

青森県環境保健センター研究報告

Bulletin
of
Aomori Prefectural Institute of Public Health and Environment
No.24 2013

青森県環境保健センター

は じ め に

近年、多くの地方の環境及び衛生研究所では、生活環境の保全、保健衛生の向上に係る試験調査研究の推進に当たり、人員や予算が削減されるなか、これまで以上に創意工夫が求められています。

今冬も、ノロウイルスによる集団食中毒や感染症事例が全国で多発しました。また、平成25年末から平成26年1月にかけて冷凍食品への農薬混入事件が全国で大きな社会問題となり、各自治体は迅速な対応に追われました。あらためて食の安全・安心、健康危機管理への対応が重要であることを国民、県民が認識されたことと考えています。

現在、毒性の強い鳥インフルエンザウイルスが新型インフルエンザとして発生することが懸念されています。このような新型インフルエンザや新興・再興感染症発生などの緊急事態へ対処し、県民の健康被害の拡大を防止するためには、職員ができるだけ速やかにこれらに対応することが不可欠です。そのためには検査、分析技術の習熟を図るとともに、検査、分析結果の信頼性を確保するなど、健康危機発生時に迅速に対処できるよう研究機関として平時から危機対応能力の向上、維持に取り組んでいくことが必要と考えています。

環境保全対策の面では、ここ暫く、環境問題のトップニュースとしてPM2.5による広域大気汚染問題が取り上げられております。このようなPM2.5や酸性雨等の広域的な大気汚染対策については、環境省、国立環境研究所、地方環境研究所等が連携して調査研究を行い、情報を共有することが必要かつ重要です。

ここに当所の調査研究の成果を平成25年度研究報告(第24号)として取りまとめました。御高覧のうえ皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

今後とも御指導、御支援を賜りますようお願いいたします。

平成26年3月

青森県環境保健センター

所 長 工 藤 真 哉

目 次

I 報 文

県内の散発サルモネラ症由来分離株の血清型別（2010年～2012年） 福田 理 武沼浩子 三上稔之	1
青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向（2010-2012）と 菌株のPFGE, IS-printingによる解析及び薬剤耐性の検討 武沼浩子 福田 理 三上稔之	6
青森県におけるヒトライノウイルスの分子疫学（2012～2013） 筒井理華 東海林 彰 古川紗耶香 三上稔之	14
ノロウイルスによる集団胃腸炎事例の遺伝子学的解析（2012/13シーズン） 東海林 彰 筒井理華 古川紗耶香 三上稔之	18
青森県で発生した集団3事例から検出されたサポウイルスの遺伝子解析（2012/13シーズン） 古川紗耶香 筒井理華 東海林 彰 三上稔之	25

II ノート

農産物中残留農薬一斉分析（GC/MS分析）における前処理方法の検討 —通知法とSTQ法の比較— 五日市健夫 工藤志保 工藤 翔 増田幸保	32
水道水質外部精度管理調査結果（平成24年度） 棟方美穂子 木村淳子 増田幸保	38
十和田湖底質中の重金属類について（平成9年度～平成24年度） 五十嵐飛鳥	43
SPM テープろ紙を用いた水溶性成分の分析による大気環境汚染状況に関する研究 岩間貴士 松倉祐介 米谷康治	46
青森県内における航空機騒音に係る新環境基準による評価について 松倉祐介 岩間貴士 野澤直史 米谷康治	50

III 他誌投稿・学会等発表抄録	53
------------------------	----

Contents

I Original Articles

Serotyping of isolates obtained from sporadic salmonellosis cases in Aomori Prefecture (2010–2012) Osamu Fukuda, Hiroko Takenuma, and Toshiyuki Mikami	1
Trends in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> infection in Aomori Prefecture (2010–2012): PFGE and IS-printing system analyses of strains and evaluation of drug resistance Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda, and Toshiyuki Mikami	6
Molecular epidemiology of human rhinoviruses in Aomori Prefecture (2012–2013) Rika Tsutsui, Akira Toukairin, Sayaka Kogawa, and Toshiyuki Mikami	14
Gene analysis of Norovirus responsible for gastroenteritis outbreaks (season 2012/13) Akira Toukairin, Rika Tsutsui, Sayaka Kogawa, and Toshiyuki Mikami	18
Gene analysis of sapoviruses detected in 3 outbreaks in Aomori Prefecture (season 2012/13) Sayaka Kogawa, Rika Tsutsui, Akira Toukairin, and Toshiyuki Mikami	25

II Notes

Comparison of preparation methods for multiresidue pesticide analysis in agricultural products by GC/MS —Comparison of methods in notification with STQ— Takeo Itsukaichi, Shiho Kudo, Sho Kudo, and Yukiyasu Masuda	32
Results of external quality control of tap water quality (fiscal 2012) Mihoko Munakata, Junko Kimura, and Yukiyasu Masuda	38
Concentration of heavy metals in sediments in Lake Towada (fiscal 1997– fiscal 2012) Asuka Igarashi	43
Research on air pollution by analysis of water-soluble components using tape filters for SPM Takashi Iwama, Yusuke Matsukura, and Koji Yoneya	46
Evaluation based on new environmental standards for aircraft noise in Aomori Prefecture Yusuke Matsukura, Takashi Iwama, Naofumi Nozawa, and Koji Yoneya	50

III Summaries of Other Publications/

Abstracts of Presentations in Society Meetings	53
--	----

I 報 文

県内の散発サルモネラ症由来分離株の血清型別 (2010年～2012年)

福田 理 武沼浩子 三上稔之

2010年から2012年までに県内の細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査機関10機関で分離されたサルモネラ属菌について、血清型別試験及び薬剤感受性試験を行った。最も多く検出された血清型 *Salmonella*Typhimurium 14株を、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法を用いて比較した。

血清型別では、*S.Typhimurium* が最も多く、*S.Enteritidis*、*S.Infantis* が続いた。薬剤感受性試験では、Ampicillin (ABPC) 耐性株が約23%と2006年から2009年までと比較して耐性率が大きく上昇した。*S.Typhimurium* のPFGE解析では、90%以上の相同性を示す株が確認され、散発事例由来株の中にも疫学的関連性が示唆されるものも見られた。

Key Words : *Salmonella*, serotype, drug susceptibility, PFGE

1. はじめに

サルモネラ属菌は食中毒の原因細菌として知られ、急性胃腸炎症状を引き起こす¹⁾。わが国におけるサルモネラ属菌による食中毒は、事件数、患者数ともに2000年以降減少していたが、近年は患者数3000人前後で横ばいとなっている²⁾。

青森県環境保健センターでは、潜在的集団発生事例や集団発生の予兆を察知し、集団食中毒の未然防止を図るため、県内の10機関 (細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査機関；以下「定点機関」) の協力のもと、サルモネラ属菌株の提供を受け、血清型別等の試験を行っている。

定点機関でのサルモネラ属菌検出数は、2003年をピークに大きく減少し、2012年には過去11年間で最少の検出数 (19件) となった (図1)。しかしながら、2013年には第51週時点で38件と、2012年の2倍の検出数となっており、再び増加に転じたため、動向については継続して監視していく必要がある。

これらを踏まえ本稿では、近年本県で検出されたサルモネラ属菌の動向を把握するため、定点機関から収集した菌株について、血清型別試験、薬剤感受性試験を行ったので報告する。また、検出数の最も多かった *Salmonella*Typhimurium 14株について、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis; PFGE) 法による遺

伝子解析を行ったので、併せて報告する。

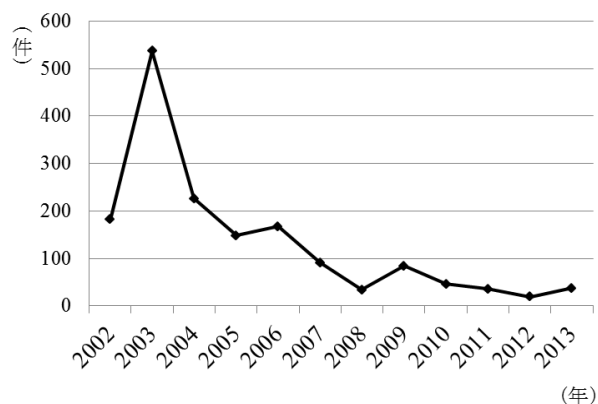


図1 定点機関におけるサルモネラ属菌の検出数の推移

2. 方法

2.1 定点機関

定点機関は、県内の細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査機関10機関である。地域別内訳は、青森市、弘前市、八戸市各2機関、五所川原市、十和田市、むつ市、野辺地町各1機関である。

2.2 菌株

2010年から2012年までに県内10定点から収集されたサルモネラ属菌株95株を用いた。

2.3 血清型別試験及び薬剤感受性試験

対象の95株について、血清型別試験（O群別、H型別）、薬剤感受性試験（Kirby-Bauer法）を実施した。

血清型別にはサルモネラ免疫血清『生研』（デンカ生研製）を用いた。

薬剤感受性試験は、センシ・ディスク（BD社製）を用いた。菌液はMcFarland濁度0.5に調整しMueller-Hinton Agar（MHA）培地に塗布、35℃、好氣的条件下で16～24時間培養した。薬剤はAmpicillin（ABPC）、Ceftazidime（CAZ）、Cefalotin（CET）、Cefepime（CFPM）、Cefoxitin（CFX）、Cefotaxime（CTX）、Fosfomycin（FOM）、Imipenem（IPM）、Kanamycin（KM）、Norfloxacin（NFLX）、Tetracycline（TC）の11種類を使用した。

2.4 PFGE法による遺伝子解析

2011年から2012年にかけて収集された*S.Typhimurium* 14株についてPFGEを行った。制限酵素は*Xba*Iを用い、プラグ用アガロースは1% Seakem Gold Agarose、PFGE装置はCHEF-DRIII（Bio-Rad社製）を用いた。電圧は6.0V/cm、パルスタイム2.2～54.2秒、電気泳動時間19時間、バッファー温度は14℃の条件で実施した。

PFGEパターンの解析には、Molecular Analyst Fingerprinting（Bio-Rad社製）を用いた。

3. 結果

3.1 血清型別試験

血清型別の結果を表1に示す。3年間の合計では、*S.Typhimurium*（21%：20/95）、*S.Enteritidis*（16%：15/95）、*S.Infantis*（14%：13/95）の順に多く、これら3つの型で全体の半分以上を占めた。*S.Agona*、*S.Bardo/Newport*、*S.Livingstone*は2010年、*S.Rissen*は2012年に、各々検出数が比較的多くなっていた。

3.2 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果を表2に示す。サルモネラ症に対して臨床的に有効性が認められているものはABPC、FOM及びニューキノロン系薬に限られるとされている¹⁾。ABPCの耐性率は、2010年14%、2011年35%、2012年22%であり、FOMやニューキノロン系のNFLXで耐性株がみられなかったのに対して、ABPCは耐性率が高かった。また、*S.Infantis*でABPC、CAZ、CET、CFX、TCの5剤に耐性を示す株が2株あった。

3.3 PFGE法による遺伝子解析

2011年から2012年にかけて分離された*S.Typhimurium* 14株について、PFGE法により遺伝子解析を行った結果を図2に示す。

相同性が90%以上のものを同一クラスターとし、14株は7つのクラスター（A～G）に分けられた。クラスターAは3株、クラスターBは6株からなり、クラスターC～Gは各1株であった。複数の菌株が含まれたクラスターAとクラスターBはともに、分離年月日で最も古いものから最も新しいものまでの期間が1年以上であった。

4. 考察

4.1 血清型

2010年～2012年の全国の検出数の集計³⁾と比較すると、本県では*S.Typhimurium*の検出率が高いことがわかる。2006年度における東北地方での調査結果においても、*S.Typhimurium*（16%）は*S.Enteritidis*（21%）に次いで2番目に多い血清型となっていることから⁴⁾、同時期の全国の検出数⁵⁾から見ても*S.Typhimurium*の検出率が高くなっている。これらのことから、近年*S.Typhimurium*は本県を含む東北地方で検出頻度が高い血清型であり、検出される血清型には地域性があると考えられる。

4.2 薬剤感受性

2006年から2009年までの分離株でのABPC耐性率は、10.6%であったが⁶⁾、本調査においてはABPC耐性が約23%（22/95）と耐性率が上昇していた。わが国の非チフス性のサルモネラのABPC耐性率は20～30%とされており¹⁾、本調査結果はこの範囲内ではあるが、前回調査と比較して大きく上昇していることから、今後も注視していく必要があると考える。

2株ではあるが5剤耐性の*S.Infantis*が検出された。これについては第3世代セフェム系のCAZに耐性を持つことから、今後耐性遺伝子の有無の確認を行うとともに、さらに広範囲の薬剤に対する耐性を持つ株について注視が必要である。

4.3 PFGE解析

散発事例として収集した株の中において、3株および6株からなるクラスターが存在し、感染源や感染経路が共通のものがあると考えられる。また、2011年に収集した菌株と2012年に収集した菌株が90%以上の相同性を示した例も確認され、

類似した遺伝子型の菌株が、1年以上の長期にわたって県内に潜在していたことが示唆された。

5. まとめ

- 1) 県内 10 定点機関で 2010 年～2012 年に分離されたサルモネラ属菌について、血清型別試験及び薬剤感受性試験を行った。
- 2) 血清型別試験により *S.Typhimurium* が全国に比して高い割合を示していた。
- 3) 薬剤感受性試験では、ABPC の耐性率が 2006 年～2009 年より上昇していた。
- 4) 2011 年～2012 年に分離された *S.Typhimurium* 14 株の PFGE 解析を行った。散発事例の中にも、90% を超える相同性を示す株が認められた。

謝 辞

菌株収集に御協力いただいた青森県立中央病院、青森市医師会臨床検査センター、弘前市医師会健診センター、弘前市立病院、八戸市医師会臨床検査センター、八戸市立市民病院、つがる西北五広域連合西北中央病院、十和田市立中央病院、一部事務組合下北医療センターむつ

総合病院、公立野辺地病院の細菌検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 田村和満: 感染症発生動向調査感染症週報, **6**, 5, 10-13, 2004
- 2) 厚生労働省: 食中毒統計調査, URL: <http://www.mhlw.go.jp/toukei/list/112-1.html>
- 3) 国立感染症研究所: 上位 15 サルモネラ血清型、由来ヒト (地研・保健所)、2009～2013 年, IASR, URL: <https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data81j.pdf>
- 4) 八柳潤ほか: 病原微生物検出情報月報, **29**, 6, 164-166, 2008
- 5) 国立感染症研究所: Fifteen most common *Salmonellaserovars* from human sources in Japan, 2005-2009, IASR, URL: <http://idsc.nih.gov.jp/iasr/virus/graph/salm0509.pdf>
- 6) 和栗敦ほか: 青森県環境保健センター研究報告, **21**, 1-5, 2010

表 1 対象株の血清型別結果

	血清型名	2010	2011	2012	計
O4	Typhimurium	6	10	4	20
	Agona	5			5
	ParatyphiB	2	1		3
	Stanley	2	1		3
	I 4:i:-			2	2
	Saintpaul	1		1	2
	Derby		1		1
	Schwarzengrund		1		1
	Tsevie			1	1
O7	Infantis	4	8	1	13
	Rissen	1		5	6
	Livingstone	4			4
	Thompson	2	1	1	4
	Bareilly	2			2
	Montevideo		1		1
O8	Bardo/Newport	4			4
	Virginia/Muenchen	1	1		2
	Korbol/Nagoya		1		1
	UT	1			1
O9	Enteritidis	6	6	3	15
	Berta		1		1
	Panama/Houston		1		1
O13	Poona/Farmsen	2			2
	計	43	34	18	95

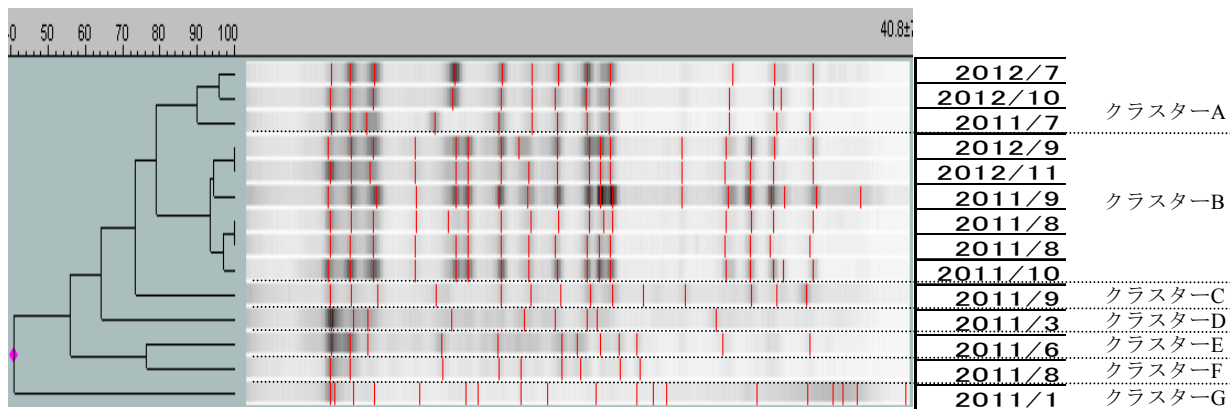


図2 2011～2012年の *S. Typhimurium* 14株のPFGE解析結果

表2 対象株の薬剤耐性の状況

薬剤名	2010(43)		2011(34)		2012(18)	
	耐性株の血清型と株数	合計(耐性率)	耐性株の血清型と株数	合計(耐性率)	耐性株の血清型と株数	合計(耐性率)
ABPC	Typhimurium 4 Stanley 1 Infantis 1	6(14%)	Typhimurium 8 Infantis 2 Panama/Houston 1 Stanley 1	12(35%)	Typhimurium 2 I 4:i:1,2 2	4(22%)
CAZ			Infantis 2	2(6%)		
CET			Typhimurium 4 Infantis 2 Stanley 1 Korbol/Nagoya 1	8(24%)		
CFPM						
CFX			Infantis 2	2(6%)		
CTX			Infantis 2 Typhimurium 1	3(9%)		
FOM	Agona 1	1(2%)				
IPM						
KM	Infantis 1	1(2%)	Infantis 1 Schwarzengrund 1 Korbol/Nagoya 1 Enteritidis 1	4(12%)		
NFLX						
TC	Typhimurium 4 Bardo/Newport 4 Infantis 3 Stanley 1	12(28%)	Typhimurium 9 Infantis 6 Panama/Houston 1 Schwarzengrund 1 Stanley 1 Thompson 1 Korbol/Nagoya 1	20(59%)	Typhimurium 2 I 4:i:1,2 2 Infantis 1 Tsevie 1	6(33%)

Serotyping of isolates obtained from sporadic salmonellosis cases in Aomori Prefecture(2010–2012)

Osamu Fukuda, Hiroko Takenuma, and Toshiyuki Mikami

We performed serotyping and drug susceptibility tests of *Salmonella* strains isolated from 10 medical institutions and clinical laboratories in Aomori Prefecture, where bacterial tests could be performed, between 2010 and 2012. The most common serotype was *Salmonella* Typhimurium, and we compared 14 strains using pulsed-field gel electrophoresis (PFGE).

The most common serotype was *S. Typhimurium*, followed by *S. Enteritidis* and *S. Infantis*. Results from the drug susceptibility tests demonstrated that ampicillin (ABPC)-resistant strains accounted for approximately 23% of all strains, and the rate of resistance increased greatly compared with that reported between 2006 and 2009. PFGE analysis of *S. Typhimurium* identified PFGE patterns of strains with 90% or more homology, suggesting a potential epidemiological association between strains isolated from sporadic cases.

Key Words: *Salmonella*, serotype, drug susceptibility, PFGE

青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向（2010-2012）と 菌株のPFGE, IS-printingによる解析及び薬剤耐性の検討

武沼浩子 福田 理 三上稔之

2012年は、血清型別 O157 による集団感染症が 2 事例発生したことから血清型内訳では、2010 年同様、O157 が最も多い割合となった。2011 年は O26 が最も多くその他 O111、O91、O37、O121 が検出された。2010 年から 2012 年まで腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic E.coli 以下 EHEC）感染症の発生時期は、7 月～8 月が最も多かった。患者は、いずれの年次も女性の割合が多く、年齢別では 9 歳以下が多い傾向にあった。2012 年に発生した EHEC 血清型 O157 による集団事例では、PFGE 解析結果と IS-printing system（以下 IS 法）による解析結果は概ね一致した。薬剤感受性試験で実施した 50 株は CPDX、CAZ、CTX、IPM の 4 薬剤にすべて感受性であった。

Key Words : EHEC,O157, IS-printing System, PFGE, ESBL

1. はじめに

2012年の青森県におけるEHEC感染症届出数は、過去3年間の中で最も多い68人であった。

EHEC感染症は、感染症法において3類全数報告対象疾患であり、ベロ毒素を産生するEHECの感染によって起こる全身性疾患である。臨床症状は、腹痛、水様性下痢および血便であり、嘔吐や高熱を伴うこともある。さらにベロ毒素の作用により溶血性貧血、急性腎不全を来し、溶血性尿毒症症候群(Hemolytic Uremic Syndrome, HUS)を引き起こし、小児や高齢者では痙攣、昏睡、脳症などによって致命症となることがある¹⁾。

EHECの分子疫学解析にはPFGE解析がパルスネットとして全国的にデータの共有化が進んでいるが、解析に日数を要するため迅速性に欠けることに加え操作が煩雑である²⁾。IS法は、宮崎大学・林哲也教授らのグループにより近年開発された方法であり、EHECO157のゲノム中に分布する32箇所Insertion Sequence (IS)と病原因子(eae、hlyA、stx1、stx2)の合計36箇所をmultiplex PCR法により検出するため、数時間で結果の判定ができ、手技も比較的簡便な解析方法である³⁾。

また、大腸菌に関しては、第三セフェム系薬剤を分解する基質拡張型β-ラクタマーゼ(Extended Spectrum beta(β) Lactamase 以下ESBL)を産生するグラム陰性桿菌が増加しつつあり多剤耐性菌の存

在が問題となっている⁴⁾。

2. 目的

2012年に県内で発生したEHEC感染症由来菌株の血清型別ではO157が9割以上で、そのうちの7割が集団2事例によるものであった。

EHECによる食中毒や集団感染症は本県では2002年から2011年までは発生していないが、2010年は散発患者からのO157の検出が多かったことから、今回、2010年から2012年までのEHEC感染症の血清型別の動向解析と2012年のEHEC(O157)集団感染症事例由来菌株をPFGEとIS法による解析を行うとともに、O157菌株の薬剤感受性について検討したので併せて報告する。

3. 集団2事例の概要

事例1は、2012年8月に県内某飲食店において釜飯を喫食した2名のEHEC(O157:H7:VT1VT2)感染症の発生届から発した。その後同飲食店を利用した客およびその家族から合計14人の患者が発症し集団食中毒となった⁵⁾。本事例では、発症した1名を除く調理従事者、施設のふき取り、残置食品についてはO157すべて陰性であり原因食品の特定には至らなかった。

事例2は、10月に某幼稚園において腹痛、血便、下痢、嘔吐、発熱の症状を呈した患児2名を

初発とした合計29名の集団感染症事例であった⁶⁾。本事例は、保健所が行った疫学調査から初発の2名の園児は異なるクラスであり、EHECが分離された園児は4クラスのうち3クラスに散在していた。同園では、トイレの手拭きタオルを共用、クラスを越えての接触の機会が多かった。また、本事例では、HUS発症者は認められなかった。

4. 方法

4.1 菌株

青森県内でEHEC感染症の発生届があり、当センターに収集された62株を用いた。また、集団食中毒の原因施設で飲食した後、他県で発症した患者の菌株(1株)を用いた。

4.2 PFGE法による遺伝子解析

PFGEは、2012年に届出のあったEHEC患者由来菌株44株を用いた。制限酵素はXbaIを用い、プラグ用アガロースは1% Seakem Gold Agarose、PFGE装置はBio-Rad社 CHEF DRIII、電気泳動は6.0V、2.2~54.2sec、19hr、buffer 0.5×TBE、バッファー温度は14℃の条件により実施した。

4.3 IS法による解析

集団事例EHEC(O157)患者由来菌株42株を用い、IS printing System(東洋紡)キットは、使用方法に準じ、滅菌蒸留水9μL、1stまたは2nd set Primer Mix 2.5μL、2×IS printing Master Mix 12.5μL、Template DNA 1μLの計25μLで行った。

PCRは96℃2分の後、熱変性96℃20秒、アニーリング64℃30秒、伸長反応68℃1分を1サイクルとして20サイクルを行った。電気泳動は、2.5% NuSieve3:1アガロース、0.5×TBEバッファーでサブマリン型電気泳動装置を用いた。電圧、泳動時間は、100V、90分で行った。判定は、増幅産物の有無を目視で確認し、有りの場合は1、無しの場合は0として算出した(表4)。また、IS法の結果は、福岡県保健環境研究所江藤の方法IS-printing Analyzer O157 Ver2.2ソフトを使用し、コード変換により解析した。図1には、IS法の泳動像の一例を示した。

4.4 血清型別

血清型別は病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を使用し、O型別、H型別を行った。

1stセット

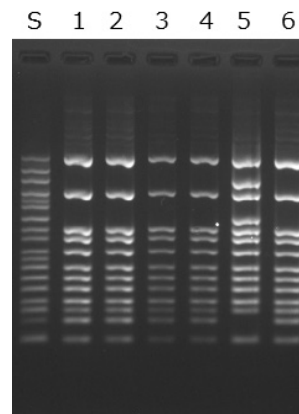


図1 ISプリンティングの泳動像

S: 標準DNA

レーン1~6: EHEC(O157株)

4.5 薬剤感受性試験

収集した62株のうち、HUS発症例(疑い含む)由来2株および血便由来23株、その他症状(腹痛、発熱、嘔吐、下痢)を呈した患者由来25株の計50株について行った。薬剤感受性試験は、NCCLS法の規格に準拠した一濃度ディスク法(Kirby-Bauer法:BD社製)によってESBLスクリーニング方法¹²⁾を行った。菌液はMacFarland0.5に調整しMueller-Hinton agar(MHA)培地に塗布、35℃、好氣的条件下で16~24時間培養した。供試薬剤は、第三セフェム系のCefpodoxime(CPDX)、Ceftadizime(CAZ)、Cefotaxime(CTX)、カルパペネム系Imipenem(IPM)を使用した。

4.6 患者情報

感染症サーベイランスシステム(NESID)によりデータを収集し、集計を行った。

5. 結果及び考察

1)図2には、県内で発生した2010年から2012年までのEHECの血清型別の届出数を示した。

届出数は2010年ではO157が93.75%(15/16)、O26が6.25%(1/16)であった。2011年では、2月から3月および7月から8月の集団発生によりO26が最も多い45.84%(11/24)であり、次いでO157が29.17%(7/24)、O91とO121が8.33%(2/24)で、O111とO37が4.12%(1/24)であった。2012年は、8月に発生した集団食中毒事例(14人)と10月に幼稚園で発生した集団感染症事例(29人)

を含む合計 68 人の届出があり、O157 が 93%、次いで O26、O91、O156、O25 の 4 型はいずれも 3% 未満であった。

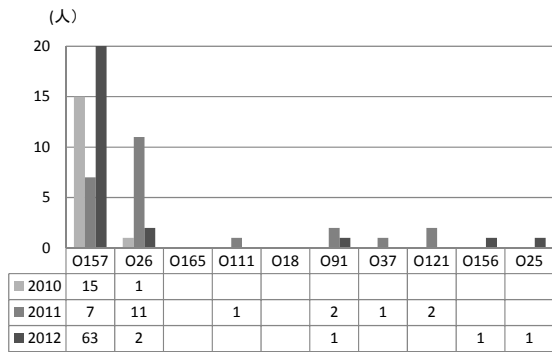


図 2 EHEC 血清型別届出数 (2010-2012)

2)図 3 には、県内で発生した 2010 年から 2012 年までの EHEC の月別年別発生状況を示した。

2010 年と 2011 年の月別発生状況は、8 月をピークに 7 月から 10 月にかけて発生が認められ、また 1 月から 3 月の冬季にも少数の発生が見られた。2012 年は、8 月に集団食中毒 (14 人) および 10 月に集団感染症 (29 人) が発生したことから 2 つのピークが見られた。

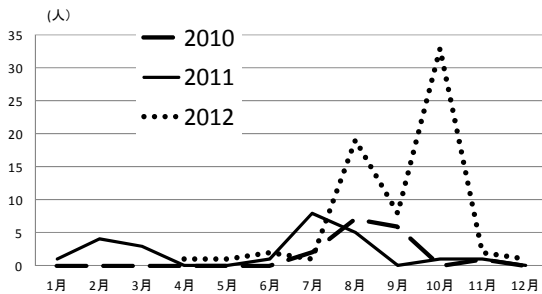


図 3 EHEC 月別年別発生状況 (2010-2012)

3)表 1 には、県内で発生した 2010 年から 2012 年までの年齢・性別割合を示した。いずれの年次も 9 歳以下の年齢層が多く、性別では女性の割合がやや多い傾向にあった。

表 1 年齢別性別割合 (2010-2012)

年齢	2010			2011			2012		
	男	女	合計	男	女	合計	男	女	合計
0-9	1	2	3	5	5	10	15	13	28
10-19	1	2	3	2	0	2	9	3	12
20-29	2	2	4	1	2	3	1	5	6
30-39	1	0	1	1	1	2	3	4	7
40-49	0	0	0	1	0	1	0	0	0
50-59	0	2	2	0	0	0	0	5	5
60-69	1	0	1	0	2	2	3	3	6
70-79	0	2	2	0	1	1	1	2	3
80~	0	0	0	1	2	3	0	1	1
合計	6	10	16	11	13	24	32	36	68

4)図 4 には、事例 1 の PFGE パターンを示した。別事例由来株であるレーン 10 を除く 13 株で比較を行った。13 株の中で、レーン 2 の 1 株が他の株と比較し 2 バンドの違いが見られたが、2 バンドの違いは同一のパターンとみなし 13 株はすべて同一の遺伝子パターンと判定した。

5)表 2、表 4 には、事例 1 の PFGE と IS 法の解析結果を示した。IS 法において、比較 13 株のうち 2 領域違い (株番号 12021) が 1 株、3 領域違いが 1 株見られた。2 箇所の違いは同一株とみなし PFGE と IS 法の解析から本事例から分離された 13 株は概ね同一株であることが確認された。

6)図 5 には、散発および事例 1 の PFGE パターンを示した。散発事例株の O157 : 4 株 (レーン 51~54) と事例 1 の集団食中毒事例由来株 (レーン 55,56) については、PFGE 解析を行い比較した結果、異なる遺伝子パターンであった。

7)図 6 には事例 2 の PFGE パターンを示した。28 株の中でレーン 17 の 1 株が他の株と比較し 3 バンドの違いが見られたが、3 バンドの違いは同一のパターンとみなし、28 株はすべて同一の遺伝子パターンと判定した。

8)表 3、表 4 には事例 2 の PFGE と IS 法の解析結果を示した。IS 法においては 36 箇所のうち 1~4 箇所で違いが見られたが、4 箇所の違いは同一の株とみなし、28 株はすべて類似の株とした。

9)PFGE と IS 法の解析から 2 事例における事例ごとの分離株はすべて類似株であることが確認された。

IS 法による解析は、従来の PFGE に比べ短時間で結果が得られ、O157 感染症の伝搬経路と推測する上で PFGE 同様有用な方法と思われた。

10)薬剤感受性については 50 株を用いて感受性試験を実施した結果、CPDX、CAZ、CTX、IPM の 4 薬剤に対して、すべて感受性で、ESBL は非産生であった。今後、ESBL を含めた薬剤耐性菌の状況把握のため、菌株の解析を更に実施する必要がある。

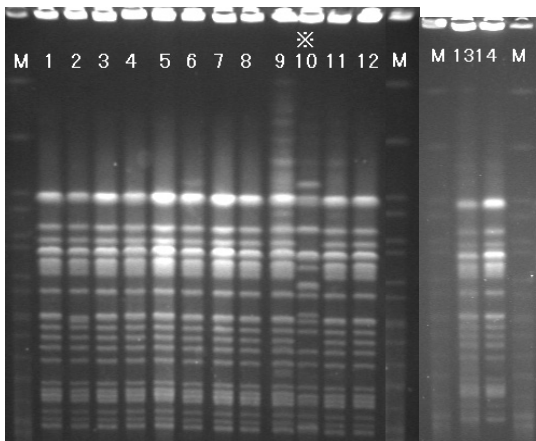
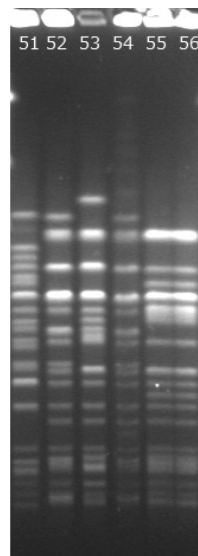


図4 事例1 PFGE パターン (0157:H7 VT1VT2)

M : サイズマーカー (*Salmonella* Braenderup)

レーン 1~9,11~14 : 菌株番号 12009~12024

レーン 10 : 12010 (別事例株)



レーン	事例	株番号	PRGE
51	散发	12006	e
52	散发	12007	f
53	散发	12008	g
54	散发	12020	h
55	事例1	12021	a
56	事例1	12022	a

図5 散发および事例1 PFGE パターン (0157:H7)

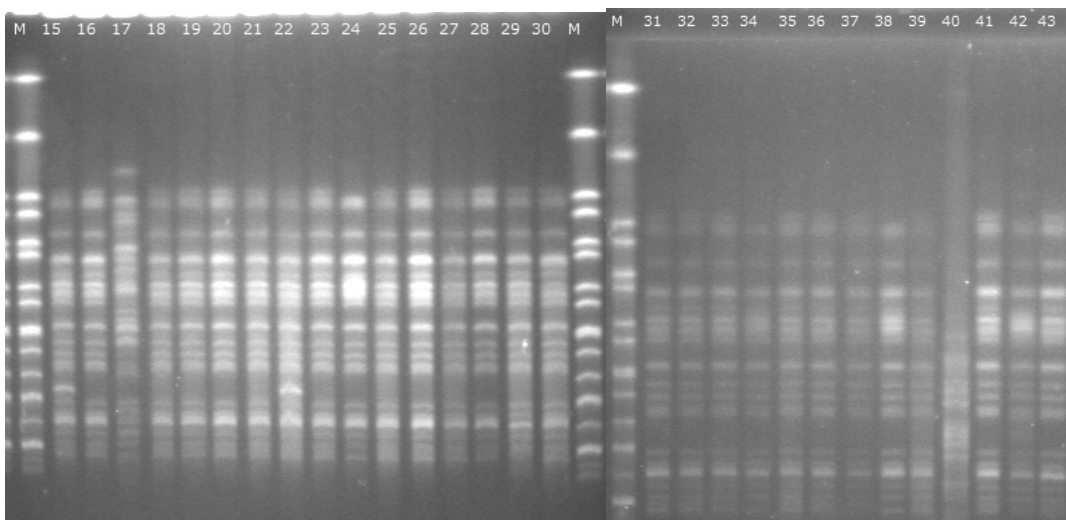


図6 事例2 PFGE パターン (0157:H- VT2)

M : サイズマーカー (*Salmonella* Braenderup)

レーン 15~43 : 菌株番号 12032~12059

表 2 事例 1 の PFGE と IS 法の解析結果

レーン番号	菌株番号	年齢	性別	保健所名	種別	症状	PFGE ^{※1}	IS型 ^{※2}	IS法の型(10進コード)
1	12009	34	女	五所川原	患者	腹痛、発熱、下痢、血便	a	A	66455337865
2	12010	29	女	五所川原	患者	腹痛、嘔吐、発熱、下痢、血便	a(2バンド相違)	A	66455337865
3	12011	59	女	五所川原	患者	腹痛、嘔吐、発熱、下痢、血便	a	A	66455337865
4	12012	13	女	五所川原	患者	腹痛、下痢、血便	a	A	66455337865
5	12013	11	男	五所川原	患者	腹痛、嘔吐、下痢、血便	a	A	66455337865
6	12016	7	女	五所川原	患者	腹痛、血便、発熱	a	Aと91.6%一致	36箇所中33箇所一致 65384741769
7	12017	60	男	五所川原	患者	腹痛、下痢	a	A	66455337865
8	12018	56	女	五所川原	患者	腹痛、下痢、血便	a	A	66455337865
9	12019	17	男	五所川原	患者	腹痛、下痢	a	A	66455337865
10	12020	別事例株						B	66455272397
11	12021	17	男	青森市	患者	腹痛、下痢	a	Aと94.4%一致	36箇所中34箇所一致 66322168713
12	12022	15	男	青森市	患者	腹痛、下痢	a	A	66455337865
13	12023	24	女	青森市	患者	腹痛、嘔吐、下痢	a	A	66455337865
14	12024	11	女	県外	患者	腹痛、下痢	a	A	66455337865

※1 PFGE:DNA泳動同一パターンを英小文字で、ISプリンティングパターンは英大文字で示した。

※2 ISパターンにおいて、100%一致パターンは、36箇所の一致であり大文字英字で示した。97.2%は35箇所が一致、94.4%は34箇所が一致。

表 3 事例 2 の PFGE と IS 法の解析結果

レーン番号	菌株番号	年齢	性別	保健所名	種別	症状	PFGE ^{※1}	IS型 ^{※2}	
15	12032	4	男	青森市	患者	腹痛、下痢、血便	c	C	
16	12033	3	女	青森市	患者	腹痛、嘔吐、発熱、下痢、血便	c	C	
17	12035	3	男	青森市	患者	腹痛、下痢	c(3バンド相違)	C	
18	12034	3	女	青森市	患者	下痢	c	C	
19	12036	5	男	青森市	患者	下痢	c	C	
20	12037	6	男	青森市	患者	発熱、軟便	c	C	
21	12039	27	女	青森市	患者	腹痛	c	C	
22	12038	28	女	青森市	患者	下痢	c	C	
23	12040	4	男	青森市	患者	下痢	c	C	
24	12041	6	女	青森市	保菌者	無症状	c	C	
25	12043	39	女	青森市	保菌者	無症状	c	C	
26	12042	6	男	青森市	保菌者	無症状	c	C	
27	12044	4	女	青森市	保菌者	無症状	c	C	
28	12045	5	女	青森市	患者	腹痛、下痢	c	C	
29	12047	4	女	青森市	患者	腹痛	c	Cと88.9%一致 36箇所中32箇所一致	
30	12046	5	男	青森市	患者	腹痛、下痢	c	Cと97.2%一致 36箇所中35箇所一致	
31	12048	4	男	青森市	患者	軟便	c	C	
32	12049	63	男	青森市	保菌者	なし	c	C	
33	12050	4	女	青森市	保菌者	なし	c	C	
34	12051	3	女	青森市	保菌者	なし	c	C	
35	12052	61	女	青森市	保菌者	なし	c	C	
36	12053	6	男	青森市	患者	水様性下痢	c	C	
37	12054	5	女	青森市	保菌者	なし	c	C	
38	12055	31	男	青森市	患者	腹痛	c	C	
39	12056	39	女	青森市	保菌者	なし	c	C	
40	該当外								
41	12057	5	男	青森市	患者	水様性下痢、軟便	c	C	
42	12058	6	男	青森市	患者	腹痛、水様性下痢	c	Cと97.2%一致 36箇所中35箇所一致	
43	12059	3	男	青森市	患者	軟便	c	C	

※1 PFGE:DNA泳動同一パターンを英小文字で、ISプリンティングパターンは英大文字で示した。

※2 ISパターンにおいて、100%一致パターンは、36箇所の一致であり大文字英字で示した。97.2%は35箇所が一致、94.4%は34箇所が一致。

6. まとめ

2012年は、O157による集団食中毒事例および感染症事例が発生したことから、血清型の内訳では、2010年同様、O157が最も多い割合となった。

2011年はO26が最も多くその他O111、O91、O37、O121が検出された。2010年から2012年までEHEC感染症の発生時期は、7月～8月に最も多かった。

患者は、いずれの年次も女性の割合が多く、年齢別では9歳以下が多い傾向にあった。

2012年に発生したEHEC血清型O157による集団事例では、PFGE解析結果とIS法による解析結果は概ね一致した。

薬剤感受性試験で実施した50株はCPDX、CAZ、CTX、IPMの4薬剤にすべて感受性であった。

文 献

- 1)濱崎祐子ほか：溶血性尿毒症症候群（HUS）治療に関する留意点,小児感染免疫 Vol.19 No.1 2007
- 2)清水俊一：腸管出血性大腸菌O157を用いたパルスフィールドゲル電気泳動システム（PFGE）とIS-printing system の比較検討.道衛研所報,59, 67-71,2009
- 3)大岡唯祐ほか：日本細菌雑誌,61,127,2006
- 4)山本剛ほか：多剤耐性菌を判別するための各種検査法とその注意点.日本臨床微生物学会 http://www.jscm.org/tazaitaisei/54_04-01.html
- 5)福田理ほか：-飲食店での O157:H7VT1&2 食中毒発生事例-青森県.病原微生物検出情報 IASR,34,130-131,2013
- 6)武沼浩子ほか：幼稚園での O157 : H-,VT2 集団発生事例.病原微生物検出情報 IASR,34,136-137,2013

Trends in enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Aomori Prefecture (2010–2012): PFGE and IS-printing system analyses of strains and evaluation of drug resistance

Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda, and Toshiyuki Mikami

Two outbreaks caused by serotype O157 occurred in 2012, and as in 2010, the serotype detected most frequently was O157. In 2011, the most common serotype was O26; and O111, O91, O37, and O121 were also detected. From 2010 to 2012, enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infection occurred most frequently between July and August. In each of the years, the infection developed more frequently in women than in men and occurred frequently in children aged ≤ 9 years. In the outbreaks caused by EHEC serotype O157 in 2012, the results of PFGE analysis were fairly consistent with those of IS-printing system (IS method). The results of drug susceptibility tests demonstrated that all 50 strains examined were susceptible to 4 drugs (CPDX, CAZ, CTX, and IPM).

Key Words: EHEC, O157, IS-printing system, PFGE, ESBL

青森県におけるヒトライノウイルスの分子疫学 (2012~2013)

筒井理華 東海林 彰 古川紗耶香 三上稔之

県内におけるヒトライノウイルス (Human Rhinovirus : 以下、HRV) の発生動向を把握するため、2012年4月から2013年3月までに医療機関を受診した小児呼吸器系患者検体から検出されたHRVについて、遺伝子解析により分子疫学的に検討を行った。HRVは主としてHRV genogroup A(HRV-A)およびgenogroup C(HRV-C)に分類された。HRVでは、HRV-Aは4月~8月、HRV-Cは4月~6月に多く、年間を通して散発的に検出され、各genogroup内の遺伝子解析から遺伝学的に多様な型が流行していた可能性が示唆された。

Key Words : Human Rhinovirus, Molecular epidemiology, Acute Respiratory Infections

1. はじめに

HRVは、急性呼吸器感染症 (Acute Respiratory Infections : ARIs) を引き起こす病原体の一つである。HRVは、100種類以上の血清型が存在し、HRV-A、HRV-B、HRV-Cの3種類のgenogroupに分類されている。

HRVは呼吸器ウイルス感染症で主に上気道炎症状を呈し、乳幼児において肺炎や気管支炎など下気道炎を起こし、重症化や喘息発作の悪化に関与するなど非常に注意を要する病原体ウイルスであることが報告されている^{1~3)}。

本研究では、感染症発生動向調査事業の病原体定点由来の急性呼吸器感染症検体から検出したHRV遺伝子解析により遺伝学的検討を行った。

2. 材料と方法

2.1 検査材料

2012年4月から2013年3月までに呼吸器症状を呈し病原体定点医療機関を外来受診あるいは入院小児患者から採取された咽頭ぬぐい液および鼻汁522検体を用いウイルス検索を行った。

2.2 検査方法

QIAamp Viral RNA Mini KitによりRNA抽出後、QIAGEN OneStep RT-PCR Kitを使用し、HRVの

VP4/VP2領域遺伝子をRT-PCR法により増幅した。増幅産物についてダイレクトシーケンス法による塩基配列解析を行い、Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)⁴⁾による系統樹解析を行った。

3. 結果

522検体中75検体75株(14.4%)が検出され、ダイレクトシーケンス法によりHRV genogroup A 38株、HRV genogroup B 7株、HRV genogroup C 30株と同定された。同定された75株中解析した33株(HRV genogroup A 17株、HRV genogroup B 1株、HRV genogroup C 15株)について、MEGA法による分子系統樹解析を行った結果、HRV genogroup A 17株は9のクラスター、HRV genogroup C 15株は9のクラスターにそれぞれ分類された。(図1)。検出株間の塩基配列の相同性は、HRV-A 17株では75.6~100%、HRV-C 15株では69.8~100%であった。患者年齢が0~13歳(1.7(±2.6)歳)、男女比は16/17であった。

HRV陽性33検体のうち、8検体から複数のウイルスが検出(RSV 5株、ヒトメタニューモウイルス1株、ヒトパラインフルエンザウイルス3型1株、ヒトボカウイルス1株)された。

症状別に見るとHRV-Aは上気道炎5名、細気管

支炎・気管支炎・肺炎を含む下気道炎 12 名、HRV-B は上気道炎 1 名、HRV-C は上気道炎 3 名、下気道炎 12 名の検体から検出された (表 1)。

HRV-A は 4~8 月、2 月に検出され、HRV-C は 4~5 月、11 月、1~3 月に概ね通年で検出された (図 2)。

4. 考察

解析を行った 33 株のうち、HRV-A は 4 月~8 月に多く検出され、HRV-C は 4~5 月に多く検出されたが、通年で散発的に検出されたことから、HRV-A および HRV-C は年間を通して混在して発生していたことが推測された。我々は、HRV は通年で発生し、HRV-A が主となり HRV-C と混在し発生していることを報告した⁵⁾。今年度の調査研究においても昨年度同様であることが確認された。

また、33 株の遺伝子解析では、HRV-A および HRV-C は各 9 のクラスターに分類され、遺伝学的に多様であり、昨年度の我々の報告と同様の傾向が示され、HRV-A および HRV-C は多様な genotype が存在し、感染が繰り返行われていることが示唆される。

HRV-A は、上気道炎 5 株、細気管支炎 6 株、気管支炎 4 株、肺炎 2 株、HRV-C は、上気道炎 3 株、細気管支炎 5 株、気管支炎 6 株、肺炎 1 株と様々な ARI から検出された。気管支炎や肺炎等下気道炎の検出状況を見ると、HRV-A 12 株 (12/17 : 70.6%)、HRV-C 12 株 (12/15 : 80%) が検出された。このようなことから、HRV-A および HRV-C は上気道炎等軽度のかぜ症状として知られているが一方では、本ウイルスについて、Mizuta ら⁶⁾の報告のように気管支炎や肺炎等多様な ARI に関与していることを考慮する必要がある。

今回、臨床症状情報から喘鳴の有無を確認することはできなかったが、Tsukagoshi ら¹⁾は喘息や

呼吸器感染症の憎悪に関与することを報告しており、ARI ウイルスについて、抗原性や人に対する病原性を視野に入れた調査研究が必要であると思われる。

5. まとめ

HRV 検出株の分子疫学解析成績から HRV は HRV-A および HRV-C が主に流行し、それらは遺伝学的に多様な株であったことから、今後も新たな変異を引き起こす可能性があり、引き続き解析していく必要がある。

文 献

- 1)Tsukagoshi et al. : Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma . *Frontiers in MICROBIOLOGY*. **4**, 278, 2013
- 2)Tregoning et al. : Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. *Clin. Microbiol. Rev.***23**, 74-98, 2010
- 3)Sigurs et al. : Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. *Am J Respir Crit Care Med*. **161**, 1501-1507, 2000
- 4)Tamura et al. : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods . *Mol Biol Evol*, **28**, 2731-2739, 2011
- 5)筒井理華ほか : 青森県におけるヒトライノウイルス及び RS ウイルスの遺伝子学的検討. 青森県環境保健センター研究報告, **23**, 12-18, 2012
- 6)Mizuta et al : Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan. *Virus Research*. **147**, 265-274, 2010

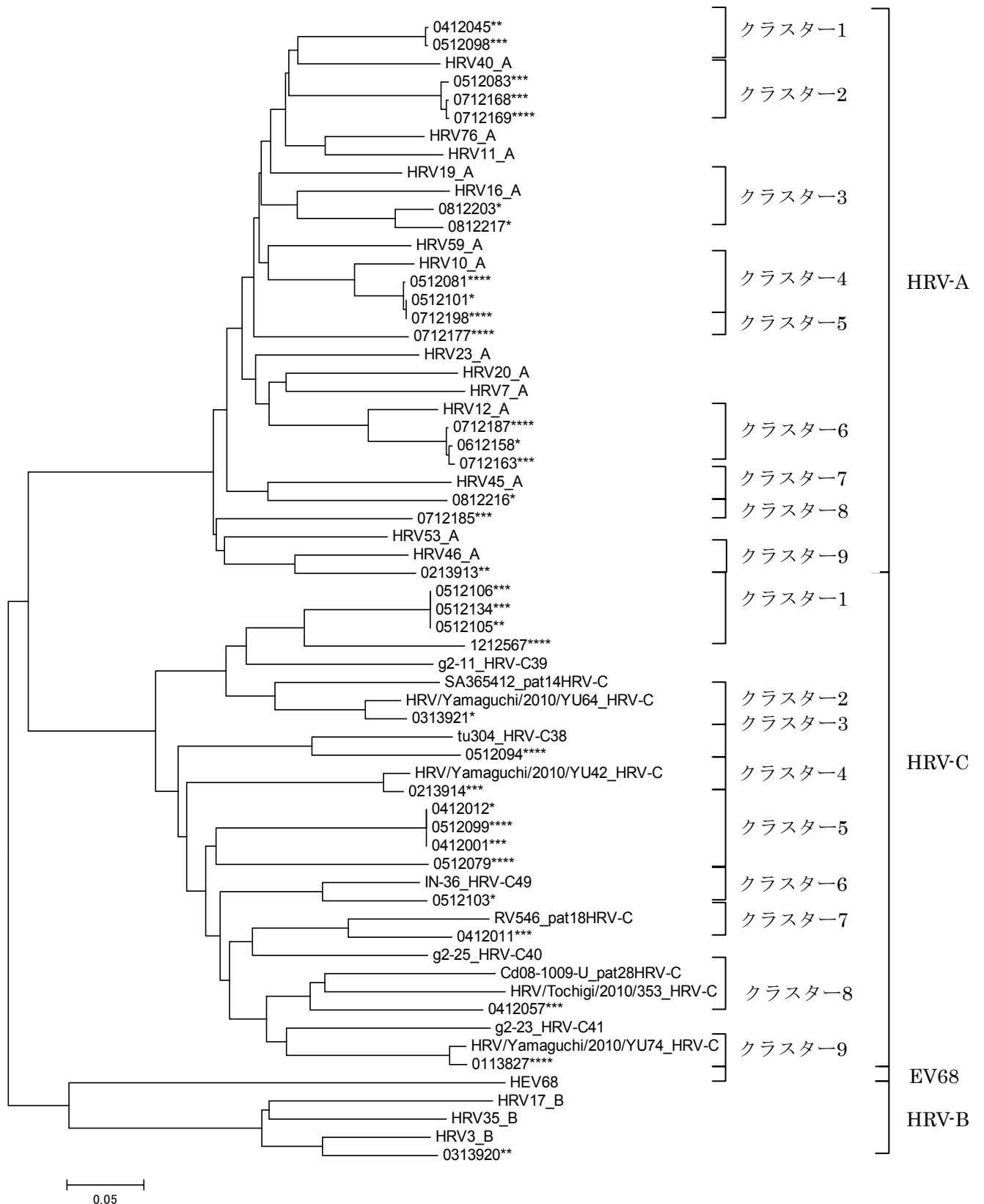


図1 HRV (VP4/VP2遺伝子 (HRV-A・B : 390nt、HRV-C : 384nt)) 分子系統樹

- * : 上気道炎
- ** : 細気管支炎
- *** : 気管支炎
- **** : 肺炎

表 1 HRV 検出結果

sub group	検出数	症状	株
HRV-A	17	上気道炎	5
		細気管支炎	6
		気管支炎	4
		肺炎	2
HRV-B	1	上気道炎	1
		細気管支炎	0
		気管支炎	0
		肺炎	0
HRV-C	15	上気道炎	3
		細気管支炎	5
		気管支炎	6
		肺炎	1

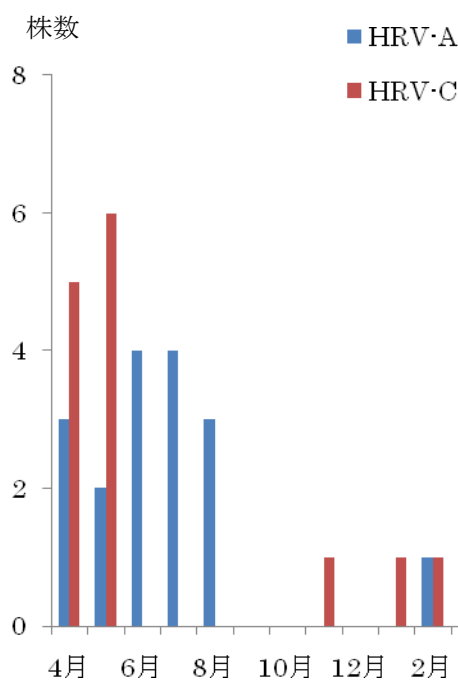


図 2 月別検出数

Molecular epidemiology of human rhinoviruses in Aomori Prefecture (2012–2013)

Rika Tsutsui, Akira Toukairin, Sayaka Kogawa, and Toshiyuki Mikami

To identify trends in human rhinoviruses (HRVs) infection in Aomori Prefecture, we performed genetic and molecular epidemiological analyses of strains of HRVs detected in pediatric patients with respiratory diseases who presented to medical institutions between April 2012 and March 2013. HRVs were classified mainly into HRV genogroup A (HRV-A) and genogroup C (HRV-C). In HRVs, HRV-A and HRV-C were often detected between April and August and between April and June, respectively, and they were detected sporadically throughout the year. Genetic analysis of each genogroup suggested that genetically various strains had been prevalent.

Key Words: human rhinovirus, molecular epidemiology, acute respiratory infections

ノロウイルスによる集団胃腸炎事例の遺伝子学的解析 (2012/13 シーズン)

東海林 彰 筒井理華 古川紗耶香 三上稔之

2012/13 シーズンに発生したノロウイルス(NoV)による集団胃腸炎事例 26 事例について、遺伝子解析を行った結果 Genogroup I (G I) が 1 事例から、Genogroup II (G II) が 21 事例から検出され、G I と G II の両遺伝子が検出されたものが 4 事例あった。遺伝子型では、G II/4 が最も多く 19 事例から検出され、G II/2 の検出事例が多かった 2011/12 シーズンとは異なる傾向を示した。26 事例中、食中毒と行政判断がなされたものは 7 事例あり、そのうち調理従事者から NoV が検出された事例は 6 事例で、患者から検出された NoV の遺伝子型と一致していた。2012 年には従来の G II/4 変異株とは異なる G II/4:2012 変異株の発生が報告されており、その発生動向が注目されていた。G II/4:2012 変異株は、2012 年 10 月以降全国の集団発生等から検出され、急速に活動を活性化していることが報告されており、本県においても 2012/13 シーズンに発生した NoV による集団胃腸炎事例の多くが G II/4:2012 変異株によるものであった。

Key words : Norovirus, G II/4:2012variant, Molecular epidemiology

1. はじめに

ノロウイルス (Norovirus、以下 NoV) は、電子顕微鏡で観察される形態学的分類で SRSV (小型球形構造ウイルス)、あるいはノーウォーク様ウイルスという属名で呼ばれてきたウイルスであり、2002 年の国際ウイルス命名委員会 (ICTV) でノロウイルスという正式名称が決定され、世界で統一して用いられるようになった¹⁾。

NoV は、ウイルス性胃腸炎の主要な病原体となる RNA ウイルスで、大きく genogroup (G) I ~ V に分けられ、G I と G II が主に人に感染し、少なくとも G I は 15、G II は 19 の遺伝子型が存在する²⁾。NoV は人に対して嘔吐、下痢などの急性胃腸炎症状を起こし、糞便および吐物中に大量に排出され、症状消失後も長期に糞便中への排泄が続き、手指や環境などを介して人→人感染を起こすほか、NoV で汚染された食品の摂取により食中毒が起こる³⁾。

青森県では、2006/07 シーズンから 2009/10 シーズンまで G II/4 が主流型であったが、2010/11 シーズン及び 2011/12 シーズンは G II/4 の検出数は減少し、G II/2 が最多で検出されている⁴⁾⁵⁾。今回、本県における 2012/13 シーズンの NoV による集団胃腸炎事例について、ウイルスの遺伝子解析を行い、発生動向

及び流行型等を分子疫学的に検討したので報告する。

2. 材料と方法

2.1 材料

2012/13 シーズンに県内 (青森市を除く) で発生した NoV による集団胃腸炎事例 17 事例から得られた 354 検体 (糞便 184、吐物 2、食品 53、ふきとり 115) を用いた (表 1)。また、青森市保健所から検査依頼及び情報提供を受けた 9 事例 (H25.11.30 現在で検体提供のあったもの) について cDNA 等の分与を受け、遺伝子解析に用いた (表 2)。

2.2 方法

1) 検体処理、RNA 抽出、PCR は、「ノロウイルスの検出法について」(平成 15 年 11 月 5 日付食安監発第 1105001 号) に準じて行った。

2) 遺伝子解析は、シーケンサー (ABI310) を用い、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、行った。

3. 結果

2012/13 シーズンに発生した集団胃腸炎事例の概要を表 1 及び表 2 に示した。NoV による集団胃腸炎

表1 青森県内（青森市保健所管内を除く）で発生したNoVによる集団胃腸炎事例(2012/13 シーズン)

事例番号	発生年月日	発生施設等	発症者数(職員)	喫食者数又は団体母数(職員)	糞便				吐物		食品		ふき取り		検査結果		
					発症者ほか		調理従事者		陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数		陽性数	検査数
					陽性数	検査数	陽性数	検査数									
1	H24.10.18	障害者支援施設	14(3)	84	2	3									GII/6		
2	H24.11.7	家庭	4	4	1	2									GII/4		
3	H24.11.6	保育園	57	82(16)	7	8	1	1			0	1			GII/6		
4	H24.11.20	ホテル等	18	不明	4	4	0	19			0	3	0	20	GII/4		
5	H24.12.3	保育園	14(2)	65(14)	2	7					0	5	0	6	GII/4		
6	H24.12.3	老人福祉施設	34(6)	不明	2	4	0	11			0	6	0	5	GII/4		
7	H24.12.16	飲食店	7	13	7	7	0	2			0	7	0	12	GII/4(発症者7名) GI/1(発症者1名)		
8	H24.12.23	老人福祉施設	18(2)	82	4	5	0	6			0	4			GII/4		
9	H24.12.27	障害者支援施設	28	140(54)	4	4									GI/6		
10*	H25.1.7	飲食店	4	不明	3	4									GII/4		
11*	H25.1.7	飲食店	0	不明			4	16					0	14	GII/4		
12	H25.1.18	飲食店	37	不明	8	8	2	7					0	10	GII/4 遺伝子解析不可能1名		
13	H25.1.24	飲食店	9	不明	10	11	3	7					0	13	GI/6(発症者1名、調理従事者1名) GI/7(調理従事者1名) GI/13(調理従事者1名) GII/2(発症者1名) GII/4(発症者6名、調理従事者1名) 遺伝子解析不可能3名		
14	H25.1.23	老人福祉施設	39(7)	180(87)	8	9	0	8			0	3	0	6	GI/6(発症者1名) GII/4(発症者7名) GII/11(発症者1名)		
15	H25.3.12	保育園	28(1)	120	3	3	0	4	0	2	0	18	0	5	GII/2		
16	H25.3.25	ホテル等	35	不明	12	12	2	5			0	6	0	14	GII/4		
17	H25.3.28	保育園	30(2)	69(13)	2	2									GII/2		
18	H25.4.11	飲食店	13	不明	3	3	2	2					0	10	GII/11		

表2 青森市保健所管内で発生したNoVによる集団胃腸炎事例(2012/13 シーズン)

事例番号	発生年月日	発生施設等	発症者数(職員)	喫食者数又は団体母数(職員)	糞便				吐物		食品		ふき取り		検査結果		
					発症者ほか		調理従事者		陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数		陽性数	検査数
					陽性数	検査数	陽性数	検査数									
a1	H24.10.17	飲食店	6	不明	5	5	2	2							GI/4(発症者1名、調理従事者1名) GII/13(発症者5名、調理従事者1名) 遺伝子解析不可能1名		
a2	H24.11.5	家庭	3	2	3	3									GII/4		
a3	H24.11.27	グループホーム	11(2)	17(8)	4	4									GII/4 遺伝子解析不可能1名		
a4	H24.11.27	保育園	16(4)	94(17)	4	4	0	3							GII/4 遺伝子解析不可能1名		
a5	H25.12.9	老人福祉施設	39(11)	不明	1	1	0	7							GII/4		
a6	H25.1.2	老人福祉施設	41	不明	4	4	5	10			0	9	0	6	GII/4		
a7	H25.1.8	障害者支援施設	17(4)	約100	1	1									GII/4		
a8	H25.3.21	ホテル等	22	71	1	1									GII/4		
a9	H25.3.15	老人福祉施設	不明	不明	1	1	0	2							GII/4		

表中の は、食中毒事例を示す。

※：事例番号10と11は発生場所が同一の事例。

事例は26事例で（事例番号10と11は同一事例）、食中毒と行政判断がなされたものは、7事例であった（表1：事例番号7、12、13、16、18、表2：a1、a6）。

検体からのNoV遺伝子検出では、発症者及び調理従事者便232検体中127検体からNoV遺伝子が検出されたが、吐物（2検体）、食品（62検体）及びふき取り（121検体）からは検出されなかった。

遺伝子群別では、GIが1事例、GIIが21事例、GIとGIIの混合事例が4事例であった。

上述の26事例について、126株（GI：7株、GII113株、GI及びGII：6株）のCapsid領域の塩基配列を決定し、系統樹を作成し、比較を試みた。複数の遺伝子型が確認された事例については、系統樹で事例番号に枝番を付し、系統ごとに検体数を表記した（図1、2）。

系統樹解析の結果、GIでは3事例（事例番号9、13、14）から検出された株がGI/6/AF093797Hesse（BS5）/98/DE類似株であった。また、事例番号7、13及びa1から検出された株は、それぞれGI/1/M87661Norwalk/68/US、GI/7/AJ277609Winchester/94/UKとGI/13/AB112132SaitamaT35aGI/01/JP及びGI/4/AB042808Chiba407/87/JP類似株に分類された。

GIIでは、19事例（事例番号2、4、5、6、7、8、10、11、12、13、14、16、a2、a3、a4、a5、a6、a7、a8、a9）から検出された株がGII/4/X76716Bristol/93/UK類似株であり、3事例（事例番号13、15、17）から検出された株はGII/2/X81879Melksham/89/UK類似株に分類され、2事例（1、3及び14、18）から検出された株は、それぞれGII/6/AB039776SaitamaU3/97/JP及びGII/11/AB112221SaitamaT29G2/01/JP類似株であった。その他にも事例番号a1から検出された株は、GII/13/AY130761M7/99/US類似株に分類された。また、19事例から検出されたGII/4は、すべてGII/4:2012変異株と同じクラスターに分類された。

4. 考察

2012/13シーズンに発生したNoVによる集団胃腸炎事例の遺伝子解析の結果、事例数ではGII/4が最も多く19事例から検出され、次いでGII/2、GI/6が3事例から検出された（図3、4）。本県における2011/12シーズンの遺伝子解析結果と比較すると、2011/12シーズンはGII/2が最多で検出されており⁵⁾、2011/12シーズンとは異なる傾向を示した。

全国における2012/13シーズンのウイルス検出状況を見ると、GIでは、GI/6の検出数が最も多くなっており、GIIでは、GII/4の検出数が群を抜いて多

く、主流を占めており、次いでGII/2とGII/13が同程度検出されている⁶⁾。本県におけるNoVの検出状況は全国の流行状況と同様の発生動向を示していた。

NoVの感染経路としては、便や吐物に接触した手を介する接触感染や、NoVに汚染された食品を介する感染がよく知られている。NoVの食品汚染による食中毒事例では、多数の患者が発生し、大規模な食中毒事例となる頻度が高いが、原因食品は推定できても食品からのNoV検出は困難なことが多い⁷⁾。2012/13シーズンの本県における集団胃腸炎事例においても食品及び拭き取り検体からNoVが検出された事例はなかった。平成25年10月22日付け食安監発1022第1号で、「ノロウイルスの検出法について」が一部改正され、一般食品からのウイルス濃縮法としてパンソルビン・トラップ法が追記された。糞便検体と違って、食品検体の場合は含まれるウイルス量が極めて少ないため、何らかの濃縮手段が必要であり、これまではポリエチレングリコール（PEG）沈殿法を用いてきたが、今後は通知にある新しい検査法の導入と高感度検査法について検討が必要と思われる。

2012年10月に新潟県の集団胃腸炎事例から検出されたNoVは、従来のGII/4変異株とは異なる変異株（GII/4:2012変異株）であることが報告され、発生動向が注目されていた⁸⁾。2012/13シーズンに県内で発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例19事例から検出されたGII/4は、全てこの変異株と同じクラスターに分類された。近年、GII/4は世界各地で流行し、多くの集団発生を引き起こしており、毎年ないし数年おきに新しい変異株が出現している⁹⁾。従来NoVは、国内においても検出される遺伝子型が必ずしも全国一様ではなく、地域で流行している株が集団感染や食中毒を起こしていると考えられていた⁹⁾。しかし、2003年以降、全国的にGII/4の検出数は増加しており、2006/07シーズンには爆発的に流行して大きく報道され、2012/13シーズンには、これに次ぐ大流行がみられた。特定の遺伝子型が継続して流行する背景には、遺伝子型がGII/4のNoVは他のNoVと比較して、変異を起こしやすいこと、結合できる組織血液型抗原の種類が多く、結合力も強いことが関係していると考えられている⁹⁾。本県においてもGII/4:2012変異株が全事例の70%以上から検出され、県内全域に広く蔓延していたことがうかがえる。

「ノロウイルスの食中毒対策について（平成19年10月12日食安発第1012001号）」の中では、食中毒の判断根拠を明確にすることが求められており、

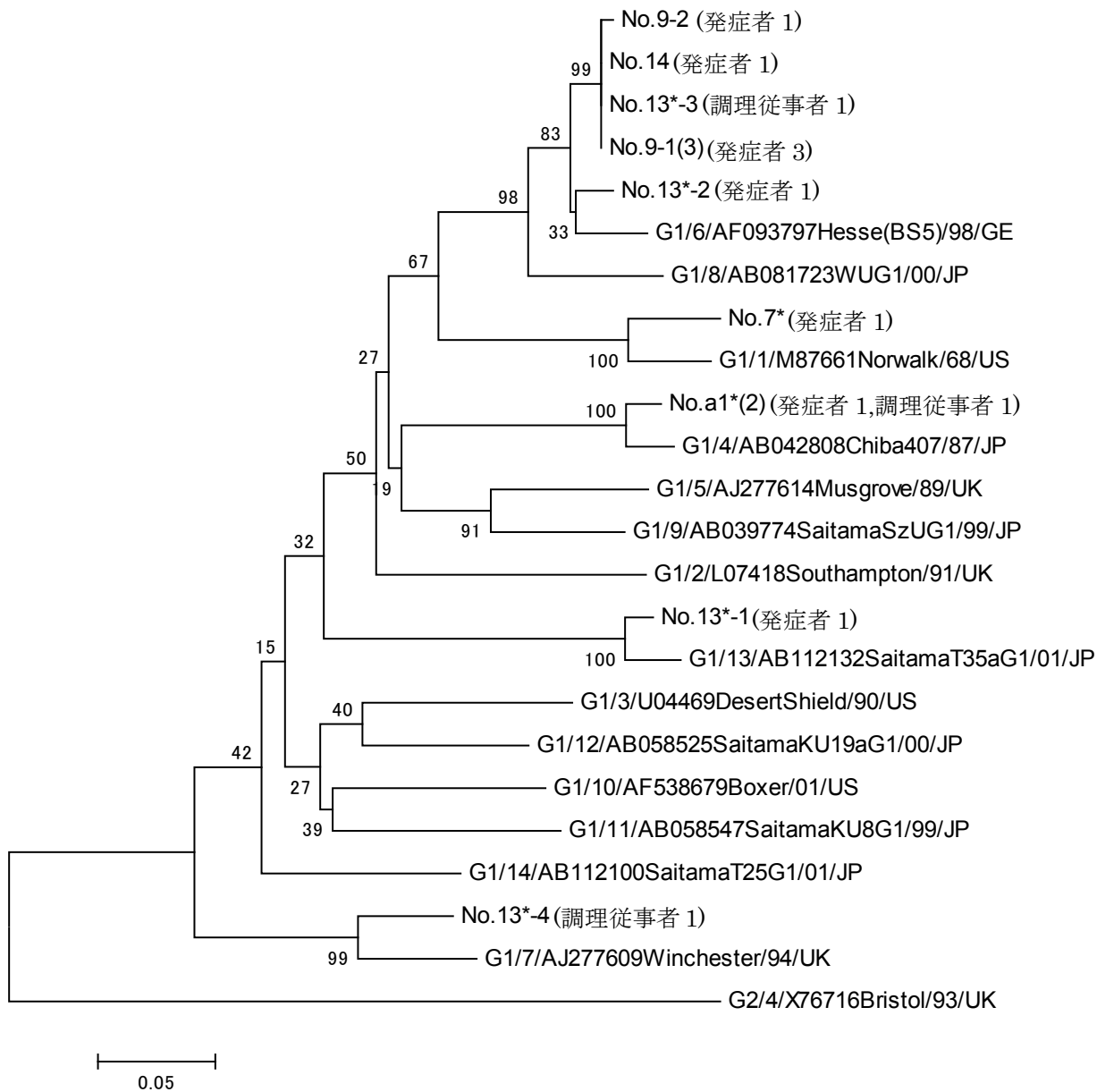


図1 2012/13 シーズン集団胃腸炎事例から検出された NoVG I (capsid 領域 260nt)系統樹(NJ 法、数字 : bootstrap 値(bootstrap1000 回)) * : 食中毒事例、数字 : 表 1 及び表 2 の事例番号、(数字) : 検体数

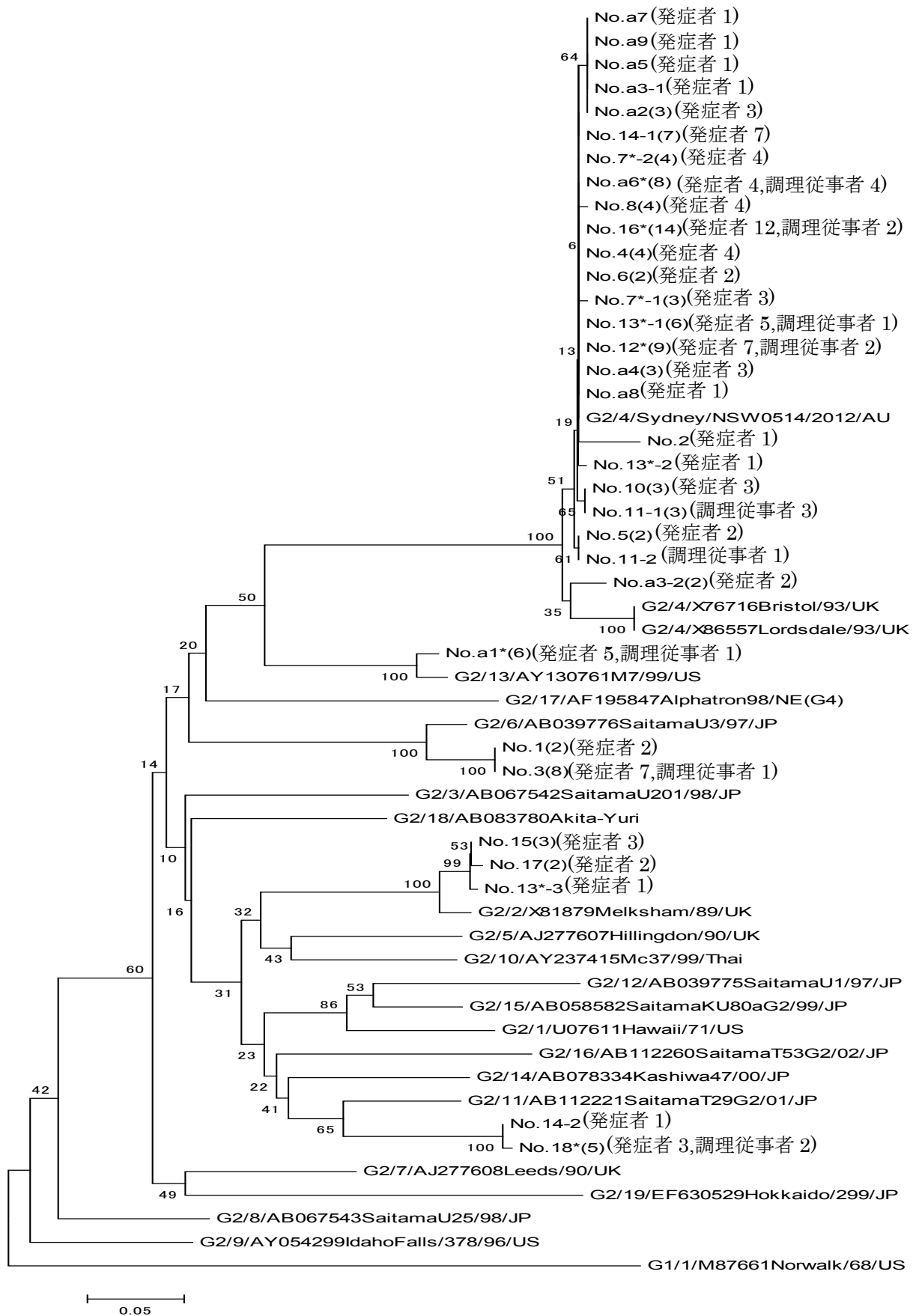


図2 2012/13 シーズン集団胃腸炎事例から検出された NoVG II (capsid 領域 260nt) 系統樹 (NJ 法、数字 : bootstrap 値 (bootstrap 1000 回)) * : 食中毒事例、数字 : 表 1 及び表 2 の事例番号、(数字) : 検体数

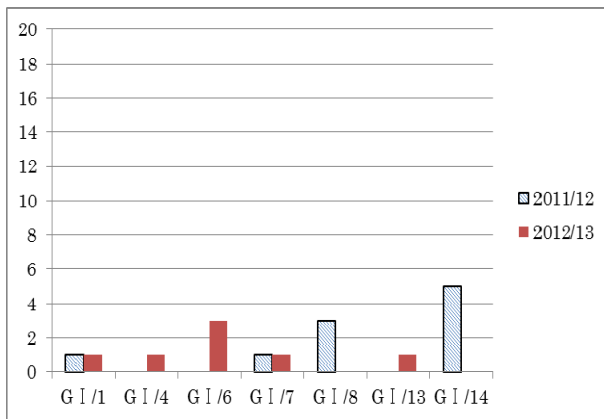


図3 2011/12 シーズンと 2012/13 シーズンの NoVG I 検出事例数

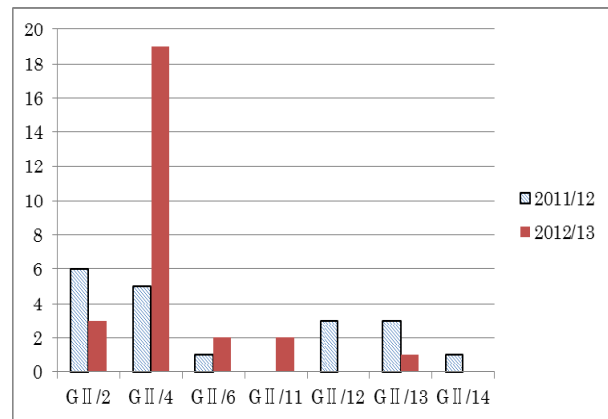


図4 2011/12 シーズンと 2012/13 シーズンの NoVG II 検出事例数

調理従事者から NoV が検出された場合においても、食中毒と判断する際は、患者と調理従事者の遺伝子型が同一であることが掲げられている。今回、遺伝子解析した事例の中にも、調理従事者から NoV が検出され、食中毒と判断された事例(事例番号 12、13、16、18、a1、a6)があり、それらの事例では調理従事者と患者の遺伝子型は一致していた。ただし、二枚貝のようにウイルスを蓄積する食品が原因となった食中毒の場合、1つの事例で複数の遺伝子型が検出される場合があり、食中毒であっても、患者と調理従事者の遺伝子型が一致しない場合があることに注意したい。また、2012/13 シーズンのように GII/4:2012 変異株が全国的に流行し、蔓延していた場合、患者と調理従事者の遺伝子型が一致していても感染源が同一とは限らない可能性も念頭において疫学調査を進める必要があると思われる。

5. まとめ

- 1)2012/13 シーズンに発生した NoV による集団胃腸炎事例は 26 事例で、遺伝子群別では、GI が 1 事例、GII が 21 事例、GI と GII の混合事例が 4 事例であった。
- 2)検出ウイルスの遺伝子型は、GII/4 が最も多く 19 事例から検出され、次いで GII/2、GI/6 が 3 事例から検出された。
- 3)食品及びふき取り検体から NoV が検出された事例はなかった。
- 4)集団胃腸炎事例のうち食中毒と行政判断された事例は 7 事例であり、そのうち調理従事者から NoV が検出された事例は 6 事例で、患者から検出された NoV の遺伝子型と一致していた。

5)2012/13 シーズンには従来の GII/4 変異株と異なる GII/4:2012 変異株が全国的に流行し、青森県においても全事例の 70%以上から検出された。

文 献

- 1)国立感染症研究所感染症疫学センター：感染症発生動向調査週報ノロウイルス感染症 2004 年第 11 号
- 2)国立感染症研究所感染症疫学センター：ノロウイルスの流行2006/07～2009/10シーズン. 病原微生物検出情報,**31**(11),312-314,2010
- 3)国立感染症研究所感染症疫学センター：ノロウイルス食中毒 2011 年現在. 病原微生物検出情報,**32**(12),352-353,2011
- 4)吉田綾子ほか：ウイルス性集団胃腸炎事例の発生動向 (2010/11シーズン) 青森県環境保健センター研究報告, **22**,1-10,2011
- 5)東海林彰ほか：2011/12シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例の遺伝子学的解析 青森県環境保健センター研究報告,**23**,5-11,2012
- 6)国立感染症研究所感染症疫学センター：ノロウイルス検出速報. 感染症疫学センターホームページ
- 7)国立感染症研究所感染症疫学センター：食品中からノロウイルス遺伝子が検出された食中毒事例. 病原微生物検出情報,**32**(12),364-365,2011
- 8)国立感染症研究所感染症疫学センター：ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況. 病原微生物検出情報, **33**(12), 333-334
- 9)国立医薬品食品衛生研究所：ノロウイルス遺伝子型 GII/4 の発生動向と特徴. 国立医薬品食品衛生研究所ホームページ

Gene analysis of Norovirus responsible for gastroenteritis outbreaks (season 2012/13)

Akira Toukairin, Rika Tsutsui, Sayaka Kogawa, and Toshiyuki Mikami

We performed gene analysis of 26 cases of gastroenteritis outbreaks due to Norovirus (NoV) in season 2012/13. Genogroup I (GI) was detected in 1 case, and Genogroup II (GII) was detected in 21 cases. Both GI and GII were detected in 4 cases. The most common genotype was GII/4, which was detected in 19 cases. This trend differed from that reported in season 2011/12, in which the common genotype detected was GII/2. Of 26 cases, 7 were considered by the regulatory yardstick to be due to food poisoning. In 6 of 7 cases, NoV were detected in cooking workers, and the genotype detected in cooking workers was the same as that detected in patients in each case. In 2012, a novel GII/4:2012 variant that is different from known GII/4 variants was reported, and attention has been paid to its prevalence. GII/4:2012 variants have been detected in outbreaks across the country since October 2012, and their rapid prevalence has been reported. In Aomori Prefecture, GII/4:2012 variants were also responsible for most cases of gastroenteritis outbreaks due to NoV in season 2012/2013.

Key Words: norovirus, GII.4:2012 variant, molecular epidemiology

青森県で発生した集団3事例から検出されたサポウイルスの遺伝子解析 (2012/13 シーズン)

古川紗耶香 筒井理華 東海林 彰 三上稔之

2012年12月～2013年3月(2012/13シーズン)に発生した集団3事例からサポウイルスが検出された。これらの遺伝子配列を決定し、系統樹解析を行った結果、修学旅行先(県外)で感染したものを含め、全て genotype はGI.2型であった。さらに、3つの事例の Capsid 領域の遺伝子配列は291塩基で100%一致し、当該株の全国的な流行が考えられた。

また、過去に青森県内で検出された散発及び集団事例の遺伝子解析より、シーズン毎に検出される genotype に偏りが見られた。GI.2型については、2009年以降県内では検出がなく、別の genotype が流行していたが、2012/13シーズンに再び県内で流行したと考えられる。

Key words : Sapovirus, Genogroup, Genotype, Phylogenic Tree, Molecular epidemiology

1. はじめに

サポウイルス(Sapovirus : SaV)は、カリシウイルス科サポウイルス属に属し、直径30～38 nm、約7500塩基の1本鎖(+)RNAウイルスである。現在のところ培養系は確立されておらず、検出は遺伝子検出を主とし、型別は遺伝子解析により genotype (genogroup : G)として決定している。

胃腸炎を引き起こすウイルスとして有名なノロウイルス(Norovirus : NV)とは同じカリシウイルス科に属し近縁で、症状も似ているが、SaVによる胃腸炎症状はNVよりも軽いと言われている。また、NVに比べ、食中毒などの集団胃腸炎感染事例の原因ウイルスとしての知名度は低いが、近年SaVによる集団胃腸炎事例の報告は全国的に増えてきている。

青森県でも2012/13シーズンにSaVによる集団感染性胃腸炎が3事例発生し、その遺伝子解析を行ったので報告する。さらに2006年以降、青森県で検出されたSaVの遺伝子配列と併せて比較し、青森県内の発生動向を分子疫学的に解析したので併せて報告する。

2. 材料と方法

2.1 検査材料

上北地域県民局地域健康福祉部保健総室(上十三保健所)管内、東青地域県民局地域健康福祉部 保健

総室(東地方保健所)及び青森市保健所管内で発生した集団発生3事例の胃腸炎患者の糞便20検体を用いて検査を実施し、そのうち15検体について遺伝子解析を行った。

2.2 遺伝子解析

(1) ウイルスRNAの抽出・cDNA合成

「ノロウイルスの検出法について」(平成15年11月5日付食安監発第1105001号)に準じて行った。

(2) SaV 遺伝子の検出(RT-PCR法)

SaV、アストロウイルス multiplex PCRについて、プライマーはYanら¹⁾の方法により調整し(サポウイルス:SLV5317、SLV5749:434 bp、アストロウイルス:PreCAP1、82b:719 bp)、増幅はEx Taq(Takara)を用い、熱加熱94℃3分、ついで熱変性94℃30秒、アニーリング55℃30秒、伸長反応72℃1分で35回繰り返す、最後に伸長反応72℃15分の反応条件で行った。

(3) 遺伝子解析

得られたPCR産物をQIAquick PCR Purification Kit(QIAGEN)により精製し、蛍光標識には、BigDye Terminator Kit(ABI PRISM)を用い、オートシーケンサーはABI PRISM 310(Applied Biosystems)を使用し、ダイレクトシーケンス法によりCapsid領域の塩基配列を決定した。

表 1 2012/13 シーズンの SaV 集団事例

	事例(1)	事例(2)	事例(3)
検体採取日	2012.12.9～12.10	2013.1.17～1.21	2013.3.13～3.14
原因施設	旅館（県外）	知的障害者施設	療養所
事例の種類	食中毒	感染症	感染症
発症者数	生徒 194 名中 56 名 教員 11 名中 4 名 添乗員 4 名中 1 名 看護師 1 名中 0 名 カメラマン 1 名中 0 名	入所者約 90 名中 25 名 職員約 60 名中 4 名	入所者 114 名中 24 名 職員 246 名中 1 名
検体提供者年齢	16～32 歳	25～70 歳	79～91 歳
陽性数/検査数	9/10※ （※青森県検査分）	4/7	2/3

系統樹作成には MEGA²⁾ というソフトウェアの ver.5.2 を使用した。Clustal W でアライメントを行い、Analysis Preferences は Kimura 2-parameter model、bootstrap 1000 回を選択し、NJ(Neighbor-joining)法で系統樹を作成した。

標準株情報は、カリシウイルス情報サイト Calici web (<http://teine.cc.sapmed.ac.jp/~calicinew/>) より取得した「サポウイルス系統樹作成用標準株の塩基配列（VP1 領域完全長）」を用いた。また 2006/07～2008/09 シーズンに県内で発生した事例の遺伝子配列は、文献 3) で発表されたものを使用した。2009/10 シーズン以降の事例（表 4）は同様の方法で SaV を検出し、得られた遺伝子配列を使用した。

3. 事例概要

3.1 事例(1)

事例(1)は、上十三保健所管内の高校生が 2012 年 12 月 4 日より西日本に修学旅行へ赴き、K 市内の旅館 U の食事で SaV に感染したと考えられる食中毒事例である。修学旅行の行程は表 2 に示したように、4 日目に O 市内の救急診療所を生徒 8 名が受診し、診察した医師より O 市保健所に届出がされ、調査が開始された。修学旅行の参加人数 211 名と発症者数 61 名は表 1 のとおりである。

高校関係者便は O 市保健所で 17 検体、青森県環境保健センターで 10 検体を検査し、K 市衛生研究所では旅館 U の残置食・ふき取り・調理従事者検便が検査された（表 3）。

3.2 事例(2)

事例(2)は東地方保健所管内の知的障害者施設で

表 2 事例(1) 修学旅行の行程

	日付	備考	宿泊
1 日目	12/4	高校→K 市観光	K 市旅館 U
2 日目	12/5	K 市→N 県観光→K 市	K 市旅館 U
3 日目	12/6	自由行動	K 市旅館 U
4 日目	12/7	K 市→O 市テーマパーク観光 ※生徒 8 名が O 市医療機関受診	O 市ホテル H
5 日目	12/8	O 市観光→帰省	—

表 3 事例(1)の検体

検査機関	備考	検体の種類	SaV 陽性数 / 検体数
O 市	高校関係者	検便	16/17
K 市	旅館 U	食品	0/20
	旅館 U	ふき取り	0/6
	旅館 U 調理従事者	検便	1/2
青森県	高校関係者	検便	9/10

O 市：O 市保健所

K 市：K 市衛生研究所

青森県：当所

発生した感染症疑い事例である。2013 年 1 月 6 日に男性入所者が発症し、施設側はすぐに男子棟と女子棟の入所者の往来を禁止し、発症者・男性入所者・女性入所者の食事場所の隔離を行った。しかし、職員や女性入所者にも感染が広まり、発症は 1 月 20 日まで続き、発症者は合計で 29 名となった（表 1、図 1）。この事例では調理従事者の発症は報告されていない。

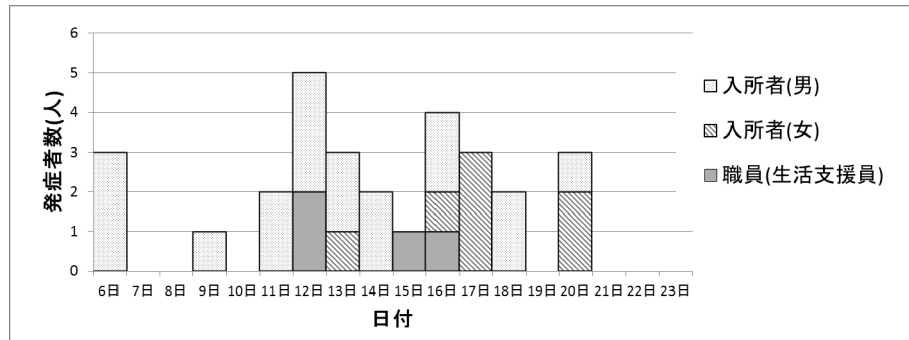


図1 事例(2)における発症者の発生状況

3.3 事例(3)

事例(3)は青森市保健所管内の療養所で発生した感染症疑い事例である。2013年3月6日に初発患者が発症し、合計で入所者24名と職員1名が発症した(表1)。青森市保健所でNV検査とロタウイルスの検査を行ったが陰性であったため、当所に3検体のSaV検査が依頼された。

4. 結果

4.1 SV 検索結果

事例(1)~(3)について、RT-PCR法によりウイルス検索を行ったところ、合計20検体のうち、事例(1)は9検体、事例(2)は4検体、事例(3)は2検体がSaV陽性であった(表1)。残る5件はウイルス陰性であった。

なお、事例(1)はO市・K市における検査でもSaVが検出された(表3)。

4.2 SV 遺伝子解析結果

検出された事例(1)~(3)15検体由来のSaVについて、シーケンスを行い、Capsid領域の遺伝子配列を解析した。その結果、事例(1)の9検体は337bpで、事例(2)の4検体は268bp、事例(3)の2検体は364bpでそれぞれ配列が一致した。事例(1)については、O市から遺伝子解析結果の提供を受け、比較したところ当所の結果と一致した。

事例(1)~(3)SaV配列を、標準株とともに系統樹を作製したところ、全てSaVGI.2型であった。そこで3事例の遺伝子配列の比較を行ったところ、Capsid領域の333bpの長さで配列が全て一致した(図2)。また、県内で2006年から2012年までに検出されたGI.2検出株³⁾との比較では、5株中2008/09シーズンの1株が1塩基異なっていた。(図2)。

2006年~2012年までに県内で検出したSaV遺伝子と比較を行うため、事例(1)~(3)と、2006/07~

2008/09シーズン検出株³⁾と、2009/10シーズン~2012/13シーズンに検出した3株(表4)も合わせて系統樹解析を行った(図3)。表4の2010.9.22採取の検体については、RT-PCRの結果SaVが検出されたが、解析不能だったため、系統樹解析には使用しなかった。

また系統樹解析の結果から、genotypeごとの検出数をシーズンごとに図4に示した。検出されたgenotypeは、シーズンごとに1種類もしくは2種類であり、また同じgenotypeが2年連続で検出されることはなかった。

5. 考察

2012/13シーズン、SaVによる集団事例は3事例発生したが、3事例ともgenotypeはGI.2型であった。事例(1)は西日本で感染したものであり、当該株の広域的流行が示唆された。GI.2型については、Caliciwebによると全国では2010年以降も毎シーズン検出されていたが、県内では2008/09シーズンの集団2事例(図4)以降、2012/13シーズンまで検出されていなかった。よって2012/13シーズンに県外から再びGI.2型の株が持ち込まれて、県内で流行した可能性が考えられる。

SaVもNVと同様に、polymerase領域とcapsid領域の間でリコンビナントするという報告がある⁷⁾。2012/13シーズン集団3事例の株は、capsid領域に関しては100%相同だった(図2)が、polymerase領域によるgenotypingの結果は異なる可能性が残されている。2012/13シーズンのGI.2型株が同一の起源から県内に広まったかを考察するために、polymerase領域の分子疫学解析も行うことは有効だと思われる。

シーズンごとに検出されるgenotypeは1つか2つだけであり、次シーズンに連続して同じgenotypeの事例が発生することはない(図4)。青森県内においては、SaV陽性検体は9月~翌4月に採取さ


```

事例 (1) ATGGAGGGCAATGGCTCCCAGTTGCCAACCAATCAAATGGTGGCCATGT
事例 (2) ATGGAGGGCAATGGCTCCCAGTTGCCAACCAATCAAATGGTGGCCATGT
事例 (3) ATGGAGGGCAATGGCTCCCAGTTGCCAACCAATCAAATGGTGGCCATGT
集団事例 (2009. 4. 13) ATGGAGGGCAATGGCTCCCAGTTGCCAACCAATCAAATGGTGGCCATGT
集団事例 (2009. 2. 26) ATGGAGGGCAATGGCTCCCAGTTGCCAACCAATCAAATGGTGGCCATGT
*****

事例 (1) TGGCCAGGATGTTGACCCGCCTGGCGCGACTGGTCCGACCACATCCCATG
事例 (2) TGGCCAGGATGTTGACCCGCCTGGCGCGACTGGTCCGACCACATCCCATG
事例 (3) TGGCCAGGATGTTGACCCGCCTGGCGCGACTGGTCCGACCACATCCCATG
集団事例 (2009. 4. 13) TGGCCAGGATGTTGACCCGCCTGGCGCGACTGGTCCGACCACATCCCATG
集団事例 (2009. 2. 26) TGGCCAGGATGTTGACCCGCCTGGCGCGACTGGTCCGACCACATCCCATG
*****

事例 (1) TTGTTGTGTCTAATCCAGAACAACCCAATGGGCCCGCACACGCCTGGAA
事例 (2) TTGTTGTGTCTAATCCAGAACAACCCAATGGGCCCGCACACGCCTGGAA
事例 (3) TTGTTGTGTCTAATCCAGAACAACCCAATGGGCCCGCACACGCCTGGAA
集団事例 (2009. 4. 13) TTGTTGTGTCTAATCCAGAACAACCCAATGGGCCCGCACACGCCTGGAA
集団事例 (2009. 2. 26) TTGTTGTGTCTAATCCAGAACAACCCAATGGGCCCGCACACGCCTGGAA
*****

事例 (1) ATGGCTGTTGCTACTGGTTCATCCAATCAAATGTCCTTGAAGCGATACG
事例 (2) ATGGCTGTTGCTACTGGTTCATCCAATCAAATGTCCTTGAAGCGATACG
事例 (3) ATGGCTGTTGCTACTGGTTCATCCAATCAAATGTCCTTGAAGCGATACG
集団事例 (2009. 4. 13) ATGGCTGTTGCTACTGGTTCATCCAATCAAATGTCCTTGAAGCGATACG
集団事例 (2009. 2. 26) ATGGCTGTTGCTACTGGTTCATCCAATCAAATGTCCTTGAAGCGATACG
*****

事例 (1) CAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGCTTGGAAATGACAGAATGCCCA
事例 (2) CAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGCTTGGAAATGACAGAATGCCCA
事例 (3) CAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGCTTGGAAATGACAGAATGCCCA
集団事例 (2009. 4. 13) CAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGCTTGGAAATGACAGAATGCCCA
集団事例 (2009. 2. 26) CAACTGCTTTGCAGTCTGTCGTACTTTTGCTTGGAAATGACAGAATGCCCA
*****

事例 (1) CTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAATCCATAC
事例 (2) CTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAATCCATAC
事例 (3) CTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAATCCATAC
集団事例 (2009. 4. 13) CTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAATCCATAC
集団事例 (2009. 2. 26) CTGGAACCTTTCTGGGATCTTTATCGCTTCATCCCAACATTAATCCATAC
*****

事例 (1) ACATCCCATCTTTCAGGCATGTGGCAGGGTGG
事例 (2) ACATCCCATCTTTCAGGCATGTGGCAGGGTGG
事例 (3) ACATCCCATCTTTCAGGCATGTGGCAGGGTGG
集団事例 (2009. 4. 13) ACATCCCATCTTTCAGGCATGTGGCAGGGTGG
集団事例 (2009. 2. 26) ACATCCCATCTTTCAGGCATGTGGCAGGGTGG
*****

```

図 2 県内で検出された G I . 2 型の SaV Capsid 領域塩基配列 (*は同一の塩基を示す)

表 4 2009/10~2012/13 シーズンに発生したその他の SaV 検出結果

シーズン	事例の種類	検体採取日	検体提供者 年齢	管轄 保健所	genotype
2009/10	集団	2010.2.24	38 歳、57 歳	八戸	G I . 3
2010/11	散発	2010.9.22	0 歳 11 月	弘前	解析不能
"	散発	2010.12.11	0 歳 10 月	弘前	G I . 1
2011/12	検出なし	-	-	-	-
2012/13	散発	2013.4.8	0 歳 9 月	弘前	G I V . 1
2013/14	検出なし	-	-	-	-

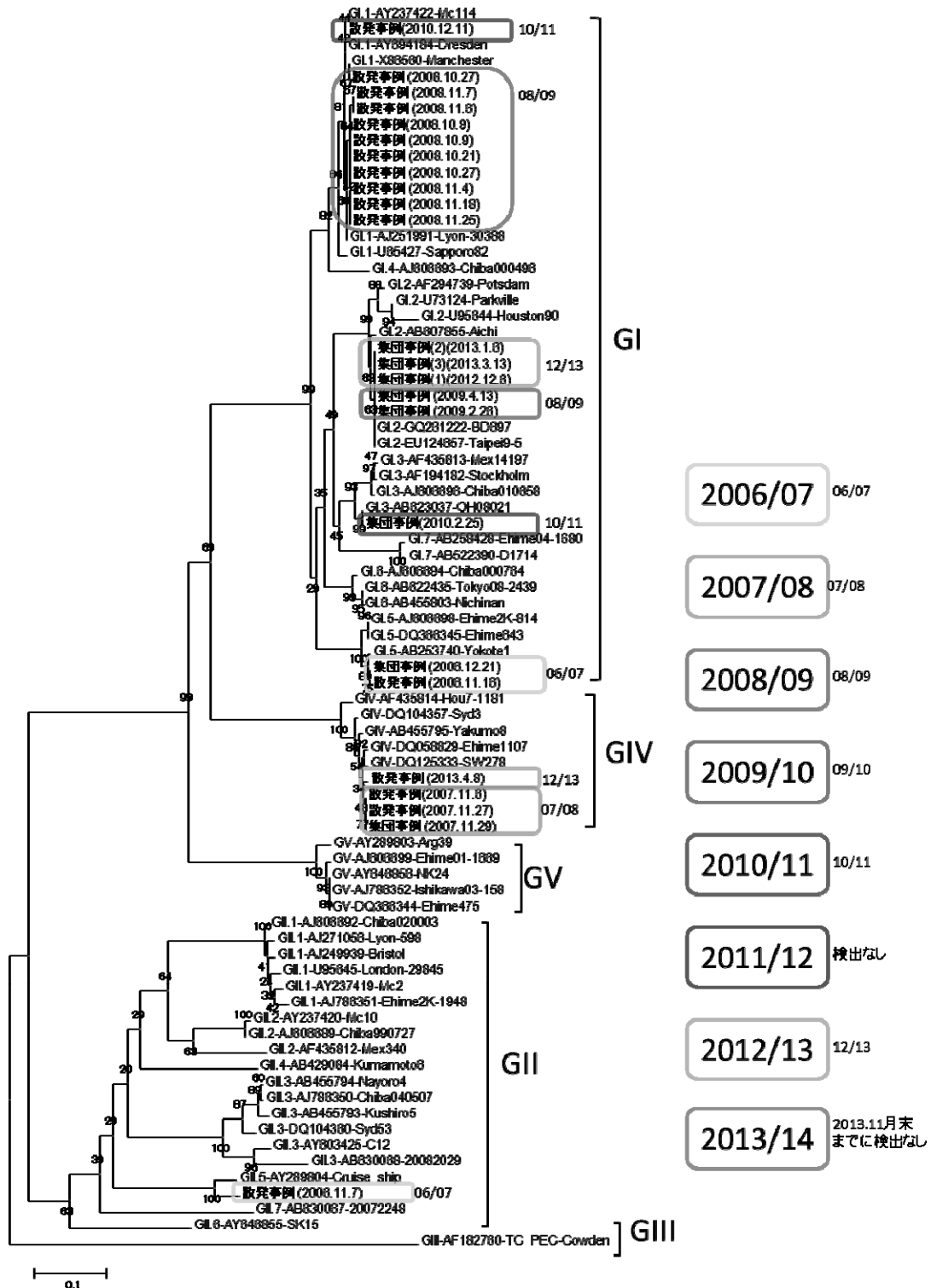


図 3 2006 年～2013 年 11 月までに青森県内で検出された SaV の Capsid 領域分子系統樹 (NJ 法、bootstrap 値 (%))
 検出された株に、シーズンごとに四角で囲いをつけた。四角の横にはシーズンの略称、もしくはそのシーズンに検出
 がなかったことを示した。

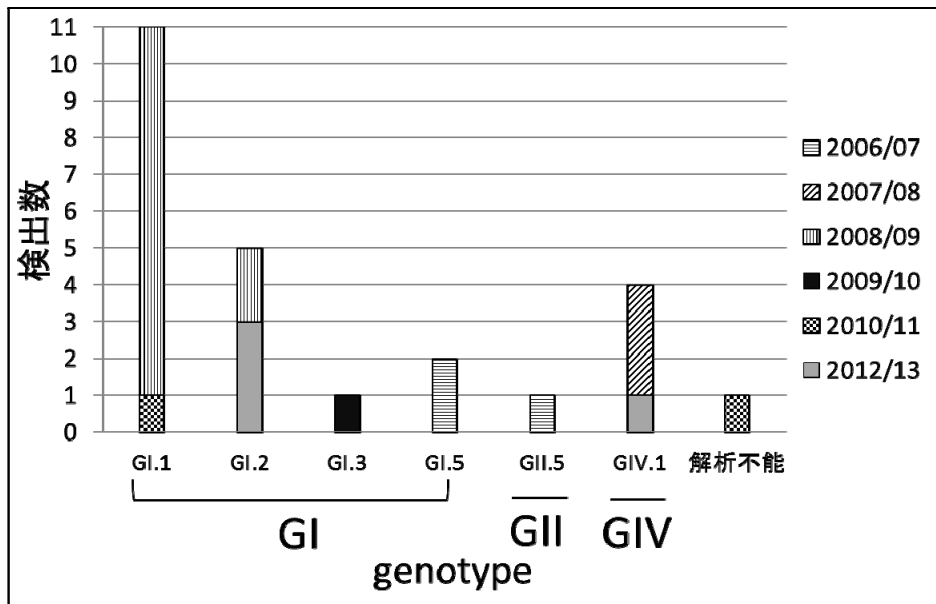


図4 SaV genotype別検出数

れており（表1、表4）、集団事例・散発事例ともに夏に採取された検体からSaVが検出されたことはない。このことから、SaV流行シーズン（秋～春頃）が終わると、そのシーズンの流行株は青森県内では消滅し、次のシーズンに別の株が流行を始めていると考えられる。SaVは、genogroup、genotype毎に抗原性が異なる可能性が示されている^{4)、5)、6)}。免疫機能が働いたため、同じ抗原性の株は2年連続では流行しにくいという可能性が考えられる。

各都道府県のgenotype別の検出シーズン・数を得られるデータベースは現時点では存在しない。そのため上述した青森県で見られるシーズン毎の検出genotypeの特徴が他都道府県でも同様かどうか判断はできない。Caliciwebに掲載されている2010年2月から2013年1月のSaV系統樹によると、全国では毎シーズン6前後のgenotypeの検出があり、同じgenotypeが次のシーズンにも検出されている。よって少なくとも全国レベルでは青森県と同様の特徴は無いと思われるが、各都道府県レベルではどうかかわからない。より詳細な地域別の流行を知るためには、他都道府県の自治体と連携してSaVのgenotypeを調査することが必要である。

6. まとめ

SaVは、以前は乳幼児に好発であるとされ、成人からの検出や食品を介した集団事例の報告は少なかった。そのような情報は近年増加しつつあるが、同じカリシウイルス科に属し、同様の症状を

引き起こすNVよりも研究は遅れている。またgenotypeにより重症度や好発年齢に違いがあるのか、という知見を得るためにも、今後もSaVの発症動向に注意し、分子疫学情報を蓄積していくことが必要であると考えられる。

文 献

- 1)H. Yan, et al. : Detection of norovirus (G I , G II), Sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR.*J. Virol. Methods*,**114**:37-44,2003
- 2)Tamura K. et al. : MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony *Methods. Molecular Biology and Evolution*, **28**: 2731-2739,2011
- 3)吉田綾子他 2008/09 シーズンに散発及び集団事例から検出されたサポウイルスの分子疫学解析.青森県環境保健センター研究報告,**20**,10-17,2009
- 4)Grant S Hansman.et al.: Antigenic diversity of human sapoviruses.*Emerging Infectious Diseases*,**13(10)**:1519-25,2007
- 5)Grant S. Hansman, et al.: Outbreak of Gastroenteritis Due to Sapovirus. *J Clin Microbiol.*, **45(4)**,1347-1349, 2007
- 6)Oka T, et al.: Distinct genotype and antigenicity among genogroup II sapoviruses. *Microbiol Immunol.*, **53(7)**, 417-20,2009
- 7)Katayama K. et al.: Novel recombinant sapovirus. *Emerging Infectious Diseases.*,**10**,1874-6,2004

Genetic analysis of sapoviruses detected in 3 outbreaks in Aomori Prefecture (season 2012/13)

Sayaka Kogawa, Rika Tsutsui, Akira Toukairin, and Toshiyuki Mikami

Sapoviruses were detected in 3 outbreaks between December 2012 and March 2013 (season 2012/13). Determination of sequences and phylogenetic tree analysis revealed that all genotypes of these sapoviruses, including infection outside Aomori Prefecture (school trip destination), were GI.2. In 3 outbreaks, the sequences of capsid region were 100% identical for 291 base pairs, suggesting the national prevalence of this strain.

Genetic analysis of previous sporadic cases and outbreaks reported in Aomori Prefecture indicated variations in genotypes detected in each season. No GI.2 strains have been detected in Aomori Prefecture since 2009, and other genotypes were responsible for prevalence. However, GI.2 strains seem to be prevalent again in Aomori Prefecture in season 2012/13.

Key Words: sapovirus, genogroup, genotype, phylogenetic tree, molecular epidemiology

II ノ 一 ト

農産物中残留農薬一斉分析 (GC/MS 分析) における前処理方法の検討 —通知法と STQ 法の比較—

五日市健夫 工藤志保 工藤 翔¹ 増田幸保

農産物中の残留農薬一斉分析では多くの農薬に対応する必要があるため、効率的な分析方法が求められている。そこで今回、GC/MS分析対象農薬 146 項目について、迅速かつ簡便な前処理方法として知られている QuEChERS法と固相カートリッジ法を組み合わせたSTQ法と現在実施している前処理法（通知法を一部変更した方法。以下、通知法）との比較検討を行った。

STQ法は通知法よりも短時間かつ安価で行え、異常回収率（120%以上）を示す農薬もなかった。妥当性評価ガイドラインにおける真度の目標値（70～120%）を満たす項目は、通知法で 146 項目中 134 項目、STQ法で 108 項目であった。

Key words : QuEChERS method, STQ method, simultaneous analysis, pesticide residues,
Gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS)

1. はじめに

農産物中の残留農薬分析の実施にあたっては、平成 18 年 5 月のポジティブリスト制度により、規制対象農薬が大幅に増加したため、多数の農薬を同時に分析する一斉分析が主流となっている。また、平成 22 年 12 月 24 日付け厚生労働省通知による試験法の妥当性評価¹⁾の実施に伴い、様々な農産物に対して評価を行わなければならないため、迅速かつ低コストであることが求められている。

当所では現在、GC/MS分析対象農薬については、通知法²⁾により一斉分析を実施しているが、この方法には使用する有機溶媒やガラス器具の量が多く、さらに濃縮操作を伴うことから分析前処理に時間を要する等の問題がある。

一方、QuEChERS法(Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe)は、ポリプロピレン製の遠沈管内で農薬の抽出、塩析、脱水を同時に行い、精製には充填剤を直接結合させる分配型-固相抽出(分散 SPE)行う迅速かつ簡便な方法として、2003 年に Anastassiades³⁾らによって報告された前処理法である。

QuEChERS法を改良した前処理法^{4)~7)}も報告されており、各企業から QuEChERS法のキットが販売されている。

今回はアイスティサイエンス(株)の QuEChERS法に分配分離型-固相抽出法(固相カートリッジ法)を組み合わせた STQ法^{4)~7)}(Solid Phase Extraction Technique with QuEChERS)と通知法について、所要時間、回収率及び費用に着目し比較検討したので報告する。

2. 方法

2.1 試料

試料は市販品のほうれんそうを使用した。

2.2 対象農薬及び添加濃度

対象農薬は、関東化学(株)製の混合農薬標準液 31 及び混合農薬標準液 48 に DDVP、ナレド及びトラロメトリン(和光純薬工業(株)製)を加え、合計 143 農薬(異性体、代謝物を含めて 146 項目)とした(表 2)。

添加濃度は、0.1µg/g となるように添加した(通知法:2µg/20g、STQ法:1µg/10g)。

1 青森県原子力センター

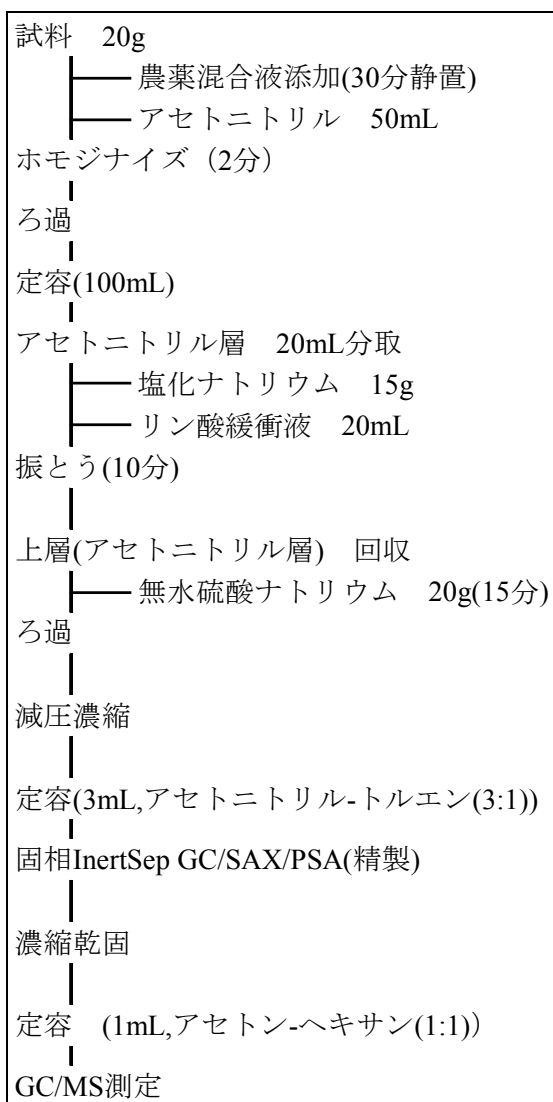


図1 通知法フローチャート

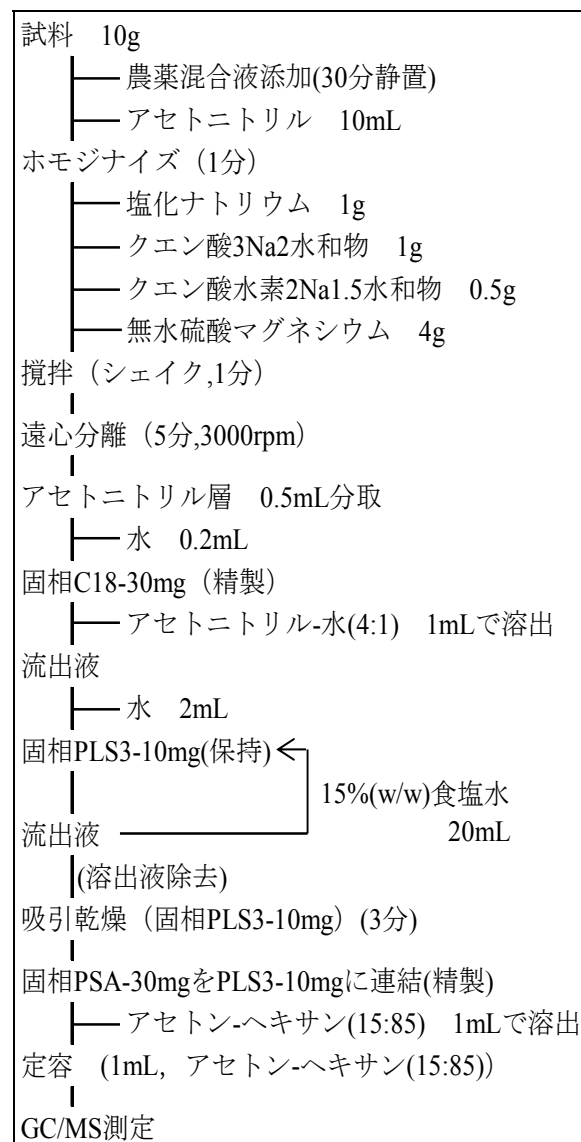


図2 STQ-B法フローチャート

2.3 試薬

通知法における固相抽出カラムは、ジーエルサイエンス(株)製の InertSep GC/SAX/PSA(500mg/500mg/500mg/20mL)を使用した。

STQ法による抽出・精製にはアイスティサイエンス(株)製の STQ-GC B法(以下、STQ-B法とする)キットを使用した。

2.4 測定条件

GC/MS: 島津製作所(株)製 GCMS-QP2010

カラム:Agilent社

VF-5ms(0.25mmi.d.×30m,df0.25µm+10m-EZ Guard)

カラム温度:70°C(2min)→25°C/min→160°C→3°C/min→220°C→30°C/min→280°C→20°C/min→300°C(10min)

注入口温度:280°C

検出器温度:250°C

注入方式:高圧注入(スプリットレス法)

キャリアガス:He

注入量:2µL

イオン化モード:EI

測定モード:SIM

2.5 試験溶液の調製(前処理)

1)通知法:GC/MSによる農薬等の一斉分析法²⁾に準じて行った(図1)。

2)STQ-B法:アイスティサイエンス(株)³⁾⁴⁾の分析法に基づいて行った(図2)。

いずれもn=5で行った。

2.6 定量方法

定量は、絶対検量線法で実施した。

3. 結果及び考察

3.1 所要時間

3人で7検体分の前処理を行った結果、通知法が約6時間、STQ-B法が約3時間であった。STQ-B法は通知法の約半分の時間で前処理を行うことができた。STQ-B法は多数の検体に対して、迅速な前処理法として活用できると考えられた。

3.2 回収率

当所の残留農薬検査では、事前に内部精度管理として添加回収試験を行い、試験法の妥当性評価ガイドライン¹⁾における真度(回収率)の目標値である70~120%を満たした項目のみを報告している。

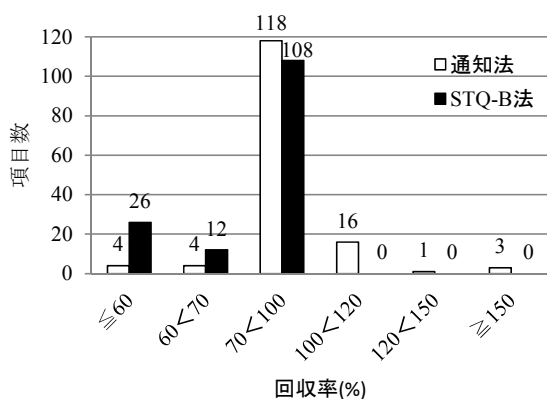


図3 添加回収試験の回収率(分布)

146項目のうち目標値を満たしていたものは、通知法が134項目、STQ-B法では108項目であった(図3)。

通知法では異常回収率を示す項目が4項目あったが、STQ-B法では異常回収率を示す項目はなかった(図3)。一つの要因として、STQ-B法では固相抽出に供する試料量(0.5g相当)が通知法(4g相当)の8分の1量であり(図1,2)、最終試験溶液に含まれる夾雑物質(マトリックス成分)の量が少なくなっているため、マトリックス効果の影響が抑えられた可能性が考えられる。

また、低極性農薬(LogPowが3以上を示す)であるプロフェノホス、トラロメトリン、 α -エンドスルファン、スピロジクロフェン、フルジオキサニルは、通知法では真度の目標値から外れたが、STQ-B法で目標値を満たした(表2)。一方、ジクロロボス、ジメトエート、モノクロトホスなどlogPowが3以下を示す極性が高めの農薬では、STQ-B法において良好な回収率が得られないという傾向が見られた。これは佐々野らの報告⁵⁾と

同様に、極性が高すぎるために固相PLS3に保持されなかったことが考えられる。

3.3 費用

前処理に使用する消耗品の費用について、1検体当りの費用はSTQ-B法が約700円低コストで行えることが分かった(表1)。

平成24年度の10農産物(81検体+120検体(内部精度管理分))を実施した場合には、約15万円の費用を削減できると予想された。

表1 消耗品の費用(定価ベース)

	単位:円		
	通知法	STQ-B法	差
1検体当り	2,939	2,212	727

4. まとめ

通知法とQuEChERS改良法の一つであるSTQ-B法を比較した結果、真度の目標値を満たす項目が多かったのは通知法であった。しかし、異常回収率(120%以上)を示す項目がなかったのはSTQ-B法であった。また、前処理時間と費用についてもSTQ-B法が通知法よりも短時間かつ安価に行えることが判明した。

今後は、通知法を用いた妥当性評価を各農産物に対して進めると同時に、効率的かつ精度の高い前処理法について引き続き検討していきたい。

文 献

- 1)厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について,平成22年12月24日付け食安発第1224001号
- 2)厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:GC/MSによる農薬等の一斉分析法(農産物),平成17年11月29日付け食安発第1129002号
- 3)Anastassiades, M. et al.: Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce, *JAOAC Int.*, **86**,412-431(2003)
- 4)谷澤春奈他:LC/MS/MSを用いた作物中残留農薬の迅速一斉分析法の検討,第93回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集,46,A-26
- 5)佐々野僚一他:作物中残留農薬の迅速一斉分析

6)谷澤春奈他:LC/MS/MS を用いた残留農薬の多成分迅速一斉分析法の検討,第 95 回日本食品衛生

7)佐々野僚一他:GC/MS 大量注入を用いた食品中残留農薬の迅速一斉分析法の評価,第 95 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集,40,A-22

表 2 GC/MS 測定によるほうれんそう添加回収試験結果

#	項目名	分類*	用途	LogPow*	通知法		STQ法	
					回収率 (%)	変動係数	回収率 (%)	変動係数
1	アジンホスメチル	有機リン系	殺虫剤	2.75	104.9	1.32	72.7	10.16
2	イキサチオン	有機リン系	殺虫剤	3.88	102.3	2.44	78.3	4.92
3	イプロベンホス	有機リン系	殺菌剤	3.21	88.5	2.87	81.4	4.09
4	エチオン	有機リン系	殺虫剤	4.28, 5.07	91.8	2.96	77.3	5.55
5	クロルピリホスメチル	有機リン系	殺虫剤	4.24	86.4	2.47	78.6	4.94
6	シアホス	有機リン系	殺虫剤	2.65	87.6	2.49	81.5	3.65
7	ジクロフェンチオン	有機リン系	殺虫剤	5.14	84.7	3.18	76.7	4.50
8	ジクロルホス	有機リン系	殺虫剤	1.42	105.5	2.29	50.9	6.20
9	ナレト	有機リン系	殺虫剤	1.38	0.0	0.00	0.0	0.00
10	ジメエト	有機リン系	殺虫剤	0.704	90.4	2.08	19.4	5.24
11	デメトン-S-メチル	有機リン系	殺虫剤	1.32	68.0	9.98	32.0	9.11
12	トリアゾホス	有機リン系	殺虫剤	3.34	95.9	3.04	81.8	8.87
13	トリアホス	有機リン系	植物成長調整剤	3.23	91.5	3.10	78.6	4.59
14	ピペロホス	有機リン系	除草剤	4.3	91.8	3.43	73.6	6.34
15	ピラゾホス	有機リン系	殺菌剤	3.8	92.0	3.46	76.2	6.60
16	ピリダフェンチオン	有機リン系	殺虫剤	3.2	91.1	2.23	80.0	6.97
17	フェナホス	有機リン系	殺虫剤	3.23	85.1	3.99	75.1	9.82
18	ブタホス	有機リン系	除草剤	4.62	108.5	4.16	74.5	6.61
19	プロフェノホス	有機リン系	殺虫剤	4.44	51.4	16.37	71.4	3.93
20	プロホスメチル	有機リン系	殺虫剤		83.8	2.41	80.9	6.87
21	ホスファミドソ	有機リン系	殺虫剤	0.79	163.6	2.08	22.3	30.98
22	ホスメット	有機リン系	殺虫剤	2.95	83.3	3.75	73.8	7.52
23	ホレート	有機リン系	殺虫剤	3.92	82.6	4.01	66.3	4.49
24	メチダチオン	有機リン系	殺虫剤	2.2	92.9	2.20	84.9	6.20
25	メソホス	有機リン系	殺虫剤	0.127	103.6	1.82	64.5	0.35
26	モノクロトホス	有機リン系	殺虫剤	-0.22	110.9	2.32	0.0	0.00
27	イザゾホス	有機リン系	殺虫剤	2.99	88.2	2.72	82.7	3.55
28	テトラクロルピホス	有機リン系	殺虫剤	3.53	113.6	1.44	90.3	7.20
29	アエホス	有機リン系	除草剤	3.81	100.6	1.86	60.7	10.73
30	XMC	カーバメート系	殺虫剤	2.3	97.8	4.68	64.6	6.56
31	カルボフラン	カーバメート系	殺虫剤	1.52	115.8	4.00	25.7	21.06
32	ピソクゾリン	カーバメート系	殺菌剤	3.00	84.1	3.01	81.2	4.13
33	プロホキシル	カーバメート系	殺虫剤	1.56	101.8	4.54	43.8	7.99
34	トリアレート	カーバメート系	除草剤	4.6	84.1	2.62	72.6	4.82
35	ピリダチカルブ	カーバメート系	除草剤	5.18	85.9	3.03	74.6	4.54
36	クロルブファミ	カーバメート系	除草剤		97.6	4.40	76.6	3.17
37	アレスリン	ピレスロイド系	殺虫剤	4.78	100.1	3.94	77.1	4.37
38	エトフェンブロックス	ピレスロイド系	殺虫剤	7.05	84.5	3.31	72.6	4.48
39	トラロメトリン	ピレスロイド系	殺虫剤	5.05	50.7	9.46	76.2	4.60
40	ピフェントリン	ピレスロイド系	殺虫剤	>6	85.4	2.58	71.1	3.88
41	フェトリン	ピレスロイド系	殺虫剤	6.01	86.4	3.03	72.9	4.21
42	フェンプロパトリン	ピレスロイド系	殺虫剤	6.0	86.3	3.33	77.8	7.05

■は妥当性評価ガイドラインの目標値外の項目

*: 主に最新/農薬の残留分析法より引用。無い場合は厚労省職場安全サイトまたは農薬抄録より引用。

表2 GC/MS測定によるほうれんそう添加回収試験結果(続き)

#	項目名	分類*	用途	LogPow*	通知法		STQ法	
					回収率 (%)	変動係数	回収率 (%)	変動係数
43	エンドスルファン(α-)	有機塩素系	殺虫剤	4.74	151.1	3.84	71.6	8.70
44	エンドスルファン(β-)	有機塩素系	殺虫剤	4.79	89.2	4.43	81.1	7.30
45	キントゼン	有機塩素系	殺菌剤	4.77	82.7	3.48	78.1	6.42
46	クロルフェナビル	有機塩素系	殺虫剤	4.83	85.7	2.73	80.6	8.27
47	フザイト	有機塩素系	殺菌剤	3.01	83.5	3.27	79.5	0.92
48	トキシクロール	有機塩素系	殺虫剤	4.68	81.4	2.99	75.9	6.07
49	オキサジキシル	アシルアラニン系	殺菌剤	0.65-0.8	92.8	2.96	50.1	15.21
50	ブタクロール	アセトアニリド系	除草剤		88.1	3.34	84.1	5.67
51	アセトクロール	アニリド系	除草剤	4.14	86.6	2.54	83.1	4.12
52	ペナラキシル	アニリド系	殺菌剤	3.54	88.1	3.42	84.6	5.31
53	ピリメタニル	アニリノピリミジン系	殺菌剤	2.84	84.3	2.86	78.7	4.89
54	ジフェナミド	アミド系	除草剤	0.99*	92.8	3.22	83.4	5.50
55	スピロキサミン	アミン系	殺菌剤	2.92	85.7	4.63	44.6	6.15
56	フラムプロップメチル	アリールアラニン系	除草剤	3.09	87.6	3.31	84.6	5.26
57	ピコリナフェン	アリールオキシピコリンアミド系	除草剤	5.37	85.0	3.08	75.8	7.99
58	ジクロホップメチル	アリールオキシフェノキシプロピオン酸系	除草剤	4.58	84.7	2.10	81.2	5.73
59	プロパルキット	亜硫酸エステル系	殺ダニ剤	3.73	80.7	3.03	95.1	6.63
60	フェンアミドン	イミダゾリノン系	殺菌剤	2.8	86.4	3.60	75.4	8.42
61	イマザメタヘンズメチルエステル	イミダゾリノン系	除草剤	1.54-1.82	76.4	4.23	61.1	8.04
62	プロマシル	ウラシル系	除草剤	1.88	108.2	6.89	41.2	7.22
63	キノキシフェン	キノリン系	殺菌剤	4.66	86.2	3.43	72.1	5.28
64	プロパクロール	クロロアセトアニリド系	除草剤	1.4-2.3	86.4	2.86	79.3	3.90
65	アザコナゾール	コナゾール系	殺菌剤	2.17	85.1	3.00	71.5	5.91
66	フルリアホール	コナゾール系	殺菌剤	2.3	87.1	5.66	42.8	8.36
67	ナプロバミド	酸アミド系	除草剤	3.3	89.1	3.07	81.8	5.30
68	メタラキシル	酸アミド系	殺菌剤	1.75	89.2	3.01	77.9	2.47
69	アラクロール	酸アミド系	除草剤	3.09	85.8	3.05	84.6	4.64
70	カフェンストロール	酸アミド系	除草剤	3.21	176.5	4.25	0.0	0.00
71	ジクロシメット	酸アミド系	殺菌剤	3.97	88.4	3.39	80.4	7.07
72	ジフルフェニカン	酸アミド系	除草剤	4.9	85.5	2.75	77.3	7.68
73	ジメチアミド	酸アミド系	除草剤	2.15	84.2	2.24	82.2	3.36
74	チアルサミド	酸アミド系	殺菌剤	3.56	84.7	2.28	43.9	9.50
75	プロバニル	酸アミド系	除草剤	3.3	84.9	3.61	76.4	5.64
76	プロピザミド	酸アミド系	除草剤	3.1	87.6	3.61	79.2	5.66
77	プロモバチド	酸アミド系	除草剤		85.9	2.81	82.6	5.19
78	イプロシロシメット	ジカルボキシイミド系	殺菌剤		60.3	13.62	0.0	0.00
79	プロシメット	ジカルボキシイミド系	殺菌剤	3.14	84.4	3.14	81.3	4.93
80	イプロチオラン	ジチオラン系	殺菌剤	3.3	73.9	3.86	86.0	5.02
81	エタララリン	ジニトロアニリン系	除草剤	5.11	98.5	3.16	77.0	6.31
82	オリザリン	ジニトロアニリン系	除草剤	3.73	98.2	5.80	0.0	0.00
83	トリアラリン	ジニトロアニリン系	除草剤	4.83	91.4	3.07	74.8	4.26
84	ペンアラリン	ジニトロアニリン系	除草剤	5.29	89.6	2.83	74.1	3.97
85	ピフェニックス	ジフェニルエーテル系	除草剤	4.5	80.2	15.93	82.6	5.98
86	オキシアルフェン	ジフェニルエーテル系	除草剤	4.47	103.4	4.10	72.5	4.77
87	トリプロキシトロピン	ストロビルリン系	殺菌剤	4.5	86.6	4.29	77.1	6.73
88	メトミノストロピン	ストロビルリン系	殺菌剤	2.32	90.1	2.97	78.8	6.31
89	クロキシメチル	ストロビルリン系	殺菌剤	3.4	85.8	3.12	77.0	4.96
90	エトキサゾール	その他	殺虫剤	5.59	92.5	4.65	75.2	4.65
91	カルボキシ	その他	殺菌剤		34.6	18.21	40.3	7.49
92	クロマジン	その他	除草剤	2.5	85.6	3.05	82.6	4.54
93	ジメベレート	その他	除草剤	4.02	85.3	3.18	76.1	4.02
94	スピロジクロフェン	その他	殺ダニ剤	5.8	66.7	4.51	81.7	8.26

■は妥当性評価ガイドラインの目標値外の項目

*: 主に最新/農薬の残留分析法より引用。無い場合は厚労省職場安全サイトまたは農薬抄録より引用。

表2 GC/MS測定によるほうれんそう添加回収試験結果(続き)

#	項目名	分類*	用途	LogPow*	通知法		STQ法	
					回収率 (%)	変動係数	回収率 (%)	変動係数
95	テカゼン	その他	殺菌剤		87.9	2.62	77.2	5.72
96	テトラジホシ	その他	殺ダニ剤	4.61	84.2	3.96	75.4	8.21
97	トルフェンビラト	その他	殺虫剤	5.61	96.1	4.63	70.3	6.21
98	ニトクアルイソプロピル	その他	殺菌剤	2.04	101.7	5.08	75.6	5.14
99	フルリドン	その他	除草剤	1.87	87.1	3.66	36.5	6.82
100	プロピトロジヤスモン	その他	植物成長調整剤	4.1	87.0	2.90	79.2	3.70
101	メトプロ	その他	昆虫成長阻害剤	>6	104.8	3.39	103.4	4.32
102	キノクラミン	その他	除草剤	1.5	95.0	4.33	63.1	4.57
103	ペノキサコル	その他	葉害軽減剤	2.6	85.0	2.45	79.8	4.45
104	メフェンピルジエチル	その他	葉害軽減剤	3.83	85.7	2.87	83.9	3.41
105	ターハシル	ダイアジン系	除草剤	1.91	103.8	8.74	50.0	6.64
106	オキサジアゾン	ダイアゾール系	除草剤	4.91	85.0	2.10	80.0	7.63
107	プロプロフェジン	チアジアジン系	殺虫剤	4.3	90.5	4.07	82.4	4.12
108	フルチアセトメチル	チアジアゾール系	除草剤	3.77	87.8	7.36	89.3	15.15
109	フェノチカルブ	チオールカーバメート系	殺ダニ剤	3.28	82.4	2.51	84.8	4.28
110	アトラジン	トリアジン系	除草剤	2.5	86.6	3.51	76.8	3.76
111	アマトリン	トリアジン系	除草剤	2.63	84.6	3.33	79.5	5.16
112	シアナジン	トリアジン系	除草剤	2.1	98.0	6.11	38.6	10.86
113	ジメタメリン	トリアジン系	除草剤	3.8	87.6	3.26	79.6	5.88
114	シマトリン	トリアジン系	除草剤	2.6	87.9	3.46	72.7	4.50
115	テルブトリン	トリアジン系	除草剤	3.65	86.6	3.29	81.4	5.18
116	プロバジン	トリアジン系	除草剤		84.2	3.11	82.4	5.93
117	プロメトリン	トリアジン系	除草剤	3.1	85.2	3.12	81.4	5.02
118	ヘキサノン	トリアジン系	除草剤	1.2	86.7	3.38	37.2	7.11
119	シマジン	トリアジン系	除草剤	2.1	85.3	3.00	63.8	4.40
120	イメベンコナゾール脱ベンジル	トリアゾール系	殺菌剤		90.3	0.00	0.0	0.00
121	トリアゾメホ	トリアゾール系	殺菌剤	3.11	87.5	2.72	82.9	4.01
122	フェンコナゾール	トリアゾール系	殺菌剤	3.23	83.9	4.47	57.8	12.15
123	ヘキサコナゾール	トリアゾール系	殺菌剤	3.9	88.9	4.23	69.4	8.79
124	ウニコナゾールP	トリアゾール系	植物成長調整剤	3.67	89.2	3.07	68.3	10.57
125	フルキノコナゾール	トリアゾール系	殺菌剤	3.24	81.7	3.15	72.6	8.69
126	ベンコナゾール	トリアゾール系	殺菌剤	3.72	86.3	3.37	77.2	7.88
127	カルフェントラゾニエチル	トリアゾロン系	除草剤	3.36	86.7	2.77	83.0	5.08
128	ピラフルフェンエチル	ピラゾール系	除草剤	3.49	85.3	2.57	80.8	6.45
129	ノルフルラジン	ピリダジノン系	除草剤	2.45	87.8	2.84	64.1	6.57
130	フルアクリピリム	ピリミジニルオキシ系	殺虫剤	3.93	89.1	3.81	80.3	5.88
131	ピリミバクマチル(E)	ピリミジルオキシ安息香酸系	除草剤	2.98	87.5	3.39	83.6	6.05
132	ピリミバクマチル(Z)	ピリミジルオキシ安息香酸系	除草剤	2.7	87.5	3.13	80.4	7.09
133	プロピリメト	ピリミジン系	殺菌剤	3.9	84.4	3.39	82.0	6.09
134	フェノキサニル	フェニル系	殺菌剤	3.53±0.02	137.5	3.58	46.4	21.44
135	フィプロニル	フェニルピラゾール系	殺虫剤	4.0	88.3	3.54	72.0	10.38
136	フルジオキニル	フェニルピラゾール系	殺菌剤	4.12	64.6	12.53	73.4	1.86
137	シロホッププロチル	フェノキシ酸系	除草剤	3.31	86.9	2.76	80.9	5.48
138	ピロキロン	複素環系	殺菌剤	1.6	84.3	2.78	38.1	8.90
139	フルミオキサジン	フタールイミド系	除草剤	2.55	98.9	4.97	66.9	12.10
140	フルミクロラックハチル	フタールイミド系	除草剤	4.99	82.6	4.02	82.5	7.77
141	ジクロラン	プロピオン酸系	殺菌剤	2.8	91.6	3.65	64.8	5.56
142	ゾキサミド	ベンズアミド系	殺菌剤	3.76	82.5	7.92	0.0	0.00
143	エトキサート	ベンゾフラニルアルキルスルホン酸系	除草剤	2.7	86.0	3.73	84.2	5.73
144	フェンプロピモル	モルフォリン系	殺菌剤	2.6-4.4	81.3	3.62	74.5	3.67
145	プロモプロピレート	有機臭素系	殺虫剤	5.4	92.3	3.31	72.7	6.73
146	クロルカルボニルメチル	芳香族カルボン酸系	除草剤	4.28	82.4	2.64	76.0	7.48

は妥当性評価ガイドラインの目標値外の項目

*: 主に最新/農薬の残留分析法より引用。無い場合は厚労省職場安全サイトまたは農薬抄録より引用。

水道水質外部精度管理調査結果 (平成 24 年度)

棟方美穂子 木村淳子 増田幸保

県内 6 水道水質検査施設を対象に、分析精度の向上及びデータの信頼性の確保を目的としてフッ素及びその化合物 (以下、フッ素という。)、有機物 (全有機炭素 (TOC) の量) (以下、TOC という。) について外部精度管理調査を実施し、 \bar{x} 管理図、R 管理図及び Z スコアを基に各施設の評価を行った。フッ素については、すべての施設においていずれの評価も良好であった。TOC については、R 管理図で 1 施設が上部管理限界を超えたが、 \bar{x} 管理図及び Z スコアによる評価はすべての施設で良好であった。

Key words : external quality control, \bar{x} control, R control, F⁻, Total Organic Carbon (TOC)

1. はじめに

本調査は、検査施設を自ら設置して水質検査を行う水道事業者の分析精度の向上及びデータの信頼性の確保を目的として、「水道水質検査の精度管理に関する調査」(厚生労働省)を参考に平成 11 年度から実施している。試料は当所が作製し、対象施設に配付している。

平成 11~23 年度水道水質外部精度管理調査結果は既報^{1)~11)}に報告済みであることから、今回は平成 24 年度の調査結果を報告する。

2. 方法

2.1 実施対象

県内 6 検査施設

2.2 実施期間

平成 24 年 11 月 28 日~12 月 21 日

2.3 実施項目

フッ素、TOC

2.4 実施方法

各項目について 5 回併行試験の結果と平均値、分析方法 (前処理を含む分析フロー、分析機器、分析条件等)、定量方法 (検量点数、検量範囲、評価方法等) の報告を求めた。また、分析チャートの提出も求めた。

2.5 試料

(1) 試料の作製

フッ素 : 1mg/mL フッ化物イオン標準液 (和光純薬工業(株)製) 16.0mL を超純水で希釈して 20L とし、混和後 1L ポリエチレン容器 20 本に分注してフッ素分析用試料 (0.8mg/L) とした。

TOC : フタル酸水素カリウム標準液 (C として 1mg/mL、和光純薬工業(株)製) 20.0mL を超純水で希釈して 10L とし、混和後 500mL 褐色ガラス瓶 20 本に分注して TOC 分析用試料 (2.0mg/L) とした。

(2) 試料の配付

分注したフッ素分析用試料及び TOC 分析用試料を無作為に 1 本ずつ取り、対象施設にクール宅急便で送付または直接配付した。

(3) 試料の最終濃度及び目標値

試料の最終濃度はフッ素が 0.8mg/L、TOC が 2.0mg/L であり、これを目標値とした。

(4) 試料の均一性の確認

作製した各試料 20 個中 10 個を無作為に選び、n=2 で分析した。フッ素はイオンクロマトグラフ (株島津製作所製 LC-VP)、TOC は全有機体炭素計 (株島津製作所製 TOC-VCSH) により分析し、一元配置分散分析 (F 検定) を行った。その結果、表 1 のとおりフッ素及び TOC の分散比 (F 比) は有意水準 5% に対する F 値 (自由度 9,10) に比べて小さくなっており、試料間の濃度が均一であることを確認した。

(5) 試料の安定性の確認

作製した各試料を作製日並びに作製3週間後に(4)と同様の機器で分析し、濃度を比較した。その結果、

表2のとおりフッ素及びTOCの作製3週間後濃度は作製日濃度±10%以内であり、作製3週間後も試料が安定であることを確認した。

表1 試料の均一性

	フッ素	TOC
平均値 (mg/L)	0.76	2.00
標準偏差 (mg/L)	0.024	0.024
変動係数 (%)	3.20	1.18
F比	1.53	1.78
上の値に対する有意確率	0.258	0.189
有意水準5%点	3.02	3.02

表2 試料の安定性

	フッ素	TOC
作製日濃度 (mg/L)	0.72	2.09
作製3週間後濃度 (mg/L)	0.73	2.05
作製日濃度±10% (mg/L)	0.65~0.79	1.88~2.30

2.6 解析方法

各検査施設の分析結果から \bar{x} 管理図及びR管理図を作成し、また、Zスコアを求めて評価を行った。

3. 結果及び考察

3.1 フッ素

(1) 分析結果

施設No.1~6のうちNo.3を除く5検査施設が参加し、分析方法はすべての施設がイオンクロマトグラフによる定量法であった。

各施設の分析結果を表3及び図1に示した。5回併行試験の結果の平均値は0.749~0.853mg/L、標準偏差は0.003~0.014mg/L、変動係数は0.33~1.91%であった。全データの最大値は0.859mg/L、最小値は

0.730mg/L、平均値は0.794mg/L、標準偏差は0.007mg/L、変動係数は0.93%であった。

(2) 解析結果及び評価

\bar{x} 管理図を図2に示した。上部管理限界を目標値の110%値(0.88mg/L)、下部管理限界を目標値の90%値(0.72mg/L)としたところ、すべての施設が管理限界内であり、良好であった。

R管理図を図3に示した。上部管理限界は、上水試験方法(2011年版)I-4.2.2.3品質管理の評価に従い、範囲の平均値0.017mg/Lにn=5に相当する係数D₄(2.115)を乗じた値0.036mg/Lとした。その結果、すべての施設が管理限界内であり、良好であった。

Zスコアの絶対値については、表3に示したとおりすべての施設で2以下であり、良好であった。

表3 フッ素の分析結果

施設No.	最大値 mg/L	最小値 mg/L	平均値(\bar{x}) mg/L	標準偏差 mg/L	変動係数 %	範囲(R) mg/L	Zスコア
1	0.776	0.769	0.774	0.003	0.38	0.007	-0.5
2	0.859	0.841	0.853	0.007	0.83	0.018	1.5
4	0.816	0.809	0.812	0.003	0.33	0.007	0.4
5	0.791	0.770	0.782	0.009	1.21	0.021	-0.3
6	0.760	0.730	0.749	0.014	1.91	0.030	-1.1
平均	0.800	0.784	0.794	0.007	0.93	0.017	

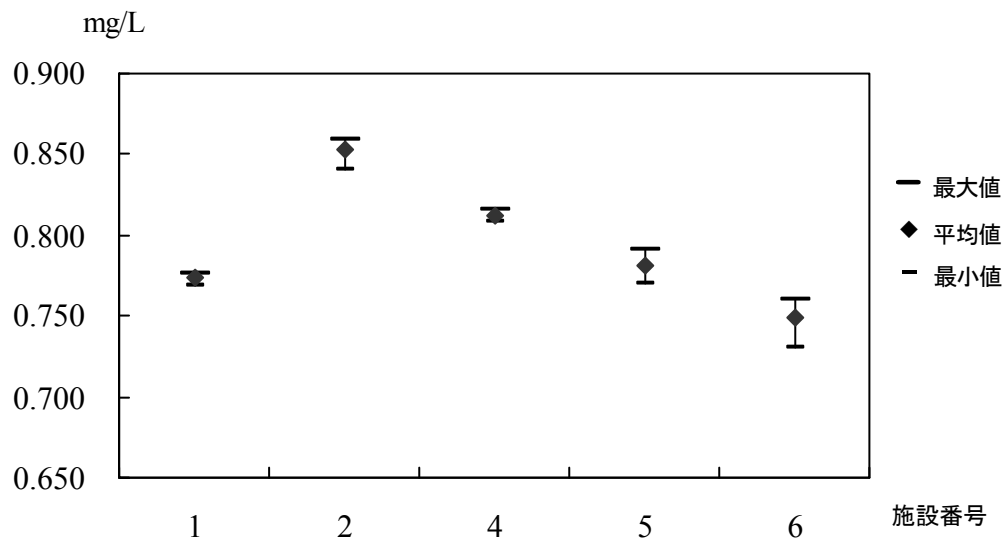


図1 フッ素の分析結果

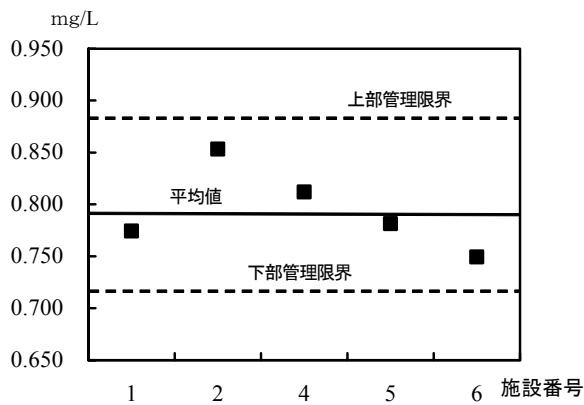


図2 フッ素の \bar{x} 管理図

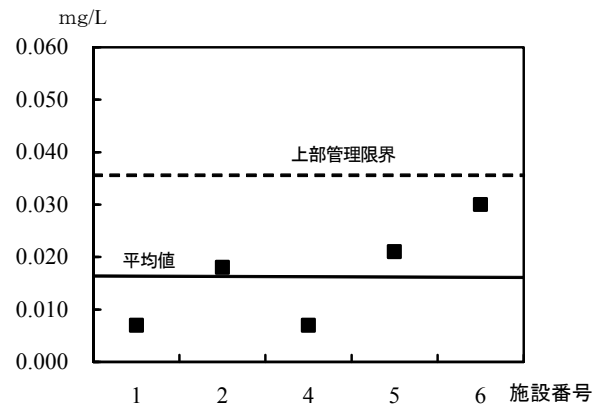


図3 フッ素のR管理図

3.2 TOC

(1) 分析結果

施設 No.1～6 の 6 検査施設が参加し、分析方法はすべての施設が燃焼酸化法による定量法であった。

各施設の分析結果を表 4 及び図 4 に示した。5 回併行試験の結果の平均値は 1.93～2.14mg/L、標準偏差は 0.005～0.092mg/L、変動係数は 0.25～4.29%であった。全データの最大値は 2.24mg/L、最小値は 1.92mg/L、平均値は 2.03mg/L、標準偏差は 0.025mg/L、変動係数は 1.18%であった。

(2) 解析結果及び評価

\bar{x} 管理図を図 5 に示した。上部管理限界を目標値の

110%値 (2.2mg/L)、下部管理限界を目標値の90%値 (1.8mg/L) としたところ、すべての施設が管理限界内であり、良好であった。

R管理図を図 6 に示した。上部管理限界は、上水試験方法 (2011年版) I-4 2.2.3品質管理の評価に従い、範囲の平均値0.06mg/Lにn=5に相当する係数D₄

(2.115) を乗じた値0.127mg/Lとした。その結果、施設No.2が上部管理限界を超え、併行試験における精度が確保されていないことが考えられた。

Zスコアの絶対値については、表 4 に示したとおりすべての施設で 2 以下であり、良好であった。

表 4 TOCの分析結果

施設No.	最大値 mg/L	最小値 mg/L	平均値(\bar{x}) mg/L	標準偏差 mg/L	変動係数 %	範囲(R) mg/L	Zスコア
1	1.98	1.96	1.97	0.008	0.42	0.02	-0.7
2	2.24	2.03	2.14	0.092	4.29	0.21	1.5
3	2.04	2.03	2.03	0.005	0.25	0.01	0.1
4	2.02	2.00	2.01	0.008	0.42	0.02	-0.2
5	1.95	1.92	1.93	0.013	0.67	0.03	-1.3
6	2.10	2.04	2.07	0.022	1.05	0.06	0.6
平均	2.06	2.00	2.03	0.025	1.18	0.06	

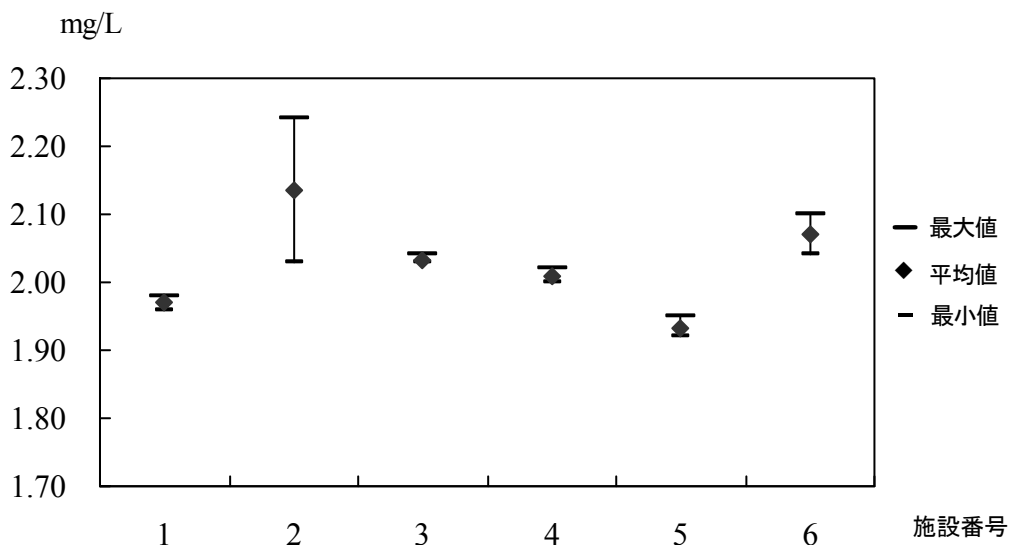


図 4 TOCの分析結果

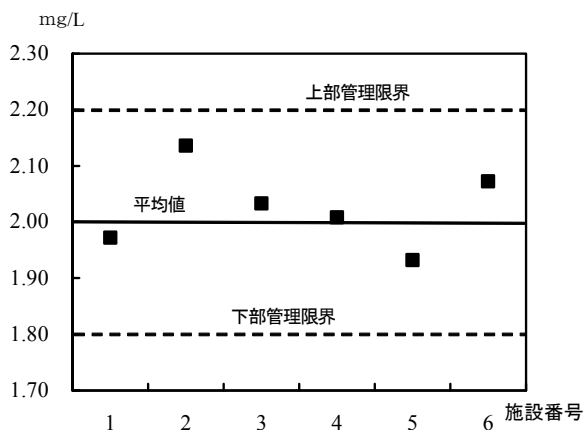


図5 TOCの平均管理図

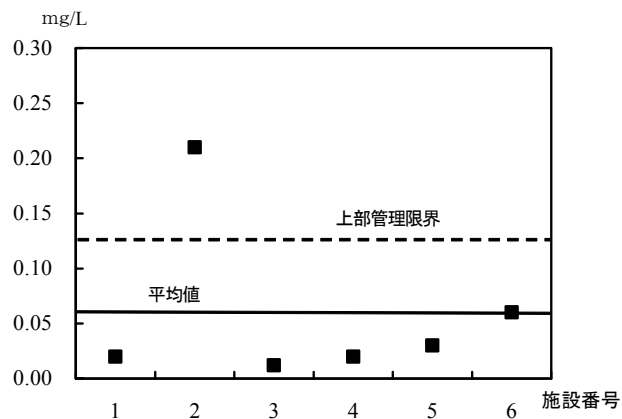


図6 TOCのR管理図

4. まとめ

県内6検査施設を対象として、フッ素、TOCについて水道水質外部精度管理調査を行い、平均管理図、R管理図及びZスコアを基に評価を行った。

- 1)フッ素については、すべての施設においていずれの評価も良好であった。
- 2)TOCについては、R管理図で1施設が上部管理限界を超え、併行試験における精度が確保されていないことが考えられたが、平均管理図及びZスコアの評価はすべての施設で良好であった。
- 3)全体として各施設の評価は概ね良好であり、本調査においてデータの信頼性は確保されていたことが考えられた。

文 献

- 1)木村淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果.青森県環境保健センター研究報告,**11**,64-69,2000
- 2)村上淳子ほか：水質精度管理実施状況(平成12年度～14年度).青森県環境保健センター研究報告,**14**,71-80,2003
- 3)村上淳子ほか：水質精度管理実施状況(平成15年度).青森県環境保健センター研究報告,**15**,51-54,2004
- 4)村上淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平

成16年度).青森県環境保健センター研究報告,**16**,62-65,2005

5)村上淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成17年度).青森県環境保健センター研究報告,**17**,44-48,2006

6)村上淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成18年度).青森県環境保健センター研究報告,**18**,46-49,2007

7)村上淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成19年度).青森県環境保健センター研究報告,**19**,51-54,2008

8)木村淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成20年度).青森県環境保健センター研究報告,**20**,38-40,2009

9)木村淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成21年度).青森県環境保健センター研究報告,**21**,47-50,2010

10)木村淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成22年度).青森県環境保健センター研究報告,**22**,52-55,2011

11)木村淳子ほか：水道水質外部精度管理調査結果(平成23年度).青森県環境保健センター研究報告,**23**,31-35,2012

十和田湖底質中の重金属類について (平成9年度～平成24年度)

五十嵐飛鳥

十和田湖底質に高濃度の重金属を含む地点があることは、過去の調査において報告¹⁾⁴⁾されている。更に、底質の柱状採泥の実施による層ごとの重金属濃度及び存在形態に関する調査結果についても報告⁵⁾されており、その報告でも一部を除いては全体的に十和田湖底質の重金属濃度が高めであることが示されている。現在も十和田湖の底質調査は継続しており、過去と同程度の調査結果が得られている。今回は平成9年度から平成24年度までの調査結果⁶⁾についてとりまとめたものである。

Key words : Lake Towada, sediment, heavy metal concentration

1. はじめに

十和田湖水質中の重金属類については、鉱山廃水の影響予測が論じられ、底質が研究の対象となったこともあった¹⁾⁵⁾。

現在、県は公共用水域調査として、昭和46年度から十和田湖の湖沼水及び底質の調査を実施している。

これらの調査結果のうち、底質中の重金属類 (Zn、Pb、As、T-Hg、Cd) について、平成9年度から平成24年度までの測定結果を取りまとめたので報告する。

2. 調査概要

2.1 調査時期及び調査地点

十和田湖の底質調査は、表1及び図1に示す休屋前面(地点1)と子ノ口前面(地点9)の2地点において、年1回(7月)実施した。

表1 調査地点

地点番号	地点名	位置	
		緯度	経度
1	休屋前面	40° 25' 30"	140° 52' 33"
9	子ノ口前面	40° 28' 30"	140° 55' 38"

2.2 調査方法

この2地点において、エクマンバージ採泥器を用いて採泥した。

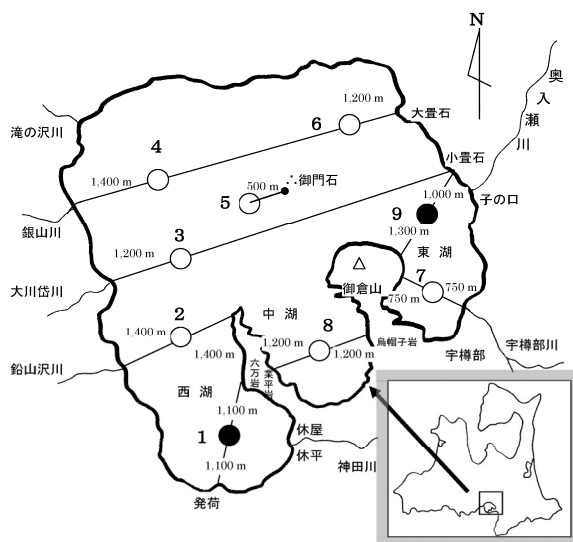


図1 調査地点図

2.3 分析方法

「底質調査方法(環水管第127号)⁷⁾」に従った。

3. 結果と考察

3.1 項目別重金属濃度(平成9年度～平成24年度)

平成9年度から平成24年度までの底質中の各重金属濃度を図2～図6に示した。

いずれの項目についても、全国の主要な湖沼底質中の重金属濃度⁸⁾と比較すると明確に高めではあるが、調査期間中の測定値は項目ごとに、それぞれほぼ同レベルの範囲内を変動していた。

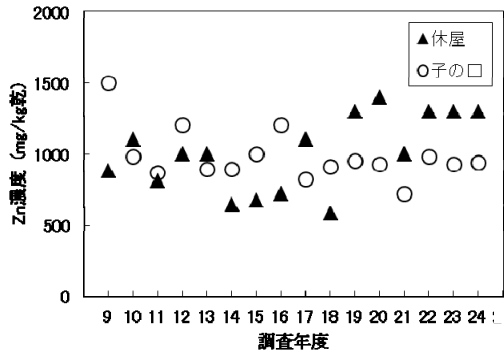


図2 底質中 Zn 濃度 (H9~H24)

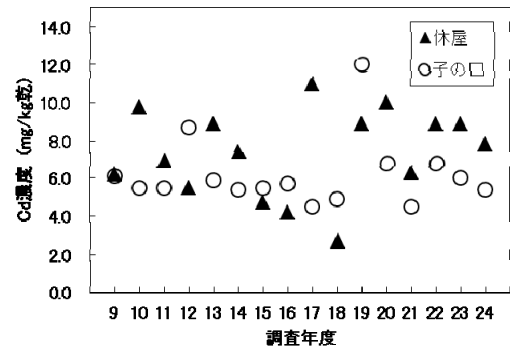


図6 底質中 Cd 濃度 (H9~H24)

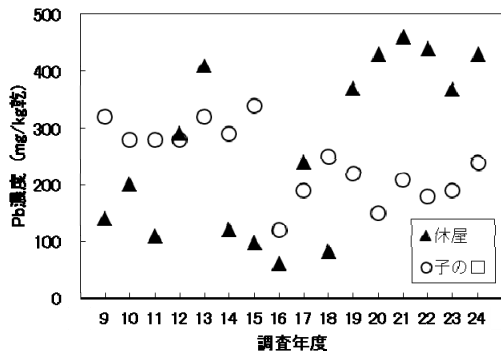


図3 底質中 Pb 濃度 (H9~H24)

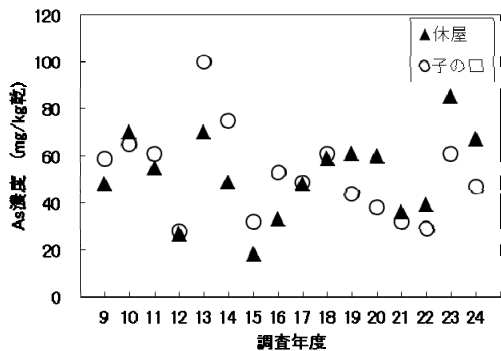


図4 底質中 As 濃度 (H9~H24)

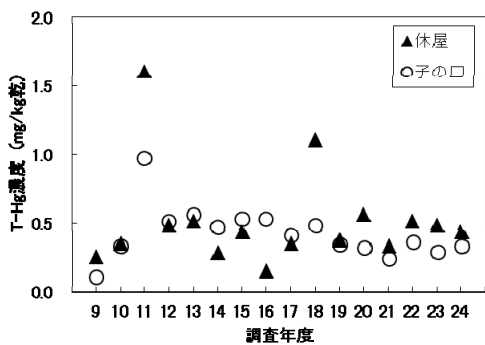


図5 底質中 T-Hg 濃度 (H9~H24)

3.2 過去の調査結果との比較

十和田湖底質中重金属の同地点における過去のデータとしては、野田による底質中重金属の深度ごとの調査結果⁵⁾がある。この報告では、採取した6~7 cmの柱状試料(底質)を外観の違いから1~2 cmの層に区分して分析しており、表2のとおり報告されている。

表2 各層の重金属濃度 (S58 年度報告⁵⁾)

(単位: $\mu\text{g/g}$)

地点	層 (cm)	Zn	Pb	As
休屋	0 - 1.5	1200	490	40
	1.5 - 3.0	1000	690	28
	3.0 - 4.5	5500	2600	130
	4.5 - 5.5	1100	800	76
子の口	0 - 2.0	920	180	47
	2.0 - 4.0	1300	340	54
	4.0 - 5.0	900	340	100
	5.0 - 6.5	950	260	41

(参考文献5)の表1から抜粋)

なお、この報告ではHFを用いた全量分析を実施している。現在の底質試験法では過塩素酸を用いた酸分解であるが、過去の形態別定量の結果によると堆積物中にケイ酸塩として存在するのはほぼFeであり、Zn、Pbについてはほとんどが水酸化物、酸化物及び酸可溶性硫化物、Asは酸化物、酸可溶性硫化物及び他の水酸化物との共沈として存在していることが推測されているため、現在の測定結果との比較は可能と考えられる。

そこで、表3に平成9年度から平成24年度までの分析結果の範囲と、昭和58年度調査の報告値と比較した。(休屋の3.0-4.5層の濃度は特異に高いので比較データからは除外した。)

その結果、Zn、Pb 及び As については、過去の調査時点から大きな変動はしていないものと考えられた。

表 3 底質中 Zn、Pb、As 濃度比較

(単位: mg/kg 乾)

地 点	項目	H9-H24 年度	S58 年度報告 ⁵⁾
休 屋 子の口	Zn	580 - 1400	1000 - 1200
		720 - 1500	900 - 1300
休 屋 子の口	Pb	62 - 460	490 - 800
		120 - 340	180 - 340
休 屋 子の口	As	18 - 85	28 - 76
		28 - 100	41 - 100

比較データのない T-Hg 及び Cd についても、平成 9 年度から平成 24 年度までの濃度範囲を表 4 にまとめた。休屋と子の口は湖沼内では西湖と東湖の離れた調査地点であるが、濃度はほぼ同程度であった。

表 4 底質中 T-Hg、Cd 濃度 (H9-H24 年度)

(単位: mg/kg 乾)

地 点	T-Hg	Cd
休 屋	0.15 - 1.6	2.7 - 11
子の口	0.11 - 0.97	4.5 - 12

十和田湖固有の一次的底質は灰青色泥であるとされ、褐色泥状の底質はその後流入水により運ばれた泥粒の堆積した二次的な形成層と考えられるとの報告^{2),9)}がされている。また、野田の報告⁹⁾における柱状堆積物も黒褐色泥状で灰青色泥には到達していない。一方、現在の調査において採取されている底質は黒褐色泥と灰青色泥が混合した外観を呈しており、採取される堆積物に相違が出てきている可能性があるが、今回とりまとめた近年 15 年間の底質の重金属濃度は、約 30 年前の調査による濃度と比較してほぼ同レベルにあった。

なお、昭和 53 年に実施された十和田湖底質の重金属の溶出試験 (Fe、Cu、Zn、Cd、Mn、Pb 対象) では、魚類に影響を与えるような重金属の溶出は見られなかったとされている¹⁰⁾。

また、吉田らによると、十和田湖水の重金属濃度は過去の鉛山鉱山の操業により一旦増加したが、排水対策によって 1979 年頃には操業前の濃度にまで回復し、その後ほぼ一定のレベルで推移していると報告¹¹⁾されている。現在の調査においても、湖水中の重金属濃度は Zn と As を除き、定量下限値未満で

ある。Zn と As は定量下限値を上回って検出されているものの、Zn は鉱山操業前のレベルであり、As も環境基準値を下回るレベルである。

4. まとめ

平成 9 年度から平成 24 年度までの十和田湖底質中の重金属の調査結果は、以下のとおりであった。

- 1) 十和田湖底質中の重金属濃度は、全国の主要な湖沼底質中の重金属濃度と比較すると高濃度ではあるが、調査期間中の測定値は、それぞれほぼ同レベルの範囲内を変動していた。
- 2) 底質中の Zn、Pb 及び As 濃度については、昭和 58 年度の報告値と比較して、大きな変動はしていないものと考えられた。
- 3) 底質中の T-Hg 及び Cd 濃度については、休屋と子の口でほぼ同程度であった。

文 献

- 1) 細川可興他：十和田湖に関する調査 (第 2 報) . 青森県公害センター所報,2,96-102,1976
- 2) 細川可興他：十和田湖に関する調査 (第 3 報) . 青森県公害センター所報,3,118-125,1977
- 3) 野田正志：十和田湖周辺岩石の重金属 (その 2) . 青森県公害センター所報,5,91-95,1981
- 4) 野田正志：十和田湖の底質と周辺土壌及び岩石の関連性. 青森県公害センター所報,6,57-62,1983
- 5) 野田正志：十和田湖柱状堆積物の重金属濃度及びその形態について. 青森県公害センター所報,6,109-112,1983
- 6) 青森県：環境白書 (平成 10 年版～平成 25 年版)
- 7) 環境庁：底質調査方法の改定について. 環水管第 127 号,昭和 63 年 9 月 8 日
- 8) 環境庁：昭和 61 年度環境庁委託業務結果報告書 底質汚濁改善対策調査—底質データベース解析報告書—. 昭和 62 年 1 月
- 9) 青森県：十和田湖環境調査研究報告書. 昭和 33 年 8 月
- 10) 十和田湖ふ化場協議会：十和田湖資源対策事業調査報告書 (昭和 42 年～55 年度調査結果の総括) , 昭和 56 年 3 月
- 11) 吉田毅他：十和田湖における鉱山廃水、下水道処理による水質の将来予測. 青森県環境保健センター研究報告,13, 32-46,2002

SPM テープろ紙を用いた水溶性成分の分析による大気環境汚染状況に関する研究

岩間貴士 松倉祐介 米谷康治

平成 24 年度の青森県内の大気汚染状況の調査の結果、浮遊粒子状物質 (SPM) については大気汚染の環境基準の超過には至らなかったが、県内全域で一時的に測定値が上昇する事例がみられた。SPM 自動測定機により採取されたダストスポットに含まれる水溶性成分の分析の結果、二次生成粒子の構成要素である硫酸イオン、硝酸イオン、アンモニウムイオンの上昇が見られた。また、後方流跡線解析の結果からは、本事例発生時に県内を覆っていた気塊は中国北部を通過してきたものである可能性が高いことが分かった。

Key words : Suspended Particulate Matter, PM2.5, water-soluble ions

1. はじめに

平成 25 年 1 月の中国における高濃度の粒子状物質による大気汚染についての報道後、日本国内においても微小粒子状物質 (PM2.5) をはじめとする粒子状物質による大気汚染への関心が高まっている。

PM2.5 や SPM などの粒子状物質の高濃度化の原因は非常に多様であるが、その中で注目される原因の一つが、アジア大陸からの越境汚染である。

平成 24 年度の青森県内の大気汚染物質の常時監視の結果、SPM の環境基準 (短期評価) に達するほどの濃度には達していないが、県内全域において、SPM の濃度が上昇する現象が見られ、同時に PM2.5 の濃度上昇も確認された。SPM や PM2.5 等の粒子状物質の濃度上昇に関する解析事例として、SPM 自動測定機のテープろ紙上に捕集されたダストスポットの分析から SPM の構成成分の時間変動を調査する試みがこれまでいくつか報告されている。¹⁾²⁾

今回、粒子状物質を構成する成分のうち、水溶性成分の挙動を調査するため、県内に設置されている SPM 自動測定機のテープろ紙に捕集されたダストスポットの分析を行ったので報告する。

2. 方法

2.1 調査概要

(1) 調査地点

SPM 自動測定機が設置されている県内 13 測定局

のうち、県内の広い範囲の状況を確認するため図 1 に示す 4 測定局を調査地点とした。

(2) 調査時期

SPM 濃度上昇事例が発生した平成 25 年 2 月 15 日 6 時から 14 時を上昇期、その前後にあたる 2 月 14 日 4 時から 12 時及び 2 月 16 日 8 時から 16 時をそれぞれ通常期 1 及び通常期 2 として調査を実施した。

(3) 調査方法

SPM 自動測定機によりテープろ紙上に捕集されたダストスポットを直径 10 mm の円形に切り取り、超純水 3 ml で超音波抽出を行った。調製した試料についてはイオンクロマトグラフ (DIONEX 社製 DX-500) により分析を行った。

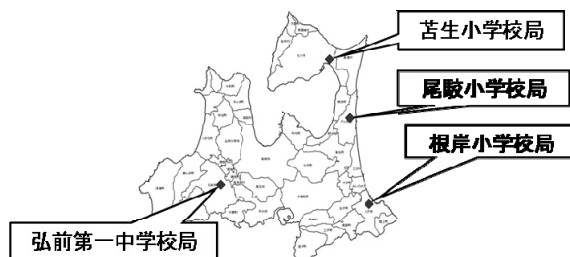


図 1 調査地点図

3. 結果と考察

3.1 大気汚染常時監視データ

SPM 高濃度事例が発生した平成 25 年 2 月 15 日及びその前後の SPM 及び PM2.5 の濃度変化を図 2 に示す。

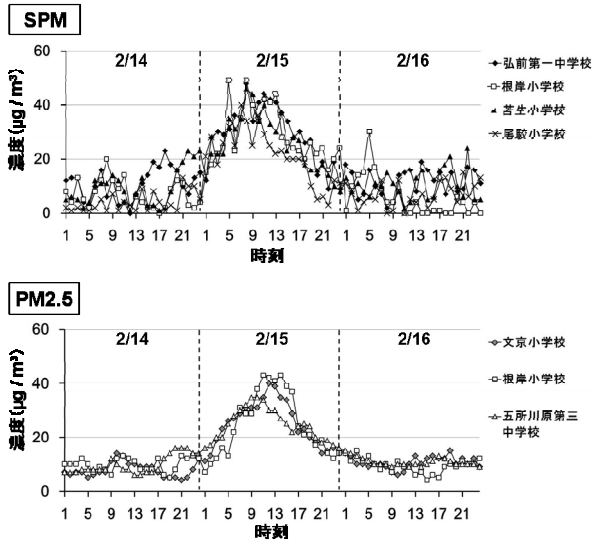


図 2 SPM 及び PM2.5 の経時変化

この事例では、2 月 15 日の 3 時から SPM 及び PM2.5 の濃度が上昇し、同日 8 時から 13 時の間で最高濃度に到達し、2 月 16 日 10 時には概ね平常時の濃度まで低下するという挙動を示していた。

また、SPM の濃度上昇時と同じ日の二酸化硫黄 (SO₂) 及び窒素酸化物 (NO_x) の濃度変化を図 3 に示す。

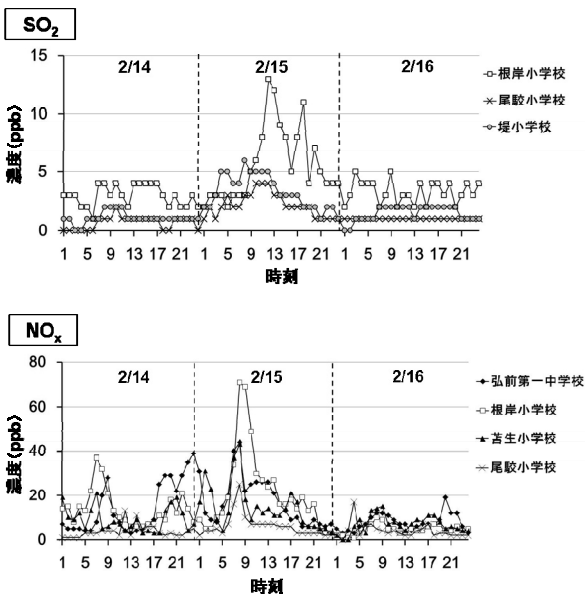


図 3 SO₂ 及び NO_x の経時変化

本県における SO₂ 及び NO_x の濃度は、近年では環境基準に達するような高濃度になることはほとんどない。今回の SPM 濃度上昇事例の発生時においても両測定物質が環境基準を超過する濃度には達していないが、SPM 濃度の上昇とともに両測定物質の濃度が通常よりも上昇する挙動が見られた。

3.2 水溶性成分分析結果

(1) 陰イオン

SPM 中に含まれる陰イオン (塩化物イオン、硝酸イオン、硫酸イオン) の分析結果を表 1 に示す。

表 1 陰イオン分析結果

Cl ⁻ 平均値 (µg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	0.43	0.66	0.23	0.27
上昇期	0.47	0.36	0.24	0.40
通常期2	(0.15)	0.24	0.44	0.28
NO ₃ ⁻ 平均値 (µg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	0.34	0.70	0.29	0.29
上昇期	2.80	1.51	0.80	1.26
通常期2	0.23	0.47	0.41	0.30
SO ₄ ²⁻ 平均値 (µg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	1.89	1.86	2.38	2.60
上昇期	8.08	7.37	6.37	7.47
通常期2	1.60	1.43	2.12	2.23

※括弧内の測定値は定量下限値未満。

塩化物イオン濃度については上昇期と通常期の間で統一的な変化は見られていない。このため、各測定局における塩化物イオンの濃度変化を起こす要因としては局所的な要因が大きいと考えられ、今回の広域的な SPM 濃度上昇事例に対する影響は少ないものと考えられる。

硝酸イオン濃度及び硫酸イオン濃度については、上昇期に数値が高くなっていることから、両測定物質は SPM 濃度の上昇に対して寄与しているものと考えられる。また、両測定物質については粒子状物質の二次生成に関与する成分であることが指摘³⁾されており、本事例においても広域的な SPM 濃度の

上昇であることから、一次生成粒子ではなく、二次生成粒子の影響が大きいことが予測される。

(2) 陽イオン

SPM 中に含まれる陽イオン（ナトリウムイオン、アンモニウムイオン、カリウムイオン、マグネシウムイオン、カルシウムイオン）の分析結果を表 2 に示す。

表 2 陽イオン分析結果

Na ⁺ 平均値 (μg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	(0.00)	1.05	1.02	0.89
上昇期	(0.00)	1.88	2.16	2.12
通常期2	(0.00)	0.70	1.01	0.89
NH ₄ ⁺ 平均値 (μg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	0.10	0.05	0.18	0.16
上昇期	0.50	0.17	0.92	0.90
通常期2	0.09	(0.00)	0.10	0.06
K ⁺ 平均値 (μg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	(0.09)	0.28	0.17	0.25
上昇期	0.24	0.57	0.52	0.67
通常期2	(0.01)	0.15	0.16	0.24
Mg ²⁺ 平均値 (μg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	(0.03)	(0.03)	(0.00)	(0.03)
上昇期	(0.05)	0.07	(0.01)	0.07
通常期2	(0.02)	(0.02)	(0.00)	(0.02)
Ca ²⁺ 平均値 (μg/m ³)				
	弘前一中	根岸小	苫生小	尾駁小
通常期1	0.12	0.30	(0.00)	0.10
上昇期	0.19	0.28	(0.04)	0.27
通常期2	(0.10)	0.11	(0.00)	0.13

※括弧内の測定値は定量下限値未満。

ナトリウムイオン濃度については弘前第一中学校局では定量下限値未満であったが、他の3測定局では上昇期に数値が高くなっている。アンモニウムイオン濃度及びカリウムイオン濃度については、上昇期に数値が高くなっていることから、SPM 濃度の上昇に対する寄与が考えられる。マグネシウムイオン濃度については上昇期に数値が若干高くなっているが、通常期及び上昇期における濃度レベルが非常に低いことから、SPM 濃度の上昇に対する寄与は小さいと考えられる。カルシウムイオン濃度については上昇期と通常期の間で、大きな数値の変動が見られないことから、今回の広域的な SPM 濃度の上昇への寄与は少ないと考えられる。

なお、濃度上昇が確認された陽イオンのうち、アンモニウムイオンについては硝酸イオン、硫酸イオンとともに粒子状物質の二次生成に関与していることが指摘³⁾されており、SPM 濃度上昇における二次生成粒子の影響が示唆される。

3.3 後方流跡線解析

県内全域で SPM の濃度上昇が確認された日の県外からの大気汚染物質の移流の影響を調べるため、青森県上空の大気の輸送経路を平成 25 年 2 月 15 日 10 時から 120 時間前に遡って後方流跡線解析を行ったところ、図 4 のとおりであった。

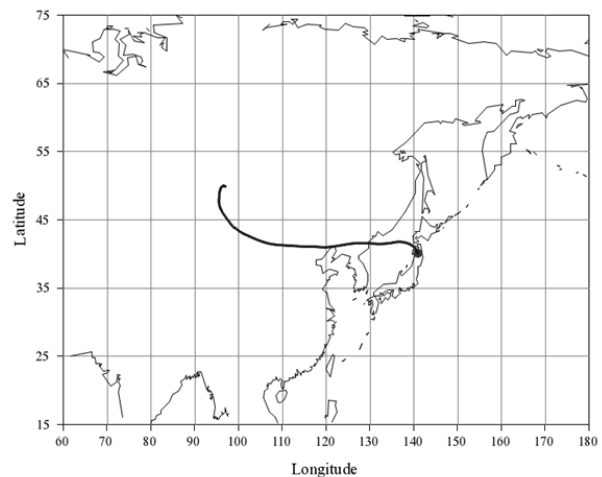


図 4 後方流跡線解析結果

解析の結果、2月15日に青森県に到達した気塊は中国北部を通過する軌跡を示していた。

4. まとめ

調査の結果は下記のとおりである。

1) 県内全域における SPM 濃度上昇時には、SO₂ 及び NO_x 濃度も上昇していた。

2)SPM 濃度上昇時には、陰イオンでは硝酸イオン及び硫酸イオン、陽イオンではナトリウムイオン、アンモニウムイオン、カリウムイオンの濃度上昇が見られた。

3)後方流跡線解析の結果、県内全域で SPM の濃度が上昇した平成 25 年 2 月 15 日に青森県を覆っていた気塊は中国北部を通過して輸送されてきたものである可能性が高いことが分かった。

これらの結果は粒子状物質あるいはその前駆物質となる大気汚染物質の移流が西日本だけでなく、本県にも影響を及ぼす可能性を示唆するものである。日本国内で比較した場合、青森県では西日本ほど越境汚染の影響を受けることは少ないと考えられるが、大気の状態や気象条件によっては影響を受ける可能性があると考えられる。

文 献

1)竹内浄他:テープろ紙を用いた川崎市における SPM 高濃度時の無機粒子の二次生成に関する研究. 大気環境学会誌, **42**,No4,209-218,2007

2)日浦盛夫他:SPM 自動測定器のテープろ紙を活用した浮遊粒子状物質の高濃度事象の研究. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告, **16**, 45-51, 2008

3)編集企画委員会:知っておきたい PM2.5 の基礎知識. 一般財団法人日本環境衛生センター, 神奈川, 2013

青森県内における航空機騒音に係る新環境基準による評価について

松倉祐介 岩間貴士 野澤直史 米谷康治

平成25年4月に航空機騒音に係る環境基準の一部が改正され、航空機騒音の評価指標が、最大騒音レベルと航空機の機数に基づく加重等価継続感覚騒音レベル「WECPNL」から、夕方、夜間の騒音に重み付けをして評価する時間帯補正等価騒音レベル「 L_{den} 」に改正された。当所では、平成24年度に青森県三沢市に立地する三沢飛行場周辺3地点及び青森県八戸市に立地する八戸飛行場周辺1地点において、2つの評価指標による航空機騒音調査を行い、評価指標の特性の違いを確認した。

Key words : aircraft noise, Weighted Equivalent Continuous Perceived Noise Level, L_{den}

1. はじめに

航空機騒音に係る環境基準については、昭和48年12月の告示¹⁾により、加重等価継続感覚騒音レベル「WECPNL」が航空機騒音に係る評価指標として用いられてきたが、平成19年12月に航空機騒音に係る環境基準の一部改正の告示²⁾により、平成25年4月から時間帯補正等価騒音レベル「 L_{den} 」を評価指標とすることとなった。

新たな環境基準値は、 $L_{den} \doteq \text{WECPNL} - 13$ として示された。航空機騒音に係る環境基準値を表1に示す。

表1 航空機騒音に係る環境基準値

地域類型	環境基準値	
	WECPNL	L_{den}
I	70 WECPNL 以下	57dB 以下
II	75 WECPNL 以下	62dB 以下

地域類型 I : 専ら住居の用に供される地域

地域類型 II : I 以外の地域で通常の生活を保全する必要がある地域

当所では、平成24年度に三沢飛行場周辺3地点及び八戸飛行場周辺1地点において、WECPNLによる測定のほか、 L_{den} による測定を行った。

今般、各地点における測定結果をとりまとめたので報告する。

2. 方法

2.1 調査地点及び調査期間

調査地点及び調査期間を表2、調査地点図を図1に示す。

表2 調査地点及び調査期間

調査地点	調査対象飛行場	地域類型	調査期間
A	三沢	II	H24.6.7 ~ 6.20
B	三沢	II	H24.7.31 ~ 8.13
C	三沢	II	H24.8.28 ~ 9.10
D	八戸	II	H24.5.15 ~ 5.28



図1 調査地点図

2.2 測定機器

日東紡音響エンジニアリング(株)製可搬型航空機騒音自動測定装置 DL-100/LE

2.3 測定条件

(1)WECPNL

航空機騒音監視測定マニュアル³⁾に準拠

(2) L_{den}

航空機騒音測定・評価マニュアル⁴⁾に準拠

2.4 解析

解析については、暗騒音+10dB以上の騒音について、航空機のトランスポンダ応答信号電波及び実音を確認し、航空機騒音であるかどうか判定し、結果を取りまとめた。

3. 結果と考察

3.1 WECPNL 及び L_{den} 測定結果

WECPNL 及び L_{den} 測定結果を表 3 に示す。

表 3 測定結果の概要

調査地点	調査対象飛行場	騒音発生回数	WECPNL	L_{den} (dB)
A	三沢	175	54	41
B	三沢	993	81	66
C	三沢	478	68	52
D	八戸	171	51	39

測定を行った 4 地点中 3 地点は WECPNL 及び L_{den} による環境基準値内であったが、B 地点のみ WECPNL 及び L_{den} による環境基準値を超過する結果となった。なお、B 地点は平成 16 年度以降環境基準値超過の状態が続いている。

また、三沢飛行場周辺 3 地点の結果を比較すると、滑走路の延長線上に位置する B 地点が最も騒音発生回数が多く、評価値も大きかった。そして、C 地点、A 地点の順に、飛行場からの距離が離れているほど、騒音発生回数及び評価値が小さくなっていた。

3.2 WECPNL 及び L_{den} 測定結果の比較

WECPNL は、航空機 1 機当たりの最大値騒音レベル ($L_{A,Smax}$) を読み取り、騒音継続時間を一律 20 秒と仮定して、航空機 1 機当たりのエネルギー量を三角近似により算出している。これは、環境基準値近傍の WECPNL 70~80 の地域では、多くの

場合、騒音継続時間が約 20 秒となっているためである。

その一方、 L_{den} は騒音継続時間を $L_{A,Smax} - 10dB$ 以上の時間として、この区間に含まれる総暴露量をエネルギー平均により算出している。

L_{den} の算定の際に、騒音継続時間を 20 秒と仮定して、2 つの評価指標の関係性を求めると、 $L_{den} \approx WECPNL - 13$ となり、これが新たな環境基準値として設定⁵⁾ されている。

しかしながら、騒音継続時間は飛行場の運航形態、飛行場との距離及び航空機の機種により異なることから、WECPNL と L_{den} の差が 13 から変動することが考えられる。

そこで、当所で測定を行った 4 地点における WECPNL と L_{den} の差と、測定期間内における平均騒音継続時間について検討した。

4 地点における WECPNL と L_{den} の差及び平均騒音継続時間を表 4 に示す。

表 4 WECPNL と L_{den} の差と平均騒音継続時間

調査地点	調査対象飛行場	WECPNL と L_{den} の差	平均騒音継続時間(秒)
A	三沢	13	23.3
B	三沢	15	12.7
C	三沢	16	17.4
D	八戸	12	24.6

4 地点における WECPNL と L_{den} の差に着目すると、A 地点のみ WECPNL と L_{den} の差が 13 であったが、それ以外の地点では異なる値であった。

また、平均騒音継続時間に着目すると、A、C 及び D 地点は平均騒音継続時間が 20 ± 5 秒内であったが、B 地点は 12.7 秒となっており、他地点と比較して短くなっていた。

B 地点の平均騒音継続時間が短い要因として、三沢飛行場では民間航空機の飛行よりも自衛隊や米軍の訓練飛行が多く、民間航空機のみが飛行する空港とは騒音の継続状況が異なると考えられること、また、測定地点が飛行場滑走路の延長線上に位置し、飛行場に近接していることが考えられる。

WECPNL と L_{den} の差と、平均騒音継続時間の関係性をさらに検討するため、三沢飛行場周辺 3 地点における測定日毎の、WECPNL と L_{den} の差及び平均騒音継続時間の関係を図 2 に示す。

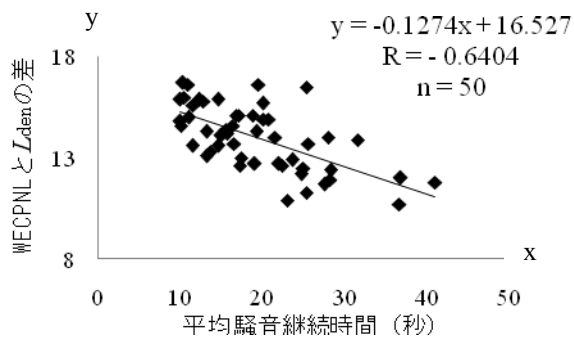


図 2 WECPNLと L_{den} の差と平均騒音継続時間との関係（三沢飛行場周辺3地点の集計）

図2から、WECPNLと L_{den} の差と、平均騒音継続時間の間に負の相関があり、平均騒音継続時間が長くなるほど、WECPNLと L_{den} の差が小さくなっていき、逆に平均騒音継続時間が短くなるほど、差は大きくなっていく傾向があると考えられる。

B地点とC地点においてはWECPNLと L_{den} の差と平均騒音継続時間の関係が図2のとおりではないものの、表4の結果はおおよそ図2のとおりとなったと言える。

4. まとめ

三沢飛行場周辺3地点及び八戸飛行場周辺1地点において、WECPNL及び L_{den} による航空機騒音調査を行い、評価指標の特性の違いを確認した。

- 1)三沢飛行場周辺1地点でWECPNL及び L_{den} のどちらも環境基準値を超過した。
- 2)平均騒音継続時間によりWECPNLと L_{den} の差が変動し、平均騒音継続時間が長くなるほどWECPNLと L_{den} の差が小さくなっていき、平均騒音継続時間が短くなるほど差が大きくなっていく傾向があると考えられる。

文 献

- 1)環境庁:「航空機騒音に係る環境基準について」、環境庁告示第154号,昭和48年12月27日
- 2)環境省:「航空機騒音に係る環境基準の一部改正について」、環境省告示第114号,平成19年12月17日
- 3)環境庁大気保全局:航空機騒音監視測定マニュアル(昭和63年7月)
- 4)環境省:航空機騒音測定・評価マニュアル(平成21年7月)
- 5)中央環境審議会:「航空機騒音に係る環境基準の改正について(答申)」,平成19年6月29日

Ⅲ 他誌投稿・学会等発表抄録

他誌投稿抄録

飲食店での O157:H7 VT1&2 食中毒発生事例—青森県

福田 理 武沼浩子 三上稔之 山口美由記¹ 倉本ひろみ¹ 黒田佳秀¹ 小堀和亮¹ 根橋香織¹ 小田桐和枝² 川村千鶴子² 奈良和久²: 病原微生物検出情報 (IASR) Vol. 34(5) 8-9, 2013.

2012年8月、県内A保健所管内において腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157:H7 VT1&2 を原因とする食中毒が発生した。発症者は14名で、うち13名がEHEC陽性であった。また、二次感染で無症状の者が1名あった。

発症者13名の便由来のEHEC 13株について、パルスフィールド・ゲル電気泳動によるDNA解析を行った結果、13株はほぼ同一の電気泳動パターンを示し、同一の感染源に由来すると推定された。

非加熱食品の提供の際は野菜や調理器具の洗浄消毒の徹底と感染拡大及び再発防止のための広域的な連携が重要であると考えられた。

- 1 五所川原保健所
- 2 東地方保健所

幼稚園での O157:H- VT2 集団発生事例—青森県

武沼浩子 福田 理 三上稔之 三浦裕子¹ 鹿内千恵子¹ 前田敦子¹ 小田桐典子¹ 相馬善範¹ 増田昌輝¹: 病原微生物検出情報 (IASR) Vol.34(5) 14-15, 2013.

2012年10月、青森市内のA幼稚園において腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157a7、VT2 による29名の集団感染が発生した。29名のうち、21名が小学生以下であり、有症者15名、無症状者6名であった。他の8名は職員又は保護者であり、有症者はうち4名、無症状者は4名であった。

陽性者のうち25名の便由来のEHEC 25株について、生化学的性状試験、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 解析を行った結果、H型別はすべてH(-)であった。生化学的性状はすべてEHECの典型的性状を示し、PFGE解析では、ほぼ同一の電気泳動パターンを示した。本事例において、無症状保菌者が陽性者の3割を占めたことから無症状保菌者の存在は、感染拡大、再発防止対策上重要な課題と考えられた。

- 1 青森市保健所

十和田湖における水質調査結果に関する報告

米谷康治 花石竜治¹: 全国環境研会誌.38,2,9-15, 2013

昭和46年に湖沼の環境基準としてAA類型 (COD: 1mg/L以下) に指定された十和田湖は、昭和61年度以降環境基準が達成されておらず、透明度は環境基準点「中央」地点において、昭和61年度以降12mを下回っている。

公共用水域水質調査結果を解析したところ、近年、透明度は9~10mの範囲で、COD75%値は1.1~1.6 mg/Lの範囲で、全窒素は0.07~0.09 mg/Lの範囲で、全リンは0.005 mg/L以下で、いずれも横ばいで推移しており、水質が安定化の傾向にあることが示唆された。

また、湖心における定点層別水質調査結果を解析したところ、平成16年度にCODが一時的に高くなった現象は、懸濁態CODの増加によるものと考えられ、その要因として通常とは異なる窒素及びリンの動向が一因と推察された。

- 1 青森県環境政策課

学会等発表抄録

県内で発生した腸管出血性大腸菌食中毒の分子疫学的解析

福田 理 武沼浩子 三上稔之 山口美由記¹ 倉本ひろみ² 黒田佳秀³ 小堀和亮⁴ 根橋香織³ 小田桐和枝⁵ 川村千鶴子⁵ 奈良和久⁵: 第33回青森感染症研究会, 2013.6.29 (青森市)

2012年8月に、県内某飲食店において、腸管出血性大腸菌O157の集団食中毒が発生した。保健所の調査では、食中毒による発症者は14名であった。

分離された14株のうち13株について、パルスフィールド・ゲル電気泳動法により遺伝子型を解析したところ、遺伝子パターンがほぼ同じであり、同一感染源由来株であると推定された。また、毒素遺伝子型はすべてVT1VT2であった。

原因食品について、喫食者からの聞き取り等により調査が行われ、漬物、みそ汁の可能性が高いとされたが、特定には至らなかった。

食中毒原因菌汚染実態調査 (厚生労働省) の結果報告から漬物などの非加熱の野菜を提供する際には、野菜や手指・器具の洗浄・消毒の徹底が重要であると考えられた。

- 1 弘前保健所
- 2 田舎館食肉衛生検査所
- 3 五所川原保健所
- 4 保健衛生課
- 5 東地方保健所

結核菌の VNTR 法による遺伝子解析

福田 理 武沼浩子 三上稔之：2013 年度青森県保健医療福祉研究発表会日本ヒューマンケア科学学会第 6 回学術集会合同集会，2013.12.21（青森市）

平成 24 年度より、県の結核予防対策事業として、当センターにおいて結核菌の遺伝子解析を行うこととなり、県内の患者から分離された 40 株について、JATA(12)-VNTR 法による遺伝子型別を実施した。

40 株は 27 の型に型別され、7 組 20 株がクラスターを形成し、最大クラスターは 5 株からなっていた。また、12 領域のうち 1 領域のみ反復数が異なった株も存在した。

今後は JATA-15 領域や、それ以上の領域数について行い、菌株の解析精度を高める必要がある。VNTR 法による遺伝子型別データは数字で表されるため、情報の伝達がしやすく、自治体間での情報共有には大変有効である。結核は、ヒトの移動に伴って感染が広域に伝播する可能性があることから、自治体間での VNTR 法の技術的統一化と結核菌遺伝子情報の共有化が結核予防対策上必要と考えた。

2012/13 シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例の遺伝子学的解析

東海林 彰、筒井理華、古川紗耶香、三上稔之：2013 年度青森県保健医療福祉研究発表会・日本ヒューマンケア科学学会第 6 回学術集会合同集会(青森市)2013.12.21

ノロウイルス(NoV)は、ウイルス性胃腸炎の主要な病原体となる RNA ウイルスで、大きく genogroup(G) I～V に分けられ、G I と G II が主に人に感染し、少なくとも G I は 15、G II は 19 の遺伝子型が存在する。青森県では、2006/07 シーズンから 2009/10 シーズンまで G II/4 が主流型であったが、2010/11 シーズン及び 2011/12 シーズンは G II/4 の検出数は減少し、G II/2 が最多で検出されている。2012/13 シーズンに発生した NoV による集団胃腸炎事例の遺伝子解析の結果、事例数では G II/4 が最も多く 19 事例から検出され、次いで

G II/2、G I /6 が 3 事例から検出された。

2012 年 10 月に新潟県の集団胃腸炎事例から検出された NoV は、従来の G II/4 とは異なる変異株 (G II/4:2012 変異株)であることが報告され、全国の集団事例等からも検出されており、急速かつ広域に広がっているため、その動向が注目されていた。2012/13 シーズンに県内で発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例 19 事例から検出された G II/4 は、全てこの変異株と同じクラスターに分類され、本県においても G II/4:2012 変異株が、県内全域に広く蔓延していたことが推察された。

2012/13 シーズンに青森県において集団事例から検出したサポウイルスの遺伝子解析

古川紗耶香 筒井理華 東海林 彰 三上稔之：第 33 回青森感染症研究会，2013.6.29（青森市）

【目的】サポウイルス (SaV) は乳幼児の感染性胃腸炎の原因ウイルスとして知られている。2012/13 シーズンの青森県における SaV を原因とする集団 3 事例の遺伝子解析結果と過去に検出した SaV を併せて比較した。

【方法】発症者便 20 検体を用いた。SaV 遺伝子は multiplex RT-PCR により増幅した。解析は Capsid 領域遺伝子をダイレクトシーケンス法で決定し、実施した。

【結果・考察】15 検体から検出され、SaV は成人を含めた感染性胃腸炎や食中毒の重要な原因ウイルスとなることが示唆された。2012/13 シーズン集団事例の遺伝子型は、修学旅行先 (県外) で感染したものを含め全て G I/2 であった。この株は 2009/10 シーズンにも集団事例を引き起こしていた。過去の事例解析からシーズン毎に検出される遺伝子型に偏りが見られ、今後も SaV の発生動向に注意する必要がある。

編 集 者

工藤真哉 齋藤輝夫（研究報告部会長） 坂上博章
三上稔之 増田幸保 米谷康治
東海林 彰 棟方美穂子 前田寿哉

青森県環境保健センター研究報告

（平成 25 年度）

平成 26 年 3 月発行

編 集 青森県環境保健センター

発 行 〒030-8566 青森市東造道 1-1-1

電 話(017)736-5411 FAX(017)736-5419

メールアドレス KANKYOSENTA@pref.aomori.lg.jp

ホームページ <http://www.pref.aomori.lg.jp/soshiki/kankyo/kankyosenta/center-home.html>
