廃止され、大気課及び水質課が設けられ3課制となる
昭和56年 4月 1日	青森県公害調査事務所に名称変更となる
昭和57年10月 1日	旧血液センターの庁舎を全面改修し、公害調査事務所の検査及び管理部門を移設した

2 組織、所掌事務及び職員の状況

(1) 組織



(2) 所掌事務

- ① 公害の防止その他の環境の保全（放射性物質に係るものを除く。）上必要な調査及び試験研究に関すること。
- ② 保健衛生上必要な試験研究に関すること。
- ③ 保健衛生に係る技術指導に関すること。

(3) 分掌事務

総務室

- ① 所の予算及び決算に関すること。
- ② 庁舎、公有財産及び備品等の管理並びにその他の庶務に関すること。
- ③ 所内各部の所管に属しない事務に関すること。

微生物部

- ① 病原微生物等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 微生物学的健康危機に関すること。
- ③ 微生物学的試験及び検査の技術指導に関すること。
- ④ 感染症等に係る情報の収集、解析及び提供に関すること。
- ⑤ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

理化学部

- ① 食品中の残留農薬、動物用医薬品、その他の化学物質等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 毒劇物、医薬品、家庭用品等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ③ 温泉、飲料水等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ 理化学的試験の技術指導に関すること。
- ⑤ 毒劇物及び医薬品等の化学物質による健康危機に関すること。

⑥ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

公害部

- ① 大気汚染、水質汚濁、土壌汚染、騒音、振動及び悪臭の防止に係る試験検査並びに調査研究に関すること。
- ② 微小粒子状物質（PM_{2.5}）及び有害化学物質等の試験検査並びに調査研究に関すること。
- ③ 廃棄物の処理に係る試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

(4) 職員の状況

(令和2年4月1日現在)

区 分	課 長 級	副 参 事 級	総 括 主 幹 級	主 幹 級	主 査 級	主 技 事 師	技 能 主 技 事 師	非 常 勤 事 務 員	非 常 勤 労 務 員	非 常 勤 技 術 員	計
所 長	1										1
次 長		1									1
総 務 室			1	1	1		1	1			5
微生物部			1	1	2	3			3		10
理化学部				2	4		1		3		10
公 害 部			1	1	2	2			1		7
計	1	1	3	5	9	5	2	1	7		34

3 ISO/IEC17025 に基づく試験所認定

対 EU 輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査に係るサンプリング、ホタテガイの麻痺性、下痢性及び記憶喪失性貝毒検査、ホタテガイのサルモネラ属菌及び大腸菌検査について、平成 15 年 3 月に試験所認定を取得した。

平成 26 年度からは、下痢性貝毒検査については登録検査機関が行うことになり、認定範囲から外れ、平成 31 年 3 月には、第 4 回 ISO/IEC17025 試験所認定更新が承認された。

機関の名称	青森県環境保健センター
認定番号	RTL01290
初回認定日	2003年3月26日
認定範囲	M27 食品試験 M27. A1 食品・飼料・肥料 M27. A1. 11 自然毒 M27. A1. 11. 1 動物性自然毒 ・サンプリング ・ホタテガイの麻痺性貝毒検査 ・ホタテガイの記憶喪失性貝毒検査 M27. A1. 14 微生物 M27. A1. 14. 1 衛生指標菌 ・サンプリング M27. A1. 14. 1. B15. 1 ・ホタテガイの大腸菌検査 M27. A1. 14. 1. B15. 2 ・ホタテガイのサルモネラ属菌検査

Ⅱ 業務の概要(令和元年度実績)

1 総務室

1.1 職場見学者の受入れ

平成24年度から、試験・検査、研究等に興味を抱き、将来の職業選択の一助となることを目的として中学生などの見学の受入れを行っている。

生徒等には、当センターの概要の説明並びに各試験室等の見学及び検査体験を実施している。

区 分	H26年度	H27年度	H28年度	H29年度	H30年度	R元年度
見学者(人)	13	—	4	3	4	2

1.2 センター内ベンチャー制度

環境保全上及び保健衛生上の試験研究に対する職員の意欲及び研究能力の一層の向上を図るため、職員が自ら研究を企画し、実施することを支援することを目的に、平成28年度からセンター内ベンチャー制度を実施している。

令和元年度は、応募がなかった。

2 微生物部

2.1 調査研究

(1) 感染症流行予測調査事業

厚生労働省感染症流行予測調査事業の一環として、環境水からのウイルス分離によるポリオ感染源調査及びブタにおける HI 抗体調査による日本脳炎感染源調査を実施している。

ア ポリオ感染源調査

令和元年度は4月から12月にかけて、青森市内下水処理施設から採水した下水処理前水54検体を対象にウイルス分離を実施した結果、エンテロウイルス8株、アデノウイルス8株が分離された。

イ 日本脳炎感染源調査

令和元年度は、7月から9月にかけて、十和田食肉衛生検査所及び田舎館食肉衛生検査所で採血したブタの血液70検体を対象に HI 抗体調査を実施した結果、10倍以上の抗体価を保有している日本脳炎陽性ブタは認められなかった。

(2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

平成11年度から感染症法に基づき、県内の細菌・ウイルス・リケッチア・クラミジア等の病原体を把握するために感染症発生動向調査の一環として病原体検査を実施しており、令和元年度においては次のとおり行った。

ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関が採取した材料259検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）9検体、喀痰35検体、気管吸引液（吸引痰）3検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液・鼻腔ぬぐい液・鼻汁）176検体、髄液6検体、血液・血清18検体、尿12検体）からウイルス分離及び遺伝子検出を実施した結果は、次のとおりであった。

ウイルス等の検出状況

疾患等	検出されたウイルス等	検出株数
インフルエンザ	インフルエンザウイルス AH1pdm09	43
	インフルエンザウイルス AH3	4
呼吸器関連 (インフルエンザを除く)	ヒトRSウイルス A	2
	アデノウイルス 2型	1
	ヒトボカウイルス	1
	ヒトライノウイルス A	3
	ヒトライノウイルス C	3
手足口病関連	コクサッキーウイルス A6型	3
感染性胃腸炎関連	ノロウイルス GII型	1
	アデノウイルス 2型	1
無菌性髄膜炎関連	ヒトヘルペスウイルス 6B	1
新型コロナウイルス感染症	新型コロナウイルス (SARS-CoV-2)	1

イ 細菌等

県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関で、レプトスピラ症疑い患者の検体から採取された血漿1検体及び血清1検体の遺伝子検査を実施した結果、レプトスピラ遺伝子は検出されなかった。また、レジオネラ症発症者が利用した温泉の浴槽水16検体のレジオネラ属菌検査を実施した結果、レジオネラ属菌は検出されなかった。

薬剤耐性菌について、県内（青森市及び八戸市を除く。）の医療機関で、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症患者から採取された検体由来の菌株計14株の性状確認及び遺伝子検査を実施した結果、カルバペネマーゼを産生する菌株は認められなかった。また、バンコマイシン耐性腸球菌の感染症発

症者及び保菌者から採取された検体由来の菌株計 21 株の性状確認、遺伝子検査を実施した結果、20 株が *vanA* 遺伝子を保有する *E. faecium* であり、PFGE 解析の結果、20 株は同一の菌株に由来する可能性が示唆された。

(3) 結核菌の遺伝子解析

平成 24 年度から、県の結核対策の一つとして、VNTR 法による結核菌の遺伝子型別解析を行っている。令和元年度は、42 株（青森市及び八戸市を除く。）について遺伝子解析を行った。

(4) 青森県病原微生物検出情報

平成 11 年度から 3 病原体（サルモネラ属菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター属菌）の発生状況の把握を目的として県内の細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査センター10 施設から菌株及び検出情報の収集を実施している。平成 26 年 7 月から医療機関 1 施設を加え計 11 施設となった。また、情報収集対象とする病原体を 6 菌種（サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、ビブリオ属菌、エルシニア属菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌）とした。

ア 令和元年度は、提供を受けた検出情報及び気温等の環境情報を解析し、環境保健センターのホームページに週報として 52 回掲載した。

イ 収集した病原性菌株について生化学的試験及び血清学的試験、PCR 並びに薬剤感受性試験等を実施し、その結果を関係機関に提供している。

(5) 厚生労働科学研究事業

令和元年度に研究事業として厚生労働科学研究班等に参加した事業は、以下のとおりである。

ア 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」分担研究「北海道・東北・新潟ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」

イ 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究」分担研究「地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性菌の動向調査」

ウ 日本医療研究開発機構研究費補助金（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発研究事業）「国内ならびにグローバルサーベイランスのための RS ウイルス感染症に関する検査システムの開発研究」

エ 日本医療研究開発機構（AMED）委託研究開発費（新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業）「東北地区における結核菌ゲノム分子疫学調査研究」

オ 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「環境中における薬剤耐性菌及び抗微生物剤の調査法等の確立のための研究」

(6) 菌株の収集事業

県内で発生した食中毒事例等及び感染症事例から分離されたサルモネラ属菌、エルシニア属菌、ビブリオ属菌、腸管出血性大腸菌を含む下痢原性大腸菌等について、生化学的試験及び血清学的試験、PCR 並びに薬剤感受性試験等を行い、県並びに青森市及び八戸市保健所及び関係機関に対して情報提供を行っている。

(7) 感染症発生動向調査事業に係る青森県感染症発生情報

平成 13 年度から感染症患者の把握と予防啓発を目的に実施している。

令和元年度は、県内の感染症患者情報及び病原体検出情報を収集・分析し、その結果を週報として 52 回（インフルエンザ情報を適時掲載）、月報として 12 回、環境保健センターのホームページに掲載した。また、平成 30 年の感染症発生動向調査事業報告書を作成し、ホームページに掲載するとともに関係機関に配付した。

2.2 試験検査

(1) ウイルス性食中毒等関連検査

ウイルス性食中毒及び感染症の拡大防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健衛生課からの依頼により実施している。

令和元年度は、ウイルス性食中毒（疑いを含む。）及び感染症集団胃腸炎事例が 11 事例あり、糞便 132

検体、食品 76 検体、ふき取り 52 検体、計 260 検体について RT-PCR 法、リアルタイム RT-PCR 法及びダイレクトシークエンス法により原因ウイルスの検索及び遺伝子解析を行った。

その結果、糞便 132 検体中 6 検体からノロウイルス Genogroup I (G I 型) が、48 検体からノロウイルス Genogroup II (G II 型) が、8 検体からサポウイルス G I 型が、それぞれ検出された。また、食品 76 検体中 3 検体からノロウイルス G II 型が検出された。

(2) 細菌等による食中毒等関連検査

細菌等による食中毒及び感染症の拡大防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健衛生課からの依頼により実施している。

令和元年度は、事例がなかった。

(3) 対 EU 輸出ホタテガイ生産海域モニタリング調査

保健衛生課からの依頼により実施している。令和元年度は、令和 2 年 1 月から 2 月にかけて、6 定点（平内 2 定点、野辺地 2 定点、むつ、川内）で採取したホタテガイ合計 18 検体についてサルモネラ属菌及び大腸菌の検査を行った。その結果、全て EU 向けホタテガイに関する衛生基準を満たしていた。

2.3 青森市及び八戸市に対する技術協力

青森市及び八戸市に対し、病原体等の試験研究等業務に対する県の技術的協力に関する協定に基づき、技術協力をを行った。

(1) 食中毒等関連検査（ウイルス等・細菌等）

ア ウイルス等

令和元年度は、青森市で発生したウイルス性食中毒（疑いを含む。）事例 1 例について、ダイレクトシークエンス法により、糞便 3 検体から検出されたウイルス性の遺伝子解析を行った。また、八戸市で発生したウイルス性食中毒（疑いを含む。）事例 6 例について、RT-PCR 法及びリアルタイム RT-PCR 法により、糞便 33 検体、食品 7 検体、計 40 検体から原因ウイルスの検索を行った。

イ 細菌等（3 月末終了分）

令和元年度は、事例がなかった。

(2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

青森市内の医療機関が採取した材料は、107 検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）13 検体、喀痰 11 検体、気管吸引液 8 検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液、鼻腔ぬぐい液・鼻汁）55 検体、髄液 13 検体、血液・血清 3 検体、尿 3 検体、皮膚病巣 1 検体）であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、88 検体（糞便（直腸ぬぐい液・腸内容物）2 検体、喀痰 7 検体、気管吸引液 2 検体、咽頭ぬぐい液（鼻咽頭ぬぐい液・鼻腔ぬぐい液・鼻汁）71 検体、髄液 2 検体、血液 2 検体、尿 1 検体、結膜ぬぐい液 1 検体）であった。

イ 細菌等（3 月末終了分）

青森市内の医療機関が採取した材料は、36 検体（菌株 36 検体）であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、11 検体（菌株 11 検体）であった。

2.4 精度管理

(1) ウイルス等

令和元年度は、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施している麻しんウイルス及び風しんウイルスに関する外部精度管理事業に参加し、検査技能は適正であると判定された。

(2) 細菌等

令和元年度は、一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施しているサルモネラ属菌及び大腸菌に関する食品衛生外部精度管理、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施しているカルバペネム耐性腸内細菌科細菌に関する外部精度管理及び公益財団法人結核予防会結核研究所で実施している結核菌遺伝子型別外部精度評価に参加し、検

査技能は適正であると判定された。

2.5 教育・指導

(1) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング者育成研修

保健衛生課からの依頼により、対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング者育成を目的に研修を実施しており、令和元年度はサンプリング者に指名された者に対して、ホタテガイの無菌的採取法について、講義と実演を行った。

(2) 病原体等の包装・運搬に係る研修

保健衛生課からの依頼により、包装・運搬責任者育成を目的に研修を実施しており、ゆうパックにより臨床検体等を送付する際の遵守事項について講義と実演を行っている。

(3) 衛生検査所に対する外部精度管理

医療薬務課からの依頼により、衛生検査所における精度管理の質的向上を図ることを目的に立入検査を実施し、指導監督及び助言を行っている。

2.6 健康危機管理

高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染することによる新型インフルエンザの発生に備え、検査技術の導入及び検査体制の整備を行っている。

試験検査総括表（令和元年度）

分類	部門	件数	検査 項目数	検査 総数
(1) ウイルス (行政検査)	① 感染症発生動向調査（ウイルス等）			
	・インフルエンザウイルス	82	7	574
	・呼吸器関連ウイルス（インフルエンザウイルスを除く。）	20	11	220
	・手足口病関連ウイルス	12	7	84
	・突発性発しん関連ウイルス	1	6	6
	・咽頭結膜熱関連ウイルス	1	3	3
	・感染性胃腸炎関連ウイルス	10	8	80
	・無菌性髄膜炎関連ウイルス	41	10	410
	・麻しん・風しん関連ウイルス	40	2	80
	・新型コロナウイルス	231	1	231
・その他のウイルス等	16	1	16	
	② ポリオ感染源調査	54	7	378
	③ 日本脳炎感染源調査	70	1	70
	④ ウイルス性食中毒等関連検査	303	5	1,515
	小 計	881		3,667
(2) 細菌等 (行政検査)	① 感染症発生動向調査（細菌等）			
	・レプトスピラ	2	1	2
	・レジオネラ	16	1	16
	・バンコマイシン耐性腸球菌	37	3	111
	・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌	43	4	172
	② 結核菌の遺伝子解析	44	1	44
	③ 対EU輸出ホタテガイモニタリング検査	18	2	36
	④ 病原性菌株の収集	46	3	138
⑤ 病原微生物検出情報（菌株）	107	3	321	
	小 計	313		840
合 計		1,194		4,507

3 理化学部

3.1 試験検査

(1) 有害物質等検査

ア 県産農産物の残留農薬検査

平成18年5月から、食品中に残留する農薬等へのポジティブリスト制度（農薬等が残留する食品の販売等を規制する制度）が施行され、農薬残留基準が定められていないものには一律基準（0.01ppm）が適用されることとなったことから、精密分析機器であるGC/MS及びLC/MS/MSを用いて分析を実施している。

令和元年度は次の11種57検体、1検体当たり約250項目について検査を実施した。トマト7検体（151項目）、メロン3検体（121項目）、とうもろこし5検体（146項目）、にんにく4検体（70項目）、かぼちゃ1検体（188項目）、人参7検体（144項目）、大根5検体（140項目）、玄米6検体（114項目）、りんご8検体（169項目）、長いも6検体（129項目）及びごぼう5検体（151項目）。
（（ ）内の項目数は試験法の妥当性が確認された項目数）

その結果、トマト、メロン、玄米、りんご及び長いもからは下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

とうもろこし、にんにく、かぼちゃ、人参、大根及びごぼうについては、全ての項目について定量下限未満であった。

検出農薬

作物名	検出農薬名（検出検体数）
トマト	イミダクロプリド(1)、ジエトフェンカルブ（1）、フルジオキシニル（1）、ペルメトリン（1）
メロン	クロチアニジン（2）
玄米	トリシクラゾール(1)、フェリムゾン（3）、プロモブチド（1）、フサライド（1）
りんご	シペルメトリン(6)、アセタミプリド(2)、キャプタン（6）、チアクロプリド(1)
長いも	アセフェート（1）、メタミドホス(1)

イ 輸入農産物の残留農薬検査

令和元年度は、県内に流通している輸入農産物の残留農薬検査を、次の4種14検体、1検体当たり約250項目について実施した。パプリカ4検体（140項目）、バナナ5検体（152項目）、レモン1検体（161項目）及びオレンジ4検体（145項目）。

その結果、バナナ、レモン及びオレンジからは下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。パプリカについては、全ての項目について定量下限未満であった。

検出農薬

作物名	検出農薬名（検出検体数）
バナナ	クロルピリホス（3）
レモン	アズキシストロビン（1）、イマザリル（1）、イミダクロプリド（1）、チアベンダゾール(1)、フェンプロパトリン（1）
オレンジ	イマザリル（4）、チアベンダゾール（4）

ウ ホタテガイの有機スズ化合物検査

漁網防汚剤として使用されていた有機スズ化合物について継続的に調査している。令和元年度は、ホタテガイ5検体（3項目）について実施した結果、全ての項目（ジブチルスズ化合物、トリブチルスズ化合物、トリフェニルスズ化合物）で定量下限未満であった。

エ 魚介類中のPCB、水銀及びクロルデン類検査

県産魚介類の安全性を確保するため、暫定的規制値の定められているPCB、水銀及びシロアリ駆除剤であるクロルデン類(6項目)について、継続的に調査している。令和元年度は、県産魚介類5種5検体(メバル、ホッケ、アジ、イシガレイ、ニジマス)について実施した結果、水銀については全ての検体から検出(0.033~0.186ppm)されたが、いずれも暫定的規制値以下であった。PCB、クロルデン類については、全ての検体で定量下限未満であった。

オ 流通貝の貝毒検査

下痢性及び麻痺性貝毒による食中毒を未然に防止するため、流通貝について貝毒検査を継続的に実施している。平成28年度より下痢性貝毒についてはLC/MS/MSを用いた機器分析による検査となった。令和元年度は、ホタテガイ11検体(下痢性6検体、麻痺性5検体)について実施した結果、全て規制値未満であった。

カ りんごジュースのカビ毒検査

県産りんごジュースの安全性を確保するため、平成17年度から、カビ毒(パツリン)の検査を実施している。令和元年度は、10検体について実施した結果、全て定量下限未満であった。

キ アレルギー物質検査

令和元年度は、40検体(菓子類29検体、めん・パン類9検体、調理食品1検体、野菜加工品1検体)の特定原材料5品目(小麦・そば・落花生・卵・乳)について、それぞれ2種類の検査試薬で検査を実施した。その結果、小麦で菓子1検体が基準値を超えた。

ク 清涼飲料水検査

土産品として売られている清涼飲料水の安全性を確保するため、鉛等の規格基準検査を実施している。令和元年度は、7検体について鉛、ヒ素を検査した結果、鉛、ヒ素は全て不検出であった。

ケ 遺伝子組換え体検査

令和元年度は、大豆穀粒5検体について遺伝子組換え体(RoundupReady Soybean:RRS)の混入率の検査を実施した結果、1検体でRRSの混入が認められたが、表示義務となるものではなかった。その他4検体は、全て定量下限未満であった。

(2) 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

畜水産食品の安全性を図るため、合成抗菌剤、抗生物質及び寄生虫駆除剤についての動物用医薬品検査を実施している。令和元年度は、県内で収去された鶏卵13検体(33品目)、牛乳7検体(44品目)について検査を実施した結果、全て定量下限未満であった。

(3) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査

「対EU輸出水産食品の取扱いについて」(平成21年厚生労働省・農林水産省・水産庁通知)及び同通知の別紙「対EU輸出水産食品の取扱要領」に基づき生産海域の監視を目的に、貝毒及び環境汚染物質について、陸奥湾産ホタテガイのモニタリング検査を実施している。

貝毒については、EU向けホタテガイの採捕期間中に毎週実施しており、令和元年度は、1月~3月に6定点(平内2定点、野辺地2定点、むつ、川内)から採捕したホタテガイ55検体について、2項目(麻痺性及び記憶喪失性貝毒)の検査を実施した結果、全てEU向けホタテガイに係る基準を満たしていた。

環境汚染物質については、12検体(6定点・年2回(6月、11月))について、23項目(PCB、塩素系農薬、クロルデン類、ベンゾ[a]ピレン、総水銀、カドミウム、ヒ素、鉛、クロム、ニッケル、銅、亜鉛、銀)の検査を実施した結果、総水銀、カドミウム、銅、亜鉛及びヒ素は全ての検体から、ニッケルは2検体から検出された。11月実施の1検体でカドミウムがEU向けホタテガイに係る基準値(1mg/kg)を超えたため、カドミウムについて週1回で追加検査を計4回実施したところ、いずれも基準値未満であった。その他の項目については基準値未満であった。

(4) 家庭用品の試買検査

昭和55年度から、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づく家庭用品の試買検査を実施している。令和元年度は、家庭用洗剤10検体について容器試験、塩酸消費量等(合計4項目)

の検査を、繊維製品 10 検体についてはホルムアルデヒドの検査を実施した結果、全て規格に適合していた。

(5) 医薬品の収去検査

不良医薬品の製造及び流通を防止するため、医薬品等一斉監視指導において収去した医薬品の検査を実施している。令和元年度は、6 検体についてイプリフラボンの定量試験を実施した結果、全て規格に適合していた。

(6) その他の行政検査

令和元年度は、自然毒等による食中毒や健康被害による行政検査依頼はなかった。

3.2 精度管理調査

(1) 食品薬品安全センター秦野研究所による外部精度管理調査

平成 11 年度から一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所による食品衛生外部精度管理調査に参加している。

令和元年度は、重金属（玄米のカドミウム）、残留農薬（かぼちゃペーストのアトラジン、ダイアジノン、クロルピリホス、チオベンカルブ、フェントエート、マラチオンの 6 種のうち 3 種）、残留動物用医薬品（豚肉（もも）ペーストのスルファジミジン）、麻痺性貝毒（ホタテガイペースト）、アレルギー物質（卵）（かぼちゃペースト）及びアレルギー物質（小麦）（ベビーフード、こしあん各 1 検体）の 6 項目について実施した。残留農薬調査については、検出された 3 項目とも R 評価が不満足であったため、改善のための検証を行ったところ、送付された試料を均一化する操作が不十分であった。その他の項目については、いずれも結果は良好であった。

(2) 水道水質検査の外部精度管理調査

水道水質検査における分析精度及びデータの正確さを確保し、分析結果の信頼性を高めることを目的として保健衛生課の依頼により平成 11 年度から実施している。

令和元年度は、水質検査に従事する県内 4 施設を対象に、鉛及びその化合物並びにマンガン及びその化合物について外部精度管理調査を実施した。各施設のデータを Xbar-R 管理図により解析した結果、1 施設を除き全項目について管理限界内であった。管理限界を外れた 1 施設は、分析機器が異なったためと考えられ、管理限界は超過したが、「水道水質検査方法の妥当性評価確認ガイドライン」（平成 24 年 9 月 6 日付け）において目標とする併行精度以内であった。Z スコアによる評価は全て良好であった。

(3) 医薬品の外部精度管理調査

各都道府県において医薬品等の試験検査を受託する衛生検査所等の試験検査機関を対象として、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性を確保することを目的に実施されている国立医薬品食品衛生研究所薬品部第三室による外部精度管理調査に平成 27 年度から参加している。

令和元年度は、プロブコール錠定量法（HPLC 法）及び確認試験（紫外可視吸光度測定法）について実施した。

(4) 対 EU 輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンバイオトキシン検査機関検証

平成 27 年度から対 EU 輸出水産食品の取扱要領の規程に基づいた、対 EU 輸出水産食品におけるマリンバイオトキシン検査機関の検証が、国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第二室により開始され、記憶喪失性貝毒の実試料測定調査及び麻痺性貝毒の評価が行われている。

令和元年度は、麻痺性貝毒及び記憶喪失性貝毒について、二枚貝均質化試料に対する添加試験として実試料調査が行われた。

(5) 地域保健総合推進事業（北海道・東北・新潟ブロック）精度管理事業

地方衛生研究所の連携事業として、健康危機事例への対応能力の向上のため、地域ブロックごとに模擬訓練又は精度管理事業を行っている。

令和元年度は、スイセンによる食中毒を想定した精度管理（スイセン及びニラの定性試験）が実施された。結果は良好であり、地域ブロック内での情報共有が図られた。

(6) 日本食品衛生協会食品衛生研究所による食品の技能比較試験

公益財団法人日本食品衛生協会食品衛生研究所内による技能試験（パイロットスタディ）に参加した。サバ味噌煮缶及びサバ水煮缶中のヒスタミンについて分析したところ、結果は良好であった。

業務実績総括表（令和元年度）

分類	部 門	事 業	検体数	項目数 / 1 検体	総項目 数※2
試験 検査	(1)有害物質検査	①県産農産物の残留農薬検査 ※1	57	70～188	7,891
		②輸入農産物の残留農薬検査 ※1	14	140～161	2,061
		③ホタテガイの有機スズ化合物検査	5	3	15
		④魚介類のPCB、水銀、クロルデン類検査	5	8	40
		⑤流通貝の貝毒検査	11	1	11
		⑥りんごジュースのカビ毒検査	10	1	10
		⑦アレルギー物質検査	40	2	80
		⑧清涼飲料水検査	7	2	14
		⑨遺伝子組換え体検査	5	1	5
		小 計	154		10,127
	(2)畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査	①動物用医薬品検査（鶏卵）	13	33	429
		②動物用医薬品検査（牛乳）	7	44	308
		小 計	20		737
	(3)対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査	①貝毒検査	55	2	110
		②環境汚染物質検査	36	24	300
		小 計	91		410
	(4)家庭用品の試買検査	①家庭用洗剤の検査	10	4	40
		②繊維製品の検査	10	1	10
		小 計	20		50
	(5)医薬品の収去検査		6	1	6
(6)その他の行政検査		0	0	0	
合 計		291		11,330	
精度 管理	(1)外部精度管理調査（食品薬品安全センター）		6	1～6	21
	(2)水道水質検査の外部精度管理調査		4	2	8
	(3)医薬品の外部精度管理		1	1	1
	(4)対EU輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンバイオトキシン検査機関検証		3	1	3
	(5)地域保健総合推進事業（北海道・東北・新潟ブロック）精度管理事業		2	2	4
	(6)技能比較試験（日本食品衛生協会）		2	1	2
	合 計		18		39
総 計		309		11,369	

※1 1検体当たり約250項目について検査を実施したが、各農産物について試験法の妥当性が確認された項目についてのみ項目数に計上した。

※2 検体数×項目数の総和

4 公害部

4.1 大気関係

(1) 環境大気監視

弘前市2地点、黒石市1地点、五所川原市1地点、十和田市1地点、三沢市1地点、むつ市1地点、六ヶ所村1地点及び鱒ヶ沢町1地点の計9地点で大気中の二酸化硫黄(SO₂)、窒素酸化物(NO_x)、一酸化炭素(CO)、光化学オキシダント(O_x)、浮遊粒子状物質(SPM)、微小粒子状物質(PM_{2.5})、炭化水素(HC)について常時監視を実施した。これらのうち、環境基準が定められている6測定項目についての環境基準の達成状況は、下表のとおりであった。

測定項目	二酸化硫黄(SO ₂)				二酸化窒素(NO ₂)			一酸化炭素(CO)					
	有効測定	短期的評価		長期的評価		有効測定	適	否	有効測定	短期的評価		長期的評価	
		適	否	適	否					適	否	適	否
測定局数	1	1	0	1	0	8	8	0	1	1	0	1	0

測定項目	光化学オキシダント(O _x)		浮遊粒子状物質(SPM)				微小粒子状物質(PM _{2.5})					
	適	否	有効測定	短期的評価		長期的評価		有効測定	短期基準に関する評価		長期基準に関する評価	
				適	否	適	否		適	否	適	否
測定局数	0	4	8	6	2	8	0	2	2	0	2	0

(2) 稲わら焼却による大気汚染状況調査

つがる市2地点において、稲わら焼却時のベンゾ[a]ピレン、アルデヒド類及び粉じんについて調査を実施した。

(3) 酸性雨実態調査

降水成分の地域特性を明らかにし、今後の酸性雨対策に資することを目的として、青森市・鱒ヶ沢町各1地点において降水量、水素イオン濃度(pH)、電気伝導度(EC)及びイオン成分8項目の測定を実施した。

(4) 有害大気汚染物質等モニタリング調査

有害大気汚染物質等による大気汚染の状況を把握するため、弘前市1地点において、ベンゼン等優先取組物質20物質並びに水銀及びその化合物について毎月1回の調査を実施した結果、環境基準が設定されているベンゼン等4物質及び指針値が設定されているアクリロニトリル等9物質については、いずれも基準値及び指針値を下回っていた。

(5) 微小粒子状物質(PM_{2.5})成分測定調査

県内における微小粒子状物質(PM_{2.5})の成分組成の割合や発生源の寄与割合などを把握するため、弘前市1地点において、質量濃度、イオン成分8項目、無機元素成分29項目、炭素成分3項目について4季節各季2週間の調査を実施した。

(6) アスベスト調査

むつ市1地点において一般環境大気中のアスベスト濃度の測定を実施した。また、建築物解体現場等周辺地域35地点においてアスベスト濃度の測定を実施した。

4.2 水質関係

(1) 公共用水域・地下水の水質測定及びクロスチェック

公共用水域及び地下水の水質測定については外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保するため、外部分析機関とクロスチェックを実施した。

(2) 水浴場水質調査

県内 19 水浴場における水質調査（化学的酸素要求量(COD)、ふん便性大腸菌群数等）を外部分析機関に委託して実施していることから、分析に関する精度を確保するため試料分割法によるクロスチェックを実施した。

(3) 十和田湖水質保全事業

十和田湖の水質保全に資するため、秋田県と共同で十和田湖の湖心における水質調査を実施した。また、十和田湖に流入する 2 河川の水質調査を実施した。

(4) 排水基準監視クロスチェック

特定事業場排水の水質測定を外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保するため外部分析機関とクロスチェックを実施した。

4.3 騒音、振動関係

(1) 航空機騒音調査

八戸飛行場及び三沢飛行場周辺地域の航空機騒音の環境基準達成状況を把握するため、三沢市、六戸町及び六ヶ所村の各 1 地点、並びに東北町の 2 地点で騒音調査を実施した結果、全ての地点で環境基準値を達成した。

(2) 新幹線騒音調査

新幹線騒音の環境基準達成状況を把握するため、南部町及びおいらせ町の各 1 地点で調査を実施した結果、おいらせ町で環境基準値を超過したが、南部町では環境基準を達成した。

4.4 その他

(1) 精度管理

環境省が実施する統一精度管理調査に参加し、模擬水質試料 1 検体（詳細項目：フェニトロチオン、参照項目：シマジン、イソプロチオラン）について分析した。Zスコアによる評価は、いずれの項目も満足できる結果であった。

また、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会が実施する酸性雨分析精度管理調査に参加し、模擬水質試料 2 検体（対象項目：水素イオン濃度 (pH)、電気伝導度 (EC)、硫酸イオン (SO_4^{2-})、硝酸イオン (NO_3^-)、塩化物イオン (Cl^-)、アンモニウムイオン (NH_4^+)、ナトリウムイオン (Na^+)、カリウムイオン (K^+)、カルシウムイオン (Ca^{2+})、マグネシウムイオン (Mg^{2+})）について分析した。

(2) 行政依頼検査等

関係課からの緊急の依頼を受けた魚類へい死・水質事故等に係る分析を実施した。

業務実績総括表（令和元年度）

分類	事業	業務	地点・検体数	項目数
大気	環境監視・調査	環境大気常時監視	9	36
		稲わら焼却による大気汚染調査	2	8
		酸性雨実態調査	78	858
		有害大気汚染物質等モニタリング調査（委託）	(12)	(156)
		有害大気汚染物質等モニタリング調査	12	96
		微小粒子状物質（PM _{2.5} ）成分測定調査（委託）	(56)	(168)
		微小粒子状物質（PM _{2.5} ）成分測定調査	56	2,128
		アスベスト調査	36	80
水質	水質保全	公共用水域、地下水等クロスチェック分析	1	4
		水浴場水質調査クロスチェック分析	2	2
		十和田湖水質保全事業調査	19	284
		排水基準監視クロスチェック分析	2	2
騒音	騒音防止対策	航空機騒音調査	5	5
		新幹線騒音調査	2	4
その他	精度管理	統一精度管理調査	1	3
		酸性雨分析精度管理調査	2	60
	行政依頼検査等	魚類へい死・水質事故等	15	410

5 研修等業務（所内研修会）

研修名	研修内容	実施日	対象者	受講者数	開催部名
ISO 所内研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得	2019/4/24	環境保健センター職員	14	微生物部
対 EU 輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング及び ISO/IEC17025に係る対 EU 輸出ホタテガイサンプリング者に対する研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得	2019/5/13	検体採取員	16	微生物部
令和元年度病原体等の包装・運搬講習会	微生物に関する知識・技術の習得	2019/7/23	保健所・検査機関関係職員	30	微生物部
ISO 微生物検査等の流れに係る内部研修	検査に係る情報、国際的な動向及び検査データの理解等に必要事項の習得	2019/10/28～11/1	ISO 承認署名者	1	微生物部
ISO 信頼性確保部門研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得	2020/1/17	ISO 信頼性確保部門担当者	1	微生物部
令和元年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」	環境、公衆衛生、原子力関係の知見の習得	2020/1/24	環境生活部、健康福祉部、危機管理局、各地域県民局職員	55	微生物部
ISO 検査部門業務研修会・ISO/IEC17025に係る内部研修	ISO/IEC17025の概要、試験所認定に係るトレーサビリティ、不確かさ等の知識の習得	2019/4/4	ISO 業務担当者（新人対象）	2	理化学部
GMP 省令、PIC/S の概要及び公的試験検査機関について	GMP についての知識習得、信頼性保証部門による教育訓練	2019/4/4	GMP 業務担当者（新人対象）	2	理化学部
ISO 動物管理区分内部研修（動物飼育管理）	実験動物の飼育・飼養管理に必要な知識等の習得	2019/4/8	ISO 実験動物試験新担当者	2	理化学部
ISO 温度計・湿度計検定の内部研修（データロガー検定）	検査に係る温度計及び湿度計の検証方法を習得する	2019/4/22	ISO 新規貝毒検査担当者	2	理化学部
ISO/GLP 検体受付新担当者研修	検体受付の流れ、器具・機材の取扱、検体授受書の書き方等の習得	2019/5/17	ISO/GLP 受付新担当者	2	理化学部
ECD 研修会	放射線業務従事者教育・訓練	2019/5/31	GC 担当、ECD 操作担当者	7	理化学部
ISO ガラス体積計検定の内部研修	貝毒検査で使用するガラス体積計の検証方法を習得・検証する	2019/6/10	ISO 新規貝毒検査担当者	2	理化学部
ISO 分銅検定の内部研修	ワーキング分銅の検証方法を習得する	2019/6/10	ISO 新規貝毒検査担当者	2	理化学部
ISO 貝毒検査に係る情報収集研修	EU の法体系、EU 指令の確認方法についての知識習得	2019/6/28	ISO 貝毒検査担当者	4	理化学部

研修名	研修内容	実施日	対象者	受講者数	開催部名
ISO 貝毒検査に係るマウスアッセイ研修	外部講師（国衛研大城先生）を招いて、マウス試験に関する知識及び手技の習得	2019/7/18	ISO 新規貝毒検査担当者、検査担当者	6	理化学部
GMP OJT(イブリフラボン定量試験)	イブリフラボン定量試験についての知識・技術の習得、試験検査部門による教育訓練	2019/9/4、 11/14～15	GMP 新規試験検査担当者	1	理化学部
GMP 医薬品検査の基礎	医薬品検査についての知識習得、信頼性保証部門による教育訓練	2019/9/19、10/1	GMP 業務担当者	7	理化学部
GMP 医薬品検査のバリデーションの基礎	医薬品検査におけるバリデーションについての知識・技術の習得、試験検査部門による教育訓練	2019/9/19、10/1	GMP 業務担当者	7	理化学部
GMP 医薬品検査の基礎	日本薬局方についての知識習得	2019/11/18	GMP 新規試験検査担当者	1	理化学部
ISO 検体受付担当者の研修	受付担当者が年間計画、受付業務の流れ、器具・機材の取扱、検体採取資材等授受確認書の書き方及び注意事項について確認する	2019/12/18	ISO 受付担当者	7	理化学部
大気緊急時対応研修	緊急時の対応手順の習得	2019/6/10	公害部員	3	公害部
テレメータシステム操作研修	テレメータシステムも操作方法の習得	2020/2/26	公害部員	5	公害部

6 年間動向

(1) 講師等派遣

研修等の名称	内容 (対象者)	実施日	講師派遣部 (職員氏名)
平成31年度青臨技感染制御部門 VRE感染対策情報共有会	VREの基礎と当所におけるVRE解析 (青森県内の臨床検査技師)	平成31年4月6日	微生物部 (高橋 洋平)
対EU輸出ホタテガイ生産海域の モニタリングに係るサンプリングに関する研修及び ISO/IEC17025に係る対EU輸出ホ タテガイサンプリング者に対す る研修会	ISO/IEC17025関係の知識・技術 の習得 (検体採取員)	令和元年5月13日	微生物部 (筒井 理華)
令和元年度病原体等の包装・運 搬講習会	微生物に関する知識・技術の 習得 (保健所・検査機関関係職員)	令和元年7月23日	微生物部 (武差 愛美)
新採用者後期研修 「先輩と語る」		令和元年11月22日	理化学部 (田中 綾乃)
出前トーク (みんなでノロウイルスを予防 しよう)	ノロウイルス食中毒の発生状況 と予防対策 (社会保険診療報酬支払基金青 森支部職員)	令和2年2月5日	微生物部 (筒井 理華)

(2) 委員会、協議会等の委員

委嘱団体等の名称	委員の名称	任 期	委員派遣部 (職員氏名)
青森県 (保健衛生課)	青森県感染症発生動向調査 委員会委員	平成31年2月1日 ～令和3年1月31日	所 長 (工藤 隆治)
青森県 (保健衛生課)	新型インフルエンザ等対策青森 県有識者会議委員	令和元年9月18日 ～令和3年9月17日	微生物部 (筒井 理華)
青森県 (医療薬務課)	青森県精度管理専門委員	平成29年1月19日 ～令和2年1月28日	微生物部 (筒井 理華)
青森市	青森市精度管理専門委員	平成30年4月1日 ～令和2年3月31日	理化学部 (山本 明美)
八戸市	八戸市衛生検査所精度管理専門 委員	令和元年10月1日 ～令和3年9月30日	理化学部 (山本 明美)

(3) 令和元年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」

開催日時：令和2年1月24日（金）13：30～16：55

開催場所：青森県環境保健センター2階大会議室

発表者		演題名
所属	氏名	
微生物部	武差 愛美	県内で検出された結核菌のVNTR分析について (2017年4月～2019年9月)
理化学部	花石 竜治	健康危機管理に対応した食品中のヒスタミン分析について
理化学部	柴田めぐみ	スイセン分析における一考察
公害部	対馬 典子	有害大気汚染物質モニタリング調査におけるヒ素の高濃度事例 ー弘前市立第一中学校局におけるモニタリングデーター
公害部	内海 宣俊	4-ノニルフェノールの固相抽出法による添加回収試験
原子力センター	菊池 浩司	大気浮遊じん中の全β放射能濃度の変動要因
原子力センター	安積 潔	ICP質量分析装置によるI-129測定におけるスペクトル干渉
原子力センター	米内山愛望	環境に放出されたトリチウム ～日本原燃六ヶ所再処理施設に係るアクティブ試験と東京電力㈱福島第一原子力発電所事故の事例～

※ 所属に微生物部、理化学部、公害部と記載されている発表者は、青森県環境保健センター職員

(4) 会議・学会・研修会等出席状況

ア 会議・検討会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
地方衛生研究所設立 70 周年記念事業	東京都	2019/6/5	所 長	1
令和元年度全国地方衛生研究所長会議	東京都	2019/6/6	所 長	1
令和元年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会	東京都	2019/6/6	所 長	1
感染症発生動向調査の機能の強化等に向けた担当者説明会	東京都	2019/6/14	微生物部員	1
令和元年度第 1 回結核予防業務検討会	青森市	2019/6/24	微生物部員	2
2019 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部総会	福島県	2019/6/27～28	所 長	1
令和元年度「地域保健総合推進事業」第 1 回地域ブロック会議	宮城県	2019/8/22	所 長	1
令和元年度第 70 回地方衛生研究所全国協議会総会	高知県	2019/10/21	微生物部員	1
ウイルス性下痢症研究会第 31 回学術集会及び研究打ち合わせ会議	神奈川県	2019/10/28～29	微生物部員	1
「新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進事業 国内ならびにグローバルサーベイランスのための RS ウイルス感染症に関する検査システムの開発研究」2019 年第一回竹田班木村小班会議	群馬県	2019/11/14	微生物部員	1
「地研ネットワークを利用した食品および人から分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査」令和元年度第 1 回四宮分担会議	愛媛県	2019/11/15	微生物部員	1
令和元年度「地域保健総合推進事業」全国疫学情報ネットワーク構築会議	東京都	2019/12/2	微生物部員	1
令和元年度「地域保健総合推進事業」第 2 回地域ブロック会議及び 2019 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部臨時総会	宮城県	2019/12/12	所 長	1
令和元年度地方感染症情報センター担当者会議	埼玉県	2020/1/24	微生物部員	1
2019 年度 JAB 活動報告会	東京都	2020/2/20～21	微生物部員	1
令和元年度地衛研全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会総会	宮城県	2019/10/10～11	理化学部員	2
令和元年度東北ブロック水産業関係研究開発推進会議資源環境部会貝毒研究分科会	宮城県	2019/11/21	理化学部員	1
令和元年度全国環境研協議会北海道・東北支部総会	福島県	2019/6/20	所 長	1
令和元年度十和田湖環境保全会議	十和田市	2019/11/7	公害部員	2
第 48 回全国環境研協議会総会	東京都	2020/1/21	所 長	1
令和元年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	東京都	2020/1/22	所 長	1

イ 学会・研究会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
衛生微生物技術協議会第40回研究会	熊本県	2019/7/10～11	微生物部員	2
第23回腸管出血性大腸菌感染症研究会	愛媛県	2019/11/14～15	微生物部員	1
第33回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	埼玉県	2020/1/23～24	微生物部員	1
日本法中毒学会第38年会	福岡県	2019/7/26～27	理化学部員	1
第115回日本食品衛生学会学術講演会	東京都	2019/10/3～4	理化学部員	1
第42回農薬残留分析研究会	大分県	2019/10/31～11/1	理化学部員	1
第56回全国衛生化学技術協議会年会	広島県	2019/12/5～6	理化学部員	1
国立環境研究所公開シンポジウム	東京都	2019/6/21	所 長	1
第60回大気環境学会年会	東京都	2019/9/18～20	公害部員	1
第45回全国環境研協議会北海道・東北支部研究連絡会議	岩手県	2019/10/31～11/1	公害部員	2
第46回環境保全・公害防止研究発表会	三重県	2019/11/14～15	公害部員	1
第35回全国環境研究所交流シンポジウム	茨城県	2020/2/13～14	公害部員	1

ウ 研修会・講習会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
2019年度前期基礎コース(第46期) バイオセーフティ技術講習会	神奈川県	2019/6/25～27	微生物部員	1
イルミナ次世代シーケンサーセミナー	山形県	2019/9/4	微生物部員	1
令和元年度薬剤耐性菌の検査に関する研修(基本コース)	東京都	2019/9/10～12	微生物部員	1
AMR 対策臨床セミナーin 青森	青森市	2019/10/12	微生物部員	2
令和元年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部微生物研究部会総会・研修会並びに地域保健総合推進事業「地方衛生研究所地域レファレンス連絡会議」及び「地域専門家会議(微生物部門)」	青森市	2019/10/24～25	所 長 微生物部員	8
令和元年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部公衆衛生情報研究部会総会・研修会	山形県	2019/10/31～11/1	微生物部員	1
令和元年度短期研修「細菌研修」	東京都	2019/11/5～22	微生物部員	1
令和元年度新興・再興感染症対策特別講演会	青森市	2019/12/7	微生物部員	1
令和元年度青森空港検疫感染症措置机上訓練	青森市	2019/12/16	微生物部員	1
病原微生物の環境水サーベイランスに関する勉強会	宮城県	2019/12/23	微生物部員	1
令和元年度北海道・東北・新潟ブロック腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会	岩手県	2020/1/16～17	微生物部員	1
令和元年度希少感染症診断技術研修会	東京都	2020/1/29～30	微生物部員	2
水道水質・環境分析セミナー	青森市	2019/4/23	理化学部員	3
分析法バリデーション入門	神奈川県	2019/4/25	理化学部員	1

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
令和元年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東京都	2018/6/18	理化学部員	1
JASIS 2019	千葉県	2019/9/4～6	理化学部員	1
令和元年度特定機器分析研修Ⅱ (LC/MS/MS)	埼玉県	2019/9/9～13	理化学部員	1
有機溶剤作業主任者講習	東北町	2019/9/19～20	理化学部員	1
令和元年度貝毒分析研修会	神奈川県	2019/10/1～4	理化学部員	1
島津製作所原子吸光度計 AA-7000 操作講習会	神奈川県	2019/11/7	理化学部員	1
実験動物管理者等研修会	東京都	2019/11/8	理化学部員	1
令和元年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会研究発表会	兵庫県	2019/11/15	理化学部員	1
第2回日本食品衛生学会北海道・東北ブロックセミナー	宮城県	2019/11/29	理化学部員	1
令和元年度指定薬物分析研修会	神奈川県	2020/1/24	理化学部員	1
令和元年度地衛研全国協議会衛生理化学分野研修会	東京都	2020/2/10	理化学部員	1
機器分析研修	埼玉県	2019/5/20～31	公害部員	1
音環境セミナー	東京都	2019/6/20～21	公害部員	1
ICP/MS トレーニング	東京都	2019/9/25～27	公害部員	1
環境大気常時監視技術講習会	東京都	2019/10/24～25	公害部員	1
水質分析研修	埼玉県	2019/11/28～12/13	公害部員	1
航空機騒音測定・評価マニュアル改訂講習会	宮城県	2019/12/10	公害部員	1

III 研究報告

1 報 文

青森県における RS ウイルスの遺伝子解析 (2012~2019 年)

菩提寺 譽子 山上 剛志 福田 理 坂 恭平 筒井 理華¹

青森県内における RS ウイルス (RSV) の近年の流行期の変化と RSV の遺伝子型の変化の関連性について調査するため、2012 年から 2019 年までに RSV 感染症患者として感染症発生動向調査事業の患者定点から感染症サーベイランスシステム (National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases、NESID) に報告された患者数を調査するとともに、感染症発生動向調査事業の病原体定点から提供された検体を用いて RSV の遺伝子解析を行った。

その結果、県内の RSV 感染症は、2012 年から 2015 年は秋季から冬季にかけて流行していたが、2016 年から 2019 年は夏季から秋季にかけて流行していたことを確認した。また、県内で検出された RSV の主要な遺伝子型は、サブグループ A (RSV-A) が 2014 年を境に NA1 型から ON1 型に変化していた。RSV サブグループ B (RSV-B) は BA9 型のみ検出された。

今回の調査では、県内の RSV 感染症の流行期が早期化した時期と検出された RSV の遺伝子型が変化した時期との間には関連性がないことが示唆された。

Key Words : Respiratory syncytial virus, National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases , Phylogenetic analysis

1. はじめに

RS ウイルス (respiratory syncytial virus、以下「RSV」という。) は、乳幼児に肺炎や細気管支炎などを引き起こす、ニューモウイルス科オルトニューモウイルス属に属するマイナス一本鎖 RNA ウイルスである。RSV は、世界中に存在し、生後 2 歳までにはほぼ 100% が感染するとされているが、感染しても終生免疫が獲得されないため、成人や高齢者も罹患する^{2,3)}。特に新生児・乳幼児や高齢者は重症化しやすく、喘鳴などの呼吸障害を合併することがある³⁾。

RSV のゲノムは約 15.2kb 長で、11 の蛋白 (NS1、NS2、N、P、M、SH、G、F、M2-1、M2-2、L) をコードしている^{1),4)}。表面蛋白は細胞への付着に関係し、抗原決定基を持つ G 蛋白と膜融合に関係する F 蛋白が存在する¹⁻⁵⁾。F 蛋白の保存性は高いが、

宿主の免疫による選択がかかりやすい G 蛋白には高頻度でアミノ酸置換 (変異) が生じる³⁻⁴⁾。そのため、RSV の変異や伝播を解析する上では G 蛋白を遺伝子解析することが多く、RSV の遺伝子型別においては、世界的に、G 蛋白の第二可変領域 (270 ~ 342nt) の塩基配列に基づく分子系統樹解析による分類が多用される^{4),6)}。

RSV 感染症は、全国合計の報告数で見たときに、2015 年までは秋季に報告数が増加し始め、年末にピークがみられる傾向であったが、2016 年から 2019 年は流行の時期が早期化し、秋季 (9 月から 10 月) が流行のピークとなった^{7),8)}。

そこで、本研究では、2012 年から 2019 年までに RSV 感染症患者として感染症発生動向調査事業の患者定点から報告された患者数により県内の流行状況を確認するとともに、感染症発生動向調査

事業の病原体定点から提供された検体を用いて RSV の遺伝子解析を行い、RSV 感染症の流行期の変化と RSV の遺伝子型の相関について検討した。

2. 材料及び方法

2.1 県内の流行状況の把握

2012 年第 1 週から 2019 年第 52 週までに、RSV 感染症患者として患者定点から感染症サーベイランスシステム (National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases、以下「NESID」という。) に報告された患者数を週別及び年別に集計し、県内の流行状況を確認した。なお、流行期は、県内の定点当たり報告数が 2 週以上連続で 1.0 を超えた期間とした。

2.2 遺伝子解析

(1) 検査材料

2012 年 4 月から 2019 年 12 月までに感染症発生动向調査事業の病原体定点において呼吸器症状を呈する小児患者から採取された検体 (咽頭ぬぐい液、鼻汁等) 1416 検体 (2012 年: 381 検体、2013 年: 264 検体、2014 年: 202 検体、2015 年: 68 検体、2016 年: 110 検体、2017 年: 144 検体、2018 年: 142 検体、2019 年: 105 検体) を検査材料とした。

(2) 検査方法

ア ウイルス RNA の抽出・RSV 遺伝子の検出・塩基配列の決定

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて検体から RNA を抽出し、OneStep RT-PCR Kit (QIAGEN) を用いて RT-PCR 法により RSV の G 蛋白領域の遺伝子を増幅した (1st PCR)。増幅した PCR 産物は、アガロースゲルを用いて電気泳動し、標的となる RSV 遺伝子の有無を確認した。1st PCR による PCR 産物が少ない場合は、PerfectShot

Ex Taq (タカラバイオ) を用いて 2nd PCR を実施した。1st PCR 又は 2nd PCR により増幅した RSV 遺伝子の PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。

イ 遺伝子解析 (サブグループ分類)

アで決定した RSV の G 蛋白領域の塩基配列を用いて、アメリカ国立生物工学情報センター (NCBI) が提供している相同性検索サービス (BLAST) を利用し、サブグループ A (以下「RSV-A」という。) 又は B (以下「RSV-B」という。) に分類した。

ウ 遺伝子解析 (遺伝子型別)

アで決定した RSV の G 蛋白領域に含まれる第二可変領域の塩基配列を、Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) ⁹⁾ を利用して、ML (Maximum Likelihood: 最尤) 法による系統樹を作成し、遺伝子型別を実施した。RSV-A の系統樹は Hasegawa-Kishino-Yano model を利用し、Gamma 補正を行った。RSV-B の系統樹は Tamura-Nei model を利用し、Invariant 補正を行った。信頼性の評価には bootstrap 法 (反復回数 1000) を用いた。RSV の遺伝子型の参照配列は、Hibino ら ¹⁰⁾ の報告を参考にした。

なお、第二可変領域の全ての塩基配列 (270~342nt) を完全に決定できなかった検体に合わせて、解析塩基数を RSV-A は 232~304nt、RSV-B は 247nt に削減して系統樹解析を行った。なお、系統樹上で明瞭に分類できないものは遺伝子型不明とした。

3. 結果

3.1 県内の流行状況

県内で 2012 年第 1 週から 2019 年第 52 週までに NESID に報告された RSV 感染症患者数を図 1 に示す。

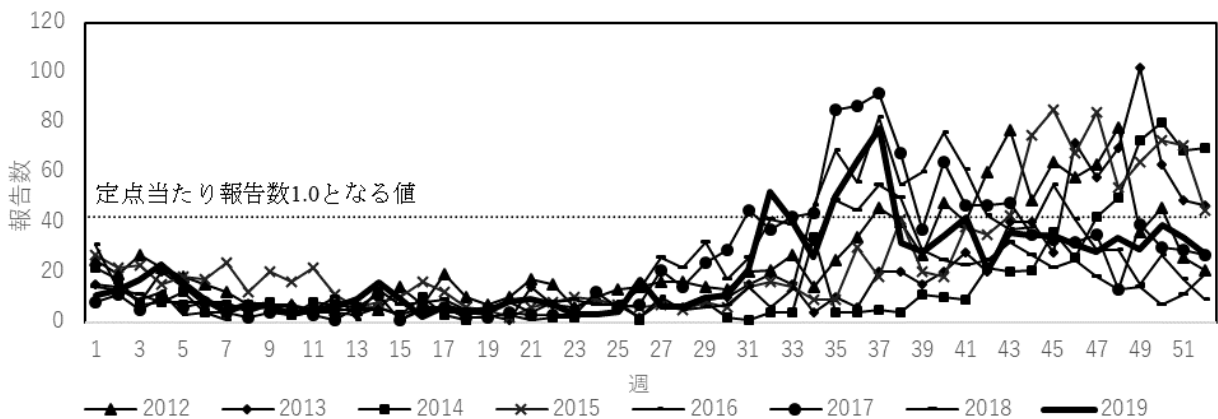


図 1 青森県内の RSV 感染症報告数

県内のRSV感染症の流行期（定点当たり報告数が2週以上連続で1.0を超えた期間）は、2012年から2015年までは秋季から冬季（10月又は11月から12月）、2016年から2019までは夏季から秋季（8月から9月又は10月）であった（図2）。

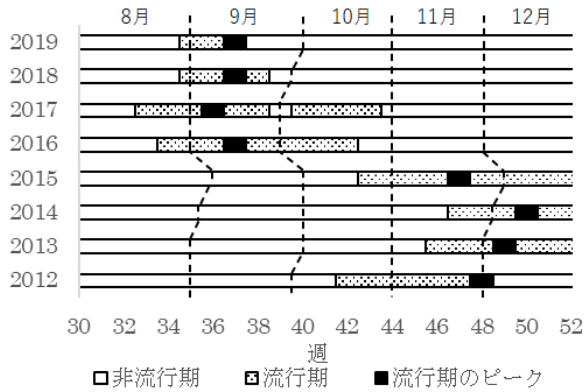


図2 青森県内のRSV感染症流行期

3.2 RSVの検出数及びサブグループ分類

RSVは1416検体中166検体（約11.7%）から検出された。そのうち127検体（約77%）はRSV-A、39検体（約23%）はRSV-Bであった。年別にみると、2013年及び2016年はRSV-AとRSV-Bが同程度検出された。2012年、2014年、2015年及び2017年はRSV-Aが比較的多く検出された。2018年及び2019年はRSV-Aのみ検出された。（図3）。

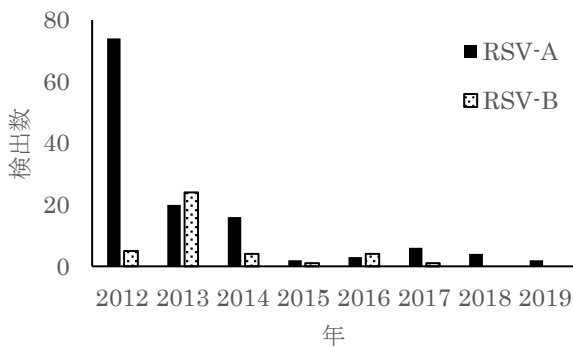


図3 RSV-A及びRSV-Bの検出数

3.3 RSV-Aの遺伝子型別

RSV-Aの系統樹解析には、78検体を用いた。なお、PCR産物の量が少ない、遺伝子型の決定に重要な部位付近の塩基配列が決定できていない等の理由から、49検体を系統樹解析に用いなかった。

系統樹解析により遺伝子型を調べたところ、NA1型が48検体（2012年:23検体、2013年、23検体、2014年2検体）、ON1型が30検体（2014年:17

検体、2015年:2検体、2016年:2検体、2017年:5検体、2018年:3検体、2019年1検体）、型不明が12検体（2012年:12検体）であった（図4）。

なお、2014年に検出されたNA1型及びON1型を検体採取月別に細別すると、図5のとおりであった。

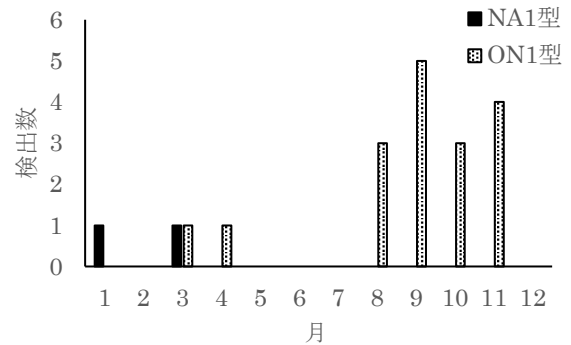


図5 2014年に検出したRSV-Aの検体採取月別の検出数

3.4 RSV-Bの遺伝子型別

RSV-Bの系統樹解析には、39検体を用いた。

系統樹解析により遺伝子型を調べたところ、BA9型が36検体、（2012年:5検体、2013年:20検体、2014年:4検体、2015年:2検体、2016年:4検体、2017年:1検体）、型不明が3検体であった（図6）。

4. 考察

NESIDに報告されたRSV感染症患者数によると、県内のRSV感染症の流行期は、2016年に夏季から秋季の流行に変化していた。これは全国と同様の傾向であった^{7,8)}。

RSV-Aの系統樹解析から、県内で流行しているRSV-Aの主な遺伝子型は、2014年を境にNA1型からON1型に変化したと考えられる。ON1型は、2010年にカナダで入院症例を中心にみられた遺伝子型であり、NA1型のG蛋白遺伝子のC末端72塩基の重複配列が挿入される変異が生じた亜型である⁹⁾。日本では、2012年に初めて検出され、2014年末には全国的に優勢となった¹⁰⁾。ON1型は、抗原決定基であるG蛋白に大きな変異が生じているが、県内の流行が早期化した時期とON1型が県内で確認された時期に相関がみられないことから、NA1型からON1型への遺伝子型の流行の変化と県内の流行の早期化には関連性がないことが示唆された。

RSV-B の系統樹解析から、県内で 2012 年から 2017 年に流行している RSV-B の主な遺伝子型は全て BA9 型であり、県内での遺伝子型の変化は確認されなかった。なお、2018 年及び 2019 年は RSV-B は検出されなかったが、これらの年は母数である RSV の総検出数自体が少なかった影響があると考えられる。

RSV 感染症の流行の早期化の原因は、他に、G 蛋白第二可変部位以外の遺伝子変異、気候変動、海外との往来の増加によるウイルス輸入機会の増加等が考えられるが、今のところは不明である³⁾。今後さらにデータを蓄積し、県内の流行状況を調査し、県内の RSV 感染症のまん延の防止に寄与したい。

5. まとめ

- 1) 青森県内の RSV 感染症は、2012 年から 2015 年は秋季から冬季に流行していたが、2016 年から 2019 年は夏季から秋季に流行が早期化していた。
- 2) 青森県内で検出された RSV-A の主な遺伝子型は、2014 年を境に NA1 型から ON1 型に変化した。
- 3) 青森県内で 2012 年から 2017 年に検出された RSV-B の主な遺伝子型は BA9 型であった。2018 年及び 2019 年は RSV-B は検出されなかった。
- 4) 今回の調査では、青森県内の RSV 感染症の流行期の早期化と検出された RSV の遺伝子型との間に相関は確認されなかった。

文 献

- 1) 堤裕幸:RS ウイルス感染症.感染症誌,**79**,857-863,2005
- 2) 堤裕幸:2.RS ウイルス (respiratory syncytial virus) . ウイルス,**55**,77-84,2005
- 3) 木村博一他:RS ウイルスの臨床ウイルス学. 病原微生物検出情報,**35**,139-140,2014
- 4) 齋藤玲子他:RS ウイルスの分子疫学. 病原微生物検出情報,**39**,213-215,2018
- 5) 齋藤玲子他:わが国の RSV の分子疫学.病原微生物検出情報,**35**,136,2014
- 6) Peret et al.: Circulation patterns of genetically distinct group A and B strains of human respiratory syncytial virus in a community,*Journal of General Virology*,**79**,2221-2229,1998
- 7) 国立感染症研究所、厚生労働省健康局結核感染症課:【特集】RS ウイルス感染症 2014 年 1 月～2018 年 9 月.病原微生物検出情報,**39**,207-209,2018
- 8) 国立感染症研究所、厚生労働省健康局結核感染症課:グラフ総覧 (第 52 週) .感染症発生動向調査感染症週報,**21**,14,2019
- 9) Tamura et al.:Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood,Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods,*Mol Biol Evol*,**28**,2731-2739,2011
- 10) Hibino et al.: Molecular epidemiology of human respiratory syncytial virus among children in Japan during three seasons and hospitalization risk of genotype ON1,*PLoS ONE*,**13**,e0192085,2018

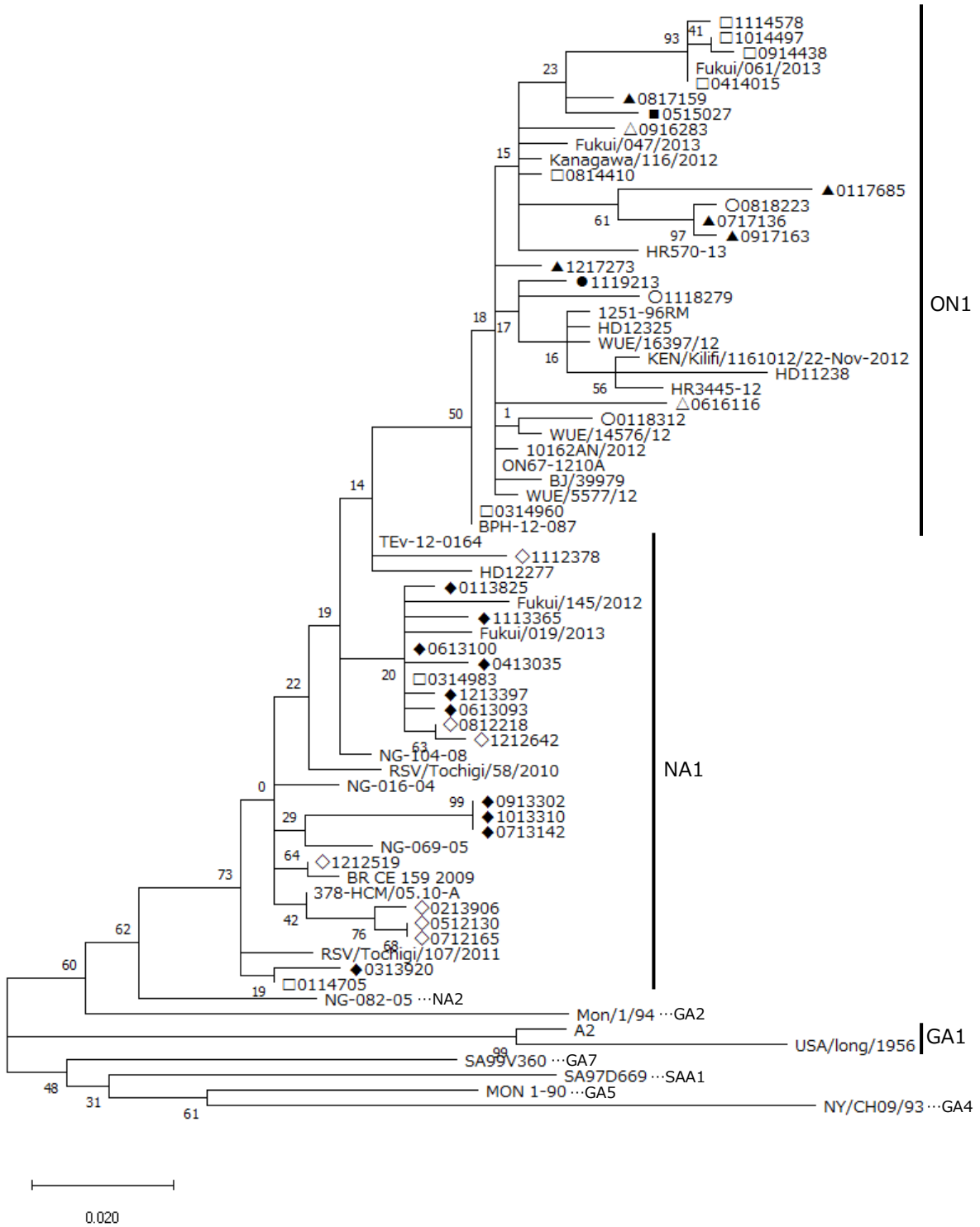


図 4 RSV-A 分子系統樹解析結果

ML 法 (TKY+G) G 蛋白第二可変領域遺伝子 (ON1 型 : 304nt、NA1 型の検体及び ON1 型を除く遺伝子型の参照配列) : 232nt

● : 2019 年の検体、○ : 2018 年の検体、▲ : 2017 年の検体、△ : 2016 年の検体
 ■ : 2015 年の検体、□ : 2014 年の検体、◆ : 2013 年の検体、◇ : 2012 年の検体

※解析に用いた検体が多いため、次の(1)及び(2)のとおり、一部の検体を省略して掲載した
 (1) 同じ検体採取年月・遺伝子型の検体が複数存在する場合、その内の 1 検体以外を省略
 (2) 遺伝子型不明の検体を省略

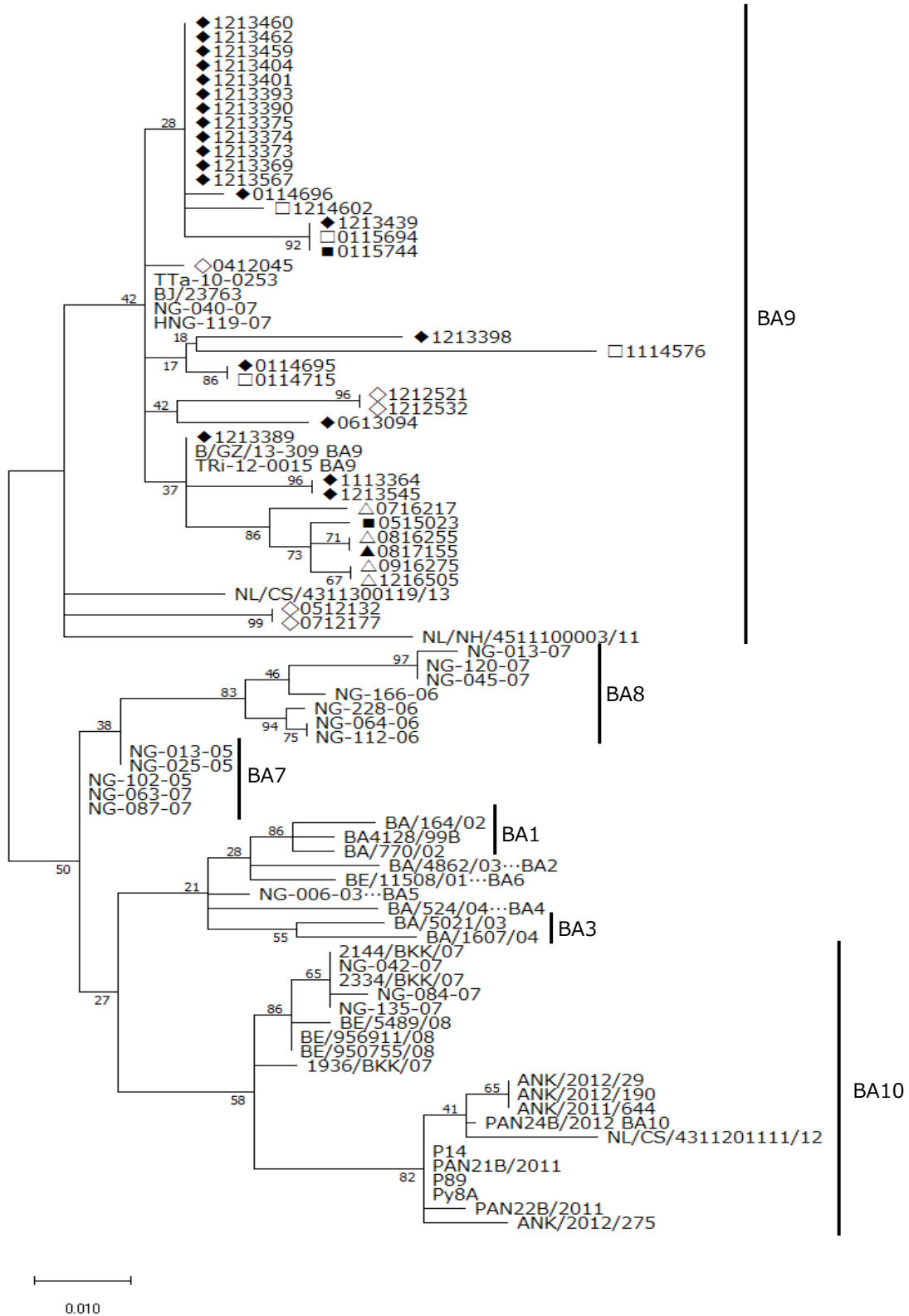


図6 RSV-B分子系統樹解析結果

ML法 (TN93+I) G蛋白第二可変領域遺伝子 (247nt)

▲ : 2017年の検体、△ : 2016年の検体、■ : 2015年の検体、□ : 2014年の検体

◆ : 2013年の検体、◇ : 2012年の検体

※遺伝子型不明の検体は、参照配列の系統樹上での遺伝子型ごとの分離に影響を及ぼしたため、これらの検体を削除し、改めて解析した。

(Summaries follow)

Phylogenetic analysis of respiratory syncytial virus in Aomori Prefecture (2012–2019)

Motoko Bodaiji, Osamu Fukuda, Kyohei Saka, Rika Tsutsui

To study the relationship between the change in the respiratory syncytial virus (RSV) seasons in recent years and the change in the RSV genotypes in Aomori Prefecture, the number of patients infected with RSV reported to the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases (NESID) from the patient sentinel sites from 2012 to 2019 under the NESID program was determined. In addition, genetic analysis of RSV was conducted using the samples provided by the sentinel sites for laboratory-based surveillance under the NESID program.

The results confirmed the occurrence of RSV infection outbreak in Aomori Prefecture from fall to winter in the period 2012–2015 and from summer to fall in the period 2016–2019. It was also confirmed that the major genotype of RSV subgroup A (RSV-A) detected in Aomori Prefecture changed from the NA1 to ON1 genotypes in 2014. For RSV subgroup B (RSV-B), only the BA9 genotype was detected.

The results of this investigation indicate that no relationship exists between the earlier onset of the RSV infection season and the time when the changes were made to the RSV genotypes identified in Aomori Prefecture.

Key Words: Respiratory syncytial virus, National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases, Phylogenetic analysis

中南地域でヒトから分離された下痢原性大腸菌等の性状解析 (2018 年 4 月~12 月)

高橋洋平 山上剛志 武差愛美¹

2018 年に、腸管出血性大腸菌以外の下痢原性大腸菌として青森県環境保健センターに搬入された 44 株及び *E. albertii* 疑いとして搬入された 6 株の計 50 株を対象として、PCR による病原遺伝子の検索及び *E. albertii* の同定を実施した。また、病原遺伝子が検出された下痢原性大腸菌 43 株について、O/H-genotyping PCR により抗原遺伝子型を調べた。その結果、内訳は腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) が 4 株、腸管病原性大腸菌 (EPEC) が 26 株、腸管凝集付着性大腸菌 (EAggEC) が 13 株、病原遺伝子不検出の株が 1 株、*E. albertii* が 6 株であり、EPEC では OgUT:Hg21 (O153:H21) が 4 株、EAggEC では Og126:Hg27 が 8 株と最も多かった。加えて、50 株について薬剤感受性試験を実施した結果、27 株が 1 剤以上の薬剤に耐性であり、このうち ETEC 2 株からは CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が検出された。さらに、*E. albertii* と同定された 6 株の PFGE を実施したところ、6 株中 5 株で異なるパターンを示した。

Key words : diarrheagenic *E. coli*, *E. albertii*, virulence gene, genotype, antimicrobial resistance

1. はじめに

大腸菌 (*Escherichia coli*) は腸内細菌科に属するグラム陰性通性嫌気性桿菌である。通常の大腸菌は正常細菌叢の 1 つであり、本来はヒトに対し無害な菌であるが、病原遺伝子の獲得により下痢を主症状とする腸管感染症を引き起こすものを下痢原性大腸菌と呼ぶ^{1,2)}。

下痢原性大腸菌は、保有する病原遺伝子により、腸管出血性大腸菌 (enterohaemorrhagic *E. coli*; EHEC)、腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E. coli*; ETEC)、腸管組織侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E. coli*; EIEC)、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E. coli*; EPEC)、腸管凝集付着性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*; EAggEC) の 5 つに大別される^{1,2)}。この中で、EHEC は感染症法で三類感染症と定められており、当県では、EHEC 感染症が発生した場合、保健所が菌株を確保し、当センターに搬入することとなっている。その一方で、主に食中毒起因菌とされるその他の下痢原性大腸菌は、実際の食中毒の原因物質となった場合を除き、菌株確保は難しいのが現状であった。

また、近年、新興感染症原因菌として *E. albertii* が知られるようになってきている。本菌は、特徴的な生化学性状に乏しく大腸菌と誤同定されることが多いため、現在のところ、同定には PCR が代表的に用いられている³⁻⁵⁾。

当センターでは、2018 年 4 月から、検査機関の協力のもと、ヒトから分離された下痢原性大腸菌の菌株の収集を開始した。今回、2018 年に当センターに搬入された下痢原性大腸菌 (EHEC を除く) について、病原遺伝子の検索及び *E. albertii* の同定を行った。また、大腸菌の血清型と関連して、O 抗原及び H 抗原の遺伝子型を PCR で調べる方法が開発されており、低コストで型別できるようになってきている^{6,9)} ことから、今回、この方法を用いて下痢原性大腸菌の抗原遺伝子型を調査した。さらに、搬入菌株の薬剤感受性試験も実施したので、これらの結果を併せて報告する。

2. 材料と方法

2.1 材料

検査機関で PCR により下痢原性大腸菌と判定された中南地域由来の菌株のうち、2018 年 4 月~12 月に当センターに搬入された 44 株及び *E. albertii* 疑い

¹環境生活部環境保全課

として搬入された 6 株の計 50 株を用いた。

2.2 方法

(1) 病原遺伝子の検索及び *E. albertii* の同定

アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型とし、既報のプライマー^{4,5,10}を用いた multiplex PCR により、保有する病原遺伝子の検索及び *E. albertii* の同定を実施した。PCR 試薬には QIAGEN Multiplex PCR plus kit (QIAGEN 社) を用い、試薬量及び反応条件はキットの取扱説明書にしたがった。また、ETEC と分類された菌株については、市販のプライマー(タカラバイオ)PCR により ST, LT の型別を行った。PCR 試薬には EXTaq (タカラバイオ) を用い、プライマーの終濃度は 0.2 μM とした。反応条件はプライマーの取扱説明書にしたがった。得られた増幅産物は、いずれも 3%アガロースゲルで電気泳動した。

(2) 抗原遺伝子型の判定

既報の方法⁶⁾により、O 抗原遺伝子型及び H 抗原遺伝子型を PCR により判定した。PCR 試薬には EXTaq を用い、得られた増幅産物は、3%アガロースゲル又は自動キャピラリー電気泳動装置 QIAxcel DNA Screening Kit (QIAGEN 社) で電気泳動した。

(3) 薬剤感受性試験

KB ディスク(栄研化学)を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン II 寒天培地 (BD) に塗布し、ディスク配置後、35℃、好氣的条件下で 16~18 時間培養後判定した。使用薬剤は、β-ラクタム系薬剤 13 剤 (ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, CFPM, CMZ, LMOX, FRPM, IPM, MEPM, AZT) 及びそれ以外の薬剤 13 剤 (FOM, GM, KM, AMK, TC, DOXY, MINO, NA, CPF, LVFX, ST, CP, CL) の計 26 薬剤とした。

また、薬剤感受性試験で第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した一部の株については、国立感染症研究所で示している方法¹¹⁾にしたがい、阻害剤を用い

たディスク拡散法によるスクリーニング及び PCR による薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

(4) *E. albertii* の PFGE

プラグの作製は定法にしたがった。McFarland 濃度 3 程度の菌液を 1% SeaKemGold agarose (Lonza) に包埋し、Proteinase K (Roche, 1 検体あたり *N*-lauroylsarcosine 10 mg を溶解した 0.5 M EDTA 1 mL 中、Proteinase K が 1 mg/mL になるよう混合して使用中 1 終夜処理した。処理後のサンプルを 4 mm × 4.5 mm 程度に細断し、Pefabloc SC (Roche, 1 検体あたり TE 1 mL に 1 mg を溶解して使用) を用いて Proteinase K を不活化した。作製したプラグを制限酵素 (XbaI, Roche, 30 U/sample として使用) で 1 終夜処理し、PFGE に付した。

PFGE は、CHEF DR-III (Bio-Rad) により、0.5×TBE 中、1% SeaKemGold agarose で、バッファー温度 14℃、6 V/cm、パルス角度 120°、スイッチタイム 2.2~54.2 sec、泳動時間 20 h として実施した。ラダーマーカには *Salmonella* Braenderup H9812 株を用いた。泳動像の解析は、バンドパターンの直接比較によった。

3. 結果

3.1 病原遺伝子 (表 1)

分類の内訳は、ETEC 4 株、EPEC 26 株、EAggEC 13 株、病原遺伝子不検出株が 1 株で、*invE*、*stx1/2* が検出された株は認められなかった。また、*E. albertii* 疑い株 6 株は、同定用の PCR でいずれも *E. albertii* と同定された。*E. albertii* からは 6 株とも *eae* が検出された。

ETEC について、保有するエンテロトキシン遺伝子の種類の内訳は、LT 1 株、STp 1 株、STh 2 株であり、複数の毒素を併せ持つ株はなかった。

このほか、*astA* は ETEC 3 株、EPEC 2 株、EAggEC 8 株で確認され、*afaD* を保有する株は確認されなかった。

表 1 2018 年搬入株の分類及び保有病原遺伝子

分類	株数	LT	STp	STh	<i>invE</i>	<i>stx</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>astA</i>	<i>afaD</i>
ETEC	4	1	1	2	0	0	0	0	3	0
EPEC	26	0	0	0	0	0	26	0	2	0
EAggEC	13	0	0	0	0	0	0	13	8	0
<i>E. albertii</i>	6	0	0	0	0	0	6	0	0	0
非該当	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
総計	50	1	1	2	0	0	32	13	13	0

3.2 抗原遺伝子型 (表 2)

ETECは全て別の抗原遺伝子型に分類された一方、EPEC では 4 株が OgUT:Hg21 (O153:H21) に、3 株が Og109:Hg21 と Og145:Hg28 に分類され、EAggEC では 8 株が Og126:Hg27 にそれぞれ分類された。ETEC と異なり、EPEC 及び EAggEC では、同一の抗原遺伝子型を持つ株が複数確認された。

表 2 2018 年搬入株の分類と抗原遺伝子型

分類・ 抗原遺伝子型	株数	分類・ 抗原遺伝子型	株数
ETEC	4	EPEC	26
Og7:Hg24	1	Og51:Hg49	1
Og25:Hg42	1	Og55:Hg7	1
Og86:Hg18	1	Og56:Hg6	1
Og159:Hg20	1	Og81:Hg6	1
		Og85:Hg31	1
EAggEC	13	Og96:Hg7	1
Og86:Hg27	1	Og109:Hg21	3
Og92:Hg33	1	Og145:Hg28	3
Og99:Hg10	1	Og156:Hg8	1
Og126:Hg27	8	Og170:Hg49	1
Og176:Hg34	1	OgGP8:Hg21	1
OgUT:Hg19	1	OgUT:Hg16	1
(非該当)	1	OgUT:Hg6	1
OgNT:HgUT	1	OgUT:Hg7	1
		OgUT:Hg21*	4
		OgUT:Hg28	1
<i>E. albertii</i>	6	OgUT:Hg30	2
		OgUT:Hg45	1
		総計	50

*抗血清 (デンカ生研) による血清学的試験で O153:H21 と判定

**NT : not tested. UT : untypable.

3.3 薬剤感受性試験 (表 3)

1 剤以上に耐性 (R) を示した株は 50 株中 27 株であった。この中で、ETEC では多剤耐性の株や第 3 世代セフェム系薬剤に耐性の株が多く、10 剤に耐性を示す株も認められた。EPEC では 26 株中 19 株が 26 剤全てに感性又は中間を示したが、9 剤耐性の株が 1 株、第 3 世代セフェム系薬剤を含む 8 剤耐性の株が 1 株認められた。EAggEC では 13 株中 12 株が 1 剤以上に耐性を示し、8 株が ABPC, PIPC, CEZ に耐性を示した。

第 3 世代セフェム系薬剤である CTX に耐性であった ETEC 2 株について、薬剤耐性因子の確認を行っ

た。その結果、ディスク拡散法ではクラブラン酸 (CVA) 及びスルバクタム (SBT) の結果から ESBL の産生が推定され、PCR ではいずれの株からも CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が検出された。

なお、CL には判定基準が設定されていないものの、阻止円径が目立って小さい株はなかった。

表 3 2018 年搬入株の分類別薬剤耐性パターン

分類・耐性薬剤	株数
ETEC	4
-	1
ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, NA	1
ABPC, PIPC, CEZ, CTX	1
ABPC, PIPC, GM, KM, TC, MINO, DOXY, NA, CPF, ST	1
EPEC	26
-	19
ABPC, KM, TC	1
ABPC, KM, TC, DOXY, NA, CPF, LVFX, ST, CP	1
ABPC, KM, TC, ST, CP	1
ABPC, PIPC, CEZ, CTX, CAZ, GM, TC, DOXY	1
DOXY	1
DOXY	1
NA, CP	1
TC	1
EAggEC	13
-	1
ABPC, CEZ	1
ABPC, PIPC	1
ABPC, PIPC, CEZ	8
GM, NA	1
NA	1
<i>E. albertii</i>	6
-	2
ABPC, PIPC, DOXY	1
DOXY	3
非該当	1
ABPC, CEZ	1
総計	50

* - : 26 剤全てに感性又は中間

3.4 *E. albertii* の PFGE (図 1)

6 株のうち 2 株 (図 1 のうち、No.6 と No.7) は互いに類似した PFGE パターンを示したが、そのほかは全て異なるパターンを示した。

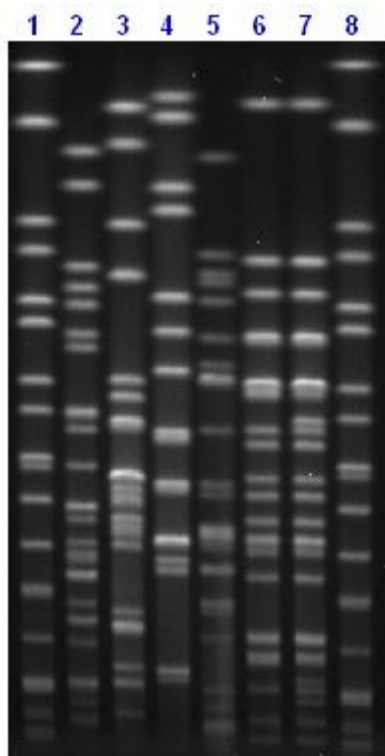


図 1 *E. albertii* の PFGE パターン
(1,8: Ladder marker, 2-7: *E. albertii*)

4. 考察

2018 年搬入株について、分類・抗原遺伝子型・薬剤耐性パターンの一部を表 4 に示した。

ETEC は、エンテロトキシン遺伝子と併せて ESBL 遺伝子を保有する株がみられることから、薬剤耐性菌としても動向を注視する必要があると考えられる。また、ETEC は 4 株中 3 株が海外渡航歴のある患者から分離されているとのことであり、旅行者下痢症の起因菌としての重要性が再認識された。

EPEC は、搬入菌株の半数以上を占めていた。薬剤感受性試験では 26 剤全てに感性又は中間の株が多い一方で、8~9 剤に耐性を持つ株も認められ、抗原遺伝子型を含め多様な菌株が分離されることが分かった。また、型別について、PCR では OgUT であった一方、抗血清では O153 に分類された株があった。このことから、PCR による型別と併せ、必要に応じて抗血清による血清型別を併用することで、より確実に菌株を細分できるものと考えられる。なお、EPEC には、付着にかかわるプラスミド性の *bfp* 遺伝子を保有する定型のもの (typical EPEC; tEPEC) と保

有しない非定型のもの (atypical EPEC; aEPEC) の存在が知られている²⁾。今後は、*bfp* の保有状況を含めた調査も検討する必要があると考えられる。

EAggEC では、13 株中 8 株が *aggR* に加え *astA* を保有する Og126:Hg27 であった。これらの株は、いずれも薬剤感受性試験では CTX 又は CAZ もしくはその両方に中間を示し、なおかつ CMZ は感性であったものの阻止円が小さめであったことから、AmpC β-ラクタマーゼの産生が推測される。薬剤耐性遺伝子の検出等、さらなる解析が必要と考えられる。

また、今回の調査で、新興感染症原因菌である *E. albertii* が青森県でも検出されることが明らかとなった。対象とした 6 株は 2018 年 7 月のごく短期間に分離されたものであるが、PFGE では 2 株を除きバンドパターンが異なっており、その由来は同一ではないことが示唆された。疫学調査が行われていないことから詳細は不明であるが、2018 年を通じて *E. albertii* が搬入されたのはこの期間の 6 株のみであった。*E. albertii* の中には、*stx2f* を保有し、溶血性尿毒症症候群 (HUS) を引き起こした事例も報告されている¹²⁾ことから、薬剤感受性を含め、調査を継続する必要があると考えられる。

なお、今回、O/H-genotyping PCR^{6,9)}を菌株の細分に利用した。その結果、一部の菌株では型別不能となったものの、これまで抗血清による型別が不能とされていた株も型別できることが多く、下痢原性大腸菌のサーベイランスには非常に有用な方法であることが分かった。Og/Hg についてフルセットで PCR を実施すると 30 種類の PCR が必要となるが、自動キャピラリー電気泳動装置を使用することで、より効率的な分析が可能になると思われた。

5. まとめ

- 1) 2018 年に青森県環境保健センターに搬入された下痢原性大腸菌 (EHEC を除く) 44 株及び *E. albertii* 疑いとして搬入された 6 株の計 50 株を対象に、病原遺伝子、*E. albertii* の同定を実施した結果、4 株が ETEC、26 株が EPEC、13 株が EAggEC、1 株が病原遺伝子非保有、6 株が *E. albertii* であった。
- 2) 抗原遺伝子型では、EPEC で OgUT:Hg21 (O153:H21) が、EAggEC で Og126:Hg21 が多かった。O/H-genotyping PCR は、下痢原性大腸菌の細分に非常に有用なツールであることが分かった。
- 3) 薬剤感受性試験の結果、ETEC で特に薬剤耐性株の割合が多く、このうち 2 株からは CTX-M-1 グルー

表 4 2018 年搬入株の分類・抗原遺伝子型・薬剤耐性パターン（一部抜粋）

分類	抗原遺伝子型	耐性薬剤	保有遺伝子	薬剤耐性遺伝子	株数
ETEC	Og25:Hg42	ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, NA	STh	ESBL (CTX-M-1g)	1
ETEC	Og86:Hg18	ABPC, PIPC, GM, KM, TC, MINO, DOXY, NA, CPFEX, ST	STp, <i>astA</i>		1
ETEC	Og159:Hg20	ABPC, PIPC, CEZ, CTX	STh, <i>astA</i>	ESBL (CTX-M-1g)	1
EPEC	Og85:Hg31	TC			1
EPEC	Og96:Hg7	DOXY			1
EPEC	Og145:Hg28	-			2
EPEC	Og145:Hg28	ABPC, KM, TC, ST, CP			1
EPEC	OgUT:Hg7	ABPC, KM, TC	<i>astA</i>		1
EPEC	OgUT:Hg16	ABPC, PIPC, CEZ, CTX, CAZ, GM, TC, DOXY			1
EPEC	OgUT:Hg30	ABPC, KM, TC, DOXY, NA, CPFEX, LVFX, ST, CP			1
EPEC	OgUT:Hg30	NA, CP			1
EAggEC	Og86:Hg27	ABPC, CEZ			1
EAggEC	Og92:Hg33	ABPC, PIPC			1
EAggEC	Og99:Hg10	GM, NA			1
EAggEC	Og126:Hg27	ABPC, PIPC, CEZ	<i>astA</i>		8
EAggEC	Og176:Hg34	NA			1
<i>E. albertii</i>		-			2
		ABPC, PIPC, DOXY			1
		DOXY			3
非該当	OgNT:HgUT	ABPC, CEZ			1

※ -: 26 剤全てに感性又は中間

ブの ESBL 遺伝子が検出された。また、EAggEC の Og126:Hg21 8 株では、AmpC β-ラクタマーゼの産生が示唆された。

4) *E. albertii* に対し PFGE を実施した結果、6 株中 5 株でバンドパターンが異なったことから、これらは異なる菌株由来であることが推測された。

5) 今回、2018 年 4 月から 12 月にわたる 9 か月間の搬入株を用いた結果、薬剤耐性菌が存在することや、特定の抗原遺伝子型が複数検出されること等の特徴が認められた。時間経過と分離株の種類との関係等について探るため、今後も調査を継続していく必要がある。

謝 辞

菌株収集に御協力いただいた、弘前市医師会健診センターの検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

1) 中込治、神谷茂編：標準微生物学第 12 版. 医学書

院, 東京, 2015

2) 山崎伸二：下痢原性大腸菌. 食品・食品添加物研究誌：FFI ジャーナル, **225**, 275-288, 2020

3) 村上光一他：Vero 毒素産生株が散見される新興感染症原因菌 *Escherichia albertii* について. IASR, **37**, 98-100, 2016

4) Hyma, K. E. et al. : Evolutionary genetics of a new pathogenic *Escherichia* species: *Escherichia albertii* and *Shigella boydii* strains. *J. Bacteriol.*, **187**, 619-628, 2005

5) Oaks, J. L. et al. : *Escherichia albertii* in wild and domestic birds. *Emerg. Infect. Dis.*, **16**, 638-646, 2010

6) 国立感染症研究所：腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル, 2019 年 9 月

7) Iguchi, K. et al. : *Escherichia coli* O-genotyping PCR; a comprehensive and practical platform for molecular O-serogrouping. *J. Clin. Microbiol.*, **53**, 2427-2432, 2015

8) 井口純他：腸管出血性大腸菌の主要な O 血清群と病原性遺伝子を判定する One-shot マルチプレックス PCR 法の開発と評価, 日本食品微生物学会雑誌, **32**, 215-218, 2015

9) Banjo, M. et al. : *Escherichia coli* H-genotyping PCR; a complete and practical platform for molecular H-typing.

J. Clin. Microbiol. **56**, e00190-18, 2018

10) 国立保健医療科学院、国立感染症研究所：平成 29 年度短期研修細菌研修資料, 2017 年 11 月

11) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター：薬剤耐性菌研修会資料, 2017 年 9 月

12) 伊豫田淳他：HUS 患者から分離された *stx2f* 陽性の *Escherichia albertii* について. *IASR*, **37**, 255, 2016

Characteristic analysis of diarrheagenic *Escherichia coli*, etc., isolated from human being in the South Central region of Aomori Prefecture (April–December 2018)

Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi

A polymerase chain reaction (PCR) test was conducted to detect virulence genes and identify *Escherichia albertii* (*E. albertii*) from a total of 50 bacterial strains (44 diarrheagenic *Escherichia coli* (*E. coli*) strains, excluding enterohemorrhagic *E. coli*., and 6 strains suspected to be *E. albertii*) brought into the Aomori Prefecture Public Health and Environment Center in 2018. In addition, the *E. coli* O-genotyping/H-genotyping PCR methods were employed to determine the antigen genotypes of 43 diarrheagenic *E. coli* strains, in which the virulence genes were detected. The results demonstrated that, of these 50 strains, there were 4 enterotoxigenic *E. coli* (ETEC) strains, 26 enteropathogenic *E. coli* (EPEC) strains, 13 enteroaggregative *E. coli* (EAggEC) strains, 1 strain in which no virulence genes were detected, and 6 *E. albertii* strains. The most frequently identified genotypes were OgUT:Hg21 in four EPEC strains and Og126:Hg27 in eight EAggEC strains. Moreover, drug susceptibility testing was conducted on these 50 strains. As a result, antimicrobial resistance to at least one drug occurred in 27 strains, of which the ESBL genes of the CTX-M-1 group were detected in 2 ETEC strains. Furthermore, a pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) test was conducted on six strains identified as *E. albertii*, from which different patterns were observed in five out of six strains.

Key words: diarrheagenic *E. coli*, *E. albertii*, virulence gene, genotype, antimicrobial resistance

健康危機管理に係る加工食品の試験法検討 ～ベビーフードを用いた予備検査～

福士貴史 山本明美

健康危機事案の際に加工食品中の農薬を迅速に、より多くの成分について一斉分析できる方法を、QuEChERS法に固相カラムによる精製を加えた試験溶液をGC-MS/MSで分析することにより検討した。加工食品の特性に応じて4種類の食品を選択し、添加検体にはベビーフードを選定した。ジュレ、せんべい、ジュースを代表例とする、低脂質食品群、米菓等、飲料類については、予備検査の結果、三層カラム精製(ODS/SAX/PSA)により良好な結果が得られた。カレーのような脂質を多く含む高脂質食品群については、アセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂操作後、四層カラム精製(AL-N/ODS/SAX/PSA)により良好な結果が得られた。

Key words : pesticide residue, processed food, multiresidue method, QuEChERS, GC-MS/MS

1. はじめに

2008年の中国製冷凍餃子農薬混入事件、2013年のアクリフーズ農薬混入事件などの発生により、加工食品中の残留農薬への消費者の関心は高い。また、農産物を濃縮した加工食品の場合、食品成分の濃縮と同時に、残留農薬の濃縮も懸念される。

食品衛生法に定められている規格基準への適合の判断を行う試験については、「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」

(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知、平成22年12月24日、食安第1224001号¹⁾)により、試験法の妥当性評価を実施するよう求められている。当所ではこれまでに、農産物中の残留農薬については妥当性評価試験を実施し、残留農薬検査実施に係る標準作業書(以下、SOPという)を整備したが、加工食品に係る上記妥当性評価は未実施のため、SOPは未整備である。そのため、加工食品中の農薬に起因する健康危機事案が発生した場合、速やかに対応できないという問題がある。

2019年に福岡県保健環境研究所が、「野菜・果実を濃縮した加工食品中の残留農薬迅速一斉分析におけるODS/SAX/PSA積層ミニカラム精製の有用性²⁾」について研究し、当該カラムの有用性を示していた。

そこで本報では、QuEChERS法による抽出と固相カラムによる精製を組み合わせた残留農薬迅速一斉分析法が、野菜・果実を濃縮した加工食品以外においても適用できるかどうか、予備検査を実施して確認したので、その結果について報告する。

なお、今回は健康危機事案を想定した検討であるため、加工食品に含まれる農薬等の迅速な検出法の性能評価に当たっては、「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」(厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡、平成25年3月26日³⁾) (以下「事務連絡」という。)を参考とした。

2. 実験方法

2.1 予備検査

予備検査は、0.01 µg/gの濃度について分析者1名が併行数2で1日間の試験で実施した。なお、検体としてベビーフードを選定した。ベビーフードは、日本ベビーフード協議会が自主規格を設けて品質管理しているものが販売されており、農薬が検出されない検体として適していると判断したため、ブランク試料として用いた。

2.2 加工食品の分類

加工食品の特性に応じて系統的に分類し、分析法を構築した、大阪府立公衆衛生研究所が開発した「迅速かつ簡便な加工食品中の残留農薬一斉分析法⁴⁾」を参考に、図1のとおり加工食品を飲料以外と飲料に大別し、機器分析上の障害となる脂質を多く含む食品(A-1:高脂質食品群)、脂質は多く含まないが粘稠性が高く溶媒抽出工程に支障がある食品(A-2:低脂質食品群)、原材料の大部分が米の食品(B-1:米菓等)、飲料(C-1:飲料類)に分類し、分析法を検討した。それぞれの代表例

として A-1 はカレー、A-2 はジュレ、B-1 はせんべい、C-1 はジュースを選定し予備検査を実施した。

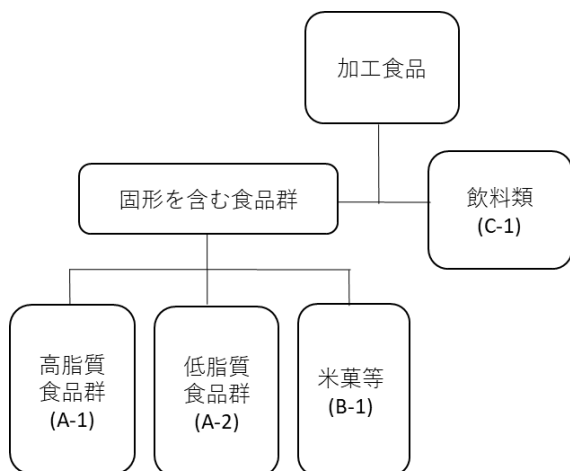


図1 加工食品の分類模式図

2. 3 標準溶液及び試薬

標準品は、関東化学(株)及び富士フィルム和光純薬(株)製の残留農薬試験用混合標準品を用いた(農薬 249 成分を対象)。

検量線用混合標準溶液は、これらをアセトノーヘキサン混合溶液(1:1)で適宜希釈して、0.001 µg/mL~0.02 µg/mL を調製した(ただし、アセフェート、アセタミプリド、イプロジオン代謝物及びメタミドホスは感度が低いため5倍濃度)。

アセトニトリル(以下、ACN)、アセトン、ヘキサン、塩化ナトリウムは富士フィルム和光純薬(株)製の残留農薬・PCB 試験用を用いた。クエン酸三ナトリウム二水和物、クエン酸水素二ナトリウム一・五水和物、無水硫酸マグネシウムはそれぞれ関東化学(株)の特級、鹿1級、鹿特級を用いた。

精製カラムは InertSep C18/SAX/PSA(200 mg/100 mg/100 mg/1 mL) (以下、三層カラム) 又は InertSep AL-N/C18/SAX/PSA(100 mg/200 mg/100 mg/100 mg/1 mL) (以下、四層カラム) (GL Sciences 製)を用いた。

精製水の作成には、Milli-Q システム (Millipore, Synergy UV) を用いた。

2. 4 機器

ホモジナイザー：T 25 ULTRA-TURRAX® (IKA -Werke 製)

濃縮装置：ロータリーエバポレーター R-200 (BUCHI 製)

2. 5 測定装置および測定条件

GC-MS/MS 装置：7890B・7000D GC/TQ (Agilent Technologies 製)

GC-MS/MS 測定条件を表 1 に示す。

表 1 GC-MS/MS 測定条件

カラム	VF-5ms : 30 m, φ250 µm, 0.25 µm
カラム昇温条件	70 °C(2 min) - 25 °C/min - 150 °C(0 min) - 3 °C/min - 200 °C(0 min) - 8 °C/min - 310 °C(5 min)
注入口温度	250 °C
クエンチガス	He 2.25 mL/min
コリジョンガス	N ₂ 1.5 mL/min
イオン化モード(電圧)	EI+ (70 eV)
注入モード	パルスドスプリットレス
トランスファライン温度	280 °C
イオン源温度	320 °C
流量	リテンションタイムロッキング 使用、クロルピリホスメチルの 保持時間 = 17.5 min で調整

2. 6 試験溶液等の調製方法

抽出操作は QuEChERS 法 (EN 15662:2008⁵⁾) で行い(図 2)、濃縮乾固後のアセトノーヘキサン混合溶液による定容を 1 mL とした。

2. 7 結果の判定方法

絶対検量線を採用し、0.001 µg/mL~0.02 µg/mL の 6 点の範囲で $r^2 > 0.98$ を直線性良好とした。

回収率の目標値は、事務連絡に基づき 50 %~200 %を良好とした。

3. 結果と考察

3. 1 三層カラム精製の結果

抽出溶媒に ACN を使用し、三層カラムで精製した添加回収率結果一覧を表 2 の 3.1 結果に示す。カレー、ジュレ、せんべい、ジュースを測定したところ、農薬 249 成分中それぞれ 54、201、244、232 成分が良好な結果となった。カレー以外については三層カラムで良好な精製効果が得られると考えられたが、ジュレについては、同じようなマトリクスと考えられるジュースに比べ良好な成分が少なく、抽出が不十分であると考えられたため、抽出工程の検討を行った。

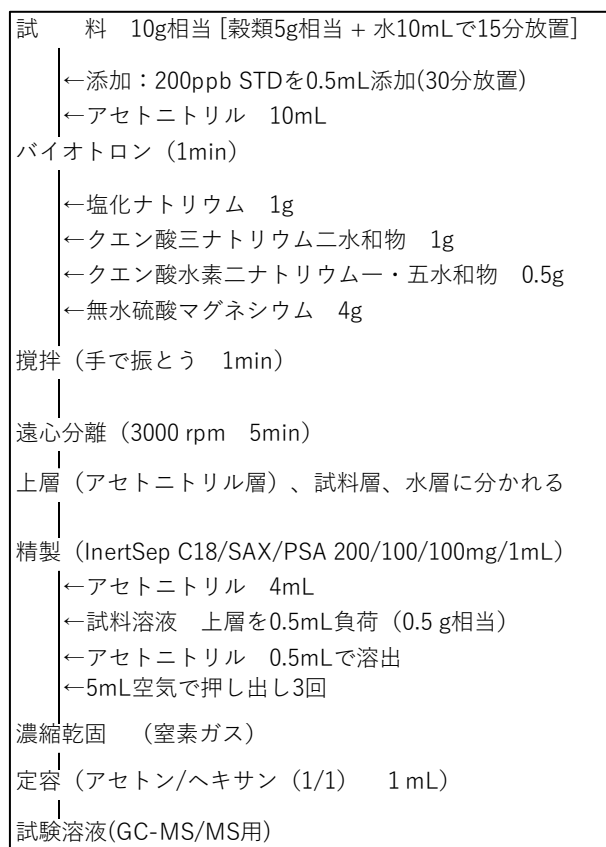


図2 予備検査のフロー図

一方、高脂質食品群であるカレーについては、三層カラムによる精製では54成分しか良好な結果とならず、脂肪分やマトリックス効果を除去できなかったことが原因と考えられたため、精製工程の検討を行った。

3.2 粘稠性の高いジュレの抽出工程の検討結果

せんべいやジュースと比較して、ジュレの回収率良好結果が少なかったことから、溶媒抽出工程に問題があると考え、粘稠性の高さによるものか、抽出溶媒の組成によるものかの要因を調査するため、粘稠性が高いイチゴジャムを対照とし、抽出溶媒の変更を検討した。

抽出溶媒については、含水ACNが幅広い農薬を抽出するとの報告⁶⁾があるため、ACN 10 mLに対し、それぞれ水 2.5 mL (ACN：水=4：1)、10 mL (ACN：水=1：1)を添加したものを使用し、三層カラムで精製した添加回収率結果一覧を表2の3.2結果に示す。

抽出溶媒がACN100%の場合、ジュレとイチゴジャムの回収率良好成分はそれぞれ201、242であったが、ACN：水=4：1の場合はそれぞれ243、240で、ACN：水=1：1の場合はそれぞれ243、241であった。ジュレでは回収率改善が見られ、検量

線不良項目も改善されたが、イチゴジャムではほとんど変化が見られなかったことから、粘稠性の高さではなく、食品の性状が原因と考えられた。ジュレやゼリーはゼラチンにより固められた食品であり、ACN100%の抽出溶媒では、ゼラチンの中に閉じ込められたまま抽出されない農薬成分があると考えられた。

なお、ACN：水=1：1の場合、遠心分離後にACN層が下層(試料層・水層)と混ざり合ってしまう、分離が上手くいかなかった。このことから、ジュレやゼリーなどのゼラチン等を用いて固めた食品は含水ACN (ACN：水=4：1)で抽出することとした。

3.3 高脂質食品群の精製工程の検討結果

カレーの回収率改善のため、三層カラムの代わりに四層カラムを用いて精製したところ、180成分が良好となった。しかし、検量線不良が58成分あったことから、さらにアセトニトリル/ヘキサン分配による脱脂操作で脂肪分の除去を試みた。

ACN 10 mLに対し、それぞれヘキサン 2 mL (ACN：ヘキサン=5：1)、2.5 mL (ACN：ヘキサン=4：1)、5 mL (ACN：ヘキサン=2：1)を添加したもので比較した。

脱脂操作をすることで、いずれの結果も検量線不良の成分は無くなり、回収率は改善した。しかし、ヘキサン量の増加に伴い良好となった農薬成分数は202、193、168と低下していった。

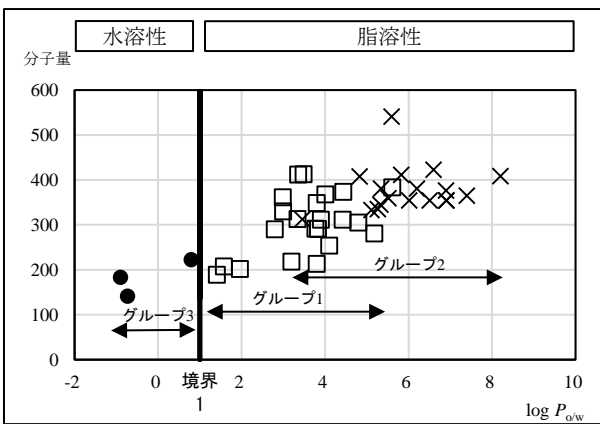
ヘキサン脱脂により、検量線不良が改善し回収率が良好になった農薬成分(グループ1)と、回収率が50%未満となった農薬成分(グループ2)が見られた。これらは、両者ともほとんどが殺虫剤や除草剤であった。

殺虫剤や除草剤は、昆虫の脂質に対する溶解性を、又は植物表皮からの透過性を上げるため、脂溶性が大きくなるように作られているものが多い⁷⁾⁸⁾。オクタノール/水分配係数($\log P_{o/w}$)は脂溶性の尺度であり、 $\log P_{o/w}$ 値が1より大きければ脂溶性、小さい場合は水溶性に分類される。農薬の物性データ⁹⁾及び $\log P_{o/w}$ 値と溶解性の関係を表3及び図3に示す。比較対照として代表的な水に易溶の農薬成分(グループ3)を示す。

予備検査の結果、回収率が良好となったグループ1は、分子量が概ね400以下かつ $\log P_{o/w}$ 値が5以下であり、一方、回収率が50%未満となったグループ2は、分子量が概ね350以上かつ $\log P_{o/w}$ 値が5以上であった。グループ2の農薬について

表3 農薬の物性データ

	農薬成分名	分子量	log P _{ow}	用途分類
グループ1	イソプロチオラン	290.4	2.8	殺虫剤
	イプロジオン	330.2	3	殺虫剤
	ウニコゾールP	291.8	3.77	植物成長調整剤
	カブタホール	349.1	3.8	殺菌剤
	カルフェントランエチル	412.2	3.36	除草剤
	キノクラミン	207.6	1.58	除草剤
	クロルプロファミ	213.7	3.8	除草剤
	シマジソ	201.7	1.96	除草剤
	トリアゾホス	313.3	3.34	殺虫剤
	トリシクラーゼ	189.2	1.41	殺菌剤
	トルフェンピラド	383.9	5.61	殺虫剤
	ハラチオン	291.3	3.83	殺虫剤
	ピラフルフェンエチル	413.2	3.49	除草剤
	(E)-ピリミノバックメチル	361.4	2.99	除草剤
	フタクロール	311.9	4.42	除草剤
	プロフェジソ	305.4	4.8	殺虫剤
	フレチラクロール	311.9	3.9	除草剤
	プロパニル	218.1	3.2	除草剤
	プロロドロジャスモン	254.4	4.1	植物成長調整剤
	プロフェノホス	373.6	4.435	殺虫剤
グループ2	ホザロン	367.8	4.01	殺虫剤
	o,p'-DDT	354.5	6.91	殺虫剤
	p,p'-DDD	354.5	6.02	殺虫剤
	p,p'-DDE	354.5	6.51	殺虫剤
	p,p'-DDT	354.5	6.91	殺虫剤
	アクリナトリン	541.4	5.6	殺虫剤
	アルドリソ	364.9	7.4	殺虫剤
	エタルフルラソ	333.3	5.11	除草剤
	エトキサゾール	359.4	5.52	殺虫剤
	エトフェンプロックス	376.5	6.9	殺虫剤
	エンドリン	380.9	5.34	殺虫剤
	オキサジアソソ	345.2	5.33	除草剤
	クロルフェナビル	407.6	4.83	殺虫剤
	シラフルオフン	408.6	8.2	殺虫剤
	スピロジクロフェン	411.3	5.83	殺虫剤
	ディルドリン	380.9	6.2	殺虫剤
	トリフルラソ	335.3	5.27	除草剤
	ピフェントリン	422.9	6.6	殺虫剤
	プロモプナド	312.3	3.46	除草剤
	グループ3 (比較対照)	アセタミプリド	222.7	0.80
アセフェート		183.2	-0.9	殺虫剤
メタミドホス		141.1	-0.73	殺虫剤



□:グループ1、×:グループ2、●:グループ3

図3 log P_{ow}値と溶解性の関係

は、定量はできないが定性は可能であったため、未知成分混入の健康危機事案の際の一斉分析では、成分同定に使用できると判断した。

4. 結論

健康危機事案の際に加工食品中の農薬を迅速に、より多くの成分について一斉分析できる方法を検討した。

ジュレ、せんべい、ジュースを代表例とする、低脂質食品群、米菓等、飲料類については、予備検査の結果、三層カラム精製により良好な結果が得られた。ゼラチン等で固められた食品であるジュレは、ACN/水 (4/1) 混液で抽出することで回収率の改善が認められた。

カレーのような脂質を多く含む高脂質食品群については、アセトニトリル/ヘキサン分配(5/1)による脱脂操作後、四層カラム精製により良好な結果が得られた。脱脂操作で回収率が50%未満となった脂溶性農薬についても、成分の同定は可能であることを確認した。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知: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の一部改正について、平成22年12月24日付け食安発第1224001号
- 2) 佐藤環他:野菜・果実を濃縮した加工食品中の残留農薬迅速一斉分析における ODS/SAX/PSA 積層ミニカラム精製の有用性について. 第42回農薬残留分析研究会講演要旨集, 205-210, 2019
- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡:加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について、平成25年3月26日付け事務連絡
- 4) 高取聡:迅速かつ簡便な加工食品中の残留農薬一斉分析法の開発、平成24年5月29日付け研究課題番号21590677
- 5) Foods of Plant Origin Determination of Pesticide Residues Using GC-MS and/or LC-MS/MS Following Acetonitrile Extraction/Partitioning and Clean-up by Dispersive SPE (QuEChERS-method). (EN 15662 Version 2008).
- 6) 西名武志他:液体クロマトグラフ/タンデム型質量分析計(LC/MS/MS)を用いた食品中の残留農薬迅速分析法の検討(第1報), 35, 51-56, 2005
- 7) 森田昌敏他:農薬の物性. 農薬の環境影響, 14, 75-78, 1991
- 8) 松本宏:標識化合物で探る除草剤の作用機序, RADIOISOTOPES, 49, 641-643, 2000
- 9) 食品安全委員会. “食品安全総合情報システム”. <https://www.fsc.go.jp/fsciiis/> (参照 2021-1-20)

表 2-1 添加回収率結果一覧

農薬成分名	3.1 結果				3.2 結果					3.3 結果			
	三層カラム				三層カラム					四層カラム			
	A-1 高脂質 食品群	A-2 低脂質 食品群	B-1 米菓等	C-1 飲料類	A-2: 低脂質食品群 野菜・くだものジュレ		A-2: 低脂質食品群 イチゴジャム			A-1: 高脂質食品群 チキンカレー			
	チキン カレー	野菜・くだ ものジュレ	せんべい	野菜 ジュース	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	水無し (ACN 100%)	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	ヘキサン無し (ACN 100%)	ヘキサン2 mL (ACN: ヘキサン =5:1)	ヘキサン2.5 mL (ACN: ヘキサン =4:1)	ヘキサン5 mL (ACN: ヘキサン =2:1)
1 α-BHC	114	125	90	76	85	100	94	88	102	125	64	66	48
2 β-BHC	57	117	89	83	57	64	94	63	60	15	88	82	62
3 γ-BHC	113	120	19	17	81	102	61	89	109	132	104	86	80
4 δ-BHC	143	131	86	91	92	96	92	82	91	136	84	70	68
5 o,p'-DDT	119	135	82	88	79	93	94	84	88	98	44	42	26
6 p,p'-DDD	119	135	82	18	79	93	94	84	88	98	44	42	26
7 p,p'-DDE	102	113	74	73	66	89	91	79	77	81	20	20	12
8 p,p'-DDT	107	108	80	89	75	93	93	84	85	91	30	28	18
9 EPN	107	92	90	85	67	93	94	81	83	97	94	88	74
10 EPTC	121	117	84	74	79	92	85	67	83	111	54	52	32
11 XMC	271	152	85	110	81	99	95	79	97	173	94	96	86
12 アクリノリン	119	125	83	84	87	91	91	104	185	92	42	48	32
13 アザノゾール	214	164	82	106	79	101	70	82	87	126	78	82	70
14 アジノホスメチル	226	75	99	138	97	111	101	89	107	123	82	94	98
15 アセチプロト	4135	29	86	390	196	423	107	194	216	47	157	173	144
16 アセクロール	200	133	82	77	68	98	76	83	82	124	84	70	56
17 アセフェート	36	18	51	82	79	96	48	67	73	24	80	78	71
18 アトラジン	252	169	77	102	59	75	72	65	90	165	84	88	82
19 アニロホス	194	187	85	92	58	67	84	70	71	120	70	78	72
20 アトリン	242	14	72	77	76	92	68	73	87	132	68	66	52
21 アラクロール	216	137	71	102	62	77	79	61	63	129	72	82	64
22 アルドリ	89	103	51	52	50	75	74	75	65	59	10	8	4
23 デイルトリン	120	70	89	85	80	122	90	108	55	77	20	36	14
24 アレスリン	171	191	64	107	53	56	80	53	52	0	52	64	38
25 イソゾホス	334	72	76	90	76	89	90	81	76	103	88	72	52
26 イソキサチオン	177	119	87	111	71	61	83	35	65	111	74	84	62
27 イソフェホス	139	118	100	85	85	84	90	77	81	120	86	78	60
28 イソフェホスオキソ	136	130	94	96	82	94	94	76	99	114	124	118	104
29 イソロカルブ	133	133	91	92	89	102	95	88	101	122	100	98	92
30 イソロキサチオン	175	132	70	73	71	87	80	64	73	118	76	78	72
31 イソロシオン	156	172	93	75	110	98	74	77	111	93	128	104	134
32 イソロシオン代謝物	67	254	102	534	21	29	80	19	18	157	66	73	83
33 イソロホス	190	139	84	90	68	88	79	78	83	128	82	80	76
34 イマザメタヘンズメチルエステル	188	223	80	137	75	142	94	89	86	123	102	104	94
35 ミベノゾノール	184	110	95	116	89	113	103	97	104	138	118	118	106
36 ミベノゾノール-脱ヘンシル	309	171	110	133	84	129	98	119	88	175	106	102	106
37 ケノゾノールP	214	173	87	75	70	103	65	93	62	187	106	110	62
38 エスロカルブ	138	141	89	84	77	90	92	82	95	122	54	54	30
39 エタルアラジン	137	122	87	55	80	80	79	74	73	119	32	32	12
40 エチフェンカルブ	202	171	90	132	104	123	106	91	105	176	118	124	112
41 エチオン	157	133	71	89	70	87	81	72	79	116	52	46	34
42 エチフェンホス	121	141	104	120	96	120	95	90	102	108	116	98	98
43 エキソゾール	175	123	78	95	62	63	76	83	78	118	40	32	6
44 エトフェンロックス	199	131	80	94	69	84	70	70	77	125	32	30	20
45 エトフェメート	228	145	87	92	66	78	75	80	90	148	90	82	74
46 エトロホス	152	127	97	77	78	94	94	85	89	121	102	100	82
47 α-エンドスルファン	145	118	145	93	48	53	46	47	49	113	38	26	20
48 β-エンドスルファン	189	131	191	84	59	76	57	74	67	110	54	42	44
49 エンドリン	120	104	87	58	115	114	108	79	99	118	42	46	8
50 オキサジアジン	180	139	80	86	71	93	79	70	88	132	46	44	30
51 オキサジキシル	198	154	76	97	69	83	76	72	87	120	82	84	76
52 オキシフルオルフェン	158	135	75	40	51	92	77	49	85	111	70	46	62
53 オリザリ	267	122	75	106	108	180	63	124	187	183	80	86	70
54 カスサホス	137	127	94	82	88	112	104	89	103	129	80	80	56
55 カフェンストロール	283	140	78	114	83	104	80	85	97	183	82	88	72
56 カブタホール	12	640	70	157	163	436	80	189	103	174	74	32	46
57 カルハリル	484	196	113	153	136	151	111	107	129	256	138	136	120
58 カルフェントラゾニエチル	250	164	79	102	55	87	77	40	73	170	94	78	78
59 カルホキシン	224	139	97	116	124	57	86	76	73	151	90	78	82
60 カルホフラン	796	177	90	107	83	107	87	99	86	328	174	154	148
61 キナルホス	141	120	100	92	78	99	96	89	82	117	94	80	66
62 キノキソフェン	172	142	78	78	69	73	70	59	68	146	50	42	30
63 キノクラミン	323	194	96	143	115	132	86	89	84	197	108	114	102
64 キノメチオナート	26	41	29	25	33	81	24	51	40	48	18	10	10
65 キヤブタン	17	152	53	198	72	85	95	77	148	63	50	44	58
66 キントゼン	137	120	73	83	59	75	71	68	84	117	24	22	18
67 クロキシムメチル	219	135	69	96	77	84	77	87	79	132	78	86	68
68 クロマジン	224	141	80	94	70	93	82	79	83	166	74	80	70
69 クロタルジメチル	183	135	78	85	71	86	81	67	82	139	62	62	40
70 cis-クロルデン	105	116	84	66	70	75	98	84	92	100	28	22	14
71 trans-クロルデン	111	121	83	88	88	87	92	89	93	100	32	24	18
72 クロルピリホス	138	145	91	79	67	128	102	113	117	122	52	50	40
73 クロルピリホスメチル	218	129	86	81	69	87	79	71	91	140	58	58	36
74 クロルフェナヒル	268	101	99	111	79	45	61	33	52	123	44	44	42
75 クロルフェンピホス	135	131	88	101	77	100	106	88	88	113	94	112	90

(注) は検量線不良のもの | は回収率200%超のもの | は回収率50%未満のもの

表 2-2 添加回収率結果一覧

農薬成分名	3.1 結果				3.2 結果					3.3 結果			
	三層カラム				三層カラム					四層カラム			
	A-1 高脂質 食品群	A-2 低脂質 食品群	B-1 米菓等	C-1 飲料類	A-2: 低脂質食品群 野菜・くだものジュレ		A-2: 低脂質食品群 イチゴジャム			A-1: 高脂質食品群 チキンカレー			
	チキン カレー	野菜・くだ ものジュレ	せんべい	野菜 ジュース	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	水無し (ACN 100%)	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	ヘキサゲル (ACN 100%)	ヘキサゲル (ACN:ヘキサゲル =5:1)	ヘキサゲル (ACN:ヘキサゲル =4:1)	ヘキサゲル (ACN:ヘキサゲル =2:1)
76 クロプアム	541	150	95	134	118	147	82	89	114	193	120	108	86
77 クロプアム	190	150	89	113	94	118	108	96	119	155	114	106	104
78 クロペンシレート	147	148	98	89	84	97	94	88	91	135	84	82	62
79 シアナジン	259	131	80	87	82	89	69	77	88	140	82	92	98
80 シアノホス	287	193	89	96	79	89	82	80	89	209	94	102	84
81 ジトフェンカルブ	159	141	91	99	95	116	90	85	92	145	112	112	102
82 ジクロンメット	261	154	77	98	54	98	72	66	74	145	80	72	66
83 ジクロフェンチオン	202	134	77	88	66	80	75	74	74	135	42	40	28
84 ジクロルアト	0	169	46	74	69	94	81	68	96	39	6	4	6
85 ジクロホップメチル	238	148	82	94	71	86	80	71	80	175	60	54	48
86 ジクロロン	384	150	84	101	90	114	97	81	87	248	126	126	108
87 ジクロホス	127	124	88	79	92	105	99	83	88	109	94	84	78
88 ジコホール	141	117	77	273	66	81	74	64	76	123	45	45	32
89 シハロドリ	119	139	90	78	69	106	83	81	87	134	66	62	42
90 シハロホップメチル	249	149	90	114	69	91	72	76	82	166	78	78	64
91 シフェナミド	192	132	86	184	72	88	75	79	84	124	80	78	70
92 ジフェノキサゾール	179	114	93	93	78	111	92	89	94	139	112	124	102
93 シフルトリン	128	129	101	71	80	77	97	86	81	123	68	68	50
94 シフルフェンカン	275	146	85	105	74	87	73	85	81	145	64	76	60
95 シフロキサゾール	146	134	87	98	89	101	76	82	94	112	106	116	104
96 シヘルメトリン	135	121	95	94	86	120	79	105	124	125	64	74	40
97 シマジン	274	165	101	107	91	94	72	106	110	185	74	86	86
98 シメタトリン	160	13	74	76	65	91	75	66	74	130	72	74	56
99 シメチピン	239	204	86	121	70	101	111	73	81	110	114	114	106
100 (Z)-ジメチルピリンホス	148	139	92	90	84	103	98	82	105	138	112	108	102
101 シメタナミド	184	121	80	80	68	84	77	75	74	136	78	80	64
102 ジトエート	344	168	97	143	96	100	88	87	106	227	128	116	98
103 シメトリン	266	24	92	81	78	86	56	77	93	177	100	78	78
104 ジメヒレレート	159	138	62	88	73	88	85	74	78	94	50	50	30
105 シラフルオフェン	127	130	62	78	70	89	89	83	91	83	24	18	14
106 スヒロキサミン	172	176	13	0	83	86	0	89	113	0	2	0	0
107 スヒロシクロフェン	171	111	70	68	52	68	74	75	59	130	34	38	32
108 ソキサミド	181	120	83	121	81	102	63	78	101	137	66	78	72
109 テーハシ	253	150	87	102	84	85	77	74	86	143	94	94	86
110 ダイアジン	130	146	82	74	84	105	93	94	114	120	82	68	42
111 チオベンカルブ	446	153	104	100	105	122	80	87	94	146	84	42	48
112 チオメチ	131	127	87	77	52	86	92	107	83	114	88	84	68
113 チフルサミド	180	129	79	92	66	89	78	61	69	122	74	78	72
114 テクナゼン	168	134	77	67	64	78	69	64	75	117	40	38	22
115 テトラクロロピリンホス	208	160	84	99	80	87	77	76	70	149	74	70	66
116 テトラシホ	209	146	75	93	70	77	82	62	69	155	40	54	30
117 テニルクロール	128	170	106	83	65	95	98	87	74	101	112	94	112
118 テアコキサゾール	167	145	85	109	71	102	93	92	104	113	122	110	112
119 テアフェニホ	162	153	108	88	91	92	93	97	79	121	76	60	52
120 テフルトリン	125	121	88	76	75	91	89	87	85	113	30	28	18
121 テト-S-メチル	246	141	82	103	74	93	83	84	82	156	102	104	90
122 テルタトリン及びトラロトリン	114	115	67	101	79	77	79	67	87	98	66	60	42
123 テルブトリン	238	26	74	16	69	78	63	82	84	137	88	74	62
124 テルブホス	126	109	95	76	73	97	94	72	87	108	46	48	26
125 トリアジメノール	162	157	102	95	93	108	101	74	95	125	130	114	110
126 トリアジメホ	227	118	87	79	74	84	73	83	73	149	84	82	74
127 トリアゾホス	184	110	102	81	86	115	100	101	94	126	108	100	90
128 トリアレート	198	114	68	78	65	78	74	66	77	109	24	26	14
129 トリシクラゾール	352	158	131	290	122	156	108	115	136	179	136	130	126
130 トリアホス	153	122	74	92	89	79	89	75	80	85	38	44	24
131 トリアラジン	171	104	73	76	64	72	70	68	72	127	26	26	16
132 トリアロキシストロピン	233	141	86	119	54	70	83	68	46	127	114	58	68
133 トルクロホスメチル	156	120	90	86	82	95	95	90	94	131	78	80	60
134 トルフェンピラド	317	129	79	145	60	100	84	77	74	156	80	56	52
135 ナフロハミド	256	161	70	116	71	78	82	79	75	136	68	84	58
136 トロタルイソプロピル	169	130	80	84	63	79	79	70	74	113	52	46	30
137 ルルアラジン	299	179	88	93	81	91	90	87	79	165	92	102	88
138 ハクプロトラゾール	163	136	95	93	62	96	87	92	97	114	128	112	122
139 ハラチオン	121	115	88	85	70	102	92	88	97	145	98	86	82
140 ハラチオンメチル	217	156	89	101	96	105	102	81	86	137	128	144	124
141 ハルフェンプロックス	118	116	68	85	73	89	85	83	85	87	28	26	24
142 ヒコリファ	249	164	72	119	80	79	80	71	93	151	74	64	56
143 ヒタルメール	81	154	91	47	80	85	86	81	94	76	124	78	118
144 ヒフェックス	230	42	118	79	94	66	94	77	78	135	78	106	84
145 ヒフェトリン	154	126	74	91	67	80	77	69	78	90	18	20	18
146 ヒクロホス	144	113	80	113	68	81	79	62	63	102	44	64	50
147 ヒラクロホス	238	139	116	135	122	139	103	94	113	165	114	116	96
148 ヒラゾホス	184	128	83	111	75	100	81	75	79	127	72	74	62
149 ヒラフルフェンエチル	198	132	96	83	70	73	65	73	74	160	92	76	44
150 ヒリダフェンチオン	213	145	73	83	78	87	77	98	83	144	102	94	58

(注) は検量線不良のもの は回収率200%超のもの は回収率50%未満のもの

表 2-4 添加回収率結果一覧

農薬成分名	3.1 結果				3.2 結果					3.3 結果			
	三層カラム				三層カラム					四層カラム			
	A-1 高脂質 食品群	A-2 低脂質 食品群	B-1 米菓等	C-1 飲料類	A-2: 低脂質食品群 野菜・くだものジュレ		A-2: 低脂質食品群 イチゴジャム			A-1: 高脂質食品群 チキンカレー			
	チキン カレー	野菜・くだ ものジュレ	せんべい	野菜 ジュース	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	水無し (ACN 100%)	水2.5 mL (ACN: 水=4:1)	水10 mL (ACN: 水=1:1)	ヘキサン無し (ACN 100%)	ヘキサン2 mL (ACN:ヘキサン =5:1)	ヘキサン2.5 mL (ACN:ヘキサン =4:1)	ヘキサン5 mL (ACN:ヘキサン =2:1)
226 ヘンディメタリン	132	107	88	40	91	101	81	75	95	81	50	46	36
227 ベンフルラリン	165	123	78	72	68	71	75	73	76	119	36	30	18
228 ベンフレセット	160	150	93	99	97	98	104	83	100	172	102	100	88
229 ホサロン	202	77	105	324	73	110	119	77	122	119	86	130	88
230 ホスチアゼート	136	156	98	103	80	109	105	91	103	128	118	126	118
231 ホスファミン	187	169	83	105	63	99	69	85	79	148	86	92	94
232 ホスマット	224	108	91	104	73	99	82	80	70	134	86	78	78
233 ホレート	191	150	61	104	79	79	68	61	72	140	48	40	30
234 マラチオン	143	129	95	81	100	117	103	90	100	110	116	96	78
235 ミクロブタール	156	128	90	92	83	114	80	96	95	139	98	102	106
236 メダトホス	28	26	71	86	74	79	79	80	73	23	94	93	82
237 メタキシル及びメフェノキサム	238	125	82	81	76	98	70	82	116	158	84	72	62
238 メチオカルブ	205	170	97	272	102	115	112	89	94	166	118	122	104
239 メチダチオン	0	0	87	166	76	89	110	78	80	0	132	122	42
240 トキシクロール	163	133	78	97	67	78	76	75	76	110	56	58	38
241 トブレ	138	196	63	87	0	0	97	0	0	126	58	78	30
242 トミノストロピ	203	126	87	101	78	90	74	75	79	133	78	84	80
243 トラクロール	132	126	96	79	74	83	97	69	71	115	92	96	72
244 トリンホス	248	153	80	104	77	95	81	77	85	165	88	84	76
245 フェナセット	201	140	104	119	88	103	96	94	92	131	118	124	108
246 フェンピルジエチル	183	151	81	90	79	81	73	80	77	135	76	74	56
247 フェロル	180	174	94	97	89	123	88	96	108	155	124	128	110
248 モクロトホス	525	247	133	191	105	132	87	103	103	380	128	134	120
249 レナシル	142	128	90	98	81	100	99	90	92	120	120	108	100

(注)  は検量線不良のもの  は回収率200%超のもの  は回収率50%未満のもの

An examination of the testing method for processed foods related to health risk management: A preliminary test using baby foods

Takafumi Fukushi, Akemi Yamamoto

A multiresidue method for the rapid detection of as many as possible pesticide residues in processed foods was examined for the preparation for health risk cases. GC-MS/MS analysis of the test solution purified through the solid-phase extraction column using the QuEChERS method was conducted. Four types of foods were selected based on the characteristics of processed foods, with baby foods selected as the additive samples. In the preliminary test, favorable results were obtained for jelly, senbei, and juice, which are the representative examples of the low-fat food group, rice crackers, and beverages, respectively, using the three-layer column purification (ODS/SAX/PSA). For the high-fat food group, such as curry which contains a high amount of fat, favorable results were obtained using the four-layer column purification (ALN/ODS/SAX/PSA), following the procedures for the removal of lipids *via* acetonitrile/hexane partition.

Key words: pesticide residue, processed food, multiresidue method, QuEChERS, GC-MS/MS

健康危機管理に対応した食品中の不揮発性アミン類分析の検討

花石竜治 山本明美

健康危機管理に対応した、食品中の不揮発性アミン類の分析法を検討した。抽出、誘導体化法については、著者らの既報と同様とし、本研究では、高速液体クロマトグラフ(HPLC)条件を改良し、ヒスタミン、チラミン、プトレシン、カダベリン、スペルミジンの 5 種アミン類について分離条件を検討した。これらのフルオレスカミン誘導体の HPLC 分析において、C18 の逆相カラムに高 pH 条件の移動相を用いたところ、スペルミジンと魚介類の腐敗指標とされるアミン類 4 物質とが分離し、検査が可能となった。また、久保田ほかの既報の精製法を適用して添加回収試験を行ったところ、十分な回収率と繰り返し精度が得られた。以上から、本方法が健康危機管理対応の方法として有用であることが示された。

Key words: health risk management, non-volatile amines, fluorescamine, solid phase extraction, HPLC

1. はじめに

食中毒事案のうち化学性食中毒に分類される不揮発性アミン類(Non-volatile amines, NVA)中毒は、主にヒスタミン(Him)が原因物質である¹⁾。よってこれらの NVA のうち、Him 検査の方法を確立することは、最も重要といえる。

Him は、Him 受容体などに作用し、血管拡張作用を有し、神経毒性を持つとされる^{2,3)}。また、それ以外の NVA のプトレシン(Put)およびカダベリン(Cad)は、それら単独の毒性は未知ではあるが、Him と共存した場合に、その毒性を増強させるとされている³⁾。また、チラミン(Tym)は、各種の神経伝達物質と類似の分子構造を持ち、神経毒性を有するとされている^{2,3)}。

欧米等では Him で基準値が定められている³⁾ほか、魚介類の腐敗指標として生体アミン指標(Him+Tym+Put+Cad)が提案されている⁴⁾。Him が食中毒に関わる NVA のうち最も重要であるが、毒性を持ち、生体アミン指標を構成する NVA の検査法を確立し、食中毒事案発生という健康危機管理に対応した方法として整備することが望まれる。

著者らは、昨年度、Him 検査法として妥当性評価がなされた菊地ほかの方法⁵⁾を応用し、健康危機管理に対応する迅速な検査法を報告した⁶⁾。しかし、この方法は Him 検査に特化したものであり、NVA を幅広く検査対象とするものではなかった。

NVA のうち生体アミン指標を構成する 4 種(Him、Tym、Put、Cad)については、久保田ほか⁷⁾が高速液体クロマトグラフィー(HPLC)による検査法を確立した⁷⁾。

そこで、本研究で著者らは、久保田ほかの方法を基礎として、生体アミンの一種として観測されるスペルミジン(Spd)も加え、5 種の NVA について、まず HPLC の分離条件を検討した。図 1 にこれらの NVA の分子構造を示す。

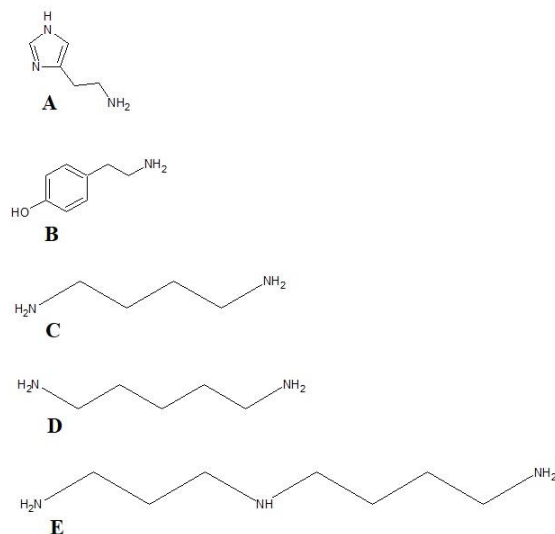


図 1 不揮発性アミン類(NVA)の分子構造。A: Him、B: Tym、C: Put、D: Cad、E: Spd。

NVA 検査法としては、Spd を除いた Him、Tym、Put および Cad をターゲットとし、添加回収試験を実施した。

Him のみを対象とした著者らの既報⁶⁾では、精製操作において、強陽イオン交換樹脂カートリッジを C18 カートリッジの後段にタンデムで装着し使用したが、本研究では久保田ほかの方法にならない、別種の強陽イオン交換樹脂カートリッジを単一で使用して、健康危機管理対応検査法として検討したので、報告する。

2. 材料および方法

2.1 試料

試料は青森市内のスーパーマーケットで購入したアジフライ、イワシ丸干しおよびサバ缶詰(味噌煮)を用いた。試料は包丁で細砕し、フードプロセッサを併用して均質化した。分析まで -20 °C で保存した。

2.2 試薬など

ヒスタミン二塩酸塩、チラミン塩酸塩、プトレシン二塩酸塩、カダベリン二塩酸塩、フルオレスカミン、トリクロロ酢酸(TCA)は、富士フィルム和光純薬製を用いた。スペルミジン三塩酸塩は、関東化学販売品を用いた。これらのうち、標準品は試薬特級、またはそれ以上のグレードのものを使用した。そのほかの試薬は、HPLC グレードまたは試薬特級に準じたものを用いた。また、膜ろ過フィルタは、Whatman 社 Syringe filter poresize 0.2 μm (PVDF 製)を用いた。水は超純水を用いた。

標準原液:NVA 塩酸塩を 0.1 mol/L 塩酸に溶かし、各アミン類として 5,000 μg/mL の溶液をそれぞれ調製した。

混合標準溶液 (Spd を除く) : Spd 以外の 4 種類の NVA の標準原液をそれぞれ 1 容積取り、0.1 mol/L 塩酸で 5 容積に希釈し、各 NVA の 1,000 μg/mL 溶液とした。

検量線用混合標準溶液 : 混合標準溶液 (Spd を除く) を適宜、0.1 mol/L 塩酸で希釈し、0.05 μg/mL から 5 μg/mL までの検量線用混合標準溶液を調製した。

0.1 mol/L リン酸塩緩衝液(pH 6.8) : リン酸二水素ナトリウム二水和物 7.80 g とリン酸水素二ナトリウム十二水和物 17.90 g を水に溶解し、1,000 mL とした。

0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 : 0.1 mol/L リン酸塩緩衝液 1 容積に水を加えて 5 容積に希釈し、調製した。

0.2 mol/L ほう酸塩緩衝液(pH 9.0) : ほう酸 2.47 g を水 170 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液

を滴加し pH 9.0 に調整し、水を加えて 200 mL とした。

5 % TCA : TCA 5.00 g を水に溶解して 100 mL とした。

0.3 %フルオレスカミン溶液 : フルオレスカミン 30 mg をアセトンに溶解し、全量を 10 mL とした。

0.02 mol/L 酢酸アンモニウム・アンモニア水緩衝液 (pH 9.0) : 酢酸アンモニウム 1.54 g を水 800 mL に溶かし、アンモニア水(1→10)を滴加して、pH 9.0 に調整し、水を加えて 1,000 mL とした。

0.1 mol/L 塩酸 : 塩酸 1 mL に水を加えて 120 mL とした。

1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 : 水酸化ナトリウム 4.00 g を水に溶かして 100 mL とした。

0.1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液 : 炭酸ナトリウム(無水) 1.07 g を水に溶かして 100 mL とした。

固相カートリッジ : ジーエルサイエンス社 強陽イオン交換樹脂ミニカラム InertSep MC-1、250mg/6mL を用いた。

pH 試験紙 : Advantec 社 Test paper UNIV pH 1-11 を用いた。

ろ紙 : Advantec 社 5A(110 mmφ)を用いた。

2.3 装置

HPLC : 島津製作所 Prominence シリーズ (蛍光検出器 RF-20XAS)

ホモジナイザ : IKA 社 T25DS1

ボルテクスミキサ : Scientific Industries 社 VORTEX-GENIE 2

遠心分離機 : 久保田商事 ユニバーサル冷却遠心機 5930

超音波洗浄機 : ブランソン社 卓上型超音波洗浄機 CPX3800-J

pH 計 : 堀場製作所 卓上形 pH 計 F-71

2.4 測定条件

カラム : ジーエルサイエンス社 InertSustain C18 (内径 4.6 mm、長さ 150 mm、粒径 5 μm)、移動相 : A 液 : 0.02 mol/L 酢酸アンモニウム・アンモニア水緩衝液 (pH 9.0)、B 液 : アセトニトリル、グラジェント条件 : 0 分 (A:B=75:25) → 2.5 分 (A:B=68:32) → 8.0 分 (A:B=68:32) → 10.0 分 (A:B=20:80) → 12.0 分 (A:B=20:80) → 12.01 分 (A:B=75:25) → 16.0 分 (A:B=75:25)、流速 : 1.0 mL/min、カラム温度 : 40 °C、検出器波長 : 励起波長 ; 390 nm、蛍光波長 ; 480 nm、注入量 : 20 μL、サンプルクーラー温度 : 4 °C

2.5 試験溶液の調製

抽出および蛍光誘導体化操作は、菊地ほか⁵⁾ および著者らの既報⁶⁾ によった。ただし、抽出は既報⁵⁾ からスケールダウンして行った。

また精製操作は、久保田ほか⁷⁾ によった。

(1) 抽出

均質化した試料 5 g を 50 mL 遠沈管に秤り取り、5 % TCA 20 mL を加えて、1 分間ホモジナイズした。これを 4 °C、毎分 3000 回転で 10 分間遠心分離した。上清はろ紙 5A でろ過し、ろ液を 50 mL メスシリンダに取った。遠沈管中の残渣には 5 % TCA 20 mL を加えて攪拌し、5 分間、超音波洗浄機で超音波処理した。これを上記条件で遠心分離して、その上清を同じろ紙でろ過し、ろ液を 50 mL メスシリンダに合わせて入れ、5 % TCA を加えて 50 mL に定容し、粗抽出液とした。

粗抽出液を 0.5 mL 取り、130 μ L の 1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で中和し、次に 4.5 mL の 0.02 mol/L リン酸塩緩衝液を加えて負荷検液とした。負荷検液について、pH 試験紙で pH が約 7 であることを確認した。

負荷検液全量について、次の精製操作を行った。抽出操作のフローを図 2 に示す。

(2) 精製

固相カートリッジに、メタノール、水、0.02 mol/L リン酸塩緩衝液の各 5 mL をこの順に通液してコンディショニングを行い、その後、負荷検液を全量負荷した。次いで、0.02 mol/L リン酸塩緩衝液 5 mL で洗いこみ、水、メタノール、水を順次、それぞれ 5 mL 通液し、洗浄した。

最後に 4.5 mL の 0.1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液で目的物を溶出し、溶出液を 31.3 μ L のぎ酸を入れた目盛り付き試験管に採取した。これに 0.1 mol/L 炭酸ナトリウム溶液を加えて 5 mL とし検液とした。検液について、pH 試験紙で pH が約 4 であることを確認した。

精製操作のフローを図 3 に示す。

(3) 蛍光誘導体化

検液を 50 μ L 取り、2 mL の 0.2 mol/L ほう酸塩緩衝液(pH 9.0)に加えて、さらに 0.3 %フルオレスカミン溶液 200 μ L を加え、直ちにボルテクスミキサで 20 秒間攪拌した。この溶液を膜ろ過フィルタでシリンジろ過し、HPLC 用検液とした。

蛍光誘導体化操作のフローを図 4 に示す。

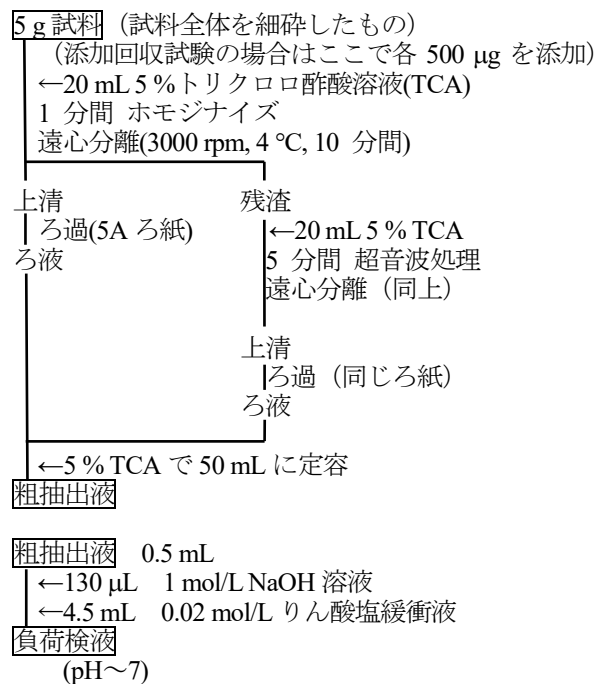


図 2 抽出操作のフロー

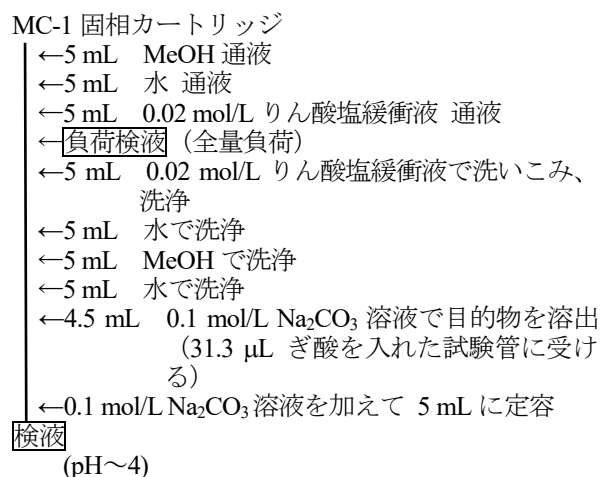


図 3 精製操作のフロー

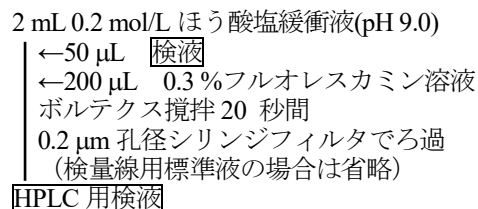


図 4 蛍光誘導体化操作のフロー

(4) 添加回収試験

試料 5 g に対して、アミン類濃度が各 100 μ g/g となるように、1,000 μ g/mL 混合標準溶液 (Spd を除く) を 0.5 mL 添加し、(1) の操作から前処理を行った。

ただし、アジフライは、試料中に水分が乏しかったため、5 % TCA 抽出液で湿潤してから混合標準溶

液 (Spd を除く) を添加して、(1) の操作から前処理を行った。

2.6 HPLC 測定

検量線用混合標準溶液について、前項の誘導体化操作を行い、HPLC 分析を行った。なお、膜ろ過フィルタによるシリンジろ過は省略した。各標準溶液について得られたピーク面積値から回帰直線の検量線を作成した。

検量線上の下限については、 $s/n = 10$ 以上となることを、検量線最低濃度とした。

得られた検量線パラメータと検液のピーク面積値から検液中の NVA 濃度を決定し、試料中の含有量を求めた。

3. 結果

3.1 HPLC 条件の検討

図 5(a), (b) に、久保田ほかの方法⁷⁾ の条件により得られた HPLC クロマトグラム、および本研究の条件検討で決定した HPLC 条件により得られた HPLC クロマトグラムを、それぞれ示す。

久保田ほかの条件では、Put と Spd のピークが重なるが、本研究の条件では、Spd のピークが二山形になるものの、その他の NVA 由来のピークと分離した。

3.2 実試料およびその添加検体の HPLC クロマトグラム

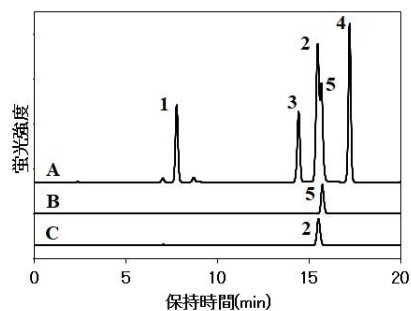
アジフライ、イワシ丸干しおよびサバ缶詰 (味噌煮) についての無添加 (SPBL) および 100 $\mu\text{g/g}$ 添加 (Spiked) の HPLC クロマトグラムを図 6(a)-(c) に示す。

3.3 検量線濃度範囲の決定

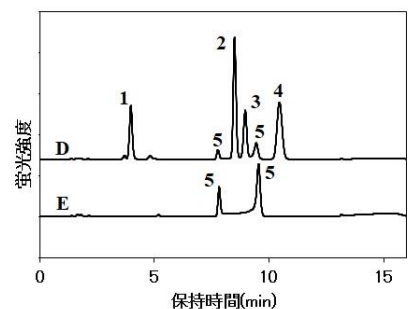
Him を除く 3 種類の NVA の検量線範囲を、検液の濃度で 0.05 $\mu\text{g/mL}$ から 5 $\mu\text{g/mL}$ とした。この濃度範囲は、検体中の含有量として 5 $\mu\text{g/g}$ から 500 $\mu\text{g/g}$ に対応する。Him については、検量線範囲を、検液の濃度で 0.1 $\mu\text{g/mL}$ から 5 $\mu\text{g/mL}$ とした。この濃度範囲は、検体中の含有量として 10 $\mu\text{g/g}$ から 500 $\mu\text{g/g}$ に対応する。

3.4 添加回収率の真度と繰り返し精度

アジフライ、イワシ丸干しおよびサバ缶詰 (味噌煮) について、本報告の添加回収試験 ($n=5$) を行い、表 1 に示す結果を得た。



(a) 久保田ほかの方法



(b) 本研究の方法

図 5 本研究により分離が改善した標準液の HPLC クロマトグラム。A、D : 5 種混合、B、E : Spd 単品、C : Put 単品。ピーク帰属 1: Him、2: Put、3: Tym、4: Cad、5: Spd。

4. 考察

4.1 本研究で検討した検査法の HPLC 分析条件について

本研究では、蛍光検出 HPLC の分離カラムおよび移動相を、久保田ほかの既報⁷⁾ から変更した。

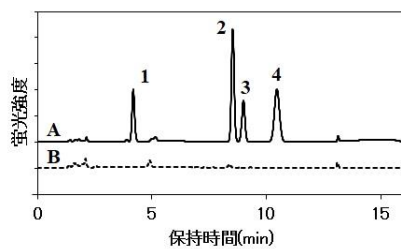
図 5 に示したように、本研究の方法では、アミン類の一種としてしばしば分析対象となるが生体アミン指標ではない Spd 由来ピークによる Put 由来ピークへの重なりを回避できた。

なお、本方法では、使用した移動相が高 pH であることから、それに耐えうる分離カラムを使用した。

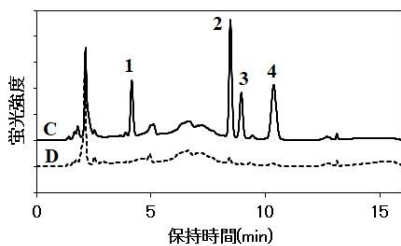
4.2 適用する検体の範囲

菊地ほかの妥当性評価までを含めた Him 分析法⁵⁾ では、特にサンプルとしてイワシ丸干しを用いた場合、TCA 抽出液を水酸化ナトリウムで中和する際に白濁が生じ、後段の固相カートリッジ精製に支障が出るため、遠心分離により懸濁物を沈降分離する必要があるとされた。

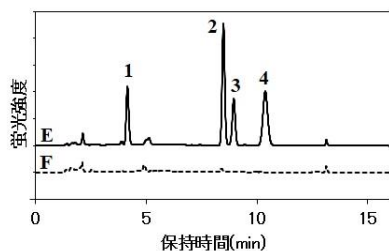
本方法では、その方法に比べて、TCA 抽出液の使用量を 10 分の 1 にし、中性緩衝液での希釈液量を 2 分の 1 にしたが、白濁は生じなかった。



(a) アジフライ



(b) イワシ丸干し



(c) サバ缶詰 (味噌煮)

図6 実試料に対する標準品の添加および無添加の場合の HPLC クロマトグラム。A, C, E: 添加 (Spiked 100 $\mu\text{g/g}$)、B, D, F: 無添加 (SPBL)。ピーク帰属 1: Him、2: Put、3: Tym、4: Cad。

本研究の方法は、抽出液の希釈率を高めた方法であり、中和時の沈殿生成を回避できたと考えられた。

4.3 定量下限とアミン類の海外での基準

本方法の Him の定量下限 10 $\mu\text{g/g}$ は、著者らの既報⁶⁾ の Him 単独の検査法の定量下限の 20 $\mu\text{g/g}$ を下回り、既報の検査法に比べて、より確からしく検査を行うことが示された。

著者らが既報⁶⁾ で述べたように、Codex 委員会は、魚介およびその加工品の Him 濃度が 20 mg/100 g (=200 $\mu\text{g/g}$) を超えないことを基準としている⁸⁾。本方法の定量下限は、その基準値の 20 分の 1 であり、十分に、要求される精度で検査結果を与えるものと考えられた。

4.4 実試料への標準品無添加および添加でのクロマトグラム

図6に示したとおり、(a) アジフライおよび (c) サバ缶詰 (味噌煮) では、精製操作を経て得られた HPLC 用検液の HPLC クロマトグラムは、目的の NVA 以外のピークは小さく、また妨害もなかった。

また (b) イワシ丸干しでは、クロマトグラムのベースラインが変動したが、4種類の NVA については、妨害ピークがなく、定量に問題はなかった。

これらの検討結果から、本方法は、種々の検体に適用できることが期待される。

4.5 実試料での回収率と繰り返し精度

表1に示したとおり、回収率は、すべてのサンプルで4種類の NVA について、70%以上であった。

本方法は、健康危機管理対応の検査法として検討しており、分析法の性能基準を、「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法」⁹⁾ の基準から引用すると、50%から200%の範囲となる。よって、本方法は健康危機管理対応の方法として性能基準を満たすと判断された。

また、繰り返し精度はすべてのサンプル、4種類の NVA について、変動係数 CV% (RSD%) が4%未満であった。

分析法の性能基準⁹⁾ には、RSD% < 30% と規定されており、本研究で得られた繰り返し精度はこの基準を満たすものであった。

4.6 実験の操作性と所要時間

固相カートリッジを二連でタンデムに連結して使用する著者らの既報⁶⁾ の方法でも、精製操作の分析時間は短縮されたが、本方法では、使用する固相カートリッジは1個であり、圧力損失の影響が少なく、単に陰圧にすることにより通液が可能であり、操作性に優れた。

本方法の分析の所要時間は、1名で検体数6個を分析した場合、抽出操作に1時間30分、精製操作に40分間、誘導体化および後処理に20分間を要し、抽出から HPLC までの所要時間は約2時間30分であった。

また、本方法では HPLC の1注入の所要時間が16分間のため、著者らの既報⁶⁾ より短時間で4種の NVA を判定可能となった。

5. 結論

本研究では、魚介およびその加工品中の NVA 4 種

表 1 添加回収試験結果 (n =5)。RR% : 平均回収率、RSD% : 繰り返し精度。

物質名 項目	Him		Tym		Put		Cad	
	RR%	RSD%	RR%	RSD%	RR%	RSD%	RR%	RSD%
アジフライ	81.3	2.34	77.7	2.01	81.4	2.84	80.5	3.28
イワシ丸干し	85.0	3.18	82.2	2.91	85.5	3.33	84.0	3.10
サバ缶詰 (味噌煮)	89.5	0.88	85.8	1.38	85.9	1.61	85.3	1.95

についての一斉分析法を検討した。その結果、以下の知見が得られた。

- 1) HPLC 条件を改良し、魚介類の腐敗指標として提案されている生体アミン指標の Him、Tym、Put、Cad の分離がよい条件とした。
- 2) 最も分析が困難とされる検体であるイワシ丸干しについても、定型の分析方法で支障が出ることはなかった。このことから、本方法は、数多くの種類の検体に適用できる分析法と期待される。
- 3) 添加回収試験結果と分析所要時間から、本方法は、健康危機管理対応の検査法として適当であると考えられた。

文 献

- 1) 登田美桜他:国内外におけるヒスタミン食中毒.国立医薬品食品衛生研究所報告,**127**,31-38,2009
- 2) Rice, S. L. et al:Biologically active amines in food: a review.*J. Milk Food Technol.*,**39**,353-358,1976
- 3) Joint FAO/WHO export meeting on the public health risks of histamine and other biogenic amines from fish and fishery products,2012

https://apps.who.int/iris/bistream/handle/10665/89216/9789240691919_eng.pdf

- 4) Prester, L.:Biogenic amines in fish, fish products and shellfish:a review.*Food Additives and Contaminants*,**28**,1547-1560,2011
- 5) 菊地博之他:フルオレスカミン誘導体化 HPLC 法による魚および水産加工品中のヒスタミン分析の性能評価.食品衛生学雑誌,**53**,121-127,2012
- 6) 花石竜治他:健康危機管理に対応した食品中のヒスタミン分析の検討.青森県環境保健センター年報,**30**,25-31,2019
- 7) 久保田晶子他:フルオレスカミン誘導体化 HPLC 法による食品中の不揮発性アミン類分析法.食品衛生学雑誌,**60**,61-67,2019
- 8) 内閣府食品安全委員会 編:ファクトシート.2014年3月26日最終更新. URL:
http://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets/140326_histamine.pdf (2020年1月8日現在アクセス可能)
- 9) 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法.厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡,平成25年3月26日.

An examination of the analytical method for the determination of non-volatile amines in foods for health risk management

Ryuji Hanaishi, Akemi Yamamoto

An analytical method for the determination of non-volatile amines (NVAs) in foods for health risk management was studied. The method already reported by the authors was employed for the extraction and derivatization of NVAs. In this study, the high-performance liquid chromatography (HPLC) conditions were explored to separate five types of NVAs, namely, histamine, tyramine, putrescine, cadaverine, and spermidine. The use of high-pH mobile phases for a C18 reversed-phase column in the HPLC analysis of the fluorecamine derivatives of these amines enabled the separation of spermidine from four other amines considered to be an index for the decomposition of fishes, leading to a successful testing. In addition, a spike-and-recovery test was conducted using the purification procedure already reported by Kubota et al., which resulted in the sufficient recovery rates with high repeatability. In conclusion, the analytical method described in this report demonstrated its usefulness as a method for determining NVAs for health risk management.

Key words: health risk management, non-volatile amines, fluorecamine, solid phase extraction, HPLC

2 ノ ー ト

青森県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の バンコマイシン耐性型と PFGE 分析 (2019 年)

高橋洋平 山上剛志 武差愛美¹

2019年1月から12月までの期間に青森県内で検出され青森県環境保健センターに搬入された *Enterococcus* 属菌のうち、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) と判定された 32 株を対象として、PCR による菌種同定、ディスク拡散法によるバンコマイシン耐性型の推定、PCR による *van* 遺伝子の検出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を実施した。その結果、28 株が *vanA* を保有する *E. faecium*、2 株が *vanB* を保有する *E. faecium*、2 株が *vanB* を保有する *E. raffinosus* であった。このうち、*vanA* を保有する *E. faecium* の PFGE は、いずれの株も類似したバンドパターンを示した。

Key words : VRE, *vanA*, *vanB*, PCR, PFGE

1. はじめに

バンコマイシン (VCM) に対して抵抗性を持った腸球菌 (*Enterococcus* spp.) を、バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-Resistant Enterococci; VRE) と呼ぶ。VRE の VCM 耐性化の原因は、主に細菌細胞壁を形成するペプチドグリカンの合成に関わる *van* 遺伝子の獲得による。*van* 遺伝子のうち、*vanA*, *vanB* はプラスミド上に存在することが多く、接合等により他の菌種に伝播することが知られている¹⁾。

VRE は感染症法において五類全数把握対象疾患に位置付けられており、感染症発生動向調査 (NESID) によると、2019 年の VRE 感染症の累積報告数は、全国で 80 人、青森県では 5 人であった⁴⁾。

当センターでは、2018 年より、患者及び無症状病原体保有者に由来する VRE の分子疫学解析を実施している。今回、2018 年の報告³⁾に続き、2019 年に当センターに搬入された VRE に対し、PCR による菌種の確認、ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定、*van* 遺伝子の検出に加え、PFGE による分子疫学解析を実施したので報告する。

2. 材料と方法

2.1 材料

2019 年 1 月から 12 月までの期間に、青森県内で検出され当センターに搬入された *Enterococcus* 属菌

34 株のうち、VRE と判定された 32 株を用いた。

なお、VRE と判定されなかった *Enterococcus* 属菌は 2 株で、1 株はバンコマイシン感性腸球菌 (VSE)、1 株はバンコマイシン中間耐性腸球菌 (VIE) であった。

2.2 方法

(1) PCR による菌種の確認

アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型とし、国立感染症研究所で示している方法²⁾にしたがい、前回の報告³⁾と同様に、*E. faecalis* 及び *E. faecium* の *ddl* 遺伝子を multiplex PCR により検出した。

(2) ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定

VCM 及びテイコプラニン (TEIC) の KB ディスク (栄研化学) を用い、国立感染症研究所で示している方法²⁾にしたがい、前回の報告³⁾と同様に、1 濃度ディスク拡散法により実施した。

(3) PCR による *van* 遺伝子の検出

国立感染症研究所で示している方法²⁾にしたがい、前回の報告³⁾と同様に、(1)の PCR と同じ条件で *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/3* を multiplex PCR により検出した。

(4) PFGE による分子疫学解析

前回の報告³⁾と同様の手順でプラグを作製し、PFGE は、CHEF DR-III (Bio-Rad)により、0.5× TBE 中、1% SeaKemGold agarose (Lonza)で、バッファー温度 14 °C、6 V/cm、パルス角度 120°、スイッチタイム

¹環境生活部環境保全課

3.0~21.0 sec 又は 2.8~17.4 sec、泳動時間 19 h として実施した。ラダーマーカーには *Salmonella Braenderup* H9812 株を用いた。

泳動像の解析は、バンドパターンの直接比較に加え、一部についてはゲル間比較による系統樹解析を行った。解析には CLIQS 1D Pro (TotalLab) を使用し、 R_f Vector (Tolerance) を 0.01、類似度計算を Dice 法、クラスター解析を UPGMA 法とした。また、バンドの再現性に乏しい約 45 kbp 以下のバンドは解析から除外した。

3. 結果

3.1 PCR による菌種の確認

PCR の結果、32 株中 30 株が *E. faecium* と同定された。2 株はバンド不検出であったことから *E. faecium* 及び *E. faecalis* 以外の菌種と推定され、RapID STR (極東製薬) の結果から *E. raffinosus* と判定された。

3.2 ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定

ディスク拡散法の結果、32 株中 28 株 (いずれも *E. faecium*) では、VCM 及び TEIC のいずれにも阻止円が形成されなかったことから、VCM 耐性型は VanA 型と推定された。残る 4 株 (*E. faecium* 2 株、*E. raffinosus* 2 株) では、VCM に耐性かつ TEIC に感性であったことから、VanB 型と推定された。

3.3 PCR による *van* 遺伝子の検出

PCR の結果、32 株中 28 株 (いずれも *E. faecium*) で *vanA* が、4 株 (*E. faecium* 2 株、*E. raffinosus* 2 株) では *vanB* が検出され、ディスク拡散法による VCM 耐性型と一致した。

3.4 PFGE による分子疫学解析

PFGE の結果、比較可能なバンドが 15 本程度得られた。1 月~10 月に搬入された *vanA* を保有する *E. faecium* 26 株について、得られた画像 (スイッチタイム 3.0~21.0 sec) を系統樹解析に付した結果、図 1 に示す結果が得られた。また、11 月~12 月に搬入された *vanA* を保有する *E. faecium* 2 株からは図 2 に示す PFGE パターン (スイッチタイム 2.8~17.4 sec) が、*vanB* を保有する *E. faecium* 及び *E. raffinosus* 各 2 株からは図 3 に示す PFGE パターン (スイッチタイム 2.8~17.4 sec) がそれぞれ得られた。

4. 考察

菌株の変異により経時的に PFGE パターンが少しずつ変化することを踏まえると、*vanA* を保有する *E. faecium* 26 株の PFGE は、系統樹解析において全体的に類似したパターンを示した。2019 年 11 月~12 月に搬入された株についても、バンドパターンに

は相応の変異がみられたものの、類似度は 80%前後であったことから、結果として、全ての株が同一菌株由来と考えられた。

また、*vanB* を保有する菌株のうち、*E. raffinosus* 2 株は互いに類似した PFGE パターンを示した一方、*E. faecium* 2 株は各々の PFGE パターンが大きく異なり、これまで得られている PFGE パターン³⁾とも類似していなかった。*vanB* を保有する VRE は 2018 年には検出されていないことから、*vanA* 保有株とは別系統の VRE も県内に存在することが示唆された。*vanB* を保有する *E. raffinosus* と *E. faecium* が共通のプラスミドを保有するかは不明であるが、感染対策に資するため、今後もサーベイランスを継続していく必要があると考えられる。

5. まとめ

- 1) 2019 年に青森県内で検出され青森県環境保健センターに搬入された VRE 32 株のうち、28 株が *vanA* を保有する *E. faecium*、2 株が *vanB* を保有する *E. faecium*、2 株が *vanB* を保有する *E. raffinosus* であった。
- 2) PFGE の結果、*vanA* を保有する *E. faecium* 28 株全てが同一菌株由来と考えられた。また、*vanB* を保有する *E. raffinosus* 2 株は同一菌株由来と考えられるが、*vanB* を保有する *E. faecium* 2 株は別の菌株由来であることが示唆された。
- 3) 青森県内の院内感染対策や疫学調査の一助とすべく、今後も VRE 等の菌株の収集及び解析を実施し、県内で検出される薬剤耐性菌の菌種や病原遺伝子の保有状況等のサーベイランスを継続していく。

謝 辞

PFGE の実施方法等についてご助言をいただきました、国立感染症研究所 薬剤耐性研究センターの先生方に厚くお礼申し上げます。また、菌株の搬入に御尽力いただいた、県内各保健所の感染症担当の方々及び医療機関の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 令和 2 年 6 月改定版 ver 2.0. 15-19, 2020
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 平成 28 年 12 月改定版 ver 1.1. 15-19, 2016
- 3) 高橋洋平他：青森県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) のバンコマイシン耐性型と PFGE 分析 (2018 年) . 青森県環境保健センター研究報告, 30, 62-64, 2019
- 4) 青森県環境保健センター (青森県感染症情報セン

ター) : 青森県感染症発生動向調査事業報告書 令和元年 (2019) 年報. 75, 2020

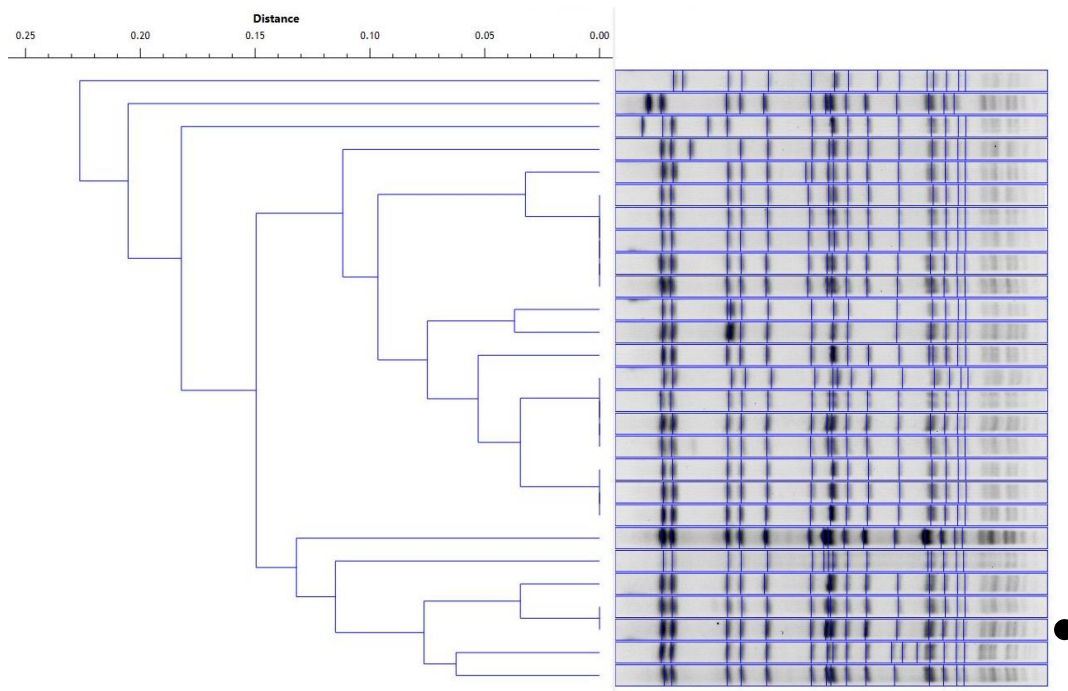


図 1 *vanA* 保有株の PFGE パターンと UPGMA 法による系統樹 (2019 年 1 月～10 月搬入株)
(● : 2018 年 12 月搬入株 (比較対象))

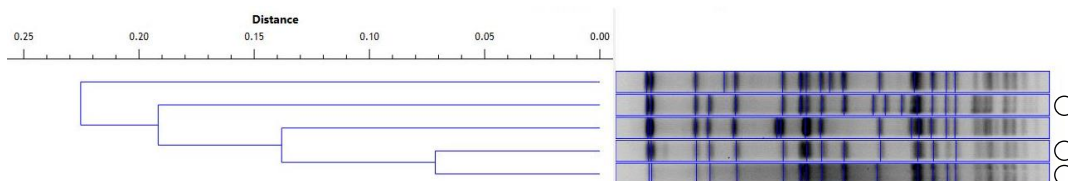


図 2 *vanA* 保有株の PFGE パターンと UPGMA 法による系統樹 (2019 年 11 月～12 月搬入株)
(○ : 2019 年 1 月～10 月搬入株)

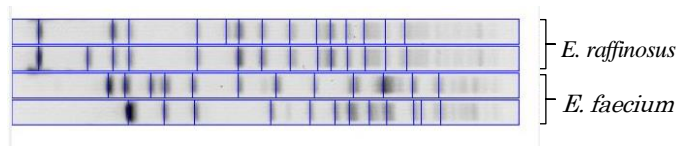


図 3 *vanB* 保有株の PFGE パターン

青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性 (2019 年)

橋本恭奈 山上剛志 高橋洋平 武差愛美¹

2019 年 1 月から 12 月までの期間に県内 11 定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌 63 株のうち、集団感染事例由来の同一株を除く 46 株を対象として、血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施した。血清型別試験の結果、O4:i- が最も多く、次いで Typhimurium、Enteritidis が多かった。また、薬剤感受性試験の結果、23 株が 1 剤以上の薬剤に耐性であり、第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した 1 株からは CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が検出された。血清型と薬剤耐性パターンを比較すると、O4:i- には薬剤耐性株が多く、Typhimurium、Bredeney、Saintpaul、Thompson には薬剤耐性株が少ない傾向が見られた。

Key words : *Salmonella*, serotype, PCR, Susceptibility test, AMR

1. はじめに

サルモネラ属菌 (*Salmonella* spp.) は腸内細菌科 (Enterobacteriaceae) 細菌に属するグラム陰性桿菌であり、O 抗原、莢膜抗原 (Vi 抗原)、鞭毛抗原 (H 抗原) の組み合わせにより約 2,500 の血清型がある¹⁾。

青森県環境保健センターでは、県内の 11 定点医療機関でヒトから分離されたサルモネラ属菌の菌株を収集し、血清型別試験、薬剤感受性試験等を実施している^{2), 3)}。今回、2019 年に当センターに搬入されたサルモネラ属菌の血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施したので報告する。

2. 材料と方法

2.1 材料

2019 年 1 月から 12 月に県内の 11 定点医療機関から搬入されたサルモネラ属菌 66 株のうち、同一患者から一定期間にわたり複数回分離された同一株 3 株及び 2019 年 8 月から 9 月に広域流通食品による *S. Enteritidis* の食中毒事例の代表株以外の疫学的関連株 17 株を除いた、46 株を用いた。

2.2 方法

(1) 血清型別試験

サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ生研) を用い、

定法にしたがって血清型を確認した。

併せて、アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型として既報⁴⁾のプライマーによる multiplex PCR を実施し、複相菌の 2 相発現に関与する *fjB* 遺伝子保有状況等を確認した。PCR 試薬は QIAGEN Multiplex PCR plus kit (QIAGEN 社) を用い、試薬量及び反応条件はキットの取扱説明書にしたがった。得られた増幅産物は 3 % アガロースゲルで電気泳動した。multiplex PCR での検出感度が低く判定できなかった遺伝子に関しては、single PCR にて追加試験を行い、判定材料とした。

(2) 薬剤感受性試験

KB ディスク (栄研化学) を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン II 寒天培地 (BD) に塗布し、ディスク配置後、35 °C、好氣的条件下で 16~18 時間培養後判定した。使用薬剤は、β-ラクタム系薬剤 13 剤 (ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, CFPM, CMZ, LMOX, FRPM, IPM, MEPM, AZT) 及びそれ以外の薬剤 13 剤 (FOM, GM, KM, AMK, TC, MINO, DOXY, NA, CFPX, LVFX, ST, CP, CL) の計 26 薬剤とした。

また、薬剤感受性試験で第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した株については、国立感染症研究所で

1 環境生活部環境保全課

示している方法⁵⁾にしたがい、阻害剤を用いたディスク拡散法によるスクリーニング及び PCR による薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

3. 結果

3.1 血清型別試験

2019年に搬入されたサルモネラ属菌の血清型の内訳では O4:i:- が 11 株と最も多く、次いで Typhimurium (6 株) と Enteritidis (4 株) が多かった。このほか、Bredeney、Saintpaul、Schwarzengrund、Thompson が各 3 株、Stanley、Altona が各 2 株、その他の血清型はいずれも 1 株であった (表 1)。

PCR では、*fljB* が全ての複相菌から検出された一方、単相菌からはいずれも検出されなかった。なお、Manhattan [O6,8:d:1,5] は、multiplex PCR では *fljB* が検出されなかったため、multiplex PCR で使用した *fljB* と同じプライマーを用いて single PCR を実施したところ、*fljB* が検出された。

表 1 2019 年搬入株の血清型

O 血清群・血清型	株数 (内訳)
O4	29
Agona	1
Bredeney	3
O4:i:-	11
Saintpaul	3
Schwarzengrund	3
Stanley	2
Typhimurium	6
O6,7	6
Infantis	1
Oranienburg	1
Tennessee	1
Thompson	3
O6,8	4
Blockley	1
Manhattan	1
Muenchen	1
Newport	1
O8	3
Altona	2
Corvallis	1
O9	4
Enteritidis	4
総計	46

3.2 薬剤感受性試験

薬剤耐性パターンと菌株数の内訳は表 2 のとおりであった。なお、CL には判定基準が設定されていないものの、阻止円径が目立って小さい株はなかった。

1 剤以上に耐性の株は 46 株中 23 株であった。このうち、ペニシリン系薬剤 (ABPC, PIPC) 1 剤以上に耐性の株は 9 株であり、さらにその 9 株全てがテトラサイクリン系薬剤 (TC, MINO, DOXY) 1 剤以上にも耐性を示した。また、キノロン系薬剤である NA に耐性の株が 1 株、アミノグリコシド系薬剤 (GM, KM, AMK) に 1 剤以上耐性の株が 4 株、ST 耐性株が 3 株、CP 耐性株が 2 株認められた。

表 2 に示す株のうち、第 3 世代セフェム系薬剤 (CTX, CAZ) を含む 11 剤に耐性であった 1 株について、ディスク拡散法ではクラブラン酸 (CVA) 及びスルバクタム (SBT) による阻害効果が認められ、PCR では CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が検出された。

表 2 2019 年搬入株の薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	株数
全て感性	23
ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, AZT, KM, TC, DOXY, CP	1
ABPC, TC, MINO, DOXY	7
ABPC, TC, MINO, DOXY, ST, CP	1
KM	1
KM, TC	1
KM, TC, DOXY, ST	1
NA	1
TC	3
TC, DOXY	1
TC, DOXY	2
TC, MINO, DOXY	3
TC, ST	1
総計	46

4. 考察

血清型と薬剤耐性パターンの内訳を表 3 に示す。2019 年最多件数の O4:i:- では、11 株中 7 株が ABPC に、そして 11 株全てがテトラサイクリン系薬剤に耐性を示した。また、搬入株全体でアミノグリコシド系薬剤に対する耐性が少ない傾向が見られる中、Schwarzengrund においては、3 株全てが KM に耐性であった。一方、Typhimurium や Bredeney、Saintpaul、Thompson では耐性が比較的少ない傾向にあった。以

上のことは、2017 年²⁾、2018 年³⁾でも似たような傾向が見られている。

また、今回収集した株の中に ESBL 産生の Blockley があったが、当センターに搬入されたサルモネラ属菌の中で、ESBL 遺伝子を保有する菌株は初めてである。なお、同一患者から ESBL 産生の *K. pneumoniae* が同時に検出されていたが、当センターで併せて PCR を実施したところ TEM 型と CTX-M-9 グループの ESBL 遺伝子が検出された。このことから、これら 2 株の ESBL 遺伝子はプラスミドの水平伝搬ではなく、各々が独立して保有していたものと考えられる。

薬剤耐性の傾向をはじめ、検出頻度の多い病原性細菌の菌種や血清型等を病原体サーベイランスによって把握しておくことは、院内感染対策及び疫学調査等の一助となると考えられる。そのため今後も菌株の収集及び性状解析を継続して実施し、データを蓄積・分析していく必要がある。

表 3 血清型と薬剤耐性パターンの内訳

血清型と薬剤耐性パターン	株数
Agona	1
TC, DOXY	1
Blockley	1
ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, AZT, KM, TC, DOXY, CP	1
Corvallis	1
TC, MINO, DOXY	1
O4:i:-	11
ABPC, TC, MINO, DOXY	6
ABPC, TC, MINO, DOXY, ST, CP	1
TC	2
TC, MINO, DOXY	2
Infantis	1
TC, ST	1
Manhattan	1
TC, DOXY	1
Schwarzengrund	3
KM	1
KM, TC	1
KM, TC, DOXY, ST	1
Stanley	2
全て感性	1
ABPC, TC, MINO, DOXY	1
Typhimurium	6
全て感性	3

NA	1
TC	1
TC, DOXY	1

※同一血清型の全株が全ての薬剤に感性であったもの(19 株)は、表から除外している。

5. まとめ

- 2019 年に県内 11 定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌 46 株を対象に血清型別試験を実施した結果、O4:i:-が最も多く、次いで Typhimurium、Enteritidis が続いた。
- 薬剤感受性試験の結果、46 株中 23 株が 1 剤以上の薬剤に耐性であった。その多くはペニシリン系薬剤又はテトラサイクリン系薬剤もしくはその両方に耐性を示し、NA 耐性株も 1 株認められた。また、第 3 世代セフェム系薬剤耐性だった 1 株からは、CTX-M-1 グループの ESBL 遺伝子が検出された。
- O4:i:-には耐性株が多く、Typhimurium や Bredeney、Saintpaul、Thompson には少ない傾向が見られた。また Schwarzengrund においては、全ての株が KM に耐性を示した。
- 検出頻度の多い病原性細菌の菌種や血清型等を把握するため、今後も菌株収集及び性状解析を実施し、データの蓄積と分析を行っていく。

謝 辞

菌株収集に御協力いただいた、青森県立中央病院、青森市医師会臨床検査センター、青森市民病院、弘前市医師会健診センター、弘前市立病院、八戸市医師会臨床検査センター、八戸市立市民病院、つがる西北五広域連合つがる総合病院、十和田市立中央病院、一部事務組合下北医療センターむつ総合病院、公立野辺地病院の検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 吉田眞一他編：戸田新細菌学改訂 34 版. 南山堂, 東京, 2013
- 高橋洋平他：青森県内におけるサルモネラ属菌の性状解析(2017 年). 青森県環境保健センター年報, **28**, 31-36, 2017
- 高橋洋平他：青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性(2018 年). 青森県環境保健センター年報, **30**, 65-68, 2019
- Lee, K. et al. : A novel multiplex PCR assay for *Salmonella* subspecies identification. *J. Appl. Microbiol.*, **107**, 805-811, 2009

5) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター：薬剤耐性菌研修会資料, 2017 年 9 月

青森県における酸性雨実態調査結果 ～平成26年度から令和元年度まで～

田村 麻衣子

青森県内で平成26年度から令和元年度までに実施した酸性雨実態調査について検討した。pHの推移についてはやや低下あるいは横ばい傾向にあり、県内調査地点2地点における全期間の降水量に基づく加重平均によるpHの平均値は4.88及び4.92であった。

Key words : acid rain, pH

1 はじめに

環境省が定めた越境大気汚染・酸性雨長期モニタリング計画では、モニタリングは大気モニタリングと生態影響モニタリングに区分され、大気モニタリングの中に湿性沈着モニタリングが含まれている。

大気モニタリングは、越境大気汚染の影響を調査し、日本国内における酸性物質、オゾン、PM2.5等の大気汚染物質の濃度及び沈着実態を把握することを目的としている。

本県ではこれまでに県単独事業及び国事業の受託により酸性雨モニタリング調査を実施してきた。今回、平成26年度から令和元年度までの県単独事業により調査した青森市と鯉ヶ沢町のpHについて、月別推移等を取りまとめたので報告する。

2 調査の概要

2.1 調査方法

調査は環境省の「湿性沈着モニタリング手引き書(第2版)(平成13年3月)」に基づき、降水時間開放型捕集装置により試料を採取しpHを測定した。pHメーターは株式会社堀場製作所製LAQUAF-72、pH電極は株式会社堀場製作所製9615S-10Dを使用した。

2.2 調査地点

平成25年度以降は、青森市(環境保健センター屋上)及び鯉ヶ沢町(鯉ヶ沢道路河川事務所屋上)の2地点で

調査を行っている。

3 調査結果

3.1 月別推移

3.1.1 青森市

平成26年度から令和元年度までのpHの月別推移は図1のとおりであった。

ばらつきはあるものの、概ね春・夏・秋季に比べて冬季に低くなる傾向がみられた。

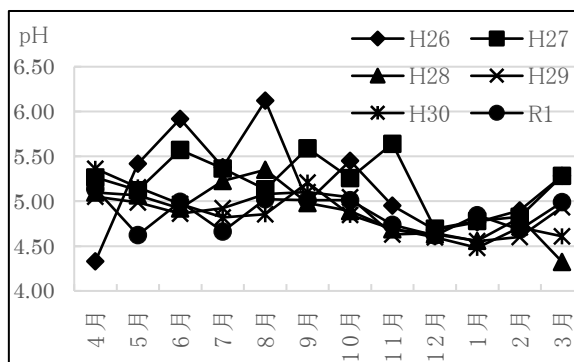


図1 青森市のpHの月別推移
(平成26年度～令和元年度)

3.1.2 鯉ヶ沢町

平成26年度から令和元年度までのpHの月別推移は図2のとおりであった。

ばらつきはあるものの、概ね春・夏・秋季に比べて冬季に低くなる傾向がみられた。

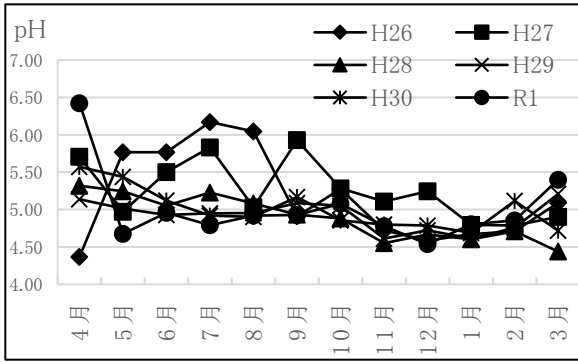


図2 鱒ヶ沢町のpHの月別推移
(平成26年度～令和元年度)

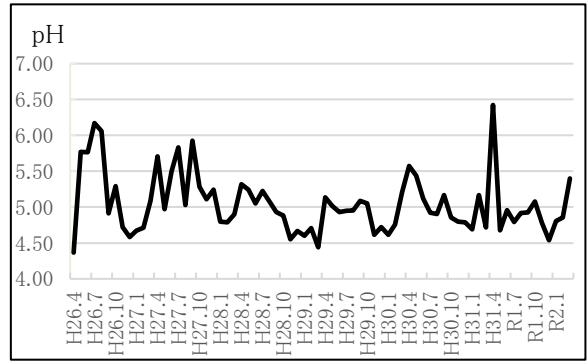


図4 鱒ヶ沢町のpHの経年変化
(平成26年度～令和元年度)

3.2 経年変化

3.2.1 青森市

平成26年度から令和元年度までのpHの経年変化は図3のとおりであった。最高値は平成26年8月の6.12、最低値は平成29年3月の4.32で、降水量に基づく加重平均によるpHの平均値は4.88であった。

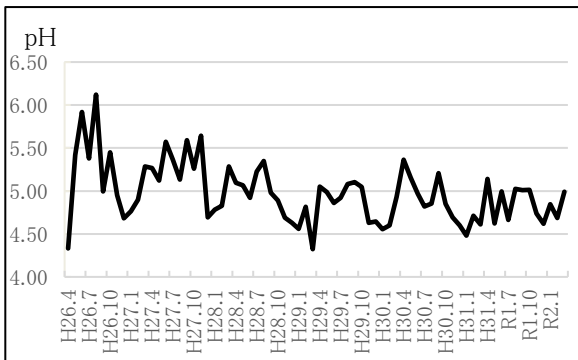


図3 青森市のpHの経年変化
(平成26年度～令和元年度)

3.2.2 鱒ヶ沢町

平成26年度から令和元年度までのpHの経年変化は図4のとおりであった。最高値は平成31年4月の6.42、最低値は平成26年4月の4.37で、降水量に基づく加重平均によるpHの平均値は4.92であった。

4 まとめ

pHの月別推移は、青森市・鱒ヶ沢町ともにばらつきはあるものの、概ね春・夏・秋季に比べて冬季に低くなる傾向が見られた。環境省が発表した越境大気汚染・酸性雨長期モニタリング報告書(平成25～29年度)(以下「報告書」という。)では、冬季に日本海側でH⁺濃度が高くなる、すなわち、pHが低くなる傾向が認められ、大陸に近い本州中北部日本海側及び山陰で特に顕著であることが報告されており、本結果とその内容とがほぼ一致した。

pHの経年変化は、青森市と鱒ヶ沢町でほぼ同様の傾向が見られ、降水量に基づく加重平均値は青森市が4.88、鱒ヶ沢町が4.92であった。報告書によると、環境省が測定した全国の測定地点のpHの降水量加重平均値(本県では外ヶ浜町において調査を実施)は4.77と報告されており、本結果は全国平均よりわずかに高い数値であった。

なお、pHをはじめ同時に分析しているイオン成分等の調査結果は全国環境研協議会の酸性雨部会がデータを収集・解析し同協議会の会誌で公表しているところであり、同会誌で公表される全国の状況と比較し、今後考察していくこととしたい。

青森県環境保健センター年報

令和2年度
令和3年3月発行

編 集 青森県環境保健センター

発 行 〒030-8566 青森市東造道 1-1-1

電 話(017)736-5411 FAX(017)736-5419

メールアドレス KANKYOSENTA@pref.aomori.lg.jp

ホームページ <http://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/kankyosenta/center-home.html>
