

ISSN 1881-6053

秋田県健康環境センター年報

第 12 号

平成 28 年度

ANNUAL REPORT

OF

AKITA RESEARCH CENTER FOR PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENT

No. 12 2016

秋田県健康環境センター

は　じ　め　に

「健康」と「環境」は、私達にとってかけがえのないものであり、私達の日常の営みである生産、消費、学習、レクレーション、ボランティアなどの様々な活動の礎となるものです。

秋田県健康環境センターは、私達が安全・安心に暮らしていくために不可欠な「健康」と「環境」を支えていくための試験検査や調査研究に取り組んでおります。

具体的には、感染症及び食品に関する細菌・ウイルス検査を始め、添加物、成分規格及び残留農薬等の食品検査、河川・湖沼・工場排水等の水質検査、放射能測定、大気・土壤・騒音測定などの広範囲の分野で多数の検査を実施しております。併せて、地域の行政課題やニーズに直結した調査研究に取り組むとともに、国の感染症研究所、環境研究所等との共同研究など全国的研究にも参加しております。

また、感染症の発生動向や、空間放射線量及びPM2.5などの大気汚染物質に関する情報を県民・関係機関・マスコミ等に提供するとともに、分析手法等の技術指導や出前講座を実施するなどして、健康被害の予防や環境の保全についての意識啓発に努めております。

さらには、国際化の進展とその対極にある国際緊張に由来する対応も、これまで以上に重要になってきております。

昨年、ジカ熱が新たに感染症法の指定に加わり、今年は、隣接する山形県で、麻疹（はしか）が海外渡航者を介して集団発生しております。また、記憶の新たなところでは、北朝鮮での核実験がありました。

このような地域や国境の枠を越えて発生する事案に対しても、国や関係自治体等との連携を密にしながら県民の皆様に迅速に情報提供できるよう努めてまいります。

この年報は、主に平成28年度に当センターが行った試験・検査業務や調査研究実績の概要についてまとめたものです。本書を通じてより多くの皆様が、当センターに対する御理解と関心を深めていただくことを祈念申し上げます。

平成29年12月

秋田県健康環境センター所長 杉山 徹

目 次

I 健康環境センターの概要

1. 沿革	1
2. 庁舎の概要	1
3. 組織	1
4. 職員名簿	2
5. 業務内容	3
6. 主要機器	4

II 業務実績

1. 試験検査実績	5
2. 研修・学会等	14
3. 研究業務実績	18

III 報告

<調査研究報告>

・ サポウイルスに対してパンソルビン・トラップ法を用いる際の RNA 検出系の最適化	23
・ ツキヨタケ中の毒性成分イルジン S の分析について	32

<短報>

・ 2016 年に多発傾向がみられたレジオネラ症の疫学解析結果について	37
・ 秋田県内で分離された結核菌の分子疫学解析	39

<資料>

・ 秋田県で分離された結核菌のイソニアジド耐性関連遺伝子と遺伝系統の解析	41
・ ウィルス性肝炎陽性検体の遺伝子学的検討	43
・ 食品のウィルス検査法としてのパンソルビン・トラップ法に用いる 捕捉抗体の供給源に関する検討	45
・ 平成 22~27 年度の食品収去検査における理化学検査結果について	47
・ 田沢湖を含む玉川流域の水質改善に関する検討	49
・ 秋田県におけるオキシダントの高濃度事例について	51
・ 2015~2016 年における伝染性紅斑の流行について	53
・ 秋田空港および大館能代空港における WECPNL と Lden の比較	56

IV 発表業績

1. 学会発表	59
2. 他誌掲載論文等	66

I 健康環境センターの概要

1. 沿革

年月	事項
明治35. 7	衛生試験所を秋田市牛島町に設立。
明治末期	庁舎を秋田市土手長町に移転。
昭和28. 1	衛生研究所に改称。
39. 4	衛生科学研究所に改称。
39. 6	庁舎を秋田市古川堀反町（現千秋明徳町）に新築移転。
45. 7	公害技術センターを秋田市茨島の工業試験場内に設立。
48. 7	庁舎を秋田市八橋に新築移転。
56. 4	環境技術センターに改称。
61. 8	庁舎を秋田市千秋久保田町に新築移転。
平成12. 4	環境センターに改称。 秋田市山王の県庁第二庁舎に総務班及び監視・情報班を置く。
14. 3	八橋分室敷地内にダイオキシン類分析棟を新築。
18. 4	衛生科学研究所と環境センターを組織統合し、健康環境センターとして発足。 千秋庁舎に企画管理室及び保健衛生部を、八橋庁舎に環境部を設置。
21. 4	八橋庁舎の環境部を千秋庁舎に移転し、庁舎を統合。保健衛生部の理化学部門と環境部の化学物質部門を統合した理化学班を環境・理化学部内に設置。組織を企画管理室、保健衛生部及び環境・理化学部とする。
22. 4	保健所の試験検査課を統合。保健衛生部の微生物班を細菌班とウイルス班に再編し、健康科学班を健康科学・管理班に名称変更。環境・理化学部を理化学部と環境保全部に再編。理化学部には、理化学班を再編した食品理化学班と環境理化学班を設置。環境保全部には環境調査班を名称変更した環境保全班を設置。
24. 4	企画管理室の総務・企画班を再編し、総務管理班と企画情報班を設置。保健衛生部の健康科学・管理班を廃止。理化学部の食品理化学班と環境理化学班を統合し、理化学班を設置。

2. 庁舎の概要

- 1) 所在地 秋田市千秋久保田町 6 番 6 号
 2) 敷 地 867.75 m² (建物建床面積)
 3) 建 物 鉄筋コンクリート造 5 階建 延床面積 4,553.52 m²

3. 組織

所長

(平成 29 年 4 月 17 日現在)

企画管理室長		保健衛生部長		理化学部長		環境保全部長	
総務管理班	企画情報班	細菌班	ウイルス班	理化学班		環境保全班	
主幹 1	主任研究員 1	上席研究員 1	上席研究員 1	主任研究員 3		主任研究員 3	
専門員 1	専門員 1	主任研究員 2	主任研究員 3	専門員 1		専門員 1	
主査 1	研究員 1	研究員 2	研究員 1	研究員 3		研究員 3	
主事 1		臨時職員 1	非常勤職員 1	技師 2		技師 2	
技能主任 1				非常勤職員 1		臨時職員 1	
計 5	計 3	計 6	計 6	計 10		計 10	

総職員数 45 名 (正職員 37 名, 専門員 4 名, 非常勤職員 2 名, 臨時職員 2 名)

4. 職員名簿

(平成29年4月17日現在)

		職名	氏名
企画管理室	所長	杉山徹	
	室長	和田佳久	
総務管理班	主幹(兼)班長	大高直樹	
	専門員	黒丸彰徳	
	主査	平野進	
	主任事務	寺本美幸	
	技能主任	国安力	
企画情報班	主任研究員(兼)班長	大野進一	
	専門員	齊藤志保子	
	研究員	樋尾拓子	
保健衛生部	部長	鈴木忠之	
細菌班	上席研究員(兼)班長	熊谷優子	
	主任研究員	高橋志保	
	主任研究員	今野貴之	
	研究員	小川千春	
	研究員	鈴木純恵	
ウイルス班	上席研究員(兼)班長	斎藤博之	
	主任研究員	秋野和華子	
	主任研究員	佐藤寛子	
	主任研究員	藤谷陽子	
	研究員	柴田ちひろ	
理化学部	部長	圓子隆信	
理化学班	主任研究員(兼)班長	小林貴司	
	主任研究員	中村淳子	
	主任研究員	山村力則	
	専門員	佐藤晴美	
	研究員	佐藤由衣子	
	研究員	今野禄朗	
	研究員	櫻庭香織	
	技師	宇賀神理奈	
	技師	佐藤哲	
環境保全部	部長	久米均	
環境保全班	主任研究員(兼)班長	清水匠	
	主任研究員	石垣修	
	主任研究員	松渕亜希子	
	専門員	高橋浩	
	研究員	玉田将文	
	研究員	佐藤健	
	研究員	伊藤悠	
	技師	伊藤佑歩	
	技師	小林涉	

5. 業務内容

(平成 29 年 4 月 1 日現在)

企画管理室	総務管理班	<ul style="list-style-type: none"> ・人事、服務 ・予算、決算 ・庁舎管理、庶務一般
	企画情報班	<ul style="list-style-type: none"> ・研究の企画・評価・進行管理 ・センター中長期計画の進行管理 ・広報、研修 ・行政検査業務の管理 ・危機管理 ・精度管理
保健衛生部	細菌班	<ul style="list-style-type: none"> ・感染症発生動向調査に伴う病原体検査業務 ・細菌感染症と食中毒の試験検査及び調査研究 ・薬剤耐性菌に関する調査研究 ・結核菌の分子疫学解析 ・医薬品等に関する検査 ・収去食品及び環境検体等に関する細菌検査 ・結核登録者情報調査 ・地方衛生研究所技術協議会レファレンスセンター業務 (カンピロバクター、百日咳・ボツリヌス、薬剤耐性菌)
	ウイルス班	<ul style="list-style-type: none"> ・感染症発生動向調査に伴う病原体検査業務 ・ウイルス感染症と食中毒の試験検査及び調査研究 ・感染症流行予測調査(インフルエンザ・日本脳炎) ・つつが虫病の抗体検査及び調査研究 ・感染症情報センター業務
理化学生部	理化学班	<ul style="list-style-type: none"> ・食品中残留農薬に係る試験検査及び調査研究 ・食品放射能の測定 ・有害家庭用品試買検査 ・収去食品の理化学的検査 ・工場・事業場排水中の化学物質の検査 ・廃棄物関係行政検査 ・環境中の化学物質に関する調査研究
環境保全部	環境保全班	<ul style="list-style-type: none"> ・公共用水域水質調査 ・工場・事業場排水基準検査 ・工場・事業場ばい煙排出基準検査 ・廃棄物関係行政検査 ・生活衛生関係検査 ・環境放射能の測定及び常時監視 ・大気汚染常時監視 ・航空機騒音調査 ・酸性雨調査 ・アスベスト環境調査 ・環境保全に関する調査研究

6. 主要機器

(平成 29 年 4 月 1 日現在)

機 器 名	規 格
ガスクロマトグラフ	アジレント・テクノロジー 7890A (FID)
	アジレント・テクノロジー 7890A (FPD)
	アジレント・テクノロジー 6890N (μ ECD)
ガスクロマトグラフ質量分析計	島津 GCMS-QP2010 Ultra
	島津 GCMS-QP2010 Plus
	島津 QP5050A
	島津 QP5000
	アジレント・テクノロジー 6890N/5973N
ガスクロマトグラフタンデム型質量分析計	サーモフィッシュ TSQ QuantumGC
高速液体クロマトグラフ	島津 NexeraX2
	日立製作所 L-7000
	日本ウォーターズ 2695
	アジレント・テクノロジー 1200 (DAD・FLD)
液体クロマトグラフタンデム型質量分析計	AB サイエックス API4000
イオンクロマトグラフ	日本ダイオネクス ICS-1100
	日本ダイオネクス DX-120
原子吸光分光光度計	バリアン・テクノロジーズ AA-280FS
ICP 発光分光分析装置	サーモフィッシュ iCAP 6300 Duo
ノルマルヘキサン自動抽出装置	ラボテック HX-1000-8
高速溶媒抽出装置	DIONEX 社 ASE-200
	DIONEX 社 ASE-300
オートアナライザー	ビーエルテック QuAAstro 2-HR
分離用超遠心機	日立工機 CP70MX
電子顕微鏡	日本電子 JEM-1010
Ge 半導体検出器付波高分析装置	ミリオンテクノロジーズ・キャンベラ社 GC2518/CC II -VD,
	セイコーEG&G 社 MCA7
PCR プロダクト検出定量システム	セイコーEG&G 社 GEM25-70, セイコーEG&G 社 MCA7600
	アプライドバイオシステムズ ABI PRISM 7000
自動核酸精製装置	日本ロシュ・ダイアグノスティクス MagNA Pure LC2.0
モニタリングポスト	アロカ MAR-22
空間放射線量モニタリングシステム	東芝 SD22-T
低バックグラウンド放射能自動測定装置	アロカ LBC-4201B
大気汚染常時監視テレメータシステム	NEC 他
航空機騒音自動測定装置	リオン NA-37
全有機炭素分析装置	三菱化学アナリティック TOC-300V

II 業務実績

1. 試験検査実績

1.1 企画管理室（企画情報班）

＜研究の企画・評価・進行管理＞

平成 28 年度は共同研究を含め 16 課題について調査研究を実施した。研究課題評価については、平成 27 年度で終了した県政策予算による研究課題「1,4-ジオキサン分解菌の培養と長期保存条件の検討(理化学班)」「高齢者結核対策支援と薬剤耐性迅速診断法の導入に関する調査研究(細菌班)」の事後評価を実施し、高評価を受けた。また、中長期計画の達成に向けての進捗状況に関して秋田県試験研究機関業務評価を受けた結果、全体として計画どおり実施していると認められた。

＜精度管理業務＞

GLPに係る収去食品の検査に関しては細菌検査と理化学検査を合わせて内部点検を 4 回、内部精度管理を 4 回実施し、さらに 6 項目の外部精度管理を受けた。病原体等検査業務管理についてはウイルス検査 1 項目について内部監査、細菌検査 1 項目について内部精度管理を実施し、インフルエンザ検査の外部精度管理を受けた。医薬品等の精度管理に関しては医薬品と医療機器それぞれ 1 検体の検査について自己点検を実施した。確認された不備な点について改善を図った。

1.2 保健衛生部

○行政依頼検査

＜感染症発生動向調査に伴う病原体検査＞

地域における病原体の流行状況を監視するため、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（感染症法）に基づき、県内の患者発生状況と併せて、原因となる病原体の検査を実施している。

平成 28 年度は、特に百日咳、マイコプラズマ肺炎の流行があり、これらの検体数が増加した。

＜感染症流行予測調査＞

予防接種の効果判定や、緊急接種等の対応を行うための基礎データを得る目的で、予防接種法第 23 条の 4 に基づき、インフルエンザ感染源調査及び日本脳炎感染源検査を実施している。

両検査はブタを対象とし、鼻咽頭拭い液（100 検体）からのインフルエンザウイルス分離及び血清中（70 検体）の日本脳炎抗体価の測定を 6 月～10 月にかけて行っている。

＜感染症及び食中毒の集団発生等に伴う試験検査＞

感染症法第 15 条に基づき感染症事例発生時、管轄保健所の行政依頼検査に対応している。高齢者福祉施設等におけるインフルエンザ様疾患（集団かぜ）の発生に伴い、平成 28 年度は 434 件について呼吸器系ウイルス検査を実施した。同様に 1 施設 10 検体について細菌検査を実施した。麻しん・風しん等の発疹性ウイルスについては 106 件、デング・チクングニア・ジカウイルスについては 24 件の検査を実施した。

食中毒が疑われる集団胃腸炎事例においては、食品衛生法第 58 条に基づき、原因となる病原体や感染経路を明らかにするための検査が行われる。平成 28 年度はウイルス検査 368 件、細菌検査 7 事例 34 検体について 442 件の検査を実施した。

＜3 類感染症に係わる病原微生物検査＞

感染症法第 6 条により、腸管出血性大腸菌感染症、コレラ、細菌性赤痢、腸チフス及びパラチフスは 3 類の全数把握対象疾患に規定されている。当センターでは、これらの病原体の確認検査、患者発生時の接触者の健康診断のための検査や感染源の調査を実施している。

平成 28 年度は、腸管出血性大腸菌感染症等 274 件の検査を実施した。

＜結核菌の分子疫学解析＞

秋田県結核菌分子疫学調査事業に基づき、各保健所管内で登録された結核患者から医療機関にて分離された結核菌株について、結核菌遺伝子中の反復配列多型（Variable number of tandem repeat : VNTR）解析を行っている。

平成 28 年度は 57 件の解析を行った。

＜つつが虫病血清抗体検査＞

つつが虫病は、4 類の全数把握対象疾患であり、当センターでは感染症法第 12 条に基づく医療機関から保健所への診断・届出根拠となる検

査診断を実施している。検査は間接免疫ペルオキシダーゼ法を用い、患者血清中のつつが虫病特異的 IgM 及び IgG 抗体価を測定している。また、つつが虫病は症状の進行が早いことから、次の患者発生や受診・治療が遅れた場合の重症化あるいは死亡例発生を防ぐため、抗体陽性患者を確認した際は、検査依頼元の医療機関への連絡と共に、県健康推進課へも患者情報を知らせ、速やかな公表報道等の啓発活動へ寄与している。平成 28 年度は 53 件の検査を実施した。

＜食品衛生に関する細菌検査＞

食品衛生法及び秋田県食品衛生監視指導計画に基づき、県内に流通している食品の安全性を確認する検査を実施している。平成 28 年度は 320 検体の収去食品について 800 件の細菌検査を行った。

＜生活衛生に関する細菌検査＞

公衆浴場法及び厚生労働省通知「遊泳用プールの衛生基準について」に基づき、公衆浴場水と遊泳プール水の衛生水準を確保するため、大腸菌などの細菌検査を実施している。平成 28 年度は、公衆浴場水 15 件、遊泳プール水 8 件の検査を行った。また、公衆浴場法及び建築物における衛生的環境の確保に関する法律に基づき、レジオネラ症発生防止を目的として、公衆浴場水及び冷却塔水のレジオネラ属菌検査を実施している。平成 28 年度は 64 件の検査を行った。

＜水質汚濁・廃棄物対策に関する細菌検査＞

秋田県内の公共用水域の水質汚濁の状況を常時監視するため、水質汚濁防止法に基づき、公共用水域の大腸菌群数検査を実施している。平成 28 年度は十和田湖 27 件、田沢湖 20 件、八郎湖及び流入河川 79 件の検査を実施した。また、事業場及び廃棄物処理施設から公共用水域へ流される排水について、水質汚濁防止法及び秋田県公害防止条例に基づき、大腸菌群数検査を実施している。平成 28 年度は、事業場 209 件、廃棄物処理施設 20 件の検査を実施した。

＜医薬品等に関する検査＞

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全

性の確保等に関する法律（薬機法）に基づき、収去した医薬品等について、衛生上の安全性が確保されているかを検査している。平成 28 年度は、医薬品 1 検体について無菌試験、医療器具 1 検体について無菌試験及び外観試験を行った。

○一般依頼検査

＜業務委託契約検査＞

感染症発生動向調査に伴う病原体検査の内、秋田市内の医療機関から採取された検体 454 件については、秋田市と業務委託契約を結んで検査を行っている。

＜細菌・ウイルス等の試験検査＞

県の衛生関係施設の使用料並びに手数料徴収条例施行規則に基づき、一般からの検査依頼に対応している。

平成 28 年度は、ウイルス班において「ウイルス検査」329 件、細菌班において「細菌等の遺伝子解析」5 件、「腸管出血性大腸菌検査（糞便）」1 件の検査を秋田市保健所及び県内の医療機関からの依頼により行った。

○情報提供業務

＜感染症情報センター業務＞

感染症対策の中核として、各都道府県に地方感染症情報センターが設置され、国の中感染症情報センターと連携して、感染症に関する情報の収集・報告・還元・解析・提供の業務を行っている。この内、提供に関しては、感染症法第 16 条（情報の公表）に基づき、感染症発生動向調査で得られた患者発生情報、病原体検出情報等をホームページで公開している。週報と月報があり、県健康推進課を通して報道機関へ情報提供される。ホームページ：<http://idsc.pref.akita.jp/kss/>

また、結核については、かつては結核予防法の規定により医療機関から保健所に届出のあった患者に関する情報を集計して国に報告していたが、平成 19 年に感染症法に統合された（第 53 条の 2～15）。感染症情報センターでは、国から還元された情報と県内の情報をホームページで公表している。

表 1 保健衛生部行政依頼検査

(件数)

項目	年 度	平成26	平成27	平成28	
細菌・ウイルス等の試験検査	感染症発生動向調査 病原体別検査	ウイルス分離等検査 細菌検査	1,052 1,070	1,121 426	1,188 806
	感染症流行予測調査	インフルエンザ感染源調査	100	100	100
		日本脳炎感染源調査	70	70	70
		肺炎球菌感染源調査	0	7	—
	食中毒等検査	胃腸炎ウイルス検査（ノロウイルス等）	496	564	368
		細菌検査	1,798	810	442
	HIV抗体検査 ^{*1}		1	—	—
	HIV抗体確認検査 ^{*1}		1	—	—
	性器クラミジア抗体検査 ^{*1}		122	—	—
	梅毒抗体検査 ^{*1}		122	—	—
	B型肝炎抗原検査 ^{*1}		147	—	—
	C型肝炎抗体検査 ^{*1}		150	—	—
	麻疹・風疹・発疹性ウイルス検査		218	0	106
	新型インフルエンザ等呼吸器ウイルス検査 ^{*2}		289	596	434
	新型インフルエンザタミフル耐性検査		0	4	0
	SFTSウイルス検査		0	0	0
	デング・チクングニア・ジカウイルス検査		7	0	24
	MERSウイルス検査 ^{*3}		—	0	0
	狂犬病抗体検査 ^{*4}		—	12	0
	狂犬病PCR検査 ^{*4}		—	6	0
	3類感染症に係わる病原微生物検査		484	310	274
	地研レファレンスセンター業務	カンピロバクター（薬剤感受性試験）	53	43	18
		ジフテリア・百日咳・ボツリヌス	52	43	0
	結核菌VNTR検査		81	63	57
	つつが虫病血清抗体検査		104	83	53
	その他微生物学的検査		404	84	498
	感染症検査外部精度管理 ^{*5}		—	3	6
食品衛生に係る検査	食品収去検査		902	834	800
	食中毒菌汚染実態調査		293	—	—
	精度管理		3	3	5
生活衛生に係る検査	公衆浴場水、遊泳プール水の大腸菌検査		25	12	23
	貸しあしょり検査		16	8	—
	公衆浴場等レジオネラ属菌検査		103	25	64
水質汚濁対策	公共用水域水質環境調査		47	47	47
	八郎湖水質保全調査		79	79	79
	工場・事業場排水基準検査		230	220	209
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		20	25	20
医薬品等監視指導業務に係る検査	医薬品、医薬部外品、医療機器（細菌）		3	3	3
合 計		8,542	5,601	5,694	

^{*1} 性感染症、肝炎検査については、平成27年4月から外部委託となった。^{*2} 新型インフルエンザ等呼吸器ウイルス検査については、平成26年度から新たに項目を起こした。^{*3} MERSウイルス検査については、平成27年度から新たに項目を起こした。^{*4} 狂犬病検査については、平成27年度から新たに項目を起こした。^{*5} 感染症検査外部精度管理については、平成27年度から新たに項目を起こした。

表 2 保健衛生部一般依頼検査

(件数)

項目	年度	平成26	平成27	平成28
感染症発生動向調査に伴う検査	秋田市保健所依頼分 ^{*1} （再掲）	365	303	454
	食中毒等胃腸炎ウイルス検査（ノロウイルス等）	1	0	0
	麻疹・風疹・発疹性ウイルス検査	42	63	41
	インフルエンザウイルス検査	3	2	18
	インフルエンザタミフル耐性検査	0	0	0
細菌・ウイルス等の試験検査	呼吸器ウイルス（インフルエンザウイルスを除く）検査 ^{*2}	—	—	261
	SFTSウイルス検査	0	0	0
	デング・チクングニア・ジカウイルス検査	3	2	9
	MERSウイルス検査 ^{*3}	—	0	0
	細菌培養同定検査	9	4	1
	細菌遺伝子解析検査	2	1	5
合 計		425	375	789

*1 平成27年度までは一般依頼検査、平成28年度からは業務委託検査として扱った。

*2 呼吸器ウイルス（インフルエンザウイルスを除く）検査については、平成28年度から新たに項目を起した。

*3 MERSウイルス検査については、平成27年度から新たに項目を起した。

表 3 情報提供業務

(件数)

項目	年度	平成26	平成27	平成28		
基幹・地方感染症情報センター (感染症発生動向調査依頼業務)	患者情報	収集 報告 還元 解析 提供	468 52 52 52 468	477 53 53 53 477	468 52 52 52 468	
		週報 月報	収集 報告 還元 解析 提供	108 12 12 12 108	108 12 12 12 108	108 12 12 12 108
	病原体情報	報告 ウイルス 細菌 還元 解析	563 286 24 24	548 139 24 24	606 268 24 24	
		解析評価委員会資料提供	6	6	6	
結核登録者情報調査依頼業務	患者情報	月報 年報 ^{*1}	収集 報告 還元 解析 提供 収集 報告 還元 解析 提供	108 12 12 12 108 9 1 1 1 9	108 12 12 12 108 9 1 1 1 9	108 12 12 12 108 9 1 1 1 9
		合 計		2,520	2,379	2,545

*1 新規結核登録患者数：86人、年末時結核登録者数：188人（平成28年1月～12月）

1.3 理化学部

＜食品収去検査＞

県内で流通している食品の安全性を確保するため、食品衛生法に基づき、食品の添加物、規格基準及び成分規格の検査を行った。

添加物は、サッカリン、ソルビン酸等の甘味料や保存料、タル色素等の着色料について分析を行っている。規格基準及び成分規格については、牛乳・乳製品や清涼飲料水、ケイソウ土、はし等の検査を行っている。

平成 28 年度は 201 検体 542 件 (32 検査項目) について検査を実施した。その結果、すべて基準に適合していた。

＜食品中の残留農薬、動物用医薬品検査＞

食品中に残留する農薬及び動物用医薬品の安全性を確認するため、県内に流通している食品について残留農薬及び動物用医薬品検査を行っている。

平成 28 年度の残留農薬検査は、9 種類の農産物・加工食品、計 61 検体 16,718 件の検査を行った。残留動物用医薬品検査は、2 畜産物、計 8 検体 636 件の検査を行った。

＜医薬品検査＞

「いわゆる健康食品」の中には医薬品成分やその類似化合物を配合した製品（無承認無許可医薬品）があり、健康への悪影響が懸念される。無承認無許可医薬品による健康被害の防止のため、「いわゆる健康食品」中の医薬品成分の分析法を検討した。

平成 28 年度は、シルデナフィル、タadalafil、バルデナフィル、チオアイルデナフィル、ヨヒンビンの 5 種類の強壮成分について、一斉分析法の精度を確認した。

＜家庭用品検査＞

県内で流通する家庭用品について、化学物質による健康被害を防ぐため、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き、ホルムアルデヒド、メタノールについて検査を行った。

乳幼児繊維製品中のホルムアルデヒド 15 検体 51 部位、家庭用エアゾル製品中のメタノール 3 検体について検査を実施した。その結果、全

て基準に適合していた。

＜環境放射能水準調査＞

環境放射能水準調査は、自然由来及び人的な発生由来による国内の放射能レベルを把握するために原子力規制庁からの依頼で行っている事業である。秋田県では、昭和 36 年から降下物、大気浮遊じん、土壤等に含まれる放射性核種の分析、定時降水中の全ベータ放射能測定を行っている。

平成 28 年度は、定時降水中の全ベータ線について 153 検体、環境試料中の核種分析について 25 検体 123 件について検査を実施した。また、北朝鮮核実験に伴う緊急調査として降下物 6 検体 18 件、浮遊じん 7 検体 21 件について検査を実施した。

＜福島原子力発電所事故に伴うモニタリング調査（食品）＞

福島原子力発電所事故を受け、県内に流通している食品の安全を確保するため、平成 23 年度から食品中放射性核種のモニタリング調査を行っている。

平成 28 年度は、食品等について 89 検体 267 件、県産農産物等について 93 検体 279 件の検査を行った。その結果、食品衛生法に基づく一般食品の基準値 100 ベクレル/kg を超過した食品はなかった。

＜工場・事業場排水中の化学物質の検査＞

県内の工場・事業所からの排水が、基準を遵守しているか監視するため、揮発性有機化合物 (VOC) の検査を行っている。水質汚濁防止法及び秋田県公害防止条例に基づき、トリクロロエチレン、ジクロロメタン等の VOC の分析を行った。

平成 28 年度は、計 13 検体 40 件について検査を実施し、基準を超過した工場・事業所はなかった。

＜廃棄物関係行政検査＞

県内の廃棄物処理施設から排出される放流水や汚泥等が基準を遵守しているか監視するため、廃棄物中の揮発性有機化合物 (VOC) を検査した。水質汚濁防止法及び廃

棄物処理法、秋田県公害防止条例に基づき、トリクロロエチレン、ジクロロメタン等のVOCの分析を行った。

平成28年度は、計21検体250件について検査を実施し、基準を超過した施設はなかった。

また、能代産業廃棄物処理センターの環境保全対策として平成28年度は、敷地内及び周辺地域の地下水や公共用水域等、計392検体4,543件について検査を実施した。

表4 理化学部行政依頼検査

(件数)

項目	年 度	平成26	平成27	平成28	
食品監視業務に係る検査	食品収去検査（食品添加物等）	558	544	542	
	残留農薬検査	16,878	19,242	16,718	
	残留抗生物質・残留合成抗菌剤検査	273	732	636	
	精度管理	21	21	34	
医薬品等監視指導業務に係る検査	医薬品、医薬部外品、医療機器（理化学）	0	25	0	
家庭用品試買検査	有害物質	24	8	54	
環境放射能水準調査	空間線量（モニタリングポスト） ^{*1}	2,190	—	—	
	全ベータ線	144	132	153	
	核種分析	123	123	123	
	分析確認	110	110	144	
福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査	空間線量	12	12	12	
	核種分析	蛇口水	20	20	0
		食品等	306	258	267
		県産農産物等	570	390	279
その他緊急環境放射能調査	核種分析 ^{*2}	降下物	0	24	18
		浮遊じん	0	24	21
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	35	35	35
		地下水調査	0	0	18
		緊急調査	0	0	13
	工場排水基準検査		59	38	40
土壤汚染対策	汚染土壤処理事業所検査		33	11	22
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		291	269	250
	能代産業廃棄物処理センター環境保全対策	能代地区周辺環境調査	574	574	580
		能代産業廃棄物処理センター関連調査	2,681	3,647	3,963
合 計			24,902	26,239	23,922

*1 環境放射能水準調査の空間線量（モニタリングポスト）については、平成27年度より理化学部から環境保全部に業務移行した。

*2 その他緊急環境放射能調査の核種分析については、平成27年度より環境保全部から理化学部に業務移行した。

1.4 環境保全部

<大気汚染常時監視>

目的

大気汚染防止法第 22 条に基づき、県内の大気汚染状況を常時監視し、高濃度時の緊急時対応及び各種大気汚染対策の基礎資料とする。

実績・結果

平成 28 年度は一般環境測定期局 8 局及び自動車排ガス測定期局 3 局において常時監視を行った。環境基準の対象となる年間の測定時間が 6,000 時間を満たした有効測定期局における測定結果のうち、二酸化硫黄（全 6 局）、二酸化窒素（全 9 局）、一酸化炭素（全 3 局）、浮遊粒子状物質（全 11 局）、微小粒子状物質（全 5 局）については、環境基準を達成していたが、光化学オキシダントについては、全 5 局で環境基準を達成していなかった。

<工場・事業場ばい煙排出基準検査>

目的

大気汚染防止法に規定されるばい煙発生施設について、排出されるばい煙の基準適合状況を検査し、大気汚染を未然に防止する。

実績・結果

工場・事業場 6 施設及び公害防止協定締結工場 1 施設の計 7 施設 19 件について、検査を行った。7 施設のうち、6 施設については全測定項目が基準に適合していたが、1 施設でばいじんが基準値を超過していた。

<酸性雨調査>

目的

本県の酸性雨の状況を把握するため、降水中の pH 等のモニタリング調査を行うとともに地域特性を明らかにする。

実績・結果

大館市(北秋田地域振興局大館福祉環境部)、秋田市(秋田県健康環境センター)及び横手市(平鹿地域振興局福祉環境部)の県内 3 地点において、降水を概ね 1 週間単位で通年採水した。採水した降水については、pH、電気伝導率、降水量、陽イオン成分 (NH_4^+ , K^+ , Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) 及び陰イオン成分 (SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^-) の全 11 項目を測定・分析した。

pH の年平均値は 4.78 (横手市) から 4.92 (秋田市) の範囲内であった。

<アスベスト環境調査>

目的

大気汚染防止法に基づく届出があった特定粉じん排出等作業について、周辺環境のアスベスト濃度を測定し、排出作業が適正に管理されていることを検証する。

また、一般大気環境中におけるアスベスト濃度の実態を把握し、今後のアスベスト飛散防止対策に資する。

実績・結果

届出があった 13 件の特定粉じん排出等作業について、敷地境界周辺 4 か所においてモニタリング調査を行った。結果は全ての地点で世界保健機関が示す濃度（空気 1Lあたり 10 本のアスベスト）を下回った。

一般大気環境中のアスベスト濃度調査については、大館市、男鹿市、横手市の県内 3 地域のそれぞれ 4 か所において実施した。結果は全ての地点で世界保健機関が示す濃度（空気 1Lあたり 10 本のアスベスト）を下回った。

<環境放射能の測定及び常時監視>

目的

福島第一原子力発電所事故に伴う、最終処分場放流水・地下水・汚泥等における放射性物質の存在状況を把握する。

実績・結果

検体数 314 件の検査を行い、全て基準に適合していた。検体の内訳は、最終処分場の放流水・地下水等 42 検体、汚泥 11 検体、水浴場水 17 検体、河川水 10 検体等であった。

<公共用水域水質調査>

目的

水質汚濁防止法第 15 条の規定に基づき、八郎湖、田沢湖及び十和田湖等の水質汚濁状況を把握し、環境保全を図ることを目的とする。

実績・結果

平成 28 年度の公共用水域水質調査では、364 検体、4,338 件の分析を行った。三大湖沼のうち、生活環境の保全に関する環境基準を達成し

たのは田沢湖のみであった。健康項目については、全ての湖沼において環境基準を達成した。

<工場・事業場排水基準検査>

目的

水質汚濁防止法及び秋田県公害防止条例に基づき、工場・事業場等からの排水における排水基準の遵守状況を把握するための検査である。水質汚濁防止法施行令第2条及び第3条に定める項目（VOC及び大腸菌群数を除く）について検査を実施した。

実績・結果

平成28年度は292検体、延べ1292件の検査を実施した。基準に適合しなかった検体は27検体、項目別では水素イオン濃度（pH）7件、生物化学的酸素要求量（BOD）13件、化学的酸素要求量（COD）2件、浮遊物質量（SS）7件、窒素含有量3件、燐含有量4件であった。

<汚染土壤処理施設等検査>

目的

土壤汚染対策法に基づき、調査対象となる工場・事業場等の土壤の汚染状況を把握するための検査である。土壤汚染対策法施行令第1条で定められている第2種特定有害物質及び第3種特定有害物質のPCB、有機りん化合物について検査を実施した。

実績・結果

平成28年度は、2検体、延べ40件の検査を実施した。基準に適合しなかった検体は1検体、項目別では鉛1件で土壤含有量基準を超過した。

<生活衛生関係検査>

目的

多人数が利用する遊泳用プール及び公衆浴

場の水質を調査することにより、公衆衛生の向上を図る。

実績・結果

遊泳用プールは、県内8施設の延べ32項目について水質検査を行った。結果はすべて基準に適合していた。公衆浴場は、県内6施設の原水と浴槽水における延べ60項目について水質検査を行った。結果はすべて基準に適合していた。

<航空機騒音調査>

目的

空港周辺における航空機騒音の実態を把握する。

実績・結果

秋田空港東側の藤森及び西側の安養寺を基準点として固定局舎による通年測定を行うとともに、補助点として堤根で1週間の短期測定を行った。また、大館能代空港東側の中屋敷及び西側の空港西で1週間の短期測定を行った。その結果、いずれの地点でも環境基準を達成していた。

<廃棄物関係行政検査>

目的

廃棄物の処理及び清掃に関する法律に基づき、廃棄物処理施設等から排出される汚泥、放流水等の適正な管理状況を把握するための検査である。廃棄物の種類に応じ、重金属類、シン化合物等の項目について検査を実施した。

実績・結果

平成28年度は54検体、延べ415件の検査を実施した。基準に適合しなかった検体は3検体、項目別では鉛2件（いずれも燃えがら）、六価クロム1件（ばいじん）であった。

表 5 環境保全部行政依頼検査

(件数)

項目	年 度	平成26	平成27	平成28	
大気汚染対策	大気汚染常時監視 ^{*1}	一般環境大気測定局	50 (422,880)	50 (420,099)	52 (425,906)
		自動車排出ガス測定局	15 (128,966)	15 (130,155)	15 (127,842)
		工場局	74 (530,999)	74 (529,115)	74 (522,863)
	ばい煙排出基準検査		28	25	19
	酸性雨調査	酸性雨実態調査	1,400	1,390	1,400
	アスベスト対策	石綿飛散調査	60	40	64
福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査	最終処分場放流水・地下水・汚泥等の核種分析		514	398	314
環境放射能調査	空間線量(モニタリングポスト) ^{*2}		—	2,196	2,190
環境調査	公共用水域水質調査	4,257	4,338	4,338	
	緊急調査	192	182	171	
水質汚濁対策	工場・事業場排水基準検査		1,882	1,600	1,292
	八郎湖水質保全対策調査	底質調査	36	36	72
		緊急調査	0	0	0
	玉川酸性水影響調査		317	317	317
	十和田湖水質保全対策調査		240	240	240
土壤汚染対策	汚染土壤処理事業所検査		69	34	40
生活衛生に係る検査	遊泳用プール水質検査		24	10	32
	公衆浴場水質検査		32	32	60
	食肉衛生検査所自主検査		20	0	0
騒音対策	航空機騒音調査		722	725	693
化学物質対策	化学物質環境調査		274	284	77
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		505	493	415
	能代産業廃棄物処理センター関連調査		992	1,232	911
	緊急調査		0	74	131
合 計 (大気汚染常時監視を除く)		11,564	13,646	12,776	

*1 大気汚染常時監視は、測定対象項目数(実測データ数)を表す。

*2 環境放射能調査の空間線量(モニタリングポスト)については、平成27年度より理化学部から環境保全部に業務移行した。

2. 研修・学会等

2.1 研修等参加

年月日	研修名	参加者	開催地
28.05.18	病原体等の包装・運搬講習会	高橋志保	東京都
28.05.27	平成 28 年度食品衛生検査施設信頼性確保部門等責任者研修会	小川千春	東京都
28.06.13～17	課題分析研修 I (プランクトン研修)	生魚利治	埼玉県
28.10.06～07	平成 28 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・研修会及び地域レファレンスセンター連絡会議	高橋志保 柴田ちひろ	福島県
28.10.10～11	平成 28 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	保健衛生部	秋田市
28.10.13～14	平成 28 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会総会	今野禄朗	山形県
28.10.18～26	平成 28 年度環境放射能分析研修	佐藤健	千葉県
28.10.21	平成 28 年度食品添加物研修会	小川千春	東京都
28.10.28	平成 28 年度指定薬物分析研修会	櫻庭香織	東京都
28.11.11	平成 28 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	今野禄朗	滋賀県
28.11.26	第 67 回秋田県感染対策協議会研修会	熊谷優子	秋田市
29.01.16～18	平成 28 年度石綿位相差顕微鏡法研修	伊藤佑歩	埼玉県
29.01.20	平成 28 年度地方衛生研究所全国協議会 衛生理化学分野研修会	櫻庭香織	東京都
29.02.09	平成 28 年度放射線監視結果収集調査検討会	村山力則	東京都
29.02.21	平成 28 年度環境放射能分析研修	村山力則	千葉県
29.02.21～22	平成 28 年度希少感染症診断技術研修会	柴田ちひろ 鈴木純恵	東京都
29.03.02～03	第 22 回国際結核セミナー・平成 28 年度全国結核対策推進会議	高橋志保	東京都
29.03.10	平成 28 年度人獣共通感染症講演会	齊藤志保子 斎藤博之 佐藤寛子	秋田市

2.2 学会等出席

年月日	学会名	出席者 (○発表者)	開催地
28.04.15	第 31 回ダニ類研究班集会	○佐藤寛子	栃木県
28.04.15～17	第 68 回日本衛生動物学会大会	○佐藤寛子	栃木県
28.05.27	第 27 回秋田応用生命科学研究会講演会	○斎藤博之 ○今野貴之	秋田市
28.05.27～29	The 24th Seminar on Acari-Diseases Interface	○佐藤寛子	鹿児島県
28.06.08～10	第 25 回環境化学討論会	中村淳子	新潟県
28.06.18～19	第 57 回日本臨床ウイルス学会	○斎藤博之	福島県
28.06.25	平成 28 年度秋田県機能性食品研究会講演会	○斎藤博之	秋田市
28.07.21～22	衛生微生物技術協議会第 37 回研究会	○斎藤博之 今野貴之	広島県
28.08.07	感染免疫懇話会 in Akita 2016	秋野和華子 ○佐藤寛子 柴田ちひろ	秋田市
28.08.27	第 8 回 J 感染制御ネットワークフォーラム	○斎藤博之	宮城県
28.09.07～09	第 57 回大気環境学会	○佐藤健	北海道
28.09.15～16	第 37 回日本食品微生物学会学術総会	○斎藤博之 ○秋野和華子	東京都
28.09.20	秋田県感染症研究会第 75 回例会	○斎藤博之 ○秋野和華子	秋田市
28.09.27～29	第 27 回廃棄物資源循環学会	○伊藤悠	和歌山県
28.10.22	ウイルス性下痢症研究会第 28 回研究会学術集会	○斎藤博之	北海道
28.10.23～25	第 64 回日本ウイルス学会学術集会	○斎藤博之	北海道
28.10.27～28	第 112 回日本食品衛生学会学術講演会	○斎藤志保子 ○斎藤博之 今野禄朗	北海道
28.11.01	あきた産学官連携フォーラム 2016	○斎藤博之 ○梶谷明弘 ○佐藤由衣子	秋田市
28.11.17～18	第 53 回全国衛生化学技術協議会年会	○櫻庭香織	青森県
28.11.24	第 13 回秋田県公衆衛生学会学術大会	○今野貴之 ○今野禄朗	秋田市
28.12.03～04	第 23 回リケッチア研究会研究発表会	○佐藤寛子	東京都
28.12.09	第 28 回秋田応用生命科学研究会講演会	○斎藤博之	秋田市
29.03.14～18	第 64 回日本生態学会	玉田将文	東京都
29.03.15～17	第 51 回日本水環境学会	○大渕志伸 ○小林貴司 ○生魚利治 ○伊藤悠	熊本県
29.03.17	全国環境研協議会研究集会	鈴木忠之	熊本県
29.03.19～21	第 90 回日本細菌学会総会	○齊藤志保子 ○熊谷優子	宮城県

2.3 健康環境センター主催研究発表会

開催日：平成28年7月1日(金)

開催場所：秋田県総合保健センター

	演題名	発表者
1	秋田県で分離された結核菌のイソニアジド耐性関連遺伝子と遺伝系統の解析	今野貴之
2	ウイルス性肝炎陽性検体の遺伝子学的検討	柴田ちひろ
3	食品のウイルス検査法としてのパンソルビン・トラップ法に用いる捕捉抗体の供給源に関する検討	斎藤博之
4	平成22～27年度の食品収去検査における理化学検査結果について	小川千春
5	田沢湖を含む玉川流域の水質改善に関する検討	生魚利治
6	秋田県におけるオキシダントの高濃度事例について	佐藤健

2.4 その他の口頭発表

年月日	発表会名	演題名	発表者	開催地
29.01.20	平成28年度保健環境業務研究発表会	2015～2016年における伝染性紅斑の流行について	柴田ちひろ	鴻上市
		秋田空港および大館能代空港におけるWECPNLとLdenの比較	伊藤佑歩	

2.5 講師派遣等

2.5.1 技術支援

実施日	主な内容	講師氏名	対象	延人数
28.04.04～05 28.09.01～02 29.03.29～30	<i>Orientia tsutsugamushi</i> の病原体接種実験	佐藤寛子	埼玉医科大学	3名
28.05.24	食品中のウイルス検査に用いる酵素に関する助言	斎藤博之	東洋紡株式会社	1名
28.07.12	<i>Salmonella Agona</i> に関する調査研究(菌株供与)	今野貴之	福岡県保健環境研究所	1名
28.08.13～17	口蹄疫早期診断のためのパンソルビン・トラップ法の応用	斎藤博之	宮崎大学	1名
28.09.05	<i>Campylobacter jejuni</i> のPenner PCR型別法について(資料提供)	今野貴之	香川県環境保健研究センター	1名
28.09.08	<i>Escherichia albertii</i> の検査法について(菌株供与)	今野貴之	福島県衛生研究所	1名
28.10.03～05	ノロウイルス不活化に用いる薬剤検索への支援	斎藤博之	東京大学	1名
28.11.21	パンソルビン・トラップ法に用いる試薬の流通形態に関する助言	斎藤博之	メルク株式会社	2名
29.01.19	<i>Escherichia albertii</i> の検査法について(菌株供与)	今野貴之	福島県いわき市保健所	1名
29.01.29～02.04	広域食中毒事例における対応支援	斎藤博之	国立医薬品食品衛生研究所	1名
29.03.21	<i>Campylobacter jejuni</i> のPenner PCR型別法について(資料提供)	今野貴之	仙台市衛生研究所	1名

2.5.2 出前講座

講座名	講師氏名	実施回数	参加数
細菌性感染症・食中毒について	高橋志保	2 回	60 名
ウイルス性食中毒について	斎藤博之	1 回	30 名
ウイルス性感染症について	斎藤博之	1 回	30 名
つつが虫病について	佐藤寛子	1 回	6 名
環境中の大気汚染物質について	大渕志伸	1 回	60 名
合計		6 回	186 名

2.5.3 その他講師派遣

主な内容	実施日	講師氏名	依頼元	参加者数
廃棄物処理について	28.05.16	小林貴司	秋田県立大学	5 名
食品中の残留農薬について	28.05.23	今野禄朗	秋田県立大学	5 名
ダニ媒介性感染症(開催地:大館市)	28.07.06	佐藤寛子	動物管理センター	68 名
ダニ媒介性感染症(開催地:大仙市)	28.07.19	佐藤寛子	動物管理センター	62 名
ダニ媒介性感染症(開催地:秋田市)	28.07.27	佐藤寛子	動物管理センター	150 名
特殊災害と保安(放射性物質災害)	28.08.16	斎藤博之	消防学校	70 名
細菌・ウイルス災害	28.11.15	斎藤博之	消防学校	16 名
冬場に注意したい感染症について	28.11.29	斎藤博之	山本地域振興局福祉環境部	39 名
ダニ媒介性感染症(開催地:秋田市)	28.12.14	佐藤寛子	動物管理センター	36 名
ダニ媒介性感染症(開催地:秋田市)	29.02.15	佐藤寛子	動物管理センター	9 名
合 計				460 名

2.6 観察・見学等受入

参加者区分	平成 26 年度	平成 27 年度	平成 28 年度	
小中学生	0	1 (1)	0	
インター ンシップ	17 (3)	15 (3)	9 (3)	秋田県立大学生物資源科学部応用生物学科・生物環境科学科(3年生), 東北大 学農学部応用生物化学科(3年生), 岩手 大学農学部共同獣医学科(5年生)
その他の 学生	28 (2)	35 (3)	30 (2)	秋田大学医学部社会医学実習(3年生), 聖霊女子短期大学専攻科健康栄養専攻(2 年生)
県外	5 (4)	0	0	
国外	2 (2)	0	2 (1)	中国吉林省環境保護庁, 同省長春市環境 保護局双陽支局
合計	52 (11)	51 (7)	41 (6)	

注) 括弧内の数字は団体数

2.7 受賞・表彰等

受賞日	表 彰 名	受賞者	授 与 機 関
28.04.16	第 26 回佐々賞	佐藤寛子	日本衛生動物学会
29.10.27	厚生労働省医薬・生活衛生局長感謝状	大渕志伸	厚生労働省

3. 研究業務実績

細菌班

食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）

（平成 27 年度～平成 29 年度）

研究概要

北海道・東北・新潟ブロック内の地方衛生研究所における分子疫学解析手法の検査精度向上と病原体情報の共有化システム構築を目的として、腸管出血性大腸菌（EHEC）O157 IS-Printing Systemについてブロック内の 11 施設において共通 DNA 溶液による精度管理を実施した。また、ブロック内での情報共有化システム構築の基礎検討として、各県で分離された菌株の IS-Printing System のデータを集積し発生パターンを比較解析調査した。

結果

精度管理においては、4 株中 3 株は全ての施設で一致した判定だったが、1 株については 11 施設中 8 施設が 1-12 付近のエキストラバンドを(+)と判定した。解析画像を見ると泳動条件や電気泳動装置の違いでバンド判定に影響があると思われた。エキストラバンドの判定についても今後データを蓄積し、情報を共有することが必要と思われる。IS コードの比較解析については、ブロック内において 10 パターンの IS コードが他の自治体と一致しており、菌株の広域化が懸念された。平成 28 年度は冷凍メンチカツを原因食品とする食中毒が広域発生し、ブロック内でも患者が確認された。その際、国立感染症研究所の分子疫学解析結果とブロック内で迅速に行った IS-Printing System による解析結果が一致したことから、早期に当該事例の患者の可能性を疑い、行政へ情報提供できた。

薬剤耐性菌サーベイランスの強化及びゲノム解析の促進に伴う迅速検査法開発に関する研究（日本医療研究開発機構研究費補助金）（平成 27 年度～平成 29 年度）

研究概要

本研究は、厚生労働省が策定した薬剤耐性（AMR）対策アクションプランに基づき、地方衛生研究所における薬剤耐性菌の検査体制構築を目指している。地方衛生研究所全国協議会薬剤耐性菌レファレンス事業と連動し、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)検査の省力化と迅速な遺伝子解析を行うために開発されたスクリーニング MultiplexPCR 法（カルバマルチ PCR, ESBL マルチ PCR）の評価試験を実施した。

結果

評価試験は、地方衛生研究所 8 施設の研究協力により行った。供試菌株は、 β ラクタマーゼの型が既知の CRE 分離株（疑い株を含む）と国立感染症研究所より送付された陽性コントロールを用いた。秋田県では、当センター保有の県内分離菌 17 株について、評価試験を行った。検出された全てのバンドが、予想された遺伝子型の陽性コントロールと一致し、従来の PCR 法と判定上の相違は確認されなかった。今回開発されたカルバマルチ PCR 及び ESBL マルチ PCR は、これまで個別に確認していた耐性化に関する遺伝子型を一度に確認することが可能であり、検査の効率化に寄与すると考えられた。

迅速・網羅的病原体ゲノム解析法の開発及び感染症危機管理体制の構築に資する研究（日本医療研究開発機構研究費補助金）

（平成 28 年度～平成 30 年度）

研究概要

次世代シーケンス（NGS）検査診断法について、国外も含めたグローバルな総合支援体制の構築を行っている。特に、検査現場で要望の高い病原体ゲノム情報から、遺伝型、汚染源、病原性、薬剤耐性等の必要な情報を迅速かつ平易に抽出する総合解析システムを開発することにより、感染症危機管理体制の構築を行っている。秋田県では、「病原体網羅遺伝子配列を基盤とした分子疫学解析及び解析法の開発」と「包括的感染症危機管理ネットワーク構築」に研究協力し、平成 28 年度はサルモネラ 48 株についてゲノム情報のデータベース

化を行った。

結果

これまでに秋田県内で分離されたサルモネラの内、血清型 Thompson を 20 株、O7:-1,5 を 4 株、Infantis を 6 株、Typhimurium を 6 株、Newport を 4 株、Agbeni を 3 株とその他血液由来の菌株を 5 株、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターで解析し、ゲノム情報をデータベース化した。データベース上のサルモネラのゲノムサイズは、約 450 から 520 万塩基であり、遺伝子数は 450 個前後であった。また、48 株の中には、複数の薬剤耐性遺伝子を持つ菌株など特徴的な性状を持つものもあり、県内のサルモネラ菌株の特徴の解明につながった。

カンピロバクターレファレンスセンター業務 (平成元年度～)

百日咳・ジフテリア・ボツリヌスレファレンスセンター業務 (平成 15 年度～)

薬剤耐性菌レファレンスセンター業務 (平成 27 年度～)

(地方衛生研究所技術協議会レファレンスセンター業務)

研究概要

地方衛生研究所技術協議会のレファレンスセンター業務として、カンピロバクター、百日咳・ジフテリア・ボツリヌス、及び平成 27 年度からは薬剤耐性菌について検査法の検討、管内における検査の技術支援、研修等のレファレンスセンター業務を行っている。

結果

(カンピロバクター)

平成 28 年は県内の散発下痢症患者由来の 3 株 (*C. jejuni* 2 株, *C. coli* 1 株) 及び食中毒等の集団感染事例の由来 *C. jejuni* 2 株について、薬剤耐性化の傾向を把握するため、テトラサイクリン、エリスロマイシン、ナリジクス酸、ノルフロキサシン、オフロキサシン及びシプロフロキサシンの 6 効について感受性試験を実施した。

散発下痢症患者由来の菌株は、いずれの薬剤にも感性であった。一方、集団感染事例由来の菌株では、テトラサイクリン及びキノロン系の薬剤への耐性が確認された。

(百日咳)

平成 27 年は、他県からの検査依頼はなかった。県内では、百日咳の流行があり、感染症発生動向調査における検体数が 197 件と増加した。

(ジフテリア)

県内の医療機関から、*Corynebacterium diphtheriae* の検査相談があり、ジフテリア毒素の確認等の精査を行ったが、陰性であった。

(ボツリヌス)

県内の医療機関から、ボツリヌス毒素注射後の授乳に伴う乳児ボツリヌス症疑いの検査相談に対応した。

(薬剤耐性菌)

カルバペネム系耐性腸内細菌科細菌の検査法普及のため、国立感染症研究所等と共同で地区的研究施設へ研修の案内、遺伝子検査の陽性コントロールの配布を行った。

フードセーフティー推進事業

(平成 26 年度～平成 31 年度)

研究概要

県生活衛生課の政策事業の一環として、安全・安心な県内産の食品の県外・海外での販路拡大・開拓に資するため、食品製造業者等を対象に衛生管理に関する技術的サポートを行うことを目的に実施している。当センターでは商品の賞味期限の設定に関する科学的根拠とするための細菌検査（一般細菌数の経時的变化、大腸菌群、*E.coli*、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌、乳酸菌数、酵母数、クロストリジウム属菌等）を実施している。

結果

平成 28 年度は、魚肉練り製品（一般細菌数 15 件、大腸菌群 3 件）、豆腐（一般細菌数 11 件）、ゆでめん（一般細菌数 7 件）、生めん（一般細菌数 14 件）、ドレッシング（一般細菌数、大腸菌群、酵母数各 1 件）について検査を実施した。

ウイルス班

日本医療研究開発機構研究費「ダニ媒介性細菌感染症の予防・診断・治療のための総合的研究」(平成27年度～平成29年度)

研究概要

国内のダニ媒介性感染症は極めて多様であり、リケッチャ症、ライム病等が国内で報告されている。死亡例もある疾患ながら臨床現場の認知度は必ずしも高くなく、また診断は決して容易ではない。そのため、診断法開発、実態解明及び情報発信は火急の問題である。本研究では、国内の様々なダニ関連エピソードに対し鑑別対象疾患を網羅的に俯瞰し、診断方針の考察を可能とする体制確立を目的としている。当センターにおいては、検査診断法の検討と秋田県のマダニ分布相の調査及び病原体保有状況の検索を行った。

結果

1) 検査診断法の検討

現在、国内における患者報告数の増加が課題となっている紅斑熱群リケッチャ症及びつつが虫病について、duplex real - time PCR の検出感度について検討した。両病原体について 10^2 copies/well～ 10^4 copies/wellまでの段階希釈系列（各濃度3検体）を作成し、3検体全てが検出できる濃度を求めた。両病原体は共に 1.0×10^1 ～ 10^2 copies/well以上である検体は検出可能と考えられた。これにより、本PCRの検出感度が良好であり、スクリーニング系として有用と思われた。

2) マダニ分布相及び病原体保有種の調査

動物刺咬マダニ及び植生マダニについて調査した。動物刺咬マダニは、動物管理センターが収容した放浪犬及び動物取扱業利用犬から採集した。5月～10月にかけて県央部の犬から10個体、県南部の犬から5個体のマダニが回収された。種別内訳はフタトゲチマダニ10、ヤマトマダニ3、キチマダニ2で、紅斑熱群リケッチャアが検出された個体はなかった。また、収容犬18匹、同猫4匹から採取された血清22検体について紅斑熱群リケッチャアの抗体検査を実施したが抗体価40倍以上を示す検体はなかった。

植生マダニについては、5月に秋田市添川、6

月に仙北市西木～角館及び中生保内、7月に仙北市田沢湖及び秋田駒ヶ岳8合目付近で生息調査を行った。採集したマダニ種は秋田市添川ではヤマトマダニ13、キチマダニ5であった。仙北市西木～角館ではヤマトマダニ23、ヒツトゲマダニ1、シュルツェマダニ1、キチマダニ4、ヤマトチマダニ5であった。仙北市中生保内ではヤマトマダニ19、ヒツトゲマダニ6、シュルツェマダニ5であった。仙北市田沢湖ではヤマトマダニ5、ヒツトゲマダニ1が採集されたが、秋田駒ヶ岳8合目付近ではマダニは採集されなかった。また、紅斑熱群リケッチャアが検出された個体はなかった。なお、秋田市内の医療機関から、ヒトのマダニ刺症2例の相談があった。それぞれの刺咬マダニはヤマトマダニ、ヒツトゲマダニと判定した。ヒツトゲマダニからは *R. helvetica* が検出されたが、患者の発病は認められなかった。

ムンプスウイルスの流行解析ならびに病原性発現の分子機構解析（日本医療研究開発機構研究費「ワクチンにより予防可能な疾患に対する予防接種の科学的根拠の確立及び対策の向上に関する研究」）

(平成27年度～平成29年度)

研究概要

我が国ではMMRワクチンの中止以降、おたふくかぜワクチンの接種率が低下し、流行性耳下腺炎の流行は未だに制御できていない。こうした現状を踏まえ、おたふくかぜワクチンの定期接種化の社会的ニーズが高まっている。一方、欧米先進国においてはMMRワクチンの2回接種が普及しているにもかかわらず、流行性耳下腺炎の度重なる流行が問題となっている。今後、定期接種化によって流行性耳下腺炎流行の制御を確実なものとするためには、ムンプスウイルスの国内における流行动態の把握、抗原性の解析、病原性発現機構の解明など、いくつかの解決すべき課題がある。中でも、国内での流行动態に関する網羅的・持続的な分子疫学データの集積が、ワクチンの予防効果を的確に評価し、行政上の施策に反映させる上で必須である。しかしながら、それを実現するための全国的なサ

ーベイランスネットワークシステムは未だ無く、その構築が急務となっている。そこで、サーベイランスの基礎となるべき医療機関や地方衛生研究所と国立感染症研究所とを繋ぐネットワークを構築し、それによってムンプスウイルスの国内における流行状況の把握を目指した。

結果

平成 28 年度に当センターにて検出したムンプスウイルス 4 株について遺伝子解析を行ったところ、全て Gw 型であった。研究班に所属する全国 14 の地方衛生研究所の検出結果と照合したところ、11 月 28 日に秋田市で採取された検体由来のウイルスは、石川県・三重県で検出されたウイルスと類似していた。残りの 3 株は秋田県独自のクラスターを形成した。

パンソルビン・トラップ法の捕捉抗体供給源としてのガンマグロブリンの再評価（厚生労働科学研究費補助金「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」）（平成 28 年度～平成 30 年度）

研究概要

パンソルビン・トラップ法は、食品検体に含まれるウイルス粒子を黄色ブドウ球菌の表面に吸着させて回収することを基本原理としている。その際に、ウイルスを黄色ブドウ球菌に吸着させる「糊」の役目を果たす捕捉抗体としてガンマグロブリンが用いられている。一方、ガンマグロブリンは過去に流行したウイルスに対する抗体の集積であり、ノロウイルス GII.17 のような、これまで流行したことのない型に対する抗体は含まれていないことが危惧された。本研究では、これまで何度も流行を繰り返しているノロウイルス GII.4 に感染した際に、GII.17 等の他の型に対する抗体も同時に誘導されてくることを見出し、ガンマグロブリンの有用性について再評価を行った。

結果

添加回収試験において、GII.17 の回収率は GII.4 のそれには及ばないものの、汚染濃度が低くなるにつれて高くなる傾向が認められた。さらに、低濃度領域の汚染を検出するために用いられる nested real-time PCR を用いた検討では、

ポテトサラダと焼きそばにおいて、35 コピー/g まで検出可能であった。この成績は、すでに発表済の GII.4 におけるものと同等であった。実際の食中毒事例は微量の汚染に起因していることから、ガンマグロブリンを捕捉抗体として用いるパンソルビン・トラップ法は、GII.17 に対しても問題なく適用できることが示された。

秋田県における二枚貝からのノロウイルス・サポウイルスの検出と感染性胃腸炎患者からのノロウイルス・サポウイルスの検出状況（厚生労働科学研究費補助金「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」）（平成 28 年度～平成 30 年度）

研究概要

カキ等二枚貝の生食及び加熱不十分な状態での喫食は、ノロウイルス等によるウイルス性胃腸炎を引き起こす原因と考えられている。今回、二枚貝の汚染状況を把握するため、2016 年に秋田県で流通した生食用カキ及び殻付き生アサリについて、ノロウイルス (NoV)、サポウイルス (SaV) の検出を行った。また、秋田県において 2016 年に感染性胃腸炎患者から検出された NoV、SaV の状況について総括した。

結果

2016 年 1 月に購入した生カキは、NoV GII が 3 海域から、NoV GI が 2 海域から検出され、遺伝子型は GII.3、GII.17、GI.2、GI.4 が確認された。パック充填の浮遊液については、1 海域から NoV GII.17 が検出された。2 月に購入した生カキからは、NoV の GII.4 Sydney 2012 亜型、GII.17、GI.2、GI.4 が検出された。3 月に購入したアサリからは、NoV の GII.6 と GI.7 が検出された。1 月～3 月に購入した生カキ及びアサリの SaV は、不検出であった。10 月、11 月、12 月に購入した生カキについては、12 月購入分から NoV の GII.2 と GII.3 が検出された。同時期に購入したアサリについては、NoV の GII.2 が 11 月購入分以降に確認され、NoV の GI.7 が 12 月購入分より検出された。

2016 年の秋田県における食中毒事例 3 事例はすべてが NoV GII の感染であり、検出された遺

伝子型は GII.4 Sydney 2012 亜型と GII.17 であった。集団感染事例において検出された NoV の遺伝子型は、GII.2 が最も多く、その検出時期は 10 月～12 月であった。感染症発生動向調査においては、NoV GII.4 Sydney 2012 亜型の検出が最も多かった。次いで多く確認された NoV GII.2 の検出時期は、11 月～12 月であった。SaV は、GI.1 と GII.3 が散発的に検出された。今回の結果から、秋田県で流通している二枚貝の NoV, SaV の汚染実態が明らかとなり、検出された遺伝子型は市中の流行状況に反映されているものと考えられた。

理化学班

廃水処理施設における 1,4-ジオキサン分解菌の挙動と活性促進因子の探索 (平成 28 年度～平成 30 年度)

研究概要

難分解性の化学物質 1,4-ジオキサンが特異的に処理されている廃水処理施設において、生物処理槽の活性汚泥中に複数の種類の 1,4-ジオキサン分解菌の存在が確認されている。この廃水処理施設では、水温ヒーターの設置等の対策を講じたことで、一年を通じて排水基準を満たすことが可能となった。しかしながら依然として、季節に応じて短期的な処理能力低下がときおり生じており、この原因は不明である。そこで、長期的に 1,4-ジオキサン分解菌の存在割合と処理効率を観察し、処理に有効な菌の種類や必要最低限の菌濃度について評価を行う。また、菌の単離を試み、特性を評価することで、活性の促進又は阻害となる要因について探索する。

結果

定期的に生物処理槽の活性汚泥中に存在する 1,4-ジオキサン分解菌の割合を調査した結果、A, B 両施設ともに一年を通じて常に優占している菌は *Mycobacterium* 属であった。処理方式の異なる A, B 施設それぞれでの *Mycobacterium* 属の濃度は大きく異なっており、汚泥が対流する標準活性汚泥方式の A 施設では 0.27～0.85%，汚泥が対流しない接触ばつき方式の B 施設では

4～18% であった。接触ばつき方式の汚泥は、表面に付着している部分を採取しており、この表面部分の *Mycobacterium* 属の濃度が非常に濃いことになる。

これまでに 1,4-ジオキサン分解菌の単離の検討を何度か行ってきたが、活性汚泥中では容易に培養できる菌であっても、単離してしまうと分解率 0～20% と 1,4-ジオキサン活性を著しく失ってしまうという問題があった。平成 28 年度の検討により、1,4-ジオキサン活性を誘導する物質をいくつか見いだすことができたため、今後は単離した菌についての特性試験を行う予定である。

環境保全班

環境省委託 化学物質環境実態調査 (平成 25～28 年度)

研究概要

本調査の目的は、以下の 2 点である。

- 1) 「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（化管法）」指定化学物質及び「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」優先評価化学物質の環境リスク評価等を行う際の資料するために、環境中化学物質濃度を把握すること。
- 2) 「化審法」の特定化学物質等の環境中残留状況を監視し、「残留性有機汚染物質に関するストックホルム条約」対象物質等の環境中残留状況の経年変化を把握すること。

上記目的のために、1) 秋田運河及び 2) 八郎湖にて、水・底質試料等を採取し、分析機関へ送付した。

結果

秋田運河では、クラリスロマイシン、スルファピリジン及びスルファメトキサゾール等の医薬品・生活関連物質が水試料から検出された。八郎湖では、ポリ塩化ビフェニル類、ヘキサクロロベンゼン、ペルフルオロオクタンスルホン酸等が水・底質試料から検出された。本調査結果の詳細は、環境省の WEB サイトで公開されているため、本項では省略する。

III 報告

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(平成 28~30 年度)

サポウイルスに対してパンソルビン・トラップ法を用いる際の RNA 検出系の最適化

斎藤博之 秋野和華子 野田 衛^{*1}

パンソルビン・トラップ法（パントラ法）は、食品検体に含まれるウイルス粒子を黄色ブドウ球菌（ブ菌）の表面に吸着させて回収することを基本原理としている。その性質上、抽出された RNA には大量のブ菌由来の遺伝子が混入することになるが、極微量のウイルス RNA を安定的に保持するキャリアーとして働くため、検出感度に対してはプラスの効果が見込める。その一方で、大量のブ菌の遺伝子の中に含まれるウイルス遺伝子を検出するという特異な条件を課されることから、試験機関によって検出精度がバラつくという問題が指摘された。これまでにノロウイルス RNA の検出系に関しては、ブ菌の影響を最小限にする反応条件が確立されたことから、引き続きサポウイルス (SaV) についても RNA 検出系の最適化を図った。糞便検体からの SaV の検出系は RT-PCR, real-time PCR 共にすでに報告されているが、これらの方針をパントラ法に適用した場合には、ブ菌遺伝子に対する副反応によって検出感度の低下が見られた。特異性向上のために PCR のアニーリング温度を高く設定したところ、ブ菌遺伝子に対する副反応は抑制されたものの、プライマーの Tm 値が低いことから感度の改善には至らなかった。LNA (Locked Nucleic Acid) 修飾塩基を導入して Tm 値を上げる手法を用いることで、逆転写、1st. PCR, 2nd. PCR, 及び real-time PCR の各反応系において SaV 遺伝子の検出効率を最適化することができた。

1. はじめに

ウイルス性食中毒の対策として二枚貝の汚染実態調査や、調理従事者への衛生教育等が進められている^{1,2)}。しかしながら、原因として疑われる食品からのウイルス検出は、その作業の困難さからこれまでほとんど検討されてこなかったため、具体的な汚染ルートの解明に決め手を欠いていた。原因物質としてはノロウイルス (NoV) が大部分を占めるが、他にもサポウイルス (SaV) や腸管系アデノウイルスも含まれている。さらに、輸入食品等が原因と考えられる A 型肝炎ウイルス感染者の報告が急増するなど、食品中のウイルスを検出する方法の確立が急務となっている³⁾。平成 19 ~21 年度に実施された厚生労働科学研究費補助金「食品中のウイルスの制御に関する研究」において、固形、液状、練り物、油物などの一般的な食品から NoV を検出する手法としてパンソルビン・トラップ法（パントラ法）を開発し、この問題を解決するための糸口を見出すことができた⁴⁻¹³⁾。その後、平成 22~24 年度に実施された厚生労働科学研究費補助金「食品中の病原ウイルスのリ

スク管理に関する研究」において、市販のガンマグロブリン製剤を利用することで添加抗体の安定供給が図られた他、検出した遺伝子の塩基配列解析も可能となった¹⁴⁻¹⁹⁾。さらに、共通試薬とノロウイルスを含む共通検体を用いたコラボ・スタディにおいて、試験機関ごとの結果にバラツキが生じたことから、反応系等の最適化を行った²⁰⁾。今回は、NoV と並んで食中毒原因物質となり得る SaV の RNA 検出系の最適化を図ったので報告する。

2. 方法

2.1 研究材料

実験には市販きな粉を用いた。また、検出対象となるウイルスとして、SaV-GI.1 (Accession No: AB685711) を含む糞便を用いた。

2.2 試薬類

2.2.1 食品洗滌液

Tris-HCl (pH8.4) – 0.5 M NaCl – 0.1% Tween20 を調製して使用した。

^{*1} 国立医薬品食品衛生研究所

2.2.2 ガンマグロブリン

米国 HDM Labs Inc.社の工業用ガンマグロブリン粉末を、アドビー・ジャパン社を通じて購入し、蒸留水（DW）にて 5% 溶液とした。

2.2.3 パンソルビン

黄色ブドウ球菌（ブ菌）を熱処理してホルマリン固定したものの懸濁液で、メルク社から購入した。

2.2.4 フェノール系 RNA 抽出キット

TRIzol-LS (Thermo Fischer Scientific) を使用した。

2.2.5 カラム方式の RNA 抽出キット

QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen) を使用した。

2.2.6 再懸濁液

2.2.5 の抽出キット添付の AVL 液を用いた。

2.2.7 DNase I (RT Grade) 及び RNase inhibitor

ニッポンジーンの製品を使用した。

2.2.8 アミラーゼ

枯草菌由来 α -Amylase 粉末（和光純薬）を使用した。

2.2.9 食品処理袋

サニスペックテストバッグ（アズワン）を使用した。

2.2.10 conventional PCR 用酵素

1st.PCR には KAPA2G Robust HotStart PCR Kit (KAPA BIOSYSTEMS) を用いた。反応は添付 buffer A を使用し、 Mg^{2+} を 4.5 mM に増量し、基質として dUTP を添加した系²⁰⁾により行った。

2nd. PCR には AptiTaq Fast PCR Master (Roche Diagnostics) を用いた。このとき酵素をホットスタート化するため、anti-Taq high (東洋紡) を添加した。

2.2.11 逆転写酵素

ReverTra Ace (東洋紡) を使用した。

2.2.12 逆転写反応に用いたプライマー

ランダム 9 mer (タカラバイオ)、及び、逆転写反応専用プライマー PANR-SV (表 4) を用いた。

2.2.13 conventional PCR に用いたプライマー

Kitajima らの方法²¹⁾に記載のあるプライマー、及びそれらを元に LNA (Locked Nucleic Acid) 修飾²²⁾を加えたプライマーを用いた（表 1、表 2）。

2.2.14 conventional PCR 装置

アステック社製「PC-320」を用いた。

2.2.15 real-time PCR 装置

ロシュ社製「LightCycler 480」を用いた。

2.2.16 real-time PCR 用酵素

ロシュ社製「LightCycler 480 Probe Master」を用いた。

2.2.17 real-time PCR 反応系

Oka らの方法²³⁾に従った。プライマーについては一部に LNA 修飾を加えた（表 3）。

2.3 検討の順番

次の 2 項目について反応条件の最適化を行った。

(1) 逆転写反応系の最適化

(2) PCR 反応系の最適化

なおプロトコル上の順番は (1) → (2) であるが、最適化にあたっては逐次結果を観察しながら行う必要があるため、検討の順番は (2) → (1) とした。すなわち、最初に (2) の検討と最適化を行い、次に (1) を検討する（最適化済みの (2) を用いて結果を観察する）という順になる。

2.4 パンソルビン・トラップ法の手順

平成 22 年度に完成した汎用プロトコル（図 1）に従った。本研究では、反応条件の最適化のために、「パントラ抽出物」による負荷試験を行った。

「パントラ抽出物」は、ウイルスを含まない市販のきな粉からパントラ法のプロトコルを用いて調製した。この時、平成 25 年に検討したオンカラム DNase I 処理（図 2）を組み入れた。

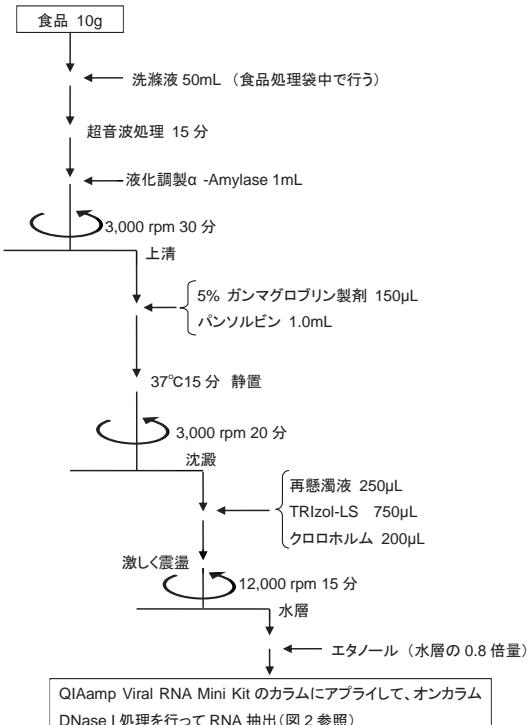


図 1 パンソルビン・トラップ法の操作手順

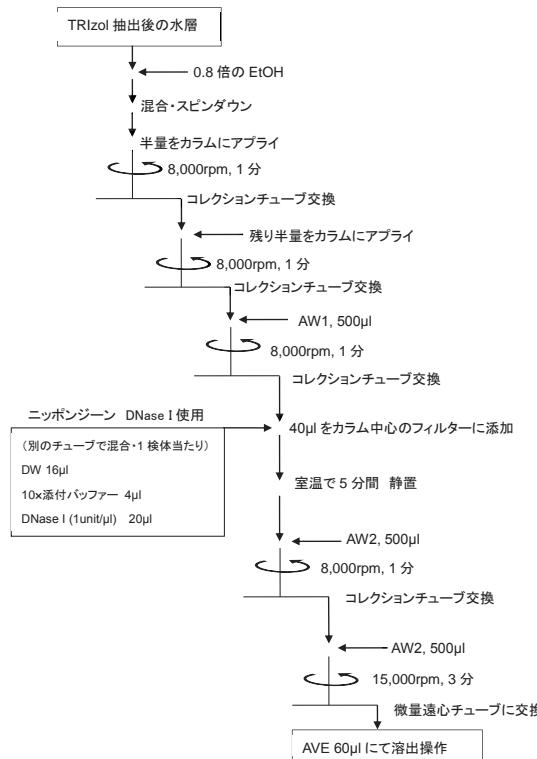


図2 QIAamp Viral RNA Mini Kitへのオンカラム DNase I処理

2.5 PCRの反応条件に関する検討

5×10^5 コピー/ μL の SaV GI.1 cDNA を DW, 及びパントラ抽出物で段階希釈することで、被検体を調製した。これらを、表1に示した Kitajima 法の 1st. PCR プライマー、及びそれらに LNA 修飾を加えたプライマーを用いた反応系で増幅を行い、検出効率を比較した。反応容量 25 μL 中に上記被検体が 5 μL 含まれるようにした。PCR の設定条件は、原法のアニーリング温度に従って、

95°C 2 分 : 1 サイクル

95°C 30 秒 – **50°C** 30 秒 – 72°C 60 秒 : 40 サイクル

72°C 7 分 : 1 サイクル

を行った。

また、検討条件としてアニーリング温度を 60°C に設定し、

95°C 2 分 : 1 サイクル

95°C 30 秒 – **60°C** 30 秒 – 72°C 60 秒 : 40 サイクル

72°C 7 分 : 1 サイクル

を行った。

次に、 5×10^3 コピー/ μL の SaV GI.1 cDNA を DW とパントラ抽出物で段階希釈したもの被検体とし、表2に示した Kitajima 法の 2nd. PCR プライマ

ー、及びそれらに LNA 修飾を加えたプライマーを用いた反応系について検討した。反応プログラムは、アニーリング温度を 60°C に設定し、

95°C 2 分 : 1 サイクル

95°C 30 秒 – 60°C 30 秒 – 72°C 30 秒 : 40 サイクル

72°C 7 分 : 1 サイクル

を行った。

さらに、SaV GI.1 cDNA を $10^1 \sim 10^3$ コピー投入した反応系において、表3に示した real-time PCR に用いるプライマー・プローブセットの内、Tm 値が低い SaV1245R に LNA 修飾を加えたものについて検討した。

2.6 逆転写反応に関する検討

2×10^6 コピー/ μL の SaV GI.1 RNA を DW、及びパントラ抽出物で段階希釈した被検体を調製した。ランダムプライマー、または表4に示した逆転写反応専用プライマー PANR-SV を用いて cDNA を合成した。PANR-SV は PANR-SVa, PANR-SVb, PANR-SVc を縮重重度に応じて 6:3:1 で混合して調製した。反応温度は、42°C にて行った。反応容量は 20 μL で、上記被検体が 10 μL 含まれるようにした。30 分の逆転写反応後、DW を 20 μL 加えたもの（2倍希釈）を 5 μL 取り、先に最適化を済ませた conventional PCR と real-time PCR の反応系により増幅効率を比較した。

3 結果

3.1 PCRの反応条件に関する検討

図3に示したとおり、原法に従いアニーリング温度を 50°C に設定した場合は、DW による希釈系列では 10^{-4} 希釈まで増幅バンドが検出されたが、パントラ抽出物による段階希釈系列では 10^{-2} 希釈までしか検出されなかった。一方で、ブ菌 16s リボソーム由来のバンドが検出された（シーケンスにより確認）。アニーリング温度を 60°C まで高めたところ、ブ菌由来のバンドは消失したものの、SaV のバンドもほとんど認められなくなった。表1に示したプライマーの中で、特に Tm 値が低い R13 と R14 について、LNA 修飾を加えて Tm 値を向上させたところ（R13-L5、及び R14-L4）、アニーリング温度 60°C の設定であっても 10^{-4} 希釈まで SaV のバンドを検出できるようになった。

Tm 値の低い SaV1245Rfwd に LNA 修飾プライマーを用いた反応系では、パントラ抽出物存在下でも 10^{-4} 希釈までバンドを検出できた（図4）。

Tm 値の低い SaV1245R に LNA 修飾プライマーを用いることで、real-time PCR の感度が全体的に向上し、パントラ抽出物存在下でも 10^1 コピーまで検出できた（図 5）。

3.2 逆転写反応に関する検討

図 6 に示したとおり、ランダムプライマーを用いた逆転写反応においては、DW による段階希釈系列では 10^5 希釈まで増幅バンドが認められたが、パントラ抽出物による段階希釈系列では 10^3 まで

しか検出できなかった。一方で、ブ菌由来のバンドが観察された。PANR-SV による逆転写反応を行ったところ、パントラ抽出物存在下でも 10^5 希釈まで SaV のバンドが検出できた。ブ菌由来のバンドも残存したが、1st.PCR 産物に対して 2nd. PCR を行うことによって SaV の遺伝子のみを増幅できた。また、real-time PCR を用いた反応系でも、PANR-SV を用いた逆転写反応で 10^5 希釈まで検出できることが確認された（図 7）。

表 1 SaV の 1st. PCR 用プライマーの配列と Tm 値

使用目的	名称	塩基配列(5'→3')	Tm 値(°C)	参考文献
Forward	SaV124F	GAYCASGCTCTCGCYACCTAC	65~69	23
	SaV1F	TTGGCCCTCGGCCACCTAC	67	23
	SaV5F	TTTGAACAAAGCTGTGGCATGCTAC	66	23
Reverse	R13	GGTGANAYNCCATTKTCCAT	56~65	21
	R14	GGTGAGMMYCCATTCTCCAT	59~67	21
Reverse	R13-L5	<u>G</u> GTGANAYNC <u>C</u> ATT <u>K</u> TCCAT	66~77	本研究
	R14-L4	<u>G</u> GTGAGMMY <u>C</u> ATT <u>T</u> CTCCAT	66~74	本研究

G, C, T: LNA 修飾

表 2 SaV の 2nd. PCR 用プライマーの配列と Tm 値

使用目的	名称	塩基配列(5'→3')	Tm 値(°C)	参考文献
Forward	SaV1245Rfwd	TAGTGTGTTGARATGGAGGG	57~59	21
Reverse	R2	GWGGGRTCAACMCCWGGTGG	65~70	21
Forward	SaV1245Rfwd-L3	TAG <u>G</u> TGTTT <u>G</u> ARATGGAGGG	63~64	本研究

G: LNA 修飾

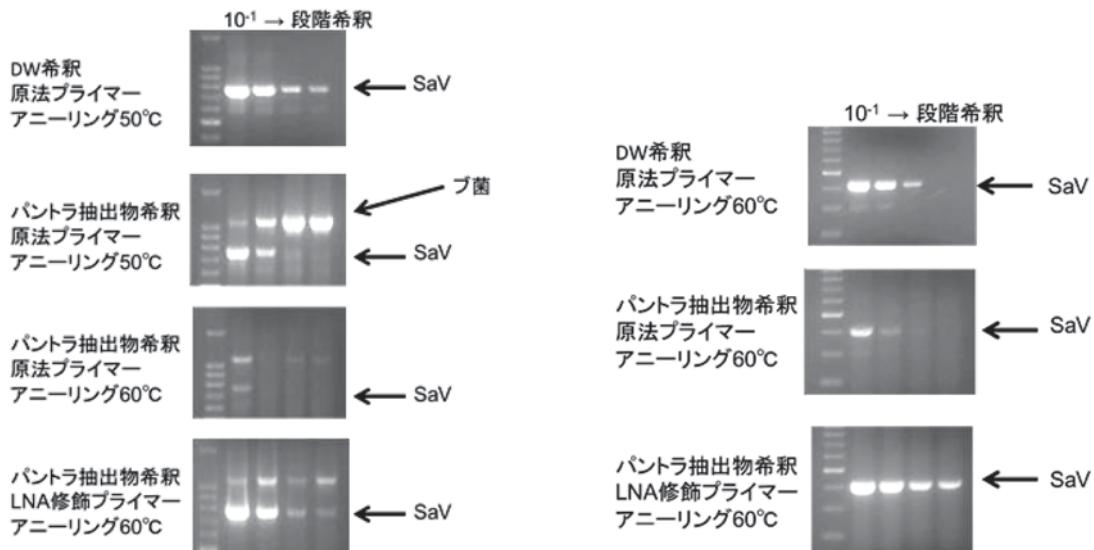


図 3 SaV の 1st. PCR における
LNA 修飾プライマーの効果
 5×10^5 コピー/ μ L の cDNA を段階希釈した
ものを 5μ L 投入 (25 μ L 反応系)

図 4 SaV の 2nd. PCR における
LNA 修飾プライマーの効果
 5×10^3 コピー/ μ L の cDNA を段階希釈した
ものを 5μ L 投入 (25 μ L 反応系)

表3 SaVのreal-time PCR用プライマー・プローブセットの配列とTm値

使用目的	名称	塩基配列(5'→3')	Tm値(℃)	参考文献
Forward	SaV124F	GAYCASGCTCTCGCYACCTAC	65~69	23
	SaV1F	TTGGCCCTGCCACCTAC	67	23
	SaV5F	TTTGAACAAGCTGTGGCATGCTAC	66	23
Reverse	SaV1245R	CCCTCCATYTCACAAACACTA	57~59	23
Probe	SaV124TP	FAM-CCRCCTATRAACCA-TAMRA-MGB	*1	23
	SaV5TP	FAM-TGCCACCAATGTACCA-TAMRA-MGB	*2	23
Reverse	SaV1245R-L3	<u>C</u> CCTC <u>C</u> ATYT <u>C</u> AAACACTA	65~66	本研究

C: LNA修飾

*1: オリゴDNAのTm値は47~55℃だが、MGB修飾により親和性を上昇させている。

*2: オリゴDNAのTm値は58℃だが、MGB修飾により親和性を上昇させている。

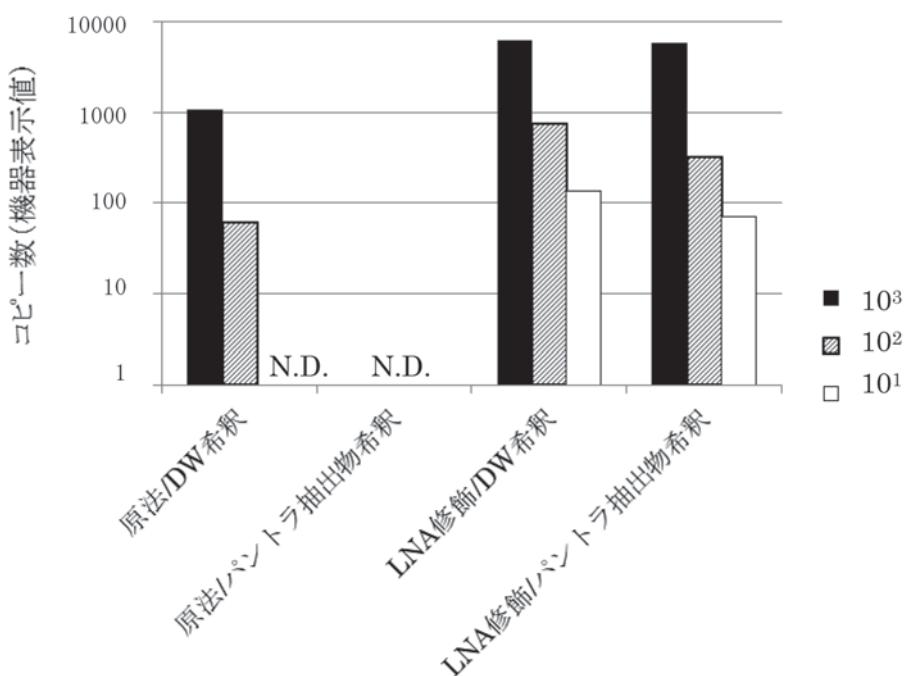


図5 SaVのreal-time PCRにおけるLNA修飾プライマーの効果

10¹~10³コピーのcDNAを投入(20μL反応系)

N.D.: 不検出。

表4 SaVの逆転写反応専用プライマーの配列とTm値

名称	塩基配列(5'→3')	Tm値(℃)	縮重度
PANR-SVa	GC <u>VNYRAARTGKTGRTTVACYTG</u>	61~83	1536
PANR-SVb	GMR <u>TTRAARTGKCKRRTVACYTG</u>	60~82	768
PANR-SVc	GYGGWRRAATGGYGGTTRACYTG	61~73	128

A, G, C, T: LNA修飾

PANR-SV: PANR-SVa, PANR-SVb, PANR-SVcを6:3:1で混合した。

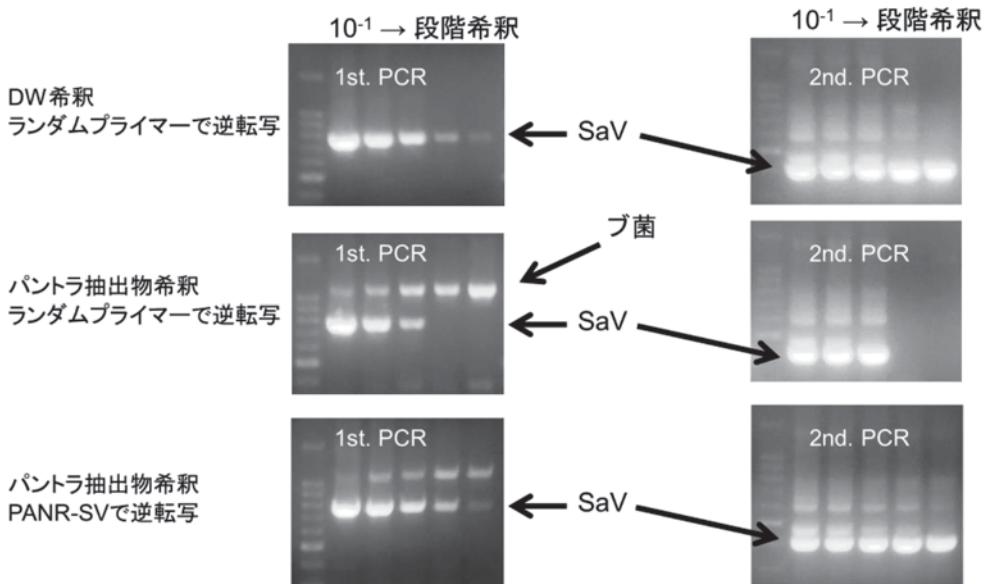


図6 SaVの RT-PCRにおける逆転写反応専用プライマー(PANR-SV)の効果
 2×10^6 コピー/ μL のRNAを段階希釈したものを逆転写反応の後、RT-PCRで増幅した。

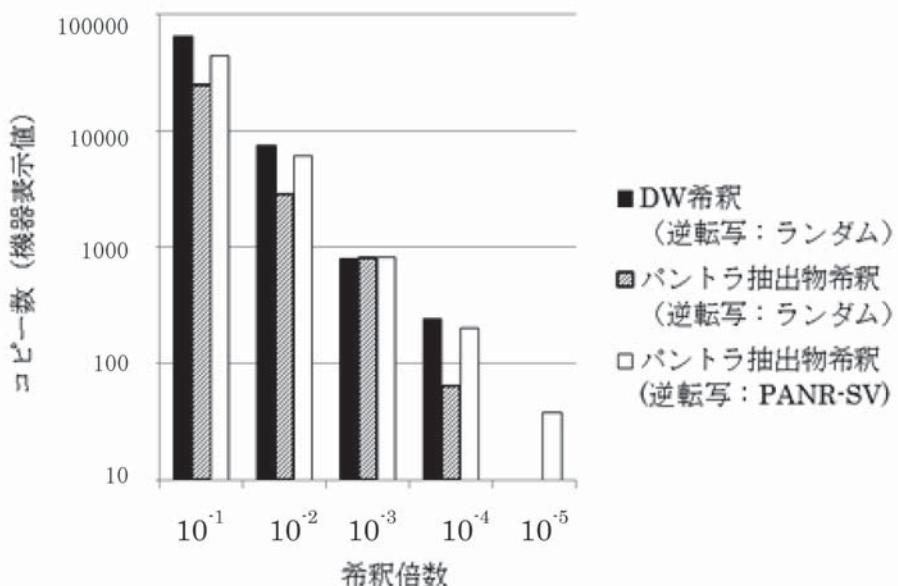


図7 SaVの Real-time PCRにおける逆転写反応専用プライマー(PANR-SV)の効果
 2×10^6 コピー/ μL のRNAを段階希釈したものを逆転写反応の後、real-time PCRで定量した。

4. 考察

4.1 検討の順番

本法はすでに複数の実事例において食品からのNoVの検出に成功していることから、プロトコルとしては完成の域にあるものと考えられる²⁴⁻²⁶。しかし、実施する機関が増えるにつれて、検出精度にバラつきが生じることもあるため、あらかじ

め対策を講じておくことが必要である。NoVについては、すでにRNA検出系を最適化しており、その際にアミラーゼ粉末の液化調製やオンカラムDNase I処理などの改良も実施した。本研究ではNoVの場合と同様に、パントラ抽出物による負荷試験を中心にSaVのRNA検出系に対して最適化を図った。酵素の選定についてはNoVにおける研

究で結果を示していることから、次の2点に関してプライマー設計の視点から検討した。

(1) 逆転写反応系の最適化

(2) PCR 反応系の最適化

検討の順番はプロトコルとは逆に(2)→(1)とした。これは、(1)→(2)の検討では、最適化されていないプロセスを経た結果を見るこになり不正確であるという理由による。

4.2 PCR 反応条件に関する検討

検討にあたっては、PCRを行う直前の段階であるcDNA合成までは問題がないことを前提としなければならなかった。そこで、結果に影響が及ぶ要因を排除するために、ウイルスを含まない食品から調製したパントラ抽出物をベースとし、そこにSaVの遺伝子配列由来のcDNAを加えた被検体を用いた。検出感度の検討のために段階希釈試験が一般的に行われているが、ここではDWで希釈する代わりにパントラ抽出物を使うことで、大量のブ菌遺伝子の存在下という負荷的条件を設定している。

表1に示したKitajima法の1st.PCRプライマの中では、R13とR14のTmが特に低くなっている。PCRのアニーリング温度は最もTm値の低いプライマーに合わせて設定されるため、原法では50°Cとなっている。この条件下では、SaV cDNAをDWで段階希釈した場合には十分な感度が得られているものの、パントラ抽出物存在下ではブ菌の遺伝子にも非特異的な反応が起こり、SaV遺伝子の増幅が阻害されている(図3)。一般的に、PCRの特異性を高めるためには、アニーリング温度を高く設定するのがよいとされているが、60°Cのアニーリングでは、ブ菌の非特異バンドは抑制されたものの、SaVに対する検出感度も低下した。そこで、高いアニーリング温度と検出感度を両立させるためには、プライマーのTm値そのものを高めてやればよいことになる。その方法の一つとしてLNA修飾があり、表1ではR13とR14に対して導入することで、Tm値を高めている。このような改良を加えたR13-L5とR14-L4を用いた上で、アニーリング温度を60°Cに設定したPCRを行うと、図3に示したように、パントラ抽出物存在下でも十分な検出感度が得られた。

表2に示したKitajima法の2nd.PCRで用いるプライマーの内、SaV1245RfwdのTm値が低いため、LNA修飾を加えることで、もう一方のプライマー

であるR2とTm値をそろえることができた。原法では、2nd.PCRのアニーリング温度も50°Cに設定されていたが、こうした改良を加えることで、60°Cのアニーリングが可能となり、パントラ抽出物存在下でも十分な感度が得られた(図4)。

表3にはOkaらの方法で用いられているreal-time PCRのプライマー・プローブセットを示したが、この中でSaV1245Rだけが他のプライマーよりもTm値が低くなっている。原法の反応条件におけるアニーリング温度が62°Cに設定されていることから、それよりもTm値が低いことで不都合が生じる可能性がある。プローブに使われているオリゴDNAもTm値が低いが、MGB修飾によって鋲型に対する親和性が高められているため問題は無い。図5を見ると、原法の条件では低濃度領域で検出感度が低下し、パントラ抽出物存在下では、その傾向が著しい(検出できない)ことがわかる。そこで、SaV1245RにLNA修飾を加えて、他のプライマーと同等のTm値まで向上させたSaV1245R-L3を用いて、同じ被検体からの検出を試みたところ、全体的に感度が高められ、パントラ抽出物存在下でも十分な検出感度が得られた。

4.3 逆転写反応に関する検討

PCR反応系の最適化の場合と同様に、逆転写反応直前の段階までは問題がないことを前提として検討を行う必要があることから、SaV RNAをパントラ抽出物で段階希釈した被検体を用いた。表4に示したプライマーを用いて逆転写反応を行った後は、最適化の済んだconventional PCR、またはreal-time PCRで結果を比較検討した。

図6に示したとおり、DWによる段階希釈系列では、ランダムプライマーでも 10^5 希釈までバンドが認められるが、パントラ抽出物存在下では、 10^3 希釈までしか検出できず、ブ菌による非特異増幅バンドが目立つ結果となった。逆転写反応専用プライマーPANR-SVを用いることで、 10^5 希釈まで検出できるようになり、2nd.PCRを行うことで確実にSaV遺伝子を増幅することができた。同じ希釈系列の被検体をreal-time PCRで比較したところ、PANR-SVを用いることで 10^5 希釈まで検出できた。

4.4 今後に向けた課題

本研究では、各種プライマーのTm値を調整するためLNA修飾を多用している。プライマー設

計に当たっては、Forward 側と Reverse 側のプライマーの Tm 値をそろえることが基本となるが、SaV のように塩基配列が多様性に富んでいるウイルスの場合は、配列の保存領域が優先されるため、Tm 値に関して最適化するのは難しかった。LNA 修飾を導入することで、塩基配列はそのままで高い Tm 値を得ることが可能となるため、他のプライマー設計の際にも役立つものと考えられる。また、図 5 に示されたように、感度が全面的に向上することから、パントラ法以外の日常的な糞便検査に取り入れることにも意義がある。なお、本稿では SaV GI.1 を試験材料としたが、GI.2, GII.3, GIV.1, GV.1 についても同様の結果が得られることを確認している。

他の食中毒起因ウイルスとしては、近年報告が増加しつつある E 型肝炎ウイルス等への適用を進める必要があるが、捕捉抗体の供給源を確保することが重要である。同様に NoV や SaV であっても、新たな型に対応するためには、疫学調査と並行して捕捉抗体の見直しを継続していかなければならない。

さらに、本法が有効に活用されるためには、適切な食品サンプルの確保が重要である。具体的には、実際に食卓に供せられる段階の検食（調理から盛り付けのプロセスを経たもの）を保存するという原則を、事業者に周知する必要がある。また、ウイルスは食品中では増殖せず付着するのみであることから、分取した食品サンプルに付着していくなければ陰性となってしまう。そのため、サンプリングプランや、スケールアップの方法についても検討する余地が残されている。加えて、今後はウイルスの回収効率を客観的に評価する必要性も生じてくることから、内部標準物質の使用についても検討を進める必要がある。

5. まとめ

パントラ抽出物は多くの細菌遺伝子を含むことから、その中に微量に存在するウイルス RNA を検出するには、逆転写や PCR の反応系を工夫する必要がある。糞便検体では問題なく実施できていた反応系であっても、パントラ抽出物存在下では不都合を起こす場合があることから、最適化は重要である。これまでに NoV RNA 検出系に関しては最適化の検討を行ってきたが、次の課題として SaV について実施した。逆転写反応、1st. PCR, 2nd.

PCR, real-time PCR の各反応系について、弱点となる Tm の低いプライマーに LNA 修飾を加えることで、高温での反応を可能にし、SaV 遺伝子の検出効率を最適化させることができた。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター、国立感染症研究所ウイルス第二部:ノロウイルス集団発生事例に対して感染症および食品部局が共同で実施する初期実地疫学調査および微生物学的検査のポイント(第1版:平成19年11月18日付け), 2007, 16-17.
- 2) 丸山務(監修) : 改訂 ノロウイルス現場対策, 2007, 35-36.
- 3) 薬事・食品衛生審議会 食品衛生分科会食中毒部会: ノロウイルス食中毒対策について(提言), 2007, 1-2.
- 4) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収, 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書, 2008, 103-111.
- 5) 東方美保, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収(検討2), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成19年度 総括・分担研究報告書, 2008, 125-133.
- 6) 斎藤博之, 他: 食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の開発, 秋田県健康環境センター年報, 4, 2008, 75-81.
- 7) 東方美保, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検体からのノロウイルスの回収検討(第1報), 福井県衛生環境研究センター年報, 7, 2008, 69-72.
- 8) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良(検討1), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書, 2009, 27-38.
- 9) 東方美保, 他: パンソルビン・トラップ法の実用化に向けた改良(検討2), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成20

- 年度 総括・分担研究報告書,2009, 181-190.
- 10) 斎藤博之, 他: 食品検体のノロウイルス検査に向けたパンソルビン・トラップ法の実用性向上に関する研究, 秋田県健康環境センタ一年報, **5**, 2009, 54-62.
- 11) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築(検討1), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成21年度 総括・分担研究報告書, 2010, 45-60.
- 12) 東方美保, 他: パンソルビン・トラップ法による食品検査法の構築(検討2), 厚生労働科学研究費補助金 食品の安心・安全確保推進研究事業 食品中のウイルスの制御に関する研究 平成21年度 総括・分担研究報告書, 2010, 187-197.
- 13) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品中のノロウイルス検査法の構築, 秋田県健康環境センタ一年報, **6**, 2010, 59-69.
- 14) 斎藤博之, 他: 食品検体の病原ウイルス検出を可能にした汎用型パンソルビン・トラップ法の開発, 秋田県健康環境センタ一年報, **7**, 2011, 43-53.
- 15) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法による食品からのウイルス検出法, 病原微生物検出情報, **32**, No.12, 2011, 4-5.
- 16) 斎藤博之, 他: 食品中のウイルス検査に向けてのパンソルビン・トラップ法の汎用化, 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 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成22年度 総括・分担研究報告書, 2011, 45-57.
- 17) 斎藤博之: 食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発, 日本食品微生物学会雑誌, **29**, No.1, 2012, 32-37.
- 18) 斎藤博之, 他: パンソルビン・トラップ法によって食品検体から検出されたノロウイルスの遺伝子解析法の開発, 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 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成24年度 総括・分担研究報告書, 2013, 35-48.
- 19) Saito H., et. al.: Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals. Food Environ. Virol., **7**, 2015, 239-248.
- 20) 斎藤博之, 他: 食品からのウイルス検出法としてのパンソルビン・トラップ法の精度向上に関する研究, 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 食品中の病原ウイルスの検出法に関する研究 平成25年度 総括・分担研究報告書, 2014, 31-58.
- 21) Kitajima M., et. al.: Detection and genetic analysis of human sapoviruses in river water in Japan. Appl. Environ. Microbiol., **76**, 2010, 2461-2467.
- 22) Latorra D., et. al.: Design considerations and effects of LNA in PCR primers. Mol. Cell. Probes, **17**, 2003, 253-259.
- 23) Oka T., et. al.: Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. J. Med. Virol., **78**, 2006, 1347-1353.
- 24) 三好龍也, 他: 食品中からノロウイルス遺伝子が検出された食中毒事例, 病原微生物検出情報, **32**, 2011, 13-14.
- 25) 飯塚節子, 他: パンソルビン・トラップ法による食品からのノロウイルス遺伝子の検出～弁当屋を原因施設としたノロウイルス集団食中毒事例～, 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 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究 平成24年度 総括・分担研究報告書, 2013, 175-180.
- 26) 土屋祐司, 他: パンを原因としたノロウイルス集団食中毒事例, 日本食品微生物学会雑誌, **32**, 2015, 153-158.

健康被害の防止 食品衛生対策に関する調査研究（平成28年度）

ツキヨタケ中の毒性成分イルジンSの分析について

今野祿朗 松渕亜希子

ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) 中の毒性成分イルジンSを液体クロマトグラフ tandem質量分析計 (LC-MS/MS) によって分析した。試料をメタノールで抽出し、固相抽出カラムを用いて精製した試験溶液を LC-MS/MS で測定した。添加回収試験では回収率約 80%と、分析法として有用であることが確認された。本分析法を用いて実試料の分析を行ったところ、281～383 µg/g と高濃度のイルジンSが検出された。煮物を想定した加熱調理試験を行った結果、イルジンSの約 75%がキノコ本体から煮汁へと移行しており、また、調理前後でイルジンSの減少は見られなかった。

1. はじめに

ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) はキシメジ科ツキヨタケ属の有毒キノコであり、シイタケ、ヒラタケなどの食用キノコと間違いややすく¹⁾、食中毒事例が多い。2006年から2015年までの間に全国で206件、秋田県で3件の食中毒事例が報告されている²⁾。

ツキヨタケの主な毒性成分はイルジンS(図1)であり、嘔吐などの中毒症状を引き起こすことが報告されている³⁾。ツキヨタケによる食中毒事例ではイルジンSの定性・定量が迅速な原因特定に有用であり、機器分析を用いたイルジンSの分析の検討が行われてきた⁴⁻⁸⁾。

当センターでは2015年に秋田県内で起きたツキヨタケによる食中毒事件を受け、LC-MS/MSによるイルジンSの分析法の検討を行った。また、本法を用いて、秋田県内で採取されたツキヨタケの実試料の分析及び加熱調理によるイルジンSの変化を検証したので、その結果について報告する。

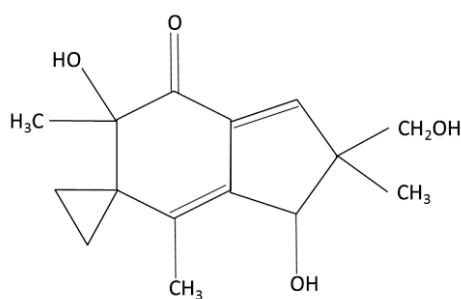


図1 イルジンS構造式

2. 方法

2.1 試料

ツキヨタケは2015年9月に秋田県横手市及び2015年10月に秋田県由利本荘市で採取されたものをそれぞれ試料とした。試料は使用するまで-30°Cで凍結保存した。試料は解凍後ミキサーで細切り、50 mL ポリプロピレン製遠沈管に5 gを量り採った。シイタケ、ヒラタケは市販品を用い、ツキヨタケと同様に処理した。

2.2 標準品及び試薬等

イルジンS標準品は、山形県衛生研究所から譲渡された100 µg/mL メタノール溶液を使用した。

溶媒は、和光純薬製のメタノール(LC/MS用、以下 MeOH)、水(LC/MS用)を用いた。試薬は和光純薬製のぎ酸(LC/MS用)を用いた。

精製用カラムはWaters社製のOasis HLB(500 mg/6mL)を使用した。

除粒子用メンブランフィルターはWhatman社製13 mm GD/Xシリングフィルター(孔径0.45 µm、PTFE)を用いた。

2.3 器具及び装置

ミキサーは岩谷産業製ミルサーIFM-650D、ハンドホモジナイザーはKINEMATICA社製POLYTRON RT1200Eを用いた。遠心分離機は久保田製作所製KUBOTA8850を用いた。アルミブロック恒温槽は、EYELA社製MG-2100を用いた。

LC-MS/MSはAgilent Technologies社製Agilent 1100(高速液体クロマトグラフ、以下HPLC)

及び Sciex 社製 API4000（質量分析装置）を用いた。

2.4 測定条件

分析カラムは Waters 社製の AtlantisT3 (2.1 mm i.d.×150 mm, 粒子径 3 μ m) を使用した。

移動相は、A 液に 0.1% ぎ酸水溶液、B 液に MeOH を使用した。カラム温度は 40°C, 流速は 0.2 mL/min, 注入量は 5 μ Lとした。

イオン化法は ESI によるポジティブモードで行い、分析モードは Multiple Reaction Monitoring (MRM) とした。

イオノスプレー電圧は 5000 V とし、イオン源温度は 400°C とした。モニターイオンは 265>247 を定量イオン、265>217 を定性イオンとした。

HPLC のグラジエント条件は 0 min (B 液 30%) → 10 min (90%) → 15 min (90%) → 15.1 min

(30%) → 25 min (30%) とした。

2.5 試験溶液の調製

試験溶液の調製法を図 2 に示す。

試料 5 g に MeOH 30 mL を加えホモジナイズした。これを遠心分離 (1300×g, 5 分間) し、上清を分取した。次に、残渣に MeOH 20 mL を加えホモジナイズ抽出した。遠心分離 (1300×g, 5 分間) し、上清を合わせ 50 mL に定容し抽出液とした。精製のため、抽出液 2 mL を分取し、水を加え 20 mL に定容した。Oasis HLB カラムに MeOH 5 mL、水 5 mL を順に注入しコンディショニングを行った。これに定容した液を負荷し、20%MeOH 5 mL で洗浄後、MeOH 5 mL で溶出した。溶出液を濃縮乾固し、1 mL の MeOH に溶解しフィルターを通し試験溶液とした。

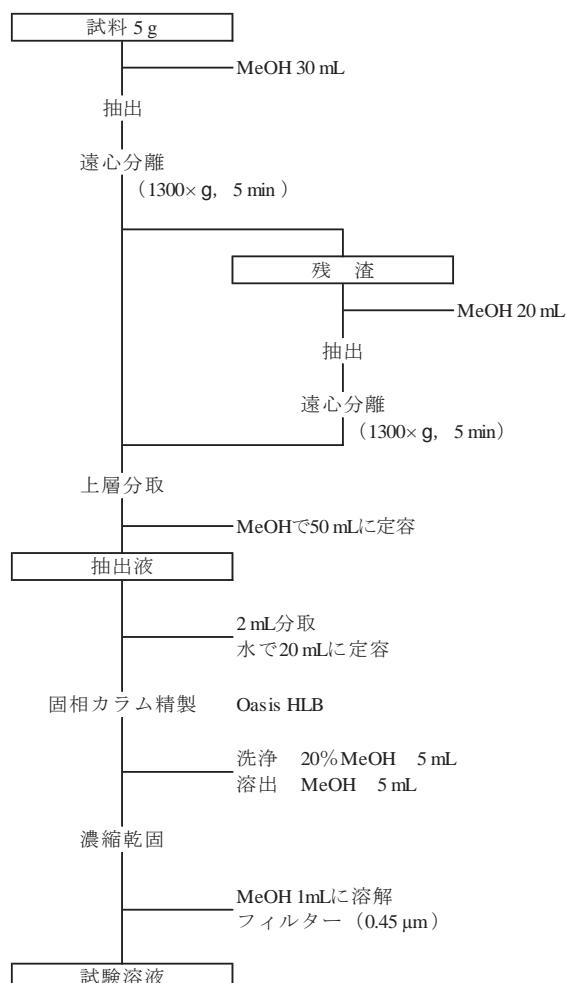


図 2 試験溶液調製フロー

2.6 定量法

イルジン S 標準液を MeOH で希釈し、0.1, 0.2, 0.5, 1, 2, 5 µg/mL の標準液を調製し、LC-MS/MS 分析で得られたクロマトグラムのピーグ面積から検量線を作成し、絶対検量線法により定量した。

2.7 添加回収試験

シイタケ及びヒラタケに 1 µg/g の濃度になるようイルジン S 標準液を添加し、2.5 試験溶液の調製により試験溶液を調製した。それぞれ n=3 の試行数を行った。

3. 結果及び考察

3.1 イルジンSの測定

イルジン S の LC-MS/MS 測定条件を検討した。MRM 条件はイルジン S 標準溶液をシリジポンプを用いて直接 MS/MS に注入し、自動最適化により決定した。自動最適化の結果、感度が最も良好であった 265>247 を定量イオン、265>217 を定性イオンに設定した。HPLC の条件は、日常的に残留農薬分析で使用している分析カラムを用いて、移動相及びグラジエント条件を変更することでイルジン S を測定することが可能であった。試験溶液の調製法は笠原らの方法⁴⁾を参考にし、試料を MeOH で抽出し、固相カラム Oasis HLB を用いて精製を行った。

分析法の精度を確認するためイルジン S の添加回収試験を行った。試料にはツキヨタケと外観が似ており誤食の多いシイタケ及びヒラタケを用いた。分析の結果、回収率は 81.2~84.3% であった（表 1）。定量下限(S/N≥10)はシイタケで 0.24 µg/g、ヒラタケで 0.08 µg/g であった。

過去の分析例⁴⁻⁸⁾では 84~99% の回収率が報告されており、それに比較すると回収率は多少低めではあるが、本法はイルジン S の定性・定量分析に有用と考えられた。

表 1 イルジン S 添加回収試験結果

試料	回収率 (%) *
シイタケ	84.3±3.5
ヒラタケ	81.2±3.3

*平均値±標準偏差 (n=3)

3.2 実試料の測定

本法を用いて、2015 年 10 月に秋田県由利本荘市内で採取したツキヨタケ 3 本についてイルジン S の定量分析を行った。それぞれ分析を行った結果、イルジン S の濃度は 281~383 µg/g であった（表 2）。過去の報告例^{4-5,8)}では 1.9~776.2 µg/g の濃度でイルジン S が検出されており、今回の結果は過去の報告の範囲内であった。

イルジン S の中毒量は明らかにされてはいないが、約 1 mg 程度の摂取により中毒症状を起こす可能性が示唆されており⁴⁾、今回採取したキノコの場合 3~4 g の摂食で中毒症状を起こす可能性があると考えられた。

また採取したキノコの解凍時にはドリップと考えられる水分 120 mL が生じたため、それについてもイルジン S の定量を行った。水分中の濃度は 316 µg/g であり、水分からもキノコと同程度の濃度でイルジン S が検出された。イルジン S は水溶性が高く、キノコから水分に溶出しやすいと考えられる。

表 2 ツキヨタケ中のイルジン S の分析結果

検体名 (重量)	イルジンS濃度 (µg/g) *
ツキヨタケA (122 g)	383±14
ツキヨタケB (109 g)	319±5
ツキヨタケC (183 g)	281±1
水分 (120 mL)	316±4

* 平均値±標準偏差 (n=3)

3.3 加熱調理試験

ツキヨタケを煮物にした場合を想定して、加熱調理によるイルジン S の挙動を確認した。2015 年 9 月に秋田県横手市で採取し、柄を除いたツキヨタケ（重量 45.0 g, イルジン S 含量 248.7 µg/g）を試験に用いた。ツキヨタケに水 300 mL, 醤油 30 mL 及び砂糖 5 g を加え 10 分間沸騰加熱により煮物を作製し、キノコと煮汁についてそれぞれイルジン S の定量を行った（表 3）。キノコのイルジン S 濃度は 56.6 µg/g で、煮汁では 37.5 µg/g であった。この結果からそれぞれの総量を算出するとキノコのイルジン S 量は 2.8 mg, 煮汁中のイルジン S 量は 8.9 mg となり、約 75% が煮汁へと移行したことになる。ツキヨタケによる食中毒ではキノコ本体を摂食しなくとも、煮汁のみの摂食で中毒を起こす危険があることが考えられた。

また、調理前のイルジン S 総量は 11.2 mg なので回収率は 104% であり、イルジン S の総量は減少していなかった。笠原らの報告⁴⁾ではキノコ汁を想定した調理試験での回収率が 75%

とイルジン S は加熱に対して比較的安定であることが確認されており、今回の結果と合わせ加熱調理ではツキヨタケ中のイルジン S はほとんど減少しないことが示唆された。

4.まとめ

LC-MS/MS を用いてツキヨタケ中の毒性成分イルジン S の分析法の検討を行った。添加回収試験では約 80% の回収率となり、本分析法はイルジン S の定性・定量に有用であった。本分析法を用いて実試料の分析を行い、281～383 µg/g の高濃度でイルジン S を検出した。煮物を想定した加熱調理試験を行ったところ、ツキヨタケ中のイルジン S の 75% が煮汁に流出しており、調理前後でイルジン S の総量は減少していなかった。

5. 謝辞

イルジン S 標準物質を提供していただきました山形県衛生研究所の皆様に深く感謝いたします。

表 3 加熱調理試験結果

試料	重量 (g)	イルジンS濃度 [*] (µg/g)	総量 (mg)	回収率 (%)
調理前	ツキヨタケ	45.0	249	11.2
	水+醤油	300+30	—	—
調理後	ツキヨタケ	49.5	56.6	2.8
	煮汁	237	37.5	8.9

* 平均値 (n=2)

参考文献

- 1) 工藤伸一：東北きのこ図鑑，家の光協会，2009，258.
- 2) 厚生労働省ホームページ，
<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html#4-3>
- 3) 笠原義正他：ツキヨタケの胃腸管毒性及び塩蔵による減毒，食品衛生学雑誌，37，1996，1-7.
- 4) 笠原義正他：LC/MS/MS によるツキヨタケ及び食中毒原因食品中の illudin S の分析，食品衛生学雑誌，50，2009，167-172.
- 5) 和田章伸他：ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析，山形県衛生研究所報，43，2010，1-5.
- 6) 多田裕之他：LC-MS/MS によるキノコ及び魚介類の中毒成分迅速分析法，岐阜県保健

環境研究所報, 21, 2013, 1-7.

- 7) 善光寺なおみ他：毒キノコ及びチョウセン
アサガオに含まれる有毒成分の
LC-MS/MSを用いた一斉分析法の検討, 埼

玉県衛生研究所報, 48, 2014, 29-34.

- 8) 青柳光敏他：胃洗浄液及びツキヨタケ中イ
ルジンSの分析法の検討, 北海道衛生研究
所報, 65, 2015, 25-28.

感染症発生動向調査事業

2016 年に多発傾向がみられたレジオネラ症の疫学解析結果について

今野貴之 高橋志保 鈴木純恵 横尾拓子 熊谷優子

1. はじめに

レジオネラ属菌は水や土壌などの環境中に広く存在し、ヒトに急性肺炎やポンティック熱と呼ばれる熱性疾患を引き起こす。近年レジオネラ症の報告数は、尿中抗原検査や遺伝子検査の普及と相まって全国的に増加傾向にある。秋田県においては、ここ数年は年間10件前後の報告がなされるのみであったが、2016年には32件の報告があり、多発傾向がみられた。集団感染の可能性も考えられたことから、感染症発生動向調査事業により疫学解析を行い、患者の発生要因及び原因菌の性状等から関連性の有無について検討した。

2. 方法

2.1 調査対象

2016年7月末から10月までにレジオネラ症の報告があった患者。病原体検査については、医療機関を通じて調査に同意の得られた患者喀痰について行った。

2.2 分離同定検査

喀痰からのレジオネラ属菌の分離同定検査は、国立感染症研究所の病原体検査マニュアルに準じて行った¹⁾。非選択培地にはBCYE α （栄研化学），選択培地にはWYO α 寒天培地（栄研化学）を用いた。

2.3 パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE法）

国立感染症研究所の病原体検査マニュアルに準じて行った¹⁾。制限酵素としてはSfiIを用いた。

2.4 Sequence Based Typing（SBT法）

SBT法は、*L. pneumophila*の特定の7つの遺伝子flaA, pilE, asd, mip, mompS, proA, neuAの一部領域の塩基配列を決定し、遺伝子型別を行う方法である¹⁾。SBT法による解析について

は、国立感染症研究所に依頼した。

3. 結果と考察

調査期間中には医療機関からの分与菌株を含め、4株の菌が分離された。菌種は、いずれも*Legionella pneumophila*血清群1であった（表1）。SfiIによるPFGEパターンは、検体No.1と検体No.8の分離株がほぼ同一であったが、患者発生地域は地理的に離れており、関連性は不明であった（図1）。他の2株はPFGEパターンが異なっており、事例間の関連性は低いと考えられた。国立感染症研究所で行われたSBT法による解析では、4株の遺伝子型はそれぞれST550, ST384, ST679, ST550であった（表1）。*L. pneumophila*血清群1の遺伝子型は、浴槽水からの分離株が多く含まれるB1, B2, B3, 冷却塔水からの分離株が多く含まれるC1, C2, 土壌や水たまりからの分離株が多く含まれるS1, S2, S3, 感染源不明の臨床分離株が多いUグループの9つに大別される²⁾。本調査で分離された4株の遺伝子型はいずれもS1グループに属し、感染源として土壌の関与が疑われた。

今回、レジオネラ症の多発傾向を受け、患者の疫学情報の収集と分離株からの分子疫学解析を実施したが、調査期間中に発生した事例間の関連性は低く、散発的な患者発生と考えられた。一般的に、レジオネラ症は温泉などの入浴施設を原因とした集団感染が注目されているが、レジオネラ属菌は元来土壌細菌であり、園芸作業や粉塵を吸入する可能性のある工事作業では感染のリスクがある。表1に示したように、調査期間中に発生した患者らは土木作業や道路工事作業といった土壌からの感染リスクの比較的高い職業であった。これらのことから、本症による健康被害防止には土壌などからの感染リスクについて一層の啓発を行い、園芸や工事作業の際にはマスクを着用するなどの感染防止対策を徹底する必要があると思われた。

表1 レジオネラ症患者及び分離株の情報

検体No.	診断月	管轄保健所	患者情報	感染リスク（職業等）	培養検査	PFGE*パターン	遺伝子型
1	7月末	横手	60代男性	有（土木作業）	陽性 (医療機関より分与)	A	ST550
2	8月末	能代	50代男性	有（土木作業）	(一)		
3	9月上旬	秋田市	60代男性	有（道路工事）	陽性	B	ST384
4	9月上旬	横手	50代男性	不明	陽性	C	ST679
5	9月中旬	大仙	60代男性	有（電話工事）	(一)		
6	10月上旬	北秋田	60代男性	不明	(一)		
7	10月上旬	北秋田	60代男性	不明	(一)		
8	10月上旬	秋田市	50代男性	有（水道管工事）	陽性	A'	ST550

*PFGEパターンの記号は、任意。

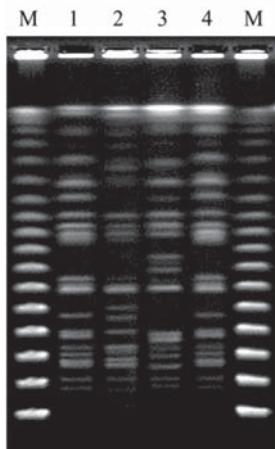


図1 分離株の PFGE パターン

Lanes, M: DNA size standard λ ladder, 1: 検体 No.1 分離株, 2: 検体 No.3 分離株, 3: 検体 No.4 分離株, 4: 検体 No.8 分離株.

また、レジオネラ症は患者の平均年齢が67.0歳で、7月の梅雨時期に患者発生が多くなる傾向が報告されている³⁾。高齢化の進行や気候変動に伴い、患者発生は今後も増加する可能性があり、適切な発生動向の把握が求められている。診断には尿中抗原等による迅速診断が一般的であるが、培養検査により菌株が得られた場合は、

分子疫学解析等から事例間の関連や感染源を推定することが可能であり、本症の対策に非常に有用と考えられた。

謝辞

本調査に御協力を頂いた国立感染症研究所の前川純子先生、大西真先生、倉文明先生に深謝いたします。

(協力医療機関)

北秋田市民病院、能代厚生医療センター、秋田赤十字病院、市立秋田総合病院、大曲厚生医療センター、市立横手病院、平鹿総合病院

参考文献

- 1) 国立感染症研究所: レジオネラ症、病原体検出マニュアル、平成23年10月。
- 2) レジオネラ・レファレンスセンター: レジオネラ・レファレンスセンター会議報告、平成28年7月。
- 3) 国立感染症研究所: レジオネラ症 2008.1～2012.12、病原微生物検出情報、34、2013 155-157。

結核菌分子疫学調査事業

秋田県内で分離された結核菌の分子疫学解析

高橋志保 熊谷優子 今野貴之 鈴木純恵 鈴木忠之

1. はじめに

結核は、新登録患者数は漸減しているものの、患者発生サーベイランスでは、肺外結核等も含め、年間約2万人の患者が報告されており、今なお国内最大の感染症である。平成27年の日本の結核罹患率は人口10万人あたり14.4であり、欧米諸国と比較すると依然として高く、中まん延国であるといえる¹⁾。

結核菌の分子疫学解析を行うことは、患者の疫学情報に菌の遺伝子型という科学的根拠を付与し、感染源や伝播経路の推定に役立てることを可能にする。また、データを蓄積し、解析することで、県内における流行状況の把握につながる。今回、平成25年より秋田県結核菌分子疫学調査実施要領に基づき行ってきた反復配列多型（Variable number of tandem repeat : VNTR）解析結果と、県内で分離された結核菌の遺伝系統の解析結果をまとめたので、報告する。

2. 対象および方法

2.1 対象

平成25年以降に秋田県各保健所管内で登録された結核患者から医療機関にて分離され、平成25年7月から平成29年3月までに受領した結核菌株222株を対象とした。

2.2 VNTR 解析

QIAamp DNA Micro Kit(QIAGEN)で抽出した結核菌DNAテンプレートを用い、Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA)(12)-VNTR分析法²⁾に従い、VNTR解析を実施した。VNTRプロファイルが一致した場合は、JATA(12)-VNTR解析に3領域を追加したJATA(15)-VNTR解析と、超可変(Hypervariable: HV)領域の解析を行った。

2.3 最大事後確率推定法による遺伝系統解析

VNTR解析より得られたVNTRプロファイル

から、最大事後確率推定法³⁾を用いて、遺伝系統を推定した。

3. 結果

3.1 VNTR 解析

JATA(12)-VNTR解析を行った結果、VNTRプロファイルが一致したのは、222株中、58株23組であった。一致株数の詳細は、5株2組、4株1組、3株4組、2株16組であった。さらにVNTRプロファイルが一致した株について、JATA(15)-VNTR解析とHV領域の計18領域の解析を行ったところ、一致株数は4株1組、2株9組となった。解析領域を追加することで、関連性の有無を推定するのに役立つデータが得られることがわかった。

3.2 遺伝系統解析

遺伝系統解析の結果、秋田県内の結核菌株は非北京型が72株(32.4%)、北京型が150株(67.6%)であった。北京型株を系統分類すると新興型と祖先型に分けられるが、祖先型が8割を占めていた。祖先型はさらに4つの遺伝系統に分類され、県内においてはST3、ST25/19、STK、ST11/26の順に多かった。また、遺伝系統ごとの患者の平均年齢を比較すると、STK型で84.6歳と最も高く、次いでST3型、ST11/26型、ST25/19型の順で、最も若かったのは新興型で73.6歳であった(表)。

65歳以上と65歳未満での北京型株の各遺伝系統の割合は、65歳以上ではST3型が最も多く、65歳未満では新興型(Modern型)が最も多かつた(図)。

4. 考察

平成27年の秋田県の結核罹患率は8.5と低まん延の状態にあるが、高齢化が進んでいる本県では、新登録結核患者中65歳以上が占める割合は80.5%と高い。今回対象とした結核菌株222

株についても、189 株（85.1%）が 65 歳以上の患者から分離されている。

北京型結核菌は、東アジアで多く分離される系統で、他の遺伝系統と比べて感染伝播力が高く、薬剤耐性との関連もあり、高病原性が示唆されている。国内で分離される株の 7~8 割がこの遺伝系統に属しているとされ、県内の分離株はやや非北京型が多いものの、ほぼ同様の傾向であった。

新興型は、若年層で高頻度に分離されるとの報告があり、高齢化が顕著な本県における新興型の平均年齢は 73.6 歳であるものの、各遺伝系統中最も若いことから、新興型の結核菌による感染は、若い世代へと拡がっていると考えられる。

さらに、祖先型のうち、県内で最も多く分離されている ST3 型は、多剤耐性結核菌において有意に高い頻度で見られる⁴⁾との報告もあり、今後の分離状況や医療機関における薬剤感受性試験の結果等にも注視していく必要がある。

参考文献

- 1) 公益財団法人結核予防会:結核の統計 2016,平成 28 年 9 月.
- 2) 前田 伸司他: 国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型 (VNTR) 分析システム, 結核, 第 83 卷, 2008 年 10 月, 673-678.
- 3) Seto J., Wada T. et al.: Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation. Infect Genet Evol. , 35, 2015, 82-88.
- 4) Iwamoto, T et al.: Population structure analysis of the *Mycobacterium tuberculosis* Beijing family indicates an association between certain sublineages and multidrug resistance. Antimicrob. Agents Chemother. , 52, 2008, 3805-3809.

表 遺伝系統別の割合と各遺伝子型の患者平均年齢

遺伝系統別	非北京型	北京型				
		祖先型				
株数(%)	72(32.4)	ST11/26	STK	ST3	ST25/19	150(67.6)
		27(12.1)	8(3.6)	33(14.9)	45(20.3)	37(16.7)
平均年齢(歳)	77.8	73.6	80.0	84.6	81.4	78.0

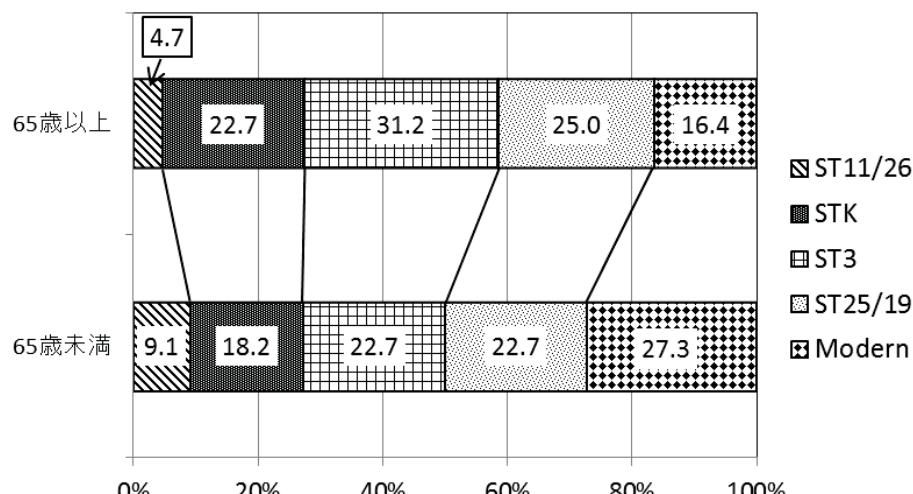


図 年代による北京型の各遺伝系統の割合

平成 28 年度（第 11 回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

高齢者結核対策支援と薬剤耐性迅速診断法の導入に関する調査研究（平成 26～27 年度）

秋田県で分離された結核菌の
イソニアジド耐性関連遺伝子と遺伝系統の解析

今野貴之 高橋志保 熊谷優子

1. はじめに

結核は未だ国内最大の感染症であり、患者数は全国で年間約 2 万人、死亡者は 2 千人に及ぶ。現在は、数種類の薬剤を服用することで治療できるようになつたが、服薬期間は少なくとも 6 カ月に及ぶ。しかしながら、治療の途中で服薬をやめてしまつたり、不適切な服薬の仕方をしたりすると薬剤耐性となり、治療困難になる場合がある。結核菌に有効な抗菌薬は限られており、薬剤耐性結核菌の蔓延防止は、本感染症の対策上非常に重要である。

特に、イソニアジドは結核の治療や予防の第一選択薬であり、治療の柱となる薬剤の一つであるが、これまで秋田県におけるイソニアジド耐性結核菌に関する調査はなく、その耐性機構等については不明であった。そこで、本研究では秋田県の結核患者の治療・入院の中核的医療機関である市立秋田総合病院と共同で、イソニアジド耐性結核菌の検出状況とそのイソニアジド耐性に関わる遺伝子変異の保有状況を調査した。さらに、分子疫学的な解析をもとに秋田県における結核菌の遺伝系統を解明した。

2. 方法

2.1 供試菌株

市立秋田総合病院から 2012 年から 2015 年までに受領した結核菌 162 株を対象に調査した。

2.2 イソニアジド耐性関連遺伝子の解析

医療機関による薬剤感受性試験でイソニアジド耐性と判定された結核菌について、イソニアジド耐性に関わる遺伝子 *katG*, *fabG1/inhA*, *ahpC*, *furA* の DNA シークエンス解析を行い、遺伝子変異の有無を調査した。

2.3 JATA12-VNTR による遺伝系統の解析

結核菌のゲノム中の反復配列 (VNTR) 12 カ所を PCR 法により増幅し、増幅断片の大きさから反復数を計測した。得られた 12 カ所の反復数のプロファイルから、Seto, et al. (*Infect Genet Evol.*, 35, 82-88, 2015) の方法に従い、最大事後確率法により遺伝系

統を推定した。

3. 結果と考察

3.1 結核菌のイソニアジド耐性遺伝子変異の検出状況

供試した結核菌 162 株のうち、医療機関における感受性試験によりイソニアジド耐性と判定されたのは 13 株であった。また、過去に結核治療歴があつた人から分離された結核菌が 162 株中 22 株あり、イソニアジド耐性 13 株のうちの 7 株が治療歴のある人から分離された菌株であり、治療歴の有無がイソニアジド耐性化のリスクファクターとなっていた。これは、過去の結核治療の際、途中で治療を中断したり、治療が不十分であつたりすると、イソニアジドに強い結核菌が体内に残存し、耐性化したためと考えられる。

イソニアジド耐性株 13 株のイソニアジド耐性に関わる遺伝子 *katG*, *fabG1/inhA*, *ahpC*, *furA* の変異保有状況を表に示す。13 株のうち、いずれかの遺伝子に何らかの変異が検出されたのは 8 株で、耐性機構の解明率は 62% であった。治療歴があつた場合は、変異が検出された結核菌の割合も 18% と高率であった。

最も頻繁に変異が検出された遺伝子は、*katG* であった。イソニアジドはプロドラッグ（そのままでは不活性な、もしくは活性の低い状態で投与される医薬品）であり、結核菌の *katG*（カタラーゼペルオキシダーゼ）の作用により活性化され効力を發揮する。そのため、*katG* に変異が生じ、その酵素活性が低下した結核菌ではイソニアジドが活性化されず耐性となる。*fabG1/inhA* においては、2 株で遺伝子上流の転写活性に関わる領域に変異が検出された。*fabG1/inhA* は、結核菌の細胞壁を構成するミコール酸の合成に関与し、イソニアジドの標的となっている。転写調節領域への変異により発現量が増加したために、イソニアジド耐性となつたと考えられる。*ahpC* においても、1 株で遺

伝子上流に変異が検出された。*ahpC* のコードする酵素は、*katG* によるイソニアジドの活性化に抑制的に働くため、変異によりその抑制効果が高まったと考えられる。*furA*においては、1 株で変異が検出された。*furA* は *katG* の転写因子であり、*furA* の変異は *katG* の発現に影響する可能性がある。

イソニアジドの耐性機構は多岐にわたり、完全に解明されてはいない。実際、不明な場合も多く、解明率はこれまでの報告でも 60~90%程度である。県内のイソニアジド耐性株からも様々な遺伝子変異が検出されており、その耐性機構は多様であった。

表 イソニアジド耐性遺伝子変異の保有状況

イソニアジド耐性株 感 受 性 試 験	遺伝子解析					変異保有株 の割率	
	変異あり				なし		
	<i>katG</i>	<i>fabG1/inhA</i>	<i>ahpC</i>	<i>furA</i>			
治療歴あり (7株／22株)	2		1	1	3	18%	
初回、不明 (6株／140株)	2	2			2	2.9%	
計:13株／162株	4	2	1	1	5	4.9%	

3.2 秋田県における結核菌の遺伝系統の特徴

結核菌は進化と伝播の歴史の中で、地理的分布と相關した遺伝系統を持っていることが報告されている。遺伝系統はインド・オセアニア、東アジア、東アフリカ・インド、ユーロ・アメリカ、西アフリカⅠ、西アフリカⅡの 6 つの系統に大別される。国内で多い東アジア系統は北京型とも呼ばれ、北京型はさらに祖先型と新興型の遺伝子型に分けることができる。本研究では、Seto, et al. の方法に従い VNTR による分子疫学的解析から遺伝系統を推定した(図)。

結核菌の遺伝系統のうち、北京型の結核菌はこれまでの約 1,000 年の間で東アジア等における人口増加に伴って変異してきた系統で、一部の系統は薬剤耐性や感染力が強いなどの特徴を持っている。県内で特に分離頻度の高かった北京祖先型 STK は、Iwamoto, et al. の研究で若年層には少ない系統であ

ることが示唆されており、本県における高齢者の結核の多さを反映している結果と考えられた。また、多剤耐性結核菌に多い系統とされる ST11/26 は分離数こそ少ないが、イソニアジド耐性の結核菌では全体に比べ割合がやや高かった。感染力が強いとされる北京新興型の割合は、秋田県では全国に比べるとやや低い傾向にあった。

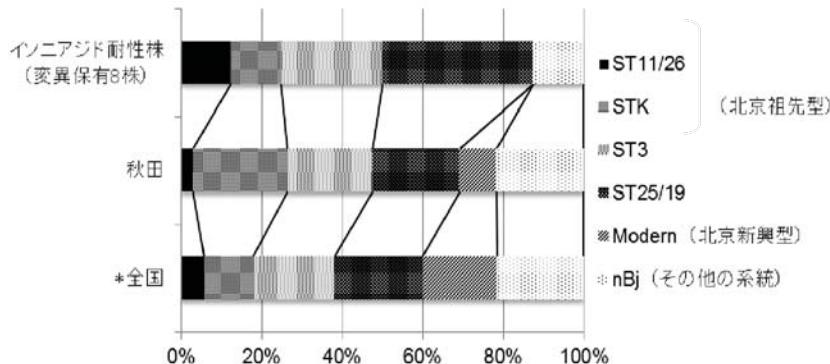
このような薬剤耐性や感染力が強いなどの特徴的な遺伝系統の結核菌が今後増加するかどうかについて注視していく必要があり、遺伝系統の解析は今後の結核菌サーベイランスに有用な情報を提供するものと考えられた。

【研究協力者】

市立秋田総合病院

呼吸器内科 本間光信先生

臨床検査科 金田深樹先生



*Iwamoto, et al. (J Clin Microbiol., 47, 3340-3343, 2009) を参照

図 結核菌の遺伝系統の割合

平成 28 年度（第 11 回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

エイズ及び性感染症等個別相談事業
ウイルス性肝炎陽性検体の遺伝子学的検討

柴田ちひろ 佐藤寛子 秋野和華子 斎藤博之

1. はじめに

輸血や血液製剤の使用による一連の薬害肝炎問題への対応として、秋田県では平成 14 年度からエイズ及び性感染症等個別相談事業の一環により、各保健所を窓口にウイルス性肝炎（B 型、C 型）の相談および検査を推進してきた。平成 19 年度には要綱の改訂により、無料化の対象を 40 歳未満にも拡大したこと、より検査を受けやすい体制が整備された。本事業において、当センターでは HBs 抗原および HCV 抗体の検査を担当してきたが、民間検査機関への検査委託に伴い、平成 26 年度をもって業務を終了した。今回、当センターで実施した検査状況をまとめるとともに、保管されている陽性検体についてウイルスの遺伝子学的検討を行ったので報告する。

2. 対象と方法

2.1 対象

検体が保管されている平成 16 年度～平成 26 年度を対象に、当センターで実施した HBs 抗原および HCV 抗体の検査状況について集計した。陽性となった血清検体については、以下の方法でウイルスの遺伝子学的検討を行った。

2.2 方法

2.2.1 B 型肝炎ウイルス（HBV）

HBs 抗原陽性検体について、Naito らの方法（J. Clin. Microbiol., 39, 362-364, 2001）により遺伝子型別を行った。

2.2.2 C 型肝炎ウイルス（HCV）

HCV 抗体陽性検体について、急性ウイルス性肝炎診断マニュアル（国立感染症研究所）に従い、HCV 遺伝子の検出を行った。検出された場合は引き続き、Okamoto らの方法（J. Gen. Virol., 73, 673-679, 1992）により遺伝子型別を行った。

3. 結果と考察

3.1 検査状況

当センターに依頼された HBs 抗原および HCV 抗体の検体数と陽性数を表に示す。平成 16 年度および 18 年度～21 年度に検体数が増加していたが、これは厚生労働省が血液製剤納入医療機関を公表し検査の呼びかけを行った時期と一致する。この期間には HCV 抗体の陽性率も上昇しており、呼びかけに応じた血液製剤等由来の HCV 感染者が集中したためと考えられる。一方、HBs 抗原は他の年度と比較して陽性率が低下していた。この期間に増加した検査希望者の中には血液製剤由来の HBV 感染者もいたと考えられるが、成人が HBV に感染した場合、持続感染化することは極めてまれであるため、当時 HBV に感染していたとしてもすでにウイルスは体内から排除されていたと推察される。HBs 抗原はあくまでも検査時点における感染状況を反映するため、ウイルスが排除された感染既往者は陰性と判定され、陽性数には反映されない。その結果、感染既往者も陽性となる HCV 抗体とは対称的に、HBs 抗原は陽性率が低下したと考えられた。

表 平成 16 年度～26 年度における HBs 抗原および HCV 抗体検査状況

年度	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	計
HBs 抗原	検体数（件）	215	42	140	969	344	334	155	159	133	124	147
	陽性数（件）	3	2	0	12	4	1	5	4	3	1	38
	陽性率（%）	1.40	4.76	0.00	1.24	1.16	0.30	3.23	2.52	2.26	0.81	1.38
HCV 抗体	検体数（件）	260	42	141	982	345	338	154	159	133	124	150
	陽性数（件）	6	0	1	28	7	11	3	3	0	3	65
	陽性率（%）	2.31	0.00	0.71	2.85	2.03	3.25	1.95	1.89	0.00	2.42	2.00

3.2 HBV の遺伝子学的検討結果

HBs 抗原陽性であった 38 件について遺伝子型別を行った結果, genotype B が 24 件, genotype C が 8 件, 型別不能が 6 件であった。型別不能であった 6 件について, 追加として Mizokami ら (FEBS Letters, 450, 66-71, 1999) によるシークエンス解析を行ったところ, 1 件が genotype A, 1 件が genotype B と判明したが, 残り 4 件は遺伝子増幅を認めず解析不能であった。二法の結果を合わせると, 計 34 件について遺伝子型が判明し, 内訳は genotype A が 3.0% (1/34), genotype B が 73.5% (25/34), genotype C が 23.5% (8/34) となり, その他の型 (genotype D ~F) は確認されなかった(図)。過去の報告によると, 日本国内の分布は genotype C が優勢であるものの, 日本海側を中心とした東北地方と沖縄県では genotype B が多いとされている。今回の検討でも, 日本海側に位置する秋田県では genotype B が大半を占めており, 同様の傾向がみられた。しかし近年, 国内の B 型急性肝炎において genotype A の占める割合が年々増加している。genotype A は他の遺伝子型と比較して慢性化しやすいことが指摘されている。本検討で 1 件確認されたことに加え, 感染症発生動向調査においても秋田県内から過去 10 年で 4 例報告されており, 今後の浸淫が懸念される。HBV 遺伝子型の鑑別は, 患者の治療方針や経過の予測といった臨床面だけではなく, 疫学的にも非常に重要かつ有益な情報であることから, 県内における遺伝子型情報の集積が望まれる。

3.3 HCV の遺伝子学的検討結果

3.3.1 HCV 保有状況

HCV 抗体陽性であった 65 件について HCV 遺伝子の検出を行った結果, 22 件から検出され, 検査当時も HCV に感染していたことが確認された。陽性となった 22 件の HCV 抗体価は全て高力価群であり, 中力価群, 低力価群からは検出されなかった。HCV に感染した場合, 感染者の約 70% は体内からウイルスが排除されることなくそのまま慢性化するとされる。しかし, 今回の結果から無症候性キャリアあるいは慢性肝炎の状態にあると思われる全陽性者

genotype A	genotype B	genotype C	型別不能
—	24	8	6
シークエンス解析			
↓	↓	↓	
genotype A	genotype B	genotype C	解析不能
1	1	—	4
↓			
genotype A	genotype B	genotype C	型別不能
1	25	8	4

図 HBV 型別結果

の 33.8% (22/65) に過ぎず, 70% を大きく下回っていた。血液製剤等によって感染し慢性化した患者の多くは, 感染から数十年が経過したことで何らかの疾患や肝機能の低下により, 呼びかけが行われる以前からすでに医師の管理下にあったと考えられる。このような感染者が本検討の対象から外れていたため, ウィルスが排除された感染既往者の割合が多くなったと推察される。

3.3.2 HCV 遺伝子型別結果

HCV 陽性であった 22 件について遺伝子型別を行った結果, 1b 型が最も多く 12 件 (54.6%), 2a 型と 2b 型が各 5 件 (22.7%) であった。日本国内における分布はそれぞれ 70%, 20%, 10% 程度とされていることから, 今回の検討対象においては 1b 型の比率が少ない傾向にあった。HCV の遺伝子型はインターフェロン療法の効果に大きく関与するが, 大半を占める 1b 型がインターフェロンに対する反応性が低いため, C 型肝炎全体としての治療成績は決して良好とはいえないかった。しかし近年, 他の薬剤との併用やインターフェロンによらない抗ウイルス薬が保険適用となったことで, 遺伝子型に応じた治療ガイドラインが作成され, 治療成績は格段に向上了している。平成 19 年度の陽性者の中には, 検査以前から HCV への感染を指摘されながら一度も受診していない陽性者も見受けられた(当センター年報第 3 号, 77-80, 2007)。このような感染者も含め, 未だ医師の管理下に無い感染者に対して、検査や受診に繋げる情報提供が必要と考えられた。

平成28年度（第11回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

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）

食品のウイルス検査法としてのパンソルビン・トラップ法に用いる
捕捉抗体の供給源に関する検討斎藤 博之 秋野 和華子 田中 智之^{*1} 野田 衛^{*2}

1. 背景と目的

平成27年の食中毒統計によると、全国で1年間に22,718人が食中毒による健康被害を受けており、その内65%に相当する14,876人がノロウイルス（NoV）の感染によるものである（原因物質別患者数の第1位）。同様に事例数においても、全食中毒事例1,202例の約4割に相当する481事例がNoVによって引き起こされている（原因物質別事例数の第1位）。このように、食中毒事例の大きな部分を占める原因物質がNoVであることが判明しているにもかかわらずカキ以外の一般的な食品からウイルスを検出することは技術的に困難であった。NoVは、未だ実験室内で培養する技術が確立していないため、それを検出するためには検体に含まれるウイルスの遺伝子をPCR法により直接増幅する必要がある。我々はこれまでに、固形・液状・練り物・油物等、どのような種類の食品においてもNoV検査を可能とすることを目指し、抗体によるウイルス粒子の特異的捕獲を基本原理とするパンソルビン・トラップ法（パントラ法）を開発した^{1,2)}。本法は、黄色ブドウ球菌の表面に、捕捉抗体を介してウイルス粒子を吸着させて回収・検出するという性質上、添加する抗体の選択が重要となる。捕捉抗体の供給源として、多種類のウイルスの抗体が含まれている医療用ガンマグロブリン製剤を用いていることで、NoVのみならず、サポウイルス（SaV）、A型肝炎ウイルス（HAV）、アデノウイルス41型（AdV41）などの回収に汎用できる可能性がある。一方、医薬品であることから普及に当たって障害となる部分もあった。具体的には次の4点が懸念されている。

- ①薬機法に定められている「特定生物由来製品」に該当するため、製造番号などの使用記録を20年間保管する義務が生じる。
- ②計画生産であることから流通量に上限があり、医療目的が優先されるために試験検査目的の場合は安定供給されない可能性がある。

③医薬品であることから、医師のいない環境系試験検査機関では購入が困難である。

④将来、試薬メーカーが本法を元に検査キットを開発しようとしても、医薬品を組み入れるのは難しい。

本研究では、これらの懸念を払拭し、食品のウイルス検査の円滑な普及に繋げるために、医薬品以外で安定的に使用できる捕捉抗体供給源を検討し、安定供給ルートの開拓を行った。

2. 方法

医薬品ではないガンマグロブリンは、製品として流通していなかった（平成25年度時点）ことから、インド Bharat Serums & Vaccines グループ傘下の Advy Chemical 社と交渉し、同グループの HDM Laboratories 社（ニューヨーク）で製造された工業用ガンマグロブリン粉末を入手した。続いて、工業用ガンマグロブリンが、医療用ガンマグロブリン製剤（米国 Baxter 社製「Gammagard」）と同等に用いることができるかを次の手順で比較検討した。

最初に予備実験として食品洗滌液（0.1M Tris・HCl-0.5M NaCl-0.1% Tween20, pH8.4) 50 mL 中に1.33×10⁶ コピーの NoV-GII.4 型を投入し、さらに工業用ガンマグロブリンの添加量を変えてパントラ法によるウイルス粒子の回収を試み、real-time PCR による定量値をもとに最適添加量を検討した。次に NoV の GI.4, GI.6, GII.2, GII.4, GII.6 と SaV の GI.1, GI.3, GIV.1, GV.1、さらに HAV と AdV41 を用いて、医療用ガンマグロブリン製剤との回収率の比較を行った。さらに、NoV-GII.4 型で汚染させたポテトサラダと焼きそばを用いて、回収率を比較した。

3. 結果

NoV-GII.4 を含む 50 mL の食品洗滌液への工業用ガンマグロブリン添加量の検討では、5%溶液を150 μL 加えた条件が最も高い回収率を示した。ここで最適化された添加量を用いて、上記の11種類

^{*1}堺市衛生研究所 ^{*2}国立医薬品食品衛生研究所

の病原ウイルスについて食品洗滌液からの回収を試みたところ、食中毒の原因ウイルスとして最多の NoV-GII.4 に対して工業用ガンマグロブリンを用いた場合の回収率は 52.0%で、医療用ガンマグロブリン製剤を用いた場合は 46.8%であった。以下、NoV-GII.2 に対しては 38.6%/38.2%（工業用/医療用）、NoV-GII.6: 15.5% /13.3%，NoV-GI.4: 35.7% /37.6%，NoV-GI.6: 12.1% /6.1%，SaV-GI.1: 24.3 % /23.7 %，SaV-GII.3: 18.1 % /17.0 %，SaV-GIV.1: 29.7% /25.0%，SaV-GV.1: 29.5% /24.8%，HAV: 17.8% /13.1%，AdV41: 33.0% /32.7%であり、比較した全てにおいて両者は同等であった。また、実際の汚染食品をモデルとした比較試験においても、工業用ガンマグロブリンを用いた系はポテトサラダで 40.6%，焼きそばで 33.5%と、医療用のそれ（ポテトサラダで 34.7%，焼きそばで 32.4%）と同等以上の回収率を示した。

4. 考察

本研究では、食品のウイルス検査の円滑な普及に繋げるために、医薬品ではない、工業用ガンマグロブリンを用いることを検討した。パントラ法における工業用ガンマグロブリンの添加量は 150 μL で最適化された。医療用ガンマグロブリン製剤の最適添加量も 150 μL であることから、汎用プロトコルを改変することなしに、ガンマグロブリンの部分を置き換えるだけで済むことになる。次に食品洗滌液からのウイルスの回収率を、工業用と医療用のガンマグロブリンをそれぞれ用いた場合について比較した。ここでは、食品を用いていないため、純粹に抗原抗体反応の比較となる。その結果、工業用ガンマグロブリンは医療用と比べて同等以上の効果を有することが明らかとなった。さらに、実際の食品を用いて回収率を比較した場合でも、工業用ガンマグロブリンの有用性は証明された。これらのことから、使用において特段の制約の無い工業用ガンマグロブリンを試薬としてパントラ法に導入することは大変合理的であり、汎用性を担保する意味でも積極的な活用と流通ルートの整備が望まれた。

これまで我が国では、ガンマグロブリンは医療用のものしか販売されていなかったが、本研究の実績を踏まえて、工業用のものを改めて試薬として包装したものが一般に購入できるようになった。具体的には、HDM Laboratories 社のニューヨーク工場で製造されたガンマグロブリン粉末を、Advy Chemical 社日本法人（東京・神田）が輸入し、各地の納入業者を通じて販売している。このガンマグロブリンは、あくまで試薬であって医薬品ではないことから、薬機法の適用を受けないという特長がある。さらに、試薬購入の利便性を考慮して、パンソルビンを製造しているメルク社（ドイツ・ダルムシュタット）から、ガンマグロブリンとの試薬セットが販売された。

こうした普及のための取り組みを経て、本法は「食品衛生検査指針・2015（微生物編）」に収載され³⁾、日本食品衛生協会の受託検査項目に加えられた。また、平成 26 年 1 月 16 日に浜松市で発生した学校給食による大規模食中毒事例（患者数 1,271 人）において、原因食品がパンであることを突き止めるのに用いられた⁴⁾。今後は平成 32 年の東京オリンピックが視野に入る他、TPP 等の枠組みで輸入・輸出にかかる食品の安全管理にも活用できるものと期待される。

参考文献

- 1) 斎藤博之：食品のノロウイルス検査の汎用化を目指したパンソルビン・トラップ法の開発、日本食品微生物学会雑誌, 29, No.1, 32-37, 2012.
- 2) Hiroyuki Saito et. al.: Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals. *Food and Environmental Virology*, 7, No.3, 239-248, 2015.
- 3) 斎藤博之, 他: 食品・臨床材料・拭き取りの前処理法、食品衛生検査指針 2015（微生物編）, 607-617, 2015.
- 4) 土屋祐司, 他: パンを原因としたノロウイルス食中毒事例、日本食品微生物学会雑誌, 32, No.3, 153-158, 2015.

平成 28 年度（第 11 回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

食品衛生対策事業

平成 22~27 年度の食品収去検査における理化学検査結果について

小川千春 佐藤晴美 宇賀神理奈 圓子隆信

1. はじめに

秋田県では県内に流通する食品等の安全性を確保するため、食品衛生監視指導計画を策定し、県の管轄保健所（秋田市を除く秋田県内）の食品衛生監視員による食品製造施設等の監視指導や食品等の収去を行っている。そして収去検体の検査は、平成 22 年度に保健所の試験検査業務が当センターに統合されて以降、当センターが実施している。今回は、平成 22 年度から平成 27 年度までの 6 年間に実施した食品収去検査のうち、理化学検査の検体数及び検査件数の推移並びに違反事例について報告する。

2. 収去検体、検査項目及び検査方法

収去検体：県内に流通している食品、食品添加物及び器具・容器包装
合計 1,325 検体

検査項目：成分規格 27 項目、食品添加物 11 項目、暫定的規制値 1 項目及び秋田県食品等の指導基準 2 項目
合計 41 項目（表 1）

検査方法：検査実施標準作業書に従った。

3. 検体数及び検査件数の推移

平成 22 年度から平成 27 年度までの 6 年間に実施した収去食品の理化学検査は、1,325 検体、3,811 件であった。年度ごとに見ると平成 22 年度が最も多く、284 検体、808 件であった。翌年度から検体数及び検査件数が減少し、平成 25 年度以降は検体数、検査件数ともに大きな変動はなく推移している（表 2）。

4. 6 年間の違反事例

平成 22 年度から平成 27 年度までの間に基準

表1 理化学検査項目

成分規格	食品添加物
乳固体分	サッカリン
無脂乳固体分	ソルビン酸
乳脂肪分	安息香酸
比重	パラオキシ安息香酸
酸度	タル色素
シアン	クチナシ色素
カドミウム	銅葉綠素
スズ	二酸化硫黄
パツリン	ピロ亜硫酸カリウム
亜鉛	亜硝酸根
鉄	プロピレンギリコール
銅	合計 11 項目
マンガン	
砒素	暫定的規制値
鉛	水銀
液性	合計 1 項目
強熱減量	
フッ化水素酸残留物	秋田県食品等の指導基準
水可溶物	酸価
塩酸可溶物	過酸化物価
乾燥減量	合計 2 項目
重金属	
フェノール	
ホルムアルデヒド	
蒸発残留物	
pH	
水分活性	
	合計 27 項目

違反となった食品は 4 検体だった。いずれも平成 22 年度に収去した漬物で、甘味料として使用される食品添加物のサッカリンが使用基準を超えて検出された。漬物以外の食品では、成分規格などの基準に適合しない食品はなかった。

表2 収去食品の理化学検査における検体数及び検査件数の推移

	H22	H23	H24	H25	H26	H27	合計
検体数	284	248	233	179	189	192	1,325
検査件数	808	720	657	524	558	544	3,811

表3 検査結果が表示内容と異なる検査件数及び検体数

検査項目 食品の種類	食品添加物						成分規格		その他	合計	検査結果が表示内容 と異なる検体数 / 全収去検体数 (%)
	サッカリン	ソルビン酸	安息香酸	タール色素	クチナシ色素	グリコピーレン	無脂乳固形分	乳脂肪分			
牛乳・乳製品							8	3		11	9 / 177 (5.1)
生菓子		2		8						10	9 / 87 (10.3)
生めん					3	5				8	7 / 101 (6.9)
漬物	40	6		13						59	50 / 235 (21.3)
山菜等農産物加工品				2						2	2 / 50 (4.0)
みそ		1								1	1 / 47 (2.1)
しょう油			1							1	1 / 70 (1.4)
つくだ煮・そうざい	1		3	2						6	6 / 56 (10.7)
珍味	1									1	1 / 21 (4.8)
その他*)										0	0 / 481 (0.0)
合計	42	9	4	25	3	5	8	3	0	99	
全収去検査件数	534	577	80	477	101	101	189	136	1,616	3,811	
(%)	(7.9)	(1.6)	(5.0)	(5.2)	(3.0)	(5.0)	(4.2)	(2.2)	(0.0)	(2.6)	86 / 1,325 (6.5)

*)その他:食肉製品、清涼飲料水、はし、ケイソウ土など

また、検査結果が表示内容と異なる食品は 86 検体あり、そのうち 50 検体を漬物が占めていた。漬物は食品の種類別に見た全収去検体数が 235 検体と最も多く、全収去検体数に対する検査結果が表示内容と異なる検体数の割合も 21.3% と他の食品に比べて高かった（表 3）。

検査結果が表示内容と異なる検査件数は 99 件あり、検査項目別に見るとサッカリンが 42 件、タール色素が 25 件と多かった。これらは全収去検査件数も多く、全収去検査件数に対する検査結果が表示内容と異なる検査件数の割合も高い検査項目であった。

検査結果が表示内容と異なる事例の中には、その後の保健所の調査により表示違反ではないことが判明した事例もあった。使用表示のない生めんからプロピレンジコールが微量検出された事例では、製造時に使用した食品添加物のクチナシ色素にプロピレンジコールが溶剤として含まれていた。この事例では、プロピレンジコールは原材料からのキャリーオーバーとして表示が免除されるため、表示違反とはならない。この他にも保健所の調査の結果、表示が適正であったとの情報提供を受けた事例があるため、実際に表示違反となった食品は 86 検体よりも少なくなっている。

5. 考察

漬物で基準違反や検査結果と表示内容の相違が多い理由として、秋田県では漬物製造業は営業許可を受ける必要がないことから事業を始めやすく、中には食品添加物の使用についての知識が十分でない業者も存在していることが考えられる。そのため、漬物製造業者に対する監視指導が重点的に行われており、収去検体数も多くなっている。

6. まとめ

平成 22 年度から平成 27 年度までの 6 年間に 1,325 検体の収去食品について 3,811 件の理化学検査を実施した。そのうち基準違反となったものは 4 検体 4 件、検査結果が表示内容と異なるものは 86 検体 99 件であった。検査結果が表示内容と異なるものの中には、検出された食品添加物が原材料からのキャリーオーバーのために表示違反とならないものもあった。しかし、漬物など、基準違反や検査結果と表示内容の相違が多い食品もあり、食品による健康被害を未然に防ぐためにも、今後も保健所と情報交換を密にし、信頼性の高い食品収去検査を実施していきたい。

平成 28 年度（第 11 回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

玉川上流部における中和対策の効率化と pH を含む水質改善の促進（平成 25～27 年度）
田沢湖を含む玉川流域の水質改善に関する検討

生魚利治 鈴木純恵

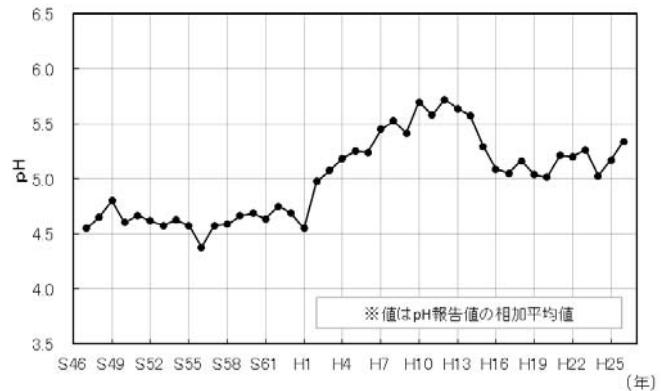
1. 背景と目的

仙北市に位置する田沢湖は、現在、酸性湖沼に分類される。この要因は、昭和 15 年に電源開発と農業用水利用のため、強酸性の玉川温泉水が流れ込む玉川の河川水を導水し酸性化したことにある。玉川温泉由来の酸性水対策のため、玉川ダムの付属施設として玉川酸性水中和処理施設（中和処理施設）が建設され恒常的に中和処理が行われていることで、田沢湖の pH は改善傾向にあった。しかし、平成 14 年頃に観測された玉川温泉水の酸度上昇等の水質変化の影響を受け、再び田沢湖の pH は低下し、近年はおよそ 5.2 で推移している（図 1）。このことから、当センターでは、田沢湖の水質改善のためには pH 低下の原因である玉川流域の増加した酸度等についての対策が必要であると考えている。今回は、増加した酸度の効率的の中和方法を検討するため、玉川上流域を対象に実施した中和実証試験（実証試験）について報告する。

2. 対象と方法

実証試験は、平成 25 年度から 27 年度にかけて計 4 回実施した。調査地点は、玉川温泉から玉川ダム流入前までの 9 地点とした（図 2）。湯川と渋黒川の合流点と地点④の間の地点において、中和材を 4 時間連続投入し水質の変化を調べた。中和材には、乳化液状にした酸化カルシウムを用いた。調査項目は、pH、流量、フェノールフタレン酸度（PP 酸度）、鉄濃度およびアルミニウム濃度等とした。pH は連続測定とし、流量は全地点で 2 回測定し、その平均値を地点流量とした。その他の項目については、全地点において中和材投入前および pH 上昇開始 1, 2, 3 時間後の計 4 回採水し分析した。

今回の報告は、特にアルカリ消費量を示す PP 酸度に着目し、平成 25 年 10 月 2 日（第 1 回）、平成 26 年 10 月 2 日（第 2 回）および平成 27 年 9 月 9 日（第 3 回）の測定結果について行う。PP 酸度は、JIS K 0101 に表記されている滴定法



3. 結果と考察

酸化カルシウム投入の効果を評価するため、各回の酸化カルシウム投入量およびPP酸度総量の減少量を示す(図3)。PP酸度総量の減少量は、酸化カルシウム投入付近である地点④および⑤では、投入量とほぼ同量のPP酸度減少量を示した。この結果から、投入地点付近の酸度総量低下に、投入量のほぼ全量が効果を示すことが明らかとなった。しかし、地点⑥より下流の地点では、PP酸度総量の減少量が流下に伴い低下する現象が見られた。これは、酸化カルシウム投入中の河川において、何らかの形でアルカリ分が消費されていることによると考えられる。同様の現象は、昭和45年に石灰石を用いた実証試験でも観測されており、短時間投入では常時酸性化にさらされている河床により投入した中和材のアルカリが消費される¹⁾と考えられている。

今後、田沢湖のpH改善を進めるためには、玉川流域で減少させなければならないPP酸度総量の算定が必要となるが、流下に伴うアルカリ消費の現象の有無によってその量は大きく異なることが推測される。この現象は、本実証試験においては中和材の短時間投与が影響して発生したと考えられるが、恒常的な中和対策を行う際の発生についても把握する必要があると考えられる。また、実際に中和対策を行う場合は、本実証試験に用いた酸化カルシウムは水と反応すると発熱することから輸送や保管にあたって留意する必要がある。また、乳化液状での河川への直接投入は、河川中の様々なイオンとの反応により石膏や水酸化物等の沈殿を生成することから、河川の透明度の悪化にも配慮する必要がある。これらのことから、使用する中和材も含め効果的な中和方法についてさらなる検討を進めていく必要があると考える。

4. まとめ

- ・投入地点付近の酸度総量低下に、酸化カルシウム投入量のほぼ全量が効果を示すことが明らかとなった。
- ・PP酸度総量の減少量が流下に伴い小さくなる現象が見られた。
- ・恒常的な中和対策を行う際にも、この現象の有無を把握する必要がある。

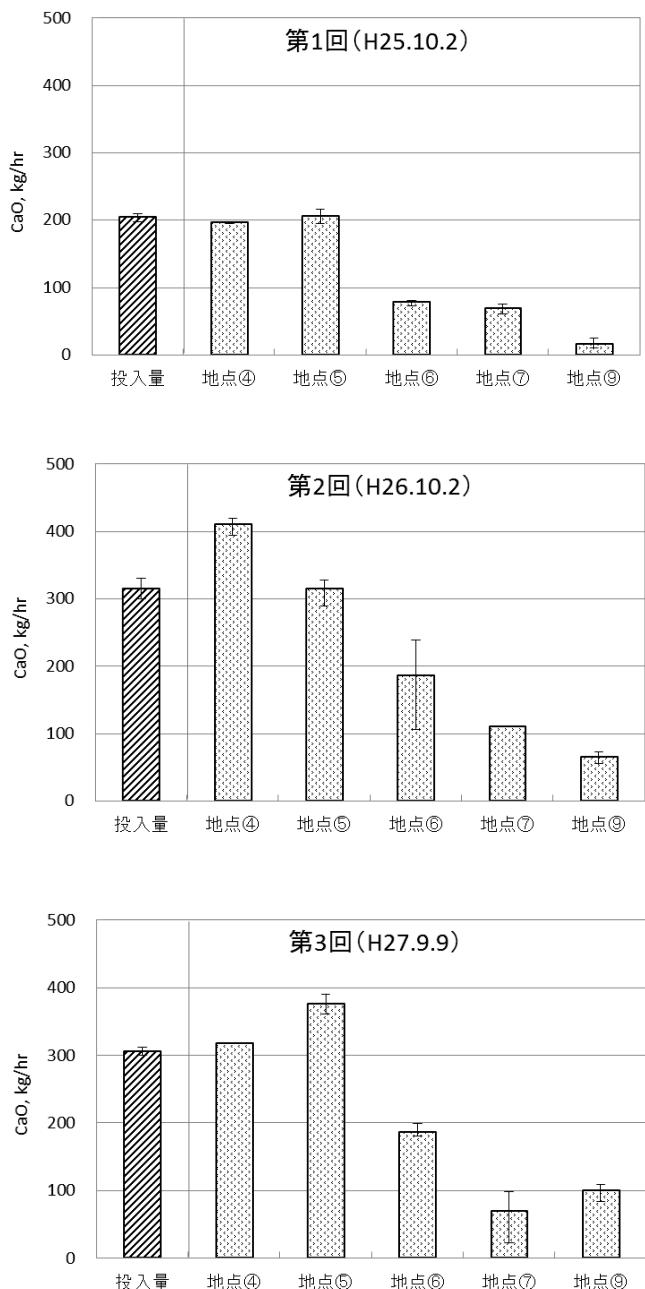


図3 酸化カルシウム投入量
およびPP酸度総量の減少量

- ・使用する中和材も含め効果的な中和方法についてさらなる検討を進めていく必要がある。

参考文献

- 1) 萩原インフィルコ株式会社：中和沈殿物の除去対策試験調査，1970.

平成28年度（第11回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

大気汚染対策事業

秋田県におけるオキシダントの高濃度事例について

佐藤 健

1. はじめに

オキシダントの高濃度事象は関東以西で多く確認されているが、近年は東北地方でも観測されており、平成27年7月には福島県で光化学オキシダント注意報が発令された。本県でも、平成27年4月28日にオキシダント濃度の日最大1時間値が、注意報発令の目安(120 ppb)に迫る114 ppbを記録した。本報告では、同事例について気象状況からの考察や後方流跡線を用いたオキシダントの起源解析を行った。

2. 調査方法

県内6か所の大気常時監視測定局（図1）に設置されたオキシダント自動測定機による測定データを用いて、オキシダント濃度の推移を調査した。また、高濃度事象が確認された期間について、当時の気象データや国立環境研究所が作成したCGERMETEXによる後方流跡線を用いて解析を行った。

3. 結果

3.1 県内各測定局におけるオキシダント濃度

平成27年4月28日前後の県内各測定局におけるオキシダント濃度の推移を図2に示す。昼間のオキシダント濃度は、全測定局において似たような挙動を示していたが、27～28日にかけては測定地点によって濃度推移に差が生じ、28日にはオキシダント濃度の日最大1時間値が大曲局で114 ppb(13:00)、船川局で86 ppb(12:00)となった。

3.2 気象状況とオキシダント濃度

4月28日に全測定局中最大の日最高1時間値(114 ppb)を記録した大曲局と、同日に全測定局中最低の日最高1時間値(86 ppb)を記録した船川局について、当時の気象状況及びオキシダント濃度を表1に示す。



図1 オキシダント測定地点

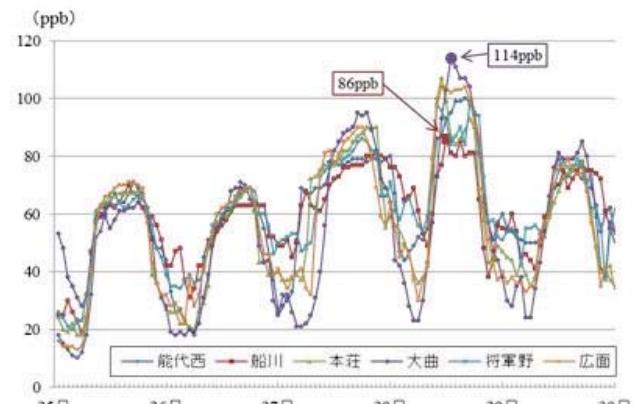


図2 オキシダント濃度の時間推移

風向は、船川及び能代西局の県沿岸北部、大曲及び他3局の県央～県南部でそれぞれ同様の傾向を示していた。対象期間を通して、最高気温は大曲局が船川局と比べ3°C以上高く、27～28日には6°C以上高かった。

表1 船川・大曲局における気象状況及び日最高オキシダント濃度

	4月25日		4月26日		4月27日		4月28日		4月29日	
測定期名(局)	船川	大曲	船川	大曲	船川	大曲	船川	大曲	船川	大曲
天気	晴		晴のち曇		晴のち曇		晴時々曇		晴	
日照時間(h)	10.8	11.7	11.7	12.5	10.8	11.7	11.0	11.4	11.5	12.1
最高気温(°C)	14.7	17.7	16.5	21.2	18.3	25.2	18.7	25.0	25.8	30.7
昼間の風向	南	西南西	南	西北西	南	西南西	南	西北西	北	南～西
オキシダント最大濃度(ppb) []内は記録した時刻	70 (16:00)	64 (18:00)	64 (19:00)	69 (15:00)	80 (19:00)	95 (17:00)	86 (12:00)	114 (13:00)	78 (17:00)	85 (17:00)

3.3 後方流跡線

4月28日の船川局及び大曲局について、120時間の後方流跡線を図3及び図4に示す。図3の水平流跡線図からは、気流が中国大陆を起源とし、経度120°付近にあたる大陸極東部を周遊していることが確認された。

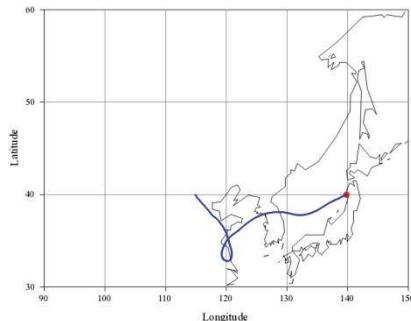


図3 4月28日12:00における後方水平流跡線図（左：船川局、右：大曲局）

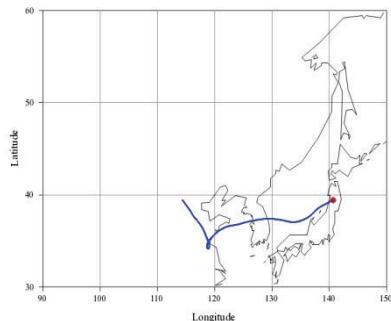


図3 4月28日12:00における後方水平流跡線図（左：船川局、右：大曲局）

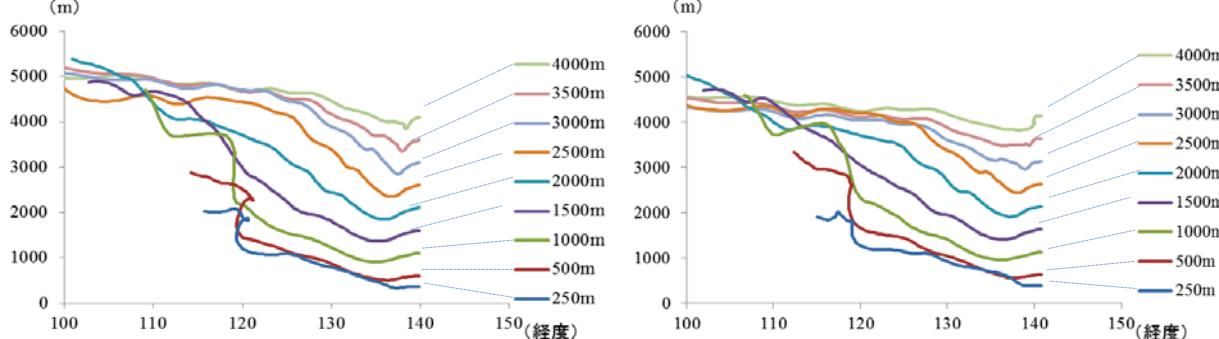


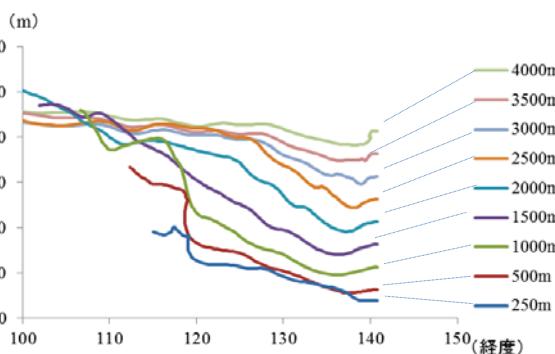
図4 4月28日12:00の後方高度流跡線図（左：船川局、右：大曲局）

4. 考察

本県では、4月27日から29日にかけてオキシダントの高濃度化が発生した。県内の全測定地点で似たような挙動を示しオキシダントの高濃度化が確認されたこと、後方流跡線解析で中国大陆からの気流が確認されていること等から、オキシダントの高濃度化を引き起こす気団の移流があったと推測される。また、28日正午には、大陸極東部の上空2000～3000mを周遊し、本県250～500m付近に落ちてくる気流が確認された。大陸からの気団の移流及び気流の落ち込みが、28日にオキシダントの高濃度事象をもたらした大きな要因の一つと考えられる。

年間を通じて、各測定局の昼間の日最高オキシダント濃度はほとんど差がないものの、4月28日は30 ppb程度の差が生じた。この大きな原因是、測定局の立地にあると考えられる。船川局は小高い丘の上に位置し、2方を海に囲われた地に立地している。周囲には山脈も存在せず、風が吹いている限り大気

された。図4の高度流跡線図からは、気流が経度120°付近上空にて大きく落ち込んでいることが確認された。



が滞留することはほとんどない。そのため、大陸から移流した大気が高濃度化を引き起こす前に抜けていったと考えられる。一方、大曲局は横手盆地に位置し、東部には標高の高い奥羽山脈が存在する。28日は西寄りの風が吹いており、12時までは風速も弱かったため、大陸からの気流が山脈を越えずに滞留して高濃度化を引き起こしたと考えられる。13時からは大曲局周辺で風速が5mを超え、滞留した大気が拡散して濃度が下がったと考えられる。

参考文献

- 1) 国立環境研究所 CGER METEX (<http://db.cger.nies.go.jp/metex/trajectory.jp.html>) 2016.5.
- 2) 環境省大気汚染物質広域監視システム（そらまめ君） (<http://soramame.taiki.go.jp/>) 2016.5.
- 3) 日本気象協会 tenki.jp (<http://www.tenki.jp/>) 2016.5.

平成28年度秋田県保健環境業務研究発表会抄録

2015～2016年における伝染性紅斑の流行について

柴田ちひろ 藤谷陽子 今野貴之 秋野和華子 田中貴子^{*1}

1. はじめに

頬に現れる特徴的な紅斑から“リンゴ病”とも呼ばれる伝染性紅斑は、ヒトパルボウイルスB19への感染によって発症する小児の代表的なウイルス性発疹症である。妊娠中の女性が感染した場合、経胎盤感染により胎児に影響が及ぶ危険性があるため、妊婦が注意しなくてはならない感染症の1つでもある。本疾患は、感染症法における五類定点把握対象疾患に指定されていることから、全国約3,000(秋田県内35)の小児科定点医療機関からの報告により、その発生動向が収集・分析されている。

2015年春以降、関東地方に端を発した全国的な流行が発生した。秋田県内でも徐々に患者報告が増加し、2015年初冬から2016年にかけて、秋田県としては過去10年で最大規模の流行に発展した。今回、県内における流行拡大の様子と、秋田県感染症情報センターとしての周知・啓発等の対応についてまとめたので報告する。

2. 流行の拡大

図に全国および秋田県における定点あたり報告数の推移を示す。全国の定点あたり報告数

は、2015年春以降、当初流行の中心であった関東地方から他地域へと拡大し、2011年以来となる全国規模の流行に発展した。そのため、日本産科婦人科学会は2015年6月1日付けで妊婦に対する注意喚起を行った。また、国立感染症研究所感染症疫学センターも感染症発生動向調査週報(IDWR)26週にて「注意すべき感染症」に挙げ、情報提供を行った。しかしその後も流行は拡大し、2015年第28週(7/6～7/12)には定点あたり1.21と本流行のピークを迎えた。

秋田県においても全国から10週ほど遅れて徐々に増加傾向を示した後、全国の定点あたり報告数が減少に転じたのとほぼ同時期に減少へと向かった。しかし、県内ではその後も局地的流行が維持され、例年より発生規模の高い状態が続いた。第43週(10/19～10/25)以降、県内の流行は急激に拡大し、2015年第47週(11/16～11/22)～2016年第14週(4/4～4/10)まで継続して警報レベルで推移した(※伝染性紅斑の警報基準:定点あたり2.00を上回ってから1.00を下回るまで)。この間、2016年第4週(1/25～1/31)には定点あたり3.49のピークを迎え、過去10年間で最も高い値となった。その後は

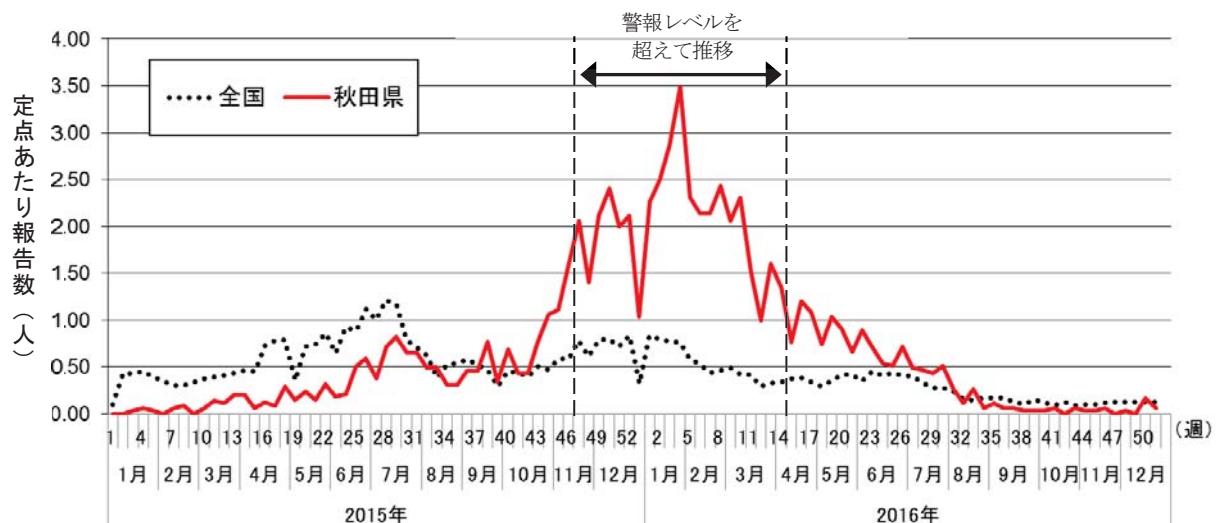


図 全国と秋田県における伝染性紅斑の定点あたり報告数の推移（2015年～2016年）
※2016年第51週現在

^{*1} 精神保健福祉センター

増減を繰り返しながら徐々に減少し、第34週（8/22～8/28）には全国を下回り、県内の流行は終息した。

なお、いったんは減少していた全国の発生動向も、年末年始にかけて再び増加傾向となり、二峰性の流行パターンを示した。関東地方が流行の中心であった春～夏の流行に対して、冬の流行は秋田県を含む東北地方や九州地方で報告の増加が目立った。都道府県ごとに比較すると、2016年第4週、5週、8週は秋田県が最も高い値であった。

3. 保健所管内別の流行の推移

県内では、2015年第25週（6/15～6/21）に由利本荘保健所管内で警報基準に達して以降、2016年第30週（7/25～7/31）まで断続的にいづれかの保健所管内で警報基準に達する状況が続いた。この間における各保健所管内の定点あたり報告数を表に示す。当初は由利本荘保健所管内が流行の中心であったが、徐々に隣接する秋田市保健所管内でも報告数が増加していった。その後、秋田中央保健所、能代保健所、大仙保健所管内へと拡がり、第43週以降の急激な流行拡大へと繋がった。横手保健所、湯沢保健所管内では年末に向けて徐々に報告数が増加し、年明け以降に本格的な流行を迎えた後、6月頃まで警報レベルで推移した。北秋田保健所管内では、県央部と入れ替わるように報告数が

増加し始め、7月まで流行が継続した。一方、大館保健所管内では一時的に警報基準に達したもの、他保健所管内ほど長期にわたった流行はみられなかった。県内の警報は、第30週の秋田中央保健所管内を最後に全て解除された。

4. 秋田県感染症情報センターとしての対応

流行の全国的拡大を受け、感染症発生情報＜週報＞（以下、週報）2015年第24週分（2015年6月18日公表）のトピックステーマに伝染性紅斑を取り上げ、疾患の概要、全国および秋田県内の状況等について啓発した。その結果、NHKの県内ニュースに取り上げられ、テレビを通じた予防対策等の啓発がなされた。県内の流行が本格化した冬以降は、県全体として警報基準に達したことから週報第47週分（2015年11月26日公表）にて再度トピックステーマに取り上げると共に、2015年第48週分（2015年12月3日公表）～2016年第18週分（2016年5月12日公表）の週報上に、伝染性紅斑の特集コーナーを作成し、県内の発生状況等についてコメントを付けて注意喚起を図った。これにより報道機関からの関心が得られ、週報公表に合わせてメディアを介した県民への情報提供も行われた。

5. おわりに

2015年～2016年にかけて、秋田県内では過

表 各保健所管内における定点あたり報告数

2015年	25週	26週	27週	28週	29週	30週	31週	32週	33週	34週	35週	36週	37週	38週	39週	40週	41週	42週	43週	44週	45週	46週	47週	48週	49週	50週	51週	52週	53週	
秋田県	0.50	0.59	0.38	0.71	0.82	0.65	0.65	0.49	0.49	0.31	0.31	0.46	0.46	0.77	0.34	0.69	0.43	0.43	0.77	1.06	1.11	1.57	2.06	1.40	2.11	2.40	2.00	2.11	1.20	
秋田市	0.29	1.14	1.29	1.43	1.57	1.14	0.86	0.86	0.57	0.29	0.00	0.71	1.14	2.43	0.29	1.57	0.43	0.71	1.43	0.86	1.57	1.43	2.57	0.86	3.14	4.00	3.14	2.86	1.57	
大館	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	0.25	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.25	0.25	0.25	0.00	0.00	0.00		
北秋田	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.50	0.50	0.00	0.50	0.00		
能代	0.33	0.00	0.00	0.67	0.33	0.67	0.00	1.33	0.00	0.67	0.00	0.00	0.00	0.33	0.67	0.67	0.67	1.00	0.33	0.67	1.67	2.67	2.00	2.00	6.00	4.33	5.33	7.67	3.33	
秋田中央	0.00	0.25	0.00	0.00	0.25	1.25	1.25	0.50	1.25	0.75	0.75	0.25	1.25	0.00	0.00	0.25	0.50	0.50	1.25	2.00	0.50	1.00	2.25	0.50	1.50	1.75	1.50	0.50	1.00	
由利本荘	2.50	2.25	1.00	3.00	3.50	1.75	2.50	1.00	1.50	0.75	2.00	2.25	0.50	1.25	0.50	1.25	0.75	0.00	0.50	0.75	1.50	2.00	3.50	2.50	2.25	3.00	1.75	2.25	1.25	
大仙	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.00	0.25	0.25	0.75	1.00	1.00	0.75	2.00	3.50	3.00	5.00	5.75	4.00	2.75	3.75	3.75	3.50	3.00		
横手	0.67	0.67	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.33	0.00	1.00	1.00	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	1.33	0.67	0.33	0.33	1.67	2.00	1.67	0.67	0.67	0.00
湯沢	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25	0.75	0.00	0.50	0.00	1.00	0.25	1.00	0.00	0.00		
2016年	1週	2週	3週	4週	5週	6週	7週	8週	9週	10週	11週	12週	13週	14週	15週	16週	17週	18週	19週	20週	21週	22週	23週	24週	25週	26週	27週	28週	29週	30週
秋田県	2.26	2.49	2.86	3.49	2.31	2.14	2.14	2.43	2.06	2.31	1.51	1.00	1.60	1.34	0.77	1.20	1.09	0.74	1.03	0.91	0.66	0.89	0.71	0.54	0.51	0.71	0.49	0.49	0.43	0.51
秋田市	2.43	2.57	2.57	3.86	1.57	2.71	1.43	2.29	1.29	3.00	1.43	1.29	2.57	1.71	0.29	1.43	0.71	1.00	0.57	0.86	0.29	0.43	0.57	0.29	0.43	0.00	0.57	0.14	0.71	0.14
大館	0.00	0.00	0.00	0.75	1.25	0.50	0.75	1.25	0.75	2.75	0.25	0.25	2.25	0.50	1.75	0.50	0.50	0.25	0.50	0.25	0.50	0.25	0.75	1.00	0.00	0.00	0.25	0.50		
北秋田	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.50	1.50	0.00	0.00	2.50	2.50	3.00	3.00	5.00	2.50	3.50	1.50	2.00	2.00	2.00	2.50	2.50	4.00	1.00	1.00	0.00	
能代	4.67	6.33	5.33	7.33	2.67	3.33	1.00	4.67	2.67	3.33	2.33	2.33	1.67	2.00	0.67	2.33	0.33	0.00	1.33	0.33	0.33	0.67	0.33	1.67	0.00	0.33	0.00	1.00	0.33	0.33
秋田中央	1.50	1.75	3.00	4.75	4.25	2.50	4.50	2.00	4.75	1.75	2.00	0.25	1.25	1.50	0.50	0.50	0.75	0.75	1.75	1.00	1.25	1.00	1.00	0.50	0.75	2.00	1.50	1.50	1.25	
由利本荘	2.50	2.50	2.25	3.00	4.50	2.00	2.75	3.75	2.50	1.75	2.50	0.25	0.75	1.00	0.25	0.00	0.25	0.50	0.25	0.75	0.25	0.25	0.50	0.00	0.25	0.00	0.00	0.50		
大仙	4.00	3.00	3.50	3.50	1.25	2.25	1.50	1.50	1.75	2.75	0.75	1.00	1.00	1.00	0.25	0.25	0.50	0.00	0.00	0.25	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00		
横手	2.67	3.33	6.33	3.33	1.67	3.33	4.33	2.00	1.67	1.33	2.33	2.00	1.67	1.33	0.67	2.00	3.00	0.33	1.00	1.67	0.67	0.67	2.67	0.00	0.67	1.67	0.67	1.00	0.67	
湯沢	2.00	2.75	3.00	3.75	3.00	1.75	2.75	3.75	2.50	1.75	1.75	1.50	0.50	1.00	1.00	2.00	1.25	1.75	2.00	2.00	1.25	2.75	0.75	0.75	0.25	0.50	0.25	0.00	0.75	

※数値の塗りつぶしは警報を意味する。

去 10 年間で最大となる伝染性紅斑の流行が発生した。秋田県感染症情報センターでは、週報を注意喚起の手段として活用し、トピックスや特集コーナーにおいて流行波及前の周知や、流行拡大後の情報提供を行った。また、適切な時期に掲載することで、新聞やテレビ等のより県民に届きやすい媒体を通じた情報提供にも繋がった。今後も同様の状況が生じた際に適切な情報提供ができるよう、県内だけではなく全国的な流行状況にも注意を払っていきたい。

一方、患者定点サーベイランスでは例年を大きく上回る流行が確認されたにも関わらず、病原体定点サーベイランスでは伝染性紅斑患者由来の検体提供はごくわずかであった。このことから、現在の病原体定点サーベイランスが県

内の感染症発生状況を正しく反映できていないことが示唆される。感染症発生動向調査は、患者定点と病原体定点の両サーベイランスが噛み合って初めて真の流行状況の把握に繋がる。伝染性紅斑以外の疾患を含め、今後の県内流行に備えて医療機関との連携の下、適切なサーベイランスの実施が重要と考える。また、伝染性紅斑の流行で最も大きな問題となるのが妊婦の初感染による胎児への影響であるが、小児科医療機関を対象としている現行の調査方法では、成人患者の発生状況を把握することは困難である。今後は小児のみならず、影響が及ぶ可能性のある対象者への重点的な情報提供の方法についても検討していきたい。

平成 28 年度秋田県保健環境業務研究発表会抄録

秋田空港および大館能代空港における WECPNL と Lden の比較

伊藤 佑歩

1. はじめに

戦後の急速な空港施設の発展に伴う騒音問題に対応するため、昭和 48 年に「航空機騒音に係わる環境基準」が告示され、航空機騒音の評価指標として、WECPNL（以下、W 値）が採用された。しかし、航空機騒音の測定技術向上を図るために、昭和 61 年頃には航空機騒音の国際的な評価指標として Lden が世界的に用いられるようになり、日本でも平成 25 年度から評価指標が W 値から Lden へと変更された。この改正においては、従来から使用してきた W 値と Lden との関係が比較検討され、W 値と Lden の理論的及び実態的関係が「 $Lden = W \text{ 値} - 13$ 」で示される¹⁾ことから、Lden の環境基準値は W 値から一律 13 減じた値に設定された。しかし、この指標差に関しては、飛行場周辺の地域環境や運行形態などにより異なると考えられる²⁾ため、秋田県における航空機騒音のデータの継続性を確認するため、当センターで航空機騒音の測定を行っている、秋田空港および大館能代空港の W 値と Lden のデータからその関係について検討したので報告する。

2. 調査内容

秋田空港では、安養寺と藤森の 2 地点で自動測定局による航空機騒音の通年測定を、短期測定として堤根の 1 地点で 1 週間の測定を行っている（図 1）。一方、大館能代空港では、空港西局および中屋敷局の 2 地点で 1 週間の短期測定を行っている（図 2）。この 2 空港について、評価基準が変更された平成 25 年度から平成 27 年度までに測定した単発騒音を集計し、W 値と Lden との関係性について比較検討を行った。

3. 結果

秋田空港では、通年測定の安養寺局・藤森局、短期測定の堤根局のいずれにおいても W 値と Lden の指標差は理論値である 13 に近い値を示した（表 1）。一方、大館能代空港では、空港西局における指標差は理論値に近い値を示した

が、中屋敷局における指標差は平成 25 年度から平成 27 年度の平均で 14.4 と他局に比べて大きな値を示した。特に平成 25 年度における指標差が最も大きく、15.2 であった（表 2）。そこで、平成 25 年度の中屋敷局における単発騒音をより詳細に検討したところ、騒音の継続時間が全体的に短かった。特に平成 25 年 10 月 15 日に観測した単発騒音の継続時間が 7.3 秒であり、このときの指標差が 17.5 と最も大きな値を示すことが明らかとなった（表 3）。

4. 考察

W 値と Lden には、その算出方法に大きな違いがある（図 3）。W 値が騒音の最大値と仮定した継続時間（20 秒）から面積を三角近似にて算出し、騒音の暴露量を推定評価するのに対し、Lden は実継続時間における面積を積分演算により算出し、騒音の総曝露量を実測値として評価する。そのため、理論的には騒音の実継続時間が W 値で仮定された 20 秒よりも短いほど W 値と Lden の指標差の乖離は大きくなる。実際、W 値と Lden の指標差が理論値の 13 に近い秋田空港の 3 局と、大館能代空港の空港西局における実継続時間は、W 値で仮定された 20 秒に近い値を示した。一方、平成 25 年度の中屋敷局における単発騒音の実継続時間は、W 値で仮定された 20 秒に対し、平均 16.4 秒、最短は 7.3 秒と短く、このときの W 値と Lden の指標差は 17.5 と最も大きな値であった。このことから、実継続時間の短さが、中屋敷局における W 値と Lden との指標差を大きくした原因であると考えられる。

5. まとめ

航空機騒音の評価指標の変更を受けて、これまでの航空機騒音のデータの継続性を確認するため、秋田空港および大館能代空港における W 値（旧評価指標）と Lden（新評価指標）との関係を調べた。秋田空港の安養寺局・藤森局・堤根局および大館能代空港の空港西局では、

いずれも W 値と Lden の指標差は理論値である 13 に近い値を示し、データの継続性が良好であることが示された。一方、大館能代空港の中屋敷局では、W 値と Lden の指標差が理論値であ

る 13 よりも大きく、基準値の整合性を図るためにも、引き続きデータの解析を行い、周辺状況の変化も含めた検討を行いたい。



図 1 秋田空港周辺における航空機騒音の測定地点



図 2 大館能代空港周辺における航空機騒音の測定地点

表 1 秋田空港における指標差

安養寺局	W値	Lden	指標差
H25	61.6	49.0	12.6
H26	61.4	48.6	12.8
H27	61.9	49.0	12.9
	平均	49.0	12.8

藤森局	W値	Lden	指標差
H25	62.9	49.4	13.5
H26	62.3	48.8	13.5
H27	62.8	49.3	13.5
	平均	49.4	13.5

堤根局	W値	Lden	指標差
H25	64.6	51.1	13.5
H26	64.5	52.0	12.5
H27	65.4	52.0	13.4
	平均	52.0	13.1

表 2 大館能代空港における指標差

空港西局	W値	Lden	指標差
H25	58.8	45.8	13.0
H26	58.4	45.3	13.1
H27	58.2	45.4	12.8
	平均	45.8	13.0

中屋敷局	W値	Lden	指標差
H25	49.4	34.2	15.2
H26	51.7	37.6	14.1
H27	51.0	37.2	13.8
	平均	37.2	14.4

表3 平成25年(2013年)度における中屋敷局の測定結果

測定日	W値 dB	Lden dB	指標差	年月日	時刻	継続時間 s
2013/10/9	-----	-----	-----			
2013/10/10	46.8	31.8	15.0	2013/10/10	11:55:22	14.1
2013/10/11	-----	-----	-----	2013/10/12	9:56:58	15.3
2013/10/12	53.2	39.5	13.7	2013/10/12	16:57:06	14.5
2013/10/13	54.6	40.3	14.3	2013/10/13	10:03:39	13.4
2013/10/14	43.3	27.9	15.4	2013/10/13	13:43:19	39.0
2013/10/15	48.9	31.4	17.5	2013/10/13	17:03:09	13.8
平均	49.4	34.2	15.2	2013/10/14	13:59:15	13.5
				2013/10/15	15:50:37	7.3
					平均	16.4

(W値における継続時間:20s)

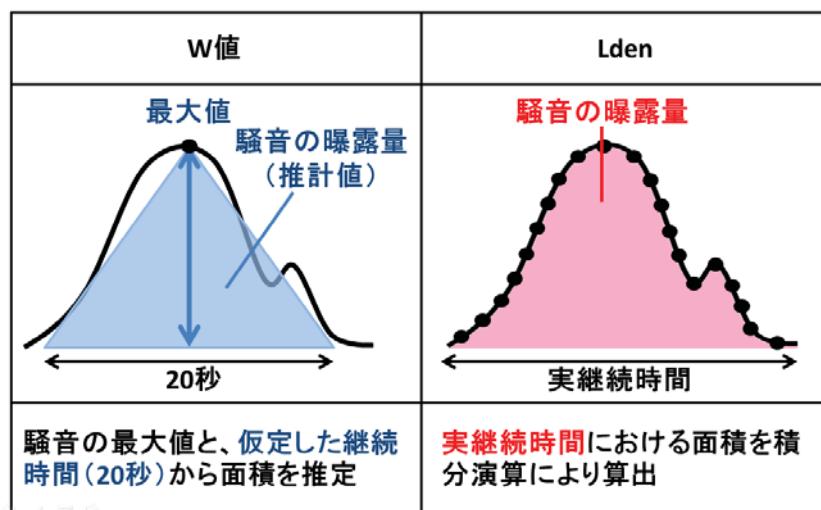


図3 W値とLdenの算出方法の違い

参考文献

- 1) 中央環境審議会:航空機騒音に係る環境基準の改正について(答申)(2007) .
- 2) 社団法人日本騒音制御工学会:航空機騒音に関する評価方法検討業務報告書(2006) .

IV 発表業績

1. 学会発表

秋田県におけるShimokoshi型つつが虫病の 遡及的疫学調査

佐藤寛子

第68回日本衛生動物学会
2016年4月 宇都宮市

【目的】国内におけるつつが虫病リケッチャア (*Orientia tsutsugamushi* : Ot) の代表的な血清型のうち、Shimokoshi型は1980年に新潟県の患者血液から分離された1株により樹立されたが、これ以降の分離例はなく、症例報告も数例に留まつたことから、「概してヒト病原性は低く、患者発生は稀」と認識してきた。しかし、秋田県ではShimokoshi型を日常検査に取り入れた2009年～2011年に同型が3症例確認された。そこで、過去の疑い症例を含むつつが虫病患者検体について検索し、確認された症例群の疫学的な分析に加え、検査診断の改良について検討した。

【方法】血清検査：1992年～2008年の疑い例を含むつつが虫病患者血清を対象に、1) つつが虫病特有の3徴候を認めるが、当時抗体陰性あるいは軽微な上昇があった例。2) 3徴候全ては認めないが軽微な抗体上昇があった例。以上を満たす104例の保存血清の血清学的診断を行った。

遺伝子検査：血清診断でShimokoshi型感染症例とみなした症例のうち、3症例の急性期全血3検体および痂皮1検体について、国立感染症研究所発行の検査マニュアルに準じたnested PCRを行った。Primerは配列の一部を変更した10m2ならびに新設計のShimokoshi型検出用primer SH6およびSH5を追加使用した。

病原体分離：急性期全血3検体について、L929細胞によるリケッチャア分離を試みた。

【結果】血清検査：抗体検査でShimokoshi型と判定し得たのは2009年～2012年の5症例を合わせると15例で、発熱は14例、発疹は13例、刺し口は10例に確認された。検査所見ではDIC等を併発した重篤例はなかったが、症例間の差が大きく軽症のみならず重症とみなし得る例も含まれた。患者発生時期は春季と秋季で、感染推定地は河川敷、山林、田畠であった。15例の抗体

価はShimokoshi型以外の抗原に対する値が非常に低く、この型を用いない場合、急性期では9/15例、回復期では1/15例が抗体陰性となり、つつが虫病を否定する結果となった。

遺伝子検査：3症例4検体全てにおいて Shimokoshi型Otの予測増幅サイズ付近にバンドを確認したが、変更primerを用いないPCRで増幅されたのは痂皮検体のみであった。

病原体分離：全血1検体から国内2株目となる Shimokoshi型Ot株 (Matsui株 : AB742542) を分離した。Matsui株はprimer 10m2およびSH5の増幅領域においてShimokoshi株との相同性が99%で患者血清とのホモ価はShimokoshi株と同値であった。

【考察】Shimokoshi型は稀という従来の認識は、この型に対する検査が積極的に実施されて来なかつたことの反映とも思われる。現在、本型の国内分布域が不明であることから、検査体制の整備が第一に望まれる。

サルモネラの血清型別への遺伝子検査法 からのアプローチ

今野貴之 高橋志保 熊谷優子 斎藤博之

第27回秋田県応用生命科学研究会講演会
2016年5月 秋田市

健康環境センターでは感染症の発生動向を調査するため、病原体サーベイランスとしてサルモネラの血清型別検査を行っている。サルモネラの血清型は、動物や感染症・食中毒の原因となる食品と密接な関連性があり、血清型別による疫学的な解析は感染源・感染経路の解明に役立っている。従来の免疫学的手法による血清型別法は高価で、時間を要する、または培養条件や抗原の発現量による影響を受けやすい等の問題があり、近年ではPCR等の遺伝子検査法による代替が試みられてきている。しかしながら、サルモネラについては血清型が複雑であり、遺伝子を基にした型別は困難とされてきた。本研究では、PCRに加えリガーゼ連鎖反応 (LCR) を原理とした遺伝子検査法により、サルモネラの血清型別を検討した。

Multiplex PCR法により主要なO抗原については同時検出が可能であった。H1抗原については、3つのMultiplex PCR法により12種類の型別が可能であった。H2抗原については、合計8種類の型別が可能であった。G-complexについてはPCRによる分類は困難であったが、7種類の因子について、遺伝子配列の一塩基の相違を確認できるLCRにより型別が可能であった。

サルモネラの血清型の中には、チフス症やパラチフス症の原因となり重症化しやすい血清型も存在し、遺伝子検査法による血清型別は迅速に菌の危険性等を推定するのに役立つと考えられる。また、従来法で型別できない菌株についても有効であり、正確な食中毒及び感染症のサーベイランスにも有用と考えられる。本研究で使用したLCRの検査法は、デザインにより様々な一塩基の相違判別に応用可能であり、今後幅広く活用が期待される。

秋田県における夏のつつが虫病について

佐藤寛子 門馬直太^{*1} 藤田博己^{*2,*3}
藤田信子^{*2} 高橋守^{*4} 高田伸弘^{*3,*5}
須藤恒久^{*6} 安藤秀二^{*7}

第24回ダニと疾患のインターフェースに関するセミナー
2016年5月 指宿市

夏に発生するつつが虫病は、古くから新潟・山形・秋田の風土病として知られていたアカツツガムシ媒介性の古典型つつが虫病のほか、四国沿岸部や長崎で発生記録のあるトサツツガムシの媒介が疑われる馬宿病、ホッパン（熱）などが挙げられる。近年、夏のつつが虫病は、全国的には稀となったが、秋田県では断続的ながらも確認されている。そこで、秋田県における夏のつつが虫病発生状況と患者から分離された株の性状について報告する。

1973年～2015年までの秋田県におけるつつが虫病患者届出数は1,299例で、このうち夏（7月～9月）の発生例は92例（7月：23例、8月：44例、9月：25例）であった。これらの感染推定地は、アカツツガムシの生息する雄物川周辺が86

例で、それ以外の地域が6例であった。また、92例の血清抗体価は、アカツツガムシ媒介性を示すKato型に有意上昇が認められたのが32例で最も多く、この他にはKarp型が22例、Gilliam型が4例、型別不明が34例であった。Karp型*Orientia tsutsugamushi*の遺伝子型はJP-1型とJP-2型に大別されるが、これらの媒介種はそれぞれアラトツツガムシ、フトゲツツガムシとされている。両種の幼虫は、秋と翌春が活動期とされるが、雄物川河川敷では以前から夏にも多数採集されていることから、これらによって媒介されたつぶが虫病であることが推察された。また、2010年8月に発病し、Karp型に有意の抗体上昇が確認された患者から分離したOno株は、抗Karp株のモノクローナル抗体との反応性でKarp株に対する抗体価よりも1/4以下の低値を示した。さらに、56kDa蛋白遺伝子の相同性に基づく系統解析でもKarp型およびこれまで報告のあったJP-1、JP-2などのKarp系亜型とは異なる独立した型であることが示された。一方、MLS解析ではKarp系統ではなくKato型のクラスタに属し、本株の特殊性が明らかとなつた。加えて、同年同月に大仙市雄物川河川敷で捕獲した野ネズミから分離されたAK-M6株も56kDa蛋白遺伝子の塩基配列およびアミノ酸の系統解析ではOno株と同じクラスタに属したことから、このKarp系Ono型（仮称）が環境中に散在していることが推察された。

今後はAK-M6株のMLS解析を進めると共に、過去における患者症例の検索および媒介種についての調査が必要と思われる。

*1：福島県県北保健福祉事務所

*2：アカリ医学研究所

*3：MFSS

*4：埼玉医科大学

*5：福井大学医学部

*6：秋田大学

*7：国立感染症研究所

ノロウイルス GII.P17-GII.17 に再感染した症例における免疫応答

斎藤博之 佐藤寛子 早川 智^{*1} 牛島廣治^{*1}

第 57 回日本臨床ウイルス学会
2016年6月 郡山市

【目的】 2014/2015シーズンに突如として流行したノロウイルス (NoV) GII.P17-GII.17は、これまでに主流であった遺伝子型とは抗原性が大きく異なることが明らかとなっている。今回、我々はNoV GII.P17-GII.17に2度の感染を受けた症例について、血中抗体価の推移を調べる機会を得たので報告する。

【症例】 現在51歳男性(血液型はA型、分泌型)。2015年8月7日17:30頃に倦怠感が出現。19:30頃嘔吐1回、37°C台の発熱、後背痛、腹部膨満感、放屁、下痢はなし。翌8月8日10:30頃症状軽快、固形便排泄 (NoV GII.P17-GII.17, 7.13×10^{11} copies /g)。19:30頃軟便排泄 (3.37×10^{10} copies /g)。8月10日、固形便排泄 (5.49×10^{10} copies /g)。8月12日、固形便排泄 (NoV不検出)。10月12日、医療廃棄物に接触したことから翌日より検便を実施。10月15日、自覚症状なし、固形便排泄 (NoV GII.P17-GII.17, 5.25×10^5 copies /g)。以降、便中ウイルス不検出。

【免疫学的所見】 2011年に採血した血清の抗体価に対して、8月24日に採血した血清の抗 NV-GII.17 IgGは6.5倍、IgAは6.8倍であった。また、他の遺伝子型に対しても抗体上昇が認められた。再感染後の10月26日に採血した血清中の抗体は、抗NV-GII.17 IgGは10.7倍とブースター効果が認められたものの、他の遺伝子型に関しては、変動はなかった。IgAについては軽度の上昇のみであった。

【考察】 NV-GII.17初感染時の症状は軽症で、弱毒とも考えられるが、今後の症例の積み重ねを注視したい。感染によって誘導される抗体は、他の遺伝子型に対しても交叉反応が認められることがわかった。

*¹：日本大学医学部

ノロウイルス遺伝子型別の効率化に関する検討

斎藤博之 秋野和華子 野田 衛^{*1}

第 37 回日本食品微生物学会学術総会
2016 年 9 月 東京都

平成28年4月1日発出の厚生労働省通知・生食監発0401第1号「食中毒対策の推進について」によると、食中毒事例においてノロウイルス (NoV) が検出された場合は、遺伝子群だけではなく、遺伝子型までの報告を求めている。遺伝子型を特定するには、N/S領域の塩基配列を決定し、その情報を元に系統樹を作成したり、NoroNetによる型別ツールを利用したりする手法が一般的である。しかし、流行期においては複数の事例が同時多発することもあり、遺伝子型を特定する作業を行いながら、別の新規事例に対応するのは作業として大変であるとともに、コンタミネーションのリスクが増大する危険性もある。そこで、リアルタイムPCRのみで遺伝子型を特定できれば、大幅な効率化が期待できる。平成28年7月1日現在において、NoV GII.4 Sydney 2012とNoV GII.17の2遺伝子型については、同定用の試薬が利用できる。本研究では、遺伝子型同定作業にこれらの試薬を用いるに当たって、感度・特異性・運用方法に関する検討を行った。

直近の半年間の成績では、集団感染事例の 86% (12/14)、感染症発生動向調査の 92% (24/26) は同定用試薬で遺伝子型別が可能であった。同定用試薬に反応しない NoV についてだけ N/S 領域をシークエンスするような運用を行えば、型別作業において大幅な効率化が図れるものと考えられた。

*¹：国立医薬品食品衛生研究所

市販生カキからのノロウイルス・サポウイルスの検出と秋田県内における流行状況の推移

秋野和華子 斎藤博之 野田 衛^{*1}

第 37 回日本食品微生物学会学術総会
2016 年 9 月 東京都

ノロウイルス等胃腸炎ウイルスが検出される

食中毒では、カキが原因食品と推定される場合も多い。秋田県では冬季に流通するカキのウイルス汚染状況を把握するため、市販生カキについてノロウイルス（NV），サポウイルス（SV）の検出とともに遺伝子型別を行ってきた。今回は、2013/14～2015/16 シーズンに調査した生カキからの検出結果と併せて、同シーズンに秋田県内で検出された NV, SV の遺伝子型の状況について報告する。

市販生カキからは、2014 年は NV が GII.4_2012, GII.14, GI.3, GI.4 の 4 遺伝子型、SV は GI.2 の 1 遺伝子型、2015 年は NV が GII.3, GII.17, GII.21, GI.2, GI.5 の 5 遺伝子型、SV は GI.1, GI.2, GI.3, GV.1 の 4 遺伝子型、2016 年は NV が GII.3, GII.4_2012, GII.17, GI.2, GI.4 の 5 遺伝子型の検出であった。2014/15 シーズンにおいて秋田県では 10～12 月に SV が多く検出されたが、その中には、近年、本県では確認されていなかった GV.1 が含まれており、この型は同シーズンの市販生カキからも検出されていた。生産海域周辺でも流行があったものと考えられる。NV はいずれのシーズンにおいても GII.4_2012 が主流の遺伝子型となっていたが、2013/14 シーズンには GII.6 が高頻度で確認され、2014/15～2015/16 シーズンにかけては GII.3, GII.17 の検出が多くなっていた。特に、GII.17 は 2014/15, 2015/16 シーズンとともに 1 月以降に検出数が増加しており、また、両シーズンに購入した生カキからも高率に確認されていたことから、県内で流通した生カキの喫食により、不顕性感染を含め GII.17 の感染が引き起こされていた可能性も考えられた。冬季における生カキは秋田県が産地となっておらず、他地域で流行している NV, SV の遺伝子型がカキを通して県内に入り、感染に起因している可能性もある。流行株の予測や予防対策を考える上で、市販生カキの汚染実態の把握は重要であると考えられた。

*¹：国立医薬品食品衛生研究所

Immunological response in a patient of norovirus GII.P17-GII.17 infection

斎藤博之 清水優子^{*1} 佐藤寛子 秋野和華子
早川 智^{*1} 牛島 廣治^{*1}

第 64 回日本ウイルス学会学術集会
2016 年 10 月 札幌市

【目的と意義】2014/2015 シーズンに突如として流行したノロウイルス（NV）GII.P17-GII.17 は、これまでに主流であった遺伝子型とは抗原性が大きく異なることが明らかとなっている。このウイルスに関して、疫学的、あるいは分子生物学的な解析は急速に進んだものの、感染者側の免疫応答に関する情報は不足している。今回、我々は NV GII.P17-GII.17 に 2 度の感染を受けた症例について、血中抗体価の推移を調べる機会を得たので報告する。

【材料と方法】症例は現在 51 歳男性（血液型は A 型、分泌型）。過去に GI.4 型に 1 度（2009 年）、GII.4 2006b 型に 2 度（2006 年と 2012 年）の感染歴がある。2015 年 8 月 7 日に発症。症状は嘔吐 1 回、37℃ 台の発熱、後背痛、腹部膨満感、放屁。下痢はなし。翌 8 月 8 日症状軽快、固形便排泄（NV GII.P17-GII.17, 7.13×10^{11} copies/g, Accession No.: LC075599）。8 月 10 日、固形便排泄（ 5.49×10^{10} copies/g）。8 月 12 日、固形便排泄（NoV 不検出）。8 月 24 日から 10 月 2 日にかけて 10 回血清を採取した。

10 月 12 日、医療廃棄物に接触したことから翌日より検便を実施。10 月 15 日、自覚症状なし、固形便排泄（NV GII.P17-GII.17, 5.25×10^5 copies/g）。以降、便中ウイルス不検出。10 月 26 日から 12 月 2 日にかけて 4 回血清を採取した。

これらの血清と、2011 年に採取された保存血清について、GI.3, GI.4, GII.3, GII.6, GII.17 で作製した VLP を用いて ELISA を行い、IgG と IgA を測定した。また、2016 年 2 月 22 日に GI.2, GI.4, GII.4, GII.17 に汚染されたカキを生食し、2 月 25 日に発症した際の排泄ウイルスについても検討した。

【結果と考察】2011 年に採取した血清の抗体価を基準にして、8 月 24 日に採取した血清の抗 NV-GII.17 IgG と IgA は、ともに 8 倍以上の上昇が認められた。また、抗 GI.3, GII.3, GII.4 IgG と抗 GII.3, GII.4, GII.6 IgA についても 4 倍以上の上昇が認められた。再感染後の 10 月 26 日

に採血した血清中の抗体は、IgG についてはブースター効果が認められたものの、IgA については軽度の上昇のみであった。2月22日に4種類の遺伝子型に汚染されたカキを生食したが、排泄されたのは GI.2 (Accession No.: LC128710) のみであった。以上のことから、NV-GII.17 感染によって他の遺伝子型の抗体も誘導され得るものと考えられた。

*¹：日本大学医学部

疫学的視点から見たノロウイルス GII.P17-GII.17 型の病原性に関する一考察

斎藤博之 秋野和華子 野田 衛^{*1}

第112回日本食品衛生学会学術講演会
2016年10月 函館市

2014/2015 シーズンに突如として流行したノロウイルス (NoV) GII.P17-GII.17 は、GII.4 のような、これまでに主流であった遺伝子型とは抗原性が大きく異なることが明らかとなっている。このウイルスに関して、疫学的、あるいは分子生物学的なアプローチは急速に進み、食中毒を含む集団感染事例の原因物質として拡大傾向にあることが指摘されている。一方、感染症発生動向調査事業による小児科定点サーベイランスで検出される NoV は依然として GII.4 Sydney 2012 型が主流であり、GII.17 が突出して多いという状況ではない。今回、我々は GII.17 に感染した症例について、詳細に調べる機会を得た。その結果、GII.17 の病原性が弱毒であると仮定すれば、上記の乖離を合理的に説明できるものと考えたので報告する。

症例を検討すると、GII.17 には初感染であるにもかかわらず、下痢ではなく、ガスが貯留することによる腹部膨満感が主訴であった。こうした症状も 17 時間後には軽快し、5 日後には糞便中のウイルスも検出されなくなった。ここで GII.17 が弱毒であるとするならば、次の仮説を提唱できる。

1) サーベイランスの検体は病院外来で採取されるため、症状の軽い人は受診しない。

- 2) 集団事例として保健所が探知した場合、本来受診しない人の検体も採取される。
- 3) 症状が軽く、受診しない人であってもウイルスを排泄しており、カキ中腸腺からは GII.17 が優位に検出される。
- 4) 以上のことから、GII.17 は環境中に広く蔓延している可能性があり、一方、弱毒で症状が軽いため流行として顕在化しにくいものと考えられる。

*¹：国立医薬品食品衛生研究所

結核菌の遺伝系統からみる秋田県の結核の発生状況

今野貴之 高橋志保 鈴木純恵 横尾拓子
熊谷優子

第13回秋田県公衆衛生学会学術大会
2016年11月 秋田市

結核は未だ国内最大の感染症として、公衆衛生上の脅威となっている。特に、集団感染と薬剤耐性は結核対策においても重要な課題である。一方、原因となる結核菌は、人の文明社会における伝播の歴史の中で遺伝子の変異を繰り返し、様々な遺伝系統に分岐していった。一部の系統は薬剤耐性や感染力が強いなどの特徴を持っていることが知られている。そこで、県内で分離されている結核菌の特徴を把握するため、秋田県における結核患者の治療・入院の中核施設である市立秋田総合病院の協力のもと、分子疫学的な解析から秋田県における結核菌の遺伝系統を調査した。

県内で特に分離頻度の高かったのは、北京祖先型STKで、この系統は全国規模の研究で若年層には少ない系統であることが示唆されている。一方、感染力が強く若年層を中心に感染が拡がっているとされる北京新興型の秋田県での割合は、全国に比べるとやや低い傾向にあった。これらの結果は、本県における高齢者の結核の多さを反映しているものと考えられた。また、多剤耐性結核菌に多い系統とされるST11/26には分離数こそ少ないが、イソニアジド耐性結核菌

が確認された。薬剤耐性や感染力が強いなどの特徴的な遺伝系統の結核菌が今後増加するかどうかについては注視していく必要があり、遺伝系統の解析は今後の結核菌サーベイランスに有用な情報を提供するものと考えられた。

加熱調理によるツキヨタケ中の毒性成分 イルジンSの挙動について

今野禄朗 松渕亜希子

第13回秋田県公衆衛生学会学術大会
2016年11月 秋田市

ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) は全国で最も食中毒事例の多い有毒キノコであり、平成27年には秋田県内でも2件の食中毒が起きている。ツキヨタケの毒性成分はイルジンSという物質であり、近年、食中毒事例の原因究明でイルジンSの機器分析が広く利用されるようになった。今回、LC-MS/MS分析を用いて、ツキヨタケの加熱調理品でのイルジンSがどのような挙動を示すのかを検証した。

秋田県内で採取したツキヨタケを用いて、キノコの煮物を作製し、キノコと煮汁についてそれぞれイルジンSの定量を行った。試料中のイルジンSは、粉碎した試料を有機溶媒抽出-固相精製した後、LC-MS/MSによって測定した。

調理後のキノコのイルジンS量は2.8 mg、煮汁では8.9 mgであった。加熱調理により、キノコ中のイルジンSの約75%が煮汁へと移行していた。ツキヨタケによる食中毒事例ではキノコ本体だけでなく煮汁のみの摂食でも中毒を起こす危険があることが示唆された。また、調理前後のイルジンSの回収率は105%であり、イルジンSの総量は減少していなかった。このことから10分程の沸騰加熱ではイルジンSはほとんど分解しないことがわかった。ツキヨタケの食中毒は加熱調理による予防効果はないことが考えられた。

ノロウイルス GII.17 感染に伴う免疫応答と 病原性に関する一考察

斎藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 清水優子^{*1}
早川智^{*1} 牛島廣治^{*1} 野田 衛^{*2}

秋田応用生命科学研究会第28回講演会
2016年12月 秋田市

2014/2015シーズンに突如として流行したノロウイルス (NoV) GII.17 は、これまでに主流であった遺伝子型とは抗原性が大きく異なることが明らかとなっている。このウイルスに関して、疫学的、あるいは分子生物学的な解析は急速に進んだものの、感染者側の免疫応答に関する情報は不足している。今回、我々は NoV GII.17 に2度感染した症例について、血中抗体価の推移を調べる機会を得たので報告する。また、集団感染事例の原因ウイルスに占める NoV GII.17 の割合が、感染症法に基づいて行われている病原体サーベイランスにおける検出状況と大きく乖離していることが指摘されているが、その理由について今回の症例から得られた知見をもとに考察した。

2011年に採取した血清の抗体価を基準にして、発症日より2週間後の2015年8月24日に採取した血清の抗 NoV GII.17 IgG と IgA は、ともに8倍以上の上昇が認められた。また、抗 NoV GI.3, GII.3, GII.4 IgG と抗 NoV GI.3, GII.4, GII.6 IgA についても4倍以上の上昇が認められた。再感染後の10月26日に採血した血清中の抗体は、IgG についてはブースター効果が認められたものの、IgA については軽度の上昇のみであった。以上のことから、NoV GII.17 感染によって他の遺伝子型の抗体も誘導され得るものと考えられた。また、症例を検討すると、NoV GII.17 には初感染であるにもかかわらず、下痢ではなく、ガスが貯留することによる腹部膨満感が主訴であった。こうした症状も17時間後には軽快し、5日後には糞便中のウイルスも検出されなくなった。ここで NoV GII.17 が弱毒であると仮定するならば、症状が軽く、病院に行かない人のウイルス保有状況は病原体サーベイランスに反映されず、集団感染事例で保健所が軽症者・無症状者も含めて検便採取を行った場合と比べると、検出割合において乖離が生ずるものと考えられる。

*¹：日本大学医学部

*²：国立医薬品食品衛生研究所

生物処理槽及び集積培養系の 1,4-ジオキサン分解に与える環境因子の影響

岡野邦宏^{*1} 小林貴司 村山力則 宮田直幸^{*1}

第 51 回水環境学会
2017 年 3 月 熊本県

廃水からの除去が難しい 1,4-ジオキサンが、県内の廃水処理施設において特異的に効率良く生物処理されている。これまでの研究では、生物処理槽に存在する 1,4-ジオキサン分解菌のうち *Mycobacterium* 属が常に優占していることから、水処理に大きく寄与する菌は *Mycobacterium* 属の可能性が高いということを報告してきた。今回の発表では、*Mycobacterium* 属の単離・培養及び水処理施設において栄養剤として添加しているリン酸の影響についての検討結果を報告した。また、水処理施設の 1,4-ジオキサン除去率に対して、水温や MLSS 濃度等の環境因子が与える影響の解析結果を報告した。

*¹：秋田県立大学

2. 他誌掲載論文等

秋田県雄物川流域におけるアカツツガムシ生息調査（2011年～2014年）

佐藤寛子 柴田ちひろ 秋野和華子
斎藤博之 齊藤志保子 門馬直太¹
東海林彰² 高橋守³ 藤田博己⁴ 角坂照貴⁵
高田伸弘⁶ 川端寛樹⁷ 安藤秀二⁷

衛生動物, 67, 4, 2016, 167-175.

In Akita Prefecture, patients with Kato type of tsutsugamushi disease (Scrub typhus) transmitted by *Leptotrombidium akamushi* (*L. akamushi*) were identified in August 2008 for the first time in 15 years, and in 2010 as well. We conducted surveys of the habitat of *L. akamushi* using Suzuki's Method (MITORI-HO) between 2011 and 2014 in 74 areas of riverbed in which the disease was prevalent, including the upstream, midstream, and tributary areas of the Omono River. Habitats of *L. akamushi* were identified in 40 areas in three cities and one town, and the total distance along Omono River was approximately 10 km shorter than that reported by a survey conducted in 1964. Some of those areas were inhabited by *L. akamushi* gradually after river improvement work and the disease temporarily became prevalent there, although no patient had been identified in these areas prior to the construction. *L. akamushi* was only collected from sand, sandbanks, and other areas in the vicinity of the river, which can easily be flooded when the water level rises. No extensive research has been conducted on the re-emergence of tsutsugamushi disease transmitted by *L. akamushi*. It is necessary to continue to provide people with information and increase their awareness.

¹ : 福島県衛生研究所

² : 青森県環境保健センター

³ : 埼玉医科大学

⁴ : 馬原アカリ医学研究所

⁵ : 愛知医科大学医学部

⁶ : 福井大学医学部

⁷ : 国立感染症研究所

Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals.

Hiroyuki Saito Miho Toho¹
Tomoyuki Tanaka² Mamoru Noda³

World Biomedical Frontiers, 2016,
<http://biomedfrontiers.org/inf-2016-3-5/>

Food safety measures, including prevention of viral contamination, have become necessary in recent years due to expansion of the food industry and distribution system. Noroviruses (NoVs) are major causes of food poisoning and food-related outbreaks of gastroenteritis worldwide. However, identification of the responsible etiological agents responsible has been restricted due to the difficulty in detecting agents in food samples. It is necessary to concentrate and purify virus particles in a large volume of food emulsion into a small volume of suspension to extract viral RNA for genetic assays such as RT-PCR. We have devised an application of immune precipitation by *Staphylococcus aureus* to recover virus particles from a food emulsion. In this study, we developed a "PANtrap method" for the detection and quantification of foodborne viruses in different food samples including samples in solid, liquid, paste and oily states.

¹ : 福井県衛生環境研究センター

² : 堺市衛生研究所

³ : 国立医薬品食品衛生研究所

"PANtrap" A novel detection method for general food samples.

Hiroyuki Saito Miho Toho¹
Tomoyuki Tanaka² Mamoru Noda³

THE NOROVIRUS, Academic Press, 2016,

145-153

Norovirus (NoV) infection is a major cause of diarrhea, responsible for 20% of diarrhea cases worldwide and 50,000-100,000 deaths among children in developing countries each year. It has been reported that NoV affects approximately one in 15 people in the United States, causing 56,000-71,000 hospitalizations and 570-800 deaths annually, that more than 50% of cases of NoV infection are foodborne, and that NoV infection is associated with an annual healthcare cost of \$5.5 billion.

In Japan, numerous cases of NoV-related illness, including food poisoning, are reported during the seasonal outbreak between late-autumn and early spring. According to the Food Poisoning Statistics, 2014, by the Ministry of Health, Labour and Welfare Japan, 54.3% of food-poisoning cases were caused by NoV, and approximately 70% of the reported incidents of NoV infection were attributable to foods prepared in restaurants.

Norovirus has been characterized as the major causative agent of viral food-poisoning. However, there are only a few cases in which NoV was successfully detected from common food items, except for oysters, resulting in difficulties in identifying the sources and routes of contamination as well as in establishing effective strategies for the prevention of food poisoning.

In Japan, the concept of viral food-poisoning was first established in the Food Sanitation Act of Japan in 1997. Since then, the detection of NoV genes from stool samples has become an essential component of epidemiological investigations of food-poisoning outbreaks and, thereby, made marked technical progress in recent years. In contrast, norovirus detection from food samples has been a difficult pursuit for over 10 years, creating an urgent need to develop detection methods for viruses in food.

We have explored practical procedures to detect NoV in food items and developed a novel method, termed the PANtrap method, which allows the detection of NoV from various types of food,

including solid, liquid, paste, and fried items. This article discusses the advantages of the PANtrap method and prospects for its future applications.

*¹ : 福井県衛生環境研究センター

*² : 堺市衛生研究所

*³ : 国立医薬品食品衛生研究所

ツツガムシ刺咬による健康被害 「つつが虫病」

佐藤寛子

招かれない虫たちの話、東海大学出版部,
2017, 59-70.

つつが虫病は、病原体*Orientia tsutsugamushi*を保有するツツガムシの幼虫に刺咬されることにより発症する細菌感染症である。西アジア～極東ロシア、南はオーストラリアまで広く発生しており、年間の患者数は推計約100万人とされている。

つつが虫病の歴史は古く、最古の記録は中国の「抱朴子」（葛洪、313年）で、沙蟲（さしつ）という虫によって起こる破傷風に似た病気として紹介されている。我が国の歴史に登場したのは江戸時代であり、秋田・山形・新潟県の一部河川流域で夏季に多発する風土病として、当時の藩記録、地誌などに記されている。犠牲者も多く、明治以降の統計によると有効な治療薬が発見されるまでの3県の平均死亡率は約30%であった。

現在、つつが虫病は一年を通して全国で発生報告がある。我が国では、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（感染症法）に基づき、診断した医師は直ちに保健所への届け出が義務付けられる四類感染症に指定されている。近年は400例前後の患者届け出があるが、わずかながら死亡例も後を絶たない。つつが虫病は有効な治療薬があるが、現代においてもなお油断ならない感染症であり、輸入感染症としての側面も持ち合わせているグローバルな感染症である。

本稿では、つつが虫病の概要と検査法および

啓発について述べる。

*¹ 秋田県健康福祉部健康推進課

*² 国立感染症研究所細菌第一部

*³ 国立感染症研究所バイオセーフティ管理室

2016 年に多発傾向がみられたレジオネラ症の解析

今野貴之 高橋志保 鈴木純恵 檻尾拓子

熊谷優子 木内 雄^{*1} 石井 淳^{*1}

前川純子^{*2} 大西 真^{*2} 倉 文明^{*3}

Infectious Agents Surveillance Report, 38, No.1,
2017, 22.

レジオネラ属菌は、水や土壤などの環境中に広く存在し、ヒトに急性肺炎や熱性疾患を引き起こす。近年レジオネラ症の報告数は、尿中抗原検査や遺伝子検査の普及と相まって全国的に増加傾向にある。秋田県におけるレジオネラ症の報告数は、ここ数年は年間 10 件前後であったが、2016 年には第 43 週までに 30 件の報告があり、報告数の増加がみられた。そこで、2016 年 7 月末から約 3 ヶ月間に報告があった患者の喀痰について培養検査を行い、得られた菌株について *SfiI* によるパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE 法) 及び sequence-based typing (SBT 法) による分子疫学解析を実施した。

その結果、事例間の関連性は低く、散発的な患者発生であったことが示唆された。レジオネラ属菌は元来土壤細菌であり、患者らが土木作業や道路工事作業といった土壤からの感染リスクの比較的高い職業であったことから、本症による健康被害防止には土壤などからの感染リスクについて一層の啓発を行い、園芸や工事作業の際にはマスクを着用するなどの感染防止対策を徹底する必要があると思われた。

また、レジオネラ症は患者の平均年齢が 67.0 歳、7 月の梅雨時期に患者発生が多くなる傾向にある。高齢化の進行や気象変動に伴い、患者発生は今後も増加する可能性があり、適切な発生動向の把握が求められている。診断には尿中抗原等による迅速診断が一般的であるが、培養検査により菌株が得られた場合は、分子疫学解析等から事例間の関連や感染源を推定することが可能であり、本症の対策に非常に有用と考えられた。

秋田県健康環境センター年報

第12号 2016

発行日 平成29年12月

発行所 秋田県健康環境センター

〒010-0874 秋田市千秋久保田町6番6号

TEL: 018-832-5005

FAX: 018-832-5938
