

広島市衛生研究所年報

ANNUAL REPORT

OF

HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No. 4 4

(令和6年度)

広島市衛生研究所

はじめに

平素より当所の活動に格別の御理解と御支援を賜り、厚く御礼申し上げます。令和6年度の試験検査及び調査研究等の事業実績について、年報第44号としてとりまとめましたので、御報告申し上げます。

令和6年度を振り返りますと、まず、生活科学部においては、厚生労働省の通知により食品中の食品添加物分析法について各試験機関において新たに妥当性確認が義務付けられました。このことに対応するため、食品添加物妥当性確認ガイドラインに示された試験方法や計画的な実施に向けた体制等について検討を進めてまいりました。今後、策定した計画により妥当性確認を実施し、適正な検査法の確保に努めてまいります。

また、生物科学部では、本市において令和2年以降、薬剤耐性菌であるバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）感染症の届出が急増したことから、平成26年の厚生労働省の通知に基づき、菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子検査等を実施するとともに、次世代シーケンサーを用いた全ゲノム解析を実施し、菌株間の遺伝的関連性について詳細に解析を実施し、関係部署に情報提供しています。今後も定期的に検査結果を精査し市内におけるVREの発生状況を把握し、関係機関に適切に情報提供を行ってまいります。

また、環境科学部においては、近年、河川や地下水等での検出事例が認められ、人の健康に影響を及ぼす可能性が指摘されている有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）について、令和2年度から市内の河川水等の調査を実施しています。令和5年度及び令和6年度の調査において、国が設定する暫定指針値（50ng/L）を超過する地点があったことから、定期的な検査を継続して実施しています。これらの検査結果は、本市ホームページにて公表されています。

これからも、広島市民の安心・安全な生活環境を守るため、関係機関との連携を図りながら、様々な課題に的確に応えられるよう検査体制の強化に取り組むとともに、検査技術の研鑽・向上に努めてまいります。今後とも皆様方の御指導、御鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

令和8年1月

広島市衛生研究所長 田中 宏子

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	令和6年度主要整備機器	5
V	会議・研修等	
1	会議	6
2	研修・講習会	7
3	所内研修	8
4	精度管理	9
5	研修指導	10
6	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	生活化学関連業務	13
生物科学部		
1	食品細菌関連業務	17
2	細菌病理関連業務	19
3	ウイルス関連業務	20
環境科学部		
1	水質関連業務	22

2 大気関連業務	24
----------	----

調査研究報告

I 調査研究

1 亜硝酸根測定におけるマトリックス検量線の応用及び定量限界の設定	27
2 全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 O157 菌株の複数解析手法による関連性の検討	32
3 広島市における PM _{2.5} 無機成分分析調査結果(2021～2023 年度)	36

II 資料

1 広島市感染症発生動向調査事業における感染症の発生動向(2024 年)	43
2 広島市における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発生動向	46
3 魚介類中の総水銀分析法の妥当性確認	49
4 LC-MS/MS による農作物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価(第 2 報)	53
5 2017 年から 2023 年に分離された <i>Campylobacter jejuni/coli</i> の mP-BIT 法による分子疫学解析	66
6 2022 年から 2024 年に広島市域で分離された <i>Salmonella Enteritidis</i> の分子疫学解析	71
7 広島市感染症発生動向調査事業における細菌検出状況(2024 年)	74
8 同時期に複数検出された腸管出血性大腸菌 O115 の全ゲノム解析	82
9 広島市における侵襲性肺炎球菌感染症患者由来肺炎球菌の疫学解析(2022-2024 年)	85
10 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(2024 年)	91
11 広島市で分離されたヒトアデノウイルス 3 型の分子疫学的解析	96
12 広島市内河川のマイクロプラスチック実態調査結果(2024 年度)	100

III 抄録

学会発表

1 デジタルを活用した広島市感染症情報センターの運営について	103
2 亜硝酸根測定へのマトリックス検量線の応用について	103

3 2022 年から 2024 年に広島市域で分離された <i>Salmonella</i> Enteritidis の分子疫学解析-----	103
4 全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 O157 菌株の複数解析手法による関連性の検討-----	103
5 複数医療機関で分離されたパンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学解析結果-----	104
6 原因不明感染症事案等における網羅的ゲノム解析法を用いた病原体検索-----	104
7 広島市で分離されたヒトアデノウイルス 3 型の分子疫学的解析-----	104
8 流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス新規リコンビナント株の検出-----	104
9 広島市における PM _{2.5} の発生源推定-----	105
10 広島市における PM _{2.5} 無機成分分析調査結果(2021～2023 年度)-----	105

總務

- 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。

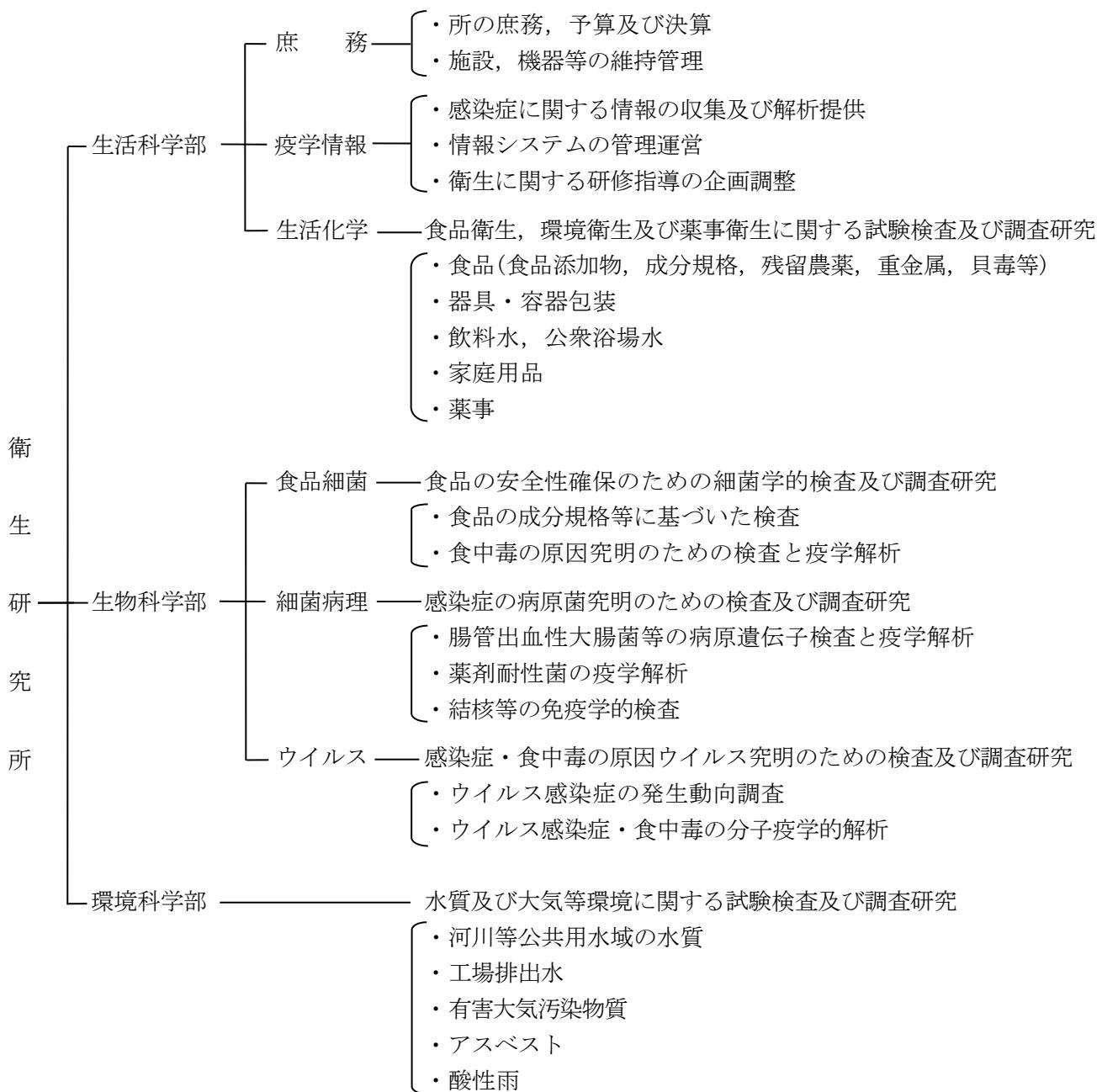
昭和55年政令指定都市への移行を機に、昭和57年4月衛生試験所と公害試験所を統合し衛生研究所を新設した。現在は、庶務・疫学情報・生活化学に関する業務を行う生活科学部、食品細菌・細菌病理・ウイルスに関する業務を行う生物科学部、水質・大気に関する業務を行う環境科学部の3部体制をとり、複雑多様化してきた公衆衛生に係る行政需要に対応している。

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7年4月1日現在)

部 門	職 種	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)				1	1		1		3
	(生活化学)				4	2		1		7
生物科学部	部 長			1						1
	(細菌病理)			2		1		1	1	5
	(食品細菌)		1	1		1	1	1		5
	(ウイルス)			3		1				4
環境科学部	部 長				1					1
	(水質及び 大気)			2	3	2	1	1		9
合 計		1	2	9	10	8	2	5	3	40

III 廳舎及び施設概要

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. 141 m 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. 041 m ²

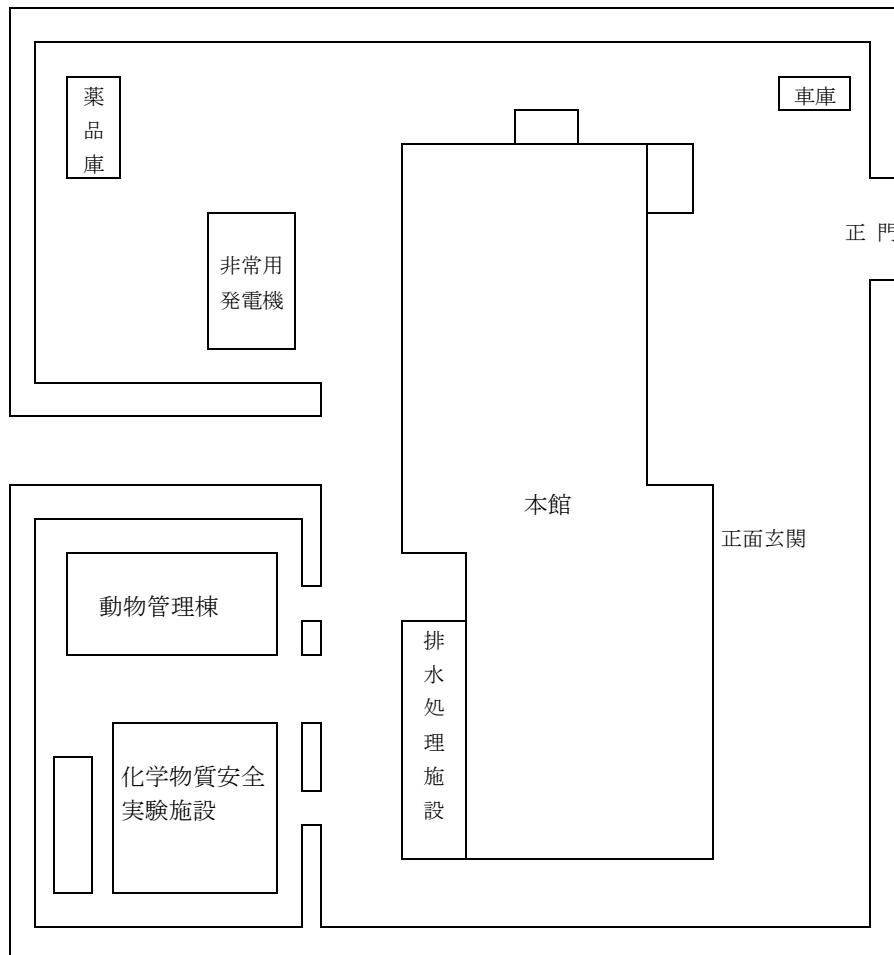
化学物質安全実験施設

動物管理棟	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積 204. 27 m ² (内 倉庫等90. 83 m ² を含む)
薬 品 庫	ブロック造平屋建	床面積 199. 83 m ²
		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 廳舎配置図



IV 予算概要

1 予算概要

科 目		予 算 額(当初)	
		令和7年度	令和6年度
歳 入 市 債 市 債 衛 生 費	保 健 衛 生 債	(千円)	(千円)
		39,400	34,800
	計	39,400	34,800
歳 出 衛 生 費 保 健 衛 生 費 環 境 衛 生 費	旅 費 需 用 費 役 務 費 委 託 料 使 用 料 及 び 貸 借 料 工 事 請 負 費 備 品 購 入 費 負 担 金, 補 助 及 び 交 付 金 公 課 費	2,003 52,758 740 50,058 483 32,600 20,000 358 32	2,243 54,146 759 50,206 483 25,000 20,000 283 17
	計	159,032	153,137

2 令和6年度主要整備機器

品 名	型 式	数 量
炭酸ガス培養装置	(株)ヒラサワ CPD-2702型	1
核酸・蛋白解析装置	(株)オックスフォード・ナノポアテクノロジーズ MinION Mk1B	1
核酸增幅装置	ライフテクノロジーズジャパン(株) QuantStudio5	1
蛍光顕微鏡装置	(株)エビデント BX53	1
走査電子顕微鏡	日本電子(株) JCM-7000	1

V 会議・研修等

1 会議

年月日	会議名	開催地	出席者名
R6. 5. 16～17	第 78 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 6 年度全国環境研協議会中国四国支部会議	高知市	田中 ほか
6. 7	令和 6 年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会	Web 開催	田中
7. 10～11	衛生微生物技術協議会第 44 回研究会	江戸川区	青田・山木戸
8. 29	令和 6 年度指定都市衛生研究所長会議	京都市(台風のため Web 開催)	田中
10. 28	令和 6 年度第 75 回地方衛生研究所全国協議会総会	札幌市	田中
11. 14～15	第 51 回環境保全・公害防止研究発表会	奈良県橿原市	仙本
11. 21～22	第 61 回全国衛生化学技術協議会年会	堺市	森本・大平
R7. 2. 12	第 53 回全国環境研協議会総会	Web 開催	田中
2. 12	令和 6 年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	Web 開催	田中
2. 27～28	第 38 回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	富山市・Web	小川・臼田

2 研修・講習会

年月日	研修・講習会名	研修機関名	参加者
R6. 4. 8, 11	保護具着用管理責任者選任時研修(基本コース)	中央労働災害防止協会中国四国安全衛生サービスセンター	馬部 ほか
6. 20 ～R7. 3. 31	令和6年度食品安全行政講習会	厚生労働省健康・生活衛生局 食品監視安全課	谷川
6. 26 ～R7. 3. 31	令和6年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	厚生労働省健康・生活衛生局 食品監視安全課	佐藤
8. 21	化学物質管理者研修	中央労働災害防止協会中国四国安全衛生サービスセンター	花木
8. 30	環境測定分析統一精度管理調査中国・四国ブロック会議	全国環境研協議会	田坂
10. 7～11	新興再興感染症技術研修	国立保健医療科学院	宇野
10. 8	令和6年度薬剤耐性菌の検査に関する研修 アップデートコース	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	青田 ほか
10. 18	令和6年度地域保健総合推進事業中国・四国ブロック地域レファレンスセンター連絡会議	地方衛生研究所全国協議会 中国・四国支部	田内 ほか
10. 25	令和6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	吉岡 ほか
11. 6～7	新興再興感染症に対する検査対応初動訓練	国立感染症研究所	児森 ほか
11. 9～10	2024年度日本食品微生物学会技術セミナー	日本食品微生物学会	大原
12. 2	第1回試験検査担当者を対象としたWeb講習会(理化学系)	地方衛生研究所全国協議会 理化学部会	永井
12. 18～19	令和6年度希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所	川原・平岡
R7. 1. 17	第1回職員の試験検査技術の啓発に関する取り組み(理化学系現場の会)	地方衛生研究所全国協議会 理化学部会	馬部
1. 27～28	令和6年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー	環境省	田代
2. 5～6	令和6年度動物由来感染症レファレンスセンター研修会	国立感染症研究所	川原
2. 13	令和6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 理化学部会	永井
2. 21	実験動物管理者等研修会	厚生労働省大臣官房厚生科学課	兼重
2. 26	令和6年度検査精度管理業務研修会	中国四国厚生局	佐藤・大原
3. 13	令和6年度水道水質検査精度管理に関する研修会	環境省水・大気環境局環境管理課	永井 ほか

3 所内研修

(1) 研修

日 程	名 称	内 容	講 師
R6. 4. 26	新任研修	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
R6. 4. 26	関係法令研修	化学物質の危険有害性に関する安全衛生について 消防法における危険物について	花木 陽子 森本 章嗣
R7. 3. 5	実践型訓練	健康危機対処計画に基づく新興再興感染症発生時を想定した実践型訓練	生物科学部担当者

(2) 業績発表会

日 程	名 称	内 容	発 表 者
R7. 2. 21	業績発表会	1 デジタルを活用した広島市感染症情報センターの運営について 2 広島市における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発生状況について 3 亜硝酸根測定へのマトリックス検量線の応用について 4 市内河川におけるマイクロプラスチックの排出実態調査 5 広島市における PM _{2.5} の発生源推定 6 広島市の結核接触者健診における IGRA の検査状況 7 臨床検体からの肺炎マイコプラズマ分離の試み 8 次世代シーケンサーを用いた腸管出血性大腸菌 0115 の分子疫学解析 9 腸管出血性大腸菌検査で分離に苦慮した事例と今後の対策 10 広島市で分離されたヒトアデノウイルス 3 型の分子疫学的解析 ヒトパレコウイルス 3 型流行の探知	山岡 誠司 石崎 宏美 (安芸区地域 支えあい課) 森本 章嗣 斧田 敏嗣 仙本 清孝 山本 泰子 平岡 史帆 青田 達明 古谷 玲子 児森 清香 山本 美和子
	記念講演		

4 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,フェントエート等),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(環境省水・大気環境局環境管理課 水道水質・衛生管理室)

対象:項目1(クロロ酢酸,ジクロロ酢酸,トリクロロ酢酸),項目2(有機物(全有機炭素(TOC)の量)

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) 令和6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:腸管出血性大腸菌,麻しん・風しん,コレラ菌

(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) 結核菌全ゲノム解析外部精度評価(厚生労働科学研究)

対象:結核菌全ゲノム解析

(オ) 腸管出血性大腸菌の遺伝子型別検査法(MLVA法等)による精度管理(厚生労働科学研究)

対象:MLVA

(カ) レジオネラ属菌検査外部精度管理(厚生労働科学研究)

対象:レジオネラ属菌

(キ) 令和6年度地域保健総合推進事業に係る精度管理事業(地方衛生研究所全国協議会中国・四国支部)

対象:カルバペネム耐性腸内細菌目細菌における β -ラクタマーゼ遺伝子検出

ウ 環境科学部

令和6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:一般項目等(全燐,ほう素,カドミウム,鉛,鉄)(模擬排水試料),農薬(シマジン,チオベンカルブ等)(模擬水質試料),揮発性有機化合物(クロロエチレン,ジクロロメタン,テトラクロロエチレン,トルエン,ベンゼン等)(模擬大気試料)

(3) 内部精度管理

ア 生活科学部

令和6年度内部精度管理実施計画を策定し,実施した。

対象:成分規格,食品添加物,残留農薬,動物用医薬品,重金属,器具・容器包装,不揮発性腐敗アミン,下痢性貝毒

イ 生物科学部

令和6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,インフルエンザウイルス,ノロウイルス,腸管出血性大腸菌

5 研修指導

年月日	指導内容	受講者	人員	担当
R6. 9.13 ～R7. 2.21	社会医学系専門医研修	安芸保健センター職員	1名	生活科学部
11.29	食品検査体験研修	保健所食品衛生監視員	5名	生活科学部 生物科学部

6 施設見学等

年月日	見学者	人員
R6. 6.20	JICA研修生	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、食品衛生・環境衛生・薬事衛生に関する試験及び調査研究であり、疫学情報関連業務及び生活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、感染症情報の収集・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。

生活化学関連業務では、食品に関する理化学試験、成分規格試験、食品添加物試験及び残留農薬等の有害化学物質試験など、食品衛生法に基づく各種試験を実施している。また、水道法に基づく飲料水試験、環境衛生関係の法令に基づく公衆浴場水等の水質試験、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、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等、生活化学に係る各種試験及び調査研究を幅広く実施している。

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。

令和 6 年度の業務概要を以下に報告する。

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) 感染症情報センターの運営

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。感染症情報の分析評価、週報の作成等は、生物科学部と共同で実施した。

ア 感染症発生動向調査

令和 6 年は、市内全医療機関から報告された全数把握対象の感染症は 472 件、定点医療機関から報告された感染症は、表 1 に示すとおり、39,900 件であった。

これらの感染症情報は、市内 8 か所の保健センターが収集し、感染症発生動向調査システムを通じて、中央感染症情報センター(国立感染症研究所)へ報告した。

イ 感染症週報の作成

当センターは、収集された市内の患者情報を集計・分析し、広島市衛生研究所で検査した病原体

情報、中央感染症情報センターから公表される全国情報と併せて感染症週報を作成している。令和 6 年度は、定点医療機関、広島市感染症対策協議会委員、各医師会、庁内関係部局、関係機関に延べ 4,475 件の提供を行った。また、ホームページに掲載し、市民への情報提供を行った。

ウ 広島市感染症対策協議会への資料提供

感染症の予防対策、緊急対策を協議するための学識経験者や医師会代表からなる広島市感染症対策協議会へ、収集・分析しグラフ化した疫学情報にコメントを添えた資料を 12 回提供した。

エ 報道機関等への情報提供

報道機関、医療機関、介護施設、教育機関、庁内関係部局及び市民からの依頼に対して、感染症の詳細情報、微生物の電子顕微鏡写真等の提供、質問への回答等、53 件の対応を行った。

(2) 広島市衛生研究所年報の作成

令和 5 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 43 号(令和 5 年度)」を作成し、衛生研究所ホームページに公開した。

(3) 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・更新した主な衛研ニュースを、表 4 にアクセス数の多かったページを示す。なお、衛生研究所ホームページの年間アクセス数は 441,251 件であった。

(4) 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

表 1 定点医療機関

区分	定点数	報告件数 (令和 6 年)
インフルエンザ/ COVID-19 定点*	37	21,595
小児科定点	24	16,155
眼科定点	8	409
性感染症定点	9	627
基幹定点	7	1,114

* : 小児科定点 24 を含む

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ことの確認及び試験室の視察を行った。

監査実施日：令和7年3月10日、13日

イ 外部精度管理

厚生労働省が実施する「腸管出血性大腸菌の遺伝子検査」「麻しん・風しんウイルスの遺伝子解析」「コレラ菌の同定検査」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内部精度管理実施報告の確認を行った。

表2 衛生研究所ホームページの管理状況

令和7年3月現在

内容	件数
総コンテンツ(HTMLファイル)数	293
更新HTMLファイル数	1,880
グラフ、PDF等更新ファイル数	6,726
衛生研究所トップページ	
https://www.city.hiroshima.lg.jp/living/eis/ei/1003062/index.html	

表3 新規掲載・更新した主な衛研ニュース

掲載年月	コンテンツタイトル等
R6. 7	JICAの研修生が施設見学のため来所されました(2024年)*
R6. 8	結核とその検査法について
R6. 12	広島市の大気～有害大気汚染物質モニタリングの現状～
R6. 12	貝毒について

*：新規掲載

(5) 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。

(6) 衛生研究所情報管理システムの管理運営

感染症情報の集計・分析に使用する衛生研究所情報管理システムの管理運用を行った。

表4 アクセス数の多かったページ

順位	コンテンツタイトル等	アクセス数
1	広島市感染症週報	86,740
2	消毒液の作り方と使用上の注意(次亜塩素酸ナトリウム)	71,511
3	インフルエンザ最新情報	47,537
4	感染症情報/定点当たりとは	34,617
5	広島市感染症情報センター	15,530
6	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(今シーズン)	15,217
7	最近の動向/感染性胃腸炎	9,287
8	最近5週間の報告状況(週報対象疾患)	8,894
9	発生動向一覧表(週報対象疾患)	8,436
10	広島市感染症週報(最新・バックナンバー)	6,305
11	衛研ニュース/食品中の重金属について	6,217
12	感染症情報/梅毒	5,751
13	疾患別グラフ(新型コロナウイルス感染症(COVID-19))	4,875
14	疾患別グラフ(マイコプラズマ肺炎)	4,594
15	感染症情報/ノロウイルスによる感染性胃腸炎	3,777

2 生活化学関連業務

保健所等行政機関からの依頼に基づき、食品衛生、環境衛生及び薬事衛生に関する試験を行った。令和6年度の試験件数の内訳を表5に示す。

(1) 食品等の理化学試験

保健所が実施した収去等に基づいて、59検体、延べ83項目について試験を行った。その内訳を表6に示す。試験項目は、塩分濃度、水素イオン濃度、酸価・過酸化物価などであった。

(2) 食品の成分規格試験

保健所が実施した収去に基づいて、規格を有する清涼飲料水、食肉製品、乳・乳製品等について、21検体、延べ81項目の試験を行った。その内訳を表7に示す。規格基準違反はなかった。

表5 生活化学関連業務試験件数

試験区分	検体数	延べ項目数
食品等の理化学試験	59	83
食品の成分規格試験	21	81
食品中の食品添加物試験	112	139
食品中の有害化学物質試験	136	14,054
器具・容器包装の試験	6	36
飲料水試験	15	389
無機溶存成分試験	9	63
その他の水質試験	25	97
家庭用品試験	22	491
食品中の医薬品成分試験	15	75
妥当性評価試験	353	4,983
計	773	20,491

(3) 食品中の食品添加物試験

保健所が実施した収去に基づいて、市内に流通する輸入食品を中心に112検体、延べ139項目に

表6 食品等の理化学試験

区分	検体数	延べ項目数
酸価・過酸化物価	15	30
不揮発性腐敗アミン	3	12
水素イオン濃度(pH)	17	17
塩分濃度	19	19
水分活性	5	5
計	59	83

表7 食品の成分規格試験

区分	検体数	延べ項目数
乳・乳製品	4	12
アイスクリーム類・氷菓	4	8
清涼飲料水	6	54
食肉製品	5	5
生あん	2	2
計	21	81

表8 食品中の食品添加物試験

区分	検体数	延べ項目数
甘味料	34	46
品質保持剤	16	16
防かび剤	3	14
保存料	59	63
計	112	139

表9 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
レモン	3	輸入(チリ)	3	チリ	アゾキシストロビン 0.0019g/kg イマザリル 0.0025g/kg チアベンダゾール 0.00082g/kg ピリメタニル 0.00024g/kg フルジオキソニル 0.0016g/kg プロピコナゾール 0.00005g/kg
				チリ	アゾキシストロビン 0.0024g/kg イマザリル 0.0033g/kg フルジオキソニル 0.0021g/kg
				チリ	アゾキシストロビン 0.0012g/kg イマザリル 0.0011g/kg フルジオキソニル 0.0012g/kg
計	3		3		

について試験を行った。その内訳を表 8 に示す。このうち、防かび剤については、輸入果実 3 検体、延べ 14 項目について試験を行った。全ての検体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 9 に示す。

その他の食品添加物についても、使用基準違反はなかった。

(4) 食品中の有害化学物質試験

本市における食の安全・安心の確保を目的に、収去等の行政試験を中心に食品中の有害化学物質について、136 検体、延べ 14,054 項目の試験を行った。その内訳を表 10 に示す。

ア 残留農薬

野菜、果実など 72 検体、延べ 13,309 項目について試験を行った。その内訳を表 11 に示す。このうち 10 検体から 7 種類の農薬が検出されたが、いずれも残留基準以下であった。試験結果の詳細を表 12 に示す。

イ 動物用医薬品

鶏の卵、鶏の筋肉、養殖魚介類など 21 検体、延べ 698 項目について試験を行った。その内訳を表 13 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

広島湾内産の牡蠣、魚類など 17 検体に対して、総水銀の試験を実施した。魚介類の水銀の暫定的規制値の対象外であるサメ類から総水銀 0.56ppm 及びメチル水銀 0.35ppm が検出されたが、その他の検体は例年と比較して、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、広島県北部海域の貝の毒化状況について 26 検体、延べ 29 項目を試験した。その結果を表 14 に示す。いずれの検体からも麻痺性貝毒及び下痢性貝毒は検出されなかった。

(5) 器具・容器包装の試験

表 10 食品中の有害化学物質試験

区分	検体数	延べ項目数
残留農薬	72	13,309
動物用医薬品	21	698
重金属	17	18
麻痺性・下痢性貝毒	26	29
計	136	14,054

保健所が実施した収去に基づいて、器具・容器包装 6 検体、延べ 36 項目の試験を行った。全て基準に適合していた。

(6) 飲料水

ア 飲料水試験

保健所等行政機関からの依頼に基づき、井戸水等 15 検体、延べ 389 項目について飲料用適否試験を行った。水質基準に適合しなかったものは、2 検体、不適合率 13.3% であり、不適合項目は、大腸菌並びにヒ素及びその化合物であった。

イ 無機溶存成分試験

飲料用の地下水質を把握するため、9 検体について、硫酸イオン、カリウム等の無機溶存成分、延べ 63 項目について試験を行った。

(7) その他の水質試験

保健所の依頼により、公衆浴場水 25 検体、延べ 97 項目について水質試験を行った。基準に適合しないものはなかった。

(8) 家庭用品試験

保健所の依頼により、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、繊維製品 22 検体、延べ 491 項目について試験を行った。基準違反のものが 1 検体認められ、出生後 24 月以内の乳幼児用の下着からホルムアルデヒドが検出された。

(9) 食品中の医薬品成分試験

保健所の依頼により、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いて、いわゆる「健康食品」(強壮系)15 検体について、医薬品成分であるエフェドリン、シルデナフィル、タadalafil、バルデナフィル、ヨヒンビンの定性試験を行ったが、いずれも検出されなかった。

表 11 残留農薬試験

区分	検体数	延べ項目数
野菜	国内産	47
果実	国内産	2
	輸入品	3
鶏の筋肉	輸入品	4
鶏の卵	国内産	10
はちみつ	国内産	1
加工食品	国内産	1
	輸入品	4
計		72
		13,309

表 12 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)】					
かぼちゃ	3	北海道 2, 長崎県 1	0		
きゅうり	5	広島市 4, 広島県 1	2	広島市 広島県	メタキシリ及びメフェキサム 0.05ppm メタキシリ及びメフェキサム 0.01ppm
小松菜	5	広島市 4, 広島県 1	3	広島市 広島市 広島県	アセタミプリド 0.02ppm ジノテフラン 0.68ppm ジノテフラン 0.17ppm クロチアニジン 0.03ppm ジノテフラン 0.01ppm
だいこんの根	1	山口県 1	0		
たまねぎ	4	北海道 2, 兵庫県 1, 佐賀県 1	0		
とうもろこし	2	愛知県 2	0		
トマト	2	広島県 1, 熊本県 1	0		
なす	6	広島市 4, 福岡県 1, 大分県 1	1	大分県	アセタミプリド 0.06ppm
人参	3	北海道 1, 長崎県 1, 熊本県 1	0		
ばれいしょ	4	北海道 2, 長崎県 2	0		
ブロッコリー	1	鳥取県 1	0		
ほうれんそう	5	広島市 4, 広島県 1	2	広島市 広島市	クロチアニジン 0.36ppm ジノテフラン 0.02ppm チアメトキサム 0.09ppm エトキサゾール 0.04ppm シペルメトリン 0.02ppm
みずな	4	広島市 4	2	広島市 広島市	ジノテフラン 0.02ppm ジノテフラン 0.03ppm
れんこん	2	山口県 2	0		
りんご	2	青森県 2	0		
レモン	3	輸入(チリ 3)	0		
小計	52		10		
【畜産物】					
鶏の筋肉	4	輸入(ブラジル 4)	0		
鶏の卵	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)】					
かぼちゃ	1	北海道 1	0		
とうもろこし	1	輸入(中国 1)	0		
ブロッコリー	2	輸入(中国 2)	0		
ほうれんそう	1	輸入(中国 1)	0		
小計	5		0		
計	72		10		

*広島県(広島市を除く), 広島市分は広島市として記載

表 13 動物用医薬品試験

区分		検体数	延べ項目数
鶏の筋肉	輸入品	4	156
鶏の卵	国内産	10	320
はちみつ	国内産	1	36
養殖魚介類	国内産	6	186
計		21	698

表 14 貝毒試験結果

食品名	麻痺性貝毒	下痢性貝毒
	4, 5, 10~12, 3月	10月
あさり	検出せず(8)	検出せず(1)
牡蠣	検出せず(18)	検出せず(2)

(10) 妥当性評価試験

ア 食品添加物

厚生労働省通知「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」に基づき、6種の食品添加物について、妥当性確認を行った。

イ 残留農薬

厚生労働省知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、8種の農産物について、妥当性確認を行った。

ウ 重金属

検査機器更新に伴い、厚生労働省通知「食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、魚介類中の総水銀について、妥当性確認を行った。

エ 飲料水

厚生労働省通知「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、ペルフルオロ(オクタノン-1-スルホン酸)及びペルフルオロオクタン酸について、妥当性確認を行った。

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、食品中の細菌、カビ、寄生虫等の各種微生物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、薬剤耐性菌の疫学解析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、食中毒病原体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。

令和6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・苦情調査による検体の細菌等の検査及び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。総検体数は551件で、検査項目数としては1,263項目であった。その内訳を表1に示す。

(1) 収去検査

成分規格の定められた食品の規格検査、食品の旧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389件、検査項目数は945項目であった。規格違反、旧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。E. coli 最確数の基準超過による生食用かきの規格違反が

表1 食品細菌関連業務検査数

	検体数	項目数
収去検査	389	945
食中毒等検査	57	203
その他の検査	105	115
計	551	1,263

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	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	腸炎ビブリオ 最確数	病原大腸菌	カンピロバクター属菌	リストリア	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	5	5	5										10	
清涼飲料水	6		6										6	
冷凍食品	14	14	9	5									28	
魚介類・その加工品	63	17	4		17			49	2				6	95
肉卵類・その加工品	41		14	5		5	19			8	14		14	79
野菜果物・その加工品	10	10		10									20	
そうざい・弁当・調理パン	163	163		157		157							477	
めん類	16	16	5	11		16							48	
漬物類	10			10									10	
生菓子類	56	56	55			54							165	
その他の食品	1											1	1	
計	389	283	100	198	17	232	19	49	2	8	14	2	21	945

表3 収去食品の食中毒起因菌検出、規格基準違反及び旧衛生規範不適合検体数

食品分類名	生菌数	E. coli	大腸菌群	最確数	黄色ブドウ球菌	腸炎ビブリオ
魚介類・その加工品		3		5		
肉卵類・その加工品		2				
そうざい・弁当・調理パン	6			1		
生菓子類	1	5		2		
計	7	7	3	3	5	

1 検体認められた。旧衛生規範の不適合としてそうざい・弁当・調理パンで生菌数の超過が 6 検体、黄色ブドウ球菌の検出が 1 検体、生菓子類で生菌数の超過が 1 検体、大腸菌群の検出が 5 検体、黄色ブドウ球菌の検出が 2 検体認められた。規格や旧衛生規範に該当しない食中毒起因菌は、魚介類・その加工品で 5 検体から腸炎ビブリオ、2 検体から E. coli、肉卵類・その加工品で 2 検体から大腸菌群が検出された。

(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。

当所で検査対応した事例のうち、本市の細菌性食中毒事例はなかった。

イ その他の苦情

市民から寄せられた食品中の異物混入による苦情品を 1 検体検査し、異物の同定を行った。

(3) その他の検査

食品製造施設などの衛生指導や食品製造・加工過程での細菌汚染調査を目的としたふき取り検査を 82 検体行った。食品の保管方法の検証に関する試験を 8 検体行った。食品の食中毒起因菌による

表4 食中毒等病原菌検索検体数

区分	患者便等	従事者便	拭取り等	計
食中毒	4	0	17	21
有症苦情	7	9	19	35
計	11	9	36	56

汚染状況調査として、鶏卵 10 検体のサルモネラ属菌検査及びジビエ 2 検体の病原大腸菌並びにサルモネラ属菌の検査を行った。市内病院で分離されたサルモネラ属菌 3 検体について、血清型別試験及び薬剤感受性試験を行った。

(4) マウス接種試験

ア 実施件数

(ア) 麻痺性貝毒(行政検査)

26 検体(136 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。

(5) 調査研究

ア 厚生労働科学研究(食品の安全確保推進研究事業)「ワンヘルス・アプローチに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスと伝搬機序解明のための研究」へ研究協力し、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及びサルモネラ属菌、大腸菌の薬剤耐性遺伝子の検出試験を行った。

イ 調査研究事業「*Campylobacter jejuni / coli* の疫学検査法の検討」として *C. jejuni* 及び *C. coli* の Penner 血清型のマルチプレックス PCR 法による型別及び病原因子や薬剤耐性関連の遺伝子の有無を PCR 法で判定し型別を行う mP-BIT 法による型別を行い、PFGE 法との比較検討を行った。

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。

令和6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25検体、細菌性赤痢1検体の検査を実施した。また、コレラ菌疑い株の同定検査を実施した。

カルバペネム耐性腸内細菌目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19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24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の患者等から検出された菌株11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。

侵襲性髄膜炎菌感染症の患者から検出された菌株1株について、生化学的性状試験及び遺伝子型別検査を行うとともに、菌株を国立感染症研究所に送付した。

結核患者由来株32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。

患者尿1検体について結核菌又はBCG検出遺伝子検査を実施した。

ライム病(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

市内の病原体定点医療機関において、感染性胃腸炎等の患者から採取された41検体について、遺伝子検査や分離同定検査を実施した。鼻汁2検体及び咽頭拭い液1検体から肺炎マイコプラズマが検出された。

(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106検体の検査を実施し、24検体が陽性であった。また、細菌性赤痢4検体の検査を実施し、全て陰性であった。

(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、

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(二類～五類)	151	2,209
再掲	腸管出血性大腸菌感染症	25
	カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症	14
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	19
	侵襲性肺炎球菌感染症	24
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	11
	その他	58
定点把握疾患(五類)	41	181
三類感染症接触者検査	110	792
結核患者等接触者検査	46	46
レジオネラ属菌検査	25	80
計	373	3,308

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46検体に実施した。陽性3検体、陰性43検体であった。

(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25検体実施した。

(5) 疫学検査

市内の細菌性感染症の発生状況を把握し、防護活動に資するため、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った。さらにPCR法による病原遺伝子の確認、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。

(6) 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)「腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症等の病原体に関する解析手法及び共有化システム構築のための研究」へ研究協力した。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てデータのフィードバックに努めた。また、次世代シーケンサーを用いてバンコマイシン耐性腸球菌のプラスミド解析を行い、結果を保健所に情報提供した。

3 ウイルス関連業務

感染症法に基づく感染症発生動向調査、食品衛生法に基づく食中毒病原体検査及びかき衛生対策事業のノロウイルス汚染状況調査等の各種検査を実施した。

(1) 保健所・保健センター等からの依頼検査

新型コロナウイルス感染症、四類感染症、全数把握対象の五類感染症、食中毒/有症苦情及び食品衛生検査等、459検体(928項目)の検査を実施した(表6)。

ア 新型コロナウイルスゲノム解析

国通知に基づき、新型コロナウイルスのゲノム解析を実施した。民間検査機関において、新型コロナウイルス陽性が判明した計184検体についてゲノム解析を実施し、国立感染症研究所が管理するPathoGenS(Pathogen Genomic data collection System)に登録を行った。国内の流行状況に合わせて、本市においてもKP.3系統やXEC系統などが検出された。

イ 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

15検体(13名)の検査を実施した。この内、11検体(11名)は日本紅斑熱リケッチャの検査を、4検体(4名)はつつが虫病リケッチャの検査を同時に実施した。2検体(2名)からSFTSウイルスが検出され、日本紅斑熱リケッチャ及びつつが虫病リケッチャは検出されなかった。

ウ 日本紅斑熱

9検体(7名)の検査を実施した。この内、4検体(4名)はSFTSウイルスの検査を、3検体(2名)はつつが虫病リケッチャの検査を同時に実施した。1検体(1名)から日本紅斑熱リケッチャが検出され、SFTSウイルス及びつつが虫病リケッチャは検出されなかった。

エ つつが虫病

8検体(4名)の検査を実施した。この内、3検体(3名)はSFTSウイルスの検査を、8検体(4名)は日本紅斑熱リケッチャの検査を同時に実施した。8検体(4名)からつつが虫病リケッチャが検出され、SFTSウイルス及び日本紅斑熱リケッチャは検出されなかった。

オ チクングニア熱

1検体(1名)の検査を実施したが、チクングニアウイルスは検出されなかった。

カ デング熱

4検体(4名)の検査を実施した。この内、3検体(3名)からデングウイルスが検出された。検出された

デングウイルスの型別の内訳は、1型が1検体(1名)、2型が1検体(1名)、3型が1検体(1名)であった。

キ A型肝炎

4検体(4名)の検査を実施し、2検体(2名)からA型肝炎ウイルスが検出された。

ク E型肝炎

1検体(1名)の検査を実施し、E型肝炎ウイルスが検出された。

ケ 麻しん

10検体(4名)の検査を実施したが、麻しんウイルスは検出されなかった。

コ 風しん

3検体(1名)の検査を実施したが、風しんウイルスは検出されなかった。

サ 急性脳炎

7検体(3名)の検査を実施し、2検体(2名)からウイルスが検出された。その内訳は、2検体(2名)からヒトヘルペスウイルス6型の検出であった。

シ 急性弛緩性麻痺

8検体(2名)の検査を実施し、3検体(1名)からウイルスが検出された。その内訳は、2検体(1名)からエンテロウイルス71型、1検体(1名)からエンテロウイルス(未型別)の検出であった。

ス 食中毒/有症苦情

計15事例で患者・従事者等107名(107検体)、施設拭取り76検体のノロウイルス検査を実施した。

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
新型コロナウイルスゲノム解析	184	184
重症熱性血小板減少症候群	15	31
日本紅斑熱	9	16
つつが虫病	8	19
チクングニア熱	1	1
デング熱	4	20
A型肝炎	4	4
E型肝炎	1	1
麻しん	10	20
風しん	3	6
急性脳炎	7	156
急性弛緩性麻痺	8	62
食中毒/有症苦情	183	366
食品衛生検査	22	42
計	459	928

計12事例で患者・従事者等49名(49検体), 施設拭取り8検体からノロウイルスが検出された。ノロウイルスが検出された12事例の内, 1事例がノロウイルスG Iのみ, 9事例がノロウイルスG IIのみ, 2事例がノロウイルスG I及びG IIの検出であった。ノロウイルスが検出された患者・従事者等49検体の内, 4検体(4人)がノロウイルスG Iのみ, 44検体(44人)がノロウイルスG IIのみ, 1検体(1人)がノロウイルスG I及びG IIの検出であった。ノロウイルスが検出された施設拭取り8検体は, いずれもノロウイルスG IIのみの検出であった。

セ 食品衛生検査

かき20検体のノロウイルス検査を実施し, 4検体からノロウイルスG Iのみ, 1検体からノロウイルスG IIのみ, 8検体からノロウイルスG I及びG IIが検出された。また, ジビエ2検体のE型肝炎ウイルス検査を実施したが, E型肝炎ウイルスは検出されなかった。

(2) 感染症発生動向調査事業

市内14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, ウィルス分離・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.htm>)

表7 感染症発生動向調査臨床診断名別検体数

診断名	検体数
インフルエンザ	23
新型コロナウイルス感染症	4
RSウイルス感染症	1
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	1
感染性胃腸炎	9
手足口病	14
伝染性紅斑	1
突発性発しん	2
ヘルパンギーナ	3
マイコプラズマ肺炎	2
流行性角結膜炎	148
流行性耳下腺炎	1
無菌性髄膜炎	8
その他の疾患	89
計	306
項目数	2,231

m1)から検出情報を還元した。

令和6年度は, 病原体定点医療機関において採取された306検体(2,231項目)について検査を行った。臨床診断名別検体数を表7に示した。細胞培養法(HEp-2, RD-A, Vero, A549), 遺伝子検査法, イムノクロマト法, 蛍光抗体法等で病原ウイルス検索を実施した結果, 36種類150株のウイルスが検出された(表8)。

表8 病原体別検出数

検出病原体	検出数
コクサッキーウィルス A2型	1
コクサッキーウィルス A6型	7
コクサッキーウィルス A9型	1
コクサッキーウィルス A16型	7
エコーウィルス 3型	1
エコーウィルス 11型	1
エンテロウイルス 71型	2
ライノウイルス	14
パレコウイルス 1型	1
インフルエンザウイルス A(H1N1) 2009型	7
インフルエンザウイルス A(H3)型	3
B型インフルエンザウイルス	2
パラインフルエンザウイルス 3型	1
RSウイルス	6
ヒトメタニューモウイルス	2
ヒトコロナウイルス HKU1	2
新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)	4
A群ロタウイルス	1
サポウイルス	2
ノロウイルス G II	3
アストロウイルス	2
アデノウイルス 1型	2
アデノウイルス 2型	6
アデノウイルス 3型	1
アデノウイルス 5型	1
アデノウイルス 8型	9
アデノウイルス 37型	2
アデノウイルス 41型	1
アデノウイルス 54型	5
アデノウイルス 56型	3
バルボウイルス B19	1
ヒトボカウイルス	2
単純ヘルペスウイルス 1型	1
サイトメガロウイルス	1
ヒトヘルペスウイルス 6型	1
ヒトヘルペスウイルス 7型	1
計	107

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(河川水及び地下水)の水質調査、工場・事業場の排出水調査、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、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。

令和6年度の業務概要を以下に報告する。

1 水質関連業務

令和6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及び銅、鉄等の特殊項目は年2回(7月、1月)、栄養塩類は年4回(4月、7月、10月、1月)調査を実施した。

八幡川水系の2地点で大腸菌の環境基準値(90%水質値)を超えていた。健康項目は全地点で環境基準値を下回っていた。

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	1,812
地下水調査	24	462
洗剤残存調査	36	36
PFOS・PFOA調査	45	45
工場・事業場排出水調査	71	738
苦情調査等	63	986
海水調査	60	360
環境省受託調査	3	9
計	434	4,448

(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(9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、環境基準値を下回っていた。

(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、9地点で年4回(5月、8月、11月、2月)調査を実施した。

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) PFOS・PFOA調査

令和5年11月に実施した瀬野川水系のペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びペルフルオロオクタン酸(PFOA)調査において、暫定指針値(PFOS及びPFOAの合算値:50ng/L)の超過が確認されたため、河川水1地点及び地下水2地点について月1回の調査を実施した。

また、令和7年3月に湯坂川及びその支川8地点で調査を実施したところ、2地点で暫定指針値を超過していた。

(5) 工場・事業場排出水調査

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、採取した排出水について水質試験を実施した。

試験件数は71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738項目の試験を実施した。

(6) 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。突発的な事故等による件数は3件で延べ24項目、他課からの依頼により調査した件数は52件で延べ181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出水について農薬調査を実施した。試験件数は8件で、延べ781項目の試験を実施した。

(7) 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、海水調査を実施している。海域4地点で年15回(4月、5月、9～3月：1回/月、6～8月：2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。

(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。

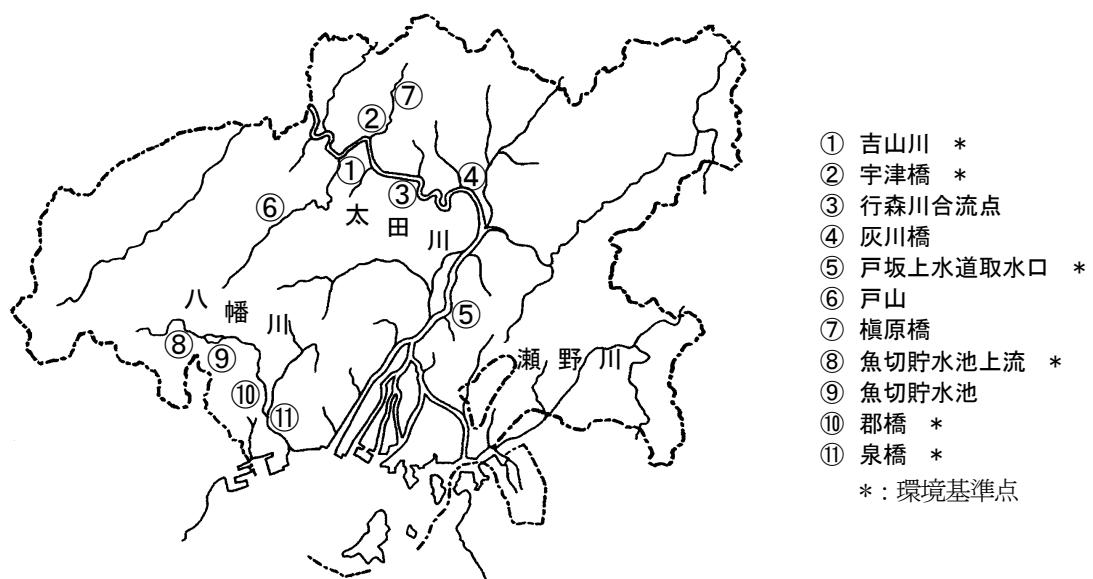


図 河川水調査地点

2 大気関連業務

令和6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の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(安佐南区役所、比治山測定局、楠那中学校及び大林小学校)で毎月1回実施した。調査項目は、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)、市内において大気への排出量が最も多いキシレンである。

主な調査結果を表3に示す。全ての地点で環境基準値又は指針値を下回っていた。

(2) 酸性雨調査

本市における酸性雨の状況を把握するための調査を実施した。

調査は、市内1地点(伴小学校)で実施した。調査項目は、降水量、pH、電気伝導率である。

pHの年平均値は4.90で、前年度と同程度であった。

(3) 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。

(4) 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2か所)、住宅地域(安東小学校2か所)及び商工業地域(中小企業会館、衛生研究所)において、年1回(5~6月)、

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	1,044
酸性雨調査	24	60
フロン類調査	48	672
アスベスト調査	22	22
環境省受託調査	3	9
計	145	1,807

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	0.58	0.19	1.1	3
トリクロロエチレン	0.14	0.007	0.90	130
テトラクロロエチレン	0.037	<0.008	0.11	200
ジクロロメタン	0.73	0.31	1.8	150
アクリロニトリル	0.009	<0.008	0.035	[2]
アセトアルデヒド	1.7	0.46	3.6	[120]
塩化ビニルモノマー	0.011	<0.009	0.049	[10]
クロロホルム	0.21	0.11	1.0	[18]
酸化エチレン	0.050	0.022	0.13	-
1,2-ジクロロエタン	0.11	0.045	0.22	[1.6]
1,3-ブタジエン	0.034	0.014	0.067	[2.5]
塩化メチル	1.3	1.2	1.7	[94]
トルエン	5.6	0.69	85	-
キシレン	2.2	0.33	29	-
ベンゾ[a]ピレン※	0.13	<0.003	0.70	-
ホルムアルデヒド	2.6	0.57	7.3	-
水銀※	1.7	0.89	2.2	[40]
ニッケル※	1.3	0.20	4.0	[25]
ヒ素※	1.5	0.12	4.1	[6]
ベリリウム※	0.015	<0.0014	0.047	-
マンガン※	13	1.4	45	[140]
クロム※	2.6	0.38	12	-

単位 : $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (※については、 ng/m^3)

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。

酸化エチレンの大林小学校は欠測である。

3日間(計18検体)調査を実施した。調査結果を表5に示す。総繊維が1本/Lを超えた地点はなかった。

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(1地点4か所)で調査を実施した。

(5) 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	0.23	0.21	0.26
CFC-12	0.51	0.48	0.55
CFC-113	0.067	0.064	0.071
CFC-114	0.017	0.015	0.019
HFC-134a	0.24	0.15	0.88
HCFC-22	0.29	0.26	0.42
HCFC-123	<0.0020	<0.0020	0.022
HCFC-141b	0.032	0.026	0.039
HCFC-142b	0.025	0.020	0.029
HCFC-225ca	<0.0017	<0.0017	<0.0017
HCFC-225cb	<0.0025	<0.0025	<0.0025
プロモメタン	0.012	0.0084	0.018
1, 1, 1-トリクロロエタン	<0.0019	<0.0019	0.0036
四塩化炭素	0.079	0.072	0.10

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。

表5 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	0.23
住宅地域	0.27
商工業地域	0.15

アスベスト以外の繊維を含む総繊維数濃度

調查研究報告

I 調查研究

亜硝酸根測定におけるマトリックス検量線の応用 及び定量限界の設定

森本 章嗣 馬部 文恵 吉岡 英明

食肉製品中の亜硝酸根測定において、厚生労働省の通知¹⁾に準じた方法で定量限界における添加回収試験を実施したところ、良好な結果が得られなかった。これは、試料の成分由来による発色妨害が原因であると推測された。

発色妨害の影響を補正するため、マトリックス検量線の使用及び発色試薬の增量を行った結果、ベーコン及びハムのそれぞれについて、0.001g/kg 及び 0.005g/kg での分析法の妥当性が確認でき、定量限界を設定することができた。

キーワード： 亜硝酸根、発色妨害、マトリックス検量線

はじめに

食品中の亜硝酸塩は、ジアゾ化反応を利用した比色法により亜硝酸根(NO_2^-)として定量し、使用基準が定められている。食肉製品には発色剤として、亜硝酸ナトリウム、硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムの使用が認められているが、亜硝酸塩は亜硝酸ナトリウムに加え、硝酸カリウム及び硝酸ナトリウムの還元物質により構成される(図1)。

食肉製品には発色剤が使用されているものが多数を占める。それらの亜硝酸根測定の際は、精度管理のために、厚生労働省の通知¹⁾に準じた方法(以下、通知法)に基づき基準値の添加回収試験を実施するが、通常は良好な結果(添加回収率70~120%)を得られる。

一方、発色剤を使用していない「無塩せき」をうたった食肉製品も販売されている。無塩せきの食肉製品は亜硝酸塩をほぼ含有しないと考えられるため、当該製品における精度管理のための添加回収試験は、定量限界相当の亜硝酸イオンを添加して測定を行う。

しかし、食肉製品(ハム及びベーコン)で定量限界での添加回収試験を通知法に基づいて行ったところ、添加回収率が低く良好な結果を得られなかった。

そこで、食肉製品(ハム及びベーコン)の定量限界

付近の測定における、分析法の検討を実施し定量限界の設定を改めて行ったため、報告する。

方 法

1 試料

試料は、市販の無塩せきベーコン及び無塩せきハムを用いた。

2 試薬

下記の富士フィルム和光純薬株式会社製を用いた。

- (1) 亜硝酸イオン標準液 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
- (2) 1mol/L 水酸化ナトリウム溶液(容量分析用)
- (3) 酢酸亜鉛二水和物(特級)
- (4) スルファニルアミド(特級)
- (5) 6mol/L 塩酸(容量分析用)
- (6) N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩(特級)

3 試薬の調製

(1) 酢酸亜鉛溶液

酢酸亜鉛二水和物 18g に蒸留水を加えて 100mL とした。

(2) スルファニルアミド溶液

スルファニルアミド 0.5g を 6mol/L 塩酸 100mL に加え、超音波処理をして溶かした。

(3) ナフチルエチレンジアミン溶液

N-1-ナフチルエチレンジアミン二塩酸塩 0.12g を蒸留水に加えて溶かし、100mL とした。

(4) 検量線用標準溶液

亜硝酸イオン標準液を蒸留水で希釈し、亜硝酸イ

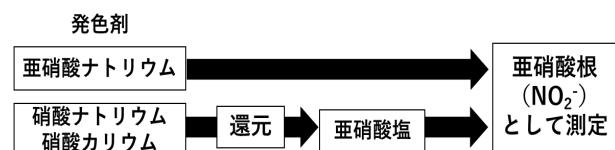


図1 亜硝酸根について

オンとして $1\mu\text{g}/\text{mL}$ の溶液を調製した。

4 分析機器

分光光度計 : UV-1900i (株式会社島津製作所製)

5 試験溶液の調製方法

試験溶液の調製方法を図 2 に示す。

試料約 5g をホモジナイズ容器に入れ, 1mol/L 水酸化ナトリウム溶液 12mL 及び温水 40mL を加えて直ちにホモジナイズした。内容物を温水とともにコニカルビーカーに移し, 酢酸亜鉛溶液 7.5mL を加えて混和し, 80°C の水浴中で 20 分間加温した。加温後冰水中で 10 分間以上冷却した後, 吸引ろ過し, ろ液と水を併せて正確に 100mL として試験溶液とした。

試薬ブランクについては, 蒸留水 5mL について上記と同様の操作を行ったのち, テフロン遠沈管にろ液を移し, 2800rpm で 10 分間遠心分離を行ったのち, 上澄みを分取し空試験溶液とした。

6 比色操作

試験溶液の比色操作について, 図 3 に示す。

(1) 通知法に準じた方法

試験溶液及び空試験溶液 5mL ずつを分取し, スルファニルアミド溶液及びナフチルエチレンジアミン溶液(以下, 発色試薬)を 2mL ずつ加えて, 蒸留水にて 20mL とし, 水を対照として波長 540nm における吸光度を測定し, それぞれ A_{Ta} , A_b とした。

また, 試験溶液 5mL を分取し, 6mol/L 塩酸 2mL を加えて蒸留水にて 20mL とし, 水を対照として波長 540nm における吸光度を測定し A_{Tc} とした。

試料 5g (ホモジナイズ容器)

← 1mol/L NaOH, 12mL
← 温水 (80°C), 40mL

ホモジナイズ (10,000rpm、2分間)

コニカルビーカー (200mL) に移し、
温水35mLで洗いこみ

← 酢酸亜鉛溶液, 7.5mL

80°Cの水浴中で20分間加温
冷却 (冰水中で10分間以上)

吸引ろ過 (5A) 受器: 太口メスフラスコ

100mLにメスアップ

試験溶液

図 2 試験溶液の調製方法

試験溶液 (5mL) を分取

← スルファニルアミド溶液(通知法) 2mL
(改良法) 6mL

混和

← ナフチルエチレンジアミン溶液
(通知法) 2mL
(改良法) 6mL

蒸留水で 20mL にメスアップ

室温で 20 分以上経過後、
分光光度計 (UV-1900i、(株)島津製作所製)
吸光度測定 540nm

図 3 試験溶液の比色操作

(2) 改良法(発色試薬の增量)

試験溶液及び空試験溶液 5mL ずつを分取し, 発色試薬を 6mL ずつ加えて蒸留水にて 20mL とし, 水を対照として波長 540nm における吸光度を測定し, それぞれ A_{Ta} , A_b とした。

また, 試験溶液 5mL を分取し, 6mol/L 塩酸 6mL を加えて蒸留水にて 20mL とし, 水を対照として波長 540nm における吸光度を測定し A_{Tc} とした。

7 検量線

(1) 検量線の作成

亜硝酸イオン濃度が最終的に 0.01, 0.025, 0.05, $0.1\mu\text{g}/\text{mL}$ (STD1～STD4) となるように検量線用標準溶液を分取し, 次に示す比色操作をした標準液の吸光度を A_{s1} ～ A_{s4} とし, 検量線用標準溶液を加えずに同様の比色操作をした溶液 (STD0) の吸光度を A_{sb1} とした。

A_{s1} ～ A_{s4} と A_{sb1} との吸光度の差 ($A_{sx} - A_{sb1}$) を用いて検量線を作成した。

(2) 通知法に準じた方法

分取した検量線用標準溶液に発色試薬を 2mL ずつ加えて蒸留水にて 20mL とし, 蒸留水を対照として波長 540nm における吸光度を測定した。

(3) 改良法(試験溶液の添加)

分取した検量線用標準溶液にブランク試料の試験溶液 5mL を添加したのち, 発色試薬を 2mL ずつ加えて蒸留水にて 20mL とし, 蒸留水を対照として波長 540nm における吸光度を測定した。

(4) 改良法(発色試薬の增量)

分取した検量線用標準溶液に発色試薬を 6mL ずつ加えて蒸留水にて 20mL とし, 蒸留水を対照として波長 540nm における吸光度を測定した。

(5) 改良法(試験溶液の添加及び発色試薬の增量)

分取した検量線用標準溶液にブランク試料の試験溶液 5mL を添加したのち、発色試薬を 6mL ずつ加えて蒸留水にて 20mL とし、蒸留水を対照として波長 540nm における吸光度を測定した。

8 定量

吸光度差 ΔA を以下の式で求めたのち、検量線から試験溶液中の亜硝酸根濃度を求め、試料中の亜硝酸根含量を計算した。

$$\Delta A = A_{Ta} - (A_b + A_{Tc})$$

A_{Ta} : 発色試薬を含んだ試験溶液の吸光度

A_b : 発色試薬を含んだ空試験溶液の吸光度

A_{Tc} : 発色試薬を含まない試験溶液の吸光度

9 妥当性確認

ガイドライン²⁾を参考に、分析者 1 名が 2 併行で 5 日間の添加回収試験を実施した。標準液を添加した試料は、直ちに試験を開始した。ガイドライン²⁾に示された真度及び精度の目標値を表 1 に示す。

なお、ブランク試料の試験溶液の吸光度は、空試験溶液の吸光度と同程度であることを確認した。

添加濃度は、通知法の定量限界である 0.001g/kg とした。ただし、添加回収率が 70~120% を満足できない場合は、定量限界を設定するために、0.001g/kg, 0.002g/kg 及び 0.005g/kg の添加試料を作製し、添加濃度を検討した。

結果と考察

1 検量線の検討

(1) ベーコン

方法 7(2) 及び 7(3) の吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$) を表 2 に示す。

表 1 性能パラメーターの目標値

添加濃度 (g/kg)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.001			
0.002	70~120	< 10	< 15
0.005			

表 2 試験溶液添加の有無による吸光度の差の比較(ベーコン)

試験溶液	吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$)			
添加の有無	0.01 μ g/mL	0.025 μ g/mL	0.05 μ g/mL	0.1 μ g/mL
添加なし	0.0118	0.0296	0.0589	0.1180
5mL 添加	0.0085	0.0233	0.0500	0.1057

全ての濃度において、吸光度の差は試験溶液の添加により低下した。すなわち、ベーコンの成分による発色妨害が低添加回収率の原因と推測された。

(2) ハム

方法 7(2) 及び 7(3) の吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$) を表 3 に示す。

全ての濃度において、吸光度の差は試験溶液の添加により低下した。ベーコンと比較して大幅に吸光度の差が減少したため、発色試薬の添加量を増加させることにより、試験溶液による発色妨害の低減が可能であるのかを確認した。

試験溶液を添加した試料について、発色試薬の添加量を通知法の 1 倍、2 倍、3 倍としたときの吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$) を表 4 に示す。

一部を除き、おおむね発色試薬量の増加に伴い、吸光度の差も増加した。

これらを総合的に勘案すると、ハムの成分による発色妨害及び発色試薬の不足が低添加回収率の原因と推測された。

2 添加回収試験

(1) 検量線による添加回収率の比較(ベーコン)

通知法の定量限界である 0.001g/kg となるように、標準液をブランク試料に加えて試験溶液を調製し、通知法に準じた方法で比色操作を行い、方法 7(2) の絶対検量線及び方法 7(3) の試料ブランクを添加した検量線(以下、マトリックス検量線)を作成し、添加回収率を算出した。

絶対検量線とマトリックス検量線における添加回収率の比較結果を表 5 に示す。

全ての試験において添加回収率はマトリックス検量線の方が高い結果となり、10 回中 9 回が適正

表 3 試験溶液添加の有無による吸光度の差の比較(ハム)

試験溶液	吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$)			
添加の有無	0.01 μ g/mL	0.025 μ g/mL	0.05 μ g/mL	0.1 μ g/mL
添加なし	0.0115	0.0292	0.0582	0.1157
5mL 添加	0	0.0050	0.0208	0.0660

表 4 試験溶液添加試料における発色試薬量違いによる吸光度の差の比較(ハム)

発色試薬の 添加量	吸光度の差 ($A_{sx}-A_{sb1}$)			
各 2mL(通知法に準ずる)	0	0.0050	0.0208	0.0660
各 4mL(通知法の 2 倍)	0.0021	0.0082	0.0236	0.0767
各 6mL(通知法の 3 倍)	0.0056	0.0133	0.0225	0.0827

表5 検量線による添加回収率の比較(ベーコン)

添加回収率					
	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目
絶対検量線	74.9%	69.6%	23.2%	69.6%	42.4%
	77.2%	81.6%	24.0%	72.0%	33.6%
マトリックス	80.3%	72.0%	77.6%	73.7%	71.2%
検量線	82.7%	84.0%	78.4%	76.1%	61.6%

※ 灰色部分は添加回収率が 70~120% の範囲外

な範囲とされる 70~120% の間であった。

また、妥当性確認においても、マトリックス検量線を用いた値においては、真度 75.4%，併行精度 6.10%，室内精度 8.40% と、いずれも目標値を満たしていた。

そのため、マトリックス検量線を用いたうえで、定量限界を 0.001g/kg と設定することとした。

(2) 添加濃度による添加回収率の比較(ハム)

0.001g/kg, 0.002g/kg, 0.005g/kg となるように、標準液をブランク試料に加え試験溶液を調製し、改良法(発色試薬の增量)で比色操作を行い、マトリックス検量線を作成し、添加回収率を算出した。各添加濃度における添加回収率の比較結果を表6 に示す。

0.005g/kg となるよう添加した場合のみ添加回収率が 70~120% の範囲内であり、0.001g/kg 及び 0.002g/kg 添加した際の添加回収率は、いずれも 70% を下回っていた。そのため、定量限界を 0.005g/kg として検討することとした。

(3) 検量線による添加回収率の比較(ハム)

0.005g/kg となるように、標準液をブランク試料に加え試験溶液を調製して改良法(発色試薬の增量)で比色操作を行い、方法7(4)の絶対検量線及び方法7(5)のマトリックス検量線を作成し、添加回収率を算出した。

絶対検量線とマトリックス検量線における添加回収率の比較結果を表7 に示す。

全ての試験において添加回収率はマトリックス検量線の方が高い結果となったうえ、70~120% の間であった。

また、妥当性確認においても、マトリックス検量線を用いた値においては、真度 87.5%，併行精度 2.76%，室内精度 8.63% と、いずれも目標値を満たしていた。

そのため、マトリックス検量線を用いたうえで、

定量限界を 0.005g/kg と設定することとした。

まとめ

今回、亜硝酸根測定において食肉製品を原因とする発色妨害が、吸光度に影響を与えることを確認した。

食肉製品の基準値における添加回収試験では、測定溶液中の試験溶液の分取率が 5v/v% であるため、比較的発色妨害の影響が少なく、通知法に基づいた試験法であっても良好な添加回収率が得られていたと推測される。

一方、定量限界における添加回収試験での、測定溶液中の試験溶液の分取率は 25v/v% であることから、発色妨害の影響を大きく受けたため、通知法に基づく試験法では、添加回収率が低かったと考えられる。

通知法からの具体的な改善方法として、ベーコンについてはマトリックス検量線の応用、ハムについてはマトリックス検量線の応用及び発色試薬の増加を行ったところ、それぞれ定量限界を 0.001g/kg 及び 0.005g/kg に定めることができた。

今後は、他のベーコン及びハムにおいても同様の結果を得られるのか確認を行っていくとともに、ベーコン及びハム以外の食肉製品についても検討を行い、データの蓄積を図っていく。

表6 各添加濃度における添加回収率の結果(ハム)

添加回収率			
	0.001g/kg 添加	0.002g/kg 添加	0.005g/kg 添加
1回目	60.8%	59.5%	79.2%
2回目	60.8%	69.6%	78.6%

※ 灰色部分は添加回収率が 70~120% の範囲外

表7 検量線による添加回収率の比較(ハム)

添加回収率					
	1日目	2日目	3日目	4日目	5日目
絶対検量線	40.3%	60.6%	74.9%	81.1%	83.2%
	39.8%	64.2%	70.9%	81.6%	80.6%
マトリックス	79.2%	82.7%	98.2%	83.4%	96.0%
検量線	78.6%	87.2%	92.9%	83.8%	93.2%

※ 灰色部分は添加回収率が 70~120% の範囲外

文 献

- 1) 厚生労働省通知、「食品中の食品添加物分析法」の改正について、薬生食基発0529第1号、薬生食監発0529第1号、令和5年5月29日
- 2) 厚生労働省通知、食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン、健生食基発0308第1号、健生食監発0308第1号、令和6年3月8日

全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 0157 菌株の複数解析手法による関連性の検討

田内 敦子 山本 泰子 中谷 史帆 青田 達明*
古谷 玲子 山本 美和子

2022 年から 2024 年に本市で発生した腸管出血性大腸菌 (EHEC) 0157 感染症 5 事例の分離菌株について、次世代シーケンサー (NGS) を用いて全ゲノム配列 (WGS) を取得し、一塩基多型 (SNPs) 解析及び core genome Multilocus Sequence Typing (cgMLST) 解析を実施した。当所が従来から実施している分子疫学的解析手法である Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA) の結果と合わせ、菌株間の関連性について検討した。MLVA が一致したものの疫学的関連性が不明であった事例について、同一感染源であることが示唆されるなど、より詳細な事例間の関連性を示すことができた。解析対象の異なる複数の手法を組み合わせて多角的に解析することで、MLVA では把握できなかった事例間の関連性を捉えることができ、より詳細な疫学調査を行う科学的根拠となりうると考えられた。

キーワード： 腸管出血性大腸菌、全ゲノム配列、MLVA、cgMLST 解析、SNPs 解析

は じ め に

EHEC はベロ毒素を産生する大腸菌で、自然界では家畜等の腸管内等に存在しており、しばしば汚染された食品を介した食中毒を引き起こす。また接触感染によりヒトからヒトへ感染し、感染症法において三類感染症に分類されている。感染力が強く、少量の菌でも感染して腹痛、水様性下痢、血便などの症状を呈し、溶血性尿毒症症候群等の重篤な合併症を引き起こすことがある。感染源の特定や感染経路の把握には、疫学調査に加えて、患者や食品等由来菌株の遺伝子レベルでの詳細な解析も重要である。EHEC の分子疫学的解析手法としては、ゲノムやプラスミド上の繰り返し配列を解析する MLVA があり、特に主要 0 血清群 (0157, 026, 0111) については、広域的な感染症・食中毒に関する調査の一環として当所においても従来から実施している¹⁾。疫学的関連性が確認された患者からの分離菌株において MLVA が一致した場合は、同一感染源である可能性が高いが、疫学的関連性が不明な事例間での一致や、疫学的関連性があると思われる同一事例内での不一致など、判断に苦慮する場合もある。

新型コロナウイルス感染症の流行以降、NGS は全国の検査機関に広く、急速に普及した。NGS により

取得した細菌の WGS を用いた分子疫学的解析は、結果の解釈について統一的な基準が定まっておらず、従来実施していた手法との互換性の点など、まだ課題は多くあるものの²⁾、これまで実施されてきたパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) などに代わり、今後主流になっていくと考えられる。WGS を用いた解析手法としては、SNPs 解析や cgMLST 解析などがあり、様々な病原体で応用されている。そこで、本市で発生した複数の感染症事例から分離された EHEC 0157 菌株について、WGS を用いた解析を行い、MLVA の結果と合わせて菌株間の関連性について検討を行ったので報告する。

方 法

1 供試菌株

2022 年から 2024 年までの間に本市で発生した、VT1 及び VT2 産生性 EHEC 0157:H7 感染事例 5 事例から分離された 9 株を対象とした (表 1)。

2 MLVA

泉谷らの方法³⁾に準じて、SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザ (Applied Biosystems) 及び解析ソフトウェア Gene Mapper (Applied Biosystems) を用い、17 か所の遺伝子座 (loci) につ

*：現 健康福祉局保健部環境衛生課

表 1 検体の概要(EHEC 0157:H7 VT1&2)

事例	菌株番号	検体採取日	年齢	症状	備考
A	22018	2022/6/22	47 歳	なし(発生届出時点)	家庭内食中毒事例
	22019	2022/6/22	14 歳	なし(発生届出時点)	
	22021	2022/6/18	11 歳	腹痛, 水様性下痢	
B	22030	2022/7/15	19 歳	血便, 嘔吐	同一施設の関係者
	22032	2022/7/22	22 歳	なし	
	22031	2022/7/16	52 歳	腹痛, 水様性下痢, 血便	
C	24040	2024/8/9	49 歳	腹痛, 水様性下痢, 血便	
D	24044	2024/8/10	44 歳	腹痛, 水様性下痢, 血便	
E	24046	2024/8/9	30 歳	腹痛, 水様性下痢, 血便	

いて解析を行った。Fragment size marker は GeneScanTM 600 LIZTM Size Standard, Ver. 2.0(Applied Biosystems)を使用した。決定した繰り返し配列のリピート数を基に BioNumerics Ver. 7.5(Applied Maths)を用いて Minimum Spanning Tree (MST)を作成した。

3 cgMLST 解析

被検菌を56°C 3時間プロテナーゼK処理した後, Maxwell[®] RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit(Promega)を用い, 自動核酸精製装置 Maxwell[®] RSC(Promega)によりゲノム DNA を抽出した。

QIAseq FX DNA Library Kits(QIAGEN)を使用してゲノム DNA の断片化及びアダプター配列の付加を行い, ライブライリーを調製した。ライブライリーの精製は, AMPure XP(Beckman Coulter)を用いた。PCR 法によるライブライリーの増幅後, アガロースゲル電気泳動によりサイズ分画し, Wizard SV Gel and PCR Clean Up System(Promega)を用いて精製を行った。複数サンプルのライブライリーをプールし, RSB (illumina)で希釈したものをローディングサンプルとした。

シーケンス反応は iSeqTM 100 シーケンサーシステム(illumina)を使用した。取得したリードデータは解析ソフトウェア Geneious Prime(Biomatters)によりトリミング等を行い, 参照配列(Accession No. CP038342)に対してアライメントして各検体の WGS を決定後, 解析ウェブサイト PubMLST (<https://pubmlst.org/organisms/>)を用いて大腸菌のコアゲノム領域 2,513 loci の各アレル番号を取得し, MST を作成した。

4 SNPs 解析

解析ウェブサイト Galaxy(<https://usegalaxy.org>)内のツールを使用した。cgMLST 解析により取得したリードデータを fastp⁴⁾を用いて FASTQ ファイルのクオリティチェック, アダプター配列の除去等の前処理を行った後, snippy⁵⁾により各検体と参照配列との比較作業を行い, 塩基置換部位及び挿入・欠損部位の検出を行った。さらに, snippy-core⁵⁾を用いて複数の検体の snippy 出力データから coreSNPs アライメントを作成し, 参照配列へ反映させて各検体の完全長ゲノムのアライメントを作成した。この完全長ゲノムアライメントについて, 他ツールとの互換性を上げるため, snippy-clean_full_aln⁵⁾を用いて処理を行った。得られたデータについて, Gubbins⁶⁾により組換え領域の検出・除去を行った。組換え領域除去後の coreSNPs アライメントを基に, SNP distance matrix⁷⁾により各検体間の SNPs 数の総当たり表を作成した。

結 果

1 MLVA

事例 A の 3 株及び事例 B の 3 株はそれぞれ 17 loci 全てにおいてリピート数が一致していた。事例 D と事例 E は全て一致, 事例 D 及び事例 E と事例 C は 1 locus 異なっていた。一方, 事例 A と事例 B, 事例 A と事例 D 及び事例 E, 事例 B と事例 C, 事例 D 及び事例 E はそれぞれ 4 loci 異なっており, 事例 A と事例 C は 5 loci 異なっていた(図 1)。

2 cgMLST 解析

事例 A の 3 株及び事例 B の 3 株は, それぞれ解析できた 2,505 loci 及び 2,508 loci でアレル番号が全て一致していた。また事例 A と事例 B の 6 株は, 解析できた 2,501 loci でアレル番号が一致し

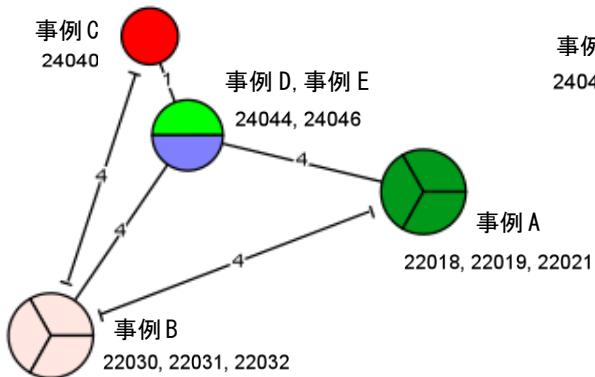


図 1 MLVA による MST

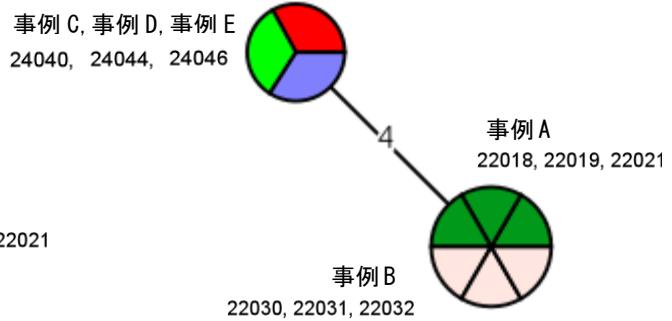


図 2 cgMLST 解析による MST

ていた。さらに事例 C, 事例 D 及び事例 E の 3 株も解析できた 2,508 loci でアレル番号が一致していた。一方、事例 A の 3 株と、事例 C, 事例 D 及び事例 E の 3 株並びに事例 B の 3 株と事例 C, 事例 D 及び事例 E の 3 株は、それぞれ解析できた 2,500 loci 及び 2,503 loci の内 4 loci でアレル番号が異なっていた(図 2)。

3 SNPs 解析

SNPs 数は事例 A の 3 株間では 0, 事例 B の 3 株間では 0~1 であった。また、事例 C, 事例 D 及び事例 E の 3 株間では 0~9 であった。一方、他の事例間では 22~43 であった(表 2)。

考 察
家庭内食中毒事例である事例 A や、同一施設の

関係者から同時期に複数人の感染が確認された事例 B では、MLVA, cgMLST 解析及びSNPs 解析の全てにおいて事例内分離菌株が遺伝的に非常に近縁であることが示され、それぞれの事例は同一感染源によるものと推察された。事例間の比較では、事例発生年が異なる事例 A と事例 C, 事例 D 及び事例 E のそれにおいて、3 つの解析法全ての結果から各事例間の関連性は低いことが示された。事例 B と事例 C, 事例 D 及び事例 E においても同様の結果であった。一方、同時期に発生した事例 C, 事例 D 及び事例 E の各分離菌株は、MLVAにおいて事例 D と事例 E が一致し、事例 C とは Single Locus Variant (SLV) であった。SLV は PFGE の疫学的解釈である Tenover の分類と同様の考え方で整理された MLVA の疫学的解釈において、「ほぼ確実に集団発生の一

表 2 各菌株間の SNPs 数

事例	A			B			C	D	E	
	菌株番号	22018	22019	22021	22030	22032	22031	24040	24044	24046
A	22018									
	22019	0								
	22021	0	0							
B	22030	25	24	27						
	22032	25	24	28	1					
C	22031	25	24	28	0	1				
	24040	29	30	33	23	24	22			
D	24044	38	39	43	32	33	31	9		
	24046	29	30	34	23	24	22	0	9	

部である」と解される⁸⁾。cgMLST 解析においても解析できた 2,508 loci でアレル番号が一致しており, SNPs 数は大腸菌において菌株間の関連性が高いとの報告がある 10 以下であった⁹⁾。これらの結果から, 事例 C, 事例 D 及び事例 E は同一感染源であることが示唆されたが, 保健所の調査では事例間に疫学的関連性は認められなかった。

約 1 カ月の間に異なる地域で発生した事例 A と事例 B は, MLVA でリピート数が 4 loci 異なり, SNPs 数も 24~28 であったが, cgMLST 解析では 2,501 loci でアレル番号が一致していた。cgMLST は, 解析する全ての菌株が共通して持つコアゲノムを対象としており, そのアレル番号が一致したことから事例 A 及び事例 B の 6 株は同一起源のクローンであると考えられた。一方で同じ菌種でも保有の有無が異なるアクセサリーゲノム上に存在する高度可変領域を解析対象とし, DNA 複製の際のコピーミスなど細かい変異を捉える MLVA や, ゲノム DNA 上の一塩基の違いを検出する SNPs 解析において違いが見られた。これらのことから, 事例 A と事例 B は同一感染源ではないものの, 各事例を引き起こした要因は関係している可能性が示唆された。家畜等の腸管内で 0157 が分裂を繰り返すうちにコピーミスや一塩基置換等がおこり, 処理過程でそれらが付着した肉等が, 異なる場所で感染事例を引き起こした可能性が考えられる。

今回の調査により, MLVA が 0157 において優れた型別能を持つことが確認できたが, WGS による解析を追加し, コアゲノムやアクセサリーゲノムを組み合わせるなど多角的な解析を行うことで, より詳細に事例間の関連性の検討が行えることが示された。WGS を用いた解析には時間とコストがかかるため, 全ての事例での対応は難しいものの, 疫学的関連性が不明な場合など MLVA だけでは判断に苦慮する場面においては, 積極的に実施することで, より詳細な疫学調査を進めるための科学的根拠となりうると考えられる。

文 献

- 1) 「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」(平成 30 年 6 月 29 日付け事務連絡)
- 2) Rossen JWA et al.: Practical issues in implementing Whole-genome-sequencing in routine diagnostic microbiology, *Clin Microbiol Infect*, 24, 355 ~ 360(2018)
- 3) 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, 569 ~ 577(2010)
- 4) Chen S et al.: Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, *Bioinformatics*, 34(17), i884~890(2018)
- 5) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snippy>
- 6) Croucher NJ: Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins, *Nucleic Acids Research*, 43(3), e15(2015)
- 7) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snp-dists>
- 8) 石原朋子 他 : 腸管出血性大腸菌の分子型別, *IASR*, 35(5), 129~130(2014)
- 9) Schürch AC et al.: Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene-based approaches, *Clin Microbiol Infect*, 24, 350 ~ 354(2018)

広島市における PM_{2.5} 無機成分分析調査結果 (2021～2023 年度)

仙本 清孝^{*1} 大前 多佳子 竹内 由香理 佐々木 珠生
花木 陽子^{*2} 舟原 康博

ここ数年日本国内の微小粒子状物質(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⁾。

一方で、広島市をはじめ瀬戸内海周辺では PM_{2.5} の環境基準達成率の低い地域がみられる¹⁾。この地域は重工業や船舶の往来が盛んであることから、ローカルな汚染要因の解明が待たれている。本報では、2021～2023 年度の 3 年間継続して PM_{2.5} の無機元素成分分析を実施し、風向や後方流跡線解析から発生源の推定を試みた。その結果、越境大気だけではなく広島市の周辺地域が発生源になっている可能性が示唆された。

キーワード： 微小粒子状物質(PM_{2.5})、無機元素成分、大気環境、後方流跡線解析、PMF 解析

は じ め に

PM_{2.5} とは、大気中に浮遊している 2.5 μm 以下の粒子のことであり、非常に小さいため肺の奥深くまで入りやすく、呼吸器や循環器系への影響が心配されている。平成 21 年に PM_{2.5} 濃度の環境基準が設けられ、「1 年平均値が 15 μg/m³ 以下であり、かつ、1 日平均値が 35 μg/m³ 以下であること」と定められている。

近年では日本国内の PM_{2.5} 濃度は減少傾向にある。その要因として、中国をはじめとした東アジア地域の大気環境改善による越境大気汚染の減少が挙げられる。しかし、広島市では依然として環境基準である 1 日平均値 35 μg/m³ を超過する日が存在する。広島市は瀬戸内工業地域に属しており、周辺には化学工場や自動車関連工場が多く、自動車や船の往来も盛んである。このようなローカルな発生源による影響が、越境大気汚染と比較して相対的に高くなっていると考えられるため、PM_{2.5} の対策を検討する上で、発生源を正確に把握することが重要である。表 1 に示すように、無機元素成分は発生源を推定する上で良い指標となる。一方で、PM_{2.5} は季節変動が大きいため、長期的な調査が必要である。

そこで本報では、2021～2023 年度の期間、日毎

に PM_{2.5} 採取とその元素分析を行い、風向との関係や後方流跡線解析から発生源の推定を試みるとともに、Positive Matrix Factorization (PMF) 解析から発生源の寄与率を推算した。

方 法

1 調査地点及び期間

図 1 に示す広島市衛生研究所(4 階建)の屋上で、2021 年 4 月 1 日～2024 年 3 月 31 日(採取開始日

表 1 無機元素の主要発生源²⁾

元素	主要発生源
Na	海塩粒子
Fe	鉄鋼工業、道路粉じん、ブレーキ粉じん
Zn	鉄鋼工業、廃棄物焼却、タイヤ粉じん
Cu	鉄鋼工業、廃棄物焼却、ブレーキ粉じん
Mn	鉄鋼工業
Ni	鉄鋼工業、石油燃焼
V	石油燃焼
Al	土壤、道路粉じん
Ca	土壤、道路粉じん、鉄鋼工業
Ti	土壤、道路粉じん、ブレーキ粉じん、鉄鋼工業
K	野焼き(バイオマス燃焼)、廃棄物焼却
As	廃棄物焼却
Sb	廃棄物焼却、ブレーキ粉じん

*1：現 環境局業務部産業廃棄物指導課

*2：現 環境局業務部業務第二課

図1 PM_{2.5}調査及び気象観測地点

を採取日とする)に実施した。なお、表2に示すように長期休暇による採取装置の最大連続稼働時間の上限(5日間)及び悪天候等により採取できなかった日がある。

2 分析方法

分析のフローを図2に示す。予め秤量済みのフィルターを用いて毎日午前9時30分から連続通気を行い、翌日同時刻にフィルターを回収、秤量を行いPM_{2.5}の質量濃度を次式により算出した。

$$C = (W_e - W_b) / V$$

C : PM_{2.5}の質量濃度(μg/m³)

W_e : 採取後のフィルター重量(μg)

W_b : 採取前のフィルター重量(μg)

V : 吸引大気量(m³)

その後、PTFEフィルターを1/2にカットして、硝酸・フッ酸・過酸化水素を添加し、マイクロウェーブ分解装置で分解・濃縮した。それを10mLに定容し、ICP-MSにて32項目の無機元素を測定した。

表2 長期休暇・悪天候等による未採取日

年度	未採取日
2021	4/30～5/5, 5/11, 5/29～30, 9/17～20, 11/19～21, 12/28～1/3(合計23日)
2022	9/5～6, 9/16～19, 10/27, 11/11～13, 12/28～1/3(合計17日)
2023	5/2～7, 6/27～28, 8/9～13, 10/4, 11/17～19, 12/19, 12/28～1/3, 2/12 (合計26日)

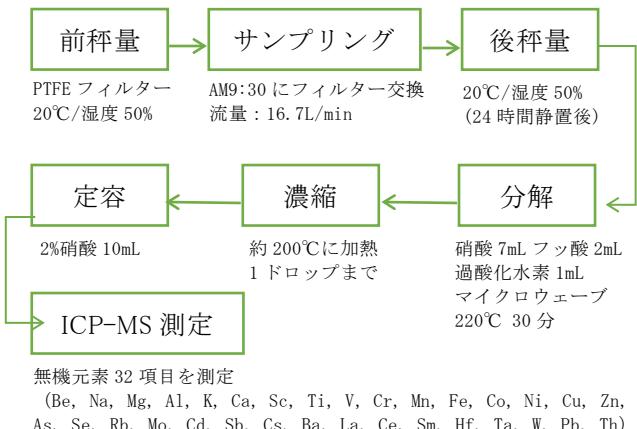


図2 無機元素成分の分析フロー

3 使用機器等

調査に使用した機器を表3に示す。

4 風向風速及び後方流跡線解析

風向風速については、採取地点から約1km離れている井口小学校測定期(図1)で観測されたデータを参照した。また地球環境データベース(GED)³⁾が提供する流跡線解析(METEX)で後方流跡線解析を行い、大気の輸送経路を把握した。解析時に設定したパラメータを表4に示す。

5 PMFによる発生源解析⁴⁾

PMF解析は、大気中のPM_{2.5}の発生源を推定するための代表的な解析方法である。観測データを基に統計的に因子を抽出し、それぞれの因子がどの発生源に対応するかを推定できる。ただし、解析するにあたって無機元素の分析結果に加え、炭素成分やイオン成分の分析結果も必要になる。

そこで、井口小学校測定期(図1)で1年に4回(春夏秋冬)実施しているPM_{2.5}の成分分析のデータを元に図3のフローに従って解析した。解析ソフトはEPA(アメリカ環境保護庁)が提供するPMF5.0を使用した。

表3 使用機器一覧

試料採取	LV-250R(柴田科学社製)
フィルター	PTFEフィルターφ47mm (Whatman社製及びPALL社製)
分解・濃縮	ETHOS EASY (マイルストーンゼネラル社製)
ICP-MS	NexION2000 (Perkin Elmer社製)

表 4 流跡線解析パラメータ

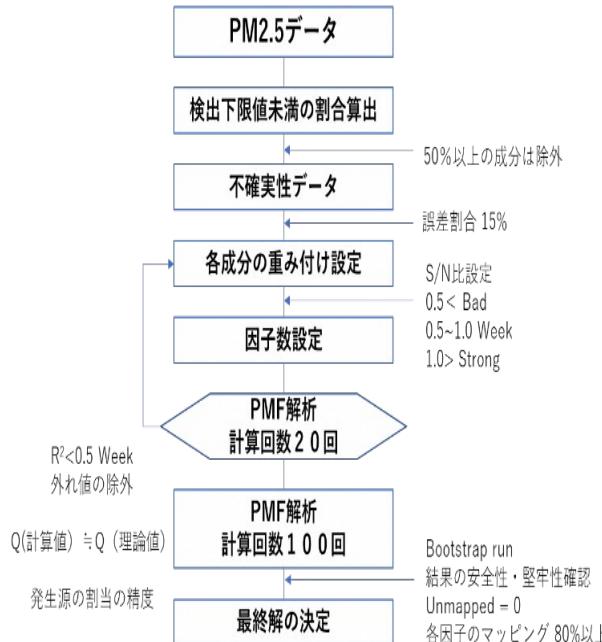


図 3 PMF 解析フロー

到達点	広島市衛生研究所
到達高度	500m
起点時間	観測日(12:00)の72時間前
モデル	3次元(kinematic)法

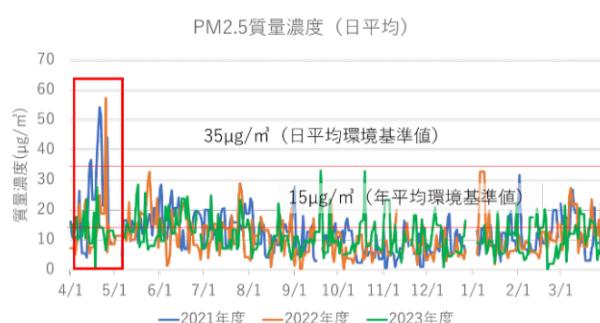
因子数の決定は Bootstrap の Mapping で Unmapped が現れないこと、各因子の配分が 80% 以上であることを基本的な条件とした。また、切り分けられた因子について、大気中での存在が説明できることを条件とした。例えば、単一の成分の配分割合が、きわめて高い因子が切り分けられた場合、大気中での発生源が説明できないときは、因子数を変えて再解析することとした。最適な条件を検討した結果、因子数を 6 とし、表 5 に示すデータセットで解析を行い、寄与率の推算と発生源因子の推定を行った。なお、因子数を 6 で設定した場合の Bootstrap の Mapping 結果を表 6 に示す。

表 5 2021~2023 年度の PMF 解析内容

対象期間	2021 年度		2022 年度		2023 年度		
	春	5/15~5/28	夏	5/13~5/26	秋	5/11~5/23	
検出下限値未満のデータ		検出下限値の 1/2 で置換					
不確実性データ		誤差割合 15%					
重み付け		Strong	Mg ²⁺ , SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , NH ₄ ⁺ , Na, Al, Si, K, V, Mn, Fe, Cu, Zn, As, Se, Rb, Sb, Cs, Th, Pb, OC, EC				
Weak			Cl ⁻ , Ca, Ti, Cr, Co, Ni, Mo, Hf, W				
Bad			Sc, Ba, La, Ce, Sm, Ta				
Weak			PM _{2.5}				
Total Variable							

表 6 Bootstrap factor と Base factor の Mapping

	Bootstrap factor1	Bootstrap factor2	Bootstrap factor3	Bootstrap factor4	Bootstrap factor5	Bootstrap factor6	Unmapped
Base Factor1	100	0	0	0	0	0	0
Base Factor2	0	100	0	0	0	0	0
Base Factor3	0	0	100	0	0	0	0
Base Factor4	0	0	0	100	0	0	0
Base Factor5	0	0	0	0	100	0	0
Base Factor6	0	0	0	0	0	100	0

図4 2021～2023年度のPM_{2.5}質量濃度推移表7 PM_{2.5}質量濃度が35µg/m³以上の観測日と風向

観測日	質量濃度(µg/m ³)	最多風向
2021/4/14	35.2	NNW
2021/4/15	36.6	SSW
2021/4/19	37.3	SSW
2021/4/20	46.4	SSW
2021/4/21	54.2	S
2021/4/22	51.1	SSW
2021/4/26	44.1	SSW
2022/4/25	57.3	NE

は無かったものの、黄砂の影響を受けていることが示唆された。一方で表7の最多風向をみると、8日あった観測日のうち6日は大陸とは反対側の風向を観測しており、日本国内周辺の大気流入も示唆され、越境大気と国内の排出源の双方が合わさることで濃度が高まった可能性がある。

b カリウム(K)バイオマス燃焼由来成分

Kの濃度が高い上位10日について図6の後方流跡線解析では、越境大気の流入が6日確認された。また、表8の上位10日の観測日における最多風向

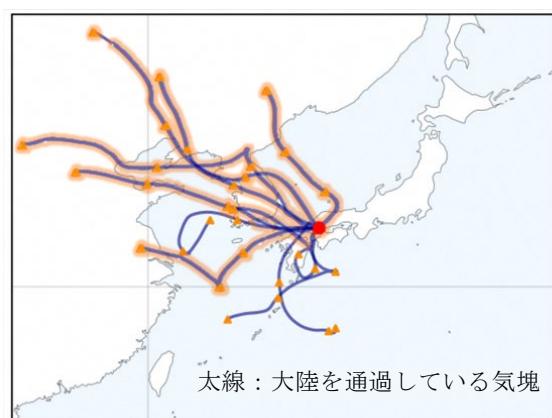


図6 カリウム濃度上位10日の後方流跡線

表8 カリウム濃度上位10日の観測日と最多風向

観測日	K(ng/m ³)	質量濃度(µg/m ³)	最多風向
2022/2/2	170	31.7	NNW
2023/4/12	170	23.7	WSW
2023/4/20	180	19.0	S
2023/5/17	180	28.4	CALM
2023/5/22	230	25.6	NNE
2024/2/9	260	17.5	NNE
2024/2/10	260	17.5	CALM
2024/2/11	260	17.5	SW
2024/2/12	260	17.5	SSW
2024/2/14	270	20.4	CALM

結果と考察

1 無機元素分析

(1) PM_{2.5}質量濃度

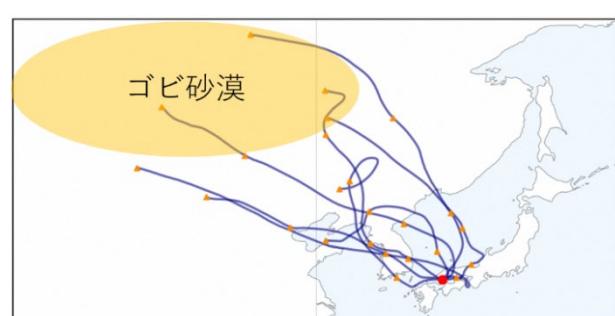
環境基準値(日平均 35µg/m³以上)を超過する日数は2021年度に7日、2022年度に1日、2023年度に0日の合計で8日あった(図4)。全て4月中に観測された一方で、黄砂観測日に該当した日はなく、黄砂以外が影響してPM_{2.5}濃度を高めている可能性が示唆された。

(2) 無機元素分析および後方流跡線解析

2021～2022年度の2年間は全ての観測日について無機元素分析を実施し、2023年度は2年間の傾向を加味しPM_{2.5}質量濃度が15µg/m³以上の観測日に絞って分析を実施した。32項目の無機元素のうち、表1において主要発生源が比較的限られている元素(K, V, Mn)について、発生源推定に有用であると考え、測定期間中の濃度推移をみた。また、濃度の高い上位10日分については後方流跡線解析で遠方地域の影響、最多風向で近隣地域の影響について調査した。

a PM_{2.5}質量濃度35µg/m³以上の観測日

図5の後方流跡線解析から全ての気塊で越境大気の流入が見られた。依然として越境大気の影響があると考えられる。また、一部は大陸内の砂漠地帯から流跡線が伸びており、黄砂観測日に該当する日

図5 PM_{2.5}質量濃度が35µg/m³以上の後方流跡線

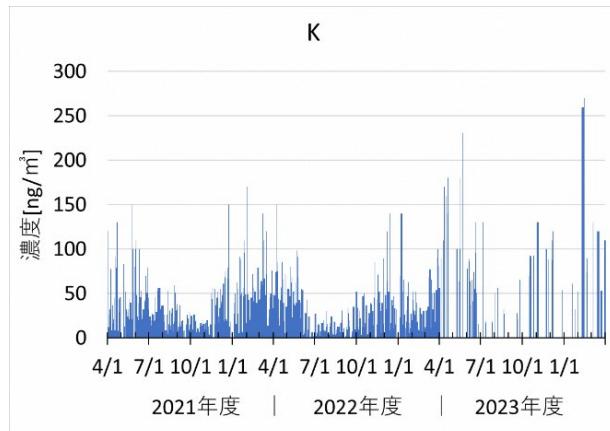


図 7 2021～2023 年度のカリウム濃度推移

について、大陸側とは反対の風向及び無風の日は 7 日であった。

図 7 の 2021～2023 年度の K の濃度推移では、冬から春にかけて濃度が高い傾向が認められ、冬は野焼きや暖房によるバイオマス燃焼⁵⁾、春は黄砂の影響を受けた可能性も考えられる⁶⁾。また、2023 年度は前の年度に比べ増加傾向にあり、新型コロナが 5 類感染症になった(2023 年 5 月 8 日)ことで季節行事や経済活動が活発になったことが一因と考えられる。これらのことから、バイオマス燃焼等の K を指標とする発生源は大陸及び日本国内周辺の双方の影響が示唆された。

c バナジウム(V)石油燃焼由来成分

V の濃度が高い上位 10 日について図 8 の後方流跡線解析では、越境大気の流入は 10 日中 4 日確認された。上位 10 日の観測日における最多風向データ(表 9)では大陸側とは反対の風向及び無風の日は 10 日中 9 日であり、越境大気よりも周辺地域の影響が比較的大きいことが示唆された。図 9 の濃度推移では 5～6 月前半に濃度が高い傾向であった。

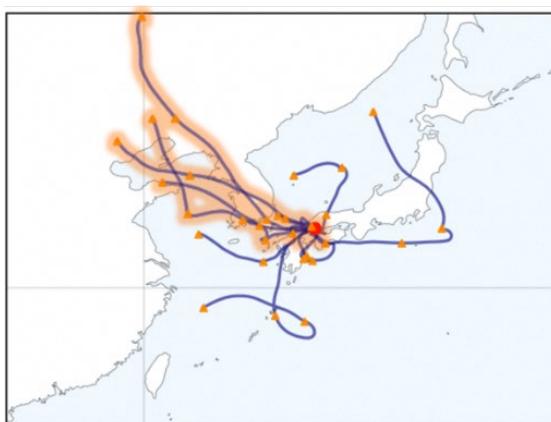


図 8 バナジウム濃度上位 10 日の後方流跡線

表 9 バナジウム濃度上位 10 日の観測日と最多風向

観測日	V (ng/m³)	質量濃度 (μg/m³)	最多風向
2021/12/15	3.2	17.4	CALM
2022/5/17	3.1	15.8	SSW
2022/5/19	3.6	19.2	SSW
2022/6/2	3.3	16.1	SSW
2022/6/15	4.6	20.7	S
2023/4/19	3.6	27.7	SE
2023/6/5	5.1	21.1	CALM
2023/6/7	3.7	21.5	SSW
2023/6/20	3.6	24.4	S
2023/12/6	3.5	20.8	WNW

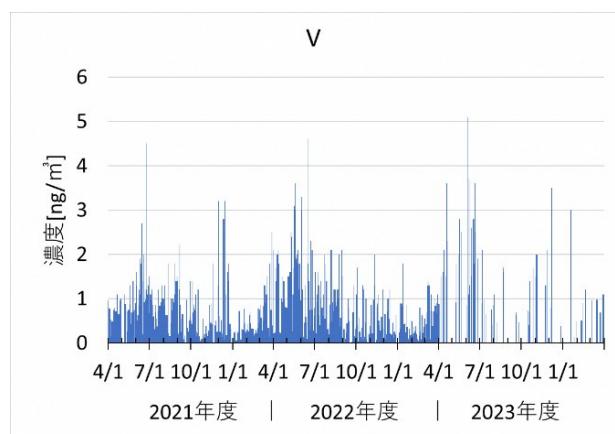


図 9 2021～2023 年度のバナジウム濃度推移

発生源の一因として船舶の排ガスがある。図 10 に 2024 年 10 月 4 日の船舶位置情報を示す⁷⁾。瀬戸内海の船舶数の密度が高いことがわかる。このことから、石油燃焼成分に含まれる V の発生源は船舶が一つの発生源になっているとともに、日本国内からの影響が大きいことが示唆された。

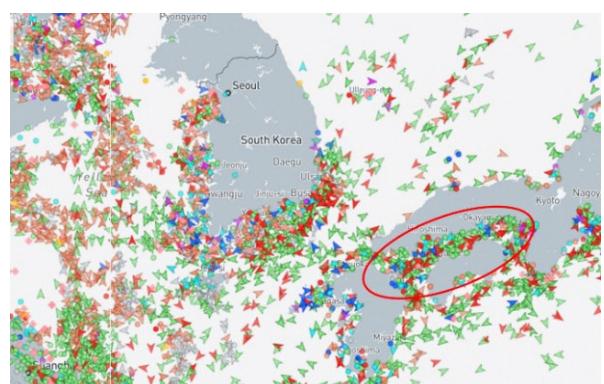


図 10 船舶の航行状況(2024 年 10 月 4 日)

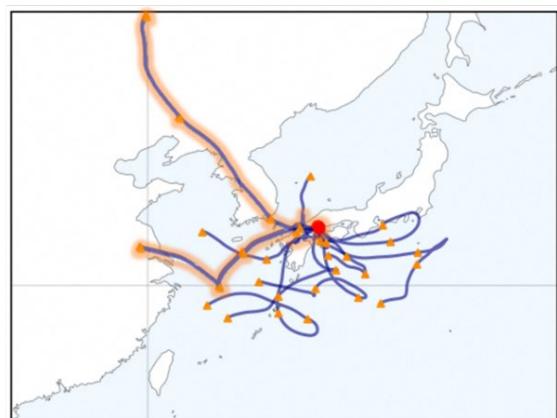


図 11 マンガン濃度上位 10 日の後方流跡線

d マンガン(Mn)鉄鋼工業由来成分

図 11 の Mn の上位 10 日の後方流跡線解析では、越境大気の流入が 10 日中 2 日しか観測されなかつた。上位 10 日の観測日における最多風向データ(表 10)からは大陸と反対側の風向及び無風の日は 10 日中 7 日であり、越境大気よりも日本国内の影響が大きいことが示唆された。また、図 12 の濃度推移では V に近い挙動を示しており、大気が安定しやすいタイミングで濃度が高くなっていると考えられる。

図 13 に国内の製鉄所の位置を示す。瀬戸内海周辺に製鉄所が多数存在していることがわかる。これらのことから、鉄鋼工業等の Mn を指標とする発生源は、日本国内の影響が越境大気よりも比較的大きい可能性がある。

(3) PMF 解析

無機元素成分について季節変動の把握や発生源の推測は可能であったが、発生源の寄与率について

表 10 マンガン濃度上位 10 日の観測日と
最多風向

觀測日	Mn (ng/m ³)	質量濃度 (μg/m ³)	最多風向
2022/4/21	18	24.9	S
2022/5/11	14	22.6	SSW
2023/3/23	14	16.0	NNE
2023/4/19	23	27.7	SE
2023/4/20	13	19.0	S
2023/5/17	13	28.4	CALM
2023/6/1	19	16.9	CALM
2023/6/5	14	21.1	CALM
2023/12/6	16	20.8	WNW
2024/2/19	23	20.2	W

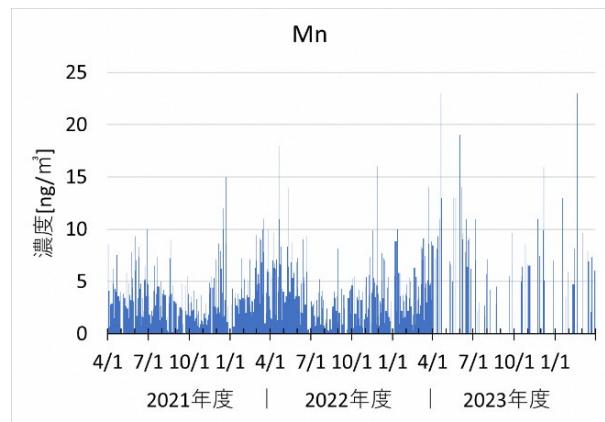


図 12 2021～2023 年度のマンガン濃度推移

は推測できなかった。そこで、2021～2023 年度の井口小学校測定局における PM_{2.5} 成分分析データをもとに PMF 解析を実施し、発生源の寄与率を推算した。

図 14 に PMF 解析による 2021～2023 年度の寄与率の推算結果を示す。なお、寄与率はデータで取得した全日数を平均した割合である。

最も寄与率が高かったのは硫酸系二次粒子・石油燃焼由来で35%を占めていた(図14)。また、図15の寄与濃度の季節変動から、硫酸系二次粒子・石油燃焼成分は春や夏に多くなる傾向があり、同様の発生源を持つVの濃度推移(図9)に近似していた。春や夏は比較的風が穏やかで、日射量が多いため、光化学反応による硫酸系二次粒子の生成が促進され、寄与率が高まったと考えられる。発生源としては船舶や発電所、工場などの排ガスが挙げられ、PM_{2.5}の対策に重要な位置づけにあると認識できた。

次に寄与率が高かったのは硝酸系二次粒子・バイオマス燃焼であり、15%であった(図14)。図15から冬に多い傾向があり、同様の発生源をもつKの濃度推移(図7)に近似していた。Kの後方流跡線解析や風向風速の結果から一部は越境大気による影



図 13 日本の製鉄所⁸⁾

響が考えられるとともに、広島市周辺での野焼きや廃棄物焼却などの国内由来の成分双方による影響が考えられる。

工業系粉じんの寄与率は 13%で、春に多い傾向(図 15)があり、Mn に近い挙動(図 12)を示していた。Mn の後方流跡線解析から国内由来の可能性が高く、瀬戸内工業地域などの影響を受けていると考えられる。

土壤成分は黄砂が観測される春に多い傾向(図 15)があるが、春以外の季節では比較的少なく、図 14 の寄与率では 6%と比較的寄与率は低かった。

ま と め

無機元素成分分析と PMF 解析を行った結果、発生源として越境由来だけでなく国内由来の寄与もあることが示唆された。特に広島市へ越境大気が流入するとともに、大気が安定したタイミングで $PM_{2.5}$ 濃度が高くなる傾向があった。また、硫酸系二次粒子・石油燃焼の寄与率が最も多く、 $PM_{2.5}$ の対策に重要な位置づけにあると考えられる。他にも野焼きや道路交通による粉じんなど、人為的かつローカルな発生源による影響が示唆された。

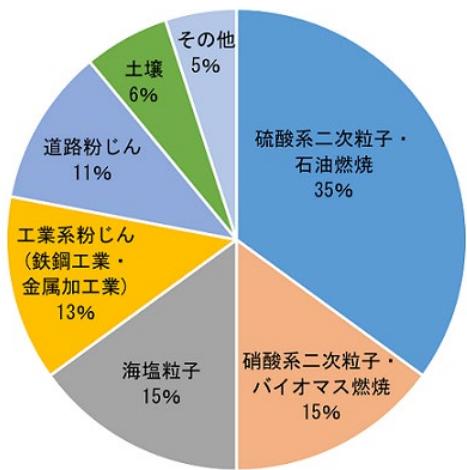


図 14 PMF 解析による 2021~2023 年度の寄与率の推算

文 献

- 環境省：微小粒子状物質($PM_{2.5}$)の発生源別寄与割合等に係る知見の整理、資料 11-1, 62-1(2019)
- 環境省：微小粒子状物質($PM_{2.5}$)の成分測定マニュアル 無機元素測定法第 2 版(2019)
- 地球環境研究センター：地球環境データベース(GED), <https://db.cger.nies.go.jp/ged/ja/index.html>(2024. 11. 20 アクセス)
- EPA : Positive Matrix Factorization 5.0 Fundamentals and User Guide(2014)
- 荻野浩之 他：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(1), 38~44(2006)
- 環境省：令和元年度黄砂飛来状況調査報告書, 82~90(2021)
- Marine Traffic : Global Ship Tracking Intelligence, <https://www.marinetraffic.com/>(2024. 10. 4 アクセス)
- 東京書籍：Edu Town モノづくりマップ, <https://monozukuri.edutown.jp/map/iron/>(2024. 10. 4 アクセス)

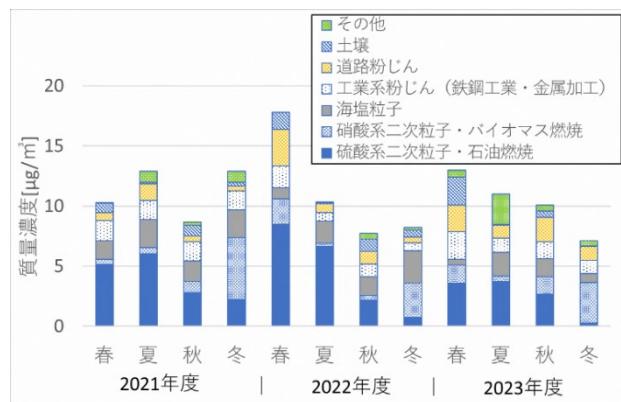


図 15 PMF 解析による寄与濃度の季節変動

II 資 料

広島市感染症発生動向調査事業における 感染症の発生動向(2024年)

小川 秋奈 山岡 誠司* 白田 美由紀 吉岡 英明

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、その結果を感染症週報や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、感染症の発生予防及び蔓延防止に努めている。

2024年の本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

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)、五類感染症定点把握対象疾患(インフルエンザ等26疾患)及び新型インフルエンザ等感染症(新型インフルエンザ等4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、医療機関から届出基準に従って直ちに又は7日以内に、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。届出された患者情報は、各区保健センターから感染症サーベイランスシステムにより感染症情報センターへ伝送され、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)へ伝送するとともに集計を行った。

なお、市内の患者定点の内訳は、インフルエンザ/COVID-19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) 全数把握及び週報対象の定点把握疾患

2024年1月1日～2024年12月29日(2024年第1週～第52週)

(2) 月報対象の定点把握対象疾患

2024年1月1日～2024年12月31日

結 果

1 全数把握対象疾患

2024年は、医療機関等より25疾患の届出があった(表1)。

(1) 腸管出血性大腸菌感染症

毎年、全国では3,000件を超える届出があり、集団感染事例も報告されている。本市では、28件の届出があった。血清型別の内訳は、O26が12件、O157が11件、O103が2件、O91、O115及び型別不能が各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	107
三類	腸管出血性大腸菌感染症	28
四類	E型肝炎	2
	A型肝炎	3
	重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)	2
	つつが虫病	4
	デング熱	2
	日本紅斑熱	1
	レジオネラ症	23
五類	アメーバ赤痢	4
	ウイルス性肝炎	1
	カルバペネム耐性腸内細菌目 細菌感染症	10
	急性弛緩性麻痺 (急性灰白髄炎を除く。)	2
	急性脳炎	12
	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	19
	後天性免疫不全症候群	8
	ジアルジア症	2
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	4
	侵襲性肺炎球菌感染症	17
	水痘(入院例に限る。)	3
	梅毒	161
	播種性クリプトコックス症	1
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	8
	百日咳	44

*: 現 環境局環境保全課

(2) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

19 件の届出があり, 1999 年の感染症法施行以降の調査において最多であった 2019 年の 10 件を上回った。血清群の内訳は, A 群が 14 件, G 群が 5 件であった。

(3) 梅毒

161 件の届出があり, 1999 年の感染症法施行以降の調査において, 2022 年の 317 件, 2023 年の 272 件に次いで 3 番目に多かった。性別では男性が 73% を占めた。年代別では, 男性は 20 代から 50 代の幅広い年代に多く, 女性は 20 代が 65% と最も多かった。

(4) 百日咳

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行以降, 2021 年から 2023 年までは年間 5 件以下の低い水準で推移していたが, 2024 年は第 32 週頃から増加し, 44 件の届出があった。年齢別では 15 歳未満が 61% を占めた。

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/COVID-19 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 19 疾患の年間累積報告数を表 2 に示す。なお, 報告数とは届出された患者数である。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, 新型コロナウイルス感染症(COVID-19), マイコプラズマ肺炎の順に多かった。

以下に, 年間累積報告数が多かった疾患の概要を示す。また, これらの本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

定点当たり累積報告数は 399.67 人で, 前年(486.77 人)からやや減少した(前年比 0.82)。

2024 年は, 第 6 週に 2023/2024 シーズン 2 度目のピーク(定点当たり 34.00 人)となった。以後は減少傾向となり, 第 16 週に定点当たり 1.00 人を下回った。2024/2025 シーズンは第 46 週に流行開始の目安である定点当たり 1.00 人を上回り, 流行入りした。その後, 第 51 週に警報レベル(定点当たり 30 人)を上回り, 第 52 週にピーク(定点当たり 59.39 人)となった。この報告は, 1999 年の感染症法施行以降で最多であった。

b 感染性胃腸炎

定点当たり累積報告数は 265.22 人で, 前年と比べるとやや増加した(前年比 1.10)。小児科定点の定点当たり累積報告総数のうち 36% を占め, 小児科定点報告対象疾患の中で最も多かった。

c 手足口病

定点当たり累積報告数は 229.72 人で, 前年と比べて大きく増加し(前年比 4.75), 1999 年の感染症法施行以降の調査において最多であった。夏季に報告数が多くなる疾患であり, 2024 年は第 28 週にピーク(定点当たり 26.55 人)となった。小児科定点の定点当たり累積報告総数のうち 32% を占め, 小児科定点報告対象疾患の中で感染性胃腸炎に次いで多かった。

d 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)

第 1 週以降増加が続き, 第 5 週にピーク(定点当たり 15.91 人)となった。その後第 19 週にかけて減少傾向となったが, 再び増加し, 第 30 週に 2 度目のピーク(定点当たり 11.46 人)となった。

e マイコプラズマ肺炎

第 27 週頃から増加傾向で推移し, 第 46 週にピーク(定点当たり 9.67 人)となり, 感染症法施行以降の調査において最多であった定点当たり報告数 2.14 人(2006 年第 31 週)を大きく上回った。定点当たり累積報告数についても, 140.78 人と, 過去最多であった 29.73 人(2006 年)を大きく上回り, 過去最大の流行となった。全国的にも報告数が多かった。

(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 疾患の定点当たり累積報告総数は 75.41 人で, 前年と比べて減少した(前年比 0.77)。定点当たり累積報告数は, 性器クラミジア感染症が最も多かった。

b 薬剤耐性菌感染症

対象 3 疾患の定点当たり累積報告総数は 32.99 人で, 前年とほぼ同程度であった(前年比 1.05)。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が最も多かった。

表2 五類感染症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	累積報告数	
		報告数	定点当たり
インフルエンザ /COVID-19 定点	インフルエンザ	14,278	399.67
	新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)	7,317	208.70
	計	21,595	608.37
小児科定点	RSウイルス感染症	760	34.79
	咽頭結膜熱	783	34.87
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	2,786	124.89
	感染性胃腸炎	5,935	265.22
	水痘	233	10.41
	手足口病	5,023	229.72
	伝染性紅斑	40	1.80
	突発性発しん	265	11.90
	ヘルパンギーナ	306	13.91
	流行性耳下腺炎	24	1.07
眼科定点	計	16,155	728.58
	急性出血性結膜炎	5	0.65
	流行性角結膜炎	404	50.65
基幹定点	計	409	51.30
	細菌性髄膜炎	2	0.31
	無菌性髄膜炎	4	0.59
	マイコプラズマ肺炎	873	140.78
	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。)	17	2.44
計	896	144.12	

表3 五類感染症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	累積報告数	
		報告数	定点当たり
性感染症 定点	性器クラミジア感染症	340	41.01
	性器ヘルペスウイルス感染症	101	12.09
	尖圭コンジローマ	91	10.90
	淋菌感染症	95	11.41
基幹定点	計	627	75.41
	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	213	32.23
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	4	0.59
	薬剤耐性緑膿菌感染症	1	0.17
計	218	32.99	

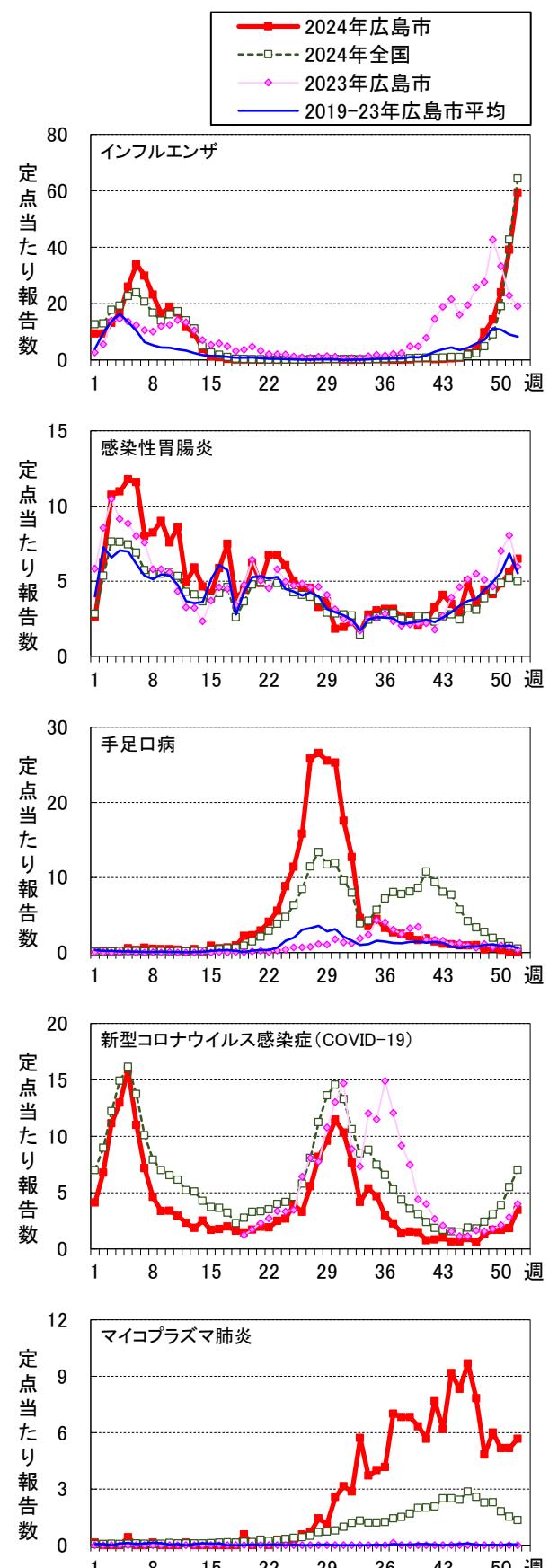


図 定点当たり報告数の週別推移

広島市における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の発生動向

小川 秋奈 山岡 誠司* 真田 美由紀 吉岡 英明

はじめに

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、 β 溶血を示すレンサ球菌によって突然に発症し、敗血症などの重篤な症状を引き起こし急速に多臓器不全が進行することがある重症感染症である。致命率は約30%とされているが、重症化するメカニズムはまだ解明されていない。¹⁾

国内では、現在の集計方法になった2006年4月以来增加傾向で、²⁾年間届出数は2023年に939件、2024年に1,893件(速報値)と、2年連続で最多を更新した。2024年はM1UK系統株の検出数増加やA群溶血性レンサ球菌咽頭炎の増加も確認されているが、関連は不明とされている。³⁾

本市においては、2015年までは年間2件以下の低い水準で推移していたが、2016年以降は増加がみられ、2024年は19件と、過去最多であった2019年の10件を大きく上回った。

今回、発生届の情報をもとに、直近10年間の発生動向について分析した結果を報告する。

方 法

2015年から2024年に本市へ届出のあった劇症型溶血性レンサ球菌感染症68件(表1)を対象として、性別、年代別、血清群別、感染経路別、死亡者数について分析した。なお、各項目の内訳については、図1から図5に件数を示す。

結 果

1 年間届出数の推移

2015年から2024年の年間届出数の推移を図1に示す。2015年以降増加傾向で、2019年に10件の届出があった。新型コロナウイルス感染症(COVID-19)流行後の2020年～2021年は届出数が減少したが、2022年から再び増加に転じ、2024年は19件(前年比3.2倍)と急増し、感染症法施行以降で最多となった。全国も2024年は最多となったが、前年比は2.0倍であり、本市の増加率は高水準であった。

2 性別届出数割合の推移

* : 現 環境局環境保全課

2023年までは女性の割合が比較的高い傾向があった。2024年は男性の届出数が増加し、割合は84%(16件)と高くなった。女性の届出数は3件と、例年と同程度であった(表1)。

3 年代別届出数の推移

年代別届出数の推移を表2及び図2に示す。2024年は、30代が1件、40代が4件、50代が1件、60代が5件、70代が3件、80代が4件、90代以上が1件と、30代以上の幅広い年代で届出があった。2019年以降、80代以上の届出が増加傾向である。20代以下については、2019年と2020年にそれぞれ1件ずつ、10歳未満の届出があったのみである。

4 血清群別届出数及び割合の推移

血清群別届出数及び割合の推移を図3に示す。A群(45件)が最も多く、次いでG群(17件)、B群(5件)の順に多かった。B群の届出があったのは

表1 劇症型溶血性レンサ球菌感染症届出数

年	男性	女性	計
2015	2(100%)	0(0%)	2
2016	2(40%)	3(60%)	5
2017	2(50%)	2(50%)	4
2018	1(17%)	5(83%)	6
2019	3(30%)	7(70%)	10
2020	5(63%)	3(38%)	8
2021	1(33%)	2(67%)	3
2022	2(40%)	3(60%)	5
2023	2(33%)	4(67%)	6
2024	16(84%)	3(16%)	19
計	36	32	68

割合(%) : 小数点以下第1位を四捨五入しているため、合計が100%にならない場合がある。



図1 年間届出数の推移

2017年から2020年までであった。なお、C群の届出はなかった。2022年以降はA群の割合が高い傾向が続いた。

5 感染経路別届出数割合

感染経路別届出数割合(推定を含む)を図4に示す。創傷感染が29件と最も多く、全体の43%を占めた。次いで接触感染3件、経口感染が1件、飛沫感染及び経口感染が1件、その他が7件、不明が27件であった。

6 死亡者数の推移

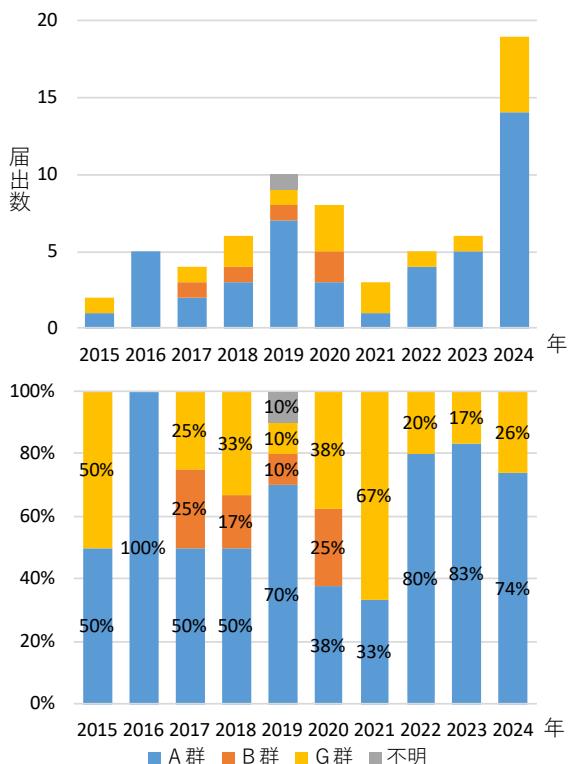
死亡者数(届出時に死亡報告があるものを集計しており、届出後に死亡した例は含まれていない。)の推移を図5に示す。死亡者数は年間5件以下で推移している。2024年は届出数が急増したが、死亡者数の増加は認めなかった。直近10年間の累計死亡者数は20件となり、全体の29%を占めた。

表2 年代別届出数

年 代 年	10 歳 未 満	10 代	20 代	30 代	40 代	50 代	60 代	70 代	80 代	90 代 以 上
2015					1			1		
2016					2	1	1	1		
2017					2			1	1	
2018				2				2	2	
2019	1			3			1	1	1	3
2020	1				3	2		1	1	
2021				1		1	1			
2022			1		1		1	2		
2023						2	2	2		
2024		1	4	1	5	3	4	1		

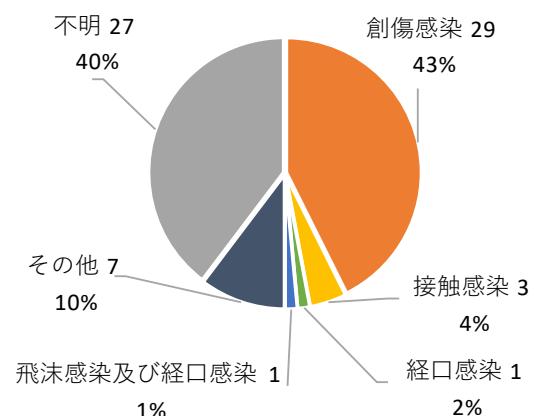


図2 年代別届出数の推移



割合(%)：小数点以下第1位を四捨五入しているため、合計が100%にならない場合がある。

図3 血清群別届出数及び割合の推移



割合(%)：小数点以下第1位を四捨五入しているため、合計が100%にならない場合がある。

図4 感染経路別届出数割合

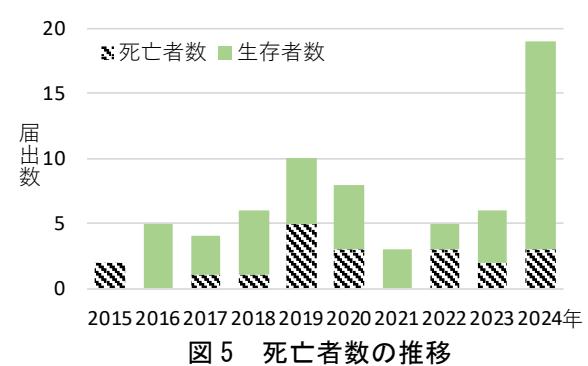


図5 死亡者数の推移

ま　と　め

年間届出数は、2015年以降増加傾向で、2024年は過去最多となる19件の届出があり、前年の3.2倍に急増した。2023年までは女性の割合が高い傾向があったが、2024年は男性の割合が高かった。

年代別では、稀に10歳未満の届出があるほか、多くは30代以上の幅広い年代で届出があった。

血清群は、直近10年間ではA群が最も多く、次いでG群が多かった。2022年以降はA群の割合が高い傾向が続いた。

感染経路は、創傷感染が最も多かった。また、感染経路不明も多かった。

死亡者数は、年間5件以下で推移しており、届出数が急増した2024年も増加を認めなかつた。

文　　献

- 1) 厚生労働省：劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunit/suite/bunya/0000137555_00003.html
- 2) 国立健康危機管理研究機構：感染症発生動向調査で届け出られた劇症型溶血性レンサ球菌感染症(STSS)症例の概要
<https://id-info.jihs.go.jp/surveilliance/idwr/article/tsls/010/index.html>
- 3) 国立健康危機管理研究機構：国内における劇症型溶血性レンサ球菌感染症の増加について(2024年6月時点)
<https://id-info.jihs.go.jp/diseases/ka/stss/010/index.html>

魚介類中の総水銀分析法の妥当性確認

大平 浩史 馬部 文恵 吉岡 英明

はじめに

魚介類中に含まれる水銀は厚生省通知¹⁾により暫定的規制値が定められており、当所では既報²⁾に基づき総水銀及びメチル水銀の測定を行っている。

令和5年度に水銀測定装置及び水銀定量用分解装置を更新したことに伴い、魚介類中の総水銀分析法を検討した。分析法の妥当性確認は、食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドライン³⁾(以下、妥当性ガイドラインと記載。)に従い実施した。

今回の分析法の検討において、魚類中の総水銀分析においては、従来の試験法にヘキサンによる脱脂を加えた。改定後の分析法について、魚類及び貝類において妥当性確認を実施したので報告する。

方 法

1 試料

魚類試料として、チリ産のアトランティックサーモン及びトラウトサーモンを使用した。貝類試料として、広島県産のかきを使用した。各試料の総水銀濃度について、アトランティックサーモンは0.02 µg/g、トラウトサーモン及びかきはいずれも0.01 µg/g未満であり、基準値の1/2以下であることを確認した。

2 試薬

(1) 標準液

水銀標準原液は、富士フィルム和光純薬(株)製水銀標準液(Hg 100)(100mg/L)を使用した。水銀標準原液を0.1mol/L硝酸で希釈し、水銀標準溶液(2mg/L)を調製した。

(2) その他の試薬

硝酸、硫酸及び塩化ヒドロキシルアンモニウム：有害金属測定用(富士フィルム和光純薬(株)製)

過マンガン酸カリウム：有害金属測定用(関東化学(株)製)

尿素：特級(関東化学(株)製)

ヘキサン：残留農薬試験・PCB試験用(5000倍濃縮)(関東化学(株)製)

64%硫酸((1+1)硫酸)：富士フィルム和光純薬(株)製

塩化すず(II)溶液：水銀分析用(関東化学(株)製)

3 装置

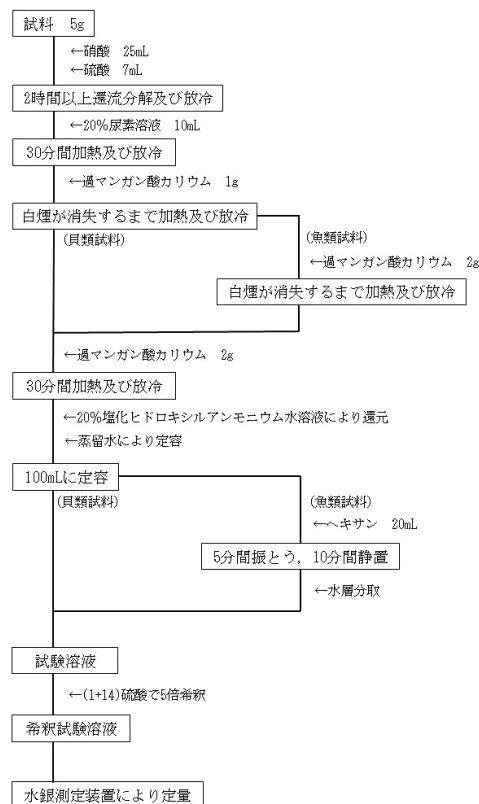


図1 分析法概要

水銀定量用分解装置：HDK-6(宮本理研工業(株)製)

水銀測定装置：MD-700D(京都電子工業(株)製)

4 測定条件

測定時間：180秒

(1+1)硫酸添加量：0.25mL

塩化すず(II)溶液添加量：1.00mL

試料量：5mL

5 試験方法

分析法の概略を図1に示す。既報²⁾から試料採取量、用いる試薬の量を変更した。また、過マンガン酸カリウム1gで加熱を行った場合、紫色の消失を確認した事例があったため、過マンガン酸カリウムを2gずつ追加する手法に変更した。過マンガン酸カリウムの添加量の合計は、魚類試料では5g、貝類試料では3gとした。さらに魚類試料において、ヘキサンによる脱脂操作を追加した。

6 検量線

2(1)で挙げた水銀標準溶液を用いて, 0.050, 0.10, 0.25, 0.50, 1.0, 2.0ng/mL となるように, (1+14) 硫酸で希釈して検量線用標準溶液を調製した。測定の際は既報²⁾に基づき, 1%過マンガン酸カリウム溶液を1滴加えておき, 水銀測定装置での測定直前に20%塩化ヒドロキシルアンモニウム水溶液を1滴加えて測定した。

7 選択性確認

試料を用いて, 5の試験方法により試験溶液を調製し, 5倍希釈したもの(以下, 希釈試験溶液と記載する。)を調製した。また, 上述の試験溶液を5倍希釈して, 水銀標準溶液を1.0ng/mLとなるように添加したもの(以下, 添加希釈試験溶液と記載。)を調製した。

希釈試験溶液及び添加希釈試験溶液を水銀測定装置で分析し, 得られた信号のピーク形状を標準液と比較して, マトリクス中の他金属による定量の妨害がないことを確認した。

さらに, 図2に示す計算式を用いてマトリクスファクターを算出し, マトリクス効果を確認した。

8 妥当性確認

ブランク試料及び添加試料を用いて妥当性確認を行った。添加試料における添加濃度は暫定的規制値の1/2レベルである0.2μg/gとし, 水銀標準溶液を添加して30分間放置してから試験溶液を調製した。添加回収試験は, 実施者1名が2併行で5日間実施した。妥当性ガイドラインに従い, 選択性, 真度, 併行精度及び室内精度を評価した。

また, 実際の試験では低濃度の総水銀を定量する必要があるため, 定量限界を0.01μg/gとし, 定量限界相当濃度の添加回収試験を実施した。妥当性ガイドラインでは0.01μg/gにおける目標値が定められていないため, 厚生省通知添付の「精度管理の一般ガイドライン」⁴⁾を参考として評価した。実施者1名が1併行で5日間添加回収試験を実施し, 回収率が70~120%の範囲内であること, 及びZスコアの絶対値が2未満であることを確認した。

$$\text{マトリクスファクター} = \frac{S' - S'_0}{S - S_0}$$

S: 標準液 1.0ng/mL のピーク面積値

S_0 : (1+14) 硫酸のピーク面積値

S' : 添加希釈試験溶液のピーク面積値

S'_0 : 希釈試験溶液のピーク面積値

図2 マトリクスファクター数式

結果と考察

1 ヘキサン脱脂操作の有用性

当所における総水銀分析は既報²⁾に基づき, 脱脂操作を行わない手法により実施していた。しかし, 魚類試料を用いて試験を行った際に, 添加回収試験の真度がガイドラインの目標値を満たさない事例があった。

本検討で用いた試料は含有する脂質の量に差があり, 可食部100g当たりアトランティックサーモンは17.9g, トロウトサーモンは10.8g, かきは2.2gの脂質が含まれていることが知られている⁵⁾。また総水銀分析において, 脂肪分の多い試料ではヘキサン20mLずつで3回抽出を行うこととされている⁶⁾。以上のことから, 魚類試料を用いて総水銀分析を行う際にはヘキサンによる脱脂を行う必要があると考えた。

添加回収試験を3併行で行い, 試料はアトランティックサーモンを用いて, ヘキサンによる脱脂操作の回数で回収率を比較した。添加濃度は0.01μg/g及び0.2μg/gとした。回収率をグラフにして比較したものを図3及び図4に示す。

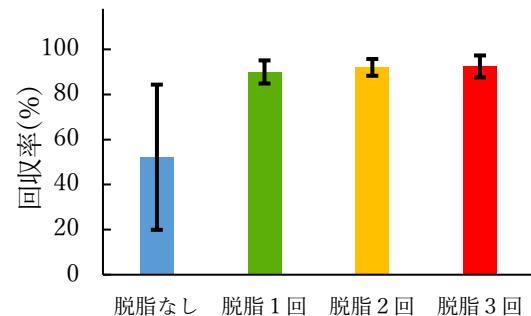


図3 ヘキサン脱脂操作の回数による回収率比較
(試料: アトランティックサーモン, 添加濃度: 0.01μg/g)

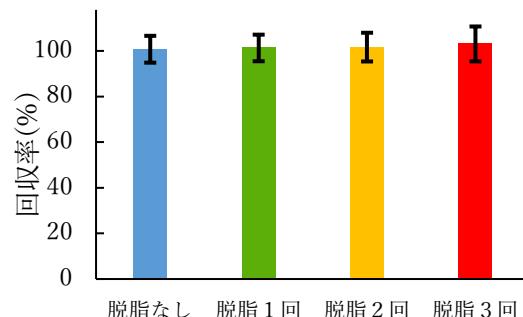


図4 ヘキサン脱脂操作の回数による回収率比較
(試料: アトランティックサーモン, 添加濃度 0.2μg/g)

添加濃度を $0.2\mu\text{g/g}$ とした場合、脱脂操作の有無に関わらず、回収率の有意な差は見られなかった。しかし添加濃度を $0.01\mu\text{g/g}$ とした場合、脱脂を行わなかった試験溶液において回収率の範囲が $18.2\% \sim 82.3\%$ となり、分散が大きく正確な定量が困難であった。しかし、脱脂を 1 回行うことで回収率の範囲は $84.3\% \sim 94.3\%$ となり、回収率のばらつきは改善された。脱脂操作を 2 回及び 3 回実施して同様の検証を行ったが、いずれも脱脂操作 1 回と比較して有意な差は得られなかった。

また、トラウトサーモンでも同様の添加回収試験を行った。回収率をグラフにして比較したものを図 5 及び図 6 に示す。トラウトサーモンでは添加濃度を $0.01\mu\text{g/g}$ とした場合でも、脱脂を行わなかった試験溶液において 100% 程度の回収率が得られた。しかし、トラウトサーモンより多く脂質を含むと考えられるアトランティックサーモンの添加回収試験の結果から、魚類中に含まれる脂質は、総水銀分析に影響を及ぼすことが考えられる。以上の結果から、魚類中の総水銀分析を行う場合において、ヘキ

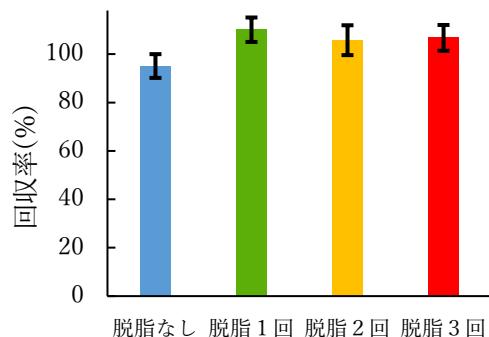


図 5 ヘキサン脱脂操作の回数による回収率比較
(試料 : トラウトサーモン, 添加濃度 : $0.01\mu\text{g/g}$)

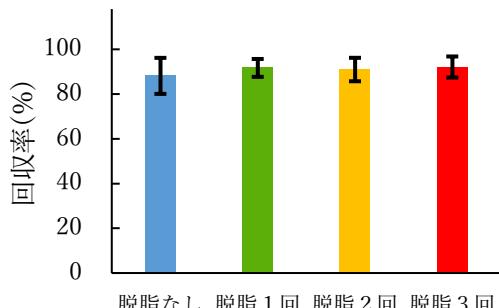


図 6 ヘキサン脱脂操作の回数による回収率比較
(試料 : トラウトサーモン, 添加濃度 : $0.2\mu\text{g/g}$)

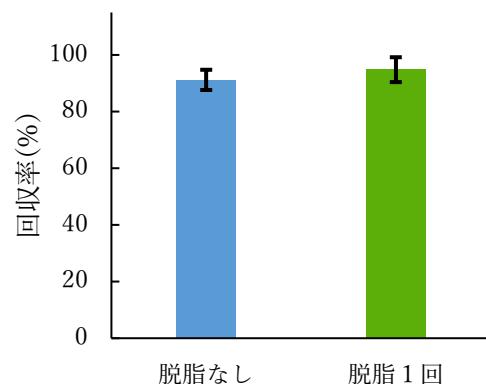


図 7 ヘキサン脱脂操作の有無による回収率比較
(試料 : かき, 添加濃度 $0.01\mu\text{g/g}$)

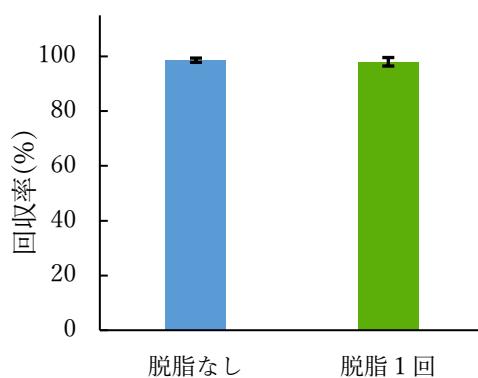


図 8 ヘキサン脱脂操作の有無による回収率比較
(試料 : かき, 添加濃度 $0.2\mu\text{g/g}$)

サンによる脱脂を 1 回行うこととした。

なお、かき試料を用いて同様の検証を行った結果を図 7 及び図 8 に示す。かき中の総水銀分析では、脱脂を行わない場合でも 100% 程度の回収率が得られることを確認した。さらに、脱脂の有無に関わらず、回収率の有意な差は認められなかった。以上の結果から、かき等の貝類試料を用いて総水銀分析を行う場合において、ヘキサンによる脱脂は不要であると判断した。

2 選択性確認

アトランティックサーモン、トラウトサーモン及びかきのピーク形状を図 9 に示す。いずれの試料も標準液 1.0ng/mL と添加希釈試験溶液のピーク形状は類似していた。また、図 2 の数式で算出したマトリクスファクターはアトランティックサーモンで 0.99 、トラウトサーモンで 1.01 、かきで 0.93 といずれも $0.9 \sim 1.1$ の範囲内であり、標準液の添加濃度が定量結果に反映されていることを確認した。以上のことから、アトランティックサーモン、トラ

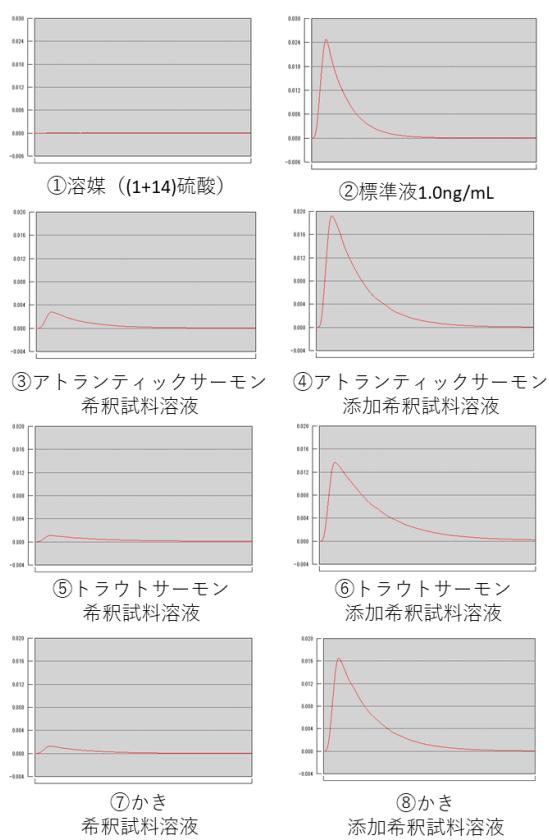


図9 各試料におけるピーク形状

ウトサーモン及びかき中の総水銀分析において、定量の妨害は確認されなかった。

3 真度及び精度の評価

トラウトサーモン及びかきの結果を表1に示す。いずれの試料においても真度、併行精度及び室内精度は、妥当性ガイドラインの目標値を達成した。

4 定量限界相当濃度における回収率及びZスコア評価

トラウトサーモン及びかきの結果を表2及び表3に示す。いずれの試料においても回収率が70～120%の範囲内にあり、Zスコアの絶対値が2未満であることを確認した。

表1 妥当性確認結果

	真度(%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
トラウトサーモン	100.4	2.8	2.8
かき	99.3	1.9	2.5

表2 定量限界相当濃度における回収率及びZスコア評価(トラウトサーモン)

	回収率 (%)	Zスコア
1日目	106.8	0.97
2日目	105.7	0.85
3日目	98.8	0.10
4日目	84.6	-1.46
5日目	93.8	-0.45

表3 定量限界相当濃度における回収率及びZスコア評価(かき)

	回収率 (%)	Zスコア
1日目	101.9	1.27
2日目	92.8	-0.88
3日目	100.3	0.89
4日目	93.8	-0.63
5日目	93.7	-0.65

まとめ

今回更新した水銀測定装置及び水銀定量用分解装置を用いて、トラウトサーモン及びかきの総水銀分析法の妥当性を確認した。魚類試料の分析ではヘキサンによる脱脂操作を加えることで、回収率及び精度の改善を確認できた。

文 献

- 厚生省通知、魚介類の水銀の暫定的規制値について、環乳第99号、昭和48年7月23日
- 松木 司 他：魚介類のメチル水銀及び総水銀分析法の検証、広島市衛生研究所年報、35, 39-44(2016)
- 厚生労働省通知、食品中の金属に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて、食安発第0926001号、平成20年9月26日
- 厚生省通知、食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について、衛食第117号、平成9年4月1日
- 文部科学省、日本食品標準成分表(八訂)
- 公益社団法人 日本薬学会：衛生試験法・注解2020、439(2020)

LC-MS/MS による農作物中の残留農薬 一斉試験法の妥当性評価(第 2 報)

佐藤 香緒里 大平 浩史 馬部 文恵 吉岡 英明

はじめに

当所では、農作物中の残留農薬の試験を行っており、GC-MS/MS 及び LC-MS/MS を用いた一斉試験法を採用している。残留農薬の試験法については、平成 22 年の厚生労働省の通知¹⁾により「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」(以下、「ガイドライン」と記載。)に示す妥当性評価が必要とされており、当所でも対応してきた。²⁾⁻⁴⁾

令和 4 年 1 月に(株)島津製作所の LC-MS/MS に更新したことに伴い、残留農薬の試験において妥当性評価が必要となった。これまでに、ばれいしょ、ブロッコリー、ほうれんそう、トマト、りんご及びレモンの妥当性評価を行い、既報⁵⁾により報告した。今回、その他 10 品目の農作物について妥当性評価を実施したので報告する。

方 法

1 試料

かぼちゃ、きゅうり、こまつな、だいこんの根、たまねぎ、とうもろこし、なす、にんじん、水菜及びれんこんを用いた。

2 試薬

(1) 標準液

農薬混合標準原液は、林純薬工業(株)製 PL2005 農薬 LC/MS Mix4, 5, 6, 11, 12 及び STQ 法用農薬混合標準溶液(極性 53 種類混合)(各 20 μ g/mL)を用いた。

農薬混合標準原液に含まれていない農薬は、富士フィルム和光純薬(株)製及び関東化学(株)製の標準品を使用し、農薬標準原液をアセトニトリルで 200 μ g/mL に調製した。農薬混合標準原液及び農薬標準原液を混合し、混合標準溶液(2 μ g/mL)を調製した。

(2) 内部標準物質

既報⁵⁾のとおり。

(3) 標準液及び内部標準物質以外の試薬

既報^{3), 4)}のとおり。

3 装置

既報⁵⁾のとおり。

4 測定条件

(1) HPLC 条件

既報⁵⁾のとおり。

(2) MS/MS 条件

既報⁵⁾のとおり。

(3) 測定対象物質及び MRM 条件

本試験では、農薬 57 成分を測定対象とした。極性は全て Positive Mode であり、農薬成分の保持時間、m/z 及び CE(V)等の測定条件について、表 1 に示す。なお、内部標準物質は既報⁵⁾のとおりである。

5 試料溶液の調製

試料の調製は既報^{3), 4)}に準じて行った。

6 検量線の作成

既報⁵⁾のとおり。

7 妥当性評価

ブランク試料及び添加試料を用いて妥当性評価を行った。添加試料における添加濃度は 0.01 μ g/g 及び 0.1 μ g/g の 2 濃度とし、混合標準溶液を添加して 30 分間放置してから試料溶液を調製した。添加回収試験は、実施者 1 名が 5 併行で 1 回実施した。ガイドラインに従い、選択性、定量限界、真度及び併行精度を評価した。定量限界は 0.01 μ g/g とし、0.01 μ g/g 添加試料におけるピークの S/N 比が 10 以上であることを確認した。

結 果

選択性、真度、併行精度及び定量限界を求め、各農作物の妥当性が確認された成分数を表 2、妥当性評価を行った結果を表 3 に示す。

これまでに検討した試験方法により、農作物 10 作物について妥当性評価を実施した。今後も当所で検査を行う未評価品目の妥当性評価を行っていく予定である。

文 献

- 1) 厚生労働省通知、食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について、食安発 1224 第 1

号, 平成 22 年 12 月 24 日

- 2) 金行良隆 他: LC/MS/MS 法による農産物中残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 広島市衛生研究所年報, 32, 35~39(2013)
- 3) 金行良隆 他: LC/MS/MS 法による農産物中残留農薬一斉分析法の妥当性評価(第 2 報), 広島市衛生研究所年報, 33, 31~

35(2014)

- 4) 大平浩史 他: 農作物中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価, 広島市衛生研究所年報, 40, 45~88(2021)
- 5) 大平浩史 他: LC-MS/MS による農作物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価, 広島市衛生研究所年報, 42, 27~56(2023)

表 1 農薬成分測定条件

農薬番号	成分名	内部標準物質番号*	保持時間(分)	定量用				確認用			
				m/z	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)	m/z	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	2	9.11	186.10>141.15	-22	-6	-27	186.10>115.15	-22	-38	-21
2	3-ヒドロキシカルボフラン	6	6.48	255.00>163.15	-28	-19	-16	255.00>220.05	-28	-11	-24
3	MPMC	2	12.17	180.00>123.15	-20	-12	-21	180.00>108.15	-21	-26	-11
4	XMC	2	12.85	180.00>123.15	-20	-12	-21	180.00>108.15	-21	-26	-11
5	アジンホスメチル	7	17.95	318.00>132.05	-16	-16	-28	318.00>76.95	-16	-36	-29
6	アセタミドリト	6	6.44	223.10>126.10	-26	-11	-24	223.10>55.95	-26	-16	-22
7	アトラシン	7	14.34	216.10>174.10	-24	-13	-18	216.10>104.05	-24	-30	-20
8	アメトリン	7	19.43	228.10>68.00	-12	-40	-27	228.10>96.00	-12	-26	-17
9	イソウロン	7	11.59	212.10>167.15	-25	-18	-22	212.10>72.15	-23	-30	-26
10	イソプロチオラン	6	22.28	290.80>188.90	-14	-22	-19	290.80>231.00	-14	-7	-24
11	イマザメタヘンズメチルエスチル	7	11.71	289.20>144.00	-15	-25	-14	289.20>229.00	-15	-15	-24
12	イミダクロブリト	1	5.95	256.10>174.95	-13	-20	-18	256.10>209.00	-13	-17	-22
13	エトメセト	6	20.28	304.12>287.00	-11	-10	-30	304.12>240.95	-15	-14	-28
14	オキサンキシル	2	8.95	296.20>219.05	-15	-15	-23	296.20>279.05	-15	-8	-29
15	オキサミル	2	4.61	237.10>72.10	-28	-22	-28	237.10>90.00	-28	-8	-17
16	オキシデトメチル	7	5.14	247.00>125.05	-24	-17	-23	247.00>169.05	-24	-6	-17
17	オメトエート	1	2.85	214.10>125.00	-15	-18	-23	214.10>155.00	-15	-15	-30
18	カブエストロール	6	23.33	351.10>100.05	-18	-11	-18	351.10>72.05	-18	-28	-29
19	カルボキシン	6	11.64	236.10>143.10	-28	-5	-27	236.10>87.00	-28	-25	-17
20	カルボキシンスルホキシド	3	6.74	252.05>159.00	-28	-11	-16	252.05>43.05	-12	-26	-17
21	カルボフラン	2	10.79	222.10>123.15	-25	-11	-24	222.10>165.00	-25	-6	-17
22	キクタミン	7	9.21	208.00>105.05	-23	-24	-20	208.00>77.10	-23	-38	-30
23	クロチアニシン	5	5.99	250.00>132.05	-12	-16	-26	250.00>169.10	-12	-13	-17
24	クロリタゾン	6	6.54	222.10>92.15	-12	-26	-18	222.10>65.15	-12	-38	-26
25	ジクロトホス	2	5.82	237.90>127.00	-12	-16	-22	237.90>193.00	-12	-9	-20
26	ジノテブラン	1	3.38	203.15>87.00	-24	-16	-16	203.15>73.10	-24	-22	-29
27	シマジン	7	10.24	202.10>68.05	-23	-32	-27	202.10>132.10	-23	-18	-26
28	ジメトエート	6	6.44	230.00>198.90	-27	-4	-21	230.00>171.00	-27	-14	-18
29	シメトリン	2	14.44	214.10>96.00	-15	-20	-18	214.10>68.00	-15	-25	-26
30	チアクロブリト	7	7.08	253.00>126.05	-27	-11	-23	253.00>73.00	-27	-55	-28
31	チアメトキサム	3	5.27	292.00>181.10	-15	-22	-18	292.00>211.10	-15	-13	-22
32	テブチウロン	2	11.21	229.10>116.00	-27	-27	-21	229.10>172.00	-27	-7	-18
33	トリシクラゾール	2	7.65	190.10>109.00	-22	-36	-21	190.10>65.10	-22	-50	-24
34	ノルフルラゾン	7	16.62	304.10>283.95	-15	-18	-30	304.10>159.90	-15	-30	-30
35	フェノブカルブ	7	19.29	208.10>77.00	-23	-37	-30	208.10>152.10	-23	-9	-15
36	フェリムゾン	6	20.44	255.20>132.15	-19	-11	-25	255.20>124.00	-19	-16	-23
37	フェンアミトゾン	6	21.34	312.10>92.10	-16	-16	-17	312.10>65.00	-16	-53	-25
38	フェンスルホチオ	7	16.33	309.00>281.00	-24	-15	-19	309.00>157.05	-24	-25	-29
39	フェンチオオキソゾン	3	18.25	263.10>231.00	-13	-10	-24	263.10>216.00	-13	-22	-23
40	フェンチオオキソスルホキシド	6	6.52	279.00>104.05	-14	-24	-19	279.00>261.95	-14	-21	-27
41	フェンチオオキソスルホ	6	6.79	312.10>294.85	-16	-6	-20	312.10>216.90	-16	-24	-23
42	フェンチオスルホキシド	7	11.88	295.00>279.90	-15	-19	-30	295.00>109.00	-15	-32	-20
43	ブラメトビル	6	15.33	334.10>157.10	-10	-17	-30	334.10>290.00	-10	-13	-20
44	フルトリアホール	7	15.51	302.10>70.05	-15	-22	-28	302.10>123.00	-15	-26	-22
45	フルリゾン	6	19.19	330.10>309.00	-23	-31	-22	330.10>310.00	-23	-24	-22
46	ブロバジン	7	19.28	230.12>188.05	-11	-17	-19	230.12>146.00	-11	-22	-14
47	ヘキサンゾン	7	10.57	253.20>171.15	-29	-6	-17	253.20>85.05	-29	-31	-16

表1(続き) 農薬成分測定条件

農薬番号	成分名	内部標準物質番号*	保持時間(分)	定量用				確認用			
				m/z	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)	m/z	Q1 Pre Bias(V)	CE(V)	Q3 Pre Bias(V)
48	ベンチアゾール(TCMTB)	7	19.14	239.00>180.00	-28	-13	-18	239.00>136.00	-28	-25	-25
49	ホスチアゼート	7	13.52	284.10>104.10	-15	-11	-18	284.10>227.85	-15	-6	-23
50	ホスフアミトシン	2	9.52	300.00>174.05	-15	-13	-17	300.00>127.10	-15	-25	-24
51	ミクロブタニル	6	22.99	289.10>70.05	-15	-22	-28	289.10>125.00	-15	-31	-24
52	メタキシリル	7	16.14	280.10>192.05	-14	-13	-20	280.10>160.10	-14	-13	-30
53	メオカルブ	7	20.17	226.10>121.10	-26	-19	-23	226.10>169.05	-26	-10	-17
54	メオカルブスルホキシド	6	6.18	242.10>185.10	-25	-14	-19	242.10>170.00	-25	-23	-17
55	メタチオノン	7	16.94	320.00>145.00	-16	-12	-27	320.00>302.80	-16	-7	-21
56	モノクロトロス	7	5.53	240.90>127.10	-12	-21	-25	240.90>224.00	-12	-7	-22
57	モノリニュロン	2	12.31	215.10>99.10	-25	-34	-19	215.10>148.00	-25	-15	-30

*内部標準物質番号 1:シノテフラン-d₃, 2:ニテンビラム-d₃, 3:チアメキサム-d₃, 4:イクタクロブリド-d₄, 5:クロチアニシン-d₃, 6:アセタミブリド-d₃, 7:チアクロブリド-d₄

表2 妥当性評価結果(まとめ)

農作物名	妥当性が確認された
	成分数
かぼちゃ	45
きゅうり	44
こまつな	34
だいこんの根	14
たまねぎ	35
とうもろこし	35
なす	46
にんじん	36
水菜	43
れんこん	16

表 3-1 妥当性評価結果 (かばちゃ)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	123.4	3.9	76.2	5.9	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	103.7	3.4	85.7	1.8	○	○	○
3	MPMC	87.2	5.8	74.0	3.5	○	○	○
4	XMC	89.8	6.9	74.0	2.8	○	○	○
5	アシンホスメチル	95.0	1.8	70.7	3.7	○	○	○
6	アセタミドリト	78.9	6.8	81.5	3.8	○	○	○
7	アトラン	81.0	5.6	72.8	2.8	○	○	○
8	アメトリソ	82.4	4.5	76.1	2.6	○	○	○
9	イソウロ	80.1	5.3	75.9	3.9	○	○	○
10	イソブロチオラン	125.7	1.5	68.9	2.9	○	×	×
11	イマザメタベンズメチルエステル	75.6	4.6	75.6	3.3	○	○	○
12	イミダクロブリト	67.7	10.1	80.4	4.3	○	×	×
13	エトメセート	128.0	3.0	86.0	1.3	○	×	×
14	オキサジキル	84.8	3.4	79.0	3.4	○	○	○
15	オキサミル	70.6	5.2	68.0	4.7	○	×	×
16	オキシテメトメチル	73.0	6.7	80.7	1.8	○	○	○
17	オメトエート	85.1	2.6	75.5	2.8	○	○	○
18	カフェンストロール	91.6	7.6	69.6	3.3	○	×	×
19	カルボキシン	90.2	3.0	66.4	6.7	○	×	×
20	カルボキシンスルホキシド	98.8	4.3	87.6	4.2	○	○	○
21	カルボフラン	107.4	3.9	103.3	5.4	○	○	○
22	キノクラミン	58.4	5.5	63.8	2.9	○	×	×
23	クロチニジン	82.8	2.9	81.0	3.4	○	○	○
24	クロリダゾン	105.8	2.9	83.2	4.3	○	○	○
25	ジクロトホス	90.2	4.2	78.6	4.0	○	○	○
26	ジノテフラン	84.8	4.4	82.3	1.8	○	○	○
27	シマジン	102.2	6.6	73.0	5.1	○	○	○
28	ジメトエート	83.7	3.8	82.6	4.0	○	○	○
29	シメトリソ	87.5	4.5	76.8	3.4	○	○	○
30	チアクロブリト	83.0	5.1	79.4	5.4	○	○	○
31	チアメトキサム	78.1	6.0	81.0	2.8	○	○	○
32	テブチウロ	84.5	2.6	75.6	3.2	○	○	○
33	トリシクラゾール	89.9	2.1	78.0	2.5	○	○	○
34	ノルフルラゾン	87.4	3.6	75.0	3.6	○	○	○
35	フェノカルブ	79.9	9.9	80.8	1.2	○	○	○
36	フェリムゾン	103.3	3.2	75.0	4.6	○	○	○
37	フェンアミドン	135.0	1.6	74.2	2.1	○	×	×
38	フェンスルホチオ	90.3	4.3	75.0	2.6	○	○	○
39	フェンチオキソ	106.3	1.2	82.6	2.7	○	○	○
40	フェンチオノキソスルホキシド	95.8	2.1	81.7	2.0	○	○	○
41	フェンチオノキソスルホン	115.4	0.8	75.8	3.9	○	○	○
42	フェンチオスルホキシド	81.4	3.7	76.9	3.3	○	○	○
43	フラメトビル	112.3	2.3	75.6	2.0	○	○	○
44	フルトリアホール	89.2	3.7	75.0	1.8	○	○	○
45	フルリトゾン	111.9	2.6	75.8	2.4	○	○	○
46	フロバジン	82.0	5.2	78.5	2.1	○	○	○
47	ヘキサジノ	78.8	5.5	75.7	4.3	○	○	○
48	ベンチアゾール(TCMTB)	32.5	12.5	12.5	22.5	○	×	×
49	ホスチアセート	81.2	5.5	80.6	4.2	○	○	○
50	ホスフアミドン	101.9	1.9	79.0	3.4	○	○	○
51	ミクロブタニル	129.4	3.5	73.6	3.2	○	×	×
52	メタラキル	100.0	4.6	78.4	4.2	○	○	○
53	メオカルブ	95.8	4.0	80.0	2.1	○	○	○
54	メオカルブスルホキシド	105.7	1.6	68.6	1.7	○	×	×
55	メダチオ	89.7	2.0	72.8	2.8	○	○	○
56	モノクロトホス	81.6	5.0	76.6	3.4	○	○	○
57	モノリニュロン	91.6	4.9	75.6	3.7	○	○	○

表 3-2 妥当性評価結果 (きゅうり)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	127.0	2.6	83.0	1.8	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	106.7	0.9	93.6	3.1	○	○	○
3	MPMC	113.6	1.3	83.5	4.0	○	○	○
4	XMC	107.3	1.7	83.3	3.9	○	○	○
5	アシンホスメチル	133.1	0.3	83.1	2.3	○	×	×
6	アセタミドリト	106.0	2.8	96.5	3.9	○	○	○
7	アトラン	110.8	1.6	79.1	1.5	○	○	○
8	アメトリソ	104.5	2.3	73.0	1.9	○	○	○
9	イソウロ	104.4	1.7	74.9	1.1	○	○	○
10	イソブロチオラン	114.8	2.0	87.5	3.6	○	○	○
11	イマザメタヘンスメチルエスチル	106.9	1.6	75.0	1.3	○	○	○
12	イミダクロブリト	105.5	3.1	95.6	5.3	○	○	○
13	エトメセート	131.2	0.9	84.8	2.7	○	×	×
14	オキサジキシル	101.2	2.1	83.8	2.6	○	○	○
15	オキサミル	112.2	2.8	102.3	2.3	○	○	○
16	オキシテメトメチル	129.7	4.9	93.4	3.4	○	×	×
17	オメトエート	101.2	0.6	80.4	2.6	○	○	○
18	カフェンストロール	103.5	2.4	86.6	2.5	○	○	○
19	カルボキシン	94.8	7.7	54.5	11.3	○	×	×
20	カルボキシンスルホキシド	92.7	2.9	92.7	2.7	○	○	○
21	カルボフラン	101.3	3.8	90.4	2.7	○	○	○
22	キノクラミン	96.1	2.1	79.1	1.0	○	○	○
23	クロチニジン	93.4	3.8	91.6	2.8	○	○	○
24	クロリタゾン	101.2	0.8	88.9	3.4	○	○	○
25	ジクロトホス	116.6	2.0	85.6	1.8	○	○	○
26	ジノテフラン	92.0	1.2	92.4	2.4	○	○	○
27	ジマジン	145.7	1.2	73.6	2.6	○	×	×
28	ジメトエート	113.0	1.6	92.2	1.6	○	○	○
29	シメトリソ	94.3	2.3	84.3	3.2	○	○	○
30	チアクロブリト	77.8	5.0	90.8	1.3	○	○	○
31	チアメトキサム	114.3	2.0	90.5	2.1	○	○	○
32	テブチウロ	100.3	1.8	88.2	3.0	○	○	○
33	トリシクラゾール	109.4	2.5	81.7	1.9	○	○	○
34	ノルフルラゾン	118.9	0.6	74.4	1.5	○	○	○
35	フェノバカルブ	104.6	3.6	73.8	2.7	○	○	○
36	フェリムゾン	128.4	0.9	81.9	2.3	○	×	×
37	フェンアミドン	113.8	1.7	84.0	3.9	○	○	○
38	フェンスルホチオ	110.5	1.3	76.7	0.9	○	○	○
39	フェンチオノキソ	109.6	3.5	77.8	1.7	○	○	○
40	フェンチオノキソスルホキシド	109.4	1.8	87.3	3.9	○	○	○
41	フェンチオノキソスルホン	118.2	1.0	84.5	3.0	○	○	○
42	フェンチオスルホキシド	102.0	1.6	79.4	1.6	○	○	○
43	フラメトビル	127.2	1.5	83.5	2.6	○	×	×
44	フルトリアホール	110.6	2.1	81.8	1.3	○	○	○
45	フルリトゾン	118.5	2.0	82.4	2.5	○	○	○
46	フロバジン	107.7	0.9	77.4	1.8	○	○	○
47	ヘキサジノン	108.7	1.2	75.5	1.0	○	○	○
48	ベンチアゾール(TCMTB)	125.6	1.0	75.1	1.4	○	×	×
49	ホスチアセート	120.8	1.2	78.6	2.2	○	×	×
50	ホスフアミドン	110.1	3.1	82.0	2.4	○	○	○
51	ミクロブタニル	118.0	1.7	85.2	2.5	○	○	○
52	メタラキシル	123.1	1.3	75.0	1.2	○	×	×
53	メカカルブ	122.4	1.4	76.1	1.0	○	×	×
54	メカカルブスルホキシド	115.9	1.4	89.1	4.6	○	○	○
55	メカダチオ	128.1	1.0	77.1	0.6	○	×	×
56	モノクロトホス	116.6	1.3	79.6	1.8	○	○	○
57	モノリニュロン	102.8	1.5	85.8	2.9	○	○	○

表 3-3 妥当性評価結果 (こまつな)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	149.6	2.4	86.8	6.1	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	101.5	2.3	86.1	2.1	○	○	○
3	MPMC	133.4	1.5	86.6	1.8	○	×	×
4	XMC	130.4	2.0	88.9	1.7	○	×	×
5	アシンホスメチル	135.3	0.9	84.7	0.6	○	×	×
6	アセタミドリト	99.2	3.7	87.8	2.9	○	○	○
7	アトラン	117.4	2.7	84.1	1.3	○	○	○
8	アメトリン	119.9	1.3	80.9	2.2	○	○	○
9	イソウロ	113.6	1.2	82.2	2.3	○	○	○
10	イソブロチオラン	122.7	1.5	83.7	2.9	○	×	×
11	イマザメタベンズメチルエステル	117.2	0.5	80.9	1.9	○	○	○
12	イミダクロブリト	86.7	4.3	84.3	3.2	○	○	○
13	エトメセート	138.0	2.1	85.4	2.4	○	×	×
14	オキサジキル	106.0	3.0	87.7	1.5	○	○	○
15	オキサミル	129.2	0.9	99.6	1.6	○	×	×
16	オキシテメトメチル	141.1	1.0	90.4	1.9	○	×	×
17	オメトエート	117.1	1.3	89.1	3.4	○	○	○
18	カフェンストロール	105.8	3.0	82.9	2.9	○	○	○
19	カルボキシン	113.1	6.0	72.4	6.6	○	○	○
20	カルボキシンスルホキシド	92.2	3.8	89.6	2.2	○	○	○
21	カルボフラン	124.5	3.5	94.8	3.7	○	×	×
22	キノクラミン	115.2	1.9	84.5	3.3	○	○	○
23	クロチアニジン	84.2	1.5	86.2	3.7	○	○	○
24	クロリダゾン	95.7	2.5	82.2	1.7	○	○	○
25	ジクロトホス	139.9	1.7	89.1	3.9	○	×	×
26	ジノテフラン	95.4	1.4	86.4	4.0	○	○	○
27	ジマジン	162.3	1.4	82.9	1.8	○	×	×
28	ジメトエート	112.0	2.3	90.2	2.2	○	○	○
29	ジメトリン	114.8	2.9	89.5	2.1	○	○	○
30	チアクロブリト	84.9	1.7	83.3	4.2	○	○	○
31	チアメトキサム	87.8	2.9	87.2	2.7	○	○	○
32	テブチウロ	119.8	1.7	91.8	2.2	○	○	○
33	トリシクラゾール	115.2	1.1	83.0	2.9	○	○	○
34	ノルフルラゾン	123.1	1.0	79.8	1.8	○	×	×
35	フェノカルブ	115.4	3.4	82.2	2.9	○	○	○
36	フェリムゾン	135.7	1.8	82.0	2.2	○	×	×
37	フェンアミドン	119.2	1.7	81.8	2.0	○	○	○
38	フェンスルホチオ	118.8	1.0	81.3	1.8	○	○	○
39	フェンチオノキソン	131.7	2.8	86.6	4.1	○	×	×
40	フェンチオノキソンスルホキシド	113.7	1.8	82.9	2.5	○	○	○
41	フェンチオノキソンスルホン	119.9	1.1	78.8	3.5	○	○	○
42	フェンチオノスルホキシド	113.4	0.8	87.0	1.5	○	○	○
43	フラメトビル	132.4	1.8	81.4	1.8	○	×	×
44	フルトリアホール	119.2	1.1	87.6	0.9	○	○	○
45	フルリトゾン	133.1	2.0	81.6	2.3	○	×	×
46	フロバジン	119.8	1.1	84.9	2.8	○	○	○
47	ヘキサジノン	115.6	1.4	81.3	1.8	○	○	○
48	ベンチアゾール(TCMTB)	108.5	0.5	77.1	2.2	○	○	○
49	ホスチアセート	131.7	1.2	85.1	1.7	○	×	×
50	ホスフアミドン	116.2	4.1	84.8	0.9	○	○	○
51	ミクロブタニル	124.1	1.9	82.3	2.3	○	×	×
52	メタラキル	129.8	1.3	81.0	1.7	○	×	×
53	メオカルブ	126.6	0.6	81.3	2.5	○	×	×
54	メオカルブスルホキシド	120.0	0.5	81.2	5.2	○	×	×
55	メダチオ	137.0	1.0	80.8	1.5	○	×	×
56	モノクロトホス	113.8	0.5	87.6	1.6	○	○	○
57	モノリニュロン	127.3	3.0	88.7	3.3	○	×	×

表 3-4 妥当性評価結果 (だいこんの根)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	99.0	19.6	90.7	10.5	○	○	○
2	3-ヒドロキシカルボフラン	93.1	22.6	119.0	17.7	○	×	×
3	MPMC	85.7	5.2	92.0	17.3	○	×	×
4	XMC	135.7	3.1	94.6	9.6	○	×	×
5	アシンホスメチル	-	-	104.5	39.1	○	×	×
6	アセタミドリト	-	-	112.6	12.3	○	×	×
7	アトラン	159.5	32.9	116.5	28.5	○	×	×
8	アメトリン	34.5	100.1	128.3	28.7	○	×	×
9	イソウロ	83.7	27.2	102.0	27.3	○	×	×
10	イソブロチオラン	111.9	15.7	96.8	4.9	○	○	○
11	イマサメタベンズメチルエステル	42.2	38.0	111.1	30.5	○	×	×
12	イミダクロブリト	108.3	8.1	94.0	24.0	○	×	×
13	エトメセート	110.0	10.2	113.4	14.3	○	○	○
14	オキサジキル	127.7	2.8	81.6	10.1	○	×	×
15	オキサミル	107.8	1.7	91.6	6.6	○	○	○
16	オキシテメトメチル	42.0	34.3	106.6	29.5	○	×	×
17	オメトエート	89.1	1.6	77.9	3.2	○	○	○
18	カフェンストロール	28.2	61.1	109.1	16.5	○	×	×
19	カルボキシン	70.3	16.3	96.4	10.9	○	○	○
20	カルボキシンスルホキシド	106.5	9.3	92.4	10.4	○	○	○
21	カルボフラン	113.1	7.9	109.5	13.4	○	○	○
22	キノクラミン	45.0	36.5	99.8	31.9	○	×	×
23	クロチニジン	117.2	9.7	86.1	22.7	○	×	×
24	クロリダゾン	78.2	27.9	133.0	10.5	○	×	×
25	ジクロトロス	89.5	10.9	86.4	14.6	○	○	○
26	ジノテフラン	140.9	3.4	88.1	5.7	×	×	×
27	ジマジン	111.5	9.8	102.4	24.3	○	×	×
28	ジメトエート	-	-	105.0	18.2	○	×	×
29	シメトリン	175.2	10.6	100.7	13.3	○	×	×
30	チアクロブリト	40.0	58.2	111.0	37.2	○	×	×
31	チアメトキサム	95.5	13.0	87.9	11.0	○	○	○
32	テブチウロ	68.7	21.6	92.4	13.1	○	×	×
33	トリシクラゾール	80.9	16.1	78.4	16.3	○	×	×
34	ノルフルラゾン	109.1	6.3	99.5	33.4	○	×	×
35	フェノカルブ	65.1	24.5	105.5	28.1	○	×	×
36	フェリムゾン	100.1	15.9	109.2	22.4	○	×	×
37	フェンアミドン	110.5	11.3	95.6	2.7	○	○	○
38	フェンスルホチオ	112.0	23.0	110.1	25.5	○	×	×
39	フェンチオキソ	145.4	9.7	89.3	4.4	○	×	×
40	フェンチオノキソスルホキシド	111.2	21.4	118.6	12.8	○	○	○
41	フェンチオノキソスルホン	101.8	9.2	84.3	14.3	○	○	○
42	フェンチオスルホキシド	26.4	83.8	109.8	29.8	○	×	×
43	フラメトビル	115.3	14.4	116.6	19.1	○	×	×
44	フルトリアホール	86.9	9.5	107.5	27.5	○	×	×
45	フルリゾン	124.9	14.8	101.7	18.5	○	×	×
46	フロバジン	111.2	21.3	117.7	29.1	○	×	×
47	ヘキサジノ	44.3	25.7	123.3	35.2	○	×	×
48	ベンチアゾール(TCMTB)	6.8	149.8	27.1	32.8	○	×	×
49	ホスチアセート	14.0	255.8	124.3	36.8	○	×	×
50	ホスフアミドン	121.2	3.3	90.7	20.0	○	×	×
51	ミクロブタニル	85.5	12.7	100.8	11.4	○	○	○
52	メタラキル	96.9	19.3	99.7	23.3	○	×	×
53	メカカルブ	42.9	23.9	108.0	33.6	○	×	×
54	メカカルブスルホキシド	51.6	27.0	64.9	18.9	○	×	×
55	メカカルブチオ	83.6	28.3	95.0	39.0	○	×	×
56	モノクロトロス	19.7	122.6	123.1	26.1	○	×	×
57	モノリニュロン	138.2	7.1	91.4	9.3	○	×	×

表 3-5 妥当性評価結果 (たまねぎ)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	64.4	13.4	81.6	5.8	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	104.8	6.9	87.8	5.9	○	○	○
3	MPMC	81.3	3.8	73.0	7.0	○	○	○
4	XMC	77.4	2.9	71.6	8.6	○	○	○
5	アシンホスメチル	77.4	7.1	62.1	9.1	○	×	×
6	アセタミドリト	79.3	4.8	87.5	4.7	○	○	○
7	アトラン	113.1	4.8	81.9	3.5	○	○	○
8	アメトリソ	112.1	3.2	76.1	4.1	○	○	○
9	イソウロ	109.3	4.3	81.7	4.3	○	○	○
10	イソブロチオラン	124.7	6.2	100.1	8.6	○	×	×
11	イマザメタベンズメチルエスチル	120.9	4.3	81.7	4.4	○	×	×
12	イミダクロブリト	82.3	5.5	84.9	5.6	○	○	○
13	エトメセト	138.8	2.8	86.7	10.0	×	×	×
14	オキサジキシル	82.8	3.8	86.9	3.2	○	○	○
15	オキサミル	87.0	4.0	87.7	3.2	○	○	○
16	オキシテメトメチル	111.2	3.0	76.6	4.4	○	○	○
17	オメトエート	86.7	3.8	76.3	5.5	○	○	○
18	カフェンストロール	133.0	9.1	103.9	9.2	○	×	×
19	カルボキシン	118.1	10.2	93.3	11.4	○	○	○
20	カルボキシンスルホキシド	72.3	7.5	87.7	5.0	○	○	○
21	カルボフラン	106.2	6.1	108.5	8.4	○	○	○
22	キノクラミン	87.9	4.8	80.2	5.7	○	○	○
23	クロチニジン	68.3	6.6	85.7	5.2	○	×	×
24	クロリダゾン	106.2	5.7	97.9	6.5	○	○	○
25	ジクロトホス	101.8	2.9	85.5	4.6	○	○	○
26	ジノテフラン	61.8	7.2	82.7	4.1	○	×	×
27	ジマジン	122.9	3.2	75.7	6.1	○	×	×
28	ジメトエート	77.0	6.9	76.9	4.9	○	○	○
29	シメトリソ	102.7	3.6	88.8	2.9	○	○	○
30	チアクロブリト	70.8	8.7	78.4	8.2	○	○	○
31	チアメトキサム	70.2	3.0	85.1	3.1	○	○	○
32	テブチウロ	87.6	4.1	86.6	4.1	○	○	○
33	トリシクラゾール	80.4	8.4	79.7	7.8	○	○	○
34	ノルフルラゾン	115.3	4.5	77.6	4.2	○	○	○
35	フェノカルブ	78.5	8.5	69.2	6.7	○	×	×
36	フェリムゾン	156.8	3.3	98.2	6.1	○	×	×
37	フェンアミドン	141.1	4.4	91.6	6.6	○	×	×
38	フェンスルホチオ	107.4	5.3	76.6	4.6	○	○	○
39	フェンチオノキソン	95.8	5.0	83.6	11.2	○	○	○
40	フェンチオノキソンスルホキシド	125.1	3.2	93.9	5.6	○	×	×
41	フェンチオノキソンスルホン	126.4	5.5	89.0	9.6	○	×	×
42	フェンチオンスルホキシド	94.8	7.1	80.1	4.8	○	○	○
43	フルメトビル	153.3	3.5	96.5	7.2	○	×	×
44	フルトリアホール	97.6	5.6	78.4	3.5	○	○	○
45	フルリトゾン	145.4	5.5	92.3	6.7	○	×	×
46	フロバジン	78.7	7.3	67.2	8.3	○	×	×
47	ヘキサジノン	107.1	6.6	78.3	5.7	○	○	○
48	ベンチアゾール(TCMTB)	24.8	4.7	7.3	48.0	○	×	×
49	ホスチアセート	123.7	4.8	86.3	4.4	○	×	×
50	ホスフアミドン	91.8	3.8	80.8	4.5	○	○	○
51	ミクロブタニル	151.2	3.5	97.9	6.4	○	×	×
52	メタラキシル	125.0	3.8	80.8	3.0	○	×	×
53	メカカルブ	106.5	3.0	75.4	3.8	○	○	○
54	メカカルブスルホキシド	75.8	3.2	72.1	7.5	○	○	○
55	メカカルブチオ	93.7	6.1	64.7	10.6	○	×	×
56	モノクロトホス	118.3	4.0	76.3	6.3	○	○	○
57	モノリニュロン	95.0	5.3	85.2	3.2	○	○	○

表 3-6 妥当性評価結果 (とうもろこし)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	122.9	2.9	99.8	9.8	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	120.0	1.7	95.9	4.6	○	○	○
3	MPMC	120.0	1.8	93.2	5.6	○	○	○
4	XMC	118.1	1.6	91.0	5.8	○	○	○
5	アシンホスメチル	134.4	1.7	84.3	3.5	○	×	×
6	アセタミドリト	112.4	0.8	100.4	3.9	○	○	○
7	アトラン	118.5	2.2	85.5	3.5	○	○	○
8	アメトリソ	114.5	2.0	80.0	4.1	○	○	○
9	イソウロ	111.6	2.7	85.1	3.5	○	○	○
10	イソブロチオラン	139.9	1.4	79.7	4.5	○	×	×
11	イマザメタベンズメチルエステル	115.2	2.3	83.8	3.4	○	○	○
12	イミダクロブリト	88.6	4.2	94.5	6.2	○	○	○
13	エトメセート	138.7	1.6	82.9	4.9	○	×	×
14	オキサジキシル	111.0	1.5	94.4	4.6	○	○	○
15	オキサミル	104.2	0.6	89.3	2.4	○	○	○
16	オキシテメトメチル	116.8	2.1	81.9	4.2	○	○	○
17	オメトエート	104.6	1.7	84.5	3.8	○	○	○
18	カフェンストロール	118.6	5.2	89.1	5.1	○	○	○
19	カルボキシン	137.7	2.5	94.5	3.8	○	×	×
20	カルボキシンスルホキシド	85.0	0.7	88.3	2.9	○	○	○
21	カルボフラン	153.0	3.7	145.8	4.2	○	×	×
22	キノクラミン	44.4	9.7	71.2	6.6	○	×	×
23	クロチニジン	94.4	2.3	93.7	4.6	○	○	○
24	クロリタゾン	105.5	3.3	90.1	5.4	○	○	○
25	ジクロトホス	105.0	0.9	88.9	4.8	○	○	○
26	ジノテフラン	95.7	1.7	91.6	5.4	○	○	○
27	ジマジン	132.2	1.8	80.7	5.9	○	×	×
28	ジメトエート	109.9	2.3	94.4	5.5	○	○	○
29	シメトリソ	110.0	2.0	92.4	4.2	○	○	○
30	チアクロブリト	114.2	2.0	99.8	5.2	○	○	○
31	チアメトキサム	96.4	2.5	94.0	3.7	○	○	○
32	テブチウロ	109.4	1.7	90.9	4.5	○	○	○
33	トリシクラゾール	98.0	2.1	90.2	6.0	○	○	○
34	ノルフルラゾン	123.3	2.2	82.5	4.6	○	×	×
35	フェノカルブ	115.4	2.6	81.1	5.4	○	○	○
36	フェリムゾン	136.2	1.9	86.7	4.1	○	×	×
37	フェンアミドン	133.7	2.2	83.5	3.1	○	×	×
38	フェンスルホチオ	121.7	1.4	82.0	4.3	○	×	×
39	フェンチオノキソ	119.4	1.3	92.0	3.5	○	○	○
40	フェンチオノキソスルホキシド	121.4	2.0	88.7	3.8	○	×	×
41	フェンチオノキソスルホン	129.4	1.7	85.5	2.8	○	×	×
42	フェンチオスルホキシド	109.7	2.2	84.3	4.6	○	○	○
43	フラメトビル	146.7	1.5	87.1	4.8	○	×	×
44	フルトリアホール	123.0	2.2	85.5	4.0	○	×	×
45	フルリトゾン	139.8	1.6	83.3	4.1	○	×	×
46	フロバジン	110.9	1.6	81.6	4.7	○	○	○
47	ヘキサジノ	118.9	3.1	86.5	4.4	○	○	○
48	ベンチアゾール(TCMTB)	47.7	7.1	10.1	5.4	○	×	×
49	ホスチアセート	126.7	1.2	91.8	4.1	○	×	×
50	ホスフアミドン	115.1	2.1	88.6	4.3	○	○	○
51	ミクロブタニル	135.2	3.0	81.3	5.0	○	×	×
52	メタラキシル	127.1	1.4	82.7	3.7	○	×	×
53	メオカルブ	118.6	3.0	79.8	4.7	○	○	○
54	メオカルブスルホキシド	115.1	1.9	73.2	5.0	○	○	○
55	メダチオ	130.6	1.9	81.7	4.7	○	×	×
56	モノクロトホス	112.6	1.4	82.6	3.7	○	○	○
57	モノリニュロン	108.2	0.6	91.1	5.5	○	○	○

表 3-7 妥当性評価結果 (なす)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	135.0	2.9	81.4	7.9	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	102.4	2.7	91.1	3.2	○	○	○
3	MPMC	124.5	2.7	90.0	2.7	○	×	×
4	XMC	117.1	2.5	89.1	3.0	○	○	○
5	アシンホスメチル	119.6	1.6	82.5	4.6	○	○	○
6	アセタミドリト	84.2	4.8	88.8	5.0	○	○	○
7	アトラン	72.4	3.5	72.6	3.5	○	○	○
8	アメトリン	61.7	5.3	69.6	5.6	○	×	×
9	イソウロ	74.1	4.7	75.1	4.2	○	○	○
10	イソブロチオラン	109.0	2.5	80.4	4.5	○	○	○
11	イマザメタベンズメチルエステル	55.0	6.6	69.3	6.0	○	×	×
12	イミダクロブリト	94.4	4.8	90.9	2.6	○	○	○
13	エトメセト	117.2	1.9	81.4	3.2	○	○	○
14	オキサジキル	105.6	3.8	93.2	4.1	○	○	○
15	オキサミル	121.9	3.3	97.6	2.6	○	×	×
16	オキシテメトメチル	118.2	2.7	86.9	2.3	○	○	○
17	オメトエート	89.0	2.7	78.4	2.3	○	○	○
18	カフェンストロール	101.8	2.7	84.3	3.9	○	○	○
19	カルボキシン	90.2	7.5	58.7	11.8	○	×	×
20	カルボキシンスルホキシド	88.4	3.0	94.8	3.9	○	○	○
21	カルボフラン	125.9	2.4	94.7	4.6	○	×	×
22	キノクラミン	83.4	2.6	75.5	4.3	○	○	○
23	クロチニジン	82.2	5.8	86.6	4.1	○	○	○
24	クロリダゾン	90.8	1.8	84.8	2.7	○	○	○
25	ジクロトホス	119.6	3.0	95.0	2.5	○	○	○
26	ジノテフラン	87.4	2.3	87.7	3.7	○	○	○
27	ジマジン	118.8	3.8	69.2	9.0	○	×	×
28	ジメトエート	106.8	2.2	89.3	3.8	○	○	○
29	ジメトリン	87.2	4.3	84.5	4.8	○	○	○
30	チアクロブリト	80.3	4.3	86.0	4.7	○	○	○
31	チアメトキサム	83.3	4.6	86.7	3.6	○	○	○
32	テブチウロ	86.3	3.1	84.6	5.1	○	○	○
33	トリシクラゾール	89.7	5.1	83.2	4.6	○	○	○
34	ノルフルラゾン	98.3	2.8	75.7	4.3	○	○	○
35	フェノカルブ	80.9	3.4	75.4	4.7	○	○	○
36	フェリムゾン	102.5	2.9	75.3	3.5	○	○	○
37	フェンアミドン	80.3	3.7	72.0	6.1	○	○	○
38	フェンスルホチオン	90.2	4.1	75.8	5.0	○	○	○
39	フェンチオキソウ	92.9	3.5	83.4	5.6	○	○	○
40	フェンチオノキソンスルホキシド	92.6	2.8	84.8	2.8	○	○	○
41	フェンチオノキソンスルホン	113.3	1.8	83.2	3.9	○	○	○
42	フェンチオノスルホキシド	75.0	4.7	77.4	3.8	○	○	○
43	フラメトビル	95.3	2.3	70.5	5.6	○	○	○
44	フルトリアホール	44.4	6.1	54.4	5.7	○	×	×
45	フルリトゾン	89.0	3.7	75.0	5.0	○	○	○
46	フロバジン	64.1	5.9	72.5	4.5	○	×	×
47	ヘキサジノン	55.7	6.8	68.1	4.8	○	×	×
48	ベンチアゾール(TCMTB)	92.7	3.4	74.6	3.5	○	○	○
49	ホスチアセート	93.6	2.2	79.3	3.5	○	○	○
50	ホスフアミドン	103.2	2.7	86.6	2.5	○	○	○
51	ミクロブタニル	97.4	3.3	77.7	4.4	○	○	○
52	メタラキル	94.6	4.4	76.3	3.9	○	○	○
53	メカカルブ	92.5	2.9	75.0	4.6	○	○	○
54	メカカルブスルホキシド	119.1	1.7	81.4	2.9	○	○	○
55	メカチオン	114.3	2.8	78.7	4.2	○	○	○
56	モノクロトホス	105.2	3.9	82.8	5.2	○	○	○
57	モノリニュロン	116.7	2.2	90.4	2.8	○	○	○

表 3-8 妥当性評価結果 (にんじん)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	143.2	6.1	110.1	4.8	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	102.1	1.1	90.1	1.2	○	○	○
3	MPMC	109.1	2.8	87.0	2.4	○	○	○
4	XMC	103.8	2.1	84.4	4.0	○	○	○
5	アシンホスメチル	119.7	0.9	78.9	5.8	○	○	○
6	アセタミドリト	102.4	2.4	96.4	5.2	○	○	○
7	アトラン	123.2	1.2	88.0	4.2	○	×	×
8	アメトリン	112.1	0.6	81.0	2.9	○	○	○
9	イソウロ	110.7	1.4	82.2	3.4	○	○	○
10	イソブロチオラン	135.8	1.2	80.0	4.3	○	×	×
11	イマサメタベンズメチルエステル	117.6	1.4	83.3	3.9	○	○	○
12	イミダクロブリト	85.1	5.1	93.9	3.7	○	○	○
13	エトメセート	119.9	1.6	80.1	3.0	○	○	○
14	オキサジキル	103.2	2.9	90.7	3.5	○	○	○
15	オキサミル	109.0	2.5	93.4	1.9	○	○	○
16	オキシテメトメチル	123.0	2.4	82.1	5.0	○	×	×
17	オメトエート	106.4	2.3	83.3	1.9	○	○	○
18	カフェンストロール	99.6	1.8	85.8	4.6	○	○	○
19	カルボキシン	123.8	2.5	88.1	6.9	○	×	×
20	カルボキシンスルホキシド	98.3	3.4	91.3	1.9	○	○	○
21	カルボフラン	122.6	1.9	99.6	6.4	○	×	×
22	キノクラミン	98.2	2.5	87.1	3.8	○	○	○
23	クロチアニジン	89.3	4.4	90.8	3.7	○	○	○
24	クロリタゾン	100.3	1.0	93.9	3.1	○	○	○
25	ジクロトホス	102.4	4.0	86.1	2.5	○	○	○
26	ジノテフラン	92.0	3.9	90.0	1.7	○	○	○
27	ジマジン	146.1	2.2	92.1	3.9	○	×	×
28	ジメトエート	97.5	3.3	91.3	3.2	○	○	○
29	シメトリン	116.1	2.8	94.0	3.4	○	○	○
30	チアクロブリト	116.7	3.0	95.9	5.5	○	○	○
31	チアメトキサム	102.4	2.4	93.1	4.1	○	○	○
32	テブチウロ	105.9	2.5	93.2	3.0	○	○	○
33	トリシクチロール	99.8	3.7	92.0	2.0	○	○	○
34	ノルフルチロゾン	121.9	0.8	82.5	3.9	○	×	×
35	フェノカルブ	116.9	2.3	79.5	4.1	○	○	○
36	フェリムゾン	132.8	1.7	86.8	3.9	○	×	×
37	フェンアミド	126.7	2.0	82.0	2.3	○	×	×
38	フェンスルホチオ	115.2	0.9	79.4	3.7	○	○	○
39	フェンチオノキソ	119.0	2.5	88.7	3.2	○	○	○
40	フェンチオノキソスルホキシド	120.6	2.4	84.8	1.8	○	×	×
41	フェンチオノキソスルホン	128.0	2.2	83.9	4.1	○	×	×
42	フェンチオスルホキシド	107.8	1.7	80.4	4.2	○	○	○
43	フラメトビル	133.6	1.8	82.9	2.3	○	×	×
44	フルトリアホール	119.5	1.6	86.8	5.0	○	○	○
45	フルリトゾン	128.0	0.9	82.7	2.9	○	×	×
46	フロバジン	116.9	0.9	86.1	4.2	○	○	○
47	ヘキサジノン	127.1	1.3	86.4	8.1	○	×	×
48	ベンチアゾール(TCMTB)	107.4	1.0	74.2	3.7	○	○	○
49	ホスチアセート	124.3	0.7	83.6	4.9	○	×	×
50	ホスフアミド	111.7	2.0	85.9	2.6	○	○	○
51	ミクロブタニル	122.6	2.0	85.6	2.2	○	×	×
52	メタラキル	184.3	1.2	88.4	3.8	×	×	×
53	メカカルブ	120.2	1.5	79.0	5.6	○	×	×
54	メカカルブスルホキシド	120.2	0.2	77.1	2.4	○	×	×
55	メカダチオ	119.5	0.5	77.7	3.8	○	○	○
56	モノクロトホス	124.6	0.8	83.9	4.2	○	×	×
57	モノリニュロン	103.2	3.6	86.4	0.9	○	○	○

表 3-9 妥当性評価結果（水菜）

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	87.7	11.1	90.2	2.2	○	○	○
2	3-ヒドロキシカルボフラン	99.3	2.1	85.9	2.4	○	○	○
3	MPMC	110.4	4.3	84.9	2.5	○	○	○
4	XMC	106.1	4.4	85.6	3.3	○	○	○
5	アシンホスメチル	106.8	2.9	85.7	2.9	○	○	○
6	アセタミドリト	81.3	6.1	87.1	3.5	○	○	○
7	アトラン	122.2	3.5	87.9	1.8	○	×	×
8	アメトリソ	102.0	3.0	86.3	3.2	○	○	○
9	イソウロ	119.5	2.0	89.2	1.0	○	○	○
10	イソブロチオラン	129.4	3.4	83.2	2.3	○	×	×
11	イマザメタベンズメチルエステル	130.3	3.0	89.3	1.0	○	×	×
12	イミダクロブリト	85.0	6.6	85.7	1.3	○	○	○
13	エトメセート	119.2	2.8	81.9	7.4	○	○	○
14	オキサジキル	111.3	4.4	94.7	3.4	○	○	○
15	オキサミル	103.9	2.8	85.0	2.1	○	○	○
16	オキシテメトメチル	122.5	1.9	85.3	1.6	○	×	×
17	オメトエート	112.4	4.6	90.1	2.6	○	○	○
18	カフェンストロール	114.1	4.7	88.4	2.7	○	○	○
19	カルボキシン	104.9	5.0	70.1	7.5	○	○	○
20	カルボキシンスルホキシド	94.5	3.6	88.7	3.1	○	○	○
21	カルボフラン	104.1	4.6	90.0	1.0	○	○	○
22	キノクラミン	74.6	7.3	83.1	3.2	○	○	○
23	クロチニジン	67.4	9.3	86.8	2.9	○	×	×
24	クロリダゾン	94.9	5.2	86.1	2.6	○	○	○
25	ジクロトホス	108.4	3.5	85.5	2.5	○	○	○
26	ジノテフラン	76.8	4.0	86.1	1.8	○	○	○
27	シマジン	140.6	4.4	91.4	2.9	○	×	×
28	ジメトエート	98.8	2.4	87.2	2.9	○	○	○
29	シメトリソ	113.2	3.2	87.2	2.7	○	○	○
30	チアクロブリト	94.8	3.0	90.0	1.5	○	○	○
31	チアメトキサム	91.9	4.6	89.0	2.9	○	○	○
32	テブチウロ	104.8	2.9	85.9	3.3	○	○	○
33	トリシクラゾール	84.1	8.7	77.9	5.1	○	○	○
34	ノルフルラゾン	126.6	3.1	89.3	2.0	○	×	×
35	フェノブカルブ	89.9	10.0	92.8	12.0	○	○	○
36	フェリムゾン	136.6	1.7	82.8	1.8	○	×	×
37	フェンアミドン	86.0	1.9	79.5	8.3	○	○	○
38	フェンスルホチオ	116.4	2.8	86.9	2.6	○	○	○
39	フェンチオノキソン	136.4	3.5	94.2	2.2	○	×	×
40	フェンチオノキソンスルホキシド	116.4	2.9	82.3	2.2	○	○	○
41	フェンチオノキソンスルホン	113.6	2.4	74.2	2.2	○	○	○
42	フェンチオヌルホキシド	109.7	5.1	91.3	0.7	○	○	○
43	フルメトビル	131.3	1.9	81.8	2.9	○	×	×
44	フルトリアホール	98.8	5.0	89.6	1.9	○	○	○
45	フルリトゾン	134.9	2.7	87.5	4.7	○	×	×
46	フロバジン	92.8	7.4	95.4	8.5	○	○	○
47	ヘキサジノン	122.1	3.9	82.4	11.6	○	×	×
48	ベンチアゾール(TCMTB)	88.6	12.0	86.3	10.6	○	○	○
49	ホスチアセート	118.6	11.7	90.7	1.3	○	○	○
50	ホスフアミドン	110.0	3.2	89.0	2.8	○	○	○
51	ミクロブタニル	112.1	3.2	81.4	1.6	○	○	○
52	メタラキル	134.6	3.9	89.0	1.0	○	×	×
53	メカカルブ	109.4	5.1	86.2	8.7	○	○	○
54	メカカルブスルホキシド	109.9	1.5	67.9	2.2	○	×	×
55	メカダチオ	119.6	3.7	87.5	2.0	○	○	○
56	モノクロトホス	119.2	3.1	84.3	1.3	○	○	○
57	モノリニュロン	104.8	2.7	87.9	3.5	○	○	○

表 3-10 妥当性評価結果 (れんこん)

農薬番号	農薬名	添加濃度 0.01µg/g		添加濃度 0.1µg/g		選択性	定量限界	評価結果
		真度(%)	併行精度(RSD%)	真度(%)	併行精度(RSD%)			
1	2-(1-ナフチル)アセタミド	91.6	12.7	66.3	16.7	○	×	×
2	3-ヒドロキシカルボフラン	75.4	37.2	87.6	29.1	○	×	×
3	MPMC	83.5	4.1	69.9	3.3	○	×	×
4	XMC	96.5	4.6	77.4	3.7	○	○	○
5	アシンホスメチル	236.0	12.6	115.4	10.8	○	×	×
6	アセタミドリト	84.0	12.1	84.4	10.3	○	○	○
7	アトラン	232.9	9.4	156.7	14.4	○	×	×
8	アメトリン	212.6	18.1	146.4	7.7	○	×	×
9	イソウロ	248.6	7.2	143.5	12.1	○	×	×
10	イソブロチオラン	109.5	8.1	90.3	7.7	○	○	○
11	イマザメタベンズメチルエステル	232.8	10.1	142.4	16.4	○	×	×
12	イミダクロブリト	54.6	52.2	75.3	21.9	○	×	×
13	エトメセート	161.7	4.2	89.2	7.9	○	×	×
14	オキサジキル	104.2	6.6	72.5	3.7	○	○	○
15	オキサミル	82.4	3.5	84.2	2.3	○	○	○
16	オキシテメトメチル	225.2	8.0	128.1	13.8	○	×	×
17	オメトエート	88.9	3.9	70.7	7.7	○	○	○
18	カフェンストロール	84.1	7.7	76.1	10.6	○	○	○
19	カルボキシン	102.1	11.6	82.2	8.7	○	○	○
20	カルボキシンスルホキシド	129.3	3.6	64.9	15.9	○	×	×
21	カルボフラン	86.4	10.8	83.4	6.8	○	○	○
22	キノクラミン	220.5	11.2	130.2	17.6	○	×	×
23	クロチニジン	89.0	21.0	86.6	18.2	○	×	×
24	クロリダゾン	119.4	14.3	77.6	25.5	○	×	×
25	ジクロトホス	57.7	17.6	71.4	13.9	○	×	×
26	ジノテフラン	86.6	1.8	80.2	4.6	○	○	○
27	ジマジン	196.7	13.8	135.0	11.6	○	×	×
28	ジメトエート	97.2	19.1	87.8	27.6	○	×	×
29	ジメトリン	123.1	1.7	79.6	1.3	○	×	×
30	チアクロブリト	101.2	14.0	87.0	17.7	○	×	×
31	チアメトキサム	130.7	1.5	75.9	2.9	○	×	×
32	テブチウロ	73.6	10.1	86.8	4.3	○	○	○
33	トリシクラゾール	53.8	21.9	52.9	8.8	○	×	×
34	ノルフルラゾン	99.6	6.2	55.9	6.8	○	×	×
35	フェノカルブ	207.4	16.5	156.8	11.1	○	×	×
36	フェリムゾン	145.0	6.4	94.6	11.4	○	×	×
37	フェンアミドン	150.1	9.2	95.0	11.8	○	×	×
38	フェンスルホチオン	238.5	9.3	150.4	14.4	○	×	×
39	フェンチオキソイソ	157.0	4.5	86.8	14.4	○	×	×
40	フェンチオノキソスルホキシド	100.9	9.7	90.9	9.2	○	○	○
41	フェンチオノキソスルホン	94.7	15.7	71.3	9.7	○	○	○
42	フェンチオスルホキシド	204.9	14.1	135.9	12.0	○	×	×
43	フルメトビル	164.1	5.4	91.1	6.8	○	×	×
44	フルトリアホール	273.3	6.2	153.1	12.2	○	×	×
45	フルリドン	102.8	7.6	96.4	1.8	○	○	○
46	フロバジン	252.0	13.4	174.4	11.0	○	×	×
47	ヘキサジノン	205.3	21.5	141.3	13.1	○	×	×
48	ベンチアゾール(TCMTB)	166.0	17.7	112.4	10.2	○	×	×
49	ホスチアセート	228.9	8.9	145.5	7.9	○	×	×
50	ホスフアミドン	93.4	4.5	78.2	10.3	○	○	○
51	ミクロブタニル	132.4	5.4	89.7	10.4	○	×	×
52	メタラキル	263.0	10.9	151.5	12.0	○	×	×
53	メカカルブ	251.7	14.1	147.1	13.9	○	×	×
54	メカカルブスルホキシド	125.7	9.0	72.6	12.4	○	×	×
55	メカチオン	201.9	9.4	129.8	14.1	○	×	×
56	モノクロトホス	207.7	19.5	160.2	20.7	○	×	×
57	モノリニュロン	109.0	4.2	78.8	2.0	○	○	○

2017 年から 2023 年に分離された *Campylobacter jejuni/coli* の mP-BIT 法による分子疫学解析

池田 伸代 大原 有希絵¹ 坂本 悠紀子 濱岡 恵里香
千神 彩香 兼重 泰弘 末永 朱美² 山本 美和子

は じ め に

カンピロバクター属菌による食中毒は、近年国内の細菌性食中毒の中で最も発生件数が多い食中毒であり¹⁾、*Campylobacter jejuni*(以下 *C. jejuni*)と*Campylobacter coli*(以下 *C. coli*)の2菌種が食中毒の病原物質に指定されている。食中毒等の有症事例において、分離菌株の疫学的な解析は、感染経路・原因食品の特定のために重要であるが、従来から用いられてきたパルスフィールドゲル電気泳動法(以下 PFGE 法)の泳動装置の販売がすでに終了していることから、PFGE 法に代わる分子疫学解析法の検討が必要とされている。

近年、*C. jejuni* の新たな分子疫学解析手法として、ゲノム中に分布する 18 の可変要素(細胞表面、運動性、毒素産生に関与する遺伝子等)の有無を PCR により判定し型別を行う Multiplex PCR binary typing(mP-BIT)法が報告された²⁾。また、*C. jejuni* については市販試薬として耐熱性抗原(HS 抗原)による Penner の血清型別法があるが、より型別率の高い方法として、主要な決定因子である莢膜多糖(capsule polysaccharide)の合成遺伝子領域を標的として PCR で型別を行う Penner-PCR 法が報告されている³⁾。これら の方法の型別能を検討するため、当所で分離・収集した *C. jejuni* 株について、mP-BIT 法及び Penner-PCR 法による疫学解析を実施した。また、mP-BIT 法は *C. jejuni* における解析手法であるが、*C. coli* についても活用できるか検討したので併せて報告する。

方 法

1 材料

(1) *C. jejuni*

集団有症事例患者由来 27 株、集団有症事例参考食品由来 41 株、散発有症事例患者由来 7 株、収去等鶏肉由来 5 株の計 80 株を供試した(表のとおり)。

(2) *C. coli*

*1：現 経済観光局農林水産部水産課

*2：現 健康福祉局保健部食肉衛生検査所

集団有症事例患者由来 11 株、集団有症事例参考食品由来 13 株、散発有症事例患者由来 1 株、収去等鶏肉由来 6 株の計 31 株を供試した(表のとおり)。

2 mP-BIT 法

C. jejuni 株及び *C. coli* 株について、アルカリ熱抽出した DNA 鑄型を用い、山田らの方法²⁾により 2 系統の multiplex PCR を実施した。増幅産物の有無を 1 又は 0 で表したバイナリコードを作成し、これを 10 進法に変換して mP-BIT スコアを算出した。

3 Penner-PCR 法

C. jejuni 株について、mP-BIT 法と同じ DNA 鑄型を用い、今野らの方法³⁾により 4 系統の multiplex PCR を実施し、Penner 遺伝子型を決定した。

4 PFGE 法

C. jejuni 株の一部及び *C. coli* 株について、国立感染症研究所及び CDC プロトコールで示された方法に準拠し実施した。制限酵素は *Kpn* I 及び *Sma* I を用いた。系統樹は BioNumerics Ver. 7.5 (Applied Maths) を用いて作成した。

結 果 と 考 察

各事例から分離された *C. jejuni/coli* 株の mP-BIT スコアと Penner 遺伝子型を表に示した。また、*C. jejuni* 株の PFGE 解析結果を図 1~4 に、*C. coli* 株の PFGE 解析結果を図 5 に示した。なお、PFGE 解析は類似度 90% 以上を同一の PFGE パターンとみなした。

C. jejuni 80 株は 26 種類の mP-BIT スコア、14 種類の Penner 遺伝子型に分けられた。同一の mP-BIT スコアであっても Penner 遺伝子型が異なる株があり、mP-BIT 法と Penner-PCR 法の組み合わせにより 28 のパターンに型別することができた。PFGE 法を実施した 26 株は、mP-BIT 法と Penner-PCR 法の組み合わせでは 8 種類のパターンに、PFGE 解析では 9 種類のパターンに型別され、両手法の解析能は同程度と考えられた。

C. coli 31 株は 8 種類の mP-BIT スコアに、PFGE 解析では 11 種類のパターンに型別され、PFGE 法で

表 各事例から分離された *C. jejuni/coli* 株の mP-BIT スコアと Penner 遺伝子型

事例 ^{*1}	由来	株 No.	菌種 ^{*2}	mP-bit スコア	Penner 遺伝子型	事例 ^{*1}	由来	株 No.	菌種 ^{*2}	mP-bit スコア	Penner 遺伝子型	
2017 散発	患者 1	17006	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群	2020C	参考食品 1	20001	<i>C. j.</i>	10-53	gD 群	
	患者 2	17031	<i>C. c.</i>	136-68			参考食品 2	20002	<i>C. j.</i>	138-311	gI 群	
2017 収去等	鶏肉 1	17011	<i>C. j.</i>	0-388	g0 群		参考食品 3	20003	<i>C. j.</i>	11-311	gD 群	
	鶏肉 2	17014	<i>C. c.</i>	200-196			参考食品 4	20004	<i>C. c.</i>	138-21		
2017E	参考食品	17052	<i>C. j.</i>	0-388	g0 群		参考食品 5	20005	<i>C. j.</i>	62-31	gA 群 HS:1	
2017J	患者	17059	<i>C. j.</i>	8-39	gB 群	2020E	患者 1	20006	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群	
2017N		17068	<i>C. c.</i>	136-1			患者 2	20007	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群	
	患者 1	17069	<i>C. j.</i>	0-292	gR 群 HS:23 /HS:36		患者 3	20008	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群	
		17070	<i>C. c.</i>	136-1			患者 4	20009	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群	
	患者 2	17071	<i>C. c.</i>	136-1			参考食品 1	20010	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群	
	患者 3	17072	<i>C. j.</i>	59-127	gB 群		参考食品 2	20011	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
	参考食品 1	17076	<i>C. c.</i>	136-1			参考食品 3	20012	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
	参考食品 2	17077	<i>C. c.</i>	136-1			参考食品 4	20013	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
	参考食品 3	17078	<i>C. c.</i>	136-1			参考食品 5	20014	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
	参考食品 4	17079	<i>C. c.</i>	136-1				20015	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群	
	参考食品 5	17080	<i>C. c.</i>	136-1		2020F	患者	20016	<i>C. j.</i>	11-55	gC 群 & gR 群 HS:53	
20180		18001	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群	2020H	患者	20017	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	参考食品 1	18002	<i>C. j.</i>	138-183	gI 群		参考食品 1	20018	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
		18007	<i>C. j.</i>	138-55	gI 群		参考食品 2	20019	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	参考食品 2	18003	<i>C. j.</i>	15-311	gB 群		参考食品 2	20020	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
	参考食品 3	18005	<i>C. j.</i>	10-53	gC 群		参考食品 3	20021	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
		18009	<i>C. j.</i>	138-439	gI 群		参考食品 3	20022	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群	
2018 収去等	鶏肉 1	18014	<i>C. c.</i>	138-135			20023	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群		
	鶏肉 2	18015	<i>C. c.</i>	136-1		2020 収去等	鶏肉 1	20024	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
		18016	<i>C. c.</i>	136-1			鶏肉 2	20025	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	鶏肉 3	18017	<i>C. c.</i>	136-1		2020 散発	患者	20026	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
		18018	<i>C. c.</i>	136-0		2021 散発	患者 1	21001	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
2018Q	参考食品 1	18020	<i>C. j.</i>	134-132	UT		患者 2	21002	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	参考食品 2	18021	<i>C. c.</i>	136-1		2022 散発	患者	22001	<i>C. j.</i>	138-52	gB 群	
	患者	18023	<i>C. c.</i>	136-68			患者	22002	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
2018 散発	患者	18031	<i>C. j.</i>	138-53	gB 群	2022B	患者 1	22003	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
2019 収去等	鶏肉	19001	<i>C. j.</i>	62-31	gA 群 HS:1		患者 2	22004	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
2019C	患者	19007	<i>C. c.</i>	138-21			患者 3	22005	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
		19008	<i>C. c.</i>	138-21			患者 4	22006	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	参考食品 1	19010	<i>C. j.</i>	62-31	gA 群 HS:1	2022 収去等	鶏肉	22007	<i>C. j.</i>	186-47	gG 群	
		19011	<i>C. j.</i>	11-55	gD 群	2022F	参考食品	22008	<i>C. j.</i>	62-63	gG 群	
	参考食品 2	19012	<i>C. c.</i>	139-133		2023B	患者 1	23001	<i>C. c.</i>	128-4		
		19013	<i>C. c.</i>	139-133			患者 2	23002	<i>C. j.</i>	134-100	gK 群	
2019E	患者	19014	<i>C. j.</i>	136-39	gJ 群		患者 3	23003	<i>C. c.</i>	128-4		
	参考食品 1	19017	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群		患者 4	23004	<i>C. c.</i>	128-4		
		19018	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群	2023C	患者 1	23005	<i>C. c.</i>	136-68		
		19020	<i>C. c.</i>	138-21			患者 2	23006	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群	
	参考食品 2	19021	<i>C. c.</i>	138-21				23007	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群	
		19022	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群			23008	<i>C. c.</i>	136-68		
2019H	患者 1	19030	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群				23009	<i>C. c.</i>	136-68	
	患者 2	19033	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群				23010	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群
2019J	参考食品 1	19036	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群				23011	<i>C. c.</i>	136-68	
		19037	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群				23012	<i>C. j.</i>	134-128	gZ6 群
	参考食品 2	19038	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群	2023 散発	患者	23013	<i>C. j.</i>	138-52	gB 群	
	参考食品 3	19040	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群	2023F	患者 1	23014	<i>C. j.</i>	10-22	gY 群	
		19041	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群		患者 2	23015	<i>C. j.</i>	10-22	gY 群	
	参考食品 4	19042	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群		患者 3	23016	<i>C. j.</i>	10-22	gY 群	
		19043	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群	2023P	患者 1	23017	<i>C. j.</i>	186-63	gG 群	
	参考食品 5	19044	<i>C. j.</i>	0-260	g0 群		患者 2	23018	<i>C. j.</i>	186-63	gG 群	
		19045	<i>C. j.</i>	15-55	gB 群		患者 3	23019	<i>C. j.</i>	186-63	gG 群	
						2023Y	患者	23020	<i>C. j.</i>	62-255	gB 群	

*1 数字は事例発生年、アルファベットは集団事例を表す。

*2 *C. j.* は *C. jejuni* を、*C. c.* は *C. coli* を表す。

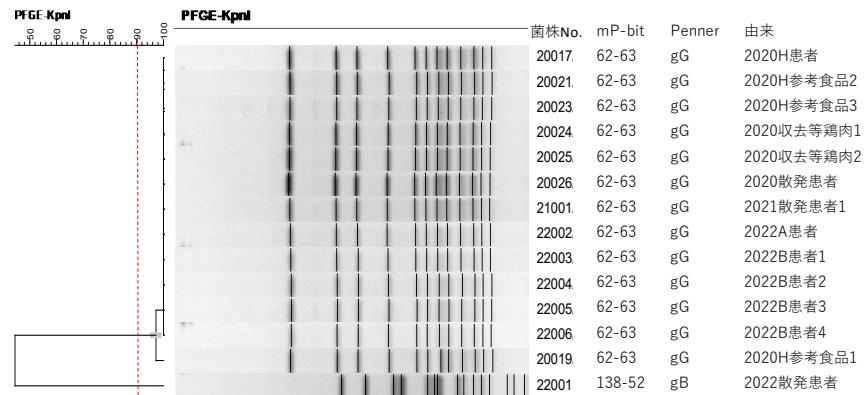


図1 *C. jejuni* 株の PFGE 解析結果 (KpnI) その1

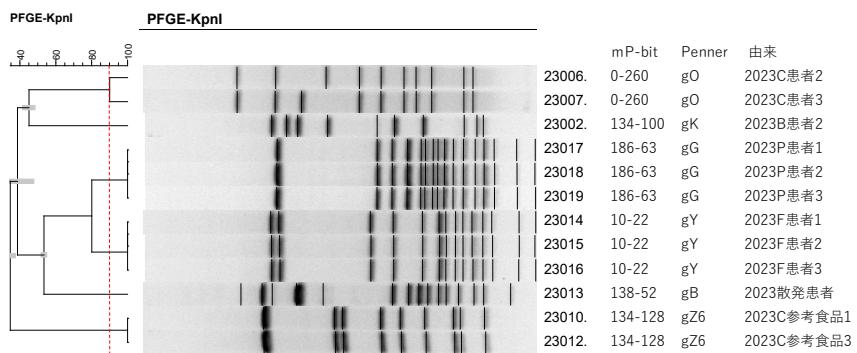


図2 *C. jejuni* 株の PFGE 解析結果 (KpnI) その2

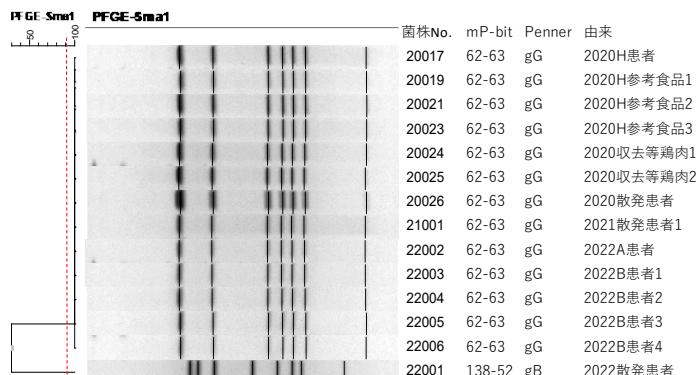


図3 *C. jejuni* 株の PFGE 解析結果 (SmaI) その1

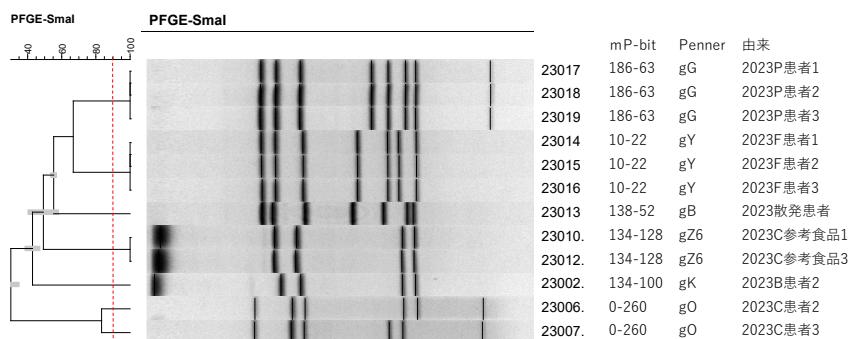
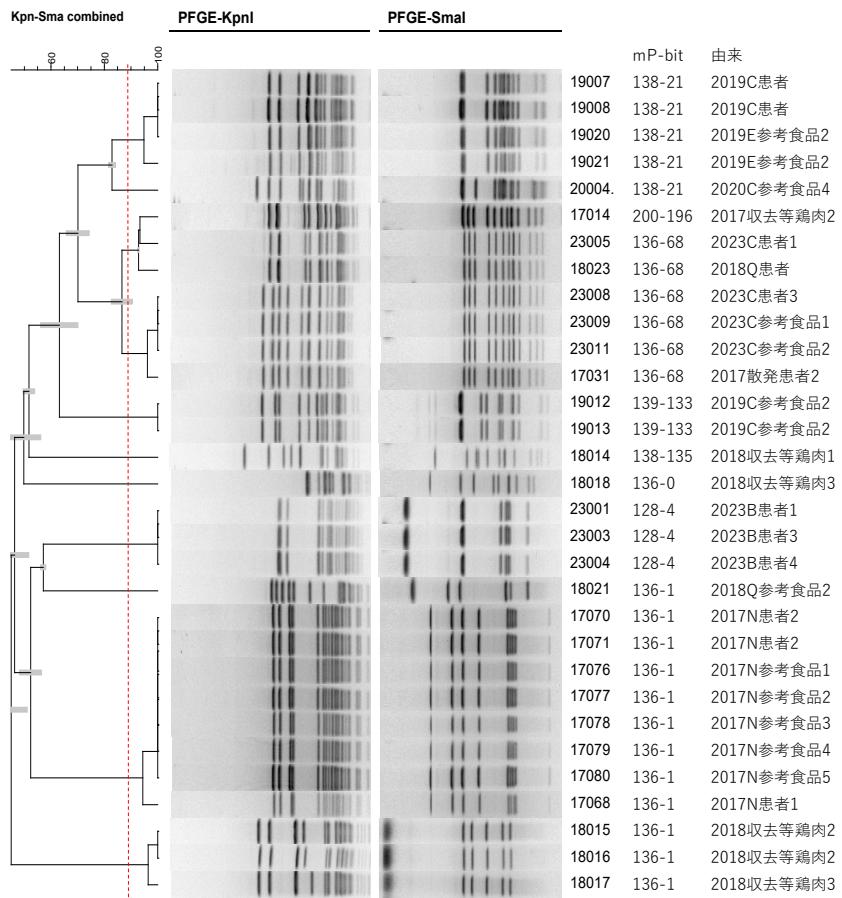


図4 *C. jejuni* 株の PFGE 解析結果 (SmaI) その2

図 5 *C. coli* 株の PFGE 解析結果 (Kpn I 及び Sma I)

はより詳細な型別が可能であった。

集団有症事例由来の *C. jejuni* 株では、2019H, 2020E, 2022B, 2023C, 2023F 及び 2023P の 6 事例において、事例毎に複数の患者由来株が同じ mP-BIT スコア、同じ Penner 遺伝子型を示した。このうち、2022B, 2023C, 2023F 及び 2023P の 4 事例で PFGE 解析を実施したところ、2022B, 2023F 及び 2023P の 3 事例の患者由来株が事例毎に同一のパターンを示した。また、集団有症事例由来の *C. coli* 株では、2017N, 2023B, 2023C の 3 事例において、事例毎に複数の患者由来株が同一の mP-BIT スコアを示し、このうち、2017N, 2023B の 2 事例は PFGE 解析でもそれぞれの事例で同じパターンを示した。

一方、2023C の患者 2 名由来 *C. jejuni* 株は、同じ mP-BIT スコア、同じ Penner 遺伝子型であったが、PFGE 解析では異なる PFGE パターンに型別された(図 4)。また同事例の 2 名からは *C. coli* も分離され、同一の mP-BIT スコアであったが、PFGE 解析では異なるパターンに型別された(図 5)。

事例 2017N, 2020H 及び 2023C では参考食品の鶏肉又は鶏肉加工品から患者由来株と同じ mP-BIT スコアの株が分離され、これらの株は PFGE 法でも同

一パターンに型別された。喫食残品ではなく施設で使用される参考食品であり、明確に汚染経路を特定できるものではないが、当該施設での喫食による食中毒であった可能性を示唆する結果となった。

また、収去や参考食品の鶏肉又は鶏肉加工品は、mP-BIT スコア及び Penner 遺伝子型の異なる複数の型の *C. jejuni* 及び *C. coli* に汚染されているものもあることが確認できた。

C. jejuni においては mP-BIT 法と Penner-PCR 法を組み合わせることで詳細な型別が可能であった。これらの方法の結果と PFGE 解析結果を比較すると、1 事例の患者由来 2 株を除き、型別結果が一致した。患者調査や施設調査等、他の疫学情報ともリンクさせながら判断する必要があるが、mP-BIT 法と Penner-PCR 法を組み合わせた方法は、分離菌株の疫学解析法のひとつとして有用であると考えられた。また、*C. coli* においては、mP-BIT 法による解析結果は PFGE 法と比較するとパターンの種類が少なく、型別能がやや劣る結果となり、他の分子疫学解析法の検討も必要と考えられた。

- 1) 食品安全委員会：食品安全影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉等における *Campylobacter jejuni/coli*～(改訂版),
https://www.fsc.go.jp/risk_profile/index.data/210622CampylobacterRiskprofile.pdf
- 2) Yamada K. et al.: Designing multiplex PCR system of *Campylobacter jejuni* for
- 3) efficient typing by improving monoplex PCR binary typing method, *J. Infect. Chemother.*, 21(1), 50～54(2015)
今野貴之 他：国内の *Campylobacter jejuni* 血清型別に対応した改良 Penner PCR 型別法, *日本食品微生物学会雑誌*, 38(3), 123～128(2021)

2022 年から 2024 年に広島市域で分離された *Salmonella* Enteritidis の分子疫学解析

大原 有希絵* 兼重 泰弘 坂本 悠紀子 池田 伸代
山本 美和子

は じ め に

サルモネラ属菌の血清型は約 2500 種類以上報告されており、そのうちの *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (以下 *S. Enteritidis*) は主に鶏卵やその関連食品から分離される。1989 年以降、鶏卵の *S. Enteritidis* による汚染が原因の食中毒が多発していたが、1998 年の *S. Enteritidis* に対する鶏用ワクチンの承認と普及、1999 年の「食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準」一部改正による鶏卵の表示基準変更や液卵の規格基準設定などにより、サルモネラ属菌食中毒は減少し¹⁾、1998 年には約 60% を占めていたサルモネラ属菌食中毒患者等からの *S. Enteritidis* 分離率は 2022 年には約 9% と大幅に減少した²⁾。

一方、広島市においては 2022 年から 2024 年にかけて *S. Enteritidis* による複数の散発感染事例や集団食中毒事例が発生した。これらの疫学的関連性を検討するため、分離株について全ゲノム解析等詳細な解析を行ったのでその結果を報告する。

方 法

1 材料

2022 年から 2024 年に分離された *S. Enteritidis* 36 株(散発事例由来 14 株(菌株番号 22001～22004, 22006, 22007, 23001, 23021～23024, 24001～24003), 集団食中毒等有症事例由来 22 株(菌株番号 22005, 23002～23020, 24004, 24005))を供試した。

2 薬剤感受性試験

厚生労働科学研究「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」における薬剤感受性検査プロトコル³⁾に準じて、17 種類の薬剤(アンピシリン(ABPC), セフォタキシム(CTX), ゲンタマイシン(GM), カナマイシン(KM), イミペネム(IPM), ノルフロキサシン(NFLX), シプロフロキサシン(CPFX), ナリジクス酸(NA), ST 合剤(SXT), メロペネム(MEPM), セフタジジム(CAZ), ホスホマイシン(FOM), クロラムフェニコール(CP), セフォキシチン(CFX), アミカシン(AMK), ストレプトマイシン(SM), テトラサイクリン(TC))を使用し, CLSI ディ

スク拡散法による薬剤感受性試験を行った。

3 次世代シーケンサー(NGS)による全ゲノム解析

散発事例由来 14 株及び集団食中毒等有症事例 3 事例から 6 株(菌株番号 22005, 23002, 23005, 23018, 24004, 24005)の計 20 株を供試した。Maxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification kit(プロメガ)で抽出したゲノム DNA を用いて Qiaseq FX DNA Library Kit(Qiagen)によりライブラリー調製を行い、次世代シーケンサー iSeq100(illumina)にてリードデータを取得した。

(1) core genome multilocus sequence typing (cgMLST) 解析

NGS により得られたリードデータを、*S. Enteritidis* リファレンス配列(RefSeq accession番号: NC_011294)にマッピングし配列データを決定した。PubMLST (<https://pubmlst.org/>) によりコアゲノムのアレル番号を決定し、BioNumerics Ver. 7.5 (Applied Maths)を用いて最小全域木(Minimum spanning tree, MST)を作成した。

(2) SNPs 解析

NGS により得られたリードデータを、MINTyper⁴⁾ (Center for Genomic Epidemiology (<http://genomicepidemiology.org/services/>)) により SNPs を抽出し、系統樹解析を行った。なお、リファレンス配列は cgMLST 解析と同じ配列のものを使用した。

結 果

1 薬剤感受性試験(表)

菌株番号 22005, 23001, 24001 の 3 株は 17 薬剤全てに感性又は中間であった。他の 33 株は NA に耐性を示し、他の薬剤には感性又は中間であった。

2 cgMLST 解析(図 1)

供試した 20 株のうち、家庭内散発事例、集団事例 B 及び C 由来株を含む 16 株は同一のアレルパターンであった。菌株番号 22005, 23001, 24001, 24003 の 4 株はそれぞれ異なるアレルパターンであった。

3 SNPs 解析(図 2)

菌株番号 22005, 23001, 24001 の SNPs は、50～103 であった。他の 17 株の株間の SNPs は 0～11 であった。また、家庭内散発事例、集団事例 B 及び C 由来株では、それぞれの事例内の SNPs は 0 であった。

* : 現 経済観光局農林水産部水産課

表 薬剤感受性試験結果

事例	菌株番号	由来	分離年月	耐性パターン
散発	22001	患者	2022.5	NA
散発	22002	患者	2022.5	NA
散発	22003	患者	2022.8	NA
散発	22004	患者	2022.9	NA
集団 A	22005	患者	2022.10	—
散発	22006	患者	2022.10	NA
(家庭内)	22007	患者	2022.10	NA
散発	23001	患者	2023.7	—
集団 B	23002~3	スワブ	2023.7	NA
	23004~20	患者	2023.7	NA
散発	23021	患者	2023.7	NA
散発	23022	患者	2023.7	NA
散発	23023	患者	2023.8	NA
散発	23024	患者	2023.10	NA
散発	24001	患者	2024.7	—
散発	24002	患者	2024.7	NA
散発	24003	患者	2024.7	NA
集団 C	24004	患者	2024.8	NA
	24005	患者	2024.8	NA

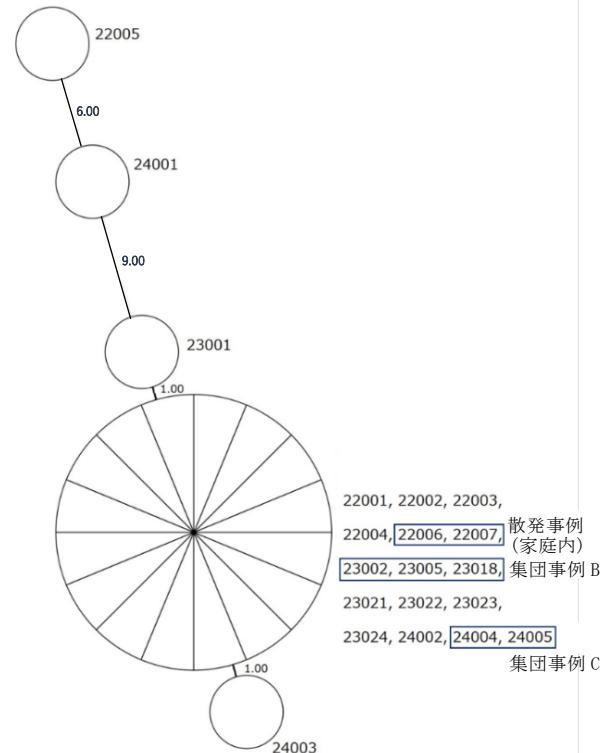


図 1 cgMLST 解析結果(MST)

考 察

薬剤感受性試験の結果、17 薬剤全てに感性又は中間であった3株についてはcgMLST解析及びSNPs解析においても、それ以外の株と異なるアレルパターンやクラスターを形成する結果となった。家庭内散発事例や集団事例B及びC由来株では、それぞれの事例内で薬剤感受性が同じであり、cgMLST解析でも同一のアレルパターンを有していたことに

加え、SNPsが0であったことから、同一由来株である可能性が高いと考えられた。一方、事例B由来株と同時期に分離された散発事例由来株2株(菌株番号23021, 23022)のSNPsも0であり、これらは遺伝的に近縁と考えられるものの、喫食調査で関連性は不明であること、SNPs解析は可変領域やリードの精度が低いものについては除いて解析を行っていることから、これらの株が同一由来株とする判

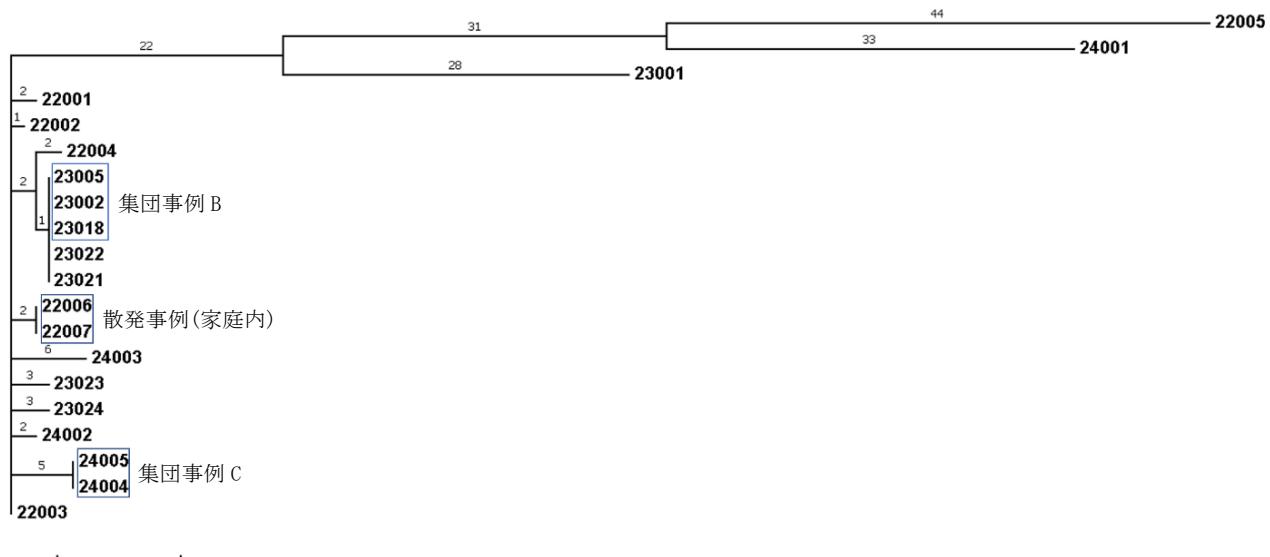


図 2 SNPs 解析結果(系統樹)

断は慎重に行うべきと考えられる。*Salmonella enterica*において、同事例株のSNPsが4以内であったという報告⁵⁾や、*S. Enteritidis*において変異頻度が1年間1ゲノム当たり1.01SNPsという研究結果もある⁶⁾。これらの報告や今回のcgMLST、SNPs解析での結果を踏まえると、今回調査したSNPs0～11のNA耐性菌株については、遺伝的関連性が高いものも含まれる可能性が示唆された。

今回の調査より、cgMLST解析やSNPs解析により遺伝的背景を解析することでサルモネラ属菌食中毒の疫学的関連性を調査する一助となると考えられた。しかしながら、近縁株の判断基準については、明確な基準がなく、関連する研究や論文も少ないため、今後も引き続き*S. Enteritidis*の菌株のデータを収集し解析していく必要があると考える。

文 献

- 1) 甲斐明美:サルモネラ食中毒とその予防対策のための新たな取り組み, NPO 法人食の安全と微生物検査定期通信, 第63号(2024)
- 2) 国立感染症研究所 HP:病原微生物検出情報 (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr.html>)
- 3) 四宮博人 他:全国地方衛生研究所において分離される薬剤耐性菌の情報収集体制の構築, 厚生労働科学研究「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」班平成27年度～29年度分担(総合)研究報告書, 31～63(2018)
- 4) Malte B Hallgren et al.: MINTyper: an outbreak-detection method for accurate and rapid SNP typing of clonal clusters with noisy long reads, *Biology Methods and Protocols*, 6(1), bpab008(2021)
- 5) S. Bekal et al.: Usefulness of high-quality core genome single-nucleotide variant analysis for subtyping the highly clonal and the most prevalent *Salmonella enterica* serovar Heidelberg clone in the context of outbreak investigations, *J Clin Microbiol*, 54, 289～295(2016)
- 6) Xiangyu Deng et al.: Genomic Epidemiology of *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis based on Population Structure of Prevalent Lineages, *EID Journal*, 20, 1481～1489(2014)

広島市感染症発生動向調査事業における 細菌検出状況(2024年)

古谷 玲子 山本 泰子 中谷 史帆 青田 達明*

田内 敦子 山本 美和子

はじめに

当所では感染症法に基づき、医療機関、保健所及び各区保健センターと連携して感染症発生動向調査事業を実施している。感染症法における全数把握対象疾患の患者菌株を収集し、血清学的試験や遺伝子検査等の疫学的解析を行うほか、定点把握対象疾患は、市内の病原体定点医療機関で患者から採取された検体について、細菌分離同定検査や遺伝子検査を実施している。

2024年に当所で実施した細菌感染症に係る検査結果について報告する。

方 法

1 検査対象

全数把握対象疾患として、腸管出血性大腸菌感染症24事例の30検体(菌株26株及び糞便4検体)、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(CRE)感染症菌株10株、劇症型溶血性レンサ球菌感染症菌株18株、侵襲性肺炎球菌感染症菌株17株、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)感染症菌株9株について検査を実施した。

定点把握対象疾患として、感染性胃腸炎等の患者から採取された糞便、咽頭拭い液等33検体について検査を実施した。

2 腸管出血性大腸菌感染症

血清型別試験は免疫血清「生研」(デンカ)を用いた。抗血清で型別できなかった株については、PCR法によるO抗原、H抗原遺伝子型別を実施した¹⁾。

毒素型別試験は Duopath[®] Verotoxins(MERCK)による毒素産生性の確認又は平成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プライマーを一部改変したプライマーを用いたPCR法でのベロ毒素遺伝子の検出により実施した。

薬剤感受性試験は、12種類の抗菌薬(アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、テトラサイクリン(TC)、ナリジクス酸(NA)、

クロラムフェニコール(CP)、ゲンタマイシン(GM)、シプロフロキサシン(CPFX)、セフォタキシム(CTX)、ST合剤(SXT)、セフタジジム(CAZ)、ホスホマイシン(FOM))について、Sensi-Disc(BD)を用いたディスク拡散法により実施した。

0157, 026及び0111については、MLVA法²⁾による解析を行い、国立感染症研究所(感染研)が運用している専用のデータベースヘリピート数等の情報を登録しMLVA typeの還元を受けた。また、17か所の遺伝子座のうち1か所のコピー数が異なる(single-locus variant:SLV)の関係であるMLVA typeについては、コンプレックス(complex)として情報提供を受けた。

3 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症

感染研の病原体検出マニュアル³⁾等に準拠し、ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験を行うとともに、PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子、ClassA β-ラクタマーゼ遺伝子及びAmpC β-ラクタマーゼ遺伝子の確認を行った。更にカルバペネマーゼ遺伝子については、塩基配列を解析し、遺伝子型を決定した。また、カルバペネマーゼ遺伝子が検出されなかった株については、CLSI M100-S27の方法⁴⁾に準拠し、modified Carbenem Inactivation Method(mCIM法)を行い、カルバペネマーゼ産生性を確認した。

4 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

生化学的性状試験を行い、ストレプトLA NX「生研」(デンカ)によりLancefield群別試験を実施した。更に感染研において血清型別等の詳細な解析を実施した。

5 侵襲性肺炎球菌感染症

生化学的性状試験を行い、米国疾病管理予防センター(CDC)が示す方法⁵⁾に準拠したマルチプレックスPCR法による遺伝子型別を実施した。

6 バンコマイシン耐性腸球菌感染症

感染研の病原体検出マニュアル等^{6), 7)}に準拠し、PCR法による菌種の同定、耐性遺伝子の検出を行った。また、バンコマイシンに対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

* : 現 健康福祉局保健部環境衛生課

表1 腸管出血性大腸菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出月	患者年齢	症状	血清型 (遺伝子型)	毒素型	薬剤耐性	MLVA type	感染研 MLVA complex
1	1月	22	無症状	0157:HNM(Hg7)	VT1&2	感性	24m0013	—
	2月	7	腹痛, 血便	026:HUT(Hg11)	VT1	FOM	24m2006	24c201
2	2月	15	腹痛	026:H11	VT1	感性	24m2002	24c201
	2月	5	水様性下痢	026:H11	VT1	感性	24m2002	24c201
	2月	6	腹痛, 水様性下痢, 血便	026:H11	VT1	感性	24m2002	24c201
3	2月	25	腹痛	026:HUT(Hg11)	VT1	感性	23m2093	24c203
4	3月	41	腹痛, 水様性下痢, 発熱	026:H11	VT1	感性	23m2093	24c203
	3月	8	腹痛, 水様性下痢, 発熱	026:HUT(Hg11)	VT1	感性	23m2093	24c203
5	5月	28	無症状	0115:H10	VT1	SM	検査対象外	—
6	5月	24	腹痛, 水様性下痢, 発熱, 吐き気	0157:H7	VT2	感性	24m0080	—
7	6月	41	無症状	0115:H10	VT1	SM	検査対象外	—
8	6月	22	腹痛, 水様性下痢	0157:H7	VT2	SM, TC, CP, SXT	23m0231	24c011
9	6月	12	腹痛, 水様性下痢	0103:HUT(Hg2)	VT1&2	感性	検査対象外	—
10	7月	1	水様性下痢, 発熱	026:HNM(Hg11)	VT1	TC, ABPC, CTX, SXT, CAZ, GM	24m2041	—
11	7月	14	腹痛, 血便, 嘔吐, 発熱	0157:H7	VT2	SM, TC, ABPC, CP, SXT	24m0223	—
	8月	1	血便, 発熱	026:H11	VT1	CP, FOM	24m2055	—
12	8月	26	無症状	026:H11	VT1	CP, SXT	24m2055	—
	8月	4	無症状	026:H11	VT1	CP	24m2055	—
13	8月	49	腹痛, 水様性下痢, 血便	0157:H7	VT1&2	感性	24m0265	24c031
14	8月	44	腹痛, 水様性下痢, 血便	0157:H7	VT1&2	感性	24m0267	24c031
15	8月	30	腹痛, 水様性下痢	026:HUT(Hg11)	VT1	感性	18m2078	—
16	8月	11	水様性下痢	0103:H2	VT1	感性	検査対象外	—
17	8月	30	腹痛, 水様性下痢, 血便	0157:H7	VT1&2	感性	24m0267	24c031
18	9月	22	無症状	0103:H2	VT2	ABPC	検査対象外	—
19	9月	35	腹痛, 水様性下痢, 血便, 食欲不振	0157:H7	VT2	SM, TC, CP, SXT	24m0413	—
20	9月	25	無症状	0157:H7	VT2	感性	24m0414	—
21	9月	22	腹痛, 水様性下痢, 発熱	0157:H7	VT1&2	感性	20m0093	—
22	11月	5	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱	0157:H7	VT2	SM, TC, CP, SXT	24m0550	—
23	11月	25	無症状	091:H21	VT2	感性	検査対象外	—
24	12月	37	水様性下痢, 関節痛	0157:HNM(Hg7)	VT1&2	SM	24m0587	—

表2 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出月	症状	分離材料	菌種	効果が確認された阻害剤	薬剤耐性遺伝子	mCIM
1	3月	肛門周囲膿瘍	膿	<i>E. cloacae</i> complex	APB	<i>bla</i> _{CTX-M-1} group, <i>bla</i> _{TEM} , <i>bla</i> _{EBC} family	陰性
2	4月	腸炎, 菌血症	血液便	<i>E. coli</i>	SMA	<i>bla</i> _{NDM} , <i>bla</i> _{CTX-M-1} group, <i>bla</i> _{TEM}	実施せず
3*	6月	尿路感染症	尿	<i>E. coli</i>	SMA	<i>bla</i> _{IMP-6} , <i>bla</i> _{CTX-M-2} group, <i>bla</i> _{CTX-M-9} group	実施せず
4	7月	尿路感染症	尿	<i>E. cloacae</i>	SMA	<i>bla</i> _{IMP-6} , <i>bla</i> _{CTX-M-2} group	実施せず
5*	8月	肺炎	喀痰	<i>E. coli</i>	SMA	<i>bla</i> _{IMP-6} , <i>bla</i> _{CTX-M-2} group, <i>bla</i> _{CTX-M-9} group	実施せず
6	10月	菌血症, 敗血症	血液	<i>K. pneumoniae</i>	CVA	<i>bla</i> _{CTX-M-1} group, <i>bla</i> _{SHV}	陰性
7	11月	外耳炎, 鼓膜炎	耳漏	<i>K. aerogenes</i>	APB, MCIPC	検出せず	陰性
8	11月	尿路感染症 自己免疫性疾患疑い	血液 尿	<i>K. aerogenes</i>	MCIPC	検出せず	陰性
9	11月	菌血症, 胆管炎	血液	<i>E. coli</i>	S/A, CVA	<i>bla</i> _{CTX-M-1} group, <i>bla</i> _{TEM}	陰性
10	11月	尿路感染症	尿	<i>E. coli</i>	SMA	<i>bla</i> _{NDM-9} , <i>bla</i> _{CTX-M-9} group	実施せず

APB:3-アミノフェニルボロン酸 SMA:メルカプト酢酸ナトリウム CVA:クラブラン酸 MCIPC:クロキサシリン S/A:アンピシリン・スルベクタム

*事例3及び事例5は同一患者

7 定点把握対象疾患

感染性胃腸炎等の患者から採取された糞便検体は、病原大腸菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフスA菌、コレラ菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ属菌及びカンピロバクター属菌を対象とした分離培養を実施した。下気道炎等の患者から採取された咽頭拭い液等検体は、百日咳菌及び肺炎マイコプラズマを対象とした遺伝子検査を実施した。また、*Mycoplasma pneumoniae* の遺伝子が検出された検体は分離培養を行った。さらに、感染研の病原体検出マニュアル⁸⁾等に準拠し、マクロライド耐性をコードする23SrRNA遺伝子ドメインV領域の2063位、2064位及び2617位をにおける点変異を確認した。

結 果

1 腸管出血性大腸菌感染症

表1に結果を示す。血清型(遺伝子型)及び毒素型は、026:H11 VT1が7株、0157:H7 VT2が6株、0157:H7 VT1&2及び026:HUT(Hg11) VT1が各4株、0157:HNM(Hg7) VT1&2及び0115:H10 VT1が各2株、026:HNM(Hg11) VT1、0103:H2 VT1、

0103:HUT(Hg2) VT1 & 2, 091:H21 VT2 及びOUT(0g8):H9 VT2が各1株であった。

薬剤感受性試験の結果、SM, TC, CP, SXT耐性及びSM耐性が各3株、TC, ABPC, CTX, SXT, CAZ, GM耐性、SM, TC, ABPC, CP, SXT耐性、CP及びFOM耐性、CP及びSXT耐性、FOM耐性、CP耐性、ABPC耐性が各1株であった。

MLVA法により解析を行ったところ、家族内感染事例である事例12の026 3株はMLVA typeが一致した。また、事例3と事例4の026 3株はMLVA typeが一致した。事例2の026 4株は同一MLVA complexであった。また、事例13, 14, 17の0157 3株は同一MLVA complexであった。

2 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症

表2に結果を示す。菌種の内訳は *Escherichia coli* 5株、*Klebsiella aerogenes* 2株、*Enterobacter cloacae* complex、*Enterobacter cloacae* 及び*Klebsiella pneumoniae* が各1株であった。このうち、事例1の*E. cloacae* complexからClassA β-ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{CTX-M-1} group及び*bla*_{TEM}、AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子であ

表 3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出月	患者年齢	Lancefield 群別	菌種	T 血清型	emm 遺伝子型	M1 系統
1	1月	80	A 群	<i>S. pyogenes</i>	UT	emm81.0	—
2	1月	75	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T12	emm12.0	—
3	1月	85	G 群	SDSE	—	stG840.0	—
4	1月	65	A 群	<i>S. pyogenes</i>	UT	emm89.0	—
5	2月	48	A 群	<i>S. pyogenes</i>	UT	emm82.0	—
6	3月	72	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T1	emm1.0	M1UK lineage
7	3月	68	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T1	emm1.0	M1UK lineage
8	4月	48	G 群	SDSE	—	stG840.0	—
9	4月	64	A 群	<i>S. pyogenes</i>	UT	emm49.0	—
10	4月	45	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T1	emm1.0	M1UK lineage
11	5月	77	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T1	emm1.0	M1UK lineage
12	5月	47	G 群	SDSE	—	stG485.0	—
13	6月	68	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T1	emm1.0	M1UK lineage
14	6月	93	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T12	emm12.0	—
15	7月	65	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T4	emm4.19	—
16	7月	89	G 群	SDSE	—	stG245.0	—
17	10月	32	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T28	emm87.0	—
18	12月	50	A 群	<i>S. pyogenes</i>	T6	emm6.82	—

SDSE: *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*

M1UK lineage : M1UK 又は M1UK sublineage

る *bla*_{EBC family} が検出された。また、事例 2 の *E. coli* からカルバペネマーゼ遺伝子である *bla*_{NDM}, *bla*_{CTX-M-1 group} 及び *bla*_{TEM} が検出された。事例 3 及び事例 5 は同一患者であり、検出された *E. coli* からカルバペネマーゼ遺伝子である *bla*_{IMP-6}, ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{CTX-M-2 group} 及び *bla*_{CTX-M-9 group} が検出された。事例 4 の *E. cloacae* から *bla*_{IMP-6} 及び *bla*_{CTX-M-2 group} が検出された。事例 6 の *K. pneumoniae* から *bla*_{CTX-M-1 group} 及び ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{SHV} が検出された。事例 7 及び事例 8 の *K. aerogenes* から β -ラクタマーゼ遺伝子は検出されなかった。事例 9 の *E. coli* から *bla*_{CTX-M-1 group} 及び *bla*_{TEM} が検出された。事例 10 の *E. coli* からカルバペネマーゼ遺伝子である *bla*_{NDM-9} 及び *bla*_{CTX-M-9 group} が検出された。カルバペネマーゼ遺伝子が検出されなかった事例 1 及び事例 6~9 の菌株で mCIM 法を実施したところ、全株において陰性であった。

3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

表 3 に結果を示す。Lancefield 群別において A 群に分類される *Streptococcus pyogenes* が 14 株、G 群に分類される *S. dysgalactiae* subsp.

equisimilis (SDSE) が 4 株であった。さらに、A 群の T 血清型別では T1 が 5 株、T12 が 2 株、T4、T28 及び T6 が各 1 株、UT が 4 株であった。また、菌体表層の M タンパクをコードする塩基配列を基にした遺伝子型別である *emm* 型は、T1 が *emm1.0* で 5 株と全体の 27.8% を占めており、T12 が *emm12.0* 2 株、SDSE は *stG840.0* が 2 株、*stG485.0* 及び *stG245.0* が各 1 株であった。これら以外の A 群は全て異なる *emm* 型であった。

4 侵襲性肺炎球菌感染症

表 4 に結果を示す。17 株の遺伝子型は、22F/22A が 4 株、24F/24A/24B が 3 株、15F/15A 及び 10A が各 2 株、35B, 3, 19A, 15B/15C, 38/25F/25A 及び 7C/7B/40 が各 1 株であった。

5 バンコマイシン耐性腸球菌感染症

表 5 に結果を示す。9 株のうち *Enterococcus faecium* が 5 株であり、*Enterococcus faecalis* が 1 株であった。事例 6 からは *Enterococcus avium* 及び *Enterococcus gallinarum* が各 1 株検出された。また、事例 6 及び事例 8 は同一患者であり、事例 8 から *E. avium* が 1 株検出された。*E. faecium* は耐性遺伝子として *vanA* を保有していた。

表 4 侵襲性肺炎球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出月	患者年齢	肺炎球菌ワクチン接種歴	遺伝子型
1	1月	59	不明	15F/15A
2	1月	0	有:3回(13価結合型)	35B
3	1月	5	有:2回(13価結合型)	10A
4	3月	1	有:3回(13価結合型)	22F/22A
5	3月	56	不明	3
6	6月	43	無	19A
7	7月	1	有:4回(13価結合型)	15B/15C
8	9月	2	有:4回(不明)	24F/24A/24B
9	10月	1	不明	38/25F/25A
10	11月	39	有:2回(23価多糖体, 13価結合型)	24F/24A/24B
11	12月	2	有:4回(13価結合型)	24F/24A/24B
12	12月	64	無	7C/7B/40
13	12月	5	有:4回(13価結合型)	22F/22A
14	12月	84	不明	15F/15A
15	12月	66	無	22F/22A
16	12月	3	有:4回(13価結合型)	22F/22A
17	12月	11	有:4回(13価結合型)	10A

E. faecalis は耐性遺伝子として *vanB* を保有していた。事例 6 及び事例 8 の *E. avium* は耐性遺伝子として *vanA* を保有していた。事例 6 の *E. gallinarum* は耐性遺伝子として *vanA* 及び *vanC1* を保有していた。いずれの菌株においても MIC 値は 256µg/mL より高値であった。

6 定点把握対象疾患

表 6 に結果を示す。その他の呼吸器疾患患者の鼻汁及びその他の神経疾患患者の咽頭ぬぐい液から, *M. pneumoniae* が検出された。また, 8 月に検出された *M. pneumoniae* 2 検体は, 2063 位においてアデニンからグアニンへの点変異が確認され, マクロライド耐性遺伝子を保有していた。

ま と め

2024 年の全国における腸管出血性大腸菌血清型別検出割合は, 0157 が 51.5% と最も多く, 次いで 026 が 13.7%, 0103 が 6.2% であった⁹⁾。本市においても, 0157 が 12 件(40%), 026 が 12 件(40%), 0103 が 2 件(6.7%) であった。MLVA の結果, 異なる 2 つの事例において MLVAtype(23m2093) 及び MLVA complex(24c203) が一致し, 異なる 3 つの事例において MLVA complex(24c031) が一致した。しかし, 噫食調査等による患者調査の結果, 各事例間での関連性は不明であった。

CRE 感染症分離菌菌株のうち, カルバペネマーゼ遺伝子を保有していたのは *E. coli* 4 株及び *E. cloacae* 1 株であり, そのうち 2 株は海外型カルバペネマーゼ遺伝子である NDM 型であった。全国における NDM 型の検出数は 2018 年から 2023 年の各年で 16~35 株であるが, 海外渡航歴のない患者からの分離が増加していると報告されている¹⁰⁾。本市では 2023 年に NDM が 1 株¹¹⁾, 2024 年は 2 株検出され, いずれも明確な海外渡航歴のない患者からの分離であり, 国内での感染が疑われる。海外渡航歴のない患者菌株の報告地域は, 2018 年に 12 都道府県であったが, 2023 年には 17 都道府県となり, 国内の複数の地域に定着, 拡散しつつあると考えられる¹⁰⁾。カルバペネマーゼ遺伝子保有状況やその推移を正確に把握するための継続的な病原体サーベイランスの実施と情報還元が重要である。

侵襲性肺炎球菌感染症分離菌株の届出数は 17 件であり, そのうち小児患者から検出された 9 事例は小児が接種対象である 13 価結合型ワクチンに含まれない血清型であった。非ワクチン血清型株の増加が公衆衛生の課題となっているなかで, 2024 年 10 月より 20 価結合型ワクチンが小児の定期接種に導入された¹²⁾。20 価結合型ワクチンの導入により, 5 歳未満侵襲性肺炎球菌感染症の予防効果が期待される¹³⁾が, 今後も侵襲性肺炎球菌感染症の継続

表5 バンコマイシン耐性腸球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出月	症状	分離材料	菌種	耐性遺伝子	MIC (μg/mL)
1	2月	発熱、右足壊死性筋膜炎	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	>256
2	2月	発熱、髄膜炎	皮下ドレーン、腹膜ドレーン	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	>256
3	3月	尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	>256
4	5月	発熱、尿路感染症、骨盤内感染症	尿	<i>E. faecalis</i>	<i>vanB</i>	>256
5	6月	発熱	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	>256
6*	7月	発熱	血液 尿	<i>E. avium</i> <i>E. gallinarum</i>	<i>vanA</i> <i>vanA, vanC1</i>	>256
7	10月	菌血症	血液	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	>256
8*	12月	発熱	血液	<i>E. avium</i>	<i>vanA</i>	>256

*事例 6 及び事例 8 は同一患者

的な病原体サーベイランスを実施し、起炎菌血清型の変遷に注視する必要がある。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の全国届出数は、2024 年は 6 月時点で 1060 件であり、1999 年に感染症発生動向調査が開始されて以降、最も多い届出数となった¹⁴⁾。本市における届出数は、2023 年は 6 件、2024 年は 18 件と増加傾向にある。近年、病原性及び伝播性が高いとされる *S. pyogenes* M1UK lineage (M1UK 系統) の出現と拡散が国際的に注視されており、日本国内でもその集積が確認されつつある。本市で分離された菌株のうち、感染研の解析により M1UK lineage に該当するとされたものは 5 株であった。今後も国内での発生状況や疫学的特徴を把握する必要があると考える。

VRE 感染症は本市において 2020 年から届出件数が増加しており^{11), 15)-17)}、2024 年も 8 件と多くの届出があった。また、平成 29 年厚生労働省通知(健感発 0328 第 4 号)による病原体サーベイランス開始以降初めて *vanA* 遺伝子を保有する *E. avium* 及び *E. gallinarum* が検出された。全国における VRE の菌種内訳は、*E. faecium* が 70~90% の割合を占めており、*E. gallinarum* は 3~7% 程度である¹⁸⁾。*vanA* 遺伝子はプラスミド上に存在しており、プラスミド

は水平伝播することが知られている¹⁹⁾。このことから菌種を超えて *vanA* 遺伝子が広がっている可能性も示唆された。VRE の感染経路の把握及び感染拡大を防ぐため、今後はプラスミド解析等を用いたより詳細な解析を行い、関係各所に情報還元していく必要があると考える。

マイコプラズマ肺炎は 3~7 年程度の間隔で大きな流行が起きることが報告されており、2024 年第 1~35 週の定点当たり累積報告数は周期的な大流行の年となった 2016 年に次いで多かった²⁰⁾。新型コロナウイルスによるパンデミック発生以降、2020~2023 年の国内のマイコプラズマ肺炎の報告数は激減した²¹⁾。しかし、新型コロナウイルス感染症の五類感染症への移行に伴い、基本的な感染症対策が緩和され、社会活動がパンデミック前の状況に戻っていることも報告数の増加に影響を与えていると考えられる。また、近年小児のマイコプラズマ肺炎第一選択薬であるマクロライド耐性の *M. pneumoniae* が問題視されている。本市で分離された *M. pneumoniae* の 3 株のうち 2 株は薬剤耐性遺伝子を保有しており、A2063G は国内で分離される肺炎マイコプラズマのマクロライド耐性遺伝子として最も多く報告されている²²⁾。2018 年~2020 年

表 6 定点把握対象疾患検査結果

検体採取月	診断名	検体	検出病原体	薬剤耐性遺伝子
7月	その他の呼吸器疾患	鼻汁	<i>M. pneumoniae</i>	変異なし
8月	その他の呼吸器疾患	鼻汁	<i>M. pneumoniae</i>	A2063G
8月	その他の神経疾患	咽頭ぬぐい液	<i>M. pneumoniae</i>	A2063G

の国内における *M. pneumoniae* 分離株のマクロライド耐性率は低下傾向であった²³⁾が、近年の中国における *M. pneumoniae* の大部分がマクロライド耐性と報告されたため²⁴⁾、今後も国内のマクロライド耐性菌について動向を注視する必要がある。

謝 詞

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) 国立感染症研究所 腸管出血性大腸菌(EHEC)検査・診断マニュアル 2022年10月版
- 2) 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, 569～577(2010)
- 3) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌」2020年6月版
- 4) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100 27th, 37(1), 122～127(2017)
- 5) CDC:PCR Deduction of Pneumococcal Serotypes, <https://www.cdc.gov/strep-lab/php/pneumococcus/serotyping-using-pcr.html> (参照:2019.6.1)
- 6) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌 バンコマイシン耐性腸球菌」2020年6月版
- 7) Nomura T et al.: New colony multiplex PCR assays for the detection and discrimination of vancomycin-resistant enterococcal species, *J Microbiol Methods*, 145, 69～72(2018)
- 8) 国立感染研究所 肺炎マイコプラズマ検出マニュアル 平成23年9月版
- 9) 腸管出血性大腸菌感染症 2025年3月現在, 病原微生物検出情報 vol. 46 p89-91, 45(5), 2025年5月号
- 10) 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目細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae:CRE)病原体サーベイランス, 2017～2023年, 病原微生物検出情報, 46(2), 26～27(2025)
- 11) 平岡史帆 他:広島市における細菌感染症の検査結果(2023年), 広島市衛生研究所年報, 43, 51～57(2024)
- 12) 厚生労働省健康・生活衛生局感染症対策部予防接種課:小児の肺炎球菌感染症に係る定期の予防接種の実施方法について, 事務連絡, 令和6年9月6日
- 13) 菅秀 他:小児侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)の発生動向および起炎菌血清型変化の解析, 病原微生物情報, 44(1), 11～12(2023)
- 14) 国立感染研究所 細菌第一部 他:国内における劇症型溶血性レンサ球菌感染の増加について(2024年6月時点) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/tsls-m/2655-cepr/12718-stss-202406.html>.
- 15) 青田達明 他:2020年に広島市で分離されたバンコマイシン耐性腸球菌感染症由来菌株の検査と分子疫学解析, 広島市衛生研究所年報, 40, 119～122(2021)
- 16) 田内敦子 他:広島市における細菌感染症の検査結果(2021年), 広島市衛生研究所年報, 41, 61～66(2022)
- 17) 古谷玲子 他:広島市感染症発生動向調査事業における細菌検出状況(2022年), 広島市衛生研究所年報, 42, 89～94(2023)
- 18) 国立感染症研究所実地疫学研究センター他:感染症法に基づくバンコマイシン耐性腸球菌(Vancomycin-resistant Enterococci:VRE)感染症の届出状況, 2021年

- 19) 富田治芳 他: バンコマイシン耐性腸球菌, 日本臨床微生物学雑誌, 24(3), 10~24(2014)
- 20) 国立感染研究所 感染症疫学センター: 2024年第35号<注目すべき感染症>マイコプラズマ肺炎, 感染症発生動向調査週報(2024)
- 21) 国立感染研究所: マイコプラズマ肺炎 2023年現在, 病原微生物情報, 45(1), 1~2(2024)
- 22) 鈴木 裕 他: 薬剤耐性肺炎マイコプラズマの分子疫学, 日本臨床微生物学会, 30(3), 1-10(2020)
- 23) 国立感染研究所: マイコプラズマ肺炎 2023年現在, 病原微生物情報, 45(1), 1~2(2024)
- 24) 東京都立小児総合医療センター 他: 小児感染症診療ネットワークで探知したマクロライド耐性マイコプラズマ重症肺炎の症例蓄積, 病原微生物情報, 45(4), 69~7(2024)

同時期に複数検出された腸管出血性大腸菌 0115 の全ゲノム解析

青田 達明* 中谷 史帆 山本 泰子 古谷 玲子
田内 敦子 山本 美和子

はじめに

腸管出血性大腸菌(EHEC)感染症は、ベロ毒素(VT)を産生する大腸菌に感染することで引き起こされる疾病であり、感染症法における三類感染症に指定され、全数把握の対象疾患となっている。腹痛や水様性下痢及び血便などの臨床症状を呈し、嘔吐や発熱を伴うこともある。また、VTの作用により溶血性貧血や急性腎不全をきたし、溶血性尿毒症症候群を引き起こすことがあるため、小児や高齢者においては致命症となることがある¹⁾。主な感染経路は病原体に汚染された食品による経口感染であるが、人から人への二次感染も挙げられる。EHEC感染症は全国において年間約3,000～4,000件の届出があり、本市においては年間約10～30件の届出がある。

全国のEHEC検出数における0血清群の割合は、0157が半数を占めており、次いで026、0111が多い傾向にある¹⁾。これらの主要血清群と比べ、0115は年間の検出数が20件程度であり、全国的に検出割合は高くない。また本市におけるEHEC 0115の検出数は、感染症法が施行された平成11年以降1件のみであり、全国と同様に稀な血清型である。

今回、2024年5月及び6月に無症状病原体保有者からEHEC 0115が分離された事例が2件相次いで発生した。菌株間の遺伝的関連性を検討するため、次世代シーケンサー(NGS)により取得した全ゲノム配列を用いて、詳細な分子疫学解析を行ったので報告する。

方 法

1 供試菌株

2024年5月(菌株番号24017)及び6月(菌株番号24018)に分離されたEHEC 0115:H10 VT1の2事例2株及び、比較対象として2015年に分離された0115:H10 VT1 1株(菌株番号15016)計3株を用いた。なお、いずれの菌株も無症状病原体保有者から分離された。

*: 現 健康福祉局保健部環境衛生課

2 Core genome Multilocus Sequence Typing (cgMLST) 解析

Maxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit(Promega)を用いて被検菌のゲノム抽出を行い、QIAseq FX DNA Library Kits(QIAGEN)を用いてライプラリー調製を行った。iSeq100シーケンサーシステム(illumina)を用いてシーケンス反応を行い、ショートリード配列データを取得した。

また、前述のゲノム抽出産物を用いて Ligation sequencing DNA V14(nanopore)等によるライプラリー調製を行い、MinION MK1B(nanopore)を用いてロングリード配列データを取得した。

Hybracter²⁾を用いて、得られたショートリード及びロングリードデータのハイブリッドアセンブリを行い、全ゲノム配列を決定した。取得した全ゲノム配列を用いて、解析ウェブサイト PubMLST(<https://pubmlst.org/organisms/>)上でcgMLST法により、大腸菌のコアゲノム領域2,513 lociの各アレル番号を取得した。cgMLSTの各アレル番号に基づいて Minimum Spanning Tree(MST)を作製した。

3 一塩基多型(SNPs) 解析

cgMLST解析において取得した全ゲノム配列長について、解析ウェブサイト Galaxy(<https://usegalaxy.org>)内のツールを用いて、SNPs解析を行った。Snippy³⁾によりレファレンス配列(菌株番号15016)と全ゲノム配列の比較からSNPsの検出を行い、Snippy-core³⁾で各検体のcoreSNPsをレファレンス配列に反映させ、完全長ゲノムのアライメントを作成した。その後、snippy-clean_full_aln³⁾により他ツールとの互換性を上げるための前処理を行い、Gubbins⁴⁾により組み換え領域の検出及び除去を行った。SNP distance matrix⁵⁾により検体間のSNPs数の総当たり表を作成した。

結 果

1 cgMLST 解析

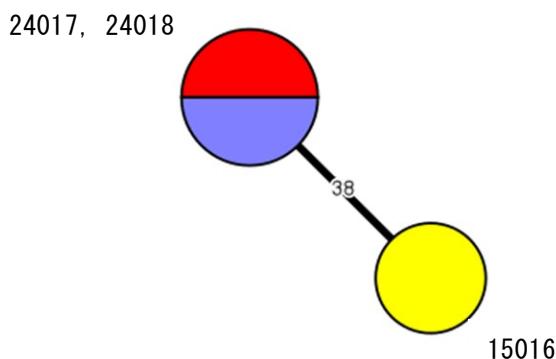


図 cgMLST を用いた MST

大腸菌のコアゲノム領域 2,513 loci のうち解析できた 2,494 loci のアレル番号を基に MST を作成した(図)。菌株番号 15016 と 24017 及び 24018 では解析できた 2,494 loci のうち 38 loci でアレル番号が異なっていた。また、24017 と 24018 では解析できた 2,501 loci 全てのアレル番号が一致していた。

2 SNPs 解析

菌株間の SNPs を総当たり表で示した。15016 と 24017 では 110, 15016 と 24018 では 109 の SNPs が認められた。24017 と 24018 では SNPs が 1 であった。

考 察

2024 年に 2 名の無症状病原体保有者から分離された EHEC 0115:H10 VT1 の遺伝的関連性を検討するため、cgMLST 解析及び SNPs 解析を行った。cgMLST はそれぞれの菌種が共通して持つ遺伝子領域(コアゲノム)を対象とした解析手法であり、菌の生存に必須となる 7 種の遺伝子領域を対象とした MLST 法より詳細な解析を行うことが可能である。SNPs 解析では一塩基レベルの違いを検出することができるため、高い分解能により解析対象株が近縁であるかを知ることができる。

比較対象とした 2015 年分離株は、2024 年分離の 2 株との cgMLST 解析において、解析できた 2,494 loci のうち 38 loci でアレル番号が異なっていた。また、SNPs 解析では 2024 年分離の 2 株との間で SNPs 数が 109~110 であった。一方で、2024 年に分離された 2 株は、cgMLST 解析において解析できた 2,501 loci でアレル番号が一致しており同一クローンであることが示唆された。また、SNPs 解析において両株間の SNPs 数は 1 であり、大腸菌においては菌株間の SNPs 数が 10 以下であると関連性が高いとの報告があることか

表 菌株間の SNPs

菌株番号	15016	24017	24018
15016	0	110	109
24017	110	0	1
24018	109	1	0

ら⁶⁾、これらの株は遺伝的に非常に近縁であると考えられた。

2024 年に病原体検出情報サブシステムに報告された国内での EHEC 検出数 1,896 事例のうち、0115 はわずか 18 事例のみであり、0115 の検出割合はそれほど高くない。今回の 2 事例は 5 月中旬及び 6 月上旬と 1 か月以内の間に発生届が出されているが、2 事例とも無症状病原体保有者であることから感染時期は不明であり、また喫食調査等による患者調査の結果、事例間での疫学的関連性は不明であった。しかし、全ゲノム配列を用いた分子疫学解析の結果から同一感染源である可能性が非常に高いことが示唆された。

分子疫学調査を行うことで、喫食調査等による疫学的関連性が不明な事例においても、感染経路の推定等の一助となることが期待される。そのため、今後も NGS を用いた解析事例を蓄積することが重要である。

文 献

- 1) 腸管出血性大腸菌感染症 2025 年 3 月現在、病原微生物検出情報、46(5), 89~91(2025)
- 2) Bouras G et al.: Hybracter: enabling scalable, automated, complete and accurate bacterial genome assemblies, Microbial genomics, 10(5), 001244(2024).
- 3) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snippy>
- 4) Croucher NJ et al.: Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins, Nucleic acids research, 43(3), e15(2015).
- 5) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snp-dists>
- 6) Schürch AC et al.: Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene-based approaches, Clinical micro-

- biology and infection, 24(4), 350 ~ 354 (2018)
- 7) 浜本 洋 他 : *Candida albicans* TIMM1768 株の全ゲノム配列の解析, Medical mycology research, 9(1), 37 ~ 40 (2018)

広島市における侵襲性肺炎球菌感染症患者由来 肺炎球菌の疫学解析(2022-2024年)

山本 美和子 山本 泰子 中谷 史帆 青田 達明*

古谷 玲子 田内 敦子

はじめに

侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)は、感染症法の全数把握対象五類感染症として位置付けられている。IPDは肺炎球菌による侵襲性感染症として、肺炎球菌が髄液又は血液などの無菌部位から検出された感染症と定義される。全国では年間数千件の届出があり、広島市においては、コロナ禍を除き、例年、年間十数例の届出がある。

肺炎球菌は小児及び成人に対して肺炎、中耳炎、副鼻腔炎等の非侵襲性感染症を起こす¹⁾が、ときに髄膜炎等の侵襲性感染症を引き起こし、重症化することも少なくない²⁾。また、上咽頭に常在しながら、菌体外に存在しているDNAを菌体内に取り込み、しばしば血清型の変化を起こすことが報告されている³⁾。

肺炎球菌には90種類以上の血清型がある。肺炎や髄膜炎などの重篤な疾患を予防するため、定期接種として多価ワクチンが承認されている。小児には沈降13価、15価又は20価肺炎球菌結合型ワクチン(PCV13, PCV15, PCV20)が承認されている。2024年10月以降は原則としてPCV20を使用することになっている。高齢者には23価肺炎球菌莢膜ポリサッカライドワクチン(PPSV23)が承認されている。ワクチンの普及によりIPD罹患率は減少したもの、血清型置換等によりワクチンに含まれていない型の分離割合が増加している¹⁾。また、肺炎球菌治療の第一選択薬とされる⁴⁾ペニシリン系抗菌薬の耐性率が、近年、増加傾向にあり、原因として35Bをはじめとするペニシリノーゲン耐性率の高い非ワクチン型の血清型が増加しているためと考えられている⁵⁾。

広島市では、2019年から積極的疫学調査の一環として、IPDの届出があった場合には、可能な限り菌株を確保し、遺伝子型等の解析を実施している。今回、2022年から2024年に医療機関から提供された菌株の解析を行ったので、その結果を報告する。

*: 現 健康福祉局保健部環境衛生課

方 法

1 材料

2022年1月から2024年12月までに広島市内医療機関から届出のあったIPD患者41例のうち菌株の解析ができた39例39株を対象とした。

2 遺伝子型別試験

CDCのConventional PCR Serotype Deduction Protocols(<https://www.cdc.gov/streplab/pneumococcus/resources.html>)に準じて70種類の血清型を網羅的に検出するMultiplex PCR法により41種類の遺伝子型の検出を行った。ゲノムDNAの抽出は、QIAamp DNA Mini Kitにより行った。

3 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験用Etestシングルパック(ビオメリュー・ジャパン(株))により実施した。ベンジルペニシリンPG(低濃度)、メロペネムMP、レボフロキサシンLE、エリスロマイシンEMの4種類の薬剤について添付文書に従い実施し、MIC値を判定した。

4 耐性遺伝子解析

千葉ら⁶⁾の方法に準じて細胞壁合成酵素(PBPs)遺伝子変異及びマクロライド耐性遺伝子の解析を行った。PBPs耐性遺伝子変異については、PBP1Aの構造遺伝子である $pbp1a$ 、PBP2Xの構造遺伝子である $pbp2x$ 、PBP2Bの構造遺伝子である $pbp2b$ の3種類を同時検出するMultiplex PCR法により行った。 $pbp1a$ 、 $pbp2x$ 、 $pbp2b$ の各プライマーは遺伝子変異を有しない感性菌のDNAを増幅するよう設計されているため、増幅バンドが検出されない検体を耐性として判定した。マクロライド耐性 $mefA$ 遺伝子及び $ermB$ 遺伝子の検出はMultiplex PCR法により行った。

5 Multilocus Sequence Typing(MLST)解析

University of Oxford(<https://pubmlst.org/spneumoniae/>)に掲載されている7種類のhouse-keeping遺伝子($aroE$, gdh , gki , $recP$, spi , xpt , ddl)の解析を行い、データベースと照合し得られたallelic profileによりsequence type(ST)を決定した。前述のサイトに登録されている7種類のhousekeeping遺伝子のうち ddl 遺伝子を除く6種

表 1 2022 年届出菌株解析結果

届出 月	検体 No.	年 齢	ワクチン 接種歴	遺伝子型	薬剤感受性 : MIC 値 (μg/mL)				耐性遺伝子		ST
					PG	MP	LE	EM	ペニシリン	マクロライド	
4	2211001	91	不明	35B	1	0.38	1.5	4	1a, 2x, 2b	<i>mefA</i>	558
6	2211501	3	13 倍	23A	0.38	0.047	1.5	>256	2x, 2b	<i>ermB</i>	5242
7	2212201	0	無	35B	1	0.38	1	2	1a, 2x, 2b	<i>mefA</i>	558
7	2212302	53	無	18F/18A/18B/18C	0.016	0.008	2	0.19	-	-	3594
9	2214701	30	不明	15B/15C	3	0.5	>32	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	166
12	2215401	0	13 倍	16F	0.064	0.016	1	0.38	-	-	13304

類の遺伝子について、BioNumerics により minimum spanning tree (MST) を作成した。

結果

1 遺伝子型別結果

各届出年における遺伝子型を表 1～3 に、遺伝子型別検出割合を図 1 に示した。39 株について解析を行った結果、遺伝子型 35B が最も多く 6 株 15% を占めた。次いで 15B/15C 及び 22F/22A が各 5 株 13%，15F/15A が 4 株 10% であった。

小児(0-11 歳)からの年別遺伝子型別検出状況を図 2 に示した。2024 年は 3 年間で最も多い 6 種類の遺伝子型が検出されたが、すべて 13 倍及び 15 倍ワクチンに含まれていない型であった。

2 薬剤感受性試験

39 株を 4 種類(ベンジルペニシリン PG(低濃度)、メロペネム MP、レボフロキサシン LE、エリスロマイン EM)の薬剤について実施し、各薬剤の MIC 値 (μg/mL) を表 1～3 に示した。

PG については、ペニシリン耐性肺炎球菌感染症の届出基準値である 0.125 μg/mL をブレイクポイントとした。0.125 μg/mL 以上の株の割合(図 3)は、2022 年 83.3%，2023 年 68.8%，2024 年 23.5% であった。MP の MIC 値 0.25 μg/mL 以上の株の割合(図 4)は、2022 年 50%，2023 年 56.3%，2024 年 17.6%，LE の MIC 値 2 μg/mL 以上の株の割合(図 5)は、2022 年 33.3%，2023 年 12.5%，2024 年 17.6%，EM の MIC 値 0.25 μg/mL 以上の株の割合(図 6)は、

表 2 2023 年届出菌株解析結果

届出 月	検体 No.	年 齢	ワクチン 接種歴	遺伝子型	薬剤感受性 : MIC 値 (μg/mL)				耐性遺伝子		ST
					PG	MP	LE	EM	ペニシリン	マクロライド	
1	2310201	71	不明	23A	4	1.5	0.75	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	166
1	2310301	39	不明	23A	0.75	0.064	1.5	>256	2x, 2b	<i>ermB</i>	338
3	2310701	44	不明	35B	2	0.75	1	32	1a, 2x, 2b	<i>mefA</i>	156
4	2311801	1	13 倍	15B/15C	0.75	0.064	2	>256	2x, 2b	<i>ermB</i>	5242
4	2311701	66	不明	15F/15A	1.5	0.25	1	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	63
4	2311901	45	不明	23B	12	1	0.75	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	166
4	2312001	3	13 倍	35B	1.5	0.5	1.5	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	558
6	2312701	1	13 倍	15F/15A	3	0.25	0.75	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	63
6	2312901	3	13 倍	15B/15C	0.064	0.023	1.5	>256	2x	<i>ermB</i>	199
7	2313301	5	13 倍	15B/15C	4	0.38	2	>256	1a, 2x, 2b	<i>ermB</i>	63
8	2314401	71	無	19A	0.032	0.016	0.75	0.19	-	-	2331
11	2315601	63	無	19A	1.5	0.25	1	>256	1a, 2x, 2b	<i>mefA, ermB</i>	3111
11	2315801	3	13 倍	22F/22A	0.094	0.012	1	>256	2x	<i>ermB</i>	433
11	2315901	91	不明	10A	0.094	0.016	1.5	>256	2x	<i>ermB</i>	5236
12	2316201	3	13 倍	35B	1.5	0.5	1	4	1a, 2x, 2b	<i>mefA</i>	558
12	2316401	80	不明	3	0.094	0.023	1.5	>256	2x	<i>ermB</i>	180

表 3 2024 年届出菌株解析結果

届出月	検体 No.	年齢	ワクチン接種歴	遺伝子型	薬剤感受性 MIC 値 (μg/mL)				耐性遺伝子		ST
					PG	MP	LE	EM	ペニシリン	マクロライド	
1	2410301	59	不明	15F/15A	1.5	0.25	1.5	>256	1a, 2x, 2b	ermB	63
1	2410601	0	13 価	35B	0.5	0.25	1	12	1a, 2x, 2b	mefA	558
1	2410701	5	13 価	10A	0.094	0.012	2	>256	2x	ermB	5236
3	2411601	1	13 価	22F/22A	0.032	0.006	1.5	0.094	-	-	433
3	2411901	56	不明	3	0.064	0.012	1.5	>256	2x	ermB	180
6	2414001	43	無	19A	0.064	0.012	>32	8	2x	mefA	2331
7	2414701	1	13 価	15B/15C	0.125	0.023	1	>256	1a, 2x	ermB	13111
9	2416201	2	13 価	24F/24A/24B	0.047	0.012	1.5	>256	2x	ermB	162
10	2416801	1	不明	25F/25A/38	0.032	0.012	1	0.125	-	-	393
11	2417301	39	13 価 23 価	24F/24A/24B	0.064	0.012	1	>256	2x	ermB	162
12	2418001	2	13 価	24F/24A/24B	0.032	0.008	0.75	0.094	-	-	162
12	2418101	64	無	7B/7C/40	0.064	0.012	1.5	>256	-	ermB	2758
12	2418201	5	13 価	22F/22A	0.032	0.008	1	0.094	-	-	433
12	2418401	84	不明	15F/15A	3	0.38	2	>256	1a, 2x, 2b	ermB	11972
12	2418701	66	無	22F/22A	0.064	0.008	1.5	8	2x	mefA	433
12	2418901	3	13 価	22F/22A	0.032	0.008	1.5	0.064	-	-	433
12	2510201	11	13 価	10A	0.064	0.012	1.5	>256	2x	ermB	5236

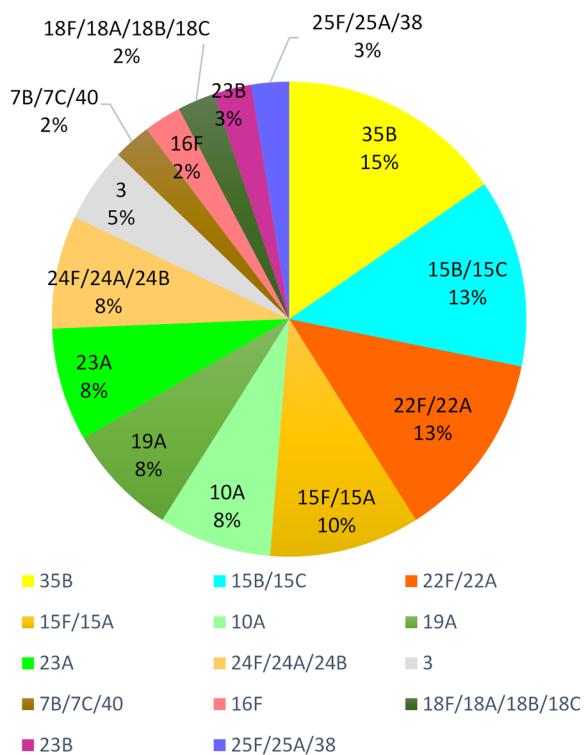


図 1 遺伝子型別検出割合

2022 年 83.3%，2023 年 93.8%，2024 年 70.6% であった。なお、MP, LE, EM については CLSI の感性的ブレイクポイントを参考に各薬剤の MIC 値の割合を算出した。

3 耐性遺伝子解析

PBPs 耐性遺伝子変異について表 1～3 に示した。*pbp1a*, *pbp2x* 及び *pbp2b* すべての耐性を獲得している株は、2022 年 3 株(50.0%), 2023 年 9 株(56.3%), 2024 年 3 株(17.6%) であった。マクロライド耐性遺伝子である *ermB* を保有している株は、2022 年 2 株(33.3%), 2023 年 13 株(81.3%), 2024 年 9 株(59.3%) であり、*mefA* を保有している株は、2022 年 2 株(33.3%), 2023 年 3 株(18.8%), 2024 年 3 株(17.6%) であった。

耐性遺伝子と MIC 値の相関関係を表 4 及び表 5 に示した。ペニシリノ耐性に関与している *pbp1a*, *pbp2x* 及び *pbp2b* すべての耐性を獲得している株の MIC 値の中央値は $1.5 \mu\text{g/mL}$ と高く、*pbp2x* 及び *pbp2b* の耐性を獲得している株の中央値は $0.75 \mu\text{g/mL}$, *pbp1a* 及び *pbp2x* の耐性を獲得している株は $0.125 \mu\text{g/mL}$, *pbp2x* の耐性を獲得している株は $0.064 \mu\text{g/mL}$ であった。マクロライド耐性に関しては、*ermB* のみと *mefA* と *ermB* の両方の耐性を獲得

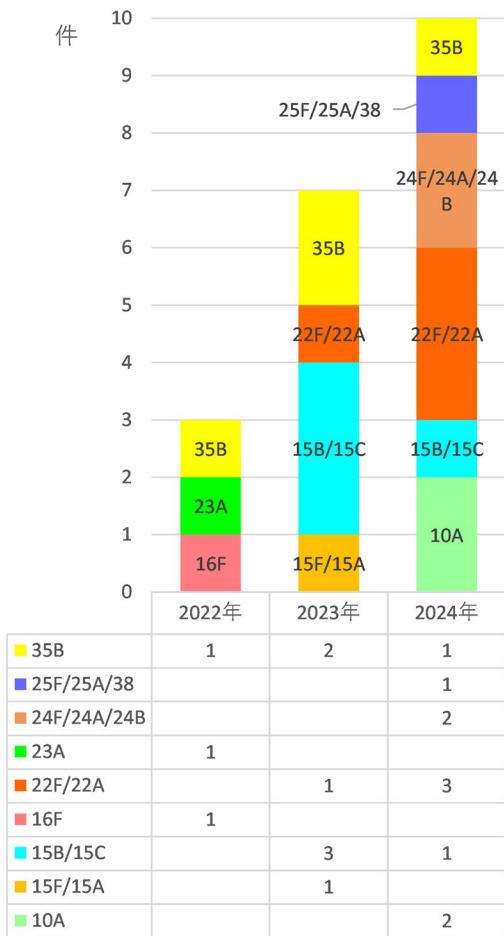
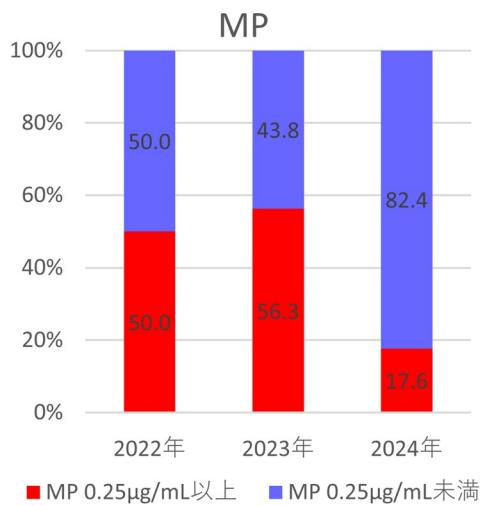
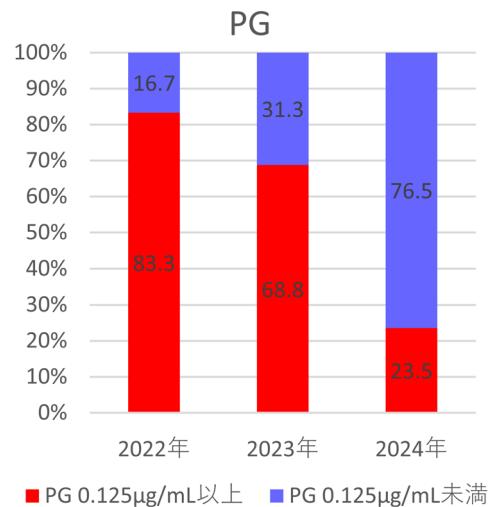


図2 小児(0-11歳)からの年別遺伝子型別検出状況

している株の MIC 値の中央値が $256 \mu\text{g/mL}$ より高い結果となり、*mefA* 耐性を獲得している株の MIC 値の中央値は $8 \mu\text{g/mL}$ であった。

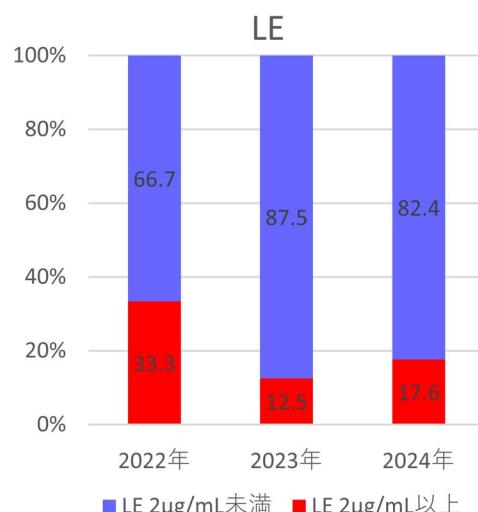
図4 MIC 値 $0.25 \mu\text{g/mL}$ 以上の割合 (MP)図3 MIC 値 $0.125 \mu\text{g/mL}$ 以上の割合 (PG)

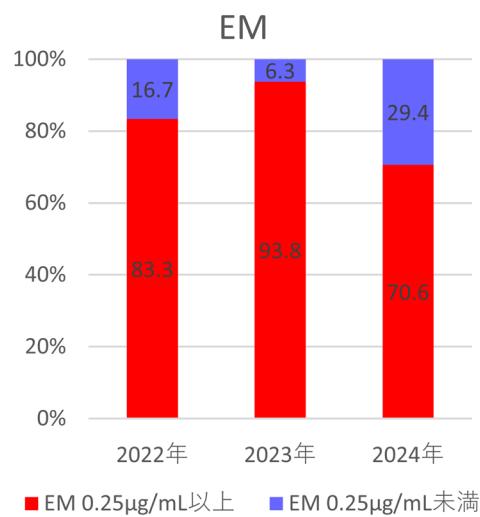
4 MLST 解析

解析した 39 株の ST を表 1~3 に示した。最も多い ST は、ST558 及び ST433 で各 5 株であった。次いで ST63 が 4 株、ST5236, ST166 及び ST162 が各 3 株であった。7 種類の housekeeping 遺伝子のうち *ddl* 遺伝子は、ペニシリン結合タンパク質 2 b 遺伝子 (*pbp2b*) の 783 塩基対下流に位置しており、ヒッヂハイク効果により、非常に多い対立遺伝子を有していることが報告⁷⁾されているため、*ddl* 遺伝子を除く 6 遺伝子について MST を作成し、遺伝的近縁性を示した(図 7)。

考 察

ワクチン定期接種対象年齢である小児からの

図5 MIC 値 $2 \mu\text{g/mL}$ 以上の割合 (LF)

図 6 MIC 値 $0.25 \mu\text{g/mL}$ 以上の割合 (EM)

IPD 検出数は、2022 年はコロナ禍の影響もあり 3 株と少なかったが、2023 年は 7 株、2024 年は 10 株と増加した。検出された遺伝子型の種類(図 2)も、2022 年は 3 種類であったが、2024 年には 6 種類と増加していた。検出された遺伝子型は、全てワクチンに含まれていない型であり、非ワクチン型における

表 4 耐性遺伝子 (*pbp1a, 2x, 2b*) と MIC 値 (PG) の相関

耐性遺伝子	MIC 値 ($\mu\text{g/mL}$) (中央値)
<i>1a, 2x, 2b</i>	1.5
<i>2x, 2b</i>	0.75
<i>1a, 2x</i>	0.125
<i>2x</i>	0.064
陰性	0.032

表 5 耐性遺伝子 (*mefA, ermB*) と MIC 値 (EM) の相関

耐性遺伝子	MIC 値 ($\mu\text{g/mL}$) (中央値)
<i>mefA, ermB</i>	>256
<i>ermB</i>	>256
<i>mefA</i>	8
陰性	0.11

る IPD の対策が必要であると思われる。また、近年、無莢膜株が増加しており、ワクチンに対する回避機構が働いている可能性があることが報告されている⁸⁾。新規肺炎球菌ワクチンとして、遺伝的に保存性の高い表層蛋白質を用いたワクチンが研究

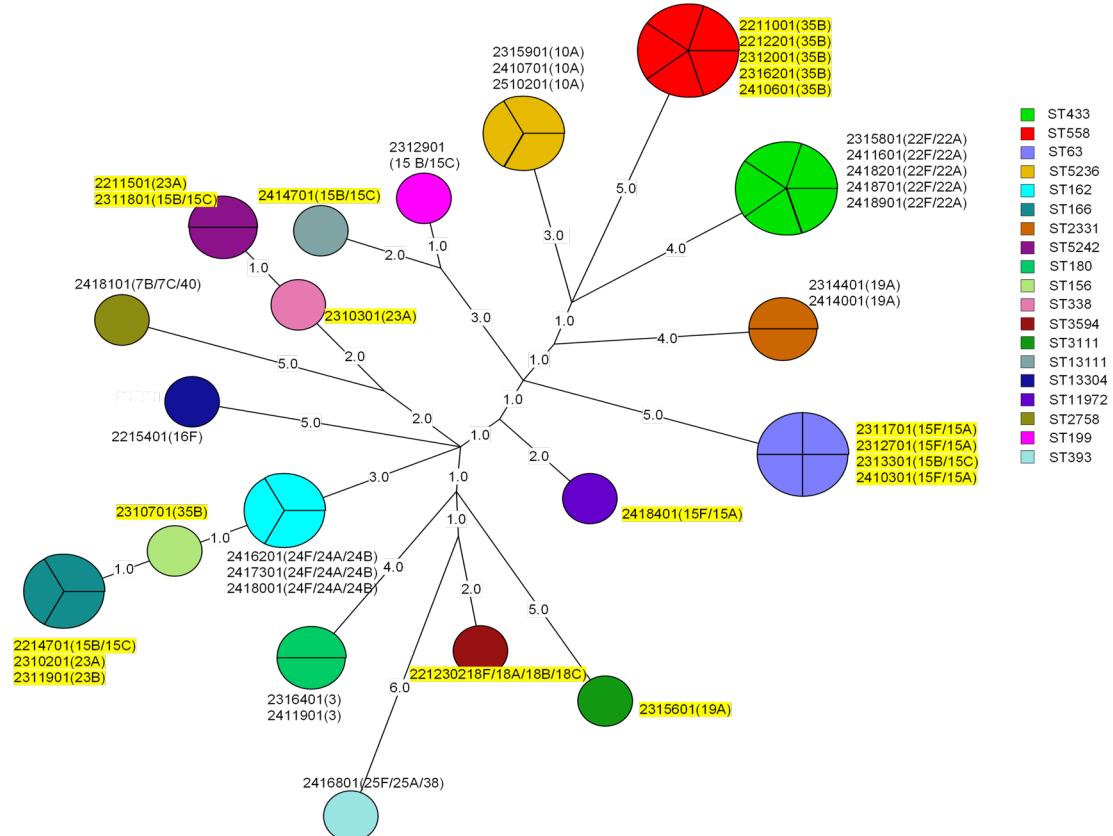


図 7 housekeeping 遺伝子 6 領域に基づく MST

開発中であり、血清型によらない広範囲な肺炎球菌に有効であるため期待が寄せられる⁹⁾。

4種類の薬剤の耐性率を図3~6に示した。35BをはじめとするPG耐性率の高い非ワクチン型の血清型が増加したとの報告⁵⁾があり、広島市においても同様に2023年は35Bや23A等にPG耐性の株がみられたが、2024年は2023年と比較して少ない傾向にあった。また、MPの耐性率も減少しており、LEやEMに関しても耐性率の増加の傾向はみられなかつた。適正に抗菌薬が使用されていることが推測されるが、肺炎球菌は組換えを起こしやすい菌であるため、今後、どのような変異を起こし、耐性を獲得するか予断は禁物であると思われる。

MLST解析の結果、最も多い遺伝子型である35Bは5株がST558に、1株がST156に型別された。次いで多い遺伝子型である22F/22Aは5株すべてST433に型別され、遺伝子型15B/15Cの5株はすべて別のST(63, 166, 199, 5242, 13111)に型別された。*dd1*遺伝子を除く6遺伝子について作成したMST(図7)では、クラスターを形成することなく、多数分岐していることが分かった。housekeeping遺伝子は保存された領域であるにも関わらず、分岐が多かったことから、鼻咽頭に常在している複数の肺炎球菌と組換えを起こしている可能性や、ワクチンや抗菌剤から回避できるような変異を獲得した株が出現していることが示唆された。

肺炎球菌はときに重症化するなどリスクが高い病原体であるとともに、変異しやすい菌種であるため、今後も引き続き解析し、結果を還元していくたいと考えている。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：<特集>肺炎球菌感染症 2017年, IASR, 39, 107-108(2018)
- 2) 川上和義：肺炎球菌感染症の発症病態とワクチンの免疫機序, 日本内科学会雑誌, 104(11), 2307~2313(2015)
- 3) 岩田 敏 他：侵襲性肺炎球菌感染症由来のムコイド型ペニシリソ耐性肺炎球菌(PRSP)に関する研究, 日本化学療法学会雑誌, 66(6), 691~699(2018)
- 4) 住吉 誠 他：市中肺炎, 日本内科学会雑誌, 112(11), 2053~2058(2023)
- 5) 内谷友美 他：東京都内におけるワクチン導入後の侵襲性肺炎球菌感染症由来菌株の血清型および薬剤感受性(2013年~2022年), 感染症学雑誌, 98(2), 134~145(2024)
- 6) 千葉菜穂子 他：肺炎球菌に対するカルバペネム系薬の抗菌作用の比較, 日本化学療法学会雑誌, 50(3), 161~169(2002)
- 7) Enright, M. C et al. : Extensive Variation in the *dd1* Gene of Penicillin-Resistant *Streptococcus pneumoniae* Results from a Hitchhiking Effect Driven by the Prnicillin-Binding Protein 2b Gene, Mol. Biol. Evol, 16, 1687~1695(1999)
- 8) 輪島文明：顕在化しつつある無莢膜型肺炎球菌の病原性の解明, 科研費研究成果報告書, 令和元年
- 9) 森野紗衣子 他：今後期待される新規肺炎球菌ワクチン, IASR, 44, 3~5(2023)

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(2024年)

岩崎 隼人 岡村 美里 山木戸 聰 宇野 拓也^{*1}
児森 清香^{*2} 川原 康嗣 山本 美和子

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⁾。今回、2024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

2024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244人から採取した咽頭拭い液、糞便、結膜拭い液、膿液、尿等301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い、細胞はHEp-2, RD-A, Vero, A549を用いた。ただし、インフルエンザウイルスの分離については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、難中和株はシークエンスにより遺伝子型を決定した。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

2024年の月別ウイルス検出数を表1に示した。患者244人の検査を実施し、89人から106件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15件と最も多く、次いでアデノウイルス8型が9件、コクサッキーウィルスA6型、RSウイルスが各7件であった。

ライノウイルスは1年を通して検出された。また、アデノウイルス8型は9月から11月にかけ

て、コクサッキーウィルスA6型は4月から7月にかけて、RSウイルスは1月から7月にかけて検出された。

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

17人の患者から採取された検体を検査し、10人から10件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、B型インフルエンザウイルスが各4件、インフルエンザウイルスA(H3)型、ヒトコロナウイルスHKU1が各1件であった。

(2) 感染性胃腸炎

9人の患者から採取された検体を検査し、3人から4件のウイルスが検出された。その内訳は、ノロウイルスGIIが2件、アストロウイルス、アデノウイルス1型が各1件であった。

(3) 手足口病

14人の患者から採取された検体を検査し、10人から13件のウイルスが検出された。その主な内訳は、コクサッキーウィルスA6型が4件、コクサッキーウィルスA16型が3件、エンテロウイルス71型が2件であった。

(4) ヘルパンギーナ

4人の患者から採取された検体を検査し、3人から3件のコクサッキーウィルスA6型が検出された。

(5) 流行性角結膜炎

117人の患者から採取された検体を検査し、18人から18件のウイルスが検出された。その内訳は、アデノウイルス8型が9件、アデノウイルス56型が3件、アデノウイルス3型、同37型、同54型が各2件であった。

(6) RSウイルス感染症

2人の患者から採取された検体を検査し、2人から3件のウイルスが検出された。その内訳は、RSウイルス、単純ヘルペスウイルス1型、ヒトヘルペスウイルス6型が各1件であった。

*1: 現 健康福祉局保健部環境衛生課

*2: 現 健康福祉局保健部動物愛護センター

表1 月別ウイルス検出数

検出病原体	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	
コクサッキーウイルス A2型										1			1
コクサッキーウイルス A6型				1			2	4					7
コクサッキーウイルス A9型											1		1
コクサッキーウイルス A16型						1	1	2			1		5
エコーウイルス 3型									1				1
エコーウイルス 11型											1		1
エンテロウイルス 71型	1									1		1	3
ライノウイルス	1	1		2	4	1	1			1	3	1	15
パレコウイルス 1型								1					1
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09型										3	1		4
インフルエンザウイルス A (H3)型									1				1
B型インフルエンザウイルス	1	2	2										5
パラインフルエンザウイルス 3型										1			1
RSウイルス	1			1	2	2	1						7
ヒトメタニューモウイルス			1			1							2
ヒトコロナウイルス NL63		1											1
ヒトコロナウイルス HKU1										1		1	2
新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)				1	1			1				1	4
ノロウイルス GII	1		1										2
アストロウイルス							1						1
アデノウイルス 1型				1	1								2
アデノウイルス 2型				1			1		1	1	1	1	6
アデノウイルス 3型	3		1										4
アデノウイルス 5型						1							1
アデノウイルス 8型									2	4	3		9
アデノウイルス 37型		1								1			2
アデノウイルス 41型							1						1
アデノウイルス 54型									1			1	2
アデノウイルス 56型		2									1		3
パルボウイルス B19											1		1
ヒトボカウイルス									1		1		2
単純ヘルペスウイルス 1型			1						1				2
サイトメガロウイルス							1						1
ヒトヘルペスウイルス 6型	1		1		1								3
ヒトヘルペスウイルス 7型			1						1				2
計	8	9	5	9	10	11	10	5	7	12	12	8	106
陽性患者数	8	9	4	6	7	9	9	4	5	11	11	6	89
検査患者数	20	22	13	22	22	25	17	18	15	19	30	21	244

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	感染性胃腸炎	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	手足口病	百日咳	ヘルパンギーナ	流行性角結膜炎	無菌性結膜炎	マイコプラズマ肺炎	RSウイルス感染症	流行性耳下腺炎	伝染性紅斑	突発性発しん	新型コロナウイルス(CoVID-19)感染症	計							
															他の泌尿生殖器疾患	他の循環器疾患	他の発疹性疾患	他の神経系疾患	他の消化器疾患			
コクサッキーウイルス A2型															1			1				
コクサッキーウイルス A6型					4		3											7				
コクサッキーウイルス A9型																	1	1				
コクサッキーウイルス A16型					3										1		1	5				
エコーウイルス 3型																	1	1				
エコーウイルス 11型															1			1				
エンテロウイルス 71型					2											1		3				
ライノウイルス															1	1	6	1				
パレコウイルス 1型					1													1				
インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09型					4													4				
インフルエンザウイルス A(H3)型					1													1				
B型インフルエンザウイルス					4										1			5				
パラインフルエンザウイルス3型															1			1				
RSウイルス					1					1					3	1		1				
ヒトメタニユーモウイルス															2			2				
ヒトコロナウイルス NL63															1			1				
ヒトコロナウイルス HKU1					1										1			2				
新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)															3	1		4				
ノロウイルス GII					2													2				
アストロウイルス					1													1				
アデノウイルス 1型					1												1	2				
アデノウイルス 2型					1										2	1	2	6				
アデノウイルス 3型							2								2			4				
アデノウイルス 5型															1			1				
アデノウイルス 8型							9											9				
アデノウイルス 37型							2											2				
アデノウイルス 41型															1			1				
アデノウイルス 54型							2											2				
アデノウイルス 56型							3											3				
パルボウイルス B19												1						1				
ヒトボカウイルス															2			2				
単純ヘルペスウイルス 1型					1					1								2				
サイトメガロウイルス															1			1				
ヒトヘルペスウイルス 6型											1		2					3				
ヒトヘルペスウイルス 7型															1	1		2				
計	10	4	0	13	0	3	18	0	0	3	0	1	3	4	22	9	3	4	0	2	7	106
陽性患者数	10	3	0	10	0	3	18	0	0	2	0	1	3	3	16	7	3	2	0	2	6	89
検査患者数	17	9	1	14	1	4	117	6	1	2	1	1	3	3	20	13	6	4	1	3	17	244

表3 検体別ウイルス検出数

検出病原体	咽頭拭い液	糞便	結膜拭い液	唾液	尿	血液	その他	計
コクサッキーウイルス A2 型	1							1
コクサッキーウイルス A6 型	7							7
コクサッキーウイルス A9 型	1							1
コクサッキーウイルス A16 型	3	2		1			1	7
エコーウイルス 3 型			1					1
エコーウイルス 11 型	1							1
エンテロウイルス 71 型	3	1						4
ライノウイルス	15							15
パレコウイルス 1 型	1							1
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型	4							4
インフルエンザウイルス A (H3) 型	1							1
B 型インフルエンザウイルス	5							5
パラインフルエンザウイルス 3 型	1							1
RS ウイルス	7							7
ヒトメタニューモウイルス	2							2
ヒトコロナウイルス NL63	1							1
ヒトコロナウイルス HKU1	2							2
新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)	4							4
ノロウイルス G II			2					2
アストロウイルス			1					1
アデノウイルス 1 型	1	1						2
アデノウイルス 2 型	6							6
アデノウイルス 3 型		2	2					4
アデノウイルス 5 型		1						1
アデノウイルス 8 型			9					9
アデノウイルス 37 型			2					2
アデノウイルス 41 型		1						1
アデノウイルス 54 型			2					2
アデノウイルス 56 型			3					3
パルボウイルス B19	1							1
ヒトボカウイルス	2							2
単純ヘルペスウイルス 1 型	2						1	3
サイトメガロウイルス	1							1
ヒトヘルペスウイルス 6 型	2			1			1	4
ヒトヘルペスウイルス 7 型	2							2
計	76	12	18	2			3	111
陽性検体数	61	11	18	2			2	94
検査検体数	93	43	118	24	15	3	5	301

(7) 伝染性紅斑

1 人の患者から採取された検体を検査し, 1 件のパルボウイルス B19 が検出された。

(8) 突発性発しん

3 人の患者から採取された検体を検査し, 3 人から 3 件のウイルスが検出された。その内訳は, ヒトヘルペスウイルス 6 型が 2 件, ライノウイルスが 1 件であった。

(9) 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)

3 人の患者から採取された検体を検査し, 3 人から 4 件のウイルスが検出された。その内訳は, 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)が 3 件, ライノウイルスが 1 件であった。

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 93 検体のうち, 61 検体から 76 件のウイルスが検出された。その主な内訳は, ライノウイルスが 15 件, コクサッキーウイルス A6 型, RS ウィルスが各 7 件, アデノウイルス 2 型が 6 件, B 型インフルエンザウイルスが 5 件, インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型, 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)が各 4 件であった。

(2) 粪便

検査した 43 検体のうち, 11 検体から 12 件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 A16 型, ノロウイルス G II, アデノウイルス 3 型が各 2 件, エコーウィルス 3 型, エンテロウイルス 71 型, アストロウイルス, アデノウイルス 1 型, 同 5 型, 同 41 型が各 1 件であった。

(3) 結膜拭い液

検査した 118 検体のうち, 18 検体から 18 件のウイルスが検出された。その内訳は, アデノウイルス 8 型が 9 件, アデノウイルス 56 型が 3 件, アデノウイルス 3 型, 同 37 型, 同 54 型が各 2 件であった。

(4) 髄液

検査した 24 検体のうち, 2 検体から 2 件のウイルスが検出された。その内訳は, コクサッキーウィルス A16 型, ヒトヘルペスウイルス 6 型が各 1

件であった。

考 察

表 1 及び表 2 のとおり, ライノウイルスが最も多く検出され, 全体の検出数の約 1 割を占めていた。検出数は例年と比べると少ないものの, 2022 年から増加傾向である²⁾ため, 今後の挙動を注視する必要がある。また, アデノウイルス 8 型は 2022 年まで検出がなかったもので, 昨年の 2 件から増加している²⁾。当該ウイルスは当所における解析により, 新規リコンビナント株であることが判明している³⁾。近年, 国内外でリコンビナント株の検出が報告されている^{4), 5)}ため, 引き続き解析を行っていくことが重要と考えられる。

今後も引き続き感染症の発生動向を注視し, ウィルス検出状況や流行時期の変化等を迅速かつ適切に把握していく必要がある。

謝 辞

広島市感染症発生動向調査事業に御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
- 2) 広島市: 広島市感染症情報センター 病原体検出情報 年次別検出数
<https://www.city.hiroshima.lg.jp/living/eisei/1003071/1005991/index.html>
- 3) 山木戸 聰 他: 流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス新規リコンビナント株の検出—広島市, IASR, 45(7), 127~129(2024)
- 4) 廣瀬絵美 他: ヒトアデノウイルス 89 型と 5 型の新規組換え型株の検出—愛知県, IASR, 42(4), 78~79(2021)
- 5) Akello JO et al.: Genomic analyses of human adenoviruses unravel novel recombinant genotypes associated with severe infections in pediatric patients, Sci Rep, 11, 24038(2021)

広島市で分離されたヒトアデノウイルス 3 型の分子疫学的解析

児森 清香^{*1} 山木戸 聰 宇野 拓也^{*2} 川原 康嗣
山本 美和子

はじめに

ヒトアデノウイルス Human adenovirus(以下, HAdV とする)は、全長約 35 kbp の 2 本鎖 DNA ウィルスであり、現在 A から G の 7 種、100 以上の型が存在している¹⁾。エンベロープではなく、主要な構造蛋白はペントンベース、ヘキソン、ファイバーの 3 種類である。従来、HAdV は、中和試験により血清型を決定していたが、52 型以降は遺伝子型として登録されている。

国立感染症研究所病原体検出マニュアルでは、主に中和領域と相関性の高いヘキソン領域における遺伝子配列を用いた型の決定が推奨されているが、HAdV は種内の異なる型間での組換えが起こることが報告されており^{1), 4)}、より詳細な型別のため、ペントンベース、ヘキソン、ファイバーの 3 領域の塩基配列を別々に決定し、組換え型表記である PHF 表記を付与することも可能である。

HAdV は種及び型によって異なる疾患を起こすため²⁾、感染症発生動向調査事業では五類定点把握対象疾患である咽頭結膜熱、流行性角結膜炎及び感染性胃腸炎が HAdV 関連疾患とされる。広島市では病原体サーベイランスとしてこれらの疾患患者の検体について HAdV の検索を行っている。HAdV のうち 3 型(以下 HAdV-3)は咽頭結膜熱の主な原因ウイルスであり、例年、夏季に流行する傾向がある。IASR³⁾において、2023 年夏季に報告が著増していることから³⁾、全国的に流行していたことがうかがえる。広島市においても 2023 年に報告数が多かったた

ことから、過去に分離された株を含む HAdV-3 株について、NGS による全ゲノム解析を行い、構造蛋白質の変異や組換え等の詳細な解析を行うことで、流行株の派生等について検討を行ったので、その結果を報告する。

方 法

1 供試株

2014 年 1 月から 2023 年 12 月までに感染症発生動向調査定点医療機関から提供のあった検体(咽頭拭い液、糞便、結膜擦過液)から分離された HAdV-3 50 株を試験に供した(表 1)。

2 NGS による全ゲノム解析

Maxwell[®] RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit(Promega)等の抽出キットを用いて DNA を抽出した。QIAseq FX DNA Library Kit(QIAGEN)により、ライプラリを調製し、iSeq 100(Illumina)によりリードデータを取得した。得られたリードデータを Geneious Prime(Biomatters)を用いて de novo アセンブリすることにより、全長配列を得た。de novo アセンブリにより全長配列が得られなかったものについては、参照株(Accession No. DQ086466 又は R777168)にマッピングすることで、全長配列を決定した。得られた 50 株の全長配列について、Geneious Prime により、不一致塩基数を確認した。BLAST 検索で相同性が高かった 10 株(表 2)を参照株とし、併せて MEGA 11⁵⁾により系統樹を作成した。

表 1 分離株の検体別内訳

	分離年									
	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
咽頭拭い液(NT)			5	1	1	2	2			4
糞便(F)	2	2	2	3	1	1				
結膜擦過液(C)			3	5	3	2				8
鼻汁(N)						1				2

*1: 現 健康福祉局保健部動物愛護センター

*2: 現 健康福祉局保健部環境衛生課

表2 系統樹作成に用いた参照株

Accession No.	strain/isolate
KF268128	human/USA/CL_46/1988/3[P3H3F3]
KF268131	human/USA/UFL_Adv3a17/2007/3[P3H3F3]
MK883603	Human/China/Shanghai/3517/2011/3[P3H3F3]
LC791162	Kobe190239
LC695001	human/JPN/TKYAd191191/2019/3
LC757030	ADVB3_Fukushima_0898_2019
OR777156	HAdV-B3/USA/1B10/2020
LC799977	Kobe-230143
LC799980	Kobe-230181
LC799989	Nara-A230054

また、全長配列のうち、ペントンベース、ヘキソン、ファイバーの各領域について、アミノ酸に変換し、アミノ酸変異について比較を行った。

結 果

1 全長配列による解析

ゲノムの全長配列をもとに作成した系統樹を図に示した。今回解析した50株は、大きく2つのクラスター(クラスター1及び2)を形成した。クラスター1は、主に2014年から2020年の分離株であり、クラスター2は主に2023年の分離株であった。

また、参照株として加えた広島市以外で分離された株についても、おおむね同時期のクラスターに分類された。クラスター間の不一致塩基数は約120塩基であった。不一致は主に1塩基置換によるものであり、組換えによる変異は認められなかった。

2 ペントンベース、ヘキソン、ファイバーの各領域における塩基及びアミノ酸変異の比較

クラスター1及びクラスター2における塩基及びアミノ酸変異箇所を表3に示す。塩基の変異はペントンベースに8か所、ヘキソンに8か所、ファイバーに3か所認められ、このうちアミノ酸の変異を伴うものはペントンベースに2か所、ヘキソンに5か所、ファイバーに1か所であった。今回の解析では、ヘキソン領域にアミノ酸変異が最も多く、ファイバー領域で塩基、アミノ酸ともに少ない結果となった。

考 察

2014年から2023年に当所に提供のあった検体から分離されたHAdV-3 50株は、大きく2つのクラスターに分類された。2014年から2020年の分離株は主にクラスター1に分類され、その分離株間は遺伝的に大きな変異はなく、近縁な株が流行していたことが示唆された。2023年の分離株は、主にクラスター2に分類され、それ以前の株とは異なるクラスターを形成したことから、過去の株から何

表3 3領域における塩基及びアミノ酸変異の位置と検出アミノ酸

ペントンベース領域(1637bp)								
塩基	6	189	365	1164	1167	1380	1384	1434
アミノ酸	-	-	122	-	-	-	462	-
クラスター1	-	-	Arg	-	-	-	Ala	-
クラスター2	-	-	Gln	-	-	-	Thr	-
ヘキソン領域(2835bp)								
塩基	614	761	1249	1285	1316	1731	2061	2067
アミノ酸	205	254	417	429	439	-	-	-
クラスター1	Val	Ile	Asn	Thr	Ala	-	-	-
クラスター2	Gly	Thr	His	Ala	Asp	-	-	-
ファイバー領域(960bp)								
塩基	628	771	786					
アミノ酸	210	-	-					
クラスター1	Ile	-	-					
クラスター2	Leu	-	-					



図 HAdV-3 分離株全長配列による分子系統樹

らかの変異を獲得し大きな流行を起こしたことが推測されたが、全ゲノム解析の結果、一塩基置換によるものが主であると判明した。このことから、2014年から2020年に流行した株が構造蛋白質などでの組換えを起こし、2023年に新たな流行株が派生したのではなく、市中に存在していた株がそれぞれ流行を起こしている可能性が示唆された。国内の他の地域で検出された参考株についても、それぞれの流行時期に本市で分離された株と同じクラスターに含まれることから、全国的に各クラスター発生時期に地域差等はなく近縁な株が流行していたものと考えられる。

主要な構造蛋白質3領域の解析では、各領域において、アミノ酸の変異が複数箇所確認された。これらの領域は、ウイルスの表面蛋白を構成しており、宿主細胞への侵入や抗原性に関連する部分が含まれている⁶⁾。ヘキソン領域は中和領域と関連していると言われており、今回の解析において、最もアミノ酸変異が多い結果となった。また、ペントンベース領域及びファイバー領域においてもアミノ酸の変異が認められたことから、3領域を解析することにより、詳細な情報を得ることが重要であることが

改めて示唆された。これらのアミノ酸の変異がどのような影響を及ぼすのか、流行との関連性について今後も注視していきたいと考えている。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：アデノウイルス感染症 2008～2020年, IASR, 42(4), 67～69(2021)
- 2) 南波広行 他：アデノウイルス感染症、耳鼻咽喉科展望, 51(6), 456～461(2008)
- 3) IASR：アデノウイルス月別分離・検出報告数の推移、過去4年間との比較、2020～2024年
- 4) 廣瀬絵美 他：ヒトアデノウイルス89型と5型の新規組換え型株の検出, IASR, 42(4), 78～79(2021)
- 5) Koichiro T et al.: MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11, Mol Biol Evol, 38(7), 3022～3027(2021)
- 6) Kulanayake S et al.: Adenovirus Core Proteins: Structure and Function, Viruses, 13, 388(2021)

広島市内河川のマイクロプラスチック実態調査結果 (2024 年度)

環境科学部

はじめに

海洋環境等への影響が懸念されるマイクロプラスチック(5mm 未満の微細なプラスチック)について、発生源対策の検討のため、陸域から海域へ流出するマイクロプラスチックの分布実態を把握する必要がある¹⁾。陸域から海域への主な流出経路である河川を対象として、広島市内におけるマイクロプラスチックの排出実態調査を太田川、八幡川及び瀬野川の3河川で実施したため、結果を報告する。

なお、太田川については、2022 年度から引き続き調査しているため、併せて報告する。

方 法

1 調査地点

戸坂上水道取水口(太田川・左岸)、美鈴橋(八幡川・流心)及び才の瀬橋(瀬野川・流心)において実施した(図)。

2 調査日

戸坂上水道取水口、美鈴橋及び才の瀬橋の調査を2024年11月11日に実施した。

なお、戸坂上水道取水口については、2023年1月17日及び2023年10月4日にも調査を実施している。

3 調査方法

「河川・湖沼マイクロプラスチック調査ガイドライン」¹⁾に準じて実施した。その概要は、以下のとおり。

口径30cm、目開き0.3mmのろ水計つきプランクトンネットを、水面直下に沈む程度の位置へ降ろし、採取量が10m³以上となるよう通水し、試料を採取した。

過酸化水素水を用いた酸化処理による有機物の除去及び5.3mol/L ヨウ化ナトリウム水溶液を用いた比重分離によって試料を前処理し、実体顕微鏡を用いて試料を観察し、マイクロプラスチック候補粒子を分取した。

候補粒子の長径、色及び形状を記録したのち、フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR ATR 法)を用いて長径1mm以上の粒子のプラスチック種別を同定し、個数密度を算出した。



図 調査地点

結果

戸坂上水道取水口では0.13個/m³、美鈴橋では0.48個/m³及び才の瀬橋では0.07個/m³のマイクロプラスチックが検出された。これは、環境省が令和3年度に行った全国10河川の調査結果(0.29~9.19個/m³)より低い傾向であった(表1)。

2022年度から2024年度までの戸坂上水道取水口における継続的な調査では、0.13個/m³~0.22個/m³のマイクロプラスチックが検出された。採取年度による大きな変化は認められなかった(表2)。

謝 辞

本調査の実施にあたり、分析機器の貸与等にご協力いただいた本市消防局に深謝いたします。

文 献

- 1) 環境省水・大気環境局水環境課: 河川・湖沼マイクロプラスチック調査ガイドライン(令和6年3月)

表1 マイクロプラスチック調査結果

調査地点	個数密度	プラスチックの種別及び個数	形状/色/長径
戸坂上水道		ポリエチレン 1 個	フィルム/青/2.1mm
取水口 (太田川)	0.13 個/m ³	ポリエチレンテレフタレート 1 個	繊維状/黒/3.8mm
		ポリプロピレン 5 個	フィルム/黒/2.5mm
			フィルム/黒/1.5mm
美鈴橋 (八幡川)	0.48 個/m ³	ポリエチレン 1 個	フィルム/黒/1.4mm
		エチレンプロピレンジエンゴム 1 個	フィルム/緑/3.5mm
			フィルム/青/2.1mm
		ポリエチレン 1 個	フラグメント/青/1.0mm
才の瀬橋 (瀬野川)	0.07 個/m ³	エチレンプロピレンジエンゴム 1 個	フラグメント/青/1.4mm
			繊維状/黒/1.2mm

表2 戸坂上水道取水口(太田川)におけるマイクロプラスチック調査結果

採水年度	個数密度	プラスチックの種別及び個数	形状/色/長径
2024	0.13 個/m ³	ポリエチレン 1 個 ポリエチレンテレフタレート 1 個	フィルム/青/2.1mm 繊維状/黒/3.8mm
2023	0.14 個/m ³	ポリプロピレン 2 個	フィルム/緑/2.2mm 繊維状/緑/1.9mm
2022	0.22 個/m ³	ポリプロピレン 1 個 ナイロン 1 個 ポリエチレンテレフタレート 1 個	繊維状/緑/1.7mm 繊維状/緑/1.5mm 繊維状/複合/2.5mm

III 抄 錄

学会発表(所属については発表時のものを掲載した。)

デジタルを活用した広島市感染症情報センターの運営について

山岡誠司 小川秋奈 眉田美由紀

吉岡英明

第27回地域保健研究会(第1分科会)

2025. 2. 7 広島市

広島市感染症情報センターでは、感染症週報等の安定的な情報提供を目的に、機器構成の見直しと作業の効率化を実施した。

庁内 LAN パソコンの活用により、従来の賃貸借契約による機器を廃止し、機器の維持管理を簡素化した。また、テレワークでも大部分の業務を継続できるよう、データ保管場所の変更や作業内容を見直し、出勤困難時にも対応可能な体制を整備した。加えて、Excel VBA による自動化や生成 AI の活用により、週報作成やホームページ更新などの作業負担を軽減し、感染症情報の安定的な発信に加え、臨時業務にも対応できる体制を整備した。

亜硝酸根測定へのマトリックス検量線の応用について

森本章嗣 馬部文恵 吉岡英明

第38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)

2025. 3. 7 広島市

食品中の亜硝酸塩は、比色法により亜硝酸根(NO_2^-)として定量する。発色剤を使用していない「無塩せき」のベーコンに定量限界相当の亜硝酸イオンを添加して添加回収試験を行ったところ、厚生労働省の通知に準じた試験法では良好な回収率が得られなかった。

そのため、当所では質量分析装置による有機物の定量で採用しているマトリックス検量線を亜硝酸根の測定に応用し、絶対検量線と比較したところ、マトリックス検量線の使用により回収率が改善されることが確認できた。

これは、マトリックス検量線により、試験溶液中のマトリックスによる発色妨害が補正されたためと考えられる。

2022 年から 2024 年に広島市域で分離された *Salmonella Enteritidis* の分子疫学解析

大原有希絵 池田伸代 坂本悠紀子

兼重泰弘 山本美和子

第38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)

2025. 3. 7 広島市

2022 年から 2024 年に広島市域で分離された *S. Enteritidis* を対象に、薬剤感受性試験、cgMLST 解析及び SNPs 解析を行い、これらの疫学的関連性を検討した。家庭内散発事例由来株や複数の集団事例由来株では、それぞれの事例内で薬剤感受性結果が一致しており、cgMLST 解析では同じクラスターを形成し、SNPs が 0 であったことから、同一由来株である可能性が高いと考えられた。また、cgMLST 解析及び SNPs 解析の結果から、一部の菌株は遺伝的に近縁である可能性が示唆された。cgMLST 解析や SNPs 解析により遺伝的背景を解析することできることでサルモネラ属菌食中毒の疫学的関連性を調査する一助となると考えられた。

全ゲノム配列を用いた腸管出血性大腸菌 0157

菌株の複数解析手法による関連性の検討

田内敦子 山本泰子 平岡史帆

青田達明 古谷玲子 山本美和子

第38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)

2025. 3. 7 広島市

複数の腸管出血性大腸菌 0157 感染事例において分離された菌株について、従来から実施している分子疫学的解析手法である MLVA に加えて、全ゲノム配列を用いた SNPs 解析及び cgMLST 解析を実施したところ、同時期に散発的に発生し、疫学調査では関連性が不明であった 3 事例が、同一感染源である可能性が示唆された。コアゲノムやアクセサリーゲノムなどを多角的に解析し、その結果を組み合わせることで、事例間の関連性をより詳細に解明することができた。

複数医療機関で分離されたバンコマイシン耐性
腸球菌の分子疫学解析結果
青田達明 山本泰子 平岡史帆
古谷玲子 田内敦子 山本美和子
第67回中国地区公衆衛生学会
2024. 8. 22~23 岡山市

2019年から2023年11月までに、本市医療機関で分離されたVRE感染症由来菌株44株について、菌種同定試験及び耐性遺伝子検出試験に加え、次世代シーケンサーを用いた詳細な分子疫学解析を行った。44株中42株が *E. faecium* であり、*E. faecalis* 及び *E. raffinosus* が各1株であった。44株は全て *vanA* 遺伝子を保有していた。*E. faecium* のMLST解析の結果、ST80が36株、ST547が3株、ST17、ST78及びST203が各1株であった。さらに、*E. faecium* のSNPs解析の結果、ST80に分類された36株は互いに遺伝的に近縁であることが判明した。このことから、市域の医療機関において遺伝的関連の高い株が拡散していることが推測された。

原因不明感染症事案等における網羅的
ゲノム解析法を用いた病原体検索
川原康嗣 埼 朋実* 山木戸 聰
宇野拓也 児森清香 青田達明
田内敦子 山本美和子
第67回中国地区公衆衛生学会
2024. 8. 22~23 岡山市

原因不明の感染症事案については、原因となる病原体を検索するため、通常、ターゲットを絞った検査を行っているが、新興感染症や想定外の病原体が原因である場合、検出することが困難である。このような課題の解決方法として、次世代シーケンサー(NGS)を用いた検体中に含まれる病原体ゲノムを網羅的に検出する手法で病原体検索を行った。本事例においては関与が疑われる具体的な病原体を示すには至らなかったが、常在菌を含む細菌やウイルス等の遺伝子を網羅的に検出することができた。今後、複数検体を用いた検査の実施やデータ解析技術を向上させることにより、本手法が原因不明の感染症事案における病原体検索に活用できる可能性が示唆された。

* : 健康福祉局保健部環境衛生課

広島市で分離されたヒトアデノウイルス3型の
分子疫学的解析

児森清香 山木戸 聰 宇野拓也
川原康嗣 山本美和子

全国公衆衛生獣医師協議会令和6年度全国大会

2024. 9. 6 東京都

広島市で2014年から2023年に分離されたヒトアデノウイルス3型(HAdV-3)50株について、次世代シーケンサー(NGS)を用いた全ゲノム解析を実施した。系統解析の結果、大きく2つのクラスター(クラスター1(主に2014-2020年の分離株)及びクラスター2(主に2023年の分離株))に分類された。2023年の流行株は2020年以前にも検出されており、新たな組換えによる派生株ではなく、既存の株が流行した可能性が示唆された。また、主要な構造蛋白の塩基及びアミノ酸配列の比較では、クラスター間で複数の変異が確認された。

流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス

新規リコンビナント株の検出
山木戸 聰 埼 朋実* 宇野拓也
児森清香 川原康嗣 山本美和子
花岡 希²

第27回地域保健研究会(第1分科会)

2025. 2. 7 広島市

広島市内の流行性角結膜炎患者由来の結膜ぬぐい液から、ヒトアデノウイルス(HAdV)が分離された。分離株について、ペントンベース(P)、ヘキソン(H)、ファイバー(F)の3領域における部分塩基配列解析を実施したところ、PHF表記で[P64H8F53]、[P64H8F85]とされる新規リコンビナント株であることが判明した。また、全ゲノム配列のSimplot解析により、3領域以外の領域の多くはHAdV-53との相同性が高く、同型由来の新規リコンビナント株であることが示唆された。

今後も新たな組換え株の出現が予想されることから、国内外の検出状況を注視する必要があると考える。

*1 : 健康福祉局保健部環境衛生課

*2 : 国立感染症研究所感染症危機管理研究センター

広島市におけるPM_{2.5}の発生源推定
仙本清孝 大前多佳子 竹内由香理
佐々木珠生 花木陽子
第38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)

2025. 3. 7 広島市

PM_{2.5}は大気中に浮遊する2.5μm以下の微粒子であり、呼吸器系や循環器系への影響が懸念されている。広島市では依然として環境基準を超える日が存在する。これはアジア地域からの越境大気に加え、国内の自動車、工場など種々の発生源が影響している可能性がある。本研究では2021～2023年度にかけて、発生源推定に有用な無機元素成分の分析を行うとともに、発生源の推定を試みた。

広島市におけるPM_{2.5}は、越境大気の影響を受けつつも、国内の発生源による影響も示唆された。その主な発生源は化石燃料や植物などの燃焼由来であると推定された。

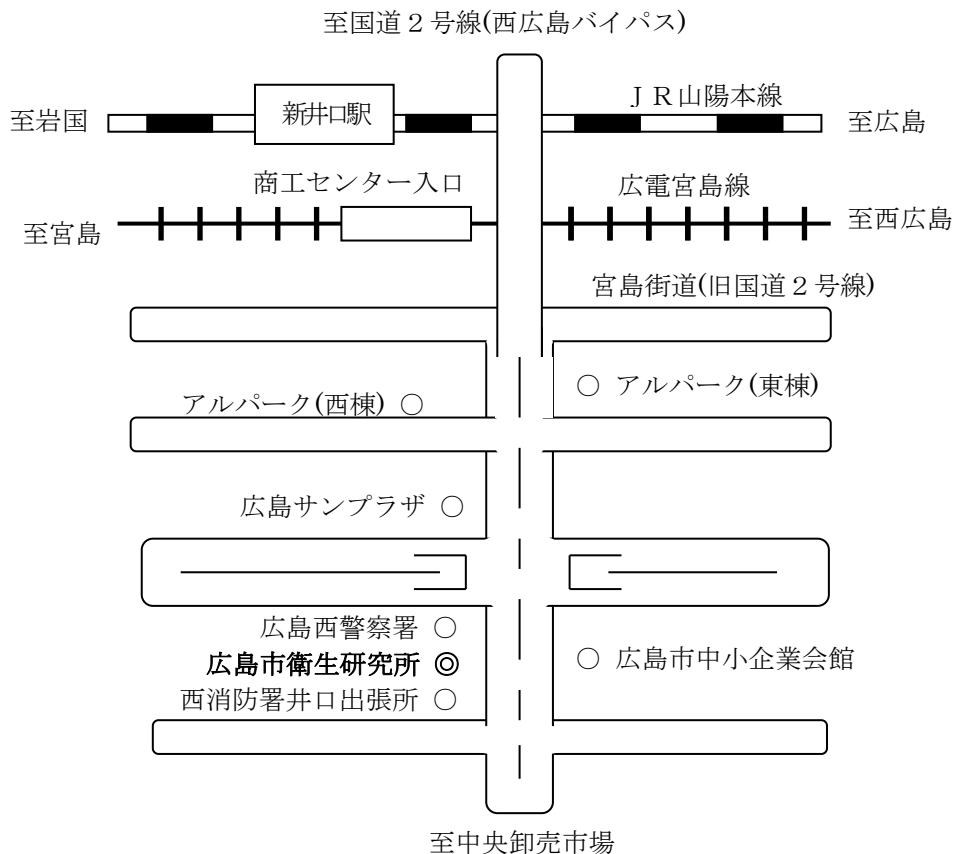
広島市におけるPM_{2.5}無機成分分析調査結果
(2021～2023年度)
仙本清孝 大前多佳子 竹内由香理
佐々木珠生 花木陽子
第51回環境保全・公害防止研究発表会

2024. 11. 14～15 奈良県橿原市

人体への悪影響が懸念される微小粒子状物質(PM_{2.5})について、広島市では依然として環境基準(日平均値 35μg/m³以下)を超過する年があり、発生源推定と削減対策が必要である。発生源の推定には、大気中の無機元素成分が良い指標となる。

2021～2023年度のほぼ毎日サンプリングを実施し、PM_{2.5}質量濃度が15μg/m³以上の日について、無機元素成分の分析及び風向との関係や後方流跡線解析から発生源の推定を試みた。

発生源として越境由来だけでなく国内由来の寄与もあることが示唆された。越境大気が流入したタイミングに加えて、無風時に広島市に汚染大気が滞留したタイミングで、高濃度になる傾向が見られた。



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H0-2025-604
名称	広島市衛生研究所年報 第44号(令和6年度)
主管課 所在地	健康福祉局 卫生研究所 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/living/eisei/1003062/index.html
発行年月	令和8年1月