

広島市衛生研究所年報

ANNUAL REPORT

OF

HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No. 39

(平成31年度)

広島市衛生研究所

はじめに

日頃より、本市衛生研究所の運営について御支援、御協力を賜り、誠にありがとうございます。

ここに、平成31年度に当所が実施した試験・検査、調査・研究等の結果を取りまとめた広島市衛生研究所年報第39号をお届けいたします。

元号が平成から令和に代わった昨年度を振り返ると、12月5日、6日の両日、当所が事務局となって第56回全国衛生化学技術協議会年会を開催いたしました。

年会には全国82機関から348名の皆様に御参加いただき、環境衛生、食品衛生、薬事衛生に関する研究発表や活発な討論、情報交換が行われました。

当所では、近年、このように大規模な研究会を開催した経験がなく、不安の中で準備を進めてまいりましたが、おかげさまで滞りなく事務局の大役を果たすことができました。改めて年会の開催にあたり御支援、御協力をいただいた皆様に対し、厚く御礼申し上げます。

その余韻も覚めぬ令和2年1月、中国武漢市に端を発した新型コロナウイルス感染症の患者が国内で初めて確認され、当所においても1月末にウイルス検査体制を確立し、直ちに検査に着手しました。

感染が全国に広がる中、3月6日に本市で初めての感染者が確認され、当所においても検査数が増加し所内の緊張が一気に高まりました。

さらに、年度が替わった4月には、市内でクラスターが発生して検査数が急増し、応援職員の配置や検査試薬、資材の手配など多忙を極めることとなりました。

一方で、新型コロナウイルス感染症の発生により、平時は市民の皆様、また、市組織内においても意識されることの少ない衛生研究所の存在が大きく注目されることとなり、「PCR検査」という語が広く市民に浸透することにもなりました。

新型コロナウイルス感染症への対応は、今後、長期にわたることが予想されますが、この健康危機に職員一丸となって対応してまいります。

関係者の皆様には、引き続き、当所の運営に関し御支援をいただきますとともに、本年報を御高覧いただき、御助言、御教示いただければ幸いです。

令和3年1月

広島市衛生研究所長 上田 茂

目 次

総 務

I	沿 革	1
II	組織機構及び業務内容	
1	組織及び業務内容	2
2	職員配置	3
III	庁舎及び施設概要	
1	建物・施設概要	4
2	庁舎配置図	4
IV	予算概要	
1	予算概要	5
2	平成 31 年度主要整備機器	5
V	会議・研修等	
1	会議	6
2	第 56 回全国衛生化学技術協議会年会	6
3	研修・講習会	7
4	所内研修	8
5	精度管理	9
6	研修指導	10
7	施設見学等	10

業務報告

生活科学部

1	疫学情報関連業務	11
2	環境衛生関連業務	13
3	食品化学関連業務	15

生物科学部

1	食品細菌関連業務	18
2	細菌病理関連業務	20

3 ウイルス関連業務	21
環境科学部	
1 水質関連業務	23
2 大気関連業務	25

調査研究報告

I 調査研究

1 繊維製品に含まれるアゾ化合物試験法の検討	27
2 大気環境中のダイオキシン類高濃度地点におけるレボグルコサン濃度調査結果 ..	36
3 微小粒子状物質成分調査結果	41

II 資料

1 広島市における感染症の発生動向(2019 年)	49
2 HPLC による食品中のポテトグリコアルカロイド分析法の検討	52
3 広島市における三類感染症の検査結果(2019 年)	55
4 広島市の細菌性寄生虫性集団食中毒検査状況(2019 年度)	57
5 <i>Campylobacter jejuni</i> の PCR 法による Penner 血清型別検査結果	58
6 2019 年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と 遺伝子解析	61
7 広島市で検出された基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生腸管出血性大腸菌感染症事 例の解析結果	66
8 広島市感染症発生動向調査事業におけるウイルス検出状況(2019 年)	70
9 一般食品からのノロウイルス検出法の検討ーパンソルビントラップ法の最適化ー ..	75
10 広島市における麻しん患者発生事例	80
11 広島市内における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の調査結果 (2019 年度)	83
12 広島湾における栄養塩類等の調査結果(第 4 報)	85
13 広島市における雨水成分調査(2019 年度)	89

III 抄 録

他紙掲載論文

- 1 広島市で分離された腸管出血性大腸菌 O157:H7 の分子疫学解析(2019 年度) ---- 95

学会発表

- 1 広島市における平成 30 年 7 月豪雨災害時の災害支援飲料水検査について ----- 96
- 2 広島市内産農産物における残留農薬調査(平成 21 年度～30 年度) ----- 96
- 3 広島市における5類感染症としてのカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況 96
- 4 一般食品からのノロウイルス検出法の検討-パンソルビントラップ法の最適化- ----- 96
- 5 PCR によるカンピロバクター・ジェジュニの Penner 血清型別法の検討 ----- 97

総 務

I 沿 革

II 組織機構及び業務内容

III 庁舎及び施設概要

IV 予算概要

V 会議・研修等

I 沿革

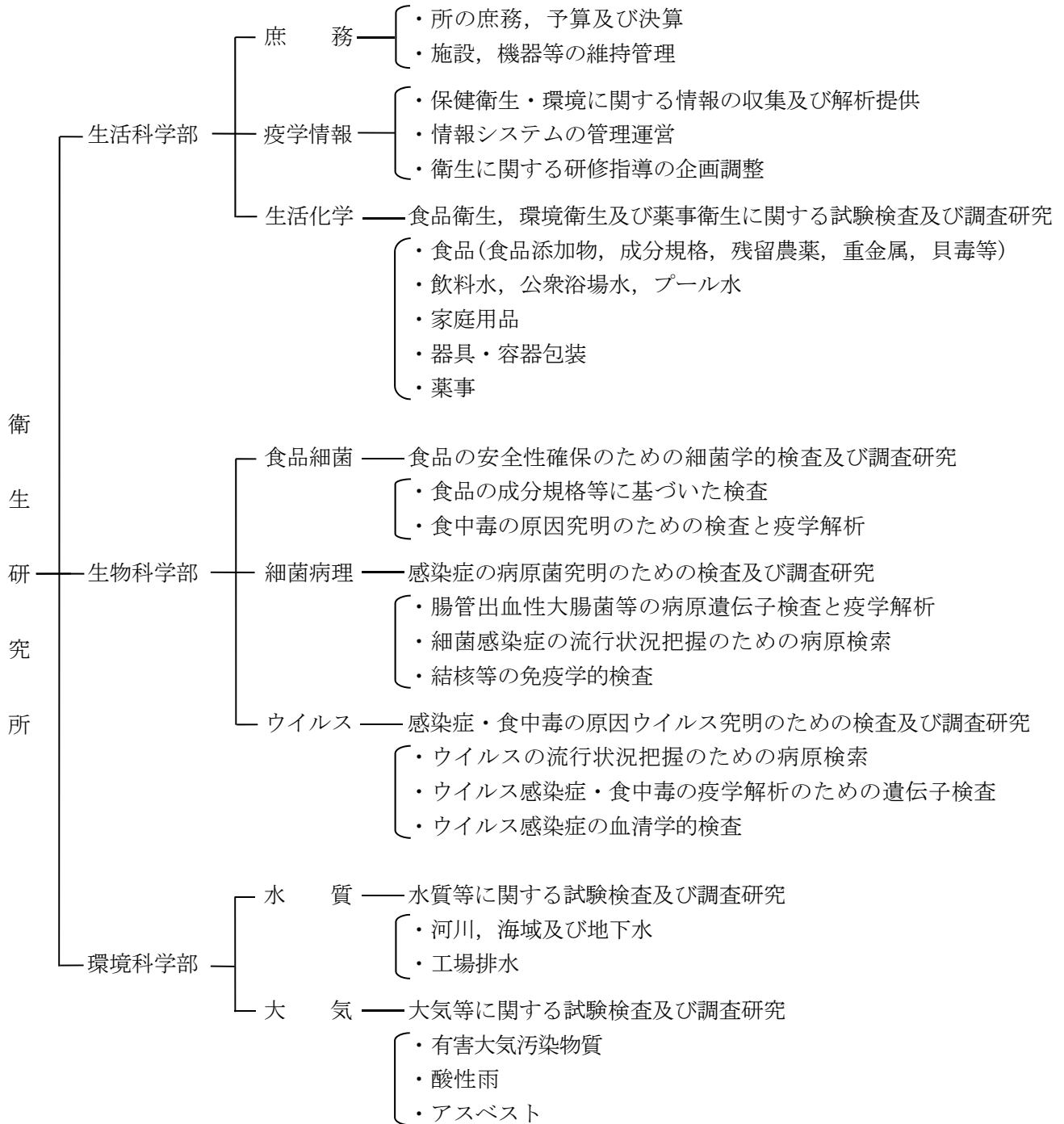
昭和25年7月、当所の前身である衛生試験室が、広島市保健所に設置された。その後、昭和44年4月衛生試験所として独立、昭和46年10月に公害試験所を分離設置し、市民生活の衛生的基盤の確立に努力してきた。

昭和55年政令指定都市への移行を機に、昭和57年4月衛生試験所と公害試験所を統合し衛生研究所を新設した。現在は、庶務・疫学情報・生活化学に関する業務を行う生活科学部、食品細菌・細菌病理・ウイルスに関する業務を行う生物科学部、水質・大気に関する業務を行う環境科学部の3部体制をとり、複雑多様化してきた公衆衛生に係る行政需要に対応している。

年	譜
昭和25年 7月	広島市保健所(昭和28年より東保健所)に衛生試験室を設置。
昭和44年 4月	衛生試験所条例施行により、東保健所の2階の一部に衛生試験所(化学試験係、細菌病理検査係)を設置。
昭和45年 1月	東保健所に増築された3階部分に移転。
昭和46年10月	化学試験係より公害関連業務を分離、環境保全部に公害試験所を新設。
昭和48年 4月	衛生試験所の係制を科制に変更。
昭和50年 7月	衛生試験所に環境科を新設し、化学試験科を食品科に改め、細菌病理科と合わせて3科体制となる。
昭和55年 3月	衛生研究所建設事業計画に基づいて、庁舎の建設に着手。
昭和55年 4月	政令指定都市に移行。 衛生試験所に食品衛生科を新設し、食品科を食品化学科に、環境科を環境衛生科に改め、細菌病理科と合わせて4科体制となる。 公害試験所は水質科と大気科の2科体制となる。
昭和57年 4月	衛生研究所条例施行により衛生試験所と公害試験所を統合し、西区商工センター四丁目に衛生研究所を設置。 食品環境部、微生物部、公害部の3部体制で発足。
平成 7年 3月	本館内に生物安全実験室(P3レベル：ウイルス)を整備。
平成 9年 4月	食品環境部を生活科学部に、微生物部を生物科学部に、公害部を環境科学部に改める。
平成13年 3月	化学物質安全実験施設を整備。
平成13年 4月	感染症情報センターを本庁から移管。
平成15年 3月	学識経験者等の外部委員による機関評価を実施。
平成20年 6月	本館内に生物安全実験室(P3レベル：細菌)を整備。
平成22年 9月～平成24年 6月	庁舎の耐震改修工事を実施。

Ⅱ 組織機構及び業務内容

1 組織及び業務内容



2 職員配置

(令和2年4月1日現在)

職 種 部 門		事務 吏員	技 術 吏 員						再任用 ・会計 年度任用	計
			獣医師	薬剤師	化学	農芸 化学	水産	臨床検 査技師		
所 長					1					1
生活科学部	部 長			1						1
	(庶 務)	1							2	3
	(疫学情報)							2		2
	(生活化学)			1	5				2	8
生物科学部	部 長		1							1
	(細菌病理)			1		1		2		4
	(食品細菌)		1				1	1	1	4
	(ウイルス)		2	1		1		1		5
環境科学部	部 長				1					1
	(水 質)			1	4				1	6
	(大 気)			1	1	1		1	1	5
合 計		1	4	6	12	3	1	7	7	41

Ⅲ 庁舎及び施設概要

1 建物・施設概要

(1) 建設規模

ア	敷地面積		5,575.56 m ²
イ	建築面積	総建築面積	1,529.96 m ²
		総延床面積	4,915.141m ²

ウ 建物概要

本館	鉄筋コンクリート造	地下1階・地上4階建(一部5階)
	建築面積	1,101.86 m ²
	延床面積	4,487.041m ²

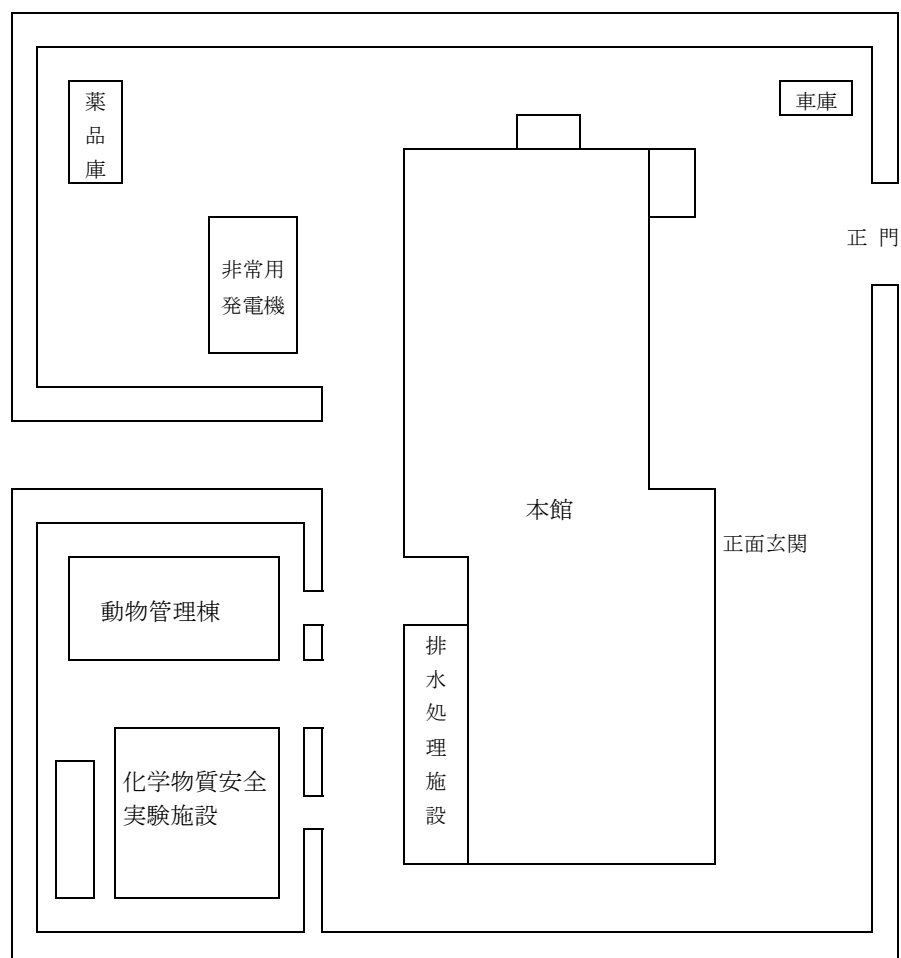
化学物質安全実験施設

	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積	204.27m ² (内 倉庫等90.83m ² を含む)
動物管理棟	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積	199.83m ²
薬品庫	ブロック造平屋建	床面積	24 m ²

(2) 設備概要

電気設備	非常用発電機	6.6kV	750kVA
排水処理設備	pH調整装置		

2 庁舎配置図



IV 予算概要

1 予算概要

科 目		予 算 額(当初)	
		令和2年度	平成31年度
歳 入		(千円)	(千円)
使用料及び手数料			
手 数 料			
衛 生 手 数 料	保 健 衛 生 手 数 料	1,763	1,733
市 債			
市 債			
衛 生 費	保 健 衛 生 債	24,600	23,600
計		26,363	25,333
歳 出			
衛 生 費			
保 健 衛 生 費			
環 境 衛 生 費	旅 費	2,399	1,998
	需 用 費	48,859	49,420
	役 務 費	736	767
	委 託 料	53,900	49,569
	使 用 料 及 び 賃 借 料	598	1,094
	工 事 請 負 費	7,800	6,300
	備 品 購 入 費	23,200	25,200
	負担金, 補助及び交付金	381	420
	公 課 費	48	19
計		137,921	134,787

2 平成 31 年度主要整備機器

品 名	型 式	数 量
ガスクロマトグラフ質量分析装置	(株)島津製作所製 GCMS-TQ8050NX	1
超低温槽	PHC(株) MDF-DU502VX	1
水分活性測定装置	ノバシーナ社製 LabMaster-aw neo	1
核酸増幅装置	ライフテクノロジーズジャパン(株) QuantStudio5(QS5-96S-TIP)	2

V 会議・研修等

1 会議

年 月 日	会 議 名	開催地	出席者名
R 元. 5. 16～17	第73回地方衛生研究所全国協議会中国四国支部会議及び令和元年度全国環境研協議会中国四国支部会議	米子市	上田 ほか
6. 6	令和元年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会及び地方衛生研究所長会議	東京都	上田
7. 10～11	衛生微生物技術協議会第 40 回研究会	熊本市	藤井・栗林
8. 22	令和元年度中国地区衛生環境研究所長会議	岡山市	上田
9. 5	第 43 回瀬戸内海水環境研会議	広島市	竹井・森山
9. 5～ 6	令和元年度指定都市衛生研究所長会議	神戸市	上田
10. 21	令和元年度第 70 回地方衛生研究所全国協議会総会	高知市	上田
11. 14～15	第 46 回環境保全・公害防止研究発表会	津市	中村・鹿渡
12. 5～ 6	第 56 回全国衛生化学技術協議会年会	広島市	上田 ほか
R2. 1. 21～22	第 48 回全国環境研協議会総会及び令和元年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	東京都	上田
1. 22	令和元年度地域保健総合推進事業第 2 回地方衛生研究所ブロック長等会議	東京都	上田
1. 23～24	第 33 回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	和光市	築地

2 第56回全国衛生化学技術協議会年会

全国衛生化学技術協議会は、衛生行政に関連した試験研究機関の衛生化学に関する技術の向上と相互の連絡、協調を図ることを目的とし設立され、環境衛生、食品衛生及び薬事衛生に関する国公立試験研究機関など87機関が加盟している。年会は年に1回、衛生行政に関する講演、討論、情報交換の場として、協議会会員の持ち回りで開催されている。第56回年会は当所生活科学部が事務局となり、その準備・運営を担当した。全所及び保健所の協力の下、盛会のうちに終了した。

(1) 開催年月日 令和元年12月5日(木)～6日(金)

(2) 会 場 広島国際会議場(広島市中区中島町1-5)

(3) 参加者数 348名(82機関)

(4) 概 要

ア 総会

イ 教育講演

①ゲノム編集技術応用食品とその取扱い、②残留農薬等の規格基準の国際整合性についての講演が行われた。

ウ 口頭プレゼン

34題の演題について、口頭プレゼンテーションが行われた。

エ 特別講演

広島の酒造技術に関する様々な取組みについての講演が行われた。

オ 示説発表

食品部門68題、環境・家庭用品部門38題、薬事部門24題の発表があった。当所からも2名が発表を行った(詳細は「Ⅲ抄録 学会発表」参照)。ポスターの前で活発な意見交換が行われた。

カ 部門別研究会

食品部門203名、環境・家庭用品部門63名、薬事部門82名の参加登録があった。各部門において、最新の情報や動向、課題・取組等について話題提供があり、活発な討論と意見交換が行われた。

3 研修・講習会

年 月 日	研修・講習会名	研修機関名	参加者
H31. 4. 15～26	令和元年度特定機器分析研修Ⅱ (LC/MS/MS) (第1回)	環境省環境調査研修所	大平
R 元. 5. 27～28	令和元年度食品安全行政講習会	厚生労働省医薬・生活衛生局 生活衛生・食品安全部	松木
6. 28	2019 年度 GenEpid-J 研修	東京都	青田
9. 25～26	薬剤耐性菌の検査に関する研修	東京都	青田
10. 7～11	新興再興感染症技術研修	東京都	兼重
10. 11	電子顕微鏡を用いたウイルス観察研 修会	兵庫県	藤井
10. 18	令和元年度動物由来感染症対策技術 研修会	東京都	福永
10. 31～11. 1	令和元年度地域保健総合推進事業 (中国・四国ブロック)地域専門家会 議	地方衛生研究所全国協議会 中国・四国支部	松木
11. 11	令和元年度広島県輸入食品衛生対策 協議会勉強会	広島県輸入食品衛生対策 協議会	佐々木
R2. 1. 17	令和元年度検査精度管理業務研修会	中国四国厚生局	池田・川又
1. 23～24	令和元年度化学物質環境実態調査環 境科学セミナー	東京都	森山
1. 24	BSL3 実験室における検体の取り扱い 研修	愛媛県	藤井
1. 29～30	令和元年度希少感染症診断技術研修 会	東京都	山木戸
2. 10	令和元年度地方衛生研究所全国協議 会衛生理化学分野研修会	地方衛生研究所全国協議会	鳩岡
2. 28	令和元年度水道水質検査精度管理に 関する研修会	厚生労働省医薬・生活衛生局 水道課 水道水質管理室	長谷川

4 所内研修

(1) 研修

日 程	名 称	内 容	講 師
H31. 4. 26	基本行政研修	衛生研究所新任職員に対する業務内容等説明	所長及び各部担当者
R 元. 7. 12	高度精密機器 操作研修	LC/MS 分析, GC/MS 分析について	外部講師
R2. 1. 31	職員研修	1 食品衛生法改正に伴う HACCP の制度化について 2 毒物及び劇物取締法について 3 広島市衛生研究所における危険物管理について 4 衛生研究所における危機管理対応	食品指導課職員 医療政策課職員 環境科学部職員 衛生研究所長

(2) 業績発表会(新型コロナウイルス感染症の感染拡大に伴い中止し、ホームページに要旨を掲載)

日 程	名 称	内 容	発 表 者
R2. 3. 19 (掲載日)	業績発表会	1 食品中のポテトグリコアルカロイド分析法の検討 2 アゾ染料由来の特定芳香族アミン類の定量試験に関する検討 —分散染料が使用されている繊維製品の場合— 3 PCR によるカンピロバクター・ジェジュニの Penner 血清型別法の検討 4 広島市で検出された基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生腸管出血性大腸菌について 5 A 群ロタウイルスのイムノクロマト法の検出感度及び広島市における遺伝子型の検出状況 6 広島市における大気中のレボグルコサン濃度 7 広島市における要監視項目(金属類)の測定結果について	松木 司 長谷川 富子 池田 伸代 栗林 智早 則常 浩太 下田 喜則 竹井 秀夫

5 精度管理

(1) 業務管理

「広島市衛生研究所における検査等の業務管理基準要綱(平成9年4月1日)」,「広島市衛生研究所環境科学部における試験検査等の業務管理基準要領(平成16年4月1日)」及び「広島市衛生研究所における病原体等検査の業務管理要領(平成28年4月1日)」に基づき、業務管理を実施した。

(2) 外部精度管理

ア 生活科学部

(ア) 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)

対象：着色料(タール色素), 保存料(ソルビン酸), 重金属(カドミウム), 残留農薬(一斉分析, クロルピリホス等), 残留動物用医薬品(スルファジミジン)

(イ) 水道水質検査精度管理統一試料調査(厚生労働省医薬・生活衛生局 水道課 水道水質管理室)

対象：有機物(トリクロロエチレン), 無機物(臭素酸)

(ウ) 平成31年度地域保健総合推進事業精度管理事業(地方衛生研究所全国協議会中国四国支部)

対象：健康食品中の医薬品成分

イ 生物科学部

(ア) 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)

対象：腸内細菌科菌群, 一般細菌数, 黄色ブドウ球菌, サルモネラ属菌, E. coli, 大腸菌群

(イ) 平成31年度厚生労働省外部精度管理事業(国立感染症研究所)

対象：麻疹・風疹ウイルス, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌, 腸管出血性大腸菌

(ウ) 結核菌遺伝子型別外部精度評価(厚生労働科学研究)

対象：結核菌 VNTR 解析

(エ) 腸管出血性大腸菌 O157 分子疫学解析外部精度管理(厚生労働科学研究)

対象：PFGE, IS-printing System, MLVA

(オ) レジオネラ属菌検査外部精度管理調査(厚生労働科学研究)

対象：レジオネラ属菌

ウ 環境科学部

(ア) 令和元年度環境測定分析統一精度管理調査(一般財団法人日本環境衛生センター)

対象：イプロベンホス, フェニトロチオン, シマジン, イソプロチオラン, フェノブカルブ(水質試料)

(イ) 令和元年度酸性雨測定分析精度管理調査(全国環境研協議会)

対象：pH, 電気伝導率, 陰イオン3項目, 陽イオン5項目(模擬降水試料)

(3) 内部精度管理

ア 生活科学部

平成31年度内部精度管理実施計画を策定し、実施した。

対象：理化学, 成分規格, 食品添加物, 重金属等, 残留農薬, 動物用医薬品, 下痢性貝毒, 器具・容器包装

イ 生物科学部

平成31年度内部精度管理実施計画を策定し、実施した。

対象：腸内細菌科菌群, 一般細菌数, 黄色ブドウ球菌, サルモネラ属菌, E. coli, 大腸菌群, ノロウイルス, 腸管出血性大腸菌, 風疹ウイルス

6 研修指導

(1) 技術指導

年 月 日	指 導 内 容	受 講 者	人 員	担 当
R 元. 6. 21	業務説明及び業務見学	JICA研修生	15 名	生活科学部 生物科学部
8. 19～20	業務説明及び業務見学	タイ チョンブリー県 ドーンフワロー町職員	1 名	生活科学部 生物科学部 環境科学部

(2) 講師派遣

年 月 日	講演会等の名称及び内容	依 頼 機 関	講 師 名
R 元. 5. 14	第 2 回広島市東区感染管理ネットワークセミナー	杏林製薬株式会社 東区感染管理ネットワーク	山本 美和子

7 施設見学等

年 月 日	見 学 者	人 員
R 元. 9. 3～ 5	広島大学統合生命科学研究科博士課程前期 1 年	1 名
R2. 1. 21	山陽女子短期大学食物栄養学科食品開発コース	7 名

業 務 報 告

生 活 科 学 部

生活科学部の主要業務は、公衆衛生情報の解析提供、環境衛生・食品衛生に関する試験、調査研究であり、疫学情報関連業務、環境衛生関連業務及び食品化学関連業務に大別される。

疫学情報関連業務では、感染症情報センターの運営、公衆衛生情報の収集・解析・提供、ホームページの管理・運営に関する業務を実施している。

環境衛生関連業務では、水道法に基づく飲料水試験、環境衛生関係の法令等に基づくプール水・浴場水等の環境水質試験、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づく家庭用品試験、食品衛生法に基づく器具及び容器包装等の各種試験、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づく医薬品成分試験並びに調査研究を実施している。

食品化学関連業務では、食品衛生法に基づく食品等の理化学試験、食品の成分規格及び食品中の食品添加物試験、さらに食品中の有害化学物質(残留農薬、動物用医薬品、重金属等)の各種試験並びに調査研究を実施している。

なお、当部では、予算及び決算、施設、機器の維持管理等、衛生研究所の庶務に関する事務を所管している。

1 疫学情報関連業務

公衆衛生情報の有効な活用を図るため、情報の収集及び解析提供に関する業務を行った。

(1) 感染症発生動向調査(感染症情報センター)

広島市感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、衛生研究所に感染症情報センターを設置しており、感染症情報の分析評価、週報の作成等においては生物科学部と共同して運営を行った。

なお、病原体検出情報に関する業務は、生物科学部で実施した。

感染症発生動向調査では、市内全医療機関から報告される全数把握対象の感染症(2019年：520件)及び定点医療機関(表1)から週単位(年52回)又は月単位(年12回)で報告される定点把握対象の感染症(2019年：29,355件)について、その患者情報を感染症発生動向調査システムにより、市内8か所の保健センターを経由して収集し、中央感染症情報センター(国立感染症研究所)へ報告した。また、2019/20シーズンのインフルエンザ疾患関連死亡

者数663件(肺炎死亡：655件、インフルエンザ死亡：8件)を報告した。

収集した市域の患者情報及び病原体情報(病原体の分離等の検査情報を含む)を分析するとともに、その結果を、中央感染症情報センターから公表される全国情報(週報は年52回、月報は年12回)と併せて、定点医療機関、広島市感染症対策協議会、各医師会、庁内関係部局、教育委員会等の関係機関にファクシミリ、電子メール等により提供した。また、感染症の流行状況等をホームページに掲載し、市民への感染症予防啓発を行った。

感染症の予防対策、緊急対応策を協議するための学識経験者や医師会代表からなる協議会(広島市感染症対策協議会・年12回開催)へ出席し、収集・分析した感染症情報を提供するとともに情報交換を行った。

(2) 公衆衛生情報の解析提供

ア 文献等の提供

報道機関、医療機関、大学等の庁外機関、庁内関係部局等、市民からの依頼により、感染症情報、微生物の電子顕微鏡写真等の提供(68件)を行った。

イ 広島市衛生研究所年報の作成

平成30年度における当所の事業概要と調査研究等を収録した「広島市衛生研究所年報第38号(平成30年度)」を作成し、衛生研究所ホームページに公開した。

ウ 電子メール等による情報提供

最新の感染症情報を提供するため、教育委員会、医師会、保健センター、医療機関等庁内外の関係部署及び関係機関等に、電子メール等を用いて、感染症情報等の提供(延92機関：6,906件)を行った。

エ 衛生研究所ホームページの運営

衛生研究所ホームページを管理・運営し、広く

表1 定点医療機関

区分	定点数	報告件数 (2019年)
インフルエンザ定点	37	12,751
小児科定点	24	15,036
眼科定点	8	228
性感染症定点	9	980
基幹定点	7	360

※インフルエンザ定点には小児科定点24を含む

市民及び関係機関等に情報提供を行った。表2に衛生研究所ホームページの管理状況を、表3に新規掲載・更新した主なトピックスを、表4にアクセス数の多かったページを示した。なお、衛生研究所ホームページの年間アクセス数は714,991件であった。

(3) 病原体等の検査の信頼性確保業務

生物科学部が実施する病原体等の検査が、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき、適切に行われていることを確認するため、信頼性確保部門の業務を行った。

ア 内部監査

検査や検体等に関する記録簿の点検、機械器具の管理等が適切に実施されているかの確認を行った。

監査実施日：令和2年3月5日

イ 外部精度管理

厚生労働省が実施する「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査」「麻疹・風疹ウイルスの遺伝

子配列解析」「腸管出血性大腸菌の同定検査」の外部精度管理事業に参加し、取りまとめを行った。

ウ 内部精度管理

生物科学部が実施した検査の信頼性確保試験の結果を確認した。また、内部精度管理の実施状況の確認を行った。

(4) 各種照会等に係る連絡調整

地方衛生研究所全国協議会及び同中国・四国支部等との連絡業務、地方衛生研究所や地方環境研究所など関係機関からの研究所運営等に関する各種照会、調査依頼などの窓口として所内各部の取りまとめや連絡、調整等の対応を行った。

(5) 衛生研究所情報管理システムの管理運営

衛生研究所情報管理システムでは、当所が保有する文献等のデータベースを管理する文献情報検索システム、所内の薬品の在庫を管理する薬品管理システムを開発し、管理運用している。

表4 アクセス数の多かったページ

(平成31年4月～令和2年3月、HTMLファイルのみ)

順位	コンテンツタイトル等	アクセス数
1	消毒液の作り方と使用上の注意(次亜塩素酸ナトリウム)	302,503
2	インフルエンザ最新情報	90,229
3	広島市におけるインフルエンザ様疾患による学級閉鎖等(集団かぜ)の発生状況	26,471
4	広島市の感染症最新情報/最新週のトピックス	18,398
5	定点当たりとは	16,767
6	発生動向一覧表	10,100
7	麻しん(はしか)	8,896
8	広島市感染症情報センタートップページ	7,073
9	ノロウイルスによる感染性胃腸炎	6,621
10	最近の動向/感染性胃腸炎	6,371
11	広島市感染症週報	6,057
12	広島市感染症週報(バックナンバー)	4,477
13	感染症トピックス(メニュー)	3,853
14	第56回全国衛生化学技術協議会年会	3,582
15	届出基準と届出様式(全数把握疾患)	3,297

表2 衛生研究所ホームページの管理状況

令和2年3月現在

内容	件数
総コンテンツ(HTML ファイル)数	584
更新 HTML ファイル数	5,830
グラフ, PDF 等更新ファイル数	8,335

※衛生研究所トップページ

<https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/eiken/>

表3 新規掲載・更新した主なトピックス

掲載年月	コンテンツタイトル等
R元. 9	ウイルスの分離*
R元. 11	重症熱性血小板減少症候群, 家庭用品の検査について
R 2. 1	腸管出血性大腸菌感染症, つつが虫病, レジオネラ症, 後天性免疫不全症候群(エイズ), 梅毒

*: 新規掲載

2 環境衛生関連業務

保健所等行政機関や市民，事業者からの依頼に基づき，飲料水等の試験を行った。その内訳を表5に示す。

(1) 飲料水試験

水道水や井戸水等の飲料用適否試験を行った。

総検体数は73検体，延1,527項目であり，その内訳を表6に示す。

水質基準に適合しなかったものは11検体，不適合率15.1%であった。不適合検体は全て井戸水で，不適合項目は，大腸菌，一般細菌，硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素，フッ素及びその化合物であった。

その他，井戸水及び小規模給水の全項目試験については，飲料用の地下水質を把握するため，26検体，延182項目について硫酸イオン，カリウム等の無機溶存成分の試験を行った。

表5 環境衛生関連業務試験件数

試験区分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
飲料水試験	26	998	47	529	73	1,527
無機溶存成分試験	26	182	－	－	26	182
その他の水質試験	42	177	32	218	74	395
家庭用品試験	86	1,593	－	－	86	1,593
器具・容器包装の試験	6	34	－	－	6	34
氷雪の試験	－	－	4	8	4	8
食品中の医薬品成分試験	8	24	－	－	8	24
ミネラルウォーターの試験	1	41	－	－	1	41
妥当性評価試験	－	－	－	－	－	－
計	195	3,049	83	755	278	3,804

表6 飲料水の種類別試験

区分		行政試験		依頼試験		計	
		検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
水道水	一般項目	－	－	27	319	27	319
	全項目	－	－	－	－	－	－
	小計	－	－	27	319	27	319
小規模給水	一般項目	－	－	－	－	－	－
	全項目	1	48	－	－	1	48
	小計	1	48	－	－	1	48
井戸水	一般項目	－	－	20	210	20	210
	全項目	25	950	－	－	25	950
	小計	25	950	20	210	45	1,160
その他	一般項目	－	－	－	－	－	－
	全項目	－	－	－	－	－	－
	小計	－	－	－	－	－	－
計		26	998	47	529	73	1,527

表7 その他の水質試験の種類別試験

区 分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
公衆浴場水	32	125	－	－	32	125
プ ー ル 水	8	48	1	6	9	54
かき洗浄水	－	－	31	212	31	212
その他の水	2	4	－	－	2	4
計	42	177	32	218	74	395

(2) その他の水質試験

公衆浴場水、プール水及びかき洗浄水等 74 検体、延 395 項目について水質試験を行った。その内訳を表 7 に示す。

公衆浴場水の試験の結果は、全て基準に適合していた。プール水については、遊離残留塩素濃度で基準に適合しない検体があった。

(3) 家庭用品試験

有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づいて試験検査を行った。その内訳を表 8 に示す。86 検体、延 1,593 項目について試験を行ったが、全て基準に適合していた。

(4) 器具・容器包装の試験

器具・容器包装 6 検体、延 34 項目について食品衛生法に基づく行政試験を行ったが、全て基準に適合していた。

(5) 氷雪の試験

氷雪 4 検体、8 項目について依頼試験を行った。

(6) 食品中の医薬品成分試験

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づき、いわゆる健康食品(瘦身系)8 検体について、医薬品成分であるシブトラミン、フェンフルラミン、フェノールフタレインの定性試験

を行ったが、いずれも検出されなかった。

(7) ミネラルウォーターの試験

ミネラルウォーター1 検体、41 項目について行った。

表8 家庭用品の項目別試験(行政試験)

区 分	繊維製品	その他※	計
アゾ化合物	1,449	－	1,449
ホルムアルデヒド	93	－	93
トリフェニル錫化合物	－	8	8
トリブチル錫化合物	－	8	8
水酸化カリウム又は水酸化ナトリウム	－	5	5
容器又は被包(アルカリ)	－	5	5
漏水試験	－	7	7
落下試験	－	7	7
圧縮変形試験	－	7	7
塩化水素又は硫酸	－	2	2
容器又は被包(酸)	－	2	2
計	1,542	51	1,593

※家庭用洗浄剤、家庭用接着剤

3 食品化学関連業務

農薬、動物用医薬品、重金属等有害化学物質の食品への残留状況あるいは食品添加物の適正使用、適正表示の確認や食品を介した有症苦情などに伴う試験検査など、市民の食への安全、安心の確保に資するために的確な試験検査及び調査研究の実施が必要とされる。

主に、市内に流通する食品について保健所が実施した収去等に基づいて食品化学に関する試験を行った。その内訳を表 9 に示す。

(1) 食品等の理化学試験

100 検体、延 116 項目について試験を行った。その内訳を表 10 に示す。試験項目は塩分濃度、水素イオン濃度、酸価・過酸化価などであった。

(2) 食品の成分規格試験

牛乳、清涼飲料水など規格を有する食品 17 検体、延 34 項目について試験を行った。その内訳を表 11 に示す。規格基準違反はなかった。

(3) 食品中の食品添加物試験

輸入食品を主に 107 検体、延 185 項目について試験を行った。その内訳を表 12 に示す。

表 9 食品化学関連業務試験件数

試験区分	検体数	延項目数
食品等の理化学試験	100	116
食品の成分規格試験	17	34
食品中の食品添加物試験	107	185
食品中の有害化学物質試験	134	8,696
遺伝子組換え食品試験	1	1
妥当性評価試験	40	9,560
計	399	18,592

表 10 食品等の理化学試験

区分	検体数	延項目数
塩分濃度	31	31
水素イオン濃度(pH)	40	40
酸価・過酸化価	16	32
水分活性	13	13
異物の同定	0	0
ニンヒドリン反応	0	0
キサントプロテイン反応	0	0
ヒスタミン	0	0
計	100	116

このうち、防かび剤については、輸入果実 3 検体、延 12 項目について試験を行った。3 検体全てから防かび剤が検出されたが、いずれも使用基準以下であった。詳細を表 13 に示す。

その他の食品添加物についても、表示違反、使用基準違反はなかった。

(4) 食品中の有害化学物質試験

本市における食品の安全・安心の確保を目的に、収去試験等行政試験を中心に食品中の有害化学物質の試験を実施している。134 検体、延 8,696 項目について試験を行った。その内訳を表 14 に示す。

表 11 食品の成分規格試験

食品名	検体数	延項目数
乳・乳製品	4	14
アイスクリーム類・氷菓	2	4
清涼飲料水	5	10
生あん	2	2
食肉製品	4	4
計	17	34

表 12 食品中の食品添加物試験

区分	検体数	延項目数
着色料	4	64
保存料	60	62
酸化防止剤	8	8
防かび剤	3	12
甘味料	16	23
漂白剤	4	4
発色剤	2	2
品質保持剤	10	10
計	107	185

表 14 食品中の有害化学物質試験

区分	検体数	延項目数
残留農薬	72	7,995
動物用医薬品	21	657
重金属	17	17
麻痺性・下痢性貝毒	24	27
フグ毒	0	0
計	134	8,696

表 13 防かび剤試験結果

食品名	検体数	生産地	検出数	生産地	検出防かび剤及び検出値
オレンジ	1	輸入(アメリカ 1)	1	アメリカ	イマザリル 3.3ppm チアベンダゾール 1.5ppm
レモン	2	輸入(チリ 2)	2	チリ	イマザリル 2.7ppm フルジオキシニル 1.1ppm アゾキシストロビン 0.04ppm イマザリル 0.98ppm チアベンダゾール 0.42ppm フルジオキシニル 1.4ppm

ア 残留農薬

輸入食品を含む野菜、果実など 72 検体、延 7,995 項目について試験を行った。その内訳を表 15 に示す。このうち野菜、果実、加工食品 12 検体から 11 種類の農薬が検出されたが、いずれも残留基準値以下であった。試験結果の詳細を表 16 に示す。

イ 動物用医薬品

鶏卵、鶏の筋肉、養殖魚介類など 21 検体、延 657 項目について試験を行った。その内訳を表 17 に示す。いずれの検体からも動物用医薬品は検出されなかった。

ウ 重金属

広島湾内産の魚類、生カキ 17 検体に対して、総水銀の試験を実施した。例年と比較して、特に異常な値は認められなかった。

エ 貝毒

「貝毒対策実施要領」(広島県)に基づいて、広島湾北部海域の貝の毒化状況について 24 検体、延 27 項目を試験した。その結果を表 18 に示す。アサリ、カキから麻痺性貝毒及び下痢性貝毒は検出されなかった。

(5) 遺伝子組換え食品試験

大豆 1 検体について、試験を行った。

(6) 妥当性評価試験

残留農薬等の試験については、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、妥当性評価を実施している。平成 31 年度は GC-MS/MS 更新に伴い、農産物 2 種(ばれいしょ、ブロッコリー)を対象に 2 濃度、2 併行の添加回収試験を 5 日間実施した。真度、併行精度、室内精度を求め、それぞれの目標値への適合の有無を確認した。

表 15 残留農薬試験

食品名	検体数	延項目数
野菜	国内産 46 輸入品 1	6,070 159
果物	国内産 2 輸入品 3	323 457
鶏の筋肉	輸入品 4	52
鶏卵	国内産 10	130
はちみつ	国内産 1	13
加工食品	輸入品 5	791
苦情品	輸入品 0	0
計	72	7,995

表 17 動物用医薬品試験

食品名	検体数	延項目数
鶏の筋肉	輸入品 4	148
鶏卵	国内産 10	270
はちみつ	国内産 1	23
養殖魚介類	国内産 6	216
計	21	657

表 18 貝毒試験結果 (()内は検体数)

食品名	麻痺性貝毒 4～5, 10～11, 3 月	下痢性貝毒 10 月
アサリ	検出せず(8)	検出せず(1)
カキ	検出せず(16)	検出せず(2)

表 16 食品中の残留農薬試験結果

食品名	検体数	生産地※	検出数	生産地※	検出農薬及び検出値
【農産物(野菜・果実)】					
ばれいしょ	4	北海道 3, 鹿児島県 1	0		
かんしょ	2	徳島県 1, 鹿児島県 1	0		
だいこんの根	4	青森県 1, 広島県 1, 長崎県 2	0		
こまつな	4	広島市 4	2	広島市	アゾキシストロビン 0.02ppm フルフェノクスロン 0.04ppm アセタミプリド 0.03ppm フルフェノクスロン 0.12ppm
きょうな (水菜)	4	広島市 4	3	広島市 広島市 広島市	アセタミプリド 0.07ppm アセタミプリド 0.02ppm フルフェノクスロン 0.02ppm アゾキシストロビン 0.86ppm
レタス	3	長野県 3	2	長野県 長野県	チアメトキサム 0.02ppm シアゾファミド 0.06ppm メトキシフェノジド 0.01ppm
たまねぎ	5	北海道 2, 島根県 1, 長崎県 2	0		
ねぎ	2	広島県 1, 大分県 1	1	広島県	アゾキシストロビン 0.03ppm クロチアニジン 0.01ppm チアメトキサム 0.06ppm フルフェノクスロン 0.02ppm
にんじん	2	長崎県 2	0		
トマト	5	広島市 4, 熊本県 1	0		
なす	5	広島市 4, 広島県 1	1	広島県	トリフルミゾール 0.02ppm
きゅうり	5	広島市 4, 宮崎県 1	0		
かぼちゃ	2	北海道 1, 輸入(メキシコ 1)	1	メキシコ	イミダクロプリド 0.01ppm チアメトキサム 0.02ppm メタラキシル 0.02ppm
みかん	1	佐賀県 1	0		
オレンジ	1	輸入(アメリカ 1)	0		
レモン	2	輸入(チリ 2)	0		
りんご	1	長野県 1	1	長野県	アセタミプリド 0.02ppm トリフロキシストロビン 0.02ppm
小計	52		11		
【畜産物】					
鶏の筋肉	4	輸入(ブラジル 4)	0		
鶏卵	10	広島市 2, 広島県 6, 島根県 2	0		
はちみつ	1	広島県 1	0		
小計	15		0		
【加工食品(冷凍食品, 冷凍野菜, 冷凍果実)】					
さといも	1	輸入(中国 1)	0		
ブロッコリー	1	輸入(エクアドル 1)	0		
かぼちゃ	1	輸入(中国 1)	0		
ほうれんそう	1	輸入(中国 1)	1	中国	イミダクロプリド 0.04ppm
れんこん	1	輸入(中国 1)	0		
小計	5		1		
計	72		12		

※広島県(広島市を除く), 広島市分は広島市として記載

生 物 科 学 部

生物科学部の主要業務は、微生物に関する試験検査及び感染症予防などに関する調査研究で、食品細菌関連業務、細菌病理関連業務及びウイルス関連業務に大別される。

食品細菌関連業務では、食品衛生法に基づく食品の収去検査、食中毒病原体検査、食品等の細菌検査などの各種検査及び調査研究を実施している。

細菌病理関連業務では、感染症法に基づく病原細菌などの検査及び結核患者家族等接触者の免疫学的検査、感染症発生動向調査事業に基づく細菌検査及び調査研究を実施している。

ウイルス関連業務では、感染症法に基づく感染症発生動向調査、感染症流行予測のための血清疫学調査、エイズ予防対策の一環としての HIV 抗体確認検査などの各種検査及び調査研究を実施している。

また、各々の業務に遺伝子検査などの技術を導入して検査体制の強化を図り、病原体の検査及び調査研究を実施している。

平成 31 年度の業務概要を以下に報告する。

1 食品細菌関連業務

保健所依頼の収去検査、食中毒・苦情調査での検体の細菌検査、食品営業施設の衛生指導のための食品等の細菌検査を行った。また、食品営業者の自主検査などを目的とした食品検体の依頼検査を行った。総検体数は 710 件で、検査項目数としては 2,292 項目であった。その内訳を表 1 に示す。

(1) 収去検査

収去検査としては、成分規格の定められた食品の規格検査、食品の衛生規範等に基づく大腸菌群などの一般細菌検査や食中毒起因菌検査などを行った。その内訳を表 2 に示す。検体数は 413 件、検査項目数は 981 項目であった。成分規格基準違反、衛生規範への不適合、食中毒起因菌の検出状況を表 3 に示す。サルモネラ属菌陽性による食肉

表 1 食品細菌関連業務検査数

	検体数	項目数
収去検査	413	981
食中毒等検査	220	1,212
その他の検査	73	91
一般依頼検査	4	8
計	710	2,292

表 2 収去食品検査件数

食品分類名	検体数	生菌数	大腸菌群	E.coli	E.coli 最確数	クロストリジウム属	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	病原大腸菌	カンピロバクター	リステリア菌	抗生物質	検査総項目数
乳類・乳製品	4	2	2									2		6
アイスクリーム類・氷菓	2	2	2											4
清涼飲料水	6		6											6
冷凍食品	15	15	10	5										30
魚介類・その加工品	90	32	4		32				57				6	131
肉卵類・その加工品	39	11	14	3		3	3	16		8	13		14	85
野菜果物・その加工品	10	10		6										16
そうざい・弁当・調理パン	153	153	3	139			139	3			3			440
めん類	16	16	3	13			16							48
漬物類	11			11										11
生菓子類	66	66	66				66	5						203
その他の食品	1												1	1
計	413	307	110	177	32	3	224	24	57	8	16	2	21	981

表3 収去食品の食中毒起因菌検出、規格基準違反及び規範不適合検体数

食品分類名	生菌数	大腸菌群	E.coli	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	カンピロバクター
魚介類・その加工品					6	
肉卵類・その加工品	1	6		2		2
アイスクリーム		1				
弁当・そうざい	4	1	1			
野菜果物加工品	1					
生菓子類	4	16				
計	10	24	1	2	6	2

製品2検体及び、大腸菌群陽性によるアイスクリーム類1検体の規格違反が認められた。衛生規範の不適合は、そうざいで生菌数の超過が4検体、大腸菌群の検出が1検体、E.coliの検出が1検体、生菓子で生菌数の超過が4検体、大腸菌群の検出が16検体認められた。規格・規範に該当しない食中毒起因菌は、鮮魚2検体と生かき4検体から腸炎ビブリオ、食肉類2検体からカンピロバクターが検出された。

(2) 食中毒及び苦情に関する検査

ア 食中毒病原菌検索

食中毒及び有症苦情における病原菌検索の検体数を表4に示す。赤痢菌、コレラ菌などについては、細菌病理担当で検査した。

当所で検査対応した本市の細菌性寄生虫性食

表4 食中毒病原菌検索検体数

区分	食品	患者便等	従事者便	拭取り等	計
食中毒	6	44	10	35	95
有症苦情	5	11	39	70	125
計	11	55	49	105	220

中毒事例は4件発生しており、その病因物質は、カンピロバクター、クドア・セブテンブクタータが各2件であった。

イ その他の苦情

市民から寄せられた異物による食品苦情の検査依頼で2検体検査を行い、どちらもカビが検出された。

(3) その他の検査

食品製造施設などの衛生指導、食品製造・加工過程での細菌汚染調査による細菌検査を57検体行った。食品の食中毒起因菌による汚染状況調査として、GPセンターで採取した鶏卵10検体のサルモネラ属菌、ジビエ16検体の病原大腸菌及びサルモネラ属菌の検査を行った。鶏肉2検体のサルモネラ属菌とカンピロバクター及び低温加熱後の鶏肉8検体の生菌数、E.coli、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、カンピロバクターの検査を行った。

(4) 一般依頼検査

食品製造業者等からの食品の依頼検査を4検体実施した。

(5) マウス接種試験

ア 実施件数

(ア) 麻痺性貝毒及びボツリヌス症疑いの行政依頼 29検体(174匹)

(イ) その他の試験

なし

イ 自己点検及び評価結果

マウス接種試験は、全て行政依頼検査を公定法等により実施したもので、広島市衛生研究所における動物実験取扱規程に基づき適正に行われた。

(6) 調査研究及び技術検討

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」へ研究協力し、2019年当所分離のカンピロバクター、サルモネラ属菌、大腸菌の薬剤感受性試験を行った。調査研究として「カンピロバクターのPCR法によるPenner型別法の検討」を行った。

2 細菌病理関連業務

各区の保健センター及び保健所からの行政検査並びに事業者からの依頼検査を実施した。また、検出した病原菌や医療機関から提供された菌株について同定や血清型等の確認検査、遺伝子検査による疫学的解析などを行った。

平成 31 年度の検査実績の内訳を表 5 に示す。

(1) 感染症発生動向調査事業

ア 全数把握疾患

三類感染症は、腸管出血性大腸菌感染症 16 検体、パラチフス 4 検体の検査を実施した。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者から検出された菌株 14 株について、耐性遺伝子検査及び薬剤感受性試験を行った。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の患者から検出された菌株 13 株について、生化学的性状試験及び血清学的検査を行うとともに、菌株をレファレンスセンターに送付した。

侵襲性肺炎球菌感染症の患者から検出された菌株 23 株について、遺伝子型別検査を実施した。

バンコマイシン耐性腸球菌感染症から検出された菌株 1 株について、耐性遺伝子検査及び薬剤感受性試験を行った。

結核患者由来株 27 株について、結核菌反復配列多型(VNTR)による分子疫学解析等を実施した。

ライム病(疑)患者から採取された 1 検体、レプトスピラ(疑)患者から採取された 4 検体、Q 熱(疑)患者から採取された 2 検体及びボツリヌス症(疑)患者から採取された 2 検体を国立感染症研究所に送付し検査を実施した。

イ 定点把握疾患

市内 12 か所の病原体定点医療機関において、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎等の患者から採取された 148 検体について、遺伝子検査や分離同定検査を実施した。咽頭ぬぐい液 2 検体から A 群溶血性レンサ球菌が検出された。

(2) 三類感染症接触者検査

感染症の予防対策として腸管出血性大腸菌検査 76 検体の検査を実施した。

(3) 結核患者等接触者検査

結核患者の接触者に対する発症予防対策のため、接触者健診として、結核菌に対する特異的免疫応答の指標としてのインターフェロン γ 産生量を測定するクオンティフェロン TB-ゴールドプラス検査を、結核患者接触者の血液 88 検体に実施した。陽性 3 検体、陰性 85 検体であった。

表 5 細菌病理関連業務検査件数

区分	検体数	項目数
感染症発生動向調査事業		
全数把握疾患(三類～五類)	130	1,836
腸管出血性大腸菌感染症	16	304
パラチフス	4	28
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	14	192
劇症型溶血性レンサ球菌感染症	13	52
侵襲性肺炎球菌感染症	23	230
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1	8
その他	59	1,022
定点把握疾患(五類)	148	604
三類感染症接触者検査	76	318
結核患者等接触者検査	88	88
レジオネラ属菌検査	38	155
一般依頼検査	42	42
計	522	3,043

(4) 浴槽水等のレジオネラ属菌検査

保健所からの依頼により、市内の温泉、公衆浴場及びホテルなどの浴槽水のレジオネラ属菌検査を 38 検体実施した。3 検体からレジオネラ属菌が検出された。

(5) 一般依頼検査

一般依頼検査として、市内事業所の従事者検便の腸管出血性大腸菌 0157 検査を 42 検体実施した。

(6) 疫学検査

市内の細菌性感染症の発生状況を把握し、防疫活動に資するため、食中毒や感染症発生時の分離菌株及び医療機関等から提供された菌株の同定や血清型別検査を行い、さらに PCR 法による病原遺伝子の確認や、Multi-locus variable-number tandem repeat analysis(MLVA)法等による詳細な遺伝子解析や薬剤感受性試験など、各種の疫学的解析を実施した。

(7) 調査研究及び技術検討

厚生労働科学研究(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」へ研究協力した。IS-printing system 及び MLVA 法による精度管理や、市内で発生した腸管出血性大腸菌を分子疫学的に解析し、保健センター及び保健所に検査結果を報告し、データのフィードバックに努めた。また、「分離菌における薬剤耐性マーカー等保有実態調査」を実施した。

3 ウイルス関連業務

集団発生事例等の行政検査，エイズ予防対策事業の HIV 検査，かき衛生対策事業のノロウイルス汚染状況調査，感染症発生動向調査事業の病原体検査及び調査研究を行った。

(1) 保健所・保健センター等からの依頼検査

食中毒/有症苦情事例，指定感染症，4 類感染症及び全数把握対象の 5 類感染症，HIV 検査及び食品衛生検査等 1,475 検体について検査を実施した(表 6)。

ア 食中毒/有症苦情等

234 検体(13 事例)の検査を実施した。9 事例からノロウイルス GⅡ，1 事例からノロウイルス GⅠ及び同 GⅡが検出された。

イ 食品衛生検査

かき 46 検体についてノロウイルスの検査を実施した。11 検体からノロウイルスが検出された。

ジビエ 4 検体について E 型肝炎ウイルスの検査を実施した。E 型肝炎ウイルスは検出されなかった。

ウ A 型肝炎

2 検体(2 事例)の検査を実施した。2 事例から A 型肝炎ウイルスが検出された。

エ E 型肝炎

3 検体(3 事例)の検査を実施した。2 事例から E 型肝炎ウイルスが検出された。

オ ダニ類媒介感染症

99 検体(40 事例)の検査を実施した。重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は 69 検体(27 事例)，日本紅斑熱は 37 検体(25 事例)，つつが虫病は 24 検体(15 事例)を検査した。1 事例から SFTS ウイルス，1 事例から日本紅斑熱リケッチア，12 事例からつつが虫ブリケッチアが検出された。

カ 蚊媒介感染症

17 検体(12 事例)の検査を実施した。デング熱は 12 検体(12 事例)，チクングニア熱は 4 検体(4 事例)，ジカウイルス感染症は 10 検体(5 事例)を検査した。1 事例からデングウイルス 1 型，2 事例から同 2 型，1 事例から同 3 型が検出された。

キ 麻しん

385 検体(136 事例)の検査を実施した。8 事例から麻しんウイルスが検出された(2 事例はワクチン株)。1 事例から風しんウイルスが検出された。

本市における麻しん患者の発生は 5 年ぶりであった。

ク 風しん

79 検体(29 事例)の検査を実施した。3 事例から風しんウイルスが検出された(1 事例はワクチン株)。

ケ 先天性風しん症候群

2 検体(1 事例)の検査を実施した。風しんウイルスは検出されなかった。

コ 急性脳炎

43 検体(12 事例)の検査を実施した。3 事例からインフルエンザウイルス A(H1N1)2009 型，3 事例からサイトメガロウイルス，2 事例から単純ヘルペスウイルス 2 型，1 事例からヒトメタニューモウイルス，1 事例からヒトヘルペスウイルス 6 型が検出された。

サ 後天性免疫不全症候群

エイズ予防対策事業において保健センター等で実施したスクリーニング検査で判定保留となった血液について，ウェスタンブロット法による確認検査を行った。3 検体検査し，1 検体で陽性と判定された。

シ 新型コロナウイルス感染症

新型コロナウイルス感染症の世界的な流行が発生し，553 検体(499 事例)の検査を実施した。7 事例から新型コロナウイルスが検出された。

(2) 感染症発生動向調査事業

市内 15 の病原体定点医療機関において採取された検体について，ウイルス分離・同定等の検査を行った。検査結果は定点医療機関に還元するとともに，当所の広島市感染症情報センターのホームページに情報を掲載した。また，広島市感染症対策協議会へ情報提供し，さらに感染症サーベイランスシステム(NESID)に病原体検出情報を入力

表 6 保健所・保健センター等依頼検査件数

項目	検体数	項目数
食中毒/有症苦情等	234	468
食品衛生検査	50	96
A 型肝炎	2	2
E 型肝炎	3	3
ダニ類媒介感染症	99	132
蚊媒介感染症	17	34
麻しん	385	556
風しん	79	153
先天性風しん症候群	2	2
急性脳炎	43	467
後天性免疫不全症候群	3	9
新型コロナウイルス感染症	553	553
計	1,470	2,475

報告し、国立感染症研究所の感染症疫学センター (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>) から検出情報を還元した。

平成 31 年度は、病原体定点医療機関において採取された 754 検体について検査を行った。その臨床診断名別検体数を表 7 に示した。細胞培養法 (HEF, HEp-2, RD-18S, Vero, A549)、遺伝子検査法、イムノクロマト法、電子顕微鏡検査法、蛍光抗体法 (FA 法) 等で病原ウイルス検索を実施した結果、42 種類 279 株のウイルスが検出された (表 8)。

(3) 調査研究

農林水産省「カキ中のノロウイルスに係る検査体制整備事業」に協力し、カキからの高感度ノロウイルス遺伝子検出法の検討を行った。また、「A 群ロタウイルスの検出法と遺伝子型解析に関する研究」を実施し、定量リアルタイム PCR 検査法の検討及び遺伝子型解析用の PCR 検査系を構築した。

表 7 感染症発生動向調査検体数

診断名	検体数
インフルエンザ	56
RS ウイルス感染症	3
咽頭結膜熱	6
感染性胃腸炎	35
水痘	1
手足口病	23
突発性発しん	2
ヘルパンギーナ	11
流行性耳下腺炎	4
急性出血性結膜炎	4
流行性角結膜炎	66
無菌性髄膜炎	33
その他の疾患	510
計	754
項目数	6, 420

表 8 病原体別検出数

検出病原体	検出数
コクサッキーウイルス A5 型	3
コクサッキーウイルス A6 型	14
コクサッキーウイルス A10 型	3
コクサッキーウイルス A16 型	4
コクサッキーウイルス B3 型	1
コクサッキーウイルス B5 型	8
エコーウイルス 18 型	3
エコーウイルス 25 型	2
エコーウイルス 30 型	16
パレコウイルス 1 型	4
パレコウイルス 2 型	1
パレコウイルス 3 型	23
ライノウイルス	41
インフルエンザウイルス A (H1N1) 2009 型	43
インフルエンザウイルス AH3 型	5
B 型インフルエンザウイルス	7
パラインフルエンザウイルス 1 型	3
パラインフルエンザウイルス 2 型	4
パラインフルエンザウイルス 3 型	7
RS ウイルス	7
ムンプスウイルス	2
ヒトメタニューモウイルス	8
ヒトコロナウイルス OC43	4
ヒトコロナウイルス HKU1	2
レオウイルス	4
A 群ロタウイルス	2
サボウイルス	2
ノロウイルス GⅡ	10
アストロウイルス	1
アデノウイルス 1 型	6
アデノウイルス 2 型	9
アデノウイルス 3 型	6
アデノウイルス 5 型	3
アデノウイルス 6 型	1
アデノウイルス 31 型	3
アデノウイルス 37 型	4
アデノウイルス 41 型	1
アデノウイルス 56 型	5
ヒトボカウイルス	4
水痘帯状疱疹ウイルス	1
EB ウイルス	1
ヒトヘルペスウイルス 6 型	1
計	279

環 境 科 学 部

環境科学部の主要業務は、環境保全に関する試験検査及び調査研究であり、水質関連業務及び大気関連業務に大別される。

水質関連業務では、水質汚濁防止法に基づく公共用水域(河川水・地下水)の水質調査、工場・事業場の排水調査、河川水等の水質汚濁に係る苦情調査及びこれらに関する調査研究を行っている。

大気関連業務では、大気汚染防止法に基づく環境大気中の有害大気汚染物質のモニタリング、内分泌かく乱化学物質環境調査、酸性雨、フロン類、アスベスト等の環境調査及びこれらに関する調査研究を行っている。

平成31年度の業務概要を以下に報告する。

1 水質関連業務

平成31年度に実施した区分ごとの試験件数及び延項目数を表1に示す。

(1) 河川水調査

公共用水域等の水質測定計画に基づき、太田川水系及び八幡川水系の調査地点(図)において、河川の水質調査を実施した。

太田川水系及び八幡川水系については、環境基準点6地点を含む9地点で毎月1回、その他の2地点で2か月に1回、pH、BOD等の生活環境項目等の調査を実施した。また、環境基準点6地点で、カドミウム、全シアン等の健康項目と銅、鉄等の特殊項目の調査を年2回(7月、1月)、栄養塩類の調査を年4回(4月、7月、10月、1月)実施した。

健康項目は全地点で環境基準を満たしていたが、生活環境項目ではほとんどの地点で大腸菌群数の基準値超過がみられた。

表1 水質関連業務試験件数

区 分	件数	延項目数
河川水調査	132	1,884
地下水調査	24	462
洗剤残存調査	36	36
工場・事業場排水調査	69	772
苦情調査等	84	1,129
海水調査	60	360
一般依頼試験	11	22
環境省受託調査	4	14
計	420	4,679

(2) 地下水調査

公共用水域等の水質測定計画に基づき、地下水の水質状況を把握するための地下水調査を実施した。

市域の全体的な地下水質の状況を把握するための概況調査を10地点で年1回(10月)実施した。

また、以前確認された汚染の継続的な監視等を目的とした継続監視調査を7地点で年2回(7月、1月)実施した。

全地点で、環境基準を満たしていた。

(3) 洗剤残存調査

河川における合成洗剤の残存状況を把握するため、合成洗剤の主成分である直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)について、河川9地点で年4回(5月、8月、11月、2～3月)調査を実施した。

河川は、全地点で、河川：生物特Aの環境基準値である0.02mg/Lを下回っていた。

(4) 工場・事業場排水調査

水質汚濁防止法、広島県生活環境の保全等に関する条例に基づき、環境局環境保全課の職員が工場・事業場への立入検査を行い、採取した排水水について水質試験を実施した。

試験件数は69件で、pH、BOD等の生活環境項目、カドミウム、シアン化合物等の有害物質について、延べ772項目の試験を実施した。

(5) 苦情調査等

市民からの水質苦情や水質事故等に伴う有害物質有無の確認及び原因物質等の究明のため、水質試験を実施した。試験件数は84件で、延べ1,129項目の試験を実施した。

また、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動植物被害の防止に係る指導指針(平成29年3月9日環水大土発第1703091号環境省水・大気環境局長通知)」に基づき、市内8か所のゴルフ場からの排水水について農薬調査を実施した。試験件数は8件で、延べ776項目の試験を実施した。

(6) 海水調査

平成28年度から、経済観光局水産課の依頼により「広島かき採苗安定強化事業」の一環として、広島湾内の栄養塩類の濃度を把握するため、海域4地点で年15回(6～8月：2回/月、4,5,9～3月：1回/月)、全りん、ケイ酸態ケイ素等の栄養塩類の調査

を実施した。

試験件数は60件で、延べ360項目の試験を実施した。

(7) 一般依頼試験

市内の工場・事業場からの検査依頼に基づき、事業場排水について試験検査を実施した。試験件数は11件で、延べ22項目の試験を実施した。

(8) 環境省受託調査

環境省では、昭和49年度から化学物質環境実態調査を実施している。本市もこの調査を受託し、生物モニタリング調査の試料採取及び前処理を実施した。

調査結果は、環境省が全国の調査結果の解析・とりまとめを行い、公表している。

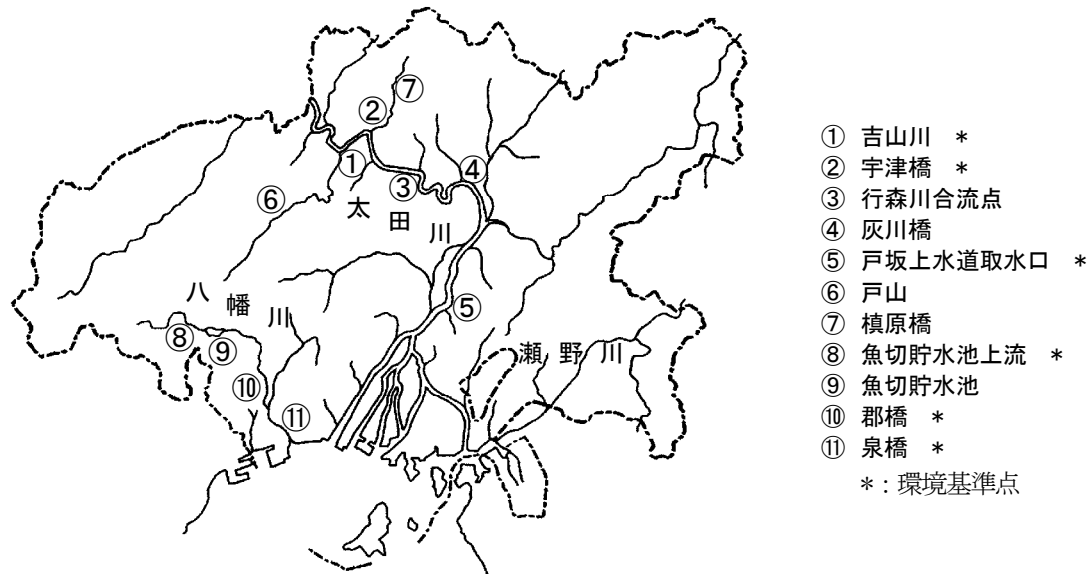


図 河川水調査地点

2 大気関連業務

平成31年度に実施した区分ごとの試験件数及び延項目数を表2に示す。

(1) 有害大気汚染物質調査

有害大気汚染物質による大気汚染状況を把握するため、大気汚染防止法に基づいて、常時監視調査を実施した。

調査は、市内4地点(井口小学校、安佐南区役所、比治山測定局及び楠那中学校)で毎月1回実施した。調査対象物質は、健康への有害性の高い優先取組物質として指定されている23物質のうち、モニタリング手法の確立された21物質(ダイオキシン類を除く)及び市内において大気への排出量が最も多いキシレンとした。

調査結果を表3に示す。全ての地点で環境基準値又は指針値に適合していた。

(2) 内分泌かく乱化学物質環境調査

人の健康や生態系に悪影響を及ぼす内分泌かく乱作用を有すると疑われる化学物質の河川及び海域における汚染状況を把握するため、4-tert-オクチルフェノール、ノニルフェノール、ビスフェノールAの3物質について、河川は8地点、海域は4地点で、水質調査を年1回(10月又は11月)実施した。

全地点で、3物質とも検出されなかった。

(3) 酸性雨調査

全国環境研協議会で、日本全域における酸性沈着による汚染実態の把握を目的として実施されている第6次酸性雨共同調査(全国調査)に参加して、調査を実施した。

市内1地点(伴小学校)で、湿性沈着調査を実施した。測定項目は、降水量、pH、電気伝導率、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- 、 NH_4^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} である。調査結果は、本報の調査研究報告に掲載している。

全国の調査結果は、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会が調査年度の翌年度末までにとりまとめ、公表している。

(4) フロン類調査

本市における大気環境中のフロン類の濃度を把握するため、有害大気汚染物質調査と同一地点で、毎月1回調査を実施した。調査項目は、CFC(4物質)、代替フロンのHFC(1物質)及びHCFC(6物質)、その他の特定物質(3物質)である。調査結果を表4に示す。

(5) 降下ばいじん調査

本市の大気汚染状況を総合的に監視するため、ろ過式降水採取器を市内1地点(伴小学校)に設置し、1か月間採取した降下ばいじん量(重力や降雨

表2 大気関連業務試験件数

区 分	件数	延項目数
有害大気汚染物質調査	48	1,200
内分泌かく乱化学物質環境調査	12	48
酸性雨調査	24	252
フロン類調査	48	672
降下ばいじん調査	12	168
アスベスト調査	38	38
環境省受託調査	3	9
計	185	2,387

表3 有害大気汚染物質の調査結果

物質名	年平均値	最小値	最大値	環境基準値 〔指針値〕
ベンゼン	0.81	0.27	1.4	3
トリクロロエチレン	0.15	<0.005	1.6	130
テトラクロロエチレン	0.067	<0.008	0.16	200
ジクロロメタン	0.72	0.36	1.6	150
アクリロニトリル	0.032	<0.008	0.063	[2]
アセトアルデヒド	1.8	0.93	3.0	—
塩化ビニルモノマー	0.025	<0.009	0.18	[10]
クロロホルム	0.19	0.11	0.37	[18]
酸化エチレン	0.053	0.018	0.13	—
1,2-ジクロロエタン	0.14	0.027	0.47	[1.6]
1,3-ブタジエン	0.054	<0.006	0.15	[2.5]
塩化メチル	1.3	1.1	2.1	—
トルエン	7.8	1.5	48	—
キシレン	3.4	0.43	22	—
ベンゾ[a]ピレン	0.16	0.023	0.56	—
ホルムアルデヒド	2.6	1.3	4.7	—
水銀※	1.5	1.2	2.4	[40]
ニッケル※	3.0	0.6	11	[25]
ヒ素※	1.7	0.53	3.3	[6]
ベリリウム※	0.026	0.0060	0.11	—
マンガン※	25	6.8	46	[140]
クロム※	5.2	1.4	24	—

単位：μg/m³ (※については、ng/m³)

平均値は、検出下限値以上の場合はその値を用いて、検出下限値未満のものについては検出下限値の1/2の値を用いて算出した。

などによって降下する粒子状物質及びばいじんの量)、pH、電気伝導率、陰・陽イオン濃度及び降水量の調査を毎月実施した。

このうち、降下ばいじん量及びろ液(降水)のpH

の調査結果を表5に示す。

(6) アスベスト調査

本市における大気環境中のアスベスト濃度を把握するため、幹線道路沿線地域(市役所)、住宅地域(安東小学校、楠那中学校)及び商工業地域(中小企業会館)において、年1回(11月)、3日連続(計24検体)で調査を実施した。調査結果を表6に示す。

また、建築物解体作業に伴うアスベストの大気濃度を把握するため、解体作業現場の周辺(4地点、14検体)で調査を実施した。

全ての調査地点で、大気汚染防止法に定められたアスベスト製品製造工場などの敷地境界における大気中濃度の基準の許容限度(10本/L)を下回っていた。

(7) 環境省受託調査

環境省では、昭和49年度から化学物質環境実態調査を実施している。本市もこの調査を受託し、大気モニタリング調査の試料採取を国泰寺中学校で行った。

調査結果は、環境省が全国の調査結果の解析・とりまとめを行い、公表している。

表5 降下ばいじん調査結果

測定項目	年平均値	最小値	最大値
降下 ばいじん量 [ton/km ² /月]	1.4	0.64	2.3
ろ液のpH	4.6	4.3	5.3

pHの年平均値は降水量による加重平均値

7月は試料が全量採取できなかったため欠測

表6 アスベスト調査結果 (本/L)

区 分	幾何平均値
幹線道路沿線地域	0.31
住宅地域	0.41
商工業地域	0.24

アスベスト以外の繊維を含む総繊維数濃度

表4 フロン類調査結果 (ppb)

物質名	年平均値	最小値	最大値
CFC-11	0.24	0.16	0.27
CFC-12	0.52	0.46	0.57
CFC-113	0.065	0.059	0.071
CFC-114	0.015	0.011	0.019
HFC-134a	0.40	0.12	2.6
HCFC-22	0.33	0.26	0.71
HCFC-123	<0.0020	<0.0020	0.0060
HCFC-141b	0.029	0.011	0.041
HCFC-142b	0.028	<0.0033	0.056
HCFC-225ca	<0.0017	<0.0017	0.0064
HCFC-225cb	<0.0025	<0.0025	<0.0025
ブロモメタン	0.022	0.0069	0.17
1,1,1-トリクロエタン	0.0030	<0.0019	0.012
四塩化炭素	0.075	0.057	0.089

平均値は、検出下限値以上の場合はその値を用いて、検出下限値未満のものについては検出下限値の1/2の値を用いて算出した。

調查研究報告

I 調查研究

繊維製品に含まれるアゾ化合物試験法の検討

長谷川 富子 馬部 文恵* 佐々木 珠生 小中 ゆかり

特定芳香族アミンを生成するアゾ化合物について、ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)による定量試験法の検討を行った。分散染料の使用の有無により前処理が異なるが、添加回収試験の結果はおおむね良好であった。

GC-MS による定量試験において特定芳香族アミンが検出された場合、高速液体クロマトグラフ(HPLC)による確認試験を行う必要があることから、HPLC による確認試験法についても検討を行った。2 種類のカラムを用いることなどにより、測定対象物質をおおむね分離することができた。

繊維製品 103 検体、167 部位について実態調査を実施したところ、いずれの製品からも特定芳香族アミンは検出されなかった。

キーワード： アゾ化合物、特定芳香族アミン、GC-MS、HPLC、繊維製品

は じ め に

平成 27 年 4 月 8 日に「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」における有害物質に新たにアゾ化合物が指定されたことに伴い、平成 27 年 7 月 9 日に規制対象の家庭用品を指定するとともに、家庭用品の区分に応じて基準が定められた。本市でも、規制対象となる繊維製品について試験を実施することとなった。

そこで、この改正に伴う規制に対応するため、施行規則に定める試験法(以下、公定法)¹⁾を基に、GC-MS による定量試験法及び HPLC による確認試験法について検討を行った。

併せて、平成 29～31 年度に実施した実態調査の結果についても報告する。

方 法

1 測定対象物質

GC-MS による定量試験では、規制対象のアゾ化合物由来の特定芳香族アミン 24 物質(表 1 の 1～24)のうち、還元処理により還元され、実際には測定できない 2-メチル-4-(2-トリルアゾ) アニリン、2-メチル-5-ニトロアニリンを除いた 22 物質並びにパラ-フェニルアゾアニリンの還元分解により生成するアニリン及び 1,4-フェニレンジアミンの計 24 物質を測定対象物質とした。

HPLC による確認試験では、特定芳香族アミン 24 物質を測定対象物質とした。

表 1 測定対象物質と GC-MS 保持時間

No.	化合物名	保持時間(分)
1	オルト-トルイジン	10.7
2	2,4-ジメチルアニリン	11.7
3	2,6-ジメチルアニリン	11.8
4	オルト-アニジン	12.0
5	パラ-クロロアニリン	12.4
6	2-メトキシ-5-メチルアニリン	13.0
7	2,4,5-トリメチルアニリン	13.1
8	4-クロロ-2-メチルアニリン	13.4
9	2,4-ジアミノトルエン	14.6
10	2,4-ジアミノアノール	15.5
11	2-ナフチルアミン	16.1
12	4-アミノジフェニル	17.8
13	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	22.4
14	4,4'-メチレンジアニリン	22.5
15	ベンジジン	22.6
16	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	24.7
17	3,3'-ジメチルベンジジン	25.1
18	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	26.6
19	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	27.2
20	3,3'-ジクロロベンジジン	27.2
21	3,3'-ジメチルベンジジン	27.3
22	パラ-フェニルアゾアニリン	21.6
23	2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン	—
24	2-メチル-5-ニトロアニリン	—
25	アニリン	9.3
26	1,4-フェニレンジアミン	13.4

*：現 公益財団法人 広島市産業振興センター

2 試薬

(1) 標準品

2-ナフチルアミン、4-アミノジフェニル及びベンジジンは SPEX 製標準液 (1000 μ g/mL)、アニリン及び 1,4-フェニレンジアミンは関東化学製混合標準液 (100 μ g/mL) を用いた。2,4,5-トリメチルアニリンは Appolo Scientific 製、2,4-ジアミノトルエンは関東化学製、2,4-ジアミノアニソール及び 4,4'-ジアミノジフェニルスルフィドは Sigma 製、それ以外は Dr. Ehrenstorfer 製を用いた。

(2) 内部標準物質

ナフタレン- d_8 及び 2,4,5-トリクロロアニリンは関東化学製、アントラセン- d_{10} は富士フィルム和光純薬製を用いた。アニリン- d_5 は Dr. Ehrenstorfer 製標準液 (1000ng/ μ L) を用いた。

(3) HPLC 溶離液

メタノールは関東化学製 (LCMS 用)、リン酸二水素カリウムは関東化学製 (特級) を用いた。

(4) その他の試薬

tert-ブチルメチルエーテル (MTBE) 及びメタノールは関東化学製 (残留農薬・PCB 試験用 (5,000 倍濃縮検定品)) を用いた。クエン酸一水和物、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、亜ジチオン酸ナトリウム及びクロロベンゼンは関東化学製 (特級) を用いた。珪藻土カラムは Agilent 製ケムエールトを用いた。

3 装置

GC-MS は島津製作所製 GCMS-QP2010ultra 及び GCMS-QP2020NX を用いた。

HPLC は島津製作所製 LC-20A を用いた。

表 2 GC-MS 測定条件

カラム	Agilent DB-35MS (0.25mm $\times$ 30m, 0.25 μ m)
カラム温度	55 $^{\circ}$ C (5min)-15 $^{\circ}$ C/min-230 $^{\circ}$ C -5 $^{\circ}$ C/min-290 $^{\circ}$ C-20 $^{\circ}$ C/min -310 $^{\circ}$ C (5min)
気化室温度	250 $^{\circ}$ C
インターフェース温度	270 $^{\circ}$ C
イオン源温度	230 $^{\circ}$ C
キャリアガス	ヘリウム
カラム流量	1mL/min
注入方式	スプリット (1:10)
注入量	1 μ L

表 3 HPLC 測定条件

溶離液	A: リン酸二水素カリウム 0.68g を 水に溶かして 1000mL にしたものに メタノール 150mL 加えたもの B: メタノール
カラム	Inertsil ODS-3 (4.6mm $\times$ 150mm, 3 μ m) InertSustain phenyl (4.6mm $\times$ 150mm, 3 μ m)
カラム温度	40 $^{\circ}$ C
検出器	フォトダイオードアレイ検出器
グラジエント 条件	10%B (0min)-(22.5min)-55%B (0min)- (5min)-95%B (5min)-(0.5min)-10%B (7min)
流速	0.6mL/min
注入量	10 μ L
測定波長	240, 260, 280, 380nm (スキャン範囲 200~600nm)

4 測定条件

GC-MS の測定条件は表 2 のとおりとし、HPLC の測定条件は表 3 のとおりとした。

5 添加回収試験

添加量は、対象物質のうちアニリンと 1,4-フェニレンジアミンについては 5 μ g、パラ-フェニルアゾアニリンは 50 μ g、それ以外の物質については 30 μ g として、添加回収試験を実施した。

JIS L 1940^{2),3)} (以下、JIS) では、標準液を添加して一連の操作を行った時の特定芳香族アミンの回収率について、最低要求基準を定めている。公定法においても、JIS を参考に回収率試験をあらかじめ実施し、規定の回収率を満たしている等、試験操作手順を確認することとされている。

6 実態調査

平成 29 年 9 月から令和 2 年 1 月までの間に、広島市内で販売されていた繊維製品 103 検体を調査試料とした。

結果と考察

1 GC-MS による定量試験法の検討

公定法ではパラ-フェニルアゾアニリンとそれ以外の特定芳香族アミンは異なる定量試験法が示されている。パラ-フェニルアゾアニリン以外の特定芳香族アミンの定量試験法では、パラ-フェニルアゾアニリンは還元され、アニリン及び 1,4-フェニレンジアミンに分解されるため、アニリン及び

1, 4-フェニレンジアミンを 5 μ g/g 以上検出した場合には、より緩やかな還元条件であるパラ-フェニルアゾアニリンの定量試験法(追加試験)が別途定められている。ここでは、パラ-フェニルアゾアニリン以外の特定芳香族アミンの定量試験法と追加試験法の検討を行った。

(1) パラ-フェニルアゾアニリン以外の特定芳香族アミン

公定法に準じて JIS に基づく回収率試験を実施したところ、2, 4-ジアミノトルエン及び 2, 4-ジアミノアニソールは、目標回収率を満たさなかった。

前処理操作の検討を行った結果、70 $^{\circ}$ C の加温には湯浴を用いること、冷却には氷水を用いること、減圧濃縮時の圧力を下げ過ぎないことが、精度の良い分析に効果的であることが判明した。

また、珪藻土カラムによる精製過程については、水酸化ナトリウム水溶液の添加濃度を濃くすることで、目標回収率を満たす結果が得られることが報告されている⁴⁾。そこで、回収率と水酸化ナトリウム水溶液の添加濃度及び溶出液(MTBE)の量について検証を行った。水酸化ナトリウム水溶液の濃度を 10%, 20%, 30% とし、またそれぞれ、溶出液を 10mL ずつ分画採取し、GC-MS で測定した。各分画液における回収率から、分画液の累積量に応じた累積回収率を算出した。水酸化ナトリウム水溶液の濃度が濃いほど、累積量が増すほど、精製過程における回収率が向上した(図 1)。水酸化ナトリウム水溶液の濃度 30% では、累積量が 80mL を超えると、分画液の回収率が 1% 以下であるため、溶出液の量(反応容器からの洗い込み液は除く)を 80mL とすることとした。

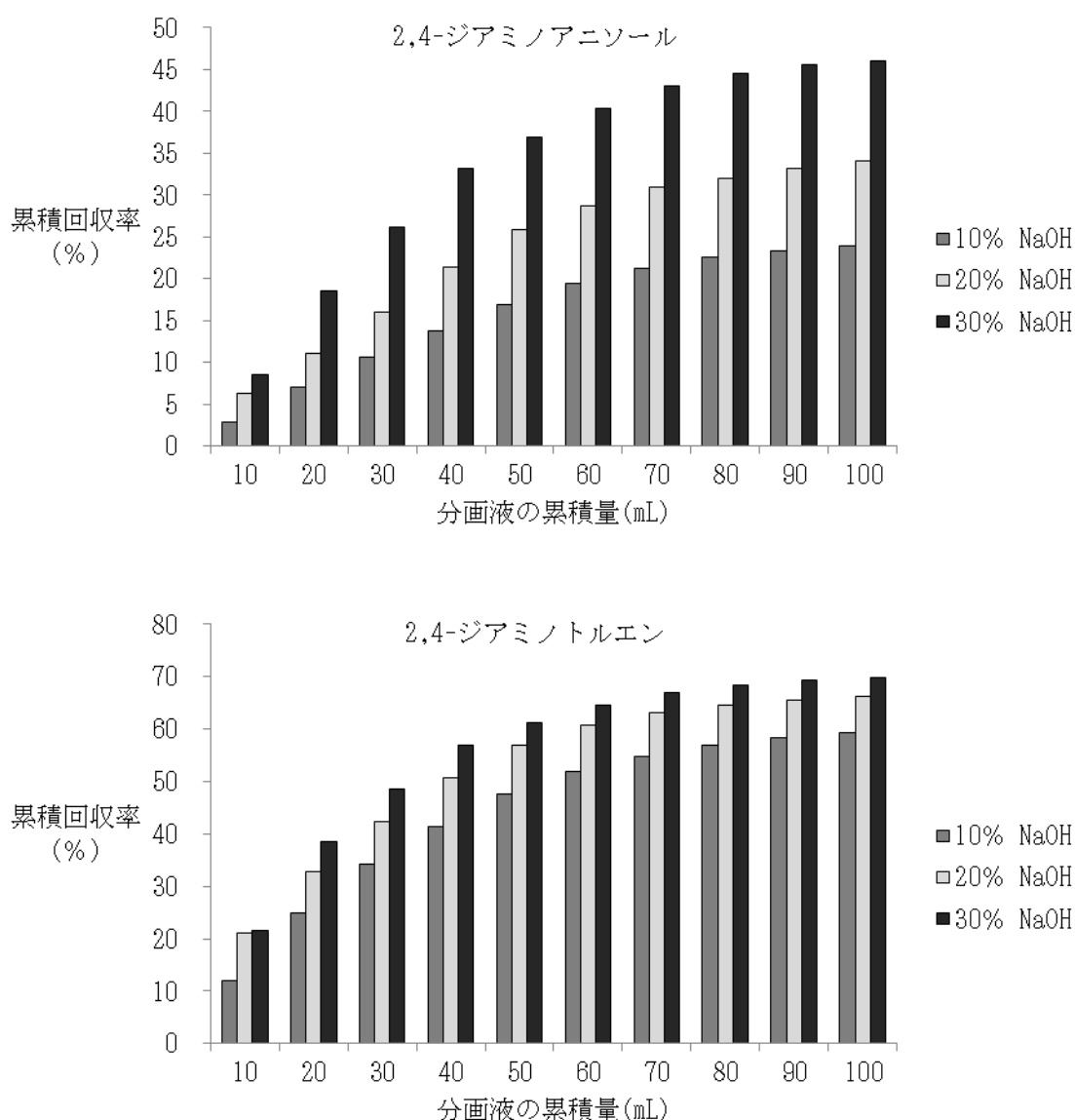


図 1 水酸化ナトリウム濃度及び分画液の累積量と累積回収率の関係

加えて、カラム下部にコックを装着し、滴下する程度に溶出速度を調節したところ、目標回収率を満足し、再現性も得られるようになった(表4)。

改良後の定量試験法を図2に示す。

次に、分散染料が使用されている繊維製品の場合の定量試験法の検討を行った。

分散染料が使用されている場合には、前処理として、亜ジチオン酸ナトリウムによる還元分解操作の前に、クロロベンゼンによる還流抽出及び抽出液の濃縮操作が追加となる。そのため、繊維製品中に遊離体として特定芳香族アミンが残存する可能性を考慮して、クロロベンゼンによる還流抽出を含めた添加回収試験を行った。結果を表5に

示す。アニリンの回収率は40.6%で、目標回収率の70%を満たさなかった。併行して実施したクロロベンゼンでの還流抽出を行わない回収率試験では、回収率は良好だったことから、クロロベンゼンによる還流抽出及び濃縮操作の過程で、アニリンの損失が起きていると考えられた。公定法では、クロロベンゼン抽出液の濃縮操作は、45~60℃で行うことになっているが、突沸しないように減圧度を調整し、時間をかけて穏やかに濃縮してもアニリンの回収率は改善しなかった。クロロベンゼンの沸点(131℃)が高く、他の特定芳香族アミンと比べて、アニリンとクロロベンゼンの沸点の差が近いことが影響していると考えられた。

表4 回収率試験(JIS)の結果(n=6)

No.	化合物名	コックなし		コック装着		目標 回収率
		平均回収率 (%)	変動係数 (%)	平均回収率 (%)	変動係数 (%)	
1	オルト-トルイジン	78.6	4.8	89.2	1.0	50
2	2,4-ジメチルアニリン	78.2	4.2	90.2	0.9	-
3	2,6-ジメチルアニリン	78.6	4.4	89.9	1.0	-
4	オルト-アニジジン	80.1	3.1	88.8	1.0	70
5	パラ-クロロアニリン	80.8	3.9	88.9	1.9	70
6	2-メトキシ-5-メチルアニリン	82.3	4.2	89.0	1.9	70
7	2,4,5-トリメチルアニリン	79.9	4.4	90.3	2.0	70
8	4-クロロ-2-メチルアニリン	83.0	4.5	91.4	1.9	70
9	2,4-ジアミノトルエン	39.0	33.7	80.1	6.1	50
10	2,4-ジアミノアニソール	19.9	48.1	53.9	7.4	20
11	2-ナフチルアミン	71.1	3.9	78.9	2.4	70
12	4-アミノジフェニル	86.8	1.2	88.1	3.0	70
13	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	92.5	6.5	85.7	7.2	70
14	4,4'-メチレンジアニリン	93.3	6.1	84.4	5.4	70
15	ベンジジン	90.2	7.9	86.9	7.7	70
16	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	97.4	6.7	91.0	7.7	70
17	3,3'-ジメチルベンジジン	97.5	7.0	91.1	8.4	70
18	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	95.7	8.0	87.6	8.2	70
19	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	98.6	6.6	92.9	9.0	70
20	3,3'-ジクロロベンジジン	97.4	7.3	91.6	8.5	70
21	3,3'-ジメトキシベンジジン	93.5	8.7	86.8	7.0	70
25	アニリン	77.0	4.0	89.1	1.3	70
26	1,4-フェニレンジアミン	0.0	-	0.0	-	-

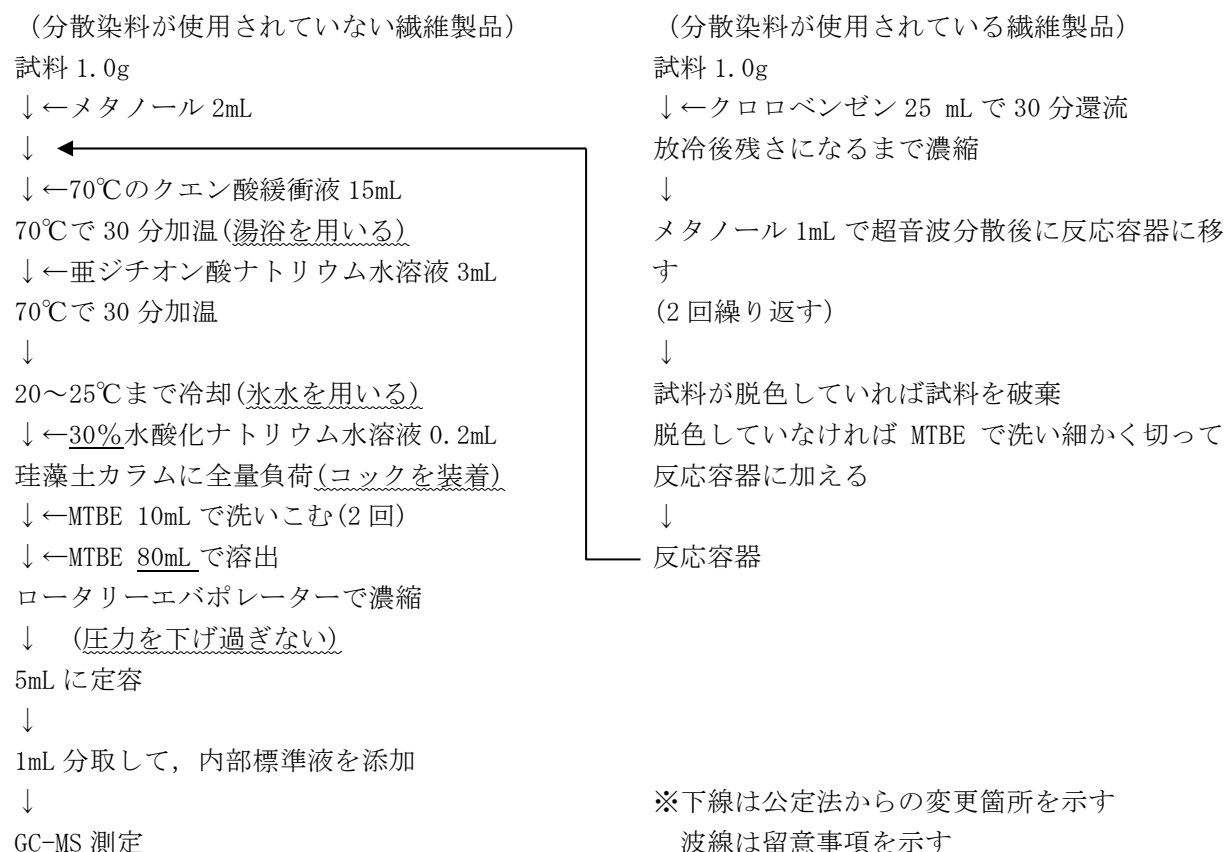


図2 パラ-フェニルアゾアニリン以外の特定芳香族アミンを生成するアゾ化合物の定量試験法

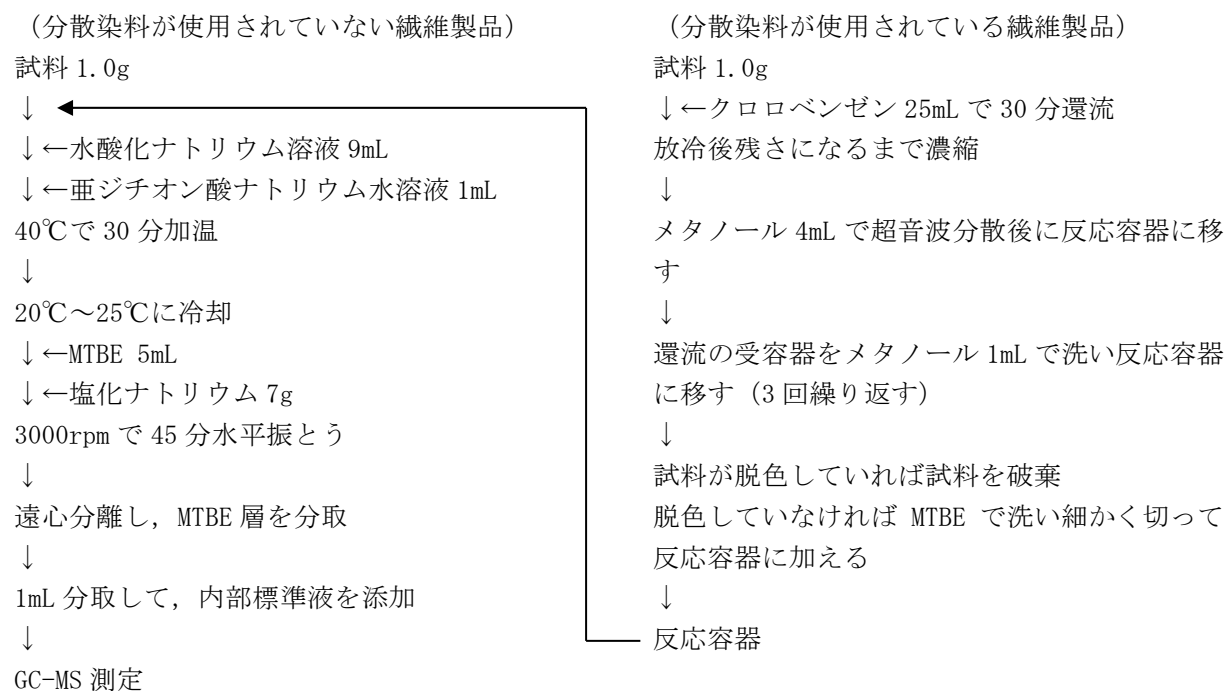


図3 パラ-フェニルアゾアニリンを生成するアゾ化合物の定量試験法(追加試験)

表 5 添加回収試験の結果

No.	化合物名	回収率(%)		目標回収率 (%)
		クロロベンゼンによる還流抽出 なし	あり	
1	オルト-トルイジン	91.0	68.6	50
2	2,4-ジメチルアニリン	90.7	81.2	-
3	2,6-ジメチルアニリン	95.1	82.6	-
4	オルト-アニジジン	93.8	81.4	70
5	パラ-クロロアニリン	90.8	78.8	70
6	2-メトキシ-5-メチルアニリン	90.3	84.9	70
7	2,4,5-トリメチルアニリン	94.9	86.2	70
8	4-クロロ-2-メチルアニリン	92.0	85.0	70
9	2,4-ジアミノトルエン	72.5	69.5	50
10	2,4-ジアミノニソール	35.3	39.9	20
11	2-ナフチルアミン	71.8	92.3	70
12	4-アミノジフェニル	73.5	82.5	70
13	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	73.0	83.9	70
14	4,4'-メチレンジアニリン	84.5	87.7	70
15	ベンジジン	82.9	85.3	70
16	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	78.5	95.5	70
17	3,3'-ジメチルベンジジン	86.8	87.7	70
18	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	85.6	92.6	70
19	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	99.4	102.5	70
20	3,3'-ジクロロベンジジン	94.3	96.5	70
21	3,3'-ジメトキシベンジジン	76.5	80.1	70
25	アニリン	83.8	<u>40.6</u>	70
26	1,4-フェニレンジアミン	6.2	5.8	-

そこで、アニリン-d₅を添加して、添加回収試験(n=3)を行い、アニリンとアニリン-d₅のGC-MSクロマトグラムのピーク面積比から回収率を算出したところ、回収率は104%(変動係数1.3%)と良好な結果が得られた。アニリン-d₅を使用した内部標準法による測定が可能であると考えられる。

(2) パラ-フェニルアゾアニリン(追加試験)

最初に、分散染料が使用されていない繊維製品の場合の定量試験法について検討を行った。公定法(図3)に準じてJISに基づく回収率試験を実施したところ、回収率は95%で、目標回収率の60%を超えていた。実試料への添加回収試験の結果も60%を超えており、良好な結果であった(表6)。

次に、分散染料が使用されている繊維製品の場合の定量試験法についても検討を行った。クロロ

ベンゼンによる還流抽出からの添加回収試験を実施したところ、回収率は86%で、目標回収率の60%を超えていた。実試料への添加回収試験の結果は57~84%であった(表7)。

表 6 実試料への添加回収試験結果
(分散染料が使用されていない繊維製品の場合)

試料名	回収率(%)
下着[水色]	62
下着[ピンク色]	62
中衣[ピンク色]	61
外衣[ピンク色]	61
外衣[ベージュ色]	69

表 7 実試料への添加回収試験結果
(分散染料が使用されている繊維製品の場合)

試料名	回収率 (%)
中衣[淡赤色]	67
外衣[ピンク色]	57
外衣[ピンク色]	66
外衣[灰色]	84
帽子[茶色]	64

2 HPLC による確認試験法

HPLC による確認試験法については、様々な検討結果が報告されている^{5), 6)}。これらの報告を参考に当所においても HPLC 分析条件の検討を行った。

特定芳香族アミン 24 物質を各々 10 μ g/mL に調製し、個々に、保持時間及び測定波長を 2 種類のカラムで確認した。保持時間は表 8 のとおりであった。

また、特定芳香族アミン混合標準液 (10 μ g/mL) を測定したときのクロマトグラムを図 4 及び図 5 に示す (ピークにつけた番号は表 8 の番号に対応している)。

ODS カラムでは分離できなかった 2-メトキシ-5-メチルアニリン (No. 6) と 3,3'-ジメチルベンジジン (No. 17) は、phenyl カラムでは分離することができた。

2-メチル-5-ニトロアニリン (No. 24) は、ODS カラムではパラ-クロロアニリン (No. 5) と、また phenyl カラムでは 4-クロロ-2-メチルアニリン (No. 8) と重なったが、パラ-クロロアニリン (No. 5) 及び 4-クロロ-2-メチルアニリン (No. 8) にはない 380nm に吸収があるため、380nm を測定波長とすることで、2-メチル-5-ニトロアニリン (No. 24) の測定は可能であった。

対象物質は、2 種類のカラムを用いることによりおおむね分離することができ、また、分離できなかった物質についても、最適な測定波長を選択することにより測定は可能となった。

3 実態調査

平成 29~31 年度の 3 か年に、広島市内で販売されていた繊維製品 103 検体、167 部位について試験を行った。試料の内訳を表 9 に示す。

このうち、平成 30 年度に搬入された 1 製品について、GC-MS による定量試験でパラ-フェニルアゾアニリンの検出が疑われたため、HPLC による確認

表 8 HPLC 保持時間

No.	化合物名	保持時間 (分)	
		ODS-3	phenyl
1	オルト-トルイジン	18.8	14.0
2	2,4-ジメチルアニリン	24.5	18.5
3	2,6-ジメチルアニリン	25.0	18.2
4	オルト-アニジン	17.4	15.7
5	パラ-クロロアニリン	22.8	16.4
6	2-メトキシ-5-メチルアニリン	23.6	19.4
7	2,4,5-トリメチルアニリン	28.5	21.6
8	4-クロロ-2-メチルアニリン	27.9	20.9
9	2,4-ジアミノトルエン	6.8	7.8
10	2,4-ジアミノアノール	5.3	8.0
11	2-ナフチルアミン	26.2	21.6
12	4-アミノジフェニル	29.7	26.3
13	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	15.5	17.8
14	4,4'-メチレンジアニリン	20.5	20.2
15	ベンジジン	15.3	18.1
16	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	27.9	26.2
17	3,3'-ジメチルベンジジン	23.6	24.5
18	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	23.7	23.4
19	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	30.7	29.3
20	3,3'-ジクロロベンジジン	30.5	28.8
21	3,3'-ジメチルベンジジン	22.8	26.0
22	パラ-フェニルアゾアニリン	30.6	28.7
23	2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン	32.5	30.8
24	2-メチル-5-ニトロアニリン	22.6	20.9

試験を行い、当該 GC-MS のピークがパラ-フェニルアゾアニリンによるものではないことを確認した。

その他、いずれの製品からも特定芳香族アミンは検出されなかった。

ま と め

アゾ化合物由来の特定芳香族アミンについて、GC-MS による定量試験法では、前処理操作を一部改良することにより、JIS の目標回収率を満足することができた。

HPLC による確認試験では、対象物質がおおむね分離されたクロマトグラムを得ることができた。

平成 29~31 年度の 3 か年に繊維製品 103 検体について試験を行ったところ、いずれの製品からも特定芳香族アミンは検出されなかった。

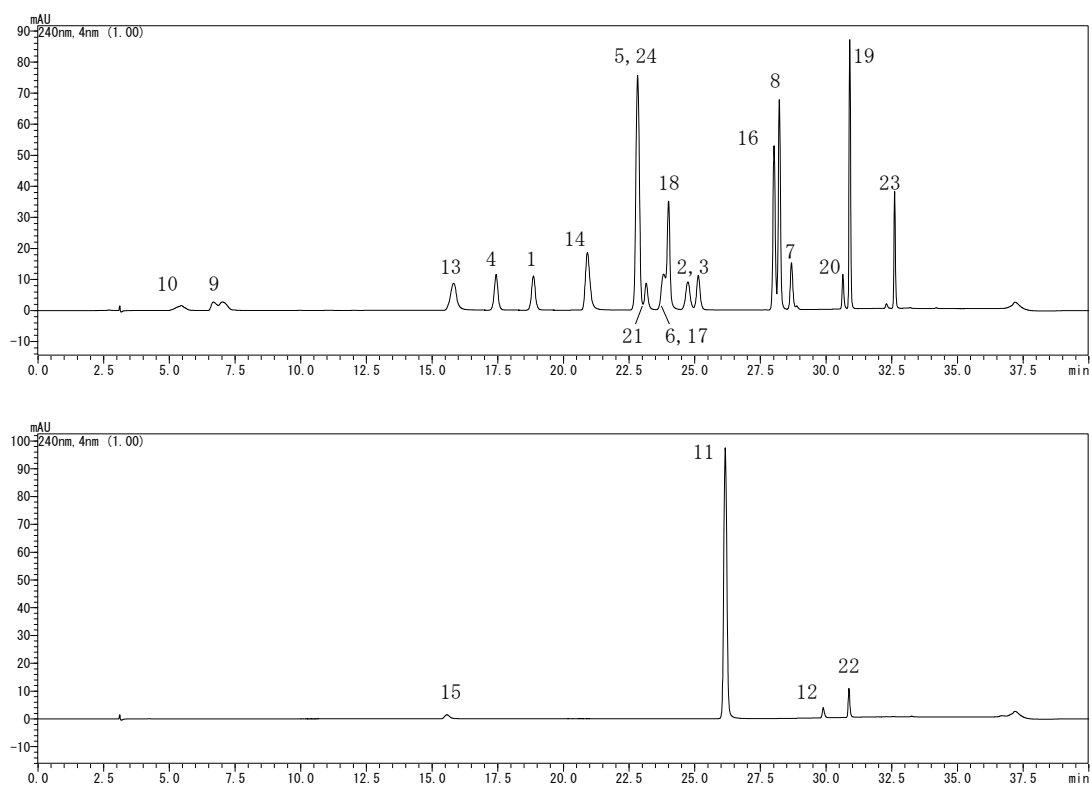


図 4 HPLC クロマトグラム (ODS-3)

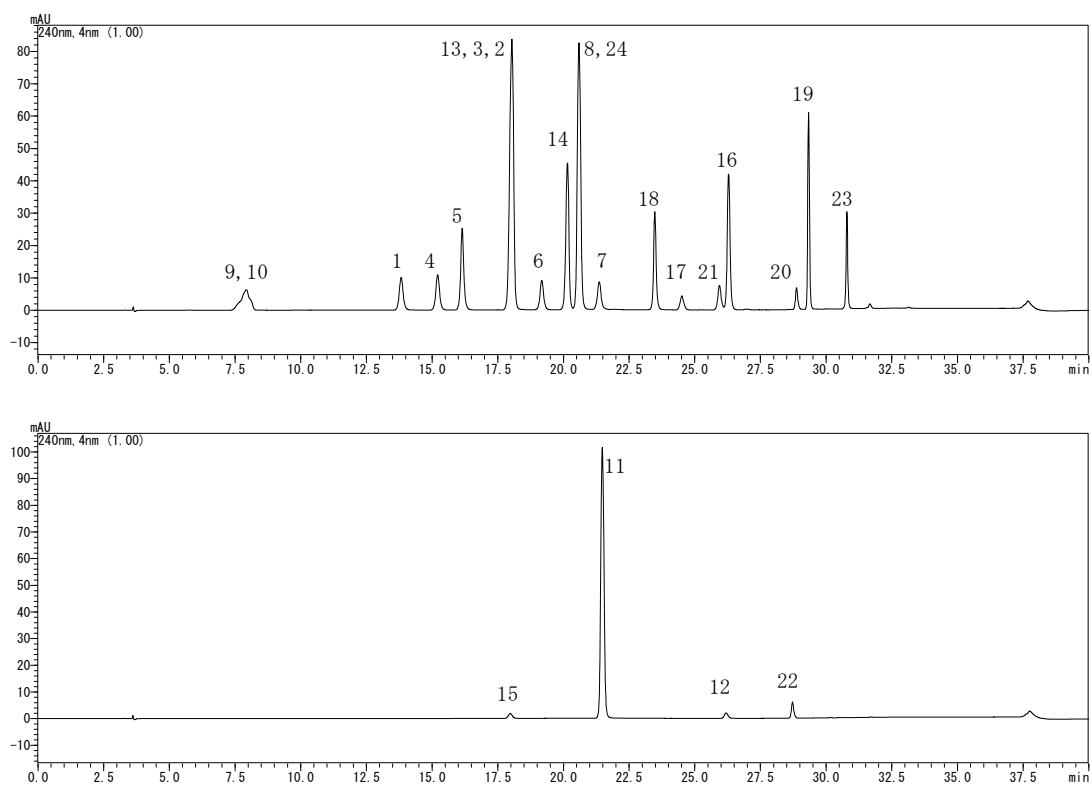


図 5 HPLC クロマトグラム (phenyl)

- 文 献**
- 1) 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別表第 1
 - 2) JIS L 1940-1:2014 (ISO 24362-1:2014), 繊維製品ーアゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法ー第 1 部:繊維の抽出及び非抽出による特定アゾ色素の使用の検出
 - 3) JIS L 1940-3:2014 (ISO 24362-3:2014), 繊維製品ーアゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法ー第 3 部:4-アミノアゾベンゼンを放出する特定アゾ色素の検出
 - 4) 安田匡志 他: GC/MS を用いた特定芳香族アミンの分析方法について, 第 54 回全国衛生化学技術協議会年会要旨集, 258~259 (2017)
 - 5) 河上強志 他: 繊維及び革製品中のアゾ染料由来の特定芳香族アミン類の高速液体クロマトグラフィーを用いた確認試験に関する検討, 国立医薬品食品衛生研究所報告, 132, 57~66 (2014)
 - 6) 宮本道彦 他: 繊維製品に含まれるアゾ化合物由来の特定芳香族アミン類の試験法に関する検討, 福岡市保健環境研究所報, 42, 104~111 (2017)

表 9 調査試料の内訳

年度	品名	検体数	生産国	部位数	試験方法	
					分散染料 なし	分散染料 あり
H29	外衣	14	中国 8, フィリピン 2, インドネシア 1, カボ・ヴェルデ 1, 日本 1, ベトナム 1	33	12	21
	中衣	6	中国 6	7	7	0
	くつした	5	中国 5	9	0	9
	下着	4	日本 2, 中国 1, カボ・ヴェルデ 1	6	6	0
	帽子	4	中国 2, 日本 2	5	2	3
	寝具	1	中国 1	1	0	1
	手袋	1	日本 1	1	1	0
	小計	35		62	28	34
H30	外衣	9	中国 9	16	12	4
	下着	7	中国 5, 日本 2	13	12	1
	中衣	5	中国 4, 日本 1	6	3	3
	寝具	3	中国 2, 日本 1	5	3	2
	くつした	1	日本 1	1	1	0
	帽子	1	日本 1	1	1	0
	小計	26		42	32	10
H31	外衣	18	中国 16, 日本 1, 不明 1	26	16	10
	中衣	20	中国 11, 日本 8, ミャンマー 1	33	32	1
	帽子	3	中国 2, 不明 1	3	2	1
	ハンカチーフ	1	日本 1	1	1	0
	小計	42		63	51	12
	計	103		167	111	56

大気環境中のダイオキシン類高濃度地点における レボグルコサン濃度調査結果

下田 喜則 細末 次郎 鹿渡 正美 小川 秋奈
加藤 寛子 宮野 高光 坂本 哲夫* 村野 勢津子

広島市では、環境大気中のダイオキシン類調査を平成 10 年度から実施している。これまでの調査で、全調査地点で環境基準を達成しており、減少傾向にある。しかし、継続的にダイオキシン類濃度が高い地点があり、全国平均値より高濃度となっている。当該地点の周辺は、大規模な工場及び事業場がなく、農地利用が多いことから、付近にダイオキシン類の発生源があると仮定した場合、野焼き等のバイオマス燃焼がダイオキシン類濃度を高くする要因の一つとして考えられる。このことから、バイオマス燃焼の有機マーカーであるレボグルコサンに着目し、大気中のダイオキシン類を調査する時期に合わせ、同地点でレボグルコサン濃度の調査を行った。また同時に、有機物の不完全燃焼時に発生するベンゾ[a]ピレン及び揮発性有機化合物を調査した。

調査の結果、継続的にダイオキシン類濃度が高い当該地点において、野焼き等が多いとされる秋季にレボグルコサン及びベンゾ[a]ピレンの濃度が高かったことから、バイオマス燃焼による大気汚染の影響があったことが示唆された。また、当該地点周辺地域は谷地形であるが、揮発性有機化合物を調査した結果、半減期の長い物質の濃度が高かったことから、地域内の大気が地域外に拡散しづらいという特徴があることが示唆された。

キーワード： レボグルコサン、ダイオキシン類、バイオマス燃焼

は じ め に

広島市では、平成 10 年度から環境大気中のダイオキシン類調査を実施している。これまでの調査で、全調査地点において環境基準を達成しており減少傾向にあるが、市域東部に位置する安芸区スポーツセンター(以下「安芸区 SC」という。)で他の地点より高い濃度が続いており、一般環境における全国平均値よりも高い値で推移している(図 1)^{1), 2)}。

調査地点は、山に囲まれた谷地形内にあり、周辺に大規模な工場及び事業場がなく、農地利用が多いことから、調査地点付近にダイオキシン類の発生源があると仮定した場合、野焼き等のバイオマス燃焼がダイオキシン類濃度を高くする要因の一つとして考えられる。

このため、本調査はバイオマス燃焼の有機マーカーであるレボグルコサン³⁾⁻⁵⁾に着目し、大気中のダイオキシン類を調査する時期に合わせ、レボ

グルコサン濃度の調査を行った。また、有機物の不完全燃焼時に発生するベンゾ[a]ピレン(B[a]P)及び多成分が同時に分析でき、試料採取が容易な揮発性有機化合物(VOC)を合わせて調査した。本報では、これらの結果を報告する。

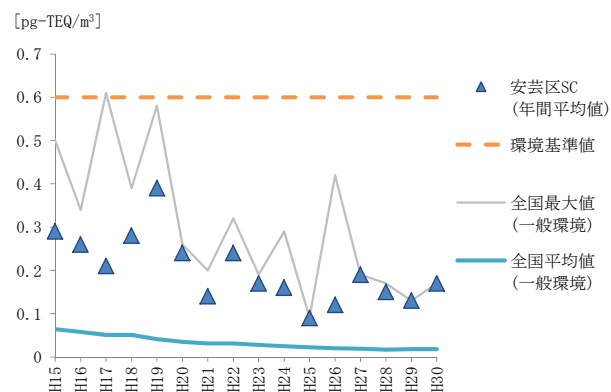


図 1 安芸地区における大気中のダイオキシン類濃度の推移

*：退職

方 法

1 調査地点

図2に示した市内3地点で調査を実施した。

2 調査時期

ダイオキシン類及びレボグルコサンの調査は、令和元年5月、7月、11月及び令和2年2月に実施した。

B[a]P及びVOCは、月1回の有害大気汚染物質モニタリング調査の結果を活用した。なお、5月と7月は、有害大気汚染物質の調査日がダイオキシン類の調査期間内になかったため、ダイオキシン類の調査期間に合わせてB[a]P及びVOCの調査を別途実施した。

レボグルコサン、B[a]P及びVOCの試料採取期間は、ダイオキシン類の試料採取期間である7日間のうち24時間とした。

3 調査方法

(1) レボグルコサン

試料は、ダイオキシン類と同様に全浮遊粒子状物質(TSP)として採取することとし、環境省の有害大気汚染物質等測定方法マニュアル⁶⁾(以下「環境省マニュアル」という。)のハイボリウムエアサンプリャによるフィルタ採取による方法に準じて採取した。試料採取には、ふっ素樹脂フィルタを使用した。

試料採取したフィルタの一部を分取し、ジクロロメタン/メタノールで抽出した後、BSTFAで誘導体化し、GC-MSで分析した。

(2) ダイオキシン類

試料は、7日間連続で採取し、ダイオキシン類に係る大気環境調査マニュアル⁷⁾に準じて分析し

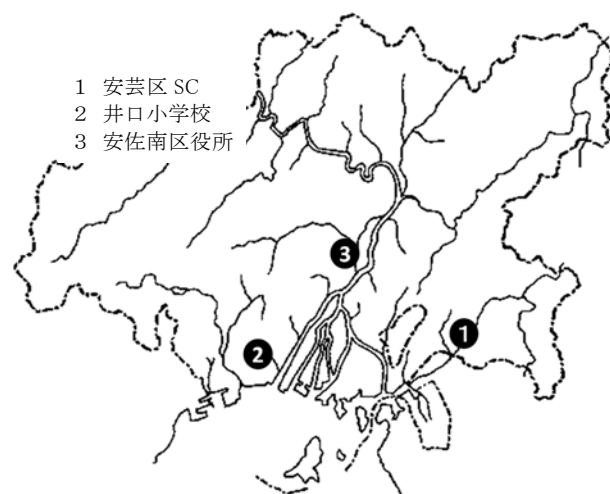


図2 調査地点

た。試料採取から分析まで、民間委託により実施した。

(3) B[a]P

試料は、TSPとしてフィルタで採取し、環境省マニュアルに準じて分析した。

(4) VOC

試料は、6Lキャニスターを用いて採取し、環境省マニュアルに準じて分析した。測定項目は、ベンゼン等有害大気汚染物質21項目及びキシレンとした。

結果と考察

1 レボグルコサン等の調査結果

レボグルコサン、B[a]P及びダイオキシン類の調査結果を図3に示す。レボグルコサン及びB[a]Pの濃度は、安芸区SCにおいて、秋季で特に高かった。野焼き等は秋季に多いとされる⁸⁾ことから、安芸区SC周辺では、秋季に野焼き等が多かったと考えられる。また、安芸区SCにおけるレボグルコサンとダイオキシン類の濃度変動と比較すると、秋季はレボグルコサン濃度、ダイオキシン類濃度

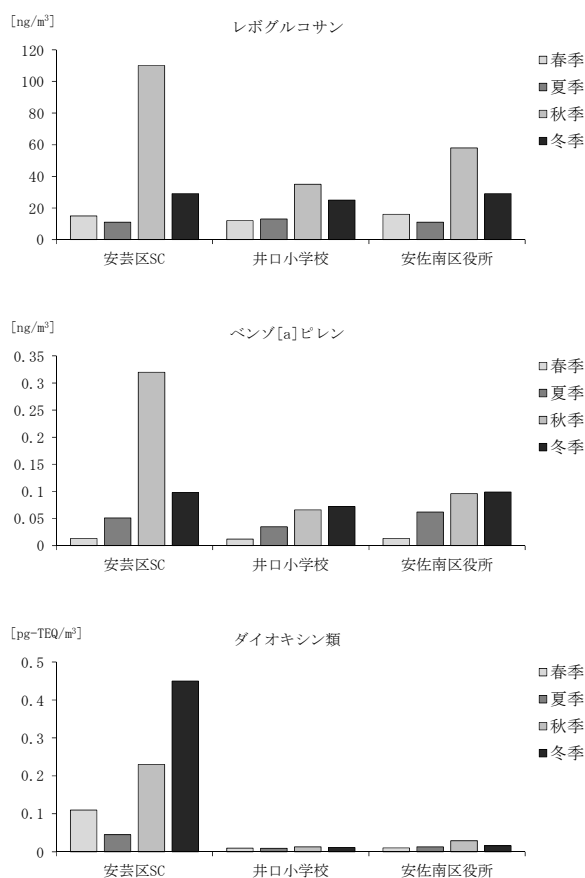


図3 レボグルコサン等の調査結果

ともに高くなったが、冬季は、ダイオキシン類濃度が高いにもかかわらず、レボグルコサン濃度は秋季に比べて低かった。この違いの要因として、ダイオキシン類が高値になる原因がバイオマス燃焼以外にあるか、レボグルコサン等調査の採取期間が短かったことが考えられる。

2 ダイオキシン類の同族体組成比

ダイオキシン類の同族体組成比を図4に示す。安芸区 SC の春季及び夏季、井口小学校並びに安佐南区役所は、おおむね低塩素化物から高塩素化物にかけて組成比が小さくなる傾向にあるが、安芸区 SC の秋季及び冬季は、T4CDDs～O8CDD 及び T4CDFs～H7CDFs において、低塩素化物から高塩素化物にかけて組成比が大きくなる傾向にあり、この2季の組成比のパターンが類似していた。安芸区 SC の秋季のダイオキシン類濃度は、春季の2倍程度高値ではあるが、同族体組成比のパターンは異なっていた。この同族体組成比のパターンの違いは、ダイオキシン類濃度の高低によるものではなく、季節の違いに起因しており、安芸区 SC のダイオキシン類の発生源は、年間を通じて常時発生しているものではなく、季節性のものであることが考えられる。

3 VOC

VOC22 項目を測定したところ、ジクロロメタン及び1,2-ジクロロエタンが他の物質と異なる挙動を示した。この2物質について、安芸区 SC の結果が、同一日に採取した他地点より高値であった(図5)。この特異的な挙動を示した物質は、大気環境中で分解されにくいものとされ、大気中で半分の濃度になる、いわゆる半減期は、1,2-ジクロロエタンで約1～2か月、ジクロロメタンで約2～4か月かかるとされている⁹⁾。

1,2-ジクロロエタンの結果では、7/3に井口小学校と安佐南区役所で高い値が観測されたが、同月に採取した7/22には低い値になっていた。一方、7/22の安芸区 SC で、7/3の他地点と同程度の高い値が観測されていた。このことから、井口小学校と安佐南区役所では、7/3時点で1,2-ジクロロエタンが高い濃度であったが、その後、大気拡散により低い濃度になった一方、安芸区 SC では拡散されず、大気中に残留していた可能性が考えられる。このことは、既に報告した¹⁰⁾安芸区 SC の地域が谷地形であり大気が谷地形の外に拡散しづらいという想定と一致する。

一方、ジクロロメタンは、11月に安芸区 SC で

高い値が観測されたが、前後の採取間隔が1か月程度離れており、広島市内でのジクロロメタン濃度の変動を十分観測できていないため、前述の拡散に関する言及はできなかった。

なお、ジクロロメタン及び1,2-ジクロロエタンと同様に分解されにくい物質を同時に測定しているが、濃度変動が小さかったため、大気中での拡散及び残留といった現象が現れにくく、安芸区 SC の特異性は確認されなかったものと考えられる。

ま と め

継続的にダイオキシン類濃度が高い安芸区 SC において、野焼き等が多いとされる秋季でレボグルコサン及びB[a]Pの濃度が高かったことから、秋季のダイオキシン類の高値はバイオマス燃焼の影響が大きいことが示唆された。レボグルコサンとダイオキシン類の濃度を比較すると、季節ごとの変動が一致しなかったが、この違いの要因として、ダイオキシン類が高値になる原因がバイオマス燃焼由来以外にあることや、大気試料捕集期間の違いによること、秋季の影響が冬季に上乗せされていることが考えられた。

レボグルコサンの濃度を高くする要因が野焼きである場合、突発的に発生する人為的な事象であり、日単位で大きく変動することが考えられることから、詳細に調査をする場合、ダイオキシン類及びレボグルコサン等の調査期間を7日間よりも長期間にする、あるいは1日ごとに採取する等、試料採取条件を検討する必要がある。

また、VOC を調査した結果、半減期の長い物質が大気中に残留しており、安芸区 SC 周辺地域の大気が谷地形の外に拡散しづらいことが示唆された。このような特異的な地形で、周囲に大規模なVOCの発生源がない場合、VOCが大気の拡散度を示す指標となり得ることから、今後、同様な調査を行う場合、VOCを同時に調査することは有効であると考えられる。

文 献

- 1) 村野勢津子：広島市における環境大気中ダイオキシン類調査結果、広島市衛研年報、33, 41～49(2014)
- 2) 環境省：平成30年度ダイオキシン類に係る環境調査結果について(2020)
- 3) 萩野浩之：大気中PM2.5のレボグルコサン

- 測定研究の動向, 大気環境学会誌, 54(1), 18~27 (2019)
- 4) 萩野浩之: さいたま市における初冬季の微小粒子中のレボグルコサンと炭素成分, エアロゾル研究, 21, 38~44 (2006)
 - 5) 熊谷貴美代: 有機マーカーに着目した PM 2.5 の動態把握と発生源寄与評価, 大気環境学会誌, 53(3), A50~52 (2018)
 - 6) 環境省: 有害大気汚染物質等測定方法マニュアル, 平成 31 年 3 月
 - 7) 環境省: ダイオキシン類に係る大気環境調査マニュアル, 平成 20 年 3 月
 - 8) 長谷川就一: 野外焼却の実態と PM2.5 濃度への影響に関する考察, 大気環境学会誌, 52(1), 40~50 (2017)
 - 9) 環境省: 化学物質ファクトシート 2012 年版 (2012)
 - 10) 下田喜則: 広島市におけるダイオキシン類調査について, 広島市衛研年報, 37, 89~92 (2018)

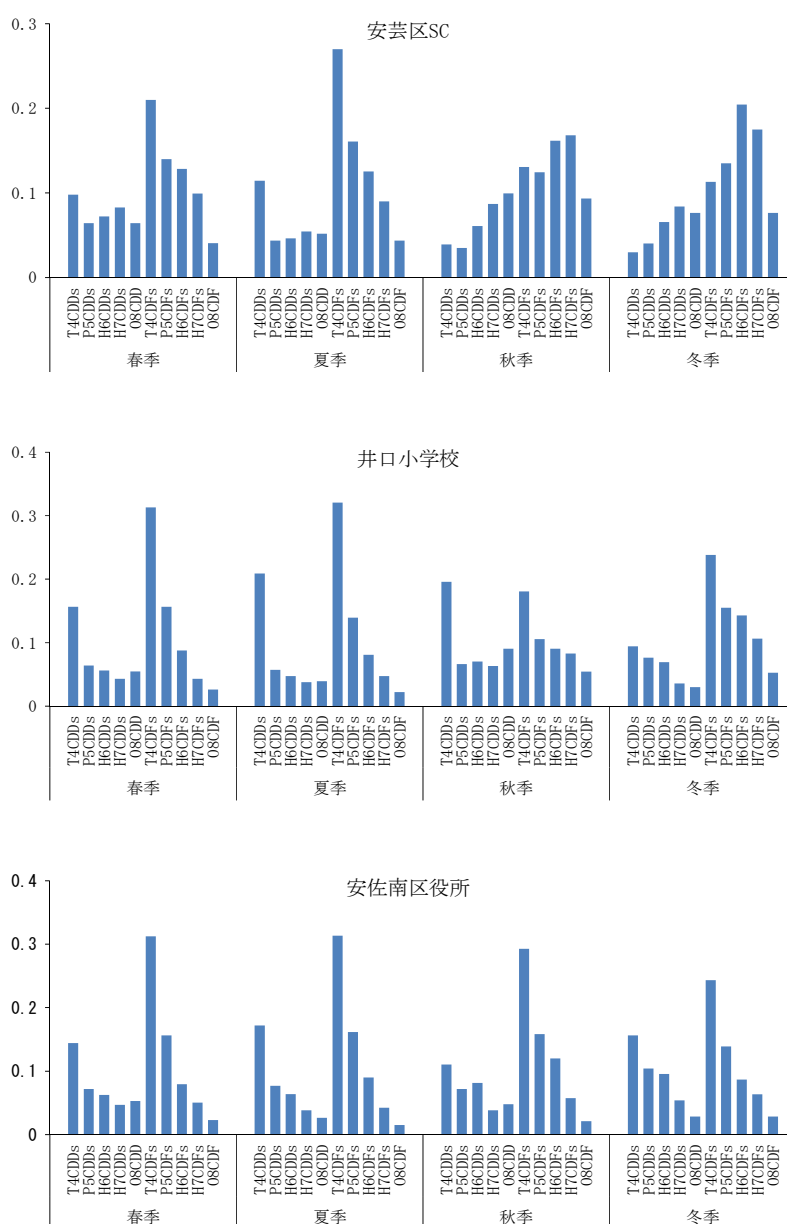


図 4 ダイオキシン類の同族体組成比

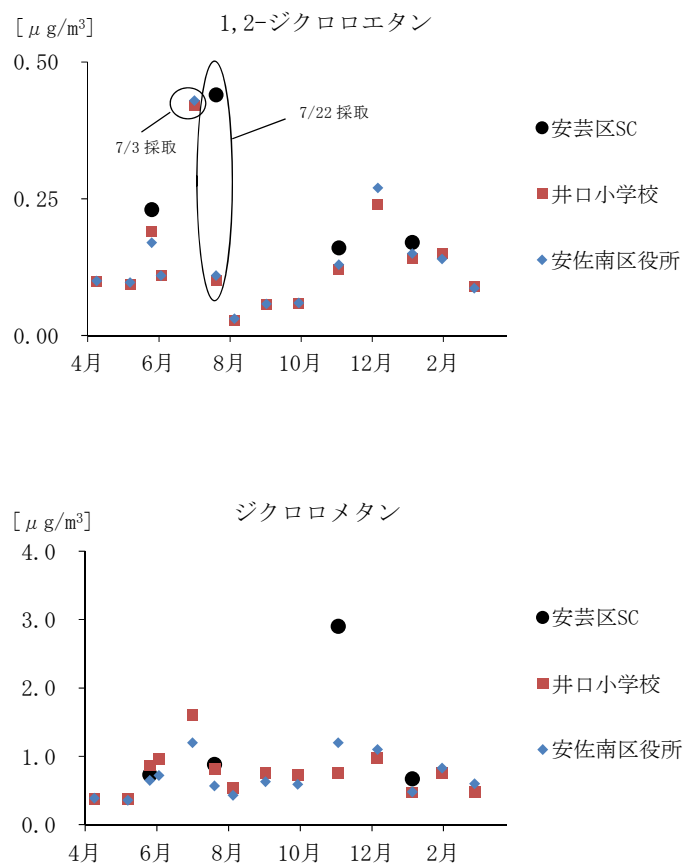


図 5 揮発性有機化合物の測定結果

微小粒子状物質成分調査結果

鹿渡 正美 細末 次郎 小川 秋奈 加藤 寛子
下田 喜則 宮野 高光 坂本 哲夫* 村野 勢津子

広島市では平成 23 年度から、微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の成分分析調査を継続的に行っている。

平成 30 年度及び平成 31 年度に、PM_{2.5} の無機元素成分について、これまで測定されてきた地点とは別の地点でも測定を行い、測定結果を比較することで、測定地点周辺の環境が各地点で測定される PM_{2.5} の無機元素成分に与える影響を調査した。

調査の結果から、広島市域の PM_{2.5} の無機元素成分は、同種の発生源の影響を受けた広域汚染、地域の発生源の影響による地域汚染、局所的な汚染イベントなどの要素が複合的に影響していることが示唆された。また、季節間の成分濃度の変動パターンから、広島市域においても季節によって影響の大きい発生源は異なることが示唆された。

キーワード：微小粒子状物質 (PM_{2.5})、金属成分、大気環境

は じ め に

大気中の微小粒子状物質 (PM_{2.5}) は、大気中に浮遊している 2.5 μ m (1 μ m は 1mm の千分の 1) 以下の小さな粒子のことで、粒子の小ささのために肺の奥深くまで侵入しやすく、ヒトの呼吸器系や循環器系への影響が懸念されている。

ここ数年日本国内の PM_{2.5} 濃度は減少傾向にあり、その要因としては中国をはじめとした東アジア地域の大気環境の改善による越境大気汚染の減少が挙げられている¹⁾。そのため、今後の PM_{2.5} 対策では、国内由来の汚染を減らすことの重要性が相対的に高まると考えられ、地域周辺の種々の発生源が PM_{2.5} 成分へどのような影響を及ぼすかを調査する必要がある。

PM_{2.5} 中の無機元素成分は、粒子の組成に占める割合は少ないものの、成分ごとにその発生源をある程度特徴づけることができる。代表的な指標成分とその主要発生源^{2), 3)}を表 1 に示す。このため、PM_{2.5} の無機元素成分を測定し、複数地点の結果を比較することで、採取地点ごとに PM_{2.5} 汚染に対する種々の発生源からの影響度を推測することができる。他都市での調査では、PM_{2.5} の無機元素成分は、季節や気象条件によって濃度が異なることが示されており、その起源が推測されている^{4), 5)}。

表 1 無機元素成分及びその主要発生源

元素	主要発生源
Pb	自動車 ²⁾ 、鉄鋼業 ²⁾ 、廃棄物 ²⁾ 、石炭 ³⁾
As	石炭 ³⁾
Se	石炭 ³⁾
Zn	鉄鋼業 ²⁾ 、廃棄物 ²⁾
Cu	鉄鋼業 ²⁾ 、廃棄物 ²⁾
Ni	石油 ²⁾
Fe	土壌 ²⁾ 、鉄鋼業 ²⁾
Mn	鉄鋼業 ²⁾
V	石油 ²⁾
Ti	土壌 ²⁾
Al	土壌 ²⁾
Ca	土壌 ²⁾

広島市では、平成 23 年度から井口小学校大気測定局(以下、「井口」という)及び志屋小学校において、年 4 回季節ごとに、各回 2 週間の PM_{2.5} 成分分析を業務委託により開始した。平成 26 年度以降は井口のみで調査を行っており、広島市内の他の地点における PM_{2.5} の成分についての情報は得られていなかった。

本報では、井口以外の地点で PM_{2.5} のサンプリングを行い、無機元素成分濃度の測定結果を井口の結果と比較することで、採取地点の周辺の発生源が PM_{2.5} 成分に与える影響を調査することを試みたので、その結果を報告する。

*：退職

方 法

1 調査地点

PM2.5 のサンプリングは、伴小学校屋上(地上高 12m)及び比治山大気測定局(以下、「伴」及び「比治山」という)で行った。伴では平成 30 年度春から平成 31 年度春までの 5 回、比治山では平成 31 年度夏から冬までの 3 回のサンプリングを行った。井口と比較して、伴はより内陸側の調査地点として、比治山は付近の自動車交通量がより多い調査地点として選定した。調査地点の位置を図 1 に示す。

2 調査期間

サンプル採取は、平成 30 年度から平成 31 年度にかけて、各季節に井口で PM2.5 成分分析用試料のサンプリングが行われている 2 週間のうちの 3 日間で行った。

3 採取方法

採取装置は、LV-250R(柴田科学株式会社製)を使用した。フィルターはサポートリング付き PTFE フィルター(Whatman 社製)を使用し、流量 16.7L/min で 72 時間 PM2.5 粒子を捕集した。捕集後のフィルターの取り扱いは大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル⁶⁾に準拠した。

4 前処理方法および分析方法

大気中微小粒子状物質成分測定マニュアル⁶⁾に準拠して行った。具体的には、捕集したフィルターを 1/2 にカットしたのち、硝酸、フッ化水素酸及び過酸化水素を加えてマイクロウェーブ試料前処理装置を用いて粒子を酸分解し、溶液をテフロンビーカーに移して加熱濃縮し、希硝酸で 10mL 程度に定容したものを、ICP-MS(Thermo Fisher Scientific 社製 X-Series2)で測定した。



図 1 採取地点(広島市域)

5 測定成分

無機元素成分は、Be, Na, Mg, Al, K, Ca, Sc, Ti, V, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, As, Se, Rb, Mo, Cd, Sb, Cs, Ba, La, Ce, Sm, Hf, Ta, W, Pb, Th の 32 項目を測定した。

結果と考察

伴及び比治山での測定結果は表 2 のとおりである。また、各調査期間中の地点ごとの PM2.5 濃度を表 3 に示す。

1 伴と井口の比較

平成 30 年度(5 月, 7 月, 10 月, 1 月)及び令和元年 5 月の、伴と井口の測定結果を比較したグラフを図 2 に示す。2 地点間での濃度の差は明確ではなく、同一地点内での濃度の推移に着目した場合も 2 地点間で同様の傾向を示した成分が多かった。このことから、調査期間中、伴及び井口において採取された PM2.5 粒子は、同一調査回において、おおむね同一の発生源による影響を受けていたと考えられる。平成 31 年 1 月の測定では、Mn, Cu, Fe の値が伴において井口より数倍高くなっており、鉄鋼業や自動車を発生源^{2), 3), 6)}とする局所的な汚染が起こっていた可能性が示唆される。令和元年 5 月の測定では、Al, Ca, Ti など土壌に多く含まれる元素^{2), 3), 6)}が、井口において伴の 2 倍から十数倍程度濃度が高くなっており、PM2.5 の大気濃度も井口が伴の 1.5 倍以上の値となっており、この時も局所的な汚染イベントが起こったと考えられる。井口のサンプル採取はグラウンドの一角の大気測定局局舎上で行われているため、グラウンドの砂の舞い上がりの影響を受けたと推察される。

2 比治山と井口の比較

令和元年 7 月, 10 月及び令和 2 年 1 月の、比治山と井口の測定結果を比較したグラフを図 3 に示す。比治山での測定結果の方が全体的に高い値を示した。自動車走行や鉄鋼工業の影響があるとされる Sb, Ba, Cu, Mn, Zn, Fe などの成分^{2), 3), 6)}はその差が大きかった。令和元年 7 月の調査においては、これらの成分の差が特に大きくなっており、後述する調査期間中の南寄りの風向きが影響して、比治山では調査地点の南側に立地する工場や車両走行による影響をより大きく受けた可能性がある。その他の成分の濃度の推移は、伴・井口の比較の場合と同様に、2 地点間でおおむね同様の傾向を示した。

3 季節変動のパターン

2年間の成分濃度の推移を確認した結果、いくつかの成分には季節的な周期性が見られた。

(1) 春季・夏季に濃度が高くなる成分(春夏型)

春季・夏季に濃度が高くなる変動がみられる成分としては、V、Ni、Coが挙げられる。2年間の濃度の推移を図4に示す。V及びNiは石油燃焼の指標成分としてしばしば採用される成分である^{2), 6), 7)}。各回の調査期間中における風配図(気象庁の観測所「広島」のデータより作成)を図5に示す。春季及び夏季の各調査期間においては、南寄りの風が卓越していた。このことから、これらの成分が春季及び夏季に増加する原因として、瀬戸内海を航行する船舶の重油燃焼や沿岸部の大規模工場での重油燃焼や金属精錬等からの汚染があることが考えられる。また、Vについては令和元年10月調査以降、前年同季節の測定結果と比べて約8割減の測定結果が続き、濃度減少が他の成分に比べ大きくなっている。この濃度減少には、令和2年1月から開始された船舶燃料油に対する国際的な規制の強化が影響している可能性がある。

(2) 秋季・冬季に濃度が高くなる成分(秋冬型)

秋季・冬季に濃度が高くなる変動がみられる成分としては、Pb、As、Se、Wが挙げられる。2年間の濃度の推移を図6に示す。これらの成分は、石炭燃焼、廃棄物燃焼、非鉄金属精錬などの影響が大きいとされる元素であり、日本においては中国からの越境大気汚染の指標として用いられる^{2), 3), 6)}。秋季及び冬季の各調査期間においては、北寄りの風が卓越しており(図5)、大陸からの大気が

流入してきやすい状況にあったと考えられる。

また、広島市内陸部で行われる廃棄物の燃焼でも、これらの成分は大気に排出されと考えられ、北寄りの風によって市域に拡散したことで濃度の上昇が見られたと考えられる。

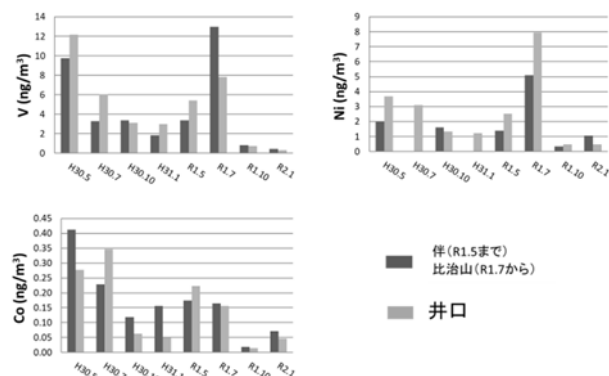


図4 春夏型の変動を示す成分

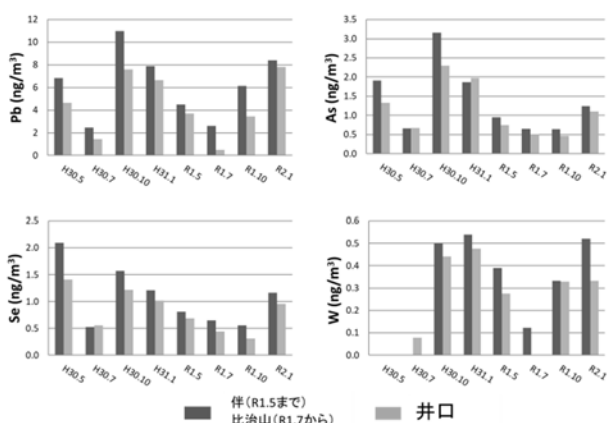


図6 秋冬型の変動を示す成分

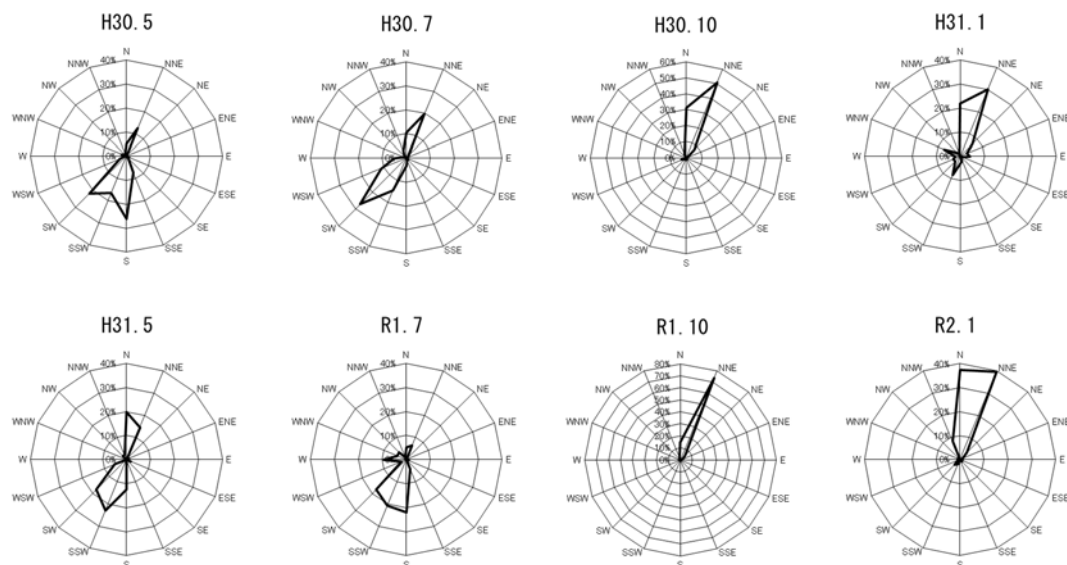


図5 各調査期間中の風配図(気象庁観測所「広島」のデータより)

ま と め

PM2.5 の無機元素成分について、広島市内複数地点で同時期に調査した結果を比較した。複数地点で濃度の変動はおおむね一致した。伴と井口の比較では、局所的な汚染イベントの発生を捉えた。比治山と井口の比較からは、調査地点付近の自動車走行や工場からの PM2.5 への影響が示唆された。

2 年間の調査から、いくつかの元素について季節変動を捉えることができた。風向きの傾向の違いが、季節変動を引き起こしていると考えられ、広島市内でも PM2.5 は季節によって異なる発生源の影響を受けていると考えられる。また、令和 2 年 1 月からの船舶燃料に対する規制強化による金属濃度の減少が示唆される結果が得られており、今後の PM2.5 濃度及び成分の変動に関心が持たれる。なお、今回の調査は季節ごとに 3 日間のみの測定であるため測定値が季節を代表しているかについて確かでないこと、PM2.5 濃度自体が調査期間を通して減少していることなどから推定の確度は高くないと考えられ、今後さらなる調査を行っていく。

文 献

- 1) 環境省:微小粒子状物質 (PM2.5) 対策に係る検討・実施予定 (平成 31 年 4 月)
- 2) 溝畑 朗 他:堺市における大気浮遊粒子状物質中の諸元素の発生源の同定, 大気汚染学会誌, 15 (9), 20~28 (1980)
- 3) 辻 昭博 他:平成 26 年 (2014 年) 2 月 25 日~26 日に発生した PM2.5 汚染におけるイオン成分及び無機元素成分の時空間挙動に基づく特性解析, 京都府保健環境研究所年報, 60, 57~64 (2015)
- 4) 斎藤育江 他:大気中浮遊粒子の粒径別個数濃度および金属濃度調査, 東京都健康安全研究センター年報, 63, 255~265 (2012)
- 5) 木下 誠 他:福岡市における PM2.5 の季節変動および黄砂・煙霧時の実態調査, 福岡市保健環境研究所報, 37, 53~57 (2011)
- 6) 環境省:大気中微小粒子状物質 (PM2.5) 成分測定マニュアル
- 7) 肥後隼人 他:福岡市における PM2.5 の成分組成と発生源解析, 福岡市保健環境研究所報, 38, 71~76 (2012)

表 2 大気中の微小粒子状物質の無機元素成分濃度測定結果

単位: ng/m³

分析項目	伴小学校					比治山測定局		
	H30. 5	H30. 7	H30. 10	H31. 1	R1. 5	R1. 7	R1. 10	R2. 1
Be	0.009	ND	0.007	ND	ND	ND	ND	ND
Na	234	174	110	160	131	142	235	97.0
Mg	97.7	16.4	59.9	29.6	26.1	26.9	31.3	27.2
Al	318	30.9	150	51.1	56.3	19.7	31.9	112
K	75	49	169	137	84	54.2	97.2	96.9
Ca	174	ND	99	53	38	27.8	32.0	36.0
Sc	0.22	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Ti	15	4	11	9	6	4.5	3.2	5.7
V	9.74	3.29	3.38	1.86	3.38	13.0	0.818	0.435
Cr	1.3	ND	1.2	0.9	0.6	2.28	0.31	1.04
Mn	22.2	5.81	13.2	92.6	13.1	11.6	4.01	15.5
Fe	223	76	241	464	139	135	50	195
Co	0.412	0.228	0.118	0.156	0.174	0.165	0.019	0.071
Ni	2.0	ND	1.6	ND	1.4	5.11	0.33	1.06
Cu	2.5	ND	3.6	12.5	2.8	6.14	3.05	7.58
Zn	30.8	34.0	50.2	23.8	25.4	53.5	24.7	67.7
As	1.91	0.660	3.16	1.86	0.954	0.646	0.640	1.24
Se	2.09	0.528	1.57	1.21	0.807	0.650	0.558	1.16
Rb	0.712	0.178	0.669	0.435	0.318	0.171	0.307	0.460
Mo	1.80	1.33	0.76	1.45	0.58	0.91	0.39	0.71
Cd	0.299	0.075	0.406	0.335	0.333	0.168	0.209	0.309
Sb	1.08	0.44	2.19	1.28	1.04	5.33	2.06	3.38
Cs	0.0767	0.202	0.133	0.051	0.0839	0.015	0.052	0.099
Ba	4.7	1.8	2.5	2.4	2.1	5.95	2.78	4.68
La	0.363	0.145	0.133	0.104	0.151	0.109	0.040	0.089
Ce	0.301	0.057	0.178	0.110	0.096	0.0928	0.0644	0.165
Sm	0.0212	0.0027	0.0112	0.0052	0.0049	ND	ND	ND
Hf	ND	ND	ND	ND	ND	0.0199	0.0219	0.0482
Ta	ND	ND	ND	ND	ND	0.0033	0.0034	ND
W	ND	ND	0.50	0.54	0.39	0.122	0.332	0.520
Pb	6.82	2.47	11.0	7.88	4.5	2.60	6.15	8.40
Th	0.0485	ND	0.0266	0.0130	0.0122	0.0040	0.0067	0.0058

※ND は検出下限値未満, 斜体の数値は定量下限値未満を示す。

表 3 各調査期間における PM2.5 大気濃度

単位: µg/m³

採取地点	H30. 5	H30. 7	H30. 10	H31. 1	R1. 5	R1. 7	R1. 10	R2. 1
井口	32.6	18.8	15.4	10.0	16.9	9.5	6.8	10.2
伴	36.0	18.3	14.0	10.8	10.9	—	—	—
比治山	—	—	—	—	—	11.9	4.9	7.2

※井口の値は, 調査期間中の 1 日ごとのサンプルをについて標準測定法で算出した大気濃度の平均値

伴及び比治山の値は, 調査地点に隣接する大気測定局の微小粒子状物質自動測定装置の 1 時間値の調査期間平均値

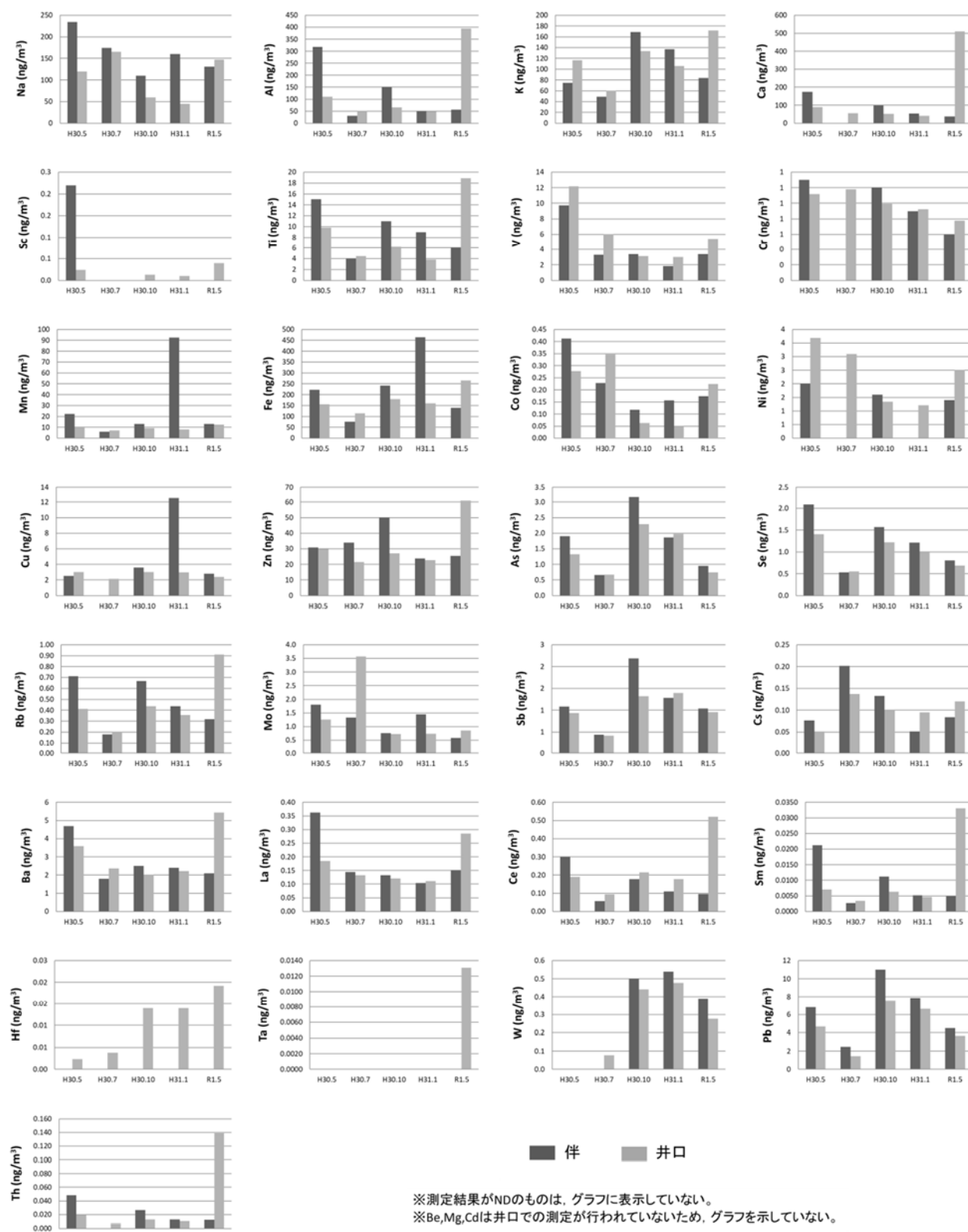


図2 伴及び井口のPM_{2.5}の無機元素成分の濃度(平成30年度春から平成31年度春)

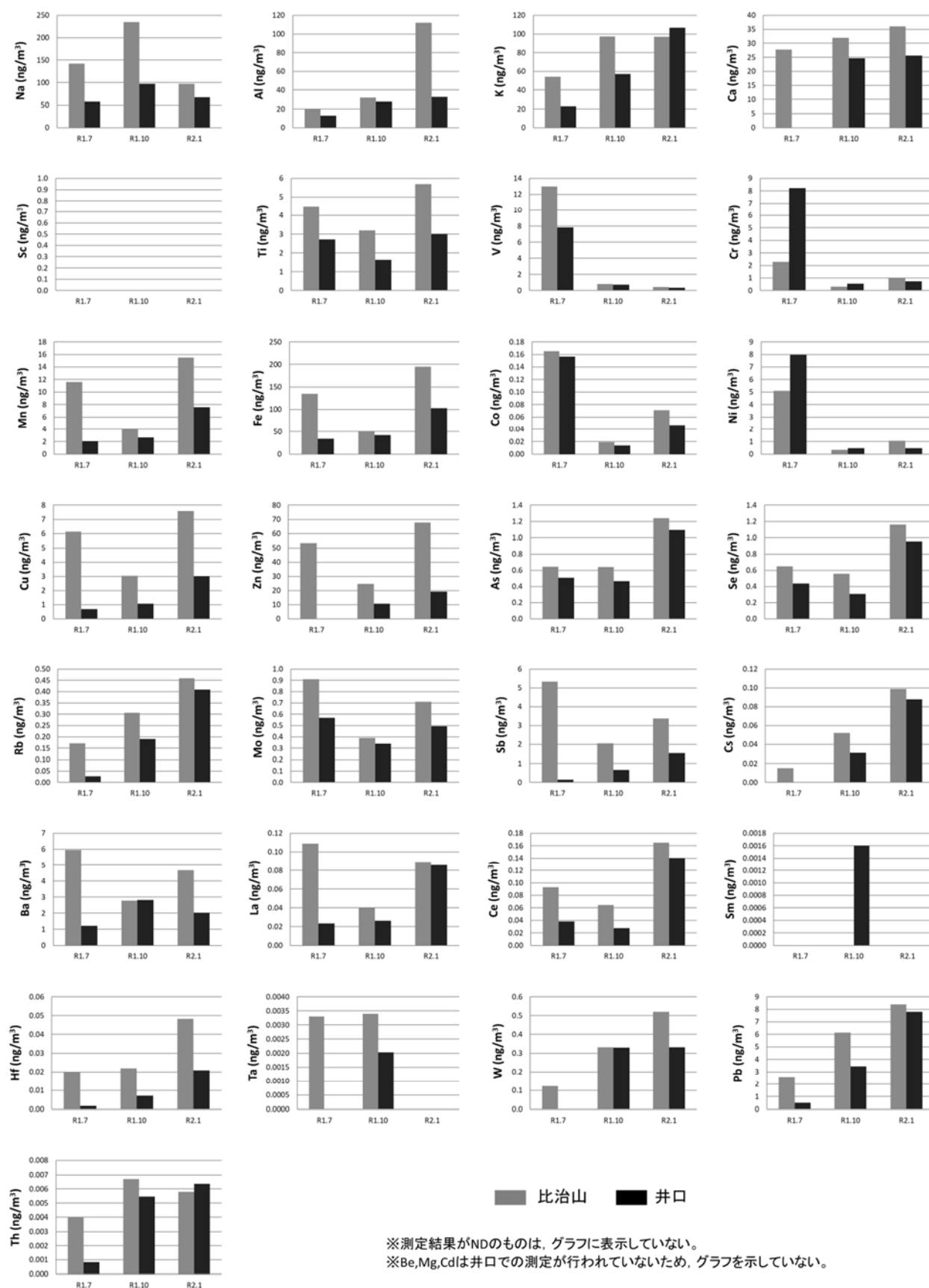


図3 比治山及び井口のPM_{2.5}の無機元素成分の濃度(平成31年度夏から平成31年度冬)

Ⅱ 資 料

広島市における感染症の発生動向(2019 年)

築地 裕美 吉貞 奈穂子* 小中 ゆかり

は じ め に

本市では広島市感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、衛生研究所に感染症情報センターを設置している。感染症情報センターでは市内の感染症情報を収集・分析し、その結果をホームページ等で市民及び関係機関等へ提供・公開することにより、感染症の発生及び拡大防止に努めている。

2019 年の広島市における感染症の発生動向をまとめたので報告する。

方 法

1 対象疾患

国の感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、一類感染症(エボラ出血熱等 7 疾患)、二類感染症(急性灰白髄炎等 7 疾患)、三類感染症(コレラ等 5 疾患)、四類感染症(E 型肝炎等 44 疾患)、五類感染症全数把握対象疾患(アメーバ赤痢等 24 疾患)及び五類感染症定点把握対象疾患(インフルエンザ等 25 疾患)の合計 112 疾患を対象とした。

2 患者情報の収集

全数把握対象疾患は市内医療機関から、五類感染症定点把握対象疾患は定点医療機関から週又は月単位で、各区保健センターに届出された。患者情報は、各区保健センターから感染症発生動向調査システム(NESID)により感染症情報センターへ報告された。感染症情報センターは、その情報を中央感染症情報センター(国立感染症研究所)へ報告するとともに集計処理を行った。

なお市内の患者定点の内訳は、インフルエンザ定点(小児科定点を含む)37、小児科定点 24、眼科定点 8、性感染症定点 9、基幹定点 7 である。

3 対象期間

(1) 全数把握及び月報対象の定点把握対象疾患

2019 年 1 月 1 日～2019 年 12 月 31 日

(2) 週報対象の定点把握疾患

2018 年 12 月 31 日～2019 年 12 月 29 日(2019 年第 1 週～第 52 週)

結 果

1 全数把握対象疾患

2019 年は、医療機関より 28 疾患の届出があつ

た(表 1)。

(1) 腸管出血性大腸菌感染症

毎年、全国では 3,000 件を超える報告があり、集団感染事例も報告されている。広島市では、2019 年に 18 件の届出があり、このうち 11 件は 9～10 月に報告があった。血清型別の内訳は、O157 が 8 件、O103 が 5 件、O26 が 2 件、O111 が 1 件、O121 が 1 件、OUT(型別不能)が 1 件であった。

表 1 全数把握対象疾患の届出数

類型	疾患名	届出 件数
二類	結核	150
三類	腸管出血性大腸菌感染症	18
四類	E 型肝炎	2
	A 型肝炎	8
	重症熱性血小板減少症候群	1
	つつが虫病	8
	デング熱	5
	日本紅斑熱	1
	日本脳炎	1
	レジオネラ症	29
五類	アメーバ赤痢	10
	ウイルス性肝炎	9
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 感染症	8
	急性脳炎	18
	クロイツフェルト・ヤコブ病	4
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	10
	後天性免疫不全症候群	11
	ジアルジア症	1
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	3
	侵襲性髄膜炎菌感染症	1
	侵襲性肺炎球菌感染症	27
	水痘(入院例に限る。)	3
	梅毒	74
	播種性クリプトコックス症	3
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1
	百日咳	95
	風しん	13
	麻疹	6

*：現 環境局環境保全課

(2) 梅毒

広島市では 2015 年以降増加しており, 2019 年は前年(105 件)に次いで多い 74 件の届出があった。性別では男性(48 件)が多かった。年齢別では 20~40 代が 74.3%を占め, 男性では 20~30 代, 女性では 20 代が多かった。病型の内訳は, 早期顕症梅毒(Ⅱ期)が 35 件, 早期顕症梅毒(Ⅰ期)が 29 件, 晩期顕症梅毒が 1 件, 無症候が 9 件であった。感染経路は 95.9%が性的接触によるもので, その内訳は, 同性間 1 件, 異性間 65 件, 同性及び異性間 1 件, 不明 4 件であった。

(3) 風しん

2018~2019 年にかけて, 全国的に増加し, 広島市では 13 件の届出があった。患者は 40~50 代の男性(7 件)が多かった。ワクチン接種歴は, 接種歴あり(1 回接種, 2 回目の接種歴は不明)が 1 件, 接種歴なしが 3 件, 接種歴不明が 9 件であった。

(4) 麻しん

5~7 月にかけて, 広島県内で集団感染事例が発生し, 広島市では当該事例に関連して 6 件の届出があった。患者のワクチン接種歴は, 接種歴あり(1 回接種)が 1 件, 接種歴あり(2 回接種)が 1 件, 接種歴なしが 1 件, 接種歴不明が 3 件であった。

2 五類感染症定点把握対象疾患

(1) 週単位報告疾患

インフルエンザ定点, 小児科定点, 眼科定点及び基幹定点から毎週報告される 18 疾患の年間累積報告数を表 2 に示す。年間の定点当たり累積報告数は, インフルエンザが最も多く, 次いで感染性胃腸炎, 手足口病, A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎, RS ウイルス感染症の順に多かった。年間の推移に特徴のあったインフルエンザ, 感染性胃腸炎, 手足口病, ヘルパンギーナ及び RS ウイルス感染症について, 広島市と全国における週別定点当たり報告数の推移を図に示す。

a インフルエンザ

年間定点当たり累積報告数は 347 人で, 前年とほぼ同程度であった(前年比 1.09)。

2018/2019 シーズンは, 2018 年第 48 週に定点当たり 1.11 人と流行期に入り, 2019 年第 2 週に定点当たり 27.9 人と注意報レベル(定点当たり 10.0 人)を超えた。さらに第 3 週に定点当たり 41.8 人と警報レベル(定点当たり 30.0 人)を超え, 第 4 週には定点当たり 49.6 人の報告があり, 流行のピークとなった。その後は減少し, 第 19 週に定点当

たり 0.44 人と定点当たり 1 人未満となり, 終息状態となった。

b 感染性胃腸炎

年間定点当たり累積報告数は 280 人で, 前年と比べてやや減少した(前年比 0.79)。年間累積報告数が小児科定点患者総数の 43.4%を占め, 小児科定点報告対象疾患の中で最も多かった。

第 2 週に定点当たり 10.8 人とピークとなった。その後は徐々に減少し, 8~10 月は報告数が比較的少なかったが, 11 月頃から再び増加傾向となり, 第 51 週には定点当たり 8.25 人の報告があった。

c 手足口病

年間定点当たり累積報告数は 109 人で, 前年と比べて増加した(前年比 1.85)。年間累積報告数は小児科定点患者総数の 16.9%を占め, 小児科定点報告対象疾患の中では感染性胃腸炎に次いで多かった。

第 20 週以降増加し, 6~7 月にかけて報告数が多くなり, 第 28 週には定点当たり 13.2 人とピークとなった。その後は減少し, 第 44 週に定点当たり 1 人未満となりほぼ終息した。

d ヘルパンギーナ

年間定点当たり累積報告数は 29.5 人で, 前年と比べてやや増加した(前年比 1.20)。

第 20 週以降増加し, 6~7 月にかけて報告数が多くなり, 第 27 週には定点当たり 2.61 人とピークとなった。9 月に報告数がやや増加したが, その後は減少し, 第 40 週に定点当たり 1 人未満となり, ほぼ終息した。

e RS ウイルス感染症

年間定点当たり累積報告数は 45.5 人で, 前年と比べてやや増加した(前年比 1.30)。

第 30 週以降増加傾向となり, 第 36 週に定点当たり 3.54 人とピークとなった。8~10 月にかけて報告数が多くなったが, その後は減少し, 第 44 週には定点当たり 1 人未満となり, ほぼ終息した。

(2) 月単位報告疾患

性感染症定点から報告される性感染症 4 疾患及び基幹定点から報告される薬剤耐性菌感染症 3 疾患の年間累積報告数を表 3 に示す。

a 性感染症

対象 4 疾患の年間定点当たり累積報告総数は 109 人で, 前年と比べてやや増加した(前年比 1.22)。

年間定点当たり累積報告数は性器クラミジア感

染症, 性器ヘルペスウイルス感染症, 淋菌感染症, 尖圭コンジローマの順に多かった。

b 薬剤耐性菌感染症

対象3疾患の年間定点当たり累積報告総数は37.4人で, 前年とほぼ同程度であった(前年比

1.08)。

年間定点当たり累積報告数はメチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症, ペニシリン耐性肺炎球菌感染症, 薬剤耐性緑膿菌感染症の順に多かった。

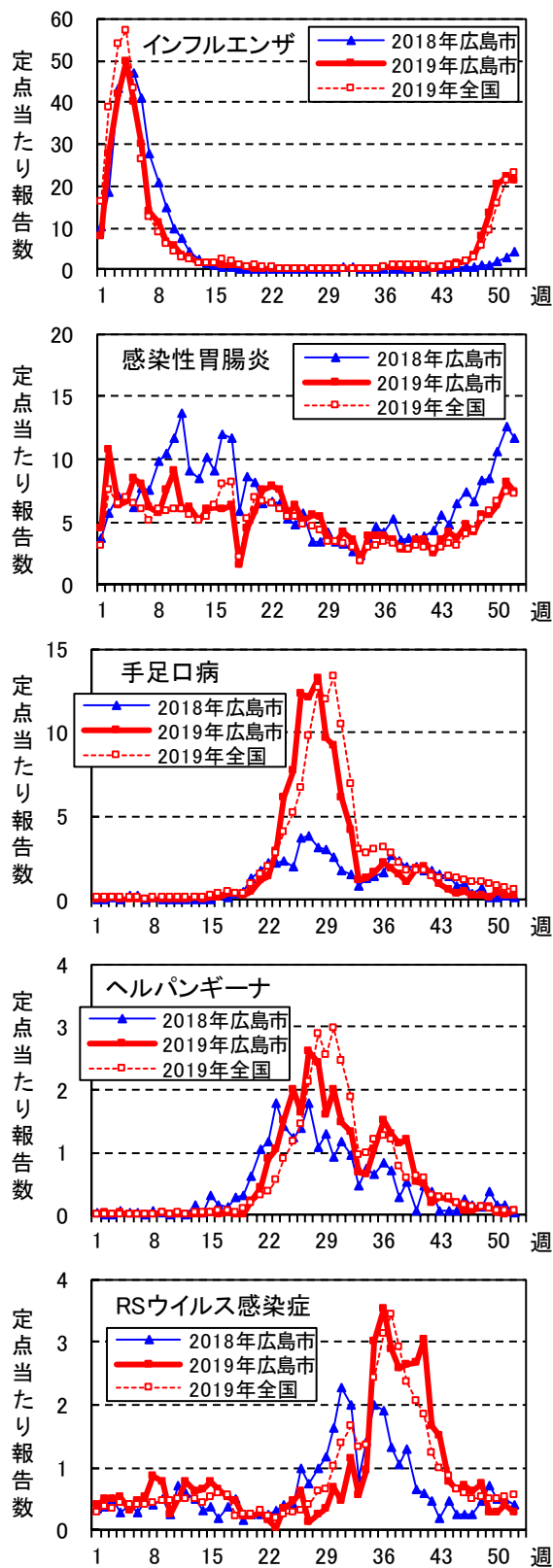


図 定点当たり報告数の週別推移

表2 五類定点把握対象疾患の年間累積報告数
(週単位報告分)

区分	疾患名	報告数
インフルエンザ 定点	インフルエンザ	12,751 (347)
小児科定点	咽頭結膜熱	471 (20.3)
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	2,424 (104)
	感染性胃腸炎	6,544 (280)
	水痘	336 (14.6)
	手足口病	2,517 (109)
	伝染性紅斑	454 (19.3)
	突発性発しん	402 (17.2)
	ヘルパンギーナ	683 (29.5)
	流行性耳下腺炎	137 (5.89)
眼科定点	RSウイルス感染症	1,068 (45.5)
	急性出血性結膜炎	8 (1.05)
基幹定点	流行性角結膜炎	220 (28.7)
	細菌性髄膜炎	1 (0.14)
	無菌性髄膜炎	4 (0.56)
	マイコプラズマ肺炎	32 (4.55)
	クラミジア肺炎(オウム病を除く)	0 (0.00)
	感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。)	61 (8.72)

()内: 定点当たり累積報告数

表3 五類定点把握対象疾患の年間累積報告数
(月単位報告分)

区分	疾患名	報告数
性感染症定点	性器クラミジア感染症	494 (54.9)
	性器ヘルペスウイルス感染症	193 (21.5)
	尖圭コンジローマ	107 (11.9)
	淋菌感染症	186 (20.7)
基幹定点	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	223 (31.9)
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	37 (5.29)
	薬剤耐性緑膿菌感染症	2 (0.28)

()内: 定点当たり累積報告数

HPLCによる食品中のポテトグリコアルカロイド分析法の検討

松木 司 川又 隼也 大平 浩史 市川 恵子
佐々木 珠生 小中 ゆかり

はじめに

ジャガイモには、ポテトグリコアルカロイド(以下、PGA)と呼ばれる毒素が含まれており、学校の調理実習などで、PGA を原因とする食中毒が毎年(2012～2016 年)発生している¹⁾。

また、PGA の 95%は α -ソラニンと α -チャコニンであり¹⁾、両物質の試験方法が、一般試料と油脂試料に分けて、衛生検査指針理化学編²⁾(以下、検査指針)に記載されている。今回、この手法により分析法の検討を行ったので報告する。

方 法

1 試薬

(1) 標準品

α -ソラニンと α -チャコニンは、PhytoLab GmbH & Co. KG 製を用いた。

(2) 標準原液

両標準品をメタノールに溶解して、 α -ソラニンは 100 μ g/mL とし、 α -チャコニンは 80 μ g/mL とした。

(3) 検量線作成用標準溶液

両標準原液を混合し、メタノールで希釈し、両物質共に 5, 10, 15, 20 μ g/mL となる標準溶液を作成した。

(4) その他の試薬

メタノールとアセトニトリルは、関東化学(株)製の高速液体クロマトグラフィー用を使用した。

精製用のミニカートリッジカラムは、Waters 社製の Sep-Pak Plus C18 と Sep-Pak Plus NH2 を使用した。

表 1 装置及び測定条件

装置	(株)島津製作所製 LC-20ADXR
検出器	(株)島津製作所製 SPD-M20A
カラム	Inertsil NH2 5 μ m 4.6 $\times$ 250mm
カラム温度	40℃
移動相	アセトニトリル：20mM/L リン酸 二水素カリウム水溶液 = 75：25
流速，注入量	0.7mL/min 20 μ L
検出波長	208nm

2 試料

一般試料として、生ジャガイモとマッシュポテトを、油脂試料として、ポテトチップスとフライドポテト(冷凍食品)を用いた。

(1) 生ジャガイモとフライドポテト

生ジャガイモは皮質部を除去後、フライドポテトは電子レンジで加熱後、スピードカッターで細断した。

(2) マッシュポテト

皮質部を除去した生ジャガイモをぶつ切りにし、電子レンジで加熱後ビニール袋に入れ粉碎した。これに、クリーミーパウダー3g を約 40mL の熱湯で溶解させたものを加え、混合した。

(3) ポテトチップス

ビニール袋に入れ粉碎した。

3 装置及び測定条件

装置及び測定条件を表 1 に示す。

4 添加回収試験

4 種の各試料 5g に、両標準原液を各々 1.5mL 添加したものと無添加のものを試験試料とした。一般試料の前処理のフローを図 1 に、油脂試料のフローを図 2 に示す。

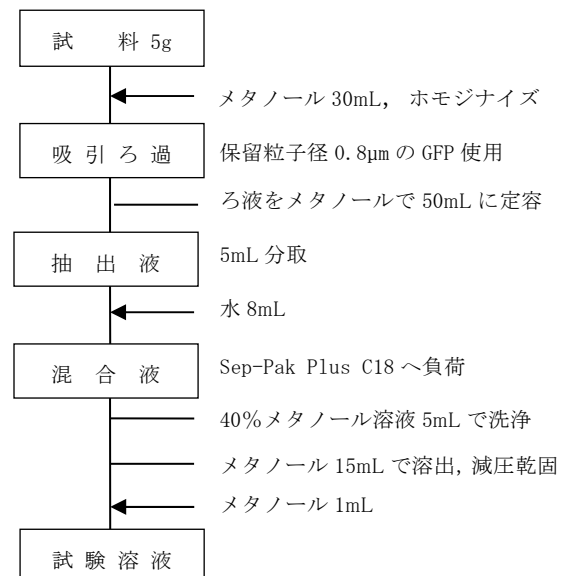


図 1 一般試料の前処理

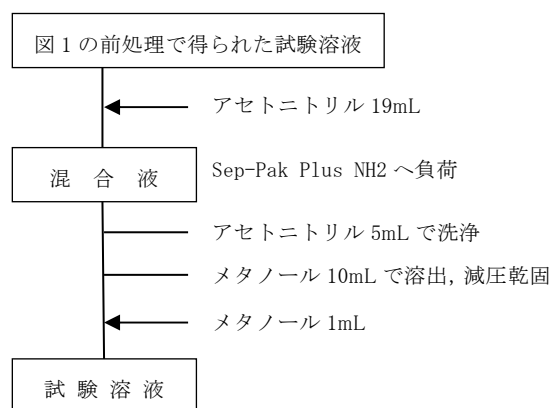


図2 油脂試料の前処理

各試験溶液中の α -ソラニンと α -チャコニン的高速液体クロマトグラフで定量し、添加試料の含有量から無添加試料の含有量を差し引き、回収率を算出した。

5 メタノール溶液洗浄の影響

本法では、試料抽出液を Sep-Pak Plus C18 に負荷後、40%メタノール液 5mL で洗浄したが、この洗浄液のメタノール濃度が測定値に影響を与える可能性について報告されている³⁾。

そこで、標準原液を添加回収試験と同様に添加したマッシュポテトを試料とし、洗浄液のメタノール濃度を 10, 20, 30, 40% として各々処理し測定値を比較した。

結果と考察

1 添加回収試験

結果を表2に示す。 α -ソラニンは、試料の種類によって回収率のばらつきがみられるが、 α -チャコニンは、フライドポテトを除くと同程度の回収率であった。

マッシュポテトでの α -ソラニンの回収率が一般的な回収率の目標値である 70~120%⁴⁾の範囲をわずかに下回ったが、その他の回収率はこの範囲内であった。

2 メタノール溶液洗浄の影響

洗浄液のメタノール濃度を 10% とした時の試

表2 添加回収試験結果		回収率(%)
試料	α -ソラニン	α -チャコニン
生ジャガイモ	91.9	88.2
マッシュポテト	67.5	85.5
ポテトチップス	76.8	85.0
フライドポテト	88.7	112.9

験溶液中の α -ソラニン濃度を 1.0 とし、洗浄液のメタノール濃度を 20, 30, 40% とした時の各試験溶液中の α -ソラニン濃度との比を図3に示す。また、同様に α -チャコニンの場合を図4に示す。

図3により、 α -ソラニンでは、洗浄液のメタノール濃度の変動が、測定値にほとんど影響を与えていない事がわかった。一方、図4により、 α -チャコニンは、洗浄液のメタノール濃度が高い程、測定値が低くなる傾向がみられた。

3 夾雑物ピークについて

図5に、マッシュポテトとポテトチップスのクロマトグラムを示す。

マッシュポテトでは、 α -チャコニンの近傍に3本の夾雑物ピークがある。生ジャガイモとフライドポテトも同様のパターンを示した。一方、ポテトチップスではこれらの夾雑物ピークはなかった。

また、冷凍保存したマッシュポテトを約4か月後に測定したところ、これら3個の夾雑物ピークは消失していた。夾雑物ピークの成分はPGAより不安定であるが、測定の際には、これらの存在を把握し α -チャコニンとの分離を確認する事が重要である。

また、測定時間短縮の為、流速を上げた測定、あるいは 150mm カラムでの測定を試みたが、夾雑物ピークが α -チャコニンに重複し、定量することは困難であった。

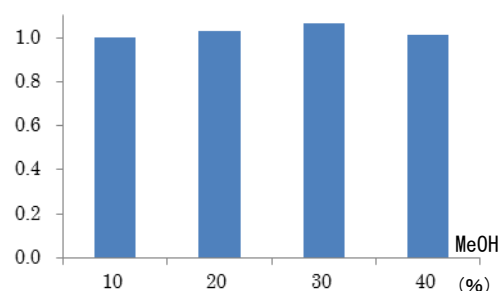


図3 MeOH 洗浄による α -ソラニンの損失

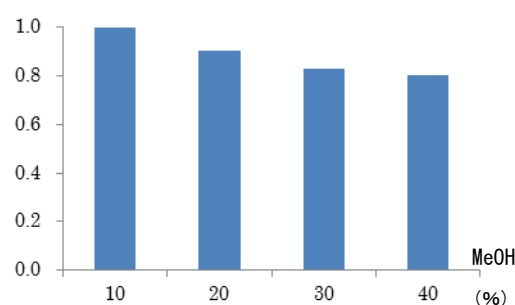


図4 MeOH 洗浄による α -チャコニンの損失

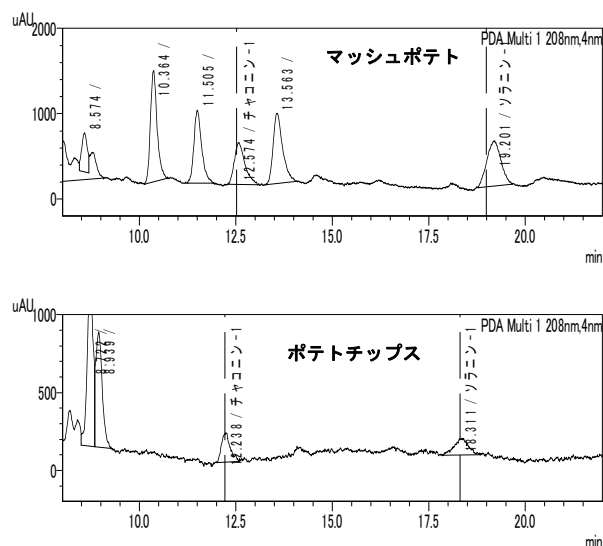


図 5 PGA 無添加試料のクロマトグラム

文 献

- 1) 農林水産省：食品中の天然毒素「ソラニン」や「チャコニン」に関する情報, <https://www.maff.go.jp/j/syouan/seisaku/solanine/>
- 2) 日本食品衛生協会：食品衛生検査指針 理化学編 2015, 883～889 (2015)
- 3) 米澤友紀子 他：地域保健総合推進事業におけるポテトグリコアルカロイドの精度管理事業について, 第 56 回全国衛生化学技術協議会講演集, 98～99 (2019)
- 4) 厚生労働省通知, 衛食第 117 号, 平成 9 年 4 月 1 日

広島市における三類感染症の検査結果(2019 年)

山本 泰子 青田 達明 栗林 智早 山本 美和子
坂本 綾

は じ め に

広島市では、感染症法における三類感染症(細菌性赤痢, コレラ, 腸チフス, パラチフス及び腸管出血性大腸菌感染症)が発生した場合, 医療機関, 保健所, 各区保健センターと連携し, 患者や接触者の感染確認のための細菌検査や分離菌株の遺伝子検査等の疫学解析を実施し, 感染拡大の予防に資するように努めている。

ここでは, 2019 年に当所で行った三類感染症に関する検査結果について報告する。

方 法

1 検査対象

2019 年 1 月から 12 月までに, 届出のあった腸管出血性大腸菌感染症 14 件の患者から分離された 18 株を対象とし, 血清型別試験, 毒素型別試験, 薬剤感受性試験, 分子疫学解析を実施した。

2 血清型別試験

病原大腸菌免疫血清「生研」(Denka)により血清型別試験(O 抗原及び H 抗原)を実施した。

なお, SIM 培地での培養で運動性がみられなかった株及び H 血清による凝集反応がみられなかった株については, PCR による H 抗原遺伝子型別を実施した。

3 毒素型別試験

CAYE 培地で増菌し, Duopath®Verotoxins(MERCK)を用いて毒素型別試験を実施した。

4 薬剤感受性試験

12 種類の抗生物質(ABPC, SM, KM, TC, NA, CP, GM, CPF, CTX, ST, TMP, FOM)について, Sensi-Disc(BD)を用いた一濃度ディスク法により実施した。

5 分子疫学解析

O157 株, O111 株と O26 株については, 泉谷らの報告¹⁾を参考に MLVA 法による解析を行った。当所で解析後, 菌株を国立感染症研究所に送付し,

表 広島市における腸管出血性大腸菌感染症分離株(2019 年)

事例 番号	届出月	血清型 (遺伝子型)	毒素型	MLVA		IS コード		薬剤耐性
				type	complex	1st set	2nd set	
1	4	O26:H11	VT1	19m2013		-	-	-
2	7	O103:HUT(Hg2)	VT1	19m4010		-	-	-
3	8	O103:H2	VT1	19m4014		-	-	-
		O103:H2	VT1	19m4014				ABPC, CTX
4	8	O121:H19	VT2	19m5016		-	-	ABPC, SM
5	9	O103:H2	VT1	19m4023		-	-	ABPC, CP, SM
		O103:H2	VT1					ABPC, CP, SM
		O103:H2	VT1	19m4023				ABPC, CP, SM
6	9	O157:H7	VT2	19m0301		305457	211642	-
7	9	O26:H11	VT1	19m2121		-	-	-
8	10	O111:HNM(Hg8)	VT1	19m3055		-	-	-
9	10	O157:HNM(Hg7)	VT1&2	19m0133	19c016	214457	311656	-
		O157:HNM(Hg7)	VT1&2	19m0133	19c016	214457	311656	
10	10	O157:H7	VT2	19m0046	19c010	305457	211242	-
11	10	O157:HNM(Hg7)	VT2	19m0409		002057	214442	-
12	10	O157:H7	VT1&2	16m0399	19c030	717557	611657	-
13	10	O157:H7	VT1&2	19m0466		717557	611657	SM
14	12	OUT:HNM(Hg20)	VT2					-

MLVAtype 及び MLVAcomplex (SLV 等近縁の型どうしをまとめたもの)として結果の還元を受けた。0121 株と 0103 株については、国立感染症研究所に菌株を送付して解析に供し、結果の還元を受けた。

0157 株について、IS-printing system[®] (東洋紡) を使用し添付のプロトコールに従い実施した。

結果は、プライマーごとに増幅ありを「1」、なしを「0」と判定し、各セットとも増幅サイズの大きいバンドから順に 3 バンドごとに割り当てた「1」「2」「4」の係数を乗じた数値を加算し、1st set, 2nd set の順に並べた 12 桁の IS コードとして示した。

結 果

1 血清型別試験

血清型別については、0103:H2 が 5 株、0157:H7 が 4 株、0157:HNM が 3 株、026:H11 が 2 株、0103:HUT, 0121:H19, 0111:HNM, OUT:HNM がそれぞれ 1 株であった。HNM 株及び HUT 株について PCR により、0103:HUT (Hg2), 0157:HNM (Hg7), 0111:HNM (Hg8), OUT:HNM (Hg20)であることを確認した。

2 毒素型別試験

毒素型別については、VT1&VT2 陽性株は 0157:H7 が 4 株 (Hg7 の 2 株を含む)、VT1 単独陽性株は 0103:H2 が 6 株 (Hg2 の 1 株含む)、026:H11 が 2 株、0111:HNM が 1 株であった。また VT2 単独陽性

株は 0157:H7 が 3 株 (Hg7 の 1 株を含む)、0121:H19, OUT:HNM がそれぞれ 1 株であった。

3 薬剤感受性試験

薬剤感受性については、ABPC, CP, SM 耐性が 3 株 (同一事例)、ABPC, CTX 耐性が 1 株、ABPC, SM 耐性が 1 株、SM 耐性が 1 株であった。

4 分子疫学解析

2019 年に当所で検査を行った検体について、一組 IS コードが一致するもの (事例番号 12, 13) があつたが、事例間で MLVAtype 及び MLVAcomplex が一致するものはなかった。疫学的調査においても接触機会や共通食など、同一由来と疑われる情報は得られていないことから、それぞれ独立した事例であることが示唆された。

謝 辞

調査にご協力いただいた医療機関及び各区保健センターの各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Izumiya H et al.: New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: 0157, 026, and 0111, Microbiol Immunol, 54(10), 569~577 (2010)

広島市の細菌性寄生虫性集団食中毒検査状況(2019 年度)

佐藤 香緒里 池田 伸代 山本 泰子 清水 裕美子
京塚 明美* 坂本 綾

はじめに

本市で 2019 年度に発生した主要な集団食中毒の検査状況について報告する。

結 果

2019 年度に本市保健所で調査集計した食中毒事例のうち、当部で検査を実施した集団食中毒の概要及び検査結果を表に示す。

方 法

本市保健所で採取し、当部に搬入された患者便、従事者便、食品、器具等の拭き取り検体(スワブ)について細菌検査を実施した。

謝 辞

集団食中毒事件の調査概要を提供いただいた本市保健所食品保健課に深謝いたします。

表 2019 年度の広島市における集団食中毒の概要及び検出された病因物質

発生月	原因 施設	患者/ 喫食者	病因物質 原因食品	潜伏時間及び主な症状 当部で行った検査概要
6月	飲食店	8/18	<i>Campylobacter</i> 不明 (6月2日夜提供の食事)	64時間、下痢、発熱、腹痛等 患者便1検体、従事者便1検体、食品(参考品)3検体、スワブ6検体を検査。 患者便1検体から <i>C. coli</i> , 食品(参考品)3検体中1検体から <i>C. coli</i> , 別の1検体から <i>C. jejuni</i> を検出。
6月	飲食店	3/3	<i>Campylobacter</i> 不明 (6月7日夜提供の食事)	53時間、腹痛、下痢、嘔吐、発熱等 患者便1検体、従事者便3検体、食品(参考品)2検体、スワブ6検体を検査。 患者便1検体から <i>C. jejuni</i> を検出。
12月	飲食店	8/13	<i>Kudoa septempunctata</i> 不明 (12月11日夜提供の食事)	4時間、嘔吐、発熱、下痢等 患者便5検体、スワブ6検体を検査。 患者便5検体中3検体から <i>K. septempunctata</i> を検出。
12月	飲食店	19/35	<i>Kudoa septempunctata</i> ヒラメの刺身	6時間、嘔吐、下痢、発熱等 患者便13検体、食品(残品)1検体、スワブ5検体を検査。 患者便3検体、食品(残品)1検体から <i>K. septempunctata</i> を検出。

*: 現 広島市保健所食品指導課

Campylobacter jejuni の PCR 法による Penner 血清型別検査結果

池田 伸代 清水 裕美子 山本 泰子 栗林 智早
青田 達明 末永 朱美 京塚 明美* 坂本 綾

は じ め に

カンピロバクター属菌のうち、腸炎の原因菌となる主な菌種は *Campylobacter jejuni* (以下 *C. jejuni*) と *Campylobacter coli* の2菌種であり、食中毒起因菌として指定されている。*C. jejuni* による食中毒発生時の疫学解析の手法の一つとして受身血球凝集反応 (PHA) を利用した Penner 法 (以下 PHA 法) による血清型別が用いられる。PHA 法では市販試薬により 25 種の血清群の型別が可能であるが、約半数の株が型別不能となることが知られている。Penner 血清型の主要な決定因子は polysaccharide capsule (CPS, 多糖莢膜) であり、近年、CPS 合成遺伝子領域を標的とする PCR 法が報告された¹⁾。当所でも 12 血清群 (15 の抗原因子グループ) の検出が可能なマルチプレックス PCR 法による Penner 血清型別法 (以下 PCR 法) の検討を行い、PHA 法で型別不能であった株について PCR 法を実施した結果を報告する。

方 法

2015～2019 年に当所で分離した *C. jejuni* 252 株及び同時期に医療機関から分与された *C. jejuni* 197 株の合計 449 株を供試した。市販カンピロバクター免疫血清 (デンカ生研) を用いた PHA 法を実施し、型別不能であった株、複数の血清群に凝集を示した株について PCR 法を実施した。

PCR 法に供した DNA テンプレートはアルカリ熱抽出法により調製した。マルチプレックス PCR 法のプライマーの組み合わせは甲斐らの示した 13 の Penner 抗原因子グループを検出する方法²⁾を基とし、近年当所で分離株数の多い Penner0 群 (HS19) 及び PennerY 群 (HS37) を追加した (表 1)。プライマーは Poly らの方法¹⁾に従った。PCR 反応条件は甲斐らの方法²⁾を参考とした (表 2 及び図 1)。陽性コントロールは東京都健康安全研究センターから分与されたものを使用し、陽性コントロールが入手できなかった血清群については、当所で分離された *C. jejuni* 株のうち PHA 法で該当血清

群を示した株から抽出したテンプレートを陽性コントロールとした。当所で抽出した陽性コントロールは、PCR 産物の塩基配列をダイレクトシークエンス法により確認し使用した。

結 果

449 株中、PHA 法で型別できたのは 150 株 (33.4%) であり、型別不能であった 298 株、複数

表 1 プライマーの組み合わせとプライマー濃度

Primer mix	抗原因子	Penner 血清群	終濃度 (μ M)	(bp)
1	HS2	B	0.4	62
	HS3	C	0.2	149
	HS10	I	0.2	229
	HS19	O	0.2	450
2	HS1	A	0.1	607
	HS8/HS17	G/HS17	0.2	342
	HS23/HS36	R	0.2	161
	HS6	F	0.2	185
3	HS15/HS31	L/U	0.2	325
	HS44	A	0.2	148
	HS53	R	0.4	251
	HS37	Y	0.2*	541
4	HS4A	D	0.4	370
	HS4B	D	0.3	652
	HS41	Z2	0.2	279

*: モノプレックスで実施する場合は 0.1μ M とした

表 2 PCR 反応液

10×Ex-taq buffer*	2.5 μ L
2.5mM dNTP*	2 μ L
50×Primer mix	0.5 μ L
Ex Taq Hot Start Version*	0.15 μ L
Template DNA	2 μ L
DW	17.85 μ L
計	25 μ L

*: タカラバイオ

*: 広島市保健所食品指導課

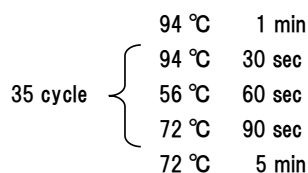


図1 PCR 反応条件

の血清群に凝集を示した1株の合計299株をPCR法に供した。そのうち267株(89.3%)がいずれかの血清群に型別された(表3)。PCR法を実施した299株のうち、PennerB群と判定された株が114株(38.1%)、PennerO群と判定された株が58株(19.4%)であった。PCR法でも血清群を決定することができなかった株は32株(10.7%)で、そのうち31株はバンドが検出されず、1株は2つの血清群(PennerD群とPennerF群)を示した。

表3 PHA法及びPCR法によるPenner血清群型別株数

血清群	PHA (%)	PCR (%)	PHA+PCR (%)
A	3 (0.7)	15 (5.0)	18 (4.0)
B	19 (4.2)	114 (38.1)	133 (29.6)
C	6 (1.3)	2 (0.7)	8 (1.8)
D	19 (4.2)	13 (4.3)	32 (7.1)
E	1 (0.2)	—	1 (0.2)
F	17 (3.8)	4 (1.3)	21 (4.7)
G	8 (1.8)	—	8 (1.8)
G/HS17	—	21 (7.0)	21 (4.7)
I	3 (0.7)	5 (1.7)	8 (1.8)
J	6 (1.3)	—	6 (1.3)
K	6 (1.3)	—	6 (1.3)
L	7 (1.6)	—	7 (1.6)
L/U	—	8 (2.7)	8 (1.8)
O	33 (7.3)	58 (19.4)	91 (20.3)
R	7 (1.6)	18 (6.0)	25 (5.6)
U	1 (0.2)	—	1 (0.2)
Y	8 (1.8)	9 (3.0)	17 (3.8)
Z	2 (0.4)	—	2 (0.4)
Z6	4 (0.9)	—	4 (0.9)
小計	150 (33.4)	267 (89.3)	417 (92.9)
複数	1 (0.2)	1*2 (0.3)	1 (0.2)
UT*1	298 (66.4)	31 (10.4)	31 (6.9)
計	449 (100.0)	299 (100.0)	449 (100.0)

*1 : Untypable

*2 : D群(HS4B)とF群(HS6)

PHA法又はPCR法により型別された株のうち、PennerB群、A群、R群、O群は、PHA法では型別不能であった株の割合が高く、それぞれ85.7%、83.3%、72.0%、63.7%であった(図2)。

PHA法とPCR法を組み合わせることで、449株中417株の血清群を決定することができ、型別率はPCR法実施前の33.4%から92.9%へ向上した。

考 察

PennerB群については市販血清の型別率の低さが指摘されているが³⁾、B群だけでなくA群、O群、R群についても、PHA法では型別率が低い結果となり、それをPCR法で補うことができた。

PennerD群とPennerF群の抗原因子はそれぞれHS4BとHS6であり、両方の検出用プライマーで増幅を示した1株について、2つの増幅断片の遺伝子配列をPolyらの参照した標準株¹⁾と比較したところ、どちらの増幅断片もそれぞれの標準株と1塩基違いであり、非特異的な増幅反応ではないと考えられた。マルチプレックスPCR法の標的遺伝子はCPS合成遺伝子クラスターの多様性を基に設定されており、CPSはPenner血清型の主要な決定因子ではあるが、リポオリゴ糖(LOS)など他の構造が血清特異性に関与する場合がある⁴⁾。HS6については、他の血清型のCPS配列のいずれとも一致しないことからプライマーとして設計されたものであるが、血清型決定因子はCPSではないことが示されており、また偽陽性の結果も報告されていることから^{1), 4)}、他の血清型の株がHS6検出用プライマーの標的遺伝子を持つ可能性は否定できない。

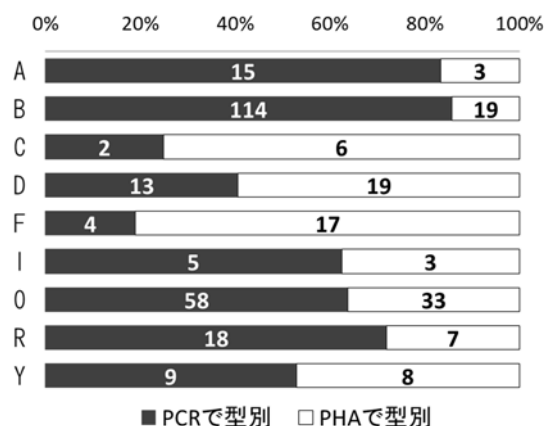


図2 各方法で血清群を型別できた株数

Poly らによると,マルチプレックスPCR法には, HS8/HS17 検出用プライマーで増幅反応があるときに HS32 である場合があること, また HS15/HS31 検出用プライマーで増幅反応があるときに HS58 である場合があること等, いくつかの交差反応が存在する¹⁾。当所ではその判別をしておらず, G/HS17 とした株の中に V 群(HS32)であるものが含まれる可能性, L/U とした株の中に HS58 であるものが含まれる可能性がある。また, L 群と U 群は血清学的な関連はないにもかかわらず, 当所の検出系では区別ができていない。Poly らはこれらに対しいくつかの検出用プライマーを追加することで区別できる¹⁾としており, 今後はこれらの追加のほか, 現在当所で検出対象としていない血清群の検出系について検討していきたい。

文 献

- 1) Poly F et al.: Updated *Campylobacter jejuni* Capsule PCR Multiplex Typing

System and Its Application to Clinical Isolates from South and Southeast Asia, PLoS ONE, 10(12), e0144349(2015)

- 2) 甲斐明美 他:カンピロバクターの型別方法の検討と分離菌株の特徴, 厚労科研「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班平成 26 年度総括・分担研究報告書, 41~46(2015)
- 3) 甲斐明美 他:カンピロバクターの型別方法の検討と分離株の特徴, 厚労科研「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」班平成 27 年度総括・分担研究報告書, 51~56, (2016)
- 4) Poly F et al.: Discrimination of Major Capsular Types of *Campylobacter jejuni* by Multiplex PCR, Journal of Clinical Microbiology, 49(5), 1750~1757(2011)

2019 年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と遺伝子解析

青田 達明 山木戸 聡
山本 美和子 坂本 綾

佐藤 香緒里 栗林 智早

はじめに

カルバペネム系抗菌薬は、細菌感染症の治療に用いられる各種抗菌薬の中で「最後の頼みの綱」として極めて重要な位置づけをされている。しかし、2000 年代に入ると、カルバペネムに対し耐性を獲得した腸内細菌科細菌が問題となり始め、国際的に大きな関心事となっている¹⁾。この様な背景の中、地域における薬剤耐性菌のまん延などの流行状況を把握するため、平成 29 年 3 月の厚生労働省通知(健感発 0328 第 4 号)により、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(以下、CRE)感染症の届出がなされた場合は、病原体の収集及び詳細な解析を行うよう示された。検査結果を、病原体検出情報システムで報告するとともに、感染症対策担当部署や地域の医療機関へ還元することで、院内感染事例の早期探知及びその対応、地域で流行している耐性菌や耐性遺伝子の種類についての情報共有が可能となる。

2019 年度に収集した 14 菌株について、通知に基づいた β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験、カルバペネム耐性遺伝子の検出及びその塩基配列の解析を実施した。検査結果と検出した耐性遺伝子について報告する。

方 法

1 供試菌株

2019 年 4 月から 2020 年 3 月の間に、市内医療機関より届出のあった 13 件の CRE 感染症事例において収集した CRE 菌株 14 株を用いた。届出菌種及びその内訳は、*Enterobacter cloacae* 3 株、*Escherichia coli* 3 株、*Klebsiella pneumoniae* 3 株、*Klebsiella aerogenes* 2 株、*Citrobacter freundii* 1 株、*Morganella morganii* 1 株、*Providencia stuartii* 1 株であった(表 1)。なお、*K. pneumoniae* 3 株のうち 2 株(No. 10 及び No. 11)は同一患者から分離された株である。

2 β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験(ディスク拡散法)

プラスミドの脱落を防ぐよう純培養した被検菌を、滅菌生理食塩水中に McFarland 0.5 となるよう懸濁し、綿棒を用いてミューラーヒントン II 寒天培地(日本 BD)に塗布した。この培地上に各種抗菌薬含有ディスク及び酵素阻害剤含有ディスク(日本 BD、栄研化学)を配置し、37℃で一晩培養後に阻害剤による効果の有無を調べ、その表現型について確認した。使用した薬剤及び阻害剤は、国立感染症研究所(感染研)より示されたものを用いて実施した。

3 カルバペネマーゼ遺伝子の検出(PCR 法)

滅菌生理食塩水中に懸濁した被検菌を 100℃10 分の加熱処理後に遠心し、回収した上清を鋳型 DNA とした。主要な遺伝子とされる IMP-1 型、IMP-2 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型の検出を行った。いずれの遺伝子も検出しなかった場合は、VIM 型、SMB 型、KHM 型、GES 型、IMI 型の検出を行った。DNA 合成酵素は、TaKaRa Ex Taq[®] Hot Start Version(TaKaRa)を使用し、プライマー配列は、感染研より示された配列に準拠した(表 2)。反応条件は、感染研より示された方法に準拠し、94℃2 分を 1 回、94℃1 分、55℃1 分、72℃1 分 30 秒を 30 回、72℃5 分を 1 回とした。

4 ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出(PCR 法)

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)を含む ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子(カルバペネマーゼ遺伝子を除く)の検出を行った。検出対象遺伝子は、TEM 型、SHV 型、ESBL 遺伝子である CTX-M-1 group、CTX-M-2 group 及び CTX-M-9 group とした。DNA 合成酵素及び反応条件は、方法 3 と同様とした。プライマー配列は、感染研によって示された配列に準拠した(表 2)。反応条件は、方法 3 と同様とした。

5 AmpC 遺伝子の検出(PCR 法)

AmpC 遺伝子である MOX 型、CIT 型、DHA 型、ACC 型、EBC 型、FOX 型の検出を行った。DNA 合成酵素は方法 3 と同様とし、プライマー配列は、感染研

表 1 供試菌株

No.	届 出 月	菌 種	症 状	分 離 材 料
1	4	<i>E. coli</i>	菌血症	血液
2	5	<i>E. coli</i>	肺炎	喀痰
3	8	<i>M. morganii</i>	後腹膜膿瘍	後腹膜膿瘍
4	8	<i>K. aerogenes</i>	腹膜炎	腹水
5	9	<i>E. cloacae</i>	肺炎	喀痰
6	10	<i>P. stuartii</i>	肺炎	喀痰
7	12	<i>E. cloacae</i>	胆嚢炎	胆汁
8	1	<i>K. aerogenes</i>	創感染	膿
9	2	<i>C. freundii</i>	腹腔膿瘍	腹腔膿瘍
10	2	<i>K. pneumoniae</i>	敗血症	血液
11	2	<i>K. pneumoniae</i>	尿路感染症	尿
12	2	<i>E. cloacae</i>	肺炎	喀痰
13	2	<i>K. pneumoniae</i>	肺炎	喀痰
14	3	<i>E. coli</i>	敗血症	血液

No. 10 及び 11 は同一患者由来株

表 2 プライマー配列

プライマー	配列 (5' -3')	サイズ	プライマー	配列 (5' -3')	サイズ
IMP-1 型	f ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	587bp	TEM 型	f CCGTGTGCGCCCTTATTCC	824bp
	r ACAACCAGTTTTCCTTACC			r AGGCACCTATCTCAGCGA	
IMP-2 型	f GTTTTATGTGTATGCTTCC	678bp	SHV 型	f ATTTGTGCGCTTCTTACTCGC	1051bp
	r AGCCTGTTCCCATGTAC			r TTTATGGCGTTACCTTTGACC	
NDM 型	f TTGCCCAATATTATGCACCC	420bp	CTX-M-1 group	f GCTGTTGTTAGGAAGTGTGC	516bp
	r ATTGGCATAAGTCGCAATCC			r CCATTGCCCCGAGGTGAAG	
KPC 型	f ATGTCACGTATCGCCGTCT	893bp	CTX-M-2 group	f ACGCTACCCTGCTATTT	779bp or 780bp
	r TTTTCAGAGCCTTACTGCC			r GCTTCCGCTTCTGCTC	
OXA-48 型	f TTGGTGGCATCGATTATCGG	744bp	CTX-M-9 group	f GCAGATAATACGCAGGTG	393bp
	r GAGCACTTCTTTTGATGGC			r CGGCGTGGTGGTGTCTCT	
VIM 型	f ATGTTCAAACCTTTGAGTAAG	801bp	MOX 型	f GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	520bp
	r CTACTIONACGACTGAGCG			r CACATTGACATAGGTGTGGTGC	
SMB 型	f CAGCAGCCATTACCATCTA	492bp	CIT 型	f TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462bp
	r GAAGACCACGTCCTTGCACT			r TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
KHM 型	f ATACGCCCATTTAGCCACA	465bp	DHA 型	f AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	405bp
	r GTCGCCAACTTTCCGTGAC			r CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
GES 型	f CTTCACTACGCACTATTAC	827bp	ACC 型	f AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp
	r TAACTTGACCAGCAGAGG			r TTCGCCGAATCATCCCTAGC	
IMI 型	f TGCGGTGCGATTGGAGATAAA	399bp	EBC 型	f TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	302bp
	r CGATTCTGAAGCTTCTGCG			r CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	
IMP-all	f ATGAGCAAGTTATCTGTATTC	741bp	FOX 型	f AACATGGGGTATCAGGGAGATG	190bp
	r TTAGTTGCTTGGTTTGTATG			r CAAAGCGCGTAACCGGATTGG	
Pre-NDM	A CACCTCATGTTGAATTCGCC	984bp			
	B CTCTGTCACATCGAAATCGC				

より示された配列に準拠した(表2)。反応条件は、感染研より示された方法に準拠し、94℃3分を1回、94℃30秒、64℃30秒、72℃1分を25回、72℃5分を1回とした。

6 modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM) 法

カルバペネマーゼ遺伝子不検出であった9株について、追加試験としてmCIM法を実施した。CLSI M100-S27の方法²⁾に準拠し、カルバペネマーゼ産生性の確認をした。

7 塩基配列解析

*bla*_{IMP-1group}, *bla*_{NDMgroup}, *bla*_{KPCgroup} 及び *bla*_{OXA-48group} を検出した検体について塩基配列を解析し、それぞれの遺伝子型を決定した。なお、IMP-1型の遺伝子型別には感染研より示されたIMP-a11プライマーを使用し、NDM型の遺伝子型別には、Kaaseらによって示されたPre-NDMプライマー³⁾を使用した(表2)。サイクルシーケンシスは、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit(Applied Biosystems)を使用し、3500 Genetic Analyzer(

Applied Biosystems)を用いて増幅断片の塩基配列を解析し、遺伝子型を決定した。

結 果

1 β-ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験

結果を表3に示す。カルバペネマーゼ阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム(SMA)による阻害効果が認められたものは、No.1及びNo.2の*E. coli*, No.11の*K. pneumoniae*であった。ボロン酸(APB)を用いたスクリーニング試験では、No.4の*K. aerogenes*及びNo.13の*K. pneumoniae*の2株に対して阻害効果が現れた。No.3の*M. morganii*及びNo.10の*K. pneumoniae*は、全ての阻害剤で阻害効果が認められなかった。

2 薬剤耐性遺伝子の検出

結果を表3に示す。カルバペネマーゼ遺伝子検出試験の結果、No.1及びNo.2の*E. coli*から、メタロβ-ラクタマーゼ(ClassBβ-ラクタマーゼ)遺伝子に分類される*bla*_{IMP-1group}が検出された。No.10及びNo.11の*K. pneumoniae*から、同じくメ

表3 β-ラクタマーゼ産生性確認試験及び遺伝子検出試験

No.	菌 種	感 受 性			阻 害 効 果 を 認めた阻害剤	検 出 遺 伝 子 型(PCR法)	mCIM
		MEPM	IPM	CMZ			
1	<i>E. coli</i>	R	R	R	SMA	IMP-6, CTX-M-2group	未実施
2	<i>E. coli</i>	R	S	R	SMA, CVA	IMP-6, CTX-M-1group, CTX-M-2group	未実施
3	<i>M. morganii</i>	S	I	R	無し	DHA型	陰性
4	<i>K. aerogenes</i>	R	R	R	APB	検出せず	判定保留
5	<i>E. cloacae</i>	S	I	R	MCIPC	EBC型	判定保留
6	<i>P. stuartii</i>	S	S	R	MCIPC	検出せず	陰性
7	<i>E. cloacae</i>	S	I	R	MCIPC	EBC型	陰性
8	<i>K. aerogenes</i>	S	R	R	MCIPC	検出せず	陰性
9	<i>C. freundii</i>	S	S	R	MCIPC	CIT型	陰性
10	<i>K. pneumoniae</i>	R	R	R	無し	NDM-1, OXA-232, CTX-M-1group, TEM型, SHV型	未実施
11	<i>K. pneumoniae</i>	R	R	R	SMA	NDM-1, CTX-M-1group, TEM型, SHV型	未実施
12	<i>E. cloacae</i>	S	I	R	MCIPC	EBC型	陰性
13	<i>K. pneumoniae</i>	R	R	R	APB	KPC-2, CTX-M-9group, TEM型, SHV型	未実施
14	<i>E. coli</i>	R	I	R	CVA	CTX-M-1group, TEM型	陰性

MEPM:メロペネム, IPM:イミペネム, CMZ:セフメタゾール

SMA:メルカプト酢酸ナトリウム, APB:アミノフェニルボロン酸, CVA:クラブラン酸, MCIPC:クロキサシリン

R:耐性, S:感性, I:中間(BDセンシ・ディスク™添付文書)

タロ β -ラクタマーゼ遺伝子に分類される $bla_{NDMgroup}$ が検出された。No. 10 から同時に、ClassD β -ラクタマーゼ遺伝子に分類される $bla_{OXA-48group}$ が検出された。No. 13 の *K. pneumoniae* から、ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子に分類される $bla_{KPCgroup}$ が検出された。

ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出試験の結果、No. 1 の *E. coli* から $bla_{CTX-M-2 group}$ が、No. 2 の *E. coli* から $bla_{CTX-M-1 group}$ 及び $bla_{CTX-M-2 group}$ が検出された。No. 10, No. 11 及び No. 13 の *K. pneumoniae* から $bla_{CTX-M-1 group}$, bla_{TEM} 及び bla_{SHV} が検出された。No. 14 の *E. coli* から $bla_{CTX-M-1 group}$ 及び bla_{TEM} が検出された。

AmpC 遺伝子検出試験の結果、No. 3 の *M. morgani* から $bla_{DHAfamily}$ が検出された。No. 5, No. 7 及び No. 12 の *E. cloacae* から $bla_{EBCfamily}$ が検出された。また、No. 9 の *C. freundii* から $bla_{CITfamily}$ が検出された。

一方で、No. 4 及び No. 8 の *K. aerogenes*, No. 6 の *P. stuartii* はいずれの β -ラクタマーゼ遺伝子も検出されなかった。

3 mCIM 法

結果を表 3 に示す。カルバペネマーゼ遺伝子不検出であった 9 株のうち、No. 3, No. 6~No. 9, No. 12 及び No. 14 の 7 株は陰性、No. 4 及び No. 5 の 2 株は判定保留となった。

4 塩基配列解析

No. 1 及び No. 2 の 2 株の *E. coli* から検出された $bla_{IMP-1group}$ の遺伝子型は、ともに IMP-6 と同定された。No. 10 及び No. 11 の 2 株の *K. pneumoniae* から検出された $bla_{NDMgroup}$ の遺伝子型は、ともに NDM-1 と同定された。No. 10 から検出された $bla_{OXA-48group}$ の遺伝子型は OXA-232 と同定された。No. 13 の *K. pneumoniae* から検出された $bla_{KPCgroup}$ の遺伝子型は KPC-2 と同定された(表 3)。

考 察

腸内細菌科細菌のカルバペネム耐性の獲得に寄与するメカニズムは、異なる機序や多種類の β -ラクタマーゼの関与が知られている。国内・国外においても検出される酵素の種類や割合が異なっていることが報告されている⁴⁾。そのため、海外で主に流行している海外型耐性遺伝子の国内への侵入探知をはじめとした耐性遺伝子の検出状況を全国的に把握し、その拡散を防ぐことが重要となっている。

2019 年度、本市に届出があり、検査を実施した 14 株の菌種の内訳は、*E. cloacae*, *E. coli* 及び *K. pneumoniae* がそれぞれ 3 株、*K. aerogenes* が 2 株、*C. freundii*, *M. morgani* 及び *P. stuartii* がそれぞれ 1 株であった。2018 年に全国の医療機関から届出のあった CRE 菌種別内訳データ⁵⁾と比較すると、全国では *K. aerogenes* の分離割合が高い傾向であることが報告されており、本市での届出菌種は昨年度同様に全国の届出菌種とは傾向が異なっていた。

検査を実施した 14 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子を保有する株は 5 株であり、その菌種内訳は *K. pneumoniae* が 3 株、*E. coli* が 2 株であった。検出遺伝子型は、IMP-1 型に属する IMP-6 を検出した株が 2 株、NDM-1 を検出した株が 2 株、KPC-2 を検出した株が 1 株、OXA-232 を検出した株が 1 株であった。IMP 型カルバペネマーゼは国内で広く検出・報告される酵素であるが、地域によって検出される遺伝子型が異なる傾向があり、IMP-6 は主に東海・北陸、近畿、中国・四国での検出が報告されている⁶⁾。本市において 2017 年 4 月以降に検出された IMP 型遺伝子の遺伝子型は全て IMP-6 であり⁷⁾、市域でのまん延が示唆された。IMP-6 保有菌株は、メロペネムには耐性であるがイミペネムに対しては感受性を示すことがあるため「ステルス型」と呼ばれ警戒されている⁸⁾。臨床現場でのスクリーニングにおいては、IMP-6 保有株を見落とすことがないように、注意が必要である。

一方で、海外型カルバペネマーゼである NDM-1, OXA-232, KPC-2 が検出された 2 名の患者は、ともに海外での治療歴があり、感染地域は海外と考えられた。NDM 型カルバペネマーゼ産生菌は 2009 年にインドで初めて分離され⁹⁾、急速に世界へ拡散し、本邦では 2011 年に初めて NDM-1 産生大腸菌の分離が報告された¹⁰⁾。KPC 型カルバペネマーゼ産生菌は、米国などでまん延しており、中国や韓国でも検出される^{11), 12)}。また最近では、本邦において KPC 型カルバペネマーゼ産生菌を原因とする院内感染事例の発生が報告された¹³⁾。NDM 型や KPC 型カルバペネマーゼを産生する株にはフルオロキノロン系やアミノ配糖体系の抗菌薬にも耐性を示す株があり¹⁰⁾、治療の上で大きな問題となることが想定される。海外での治療歴がある患者を受け入れる際には、海外型遺伝子の侵入を防ぐ目的としてスクリーニング検査を実施することも有用と

考えられる。

カルバペネマーゼ遺伝子を検出しなかった9株のうち、CTX-M-2groupやEBC型等の何らかのβ-ラクタマーゼ遺伝子を検出したものが6株であった。これらの株のカルバペネム耐性には、β-ラクタマーゼの過剰産生や、外膜タンパクの変異や欠損による薬剤透過性の低下が関与していると考えられる¹⁾。

2019年度の本市でのCRE感染症届出件数は13件であり、2018年度と同程度の届出件数であった⁷⁾。これまで同様、IMP-6保有株が複数分離された一方で、本市での検出は初となる海外型カルバペネマーゼ遺伝子のNDM型、OXA-48型及びKPC型を保有する株が検出された。どちらの患者も海外治療歴を有していたが、今後はこれら海外型遺伝子が市域に定着することもあると考えられる。海外型遺伝子のまん延防止を図るためにも、耐性遺伝子の検出動向に注視し、関係機関と協力して耐性遺伝子の拡散防止や、院内感染事例の早期探知に努めなければならない。

謝 辞

調査を担当された健康推進課及び各区保健センターの皆様、菌株の分与にご協力いただきました市内医療機関の皆様に深謝いたします。

文 献

- 1) 荒川宜親：腸内細菌科菌種におけるカルバペネム耐性メカニズムとその特長および動向，病原微生物検出情報，35(12)，283～284(2014)
- 2) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100 27th, 37(1)，122～127(2017)
- 3) Kaase M et al.: NDM-2 carbapenemase in *Acinetobacter baumannii* from Egypt, J Antimicrob Chemother, 66(6)，1260～1262(2011)
- 4) 荒川宜親：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)等新型多剤耐性菌のグローバル化と臨床的留意点，日本化学療法学会雑誌，63(2)，187～197(2015)

- 5) 国立感染症研究所感染症疫学センター：感染症法に基づくカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出状況 2018年：<https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/c-re-idwrs/9781-cre-191227.html>
- 6) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター他：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE)病原体サーベイランス，2017年，病原微生物検出情報，39(9)，162～163(2018)
- 7) 青田達明 他：2018年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と遺伝子解析，広島市衛生研究所年報，38，29～34(2019)
- 8) 菅井基行 他：薬剤耐性菌の基礎知識「ESBLおよびカルバペネマーゼ産生菌」，THE CHEMICAL TIMES，239(1)，2014
- 9) Yong D et al.: Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*_{NDM-1}, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India: Antimicrob Agents Chemother, 53(12)，5046～5054(2009)
- 10) Chihara S et al.: First Case of New Delhi Metallo-β-Lactamase 1-Producing *Escherichia coli* Infection in Japan: Clin Infect Dis, 52(1)，153～154(2011)
- 11) 鈴木里和 他：わが国におけるNDM型およびKPC型カルバペネマーゼ産生菌分離状況，2012年現在，病原微生物検出情報，34(1)，8～9(2013)
- 12) 鹿山鎮男 他：輸入型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)について，病原微生物検出情報，40(2)，25～26(2019)
- 13) 阿部孝一 他：郡山市保健所管内におけるKPC型カルバペネム耐性腸内細菌科細菌による院内感染事例，病原微生物検出情報，40(2)，27(2019)

広島市で検出された基質拡張型 β -ラクタマーゼ 産生腸管出血性大腸菌感染症事例の解析結果

栗林 智早 山木戸 聡 青田 達明 佐藤 香緒里
山本 美和子 坂本 綾

はじめに

基質拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended Spectrum β -Lactamase: ESBL) は、Amber 分類の Class A に属し、ペニシリンや第 3, 第 4 世代セファロスポリン等の β -ラクタム薬を分解する酵素である。ESBL 産生菌による感染症は院内感染のみならず、市中でも増加傾向を示しており¹⁾、公衆衛生上の問題となっている。

腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染症は、感染症法の三類感染症として届出が義務づけられ、国内での年間報告数は 4,000 件前後を推移している²⁾。

ESBL 産生 EHEC の報告例は稀で、2011 年にドイツ北部を中心とした O104: H4 の outbreak が確認されているが³⁾、ESBL 産生大腸菌の多くは EHEC ではない O25 や O86 であることが報告⁴⁾されている。

2019 年 7 月市内医療機関より腸管出血性大腸菌感染症の届出があり、患者菌株、患者便及び患者家族便が搬入され検査したところ、患者菌株において ESBL 産生を認めた。今回当所において報告数が比較的少ない ESBL 産生 EHEC を検出し詳細な解析を行ったのでその結果について報告する。

方 法

1 材料

2019 年 7 月に市内医療機関から届出があり、保健センターより搬入された患者菌株 1 株及び患者家族便。

2 分離・同定

選択分離培地としてクロモアガー STEC (関東化学) に菌株及び便を画線塗抹し、37℃ 一晚培養した。

発育した特徴的な藤色コロニーについて、TSI 培地 (日水製薬) LIM 培地 (日水製薬) 及びフルオロカルト LMX ブイヨン培地 (メルク) を用いて生化学性状を確認した。病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ) を用いて O 血清型及び H 血清型別試験及び VT 毒素遺伝子を確認した。VT 毒素遺伝子検出は、ミューラーヒントン II 寒天培地 (日本 BD) に純培養した菌を熱抽出 (100℃, 10 分) により鋳型 DNA

を抽出し、平成 23 年度国立保健医療科学院短期研修テキスト収載の mMK1, mMK2 及び stx2fk プライマーによる PCR 法を実施した。

3 薬剤感受性試験

Clinical & Laboratory Standard Institute (CLSI) に準拠した BD センシ・ディスクTM (日本 BD) を用いて、Kirby-Bauer 法により薬剤感受性試験を実施した。対象薬剤は、当所で EHEC 検出時に試験しているアンピシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、ストレプトマイシン (SM)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、トリメトプリム (TMP)、スルファメトキサゾール/トリメトプリム (SXT)、ホスホマイシン (FOM) の 12 剤と、セフトジジム (CAZ)、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM) 及びセフメタゾール (CMZ) の 4 剤についても実施した。

4 分子疫学的解析

(1) パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

国立感染症研究所 (感染研) の方法に準じて PFGE を実施した。プラグを作成し、1mg/ml proteinase K in 1% N-louroylsarcosine in 0.5M EDTA で 50℃ 4 時間溶菌後、制限酵素 *Xba* I (ロシュ) で 37℃ 一晚消化した。CHEF DR III System (バイオラッド) を使用し、スイッチングタイム 2.2~54.2 秒, 6V/cm, チオ尿素加 0.5TBE buffer (温度 14℃),

表 1 Class A β -ラクタマーゼ遺伝子プライマー

プライマー	塩基配列 (5' -3')	サイズ
TEM 型	F: CCGTGTGCGCCCTTATTC	824bp
	R: AGGCACCTATCTCAGCGA	
SHV 型	F: ATTTGTGCTTCTTTACTCGC	1051bp
	R: TTTATGGCGTTACCTTTGACC	
CTX-M-1 group	F: GCTGTTGTTAGGAAGTGTGC	516bp
	R: CCATTGCCCGAGGTGAAG	
CTX-M-2 group	F: ACGCTACCCCTGCTATTT	779bp or 780bp
	R: GCTTTCCGCCTTCTGCTC	
CTX-M-9 group	F: GCAGATAATACGCAGGTG	393bp
	R: CGGCGTGGTGGTGTCTCT	

表 2 CTX-M-2 group シークエンス用プライマー

プライマー	塩基配列(5' -3')
CTX-M2seq1	F: CTTGAAGGCCRAGGGATAAT R: TCCAGACGGAAGGTCTCATC
CTX-M2seq2	F: CGCTGCAGTATAGCGACAAT R: CGTTGCAAGACAAGACTGAAG

19 時間泳動後、ゲルを臭化エチジウムで染色し、紫外線照射し撮影した。

(2) Multiple Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA)

感染研に菌株を送付し、型番を賦与された。

(3) Multiple Locus Sequencing typing (MLST)

Tartof らの報告⁵⁾を参考に *Escherichia coli* が保有する 7 つのハウスキーピング遺伝子 (*adk*, *fumC*, *icd*, *purA*, *gyrB*, *recA*, *mdh*) を対象とした。増幅産物を Exo SAP-IT Express PCR Product Cleanup (Thermo Fisher SCIENTIFIC) で精製し、Big Dye terminator v3.1 (Thermo Fisher SCIENTIFIC) を用いてサイクルシークエンスを実施した。3500 Genetic analyzer (Applied Biosystems) によって塩基配列を決定し、MLST データベース (<https://pubmlst.org>) で照合し ST 型を決定した。

5 薬剤耐性スクリーニング試験

薬剤感受性試験により、CTX 耐性となった患者菌株について、感染研の薬剤耐性菌研修会資料 (2016 年 9 月修正 Ver. 3) を基に、ESBL スクリーニング検査を実施した。

(1) ディスク拡散法

ClassA β -ラクタマーゼの阻害剤であるクラブラン酸 (CVA) 及びスルバクタム (SBT) を使用した。被検菌株を滅菌生理食塩水で McFarland 0.5 になるように懸濁し、菌液を滅菌綿棒でミューラーヒントン II 寒天培地 (日本 BD) 2 枚に均一に塗布した。1 枚目には、CTX と CTX/CVA (日本 BD) 及び CAZ と CAZ/CVA (日本 BD) のディスクを配置し、阻止円径を計測し単剤と CVA 含有ディスクの阻止円径の差が 5 mm 以上を阻害ありとした。2 枚目は、ABPC/SBT (栄研化学) ディスクを平板中央に置き、ディスク間距離を 25 mm 程度離して 2 方向に CTX と CAZ の各ディスクを置き、各ディスクと SBT 含有ディスクの間に阻止円の拡張が認められたものを阻害効果ありと判定した。

(2) PCR 法による β -ラクタマーゼ遺伝子の検出

VT 遺伝子検出の際に抽出した鋳型 DNA を用いて

ESBL 遺伝子を含む ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出を実施した。TEM, SHV, CTX-M-1group, CTX-M-2group 及び CTX-M-9group の各遺伝子に特異的なプライマー (表 1) を用いた。反応条件は前加熱 94°C 2 分 1 サイクル、熱変性 94°C 1 分、アニーリング 55°C 1 分、伸長 72°C 1 分 30 秒を 30 サイクル後、最後に 72°C 5 分で伸張を行った。

6 塩基配列解析

薬剤耐性スクリーニング試験の PCR 法により検出された遺伝子について、山口らの報告⁶⁾を参考にシークエンス用プライマー (表 2) を用いて塩基配列を決定した。サイクルシークエンスは、MLST 解析と同様に実施した。塩基配列をアミノ酸に変換した後、参照株と相同性を比較し、遺伝子型を決定した。

結 果

1 EHEC 分離同定

患者菌株及び患者家族便から、クロモアガー STEC に藤色コロニーの発育が認められた。コロニーは大腸菌の生化学性状を示し、血清型は O103:H2 であった。VT 毒素遺伝子は、VT1 を検出し、EHEC と同定された。

2 薬剤感受性試験

患者菌株及び患者家族菌株の薬剤感受性試験の結果を表 3 に示す。患者菌株は、ABPC, CTX が耐

表 3 薬剤感受性試験結果

薬剤ディスク	患者	患者家族
ABPC	— (R)	16.4 (I)
CTX	— (R)	28.6 (S)
CAZ	20.5 (I)	23.4 (S)
CMZ	25.6 (S)	23.5 (S)
IPM	26.5 (S)	26.1 (S)
MEPM	29.7 (S)	25.8 (S)
SM	16.9 (S)	16.7 (S)
KM	20.8 (S)	20.4 (S)
GM	21.9 (S)	22.1 (S)
TC	17.1 (S)	17.3 (S)
CP	21.7 (S)	20.9 (S)
NA	23.0 (S)	23.2 (S)
CPFX	33.2 (S)	28.0 (S)
TMP	23.1 (S)	20.1 (S)
SXT	26.2 (S)	24.8 (S)
FOM	29.2 (S)	27.9 (S)

単位: mm (S): 感性 (I): 中間耐性 (R): 耐性

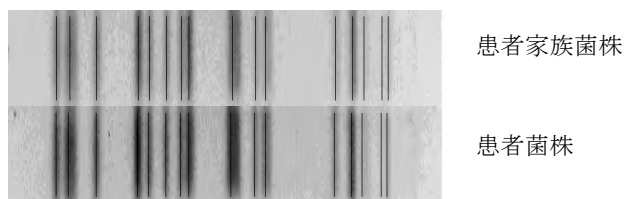


図1 患者菌株と患者家族菌の PFGE 解析結果

性であった。患者家族菌株は、ABPC が中間耐性であった。その他の薬剤は感性であった。

3 分子疫学解析

(1) PFGE

PFGE の泳動像を図1に示す。2株は同一のバンドパターンを示した。

(2) MLVA 法

感染研から賦与された MLVA 型は、患者菌株及び患者家族菌株共に 19m4014 であった。

(3) MLST 解析

MLST 解析の結果は、患者菌株及び患者家族菌株共に、ST17 であった。

4 薬剤耐性スクリーニング試験

(1) ディスク拡散法

患者菌株は、CTX と CTX/CVA の阻止円径の差は、5 mm 以上 (15.7 mm) あり、CVA による阻害効果を認めた。CTX 及び CAZ と ABPC/SBT の間に阻止円の拡張は認めず、SBT による阻害効果はなかった。

(2) PCR 法による β -ラクタマーゼ遺伝子の検出

ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出試験の結果、患者菌株から $bla_{CTX-M-2 \text{ group}}$ が検出された。患者家族菌株についても ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子を確認したが、検出されなかった。

5 塩基配列解析

薬剤耐性スクリーニング試験の PCR 法により検出された遺伝子について、塩基配列からアミノ酸配列を決定し参照株との相同性を比較した結果、CTX-M-2 型と 100% 一致し $bla_{CTX-M-2}$ を保有していることが判明した (図2)。

考 察

患者菌株及び患者家族菌株は、いずれも O103 : H2, VT1 産生 EHEC であった。両株の PFGE 像、MLVA 型及び ST 型は、同一の結果を示し、患者菌株と患者家族菌株は、同一由来であることが示唆された。

一方、薬剤感受性試験を実施したところ、患者菌株は CTX 耐性であったが、患者家族菌株は CTX 感受性という結果であった。患者菌株は、CVA による阻害効果を認め、さらに遺伝子解析を実施し

た結果、 $bla_{CTX-M-2}$ を保有し、ESBL 産生 EHEC であることが判明した。しかし、患者家族菌株については、ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の有無を確認したが検出されず、両株で ESBL 遺伝子の保有に違いを認めた。

ESBL 遺伝子の多くはプラスミド上に存在し、接合により伝達可能であるため菌体を超えて伝播することが報告されている⁷⁾。菊池らは、EHEC 集団感染において同一菌株由来による感染が示唆されたにもかかわらず ESBL 遺伝子保有の有無には違いを認めた事例を報告している⁸⁾。本事例も患者菌株と患者家族菌株は同一菌株由来による感染が示唆されたが、薬剤耐性遺伝子保有の有無に違いが認められ、接合による ESBL 遺伝子の伝達もしくはプラスミド脱落の可能性が推測された。

今回、ESBL 産生 EHEC が検出された。以前は、ESBL 産生菌の検出は主に入院患者からであったが、近年市中感染症の患者からの分離も増加がみられる¹⁾。世界的に CTX-M-15 型 ST131 大腸菌といわれるクローンが拡散している報告⁹⁾があるが、本事例は CTX-M-2 型 ST17 大腸菌であった。

CTX-M-2 型大腸菌は食用動物において多く認められている報告¹⁰⁾もあり、ESBL 産生菌は耐性遺伝子がプラスミドを介して菌から菌へと伝播するた

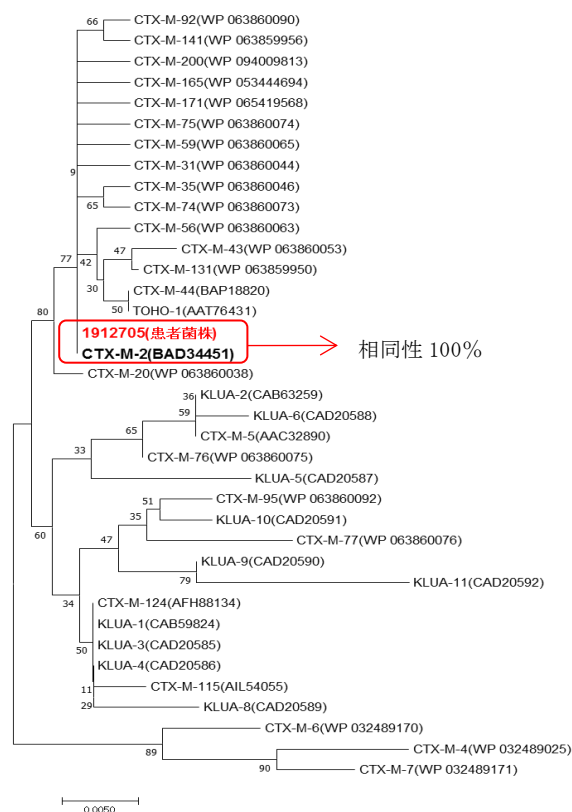


図2 CTX-M 遺伝子分子系統樹 (291 アミノ酸)

め EHEC のような伝染性が強く, 病原性の強い菌種における ESBL 産生菌は公衆衛生上重要な問題になると考える。

薬剤耐性は国内外において大きな課題の一つであり, 薬剤耐性 (AMR) アクションプランとして薬剤耐性菌の拡散を防止することが挙げられている。市中での薬剤耐性菌の拡散は市中感染症の増加につながると考える。今後も薬剤耐性菌の市中感染拡大防止の一助として EHEC の薬剤耐性株の検索をし, その動向に注視していきたい。

文 献

- 1) Chong Y et al.: Community spread of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis* along-term study in Japan, J Med Microbiol, 62(2013), 1038~1043
- 2) 病原微生物検出情報: 腸管出血性大腸菌感染症 2019 年 3 月現在, 40(5), 71~72(2019)
- 3) Frank C et al.: Epidemic profile of Shiga-toxin producing *Escherichia coli* O104:H4 outbreak in Germany, N Engl J Med, 365(19), 1771~1780(2011)
- 4) Suzuki S et al.: Rapid change in the prevalence of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread, J Antimicrob Chemother, 63(2009), 72~79
- 5) Tartof SY et al.: Analysis of a uropathogenic *Escherichia coli* clonal group by multilocus sequence typing, J Clin Microbiol, 43(12), 5860~5864(2005)
- 6) 山口友美 他: 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼを産生する腸管出血性大腸菌 O15 の遺伝子解析, 宮城県保健環境センター年報, 30, 27~30(2012)
- 7) 和知野純一: 薬剤耐性獲得機構~グラム陰性菌を中心に~, 日本臨床微生物学会雑誌, 30(1), 1~12(2020)
- 8) 菊池孝司 他: Cefotaxime 感性および耐性株が混在した保育園における腸管出血性大腸菌 O121 集団感染, 感染症学雑誌, 88(4), 430~437(2014)
- 9) Periano G et al.: Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β -lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 O25:H4, Int J Antimicrob Agents, 35, 316~321(2010)
- 10) 原田和記: 動物に由来する CTX-M 型基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌, 日本化学療法学会雑誌, 62(2), 181~186(2015)

広島市感染症発生動向調査事業における ウイルス検出状況 (2019 年)

山木戸 聡 福永 愛 則常 浩太 兼重 泰弘
藤井 慶樹 坂本 綾

はじめに

感染症発生動向調査事業の目的は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に規定する感染症の発生動向に関する情報を迅速に収集、分析及び提供、公開していくことにより、予防、医療、研究等において的確な感染症対策を確立することにある¹⁾。そこで、2019 年の広島市感染症発生動向調査の病原体検索結果についてまとめたので報告する。

方法

2019 年 1 月から 12 月までに病原体定点医療機関を受診した患者 500 人から採取した咽頭拭い液、髄液、糞便、尿等 777 検体を検査材料として用いた。

ウイルス分離は細胞培養法で行った。培養に使用した細胞は、HEF, HEp-2, RD-18S, RDA, Vero, A549 を用い、インフルエンザウイルスの分離には MDCK を使用した。分離されたウイルスは中和試験により血清型を同定し、難中和株はシーケンスにより遺伝子型を同定した。また、細胞培養法では分離できないウイルスも存在するため、必要に応じて PCR 検査を併用して実施した。さらに、胃腸炎等の消化器疾患患者から採取された糞便のウイルス検査では、イムノクロマト法も追加して実施した。

結果

1 月別検出状況

2019 年の月別ウイルス検出数を表 1 に示した。患者 500 人の検査を実施し、297 人から 324 株のウイルスが検出された。検出された主なウイルスの内訳は、ライノウイルスが 44 株と最も多く、次いでインフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型が 40 株、インフルエンザウイルス A (H3) 型が 36 株、パレコウイルス 3 型が 27 株、エコーウイルス 30 型が 15 株、コクサッキーウイルス A6 型が 14 株、RS ウイルスが 11 株、ノロウイルス GⅡが 10 株であった。

ライノウイルスは 1 年を通して検出された。また、インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型は 12 月、

インフルエンザウイルス A (H3) 型は 2 月にそれぞれ最も多く検出された。

2 臨床診断名別検出数

臨床診断名別ウイルス検出数を表 2 に示した。以下に主な臨床診断名について検出数を記す。

(1) インフルエンザ

76 人の患者から採取された検体を検査し、75 人から 78 株のウイルスが検出された。その内訳は、インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型、インフルエンザウイルス A (H3) 型が各 35 株、B 型インフルエンザウイルスが 4 株、コクサッキーウイルス A5 型、ライノウイルス、レオウイルス、アデノウイルス 6 型が各 1 株であった。

(2) 感染性胃腸炎

37 人の患者から採取された検体を検査し、19 人から 20 株のウイルスが検出された。その内訳は、ノロウイルス GⅡが 10 株と最も多く、A 群ロタウイルスが 7 株、パレコウイルス 1 型、レオウイルス、サポウイルスが各 1 株であった。

(3) 手足口病

17 人の患者から採取された検体を検査し、13 人から 14 株のウイルスが検出された。その内訳は、コクサッキーウイルス A6 型が 9 株、コクサッキーウイルス A16 型が 3 株、ライノウイルスが 2 株であった。

(4) ヘルパンギーナ

11 人の患者から採取された検体を検査し、9 人から 11 株のウイルスが検出された。その内訳は、コクサッキーウイルス A6 型が 4 株、ライノウイルスが 3 株、コクサッキーウイルス A10 型が 2 株、コクサッキーウイルス A5 型、パレコウイルス 3 型が各 1 株であった。

(5) 流行性角結膜炎

67 人の患者から採取された検体を検査し、12 人から 12 株のウイルスが検出された。その内訳は、アデノウイルス 56 型が 5 株、アデノウイルス 37 型が 4 株、アデノウイルス 3 型が 2 株、アデノウイルス 54 型が 1 株であった。

表 1 月別ウイルス検出数

検出病原体	1 月	2 月	3 月	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	計
コクサッキーウイルス A5 型			1		1	1	1						4
コクサッキーウイルス A6 型					3	2	8	1					14
コクサッキーウイルス A10 型									1		2		3
コクサッキーウイルス A16 型							1	1	1				3
コクサッキーウイルス B5 型				1		2	1	2	1	1			8
エコーウイルス 18 型								1				1	2
エコーウイルス 25 型											1		1
エコーウイルス 30 型						1		5	1	4	4		15
パレコウイルス 1 型								2		1	1		4
パレコウイルス 2 型						1							1
パレコウイルス 3 型	1		4	4	4	6	5	1			1	1	27
ライノウイルス	7	1	2	5	4	10	4		4	2	3	2	44
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型	7	2	1	2				1	3	5	6	13	40
インフルエンザウイルス A (H3) 型	9	12	10	4						1			36
B 型インフルエンザウイルス	1			1	1			1		1		1	6
パラインフルエンザウイルス 1 型								2		1			3
パラインフルエンザウイルス 2 型									1	1	2		4
パラインフルエンザウイルス 3 型					1	2	2	1	1				7
RS ウイルス	2	1	2	1				1	2		1	1	11
ムンプスウイルス	1	1			1								3
ヒトメタニューモウイルス	1	1	1								3		6
ヒトコロナウイルス NL63		2	1										3
ヒトコロナウイルス OC43	2	1	1										4
ヒトコロナウイルス HKU1			1	1									2
レオウイルス			1		1		2			1			5
A 群ロタウイルス	2	1	2	1	1								7
サポウイルス										1			1
ノロウイルス GII	3		1	1		1			1		2	1	10
アデノウイルス 1 型	1	2	1		2	1		1					8
アデノウイルス 2 型	1			2	1	2	1					2	9
アデノウイルス 3 型	1	1		1			1	1				1	6
アデノウイルス 5 型				1		1						1	3
アデノウイルス 6 型												1	1
アデノウイルス 31 型						1		1					2
アデノウイルス 37 型			1				1			1		1	4
アデノウイルス 41 型							1						1
アデノウイルス 54 型		1											1
アデノウイルス 56 型			1		3					1		1	6
ヒトボカウイルス	1	1	1	3									6
水痘帯状疱疹ウイルス												1	1
ヒトヘルペスウイルス 6 型			1								1		2
計	40	27	33	28	23	31	28	22	16	21	27	28	324
陽性患者数	36	25	29	26	22	26	27	21	16	19	25	25	297
検査患者数	53	44	47	41	44	50	44	39	23	34	38	43	500

表 2 臨床診断名別ウイルス検出数

検出病原体	インフル エンザ	咽頭結 膜熱	感染性 胃腸炎	≧群溶連菌咽頭炎	手足口 病	ヘルパ ンギーナ	流行性 角結膜炎	無菌性 髄膜炎	流行性 耳下腺炎	その他の 呼吸器疾患	その他の 消化器疾患	その他の 神経系疾患	その他の 発疹性疾患	その他の 循環器疾患	その他の 疾患	計
コクサッキーウイルス A5 型	1					1				1				1		4
コクサッキーウイルス A6 型					9	4									1	14
コクサッキーウイルス A10 型						2				1						3
コクサッキーウイルス A16 型					3											3
コクサッキーウイルス B5 型										1			1		6	8
エコーウイルス 18 型															2	2
エコーウイルス 25 型															1	1
エコーウイルス 30 型								8							7	15
パレコウイルス 1 型			1							1	1				1	4
パレコウイルス 2 型											1					1
パレコウイルス 3 型						1				4	2		2		18	27
ライノウイルス	1				2	3				25				2	11	44
インフルエンザ [※] ウイルス A(H1N1)pdm09 型	35			1						3					1	40
インフルエンザ [※] ウイルス A(H3) 型	35									1						36
B 型インフルエンザ [※] ウイルス	4									1					1	6
パ [※] ラインフルエンザ [※] ウイルス 1 型										1		1			1	3
パ [※] ラインフルエンザ [※] ウイルス 2 型										3			1			4
パ [※] ラインフルエンザ [※] ウイルス 3 型		2								4					1	7
RS ウイルス				1						7		1	1		1	11
ムンプスウイルス									3							3
ヒトメタニューモウイルス		1								3		1			1	6
ヒトコロナウイルス NL63										3						3
ヒトコロナウイルス OC43										3					1	4
ヒトコロナウイルス HKU1										1					1	2
レオウイルス	1		1								3					5
A 群ロタウイルス			7													7
サボウイルス			1													1
ノロウイルス GⅡ			10													10
アデノウイルス 1 型		2								4	2					8
アデノウイルス 2 型										2	6				1	9
アデノウイルス 3 型		2					2			1	1					6
アデノウイルス 5 型										2	1					3
アデノウイルス 6 型	1															1
アデノウイルス 31 型												2				2
アデノウイルス 37 型							4									4
アデノウイルス 41 型												1				1
アデノウイルス 54 型							1									1
アデノウイルス 56 型							5								1	6
ヒトボカウイルス										4			1		1	6
水痘帯状疱疹ウイルス													1			1
ヒトヘルペスウイルス 6 型													2			2
計	78	7	20	2	14	11	12	8	3	76	20	3	9	3	58	324
陽性患者数	75	7	19	2	13	9	12	8	3	59	20	3	9	3	55	297
検査患者数	76	7	37	6	17	11	67	17	5	68	33	14	16	7	119	500

表 3 検体別ウイルス検出数

検出病原体	咽頭拭い液	髄液	糞便	尿	結膜拭い液	その他	計
コクサッキーウイルス A5 型	3		1				4
コクサッキーウイルス A6 型	14		2	1			17
コクサッキーウイルス A10 型	3						3
コクサッキーウイルス A16 型	3						3
コクサッキーウイルス B5 型	7	3	6	1			17
エコーウイルス 18 型	1		1				2
エコーウイルス 25 型			1				1
エコーウイルス 30 型	12	4	10				26
パレコウイルス 1 型	2		3	1			6
パレコウイルス 2 型			1				1
パレコウイルス 3 型	20	2	17	3		1	43
ライノウイルス	52						52
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型	40						40
インフルエンザウイルス A (H3) 型	37						37
B 型インフルエンザウイルス	6						6
パラインフルエンザウイルス 1 型	3						3
パラインフルエンザウイルス 2 型	3					1	4
パラインフルエンザウイルス 3 型	8						8
RS ウイルス	13						13
ムンプスウイルス	1	2				2	5
ヒトメタニューモウイルス	7						7
ヒトコロナウイルス NL63	3						3
ヒトコロナウイルス OC43	4						4
ヒトコロナウイルス HKU1	2						2
レオウイルス			5				5
A 群ロタウイルス			7				7
サポウイルス			1				1
ノロウイルス GII			10				10
アデノウイルス 1 型	5		3				8
アデノウイルス 2 型	3		7				10
アデノウイルス 3 型	3		1		2		6
アデノウイルス 5 型	2		1				3
アデノウイルス 6 型	1						1
アデノウイルス 31 型			2				2
アデノウイルス 37 型					4		4
アデノウイルス 41 型			1				1
アデノウイルス 54 型					1		1
アデノウイルス 56 型					6		6
ヒトボカウイルス	6						6
水痘帯状疱疹ウイルス						1	1
ヒトヘルペスウイルス 6 型	2						2
計	266	11	80	6	13	5	381
陽性検体数	241	11	79	6	13	5	355
検査検体数	363	60	179	85	73	17	777

(6) 無菌性髄膜炎

17 人の患者から採取された検体を検査し、8 人から 8 株のウイルスが検出され、その全てがエコーウイルス 30 型であった。

3 検体別検出数

検体別ウイルス検出数を表 3 に示した。

(1) 咽頭拭い液

検査した 363 検体のうち、241 検体から 266 株のウイルスが検出された。その内訳は、ライノウイルスが 52 株、インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型が 40 株、インフルエンザウイルス A(H3)型が 37 株、パレコウイルス 3 型が 20 株、コクサッキーウイルス A6 型が 14 株、RS ウイルスが 13 株、エコーウイルス 30 型が 12 株、パラインフルエンザウイルス 3 型が 8 株、コクサッキーウイルス B5 型、ヒトメタニューモウイルスが各 7 株、B 型インフルエンザウイルス、ヒトボカウイルスが各 6 株、その他 17 種 44 株であった。

(2) 髄液

検査した 60 検体のうち、11 検体から 11 株のウイルスが検出された。その内訳は、エコーウイルス 30 型が 4 株、コクサッキーウイルス B5 型が 3 株、パレコウイルス 3 型、ムンプスウイルスが各 2 株であった。

(3) 糞便

検査した 179 検体のうち、79 検体から 80 株のウイルスが検出された。その内訳は、パレコウイルス 3 型が 17 株、エコーウイルス 30 型、ノロウイルス GII が各 10 株、A 群ロタウイルス、アデノウイルス 2 型が各 7 株、コクサッキーウイルス B5 型が 6 株、その他 13 種 23 株であった。

(4) 尿

検査した 85 検体のうち、6 検体から 6 株のウイルスが検出された。その内訳は、パレコウイルス 3 型が 3 株、コクサッキーウイルス A6 型、コクサッキーウイルス B5 型、パレコウイルス 1 型が各 1 株であった。

(5) 結膜拭い液

検査した 73 検体のうち、13 検体から 13 株のウイルスが検出された。その内訳は、アデノウイルス 56 型が 6 株、アデノウイルス 37 型が 4 株、アデノウイルス 3 型が 2 株、アデノウイルス 54 型が 1 株であった。

謝

辞

広島市感染症発生動向調査事業にご協力いただきました医療機関の関係各位に深謝いたします。

文

献

- 1) 広島市感染症発生動向調査事業実施要綱

一般食品からのノロウイルス検出法の検討 ーパンソルビントラップ法の最適化ー

藤井 慶樹 福永 愛 則常 浩太 兼重 泰弘
坂本 綾

は じ め に

当所では、ノロウイルス (NoV) を原因とする食中毒発生時に、保健所からの依頼に基づき、検食等の食品の検査を行っている。食品の NoV 検査法として、厚生労働省通知には、超遠心法、ポリエチレングリコール沈殿法 (PEG 法)、パンソルビントラップ法 (パントラ法) が記載されており¹⁾、当所では、主に PEG 法による検査を実施してきたが、これまでカキ以外の一般食品から NoV を検出した事例はない。

そこで、当所で実施可能な検査法であるパントラ法について、検査系の検証を行うとともに、人為的に NoV で汚染した食品を用いて、PEG 法とパントラ法による回収試験を行い、検出感度を比較したので報告する。

方 法

1 パントラ法の最適化

(1) 材料

10ml の PBS(-) にウイルス液 1ml を添加し、評価用試料とした。ウイルス液は、NoV G II.4 (Sydney2012 亜型) が検出された患者の便乳剤を希釈し、NoV コピー数約 7.5×10^4 copies/ml 濃度に調製したものを使用した。

(2) 手順

a 逆転写酵素の検討

評価用試料に、5% ガンマグロブリン (Adv Japan, 工業用ガンマグロブリン粉末を5%溶液に調製) 150 μ l とパンソルビン (Merck, 平成30年購入品 (H30品)) 1ml を添加し、37°C で15分間静置後、3,000rpm で20分間遠心した。上清を除去後、沈渣に Buffer AVL (QIAGEN) 250 μ l と TRIzol-LS (ambion) 750 μ l を加えて懸濁した。さらに、クロロホルム (関東化学) 200 μ l を加えて激しく混和後、12,000rpm で15分間遠心した。水層全量約 650 μ l を分取し、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用いて、60 μ l の RNA を抽出した。

抽出した 60 μ l の RNA を 15 μ l ずつ3つに分け、

それぞれ、SuperScript II Reverse Transcriptase (Invitrogen, SS II), SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen, SS III), Transcriptor Reverse Transcriptase (Roche, Transcriptor) の3種類の逆転写酵素を用いた逆転写反応を行い、30 μ l の cDNA を作製した。反応液の組成と逆転写反応条件は表1及び2のとおりである。

cDNA 5 μ l を鋳型として、TaqMan Universal PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific) を用いたリアルタイム PCR を行い、定量値を測定した。定量値を基に、回収された NoV コピー数を換算し、回収率を算出した。なお、試験は反復して2回実施し、平均回収率を評価した。

b パンソルビンの検討

評価用試料に添加するパンソルビンを平成26年購入品 (H26品) に変更し、同様の手順で 60 μ l の RNA を抽出した。逆転写反応は、前項 a の評価を基に選定した逆転写酵素 SS III を用いて行った。回収率の評価に至るその他の手順は前項 a と同様である。

2 食品を用いた PEG 法とパントラ法の検出感度の検証

(1) 材料

図1のとおり、自家製若しくは市販の固形食品6種類 (根菜の煮物、食パン、鶏の唐揚げ、白飯、ひじきの煮物、高野豆腐)、液状食品2種類 (野菜ジュース、きな粉牛乳) を用意した。

固形食品については各 10g、液状食品については各 45ml 計量した。前項1と同様に、NoV コピー数約 1.3×10^5 copies/ml 濃度に調製したウイルス液を計量した各食品に 1ml ずつ滴下し、検食の状態を想定して -18°C 以下で冷凍保存したものを供試材料とした。

(2) PEG 法による回収

厚生労働省通知に準拠し、以下の手順で試験を行った。冷凍保存した食品をフィルター付きストマッカー袋に移し、解凍後、適量の PBS (-) を加え、15分間の超音波洗浄処理を行った。フィルターろ過液全量を 50ml の遠沈管に回収し、4°C、

表 1 RT 反応液

<SSⅡを用いる場合>

PANR-G2a(100 μ M)	0.375 μ l
PANR-G2b(100 μ M)	0.1875 μ l
PANR-G2c(100 μ M)	0.1875 μ l
Distilled water	2.75 μ l
5×First-Strand Buffer	6.0 μ l
10mM dNTPs	1.5 μ l
Recombinant RNase Inhibitor(40U/ μ l)	1.0 μ l
100mM DTT	1.5 μ l
SuperScriptⅡ Reverse Transcriptase	1.5 μ l
抽出 RNA	15.0 μ l
計	30 μ l

<SSⅢを用いる場合>

PANR-G2a(100 μ M)	0.375 μ l
PANR-G2b(100 μ M)	0.1875 μ l
PANR-G2c(100 μ M)	0.1875 μ l
Distilled water	2.75 μ l
5×First-Strand Buffer	6.0 μ l
10mM dNTPs	1.5 μ l
Recombinant RNase Inhibitor(40U/ μ l)	1.0 μ l
100mM DTT	1.5 μ l
SuperScriptⅢ Reverse Transcriptase	1.5 μ l
抽出 RNA	15.0 μ l
計	30 μ l

<Transcriptorを用いる場合>

PANR-G2a(100 μ M)	0.375 μ l
PANR-G2b(100 μ M)	0.1875 μ l
PANR-G2c(100 μ M)	0.1875 μ l
Distilled water	3.5 μ l
5×Transcriptor RT Reaction Buffer	6.0 μ l
10mM dNTPs	3.0 μ l
Recombinant RNase Inhibitor(40U/ μ l)	1.0 μ l
Transcriptor(20U/ μ l)	0.75 μ l
抽出 RNA	15.0 μ l
計	30 μ l

10,000rpmで20分間遠心した。遠心後、上清を別の50ml 遠沈管に分取し、PEG 6,000(SIGMA-ALDRICH)を8%, NaClを2.1g/100mlになるように加え、室温で2時間攪拌した。4℃, 10,000rpmで20分間遠心後、上清を捨て、沈渣にNuclease-Free Water(QIAGEN)500 μ lを加えて懸濁し、1.5mlの微

表 2 RT 反応条件

<SSⅡを用いる場合>

42℃	1 時間
↓	
95℃	5 分
↓	
4℃	∞

<SSⅢを用いる場合>

50℃	1 時間
↓	
70℃	15 分
↓	
4℃	∞

<Transcriptorを用いる場合>

58℃	1 時間
↓	
85℃	5 分
↓	
4℃	∞

量遠心チューブに回収した。12,000rpmで5分間遠心後、上清140 μ lを分取し、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いて、60 μ lのRNAを抽出した。このうち、25 μ lを用いて、High-capacity cDNA Reverse Transcription Kit(Thermo Fisher Scientific)による逆転写反応を行い、50 μ lのcDNAを作製した。リアルタイムPCRによる定量及び回収率の算出については、前項1と同様である。なお、試験は反復して2回実施し、平均回収率を評価した。

(3) 最適化したパントラ法による回収

前項1の検討を基に、H26品と逆転写酵素SSⅢを用いた、最適化したパントラ法による回収試験を行った。

冷凍保存した食品をフィルター付きストマッカー一袋に移し、解凍後、固形食品に対しては、食品洗浄液(0.1M Tris・HCl-0.5M NaCl-0.1% Tween20(pH8.4))50ml、液状食品に対しては、10×食品洗浄液(1M Tris・HCl-1% Tween20(pH8.4))5mlとNaCl 1.5gを加え、15分間の超音波洗浄処理を行った。フィルターろ過液全量を、0.125gの α アミラーゼ粉末(和光純薬)を入れた50mlの遠沈管に回収し、転倒混和後、25℃, 3,000rpmで30分間遠心した。遠心後、上清を別の50ml 遠沈管に分



図1 検討に用いた食品

取し、前項1(2)aと同様の手順で、5%ガンマグロブリンとH26品を添加した後、RNAを抽出した。SSⅢを用いた逆転写反応の後、リアルタイムPCRによる定量及び回収率の算出を行った。なお、試験は反復して2回実施し、平均回収率を評価した。

結果及び考察

1 パントラ法の最適化

(1) 逆転写酵素による比較

3種類の逆転写酵素を用いた場合のNoV回収率を図2に示した。SSⅢを用いた場合は約11%、SSⅡを用いた場合は約2.6%、Transcriptorを用いた場合は約0.02%であった。すなわち、SSⅢを用いた場合の逆転写効率が最も良好で、結果的に回収率(逆転写酵素でNoVを回収するわけではないので、厳密には回収率ではなく、検出率)が最も高くなった。一方で、Transcriptorを用いた場合の逆転写効率は非常に悪く、結果的にNoVをほとんど検出できなかった。

逆転写酵素について、厚生労働省通知ではSSⅡやTranscriptorを使用する場合の手順が記載されているが、当所で行った検討では、Transcriptor

を使用した場合、NoVをほぼ検出できていない結果となった。通知に記載されている方法はあくまでも一例であり、各検査研究機関で使用する試薬や機器は異なる。したがって、パントラ法の導入にあたっては、各機関で最適な方法を検討することが非常に重要である。

(2) パンソルビンによる比較

H26品を用い、SSⅢで逆転写を行った場合のNoV回収率を図3に示した。比較用に、H30品を用いた場合の結果も示した。H30品を用いた場合は約11%であったが、H26品を用いた場合は約66%となり、回収率に大きな差が認められた。

近年販売されているパンソルビンはホルマリン固定の程度が弱く、NoVのRNA抽出工程で黄色ブドウ球菌由来の核酸成分が漏出し、パントラ法でのNoV回収率を低下させる要因となっていることが指摘されている²⁾。実際に、H30品ではRNA抽出工程で同菌由来の核酸成分と考えられる白濁が観察されたが、H26品ではこのような現象は確認されなかった。なお、近年販売品のパンソルビンを使用する場合、事前にホルマリンによる再固定を行うことが推奨されている²⁾。そこで、H30品

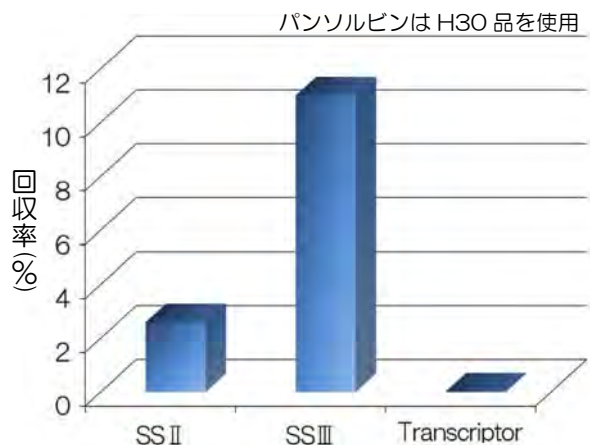


図2 逆転写酵素による比較



図3 パンソルピンによる比較

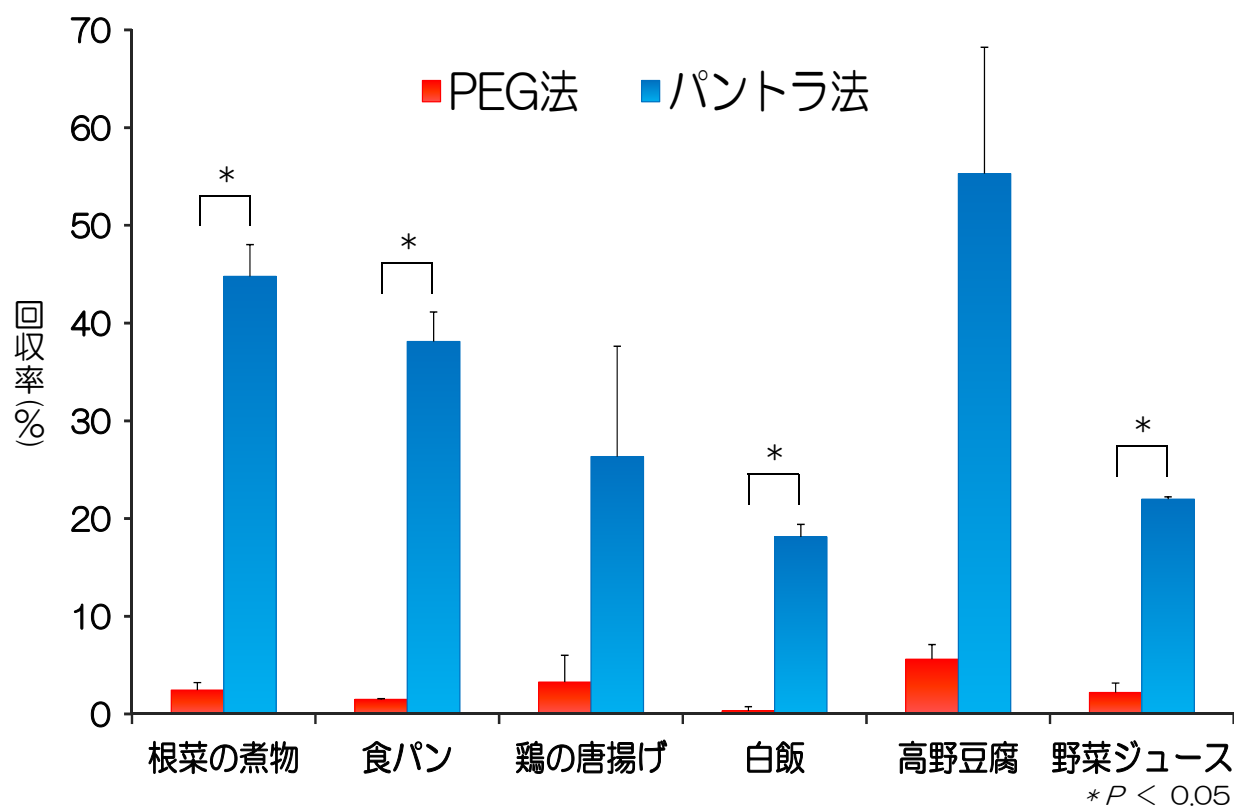


図4 PEG法と最適化したパントラ法による回収率の比較

について、同手順を基に再固定処理を施した結果、H26品と同等の回収ができることを確認している(データ示さず)。

以上の結果をまとめると、パントラ法による食品のNoV検査は、適切にホルマリン固定したパンソルピンと逆転写酵素 SSIIIを組合わせて使用することが最適と考えられた。

2 PEG法と最適化したパントラ法による食品からのNoV回収率の比較

PEG法及び最適化したパントラ法による固形食

品、液状食品からのNoV回収率を図4に示した。

PEG法による回収率は10%未満と総じて低く、最適化したパントラ法では、食品によりばらつきはあるものの、約18%～55%と非常に高い回収率であった。

各方法での回収率について、統計的な解析を行った結果、根菜の煮物、食パン、白飯、野菜ジュースでは、最適化したパントラ法の方がPEG法よりも有意に高かった($P < 0.05$)。また、鶏の唐揚げ、高野豆腐においても、統計的な有意差はないもの

の、最適化したパントラ法の方が回収率が高かった。

ひじきの煮物については、PEG 法、最適化したパントラ法いずれにおいても NoV を回収することができなかった。他所で行われた検討でも、ひじきの煮物は、パントラ法による NoV 回収率が他食品と比べて低いことが報告されている³⁾。その原因については解明されていないが、食品の種類は極めて多岐にわたるため、ひじきの煮物と同様に、パントラ法と相性の悪い食品が他にもあると考えられる。

また、きな粉牛乳については、PEG 法、パントラ法いずれにおいても、手順に沿った前処理では過剰な沈殿物が生成され、PEG 法では処理不能、パントラ法でも NoV 回収率は 0.08% と非常に低い値となった。過剰な沈殿物が生成される食品では、前処理法の改良が必要と考えられた。

ま と め

現状、食品からの NoV 検出法として絶対的なものは存在しない。今回、検出法の一つであるパントラ法について、検査系の最適化を実施し、当所

で実施してきた PEG 法よりも非常に良好な結果が得られた。今後、NoV 食中毒発生時の食品検査法として活用していきたい。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：「ノロウイルスの検出法について」の一部改正について、平成 25 年 10 月 22 日、食安監発 1022 第 1 号
- 2) 斎藤博之 他：パンソルビンの品質に関する課題への対応、平成 29 年度厚生労働科学研究費補助金「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」平成 29 年度総括・研究分担報告書、37～55(平成 28 年 3 月)
- 3) 斎藤博之 他：パンソルビン・トラップ法の実用面における課題への対応、平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」平成 30 年度総括・研究分担報告書、33～51(平成 31 年 3 月)

広島市における麻しん患者発生事例

則常 浩太 福永 愛 兼重 泰弘 藤井 慶樹
坂本 綾

は じ め に

麻しんは麻しんウイルスを原因とする急性熱性発疹性疾患で、発熱、発疹、カタル症状を3主徴とする。麻しんウイルスの感染経路は空気感染、飛沫感染、接触感染と多岐にわたり、その感染力は極めて強い。また、麻しんウイルスは免疫細胞で増殖し、感染者の免疫機能を抑制するため、肺炎や脳炎などの合併症を引き起こし、時に重症化することもあるので注意が必要である。

全国の過去10年間の麻しん患者報告数をみると、2010～2018年は数十人～500人未満で推移していたが、2019年は744人(暫定値)が報告され、過去10年間で最も多い報告数となっている¹⁾。また、本市においても2014年以来5年ぶりに麻しん患者の発生が報告された。そこで、2019年に本市で報告された麻しん患者からのウイルス検出状況等をまとめたので報告する。

方 法

初発の患者が発生した2019年5月29日から8月11日の終息までの間に、麻しんと診断された患者(疑いを含む)117人の咽頭拭い液、尿、血液のうち提出された検体を用いて、Real-time PCR法により麻しんウイルスの遺伝子検査を実施した。さらに、検出された麻しんウイルスについてN遺伝子(450nt)を標的としたPCRを実施し、得られた

増幅産物を用いてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、系統樹解析により遺伝子型分類を行った。また、患者の発生状況を検証した。

結 果

1 患者発生状況

初発患者は海外への渡航歴があり、帰国後に発熱、発疹及び咳嗽が認められたため、医療機関を通し、当所で麻しんウイルスの遺伝子検査を実施した。初発患者が麻しんであるとの診断が下された後は、患者の接触者や有症状者などを中心に、麻しんの感染が疑われる患者に対して積極的疫学調査が実施された。本市麻しん患者の概要を表に示した。初発患者が麻しんと診断された後、同じ会社の従業員3人の患者が判明した。その後、感染経路不明の患者1人及び市外在住の患者に関連した家庭内感染と疑われる患者1人が発生した。また、初発患者の発生から終息までの間、広島県内では本市での患者6人を含め計18人の患者が報告された。

2 検査結果

検査を行った患者117人のうち、麻しんウイルスが検出されたのは8人(6.8%)であったが、うち2人はワクチンに由来する遺伝子型Aのウイルスが検出された。そのため、「医師による麻しん届出ガイドライン 第五版」に基づき、麻しん患者と

表 麻しん患者の概要

患者名	年齢	性別	発症日	ワクチン接種歴	麻しん患者との接触状況
A (初発患者)	30代	男	5月20日	不明	海外渡航歴有り Z社勤務
B	40代	男	5月29日	不明	Z社勤務
C	30代	男	6月6日	無	Z社勤務
D	20代	男	6月6日	2回 (2歳, 18歳)	Z社勤務
E	30代	男	6月15日	不明	不明
F	10歳 未満	男	6月22日	1回 (1歳)	市外在住患者の家族

して届けられたのは6人(5.1%)であった。

3 臨床症状

麻疹患者の主症状は、発熱6人(100%)、発疹6人(100%)、咳嗽、鼻汁などのカタル症状5人(83.3%)で、麻疹患者6人中5人で、発熱、発疹、カタル症状の麻疹の3主徴がそろっていた。

4 検体別検出状況

麻疹患者の検体別のウイルス検出割合は、咽頭拭い液5検体中5検体陽性(100%)、尿6検体中3検体陽性(50%)、血液4検体中2検体陽性(50%)で、咽頭拭い液からの検出割合が最も高かった。また、発症後1週間程度までが検体採取に適した時期とされているが、適期に採取された尿及び血液の検体で麻疹ウイルスが検出されないものがあった。

5 系統樹解析

検出された麻疹ウイルス8株について、遺伝子型の分類を行った(図)。ワクチン株2株を除く6株は全てD8に分類され、N遺伝子(450nt)における塩基配列は一致していた。遺伝子型決定用参照麻疹ウイルス遺伝子²⁾と比較すると、5箇所塩基配列が異なっていた。

考 察

今回、当所で検出された麻疹ウイルス6株の系統樹解析の結果、N遺伝子における塩基配列に違いは見られなかった。しかし、世界的に麻疹の発生が減少傾向にある状況において、N遺伝子領域の限られた範囲における遺伝子型別だけでは、分子疫学的に十分に仕分けできない状況になりつつあるため、各事例間のつながりの判別が難しい場合がある。より詳細な解析のため、M/F遺伝子間の非構造たんぱく質の塩基配列(1012nt)による型別がWHOにより提唱されている。当所においても今後、この領域での遺伝子解析を検討したい。

また、日本の麻疹は排除状態に認定されているが、海外からの輸入事例が各地で散発している³⁾。本市での事例も海外渡航歴のある患者を発端とした一連の集団感染であったと推定される。また、広島市内にとどまらず市外へも患者が拡散したことや、麻疹患者との接触歴が不明の患者も

発生していることから、改めて麻疹ウイルスの感染力の強さが示された。今回の事例で広島市の6人を含め、広島県では全18人の麻疹患者が発生した。そのうちワクチン接種歴が「なし」若しくは「不明」の患者は12人であった。また、接種歴「あり」は6人で、その内訳は1回接種が2人、2回接種が4人であった⁴⁾。今回、感染が広がった経緯を正確に把握することは困難であるが、他県において、ワクチン接種歴のある患者からは感染拡大が確認されなかったという事例も報告されており、ワクチン接種は感染予防のみならず感染拡大防止にも一定の効果があることが示唆されている⁵⁾。

広島市における麻疹風しんワクチンの累積接種率は平成31年度では95.3%であった⁶⁾。集団免疫による感染拡大を防ぐことができるとされている目標値は95%で、今後も接種率を維持していく必要がある。平素からの麻疹に対する知識の普及とワクチン接種呼びかけによる、今後の更なる接種率の向上に期待したい。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：麻疹発生動向状況
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/hassei/1838-measles-sokuhou-rireki.html>
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル麻疹
- 3) 厚生労働省検疫所 FORTH：麻疹 - 西太平洋地域
<https://www.forth.go.jp/topics/20190517.html>
- 4) 石崎宏美：広島県内で発生した麻疹の集団感染に係る南保健センターの対応について、第22回地域保健研究会、36～37(2018)
- 5) 久高 潤 他：外国人観光客を発端とした麻疹アウトブレイクの行政対応—沖縄県、IASR, 40, 53～54(2019)
- 6) 広島市感染症情報センター：感染症情報/麻疹(はしか)
<https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/infectious-disease/273.html>

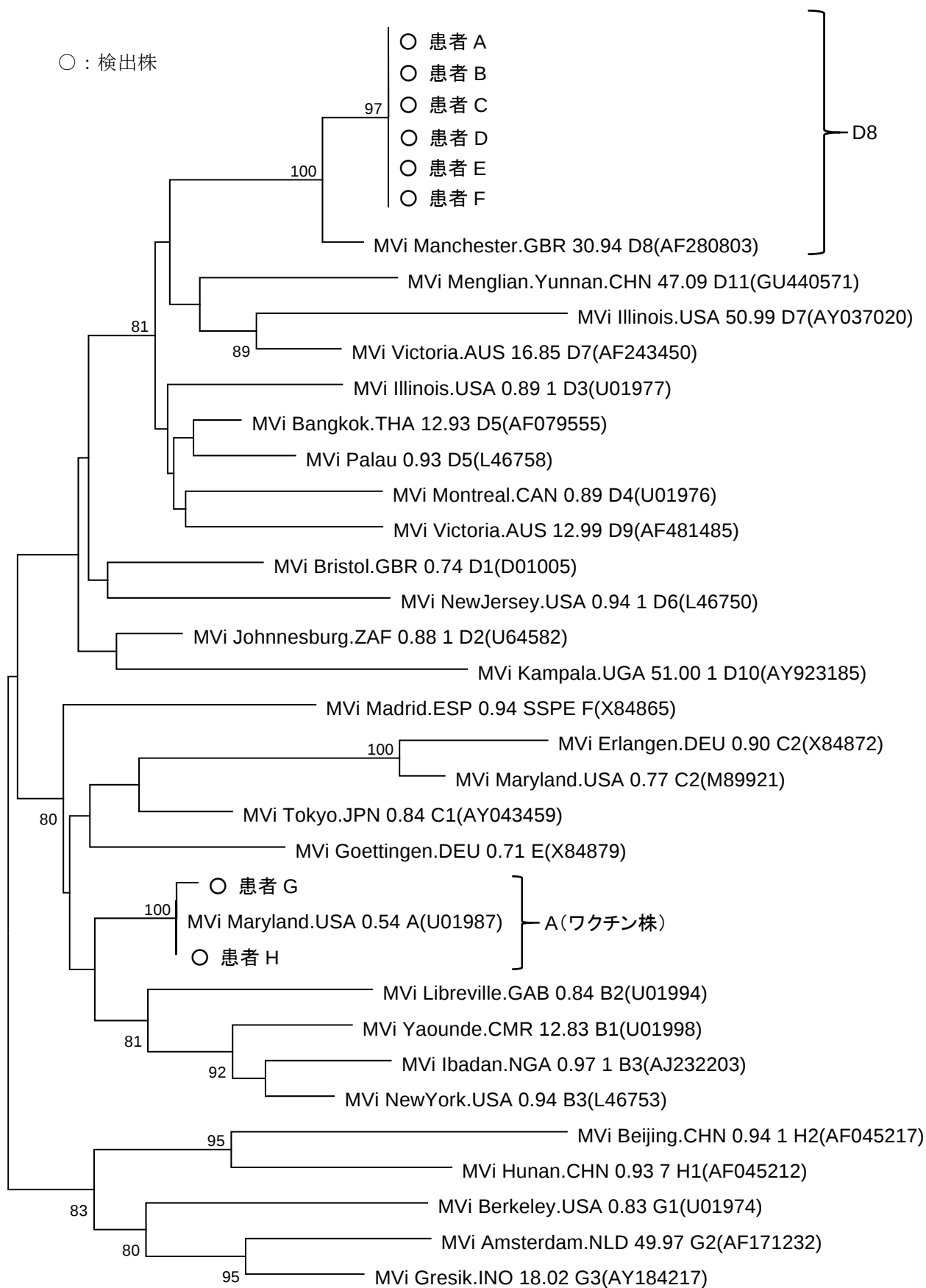


図 麻疹ウイルス N 遺伝子分子系統樹

広島市内における直鎖アルキルベンゼン スルホン酸及びその塩 (LAS) の調査結果 (2019 年度)

田坂 葉子 松室 信宏 鹿渡 正美 森山 友絵
武井 美紀 竹井 秀夫*¹ 中村 和央 坂本 哲夫*²
村野 勢津子

はじめに

広島市では河川水に混入する生活雑排水の影響を把握するため、昭和 55 年度から太田川や市内中小河川における洗剤残存調査を行っている。

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) については、平成 25 年 3 月環境省告示第 30 号¹⁾により環境基準に追加され、液体クロマトグラフ-質量分析装置 (LC-MS/MS) による分析方法が示された。広島市では、平成 28 年度から、LC-MS/MS を使用し、河川水の調査を実施している。

平成 31 年度の調査結果について報告する。

方 法

1 調査日及び調査地点

平成 31 年度は、図に示す 9 地点において、5 月、8 月 (一部 9 月)、11 月、2 月 (一部 3 月) の 4 回実施した。

2 分析方法

環境庁告示第 59 号付表 12²⁾に準じ、固相抽出-LC-MS/MS 分析を行った (表 1)。

3 試薬

LAS 標準溶液、内部標準物質 (オクチルベンゼンスルホン酸ナトリウム)、ギ酸、ギ酸アンモニウムは和光純薬工業製、アセトニトリル、メタノールは関東化学製を用いた。

4 装置及び分析条件

(1) HPLC

装置：島津製作所 NexeraX2 LC-30AD

カラム：Shim-Pack XR-ODS II

ID 2.0mm×L 150mm, 2.2µm

流速：0.2mL/min

注入量：5µL

カラム温度：40℃

移動相：A ギ酸 (0.1v/v%)・ギ酸アンモニウム水溶液 (50mmol/L) : B アセトニトリル=35 : 65

(2) MS/MS

装置：島津製作所 LCMS8050

イオン化モード：ESI-

インターフェイス温度：150℃

ネブライザーガス流量：3.0L/min

DL 温度：250℃

ヒートブロック温度：400℃

	Q1 (m/z)	Q3 (m/z)	CE (eV)
C8-LAS	269	183	35
C10-LAS	297	183/119	32/50
C11-LAS	311	183/119	34/52
C12-LAS	325	183/119	36/52
C13-LAS	339	183/119	37/55
C14-LAS	353	183/119	40/55

表 1 LAS 前処理方法

項目	内 容
固相	Waters Sep-Pak Plus PS-2
コンデンスイオン化*	メタノール 20ml+超純水 10ml
試料量	500ml
通水装置	GL Science アクアローター-III
通水速度	20ml/分
洗浄	超純水 20ml
溶出	MeOH 6ml
溶出装置	GL Science Elution Pump
定容量	1ml

結 果

調査結果を表 2 に示した。

広島市内の河川は水生生物保全の水域類型指定をされていないが、全ての地点で、環境基準値 (河川：生物特 A0.02mg/L) を下回った。

季節変動等は確認できなかった。

文 献

- 1) 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件、環境省告示第 30 号、平成 25 年 3 月 27 日

*1：現 環境局環境保全課

*2：退職

2) 水質汚濁に係る環境基準について、環境庁告

示第 59 号, 昭和 46 年 12 月 28 日

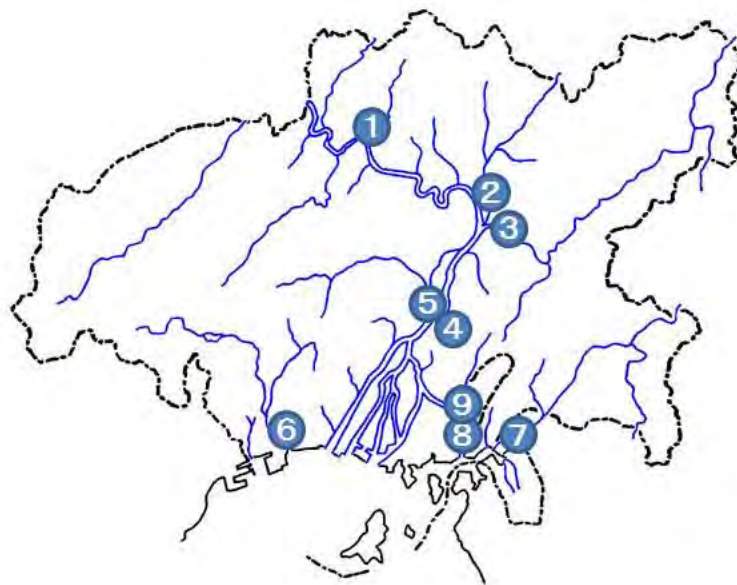


図 調査地点

表 2 平成 31 年度河川水の LAS 調査結果

地点 番号	河川名	調査 地点名	5 月	8 月	11 月	2 月	平均値
1	鈴張川	宇津橋	0.0016	0.0018	0.0023	0.0032	0.0022
2	根谷川	根の谷橋	0.0014	0.0010	<0.0006	<0.0006	0.0009
3	三篠川	深川橋	<0.0006	<0.0006	0.0006	0.0008	0.0007
4	太田川	戸坂上水道取水口	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006	<0.0006
5	古川	東原	0.0017	0.0012	0.0016	0.0015	0.0015
6	八幡川	泉橋	0.0022	0.0039	0.0014	0.0048	0.0031
7	瀬野川	日浦橋	0.0020	0.0034	0.0027	0.0023	0.0026
8	猿猴川	仁保橋	<0.0006	0.0006	<0.0006	0.0006	0.0006
9	府中大川	新大州橋	0.0094	0.0008	0.017	0.0051	0.0081

広島湾における栄養塩類等の調査結果(第4報)

森山 友絵 竹井 秀夫*1 鹿渡 正美 武井 美紀
田坂 葉子 松室 信宏 中村 和央 坂本 哲夫*2
村野 勢津子

はじめに

本市では、広島湾において平成 25 及び 26 年にかきの採苗不調が続いたことから、その原因解析を進めていくため、平成 28 年度から広島湾内において海水の栄養塩類等の調査を実施している。当所では、経済観光局農林水産部水産課からの依頼を受け、その調査のうち、全りん等の測定を実施してきた。今回は平成 31 年度の調査結果と、平成 28～30 年度の調査結果との比較を行ったので報告する。

方 法

1 調査地点

図1に示す広島湾内の4地点で調査を実施した。なお採水(水深 2m)は水産課委託の業者が行った。

2 調査回数

平成 31 年度は、6～8 月は月 2 回、それ以外の月は月 1 回の計 15 回行った。平成 28～30 年度の調査回数については既報^{1)~3)}のとおり(計 41 回)

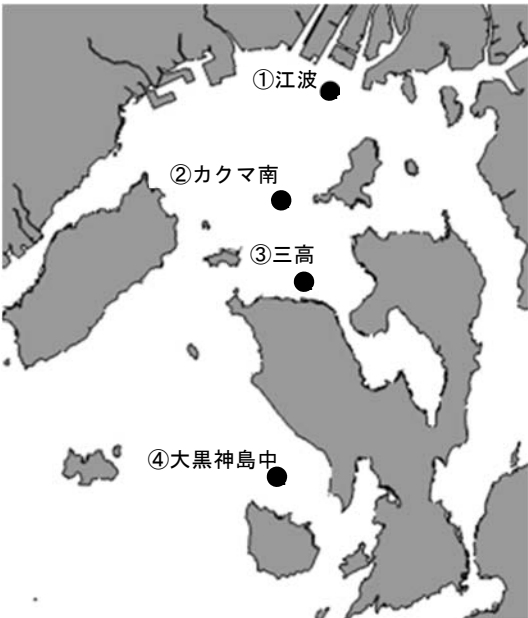


図 1 調査地点

である。

3 分析項目及び分析方法

分析項目及び分析方法を表 1 に示す。
DIN、PON 及び DON は、水産課委託の業者が測定した。平成 30 年度まで行っていたクロロフィル a 及びクロロフィル a(<5µm)の測定・分析は平成 31

表 1 分析項目と分析方法

分析項目	分析方法
全りん (以下 TP)	JIS K0102 46. 3. 1 ペルオキシ二硫酸カリウム分解法
溶解性りん (以下 DP)	メンブレンフィルター(孔径 0. 45µm)でろ過後、全りんと同様の方法で分析
溶解性無機りん (以下 DIP)	メンブレンフィルター(孔径 0. 45µm)でろ過後、JIS K0102 46. 1. 1 モリブデン青吸光度法
粒子性有機態りん (以下 POP)	計算値(=TP-DP)
溶解性有機態りん (以下 DOP)	計算値(=DP-DIP)
けい酸態けい素 (以下 Si)	海洋観測指針(1990) ⁴⁾ モリブデン青吸光度法
溶解性無機窒素 (以下 DIN)	メンブレンフィルター(孔径 0. 20µm)でろ過後、アンモニア態窒素(JIS K 0102 42. 6 流れ分析法)、亜硝酸態窒素及び硝酸態窒素(JIS K 0102 43. 2. 6 流れ分析法)を分析し、それらの合計により算出
粒子性有機態窒素 (以下 PON)	全窒素(JIS K 0102 45. 4 及び 45. 6 流れ分析法(銅・カドミウムカラム還元法))及び溶解性全窒素(試料をメンブレンフィルター(孔径 0. 20µm)でろ過後、全窒素と同様の方法)を分析し、(全窒素-溶解性全窒素)により算出
溶解性有機態窒素 (以下 DON)	計算値(=溶解性全窒素-DIN)

*1：現 環境局環境保全課
*2：退職

年度は実施しなかった。

測定値が定量下限値(TP, DP, DIP, POP, DOP : 0.003mg/L, Si:0.1mg/L, DIN, PON, DON:0.02mg/L)未満の場合は定量下限値を解析に用いた。

結 果 と 考 察

1 平成 31 年度の調査結果

平成 31 年度における各調査地点の分析項目ごとの季節変動を図 2 に示す。

DIP は 4~8 月に低く, 9~2 月に高かった。DIN は 4~9 月に低く, 10~2 月に高かった。POP や PON は, DIP や DIN とは逆に, 4~9 月にかけて高く, 11~2 月に低くなった。春から夏には植物プランクトンによる溶解性無機栄養塩の取り込みが活発になり, 水温が下がる秋から冬にかけては逆に植物プランクトンの働きが鈍化して溶解性無機栄養塩の取り込みが減った影響である可能性が考えられる。DOP は年間を通して非常に低い値を示した。DON は 8 月に最も高い値を示した後低下し, 2 月に最低となった。Si は 7 月 2 回目の測定値が最も高く, 9~12 月にかけても高い値を示した。

調査地点別に比較すると, 既報¹⁾⁻³⁾で報告した平成 28~30 年度の傾向と同じく, DIP, POP, Si, DIN, PON について河口に近い江波が最も高く沖合に行くにつれ値が低くなる傾向があった。太田川から供給される栄養塩が, 河口から遠ざかるにつれ海水で希釈されたり途中で植物プランクトンに取り込まれるためだと考えられる。一方, DOP と DON は他の項目と比べ, 4 地点の差が小さかった。

江波と大黒神島中の 2 地点における, TP, DP, DIP の季節変動を図 3 に示す。TP と DP の差が POP, DP と DIP の差が DOP となる。TP や DP についても, 河口に近い江波のほうが大黒神島中よりも高い値を示した。DIP, POP, DOP が TP に占める割合をみると, 4~8 月は POP の割合が大きく 9~2 月は DIP の割合が大きかったが, 江波と比較した場合大黒神島中はその差が小さかった。

2 平成 28~30 年度の測定結果との比較

平成 28~31 年度の 4 地点平均値の季節変動を図 4 に示す。平成 31 年度の結果を過去 3 年間の結果と比較すると, DIP や POP, DOP, DIN について, 多少のピークの時期のずれ等はあるものの, 同じような季節変動をする傾向がみられた。一方, PON は平成 28, 29 年度は値が高い月が散発的にみられるのに対し, 平成 30, 31 年度は比較的低い値で推移するなど傾向が大きく異なっていた。Si は 4~5 月や 1~3 月の値が低く 7 月に高くなる傾向は共通していたが 9~12 月にある 2 回目のピークの時期はバラバラで共通点がみられなかった。

平成 28~30 年度の全測定結果(4 地点×61 回 n=164) と平成 31 年度の全測定結果(4 地点×15 回 n=60) について, 各分析項目間の相関係数を求めた結果を表 2 に示す。平成 31 年度の測定結果において, 平成 28~30 年度の結果と同じく, TP と DP, DIP の間, DP と DIP, DIN の間, DIP と DIN の間に強い正の相関がみられた。さらに POP と PON, Si と PON も高い相関を示し, やや低いものの POP と Si も相関を示した。

謝 辞

データを提供していただきました水産課及び関係各位に対し, 感謝いたします。

文 献

- 1) 竹井秀夫 他: 広島湾における栄養塩類等の調査結果について, 広島市衛生研究所年報, 36, 108~109(2017)
- 2) 森山友絵 他: 広島湾における栄養塩類等の調査結果について(第 2 報), 広島市衛生研究所年報, 37, 75~78(2018)
- 3) 森山友絵 他: 広島湾における栄養塩類等の調査結果について(第 3 報), 広島市衛生研究所年報, 38, 75~78(2019)
- 4) 気象庁編: 海洋観測指針(1990)

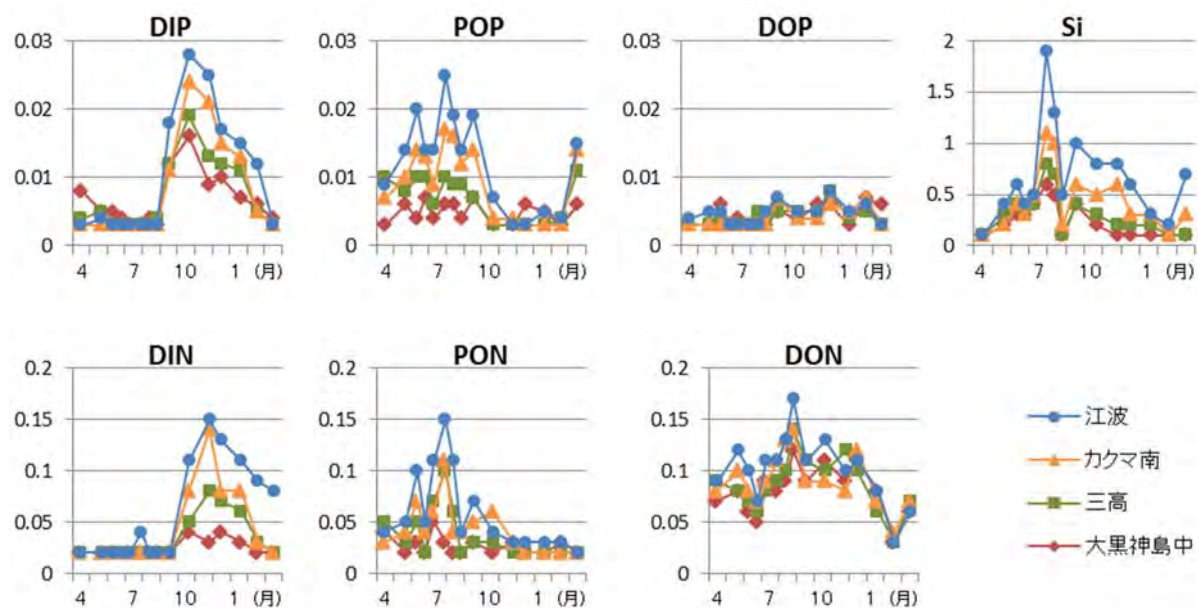


図2 平成31年度の各測定地点の季節変動(単位: mg/L)

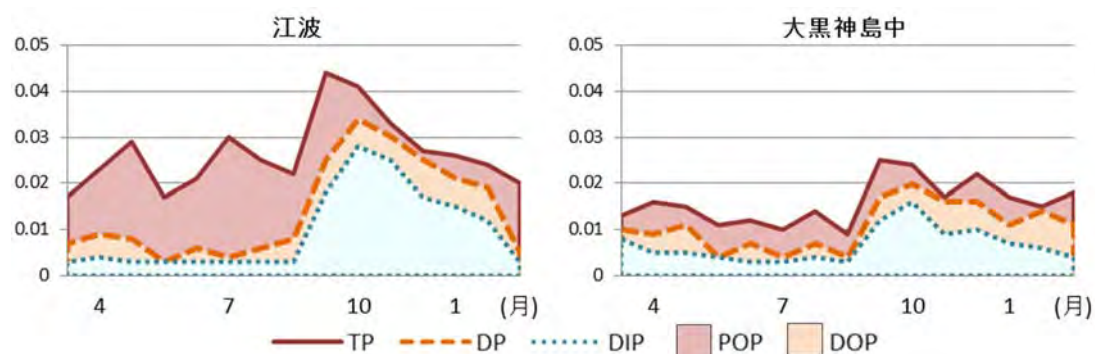


図3 江波, 大黒神島中における TP, DP, DIP の季節変動(単位: mg/L)

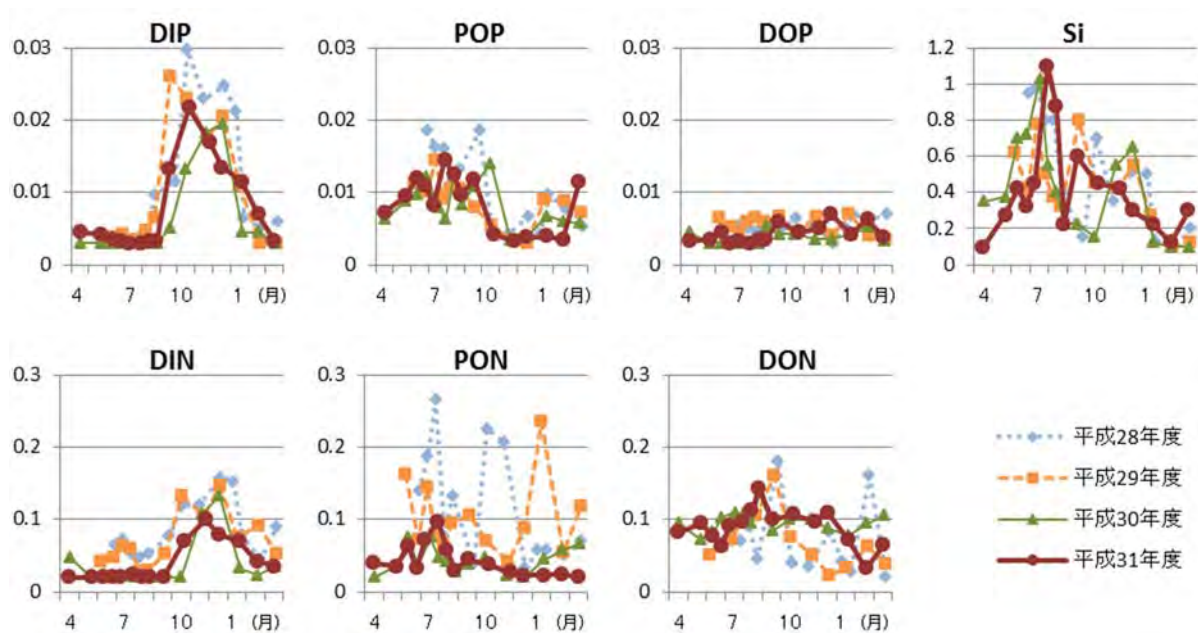


図4 各年度における4地点平均値の季節変動(単位: mg/L)

表 2 各分析項目間の相関係数(上：平成 28～30 年度, 下：平成 31 年度)

	TP	DP	DIP	POP	DOP	Si	DIN	PON	DON
TP									
DP	<u>0.80</u>								
DIP	<u>0.76</u>	<u>0.97</u>							
POP	0.29	-0.34	-0.35						
DOP	0.34	0.37	0.14	-0.07					
Si	0.31	0.09	0.15	0.36	-0.11				
DIN	0.55	<u>0.73</u>	<u>0.73</u>	-0.30	0.13	0.17			
PON	0.35	0.17	0.12	0.27	0.24	0.34	0.08		
DON	0.11	-0.14	-0.12	0.41	-0.10	0.14	-0.36	-0.27	
	TP	DP	DIP	POP	DOP	Si	DIN	PON	DON
TP									
DP	<u>0.75</u>								
DIP	<u>0.74</u>	<u>0.97</u>							
POP	0.23	-0.47	-0.43						
DOP	0.44	0.66	0.48	-0.33					
Si	0.52	0.03	0.07	0.65	-0.11				
DIN	0.53	<u>0.75</u>	<u>0.78</u>	-0.39	0.36	0.12			
PON	0.28	-0.24	-0.22	<u>0.70</u>	-0.23	<u>0.74</u>	-0.22		
DON	0.33	0.09	0.13	0.32	-0.06	0.35	0.02	0.28	

※強い正の相関がみられる項目(0.70≧)を下線付き太字で示す。

広島市における雨水成分調査 (2019 年度)

加藤 寛子 細末 次郎 鹿渡 正美 小川 秋奈
宮野 高光 下田 喜則 坂本 哲夫* 村野 勢津子

はじめに

本市では、平成 3 年度より全国環境研協議会が実施する酸性雨全国調査に参加し、本市における雨水成分の調査を実施している。
今回、平成 31 年度に実施した雨水成分の調査結果について報告する。

方 法

1 調査地点

調査は、広島市立伴小学校(安佐南区伴中央一丁目 7 番)の屋上にて実施した。調査地点を図 1 に示す。

2 調査期間

平成 31 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

3 調査方法

雨水の採取は、降水時開放型雨水捕集装置(小笠原計器製作所 US-330 型、口径 20cm)を用い、「湿性沈着モニタリング手引き書」¹⁾に準じて実施した。採取した雨水の分析項目及び分析方法を表 1 に示す。

各分析項目の平均値(降水量は除く)は降水量で重み付けをした加重平均値として算出した。また、 SO_4^{2-} 及び Ca^{2+} は、海塩粒子に含まれている成分でもあり、人為的起源による影響を把握するために、海塩粒子の影響を除外した非海塩性の硫酸イオン濃度 (nss-SO_4^{2-}) 及びカルシウムイオン濃度 (nss-Ca^{2+})を算出した。



図 1 調査地点

* : 退職

表 1 分析項目及び分析方法

分析項目	分析方法
降水量	採水量より算出
pH	ガラス電極法
電気伝導率(EC)	導電率計による方法
Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}	イオンクロマトグラフ法
SO_4^{2-} , NO_3^- , Cl^-	イオンクロマトグラフ法

結果と考察

平成 31 年度の降水量、pH、EC 及び湿性イオン成分濃度を表 2-1、平成 31 年度の湿性イオン成分沈着量を表 2-2 に示す。

1 降水量

平成 31 年度の月別降水量の測定結果を図 2 に示す。図中の平年値は広島市の平年値(平成 20 年～平成 29 年 : 気象庁)²⁾を示している。

平成 31 年度の総降水量は 1,782.8mm で、平成 30 年度(1,678.9mm)及び平年値(1,597.9mm)より多かった。

降水量が 300mm 以上の月は、7 月及び 8 月であった。特に 7 月は 435.3mm で、過去 10 年間では、平成 28 年 6 月(472.1mm)に次いで 2 番目に多い雨量となった。11 月は 2.8mm で、過去 10 年間で最も少ない雨量となった。

2 pH

平成 31 年度の月別の pH を図 3 に、平成 22 年度～平成 31 年度の pH(年平均値)の推移を図 4 に示す。

平成 31 年度の月別の pH は、4.26～4.85 の範囲

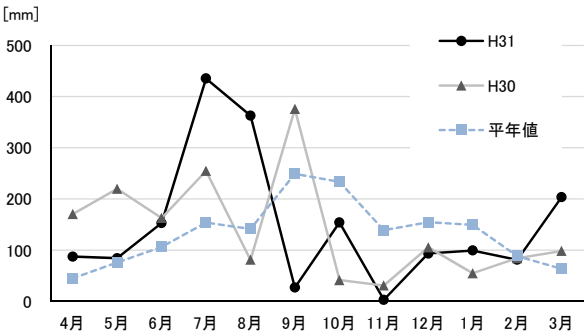


図 2 月別の降水量

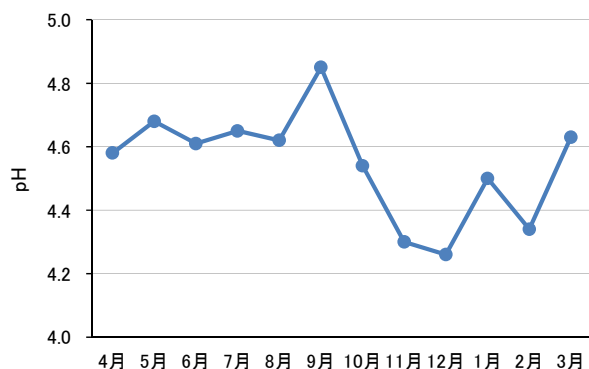


図3 月別の pH

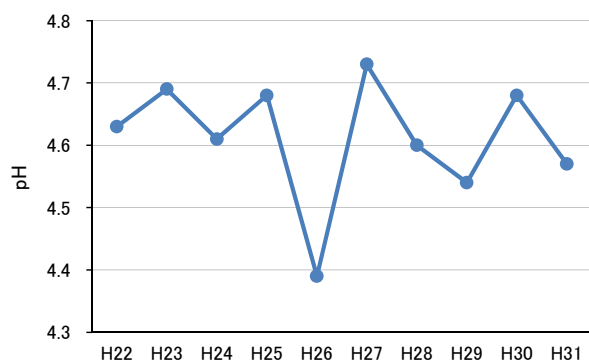


図4 pHの推移(平成22年度～平成31年度)

であり、12月が最小であった。平成31年度の年平均値は4.57であり、平成22年～平成30年度の年平均値(4.39～4.73)の範囲内であった。

3 湿性沈着

(1) 成分濃度

平成31年度の主要な4成分(nss-SO_4^{2-} , NO_3^- , NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+})の月別濃度($\mu\text{mol/L}$)を図5に示す。下段のグラフは低濃度領域を拡大表示したものである。

11月を除くと、 nss-SO_4^{2-} , NO_3^- 及び NH_4^+ の変動は相似しており、同程度の濃度であった。 nss-Ca^{2+} は、年間を通して低い濃度であった。

非常に降水量が少なかった11月は、全ての成分が高濃度であった。

(2) 湿性沈着量

平成31年度の月別の降水量、 nss-SO_4^{2-} , NO_3^- , NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の湿性沈着量(mmol/m^2)を図6に示す。

nss-SO_4^{2-} , NO_3^- 及び NH_4^+ は大きく変動し、同様の傾向を示した。 nss-Ca^{2+} は、年間を通して低い濃

度であった。降水量の少なかった9月と11月は、湿性沈着量も少なかった。

最も降水量が多かった7月は、 nss-Ca^{2+} を除いて湿性沈着量が最多となった。8月も降水量は7月に次いで多かったが、ほとんどのイオンの湿性沈着量が7月と比べ1/2程度であった(表2-2)。図7は月別の降水量と1時間あたり10mm以上の降雨の積算降水量のグラフを示す。7月と8月の大きな差として、8月は10mm以上のまとまった雨が多く降っていた。

4 pHとイオンの当量濃度

nss-SO_4^{2-} , NO_3^- , NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の4成分の当量濃度($\mu\text{eq/L}$)とpHについて、平成27年度～平成31年度の推移を図8に示す。

平成31年度は、平成30年度に比べ、pHは低下した。pHを低下させる主なイオンは、 nss-SO_4^{2-} 及び NO_3^- であり、pHを上昇させる主なイオンは、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} である。平成31年度は、平成30年度と比べて、 NO_3^- , NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の当量濃度はあまり変化していないが、pHを低下させる nss-SO_4^{2-} の当量濃度が増加していた。

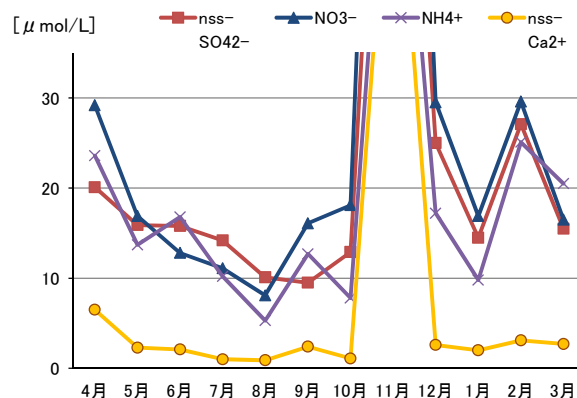
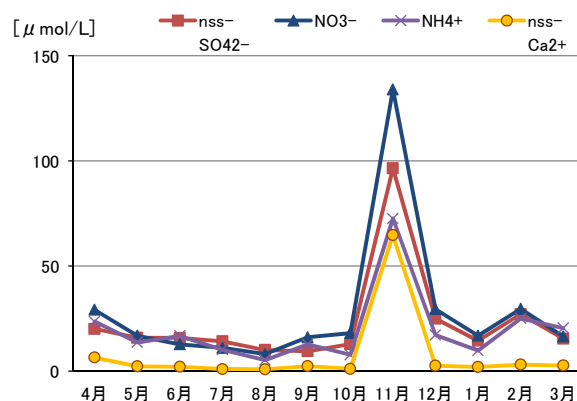


図5 nss-SO_4^{2-} , NO_3^- , NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の月別濃度

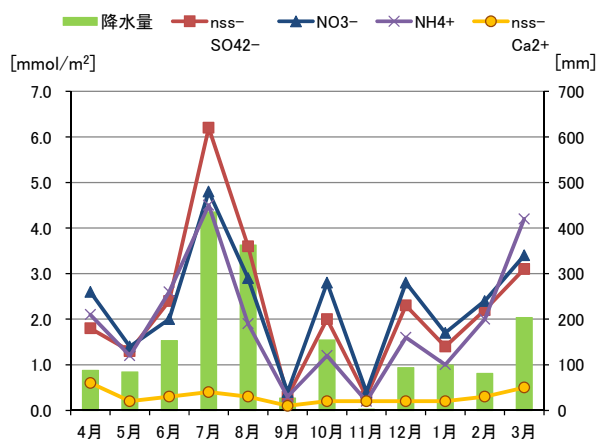


図6 月別の降水量, nss-SO₄²⁻, NO₃⁻, NH₄⁺及び nss-Ca²⁺の湿性沈着量

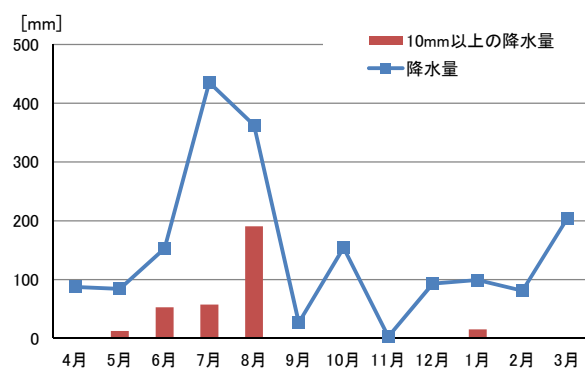


図7 月別の降水量と1時間あたり10mm以上の降雨の積算降水量

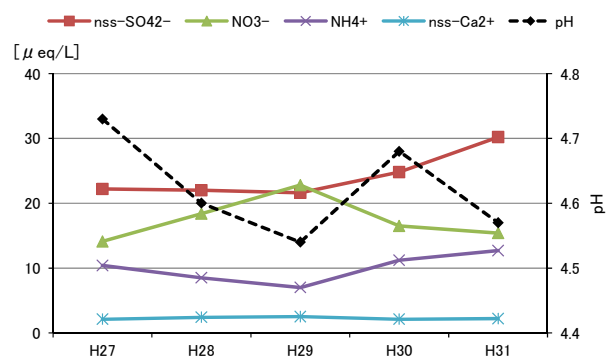


図8 nss-SO₄²⁻, NO₃⁻, NH₄⁺及び nss-Ca²⁺の濃度と pH の推移

文 献

- 1) 環境省地球環境局環境保全対策課酸性雨研究センター：湿性沈着モニタリング手引き書(第2版)，(2001)
- 2) 気象庁：各種データ・資料，過去の気象データ検索，年・月ごとの平年値

表 2-1 pH, EC 及び湿性イオン成分濃度(平成 31 年度)

	降水量 (mm)	pH	EC (mS/m)	湿性イオン成分 ($\mu\text{mol/L}$)									
				SO_4^{2-}	nss- SO_4^{2-}	NO_3^-	Cl^-	NH_4^+	Na^+	K^+	Ca^{2+}	nss- Ca^{2+}	Mg^{2+}
4 月	87.4	4.58	2.11	20.7	20.1	29.2	12.0	23.6	8.7	0.9	6.7	6.5	2.1
5 月	84.1	4.68	1.66	16.4	15.9	16.9	10.1	13.7	8.2	0.8	2.5	2.3	1.5
6 月	152.9	4.61	1.44	16.2	15.8	12.8	9.3	16.8	7.6	0.5	2.2	2.1	1.3
7 月	435.3	4.65	1.52	14.9	14.2	11.1	14.8	10.2	11.6	0.8	1.3	1.0	1.5
8 月	362.6	4.62	1.08	10.4	10.1	8.1	7.5	5.3	5.4	0.5	1.0	0.9	1.0
9 月	26.8	4.85	3.67	19.8	9.5	16.1	196.6	12.7	170.0	3.8	6.2	2.4	19.8
10 月	154.1	4.54	1.76	13.4	12.9	18.1	11.3	7.8	8.3	0.5	1.2	1.1	1.2
11 月	2.8	4.30	12.35	123.6	96.5	134.0	476.4	72.6	447.0	14.1	74.9	64.8	60.5
12 月	93.3	4.26	3.05	25.9	25.0	29.5	20.9	17.2	15.7	1.0	3.0	2.6	2.1
1 月	99.2	4.50	1.99	15.9	14.5	16.9	28.5	9.8	22.6	1.1	2.5	2.0	2.9
2 月	81.0	4.34	3.20	29.2	27.1	29.6	44.3	25.1	35.4	1.7	3.9	3.1	4.5
3 月	203.4	4.63	1.82	17.1	15.5	16.5	32.4	20.5	26.8	1.4	3.3	2.7	3.6
年平均値 (加重平均)	1782.8	4.57	1.75	16.1	15.1	15.4	20.1	12.7	16.1	0.9	2.3	2.0	2.2
最小値	2.8	4.26	1.08	10.4	9.5	8.1	7.5	5.3	5.4	0.5	1.0	0.9	1.0
最大値	435.3	4.85	12.35	123.6	96.5	134.0	476.4	72.6	447.0	14.1	74.9	64.8	60.5

※ 降水量の年平均値欄には合計量(年間降水量)を記載。

表 2-2 湿性イオン成分沈着量(平成 31 年度)

単位 : mmol/m²

	SO ₄ ²⁻	nss- SO ₄ ²⁻	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	Ca ²⁺	nss- Ca ²⁺	Mg ²⁺
4 月	1.8	1.8	2.6	1.0	2.1	0.8	0.1	0.6	0.6	0.2
5 月	1.4	1.3	1.4	0.8	1.2	0.7	0.1	0.2	0.2	0.1
6 月	2.5	2.4	2.0	1.4	2.6	1.2	0.1	0.3	0.3	0.2
7 月	6.5	6.2	4.8	6.5	4.5	5.0	0.4	0.6	0.4	0.7
8 月	3.8	3.6	2.9	2.7	1.9	1.9	0.2	0.4	0.3	0.3
9 月	0.5	0.3	0.4	5.3	0.3	4.5	0.1	0.2	0.1	0.5
10 月	2.1	2.0	2.8	1.7	1.2	1.3	0.1	0.2	0.2	0.2
11 月	0.3	0.3	0.4	1.3	0.2	1.2	0.0	0.2	0.2	0.2
12 月	2.4	2.3	2.8	1.9	1.6	1.5	0.1	0.3	0.2	0.2
1 月	1.6	1.4	1.7	2.8	1.0	2.2	0.1	0.3	0.2	0.3
2 月	2.4	2.2	2.4	3.6	2.0	2.9	0.1	0.3	0.3	0.4
3 月	3.5	3.1	3.4	6.6	4.2	5.5	0.3	0.7	0.5	0.7
年間湿性 沈着量	28.7	27.0	27.4	35.8	22.7	28.7	1.6	4.1	3.5	4.0

Ⅲ 抄 録

他誌掲載論文（所属については投稿時のものを掲載した。）

広島市で分離された腸管出血性大腸菌 0157:H7 の

分子疫学解析 (2019 年度)

青田達明 山木戸 聡 佐藤香緒里

栗林智早 山本美和子 坂本 綾

上田久仁子

食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システム
の構築のための研究 令和元年度 総括・研究分担報告書
(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),

104～106, 2020

2019 年度に分離された腸管出血性大腸菌 0157:H7 11 株について、MLVA 法及びクレード分類法である MAMA-PCR 法を実施した。解析の結果、疫学的関連性の認められない複数の事例で分離された菌株が同一 MLVA 型となったが、複数の自治体において分離報告がある MLVA 型であることから、広域的な散発事例株であることが示唆された。また、MAMA-PCR 法では、3 事例由来 6 株がクレード 8 と判定され、本市においてクレード 8 に分類される 0157:H7 の集積が示唆された。

学会発表（所属については発表時のものを掲載した。）

広島市における平成 30 年 7 月豪雨災害時の
災害支援飲料水検査について

鳩岡未沙子 山本泰子 福田 裕
長谷川富子 佐々木珠生 小中ゆかり
第56回全国衛生化学技術協議会年会

2019. 12. 5～6 広島市

平成 30 年 7 月豪雨災害発生後、衛生行政部署と協力し被災した地域の井戸水 69 検体について飲料用適否省略不可項目 11 項目の試験を行った。あわせて、災害時と平成 29 年度平常時の検査結果を比較した。

災害時は平常時と比較して不適率が高く、特に一般細菌及び大腸菌の項目で多くの検体が不適となった。災害時の塩化物イオン、硝酸態窒素、及び TOC の量については、平常時と比較して高く出る傾向があった。また、災害時の検体で濁度が上がるとともに大腸菌の検出率も上がる傾向があった。

今回のような緊急時には、安心・安全な飲料水確保のために行政機関と検査機関が情報を共有し円滑な連携を持つことが重要である。

広島市内産農産物における残留農薬調査
（平成 21 年度～30 年度）

大平浩史 小串恭子* 市川恵子
松木 司 佐々木珠生 小中ゆかり
第56回全国衛生化学技術協議会年会

2019. 12. 5～6 広島市

第 33 回生活衛生関係業績発表会
（兼地域保健研究会第二分科会）

2020. 3. 19 広島市

農作物における残留農薬の問題は消費者の関心が高いことから、本市においては農作物の安全確保のため、生鮮農作物等の残留農薬検査を継続して実施している。今回、市内産野菜 20 品目 200 検体について、平成 21 年度から平成 30 年度の 10 ヶ年の農作物中の農薬の検査結果及び農薬使用状況をまとめた。検査結果をまとめたところ、検出数が最も多かったのが殺虫剤であり、その中でもネオニコチノイド系殺虫剤の使用が多い傾向が見られた。また、農薬が検出された検体について、農薬の使用記録の有無を確認したが、一部の検体で記録が確認されなかった。今後も市内産野菜の農薬残留実態調査を継続し、市民の食生活の安全性確保を図っていくことが重要と考えられる。

*：環境局環境保全課

広島市における 5 類感染症としてのカルバペネム
耐性腸内細菌科細菌の検査状況

青田達明 山木戸 聡 佐藤香緒里
栗林智早 山本美和子 坂本 綾

第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会

2020. 1. 31～2. 2 金沢市

2017 年 4 月から 2019 年 5 月までに収集した 22 株について、 β -ラクタマーゼ遺伝子検出試験及び β -ラクタマーゼ産生性確認試験を実施した。届出菌種としては *E. coli* が最も多く、9 株であった。22 株中 11 株からカルバペネマーゼ遺伝子である *bla*_{IMP-6} を検出し、1 株から *bla*_{GES-24} を検出した。本市における *bla*_{IMP-6} 保有株の蔓延が明らかとなった。

一般食品からのノロウイルス検出法の検討
ーパンソルビントラップ法の最適化ー

藤井慶樹 福永 愛 則常浩太
兼重泰弘 坂本 綾

第 33 回生活衛生関係業績発表会
（兼地域保健研究会第二分科会）

2020. 3. 19 広島市

ポリエチレングリコール沈殿法(PEG 法)及びパンソルビントラップ法(パントラ法)について、人為的にノロウイルス(NoV)で汚染した食品からの NoV 検出感度の検証を行った。

PEG 法の検出感度は低かったが、パントラ法については、NoV の回収に用いるパンソルビン及び抽出した RNA の逆転写反応に用いる逆転写酵素を選定し、検査系を最適化することで、検出感度が大幅に向上した。

PCRによるカンピロバクター・ジェジュニの

Penner 血清型別法の検討

池田伸代 清水裕美子 山本泰子

栗林智早 青田達明 京塚明美

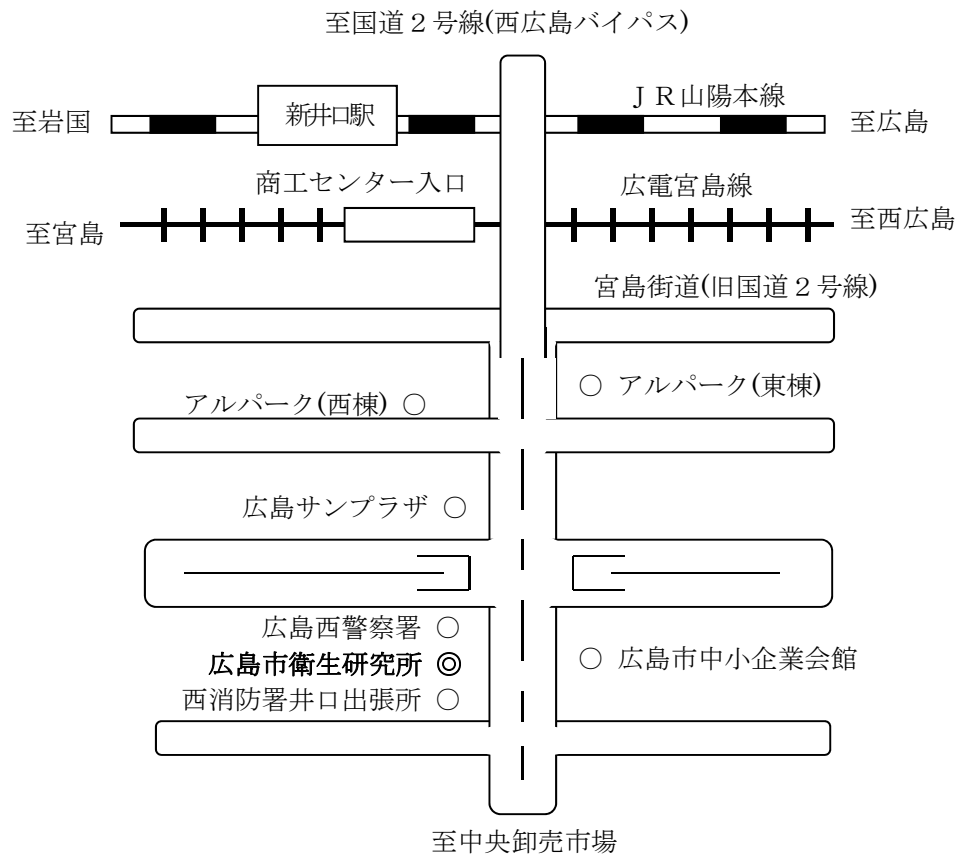
坂本 綾

第33回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2020. 3. 19 広島市

Campylobacter jejuni の血清型別法として受身血球凝集反応を利用した Penner 型別法 (PHA 法) があるが、型別率が低いことが知られている。PHA 法で型別不能であった 297 株を既報に準じてマルチプレックス PCR 法に供したところ、267 株が型別可能であり、PHA 法の型別率の低さを補うことができた。PHA 法では型別できなかったが PCR 法により型別できた株は、PennerB 群、A 群、R 群、O 群で多くみられた。



交通	J R 西日本	山陽本線新井口駅下車 徒歩 10 分
	広島電鉄	宮島線商工センター入口下車 徒歩 10 分
	広島バス	J R 広島駅発 商工センター行(25 番路線) 商工センター三丁目下車 徒歩 2 分

登録番号	広H0-2020-314
名称	広島市衛生研究所年報 第39号(平成31年度)
主管課 所在地	健康福祉局 衛生研究所 広島市西区商工センター四丁目1番2号 (〒733-8650) TEL (082)277-6575 FAX (082)277-0410 https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/eiken/
発行年月	令和3年1月