

# 茨城県衛生研究所年報

第 54 号

Annual report of Ibaraki Prefectural  
Institute of Public Health

2016

茨城県衛生研究所



## はじめに

茨城県衛生研究所は、平成26年4月に保健所の検査業務を統合し、管内全域を対象にして、保健衛生対策における科学的かつ技術的中核機関としての役割を果たすべく、調査研究、試験検査、研修指導及び公衆衛生情報の収集・解析・提供を行っております。

平成27年度は、第1期中期運営計画の最終年度として5年間の取りまとめを行うとともに、その成果や検証結果を反映した新たな第2期中期運営計画の策定をいたしました。

当所は若手研究員が大半を占め、人材育成が大きな課題となっていることから、研修や学会へ参加する機会を積極的に設け、知識・技術の習得と調査研究への挑戦を促しております。

また、地位の医療機関への支援や県研究機関との連携を模索し、県内の公衆衛生の確保のために、試験検査と調査研究に取り組みました。

さらに、改正感染症法に対応するため、手順書や機器の点検等の体制整備を進めるとともに、平成27年9月関東・東北豪雨の際には、避難所サーベイランスを実施、衛生管理及び感染対策に関する情報発信を行い、災害発生時における早期の関係機関の情報共有を図り、感染症の集団発生を未然に防ぐことができました。

ここに、一年間の成果を茨城県衛生研究所年報第54号として発刊いたします。

今後も、質の高い試験検査と地域における健康危機管理の責務を担えるよう、職員一同、努力と研鑽を積んで参ります。

関係者の皆様におかれましては、今後ともなお一層のご指導とご助言をくださいますようお願い申し上げます。

平成28年 12月

茨城県衛生研究所長 小林 雅枝



# 目次

## 第1章 総説

1 沿革.....	1
2 組織と業務内容.....	2
3 職員の配置.....	3
4 平成27年度 歳出決算書.....	3

## 第2章 業務の概要

1 企画情報部.....	4
2 細菌部.....	11
3 ウイルス部.....	16
4 理化学部.....	24

## 第3章 調査及び研究報告

1 カンピロバクター属菌の PFGE 法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に 関する試験研究事業－最終報告－.....	30
2 ESBL 産生性腸管出血性大腸菌 O26 感染症分離菌株の薬剤耐性遺伝子について.....	39
3 茨城県において平成27年次に発生した腸管出血性大腸菌 O157 感染症分離菌株の 分子疫学解析について.....	43
4 茨城県内で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒事例について.....	48
5 VNTR 法を用いた結核菌分子疫学解析確立のための調査研究 －平成27年度報告及びまとめ－.....	52
6 茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況（2015/2016 シーズン）.....	56
7 平成27年度 茨城県感染症流行予測調査事業.....	63
8 平成27年度 HIV 抗体スクリーニング検査について.....	68
9 茨城県における水道水及び加工食品の放射性物質試験検査結果について -平成23～27年度-.....	72
10 農産物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について.....	77
11 危険ドラッグ中の指定薬物試験検査結果について-平成25年度～平成27年度-.....	89

## 第4章 その他

1 外部人材育成, 教育活動.....	96
2 学会発表.....	97
3 他誌掲載論文等.....	98



# 第 1 章 総 説





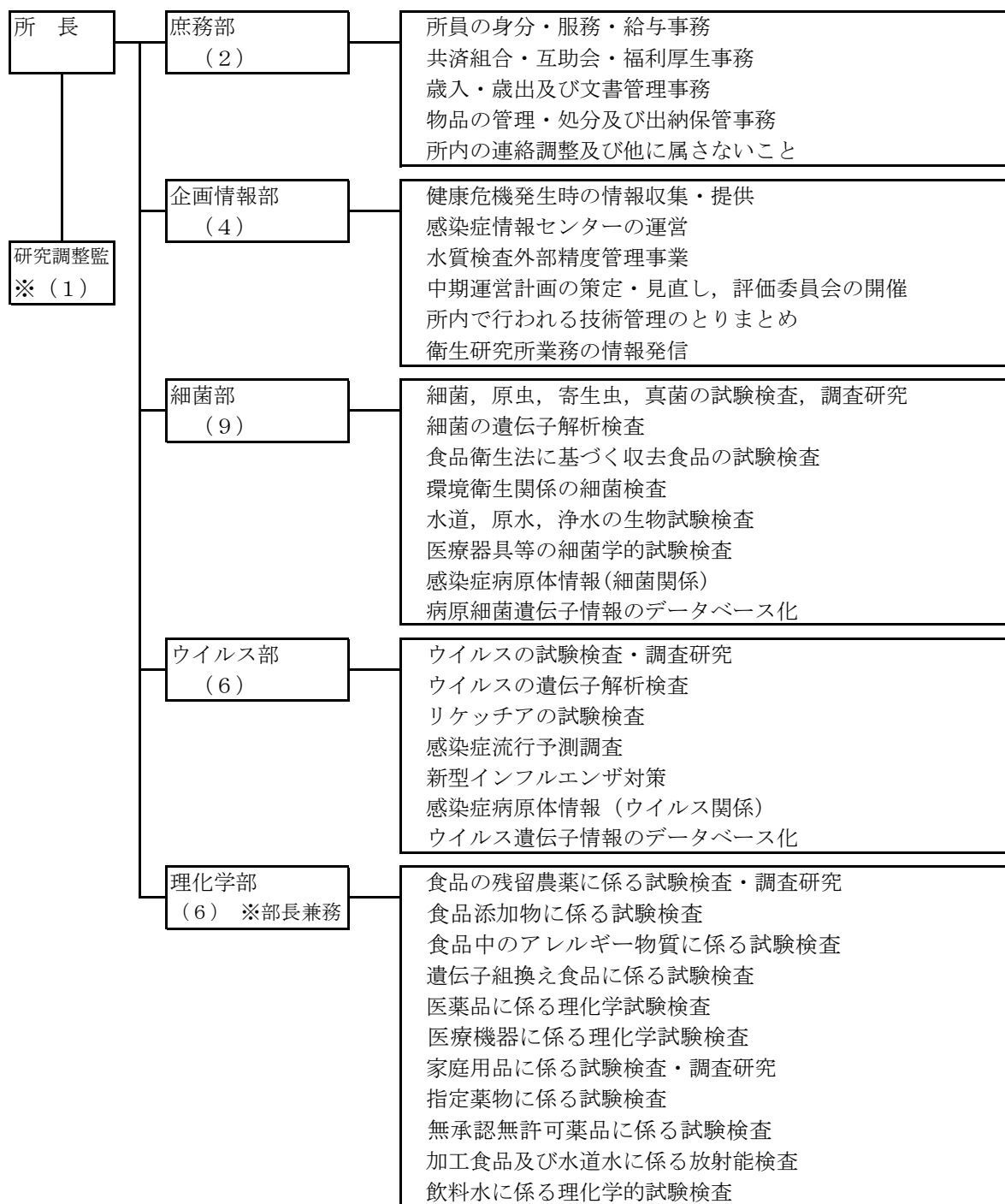
## 1. 沿革

- 昭和30年12月 厚生省通達に基づき、それまで衛生部に設置されていた細菌検査所及び衛生試験所（昭和6年警察部衛生課所属設置）の2機関が統合されて、茨城県衛生研究所として、設置された。  
（所在地：水戸市三の丸県庁構内，建物構造：鉄筋コンクリート2階建）
- 昭和34年 4月 庶務部，細菌部，化学部，食品衛生部，の4部制が敷かれた。
- 昭和38年 4月 庶務部，微生物部，化学部，食品衛生部，放射能部，の5部制となる。
- 昭和40年10月 水戸市愛宕町4番1号に庁舎竣工，県庁構内から移転した。
- 昭和47年 6月 放射能部が環境局公害技術センターへ移管され，4部制となる。
- 昭和53年 6月 組織改正により，庶務部，微生物部，環境保健部，食品薬品部，生活環境部，の5部制となる。
- 平成 3年 5月 水戸市笠原町993番2に新庁舎竣工，旧庁舎から移転した。
- 平成13年 4月 組織改正により，庶務部，企画情報部，微生物部，理化学部，遺伝子科学部，へ改編される。
- 平成22年 4月 組織改正により，庶務部，企画情報部，細菌部，ウイルス部，理化学部，へ改編される。
- 平成26年 4月 組織改正により，水戸保健所及び土浦保健所の検査課を統合した。

### 【施設の概要】

所在地	水戸市笠原町993番2
敷地	いばらき予防医学プラザ敷地（22,418㎡）内
建設	平成 1年10月26日 着工 ～ 平成 3年 3月31日 竣工
建物	いばらき予防医学プラザ内庁舎（鉄筋コンクリート3階建） （延べ床面積2,916.73㎡）

## 2. 組織と業務内容（平成28年4月1日現在）



\* 配置定数26人(事務2，技術24)に対し，現員は28人(事務2，技術26(再任用2を含む))である。

### 3. 職員の配置

(平成28年4月1日現在)

所属	内訳 事務	技 術 職					任期付 研究員	技能 労務	計	嘱託及 び臨時 職員	合計
		医師	獣医師	薬剤師	臨床検 査技師	化学農 芸化学					
所長				1					1		1
庶務部	2								2	1	3
企画情報部				1	3 (1)				4 (1)		4 (1)
細菌部			1	2	5	1 (1)			9 (1)		9 (1)
ウイルス部			2	1	3				6		6
理化学部				4		2			6	2	8
計	2	0	3	9	11 (1)	3 (1)	0	0	28 (2)	3	31 (2)

※( )は再任用職員で内数

### 4. 平成27年度 歳出決算書

(単位：円)

科 目		決算額	備 考
保健所管理費	保健所運営費	160,000	
衛生研究所費	衛生研究所費	29,826,035	
予防費	感染症予防費	12,069,200	
	エイズ対策費	917,000	
	保健検査費	3,087,740	
	健康危機管理対策費	96,600	
結核対策費	結核対策費	592,800	
健康増進費	健康増進対策費	6,272,640	
薬事費	薬事指導費	4,001,410	
	麻薬大麻取締費	2,964,520	
環境衛生指導費	環境衛生指導費	399,974	
食品衛生指導費	食品衛生費	28,498,727	
	乳肉衛生費	563,294	
水道施設指導費	水道施設指導費	1,330,117	
狂犬病予防費	狂犬病予防費	295,000	
一般会計 歳出 合計		91,075,057	

\* 職員給与費に係る歳出決算額は除く。



## 第 2 章 業 務 の 概 要



## 1. 企画情報部

### 1 機関評価委員会及び調査研究企画・評価委員会の開催

平成 27 年 7 月 28 日（火）に中期運営計画（H23～H27，五カ年計画）及び年度実施計画の取組状況や目標の達成度についての評価を受けるため、また、当研究所が行う調査研究事業についての評価を受けるため第 1 回委員会を開催した。また、平成 27 年度は現行の中期運営計画最終年度となることから、平成 28 年度から平成 32 年度までの第 2 期中期運営計画骨子についても併せて意見を聴取した。更に骨子に基づき作成した第 2 期中期運営計画（H28～H32）（案）について平成 28 年 1 月 7 日（木）に第 2 回機関評価委員会を開催し意見を聴取した。機関評価委員会は、地域保健・公衆衛生分野の専門家・有識者 5 名、内部委員 2 名及び共通委員 2 名、計 9 名により構成され、調査研究企画・評価委員会は、機関評価委員から共通委員を除いた計 7 名により構成される。

#### (1) 機関評価委員会

##### ア 評価対象

##### i) 県民に対して提供する業務

調査研究，試験検査，研修指導，公衆衛生情報等の収集・解析・提供

##### ii) 業務の質的向上，効率化のために実施する方策

全体マネジメント，他機関との連携，内部人材育成

##### イ 評価基準

評価については、達成度と難易度を考慮して判断を行う。難易度は H（高）・M（中）・L（低）の 3 段階、達成度は 4 段階（AA・A・B・C）の基準を用い、これらを勘案した上で、下表を参考に判断する。総合評価は、各委員からの評価レベルの差を反映させるため、4 段階評価の基準を細分化し、1 つでも上の評価があれば＋（プラス）、1 つでも下の評価があれば－（マイナス）と判定される。

難易度	達成度			
	AA	A	B	C
H	AA	AA	A	C
M	AA	A	B	C
L	A	B	C	C

##### ウ 平成 26 年度評価結果

総合評価：A<sup>+</sup> 試験研究機関に期待される役割や目標等に照らし合わせて、質・量の両面において着実に取組みを実施していると評価された。

##### エ 第 2 期中期運営計画（H28～H32，五カ年計画）骨子（案）についての説明

#### (2) 調査研究企画・評価委員会

##### ア 評価対象研究課題

##### （ア）完了報告

平成 26 年度に完了した研究課題 2 題

(イ) 事前評価

平成 28 年度から実施予定の研究課題 3 題

(ウ) 中間評価

平成 24 年度及び平成 26 年度から開始した研究課題 2 題

(エ) 中止報告

平成 27 年度に継続困難なため中止した研究課題 1 題

イ 評価項目

(ア) 完了報告

①調査研究の妥当性 ②目標の達成度 ③成果の意義, 活用性 ④総合評価

(イ) 事前評価

①必要性 ②目的の適合性 ③計画内容等の妥当性 ④目標の達成及び活用の可能性 ⑤総合評価 ⑥計画実施の適否

(ウ) 中間評価

①必要性 ②進捗状況 ③計画の妥当性 ④目標の達成及び活用の可能性  
⑤総合評価 ⑥継続実施の評価

ウ 評価基準

上記①～⑤の評価項目については 5 段階評価, ⑥については 3 段階評価

エ 研究課題及び評価結果

(ア) 完了報告

- ・ 健康危機管理情報に関する調査研究  
総合評価：4.1
- ・ 医薬品類の安全性に関する調査研究（家庭用品）  
総合評価：3.9

(イ) 事前評価

- ・ VNTR を用いた結核菌分子疫学解析の実施とデータベースの作成  
総合評価：4.7
- ・ 野生鳥獣（イノシシ等）の病原体保有状況調査  
総合評価：4.3
- ・ 柑橘類等の残留農薬多成分一斉分析法に関する調査研究  
総合評価：4.2

(ウ) 中間評価

- ・ 二枚貝が保有する下痢症ウイルスの把握と疫学解析  
総合評価：4.4
- ・ カンピロバクター属菌の PFGE 法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に関する試験研究  
総合評価：4.4

(エ) 中止報告

- ・ サツマイモ及びその加工品中の抗酸化物質に関する研究  
中止の承認を受けた。



## 2 地方衛生研究所全国協議会の連絡調整

協議会の会員機関として、21 件の調査等(表 1)に協力するとともに、会員機関同士の情報交換を行った。

表 1 地方衛生研究所全国協議会の調査等一覧

調査名	実施機関等
疫学調査研究部門の設置状況について	岐阜県保健環境研究
分析機器に関するアンケートのお願いについて	熊本市環境総合センター
食品中の残留農薬等の試験検査に用いる GCMS(MS)の調査への協力のお願い	静岡県環境衛生科学研究所
結核菌 VNTR 解析の状況アンケート	愛媛県立衛生環境研究所
地方環境衛生研究所のあり方検討について	香川県環境保健研究センター
地方衛生研究所の機能強化について	茨城県衛生研究所
感染研からのインフルエンザアンケート調査協力依頼について	国立感染症研究所 (インフルエンザウイルス研究センター第一室)
健康被害危機管理事例(概要情報)の継続調査について	岡山県環境保健センター
「感染症法施行規則の一部を改正する省令(案)」に関する意見募集について	厚生労働省健康局結核感染症課
細菌感染症検査における外部精度管理の実施について	富山県衛生研究所
平成 27 年度外部精度管理(ウイルス検査)実施について	富山県衛生研究所
ICP 等の設置状況について	群馬県食品安全検査センター
ノロウイルス等の試験検査法の改定に関する意見照会	愛媛県立衛生環境研究所
信頼性確保(保証)部門について	愛媛県立衛生環境研究所
地方衛生研究所における薬剤耐性菌検査に関する調査へのご協力のお願い	愛媛県立衛生環境研究所
今後の衛生研究所のあり方についての検討等の状況について	大分県衛生環境研究センター
研究所庁舎の非常用電源設備の状況について	三重県保健環境研究所
地方衛生研究所の建設等に関するアンケートについて	愛媛県保健福祉部健康衛生局
覚せい剤等の鑑定業務について	栃木県保健環境センター
健康被害危機管理事例集一覧の項目再設定等について	岡山県環境保健センター

### 3 水道水測定分析外部精度管理

水道水の測定分析に従事する検査機関の検査精度の信頼性を確保するため、13 水質検査機関を対象に水道法水質基準項目の「アルミニウム及びその化合物」について「外部精度管理」を実施した。

参加機関数は 13 であったが、分析方法が検査方法告示と異なる 3 機関の結果は、参考値扱いとしたため 10 機関の測定値について評価を行った。10 機関の測定値(5 回測定の平均値)について、Grubbs の棄却検定を行ったところ測定値が 5%棄却限界を越えた機関はなかった。平均値は 0.0203 mg/L, 中央値は 0.0205mg/L, 濃度範囲は 0.0194 ~ 0.0210 mg/L であり、標準偏差は 0.0006 mg/L であった。各機関の Z スコアの範囲は-1.9 ~0.74, 中央値に対する各機関の誤差率の範囲は -5.7 ~2.2 %, 機関内変動係数は最大で 1.4 %, 機関間変動係数は 2.7 %であった。

Z スコアは、全ての機関において  $|Z| \leq 2$  となり良好であった。各機関の測定値の変動係数は、規定値(RSD%  $\geq 10$ )をこえた機関はなく、各機関とも良好な精度であった。

### 4 ホームページの運営

研究所全体の概要や各部の業務、試験検査・調査研究の紹介及び最新情報を提供するためホームページを開設し平成 15 年 2 月から運営している。なお、平成 27 年 3 月に茨城県ホームページシステム変更に伴いリニューアルした。

<http://www.pref.ibaraki.jp/soshiki/hokenfukushi/eiken/index.html>

ホームページ管理運営委員会を 2 ヶ月に 1 回開催、感染症及び食品に関する公衆衛生情報を 22 件(表 2)掲載した。平成 27 年度の新たな取り組みとして、当所の検査に関するクイズを各部で作成し、夏と冬の 2 回掲載した。

また、健康プラザの展示スペースにパネルを掲示した。

[パネルテーマ]

4 月～ 7 月：茨城県衛生研究所、結核菌の疫学解析、デング熱をご存知ですか？、健康食品のことを知っていますか!?

8 月～11 月：感染症情報センター、カンピロバクター属菌の PFGE 法を用いた疫学に関する試験研究事業、遺伝子検査ってなあに？、加工食品中の残留農薬について

12 月～3 月：近年増加しているレジオネラ症、食中毒の原因寄生虫、ウイルス分離培養検査ってなに？、食べものと放射性物質のはなし

表2 ホームページ掲載公衆衛生情報

年	月	掲載内容
2015年	4月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・A群溶血性レンサ球菌咽頭炎</li> <li>・伝染性紅斑が流行しています！</li> </ul>
	5月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・デング熱をご存知ですか？</li> <li>・肉の生食による食中毒に注意しましょう</li> <li>・医薬品の品質保証について</li> <li>・デング熱について</li> <li>・夏季に増加する感染症に注意しましょう！～腸管出血性大腸菌感染症～</li> </ul>
	6月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・夏季に増加する感染症に注意しましょう！～手足口病・ヘルパンギーナ～</li> <li>・中東呼吸器症候群（MERS）について</li> </ul>
	8月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・日本脳炎に注意しましょう</li> <li>・水道法に基づく病原微生物検査について</li> <li>・夏から秋にかけては毒キノコに注意してください</li> <li>・梅毒の報告が増加しています</li> </ul>
	10月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・流行性耳下腺炎の流行状況（2015年）</li> </ul>
2016年	11月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・インフルエンザウイルスの検出状況について</li> <li>・ズーノーシス（動物由来感染症）について</li> <li>・「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則」の一部改正について</li> </ul>
	12月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・感染性胃腸炎</li> </ul>
	1月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・インフルエンザに関する情報</li> </ul>
2016年	2月	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ウイルス分離培養検査ってなに？</li> <li>・漬物の収去検査について</li> <li>・健康食品のこと知っていますか！？</li> <li>・海外で「ジカウイルス感染症（ジカ熱）」が流行しています</li> </ul>

## 5 感染症情報センター

感染症発生動向調査における週報・月報等の報告還元業務の他、感染症情報収集システム（学校欠席者情報収集システム（保育園サーベイランス含む））の管理並びに情報提供を衛生研究所ホームページ等で行っている。また、9月に発生した「平成27年9月関東・東北豪雨」の際には、避難所サーベイランスを実施し、水害時の衛生対策に関する情報の発信を行った。

県内の医療機関から報告された二類～五類感染症（全数把握疾患・定点把握疾患）の報告数を表3および表4に示す。

また、年度末に開催された「平成27年度茨城県感染症対策委員会」及び「平成27年度茨城県麻しん風しん対策会議」の事務局として概要の説明を行った。

表 3 平成 27 年 全数把握疾患

分類	疾病名	報告数	分類	疾病名	報告数
二類	結核	509	五類	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌感染症	7
三類	細菌性赤痢	6		急性脳炎	26
	腸管出血性大腸菌感染症	59		クロイツフェルト ・ヤコブ病	3
	パラチフス	1		劇症型溶血性 レンサ球菌感染症	6
四類	E 型肝炎	6		後天性免疫不全症候群	19
	A 型肝炎	3		侵襲性インフルエンザ菌 感染症	5
	チクングニア熱	2		侵襲性肺炎球菌感染症	23
	つつが虫病	5		水痘(入院に限る)	3
	デング熱	3		梅毒	43
	マラリア	1		播種性 クリプトコックス症	1
	レジオネラ症	63		破傷風	7
五類	アメーバ赤痢	17		風しん	3
	急性ウイルス性肝炎 (E 型及び A 型を除く)	3		薬剤耐性アシネト バクター感染症	3

表4 平成27年 定点把握疾患

定点分類	疾病名	報告数	定点分類	疾病名	報告数
小児科	RSウイルス感染症	2,022 (26.96)	眼科	急性出血性結膜炎	14 (0.82)
	咽頭結膜熱	1,390 (18.53)		流行性角結膜炎	915 (53.82)
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	8,628 (115.04)	基幹	細菌性髄膜炎	3 (0.23)
	感染性胃腸炎	22,062 (294.16)		無菌性髄膜炎	7 (0.54)
	水痘	1,849 (24.65)	マイコプラズマ肺炎		170 (13.08)
	手足口病	6,305 (84.07)		クラミジア肺炎	1 (0.08)
	伝染性紅斑	2,676 (35.68)	インフル エンザ	感染性胃腸炎 (病原体がロタウイルス であるものに限る。)	42 (3.23)
	突発性発しん	1,380 (18.40)		インフルエンザ (高病原性鳥インフル エンザを除く)	22,905 (190.88)
	百日咳	45 (0.60)			
	ヘルパンギーナ	1,651 (22.01)			
	流行性耳下腺炎	2,458 (32.77)			

( ) は定点当たりの報告数

## 2. 細菌部

### 1 試験検査の概況

平成 27 年度試験検査実施状況を表 1 及び表 2 に示した。

#### (1) 感染症発生動向調査事業

##### ア 細菌の分離同定検査

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律により三類感染症として届出のあった患者の接触者検診，治療後の患者の病原体を保有していないことの確認検査や保健所等から送付された菌株及び三類以外の感染症について試験検査を実施した。

- ・腸管出血性大腸菌（EHEC）検査を 490 検体実施し，検出した血清型は，O157:37 株，O26:3 株，O103:1 株，の計 41 株であった。（実数）
- ・赤痢菌は 74 検体の試験検査を実施し，3 検体から *S.sonnei* を検出した。
- ・パラチフス A 菌は 5 検体について分離培養試験を実施したが，検出されなかった。
- ・結核患者管理健診・接触者健康診断で採取された 29 検体の喀痰について結核菌検査を行ったが，塗抹・培養検査とも陰性であった。
- ・レジオネラ属菌検査を 10 検体の喀痰で実施し，4 検体から *Legionella pneumophilla*SG1 を分離し，2 検体から *Legionella pneumophilla* 遺伝子を検出した。
- ・レプトスピラ症 4 検体，ライム病ボレリア 3 検体の遺伝子検査・血清抗体価検査，侵襲性肺炎球菌 3 検体の血清型別検査を国立感染症研究所に依頼した。

##### イ 細菌の分子疫学検査

感染症の集団発生時や広域事例の探知において，感染経路の特定，共通の感染源解明のために分子疫学検査を行った。

- ・結核菌 85 株については VNTR 法を用いて解析し，多剤耐性アシネトバクター菌株については PFGE 法による分子疫学解析を行った。
- ・腸管出血性大腸菌 O157 の 45 株は，PFGE 法・IS-printing 法・MLVA 法を行った。

##### ウ 細菌感染症検査に係る外部精度管理

次の外部精度管理に参加し（全て正しく判定でき）結果は良好であった。

- ・細菌感染症検査における外部精度管理の実施  
（三類感染症検査に係る「コレラ菌」の同定）
- ・平成 27 年度レジオネラ属菌検査外部精度管理
- ・結核菌遺伝子型別外部精度管理

#### (2) 食品衛生関連事業

##### ア 食中毒検査

食中毒事例（疑い含む）が 71 事例発生し，原因物質究明のための細菌検査を行った。

搬入された便・吐物 467 検体，拭き取り 326 検体，食材 122 検体，計 915 検体について主に食中毒細菌 11 項目の検査を行った。寄生虫の試験検査については顕微鏡検査・遺伝子検査等を行った。真菌については，形態観察等で属を決定した。

その結果，サルモネラ属菌 2 株，カンピロバクター属菌 42 株（うち食品等 7 株），

黄色ブドウ球菌 21 株(ふきとり 4 株, 食品 7 株, 便 10 株)を検出した。また, 食品 1 検体からクドア・セプトエンピクターを検出した。

イ 食品衛生法に基づく収去食品検査

茨城県食品衛生監視指導計画に基づき, 保健所が行う監視指導に伴い搬入された収去食品等の試験検査を行った。

(ア) 食肉の試験検査

カンピロバクター属菌, サルモネラ属菌, 腸管出血性大腸菌(O26, O103, O111, O121, O145 及び O157) 及び腸内細菌科菌群により汚染された食肉及びその加工品等による食中毒を防止するため食肉 121 検体の試験検査を行った。その結果, カンピロバクター属菌が 12 株, サルモネラ属菌が 18 株検出された。

(イ) 農産物漬物の試験検査

県内に流通する農産物漬物(原則として浅漬)の安全性を確保するため, 漬物 25 検体について大腸菌, 腸炎ビブリオの試験検査を行い, 全て陰性であった。

(ウ) 生食用鮮魚介類の試験検査

腸炎ビブリオにより汚染された生食用鮮魚介類による食中毒を防止するため生食用鮮魚介類 24 検体について試験検査を行い腸炎ビブリオは陰性であった。

(エ) 輸入食品の試験検査

県内に流通する輸入食品の安全を確保するため輸入食品 111 検体について, 一般細菌数 53 検体, E.coli 47 検体, 大腸菌群 35 検体, 黄色ブドウ球菌 8 検体, サルモネラ属菌 8 検体, クロストリジウム属菌数 7 検体, 緑膿菌 5 検体, 腸球菌 5 検体, 大腸菌群数 23 検体, 芽胞数 3 検体, 恒温試験 2 検体, 細菌試験 2 検体の試験検査を行った。規格基準のあるものは全て基準値内であった。

(オ) 夏期一斉取締りに伴う収去検査

夏期に多発する食中毒等の食品による事故の防止を図るため, 収去食品 150 検体(弁当そうざい 134 検体, 洋生菓子 16 検体)の試験検査を実施した。検査は一般細菌数, 大腸菌, 大腸菌群, 黄色ブドウ球菌について行った。その結果, 一般細菌数検査で 4 検体が基準値を上回り, 大腸菌群 3 検体, 黄色ブドウ球菌 1 検体が陽性となった。

(カ) 年末一斉取締りに伴う収去検査

食品流通量が増加する年末及び食中毒患者が最も発生する冬期における食中毒の発生防止を図るため, 収去食品等 145 検体を検査した。収去食品等の内訳は, 弁当及びそうざい 62 検体, 洋生菓子 55 検体, 漬物(浅漬)3 検体, 生めん 4 検体, ゆでめん 6 検体, アイスクリーム類 7 検体, ナチュラルチーズ 2 検体, 施設拭き取り 6 検体であった。それぞれの食品に対応する検査項目を実施した結果, 洋生菓子 9 検体について大腸菌群が陽性となった。

(キ) 認定小規模食鳥処理場衛生状況調査

認定小規模食鳥処理場の衛生状況を把握するため、県内 14 施設において採取した拭き取り等 151 検体についてサルモネラ属菌、カンピロバクター属菌の定性試験を行った。その結果、カンピロバクター属菌が 41 検体から、また、サルモネラ属菌が 1 検体から検出された。

(ク) 県内産ヒラメの寄生虫（クドア）汚染状況調査

県内産ヒラメに寄生したクドア・セプテンpunkタータを原因とする食中毒を防止するために実施した。県内産ヒラメ（漁獲水域が県内沖のもの）20 尾を検査し、クドア・セプテンpunkタータは検出されなかった。

(ク) 食品衛生外部精度管理調査

一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所の平成 27 年度食品衛生外部精度管理調査に参加し一般細菌数測定検査、大腸菌群検査、腸内細菌科菌群検査、黄色ブドウ球菌検査、サルモネラ属菌検査を実施した。その結果は、（全て正しく判定でき）良好であった。

(3) 水道水質調査事業

病原性微生物等実態調査実施要領に基づき、原虫（クリプトスポリジウム・ジアルジア）等の存在状況の実態を把握するため、汚染が疑われる県内 5 カ所の 5 浄水場について原水及び浄水の検査を行った。その結果、クリプトスポリジウム、ジアルジア、大腸菌、嫌気性芽胞菌は不検出で、残留塩素と浄水濁度は基準内（原水濁度は基準なし）であった。詳細については、表 2 のとおりである。

(4) 環境衛生に係る試験検査

レジオネラ症の患者発生時において入浴施設の関連が疑われる場合に、当該施設の浴槽水等のレジオネラ属菌の試験検査を行った。10 施設の浴槽水等 54 検体中、培養法で 3 検体からレジオネラ属菌が分離され、レジオネラ属菌遺伝子が 2 検体から検出された。

(5) 医療機器一斉監視指導に係る試験検査

医療機器の品質を確保するため、注射針 2 検体について無菌検査を行い、2 検体とも陰性であった。



表 1 平成 27 年度 試験検査実施状況

項目	検体数	検出病原体等 ( ) は検出数	
(1) 感染症発生動向調査事業	腸管出血性大腸菌	490 O157 (37) ,O26 (3) , O103 (1)	
	赤痢菌	74 <i>S.sonnei</i> (3)	
	パラチフス A 菌	5	
	結核菌	29	
	細菌の分離同定検査	レジオネラ属菌	10 <i>L. pneumophilla</i> SG1 (4) <i>L. pneumophilla</i> 遺伝子 (2)
		百日咳菌	3
		レプトスピラ症	4
		ライム病ボレリア	3
		侵襲性肺炎球菌	3 血清型 15C(1),22F(1), 24F(1)
	細菌の分子疫学検査	結核菌	85
多剤耐性アシネトバクター菌		3	
腸管出血性大腸菌 O157		45	
(2) 食品衛生関連事業	食中毒 (疑い含む) 検査	915 サルモネラ属菌 (2) , カンピロバクター属菌 (42) 黄色ブドウ球菌 (21) グレア・セプトンバクター (1)	
	食肉の試験検査	121 カンピロバクター属菌 (12) サルモネラ属菌 (18)	
	農産物漬物の試験検査	25	
	生食用鮮魚介類の試験検査	24	
	輸入食品の試験検査	111	
	夏期一斉取締りに伴う収去検査	150 一般細菌数 (4) ,大腸菌群 (3) , 黄色ブドウ球菌 (1)	
	年末一斉取締りに伴う収去検査	145 大腸菌群 (9)	
	認定小規模食鳥処理場衛生状況調 査	151 カンピロバクター属菌 (41) サルモネラ属菌(1)	
	県内産ヒラメの寄生虫(グレア)汚染状況調 査	20	
	食品衛生外部精度管理調査	9	
	その他	水道水質調査 (原水・浄水)	10
		環境衛生関連 (浴槽水等)	54 レジオネラ属菌 (3) レジオネラ属菌遺伝子(2)
		医療機器無菌検査	2
合計	2491		

表 2 病原性微生物等実態調査一覧

検査項目	件 数		計
	水道原水	浄水	
気温	5	5	10
水温	5	5	10
pH	5	5	10
濁度	5	5	10
残留塩素濃度	-	5	5
大腸菌	5	-	5
嫌気性芽胞菌	5	-	5
クリプトスポリジウム	5	5	10
ジアルジア	5	5	10
合 計	40	35	75

調査地点	岩船浄水場	城里町
	赤沢浄水場	城里町
	西金浄水場	太子町
	芦野倉浄水場	太子町
	石寺浄水場	笠間市

## 2 調査研究

- (1) カンピロバクター属菌の PFGE 法を用いた疫学に関する調査研究事業 [特電\*]  
 県内で分離されたカンピロバクター属菌について、PFGE 法を用いた分子疫学解析を行い、汚染源究明に向けた科学的根拠を提供することを目的に行っている。平成 27 年度は、平成 24 年度から 26 年度に収集した菌 449 株を用いて作成したデータベースから県内で分離されるカンピロバクター属菌の特徴を把握することができた。また、平成 27 年度から PFGE 解析結果がデータベースの遺伝子型と一致した場合は、検査依頼のあった保健所へ迅速に情報提供する試みを 1 事例実施することができた。
- (2) VNTR 法を用いた結核菌分子疫学分類確立のための調査研究  
 結核菌の分子疫学解析の一つである VNTR 法を用いて保健所から搬入された結核菌の遺伝子情報を解析し、菌の疫学情報や伝播状況などの近縁関係を調査する。それにより感染源の特定や疫学的な関連把握が可能になる。  
 平成 27 年度は、有用性が確認できた 24 領域 VNTR 法を用いて、平成 24 年度から平成 27 年度搬入株計 201 株について解析を実施し、データベースを作成した。

\*特別電源所在県科学技術振興事業補助金

### 3. ウイルス部

#### 1 試験検査の概況

##### (1) 感染症発生動向調査事業等

平成 27 年度感染症発生動向調査事業に係る検査件数を表 1 に示した。

##### ア インフルエンザ

病原体定点医療機関から提出のあった 68 検体，集団発生 94 検体の合計 162 検体について遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。その結果，AH3 亜型が 19 件，B 型が 69 件，AH1pdm09 が 60 件検出された。

##### イ 感染性胃腸炎

下痢症ウイルスによる集団感染等が疑われた 65 事例 335 検体について，ノロウイルス，サポウイルス，A 群・C 群ロタウイルス，アデノウイルス，アストロウイルスの遺伝子検査を実施した。その結果，ノロウイルスが 247 件 (G1:36 件 / G2:211 件)，サポウイルスが 23 件，A 群ロタウイルスが 31 件，アデノウイルスが 5 件，アストロウイルスが 1 件検出された。

##### ウ デング熱・チクングニア熱

海外で感染したと思われる 8 名の検査を実施したところ，デングウイルス 1 型が 2 件，デングウイルス 2 型が 1 件，デングウイルス 3 型が 1 件，チクングニアウイルスが 2 件検出された。

##### エ 麻しん・風しん

麻しん及び風しん疑い患者 13 名の遺伝子検査及び分離培養検査を行ったところ，麻しんウイルスは検出されなかったが風しんウイルスが 1 件検出された。麻しん及び風しんウイルスが不検出の検体について，ヒトパルボウイルス B19，5 歳未満の小児についてはさらにヘルペスウイルス 6 型及びヘルペスウイルス 7 型を実施した結果，ヘルペスウイルス 6 型が 3 件，ヒトパルボウイルス B19 が 2 件検出された。

##### オ 急性脳炎

急性脳炎・脳症（疑い例を含む）の患者 70 名の血清，髄液，咽頭拭い液，糞便等を用いて，遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。その結果，ヘルペスウイルス 6 型が 26 件，ヘルペスウイルス 7 型が 10 件，EB ウイルスが 4 件，サイトメガロウイルスが 5 件，アデノウイルスが 6 件，ムンプスウイルスが 3 件，A 群ロタウイルスが 1 件，RS ウイルスが 1 件，インフルエンザ AH1pdm09 型が 2 件，インフルエンザ B 型が 2 件，単純ヘルペスウイルスが 2 件，水痘・帯状疱疹ウイルスが 1 件，エンテロウイルス属が 8 件検出された。

##### カ 無菌性髄膜炎，手足口病

無菌性髄膜炎 37 検体，手足口病 14 検体について遺伝子検査及び分離・同定試験を実施した。無菌性髄膜炎からエンテロウイルス属 16 件，ムンプスウイルス 5 件等が検出された。ムンプスウイルスは，遺伝子解析の結果 2 件はワクチン由来であることがわかった。手足口病は，コクサッキーウイルス A6 型が 3 件，コクサッキーウイルス A9 型が 9 件検出された。

キ 呼吸器感染症（集団発生事例）

7月に発生した高齢者施設の集団感染事例からパラインフルエンザウイルス3型が検出された。また、同施設において12月にも呼吸器感染症の集団感染が発生しRSウイルスB型が検出された。

表1 平成27年度 感染症発生動向調査事業に係る検査件数

感染症の類型	臨床診断名	検体数 (人)	検出病原体名	ウイルス検出件数	
				遺伝子検査	分離培養
四類感染症 (全数届出疾患)	E型肝炎	1	E型肝炎ウイルス	0	
	つつが虫病	3	<i>Orientia tsutsugamushi</i> Karp 型	1	
	チクングニア熱 デング熱	8	チクングニアウイルス	2	
			デングウイルス 1 型	2	
			デングウイルス 2 型	1	
デングウイルス 3 型	1				
五類感染症 (全数届出疾患)	急性脳炎・脳症	70	単純ヘルペスウイルス 1 型	1	
			単純ヘルペスウイルス 2 型	1	
			水痘・帯状疱疹ウイルス	1	
			EB ウイルス	4	
			サイトメガロウイルス	5	
			ヒトヘルペスウイルス 6 型	26	
			ヒトヘルペスウイルス 7 型	10	
			アデノウイルス 2 型	1	
			アデノウイルス	5	
			A 群ロタウイルス	1	
			コクサッキーウイルス A2 型	1	
			コクサッキーウイルス A9 型	3	
			コクサッキーウイルス A14 型	1	
			エンテロウイルス属 (型別不能)	3	
			RS ウイルス A	1	
			インフルエンザ AH1pdm09	2	
			インフルエンザ B (Yamagata 系統)	1	
	インフルエンザ B (Victoria 系統)	1			
	ムンプスウイルス	3			
	風しん	6	ヒトヘルペスウイルス 6 型	2	
麻しん	7	風しんウイルス	1	1	
		ヒトヘルペスウイルス 6 型	1		
		パルボウイルス B19	2		

感染症の類型	臨床診断名	検体数 (人)	検出病原体名	ウイルス検出件数	
				遺伝子検査	分離培養
五類感染症 (定点把握疾患)	咽頭結膜熱	1	アデノウイルス 3 型	1	1
	感染性胃腸炎 (ロタウイルス を含む)	8	ノロウイルス GII	1	/
			サポウイルス	1	
			A 群ロタウイルス	3	
	手足口病	14	コクサッキーウイルス A6 型	3	0
			コクサッキーウイルス A9 型	9	9
			エンテロウイルス属 (型別不能)	1	0
	流行性耳下腺炎	24	ムンプスウイルス	19	0
	インフルエンザ	68	AH1pdm09	42	41
			AH3	3	3
			B (Yamagata 系統)	10	9
			B (Victoria 系統)	12	12
	流行性角結膜炎	4	アデノウイルス 54 型	4	4
	無菌性髄膜炎	37	エコーウイルス 3 型	3	3
			エコーウイルス 9 型	3	3
			コクサッキーウイルス A9 型	2	1
			コクサッキーウイルス A16 型	2	0
コクサッキーウイルス B2 型			2	2	
コクサッキーウイルス B5 型			4	4	
ムンプスウイルス			5	2	
EB ウイルス			1	/	
ヒトヘルペスウイルス 6 型			1	/	
ライノウイルス			2	0	
ヒトメタニューモウイルス	1	0			

感染症の種類	臨床診断名	検体数 (人)	検出病原体名	ウイルス検出件数	
				遺伝子検査	分離培養
その他	その他（呼吸器感染症等）	42	RS ウイルス A	4	
			RS ウイルス B	2	
			ライノウイルス	6	
			ヒトヘルペスウイルス 6 型	2	
			エコーウイルス 3 型	1	
			コクサッキーウイルス A6 型	1	
			エンテロウイルス D68 型	1	
			エンテロウイルス属 (型別不能)	1	
			インフルエンザ AH1pdm09	5	
			ヒトメタニューモウイルス	1	
			パルボウイルス B19	10	
			合計(人)		
集団感染事例	インフルエンザ	94	AH1pdm09	18	14
			AH3	16	11
			B(山形系統)	9	5
			B(ビクトリア系統)	38	28
	感染性胃腸炎	335	ノロウイルス(G1)	36	
			ノロウイルス(G2)	211	
			サポウイルス	23	
			A 群ロタウイルス	31	
			アデノウイルス 5 型	1	
			アデノウイルス 56 型	1	
			アデノウイルス	3	
			アストロウイルス	1	
	呼吸器感染症	14	パラインフルエンザウイルス 3 型	7	
			RS ウイルス B	5	
食中毒・有症苦情	下痢症ウイルス	471	ノロウイルス(G1)	30	
			ノロウイルス(G2)	165	
			サポウイルス	6	
			アデノウイルス 5 型	1	
			アデノウイルス 41 型	1	
			アストロウイルス	3	
合計(人)		914		606	

(2) 性感染症対策に関する試験検査

水戸・土浦保健所で実施しているエイズスクリーニング検査（簡易迅速法）について、職員を派遣し検査を実施した。867件実施し、陽性数は3件で陽性率は0.34%であった。

表2 エイズスクリーニング検査数

	水戸保健所	土浦保健所	合計
検査数	386	481	867
陽性数	0	3	3
陰性数	386	478	864

(3) 食中毒対策に関する試験検査

ア 発症者及び従業員等の検査

食中毒等が疑われた66事例471検体について、ノロウイルス、サポウイルス、A群・C群ロタウイルス、アデノウイルス、アストロウイルスの遺伝子検査を実施した。その結果、ノロウイルスが195件（G1が30件、G2が165件）、サポウイルスが6件、アデノウイルスが2件、アストロウイルスが3件検出された。

イ 食品検査

食中毒の原因食品として疑われた食品21検体（生ガキ6検体を含む）と拭き取り62検体について、ノロウイルスの遺伝子検査を実施した。その結果、食品から1検体、拭き取り検体から6検体ノロウイルスG2が検出された。

ウ 二枚貝のノロウイルス検査

茨城県産の二枚貝（岩カキ等）30ロット（1ロット10個）のノロウイルス検査を実施したところ、全て不検出であった。

(4) 職員の健康管理事業に関する検査

茨城県の「保健所及び衛生研究所に勤務する職員のB型肝炎検査及びワクチン接種実施要領」に基づき、保健所等職員106名について、B型肝炎の血清学的検査（HBs抗原及びHBs抗体検査）を実施した。

2 調査研究

(1) 感染症流行予測調査事業

ア 日本脳炎感染源調査

ブタが日本脳炎ウイルスの増幅動物となっていることから、ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体価を測定することでその浸淫度を調査し、日本脳炎の流行を把握するために実施した。

平成27年7月から9月にかけて（株）茨城県中央食肉公社に集荷された生後6ヶ月の県内産のブタから8回（1回あたり10頭）にわたって採血した。合計80検体について、血清中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体（HI抗体）価を測定した。

その結果、第5回採血（8月24日）、第6回採血（9月7日）、第7回採血（9月14



日), 第 8 回採血 (9 月 28 日) に実施した調査で, HI 抗体陽性となった。第 5 回採血では, 1 検体で HI 抗体が陽性 (1:40) となり, 2ME 感受性抗体は検出されなかった。第 6 回採血では, 8 検体で HI 抗体が陽性 (1:160 が 1 検体, 1:320 が 4 検体, 1:640 以上が 3 検体) となり, 2ME 感受性抗体陽性率は 63% であった。第 7 回採血では, 9 検体で HI 抗体が陽性 (1:40, 1:80, 1:160 でそれぞれ 1 検体ずつ, 1:320 が 2 検体, 1:640 以上が 4 検体) となり, 2ME 感受性抗体陽性率は 56% であった。第 8 回採血では, 10 検体で HI 抗体が陽性 (1:80 が 1 検体, 1:160 が 2 検体, 1:320 が 1 検体, 1:640 以上が 6 検体) となり, 2ME 感受性抗体陽性率は 10% であった。

第 5 回から第 8 回の計 4 回で HI 抗体が陽性となり, 日本脳炎ウイルスが県内に浸淫していることが示唆された。また, 第 6 回から第 8 回は同一飼育地 (市町村) において調査しており, IgM 抗体から IgG 抗体への移行が経時的にみられた。

#### イ インフルエンザ感受性調査

インフルエンザウイルスに対する血清中の抗体を測定することでヒトの免疫状況を把握し, 次シーズンの流行予測に役立てるために実施した。

平成 27 年 7 月~10 月に年齢群ごとに採血した 215 名の血清について 4 種の HA 抗原を用いてインフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体) 検査を実施した。

感染防御の指標とされる抗体価は 1:40 以上とされており, その抗体保有状況をみると, A/カリフォルニア/7/2009(H1N1)pdm09 に対する平均抗体保有率は 42.8% であり, 各年齢群における抗体保有率は 0~4 歳で 11.9%, 5~9 歳で 45.5%, 10~14 歳で 40.0%, 15~19 歳で 84.6%, 20~29 歳で 85.0%, 30~39 歳で 29.2%, 40~49 歳で 31.8%, 50~59 歳で 38.1%, 60 歳以上で 25.0% であった。

A / スイス / 9715293 / 2013 (H3N2) に対する平均抗体保有率は 19.1% であった。各年齢群における抗体保有率は 0~4 歳で 9.5%, 5~9 歳で 45.5%, 10~14 歳で 40.0%, 15~19 歳で 15.4%, 20~29 歳で 25.0%, 30~39 歳で 4.2%, 40~49 歳で 22.7%, 50~59 歳で 9.5%, 60 歳以上で 6.3% であった。

B / プーケット / 3073 / 2013 (山形系統) に対する平均抗体保有率は 13.0% であった。各年齢群における抗体保有率は 0~4 歳で 0%, 5~9 歳で 9.1%, 10~14 歳で 0%, 15~19 歳で 7.7%, 20~29 歳で 42.5%, 30~39 歳で 16.7%, 40~49 歳で 9.1%, 50~59 歳で 4.8%, 60 歳以上で 6.3% であった。

B / テキサス / 2 / 2013 (ビクトリア系統) に対する平均抗体保有率は 2.8% であった。各年齢群における抗体保有率は 0~4 歳で 0%, 5~9 歳で 4.5%, 10~14 歳で 0%, 15~19 歳で 7.7%, 20~29 歳で 0%, 30~39 歳で 4.2%, 40~49 歳で 9.1%, 50~59 歳で 4.8%, 60 歳以上で 0% であった。

なお, この調査は, 水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

#### ウ 麻しん・風しん感受性調査

麻しんウイルスおよび風しんウイルスに対するヒト血清中の抗体保有状況を調査し, 麻しんおよび風しんワクチン接種効果を調査するとともに, 今後の流行予測を行うことを目的として実施した。

平成 27 年 7 月から 10 月にかけて各年齢群別に採取された 215 名の血清について, 「セ

ロディア・麻しん」(富士レビオ)を用い麻しん PA 抗体価および赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体)を用いて風しん抗体価を測定した。麻しんについては、抗体陰性者 (<16) は 10 名で全体の 4.7%であった。感染防御レベルは 1 : 128 とされているが、抗体陽性者のうち 1 : 128 未満の者は 13 名で全体の 6.1%を占めていた。風しんについては、抗体陰性者 (<8) は 13 名で全体の 6.1%であった。感染防御レベルは 1 : 32 とされているが、抗体陽性者のうち 1 : 32 未満の者は 17 名で全体の 7.9%を占めていた。

なお、この調査は、水戸市内の 7 医療機関の協力を得て実施した。

## (2) イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況調査

県内の野生イノシシが保有する E 型肝炎ウイルスの実態を明らかにするとともに、イノシシ肉を安全に取り扱う (解体、喫食等) ための県民への注意喚起の基礎データを得ることを目的として実施した。実施状況は表 3 のとおりである。

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月にかけて県内 3 地域において捕獲された 89 頭のイノシシから血清、肝臓、糞便を採取して E 型肝炎のウイルス遺伝子検査、抗体検査を実施した。(抗体検査は、国立感染症研究所が実施した。) 遺伝子検査では合計 16 頭 (17.9%) が陽性となり、抗体検査は 47 頭 (52.8%) が陽性となった。3 地域の陽性率には地域差が見られた。

表 3 県内における野生イノシシの E 型肝炎ウイルス保有状況

市名	遺伝子検査			抗体検査		
	検体数 (頭)	陽性数 (頭)	陽性率 (%)	検体数 (頭)	陽性数 (頭)	陽性率 (%)
A 市	28	16	57.1	28	21	75.0
B 市	20	0	0	20	3	15.0
C 市	41	0	0	41	23	56.1
合計	89	16	17.9	89	47	52.8

#### 4. 理化学部

##### 1 食品試験検査の概況

平成 27 年度食品試験検査実施状況は、表 1 のとおりである。

表 1 平成 27 年度食品試験検査実施状況

項目	検体数	項目数	件数
(1) 輸入加工食品残留農薬試験検査(有機リン系農薬)	50	42	2,100
(2) 遺伝子組換え食品試験検査	10	1	10
(3) 県外産農産物残留農薬試験検査	20	107~135	2,452
(4) 輸入野菜残留農薬試験検査	50	100~132	5,857
(5) 加工食品中アレルギー物質試験検査	48	各 1	48
(6) 漬物の添加物試験検査	25	1	25
(7) 輸入食品試験検査			
ア 柑橘類の残留農薬	25	11	275
イ 乾燥果実・煮豆、ワイン、菓子の食品添加物	85	各 1	85
ウ 農産物漬物原材料の食品添加物	25	1	25
エ 食品等輸入者取扱い食品検査			
ソルビン酸	12	1	12
指定外酸化防止剤(TBHQ)	12	1	12
(8) 加工食品の放射性物質試験検査	177	2	354
(9) イノシシ肉の放射性物質試験検査	9	2	18
(10) 食中毒・苦情食品・違反食品等の行政検査	1	5	5
合計	549		11,278

##### (1) 輸入加工食品残留農薬試験検査(有機リン系農薬)

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度輸入加工食品の残留農薬試験検査実施要領に沿って、輸入加工食品 50 検体について 42 項目の有機リン系農薬の検査を実施したが、全て不検出であった。

[測定項目]

EPN, クロロピリホス, シアノホス, ジクロロボス, ダイアジノン, チオメトン, フェニトロチオン, ブタミホス, マラチオン, メタミドホス, 他 32 成分

##### (2) 遺伝子組換え食品試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度遺伝子組換え食品の試験検査実施要領に沿って、大豆 10 検体(ラウンドアップレディ大豆)について遺伝子組換え体の含有検査を実施し、全て検出下限値(0.3%)未満であった。

##### (3) 県外産農産物残留農薬試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度県外産農産物の試験検査実

施要領に沿って、県外で生産された野菜 20 検体（ダイコン 6 検体、ニンジン 5 検体、キャベツ 4 検体、レタス 3 検体、キュウリ、トマト各 1 検体）について農薬 107～135 項目の検査を実施した。結果は、全て不検出であった。

[測定項目]

アザコナゾール、イサゾホス、イソカルボホス、イソプロチオラン、ウニコナゾール P、エチオン、エトリンホス、クレソキシムメチル、クロルタルジメチル、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンソン、クロルフェンビンホス、シアナジン、シアノフェンホス、他

(4) 輸入野菜残留農薬試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度輸入野菜の試験検査実施要領に沿って、輸入野菜を 2 回に分けて、各 25 検体、計 50 検体について農薬 100～132 項目の検査を実施した。

検査を行った野菜は、第 1 回は、アスパラガス 5 検体、ブロッコリー 4 検体、パプリカ、トマト、タケノコ各 3 検体、かぼちゃ、ほうれん草、未成熟インゲン各 2 検体、ニンジン 1 検体、第 2 回は、かぼちゃ、タケノコ各 5 検体、アスパラガス、ニンジン、パプリカ各 3 検体、ブロッコリー、ほうれん草各 2 検体、トマト、未成熟インゲン各 1 検体である。

結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、全て基準値以下であった。

(第 1 回の結果)

- ・パプリカの 1 検体からピリダベン、他の 1 検体からインドキサカルブが検出された。
- ・未成熟インゲン 1 検体からイミダクロプリドが検出された。

(第 2 回の結果)

- ・かぼちゃの 2 検体からイミダクロプリド、他の 1 検体からイミダクロプリド及びミクロブタニルが検出された。
- ・パプリカの 1 検体からクレソキシムメチル、クロチアニジン及びチアメトキサム、他の 1 検体からクレソキシムメチル、ピリダベン及びクロチアニジンが検出された。
- ・ほうれん草の 2 検体からイミダクロプリドが検出された。

[測定項目]

アトラジン、イサゾホス、イソプロチオラン、ウニコナゾール P、エチオン、エデイフェンホス、エトリンホス、クレソキシムメチル、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンソン、サリチオン、シアノフェンホス、ジクロフェンチオン、ジクロブトラゾール、チオベンカルブ、他

(5) 加工食品中のアレルギー物質試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度アレルギー物質を含む食品の試験検査実施要領に沿って、加工食品 48 検体について、食品衛生法上表示義務のある特定原材料（卵 24 検体、乳 24 検体）の検査を実施したところ、当該成分が検出されものはなかった。

(6) 漬物の添加物試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度農産物漬物の試験検査実施要領に沿って、漬物 25 検体について食品添加物(ソルビン酸)の検査を実施したところ、全て基準値以下であった。

(7) 輸入食品試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画及び平成 27 年度輸入食品の試験検査実施要領に沿って輸入食品の検査を実施した。

ア 柑橘類の残留農薬

柑橘類 25 検体（グレープフルーツ 10, オレンジ 9, レモン 6）について有機リン系農薬 11 項目の検査を実施した。結果は、以下のとおり農薬成分が検出された検体もあったが、全て基準値以下であった。

- ・グレープフルーツの 4 検体からクロルピリホスが検出された。
- ・オレンジの 5 検体からクロルピリホスが検出された。
- ・レモンの 4 検体からクロルピリホスが検出された。

[測定項目]

エトリムホス, キナルホス, クロルピリホス, トルクロホスメチル, パラチオンメチル, ピラクロホス, フェニトロチオン, プロチオホス, マラチオン, ピリミホスメチル, クロルフェンビンホス

イ 乾燥果実・煮豆, ワイン, 菓子の食品添加物

輸入食品 35 検体（乾燥果実 9, 煮豆 3, ワイン 22, かんぴょう 1）について二酸化硫黄（亜硫酸塩）の検査を実施したところ、全て基準値以下であった。

輸入食品 50 検体（菓子 50）について、TBHQ\*の検査を行ったところ、全て不検出であった。

\*TBHQ : tert-ブチルヒドロキノン（指定外酸化防止剤）

ウ 農産物漬物原材料の食品添加物

輸入農産物漬物原材料（漬物を含む。）25 検体についてソルビン酸の検査を実施したところ、全て基準値以下であった。

エ 食品等輸入者取扱い食品の食品添加物

輸入食品 12 検体（ワイン 9, 漬物 3）についてソルビン酸の検査を実施したところ、全て基準値以下であった。

輸入食品 12 検体（菓子 12）について、TBHQ の検査を行ったところ、全て不検出であった。

(8) 加工食品の放射性物質試験検査

平成 27 年度茨城県食品衛生監視指導計画に沿って、県内事業者が製造した以下の加工食品 177 検体（飲用水 2, 牛乳 7, 乳児用食品 4, 一般食品 164）について放射性物質（セシウム 134 及びセシウム 137）の検査を実施したところ、一般食品 5 検体からセシウム 137, 1 検体からセシウム 134 及びセシウム 137 が検出されたが基準値未満であった。

(9) イノシシ肉の放射性物質試験検査

平成 27 年度イノシシ肉の放射性物質検査実施要領に沿って、県の「出荷・検査方針」に基づき捕獲・処理されたイノシシの肉 9 検体について放射性物質（セシウム 134 及びセシウム 137）の検査を実施したところ、3 検体からセシウム 137、6 検体からセシウム 134 及びセシウム 137 が検出されたが基準値未満であった。

(10) 食中毒・苦情・違反食品等の行政検査

保健所等に有症苦情や苦情の届け出のあった食品 1 検体について、以下のとおり原因究明のための検査を実施した。

冷凍食品 1 検体について、毒劇物（硝酸イオン、亜硝酸イオン、ヒ素、シアン化物イオン、コリンエステラーゼ阻害剤）の検査を実施したところ、全て不検出であった。

(11) 外部精度管理

財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が行う平成 27 年度食品衛生外部精度管理調査に参加し、食品添加物検査（シロップ中の安息香酸の定量）、残留農薬検査（ほうれん草ペースト中のクロルピリホス及びマラチオンの定量）を実施したところ、結果は全て良好であった。

2 医薬品等試験検査の概況

平成 27 年度医薬品等試験検査実施状況は表 2 のとおりである。

表 2 平成 27 年度医薬品等試験検査実施結果

項目	検体数	項目数	件数
(1) 県内流通医薬品等試験検査	50	1	50
(2) 医薬品等一斉監視指導に係る試験検査	20	1	20
(3) 医療機器一斉監視指導に係る試験検査	2	1	2
(4) 家庭用品試買試験検査			
メタノール、テトラクロエチレン、トリクロエチレン	9	3	27
トリフェニル錫化合物、トリブチル錫化合物	9	2	18
ホルムアルデヒド	132	1	132
(5) 無承認無許可医薬品試験検査			
ダイエット食品	25	8	200
強壮食品	25	7	175
(6) 危険ドラッグ買上検査	8	629	5,032
合計	280		5,656

(1) 県内流通医薬品等試験検査

平成 27 年度県内流通医薬品等試験検査実施要領に沿って、以下の医薬品等 50 検体について定量試験を実施した。結果は、薬局製剤 1 検体が不適合であった。

- ・日本薬局方医薬品
 

スピロノラクトン錠	10 検体
ロキソプロフェンナトリウム錠	10 検体
ピオグリタゾン塩酸塩錠	12 検体
フルボキサミンマレイン酸塩錠	15 検体
- ・薬局製剤(クロルフェニラミンマレイン酸塩含有製剤) 3 検体

(2) 医薬品等一斉監視指導に係る試験検査

平成 27 年度茨城県医薬品等一斉監視指導実施要領（第 3 後発医薬品品質確保対策）に沿って、オロパタジン塩酸塩錠 20 検体について溶出試験を実施した。結果は、全て適合であった。

(3) 医療機器一斉監視指導に係る試験検査

平成 27 年度医療機器一斉監視指導実施要領に沿って、注射針 2 検体について外観試験を実施した。結果は、適合であった。

(4) 家庭用品試買試験検査

平成 27 年度家庭用品試買試験検査実施要領に沿って実施した。

家庭用エアゾル製品 9 検体について、メタノール、テトラクロロエチレン及びトリクロロエチレンの試験を実施したところ、全て基準値以下であった。

繊維製品、家庭用接着剤、家庭用ワックス等 9 検体について、トリフェニル錫及びトリブチル錫の試験を実施したところ、全て不検出であった。

繊維製品、つけまつげ用接着剤等 132 検体について、ホルムアルデヒドの試験を実施したところ全て基準値以下であった。

(5) 無承認無許可医薬品試験検査

平成 27 年度無承認無許可医薬品対策事業実施要領に沿って、ダイエットを目的とする製品 25 検体及び強壯作用を目的とする製品 25 検体について、以下の成分の試験を実施した。結果は、全て不検出であった。

- ・ダイエット成分：エフェドリン，ノルエフェドリン，シブトラミン，脱 N-ジメチルシブトラミン，オリスタット，フェンフルラミン，N-ニトロソフェンフルラミン，センノシド
- ・強壯成分：シルデナフィル，バルデナフィル，チオキナピペリフィル，タダラフィル，ヒドロキシホモシルデナフィル，アミノタダラフィル，クロロプレタダラフィル

(6) 危険ドラッグ買上検査

平成 27 年度危険ドラッグ買上検査実施要領に沿って、指定薬物の含有が疑われる商品 8 検体について、以下の 629 項目の試験を実施したところ、全て不検出であった。

[測定項目]

1,2-Butanediol, 1,3-Butanediol, GHB artifact, 1,4-Butanediol, Trimethadione, Methomyl artifact, Metolone, Phenethylamine, Valproic acid, N-Desmethylnmethiopropamine, Amphetamine, 2-Fluoroamphetamine, 3-Fluoroamphetamine, 他 616 成分

3 飲用水水質検査の概況

(1) 水道水中の放射性物質モニタリング

平成 27 年 2 月 27 日付け茨城県保健福祉部生活衛生課水道整備グループ事務連絡「平成 27 年度水道水中の放射性物質のモニタリングについて」に基づき、水道水 456 検体の放射性物質（セシウム 134 及びセシウム 137）の検査を実施したところ、全て不検出であった。実施状況は、表 3 のとおりである。

表 3 平成 27 年度水道水放射性物質モニタリング（H27.4～H28.3）実施状況

採水地点	水源	検体数	項目数	件数
日立市 森山浄水場（水道水・原水）	久慈川	24	2	48
日立市 十王浄水場（水道水・原水）	十王川	24	2	48
北茨城市 中郷浄水場（水道水・原水）	大北川	24	2	48
県南水道事業団				
龍ヶ崎市 若柴配水場（水道水）	西浦	50	2	100
取手市 戸頭配水場（水道水）	利根川	50	2	100
取手市 藤代配水場（水道水）	利根川	50	2	100
牛久市 牛久配水場（水道水）	利根川	50	2	100
利根町 利根配水場（水道水）	利根川	50	2	100
東海村 外宿浄水場（水道水）	久慈川	12	2	24
水戸市 楮川浄水場（水道水）	那珂川	12	2	24
鹿嶋市 鹿嶋市役所（水道水）	北浦	12	2	24
守谷市 守谷浄水場（水道水）	利根川	50	2	100
桜川市 岩瀬庁舎（水道水）	西浦	12	2	24
常陸太田市 瑞竜浄水場（原水）	地下水	12	2	24
常陸太田市 水府北部浄水場（浄水）	山田川	12	2	24
神栖市 若松緑地（水道水）	鱒川	12	2	24
合計		456		912

(2) その他の飲用水水質試験検査

保健所からの依頼により、飲用井戸水 3 検体について、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、pH、色度、濁度、臭気の検査を実施したところ、全て基準値以下又は基準を満たしていた。



## 第 3 章

## 調査及び研究報告



## カンピロバクター属菌のPFGE法（パルスフィールドゲル電気泳動法）を用いた疫学に関する試験研究事業 — 最終報告 —

○木澤千里，相原義之，山本和則，増子京子

### 要旨

本研究は茨城県で分離された *Campylobacter* 属菌についてパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）による分子疫学解析を実施し，汚染源究明に向けた科学的根拠を提供することを目的に，平成 24 年度から平成 27 年度までの 4 年間の計画で実施された。

平成 24 年度から平成 26 年度にかけて，*C.jejuni* および *C.coli* を対象とした PFGE 法の条件を検討し，プロトコルを決定した。このプロトコルを用いて平成 24 年度から平成 26 年度に収集した *C.jejuni* 408 株，*C.coli* 41 株に PFGE 法を実施し，疫学情報と併せて茨城県で分離された *Campylobacter* 属菌のデータベースを作成した。*C.jejuni* では異なる事例から分離された菌株の PFGE 型が一致した例が複数存在した。また，*C.jejuni* は遺伝的多様性が高く，菌株の入れ替わりが激しいことが分かった。

平成 27 年度は新たに分離された菌株に対して速やかに PFGE 法を実施し，結果とデータベースを比較して，過去に分離された菌株との関連を調べた。今後もデータベースを活用し，現場に迅速な情報提供を行いたい。

キーワード：*C.jejuni*，*C.coli*，PFGE 法，分子疫学解析，特別電源所在県科学技術振興事業

### はじめに

カンピロバクター食中毒は，日本および茨城県において近年最も多く発生している細菌性食中毒であり<sup>1),2),3)</sup>，従来の衛生細菌学的制御法の適用により多くの細菌性食中毒事例が著しく減少しているにも関わらずカンピロバクター食中毒はなかなか減少していない<sup>4)</sup>ことから，より積極的な対策が求められている。

茨城県衛生研究所では食中毒事例や収去食品，認定小規模食鳥処理場の衛生状況調査などの検査において *Campylobacter* 属菌の分離・同定試験を実施している。しかし，カンピロバクター食中毒は散发事例が多いこと，潜伏期が長いために原因不明となることが多い<sup>2)</sup>ことから，広域な *Campylobacter* 汚染の実態やその汚染源を把握することは難しい。

そこで本研究は，茨城県における

*Campylobacter* 属菌の汚染源究明に向けた科学的根拠を提供することを目的に，細菌の遺伝子型解析法として普及しているパルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE 法）を実施した。

### 材料および方法

#### (1) *Campylobacter* 属菌の収集・保存

平成 24 年度から平成 26 年度までに茨城県衛生研究所で分離あるいは搬入された *Campylobacter* 属菌について，菌種の同定を行った後 10% スキムミルクに懸濁して -80℃ で保存した。菌種の分離および同定は食品衛生検査指針<sup>5)</sup>に従い，馬尿酸加水分解試験で陽性の菌株を *C.jejuni*，陰性または弱陽性の菌株については Multiplex PCR 法<sup>6)</sup>により *C.jejuni hipO*，

*Campylobacter* 23SrRNA のバンドが確認された場合を *C.jejuni*, 馬尿酸加水分解試験で陰性かつ Multiplex PCR 法<sup>6)</sup>で *C.coli glyA*, *Campylobacter* 23SrRNA のバンドが確認された場合を *C.coli* と同定した。

### (2) *C.jejuni* および *C.coli* の PFGE 法について

カンピロバクター食中毒の原因菌は、*C.jejuni* および *C.coli* が 90%以上を占めると報告されている<sup>7)</sup>。そこで本研究では、平成 24 年度から平成 26 年度にかけて *C.jejuni* および *C.coli* を対象にした PFGE 法の条件検討を行った。まず、*C.jejuni* を対象とした既報の PFGE 法を検討した。八尋らの方法<sup>8)</sup>に準じて PFGE 法を実施したところ、良好な結果が得られた。しかし、実験に 5~6 日を要したため、より短時間で結果が出せるようプロトコルを検討することにした<sup>9),10)</sup>。

検討の結果、制限酵素は *Kpn I* を 1 サンプルあたり 40U で 2~4 時間反応させることにした。PFGE 法の制限酵素以外の条件は項目ごとに八尋らの方法<sup>8)</sup>と CDC の方法<sup>11)</sup>を組み合わせで検討した(表 1)。その結果、実験は 3~4 日で済むよう改良できた。プラグの洗浄では Pefabloc SC の代わりに蒸留水を用いることで、より経済的に結果が出せるようになった。また、改良法でも既報に準じた結果と変わらない結果が出ることを確かめた。同様に *C.coli* についての PFGE 法を検討し、最終的に決定したプロトコルを図 1 に示した。

### (3) PFGE 解析とデータベースの作成

PFGE 法は図 1 に示したプロトコルに準拠し、サイズマーカーとして *Salmonella* Braenderup H9812 を用いた。PFGE 法で得られた電気泳動像(以下、PFGE 型)は BioNumerics Ver6.6 (Applied Maths) を用いて解析した。また、同日に同一検体から分離された複数菌株のうち PFGE 型が一致したものは同一クロー

ン株として扱い、結果の重複を避けるために解析には 1 株のみ用いた。

解析に用いる *C.jejuni* について、カンピロバクター免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて Penner 血清型別を行った。いずれの抗血清にも凝集しない場合を untypable (UT) とし、UT となった株については Poly らの方法<sup>12)</sup>に準拠して PCR 法による血清型別を実施した。

解析に用いる *C.jejuni* および *C.coli* の疫学情報(分離された検体の種類と情報、時期、場所、事例の情報など)および生化学性状(*C.jejuni* の場合は血清型など)を収集し、PFGE 型と併せてデータベース化した。

## 結果および考察

### (1) *Campylobacter* 属菌の収集・保存および PFGE 解析の結果

*C.jejuni* 408 株(食中毒事例由来 218 株, 認定小規模食鳥処理場由来 130 株, 市販鶏肉由来 60 株)(表 2) および *C.coli* 41 株(食中毒事例由来 16 株, 認定小規模食鳥処理場由来 8 株, 市販鶏肉由来 17 株)を収集、保存した。

PFGE 法の結果、全ての菌株で良好な画像が得られ(data not shown), 重複した菌株を除き、解析には *C.jejuni* 235 株, *C.coli* 22 株を用いた。

表 2: 収集した *C.jejuni* の由来

菌株の由来	菌株数
食中毒事例(県内26件、県外9件)	218
認定小規模食鳥処理場(県内12カ所)	130
鶏肉(県内産2, 県外産12, 産地不明15)	60
計	408

### (2) *C.jejuni* の Penner 血清型について

Penner 式血清型別の結果を図 2 に示した。茨城県で分離された *C.jejuni* の血清型は HS2 (17%) が最も多く、次いで HS23,36,53 (13%), HS4c (11%), HS15 (10%) が多かった(図 2)。一方、HS1/44c は世界中で多く分離されてい

るが<sup>13)</sup>、茨城県では3%と少なかった。これらの特徴はアジアや日本において見られる傾向<sup>13)</sup>とよく一致していた。しかし、HS23,36,53が13%と多く分離されたことは、茨城県に特徴的にみられた傾向だった。

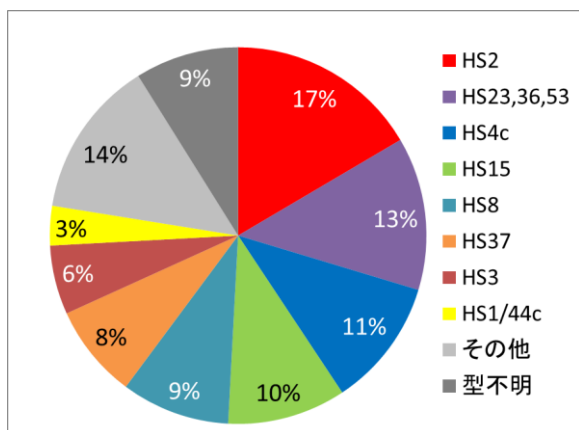


図2：茨城県で分離された *C.jejuni* 235 株の Penner 血清型

HS23,36,53 株の疫学情報を調べたところ、この血清型の菌株のみにみられる疫学的特徴は見出せず、茨城県で多く分離された理由は不明だった。今後も、茨城県で独自に多く分離される血清型に注目し、情報を集積していくことが重要だと思われる。

### (3) *C.jejuni* の PFGE 解析について

当所で分離された *C.jejuni* は多様な PFGE 型を示し、分離された時期や由来検体の種類によって偏ったクラスターはみられなかった。市販鶏肉由来株は全て異なる PFGE 型に分類された。その理由として、本研究では様々な産地の鶏肉を調べたため、分離された菌株の遺伝的系統が多様だったことが考えられた。

一方、食中毒事例由来株および認定小規模食鳥処理場由来株は、異なる事例、異なる処理場から分離された菌株であるにも関わらず、PFGE 型が一致したものが複数認められた。具体的には、異なる認定小規模食鳥処理場由来

株で PFGE 型が一致した例が 6 例、異なる食中毒事例由来株で PFGE 型が一致した例が 3 事例（全て県内で発生した事例）、食中毒事例由来株と認定小規模食鳥処理場由来株の PFGE 型が一致した例が 1 例（県内で発生した事例）あった。

認定小規模食鳥処理場には県内および茨城県近隣で生産される鶏が搬入されてくるため、認定小規模食鳥処理場から分離される *C.jejuni* 株は県内および近隣県に分布する菌株の遺伝的系統をよく反映していると考えられる。今回、異なる処理場から分離された菌株の PFGE 型が一致した例が複数あったことから、県内および近隣県で共通の汚染源を持つ *C.jejuni* 株が何らかの経路によって拡散した可能性が示唆された。

異なる食中毒事例由来株で PFGE 型が一致した事例、食中毒事例由来株と認定小規模食鳥処理場由来株の PFGE 型が一致した事例については、疫学情報からはそれぞれの事例間の関連性を見出すことはできなかった。分離された *C.jejuni* 株がその時期に広く流行していた株だったか、あるいは事例間に何らかの間接的な共通点があったことが考えられた。

また、本研究において同じ PFGE 型の *C.jejuni* が長期間分離されることは稀であったことから、流行するクローン株は短期間に入れ替わっているのではないかと推察された。過去の研究から、*C.jejuni* は頻繁に組み換えが起こり、環境により適応した株が生じるとそのクローン株が一気に増加し、また次の適応株に入れ替わる現象が起こっていると推測されている<sup>14)</sup>。茨城県で分離された *C.jejuni* の解析でも、ある時期に多く見られた血清型や遺伝子型のクローン株が次の時期にはみられなくなり、また異なる性状のクローン株が分離されるという現象が起こっており、前述の推測

と一致している。

現在のところ病原性の特別強い菌株や長く流行している菌株はみられないが、今後も県内で分離される *C.jejuni* の分子疫学的系統の動向に注意したい。

#### (4) 平成 26 年度に食中毒事例から多く分離された *C.jejuni* HS15 株について

血清型 HS15 株はアジアで分離率が高い傾向にあると報告されている<sup>12)</sup>が、病原性に関する報告は特でない。そのため、血清型 HS15 株が特に病原性の高い *C.jejuni* かどうかは不明である。平成 26 年度は血清型 HS15 株が特に多く分離されていたため、過去に分離された HS15 株と比較するために、平成 24 年度から平成 26 年度に収集した *C.jejuni* HS15, 23 株の PFGE 解析結果を図 3 に示した。

平成 26 年度に県内で発生した集団下痢症事例(事例 1, 2, および 3)由来株は相同性 90%以上の同じクラスターに分けられた(図 3)。一方、平成 24 年に分離された菌株および平成 26 年度に県外産または産地不明の鶏肉から分離された菌株は異なるクラスターに分けられた(図 3)。事例間の直接的な共通点は不明だが、少なくとも平成 26 年 5 月から 10 月の間に共通の汚染源を持つ HS15 株が県内で拡散していた可能性が推測された。

#### (5) *C.coli* の PFGE 解析について

*C.coli* も *C.jejuni* と同様に多様な PFGE 型を示した。しかし、異なる事例由来株の PFGE 型が一致するような例はなかった。*C.coli* は分離される菌株数が少ないため、今後も積極的な菌株の収集とデータベースの充実が求められる。

#### (6) データベースの活用について

平成 27 年度には新たに分離された *Campylobacter* 属菌について速やかに PFGE 法を実施し、データベースと比較する試みを行っ

た。その結果、ある認定小規模食鳥処理場から分離された *C.jejuni* の PFGE 型がデータベースに登録されている PFGE 型と一致したため、この施設から過去に分離された *C.jejuni* についてより詳しく分析した。

その結果、平成 25 年度から平成 27 年度にかけてこの施設から分離された *C.jejuni* 16 株のうち 3 クラスター 13 株の PFGE 型が一致していた(図 4)。また、この施設からは血清型 HS55 の株が多く分離されており、HS55 はこの施設以外からはほとんど分離されていないことから、この施設に特徴的な株だと考えられた(図 4)。これらのことから、この施設は同じ汚染源から持続的に *C.jejuni* の汚染を受けている、あるいは施設内に長期間同じ *C.jejuni* 株が残存しているなどの可能性が考えられた。

本研究では汚染源の特定には至らなかったが、持続的に汚染をもたらしている存在、または汚染を拡大させている共通の媒介の存在が示唆されたことから、今後もデータベースの活用を進め、汚染源究明のための科学的根拠となるような情報提供を試みたい。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省:食中毒統計調査(Website)  
<http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/112-1.html>
- 2) 仲西寿男ほか:食品由来感染症と食品微生物(2009), 中央法規出版, 347-364
- 3) 茨城県 保健福祉部 生活衛生課 食の安全対策室:食中毒発生状況(Website)  
[http://www.shoku.pref.ibaraki.jp/shokuchudo/ku/hassei\\_jyokyo/index.html](http://www.shoku.pref.ibaraki.jp/shokuchudo/ku/hassei_jyokyo/index.html)
- 4) 中馬猛久ほか:カンピロバクター食中毒予防の現状と展望, 食品衛生研究, Vol.62, No.3, 7-15(2012)
- 5) 社団法人日本食品衛生協会:食品衛生検査指針 微生物編 2004, 225-235

- 6) Gehua Wang ほか: Colony Multiplex PCR Assay for Identification and Differentiation of *Campylobacter jejuni*, *C.coli*, *C.lari*, *C.upsaliensis*, and *C.fetus* subsp. *fetus*, JCM, 2002, Vol.40, No.12, 4744-4747
- 7) 国立感染症研究所 感染症情報センター: 病原微生物検出情報 Vol.27(2006), 167-175
- 8) 八尋俊輔ほか:厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」18 年度総括・分担研究報告書(2007), 219-230
- 9) 和田千里ほか:カンピロバクター属菌の PFGE 法(パルスフィールドゲル電気泳動法)を用いた疫学に関する試験研究事業-平成 25 年度報告-, 茨城県年報第 52 号(2014), 24-28
- 10) 木澤千里ほか: カンピロバクター属菌の PFGE 法(パルスフィールドゲル電気泳動法)を用いた疫学に関する試験研究事業-平成 26 年度報告-, 茨城県年報第 53 号(2015), 33-35
- 11) Centers for Disease Control and Prevention: PulseNet, Pathogens and Protocols, *Campylobacter jejuni* (Website) <http://www.cdc.gov/pulsenet/pathogens/campylobacter.html>
- 12) Frederic Poly ほか: Discrimination of Major Capsular Types of *Campylobacter jejuni* by Multiplex PCR, JCM, 2011, Vol.49, No.5, 1750-1757
- 13) Brian L. Pike ほか: Global Distribution of *Campylobacter jejuni* Penner Serotypes: A Systematic Review, PLOS ONE, 2013, Vol.8 Issue6, e67375
- 14) Irving N. ほか: Molecular Population Genetic Analysis of *Campylobacter jejuni* HS:19 Associated with Guillain-Barre Syndrome and Gastroenteritis
- The Journal of Infections Disease, 2001, 184, 221-226

表1: 既報のPFGE法(*C. jejuni*, *Kpn I* を使用)の比較と本研究で用いた方法

PFGE法の作業内容		八尋らの方法 <sup>8)</sup>	CDCの方法 <sup>11)</sup>	本研究で用いた方法
増菌	① Brucella Brothに菌を接種し、37-42°C, 18-24時間, 微好気培養 ② Brucella Agarに①の菌液を濃厚に接種し、37-42°C, 18-24時間, 微好気培養	① Brucella Brothに菌を濃厚に接種し、37°C, 14-18時間, 微好気培養	① Brucella Agarに菌を濃厚に接種し、42°C, 14-18時間, 微好気培養	Brucella Agarに菌を濃厚に接種し、42°C, 14-18時間, 微好気培養
プラグ作成	① 滅菌PBSに菌をMacFarland5程度に懸濁 ② ①の菌液500μlに1.0% SeaKem Gold Agarose 500μlを入れ混和する ③ サンプルプラグキヤスタターに約100μl注入し、固化させる	① 滅菌PBSに菌を浮遊させる(吸光度0.68, 610nm) ② ①の菌液400μlにProteinaseK(20mg/ml)を20μl加える ③ ②に1.0% SeaKem Gold Agaroseを400μl加える ④ サンプルキヤスタターに注入し、固化させる	八尋らの方法に準拠	八尋らの方法に準拠
溶菌処理	① 1.0%N-lauroylsarcosine加0.5M EDTA 1ml + ProteinaseK 1mgに1アガロースブロックを浸す ② 50°C, 30rpm, 2-over night 振盪する	① 1.0%N-lauroylsarcosine加0.5M TE 5ml + ProteinaseK (20mg/ml) 25μlに1アガロースブロックを浸す ② 54-55°C, 150-175rpm, 1.5-2時間 振盪する	① 1.0%N-lauroylsarcosine加0.5M EDTA 1ml + ProteinaseK 1mgに1アガロースブロックを浸す ② 50°C, 150-175rpm, 1.5-2時間 振盪する	① 1.0%N-lauroylsarcosine加0.5M EDTA 1ml + ProteinaseK 1mgに1アガロースブロックを浸す ② 50°C, 150-175rpm, 1.5-2時間 振盪する
ProteinaseKの不活化	1mg/ml(4mM) PefablocSC in TEで50°C, 20分以上振盪を2回	なし	なし	なし
洗浄	TEで50°C, 20分以上振盪を2回	① 蒸留水で54-55°C, 10-15分振盪を2回 ② TEで54-55°C, 10-15分振盪を4回	CDCの方法に準拠	CDCの方法に準拠
制限酵素処理	① 制限酵素( <i>Kpn I</i> )用バッファア-で37°C, 20分以上振盪する ② <i>Kpn I</i> (30U/sample plug)の入ったバッファア-100μlで37°C, 2-over night 振盪する	① 制限酵素( <i>Kpn I</i> )用バッファア-で37°C, 10-15分振盪する ② <i>Kpn I</i> (40U/sample plug)+BSA(10mg/ml)の入ったバッファア-200μlで37°C, 4-6時間振盪する	① 制限酵素( <i>Kpn I</i> )用バッファア-で37°C, 10-15分振盪する ② <i>Kpn I</i> (40U/sample plug)の入ったバッファア-100μlで37°C, 2-4時間振盪する	① 制限酵素( <i>Kpn I</i> )用バッファア-で37°C, 10-15分振盪する ② <i>Kpn I</i> (40U/sample plug)の入ったバッファア-100μlで37°C, 2-4時間振盪する
ゲル作製	1.0% SeaKem Gold Agarose in 0.5 x TBEを加熱溶解し、ゲルを作製する	1.0% SeaKem Gold Agarose in 0.5 x TBEを加熱溶解し、ゲルを作製する	八尋らの方法, CDCの方法に準拠	八尋らの方法, CDCの方法に準拠
泳動条件	6.0V/cm, 6.8-38.4秒, 19時間, 12-14°C (泳動槽や温度, TBEのメーカーによって泳動距離が異なる)	6.0V/cm, 5.2-42.3秒, 18-19時間 (CHEF-DR III System(Bio Rad))	CDCの方法に準拠	CDCの方法に準拠
染色・撮影	① 0.3μg/mlのエチジウムブロミド in TBEで30分振盪 ② 蒸留水で振盪しながら2時間洗浄 (こまめに蒸留水を取り替える)	① 0.1μg/mlのエチジウムブロミド in TBEで30分振盪 ② 蒸留水で振盪しながら1-1.5時間洗浄 (こまめに蒸留水を取り替える)	CDCの方法に準拠	CDCの方法に準拠



-1 日目-

- ①カンピロバクターの増菌 ... ブルセラ基礎寒天培地に菌を濃厚に塗抹し、  
42°C,14~18 時間,微好気培養する。

-2 日目-

- ②プラグ作成 ...①で培養した菌を滅菌綿棒でかきとり、  
滅菌 PBS1ml に MacFarland5 程度に懸濁する。  
滅菌 1.5ml チューブに菌液 500µl をとり、  
1.0% SeaKem Gold Agarose 500µl を加える。  
サンプルプラグキャストに約 100µl 注入し、固化させる。
- ③溶菌処理 ... 8ml 丸底チューブに溶菌液(1.0%N-lauroylsarcosine 加 0.5M EDTA + 1mg/ml  
Protenase K)を 1ml とり、プラグを入れ、50°C, 150~175rpm で 1.5~2 時間  
振盪する。
- ④洗浄 ... チューブから溶菌液を除去し、DW を 5ml 加え、50°C,150~175rpm で 10 分間  
振盪してプラグを洗浄する。  
これを DW でもう一度繰り返し、その後 TE buffer で同様の作業を 4 回行う。  
(実験を中断する場合はここで 4°C保存する。)
- ⑤制限酵素処理 ...プラグを 2~2.5mm 幅にカットする。  
制限酵素用 buffer 200µl を 1.5ml チューブにとり、カットしたプラグを  
入れ、各酵素の至適温度で 10 分以上、30rpm 程度で振盪する。  
チューブを氷で冷やした後、buffer を除去し、制限酵素を加えた  
buffer を 100µl 加え、下記の条件で 30rpm で振盪する。  
*C.jejuni* : Kpn I (40U,37°C,2~4 時間), *C.coli* : Sma I (40U,25°C,2 時間)
- ⑥ゲル作製 ... プラグをコームに貼付け、1.0% SeaKem Gold Agarose 100ml で固める。
- ⑦電気泳動 ... 下記の条件で泳動する。(CHEF-DR<sup>®</sup> III System(Bio Rad))  
SW time Initial 5.2 秒 to final 42.3 秒, 19 時間, included angle 120°, 6.0V/cm, 14.0°C

-3 日目-

- ⑧染色・撮影 ... 1mg/ml エチジウムブロミドで 30 分染色した後、DW で 1.5 時間洗浄する。  
洗浄中に DW をこまめに交換する。イルミネーターで撮影する。

図 1 : *Campylobacter* 属菌データベースの作成に用いた PFGE 法のプロトコール

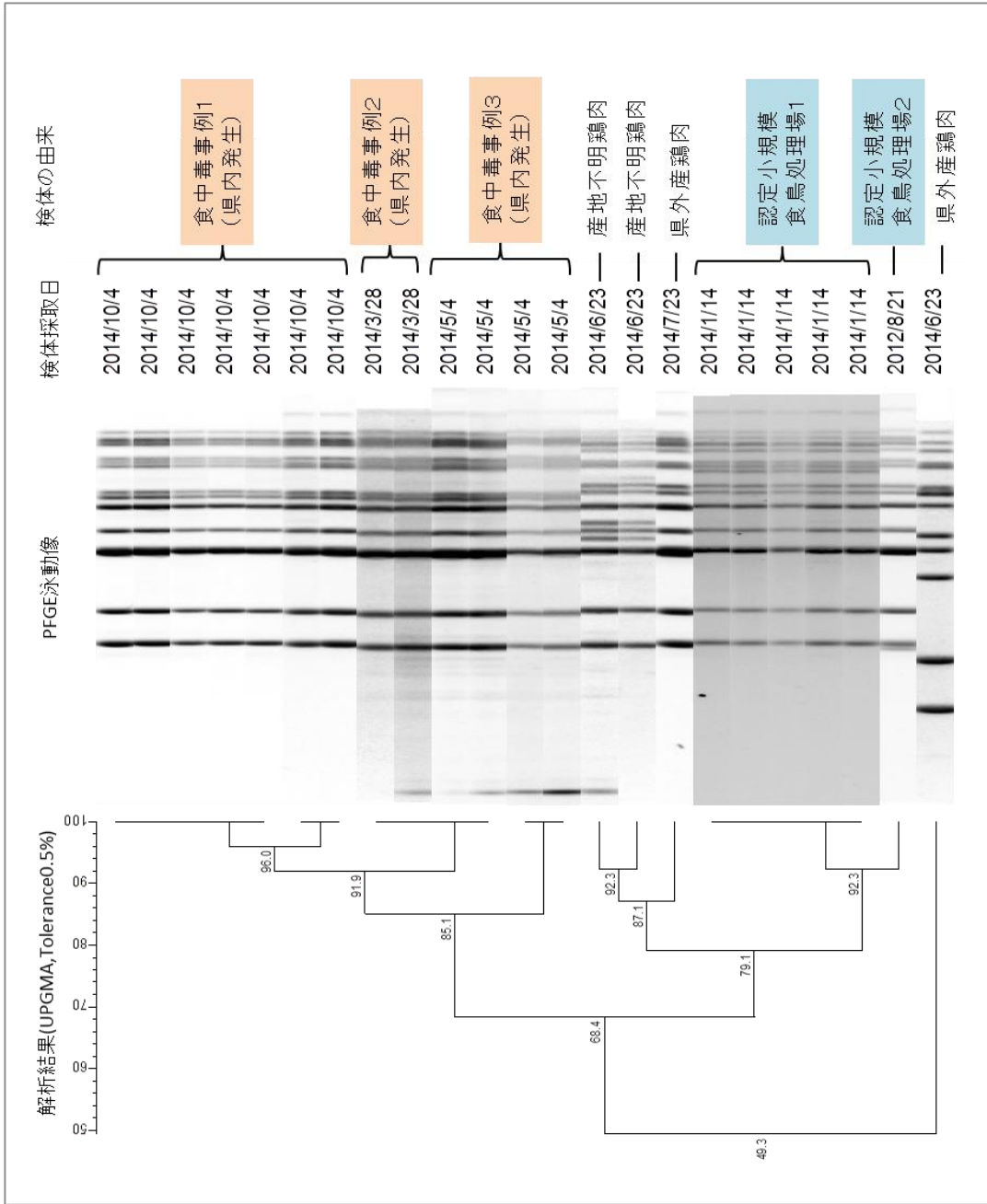


図3: 平成24年度～平成26年度に分離された*C.jejuni* HS15株のPFGE解析結果

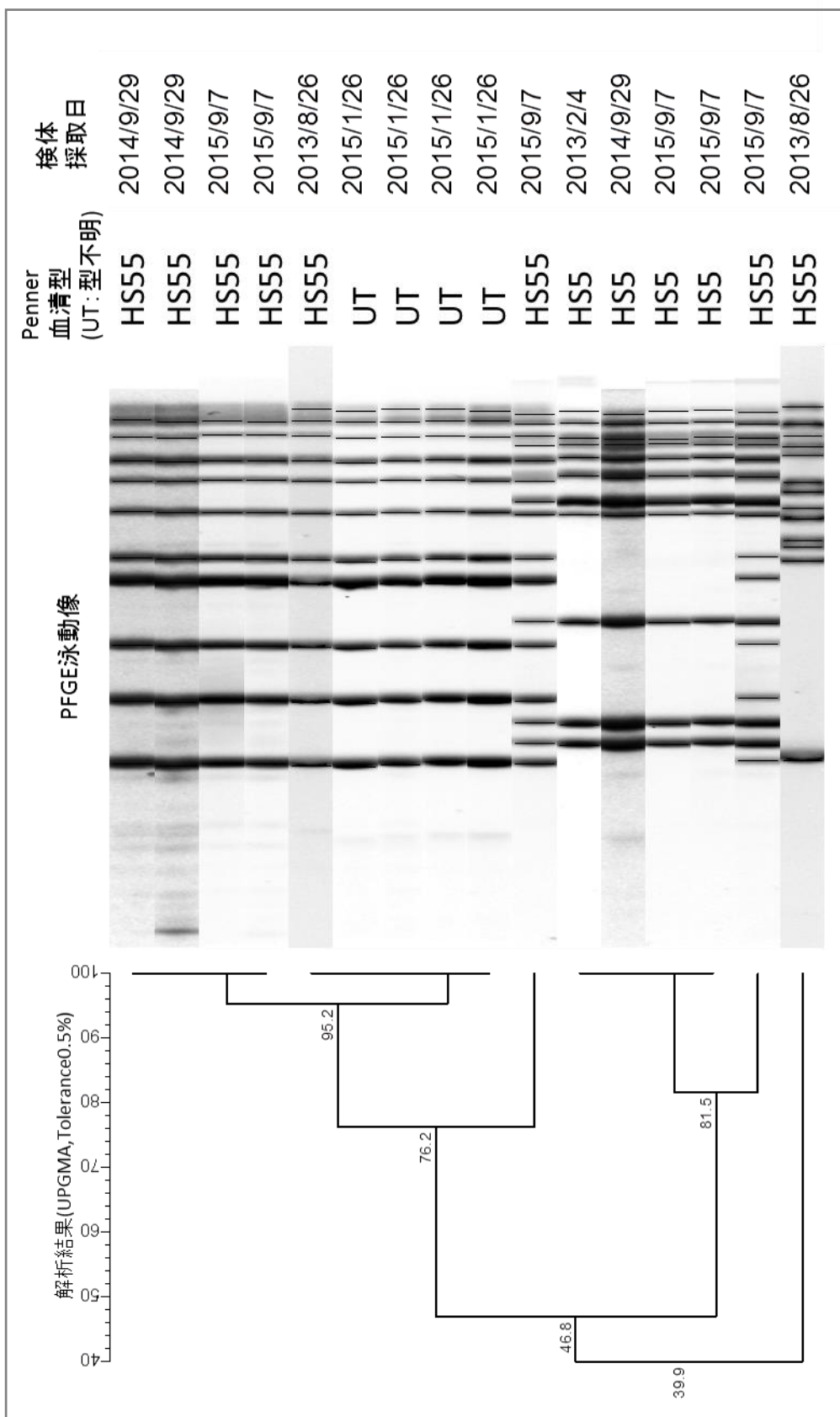


図4: 特定の認定小規模食鳥処理場から分離された*C.jejuni* のPFGE解析結果

## ESBL産生性腸管出血性大腸菌O26感染症分離菌株の 薬剤耐性遺伝子について

○相原 義之, 川又 祐子, 増子 京子

### 要旨

平成 27 年 8 月, 茨城県内の医療機関より ESBL 産生性腸管出血性大腸菌 O26 菌株による感染症が発生したとの報告があった。県内において ESBL 産生性腸管出血性大腸菌の検出はごく稀であったため, 収集菌株に対して詳細な薬剤耐性遺伝子検査を行った。

キーワード: 腸管出血性大腸菌 O26, ESBL, 薬剤感受性試験, DDST 法, 薬剤耐性遺伝子検査

### はじめに

ESBL (基質特異性拡張型  $\beta$  ラクタマーゼ) は Ambler のクラス分類でクラス A 型に属する  $\beta$  ラクタマーゼであり, 通常のペニシリナーゼでは加水分解されない第 3 世代セファロスポリン系抗生剤をも分解・不活化する。ESBL 産生菌は  $\beta$  ラクタム系抗菌薬に留まらず, ホスホマイシン<sup>1)</sup>, キノロン系<sup>2)</sup> 等, 多様な薬剤に抵抗性を示す株も存在することが報告されており, その蔓延は臨床現場における薬物治療を困難にすることから問題となっている。

菌種を大腸菌に限ると, 臨床現場で検出される ESBL 産生菌の多くは血清型が O25, O86 であることが報告されており<sup>3)</sup>, ESBL 産生性腸管出血性大腸菌の報告例は比較的少ない。しかし, 平成 27 年度において茨城県内では非常に稀であった ESBL 産生性腸管出血性大腸菌 O26 による感染症が発生し, 菌株が当所に搬入されたため, 詳細な薬剤耐性遺伝子検査を行うこととした。また, 本事例を契機に, 当所で保存していた腸管出血性大腸菌株 (平成 26 年次, 47 株) についても薬剤感受性試験を行い, ヒト由来腸管出血性大腸菌における薬剤耐性状況を調査したので, 併せて報告する。

### 事例概要

平成 27 年 8 月中旬, 茨城県 F 保健所管内において腸管出血性大腸菌 O26 感染症の発生届 (以下, F 事例と表記) があり, 検出された原因菌株が当所に搬入された。その際, 検査機関から O26 菌株が ESBL 産生菌であるとの報告があった。保健所の遡り調査によると, 患者は 7 月中旬~8 月上旬まで中国に渡航しており, 帰国間際に水様性下痢を呈していたことが判明した。そのため, 潜伏期間を考慮すると感染源は中国である可能性が高いと判断された。

また, 患者家族 1 名について, 当所において感染症届出発生に伴う接触者検便を行ったところ, 無症候性保菌者であることが確認された。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌株

平成 26 年 1 月から 12 月に茨城県内で発生した腸管出血性大腸菌感染症事例より分離された保存菌株 47 株及び F 事例における患者由来菌株 2 株を用いた。なお, F 事例の菌株 2 株は分子疫学解析(PFGE, MLVA の 2 法)の結果が完全に一致しており, 同一株であることを確認している。

## 2. 解析方法

### 2-1. 薬剤感受性試験 (Kirby-Bauer 法)

薬剤感受性試験は CLSI ガイドライン (M100-24) に従い, Mueller-Hinton 培地上でセンシディスク® (ベクトン・ディッキンソン社) を用いて行った。薬剤ディスクはアンピシリン, セフポドキシム, セフォタキシム, セフトラジジム, メロペネム, カナマイシン, ゲンタマイシン, ナリジクス酸, レボフロキサシン, テトラサイクリン, ST, クロラムフェニコールの 12 剤を用いた。

### 2-2. $\beta$ ラクタマーゼ型別試験 (DDST 法)

薬剤感受性試験の結果, セフポドキシム, セフォタキシム, セフトラジジム, メロペネムのいずれかの薬剤に耐性を示した菌株について行った。

ESBL の検出は, セフトラジジム (CAZ) とセフォタキシム (CTX) の 2 種の薬剤ディスクに加え, アモキシシリン/クラバン酸 (ACV) とアンピシリン/スルバクタム (S/A) の 2 種の阻害剤ディスクを用いた DDST (Double Disk Synergy Test) 法により行い, 薬剤ディスクと阻害剤ディスクの間で阻止円径の拡大が確認できた場合, 陽性と判断する。(クラス A  $\beta$  ラクタマーゼ試験)。

メタロ  $\beta$  ラクタマーゼの検出は, セフトラジジム (CAZ) とメロペネム (MPM) の 2 種の薬剤ディスクに加え, メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) ディスクを阻害剤として用いた DDST 法により行い, 薬剤ディスクと阻害剤ディスクの間で阻止円径の拡大が確認できた場合, 陽性と判断する。(クラス B  $\beta$  ラクタマーゼ試験)。

AmpC  $\beta$  ラクタマーゼの検出は, メロペネム (MPM) とセフミノクス (CMN) の 2 種の薬剤ディスクに加え, 3-アミノフェニルボロン酸溶液 (APB) を阻害剤として行い, ボロン酸溶液を添加した薬剤ディスクの阻止円がボロン酸

非添加薬剤ディスクの阻止円と比べて拡大した場合, 陽性と判断する。(クラス C  $\beta$  ラクタマーゼ試験)。

### 2-3. ESBL 産生遺伝子検出 (PCR 法)

ESBL 産生菌と考えられた菌株について, 柴田らの方法<sup>4)</sup> に基づいて, PCR 検査を行った。検出対象の遺伝子は SHV 型, TEM 型, CTX-M-1 グループ, CTX-M-2 グループ, CTX-M-9 グループの 5 種とした。

## 試験結果

まず, 平成 26 年次に収集した腸管出血性大腸菌株 47 株について薬剤感受性試験を行ったところ, 表 1 に示すように, いずれかの薬剤に耐性を示した菌株は 12 株確認されたが, 全株ともセフェム系抗生剤には感性であり, ESBL 産生菌株は検出されなかった。

一方で, F 事例由来菌株は 2 株とも, アンピシリン, セフポドキシム, セフォタキシム, ナリジクス酸, テトラサイクリン, クロラムフェニコールに耐性を示し, レボフロキサシンに中間耐性を示すことが確認された。

そこで, F 事例由来株に対して  $\beta$  ラクタマーゼ型別試験を行ったところ, 図 1 に示すようにクラス A  $\beta$  ラクタマーゼ (ESBL) 試験のみ陽性となり, ESBL 産生菌であると判断された。また, その際に薬剤ディスクの阻止円径は CTX > CAZ となることが同時に観測された。

続いて, PCR 法により ESBL 産生遺伝子の検出を試みたところ, CTX-M-9 型遺伝子のバンドが確認され, F 事例由来 O26 菌株が CTX-M-9 グループ遺伝子を有することがわかった。そこで CTX-M-9 型遺伝子領域を PCR 法により増幅してシーケンス解析を行い, 国立遺伝学研究所データベース上でアミノ酸配列の相同性検索 (blastx) を行ったところ, CTX-M-65 型遺伝子であることが確認された。

## 考察

今回検出された CTX-M-65 型遺伝子は、CTX-M-9 グループの中で最も検出率が高いと報告されている CTX-M-14 型遺伝子と比べて 2 つのアミノ酸が変異しており (p.A80V, p.S275R), 現在, 中国において検出率が増加している薬剤耐性遺伝子の 1 つである<sup>5)</sup>。CTX-M 型の薬剤耐性遺伝子を保有する菌株は, 第 3, 4 世代セファロスポリン系抗生剤に耐性を示すばかりではなく, キノロン系抗菌薬, アミノグリコシド系抗菌薬, ホスホマイシン等の薬剤に対する耐性遺伝子も同時に保有していることがある<sup>6)</sup>。実際に F 事例由来菌株においても, 第 3, 4 世代セファロスポリン系, ホスホマイシンに耐性を示し, レボフロキサシンに中間耐性を示すことが確認された。幸い, アミノグリコシド系薬剤に対しては感性を示したため, 患者の治療に用いることが出来たと考えられるが, 使用する抗菌薬の選択肢が大きく制限されることとなった。

このように, 薬剤耐性菌の出現は臨床現場に大きなインパクトを与えるが, CTX-M 型の薬剤耐性遺伝子はプラスミド上に存在しており, 他菌種へ水平伝播してしまうため, 地域的・世界的に拡散してしまう危険性をはらんでいる。厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) 検査部門の 2014 年報 (CLSI2012 試行版) によると, セフォタキシム耐性大腸菌の検出率は 23.3% となっており, 2000 年以降, 増加傾向にある。これは近年, 日本において CTX-M 型 ESBL の検出率が増加していることと相関しており, 薬剤耐性遺伝子の爆発的な広がり示唆している。

ESBL 産生菌は健常人や食肉からも検出されていることが報告されており, 市中蔓延が懸念されている。そのため, 検出される薬剤耐性遺伝子型を把握し, その動向を調査することは公

衆衛生上, 重要なことと考えられる。薬剤耐性遺伝子の種類と特徴は時代とともに変化するので, 常に最新の情報を収集し, 対象遺伝子に応じて検査環境もアップデートしていくことが大切である。

## 謝辞

薬剤感受性試験,  $\beta$ ラクタマーゼ型別検査及び薬剤耐性遺伝子検出法について, 懇切丁寧な指導と助言を下さいました国立感染症研究所細菌第二部 鈴木里和先生, 松井真理先生に感謝いたします。

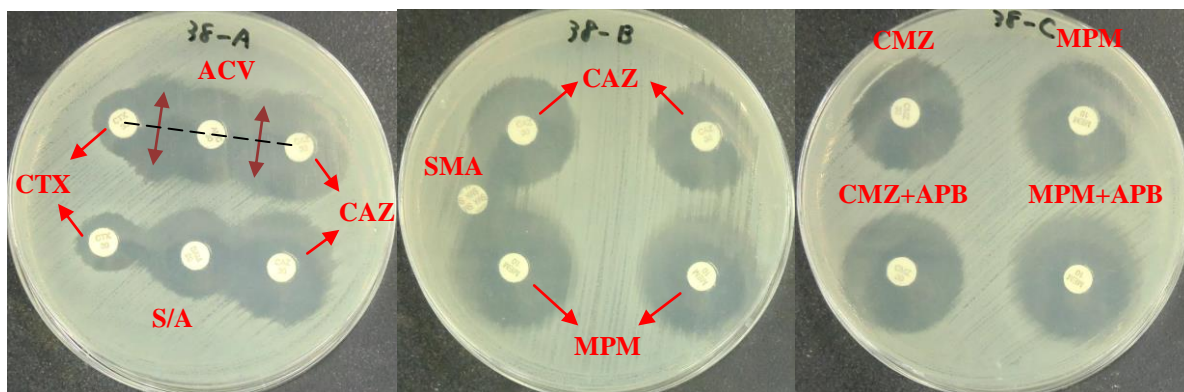
## 文献

- 1) Wachino, J. *et al*, *Antimicrob. Agents Chemother.* **54** (2010), 3061-3064.
- 2) Johnson, J. R. *et al*, *Clin. Infect. Dis.* **51** (2010), 286-294.
- 3) Suzuki, S. *et al*, *Antimicrob. Agents Chemother.* **63** (2009), 72-79.
- 4) Shibata, N. *et al*, *Antimicrob. Agents Chemother.* **50** (2006), 791-795.
- 5) Xu, G. *et al*, *Front. Microbiol.* **6** (2015), 1103.
- 6) Pitout, J. D. D. *et al*, *Antimicrob. Agents Chemother.* **51** (2007), 1281-1286.

表 1 : 薬剤感受性試験結果一覧

	抗菌薬 (×:耐性, △:中間耐性)								菌株数
	ABPC	TC	CP	ST	NA	LVFX	CPDX	CTX	
平成26年次 収集株	×								4株
		×							1株
			×						1株
	×			×					2株
	×	×	×						3株
		×	×			×			1株
F事例株	×	×	×	×	×	△	×	×	2株

ABPC:アンピシリン, TC:テトラサイクリン, CP:クロラムフェニコール, ST:ST合剤,  
NA:ナリジクス酸, LVFX:レボフロキサシム, CPDX:セフトロキム, CTX:セフトキシム



(図 1) 左 : クラス A βラクタマーゼ試験 (ディスク間で阻止円径拡大が確認されたため, 陽性)  
中央 : クラス B βラクタマーゼ試験 (阻止円径に変化が見られず, 陰性)  
右 : クラス C βラクタマーゼ試験 (阻止円径に変化が見られず, 陰性)

表 2 : 薬剤耐性遺伝子検出用プライマーと PCR 反応条件

遺伝子型	プライマー配列(5' → 3')	シーケンス解析	プライマー配列(5' → 3')
TEM	F: CCG TGT CGC CCT TAT TCC R: AGG CAC CTA TCT CAG CGA	CTX-M-9型 遺伝子領域	(増幅) F: ATG GTG ACA AAG AGA GTG CAA R: TCA CAG CCC TTC GGC GAT  (シーケンス解析) F1: ATG GTG ACA AAG AGA GTG CAA F2: GCA GAT AAT ACG CAG GTG R: CGG CGT GGT GGT GTC TCT
SHV	F: ATT TGT OGC TTC TTT ACT CGC R: TTT ATG GCG TTA CCT TTG ACC		
CTX-M-1グループ	F: GCT GTT GTT AGG AAG TGT GC R: CCA TTG CCC GAG GTG AAG		
CTX-M-2グループ	F: ACG CTA CCC CTG CTA TTT R: GCT TTC CGC CTT CTG CTC		
CTX-M-9グループ	F: GCA GAT AAT ACG CAG GTG R: CGG CGT GGT GGT GTC TCT		

薬剤耐性遺伝子検出・シーケンス増幅				シーケンス解析			
	温度	時間	サイクル数		温度	時間	サイクル数
初期変性	94°C	2min	1	初期変性	96°C	70sec	1
変性	94°C	1min	35	変性	96°C	10sec	25
アニーリング	55°C	1min		アニーリング	55°C	5sec	
伸長反応	72°C	1.5min		伸長反応	60°C	4min	
最終伸長	94°C	5min	1	最終伸長			

## 茨城県において平成27年次に発生した腸管出血性大腸菌O157感染症分離菌株の分子疫学解析について

○相原 義之, 山城 彩花, 木澤 千里, 中本 有美, 川又 祐子, 増子 京子

### 要旨

平成 27 年 1 月から 12 月までに茨城県内で発生した腸管出血性大腸菌 O157 感染症分離菌株 45 株について、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法、IS-printing system(IS)法および Multi-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA)法の 3 手法による分子疫学解析を行い、各手法間の比較と感染事例間での疫学的関連性の有無について検討した。

キーワード：腸管出血性大腸菌、分子疫学解析、PFGE 法、IS 法、MLVA 法

### はじめに

腸管出血性大腸菌 O157 の分子疫学解析は、従来から PFGE 法が広く利用されているが、近年より迅速かつ簡便に検査結果が得られる IS 法および MLVA 法が普及し始めている。

昨年度より引き続き、平成 27 年次に茨城県内で分離された腸管出血性大腸菌株について PFGE 法、IS 法、MLVA 法の 3 手法による分子疫学解析を行ったので、結果について報告する。

### 材料および方法

#### 1. 供試菌株

平成 27 年 1 月から 12 月に茨城県内で発生した腸管出血性大腸菌 O157 感染症事例より分離された菌株 45 株を対象とした。菌株情報については表 1 にまとめた。

#### 2. 解析方法

##### 2-1. PFGE 法

制限酵素は *Xba*I を用い、国立感染症研究所で示されたプロトコルに基づいて実施した。データ解析については BioNumerics (Ver. 6.6, Applied Maths) を利用し、解析は Dice 法 (最適化: 0.5%, トレランス: 0.5%), 系統樹作成は平均距離法(UPGMA)により行った。結果の

解釈は 0~3 バンド違いを同一タイプとした。

##### 2-2. IS 法

IS-printing system (東洋紡) を使用し、添付のプロトコルに従い実施した。解析は 18 種のプライマーごとにバンドの増幅を調べ、増幅ありを「1」、増幅なしを「0」と判定した。得られた解析数値をプライマーの順に並べて 18 桁の数列とした後、3 バンドごとに「1」「2」「4」の係数を乗じた数値を加算して各セット 6 桁のコードとし、菌株間の比較に用いた。

##### 2-3. MLVA 法

国立感染症研究所細菌第 1 部で示されたプロトコル<sup>1)</sup>に従い、17 か所の locus について解析を行った。Fragment size marker として GeneScan™ 600LIZ Size Standard (Applied Biosystems)を用い、繰り返し回数 (RN) の解析には 3500 Genetic Analyzer(Applied Biosystems) および Gene Mapper ver.4.1(Applied Biosystems) を使用した。



表 1 事例概要と分離菌株情報

事例番号	菌株番号	発症・診断日	管轄保健所	患者性別	患者年齢	患者職業	毒素型
No.1	IB15007	5月27日	水戸	男	10歳未満	小学生	VT1VT2
	IB15008	6月8日	水戸	女	40代	公務員	VT1VT2
No.2	IB15009	5月25日	つくば	女	80代	主婦	VT1VT2
No.3	IB15020	6月30日	水戸	女	90代	無職	VT1VT2
	IB15021	7月9日		男	70代	無職	VT1VT2
No.4	IB15022	6月30日	竜ヶ崎	女	70代	無職	VT1VT2
	IB15023	7月13日		男	60代	会社員	VT1VT2
No.5	IB15027	7月5日	常陸大宮	女	60代	無職	VT1VT2
No.6	IB15033	7月25日	日立	男	50代	会社員	VT1VT2
	IB15034	8月2日		女	50代	ピアノ講師	VT1VT2
No.7	IB15035	7月25日	常総	女	30代	喫茶店員	VT1VT2
No.8	IB15037	7月31日	潮来	男	40代	飲食店調理員	VT1VT2
No.9	IB15052	9月13日	筑西	男	70代	無職	VT1VT2
No.10	IB15053	9月17日	筑西	女	60代	無職	VT1VT2
	IB15054	9月27日		男	60代	会社員	VT1VT2
No.11	IB15055	9月23日	つくば	男	10歳未満	小学生	VT1VT2
No.12	IB15056	9月24日	筑西	男	70代	無職	VT1VT2
No.13	IB15057	10月1日	筑西	男	80代	自営業	VT1VT2
No.14	IB15058	9月30日	水戸	男	10歳未満	小学生	VT1VT2
No.15	IB15064	11月2日	潮来	女	10歳未満	園児	VT1VT2
	IB15065	11月3日		女	10歳未満	園児	VT1VT2
	IB15066	11月11日		女	40代	自営業	VT1VT2
No.16	IB15026	7月7日	土浦	女	40代	薬局店員	VT1
No.17	IB15029	7月10日	常陸大宮	女	30代	病院関係者	VT1
No.18	IB15005	5月8日	水戸	女	70代	無職	VT2
No.19	IB15006	5月18日	水戸	女	30代	教師	VT2
No.20	IB15010	6月9日	鉾田	女	30代	保育士	VT2
No.21	IB15011	6月17日	土浦	男	10歳未満	小学生	VT2
No.22	IB15013	6月25日	つくば	男	10歳未満	園児	VT2
	IB15014	6月29日		女	10歳未満	園児	
	IB15015	6月30日		男	10歳未満	園児	
No.23	IB15016	6月17日	ひたちなか	女	10代	高校生	VT2
	IB15017	6月24日	ひたちなか	男	60代	無職	VT2
No.24	IB15030	7月14日	常総	女	80代	無職	VT2
	IB15031	7月25日		男	60代	無職	VT2
No.25	IB15036	7月23日	古河	男	10代	高校生	VT2
No.26	IB15040	8月13日	つくば	男	10歳未満	園児	VT2
No.27	IB15043	8月24日	竜ヶ崎	男	20代	大学生	VT2
No.28	IB15044	9月1日	つくば	女	10歳未満	無職	VT2
	IB15045	9月8日		女	30代	主婦	VT2
	IB15046	9月8日		男	10歳未満	園児	VT2
No.29	IB15048	8月27日	つくば	女	20代	保育士	VT2
No.30	IB15049	9月4日	常総	女	50代	保育士	VT2
No.31	IB15050	9月8日	筑西	女	20代	食品製造	VT2
No.32	IB15063	10月18日	土浦	女	50代	食品製造	VT2

実験結果

PFGE バンドパターンを図 1 に、IS コードおよび MLVA の RN を表 2 に示した。

1) 家族内事例

事例番号 1, 3, 4, 6, 10, 15, 22, 23, 24, 28 については患者間で家族関係が確認され、

PFGE パターンが 95%以上一致した。また、これらの事例では IS コードおよび MLVA の RN も完全に一致、もしくは 1 領域違いであり、いずれの手法においても相関関係があることがわかった。

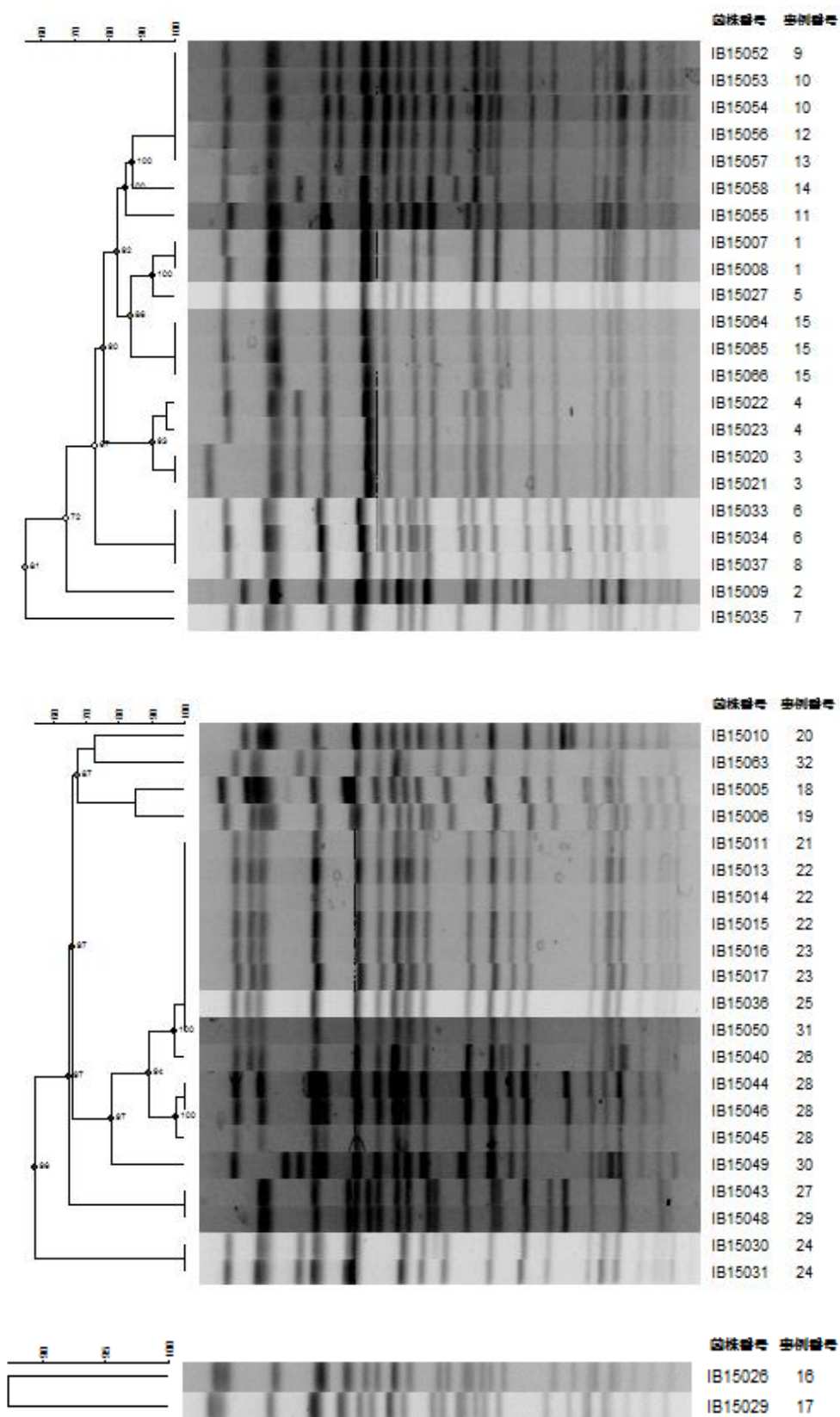


図1 PFGE クラスタとバンドパターン (上段 : VT1,2 陽性株, 中段 : VT2 陽性株, 下段 : VT1 陽性株)

## 2) 散発事例

6月中旬～9月上旬にかけて発生した散発事例 21, 22, 23, 25 及び 31 の原因菌株 (IB15011, IB15013, IB15014, IB15015, IB15016, IB15017, IB15036, IB15050) は PFGE パターン及び IS コードが完全に一致しており, MLVA の RN もすべての領域で一致していたため, 同一由来株であると考えられた。なお, 散発事例 26 由来株 (IB15040) は, これらの株と IS コードが一致したものの, PFGE, MLVA の結果は異なっており, 同一由来株の可能性は低いと考えられた。

また, VT2 陽性株による散発事例 27 及び 29 の原因菌株 (IB15043, IB15048) は PFGE パターンと MLVA の RN が完全に一致していた。そのため, 同一由来株による感染症の可能性が示唆されたが, 両事例の届出者間に家族関係はなく, 共通行動等の繋がりも確認できなかった。

同様に, 散発事例 16 及び 17 における VT1 陽性原因菌株 (IB15026, IB15029) についても, PFGE パターンが 85%以上の相同性を示し, また MLVA の RN が完全に一致していたことから, 同一由来株による感染症である可能性が高いと考えられたが, 事例間の関連性を見いだすことができなかった。

## 3) 筑西保健所管内で発生した腸管出血性大腸菌感染症について

平成 27 年 9 月中旬から 10 月上旬にかけて, 筑西保健所管内で VT1,2 陽性 O157 感染症が 4 事例 (事例 9, 10, 12, 13) 連続的に発生した。この 4 事例の届出者 5 名に由来する菌株群 (IB15052, IB15053, IB15054, IB15056, IB15057) の PFGE パターンと MLVA の RN は完全に一致しており, 同一由来株の可能性が高いと判断された。また, 国立感染症研究所の情報提供により, 栃木県においても同時期に, 本事例菌株と MLVA の RN が一致している菌株による感染症が発生していることが判明した。

管轄保健所が行った届出者 5 名の行動調査によると, うち 4 名が届出日から遡って 1 週間前後の間に葬儀に参列したことが確認された。しかし, 利用した葬儀場はそれぞれ異なっており, 届出者間におけるその他の共通行動, 接点も存在しなかった。直接的な関連は見られなかったものの, このように同地区において, 同一由来株による O157 感染症が短期間に集中的に発生したため, 関連部署に情報提供を行った。

## 考察

前述のように, 平成 27 年度においては直接的な因果関係が確認されなかったものの, 分子疫学解析の結果から事例間の相関が示唆された事例が発生した。本事例においては, PFGE, IS-printing, MLVA と異なる 3 つの分子疫学解析手法を導入し, 多角的に遺伝子解析を行うことでデータの確度を高めることが可能となり, 行政側への情報提供に繋げることができた。

腸管出血性大腸菌感染症は, ごく少数の食中毒事例・同一施設内での集団発生を除くと, 因果関係が不明であるケースが多い。しかし, 検出された菌株の遺伝子情報解析とデータの集積により事例間の関連性を明確にすることで, 行政側の蔓延防止対策を効率化できるため, さらなる感染症の発生を未然に防ぐ可能性が高まる。IS-printing や MLVA といった分子疫学解析手法の確立・普及により, 解析の簡便化・迅速化が著しくなった昨今, 感染症予防の側面からも分子疫学解析を行う意義が大きくなりつつあると考えられる。

## 謝辞

MLVA 解析の実施に際し, 懇切丁寧な指導と助言を下さいました国立感染症研究所細菌第一部 泉谷秀昌先生に深謝いたします。

## 文献

- 1) Izumiya, H. *et al*; *Microbiol. Immunol.*, 2010;**54**, 569-577.

表2 O157菌株のRN (MLVA) とISコード

事例番号	菌株番号	毒素遺伝子	1st.set										2nd.set										IS code	
			O157-34Y	EHC-1Q	EHC-2C	O157-9M	EHC-5S	O157-3W	O157-25J	EH11-80	EH157-12N	EH11-4BB	EH11-11T	O157-17Z	O157-36AA	O157-19L	EHC-6U	O157-37V	EH26-7D	1st.set	2nd.set			
1	IB15007	VT1, VT2	13	6	4	13	null	10	4	4	1	4	null	2	9	6	7	9	8	null	317475	611756		
	IB15008	VT1, VT2	13	6	4	13	null	10	4	4	1	4	null	2	9	6	7	9	8	null	317475	611756		
2	IB15009	VT1, VT2	10	5	5	12	null	24	2	1	4	4	null	2	12	4	7	7	7	null	215457	311656		
	IB15020	VT1, VT2	12	6	4	8	null	15	5	1	4	4	null	2	7	7	5	8	8	null	317575	211656		
3	IB15021	VT1, VT2	12	6	4	8	null	15	5	1	4	4	null	2	7	7	5	8	8	null	317575	211656		
	IB15022	VT1, VT2	12	6	4	8	null	15	5	1	4	4	null	2	7	7	5	8	8	null	317575	211656		
4	IB15023	VT1, VT2	12	6	4	8	null	15	5	1	4	4	null	2	7	7	5	8	8	null	317575	211656		
	IB15027	VT1, VT2	12	6	4	12	null	10	5	1	4	4	null	2	6	6	6	5	5	null	307577	211757		
6	IB15033	VT1, VT2	11	5	4	11	null	11	5	1	4	4	null	2	10	12	6	7	7	null	705557	651257		
	IB15034	VT1, VT2	11	5	4	11	null	11	5	1	4	4	null	2	10	12	6	7	7	null	705557	651257		
7	IB15035	VT1, VT2	10	3	7	5	2	8	5	1	4	4	null	2	5	9	8	4	4	null	301557	710417		
	IB15037	VT1, VT2	11	5	4	11	null	11	5	1	4	4	null	2	10	12	6	12	7	null	705557	611257		
9	IB15082	VT1, VT2	11	6	4	13	10	7	5	1	4	4	null	2	13	6	7	8	8	null	017577	611747		
	IB15053	VT1, VT2	11	6	4	14	10	7	5	1	4	4	null	2	13	6	7	8	8	null	017577	611747		
10	IB15084	VT1, VT2	11	6	4	13	10	7	5	1	4	4	null	2	13	6	7	8	8	null	017577	611747		
	IB15055	VT1, VT2	13	5	4	10	null	11	7	1	4	4	null	2	7	3	6	10	6	null	717577	611657		
12	IB15056	VT1, VT2	11	6	4	13	10	7	5	1	4	4	null	2	13	6	7	8	8	null	017577	611747		
13	IB15057	VT1, VT2	11	6	4	13	10	7	5	1	4	4	null	2	13	6	7	8	8	null	017577	611747		
14	IB15058	VT1, VT2	12	6	4	13	null	10	5	1	6	6	null	2	6	6	6	13	7	null	357677	211757		
	IB15084	VT1, VT2	12	5	4	12	null	8	8	1	4	4	null	2	7	3	6	6	6	null	717555	611657		
15	IB15065	VT1, VT2	12	5	4	13	null	8	8	1	4	4	null	2	7	3	6	6	6	null	717555	611657		
	IB15066	VT1, VT2	12	5	4	12	null	8	8	1	4	4	null	2	7	3	6	6	6	null	717555	611657		
16	IB15026	VT1	10	5	5	16	null	13	2	1	4	4	null	2	13	4	7	7	7	null	615455	311654		
17	IB15029	VT1	10	5	5	15	null	13	2	1	4	4	null	2	13	4	7	7	7	null	615455	311654		
18	IB15005	VT2	10	18	6	11	null	18	4	1	3	3	null	2	5	3	7	4	4	null	315457	611413		
19	IB15006	VT2	10	18	6	11	null	18	4	1	3	3	null	2	5	3	7	4	4	null	315457	611413		
20	IB15010	VT2	10	9	5	7	null	11	3	1	4	4	null	2	5	10	6	4	4	null	315557	711413		
21	IB15011	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
	IB15013	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
22	IB15014	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
	IB15015	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
	IB15016	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
23	IB15017	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
	IB15030	VT2	9	7	5	11	2	null	4	1	1	1	null	2	3	7	6	9	9	null	145047	103443		
24	IB15031	VT2	9	7	5	11	2	null	4	1	1	1	null	2	3	7	6	9	9	null	145047	103443		
	IB15036	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
26	IB15040	VT2	9	9	5	7	null	8	5	1	6	6	null	2	4	10	8	6	6	null	305457	211642		
	IB15043	VT2	8	15	4	null	null	12	4	1	3	3	null	2	2	4	6	7	7	null	205457	601247		
	IB15044	VT2	9	12	4	5	null	11	4	1	6	6	null	2	4	8	8	6	6	null	105457	611242		
28	IB15045	VT2	9	12	4	5	null	11	4	1	6	6	null	2	4	8	8	6	6	null	105457	611242		
	IB15046	VT2	9	12	4	5	null	11	4	1	6	6	null	2	4	8	8	6	6	null	105457	611242		
29	IB15048	VT2	8	15	4	null	null	13	4	1	3	3	null	2	2	4	6	7	7	null	205457	605243		
30	IB15049	VT2	9	3	4	11	null	22	4	1	6	6	null	2	6	null	8	10	6	null	345457	311652		
31	IB15050	VT2	9	11	5	12	null	11	5	1	6	6	null	2	4	9	7	6	6	null	305457	211642		
32	IB15063	VT2	9	12	5	5	null	4	3	1	4	4	null	2	5	6	7	5	5	null	012057	214442		

## 茨城県内で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒事例について

○中本有美, 山本和則, 深谷節子, 増子京子

### 要旨

平成 27 年度における茨城県内の細菌性食中毒事例件数は 6 件であり, そのうち 4 件がカンピロバクター属菌による事例, 残りの 2 件は黄色ブドウ球菌による事例であった。この黄色ブドウ球菌事例の分離株を対象に, ブドウ球菌エンテロトキシン staphylococcal enterotoxin (SE) について新型 SE を含む MultiplexPCR を実施した。1 事例目では *sea* 及び *seh* を, 2 事例目では *sea*, *sec* 及び *seh* を保有しており, 従来型 SE 遺伝子と併せて新型 SE 遺伝子を保有している結果となった。

キーワード: 細菌性食中毒, 黄色ブドウ球菌, ブドウ球菌エンテロトキシン

### はじめに

黄色ブドウ球菌は, 環境中や動物・ヒトの皮膚や鼻腔等広く存在している身近な細菌である。しかし, 同菌が食品中で増殖する際に産生するブドウ球菌エンテロトキシン (SE) を摂取することで, 嘔吐を主徴とした食中毒をおこすことが知られている。近年, 食中毒発生件数は減少傾向にある一方で, 従来型 SE (SEA~SEE) 以外の新型 SE の存在が報告されている。今年度, 本県では 2 年ぶりに黄色ブドウ球菌が原因と考えられる食中毒事例が 2 件発生したため, その事例の概要と併せて, 新型 SE 遺伝子の検査結果についても報告する。

## 1 事例 1

### 1.1 概要

平成 27 年 6 月 18 日県内幼稚園において, 家庭教育学級実施時に提供された昼食を喫食した園児及び保護者が, 嘔吐, 腹痛, 下痢の症状を訴えている旨の報告が管轄保健

所にあった。保健所が調査したところ, 昼食には給食センターの給食と菓子屋 S の製造したおにぎりが提供されており, 昼食喫食者 121 名中 32 名が症状を呈したことが確認された。給食センターは他の教育機関にも 1, 920 食を提供していたが, 他施設から発症者は確認されなかったため, 菓子屋 S のおにぎりが原因と疑い調査がすすめられた。なお, 喫食後 3~12 時間で発症し, 発症者の症状は吐気 94%, 嘔吐 88%, 腹痛 63%, 下痢 56%であった。

### 1.2 方法

菓子屋 S 施設ふきとり 10 検体, 従業員糞便 3 検体, 有症者糞便 7 検体, 嘔吐物 4 検体, 食品 7 検体 (幼稚園残品 4 検体, 菓子屋 S 残品 3 検体) 計 31 検体について食中毒起因菌検査を行った。黄色ブドウ球菌は, X-SA 寒天培地 (日水製薬) を用いて分離培養し, 定型的集落を純培養後分離後, SET-RPLA (デンカ生研) を用いて SE 型別 (SEA~SED) を実施した。SE 産生が確認

された菌株はデンカ生研免疫血清を用いてコアグラゼ型別を行った。食品は、エンテロトックス「F」（デンカ生研）を用いて、食品から直接 SE を検出することを試みた。

さらに、新型 SE 遺伝子の保有状況を確認するため、Multiplex PCR を図 1 のとおり実施した。<sup>1), 2), 3), 4)</sup>

### 1.3 結果

施設ふきとり検体 3 検体（おにぎり型、まな板、シンク蛇口）、従業員糞便 3 検体、有症者糞便 6 検体、食品 5 検体（幼稚園残品の赤飯、おにぎり類、菓子屋残品のおにぎり）から黄色ブドウ球菌のみが分離された。分離黄色ブドウ球菌についてコアグラゼ型別試験を実施したところすべて VII 型であった。また分離菌株の SE 型は RPLA 法で SEA が検出されたが、その後実施した PCR において *sea* 及び *seh* が検出され、従来型 SEA 遺伝子だけでなく、新型 SEH 遺伝子もあわせて保有していたことが確認された。食品中の SE は、シヤケおにぎりから SEA が検出され、その濃度は 16ng/g と算出された。

## 2 事例 2

### 2.1 概要

平成 27 年 9 月 30 日に、救急隊員から保健所へ「29 日夕方に食中毒を疑う患者 2 名を医療機関へ搬送した」旨の報告があった。その後医療機関からも同様の報告があり、管轄保健所が調査を行った結果、患者 2 名の共通食が 29 日昼の弁当屋 Q で製造した日替わり弁当であることが確認された。また、同じ日替わり弁当を喫食した当該グループを含む 8 グループ 39 名中 13 名が食中毒症状を呈していた。喫食後 3～10 時間で発症

し、発症者の症状は下痢 100%、吐気 77%、嘔吐 62%、腹痛 54%であった。

### 2.2 方法

施設ふきとり 12 検体、有症者糞便 5 検体、食品 9 検体計 26 検体について食中毒起因菌検査を行った。黄色ブドウ球菌の検査については、事例 1 と同じ方法で実施した。

### 2.3 結果

食品中から SE は検出されなかったが、施設ふきとり 1 検体(盛り付け台)、有症者糞便 1 検体、食品 2 検体（玉子ロール、千切りキャベツ）から黄色ブドウ球菌のみが分離された。分離菌株はすべてコアグラゼ VII 型であり、SE は RPLA 法で SEA 及び SEC が検出された。また、その後実施した PCR により *sea*、*sec* 及び *seh* が検出され、事例 1 と同様に従来型 SE 遺伝子だけでなく、新型 SE 遺伝子も保有していることが確認された。

### 考察

保健所では、疫学情報（喫食状況や発症時間など）と本検査結果から、黄色ブドウ球菌による食中毒と断定した。食品からの SE 検出は事例 1 では 16ng/g であり、事例 2 においては検出することができなかった。事例 1 ではおにぎり 1 個（約 100g）を喫食したと考えれば、発症量（一般的に 100ng/ヒト）に届くと考えられる。事例 2 では食品中での汚染の偏り、毒素量が検出感度以下であったと推察した。

また、今回当所では新型 SE 遺伝子も検出できる Multiplex PCR を実施し、従来型とともに新型 SE 遺伝子も保有していることが確認できた。

2 事例の PCR 結果から、黄色ブドウ球菌

は高い割合で新型 SE 遺伝子を保有している可能性があると考え、当所で保存していた過去の事例株を用いて SE 遺伝子保有状況を調査した。平成 12 年以降に発生した 10 事例の分離菌株 28 株を対象として、SE 遺伝子検出 PCR を実施したところ、4 株が従来型+*seh* を、5 株が従来型+*sei*, *seg* を保有していることが確認できた。また、RPLA 法では SE 非産生菌株の中には *sei*, *seg* のみを保有している株が 9 株存在していた。このことから、黄色ブドウ球菌は複数の SE 遺伝子を保有していることが多く、以前から新型 SE 遺伝子を高い割合で保有していたと考えられた。SE 遺伝子を利用することで、従来の RPLA 法では検出できない SE に対応でき、その組み合わせによって疫学マーカーとして利用できることが示唆された。

現在までに黄色ブドウ球菌食中毒として報告されているものの大半が従来型の SEA～SEE によるものだが、他県では新型 SE の関与が疑われるものも少数ではあるが報告されている。そのため、当県でも引き続き新型 SE 遺伝子の保有状況を調査するとともに、新型 SE による食中毒等の今後の動向に注意していきたい。

#### 参考文献

- 1) Becker K. , Roth R. , and Peters G. : *J Clin Microbiol.* , 36, 2548-2558 (1998)
- 2) Omoe K. , Hu D. -L. , Takahashi-Omoe H. , Nakane A. , and Shinagawa K. : *FENS Microbiol.Lett.* , 246, 191-198 (2005)
- 3) 狩野真由子, 重茂克彦, 品川邦汎 : 岩獣会報, 35, 43-48 (2009)

- 4) 角田由紀子 : 新潟県保健環境科学研究所年報, 68-72 (2013)

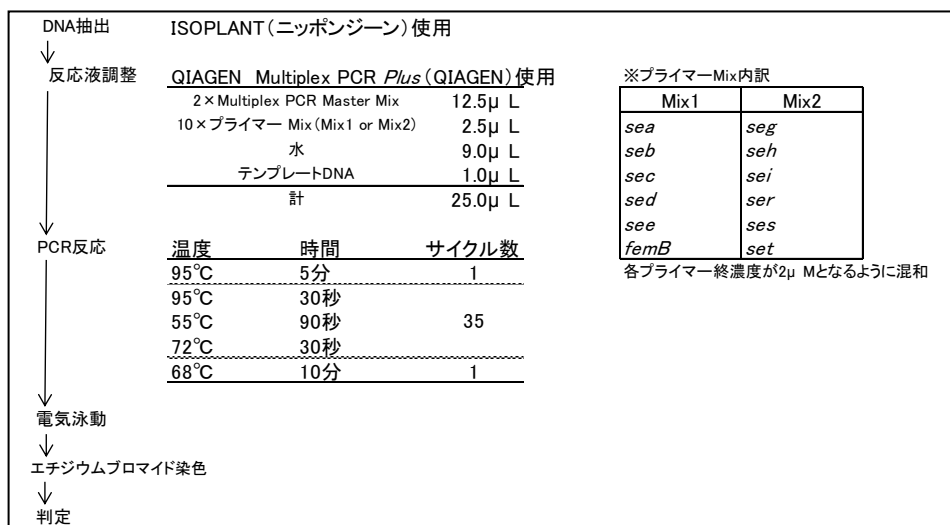


図 1. Multiplex PCR 手順

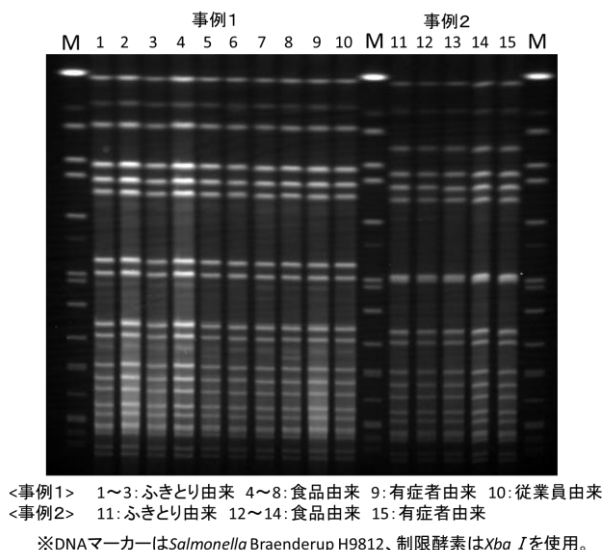


図 2. 2 事例の PFGE 結果

表 1. 事例概要

	事例1	事例2
施設	菓子屋S	弁当屋Q
喫食者数	121名	39名
患者数	32名	13名
喫食日時	平成27年6月18日昼	平成27年9月29日昼
検査検体内訳	検体名 黄色ブドウ球菌陽性数/検体数	検体名 黄色ブドウ球菌陽性数/検体数
	施設ふきとり 3/10	施設ふきとり 1/12
	従業員糞便 3/3	従業員糞便 -
	有症者糞便 6/7	有症者糞便 1/5
	嘔吐物 0/4	嘔吐物 -
	食品 5/7	食品 2/9
推定原因食品 (菌数)	おにぎり ( $3.4 \times 10^6 \sim 4.3 \times 10^{10}$ 個/g)	日替わり弁当 ( $1.6 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^4$ 個/g)
原因菌	黄色ブドウ球菌 (コアグララーゼVII型、エンテロトキシンA型) <i>sea, seh</i> 保有	黄色ブドウ球菌 (コアグララーゼVII型、エンテロトキシンA、C型) <i>sea, sec, seh</i> 保有



VNTR 法を用いた結核菌分子疫学解析確立のための調査研究  
-平成 27 年度報告及びまとめ-

○川又祐子 中本有美 深谷節子 増子京子

要旨

本研究は、県内で分離される結核菌を分子疫学解析法により解析し、データベースを作成することを目的として、平成 25 年度～平成 27 年度までの 3 年計画で実施した。

近年主流となっている結核菌の分子疫学解析法は VNTR(Variable numbers of tandem repeats)法である。平成 27 年度は、VNTR 法の中でも解析度の高い 24 領域 VNTR 法を用いて、本県で分離された結核菌株を解析しデータを収集・蓄積した。前年度までに解析した株と合わせて、平成 24 年度～平成 27 年度に搬入された結核菌株計 193 株についてデータベースを作成し、本データベースの活用法について考察したのでその概要を報告する。

キーワード：結核，分子疫学解析，VNTR 法

はじめに

茨城県における結核罹患率は平成 26 年の統計で人口 10 万対 13.3 (全国 15.4)であり、387 人の新規登録患者が発生している<sup>1)</sup>。当所では保健所の依頼を受けて、疫学調査に基づいた集団感染等の見極めに科学的根拠を加えるため、患者間に関連の疑われた結核菌の分子疫学解析を行っている。

結核菌の分子疫学解析法として、近年主流となっているのは VNTR 法である。VNTR 法には解析する領域数によって複数の方法があり、日本で検出される結核菌の大半を占める北京型結核菌に対応した JATA12VNTR 法<sup>2)</sup>(以下 JATA12)が主流となっている。また、JATA12 に多変領域を加えた JATA15VNTR 法<sup>3)</sup>(以下 JATA15)、JATA12・15 に超多変領域である HV (Hypervariable)領域<sup>4)</sup>を追加したもの、さらに国際標準領域を追加した 24 領域 VNTR 法<sup>5)</sup>(以下 24VNTR)などがあり、領域数に応じて解析度も異なっている。現在、他の地方衛生研究所

等における VNTR 法の実施状況は、採用している領域数が自治体ごとに異なり統一されていない。

本研究では、県内で分離される結核菌の遺伝子パターンを解析し、データベースを作成することを目的として、VNTR 法による解析データの蓄積を実施している。平成 26 年度には、複数の分子疫学解析法の解析結果を比較検討し、その中でも解析度が高く、また領域数の異なる方法を採用している他施設とも比較を行うことができる、24VNTR の有用性を確認し、この方法での県内分離株の解析を開始した。

平成 27 年度は、平成 26 年度～平成 27 年度に搬入された結核菌 122 株について解析を行い、前年度までに解析した株と合わせて、平成 24 年度～平成 27 年度に搬入された結核菌株計 193 株についてデータベースを作成した。

さらに、作成した本データベースを用いてパターンの比較を行い、解析した分離株の傾向把握を行ったのでその概要を報告する。

## 平成 27 年度における取り組み

### 材料・方法

1. 24VNTR：平成 26 年度及び平成 27 年度に当所に搬入された結核菌株 122 株（同一患者から複数分離された株を除く）を材料とし、INSTAGENE マトリックス(Bio-Rad)を用いて DNA 抽出を行った。これらの材料について、JATA12 (Mtub4, miru10, Mtub21, Mtub24, QUB11b, VNTR2372, miru26, QUB15, miru31, QUB3336, QUB26, QUB4156)<sup>2)</sup>, JATA15 (QUB18, QUB11a, ETRA)<sup>3)</sup>, HV 領域 (QUB3232, VNTR3820, VNTR4120)<sup>4)</sup>及び国際標準 6 領域 (Mtub39, miru40, miru4, Mtub30, miru16, ETRC)<sup>5)</sup>の計 24 領域について VNTR 解析を行った。PCR 増幅は TaKaRa Ex Taq HS (タカラバイオ), GC buffer I (タカラバイオ) 及び蛍光プライマーを用いた。蛍光色素及びプライマー配列は平成 25 年度地研協議会精度管理時に配布されたものを使用した。増幅条件は結核菌 VNTR ハンドブック<sup>6)</sup>に準拠した。増幅産物のサイズをシークエンサー 3500xLGenetic analyzer (ABI)で測定し、GeneMapper® (ABI)ソフトウェアにより測定値を算出してレポート数を換算した。

2. データベースの作成：平成 24 年度～平成 27 年度に当所に搬入された結核菌株計 193 株について、解析した各領域のレポート数、及び患者情報等の菌株情報を Excel ファイルに登録し、データベースを作成した。また、フィルタ機能を用いて、過去に蓄積したパターンの中から同一のパターンを迅速に抽出出来るようにした。

3. 解析結果の比較：193 株の解析結果について、BioNumerics Ver.6.6 (Applied Maths)を用いて Categorical 係数により系統樹を作成した(図 1)。同一のパターンを持つ株を検索し、集団感染株及び散発株に分けて比較した。

### 結果と考察

1. データベースの作成：本データベースの作成により、VNTR 解析結果を新規に登録するとともに、解析結果と患者情報等の菌株情報を一元的に管理できるようになった。
2. 解析結果の比較：解析結果について全領域一致を同一パターンとしたところ、193 株は 151 通りのパターンに分かれた(図 1)。

表 1 に同一パターンを持つ株数を集計した結果を示す。2 株以上で同一パターンを示し、クラスターを形成した株は全体で 23 パターン (65 株)であった。またその中で、集団感染株のみでクラスターを形成したパターンは 12 (35 株)、散発株のみでクラスターを形成したパターンは 9 (20 株)であった。さらに、集団感染株と散発株で同一クラスターを形成したパターンは 2 (10 株)であった。このことから、疫学情報不明の散発株での一致が複数存在することが分かった。このように、分子疫学解析によりパターン的一致を確認することで、散発に見えていた患者間の関連性を見出したり、散発株の判断に科学的裏付けを与えたりすることができる。

表 1. 同一クラスターの構成

	集団感染のみ	散発のみ	集団感染・散発混在
パターン数	12	9	2
内株数	35	20	10 (散発: 2)

本県では、疫学調査に基づいて集団感染の有無を判断した後で分子疫学解析を実施することが多いが、疫学情報が不明の菌に対して分子疫学解析を用いたいという保健所の要望が増えている。本県では、保健所の管轄を越えた疫学情報の共有は積極的に行われていないことから、県内で統一したデータベースを作成し、活用していくことが有用と考えられる。

一方で、県全体の傾向を把握するにはより多

くの菌株の収集と解析が必要である。本県では、例年約 400 人の活動性結核新規登録患者が存在している<sup>1)</sup>が、当所に搬入される結核菌株は多い年でもその 2 割程度である。県内の分離株の傾向把握やサーベイランス、菌の伝播経路の推定、年齢別・地域別等の正確な統計には、搬入時点で偏りのない全数解析が最も有効であるため、今後も積極的に菌株を収集し、継続して情報を蓄積していく必要がある。

### まとめ

本研究により、当所における VNTR 法の導入と、搬入菌株の解析・データベース作成を行い、結核菌株の分子疫学解析体制を整備した。

本データベースを活用することで、パターンの蓄積だけでなく、過去のパターンとの比較が容易になった。また、解析した分離株の傾向把握とともに、他県と情報共有する際にも利用できるようになった。

### 今後の取り組み

#### 次回中期運営計画

平成 28 年度～平成 32 年度の 5 年間、本研究を引き継ぐ形で、県内分離株の 24 VNTR での解析及びデータベースの蓄積を行いながら次の 2 点を実施していく予定である。

#### 1. 他施設との比較

本研究では県内分離株情報の収集・蓄積を行っているが、結核感染の場は県外の可能性も十分にある。今後は近隣の自治体等に協力を依頼し、他施設で解析された結果との比較を積極的に行っていく予定である。

#### 2. 解析結果の比較・還元方法の検討

疫学情報がない場合、株同士のパターン一致は感染経路の関連に直結している訳ではなく、関連の推定は疫学情報を十分に考慮して判断する必要がある<sup>7)</sup>。本県でも、データベースを

蓄積し情報を還元していくにあたり、県内感染症対策に効果的な疫学情報の収集、及び比較・還元方法を検討していきたい。

### 謝辞

本研究にあたり、多くのご指導・ご助言をいただきました千葉県衛生研究所 横山栄二先生、蜂巢友嗣先生に深謝いたします。

### 参考・文献

- 1) 茨城県：茨城の結核統計 2014 年版
- 2) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 菅原勇, 加藤誠也：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム. 結核, 2008; 83: 673-378.
- 3) 前田伸司, 村瀬良朗：結核菌の反復配列多型(VNTR)標準分析法の確立と型別情報データベースの構築. 結核, 2009; 84(12): 784-786.
- 4) Iwamoto T, Yoshida S, Suzuki K, *et al.* : Hypervariable loci that enhance the discriminatory ability of newly proposed 15-loci and 24-loci variable-number tandem repeat typing method on Mycobacterium tuberculosis strains predominated by the Beijing family. FEMS Microbiol Lett. 2007; 270: 67-74.
- 5) Supply P, Allix C, Lesjean S, *et al.* : Proposal for standardization of optimized mycobacterial interspersed repetitive unit variable-number tandem repeat typing of Mycobacterium tuberculosis. J. Clin. Microbiol. 2006; 44: 4498-4510.
- 6) 地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編: 結核菌 VNTR ハンドブック, 第一版・追補版
- 7) 瀬戸順次, 阿彦忠之, 和田崇之, 長谷篤, 山田敬子: 結核低蔓延地域における網羅的な結核菌反復配列多型(VNTR)分析の有用性. 結核. 2013; 88: 535-542.

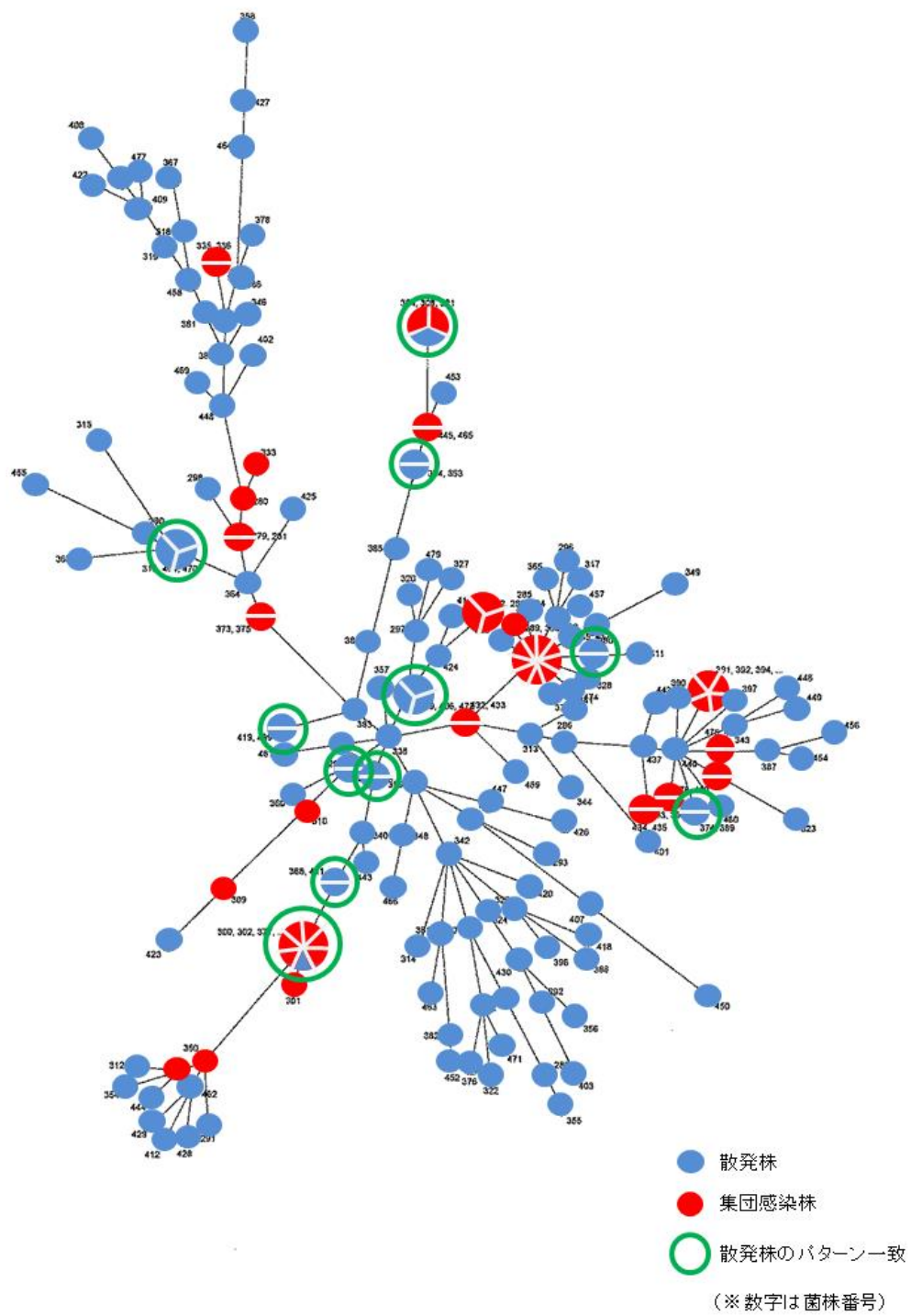


図 1. 県内 193 株から作成した系統樹

## 茨城県におけるインフルエンザウイルスの検査状況（2015/2016シーズン）

○土井 育子, 黒澤 美穂, 梅澤 昌弘, 後藤 慶子, 本谷 匠, 永田 紀子

### 要旨

2015/16 シーズンにおけるインフルエンザの茨城県内の発生動向は、2016 年第 1 週に流行指数が 2.31 となり流行が始まった。第 6 週に流行のピークとなり、第 19 週に流行指数が 1.00 を下回り終息した。2015/2016 シーズンは AH1pdm09 および B 型が流行の主流であった。感染症発生動向調査に基づくウイルスサーベイランス等で採取された検体についてリアルタイム RT-PCR 法による遺伝子検出、ウイルス分離・同定および抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを行ったので、報告する。

キーワード: インフルエンザ 感染症発生動向調査 リアルタイム RT-PCR ウイルス分離 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

### 1. まえがき（序文）

全国における 2015/16 シーズンの流行状況は、2016 年第 1 週に定点当たりの報告数が 2.03 となり、流行開始の指標である 1.00 を上回った。全国的に 2015/16 シーズンは、2 シーズンぶりに AH1pdm09 が主流となった<sup>1)</sup>。

県内については、全国と同じく 2016 年第 1 週にインフルエンザ流行指数が 2.31 となり、インフルエンザの流行が始まった。第 3 週には流行指数が 11.90 となり注意報が、第 5 週には 37.61 となり警報が発令された。第 6 週には流行のピーク（流行指数：39.44）をむかえ、第 13 週に警報解除、第 19 週には流行指数が 1.00 を下回った<sup>2)</sup>（図 1）。

県内の状況を前シーズンと比べると、流行の開始は 6 週遅く、流行のピークも 3 週遅かった。ピーク時の流行指数は前シーズンの 30.92、前々シーズンの 27.51 よりも大きく、過去 3 シーズンでは最大であった。また、流行指数が終息基準値となる 10.00 を下回ったのは前シーズンよりも 6 週遅かった<sup>2)</sup>。

衛生研究所では感染症発生動向調査におけるウイルスサーベイランスとして病原体定点

医療機関で採取された検体、重症例及び集団発生事例で採取された検体について遺伝子検査、ウイルス分離、血清型別等の検査を行っている。また、AH1pdm09 分離株について抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスを実施している。2015/16 シーズンにおけるこれらの検査結果について報告する。

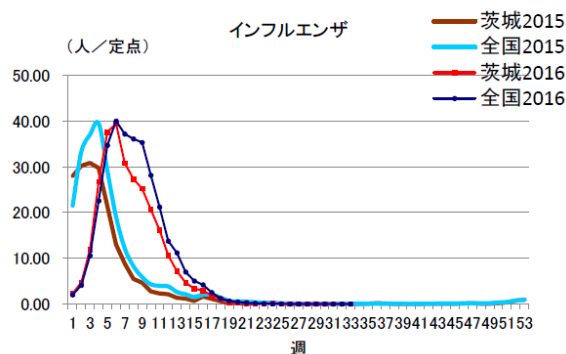


図 1 定点あたり患者数（茨城県・全国）

### 2. 実験（調査）方法

#### 2-1 材料

2015 年 9 月 1 日から 2016 年 8 月 31 日までの間、県内の病原体定点等医療機関で採取された咽頭または鼻腔ぬぐい液 81 検体(81 件(名))

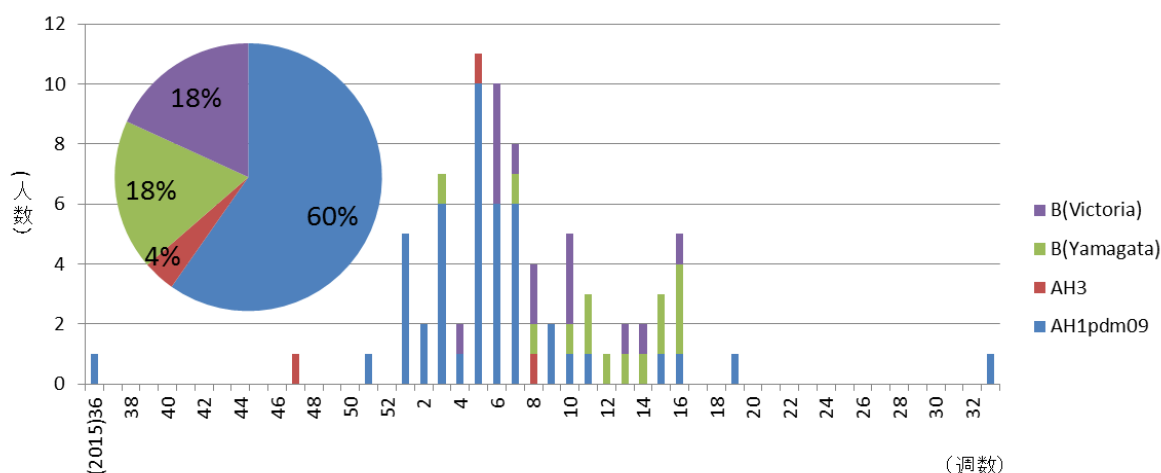


表 1 病原体定点等医療機関における検出状況

分), 学校等集団発生事例 (13 事例) で採取された 116 検体 (86 件(名)分: うがい液 40 検体, 鼻かみ液 76 検体), 病院・介護施設等集団発生事例 (3 事例) で採取された 15 検体 (14 件(名)分: 鼻かみ液 8 検体, 鼻腔ぬぐい液 7 検体) の計 212 検体 (181 件(名)分) を検査材料とした。

2-2 方法

-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検索

衛生研究所に搬入された臨床検体を, QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN)を用いて RNA を抽出し, リアルタイム RT-PCR 法による A 型ウイルス共通の M 遺伝子, AH1pdm09, AH3, B 型, B 型ビクトリア系統および B 型山形系統の HA 遺伝子の検索を行った。方法は国立感染症研究所の「インフルエンザ診断マニュアル (第 3 版) (平成 24 年 9 月)」に従って行った。

-2. インフルエンザウイルスの分離

搬入された検体を, 48 穴マイクロプレートに培養した MDCK 細胞に接種し, トリプシンを添加した維持培地を用いて 5%CO<sub>2</sub>, 35°C で 7 日間培養した。このうち, 細胞変性効果 (CPE) が確認されたものについて培養液を回収し,

遠心した上清を用いて赤血球凝集 (HA) 試験を行った。

赤血球凝集試験には 0.75%モルモット赤血球浮遊液を用いた。細胞変性効果がみられなかったものについては 3 代目まで継代培養を行った。

-3. 分離ウイルス株の血清型別及び同定

分離されたウイルスについて 0.75%モルモット赤血球浮遊液を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 試験を行い, 同定を行った。HI 試験には国立感染症研究所配布の 2015/2016 シーズン用インフルエンザウイルス同定キット, A/California/7/2009((H1N1)pdm09) A/Switzerland/9715293/2013(H3N2) B/Phuket/3073/2013 (Yamagata 系統) B/Texas/2/2013(Victoria 系統)

の各ウイルス抗原および抗血清(ウサギ免疫血清およびフェレット感染血清)を用いた。分離されたウイルスのうち, HA 価が十分に得られなかったウイルス株についてはリアルタイム RT-PCR 法により同定を行った。

-4. インフルエンザウイルスの遺伝子解析

分離されたウイルスについて, インフルエンザウイルスの抗原性を示す HA 遺伝子の HA1 領域を RT-PCR 法により増幅し, ダイレクト

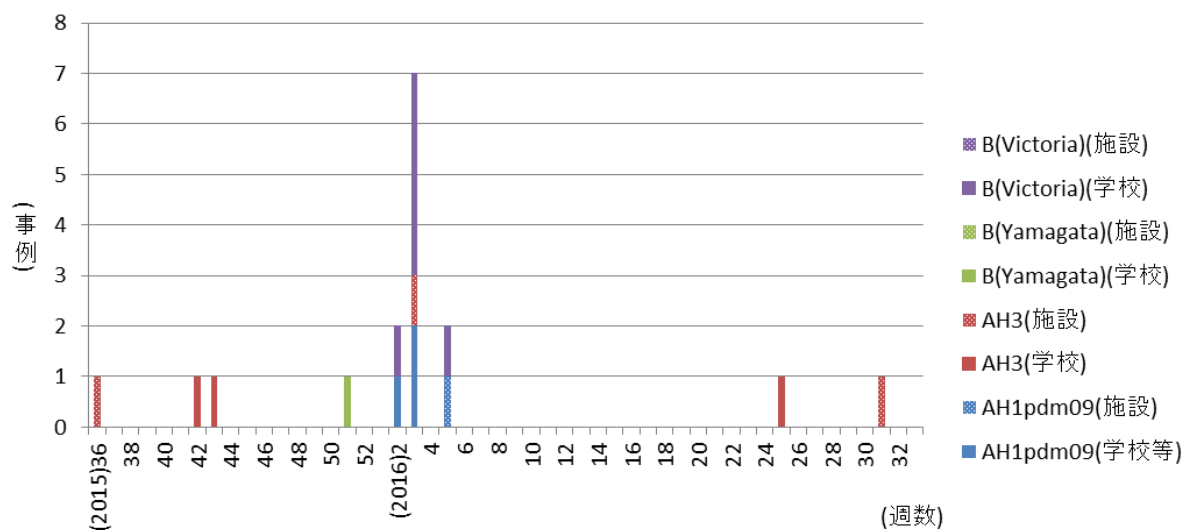


表 2 学校および施設における検出集団事例数

シーケンス法にて塩基配列を決定し遺伝子系統樹解析を行った。

**-5. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス**

分離された AH1pdm09 ウイルスについては、「A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株検出法実験プロトコール ver.2 (国立感染症研究所)」にしたがい、One-step RT-PCR(TaqMan Probe 法)により、NA 阻害薬耐性変異である NA 遺伝子上の H275Y 変異の有無について調べた。

**3. 結果**

**-1. 臨床検体からのインフルエンザウイルス遺伝子の検出**

検査を行った 181 件のうち、165 件 (91.2%) からインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。その内訳は、AH1pdm09 が 66 件(40.0%)、AH3 が 27 件 (16.4%)、B 型 Yamagata 系統が 20 件(12.1%)、B 型 Victoria 系統が 52 件(31.5%)であった。

また週別の検出状況について、病原体定点等医療機関で採取された検体についての件数を表 1 に、学校および施設における集団事例数を表 2 に示した。

**-2. ウイルス分離**

搬入された検体のうち 175 検体(157 件)についてウイルス分離培養した結果、143 検体 (135 件) よりウイルスが分離された。

検体の種類ごとに分離陽性率をみると、咽頭及び鼻腔ぬぐい液で 98.8%(84 検体中 83 検体)、鼻かみ液で 69.8%(63 検体中 44 検体で分離)、うがい液で 57.1%(28 検体中 16 検体で分離)であった。

**-3. 分離株の血清型別および同定**

分離されたウイルス 143 株について、赤血球凝集抑制試験(HI)およびリアルタイム RT-PCR により血清型別を行ったところ、AH1pdm09 が 62 株(60 件)、AH3 が 15 株(14 件)、B 型 Yamagata 系統が 19 株 (19 件)、B 型 Victoria 系統が 47 株 (42 件) であった。

**-4. 分離ウイルスの遺伝子解析**

分離されたウイルスの中から AH1pdm09 49 株、AH3 14 株について国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターの解析<sup>3)</sup>を参考に HA 1 遺伝子領域の系統樹解析を行い、その結果を図 2 および図 3 に示した。

図2 AH1pdm09HA遺伝子系統樹

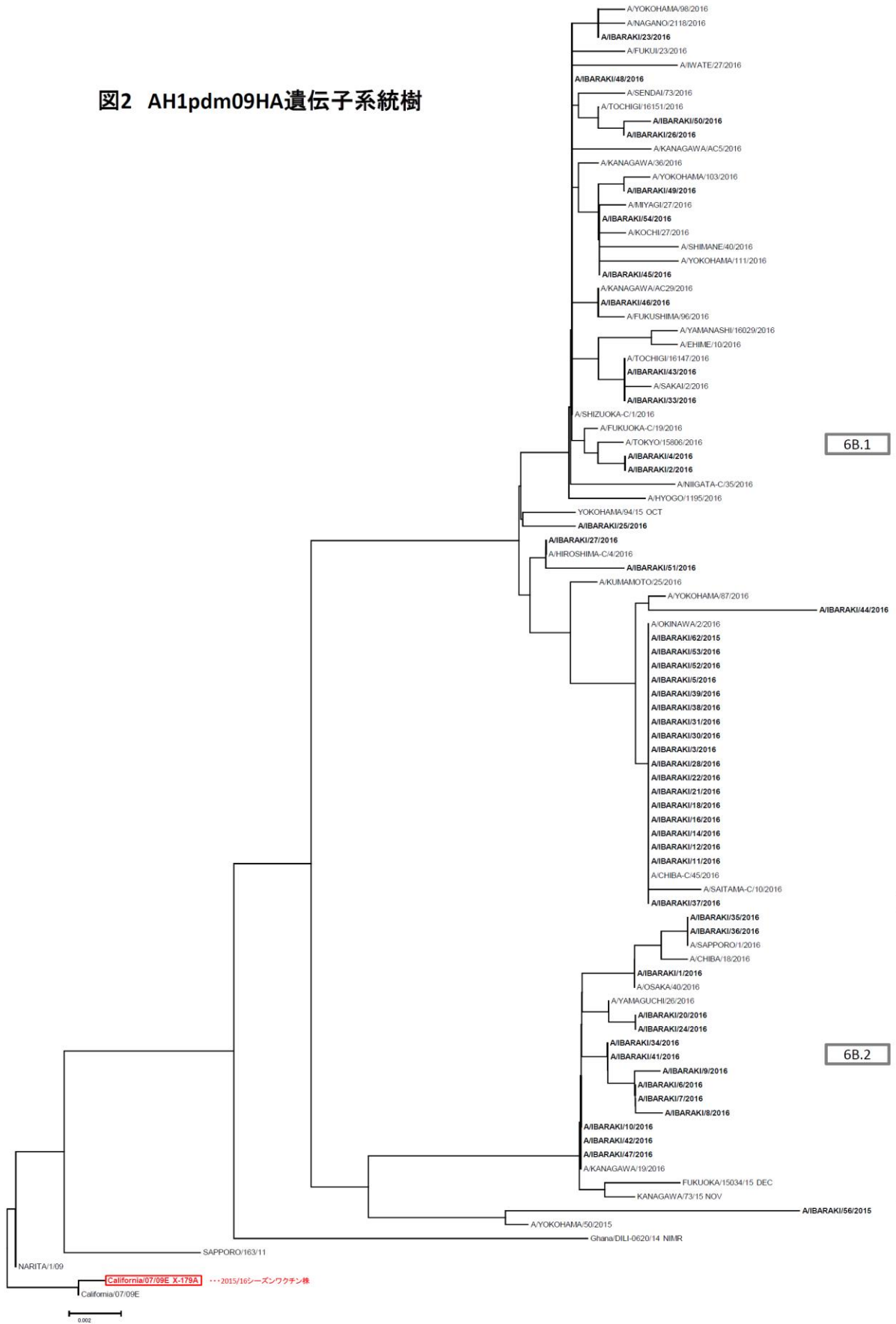
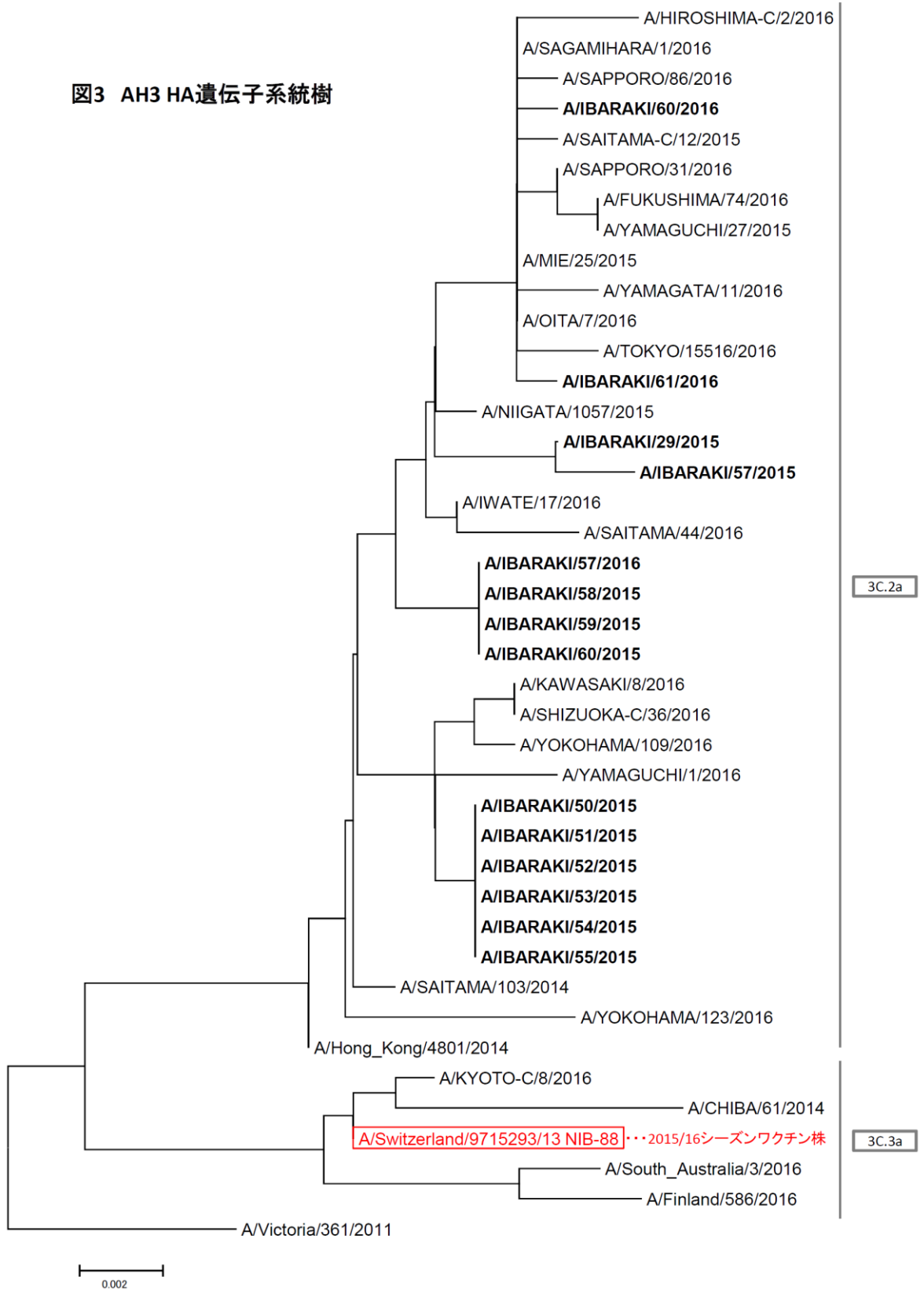




図3 AH3 HA遺伝子系統樹



#### -5. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス

分離された AH1pdm09 60 株(60 件分)について、One-step RT-PCR(TaqMan Probe 法)により H275Y の耐性マーカーの検索を行った結果、H275Y 耐性変異株が 1 株、H275H/Y 耐性ミックス株が 1 株検出された。

#### 4. 考察

今シーズンは流行の開始が第 1 週、ピークが第 6 週と昨シーズンと比較すると遅い傾向がみられたが、ピーク時の流行指数は 39.44 と過去 10 シーズンでは 2012/13 シーズンに次いで 2 番目の高さであった<sup>2)</sup>。シーズンはじめの 2015 年第 36 週、42 週および 43 週には施設や学校で AH3 ウイルスによる集団事例の発生が続いた<sup>4)</sup>。そのため、前シーズンに引き続き流行の主流は AH3 が予想がされた。しかし、その後病原体定点医療機関から提出のあった検体については 51 週から AH1pdm09 の検出が優位に続き、結果的には全国と同様約 60% が AH1pdm09 であった。また、B 型については定点医療機関からの検体の約 36% から検出され (Yamagata 系統 18%, Victoria 系統 18%), 学校等においても県内 12 保健所の初発例 12 事例中 7 事例が B 型 (Yamagata 系統 1 事例, Victoria 系統 6 事例) であった。前シーズンは B 型の検出割合は全体の 9.5% であり、その内訳もすべて Yamagata 系統であったことから、全体的に昨シーズンとは異なる流行状況がみられた。

県内事例より分離された AH1pdm09 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランスにおいては 2 件の耐性変異株が検出された。このうち 1 株は H275Y 変異に加えて I223K 変異も獲得した二重耐性変異株であった。今シーズン、薬剤耐性株サーベイランスにおける全国の状況については、解析 2481 株中 47 例(1.9%)に耐性が

確認された(2016 年 8 月末現在)<sup>5)</sup>。しかし耐性株の地域への広がりには観察されていないこと、国立感染症研究所の抗原遺伝子解析および HI 試験においては流行株と同様の結果であったことなどから、県内検出事例はいずれも薬剤感受性流行株が抗インフルエンザ薬の治療投与の過程において耐性変異を獲得したものと考えられた。

全国における今シーズンの AH1pdm09 株の HA 遺伝子解析では、昨シーズンまで流行の主流であったサブクレード 6B に属する株が、今シーズンも引き続き主流であった。今シーズンは、流行株によりサブクレード 6B 内にさらに 2 つのクレードが形成された (6B.1 および 6B.2)<sup>3)</sup>。今回県内事例より分離された 49 株について解析したところ、6B.1 に属する株が 34 株、6B.2 に属する株が 14 株と、県内においては全国と同様の流行状況であったことが示唆された。また、AH3 株についても全国では昨シーズン同様サブクレード 3C.2 内のクレード 3C.2a に属する株が今シーズンの流行の主流であった<sup>3)</sup>。全国的には 3C.3a に属する株も少数検出されているが、県内分離株 14 株はすべて 3C.2a に属する株であり、AH3 の県内流行はこれらの株によるものと考えられた。

県内では第 31 週に高齢者施設における集団事例から AH3 が、第 33 週にウイルスサーベイランスの検体から AH1pdm09 が検出されている。今後新シーズンが始まるにあたり、引き続き発生の動向には注視していく必要があると考える。

文献

- 1) 国立感染症研究所, 今冬のインフルエンザ  
について(2015/16 シーズン)  
<http://www.nih.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1516.pdf>
- 2) 茨城県感染症流行情報 (週報), 茨城県感  
染症情報センター  
<http://www.pref.ibaraki.jp/hokenfukushi/eiken/idwr/index.html>
- 3) NESID 「病原体検出情報システム」
- 4) 土井育子,他,  
IASR Vol. 36 :225-226, 2015
- 5) 国立感染症研究所, インフルエンザウイル  
ス研究センター第一室, 抗インフルエンザ  
薬耐性株サーベイランス  
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/influ-resist.html>

## 平成27年度 茨城県感染症流行予測調査事業

○黒澤 美穂, 梅澤 昌弘, 後藤 慶子, 土井 育子, 本谷 匠, 永田 紀子

### 要旨

平成27年度の感染症流行予測調査は、日本脳炎（豚）の感染源調査、インフルエンザ、風しんおよび麻しんの感受性調査を行った。日本脳炎については、県内のブタ計80頭から採血し、8回に渡り調査を行ったところ、第5回から第8回の計4回の調査でそれぞれ1検体、8検体、9検体、10検体においてHI抗体が陽性となり、2ME感受性抗体陽性率はそれぞれ0.0%、62.5%、55.6%、10.0%であった。インフルエンザについては、2015/16シーズンのインフルエンザワクチンの接種を受けていない215名の血清を対象とし、A/California/7/2009 (H1N1) pdm09, A/Swiss/9715293/2013 (H3N2), B/Phuket/3073/2013（山形系統）およびB/Texas/2/2013（ビクトリア系統）の計4株を抗原としてHI抗体価を測定した。4つの抗原に対する各HI抗体価の中で、A/California/7/2009 (H1N1) pdm09に対する抗体保有率が全体で42.8%と最も高かった。風しんについては、215名の血清を対象とし、風しんHI抗体価を測定した。抗体陽性者（8≦）は202名（94.0%）であり、このうち感染防御レベルの1:32以上の者は185名（86.1%）、抗体陰性者（<8）は13名（6.1%）であった。麻しんについては、215名の血清を対象とし、麻しんPA抗体価を測定した。抗体陽性者（16≦）は205名（95.3%）、このうち感染防御レベルの1:128以上の者は192名（89.3%）、抗体陰性者（<16）は10名（4.7%）であった。

キーワード：感染症流行予測調査、日本脳炎、インフルエンザ、風しん、麻しん

### はじめに

感染症流行予測調査事業は、集団免疫の現状把握及び病原体の検索等の調査を行い、各種疫学情報と合わせて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的とし、厚生労働省、国立感染症研究所、都道府県・都道府県衛生研究所等が協力して実施している調査事業である。

以下に平成27年度に当衛生研究所で行った、日本脳炎感染源調査、インフルエンザ感受性調査、風しん感受性調査および麻しん感受性調査について報告する。

### 1 日本脳炎感染源調査

#### 1-1 目的

ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体を測定して、本ウイルスの浸淫度を追跡し流行を把握する資料とする。

#### 1-2 対象及び検査方法

6ヶ月齢のブタを対象に、平成27年7月13日から9月28日の期間に1カ所のと畜場から10頭ずつ、8回に渡り、計80頭から採血を行った。ブタの飼育地は全て県内で、南部の土浦市が30頭、南西部の結城市が10頭、中東部の鉾田市・小美玉市が40頭であった。

「感染症流行予測調査事業検査術式」および「平成27年度感染症流行予測調査実施要領」

に準じ、ブタ血清中の血球凝集抑制 (HI) 抗体と 2-ME 感受性抗体を測定した。

### 1-3 結果および考察

8回の調査の結果、第5回から第8回の計4回で HI 抗体陽性が確認された。第5回 (8月24日) の調査では、1検体で HI 抗体の上昇がみられたが、2-ME 感受性抗体は検出されなかった。第6回 (9月7日) の調査では、8検体で HI 抗体の上昇がみられ、2-ME 感受性抗体陽性率は 62.5%であった。第7回 (9月14日) の調査では、9検体で HI 抗体の上昇がみられ、2-ME 感受性抗体陽性率は 55.6%であった。第8回 (9月28日) の調査では、10検体で HI 抗体の上昇がみられ、2-ME 感受性抗体陽性率は 10.0%であった。

第5回から第8回の計4回で HI 抗体が陽性となり、日本脳炎ウイルスが県内に浸淫していることが示唆された。また、第6回から第8回は同一飼育地 (市町村) において調査しており、IgM 抗体から IgG 抗体への移行が経時的にみられた。

## 2 インフルエンザ感受性調査

### 2-1 目的

当該シーズンにおける本格的な流行開始前かつインフルエンザワクチン接種前に、インフ

ルエンザウイルスに対する健常者の血清抗体価を測定することにより抗体保有状況を把握し、今後の流行予測および感受性者に対して注意を喚起する等の資料とする。

### 2-2 対象

2015年7月から10月の間に、2015/16シーズンのインフルエンザワクチンの接種を受けていない人を対象とした。年齢区分別の対象者の内訳は、0～4歳群42名、5～9歳群22名、10～14歳群15名、15～19歳群13名、20～29歳群40名、30～39歳群24名、40～49歳群22名、50～59歳群21名、60歳以上群16名、計215名であった。

### 2-3 方法

「感染症流行予測調査事業検査術式」および「平成27年度感染症流行予測調査実施要領」に準じ、赤血球凝集抑制試験 (HI 試験) により抗体価を測定した。

A/California/7/2009 (H1N1) pdm09,  
A/Swiss/9715293/2013 (H3N2),  
B/Phuket/3073/2013 (山形系統) および  
B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) の計4株を抗原として用いた。

### 2-4 結果および考察

各抗原に対する各年齢区分の抗体保有者数および保有率を表1に示した。感染のリスクを

表1 年齢区分別インフルエンザ抗体保有者数および保有率

年齢区分(歳)	人数 (人)	A/California/7/2009 (H1N1)pdm09	A/Swiss/9715293/2013 (H3N2)	B/Phuket/3073/2013 (Yamagata系統)	B/Texas/2/2013 (Victoria系統)
		抗体保有人数 (保有率)	抗体保有人数 (保有率)	抗体保有人数 (保有率)	抗体保有人数 (保有率)
0-4	42	5 ( 11.9%)	4 ( 9.5%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)
5-9	22	10 ( 45.5%)	10 ( 45.5%)	2 ( 9.1%)	1 ( 4.5%)
10-14	15	6 ( 40.0%)	6 ( 40.0%)	0 ( 0.0%)	0 ( 0.0%)
15-19	13	11 ( 84.6%)	2 ( 15.4%)	1 ( 7.7%)	1 ( 7.7%)
20-29	40	34 ( 85.0%)	10 ( 25.0%)	17 ( 42.5%)	0 ( 0.0%)
30-39	24	7 ( 29.2%)	1 ( 4.2%)	4 ( 16.7%)	1 ( 4.2%)
40-49	22	7 ( 31.8%)	5 ( 22.7%)	2 ( 9.1%)	2 ( 9.1%)
50-59	21	8 ( 38.1%)	2 ( 9.5%)	1 ( 4.8%)	1 ( 4.8%)
60-	16	4 ( 25.0%)	1 ( 6.3%)	1 ( 6.3%)	0 ( 0.0%)
合計人数 (全体の保有率)	215	92 ( 42.8%)	41 ( 19.1%)	28 ( 13.0%)	6 ( 2.8%)

50%に抑える目安と考えられているHI抗体価1:40以上を抗体保有者とし、抗体保有率を算出した。

#### **A/California/7/2009 (H1N1) pdm09**

4つの抗原に対する各HI抗体価の中で、全体では42.8%で一番高い抗体保有率であった。15-19歳の区分で84.6%、20-29歳の区分で85.0%と高い保有率であった。

#### **A/Swiss/9715293/2013 (H3N2)**

全体では19.1%で2番目に抗体保有率が高かった。5-9歳の区分で45.5%、10-14歳の年齢群で40.0%と高い保有率であった。

#### **B/Phuket/3073/2013 (山形系統)**

全体では13.0%の抗体保有率であり、20-29歳の区分で42.5%と高い保有率であった。

#### **B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統)**

全体では2.8%で一番低い抗体保有率であった。9つの年齢区分のうち、5つの区分のみ1人または2人の抗体保有者がいた。

平成27年度のインフルエンザ感受性調査では、2011/2012シーズンよりワクチン株として選定されているA/California/7/2009 (H1N1) pdm09に対する抗体保有率が42.8%と最も高かった。今シーズン新たにワクチン株として選定されたのこりの3株のうちA/Swiss/9715293/2013 (H3N2) およびB/Phuket/3073/2013 (山形系統) については、全体の抗体保有率は10%台であったが、いずれも40%以上保有している年齢群があり、年齢による保有率の差がみられた。また、B/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) は一番低い抗体保有率であり、抗体保有者は極めて少数であった。A/California/7/2009 (H1N1) pdm09、B/Phuket/3073/2013 (山形系統) およびB/Texas/2/2013 (ビクトリア系統) は2016/2017シーズンも引き続きワクチン株に選定されていることから、平成28年度も引き続き各株に対する抗体保有状況について調査を継続し、今

後のインフルエンザの流行予測の一助とした。

### **3 風しん感受性調査**

#### **3-1 目的**

ヒトの風しんに対する抗体保有状況を確認し、風しん含有ワクチンの摂取効率を追跡するとともに今後の流行の推移と予防接種計画の資料とする。

#### **3-2 対象・方法**

平成27年7月から10月にかけて水戸市内の7医療機関で採取された、0~1歳群21名、2~3歳群19名、4~9歳群24名、10~14歳群15名、15~19歳群13名、20~24歳群17名、25~29歳群23名、30~39歳群24名、40歳以上群59名の計215名の血清について、「感染症流行予測調査事業検査術式」および「平成27年度感染症流行予測調査実施要領」に準じ、赤血球凝集抑制試験(HI試験)により抗体価を測定した。

#### **3-3 結果および考察**

年齢区分別のHI抗体価及び抗体保有率を表2に示した。抗体陽性者(8≧)は202名(94.0%)であり、そのうち感染防御レベルの1:32以上の者は185名(86.1%)であった。抗体陰性者(<8)は13名(6.1%)であったが、うち10名はワクチン接種前又は接種直後である0~1歳の群であった。抗体陽性率は、0~1歳の群が52.4%と麻しん同様低値であったが、2歳以上は2~3歳群(94.7%)、20~24歳群(94.1%)および30~39歳群(95.8%)を除く全ての群で100%であった。このことから、麻しん同様MR(麻しん・風しん)ワクチン第1期接種による抗体獲得の効果がうかがえた。しかし、1:32以上の保有率は20~24歳群および40歳以上群で90%以上であるが、その他の年齢群では90%未満であり、そのうち2~3歳群(84.2%)

表2 年齢区分別風しん HI 抗体価及び抗体保有率

年齢区分 (歳)	HI抗体価									総計 (人)	抗体陽性者(人)	
	<8	8	16	32	64	128	256	512	1024≤		8≤	32≤
0-1	10	1		1	3	4	1	1		21	11 (52.4%)	10 (47.6%)
2-3	1		2	2	5	5	2	1	1	19	18 (94.7%)	16 (84.2%)
4-9		1	2	11	6	3	1			24	24 (100%)	21 (87.5%)
10-14		1	1	10	3					15	15 (100%)	13 (86.7%)
15-19			2	6	3	1	1			13	13 (100%)	11 (84.6%)
20-24	1			6	4	3	3			17	16 (94.1%)	16 (94.1%)
25-29			3	8	6	3	3			23	23 (100%)	20 (87.0%)
30-39	1	1	1	5	8	6	2			24	23 (95.8%)	21 (87.5%)
40-			2	11	22	14	7	2	1	59	59 (100%)	57 (96.6%)
総計	13	4	13	60	60	39	20	4	2	215	202 (94.0%)	185 (86.1%)

および 15～19 歳群(84.6%)では抗体保有率が全体に比べてやや低かった。

男女別の抗体保有率を図1に示した。抗体陽性者(8≤)は男性93.9%,女性94.0%であり,差がみられなかった。しかし,1:32以上の者は男性82.7%,女性88.8%であり,男性がやや低い結果となり,男性では25～29歳群50.0%および30～39歳群80.0%,女性では10～14歳群77.8%および15～19歳群80.0%と低率であり,男女別の年齢群で差がみられた。

日本は平成32年度までに風しんの排除を目標に掲げており,この目標を達成するためには,本調査を継続して抗体保有状況の把握を行い,抗体保有率の低い世代へのワクチン接種勧奨を行うことが重要である。

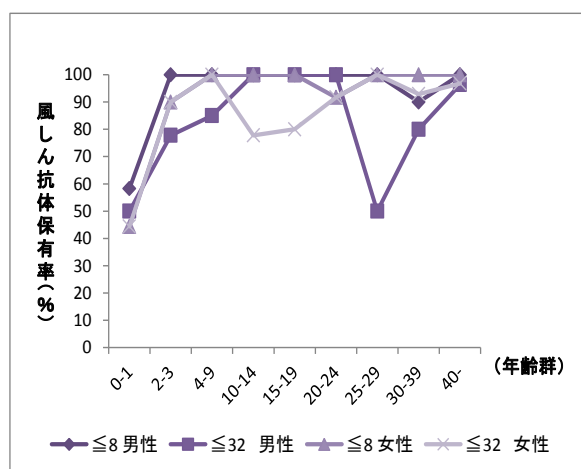


図1 茨城県の風しん男女別抗体保有率

#### 4 麻しん感受性調査

##### 4-1 目的

ヒトの麻しんに対する抗体保有状況を確認し,麻しん含有ワクチンの摂取効率を追跡するとともに今後の流行の推移と予防接種計画の資料とする。

##### 4-2 対象・方法

平成27年7月から10月にかけて水戸市内の7医療機関で採取された,0～1歳群21名,2～3歳群19名,4～9歳群24名,10～14歳群15名,15～19歳群13名,20～24歳群17名,25～29歳群23名,30～39歳群24名,40歳以上群59名の計215名の血清について,「感染症流行予測調査事業検査術式」および「平成27年度感染症流行予測調査実施要領」に準じ,「セロディア・麻疹」(富士レビオ)を用いて麻疹PA抗体価を測定した。

##### 4-3 結果および考察

年齢区分別のPA抗体価及び抗体保有率を表3に示した。抗体陽性者(16≤)は205名(95.4%)であり,そのうち感染防御レベルの1:128以上の者は192名(89.3%)であった。抗体陰性者(<16)は10名(4.7%)であったが,うち9名はワクチン接種前又は接種直後である0～1歳の群であった。抗体陽性率は,0～1歳の群が57.1%と低値であったが,2歳以

表3 年齢区分別麻しん PA 抗体価及び抗体保有率

年齢区分 (歳)	PA抗体価(人)											総計 (人)	抗体陽性者(人)	
	<16	16	32	64	128	256	512	1024	2048	4096	8192≤		16≤	128≤
0-1	9				2	7	1	2				21	12 (57.1%)	12 (57.1%)
2-3	1			1		1	4	7	2	2	1	19	18 (94.7%)	17 (89.5%)
4-9		1	1	1	3	10	5	2	1			24	24 (100%)	21 (87.5%)
10-14					7	2	4	2				15	15 (100%)	15 (100%)
15-19		1			2	2	4	1	3			13	13 (100%)	12 (92.3%)
20-24					6	5	3	3				17	17 (100%)	17 (100%)
25-29		1		1	2	5	6	5	3			23	23 (100%)	21 (91.3%)
30-39			1	1	6	5	4	5	1	1		24	24 (100%)	22 (91.7%)
40-			1	3	6	10	15	7	7	6	4	59	59 (100%)	55 (93.2%)
総計	10	3	3	7	34	47	46	34	17	9	5	215	205 (95.3%)	192 (89.3%)

上は 2～3 歳群 (94.7%) を除く全ての群で 100%であった。このことから、MR (麻しん・風しん) ワクチン第 1 期接種による抗体獲得の効果がうかがえたが、1:128 以上の保有率は 0～1 歳群、2～3 歳群および 4～9 歳群で 90%未満であり、抗体陽性者でも十分な抗体を保有していない人が特に若い年齢層でみられた。

平成 27 年度の茨城県の麻しん抗体保有率は前年度より 1.0%高く、1:128 以上の保有率は 0.4%低かった。なお、過去 5 年間の推移はどちらもほぼ横ばいであった (図 2)。

日本は平成 27 年の 3 月に麻しんの排除状態にあることが認定されたが、この状態を維持するためにも、今後もワクチン接種による麻しん対策の強化が重要である。

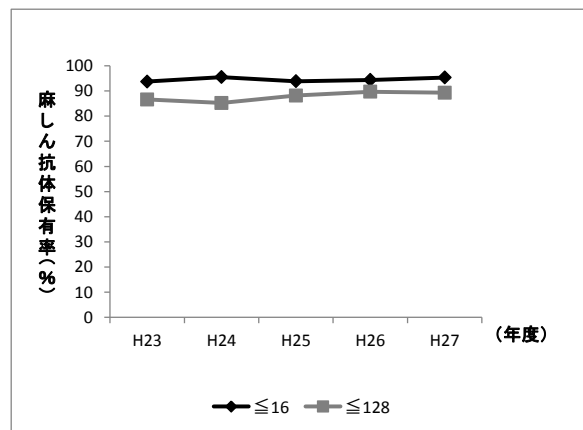


図2 茨城県の麻しん抗体保有率の推移



## 平成 27 年度 HIV 抗体スクリーニング検査について

○梅澤 昌弘, 黒澤 美穂, 後藤 慶子, 土井 育子, 本谷 匠, 永田 紀子,  
中本 有美, 鯉渕 祐子, 山城 彩花, 木澤 千里, 相原 義之, 山本 和則,  
小川 郁夫, 深谷 節子, 清水 祥子, 増子 京子

### 要旨

平成 27 年度に HIV 即日検査を受診した 867 名の血清について, HIV 抗体スクリーニング検査を行った。その結果, HIV 抗体陽性が 3 名であり, 陽性率は 0.35%であった。検査受診者は男性 629 名, 女性 238 名と男性が女性の 2.6 倍で, 年齢は 20~39 歳が 76%を占めた。検査の受診理由は, 異性間の性的接触が最も多く挙げられた。

キーワード: HIV (human immunodeficiency virus), AIDS (acquired immunodeficiency syndrome), スクリーニング検査

### 1 はじめに

HIV (human immunodeficiency virus) は, 後天性免疫不全症候群 (AIDS : acquired immunodeficiency syndrome) を発症させるウイルスであり, 免疫系の破壊による免疫不全により日和見感染症や悪性腫瘍を引き起こす<sup>1)</sup>。HIV 感染症は適切な治療により AIDS 発症を遅らせることができるが<sup>1) 2)</sup>, 無症候期が長いことから治療の遅れや感染拡大が問題となる感染症である。

茨城県では, 茨城県性感染症検査実施要綱に基づき, 各保健所で HIV 検査を無料・匿名で行っている。さらに, 水戸保健所および土浦保健所においては, 茨城県 HIV 即日検査実施要領に基づき, HIV 抗体即日検査を実施している。衛生研究所では, 水戸保健所および土浦保健所の検査課廃止に伴い, 平成 26 年度より HIV 抗体スクリーニ

ング検査を実施しており, 以下に平成 27 年度に実施した結果について報告する。

### 2 材料および方法

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月に, 水戸保健所および土浦保健所で HIV 即日検査を受診した 867 名の血清について, 「エスプライン HIV Ag/Ab」(イムノクロマト法) を用いて HIV 抗体検査を行った。

### 3 結果および考察

#### 3-1 陽性数

スクリーニング検査の結果, 867 名のうち陽性が 4 名, 陰性が 862 名および判定保留が 1 名であった。陽性および判定保留の 5 名については, 保健所から外部機関へ確認検査が委託された。その結果, スクリーニング検査陽性のうち 3 名は確認検査も陽

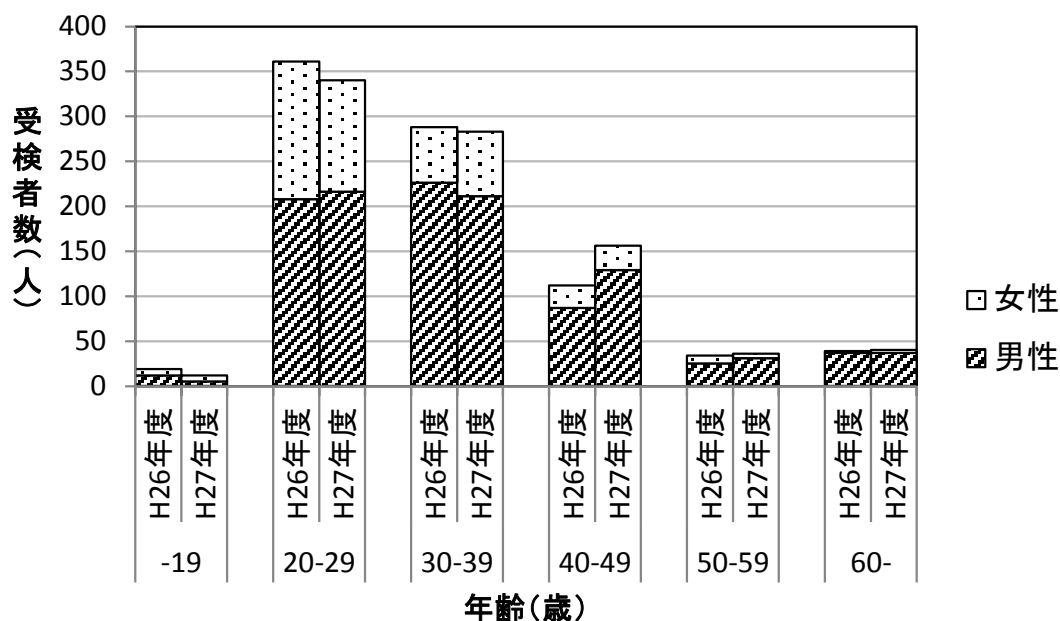


図1 年齢群別 HIV スクリーニング検査受診状況

性であった。陽性となった検査受診者は、同性間性的接触により受診した日本国籍の30歳代、40歳代の男性各1名及び異性間性的接触により受診した日本国籍の30歳代の男性1名であった。スクリーニング検査陽性のうち1名と、判定保留の1名については、確認検査の結果、抗体陰性であることが分かった。

### 3-2 性別・年齢

検査を受診した867名のうち、男性は629名(72.5%)、女性は238名(27.5%)であり前年度と同程度であった。年齢群別の検査受診人数を図1に示した。各年齢群の受検者数は、20歳未満が12名、20～29歳が340名、30～39歳が283名、40～49歳が156名、50～59歳が36名および60歳以上が40名であった。男女別にみると、男性は20～29歳が216名、次いで30～39歳が211名と

20～39歳に集中しており、合わせて427名(全体の49.3%、男性の67.9%)を占めた。また、40～49歳が129名(14.9%)と前年度より4.7%の増加がみられた。女性は20～29歳が124名と突出して多く、次いで30～39歳が72名であり、合わせて20～39歳が196名(全体の22.6%、女性の82.4%)を占めた。検査受診者全体の平均年齢は34.3歳、男性は35.7歳、女性は30.7歳であった。

### 3-3 国籍

検査を受診した867名のうち、日本国籍の検査受診者は843名(97.2%)であった。外国国籍の検査受診者は24名(2.8%)であり、そのうち男性が19名(20歳代が6名、30歳代が6名、40歳代が4名、50歳以上が3名)、女性が5名(20歳代が4名および40歳代が1名)であった。

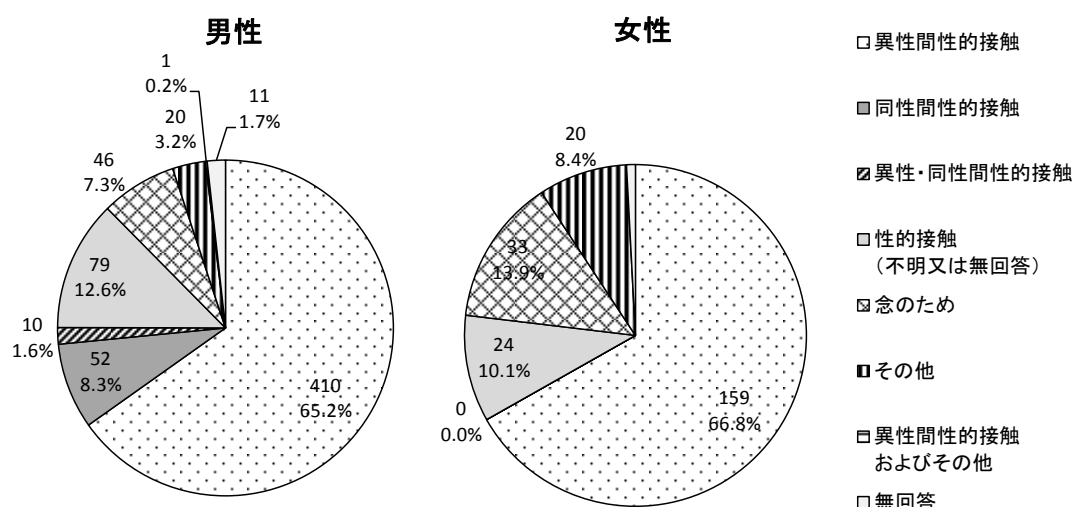


図2 HIVスクリーニング検査受診理由

### 3-4 検査受診理由（感染経路）および感染から検査受診までの期間

検査の受診理由を図2に示した。「異性間性的接触」が男性で410名（65.2%）、女性で159名（66.8%）、検査受診者全体で569名（65.6%）と大部分を占めた。女性においては、それ以外の理由の多くが「念のため」又は「その他」であったのに対し、男性においては「同性間性的接触」「異性・同性間性的接触」が62名（9.9%）みられた。「その他」の内容は、針刺し事故等による血液接触（9名）、成績書発行のため（6名）が多く、このほか輸血（2名）などであった。

感染が疑われる日から検査を受けるまでの期間については、3ヶ月未満が69名（9.2%）、3ヶ月以上1年未満が594名（78.8%）、1年以上が61名（8.1%）、不明又は無回答が30名（4.0%）であった（受

診理由に感染が疑われる行動を挙げた754名を対象とした）。HIVスクリーニング検査においてより正確な結果を得るために必要とされる、感染が疑われる日から3ヶ月以上経過している検査受診者がほとんどであったが、前年度と比較すると、感染が疑われる日から3ヶ月未満の検査受診者が4.7%増加していた。

### 4 まとめ

平成27年度に行ったHIVスクリーニング検査の結果、867名のうち陽性が3名（0.35%）であった。全国の保健所等におけるHIV抗体検査での抗体陽性率は、平成18年～27年の10年間は0.28～0.38%で推移しており<sup>3)</sup>、平成27年度の本県のスクリーニング検査の陽性率は全国と同様であった。検査受診者の性別・年齢については、20～39歳の男性が全体の49.3%を占めており、各年齢群においても男性が多い傾向

がみられ、特に 40～49 歳の男性では前年度より増加しており、陽性例もみられた。検査受診の理由は、男女共に異性間の性的接触が大部分を占めたが、男性においては同性間の性的接触が 9.9%あり、前年度より 2.3%の増加がみられた。日本における HIV 感染者の大多数を占めるのは 20～39 歳の日本国籍の男性であり、その多くが同性間性的接触による感染であるが<sup>4) 5)</sup>、本県の HIV スクリーニング検査においても同様である。また、感染が疑われる日から 3 ヶ月未満の検査受診者が前年度より 4.7%増加しており、より正確な結果を提供するためには HIV スクリーニング検査を受診する方の理解が必要である。

## 5 文献

- 1) 国立感染症研究所，感染症疫学センター，感染症情報，AIDS（後天性免疫不全症候群）とは
- 2) 日本エイズ学会 HIV 感染症治療委員会，HIV 感染症「治療の手引き」第 19 版
- 3) 公益財団法人エイズ予防財団，API-Net，日本の状況＝エイズ動向委員会報告「参考資料」
- 4) IASR 「HIV/AIDS 2014」  
Vol. 36 p. 165-166: 2015 年 9 月号
- 5) 厚生労働省エイズ動向委員会「平成 27 年エイズ発生動向 一概要一」

## 茨城県における水道水及び加工食品の放射性物質試験検査結果について -平成23～27年度-

○立原幹子, 佐藤真由美, 山形明広, 萩原彩子, 石井崇司, 小室道彦, 大曾根圭子

### 要旨

平成23年3月11日に発生した東日本大震災による東京電力福島第一原子力発電所事故を受け、当所では平成23年度から放射性物質試験検査を実施している。本報では、平成23年度から平成27年度までに実施した、県内水道水（原水を含む）3073検体及び県内流通の加工食品600検体についての、放射性セシウム及び放射性ヨウ素の検査結果を報告する。検査にはゲルマニウム半導体検出器を用いて測定した。その結果、水道水は全ての検体において不検出であった。加工食品は、平成24年度に牛乳3検体から、平成27年度に水産物を主原料とする佃煮6検体から検出があった。うち7検体（牛乳2, 佃煮5）からCs-137が検出され、2検体（牛乳1, 佃煮1）からCs-134及びCs-137が検出されたが、いずれも基準値を大きく下回っていた。

キーワード：放射性物質, 放射性セシウム, 放射性ヨウ素, 水道水, 加工食品, ゲルマニウム半導体検出器

### はじめに

平成23年3月11日に発生した東日本大震災直後の東京電力福島第一原子力発電所事故により、放射性物質が環境中に放出された。放出された放射性物質は周辺地域を中心に広い範囲に飛散し、国内の農畜水産物及びその加工食品が汚染される事態となり、消費者の水や食品に対する関心が一気に高まった。厚生労働省は、消費者の食の安全のため、放射性セシウム及び放射性ヨウ素（I-131）に対して暫定規制値を設定し<sup>1)</sup>、原子力災害対策本部の決定に基づき、暫定規制値を超える食品が市場に流通しないよう出荷制限などの措置をとってきた。さらに平成24年4月には、より一層食品の安全と安心を確保するために、長期的な観点から新たな基準値を設定している<sup>2)</sup>。

茨城県では平成23年10月から水道水の放射性セシウム（Cs-134, 136, 137）及び放射性ヨ

ウ素（I-131）の検査を開始し、平成24年度からは加工食品の放射性セシウム（Cs-134, 137）の検査を実施している。平成23年10月から平成28年3月にかけて当所にて実施した検査結果について報告する。

### 実験方法

#### 1 試料

##### 1) 水道水

平成23年10月から平成28年3月までに、県内で採水された水道水3073検体を調査対象試料とした。各年度における採水地及び調査対象検体数を表1に示す。

##### 2) 加工食品

平成24年4月から平成28年3月までに、茨城県内で流通していた食品のうち、県内製造業者が製造したもの等600検体を調査対象試料とした。その内訳は、一般食品421検体、牛乳

90 検体，飲料水 74 検体，乳児用食品 15 検体であった。各年度における検体数の内訳を表 2 に示す。

表 1 水道水の採水地及び調査対象検体数

	採水地点	水源	年度				
			H23 (H23.10～)	H24	H25	H26	H27
日立市	森山浄水場	久慈川	○	○	○	○	○
	十王浄水場	十王川	○	○	○	○	○
北茨城市	中郷浄水場	大北川	○	○	○	○	○
県南 水道 企業 団	龍ヶ崎市	霞ヶ浦(西浦) 利根川	○	○	○	○	○
	取手市	戸頭配水場 利根川	○	○	○	○	○
	取手市	藤代配水場 利根川	○	○	○	○	○
	牛久市	牛久配水場 利根川	○	○	○	○	○
	利根町	利根配水場 利根川	-	○	○	○	○
東海村	外宿浄水場	久慈川	○	○	○	○	○
	須和間	那珂川	○	-	-	-	-
水戸市	楮川浄水場	那珂川	○	○	○	○	○
土浦市	水道課	霞ヶ浦(西浦)	○	-	-	-	-
鹿嶋市	市役所	北浦	○	○	○	○	○
守谷市	守谷浄水場	利根川	○	○	○	○	○
桜川市	岩瀬庁舎	霞ヶ浦(西浦)	○	○	○	○	○
笠間市	友部配水場	涸沼川	○	-	-	-	-
常陸太田市	瑞竜浄水場	地下水	○	○	○	○	○
	水府北部浄水場	山田川	-	○	○	○	○
神栖市	若松幼稚園	鱒川	○	○	-	-	-
	若松緑地	鱒川	-	-	○	○	○
採水地点数			17	16	16	16	16
検体数			364	733	737	783	456

表 2 加工食品の検体数の内訳

食品群	年度				合計
	H24	H25	H26	H27	
牛乳	54	20	9	7	90
飲料水	40	30	2	2	74
乳児用食品	4	4	3	4	15
一般食品					
魚介類加工品	0	5	14	16	35
肉・卵加工品	1	5	22	16	44
野菜・果物加工品	2	16	28	32	78
菓子類	0	12	15	30	57
穀物加工品	0	39	65	52	156
乳製品	6	4	2	8	20
清涼飲料水	4	8	3	2	17
その他の食品	0	5	1	8	14
合計	111	148	164	177	600

## 2 機器

ゲルマニウム半導体検出器を用いた。平成23年10月～平成26年2月はセイコー・イージーアンドジー社製の GEM-40190-P 型を用い、平成26年3月～平成28年3月はキャンベラ社製の GC4020 型を用いて測定した。

## 3 試料の前処理

水道水は、2L マリネリ容器に注ぎ測定試料とした。

加工食品は、厚生労働省「食品中の放射性物質の試験法について」<sup>3)</sup>、及び「食品中の放射性物質の試験法の取扱いについて」<sup>4)</sup>に準じた。

液状食品、牛乳、飲料水は2L マリネリ容器に、固形食品及び乳児用食品はU-8 容器に採取して測定試料とした。

## 4 測定方法

水道水は、厚生労働省「水道水の放射性物質に係る指標の見直しについて」<sup>5)</sup>に準じ、Ge 半導体検出器により精密測定した。

加工食品は、「食品中の放射性物質の試験法について」<sup>3)</sup>に準じ、Ge 半導体検出器により精密測定した。なお、測定時間は、試験法に定められている検出限界値を満たすよう、液状食品は500秒間、牛乳は500秒間又は3000秒間、飲料水は3000秒間、固形食品、乳児用食品は3000～15000秒間で測定した。食品（加工食品を含む）の放射性セシウム（Cs-134, 137）の基準値及び試験法に定められている検出限界値を表3に示す。

表3 基準値及び検出限界値

食品群	基準値 (Bq/kg)	検出限界値 (Bq/kg)
一般食品	100	20
乳児用食品	50	10
牛乳	50	10
飲料水	10	2

## 5 測定対象核種

放射性セシウム（Cs-134, 137）を測定対象核種とした。ただし、平成23年10月～平成25年度の水道水は、セシウム136, ヨウ素131を合わせた4核種を測定対象核種とした。平成26年度からは、厚生労働省「水道水の放射性物質に係る指標の見直しについて」<sup>5)</sup>を受け放射性セシウム（Cs-134, 137）とした。

## 結果

検査を行った水道水及び加工食品で、基準値を超えた試料はなかった。

### 1) 平成23年度

水道水は、平成23年10月から当所での測定を開始した。364検体について放射性セシウム（Cs-134, 136, 137）、放射性ヨウ素（I-131）の検査を実施し、全て不検出であった。

### 2) 平成24年度

水道水は、733検体について放射性セシウム（Cs-134, 136, 137）、放射性ヨウ素（I-131）の検査を実施し、全て不検出であった。

加工食品は、111検体について放射性セシウム（Cs-134, 137）の検査を実施し、牛乳3検体で検出があった。うち2検体からCs-137が、0.474Bq/kg, 1.07Bq/kg 検出され、1検体からはCs-134が0.580Bq/kg 及びCs-137が0.688Bq/kg 検出されたが、全て基準値未満であった。放射性セシウムが検出された試料についての詳細を表4に示す。

### 3) 平成25年度

水道水は、737検体について放射性セシウム（Cs-134, 136, 137）、放射性ヨウ素（I-131）の検査を実施し、全て不検出であった。

加工食品は、148検体について放射性セシウム（Cs-134, 137）の検査を実施し、全て不検出であった。

#### 4) 平成 26 年度

水道水 783 検体及び加工食品 164 検体について放射性セシウム (Cs-134, 137) の検査を実施し、全て不検出であった。

#### 5) 平成 27 年度

水道水 456 検体及び加工食品 177 検体について放射性セシウム (Cs-134, 137) の検査を実施し、水道水は全て不検出であったが、加工食品は、そうざい (水産物を主原料とする佃煮) 6 検体で検出があった。一般食品の中には、原木しいたけ (施設栽培) を加工した干しいたけ (出荷自粛解除) が 2 検体あったが、2 検体とも不検出であった。検出のあったそうざい 6 検体のうち 5 検体から Cs-137 が 8.54-12.7Bq/kg 検出され、1 検体からは Cs-134 が 7.15Bq/kg 及び Cs-137 が 19.3Bq/kg 検出されたが、全て基準値未満であった。放射性セシウムが検出された試料についての詳細を表 4 に示す。

### 考察

#### 1) 水道水

水道水の原水は、久慈川、十王川、大北川、那珂川、山田川、地下水等であったが、当所では、平成 23 年 10 月の測定開始から不検出で推移しており水道水及び原水に影響はみられなかったと考えられる。

#### 2) 加工食品

検体の内訳 (一般食品、乳児用食品、牛乳、飲料水) については、測定開始当初の平成 24 年度は測定できる容器がマリネリ容器のみであったため、飲料水や牛乳等の液体試料が主であったが、U-8 容器での測定が可能となると、固形試料 (主に一般食品) の割合が増加し、平成 27 年度は全体の 9 割以上が一般食品となっていた。

平成 27 年度には、干しいたけの検査を実施した。県内でも原木しいたけは出荷制限・出荷自粛が続いているが<sup>6)</sup>、検査した試料の原木しいたけは出荷自粛が解除されていた。検査結果は不検出であり、生産者や県の管理が適切に成されていることが示された。

平成 24 年度に放射性セシウム (Cs-134, 137) が検出された検体は、3 検体すべて牛乳であった。Cs-134, 137 の検出限界値を 0.3-0.5Bq/kg 程度としたため、Cs の合計値は 0.474-1.27Bq/kg と基準値の 1/100~1/50 程度の値で検出されていた。「食品中の放射性物質の試験法について」<sup>3)</sup>、に準じた牛乳の検出限界値は、10Bq/kg であることから、業務の迅速化等を考慮し、平成 25 年 1 月から測定時間を 3000 秒間から 500 秒間に変更した。変更後の Cs-134, 137 の検出限界値はおおよそ 1~2Bq/kg であり試験法で定められ

表 4 放射性セシウムが検出された試料の測定結果

年度	品名	測定値 (Bq/kg)		
		Cs-134	Cs-137	放射性Cs合計
H24	牛乳	0.580(0.389)	0.688(0.445)	1.27
H24	牛乳	ND (0.399)	1.07(0.420)	1.07
H24	牛乳	ND (0.405)	0.474(0.468)	0.474
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	7.15(5.94)	19.3(7.39)	26.5
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	ND (5.92)	8.69(6.76)	8.69
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	ND (6.48)	10.2(7.04)	10.2
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	ND (7.76)	12.7(8.28)	12.7
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	ND (6.61)	11.9(6.67)	11.9
H27	そうざい(水産物を主原料とする佃煮)	ND (5.76)	8.54(7.01)	8.54

ND:検出されず、( )内は検出限界値



ている検出限界値を十分に満たした。

平成 27 年度に放射性セシウム (Cs-134, 137) が検出された検体は、6 検体すべて水産物を主原料とする佃煮であった。水産物の汚染状況については、水産庁が福島県及び近隣県の主要港における放射性物質調査結果<sup>7)</sup>を公表している。平成 27 年度の調査結果によると、基準値<sup>2)</sup> 100Bq/kg 以下の試料の中には Cs-134 及び Cs-137 が検出されているものがあつたが、今回の検体との関連性は不明であつた。佃煮は製造加工の段階で水分が減少すると相対的に重量当たりの放射性物質濃度が高くなることが考えられ、製造加工が放射性セシウム (Cs-134, 137) の検出に影響した可能性も考えられる。

#### まとめ

平成 23 年 10 月から平成 27 年度に、当所にて水道水 3073 検体及び加工食品 600 検体の放射性物質試験検査を実施した。過去の検査結果では、当所で検査した県内水道水や県内流通の加工食品において基準値を超えた試料はなかつた。加工食品では、牛乳 2 検体及び水産物を主原料とする佃煮 5 検体から放射性セシウム (Cs-137) が、牛乳 1 検体及び水産物を主原料とする佃煮 1 検体から放射性セシウム (Cs-134, 137) が検出されたが、最も高い値が検出された検体でも基準値の 1/4 程度であつた。また検出された検体の割合は、加工食品全体の 1%程度であり、ほとんどの検体が不検出であつたことがわかつた。

#### 文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局安全部長：“放射能汚染された食品の取り扱いについて”平成 23 年 3 月 17 日食安発 0317 第 3 号 (2011)
- 2) 厚生労働省医薬食品局安全部長：“乳及び乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改

正する省令、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令別表の二の (一) の (1) の規定に基づき厚生労働大臣が定める放射性物質を定める件及び食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について”平成 24 年 3 月 15 日食安発 0315 第 1 号 (2012)

- 3) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長：“食品中の放射性物質の試験法について”平成 24 年 3 月 15 日食安発 0315 第 4 号 (2012)
- 4) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長：“食品中の放射性物質の試験法の取扱いについて”平成 24 年 3 月 15 日食安基発 0315 第 7 号 (2012)
- 5) 厚生労働省健康局水道課長：“水道水中の放射性物質に係る管理目標値に設定等について添付の水道水中の放射性物質に係る指標の見直しについて 6 (2) 検査方法”平成 24 年 3 月 5 日健水発 0305 第 1 号 (2012)
- 6) 厚生労働省：原子力災害対策特別措置法に基づく食品に関する出荷制限等：平成 28 年 11 月 14 日現在  
<http://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/2r9852000001a3pj-att/2r9852000001a3rg.pdf>  
(2016 年 11 月 14 日現在、なお本 URL は変更または抹消の可能性がある)
- 7) 水産庁：水産物の放射性物質調査の結果について：平成 27 年度の調査結果

## 農産物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価について

○石井崇司, 萩原彩子, 山形明広, 立原幹子, 佐藤真由美, 小島健一, 小室道彦, 大曾根圭子

### 要旨

当所で使用する GC/MS および LC/MS/MS による残留農薬一斉試験法について、厚生労働省通知平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 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」に基づき、157 農薬を対象に 16 農産物について妥当性評価を実施した。

GC/MS では 129 農薬, LC/MS/MS では 28 農薬を対象に妥当性評価試験を実施した。

各農産物で 100~135 農薬が妥当性評価ガイドラインにおけるすべての性能パラメーターで目標値等に適合した。

キーワード：農産物 残留農薬 一斉試験法 妥当性評価 GC/MS LC/MS/MS

### はじめに

食品中の残留農薬の分析において、食品衛生法に定められている規格基準への適合性についての判断を行う試験法は、平成 22 年 12 月の厚生労働省通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」<sup>1)</sup> (以下「ガイドライン」という) により、平成 25 年 12 月 13 日よりこのガイドラインの基準に適合していることが求められる。

当所では、県外産および輸入農産物について GC/MS および LC/MS/MS を用いた残留農薬一斉試験を行っており、本試験法で検査対象としていた農薬を中心に、妥当性評価を実施したので報告する。

### 実験方法

#### (1) 試料

市販のさといも、だいこんの根、キャベツ、カリフラワー、ブロッコリー、レタス、アスパラガス、にんじん、トマト、ピーマン、きゅう

り、かぼちゃ、ほうれんそう、たけのこ、未成熟えんどう、未成熟いんげんの計 16 農産物を用いた。

#### (2) 試薬等

農薬標準品は、GC/MS では、林純薬工業(株)製 PL2005 農薬 GC/MS Mix I, II および III を混合しアセトンおよび n-ヘキサン (1:1) 混液で適宜希釈して用いた。LC/MS/MS では、関東化学(株)製 LC/MS 農薬混合標準液 58 をメタノールで適宜希釈し用いた。

リン酸水素二カリウムおよびリン酸二水素カリウムは和光純薬工業(株)製特級試薬を、無水硫酸ナトリウムおよび塩化ナトリウムは和光純薬工業(株)製残留農薬・PCB 試験用を用いた。

0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) はリン酸水素二カリウム 52.7g およびリン酸二水素カリウム 30.2g を量り採り、水約 500mL に溶解し、1mol/L 塩酸を用いて pH7.0 に調製した後、水を加えて 1L に調製したものをを用いた。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500mg/500mg) はジーエルサイエンス (株) 製 GL-Pak GC/NH<sub>2</sub>(500mg/500mg)をあらかじめ、アセトニトリルおよびトルエン (3:1) 混液でコンディショニングして使用した。

検量線の作成および試験溶液の調製に用いるアセトニトリル, トルエン, アセトン, n-ヘキサンおよびメタノールは和光純薬工業 (株) 製の残留農薬・PCB 試薬用を用いた。

移動相の調製に用いるメタノール, 超純水は和光純薬工業 (株) 製の LC/MS 用を, 酢酸アンモニウムは, 和光純薬工業 (株) 製試薬特級を用いた。

ろ紙は吸引ろ過には桐山製作所 (株) 製ろ紙 GFP を, 無水硫酸ナトリウムのろ別には桐山製作所 (株) 製ろ紙 No.5 B を用いた。

使用するガラス器具は, アセトンおよび n-ヘキサンで洗浄して用いた。

### (3) 装置および測定条件

GC/MS はガスクロマトグラフ部が (株) 島津製作所 GC-2010, MS 部が同社製 GCMS-QP2010Plus, LC/MS/MS は LC 部が waters 製 alliance2695, MS/MS 部が同社製 Quattro PremierXE, 試料の均一化用のミキサーはパナソニック (株) 製 MX-152SP-W, 試料の抽出操作のホモジナイザーは kinematica 社製 PT10-35 を用いた。GC/MS および LC/MS/MS の測定条件をそれぞれ表 1 および 2 に示した。

### (4) 検量線の作成

GC/MS による分析では 20~600ppm, LC/MS/MS による分析では 5~200ppm の範囲で検量線用標準液を作成し, ピーク面積法で検量線を作成した。

### (5) 試料溶液の調製

通知法<sup>2)</sup>の「GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)」および「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)」に準拠し調製を行った。各試料を約 1kg ミキサーで均一化し, 20g を測り採った。これにアセトニトリル 50ml を加え, ホモジナイズした後, 上澄み液を吸引ろ過した。残留物にアセトニトリル 20ml を加え, ホモジナイズして吸引ろ過した後, 得られたろ液を合わせ, アセトニトリルを加えて 100ml に定容した。20ml を分取し, 塩化ナトリウム 10g および 0.5mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0)20ml を加え 10 分間振とう後, 静置した。アセトニトリル層に無水硫酸ナトリウム 5g を加え脱水後, ろ過した。ろ液を 40℃以下で濃縮し, 窒素ガスで溶媒除去後, アセトニトリルおよびトルエン(3:1)混液 3ml を加えて溶かし抽出液とした。

グラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲル積層ミニカラム (500mg/500mg) に抽出液を注入した後, アセトニトリルおよびトルエン (3:1) 混液 30ml を注入し, 全抽出液を 40℃以下で濃縮し, 窒素ガスで溶媒を除去した。

残留物を GC/MS の測定では, アセトンおよび n-ヘキサン (1:1) 混液 1ml に溶解, LC/MS/MS の測定ではメタノール 4ml に溶解して試験溶液とした。

### (6) 妥当性評価試験

実験方法 (1) 試料に示す 16 農産物について, GC/MS で 129 農薬, LC/MS/MS で 28 農薬の計 157 農薬についてガイドラインに従い妥当性評価試験を実施した。

選択性は農産物毎に起源の異なる 3 検体を実施し, ブランク試料の妨害ピークについて農薬標準液 0.01ppm に相当するピーク面積の 1/3

未満を確認した。

定量限界は 0.01ppm 添加した試料（添加試料）で S/N 比 10 以上を確認した。

真度，併行精度，室内精度は添加濃度 0.01ppm および 0.1ppm の 2 濃度について，実施者 2 名が 2 併行，3 日間の枝分かれ実験により実施した。目標値は，添加濃度 0.01ppm のとき真度 70～120%，併行精度 25%未満，室内精度 30%未満，添加濃度 0.1ppm のとき真度 70～120%，併行精度 15%未満，室内精度 20%未満とした。

定量限界値付近で検出感度が不十分な農薬および基準値が一律基準値の 0.01ppm より小さい農薬等の一斉試験が困難な農薬は，あらかじめ妥当性評価試験の対象外とした。

また GC/MS および LC/MS/MS で重複して測定した農薬(アジンホスメチル，アニロホス，クロメプロップ，シフルフェナミド，シメコナゾール)は LC/MS/MS による結果のみを集計した。

## 結果および考察

16 農産物の妥当性評価試験の結果を表 5 に示した。

GC/MS では 129 農薬中 76～111 農薬（59～86%）が適合，最も多く適合した農産物はダイコンの根，少ないのはブロッコリーであった。16 農産物の全てで適合したのは，24 農薬(アトラジン，イサゾホス，イソプロチオラン，ユニコナゾール P，エチオン，エトリムホス，クレソキシムメチル，クロルピリホス，クロルピリホスメチル，クロルフェンソン，ジクロフェンチオン，ジクロブトラトゾール，トルクロホスメチル，ピンクロゾリン，フェンクロルホス，フェントエート，ブプリメート，ブプロフェジン，フルトラニル，プロチオホス，プロフェノホス，ペンコナゾール，マラチオン(マラソン)，

ミクロブタニル)であった。これらは，検出感度が比較的他の農薬より高く，かつマトリクス効化と思われる感度上昇の影響が少ない傾向にあった。

GC/MS のキャベツのブランク試料の測定の 1 つで，試料由来のピークにより，機器フィラメントが OFF となり，妥当性評価試験の一部の農薬分析に影響が出る事例があった(図 1)。SCAN モードによるマススペクトルの類似性検索の結果，Sulforaphane nitrile および Sulforaphane によるものと推察された。それらのベースピークはそれぞれ m/z55 と m/z72 であり，モリネートおよびホスファミドンの確認イオンと同一であることに起因するものである。今後は，必要に応じた測定イオンの変更，または試験溶液希釈等の試験条件の検討が必要となる。

また，枝分かれ実験では，実施者 2 名が同一操作を行ったが，試料由来と思われる妨害ピークの精製度に差が見られる事例があった。GC/MS でのかぼちゃの例を図 2 に示した。多くの農産物で，キナルホスおよびニトタールイソプロピルの標準品ピークの近傍に見られる妨害ピークでは，実施者 1 の試料は，実施者 2 の試料より小さい傾向にあった。また，同一の実施者においてもこれらの妨害ピークの精製度にバラツキが見られた。

LC/MS/MS では 28 農薬中 24～28 農薬（86～100%）が適合，最も多く適合した農産物はさといも，きゃべつ，レタス，少ないのはブロッコリー，だいこんの根，ピーマン，かぼちゃであった。GC/MS と LC/MS/MS で重複測定したアジンホスメチル，アニロホス，クロメプロップ，シフルフェナミドおよびシメコナゾールの 16 農産物への適合率は，前者ではアニロホスの 44%を除き他は 75%～94%であったが，後者は全て 100%となった。これは，機器の性

能の差に加え、農薬の項目を検出感度が十分に得られるものを選定していたこと、マトリクス効果の影響が少ないとされる LC/MS/MS による MRM 分析であること、また試験溶液希釈率が GC/MS より大きく、精度等への影響が少なかったためと考えられる。

全体では 157 農薬中、100～135 農薬（64～86%）がすべての性能パラメーターの目標値に適合した。最も多く適合した農産物はダイコンの根、少ないのはブロッコリーであった。ガイドラインでは、評価する野菜は、まず葉緑素を多く含むもの、イオウ化合物を含むもの、デンブンを多く含むものの代表を実施し、順次食品毎に評価を行うとされているところであるが、当所では平時において、妥当性評価した 16 農産物のみを検査している。妥当性未評価のこれらに類似性を持つ農産物について、一定の信頼性の確保のあり方について、近年の残留農薬分析の動向等を踏まえたうえで整理し、幅広い農産物に対応できるよう検査の実施を検討したい。

## まとめ

当所で使用する試験法「GC/MS および LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉試験法」について、ガイドラインに基づき、157 農薬を対象に 16 農産物について妥当性評価試験を実施した。GC/MS では 129 農薬中 76～111 農薬（59～86%）、LC/MS/MS では 28 農薬中 24～28 農薬（86～100%）、全体では、100～135 農薬（64～86%）がすべての性能パラメーターの目標値に適合した。

食品中の残留農薬の分析において、より信頼性のある結果が得られるよう、引き続き、農産物のマトリクスにかかる情報や、試験法の改

良並びに実施者の技能の一層の向上を図る必要があると考えられる。

## 文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について 食安発第1224第1号 平成22年12月24日
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法 食安発第0124001号 平成17年1月24日

### 表1 GC/MS 分析条件

---

カラム：Agilent J&W DB-5ms  
 カラム温度：50℃（1分）→25℃/分→125℃（0分）→10℃/分→300℃（10分）  
 注入口温度：250℃  
 注入量：1μl  
 イオン化モード（電圧）：EI(70eV)  
 測定方法：SIM  
 測定イオン：表3のとおり

---

### 表2 LC/MS/MS 分析条件

---

カラム：WATERS SUNFIRE C18（2.1×150mm, 3.5μm）  
 カラム温度：40℃  
 流速：0.2mL/min  
 注入量：5μL  
 移動相：A液：水，B液：メタノール，C液：100mM 酢酸アンモニウム水溶液  
 グラジエント条件：0分(A/B/C=80/15/5)→1分(A/B/C=55/40/5)→3.5分(A/B/C=55/40/5)→6分(A/B/C=45/50/5)→8分(A/B/C=40/55/5)→17.5分(A/B/C=0/95/5)→30分(A/B/C=80/15/5)  
 イオン化法：エレクトロスプレーイオン化（ESI）法  
 キャピラリー電圧：3kV  
 イオン源温度：120℃  
 脱溶媒ガス温度：450℃(850L/Hr)  
 測定方法：MRM  
 測定イオン：表4のとおり

---

表3 GC/MSによる分析対象農薬および分析条件

No	品目名	分析対象化合物名	保持時間 (min)	定量イオン (m/z)	定性イオン1 (m/z)	定性イオン2 (m/z)
1	EPN	EPN	17.9	169	141	157
2	アザコナゾール	アザコナゾール	15.7	217	145	173
3	アゾキシストロビン	アゾキシストロビン	22.4	344	388	403
4	アトラジン	アトラジン	11.2	200	58	215
5	アラクロール	アラクロール	12.9	160	188	146
6	イサゾホス	イサゾホス	12.0	161	257	285
7	イソカルボホス	イソカルボホス	13.8	136	94	113
8	イソプロチオラン	イソプロチオラン	15.3	290	204	118
9	ウニコナゾール P	ウニコナゾール P	15.4	234	165	131
10	エタルフルラリン	エタルフルラリン	10.3	276	316	292
11	エチオン	エチオン	16.3	231	384	153
12	エテイフェンホス	エテイフェンホス	16.8	310	173	109
13	エトプロホス	エトプロホス	10.0	158	200	139
14	エトリムホス	エトリムホス	12.0	292	277	181
15	エントスルフファン	エントスルフファン α エントスルフファン β	15.0 16.1	241 241	195 195	237 237
16	オキサジメトゾン	オキサジメトゾン	15.5	175	302	258
17	オキシフルオルフェン	オキシフルオルフェン	15.6	252	300	331
18	オメトエート	オメトエート	9.6	156	110	141
19	カスサホス	カスサホス	10.6	159	158	213
20	カフェンストロール	カフェンストロール	20.1	100	72	188
21	カルボフェノチオン	カルボフェノチオン	16.7	157	342	121
22	キナルホス	キナルホス	14.5	146	118	157
23	キノキシフェン	キノキシフェン	16.8	237	307	272
24	キノクラミン	キノクラミン	13.4	172	207	209
25	キントゼン	キントゼン	11.6	237	214	249
26	クレゾキシムメチル	クレゾキシムメチル	15.7	116	131	206
27	クロルタルジメチル	クロルタルジメチル	13.8	301	332	221
28	クロルピリホス	クロルピリホス	13.7	314	286	258
29	クロルピリホスメチル	クロルピリホスメチル	12.7	286	125	109
30	クロルフェナピル	クロルフェナピル	15.9	408	247	139
31	クロルフェンゾン	クロルフェンゾン	15.2	302	175	111
32	クロルフェンピホス	クロルフェンピホス (E) クロルフェンピホス (Z)	14.2 14.4	323 323	267 267	269 269
33	クロルプロファミ	クロルプロファミ	10.2	213	154	127
34	サリチオン	サリチオン	10.4	216	183	153
35	シアナジン	シアナジン	13.6	225	212	172
36	シアノフェンホス	シアノフェンホス	16.8	157	169	141
37	シアノホス	シアノホス	11.5	243	109	125
38	ジクロトホス	ジクロトホス	10.4	127	67	193
39	ジクロフェンチオン	ジクロフェンチオン	12.5	279	223	97
40	ジクロフトラゾール	ジクロフトラゾール	15.7	270	272	159
41	ジクロラン	ジクロラン	11.0	206	124	176
42	ジチオピル	ジチオピル	13.1	354	306	286
43	シハトリリン	シハトリリン-1 シハトリリン-2	18.6 18.8	181 181	197 197	449 449
44	シハロホップフェチル	シハロホップフェチル	18.6	256	357	229
45	ジフェノコナゾール	ジフェノコナゾール-1 ジフェノコナゾール-2	21.8 21.9	323 323	265 265	325 325
46	シフルトリリン	シフルトリリン-1 シフルトリリン-2 シフルトリリン-3 シフルトリリン-4	20.1 20.2 20.3 20.3	226 226 226 226	206 206 206 206	163 163 163 163
47	ジフルフェニカン	ジフルフェニカン	17.2	266	394	246
48	シハルメトリリン	シハルメトリリン-1 シハルメトリリン-2 シハルメトリリン-3 シハルメトリリン-4	20.4 20.5 20.6 20.6	163 163 163 163	181 181 181 181	209 209 209 209
49	ジメチピリン	ジメチピリン	11.2	54	53	118
50	ジメトエート	ジメトエート	11.0	87	93	125
51	スルプロホス	スルプロホス	16.5	322	156	140
52	ダイアジノン	ダイアジノン	11.7	179	137	152
53	チオヘンカルブ	チオヘンカルブ	13.4	100	257	125
54	チオメトン	チオメトン	10.9	88	125	158
55	チフルサミト	チフルサミト	15.7	449	194	427
56	テクナゼン	テクナゼン	9.8	203	261	201
57	テトラクロルピホス	テトラクロルピホス	15.0	329	109	240
58	テトラジホス	テトラジホス	18.4	356	159	111
59	テフルトリリン	テフルトリリン	11.9	177	197	383

No	品目名	分析対象化合物名	保持時間 (min)	定量イオン (m/z)	定性イオン 1 (m/z)	定性イオン 2 (m/z)
60	テ <sup>レ</sup> メトン-Sメチル	テ <sup>レ</sup> メトン-Sメチル	9.9	142	88	109
61	テ <sup>レ</sup> ルタメトリン	テ <sup>レ</sup> ルタメトリン	22.1	181	253	93
62	トリアジ <sup>ン</sup> メノール	トリアジ <sup>ン</sup> メノール-1 トリアジ <sup>ン</sup> メノール-2	14.5 14.6	168 168	128 128	112 112
63	トリアジ <sup>ン</sup> メホン	トリアジ <sup>ン</sup> メホン	13.7	208	181	128
64	トリアゾ <sup>ン</sup> ホス	トリアゾ <sup>ン</sup> ホス	16.5	161	172	257
65	トリアレート	トリアレート	12.0	268	86	128
66	トリブ <sup>ン</sup> ホス	トリブ <sup>ン</sup> ホス	15.4	169	202	258
67	トリフルラリン	トリフルラリン	10.4	306	264	335
68	トリフロキシストロビ <sup>ン</sup>	トリフロキシストロビ <sup>ン</sup>	16.9	116	131	222
69	トルクロホスメチル	トルクロホスメチル	12.8	265	267	125
70	ニトタールイソブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> ル	ニトタールイソブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> ル	13.8	236	254	212
71	ハ <sup>ル</sup> ラチオン	ハ <sup>ル</sup> ラチオン	13.7	291	261	235
72	ハ <sup>ル</sup> ラチオンメチル	ハ <sup>ル</sup> ラチオンメチル	12.7	263	125	233
73	ハルフェンブ <sup>ン</sup> ロックス	ハルフェンブ <sup>ン</sup> ロックス	20.5	263	265	183
74	ヒ <sup>ド</sup> フェノックス	ヒ <sup>ド</sup> フェノックス	18.2	341	310	189
75	ヒ <sup>ド</sup> フェントリン	ヒ <sup>ド</sup> フェントリン	17.8	181	166	152
76	ヒ <sup>ド</sup> ヘ <sup>ル</sup> ホス	ヒ <sup>ド</sup> ヘ <sup>ル</sup> ホス	17.9	320	140	84
77	ヒ <sup>ド</sup> ラクロホス	ヒ <sup>ド</sup> ラクロホス	19.2	360	194	139
78	ヒ <sup>ド</sup> ラゾ <sup>ン</sup> ホス	ヒ <sup>ド</sup> ラゾ <sup>ン</sup> ホス	19.1	221	232	265
79	ヒ <sup>ド</sup> リタ <sup>ン</sup> フェンチオン	ヒ <sup>ド</sup> リタ <sup>ン</sup> フェンチオン	17.7	340	97	199
80	ヒ <sup>ド</sup> リタ <sup>ン</sup> ヘ <sup>ル</sup> ン	ヒ <sup>ド</sup> リタ <sup>ン</sup> ヘ <sup>ル</sup> ン	19.7	147	309	117
81	ヒ <sup>ド</sup> リフェノックス	ヒ <sup>ド</sup> リフェノックス (Z) ヒ <sup>ド</sup> リフェノックス (E)	14.4 14.9	262 262	187 187	171 171
82	ヒ <sup>ド</sup> リブ <sup>ン</sup> チカルブ <sup>ン</sup>	ヒ <sup>ド</sup> リブ <sup>ン</sup> チカルブ <sup>ン</sup>	17.6	165	108	181
83	ヒ <sup>ド</sup> リミジ <sup>ン</sup> フェン	ヒ <sup>ド</sup> リミジ <sup>ン</sup> フェン	21.2	184	186	161
84	ヒ <sup>ド</sup> リミホスメチル	ヒ <sup>ド</sup> リミホスメチル	13.3	290	305	233
85	ヒ <sup>ド</sup> ンクロゾ <sup>ン</sup> リン	ヒ <sup>ド</sup> ンクロゾ <sup>ン</sup> リン	12.7	285	187	212
86	フィブ <sup>ン</sup> ロニル	フィブ <sup>ン</sup> ロニル	14.4	367	351	369
87	フェナミホス	フェナミホス	15.1	303	154	217
88	フェナリモル	フェナリモル	19.0	139	219	107
89	フェントロチオン	フェントロチオン	13.2	260	277	109
90	フェンクロールホス	フェンクロールホス	13.0	285	287	125
91	フェンシルホチオン	フェンシルホチオン	16.1	293	308	125
92	フェントエート	フェントエート	14.5	274	246	135
93	フェンハ <sup>ル</sup> レート	フェンハ <sup>ル</sup> レート-1 フェンハ <sup>ル</sup> レート-2	21.4 21.5	419 419	167 167	125 125
94	フェンブ <sup>ン</sup> ロバ <sup>ン</sup> トリン	フェンブ <sup>ン</sup> ロバ <sup>ン</sup> トリン	18.0	181	349	265
95	フサライト <sup>ン</sup>	フサライト <sup>ン</sup>	14.0	243	272	179
96	ブ <sup>ン</sup> タミホス	ブ <sup>ン</sup> タミホス	15.2	286	200	152
97	ブ <sup>ン</sup> ヒ <sup>ド</sup> リメート	ブ <sup>ン</sup> ヒ <sup>ド</sup> リメート	15.7	273	208	316
98	ブ <sup>ン</sup> ブ <sup>ン</sup> ロフェジ <sup>ン</sup>	ブ <sup>ン</sup> ブ <sup>ン</sup> ロフェジ <sup>ン</sup>	15.6	172	105	119
99	フルアクリヒ <sup>ド</sup> リム	フルアクリヒ <sup>ド</sup> リム	16.5	204	145	189
100	フルキンコナゾ <sup>ン</sup> ール	フルキンコナゾ <sup>ン</sup> ール	19.8	340	342	108
101	フルシトリネート	フルシトリネート-1 フルシトリネート-2	20.6 20.8	199 199	157 157	451 451
102	フルトラニル	フルトラニル	15.2	173	323	281
103	フルハ <sup>ル</sup> リネート	フルハ <sup>ル</sup> リネート-1 フルハ <sup>ル</sup> リネート-2	21.5 21.6	250 250	252 252	200 200
104	ブ <sup>ン</sup> ロシミト <sup>ン</sup>	ブ <sup>ン</sup> ロシミト <sup>ン</sup>	14.6	283	212	96
105	ブ <sup>ン</sup> ロチオホス	ブ <sup>ン</sup> ロチオホス	15.3	309	267	113
106	ブ <sup>ン</sup> ロハ <sup>ル</sup> ホス	ブ <sup>ン</sup> ロハ <sup>ル</sup> ホス	14.8	304	220	262
107	ブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> サ <sup>ン</sup> ミト <sup>ン</sup>	ブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> サ <sup>ン</sup> ミト <sup>ン</sup>	11.6	173	175	145
108	ブ <sup>ン</sup> ロフェノホス	ブ <sup>ン</sup> ロフェノホス	15.4	339	139	97
109	ブ <sup>ン</sup> ロモブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> レート	ブ <sup>ン</sup> ロモブ <sup>ン</sup> ロビ <sup>ン</sup> レート	17.8	341	183	185
110	ブ <sup>ン</sup> ロモホス	ブ <sup>ン</sup> ロモホス	14.0	331	125	79
111	ベルメトリン	ベルメトリン-1 ベルメトリン-2	19.6 19.7	183 183	163 163	165 165
112	ベ <sup>ン</sup> ンコナゾ <sup>ン</sup> ール	ベ <sup>ン</sup> ンコナゾ <sup>ン</sup> ール	14.3	248	159	213
113	ベ <sup>ン</sup> ンテ <sup>ン</sup> イメタリン	ベ <sup>ン</sup> ンテ <sup>ン</sup> イメタリン	14.3	252	281	162
114	ベ <sup>ン</sup> ンフルラリン	ベ <sup>ン</sup> ンフルラリン	10.5	292	264	276
115	ホサロン	ホサロン	18.5	182	367	121
116	ホスチアゼ <sup>ン</sup> ート	ホスチアゼ <sup>ン</sup> ート-1 ホスチアゼ <sup>ン</sup> ート-2	14.0 14.0	195 195	283 283	139 139
117	ホスファミト <sup>ン</sup>	ホスファミト <sup>ン</sup> -1 ホスファミト <sup>ン</sup> -2	11.8 12.5	264 264	72 72	127 127
118	ホスメット	ホスメット	17.8	160	161	133
119	ホノホス	ホノホス	11.6	109	137	246
120	ホルモチオン	ホルモチオン	12.3	125	93	126
121	ホレート	ホレート	10.7	75	121	260
122	マラチオン(マラゾン)	マラチオン(マラゾン)	13.4	173	158	93

No	品目名	分析対象化合物名	保持時間 (min)	定量イオン (m/z)	定性イオン 1 (m/z)	定性イオン 2 (m/z)
123	マイクロタニル	マイクロタニル	15.6	179	288	150
124	メカルバム	メカルバム	14.4	131	159	97
125	メタクリホス	メタクリホス	8.6	125	180	93
126	メチダチオン	メチダチオン	14.8	145	302	85
127	メビソホス	メビソホス	7.8	127	192	164
128	モノクロトホス	モノクロトホス	10.5	127	192	164
129	モリネート	モリネート	9.0	126	55	83

表 4 LC/MS/MS による分析対象農薬および分析条件

No	品目名	分析対象 化合物名	保持時間 (min)	ESI	Q1 (m/z)	定量条件			定性条件		
						Q3 (m/z)	Cone (V)	Coll (eV)	Q3 (m/z)	Cone (V)	Coll (eV)
1	アジソホスメチル	アジソホスメチル	18.3	+	318	160	15	5	132	15	19
2	アニコホス	アニコホス	21.4	+	368	199	25	12	125	25	33
3	アハメクチン	アハメクチン B1a	25.3	+	891	305	15	33	567	15	19
4	イソキサフルトール	イソキサフルトール	17.6	+	360	251	25	12	144	25	61
5	イプロバリカルブ	イプロバリカルブ	20.3	+	321	119	15	19	203	15	12
6	イミダクロプリド	イミダクロプリド	9.2	+	256	209	25	19	175	25	19
7	イントキサカルブ	イントキサカルブ	22.3	+	528	150	25	26	203	25	40
8	オキシカルホキシ	オキシカルホキシ	11.5	+	268	175	15	12	147	15	26
9	オリザリン	オリザリン	20.5	-	345	281	35	19	78	35	40
10	クロキントセットメキシル	クロキントセットメキシル	23.4	+	336	238	25	19	192	25	33
11	クロチアニジン	クロチアニジン	9.5	+	250	169	15	12	132	15	12
12	クロマフェノシト	クロマフェノシト	20.2	+	395	175	15	12	339	15	5
13	クロメプロップ	クロメプロップ	23.2	+	324	120	25	26	203	25	12
14	クロリダゾン	クロリダゾン	10.7	+	222	92	35	26	104	35	26
15	シフルフェナミド	シフルフェナミド	21.9	+	413	295	25	19	203	25	47
16	シメコナゾール	シメコナゾール	20.5	+	294	70	25	19	73	25	33
17	シメチリモール	シメチリモール	17.1	+	210	71	35	33	140	35	19
18	チアクロプリド	チアクロプリド	11.7	+	253	126	25	19	90	25	40
19	チアベンタゾール	チアベンタゾール	13.7	+	202	175	35	26	131	35	33
20	チアメトキサム	チアメトキサム	7.8	+	292	211	15	12	181	15	26
21	チプロアエリト	チプロアエリト	20.9	+	292	171	25	12	120	25	26
22	ヒリフタリト	ヒリフタリト	18.5	+	319	139	35	33	179	35	33
23	フェノキシカルブ	フェノキシカルブ	21.0	+	302	116	15	12	88	15	19
24	フェンメテイファム	フェンメテイファム	18.2	+	318	168	15	12	136	15	26
25	ブタフェナシル	ブタフェナシル	20.2	+	492	331	15	26	180	15	47
26	ヘンゾフェナップ	ヘンゾフェナップ	22.8	+	431	105	35	33	119	35	19
27	メトキシフェノシト	メトキシフェノシト	19.7	+	369	149	15	19	91	15	47
28	ラクトフェン	ラクトフェン	23.0	+	479	344	15	12	223	15	40



表 5 GC/MS および LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価試験結果

No	品目名	ざいも	だいの根	キャベツ	カリフラ	ブロッコリー	レタス	アスパラガス	にんじん	トマト	ピーマン	きゅうり	かぼちゃ	ほうれんそう	たけのこ	えんどう	未成熟	未成熟
GC-1	EPN																	
2	アサコナリール	○	○	○	○	-	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
3	アサキストロピン	○	○	-	○	-	○	-	-	○	-	○	-	○	○	○	○	○
4	アトラン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
5	アラクロール	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
6	イソキサ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
7	イソキサホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
8	イソキサチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
9	イソキサチール P	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
10	エタラフルリン	-	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
11	エチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
12	エテイブホス	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
13	エトアホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
14	エトリムホス	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
15	エントスルファン	-	-	-	-	-	○	-	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-
16	オキサチオン	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
17	オキシフルオフェン	-	○	○	○	○	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
18	オメト	-	○	-	-	-	○	-	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-
19	カスチホス	○	○	-	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
20	カエンストロール	○	○	-	-	-	○	○	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-
21	カルボフェンチオン	-	○	○	-	○	○	-	-	-	-	○	-	-	-	-	-	-
22	キナルホス	○	-	○	○	○	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
23	キノキサエン	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
24	キノキサチン	○	○	○	○	-	○	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○
25	キノキサチン	-	○	-	-	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
26	クロキサチンメチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
27	クロキサチンメチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
28	クロキサチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
29	クロキサチンメチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
30	クロキサチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
31	クロキサチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
32	クロキサチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
33	クロキサチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
34	サリチオン	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
35	シアチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
36	シアチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
37	シアチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
38	ジクロホス	○	○	-	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
39	ジクロホスチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
40	ジクロホスチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
41	ジクロホスチン	-	○	-	○	-	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
42	ジクロホスチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	品目名	さといも	だい の 根	キャベツ	カリ フラ	ブ ロッ コ	レ タ ス	ア ス パ ラ	に ん じ ん	ト マ ト	ピー マ ン	き ぬ う り	か ぼ ち や	ほう れん そう	た け の こ	未 成 熟 えん どう	未 成 熟 い ん げ ん
43	シロトリン			○													
44	シロホップ		○				○										
45	シロホップ		○				○										
46	シロホップ																
47	シロホップ		○				○										
48	シロホップ						○										
49	シロホップ						○										
50	シロホップ						○										
51	シロホップ	○	○														
52	シロホップ	○	○														
53	シロホップ	○					○										
54	シロホップ																
55	シロホップ	○	○				○										
56	シロホップ			○													
57	シロホップ	○	○				○										
58	シロホップ						○										
59	シロホップ	○	○				○										
60	シロホップ																
61	シロホップ		○														
62	シロホップ		○														
63	シロホップ	○	○				○										
64	シロホップ		○														
65	シロホップ		○														
66	シロホップ		○														
67	シロホップ																
68	シロホップ	○	○				○										
69	シロホップ	○	○				○										
70	シロホップ		○														
71	シロホップ	○	○														
72	シロホップ		○														
73	シロホップ	○	○				○										
74	シロホップ																
75	シロホップ																
76	シロホップ		○														
77	シロホップ	○	○														
78	シロホップ	○	○														
79	シロホップ		○														
80	シロホップ	○	○														
81	シロホップ		○														
82	シロホップ	○	○														
83	シロホップ	○	○														
84	シロホップ	○	○														
85	シロホップ	○	○														
86	シロホップ	○															

No	品目名	さといも	だいごん	キャベツ	カリフラ	ブロッコ	レタス	アスパラ	にんじん	トマト	ピーマン	きゅうり	かぼちや	ほうれん	たけのこ	えんどう	未成熟	未成熟
87	フェチメス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
88	フェカリセル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
89	フェイトロチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
90	フェンコロホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
91	フェンスルホチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
92	フェントエート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
93	フェンハ・レート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
94	フェンブ・ロハ・トリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
95	フサライト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
96	フタホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
97	フビ・リメート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
98	フブ・ロフェジン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
99	フルアクリビ・リム	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
100	フルキンコゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
101	フルジリネート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
102	フルトフェル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
103	フルハ・リネート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
104	フロシトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
105	フロチホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
106	フロハホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
107	フロビ・サミト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
108	フロフェ/ホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
109	フロモア・ロビ・レート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
110	フロモホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
111	ハルメトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
112	ペンコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
113	ペンデ・イメトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
114	ペンフルアリリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
115	ホチロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
116	ホスチア・レート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
117	ホスチア・トリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
118	ホスチアット	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
119	ホスホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
120	ホスチアチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
121	ホレート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
122	マアチオン(マアリン)	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
123	シクロ・フェル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
124	メカルバム	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
125	メタクリホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
126	メチチアチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
127	メチンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
128	モ/クロトホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
129	モリネート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
LC-1	アジンホスチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	品目名	ざといも	だいの根	キャベツ	カリフラ	ブロッコリー	レタス	アスパラガス	にんじん	トマト	ピーマン	きゅうり	かぼちや	ほうれんそう	たけのこ	えんどう	未成熟	未成熟
2	アピホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
3	アハメカチン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
4	イキサフルトル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
5	イロバカリカス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
6	イタダクアブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
7	イントキカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
8	オキカルホキシン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
9	オリサリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
10	クロキトキットキシル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
11	クロチアニン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
12	クロマエノジト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
13	クロマエノジト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
14	クロリダノシン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
15	シロメノジト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
16	シロメノジト	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
17	シメシメ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
18	チアアブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
19	チアハシタノ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
20	チアトキキム	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
21	チアトキキム	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
22	ヒノリカ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
23	フェノキカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
24	フェノキカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
25	フェノキカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
26	ハシノ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
27	メトキアノ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
28	メトキアノ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○：適合，－：不適合																		
GC/MSによる農産物中の残留農薬一斉試験法																		
適合数		81	111	91	79	76	100	107	80	93	103	101	90	95	84	95	93	93
適合割合 (%)		63	86	71	61	59	78	83	62	72	80	78	70	74	65	74	72	72
LC/MS/MSによる農産物中の残留農薬一斉試験法																		
適合数		28	24	28	26	24	28	26	27	27	24	26	24	27	27	26	26	26
適合割合 (%)		100	86	100	93	86	100	93	96	96	86	93	86	96	96	93	93	93
全体																		
適合数		109	135	119	105	100	128	133	107	120	127	127	114	122	111	121	119	119
適合割合 (%)		69	86	76	67	64	82	85	68	76	81	81	73	78	71	77	76	76

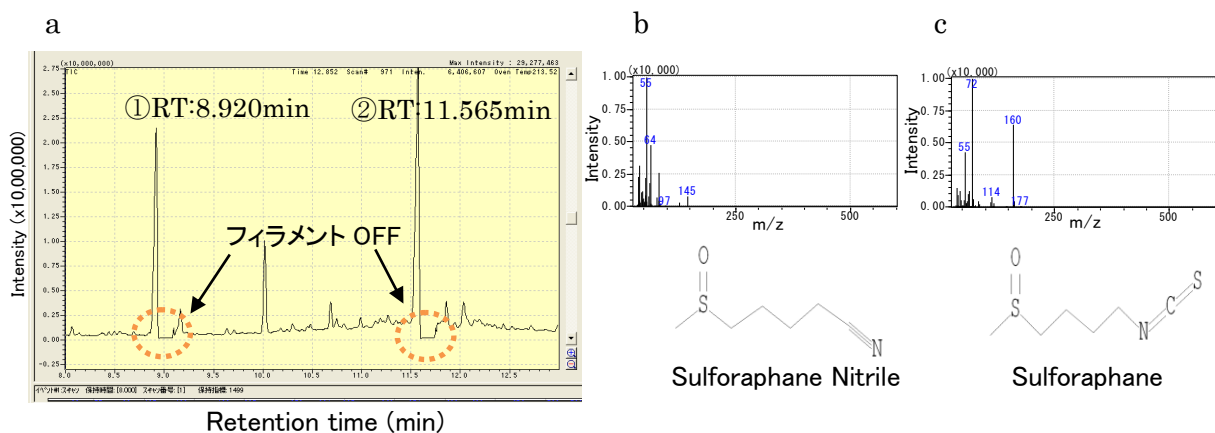


図1 キャベツ試料の GC-MS 測定に影響するピーク  
 (a) SCAN によるクロマトグラフ, (b, c) GC/MS 測定に影響するピークのマススペクトル ((b) ①RT.8.920min および (c) ②RT.11.565min) とその類似性検索結果の化合物

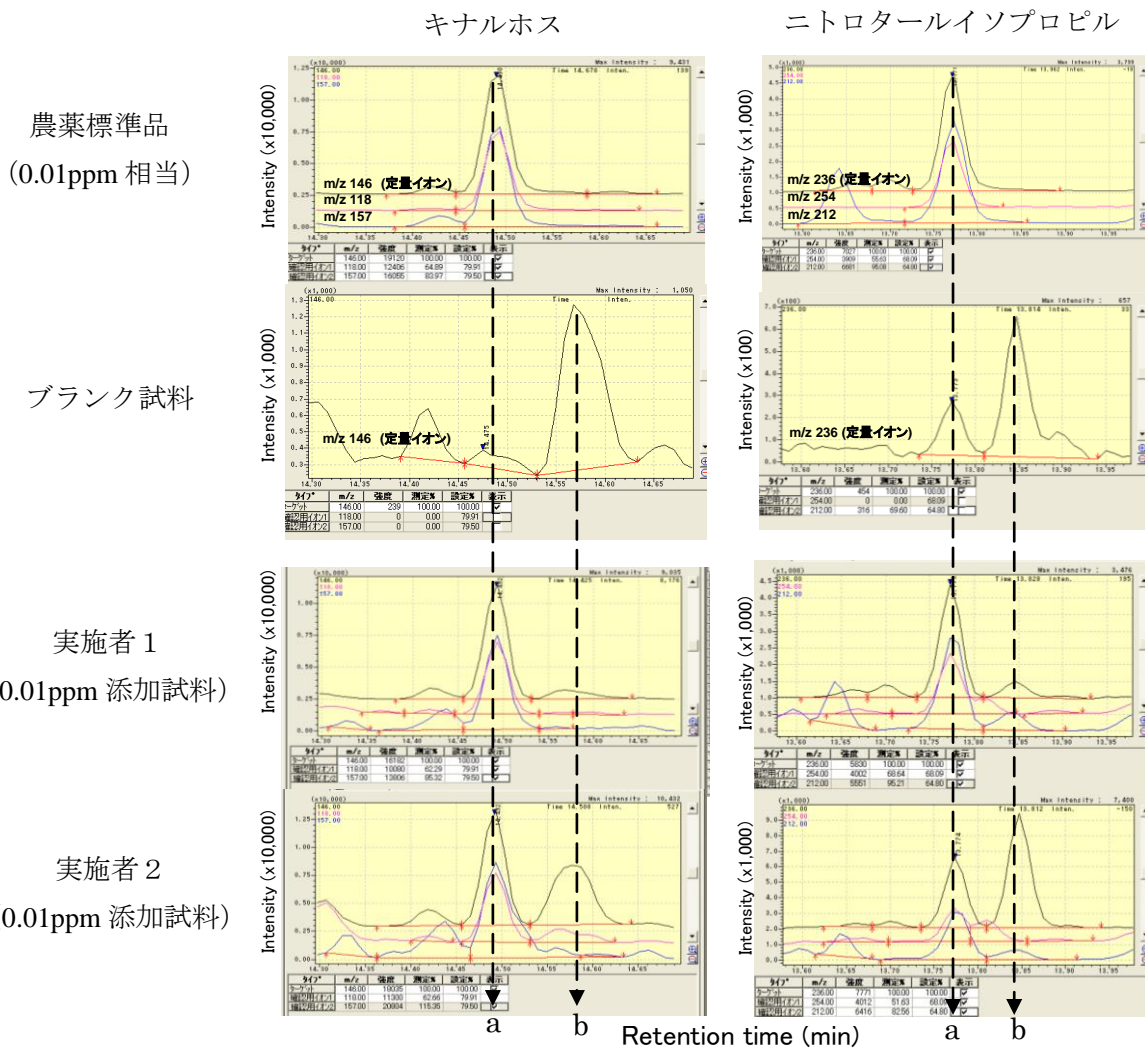


図2 かぼちゃ試料の GC-MS 測定での枝分かれ試験 (実施者) による影響  
 a 標準品のピーク, b かぼちゃ由来と思われる妨害ピーク

## 危険ドラッグ中の指定薬物試験検査結果について -平成25年度～平成27年度-

○佐藤真由美, 山形明広, 萩原彩子, 石井崇司, 立原幹子, 小室道彦, 大曾根圭子

### 要旨

平成 25 年度から平成 27 年度に当所にて行った危険ドラッグ中の指定薬物検査について試験結果を報告する。買上げ検査を行い、植物片 20 検体、粉末状 7 検体、液体状 7 検体について GC/MS を用いたスクリーニング検査を実施した。指定薬物等が検出された検体は、平成 25 年度は 25I-NBOMe が 1 検体、5F-QUPIC が 1 検体、平成 26 年度は  $\alpha$ -PVP が 1 検体であった。これらの検体に対し、GC/MS/MS および LC/MS を用いて確認検査を行い成分の同定を行った。

キーワード：危険ドラッグ, 指定薬物, 25I-NBOMe, 5F-QUPIC,  $\alpha$ -PVP

### はじめに

危険ドラッグとは、麻薬・覚せい剤などに指定されていないが、それらと類似の効果を期待して合成された、有害性が疑われる薬物である。お香、アロマオイルなどに見せかけて「合法ドラッグ」、「合法ハーブ」などと称して販売されている。危険ドラッグの中には、覚せい剤や麻薬よりも危険な物質が含まれていることもあり、使用すると意識障害やおう吐、けいれん、錯乱などを起こし、緊急搬送された事例や死亡事故、事件が発生している。

茨城県では、危険ドラッグに起因する健康被害等が深刻な社会問題となっていることから、保健衛生上の危害防止及び市場への流通防止を図るため、危険ドラッグと疑われる商品の買上げ試験検査を実施している。平成 25 年度から平成 27 年度にかけて、当所にて実施した検査について報告する。

### 実験方法

#### 1 試料

県内の販売店舗およびインターネット上で

販売されている商品を買上げ調査対象とした。各年度における件数及び試料形状は以下のとおりである。

平成 25 年度は 21 検体(植物片 13, 粉末状 5, 液体状 3), 平成 26 年度は、5 検体(植物片 2, 粉末状 2, 液体状 1), 平成 27 年度は 8 検体(植物片 5, 液体状 3)であった。

### 2 試薬

メタノール：LC/MS 用

ギ酸：特級

ギ酸アンモニウム：特級

アセトニトリル：LC/MS 用

#### 1)試験液の調製

植物片は適量分取し、フィンガーマッシャーで粉末化したもの 10mg, 粉末状試料はその 10mg, 液体状試料はその 10  $\mu$ l を量りとり、メタノール各 1ml 加え、超音波で 5 分間抽出した。抽出後、0.45  $\mu$  m Ultrafree-MC でろ過し試験溶液とした。

#### 2)測定機器

GC/MS

島津製作所製 GC/MS-YQ8030NC  
昇温: 60°C(2min)→10°C/min→320°C(10min)  
注入口温度: 260°C  
カラム: Rxi-5Sil MS (30m×0.25mm, 0.25 μm)  
流速: 1.56ml/min(He, constant flow)  
注入量: 1 μl  
測定範囲: 35~700m/z

#### GC/MS/MS

島津製作所製 GC/MS-YQ8030NC  
昇温: 60°C(2min)→10°C/min→320°C(10min)  
注入口温度: 260°C  
カラム: Rxi-5Sil MS (30m×0.25mm, 0.25 μm)  
流速: 1.56ml/min(He, Ar, constant flow)  
注入量: 1 μl

#### LC/MS

ABSCIEX 製 API-2000  
カラム: Atlantic T3 (2.1×150mm, 5 μm)  
カラム温度: 40°C  
流速: 0.3 ml/min  
注入量: 1 μl  
移動相 A 液: 10mM ギ酸アンモニウム緩衝液 (pH3.0)  
B 液: アセトニトリル  
グラジエント条件: 0 分(A/B=90/10) →  
50 分(80/20) →60 分(30/70) →  
75 分(90/10)  
イオン化法: ESI ポジティブ  
イオンスプレー電圧: 5500V  
イオン源温度: 500°C

#### 結果

検出された成分および試料を表 1 に示した。

##### 1) 平成 25 年度

植物片 13 検体, 粉末状 5 検体, 液体状 3 検体の計 21 検体について, GC/MS によるスクリーニング検査を行った。その結果, 液体状の試料より 25I-NBOMe(図 1,2,3)が, 植物片より

5f-QUPIC(図 4,5,6)が検出された。GC/MS において, 標準品と比較検討後, GC/MS/MS および LC/MS を用いて確認を行った。

##### ①25I-NBOMe の検出

GC/MS/MS を用いて, 121-91, 77, 65 の確認イオンとイオン比の比較を行った。標準品と検体のマススペクトルが一致した。

LC/MS を用いて, 標準品及び検体のマススペクトルを比較したところ, m/z 428 で一致した。

よって, 25I-NBOMe と同定した。

##### ②5F-QUPIC の検出

GC/MS/MS を用いて, m/z 232-144, 116, 69, 144-116, 89, 116-89 の確認イオンとイオン比の比較を行った。標準品と検体のマススペクトルが一致した。

LC/MS を用いて, 標準品及び検体のマススペクトルを比較したところ, m/z 377 で一致した。

よって, 5F-QUPIC と同定した。

##### 2) 平成 26 年度

植物片 2 検体, 粉末状 2 検体, 液体状 1 検体の計 5 検体について, GC/MS によるスクリーニング検査を行った。その結果, 粉末状の試料より α-PVP(図 7,8,9)が検出された。GC/MS において, 標準品と比較検討後, GC/MS/MS および LC/MS を用いて確認を行った。

##### α-PVP の検出

GC/MS/MS を用いて, m/z 126-97, 84, 69, 84-55, 56, 77-51 の確認イオンとイオン比の比較を行った。標準品と検体のマススペクトルが一致した。

LC/MS を用いて, 標準品及び検体のマススペクトルを比較したところ, m/z 232 で一致した。

よって, α-PVP と同定した。

### 3)平成 27 年度

植物片 5 検体, 液体状 3 検体の計 8 検体について, GC/MS によるスクリーニング検査を行ったが, 指定薬物等は検出されなかった。

#### 考察

平成 25 年は県内 2 店舗より, 平成 26 年度は県内 1 店舗より試買を行った。購入したそれぞれの店舗の検体より指定薬物または麻薬が検

出された。

平成 25 年度の検査において検出された 25I-NBOMe は, 平成 24 年 10 月 17 日に指定薬物に指定され, その後平成 27 年 10 月 2 日に麻薬に指定された。平成 24 年 10 月にすでに麻薬として規制されている 2C-I と類似の構造をしており, 幻覚作用をもつ薬物である。5F-QUPIC は, 合成カンナビノイドの 1 種である。平成 25 年に合成カンナビノイドの包括指定が開始されたが, 規制の対象にはならなかったため, 国内に数多く流通した。平成 25 年 10 月 21 日に指定薬物に指定され, その後平成 26 年 7 月 2 日に麻薬に指定された。α-PVP は, 中枢神経に強い興奮作用をもつ薬物である。平成 24 年 10 月 17 日に指定薬物に指定され, その後平成 25 年 1 月 30 日に麻薬に指定された。

このように次々と規制が強化された影響もあつてか, 平成 27 年度の検体からは指定薬物等は検出されなかった。

なお, 検体によっては, 指定薬物等が低濃度で含有されている成分があるため, スクリーニングの濃度に注意する必要がある。

#### まとめ

平成 25 年度から平成 27 年度に当所にて危険ドラッグ中の指定薬物検査を行った。茨城県内の販売店舗およびインターネット上で販売さ

れている商品を対象に, 指定薬物のスクリーニング検査を行った。また, 平成 27 年 6 月 23 日より, 「茨城県薬物の濫用の防止に関する条例」が施行されたことをうけ, 平成 27 年度の検査より医薬品等法で指定されている指定薬物の他に, 知事指定薬物の検査をあわせて行った。GC/MS, GC/MS/MS および LC/MS を用いて分析を行い, 25I-NBOMe, 5F-QUPIC, α-PVP を同定した。

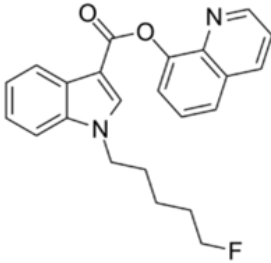
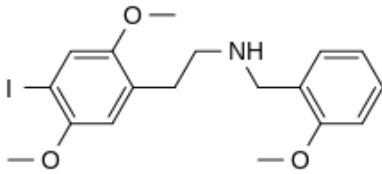
今後も新たな成分が含有された危険ドラッグが登場することが予測されるため, さらなる分析技術の向上が必要である。また, 危険ドラッグによる健康被害を防ぐために, 情報収集や他機関との連携を深め協力体制を築くことが重要である。

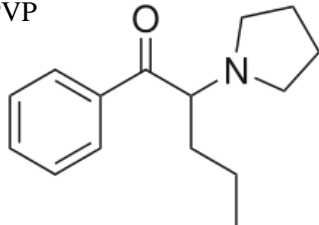
#### 文献

1) 厚生労働省監視指導・麻薬対策課長通知: 薬食監麻発第 0521002 号, 指定薬物の分析法について, 2007



表1 検出一覧

年度	製品名	試料形状	検出された成分
平成 25 年度	仁+ADVANCE	植物片	
	剛+ADVANCE	植物片	
	元帥 Respect	植物片	5F-QUPIC 
九州香 黄	植物片		
TEPODON2 号 from agatte	植物片		
RUSH trip ネストステージ 11	植物片		
Original Spice Gold ARCTIC	植物片		
KISS Me	植物片		
Hot Stuff Another	植物片		
HONEY FLASH flame02	植物片		
Fairy Another	植物片		
Chary Army	植物片		
Butterfly TASAKA special Mix	植物片		
ULTIMATE Lightning -Pit bull-	粉末状		
SPEED STAR SUPER SONIC	粉末状		
Lion Heart AQUARIUS	粉末状		
EFFECT Brain fall NEW5th	粉末状		
Crystal Crack Coke	粉末状		
Jewely Pink Love 6ml	液体状	25I-NBOMe 	
EroTopia With me...	液体状		
Alexandra 5ml	液体状		

年度	製品名	試料形状	検出された成分
平成 26 年度	RUSH SPEED 12	植物片	$\alpha$ -PVP 
	Sexual GOLD	植物片	
	Eye of The Tiger	粉末状	
平成 27 年度	ULTIMATE Erotica	粉末状	
	Crystal Liquid パープル	液体状	
	オリジナルハーブ	植物片	
	エルダーフラワー		
	ハーブ (レモンバーム)	植物片	
	ハーブ (ラベンダー)	植物片	
	ハーブ (カモミールジャーマン)	植物片	
	ハーブ (パッションフラワー)	植物片	
	アロマオイル (ラベンダーフレンチ)	液体状	
	アロマオイル(ベルガモット)	液体状	
アロマオイル (スイートオレンジ オーストラリアン)	液体状		

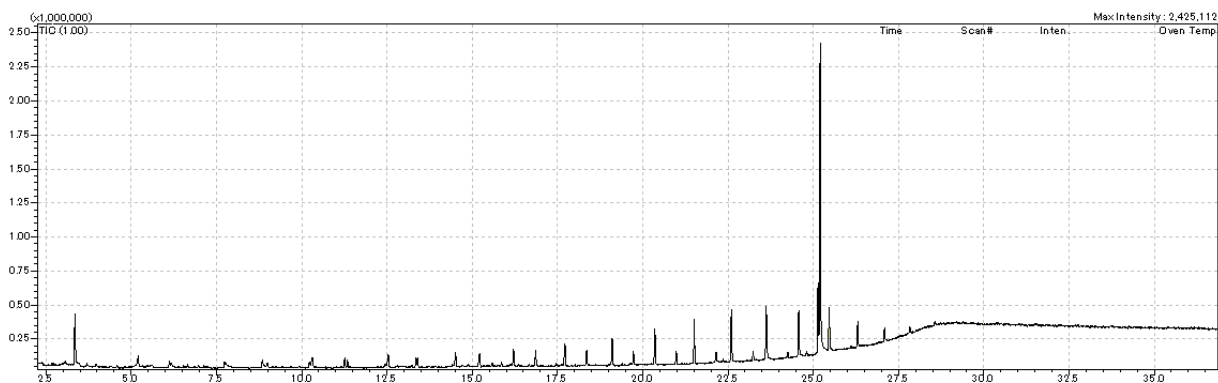


図 1 GC/MS 25I-NBOMe クロマトグラム

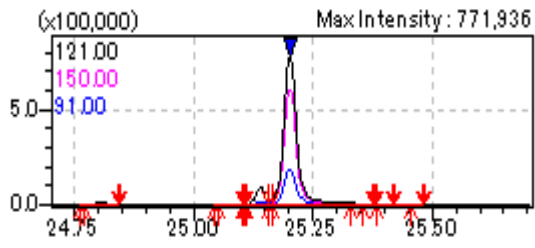


図2 GC/MS 25I-NBOMe クロマトグラム

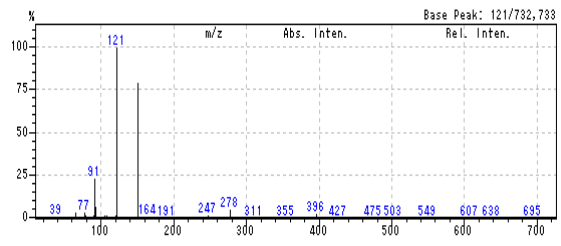


図3 GC/MS 25I-NBOMe マススペクトル

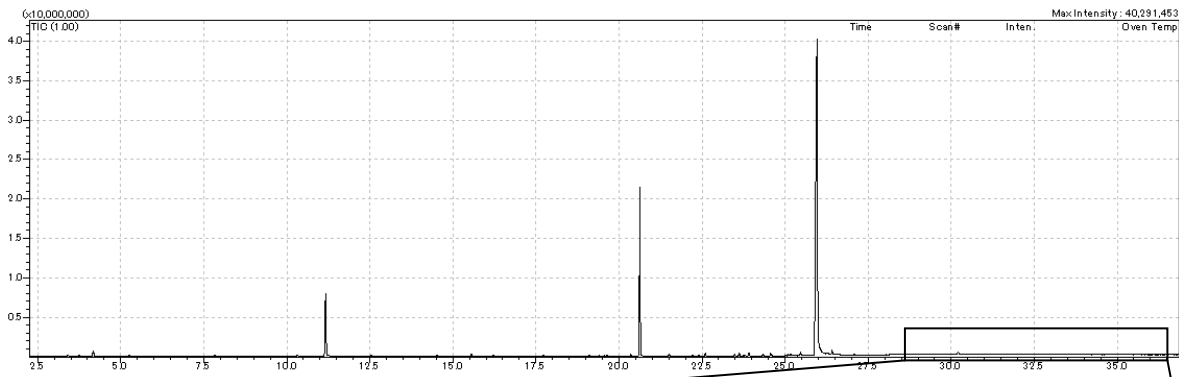


図4 GC/MS 5F-QUPIC クロマトグラム

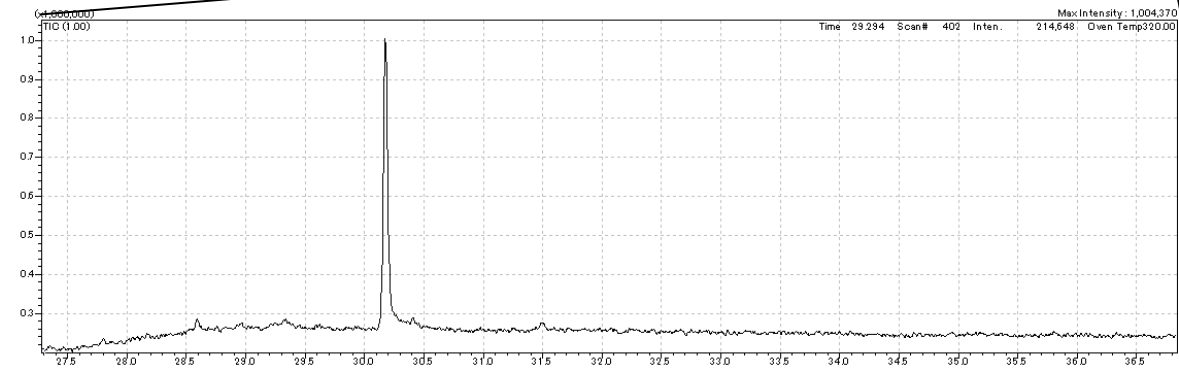


図5 GC/MS 5F-QUPIC クロマトグラム

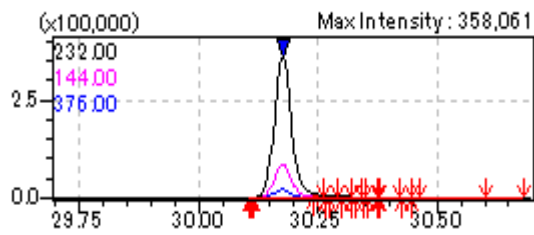


図5 GC/MS 5F-QUPIC クロマトグラム

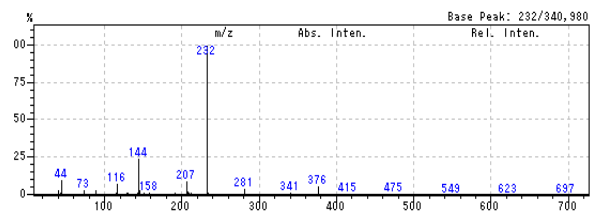


図6 GC/MS 5F-QUPIC マススペクトル

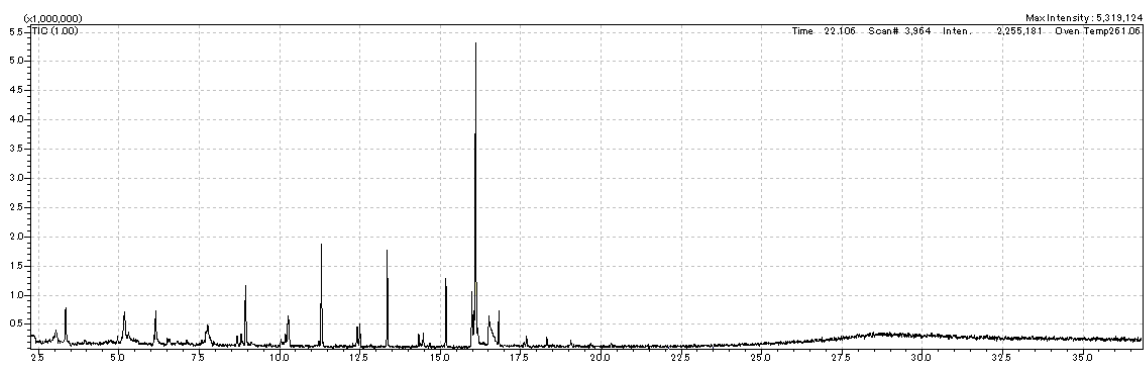


図7 GC/MS  $\alpha$ -PVP クロマトグラム

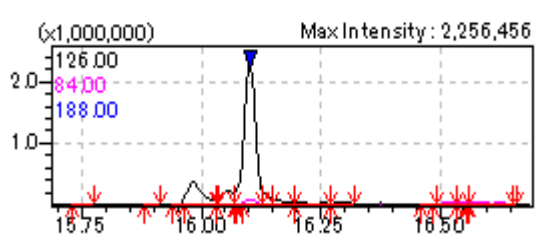


図8 GC/MS  $\alpha$ -PVP クロマトグラム

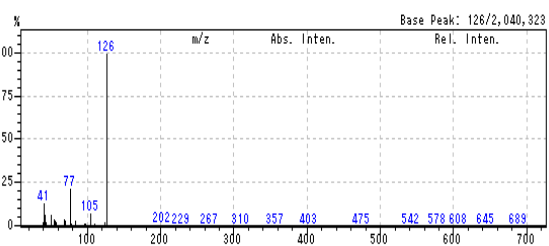


図9 GC/MS  $\alpha$ -PVP マスペクトル

## 第 4 章 そ の 他



1. 外部人材育成, 教育活動

保健所職員, 地域保健関係者等を対象とした研修会等の実施状況は表 1 のとおりである。

表 1 研修会等の実施状況

研修会等の名称	対象	開催日	参加人数	担当部署
平成 27 年度新規感染症担当者研修会	新規感染症担当者	H27.5.21	17 名	企画情報部 細菌部 ウイルス部
感染症発生動向調査等においてゆうパックにより検体を送付するための研修会	県内医療機関及び保健所等関係者	H27.5.29	39 名	細菌部
蚊媒介性感染症に関する説明会	公園管理者及び保健所職員等	H27.6.3	50 名	ウイルス部
感染症対策講習会	茨城県ペストコントロール協会会員等	H27.7.15	70 名	ウイルス部
学校欠席者情報収集システム担当者研修会	学校等関係者 行政担当者	H27.8.20 H27.8.21 H27.8.28 H27.9.8	258 名	企画情報部
茨城県庁インターンシップ実施要領に基づく学生指導協力 (日本獣医生命科学大学)	大学生	H27.9.17	1 名	各部
地域保健実習 (獨協医科大学)	大学生	H27.11.13	5 名	各部
感染症対策伝達講習会	保健所・衛生研究所 感染症担当者	H27.12.10	19 名	企画情報部 細菌部 ウイルス部
出前講座	JA 高萩介護支援センター職員	H28.1.20	20 名	ウイルス部
地域保健実習 (筑波大学)	大学生	H28.2.12	6 名	各部
感染症発生状況調査等においてゆうパックにより検体を送付するための更新者研修会	県内医療機関及び保健所等関係者	H28.3.11	34 名	細菌部

## 2. 学会発表

代表執筆者を含め、所内研究者を下線で示した。

学校欠席者情報収集システムを活用した麻疹および風しんの早期探知・早期対応，渡邊 美樹，高木 英，永田 紀子，長洲 奈月，栗田 順子，菅原 民枝，大日 康史，第 74 回日本公衆衛生学会総会（長崎市）

茨城県での学校欠席者情報収集システムを用いたインフルエンザの情報発信に関する検討，栗田 順子，長洲 奈月，渡邊 美樹，高木 英，入江 ふじこ，第 74 回日本公衆衛生学会総会（長崎市）

平成 26 年度に茨城県で集団下痢症事例から分離された *Campylobacter jejuni* の分子疫学解析，木澤 千里，相原 義之，山本 和則，増子 京子，第 48 回茨城県公衆衛生獣医師協議会業務業績発表会（水戸市）

茨城県における *Campylobacter jejuni* の PFGE 法を用いた分子疫学解析，木澤 千里，相原 義之，山本 和則，増子 京子，第 36 回日本食品微生物学会学術総会（川崎市）

茨城県内で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒事例について，中本 有美，第 28 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会（静岡市）

茨城県におけるカビ苦情の検査依頼事例について，山城 彩花，第 28 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会（静岡市）

茨城県内で捕獲されたイノシシの遺伝子解析，小森 はるみ，本谷 匠，永田 紀子，会田 済，第 48 回茨城県公衆衛生獣医師協議会業務業績発表会（水戸市）

茨城県内のイノシシにおける E 型肝炎ウイルスの汚染状況調査，本谷 匠，第 30 回地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会（さいたま市）

茨城県内のイノシシにおける E 型肝炎ウイルスの汚染状況調査，本谷 匠，獣医学術関東・東京合同地区学会（横浜市）

アンチバイオグラムの共有による地域包括的な感染症対策 2，櫻井 直美，長峰 裕二，上岡 奈美，高橋 将，樗木 智聡，永田 紀子，永山 和宜，第 31 回日本環境感染学会総会・学術集会（京都市）

県内流通医薬品試験検査について，石井 崇司，第 26 回茨城県薬剤師学術大会（つくば市）



### 3. 他誌掲載論文等

代表執筆者を含め、所内研究者を下線で示した。

題名：関東ブロックにおける腸管出血性大腸菌の疫学解析及び共有化システムの構築に関する研究

著者名：甲斐 明美, 山城 彩花, 桐谷 礼子, 松井 重憲, 倉園 貴至, 平井 晋一郎, 古川 一郎, 松本 裕子, 植松 香里, 関口 真紀, 松橋 平太, 小西 典子, 尾畑 浩魅, 平井 昭彦

雑誌名：厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」平成 27 年度分担研究報告書

題名：茨城県の麻しん対策の歴史

著者名：永田 紀子

雑誌名：麻疹輸出国から麻疹排除国へ～麻疹排除に至るまでの 15 年間のあゆみ～

題名：2015/16 シーズン初めに分離されたインフルエンザウイルス

著者名：土井 育子, 黒澤 美穂, 梅澤 昌弘, 後藤 慶子, 本谷 匠, 永田 紀子, 渡邊 美樹, 深澤 亜季子, 藤島 和則, 高木 英, 高村 浩亮,

松本 綾香, 武藤 章代, 茂手木 甲壽夫

雑誌名：病原微生物検出情報

Vol.36.No.11(No.429)

題名：The high prevalence of hepatitis E virus infection in wild boars in Ibaraki Prefecture, Japan

著者名：Takumi Motoya, Noriko Nagata, Harumi Komori, Ikuko Doi, Miho Kurosawa, Toshimasa Keita, Nobuya Sasaki, Koji Ishii

雑誌名：The journal of veterinary medical science(2015)Dec;77(12):1705-1709

題名：Characterisation of meticillin-resistant Staphylococcus aureus ST97 and ST5 isolated from pigs in Japan

著者名：Tomomi Sato, Masaru Usui, Takumi Motoya, Terumi Sugiyama, Yutaka Tamura

雑誌名：Journal of Global Antimicrobial Resistance,3(2015) 283-285



茨城県衛生研究所年報 第54号

平成28年 12月発行  
編集兼発行 茨城県衛生研究所  
水戸市笠原町993-2  
電話 029-241-6652  
FAX 029-243-9550