

広島市衛生研究所年報

ANNUAL REPORT

OF

HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No. 38

(平成30年度)

広島市衛生研究所

はじめに

広島市衛生研究所では、生活科学部、生物科学部及び環境科学部の3部体制で、広島市における保健医療、食品保健及び環境保全等の専門性の異なる公衆衛生分野の施策の形成や危機管理対応の根拠となる、試験検査、調査研究及び情報の発信を行っています。

本年5月から7月にかけて、広島県内で、タイからの帰国者を発端とした麻しんの感染拡大があり、広島市内でも初発患者を含め6名の患者が発生し、検査対応いたしました。

最近のインバウンドの増加や、来年のオリンピック・パラリンピック開催にむけて、新興感染症、輸入感染症のアウトブレイクや広域食中毒の増加が危惧されます。また、コンゴ民主共和国でのエボラ出血熱の発生、拡大をうけて、WHOは本年7月に、この事態を「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態」に該当すると宣言しました。日本においても、対策について再度の確認や注意喚起を呼びかけているところです。当所としましても、こうした危機事象に備え、正確迅速な対応ができるよう、検査体制を構築するとともに、感染症情報を的確に解析し、情報発信していくことが重要と考えます。

また、地球温暖化を前提にして地域に応じた対策を推進するため、平成30年12月に気候変動適応法が施行されました。その中で、各都道府県及び市町村において、気候変動影響等に関する情報の収集、分析や技術的助言を行う地域気候変動適応センターの設置に努めるよう求められています。当所としての役割や対応について、行政部署や県と協議、連携しながら、模索していく必要があると思われます。

地方衛生研究所を取り巻く環境は、職員数の減少や財政的な課題等、年々厳しい状況となっておりますが、公衆衛生行政の科学的、技術的な中核組織として、時代のニーズに対応し、役割を果たしていけるよう、市民の安心安全のために、所員とともに努力してまいりたいと思います。関係機関の皆様には、これからも、ご指導ご協力を賜りますよう、よろしくお願いいたします。

今回、平成30年度に実施しました試験検査、精度管理、疫学情報及び調査研究等、業務の取り組み結果を取りまとめました。ご高覧いただき、ご助言、ご教示いただければ幸いに存じます。

令和元年 11 月

広島市衛生研究所長 上田 久仁子

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	平成30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	環境衛生関連業務	13
3	食品化学関連業務	15

生物科学部

1	食品細菌関連業務	18
2	細菌病理関連業務	20
3	ウイルス関連業務	22

環境科学部

1 水質関連業務	25
2 大気関連業務	27

調査研究報告

I 調査研究

1 2018 年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と 遺伝子解析	29
---	----

II 資料

1 広島市における感染症発生動向調査結果について(2018 年)	35
2 広島市における梅毒の届出状況(2009～2018 年)	38
3 広島市内産農産物における残留農薬調査(平成 21 年度～30 年度)	40
4 広島市の細菌性集団食中毒検査状況(平成 30 年度)	46
5 和菓子の異臭苦情品からの酵母の検出について	47
6 広島市における三類感染症の検査結果(2018 年)	50
7 広島市内で発生したバンコマイシン耐性腸球菌感染症の解析結果	52
8 つつが虫病リケッチア(Kawasaki 型)の分離	55
9 広島市における風しんの発生状況(2018 年)	58
10 急性脳炎, 急性弛緩性麻痺及び呼吸器疾患患者からのエンテロウイルス 68 型 の検出	61
11 広島市におけるインフルエンザウイルスの検出状況と薬剤耐性解析結果について (2018/19 シーズン)	63
12 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(2018 年)	65
13 広島市内における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の調査結果 について(平成 30 年度)	70
14 広島湾における栄養塩類等の調査結果について(第 3 報)	72
15 広島市における雨水成分調査(平成 30 年度)	76
16 ノニルフェノール, 4-tert-オクチルフェノールの固相抽出法の検討	81

17 平成 30 年 7 月豪雨の災害廃棄物仮置場におけるアスベスト大気濃度調査の結果 について	84
---	----

III 抄 録

他誌掲載論文等

1 2018 年に広島市で分離された <i>Salmonella</i> O4:i:- の分子疫学的解析	87
2 急性脳炎及び急性弛緩性麻痺患者からのエンテロウイルス D68 型の検出 ー 広島市ー	87
3 ノロウイルス GⅡ の ORF2 全長遺伝子解析手法に関する検討	87

学会発表等

1 災害時の井戸水検査に伴う一考察	88
2 広島市における風しんの発生状況	88
3 2018 年に食中毒等で分離されたサルモネラ 4:i:- 菌株の解析	88
4 急性脳炎・急性弛緩性麻痺及び呼吸器疾患患者からのエンテロウイルス D68 型 の検出	88

総 務

I 沿 革

II 組織機構及び業務内容

III 庁舎及び施設概要

IV 予算概要

V 会議・研修等

I 沿革

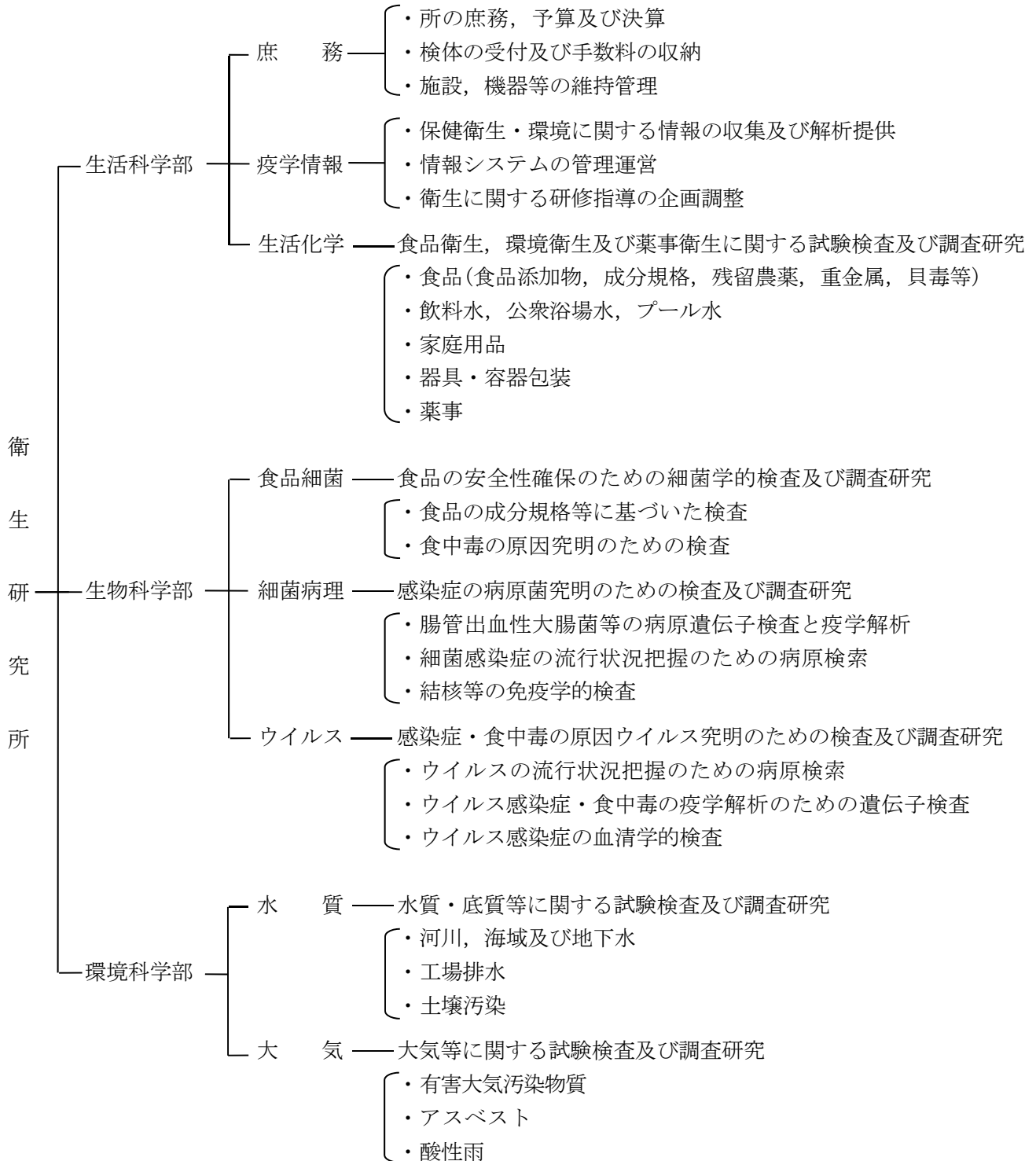
昭和25年7月、当所の前身である衛生試験室が、広島市保健所に設置された。その後、昭和44年4月衛生試験所として独立、昭和46年10月に公害試験所を分離設置し、市民生活の衛生的基盤の確立に努力してきた。

昭和55年政令指定都市昇格を機に、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・環境衛生・食品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	政令指定都市に昇格。 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

(平成31年4月1日現在)

職 種 部 門		事務 吏員	技 術 吏 員							再任用	計
			医師	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								1	2
	(疫学情報)					1			1		2
	(生活化学)				1	4				2	7
生物科学部	部 長			1							1
	(細菌病理)				2		1		2		5
	(食品細菌)			1				1	1	1	4
	(ウイルス)			2			1		1		4
環境科学部	部 長					1					1
	(水 質)				1	4				1	6
	(大 気)				1	2			1	1	5
合 計		1	1	4	6	12	2	1	6	6	39

Ⅲ 庁舎及び施設概要

1 建物・施設概要

(1) 建設規模

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

ウ 建物概要

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

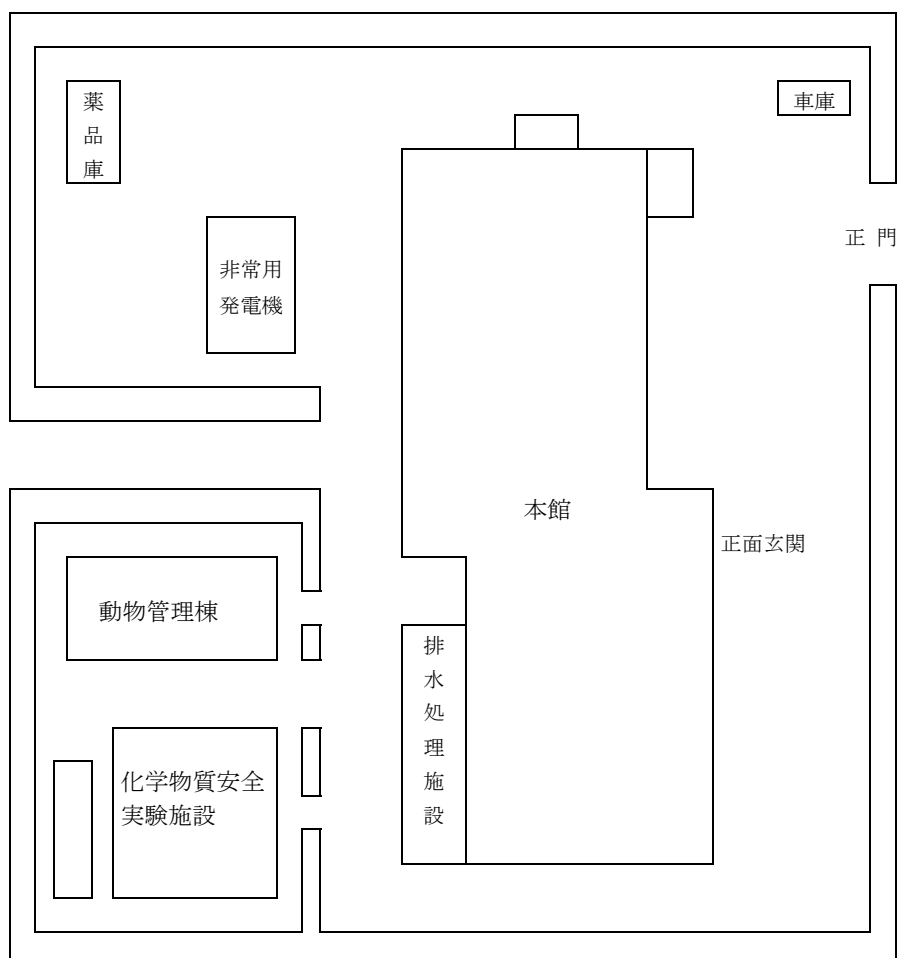
化学物質安全実験施設

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

(2) 設備概要

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

2 庁舎配置図



IV 予算概要

1 予算概要

科 目		予 算 額(当初)	
		平成31年度	平成30年度
歳 入		(千円)	(千円)
使用料及び手数料			
手 数 料			
衛 生 手 数 料	保 健 衛 生 手 数 料	1,733	1,767
市 債			
市 債			
衛 生 費	保 健 衛 生 債	23,600	32,800
計		25,333	34,567
歳 出			
衛 生 費			
保 健 衛 生 費			
環 境 衛 生 費	旅 費	1,998	1,917
	需 用 費	49,420	50,865
	役 務 費	767	849
	委 託 料	49,569	49,336
	使 用 料 及 び 賃 借 料	1,094	484
	工 事 請 負 費	6,300	17,230
	備 品 購 入 費	25,200	25,800
	負担金, 補助及び交付金	420	393
	公 課 費	19	57
計		134,787	146,931

2 平成 30 年度主要整備機器

品 名	型 式	数 量
イオンクロマトグラフ装置	サーモフィッシャーサイエンティフィック(株) Dionex IC	1
質量分析装置	(株)島津製作所 GCMS-QP2020 NX	1

V 会議・研修等

1 会議

年 月 日	会 議 名	開催地	出席者名
30. 5. 17～18	第72回地方衛生研究所全国協議会中国四国支部会議・平成30年度全国環境研協議会中国四国支部会議	広島市	上田 他
6. 7～ 8	平成30年度地方衛生研究所所長会議及び地方衛生研究所全国協議会臨時総会・研究発表会	東京都	上田
7. 5～ 6	衛生微生物技術協議会第39回研究会	大津市	栗林・則常
8. 20	平成30年度中国地区衛生環境研究所所長会議	広島市	上田 他
8. 30	第42回瀬戸内海水環境研会議	神戸市	竹井
9. 6～ 7	平成30年度指定都市衛生研究所所長会議	横浜市	上田
9. 12～14	第59回大気環境学会年会	春日市	鹿渡
10. 23	平成30年度第69回地方衛生研究所全国協議会総会	郡山市	上田
11. 15～16	第45回環境保全・公害防止研究発表会	松江市	森山
11. 29～30	第55回全国衛生化学技術協議会年会	横浜市	上田 他
31. 1. 21～22	第47回全国環境研協議会総会及び平成30年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	東京都	坂本(哲)
1. 24～25	第32回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	岡山市	築地
2. 14～15	第34回全国環境研究所交流シンポジウム	つくば市	下田
3. 5	平成30年度環境測定分析統一精度管理調査中国・四国支部ブロック会議	高知市	田坂
3. 7～ 9	第53回日本水環境学会年会	甲府市	中村
3. 19	平成30年度環境測定分析統一精度管理調査結果説明会	福岡市	加藤

2 研修・講習会

年 月 日	研修・講習会名	研修機関名	参加者
30. 6. 26～27	平成30年度食品安全行政講習会	厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部	大平
6. 28	平成30年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部監視安全課	大平
8. 31	特別管理産業廃棄物管理責任者に関する講習会	(公財)日本産業廃棄物処理振興センター	大平
9. 13～14	平成30年度薬剤耐性菌の検査に関する研修	国立感染症研究所	青田
10. 1～ 5	平成30年度特定機器分析研修Ⅱ(LC/MS/MS)(第2回)	環境省環境調査研修所	渡邊
10. 11	平成30年度地方衛生研究所HIV検査技術研修	東京都健康安全研究センター	兼重
10. 15～19	平成30年度短期研修「新興再興感染症技術研修」	国立保健医療科学院	栗林
10. 30	平成30年度動物由来感染症対策技術研修会	厚生労働省健康局結核感染症課	則常
12. 25	平成30年度感染症・疾病管理センター研修会(感染症病原体研修コース)	広島県感染症・疾病管理センター	福永
31. 1. 21～22	平成30年度化学物質環境実態調査環境科学セミナー	環境省環境安全課	加藤
2. 1	高圧ガス消費者保安講習会	広島県高圧ガス溶材協会	中村
2. 14～ 3. 1	平成30年度大気分析研修	環境省環境調査研修所	鹿渡
2. 18	平成30年度地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会	地方衛生研究所全国協議会	小串
2. 19～20	平成30年度希少感染症診断技術研修会	厚生労働省健康局結核感染症課	青田・福永
2. 25～27	平成30年度風疹実験室検査法の実地研修会	国立感染症研究所	福永
2. 27	平成30年度水道水質検査精度管理に関する研修会	厚生労働省・生活衛生局生活衛生・食品安全部水道課	長谷川
2. 28	平成30年度検査精度管理業務研修会	中国四国厚生局	松木・京塚

3 所内研修

(1) 研修

日 程	名 称	内 容	講 師
30. 4. 27	基本行政 研修	衛生研究所新任職員に対する業務内容等説明	所長及び各部専門員
6. 15	教育訓練	感染症法関係病原体搬送及びPPT脱着訓練	山本美和子 則常 浩太
31. 1. 18	信頼性保証 セミナー	1 水道局における信頼性保証に関する取り組み 2 試験研究業務における倫理事項と危機管理 3 公務員倫理	水道局水質管理課職員 上田久仁子 小中ゆかり

(2) 業績発表会

日 程	名 称	内 容	発 表 者
31. 3. 15	業績発表会	1 繊維製品中のアゾ染料由来の特定芳香族アミン類の高速液体クロマトグラフを用いた確認試験に関する検討 2 市内生産野菜の残留農薬実態調査 3 2018年に食中毒等で分離されたサルモネラ 4:i:-菌株の解析 4 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査と検出遺伝子について(2018年) 5 広島市におけるアデノウイルス検出状況 6 ICP-MSによる要監視項目(金属類)の測定について 7 直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の調査結果について(平成30年度) 8 環境ホルモンの固相抽出法の検討	長谷川富子 小串 恭子 京塚 明美 青田 達明 福永 愛 竹井 秀夫 田坂 葉子 加藤 寛子

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

(2) 外部精度管理

ア 生活科学部

(ア) 食品衛生外部精度管理調査(一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

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

(イ) 水道水質検査精度管理統一試料調査(厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部水道課)

対象:有機物(クロロホルム,ブロモジクロロメタン),無機物(鉛及びその化合物)

(ウ) 平成30年度地域保健総合推進事業精度管理事業(地方衛生研究所全国協議会中国四国支部)

対象:マッシュポテト中のポテトグリコアルカロイド

イ 生物科学部

(ア) 食品衛生外部精度管理調査(一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

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

(イ) 平成30年度厚生労働省外部精度管理事業(国立感染症研究所)

対象:麻疹・風疹ウイルス

(ウ) 結核菌遺伝子型別外部精度評価(厚生労働科学研究)

対象:結核菌 VNTR 解析

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

対象:PFGE, IS-printing System, MLVA

(オ) レジオネラ属菌検査外部精度管理調査(厚生労働科学研究)

対象:レジオネラ属菌

(カ) 風疹検査に関する外部精度管理(日本医療研究開発機構(AMED)「麻疹・風疹研究班」)

対象:風疹ウイルス

(キ) HIV 検査の精度管理(厚生労働科学研究)

対象:HIV の確認検査

ウ 環境科学部

(ア) 平成30年度環境測定分析統一精度管理調査(環境省水・大気環境局総務課)

対象:1,2-ジクロロエタン,ベンゼン,トルエン,トリクロロエチレン,ジクロロメタン,四塩化炭素,1,1,1-トリクロロエタン,1,2-ジクロロプロパン,1,1,2-トリクロロエタン,テトラクロロエチレン,塩化ビニルモノマー,1,3-ブタジエン(大気試料),カドミウム,鉛,ひ素,鉄,マンガン,総水銀,全燐(水質試料)

(イ) 平成30年度酸性雨測定分析精度管理調査(全国環境研協議会)

対象:模擬降水試料(pH 他9項目)

(3) 内部精度管理

ア 生活科学部

平成30年度内部精度管理実施計画を策定し,実施した。

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

イ 生物科学部

平成30年度内部精度管理実施計画を策定し,実施した。

対象:腸内細菌科菌群,一般細菌数,黄色ブドウ球菌,サルモネラ属菌, E. coli, 大腸菌群, ノロウイルス, コレラ菌遺伝子, 麻疹・風疹ウイルス

5 研修指導

(1) 技術指導

年 月 日	指 導 内 容	受 講 者	人 員	担 当
30. 8. 7～ 8	業務説明及び業務見学	ラオス ビエンチャン市職員	1 名	生活科学部 生物科学部 環境科学部
30.10.31	業務説明及び業務見学	中国重慶市職員	2 名	環境科学部
30.11. 8	業務説明及び業務見学	韓国大邱広域市職員	4 名	生活科学部 生物科学部

(2) 講師派遣

年 月 日	講演会等の名称及び内容	依 頼 機 関	講 師 名
30. 5. 30	第1学年総合的な学習の時間「講演会」	広島県立広島井口高等学校	下田 喜則

6 施設見学等

年 月 日	見 学 者	人 員
30. 6. 4, 6. 18	広島修道大学健康科学部学生	79 名
30. 8. 2	広島文化学園短期大学食物栄養学科学生	2 名

業 務 報 告

生 活 科 学 部

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

疫学情報関連業務では、公衆衛生情報の解析提供に関する業務を実施している。

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

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

さらに当部では、衛生研究所の庶務に関する事務も併せて行っている。

1 疫学情報関連業務

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

(1) 衛生研究所情報管理システムの管理運営

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

(2) 公衆衛生情報の解析提供

ア 文献等の提供

報道機関、医療機関、出版社、大学等の庁外機関、庁内関係部局等からの依頼により、各種文献、感染症情報、微生物の電子顕微鏡写真等の提供(69件)を行った。

イ 広島市衛生研究所年報の刊行

平成29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37号(平成29年度)」(A4 300部)を刊行し、全国の試験研究機関及び庁外関係機関等に配付するとともに、衛生研究所ホームページに公開した。

ウ 電子メール等を利用した情報提供

最新の感染症情報を提供するため、教育委員会、医師会、保健センター、医療機関等庁内外の関係部署及び関係機関等に、電子メール等を用いて、感染症情報等の提供(延92機関：6,956件)を行った。

エ 衛生研究所ホームページの運営

衛生研究所ホームページを管理・運営し、広く市民及び関係機関等に情報提供を行った。表1に衛生研究所ホームページの管理状況を、表2に新規掲載・更新した主なトピックスを、表3にアクセス数の多かったページを示した。なお、衛生研究所ホームページの年間アクセス数は557,977件であった。

(3) 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。

表1 衛生研究所ホームページの管理状況

平成31年3月現在

内容	件数
総コンテンツ(HTML ファイル)数	616
更新 HTML ファイル数	6,179
グラフ、PDF 等更新ファイル数	8,237

※衛生研究所トップページ

<http://www.city.hiroshima.lg.jp/eiken/main.html>

表2 新規掲載・更新した主なトピックス

掲載年月	コンテンツタイトル等
H30. 9	後天性免疫不全症候群(エイズ)
H30. 11	重慶市との環境保全交流について*
H30. 12	貝毒について*
H31. 1	腸管出血性大腸菌感染症、 つつが虫病、 レジオネラ症、 後天性免疫不全症候群(エイズ)、 梅毒、 風しんと先天性風しん症候群、 麻しん(はしか)

*：新規掲載

表3 アクセス数の多かったページ

(平成30年4月～平成31年3月, HTMLファイルのみ)

順位	コンテンツタイトル等	アクセス数
1	消毒液の作り方と使用上の注意(次亜塩素酸ナトリウム)	141,000
2	インフルエンザ最新情報	100,618
3	広島市におけるインフルエンザ様疾患による学級閉鎖等の発生状況	28,338
4	発生動向一覧表	18,595
5	定点当たりとは	16,918
6	最新週のトピックス	15,528
7	最近の動向/感染性胃腸炎	8,405
8	感染症情報センタートップページ	7,348
9	ノロウイルスによる感染性胃腸炎	5,178
10	梅毒	4,313
11	目でみるバイキン(ウイルス・細菌)電子顕微鏡写真集	4,037
12	広島市感染症週報	3,317
13	麻疹(はしか)	3,073
14	麻疹(はしか), 風しんの定期予防接種について	2,861
15	届出基準と届出様式	2,445

(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法律に基づき、適切に行われていることを確認するため、信頼性確保部門の業務を行った。

ア 内部監査

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

監査実施日：平成31年3月14日

イ 外部精度管理

厚生労働省が実施する「麻疹・風疹ウイルスの核酸検出検査」の外部精度管理事業に参加し、取りまとめを行った。

ウ 内部精度管理

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

(5) 感染症発生動向調査(感染症情報センター)

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

なお、病原体検出情報に関する業務は、生物科学部で実施した。

感染症発生動向調査では、市内全医療機関から報告される全数把握対象の感染症(2018年：479件)及び定点医療機関(表4)から週単位(年52回)又は月単位(年12回)で報告される定点把握対象の感染症(2018年：29,328件)について、その患者情報を感染症発生動向調査システムにより、市内8か所の保健センターを経由して収集し、中央感染症情報センター(国立感染症研究所)へ報告した。また、2018/19シーズンのインフルエンザ疾患関連死亡者数783件(肺炎死亡：750件、インフルエンザ死亡：33件)を報告した。

収集した市域の患者情報及び病原体情報(病原体の分離等の検査情報を含む)を分析するとともに、その結果を、中央感染症情報センターから週報(年52回、月報の場合は年12回)等として公表される全国情報と併せて、定点医療機関、広島市感染症対策協議会、各区医師会、保健センター、保健所、教育委員会等の関係機関にファクシミリ・電子メール等により速やかに提供した。また、ホームページへ掲載し市民に公開した。

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

表4 定点医療機関

区分	定点数	報告件数 (2018年)
インフルエンザ定点	37	11,701
小児科定点	24	15,884
眼科定点	8	431
性感染症定点	9	791
基幹病院定点	7	521

※インフルエンザ定点には小児科定点24を含む

2 環境衛生関連業務

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

(1) 飲料水試験

水道水や井戸水等の飲料用適否試験を行った。

総検体数は145検体、延2,164項目であり、その内訳を表6に示す。

井戸水のうち、74検体、延814項目については、7月の西日本豪雨災害への対応として試験を実施した。水質基準に適合しなかったものは25検体、

不適合率33.8%であった。不適合項目は、一般細菌、大腸菌、pH値、全有機炭素、濁度であった。

飲料水試験のうち、災害対応の検体を除くと、水質基準に適合しなかったものは9検体、不適合率12.7%であった。不適合検体は全て井戸水で、不適合項目は、大腸菌、一般細菌、pH値、塩化物イオン、色度、濁度、ヒ素及びその化合物、マンガン及びその化合物であった。

その他、井戸水及び小規模給水の全項目試験については、飲料用の地下水質を把握するため、19検体、延133項目について硫酸イオン、カリウム

表5 環境衛生試験

試験区分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
飲料水試験	93	1,545	52	619	145	2,164
無機溶存成分試験	19	133	—	—	19	133
その他の水質試験	29	165	31	215	60	380
家庭用品試験	87	1,121	6	29	93	1,150
器具・容器包装の試験	6	40	—	—	6	40
氷雪の試験	—	—	1	2	1	2
食品中の医薬品成分試験	18	54	—	—	18	54
ミネラルウォーターの試験	1	41	—	—	1	41
妥当性評価試験	146	320	—	—	146	320
計	399	3,419	90	865	489	4,284

表6 飲料水の種類別試験

区分		行政試験		依頼試験		計	
		検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
水道水	一般項目	—	—	33	402	33	402
	全項目	—	—	—	—	—	—
	小計	—	—	33	402	33	402
小規模給水	一般項目	—	—	—	—	—	—
	全項目	1	48	—	—	1	48
	小計	1	48	—	—	1	48
井戸水	一般項目	74	814	19	217	93	1,031
	全項目	18	683	—	—	18	683
	小計	92	1,497	19	217	111	1,714
その他	一般項目	—	—	—	—	—	—
	全項目	—	—	—	—	—	—
	小計	—	—	—	—	—	—
計		93	1,545	52	619	145	2,164

表7 その他の水質試験の種類別試験

区 分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
公衆浴場水	9	45	－	－	9	45
プ ー ル 水	20	120	2	12	22	132
かき洗浄水	－	－	29	203	29	203
計	29	165	31	215	60	380

等の無機溶存成分の試験を行った。

(2) その他の水質試験

公衆浴場水、プール水及びかき洗浄水 60 検体、延 380 項目について水質試験を行った。その内訳を表 7 に示す。

公衆浴場水の試験の結果は、全て基準に適合していた。プール水については、遊離残留塩素濃度や一般細菌が基準に適合しない検体があった。

(3) 家庭用品試験

有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づき、93 検体、延 1,150 項目について試験検査を行った。

そのうち、行政試験については、87 検体、延 1,121 項目について試験を行った。その内訳を表 8 に示す。全て基準に適合していた。

(4) 器具・容器包装の試験

器具・容器包装 6 検体、延 40 項目について食品衛生法に基づく行政試験を行ったが、全て基準に適合していた。

(5) 氷雪の試験

氷雪 1 検体、2 項目について依頼試験を行った。

(6) 食品中の医薬品成分試験

医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づき、いわゆる健康食品(痩身系)18 検体について、医薬品成分であるシブトラミン、フェンフルラミン、フェノールフタレインの定性試験を行ったが、いずれも検出されなかった。

(7) ミネラルウォーターの試験

ミネラルウォーター1 検体、41 項目について行政試験を行った。

(8) 妥当性評価試験

検査機器更新に伴い、飲料水試験について、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ついて」に基づき、水道水、井戸水等 96 検体について、ナトリウム及びその化合物、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、フッ素及びその化合物、塩素酸、塩化物イオンの妥当性評価を実施した。

ミネラルウォーター類の規格項目の改正及び検査機器更新に伴い、厚生労働省通知「食品中の有害物質等に関する分析方法の妥当性確認ガイドラインについて」に基づき、ミネラルウォーターについてアンチモン、塩素酸、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素、フッ素の妥当性評価を実施した。

表8 家庭用品の項目別試験(行政試験)

区 分	繊維製品	その他※	計
アゾ化合物	966	－	966
ホルムアルデヒド	90	－	90
トリフェニル錫化合物	－	10	10
トリブチル錫化合物	－	10	10
水酸化カリウム又は水酸化ナトリウム	－	7	7
容器又は被包(アルカリ)	－	7	7
漏水試験	－	9	9
落下試験	－	9	9
圧縮変形試験	－	9	9
塩化水素又は硫酸	－	2	2
容器又は被包(酸)	－	2	2
計	1,056	65	1,121

※家庭用洗浄剤、家庭用接着剤

3 食品化学関連業務

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

市内に流通する食品について保健所が実施した収去等に基づいて食品化学に関する行政試験を行った。また、平成 30 年度、市内食品製造業者等からの試験依頼はなかった。その内訳を表 9 に示す。

(1) 行政試験

食品の収去試験 403 検体、延 13,540 項目について行政試験を行った。その主な内訳は次のとおりである。

ア 食品等の理化学試験

94 検体、延 110 項目について試験を行った。その内訳を表 10 に示す。試験項目は塩分濃度、水素イオン濃度、酸価・過酸化価などであった。

イ 食品の成分規格試験

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

ウ 食品中の食品添加物試験

輸入食品を主に 103 検体、延 272 項目について試験を行った。その内訳は表 12 のとおりで、表示違反、使用基準違反はなかった。

エ 食品中の有害化学物質試験

本市における食品の安全・安心の確保を目的に、収去試験等行政試験を中心に食品中の有害化学物質の試験を実施している。134 検体、延 8,951 項目について試験を行った。その内訳を表 13 に示す。

(ア) 残留農薬試験

輸入食品を含む野菜、果実など 72 検体、延 8,250 項目について試験を行った。その内訳を表 14 に示す。このうち野菜、果物 10 検体から 10 種類の農薬が検出されたが、いずれも残留基準値以下であった。試験結果の詳細を表 15 に示す。

(イ) 動物用医薬品試験

鶏卵、鶏の筋肉、養殖魚介類等 21 検体、延 657 項目について試験を行った。その内訳を表 16 に示す。

基準値を超える検体は認められなかった。

(ウ) 重金属の試験

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

(エ) 貝毒試験

「貝毒対策実施要領」(広島県)に基づいて、広島湾北部海域の貝の毒化状況について 24 検体、延 27 項目を試験した。その結果を表 17 に示す。4 月に実施した試験で、アサリから麻痺性貝毒を検出したが、規制値(4MU/g)未満であった。アサリの下痢性貝毒、カキの麻痺性貝毒及び下痢性貝毒はいずれも検出されなかった。

オ 食品中のアレルギー物質試験

菓子や各種加工食品等 12 検体について、特定原材料として落花生の試験を行った。

カ 遺伝子組換え食品試験

大豆 1 検体について、試験を行った。

キ 苦情等に伴う検査

保健所に寄せられた市民からの食品に係る苦情に対応するための検査の依頼はなかった。

表 9 食品化学試験

試 験 区 分	行政試験		依頼試験		計	
	検体数	延項目数	検体数	延項目数	検体数	延項目数
食品等の理化学試験	94	110	0	0	94	110
食品の成分規格試験	17	34	0	0	17	34
食品中の食品添加物試験	103	272	0	0	103	272
食品中の有害化学物質試験	134	8,951	0	0	134	8,951
食品中のアレルギー物質試験	12	12	0	0	12	12
遺伝子組換え食品試験	1	1	0	0	1	1
妥当性評価試験	42	4,160	0	0	42	4,160
計	403	13,540	0	0	403	13,540

(2) 妥当性評価試験

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、農産物延 12 種を対象に GC/MS/MS 項目 322 種類、1 種を対象に LC/MS/MS 項目 65 種類の検討を行った。

表 10 食品等の理化学試験

区 分	検体数	延項目数
塩分濃度	36	36
水素イオン濃度 (pH)	31	31
酸価・過酸化価	16	32
固形分	9	9
水分活性	2	2
異物の同定	0	0
ニンヒドリン反応	0	0
キサントプロテイン反応	0	0
ヒスタミン	0	0
計	94	110

表 11 食品の成分規格試験

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

表 12 食品中の食品添加物試験

区 分	検体数	延項目数
着色料	10	160
保存料	57	64
酸化防止剤	9	9
防かび剤	3	11
甘味料	14	18
漂白剤	2	2
発色剤	3	3
品質保持剤	5	5
計	103	272

表 13 食品中の有害化学物質試験

区 分	検体数	延項目数
残留農薬	72	8,250
動物用医薬品	21	657
重金属	17	17
麻痺性・下痢性貝毒	24	27
フグ毒	0	0
計	134	8,951

表 14 残留農薬試験

食 品 名	検体数	延項目数
野菜	国内産 45 輸入品 2	6,191 318
果物	国内産 2 輸入品 3	323 459
鶏の筋肉	輸入品 4	52
鶏卵	国内産 10	130
はちみつ	国内産 1	13
加工食品	輸入品 5	764
苦情品	輸入品 0	0
計	72	8,250

表 16 動物用医薬品試験

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

表 17 貝毒試験結果 (()内は検体数)

食品名	麻痺性貝毒 4～5, 10～11, 3 月	下痢性貝毒 10 月
アサリ	検出せず (7) 1.88 MU/g (1)	検出せず (1)
カキ	検出せず (16)	検出せず (2)

表 15 食品中の残留農薬試験結果

食品名	検体数	生産地※	検出数	生産地※	検出農薬及び検出値
【農産物(野菜・果物)】					
ばれいしょ	4	北海道 2, 長崎県 1, 鹿児島県 1	0		
かんしょ	2	徳島県 1, 宮崎県 1	0		
だいこんの根	4	北海道 1, 広島県 1, 長崎県 2	0		
こまつな	8	広島市 8	2	広島市 広島市	イミダクロプリド 0.01ppm シアゾファミド 0.04ppm チアメトキサム 0.05ppm
ごぼう	1	熊本県 1	0		
レタス	3	長野県 3	0		
たまねぎ	4	北海道 2, 佐賀県 2	0		
ねぎ	2	鳥取県 1, 大分県 1	0		
にんじん	2	徳島県 1, 長崎県 1	0		
トマト	5	広島市 4, 熊本県 1	1	広島市	トリフルミゾール 0.06ppm
なす	5	広島市 4, 広島県 1	2	広島市 広島市	アゾキシストロビン 0.06ppm アセタミプリド 0.08ppm アゾキシストロビン 0.07ppm
きゅうり	5	広島市 4, 宮崎県 1	1	広島市	アセタミプリド 0.02ppm
かぼちゃ	2	輸入(メキシコ 1, ニューカレドニア 1)	1	メキシコ	イミダクロプリド 0.07ppm
みかん	1	広島県 1	0		
オレンジ	1	輸入 (オーストラリア 1)	0		
レモン	2	輸入(アメリカ 1, チリ 1)	2	アメリカ チリ	アゾキシストロビン 0.01ppm クロルピリホス 0.01ppm フェンプロパトリン 0.06ppm フルジオキシニル 0.69ppm フルジオキシニル 0.70ppm
りんご	1	青森県 1	1	青森県	アセタミプリド 0.01ppm ボスカリド 0.06ppm
小計	52		10		
【畜産物】					
鶏の筋肉	4	輸入(ブラジル 4)	0		
鶏卵	10	広島市 2, 広島県 6, 島根県 2	0		
はちみつ	1	広島市 1	0		
小計	15		0		
【加工食品(冷凍食品, 冷凍野菜, 冷凍果実)】					
カーネルコーン	2	輸入 (ニュージーランド 2)	0		
ばれいしょ	1	輸入(中国 1)	0		
ほうれんそう	2	輸入(ベルギー 1, 台湾 1)	2	ベルギー 台湾	ボスカリド 0.01ppm アセタミプリド 0.01ppm イミダクロプリド 0.07ppm
小計	5		2		
計	72		12		

※広島県(広島市を除く), 広島市分は広島市として記載

生 物 科 学 部

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

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

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

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

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

平成 30 年度の業務概要を以下に報告する。

1 食品細菌関連業務

保健所依頼の収去検査、食中毒・苦情調査での検体の細菌検査、食品営業施設の衛生指導のための食品等の細菌検査を行った。また、食品営業者の自主検査などを目的とした食品検体の依頼検査を行った。総検体数は 681 件で、検査項目数としては 1,797 項目であった。その内訳を表 1 に示す。

(1) 収去検査

収去検査としては、成分規格の定められた食品の規格検査、食品の衛生規範等に基づく大腸菌群などの一般細菌検査や食中毒起因菌検査などを行った。その内訳を表 2 に示す。検体数は 352 件、検査項目数は 830 項目であった。成分規格基準違反、衛生規範への不適合、食中毒起因菌の検出状況を表 3 に示す。腸内細菌科菌群陽性による生食

表 1 食品細菌関連業務検査数

	検体数	項目数
収去検査	352	830
食中毒等検査	220	822
その他の検査	100	119
一般依頼検査	9	26
計	681	1,797

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	腸内細菌科菌群	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	病原大腸菌	カンピロバクター	リステリア菌	抗生物質	検査総項目数
乳類・乳製品	4	2	2									2		6
アイスクリーム類・氷菓	2	2	2											4
清涼飲料水	6		6											6
冷凍食品	15	15	8	7										30
魚介類・その加工品	67	36	6		36				27				6	111
肉卵類・その加工品	33			4		1	4	4		8	6		14	41
穀類・その加工品	2	2		2			2							6
野菜果物・その加工品	5	5		3										8
そうざい・弁当・調理パン	135	135		131			131							397
めん類	12	12	3	9			12							36
漬物類	13			13										13
生菓子類	57	57	57				57							171
その他の食品	1												1	1
計	352	266	84	169	36	1	206	4	27	8	6	2	21	830

表 3 収去食品の食中毒起因菌検出、規格基準違反及び規範不適合検体数

食品分類名	生菌数	大腸菌群	E.coli	腸内細菌科菌群	黄色ブドウ球菌	腸炎ビブリオ	カンピロバクター
魚介類・その加工品						11	
食肉類				1			3
弁当・そうざい	3		2		1		
生菓子類	1	11					
計	4	11	2	1	1	11	3

食用食肉の規格違反が 1 検体で認められた。衛生規範の不適合は、そうざいで生菌数の超過が 3 検体、E.coli の検出が 2 検体、黄色ブドウ球菌の検出が 1 検体、生菓子で生菌数の超過が 1 検体、大腸菌群の検出が 11 検体認められた。規格・規範に該当しない食中毒起因菌は、鮮魚 5 検体と生かき 6 検体から腸炎ビブリオ、食肉類 3 検体からカンピロバクターが検出された。

(2) 食中毒及び苦情に関する検査

ア 食中毒病原菌検索

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

当所で検査対応した本市の細菌性食中毒事例は 4 件発生しており、その病因物質は、*Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli*, *Salmonella* 04:i:-, *Clostridium perfringens* が各 1 件であ

表 4 食中毒病原菌検索検体数

区分	食品	患者便等	従事者便	拭取り等	計
食中毒	19	20	22	42	103
有症苦情	60	30	14	13	117
計	79	50	36	55	220

った。

イ その他の苦情

市民から寄せられた異臭の食品苦情に伴う検査依頼で 1 検体検査を行った。

(3) その他の検査

食品製造施設などの衛生指導、食品製造・加工過程での細菌汚染調査による細菌検査を 57 検体行った。食品の食中毒起因菌による汚染状況調査として、GP センターで採取した鶏卵 10 検体のサルモネラ属菌、ジビエ 16 検体の病原大腸菌及びサルモネラ属菌の検査を行った。鶏肉 2 検体のサルモネラ属菌とカンピロバクター及び低温加熱後の鶏肉 8 検体の生菌数、E.coli、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌、カンピロバクターの検査を行った。カンピロバクター菌株 1 株の菌種同定試験及びサルモネラ属菌株 6 株の血清型別試験を行った。

(4) 一般依頼検査

食品製造業者等からの食品の依頼検査を 9 検体実施した。

(5) マウス接種試験

ア 実施件数

(ア) 麻痺性貝毒の行政依頼検査

24 検体(125 匹)

(イ) その他の試験

なし

イ 自己点検及び評価結果

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

(6) 調査研究及び技術検討

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」へ研究協力し、平成 30 年当所分離のカンピロバクター、サルモネラ属菌、大腸菌の薬剤感受性試験を行った。調査研究として「カンピロバクターの PCR 法による Penner 型別法の検討」を行った。

2 細菌病理関連業務

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

平成 30 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 28 検体、腸チフス 4 検体の検査を実施した。

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

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の患者から検出された菌株 6 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 5 株について、遺伝子型別検査を実施した。

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

結核患者由来株 49 株について、結核菌反復配列多型(VNTR)による分子疫学解析等を実施した。

ライム病(疑)患者から採取された 2 検体、レプトスピラ(疑)患者から採取された 6 検体、回帰熱(疑)患者から採取された 1 検体を国立感染症研究所に送付し検査を実施した。

イ 定点把握疾患

市内 12 か所の病原体定点医療機関において、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎等の患者から採取された 178 検体について、遺伝子検査や分離同定検査を実施した。咽頭ぬぐい液 5 検体から A 群溶血性レンサ球菌が検出され、百日咳菌、肺炎球菌、*Bordetella holmesii* が各 1 検体から検出された。糞便 1 検体から *Campylobacter jejuni* が検出された。

(2) 三類感染症接触者検査

感染症の予防対策として腸管出血性大腸菌検査 20 検体、細菌性赤痢検査 2 検体の検査を実施した。

(3) 結核患者等接触者検査

結核患者の接触者に対する発症予防対策のため、接触者健診として、結核菌に対する特異的免疫応答の指標としてのインターフェロン γ 産生量を測定するクオンティフェロン TB-ゴールド検査を、

表 5 細菌病理関連業務検査件数

区分	検体数	項目数
感染症発生動向調査事業		
全数把握疾患(三類～五類)	119	1,967
腸管出血性大腸菌感染症	28	451
腸チフス	4	64
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	14	192
劇症型溶血性レンサ球菌感染症	6	24
侵襲性肺炎球菌感染症	5	50
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1	8
その他	61	1,178
定点把握疾患(五類)	178	671
三類感染症接触者検査	22	154
結核患者等接触者検査	121	121
レジオネラ属菌検査	24	99
一般依頼検査	43	43
計	507	3,055

結核患者接触者の血液 121 検体に実施した。陽性 9 検体、判定保留 6 検体、陰性 106 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 24 検体実施した。3 検体からレジオネラ属菌が検出された。

(5) 一般依頼検査

一般依頼検査として、市内事業所の従事者検便の腸管出血性大腸菌 0157 検査を 43 検体実施した。

(6) 疫学検査

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

(7) 調査研究及び技術検討

厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」へ研究協力をし、市内で発生した腸管出血性大腸菌の PFGE 法や MLVA 法を用いた分子疫学的解析を行った。事例ごとの関連性を解析し、保健センター及び保健所に検査結果を報告し、デ

ータのフィードバックに努めた。また「マルチプレックス PCR 法による複数病原体同時検出法の検討」を実施し、同時に多種類 (*Bordetella*

pertussis, *B. holmesii*, *B. parapertussis*, *Mycoplasma pneumoniae*) の病原体の検出が可能となった。

3 ウイルス関連業務

集団発生事例等の行政検査、エイズ予防対策事業のHIV検査、かき衛生対策事業のノロウイルス汚染状況調査、感染症発生動向調査事業の病原体検査、感染症流行予測のための血清疫学調査及び調査研究を行った。

(1) 保健所・保健センター等からの依頼検査

食中毒/有症苦情事例、4類感染症及び全数把握対象の5類感染症、HIV検査及び食品衛生検査等702検体について検査を実施した(表6)。

ア 食中毒/有症苦情等

301検体(19事例)の検査を実施した。1事例からノロウイルスGI, 8事例からノロウイルスGII, 3事例からノロウイルスGI及び同GII, 1事例からサポウイルス, 2事例からA群ロタウイルスが検出された。

イ 食品衛生検査

かき 36検体についてノロウイルスの検査を実施し、10検体からノロウイルスが検出された。

ジビエ 16検体についてE型肝炎ウイルスの検査を実施し、E型肝炎ウイルスは検出されなかった。

ウ A型肝炎

3検体(3事例)の検査を実施し、2事例からA型肝炎ウイルスが検出された。

エ E型肝炎

5検体(5事例)の検査を実施し、4事例からE型肝炎ウイルスが検出された。

オ ダニ類媒介感染症

59検体(24事例)の検査を実施した。重症熱性血小板減少症候群(SFTS)は42検体(17事例)、日本紅斑熱は29検体(21事例)、つつが虫病は9検体(4事例)を検査した。5事例から日本紅斑熱リケッチア, 4事例からつつが虫リケッチアが検出された。SFTSウイルスは検出されなかった。

カ 蚊媒介感染症

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

キ 麻しん

83検体(31事例)の検査を実施した。麻しんウイルスは検出されなかった。6事例からヒトヘルペスウイルス6型, 3事例から風しんウイルス, 3事例からヒトヘルペスウイルス6型及び同7型, 1事例からヒトヘルペスウイルス7型, 1事例から

パルボウイルスB19, 1事例からエンテロウイルス(未型別)及びヒトヘルペスウイルス7型が検出された。

ク 風しん

157検体(61事例)の検査を実施した。15事例から風しんウイルスが検出された。その他, 8事例からヒトヘルペスウイルス7型, 2事例からヒトヘルペスウイルス6型, 1事例からパルボウイルスB19, 1事例から水痘帯状疱疹ウイルス, 1事例からヒトヘルペスウイルス6型及び同7型, 1事例からエンテロウイルス(未型別)及びヒトヘルペスウイルス7型が検出された。

ケ 急性脳炎

18検体(7事例)の検査を実施した。2事例からインフルエンザウイルスA(H1N1)2009型, 1事例からインフルエンザウイルスA(H3)型, 1事例からアデノウイルス1型, 1事例からパレコウイルス3型, 1事例からパレコウイルス(未型別)が検出された。

コ 急性弛緩性麻痺

7検体(2事例)の検査を実施した。1事例からエンテロウイルス68型が検出された。

サ 後天性免疫不全症候群

エイズ予防対策事業において保健センター等で実施したスクリーニング検査で判定保留となった血液について、ウェスタンブロット法による確認検査を行った。9検体検査し、6検体で陽性と判定された。

シ インフルエンザ(集団発生)

4検体(1事例)の検査を実施し、インフルエンザウイルスA(H1N1)2009型が検出された。

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
食中毒/有症苦情等	301	634
食品衛生検査	52	88
A型肝炎	3	3
E型肝炎	5	5
ダニ類媒介感染症	59	79
蚊媒介感染症	4	8
麻しん	83	397
風しん	157	697
急性脳炎	18	203
急性弛緩性麻痺	7	7
後天性免疫不全症候群	9	36
インフルエンザ(集団発生)	4	8
計	702	2,165

(2) 感染症発生動向調査事業

市内 15 の病原体定点医療機関において採取された検体について、ウイルス分離・同定等の検査を行った。検査結果は定点医療機関に還元するとともに、当所の広島市感染症情報センターのホームページに情報を掲載した。また、広島市感染症対策協議会へ情報提供し、さらに感染症サーベイランスシステム (NESID) に病原体検出情報を入力報告し、国立感染症研究所の感染症疫学センター (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>) から検出情報を還元した。

平成 30 年度は、病原体定点医療機関において採取された 639 検体について検査を行った。その臨床診断名別検体数を表 7 に示した。細胞培養法 (HEF, HEp-2, RD-18S, Vero, A549)、遺伝子検査法、イムノクロマト法、電子顕微鏡検査法、蛍光抗体法 (FA 法) 等で病原ウイルス検索を実施した結果、46 種類 285 株のウイルスが検出された (表 8)。

(3) 血清疫学調査

市内医療系学校の協力により、学生等 99 人について、ワクチン接種により予防可能なウイルス感染症の抗体保有状況を調査した。平成 30 年度に実施した血清疫学調査の検査状況を表 9 に示した。

ア 麻しん

PA 法により測定した結果、抗体価 128 倍以上の抗体陽性率は 92.9% であった。

イ 風しん

赤血球凝集阻止試験 (HI 法) により測定した結果、抗体価 32 倍以上の抗体陽性率は 83.8% であった。

表 7 感染症発生動向調査検体数

診断名	検体数
インフルエンザ	65
RS ウイルス感染症	5
咽頭結膜熱	6
感染性胃腸炎	43
水痘	1
手足口病	14
ヘルパンギーナ	15
流行性耳下腺炎	5
急性出血性結膜炎	1
流行性角結膜炎	86
無菌性髄膜炎	36
その他の疾患	362
計	639
項目数	5,004

表 8 病原体別検出数

検出病原体	検出数
コクサッキーウイルス A2 型	7
コクサッキーウイルス A5 型	1
コクサッキーウイルス A6 型	4
コクサッキーウイルス B4 型	1
エコーウイルス 11 型	15
エコーウイルス 18 型	2
パレコウイルス 1 型	1
パレコウイルス 2 型	2
パレコウイルス 3 型	6
パレコウイルス 4 型	2
エンテロウイルス 68 型	22
エンテロウイルス 71 型	7
ライノウイルス	45
インフルエンザウイルス A (H1N1) 2009 型	20
インフルエンザウイルス AH3 型	37
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 1 型	1
パラインフルエンザウイルス 3 型	3
RS ウイルス	9
ムンプスウイルス	4
ヒトメタニューモウイルス	2
ヒトコロナウイルス NL63	3
ヒトコロナウイルス OC43	3
ヒトコロナウイルス HKU1	1
レオウイルス	1
A 群ロタウイルス	6
サボウイルス	2
ノロウイルス GⅡ	7
アストロウイルス	1
アデノウイルス 1 型	8
アデノウイルス 2 型	13
アデノウイルス 3 型	8
アデノウイルス 4 型	1
アデノウイルス 5 型	7
アデノウイルス 31 型	1
アデノウイルス 37 型	4
アデノウイルス 41 型	1
アデノウイルス 53 型	1
アデノウイルス 54 型	10
アデノウイルス 56 型	3
アデノウイルス 64 型	1
アデノウイルス 85 型	2
ヒトボカウイルス	4
水痘帯状疱疹ウイルス	1
サイトメガロウイルス	2
ヒトヘルペスウイルス 6 型	1
計	285

った。

ウ ムンプス

酵素免疫測定法 (EIA 法) により IgG 抗体を測定した結果、抗体陽性率は 82.8% であった。

エ 日本脳炎

HI 法により中山予研株抗原に対する HI 抗体価を測定した結果、10 倍以上の抗体陽性率は 88.9%

であった。

オ インフルエンザ

HI 法により、ワクチン株(A/カリフォルニア/7/2009(H1N1)pdm2009, A/香港/4801/2014(H3N2), B/プーケット/3073/2013(山形系統), B/テキサス/2/2013(ビクトリア系統))及び2017/18シーズン本市分離株(A/広島市/3/2018(H1N1)pdm2009, A/広島市/8/2018(H3), B/広島市/3/2018(山形系統))に対する HI 抗体価を測定した結果、40 倍以上の抗体陽性率は、それぞれ、100%, 98.9%, 100%, 100%, 74.7%, 85.1%, 100%であった。

カ ポリオ

中和試験(NT 法)によりポリオウイルス 1 型, 3 型ワクチン株に対する中和抗体価を測定した結果、4 倍以上の抗体陽性率は 1 型 91.9%, 3 型 68.7%であった。

キ B型肝炎

イムノクロマト法(IC 法)によりスクリーニング検査を行った結果、HBs 抗原陽性率は 0%, HBs 抗体陽性率は 15.2%であった。IC 法で HBs 抗体陽性の場合、追加で受身赤血球凝集反応(PHA 法)による定量検査を行った結果、抗体価 2 倍以上の抗体陽性率は 80.0%であった。

表 9 血清疫学調査検体数

検査項目	検査法	検体数	項目数
麻しん	PA	99	99
風しん	HI	99	99
ムンプス	EIA	99	99
日本脳炎	HI	99	99
インフルエンザ (7 抗原)	HI	87	609
ポリオ (1 型, 3 型)	NT	99	198
HBs 抗体	IC	99	99
	PHA	15	15
HBs 抗原	IC	99	99
計		795	1,416

(4) 調査研究

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」研究班に協力し、食中毒事例等で検出数の多いノロウイルス GⅡの 6 遺伝子型(GⅡ.2, GⅡ.3, GⅡ.4, GⅡ.6, GⅡ.14, GⅡ.17)の ORF2 全長遺伝子解析手法について、検討・開発を行った。

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・地下水)の水質調査、工場・事業場の排水調査、河川水等の水質汚濁に係る苦情調査及びこれらに関する調査研究を行っている。

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

平成30年度の業務概要を以下に報告する。

1 水質関連業務

平成30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などの生活環境項目等の調査を行った。また、環境基準点6地点で、カドミウム、全シアンなどの健康項目と銅、鉄などの特殊項目の調査を年2回(7月、1月)、栄養塩類の調査を年4回(4月、7月、10月、1月)実施した。

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

(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、環境基準を満たしていた。

(3) 洗剤残存調査

河川及び海域における合成洗剤の残存状況を把握するため、合成洗剤の主成分である直鎖アルキ

ルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)について、河川9地点、海域5地点で年1回(10月)調査を行った。

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

海域は、全地点で、定量下限値である0.0006mg/Lを下回っていた。

(4) 工場・事業場排水調査

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

試験件数は67件で、pH、BODなどの生活環境項目、カドミウム、シアン化合物などの有害物質について、延べ756項目の試験を行った。

(5) 苦情調査等

市民からの水質苦情や水質事故等に伴う有害物質有無の確認及び原因物質等の究明のため、水質試験を実施した。試験件数は104件で、延べ828項目の試験を行った。

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	1,836
地下水調査	24	462
洗剤残存調査	14	14
工場・事業場排水調査	67	756
苦情調査等	104	828
海水調査	60	480
一般依頼試験	10	20
環境省受託調査	4	16
計	415	4,412

また、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動植物被害の防止に係る指導指針(平成29年3月9日環水大土発第1703091号環境省水・大気環境局長通知)」に基づき、市内8か所のゴルフ場からの排水水について農薬調査を実施した。試験件数は8件で、延べ416項目の試験を行った。

(6) 海水調査

平成28年度から、経済観光局水産課の依頼により「広島かき採苗安定強化事業」の一環として、広島湾内の栄養塩類の濃度を把握するため、海域4

地点で年15回(6～8月：2回/月，4, 5, 9～3月：1回/月)，全リン，ケイ酸態ケイ素などの栄養塩類等の調査を実施した。

試験件数は60件で，延べ480項目の試験を行った。

(7) 一般依頼試験

市内の工場・事業場からの検査依頼に基づき，事業場排水について試験検査を実施した。試験件数は10件で，延べ20項目の試験を行った。

(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。

本市では，平成30年度も引き続き本調査を受託し，生物モニタリング調査として，広島湾産のスズキに含まれる化学物質調査について，試料採取及び前処理を行った。

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。

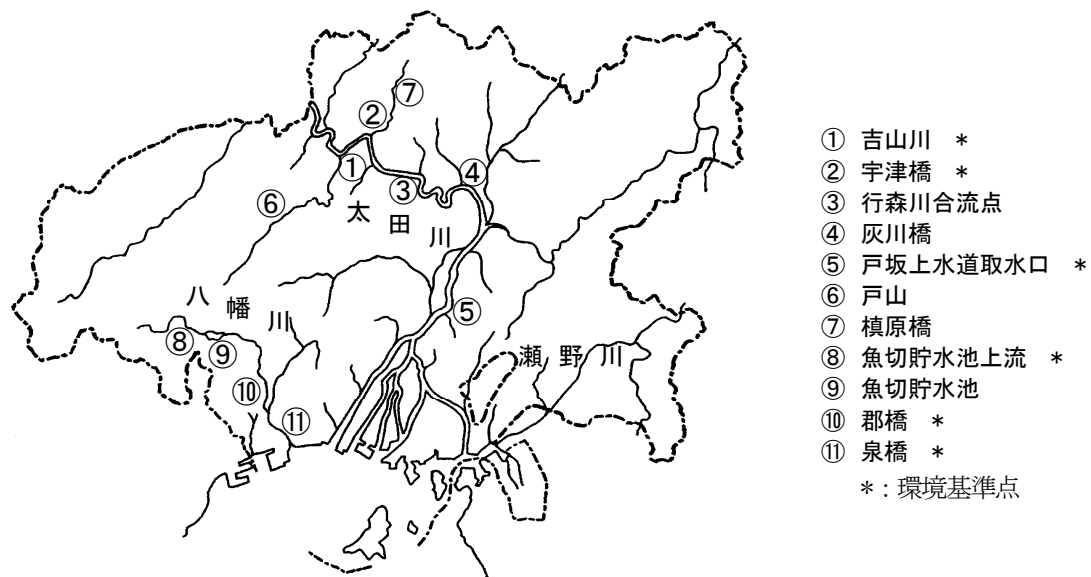


図 河川水調査地点

2 大気関連業務

平成30年度に実施した区分ごとの試験件数及び延項目数を表2に示す。

(1) 有害大気汚染物質調査

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

調査対象物質は、健康への有害性の高い優先取組物質として指定されている23物質のうち、モニタリング手法の確立された21物質(ダイオキシン類を除く)及び市内において大気への排出量が最も多いキシレンとした。

市内4地点(井口小学校、安佐南区役所、比治山測定局及び楠那中学校)で全ての調査対象物質を、阿戸出張所で調査対象物質のうち揮発性有機化合物を毎月1回調査した。

平成30年度の調査結果を表3に示す。全ての地点で環境基準値又は指針値に適合していた。

(2) 内分泌かく乱化学物質環境調査

人の健康や生態系に悪影響を及ぼす内分泌かく乱作用を有すると疑われる化学物質の河川及び海域における汚染状況を把握するため、4-tert-オクチルフェノール、ノニルフェノール、ビスフェノールAの3物質について、河川は8地点、海域は5地点で、水質調査を年1回(10月又は11月)実施した。

全地点で、3物質とも検出されなかった。

(3) 酸性雨調査

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

市内1地点(伴小学校)で、湿性沈着調査を実施した。測定項目は、降水量、pH、電気伝導率、 SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 Cl^- 、 NH_4^+ 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 及び Mg^{2+} である。

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

(4) フロン類調査

本市における大気環境中のフロン類の濃度を把握するため、有害大気汚染物質調査と同様に、市内5地点(井口小学校、安佐南区役所、比治山測定局、楠那中学校及び阿戸出張所)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。平成30年度の調査結果を表4に示す。

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	60	1,380
内分泌かく乱化学物質環境調査	13	52
酸性雨調査	24	252
フロン類調査	60	840
降下ばいじん調査	12	168
アスベスト調査	47	47
環境省受託調査	3	9
計	219	2,748

表3 有害大気汚染物質の調査結果

物質名	平均値	最小値	最大値	環境基準値 〔指針値〕
ベンゼン	0.72	0.16	1.3	3
トリクロロエチレン	0.096	<0.005	0.43	130
テトラクロロエチレン	0.058	<0.008	0.12	200
ジクロロメタン	0.70	0.21	2.1	150
アクリロニトリル	0.021	<0.008	0.067	[2]
アセトアルデヒド	1.7	0.54	3.7	—
塩化ビニルモノマー	0.011	<0.009	0.053	[10]
クロロホルム	0.19	0.095	0.29	[18]
酸化エチレン	0.060	0.031	0.10	—
1,2-ジクロロエタン	0.19	0.067	0.56	[1.6]
1,3-ブタジエン	0.043	<0.006	0.10	[2.5]
塩化メチル	1.3	0.75	1.8	—
トルエン	5.6	0.17	48	—
キシレン	2.3	0.093	17	—
ベンゾ[a]ピレン	0.15	0.012	0.82	—
ホルムアルデヒド	2.7	0.83	7.1	—
水銀*	1.7	1.2	2.4	[40]
ニッケル*	2.5	<0.6	6.4	[25]
ヒ素*	1.7	0.50	4.3	[6]
ベリリウム*	0.033	<0.03	0.16	—
マンガン*	25	4.9	56	[140]
クロム*	4.6	<0.7	18	—

* 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。

(5) 降下ばいじん調査

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

よって降下する粒子状物質及びばいじん)の降下ばいじん量, pH, 電気伝導率, 陰・陽イオン濃度及び降水量の調査を実施した。

そのうち, 降下ばいじん量及びろ液(降水)のpHの調査結果を表5に示す。

表4 フロン類調査結果 (ppb)

物質名	平均値	最小値	最大値
CFC-11	0.23	0.15	0.28
CFC-12	0.51	0.32	0.60
CFC-113	0.064	0.043	0.070
CFC-114	0.016	0.0097	0.028
HFC-134a	0.38	0.075	3.8
HCFC-22	0.34	0.18	0.52
HCFC-123	<0.0020	<0.0020	0.0025
HCFC-141b	0.031	0.019	0.042
HCFC-142b	0.029	0.018	0.035
HCFC-225ca	<0.0017	<0.0017	0.0048
HCFC-225cb	<0.0025	<0.0025	<0.0025
ブロモメタン	0.015	0.0063	0.068
1,1,1-トリクロロエタン	0.0033	<0.0019	0.010
四塩化炭素	0.074	0.053	0.090

* 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 降下ばいじん調査結果

測定項目	平均値	最小値	最大値
降下ばいじん量 [ton/km ² /月]	1.4	0.52	2.6
ろ液のpH*	4.6	4.4	4.9

* pHは降水量による加重平均値

※4月は欠測。

(6) アスベスト調査

本市における大気環境中のアスベスト濃度を把握するため, 幹線道路沿線地域(市役所), 住宅地域(安東小学校, 楠那中学校)及び商工業地域(中小企業会館)において, 年1回(11月), 3日連続で調査を実施した。平成30年度の調査結果を表6に示す。

また, 平成30年7月豪雨災害に関連した災害廃棄物仮置場周辺における大気環境中のアスベスト濃度測定(7地点, 8回)を, 環境局環境保全課と連携して実施した。

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

(7) 環境省受託調査

環境省では, 昭和49年度から化学物質環境実態調査を実施している。本市では, 平成30年度も引き続き本調査を受託し, 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6 アスベスト調査結果 (本/L)

区 分	幾何平均値
幹線道路沿線地域	0.40
住宅地域	0.49
商工業地域	0.36

調查研究報告

I 調查研究

2018 年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と遺伝子解析

青田 達明 佐藤 香緒里 栗林 智早 山本 美和子
坂本 綾

平成 29 年 3 月 28 日付厚生労働省通知に基づき、2017 年 4 月以降、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出があった場合は、当該耐性菌の収集及び詳細な解析を実施している。2018 年度は 15 件の届出があり、うち収集した CRE 菌株 14 株について、 β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験、カルバペネム耐性遺伝子の検出試験及び耐性遺伝子の塩基配列の解析を実施した結果、14 株中 5 株からカルバペネマーゼ遺伝子を検出した。そのうち 4 株からメタロ β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{IMP-6} を検出した。また、1 株からは GES 型カルバペネマーゼ遺伝子である *bla*_{GES-24} を検出した。

キーワード： カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、CRE、カルバペネマーゼ、*bla*_{IMP-6}、ステルス型、*bla*_{GES-24}

は じ め に

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

2018 年度に収集した 14 菌株について、通知に基づいた β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験、カルバペネム耐性遺伝子の検出及びその塩基配列の解析を実施した。検査結果と検出した耐性遺伝子について報告する。

方 法

1 供試菌株

2018 年 4 月から 2019 年 3 月の間に市内医療機関より CRE として届出があった菌株のうち、収集が可能であった 14 株を用いた。届出菌種及びその内訳は、*Enterobacter*(*E.*) 属 6 株(うち *E. cloacae* 4 株, *E. spp.* 2 株), *Escherichia*(*E.*) *coli* 3 株, *Klebsiella*(*K.*) *pneumoniae* 2 株, *K. oxytoca* 2 株, *Citrobacter*(*C.*) *freundii* 1 株であった(表 1)。

2 β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験(ディスク拡散法)

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

3 カルバペネマーゼ遺伝子の検出(PCR 法)

滅菌生理食塩水中に懸濁した被検菌を 100℃10 分の加熱処理後に遠心し、回収した上清を鋳型 DNA とした。主要な遺伝子型とされる IMP-1 型, IMP-2 型, NDM 型, KPC 型, OXA-48 型の検出を行った。いずれの遺伝子も検出しなかった場合は、VIM 型, GES 型, IMI 型, KHM 型, SMB 型の検出を行っ

表 1 供試菌株

No.	届 出 月	菌 種	症 状	分 離 材 料
1	5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	尿路感染症	尿
2	7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	腹膜炎	皮下ドレーン
3	7	<i>Citrobacter freundii</i>	腹腔内膿瘍	腹腔内洗浄液
4	8	<i>Escherichia coli</i>	尿路感染症	尿
5	9	<i>Enterobacter cloacae</i>	尿路感染症	尿
6	9	<i>Enterobacter cloacae</i>	腸炎, 敗血症	血液
7	10	<i>Klebsiella oxytoca</i>	肺炎	胸水
8	11	<i>Enterobacter cloacae</i>	腹壁創部排膿	腹壁創部
9	11	<i>Enterobacter cloacae</i>	腹膜炎	腹水
10	11	<i>Enterobacter</i> sp.	腹膜炎, 敗血症	腹水
11	11	<i>Enterobacter</i> sp.	胆管炎	胆汁
12	11	<i>Escherichia coli</i>	尿路感染症, 肺炎	喀痰, 尿
13	11	<i>Klebsiella oxytoca</i>	足壊疽	浸出液
14	12	<i>Escherichia coli</i>	尿路感染症	尿

表 2 プライマー配列

プライマー	配列 (5' -3')	サイズ	プライマー	配列 (5' -3')	サイズ
IMP-1 型	f ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC	587bp	TEM 型	f CCGTGTGCGCCCTTATTC	824bp
	r ACAACCAAGTTTGCCTTACC			r AGGCACCTATCTCAGCGA	
IMP-2 型	f GTTTTATGTGTATGCTTCC	678bp	SHV 型	f ATTTGTGCTTCTTTACTCGC	1051bp
	r AGCCTGTTCCCATGTAC			r TTTATGGCGTTACCTTTGACC	
NDM 型	f TTGCCAATATTATGCACCC	420bp	CTX-M-1 group	f GCTGTTGTTAGGAAGTGTGC	516bp
	r ATTGGCATAAGTCGCAATCC			r CCATTGCCCGAGGTGAAG	
KPC 型	f ATGTCATGTATCGCGTCT	893bp	CTX-M-2 group	f ACGCTACCCCTGCTATTT	779bp or 780bp
	r TTTTCAGAGCCTTACTGCCC			r GCTTCCGCCTTCTGCTC	
OXA-48 型	f TTGGTGGCATCGATTATCGG	744bp	CTX-M-9 group	f GCAGATAATACGCAGGTG	393bp
	r GAGCACTTCTTTGTGATGGC			r CGGCGTGGTGGTGTCTCT	
VIM 型	f ATGTTCAAACCTTTGAGTAAG	801bp	MOX 型	f GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	520bp
	r CTAACAACGACTGAGCG			r CACATTGACATAGGTGTGGTGC	
SMB 型	f CAGCAGCCATTACCATCTA	492bp	CIT 型	f TGGCCAGAAGTACAGGCAAA	462bp
	r GAAGACCACGTCCTTGCACT			r TTTCTCCTGAACGTGGCTGGC	
KHM 型	f ATACGCCATTTTCAGCCACA	465bp	DHA 型	f AACTTTACAGGTGTGCTGGGT	405bp
	r GTCGCCAACTTTTCCGTGAC			r CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
GES 型	f CTTCAATCAGCACTATTAC	827bp	ACC 型	f AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp
	r TAACTTGACCGACAGAGG			r TTCGCCGAATCATCCCTAGC	
IMI 型	f TGCGGTCGATTGGAGATAAA	399bp	EBC 型	f TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	302bp
	r CGATTCTGAAGCTTCTGCG			r CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	
IMP-all	f ATGAGCAAGTTATCTGTATTC	741bp	FOX 型	f AACATGGGGTATCAGGGAGATG	190bp
	r TTAGTTGCTTGGTTTTGATG			r CAAAGCGCGTAACCGATTGG	

た。DNA 合成酵素は, TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version(TaKaRa)を使用し,プライマー配列及び反応条件は,感染研より示された方法に準拠した(表

2, 図 1(a))。

4 ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出 (PCR 法)

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

5 AmpC 遺伝子の検出 (PCR 法)

AmpC 遺伝子である MOX 型, CIT 型, DHA 型, ACC 型, EBC 型, FOX 型の検出を行った。DNA 合成酵素は方法 3 と同様とし、プライマー配列及び反応条件は、感染研より示された方法に準拠した (表 2, 図 1(b))。

6 mCIM 法

カルバペネマーゼ遺伝子不検出であった 9 株及び GES 型遺伝子を検出した 1 株について、追加試験として modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM 法) を実施した。CLSI M100-S27 の方法²⁾に準拠し、カルバペネマーゼ産生性の確認をした。

7 塩基配列解析

*bla*_{IMP-1group} 及び *bla*_{GESgroup} を検出した検体について塩基配列を解析し、それぞれの遺伝子型を決定した。なお、IMP-1 型遺伝子型別に用いたプライマーは、感染研より示された IMP-all プライマー (表 2) を使用した。サイクルシーケンシスは、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems) を使用した。3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いて増幅断片の塩基配列を解析し、遺伝子型を決定した。

8 MLST 解析

E. coli 及び *K. pneumoniae* について, multilocus sequence typing (MLST) 法を用いたゲノムタイピングを実施し、シーケンスタイプ (ST) を決定した。*E. coli* は Tartof らの報告³⁾を、*K. pneumoniae* は Diancourt らの報告⁴⁾を基に、解析対象遺伝子の塩基配列を決定した。サイクルシーケンシスは方法 7 と同様に実施した。各塩基配列を Pasteur 研究所の MLST データベース (<https://bigsd.b.pasteur.fr/index.html>) と照合し、ST を決定した。

結 果

1 β -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験

結果を表 3 に示す。カルバペネマーゼ阻害剤で

(a)カルバペネマーゼ遺伝子及び ESBL 遺伝子検出用反応

条件		30cycles
94°C	2min	
94°C	1min	
55°C	1min	
72°C	1min30sec	
72°C	5min	
4°C	∞	

(b)AmpC 遺伝子検出用反応条件

94°C	3min	25cycles
94°C	30sec	
64°C	30sec	
72°C	1min	
72°C	5min	
4°C	∞	

図 1 PCR 反応条件

あるメルカプト酢酸ナトリウム (SMA) による阻害効果が認められたものは、No. 1 及び No. 2 の *K. pneumoniae*, No. 12 及び No. 14 の *E. coli* であった。ボロン酸 (APB) を用いたスクリーニング試験では、No. 3 *C. freundii*, No. 8 *E. cloacae* 及び No. 11 *E. sp.* の 3 株に対して阻害効果が現れた。No. 13 *K. oxytoca* は、全ての阻害剤で阻害効果が認められなかった。

2 薬剤耐性遺伝子の検出

結果を表 3 に示す。カルバペネマーゼ遺伝子検出試験の結果、No. 1 及び 2 の *K. pneumoniae*, No. 12 及び No. 14 の *E. coli* から、メタロ β -ラクタマーゼ遺伝子に分類される *bla*_{IMP-1group} が検出された。また、No. 13 *K. oxytoca* から、セリン β -ラクタマーゼ遺伝子に分類される *bla*_{GESgroup} が検出された。

ClassA β -ラクタマーゼ遺伝子の検出試験の結果、No. 1 及び No. 2 の *K. pneumoniae* から *bla*_{CTX-M-2 group} 及び *bla*_{SHV} が検出された。No. 4 *E. coli* から *bla*_{CTX-M-1 group}, No. 6 *E. cloacae* から *bla*_{TEM} が検出された。No. 12 *E. coli* から *bla*_{CTX-M-2 group} 及び *bla*_{CTX-M-9 group}, No. 14 *E. coli* から *bla*_{CTX-M-2 group} が検出された。

AmpC 遺伝子検出試験の結果、No. 5, No. 8~No. 11 の *Enterobacter* 属から *bla*_{EBCfamily} が検出された。No. 3 *C. freundii* から *bla*_{CITfamily} が検出された。また、No. 6 *E. cloacae* から *bla*_{DHAfamily} が検出された。

表3 β -ラクタマーゼ産生性確認試験及び遺伝子検出試験

No.	感受性			阻害効果					検出遺伝子 (PCR 法)	mCIM	STtype
	MEPM	IPM	CMZ	SMA	APB	S/A	CVA	MCIPC			
1	R	I	R	+	-	-	+	-	IMP-6, CTX-M-2 group, SHV 型	未実施	ST268
2	R	S	R	+	-	-	-	-	IMP-6, CTX-M-2 group, SHV 型	未実施	ST268
3	R	R	R	-	+	-	-	+	CIT 型	陰性	未実施
4	R	S	I	-	-	+	+	-	CTX-M-1 group	陰性	ST131
5	S	I	R	-	-	-	-	+	EBC 型	陰性	未実施
6	S	I	R	-	-	-	-	+	TEM 型, DHA 型	陰性	未実施
7	R	S	I	-	-	-	+	-	無し	陰性	未実施
8	R	R	R	-	+	-	-	+	EBC 型	陽性	未実施
9	S	I	R	-	-	-	-	+	EBC 型	判定保留	未実施
10	S	I	R	-	-	-	-	+	EBC 型	陰性	未実施
11	I	I	R	-	+	-	-	+	EBC 型	判定保留	未実施
12	R	S	R	+	-	-	-	-	IMP-6, CTX-M-2 group, CTX-M-9 group	未実施	ST131
13	R	R	R	-	-	-	-	-	GES-24	判定保留	未実施
14	R	I	R	+	-	-	+	-	IMP-6, CTX-M-2 group	未実施	ST131

MEPM: メロペネム, IPM: イミペネム, CMZ: セフメタゾール

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

R: 耐性, S: 感性, I: 中間 (BD センシ・ディスク[®]添付文書)

+: 阻害あり, -: 阻害なし

一方で, No. 7 *K. oxytoca* はいずれの β -ラクタマーゼ遺伝子も検出されなかった。

3 mCIM 法

結果を表3に示す。カルバペネマーゼ遺伝子不検出であった株のうち、陽性となった株は No. 8 の1株、陰性となった株は No. 3~No. 7 及び No. 10 の6株、判定保留となった株は No. 9, No. 11 の2株であった。*bla*_{GESgroup} を検出した No. 13 は判定保留となった。

4 塩基配列解析

*bla*_{IMP-1group} を検出した2菌種4株について塩基配列を解析した結果、4株の遺伝子型は全て IMP-6 と同定された。No. 13 の *bla*_{GESgroup} の遺伝子型は、GES-24 と同定された (表3)。

5 MLST 解析

結果を表3に示す。*E. coli* 3株 (No. 4, No. 12, No. 14) はいずれも ST131 となった。*K. pneumoniae* 2株 (No. 1, No. 2) はどちらも ST268 となった。

考 察

腸内細菌科細菌のカルバペネム耐性の獲得に寄与するメカニズムは、異なる機序や多種類の β -ラクタマーゼの関与が知られている。国内・国外においても検出される酵素の種類や割合が異なっ

ていることが報告されている⁵⁾。そのため、海外で主に流行している海外型耐性遺伝子の国内への侵入探知をはじめとした耐性遺伝子の検出状況を全国的に把握し、その拡散を防ぐことが重要となっている。

2018年度に本市で届出があり、検査を実施した14株の菌種内訳は、*E. cloacae* 4株、*E. coli* 3株、*E. spp.* 2株、*K. pneumoniae* 2株、*K. oxytoca* 2株、*C. freundii* 1株であった。全国の医療機関から分離・報告された CRE 菌種別内訳データ⁶⁾と比較すると、全国では *K. aerogenes* の分離割合が高い傾向であることが報告されており、本市での届出菌種は全国の分離菌種と傾向が異なっていることが明らかとなった。

検査を実施した14株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子を保有する株は5株であり、菌種内訳は *E. coli* が2株、*K. pneumoniae* が2株、*K. oxytoca* が1株であった。検出遺伝子は、IMP-1型に属する *bla*_{IMP-6} を検出したものが4株、GES型遺伝子である *bla*_{GES-24} を検出したものが1株であった。IMP型カルバペネマーゼは国内で広く検出・報告される酵素であるが、地域によって検出される遺伝子型が異なる傾向があり、IMP-6は主に東海・北陸、近畿、中国・四国での検出が報告されている⁷⁾。

本市において 2017 年 4 月以降に検出された IMP 型遺伝子の遺伝子型は全て IMP-6 であり⁸⁾、市域でのまん延が示唆された。*bla*_{IMP-6} 保有菌株は他の IMP 型遺伝子を保有する菌株と比べ特殊な薬剤耐性パターンを示し、メロペネムには耐性であるがイミペネムに対しては感受性を示すことがあるため「ステルス型」と呼ばれ警戒されている⁹⁾。臨床現場でのスクリーニングにおいては、*bla*_{IMP-6} 保有株を見落とすことがないように、注意が必要である。

一方、GES 型遺伝子の検出報告は全国的に少ない。GES 型カルバペネマーゼは 2004 年に本邦などで初めて報告^{10), 11)}され、これまでに国内においては GES-4 や GES-5 等の遺伝子型の検出報告^{11), 12)}がある。ヒトから分離された *bla*_{GES-24} 保有菌株に関しては香川県や愛媛県等での検出報告^{13), 14)}があるが、本事例を含め中国からの報告が目立っており、今後の検出動向を注視する必要がある。

MLST 解析によって、*E. coli* 3 株の ST は全て ST131 と判明した。ESBL 産生大腸菌のうち ST131 の流行が各国で報告されているが、本市においても ST131 クローン流行とその耐性化が示唆された。*K. pneumoniae* 2 株の ST は、ともに ST268 となった。検出遺伝子も互いに共通しており、近縁な株であることが示唆された。

カルバペネマーゼ遺伝子を検出しなかった 9 株のうち、*bla*_{CTX-M-2 group} や *bla*_{EBCfamily} 等の何らかの β-ラクタマーゼ遺伝子を検出したものが 8 株であった。これらの株のカルバペネム耐性には、β-ラクタマーゼの過剰産生や、外膜タンパクの変異や欠損による薬剤透過性の低下が関与していると考えられる¹⁾。

2018 年度の本市での CRE 感染症届出件数は 15 件であり、2017 年度の 8 件からほぼ倍増した。昨年度に引き続き、*bla*_{IMP-6} 保有株が複数分離され、また全国でも報告の少ない *bla*_{GES-24} を保有する CRE も検出された。引き続き耐性遺伝子の検出動向に注視し、関係機関と協力して耐性遺伝子の拡散防止や、院内感染事例の早期探知に努めなければならない。

謝 辞

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

文 献

- 1) 荒川宜親：腸内細菌科菌種におけるカルバペネム耐性メカニズムとその特長および動向，病原微生物検出情報，35(12)，283～284(2014)
- 2) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100 27th, 37(1)，122～127(2017)
- 3) Tartof SY et al.: Analysis of a uropathogenic *Escherichia coli* clonal group by multilocus sequence typing, J Clin Microbiol, 43(12)，5860～5864(2005)
- 4) Diancourt L et al.: Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates, J Clin Microbiol, 43(8)，4178～4182(2005)
- 5) 荒川宜親：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE)等新型多剤耐性菌のグローバル化と臨床的留意点，日本化学療法学会雑誌，63(2)，187～197(2015)
- 6) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業:<https://janis.mhlw.go.jp/report/kensa.html>
- 7) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター他：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE)病原体サーベイランス，2017 年，病原微生物検出情報，39(9)，162～163(2018)
- 8) 青田達明 他:2017 年度に広島市で分離されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況と遺伝子解析，広島市衛生研究所年報，37，36～39(2018)
- 9) 菅井基行 他：薬剤耐性菌の基礎知識「ESBL およびカルバペネマーゼ産生菌」，THE CHEMICAL TIMES，239(1)，2014
- 10) Vourli S et al.: Novel GES/IBC extended-spectrum β-lactamase variants with carbapenemase activity in clinical enterobacteria, FEMS Microbiol Letters, 234(2)，209～213(2004)
- 11) Wachino J et al.: Molecular characterization of a cephamycin-hydrolyzing and inhibitor-resistant class A β-lactamase, GES-4, possessing a single G170S

- substitution in the Ω -Loop, Antimicrob Agents Chemother, 48(8), 2905～2910 (2004)
- 12) 福田千恵美 他：香川県内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の薬剤耐性遺伝子の検出状況 (2016), 香川県環境保健研究センター所報, 16, 40～43 (2017)
- 13) 福田千恵美 他：香川県内のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の薬剤耐性遺伝子の検出状況, 香川県環境保健研究センター所報, 15, 47～52 (2016)
- 14) 仙波敬子 他：愛媛県の医療機関で分離された薬剤耐性菌株の遺伝子解析, 平成 28 年度愛媛衛環研年報, 19, 1～7 (2016)

Ⅱ 資 料

広島市における感染症発生動向調査結果について(2018 年)

築地 裕美 吉貞 奈穂子 小中 ゆかり

はじめに

感染症発生動向調査の目的は、感染症の発生動向を迅速に把握・分析し、その情報を提供・公開することにより感染症対策に寄与することである。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市内の感染症情報を収集・分析し、その結果をホームページ等で市民及び関係機関等へ提供・公開している。

今回は、2018 年の広島市における感染症の発生状況をまとめたので報告する。

方法

1 対象疾患

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

2 患者情報の収集

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

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

3 対象期間

(1) 全数把握及び月報対象の定点把握対象疾患

平成 30 年 1 月 1 日～12 月 31 日

(2) 週報対象の定点把握疾患

平成 30 年 1 月 1 日～平成 30 年 12 月 30 日(2018 年第 1 週～第 52 週)

結果

1 全数把握対象疾患

2018 年は、医療機関より 27 疾患の届出があった(表 1)。その内訳は、二類感染症は結核、三類感染症は腸管出血性大腸菌感染症/腸チフス、四類感染症は E 型肝炎/A 型肝炎/つつが虫病/デング熱/日本

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	142
三類	腸管出血性大腸菌感染症	9
	腸チフス	1
四類	E 型肝炎	5
	A 型肝炎	1
	つつが虫病	10
	デング熱	2
	日本紅斑熱	5
	レジオネラ症	39
	レプトスピラ症	1
五類	アメーバ赤痢	11
	ウイルス性肝炎	6
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	15
	急性弛緩性麻痺*1	2
	急性脳炎	5
	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	6
	後天性免疫不全症候群	9
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	2
	侵襲性肺炎球菌感染症	16
	水痘(入院例に限る。)	2
	梅毒	105
	播種性クリプトコックス症	1
	破傷風	2
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	1
	百日咳*2	61
	風しん	16

*1 : 2018 年 5 月 1 日から新規追加

*2 : 2018 年 1 月 1 日から五類感染症定点把握対象疾患から五類感染症全数把握対象疾患に変更

紅斑熱/レジオネラ症/レプトスピラ症の 7 疾患、五類感染症はアメーバ赤痢/ウイルス性肝炎/カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症/急性弛緩性麻痺/急性脳炎/クロイツフェルト・ヤコブ病/劇症型溶血性レンサ球菌感染症/後天性免疫不全症候群/侵襲性インフルエンザ菌感染症/侵襲性肺炎球菌感染症/水痘(入院例に限る。)/梅毒/播種性クリプトコックス症/破傷風/バンコマイシン耐性腸球菌感染症/百日咳/風しんの 17 疾患であった。

(1) 腸管出血性大腸菌感染症

届出のあった 9 件は全て散発事例で、1 件を除き、7～11 月にかけて報告があった。

血清型別の内訳は、O157 が 6 件、O26 が 2 件、O121 が 1 件であった。年齢別では 10 歳未満(5 件)が多かった。

(2) レジオネラ症

届出数は 39 件で、前年(23 件)と比べて増加し、過去最多となった。5～7 月にかけての報告(22 件)が多かった。

病型は 2 件を除き、全て肺炎型であった。男性(34 件)が多く、そのうち 60 歳以上が 76.5%を占めていた。

(3) 梅毒

2015 年以降増加し、2018 年は 105 件(前年の約 1.7 倍)の届出があった。

男性(67 件)が多かった。年齢別では 20～40 代が 79.0%を占め、男性では 30 代、女性では 20 代が最も多かった。病型の内訳は、早期顕症梅毒(I 期)が 43 件、早期顕症梅毒(II 期)が 37 件、晩期顕症梅毒が 1 件、無症候が 24 件であった。感染経路は 96.2%が性的接触によるもので、その内訳は、同性間 5 件、異性間 84 件、不明 12 件であった。

(4) 風しん

2018 年 7 月以降、全国的に増加し、広島市では 16 件の届出があった。このうち 5 件は風しん患者との接触による感染を疑う事例であった。

年齢別では 1 件を除き、20～50 代の報告であった。ワクチン接種歴は、接種歴なしが 4 件(うち 1 件は定期接種の機会のない 0 歳)、接種歴不明が 12 件であった。

2 五類感染症定点把握対象疾患

(1) 週単位報告疾患

インフルエンザ定点、小児科定点、眼科定点及び基幹定点から毎週報告される 18 疾患の報告数を表 2 に示す。年間の定点当たり累積報告数は、感染性胃腸炎が最も多く、次いでインフルエンザ、A 群溶

血性レンサ球菌咽頭炎、手足口病、流行性角結膜炎の順に多かった。

a インフルエンザ(図)

年間定点当たり累積報告数は 317 人で、前年とほぼ同程度であった(前年比 1.09)。

2017/2018 シーズンは、2017 年第 46 週に定点当たり 1.08 人と流行期に入り、2017 年第 51 週に定点当たり 19.5 人と注意報レベル(定点当たり 10.0 人)を超えた。さらに 2018 年第 3 週に定点当たり 43.2 人と警報レベル(定点当たり 30.0 人)を超え、第 4 週には定点当たり 47.7 人の報告があり、流行のピークとなった。その後は減少し、第 16 週に定点当たり 0.68 人と定点当たり 1 人未満となり、終息状態となった。

b 感染性胃腸炎(図)

年間定点当たり累積報告数は 353 人で、前年と比べてやや増加した(前年比 1.33)。年間累積報告数は、小児科定点患者総数の 53.2%を占め、小児科定点報告対象疾患の中で最も多かった。

1 月から増加し、第 11 週には定点当たり 13.7 人とピークとなった。その後は減少傾向で推移し、7～9 月は比較的少なかったが、10 月頃から再び増加傾向となり、第 51 週には定点当たり 12.7 人の報告があった。

c 感染性胃腸炎(ロタウイルス)(図)

年間定点当たり累積報告数は 36.2 人で、前年と比べて大きく増加した(前年比 13.3)。

2 月中旬以降増加し、第 12 週には定点当たり 4.29 人とピークとなった。3～4 月にかけて報告数が増加したが、その後は減少し、6 月以降の報告はほとんどなかった。

(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 疾患の報告数を表 3 に示す。

a 性感染症

対象 4 疾患の年間定点当たり累積報告総数は 89.3 人で、前年と比べてやや増加した(前年比 1.30)。

年間定点当たり累積報告数は性器クラミジア感染症、性器ヘルペスウイルス感染症、淋菌感染症の順に多かった。

b 薬剤耐性菌感染症

対象 3 疾患の年間定点当たり累積報告総数は 34.6 人で、前年とほぼ同程度であった(前年比

0.93)。

年間定点当たり累積報告数はメチシリン耐性黄

色ブドウ球菌感染症, ペニシリン耐性肺炎球菌感染症の順に多かった。

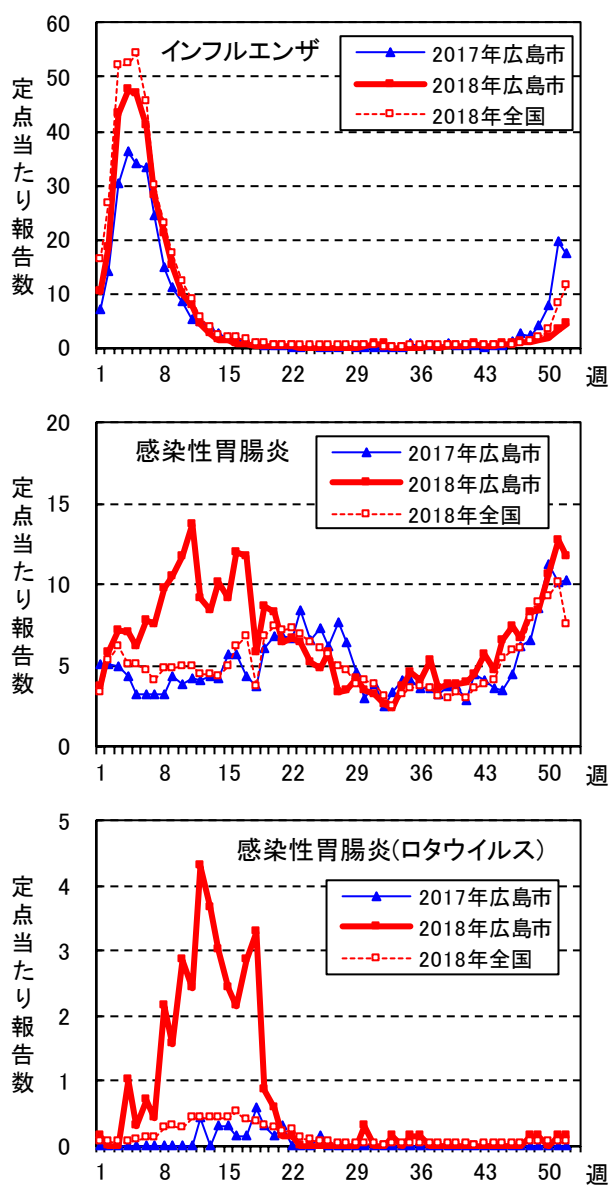


図 定点当たり報告数の週別推移

表 2 五類定点把握対象疾患の報告数(週単位報告分)

疾患名	報告数	
インフルエンザ	11,701	(317)
咽頭結膜熱	505	(21.1)
A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎	3,092	(129)
感染性胃腸炎	8,451	(353)
水痘	348	(14.6)
手足口病	1,410	(58.9)
伝染性紅斑	77	(3.18)
突発性発しん	406	(17.0)
ヘルパンギーナ	584	(24.4)
流行性耳下腺炎	178	(7.47)
RS ウイルス感染症	833	(34.9)
急性出血性結膜炎	22	(2.79)
流行性角結膜炎	409	(51.3)
細菌性髄膜炎	0	(0.00)
無菌性髄膜炎	2	(0.28)
マイコプラズマ肺炎	26	(3.70)
クラミジア肺炎(オウム病を除く)	1	(0.14)
感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。)	250	(36.2)

()内: 定点当たり累積報告数

表 3 五類定点把握対象疾患の報告数(月単位報告分)

疾患名	報告数	
性器クラミジア感染症	394	(44.5)
性器ヘルペスウイルス感染症	163	(18.4)
尖圭コンジローマ	102	(11.4)
淋菌感染症	132	(15.0)
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	207	(29.6)
ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	31	(4.44)
薬剤耐性緑膿菌感染症	4	(0.56)

()内: 定点当たり累積報告数

広島市における梅毒の届出状況(2009～2018 年)

築地 裕美 吉貞 奈穂子 小中 ゆかり

はじめに

梅毒は梅毒トレポネーマの感染によって生じる性感染症で、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(感染症法)で全数把握対象疾患の五類感染症に指定されている。2010 年以降、国内の梅毒の報告数は増加傾向に転じており¹⁾、2018 年には 7,001 件²⁾の報告があった。広島市においても、2015 年以降増加しており、2018 年は 105 件の報告があった。

今回は、広島市における 2009～2018 年の梅毒の届出状況について報告する。

方法

2009～2018 年に感染症発生動向調査システム(NESID)に登録された梅毒 240 件(男性:156 件,女性:84 件)を対象とした。

結果

1 年間報告数の推移

2009～2018 年の年間報告数の推移を図 1 に示す。

2015 年以降、顕著に増加し、2016 年は 27 件(前年の約 1.9 倍)、2017 年は 62 件(前年の約 2.3 倍)、2018 年には 105 件(前年の約 1.7 倍)の報告があり、過去最多の報告数となった。

男性が多いが、2015 年以降は女性の割合が増加していた。

2 年齢階層別報告数について

2009～2018 年の年齢階層別報告数を図 2 に示す。20～40 代が 82.1%(197 件)を占めていた。

男性は、10 代 2 件、20 代 30 件、30 代 50 件、40 代 47 件、50 代 19 件、60 歳以上 8 件で、30～40 代が多かった。

女性は、10 歳未満 1 件、10 代 5 件、20 代 39 件、30 代 19 件、40 代 12 件、50 代 5 件、60 歳以上 3 件で、20 代が最も多かった。男性と比べて、若年層

での報告が多かった。

3 病型について

2009～2018 年の病型別報告数を図 3 に示す。

早期顕症梅毒が 73.3%(早期顕症梅毒(I 期):90 件,早期顕症梅毒(II 期):86 件)を占めていた。

男性は、早期顕症梅毒(I 期)80 件,早期顕症梅毒(II 期)46 件,晩期顕症梅毒 1 件,無症候 29 件で、早期顕症梅毒(I 期)が最も多かった。

女性は、早期顕症梅毒(I 期)10 件,早期顕症梅毒(II 期)40 件,無症候 33 件で、早期顕症梅毒(II 期)が最も多かった。なお、2015 年には先天梅毒の報告が 1 件あった。

4 推定感染経路について

2009～2018 年の推定感染経路別報告割合の推移を図 4 に示す。

性的接触が 92.9%(223 件)を占め、その内訳は、同性間 28 件,異性間 174 件,不明 21 件であった。特に、2015 年以降は異性間性的接触の割合が増加傾向で、2018 年は 8 割が異性間性的接触による感染と推定された。

男女とも異性間性的接触が最も多く、男性では 66.7%(104 件)、女性では 83.3%(70 件)を占めていた。異性間性的接触以外に、男性は、同性間性的接触 28 件,性的接触(不明)14 件,その他(不明等)10 件であった。同性間性的接触の割合は、2011 年に 66.7%と最も高くなったが、それ以降は減少傾向で、2018 年は 7.5%となった。女性は、性的接触(不明)7 件,母子感染 1 件,その他(不明等)6 件であった。

文 献

- 1) 国立感染症研究所:梅毒 2008～2014 年,病原微生物検出情報(IASR),36(2),1～3(2015)
- 2) 国立感染症研究所:感染症発生動向調査年報(2018 年),2019 年 3 月 4 日暫定値

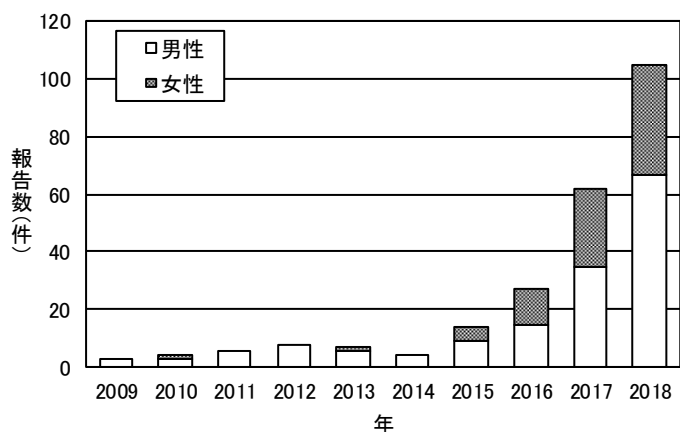


図1 年間報告数の推移(2009～2018年)

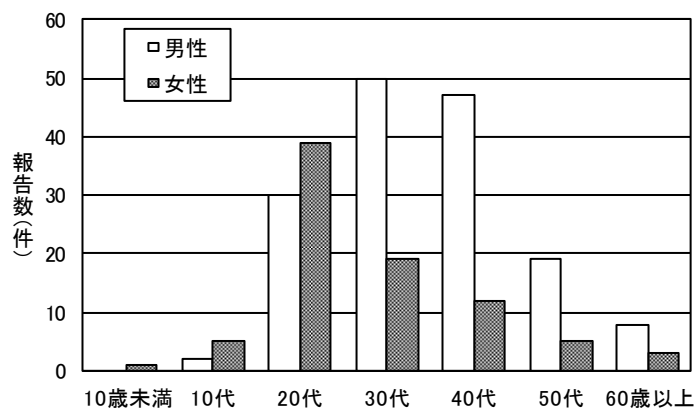


図2 年齢階層別報告数(2009～2018年累計)

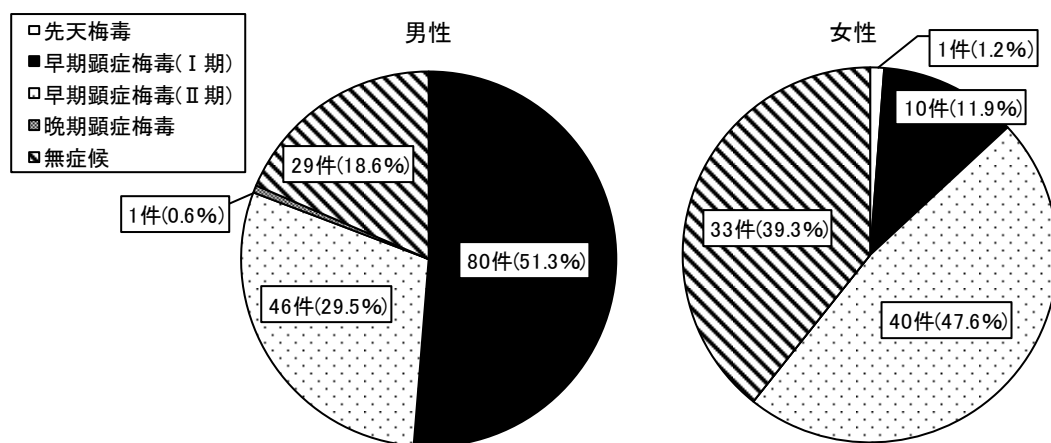


図3 病型別報告数(2009～2018年累計)

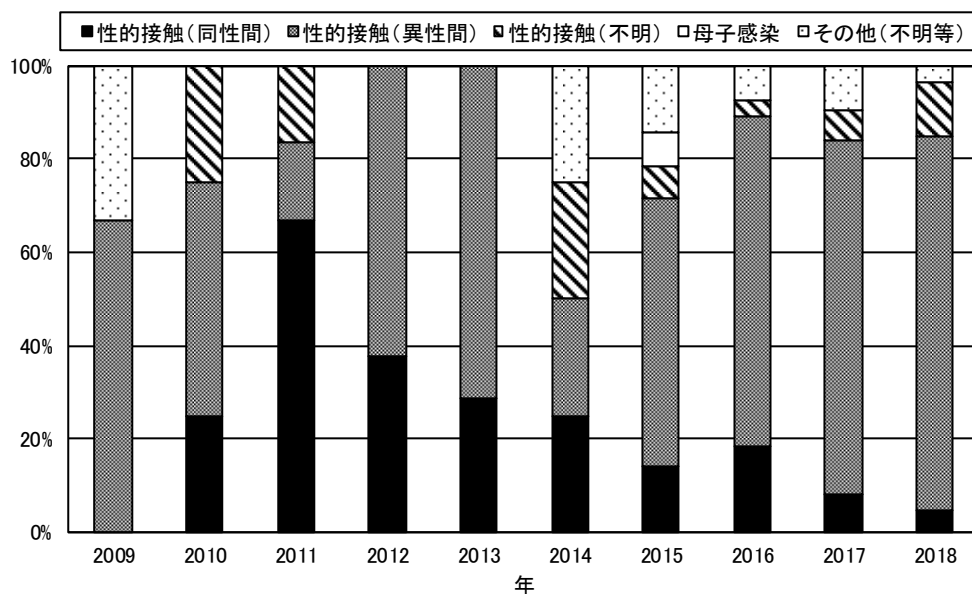


図4 推定感染経路別報告割合の推移(2009～2018年)

広島市内産農産物における残留農薬調査 (平成 21 年度～30 年度)

大平 浩史 小串 恭子* 市川 恵子 松木 司
佐々木 珠生 小中 ゆかり

は じ め に

農作物における残留農薬の問題は消費者の関心が高いことから、本市においては農作物の安全性確保のため、生鮮農作物等の残留農薬検査を継続して実施している。

今回、市内産野菜 20 品目について、平成 21 年度から平成 30 年度の 10 ヶ年の農作物中の農薬の検査結果及び農薬使用状況をまとめたので、報告する。

方 法

1 試料

広島市内で生産された、表 1 に示す 20 品目 200 検体を試料とした。

2 測定対象農薬

232 農薬を対象とした。測定対象となる農薬を表 2 に示す。

なお、平成 26 年度以降の検査結果については、平成 22 年 12 月 24 日付厚生労働省通知¹⁾に基づき、農作物ごとに妥当性評価を実施し、妥当性を確認している。

3 検査方法

試料の調製及び分析は既報^{2), 3)}に準じて行った。

4 農薬の使用状況

農薬の使用記録を入手し、検出された農薬について使用記録の有無を確認した。

結 果 と 考 察

1 農産物別検出状況

平成 21 年度から平成 30 年度の検査結果について、農産物別にまとめたものを表 3 に示す。

市内産野菜 20 品目 200 検体中 13 品目 63 検体から 24 種類の農薬が検出された。検出検体数が最も多かったのはこまつな(12 検体)であり、次いで多かったのはきょうな(10 検体)であった。

検出された農薬のうち、14 種類(EPN, アセタミプリド, イミダクロプリド, エトフェンプロックス, クロチアニジン, クロルフェナピル, ジクロ

表 1 試料の内訳

作物	検体数
いちご	1
えだまめ	7
オクラ	7
かぼちゃ	2
きゅうり	17
きょうな(水菜, みぶな)	24
こまつな	38
さといも	5
ししとう	2
しゅんぎく	3
しろな	2
だいこんの葉(大根菜)	2
トマト	19
なす	27
ねぎ	22
パセリ	1
広島菜	4
ふき	2
ほうれんそう	14
レタス(サラダ菜)	1

ルボス, シペルメトリン, ダイアジノン, チアクロプリド, チアメトキサム, テフルトリン, フルフェノクスロン, ペルメトリン)が殺虫剤, 9 種類(アゾキシストロビン, イプロジオン, オキサジキシル, クレソキシムメチル, シアゾファミド, ジエトフェンカルブ, トリフルミゾール, トルクロホスメチル, ボスカリド)が殺菌剤, 1 種類(トリフルラリン)が除草剤であった。検出項目は全て基準値以内であった。

検出された殺虫剤のうち, 5 種類(アセタミプリド, イミダクロプリド, クロチアニジン, チアクロプリド, チアメトキサム)はネオニコチノイド系殺虫剤であった。ネオニコチノイド系殺虫剤は, 昆虫に対して高い選択性を持って作用することが知られており, 古くから使用されていたニコチン系の殺虫剤と比較して, 哺乳類に対する毒性が低

*: 現 環境局環境保全課

表 2 測定対象農薬

BHC*, CNP*, DDT, EPTC*, EPN, MPMC, MTMC, XMC, アクリナトリン*, アザコナゾール*, アザメチホス, アジンホスメチル, アセタミプリド, アゾキシストロビン*, アトラジン*, アニロホス, アミノカルブ, アメトリン*, アラクロール, アルジカルブ, イサゾホス*, イソカルボホス*, イソキサジフェンエチ ル*, イソキサチオン, イソキサフルトール, イソフェンホス, イソプロカルブ, イソプロチオラン, イ プロジオン*, イプロバリカルブ, イプロベンホス*, イミダクロプリド, インドキサカルブ, エスプロ カルブ, エチオフェンカルブ, エチオン*, エディフェンホス*, エトキサゾール, エトフェンブロック ス, エトフメセート*, エトプロホス*, エトリムホス*, オキサジアゾン*, オキサジキシル, オキサジ クロメホン, オキサミル, オキシカルボキシ, オキシフルオルフェン*, オリザリン, カズサホス, カ ルバリル, カルボフラン, キサロホップPテフリル, キザロホップエチル, キナルホス, キノキシフェ ン*, キノクラミン*, クミルロン, クレソキシムメチル, クロキントセツトメキシル, クロチアニジン, クロマゾン*, クロマフェノジド, クロメトキシニル*, クロメプロップ, クロリダゾン, クロルチオホ ス*, クロルピリホス, クロルピリホスメチル, クロルフェナピル*, クロルフェンソン*, クロルフェ ンビンホス*, クロルブファム*, クロルプロファム*, クロルベンシド*, サリチオン, シアゾファミド, シアノフェンホス*, シアノホス, ジエトフェンカルブ*, ジクロシメット*, ジクロフェンチオン, ジ クロブトラゾール*, ジクロルボス*, ジコホール*, シハロトリン*, ジフェナミド*, シフルトリン*, シフルフェナミド, シプロコナゾール*, シプロジニル*, シペルメトリン*, シマジン, シメコナゾー ル, ジメタメトリン*, ジメチピン*, ジメチリモール, ジメチルビンホス*, ジメトエート*, シメトリ ン, シラフルオフェン, ダイアジノン*, チアクロプリド, チアベンダゾール, チアメトキサム, チオジ カルブ及びメソミル, チオベンカルブ, チオメトン*, テトラクロルビンホス*, テトラコナゾール*, テトラジホン*, テニルクロール*, テブコナゾール*, テブフェンピラド, テフルトリン*, デルタメト リン*, テルブカルブ*, テルブトリン*, テルブホス*, トラルコキシジム*, トラルメトリン*, トリア ジメノール*, トリアゾホス, トリアレート*, トリデモルフ, トリフルミゾール, トリフルラリン*, トルクロホスメチル, トルフェンピラド*, ナプロアニリド, ニトロタールイソプロピル*, ノルフルラ ザン*, パクロブトラゾール, パラチオン, パラチオンメチル, ハルフェンブロックス*, ピコリナフェ ン*, ビテルタノール*, ビフェノックス*, ビフェントリン*, ピペロニルブトキシド*, ピペロホス*, ピラクロホス*, ピラゾリネート, ピラフルフェンエチル*, ピリダフェンチオン*, ピリダベン*, ピリ フェノックス*, ピリフタリド, ピリプロキシフェン, ピリミカーブ, ピリミノバックメチル, ピリミホ スメチル, ピロキロン*, ビンクロゾリン*, フェナリモル, フェニトロチオン, フェノキサニル*, フェ ノキシカルブ, フェノチオカルブ*, フェノブカルブ, フェリムゾン, フェンクロルホス*, フェンス ルホチオン, フェンチオン*, フェントエート*, フェンバレレート*, フェンピロキシメート, フェン プロパトリン, フェンメディファム, ブタクロール*, ブタフェナシル, ブタミホス, ブチレート*, ブ ピリメート*, ブプロフェジン, フラチオカルブ, フラムプロップメチル*, フラメトピル, フルアクリ ピリム*, フルジオキソニル, フルシトリネート*, フルシラゾール, フルトラニル, フルバリネート*, フルフェノクスロン, フルミオキサジン*, プレチラクロール, プロシミドン*, プロチオホス, プロパ ジン*, プロパホス*, プロピコナゾール, プロピザミド*, プロボキスル, プロマシル*, プロメトリン *, プロモプロピレート*, プロモホスエチル*, プロモホスメチル*, ヘキシチアゾクス, ベナラキシル *, ベノキサコール*, ヘプタクロル*, ペルタン*, ペルメトリン*, ペンコナゾール*, ベンゾフェナッ プ, ベンダイオカルブ, ペンディメタリン, ペントキサゾン, ベンフレセート, ホサロン*, ボスカリド, ホスチアゼート*, ホスメット*, ホノホス*, マラチオン, ミクロブタニル, メタラキシル*, メチオカ ルブ, メチダチオン*, メトキシクロール*, メトキシフェノジド, メトラクロール, メトリブジン*, メパニピリム, メフェナセツト*, メプロニル*, ラクトフェン, レナシル*

※：平成 25 年度まで測定を行っていた項目。

*：平成 26 年度以降，測定を行っている項目。

表 3 農産物別検出状況

農作物	検体数	検出 検体数	検出農薬	検出数	結果 (ppm)	基準値 (ppm)
いちご	1	0	－			
えだまめ	7	3	エトフェンプロックス	2	0.01～0.05	3
			シベルメトリン	1	0.03	5.0
オクラ	7	0	－			
かぼちゃ	2	0	－			
きゅうり	17	5	アセタミプリド	1	0.02	2
			クロルフェナピル	3	0.02～0.07	0.5
			プロシミドン	1	0.03	4
きょうな	24	11	アセタミプリド	3	0.01～0.23	5
			アゾキシストロビン	1	0.03	40
			クロチアニジン	1	0.03	10
			クロルフェナピル	1	0.07	10
			シアゾファミド	1	0.06	15
			トリフルラリン	2	0.01～0.02	0.05
			トルクロホスメチル	1	0.05	2.0
			フルフェノクスロン	7	0.01～0.37	10
こまつな	38	12	アセタミプリド	6	0.01～0.24	5
			イミダクロプリド	1	0.01	5
			シアゾファミド	2	0.04～0.09	15
			シベルメトリン	2	0.09～0.49	5.0
			ダイアジノン	1	0.01	0.1
			チアメトキサム	2	0.01～0.05	5
			フルフェノクスロン	3	0.02～0.18	10
さといも	5	0	－			
ししとう	2	1	クロチアニジン	1	0.01	10
			チアメトキサム	1	0.06	3
しゅんぎく	3	2	シベルメトリン	1	0.06	5
			テフルトリン	2	0.01～0.14	0.5
しろな	2	0	－			
だいこんの葉	2	0	－			
トマト	19	4	アゾキシストロビン	1	0.02	3
			オキサジキシル	1	0.02	5
			ジエトフェンカルブ	1	0.01	5
			チアクロプリド	1	0.04	1
			トリフルミゾール	2	0.01～0.06	2
			ボスカリド	1	0.04	5
なす	27	8	アセタミプリド	2	0.03～0.08	2
			アゾキシストロビン	2	0.06～0.07	3
			イミダクロプリド	1	0.14	2
			エトフェンプロックス	1	0.02	2
			クロルフェナピル	1	0.11	1
			ジクロルボス	1	0.04	0.1
			チアメトキサム	1	0.02	0.7

表 3 (続き) 農産物別検出状況

農作物	検体数	検出 検体数	検出農薬	検出数	結果 (ppm)	基準値 (ppm)
なす	22	6	ペルメトリン	1	0.27	1.0
ねぎ			EPN	1	0.05	0.1
			クレソキシムメチル	1	0.07	2
			クロチアニジン	3	0.02~0.03	1
			チアメトキサム	3	0.03~0.21	2
			フルフェノクスロン	2	0.02~0.08	10
パセリ	1	1	トリフルミゾール	1	0.90	1
			フルフェノクスロン	1	3.7	10
広島菜	4	4	イプロジオン	1	0.02	5.0
			クロルフェナピル	2	0.02	10
			シアゾファミド	2	0.06~0.07	20
			フルフェノクスロン	3	0.03~0.12	5
ふき	2	1	クロルフェナピル	1	0.04	20
ほうれんそう	14	5	イミダクロプリド	1	0.62	15
			シアゾファミド	1	0.19	25
			トリフルラリン	1	0.02	0.05
			トルクロホスメチル	1	0.07	2.0
			フルフェノクスロン	3	0.01~0.03	10
レタス	1	0	-			

いとされている。広島市内産の野菜においても、ネオニコチノイド系殺虫剤の使用が多い傾向が見られた。

なお、検体のうち、いちご、オクラ、かぼちゃ、さといも、しろな、だいこんの葉及びレタスからは、農薬は検出されなかった。

2 農薬別検出状況

検出された農薬別に検査結果をまとめたものを表 4 に示す。

検出された農薬のうち、検出検体数が最も多かったのがフルフェノクスロン(19 検体)であり、次いで多かったのがアセタミプリド(12 検体)であった。殺虫剤以外の農薬については、シアゾファミド(6 検体)及びアゾキシストロビン(4 検体)といった殺菌剤の検出が多く確認された。

3 農薬検出状況と使用記録について

農薬が検出されたにもかかわらず、農薬の使用記録が確認されなかった農作物を年度ごとにまとめたものを表 5 に示す。

平成 21 年度～30 年度の 10 ヶ年で、該当する農薬の使用が記録で確認されなかったのは、延べ 22 項目であった。

平成 25 年度のねぎ、平成 24 年度のししとうでは、チアメトキサムとクロチアニジンの 2 種類の農薬が検出されたにもかかわらず、使用記録にはチアメトキサムしか記載されていない。クロチアニジンは、チアメトキサムの代謝物であることが知られている。散布使用した農薬はチアメトキサムであるが、野菜に残留していたチアメトキサムが代謝され、クロチアニジンとして検出された可能性が思慮される。

また、平成 22 年度には、なすより使用記録に記載のないジクロロボスが検出されているが、使用記録にトリクロロホンが記載されている。ジクロロボスはトリクロロホンの分解物であることが知られており、本件で検出されたジクロロボスはトリクロロホンが分解された結果であると考えられる。

農薬が検出されたにもかかわらず、使用記録で確認ができなかった理由については、代謝物以外にも、使用記録の記載漏れや、他の場所から飛散されたものが農作物に付着したこと等が考えられる。例えば平成 21 年度に、ねぎよりクロチアニジン、チアメトキサム、フルフェノクスロン及びク

表 4 農薬別検出状況

農薬の種類	農薬名	農作物	検出数	結果(ppm)	基準値(ppm)
殺虫剤	EPN	ねぎ	1	0.05	0.1
		きゅうり	1	0.02	2
	アセタミプリド	きょうな	3	0.01~0.23	5
		こまつな	6	0.01~0.24	5
		なす	2	0.03~0.08	2
	イミダクロプリド	こまつな	1	0.01	5
		なす	1	0.14	2
		ほうれんそう	1	0.62	15
	エトフェンプロックス	えだまめ	2	0.01~0.05	3
		なす	1	0.02	2
	クロチアニジン	きょうな	1	0.03	10
		ししとう	1	0.01	10
		ねぎ	3	0.02~0.03	1
	クロルフェナピル	きゅうり	3	0.02~0.07	0.5
		きょうな	1	0.07	10
		なす	1	0.11	1
		広島菜	2	0.02	10
		ふき	1	0.04	20
	ジクロルボス	なす	1	0.04	0.1
	シペルメトリン	えだまめ	1	0.03	5.0
		こまつな	2	0.09~0.49	5.0
		しゅんぎく	1	0.06	5
	ダイアジノン	こまつな	1	0.01	0.1
	チアクロプリド	トマト	1	0.04	1
	チアメトキサム	こまつな	2	0.01~0.05	5
		ししとう	1	0.06	3
		なす	1	0.02	0.7
		ねぎ	3	0.03~0.21	2
		しゅんぎく	2	0.01~0.14	0.5
	テフルトリン	きょうな	7	0.01~0.37	10
		こまつな	3	0.02~0.18	10
		ねぎ	2	0.02~0.08	10
		パセリ	1	3.7	10
		広島菜	3	0.03~0.12	5
	フルフェノクスロン	ほうれんそう	3	0.01~0.03	10
		なす	1	0.27	1.0
	ペルメトリン	なす	1	0.27	1.0
殺菌剤	アゾキシストロビン	きょうな	1	0.03	40
		トマト	1	0.02	3
		なす	2	0.06~0.07	3
	イプロジオン	広島菜	1	0.02	5.0
	オキサジキシル	トマト	1	0.02	5
	クレソキシムメチル	ねぎ	1	0.07	2
	シアゾファミド	きょうな	1	0.06	15
		こまつな	2	0.04~0.09	15
		広島菜	2	0.06~0.07	20
		ほうれんそう	1	0.19	25
		トマト	1	0.01	5
	ジエトフェンカルブ	トマト	2	0.01~0.06	2
		パセリ	1	0.90	1
	トリフルミゾール	パセリ	1	0.90	1

表 4(続き) 農薬別検出状況

農薬の種類	農薬名	農作物	検出数	結果 (ppm)	基準値 (ppm)
殺菌剤	トルクロホスメチル	きょうな	1	0.05	2.0
		ほうれんそう	1	0.07	2.0
	プロシミドン	きゅうり	1	0.03	4
	ボスカリド	トマト	1	0.04	5
除草剤	トリフルラリン	きょうな	2	0.01~0.02	0.05
		ほうれんそう	1	0.02	0.05

表 5 使用記録が確認されなかった農薬の検出状況

年度	農作物	検出農薬	結果 (ppm)	基準値 (ppm)	検出要因
H28	こまつな	アセタミプリド	0.05	5	－
		フルフェノクスロン	0.18	10	－
H26	きょうな	シアゾファミド	0.06	15	－
	きょうな	クロチアニジン	0.03	10	－
	ほうれんそう	フルフェノクスロン	0.03	10	記入漏れ
H25	こまつな	チアメトキサム	0.01	5	－
	きょうな	トリフルラリン	0.02	0.05	前作時に使用していた農薬が残留
	ほうれんそう		0.01		－
		トルクロホスメチル	0.05	2.0	前作時に使用していた農薬が残留
		トリフルラリン	0.02	0.05	前作時に使用していた農薬が残留
		トルクロホスメチル	0.07	2.0	前作時に使用していた農薬が残留
		クロチアニジン	0.02	1	代謝物(チアメトキサム)
H24	ししとう	クロチアニジン	0.01	10	代謝物(チアメトキサム)
H23	ねぎ	クロチアニジン	0.02	1	噴霧器に他の作物用の農薬が残留
H22	しゅんぎく	テフルトリン	0.14	0.5	前作時に使用していた農薬が残留
	トマト	オキサジキシル	0.02	5	－
H21	なす	ジクロルボス	0.04	0.1	分解物(トリクロルホン)
		クロチアニジン	0.03	1	記入漏れ
	しゅんぎく	クレソキシムメチル	0.07	2	記入漏れ
		チアメトキサム	0.14	2	ドリフト※
			0.03		－
		フルフェノクスロン	0.02	10	ドリフト※
		シペルメトリン	0.06	5	ドリフト※
		テフルトリン	0.01	0.5	ドリフト※

※ドリフトとは、隣接した畑でまかれた農薬が、風等により対象外の作物に飛散する現象を指す。

レソキシムメチルが検出された際には調査の結果、記載漏れや他の場所からの飛散の可能性があることが確認されている。使用記録は農薬が適正に使用されていることを確認するための書類であり、以後も検査結果と併せて行政指導に活用していくことは有用であると考えられる。

今後も市内産野菜の農薬残留実態調査を継続し、市民の食生活の安全性確保を図っていくことが重要と考えられる。

文 献

- 1) 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) GC/MS/MS による農作物中の残留農薬一斉分析法の検討、広島市衛生研究所年報, 28, 54~61 (2009)
- 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、広島市衛生研究所年報, 32, 35~39 (2013)

広島市の細菌性集団食中毒検査状況(平成 30 年度)

生 物 科 学 部

は じ め に

平成 30 年度の主要な細菌性集団食中毒の検査状況について報告する。

方 法

本市保健所で採取し、当部に搬入された患者便、従事者便、食品、器具等の拭き取り検体(スワブ)などを細菌検査に供試した。

結 果

平成 30 年度に本市保健所で調査集計した食中毒事例のうち、当部で検査を実施した細菌性集団食中毒の検査概要について表にまとめた。

謝 辞

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

表 平成 30 年度の広島市における細菌性集団食中毒の概要及び検出された病因物質

発生月	原因施設	患者/ 喫食者	病因物質 原因食品	潜伏時間及び主な症状 当部で行った検査概要
4月	飲食店	3/4	<i>Campylobacter jejuni</i> 不明 (4月14日夜提供の食事)	58時間、腹痛、下痢、頭痛、発熱等 患者便1検体、従事者便2検体、食品(参考品)4検体、スワブ5検体を検査。 患者便1検体から <i>C. jejuni</i> (Penner L/U 群 ^{※1}) を検出。
6月	飲食店	67/88	<i>Salmonella</i> 04:i:- 不明 (6月4日から20日提供の食事)	31時間、下痢、発熱、腹痛等 患者便4検体、菌株1検体、従事者便7検体、食品(参考品)7検体、スワブ11検体を検査。 患者便2検体、菌株1検体、従事者便4検体、食品1検体から <i>Salmonella</i> 04:i:- を検出。
10月	飲食店	5/10	<i>Campylobacter coli</i> 不明 (10月27日夜提供の食事)	77時間、腹痛、下痢、発熱等 患者便2検体、従事者便2検体、食品(参考品)2検体、スワブ6検体を検査。 患者便1検体と、食品1検体から <i>C. coli</i> を、食品1検体から <i>C. jejuni</i> (Penner UT ^{※2}) を検出。
12月	事業所	19/35	<i>Clostridium perfringens</i> (血清型 Hobbs16 型 CPE+) 不明 (12月20日昼提供の食事)	15時間、下痢、腹痛、発熱等 患者便8検体、従事者便6検体、食品(参考品)6検体、スワブ10検体を検査。 患者便8検体、従事者便1検体から <i>C. perfringens</i> (血清型 Hobbs16 型, <i>cpe</i> 遺伝子+) を検出。

※1) L/U : L 群と U 群の区別不能

※2) UT : 判定不能

和菓子の異臭苦情品からの酵母の検出について

池田 伸代 竹原 佑美* 清水 裕美子 京塚 明美
坂本 綾

はじめに

平成 30 年 5 月, 広島市保健所食品指導課に, 「購入した和菓子(どら焼き)から強いアルコール臭がする」旨の苦情が寄せられた。保健所職員複数人が該品を確認したところ, 強い有機溶媒臭(シンナー臭, 酢酸エチル臭)が認められた。異臭の原因として酵母様真菌類の関与が疑われ, 苦情該品が当所へ搬入された。生菌数, 酵母数等の検査を実施し, 分離された酵母様真菌類の同定を試みたので報告する。

方 法

1 材料

市外業者により製造され, 市内販売店で販売されていた異臭苦情該品「どら焼き」を検査に供した。該品は搬入の 1 日前に苦情者により開封され, その一部は喫食されていた。

2 試料の調製

喫食された形跡のあるところを避けて 25g を採取し, 滅菌生理食塩水で 10 倍希釈して試料とした。

3 鏡検

試料を粗遠心して食品残渣を除き, 上清を更に遠心した沈渣をグラム染色し鏡検した。その沈渣を PDA(後述)及び非選択培地に塗抹し 1 日培養後, 発育した集落を掻きとりグラム染色して鏡検した。

4 一般生菌数及び酵母数

試料を滅菌生理食塩水で段階希釈し, 一般生菌数及び酵母数の測定に供した。一般生菌数については標準寒天を用いた混釈平板培養法により, 35℃で 48 時間培養し出現集落数を計測した。酵母数については「漬物の衛生規範について(昭和 56 年 9 月 24 日付環食第 214 号通知)」を参考に, NaCl (5%), クロラムフェニコール(0.01%), プロピオン酸 Na(0.2%)を加えたポテト・デキストロース寒天培地(以下 PDA)で混釈し, 25℃で 4 日間培養し出現集落数を計測した。

5 分離株の同定

PDA に発育した集落を 10 個釣菌し, ID 32 C アピ及びアピ C オクサノグラム(ともにシスメック

ス・バイオメリュー社)を用いて簡易同定した。その結果から代表的な株を選定し, PCR にてリボゾーム RNA 遺伝子の ITS1 領域を増幅し, ダイレクトシーケンシング法により遺伝子配列を決定し, NCBI BLAST によりデータベース上の配列と相同性検索を実施した。テンプレート DNA はアルカリ熱抽出法により調整し, ITS1 領域の増幅は Fungal rDNA(ITS1)PCR Kit Fast(タカラバイオ社)を用いた。サイクルシーケンシングは BigDye Terminator v3.1 Cycle sequencing Kit(ライフテクノロジー・ジャパン社)を用い, Applied Biosystems 3500 ジェネティックアナライザで配列を決定した。

6 分離株の発する臭気の官能検査

分離した 10 株を, PDA(グルコース 2.1%含有)及び普通寒天培地(グルコース非含有)に接種し, 個別にビニール袋に入れて 30℃で培養し, 2 日間, 4 日間, 7 日間培養後の臭気を確認した。

結 果

1 鏡検

粗遠心後の上清中に, グラム陽性, 酵母様の染色像を認めた。PDA 及び非選択培地に発育した集落も同様であった(図)。

2 一般生菌数及び酵母数

一般生菌数は 6.3×10^7 個/g, 酵母数は 6.4×10^7 個/g であった。

3 分離株の同定

ID 32 C アピ及びアピ C オクサノグラムによる

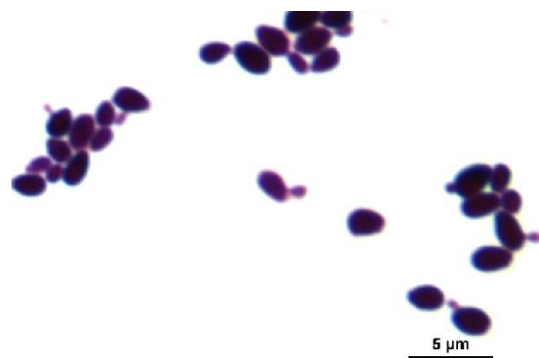


図 PDA に発育した集落のグラム染色像

*: 現 広島市保健所環境衛生課

簡易同定の結果、分離した 10 株のうち 6 株は *Candida pelliculosa*, 2 株は *Candida colliculosa* と簡易同定された。真菌類の中でも酵母を含む子囊菌類は、テレオモルフ(有性世代, 完全時代)の菌名とアナモルフ(無性世代, 不完全時代)の菌名がともに正式菌名として認められており、1 つの菌種が 2 つの菌名をもつ場合がある¹⁾。テレオモルフとアナモルフの関係が明らかな場合はテレオモルフの菌名が優先する²⁾。*C. pelliculosa* 及び *C. colliculosa* はともにアナモルフの菌名であり、それぞれのテレオモルフの菌名は *Wickerhamomyces anomalus* 及び *Torulaspora delbrueckii* である。

ID 32 C アピ及びアピ C オクサノグラムで同定不能又は同定確率の低かった 2 株も含め 6 株について、ITS1 領域の遺伝子配列を決定し、国際塩基配列データベース上の配列と比較したところ、2 株は *W. anomalus*, 4 株は *T. delbrueckii* の配列と一致した。

分離株の最終的な同定結果を表に示した。10 株のうち 6 株は *W. anomalus*, 4 株は *T. delbrueckii* と同定された。

4 分離株の発する臭気の官能検査

W. anomalus 株を接種した PDA からは 2 日間の培養で有機溶媒臭(シンナー臭)が認められた。また、*T. delbrueckii* 株を接種した PDA からは 2~4 日間の培養で若干の有機溶媒臭(アルコール臭)が認められた。これに対して普通寒天培地での培養では、7 日間の培養後も全ての株で明確な有機溶媒臭は認められなかった。

考 察

製造元への聞き取りによると、該品と同一のロットでは同様の苦情はなかったが、過去に別製品で同様の苦情があり、エタノールと酢酸エチルが検出されていた。今回の苦情該品についても、保健所職員が強い有機溶媒臭(シンナー臭, 酢酸エチル臭)を確認しており、酢酸エチルを産生する酵母の増殖が疑われた。

該品の酵母数は 10^7 個/g であり、発育した集落のうち 10 株を釣菌し同定を試みた結果、6 株を *W. anomalus*, 4 株を *T. delbrueckii* と同定した。これら酵母の増殖が苦情者に「強いアルコール臭」と表現された有機溶媒臭の発生に関与したと考えられた。

W. anomalus は以前は *Hansenula anomala*, 最近までは *Pichia anomala* と呼ばれていた酵母で³⁾、エタノールを資化して酢酸エチルを生成する。工場の空中浮遊菌から食品を二次汚染し、消毒目的で多用されたエタノールから酢酸エチルを生成し、シンナー臭の原因となった例は多く⁴⁾、環境中から食パンを汚染しシンナー臭を発生させ、その酵母生菌数は 10^7 個/g であったとの報告もある⁵⁾。またエタノールについては工場での使用だけでなく、食品保存料や風味改良剤としての使用や、静菌目的で粉末エタノール製剤を封入した包装の普及などにより *W. anomalus* の増殖による酢酸エチル生成の前駆物質となっていると考えられる⁶⁾。今回の苦情品について、製造元でのエタノールの使用状況は不明であるが、*W. anomalus* の一部の株は糖類からもアセトアルデヒド、エタノール、酢酸エチルを生成するとの報告がある^{4), 7)}。今回検

表 分離株の同定結果

菌株 No.	同定結果 (テレオモルフ名)	ID 32 C アピ 同定確率(%)	アピ C オクサノグラム 同定確率(%)	ITS1 領域遺伝子配列相同性 (%, ()内は Accession No.)
1	<i>W. anomalus</i>	99.9	同定不能	100.0 (KT809091)
2	<i>W. anomalus</i>	99.9	99.9	100.0 (KT809091)
3	<i>W. anomalus</i>	99.9	99.5	—
4	<i>W. anomalus</i>	99.9	98.8	—
5	<i>W. anomalus</i>	99.9	98.8	—
6	<i>W. anomalus</i>	99.9	98.8	—
7	<i>T. delbrueckii</i>	同定不能	同定不能	100.0 (MK267804)
8	<i>T. delbrueckii</i>	99.9	86.1	100.0 (MK267804)
9	<i>T. delbrueckii</i>	—	70.0	100.0 (MK267804)
10	<i>T. delbrueckii</i>	99.9	同定不能	100.0 (MK267804)

出した *W. anomalus* 株の培養過程においても、グルコース非含有の普通寒天培地上での培養では明確な有機溶媒臭は認められなかったが、グルコースを 2.1% 含有する PDA での培養では 2 日間でも有機溶媒臭(シンナー臭)が認められ、今回の異臭苦情の主な原因であると考えられた。

T. delbrueckii は以前は *Saccharomyces rosei* と呼ばれていた酵母で、近年、冷凍耐性の高いパン酵母⁸⁾、あるいはワイン酵母の一種として知られ⁹⁾、土壌や花からの分離報告¹⁰⁾、¹¹⁾がある。食品の苦情原因としては、容器膨張を起こした羊羹から分離されたとの報告¹²⁾があるが、*T. delbrueckii* の増殖が異臭苦情の原因となるかは不明である。しかし、ワイン酵母の一種であることからアルコール発酵能を有すると考えられ、ナギナタコウジュの花から分離された *T. delbrueckii* がアルコール発酵能を示したとの報告¹³⁾もある。今回の検査でも *T. delbrueckii* 株を接種した PDA(グルコース含有)から若干のアルコール臭が確認された。苦情該品の中で *W. anomalus* とともに増殖した *T. delbrueckii* が糖を分解してエタノールを生成し、*W. anomalus* による酢酸エチル生成に寄与した可能性も考えられた。

謝 辞

本調査を実施し、情報提供等にご協力いただいた本市保健所食品指導課に深謝いたします。

文 献

- 1) 杉田 隆 他:病原性酵母の分類と同定における最近の動向, *Medical Mycology Journal*, 52(2), 107~115(2011)
- 2) 山口英世:病原カンジダ菌種の多様化とその医真菌学的インパクト, *モダンメディア*, 58(9), 261~277(2012)
- 3) 菊池 賢:Photo Quiz:Deep-seated mycosis, *Medical Mycology Journal*, 52(3), 173~174(2011)
- 4) 内藤茂三:食品工場での微生物汚染とその対策, *日本防菌防黴学会誌*, 46(6), 265~274(2018)
- 5) 有田富和 他:不良食品からの酵母様真菌類の分離と同定, *宮城県保健環境センター年報*, 28, 42~44(2010)
- 6) 内藤茂三:乳酸菌と酵母による食品工場汚染と食品の異臭変敗, におい・かおり環境学会誌, 41(4), 226~239(2010)
- 7) 内藤茂三:パンのシンナー臭生成と工場の衛生管理, *食品分析開発センターSUNATEC メールマガジン*, 56(2011), <http://www.mac.or.jp/mail/101101/02.shtml>
- 8) 河合弘康:パン酵母の冷凍障害と冷凍耐性酵母, *化学と生物*, 31(6), 374~381(1993)
- 9) 伊藤一成:清酒製造場に存在する野生酵母の調査, *岡山県工業技術センター報告*(2016), <http://www.pref.okayama.jp/kougi-h/601664.html>
- 10) 安田(吉野)庄子 他:花からの *Saccharomyces cerevisiae* の選択的分離と遺伝的多様性, *日本食品科学工学会誌*, 58(9), 433~439(2011)
- 11) 工藤泰良 他:特別天然記念物「椿山」からの発酵食品用天然酵母の分離と種の同定, *八戸工業高等専門学校紀要*, 51, 117~121(2017)
- 12) 東京都立食品技術センター:生菓子類の品質劣化防止に関する研究, *農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター研究課題データベース*(2005), <https://agriknowledge.affrc.go.jp/RN/3030119585>
- 13) 藤野舜一 他:出羽三山植物体からのアルコール発酵能を有する野生酵母の単離, *日本醸造協会誌*, 111(11), 743~749(2016)

広島市における三類感染症の検査結果(2018 年)

山木戸 聡 青田 達明 佐藤 香緒里 栗林 智早
山本 美和子 坂本 綾

はじめに

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

ここでは, 2018 年に当所で行った三類感染症に関する検査結果について報告する。

方法

1 検査対象

2018 年 1 月から同年 12 月までに, 当所で検査を行った三類感染症事例は, 腸管出血性大腸菌感染症 8 件, 腸チフス 1 件であった。

腸管出血性大腸菌株 8 株については, 血清型別試験, 毒素型別試験, 薬剤感受性試験, 分子疫学解析を実施した。

腸チフス菌株 1 株については, 血清型別試験, 薬剤感受性試験を実施した。

2 血清型別試験

免疫血清(デンカ生研)による血清型別試験を実施した。

腸管出血性大腸菌株については, O 抗原と H 抗原について型別試験を実施した。

なお, SIM 培地での培養で運動性がみられず, かつ H 血清による凝集反応がみられなかった株については, 番上らの報告¹⁾を参考に PCR による H 抗原遺

伝子型別を行った。

腸チフス菌株については, O 抗原, Vi 抗原, H 抗原に対する免疫血清を用いて凝集反応の有無を確認した。

3 毒素型別試験

腸管出血性大腸菌株について, CAYE 培地で増菌し, デュオパス・ベロトキシン(メルク)を用いて毒素型別試験を実施した。

4 薬剤感受性試験

腸管出血性大腸菌株については, 12 種類の抗生物質(ABPC, SM, KM, TC, NA, CP, GM, CPFX, CTX, ST, TMP, FOM)について, Sensi-Disc(BD)を用いた一濃度ディスク法により実施した。

腸チフス菌株については, 6 種類の抗生物質(ABPC, SM, KM, TC, NA, CP)について, 同法により実施した。

5 分子疫学解析

(1) MLVA 法

腸管出血性大腸菌株のうち, 0157 株と 026 株については, 泉谷らの報告²⁾を参考に MLVA 法による解析を行った。当所での解析後, 菌株を国立感染症研究所に送付して解析に供し, MLVA 型として結果の還元を受けた。

0121 株については, 国立感染症研究所に菌株を送付して解析に供し, 結果の還元を受けた。

(2) IS 法

搬入された菌株のうち, 腸管出血性大腸菌 0157 株については, IS-printing system[®](東洋紡)による解析を行った。

表 1 腸管出血性大腸菌株の一覧

事例No.	届出月	血清型	毒素型	MLVA 型	IS コード		薬剤耐性
					1st set	2nd set	
1	4	0157:H7	VT2	18m0166	305457	611642	-
2	7	026:H11	VT1	18m2060	-	-	-
3	7	0121:H19	VT2	17m5008	-	-	-
4	8	0157:HNM (Hg7)	VT1・VT2	17m0203	215457	311656	SM
5	9	0157:H7	VT1・VT2	14m0028	717557	611657	-
6	9	0157:H7	VT1・VT2	18m0338	317475	611756	-
7	10	0157:H7	VT2	18m0239	054047	303042	-
8	11	0157:H7	VT2	14m0362	012057	216442	-

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

結 果

1 腸管出血性大腸菌感染症

結果の一覧を表 1 に示す。

(1) 血清型別試験及び毒素型別試験

血清型別については、0157:H7 が 5 株、0157:HNM が 1 株、026:H11 が 1 株、0121:H19 が 1 株であった。また、0157:HNM 株については、PCR により遺伝子型が Hg7 であることを確認した。

毒素型別については、0157:H7 株のうち VT1・VT2 陽性株は 2 株で、VT2 単独陽性株は 3 株であった。0157:HNM 株については VT1・VT2 陽性であり、026:H11 株は VT1 単独陽性株、0121:H19 株は VT2 単独陽性株であった。

(2) 薬剤感受性試験

腸管出血性大腸菌については、8 株のうち 1 株が SM 耐性であった。

(3) 分子疫学解析

2018 年に当所で検査を行った検体については、事

例間で MLVA 型や IS コードが一致するものはなかった。接触機会や共通食など、同一由来と疑われる疫学的情報も得られていないことから、それぞれ独立した事例であることが示唆された。

2 腸チフス

(1) 血清型別試験

血清型別は、09:Vi+:Hd であった。

(2) 薬剤感受性試験

試験を実施した全ての薬剤に感受性を示した。

謝 辞

調査にご協力いただいた医療機関及び各区保健センターの各位に深謝いたします。

文 献

- 1) Banjo M et al.: *Escherichia coli* H-genotyping PCR: a complete and practical platform for molecular H typing, J Clin Microbiol, 56(6), e00190~18(2018)
- 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(10), 569~577(2010)

広島市内で発生したバンコマイシン耐性腸球菌感染症の 解析結果

栗林 智早 青田 達明 佐藤 香織里 山本 美和子
坂本 綾

は じ め に

バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin Resistant Enterococci : VRE) は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の治療に用いられる抗生物質バンコマイシン (VCM) に対する耐性を獲得した腸球菌である。健康者が VRE を保菌していても通常無症状であるが、術後や、感染防御機能の低下した患者においては、術後感染症や日和見感染症を引き起こし、院内感染の原因ともなる¹⁾。

VRE 感染症は、感染症法において全数把握対象の 5 類感染症である。近年の国内 VRE 感染症報告数は年間 60 例前後で推移しており、欧米と比べると日本ではまだ稀な感染症である¹⁾。当市でも平成 30 年 4 月に届出があった 1 例を含めて、過去 5 年で 2 例のみの報告である。今回、菌株を入手し、検査を実施したので報告する。

方 法

1 供試菌株

平成 30 年 4 月に市内医療機関から届出があり、中保健センターより搬入された菌株 1 株。

2 方法

(1) 菌種同定

a 培養法

菌株をミューラーヒントン II 寒天培地 (BD) に再接種し 37℃ 一晚培養後、グラム染色及びカタラーゼ試験、6.5% NaCl 濃度での発育試験を行なった。生化学的性状はアピストレップ 20 (バイオメリュウ・ジャパン) を用いて実施した。また、*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* をその他の菌種からコロニーの色調で区別することのできる EF 寒天培地 (ニッスイ) に培養しコロニーの色調を観察した。

b 遺伝子検出法

国立感染症研究所の病原体検出マニュアルの方法に準拠し、菌種を同定する *ddl* 遺伝子 (種特異的配列を持つ細胞壁合成遺伝子) の検出を実施した。ミューラーヒントン II 寒天培地に発育した菌をアルカリ熱抽出 (5mM NaOH 25 μ l 100℃ 10 分加熱後

2/25mM Tris-HCl (pH7.0) 50 μ l で中和) により鑄型 DNA を抽出した。*E. faecalis* と *E. faecium* を検出する Multiplex PCR を実施した。プライマー配列を表 1 に示す。反応条件は前加熱 95℃ 5 分、熱変性 95℃ 20 秒とアニーリング 55℃ 120 秒を 35 サイクル後、74℃ 5 分で伸張を行い、増幅産物を 3% アガロースゲルで泳動し、目的の遺伝子の増幅を確認した。

増幅産物を、ExoSAP-IT Express PCR Product Cleanup (Thermo Fisher SCIENTIFIC) で精製し、BigDye terminator v3.1 (Thermo Fisher SCIENTIFIC) を用いてサイクルシーケンスを実施した。3500 Genetic analyzer (ABI) によって塩基配列を決定した。

(2) 薬剤感受性試験

a ディスク法

ペニシリン (PCG)、アンピシリン (ABPC)、エリスロマイシン (EM)、バンコマイシン (VCM)、テイコプラニン (TEIC)、リネゾリド (LZD) について、CLSI に準拠し、BD センシディスクを用いて Kirby-Bauer 法 (ディスク拡散法) により実施した。

b E テスト

E テスト (バイオメリュウ・ジャパン) を用い添付文書に従い MIC 値を求めた。

c ディスク法による耐性型の推定

ミューラーヒントン II 培地に菌を接種後、VCM と TEIC のディスクを置き、24~48 時間培養し、阻止円径を比較した。

(3) バンコマイシン耐性遺伝子の検出

感染研のマニュアルに準じて *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/3* の ligase protein 遺伝子検出用プライマー (表 2) を用い Multiplex PCR を実施し、バンコマイシン耐性遺伝子の有無とタイピングを行った。鑄型 DNA を用い、2(1)b と同じ反応条件で PCR を実施した。また、シーケンスを実施し、塩基配列を決定した。

(4) リネゾリド耐性に関与する 23 S rRNA domain V 領域の PCR 増幅と塩基配列解析

S. H. Marshall ら²⁾ によるプライマー (表 3) を用

表1 *ddl*遺伝子検出用プライマー

		配列 (5' → 3')	増幅産物 (bp)
<i>E. faecalis</i>	<i>ddl-E. faecalis</i> -F	ATCAAGTACAGTTAGTCT	941
	<i>ddl-E. faecalis</i> -R	ACGATTCAAAGCTAACTG	
<i>E. faecium</i>	<i>ddl-E. faecium</i> -F	TAGAGACATTGAATATGCC	525
	<i>ddl-E. faecium</i> -R	CATCGTGTAAGCTAACTTC	

表2 耐性遺伝子検出用プライマー

		配列 (5' → 3')	増幅産物 (bp)
<i>vanA</i>	<i>vanA</i> -F	GGGAAAACGACAATTGC	732
	<i>vanA</i> -R	GTACAATGCGGCCGTTA	
<i>vanB</i>	<i>vanB</i> -F	ATGGGAAGCCGATAGTC	635
	<i>vanB</i> -R	GATTTCGTTCTCGACC	
<i>vanC 1</i>	<i>vanC-1</i> -F	GGTATCAAGGAAACCTC	822
	<i>vanC-1</i> -R	CTTCCGCCATCATAGCT	
<i>vanC2/3</i>	<i>vanC-2/C-3</i> -F	CTCCTACGATTCTCTTG	439
	<i>vanC-2/C-3</i> -R	CGAGCAAGACCTTAAG	

表3 LZD耐性変異遺伝子検出用プライマー

		配列 (5' → 3')	増幅産物 (bp)
LZD	Forward	GCAGAAGGGAGCTTGACTGCGAG	389
	Reverse	ACCCAGCAATGCCCTTGGCAG	

表4 薬剤感受性試験

薬剤ディスク	PCG	ABPC	EM	VCM	TEIC	LZD
測定値 mm (判定)	0.0mm (R)	0.0mm (R)	23.2mm (S)	0.0mm (R)	8.4mm (R)	21.5mm (I)

いて、前加熱 94℃5 分、熱変性 94℃30 秒、アニーリング 52℃30 秒、伸張反応 72℃1 分を 35 サイクル後、最後に 72℃10 分伸張の条件で PCR を行った。2(1)b と同様にシーケンスを実施した。部分塩基配列を決定し、遺伝子変異 (G2576T) の有無を確認した。

結 果

1 菌種同定

菌株は、グラム陽性レンサ球菌、カタラーゼ陰性、6.5%NaCl 濃度での発育を認め、EF 寒天培地上のコロニーは *E. faecium* の性状である黄色を呈した。アピストレップ 20 は、プロファイル No. 5357510 *E. faecium* 99.6%であった。

E. faecium ddl 遺伝子を検出する特異的プライマーを用いて PCR を実施したところ、525bp の増幅産物が確認された。この産物をシーケンスにより塩基配列を決定し、*E. faecium* であることを確認した。

2 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果を表 4 に示す。PCG, ABPC, VCM 及び TEIC は耐性 (R), LZD は中間 (I), EM は感性 (S) であった。

VCM の MIC 値は、 $>256 \mu / \text{ml}$ であった。

3 バンコマイシン耐性型の推定

VCM の阻止円は無く、TEIC の阻止円径は 8.4mm とわずかに阻止円が形成されたため VanB 型と推定した。

4 バンコマイシン耐性遺伝子の検出

vanA 遺伝子を検出する特異的プライマーを用いて PCR を実施したところ、732bp の増幅産物が確認された。この産物をシーケンスにより塩基配列を決定し、*vanA* 遺伝子であることを確認した。

5 リネゾリド耐性に関与する遺伝子領域の

塩基配列解析

23S domain V 領域の部分塩基配列を解析した結果、遺伝子変異 (G2576T) はみられなかった。

考 察

平成 30 年 4 月に市内の医療機関から届出のあった VRE 感染症の菌株は、培養及び遺伝子検査の結果 *E. faecium* と同定された。VRE の分離同定では、VCM 自然耐性である *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactobacillus* 等を VRE と誤同定する可能性もあるが³⁾、遺伝子検出をすることで菌種の確認ができた。感染症サーベイランス (NESID) による 2017 年の集計では、*E. faecium* が菌種報告数の 87% を占めており、今回の届出菌株も、*E. faecium* であった。

VCM の MIC 値は、 $>256 \mu\text{g/ml}$ と届出基準 $16 \mu\text{g/ml}$ を大幅に上回り強い耐性がみられた。

検出された耐性型遺伝子は *vanA* であった。*vanA* は、我が国では *E. faecalis* からの分離も多いが、主に *E. faecium* から分離される⁴⁾。

ディスク法での VCM と TEIC の阻止円からは、VanB 型と推定された。最近、国内で臨床分離される VanA 型 VRE の中に一見 VanB 型 VRE と紛らわしい株が半数程度の割合で見られる。輸入鶏肉から分離される VanA 型 VRE の多くが類似のパターンを示しており注意が必要である⁴⁾。

vanA 遺伝子はプラスミド上に存在し、菌と菌の接合によって伝達することがあるため、感染対策

をしっかりと講じる必要がある⁴⁾。

今回、LZD 耐性に関与する遺伝子変異について確認したが、変異はみられなかった。届出患者への LZD 投与は不明であるが、VRE 感染症治療に使用される薬剤であり、その耐性も報告されている⁵⁾。

4 月に届出があった以降、新たな届出はなく、施設内及び地域における拡散、蔓延は見受けられない。1986 年イギリスでの VRE 出現以降、MRSA のような蔓延が危惧されているが、今のところ国内においては大きな蔓延はみられていない状況である⁴⁾。

当所において菌種同定や耐性遺伝子の確認、また分子疫学解析を実施することで、耐性菌の拡散、蔓延防止につながると考える。

文 献

- 1) 飯沼由嗣：腸球菌，日本臨床牀，70(2)，213～218(2012)
- 2) S.H.Marshall et al.: Gene dosage and Linezolid Resistance in *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, antimicrobial agents and Chemotherapyka, 46(10)，3334～3336
- 3) 柴山恵吾：国立感染症研究所感染情報センター バンコマイシン耐性腸球菌感染症，<http://idsc.nih.go.jp/disease/vre/vre02.html>
- 4) 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(2004)
- 5) 二本柳 伸 他：小児科病棟から分離された Linezolid 耐性 *Enterococcus faecalis* の分子疫学解析，感染症学雑誌，86(5)，555～562(2012)

つつが虫病リケッチア (Kawasaki 型) の分離

藤井 慶樹 福永 愛 則常 浩太 兼重 泰弘
坂本 綾

は じ め に

つつが虫病はツツガムシによって媒介されるつつが虫病リケッチア (*Orientia tsutsugamushi*, 以下, O. t) を病原体とする急性熱性発疹性疾患であり, 感染症法上は四類感染症に分類される。

O. t には 6 つの血清型 (Kato, Karp, Gilliam, Kawasaki, Kuroki, Shimokoshi) が存在し, それぞれ媒介するツツガムシ種が決まっている。本市では, タテツツガムシが媒介する Kawasaki 型の O. t を原因とするつつが虫病的発生が多い¹⁾。

当所において, 2018 年に 4 例のつつが虫病疑い症例の検査を実施したところ, いずれの症例においても, 血液から O. t (Kawasaki 型) の遺伝子が検出された。そこで, これらの血液を用いて, 培養細胞 (Vero-E6) による分離を実施したところ, 1 検体から O. t (Kawasaki 型) を分離することができたので, その概要について報告する。

方 法

1 材料

2018 年 11~12 月につつが虫病疑い症例として検査依頼を受け, 遺伝子検査により O. t (Kawasaki 型) 陽性が確認された患者 4 名の血液計 5 検体を用いた (表 1)。

2 分離方法

全血 2ml を 15ml 容遠心管に分取し, 等量の生理食塩水を加え, 希釈した。別の 15ml 容遠心管に Lymphoprep™ (AXS) を 3ml 分注し, 希釈した血液サンプル 4ml を重層した後, 20℃, 800g, 20 分遠心した。遠心後, 単核球のバンドをパスツールピペットで回収し, 適量の PBS (-) を加え, 6,000rpm, 1 分遠心し, 上清を除去した。同工程をさらに 1 回行って, 単核球のペレットを洗浄し, 最終的に 100 μ l の PBS (-) でペレットを懸濁した。

懸濁液 50 μ l と継代で剥がした Vero-E6 細胞 500 μ l を混釈後, 25cm² の培養フラスコに分注し, 抗生物質不含の 10% 牛胎児血清加 MEM 培地 (以下, 培地) 9ml を加え, 32℃ のフラン器で 3 週間培養した。

3 週間経過後, シートした細胞をセルスクレーパーで剥がし, 全量を回収後, 6,000rpm で 5 分遠

表 1 分離に供した血液

	採血日	抗生物質投与状況 (テトラサイクリン系)
症例 1	10 病日	あり
症例 2	8 病日	あり
	9 病日	あり
症例 3	5 病日	あり
症例 4	9 病日	あり

心した。上清を捨て, 沈渣の細胞に 1ml の培地を加えて懸濁後, 600 μ l を分取し, Vero-E6 細胞 1ml と混釈した。75cm² の培養フラスコに分注し, 培地 24ml を加え, 3 週間継代培養した。以降, 同様に継代培養を継続し, この間, 細胞変性効果 (以下, CPE) の観察を行った。

3 O. t 増殖の確認

各継代培養終了時に, 上述のとおり, 細胞を回収・遠心後, 1ml の培地を加えて懸濁した。このうち, 100 μ l を分取し, QIAamp DNA Blood Mini Kit (QIAGEN) を用いて, DNA を抽出した。得られた DNA を鋳型として, Kawamori らの方法²⁾を参考に, O. t のリアルタイム PCR を行い, 経時的な Ct 値の推移により, O. t の増殖を確認した。

また, リアルタイム PCR により, O. t の増殖を確認した Vero-E6 細胞を用いて, 抗原塗抹標本作製し, IgM 抗体陽性血清を用いた間接蛍光抗体法 (IF 法) により, 細胞内に蛍光を放つ O. t 粒子を確認した。

結 果

1 培養細胞による O. t の分離

分離に供した血液 5 検体のうち, 4 検体 (症例 1, 3, 4 及び症例 2 の 8 病日) は 3 代目まで継代したが, CPE は確認されなかった。1 検体 (症例 2 の 9 病日) において, 3 代目の継代時から細胞形態の崩れ, 剥離等の CPE が観察されるようになった。

正常な Vero-E6 細胞及び CPE が認められた同細胞の状態 (6 代目継代時) をそれぞれ図 1, 2 に示す。

2 リアルタイム PCR による O. t 遺伝子量の推移

CPE が確認されなかった 4 検体では, 3 代目までの各継代終了時に回収した細胞から DNA を抽出し, リアルタイム PCR を行ったが, O. t 遺伝子は検出されなかった。

CPE が確認された 1 検体は, 6 代目まで継代を継続し, 上記と同様にリアルタイム PCR を行った結果, O. t 遺伝子が検出された。O. t 遺伝子量の推移を Ct 値により確認したところ, 継代を重ねるごとに Ct 値は低下し, 急性期血液では Ct 値 36.0 であったが, 6 代目には Ct 値 22.8 となった(図 3)。

3 IF 法による O. t 粒子の確認

抗原塗抹標本を作製し, IgM 抗体陽性血清を用いて IF 法を行った結果, 細胞内に蛍光を放つ O. t 粒子が確認された。また, 陰性コントロール(PBS(-))を用いた場合には, 蛍光は確認されなかった(図 4, 5)。

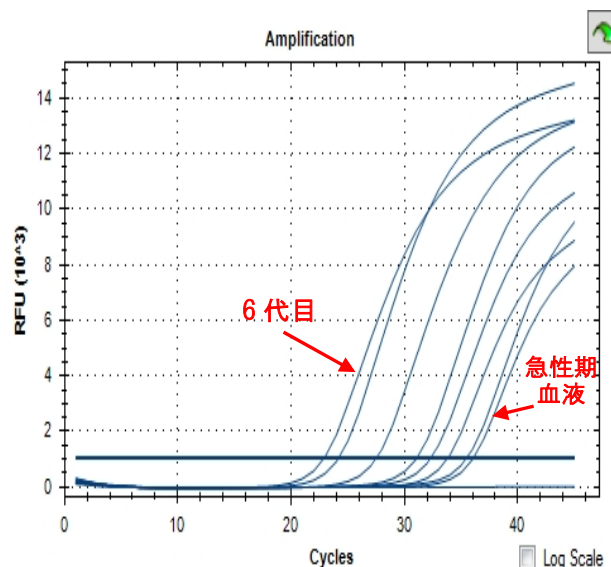


図 3 リアルタイム PCR による Ct 値の推移

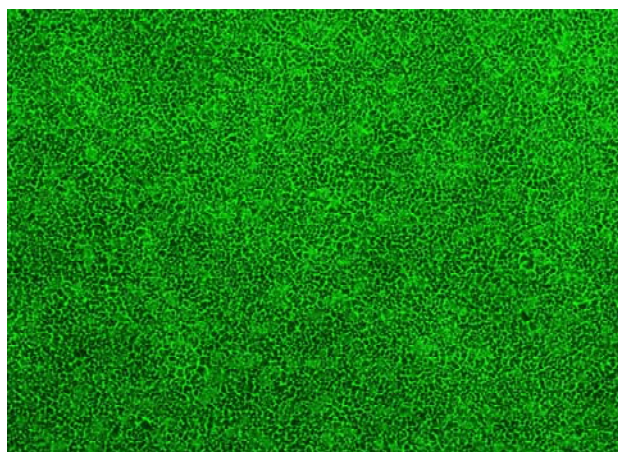


図 1 正常な Vero-E6 細胞

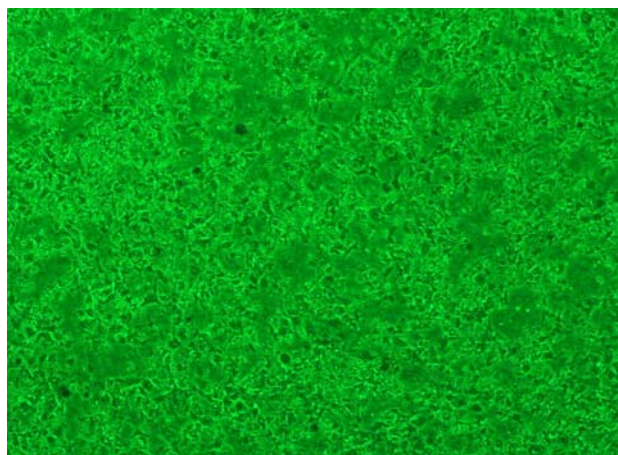


図 2 CPE の認められた Vero-E6 細胞

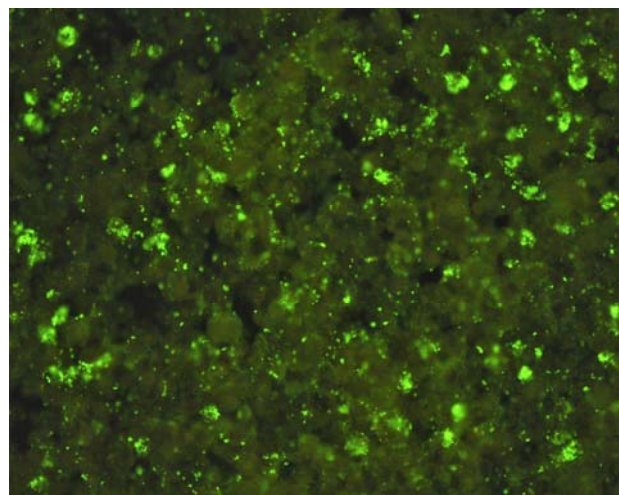


図 4 細胞内で蛍光を放つ O. t 粒子 (IgM × 20)



図 5 陰性コントロール

ま と め

つつが虫病患者の血液からの O. t 分離は過去にも実施したことがあるが、分離に成功したことはなかった。採血時点ですでにテトラサイクリン系の抗生物質が投与されていることが多いのが一つの要因と考えられる。

2018年に検査を行ったつつが虫病患者1名の血液から、O. t (Kawasaki 型)を分離した。本症例においても、抗生物質投与後に採血された血液を分離に供したが、運良く分離することができた。

昨年、日本紅斑熱リケッチア (*Rickettsia japonica*, 以下, R. j) の分離について報告した³⁾。R. j は血液を遠心後、バフィーコート部分を採取し、Vero-E6 細胞に接種することで比較的容易に分離が可能であったが、O. t は同様の方法では分離がうまくいかなかった。今回、単核球部分のみを精製し、細胞に接種することで分離に成功したが、Vero-E6 細胞は O. t の分離には最適ではないと考えられた。事実、R. j は Vero-E6 細胞に接種後、3 代目まで継代すること

で容易に増殖したが、O. t の増殖は非常に緩徐であり、6 代以上の継代を要した。

O. t (Kawasaki 型)を分離し、抗原塗抹標本作製することが可能になったため、今後は IF 法による市販 3 抗原 (Kato, Karp, Gilliam) との抗体反応性の相違等についても検討を行ってきたい。

文 献

- 1) 藤井慶樹 他: 広島市のダニ媒介感染症の後方視的解析, 広島市衛生研究所年報, 36, 103~105 (2017)
- 2) Kawamori F et al.: Evaluation of diagnostic assay for Rickettsioses using duplex real-time PCR in Multiple laboratories in Japan, Japanese journal of infectious diseases, 71, 267 ~ 273 (2018)
- 3) 藤井慶樹 他: 日本紅斑熱リケッチアの分離と間接蛍光抗体法への応用, 広島市衛生研究所年報, 37, 59~60 (2018)

広島市における風しんの発生状況(2018 年)

兼重 泰弘 福永 愛 則常 浩太 藤井 慶樹
坂本 綾

は じ め に

風しんは風しんウイルスを原因とする急性熱性発疹性疾患で、発熱、発疹、リンパ節腫脹を 3 主徴とし、結膜充血、咳や鼻水等のカタル症状、関節痛等を伴うこともある。また、妊娠 20 週頃までの女性が風しんウイルスに感染すると、白内障や先天性心疾患、難聴等の障害を持つ先天性風しん症候群の子供が出生する可能性があり、特に注意が必要である。全国の過去 10 年間の風しん患者報告数をみると、例年 100 名～370 名前後で推移しているが、2012 年の 2,386 名、2013 年の 14,344 名が突出して多く、2018 年は 2,917 名が報告され、本市においても例年より多くの患者が報告されている。そこで、2018 年の本市における風しん患者からのウイルス検出状況をまとめたので報告する。

方 法

2018 年 1 月から 12 月までに市内の医療機関で風しん又は麻しんと診断された患者(疑いを含む)の咽頭拭い液、尿、血液のうち提出された検体を用いて、Real-time PCR 法により風しんウイルスの遺伝子検査を実施した。さらに、検出された風しんウイルスについて E1 遺伝子を標的とした PCR を実施し、得られた増幅産物を用いてダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、系統樹解析により遺伝子型分類を行った。また、患者の発生状況について検証した。

結 果

1 患者発生状況

検査を行った患者 63 名のうち、風しんウイルスが検出されたのは 11 名(17.5%)で、麻しんと診断された患者(疑いを含む)から風しんウイルスが検出された例も 1 例あった。風しんウイルスが検出された患者(以下、検出患者)の症状は、発疹 11 名(100%)、発熱 8 名(72.7%)、リンパ節腫脹 4 名(36.4%)と続き、その他に結膜炎、咳、鼻水等が散見された。風しんの 3 主徴のうちリンパ節腫脹は、発疹や発熱と比して発現割合が低かった。

検出患者の 7 名は男性(0～57 歳)で、うち 6 名は風しんの抗体を持つ割合が低い 40～50 代であった(図 1)。また、4 名の女性患者(26～59 歳)には、妊娠や出産の多い年代の患者も含まれていた(図 2)。推定感染経路として、検出患者の 5 名が出張や旅行で東京都など風しん流行地を往来、4 名が職場内や家族に風しん患者がいたことが判明している。

2 風しんウイルス検出状況

検体別の風しんウイルス検出割合は、咽頭拭い液 7 検体中 6 検体陽性(85.7%)、尿 8 検体中 4 検体陽性(50.0%)、血液 9 検体中 6 検体陽性(66.7%)で、咽頭拭い液からの検出割合が最も高かった。また、検体採取日別風しんウイルス検出数を表 1 に示した。発症後 1 週間程度までが検体採取に適した時期とされているが、尿及び血液では 3 病日目以降

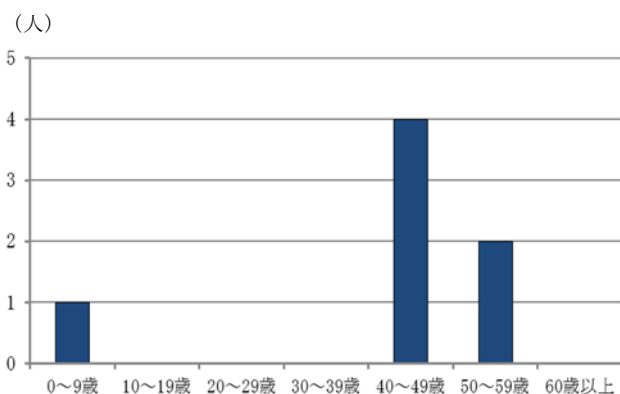


図 1 年齢別検出患者数(男性)

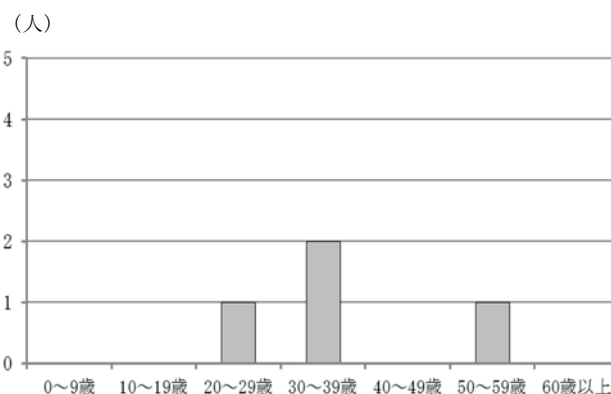


図 2 年齢別検出患者数(女性)

の検体で風しんウイルスが検出されないものもあった。

3 系統樹解析

検出された風しんウイルス 11 株のうち塩基配列を決定できた 10 株について、遺伝子型の分類を行った(図 3)。海外からの輸入例と推測される 1 株の遺伝子型は 2B であった。他の 9 株は全て 1E に分類され、国内で主に報告されている型と一致していた。また、系統樹解析では、1E に分類された 9 株のうち 7 株は解析領域において塩基配列の相違は認められなかった。

ま と め

2018 年は東京都や福岡県等の大都市を中心に風しんが流行した。本市においてもこれらの都市への往来をきっかけに感染したと思われる患者が複数認められた。出張等で都市間を移動する機会が多いと考えられる 30～50 代の男性は、風しんの抗体保有率が他の世代に比べ低いとされているが、2019 年から実施される抗体検査及び予防接種等の施策により、今後の抗体保有率が上昇することを期待したい。

検体別の風しんウイルス検出割合では、咽頭拭い液が最も検出率が高く、4 病日までの検体からは安定してウイルスを検出した。一方で、尿や血

液では、適期とされる期間に採取した検体でも陰性となるものがあったことから、検査の精度を上げるために咽頭拭い液、尿、血液の 3 種類の検体で検査を行うことが、非常に重要であると考え

る。これまでの検査では本市で検出された風しんウイルスは、海外輸入例を除き、全て国内流行株と同一の遺伝子型であったが、今後の患者の増減や流行の傾向等を含め、その動向に注視していきたい。

表 1 検体採取日別風しんウイルス検出数

咽頭拭い液					
採取日	1 病日	2 病日	3 病日	4 病日	15 病日
陽性		2	2	2	
陰性					1
尿					
採取日	1 病日	2 病日	3 病日	4 病日	15 病日
陽性		2		1	1
陰性			2	2	
血液					
採取日	1 病日	2 病日	3 病日	4 病日	11 病日
陽性	1	1	2	2	
陰性			1	1	1

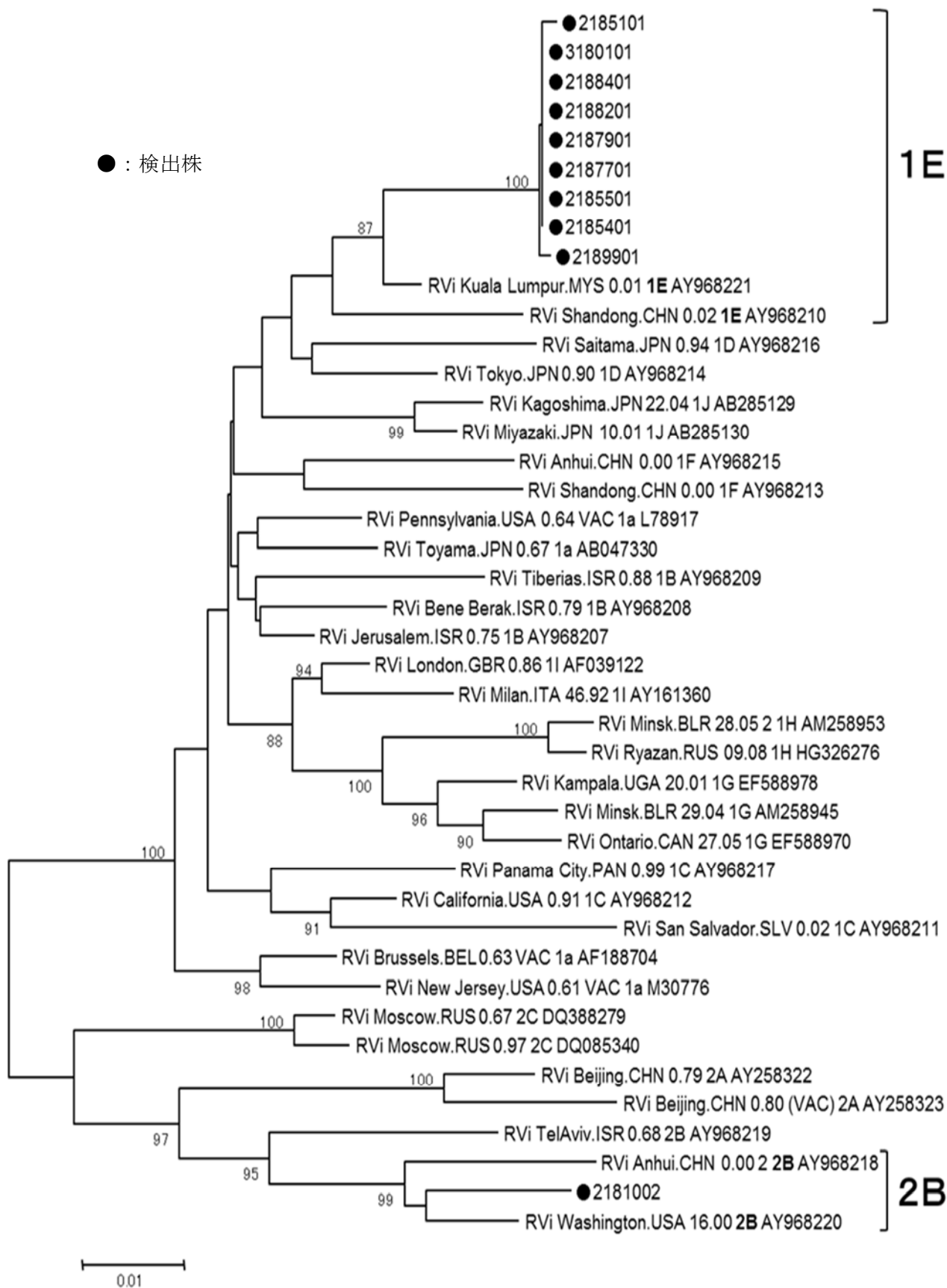


図3 風しんウイルス E1 遺伝子分子系統樹

急性脳炎，急性弛緩性麻痺及び呼吸器疾患患者からのエンテロウイルス 68 型の検出

則常 浩太 福永 愛 兼重 泰弘 藤井 慶樹
坂本 綾

はじめに

エンテロウイルス 68 型 (EV-D68) は，主に喘息や気管支炎といった呼吸器症状を呈する患者から検出されるが，急性弛緩性麻痺 (AFP) 等の神経症状を呈する患者からの検出も報告されている。本市では，2015 年に気管支喘息等の患者から多数検出され，全国的には 2010 年，2013 年，2015 年に多くの都道府県で EV-D68 の検出が報告されている¹⁾。

また，AFP については，これまで日本ではサーベイランスが実施されておらず，AFP 症例数や検出病原体を正確に把握することが困難であった。しかし，2018 年 5 月 1 日より 15 歳未満の AFP が感染症法に基づく 5 類感染症全数把握疾患となったことで，AFP 患者の発生をより正確に把握できるようになった。

このような状況の中，2018 年 9 月に急性脳炎及び AFP の届出があり，両症例について病原体検索を行ったところ，EV-D68 が検出された。また，同時期に病原体定点医療機関より気管支炎，肺炎といった呼吸器症状を呈する患者の検体が搬入され，それらの多くから EV-D68 が検出された。今回，2013 年から 2018 年までの広島市における EV-D68 の検出状況等をまとめたので報告する。

方 法

1 材料

2013 年 1 月から 2018 年 11 月までの期間，感染症発生動向調査で定点医療機関より搬入され，下気道炎や気管支喘息等の症状を呈し，EV-D68 感染が疑われた患者検体及び 2018 年 9 月に急性脳炎，AFP の届出があった患者検体を用いた。

2 遺伝子検査

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN 製) を用い，検体から RNA を抽出した。High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (ライフテクノロジーズジャパン製) 及びオリゴ dT プライマー (ライフテクノロジーズジャパン製) を使用し cDNA を合成した。TaqMan Fast Advanced Master Mix (ライフテクノロジーズジャパン製) を用いて Real-time PCR を行い，エンテロウイルス (EV) を検査した。

EV 陽性の検体については CODEHOP PCR 法²⁾にて VP1 領域を増幅し，ダイレクトシーケンスを行い，型別を決定した。

3 患者情報

EV-D68 陽性患者の月別患者数，症状，性別，年齢及び検出検体の種類について検証した。

結 果 及 び 考 察

病原体定点医療機関より搬入された検体及び急性脳炎，AFP の届出があった両症例の検体を検査した結果，57 人から EV-D68 が検出された。

月別の患者数 (図 1) は 9～10 月に集中しており，特に 9 月は全体の検出数の 73.6% を占めた。症状は気管支炎，肺炎などの下気道炎が患者全体の 75.4% で見られ最も多く，発熱 (49.1%)，上気道炎 (19.3%) と続いた。性別は男性 30 人 (52.6%)，女性 27 人 (47.4%) であった。年齢別の患者数は，4 歳が 12 人 (21.1%)，3 歳が 10 人 (17.5%)，5 歳が 9 人 (15.8%) であり，3～5 歳で全体の 54.4% を占めた。全体では 30 歳代の 1 人と不明の 1 人を除き，全て 13 歳以下であった。

検体については咽頭ぬぐい液，鼻汁といった呼吸器検体からの検出が多く，それ以外では AFP 患

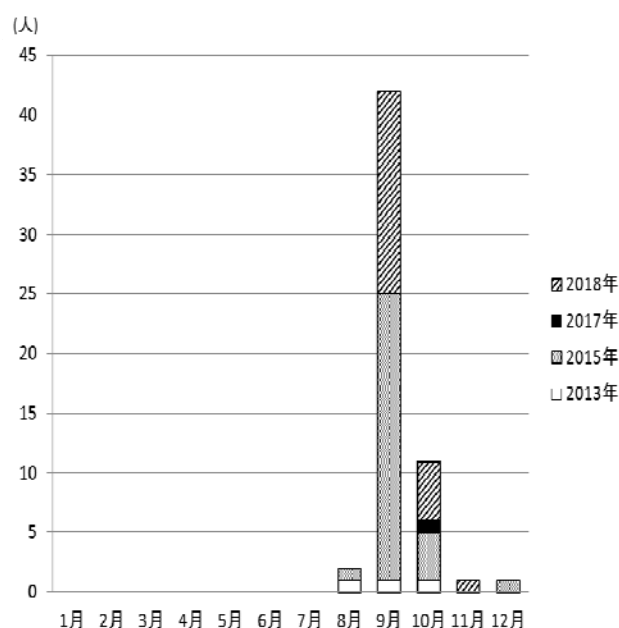


図 1 月別患者数

者の1例のみで糞便から検出された。その他、尿や髄液も搬入されたが、これらの検体からEV-D68は検出されなかった。

VP1 領域遺伝子の系統樹解析を近隣結合法により行ったところ(図2)、2015年以降に当所で検出された株は全て lineage2 に属した。その中でも、2018年検出株は系統群 A~C に大別され、急性脳炎及びAFP患者から検出された株は系統群Cに属した。しかし、呼吸器疾患患者から検出された株の一部も同系統群に属していたため、この系統群に属するEV-D68がAFP等の中枢神経症状を呈する株なのか更なる調査が必要と考えられる。

EV-D68はAFPや喘息発作の原因となることが示唆されているが、両者が併発する症例は少ない可能性があるとの報告もあり³⁾、AFP患者由来株と呼吸器疾患患者由来株とでウイルスの性状や病原性に違いがあるのか、さらに研究していく必要がある。

AFPとEV-D68の関係性については未だ詳細が不明であるが、AFPが届出対象疾患となったことで、この疾患の病原体検索を行う機会が増え、EV-D68との関連についてより研究が進むことになると考

える。本市においては、2013年以降2~3年ごとにEV-D68が流行している状況を踏まえ、今後ともその動向を注視していきたい。

謝 辞

広島市感染症発生動向調査事業にご協力頂きました医療機関の関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センターウイルス第2部：エンテロウイルスD68型(EV-D68)に関する国内の疫学状況のまとめ(更新)(2016年1月20日現在), IASR, 37, 33~35(2016)
- 2) Nix WA et al: Sensitive, seminested PCR amplification of VP1 sequences for direct identification of all enterovirus serotypes from original clinical specimens, J Clin Microbiol, 44(8), 2698~2704(2006)
- 3) 是松聖吾 他:エンテロウイルスD68型流行期における小児気管支喘息発作例の全国調査, IASR, 37, 31~33(2016)

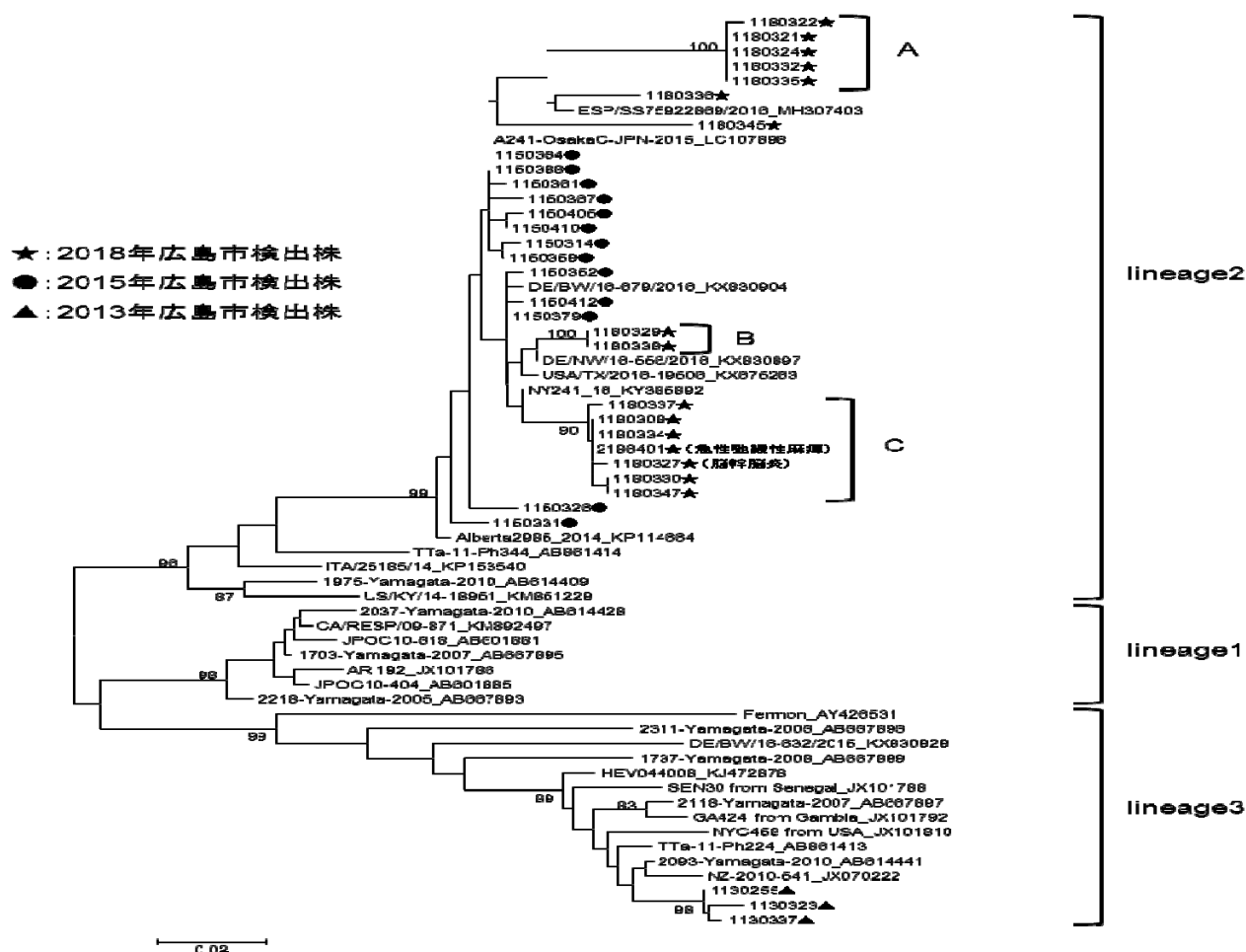


図2 EV-D68のVP1領域の塩基配列に基づく系統樹(340塩基)

広島市におけるインフルエンザウイルスの検出状況と 薬剤耐性解析結果について(2018/19 シーズン)

福永 愛 則常 浩太 兼重 泰弘 藤井 慶樹
坂本 綾

はじめに

インフルエンザは毎年冬季に流行する。ヒトが感染した場合は、発熱、関節痛、呼吸器症状を引き起こす。また、肺炎や脳炎などを発症することもあり、小児や高齢者では死に至る場合もある。

当所では、感染症発生動向調査においてインフルエンザウイルスの検査や遺伝子解析を行っている。

2018/19 シーズンの本市におけるインフルエンザウイルスの検出状況や分離された株の遺伝子解析結果をまとめたので報告する。

方 法

1 材料

2018 年 9 月から 2019 年 5 月までに、病原体定点医療機関を受診し、発熱、上気道炎などの呼吸器症状を呈した患者から採取した咽頭拭い液や鼻汁等 188 検体を用いた。

2 ウイルス分離

ウイルス分離には MDCK(イヌ腎臓上皮由来)細胞を使用した。3,000rpm, 15 分遠心した検体の上清を細胞に接種した。トリプシン加 MDCK 用培地を添加し、34℃, 5%炭酸ガス培養した。1 週間観察し、1 代継代した後さらに 1 週間観察した。

3 遺伝子検査

(1) インフルエンザウイルスの検出

国立感染症研究所の病原体検出マニュアルに準じて遺伝子検査を行った。検体 140 μ l を用い、QIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN 製)で RNA を抽出した。High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit(ライフテクノロジーズジャパン製)及びオリゴdTプライマー(Invitrogen 製)を使用し、cDNA を合成した。TaqMan Fast Advanced Master Mix(ライフテクノロジーズジャパン製)を用いてリアルタイム PCR を行い、検出及び型・亜型・系統の分類を行った。

(2) NA 遺伝子による薬剤耐性(H275Y)解析

A(H1N1)pdm09 亜型 22 株について、NA 阻害剤であるオセルタミビル及びペラミビル耐性変異の有無を確認した。MDCK 細胞の培養上清を滅菌水で 10

倍希釈したものを鋳型とし、QuantiTect Virus+ROX Vial Kit(QIAGEN 製)を用いて、Allelic Discrimination 解析を行い、薬剤耐性マーカーである H275Y を判定した。

(3) PA 遺伝子による薬剤耐性(I38T/F/M)解析

A(H1N1)pdm09 亜型 22 株及び A(H3)亜型 35 株について、キャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤であるバロキサビルマルボキシル耐性変異の有無を確認した。ウイルス分離株又は検体を上述と同様に RNA 抽出した。SuperScript III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq DNA Polymerase (Invitrogen 製)を用いて RT-PCR を行い、目的遺伝子を増幅した。PCR に用いたプライマーについては表 1 に示す。

PCR 後の増幅産物を用いてシーケンスを行い、塩基配列を決定した。アミノ酸へ変換後、薬剤耐性マーカーである I38T/F/M を判定した。

結 果 及 び 考 察

1 インフルエンザウイルス検出状況(図 1)

188 検体を検査し、インフルエンザウイルス 73 株が検出された。内訳は A(H1N1)pdm09 亜型が 28 株、A(H3)亜型が 41 株、B 型(ビクトリア系統)が 4 株であった。

10 月～12 月は A(H1N1)pdm09 亜型が多く検出されたが、1 月～4 月は A(H3)亜型が多く検出された。一方で、B 型(ビクトリア系統)の検出は少なかった。

全国的な流行の傾向は、シーズン前期に A(H1N1)pdm09 亜型が増加し、後期は A(H3N2)亜型が流行した¹⁾。本市の検出状況も同様の傾向となった。前シーズンは A(H1N1)pdm09 亜型と A(H3)亜型の流行時期が重なる混合流行だったが²⁾、今シーズンは流行時期が異なった。

2 NA 遺伝子による薬剤耐性(H275Y)解析

A(H1N1)pdm09 亜型 22 株について、薬剤耐性マ

表 1 PCR 用プライマー

	A(H1N1)pdm09 亜型	A(H3)亜型
Forward primer	PA-5eSF1	SZAPA-F
Reverse primer	PA-5eSR2	H3PA-seq2R

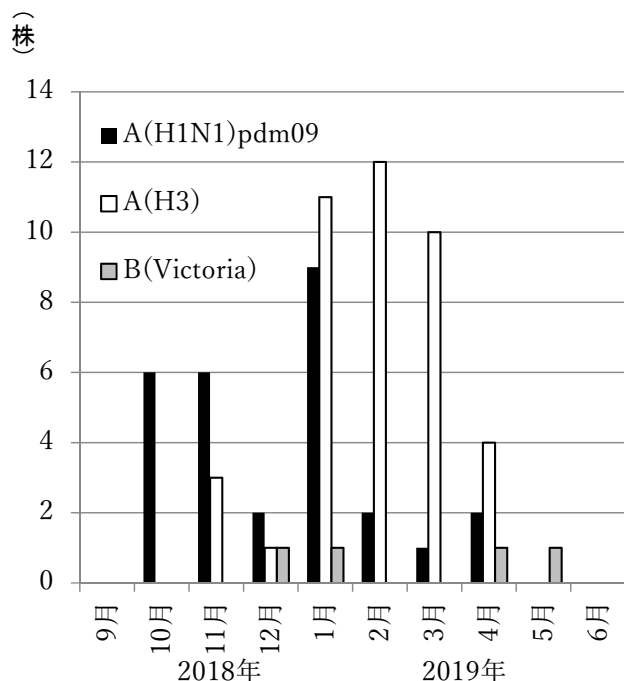


図1 亜型・系統別検出数

ーカーである H275Y を確認した。その結果、全ての株は 275H と判定され、オセルタミビル、ペラミビル感受性だった。

前シーズンは NA 遺伝子による薬剤耐性 (H275Y) 解析で耐性株が 2 株検出されたが²⁾、今シーズンは全ての株が薬剤感受性だった。

3 PA 遺伝子による薬剤耐性 (I38T/F/M) 解析

A(H1N1)pdm09 亜型 22 株及び A(H3) 亜型 35 株について、薬剤耐性マーカーである I38T/F/M を確認した。その結果、A(H3) 亜型 1 株に I38T 耐性変異が確認された。なお、耐性変異が確認された株は当所では分離できなかったため、臨床検体を国立感染症研究所に送付した。国立感染症研究所において当検体からウイルスが分離され、薬剤感受性試験の結果、バロキサビルマルボキシルに対して感受性が低下していると判定された。

I38T 変異によりウイルスの増殖能が低下することが報告されており³⁾、このことがバロキサビ

ルマルボキシル低感受性株を当所で分離できなかった要因の一つと考えられた。

ま と め

前シーズンはオセルタミビル及びペラミビル耐性株が 2 株検出されたが、今シーズンは検出されなかった。一方で、バロキサビルマルボキシル低感受性株が 1 株検出された。2018 年 3 月より使用を開始されたバロキサビルマルボキシルは NA 阻害剤とは作用機序の異なる新しい抗インフルエンザ薬であるが、臨床試験では、特に小児において耐性変異の検出率が高いとされる⁴⁾。

今後も引き続き、これらの抗インフルエンザ薬に対する耐性変異ウイルスの動向を調査していくことが重要である。

謝 辞

広島市感染症発生動向調査事業にご協力頂いた定点医療機関各位に深謝いたします。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：今冬のインフルエンザについて(2018/2019 シーズン) 令和元年 7 月 19 日 <https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/influ/fludoco1819.pdf>
- 2) 則常浩太 他：広島市で検出されたインフルエンザウイルスの抗原及び遺伝子解析 (2017/18 シーズン), 広島市衛生研究所年報, 37, 63~69 (2018)
- 3) Omoto S et al.: Characterization of influenza virus variants induced by treatment with the endonuclease inhibitor baloxavir marboxil, SCIENTIFIC REPORTS, 8(1), 9633 (2018)
- 4) 国立感染症研究所：新規抗インフルエンザ薬バロキサビル マルボキシル耐性変異ウイルスの検出, IASR, 40, 30~31 (2019)

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 (2018 年)

福永 愛 則常 浩太 兼重 泰弘 藤井 慶樹
山本 美和子 坂本 綾

はじめに

感染症発生動向調査事業の目的は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に規定する感染症の発生動向に関する情報を迅速に収集、分析及び提供、公開していくことにより、予防、医療、研究等において的確な感染症対策を確立することにある¹⁾。そこで、2018 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

2018 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 442 人から採取した咽頭拭い液、髄液、糞便、尿など 579 検体を検査材料として用いた。

ウイルス分離は細胞培養法で行った。培養に使用した細胞は、HEF、HEp-2、RD-18S、Vero、A549 を用い、インフルエンザウイルスの分離には MDCK を使用した。分離されたウイルスは中和試験により血清型を同定し、難中和株はシークエンスにより遺伝子型を同定した。また、細胞培養法では分離できないウイルスも存在するため、必要に応じて PCR 検査を併用して行った。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

2018 年の月別ウイルス検出数を表 1 に示した。患者 442 人の検査を実施し、228 人から 243 株のウイルスが検出された。検出された主なウイルスの内訳は、ライノウイルスが 38 株と最も多く、次にエンテロウイルス 68 型が 22 株、インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型が 20 株、エコーウイルス 11 型が 15 株、インフルエンザウイルス A(H3)型、アデノウイルス 2 型が各 12 株、アデノウイルス 54 型、アデノウイルス 85 型が各 9 株であった。

ライノウイルスは 3 月を除く全ての月で検出され、9 月と 10 月に最も多く検出された。エンテロ

ウイルス 68 型は 9 月をピークに、9 月～11 月の秋季に検出された。また、インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型は冬季に多く検出され、エコーウイルス 11 型は 7 月をピークに 7 月～10 月に検出された。

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別に記す。

(1) インフルエンザ

39 人の患者から採取された検体を検査し、37 人から 39 株のウイルスが検出された。その内訳は、インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型が 18 株、インフルエンザウイルス A(H3)型が 11 株、B 型インフルエンザウイルスが 8 株、ライノウイルスが 2 株であった。

(2) 感染性胃腸炎

30 人の患者から採取された検体を検査し、20 人から 21 株のウイルスが検出された。その内訳は、ノロウイルス GⅡが 6 株と最も多く、A 群ロタウイルス、アデノウイルス 5 型が各 3 株、アデノウイルス 1 型、アデノウイルス 2 型が各 2 株、エコーウイルス 11 型、パレコウイルス 1 型、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス 41 型が各 1 株であった。

(3) 手足口病

11 人の患者から採取された検体を検査し、9 人から 10 株のウイルスが検出された。その内訳は、エンテロウイルス 71 型が 6 株、コクサッキーウイルス A6 型が 3 株、パレコウイルス 2 型が 1 株であった。

(4) ヘルパンギーナ

14 人の患者から採取された検体を検査し、10 人から 10 株のウイルスが検出された。その内訳は、コクサッキーウイルス A2 型が 7 株、コクサッキーウイルス A6 型、パレコウイルス 3 型、RS ウイルスが各 1 株であった。

(5) 流行性角結膜炎

98 人の患者から採取された検体を検査し、29 人から 29 株のウイルスが検出された。その内訳は、

表1 月別ウイルス検出数

検出病原体	1 月	2 月	3 月	4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	計
コクサッキーウイルス A2 型		1		2	3	1	1						8
コクサッキーウイルス A6 型							2	1				1	4
コクサッキーウイルス B4 型									1				1
エコーウイルス 11 型							8	3	3	1			15
エコーウイルス 18 型							1				1		2
パレコウイルス 1 型								1					1
パレコウイルス 2 型							1	1					2
パレコウイルス 3 型									1			1	2
パレコウイルス 4 型							1	1					2
エンテロウイルス 68 型									16	5	1		22
エンテロウイルス 71 型				2	2	1	1		1				7
ライノウイルス	1	2		4	4	3	1	3	6	6	4	4	38
インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型	5	5								2	6	2	20
インフルエンザウイルス A(H3) 型	3	1	1	2	1						3	1	12
B 型インフルエンザウイルス	5	1	1									1	8
パラインフルエンザウイルス 1 型												1	1
パラインフルエンザウイルス 3 型						3							3
RS ウイルス			1		1			2			1		5
ムンプスウイルス						1				1			2
ヒトメタニューモウイルス	1												1
ヒトコロナウイルス HKU1				1									1
A 群ロタウイルス			4	1									5
サポウイルス											1	1	2
ノロウイルス GⅡ		4	1		1	1						1	8
アストロウイルス					1								1
アデノウイルス 1 型		1	1				1			1		2	6
アデノウイルス 2 型			1	1	1	1	2	2	1		1	2	12
アデノウイルス 3 型	1				2							4	7
アデノウイルス 4 型								1					1
アデノウイルス 5 型	1			1	2	3				1			8
アデノウイルス 31 型									1				1
アデノウイルス 37 型			1						2			1	4
アデノウイルス 41 型							1						1
アデノウイルス 53 型					1								1
アデノウイルス 54 型						1		5	3				9
アデノウイルス 56 型								2					2
アデノウイルス 64 型						1							1
アデノウイルス 85 型	3	3	1	2									9
ヒトボカウイルス		1	1			1							3
単純ヘルペスウイルス 1 型	1												1
水痘帯状疱疹ウイルス								1					1
サイトメガロウイルス	1										1	1	3
計	22	19	13	16	19	17	20	23	35	17	19	23	243
陽性患者数	21	18	13	16	18	15	17	21	33	16	18	22	228
検査患者数	38	33	38	38	34	31	42	36	47	38	29	38	442

表 2 臨床診断名別ウイルス検出数

検出病原体	インフル エンザ	咽頭結膜熱	感染性胃腸炎	≧群溶血性レンサ球菌咽頭炎	手足口病	ヘルパンギーナ	流行性角結膜炎	無菌性髄膜炎	流行性耳下腺炎	その他の呼吸器疾患	その他の消化器疾患	その他の神経系疾患	その他の発疹性疾患	その他の眼の疾患	その他の疾患	計
コクサッキーウイルス A2 型						7				1						8
コクサッキーウイルス A6 型					3	1										4
コクサッキーウイルス B4 型															1	1
エコーウイルス 11 型			1					3			4				7	15
エコーウイルス 18 型								1				1				2
パレコウイルス 1 型			1													1
パレコウイルス 2 型					1					1						2
パレコウイルス 3 型						1								1		2
パレコウイルス 4 型										1					1	2
エンテロウイルス 68 型										20		1			1	22
エンテロウイルス 71 型					6			1								7
ライノウイルス	2			1						24		2			9	38
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型	18									1		1				20
インフルエンザウイルス A (H3) 型	11									1						12
B 型インフルエンザウイルス	8															8
パラインフルエンザウイルス 1 型															1	1
パラインフルエンザウイルス 3 型										3						3
RS ウイルス						1				2					2	5
ムンプスウイルス								1	1							2
ヒトメタニューモウイルス															1	1
ヒトコロナウイルス HKU1															1	1
A 群ロタウイルス			3								1	1				5
サボウイルス			1								1					2
ノロウイルス GII			6								2					8
アストロウイルス			1													1
アデノウイルス 1 型			2								4					6
アデノウイルス 2 型			2							2	6				2	12
アデノウイルス 3 型		1					4				1		1			7
アデノウイルス 4 型											1					1
アデノウイルス 5 型			3								5					8
アデノウイルス 31 型											1					1
アデノウイルス 37 型							4									4
アデノウイルス 41 型			1													1
アデノウイルス 53 型							1									1
アデノウイルス 54 型							8							1		9
アデノウイルス 56 型							2									2
アデノウイルス 64 型										1						1
アデノウイルス 85 型							9									9
ヒトボカウイルス										2		1				3
単純ヘルペスウイルス 1 型							1									1
水痘帯状疱疹ウイルス												1				1
サイトメガロウイルス											1	1			1	3
計	39	1	21	1	10	10	29	6	1	59	27	9	2	1	27	243
陽性患者数	37	1	20	1	9	10	29	6	1	55	23	9	2	1	24	228
検査患者数	39	3	30	7	11	14	98	16	1	74	37	21	9	15	67	442

表 3 検体別ウイルス検出数

検出病原体	咽頭拭い液	糞便	髄液	尿	結膜拭い液	その他	計
コクサッキーウイルス A2 型	8	1					9
コクサッキーウイルス A6 型	4						4
コクサッキーウイルス B4 型	1	1					2
エコーウイルス 11 型	6	12	1	1			20
エコーウイルス 18 型	1		1				2
パレコウイルス 1 型		1					1
パレコウイルス 2 型	1	1					2
パレコウイルス 3 型	1	1					2
パレコウイルス 4 型		2					2
エンテロウイルス 68 型	24						24
エンテロウイルス 71 型	7	1					8
ライノウイルス	41						41
インフルエンザウイルス A (H1N1) pdm09 型	20						20
インフルエンザウイルス A (H3) 型	12						12
B 型インフルエンザウイルス	8						8
パラインフルエンザウイルス 1 型	1						1
パラインフルエンザウイルス 3 型	3						3
RS ウイルス	5						5
ムンプスウイルス			2			1	3
ヒトメタニューモウイルス	1						1
ヒトコロナウイルス HKU1	1						1
A 群ロタウイルス		5					5
サポウイルス		2					2
ノロウイルス GⅡ		8					8
アストロウイルス		1					1
アデノウイルス 1 型		8					8
アデノウイルス 2 型	3	9					12
アデノウイルス 3 型	2	1			4		7
アデノウイルス 4 型		1					1
アデノウイルス 5 型	1	8					9
アデノウイルス 31 型		1					1
アデノウイルス 37 型					4		4
アデノウイルス 41 型		1					1
アデノウイルス 53 型					1		1
アデノウイルス 54 型					10		10
アデノウイルス 56 型					2		2
アデノウイルス 64 型	1	1					2
アデノウイルス 85 型					9		9
ヒトボカウイルス	3						3
単純ヘルペスウイルス 1 型					1		1
水痘帯状疱疹ウイルス	1					1	2
サイトメガロウイルス	2			2			4
計	158	66	4	3	31	2	264
陽性検体数	150	59	4	3	31	2	249
検査検体数	249	135	38	33	114	10	579

アデノウイルス 85 型が 9 株, アデノウイルス 54 型が 8 株, アデノウイルス 3 型, アデノウイルス 37 型が各 4 株, アデノウイルス 56 型が 2 株, アデノウイルス 53 型, 単純ヘルペスウイルス 1 型が各 1 株であった。

(6) 無菌性髄膜炎

16 人の患者から採取された検体を検査し, 6 人から 6 株のウイルスが検出された。その内訳は, エコーウイルス 11 型が 3 株, エコーウイルス 18 型, エンテロウイルス 71 型, ムンプスウイルスが各 1 株であった。

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 249 検体のうち, 150 検体から 158 株のウイルスが検出された。その内訳は, ライノウイルスが 41 株, エンテロウイルス 68 型が 24 株, インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型が 20 株, インフルエンザウイルス A(H3) 型が 12 株, コクサッキーウイルス A2 型, B 型インフルエンザウイルスが各 8 株, エンテロウイルス 71 型が 7 株, エコーウイルス 11 型が 6 株, その他 17 種 32 株であった。

(2) 糞便

検査した 135 検体のうち, 59 検体から 66 株のウイルスが検出された。その内訳は, エコーウイ

ルス 11 型が 12 株, アデノウイルス 2 型が 9 株, ノロウイルス GⅡ, アデノウイルス 1 型, アデノウイルス 5 型が各 8 株, A 群ロタウイルスが 5 株, その他 14 種 16 株であった。

(3) 髄液

検査した 38 検体のうち, 4 検体から 4 株のウイルスが検出された。その内訳は, ムンプスウイルスが 2 株, エコーウイルス 11 型, エコーウイルス 18 型が各 1 株であった。

(4) 尿

検査した 33 検体のうち, 3 検体から 3 株のウイルスが検出された。その内訳は, サイトメガロウイルスが 2 株, エコーウイルス 11 型が 1 株であった。

(5) 結膜拭い液

検査した 114 検体のうち, 31 検体から 31 株のウイルスが検出された。その内訳は, アデノウイルス 54 型が 10 株, アデノウイルス 85 型が 9 株, アデノウイルス 3 型, アデノウイルス 37 型が各 4 株, その他 3 種 4 株であった。

謝 辞

広島市感染症発生動向調査事業にご協力頂きました医療機関の関係各位に深謝致します。

文 献

- 1) 広島市感染症発生動向調査事業実施要綱

広島市内における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸 及びその塩 (LAS) の調査結果について (平成 30 年度)

田坂 葉子 森山 友絵 武井 美紀 松室 信宏
渡邊 進一* 竹井 秀夫 中村 和央 坂本 哲夫

はじめに

直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩 (LAS) は、平成 25 年 3 月に水生生物の保全に関する項目として、水質汚濁に係る環境基準に追加された。¹⁾

現在、広島市内の河川・海域は、水生生物保全の水域類型の指定はなされていないが、当所では、市内の公共水域における LAS の実態調査を行っている。^{2), 3)}

平成 30 年度は、河川 9 地点、海域 5 地点において LAS の測定を実施したので、その調査結果について報告する。

方 法

1 調査時期及び調査地点

海域は平成 30 年 10 月に、河川は平成 30 年 12 月に調査を実施した。

調査地点を図に示す。

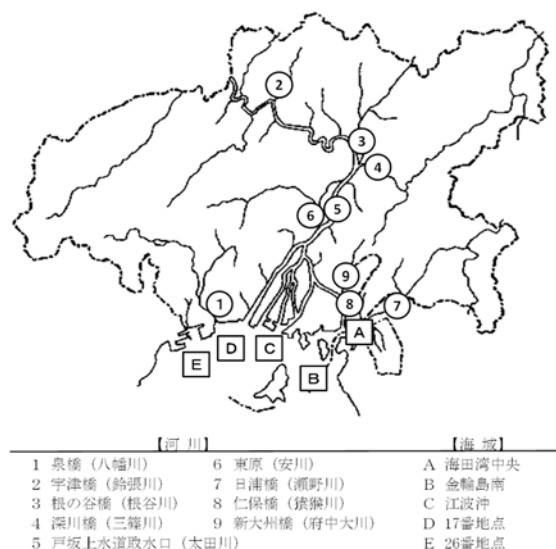


図 調査地点

2 分析方法

環境庁告示第 59 号付表 12⁴⁾に従い、固相抽出- $LC/MS/MS$ 法により行った。

3 試薬

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

4 前処理方法、装置及び分析条件

(1) 前処理方法

項目	内 容
固相	Waters Sep-Pak Plus PS-2
コンデショニング	メタノール 20ml+超純水 10ml
試料量	500ml
通水装置	GL Sciences アクアローダーⅢ
通水速度	20ml/分
洗浄	超純水 20ml
溶出	MeOH 6ml
溶出装置	Waters Sep-Pak Elution Pump
定容量	1ml

(2) HPLC

装置：島津製作所 NexeraX2 LC-30AD

カラム：Shim-Pack XR-ODS II

ID 2.0mm×L 150mm, 2.2 μ m

流速：0.2mL/min

注入量：5 μ L

カラム温度：40℃

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

(3) MS/MS

装置：島津製作所 LCMS8050

イオン化モード：ESI-

インターフェイス温度：150℃

ネブライザーガス流量：3.0L/min

DL 温度：250℃

ヒートブロック温度：400℃

*：現 下水道局管理部千田水資源再生センター

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

結 果

調査結果を表 1, 2 に示す。

海域は、全ての地点で定量下限値(0.0006mg/L)未満であり、環境基準値(海域：生物特 A 0.006mg/L)を下回った。

河川は、全ての地点で、環境基準値(河川：生物特 A 0.02mg/L)を下回った。

表 1 調査結果(海域)

番号	地点名	環境基準類型 あてはめ水域名	LAS (mg/L)
A	海田湾中央	海田湾	<0.0006
B	金輪島南	広島湾	<0.0006
C	江波沖	広島市地先海域	<0.0006
D	17 番地点	広島湾	<0.0006
E	26 番地点	五日市・廿日市 地先海域	<0.0006

文 献

- 1) 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件、環境省告示第 30 号、平成 25 年 3 月 27 日
- 2) 細末次郎 他：広島市内中小河川における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の調査結果について、広島市衛生研究所年報、36, 106~107(2017)
- 3) 田坂葉子 他：広島市内中小河川における直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)の調査結果について、広島市衛生研究所年報、37, 79~80(2018)
- 4) 水質汚濁に係る環境基準について、環境庁告示第 59 号、昭和 46 年 12 月 28 日

表 2 調査結果(河川)

番号	地点名	河川名	LAS (mg/L)
1	泉橋	八幡川	0.0019
2	宇津橋	鈴張川	0.0029
3	根の谷橋	根谷川	0.0006
4	深川橋	三篠川	0.0006
5	戸坂上水道取水口	太田川	0.0006
6	東原	古川	0.0020
7	日浦橋	瀬野川	0.0019
8	仁保橋	猿猴川	0.0006
9	新大州橋	府中大川	0.019

広島湾における栄養塩類等の調査結果について(第3報)

森山 友絵 竹井 秀夫 武井 美紀 田坂 葉子
松室 信宏 渡邊 進一* 中村 和央 坂本 哲夫

はじめに

本市では、広島湾において平成25及び26年にかきの採苗不調が続いたことから、その原因解析を進めていくため、平成28年度から広島湾内の栄養塩類等の調査を実施している。当所では、経済観光局農林水産部水産課からの依頼を受け、その調査のうち、リン等の測定を実施してきた。今回は平成30年度の調査結果の報告と、平成28及び29年度の調査結果との比較を行ったので報告する。

方法

1 調査地点

広島湾内4地点(図1のとおり)

①江波 ②カクマ南 ③三高 ④大黒神島中
(各地点水深2mにおいて採水)

なお、試料の採水は水産課(委託業者)による。

2 調査回数

平成30年度: 15回(6~8月: 2回/月, 4, 5, 9~3月: 1回/月)

平成29年度: 13回(6~8月: 2回/月, 9~3月: 1回/月)

平成28年度: 13回(7, 8, 1月: 2回/月, 6, 9~12, 2, 3月: 1回/月)

3 分析項目及び分析方法

(1) 全リン

JIS K0102 46.3.1 ペルオキシ二硫酸カリウム分解-モリブデン青吸光光度法

(2) 溶解性リン

メンブレンフィルター(孔径 0.45 μ m)でろ過後、全リンと同様の方法

(3) 溶解性無機リン

JIS K0102 46.1.1 メンブレンフィルター(孔径 0.45 μ m)でろ過-モリブデン青吸光光度法

(4) 粒子性有機態リン

計算値(=全リン-溶解性リン)

(5) 溶解性有機態リン

計算値(=溶解性リン-溶解性無機リン)



図1 調査地点

(6) ケイ酸態ケイ素

海洋観測指針(1990)¹⁾ モリブデン青吸光光度法

(7) クロロフィル a(全量)

海洋観測指針(1990)¹⁾ 吸光法

(8) クロロフィル a(<5 μ m)

メンブレンフィルター(孔径 5 μ m)でろ過後、クロロフィル a(全量)と同様の方法

(9) 溶解性無機窒素

メンブレンフィルター(孔径 0.20 μ m)でろ過後、アンモニア態窒素(JIS K 0102 42.6 流れ分析法)、亜硝酸態窒素及び硝酸態窒素(JIS K 0102 43.2.6 流れ分析法)を分析し、それらの合計により算出

(10) 粒子性有機態窒素

全窒素(JIS K 0102 45.4 及び 45.6 流れ分析法(銅・カドミウムカラム還元法))及び溶解性全窒素(メンブレンフィルター(孔径 0.20 μ m)でろ過後、全窒素と同様の方法)を分析し、(全窒素-溶解性全窒素)により算出

(11) 溶解性有機態窒素

計算値(=溶解性全窒素-溶解性無機窒素)

なお(9)溶解性無機窒素、(10)粒子性有機態窒素及び(11)溶解性有機態窒素は、水産課が民間委託

*: 現 下水道局管理部千田水資源再生センター

により測定した。

結 果 と 考 察

1 年間推移

各分析項目について4地点の平均値の年間推移を図2に示す(ただし、クロロフィル a($<5\mu\text{m}$)は全測定結果が定量下限値($0.5\text{mg}/\text{m}^3$)未満のため省略した)。全リンや溶解性リン、溶解性無機リン、溶解性無機窒素については、第2報³⁾と同じく秋に高くなり冬に低くなる傾向がみられた。溶解性有機態リンは年間を通して他の形態のリンに比べ低い値で推移していた。粒子性有機態窒素は過去2年とは異なり平成30年度は一年を通して低い値を示した。粒子性有機態リンやクロロフィル a(全量)、溶解性有機態窒素は3年間の推移に類似点が見られず、季節ごとの傾向がはっきりとあらわれなかった。

平成30年度の夏季は「平成30年7月豪雨」の後、7月上旬から8月にかけて晴れの日が非常に多くなった。過去2年と比較して平成30年8~10月の溶解性無機リン、溶解性無機窒素、ケイ酸態ケイ素の値が低くクロロフィル a(全量)の値が高めであったのは、雨が少なく川からの栄養塩類供給が減った一方で日照時間の増加で植物プランクトンの活動が活発になった影響である可能性が考えられる。

2 調査地点ごと、年度ごとの比較

平成28~30年度の各分析項目の調査地点ごとの平均値を表1に示す。調査地点ごとに比較すると第1報²⁾、第2報³⁾と同じく、多くの項目で太田川の河口域から近い順に値が大きい傾向が見られた。

年度ごとで比較すると、リンや窒素について多くの項目で平成28年度>平成29年度>平成30

年度の順で値が低下していた。第2報では、平成29年度の結果が平成28年度より低かったことについて、雨量が少なく海に運ばれる栄養塩類の量が減少した可能性を挙げたが、太田川流域である広島市の総雨量は平成28年度が2,069mm、平成29年度が1,737mm、平成30年度が1,784.5mm⁴⁾と、平成30年度の方が平成29年度よりわずかに多かった。海の栄養塩類の濃度は雨による供給量の変化だけでなく、夏季の日照時間の変化に伴う植物プランクトン等による栄養塩類の消費量の変化の影響も受けている可能性が考えられる。

3 各分析項目間の相関係数

平成28~30年度の全測定結果について、各分析項目間の相関係数を表2に示す。第2報³⁾と同じく、全リンと溶解性リン、溶解性無機リンの間、溶解性リンと溶解性無機リン、溶解性無機窒素の間、溶解性無機リンと溶解性無機窒素の間、粒子性有機態リンとクロロフィル a(全量)の間に強い正の相関がみられた。

謝 辞

この調査にご協力いただきました水産課及び関係各位に対し、感謝いたします。

文 献

- 1) 気象庁編：海洋観測指針(1990)
- 2) 竹井秀夫 他：広島湾における栄養塩類等の調査結果について、広島市衛生研究所年報，36，108~109(2017)
- 3) 森山友絵 他：広島湾における栄養塩類等の調査結果について(第2報)，広島市衛生研究所年報，37，75~78(2018)
- 4) 気象庁：過去の気象データ検索，<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>

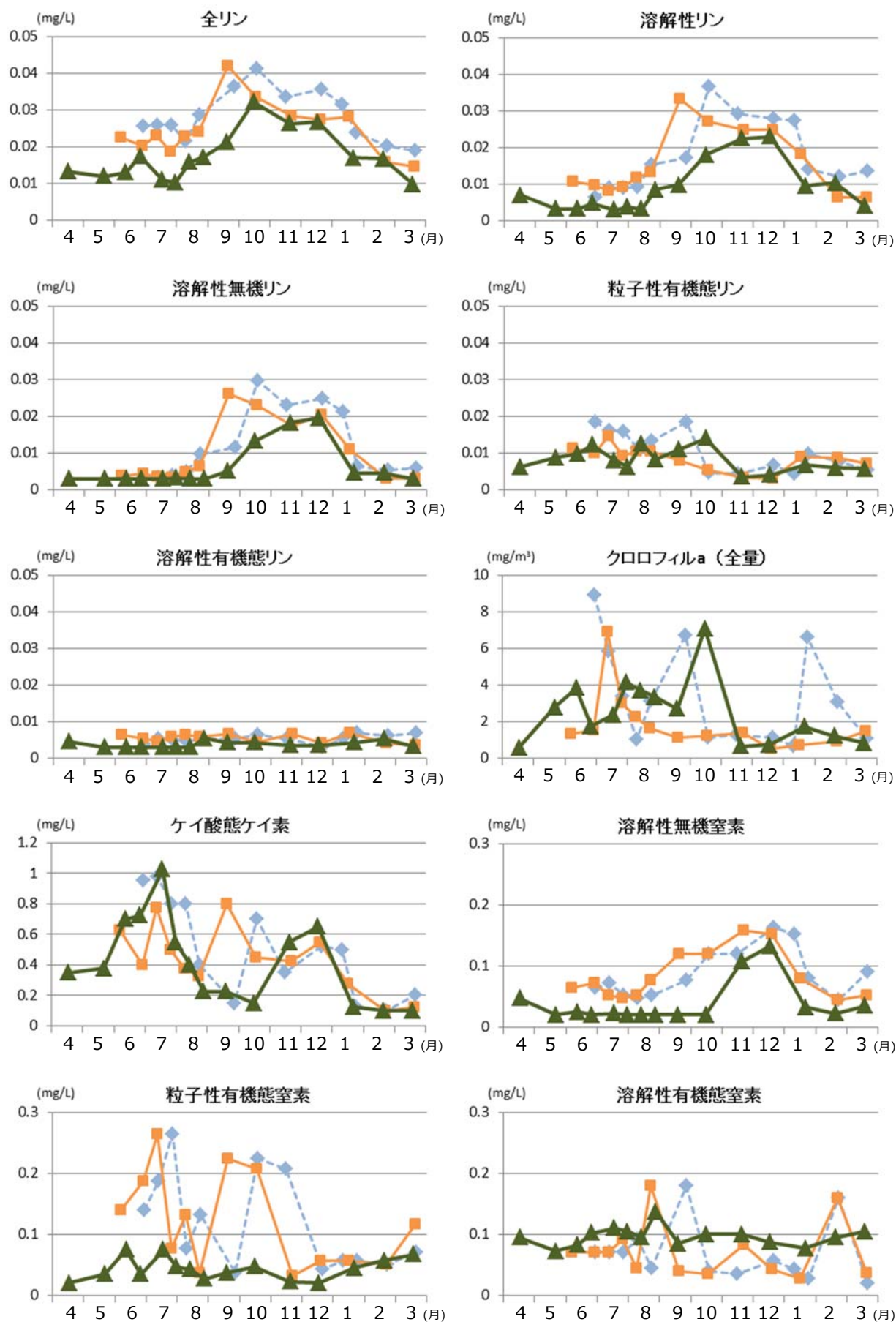


図2 各分析項目の年間推移 (—◇— : 平成 28 年度, —□— : 平成 29 年度, —△— : 平成 30 年度)

表 1 各調査地点における分析項目ごとの平均値(左:平成 28 年度, 中:平成 29 年度, 右:平成 30 年度)

分析項目	単位	①江波			②カクマ南		
全リン	(mg/L)	0.034	0.029	0.022	0.029	0.025	0.018
溶解性リン	(mg/L)	0.019	0.017	0.009	0.017	0.016	0.009
溶解性無機リン	(mg/L)	0.013	0.011	0.007	0.011	0.010	0.006
粒子性有機態リン	(mg/L)	0.015	0.012	0.012	0.011	0.009	0.009
溶解性有機態リン	(mg/L)	0.005	0.006	0.004	0.006	0.005	0.004
ケイ酸態ケイ素	(mg/L)	0.7	0.6	0.6	0.6	0.5	0.5
クロロフィル a(全量)	(mg/m ³)	5.1	2.9	4.7	3.8	2.1	2.8
クロロフィル a(<5μm)	(mg/m ³)	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
溶解性無機窒素	(mg/L)	0.10	0.09	0.05	0.08	0.08	0.04
粒子性有機態窒素	(mg/L)	0.14	0.14	0.07	0.11	0.12	0.04
溶解性有機態窒素	(mg/L)	0.10	0.10	0.11	0.08	0.08	0.10
分析項目	単位	③三高			④大黒神島中		
全リン	(mg/L)	0.026	0.024	0.015	0.024	0.021	0.014
溶解性リン	(mg/L)	0.017	0.016	0.009	0.017	0.015	0.009
溶解性無機リン	(mg/L)	0.011	0.010	0.006	0.011	0.009	0.006
粒子性有機態リン	(mg/L)	0.009	0.008	0.006	0.007	0.006	0.005
溶解性有機態リン	(mg/L)	0.005	0.006	0.004	0.005	0.006	0.004
ケイ酸態ケイ素	(mg/L)	0.5	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2
クロロフィル a(全量)	(mg/m ³)	2.9	1.5	1.5	1.7	0.8	1.0
クロロフィル a(<5μm)	(mg/m ³)	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5	<0.5
溶解性無機窒素	(mg/L)	0.09	0.09	0.03	0.09	0.08	0.03
粒子性有機態窒素	(mg/L)	0.12	0.12	0.04	0.11	0.11	0.03
溶解性有機態窒素	(mg/L)	0.06	0.06	0.09	0.04	0.05	0.08

※測定値が定量下限値未満の場合は定量下限値として計算した。

(ただし, クロロフィル a(<5μm)は全測定結果が定量下限値(0.5mg/m³)未満のため, <0.5 とした)

表 2 平成 28~30 年度の各分析項目間の相関係数

	TP	DP	DIP	POP	DOP	Si	chl a	DIN	PON	DON
全リン(TP)	1.00									
溶解性リン(DP)	0.76	1.00								
溶解性無機リン(DIP)	0.76	0.98	1.00							
粒子性有機態リン(POP)	0.20	-0.48	-0.45	1.00						
溶解性有機態リン(DOP)	0.14	0.21	0.03	-0.12	1.00					
ケイ酸態ケイ素(Si)	0.43	0.11	0.14	0.42	-0.10	1.00				
クロロフィル a(全量)(chl a)	0.15	-0.36	-0.35	0.77	-0.09	0.35	1.00			
溶解性無機窒素(DIN)	0.57	0.81	0.81	-0.44	0.04	0.13	-0.30	1.00		
粒子性有機態窒素(PON)	0.29	0.10	0.11	0.25	-0.02	0.52	0.19	-0.12	1.00	
溶解性有機態窒素(DON)	-0.02	-0.27	-0.27	0.40	-0.02	-0.04	0.27	-0.32	-0.25	1.00

※強い正の相関がみられる項目(0.70<)を太字で示す。

(クロロフィル a(<5μm)は全測定結果が定量下限値(0.5mg/m³)未満のため省略した)

広島市における雨水成分調査(平成 30 年度)

宮野 高光 細末 次郎 鹿渡 正美 加藤 寛子
下田 喜則 坂本 哲夫

はじめに

本市では、平成 3 年度より全国環境研協議会が実施する酸性雨全国調査に参加し、本市における雨水成分の調査を行っている。

今回、平成 30 年度に実施した雨水成分の調査結果について報告する。

方 法

1 調査地点

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

2 調査期間

平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

3 調査方法

雨水の採取は、降水時開放型雨水捕集装置(小笠原計器製作所 US-330 型、口径 20cm)を用い、「湿性沈着モニタリング手引き書」¹⁾に準じて 2 週間から 1 か月ごとに実施した。採取した雨水の分析項目及び分析方法を表 1 に示す。

なお、各分析項目の平均値(降水量は除く)は降水量で重み付けをした加重平均値として算出した。

また、 SO_4^{2-} 及び Ca^{2+} は、海塩粒子に含まれている成分でもあり、人為的起源による影響を把握するために、海塩粒子の影響を除外した非海塩性の硫酸イオン濃度(nss-SO_4^{2-})及びカルシウムイオン濃度(nss-Ca^{2+})を算出した。



図 1 調査地点

表 1 分析項目及び分析方法

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

結果と考察

平成 30 年度の降水量、pH、EC 及び湿性イオン成分濃度を表 2-1 に示す。

また、平成 30 年度の湿性イオン成分沈着量を表 2-2 に示す。

1 降水量

平成 30 年度の月別降水量の測定結果を図 2 に示す。

図中の平年値は広島市の平年値(1981 年～2010 年: 気象庁)²⁾を示している。

平成 30 年度の総降水量は 1,678.9mm で、平成 29 年度(1,914.4mm)より少なく、平年値(1,537.6 mm)より多かった。

降水量が 300mm 以上の月は 9 月のみで、4 月～7 月は降水量が多く、10 月～3 月は少なかった。

2 pH

平成 30 年度の月別 pH を図 3 に、平成 20 年度～平成 30 年度の pH の推移を図 4 に示す。

月別の pH は 4.29～5.13(年平均値: 4.68)の範

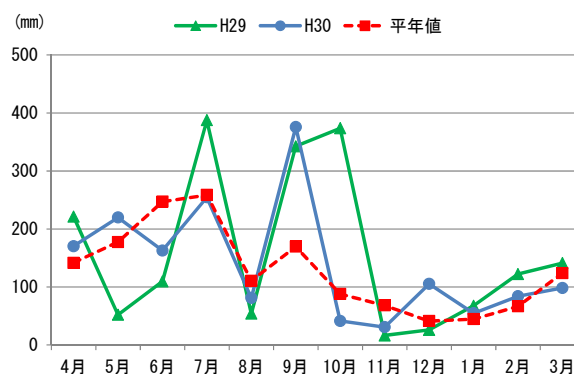


図 2 月別の降水量

囲であり、1月に最小4.29であった。年平均値は、平成20年～平成29年度の調査結果(4.39～4.73)の範囲であった。

3 湿性沈着

(1) 成分濃度

平成30年度の主要な nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の4成分の月別の濃度を図5に示す。

nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 及び NH_4^+ の変動は、相似しており、 nss-Ca^{2+} は、ほぼ横ばいで推移していた。

nss-SO_4^{2-} 及び NH_4^+ は、3月を除き、同程度の濃度であった。

NO_3^- は、濃度の変動が一番大きかった。

(2) 湿性沈着量

平成30年度の月別の降水量、 nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の湿性沈着量(mmol/m^2)を図6に示す。

nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 及び NH_4^+ とも大きく変動し、なかでも NO_3^- は、4月を除いて沈着量が最も多く、変動も最も大きかった。また、5月を除いて NO_3^- 及び NH_4^+ の沈着量の変動は、同様の傾向を示した。

nss-Ca^{2+} は、おおむね横ばいで推移した。

4 pHと成分濃度の傾向

nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の4成分の濃度とpHについて比較した。

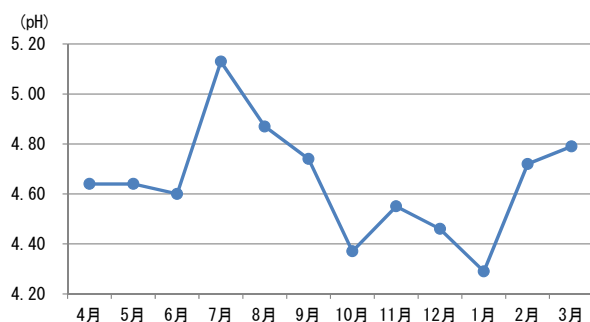


図3 月別のpH

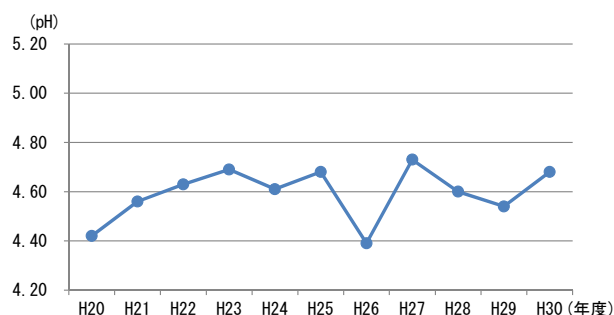


図4 平成20年度～平成30年度のpHの推移

平成25年度～平成30年度の4成分の濃度とpHの推移を図7に示す。

平成30年度も平成29年度と同様、 NO_3^- 、 nss-SO_4^{2-} 、 NH_4^+ の順で高かった。 nss-Ca^{2+} は、ほぼ横ば

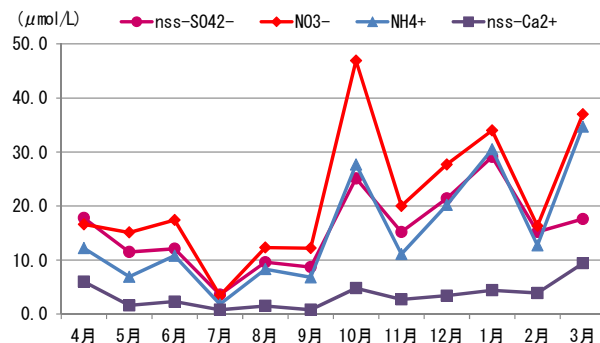


図5 nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の月別濃度

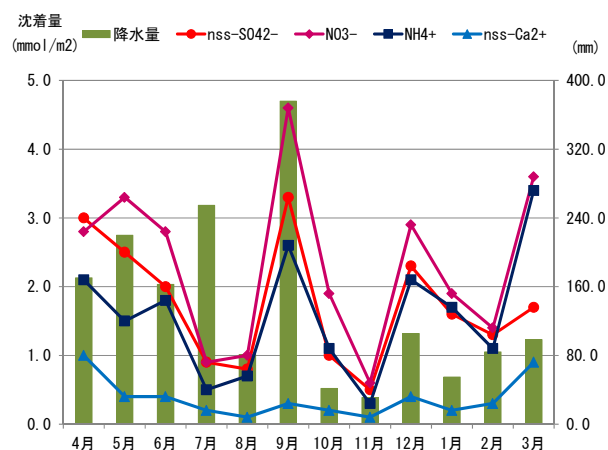


図6 月別の降水量、 nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の湿性沈着量

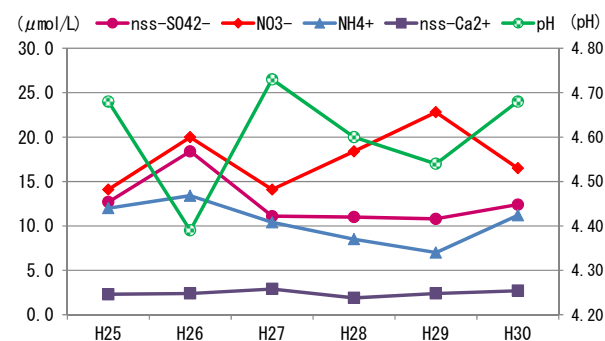


図7 nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} の濃度とpHの推移

いで推移した。

pH を低下させる主なイオンは、 nss-SO_4^{2-} 及び NO_3^- であり、pH を上昇させる主なイオンは、 NH_4^+ 及び nss-Ca^{2+} である。

平成 30 年度は、pH を低下させる nss-SO_4^{2-} が僅かながら増加したものの、 NO_3^- が大幅に減少したことに加え pH を上昇させる NH_4^+ が増加したため、結果として pH が上昇したと考えられる。

文 献

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

表 2-1 湿性イオン成分等の加重平均濃度(平成 30 年度)

	降水量	pH	EC	nss- SO ₄ ²⁻ ※2 SO ₄ ²⁻ ※2	NO ₃ ⁻	Cl ⁻	NH ₄ ⁺	Na ⁺	K ⁺	nss- Ca ²⁺ ※3 Ca ²⁺ ※3	Mg ²⁺
	(mm)		(mS/m)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)	(μmol/L)
4 月	170.3	4.64	1.96	17.8 19.3	16.6	29.5	12.2	25.8	1.2	6.0 6.5	4.3
5 月	219.7	4.64	1.53	11.5 11.7	15.1	4.5	6.9	3.5	0.5	1.6 1.7	1.4
6 月	162.7	4.60	1.56	12.1 12.2	17.4	3.5	10.8	2.2	0.5	2.3 2.4	1.0
7 月	254.7	5.13	0.45	3.6 3.8	3.4	2.1	1.8	1.9	0.3	0.8 0.8	0.8
8 月	81.0	4.87	1.14	9.6 10.3	12.3	12.1	8.3	11.7	0.5	1.5 1.7	1.2
9 月	375.8	4.74	1.11	8.7 8.9	12.2	7.2	6.8	4.3	0.5	0.8 0.9	0.6
10 月	41.4	4.37	3.47	25.1 27.6	46.9	44.9	27.7	41.7	1.5	4.8 5.7	5.3
11 月	30.8	4.55	1.94	15.2 16.0	20.0	16.4	11.1	13.0	0.5	2.7 3.0	1.6
12 月	105.4	4.46	2.45	21.4 22.8	27.7	29.0	20.2	23.3	0.9	3.4 4.0	3.0
1 月	54.8	4.29	3.97	29.1 33.4	34.0	85.8	30.5	70.4	2.3	4.4 6.0	7.8
2 月	84.0	4.72	1.60	15.2 15.6	16.3	7.1	12.7	6.1	0.8	3.9 4.0	1.2
3 月	98.3	4.79	2.29	17.6 20.2	37.0	48.9	34.7	43.2	2.2	9.4 10.3	6.3
年平均値 (加重平均)	1678.9※1	4.68	1.54	12.4 13.2	16.5	15.7	11.2	13.0	0.8	2.7 3.0	2.1
最小値	30.8	4.29	0.45	3.6 3.8	3.4	2.1	1.8	1.9	0.3	0.8 0.8	0.6
最大値	375.8	5.13	3.97	29.1 33.4	46.9	85.8	34.7	70.4	2.3	9.4 10.3	7.8

※1 降水量の年平均値欄には合計量(年間降水量)を記載。

※2 上段は nss-SO₄²⁻, 下段は SO₄²⁻を記載。※3 上段は nss-Ca²⁺, 下段は Ca²⁺を記載。

表 2-2 湿性イオン成分沈着量(平成 30 年度)

	SO_4^{2-}	nss- SO_4^{2-}	NO_3^-	Cl^-	NH_4^+	Na^+	K^+	Ca^{2+}	nss- Ca^{2+}	Mg^{2+}
	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)	(mmol/m ²)
4 月	3.3	3.0	2.8	5.0	2.1	4.4	0.2	1.1	1.0	0.7
5 月	2.6	2.5	3.3	1.0	1.5	0.8	0.1	0.4	0.4	0.3
6 月	2.0	2.0	2.8	0.6	1.8	0.4	0.1	0.4	0.4	0.2
7 月	1.0	0.9	0.9	0.5	0.5	0.5	0.1	0.2	0.2	0.2
8 月	0.8	0.8	1.0	1.0	0.7	1.0	0.0	0.1	0.1	0.1
9 月	3.4	3.3	4.6	2.7	2.6	1.6	0.2	0.3	0.3	0.2
10 月	1.1	1.0	1.9	1.9	1.1	1.7	0.1	0.2	0.2	0.2
11 月	0.5	0.5	0.6	0.5	0.3	0.4	0.0	0.1	0.1	0.1
12 月	2.4	2.3	2.9	3.1	2.1	2.5	0.1	0.4	0.4	0.3
1 月	1.8	1.6	1.9	4.7	1.7	3.9	0.1	0.3	0.2	0.4
2 月	1.3	1.3	1.4	0.6	1.1	0.5	0.1	0.3	0.3	0.1
3 月	2.0	1.7	3.6	4.8	3.4	4.3	0.2	1.0	0.9	0.6
年間湿性 沈着量	22.2	20.9	27.8	26.3	18.8	21.8	1.3	5.0	4.5	3.5

ノニルフェノール, 4-t-オクチルフェノールの 固相抽出法の検討

加藤 寛子 細末 次郎 鹿渡 正美 宮野 高光
下田 喜則 坂本 哲夫

はじめに

内分泌かく乱化学物質(いわゆる環境ホルモン)とは、環境中に存在し、生物に対してホルモンのような影響を与える物質である。例えば、下水処理排水による川魚の性の変化などが知られている。

当所では、国が実施した試験によって内分泌かく乱作用があることが推察された、ノニルフェノール(NP)、4-t-オクチルフェノール(OP)及びビスフェノールA(BPA)について調査している。これらの物質は、主に界面活性剤や樹脂の合成原料などとして使用されている。

現在、NPは、環境庁告示第59号付表11で測定方法(公定法)が規定されており、OPとの同時測定が可能とされている¹⁾。

公定法では、固相抽出法が採用されており、当所が従来用いていた溶媒抽出法に比べて、ジクロロメタンの使用量が少なく、誘導体化も不要となっている。問題点としては、固相カートリッジからの溶出の際、溶媒の転溶操作が必要であることが挙げられ、全国の地方環境研究機関でも様々な測定方法の検討が報告されている²⁾⁻⁴⁾。

今回、これらの報告を参考に、NP・OP同時分析を実施したので報告する。

方 法

1 器具及び装置

カートリッジ型固相カラム:

Waters 製 Oasis HLB plus LP Extraction Cartridge

ドライカートリッジカラム:

Waters 製 Sep-Pak Dry Cartridge

シリカゲルカートリッジカラム:

GLサイエンス社製 InertSep Si

固相抽出装置:

GLサイエンス社製 AQUA Loader III

固相溶出装置:

Waters 製 Sep-Pak Elution Pump

GC-FID: 島津製作所製 GC-2010 Plus

GC/MS: 日本電子社製 JMS-Q1050GC

2 分析条件

カラム: DB-5MS

ID 0.25mm×L 30m, 膜厚 0.25 μm

キャリアガス: He 流量 1.2ml/min

注入口温度: 270℃

インターフェース温度: 280℃

イオン源温度: 250℃

注入量: 2 μl, スプリットレス注入

昇温プログラム: 50℃-20℃/min-90℃-5℃/min
-120℃-20℃/min-280℃(3min)

3 分析方法

環境庁告示第59号付表11のNPの測定方法に準拠した。

カラムの昇温条件については野末²⁾, カートリッジの選定及び溶出溶媒については藤川ら³⁾, クリーンアップの方法等については市川ら⁴⁾の方法を参考にした。前処理方法について、アセトンで溶出後ジクロロメタンに転溶する方法から、ジクロロメタンで直接溶出する方法に変更した。また、脱水やクリーンアップ操作については、カートリッジを使用することとした。操作フローを図に示す。

4 検出下限値及び定量下限値の算出

要調査項目等調査マニュアル(環境省)⁵⁾を参考に算出した。

河川水 500ml に NP, OP 混合標準液を添加して OP: 20 μg/l, NP: 100 μg/l とし、繰り返し分析を実施した。標準偏差から検出下限値(MDL)及び定量下限値(MQL)を算出した。

結 果 と 考 察

MDL, MQL の算出結果を表に示す。OP 及び NP の MQL(NP については、各異性体の MQL の合計)は、公定法に記載されている定量下限値(OP: 0.03 μg/l, NP: 0.06 μg/l)を下回った。

OP 及び NP のサロゲートの回収率は 59~79%で、目標とされる 50~120%以内であった。添加回収率は 70~117%であり、許容範囲の目安である 70~120%以内であった。

今回、固相抽出法に変更したことで、ジクロロ

水質試料 500ml	
	1N-HCl で pH3.5 とする 各サロゲート 10 μ g/ml 5 μ l 添加 添加回収用試料に NP, OP 混合標準液 10 μ l 添加
通水	HLB カートリッジ [®] コンデ [®] イショニング [®] (ジクロロメタン→アセトン→ミQ 水 各 10ml) 通水速度 10ml/min ミQ 水で洗いこみ
脱水	アルゴンガス通気 30min
溶出・脱水	Dry カートリッジ [®] コンデ [®] イショニング [®] (ジクロロメタン 10ml) ジクロロメタン 7ml で溶出 アルゴンガスで少量に濃縮後ジクロロメタン 洗 いこみ 1 回 0.5mL に濃縮
クリーンアップ	Si カートリッジ [®] コンデ [®] イショニング [®] (ジクロロメタン 15ml) ジクロロメタン 洗いこみ×2 回 ジクロロメタン 5ml 少量に濃縮後ジクロロメタン 洗いこみ 1 回
濃縮	アルゴンガスで 0.5ml 以下に濃縮
	内標 5 μ g/ml 10 μ l 添加 ジクロロメタンで 0.5ml にメスアップ
GC/MS 測定	

図 操作フロー

メタン等の溶媒使用量を減らすことができた。また、脱水やクリーンアップ操作についてもカートリッジを使用することで、より簡易になり、時間も短縮された。

課題としては、内標のピークがカラムの汚れによってテーリングしやすいことが挙げられる。テーリングが見られた場合、カラムを切断又は交換することになるが、保持時間を設定し直すのは非常に煩雑である。今後、内標の選定や、分析条件の検討が必要と考えられる。

文 献

- 1) 水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行等について、環水大発第 1303272 号、平成 25 年 3 月 27 日
- 2) 野末康宏：ノニルフェノールの分析方法，浜松市保健環境研究所年報，24，70～74 (2013)
- 3) 藤川和浩 他：ノニルフェノールの分析法の検討，福岡県保健環境研究所年報，41，97～100 (2014)
- 4) 市川智宏 他：環境水中ノニルフェノールの測定方法に関する検討，愛知県環境調査センター所報，43，9～16 (2015)
- 5) 要調査項目調査マニュアル，環境省水・大気環境局水環境課，平成 20 年 3 月

表 対象物質及び内標準物質の選択イオン及び MDL, MQL の算出結果

	異性体名	定量用 質量数	確認用 質量数	MDL (µg/L)	MQL (µg/L)
OP	4-tert-オクチルフェノール	111	224	0.003	0.008
NP1	4-(2, 4-ジメチルヘプタノン-4-イル)フェノール	121	163	0.002	0.004
NP2	4-(2, 4-ジメチルヘプタノン-2-イル)フェノール	135	220	0.002	0.004
NP3	4-(3, 6-ジメチルヘプタノン-3-イル)フェノール	135	107	0.004	0.009
NP4	4-(3, 5-ジメチルヘプタノン-3-イル)フェノール	149	191	0.003	0.006
NP5	4-(2, 5-ジメチルヘプタノン-2-イル)フェノール	135	163	0.001	0.003
NP6	4-(3, 5-ジメチルヘプタノン-3-イル)フェノール	149	191	0.0008	0.002
NP7	4-(3-エチル-2-メチルヘキサノン-2-イル)フェノール	135	220	0.002	0.003
NP8	4-(3, 4-ジメチルヘプタノン-4-イル)フェノール	163	121	0.0007	0.002
NP9	4-(3, 4-ジメチルヘプタノン-3-イル)フェノール	149	107	0.003	0.007
NP10	4-(3, 4-ジメチルヘプタノン-4-イル)フェノール	163	121	0.0008	0.003
NP11	4-(2, 3-ジメチルヘプタノン-2-イル)フェノール	135	220	0.003	0.006
NP12	4-(3-メチルオクタノン-3-イル)フェノール	191	163	0.002	0.004
NP13	4-(3, 4-ジメチルヘプタノン-3-イル)フェノール	149	107	0.002	0.004
NP 合計				0.0263	0.057
OP サロゲート	13C ラベル化 4-tert-オクチルフェノール	141	113		
NP サロゲート	13C ラベル化 4-(3, 6-ジメチル-3-ヘプチル)フェノール	155	113		
内標	4-n-ニルフェノール d 4	111	224		

※NP4-NP6, NP8-NP10, NP9-NP13 : 立体異性体

平成 30 年 7 月豪雨の災害廃棄物仮置場における アスベスト大気濃度調査の結果について

環 境 科 学 部

は じ め に

平成 30 年 7 月豪雨災害では、広島市内で多数の建築物等が被災し、多量の災害廃棄物が発生した。広島市は災害廃棄物の処理のため、市内の公有地を災害廃棄物仮置場とし、がれき等廃棄物の一時保管を行った。災害廃棄物の処理に伴ってアスベストが飛散するおそれがあることから、当所は環境局環境保全課からの依頼を受けて、災害廃棄物仮置場における大気中のアスベスト濃度の測定を行ったので、その測定結果について報告する。

方 法

1 調査時期及び測定地点

平成 30 年 8 月から平成 31 年 5 月にかけて、のべ 9 地点で測定を行った。

2 測定方法

測定箇所は、「災害時における石綿飛散防止に係る取扱いマニュアル(改訂版)」¹⁾に従い、1 地点あたり 2~4 箇所とした。一例として、瀬野川公園でのサンプリング状況を図に示す。

測定方法は、「アスベストモニタリングマニュアル(第 4.1 版)」²⁾に従った。試料をアセトン・トリアセチン法で透明化処理したのち位相差顕微鏡法で総繊維を計測し、総繊維数濃度*が 1 本/L を超えた検体については、分析走査電子顕微鏡法(A-SEM 法)でアスベスト繊維の同定を行った。

※総繊維数濃度とは、長さ 5 μ m 以上、幅(直径)3 μ m 未満で、かつ長さとの比(アスペクト比)が 3:1 以上の線維状物質を計数して算出される数値である。測定結果はアスベスト以外の大気中繊維状物質が含まれた値となる。



図 アスベスト大気濃度調査の状況
(瀬野川公園, 検体 No. 18)

結 果 と 考 察

1 総繊維数濃度

表 1 に総繊維数濃度の測定結果を示す。参考として、表 2 に平成 30 年度の広島市内の一般環境における総繊維数濃度の測定結果及び平成 28 年から平成 30 年までの同調査の結果のまとめを示した。

測定した 25 検体のうち、15 検体で総繊維数濃度が 1 本/L を超過した。

一部の仮置場では、一般環境に比べ高い総繊維数濃度となった。災害廃棄物仮置場では調査地点の近傍で重機などによる作業が行われており、繊維状物質を含む粉塵が飛散しやすい状況にあった可能性がある。

2 A-SEM 法によるアスベスト繊維の同定

総繊維数濃度が 1 本/L を超えたサンプルについて、A-SEM 法によるアスベスト繊維の同定を行った結果を表 2 に示す。全ての検体で、アスベスト繊維は確認されなかった。繊維状物質は、Si や Al などの元素の含有によって特徴づけられる鉱物系繊維、繊維の様態及び P や K などの元素の含有によって特徴づけられる生物系繊維並びに上記の特徴を持たないその他の繊維に分類できた。

ま と め

平成 30 年 7 月豪雨災害の災害廃棄物仮置場において、大気中アスベスト濃度の測定を行った。総繊維数濃度では、一部の仮置場で一般環境と比べ高い濃度となったが、繊維の同定を行った結果、アスベスト繊維は確認されなかった。

災害現場では、今回の調査のようにアスベスト以外の繊維状物質が多数飛散している可能性がある。今後は、アスベスト繊維を区別して迅速に測定する手法の導入について検討する必要がある。

文 献

- 1) 環境省:災害時における石綿飛散防止に係る取扱いマニュアル(改訂版), (2017)
- 2) 環境省:アスベストモニタリングマニュアル(第 4.1 版), (2017)

表1 災害廃棄物仮置場における総繊維数濃度測定結果

採取年月日	地点名称(所在地)	検体 No.	総繊維数濃度(本/L)
平成30年8月8日	出島東公園 (南区出島一丁目)	1-4	1.4 - 2.6
平成30年8月9日	太田川河川敷 (安佐南区川内一丁目地先)	5-6	1.7 - 4.7
平成30年8月20日	中山公園 (安佐北区落合四丁目)	7-10	0.056 - 1.2
平成30年9月6日	矢野南学校予定地 (安芸区矢野南三丁目)	11-14	0.11 - 1.1
平成30年9月6日	畑賀公園 (安芸区畑賀町)	15-16	0.48 - 0.82
平成30年10月11日	瀬野川公園 (安芸区上瀬野町)	17-18	1.3 - 2.5
平成30年10月15日	西部水資源再生センター事業用地 (西区扇二丁目)	19-20	0.28 - 1.5
平成31年3月5日	西部水資源再生センター事業用地 [2回目](西区扇二丁目)	21-23	0.56 - 1.3
平成31年5月13日	瀬野川公園[2回目] (安芸区上瀬野町)	24-25	0.82 - 3.0

※総繊維数濃度は、各地点の測定値のうち最小値と最大値を示している。

表2 一般環境における総繊維数濃度測定結果

		単位(本/L)			
採取時期	測定地域区分	最小値	最大値	幾何平均値	
平成30年度	平成30年11月12日 ～11月14日	幹線道路沿線地域	0.14	0.73	0.40
		住宅地域	<0.056	1.4	0.49
		商工業地域	0.056	1.8	0.36
最近3年間	平成28年度 ～30年度	幹線道路沿線地域	<0.056	0.85	0.33
		住宅地域	<0.056	1.6	0.47
		商工業地域	<0.056	1.8	0.34

※一般環境における総繊維数濃度は、測定地域区分ごとの複数地点において、連続する3日間の測定(4時間×3回)を行った結果から算出している。

表 3 総繊維数濃度が 1 本/L を超過した試料の A-SEM 測定結果

検体 No.	位相差顕微鏡法	分析走査電子顕微鏡法			
	総繊維数濃度 (本/L)	繊維の割合			
		アスベスト繊維	鉱物系繊維	生物系繊維	その他の繊維
1	1.4	0%	32%	0%	68%
2	2.2	0%	13%	3%	84%
3	2.6	0%	0%	7%	93%
4	1.5	0%	20%	0%	80%
5	1.7	0%	5%	26%	68%
6	4.7	0%	61%	0%	39%
10	1.2	0%	22%	9%	70%
11	1.0	0%	21%	21%	57%
12	1.1	0%	0%	44%	56%
17	1.3	0%	7%	44%	49%
18	2.5	0%	0%	55%	45%
20	1.5	0%	9%	0%	91%
22	1.3	0%	88%	0%	13%
23	1.1	0%	79%	0%	21%
24	3.0	0%	85%	6%	9%

※四捨五入処理をしているため、パーセンテージの合計が 100 にならない場合がある。

Ⅲ 抄 録

他誌掲載論文（所属については投稿時のものを掲載した。）

2018年に広島市で分離された *Salmonella*
04:i:- の分子疫学的解析

青田達明 佐藤香緒里 栗林智早

山本美和子 坂本 綾 上田久仁子

厚生労働科学研究費補助金(新興・再興感染症及び
予防接種政策推進研究事業)食品由来感染症の病
原体の解析手法及び共有化システムの構築のため
の研究 平成30年度 総括・研究分担報告書, 103
～106, 2019

2018年に発生した食中毒事例及び散发事例患
者から分離された *Salmonella* 04:i:-計10株につ
いて、株間の関連性について検討するため PFGE
法を用いた分子疫学的解析を実施した。食中毒事
例由来の全8株は類似度100%を示した。散发事
例患者由来株のうち1株は食中毒事例由来株と高
い類似度を示し、株間が遺伝的に近縁であること
が示唆された。

ノロウイルス GⅡ の ORF2 全長遺伝子解析手法に
関する検討

藤井慶樹 福永 愛 則常浩太

兼重泰弘 坂本 綾 上間 匡*

厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進
研究事業)ウイルスを原因とする食品媒介性疾患
の制御に関する研究 平成30年度 統括研究報
告書, 2019

検体からの RNA 抽出工程の改良, 最適な逆転写
反応系の検討, PCR 及びシーケンス解析用プラ
イマーの新規設計により, 食中毒事例等で検出数
の多いノロウイルス GⅡ の 6 遺伝子型(GⅡ.2, G
Ⅱ.3, GⅡ.4, GⅡ.6, GⅡ.14, GⅡ.17)の ORF2 全
長遺伝子解析手法を開発した。

*: 国立医薬品食品衛生研究所

急性脳炎及び急性弛緩性麻痺患者からのエンテロ
ウイルス 68 型の検出—広島市—

則常浩太 福永 愛 兼重泰弘

藤井慶樹 坂本 綾 松原啓太*

病原微生物検出情報 39(12), 222～223, 2018

2018年9月, 本市において, 急性脳炎および急
性弛緩性麻痺の届出があり, 両症例について, 病
原体検索を行ったところ, エンテロウイルス 68
型(以下, EV-D68)が検出された。両症例および同
時期に呼吸器疾患患者から検出された16株の
EV-D68について, VP1 領域遺伝子の近隣結合法に
よる系統解析を行った結果, すべて lineage2 に分
類され, 3つの単系統群(A～C)に分岐した。脳幹
脳炎および急性弛緩性麻痺患者から検出された株
は系統群Cに属した。系統群CのEV-D68の中に中
枢神経系に親和性のある株が存在するのか, 今後
さらなる研究が必要と考えられる。

*: 独立行政法人広島市立病院機構広島市立舟入市
民病院小児科

学会発表（所属については発表時のものを掲載した。）

災害時の井戸水検査に伴う一考察
山本泰子 長谷川富子 福田 裕
佐々木珠生 小中ゆかり

第32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)

2019. 2. 8 広島市

平成 30 年西日本豪雨災害で被災した地域、安佐北区、東区および安芸区から搬入された検体 69 件について 11 項目の試験を行った。あわせて、災害時と平成 29 年度平常時、それぞれの検査結果を比較した。災害時、一般細菌を検出する検体が増え、平常時 6% の水質基準不適割合が 21% に増えた。大腸菌の検出割合は、平常時 13%、災害時 17% だった。災害時に、TOC は 1 件、pH 値は 3 件、不適検体があった。味、臭気、色度は、災害時、平常時ともに、不適検体はなかった。濁度は災害時平常時ともに、不適検体は、1 件であった。塩化物イオン、硝酸態窒素については、平常時と比較して数値が高いものが多く見受けられた。

災害時の濁度と大腸菌の関係を調べた。濁度 0.1 度未満では検出率 7%、濁度 0.1 度以上では検出率 39% で、そのうち濁度 0.5 度以上では検出率 50% であった。濁度が上がると、大腸菌の検出率も上がった。

広島市における風しんの発生状況
兼重泰弘 福永 愛 則常浩太
藤井慶樹 坂本 綾

第 21 回地域保健研究会(第 1 分科会)

2019. 2. 4 広島市

2018 年 4 月から 12 月 10 日までの間に風しん又は麻しんと診断された患者(疑いを含む。)の検体を用いて、風しんウイルスの遺伝子検査及び解析を実施した。11 名の患者から風しんウイルスが検出され、うち 6 名が 40~50 代の男性であった。また、遺伝子型の分類を行った株のうち、海外輸入例と推察される株を除き、他の株はすべて 1E に分類され、国内で主に報告されている型と一致した。なお、適期とされる期間に採取した検体でもウイルスが検出されないものもあり、検査の精度を上げるためには、咽頭拭い液、尿、血液の 3 種類の検体で検査を行うことが、非常に重要であると考えられる。

急性脳炎・急性弛緩性麻痺及び呼吸器疾患患者
からのエンテロウイルス D68 型の検出

則常浩太 福永 愛 兼重泰弘

藤井慶樹 坂本 綾

第 21 回地域保健研究会(第 1 分科会)

2019. 2. 4 広島市

エンテロウイルス D68 型(以下、EV-D68)は主に呼吸器症状を呈する患者から検出されるが、急性弛緩性麻痺(以下、AFP)等の神経症状を呈する患者からの検出も報告されている。当市において、2018 年 9 月に急性脳炎及び AFP の届出があり、両症例から、EV-D68 が検出された。また、同時期に呼吸器症状を呈する患者の検体の多くから EV-D68 が検出された。VP1 領域遺伝子の系統樹解析を行ったところ、2015 年以降に当所で検出された株は全て lineage2 に属した。また、2018 年検出株は系統群 A~C に大別され、急性脳炎及び AFP 患者から検出された株は系統群 C に属した。

2018 年に食中毒等で分離されたサルモネラ 4:i:-
菌株の解析

京塚明美 池田伸代 青田達明

山本美和子 竹原佑美 清水裕美子

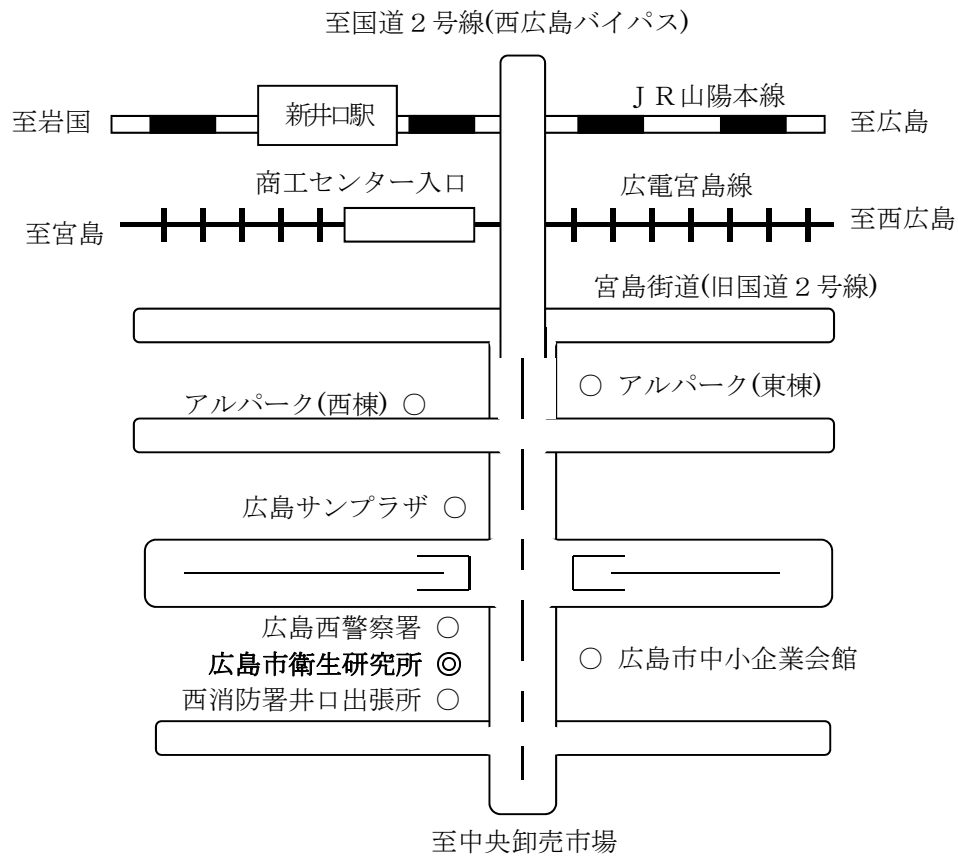
栗林智早 佐藤香緒里 坂本 綾

第32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)

2019. 2. 8 広島市

2018 年 5 月散発下痢症患者分離 1 株、6 月集団食中毒事例分離 8 株、6 月散発下痢症患者分離 1 株のサルモネラ 4:i:-について薬剤感受性試験、PFGE 法及び非定型 ST 確認遺伝子検査を行った。その結果、集団食中毒事例分離全株と 6 月散発下痢症患者分離 1 株は、同一由来であることが示唆されたが、5 月散発患者分離株は、これらとは関連性が低いと考えられた。また、全ての株が、*Salmonella thiphimurium* の H 抗原の 2 相が欠落した非定型 ST と推定された。



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H0-2019-286
名称	広島市衛生研究所年報 第38号(平成30年度)
主管課 所在地	健康福祉局 衛生研究所 広島市西区商工センター四丁目1番2号 (〒733-8650) TEL (082)277-6575 FAX (082)277-0410 http://www.city.hiroshima.lg.jp/eiken/main.html
発行年月	令和元年11月

