

# 青森県環境保健センター研究報告

Bulletin  
of  
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center

No.25 2014

青森県環境保健センター



# はじめに

近年、多くの地方研究所では、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。

昨年は約70年ぶりに国内で蚊に刺されて感染するデング熱が確認され、世界では西アフリカで流行するエボラ出血熱の拡大が懸念されるなど、感染症への注目が高まりました。あらためて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管理能力の向上、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、依然として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います。このようなPM2.5や酸性雨等の広域的な大気汚染対策においては、地方自治体のデータや取組事例等が必要不可欠なものであるため、各地方自治体の役割は益々大きくなってきております。本県でも、その原因物質の排出状況等の把握のため、平成26年度からPM2.5の成分分析を開始しました。同時に、効果的な対策の検討のためには、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26年度研究報告（第25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27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

青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向（2013）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 .....	1
青森県におけるヒトメタニューモウイルスの遺伝子学的検討 筒井理華 木村政明 古川紗耶香 東海林 彰 三上稔之 .....	9
県内の散発サルモネラ症例由来分離株の傾向（2013 年） 福田 理 武沼浩子 .....	14
2013/14 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 古川紗耶香 筒井理華 木村政明 .....	18
スズの比色分析についての分析化学的な考察 花石竜治 佐藤裕久 .....	27
マウス試験による麻痺性貝毒検査の信頼性 木村淳子 神 毅統 玉熊義久 澤田 譲 棟方美穂子 楢山宝孝 五日市健夫 増田幸保 佐藤裕久 .....	33

## II ノート

青森県病原微生物検出情報システムの変更 武沼浩子 福田 理 .....	40
限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析の妥当性評価 工藤志保 五日市健夫 柴田めぐみ 増田幸保 佐藤裕久 .....	45
八戸地域における環境大気中ニッケル化合物のモニタリングについて 安田徳彦 五十嵐飛鳥 .....	52
魚類へい死事案調査結果（弘前市だんぶり池） 五十嵐飛鳥 前田寿哉 松倉祐介 三浦誓也 .....	56

III 他誌投稿・学会等発表抄録 .....	59
------------------------	----

# Contents

## I Original Articles

Trends in enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> infection in Aomori Prefecture (2013): PFGE and IS-printing system analyses of strains and evaluation of drug resistance Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda .....	1
Genetic evaluation of human metapneumoviruses in Aomori Prefecture Rika Tsutsui, Masaaki Kimura, Sayaka Kogawa, Akira Tokairin, Toshiyuki Mikami .....	9
Trends in isolates obtained from sporadic salmonellosis cases in Aomori Prefecture (2013) Osamu Fukuda, Hiroko Takenuma .....	14
Genetic analysis of noroviruses responsible for gastroenteritis outbreaks in the 2013/14 season Sayaka Kogawa, Rika Tsutsui, Masaaki Kimura .....	18
Discussion on Colorimetry of Tin from View Points of Analytical Chemistry Ryuji Hanaishi, Hirohisa Sato .....	27
Reliabilities of Inspections for Paralytic Shellfish Toxins by Means of Mouse Bioassay Junko Kimura, Taketo Jin, Yoshihisa Tamakuma, Yuzuru Sawada, Mihoko Munakata, Takatoshi Narayama, Takeo Itsukaichi, Yukiyasu Masuda, Hirohisa Sato .....	33

## II Notes

Changes to the pathogenic microorganism detection information system in Aomori Prefecture Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda .....	40
Evaluation of the suitability of batch analysis of residual agricultural chemicals in agricultural products by means of LC/MS/MS using ultrafiltration Shiho Kudo, Takeo Itsukaichi, Megumi Shibata, Yukiyasu Masuda, Hirohisa Sato .....	45
About the monitoring of nickel compounds in the environmental atmosphere in the Hachinohe region Tokuhiko Yasuda, Asuka Igarashi .....	52
Results of an investigation of the incident of fish deaths (Hirosaki City Danburi Lake) Asuka Igarashi, Toshiya Maeda, Yusuke Matsukura, Seiya Miura .....	56

## III Summaries of Other Publications/

Abstracts of Presentations in Society Meetings .....	59
--	----

# I 報 文





## 青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向（2013）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

2013年に青森県内で届出のあった腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic *E.coli* 以下EHEC）感染症患者は、60人であり、分離された血清型の内訳は、O157が29人、O26が13人、O103が9人、O121が4人、O111が3人、O8、O91がそれぞれ1人であった。EHEC血清型O157による集団食中毒2事例では、PFGE（パルスフィールドゲル電気泳動 以下PFGE解析）解析結果とIS-printing system（以下IS法）による解析結果は一致し疫学調査と合わせて同じ感染源であることが示唆された。薬剤感受性試験で実施した59株はCPDX、CAZ、CTX、IPMの4薬剤にすべて感受性であり耐性菌は検出されなかった。

Key Words:EHEC,IS-printing System,PFGE,drug sensitivity

### 1. はじめに

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病である。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,以下HUS)を引き起こし、小児や高齢者では致命症となることがある<sup>1)</sup>。

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<sup>2)</sup>。

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箇所の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。

また、近年、菌株の異同をあきらかにする分子型別として反復配列多型解析法(multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis; MLVA法)が多様な病原細菌を対象に開発され、優れた特異性を持つ検出方法とされている。国立感染症研究所においては、同一の菌株による広域散発事例をより一層迅速に把握するため、EHEC O157、O26、O111の分子型別にMLVAを利用することとなった<sup>3)</sup>。

EHECの薬剤耐性については、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<sup>4)</sup>。

2013年の青森県におけるEHEC感染症患者の初発は1月17日付の届出であり、11月11日まで患者発生が見られ、合計60人の届出数であった。3月には、県内の異なる地域2カ所において集団食中毒が発生した。このうち、溶血性貧血、急性腎不全、HUSを伴った重症例がそれぞれ2名ずつ報告された。

## 2. 目的

2013年、県内で発生したEHEC感染症の発生の特徴を把握することを目的としてEHEC感染症由来菌株について、PFGEおよびIS法、薬剤感受性試験を行った。

## 3. 方法

### 3.1 供試菌株

EHEC感染症の発生届があり、当センターに収集された57株および他県から供与のあった2株を用いた。

### 3.2 PFGE法による遺伝子解析

2013年に届出があり、収集した59菌株のうち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、泳動条件は6.0 V、2.2~54.2 sec、19 hr、buffer 0.5×TBE、バッファ一温度は14℃により実施した。

### 3.3 IS法による解析

収集した59菌株のうち、集団事例EHEC(O157)患者由来菌株30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9 μL、1st または2nd set Primer Mix 2.5 μL、2×IS printing Master Mix 12.5 μL、Template DNA1 μLの計25 μLで行った。

PCRは96℃2分、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バッファでサブマリン型電気泳動装置を用いた。電圧、泳動時間は、100 V、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。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 Ver2.3ソフトを使用し、コード変換により解析した。図1、図2には、IS法の泳動像の一例を示した。

### 3.4 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。

### 3.5 薬剤感受性試験

収集した59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)、カルバペネム系Imipenem (IPM)を使用した。

### 3.6 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。

## 4. 結果及び考察

2013年に発生した集団事例の一覧を表1~表9に示した。以下に事例ごとの解析結果及び考察を示す。

1) 表13には、県内で発生した2009年から2013年までのEHECの血清型別の分離数を示した。

2013年の血清型別分離数はO157が最も多く48.3% (29/60)、O26が21.7% (13/60)、その他O103が9名、O121が4名、O111が3名、O8とO91が1名であった。

2) 図3には、県内で発生した2009年から2013年までのEHECの月別年別発生状況を示した。

2009、2011、2013年は、本県では、気温の最も低い時期である1月~3月にも発生が見られ、2013年には合計11名の届出があった。月別では、いずれの年次についても7月~9月をピークに発生が最も多かった。

3) 表14には、県内で発生した2009年から2013年までの年齢・性別割合を示した。2009年、2012年は9歳未満の年齢が多い傾向にあったが、2013年は0歳から50歳代まで幅広い年齢層での発生が見られた。集団食中毒2事例での、1歳から88歳の年齢の患者が発生したことが原因であった。性別では、過去5年すべての年次において女性が多い結果であった。

4) 薬剤感受性については59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。2014年には、届出のあったEHEC患者からESBLが1名検出されていることから今後も監視を続ける必要があると考えられた。

5) 事例1では、2013年3月に共通の弁当を喫食した有症状患者6名および無症状患者1名、合わせて7名からEHEC (O157:H7:VT2) が分離された。居住地は届出情報から県内3市であった。年齢層は、園児である4歳から36歳、女性5名、男性2名であった。血便を伴う患者が3名確認された。他県から搬入された2株と合わせた7株は、PFGE、

IS法はすべて同一の遺伝子パターンであった。また、感染研が行ったMLVA解析についても同一パターンであった(図4,表1)。

6)事例2は、3月に共通の焼肉店を利用した事例であり、有症状患者4名、無症状患者1名の合計5名からEHEC(O157:H7:VT1VT2)が分離された。PFGEでは2バンド違いを同一パターンと判断した結果すべて同一であり、IS法の結果についてもすべて同一パターンであった。年齢は5歳から62歳であり血便を伴う症例が4名、初発の患者は溶血性貧血を伴う重症例であった。国立感染症研究所が行ったMLVA解析についても同一の遺伝子パターンであった(図5,表2)。

7)事例3は、7月4日に初発患者の届出後、2日後に同一家族からEHEC(O103:H11:VT1)が分離され、有症状患者1名、無症状患者1名の合計2名であった。患者1名は血便を伴う重症例であった。2株のPFGEは同一パターンであった(図6,表3)。

8)事例4は、7月4日に初発患者9歳男児からEHEC(O121:H—:VT2)が分離され、届出の4日後に12歳女児から(O121:HUT:VT2)検出され、いずれも腹痛、下痢を伴う有症状患者2名であった。2株のPFGEは同一のパターンであった(表4)。

9)事例5は、9月に保育園で発生した感染症事例であり、血便を伴う有症状患者1名、その家族である無症状患者5名の合計6名からEHEC(O26:H11:VT1)が分離された。PFGEはすべて同一パターンであった(図7,表5)。

10)事例6は、9月に親族内で発生した感染症事例であり有症状患者2名、その親族である無症状患者2名の合計4名からEHEC(O157:H7:VT1VT2)が分離された。4歳児はHUS、血便を伴い、87歳男性も血便を伴う重症例であった。PFGEおよびIS法の結果についてもすべて同一パターンであった(図8,表6)。

11)事例7は、同市内において発症が9月30日～10月12日にかけて届出のあった3株からEHEC(O157:H7:VT1VT2)が分離された。PFGE解析ではすべて同一のパターンであり、IS法の結果では、互いに94.4%から97.2%の一致であった。国立感染症研究所が行ったMLVA解析(2名)においても同じ型であった(表7)。

12)事例8は、6月から11月にかけて散発事例として届出のあった5株からEHEC(O157:H7:VT1VT2)が分離された。症状は、腹痛、水溶性下痢、血便を伴う有症状患者5名であった。互いに居住地は異なるが、2株間でPFGEが89%一致した組み合わせが2組、3株間で89%一致した組み合わせが1組あり、IS法の結果についても94.4%～97.2%の一致が見られた。疫学調査では散発事例であり、居住地も異なる5名であるものの共通の感染経路が否定できない事例であった(図3,表8)。

13)事例9は、9月15日及び9月24日に届出のあった有症状患者1名、無症状患者1名の合計2名からEHEC(O121:H19:VT2)が分離された。2株のPFGEは同一パターンであった(表9)。

14)事例10は、7月2日、10日、9月24日に居住地が異なる3名で(O26:H11:VT1)が検出され、いずれも水様性下痢を伴う有症状患者であった。PFGEはすべて異なる遺伝子パターンであった(表10)。

15)事例11は、8月21日、27日に散発患者として届出のあった2事例からEHEC(O157:H7:VT2)が分離された。これら2例は居住地が極めて近いことから、感染経路に共通点があったことが推測された。散発事例であり、居住地は上記と異なるが、同じ血清型別(O157:H7:VT2)が同年2月7日に届出があり、IS法では前2株と94.4%の一致が見られた(表11)。

16)その他散発事例として届出があった株がO103:7株、O111:3株、O26:2株、O8、O91、O111、O157がそれぞれ1株であった(表12)。

17)2013年の結果から散発例や感染経路が不明と報告された事例から分離された株間においてPFGEの型が一致しているケースが見られた。

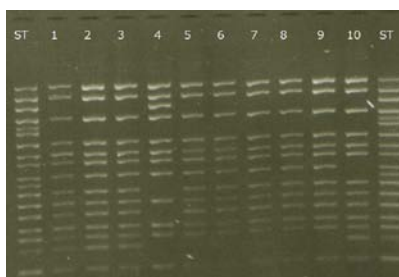


図1 IS プリンティング像 1st

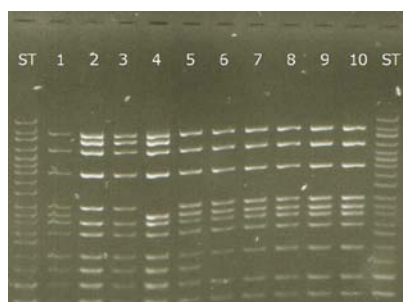


図2 IS プリンティング像 2nd

レーン 1:13019 (事例 5)、レーン 2:13005 (事例 1)、レーン 3:13010 (事例 1)、レーン 4:13011 (事例 1)、  
 レーン 5:13013 (事例 1)、レーン 6:13037 (事例 11)、レーン 7:13039 (事例 11)、レーン 8:13004 (事例 1)、  
 レーン 9:13006 (事例 1)、レーン 10:13015 (事例 1)

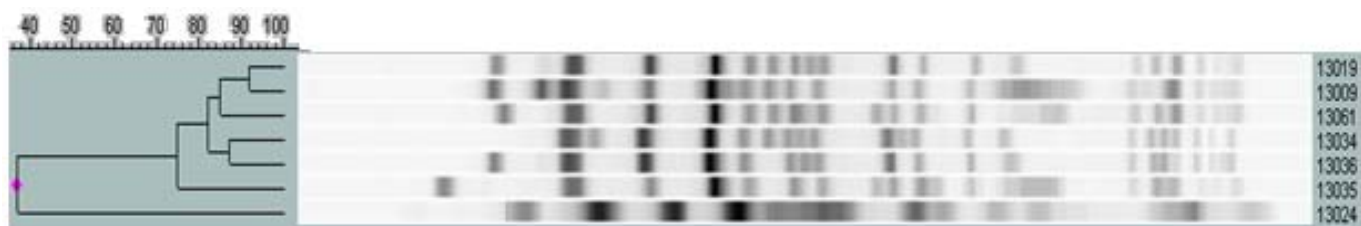


図3 事例 8 解析結果

表1 事例1

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	MLVA	IS法の型 (10進コード)
13004	20130322	35	女	O157	H7	VT2	腹痛、水様性下痢、血便	A	13m0322	11024066628
13005	20130319	4	女	O157	H7	VT2	腹痛、水様性下痢、血便	A	13m0322	11024066628
13006	他県から入手した菌株			O157	H7	VT2	不明	A	13m0322	11040843844
13010	20130329	23	男	O157	H7	VT2	なし	A	13m0322	11024066628
13011	20130325	22	女	O157	H7	VT2	腹痛、水様性下痢、血便、発熱	A	13m0322	11024066628
13013	20130401	36	女	O157	H7	VT2	腹痛、水様性下痢、嘔吐	A	13m0322	11024066628
13015	他県から入手した菌株			O157	H7	VT2	不明	A	13m0322	11040843844

表2 事例2

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	MLVA	IS法の型 (10進コード)
13007	20130326	27	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便、発熱、溶血性貧血	B	13m0225	32692366820
13008	20130327	19	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便、嘔吐、発熱	Bと2バンド相違	13m0225	32692366820
13012	20130411	46	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	B	13m0225	32692366820
13014	20130403	5	男	O157	H7	VT1VT2	水様性下痢、血便、嘔吐	B	13m0225	32692366820
13016	20130411	62	男	O157	H7	VT1VT2	なし	B	13m0225	32692366820

表3 事例3

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE
13021	20130706	6	男	O103	H11	VT1	腹痛、血便、発熱	C
13029	20130711	40	女	O103	H11	VT1	なし	C

表4 事例4

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE
13025	20130710	9	男	O121	H-	VT2	腹痛、下痢	D
13026	20130712	12	女	O121	HUT	VT2	腹痛、水様性下痢、発熱	D

表5 事例5

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE
13043	20130910	1	女	O26	H11	VT1	水様性下痢、血便、発熱	E
13045	20130913	35	女	O26	H11	VT1	なし	E
13046	20130917	1	男	O26	H11	VT1	なし	E
13047	20130919	10	男	O26	H11	VT1	なし	E
13048	20130919	8	男	O26	H11	VT1	なし	E
13049	20130919	88	女	O26	H11	VT1	なし	E

表6 事例6

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	MLVA	IS法の型 (10進コード)
13051	20130924	2	男	O157	H7	VT1VT2	なし	F	13m0156	28933717477
13052	20130924	38	男	O157	H7	VT1VT2	なし	F	未実施	28933717477
13053	20130914	87	男	O157	H7	VT1VT2	水様性下痢、血便	F	13m0156	28933717477
13055	20130918	4	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、血便、HUS	F	13m0156	28933717477

表7 事例7

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	MLVA	IS法の型 (10進コード)
13056	20131004	28	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	G	未実施	28933749989
13057	20131011	18	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便、嘔吐	G	13m0178	28933750245
13059	20131017	44	女	O157	H7	VT1VT2	なし	G	13m0178	28933750245

表8 事例8

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	IS法の型 (10進コード)
13019	20130614	4	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	図8	33228717541
13009	20130324	73	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、血便、発熱、溶血性貧血、急性腎不全、HUS	図8	28934274533
13061	20131111	56	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	図8	33162128871
13034	20130731	24	男	O157	H7	VT1VT2	腹痛、血便	図8	33095024101
13036	20130820	64	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	図8	33228684773
13035	20130815	17	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢	図8	33162095079
13024	20130704	62	女	O157	H7	VT1VT2	腹痛、水様性下痢、血便	図8	33095024101

表9 事例9

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE
13044	20130915	52	女	O121	H19	VT2	水様性下痢	L
13050	20130924	55	男	O121	H19	VT2	なし	Lと1本違い=同一

表10 事例10

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE
13023	20130705	9	女	O26	H11	VT1	腹痛、水様性下痢	M
13027	20130716	78	女	O26	H11	VT1	腹痛、水様性下痢、血便	N
13058	20131016	78	女	O26	H11	VT1	水様性下痢	O

表11 事例11

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状	PFGE	MLVA	IS法の型 (10進コード)
13003	20130207	34	女	O157	H7	VT2	腹痛、水様性下痢、血便、	Pと4バンド相違	未実施	11142032417
13037	20130821	52	女	O157	H7	VT2	腹痛、血便、急性腎不全	P	13m0289	11150421153
13039	20130827	63	男	O157	H7	VT2	腹痛、血便、発熱	P	13m0289	11150421153

表12 散発事例

菌株番号	報告年月日	年齢	性別	O型別	H型別	毒素	症状
13022	20130702	11	男	O103	H2	VT1	腹痛、軟便
13031	20130722	26	女	O103	H2	VT1	腹痛、水様性下痢
13041	20130826	7	女	O103	H2	VT1	腹痛、水様性下痢、嘔吐、発熱
13042	20130828	10	女	O103	H2	VT1	なし
13020	20130706	41	女	O103	H2	VT1	なし
13054	20130926	11	男	O103	H2	VT1	水様性下痢、発熱
13040	20130829	30	男	O103	H51	VT1	なし
13018	20130514	19	男	O111	H(-)	VT1	腹痛、血便、発熱
13028	20130724	7	男	O111	H(-)	VT1	腹痛、水様性下痢、血便
13030	20130729	4	女	O111	HUT	VT1VT2	水様性下痢
13002	20130125	26	女	O157	H(-)	VT1VT2	なし
13032	20130731	46	女	O26	H(-)	VT1	腹痛、血便
13060	20131031	13	女	O26	H(-)	VT1	腹痛、水様性下痢、血便
13033	20130702	51	男	O8	H19	VT2	その他(軟便)
13001	20130117	41	女	O91	H21	VT1	なし

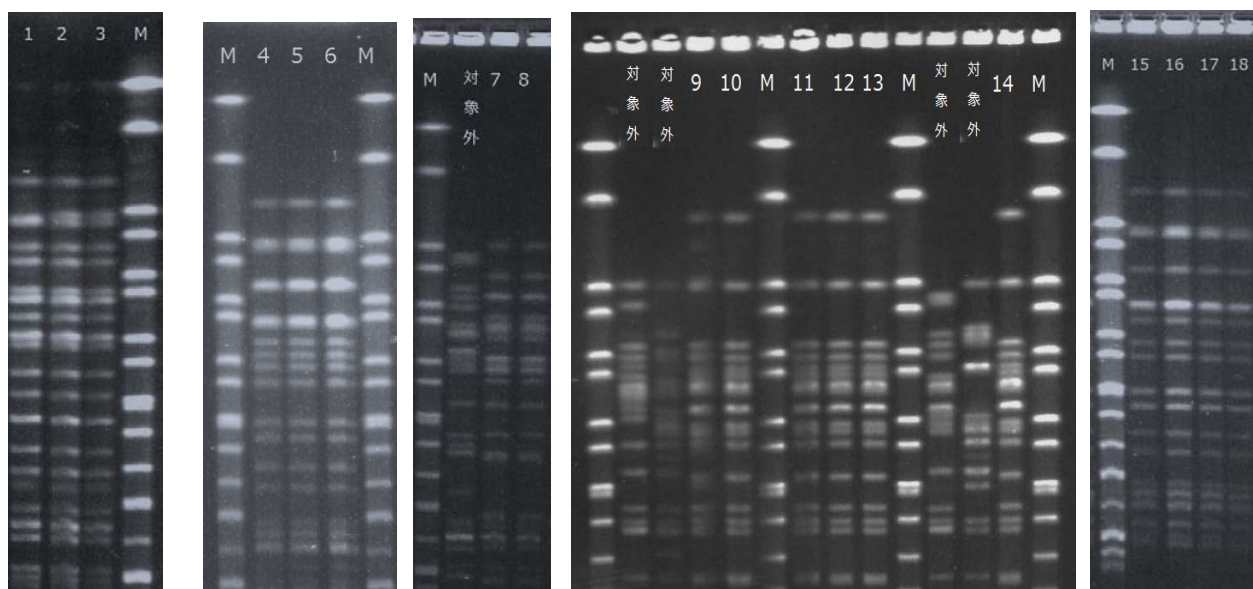


図4 事例1

レーン1:13004

レーン2:13006

レーン3:13015

図5 事例2

レーン4:13012

レーン5:13014

レーン6:13016

図6 事例3

レーン7:13021

レーン8:13029

図7 事例5

レーン9:13045

レーン11:13047

レーン13:13049

レーン10:13046

レーン12:13048

レーン14:13043

図8 事例6

レーン15:13051

レーン16:13052

レーン17:13053

レーン18:13055

表 13 血清型別分離数 (2009-2013)

	2009	2010	2011	2012	2013
O8					1
O18	1				
O25				1	
O26	8	1	11	2	13
O37			1		
O91	1		2	1	1
O103					9
O111	3		1		3
O121			2		4
O156				1	
O157	20	15	7	63	29
O165	2				
計	35	16	24	68	60

表 14 年齢別性別分離数 (2009-2013)

	2009			2010			2011			2012			2013		
	男	女	合計	男	女	合計	男	女	合計	男	女	合計	男	女	合計
0-9	9	9	18	1	2	3	5	5	10	15	13	28	8	6	14
10-19	1	1	2	1	2	3	2		2	9	3	12	5	6	11
20-29		3	3	2	2	4	1	2	3	1	5	6	3	5	8
30-39		3	3	1		1	1	1	2	3	4	7	2	5	7
40-49		1	1			0	1		1			0	1	5	6
50-59		5	5		2	2			0		5	5	3	2	5
60-69		2	2	1		1		2	2	3	3	6	2	2	4
70-79			0		2	2		1	1	1	2	3	1	2	3
80~		1	1			0	1	2	3		1	1	1	1	2
合計	10	25	35	6	10	16	11	13	24	32	36	68	26	34	60

(人)

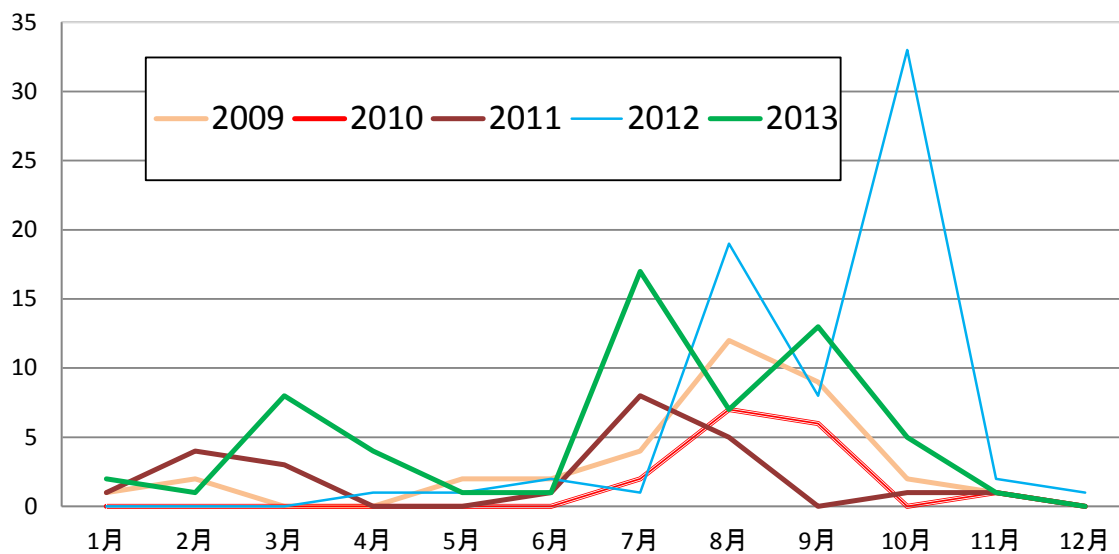


図 9 月別分離数 (2009-2013)

## 6. まとめ

2013年に青森県内で届出のあったEHEC感染症患者は60人であり、分離された血清型の内訳は、O157が29人、O26が13人、O103が9人、O121が4人、O111が3人、O8、O91がそれぞれ1人であった。EHEC血清型O157による集団食中毒2事例では、PFGE解析結果とIS法による結果は一致し疫学調査と合わせて同じ感染源であることが示唆された。

血清型O157患者の血便発症率は62.5%、HUS発症率は9.3%であった。血清型別がO157以外では、血便発症率が21.8%、HUS発症は見られなかった。患者の発生時期は、7月と9月にピークを形成し（図9）、性別では女性が多く、年齢別では9歳以下が多い傾向にあった。薬剤感受性試験で実施した59株はCPDX、CAZ、CTX、IPMの4薬剤にすべて感受性であり耐性菌は検出されなかった。

## 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,**19**,65-69,2007
- 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.北海道立衛生研究所,**59**,67-71,2009
- 3)石原朋子ほか:腸管出血性大腸菌の分子型別.病原微生物検出情報IASR.,**35**,129-130,2014
- 4)荒川宜親:広域 β-ラクタム薬耐性に関与する β-ラクタマーゼの特徴と遺伝的相関.日本臨床微生物学雑誌,**13**,3,150-161,2003

Trends in enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection in Aomori Prefecture (2013): PFGE and IS-printing system analyses of strains and evaluation of drug resistance

Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda

In 2013, 60 patients in Aomori Prefecture were reported to have become infected with enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC). The breakdown of cases by isolated serotype was as follows: O157 in 29 patients, O26 in 13 patients, O103 in 9 patients, O121 in 4 patients, O111 in 3 patients, and O8 and O91 in 1 patient each. In the 2 outbreaks of food poisoning by EHEC serotype O157, the results of pulse-field gel electrophoresis (PFGE) analysis and IS-printing system analysis (IS method) matched, and together with the results of an epidemiologic study, this suggested that the 2 outbreaks had the same source. The results of drug susceptibility tests demonstrated that all of the 58 strains examined were susceptible to 4 drugs (CPDX, CAZ, CTX, and IPM), and no resistant bacteria were detected.

Keywords: EHEC, IS-printing system, PFGE, drug sensitivity



## 青森県におけるヒトメタニューモウイルスの遺伝子学的検討

筒井理華 木村政明 古川紗耶香 東海林 彰<sup>1</sup> 三上稔之<sup>2</sup>

県内におけるヒトメタニューモウイルス (human metapneumovirus:以下、hMPV) が関与する呼吸器ウイルスの動向を把握するため、2011 年 4 月から 2014 年 3 月までに医療機関を受診した呼吸器系小児患者由来検体について分子疫学解析を実施した。hMPV は主として hMPV subgroup A2(-A2)、hMPV-B1 および hMPV-B2 に分類された。hMPV-A2 は年間を通して検出され、hMPV-B1 は 4~6 月、hMPV-B2 は 1~9 月にかけて検出され、遺伝学的に多様な株が流行していた可能性が示唆された。

Key Words:human metapneumovirus,Molecular epidemiology,ARIs,RT-PCR

### 1. はじめに

急性呼吸器感染症 (Acute Respiratory Infections: 以下、ARIs) の原因の多くは、RS ウイルス、ヒトライノウイルス、hMPV、ヒトパラインフルエンザウイルス等であることが知られている。hMPVは、2001年に発見されたパラミクソウイルス科ニューモウイルス亜科メタニューモウイルス属に属する<sup>1)</sup>。また、乳幼児の細気管支炎、喘息様気管支炎、肺炎など重症な下気道呼吸器感染症の急性増悪にも関与する病原体ウイルスであることが知られている<sup>2-3)</sup>。

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 ARIs 検体から検出した hMPV 遺伝子について、ダイレクトシーケンスを実施し、遺伝学的解析の検討を行った。

### 2. 材料と方法

#### 2.1 検査材料

2011 年 4 月から 2014 年 3 月までに急性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吸引鼻汁、咽頭ぬぐい液および鼻汁のうち、hMPV が検出された 44 検体を用いた。

#### 2.2 検査方法

RNA 抽出後、病原体検出マニュアル「ヒトメタニューモウイルス検査マニュアル」<sup>4)</sup> に準じて RT-PCR 法により増幅し、*F* 遺伝子領域の増幅産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列解析を行い、系統樹解析を実施した。

### 3. 結果

hMPV が検出された 44 株の上気道炎、下気道炎別のウイルス検出割合は、上気道炎患者群が 5 株 (11 %)、細気管支炎・気管支炎・肺炎を含む下気道炎患者群が 39 株 (89 %) であった (図 1)。

検出割合が高い傾向を示した下気道炎患者群について、分子系統樹解析を実施した。

検出された hMPV 39 株は、hMPV-A 23 株、hMPV-B 16 株に分類された。hMPV-A 23 株はすべて A2、hMPV-B 16 株は B1 および B2 が各 8 株に分類された (表 1、図 2)。

検出株間の塩基配列の相同性は、hMPV-A2 23 株が 93~100 %、hMPV-B1 8 株が 97~100 %、hMPV-B2 8 株が 99~100 % であった。患者年齢は 0~11 歳 (2.18(±2.30)歳 (mean±SD))、男女比は 15/23、不明 1 であった。

1 十和田食肉衛生検査所

2 元青森県環境保健センター

下気道炎患者 39 検体のうち、6 検体から、複数のウイルスが検出(ヒトライノウイルス 4 株、RSV 2 株、ヒトボカウイルス 1 株)された(図 3)。

月別検出数を図 4 に示した。hMPV-A2 は、年間を通して検出された。hMPV-B1 は、4~6 月にかけて検出され、hMPV-B2 は、1~9 月にかけて検出された。

臨床診断別では、肺炎が最も多く 64 %、気管支炎が 23 %であった。

#### 4. 考察

中村ら、戸田らの報告では、hMPV は主に subgroup A2 株が検出されており、本県においても同様の成績が得られた<sup>6,7)</sup>。また、解析された 39 株はサブグループ A および B のいずれの株も 93 %以上の高い相同性を示し、遺伝子学的に近縁な株が流行していたと示唆された。

hMPV は、国内では 3~6 月を中心に流行するが、通年性である可能性があるとする報告がある<sup>2,5)</sup>。本県においては、hMPV-A2 が散発的に年間を通して検出され、hMPV-B1 が 4~6 月、hMPV-B2 が 1~9 月に多く検出され、全国と同様の成績が得られた<sup>5,8-10)</sup>。また、年間を通して A2、B1 および B2 が混在しており、遺伝学的に多様な株が流行していた可能性が示唆された。

乳幼児では上気道感染症であるといわれているが、細気管支炎、喘息様気管支炎、肺炎など重症な下気道呼吸器感染症にも関与するという報告がある<sup>2)</sup>。本県においては、hMPV の 11 %が上気道炎患者から、89 %が下気道炎患者から検出され、全国と同様の成績が得られた。また、気管支喘息、慢性閉塞性肺疾患の急性増悪に関与するという報告もある<sup>2)</sup>。

今後も継続したARIsウイルスサーベイランスが必要である。

#### 5. まとめ

hMPV 検出株の分子疫学解析成績から主に subgroup A2 株が流行し、年間を通して A2、B1 および B2 が混在しており、遺伝子学的に多様な株が流行していた。今後も引き続き解析していく必要がある。

#### 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金事業重症呼吸器ウイルス感染症のサーベイランス・病態解明及び制御に関する研究より補助を受けて実施した。

#### 文 献

- 1)van den Hoogen BG et al.:Nat Med.,7,719-724, 2001
- 2)Kikuta:ウイルス,56,173-181,2006
- 3)Sumino et al.:J Infect Dis.,192,1052-1060,2005
- 4)国立感染症研究所:病原体検出マニュアル, <http://www0.nih.go.jp/niid/reference/hMPV-manual.pdf>,2008.
- 5)中村雅子他:福井県衛生環境センター年報.,7,126-129,2008
- 6)Nakamura et al.:Jpn.J.Infect.Dis.,66,56-59,2013
- 7)Toda et al :Jpn. J. Infect. Dis.,63,139-140,2010
- 8)Kaida et al.:J.Clin.Virogy.,35,494-499,2006.
- 9)高尾信一他:広島県獣医学雑誌,24,87-92,2009.
- 10)畔上由佳他:長野県環境保全研究所研究報告,7,23-26,2011.

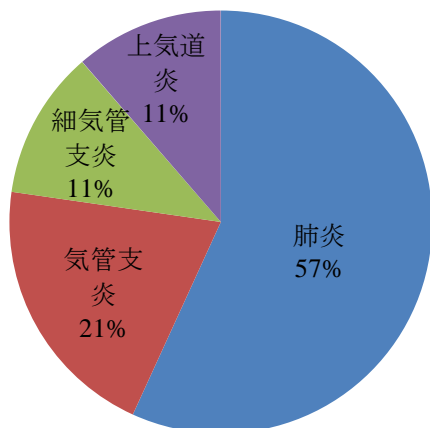


図1 症状の内訳 (n=44)

表 1 hMPV 遺伝子型別

sub group	検出数 (N=39)	症状		
		細気管支炎	気管支炎	肺炎
hMPV-A2	23	3	5	15
hMPV-B1	8	1	1	6
hMPV-B2	8	1	3	4

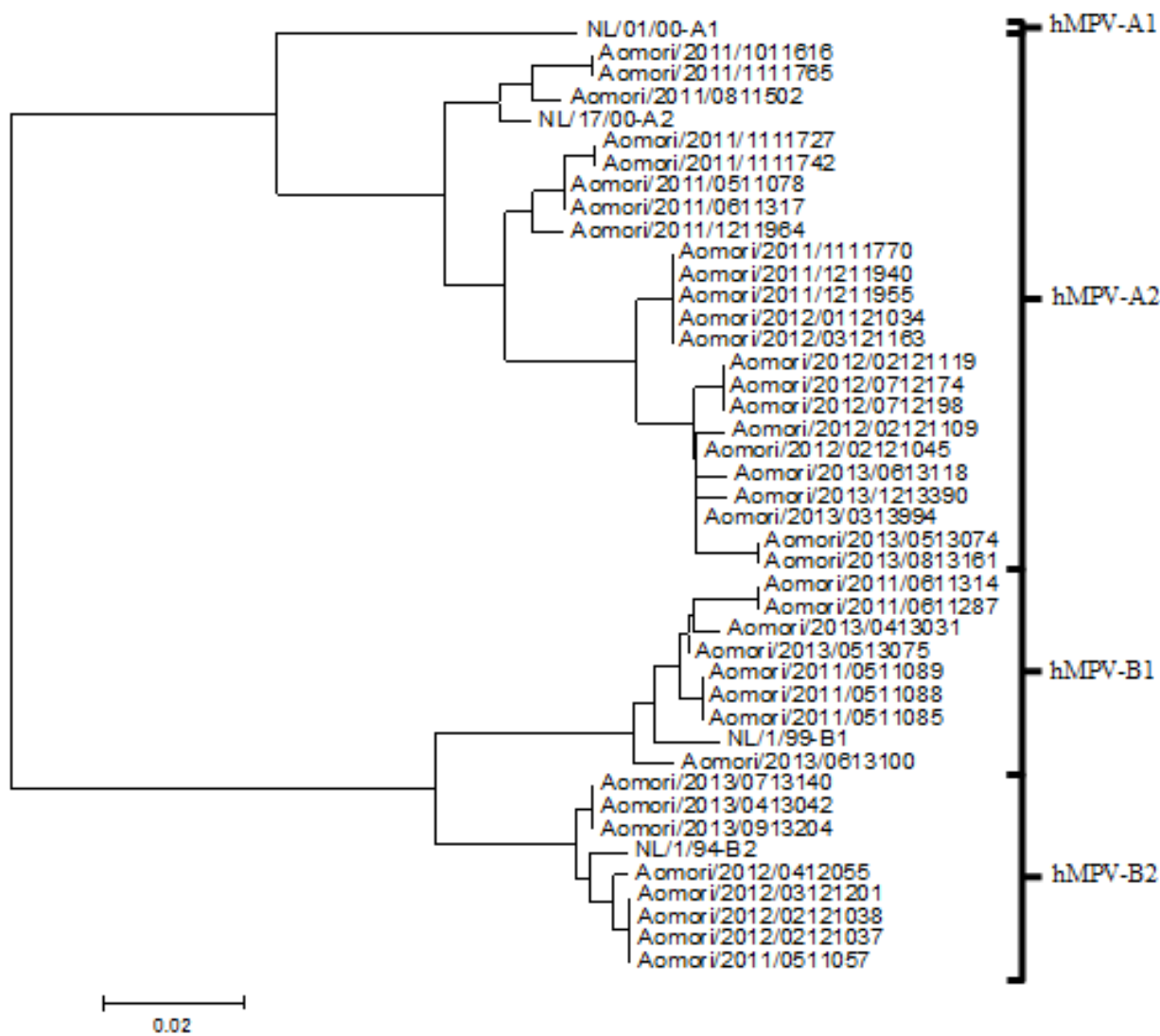


図 2 hMPV (F 遺伝子:233nt) 分子系統樹

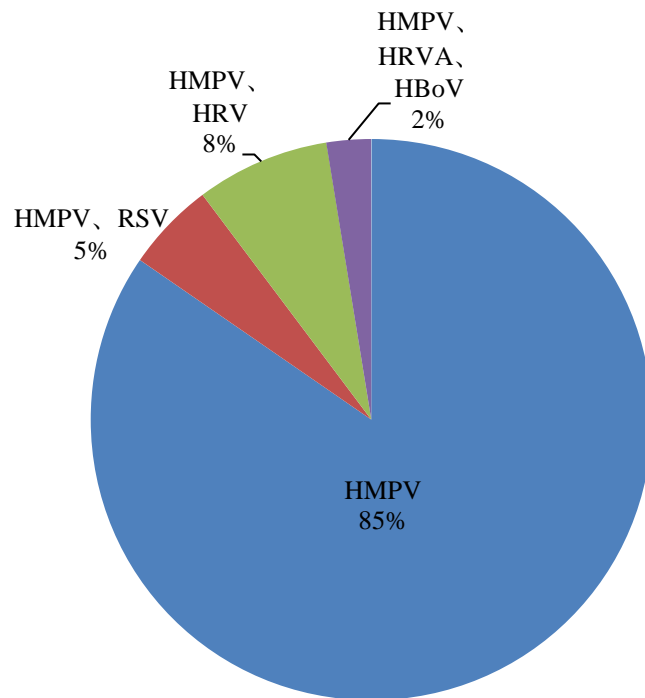


図3 下気道炎から検出されたウイルスの内訳 (n=39)

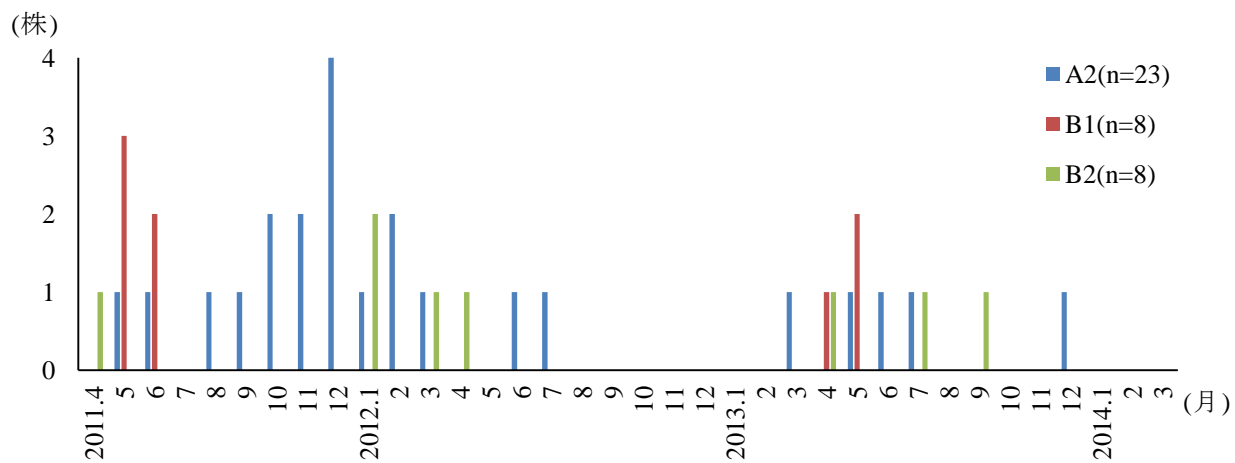


図4 月別検出数(n=39)

## Genetic evaluation of human metapneumoviruses in Aomori Prefecture

Rika Tsutsui, Masaaki Kimura, Sayaka Kogawa, Akira Tokairin, Toshiyuki Mikami

To learn about the trends in respiratory virus infections involving human metapneumoviruses (hMPVs) in Aomori Prefecture, we conducted molecular epidemiological analyses of respiratory specimens from pediatric patients who had visited medical institutions between April 2011 and March 2014. hMPVs were classified mainly into hMPV subgroup A2 (-A2), hMPV-B1 and hMPV-B2. hMPV-A2 was detected throughout the year, hMPV-B1 was detected between April and June, and hMPV-B2 was detected between January and September. The results suggested that it was possible that genetically various strains had been prevalent.

Keywords: human metapneumovirus, molecular epidemiology, ARIs, RT-PCR

## 県内の散発サルモネラ症例由来分離株の傾向 (2013年)

福田 理 武沼浩子

2013年に県内の細菌検査施設で散発サルモネラ症例から検出されたサルモネラ属菌35株のうち、検出数の高かった *Salmonella* Typhimurium 及び *Salmonella* I O4:i:- について、パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法により分子疫学的解析を行った。*Salmonella* Typhimurium 8株は2つのクラスターに、*Salmonella* I O4:i:- 11株は3つのクラスターに分類された。特に、*Salmonella* I O4:i:- 9株の相同率は100%であり、散発症例として収集された菌株ではあるが、潜在的集団発生の可能性が示唆された。

Key Words: *Salmonella*, serotype, molecular epidemiology, PFGE

### 1. はじめに

サルモネラ属菌は、チフス菌、パラチフス菌を除き、ほとんどが急性胃腸炎症状を伴う食中毒の原因菌となる<sup>1)</sup>。汚染した飲食物を通じ経口感染し、10~70時間の潜伏期の後、発熱、下痢、腹痛などの急性胃腸炎症状を呈する感染型食中毒を引き起こすとされる<sup>1)</sup>。感染には大量( $10^6$ 程度)の菌が必要とされるが、血清型(serovar Typhimurium)によっては $10^3$ 以下でも感染するといわれており<sup>2)</sup>、サルモネラ症の疫学調査を行う上で血清型別試験は重要であるといえる。

本県におけるサルモネラ属菌の検出状況は、2012年には、2002年以降で最も少ない19件となったが<sup>3)</sup>、2013年は39件<sup>4)</sup>、2014年は57件<sup>5)</sup>と2年連続で増加しており、今後も継続して監視する必要がある。

2013年に本県において発生した散発サルモネラ症例より分離されたサルモネラ属菌株35株について、それらの傾向を把握するため、分子疫学的解析を行ったので報告する。

### 2. 材料及び方法

#### 2.1 菌株

2013年に県内の細菌検査施設10施設において分離されたサルモネラ属菌35株を用いた。10施設の場所別内訳は青森市、弘前市、八戸市各2施設、五所川原市、十和田市、むつ市、野辺地町各

1施設である。

供試菌株35株はすべて、散発事例によるものとして収集されたものである。

#### 2.2 血清型別試験

35株すべてについて、デンカ生研製サルモネラ免疫血清『生研』を用い、血清型別試験を実施した。

#### 2.3 薬剤感受性試験

35株すべてについて、薬剤感受性試験を実施した。BD製センシ・ディスクを用い、Kirby-Bauer法により行った。生理食塩液にMacFarland濃度0.5になるように菌液を調製し、Mueller-Hinton寒天平板に塗布し、ディスクを置き、35°C、好気条件下で16~24時間培養した。薬剤はAmpicillin (ABPC)、Ceftazidime (CAZ)、Cefalotin (CET)、Cefepime (CFPM)、Cefoxitin (CFX)、Cefotaxime (CTX)、Fosfomicin (FOM)、Imipenem (IPM)、Kanamycin (KM)、Norfloxacin (NFLX)、Tetracycline (TC)の11種類を使用した。

#### 2.4 パルスフィールド・ゲル電気泳動法による遺伝子解析

血清型別試験により *S.*Typhimurium 及び *Salmonella* I O4:i:- と同定されたものについて、パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)法による遺伝子解析を行った。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Bio-Rad製CHEF-DRIIIを用いた。電

圧は 6.0 V/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℃で実施した。

PFGE パターンの解析には、Bio-Rad 製解析ソフト Molecular Analyst Fingerprinting を用いた。

### 3. 結果

#### 3.1 血清型別試験

全 35 株の血清型別試験の結果について、各血清型ごとの数及び割合を表 1 に示す。*Salmonella* I O4:i:- が最も多く (11 株)、次いで *S. Typhimurium* (8 株) であった。その他の血清型はそれぞれ 1 株又は 2 株であった。

#### 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。ABPC 及び TC に対して耐性を持つ株が約半数を占めた。また、血清型ごとに比較すると、O4:i:- では ABPC 耐性率が 100 %、TC 耐性率が 100 %、*Typhimurium* では ABPC 耐性率が 38 %、TC 耐性率が 63 % と高く、この 2 つの血清型では ABPC に耐性であるものはすべて TC に対しても耐性であった (表 3)。

なお、感受性が中間 (I) であったものは、耐性として耐性率を集計した。

#### 3.3 PFGE法による遺伝子解析

PFGE の結果を図に示す。

*Salmonella* I O4:i:- の 11 株のうち、9 株は相

同率が 100 % であった。*S. Typhimurium* の 8 株は、6 株と 2 株のクラスターに分かれ、それぞれ相同率が 100 % であった。

表 1 各血清型の数及び割合

		血清型	
<i>Salmonella</i> I	O4:i:-	11	31%
<i>S. Typhimurium</i>	O4:i:1,2	8	23%
<i>S. Enteritidis</i>	O9:g,m:-	2	6%
<i>S. Stanley</i>	O4:d:1,2	2	6%
<i>S. Braenderup</i>	O7:e,h:e,n,z <sub>15</sub>	1	3%
<i>S. Chester</i>	O4:e,h:e,n,x	1	3%
<i>S. Infantis</i>	O7:r:1,5	1	3%
<i>S. Montevideo</i>	O7:g,m,s:-	1	3%
<i>S. Muenchen</i>	O6,8:d:1,2	1	3%
<i>S. Schleissheim</i>	O4:b:-	1	3%
<i>S. Tumodi</i>	O4:i:z <sub>6</sub>	1	3%
<i>S. Vejle</i>	O3,10:e,h:1,2	1	3%
<i>S. Weltevreden</i>	O3,10:r:z <sub>6</sub>	1	3%
<i>Salmonella</i> I	O7:HUT	1	3%
<i>Salmonella</i> I	O16:l,v:-	1	3%
<i>Salmonella</i> IIIb	O48:l,v,z <sub>13</sub> :1,5,7	1	3%
合計		35	

表 2 薬剤耐性率と血清型による内訳

薬剤名	耐性率	耐性であった血清型 (カッコ内は株数)
ABPC	46% (16/35)	O4:i:-(11),Typhimurium(3),Tumodi(1),Vejle(1)
CAZ	0% (0/35)	
CET	26% (9/35)	O4:i:-(6),Typhimurium(2),Infantis(1)
CFPM	0% (0/35)	
CFX	0% (0/35)	
CTX	6% (2/35)	Typhimurium(1),O16:l,v,-(1)
FOM	0% (0/35)	
IPM	0% (0/35)	
KM	9% (3/35)	O4:i:-(2),Typhimurium(1)
NFLX	0% (0/35)	
TC	54% (19/35)	O4:i:-(11),Typhimurium(5),Infantis(1),Tumodi(1),Vejle(1)

表 3 O4:i:-と Typhimurium の薬剤感受性パターン

O4:i:-	菌株番号	ABPC	CAZ	CET	CFPM	CFX	CTX	FOM	IPM	KM	NFLX	TC
	S13001	R	S	I	S	S	S	S	S	I	S	R
	S13002	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13004	R	S	I	S	S	S	S	S	I	S	R
	S13005	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13015	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13022	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13024	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13027	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13029	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13034	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13035	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
Typhimurium	菌株番号	ABPC	CAZ	CET	CFPM	CFX	CTX	FOM	IPM	KM	NFLX	TC
	S13006	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	S13009	R	S	I	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13010	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13011	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R
	S13013	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	S13014	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	S13020	S	S	I	S	S	I	S	S	I	S	I
	S13021	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I

R:耐性、I:中間、S:感性

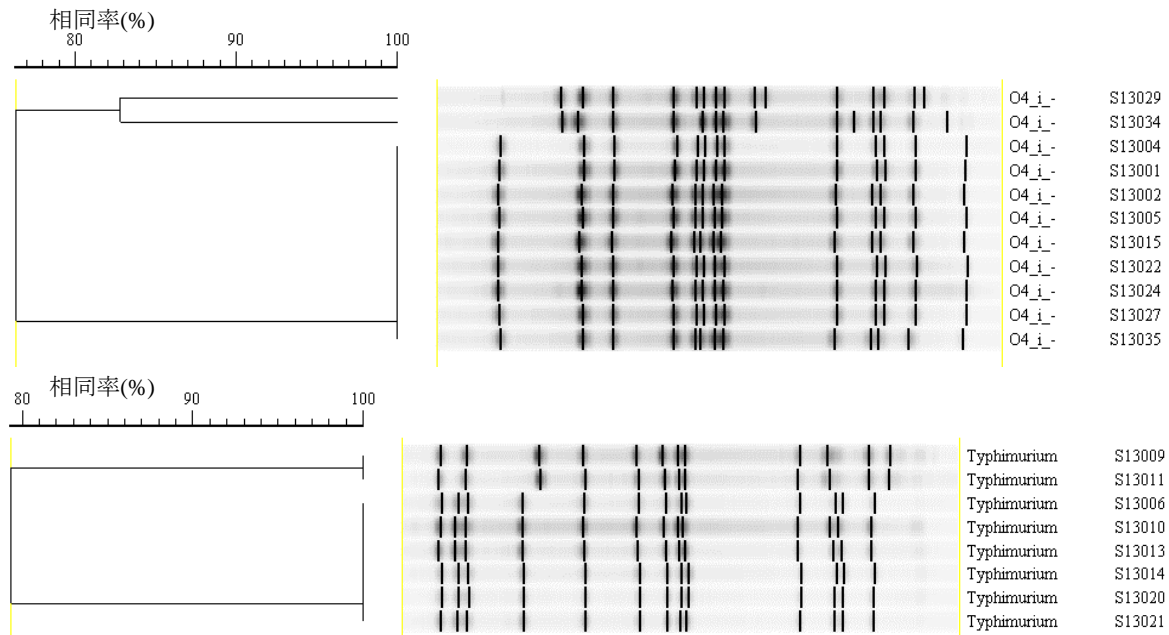


図 *Salmonella* I O4:i:-及び *S. Typhimurium* の PFGE 解析結果



#### 4. 考察

近年は、全国的には Enteritidis が多く検出される傾向が続いているが、本県では Typhimurium が多く検出されていた<sup>3)</sup>。しかしながら本調査では、*Salmonella* I O4:i:- が最も多く検出された。*Salmonella* I O4:i:- については、全国的にも検出率が増加しており、2011年に全国で検出されたサルモネラ属菌の約0.6%であったのに対し、2014年では約9.9%となっている<sup>6)</sup>。このことから、本血清型のサルモネラ属菌の検出動向については、今後も継続して注目していく必要がある。

Typhimurium 及び *Salmonella* I O4:i:- の薬剤感受性試験及び PFGE 解析の結果、類似のパターンを示しているものが存在していることから、これらについては潜在的集団発生であったことが示唆された。

血清型が *Salmonella* I O4:i:- である11株のうち、PFGE パターンの相同率が100%であった9株については、検出された時期が1月から10月までと、集団発生にしては比較的長期にわたっていた。また、これらの菌株の分離を行った検査施設は9株中8株が同一地区の施設であった。以上のことから、同じ遺伝子型の *Salmonella* I O4:i:- が長期にわたって潜在し、何らかの環境要因によってヒトからヒトに伝播し続けているか、あるいはこの地域で流通している食品等が長期にわたって汚染されていたことが考えられる。

#### 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) 東匡伸他編: シンプル微生物学改訂第4版., 123, 南江堂, 東京, 2006.
- 2) 吉田眞一他編: 戸田新細菌学第34版., 339, 南山堂, 東京, 2013.
- 3) 福田理他: 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). 青森県環境保健センター研究報告, **24**, 1-5, 2013.
- 4) 青森県環境保健センター: 青森県病原微生物検出情報, **13**, 53, 2013.
- 5) 青森県環境保健センター: 青森県病原微生物検出情報, **14**, 53, 2014.
- 6) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, サルモネラ血清型割合 2010~2014 (URL: <http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/arc/gb/2014/data2014.48j.csv>).

### Trends in isolates obtained from sporadic salmonellosis cases in Aomori Prefecture (2013)

Osamu Fukuda, Hiroko Takenuma

We used pulse-field gel electrophoresis (PFGE) analysis to conduct molecular epidemiological analysis of *Salmonella typhimurium* and *Salmonella* I O4:i:-, the most commonly found strains among the 35 *Salmonella* strains detected from sporadic salmonellosis cases at bacterial testing institutions in Aomori Prefecture in 2013. Eight *Salmonella typhimurium* strains were classified into 2 clusters, and 11 *Salmonella* I O4:i:- strains were classified into 3 clusters. In particular, 9 *Salmonella* I O4:i:- strains had a 100% homology ratio, despite having been collected from sporadic cases, suggesting the possibility of an underlying epidemic outbreak.

Keywords: *Salmonella*, serotype, molecular epidemiology, PFGE

## 2013/14 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

古川紗耶香 筒井理華 木村政明

2013年9月～2014年6月(2013/14シーズン)までに青森県内で発生した集団胃腸炎事例のうち、ノロウイルス(Norovirus、以下NoV)が検出された30事例の遺伝子解析を行った。その結果、2012年に初めて検出され、世界中に感染拡大したGII/4の変異株(Sydney\_2012)は2013/14シーズンも多く検出され、2012/13シーズンに引き続き県内で流行していたことが判明した。GII/4は青森県内で2008/09～2011/12シーズンまではDen\_Haag\_2006b株とNewOrleans\_2009株が流行していたが、2012年11月後半以降は2014年12月現在までSydney\_2012株のみであった。

Key words:Norovirus,GII/4 variant,Molecular epidemiology

### 1. はじめに

NoVは、カリシウイルス科ノロウイルス属に属する約7,500塩基のプラス一本鎖RNAをゲノムに持つウイルスである。NoVの潜伏期は1～2日で、嘔気、嘔吐、下痢が主症状である。特別な治療を必要とせずに軽快するが、乳幼児や高齢者およびその他、体力の弱っている者での嘔吐、下痢による脱水や窒息には注意をする必要がある<sup>1)</sup>。また、症状が消失した後も感染者の便中に排出され、病後174日後でもNoV遺伝子が検出された例もある<sup>2)</sup>。そのため症状が見られなくなっても引き続き二次感染に注意が必要である。

NoVは培養系が確立されていないため、検出や分類の方法は、検体に含まれる遺伝子によるものがメインである。NoV遺伝子は配列によって大きく遺伝子群(Genogroup,G)I～Vに分類される。ヒトに感染するのはGIとGIIで、遺伝子型については、VP1全長核酸配列に基づくもの(GI.1～9、GII.1～22)や、Capsid N/S領域の核酸配列に基づくもの(GI.1～14、GII.1～19)の分類が一般的である<sup>3)</sup>。なお文献<sup>3)</sup>にはこれらの遺伝子型分類の対応表が掲載されている。本稿ではCapsid N/S領域の核酸配列に基づく遺伝子型(GI.1～14、GII.1～19)を使用する。

今回、青森県における2010/11～2013/14シーズンのNoVによる集団胃腸炎事例について、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 検査材料

2013/14シーズンに県内(青森市を除く)で発生があったNoVによる集団胃腸炎事例19事例で環境保健センターが検査した559検体(糞便326、吐物5、拭き取り178、食品50)を用いた(表1)。また、中核市に設置された青森市保健所管内で発生した12事例のNoV陽性55検体のcDNAの分与を得て解析に用いた(表2)。どちらについても感染地が県外であると推定される事例は除いた。

#### 2.2 検査方法

1) ウイルスRNAの抽出・cDNA合成・NoV遺伝子の検出(リアルタイムPCR)

「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

既報<sup>4)</sup>に準じたダイレクトシーケンス法によりNoV Capsid領域の塩基配列を決定し(GI:260塩基、GII:279塩基)、得られた塩基配列をKimura 2-parameter modelを用いたNJ(Neighbor-joining)法で系統樹を作成した。系統樹の信頼性の評価にはbootstrap法(反復回数1000)を用いた。標準株は

文献 3)に記載の株を使用した。

集団胃腸炎事例の概要を表 1 及び表 2 に示した。全 30 事例で (N18 と aN12 を 1 事例としてカウント)、食中毒として行政的に断定された事例は、表 1 に黄色で示した 6 事例であった (事例番号 N2、N3、N5、N7、N14、N17)。

### 3. 結果

#### 3.1 2013/14 シーズンに流行した遺伝子型

2013/14 シーズンに発生した NoV が検出された

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 (2013/14 シーズン)

事例番号	施設分類	発生日月	検出病原体	遺伝子型	発症者	喫食者又は団体母数	ふん便		吐物		拭き取り		食品	
							陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数
H25年度														
N1	ツアー旅行	H25.9.6	NVG II	G II /4	11	29	1	2						
N2	宿泊施設	H25.12.15	NVG II	G II /4 (発症者22名、調理従事者2名、拭取り4)、G II /11(調理従事者1名)	96	668	25	53			4	17		
N3	小学校	H25.12.8	NVG II	G II /4	40	不明	16	22			0	16	0	7
N4	飲食店	H25.12.20	NVG II	G II /4	2	17	3	5			0	8		
N5	飲食店	H25.12.20	NVG I・NVG II	G I 解析不能(発症者3名)、G I /14(発症者2名)、G II 解析不能(発症者3名、従業員1名)、G II /4(発症者4名)、G II /8(発症者3名)、G II /11(発症者5名)、G II /14(発症者2名)、G I 解析不能・G II /8(発症者1名)	28	68	24	38			0	11	0	3
N6	飲食店	H25.12.29	NVG II	G II /4	6	12	6	11			1	9		
N7	飲食店	H26.1.15	NVG II	G II /4	77	284	26	32	1	5	1	13		
N8	宿泊施設	H26.1.29	NVG II	G II /4	3	11	1	9			1	12		
N9	保育所	H26.1.25	NVG II	G II /4(先生1名、園児2名)、G II /6(園児6名)	45	園児:114 職員:37	9	13			0	10	0	12
N10	家庭	H26.1.23	NVG II	G II /4	4	5	4	7			0	11		
N11	保育所	H26.2.21	NVG II	G II /2	20	80	4	7			0	4	0	13
N12	小学校	H26.3.6	NVG II	G II /6	23	119	5	5						
H26年度														
N13	老人福祉施設	H26.4.12	NVG II	G II /4	5	利用者:9 職員:9	6	11			0	8		
N14	飲食店	H26.4.12	NVG I	G I /4(原因病原体不明のまま食中毒として断定)	50	不明	1	27						
N15	老人福祉施設	H26.5.10	NVG II	G II /4	13	利用者:11 職員:2	2	2						
N16	宿泊施設	H26.5.16	NVG I	G I /2	21	不明	1	31			0	4	0	7
N17	給食施設	H26.5.15	NVG II	G II /4	23	100	7	13			0	5	0	7
N18*	披露宴	H26.5.28	NVG II	G II /6	39	不明	17	31			1	40	0	1
N19	家庭	H26.6.19	NVG I	G I /4	4	4	4	4						
表1計							162	323	1	5	8	168	0	50

表中の      は、食中毒事例を      は NoV と発症の関連性は低いと考えられる事例を示す。

\*:事例 N18 と aN12 とは発生場所が同一の事例

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 (2013/14 シーズン)

事例番号	施設分類	発生日月	検出病原体	遺伝子型	発症者	喫食者又は団体母数	ふん便		吐物		拭き取り		食品	
							陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数
H25年度														
aN1	知的障害者支援施設	H25.10.15	NoV G II	G II /4	18	利用者:105 職員:不明	2	3						
aN2	老人福祉施設	H26.1.5	NoV G II	G II /4	15	利用者:78 職員:不明	3	5						
aN3	老人福祉施設	H26.1.17	NoV G II	G II /4	8	利用者:27 職員:18	5	8						
aN4	老人福祉施設	H26.1.18	NoV G II	G II /4	42	利用者:96 職員:54	4	5						
aN5	幼稚園	H26.2.5	NoV G II	G II /4(拭き取り1、発症者1名)、G II /6(調理従事者2名、発症者5名)	43	園児:117 職員:18	8	8			1	5	0	3
aN6	病院	H26.2.21	NoV G II	G II /4	77	利用者:314 職員:不明	9	12			0	5	0	12
aN7	保育園	H26.2.25	NoV G II	G II /6	12	園児:72 職員:17	5	7					0	4
aN8	社会福祉施設	H26.3.2	NoV G II	G II /13	8	利用者:75 職員:42	4	4						
aN9	保育園	H26.3.4	NoV G II	G II /6	5	利用者:20 職員:20	2	2						
H26年度														
aN10	保育園	H26.4.3	NoV G II	G II /6	13	園児:72 職員:27	5	5						
aN11	病院	H26.4.9	NoV G II	G II /4	24	利用者:382 職員:304	5	6						
aN12*	披露宴	H26.5.28	NoV G II	G II /6	39	不明	3	3						
表2計							55	68	0	0	1	10	0	19

発症者及び非発症者便(162 検体)、吐物 (1 検体)、ふき取り (8 検体) から NoV 遺伝子が検出されたが、食品 (50 検体) からは検出されなかった。

NoV 陽性検体の遺伝子解析を行ったところ、156/171 検体(表 1)+55/56 検体(表 2)=215 検体について NoV 遺伝子型を同定することができた。遺伝子群別では、検出が G I のみが 3 事例、G I と G II の混合事例が 1 事例、G II のみが 25 事例(N18 と aN12 は同一事例)であった。この 30 事例の NoV の NJ 法による系統樹を図 1、2 に示した。系統樹の分岐点に表示している数字は bootstrap 値(反復回数 1000)である。一つの事例で複数の遺伝子型や、同一遺伝子型でも配列が異なる NoV が検出された事例があったため、配列名には割合(各事例内で遺伝子配列が同じである検体数/各事例の NoV 陽性数)を記載し、複数の配列が検出された事例の配列名には備考として発症者や調理従事者などの情報を記載した。なお、各事例の NoV 陽性数には配列解析不能であった検体もカウントしている。

系統樹解析の結果、G I は 3 事例(N14、N16、N19)が GI/4、N16 が GI/2、N5 の一部が GI/14 に分類された。G II については、G II/4 は 20 事例(N1、N2 の一部、N3、N4、N5 の一部、N6、N7、N8、N9 の一部、N10、N13、N15、N17 の一部、aN1、aN2、aN3、aN4、aN5 の一部、aN6 の一部、aN11)が、全て 2012 変異株である GII/4/Sydney/2012 と同じクラスターに分類された(図 2)。また、これら 20 事例から検出された G II/4 株と Sydney/2012 株は、互いに配列がほぼ同じで、塩基の違いは最大

でも 3 塩基であった(解析塩基 279 bp)。次に検出が多かった遺伝子型は G II/6 で、7 事例(N9 一部、N12、N18&aN12、aN5 一部、aN7、aN9、aN10)から検出された。他の遺伝子型は、2 事例(N2 の一部、N5 の一部)が GII/11、1 事例(N5 の一部検体)が GII/8 と GII/14、N11 が GII/2、aN8 が GII/13、に分類された(図 2)。

### 3.2 青森県内(青森市保健所管内を除く)の過去 4 シーズンの NoV の動向

2010 年 11 月～2014 年 6 月までの 4 シーズン(2010/11～2013/14)に青森県内で発生した NoV が検出された集団胃腸炎事例について、発生年月や、遺伝子型について件数をカウントした(青森市保健所分、県外感染は含まない)。発生年月別の件数では、毎シーズン 12 月か 1 月に NoV 検出事例数のピークを迎えていた(図 3)。

シーズンごとの遺伝子型別のグラフによると、各シーズンで最も検出事例数が多い遺伝子型は年により異なった(図 4)。2010/11 シーズンは G II/2 が最多で、次の 2011/12 シーズンは解析不能株を含む事例が計 7 事例あり、遺伝子型判明分については突出して多い遺伝子型は見られなかった。2012/13 シーズンからは 2 年連続で GII/4 が台頭している。2010/11 シーズンに最も検出された遺伝子型である G II/2 は毎年減っていき、2013/14 シーズンには検出が 1 事例であった。2010/11、2011/12 シーズンに 2、3 番目に検出が多かった G II/13 は 2012/13、2013/14 シーズンでは検出されていない。

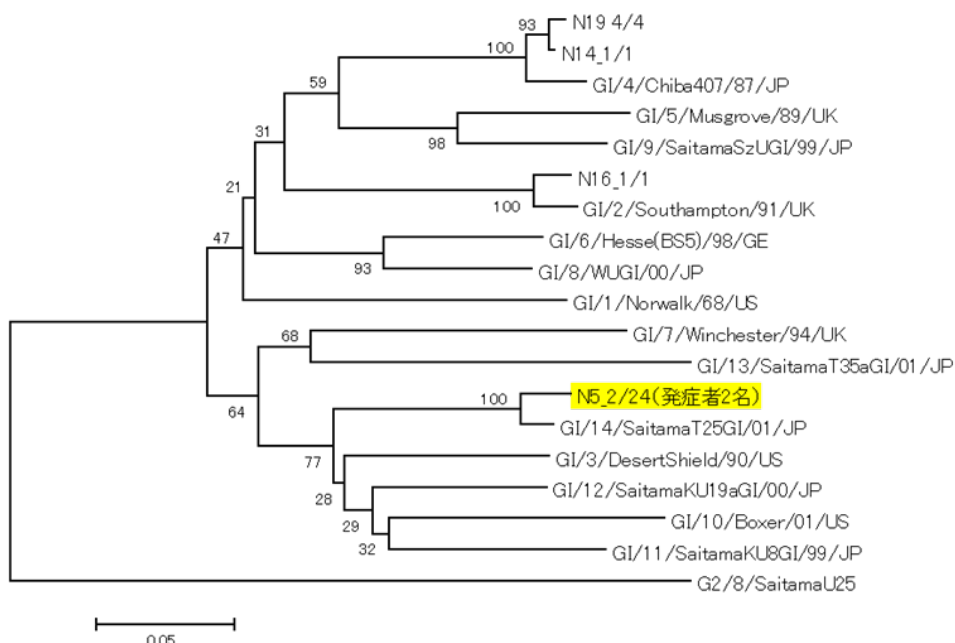


図 1 2013/14 シーズン集団胃腸炎事例から検出された NoV G I の系統樹

配列名:表 1 の事例番号\_各事例内で遺伝子配列が同じである検体数/各事例の NoV 陽性数(備考)、黄色:食中毒事例

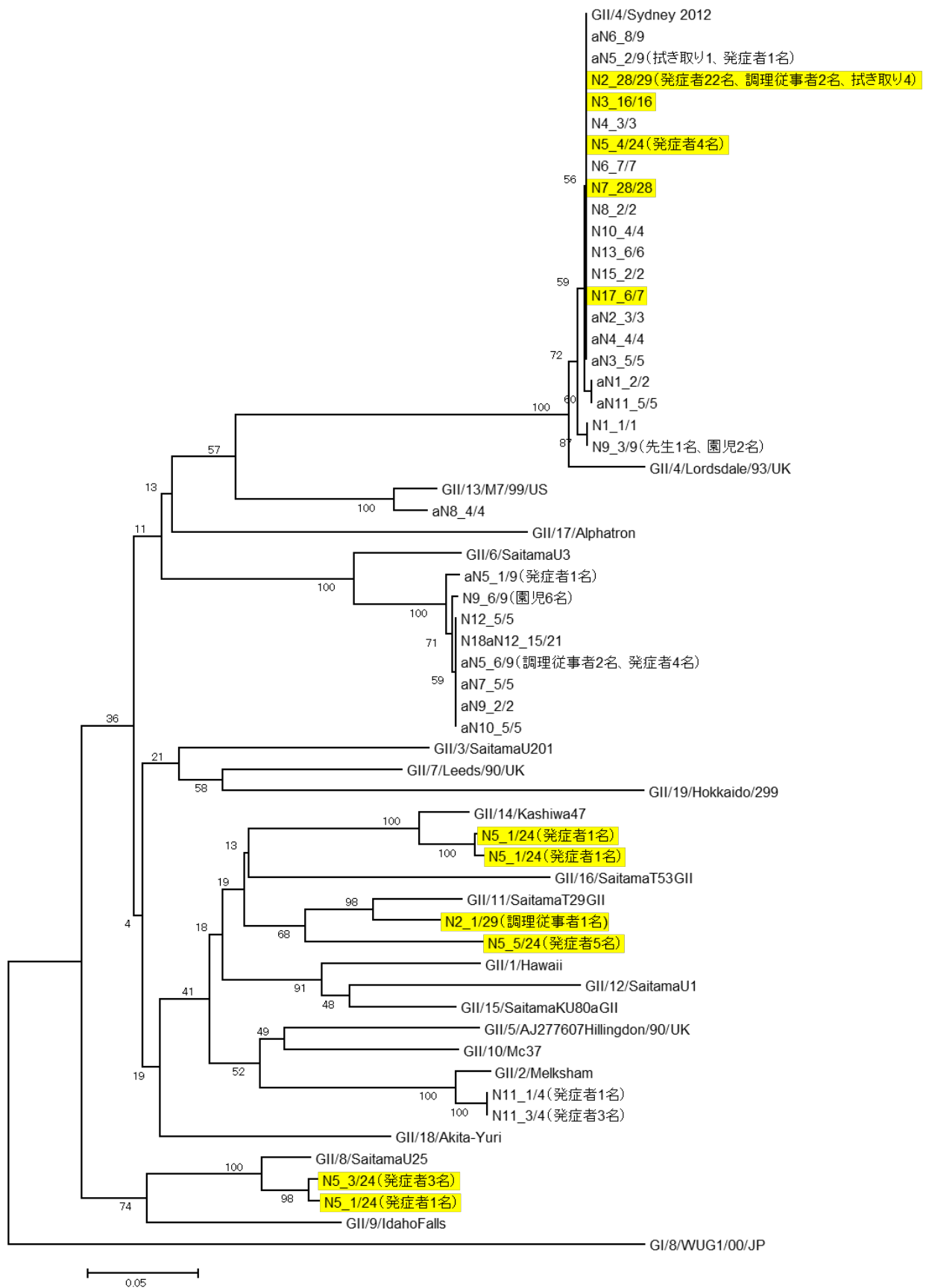


図2 2013/14 シーズン集団胃腸炎事例から検出された NoVG II の系統樹  
 配列名:表1・2の事例番号\_各事例内で遺伝子配列が同じである検体数/各事例の NoV 陽性数(備考)、黄色:食中毒事例

### 3.2 青森県内(青森市保健所管内を除く)の過去4シーズンのNoVの動向

2010年11月～2014年6月までの4シーズン(2010/11～2013/14)に青森県内で発生したNoVが検出された集団胃腸炎事例について、発生年月や、遺伝子型について件数をカウントした(青森市保健所分、県外感染は含まない)。発生年月別の件数では、毎シーズン12月か1月にNoV検出事例数のピークを迎えていた(図3)。

シーズンごとの遺伝子型別のグラフによると、各シーズンで最も検出事例数が多い遺伝子型は年

により異なった(図4)。2010/11シーズンはGII/2が最多で、次の2011/12シーズンは解析不能株を含む事例が計7事例あり、遺伝子型判明分については突出して多い遺伝子型は見られなかった。2012/13シーズンからは2年連続でGII/4が台頭している。2010/11シーズンに最も検出された遺伝子型であるGII/2は毎年減っていき、2013/14シーズンには検出が1事例であった。2010/11、2011/12シーズンに2、3番目に検出が多かったGII/13は2012/13、2013/14シーズンでは検出されていない。

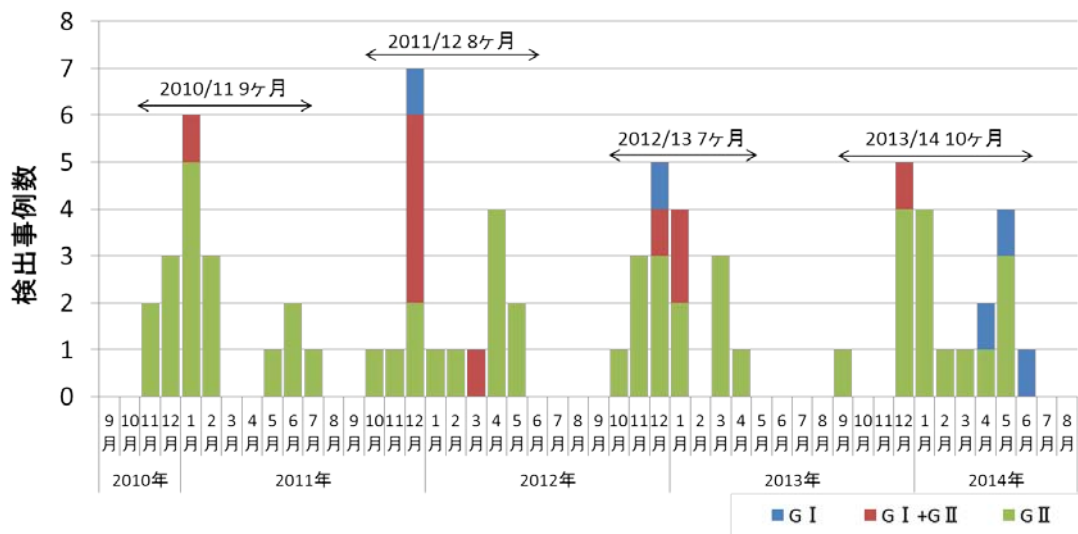


図3 青森県内(青森市保健所管内を除く)のNoVによる集団胃腸炎事例の月別発生状況(2010/11～2013/14シーズン)

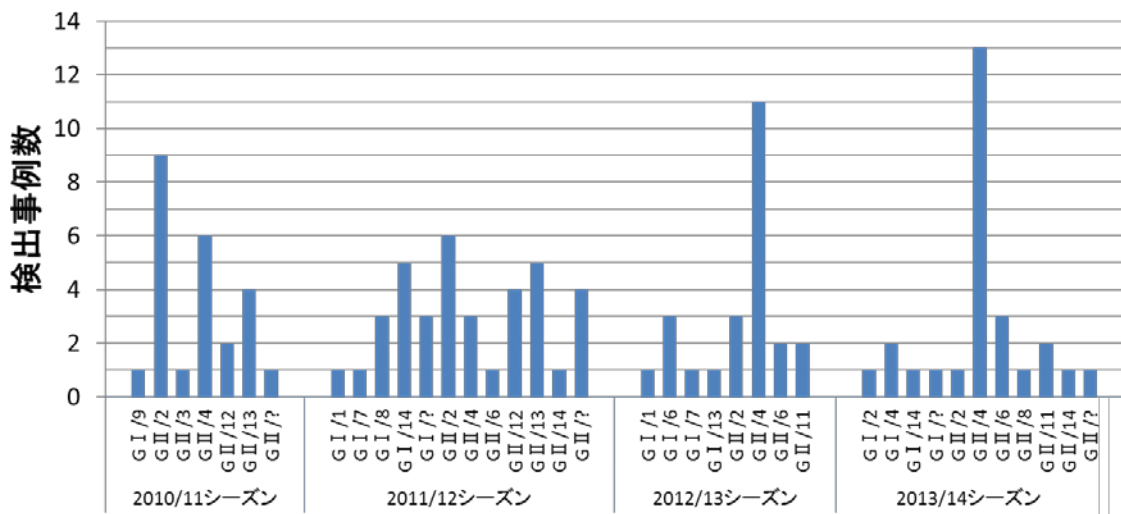


図4 青森県内(青森市保健所管内を除く)のNoVによる集団胃腸炎事例の遺伝子型別事例数(2010/11～2013/14シーズン)

### 3.3 過去 6 シーズンに検出された GII/4 亜株

GII/4 の流行は 2006/07～2009/10 シーズンにも見られた<sup>5)</sup>。より詳細な GII/4 株の解析のため、図 4 の GII/4 株に加え、遺伝子配列データが残っている 2008/09、2009/10 シーズンの GII/4 株の亜株の同定を行った(図 5)。2008/09 シーズン以降の GII/4 株は Den\_Haag\_2006b、NewOrleans\_2009、Sydney\_2012、Yerseke\_2006a と同じクラスターに分類され、2008/09 シーズンの 1 株(2008/09-3)のみ

文献 3)で示された亜株では分類できなかった(図 5)。

Sydney\_2012 株は 2012 年に全世界に広まった。青森県内では 2012 年 11 月前半に NewOrleans\_2009 類似株が 1 事例から初検出されたが、以後の GII/4 株はすべて Sydney\_2012 類似株であった(図 6)。それ以前は Den\_Haag\_2006b、NewOrleans\_2009 類似株が主流であった(図 6)。

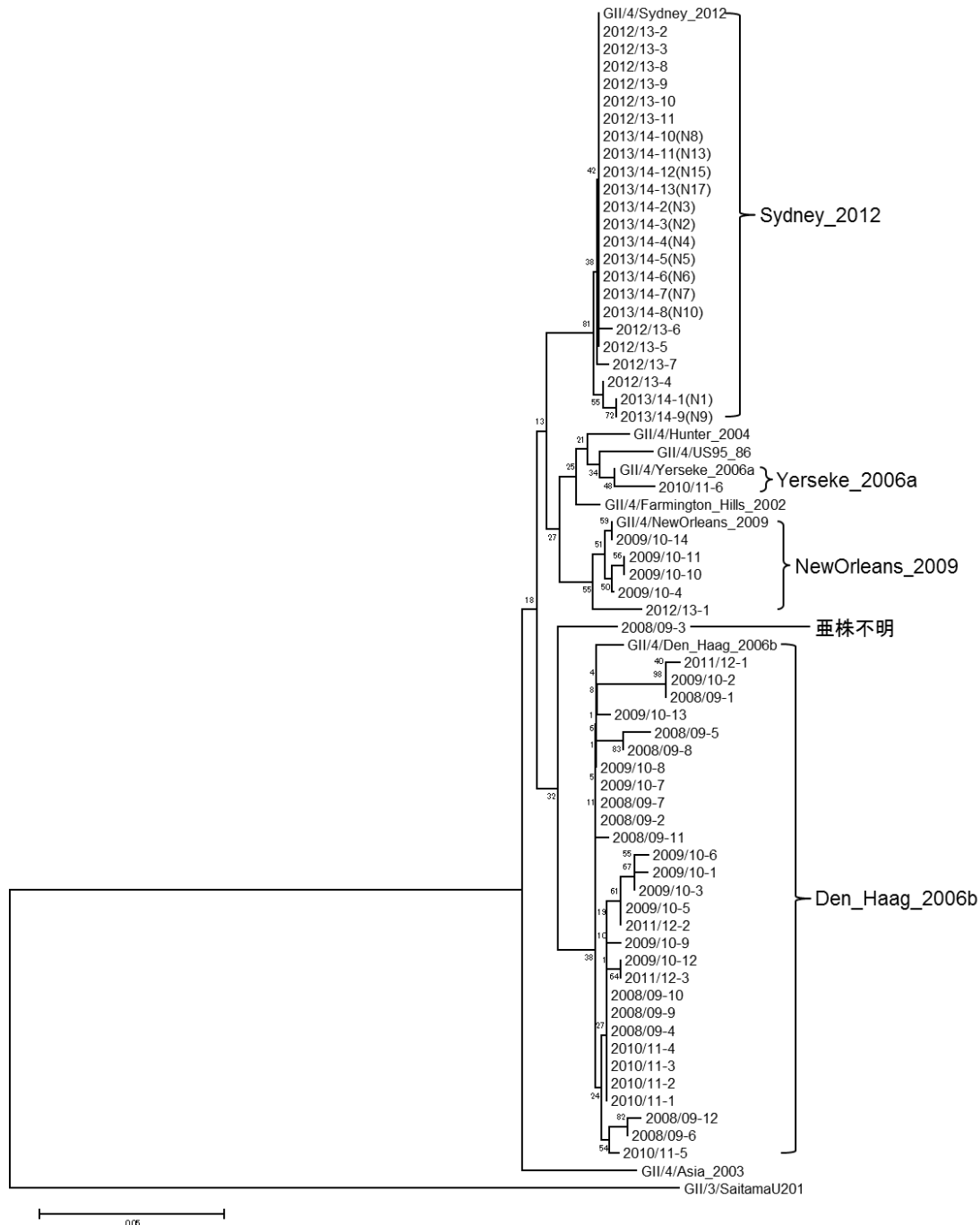


図 5 青森県内（青森市保健所管内を除く）で集団事例から検出された NoV GII/4 の系統樹  
配列名:シーズン\_シーズン内 GII/4 整理番号(表 1 の事例番号)



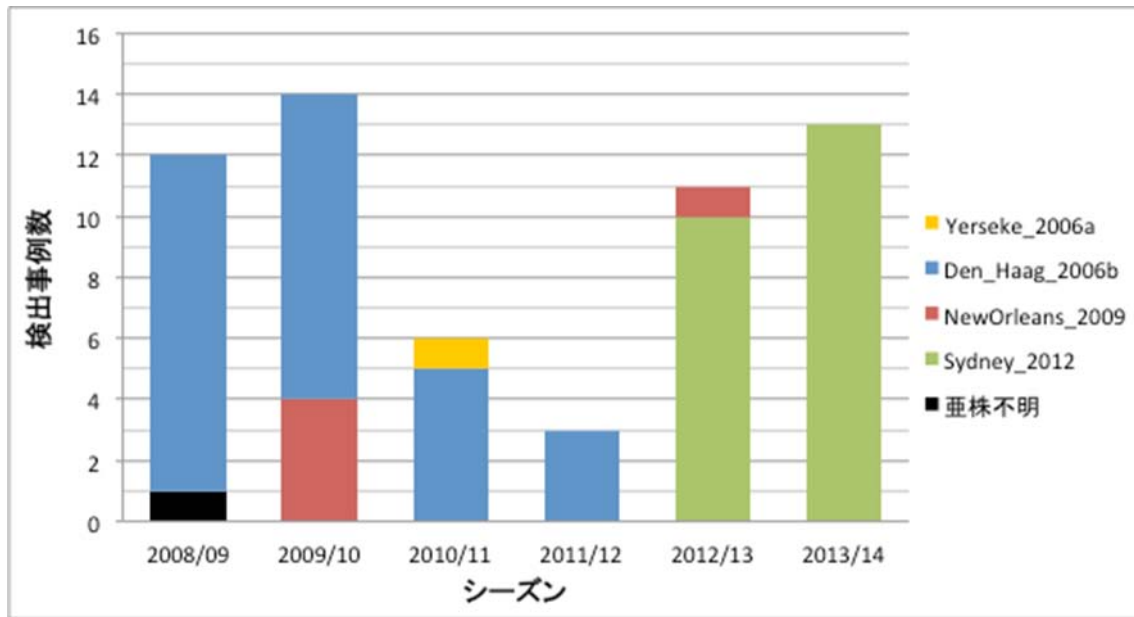


図6 青森県内（青森市保健所管内を除く）で集団事例から検出されたNoV G II/4 亜株のシーズン別検出事例数

#### 4. 考察

##### 4.1 2013/14 シーズンに流行した遺伝子型

事例 N14 と N16 は検査数に対し、NoV 検出数が少なく、NoV がその集団の胃腸炎を引き起こした可能性は低いと考えられる(表 1)。なお事例 N14 は保健所により食中毒として行政処分が下されたが、2014 年 12 月時点で公表内容の病因物質の欄は「調査中」となっている。

2012/13 シーズン(文献 6、図 4)に引き続き、2013/14 シーズンは G II/4 の検出数が最も多く、青森市保健所管内もあわせると 20/30 事例(66.7%)の検出率であった。次いで検出数が多かったのは G II/6 が 7 事例、他の遺伝子型は最大 2 事例であった(表 1、2、図 1、2)。感染症発生動向調査<sup>7)</sup>、関東地域<sup>8)</sup>、西日本<sup>9)</sup>でも 2013/14 シーズン最多の遺伝子型は G II/4、2 番目は G II/6 で、本県における NoV の検出状況は全国と同様の動向を示していた。なお、3 番目以降に多かった遺伝子型は文献により異なり、散発か集団事例か、地域により流行にばらつきがあったと考えられる。

青森県内では 2013/14 シーズンの G II/4 は Sydney\_2012 株のみであった(図 6)が、他の地域では 2012 年以前の株も検出された<sup>9)</sup>。青森県でも以前の G II/4 株が再流行する可能性があるため、今後の動向に注意が必要である。

##### 4.2 過去 4 シーズンの NoV の動向

青森市保健所管内・県外感染を除いた NoV 検出事例は 2010/11～2013/14 までの 4 シーズンにおいて、毎シーズン 12 月か 1 月に検出数が最大であっ

たことは共通した(図 3)。前のシーズンから次のシーズンまでの間は 2 ヶ月もしくは 4 ヶ月であった。シーズンによっては 3、4 月に検出がなかったが 5～7 月に連続して NoV が検出されたり(2010/11)、9 月に初検出された後 12 月まで検出がなかったり(2013/14)と、NoV の流行終息や本格的な流行の始まりを予測することは難しいと考えられる。

2013/14 シーズンの NoV の初検出事例は 2013 年 9 月で、10、11 月は NoV による集団事例はなかったものの、最後の検出は 6 月で、1 シーズンが 10 ヶ月にも及んだ(図 3)。2013 年 5 月の NoV 検出事例数は、2010/11 シーズン以降の 5 月の中で最も多かった。また、6 月に集団事例より NoV が検出されたのは 2010/11 シーズン以来であった。文献 10)の NoV 感染集団発生の月別推移では、例年に比べ 2014 年 5、6 月は特に事例数は多くないので、青森県の 2013/14 シーズンの NoV 終息時期が全国よりも遅かったと考えられる。

2011/12 シーズンは検出が目立って多い遺伝子型はなかったが、解析不能株は G I が 3 株、G II が 4 株あったため(図 4)、実際には他より明らかに検出が多い遺伝子型があった可能性がある。このような疑問を残さず毎シーズンの流行型を明らかにするために遺伝子配列決定の技術を高めていくことが必要である。4 シーズンの遺伝子型判明分の株について、G II/2 や G II/13 は前半 2 シーズンで検出される割合が大きかったが、後半 2 シーズンでは検出数が減った。逆に G II/4 が変異株 Sydney\_2012 の出現の影響を受け、後半 2 シーズ



ンに急増した。

#### 4.3 過去6シーズンに検出されたGII/4亜株

2008/09～2011/12に主流だったGII/4の亜株はDen\_Haag\_2006b株で(図5、6)、この亜株は2006/7シーズンにNoVの世界的大流行を引き起こした。以前の所報<sup>5)</sup>に見られる2006/07～2008/09シーズンのGII/4の数の多さもこの亜株によるものだと考えられる。Den\_Haag\_2006b株の大流行の際は2006/07から3シーズン大流行した後、2010/11から2シーズンの間に検出数が減り、2012年に出現したSydney\_2012株に取って代わられた(文献5、図6)。Sydney\_2012株が拡大してから2シーズンが経過したが、Den\_Haag\_2006b株のように流行がまだ継続する可能性があるため、これから(2014年12月現在)ピークを迎えるだろう2014/15シーズンも注意が必要である。

NoVの遺伝子解析において、調理従事者と発症者由来のNoV遺伝子配列や亜株(もしくは類似株)の比較は食中毒の判断根拠になりうる。GII/4亜株について現在はSydney\_2012類似株のみ検出されている状況が続いているが、2009/10シーズンのDen\_Haag\_2006b株とNewOrleans\_2009株の関係(図6)のように、今後1つのシーズン中にGII/4亜株が混在してくるかもしれない。その際正しい食中毒の判断材料になるよう、GII/4については遺伝子型だけでなく亜株まで同定することが大事だと思われる。

#### 5. まとめ

- 1) 青森県内で2013/14シーズンに発生したNoVによる集団胃腸炎事例は30事例で、遺伝子群別では、GIのみが3事例、GIとGIIの混合事例が1事例、GIIのみが25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20事例から検出され、次いでGII/6が8事例、GI/4が3事例から検出された。

3) GII/4変異株であるSydney\_2012類似株は昨シーズンに引き続き2013/14シーズンの青森県においても高頻度で検出された。

4) 2013/14シーズンは1シーズンが長く、5、6月のNoV検出数が多かった。

#### 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: 感染後のノロウイルス排出期間および排出コピー数. 病原微生物検出情報, **28**(10), 286-288, 2007
- 3) 片山和彦: ノーウォークウイルス(ノロウイルス)の遺伝子型 2014年版. 病原微生物検出情報, **35**(7), 173-175, 2014
- 4) 石川和子他: ノロウイルス分子疫学解析(2006～2008). 青森県環境保健センター研究報告, **19**, 8-14, 2008
- 5) 吉田綾子他: 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
- 6) 東海林彰他: 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, **24**, 18-24, 2013
- 7) 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
- 8) 栃木県保健環境センター他: 2010～2013年に関東地域で検出されたノロウイルスの分子疫学解析. 病原微生物検出情報, **35**(7), 168, 2014
- 9) 山口県環境保健センター他: 西日本におけるノロウイルスの分子疫学. 病原微生物検出情報, **35**(7), 169-170, 2014
- 10) 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 2010/11～2013/14シーズン. 病原微生物検出情報, **35**(7), 161-163, 2014

## Genetic analysis of noroviruses responsible for gastroenteritis outbreaks in the 2013/14 season

Sayaka Kogawa, Rika Tsutsui, Masaaki Kimura

We conducted genetic analysis of 30 cases where noroviruses (NoVs) were detected, out of the cases of gastroenteritis outbreaks occurring in Aomori Prefecture between September 2013 and June 2014 (the 2013/14 season). The results of analysis showed that the GII/4 mutant strain (Sydney\_2012), which was first detected at the start of 2012 and spread across the world, was detected most frequently during the 2013/14 season, and continues to cause epidemics in Aomori Prefecture, as it did during the 2012/13 season. From the 2008/09 season to the 2011/12 season, there were epidemics of the Den\_Haag\_2006b and NewOrleans\_2009 strains in Aomori Prefecture, but from the second half of November 2012 up to the present (December 2014), only epidemics of the Sydney\_2012 strain have occurred.

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

## スズの比色分析についての分析化学的な考察

花石竜治 佐藤裕久

清涼飲料水のスズ分析の公定法である、サリチリデンアミノ-2-チオフェノール(SATP)による比色分析(吸光光度法)におけるイオン平衡について考察した。イオン平衡を論じる際に必要な平衡定数の決定、公定法分析における関係化学種の濃度について検討した。その結果、公定法の分析条件で、検体中のほとんどのスズが 2 価で 1:2 の SATP 錯体を形成することが、イオン平衡の見地からも示された。これらの分析化学的検討により、分析法の理解を深化させることができた。

Key words:tin,SATP,colorimetry

### 1. 緒言

無機スズは、ブリキ板の表面から缶詰等の食品に移行することが知られており<sup>1),2)</sup>、清涼飲料水中のスズとしての規格基準が定められている<sup>3)</sup>。そのスズ濃度の分析の根拠となっている公定法が、現在でも、サリチリデンアミノ-2-チオフェノール(SATP)による比色分析(吸光光度法)である<sup>3)</sup>。図 1 に SATP の分子構造式を示した。

この分析は 1960 年代以降に分析化学のテーマとなり<sup>4),5),6)</sup>、分析法に関する数編の研究結果の公表がなされている。

無機分析に原子吸光光度法(電気加熱法も含む)、誘導結合プラズマ発光法(ICP-AES)、さらに ICP 質量分析法(ICP-MS)が使われるようになって、食品衛生の分野では、検体が大量のマトリクスを含むことから、苛酷な条件下での酸分解等を含めた前処理が必要であり、得られる試験検液に多量の塩類が含まれることが想定され、最新の微量分析を難しくしているとも考えられる。このことと相まって、スズは、基準が他の有害重金属類に比べて高い濃度であることから、発色剤による可視領域での吸光光度法は、今なお公定法として、その存在価値があると考えられる。

この分析法に関する既報において、SATP 錯体は、ニッケル<sup>7)</sup>や銅<sup>8)</sup>では、化学量論的に金属イオン:SATP が 1:1 であるが、スズでは 1:2 の比で形成されるとある<sup>9)</sup>。他方、SATP は金属イオンに配

位する場合、SATP 分子内にある硫黄と酸素の 2 種類の原子の配位が考えられ、二座配位子の可能性もある。また、1:2 の比で錯体を形成するとなると、二座配位ではスズが 4 価のイオンとなる可能性もあり、既報<sup>9)</sup>では「スズ-SATP 錯体を単離し、メスバウアー分光法によりスズは 4 価と推定された」ともある。しかし、スズの分析法では、スズに対して当量の大過剰の還元剤としてチオ硫酸ナトリウムを添加しており、平衡電気化学の見地からは、錯形成を行う分液ロート内で、スズの酸化数をもっとも高い 4 価である可能性は低い。

以上、公定法としてのスズ分析に関する既報における分析化学的疑問点を述べた。本稿は、これらの疑問点を整理し、分析化学の立場から所要な実験を行って、得られた実験結果や文献データを解析し、イオン平衡の立場で考察して、スズ分析法の分析化学的理解の深化を期するものである。

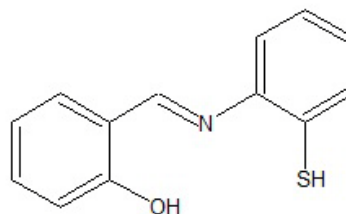


図 1 SATP の分子構造式

## 2. 方法

### 2.1 抽出系における錯体濃度の測定

SATP を用いたスズの比色分析では、溶液系の pH の調整が重要とされている。実験結果の定量的な解析を行うため、バッチ試験で用いられる、10 %水酸化ナトリウム溶液による中和及び乳酸溶液添加の pH 調整のバラツキを抑えるために、堀尾らの方法<sup>5)</sup>である、乳酸水酸化ナトリウム混液の使用を行った。

すなわち、濃度を確定したスズ標準液 (1 mol/L HCl 溶液) 5 mL に 1 mol/L HCl を 5 mL 加えて、2.5 mol/L NaOH 溶液 405 mL と 20 %乳酸 200 mL を混和し 1 L とした溶液を 10 mL 正確にホールピペットで加えた。この酸塩基系の pH は、pH=2.1 を示すとされている。

平衡定数の決定のために、分液ロート系内で、スズ濃度を一定とし、SATP 濃度を可変する実験を行った。スズ濃度が  $2.11 \times 10^{-5}$  mol/L となるように、スズ標準原液 1000 mg/L を 1 mol/L HCl で 10 mg/L に希釈したものを加えた。これに 1 mol/L HCl を 5 mL 加え、上述の乳酸・水酸化ナトリウム混液を 10 mL 加えて、チオ硫酸ナトリウム五水和物 1.57 g を水に溶かして 100 mL とした溶液 1 mL を加え混和し、その後に種々の量の 0.1 % SATP 溶液を加えて、錯生成を行った。加えた SATP 溶液の量の範囲はマイクロピペットを用いての 43  $\mu$ L から 782  $\mu$ L の範囲 (SATP 濃度として、 $9.38 \times 10^{-6}$  mol/L  $\sim$   $1.71 \times 10^{-3}$  mol/L の範囲) であった。また完全なスズの抽出量を知るために、公定法<sup>3)</sup>の SATP 溶液 5 mL 添加の溶液も調製した。SATP 溶液添加後は直ちに振り混ぜ、20 分間静置して、キシレンを正確に 10 mL 加えて、振とう機で 5 分間抽出し、静置後、有機層を 415 nm の波長で、分光光度計により、吸光度を測定した。SATP を大過剰に加えている公定法の条件で求めた吸光度と空試験値とから、SATP の濃度を可変した系のスズ-SATP 錯体の濃度を求めた。

## 3. 結果と考察

### 3.1 SATP の酸解離定数の決定

SATP 0.20 g を 10 %含水エタノール 50 mL に加えて、攪拌しながら弱く加熱し溶解した溶液 (SATP として  $1.7 \times 10^{-5}$  mol/L) の pH を測定したところ、pH=5.8 であったので、以下の要領で SATP の酸解離定数を決定した。

$$K_a = \frac{[\text{SATP}^-][\text{H}^+]}{[\text{SATP}]} \quad \dots (1)$$

SATP の分析濃度を  $[\text{SATP}]_0 = c$ 、解離度を  $\alpha$  とすると

$$\begin{aligned} [\text{SATP}^-] &= c\alpha \\ [\text{H}^+] &= c\alpha \quad \dots (2) \end{aligned}$$

$$[\text{SATP}] = c(1 - \alpha)$$

が成り立つので、(1) に代入して整理すると

$$K_a = \frac{c\alpha^2}{1 - \alpha} \quad \dots (3)$$

(2) に pH から求めた  $[\text{H}^+] = 1.5 \times 10^{-6}$  mol/L、SATP の分析濃度の  $c = 1.7 \times 10^{-5}$  mol/L を代入して  $\alpha$  を求めると

$$\alpha = 0.088$$

これと SATP の分析濃度  $c$  とを(3)に代入して

$$K_a = 1.5 \times 10^{-7}$$

を得る。すなわち酸の解離定数  $pK_a$  は

$$pK_a = -\log(K_a) = 6.8$$

となる。

なお、SATP 分子には、ベンゼン環上に水酸基とチオール基が存在するが、関連物質として、フェノール及びチオフェノールの  $pK_a$  を参照する<sup>10, 11)</sup>と、

$$\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} \quad pK_a = 10.0$$

$$\text{C}_6\text{H}_5\text{SH} \quad pK_a = 6.4$$

であり、ベンゼン環上のチオール基のほうが酸性度が高いことから、SATP の第一酸解離は、図 2 のようになると考えられる。

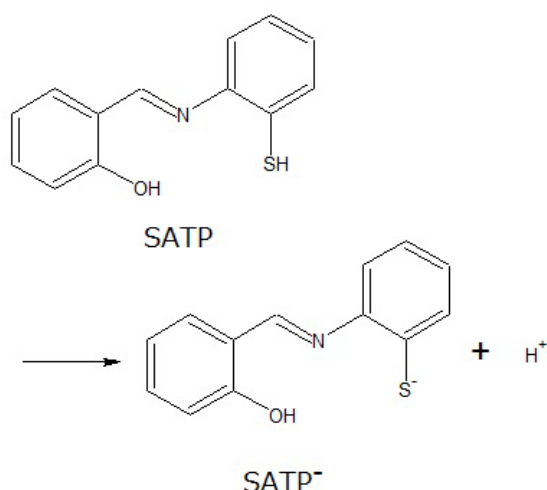
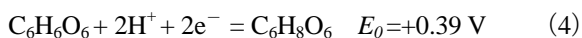


図2 SATPの第一酸解離

### 3.2 抽出系におけるスズイオンの酸化数

抽出系には2種類の還元剤が存在し、一つはL-アスコルビン酸、もう一つはチオ硫酸ナトリウムである。

L-アスコルビン酸については



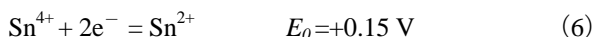
チオ硫酸ナトリウムについては



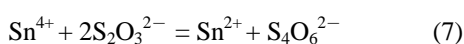
と既報<sup>11)</sup>がある。

これらのうち、抽出系における濃度を計算すると、L-アスコルビン酸は  $1.4 \times 10^{-2} \text{ mol/L}$ 、チオ硫酸ナトリウムは  $3.2 \times 10^{-3} \text{ mol/L}$  であり、前者は後者の4倍程度であるが、標準電極電位は後者のほうがかなり低い。

スズイオンの酸化還元反応については既報<sup>11)</sup>により



である。(4)と(6)の電位の比較により、L-アスコルビン酸は4価のスズイオンは2価に還元できないことがわかる。他方、チオ硫酸ナトリウムは還元剤として作用でき、その反応と平衡定数  $K_o$  は、(5)と(6)から2電子反応であり、



$$K_o = \frac{[\text{Sn}^{2+}][\text{S}_4\text{O}_6^{2-}]}{[\text{Sn}^{4+}][\text{S}_2\text{O}_3^{2-}]^2}$$

$$\log(K_o) = \frac{2 \times (0.15 - 0.09) \text{ V}}{0.059 \text{ V}} = 2.2$$

であり、(7)の平衡は右に大きく偏っていることがわかる。すなわち抽出系において、スズは2価で存在するということが結論である。

### 3.3 スズ-SATP 錯体の形成の化学平衡および錯体の生成定数の決定

スズ-SATP 錯体の形成に関する化学平衡について考察する。考慮すべき化学平衡は、SATPの酸解離と、それに伴う共役塩基のスズイオンへの配位反応である。前項で抽出系ではスズは2価で存在することが示された。また生成する錯体は、水と混和しない有機溶剤によく溶けるとされている<sup>9)</sup>ことから、電気的に中性な錯体分子と考えられる。これらの点に着目して議論を行う。

次なる錯生成の平衡定数を求める。スズとSATPが1:2の錯体を形成する場合、

$$K_f = \frac{[\text{SnSATP}_2]}{[\text{Sn}^{2+}][\text{SATP}^-]^2} \quad (8)$$

配位子SATPの質量保存式は、SATPの初期濃度を  $a$  として、

$$[\text{SATP}] + [\text{SATP}^-] + 2[\text{SnSATP}_2] = a \quad (9)$$

スズの質量保存式は、遊離スズイオン及び錯体中のスズが全スズで濃度  $b$  として、

$$[\text{Sn}^{2+}] + [\text{SnSATP}_2] = b \quad (10)$$

(9)、(10)から適当な変換により、(8)及び(1)から

$$K_f = \frac{[\text{SnSATP}_2]}{(b - [\text{SnSATP}_2]) \left( \frac{a - 2[\text{SnSATP}_2]}{1 + \frac{[\text{H}^+]}{K_a}} \right)^2}$$

いま、抽出系の pH=2.1 から  $[\text{H}^+] = 7.9 \times 10^{-3}$  mol/L、前々項の結果からの  $K_a = 1.5 \times 10^{-7}$ 、設定値としての  $a$ 、 $b$  を用いて、任意の  $[\text{SnSATP}_2]$  から錯生成の平衡定数  $K_f$  を求める。

方法の項で示した SATP 濃度可変の値を用いて、さらに仮定として、抽出操作において水層中の SATP 錯体が完全に有機層に移行し、SATP 配位子の有機層への分配が無視できるとして、表 1 を得た。

表 1 スズ-SATP 錯体の生成の平衡定数の試算

	初期濃度		錯体濃度	平衡定数	
	$b$	$a$		$K_f$	$\log(K_f)$
	$\text{Sn}^{2+}$	SATP	$\text{SnSATP}_2$		
	mol/L	mol/L	mol/L		
run1	2.11E-05	7.63E-06	7.57E-09	1.72E+16	16.23
run2	2.11E-05	9.38E-06	1.14E-08	1.71E+16	16.23
run3	2.11E-05	1.90E-05	4.54E-08	1.68E+16	16.22
run4	2.11E-05	3.79E-05	3.67E-07	3.55E+16	16.55
run5	2.11E-05	5.69E-05	2.66E-06	1.50E+17	17.18
run6	2.11E-05	9.49E-05	5.45E-06	1.37E+17	17.14
run7	2.11E-05	1.71E-04	9.32E-06	9.52E+16	16.98
			平均		16.65

上表で run1~7 は異なった SATP 初期濃度を用いたものである。各 run で求めた平衡定数を系列でグラフにすると下図になる。概ね各 run から同一の平衡定数を得ることができた。このことは、スズ:SATP=1:2 の比の錯生成平衡が平衡定数(8)で表されることが妥当であることを意味している。

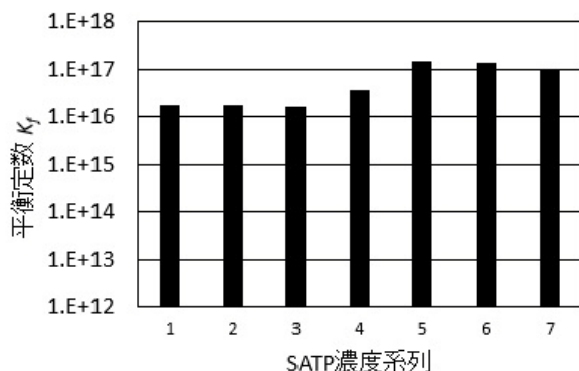


図 3 異なった SATP の初期濃度による SATP 錯体の錯生成の平衡定数の試算

上表より、スズ-SATP 錯体の錯生成の平衡定数として、 $\log(K_f) = 16.7$  を得た。

式 (8) と (1) から、スズの錯生成の比は

$$\frac{[\text{SnSATP}_2]}{[\text{Sn}^{2+}]} = K_f \left( \frac{K_a}{[\text{H}^+]} [\text{SATP}] \right)^2$$

すなわち

$$\log \left( \frac{[\text{SnSATP}_2]}{[\text{Sn}^{2+}]} \right) = \log(K_f) - 2\text{p}K_a + 2\text{pH} + 2\log([\text{SATP}]) \quad (11)$$

SATP が公定法の条件で大過剰にあつて濃度  $[\text{SATP}] = 1.1 \times 10^{-3}$  mol/L、pH=2.1 とすると、求めた  $\log(K_f) = 16.7$  及び  $\text{p}K_a = 6.8$  から、公定法における錯生成の比は

$$\log \left( \frac{[\text{SnSATP}_2]}{[\text{Sn}^{2+}]} \right) = 1.3$$

であり、錯生成の平衡は右に偏っており、95% の濃度比で錯生成がなされると試算された。実際の実験系では、溶媒抽出により、水層中の錯体が有機層に移行するため、水層中の錯生成はこの比率よりも進むものと考えられる。

(11)式は pH の関数であり、錯生成の比率を pH に対してプロットすると図 4 になる。pH が高くなると、理論上の抽出率は完全になるが、上記の議論では考慮していない化学平衡である SATP の第二酸解離、それによるスズイオンへの二座配位や、スズのアクア錯体の加水分解などが起こる可能性があり、pH>2.5 のプロットはしていない。

スズの抽出は、公定法の条件である pH=2 付近という調整を厳守しないと定量的にはならないことから、実際の分析ではこのことを念頭に入れ、行う必要があると推定された。

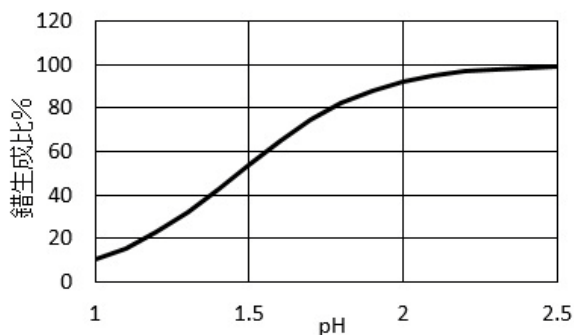


図4 SATPによるスズの錯生成比のpH依存性

#### 4. 結語

SATPの酸解離定数を求め、その結果を用いて、スズ分析の公定法としての分析条件における、スズイオンとの錯生成の平衡定数を算出した。

スズイオンとSATPは1:2の比で錯体を生成することが妥当であり、SATPの第一酸解離によって生ずるモノアニオンの配位によるものと推定された。スズイオンは分析条件下で2価イオンとして存在することが適当であると考えられた。

得られたイオン平衡のデータをもとに、スズ分析の公定法の分析条件での錯生成比を算出したところ、スズは95%の比でSATPと錯体を生成することが確認できた。

最後にSATPによるスズ錯体の生成比をpHに対してプロットしたところ、この分析ではpHの調整が極めて重要であることが示された。

#### 文 献

- 1)石井猛:かん詰中のスズの定量.岡山理科大学紀要,**13**,107-117,1970
- 2)日本分析化学会関東支部編:公害分析指針 8 食品編 2-b,共立出版,東京,1972
- 3)昭和34年厚生省告示第370号
- 4)前川静弥他:サリチリデンアミノ-2-チオフェノールによる鉄鋼中のスズの吸光光度定量.*Jpn. Anal.*, **20**, 474-479,1971
- 5)堀尾嘉友他:サリチリデンアミノ-2-チオフェノールによるかん詰食品中のスズの比色定量法.東洋食品工業短大・東洋食品研究所研究報告書,270-278,1971
- 6)G. R. E. C. Gregory et al.: Salicylideneamino-2-thiophenol - A New Reagent for the Photometric Determination of Tin: Application to the Ores, Rocks and Minerals. *Analyst*,**92**,293-299,1967
- 7)石井一他:2-(サリチリデンアミノ)チオフェノールを用いる微量ニッケルの吸光光度定量.日本化学雑誌,**91**,175-180,1970
- 8)石井一他:2-(サリチリデンアミノ)チオフェノールを用いる微量銅の抽出-吸光光度定量.日本化学雑誌,**91**,734-737,1970
- 9)E. Uhleman et al.:Extraktion und Photometrische Bestimmung von Zin und Blei mit 2-(o-Hydroxyphenyl)Benzthiazolin. *Anal. Chim. Acta.*, **65**, 319-328,1973
- 10)有機合成化学協会編:有機化合物辞典.,講談社,東京,1985
- 11)日本化学会編:化学便覧 基礎編 改訂2版.,丸善,東京,1975

## Discussion on Colorimetry of Tin from View Points of Analytical Chemistry

Ryuji Hanaishi, Hirohisa Sato

A colorimetry of tin by the use of salicylideneamino-2-thiophenol (SATP) as an official analysis method of this element was discussed in terms of the ionic equilibria. The determination of equilibrium constants that were necessary when the equilibria were explored, and the concentrations of the related chemical species were determined. As the results, test sample solutions in separating funnels in laboratories concerning this analysis turned out to contain this element as the oxidation state of tin(II), and the completely most of the tin proved to form the 1:2 SATP complex from the point of view of the ionic equilibria. These discussion in terms of the analytical chemistry made it possible to understand this analysis method more precisely.

Key words: tin, SATP, colorimetry



## マウス試験による麻痺性貝毒検査の信頼性

木村淳子 神 毅統<sup>1</sup> 玉熊義久<sup>2</sup> 澤田 譲<sup>2</sup> 棟方美穂子<sup>3</sup>  
楢山宝孝<sup>4</sup> 五日市健夫<sup>5</sup> 増田幸保 佐藤裕久

青森県では陸奥湾東部海域において対 EU 輸出ホタテガイ生産海域モニタリング検査を行っており、当所では安全なホタテガイを輸出するため貝毒、微生物及び環境汚染物質の検査を実施している。貝毒検査のうち麻痺性貝毒検査は、AOAC 法のマウスを用いた検査方法により行っている。AOAC 法におけるマウス試験の方法はサキシトキシンを標準毒とした変換係数 (Conversion Factor : CF 値) を用いサキシトキシンの毒力値に換算し結果を求めるものである。マウス試験の標準化のための基準 CF 値の変動、分析毎に確認している CF 値の結果について解析したところ良好な結果であった。

また分析結果の信頼性を確保するため実施している内部精度管理及び外部精度管理の平成 16 年から 25 年までの結果について報告する。前者は麻痺性貝毒で毒化したホタテガイについて登録検査機関で行った分析結果を付与値とし内部精度管理試料として検査期間中月 1 回実施しているが、分析結果は付与値の±20%以内、変動係数 6.7%であった。後者は麻痺性貝毒技能試験に参加しており、 $|z| < 2$  の良好な評価を受けている。

Key words:Paralytic Shellfish Poison,mouse bioassay,AOAC method,Conversion Factor,quality control

### 1. はじめに

我が国の二枚貝及びその加工品については平成 2 年以降 EU への輸出禁止の状況にあった。平成 6 年「対 EU 輸出ホタテガイ等の取り扱い要領」<sup>1)</sup> が策定され、青森県の採捕海域として陸奥湾が指定されたことから「青森県対 EU 輸出ホタテガイ等の取り扱い要領」<sup>2)</sup> が決められ、陸奥湾産ホタテガイモニタリング検査を当所において行なうこととなった。その後、生産海域、加工施設を含めた衛生管理体制等について EU 査察が行われ、当所は試験検査機関として査察対象となった。

平成 7 年に行われた EU 査察では GLP 導入の指摘を受け全国に先駆けて GLP 体制を整備した。

また、平成 13 年の EU 査察では検査結果のさらなる精度の向上、信頼性確保のために ISO/IEC 17025 試験所認定取得を勧められた。当所では「EU

域内に輸出されるホタテガイに係るホタテガイモニタリング検査について検査結果の品質を保証すること」を目的として貝毒及び微生物検査について ISO/IEC 17025 試験所認定を平成 15 年 3 月食品検査に関し行政機関として全国で初めて取得した。<sup>3)</sup>

麻痺性貝毒の検査法は高速液体クロマトグラフによる化学分析法とマウスを用いた生物学的試験法に大別される。生物学的試験法は日本国内では環乳第 30 号による麻痺性貝毒試験法<sup>4)</sup>により行われているが、当所のモニタリング検査は「対 EU 輸出水産食品取扱い要領」<sup>5)</sup>別添 9「対 EU 輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンバイオトキシンの (海洋性生物毒素) の検査方法」に基づき生物学的方法である AOAC 法<sup>6)</sup>に従って検査を行っている。AOAC 法はマウスの感受性の標準化を行い得

1 環境政策課 2 青森環境管理事務所 3 弘前保健所  
4 環境保全課 5 八戸環境管理事務所

られた麻痺性貝毒の毒力値をサキシトキシンに換算し報告する方法である。そのために求めたサキシトキシン変換係数 (CF 値) の結果を解析した。

また分析結果の信頼性確保のため内部精度管理調査の実施及び外部精度管理調査への参加を行っているが若干の知見が得られたので報告する。

## 2. 方法

### 2.1 分析方法

図1に従い行った。

#### (1) モニタリング実施期間

平成22年度までは12月から3月まで、平成23年度以降は1月から3月まで毎週。

#### (2) 使用マウス

4週齢のSlc:ICRマウスを購入し当所動物舎で2日間飼育順化させた体重19~21gのマウス。

#### (3) 標準毒の注射液作製

アメリカ合衆国食品薬品管理局 (FDA) より分与されたサキシトキシン溶液を標準毒としている。標準原液を1 µg/mLの濃度に希釈した溶液10 mLに0.003 mol/L塩酸を段階的に加え希釈し注射液とする。

#### (4) マウス致死時間および毒力値

マウス5匹または10匹の腹腔内に注射液1 mLを投与し麻痺性貝毒の典型的な症状を示し呼吸停止した時点まで致死時間とする。使用したマウスの致死時間中央値を求め、Sommer's Table から注射液1 mL当たりのマウスユニット (MU/mL) を決める。1 MUは体重19~21gのマウスが15分で死亡する毒力を用いる。

中央致死時間は5分から7分以内でなければならない。

#### (5) CF 値の求め方

1 MUに相当する標準毒量 (µg) をCF値という。CF値は使用するマウスのコロニーによって異なることから毎年モニタリング検査実施前にマウスの標準化をおこなうための基準CF値を求める。また、麻痺性貝毒検査毎に、5匹のマウスを用いCF値を測定している。

#### 7 基準CF値の決め方

2濃度のサキシトキシンをそれぞれ1グループ10匹のマウスに投与する。この時の中央致死時間から注射液1 mL当たりのMUをそれぞれ求める。注射液のサキシトキシン含有量から1 MUあたりのサキシトキシン量を求める。翌日、前日作製した2濃度の溶液と、同濃度の新たに作製した2濃度の溶液の計4溶液を各々10匹のマウスに投与す

る。それぞれのグループの中央致死時間から同様に1マウスユニットあたりのサキシトキシン量を求める。これら6グループの平均値を基準CF値とする。

### 2.2 内部精度管理調査

麻痺性貝毒毒化ホタテガイを購入し均一化したものを陽性試料としている。登録検査機関である一般社団法人青森県薬剤師会衛生検査センターに依頼し10回繰り返し分析した結果の平均値56.1 µg/100 gを付与値とし±20%を許容範囲とした。平成18年度から毎月1回内部精度管理調査を行っている。

### 2.3 外部精度管理調査

麻痺性貝毒技能試験は、平成14年~22年度までは財団法人日本適合性認定協会認定センターでJAB/PTP (Proficiency Test Program) 試験所間比較・技能試験として、平成23年度からは財団法人食品薬品安全センター秦野研究所で食品衛生外部精度管理調査の動物を用いる調査として実施されている。調査機関から精度管理試料 (ホタテガイペースト) 及び標準毒 (dcSTX) が配布され手順書に従って分析を行い報告している。

当所では平成16年度からこの外部精度管理調査に参加している。

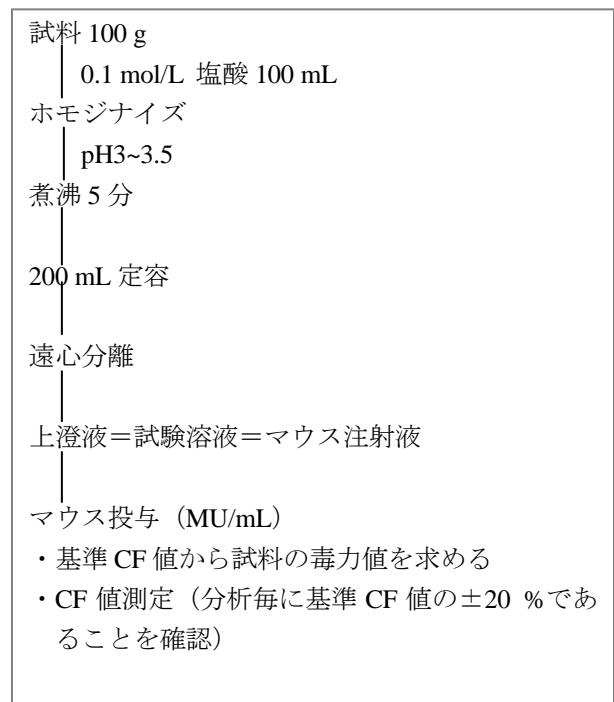


図1 分析方法

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 CF 値の結果

##### (1) 基準 CF 値

基準CF値決定のため行ったCF値測定結果を表1、分布図を図2に示す。

CF値の測定値は正規分布を示し、72.4%が平均値±1σ以内であった。

基準CF値の平均は0.194 μg/MU、測定範囲は0.177~0.217 μg/MU、標準偏差は0.003~0.012、Zスコアは2以下であった。

複数の分析者が担当し測定年度も異なるものの再現性はよくばらつきも小さい精度の高い結果であった。

森は「マウスの標準化はSTXへの換算だけでなく、マウスの安定性の確認に伴う品質管理の役割も担っている。」と述べている<sup>7)</sup>。CF値を求めることは投与者による変動、マウスの個体差及び購入時毎のロットの違いによる影響を除くためであると考えられる。

##### (2) CF 値

検査の都度実施しているCF値の測定結果を図3に示した。AOAC法には定期的なCF値の管理基準は基準CF値の±20%と示されている。調査年度すべての期間について基準CF値の管理基準を越えた値はなかった。

表1 基準CF値測定結果

測定年度	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	16~25
CF 値 (μg/MU)	0.179	0.198	0.192	0.158	0.197	0.200	0.179	0.201	0.215	0.200	
	0.201	0.173	0.190	0.184	0.205	0.218	0.194	0.205	0.215	0.187	
	0.182	0.204	0.188	0.180	0.201	0.192	0.196	0.203	0.217	0.180	
	0.194	0.187	0.192	0.176	0.211	0.199	0.190	0.194	0.218	0.176	
	0.179	0.180	0.180	0.184	0.209	0.187	0.192	0.205	0.213	0.166	
	0.179	0.186	0.193	0.181	0.210	0.185	0.193	0.223	0.221	0.179	
平均(μg/MU) 基準CF値	0.186	0.188	0.189	0.177	0.206	0.197	0.191	0.205	0.217	0.181	0.194
標準偏差	0.010	0.011	0.005	0.010	0.006	0.012	0.006	0.010	0.003	0.011	0.014
変動係数(%)	5.1	6.1	2.6	5.6	2.7	6.1	3.2	4.7	1.3	6.3	7.4
Zスコア	-0.6	-0.4	-0.3	-1.2	0.8	0.2	-0.2	0.8	1.6	-0.9	

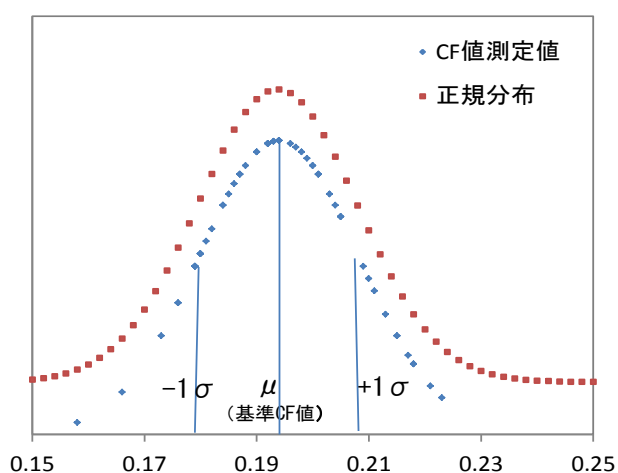


図2 CF 値測定分布

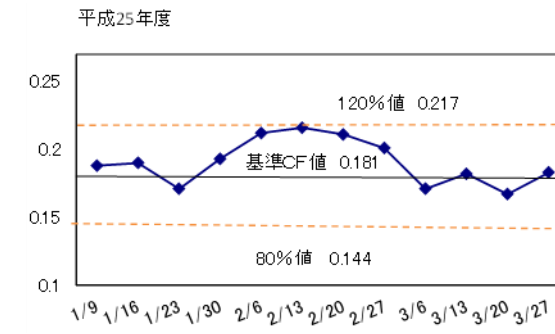
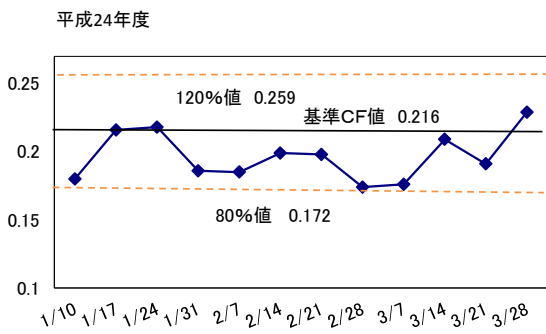
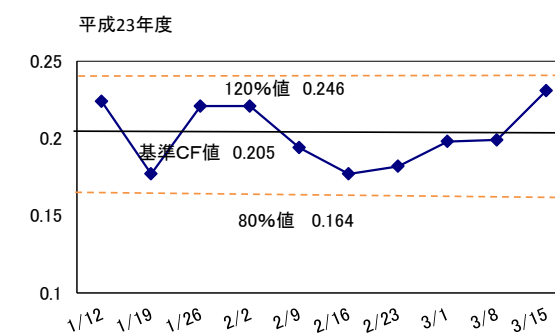
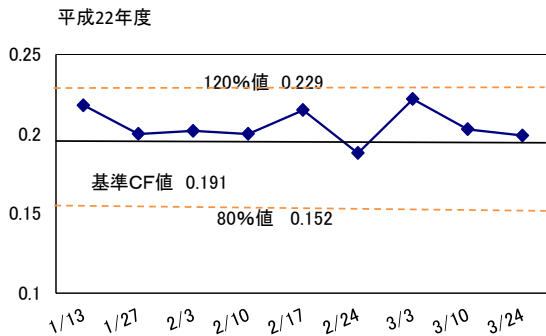
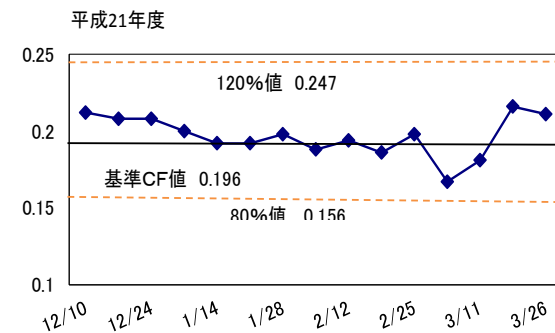
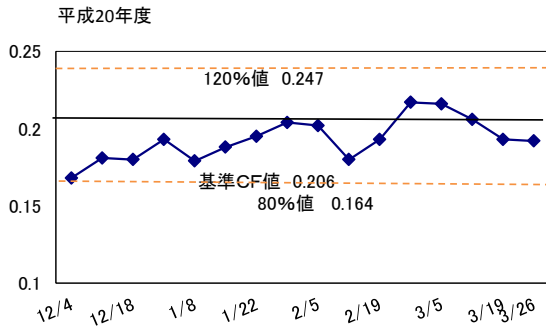
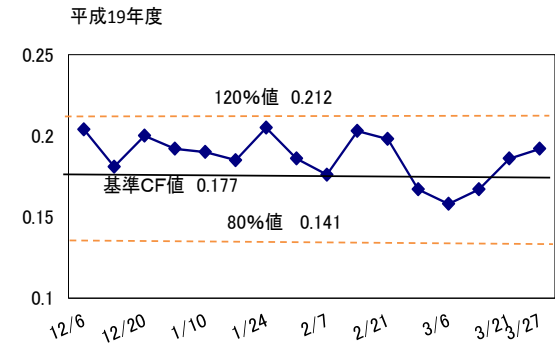
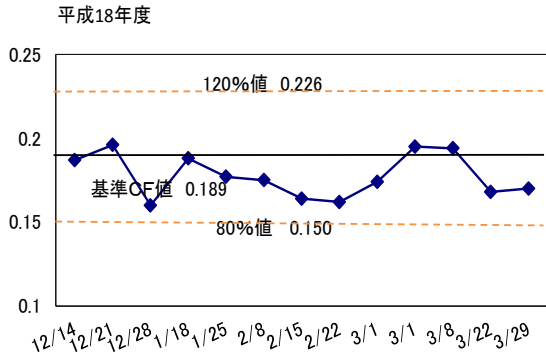
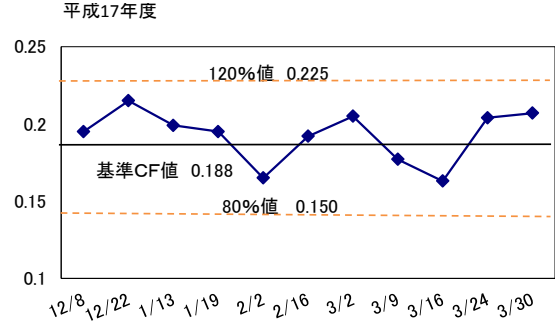
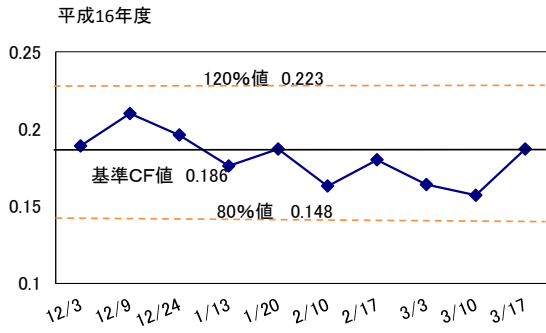


図3 CF値の測定結果

### 3.2 内部精度管理調査結果

モニタリング期間中毎月 1 回実施している内部精度管理調査の結果を表 2 及び図 4 に示した。測定結果の平均値は 55.3  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、測定範囲は 48.1~61.0  $\mu\text{g}/100\text{g}$ 、標準偏差は 3.7 であった。図 4 に示したように結果は全て付与値の  $\pm 20\%$  (44.9~67.3  $\mu\text{g}/100\text{g}$ ) 以内であった。これらの結果は分析担当者が 7 人の複数であること、分析日時が異なることなどの変動要因にもかかわらず変動係数も 6.7% とバラツキの小さい結果であった。

### 3.3 外部精度管理結果

評価結果は統計処理され、調査機関から参加機関に報告される。マウス毒力値 (MU/g) およびマウス標準化を行った時の毒力値 (FDA-STX $\mu\text{g}/\text{g}$ )、の両方の結果について Z-スコアで評価される。結果を図 5 に示した。調査期間中の結果はすべて  $|z| < 2$  であり「満足」な結果であった。

## 4. まとめ

当所では、安全なホタテガイを輸出するためモニタリング調査を実施している。その中で麻痺性貝毒検査は AOAC 法のマウス試験法による方法を用いている。マウス感受性標準化のための基準 CF 値の変動、分析毎に行っている CF 値の結果、また検査結果の信頼性を確保するため実施している内部精度管理調査 (平成 18~25 年度分) 及び外部精度管理調査 (平成 16~25 年度分) の結果についての解析を行い以下の結果が得られた。

- 1) 基準 CF 値は平均値 0.194  $\mu\text{g}/\text{MU}$ 、標準偏差は 0.012、変動係数 7.4%、 $|z| < 2$  であった。
- 2) CF 値は基準 CF 値の  $\pm 20\%$  以内であった。
- 3) 内部精度管理の結果は付与値に対してすべて 20% 以内であった。
- 4) 外部精度管理調査の結果は  $|z| < 2$  以下の良好な結果であると評価された。
- 5) マウス試験による麻痺性貝毒検査結果の信頼性が確保されていた。

## 文 献

- 1) 「対 EU 輸出ホタテガイ等の取扱い要領」, 厚生省通知 (平成 6 年 5 月 2 日環乳第 74 号)
- 2) 「青森県対 EU 輸出ホタテガイ等の取扱い要領」, 青森県, 平成 6 年 12 月 9 日

3) 古川章子他: 青森県環境保健センター研究報告, 15, 12-22, 2004

4) 環境衛生局乳肉衛生課長通知環乳第 30 号  
昭和 55 年 7 月 1 日

5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長、農林水産省・安全局長、水産庁長官: 最終改正 食安発第 0626 第 2 号, 26 消安第 1768 号, 26 水漁第 470 号, 平成 26 年 6 月 26 日

6) AOAC Official Methods of Analysis 959.08

7) 永田忠博他: 食品分析法の妥当性確認ハンドブック, 104, 株式会社サイエンスフォーラム, 東京都, 2007

表 2 内部精度管理調査結果

測定年度	分析担当者	結果 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )
18	A	51.3
	A	60.3
	A	58.6
	A	55.3
19	A	48.1
	A	49.9
	A	55.5
	A	51.8
20	B	59.3
	B	57.3
	B	56.1
	B	60.3
21	C	57.1
	C	61.0
	C	57.1
	C	57.7
22	D	53.9
	D	54.9
	D	52.7
23	D	51.9
	E	56.6
	D	55.3
24	F	57.9
	F	55.9
	G	60.8
25	F	51.6
	G	48.1
	F	50.6
平均 ( $\mu\text{g}/100\text{g}$ )		55.3
標準偏差		3.7
変動係数 (%)		6.7

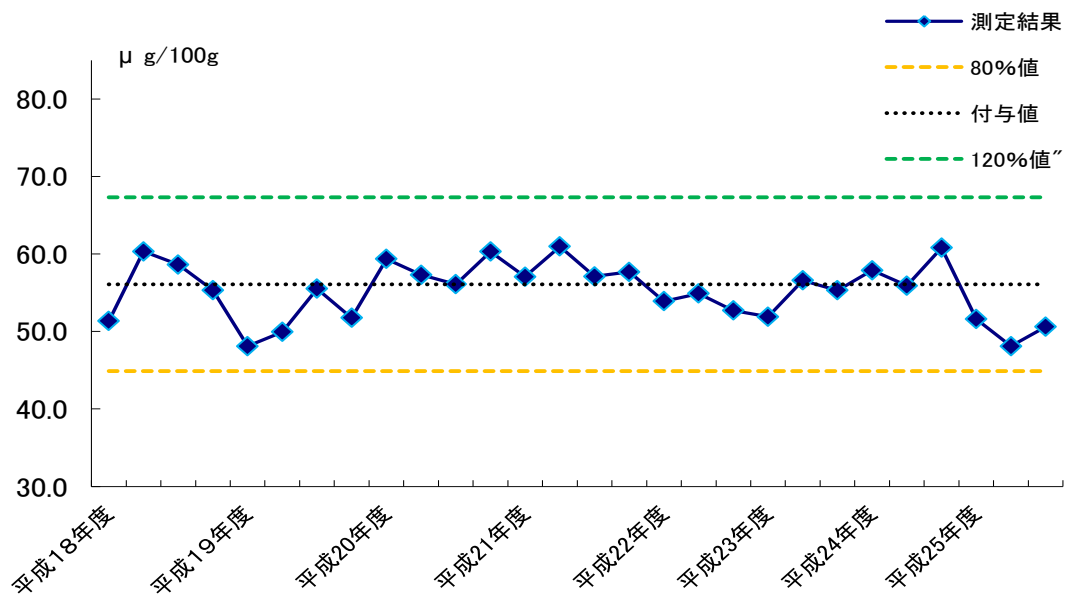


図4 内部精度管理測定結果推移

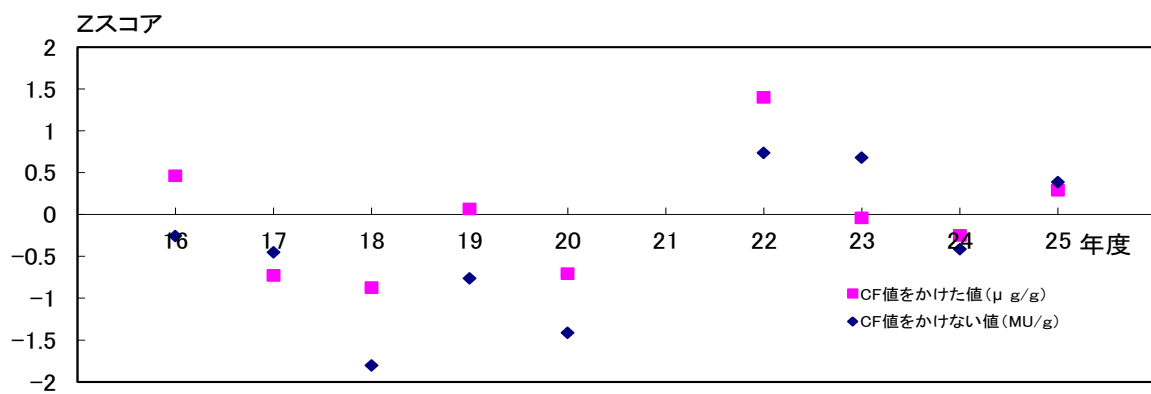


図5 外部精度管理技能試験結果 (Zスコア)

## Reliabilities of Inspections for Paralytic Shellfish Toxins by Means of Mouse Bioassay

Junko Kimura, Taketo Jin, Yoshihisa Tamakuma, Yuzuru Sawada, Mihoko Munakata,  
Takatoshi Narayama, Takeo Itsukaichi, Yukiyasu Masuda, Hirohisa Sato

In order to secure non-toxicity of scallops for export to the EU, the present authors have inspected shellfish toxins, microbes, and environmental pollution materials in these shells which have been lying inside the Mutsu Bay in Aomori Prefecture.

The paralytic shellfish poisons have been investigated by the AOAC method using mice. This AOAC method has converted the results of mouse bioassay to the equivalent poisonous levels of saxitoxin. We have obtained good analysis results on the variation of conversion factor (CF values) so as to standardize sensitivities of each mouse, and on the CF values which have been confirmed on each experiment.

The authors have also reported the results of private and public quality control examinations from 2004 to 2013 to ensure the reliabilities of the inspection results. The former examinations, which have been made on poisonous scallops accompanied with paralytic shellfish poisons, have given the results within the  $\pm 20\%$  around the assigned levels. On the latter, we have taken the public quality control examinations on paralytic shellfish poisons, and have been judged to be good with z-scores of  $|z| < 2$ .

Key words: Paralytic Shellfish Poison, mouse bioassay, AOAC method, Conversion Factor, quality control





II ノ 一 ト



## 青森県病原微生物検出情報システムの変更

武沼浩子 福田 理

細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査機関のうち、県内各地域別に計 11 カ所の機関の協力を得て、病原体の検出情報と環境情報を週単位で収集し、毎週、「青森県病原微生物検出情報」としてホームページ上で公開している。近年、食中毒の原因微生物は大きく様変わりしてきたことから、協力機関関係者にアンケート調査を行い、収集項目、レイアウトの変更を行った。情報の内容としてエルシニアの検出状況を追加し、ビブリオ属菌については、腸炎ビブリオ以外のビブリオ属菌を含めることとした。食中毒原因微生物以外では、MRSA（メチシリン耐性黄色ブドウ球菌）と ESBL（基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌）の検出情報を加えた。

Key Words: Food poisoning, MRSA, ESBL, Weekly report

### 1. はじめに

1998 年、県内の工場で製造されたイカ菓子による集団食中毒が、全国 46 都道府県の 1,505 名にのぼり、本事件から、散発下痢症の監視が潜在的集団発生の発見に有用であることが示唆された<sup>1-2)</sup>。

そこで、1999 年～2000 年、地域保健推進特別事業として「病原微生物検出情報を基盤とした食中毒防止のシステム化」を構築した。当時、食中毒事例の多いサルモネラ属菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター属菌の検出情報を受信し、気温、海水温と合わせてデータ収集を行い、潜在的集団発生例の有無、或いは、集団発生の予兆を察知し、集団食中毒の未然予防を計ることを目的として週報を発行するというシステムが始まった<sup>1-2)</sup>。

システム稼働から 13 年が経過し、2014 年に 1 定点医療機関を増やし、県内各地域別に合計 11 カ所の機関の協力を得て、病原体の検出情報と環境情報を週単位で収集し、毎週、「青森県病原微生物検出情報」として Web 上で公開している。

### 2. 目的

1999 年当初は、全国的に腸炎ビブリオが最も多かったため、気温、海水温とともに、患者情報を提供した。近年、青森県病原微生物検出情報システムによる集計では腸炎ビブリオ患者数は減少し、

年間 10 件未満のまま横ばい推移であり、相対的にカンピロバクター属菌が細菌性食中毒では上位を占めている状況にある（図 1, 図 2, 図 3）。本システムの稼働から 10 年以上が経過したが、この間、見直しをしていなかったことと、病原体の検出状況と週報の掲載項目が実状に合わない状況になってきていることから、協力医療機関の要望・意見を参考に、求められている現状にあった情報を提供できるように変更することとした。変更に伴い作業量が増える部分については、システムの効率化および解析ツールの追加を行った。

### 3. 方法

協力定点医療機関等 11 定点に対し、アンケート調査を行い、その集計結果から協力定点医療機関等の状況を把握し、変更すべき点を検討した。

全国の食中毒統計及び県内の食中毒状況を参考に、菌種を選択した（図 1、図 2）。菌種の増加に伴い作業量が増えると想定される工程の効率化及び解析ツールについてはデータベースソフトウェア（Access2013）、表計算ソフトウェア（Excel 2013）を用いた。

### 3. 結果及び考察

1) アンケートの結果から、薬剤耐性菌の検出につ

いては、ESBL、MRSA が上位を占め、現状では、薬剤耐性菌の検出を知りたいという意見が多かった。国内においても、耐性菌の対策が院内感染対策上必要不可欠になっている状況がある<sup>3)</sup>。平成19年4月に施行された改正医療法により、すべての医療機関において管理者の責任の下で院内感染対策のための体制の確保が義務付けられた。本県においても青森県感染対策協議会 AICONS（アイコン）が2014年3月8日を持って設立された<sup>4)</sup>。アンケートの結果から、検出耐性菌で最も多かったESBLとMRSAを追加することとした。その他の食中毒起因菌種の選定については、これまでの統計データとの連続性を考え、本県では分離数の多いサルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、ビブリオ属菌に加えてエルシニアの検出状況を加えた。ビブリオ属菌については、腸炎ビブリオ以外のビブリオ属菌も含めた。

2)日付、期間、集計等手入力で行った部分は、該当週の欄に週を入力するだけで内容が反映できるシステムへ変更した。使用ソフトウェアの変更により、入力作業及び配布作業の効率化が図られた。

年齢別の解析を迅速に行えるよう、菌別年齢層別ツールを追加した。

細菌種別ごとに配布していた帳票を1枚に集約し配布資料をA4 1枚とし、PDF変換をメニュー画面から行えるよう変更を加えた。

画面上からの印刷機能については、今後、ネット上での送受信に迅速に対応可能とするためPDFファイルをスタート画面から作成できる機能を追加した。変更により、これまでの週報に比べれば、現状の食中毒・感染症の発生状況を反映できるようになったと考えられた。しかし、今回は、検出されている耐性菌のうち、MRSAとESBLの2菌種だけであり、要望のすべてを反映できたわけではないので、今後も医療機関関係者等の意見を積極的に取り入れて改善していきたい。

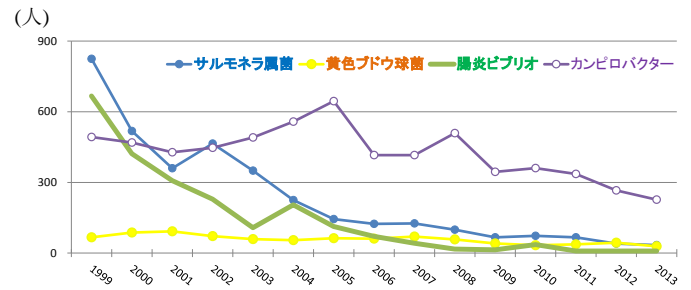


図1 全国食中毒患者数（1999-2013）

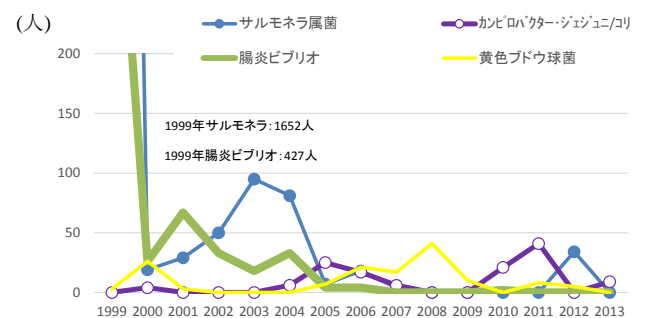


図2 青森県食中毒患者数（1999-2013）

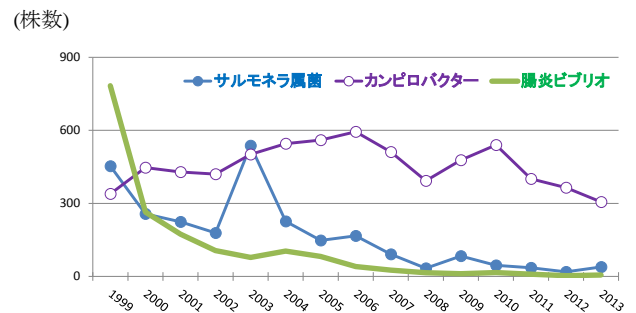


図3 青森県病原微生物検出数（1999-2013）



表1 アンケートの結果 (N=11)

協力機関への週報の発送方法について

項目	件数
今までどおり郵送による送付は必要	8
郵送は不要	0
その他意見 メールによるPDFでの還元 ホームページ上の閲覧	3

サルモネラ血清型の実施について

項目	件数
O血清型別を実施	11
H血清型別を実施	2

カンピロバクターcoli/jejuniの型別の実施について

項目	件数
型別を実施している	8
実施していない	3

エルシニアの分離の有無について

項目	件数
分離有り	8
分離無し	3

ポツリヌス菌の分離の有無について

項目	件数
ポツリヌス菌の分離 無し	11

レジオネラ属菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	2
分離無し	9

A群溶血性レンサ球菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	9
分離無し	1
記載なし	1

G群溶血性レンサ球菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	10
分離無し	1

病原性大腸菌の型別の実施について

項目	件数
O型別を実施している	11
H型別を実施している	0

病原性大腸菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	8
分離無し	0
記載なし	3

腸管病原性大腸菌(EPEC)の分離の有無について

項目	件数
分離有り	3
分離無し	8

腸管侵入性大腸菌(EIEC)の分離の有無について

項目	件数
分離有り	10
分離無し	1

腸管付着性大腸菌(EAEC)の分離の有無について

項目	件数
分離有り	0
分離無し	11

腸管毒素原性大腸菌(ETEC)の分離の有無について

項目	件数
分離有り	3
分離無し	8

腸管出血性大腸菌(EHEC)の分離の有無について

項目	件数
分離有り	9
分離無し	2

腸炎ビブリオの型別の実施について

項目	件数
O型別を実施している	0
K型別を実施している	0

ビブリオ属菌の分離の有無について

項目	件数
ビブリオ属菌の分離有り	6
ビブリオ属菌の分離無し	5

黄色ブドウ球菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	11
分離無し	0

ウェルシュ菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	7
分離無し	4

肺炎球菌の分離の有無について

項目	件数
分離有り	10
分離無し	1

その他自由意見

・ノロウイルスの発生状況等載せてほしい。
・CRE(メタロβラクタマーゼ産生菌)載せてほしい。
・流行しているものを載せてほしい。
4.今話題の耐性菌情報を載せてほしい。
・海水温情報は参考にしています。

病原体情報については、サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌にエルシニアの検出状況を追加し、ビブリオ属菌については、腸炎ビブリオ以外のビブリオ属菌を含めた。食中毒原因微生物以外では、MRSA と ESBL の検出情報を加えた。システムの変更により、手入力で行った部分は、該当週の欄に週数を入力するだけで内容が反映できるシステムへ変更し、菌別年齢層別ツールを追加した。これまでの集計レポートを集約し、配布資料は A4 1 枚にまとめた。その結果、現状の食中毒・感染症の発生状況を反映した情報を提供できるようになり、システムの変更により、入力作業や発送資料の配布作業の効率化が図られた。

### 謝 辞

本システム変更を進める上で、協力医療機関の方々に情報提供のご協力をいただきました。ここに深謝いたします。

### 文 献

- 1)大友良光: 病原微生物検出情報の週報構築.青森県環境保健センター研究報告,**13**,47-48,2002
- 2)大友良光:イカ乾製品によるサルモネラ広域食中毒事件:その拡大要因とサルモネラ血清型の週単位監視システムの構築.日本食品微生物学会雑誌 = Japanese journal of food microbiology,**19**,4,156-161, 2003
- 3) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 <http://www.nih-janis.jp/about/>
- 4)古谷信彦:JANIS 検査部門設立の経緯,**32**, 4-6,2011

## 限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析の妥当性評価

工藤志保 五日市健夫<sup>1</sup> 柴田めぐみ<sup>2</sup> 増田幸保 佐藤裕久

「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、当所で実施している限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価を行った。添加濃度 0.01  $\mu\text{g/g}$  及び 0.1  $\mu\text{g/g}$  の 2 濃度により 53 農薬項目について評価を実施した。その結果、7 種類の各農産物において、ガイドラインの目標値及び当所の評価基準を満たした収去検査における報告可能項目数は、トマト 46 項目、にんじん 39 項目、ほうれんそう 37 項目、ばれいしょ 44 項目、大根 34 項目、りんご 40 項目、レモン 33 項目であった。

Key words: Agricultural products, Pesticide residues, Simultaneous determination, Ultra-filtration, Validation

### 1. はじめに

平成22年12月24日付け厚生労働省通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」<sup>1)</sup> (以下、ガイドライン) により、食品中に残留する農薬等の濃度が、食品の規格に適合していることの判定を目的として試験を実施する場合には、各試験機関が使用する試験法の妥当性を確認することが必要となった。

これに伴い、当所で以前から LC/MS/MS 一斉分析法として実施している限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析法について、妥当性評価を行ったので報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 妥当性評価対象試料

当所における妥当性評価実施標準作業書では、農産物を対象とした残留農薬検査の妥当性評価を実施する食品種類として、野菜及び果実 8 種類 (トマト、にんじん、ほうれんそう、ばれいしょ、大根、ごぼう、りんご、レモン)、穀類 1 種類 (玄米) を設定している。

今回は、平成 26 年度の収去検査で搬入予定のあ

る 7 種類の野菜及び果実 (トマト、にんじん、ほうれんそう、ばれいしょ、大根、りんご、レモン) を妥当性評価対象試料とした。

#### 2.2 検査対象農薬

表 1 に示した 53 項目を対象とした。

#### 2.3 試薬など

溶媒:メタノールは関東化学製の LC/MS 用、超純水は和光純薬製の LC/MS 用を用いた。

農薬標準品:標準原液は和光純薬工業製農薬混合標準液 PL-7-2 を使用した。その他の項目については、和光純薬工業、関東化学及び林純薬工業の標準品を使用し、標準原液を調製した。これらの標準原液を混合し、混合標準溶液を調製した。

限外ろ過膜: Millipore 社製 Amicon Ultra 30K を用いた。

#### 2.4 試験溶液の調製方法

「限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による農産物中の残留農薬一斉分析」の方法<sup>2)</sup>に従った。

試験溶液の調製方法を図 1 に示す。

1 八戸環境管理事務所

2 東地方保健所



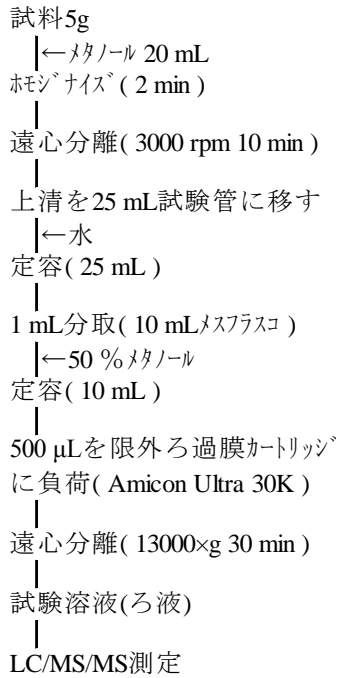


図1 試験溶液の調製方法

## 2.4 装置及び測定条件

LC/MS/MS装置: ACQUITY UPLC

Xevo TQ MS (Waters)

カラム: Waters製 BEH C18 2.1×100 mm 1.7 μm

注入量: 5 μL

流量: 0.3 mL/min

移動相: A: 5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液

B: メタノール

1検体の測定につき、以下の2つのグラジエント条件による2回の測定を行った。

グラジエント①:

分析時間10分

時間	A液	B液
初期条件	90.0%	10.0%
5.0分	10.0%	90.0%
7.0分	90.0%	10.0%

グラジエント②:

分析時間13分

時間	A液	B液
初期条件	95.0%	5.0%
1.0分	60.0%	40.0%
2.0分	35.0%	65.0%
8.0分	5.0%	95.0%
9.0分	0.0%	100.0%
9.5分	95.0%	5.0%

## 2.5 検量線の作成

混合標準溶液を 50 %メタノールで希釈し、0.1 ng/mL~4 ng/mL の検量線用標準溶液を調製した。それぞれ LC/MS/MS に注入し、ピーク面積による絶対検量線法で定量した。

## 2.6 妥当性評価方法

分析者1名が1日1回(2併行)、5日間の添加回収試験を行い、ガイドラインに従い選択性、真度(回収率)、精度(併行精度、室内精度)、定

量限界(当所では、一律基準値である 0.01 μg/g に設定)を評価した。

一斉分析法のため、添加濃度については、定量限界となる 0.01 μg/g 及び 0.1 μg/g の2濃度とした。

## 2.7 当所における評価基準

選択性及び定量限界の評価、各添加濃度における真度、併行精度及び室内精度の目標値は、ガイドラインに従った。

0.01 μg/g 及び 0.1 μg/g の添加濃度におけるガイドラインの目標値を表2に示す。

表2 真度及び精度の目標値

添加濃度 (μg/g)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.01	70~120	25 >	30 >
0.1	70~120	15 >	20 >

当所における評価基準に基づき、農産物ごとの基準値と照らし合わせ、基準値が 0.05 μg/g までのものについては添加濃度 0.01 μg/g の結果を採用し、基準値が 0.05 μg/g より大きいものは添加濃度 0.1 μg/g の結果を採用し、それぞれがガイドラインの目標値に適合した項目のみを収去検査における報告可能項目とした。

## 3. 結果及び考察

### 3.1 選択性

ガイドラインに基づき、各農産物のブランク試料を検査し、定量を妨害するピークの有無の確認をした。

当所では一律基準値である 0.01 μg/g を定量限界とすることから、定量限界 0.01 μg/g に相当する濃度の標準溶液 (0.2 ng/mL) から得られるピーク面積の 1/3 を超える妨害ピークの有無を確認したが、すべての農産物において妨害ピークは見られなかった。

### 3.2 真度(回収率)及び精度

各試料における結果を表1に示した。

7種類の農産物すべてにおいて、0.01 μg/g 及び 0.1 μg/g の2濃度のどちらも真度及び精度の目標値に適合した項目は、53項目中24項目であった。

農産物により、目標値に適合した項目数に違いが見られ、適合数が多かったのは、トマトの44項目、適合数が少なかったのは、レモンの28項目であった。

すべての農産物において、目標値に適合しなかった項目は、オリザリン、カルボスルファン、

クロキントセットメキシル、クロルプロファム、テフルベンズロン、ピリプチカルブ、ベンフラカルブであった。

そのうちのオリザリン、クロルプロファム、テフルベンズロンについては、現在の装置条件では測定感度が悪く、低回収率及び定量値のばらつきにつながったと思われる。今後、測定条件等の再検討が必要である。

ベンフラカルブについては、レモン以外の農産物では真度50%～60%であったが、レモンではピークを確認できなかった。これは、ベンフラカルブは酸性で不安定な化合物であるため、分解が進んだと推測される。カルボスルファンについても、0.01 µg/gの添加濃度では、すべての農産物において、ピークを確認できなかった。

また、目標値に適合しなかったものは、精度よりも真度70%を下回ったものがほとんどであった。

### 3.3 定量限界

ガイドラインに基づき、基準値が定量限界0.01µg/gと一致している場合には、表3に示した①と②の条件に適合しているかを確認した。

その結果、条件①及び②に適合しなかった項目を表3に示した。

条件①については、ほうれんそうのチアクロプリド及びピリプチカルブ、レモンのチアクロプリド及びナプロアニリドについては、精度が適合しなかった。それ以外の項目は、真度70%を下回ったものであった。

条件②については、特にオリザリンの測定感度の不良によりS/N比 $\geq 10$ を確保することが困難であった。

### 3.4 報告可能項目数

ガイドラインの目標値及び当所の評価基準から、農産物ごとの報告可能項目数を決定した。

収去検査における報告可能項目は、トマト46項目、にんじん39項目、ほうれんそう37項目、ばれいしょ44項目、大根34項目、りんご40項目、レモン33項目となった。

りんごのブランク試料からシプロジニル、クロチアニジン、レモンのブランク試料からアズキシストロビン、イマザリル、チアベンダゾールが検出されたが、検出された濃度を差し引き、真度及び精度を算出した。添加濃度0.01 µg/gにおいては、検出農薬が高濃度のため、精度にばらつきが

見られたが、いずれの農薬も基準値が高いことから、添加濃度0.1 µg/gの結果から判定し、報告可能項目とした。

表3 定量限界の条件及び不適合項目

農産物名	条件①	条件②
	添加濃度0.01 µg/gの添加試料の試験結果に基づく真度、併行精度及び室内精度が表2の目標値を満足していること。	添加濃度0.01 µg/gの添加試料から得られるピークは、S/N比 $\geq 10$ であること。
トマト	オリザリン クロキントセットメキシル 2	オリザリン クロキントセットメキシル 2
にんじん	インドキサカルブ エスプロカルブ オリザリン クロキントセットメキシル ピリプチカルブ ベンゾフェナップ 6	オリザリン 1
ほうれんそう	エスプロカルブ オリザリン クロキントセットメキシル チアクロプリド ピリプチカルブ 5	インドキサカルブ オリザリン 2
ばれいしょ	アニロホス エスプロカルブ オリザリン クロキントセットメキシル 4	オリザリン 1
大根	エスプロカルブ オリザリン クロキントセットメキシル チアクロプリド ピリプチカルブ ベンゾフェナップ 6	アルジカルブ オリザリン シメコナゾール 3
りんご	エスプロカルブ クロキントセットメキシル ベンゾフェナップ 3	0
レモン	エスプロカルブ クロキントセットメキシル クロリダゾン チアクロプリド ナプロアニリド ピリプチカルブ ベンゾフェナップ 7	イソキサフルトール 2

## 4. まとめ

限外ろ過法を用いたLC/MS/MSによる農産物中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価を行った結果、ガイドライン及び当所の評価基準に適合した報告可能項目数は、トマト46項目、にんじん39項目、ほうれんそう37項目、ばれいしょ44項目、大根34項目、りんご40項目、レモン33項目となった。

## 文 献

- 1)厚生労働省医薬食品局安全部長通知:「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(食安発第1224第1号、平成22年12月24日)
- 2)畠山えり子他:限外ろ過法を用いた LC/MS/MSによる農産物中の残留農薬一斉分析.食品衛生学雑誌,47,137-145,2006

表1 真度及び精度の結果 (トマト・にんじん)

No.	農薬名	農産物名：トマト						農産物名：にんじん					
		0.01 µg/g			0.1 µg/g			0.01 µg/g			0.1 µg/g		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	XMC	90.2	9.2	10.9	93.2	3.9	3.9	78.6	11.0	11.0	83.0	3.1	5.8
2	アザメチホス	86.2	5.8	5.8	87.7	2.6	5.5	77.2	5.6	5.6	78.2	2.9	3.1
3	アジンホスメチル	79.4	8.3	8.6	85.1	5.4	7.6	78.1	8.3	13.1	79.6	4.0	5.5
4	アセフェート	83.6	2.3	10.4	80.4	2.2	8.9	64.3	5.2	10.5	67.7	2.5	7.9
	アセフェート-d6	78.6	3.4	11.5	77.7	2.7	9.2	68.3	10.0	13.9	67.0	3.3	7.3
5	アゾキシストロピン	95.1	8.7	10.0	95.5	4.7	7.2	79.5	10.9	29.7	89.9	4.7	8.7
6	アニコホス	85.2	8.6	9.2	85.7	4.3	6.5	75.7	8.0	8.1	75.8	3.2	5.8
7	アラニカルブ	84.0	10.2	10.2	84.5	3.3	4.4	78.8	8.8	15.2	81.9	3.8	4.4
8	アルシニカルブ	87.6	10.5	10.5	93.9	4.3	4.3	82.3	7.4	7.4	85.9	3.3	4.0
	アルシニカルブ	87.9	10.0	13.9	91.3	4.4	10.4	74.1	17.1	18.8	81.6	3.7	5.9
	アルシニカルブスルホキシド	93.1	9.0	10.8	91.6	3.8	5.8	86.3	4.8	9.0	83.5	3.5	3.5
9	イソキサフルトール	87.7	5.6	9.9	88.1	5.6	5.6	81.7	10.7	12.7	78.6	4.3	4.4
10	イソプロカルブ	89.5	8.2	14.4	91.6	4.0	4.1	78.9	13.0	13.0	84.1	4.1	4.5
11	イプロバリカルブ	87.5	4.7	5.2	90.4	3.3	6.6	80.6	5.3	8.0	80.3	3.3	5.0
12	イマザリル	90.1	3.1	3.8	91.6	4.5	6.3	75.0	9.7	11.3	76.5	5.3	5.3
13	イミダクロプリド	91.7	6.0	8.5	98.1	3.3	6.8	87.2	11.9	12.7	88.4	2.0	6.7
14	インドキサカルブ	79.7	12.3	12.3	72.2	7.3	7.7	69.7	9.0	9.0	67.6	5.2	9.3
15	エスプロカルブ	72.6	4.8	4.9	71.5	3.9	5.2	64.2	2.5	8.8	65.0	3.1	9.4
16	エチオフェンカルブ	89.0	10.1	10.1	91.1	4.7	5.2	78.4	13.4	13.4	82.8	1.8	3.5
17	オキサミル	86.3	5.3	7.7	94.4	2.7	4.4	78.8	8.9	8.9	86.6	1.9	4.7
18	オリザリン	40.7	22.5	224.2	69.0	13.1	64.8	0.0	—	—	21.8	139.5	244.4
19	カルバリル	87.6	7.5	9.9	92.3	2.6	4.0	63.9	7.0	16.7	66.8	1.7	14.4
20	カルボスルファン	0.0	—	—	10.4	11.7	14.8	0.0	—	—	22.3	3.3	19.2
21	カルボフラン	111.3	4.5	4.5	114.4	2.2	5.3	79.0	8.0	8.2	84.4	3.3	5.8
	30Hカルボフラン	90.0	2.6	5.8	92.1	3.5	5.0	82.6	2.3	2.7	84.8	2.6	2.6
22	クロキントセツトメキシル	67.7	5.2	5.2	67.6	3.9	4.8	60.1	2.8	3.2	56.7	2.9	8.3
23	クロチアニジン	80.8	7.3	7.3	79.8	3.6	7.7	78.7	12.8	15.2	73.2	5.0	5.0
24	クロマフェンジド	89.4	10.2	11.3	91.6	5.9	8.4	85.2	11.3	11.3	81.5	5.2	8.3
25	クロリダゾン	82.6	6.4	7.2	83.0	2.3	6.0	77.6	7.4	7.4	78.0	2.5	4.1
26	クロルプロファミ	82.1	66.2	78.1	95.1	12.6	22.7	33.3	44.5	143.3	42.7	36.0	141.2
27	シアゾファミド	80.0	12.4	12.4	81.6	4.3	5.7	68.1	10.5	10.5	72.4	2.1	4.3
28	ジクロルホス及びピラト	73.8	67.3	67.3	96.4	17.7	19.0	91.1	37.6	37.6	77.6	12.5	15.3
29	シフルアエナミド	86.3	6.7	8.1	83.2	2.5	5.9	74.1	2.8	3.7	74.0	3.2	5.7
30	シプロロジン	84.0	8.0	12.0	80.7	4.8	4.8	76.8	14.1	14.1	72.4	4.0	5.0
31	シメコナゾール	87.2	8.1	8.1	84.9	2.5	4.3	76.4	6.8	8.2	75.5	2.9	3.6
32	ジメチモール	89.6	5.5	6.3	91.3	2.9	5.8	82.5	7.6	7.6	80.9	2.3	4.7
33	チアクロプリド	88.0	4.1	7.0	88.0	2.3	6.4	78.5	7.0	7.0	79.0	3.5	4.3
34	チアベクタゾール	68.2	3.4	5.0	72.1	3.0	7.0	80.3	6.6	6.6	80.2	1.9	5.2
35	チアトキサム	71.1	6.3	13.1	70.4	1.5	7.2	80.9	6.9	7.2	83.5	2.4	6.2
36	チオシニカルブ	89.1	10.4	10.4	94.9	3.5	5.8	81.2	15.5	15.5	87.0	4.3	8.8
	メゾミル	87.2	9.6	12.8	93.4	3.1	4.5	78.6	14.7	14.7	85.1	4.0	4.0
	メゾミルオキサシム	16.3	16.3	26.9	96.8	5.4	6.6	12.8	12.8	20.1	84.6	5.7	5.7
37	チオベソカルブ	80.5	4.4	4.4	79.0	5.1	5.1	69.5	7.1	7.4	69.7	5.1	5.3
38	テスマデイファミ	91.2	6.4	6.4	91.5	3.4	4.9	83.1	6.5	7.4	82.4	2.7	2.7
39	テフルベンスロン	23.1	121.4	166.7	36.1	14.0	62.9	31.9	11.6	137.3	30.9	16.5	96.1
40	ナブロアエリド	80.9	8.1	8.6	79.2	4.3	9.5	70.5	9.9	12.8	70.6	2.0	6.6
41	ピラゾリネート	83.2	4.6	4.6	81.7	3.0	4.1	75.8	5.2	6.0	69.7	1.7	3.9
42	ピリタリド	93.6	9.7	9.7	87.9	3.7	4.0	79.6	7.3	9.0	78.1	2.7	3.3
43	ピリチカルブ	75.4	3.8	6.9	65.8	4.5	6.4	63.2	6.0	6.7	56.8	3.3	8.7
44	フェニキカルブ	83.8	10.7	10.7	81.5	3.6	7.5	75.2	16.3	16.3	74.5	4.5	5.8
45	フェノプロカルブ	87.2	12.2	12.2	92.8	2.2	3.0	74.4	6.2	12.2	84.1	2.2	3.6
46	フェリムゾン	88.9	5.9	5.9	91.7	3.4	5.2	81.5	2.2	3.1	80.5	2.2	3.1
47	プロタフェニシル	80.0	9.1	13.4	86.1	3.4	7.8	85.8	7.3	10.2	78.3	4.4	6.9
48	プロチオカルブ	76.7	5.9	5.9	76.3	6.6	10.9	70.5	7.0	7.0	66.8	2.0	5.4
49	ペンソフェナップ	80.9	5.5	5.5	75.9	3.7	7.0	68.2	4.0	4.0	65.2	2.6	5.4
50	ペンテカルブ	53.1	5.6	58.2	56.9	3.2	13.8	69.6	2.9	8.7	62.7	7.5	12.2
51	メタミトホス	38.6	11.6	92.9	58.4	4.4	19.5	38.8	11.5	92.1	55.1	8.4	25.3
	メタミトホス-d6	56.3	9.9	17.1	53.9	3.2	21.5	50.2	6.6	27.7	52.5	10.1	27.8
52	メトキシフェンジド	85.6	13.6	13.6	90.1	2.0	7.2	77.3	16.4	16.4	81.5	4.0	8.6
53	モリネート	87.6	20.7	20.7	88.2	6.4	8.0	37.2	141.3	141.3	77.0	11.1	11.1

表1 真度及び精度の結果 (ほうれんそう・ばれいしょ)

No.	農薬名	農産物名：ほうれんそう						農産物名：ばれいしょ					
		0.01 μg/g			0.1 μg/g			0.01 μg/g			0.1 μg/g		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	XMC	83.5	9.2	9.4	83.4	3.3	6.6	87.1	5.9	12.4	83.2	1.9	9.2
2	アザメチホス	72.9	2.9	2.9	73.7	3.3	4.0	81.7	4.6	5.7	80.8	1.6	2.7
3	アジンホスメチル	76.3	8.6	9.4	78.4	2.2	5.6	81.4	8.5	11.7	82.0	2.7	4.4
4	アゼフェート	35.6	7.1	91.5	52.1	1.9	10.7	15.8	115.5	166.4	51.7	4.1	8.5
	アゼフェート-d6	50.2	7.6	13.5	51.9	3.6	9.6	56.4	7.3	8.8	51.9	4.1	7.3
5	アゾキシストロビン	76.2	3.3	12.5	85.4	5.0	13.0	93.3	18.2	19.9	99.3	4.7	11.3
6	アニコホス	76.5	7.4	7.6	78.2	2.6	2.6	63.3	6.6	7.9	62.3	3.3	5.3
7	アラニカルブ	81.2	13.1	13.1	79.6	4.6	6.9	79.8	5.1	7.8	84.1	2.1	8.2
8	アルシニカルブ	82.2	4.7	7.8	82.9	3.3	3.5	91.8	5.0	5.3	91.9	2.4	3.5
	アルシニカルブ	76.8	11.8	11.8	78.1	3.3	8.7	85.2	11.0	11.0	87.5	2.7	9.2
	アルシニカルブスルホキシド	87.2	3.9	14.9	78.2	4.0	7.2	81.9	4.9	6.7	78.0	2.1	3.9
9	イソキサフルトール	76.5	10.6	18.2	75.1	3.0	5.7	88.7	2.1	10.4	86.0	3.2	5.5
10	イソプロロカルブ	79.2	9.7	17.3	83.0	5.6	5.6	91.0	5.7	6.3	90.4	2.0	4.2
11	イプロバリカルブ	85.7	5.6	6.0	83.0	2.6	2.6	85.4	7.1	7.2	85.3	2.4	2.8
12	イマザリル	76.5	4.4	12.2	80.6	2.3	3.3	81.0	8.7	22.7	79.2	2.5	15.7
13	イミダクロプロリト	95.6	8.2	11.4	94.0	2.9	9.9	95.1	2.4	5.7	95.3	3.2	5.7
14	インドキサカルブ	79.9	10.0	12.2	67.8	3.3	10.2	80.8	5.2	9.1	74.1	5.2	5.2
15	エスプロカルブ	66.1	5.0	7.3	64.8	4.5	5.2	69.6	3.9	4.1	71.5	2.5	3.7
16	エチオフェンカルブ	78.7	7.0	7.3	80.8	2.0	5.5	81.4	5.8	9.5	85.9	1.5	6.2
17	オキサミル	82.6	7.3	9.4	81.0	3.0	4.9	89.5	7.4	12.6	89.5	1.4	8.3
18	オリザリン	0.0	—	—	43.3	27.5	96.6	0.0	—	—	12.7	3.5	223.6
19	カルバリル	76.6	9.0	10.0	78.7	3.9	5.7	85.1	8.5	11.8	88.2	2.5	7.5
20	カルボスルファン	0.0	—	—	30.1	5.3	9.4	0.0	—	—	29.1	2.8	10.1
21	カルボフラン	84.3	6.1	9.1	85.7	2.4	6.3	82.0	4.6	15.2	86.4	1.7	7.1
	30Hカルボフラン	72.0	2.3	3.7	73.4	2.3	5.0	89.6	5.6	5.6	89.7	1.0	4.0
22	クロキントセツトメキシル	64.0	2.7	2.9	60.1	4.7	4.7	68.7	2.9	2.9	64.3	3.3	3.3
23	クロチアニジン	36.9	79.2	79.2	54.7	4.3	11.3	70.7	11.4	14.9	72.6	2.3	4.3
24	クロマフェンジト	83.4	8.1	12.1	81.4	6.0	6.0	92.5	6.6	7.0	87.6	3.3	3.3
25	クロリダゾン	15.0	126.9	167.4	40.3	5.6	18.0	79.5	8.9	8.9	77.7	1.2	4.4
26	クロロプロファミン	28.0	171.7	254.4	52.7	17.5	95.4	19.0	94.9	233.5	15.7	54.2	226.9
27	シアゾファミド	82.6	7.3	10.9	73.7	2.6	3.7	80.7	8.9	8.9	79.8	4.8	4.8
28	ジクロロホス及びピラト	68.0	19.7	103.9	67.6	8.1	58.5	77.6	51.8	74.8	88.3	7.7	19.0
29	シフルアエナミド	78.9	6.4	6.8	76.3	1.9	1.9	84.1	4.8	6.4	78.6	2.3	5.3
30	シアロジニル	77.7	8.2	14.3	73.0	4.6	4.6	73.5	14.8	19.3	73.2	2.3	11.8
31	シメコナゾール	74.5	3.5	8.7	75.1	3.8	4.9	84.4	7.1	8.2	79.5	2.0	5.4
32	ジメチモール	81.6	5.7	5.7	81.7	4.1	4.1	86.6	6.9	6.9	85.6	1.5	3.7
33	チアクロプロリト	45.3	7.0	56.2	55.7	2.1	5.8	78.7	6.2	6.2	78.0	2.0	4.4
34	チアベソタゾール	71.4	4.3	4.5	71.6	1.6	4.2	83.1	2.4	2.4	81.1	1.4	3.1
35	チアトキシム	69.5	5.4	7.1	72.5	1.6	5.9	81.3	7.2	7.2	79.5	1.6	4.5
36	チオシニカルブ	0.0	—	—	24.8	11.3	33.7	95.7	14.0	14.0	94.6	4.1	9.3
	メゾミル	122.8	5.3	8.1	123.8	1.5	5.7	92.8	5.8	8.3	91.1	1.6	4.7
	メゾミルオキシム	11.2	11.2	17.9	129.1	6.3	10.9	89.5	24.0	24.0	93.1	7.2	7.3
37	チオベソカルブ	73.7	6.5	7.1	70.7	4.9	7.3	74.7	6.9	9.5	72.1	4.4	5.3
38	テスメデイファミン	84.6	6.8	6.8	80.5	1.8	5.0	90.4	4.1	6.8	88.2	2.4	3.7
39	テフルベソズロン	36.4	1.7	139.2	7.2	43.3	225.7	19.6	94.0	179.7	17.3	11.8	137.2
40	ナプロエニド	71.6	7.9	12.3	70.5	4.1	6.8	73.0	6.8	12.2	74.5	1.5	6.2
41	ピラゾリネート	78.2	5.5	5.5	73.3	1.5	2.2	81.4	1.9	3.7	76.3	2.5	4.1
42	ピリタリト	81.2	12.6	13.0	78.5	3.4	3.4	87.8	10.0	10.0	86.1	3.2	3.2
43	ピリチカルブ	48.3	35.7	36.0	42.4	3.2	10.4	73.5	8.1	13.8	64.3	5.0	6.7
44	フェニキカルブ	85.5	11.9	11.9	75.5	4.5	5.3	78.8	18.2	18.2	77.3	4.5	5.6
45	フェノプロカルブ	82.8	6.1	6.6	82.9	2.9	3.5	89.2	8.5	8.6	90.4	3.4	3.6
46	フェリムゾン	83.1	2.5	2.8	83.9	1.1	3.0	87.9	1.9	2.9	86.9	0.5	2.6
47	プロタフェニル	81.3	5.4	5.4	77.9	3.2	6.7	88.6	6.4	6.4	87.3	2.1	3.0
48	フラチオカルブ	65.5	6.5	7.7	61.6	4.2	5.8	79.4	3.6	5.4	73.9	1.5	3.3
49	ベンゾフェナップ	74.3	6.3	6.3	68.6	1.8	2.6	80.2	2.8	6.4	72.5	2.5	3.5
50	ベンゾプロカルブ	67.5	7.1	13.4	61.6	9.6	14.4	80.0	16.4	16.4	68.6	7.4	13.0
51	メタミトホス	34.8	13.8	92.3	51.8	4.9	18.6	35.1	8.1	92.9	56.2	1.6	11.1
	メタミトホス-d6	48.3	7.1	19.5	49.5	3.1	16.9	47.7	12.4	27.2	51.3	3.6	15.2
52	トキシフェンジト	80.8	8.6	8.6	81.6	1.2	3.5	88.0	7.7	7.7	85.9	2.5	2.7
53	モリネート	103.4	19.0	34.6	77.9	5.1	10.0	87.7	11.1	22.3	83.6	4.2	6.7

表 1 真度及び精度の結果 (大根・りんご)

No.	農薬名	農産物名：大根						農産物名：りんご					
		0.01 μg/g			0.1 μg/g			0.01 μg/g			0.1 μg/g		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	XMC	87.9	6.8	10.5	86.0	2.6	3.5	81.5	8.2	11.0	81.8	2.1	5.0
2	アサメチホス	75.7	4.5	13.7	77.1	0.8	4.7	81.7	5.4	5.4	82.1	1.7	4.4
3	アジメホスメチル	74.9	10.4	12.1	80.3	3.4	5.0	73.1	9.8	9.8	77.6	4.5	4.5
4	アゼフェート	73.4	3.1	9.3	69.8	3.2	9.4	80.4	3.3	11.6	78.1	1.9	7.3
	アゼフェート-d6	66.1	10.2	12.8	70.3	4.3	9.0	80.8	6.8	16.9	78.2	5.6	10.3
5	アゾキシストロビン	88.2	10.3	15.6	91.1	8.7	14.1	83.1	4.6	5.3	79.8	2.7	4.3
6	アピロホス	80.2	8.4	10.3	75.6	2.8	5.7	76.3	6.1	6.2	75.5	3.6	3.6
7	アピニカルブ	77.0	12.3	13.5	69.1	4.2	4.2	73.4	6.6	6.6	71.5	3.4	3.4
8	アルジニカルブ	89.7	7.8	11.6	85.7	4.1	4.5	84.0	6.4	7.4	80.3	2.4	2.9
	アルトキシカルブ	73.0	7.5	10.6	77.4	2.5	10.1	75.5	5.6	8.5	77.9	3.6	5.8
	アルジニカルブスルホキシト	78.1	9.9	14.4	81.3	6.0	7.4	83.9	8.4	9.8	80.9	3.6	4.2
9	イソキサフルトール	85.3	16.4	16.4	81.8	3.6	7.0	81.4	14.9	14.9	80.5	3.6	3.6
10	イソプロロカルブ	87.5	10.7	18.5	84.5	1.9	2.9	80.2	4.1	4.1	80.6	3.7	4.9
11	イプロロカルブ	85.7	10.0	12.1	81.8	3.7	3.7	77.9	5.9	8.5	83.0	2.9	2.9
12	イマザリル	81.8	6.6	10.8	83.6	2.1	5.1	85.3	5.6	9.5	80.6	3.1	3.6
13	イミダクロプリト	80.3	7.9	8.5	80.1	2.5	4.4	87.5	6.6	8.8	86.8	2.6	7.0
14	インドキサカルブ	69.6	6.2	6.2	67.0	5.9	7.7	74.0	8.9	9.7	68.4	4.2	4.4
15	エスプロカルブ	67.3	5.9	7.5	65.8	1.6	3.1	68.5	4.1	4.8	63.5	2.1	2.4
16	エチオフェンカルブ	86.1	6.5	11.4	86.2	1.8	2.5	81.9	5.1	10.4	83.0	3.1	3.1
17	ネキサミル	77.8	6.0	7.2	82.6	1.7	4.9	80.1	5.9	7.7	79.3	3.4	8.2
18	ネリザリン	0.0	—	—	37.6	41.8	151.5	0.0	—	—	0.0	—	—
19	カルバリル	81.5	7.2	9.0	81.2	5.5	5.5	82.4	1.8	4.6	80.6	2.0	5.2
20	カルボスルファン	0.0	—	—	9.1	8.8	24.7	0.0	—	—	11.8	7.5	24.0
21	カルボフラン	90.2	3.7	10.4	93.6	3.8	7.0	89.5	5.4	8.8	93.5	2.0	9.2
	30Hカルボフラン	74.7	4.7	7.9	76.4	1.7	5.3	77.3	3.7	4.4	81.0	0.9	3.5
22	クロキソセツトメキシル	61.0	2.4	3.9	58.9	0.8	3.6	62.5	1.6	5.1	58.2	1.5	3.2
23	クロチアニジン	52.4	9.0	60.2	60.0	5.7	11.5	72.4	6.8	17.3	70.3	3.3	4.1
24	クロマフェノジト	92.6	12.7	14.9	85.7	3.7	6.2	83.2	7.7	12.8	82.9	2.8	2.8
25	クロリダゾン	73.9	3.5	5.9	73.8	2.0	7.3	75.7	7.4	7.4	72.5	3.1	3.4
26	クロルプロファミ	0.0	—	—	0.0	—	—	44.8	65.3	114.6	49.9	11.4	97.4
27	シアゾファミト	67.5	14.4	14.4	69.4	3.4	7.8	73.3	4.0	9.1	74.5	2.5	4.9
28	ジクロロホス及びピラト	21.1	133.4	168.6	80.9	10.3	13.9	79.8	62.4	76.7	74.4	12.2	57.7
29	ジフルアネミト	75.0	8.0	8.0	74.3	1.3	1.4	76.0	3.5	4.1	74.0	2.1	2.1
30	ジプロシニル	79.3	4.8	13.4	74.0	4.0	6.3	93.1	20.6	22.0	70.4	4.5	5.5
31	シメコナゾール	84.6	9.0	10.3	77.8	3.4	6.6	75.5	3.4	6.3	74.2	3.1	4.4
32	ジメチルモール	83.4	6.6	6.6	83.4	4.5	4.5	85.1	3.1	4.2	81.7	1.9	2.8
33	チアクロプリト	61.1	7.8	12.2	64.5	1.3	8.5	84.3	3.0	6.6	71.1	1.9	4.6
34	チアベンタゾール	78.9	3.0	4.2	81.1	1.5	2.5	79.7	4.9	5.7	81.1	0.9	4.0
35	チアトキシム	75.9	11.1	11.1	76.5	2.4	2.7	83.7	1.0	12.2	82.6	1.2	8.5
36	チオジニカルブ	59.7	41.2	60.1	63.7	1.7	27.5	82.8	17.2	17.2	84.8	3.4	3.4
	メソミル	99.9	3.5	13.6	102.0	2.5	11.6	81.9	7.4	7.4	81.3	2.2	3.8
	メソミルオキシム	23.7	23.7	23.7	107.3	4.5	15.4	22.8	22.8	22.8	83.6	5.2	6.7
37	チオベンカルブ	73.3	8.2	10.5	71.8	2.0	4.0	71.6	7.4	8.2	69.3	2.1	3.0
38	テスメデファミ	78.7	4.6	12.7	80.8	1.9	4.2	84.4	3.2	4.4	79.1	2.3	3.0
39	テアルベンスロン	0.0	—	—	0.0	—	—	0.0	—	—	0.0	—	—
40	ナプロアネリト	71.1	18.8	18.8	70.4	5.2	7.9	63.8	7.9	16.8	66.3	1.5	2.1
41	ピラゾリネート	79.1	7.1	11.1	72.4	1.4	2.8	78.7	5.1	7.5	74.7	1.7	3.6
42	ピリタリト	82.1	6.5	6.9	81.1	4.1	5.7	81.6	4.6	9.6	80.4	3.3	5.6
43	ピリプロチカルブ	67.3	3.9	9.1	56.8	2.5	4.6	70.2	7.8	7.8	58.3	2.3	5.1
44	フェニキカルブ	75.2	9.1	14.0	74.1	8.1	8.1	73.1	11.3	11.3	70.3	5.5	6.3
45	フェノプロカルブ	81.7	6.8	16.2	82.6	0.9	5.7	80.4	5.8	12.3	81.0	2.9	3.9
46	フェリムゾン	83.2	5.2	6.4	84.3	1.9	2.9	80.2	3.5	4.2	80.2	2.1	2.4
47	プロタフェニル	81.6	7.2	7.2	83.0	3.8	6.7	80.6	8.1	8.3	81.7	4.3	4.8
48	フラチオカルブ	68.1	5.1	6.4	65.9	0.8	3.6	71.7	3.6	4.1	68.2	1.9	4.7
49	ベソゾフェナップ	68.7	10.5	10.5	63.4	2.1	8.6	68.4	2.5	5.9	64.8	1.9	4.0
50	ベンプロカルブ	10.8	223.8	223.8	45.7	3.7	6.9	46.5	11.1	56.5	48.7	2.6	4.3
51	メタミトホス	38.3	43.9	72.4	53.3	2.6	13.9	60.2	34.9	48.5	62.5	4.1	13.4
	メタミトホス-d6	50.0	6.6	17.3	51.8	2.5	9.1	61.3	7.6	15.2	61.6	2.4	14.6
52	トキシフェノジト	85.9	16.3	16.3	83.2	3.2	5.8	81.6	5.2	7.1	81.5	3.6	3.8
53	モリネート	61.8	45.5	80.3	84.5	11.1	14.6	65.4	56.1	72.9	77.4	7.3	9.3

表1 真度及び精度の結果（レモン）

No.	農薬名	農産物名：レモン					
		0.01 μg/g			0.1 μg/g		
		真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
1	XMC	76.7	6.9	13.9	83.3	2.6	8.4
2	アサメチホス	74.9	6.4	12.4	75.0	2.1	8.5
3	アジメホスメチル	75.0	12.7	12.7	80.5	5.6	5.6
4	アセフェート	65.3	5.3	8.2	67.6	2.8	5.3
	アセフェート-d6	70.7	8.5	9.5	67.7	2.1	6.6
5	アゾキシストロビン	103.6	10.9	26.1	87.9	7.3	12.1
6	アネロホス	71.4	13.4	13.4	74.0	4.6	5.0
7	アラニカルブ	0.0	—	—	20.3	16.7	50.7
8	アルシメカルブ	84.7	7.4	8.6	82.2	2.5	6.8
	アルトキシカルブ	70.7	6.7	7.8	71.1	1.5	10.0
	アルシメカルブスルホキシト	71.0	7.3	14.3	72.7	4.7	6.8
9	イソキサフルトール	74.5	18.5	21.2	79.2	6.9	11.8
10	イソプロピルカルブ	85.9	10.6	10.6	79.3	4.2	5.1
11	イプロバリカルブ	79.3	8.5	8.5	80.7	1.7	4.0
12	イマザリル	143.0	90.9	90.9	84.4	8.9	13.1
13	イミダクロプリド	100.1	8.7	10.1	103.9	2.3	7.3
14	インドキシカルブ	76.3	10.2	11.2	71.0	2.5	3.4
15	エスプロカルブ	65.3	4.5	5.0	61.2	1.9	3.8
16	エチオフェンカルブ	80.5	3.8	8.5	78.9	2.8	5.2
17	オキサミル	70.6	5.9	6.2	70.3	1.7	3.1
18	オリザリン	0.0	—	—	0.0	—	—
19	カルバリル	78.6	8.9	10.8	82.5	2.5	3.4
20	カルボスルファン	0.0	—	—	0.0	—	—
21	カルボフラン	112.6	5.7	6.0	123.4	1.8	9.9
	30Hカルボフラン	68.0	7.8	7.8	66.0	3.1	6.5
22	クロキントセツメキシル	66.3	2.5	5.7	63.4	3.0	6.3
23	クロチアニジン	4.6	316.2	316.2	28.1	7.7	18.0
24	クロマフェンジト	77.8	13.6	14.1	79.8	4.9	6.5
25	クロリタゾン	0.0	—	—	40.6	3.2	20.0
26	クロルプロファミ	0.0	—	—	0.0	—	—
27	シアゾファミド	77.5	10.6	14.2	75.1	5.0	6.1
28	シクロホス及びピラト	29.7	127.0	169.4	32.0	29.7	139.8
29	シフルエナミド	77.8	6.1	6.7	74.5	2.3	2.8
30	シプロジニル	79.0	5.9	10.5	73.6	4.2	4.5
31	シメコナール	76.7	3.9	11.5	76.8	1.5	3.5
32	シメチモール	76.2	2.7	11.2	79.7	2.7	4.3
33	チアクロプリド	13.0	102.2	167.0	40.4	3.3	4.7
34	チアヘンタゾール	76.9	26.7	26.7	73.5	4.2	4.2
35	チアトキサム	40.4	49.5	73.5	53.6	1.5	12.6
36	チオシメカルブ	67.4	12.7	20.8	72.4	5.0	9.2
	メソミル	82.9	5.1	13.0	87.7	1.3	2.9
	メソミルオキサム	20.0	20.0	20.0	79.8	6.3	9.6
37	チオベンカルブ	72.3	2.5	2.5	68.7	5.0	5.1
38	テスマデファミ	77.5	5.6	7.3	74.3	3.6	6.2
39	テフルヘンズロン	0.0	—	—	13.4	8.8	223.7
40	ナプロニド	60.0	36.3	37.6	67.7	5.5	6.7
41	ピラゾリネート	81.5	5.3	7.6	75.8	0.8	5.1
42	ピリフタリド	77.9	13.0	13.0	78.6	4.9	4.9
43	ピリチカルブ	66.8	2.9	7.1	56.6	3.4	7.2
44	フェノキシカルブ	75.8	10.9	12.6	75.2	3.4	3.4
45	フェノプロカルブ	78.2	5.5	9.2	78.3	3.4	3.8
46	フェリムジン	80.5	4.7	5.6	83.8	1.8	4.2
47	ブタフェナシル	79.4	7.5	8.0	80.6	3.3	3.3
48	フラチオカルブ	68.8	8.1	12.3	69.5	3.7	4.2
49	ベンゾフェナップ	67.6	5.0	5.1	64.2	3.1	5.1
50	ベンゾラカルブ	0.0	—	—	0.0	—	—
51	メタミトホス	42.2	56.8	56.8	49.6	3.6	5.3
	メタミトホス-d6	47.4	5.5	10.9	50.0	2.0	4.7
52	メトキシフェンジト	74.3	10.8	14.4	79.3	3.2	3.4
53	モリネート	52.3	38.6	83.2	80.5	16.6	19.5

ガイドラインに示された目標値に適合しない項目

## 八戸地域における環境大気中ニッケル化合物のモニタリングについて

安田徳彦 五十嵐飛鳥

青森県では、平成11年度から重金属類に係る有害大気汚染物質モニタリング調査を実施しており、八戸地域のニッケル化合物の濃度が全国平均を上回る状況が続いている。これまでのハイボリュームエアサンプラによる月1回の調査等から、ニッケルの主な発生源は八戸市内のA社と推定されているが、さらに詳しいデータを得るため、ローボリュームエアサンプラによる通年調査を実施している。平成21年度から24年度の調査結果では、ニッケル化合物の濃度は全国平均を上回っており、A社の南西側に位置する八戸小学校及び北西側に位置する根岸小学校では、春から夏にかけては、やませ（太平洋側で春から秋にかけて吹く東寄りの風）の影響で濃度が高く、秋から冬にかけては低い傾向であった。また、ハイボリュームエアサンプラによる月1回の24時間調査では、採取期間の風向の影響を大きく受けるため、平均的な大気の汚染状況を適切に把握することが困難である可能性が示唆された。このため、ある特定の有害大気汚染物質が高濃度の地域においては、ローボリュームエアサンプラによる通年調査でデータを補完することが望ましいと考えられた。

Key words: nickel, Hachinohe, environment, air, monitoring, low volume air sampler

### 1. はじめに

青森県では、平成11年度から重金属類に係る有害大気汚染物質モニタリング調査を実施しており、八戸地域のニッケル化合物の濃度が全国平均を上回る状況が続いている。これまでのハイボリュームエアサンプラによる月1回の調査（以下「HV調査」という。）結果等から、ニッケルの主な発生源は八戸市内のA社（フェロニッケル製造工場）と推定されている<sup>1),2),3),4),5)</sup>が、さらに詳しいデータを得るため、平成18年度からローボリュームエアサンプラによる通年の調査（以下「LV調査」という。）を実施している。今回は平成21年度から24年度の調査結果について報告する。

### 2. 調査方法

調査地点は2地点（八戸小学校、根岸小学校）である。LV調査は20 L/minの流量で2週間連続採取を通年実施している。HV調査は月1回の24時間採取で、八戸小学校は当所が実施し、根岸小学校は環境省が実施している。

両調査とも大気浮遊粉じんを石英繊維製フィル

タに捕集し、圧力容器法（ふっ化水素酸・硝酸・過酸化水素水）で前処理後に、ICP-MS法により定量を行った。

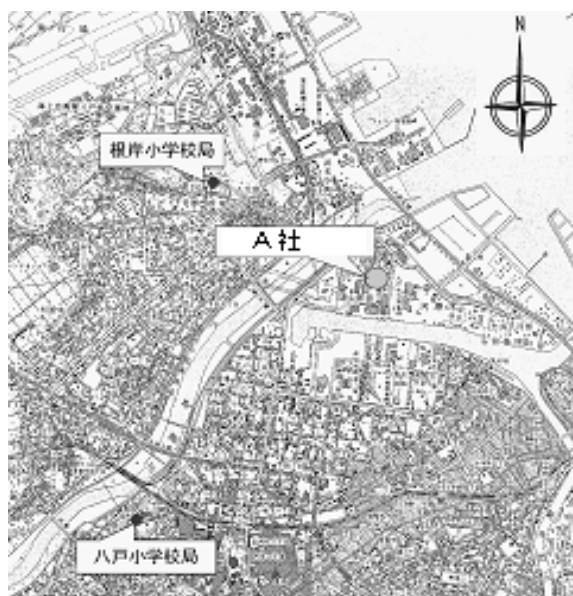


図1 調査地点図

### 3. 結果と考察

平成 21 年度から 24 年度までの HV 調査におけるニッケル化合物濃度の年平均値は、2 地点ともに全国平均値を上回っていたが、指針値 (25 ng/m<sup>3</sup>) は超えていなかった (図 2)。

LV 調査と HV 調査の年平均値の比較では、平成 23 年度の八戸小学校における LV 調査と HV 調査の年平均値のみが同程度だったが、それ以外は HV 調査の方が高かった (図 3、図 4)。また、LV 調査の年平均値は、両地点において平成 24 年度の値がやや高かったものの、概ね同レベルで推移していた。

LV 調査の年間推移では秋から冬が低く、春から夏が高かった。春から夏が高いのは、やませにより発生源と推定されている A 社方向からの風が多くなるためと考えられた。

八戸小学校における平成 24 年 6 月の HV 調査の

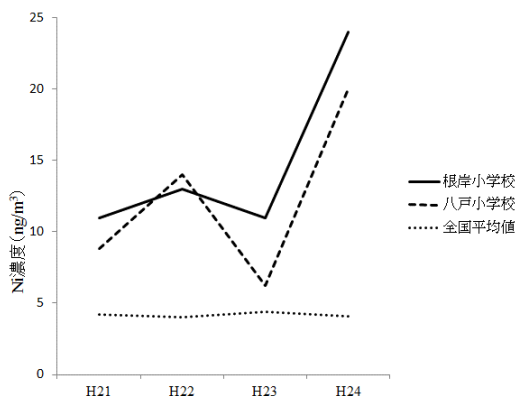


図 2 HV 年平均値の推移

値は LV 調査の値よりも特に高かったが (図 5)、これは 6 月全期間の平均値の LV 調査に対して、HV 調査は北東風が多い期間の採取であったため (図 7、図 8) と考えられた。

根岸小学校における 4 月と 7 月の HV 調査の値が高かったことについては (図 6)、4 月の HV 調査の風向との関連は、明確ではなかったが (図 10、11)、7 月の HV 調査の値については南東風が多かったことから、発生源からの影響が顕著であった (図 13) と考えられた。HV 調査は月 1 回の 24 時間調査であるため、採取期間が短く、採取時の風向の影響を大きく受けるため、平均的な大気汚染状況を適切に把握することが困難である可能性が示唆された。このため、ある特定の有害大気汚染物質が高濃度の地域においては、ローボリウムエアサンプラによる通年調査でデータを補完することが望ましいと考えられた。

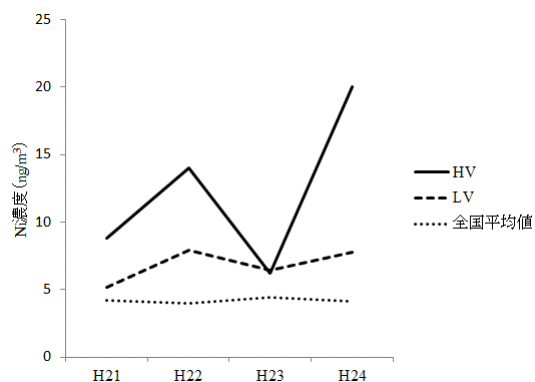


図 3 HV・LV 年平均値推移 (八戸小学校)

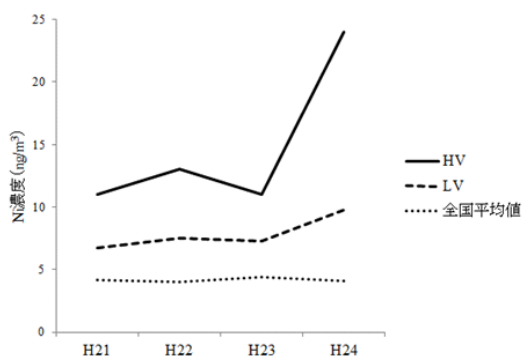


図 4 HV・LV 年平均値推移 (根岸小学校)

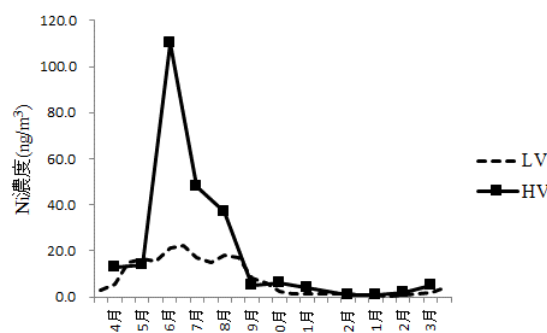


図 5 H24 八戸小学校 LV・HV 年間推移

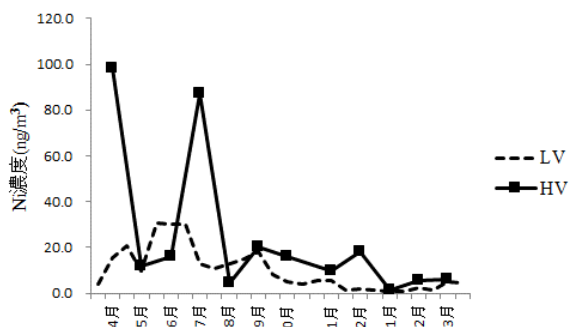


図 6 H24 根岸小学校 HV・LV 年間推移



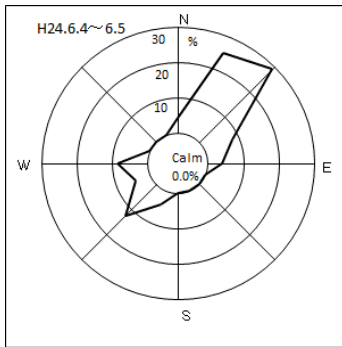


図7 H24.6.4~6.5 風配図  
(八戸小・根岸小 HV による 6 月の採取期間)

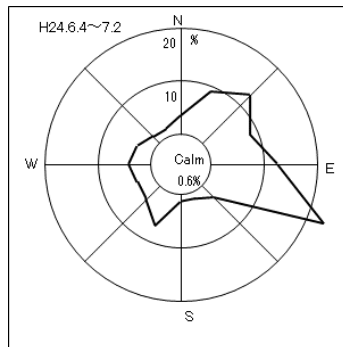


図8 H24.6.4~7.2 風配図  
(八戸小・根岸小 LV による 6 月の採取期間)

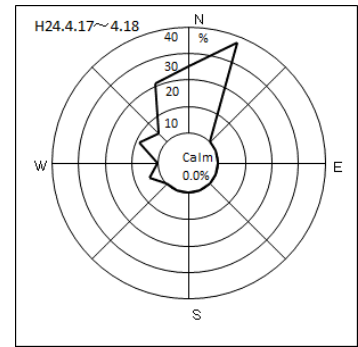


図9 H24.4.17~4.18 風配図  
(八戸小 HV による 4 月の採取期間)

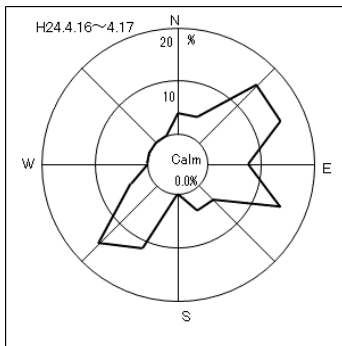


図10 H24.4.16~4.17 風配図  
(根岸小 HV による 4 月の採取期間)

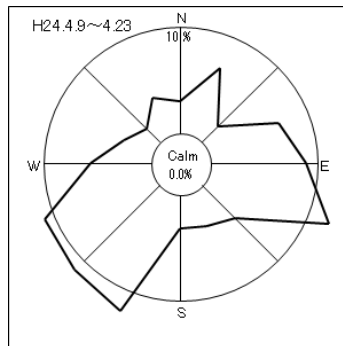


図11 H24.4.9~4.23 風配図  
(八戸小・根岸小 LV による 4 月の採取期間)

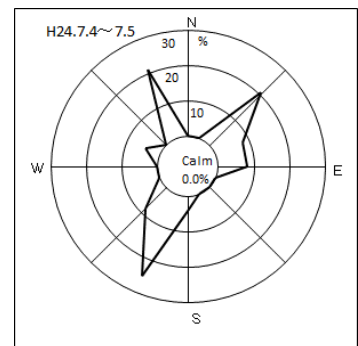


図12 H24.7.4~7.5 風配図  
(八戸小 HV による 7 月の採取期間)

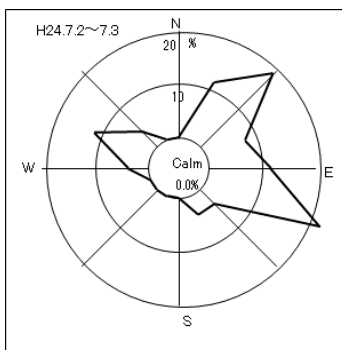


図13 H24.7.2~7.3 風配図  
(根岸小 HV による 7 月の採取期間)

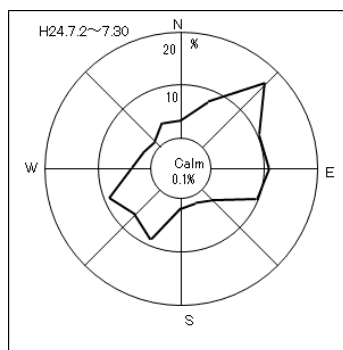


図14 H24.7.2~7.30 風配図  
(八戸小・根岸小 LV による 7 月の採取期間)

#### 4. まとめ

八戸地域の大气中のニッケル化合物の濃度は、全国平均を上回る状況が続いており、発生源と推定されるA社の南西側に位置する八戸小学校及び北西側に位置する根岸小学校では、やませの影響で春から夏にかけて濃度が高く、秋から冬にかけては低い傾向であった。

また、HV調査による月1回の24時間調査では、採取期間が短く、採取時の風向の影響を大きく受けるため、平均的な大气の汚染状況を適切に把握することが困難である可能性が示唆された。このため、ある特定の有害大気汚染物質が高濃度の地域においては、ローボリウムエアサンプラによる通年調査でデータを補完することが望ましいと考えられた。

#### 文 献

- 1)花石竜治他:八戸市内における有害大気汚染物質(重金属類)の発生源の推定.青森県環境保健センター研究報告,**12**,31-41,2001
- 2)花石竜治他:八戸市内の金属関係工場周辺地域での浮遊粉じんの粒径分布-アンダーセンエアサンプラによる測定結果-.青森県環境保健センター研究報告,**14**,81-83,2003
- 3)花石竜治他:八戸地域における有害大気汚染物質としてのニッケルの形態別分析結果.青森県環境保健センター研究報告,**21**,42-45,2010
- 4)花石竜治他:八戸地域における有害大気汚染物質の発生源推定について-多元素分析に焦点を当てて-.青森県環境保健センター研究報告,**22**,23-26,2011
- 5)対馬典子他:八戸地域における環境大気中の重金属成分モニタリング-ローボリウムエアサンプラ法による濃度調査-.青森県環境保健センター研究報告,**22**,11-21,2011

## 魚類へい死事案調査結果 (弘前市だんぶり池)

五十嵐飛鳥 前田寿哉 松倉祐介 三浦誓也

平成 26 年 7 月にだんぶり池 (弘前市) で魚類へい死事案が発生し、水質調査を実施した。へい死地点上流には黄色の粉末状物質が大量に沈殿しており、へい死地点で採取した試料からはキャプタン及びオキシン銅が検出された。試料中のキャプタン濃度は、ゴルフ場農薬暫定指導指針値と比較して低濃度であったが、キャプタンの分解生成物であるテトラヒドロフタルイミドと考えられる物質も検出されたことから、採水時には既に分解によって濃度が低減していたものと考えられた。魚類へい死発生事案は、その原因を特定することが容易ではないケースが多いが、本事案では原因物質と考えられる沈殿物の発見と分解生成物等の検出結果から、原因推測が可能となった事例である。

Key words: mass fish death accident, GC/MS, HPLC, captan, tetrahydrophthalimide, oxine-copper

### 1. はじめに

県内の河川・ため池における夏場の魚類へい死事案は、水量減少と水温上昇に伴う溶存酸素量の低下が原因だと考えられるものがほとんどである。水質試料から農薬が検出された事案もあるものの、検出されたのは周辺農地で広く使用されている種類の農薬であり、季節的に通常検出される濃度レベルであると考えられる等、当該農薬がへい死の原因と特定できる事案はなかった。

近年県内で発生している魚類へい死事案では、魚類へい死発生後、速やかに採水できた事案がほとんどなく、原因物質が流下または希釈されてしまうことが、水質検査による魚類へい死の原因特定には至っていない要因のひとつとなっている。

平成 26 年 7 月 2 日に県内のため池 (弘前市:だんぶり池) で発生した魚類へい死事案は、上流部に農耕地等を有しない河川が流れ込むため池において、その河川の上流河底に農薬のような沈殿物が大量に発見されたこと、また、当該ため池が環境教育の場 (休耕農地を利用したビオトープ) であったことから地元紙でも大きく報じられた。

本報告は、この魚類へい死事案における農薬の水質調査結果についてとりまとめたものである。

### 2. 調査概要

#### 2.1 現地調査および試料採取

平成 26 年 7 月 2 日 (水) にため池の管理者が最初にへい死魚を発見し、7 月 4 日 (金) に市及び関係団体に通報、7 月 5 日 (土) に現地調査および試料採取が行われた。現地調査によると、メダカ、ドジョウ、オタマジャクシなど数十匹のへい死が認められた。また、へい死のあったため池は、河川から水路を利用して河川水を取り入れているが、取り入れ地点の 15 m 程上流の河底に図 1 のように黄色の粉末状物質が大量に沈殿しており、そこから下流方面及びため池へ流れ込んでいる状況が確認された。

水質試料は、沈殿物のあった地点の上流側 (図 2①)、下流側 (図 2②) 及びへい死のあったため池の出口 (図 2③) の 3 地点から採取した。



図 1 河底の黄色沈殿物

## 2.2 一般項目の分析

pH、EC、DOはJIS K0102によって分析した。  
また、現地においてパックテストによる簡易検査を行った。

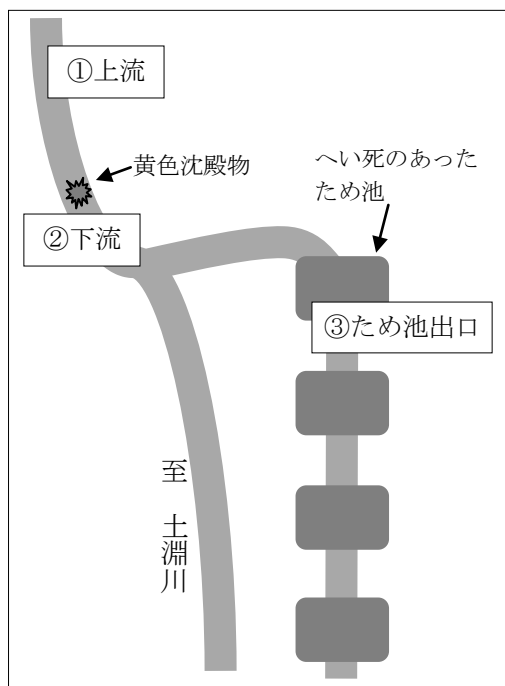


図2 採取地点

## 2.3 農薬類の分析

農薬は、固相抽出法により調製した検液について、GC/MS (島津QP2010、カラム:Agilent VF-5ms) による定性分析を行い、GC/MS及びHPLC (島津HPLC 10A シリーズ、カラム:GL science Inertsil ODS-3V) による定量分析を行った。

## 3. 結果と考察

### 3.1 一般項目

pH、ECについて水質の異常は認められず、DOは全ての地点で5 mg/L以上であった(pH:7.1~7.2, EC:90~110  $\mu$ S/cm、DO:5.3~9.4 mg/L)。

また、パックテストによる簡易検査では、いずれの地点からもシアン及び残留塩素は検出されなかった(シアン:0.02 mg/L以下、残留塩素:0.1 mg/L以下)。

### 3.2 農薬

GC/MSによる定性分析を実施したところ、沈殿物のあった地点の②下流及び③ため池(へい死地点)の出口で採取した試料のTICクロマトグラムにおいて、保持時間23.8分、14.8分及び12.9分の

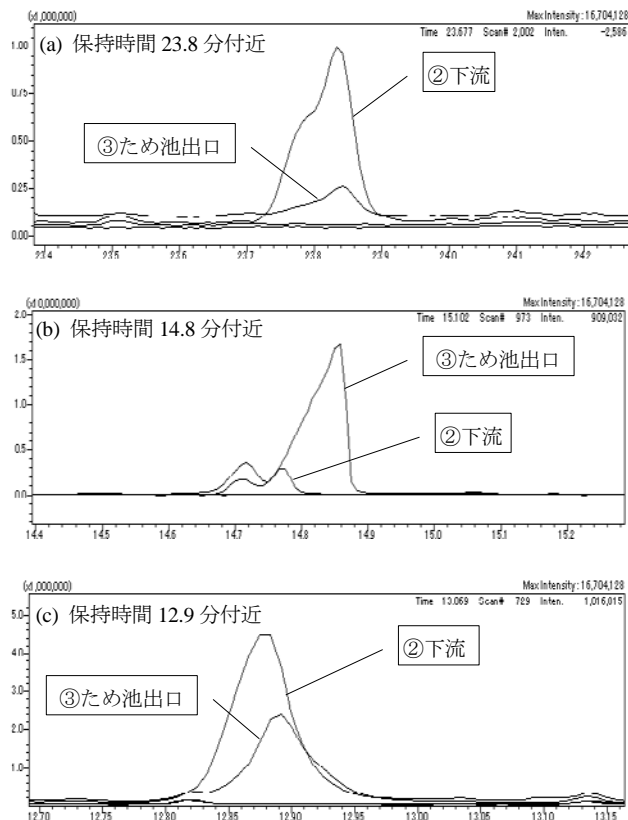


図3 TICクロマトグラム

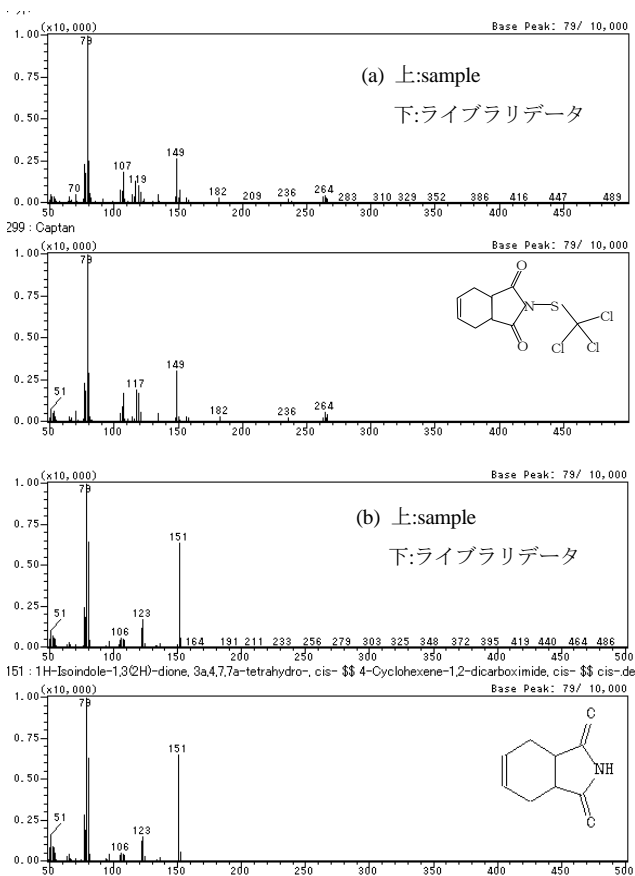


図4-1 マススペクトル (a:キャプタン(保持時間23.8分)、b:テトラヒドロフタルイミド(保持時間14.8分))

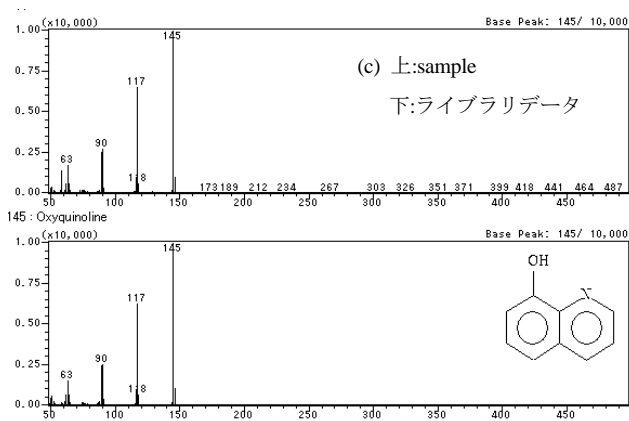


図 4-2 マススペクトル  
(c: オキシシン (保持時間 12.9 分))

部分に大きなピークが出現した (図 3)。これらのピークについてマススペクトルのライブラリ検索を実施した結果を図 4-1 及び図 4-2 に示した。保持時間 23.8 分付近のピークのマススペクトルはキャプタンと類似度が高かったことから、キャプタン標準液を分析したところ、キャプタン標準液とピークの保持時間が一致した。なお、保持時間 14.8 分付近のピークのマススペクトルはテトラフタルイミドと類似度が高く、テトラフタルイミドはキャプタンの分解生成物であることから、キャプタンの検出を裏付ける結果となった。

また、図 4-2 に示したように、保持時間 12.9 分付近のピークのマススペクトルはオキシシンと類似度が高かったこと、キャプタンとオキシシン銅の混合物を成分とする農薬が市販されていること、キャプタンは無色であるが、オキシシン銅は緑～黄色の結晶状粉末であることから、オキシシン銅の存在が考えられた。

このため、キャプタン (GC/MS による測定) 及びオキシシン銅 (HPLC による測定) について定量分析を行ったところ、沈殿物のあった地点の下流 (図 2 ②) 及びへい死のあったため池の出口 (図 2 ③) から、それぞれキャプタンが 0.016 mg/L、0.001 mg/L、オキシシン銅が 0.022 mg/L、0.009 mg/L 検出された。

#### 4. 考察

だんぶり池の魚類へい死事案における水質調査において、農薬のキャプタン及びオキシシン銅が検出された。

市販農薬の中にはキャプタンとオキシシン銅の混合物を成分とする黄色粉末のものが存在しており、今回検出されたこれらの農薬は、河底にあった黄

色の粉末状沈殿物由来の可能性が高いと考えられた。一方で、採水時点の水質試料の濃度では、沈殿物のあったすぐ下流で採取した水質試料であってもキャプタンのゴルフ場農薬暫定指導指針値 (3 mg/L) 及びオキシシン銅の要監視項目の指針値 (0.04 mg/L) を下回っており、この結果だけではへい死原因と判断することはできなかった。

ただし、同じ試料からキャプタンの加水分解生成物であるテトラヒドロフタルイミドと考えられる物質が検出されていることから、へい死事案の発生時点ではキャプタンの濃度がより高かったものと推測された。キャプタンは水中で速やかに分解することが報告<sup>1,2)</sup>されており、今回の事案でも、へい死事案の発生から試料採取までの間に、希釈だけではなく分解による濃度低減もあったものと考えられた。また、後日弘前市が沈殿物の分析を実施した結果<sup>3)</sup>によると、オキシシン銅は検出されたがキャプタンは不検出であった。キャプタンは分析までの時間経過に伴って分解されたものと推測される。

このように、魚類へい死発生事案においては、発生後数日経過してからの通報が多く、現地調査及び試料採取時点では、既に原因物質の流下、希釈、分解の進行などにより、水質が魚類へい死発生当時のものとは異なっている場合がほとんどであり、その原因を特定することは容易ではない。

なお、魚類へい死の原因と疑われる黄色の粉末状沈殿物は、調査日当日に全て回収されており、その後は、へい死地点及び下流域において新たなへい死は確認されなかった。

#### 文 献

- 1)環境庁環境保健調査室:化学物質分析法開発調査報告書,16-20 (昭和 57 年度)
- 2)杉崎三男他:河川環境におけるゴルフ場関連農薬の挙動.埼玉県公害センター研究報告,19,64-75, 1992
- 3)弘前市役所ホームページ  
<http://www.city.hirosaki.aomori.jp/kakuka2/HSC01-000002941/index.html>



### Ⅲ 他誌投稿・学会等発表抄録





## 他誌投稿抄録

### クリプトスポリジウム農場実習感染事例—2010年—青森県

武沼浩子 福田理 大野譲治 工藤真哉  
蛭名勇登<sup>1</sup> 瀬川香代子<sup>1</sup> 宮川隆美<sup>1</sup>:病原微生物  
検出情報 (IASR)、Vol. 35(8)、4-5、2014.

2010年、青森県内の子ウシと接触した発症者4名からクリプトスポリジウムが検出された。調査および原因究明の結果、学生の実習における子ウシとの接触が原因と推定される感染症事例であったためその概要について報告した。

- 1 上十三保健所
- 2 東地方保健所

## 学会等発表抄録

### 青森県内で分離された結核菌のVNTR法による分子疫学的解析

武沼浩子 福田理 工藤真哉:第63回東北公衆衛生学会、青森市、2014.7.25

2012年度より、県の結核予防対策事業として、結核菌の遺伝子解析を行うこととなり、2012年、2013年に届出のあった本県の結核患者689人のうち、保健衛生課から依頼のあった47株について、VNTR分析法による遺伝子型別を実施し、データベースを構築したので、これまでの取り組み状況及び今後の展望について報告した。結核菌47株のVNTRの型別を行った結果、31のクラスターに分けられた。同一クラスター内の構成株数は最大5株であった。

### 青森県内の散発サルモネラ症由来分離株の血清型別 (2010~2012)

福田理 武沼浩子 工藤真哉:第63回東北公衆衛生学会、青森市、2014.7.25

近年青森県で検出されたサルモネラ属菌の動向を把握するため、散発サルモネラ症由来菌株について、血清型別試験、薬剤感受性試験を行った。また、*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。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。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。2011年~2012年に分離された *S.*Typhimurium 14株のPFGE解析を行った結果、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。

### 青森県内で検出されたサルモネラ属菌の血清型別及びPFGE解析 (2010~2012)

福田理 武沼浩子 工藤真哉:2014年度青森県保健医療福祉研究発表会、青森市、2014.12.20

本県において検出されたサルモネラ属菌による健康被害に対する疫学調査のため、2010年~2012年までに発生した散発サルモネラ症由来菌株について、血清型別試験及び遺伝子解析を行った。3年間の合計では、*S.* Typhimurium (21%)、*S.* Enteritidis (16%)、*S.* Infantis (14%)の順に多かった。2010年は *S.* Typhimurium と *S.* Enteritidis (ともに14%) が最も多かった。2011年は最も多かったのが *S.* Typhimurium (29%)、次いで *S.* Infantis (24%) であった。2012年は *S.* Rissen (28%) が最も多く、次いで *S.* Typhimurium (22%) であった。

*S.* Typhimurium のPFGE法による解析の結果、散発事例として収集した菌株の中にも、遺伝子的に高い相同性を示すものが見られた。

### 青森県病原微生物検出情報システムの変更

武沼浩子 福田理 工藤真哉:2014年度青森県保健医療福祉研究発表会、青森市、2014.12.20

1999年から稼働している青森県病原微生物検出情報システムは、当初、腸炎ビブリオが最も多かったため、気温、海水温とともに、病原体検出情報を提供していた。近年、食中毒の原因微生物は大きく様変わりしてきたことから、協力機関関係者にアンケート調査を行い、収集項目、レイアウトの変更を行った。

情報提供の項目にはエルシニアを追加し、ビブリオ属菌については、腸炎ビブリオ以外のビブリオ属菌を含めることとした。下痢症以外では、MRSA (メチシリン耐性黄色ブドウ球菌) とESBL (基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌) の検出情報を加えた。

## 原因食品不明のカンピロバクター食中毒事例の分子疫学的解析

福田理 武沼浩子 大野譲治 大見丈治<sup>1</sup> 押切寿幸<sup>2</sup> 川村千鶴子<sup>2</sup>:第27回東北食中毒研究会、秋田市、2014.

平成26年A市において腹痛、発熱、下痢の症状があった14名のPFGE解析を行った。患者14人中8人から*Campylobacter jejuni*が検出され、同菌を原因とする食中毒であると推定された。患者便由来の*Campylobacter jejuni*のPFGEパターンが一致し、同一感染源である可能性が示唆された。疫学調査の結果、原因施設、原因食品は特定に至らなかった。

1 むつ保健所

2 東地方保健所

編 集 者

工藤真哉 齋藤輝夫（研究報告部会長） 坂上博章  
大野譲治 佐藤裕久 三浦誓也  
武沼浩子 花石竜治 前田寿哉

---

## 青森県環境保健センター研究報告

（平成 26 年度）

平成 27 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>

---