第１０回

秋田県健康環境センター調査研究発表会

要旨集

日 時　平成２７年７月１０日（金）　13:30～16:20

会 場　秋田県総合保健センター２階　第１研修室

秋　田　県　健　康　環　境　セ　ン　タ　ー

第１０回秋田県健康環境センター調査研究発表会プログラム

開催日時　　平成２７年7月１０日（金）１３：３０～１６：２０
開催場所　　秋田県総合保健センター２階　第１研修室

【１３：３０～１３：４０】　開　会
所長あいさつ

研究発表

【１３：４０～１４：４０】　保健衛生部　（４題）

１　結核対策支援のための高齢者福祉施設等におけるインタビュー調査結果について-------- 1

２　サルモネラ検査における遺伝子解析法の有用性について ---------- 3

３　秋田県における *Rickettsia helvetica* 保有マダニ刺咬例初確認と感染推定地の---------- 5
調査について

４　感染症発生動向調査における胃腸炎ウイルスの検出状況について ---------- 7

【１４：４０～１４：５０】　休　憩

【１４：５０～１５：２０】　理化学部（１題）,環境保全部（１題）

５　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 ---------- 9

６　水環境中放射性セシウムの迅速・微量分析法の開発---------- １１

【１５：４０～１６：２０】施設見学会コース
（保健衛生部・理化学部・環境保全部　事前希望者のみ）

① ５階出発コース
② １階出発コース（中止）

【16：２０】　閉　会

高齢者結核対策支援と薬剤耐性迅速診断法の導入に関する調査研究（H26～27年度）

1　結核対策支援のための高齢者福祉施設等における インタビュー調査結果について

○田中貴子

【はじめに】

本県では結核新登録患者のうち約 7 割を 65 歳以上の高齢者が占めており,秋田県医療保健福祉計画（平成 25 年 3 月）では，高齢者層に対する結核対策の強化を課題の一つとしてあげている。また近年，利用者の結核発病がみられた特別養護老人ホームや居宅介護支援事業所等で，介護職員の感染が報告される等，適切な結核対策が望まれている。このようなことから当センターでは，平成 26 年度～27 年度に高齢者結核対策支援のための調査研究を立ち上げ，高齢者の生活パターン（入所・通所）に合わせた「(仮称）高齢者福祉施設等における結核対応ガイドブック（以下，結核対応ガイドブックと表す)」の作成を目標として取り組んでいる。

今回，その参考とするためのインタビュー調査を実施したので，得られた知見について報告する。

【方法】

対象施設及び事業所：平成 24 年～25 年に結核患者の発生があり，保健所から紹介された特別養護老人ホーム 5 か所及び介護老人保健施設 2 か所（これらを以下，施設と表す)，居宅介護支援事業所 3 か所（以下，事業所と表す）の計 10 か所。回答者は施設長 1 人，施設長補佐 1 人，総務係長 1 人，看護師長 3 人，介護係長 1 人，事業所管理者 3 人であった。

方法：平成 26 年 12 月～平成 27 年 2 月に，対象施設及び事業所にて約 90 分のインタビュー調査を実施した。インタビュー項目は，結核についての意識及び意識づけ，結核患者発生時の対応，不安に思ったことや困ったこと，結核情報，保健所との連携，施設及び事業所における結核対策マニュアルの有無等 36 項目とした。

【結果】

１．結核についての意識及び意識づけ

施設及び事業所の介護職員は看護師に比べて全般的に結核の知識が少なく，感染の可能性に対する危機意識も薄いことが分かった。施設では，外部の感染症対策研修があった場合，看護師が代表で出席することが多く，介護職員は研修を受ける機会が少なかった。また，施設内部の取り組みとしてインフルエンザや感染性胃腸炎等の感染症は何度も研修を実施し，強化する対応をとっているが，結核については殆ど実施されていなかった。一方，事業所では施設以上に結核を知る機会が少なく，結核を学ぶ機会として事業所向けの研修を望むという意見があった。

２．結核患者発生時の対応

結核患者が発生して初めて結核対応の難しさを実感したという意見が多かった。例えば，食器の消毒，衣類寝具の洗濯，マスクの廃棄方法等，日常生活に関する一般的な情報が少なくその対応にとまどったことを複数の施設や事業所が述べていた。突然の結核患者発生時には多くの不安が生じ，利用者への介護ができないという意見が職員からあげられた。また，結核患者発生による利用者や職員の長期間にわたる接触者健康診断には，殆どの施設や事業所が連絡調整に苦慮したと回答していた。このようなことから，当センターで作成予定の結核対応ガイドブックには，発生時の具体的対応を加えて欲しいという意見が多く聞かれた。

３．不安に思ったことや困ったこと

普段から結核の知識がないため何をどうすればよいのか，どこに相談したらよいのか分から

なかった，全てが不安だらけだったという意見が複数聞かれた。特に事業所においてはその傾向が強く，風評被害の対応にも苦慮した事業所があった。

４．結核情報

ネットは情報量がありすぎて，その中から正しい結核情報を得るのが困難だという回答があった。施設や事業所における日常は極めて多忙であるため，自ら情報を取得する時間的ゆとりはないことが分かった。施設や事業所向けの情報は自動で受診できるＦＡＸが良い，各施設や事業所単位で結核対策マニュアルを作成することは困難であるため，１冊にまとまった結核対応ガイドブックがあれば有益だという回答が複数あった。

５．保健所との連携

施設や事業所では保健所の指導助言により前述の不安が解消されたり，接触者健康診断でも保健所主導でスムーズに終えることができたと回答しており，保健所は大きな役割を果たしていることが分かった。一方で数多い事業所の中には，保健所の役割を知らない所もあるのでないかという意見も聞かれた。

６．施設及び事業所における結核対策マニュアルの有無

結核単独の対策マニュアルを保有している施設は 2 か所であり，そのうち 1 か所は古い内容であった。感染症対策マニュアルは全施設及び事業所で保有していたが，結核情報の記載は一部であり，患者が発生した場合の具体的対応には情報量が足りないことが分かった。また，平成 26 年 4 月に厚生労働省から情報提供された「結核院内（施設内）感染対策の手引き－平成 26 年版－」を知っている施設や事業所は少なく，インタビュー調査に持参したその手引きを提示したところ，医学用語が多いため施設や事業所にとっては難しいという意見も聞かれた。以上から，結核対応ガイドブックは，結核の正しい知識，日常生活上の一般的な情報，結核患者発生時に即活用できる具体的対応，保健所との連携方法等が掲載され，理解しやすく一目見て分かりやすいものが必要とされていることが分かった。

【考察】

施設や事業所においては，普段から結核の教育研修をして患者発生を念頭においた体制を整えておくことが望ましいが，現実的にはなかなか難しい状況であることが分かった。しかし，結核対応ガイドブックを備えておくことにより，万が一の結核患者発生時には慌てずにパニックに陥ることなく，適切な対応が可能となることが期待される。

今回のインタビュー調査において，結核対応ガイドブックの必要性を複数の施設や事業所で回答していたが，本県では結核に特化したものはまだ作成されていない。既存の結核対策マニュアルに関しては，他県では各保健所単位で作成されたマニュアルはあるものの，自治体レベルのマニュアルは殆ど作成されていない。また，前述した「結核院内（施設内）感染対策の手引き」に関しては，最新版であるものの医療専門家が少ない施設や事業所にとっては全般的に難しい内容となっている。このようなことから，当センターが作成予定の結核対応ガイドブックには，できるだけ医学用語を少なくし，一部に図説を取り入れ一目で分かりやすいもの，内容には結核の正しい知識，結核患者発生時に即活用できる具体的対応，介護現場における日常生活上の一般的な情報等を盛り込み，1冊で結核対応全般が分かる工夫をしていきたいと考えている。

結核対応ガイドブックは，高齢者が入所施設や通所事業所で安心した生活が送れるよう支援する一つのツールになりうると考えられる。この結核対応ガイドブックが秋田県医療保健福祉計画で掲げる高齢者層に対する結核対策の強化施策の一助となるよう，引き続き保健所や健康推進課等関係機関と協力し，記載内容の検討に取り組んでいきたい。

【謝辞】

本調査に多大なる御協力をいただいた，特別養護老人ホームの皆様，介護老人保健施設の皆様，居宅介護支援事業所の皆様，並びに保健所の皆様に深く感謝いたします。

２　サルモネラ検査における遺伝子解析法の有用性について

○今野貴之　　髙橋志保　　樫尾拓子　　熊谷優子

【はじめに】

サルモネラは，細菌性の感染性胃腸炎及び食中毒の主要な原因菌のひとつである。健康環境センターでは感染症の発生動向を調査するため，病原体サーベイランスとしてサルモネラの血清型別検査を行っている。サルモネラの血清型は，動物や感染症や食中毒の原因となる食品と密接な関連性があり，血清型別による疫学的な解析は健康被害の防止対策の構築に役立っている。しかしながら，サルモネラを分離し，血清型を決定するまでの検査は煩雑で，通常一週間程度を要するため，これまでは迅速な情報提供は難しかった。さらに，サルモネラの血清型は複雑であり，誤同定されていた例もある。そこで本研究では，より迅速かつ精度の高いサルモネラの検査体制の確保を目的に，遺伝子解析法によるサルモネラの検出及び血清型別を検討した。今回，実際の感染症や食中毒事例に対する本研究の応用例などを示しながら，サルモネラ検査における遺伝子解析法の有用性について報告する。

【方法】

１．供試菌株

サルモネラ症患者由来の菌株については,県内の 14 箇所の協力医療機関から分与されたものを供試した。

２．食品等からのサルモネラの分離

食品 25g を BPW225ml に加え，37℃22±2 時間で増菌培養した。増菌液 0.1ml を RV 培地，増菌液 1ml を TT 培地に接種し、42℃22±2 時間で二次増菌した。二次増菌液 1 白金耳をサルモネラ用の寒天培地に画線塗末し，定型集落についてサルモネラの確認を行った。

３．PCR 法によるサルモネラ菌の確認

サルモネラの確認は，サルモネラ特異的な *invA* 遺伝子と亜種 I 特異的とされる STM4057 遺伝子領域を対象にした PCR 法により行った。

４．リアルタイム PCR 法によるサルモネラの検出

各培養液 100µl の遠心沈さについて，DNA をアルカリ加熱抽出した。上記の STM4057 遺伝子について PCR 増幅断片内に蛍光ラベルした TaqMan プローブを設計し, TaqMan Universal PCR Master Mix (Applied Biosystems)を用いて行った。

５．抗血清による血清型別

O 群別は，スライドガラス凝集法により行った。

H 型別は，増菌した BHI 培養液に 3%ホルマリン加生理食塩水を加えた抗原液と各 H 型血清を混和し，特異的な凝集反応を確認した。2 相目の H 抗原を誘導するため，陽性となった H 型の血清を含む相誘導培地に菌を接種し，菌の運動性を確認した。

６．抗原遺伝子等の解析

抗原遺伝子の解析については,既法を参考に PCR 法により O 抗原合成遺伝子, H1 抗原の *fliC* 遺伝子，H2 抗原の *fljB* 遺伝子を検出することにより行った。血清型 Typhimurium については，血清型に特異的な遺伝子領域を対象にした PCR 法による確認を行った。

７．パルスフィールドゲル電気泳動法による分子疫学的解析

パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）により，制限酵素で断片化した菌の DNA のパターンを調べた。これにより，菌株間の関連性を推測した。

【結果と考察】

１．増菌液からの迅速なサルモネラの検出

表 1 に食肉 21 検体について，培養検査の各過程におけるリアルタイム PCR 法によるサルモ

ネラ検出結果と分離同定の結果を示す。

サルモネラが分離されたのは 21 検体中 5 検体であり，血清型は Infantis (O7:r:1,5)と検体番号 6 からは Manhattan (O6,8:d:1,5)も分離された。リアルタイム PCR では増菌後 3 検体からサルモネラが検出され，二次増菌後はサルモネラが分離された 5 検体はいずれも陽性となった。また，複数の血清型が分離された検体番号 6 については O 抗原遺伝子の Multiplex PCR でも，分離された O7 及び O8 が検出された。本法を用いることで，今後食中毒等の原因食品が，複数の血清型によって汚染されていた場合でも効率的に検査が可能と考えられる。検体番号 10 については，サルモネラ分離陰性であったが，リアルタイム PCR では陽性であった。Ct 値（遺伝子の増幅産物がある一定量に達したときのサイクル数）を比較すると，サルモネラを選択的に増菌する二次増菌を行っても最初の増菌後と差が少ないことから，検体中の供雑菌の影響などによりサルモネラが増殖することができず，分離にいたらなかった可能性が考えられた。

表１　リアルタイム PCR と分離同定の結果比較

番号	名称	リアルタイムPCR（Ct値）				PCR	分離同定		
		増菌前	増菌後	二次増菌		O群	判定	血清型	
		BPW	BPW	RV	TT				
3	鶏むねミンチ	−	33.8	28.8	27.1		+	Infantis	O7:r:1,5
6	若鶏挽肉	−	−	25.7	24.9	O7(+) O8(+)	+	Infantis Manhattan	O7:r:1,5 O6,8:d:1,5
9	鶏もも挽肉	−	34.7	26.4	29.7		+	Infantis	O7:r:1,5
10	鶏むね挽肉	−	32.8	31.0	29.2		−		
12	鶏もも挽肉	−	−	26.5	35.6		+	Infantis	O7:r:1,5
13	鶏むね挽肉	−	−	30.5	36.7		+	Infantis	O7:r:1,5

＊他 15 検体についてはいずれも不検出

２．非定型的血清型 O7:-:1,5 によるサルモネラ症の流行

平成 22 年に県内の医療機関等から収集したサルモネラ 37 株のうち，4 株が血清型別により O7:-:1,5 となった。血清型 Choleraesuis (O7:c:1,5)の一部は，O7:-:1,5 として分離されることが多いことが知られている。O7:c:1,5 は，生化学的性状から血清型 Paratyphi C と Choleraesuis の 3 つの生物型に分けられる。分離された O7:-:1,5 の 4 株は，いずれも Paratyphi C の性状に当てはまり，当初 Paratyphi C と報告されていた。しかしながら，これまで県内では Paratyphi C が分離されたことがなかったことから，O7:-:1,5 株の血清型を確認するため，H1 抗原遺伝子の特定を行った。その結果，4 株の H1 抗原遺伝子は c ではなく k であり，血清型 Thompson の単相変異株と考えられた。4 株の PFGE 法による DNA パターンは同期間内に秋田県北部で分離された Thompson と同一であり，O7:-:1,5 株はこの地域に侵淫する Thompson から生じたと考えられた。

３．非定型的血清型 O4:i:-による食中毒事例

平成 25 年 1 月に能代保健所管内で発生した食中毒事例において，非定型的血清型のサルモネラ O4:i:-が検出された。本菌は非定型的な血清型であったが，PCR 法によりヒトに病原性を示す亜種 I であることが確認された。H2 抗原遺伝子については PCR 法を用いても確認できなかったが，血清型 Typhimurium（O4:i:1,2）に特異的な遺伝子が確認されたことから，分離株は Typhimurium の単相性変異株と特定された。O4:i:-の汚染源は，Typhimurium 同様に非常に広範であるが，食中毒の原因としては食肉製品が重要である。本事例の原因食品についても加熱不十分なチキンステーキが推定された。

４．稀な血清型 Agbeni による感染事例

平成 25 年 8 月 27 日から 9 月 11 日にかけて，稀な血清型 Agbeni (O13,23:g,m:-)の感染事例が 3 件確認された。稀な血清型であったことから，PCR 法による各抗原遺伝子の確認を行ったところ，O13 群 (+), H1;g,m (+), H2;1 及び H2;e,n についてはともに(-)であり，遺伝子的にも Agbeni であることが確認された。

【まとめ】

遺伝子解析法によるサルモネラの検出及び血清型別は，迅速で従来法で型別できないような場合でも有効であり，サルモネラ検査の迅速化と精度向上に有効と考えられた。

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）

3　秋田県における*Rickettsia helvetica*保有マダニ刺咬例初確認とマダニ生息調査について

○佐藤寛子　村井博宣[*1]　柴田ちひろ　秋野和華子　齊藤志保子　藤田博己[*2]　安藤匡子[*3]
[*1]泉皮膚科クリニック　[*2]馬原アカリ医学研究所　[*3]鹿児島大学共同獣医学部

【はじめに】

我が国においてダニ媒介性感染症は「つつが虫病」「野兎病」が古くから広く認識されていたが，1980 年代に入ってから日本紅斑熱およびライム病が，そして 2013 年には新たにウイルス性の疾患として SFTS の存在が明らかとなった。全国においては，西日本を中心にマダニ媒介性の「日本紅斑熱」の患者数が年々増加している。これは，近年，死亡例や電撃紫斑病を併発する例があったことから，地域における啓発と検査体制の整備が進んだことが反映しているとされている。本県においては，過去に日本紅斑熱患者の届出はないが，近隣県では同様の症状を示す紅斑熱群リケッチア症の患者発生が確認されており（図 1），一昨年 7 月には北日本では初めて新潟県で日本紅斑熱患者の発生が確認された。今回は，昨年 9 月，秋田県において初めて確認された紅斑熱群リケッチア症病原体保有マダニ刺咬例の確認の経緯とマダニ生息調査について報告する。

【方法】

１．マダニの同定と病原体検索：登山中にマダニに刺咬されたと推察される患者から摘出されたマダニについて，種別同定を行った。さらに，マダニを解剖し内容物を材料とした PCR による紅斑熱群リケッチアの検索を行った。加えて，患者血液中の *Rickettsia japonica, Rickettsia helvetica, Rickettsia tamurae, Francisella tularensis*, SFTS ウイルス対する抗体価上昇の有無を確認した。

２．マダニ生息調査：10 月 26 日,患者がマダニ刺咬に気づいた前日に訪れた秋田駒ヶ岳の登り口（中生保内）において，ハタズリ法を用いたマダニ採集を行った。採取されたマダニについては 1. と同様に病原体検索を行った。

【結果】

１．マダニの同定と病原体検索：マダニはヒトツトゲマダニ（♀）と同定された（図 2)。吸血はしておらず，刺咬から比較的短時間であったと推察された。また，real-time PCR の結果，紅斑熱群リケッチアが検出されたため，17kDa および gltA 領域における conventional PCR およびダイレクトシーケンスを行ったところ，*Rickettsia helvetica* と証明された。患者主治医は初診時より紅斑熱群リケッチア症に有効であるミノマイシン投与を開始しており，さらにマダニも未吸血であったことから，患者は発病には至らず，血清抗上昇は確認されず感染は免れていたことが判明した（表 1)。

２．マダニ生息調査：調査では，2 匹のマダニ（ヤマトマダニ，キチマダニ）が採集されたが，いずれも病原体保有は確認されなかった。

図 2　患者に刺咬していた
ヒトツトゲマダニ

【考察】

紅斑熱群リケッチア症のうち，*Rickettsia helvetica* 感染症は, 1999 年にスウェーデン人の死亡例がきっかけとなり発見された比較的新しい感染症である。症状はつつが虫病や日本紅斑熱に類似し，発熱と発疹が主症状で，臨床症状のみでの鑑別は困難である。現在確認されている発生地

域はヨーロッパ各地とタイであるが，日本における病原体の確認は 1993 年に熊本県で採集されたヒトツトゲマダニからの分離が最初であり，患者の確認は 2004 年に福井県においての 1 例のみとなっている（図 1）。しかし，*Rickettsia helvetica* 保有マダニの国内分布や紅斑熱群リケッチア症の検査体制が東日本では手薄であることを勘案すると，実際にこれまで患者が発生していた可能性は否定できない。

今回，秋田県において病原体保有マダニ刺咬例が確認されたことから，紅斑熱群リケッチア症が今後発生しうる可能性が見いだされた。患者は主治医の適切な判断によって感染は免れたが，今後はつつが虫病疑い患者の中に潜むマダニ媒介性感染症の発生についても注視する必要があると思われる。

表 1　刺咬症患者の血清抗体価

免疫ペルオキシダーゼ反応（IP）	採血年月日			
	2014 年 10 月 9 日		2014 年 10 月 20 日	
	IgG	IgM	IgG	IgM
Rickettsia japonica	<40	<40	<40	<40
Rickettsia helvetica	<40	<40	<40	<40
Rickettsia tamurae	<40	<40	<40	<40
その他：SFTSV　IP（－），*Francisella tularensis* 凝集反応（－），Weil-Felix（－）				

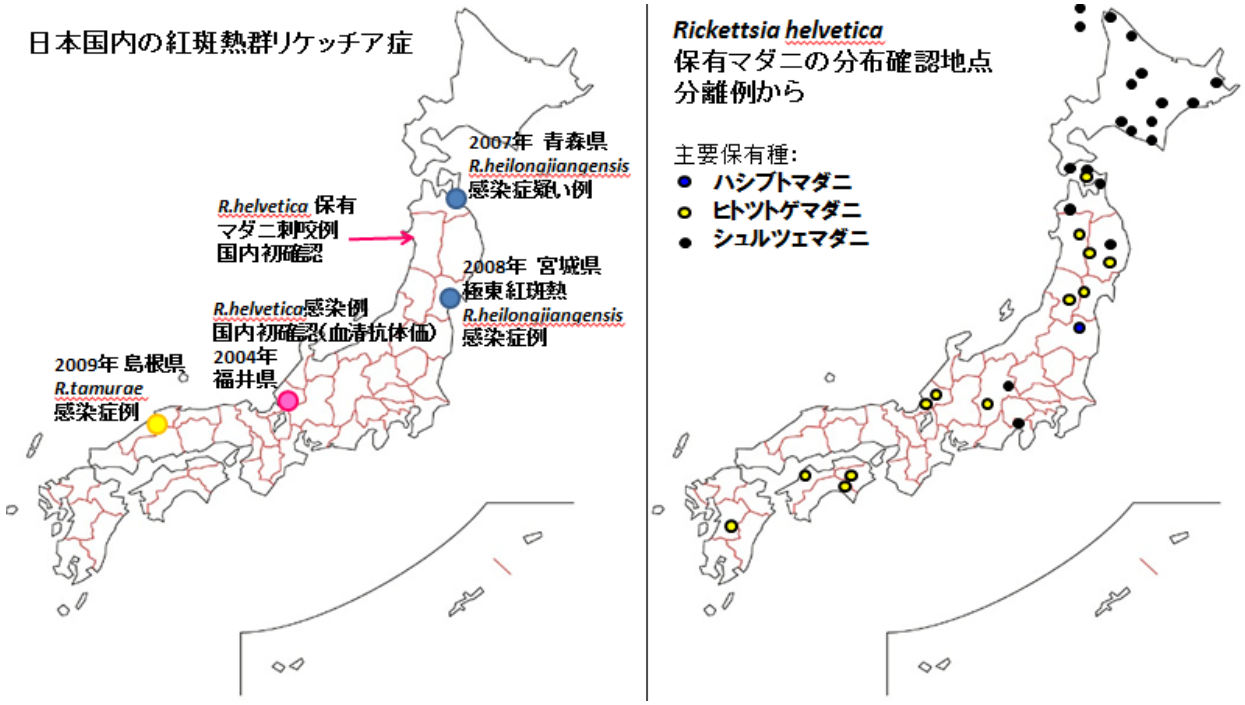

図 1　日本国内の紅斑熱群リケッチア症と *Rickettsia helvetica* の地理的分布 2014 年現在
馬原アカリ医学研究所　藤田博己所長より（一部改変）

感染症発生動向調査事業

４　感染症発生動向調査における胃腸炎ウイルスの検出状況について

○秋野和華子　　佐藤由衣子　　柴田ちひろ　　佐藤寛子　　斎藤博之

【はじめに】

日本における感染症サーベイランスは，感染症法に基づく感染症発生動向調査事業として，感染症の予防とまん延防止を目的に全国規模で実施されている。当センターでは事業の一環として，病原体定点医療機関より提供された検体からの病原体検出を継続的に行っている。中でも胃腸炎ウイルスは食中毒や集団感染事例の原因となることから，地域における流行状況の把握は重要と考える。そこで今回は，平成26年度に採取された感染性胃腸炎患者の糞便検体に含まれるウイルスの種類や検出頻度について集計解析を行ったので報告する。

【方法】

１．対象

小児科定点医療機関において平成26年度に採取された検体1047検体のうち糞便検体225検体および平成26年度に依頼があった行政検査35事例（食中毒8事例：照会事例1事例含む，集団感染27事例：照会事例1事例含む）を集計対象とした。

２．対象病原体

感染性胃腸炎の原因となる以下のウイルスを対象とした。

ノロウイルス，サポウイルス，ロタウイルス（A群，C群），腸管アデノウイルス

３．検査法

検体からDNAおよびRNAを抽出した後，アデノウイルスはconventional nested-PCR，その他のウイルスはreal-time PCRにより検出を試みた。検出されたウイルスについては，ダイレクトシークエンスにより塩基配列を決定し，遺伝子型別を行った。

【結果と考察】

１．感染症発生動向調査における胃腸炎ウイルスの検出状況

感染症発生動向調査における胃腸炎ウイルスの月別検出状況を表1に示す。提供された糞便検体225検体中57検体（25.3%）からウイルスが検出された。胃腸炎ウイルスの内訳は，ノロウイルスが27例（47.4%）と最も多く，次いでサポウイルスが14例（24.6%），A群ロタウイルスが13例（22.8%），アデノウイルスが2例（3.5%），C群ロタウイルスが1例（1.8%）であった。検出されたノロウイルスはすべてGⅡ型であった。A群ロタウイルスの1例についてはワクチン株であることが確認された。A群ロタウイルスに比べC群ロタウイルスの検出頻度は全国的にも低い傾向にあるが，平成26年度における当県での1例は全国でも唯一の検出となっていた。アデノウイルスは上下気道炎，結膜炎，胃腸炎など多様な疾患の原因となりうるウイルスであるが，検出された2例は胃腸炎症状を呈しており，遺伝子型別の分類から腸管アデノウイルスと確認された。日本における腸管アデノウイルスの検出は，ノロウイルス，サポウイルス，ロタウイルスと比較し頻度は低いが，年間を通して検出が認められている。季節的特徴として，冬場に流行期を迎えるノロウイルスは1月に最も多く検出された。ロタウイルスは例年全国的に2～5月にピークを迎えるが，秋田県では1～5月の間に検出が認められた。サポウイルスについては，全国的には年間を通して検出が認められそのピークは12月であったが，秋田県においては例年よりも検出数が多く，その検出時期は10～12月に集中していた。

２．食中毒および集団感染症事例からの胃腸炎ウイルスの検出状況

食中毒および集団感染症事例からの胃腸炎ウイルスの月別検出状況を表2に示す。行政検査として依頼のあった集団事例の原因病原体はノロウイルスとサポウイルスの2種類であった。35事例中30事例からノロウイルスGⅡ型が検出され，また，5事例からノロウイルスGⅠ型の検出

が認められた。食中毒事例におけるＧＩ型の3事例は，ＧⅡ型との混合感染であり，3事例すべてカキが感染源と確認された事例であった。カキやアサリ等二枚貝の中腸腺には複数の型が蓄積されていることが多いため，二枚貝の喫食が原因となる食中毒では混合感染となる可能性が高いと考えられる。ノロウイルスが原因と確認された事例はＧＩ型，ＧⅡ型ともに1月，2月に発生が集中していた。理由として，この期間，カキが感染源とみられた食中毒が5事例（ＧⅡ型感染2事例：内1事例は照会事例，ＧＩ型・ＧⅡ型混合感染3事例）と例年になく多く発生していたことがあげられる。いずれも生食または加熱不十分で食されていた。冬季において二枚貝を喫食する際には十分な加熱処理が感染予防につながると考えられる。サポウイルスは3事例で認められ，検出時期は10～12月の間となっており，発生動向調査による検出状況と同様の傾向がみられた。サポウイルスは6歳以下の小児への感染が多いウイルスであるが，この3事例は保育園および幼稚園での集団感染事例であった。

表1　感染症発生動向調査における胃腸炎ウイルスの検出状況

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
ノロウイルス	4	2	4						1	11	4	1	27
サポウイルス	2		1	1			2	4	4				14
A群ロタウイルス	5	6									2		13
C群ロタウイルス										1			1
腸管アデノウイルス	1							1					2
計	12	8	5	1	0	0	2	5	5	12	6	1	57

（検体数）

表2　食中毒および集団感染症事例からの胃腸炎ウイルス検出状況

		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
ノロウイルスＧⅡ型	感染症	6	5	2					1	2	1	5		22
	食中毒	1									5	2		8
ノロウイルスＧＩ型	感染症		1								1			2
	食中毒										2*1	1*1		3*1
サポウイルス	感染症							1		2				3
	食中毒													0
計		7	6	2	0	0	0	1	1	4	9*2	8*2	0	38*2

＊1 ノロウイルスＧⅡ型との混合感染事例　（事例数）
＊2 ノロウイルスＧＩ型・ＧⅡ型混合感染事例の再掲を含む

【まとめ】

小児における感染性胃腸炎の発生動向は，ノロウイルスによる食中毒等集団発生の報告数の推移と概ね一致するといわれている。今回の結果からも，食中毒等集団事例の発生は，本事業による胃腸炎ウイルスの検出状況を反映しているものと思われた。このことから，本事業においては，詳細かつ的確に病原体の動態を把握することが重要であり，地域や疾患の種類に偏りが生じないかたちでの検体収集が望まれる。今後も医療機関との連携をはかりながら流行状況の把握と情報還元に努めていきたい。

5　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

○松渕亜希子　　今野禄朗　　珍田尚俊[*1]　　天明さおり[*2]
[*1]農林水産部水産振興センター資源部　　[*2]山本地域振興局福祉環境部

【はじめに】

食品衛生法に基づく残留農薬のポジティブリスト制度が平成 18 年から施行され,残留基準値の設定された農薬が大幅に拡大した。特定の基準値が定められない場合は,一律基準（0.01 ppm）を適用し，すべての農薬に規制がかかるようになっている。そのため，残留農薬検査では一律基準レベルの低濃度で，高精度かつ網羅的に検知できる一斉分析法が求められている。また信頼性の高い分析結果であることを保証するために，検査で採用する分析法においては，バリデーション（妥当性確認）を行うことが必須となった。

当所では, GC-MS/MS 及び LC-MS/MS を用いた各種の一斉分析法により新制度に対応してきたが，さらに作業効率と精度を向上させるため，迅速簡便法であるクエッチャーズ法の一部を改良した新規一斉分析法の検討をした。また新規分析法について，8 食品を対象とした妥当性評価試験を行ったので，その結果を報告する。

【方法】

１．前処理法の検討

クエッチャーズ法を基本法として，さらに抽出効率及び精製効果を高めるため，抽出工程では抽出回数，精製工程では固相カラムによる精製条件の検討を行った。

２．対象農薬及び測定条件の検討

〈対象農薬〉GC-MS/MS（以下 GC）では 275 項目，LC-MS/MS（以下 LC）では 161 項目（うち 33 項目は重複)を測定した。

〈測定条件〉各農薬について高感度かつ定量性が良好な条件を検討し，表 1 の条件とした。各農薬の定量イオンの条件は，感度が最も良好な条件を設定した。また, GC ではマトリックス添加検量線, LC では絶対検量線を用いた（大豆はマトリックス添加検量線を使用)。

表１　測定条件

GC-MS/MS
ｶﾗﾑ：VF-5ms(内径0.25mm，長さ30m，膜厚0.25μm)+EZ-Guard 10m
昇温条件：70℃(3min)→30℃/min→160℃→2.5℃/min→200℃ →8℃/min→310℃(10min) Total：45min
注入法：ﾊﾟﾙｽﾄﾞｽﾌﾟﾘｯﾄﾞﾚｽ　注入口温度：250℃　注入量：2μL
流速：ｺﾝｽﾀﾝﾄﾌﾛｰﾓｰﾄﾞ1mL/min
ｲｵﾝ化ﾓｰﾄﾞ：EI　ｲｵﾝ化電圧：70eV ｲｵﾝ源温度：260℃
ﾄﾗﾝｽﾌｧｰﾗｲﾝ温度：290℃　測定ﾓｰﾄﾞ：Timed SRM
LC-MS/MS
ｶﾗﾑ：L-column 2（2.1 mm i.d.×150 mm，粒子径3 μm）
移動相：A液（0.01%ｷﾞ酸，0.5mM酢酸ｱﾝﾓﾆｳﾑ溶液） B液（0.01%ｷﾞ酸，0.5mM酢酸ｱﾝﾓﾆｳﾑ含有ﾒﾀﾉｰﾙ）
ｸﾞﾗｼﾞｴﾝﾄ time(min) / B液(%)
Posﾓｰﾄﾞ 0/10→1/60→3/60→5/75→8/75→12/95→20/95→20.5/10→30/10
Negﾓｰﾄﾞ 0/10→1/70→4/70→10/95→15/95→15.5/10→25/10
流速：200μL/min　ｶﾗﾑ温度：40℃　注入量：5μL
ｲｵﾝ化条件：ESI　Positive(P) Negative(N)　測定ﾓｰﾄﾞ：Scheduled MRM
ｲｵﾝ源温度：P 500℃ N 400℃　ｲｵﾝ源電圧：P 5000V　N －4500V

３．妥当性評価試験

厚生労働省通知のガイドライン（平成 22 年 12 月 24 日，食安発 1224 第 1 号）に従い，各農薬の添加回収試験を実施した。

〈試　　料〉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〉0.01 及び 0.05ppm の 2 濃度（ppm = μg/g）

〈試験計画〉分析者 3 名が 2 濃度添加試料を，1 日 2 試行，2 日間分析

〈評価基準〉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，検量線の精度も確認した。

【結果及び考察】

クエッチャーズ法は，使い捨ての遠沈管内で抽出・塩析操作を 1 度で行い，得られた抽出液に吸着剤を直接加えて精製する方法で，効率よく多検体を処理できる。しかし農薬及び食品によっては，抽出及び精製不足となり高精度な分析が難しいことも報告されている。そこで，抽出回数を増やし，固相カラムによる精製を行うことにした。各検討の結果，抽出を 2 回繰り返し，複数の固相カラムを組み合わせる方法に変更することで，より良好に一律基準レベルの測定が可能となった。変更後の前処理のフローを図 1 に示す（GC 及び LC-MS/MS 用試験溶液の各前処理法を GC 法，LC 法とする）。

検討した新規分析法について，ガイドラインに従い農薬の添加回収試験を実施し，妥当性を評価した。結果を図 2 に示す。GC 対象農薬では，8 食品において評価基準に適合した農薬が約 8 割を占め，概ね良好な結果となった。LC 対象農薬では，ねぎ以外の 7 食品で，約 8 割の農薬が評価基準を満たした。ねぎは約 6 割で適合となった。全食品に適合した農薬は GC 対象農薬で 138 農薬，LC 対象農薬で 55 農薬であり，これらの農薬は，本法により安定的に測定が可能であった。また，不適合となった農薬は複数の食品に渡っており，もともと物理的・化学的性質上，一斉分析法が不向きなものが多かった。

LC 法のねぎについては，共通の GC 対象農薬の回収率が良好であることから，ねぎ特有の夾雑物を十分に除去できていないと考えられた。そこで，精製量を半量にした 20 倍希釈試験溶液で添加回収試験（添加濃度：0.01 及び 0.05 ppm，各 n=5）を行ったところ，適合する農薬が約 8 割となり改善することができた（図 2 に追試の結果を掲載）。

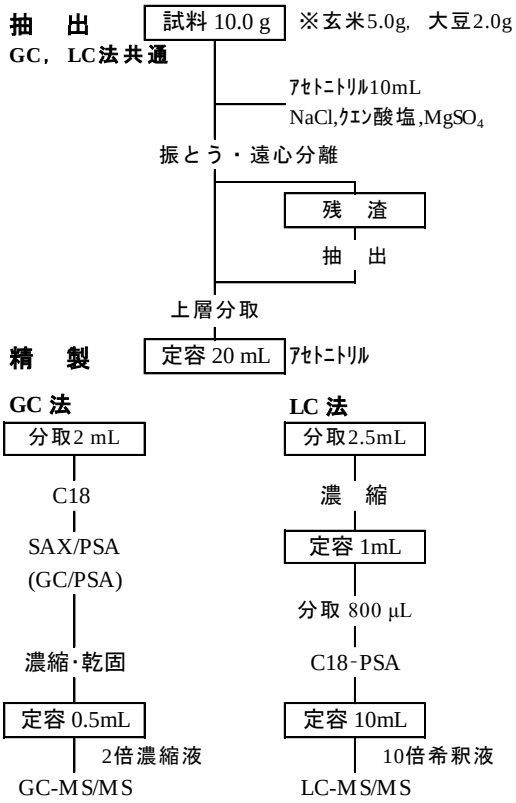

図 1　前処理フロー

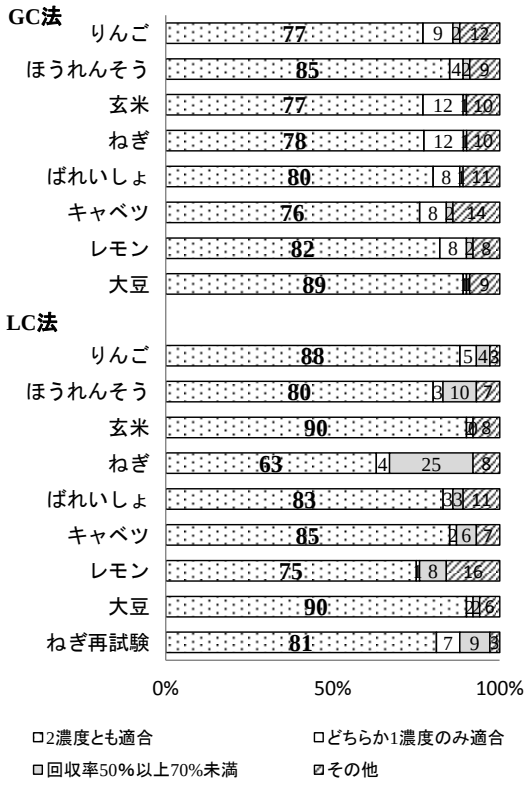

図 2　妥当性評価試験結果

【まとめ】

より効率的で高精度な新規一斉分析法を検討し，妥当性評価試験を実施した。評価基準に適合した農薬の割合は，LC 法でのねぎを除き，GC 及び LC 法で概ね 8 割と良好な結果が得られた。LC 法のねぎについては，精製負荷量を半量にすることで改善が可能であった。今後は不適合の農薬について，測定条件の変更や個別試験法の適用等を検討する予定である。

文部科学省 科学研究費助成事業 挑戦的萌芽研究（平成24～26年度）

6　水環境中放射性セシウムの迅速・微量分析法の開発

○玉田将文　　山口裕顕[*1]　　中野和典[*2]　　亀田豊[*3]
[*1]スリーエム ジャパン株式会社　　[*2]日本大学工学部　　[*3]千葉工業大学工学部

【はじめに】

福島第一原発事故による放射性セシウム（Cs）の環境汚染に対し，平成 23 年度以降，文部科学省によるモニタリング調査が実施されてきた。特に水試料中の Cs 分析方法は，放射能測定シリーズの分析法に準拠し，数十～100 L の試料水を採取・加熱濃縮後，Ge 半導体検出器付きγ線スペクトロメーター（Ge）により測定するといった，同事故前から採用されてきた一般的な分析法である。しかし，この蒸発濃縮法は，高額で設置条件が厳しい Ge の使用，多大な労力及び長時間の蒸発濃縮等が必要な微量分析である上，この方法による国内の水試料中 Cs 濃度は大半が検出下限値（DL）未満（ND）と報告されており，Cs の環境動態解析，将来予測モデルの構築及びリスク評価のための基盤情報等として利用出来ていない。そこで本研究では，Cs の選択的吸着性を有する 3M™ 社製ラドディスクセシウム（RadDisk-Cs）を用いた迅速・微量分析法を開発した。今回の発表では，RadDisk-Cs を用いた NaI シンチレーションカウンター（NaI）による迅速・微量分析法（ADiCS 法）[1)]及びパッシブサンプリング法（PS 法）[2)]（図 1）の特性について報告する。さらに RadDisk-Cs を用いて秋田県内の水環境中 Cs 調査を実施したので，その結果を併せて報告する。

【方法】

ADiCS法では，Cs測定にNaIを使用するため，Geの結果と比較しておく必要がある。そこで河川水をRadDisk-Csに通水後，NaI及びGeにて測定し，その結果を比較した。またPS法では，補正物質（PRC）の特定及びグラブサンプリングによる測定結果との比較等を試みた。

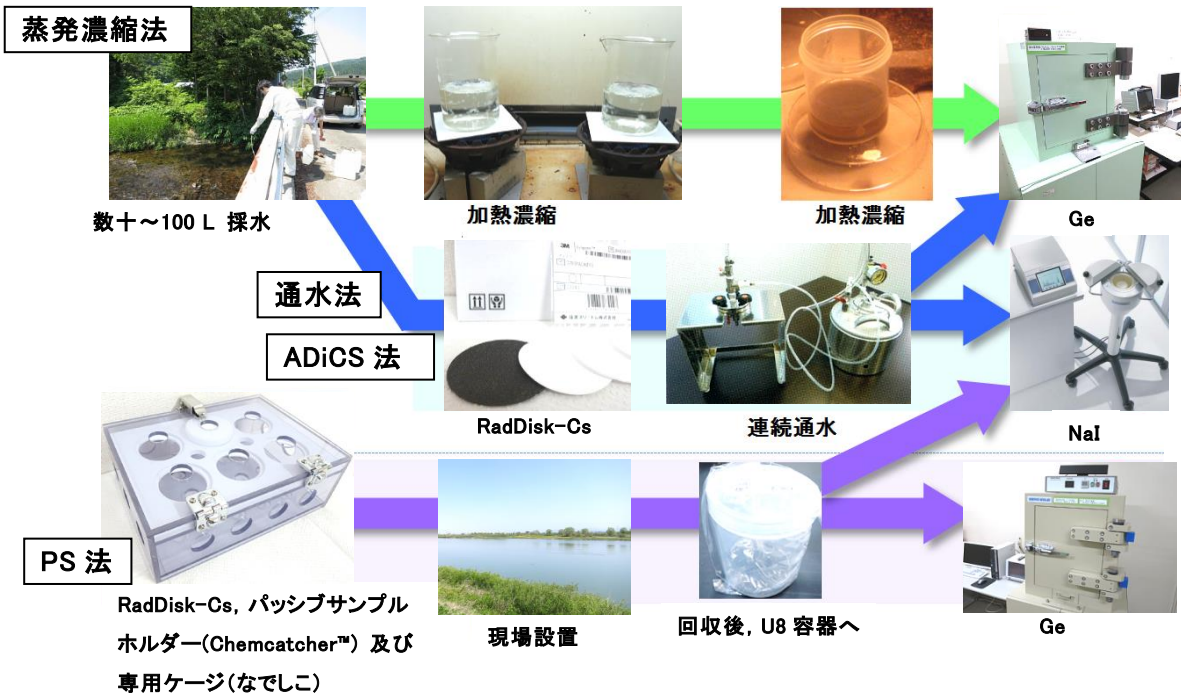

図1 水試料中Cs分析法の概要

【結果と考察】

ADiCS法では，NaI及びGe測定値は20%以内の誤差に収まり，最小二乗法による直線回帰は相関係数 R^2 = 0.97 であり（図2），RadDisk-CsであればNaIはGeと同等の分析値が得られることが示唆された。また，ADiCS法による測定値は蒸発濃縮法によるものと最大30%の誤差範囲内に収まり（図3），水試料中の微量Cs測定における本手法の有効性が確認できた[1)]。

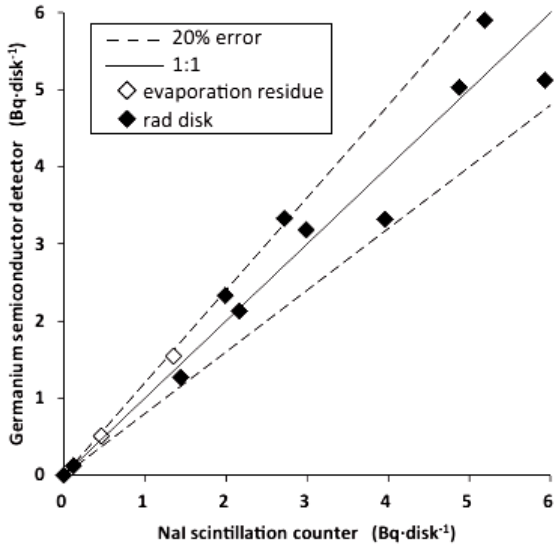

図2 NaI及びGeの測定結果比較

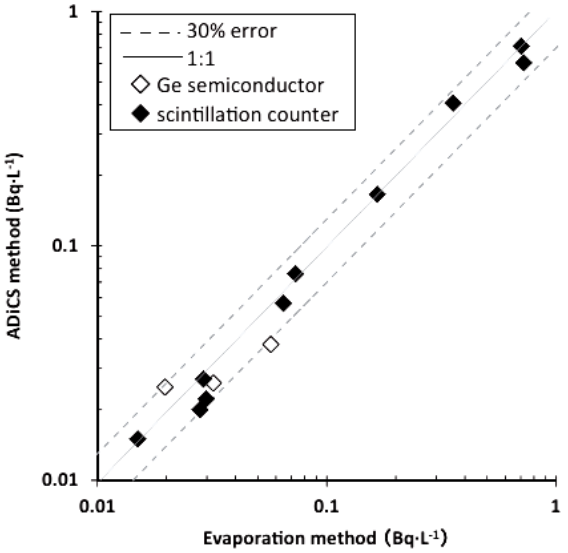

図3 ADiCS法及び蒸発濃縮法の測定結果比較

PS法では，PRCを特定し，グラブサンプリングによるCs平均値と比較した結果がほぼ一致したことから，本手法の有効性が確認できた[2)]。また，本手法を福島県内の湖沼へ適用した結果，成層形成時の水深によってCs濃度が大きく異なることが明らかとなるとともに，極低濃度のCsモニタリング手法として有効であることが示唆された[3)]。

【秋田県内の水環境中Cs調査】

福島第一原発事故以降，環境省は東日本の自治体における水環境中Cs調査を実施してきたが，秋田県は調査対象外であり，県独自の調査も実施していない。そのため，福島第一原発事故の影響による秋田県内の水環境中Cs濃度は殆ど不明であり，バックグラウンドデータが不足している[4)]。そこで本研究において開発したRadDisk-Csを用いた分析法により，県内の水環境中Cs濃度を把握するために，モニタリング調査を実施した。調査地点は，雄物川，秋田運河，田沢湖，八郎湖等とした。本調査結果の詳細は，発表当日に説明する。

【参考文献】

1) 亀田豊，山口裕顕，玉田将文，太田誠一（2014）選択性吸着ディスクと NaI シンチレーションカウンターを用いた表流水中放射性セシウムの迅速微量分析方法の確立と特性評価，水環境学会誌，Vol.37. No6. pp 211-218.
2) 亀田豊（2012）選択性吸着ディスクを応用した河川環境試料中の放射性セシウムの超迅速極微量分析手法を組み合わせた河川水中放射性セシウムの次世代型パッシブモニタリング手法の確立，河川整備基金助成事業報告書.
3) 中野和典，手塚公裕，長林久夫，亀田豊，玉田将文（2014）低線量地域における水中放射性セシウム濃度の計測，生物工学会誌，Vol.92. No5. pp 217-221.
4) 秋田県生活環境部（2012）秋田県環境審議会環境保全部会議事録，平成 24 年 2 月 9 日. http://www.pref.akita.lg.jp/www/contents/1131694790758/files/H240209hozenbukai.pdf

秋 田 県 健 康 環 境 セ ン タ ー
Akita Research Center for Public Health and Environment

〒010-0874　秋田市千秋久保田町６番６号

電話　　０１８（８３２）５００５（代表）
FAX　　０１８（８３２）５９３８
E-mail　b10266@pref.akita.lg.jp