

ISSN 1881-6053

# 秋田県健康環境センター年報

第 13 号

平成 29 年度

ANNUAL REPORT  
OF  
AKITA RESEARCH CENTER FOR PUBLIC HEALTH AND ENVIRONMENT

No. 13 2017

秋田県健康環境センター



## はじめに

秋田県健康環境センターは、県民の健康被害の防止とより良い環境の保全への取組を目的として、旧衛生科学研究所と旧環境センターが平成18年度に合併して誕生しました。前者は明治35年創設、後者は昭和45年創設であり、それぞれの創設以来、県民の安全で安心な暮らしを支える活動を連綿と継続してまいりました。

当センターは次の4点、試験検査、調査研究及び人材育成、情報の収集・解析・発信そして危機発生時の対応を基本方針として活動しています。

試験検査は当センターの多くの部分を占める業務であり年間膨大な量を処理してきております。食中毒等検査(1,937件)(平成29年度分、以下同じ)、環境放射能水準調査(2,600件)、水質汚濁対策に係る検査(7,578件)や廃棄物対策に関する検査(6,088件)などとなります。近年は安全で安心な暮らしを求める要望が高まってきており、検査内容や手法が複雑化・高度化すると同時に、検査における信頼性の確保も求められてきております。

研究機関として、病原体の検査技術の開発、廃水処理施設における有害物質分解菌に関する研究や八郎湖の富栄養化対策などの研究を推進してきました。研究による成果については内外から一定の評価を得ていますが、一方で、技術をしっかりと継承できる体制づくりが急務となっています。

平成29年/平成30年シーズンはインフルエンザ患者の総数が過去3番目に多い年でした。例年と異なり複数の型が同時に混合流行したためと考えられます。このような健康や環境に関する情報を収集し、わかりやすく関係者や県民に伝える情報発信も忘れてはなりません。

更に、危機発生時への対応です。平成29年度は炭疽菌疑い検体への対応が発生しました。今後オリンピック開催に向けて、感染症の国際化対応や生物テロ対策が必要とされてきます。組織としての対応を準備していくとともに、職員一人一人の危機管理意識を高めていくこととしています。

本年報は、当センターの概要と平成29年度の試験検査実績や調査研究発表等の実績についてまとめたものです。本書を手にとられた方々にとって、当センターの活動がこれまでより身近でわかりやすいものとなりますことを期待申し上げまして、机下に呈上させていただきます。どうぞ、ご覧下さい。

平成30年12月

秋田県健康環境センター所長 佐藤 廣道



# 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	19
III	報告	
	<調査研究報告>	
	・ 2016年に流行した百日咳における病原菌検出状況と百日咳菌の遺伝子型	24
	・ ノロウイルス GII.17 に対するパンソルビン・トラップ法の有効性	28
	・ 後方視的調査によって秋田県で初めて確認された 紅斑熱群リケッチア症の1例	36
	・ 産業廃棄物処分場跡地の廃水処理施設から単離された 1,4-ジオキサン分解菌について	39
	<短報>	
	・ 2016年度のマイコプラズマ肺炎流行期に検出された <i>Mycoplasma pneumoniae</i> の マクロライド耐性変異及び <i>p1</i> 遺伝子型の検出状況	43
	<資料>	
	・ 秋田県内で分離された結核菌株の VNTR 法を用いた分子疫学解析	46
	・ 秋田県で流通している市販生カキからのノロウイルスの検出状況	48
	・ 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	50
	・ 産業廃棄物処分場における新規規制物質 1,4-ジオキサンの生物処理について	52
	・ 食品等の放射能検査の概要と近年の結果について	54
	・ 十和田湖の水質の変遷について	56
	・ 食品中の残留農薬一斉分析法の開発と検査結果について（平成26年度～28年度）	58
	・ 平成29年夏季に見られた田沢湖の水質変化について	62
	・ 平成25～28年度における収去食品の細菌検査結果について	66
IV	発表業績	
1.	学会発表	70
2.	他誌掲載論文等	76



# 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 m<sup>2</sup>（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 m<sup>2</sup>

3. 組織（平成30年4月1日現在）



総職員数 45名（正職員 36名，専門員 4名，非常勤職員 2名，臨時職員 3名）

## 4. 職員名簿

(平成30年4月1日現在)

	職 名	氏 名
	所 長	佐 藤 廣 道
企画管理室	室 長	和 田 佳 久
総務管理班	主 幹 ( 兼 ) 班 長	下 間 美 香 子
	副 主 幹	田 原 隆 雄
	専 門 員	黒 丸 彰 徳
	主 事	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	鈴 木 純 恵
保健衛生部	部 長	斎 藤 博 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	檜 尾 拓 子
ウイルス班	上席研究員 (兼) 班長	田 中 貴 子
	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	鈴 木 忠 之
理化学班	主任研究員 (兼) 班長	小 林 貴 司
	主 任 研 究 員	渡 辺 剛
	主 任 研 究 員	中 村 淳 子
	主 任 研 究 員	村 山 力 則
	専 門 員	佐 藤 晴 美
	研 究 員	佐 藤 由 衣 子
	研 究 員	藤 井 愛 実
	研 究 員	宇 賀 神 理 奈
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
	上 席 研 究 員	野 村 修
	主 任 研 究 員	松 渕 亜 希 子
	主 任 研 究 員	玉 田 将 文
	専 門 員	高 橋 浩
	研 究 員	伊 藤 悠
	技 師	伊 藤 佑 步
	技 師	佐 藤 哲
	技 師	小 林 涉

## 5. 業務内容

(平成30年4月1日現在)

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

## 6. 主要機器

(平成30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 ( $\mu$ 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	サーモフィッシャー 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	サーモフィッシャー ICS-1100
	DIONEX 社 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	サーモフィッシャー iCAP 6300 Duo
ノルマルヘキササン自動抽出装置	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 QuAAtro 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
	セイコーEG&G 社 GEM25-70, セイコーEG&G 社 MCA7600
PCR プロダクト検出定量システム	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	三菱ケミカルアナリテック 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29年度は共同研究を含め11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28～30年度の県政策予算による研究課題「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(理化学班)」の中間評価を実施し、継続実施の意義が認められた。新規研究課題については、「新規食中毒原因菌エシエリキア・アルバーティーの迅速検出法の検討と感染源の解明」を平成30～32年度に実施することとなった。

#### <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赤痢菌検査について内部監査、麻疹・風疹検査について内部精度管理を実施し、インフルエンザ検査等3項目の外部精度管理を受けた。医薬品等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定点観測調査>

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29年度はウイルス951件、細菌428件の検査を実施した。感染性胃腸炎のうち、カンピロバクターに関する検査数が平成28年度6件から51件に増加した。一方、平成28年度検体数の多かった百日咳に関する細菌検査は流行の終息に伴って減少した。また、例年を上回る大きな流行となったことから、インフルエンザ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調査を実施している。両調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月にかけて行った。

#### <食中毒等検査及び感染症の集団発生等に伴う試験検査>

食中毒事例発生時や感染症事例発生時に、食品衛生法第58条や感染症法第15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を、管轄保健所からの行政依頼により実施している。

平成29年度は、感染性胃腸炎の集団発生事例及び食中毒疑い事例においては、ウイルス検査26事例206検体について319件、細菌検査9事例130検体について1,618件の検査を実施した。

また、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、5事例26検体について484件の呼吸器系ウイルス検査を実施した。麻疹・風疹等の発疹性ウイルスについては、1事例3検体について9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29年度は、腸管出血性大腸菌感染症等346件の検査を実施した。また、腸管出血性大腸菌12件について分子疫学的解析を実施した。

#### <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29年度は46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、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（現保健・疾病対策課）へも患者情報を知らせ、速やかな公表報道による啓発活動への支援も行っている。平成29年度は80件の検査を実施した。

#### ＜その他微生物学的検査＞

その他微生物学的検査として、660件（細菌523件、ウイルス137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29年度は317検体の収去食品について785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29年度は、公衆浴場水16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29年度は72件の検査を行った。

#### ＜水質汚濁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29年度は十和田湖27件、田沢湖20件、八郎湖及び流入河川85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29年度は、事業場186件、廃棄物処理施設18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検査している。平成29年度は、医薬品1検体及び医療器具1検体について無菌試験を行った。

#### ○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うち、秋田市内の医療機関から採取された検体583件（ウイルス399件、細菌184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29年度は、ウイルス班において「ウイルス検査」18検体235件、細菌班において「腸管出血性大腸菌検査（菌株）」1件、「細菌培養同定検査」4件、「細菌等の遺伝子解析（塩基配列同定検査）」1件の検査を県内の医療機関等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、国の中央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（現保健・疾病対策課）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27	平成28	平成29
細菌・ウイルス等の試験検査	感染症発生動向調査に係る病原体検査	ウイルス分離等検査	1,121	1,188	951
		細菌検査	426	806	428
	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	7	—	—
	食中毒等検査	胃腸炎ウイルス検査(ノロウイルス等)	564	368	319
		細菌検査	810	442	1,618
	E型肝炎ウイルス検査*1		—	—	2
	麻疹・風疹・発疹性ウイルス検査		0	106	9
	インフルエンザ等呼吸器ウイルス検査		596	434	484
	インフルエンザタミフル耐性検査		4	0	0
	SFTSウイルス検査		0	0	4
	デング・チクングニア・ジカウイルス検査		0	24	3
	MERSウイルス検査		0	0	0
	狂犬病抗体検査		12	0	6
	狂犬病PCR検査		6	0	2
	3類感染症に係わる病原微生物検査		310	274	346
	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)	43	18	5
		ジフテリア・百日咳・ボツリヌス	43	0	0
	結核菌RFLP検査, VNTR検査		63	57	46
	つつが虫病血清検査		83	53	80
	その他微生物学的検査		84	498	660
	感染症検査外部精度管理		3	6	9
	食品衛生に係る検査	食品収去検査	834	800	785
		精度管理	3	5	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	12	23	24
貸しおしぼり検査		8	—	—	
公衆浴場等レジオネラ属菌検査		25	64	72	
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	85	
	工場・事業場排水基準検査	220	209	186	
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査	25	20	18	
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	2	
合計			5,601	5,694	6,366

\*1 E型肝炎ウイルス検査については、平成29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27	平成28	平成29
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)		303	454	583
細菌・ウイルス等の試験検査	食中毒等胃腸炎ウイルス検査 (ノロウイルス等)		0	0	2
	麻疹・風疹・発疹性ウイルス検査		63	41	57
	インフルエンザウイルス検査		2	18	16
	インフルエンザタミフル耐性検査		0	0	0
	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	160
	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		2	3	0
	MERS ウイルス検査		0	0	0
	腸管出血性大腸菌検査		0	1	1
	細菌培養同定検査		4	0	4
	細菌遺伝子解析検査		1	5	1
合計			375	783	824

\*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こした。

表3 情報提供業務

(件数)

項目		年度	平成27	平成28	平成29	
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	週報	収集	477	468	468
			報告	53	52	52
			還元	53	52	52
			解析	53	52	52
			提供	477	468	450
	患者情報	月報	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	12	12	12
			解析	12	12	12
			提供	108	108	108
	病原体情報	報告	ウイルス	548	606	421
			細菌	139	268	211
		還元	24	24	24	
		解析	24	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	収集	108	108	108
			報告	12	12	12
			還元	12	12	12
			解析	12	12	12
			提供	108	108	108
	患者情報	年報*1	収集	9	9	9
			報告	1	1	1
			還元	1	1	1
			解析	1	1	1
			提供	9	9	9
			合計		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 180 人 (平成29年1月~12月) : H30年5月16日現在

### 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、ター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29年度は198検体531件(31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。

#### <食品中の残留農薬及び動物用医薬品検査>

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(残留抗生物質等)を行っている。

平成29年度の残留農薬検査は、10種類の農産物・加工食品、計65検体16,515件の検査を行った。残留動物用医薬品検査は、ハチミツについて5検体490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29年度は、シルデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、チオアイルデナフィル及びヨヒンビンの5種類の強壮成分について、5検体25件の検査を行った。

また、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、収去した医薬品について、平成29年度はpH試験を5件行った。

#### <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、土壌等に含まれる放射性核種の分析、定時降水中の全β放射能測定を行っている。

平成29年度は、定時降水中の全ベータ線について143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8検体24件、浮遊じん9検体27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性を確保するため、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29年度は、食品等について86検体258件、県産農産物等について36検体108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分析を行った。

平成29年度は、計15検体52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分析を行った。

平成29年度は、計22検体248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敷地内及び周辺地域の地下水や公共用水域等のモニタリングを行い、平成29年度は、計416検体4,429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27	平成28	平成29
食品監視業務に係る検査	食品収去検査（食品添加物等）		544	542	531
	残留抗生物質・残留合成抗菌剤検査		732	636	490
	残留農薬検査		19,242	16,718	16,515
	精度管理		21	34	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		25	0	30
家庭用品試買検査	有害物質		8	54	54
環境放射能水準調査	全ベータ線		132	153	143
	核種分析		123	123	123
	分析確認		110	144	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	0	0
		食品等試料	258	267	258
		県産農産物等試料	390	279	108
その他緊急環境放射能調査	核種分析	降下物	24	18	24
		浮遊じん	24	21	27
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	18	0
		緊急調査	0	13	0
	工場排水基準検査	38	40	52	
土壌汚染対策	汚染土壌処理事業所検査		11	22	12
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		269	250	248
	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	580	599
		能代産業廃棄物処理センター関連調査	3,647	3,963	3,830
合 計			26,239	23,922	23,269

## 1.4 環境保全部

### <大気汚染常時監視>

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ことを目的とし、平成29年度は一般環境測定局8局及び自動車排ガス測定局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を満たした有効測定局における測定結果は、二酸化硫黄(全6局)、二酸化窒素(全10局)、一酸化炭素(全3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、浮遊粒子状物質については全11局中1局、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>

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ことを目的とし、工場・事業場7施設及び公害防止協定締結工場1施設の計8施設17件について、検査を行った。

8施設のうち、6施設については排出基準に適合していたが、1施設でばいじんが、1施設で窒素酸化物と塩化水素が基準値を超過した。

### <酸性雨調査>

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ことを目的とし、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( $\text{NH}_4^+$ 、 $\text{K}^+$ 、 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ )及び陰イオン成分( $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、 $\text{Cl}^-$ )の全11項目、1,617件について測定・分析した。

pHの年平均値は4.86(秋田市)から4.88(大館市)の範囲であった。

### <アスベスト環境調査>

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こと、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ことを目的とした。

届出があった15施設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特定粉じん発生施設の敷地境界基準(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か所において実施した。一般大気環境中のアスベスト濃度については基準が設けられていないが、結果は全ての地点で特定粉じん発生施設の敷地境界基準(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>

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ことを目的とし、111検体270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47検体、汚泥18検体、水浴場水17検体、河川水25検体、その他4検体であった。

### <公共用水域水質調査>

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し、平成29年度の公共用水域水質調査では、370検体、4,489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>

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。

平成29年度は269検体、延べ1,426件について検査を実施した。基準に適合しなかった検体は26検体、項目別ではpH9件、生物化学的酸素要求量(BOD)12件、浮遊物質(SS)3件、全窒素4件、全りん2件であった。

#### <汚染土壌処理施設等検査>

土壌汚染対策法に基づき、調査対象となる工場・事業場等の土壌の汚染状況を把握するための検査である。土壌汚染対策法第2条第1項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。

平成29年度は、1検体、延べ20件について検査を実施した。結果はすべて基準に適合していた。

#### <生活衛生関係検査>

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ことを目的とした。

遊泳用プールは、県内8施設の延べ24件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8施設の原水と浴槽水における延べ64件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>

空港周辺における航空機騒音の実態を把握することを目的とし、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>

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、シアン化合物等の項目について検査を実施した。

平成29年度は56検体、延べ418件について検査を実施した。基準に適合しなかった検体は2検体、項目別では鉛2件(2件ともばいじん)、カドミウム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 27	平成 28	平成 29
大気汚染対策	大気汚染常時監視*	一般環境大気測定局	50 (420,099)	52 (425,906)	48 (414,759)
		自動車排出ガス測定局	15 (130,155)	15 (127,842)	15 (129,841)
		工場局	74 (529,115)	74 (522,863)	74 (508,861)
	ばい煙排出基準検査		25	19	17
	酸性雨調査	酸性雨実態調査	1,390	1,400	1,617
	アスベスト対策	石綿飛散調査	40	52	72
福島原子力発電所事故に伴う緊急環境放射能調査	核種分析	蛇口水	0	0	0
		環境試料	398	314	270
		畜産試料	0	0	0
環境放射能水準調査	空間線量（モニタリングポスト）		2,196	2,190	2,190
水質汚濁対策	環境調査	公共用水域水質調査	4,338	4,338	4,489
		緊急調査	182	171	222
	工場・事業場排水基準検査		1,600	1,292	1,426
	八郎湖水質保全対策調査	底質調査	36	72	90
		緊急調査	0	0	0
	玉川酸性水影響調査		317	317	690
十和田湖水質保全対策調査		240	240	256	
土壌汚染対策	汚染土壌処理事業所検査		34	40	20
生活衛生に係る検査	遊泳用プール水質検査		10	32	24
	公衆浴場水質検査		32	60	64
騒音対策	航空機騒音調査		725	693	722
化学物質対策	化学物質環境調査		284	77	62
廃棄物対策	産業廃棄物等基準検査		493	415	418
	能代産業廃棄物処理センター関連調査		1,232	911	975
	緊急調査		74	131	0
合 計（大気汚染常時監視を除く）			13,646	12,764	13,624

\*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. 研修・学会等

## 2.1 研修等参加

年月日	研修名	参加者	開催地
H29.05.18	病原体等の包装・運搬講習会	斎藤博之	東京都
H29.05.18～6.02	平成29年度機器分析研修	伊藤佑歩	埼玉県
H29.05.26	平成29年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	和田佳久	東京都
H29.08.22～30	平成29年度環境放射能分析研修	伊藤 悠	千葉県
H29.09.28～29	平成29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	宮城県
H29.10.13	平成29年度指定薬物分析研修会	佐藤 哲	東京都
H29.10.13～14	平成29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	中村淳子 今野禄朗	福島県
H29.10.18	平成29年度人畜共通感染症講習会	佐藤寛子 齊藤志保子 柴田ちひろ	秋田市
H29.11.09～10	平成29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	藤谷陽子	岩手県
H29.11.6～10	環境放射能分析研修	佐藤由衣子	千葉県
H29.12.01	平成29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
H30.01.15～16	平成29年度化学物質環境実態調査環境化学セミナー	玉田将文 佐藤 健	東京都
H30.01.26	平成29年度地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会	佐藤 哲	東京都
H30.02.05～06	次期NESID更改に係る研修会	藤谷陽子	東京都
H30.02.13	平成29年度東北ブロック感染症危機管理会議研修会	柴田ちひろ	宮城県
H30.02.16	ダニ媒介感染症研究に係る相互技術供与のための研修	佐藤寛子	徳島県
H30.02.27～28	平成29年度希少感染症診断技術研修会	小川千春	東京都
H30.03.01～02	第23回国際結核セミナー・全国結核対策推進会議	熊谷優子	東京都
H30.03.23	平成29年度人獣共通感染症講演会	佐藤寛子 齊藤志保子 柴田ちひろ	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
H29.05.19	第29回秋田応用生命科学研究会講演会	圓子隆信 ○斎藤博之	秋田市
H29.05.27～28	第58回日本臨床ウイルス学会	○斎藤博之	長崎県
H29.06.07～09	第26回環境化学討論会	○玉田将文 佐藤 健	静岡県
H29.06.09～11	The 25th Seminar on Acari-Diseases Interface	佐藤寛子	三重県
H29.06.26	地方衛生研究所現場の会・研究会	○今野貴之	東京都
H29.06.27～28	衛生微生物技術協議会第38回研究会	熊谷優子 斎藤博之 今野貴之	東京都
H29.08.26	第9回J感染制御ネットワークフォーラム	斎藤博之	宮城県
H29.09.05～08	第58回大気環境学会	佐藤 健	兵庫県
H29.09.06～08	第28回廃棄物資源循環学会	小林 渉	東京都
H29.09.19	秋田県感染症研究会第76回例会	斎藤博之	秋田市
H29.10.05～06	第38回日本食品微生物学会学術総会	○斎藤博之 ○秋野和華子 今野貴之	徳島県
H29.10.14～15	平成29年度日臨技北日本支部医学検査学会	小川千春 熊谷優子	秋田市
H29.10.23	ウイルス性下痢症研究会第29回学術集会	斎藤博之	大阪府
H29.10.24～26	第65回日本ウイルス学会学術集会	○斎藤博之	大阪府
H29.11.09～10	第113回日本食品衛生学会学術講演会	○斎藤博之 櫻庭香織 今野禄朗	東京都
H29.11.09～10	Ⅱ型共同研究集会	玉田将文 佐藤 健	神奈川県
H29.11.21～22	第54回全国衛生化学技術協議会年会	中村淳子	奈良県
H29.11.22	秋田県公衆衛生学会	齊藤志保子	秋田市
H29.12.02～03	第24回リケッチア研究会	○佐藤寛子	東京都
H30.02.15～16	第33回全国環境研究所シンポジウム	和田佳久 松淵亜希子	茨城県
H30.03.15～17	第52回日本水環境学会	小林貴司 ○玉田将文 伊藤 悠 小林 渉	北海道

## 2.3 健康環境センター調査研究発表会

開催日：平成29年7月7日 開催場所：秋田県総合保健センター

	演題名	発表者
1	秋田県内で分離された結核菌株の VNTR 法を用いた分子疫学解析	高橋志保
2	秋田県で流通している市販生カキからのノロウイルスの検出状況	秋野和華子
3	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	斎藤博之
4	産業廃棄物処分場における新規物質 1,4-ジオキサンの生物処理について	中村淳子
5	食品等の放射能検査の概要と近年の結果について	村山力則
6	十和田湖の水質の変遷について	伊藤 悠

## 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
H30.01.26	平成29年度 保健環境業務 研究発表会	食品中の残留農薬一斉分析法の開発と検査結果について（平成26年度～28年度）	櫻庭香織	潟上市
		平成29年夏季に見られた田沢湖の水質変化について	小林 渉	
		平成25～28年度における収去食品の細菌検査結果について	小川千春	

## 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
H29.05.08	パンソルビン・トラップ法のE型肝炎ウイルス検出への応用	斎藤博之	名古屋市食肉衛生検査所	1名
H29.05.09	黄色ブドウ球菌のTSST-1遺伝子検出（菌株供与）	今野貴之	秋田市保健所	1名
H29.08.07	アカツツガムシ生息調査	佐藤寛子	埼玉医科大学	1名
H29.10.05 H29.10.24	<i>Orientia tsutsugamushi</i> の病原体接種実験	佐藤寛子	埼玉医科大学	2名
H29.11.24	医学生講義用スライドの提供	斎藤博之	藤田保健衛生大学	1名
H30.01.10	腸管出血性大腸菌O111の検査法（菌株供与）	高橋志保	秋田市保健所	1名

### 2.5.2 出前講座

講座名	講師氏名	実施回数	参加者数
細菌性感染症・食中毒について	今野貴之	1回	90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	2回	40名
つつが虫病について	佐藤寛子	2回	60名
合計		6回	220名

## 2.5.3 その他講師派遣

実施日	主な内容	講師氏名	依頼元	参加者数
H29.05.15	廃棄物処理について	小林貴司	秋田県立大学	8名
H29.05.22	食品中の残留農薬について	小林貴司	秋田県立大学	8名
H29.06.15	ノロウイルスによる健康被害～環境中での伝播経路と対策～	斎藤博之	全国給水衛生検査協会	70名
H29.08.07	初任科（放射性物質災害）	斎藤博之	消防学校	61名
H29.08.18	結核菌株の VNTR 法を用いた分子疫学解析	高橋志保	秋田県保健所長会	15名
H29.09.29	高齢者施設、幼稚園及び保育園で気をつけたい感染症対策について	斎藤博之	秋田地域振興局福祉環境部	60名
H29.10.11	冬に備える感染症対策～病原体の伝播経路と感染予防	斎藤博之	由利地域振興局福祉環境部	160名
H29.10.31	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業秋田地方連絡協議会	81名
H29.11.02	平成29年度秋田県食品衛生監視員研修会	今野貴之	生活衛生課	20名
H29.11.06	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業横手市連絡協議会	27名
H29.11.06	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業由利地方連絡協議会	59名
H29.11.10	平成29年度「高度獣医療講習会」	今野貴之	秋田県獣医師会	30名
H29.11.15	特殊災害科（放射性物質災害）	斎藤博之	消防学校	17名
H29.11.17	特殊災害科（細菌・ウイルス災害）	斎藤博之	消防学校	17名
H29.11.24	冬に備える感染症対策～病原体の伝播経路と感染予防	斎藤博之	北秋田地域振興局大館福祉環境部	90名
H29.11.28	感染症対策について	斎藤博之	特別養護老人ホーム 広青苑	82名
H29.12.04	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業北秋田地方連絡協議会	45名
H30.01.11	腸管出血性大腸菌 O157 の遺伝子型解析法	熊谷優子	秋田県保健所長会	15名
H30.02.05	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業湯沢雄勝地区地方連絡協議会	20名
H30.02.26	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業能代山本地区地方連絡協議会	28名
H30.03.06	生活衛生関係営業の感染症対策	斎藤博之	生活衛生関係営業大館地区地方連絡協議会	21名
合計				934名

## 2.6 視察・見学等受入

参加者区分	平成27年度	平成28年度	平成29年度	
小中学生	1(1)	0	0	
インターンシップ	15(3)	9(3)	14(6)	秋田県立大学生物資源科学部(3年生), 秋田大学理工学部(研究科M1年生, 3年生), 秋田高専環境都市工学科(4年生), 北里大学獣医学部(4年生), 酪農学園大学獣医学部(5年生), 東北大学農学部(2年生)
その他の学性	35(3)	30(2)	27(1)	秋田大学医学部社会医学実習(3年生)
国外	0	2(1)	2(1)	中国吉林省環境保護庁法規処, 長白山管理委員会環境・資源保護局
合計	51(7)	41(6)	43(8)	

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
H29.06.23	地方衛生研究所全国協議会支部長表彰	今野貴之	地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟支部
H29.10.19	厚生労働大臣感謝状(環境衛生監視業務功労者)	和田佳久	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、平成29年度は関東を中心に腸管出血性大腸菌 O157 VT2 を原因とする大規模な事例が発生したため、ブロック内でも IS-Printing System のデータを集積し、発生パターンを比較解析し、情報共有した。さらに、秋田県内におけるデータの活用法として、関係機関との情報共有の方法を検討した。

##### 結果

共通DNA溶液による精度管理結果は、4株中3株が全ての施設で一致したが、1株については2施設が他の施設と異なる結果となった。各施設における検査機器や電気泳動条件の違いや担当者の変更などを反映し、解析画像に違いが見られたが、判定結果は概ね良好で、今後、研究班で作製したエキストラバンド集を活用することで改善が期待される。

ブロック内の腸管出血性大腸菌 O157 VT2 は24株の比較を行い、17パターンに分類され、6施設一致が1パターンあった。この株は関東を中心に全国で発生したタイプと同一であった。

秋田県内におけるデータの活用法としては、菌株が入手可能な場合、解析を迅速に行い、同一の菌株が確認された時のみ、関係行政機関へ情報提供を行うこととした。

#### 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）

#### 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

地方衛生研究所における薬剤耐性菌の安定的な検査体制構築のため、薬剤耐性菌レファレンスセンター事業と連動し、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 Multiplex PCR 法（カルバマルチ PCR, ESBL マルチ PCR, AmpC マルチ PCR）の評価試験を実施した。

##### 結果

評価試験は、全国の地方衛生研究所のうち参加希望のあった65施設へ試薬と陽性コントロールを配布し、49施設における試薬の評価結果をまとめた。ほとんどの施設がこれまでの方法に比べ迅速化に有用であり、今後も利用したい、プライマーの自家調製も可能であると返答があった。同時にバンドの濃さやエキストラバンドの出現、陽性コントロールなどの問題点も報告があり、改善点も浮き彫りとなった。今後は研究班によりプライマー配列の開示や国内誌による報告がされる予定である。

#### 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のゲノム情報から、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および解析法の開発」と「包括的感染症危機管理ネットワーク構築」に研究協力している。

##### 結果

平成29年度は、秋田県内で分離されたサルモネラを含む国内のサルモネラゲノムデータベースを活用し、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターで原因不明のサルモネラ症多発事例を解析し、感染源究明を試みた。また、県内で流行した薬剤耐性インフルエンザ菌について代表株6株を選出し、ゲノム情報をデータベース化した。

### カンピロバクターレファレンスセンター業務（衛生微生物技術協議会）

（平成元年度～）

### 百日咳・ボツリヌスレファレンスセンター業務（衛生微生物技術協議会）

（平成15年度～）

### 薬剤耐性菌レファレンスセンター業務（衛生微生物技術協議会）

（平成27年度～）

#### 研究概要

衛生微生物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・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、地区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29年度は平成28年に県内で検出された5株のカンピロバクターについて、薬剤耐性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、シプロフロキサシンの感受性試験を実施した。また、秋田県で確立した*C. jejuni*のPenner PCR型別法の評価試験を国立感染症研究所で実施し、良好な成績を得た。さらに、Penner PCR型別法について秋田県を含む4施設での検討を行った。秋田県では型別不能株30件について解析した結果、対象とした血清型については96.7%の型別率だった。

（百日咳・ボツリヌス）

平成29年度は、他県からの検査依頼はなかった。県内でも、平成28年度に比べ感染症発生病向調査における百日咳の検査依頼数の減少がみ

られた。

（薬剤耐性菌）

カルバペネム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の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（県事業）

（平成26年度～平成31年度）

#### 研究概要

秋田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変化、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29年度は、冷凍野菜（一般細菌数9件、大腸菌群9件、*E.coli*3件）、レトルト食品（恒温試験、細菌検査6件）、じゅんさい（一般細菌数10件、黄色ブドウ球菌2件、*E.coli*2件）、切り餅（一般細菌数3件、黄色ブドウ球菌3件、*E.coli*3件、カビ目視3件）について検査を実施した。

一部の検体については、経過観察途中で検査継続が困難な状態となったが、その他の検体については問題なかった。賞味期限を設定するにあたり、保存条件なども考慮する必要があることが改めて示された。

### 秋田県における百日咳流行要因解明のための分子疫学的解析法の検討と発生動向の解明（大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成）

（平成29年度～平成30年度）

#### 研究概要

百日咳は、数年おきに流行を引き起こすこと

が知られており、平成28年には秋田県内でも流行が確認された。本研究では、百日咳流行期における病原体の検出状況や細菌学的な特徴を調査し、平成28年の秋田県における百日咳の発生状況を明らかにすることを目的に、必要な遺伝学的な手法である分子疫学的解析法等を検討すると共に、解析結果等をもとに百日咳流行要因の解明を行っている。

## 結果

百日咳疑いの211検体のうち、百日咳菌が検出されていない168検体について、その他の病原菌検索を実施した。また、平成28年に百日咳菌遺伝子陽性となった43検体を含む48検体について、*ptxA*、*prn*、*fim3*のMLST型別と*ptxP*の多型解析を行った。平成28年の43件のうち、MLST型を決定できたのは27件で、MLST-2型が22件、MLST-4型が5件であった。また、*ptxP*については、解析可能であった37件全て*ptxP3*であった。

主流であったMLST-2型は、百日咳のワクチンで使用されている菌株とは異なる遺伝子型であり、遺伝子型の変化が百日咳の流行要因となっている可能性が考えられた。また、*ptxP3*は毒素の産生量を調節する部分に変異が入っており、毒素産生量が増大して病原性が増すことが報告されていることから、このような変異が流行に影響している可能性も考えられた。

## ウイルス班

パンソルビンの品質に関する課題への対応（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（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。原材料であるブ菌はホルマリン固定された製品（パンソルビン）として流通しているが、2015年以降に購入したロットについて固定の程度が弱くなっていることが判明した。こ

のことは、本法の操作過程でブ菌の核酸成分の漏出を招き、ウイルスの回収率を低下させることから看過し得ない問題となった。パンソルビンの出荷基準は、一定量以上のIgGを吸着できるかどうかであり、核酸漏出については規定されていない。製品としては正常であることから、メーカー側に対応を求めることは困難であり、使用者側で問題解決を図る必要が生じた。本研究では、パンソルビンからブ菌由来核酸の漏出が起こらないように再固定プロトコルを考案した。

### 結果

再固定を行うことで、問題発生前に購入したパンソルビンと同等以上の回収率が得られるようになった。再固定はパンソルビンを購入後に1回だけ行えばよく、以後は長期保存してこれまでどおり使用できることから、試験検査機関における負荷も最小限で済ませられるものと考えられた。また、本法はすでに多くの機関で食中毒検査に用いられていることから、再固定マニュアルについて「食品衛生検査指針・微生物編 改訂第2版 2018」に記述し、「[http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/sttest/fixing\\_of\\_pansorbin.pdf](http://www.nihs.go.jp/fhm/csvdf/sttest/fixing_of_pansorbin.pdf)」よりダウンロードできるように手配した。

秋田県内で市販されている二枚貝からのノロウイルスの検出および2016/2017シーズンのノロ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およ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。これまで冬季における二枚貝のウイルス汚染について検査を実施してきたが、平成29年度は年間を通して秋田県内で市販されている二枚貝のノロウイルス（NoV）について検査を行い、その汚染状況を確認した。また、秋田県において2016/2017シーズンに感染性胃腸炎患者から検出されたNoVの状況についても総括した。

## 結果

年間を通して市販されている生アサリからは、2016年11月～2017年1月および2017年4月購入分から GII.2 が検出され、定量値（単位：コピー数/g 中腸腺）はいずれも  $10^2$  以上  $10^3$  未満であった。2017年10月には GII.4 Sydney 2012 が検出されたが、定量値は得られなかった。2016年12月、2017年1月、4月には GI.7 が検出され、定量値は  $10^1$  以上  $10^2$  未満であった。砂抜き液は不検出であった。パック入り生カキからは、2016年12月～2017年3月に GII が検出され、遺伝子型は GII.2, GII.3, GII.17 が確認された。定量値はいずれも  $10^2$  以上  $10^4$  未満であった。GI は2017年1月、2月、4月に検出され、遺伝子型は GI.2, GI.4 であった。いずれも低い定量値であった。パック充填の浮遊液は、2017年3月の1検体から GII.17 が検出され、定量値（単位：コピー数/mL）は 9.39 であった。

2016/2017 シーズンの秋田県における食中毒事例は、カキが推定原因食品であった1事例のみで NoV GII.2 が検出された。集団感染事例および感染症発生動向調査において検出された NoV の遺伝子型は、GII.2 が最も多く、検出のピークは12月であった。次いで検出が多かった GII.4 Sydney 2012 は4月以降に増加が認められた。

今回の結果から、秋田県で流通している二枚貝の NoV 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と関連するものと考えられた。

## 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

本研究班は、ダニ媒介性細菌感染症の予防・診断・治療のための総合的対策のため、未知の新興感染症も視野に、リケッチア症、ボレリア症、アナプラズマ症を中心に以下の検討を行った。

### 結果

ダニ媒介感染症の野外調査と新興感染症に関する

研究において、当センターは近年住宅地内での出没が問題視されているツキノワグマの血清および刺咬マダニについてリケッチア検索を行い、第24回リケッチア研究会（2017年12月、東京都）で発表した。詳細は74ページ参照。

## 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動態の把握、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、国内での流行動態に関する網羅的・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。

さらに、ムンプスウイルスの迅速な検出を目的に開発された one-step real-time PCR による検出系の評価試験を行った。

### 結果

平成29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実施したところ、全て Gw 型であった。研究班に所属

する 14 の地方衛生研究所および医療機関の検出結果を照合した結果、当センター検出株は大府府や三重県から報告された株と同じクラスターに属したが、平成 28 年度までの当センター検出株とは異なるクラスターであった。

One-step real-time PCR の評価試験は、研究班共通の試薬と陽性コントロール RNA を用いて実施し、良好な結果を得た。

## 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は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、活性の促進または阻害となる要因について探索する。

#### 結果

1,4-ジオキサン分解活性を促進する因子を見いだすために、活性汚泥に各種の添加剤を加えた条件下で 1,4-ジオキサン減少試験を行った。

検討の結果、添加剤として、テトラヒドロフランが最も顕著に活性を促進することがわかった。メタノール、エタノール、1-ブタノール等のアルコール類も活性促進に有効であった。特定の 1,4-ジオキサン分解菌を活性化すると報告されているジエチレングリコールやグリオキサ

ールは、逆に活性を阻害する結果となった。また、調査対象としている産業廃棄物処分場跡地浸出水において検出率の高いテトラヒドロチオフェンは、活性を阻害する結果を示した。この異なる添加剤での減少試験により、1,4-ジオキサン分解菌の割合がどのように変化したかを現在解析中である。

## 環境保全班

### 環境省委託 化学物質環境実態調査

(平成 25 年度～平成 29 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）」における指定化学物質及び「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」における優先評価化学物質の環境リスク評価等を行う際の資料とするために、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)については秋田運河、2)については八郎湖にて、水・底質・生物試料等を採取し、分析機関へ送付した。

#### 結果

秋田運河では、水試料からエストロン-3-硫酸、セルトラリンおよびジクロフェナク等の医薬品関連物質が検出され、生物試料（スズキ）からは安息香酸ベンジルが検出された。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、環境省のウェブサイトで公開されているため、本項では省略する。



# III 報告



大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成（平成 29～30 年度）

## 2016 年に流行した百日咳における病原菌検出状況と百日咳菌の遺伝子型

今野貴之

2016 年に秋田県では百日咳の大きな地域流行が確認された。百日咳の流行状況の詳細を明らかにするため、百日咳菌とその他の病原菌 6 種類（パラ百日咳菌、クラミジア・ニューモニエ、A 群溶血性レンサ球菌、モラクセラ・カタラリス、肺炎球菌、インフルエンザ菌）の検出状況を調査するとともに、検出された百日咳菌の遺伝子型（MLST 型）解析を行った。百日咳菌は、211 検体中 43 件から検出され、検出された患者らの平均年齢は 7.6 歳であった。患者らの症状への関与については不明であるが、百日咳菌が検出されなかった検体については半数からその他の病原菌が検出された。また、検出された百日咳菌 43 件の主な遺伝子型はワクチン株の遺伝子型とは異なる MLST-2 型であった。また、*ptxP* については確認された全てが毒素産生を調節する部位に変異の入った *ptxP3* であった。遺伝子型とワクチン効果の減弱との関連は不明であるが、百日咳菌の遺伝子型の変化が秋田県における 2016 年の百日咳の流行に影響した可能性が示唆された。

### 1. はじめに

百日咳は、小児で激しい発作性の咳などを特徴とする呼吸器感染症である。その名の通り咳が長引き、生後 6 ヶ月以下の乳幼児では重症化し、死に至ることもある重大な感染症である。2017 年までの感染症法においては、百日咳は五類定点把握疾患に分類されていた<sup>1)</sup>。

百日咳にはワクチンがあり、現在、四種混合ワクチンとして、ジフテリア、破傷風、ポリオとともに接種されており、百日咳の発生が予防されている。しかしながら、全国の小児科定点医療機関からの患者報告数は、2007 年頃から増加傾向を示している<sup>1)</sup>。秋田県においても、2016 年に地域的な流行が確認され、検体数が大幅に増加した。本研究では、百日咳の流行状況の詳細を把握するため、これら百日咳疑い検体における病原菌検出状況を調査するとともに、検出された百日咳菌について遺伝子型解析を行い、2016 年の秋田県における百日咳の流行要因について検討した。

## 2. 方法

### 2.1 対象

県内医療機関から 2016 年に百日咳検査依頼のあった鼻腔拭い液 211 検体を対象にした。

### 2.2 病原菌の検出

DNA の抽出は、QIAamp DNA Micro Kit (Qiagen)を用いて行った。百日咳菌の検出は、Loopamp 百日咳菌検出試薬キット（栄研化学）を用いて、LAMP 法により行った。

また、百日咳菌が検出されなかった検体については、nested-PCR 法により百日咳菌の類縁菌であるパラ百日咳菌<sup>2)</sup>、real-time PCR 法により呼吸器系疾患の主要な病原菌でクラミジア・ニューモニエ<sup>3)</sup>、A 群溶血性レンサ球菌<sup>4)</sup>、モラクセラ・カタラリス<sup>5)</sup>、肺炎球菌<sup>6)</sup>及びインフルエンザ菌<sup>7)</sup>の検出を行った（表 1）。real-time PCR 法については、Ct 値<35 の場合を陽性と判定した。

### 2.3 百日咳菌の遺伝子型解析

百日咳が検出された検体については、3 種類の病原因子（*ptxA*、*prn*、*fim3*）の遺伝子配列の違いから遺伝子型（MLST 型）を決定した<sup>8)</sup>。また、毒素産生を制御している *ptxP* についても遺伝子配列の違いをもとに型別を行った<sup>9)</sup>。

## 3. 結果

### 3.1 病原菌の検出状況

供試した 211 検体の内、百日咳菌が検出されたのは 43 件であった。患者の年齢は、1 ヶ月から 14 歳までで、平均 7.6 歳であった。

また、その他の病原菌ではクラミジア・ニューモニエが 7 件、A 群溶血性レンサ球菌が 13

表1 その他の病原菌検出用のプライマー及びプローブ

菌種	標的遺伝子	配列 (5'-3')	備考	参考文献
パラ百日咳菌	IS1001	CGCCGCTTGATGACCTTGATA	1st PCR	2
		CACCGCCTACGAGTTGGAGAT		
		CGCTGGCTGCTGCTGCGCAA	2nd PCR	
		GTGGTTCAGGCTTGCTTTG		
クラミジア・ニューモニエ	<i>ompA</i>	GATCCGCTGCTGCAAACACTATACT	5' FAM-3' TAMRA	3
		GTGAACCACTCTGCATCGTGTA		
		TAGGCCGGTTAGGTCTATCTACGGCAGT		
A群溶血性レンサ球菌	<i>speB</i>	CTAAACCCTTACGCTCTTGGTACTG	5' FAM-3' TAMRA	4
		TTGATGCCTACAACAGCACTTTG		
		CGGGCAGGGCGGCTTCAAC		
モラクセラ・カタラリス	<i>copB</i>	GTGAGTGCCGCTTTACAACC	5' FAM-3' TAMRA	5
		TGTATCGCCTGCCAAGACAA		
		TGCTTTTGCAGCTGTTAGCCAGCCTAA		
肺炎球菌	<i>lytA</i>	ACGCAATCTAGCAGATGAAGCA	5' FAM-3' TAMRA	6
		TCGTGCGTTTTAATTCAGCT		
		GCCGAAAACGCTTGATACAGGGAG		
インフルエンザ菌	P6	CCAGCTGCTAAAGTATTAGTAGAAG	5' FAM-3' TAMRA	本研究
		TTCACCGTAAGATACTGTGCC		
		CATGCGATTAGGCCAACGTCGTGC		

件、モラクセラ・カタラリスが28件、肺炎球菌が29件、インフルエンザ菌が38件検出され、一部の検体からは複数の病原菌が検出された(表2)。百日咳の患者報告の中には、百日咳菌の類縁菌であるパラ百日咳菌の感染による場合が数%あるとされているが、今回の調査ではパラ百日咳菌の感染は確認できなかった。

表2 その他の病原菌の検出状況

その他の病原菌の検出パターン			検出数
Bpp			0
Cp			6
Spy			9
Mc			13
Spn			6
Hi			18
Cp	Spn		1
Spy	Mc		1
Spy	Spn		1
Spy	Hi		1
Mc	Spn		3
Mc	Hi		2
Spn	Hi		9
Spy	Mc	Spn	1
Mc	Spn	Hi	8

Bpp:パラ百日咳菌, Cp:クラミジア・ニューモニエ, Spy:A群溶血性レンサ球菌, Mc:モラクセラ・カタラリス, Spn:肺炎球菌, Hi:インフルエンザ菌.

### 3.2 百日咳菌遺伝子型の特徴

国内の百日咳菌は、それぞれ2種類のいずれかの *ptxA* (*ptxA1*, *ptxA2*), *prn* (*prn1*, *prn2*), *fim3* (*fim3A*, *fim3B*) を保有することが多く、その組み合わせから主に5種類のMLST型に分類することが可能である<sup>8)</sup>。百日咳菌が検出された43件のうち、解析可能であったのは、*ptxA*が33件で全て *ptxA1*, *prn*が35件で全て *prn2*, *fim3*が32件で、このうち *fim3A*が26件、*fim3B*が6件であった。3つの病原因子の組み合わせからMLST型を決定できたのは27件で、MLST-2型が22件、MLST-4型が5件であった(図)。また、*ptxP*については、解析可能であった37件全て *ptxP3*であった。

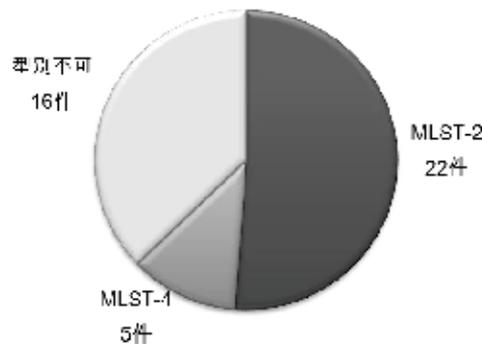


図 秋田県内で検出された百日咳菌の遺伝子型別結果の内訳

#### 4. 考察

今回対象とした百日咳疑い検体からは43件の百日咳菌が検出された。感染症発生動向調査による患者報告数でも、2016年は秋田県における過去10年間で最大となる百日咳の流行が確認されており、検出状況と患者発生状況は一致していた。

百日咳菌が検出されなかった検体の半数からはその他の病原菌のいずれかが検出された。また、今回の調査ではウイルスは対象にしていない。百日咳菌が検出されなかった検体については、これらの他の病原体の関与も想定されるが、今回調査した百日咳菌以外の病原菌は健康な人からも検出される場合があるため、検査結果のみでは原因菌であるかどうか不明である。

百日咳はワクチンによって予防可能な感染症であり、国内でもワクチン導入後に患者は急速に減少した。現在は1981年に導入された沈降精製ジフテリア・百日咳・破傷風三種混合ワクチン(DPT)に不活化ポリオワクチンを加えた四種混合ワクチン(DPT-IPV)が定期接種され、標準的なスケジュールでは生後3ヵ月から1~2歳の間までに第I期の接種を計4回行うことになっている。百日咳の流行要因の一つとしては、ワクチンの普及により患者が減少し、市中で百日咳菌に暴露される機会が少なくなり、ワクチン接種後のブースター効果が薄れ、免疫の維持が難しくなったことが考えられる。そのため、以前から成人による百日咳の集団感染が問題視されてきた<sup>10)</sup>。しかしながら、今回の百日咳が検出された患者は平均年齢からも分かるように主に小学生であり、ワクチンによる感染予防効果は比較的早期に薄れていた可能性が考えられた。

現行のワクチンに使用されている菌株の遺伝子型は、MLST-1型であるのに対して、2016年に秋田県内で確認された百日咳菌の主要な遺伝子型はMLST-2型であり、ワクチン株の遺伝子型とは異なっていた。MLST-1型は、1991年から2007年までに国内で検出された百日咳菌では主要な遺伝子型であったが<sup>8)</sup>、その後は全国的にMLST-2型の割合が増加しており<sup>11)</sup>、近年の患者報告数の増加傾向と一致している。近年の報告では、ワクチンを接種して4年後には約半数で感染予防効果が得られていなかったとの

報告もあり<sup>12,13)</sup>、今回の結果はこれらの報告とも合致した。また、今回確認した *ptxP* は全て *ptxP3* であったが、*ptxP3* では毒素の産生量を調節する部分に変異が入り、毒素産生量が増大して病原性が増すことが報告されていることから<sup>9,10)</sup>、このような変異が流行に影響している可能性も考えられた。

以上のことから、百日咳菌の遺伝子型の変化とワクチン効果の減弱との関連について完全に証明された訳ではないが、秋田県における2016年の百日咳の流行要因として、遺伝子の変異によるワクチンの抗原部分や病原性の変化により、ワクチンの感染予防効果が薄れた可能性が考えられた。百日咳は周期的な流行を繰り返すことが知られていることから、今後の流行に備え、その発生状況や流行要因となり得る遺伝子型等については、今後も注視していくことが必要と考えられる。

#### 謝辞

本研究の一部は大同生命厚生事業団の地域保健福祉研究助成を受け行った。

#### 参考文献

- 1) 国立感染症研究所:百日咳 2017年1月現在, 病原微生物検出情報, **38**, 2017, 23-24.
- 2) Farrell DJ., Daggard G., Mukkur TK.: Nested duplex PCR to detect *Bordetella pertussis* and *Bordetella parapertussis* and its application in diagnosis of pertussis in nonmetropolitan Southeast Queensland, Australia, J Clin Microbiol., **37**, 1999, 606-610.
- 3) Apfalter P., Barousch W., Nehr M., Makristathis A., Willinger B., Rotter M., Hirschl AM.: Comparison of a new quantitative *ompA*-based real-Time PCR TaqMan assay for detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in respiratory specimens with four conventional PCR assays, J Clin Microbiol., **41**, 2003, 592-600.
- 4) Dunne EM., Marshall JL., Baker CA., Manning J., Gonis G., Danchin MH., Smeesters PR., Satzke C., Steer AC.: Detection of group a

- streptococcal pharyngitis by quantitative PCR, *BMC Infect Dis.*, **13**, 2013, 312.
- 5) Greiner O., Day PJ., Altwegg M., Nadal D.: Quantitative detection of *Moraxella catarrhalis* in nasopharyngeal secretions by real-time PCR, *J Clin Microbiol.*, **41**, 2003, 1386–1390.
  - 6) Carvalho Mda G., Tondella ML., McCaustland K., Weidlich L., McGee L., Mayer LW., Steigerwalt A., Whaley M., Facklam RR., Fields B., Carlone G., Ades EW., Dagan R., Sampson JS.: Evaluation and improvement of real-time PCR assays targeting *lytA*, *ply*, and *psaA* genes for detection of pneumococcal DNA, *J Clin Microbiol.*, **45**, 2007, 2460–2466.
  - 7) Abdeldaim GM., Strålin K., Korsgaard J., Blomberg J., Welinder-Olsson C., Herrmann B.: Multiplex quantitative PCR for detection of lower respiratory tract infection and meningitis caused by *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* and *Neisseria meningitidis*, *BMC Infect Dis.*, **10**, 2010, 310.
  - 8) 大塚菜緒, 鯨坂裕美, 蒲地一成, 吉野修司, 岩出義人, 勝川千尋: 百日咳, 病原体検査マニュアル, 2011.
  - 9) Mooi FR., van Loo IH., Gent M., He Q., Bart MJ., Heuvelman KJ., Greeff SC., Diavatopoulos D., Teunis P., Nagelkerke N., Mertsola J.: *Bordetella pertussis* strains with increased toxin production associated with pertussis resurgence, *Emerg Infect Dis.*, **15**, 2009, 1206–1213.
  - 10) 菊池賢: 成人百日咳その診断と治療, 日本内科学会雑誌, **101**, 2012, 3129–3133.
  - 11) Miyaji Y., Otsuka N., Toyozumi-Ajisaka H., Shibayama K., Kamachi K.: Genetic analysis of *Bordetella pertussis* isolates from the 2008-2010 pertussis epidemic in Japan, *PLoS One*, **8**, 2013, e77165.
  - 12) McGirr A., Fisman DN.: Duration of pertussis immunity after DTaP immunization: a meta-analysis, *Pediatrics*, **135**, 2015, 331–343.
  - 13) Schwartz KL., Kwong JC., Deeks SL., Campitelli MA., Jamieson FB., Marchand-Austin A., Stukel TA., Rosella L., Daneman N., Bolotin S., Drews SJ., Rilkoff H., Crowcroft NS.: Effectiveness of pertussis vaccination and duration of immunity, *CMAJ*, **188**, 2016, 399-406.

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）

## ノロウイルス GII.17 に対するパンソルビン・トラップ法の有効性

齋藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 清水優子\*<sup>1</sup> 早川 智\*<sup>1</sup> 牛島廣治\*<sup>1</sup> 野田 衛\*<sup>2</sup>

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（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。その際に、ウイルスをブ菌に吸着させる“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無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。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 におけるものと同様であった。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。

## 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<sup>1,2)</sup>。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<sup>3)</sup>。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<sup>4-13)</sup>。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<sup>14-19)</sup>。一方、平成 26～27 年にかけて、これまでに流行の見られなかった遺伝子型である NoV GII.P17-GII.17（以降、GII.17 と表記）による食中毒事例が多発した。ガンマグロブリン製剤は過去の流行に由来する様々な抗体の集積であると考えらるならば、捕捉抗体としての有効性を再検討する必要があるため、本研究においてこれを実施した。

## 2. 方法

## 2.1 研究材料

ガンマグロブリンの検討に用いる食品として、市販されているポテトサラダと焼きそばを用いた。また、検出対象となるウイルスとして、NoV GII.17（2016年1月28日、感染症発生動向調査にて採取）、を含む糞便を用いた。

血清中の IgG の推移を検討するため、感染年月日の明らかな患者の保存血清を、本人の同意の元に使用した。

## 2.2 試薬類

## 2.2.1 食品洗滌液

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

\*<sup>1</sup> 日本大学医学部 \*<sup>2</sup> 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、蒸留水にて5%溶液とした。

2.2.3 パンソルビン

黄色ブドウ球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  $\alpha$ -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 及び 2nd. PCR には AptaTaq Fast PCR Master (日本ジェネティクス) 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

回収率の検討には COG2R<sup>20)</sup>、検出限界の検討には PANR-G2<sup>19)</sup>を用いた。

2.2.13 conventional PCR に用いたプライマー

1st. PCR では COG2F<sup>20)</sup> / G2SKR<sup>21)</sup>, 2nd.PCR では G2SKF<sup>21)</sup> / G2SKR<sup>21)</sup>のプライマーセットをそれぞれ用いた。

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 320S」を用いた。

2.2.16 real-time PCR 用酵素

日本ジェネティクス社製「FastStart Essential DNA Probes Master」を用いた。

2.2.17 real-time PCR 反応系

Kageyama らの方法<sup>20)</sup>に従った。

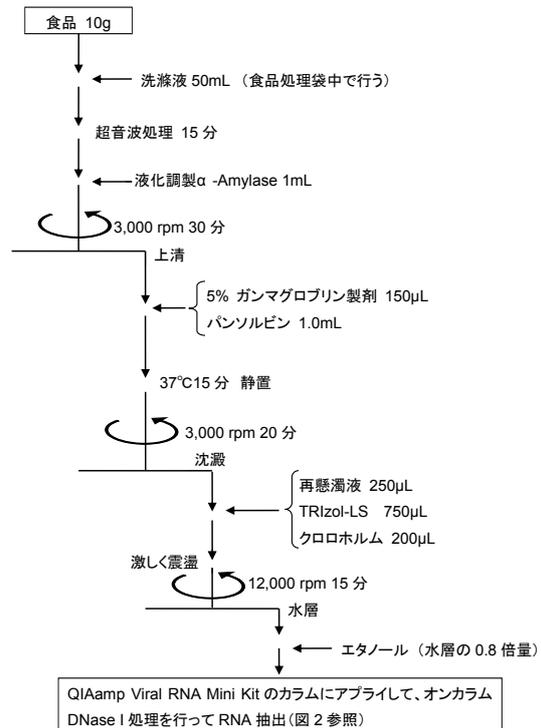


図1 パンソルビン・トラップ法の操作手順

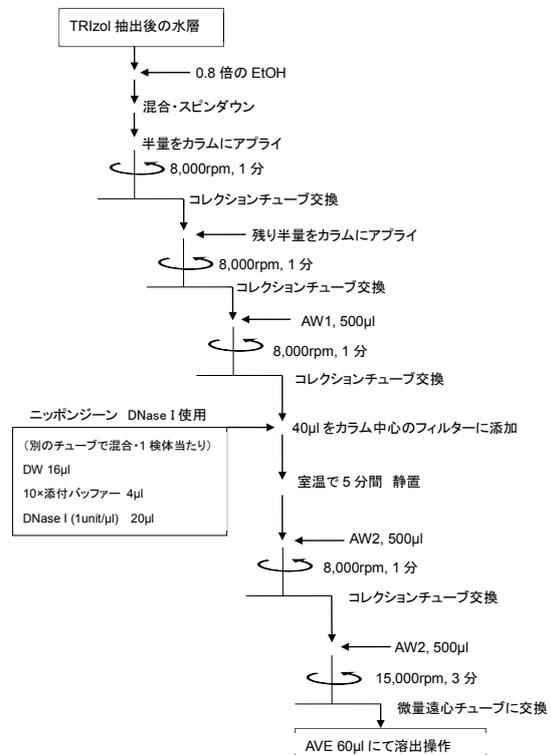


図2 QIAamp Viral RNA Mini Kit へのオンカラム DNase I 処理

### 2.2.18 抗体価の測定

NoV GI.3, GI.4, GII.3, GII.6, GII.17 で作製したウイルス様粒子 (VLP)を用いた ELISA により血清中の IgG を測定した。

### 2.3 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。この時、平成 25 年度に検討したオンカラム DNase I 処理 (図 2) を組み入れた。

### 2.4 NoV GII.17 の回収率に関する検討

食品洗滌液 50mL 中に  $1.00 \times 10^4 \sim 2.01 \times 10^6$  コピーの NoV GII.17 を添加し、ガンマグロブリンを捕捉抗体としたパンソルビン・トラップ法による回収率を検討した。また、ポテトサラダと焼きそば、それぞれ 10 g を用いた添加回収試験も合わせて行った。ここでは純粋に抗原抗体反応を比較する必要から、逆転写反応には COG2R を用いた。このプライマーは、次に続く real-time PCR 反応の直近に位置するため、RNA の損傷度や逆転写反応効率等のファクターを排除することができるからである。

### 2.5 NoV GII.17 の検出限界に関する検討

ポテトサラダと焼きそばに様々な濃度で NoV GII.17 を添加し、COG2F / G2SKR で 1st. PCR を行った後、real-time PCR, または RT-PCR による 2nd. PCR により検出できる限界について検討した。ここでの逆転写反応は PANR-G2 を用いた。サーマルサイクラーの設定条件は、次のとおりである。

#### 【タッチダウン PCR】

95°C2分 1 サイクル

95°C30秒 - (55→50°C) 30秒 - 72°C30秒 5 サイクル : 下線部がタッチダウン設定

95°C30秒 - 50°C30秒 - 72°C30秒 40 サイクル

72°C7分 1 サイクル

## 3. 結果

### 3.1 NoV 感染時の免疫応答

図 3 に示すとおり、NoV GII.17 に感染した場合、特に初感染時において GII.3 や GII.4 といった他の遺伝子型の IgG も上昇していることが見て取れた。逆に GII.4 に感染した場合においても、GII.3 と GII.17 の IgG の上昇が認められた (図 4)。

### 3.2 NoV GII.17 の回収率に関する検討

食品洗滌液 50mL からガンマグロブリンを用いて NoV GII.17 の回収を試みた結果を表 1 に示した。添加量が少なくなるにつれて回収率が高くなる傾向にあるのがわかる。また、実際に食品を用いて添加回収試験を行った結果については、食品洗滌液からの回収率 ( $10^5$  コピー/台) とほぼ同じであった (表 2)。

### 3.3 NoV GII.17 の検出限界に関する検討

図 5A, 5B に示したとおり、ポテトサラダと焼きそばの両方において、nested real-time PCR を用いることで、35 コピー/g まで検出可能であった。同様に RT-PCR 後のゲル電気泳動でも、35 コピー/g まで検出でき、PCR 産物をシークエンスしたところ正しく NoV GII.17 の配列であった (図 6)。

表 1 食品洗滌液 50mL からの NoV GII.17 の回収率

遺伝子型	添加量(copies /50mL)	回収量(copies /50mL)	回収率 (%)
GI.17	$2.01 \times 10^6$	$7.23 \times 10^4$	3.61
GI.17	$1.46 \times 10^5$	$7.80 \times 10^3$	5.34
GI.17	$1.00 \times 10^4$	$1.06 \times 10^3$	10.60
GI.4 (参考値)	$1.16 \times 10^5$	$2.90 \times 10^4$	25.10

表 2 食品 10g からの NoV GII.17 の回収率

食品	添加量(copies /g)	回収量(copies /g)	回収率 (%)
ポテトサラダ	$1.43 \times 10^5$	$1.05 \times 10^4$	7.35
焼きそば	$1.32 \times 10^5$	$6.67 \times 10^3$	5.04

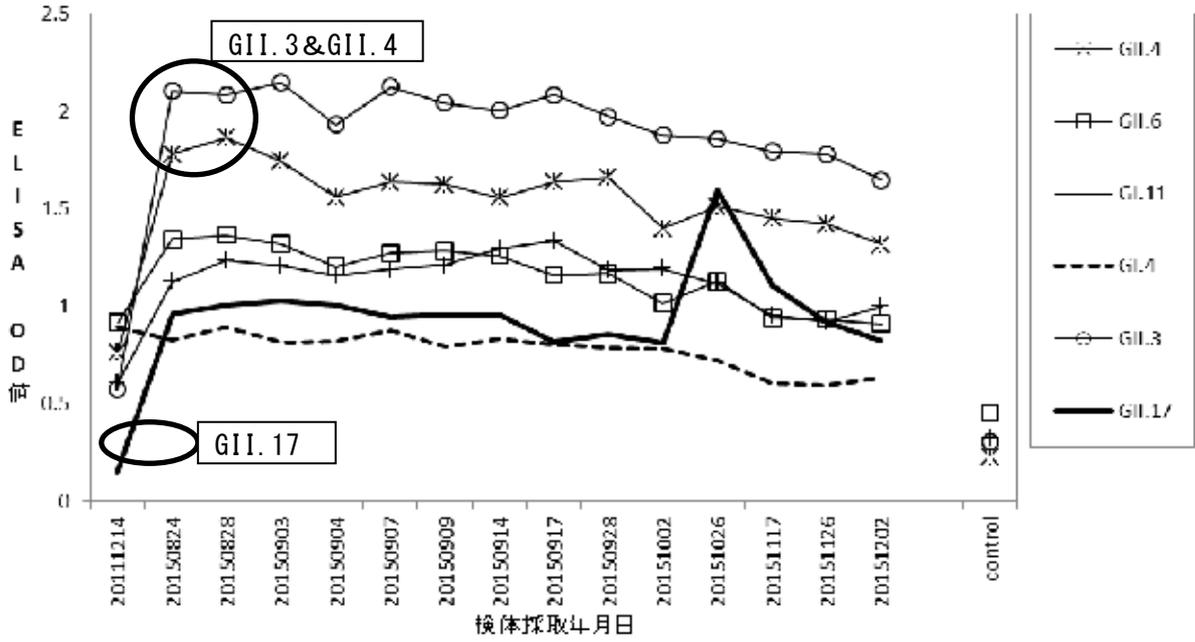


図3 NoV GII.17 感染時の血清 IgG の推移 (ELISA OD 値)  
 感染日: 2015年8月5日(初感染), 10月12日(再感染)

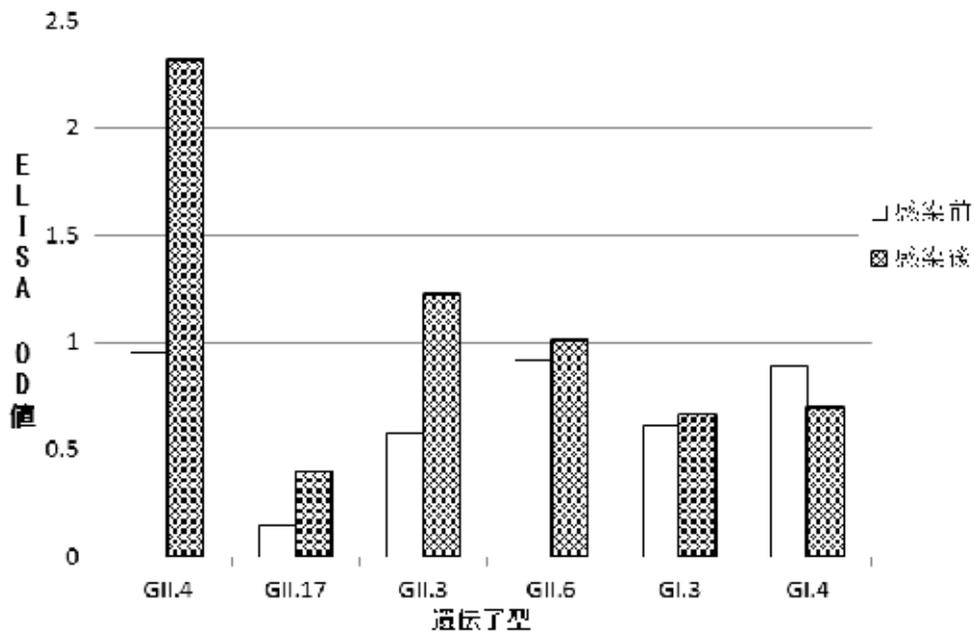


図4 NoV GII.4 感染時における血清 IgG の応答 (ELISA OD 値)  
 感染日: 2012年12月4日

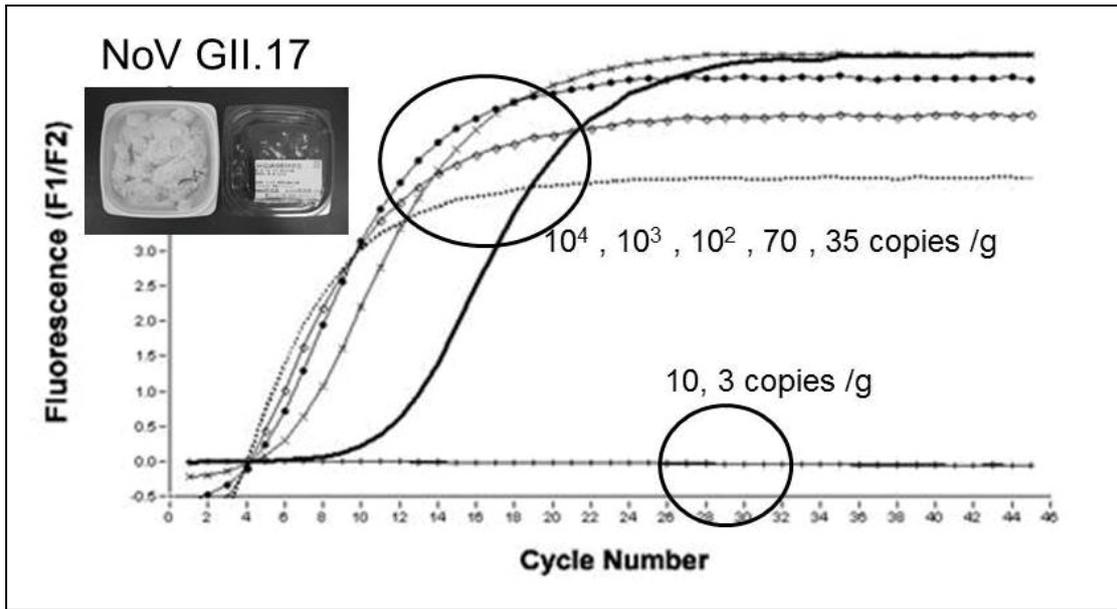


図 5A Nested real-time PCR による検出限界 (ポテトサラダ)

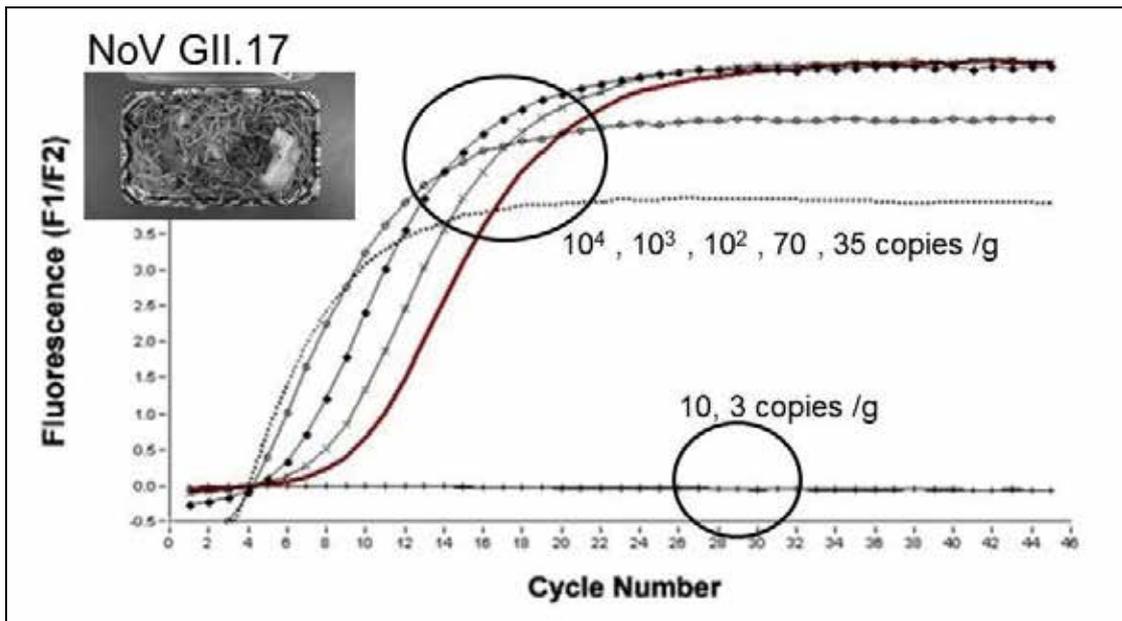


図 5B Nested real-time PCR による検出限界 (焼きそば)

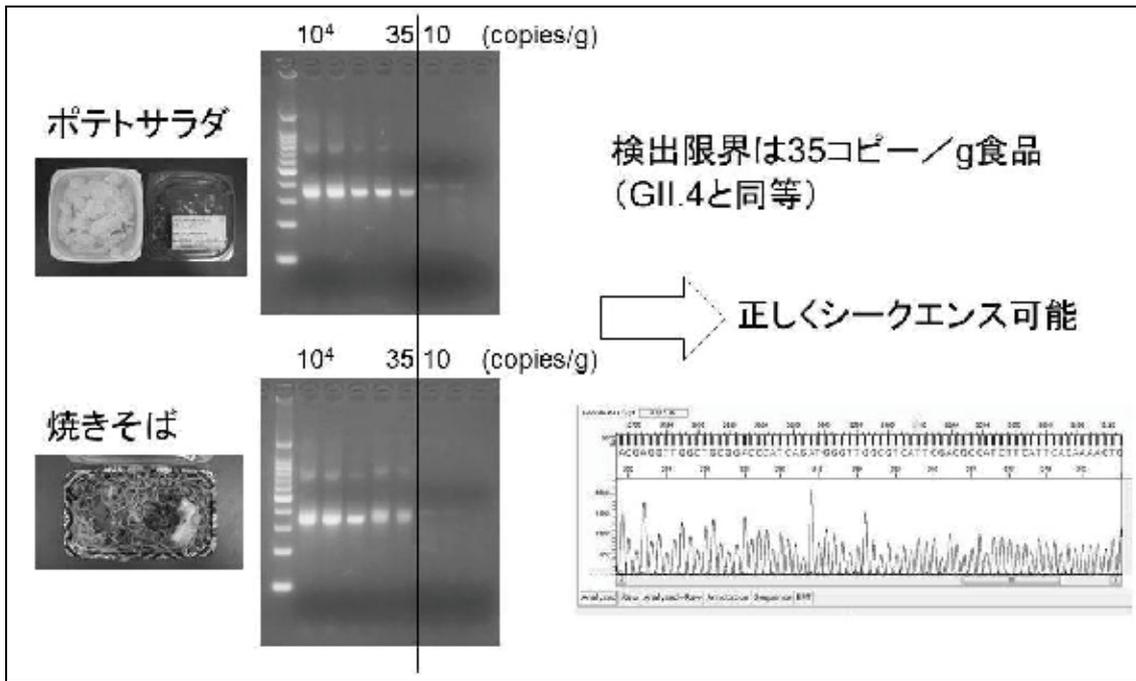


図6 Nested RT-PCRによる検出限界

#### 4. 考察

##### 4.1 NoV 感染時の免疫応答について

現在パンソルビン・トラップ法の捕捉抗体として用いられているガンマグロブリンは、過去の流行ウイルスに対する抗体 (IgG) の集積であるものと考えられている。それゆえ、多くの種類のウイルスに対して汎用できることが期待されるが、NoV GII.17 のように突如として流行が拡大したウイルスに対しては、その抗体が含まれていないことが懸念された。また、将来的には同様の“新型”ウイルスに対する問題が繰り返し起こり得るものと想定される。本研究では、最初に感染者の保存血清を利用して、様々な遺伝子型の NoV に対する抗体の推移について検討した。NoV GII.17 に感染した場合、そのウイルスに対する抗体は当然のごとく上昇するが、図3によると、GII.3 や GII.4 に対する抗体も同時に上昇していることがわかる。次に逆のケースとして、NoV GII.4 に感染した際の免疫応答について検討した。図4に示したとおり、GII.3 と GII.17 に対しても感染前後の ELISA OD 値において2倍以上の抗体上昇が見られる。感染日は2012年12月4日であるから、GII.17 の流行が拡大した2014年よりも2年前の時点になる。以上のことから、過去に何度も大規模な流行が起こった GII.4 に感染した際に、同時に GII.17 の抗体も誘導され、それは既にガンマグロブリンにも

含まれているものと推察される。

##### 4.2 NoV GII.17 の回収率について

ガンマグロブリン中に既に NoV GII.17 に対する抗体が含まれていることが期待できるため、パンソルビン・トラップ法による添加回収試験を行った (表1)。食品洗滌液 50mL 中に NoV GII.17 を  $2.01 \times 10^6$  コピー添加した際の回収率は 3.61% であったが、 $1.46 \times 10^5$  コピー添加の場合は 5.34%、 $1.00 \times 10^4$  コピー添加の場合は 10.60% と、低濃度になるにつれて回収率が上昇傾向にあることがわかる。表2に示した食品から回収試験 ( $10^5$  コピー/台) においても、表1と同等の数値であった。参考値としてあげた GII.4 の回収率は、 $1.16 \times 10^5$  コピー添加で 25.10% と明らかに高いが、これは図3に示された抗体の絶対量の違いを反映しているものと考えられる。しかしながら、多くのウイルス性食中毒事例は、微量のウイルスによる汚染に起因しているため、低濃度になるにつれて回収率が高くなるという結果は、ガンマグロブリンが有用であることを支持するものである。

##### 4.3 NoV GII.17 の検出限界について

表1の検討において、NoV GII.17 の汚染濃度が低くなるほど回収率が高くなる傾向にあることが示されたが、さらに低濃度の汚染について調べる

ことは、リアルタイム PCR の機器表示値が 10 コピー/well 以下になることから無理がある。そこで、低濃度領域において一般的な検出手法とされる nested real-time PCR によって検出限界を検討した。ポテトサラダと焼きそばを様々な濃度の NoV GII.17 で汚染させて、nested real-time PCR での検出を試みた結果が図 5A, 5B である。いずれの食品検体においても 35 コピー/g の汚染濃度まで検出できていることがわかる。また、検出ウイルスの遺伝子配列を調べるために、real-time PCR に替えて conventional PCR を用いた場合でも 35 コピー/g まで検出可能で、この増幅産物は以後のシーケンス解析に用いることができた (図 6)。35 コピー/g という数値は、本法の原著<sup>19)</sup>において、GII.4 を用いて得られた成績と同等であることから、前述の低濃度汚染ほど回収率が高くなるという結果の延長と見なして差支えないものと考えられる。

#### 4.4 得られた知見と今後に向けた課題

これまで流行したことの無い型に対する抗体はガンマグロブリンに含まれていないことが危惧されたが、実際に NoV に対する免疫応答を検討すると、感染した型とは別の型に対する抗体も同時に誘導されてくることがわかった。特に 2012 年に GII.4 に感染したケースでは、2 年後の 2014 年以降に流行する GII.17 に対する抗体も誘導されていた。このことから、新しい型に対する抗体といえども、ガンマグロブリンに含まれていることが期待できるようになり、添加回収試験等を行ったところそのことが証明された。また実際の事例として、平成 29 年 1 月 26 日に和歌山県御坊市で発生した学校給食による食中毒事例において、本法によって“磯和え”から NoV GII.17 を検出することができた<sup>22,23)</sup>。将来的に、“新型”と称されるウイルスが流行したとしても、第一選択としてガンマグロブリンは有用であると考えられる。その際の検証方法としては、回収率の評価だけではなく、nested real-time PCR による検出限界も合わせて検討する必要がある。

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。

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

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え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

本研究では、パンソルビン・トラップ法の捕捉抗体として用いられているガンマグロブリンが、これまで流行したことの無い型である NoV GII.17 に対しても適用できるかを検討した。これまでに何度も大流行した GII.4 に感染すると同時に GII.17 の抗体も誘導されるという結果を元に、ガンマグロブリンの再評価を行い、GII.17 に対しても問題なく使用できることを確認した。

#### 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ー年報, **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ー年報, **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ー年報, **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**, 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**, 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) Kageyama T., et. al.: Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR, *J. Clin. Microbiol.*, **41**, 2003, 1548-1577.
  - 21) Kojima S., et. al.: Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses, *J. Virol. Method*, **100**, 2002, 107-114.
  - 22) 永田文宏, 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, 第113回日本食品衛生学会学術講演会要旨集, 2017, 45.
  - 23) Noda M.: Lessons learned from a large and diffuse outbreak of gastroenteritis caused by consumption of Kizami-nori (chopped seaweed) contaminated with norovirus, *Bull. Natl. Inst. Health. Sci.*, **135**, 2017, 6-12.

国立研究開発法人日本医療研究開発機構「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」

## 後方視的調査によって秋田県で初めて確認された 紅斑熱群リケッチア症の1例

佐藤寛子 藤田博己<sup>\*1</sup> 安藤匡子<sup>\*2</sup> 安藤秀二<sup>\*3</sup>

近隣県である宮城、青森、新潟では近年、紅斑熱群リケッチア症患者が確認されているが、秋田県ではこれまでに患者発生報告はない。本症は、症状がつつが虫病と酷似するため、両者は鑑別が必要な疾患に挙げられているが、これまで当センターにおいては、つつが虫病疑い例に対する紅斑熱群リケッチア症の検査は未実施であった。そこで、本県における紅斑熱群リケッチア症の潜在性を探るため、1992年4月～2011年3月に臨床的につつが虫病が疑われながらも抗体検査において否定された123例197検体を対象に、血清抗体価測定による後方視的調査を実施した。その結果、過去に紅斑熱群リケッチア症患者が県内で発生していたことが判明した。患者は1995年4月に発病し、つつが虫病疑いとして治療され、治癒していた。これまで、秋田県を含めた東北地方におけるリケッチア症は、つつが虫病が代表的であったが、今後は紅斑熱群リケッチア症の啓発をつつが虫病と併せて実施すると共に、検査体制の整備について検討する必要があると思われる。

### 1. 緒言

日本国内の紅斑熱群(SFG)リケッチア感染症としては、*Rickettsia japonica*による日本紅斑熱が甲信越～関東地域以西を中心に発生している。その患者報告数は近年になって増加傾向にあり、2016年には過去最多の276例となった。一方、東北地域においては、*Rickettsia helvetica*, *Rickettsia asiatica*, *Rickettsia heilongjiangensis*などのSFGリケッチアを保有するマダニの生息が確認されているものの、同地域でのSFGリケッチアのヒト患者情報は、1986年の福島県の疑診例<sup>1)</sup>以後、2007年の青森県<sup>2)</sup>、2008年の宮城県<sup>3)</sup>で各1例の確定例があるのみである。今回、われわれは、秋田県におけるSFGリケッチア症発生の可能性を探るため、後方視的調査を行った。その結果、つつが虫病検査を実施した症例群の中から、1995年発症のSFGリケッチア感染症1例を血清学的に紅斑熱群リケッチア症と確定したので報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 抗体検査

1992年4月～2011年3月までに秋田県健康環

境センターにおいて、つつが虫病が疑われながら当時の抗体検査によって否定された症例群のうち、発熱、発疹、CRP上昇が認められ、かつ刺し口の存在や肝機能異常など、紅斑熱群リケッチア症にも相当する症状を認めた123例197検体(急性期血清123検体、回復期血清74検体)を対象にSFGリケッチア症の抗体検査を実施した。抗原としては、日本国内でヒトへの感染症例が確認されている病原種を含む次のリケッチアを抗体価測定用抗原に用いた；*R. japonica*, *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. tamurae*, *R. asiatica*, *R. monacensis*, *R. typhi*。

抗体価の測定は間接免疫ペルオキシダーゼ法(IP法)<sup>4)</sup>により実施した。加えて、SFGリケッチアと*R. typhi*の各抗体検査には、リケッチア多糖体抗原感作赤血球を用いた間接赤血球凝集反応<sup>5)</sup>も実施した。

#### 2.2 患者情報

保存血清で抗体陽性が認められた症例について、患者情報(年齢、性別、マダニ刺部、推定刺咬時期と場所、受診までの行動)を検査依頼時の調査票および患者から聞き取りによって確

<sup>\*1</sup> 馬原アカリ医学研究所, MFSS, <sup>\*2</sup> 鹿児島大学共同獣医学部, <sup>\*3</sup> 国立感染症研究所

認した。また、SFG リケッチア感染の既往が判明した2015年にも、残存抗体を確認するための検査用としてインフォームドコンセントに基づき採血を行った。なお本検討は秋田県健康環境センター倫理審査委員会における承認を受けて実施した（承認番号29-2）。

### 3. 結果

#### 3.1 抗体検査

123例中、1995年発症の1例に紅斑熱群リケッチアに対する抗体が認められた（表1）。使用した抗原種に対する抗体価に有意差はなく、感染した病原種は不明であった。2015年7月に採血した血液では抗体の残存は認められなかった。*R. typhi*の抗体陽性例はなかった。

#### 3.2 確認された過去の紅斑熱群リケッチア症例

患者は、当時36才の男性で大曲市（現大仙市）の市街中心部に居住していた。発病は1995年4月23日、医療機関への初診は4月25日で、感冒と診断されセフェム系抗生剤の経口投与を開始したが、数日経っても改善せず、入院加療となった（月日不明）。5月2日、つつが虫病の疑いとしてMINO投与開始と抗体価測定のための採血がされた。この時点で後頭部に潰瘍状の刺し口、背・腹部に発疹、頸部両側に有痛性のリンパ節腫脹が認められ、血液検査所見ではCRPが強陽性であった。MINO投与開始から2日後の5月4日、体温が36℃台となった。5月8日、抗体価再測定のため再採血がされた。採

血時に淡い発疹の残存が確認されている。

患者への聞き取り調査によると、患者は飼い犬の散歩のため、自宅近くの河川敷を毎日訪れていた。帰宅後、しばしば犬にマダニが付いていることに気が付いていたが、マダニ媒介性感染症等についての認識はなかった。発病の数日前、入浴時に自身の後頭部に違和感があり、手で引き抜いたところ飽血したマダニであった。発病前の約1ヶ月間に河川敷以外に出かけたのは自宅近くの職場のみであったことから、本症例は同河川敷内に生息していたマダニ媒介性のリケッチア症であったと推定された。

### 4. 考察

今回、1992年4月～2011年3月における秋田県のつつが虫病疑似症例群から、1例のマダニ種不詳のSFGリケッチア感染症が確認された。感染リケッチア種は不明ながらも、発病前の活動歴からベクターは雄物川支流河川敷に生息していたマダニの1種と推定された。雄物川および支流の地域では、古くからつつが虫病患者の発生が知られ、現在も病原体 *Orientia tsutsugamushi* を保有するツツガムシの生息が確認されている<sup>6)</sup>。本症例は、当時確定診断には至らなかったが、地元のつつが虫病に対する意識の高さからつつが虫病を早期に想定したことが功を奏し、SFGリケッチア感染症にも共通する早期治療に結びつき、治癒に至ったと思われる。なお、今回検討の対象としなかった非定型の症状の症例群の中にもSFGリケッチア感染者

表1 紅斑熱群リケッチア症患者血清抗体価

検査方法		採血日(病日 <sup>*1</sup> )	抗体価					
			1995/5/2(10日)		1995/5/8(16日)		2015/7/13(19年)	
間接免疫 ペルオキシ ダーゼ法	使用抗原		IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
	<i>Rickettsia japonica</i>		<40	<40	320	80	<40	<40
	<i>Rickettsia heilongjiangensis</i>		<40	<40	320	80	<40	<40
	<i>Rickettsia helvetica</i>		<40	<40	320	40	<40	<40
	<i>Rickettsia asiatica</i>		<40	<40	160	40	<40	<40
	<i>Rickettsia monacensis</i>		<40	<40	320	80	<40	<40
	<i>Rickettsia tamurae</i>		<40	<40	320	80	<40	<40
	<i>Rickettsia typhi</i>		<40	<40	<40	<40	<40	<40
間接赤血球 凝集反応	使用抗原		凝集価					
	SFGR <sup>*2</sup>		<40		640		<40	
	<i>Rickettsia typhi</i>		<40		<40		<40	

\*1 発病日1995/4/23より算定

\*2 Spotted fever group rickettsia

が潜在する可能性がある。

今後、本県を含む北日本地域においても、つつが虫病とともにSFGリケッチア感染症も身近なダニ媒介性感染症の一つとして捉えた検査体制が必要と思われる。また、ヒトがマダニと接触する機会として野外活動が第一に上げられるが、今回確認した感染例のマダニとの接触機会は、市街地にある河川敷への立ち入り時が濃厚であったことにも注意を要する。患者は日常的に飼い犬を連れて河川敷を訪れていたことから、マダニと直に接触して刺された以外にも、犬の体に付着した刺咬前のマダニが飼い主側に乗り移り、刺咬・感染・発病したという可能性も否定できない。今後、ダニ媒介性感染症の注意喚起に際しては、ヒトのみならず生活を共にする愛玩動物のダニ防除対策の意識向上も含めた情報提供が必要と思われる。

#### 参考文献

- 1) 藤田博己, 渡辺百合子, 菅野理平, 佐久間隆, 高木善三郎, 高田伸弘: 福島県で発生した日本紅斑熱様疾患の1例と発疹熱の1例, 大原年報, **38**, 1988, 23-29.
- 2) 森志朋, 赤坂俊英: 日本紅斑熱の1例, 臨皮., **62**, 2008, 443-445.
- 3) Ando S., Kurosawa M., Sakata A., Fujita H., Sakai K., Sekine M., Katsumi M., Saitou W., Yano Y., Takada N., Takano A., Kawabata H., Hanaoka N., Watanabe H., Kurane I. and Kishimoto T.: Human *Rickettsia heilongjiangensis* Infection, Japan, Emerg. Infect. Dis., **16**, 2010, 306-1308.
- 4) Suto T.: A ten years experience on diagnosis of rickettsial disease using the indirect immunoperoxidase method, Acta Virol., **35**, 1991, 580-586.
- 5) 藤田博己, 藤田信子, 馬原文彦: 紅斑熱群と発疹熱リケッチアから簡易抽出したアルカリ多糖体感作赤血球凝集反応によるリケッチア症の迅速抗体検出法の検討(予報), 大原年報, **50**, 2010, 37-40.
- 6) 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, 東海林彰, 高橋守, 藤田博己, 角坂照貴, 高田伸弘, 川端寛樹, 安藤秀二: 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), 衛生動物, **67**, 2016, 167-175.

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

## 産業廃棄物処分場跡地の廃水処理施設から単離された 1,4-ジオキサン分解菌について

村山力則 佐藤 哲 中村淳子 小林貴司

難分解性である 1,4-ジオキサンを効率良く処理している廃水処理施設において、1,4-ジオキサン分解能を有する菌の単離を検討した。集積培養後に単離した菌は、実際の廃水処理に大きく寄与していると考えられるマイコバクテリウム属であった。単離した菌の 1,4-ジオキサン分解能を検討したところ、単独では 1,4-ジオキサンを資化することができず、テトラヒドロフランまたはエタノールとの共存下において 1,4-ジオキサン分解能が発現したため、共代謝により 1,4-ジオキサンを分解する菌と考えられた。

### 1. はじめに

1,4-ジオキサンは、環境中で難分解性であり、水にも溶剤にも無制限に溶解する<sup>1)</sup>ため、一般的な廃水処理施設では処理できない<sup>2,3)</sup>とされていた。ところが、県内の埋立処分場跡地の廃水処理施設では、自然発生した 1,4-ジオキサン分解菌により、非常に効率良く処理されていることがわかり、その処理状況や生物処理槽の細菌叢について、いくつかの報告を行ってきた<sup>4)</sup>。細菌叢の解析結果からは、1,4-ジオキサン分解菌のうちマイコバクテリウム属の優占度が常に高く、この菌属が実際の廃水処理に大きく寄与している可能性が高いという結果も得られている。

生物処理槽での 1,4-ジオキサン分解機構を解明し、より安定した処理を実現するために、1,4-ジオキサン分解菌の単離はこれまでも何度か試みてきた。しかし、1,4-ジオキサン分解菌の成長が非常に遅いことや菌を単離すると 1,4-ジオキサン分解能が発現が安定しない等の問題があり、安定した単離・培養をすることができなかった。いくつかの検討を重ねた結果、実際の廃水処理に大きく寄与していると考えられるマイコバクテリウム属について、安定した単離・培養方法を見いだすことができたので、その内容を報告する。

## 2. 方法

### 2.1 試薬

富栄養培地には YM (Yeast extract and Malt

extract: YM) 培地を、無機培地には AMS (Ammonium Mineral Salts: AMS) 培地<sup>5)</sup>を使用した。寒天培地には Bacto Agar (Difco) 及び Agar, noble (Difco) を使用した。また 1,4-ジオキサン、テトラヒドロフラン (THF)、エタノールは和光純薬工業製の特級を用いた。1,4-ジオキサン分解能を比較した菌 *Pseudonocardia dioxanivorans* CB1190 (以下 CB1190 株) は文部科学省ナショナルバイオリソースプロジェクトを介して、理研 BRC より提供されたものを用いた。

### 2.2 試験方法

#### 2.2.1 集積培養と 1,4-ジオキサン分解菌の単離

集積培養は、300 mL バッフル付き三角フラスコ内の AMS 培地 100 mL に、遠沈洗浄した活性汚泥を添加、炭素源として 1,4-ジオキサンを 50 mg/L 及び THF を 0.05% となるように添加し、30°C、250 rpm の好気条件下で約 1 カ月振とうすることで行った。

寒天培地での培養は、1,4-ジオキサン 50 mg/L、THF 0.05% となるように調製したシャーレ上の AMS 寒天培地に、集積培養した液を 10<sup>-4</sup> 倍に希釈し塗布、30°C で約 1 カ月静置することで行った。単離後の培養は、出現した単独コロニーを採取し、YM 寒天培地上で行った。

#### 2.2.2 PCR と相同性検索による菌種同定

単離した菌からの DNA 抽出には QIAamp DNA Mini Kit (キアゲン)、PCR には GoTaq (プロメガ)、およびサーマルサイクラー (パ

イオラッド)を使用した。PCRの際、16SリボソームRNA遺伝子増幅には127Fと1492Rのプライマーセット<sup>6)</sup>、*rpoB*遺伝子増幅には、Myco\_rpoB\_F: 5'-CGACCACTTCGGGCAACCG-3'とMyco\_rpoB\_R: 5'-TCGATCGGGCACATCCGG-3'のプライマーセットを用いた。増幅したDNAは電気泳動後、QIAquick Gel Extraction Kit (キアゲン)を用いて精製し、DNAシークエンスで得られたリボソーム16S遺伝子と*rpoB*遺伝子の塩基配列から菌種の同定を行った。

## 2.3 単離した菌の1,4-ジオキサン分解能試験

### 2.3.1 炭素源を1,4-ジオキサンのみとした分解能試験

1,4-ジオキサン分解能試験は、集積培養と同様の試験系において、YM寒天培地で前培養した菌を、AMS培地100 mLにOD<sub>660</sub>が約0.05となるように植菌し、炭素源として1,4-ジオキサンのみを50 mg/Lとなるように添加、振とうし、減少する1,4-ジオキサン濃度を測定することで行った。1,4-ジオキサン濃度の測定は、ヘッドスペースGC/MS法により行った<sup>7)</sup>。

また比較のため、1994年に1,4-ジオキサン分解菌として報告された菌株であるCB1190株を同様に前培養し、1,4-ジオキサン分解能試験を行った。

### 2.3.2 活性誘導剤を加えた1,4-ジオキサン分解能試験

1,4-ジオキサンとともに、活性を誘導する炭素源としてTHFまたはエタノールを0.05%となるように添加し、2.3.1と同様の分解能試験を行った。

## 3 結果と考察

### 3.1 集積培養と1,4-ジオキサン分解菌の単離

図1に集積培養におけるAMS培地の濁度変化のグラフを示す。最初に行った集積培養試験では、AMS培地に炭素源として1,4-ジオキサンのみを加え培養を試みたが、1カ月経過後も菌の増殖はまったく見られなかった。そこで、Paralesらの報告<sup>5)</sup>を参考にし、1,4-ジオキサンとともにTHFを炭素源として添加したところ、2週間ほどで培養液が明らかに白濁し、顕微鏡観察下においても菌の増殖を確認することができた。

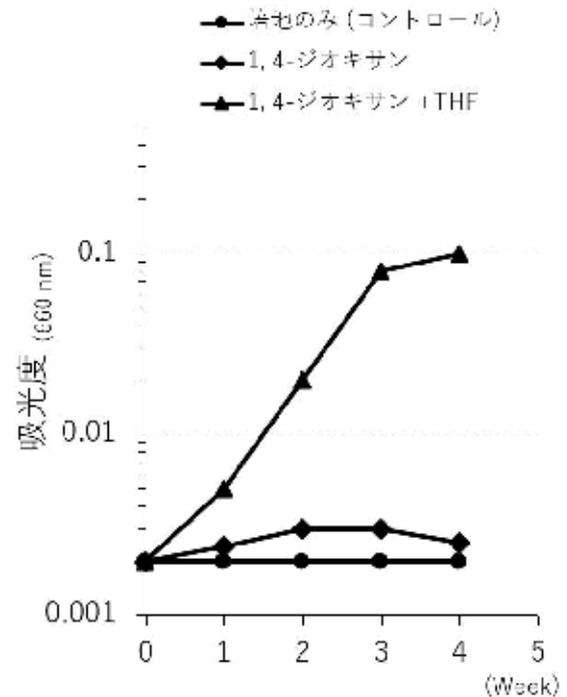


図1 集積培養におけるAMS培地の濁度変化

菌の増殖が確認されたため、集積培養一カ月後の液を1,4-ジオキサンを含むAMS寒天培地に塗布し、菌の単離を試みた。プレート上には多数の形態が異なるコロニーが確認されたが、1週間程度で採取可能なコロニーは、すべて1,4-ジオキサンを分解する菌ではなかった。本来、寒天培地に含まれる炭素源は、1,4-ジオキサンとTHFのみであるが、その他の有機物の影響も疑われたため、寒天培地を純度の高いAgar, Nobleに変更した。その結果、長期間の培養が可能となり、1,4-ジオキサンを分解する3株を単離することができた。

### 3.2 単離したジオキサン分解菌の菌種同定

単離した1,4-ジオキサン分解菌3株の16SリボソームRNA遺伝子をBLAST検索したところ3株のDNA配列は一致しており、GeneBankに登録されているマイコバクテリウム属約10種と99%以上の相同性があった。また、*rpoB*遺伝子についてもBLAST検索したところ、表1に示す3種の菌と99%一致していた。この株の16S及び*rpoB*遺伝子の塩基配列をGenebankへ登録した(Accession No. LC22748 (16S), LC422749 (*rpoB*))。以降、この株を*Mycobacterium* sp. C8株と呼ぶ。

表1 単離された1,4-ジオキサン分解菌と最も相同性が高かった既知のMycobacterium属

菌株	由来	文献
<i>Mycobacterium</i> sp. Djl-10	カルペンダジム分解菌	8)
<i>Mycobacterium tokaiense</i>	ネクローシス肉芽腫病原菌	9)
<i>Mycobacterium murale</i>	非結核性抗酸菌	10)

### 3.3 炭素源を1,4-ジオキサンのみとした分解能試験

図2に炭素源を1,4-ジオキサンのみとした条件での *Mycobacterium* sp. C8株とCB1190株の1,4-ジオキサン分解能試験結果を示す。CB1190株の系では、4日目以降に1,4-ジオキサンの減少が確認され、分解能は10 mg/L/day程度となった。一方 *Mycobacterium* sp. C8株の系の減少は、揮発性確認のためのコントロール（菌未接種）と同程度であり、分解菌による1,4-ジオキサンの減少は確認できなかった。CB1190株は1,4-ジオキサンを分解し炭素源とできる資化菌として知られているが、*Mycobacterium* sp. C8株は炭素源を1,4-ジオキサンのみとした条件では、分解能を発現することができなかった。

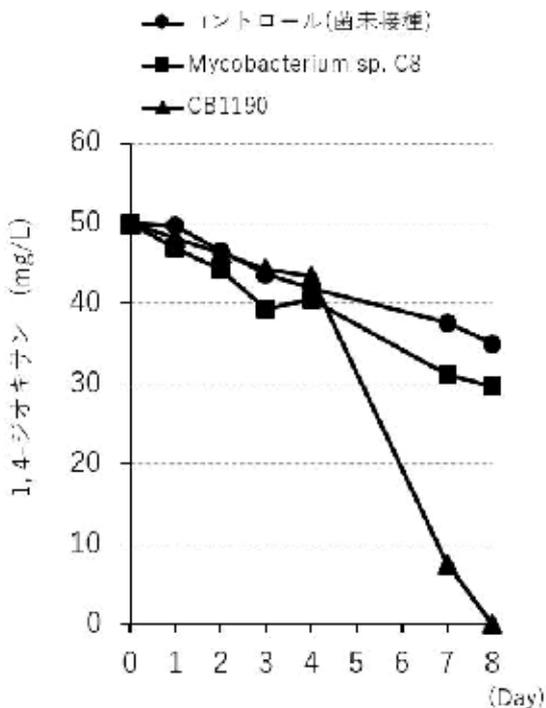


図2 炭素源を1,4-ジオキサンのみとした条件での *Mycobacterium* sp. C8株とCB1190株の1,4-ジオキサン分解能試験

### 3.4 活性誘導剤を加えた1,4-ジオキサン分解能試験

図3に活性誘導剤を添加した条件での *Mycobacterium* sp. C8株の1,4-ジオキサン分解能試験結果を示す。THFを添加した系では、3日目以降に1,4-ジオキサンの減少が確認され、分解能は8 mg/L/day程度となった。エタノールを添加した系では、2日目以降に1,4-ジオキサンの減少が確認され、分解能は最大20 mg/L/day程度となっており、THFよりもエタノールのほうが1,4-ジオキサン活性を促進する効果が高いという結果を示した。

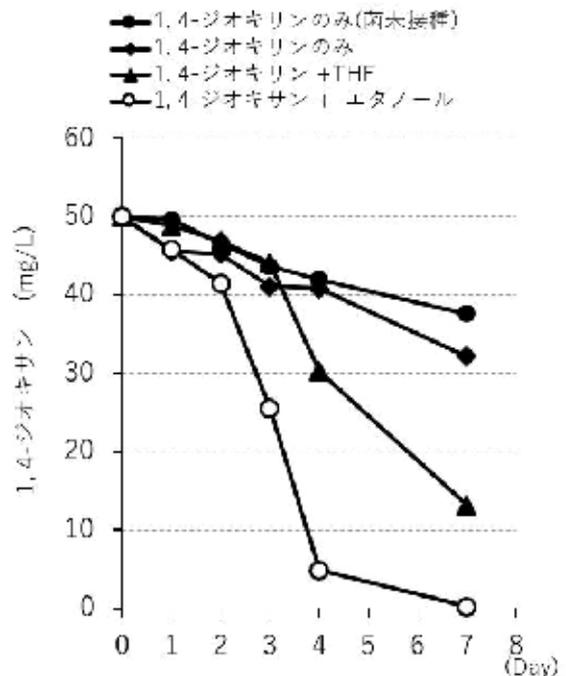


図3 活性誘導剤を添加した条件での *Mycobacterium* sp. C8株の1,4-ジオキサン分解能試験

図4にこの試験での濁度変化のグラフを示す。THFまたはエタノールを添加した系ともに、約3日目で濁度は最大となった。濁度の最大値はTHFよりエタノールの系が大きくなっており、菌体の増加量においてもエタノールのほうが効果は高いという結果が得られた。

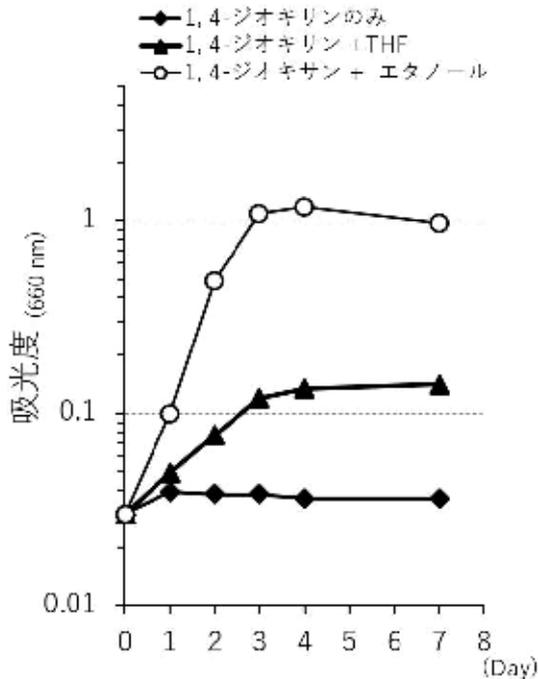


図4 活性誘導剤を添加した1,4-ジオキサン分解能試験における濁度変化

#### 4. まとめ

産業廃棄物処分場跡地から浸出する1,4-ジオキサンを特異的に効率良く処理している廃水処理施設において、実際の廃水処理に大きく寄与していると考えられる *Mycobacterium* sp. C8 株の単離及び単離後の安定した培養方法を見出すことができた。単離した *Mycobacterium* sp. C8 株は、単独で1,4-ジオキサンを資化することができず、THF またはエタノールという他の炭素源を必要としたことから、共代謝により1,4-ジオキサンを分解していると考えられるが、その代謝機構など詳しいことはわかっていない。

今後は、THF、エタノール以外の活性促進物質または逆に分解を阻害する物質等を検討し、*Mycobacterium* sp. C8 株の特性を明らかにすることで、より安定した1,4-ジオキサン廃水処理の実現を目指す予定である。

#### 参考文献

- 1) 環境省環境保健部環境リスク評価室:化学物質の環境リスク評価 第2巻, 2003, 150.
- 2) 牧野良次ら:1,4-ジオキサンの下水処理場における除去率について,水環境学会誌, **28**, 3, 2005, 211-215.
- 3) 高木総吉ら:大阪府内水道水源および淀川水系における1,4-ジオキサンレベルの実態調査,環境化学,**16**, 4, 2006, 669-676.
- 4) 岡野邦宏ら:1,4-ジオキサンを含む埋立浸出水の生物処理における細菌叢解析,第48回日本水環境学会講演集,2014, 66.
- 5) Parales RE., et. al.: Degradation of 1, 4-dioxane by an actinomycete in pure culture, Appl. Environ. Microbiol., **60**,1994, 4527-4530.
- 6) Lane DJ.: 16S/23S rRNA Sequencing. In: Stackebrandt E. and Goodfellow M., eds.: Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics, John Wiley & Sons, New York, 1991, 115-175.
- 7) 小川ら: 新規規制物質 1,4 - ジオキサンの固相抽出及びヘッドスペース分析法の検討, 秋田県健康環境センター年報, **6**, 2010, 77-80.
- 8) Zhang J., et. al.: Complete Genome Sequence of Carbendazim-Degrading *Mycobacterium* sp. Strain djl-10, Genome Announc., **5**, 2017, e01683-16.
- 9) Kondo A., et. al.: Caseous necrotic granuloma in the pituitary stalk due to nontuberculous *Mycobacteria* (*Mycobacterium tokaiense*) infection case report, Neurol. Med. Chir (Tokyo), **46**, 2006, 80-3.
- 10) Vuorio R., et. al.: A new rapidly growing mycobacterial species, *Mycobacterium murale* sp. nov., isolated from the indoor walls of a children's day care centre, Int. J. Syst. Bacteriol., **49**, 1999, 25-35.

感染症発生動向調査事業

## 2016年度のマイコプラズマ肺炎流行期に検出された *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性変異及び *p1* 遺伝子型の検出状況

鈴木純恵 今野貴之 柴田ちひろ 齋藤博之

### 1. はじめに

マイコプラズマ肺炎は風邪様の症状と発熱を主症状とし、乾いた咳が長く続くのが特徴で、主な患者は15歳以下の小児である。

原因菌である *Mycoplasma pneumoniae* は細胞壁を欠くため、一般的な細菌感染症で汎用されるβ-ラクタム系薬が無効であり、マイコプラズマによる感染症の治療にはタンパク質合成を阻害するマクロライド系薬が第一選択薬として使用されている<sup>1)</sup>。しかしながら、2001年には国内でマクロライド耐性の *M. pneumoniae* が報告され、その増加が危惧されている<sup>2)</sup>。マクロライド系薬への耐性化は、23S ribosomal RNA のドメイン V の2,063位、2,064位及び2,617位の点変異によって起こり<sup>3)</sup>、地域や医療機関の規模によっても違いがあるものの、国内の臨床分離株の50%以上はマクロライド耐性と推定されている<sup>4,5)</sup>。マイコプラズマ肺炎は、周期的な流行を起こすことが知られているが、国内では1990年代以降、周期性がみられなくなっていた。しかしながら、マイコプラズマ肺炎の患者報告数は2000年以降増加傾向を示し、特に2011年から2012年には全国的な大きな流行が認められた<sup>6)</sup>。秋田県では2016年から2017年にもマイコプラズマ肺炎の患者数が増加し、2012年以來の周期的流行が確認された。

マイコプラズマ肺炎の流行とマクロライド耐性 *M. pneumoniae* の増加との関連性を示唆する報告もあるが<sup>4)</sup>、これまで秋田県内の *M. pneumoniae* についてのマクロライド耐性に関する知見はほとんど得られていない。そこで、秋田県におけるマイコプラズマ肺炎流行期のマクロライド耐性 *M. pneumoniae* の検出状況を把握するため、2016年4月から2017年3月に県内の協力医療機関から提供された咽頭

ぬぐい液を用いて、*M. pneumoniae* の検出とマクロライド耐性遺伝子の解析を行った。また、*M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子の多型性をもとに分子疫学的解析を行い、秋田県内で流行した *M. pneumoniae* の遺伝的な特徴を調査した。

### 2. 方法

#### 2.1 調査対象

2016年4月から2017年3月までに秋田県の北部、中央部及び南部の病原体定点医療機関各3施設（計9施設）から提供された咽頭ぬぐい液829検体を対象にした（図1）。

#### 2.2 *M. pneumoniae* の検出

MagNA Pure LC2.0を用いてDNA抽出を行った。Winchell et al.<sup>7)</sup>の方法をもとにしたreal-time PCRにより、*M. pneumoniae* の検出を行った。

#### 2.3 マクロライド耐性遺伝子の解析

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>8)</sup>の方法を一部改変したnested-PCRにより、23S ribosomal RNA 遺伝子のA2063、A2064及びC2617を含む領域を増幅した。得られたPCR断片は、QIAamp PCR Purification Kit (QIAGEN)を用いて精製後、商業用のシーケンス受託サービス（ファスマック社）を利用して解析を行った。

#### 2.4 *p1* 遺伝子型別

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>8)</sup>の方法を一部改変したnested-PCRにより *p1* 遺伝子のRepMP2/3領域とRepMP4領域を増幅後、*Hae*IIIにて制限酵素処理した。3%アガロースゲルにて電気泳動し、PCR断片の切断パターンから型別を行った。

3. 結果

real-time PCR 法により *M. pneumoniae* 陽性となったのは 829 検体中 31 検体であり, 検出数は県の北部が 19 検体と最も多かった。

*M. pneumoniae* 陽性検体の内, マクロライド耐性の解析が可能であったのは 25 検体で, その内の 7 検体でマクロライド耐性に関わる変異が確認された (表 1)。確認された変異はすべて A2063G の変異であった。マクロライド耐性変異の検出率は, 地域によって 6.7~83.3%と大きな幅があった。

*p1* 遺伝子型別の結果, 県内において最も主要だったのは II 型であった。マクロライド耐性変異が確認された 7 検体のうち, *p1* 遺伝子型が判明したのは 6 件で I 型 4 件と II 型亜種 (2a) 2 件であった (表 2)。

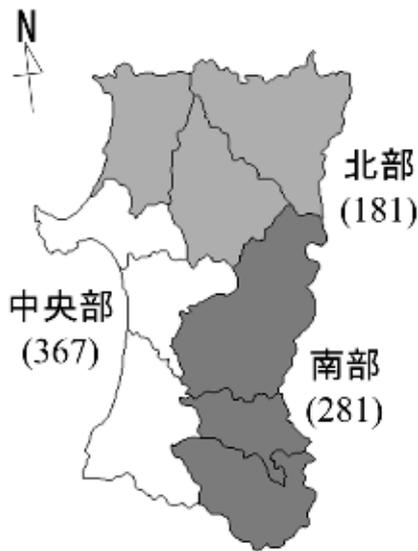


図 1 各地域から収集された検体数

表 1 マクロライド耐性変異の検出状況

地域	マクロライド耐性変異				計
	陽性	(%)	陰性	(%)	
北部	1	(6.7)	14	(93.3)	15
中央部	5	(83.3)	1	(16.7)	6
南部	1	(25.0)	3	(75.0)	4
計	7	(28.0)	18	(72.0)	25

表 2 *p1* 遺伝子型の割合

マクロライド耐性	<i>p1</i> 遺伝子型					計
	I型	II型	II型亜種			
			2a	2b	2c	
陽性	4		2			6
陰性		12	1		3	16
ND*					1	1
計 (%)	4 (17.4)	12 (52.2)	3 (13.0)	0 (0)	4 (17.4)	23

\*ND: not determined.

4. 考察

本調査における *M. pneumoniae* のマクロライド耐性変異の割合は 28.0%であり, 以前に国内で推定された耐性率よりも低かった<sup>4,5)</sup>。水谷ら<sup>9)</sup>は大阪府における調査で, 2015 年以降マクロライド耐性 *M. pneumoniae* の検出率が低下傾向にあることを指摘している。

秋田県内の *p1* 遺伝子型は, II 型が多かったが, II 型からはマクロライド耐性変異は確認されなかった (表 2)。これまでの報告から, 国内ではマクロライド耐性 *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型は主に I 型と考えられる<sup>10,11)</sup>。

*M. pneumoniae* の *p1* 型はおよそ 10 年周期で切り替わることが示唆されているが<sup>12)</sup>, マクロライド耐性が増加し始めた 2000 年以降, 国内の *M. pneumoniae* の主流は I 型であった。それに加え, 近年, II 型は II 型亜種に代われほとんど検出されなくなっていた。そのため, マクロライド系薬の暴露を受ける機会が少なく, マクロライド耐性変異の獲得が進んでいなかったと考えられる。*M. pneumoniae* の *p1* 型の変化とマイコプラズマ肺炎の流行との関連については不明であるが, 本調査における低いマクロライド耐性率には, 秋田県の *p1* 遺伝子型の検出状況が反映されたものと考えられた。

本調査では, 秋田県における *M. pneumoniae* のマクロライド耐性変異及び *p1* 遺伝子型の検出状況を明らかにした。これらの結果は, 今後の秋田県におけるマイコプラズマ肺炎の発生状況の解明のための基礎データとして活用が期待される。

謝辞

本調査に御協力を頂いた大館市立総合病院, 北秋田市民病院, 能代厚生医療センター, 秋田厚生医療センター, 市立秋田総合病院, 由利組

合総合病院，大曲厚生医療センター，平鹿総合病院，雄勝中央病院に感謝致します。

### 参考文献

- 1) 日本小児科学会予防接種・感染対策委員会，他：小児呼吸器感染症診療ガイドライン 2011 追補版「小児肺炎マイコプラズマ肺炎の診断と治療に関する考え方」，2013.
- 2) Okazaki N., et al.: Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin in vitro, *Microbiol Immunol.*, **45**, 2001, 617-620.
- 3) Matsuoka M., et al.: Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan, *Antimicrob Agents Chemother.*, **48**, 2004, 4624-30.
- 4) 生方公子，他：小児におけるマクロライド高度耐性・肺炎マイコプラズマの大流行，病原微生物検出情報，**32**, 2011, 337-339.
- 5) 黒崎知道，他：1次医療機関における肺炎マイコプラズマのマクロライド耐性，病原微生物検出情報，**33**, 2012, 267-268.
- 6) 国立感染症研究所：マイコプラズマ肺炎，病原微生物検出情報，**33**, 2012, 261-2.
- 7) Winchell JM., et al.: Evaluation of three real-time PCR assays for detection of *Mycoplasma pneumoniae* in an outbreak investigation, *J Clin Microbiol.*, **46**, 2008, 3116-8.
- 8) 国立感染症研究所：肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) 検査マニュアル，病原体検出マニュアル，平成23年9月.
- 9) 水谷香代子，他：大阪府におけるマクロライド耐性肺炎マイコプラズマの検出率の低下傾向，病原微生物検出情報，**37**, 2016, 183-184.
- 10) Kubota H., et al.: Molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae* isolated from pediatric patients in Tokyo, Japan, *Jpn J Infect Dis.*, **68**, 2015, 76-8.
- 11) 鈴木裕，他：山形県で2004年から2013年の10年間に分離した *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異および p1 遺伝子型解析，感染症学雑誌，**89**, 2015, 16-22.
- 12) Kenri T., et al.: Genotyping analysis of *Mycoplasma pneumoniae* clinical strains in Japan between 1995 and 2005: type shift phenomenon of *M. pneumoniae* clinical strains, *J Med Microbiol.*, **57**, 2008, 469-75.

## 平成29年度（第12回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

秋田県結核菌分子疫学調査事業（平成25年度～）

## 秋田県内で分離された結核菌株のVNTR法を用いた分子疫学解析

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、年間約2万人の患者が発生しており、今なお国内最大の感染症である。結核統計を見ると、平成27年の日本の結核罹患率は人口10万人当たり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。

患者から分離された結核菌株の分子疫学解析を行うことは、疫学調査から得られた情報に菌株そのもの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が可能となる。また、データを蓄積することにより、県内における流行状況の把握につながる。

秋田県では、平成25年7月より実施された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）解析を行ってきたので、その結果と、最大事後確率推定法を用いた遺伝系統解析結果を併せて報告する。また、現在実施しているVNTR解析法は、結核菌遺伝子中の12領域を解析しているが、結果が一致しても、関連性を解明するには至らないことが多い。そこで、これらの菌株を識別することを目的に、VNTR解析領域を追加して検討を行ったので、その結果も報告する。

## 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。

## 2.2 方法

## 2.2.1 結核菌DNAの抽出

QIAamp DNA Micro を用いて、DNA テンプレートを作製した。

## 2.2.2 VNTR解析

前田ら（2008）が報告したJapan Anti-Tuberculosis Association (JATA) (12)-VNTR分析法に従った。VNTRプロファイルが一致した場合は、JATA (12)-VNTR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。

## 2.2.3 最大事後確率推定法による遺伝系統解析

Seto, et al. (2015) の方法に従い、VNTRプロファイルから遺伝系統を推定した。

## 2.2.4 クラスタ分析

プロファイルが全領域一致した菌株同士を同一クラスタとし、JATA(12)、JATA(15)、JATA(15)+HV 領域それぞれでのクラスタ形成率を比較した。

## 3. 結果と考察

222株中でVNTRプロファイルが一致したのは、JATA(12)-VNTR法では58株23組（5株2組、4株1組、3株4組、2株16組）であった。また、最大事後確率推定法による遺伝系統解析の結果から、北京型が150株（67.6%）、非北京型が72株（32.4%）であった（表1）。北京型株を系統分類すると、新興型が27株（18.0%）、祖先型が123株（82.0%）であり、祖先型はさらに4つの遺伝系統に分類され、ST3、ST25/19、STK、ST11/26の順に多かった（表2）。

北京型株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、薬剤耐性との関連性もあり、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、秋田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。また、遺伝子型についても、東アジアの他国とは異なり国内では北京型株の8割を祖先型が占める、という傾向も同様であった。祖先型のうち、県内で最も多く分離されているST3は、多剤耐性結核になりやすいという報告もあり、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。

次に、解析領域の追加によるクラスタ形成率の比較を行った。JATA (15)-VNTR法では44株18組（4株2組、3株4組、2株12組）、JATA (15)-VNTR+HV法では22株10組（4株1組、2株9組）であった。解析する領域を追加することでクラスタ形成率が減少し、識別能が高くなった。さらに、遺伝系統ごとの各VNTR法のクラスタ形成率を比較すると、北京型は28.0%から6.7%に大きく減少したが、非北京

型のクラスター形成率はJATA(15)-VNTR法ではまったく変わらず、HV領域での違いのみで、それほど減少しなかった(表3)。

今回の解析から、JATA(12)-VNTR法で一致するプロファイルが得られた場合には、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。結核統計によると、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。高齢者の場合、過去に受けた感染が内因性再燃により発症することもあるため、患者の発生は今後も継続することが想定される。その際、早期の受診や診

断のほか、分離された菌株の分子疫学解析を実施することで迅速に関連性を見いだすことが、新たな患者の発生を抑えることにつながると考える。

今後は、JATA(15)+HV法でクラスターを形成した株については、本データを科学的根拠として還元し、疫学調査に活用してもらいたい。また、管轄する保健所の結核担当者とも連携し、可能な範囲でさらなる調査を行い、感染経路の解明につなげていきたい。

表1 北京型・非北京型の割合

遺伝子型	北京型	非北京型
株数	150	72
(%)	67.6	32.4

表2 北京型株の系統分類

遺伝子型別	新興型		祖先型		
	Modern	ST11/26	STK	ST3	ST25/19
株数	27	8	33	45	37
(%)	18.0	5.3	22.0	30.0	24.7

表3 各VNTR法によるクラスター形成率

VNTR法	計(n=222)			非北京型(n=72)			北京型(n=150)		
	クラスター数	クラスター形成株数	クラスター形成率(%)	クラスター数	クラスター形成株数	クラスター形成率(%)	クラスター数	クラスター形成株数	クラスター形成率(%)
JATA(12)	23	58	26.1	6	16	22.2	17	42	28.0
JATA(15)	18	44	19.8	6	16	22.2	12	28	18.7
JATA(15)+HV	10	22	9.9	5	12	16.7	5	10	6.7

#### 4. まとめ

- ・秋田県内における結核菌株は、北京型が67.6%、非北京型が32.4%であった。
- ・北京型のうち、祖先型が8割を占め、多剤耐性化しやすいST3型の分離頻度が高かった。

- ・解析領域を追加することで識別能が高くなった。この解析結果の活用、疫学調査の実施により、感染経路等の解明につなげたい。

## 平成29年度（第12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）

## 秋田県で流通している市販生カキからのノロウイルスの検出状況

秋野和華子 柴田ちひろ 藤谷陽子 佐藤寛子 斎藤博之 野田 衛<sup>\*1</sup>

## 1. はじめに

ノロウイルス（NoV）等の胃腸炎ウイルスが検出される食中毒事例では、二枚貝が原因食品と推定されるケースがある。二枚貝は、下水処理を潜り抜け生育海域に流れ出たNoVを、餌であるプランクトンとともに消化器官である中腸腺に取り込み蓄積すると考えられている。そのため、NoVの流行期である冬場に旬を迎えるカキ（マガキ）の生食または加熱不十分な状態での喫食は、NoVによる食中毒を引き起こす要因となっている。当センターでは冬季に流通するカキの汚染状況を把握するため、秋田県内で市販されている生カキについて、NoVの検出および遺伝子解析を行ってきた。今回は、平成26～28年度に調査した検出結果について報告する。

## 2. 材料と方法

## 2.1 材料

秋田市内で市販されている国産の生食用カキについて、平成27年は1月（3海域）、平成28年は1月（4海域）、2月（1海域）、10月（1海域）、11月（1海域）および12月（2海域）、平成29年は1月（3海域）、2月（2海域）および3月（2海域）に購入し、検査材料とした。また、平成28年1月、平成29年1月～3月の生カキについては、パックに充填されている浮遊液の検査も行った。

## 2.2 方法

## 2.2.1 生カキからのウイルス検出

厚生労働省通知法（平成19年5月14日付け食安監発第0514004号）「貝の中腸腺を用いた方法（超遠心法）」に準じ濃縮を行い、核酸を抽出した。その後、RT-PCRを行い、陽性検体の一部についてはcapsid N/S領域遺伝子を増幅し、ダイレクトシーケンスにて塩基配列を決定した。

## 2.2.2 浮遊液からのウイルス検出

無菌的に浮遊液を採取した後、超遠心法を用いて濃縮を行い、核酸を抽出した。陽性検体については生カキの場合と同様の手順で塩基配列を決定

した。

## 3. 結果と考察

市販生カキからのNoV検出状況を表に示す。平成26年度は、これまでほとんど検出されていなかったGII.17が3海域すべてから検出された。同時期、本県においてカキが原因と推定された集団食中毒が多発しており、食品検体として搬入された生カキからもGII.17が検出されている。平成27年度も1月、2月に購入した市販生カキから、平成26年度に引き続きGII.17が多く検出された。平成26年度、平成27年度ともに、本県では1月以降に感染症発生动向調査および食中毒・集団感染事例においてGII.17の検出数が多くなっている。このことから、県内で流通した生カキの喫食が契機となりGII.17の感染および不顕性感染を引き起こされていた可能性も考えられた。平成28年度は、県内で生カキが店頭に並び始めた10月～3月にかけて継続的に検査を実施し、検出の推移を確認した。その結果、12月にNoVが確認されて以降3月に至るまで検出が続いた。検出された遺伝子型の多くは、GII.2であった。GII.2は平成28年度9月以降、全国的に患者数が増加しており、本県における感染症発生动向調査および集団感染事例においても10月以降に多く検出されている。産地の海域周辺においても本県同様に流行が始まり、カキの汚染につながっていったものと考えられる。また、1月～3月の生カキからは、平成26年度、平成27年度の冬季に多く検出されたGII.17も確認されたが、この遺伝子型は平成28年度において本県での胃腸炎患者由来の検体からはほとんど検出されていない。しかし、流行の再燃も危惧されることから、今後の動向に注視する必要があると考えられた。

小児の感染性胃腸炎や施設等の集団感染事例および調理従事者を介した食中毒事例などでは、GIIまたはGIの遺伝子型が単独で検出される場合が多いことに対し、カキ等二枚貝が関与する食中毒事例では、遺伝子型が複数同時に確認される頻度が高い。この原因として、海水に拡散している多種のNoVを取り込んだ二枚貝の喫食が考えられて

\*1国立医薬品食品衛生研究所

いる。今回の調査においても同一検体からGIIとGIの遺伝子型が同時に検出されており、その疫学的傾向を裏付ける結果となった。

平成27年度、平成28年度に実施した浮遊液の検

査では、2パックからNoVが検出された。このことは、調理時における汚染拡大の原因となり得る危険性を示唆しており、注意喚起を促すひとつのデータとして重要であると考えられる。

表 市販生カキからのノロウイルスの検出状況

年度	購入月	検体番号	採取海域	ノロウイルス遺伝子型		
				GII	GI	浮遊液
平成26年度	1月（平成27年）	1	A	GII. 3、GII. 17	GI. 2、GI. 5	NT
		2	C	GII. 17	GI. 2	NT
		3	I	GII. 17、GII. 21	GI. 2	NT
平成27年度	1月（平成28年）	4	B	GII. 17	GI. 2、GI. 4	GII. 17
		5	J	(-)	GI. NA	(-)
		6	D	GII. 17	(-)	(-)
		7	H	GII. 3、GII. 17	(-)	(-)
	2月（平成28年）	8	A	GII. 4、GII. 17	GI. 2、GI. 4	NT
平成28年度	10月（平成28年）	9	C	(-)	(-)	NT
	11月（平成28年）	10	C	(-)	(-)	NT
	12月（平成28年）	11	C	GII. 2	(-)	NT
		12	A	GII. 3	(-)	NT
	1月（平成29年）	13	C	GII. 2	(-)	(-)
		14	E	GII. 2	GI. 2	(-)
		15	A	GII. 17	GI. 2	(-)
	2月（平成29年）	16	F	GII. 2	(-)	(-)
		17	A	GII. 2、GII. 17	GI. 4	(-)
3月（平成29年）	18	G	GII. 2	(-)	(-)	
	19	B	GII. 17	(-)	GII. 17	

NA : Not assigned (型別不能)      NT : Not tested (未実施)

#### 4. まとめ

今回、市販生カキからNoVが高頻度に検出され、冬場の生カキにおけるウイルス汚染の実態が明らかになった。冬季に市販される生カキはすべて県外産であり、他地域で流行しているNoVがカキの流通とともに県内に入り、感染拡大の起因となっている可能性が考えられる。このことから、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る。また、生カキの浮遊液からNoVが検出されたことは、食品の取り扱いにおいても重要な結果であり、今後もデータを蓄積しながら、感染予防に向けての啓発や注意喚起に役立てていく必要があると考えられた。

## 平成29年度（第12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）

## 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

齋藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 清水優子\*1 牛島廣治\*1 野田 衛\*2

### 1. 背景と目的

2016年の食中毒統計によると、全国で1年間に20,253人が食中毒による健康被害を受けており、その内56%に相当する11,397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1,140例の約3割に相当する354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の実験室内における培養法は、2016年8月にベラー医科大学（テキサス）のグループによって発表されたものの普及には至っていないため、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<sup>1,2,3</sup>。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（IgG）が含まれているガンマグロブリンを用いることで、NoVのみならず、サポウイルス、A型肝炎ウイルス、アデノウイルス41型などの回収に汎用できる可能性がある。一方、2014～2015年にかけて、これまでに流行の見られなかった遺伝子型であるNoV GII.17による食中毒事例が多発した。ガンマグロブリンは過去の流行に由来する様々な抗体の集積であると考えられるならば、捕捉抗体としての有効性を再検討する必要がある。具体的には次の点が危惧された。

- ①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混合物であるから、NoV GII.17に対する抗体は含まれていないのではないかな？
- ②パントラ法は NoV GII.17 による事例に使用できるのかな？

本研究では、これらの懸念を払拭し、食品のウイルス検査を円滑に実施するために、NoV GII.17に対するガンマグロブリンの有効性を再評価し、実事例に適用した場合の検討を行った。

### 2. 方法

ガンマグロブリンはヒトからの供血を原料として製造されるため、基礎的データとして、NoVに感染した際の免疫応答（抗体産生動態）について検討する必要がある。本研究で検討した症例は、現在 52 歳男性（血液型は A 型、分泌型）で、過去に NoV GI.4 に 1 度（2009 年 1 月 25 日）、NoV GII.4 に 2 度（2006 年 12 月 6 日と 2012 年 12 月 14 日）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（NoV GII.17、 $7.13 \times 10^{11}$  コピー/g）。8 月 10 日、固形便排泄（ $5.49 \times 10^{10}$  コピー/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。これらの血清と、2011 年 12 月 14 日と 2012 年 12 月 27 日に採取された保存血清について、NoV GI.3, GI.4, GII.3, GII.6, GII.17 で作製した VLP（人工抗原）を用いて ELISA を行い、IgG を測定した。

次に食品洗滌液 50 mL 中に  $1.00 \times 10^4 \sim 2.01 \times 10^6$  コピーの NoV GII.17 を添加し、ガンマグロブリンを捕捉抗体としたパントラ法による回収率を検討した。また、ポテトサラダと焼きそば、各 10 g に NoV GII.17 を添加した模擬検体からの回収試験も

\*1 日本大学医学部微生物学教室 \*2 国立医薬品食品衛生研究所

合わせて行った。

さらに、ポテトサラダと焼きそばを様々な濃度の NoV GII.17 で汚染させた模擬検体について、実事例で用いられることが多い nested real-time PCR (2重 PCR) による検出限界を求めた。

実事例として、2017年1月25～26日に和歌山県御坊市で発生した学校給食が原因の食中毒事例から、磯和え3検体を入手してNoVの検出を試みた。

### 3. 結果

症例検討では、2011年に採取した血清の抗体価を基準にして、2015年8月24日に採取した血清の抗NoV GII.17 IgGは8倍以上の上昇が認められた。加えて、抗GI.3, GII.3, GII.4 IgGについても4倍以上の上昇が認められた。逆のケースとして、2012年12月14日にNoV GII.4に感染した際に、GII.4のみならず、GII.3とGII.17の抗体も上昇していた。

食品洗浄液50 mLからのNoV GII.17の回収率は、 $2.01 \times 10^6$  コピーを添加した場合で3.61%、 $1.46 \times 10^5$  コピーを添加した場合で5.34%、 $1.01 \times 10^4$  コピーを添加した場合で10.6%であった。ポテトサラダ10gにNoV GII.17を $1.43 \times 10^6$  コピーを添加した場合の回収率は7.35%、焼きそばに $1.32 \times 10^6$  コピーを添加した場合においては5.04%であった。Nested real-time PCRを用いた場合、ポテトサラダと焼きそばともに、35コピー/gの汚染まで検出することができた。

実事例で入手した磯和え3検体は、ハウレンソウ、モヤシ、チクワ、ノリを食材として調理されていたが、ノリの含有量が最も多いロットから本法を用いてNoV GII.17を検出することができ、遺伝子配列は患者のものと同じであった。

### 4. 考察

現在パントラ法の捕捉抗体として用いられているガンマグロブリンは、過去の流行ウイルスに対する抗体の集積であるものと考えられている。それゆえ、多くの種類のウイルスに対して汎用できることが期待されるが、NoV GII.17のように突如として流行が拡大したウイルスに対しては、その抗体が含まれていないことが懸念された。本研究では、最初に感染者の保存血清を利用して、様々な遺伝子型のNoVに対する抗体の推移について検討した。NoV GII.17に感染した場合、そのウイルスに対する抗体は当然の

ごとく上昇するが、GII.3やGII.4に対する抗体も同時に上昇していた。逆のケースとして、NoV GII.4に感染した際の免疫応答についても検討したが、GII.3とGII.17に対しても抗体上昇が見られた。感染日は2012年12月14日であるから、GII.17の流行が拡大した2014年よりも2年前の時点になる。以上のことから、過去に何度も大規模な流行が起こったGII.4に感染した際に、同時にGII.17の抗体も誘導され、それはすでにガンマグロブリンにも含まれているものと推察される。

ガンマグロブリン中にすでにNoV GII.17に対する抗体が含まれていることが期待できるため、パントラ法による添加回収試験を行ったところ、低濃度になるにつれて回収率が上昇傾向にあることがわかった。多くのウイルス性食中毒事例は、微量のウイルスによる汚染に起因しているため、低濃度になるにつれて回収率が高くなるという結果は、ガンマグロブリンが有用であることを支持するものである。低濃度汚染領域において一般的な検出手法とされる nested real-time PCRによってNoV GII.17検出限界を検討したところ、ポテトサラダと焼きそばにおいて35コピー/gまで検出できた。この結果は、本法の原著<sup>1,2)</sup>においてNoV GII.4を供試ウイルスとして用いて得られたものと同じであり、実事例のような微量の汚染検体に用いても差し支えないことを示している。

和歌山県御坊市の食中毒事例で入手した磯和え3検体中1検体から本法を用いてNoV GII.17を検出したが、その調理ロットはノリの含有量が最も多いものであった。その後、東京都立川市の別事例によって刻み海苔が原因であることが明らかとなったが、一連の事態解決の嚆矢となった事例で本法が用いられたことは意義深いものと考えられた。

### 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**, 1, 2012, 32-37.
- 2) Hiroyuki Saito et. al.: Development of a practical method to detect noroviruses contamination in composite meals, Food and Environmental Virology, **7**, 3, 2015, 239-248.
- 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), 2015, 607-617.

平成29年度（第12回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

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用促進因子の探索に関する研究（平成28～30年度）

産業廃棄物処分場における新規規制物質1,4-ジオキサンの生物処理について

中村淳子 佐藤 哲 村山力則 小林貴司

1. はじめに

1,4-ジオキサンは、平成21年11月に公共用水域および地下水の環境基準(0.05 mg/L以下)が、平成24年5月に排水基準 (0.5 mg/L以下) が設定された新規規制物質である。1,4-ジオキサンは、環境中で難分解性であり、水にも溶剤にも無制限に溶解するため、一般的な水処理施設での処理は難しいとされていたが、県内の産業廃棄物処分場の廃水処理施設において、特異的に効率良く処理されていることが確認されている。本発表では、この廃水処理施設の1,4-ジオキサンの処理状況および生物処理槽に存在する1,4-ジオキサン分解菌について報告する。

2. 調査方法

調査対象の産業廃棄物処分場では、浸出した汚水を3カ所の水処理施設において浄化処理し、下水道へと放流している。3つの水処理施設の処理方式は生物処理工程で大別するとA（好気条件のみ）、B（嫌気-好気）、C（生物処理なし）と異なっているため、それぞれの水処理施設において各処理工程での1,4-ジオキサン濃度を調査した。また、平成16年からこれまでに調査した水処理施設への流入水と処理水および下水道放流水（処理水A+B+Cの混合）中の1,4-

ジオキサン濃度の測定結果をまとめ、産業廃棄物処分場での処理状況を評価した。

さらに、生物処理槽に存在する1,4-ジオキサン分解菌を把握するために、次世代シーケンサーによる遺伝子解析を行った。

3. 結果と考察

3.1 各処理工程における1,4-ジオキサン濃度について

図1にA,B水処理施設（以下、施設とする）の各処理工程での1,4-ジオキサン濃度変化を示す。流入水温が19.5℃のA施設10月の調査では、好気的な生物処理工程において1,4-ジオキサンが急激に減少していた。水温が低下するA施設1月の調査では、生物処理槽、砂ろ過および活性炭処理工程での減少は認められなかった。一方、加温設備を有するB施設では、10月と1月の調査時の生物処理槽の水温は17.8～21℃とほぼ同温であり、1,4-ジオキサン濃度は嫌気槽で約1/2まで、好気槽で1/10まで減少する同様の傾向を示した。B施設では好気槽の水の1/2程度を嫌気槽に返送しているため、B施設でも好気槽でのみ処理されていると考えられ、A,B施設ともに1,4-ジオキサンは好気的な細菌により分解処理されているものと考えられた。

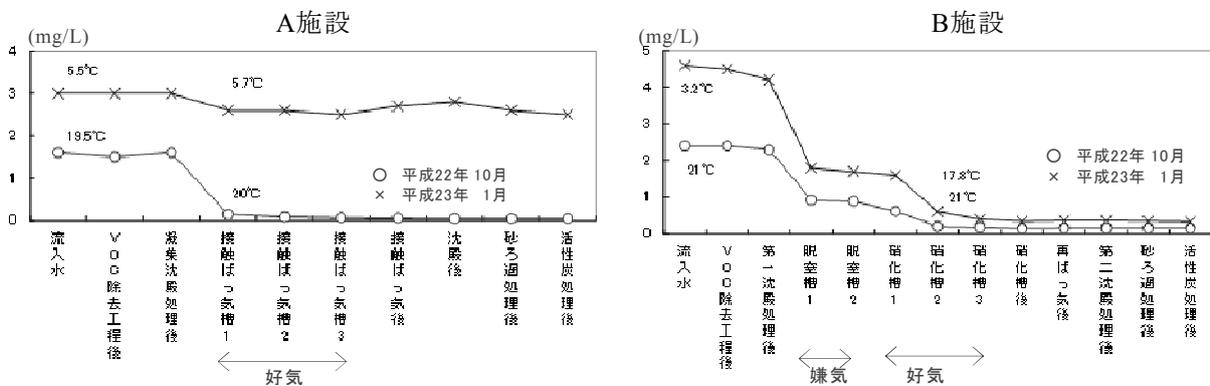


図1 各処理工程での1,4-ジオキサン濃度  
(図中の温度は処理水の温度を示す)

### 3.2 産業廃棄物処分場の1,4-ジオキサン処理状況

図2に平成16年5月から平成29年3月までの各水処理施設の流入水と処理水の1,4-ジオキサン濃度について示した。1,4-ジオキサンの安定した処理を実現するためにこの期間に行った対策は、①生物処理工程が無いC施設には高濃度1,4-ジオキサンが流入しないように配管を変更したこと（平成22年7月）、②加温設備を有していたB施設で冬期間の加温を開始したこと（平成22年11月）、③加温設備が無かったA施設に加温設備を新たに設置したこと（平成25

年2月）である。平成16年からこれまでにA,B施設に流入している1,4-ジオキサン濃度を見ると、1.0～7.6 mg/Lと比較的安定して水処理施設に供給されている。C施設へ流入する1,4-ジオキサン濃度は、配管変更後にはほぼ排水基準値以下となっている。

A,B施設の処理水中1,4-ジオキサン濃度は、対策前0.05～7.1 mg/Lと不安定であったが、加温設備設置後には冬季の処理も可能となり、年間を通じて安定した処理状況となっている。

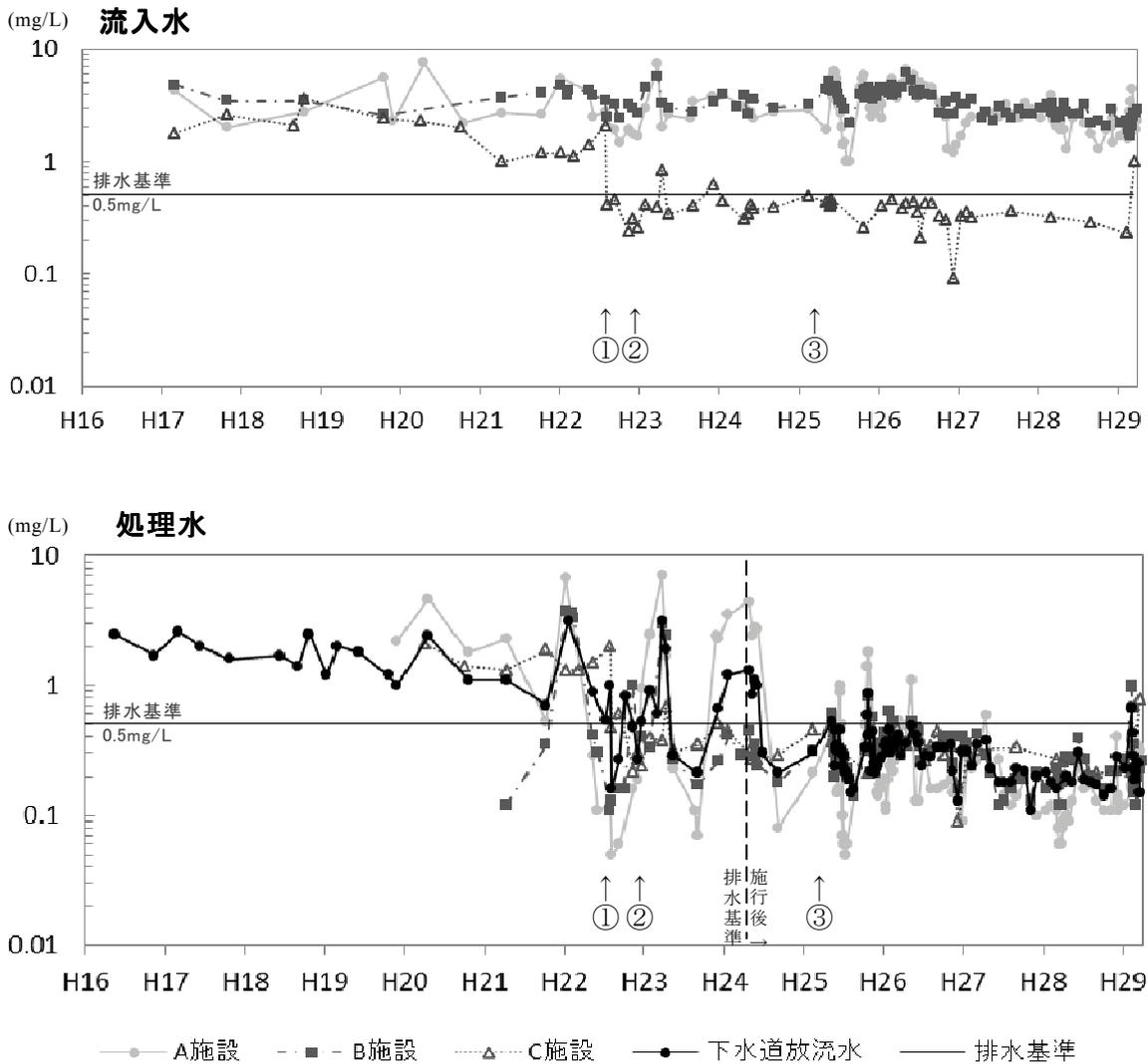


図2 各施設の流入水と処理水の1,4-ジオキサン濃度

### 4. まとめ

県内の産業廃棄物処分場において、廃水処理が難しい1,4-ジオキサンの効率の良い安定した処理が実現している。遺伝子解析の結果からは、

数種の1,4-ジオキサン分解菌が確認されており、現在はこれらの菌の単離・培養試験を行い、特性を評価しているところである。

平成29年度（第12回）秋田県健康環境センター研究発表会抄録

環境放射能水準調査・福島原子力発電所事故に伴うモニタリング調査

食品等の放射能検査の概要と近年の結果について

村山力則 佐藤由衣子 小川千春

1. はじめに

当センターは国の環境放射能水準調査機関の一つとして、日常生活に関する環境試料等の放射能を測定し、放射能の分布及び生活環境の放射能レベルについて調査を行っている。また、2011（平成23）年3月に発生した福島原子力発電所事故後、県内で生産もしくは流通する農水産物等の安全確保のため、県独自の放射能モニタリング調査を行っている。今回は、当センターが取り組んでいるこれら放射能に関わる調査の概要と、近年の県内における放射性物質検査の結果について報告する。

-131, Cs（セシウム）-134 及び Cs-137 といった、多数の核種を同時に検出、測定することが可能である。また空間放射線量率は県内6ヶ所に設置しているモニタリングポストにより大気中の空間放射線（ガンマ線）を24時間リアルタイムで常時監視している。

表1 2016年度秋田県における放射能水準調査項目

調査項目	試料名	種別	採取場所	採取回数等	件数	
全ベータ放射能	定時降水	雨水	当センター屋上	降雨毎	153	
ガンマ線核種分析	大気浮遊じん	ちり	当センター屋上	3ヶ月毎	4	
	降下物	雨水・ちり		毎月	12	
	陸水	蛇口水	当センター入口	年1回(7月)	1	
		河川水		年1回(7月)	1	
	土壌	0～5cm	秋田市	年1回(10月)	1	
		5～20cm		年1回(10月)	1	
	牛乳		鹿角市	年1回(8月)	1	
	野菜	キャベツ		三種町	年1回(11月)	1
		精米		三種町	年1回(11月)	1
		大根		大仙市	年1回(11月)	1
海産生物	アカモク	男鹿市	年1回(5月)	1		
相互比較分析試料 (標準試料)	標準牛乳	(財)日本分析センターで調製		年1回(8月)	1	
	模擬土壌			1		
	寒天			5		
モニタリング強化 (北朝鮮核実験)	大気浮遊じん 定時降水	雨水・ちり	当センター屋上	H28.9.9～9.10	8日間	
空間放射線量率	モニタリングポスト		秋田市、鹿角市、能代市、 由利本荘市、大仙市、湯沢市	随時	365日 ×8地点	
モニタリング強化 (福島第一原発事故)	サーベイメーター		当センター入口前	毎月	12	

2. 環境放射能水準調査

2.1 経緯

1950～1960年代はアメリカと旧ソ連、1960～1970年代は中国による大気圏内核実験が行われ、相当量の放射性降下物（フォールアウト）が大気によって日本へ飛来した。秋田県は1954

（昭和29）年から独自に雨水・地下水・河川水等の放射能測定を行っており、1961（昭和36）年には科学技術庁（当時）から放射能水準調査を委託され、現在も調査を継続している。また、チェルノブイリ原子力発電所事故、北朝鮮核実験及び原子力発電所事故発生時などの緊急時においては、監視体制を強化し、降下物、大気浮遊じんといった核種分析の結果を毎日国へ報告している。

2.2 調査項目、調査対象

秋田県における調査項目及び調査対象は、表1のとおりである。

全ベータ放射能はベータ線測定装置により、試料に含まれるベータ線の総量を測定する。試料中の放射性核種を判別することはできないが、放射能を簡易に、かつ、迅速に知ることが可能である。ガンマ線核種分析はゲルマニウム半導体検出器を使用し、試料中のガンマ線を放出するI（ヨウ素）

2.3 調査結果

図1に1964年から2016年3月までの降水中の全ベータ放射能測定結果を示した。1960～70年代にかけて散発的に認められる高い値は、中国が1964年から1980年にかけて実施した核実験で生成した放射性物質が、数日かけて日本に到達し、降雨と共に降下したためと考えられる。秋田県内で、その最大値は1976年9月29日に観測された1,956 Bq/L（第19回核実験：実施日9月26日）であった。また、1986年4月に発生したチェルノブイリ原発事故後には、翌月県内において439 Bq/Lが検出された。図2は2011年3月に発生した福島原子力発電所事故緊急対応時の定時降水の核種分析の結果である。この期間、降水中の全ベータ放射能測定は、核種分析へと変更されており、県内では降雨とともに放射性核種が検出され、4月28日にI-131が89 Bq/L、Cs-134が92 Bq/L、Cs-137が76 Bq/Lといずれも最大であったが、5月以降は

検出されなかった(2011年12月末まで実施)。  
 その他の調査項目の秋田県内における環境放射能レベルは、現在、一部の試料でチェルノブイリ原発事故及び福島原子力発電所事故により放出されたと思われる放射性セシウムが検出されるが、ごく微量である。

2.4 まとめ

放射能水準調査を継続することで、平常時の放射能レベルを把握し、核実験や原子力発電所事故等の緊急時の影響を的確に捉えることができた。今後とも関係機関と連携し、平常時の調査を実施するとともに、緊急対応に伴う環境放射能の監視を継続する予定である。

3. 食品安全確保のための福島原子力発電所事故に伴うモニタリング調査

3.1 調査について

平成23年3月の福島原子力発電所事故発生後、緊急の流通食品等に対する放射性核種検査が行われ、平成23年度から計画的なモニタリング調査が開始された。このうち、食品に関しては、主に県生活衛生課や県農林水産部(農業経済課、畜産振興課、水田総合利用課)からの依頼検査等により、県内産および県内流通食品についてゲルマニウム半導体検出器による放射性核種(I-131, Cs-134, Cs-137)検査を実施している。

表2-1 福島原子力発電所事故に伴うモニタリング調査結果(平成23~28年度集計)

検体種類	検体数	基準値超過
乳製品	175	0
肉類	334	0
農産物	625	0
山菜	185	3
きのこ	144	0
水産物	116	0
加工食品	25	0
水道水	170	0
合計	1,774	3

3.2 調査結果

表2-1は平成28年度までの検査結果である。総検体数1,774件のうち食品衛生法の規定に基づく一般食品中の放射性セシウム基準値(100

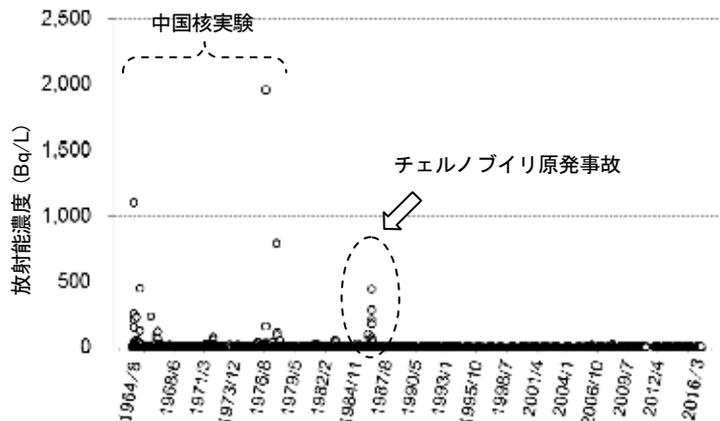


図1 降水中の全ベータ放射能測定結果

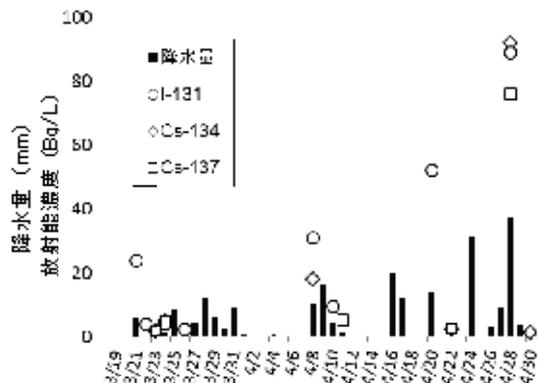


図2 福島原子力発電所事故における放射性核種の検出状況(2011年)

表2-2 基準値を超過した検体一覧

年度	検体種別	採取場所	測定値 Cs合計値
平成25年	野生山菜	県南	110 Bq/kg
平成26年	野生山菜	県南	120 Bq/kg
	野生山菜	県南	110 Bq/kg

※基準値：放射性セシウム合計 100Bq/kg

Bq/kg)を超過した検体は3件で、平成25年度に1件、平成26年度には2件であった(表2-2)。いずれの検体も県南で採取された野生山菜であり、放射性セシウムの合計値は最大120 Bq/kgであった。

3.3 まとめ

平成27年度以降、県内産および県内で流通している食品検体で、一般食品中の放射性セシウム基準値を超過した検体はなかった。しかしながら今後も本県の食の安全安心を確保するため関係機関と連携し、継続して検査を行う予定である。

平成29年度健康環境センター業務研究発表会

特定湖沼等環境保全事業

十和田湖の水質の変遷について

伊藤 悠

1. はじめに

十和田湖は、秋田・青森両県にまたがる二重カルデラ湖である。湖面標高は400 m、最大水深は日本第三位の327 mとなっている。主な流入河川は数カ所あるが、流出河川は奥入瀬川の1カ所のみであることが特徴である。また、青楓取水口では、発電のために湖内の水を取水する場合と、湖内水位を確保するために周辺河川から導水する場合がある。

十和田湖湖心の透明度の年平均値は、昭和60年度までは12 m程度で推移していたが、以降は低下傾向となり、平成12年度には7.1 mを記録した。また、これと呼応するように、水質汚濁の指標とされる化学的酸素要求量 (COD) が上昇し、環境基準 (75%値で1 mg/L以下) を達成できない状況が続いている。さらに、水産資源であるヒメマスについて、年度によって豊漁と不漁の差が大きくなったのも昭和60年以降である。これらの事実を受け、水質の改善及びヒメマスの資源量回復を目的に、秋田・青森両県は、平成13年に「十和田湖水質・生態系改善行動指針」(以下、指針)を策定した。本発表では、秋田・青森両県で実施している公共用水域調査及び指針に基づく定点層別調査から得られたデータをまとめ、十和田湖の水質の変遷と現状について報告する。

2. 調査

公共用水域調査では、湖心と子ノ口を環境基準点、その他の7地点を補助点として、各地点表層及び5 m層の調査を実施している。調査回数は、4月から11月までの年8回であり、秋田・青森両県で分担している。調査項目は、pHやCOD等の「生活環境項目」、重金属類等の「健康項目」、透明度やクロロフィルa (以下、Chl-a)等の「その他項目」である。

定点層別採水調査では、湖心よりやや西寄りの定点において、0 mから85 mまでの8層で調査を実施している。調査回数は、5、6、8、9月の年4回であり、秋田・青森両県で分担している。調査項目は、生活環境項目及びその他項目である。

今回はCODと透明度、Chl-aに着目した。

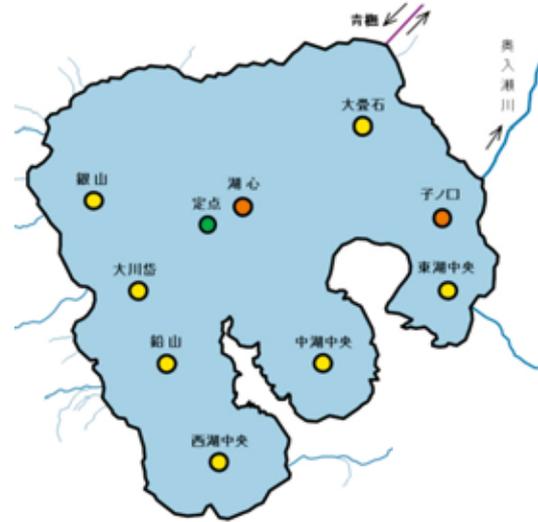


図1 水質調査地点図

3. 結果及び考察

3.1 COD75%値の経年変化

湖心及び子ノ口におけるCOD75%値は、昭和60年度までは概ね環境基準 (1 mg/L) 以下で推移していた(図2)。しかし、昭和61年度に環境基準を超過して以降、やや上昇傾向が見られる。近年では、1.5 mg/L程度で推移しており、平成28年度の湖心及び子ノ口のCOD75%値は1.4 mg/Lだった。平成3年度には下水道の供用が開始され、平成28年度末には接続率は約90%となっている。これにより、人為的負荷の削減は図られてきているものの、CODの有意な改善は見られていない。

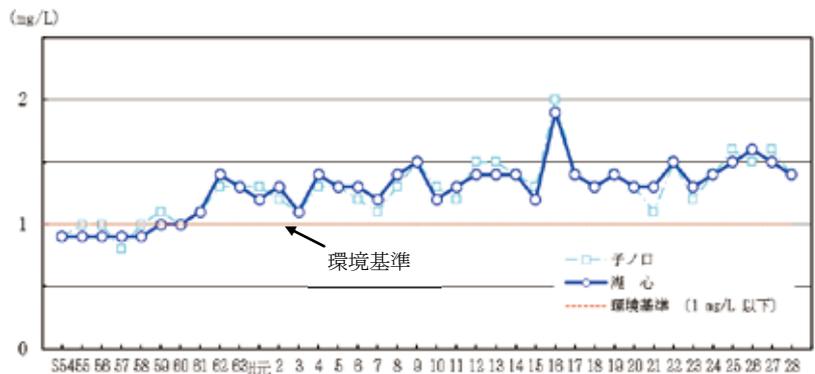


図2 十和田湖(湖心及び子ノ口)のCOD75%値の経年変化

### 3.2 透明度とChl-aの経年変化

湖心における透明度と、植物プランクトンの指標とされるChl-aの年平均値の関係を、図3に示す。

透明度について、指針では目標値を12 m以上と定めており、平成27年度には12.1 mと、30年ぶりに透明度12 mを上回り、平成28年度には12.8 mを記録した。また、図3より、透明度が高い年度にはChl-aが低くなる傾向が見られる。高村らの報告<sup>1)</sup>によると、ナノプランクトンを含む多くの粒子が利用されないまま残った場合、透明度が下がるとのことである。このことより、植物プランクトン等の細かい粒子が湖内に多く存在するときには、透明度が低下するものと考えられる。

また、透明度とハリナガミジンコの個体数密度<sup>2)</sup>の経年変化を図4に示す。ハリナガミジンコが多く出現する年度には透明度が上昇する傾向にある。ハリナガミジンコは、広い範囲のサイズの懸濁体粒子を高い効率で濾食することが報告されており<sup>1)</sup>、透明度の上昇は、この動物プランクトンが多く出現し、植物プランクトン等の懸濁体粒子を濾食したことが、要因の一つであると考えられる。

### 3.3 定点層別採水調査における水温及びCODの値

平成28年度における定点層別採水調査の水温データ及び平成24年度から平成28年度までの層別CODの平均値を図5に示す。水温について、5月は表層から深層まで水温がほぼ一定となり、湖内が循環する時期となっている。6月以降は水深10 mから20 mに水温躍層が形成されていた。また、CODについて、水深5 m層で最も高い値となり、約1.5 mg/Lであった。水深30 m以深では、約1.2 mg/Lと、表層と比較して低い値を示した。

## 4. 今後の課題

近年、透明度は指針の目標値12 mを達成したが、COD75%値は有意な改善傾向が見られず、環境基準値及び指針の目標値を達成できていないため、今後は原因究明に向けた調査・研究が必要であると考えられる。

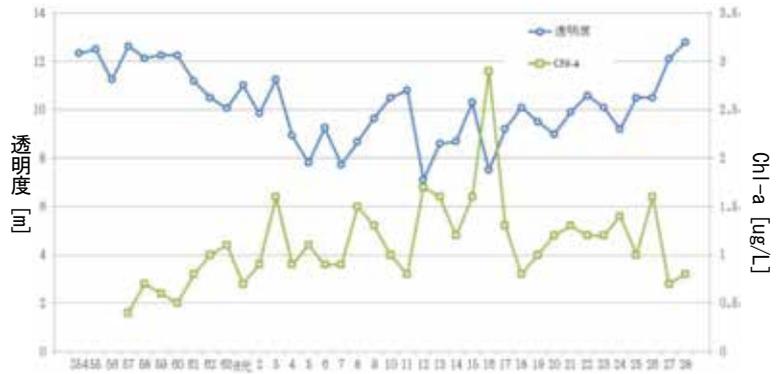


図3 十和田湖（湖心）の透明度とChl-aの経年変化



図4 十和田湖（湖心）における透明度とハリナガミジンコの個体数密度の経年変化<sup>2)</sup>

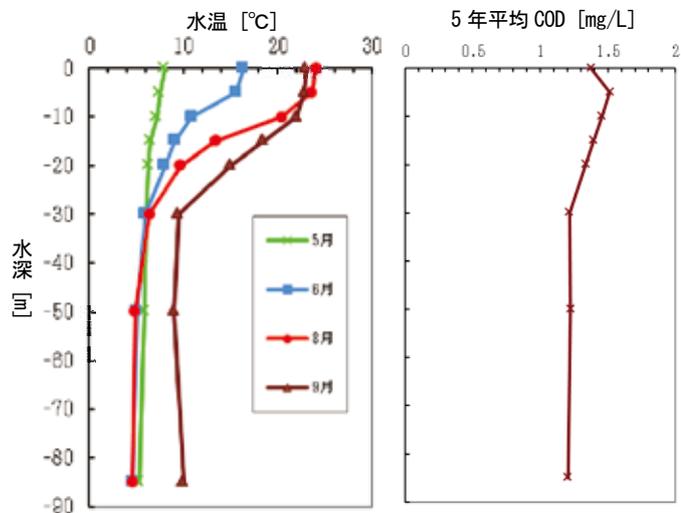


図5 平成28年度の層別の水温（左）及び過去5年間のCODの平均値（右）

### 参考文献

- 1) 高村典子, 他: ワカサギの導入に伴う十和田湖の生態系の変化について, 国立環境研究所研究報告, 146, 1999, 1-15.
- 2) 秋田県水産振興センター: 十和田湖のヒメマスの増殖・管理手法, 秋田県水産振興センター業務報告書, 昭和56年度～平成27年度.

平成29年度秋田県保健環境業務研究発表会

## 食品中の残留農薬一斉分析法の開発と検査結果について (平成26年度～28年度)

櫻庭香織 今野祿朗 宇賀神理奈 松渕亜希子 珍田尚俊\*1 天明さおり\*2

### 1. はじめに

平成18年に食品中に残留する農薬の規制にポジティブリスト制度が導入され、原則全ての食品の全ての農薬について、基準値を設定するかまたは基準値が定められていない場合は一律基準(0.01 ppm)を適用し規制することとなった。そのため、一律基準レベルの低濃度の農薬を、高精度かつ網羅的に検知する新たな一斉分析法が求められるようになり、規格基準への適合を判断するため妥当性評価試験を行うことが必須となった。当センターでは平成24年度から26年度にかけ新規の一斉分析法を開発し、妥当性評価試験を実施したり。また、新規分析法を用いて平成26年度より食品中の残留農薬検査を実施している。今回は、新規一斉分析法と妥当性評価試験の結果及び平成26年度から平成28年度に行った行政検査の結果について報告する。

### 2. 新規一斉分析法と妥当性評価試験について

#### 2.1 方法と材料

##### 2.1.1 方法

一斉分析に対応するためガスクロマトグラフ・タンデム質量分析計(GC-MS/MS以下GC)及び液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計(LC-MS/MS以下LC)を用いた分析法を検討した。

##### 2.1.2 対象農薬及び測定条件

対象農薬は、GCでは275項目、LCでは161項目(うち33項目重複)とした。

測定機器及び測定条件を表1に示す。測定条件は、各農薬の定量イオンの感度が最も良好であった条件とした。

##### 2.1.3 前処理法の検討

前処理の迅速化のために、迅速簡便法のQuEChERS法<sup>2)</sup>を基に、抽出、精製方法を検討した。

QuEChERS法：抽出と簡易な精製を同時に行うことが可能な前処理法で、**Quick**(迅速)、**Easy**(簡単)、**Cheap**(安価)、**Effective**(効果的)、**Rugged**(堅牢)、**Safe**(安全)の頭文字をつなげて命名された。

表1 測定機器及び測定条件

GC-MS/MS	LC-MS/MS
機器：GC (Thermo Fisher Scientific社製 TRACE GC Ultra) MS/MS(同社製 TSQ Quantum)	機器：LC (Agilent Technologies社製 Agilent1100) MS/MS (AB Sciex社製 API4000)
カラム：VF-5ms (内径0.25mm、長さ30m、膜厚0.25µm) +EZ-Guard10m	カラム：L-column2(内径2.1mm 長さ150mm、粒子径3µm)
昇温条件：70°C(3min)→30°C/min→160°C→2.5°C/min→200°C →8°C/min→310°C (10min) Total：45min	移動相：A液(0.01%ギ酸、0.5mM酢酸アンモニウム水溶液) B液(0.01%ギ酸、0.5mM酢酸アンモニウム含有メタノール)
注入方法：パルスレススプリットレス 注入温度：250°C 注入量：2µL	グラジエント：time(min)/B液(%)
流速：コンスタントフローモード 1mL/min	Postモード：0/10→1/60→3/60→5/75→12/95→20/95→20.5/10→30/10
イオン化モード：EI イオン化電圧：70eV イオン源温度：260°C	Negモード：0/10→1/70→4/70→10/95→15/95→15.5/10→25/10
トランスファーイオン温度：290°C 測定モード：Timed SRM	流速：200µL/min カラム温度：40°C 注入量：5µL
	イオン化条件：ESI Positive(P)/Negative(N)
	測定モード：Scheduled MRM
	イオン源温度：P 500°C N 400°C イオン源電圧：P 5kV N 4kV

\*1平鹿地域振興局福祉環境部

\*2秋田地域振興局福祉環境部

2.1.4 妥当性評価試験

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」<sup>3,4)</sup>に従い、妥当性評価試験を行った。

試料は、代表的な作物8種類（りんご、ほうれんそう、玄米、ねぎ、ばれいしょ、キャベツ、レモン、大豆）。添加濃度は2濃度（0.01ppm及び0.05ppm）。分析者3名が2濃度添加試料を1日2試行、2日間分析で行った。評価基準は、2濃度で真度（回収率70~120%）、併行精度（0.01ppm：25%未満、0.05ppm：15%未満）、室内精度（0.01ppm：30%未満、0.05ppm：20%未満）を満たした場合に適合とした。また、妨害ピークの有無、定量限界、検量線の精度についても確認した。

2.2 結果及び考察

前処理法の検討では、QuEChERS法を用い、GCとLCの抽出を共通化することにより、時間の短縮と効率化が実現した。精製は、GCとLCで別々の固相カラムを用いることでより精製効率を高めることができた。前処理法のフローを図1に示す。この分析法について妥当性評価試験を行った結果、GCでは、全ての試料で約8割の項目が評価基準に適合した。LCでは、ねぎ以外の7試料で約8割の項目が評価基準に適合し、ねぎは約6割にとどまった（図2）。LCの精製法では測

定を妨害するねぎ特有の夾雑成分を十分除去することができなかつたと推測された。そこで、分取量を半量にした20倍希釈試験溶液で添加回収試験（添加濃度：0.01ppm, 0.05ppm 各n=5）を行ったところ約8割の適合となり、改善がみられた。よって本分析法は残留農薬の一斉分析法として有用であると考えられた。

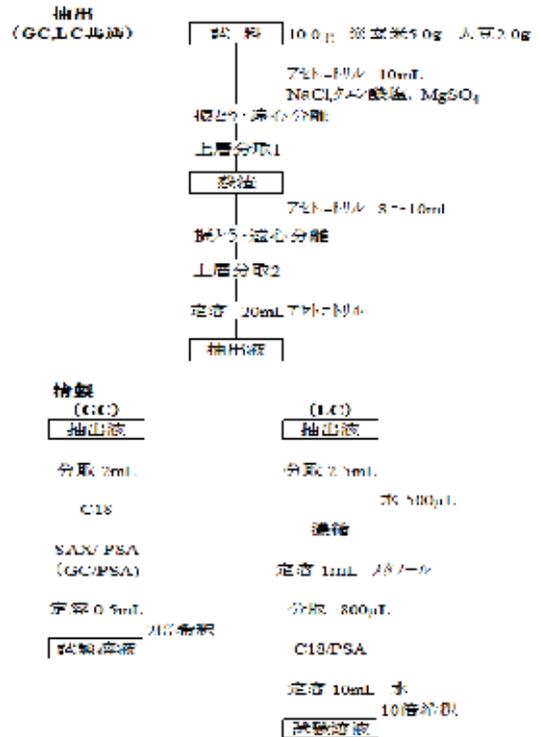


図1 前処理のフロー

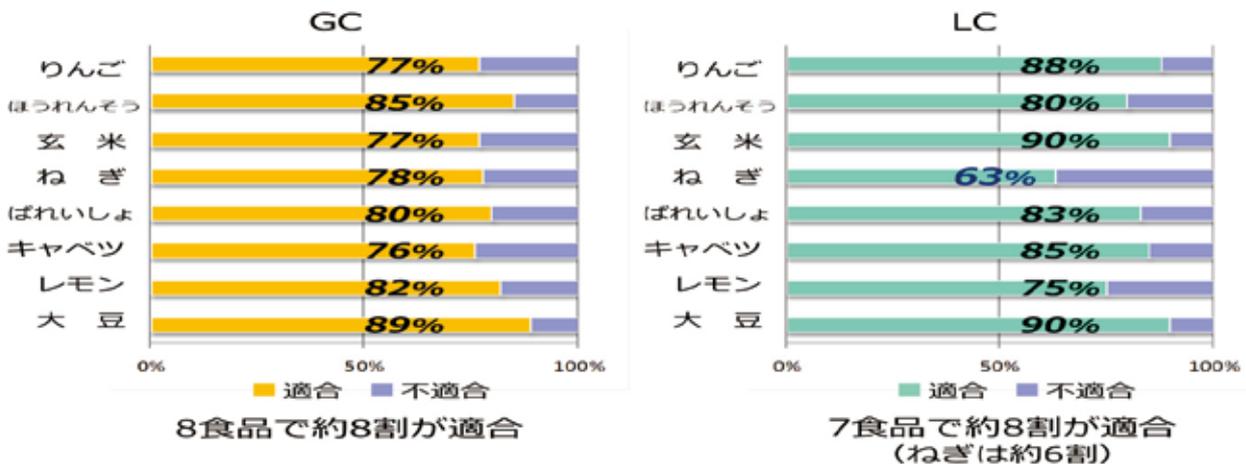


図2 妥当性評価試験結果

### 3. 行政検査について

#### 3.1 方法

平成26年度から平成28年度の3年間で、県内に流通していた食品24種類、計188検体について、開発した一斉分析法を用いて残留農薬検査を行った。検査する農薬は、代表的な作物の妥当性評価が適合し、添加回収試験の回収率及び精度が良好であった農薬とした。

#### 3.2 結果及び考察

新規一斉分析法を用いて、行政検査を行い、食品24種類、188検体に対して延べ52,838項目の分析を行った結果、基準値違反はなかった。報告下限値(0.01ppm)以上の農薬が検出された検体数は188検体中89検体で、検出率は47%であった(表3)。食品の種類では、果物で検出率が高い傾向にあった。

また、検出された農薬は47種類延べ175項目であり、殺虫剤と殺菌剤が9割以上であった(図3)。最も多く検出された農薬はアセタミプリドで17検体、2番目がジノテフランで16検体、3番目がボスカリドで14検体であった(表3)。

検出された農薬の濃度は、0.01~0.02ppmのものが多く、ほとんどが0.1ppm未満と低い濃度であった(図4)。1.0ppm以上で検出されたものは、レモン中のフルジオキシニル及びイマザリルであり、

輸入農産物の防かび剤として使用されるものであった。また、基準値に対する農薬の検出値の割合は、基準値の10%未満であったものが9割を占め(図5)、残留している農薬のほとんどが基準値よりもかなり低い濃度であった。

表2 農薬の検出状況

分類	食品名	検体数	検出 検体数	検出率 (%)	
穀類	玄米	8	6	75	
	こまつな	6	4	67	
	きゅうり	6	4	67	
	チンゲンサイ	6	3	50	
	ねぎ	6	3	50	
	トマト	36	16	46	
	ほうれんそう	13	5	38	
	野菜	キャベツ	8	3	38
		えだまめ	6	2	33
		にんじん	5	1	20
アスパラガス		7	0	0	
ばれいしょ		6	0	0	
だいこん		6	0	0	
しめじ		7	0	0	
果物		和なし	5	5	100
		さくらんぼ	6	6	100
		りんご	8	7	88
	ぶどう	6	5	83	
	いちご	6	5	83	
	メロン	4	3	76	
	レモン	6	4	67	
	すいか	6	0	0	
	加工食品	果汁ジュース	10	5	50
		小麦粉	6	2	33
24種類		188	89	47.3	

表3 検出頻度の多い農薬と食品

検出農薬	用途	検出回数	検出された食品(検出回数)
アセタミプリド	殺虫剤	17	トマト(5)、りんご(4)、果汁ジュース(2)、和なし(1)、こまつな(1)、きゅうり(1)、ぶどう(1)、キャベツ(1)、いちご(1)
ジノテフラン	殺虫剤	16	玄米(6)、和なし(3)、トマト(2)、さくらんぼ(2)、きゅうり(1)、メロン(1)、ねぎ(1)
ボスカリド	殺菌剤	14	りんご(6)、さくらんぼ(2)、トマト(2)、いちご(2)、レモン(1)、ぶどう(1)
イミダクロプリド	殺虫剤	10	ほうれんそう(4)、きゅうり(3)、トマト(1)、レモン(1)、メロン(1)
シベルメトリン	殺虫剤	10	りんご(2)、えだまめ(2)、チンゲンサイ(2)、こまつな(1)、ほうれんそう(1)、和なし(1)、さくらんぼ(1)
フルジオキシニル	殺菌剤	9	ぶどう(4)、レモン(2)、果汁ジュース(1)、トマト(1)、さくらんぼ(1)
クロチアニジン	殺虫剤	6	ほうれんそう(2)、果汁ジュース(1)、こまつな(1)、チンゲンサイ(1)、ねぎ(1)
ジプロジニル	殺菌剤	6	ぶどう(4)、果汁ジュース(1)、りんご(1)
トルフェンピラド	殺虫剤	6	トマト(4)、和なし(1)、レモン(1)
フェンプロパトリン	殺虫剤	6	和なし(4)、レモン(1)、りんご(1)

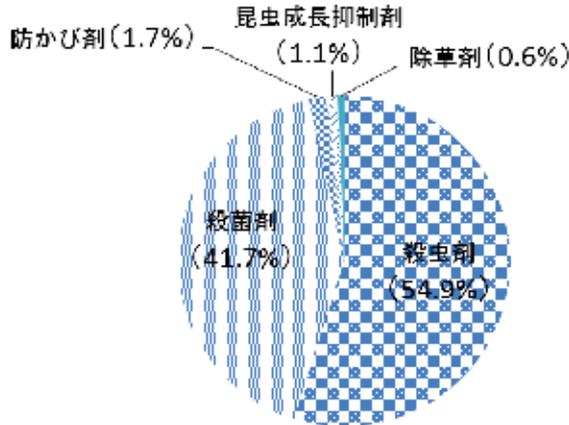


図3 検出農薬の用途別

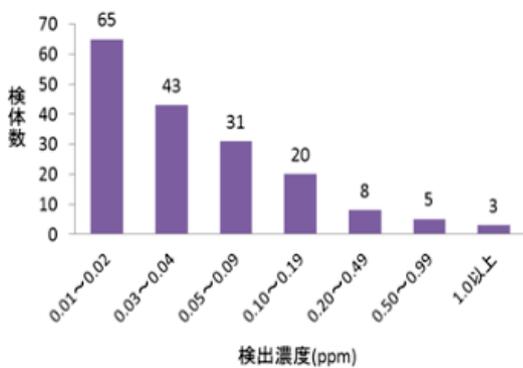


図4 検体の検出濃度

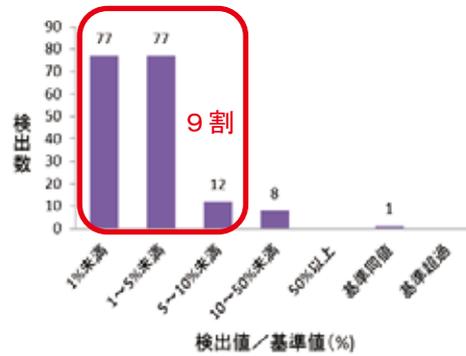


図5 基準値に対する割合別検体数

#### 4. まとめ

QuEChERS法を基に新規の一斉分析法を検討した。前処理の抽出をGC,LC共通にすることで、前処理操作を効率的に簡略化することができた。妥当性評価試験では、GCは8試料で、LCはねぎを除く7試料で約8割の農薬が評価基準に適合した。LCのねぎについては、分取量を半量にすることにより、回収率の改善がみられた。よって本法は一斉分析法として有用であると考えられる。過去3年間の行政検査では、基準値違反はなく、検出された農薬のほとんどが基準値の10%未満であり、適切に農薬が使用されていると考えられた。今後は、妥当性評価試験で不適合だった農薬について改善策の検討や一斉分析で確立していない農薬、その他の食品でも妥当性評価を実施し、行政検査に活かしたいと考えている。

#### 参考文献

- 1) 松淵亜希子, 珍田尚俊, 天明さおり: 農産物中の残留農薬一斉分析法の検討及び妥当性評価について, 秋田県健康環境センター年報, **9**, 2013, 78-94.
- 2) M.Anastassiades, S.J.Lehotay, D.Stajnbaher, F.J.Schenck: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residues in produce, J.AOAC Int., **86**, 2, 2003, 412-431.
- 3) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知 食安発第115001号: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて, 平成19年11月15日.
- 4) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部長通知 食安発第1124第1号: 食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について, 平成22年12月24日.

## 平成29年度秋田県保健環境業務研究発表会

## 平成29年夏季に見られた田沢湖の水質変化について

小林 渉 石垣 修

## 1. はじめに

秋田県仙北市に位置する田沢湖は、十和田湖、八郎湖と並び本県の三大湖沼のひとつとして数えられており、最大水深423mは日本一の深さを誇っている。また、神秘の湖とも呼ばれる田沢湖を象徴する瑠璃色の湖面は、本県の重要な観光資源にもなっている。しかし、平成29年夏季に湖面が一時緑色に変色し、水質調査の結果にも変化が見られた。本発表では、県が実施した水質調査結果により、平成29年に起こった田沢湖の水質変化について報告する。

## 2. 調査内容

県は、公共用水域測定計画に基づき、田沢湖の水質調査を実施している。調査地点は、湖心、相内潟、春山、潟尻、田子ノ木の5地点であり（図1）、4月から11月にかけて月1回、計8回の調査を行っている。本発表では、水質調査結果の中から、有機汚濁の指標とされる化学的酸素要求量（COD）、植物プランクトン量の指標とされるクロロフィル-a（Chl-a）、植物プランクトンの増殖に必要な栄養塩量の指標として全窒素（T-N）及び全リン（T-P）のほか、透明度、浮遊物質量（SS）、水素イオン濃度（pH）、色相に着目し、湖心を代表地点として、平成24年から平成28年までの直近5年間の調査結果と平成29年の調査結果を比較した。なお、SSを除く各項目における報告下限値未満の値は、報告下限値としてグラフを作成した。

## 3. 結果

田沢湖湖心における各項目の調査結果は以下のとおりであった。

## 3.1 COD

CODの水質環境基準は1mg/L以下であるが、直近5年間は、概ね報告下限値である0.5mg/L未満で推移していた。平成29年も4月から8月にかけては同様に0.5mg/L未満であったが、9月に0.8mg/Lと上昇した（図2）。

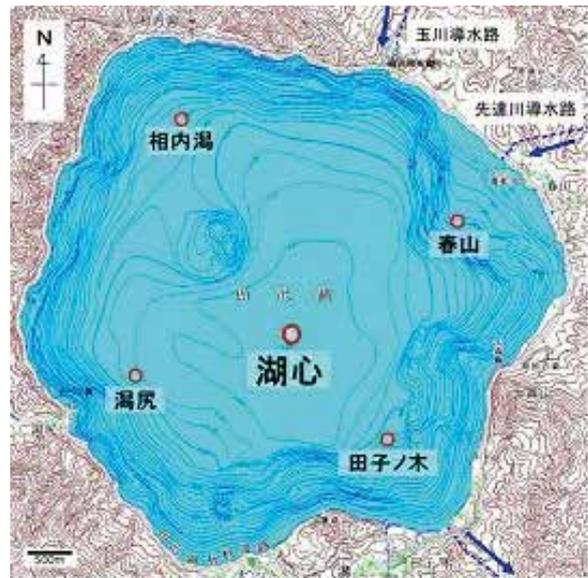


図1 田沢湖の調査地点

## 3.2 Chl-a

直近5年間は、概ね報告下限値である0.5μg/L未満で推移しており、平成29年も4月から8月にかけては0.5μg/L未満であった。しかし、9月に3.4μg/Lと急激に増加した（図2）。

## 3.3 T-N

直近5年間は0.11mg/L～0.29mg/Lで推移していた。平成29年は0.16mg/L～0.26mg/Lとなり、ほぼ例年どおりであった（図3）。

## 3.4 T-P

直近5年間は概ね報告下限値である0.003mg/L未満で推移しており、平成29年も4月から7月にかけては0.003mg/L未満であった。しかし、8月に0.005mg/L、9月に0.004mg/Lと上昇した（図3）。

## 3.5 透明度

直近5年間は7.0m～19.9mで推移しており、平成29年も4月から7月にかけては概ね例年どおりの9.1m～13.2mという結果だった。しかし、8月に4.1m、9月には3.5mと急激に低下した（図4）。

### 3.6 SS

SSの水質環境基準は1 mg/L以下であるが、直近5年間は、概ね報告下限値である1 mg/L未滿で推移していた。平成29年も4月から7月にかけては1 mg/L未滿であったが、8月に1.4 mg/L、9月には2.8 mg/Lとなった(図5)。なお、図5では、下限値処理する前の生データをプロットした。

### 3.7 pH

pHの水質環境基準は6.5以上8.5以下であるが、直近5年間は、4.9~5.4の範囲で推移していた。平

成29年は5.2~5.6と直近5年間と比較して全体的にやや高めの傾向を示した(図6)。

### 3.8 色相

色相は、水色標準液を用いて目視で測定している。水色標準液は、1~21番に分かれており、1番が深い青で、番号が大きくなるに従い、緑、黄緑、薄茶、茶へと変化する。直近5年間は1番~4番で推移していたが、平成29年は、8月に5番となり、9月及び10月には6番と、やや緑色を呈した(図7)。

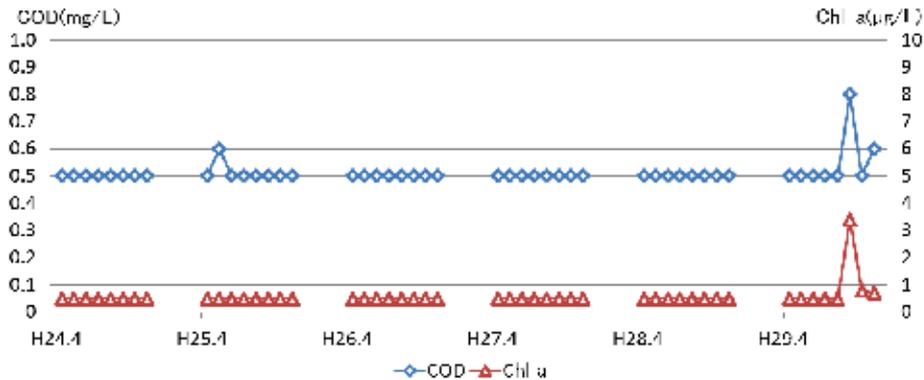


図2 田沢湖(湖心)のCOD及びChl-aの経月変化(H24.4~H29.11)

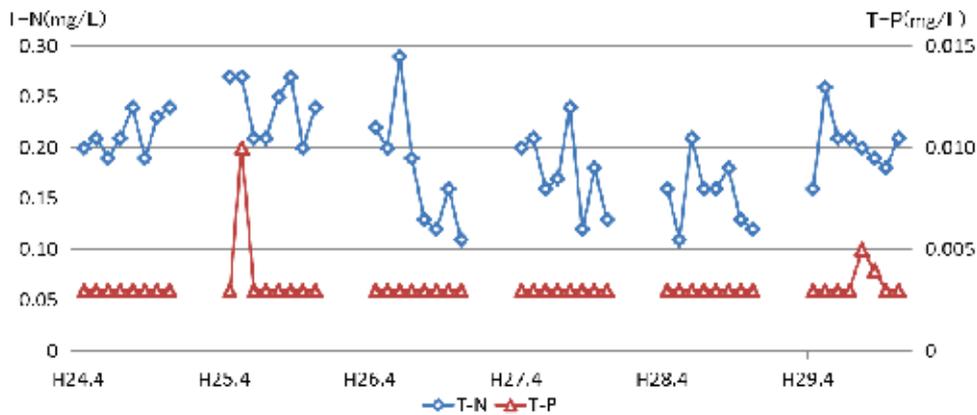


図3 田沢湖(湖心)のT-N及びT-Pの経月変化(H24.4~H29.11)

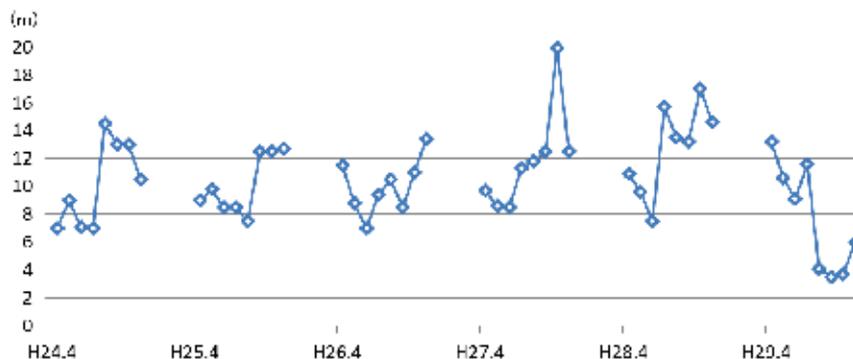


図4 田沢湖(湖心)の透明度の経月変化(H24.4~H29.11)

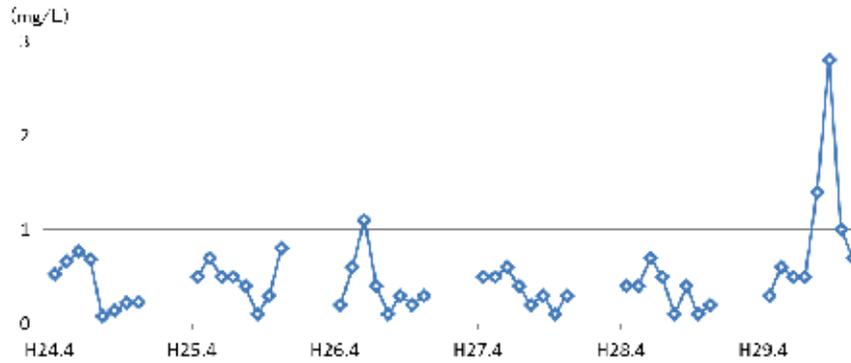


図5 田沢湖（湖心）のSSの経月変化（H24.4~H29.11）

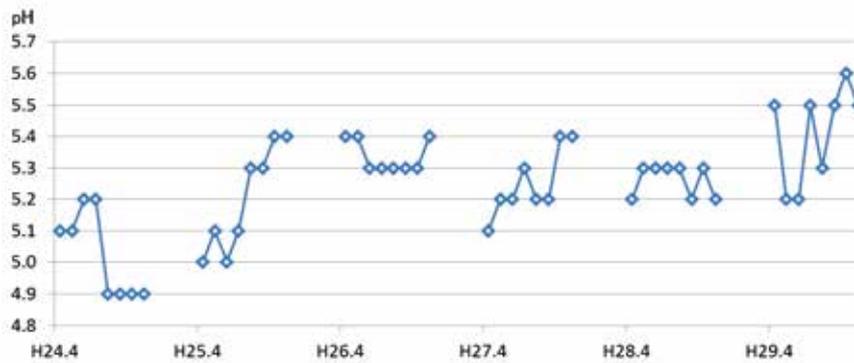


図6 田沢湖（湖心）のpHの経月変化（H24.4~H29.11）

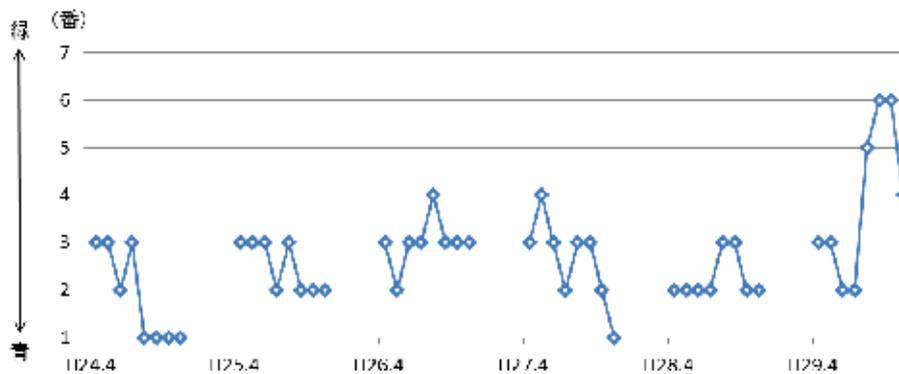


図7 田沢湖（湖心）の色相の経月変化（H24.4~H29.11）

#### 4. 考察

平成29年は、7月下旬及び8月下旬に県内が記録的な大雨に見舞われ、田沢湖における月別の日降水量は、平成29年7月23日が気象庁観測史上第3位の153.5 mm、8月22日が第6位の130.5 mmを記録した<sup>1)</sup>。この大雨によって多量の土砂や濁水等が湖内に流入したことが水質変化の一因であると推測される。

8月にSSが1.4 mg/Lと増加、透明度が4.1 mと低下し、色相は5番を記録した。これは、7月下旬の

大雨により、粒子状物質が増加したことで光の透過が阻害されたことが要因であると推測される。また、8月にT-Pが0.005 mg/Lと増加したが、これは流入した土砂等に含まれる磷が湖内に供給されたためと推測される。

9月は、Chl-aが3.4 µg/Lと大幅に増加したことから、植物プランクトンの急激な増殖が示唆され、CODも0.8 mg/Lと上昇した。また、SSが2.8 mg/Lと増加し、透明度が3.5 mと低下、色相は6番を記録した。9月の田沢湖内は、大雨に伴う土砂や濁水

等の流入による8月からの燐の供給に加え、近年と比較して pH が高めであったことが重なり、植物プランクトンの増殖が可能な環境になったと推測される。このため、Chl-a の増加とそれに伴う COD の上昇が見られたと考えられる。この結果は、田沢湖における COD 上昇には、Chl-a に反映される植物プランクトン量が関与し、その増殖を制限する要因は pH 及び燐であると推測した過年度の報告<sup>2)</sup>と一致した。平成29年の pH が、近年と比較して高めであった要因としては、玉川源泉の酸度が近年低下傾向にあることや大雨によって水量が増大したこと等が可能性として考えられるが、明確にはわかっていない。また、7月下旬に引き続き、8月下旬の大雨によってさらに土砂や濁水等が流入したことに加え、前述のとおり植物プランクトンが急激に増殖したことが要因となって、さらなる SS の増加及び透明度の低下、並びに色相の変化が見られたと推測される。

10月は、Chl-a が 0.8 mg/L と減少し、COD も 0.5 mg/L と低下した。また、SS が 1.0 mg/L と減少、透明度が 3.7 m とわずかに改善し、色相は 6 番であった。10月は、大雨による土砂等の流入がなくなったため、SS の増加及び植物プランクトンの増殖が抑えられたと考えられる。また、透明度がわずかにしか

改善せず、色相も 6 番のままであったのは、この時点では粒子状物質の沈降がまだ完全ではなく、表層より深いところには依然として多くの粒子状物質が拡散していたためと推測される。

## 5. まとめ及び今後の課題

平成29年は、田沢湖の湖面が一時緑色に変色し、水質にも変化が見られた。変化は、夏季に見られたことから、その要因として7月下旬及び8月下旬の記録的な大雨の影響が考えられるが、明確にはわかっていない。本事例は、ひとつのきっかけで湖内環境が大きく変化し得ることを示唆する貴重な事例となった。今後は、湖内環境の変化とその要因にも目を向けた調査研究を進めることが必要であると考え

## 参考文献

- 1) 気象庁：過去の気象データ検索：  
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>
- 2) 生魚利治：田沢湖の COD 及び全窒素濃度の変動要因に関する一考察, 秋田県健康環境センター年報, 9, 2013, 95-99.

平成29年度秋田県保健環境業務研究発表会

## 平成25～28年度における収去食品の細菌検査結果について

小川千春 鈴木純恵 高橋志保 今野貴之 熊谷優子 鈴木忠之

## 1. はじめに

食品の収去検査は、県内に流通する食品の安全性を確保し、食品による健康被害を未然に防ぐために行っているもので、平成22年度に保健所の試験検査業務が統合されて以降、当センターが検査を担当している。そのうち、平成22年度から平成24年度までの細菌検査結果は、平成25年度秋田県保健環境業務研究発表会において報告している<sup>1)</sup>。そこで今回は、その後4年間に行った収去食品の細菌検査結果について報告する。また、平成28年4月から平成29年12月までの大腸菌群検査で分離した菌株について菌種を同定し、汚染の由来を推定したので併せて報告する。

## 2. 収去検体、検査項目及び検査方法

## 2.1 収去検体

平成25年度367検体、平成26年度347検体、平成27年度333検体、平成28年度320検体 合計1,367検体（成分規格が定められている食品499検体、衛生指導基準が定められている食品及び基準がない食品868検体）

## 2.2 検査項目

一般細菌数、大腸菌群、糞便系大腸菌群（E.coli）、E.coli 最確数、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター、クロストリジウム属菌、乳酸菌数、恒温試験・細菌試験、腸炎ビブリオ最確数、ボツリヌス菌及びリステリア・モノサイトゲネス 合計13項目

## 2.3 検査方法

成分規格が定められている食品は公定法に従った。それ以外の食品は秋田県検査実施標準作業書に従った。また、平成28年4月から平成29年12月までの大腸菌群検査で10検体から分離した菌株15株につ

いて、検査結果の陽性・陰性に関わらず、簡易同定キットを用いて菌種を同定した。

## 3. 結果

成分規格が定められている食品は、平成25年度120検体、平成26年度120検体、平成27年度129検体、平成28年度130検体であった（表1）。そのうち、成分規格に不適合となったものは、平成25年度が氷菓1検体と生食用かき1検体、平成26年度が冷凍食品1検体、平成27年度が乳及び乳製品1検体、平成28年度が氷菓1検体の合計5検体だった。不適合となった検査項目は、一般細菌数、大腸菌群及びE.coliであった（表2）。また、平成25年度に殻付きの生食用かき1検体から腸炎ビブリオ最確数が1gあたり1,100検出された。むき身にした生食用かきの成分規格には、腸炎ビブリオ最確数が1gあたり100以下と定められているが、殻付きの生食用かきの成分規格には腸炎ビブリオ最確数の基準がない。そのため成分規格不適合とはならないが、検出菌数が多かったため、製品は自主回収となった。

衛生指導基準が定められている食品及び基準がない食品は、平成25年度247検体、平成26年度227検体、平成27年度204検体、平成28年度190検体であった（表3）。そのうち、衛生指導基準に不適合となったものは平成25年度11検体、平成26年度12検体、平成27年度6検体、平成28年度9検体の合計38検体だった。このうち、最も多かったのは生菓子の19検体で、県内のほぼ全域で認められた。次いで多かったのは弁当類の10検体だった。不適合となった検査項目は、一般細菌数や大腸菌群などの汚染指標菌がほとんどであったが、弁当類とゆでめんからは食中毒原因菌である黄色ブドウ球菌を検出した（表4）。弁当類から分離した菌株のエンテロトキシン遺伝子を検査した結果、エンテロトキシンA遺伝子保有株であった。また、衛生指導基準等の基準

がない食品については、平成25年度2検体、平成26年度1検体の鶏肉からE.coliのほか食中毒原因菌であるサルモネラ属菌やカンピロバクターを検出した。

平成28年4月から平成29年12月までの大腸菌群検査で分離した菌株について簡易同定キットによる菌種同定を行った結果は、表5のとおりであった。大腸菌群の検査結果が陽性となった乳及び乳製品並びに生菓子から分離された菌株は、ヒトや動物の糞便に常在する *Enterobacter* 属や *Klebsiella* 属、環境に分布している *Pantoea* 属と同定された。氷菓から分離された菌株は、低温域でも発育可能な *Serratia* 属、*Rahnella* 属と同定された。一方、大腸菌群の検査結果が陰性となった検体から分離された菌株は、*Enterobacter* 属や *Escherichia* 属と推定された。

#### 4. 考察

平成25年度から平成28年度に行った取去食品の細菌検査結果は、前回の報告<sup>1)</sup>と同様の傾向だった。不適合となった検査項目は、ほとんどが一般細菌数、大腸菌群などの環境衛生管理上の汚染指標菌であった。汚染指標菌不適合となった食品は、原材料によるもののほか、不適当な加熱処理、調理器具や環境

による加熱後の二次汚染など、製造過程で不適切な取り扱いを受けたと推察された。大腸菌群検査で分離した菌株の菌種同定結果も、いずれも水や土壌などの環境に広く分布する菌であり、製造環境から食品への汚染があったと考えられた。汚染指標菌不適合が食中毒等の健康被害に直接つながるわけではないが、より安全な食品を生産するため、今後も製造現場の衛生管理に対する意識の改善を図っていくことが重要と考えられる。

また、今回、弁当類(おにぎり)からエンテロトキシン遺伝子を保有する黄色ブドウ球菌が検出された。おにぎりは店頭で常温陳列され、購入後も常温で保存される可能性がある。もしこのように不適切な温度管理がされた場合、製品中で黄色ブドウ球菌が増殖し、食中毒を引き起こす恐れがある。黄色ブドウ球菌はヒトの鼻腔や手指に常在し、製造者から食品へ汚染するため、製造現場において食品を素手で扱わないなどの衛生管理を徹底する必要がある。更に、もし黄色ブドウ球菌の汚染があった場合でも、食品を冷蔵保存することで菌の増殖を抑え、食中毒を防ぐことができるため、消費者に対して食中毒予防についての情報の周知を継続していくことも重要である。

表1 成分規格が定められている食品の細菌検査結果(検体数)

	不適合数 / 検体数				
	H25	H26	H27	H28	合計
乳及び乳製品	0 / 31	0 / 32	1 / 33	0 / 37	1 / 133
氷菓	1 / 5	0 / 3	0 / 3	1 / 7	2 / 18
食肉製品	0 / 23	0 / 22	0 / 26	0 / 24	0 / 95
殺菌液卵	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 6	0 / 24
生食用かき(殻付き)	1(1) / 15	0 / 8	0 / 12	0 / 6	1(1) / 41
生食用鮮魚介類	0 / 23	0 / 20	0 / 20	0 / 19	0 / 82
魚肉ねり製品	0 / 1	0 / 1	0 / 1	0 / 1	0 / 4
清涼飲料水	0 / 3	0 / 10	0 / 10	0 / 15	0 / 38
レトルト食品	0 / 5	0 / 8	0 / 8	0 / 8	0 / 29
冷凍食品	0 / 8	1 / 10	0 / 10	0 / 7	1 / 35
合計	2(1) / 120	1 / 120	1 / 129	1 / 130	5(1) / 499

( )内の数字：成分規格がないため不適合とはならなかったが、自主回収の措置がとられた数

：検査結果が不適合(基準超過又は陽性)となったもの

表2 成分規格が定められている食品の細菌検査結果（検査件数）

	不適合数 / 検査件数										
	一般細菌数	大腸菌群	E.coli	E.coli最確数	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	クロストリジウム属菌	乳酸菌数	恒温試験・細菌試験	腸炎ピブリオ最確数	リステリア・モノサイトゲネス
乳及び乳製品	0 / 97	1 / 130						0 / 33			0 / 3
水菓	1 / 18	1 / 18									
食肉製品		0 / 5	0 / 90		0 / 73	0 / 73	0 / 5				0 / 1
殺菌液卵						0 / 24					
生食用かき(殻付き)	0 / 41			1 / 41						(1) / 41	
生食用鮮魚介類			0 / 55							0 / 82	
魚肉ねり製品		0 / 4									
清涼飲料水		0 / 38									
レトルト食品								0 / 29			
冷凍食品	1 / 35	0 / 8	0 / 27								
合計	2 / 191	2 / 203	0 / 172	1 / 41	0 / 73	0 / 97	0 / 5	0 / 33	0 / 29	(1) / 123	0 / 4

( )内の数字：成分規格がないため不適合とはならなかったが、自主回収の措置がとられた数

：検査結果が不適合（基準超過又は陽性）となったもの

表3 衛生指導基準が定められている食品及び基準がない食品の細菌検査結果（検体数）

	不適合数 / 検体数				
	H25	H26	H27	H28	合計
加熱惣菜	1 / 32	2 / 27	0 / 25	0 / 10	3 / 94
非加熱惣菜	0 / 9	0 / 7	0 / 3	0 / 3	0 / 22
弁当類	1 / 32	0 / 34	4 / 37	5 / 56	10 / 159
豆腐	0 / 21	0 / 22	0 / 22	0 / 7	0 / 72
生菓子	5 / 42	9 / 40	2 / 38	3 / 34	19 / 154
ゆでめん	2 / 19	0 / 18	0 / 18	1 / 19	3 / 74
漬物	1 / 60	1 / 39	0 / 36	0 / 33	2 / 168
飯ずし	0 / 5	0 / 5	0 / 4	0 / 5	0 / 19
鶏肉	(2) / 10	(1) / 12			(3) / 22
その他*)	1 / 17	0 / 23	0 / 21	0 / 23	1 / 84
合計	11(2) / 247	12(1) / 227	6 / 204	9 / 190	38(3) / 868

( )内の数字：基準がないため不適合とはならなかったが、陽性となった数

：検査結果が不適合（基準超過又は陽性）となったもの

\*)「その他」の内訳は、魚介乾製品、ソース類、きりたんぼ、じゅんさい、山菜加工品  
不適合となった1検体はきりたんぼ

表4 衛生指導基準が定められている食品及び基準がない食品の細菌検査結果（検査件数）

	不適合数 / 検査件数									
	一般細菌数	大腸菌群	E.coli	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	カンピロバクター	クロストリジウム属菌	恒温試験・細菌試験	ホツリヌス菌	
加熱惣菜	3 / 94		0 / 94	0 / 94	0 / 44	0 / 10	0 / 3			
非加熱惣菜	0 / 22		0 / 22	0 / 22	0 / 3	0 / 1				
弁当類	9 / 159	0 / 12	0 / 147	1 / 147	0 / 117	0 / 15				
豆腐	0 / 72	0 / 72		0 / 8						
生菓子	12 / 154	14 / 154		0 / 154	0 / 40					
ゆでめん	2 / 74	0 / 74		1 / 74						
漬物	0 / 26		1 / 168	0 / 100			1 / 6		0 / 25	
飯ずし			0 / 19	0 / 19					0 / 19	
鶏肉			(2) / 22		(1) / 22	(1) / 22				
その他*)	0 / 46	0 / 14	0 / 59	0 / 44	0 / 12		0 / 10	1 / 3		
合計	26 / 647	14 / 326	1(2) / 531	2 / 662	(1) / 238	(1) / 48	1 / 19	1 / 3	0 / 44	

( )内の数字：基準がないため不適合とはならなかったが、陽性となった数

：検査結果が不適合（基準超過又は陽性）となったもの

\*)「その他」の内訳は、魚介乾製品、ソース類、きりたんぼ、じゅんさい、山菜加工品  
不適合となった1検体はきりたんぼ

表5 簡易同定キットによる菌種同定結果

食品の種類	検体 No.	菌株 No.	大腸菌群 検査結果	同定結果(同定確率)
乳及び乳製品	1	1	—	<i>Enterobacter</i> 属(93.1%)
	2	2	—	<i>Escherichia</i> 属(61.5%) <i>Buttiauxella</i> 属(23.6%)
	3	3	+	<i>Enterobacter</i> 属(81.2%)
	4	4	+	<i>Klebsiella</i> 属(94.9%)
	5	5	+	<i>Enterobacter</i> 属(94.3%)
氷菓	1	6	+	<i>Serratia</i> 属(96.1%)
		7	+	<i>Rahnella</i> 属(98.9%)
生菓子	1	8	+	<i>Pantoea</i> 属(96.9%)
		9	—	<i>Enterobacter</i> 属(99.0%)
	2	10	+	<i>Enterobacter</i> 属(92.1~95.2%)
		11	+	
	3	12	+	<i>Klebsiella</i> 属(95.5%)
		13	+	<i>Enterobacter</i> 属(56.0%) <i>Kluyvera</i> 属(40.9%)
14		+	<i>Enterobacter</i> 属(94.3%)	
ゆでめん	1	15	—	<i>Enterobacter</i> 属(91.5%)

## 5. まとめ

平成25年度から平成28年度までの4年間に1,367検体の収去食品について細菌検査を行った。そのうち成分規格に不適合となったものは5検体、衛生指導基準に不適合となったものは38検体だった。検査結果の傾向は、平成22年度から平成24年度までと同様で、不適合となった食品の種類は生菓子と弁当類が多く、不適合となった検査項目は一般細菌数、大腸菌群などの汚染指標菌が多かった。依然として

成分規格や衛生指導基準に不適合となる食品があることから、食品による健康被害を未然に防ぐため、今後も保健所と情報交換を密にしながら信頼性の高い検査を実施していきたい。

## 参考文献

- 1) 高橋志保, 他: 平成22~24年度における収去食品の細菌検査結果について, 平成25年度 秋田県保健環境業務研究発表会抄録, 17-20.

## IV 発表業績



## 1. 学会発表

### 生カキが原因でノロウイルスに感染した症例におけるノロウイルス排泄状況と抗体価の推移

斎藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 清水優子\*<sup>1</sup>  
早川智\*<sup>1</sup> 牛島廣治\*<sup>1</sup> 野田 衛\*<sup>2</sup>

秋田応用生命科学研究会第29回講演会  
2017年5月 秋田市

カキの生食が原因でノロウイルス (NV) による感染性胃腸炎を発症することは広く知られているが、検出されたウイルスの解析情報に比べて、感染者側の情報は不足している。今回、我々はカキが原因の胃腸炎症例について、ウイルス排泄状況と血中・便中抗体価の推移を調べる機会を得たので報告する。

患者はこれまでに、NV GI.4, GII.4, GII.17の感染歴がある。カキ喫食後60時間後に発症した。胃部不快感とガス貯留を主訴とし、下痢嘔吐はなかった。便からは発症後18日間にわたってNV GI.2が検出された。カキ残品からは、NV GI.2, GI.4, GII.4, GII.17が検出された。

便中IgAを測定したところ、NV GI.4, GII.4, GII.17に対する抗体は、カキ喫食後に急激な上昇を見たが、GI.2に対する抗体は遅れて上昇した。本症例は、免疫記憶のあるNV GI.4, GII.4, GII.17に対する抗体が速やかに誘導されて、感染を防御した一方で、GI.2は初感染であることから、免疫応答が遅れ発症に至ったものと考えられた。

\*<sup>1</sup> : 日本大学医学部

\*<sup>2</sup> : 国立医薬品食品衛生研究所

### 生カキ喫食後の胃腸炎症例におけるノロウイルス排泄状況と免疫応答

斎藤博之 佐藤寛子 早川 智\*<sup>1</sup> 牛島廣治\*<sup>1</sup>

第58回日本臨床ウイルス学会  
2017年5月 長崎市

【目的】カキの生食が原因でノロウイルス (NV) による感染性胃腸炎を発症することは広く知られているが、検出されたウイルスの解析情報に比べて、感染者側の情報は不足している。今回、我々はカキが原因の胃腸炎症例について、ウイルス排泄状況と血中・便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 52 歳男性 (血液型は A 型, 分泌型)。過去に NV-GI.4 に 1 回 (2009 年), GII.4 に 2 回 (2006 年と 2012 年), GII.17 に 2 回 (2015 年 8 月と 10 月) の感染歴がある。2016 年 2 月 22 日 13:00 頃にカキ (後日, GI.2, GI.4, GII.4, GII.17 の汚染判明) を生食したところ, 2 月 25 日 1:30 頃に胃部不快感が出現。その後, 腹部膨満感, 放屁が見られたが, 嘔吐・下痢はなし。同日 8:45, 固形便排泄 (NV GI.2,  $9.34 \times 10^6$  copies /g)。翌 2 月 26 日 11:00 頃症状軽快, 固形便排泄 ( $1.03 \times 10^{10}$  copies /g)。以降, 自覚症状はなく, 3 月 13 日まで量は漸減しつつも NV を排泄。

【免疫学的所見】血中の抗 NV-GI.2 IgG と IgA は症状回復後の 3 月 2 日より著明に上昇し, 3 月 17 日にピークとなった (8 倍以上)。同時に測定した GI.3, GI.4, GII.3, GII.4, GII.6, GII.17 については, GI.3 と GI.4 では IgG, IgA とともに 8 倍以上の上昇が認められたが, 他は IgA のみ軽度上昇が見られた。便中 IgA は, 感染直後に GI.2 以外の上記各型が速やかに上昇したが, その後は GI.2 に対する抗体が優勢となった。

【考察】4種類の遺伝子型のNVに汚染されたカキを生食した症例だが, 便中IgAが速やかに上昇し, 感染歴のないGI.2のみが腸管内で増殖・排泄されるに至ったものと推察される。GI.2に対する血中抗体も著明に上昇したが, 他の遺伝子型に対する抗体も誘導され得ることがわかった。症状は1日で軽快したが, ウイルスの排泄は18日間続いたことから, 2次感染防止のための衛生管理が重要であると考えられた。

\*<sup>1</sup> : 日本大学医学部

## 感染症法にのりそねた耐性菌

今野貴之

第1回地方衛生研究所現場の会・研究会  
2017年6月 東京都

インフルエンザ菌は、上気道のいわゆる常在菌のひとつで、小児では約50%保菌していると言われている。インフルエンザ菌は、小児の細菌性髄膜炎の主要な原因菌となっており、現在は、インフルエンザ菌による髄膜炎は、5類全数把握疾患の侵襲性インフルエンザ菌感染症として感染症法によるサーベイランスが行われるようになった。しかしながら、臨床の分野では治療に影響する薬剤耐性が最大の関心事となっている。インフルエンザ菌の場合は、耐性化機構によってBLNAR, BLPAR, BLPACRと呼ばれる耐性菌が知られているが、同様の症状を引き起こす肺炎球菌と違い、これらは感染症法における発生動向調査では届出の対象にはなっていない。秋田県では、インフルエンザ菌の薬剤耐性について調査を行い、ROB型というめずらしいβラクタマーゼ産生菌の流行を確認した。ROB型は、プラスミド媒介性のβラクタマーゼで、1999年から2003年の各国を対象にした大規模調査では、β-ラクタマーゼ保有株のうちROB型のは国内ではTEM型に比べると非常にまれであり、今回確認された流行はきわめてめずらしい事例と考えられた。

## 秋田県内の水環境における放射性セシウムに関するモニタリング調査

玉田将文

第26回環境化学討論会  
2017年6月 静岡県

東京電力福島第一原子力発電所の事故後、環境中の放射性セシウム(134Cs, 137Cs)に関するモニタリング調査が多数実施されてきたが、秋田県内の水環境における調査はほとんどなく、上記事故による秋田県への影響を定量的に評価

するためのデータが不足している。そこで本調査では、秋田運河や田沢湖等の水質・底質試料を対象に、固相抽出ディスク等を用いた放射性セシウムのモニタリング調査を実施した。

その結果、水質試料における放射性セシウムは、田沢湖湖心の溶存態試料にて134Csを2.4 mBq/L, 137Csを4.8 mBq/L検出し、秋田県による定時降下物試料の測定結果も考慮すると、上記事故による放射性セシウムが秋田県内まで拡散した可能性が示唆された。また雄物川の懸濁態試料では、137Csを1.6 mBq/L検出した。

底質試料における放射性セシウムは、2013年度の雄物川および秋田運河にて9.2~26 Bq/kg-dry, 2015年度の秋田運河および田沢湖にて5.7~21 Bq/kg-dryの濃度で検出した。秋田運河には、秋田市北東部の山麓を源とする旭川および秋田県南東部・山形県境の大仙山を源とする雄物川が合流し、秋田県による環境水準調査にて旭川上流の水試料から放射性セシウムを検出していることから、それらが秋田運河へ流入した可能性が示唆された。

## 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

斎藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 清水優子\*<sup>1</sup>  
早川智\*<sup>1</sup> 牛島廣治\*<sup>1</sup> 野田 衛\*<sup>2</sup>

第38回日本食品微生物学会学術総会  
2017年10月 徳島市

パンソルビン・トラップ法は、食品検体からノロウイルス(NV)を検出するための実践的な手法である。本法の基本原理は、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・検出することであり、添加する抗体の選択が重要となる。我々はこれまでに、多様なウイルスに対する抗体を含むガンマグロブリンを捕捉抗体供給源として用いることで、本法の汎用化を実現した。一方、2014~2015年にかけて、これまでに流行の見られなかった遺伝子型であるNV GII.17による食中毒事例が多発した。ガンマグロブリンは過去の流行に由来する様々な抗体の集積であり、GII.17に対する抗体

が含まれていない可能性もあるため、捕捉抗体供給源としての有用性を再評価した。

食品 50 mL からの NV GII.17 の回収率は、 $2.01 \times 10^6$  コピーを添加した場合で 3.61%、 $1.46 \times 10^5$  コピーを添加した場合で 5.34%、 $1.01 \times 10^4$  コピーを添加した場合で 10.6% であり、汚染濃度が低くなるほど回収率は向上した。さらに低濃度の NV を検出するために、nested real-time PCR を用いたところ、ポテトサラダと焼きそばともに、35 コピー/g の汚染まで検出することができた。実際の食中毒は低濃度のウイルス汚染によって起こることが多いため、ガンマグロブリンは NV GII.17 にも有効な捕捉抗体供給源であると考えられた。

\*1：日本大学医学部

\*2：国立医薬品食品衛生研究所

## 市販生カキにおけるノロウイルス汚染の定量的調査

秋野和華子 齋藤博之 野田 衛\*1

第 38 回日本食品微生物学会学術総会  
2017 年 10 月 徳島市

ノロウイルス (NV) による食中毒事例では、カキが原因食品と推定される場合も多い。しかしながら、摂食時におけるカキの NV 汚染量と発症の関係を示すデータは不足しており、その実態把握に向けての調査が望まれている。今回、市販生カキにおける NV 汚染について定量的に調査を行い、実際に食中毒を引き起こした生カキの残品における NV 汚染量との比較を行ったので、その結果について報告する。

材料①：2016 年 10 月～2017 年 3 月に秋田市内で購入した国産の生カキについて、中腸腺 2～4 個をまとめて 1 検体とし、28 検体 (1 ロット：2～3 検体) の検査を行った。

材料②：2016 年 2 月に秋田市内で購入した生食用カキを生で喫食後、胃腸炎症状を呈した事例における生カキの残品について、中腸腺 1 個を 1 検体とし、6 検体の検査を行った。

検査方法：厚生労働省通知法に準じ NV の濃

縮を行い、核酸を抽出した。Random Primer を用いて cDNA を合成し、RT-PCR 法と Nested リアルタイム PCR 法にて定性検査を実施後、陽性となった検体についてリアルタイム PCR 法で定量検査を行った。

市販生カキは、17 検体から GII が検出された。定量値 (単位：コピー/g 中腸腺) の内訳は、10 以上  $10^2$  未満が 7 検体、 $10^2$  以上  $10^3$  未満が 9 検体、 $10^3$  以上が 1 検体であった。最大値は  $1.35 \times 10^3$  で 1 月の検体であった。GI は 4 検体から検出され、そのうち 1 検体は定量値が得られず、また、定量可能だった 3 検体の値も  $1.97 \sim 1.26 \times 10$  と少なかった。食中毒事例の生カキは、6 検体すべてから GII が検出された。定量値の内訳は、10 未満が 2 検体、 $10^2$  以上  $10^3$  未満が 3 検体、 $10^3$  以上が 1 検体であり、最大値は  $8.00 \times 10^3$  であった。GI も 6 検体から検出されたが、そのうち 1 検体は定量値が得られなかった。定量値の内訳は 10 以上  $10^2$  未満が 4 検体、 $10^2$  以上  $10^3$  未満が 1 検体で、最大値は  $3.43 \times 10^2$  であった。

\*1：国立医薬品食品衛生研究所

## Immunological response in a patient of noroviruses infection associated with raw oyster

齋藤博之 清水優子\*1 佐藤寛子 秋野和華子  
早川 智\*1 牛島 廣治\*1

第 65 回日本ウイルス学会学術集会  
2017 年 10 月 大阪市

【目的と意義】カキの生食が原因でノロウイルス (NV) による感染性胃腸炎を発症することは広く知られているが、検出されたウイルスの解析情報に比べて、感染者側の情報は不足している。今回、我々はカキが原因の胃腸炎症例について、便中・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 52 歳男性 (血液型は A 型, 分泌型)。過去に GI.4 に 1 回 (2009 年), GII.4 2006b に 2 回 (2006 年と 2012 年), GII.17 に 2 回 (2015 年 8 月と 10 月) の感染歴がある。

2016年2月22日にカキ(後日, GI.2, GI.4, GII.4, GII.17を検出)を生食し, 25日に発症。症状は胃部不快感, 腹部膨満感, 放屁を訴えるも, 嘔吐・下痢はなく, 固形便を排泄(NV GI.2,  $9.34 \times 10^6$ copies/g, Accession No.: LC128710)。翌2月26日症状軽快, 固形便排泄(NV GI.2,  $1.03 \times 10^{10}$ copies/g)。以降, 自覚症状はなく, 3月13日まで量は漸減しつつもNVを排泄。2月24日から3月23日にかけて採取した糞便24検体と血清7検体について, GI.2, 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。

【結果と考察】GI.2以外の型に対する便中IgAは, 発症後速やかに上昇したが2日目には低下に転じ, 9日目から12日目にかけて再度上昇する2峰性を示した。一方, 発症の原因と考えられるGI.2に対する便中IgAについては, 発症直後の急速な応答は見られず, 9日目から12日目にかけて緩やかに上昇した。今回の症例は4種類のNVに汚染されたカキを生食したことが原因であったが, 過去に感染して免疫記憶のある型に対しては便中IgAが速やかに上昇し, 感染歴のないGI.2のみが腸管内で増殖・排泄されるに至ったものと推察される。また, GI.2に対する便中IgAの上昇と同じタイミングで, 他の型に対する抗体も再誘導されたことが2峰性を示した理由と考えられる。我々は2016年の本学会で, 何かの型に感染した場合に, それ以外の型に対する抗体も誘導され得ることを報告したが, 今回の結果はそれを支持している。血中IgAとIgGについては, 発症2日目から, GI.2, GI.3, GI.4に対する抗体が上昇し始め15日目でピークとなった。GI.2に対する血中抗体は速やかに上昇したものの, ウイルスの排泄が18日間続いたことから, 感染防御への寄与は少ないものと考えられた。

\*1: 日本大学医学部

## ノロウイルス GII.17 に対するパンソルビン・トラップ法の有効性に関する検討

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

## 第113回日本食品衛生学会学術講演会 2017年11月 東京都

パンソルビン・トラップ法は, 食品検体からノロウイルス(NV)を検出するための実践的な手法である。本法の基本原理は, 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・検出することであり, 添加する抗体の選択が重要となる。我々はこれまでに, 多様なウイルスに対する抗体を含むガンマグロブリンを捕捉抗体供給源として用いることで, 本法の汎用化を実現した。一方, 2014~2015年にかけて, これまでに流行の見られなかった遺伝子型であるNV GII.17による食中毒事例が多発した。ガンマグロブリンは過去の流行に由来する様々な抗体の集積であり, GII.17に対する抗体が含まれていない可能性もあるため, 捕捉抗体供給源としての有用性について検討した。

ガンマグロブリンはヒトからの供血を原料として製造されるため, 最初に基礎的データとして, NVに感染した際の免疫応答(抗体産生動態)について実際の症例をもとに検討した。2012年にNV GII.4に感染した患者の血清中のIgGを測定したところ, GII.4のみならず, GII.3とGII.17に対するIgGも上昇していた。2012年はNV GII.17の流行が始まる2年前であるが, 当時流行していたGII.4の感染に伴う交差免疫によってGII.17の抗体も誘導されたものと考えられた。従って, ガンマグロブリンにはGII.17に対する抗体がすでに含まれていることが期待された。

次にNV GII.17を含む食品洗滌液を用いて, ガンマグロブリンを捕捉抗体としたパンソルビン・トラップ法による回収率を検討した。さらに, ポテトサラダと焼きそばを様々な濃度のNV GII.17で汚染させた模擬検体を調製し, 実事例で多用されているnested real-time PCRによる検出限界を求めた。

食品洗滌液50 mLからのNV GII.17の回収率は,  $1.01 \times 10^4$ コピーを添加した場合で10.6%であった。さらに低濃度のNVを検出するために, nested real-time PCRを用いたところ, ポテトサラダと焼きそばともに, 35コピー/gの汚染まで検出することができた。以上のことから, ガンマグロブリンを用いたパンソルビン・トラップ

法は NV GII.17 にも有効であると考えられた。

\*1：日本大学医学部

\*2：国立医薬品食品衛生研究所

## 秋田県のツキノワグマと刺咬マダニのリケッチア検索

佐藤寛子 藤田博己\*1 安藤秀二\*2

第24回リケッチア研究会

2017年12月 東京都

近年、秋田県では山林や果樹園近くの宅地、市街地に近い地域でのツキノワグマ（以下、クマと略称）の目撃数の増加や被害発生に伴い、農作物や家畜、人的被害の予防対策としてクマの有害駆除が行われている。今回、我々は、これら駆除個体から回収された組織サンプルと刺咬マダニを対象に紅斑熱群リケッチア（SFGR）とつつが虫病リケッチア（*Orinetia tsutsugamsuhi* : Ot）の侵淫状況について調査を実施した。

【材料と方法】2017年7月～10月に秋田市と能代市で駆除されたクマ14頭のうち血液13頭分、脾臓12頭分および11頭から採取されたマダニ57匹を対象に次の検査を実施した。

1) 血清抗体価：6種のSFGR（*Rickettsia japonica*, *R. heilongjiangensis*, *R. helvetica*, *R. asiatica*, *R. monacensis*, *R. tamurae*）とOtの6血清型に対する抗体価測定を間接免疫ペルオキシダーゼ法で行った。

2) SFGRおよびOtの遺伝子検索：マダニは形態学的に同定後、個別にSPG溶液乳剤としDNA抽出後にKawamoriらのduplex real-time PCRによるSFGRのスクリーニング検査を行った。陽性検体はPCRにより17kDa 蛋白およびgltA遺伝子の検出と解析を行った。脾臓についてはマダニと同様にPCRを実施し、SFGRとOtの検索を行った。

【結果と考察】1) 血清抗体価：SFGRに対する抗体は7頭（秋田市5、能代2）が陽性（40倍以上）であった。抗体価は*R. helvetica*, *R. monacensis*, *R. tamurae*および*R. asiatica*のいずれかに優位で、同病原体保有マダニの生息が示唆された。*R. japonica*の抗体優位例はなかった。Otに対する抗体は、13頭全てがKarp型に対して優位に陽性

であり、県内のヒト感染例に類似する結果であった。

2) SFGRおよびOtの遺伝子検索：マダニは2属2種が同定された。秋田市のクマからは *Dermacentor taiwanensis*が41匹（♂14、♀27）、*Haemaphysalis flava*が2匹（♀2）採取され、*D. taiwanensis* から17 kDa で*R. bellii*近縁のリケッチアが検出された。能代市のクマからは*H. flava*が14匹（♂4、♀10）採集された。このうち3匹からgltAでは*Rickettsia* sp. Mie201と同一性100%のリケッチアが検出され、1つは17 kDaでは*Rickettsia* sp. China-Ds61-Rとの同一性が99%であった。脾臓からの陽性例はなかった。

今回、*D. taiwanensis*の秋田県での生息が初確認され、血清抗体価から市街近郊でのヒト病原性SFGR保有マダニの生息の可能性が示唆された。今後はこれらの動物に関連したヒトの健康被害の予防対策など、感染症情報を狩猟関係者の他、近隣住民にも発信し注意喚起していく必要があると考える。

調査協力：佐藤智喜、工藤純子（秋田市役所）、山木章久（北秋田保健所）、秋田県動物管理センター

\*1：馬原アカリ医学研究所，MFSS

\*2：国立感染症研究所

## 大潟村干拓地から八郎湖へのリンの年間流入負荷量推計

玉田将文 松渕亜希子

第52回日本水環境学会年会

2018年3月 北海道

秋田県の八郎湖は、1977年の干拓以降に富栄養化が進行し、広範囲にアオコが発生するなど、水質環境基準が確保されない状況から、2007年に指定湖沼となり、秋田県は湖沼水質保全計画に基づく各種対策を実施してきた。しかし富栄養化の一因である全リンの環境基準点での2016年度平均濃度は、0.066 mg/Lと環境基準値0.05 mg/Lを超過しており、その低減が必要である。八郎湖への主要なリン負荷源は農地と山林と考

えられているため、本研究では農地のうち大潟村干拓地から八郎湖へのリンの年間流入負荷量を推計した。

その結果、2006～2016年度における村内の両排水機場から八郎湖へのリン年間流入負荷量は、約86.9 t～約141.6 tで推移していた。このうち南部排水機場の負荷割合は、約63.1%～約76.5%と北部排水機場よりも高く、この原因は大潟村干拓地南部の高濃度リン湧出水由来のリン負荷

の可能性が示唆された。また2016年度における両排水機場から八郎湖へのリン流入負荷量の季節変動を推計した結果、5月のリン流入負荷量が約36.9 tと年間最大値を示した。この5月の排水量が年間排水量の約18.7%を占めていることから、水田灌漑期に利用された大潟村干拓地の農業排水に含まれるリンが、八郎湖へ流入していることが示唆された。

## 2. 他誌掲載論文等

Phylogenetic Characteristics of *Mycobacterium tuberculosis* Clinical Isolates in Akita Prefecture, Japan, on the Basis of the Preliminary Detection of Beijing Family StrainsTakayuki Konno, Shiho Takahashi, Sumie Suzuki,  
Hiroko Kashio, Yuko Kumagai

Jpn J Infect Dis., 70, 4, 2017, 472–473.

The phylogeny of *M. tuberculosis* is also useful for understanding various epidemiological tendencies. Among the lineages of *M. tuberculosis*, Beijing family strains within East Asian lineages possess highly virulence and drug-resistance. Beijing family strains are an evolving lineage of *M. tuberculosis*, and being spread worldwide, including Japan. However, there was a lack of local data about population structure of Beijing family strains in Akita Prefecture.

We phylogenetically characterized a total of 157 *M. tuberculosis* isolates from a hospital, possessing a half of tuberculosis beds in Akita Prefecture, by JATA12-VNTR and maximum a posteriori (MAP) estimation based on individual VNTR profile. The results provided characteristic distribution of Beijing sublineages of *M. tuberculosis* isolates in Akita Prefecture, suggesting that infection control measures which reflected regional characteristics is required to moderate incidence of tuberculosis. This phylogenetic information would be useful for monitoring of *M. tuberculosis*, and contribute to achieve regional surveillance against tuberculosis.

## 新しい食中毒

## エシエリキア・アルバーティー

今野貴之

公衆衛生, 81, 6, 2017, 488–492.

エシエリキア・アルバーティーは、2003年に新種として承認された菌種で、エシエリキアという名前は大腸菌（エシエリキア・コリ）の仲間であることを示している。元々バングラデシュ人民共和国の小児の下痢便から見つかった菌種であり、ヒトに下痢などを引き起こす病原菌であると考えられている。国内では、2011年11月に秋田県で発生した食中毒疑い事例の検査の過程で、この菌が検出され、翌年、その際の検査法の詳細が国立感染症研究所発刊の *Jpn J Infect Dis* 誌に、事例の概要が病原微生物検出情報に掲載された。これらの報告を契機に、日本国内においてもエシエリキア・アルバーティーの存在が知られるようになった。その後、過去の食中毒の原因菌の再調査などによって、少なくとも2003年には国内でエシエリキア・アルバーティーによる食中毒が発生していたことが明らかになっている。現在では、この菌を原因とする集団食中毒の発生が国内でも複数確認されている。

エシエリキア・アルバーティーによる健康被害の報告は、今はまだ比較的まれであるが、赤痢菌や腸管出血性大腸菌など多くの類似点を持っており、今後の食中毒等の発生状況に注意していく必要がある。

## 秋田県のつつが虫病患者発生状況（2007～2016年）

佐藤寛子 柴田ちひろ 藤谷陽子  
秋野和華子 斎藤博之

Infectious Agents Surveillance Report, 38, 6, 2017, 5-6.

2007年～2016年に秋田県において届出されたつつが虫病患者数は178例で、当センターが血清抗体検出で確定診断を行ったのは174例であった。抗体価から推定された感染 *Orientia tsutsugamushi* の血清型はKarp型152例、Shimokoshi型7例、Gilliam型4例、Kato型3例、不明8例であった。本稿では秋田県における各血清型の発生状況およびつつが虫病対策を紹介する。

## 1. 秋田県のつつが虫患者の発症月と血清型

Karp型つつが虫病患者は県内ほぼ全域で発生し、発生時期は4月～11月と長期間にわたるが、最多は5月であった。感染機会の最多は農作業で53/152例（38.9%）であったが、庭の手入れなど住宅地内での作業も25/152例（16.4%）と、身近な場所での感染が疑われる例も多く見られた。

Kato型つつが虫病患者は、2008年8月に本県で15年ぶりに発生した。以後2017年までに3例確認され、いずれも感染機会は雄物川中流以南河川敷での釣りであった。

Shimokoshi型つつが虫病患者は5月に5例、11月に2例の計7例確認され、このうち1例の血液からは国内2株目の分離株が得られた。発生は県南部と北部に分かれ、感染機会は農作業が3例、山地での作業2例、河川敷での活動2例であった。

## 2. 秋田県のつつが虫病対策

本県におけるつつが虫病対策の主軸は、全県一貫の迅速な診断～届出～公表の体制である。つつが虫病は進行が早いので、届出受理後の公表は患者発生ごとに報道機関を通じて速やかに行っている。さらに毎年、啓発リーフレット「つつが虫病のしおり」に患者情報を更新して作成し、医師会を通じて全県の医療機関に配布している。こうした本県独自の啓発方法は、須藤恒久秋田大学名誉教授が中心となり1980年から開始され、つつが虫病に対する日頃の意識向上を図り重症化例発生の抑制を担ってきた。ところが、数十年続けてきたこの体制のうち、報道機関への公表を年度最初の1例のみとし、以降は週1回、感染症情報センターホームページ内に週報として掲載するとした時期があった。この対応は6年続いたが、この間に播種性血管内凝固症候群（DIC）併発例数が以前の4.7倍に上昇した。ついには死亡例も発生したため、これらの患者情報を精査したところ、受診の遅れが影響したと思われる例が多数見受けられた。啓発機会が減ったことが受診の遅れに繋がったと考えられたことから、再び元の公表体制に戻され、現在、DIC併発例の発生頻度は減少傾向となっている。

情報提供の手段が多様化した現代、インターネットは利便性が高く効果的と思われがちだが、一方で自ら情報を求める者を対象としたプル型方式であり、対象者が限られる。つつが虫病のみならず、幅広い世代に迅速かつ確実に伝えるべき感染症情報は、多様な伝達手段を並行、か

つ反復・継続することの重要性を再認識して、取り組む必要がある。

## 国内におけるつつが虫病

佐藤寛子

人と動物の共通感染症研究会ニュースレター、**16**, 2017, 5-8.

つつが虫病は、病原体*Orientia tsutsugamushi* (*O. tsutsugamushi*) を保有する体長わずか0.2～0.3 mmの「ツツガムシ」というダニの幼虫に刺咬されることで感染、発症する急性熱性発疹症である。*O. tsutsugamushi*は日本紅斑熱や発疹チフスなどと同じ*Rickettsiaceae*科に属するグラム陰性の偏性細胞寄生性細菌で、自然環境においてはツツガムシ体内に共生している。西アジア～極東ロシア、南はオーストラリア北部まで広く発生し、年間の患者数は推計約100万人とされている。日本では感染症法において4類感染症に分類され、一年を通して全国から400例前後の届出がある。地域特性が強い疾患で、患者の発生時期はその土地の気候や気温変動、生息するツツガムシ種の幼虫活動時期に影響を受ける。有効な抗菌薬があるにも関わらず、受診や治療の遅れによる重症化や死亡例が毎年散見されることから、感染予防対策等の啓発が極めて重要な疾患である。

## 乳飲みマウスによるエンテロウイルスD68型の分離

斎藤博之 秋野和華子 佐藤寛子 藤谷陽子  
柴田ちひろ 佐藤了悦 清水博之<sup>\*1</sup>

Infectious Agents Surveillance Report, **38**, 10, 2017, 11-12.

2015年秋に、我が国においてエンテロウイルスD68型（EV-D68）の大きな流行があり、その際、急性弛緩性麻痺との関連が疑われたものの、未だ解明には至っていない。秋田県健康環境セ

ンターでは、感染症発生動向調査で収集された検体からのウイルス分離の一環として、乳飲みマウスへの接種を実施している。A群コクサッキーウイルス（CA）については、手足口病やヘルパンギーナと臨床診断された患者の検体からの分離がほとんどであり、例年どおりの傾向であった。ところが8～10月にかけて、喘息を主訴とする患者の咽頭拭い液を腹腔内に接種したところ、4～8日後に著明な弛緩性麻痺を呈する例が相次ぎ、最終的に13株を分離した。

これらの株について、既存のCAに対する抗血清で中和試験を試みたものの同定することはできなかった。そこで、プライマーEVP4 / OL68-1によるRT-PCRでVP4領域を増幅し、プライマー直近の571 bpをBLAST検索したところ、EV-D68に対する相同性が最も高く90%以上であった。確認のために、EV-D68に対する抗血清20単位を100 LD<sub>50</sub>のウイルスと反応させた後、乳飲みマウスに接種した結果、13株全てが中和された。また、一連の乳飲みマウスを用いた試験において、EV-D68を接種した際に出現する弛緩性麻痺が、前肢にまで及ぶことが観察さ

れた。一般的にCAは乳飲みマウスに弛緩性麻痺を起こすことが知られているが、後肢のみの麻痺にとどまることが多く、今回の結果はEV-D68の特徴の一つとして記録されるべきことである。

EV-D68については、検出例そのものがCAに比べて少ないこともあり、動物実験による知見はほとんど得られていない。培養細胞による分離株を乳飲みマウスに継代接種して弛緩性麻痺を観察した報告があるものの、臨床検体を直接接種して初代で分離した例はこれまで知られていない。今回、我々が分離したEV-D68は、乳飲みマウスにおいて前肢にまで及ぶ弛緩性麻痺が再現的に観察できるという特徴がある。冒頭に述べたとおり、ヒトの弛緩性麻痺との関連で、今後はEV-D68の病原性に関する研究の進展が望まれることから、実験動物モデルが得られたことには重要な意義が見出せるものと考えられる。

\*1：国立感染症研究所

---

秋田県健康環境センター年報

第13号 2017

---

発行日 平成30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

---