## 青森県環境保健センター年報

Annual Report
of
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center
No.30 2019

青森県環境保健センター

青森県環境保健センターは、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために、平成2年に設置された地方衛生研究所と地方環境研究所の機能を併せ持った研究機関です。

さて、昨年 12 月、中国武漢に端を発した新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が、急速な勢いで世界に広がり、国内においても連日、新たな感染者が確認され、緊急事態宣言が発令されるに至りました。幸い現時点では緊急事態宣言は解除されておりますが、まだまだ油断できない状態であることに変わりはないことから、当所としても新型コロナウイルス感染症をはじめ、多種多様で広域かつ急速に発生する感染症に即応できるよう、これまで以上に検査体制の充実強化を進めていくことが求められているものと考えています。

当所では、対EU輸出ホタテガイ生産海域モニタリングの一環として、貝毒検査及び微生物検査について国際規格「ISO/IEC17025」に基づく試験所認定を平成15年3月に取得しており、この度、4回目の更新認定を受けました。今後ともこれに限らず、すべての試験検査において、技術と信頼性を高い水準で維持してまいります。

ここに、当所の業務概要と、職員が通常業務として試験検査を行っている中で見つけた課題をテーマとして取り組んだ研究報告を「青森県環境保健センター年報 (No30 2019)」に取りまとめました。御高覧の上、皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

令和2年5月

青森県環境保健センター 所 長 工 藤 隆 治

## **人**

Ι		環境保健センターの概要	
	1	沿 革	1
	2	組織、所掌事務及び職員の状況 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	2
	3	ISO/IEC17025 に基づく試験所認定 ······	•••• 4
Π	;	業務の概要(平成 30 年度実績)	
	1	総務室	··· 5
	2	微生物部	6
	3	理化学部 ·····	11
	4	公 害 部	15
	5	研修等業務(所内研修会)	18
	6	年間動向	20
	1	) 講師等派遣	20
	2	) 委員会、協議会等の委員	20
	3		
	4		
	7	7 安城 于安 则修安寺山师狄龙	22
Ш	: ;	研究報告	
	1	報文	
		健康危機管理に対応した食品中のヒスタミン分析の検討	
		花石 竜治 山本 明美 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	· · · 25
		スイセンによる食中毒について 山本 明美 柴田めぐみ ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	0.0
		山本 明美 柴田めぐみ ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	••• 32
		一弘前市立第一中学校局におけるモニタリングデーター	
		対馬 典子 内海 宣俊 北畠 茂	••• 43
	2	<b>ノート</b>	
		青森県の呼吸器症状を呈する臨床検体から検出されたヒトパラインフルエンザウィの分子疫学(2011 年度~2018 年度)	「ルス
		のカチ疫子(2011 午度)	52
		青森県における感染症流行予測調査(日本脳炎感染源調査)結果(2001年~2019年	
		福田 理 菩提寺 營子 坂 恭平 筒井 理華 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	··· 59
		青森県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)のバンコマイシン耐性型	とPFGE
		分析(2018年)	
		高橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美 ・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・	••• 62
		青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性(2018年) 髙橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美 ···············	65
		青森県における梅毒の発生動向(2010年-2019年)	0.0
		山上 剛志 髙橋 洋平 武差 愛美	69

IV	他誌投稿•学会等発表抄録	 73

## **Table of Contents**

I

Reports

An examination of analysis of histamine in food for health risk management	
Ryuji Hanaishi, Akemi Yamamoto	25
Food poisoning from Narcissus	
Akemi Yamamoto, Megumi Shibata	32
Cases of high arsenic levels in hazardous air pollutant monitoring	
– monitoring data from the Hirosaki Municipal Daiichi Junior High School site –	
Noriko Tsushima, Nobutoshi Utsumi, Shigeru Kitabatake · · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	43
II Notes	
Molecular epidemiology of human parainfluenza virus detected in clinical specimens	
from patients with respiratory symptoms in Aomori Prefecture (fiscal years 2011–2018)	
Rika Tsutsui, Motoko Bodaiji, Osamu Fukuda	52
Result of National Epidemiological Surveillance of Vaccine -Preventable Diseases (survey	
on source of Japanese encephalitis infection) in Aomori Prefecture (2001–2019)	
Osamu Fukuda, Motoko Bodaiji, Kyohei Saka, Rika Tsutsui	59
Vancomycin resistance type and PFGE analysis of Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE)	
detected in Aomori Prefecture (2018)	
Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi	62
Serotype and drug sensitivity of Salmonella isolated from human being in Aomori Prefecture (	2018)
Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi • • • • • • • • • • • • • • • • • • •	65
Trend of development of syphilis in Aomori Prefecture (2010–2019)	
Takeshi Yamagami, Yohei Takahashi, Manami Musashi	69

## I 環境保健センターの概要

## 1 沿革

#### (1) 設置の目的

青森県環境保健センターは、県民のニーズに的確に対応するため、平成2年に衛生研究所、公害センター及び公害調査事務所を統合し、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために設置された。

#### (2) 沿革

#### 【環境保健センター】

年 月 日	概       要
平成2年4月1日	青森県環境保健センター、青森県環境保健センター八戸公害事務所、青森県環
	境保健センター六ケ所放射線監視局設置
平成12年4月1日	センター内に環境管理部新設、弘前市・八戸市・むつ市に環境管理事務所新設
	(八戸公害事務所廃止)
平成13年4月1日	センター内に青森県感染症情報センター設置
平成15年4月1日	組織改正により、環境管理部が青森環境管理事務所に、放射能部及び六ケ所放
	射線監視局が青森県原子力センターに移行
平成19年4月1日	組織改正により、青森・弘前・八戸・むつ環境管理事務所が地域県民局に移行

#### 【旧衛生研究所】

年 月 日	概
昭和24年6月1日	庶務係、細菌検査係、化学試験係、病理臨床試験係、食品検査係の5係制で発足
昭和29年7月1日	血液銀行係を加え6係制となる
昭和31年1月25日	青森県衛生研究所弘前出張所を設置する
昭和32年6月1日	青森県血液銀行設置に伴い衛生研究所弘前出張所及び血液銀行係を廃止する
昭和33年5月1日	処務規程の全面改正により、庶務係、試験検査係となる
昭和34年3月3日	試験検査係を細菌病理臨床試験係、化学食品検査係に改め3係制となる
昭和39年4月1日	庶務室、微生物科、理化学科の1室2科となる
昭和43年3月25日	青森県保健衛生センター合同庁舎完成し移転
昭和44年4月1日	公害科が新設され1室3科となる
昭和48年4月1日	室及び科制を課制に改める
昭和49年4月1日	公害調査事務所設置に伴い公害課は廃止される

## 【旧公害センター】

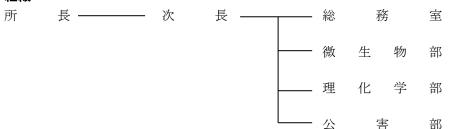
年 月 日	概
昭和46年4月1日	青森県公害センター開設

#### 【旧公害調査事務所】

年 月 日	概
昭和49年4月1日	青森公害調査事務所開設
	庶務課及び調査規制課の2課制が設けられ、調査規制課に大気係及び水質係が置
	かれる
昭和55年4月1日	組織改正により調査規制課が廃止され、大気課及び水質課が設けられ3課制と
	なる
昭和56年4月1日	青森県公害調査事務所に名称変更となる
昭和57年10月1日	旧血液センターの庁舎を全面改修し、公害調査事務所の検査及び管理部門を移
	設した

#### 2 組織、所掌事務及び職員の状況

#### (1) 組織



#### (2) 所掌事務

- ① 公害の防止その他の環境の保全(放射性物質に係るものを除く。)上必要な調査及び試験研究に関すること。
- ② 保健衛生上必要な試験研究に関すること。
- ③ 保健衛生に係る技術指導に関すること。

### (3) 分掌事務

#### 総務室

- ① 所の予算及び決算に関すること。
- ② 庁舎、公有財産及び備品等の管理並びにその他の庶務に関すること。
- ③ 所内各部の所管に属しない事務に関すること。

#### 微生物部

- ① 病原微生物等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 微生物学的健康危機に関すること。
- ③ 微生物学的試験及び検査の技術指導に関すること。
- ④ 感染症等に係る情報の収集、解析及び提供に関すること。
- ⑤ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

#### 理化学部

- ① 食品中の残留農薬、動物用医薬品、その他の化学物質等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ② 毒劇物、医薬品、家庭用品等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ③ 温泉、飲料水等の試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ 理化学的試験の技術指導に関すること。
- ⑤ 毒劇物及び医薬品等の化学物質による健康危機に関すること。

⑥ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

#### 公害部

- ① 大気汚染、水質汚濁、土壌汚染、騒音、振動及び悪臭の防止に係る試験検査並びに調査研究に関すること。
- ② 微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) 及び有害化学物質等の試験検査並びに調査研究に関すること。
- ③ 廃棄物の処理に係る試験検査及び調査研究に関すること。
- ④ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

#### (4) 職員の状況

(平成31年4月1日現在)

	課	副	総	主	主	主技	専	技 技	非	非非	専	
		4	括					\h_ \h_	常	常常	専任当直員(非常勤)	
区分	長	参	主	幹	査		門	能能	勤	勤勤	直	計
<b>丛</b> 刀	X	事		平十	国.		11	主技	事	労 技	具(非	ПΙ
		7	幹						務	務術	常	
	級	級	級	級	級	事 師	員	事 師	員	員員	勤	
所 長	1											1
次 長		1										1
総務室			1	1	1			1	1		2	7
微生物部			1	1	3	2				3		10
理化学部				2	3	1		1		3		10
公害部			1	2	1	2				1		7
計	1	1	3	6	8	5		2	1	7	2	36

## 3 ISO/IEC17025 に基づく試験所認定

対 EU 輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査に係るサンプリング、ホタテガイの麻痺性、下 痢性及び記憶喪失性貝毒検査、ホタテガイのサルモネラ属菌及び大腸菌検査について、平成 15 年 3 月 に試験所認定を取得した。

平成 26 年度からは、下痢性貝毒検査については登録検査機関が行うことになり、認定範囲から外れ、平成 31 年 3 月には、第 4 回 ISO/IEC17025 試験所認定更新が承認された。

機関の名称	青森県環境保健センター					
認定番号	RTL01290					
初回認定日	2003年3月26日					
認定範囲	M27 食品試験					
	M27.A1 食品・飼料・肥料					
	M27.A1.11 自然毒					
	M27. A1. 11. 1 動物性自然毒					
	・サンプリング					
	・ホタテガイの麻痺性貝毒検査					
	・ホタテガイの記憶喪失性貝毒検査					
	M27. A1. 14 微生物					
	M27. A1. 14. 1 衛生指標菌					
	・サンプリング					
	M27. A1. 14. 1. B15. 1					
	・ホタテガイの大腸菌検査					
	M27. A1. 14. 1. B15. 2					
	・ホタテガイのサルモネラ属菌検査					

Ⅲ 業務の概要(平成30年度実績)

## 1 総務室

#### 1.1 職場見学者の受入れ

平成24年度から、試験・検査、研究等に興味を抱き、将来の職業選択の一助となることを目的として中学生などの見学の受入れを行っている。

生徒等には、当センターの概要の説明並びに各試験室等の見学及び検査体験を実施している。

区分	H25 年度	H26 年度	H27 年度	H28 年度	H29 年度	H30 年度
見学者(人)	7	13	_	4	3	4

#### 1.2 センター内ベンチャー制度

環境保全上及び保健衛生上の試験研究に対する職員の意欲及び研究能力の一層の向上を図るため、職員が自ら研究を企画し、実施することを支援することを目的に、平成28年度からセンター内ベンチャー制度を実施している。

平成28~30年度は、次の研究を実施した。

研 究 名	研究期間
十二湖青池の呈色機構に関する研究	平成 28 年度~30 年度

#### 2 微生物部

#### 2.1 調査研究

#### (1) 感染症流行予測調査事業

厚生労働省感染症流行予測調査事業の一環として、環境水からのウイルス分離によるポリオ感染源調査及びブタにおける HI 抗体調査による日本脳炎感染源調査を実施している。

#### ア ポリオ感染源調査

平成30年度は5月から12月にかけて、青森市内下水処理施設から採水した下水処理前水48検体を対象にウイルス分離を実施した結果、コクサッキーウイルスA4型1株、コクサッキーウイルスB1型2株、コクサッキーウイルスB4型4株、コクサッキーウイルスB5型9株、アデノウイルス2型5株が分離された。

#### イ 日本脳炎感染源調査

平成30年度は、7月から9月にかけて、十和田食肉衛生検査所及び田舎館食肉衛生検査所で採血したブタの血液70検体を対象にHI 抗体調査を実施した結果、10倍以上の抗体価を保有している日本脳炎陽性ブタは認められなかった。

#### (2) 感染症発生動向調査事業(ウイルス等・細菌等)

平成11年度から感染症法に基づき、県内の細菌・ウイルス・リケッチア・クラミジア等の病原体を把握するために感染症発生動向調査の一環として病原体検査を実施しており、平成30年度においては次のとおり行った。

#### ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

県内(青森市及び八戸市を除く。)の医療機関が採取した材料 221 検体(糞便(直腸ぬぐい液・腸 内容物)22 検体、咽頭ぬぐい液(鼻腔ぬぐい液・鼻汁)150 検体、髄液11 検体、血液・血清24 検体、 尿14 検体)からウイルス分離及び遺伝子検出を実施した結果は、次のとおりであった。

#### ウイルス等の検出状況

疾患等	検出されたウイルス等	検出株数
インフルエンザ	インフルエンザウイルス AH1pdm09	1 7
	インフルエンザウイルス AH3	5 0
	インフルエンザウイルス B (山形系統)	5
呼吸器関連	ヒトRSウイルス A	2
(インフルエンザを	コクサッキーウイルス B4 型	1
除く)	単純ヘルペスウイルス 1 型	1
	ヒトパラインフルエンザウイルス1型	3
	ヒトパラインフルエンザウイルス3型	2
	ヒトメタニューモウイルス	1
	ヒトライノウイルスA	1
	ヒトライノウイルス C	1
手足口病関連	エンテロウイルス 71 型	1
	コクサッキーウイルス A9 型	1
	ヒトヘルペスウイルス 7	1
伝染性紅斑関連	ヒトパルボウイルス B19	1
感染性胃腸炎関連	コクサッキーウイルス B3 型	1
無菌性髄膜炎関連	ヒトRS ウイルス A	2
	コクサッキーウイルス A10 型	1
	ヒトパラインフルエンザウイルス3型	1
	ヒトヘルペスウイルス 6B	2
	ヒトヘルペスウイルス 7	1

	ヒトライノウイルスA	1
	肺炎マイコプラズマ	1
麻しん・風しん関連	ヒトパルボウイルス B19	2
	ヒトヘルペスウイルス 6B	3
	ヒトヘルペスウイルス 7	4
	ヒトライノウイルス C	1
その他	アデノウイルス2型	1
	デングウイルス	1
	ヒトパルボウイルスB19	1
	ヒトヘルペスウイルス 7	1
	ヒトメタニューモウイルス	1
	ヒトライノウイルスA	2
	ヒトライノウイルスC	1

#### イ 細菌等

県内の医療機関で、ボツリヌス症疑い患者の検体から分離された Clostridium butyricum のボツリヌス毒素の遺伝子検査を実施した結果、ボツリヌス毒素遺伝子は検出されなかった。また、Q 熱疑い患者から採取された血液 1 検体の遺伝子検査を実施した結果、Q 熱コクシエラ陰性であった。

さらに、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症患者から採取された検体由来の菌株計 25 株の性状確認及び遺伝子検査を実施した結果、カルバペネマーゼを産生する菌株は認められなかった。

#### (3) 結核菌の遺伝子解析

平成24年度から、県の結核対策の一つとして、VNTR法による結核菌の遺伝子型別解析を行っている。 当所では、平成29年度よりJATA(15)を含む24領域でのVNTR分析を行っており、平成30年度は63株 について遺伝子解析を行った。

#### (4) 青森県病原微生物検出情報

平成 11 年度から 3 病原体(サルモネラ属菌、腸炎ビブリオ、カンピロバクター属菌)の発生状況の把握を目的として県内の細菌検査施設を有する医療機関及び臨床検査センター10 施設から菌株及び検出情報の収集を実施している。平成 26 年 7 月から医療機関 1 施設を加え計 11 施設となった。また、情報収集対象とする病原体を 6 菌種(サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、ビブリオ属菌、エルシニア、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌、基質拡張型  $\beta$  ーラクタマーゼ産生菌)とした。

- ア 平成30年度は、提供を受けた検出情報及び気温等の環境情報を解析し、環境保健センターのホームページに週報として52回掲載した。
- イ 収集した病原性菌株について血清型・薬剤感受性試験及びPFGE 遺伝子解析を実施し、その結果を関係機関に提供している。

#### (5) 厚生労働科学研究事業

平成30年度に研究事業として厚生労働科学研究班等に参加した事業は、以下のとおりである。

- ア 厚生労働科学研究費補助金 (新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」分担研究「北海道・東北・新潟ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」
- イ 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「ウイルスを原因とする食品媒介性疾 患の制御に関する研究」
- ウ 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業)「食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究」分担研究「地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性菌の動向調査」
- エ 日本医療研究開発機構 (AMED) 委託研究開発費 (感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する 革新的医薬品等開発推進研究事業) 「迅速・網羅的病原体ゲノム解析法の開発及び感染症危機管理体 制の構築に資する研究」

オ 日本医療研究開発機構研究費補助金 (新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発研究事業) 「国内ならびにグローバルサーベイランスのための RS ウイルス感染症に関する検査システムの開発研究」

#### (6) 菌株の収集事業

県内で発生した食中毒事例等及び感染症事例から分離されたサルモネラ属菌、エルシニア属菌、ビブリオ属菌、腸管出血性大腸菌を含む下痢原性大腸菌、カンピロバクター属菌について、生化学的性状試験、血清学的試験等を行い県並びに青森市及び八戸市保健所及び関係機関に対して情報提供を行っている。

#### (7) 感染症発生動向調査事業に係る青森県感染症発生情報

平成13年度から感染症患者の把握と予防啓発を目的に実施している。

平成30年度は、県内の感染症患者情報及び病原体検出情報を収集・分析し、その結果を週報として52回(インフルエンザ情報を適時掲載)、月報として12回、環境保健センターのホームページに掲載した。また、平成29年度の感染症発生動向調査事業報告書を作成し、ホームページに掲載するとともに関係機関に配付した。

#### 2.2 試験検査

#### (1) ウイルス性食中毒等関連検査

ウイルス性食中毒及び感染症のまん延防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健 衛生課からの依頼により実施している。

平成30年度は、ウイルス性食中毒(疑いを含む)及び感染症集団胃腸炎事例が12事例あり、糞便187検体、吐物3検体、食品62検体、ふき取り84検体、計336検体についてRT-PCR法、リアルタイムRT-PCR法及びダイレクトシークエンス法により原因ウイルスの検索及び遺伝子解析を行った。

その結果、糞便 187 検体中 78 検体、吐物 3 検体中 1 検体、食品 62 検体中 1 検体、ふき取り 84 検体中 2 検体からノロウイルス Genogroup II (G II 型) が検出された。

#### (2) 細菌等による食中毒等関連検査

細菌等による食中毒及び感染症の防止並びに衛生指導を行うことを目的として県保健所及び保健衛生 課からの依頼により実施している。

平成30年度は、クリプトスポリジウム症と疑われる感染症事例が1事例あり、糞便11検体についてPCR法によりクリプトスポリジウムの検査を行った。その結果、9検体からクリプトスポリジウムが検出された。

#### (3) 対EU輸出ホタテガイ生産海域モニタリング調査

保健衛生課からの依頼により実施している。平成30年度は、平成31年1月から3月にかけて、6定点(平内2定点、野辺地2定点、むつ、川内)で採取したホタテガイ合計30検体についてサルモネラ属菌及び大腸菌の検査を行った。その結果、全てEU向けホタテガイに関する衛生基準を満たしていた。

#### 2.3 青森市及び八戸市に対する技術協力

青森市及び八戸市に対し、病原体等の試験研究等業務に対する県の技術的協力に関する協定に基づき、 技術協力を行った。

#### (1) 食中毒等関連検査(ウイルス等・細菌等)

ア ウイルス等

平成 30 年度は、八戸市でウイルス性食中毒(疑いを含む。)事例が 6 事例あり、糞便 21 検体、吐物 1 検体、計 22 検体について RT-PCR 法及びリアルタイム RT-PCR 法により原因ウイルスの検索を行った。

#### イ 細菌等

平成30年度は、事例がなかった。

#### (2) 感染症発生動向調査事業 (ウイルス等・細菌等)

ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

青森市内の医療機関が採取した材料は、63 検体(糞便(直腸ぬぐい液・腸内容物)22 検体、咽頭ぬぐい液(鼻腔ぬぐい液・鼻汁)21 検体、髄液8 検体、血液・血清6 検体、尿5 検体、結膜ぬぐい液1 検体)であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、31 検体(糞便(直腸ぬぐい液・腸内容物) 5 検体、咽頭ぬぐい液(鼻腔ぬぐい液・鼻汁) 14 検体、髄液 6 検体、血液 3 検体、尿 3 検体) であった。

#### イ 細菌等

青森市内の医療機関が採取した材料は、29 検体(菌株 29 検体)であった。 八戸市内の医療機関が採取した材料は、37 検体(菌株 36 検体、血液 1 検体)であった。

#### 2.4 精度管理

#### (1) ウイルス等

平成30年度は、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施している麻しんウイルス及び風しんウイルスに関する外部精度管理に参加し、検査技能は適正であると判定された。

#### (2) 細菌等

平成30年度は、一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施しているサルモネラ属菌及び大腸菌に関する食品衛生外部精度管理、厚生労働省健康局結核感染症課が感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施している腸管出血性大腸菌に関する外部精度管理及び公益財団法人結核予防会結核研究所で実施している結核菌遺伝子型別外部精度評価に参加し、検査技能は適正であると判定された。

#### 2.5 教育•指導

#### (1) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング者育成研修

保健衛生課からの依頼により、対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング者育成を目的に研修を実施しており、平成30年度はサンプリング者に指名された者に対して、ホタテガイの無菌的採取法について、講義と実演を行った。

#### (2) 病原体等の包装・運搬に係る研修

保健衛生課からの依頼により、包装・運搬責任者育成を目的に研修を実施しており、ゆうパックにより 臨床検体等を送付する際の遵守事項について講義と実演を行っている。

#### (3) 衛生検査所に対する外部精度管理

医療薬務課からの依頼により、衛生検査所における精度管理の質的向上を図ることを目的に立入検査を 実施し、指導監督及び助言を行っている。

#### 2.6 健康危機管理

高病原性鳥インフルエンザがヒトに感染することにより発生する新型インフルエンザに即応するため、検査技術の導入及び検査体制の整備を行っている。

## 試験検査総括表 (平成 30 年度)

分類	部門	件数	検 査	検査
			項目数	総数
(1) ウイルス	① 感染症発生動向調査 (ウイルス等)			
(行政検査)	・インフルエンザウイルス	80	7	560
	・呼吸器関連ウイルス(インフルエンザウイルスを除く。)	38	11	418
	・手足口病関連ウイルス	10	7	70
	・ヘルパンギーナ関連ウイルス	3	6	18
	・突発性発しん関連ウイルス	1	6	6
	・咽頭結膜熱関連ウイルス	2	3	6
	・流行性耳下腺炎関連ウイルス	1	3	3
	・伝染性紅斑関連ウイルス	2	3	6
	・感染性胃腸炎関連ウイルス	25	8	200
	・無菌性髄膜炎関連ウイルス	66	10	660
	・麻しん関連ウイルス	54	2	108
	・その他のウイルス等	33	1	33
	② ポリオ感染源調査	48	7	336
	③ 日本脳炎感染源調査	70	1	70
	④ ウイルス性食中毒等関連検査	358	5	1,790
	小計	791		4, 284
(2)細菌等	① 感染症発生動向調査(細菌等)			
(行政検査)	・Q熱コクシエラ	1	1	1
	・ボツリヌス(毒素遺伝子の検出)	1	1	1
	・バンコマイシン耐性腸球菌	22	3	66
	・カルバペネム耐性腸内細菌科細菌	25	3	75
	② 結核菌の遺伝子解析	63	1	63
	③ 対EU輸出ホタテガイモニタリング検査	30	2	60
	④ 細菌等による食中毒等関連検査			
	・クリプトスポリジウム	11	1	11
	⑤ 病原性菌株の収集	63	1	63
	⑥ 病原微生物検出情報(菌株)	111	1	111
	小 計	327		451
	合 計	1, 118		4, 735

#### 3 理化学部

#### 3.1 試験検査

#### (1) 有害物質等検査

#### ア 県産農産物の残留農薬検査

平成18年5月から、食品中に残留する農薬等へのポジティブリスト制度(農薬等が残留する食品の販売等を規制する制度)が施行され、農薬残留基準が定められていないものには一律基準(0.01ppm)が適用されることとなったことから、精密分析機器であるGC/MS及びLC/MS/MSを用いて分析を実施している。

平成 30 年度は次の 10 種 56 検体、 1 検体当たり約 250 項目について検査を実施した。トマト7 検体 (185 項目)、もも3 検体 (156 項目)、メロン3 検体 (155 項目)、とうもろこし5 検体 (153 項目)、人参7 検体 (142 項目)、大根 6 検体 (157 項目)、玄米 6 検体 (113 項目)、りんご8 検体 (172 項目)長いも6 検体 (128 項目)、ごぼう5 検体 (137 項目)。 (())内の項目数は試験法の妥当性が確認された項目数)

その結果、人参1検体から基準値を超えたアセフェートが検出された。トマト、もも、玄米、りんご 及び長いもからは下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

メロン、とうもろこし、大根及びごぼうについては、全ての項目について定量下限未満であった。

#### 検出農薬

作物名	検出農薬名(検出検体数)
人参	アセフェート (1)
トマト	イミダクロプリド(1)
88	クレソキシムメチル(1)、クロチアニジン(1)、フェンブコナゾール(1)
玄米	トリシクラゾール(2)
りんご	シペルメトリン(4)、アセタミプリド(2)、トリフロキシストロビン(3)、キャプタン(2)
	フェンプロパトリン(1)、シフルトリン(1)、チアクロプリド(2)
長いも	イミダクロプリド(1)

#### イ 輸入農産物の残留農薬検査

平成 30 年度は、県内に流通している輸入農産物の残留農薬検査を、次の 5 種 20 検体、1 検体当たり 約 250 項目について実施した。パプリカ 4 検体(150 項目)、キウイ 6 検体(169 項目)、バナナ 5 検体(104 項目)、レモン 1 検体(135 項目)及びオレンジ 4 検体(123 項目)。

その結果、バナナ、レモン及びオレンジからは下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

パプリカ及びキウイについては、全ての項目について定量下限未満であった。

#### 検出農薬

作物名	検出農薬名(検出検体数)
バナナ	イマザリル(1)、クロルピリホス(3)、チアベンダゾール(1)、ビフェントリン
	(1)
レモン	チアベンダゾール(1)
オレンジ	イマザリル(4)、チアベンダゾール(4)、クロルピリホス(3)

#### ウ ホタテガイの有機スズ化合物検査

漁網防汚剤として使用されていた有機スズ化合物について継続的に調査している。平成30年度は、ホタテガイ5検体(3項目)について実施した結果、全ての項目(ジブチルスズ化合物、トリブチルス

ズ化合物、トリフェニルスズ化合物)で定量下限未満であった。

#### エ 魚介類中の PCB、水銀及びクロルデン類検査

県産魚介類の安全性を確保するため、暫定的規制値の定められている PCB、水銀及びシロアリ駆除剤であるクロルデン類 (6項目) について、継続的に調査している。平成30年度は、県産魚介類5種5検体(メバル、クロソイ、ブリ、イシガレイ、サーモントラウト)について実施した結果、水銀についてはメバルを除く4検体から検出(0.065~0.137ppm) されたが、いずれも暫定的規制値(0.4ppm)以下であった。PCB、クロルデン類については、全ての検体で定量下限未満であった。

#### オ 流通貝の貝毒検査

下痢性及び麻痺性貝毒による食中毒を未然に防止するため、流通貝について貝毒検査を継続的に実施している。平成30年度は、ホタテガイ12検体(下痢性7検体、麻痺性5検体)について実施した結果、全て定量下限未満であった。

#### カ りんごジュースのカビ毒検査

県産りんごジュースの安全性を確保するため、平成17年度から、カビ毒(パツリン)の検査を実施している。平成30年度は、10検体について実施した結果、全て定量下限未満であった。

#### キ アレルギー物質検査

平成30年度は40検体(菓子26検体、穀類加工品11検体、そうざい2検体、野菜加工品1検体)の特定原材料5品目(小麦・そば・落花生・卵・乳)について、それぞれ2種類の検査試薬で検査を実施した。その結果、小麦で菓子1検体、乳で菓子1検体が基準値を超えた。

#### ク 清涼飲料水検査

土産品として売られている清涼飲料水の安全性を確保するため、鉛等の規格基準検査を実施している。平成30年度は、7検体について鉛、ヒ素を検査した結果、鉛、ヒ素は全て不検出であった。

#### ケ 遺伝子組換え体検査

平成30年度は大豆穀粒5検体について遺伝子組換え体の混入率の検査を実施した結果、遺伝子組換え体(RoundupReady Soybean)の混入率は全て定量下限(0.1%)未満であった。

#### (2) 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

畜水産食品の安全性を図るため、合成抗菌剤、抗生物質及び寄生虫駆除剤についての動物用医薬品検査を実施している。平成30年度は、県内で収去された鶏卵13検体(33品目)、牛乳7検体(35品目)について検査を実施した結果、全て定量下限未満であった。

#### (3) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査

「対EU輸出水産食品の取扱いについて」(平成 21 年厚生労働省・農林水産省・水産庁通知)及び同通知の別紙「対EU輸出水産食品の取扱要領」に基づき生産海域の監視を目的に、貝毒及び環境汚染物質について、陸奥湾産ホタテガイのモニタリング検査を実施している。

貝毒については、EU向けホタテガイの採捕期間中に毎週実施しており、平成30年度は1月~3月に6定点(平内2定点、野辺地2定点、むつ、川内)から採捕したホタテガイ45検体について、2項目(麻痺性及び記憶喪失性貝毒)の検査を実施した結果、全てEU向けホタテガイに係る基準を満たしていた。環境汚染物質については、12検体(6定点・年2回(6月、11月))について、23項目(PCB、塩素系農薬、クロルデン類、ベンゾ[a]ピレン、総水銀、カドミウム、ヒ素、鉛、クロム、ニッケル、銅、亜鉛、銀)の検査を実施した結果、カドミウム、亜鉛及びヒ素は全ての検体から、総水銀は11検体から、PCBは3検体から、ニッケル及び銅は6検体から検出されたが、いずれもEU向けホタテガイに係る基準を満たしていた。

#### (4) 家庭用品の試買検査

昭和55年度から、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づく家庭用品の試買検査を実施している。平成30年度は、家庭用洗浄剤10検体について容器試験、塩酸消費量等(合計4項目)の検査を、繊維製品10検体についてはホルムアルデヒドの検査を実施した結果、全て規格に適合していた。

#### (5) 医薬品の収去検査

不良医薬品の製造及び流通を防止するため、医薬品等一斉監視指導において収去した医薬品の検査を実施している。平成 30 年度は、6 検体についてアセトアミノフェンの定量試験を実施した結果、全て規格に適合していた。

#### (6) その他の行政検査

平成30年度は、自然毒等による食中毒や健康被害による行政検査依頼はなかった。

#### 3.2 精度管理調査

#### (1) 食品薬品安全センター秦野研究所による外部精度管理調査

平成 11 年度から一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所による食品衛生外部精度管理調査に参加している。

平成30年度は、重金属(玄米のカドミウム)、残留農薬(とうもろこしペーストのクロルピリホス、フェニトロチオン、フェントエート、マラチオン、フルトラニル、フルシトリネートの6種のうち3種)、残留動物用医薬品(豚肉(もも)ペーストのスルファジミジン)、麻痺性貝毒(ホタテガイペースト)、アレルギー物質(小麦)(ベビーフード、かぼちゃペースト、各1検体)の5項目について実施した。いずれも結果は良好であった。

#### (2) 水道水質検査の外部精度管理調査

水道水質検査における分析精度及びデータの正確さを確保し、分析結果の信頼性を高めることを目的として保健衛生課の依頼により平成11年度から実施している。

平成30年度は、水質検査に従事する県内4施設を対象に、ヒ素及びその化合物並びに六価クロム化合物について外部精度管理調査を実施した。各施設のデータをXbar-R管理図により解析した結果、全施設で全項目について管理限界内であった。Zスコアによる評価も全て良好であった。

#### (3) 医薬品の外部精度管理調査

各都道府県において医薬品等の試験検査を受託する衛生検査所等の試験検査機関を対象として、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性を確保することを目的に実施されている国立医薬品食品衛生研究所薬品部第三室による外部精度管理調査に平成27年度から参加している。

平成30年度は、ファモチジン錠定量法(HPLC法)及び製剤均一性試験(含量均一性試験)であったが、 使用機器が整備されていないため不参加とした。

なお、平成29年度に参加したイプリフラボン定量法(HPLC法)及び純度試験(HPLC法)の評価は良好であった。

#### (4) 対EU輸出ホタテガイ等二枚貝におけるマリンパイオトキシン検査機関検証

平成27年度から対EU輸出水産食品の取扱要領の規程に基づいた、対EU輸出水産食品におけるマリンバイオトキシン検査機関の検証が、国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部第二室により開始され、記憶喪失性貝毒の実試料測定調査及び麻痺性貝毒の評価が行われている。

平成30年度は、記憶喪失性貝毒については、二枚貝均質化試料に対する添加試験として実試料調査が 行われた

なお、麻痺性貝毒検査については、前出の(1)食品薬品安全センター秦野研究所による外部精度管理調査において、評価は良好であった。

#### 3.3 試験所認定に係る維持管理事業

当所は平成15年3月にISO/IEC17025に基づく試験所認定を取得し、認定の維持管理のため日本適合性認定協会(JAB)が実施する定期サーベイランス及び4年ごとの試験所認定登録更新審査を受けている。

平成30年11月5~6日に第4回更新審査を受け、基準に適合していることが認められた。〔認定範囲: 食品試験分野(麻痺性貝毒、記憶喪失性貝毒、大腸菌、サルモネラ属菌)〕

## 業務実績総括表 (平成 30 年度)

	T	未份关根税抗农(千成 30 年度)		ı	Ī
分類	部門	事業	検体数	項目数	総項目
				/1 検体	数*2
試験	(1)有害物質検査	①県産農産物の残留農薬検査 *1	56	113~185	8, 436
検査		②輸入農産物の残留農薬検査 *1	20	104~169	2, 761
		③ホタテガイの有機スズ化合物検査	5	3	15
		④魚介類のPCB、水銀、クロルデン類検査	5	8	40
		⑤流通貝の貝毒検査	12	1	12
		⑥りんごジュースのカビ毒検査	10	1	10
		⑦アレルギー物質検査	40	2	80
		⑧清涼飲料水検査	7	2	14
		⑨遺伝子組換え体検査	5	1	5
		小計	160		11,373
	(2)畜水産食品の残留有	①動物用医薬品検査(鶏卵)	13	33	429
	害物質モニタリング	② 動物用医薬品検査(牛乳)	7	35	245
	検査	小計	20		674
	(3)対EU輸出ホタテガイ	①貝毒検査	45	2	90
	生産海域のモニタリ	②環境汚染物質検査	12	23	276
	ング検査	小計	57		366
	(4)家庭用品の試買検査	①家庭用洗剤の検査	10	4	40
		② 繊維製品の検査	10	1	10
		小計	20		50
	(5)医薬品の収去検査		6	1	6
	(6)その他の行政検査		0	0	0
		合 計	263		12,469
精度	(1)外部精度管理調査(食品)	薬品安全センター)	5	1~6	10
管理	(2)水道水質検査の外部精度を	管理調査	4	2	8
	(3)医薬品の外部精度管理	3	0	0	0
		<b></b> 女貝におけるマリンバイオトキシン検査機関	2	1	2
	検証	∧ 3I.	1.1		90
		合 計 443 = 1	11		20
		総計のいて松木な字体したが、夕典字物について	274 ₹₽₩₩	立 生 州 北 7年3	12,489

<sup>※1 1</sup>検体当たり約250項目について検査を実施したが、各農産物について試験法の妥当性が確認された項目についてのみ項目数に計上した。

<sup>※2</sup> 検体数×項目数の総和

#### 4 公害部

#### 4.1 大気関係

#### (1) 環境大気監視

弘前市 2 地点、黒石市 1 地点、五所川原市 1 地点、十和田市 1 地点、三沢市 1 地点、むつ市 1 地点、六ヶ所村 1 地点及び鰺ヶ沢町 1 地点の計 9 地点で大気中の二酸化硫黄( $SO_2$ )、窒素酸化物(NOx)、一酸化炭素(CO)、光化学オキシダント(Ox)、浮遊粒子状物質(SPM)、微小粒子状物質( $PM_{2.5}$ )、炭化水素(HC)について常時監視を実施した。これらのうち、環境基準が定められている 6 測定項目についての環境基準の達成状況は、下表のとおりであった。

	測定項目 二酸化硫黄(SO <sub>2</sub> )				測定項目 二酸化硫黄(SO <sub>2</sub> ) 二酸化窒素(NO <sub>2</sub> ) 一酸			化炭素	(CO)					
	評価区分	有効     短期的評価     長期的評価     有効       測定     適     否     適     否	有効 短期的評価 長期的評価 有効 ( ) ( ) ( ) ( ) ( )	有効	短期的	的評価	長期的	的評価						
			適	否	適	否	測定	迴	道 台	測定	適	否	適	否
	測定局数	1	1	0	1	0	8	8	0	1	1	0	1	0

測定項目	光化学柱	浮遊粒子状物質(SPM)			微	如粒子	·状物質	(PM <sub>2.5</sub> )				
評価区分	適	適否		短期的	勺評価	長期的	勺評価	有効	短期基関する	基準に る評価	長期を関する	基準に る評価
印[阿区力]	~=		測定	適	否	適	否	測定	適	否	適	否
測定局数	0	4	8	4	4	8	0	2	1	1	2	0

#### (2) 稲わら焼却による大気汚染状況調査

五所川原市1地点において、稲わら焼却時及び比較対象として非焼却時のベンゾ[a]ピレン、アルデヒド類及び粉じんについて調査を実施した。

#### (3) 酸性雨実態調査

降水成分の地域特性を明らかにし、今後の酸性雨対策に資することを目的として、青森市・鰺ヶ沢町各1地点において降水量、水素イオン濃度 (pH)、電気伝導度 (EC) 及びイオン成分8項目の測定を実施した。

#### (4) 有害大気汚染物質等モニタリング調査

有害大気汚染物質等による大気汚染の状況を把握するため、弘前市1地点において、ベンゼン等優先 取組物質20物質並びに水銀及びその化合物について毎月1回の調査を実施した結果、環境基準が設定さ れているジクロロメタン等4物質及び指針値が設定されているアクリロニトリル等9物質については、 いずれも基準値及び指針値を下回っていた。

#### (5) 微小粒子状物質 (PM25) 成分測定調査

県内における微小粒子状物質 (PM<sub>2.5</sub>) の成分組成の割合や発生源の寄与割合などを把握するため、弘前市1地点において、質量濃度、イオン成分8項目、無機元素成分29項目、炭素成分3項目について4季節各季2週間の調査を実施した。

#### (6) アスベスト調査

六戸町1地点において一般環境大気中のアスベスト濃度の測定を実施した。また、建築物解体現場等 周辺地域22地点においてアスベスト濃度の測定を実施した。

#### 4.2 水質関係

#### (1) 公共用水域・地下水の水質測定及びクロスチェック

公共用水域及び地下水の水質測定については外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保するため、外部分析機関とクロスチェックを実施した。

#### (2) 水浴場水質調査

県内 19 水浴場における水質調査 (化学的酸素要求量(COD)、ふん便性大腸菌群数等) を外部分析機関に委託して実施していることから、分析に関する精度を確保するため試料分割法によるクロスチェックを実施した。

#### (3) 十和田湖水質保全事業

十和田湖の水質保全に資するため、秋田県と共同で十和田湖の湖心における水質調査を実施した。 また、十和田湖に流入する2河川の水質調査を実施した。

#### (4) 排水基準監視クロスチェック

特定事業場排出水の水質測定を外部分析機関に委託していることから、分析に関する精度を確保する ため外部分析機関とクロスチェックを実施した。

#### 4.3 騒音、振動関係

#### (1) 航空機騒音調査

八戸飛行場及び三沢飛行場周辺地域の航空機騒音の環境基準達成状況を把握するため、五戸町、三沢 市、野辺地町、七戸町、おいらせ町、東北町及び六ヶ所村の各1地点で騒音調査を実施した結果、東北町 1地点で環境基準値を超過したが、その他の地点は環境基準を達成した。

#### (2) 新幹線騒音調査

新幹線騒音の環境基準達成状況を把握するため、七戸町の2地点で調査を実施した結果、いずれも環境基準を達成した。

#### 4.4 その他

#### (1) 精度管理

環境省が実施する統一精度管理調査に参加し、模擬排水試料1検体(対象項目:総水銀、全リン)について分析した。 Z スコアによる評価は、いずれの項目も満足できる結果であった。

また、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会が実施する酸性雨分析精度管理調査に参加し、模擬水質試料 2 検体(対象項目:水素イオン濃度(pH)、電気伝導度(EC)、硫酸イオン( $SO_4^{2-}$ )、硝酸イオン( $NO_3^{-}$ )、塩化物イオン( $C1^{-}$ )、ナトリウムイオン( $Na^{+}$ )、カリウムイオン( $K^{+}$ )、カルシウムイオン( $Ca^{2+}$ )、マグネシウムイオン( $Ca^{2+}$ )、アンモニウムイオン( $Ca^{2+}$ ))について分析した。

#### (2) 行政依頼検査等

水質事故・魚類へい死等の緊急時における検査依頼はなかった。

## 業務実績総括表 (平成30年度)

分類	事業	業務	地点・検体数	項目数
	環境監視・調査	環境大気常時監視	9	36
		稲わら焼却による大気汚染調査	3	12
		酸性雨実態調査	78	858
大		有害大気汚染物質等モニタリング調査(委託)	(12)	(156)
気		有害大気汚染物質等モニタリング調査	12	96
		微小粒子状物質(PM <sub>2.5</sub> )成分測定調査(委託)	(56)	(168)
		微小粒子状物質(PM2.5)成分測定調査	56	2, 128
		アスベスト調査	25	85
	水質保全	公共用水域、地下水等クロスチェック分析	16	18
水		十和田湖水質保全事業調査	19	284
質		排水基準監視クロスチェック分析	2	2
騒	騒音防止対策	航空機騒音調査	7	7
音		新幹線騒音調査	2	4
そ	精度管理	統一精度管理調査	1	2
そ の		酸性雨分析精度管理調査	2	60
他	行政依頼検査等	魚類へい死・水質事故等	0	_

## 5 研修等業務(所内研修会)

研修名	研修内容	実施日	対象者	受講 者数	開催部名
ISO 所内研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術 の習得	2018/4/16	環境保健センター 職員	18	微生物部
ISO 信頼性確保部門研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術 の習得	2018/4/18, 6/4, 11/5, 2019/1/29	ISO 信頼性確保部 門担当者	7	微生物部
対 EU 輸出ホタテガイ生産 海域のモニタリングに係る サンプリング及び ISO/IEC17025に係る対 EU 輸出ホタテガイサンプリン グ者に対する研修	ISO/IEC17025関係の知識・技術 の習得	2018/5/22	検体採取員	17	微生物部
平成30年度病原体等の包装 ・運搬講習会	微生物に関する知識・技術の習 得	2018/7/19	保健所・検査機関 関係職員	29	微生物部
ISO 検査部門業務研修会・ ISO/IEC17025に係る内部研 修	ISO/IEC17025の概要、試験所認 定等の知識の習得	2018/4/10	ISO 業務担当者 (新人対象)	10	理化学部
GMP 省令、PIC/S の概要及 び公的試験検査機関につい て	GMP についての知識習得、信頼 性保証部門による教育訓練	2018/4/17	GMP 業務担当者	3	理化学部
ISO 理化学検査区分内部研修 (不確かさ・トレーサビリティ)	理化学検査の分析精度、トレー サビリティ及び不確かさ等の知 識の習得	2018/4/18	ISO 業務担当者、 理化学検査担当者	14	理化学部
ISO 理化学検査区分の内部 研修 (精度管理等)	理化学検査の分析精度、バリデ ーション等の知識の習得	2018/4/18	ISO 業務担当者、 理化学検査担当者	14	理化学部
ISO 温度計・湿度計検証の 内部研修 (データロガー検証)	検査に係る温度計及び湿度計の 検証方法を習得する	2018/4/18	ISO 新規貝毒検査 ・微生物検査担当 者	8	理化学部
ISO 動物管理区分内部研修 (動物飼育管理)	実験動物の飼育・飼養管理に必 要な知識等の習得	2018/4/25	ISO 実験動物試験 新担当者	7	理化学部
ISO/GLP 検体受付新担当者 研修	検体受付の流れ、器具・機材の 取扱、検体授受書の書き方等の 習得	2018/5/10	ISO/GLP 受付新担 当者	1	理化学部
ECD 研修会	放射線業務従事者教育・訓練	2018/5/29	GC 担当、ECD 操作 担当者	8	理化学部
GMP 医薬品検査の基礎	医薬品検査についての知識習 得、信頼性保証部門による教育 訓練	2018/5/30	GMP 業務担当者	8	理化学部
GMP 医薬品検査のバリテー ションの基礎	医薬品検査におけるバリテーションについての知識・技術の習得、試験検査部門による教育訓練	2018/5/30	GMP 業務担当者	8	理化学部

#### 青森県環境保健センター年報 第30号(2019)

研修名	研修内容	実施日	対象者	受講 者数	開催部名
ISO ガラス体積計検証の内 部研修	貝毒検査で使用するガラス体積 計の検証方法を習得・検証する	2018/7/9、8/10	ISO 新規貝毒検査 担当者	2	理化学部
ISO 分銅検証の内部研修	ワーキング分銅の検証方法を習 得する	2018/7/9、10/10	理化学検査担当者 (新人対象)	2	理化学部
ISO 貝毒検査に係るマウス アッセイ研修	外部講師(国衛研大城先生)を 招いて、マウス試験に関する知 識及び手技の習得	2018/7/26	ISO 新貝毒検査担 当者、検査担当者	7	理化学部
原子吸光光度計の基礎/操 作内部研修	原子吸光光度計新機種の操作方 法の習得	2018/10/9~10	理化学・公害部検 査担当者	6	理化学部
GMP OJT(アセトアミノフェ ン定量試験)	アセトアミノフェン定量試験に ついての知識・技術の習得、試 験検査部門による教育訓練	2018/11/27~29、 12/13	GMP 試験検査担当者	3	理化学部
ISO 検体受付担当者の研修	受付担当者が年間計画、受付業 務の流れ、器具・機材の取扱、検 体採取資材等授受確認書の書き 方及び注意事項について確認す る	2018/12/19	ISO 受付担当者	9	理化学部
H30年度青森県環境生活部 出先機関等職員研究発表会 「あすをひらく」	環境、公衆衛生、原子力関係の 知見の習得	2019/1/25	環境生活部、健康 福祉部、危機管理 局、各地域県民局 職員	50	理化学部
GMP HPLC LabSolution の設定及 び使用についての内部研修	分析システムに係る使用方法、 権限についての知識習得	2019/2/8	GMP 業務担当者	5	理化学部

## 6 年間動向

## (1) 講師等派遣

研修等の名称 青森県小児科医会	内容 (対象者) 青森県の感染症サーベイランス について (青森県内の小児科医師)	実施日平成30年7月7日	講師派遣部 (職員氏名) 所 長 (工藤 隆治)
対EU輸出ホタテガイ生産海域の モニタリングに係るサンプリン グに関する研修及び ISO/IEC17025に係る対EU輸出ホ タテガイサンプリング者に対す る研修会	ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得 (検体採取員)	平成30年5月22日	微生物部(筒井理華)
平成30年度病原体等の包装・運 搬講習会	微生物に関する知識・技術の 習得 (保健所・検査機関関係職員)	平成30年7月10日	微生物部(髙橋洋平)
感染免疫懇話会in Hachinohe 2018	青森県のウイルス検査体制の現 状に関する情報提供 (青森県内の医師)	平成30年8月5日	微生物部(筒井理華)
平成30年度院内感染対策研修会	青森県の細菌検査体制の現状に 関する情報提供 (青森県内の医師)	平成30年9月8日	微生物部(髙橋 洋平)

## (2) 委員会、協議会等の委員

委嘱団体等の名称	委員の名称	任 期	委員派遣部 (職員氏名)
青森県	青森県感染症発生動向調査	平成30年4月17日	所 長
(保健衛生課)	委員会委員	~平成31年1月31日	(工藤 隆治)
青森県	新型インフルエンザ等対策青森	平成29年9月14日	微生物部
(医療薬務課)	県有識者会議委員	~令和元年9月13日	(筒井 理華)
青森県	青森県精度管理専門委員	平成29年1月19日	微生物部
(医療薬務課)		~令和2年1月28日	(筒井 理華)
青森市	青森市精度管理専門委員	平成30年4月1日	理化学部
		~令和2年3月31日	(佐藤 裕久)
八戸市	八戸市衛生検査所精度管理専門	平成29年7月1日	理化学部
	委員	~平成31年3月31日	(佐藤 裕久)

## (3) 平成30年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」

開催日時:平成31年1月25日(金)13:30~16:25

開催場所:青森県環境保健センター2階大会議室

発表	者	
所 属	氏 名	演題名
微生物部	髙橋 洋平	青森県内で検出された VRE の病原体検査の解析結果について
微生物部	菩提寺誉子	青森県内で発生したノロウイルスによる集団胃腸炎の遺伝子解析
		(2013/14~2017/18シーズンに検出されたノロウイルスGII. 4の推移)
理化学部	福士 貴史	残留農薬検査でにんじんから検出されたアセフェートについて
公害部	北畠 茂	青森県内における稲わら焼却による大気汚染状況について
公害部	野澤 直史	環境大気中粒子状物質の走査型電子顕微鏡による観察及びエネルギー分散型
		X線分析装置による分析
原子力センター	大坂 直人	空間放射線と積雪の関係について
原子力センター	和田 浩司	環境試料中の炭素-14調査
原子力センター	大 山 勝	表土中ヨウ素-129分布調査

<sup>※</sup> 所属に微生物部、理化学部、公害部と記載されている発表者は、青森県環境保健センター職員

## (4) 会議・学会・研修会等出席状況

## ア 会議・検討会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
平成 30 年度全国地方衛生研究所長会議	東京都	2018/6/7	所 長	1
平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会	東京都	2018/6/8	所 長	1
地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部総会	青森市	2018/6/28~29	所 長 微生物部員	8
平成 30 年度「地域保健総合推進事業」第1回ブロック会議	宮城県	2018/8/23	所 長	1
ISO/IEC 17025 内部監査員養成セミナー	神奈川県	2018/9/10~11	微生物部員	1
平成30年度地域保健総合推進事業 地方衛生研究所地 域レファレンスセンター連絡会議	岩手県	2018/10/18~19	次 長 微生物部員	3
平成 30 年度第 69 回地方衛生研究所全国協議会総会	福島県	2018/10/23	所 長	1
平成 30 年度地域保健総合推進事業全国疫学情報ネット ワーク構築会議	東京都	2018/11/16	微生物部員	1
「新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業_国内ならびにグローバルサーベイランスのためのRSウイルス感染症に関する検査システムの開発研究」班会議	群馬県	2018/11/29	微生物部員	1
平成 30 年度「地域保健総合推進事業」第 2 回ブロック 会議	宮城県	2018/12/13	所 長	1
平成30年度「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の 制御に関する研究」班会議	神奈川県	2019/1/17~18	微生物部員	2
平成 30 年度第 2 回結核予防業務検討会	青森市	2019/2/1	微生物部員	1
H30 地衛研全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学 研究部会総会	新潟県	2018/10/4~5	理化学部員	1
平成 30 年度第 1 回 GMP 調査当局会議	東京都	2018/10/30~31	理化学部員	1
H30 東北ブロック水産業関係研究開発推進会議資源環境 部会貝毒研究分科会	宮城県	2018/11/26	理化学部員	1
平成 30 年度全国環境研協議会北海道・東北支部総会	北海道	2018/6/21	所 長	1
平成 30 年度十和田湖環境保全会議	秋田県	2018/11/8	公害部員	2
第 47 回全国環境研協議会総会	東京都	2019/1/21	所 長	1
平成 30 年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	東京都	2019/1/22	所 長	1
平成 30 年度十和田湖資源対策会議	秋田県	2019/2/26	公害部員	2
平成 30 年度十和田湖水質・生態系会議	秋田県	2019/2/27	公害部員	2
平成 30 年度環境測定分析統一精度管理ブロック会議	宮城県	2019/3/8	公害部員	1
平成 30 年度全国環境研協議会北海道·東北支部酸性雨 広域大気汚染調査研究専門部会	秋田県	2019/3/11	公害部員	1

## イ 学会・研究会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
第 39 回日本食品微生物学会学術総会	大阪府	2018/9/27~28	微生物部員	1
第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会	東京都	2018/11/8~9	微生物部員	1
第 32 回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	岡山県	2019/1/24~25	微生物部員	1
日本法中毒学会第 37 年会	東京都	2018/7/6~7	理化学部員	1
第 114 回日本食品衛生学会学術講演会	広島県	2018/11/15~16	理化学部員	1
第 55 回全国衛生化学技術協議会年会	神奈川県	2018/11/29~30	理化学部員	1
第 59 回大気環境学会年会	福岡県	2018/9/12~14	公害部員	1
第 44 回全国環境研協議会北海道・東北支部研究連絡会 議	新潟県	2018/10/15~16	公害部員	2
第 45 回環境保全・公害防止研究発表会	島根県	2018/11/15~16	公害部員	1
第 34 回全国環境研究所交流シンポジウム	茨城県	2019/2/14~15	公害部員	1
第 53 回日本水環境学会年会	山梨県	2019/3/7~9	公害部員	2

## ウ 研修会・講習会等出席

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
平成 30 年度病原体等の包装・運搬講習会	東京都	2018/5/8	微生物部員	1
H30 年度蚊類調査に係る技術研修会	東京都	2018/6/4~5	微生物部員	1
衛生微生物技術協議会第 39 回研修会	滋賀県	2018/7/5~6	微生物部員	2
みちのくウイルス塾	宮城県	2018/7/14~15	微生物部員	1
平成 30 年度市民講座及び GenEpid-J 研修会	東京都	2018/7/29~30	微生物部員	1
平成 30 年度青森県口蹄疫防疫研修会	八戸市	2018/8/31	微生物部員	1
平成 30 年度薬剤耐性菌の検査に関する研修	東京都	2018/9/19~21	微生物部員	1
平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・ 新潟支部微生物研究部会総会・研修会	岩手県	2018/10/18~19	次 長 微生物部員	3
平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・ 新潟支部公衆衛生情報研究部会総会・研修会	宮城県	2018/11/1~2	微生物部員	1
平成30年度短期研修ウイルス研修	東京都	2018/11/5~22	微生物部員	1
平成 30 年度北海道・東北・新潟ブロック腸管出血性大腸菌 MLVA 技術研修会	岩手県	2018/11/15~16	微生物部員	1
平成 30 年度希少感染症診断技術研修会	東京都	2019/2/19~20	微生物部員	2
平成 30 年度青森空港検疫感染症措置机上訓練	青森市	2019/3/20	微生物部員	1
平成 30 年度特定機器分析研修Ⅱ (LC/MS/MS)	埼玉県	2018/4/16~27	理化学部員	1
平成30年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東京都	2018/6/28	理化学部員	1
第 3 種放射線取扱主任者講習	六ケ所村	2018/7/19~20	理化学部員	1
平成 30 年度貝毒分析研修会	神奈川県	2018/10/2~5	理化学部員	1

#### 青森県環境保健センター年報 第30号(2019)

名 称	開催地	開催月日	出席者	出席者数
平成30年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会研究発表会	兵庫県	2018/11/9	理化学部員	1
放射線取扱主任者定期講習会	東京都	2018/11/13	理化学部員	1
平成 30 年度指定薬物分析研修会	神奈川県	2019/1/11	理化学部員	1
第 24 回 GLP 研修会	東京都	2019/1/21	理化学部員	1
平成 30 年度地衛研全国協議会衛生理化学分野研修会	神奈川県	2019/2/18	理化学部員	1
液体クロマトグラフの基礎と上手な使い方のセミナー	東京都	2018/5/21	公害部員	1
光化学オキシダント自動計測器の校正に係る研修	山形県	2018/6/29	公害部員	1
初級マイクロ波試料前処理装置ユーザートレーニング	神奈川県	2018/6/29	公害部員	1
平成 30 年度石綿位相差顕微鏡法研修	埼玉県	2018/7/11~13	公害部員	1
平成 30 年度環境モニタリング技術研修(大気コース)	埼玉県	2018/8/28~31	公害部員	1
平成 30 年度環境測定分析統一精度管理調査結果説明会	東京都	2019/3/4	公害部員	1
気候変動の影響及び適応に関するセミナー	秋田県	2019/3/12	公害部員	1

# Ⅲ 研 究 報 告

## 1 報 文

#### 健康危機管理に対応した食品中のヒスタミン分析の検討

花石竜治 山本明美

健康危機管理事案に対応した迅速な食品中のヒスタミン分析法を検討した。基礎とする方法として菊地らの 既報(菊地博之ほか,2012)の、C18 および強酸性陽イオン交換樹脂の固相カートリッジ精製法により精製した 溶出液をフルオレスカミンにより誘導体化する方法を採用した。この方法に、精製段階での溶出液の塩基をテト ラブチルアンモニウムヒドロキシド(TBAH)とする変更を加えて、分析所要時間を短縮した。標準液測定による 検量線作成時に乖離率を計算し、検量線範囲を決定し、イワシ丸干しなどを用いて、添加回収率を求めた。検討 した TBAH 法は十分な回収率を与え、健康危機管理時の分析手法として有用であることが示された。

Key words: Health Risk Management, Histamine, Fluorescamine, Tetrabutylammonium Hydroxide, Sardine.

#### 1. はじめに

ヒスタミン中毒は、食中毒事例のうち理化学的 検査の対象となるものであり、発生頻度は高い。 本県の関係するところでは、2015年に、東京都新 宿区で青森県産のブリ加工品を喫食し発症した事 例<sup>1)</sup>があった。食中毒事例に係る検査用務におい ては、患者の治療に資するべく、原因物質を迅速 に同定・定量することが要求され、信頼性の高い 検査を迅速に遂行することが求められる。

ヒスタミンはイミダゾール環に、第一級アミノ 基を持った側鎖が結合した分子構造を持ち、アミノ酸の一種であるヒスチジンの脱炭酸で生じると される。

日本では、ヒスタミンの食品中の濃度については規制値がないため、その分析の公定法は示されていない。その分析法として「衛生試験法・注解」<sup>2)</sup>には、ダンシルクロリド誘導体化法が記載されている。この方法はヒスタミンをほかの不揮発性アミンと同時に定量できる長所がある一方、分析工程数が多く、所要時間が長いという短所がある。

迅速なヒスタミン定量法として報告されている方法は、HILIC (親水性相互作用クロマトグラフィー) カラムを用い LC-MS/MS 法により定性を兼ねて誘導体化せずに測定する方法  $^{3}$ 、、蛍光検出 HPLCを用い、ヒスタミンをフルオレスカミン  $^{4)-8)}$ (図 1に反応式を示す。)、ピレンブチリルクロリド  $^{9}$  あるいは  $^{0}$ -フタルジアルデヒド  $^{10}$  により、蛍光物質に誘導体化して、測定する方法が報告されてい

る。

LC-MS/MS 法は迅速だが、夾雑物による妨害があり、また機器を汚す短所がある。当所は LC-MS/MS を 1 台しか所有していないため、HPLC による迅速分析法を検討した。

粟津らは、C18 固相カートリッジを強酸性陽イオン交換樹脂固相カートリッジにタンデムに連結し、フルオレスカミンにより誘導体化する方法を報告している 4)。菊地らは、粟津らの方法に改良を加え、その分析法の妥当性評価を行った 5)。フルオレスカミン法は、ダンシルクロリド誘導体化法に比べ誘導体化反応時間が短い(1 分間以内)特徴を持つ。

フルオレスカミン ヒスタミン 誘導体(蛍光物質)<br/>図 1 ヒスタミンとフルオレスカミンとの反応式

粟津らの方法 4 および菊地らの方法 5 は、どちらも固相カートリッジからの目的成分の溶出にアンモニア・メタノール溶液を用いる。アンモニアは塩基性条件で求核性を持ち、誘導体化試薬のフルオレスカミンと反応すると考えられるため、

これを誘導体化の前に除外する必要があり、溶媒 揮散、乾固に時間・工程を要する。

本研究では菊地らの方法5)を基礎として、今村 らの報告 11) を参考に、アンモニアの代わりに、溶 媒揮散と乾固を必要とせず、求核性が弱く塩基性 の強い塩基であるテトラブチルアンモニウムヒド ロキシド(以下、「TBAH」という。)を用い、より 分析時間を要しない方法を検討したので報告する。

#### 2. 材料および方法

#### 2.1 試料

試料は青森市内のスーパーマーケットで購入し たサバ缶詰(水煮および味噌煮)、イワシ丸干しを 用いた。試料は包丁で細砕し、フードプロセッサ ーを併用して均質化した。分析まで -20 ℃で保存 した。

#### 2.2 試薬など

ヒスタミン二塩酸塩、フルオレスカミン、トリ クロロ酢酸(TCA)、0.5 mol/L テトラブチルアンモ ニウムヒドロキシド(TBAH)溶液は、富士フィルム 和光純薬製を用いた。そのほかの試薬は、HPLC グ レードまたは試薬特級に準じたものを用いた。ま た、膜ろ過フィルターは、Whatman 社 Syringe filter poresize 0.2 μm を用いた。水は超純水を用いた。

ヒスタミン標準溶液:ヒスタミン二塩酸塩を 165.6 mg 取り、0.1 mol/L 塩酸で溶解し、100 mL に 定容した(1,000 mg/L 標準原液)。標準原液を 0.1 mol/L 塩酸で適宜希釈し、0.3~100 mg/L の検量線 作成用標準溶液を調製し、標準原液は添加回収試 験用添加溶液として使用した。

100 mmol/L りん酸塩緩衝液(pH 6.8):りん酸二 水素ナトリウム 2 水和物 7.8 g とりん酸水素二ナ トリウム 12 水和物 17.9g を水に溶解し、1,000 mL とした。

50 mmol/L りん酸塩緩衝液(pH 6.8)および 25 mmol/L りん酸塩緩衝液(pH 6.8): 100 mmol/L りん 酸塩緩衝液1容積に水を加えてそれぞれ2容積お よび4容積に希釈し、調製した。

0.2 mol/L ほう酸塩緩衝液(pH 9.0): ほう酸 2.47 g を水 170 mL に溶解し、1 mol/L 水酸化ナトリウム 溶液を滴下しpH 9.0 に調整し、水を加えて 200 mL

5 % TCA: TCA 5.0 g を水に溶解して 100 mL と した。

0.3 %フルオレスカミン溶液:フルオレスカミ

ン 30 mg をアセトンに溶解し、全量を 10 mL とし た。

50 mmol/L 酢酸塩緩衝液(pH 6.6): 酢酸ナトリウ ム 4.10 g を水 800 mL に溶解し、30 %酢酸溶液お よび3%酢酸溶液を加え、pH 6.6に調整し、水で 全量を 1,000 mL とした。

0.1 mol/L TBAH 溶液: 0.5 mol/L TBAH 溶液 2 mL にメタノールを加えて 10 mL とした。

濃アンモニア水・メタノール(5:95): アンモニア 水 5 mL にメタノール 95 mL を加えた。

0.1 mol/L 塩酸:塩酸 1 mL に水を加えて 120 mL とした。

固相カートリッジ: SepPak Plus C18(360 mg) (Waters 社)の下部に強酸性陽イオン交換樹脂ミ ニカラム Bond Elut Jr. SCX(500 mg) (Agilent 社) を 連結して用いた。

pH 試験紙は、Advantec 社 Test paper UNIV pH 1-11 を用いた。

#### 2.3 装置

HPLC: 島津製作所 Prominence

ホモジナイザー:IKA社 T25DS1

ボルテックスミキサー: Scientific Industries 社 **VORTEX-GENIE 2** 

遠心分離機: 久保田製作所 ユニバーサル冷却遠

超音波洗浄機:ブランソン社 卓上型超音波洗浄 機 CPX3800-J

pH 計: 堀場製作所 卓上形 pH 計 F-71

#### 2.4 測定条件

カラム: ジーエルサイエンス製 Inertsil ODS-3(内 径 4.6 mm、長さ 150 mm, 粒径 5 μm)、移動相: A 液:50 mmol/L 酢酸塩緩衝液(pH 6.6)、B 液:アセ トニトリル、グラジエント条件: 0 分(A:B=80:20)  $\rightarrow$ 9.0 分(A:B=80:20) $\rightarrow$ 15.0 分(A:B=20:80) $\rightarrow$ 20.0 分  $(A:B=20:80) \rightarrow 20.01$  分  $(A:B=80:20) \rightarrow 30.0$  分 (A:B=80:20)、流速:1.0 mL/min、カラム温度:40 ℃、 検出器波長:励起波長:390 nm、蛍光波長:480 nm

注入量 20 μL、サンプルクーラー温度:4 ℃

#### 2.5 試験溶液の調製

#### (1) 抽出

均質化した試料 10 g を 100 mL 遠沈管に秤り取 り、5 % TCA 40 mL を加えて、1 分間ホモジナイ ズした。これを4℃、毎分3000回転で10分間遠

心分離した。上清は定性ろ紙 5A でろ過し、ろ液 を 100 mL 比色管に取った。遠沈管中の残渣には 5 % TCA 40 mL を加えて、ガラス棒で撹拌し、5 分間、超音波洗浄機で超音波処理した。これを上 記条件で遠心分離して、その上清を同じろ紙でろ 過し、ろ液を 100 mL 比色管に合わせて入れ、5 % TCAを加えて100 mLに定容し、粗抽出液とした。

粗抽出液を5mL取り、5%TCAを5mL加えた 後、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液を加えて、pH 試験紙で時々調べながら中和し、およそ pH7 とし た。これに 100 mmol/L りん酸塩緩衝液 10 mL を 加えて、精製操作を行う負荷検液とした。

抽出操作のフローを図2に示す。

#### (2) 精製

固相カートリッジ(項2.2)に、メタノール、水、 100 mmol/L りん酸塩緩衝液(pH 6.8)の各 5 mL をこ の順に通液してコンディショニングを行い、その 後、負荷検液を全量負荷した。次いでこれに 50 mmol/L りん酸塩緩衝液を通液して、タンデムカー トリッジを洗浄した。この後に、C18 カートリッ ジを撤去し、以下、SCX カートリッジについて、 精製操作を行った。

SCX カートリッジに、25 mmol/L りん酸塩緩衝 液、水、メタノールを順次、それぞれ 10 mL 通液 し、洗浄した(※)。次に 0.1 mol/L TBAH 溶液 10 mL を通液し、溶出する画分を採取した。これにメ タノールを加えて 10 mL の検液とした。(この操 作を「TBAH 法」という。)

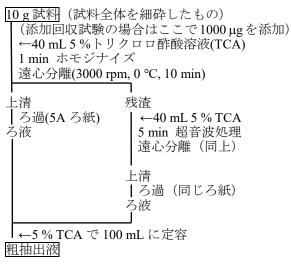
また、対照方法として、※の状態の SCX カート リッジに、濃アンモニア水:メタノール(5:95)を10 mL 通液し、溶出する画分を採取した。この溶液に 窒素ガスを吹き付け、溶媒を揮散し乾固したのち、 0.1 mol/L 塩酸を 2 mL 正確に加え、残渣を溶解し て検液とした。(この操作を「AM法」という。)

TBAH 法の精製操作のフローを図3に、AM法 のフローを図4に示す。

#### (3) 蛍光誘導体化

検液(TBAH 法あるいは AM 法) を 50 μL とり、 2 mL の 0.2 mol/L ほう酸塩緩衝液(pH 9.0)に加え て、さらに 0.3 %フルオレスカミン溶液 200 μL を 加え、直ちにボルテックスミキサーで20秒間撹拌 した。この溶液を膜ろ過フィルターでシリンジろ 過し、HPLC 用検液とした。

誘導体化操作のフローを図5に示す。



- 粗抽出液 5 mL ←5 mL 5 % TCA
  - ←1 mol/L NaOH 溶液で中和(約 2.8 mL)
- ←10 mL 100 mmol/L りん酸塩緩衝液

#### 負荷検液

#### 図2抽出操作のフロー

C18+SCX 固相カートリッジ

- ←5 mL MeOH 通液
- ←5 mL 水 通液
- ←5 mL 100 mmol/L りん酸塩緩衝液 通液
- ←負荷検液 (全量負荷)
- ←10 mL 50 mmol/L りん酸塩緩衝液で洗浄
- →C18 固相カートリッジを撤去 (以下、SCX 固相カートリッジのみ)
- ←10 mL 25 mmol/L りん酸塩緩衝液で洗浄
- ←10 mL 水で洗浄
- ←10 mL MeOH で洗浄
- ←10 mL 0.1 mol/L TBAH 溶液で目的物を溶出
- ←MeOH を加えて 10 mL に定容

#### 検液

#### 図3 精製操作のフロー (TBAH 法)

#### (4) 添加回収試験

試料 10 g に対して、ヒスタミン濃度が 100 μg/g となるように、1000 mg/L 添加回収試験用添加溶 液を1 mL添加し、(1)の操作から前処理を行った。

#### C18+SCX 固相カートリッジ

- ←5 mL MeOH 通液
- ←5 mL 水 通液
- ←5 mL 100 mmol/L りん酸塩緩衝液 通液
- ←負荷検液 (全量負荷)
- ←10 mL 50 mmol/L りん酸塩緩衝液で洗浄
- →C18 固相カートリッジを撤去 (以下、SCX 固相カートリッジのみ)
- ←10 mL 25 mmol/L りん酸塩緩衝液で洗浄
- ←10 mL 水で洗浄
- ←10 mL MeOH で洗浄
- ←10 mL 濃アンモニア水:メタノール(5:95)で目 的物を溶出

窒素吹付で溶媒揮散、乾固

←2 mL 0.1 mol/L 塩酸で溶解

検液

#### 図4精製操作のフロー(AM法)

2 mL 0.2 mol/L ほう酸塩緩衝液(pH 9.0)

←50 µL 検液

←200 µL 0.3 %フルオレスカミン溶液

Vortex 撹拌 20 sec

0.2 μm シリンジフィルタでろ過

(検量線用標準液の場合は省略)

HPLC 用検液

#### 図 5 誘導体化操作のフロー

#### 2.6 HPLC 測定

検量線作成用標準溶液について、前項の誘導体 化操作を行い、HPLC分析を行った。なお、膜ろ過 フィルターによるシリンジろ過は省略した。各標 準溶液について得られたピーク面積値から一次回 帰直線の検量線を作成した。検量線上の各点の設 定濃度Aと検量線上の計算濃度Bから、乖離率 (%difference  $D = (A - B)/B \times 100$ %)を算出し、 検量線の下限を決定した。

得られた検量線パラメータと検液のピーク面積 値から検液中のヒスタミン濃度を決定した。

#### 3. 結果

#### 3.1 分析条件の検討

図6に、固相カートリッジを用いた精製操作を 行わない未精製の粗抽出液のクロマトグラム(標 準品を無添加および添加)、TBAH 法および AM 法 により精製した検液(標準品を添加)のクロマト グラム並びに標準溶液のクロマトグラムを比較し た。

#### 3.2 検量線濃度範囲の決定

検量線を濃度の高い方からプロットし、乖離率の絶対値が 10%を超えたところを、検量線における最低濃度と考えた。表 1 に測定値と計算結果を示す。この検討により、最低濃度は 1 mg/L と決定された。この濃度は、検体中の濃度に換算して 20 μg/g に相当した。なお、標準液から誘導体化した HPLC 用検液を用いた繰り返し測定によるバラツキの標準偏差を  $\sigma$  とした場合、その  $10\sigma$  は 1 mg/L を下回っていた。

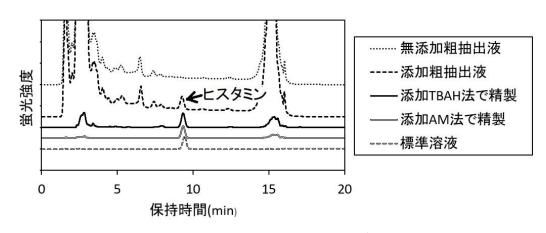


図6 イワシ丸干し試料のクロマトグラム

#### 3.3 食品試料への適用性確認

イワシ丸干しのほかに、サバ缶詰(水煮および味噌煮)に対しても TBAH 法を適用し(n=1)、添加回収率を求めて、表 2 に示す結果を得た。

表1 乖離率の算出

	24 1 122 1 117 21 2	_
濃度(mg/L)	ピーク面積	乖離率%
100	20700000	-0.01
50	10300000	-0.05
20	4120000	0.19
10	2020000	1.43
5	1020000	-0.22
2	405000	-1.79
1	200000	-4.69
0.5	98700	-10.73

表 2 TBAH 法を食品試料に適用した場合の 添加回収率

試料	添加回収率%
イワシ丸干し	75.2
サバ缶詰(水煮)	80.8
サバ缶詰 (味噌煮)	75.0

#### 4. 考察

#### 4.1 検量線範囲および試料における定量下限

TBAH 法の試料における定量下限は  $20~\mu g/g$  である。Codex 委員会は、マグロ、イワシ等の缶詰や急速冷凍水産加工品等の衛生および取扱において、検体のヒスタミン濃度が 20~m g/100~g (= $200~\mu g/g$ )を超えないことを基準としている  $^{12}$ )。本法の定量下限  $20~\mu g/g$  は、その Codex 基準値の 10~分の 1~であり、要求される精度で検査結果を与えるものと考えられた。

なお、ヒスタミンの中毒発症量には個人差があり、成人では  $50~\mu g/g\sim 100~\mu g/g$  で感受性が高い群が発症し、 $100~\mu g/g\sim 1000~\mu g/g$  で食中毒を生じる可能性があるとされている。 $1000~\mu g/g$  以上では食中毒を生じる可能性が高く重篤な症状を呈すとされており、成人よりも小児のほうが少ない量の摂取で発症すると考えられている  $^{13}$  が、本法で充分対応可能と考えられた。

#### 4.2 TBAH 法の分析所要時間

抽出以降の操作を比較すると、ダンシルクロリド誘導体化を行う「衛生試験法・注解」法<sup>2)</sup>では、誘導体化反応に1時間の加温(あるいは終夜、室温で放置)を要しHPLC用検液調製まで約3時間以上を要する。これに対して菊地らの方法<sup>5)</sup>(AM

法)は、上記方法の工程である液液分配や溶媒留去操作がなく分析時間が短縮されているが、精製操作の最後の溶媒揮散・乾固操作に時間を要する。ただし、誘導体化は1分間以内に終了する。TBAH法では、溶媒揮散・乾固操作がなく、誘導体化がAM法と同様に1分間以内に終了するため、操作が単純化され、所要時間がさらに短縮された。

以上から TBAH 法は、分析を省力化し、かつ分析時間を短縮する方法であると考えられた。

#### 4.3 食品試料への適用可能性

イワシ丸干し、サバ缶詰(水煮および味噌煮)の3種類の試料についてTBAH法の添加回収率は70%以上であり、十分な真度を与える方法と考えられた。

なお、イワシ丸干しについては併行精度(n=5)も 良好であった。しかし AM 法がより高い回収率を 与えたことから、迅速な TBAH 法をスクリーニン グ法とし、AM 法を定量法とすることも一法と考 えられた。

#### 5. 結論

今回、検討した TBAH 法のヒスタミン分析法について、下記の点により有用性が示された。

- 1) 国際基準に対する超過の有無を、十分な真度および精度で測定できること。
- 2) 分析が省力化され、また分析時間が短縮されること。
- 3) 現段階では 3 種類の試料での検討に留まるが、 ヒスタミン含有の可能性がある代表的な試料について、十分な真度を与えると考えられること。

当所では、2019年9月に、精製操作を省いたヒスタミン検査方法の健康危機管理標準作業書(SOP)を策定したところである。今後は本研究の知見を踏まえて、より信頼性の高い検査方法として精製操作を含めた検査方法のSOPを定め、健康危機管理態勢を整備することを予定している。

#### 文 献

- 1) 平成 27 年 1 月 11 日 東奥日報, 東奥日報社, 11 Jan, 2015.
- 2) 日本薬学会 編: 衛生試験法・注解 2015. pp.205-207, 金原出版, 東京, 2015.
- 3) 茶屋真弓,他:LC/MS/MS による不揮発性アミン類の迅速一斉分析の検討と鮮魚中のヒスタミン産生菌の分離について. 鹿児島県環境保健センタ

- 一所報, 19, 56-63, 2018.
- 4) 粟津 薫, 他: タンデム固相抽出を用いた魚肉中ヒスタミン分析法の検討. 食品衛生学雑誌, **52**, 204, 2011.
- 5) 菊地博之,他:フルオレスカミン誘導体化 HPLC 法による魚および水産加工品中のヒスタミン分析の性能評価.食品衛生学雑誌,**53**,121-127,2012.
- 6) 竹内 浩, 他: 固相抽出を用いた食品中不揮発性アミン類分析法の検討. 三重県保健環境研究所年報, 14, 41-45, 2012.
- 7) 村上友規,他:フルオレスカミン蛍光誘導体化 UPLC 法を用いたヒスタミン迅速分析法. 食品衛 生学雑誌, **59**, 121-125, 2018.
- 8) 久保田晶子,他:フルオレスカミン誘導体化 HPLC 法による食品中の不揮発性アミン類分析法. 食品衛生学雑誌,**60**,61-67,2019.
- 9) 坂本智徳, 他: 固相抽出-エキシマー蛍光誘導

- 体化 HPLC 法による食品中不揮発性アミン類の分析, 食品衛生学雑誌, **51**, 115-121, 2010.
- 10) Jin-feng Peng et al.: Development of an automated on-line pre-column derivatization procedure for sensitive determination of histamine in food with high-performance liquid chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, **1209**, 70-75, 2008.
- 11) 今村寿一, 他: 水酸化テトラメチルアンモニウム. 有機合成化学, **45**, 909-913, 1987.
- 12) 内閣府食品安全委員会 編: ファクトシート. 2014 年 3 月 26 日 最 終 更 新 . URL: http://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets/140326\_histami ne.pdf. (2020 年 1 月 8 日現在アクセス可能)
- 13) 登田美桜, 他: 国内外におけるヒスタミン食中毒. 国立医薬品食品衛生研究所報告, **127**, 31-38, 2009.

(Summaries follow)

An examination of analysis of histamine in food for health risk management

Ryuji Hanaishi, Akemi Yamamoto

A rapid analysis method of histamine in food for health risk management cases was explored. As a basic technique, the present authors adopted a method already reported by Kikuchi et al. (Hiroyuki Kikuchi et al., 2012), in which the eluted solution purified by solid-phase extraction using a C18 cartridge and a strongly acidic cation exchange resin cartridge was derivatized with fluorescamine. The method was modified using tetrabutylammonium hydroxide (TBAH) as a base in the eluted solution in the purification step to shorten the time required for analysis. At the time of drawing a calibration line based on the results of standard solution measurement, percent differences were calculated and the ranges of the calibration line were determined, and spike recovery rates were calculated using sardine dried whole. Using the TBAH method, sufficient recovery rates

were obtained, suggesting that the TBAH method was useful as an analytical method in health risk management.

Key words: Health risk management, Histamine, Fluorescamine, Tetrabutylammonium hydroxide, Sardine

# スイセンによる食中毒について

#### 山本明美 柴田めぐみ

スイセンには、ヒガンバナ科アルカロイドの一種であるリコリンやガランタミンが含まれることが知られているが、スイセンによる食中毒でリコリンが検出されない事例があった。品種により有毒成分の組成や含有量に違いがあるかをメタノール抽出法による LC-MS/MS 法でリコリン、ガランタミン、ガランタミノンを分析して確認したところ、リコリンが検出されない品種やガランタミンがリコリンより多い品種が見られ、有毒成分の含有量は品種により大きく異なった。また、このアルカロイドは水溶解性が高く、調理により汁への移行が大きいことを確認した。ガランタミンはリコリンより急性毒性が強く抗コリンエステラーゼ作用も持つことから、スイセンによる食中毒ではリコリンだけでなくガランタミンにも注目する必要がある。

Key words: Narcissus, Amaryllidaceae alkaloid, LC-MS/MS, Lycorine, Galanthamine

#### 1. はじめに

自然毒を原因とする食中毒の発生件数は、細菌性およびウイルス性の食中毒と比べると少ないが、症状が重篤化し死に至る事例は少なくない。自然毒食中毒の中でも近年、スイセン、イヌサフラン、グロリオサおよびクワズイモなどの園芸植物による事例が目立つようになった。特にスイセンは発生件数が増加しており1)、家庭内または学校内で混植していたスイセンをニラと誤認し、喫食したことによる食中毒が報告されている。厚労省の統計\*1によると、過去10年間の有毒植物による食中毒発生状況(平成21年~30年)での事件数は48件と最も多く、青森県では平成28年度および29年度に1件ずつ報告されている。平成28年度には北海道で死亡者が報告される2)など、周知と注意喚起が必要な食中毒である。

スイセンは、ユリ目 Liliales、ヒガンバナ科 Amaryllidaceae、スイセン属 *Narcissus*(厚労省 HP による)の園芸植物で、ギリシャ神話にも登場するほど古い歴史をもっている。ヨーロッパにおいて古くから品種改良が進められ、現在、英国王立

\*1 有毒植物による食中毒に注意しましょう http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bu nya/kenkou\_iryou/shokuhin/yuudoku/index.h tml 園芸協会には1万を超す数の品種が登録されている。これらの品種はその原種および花の形、色、草姿などから12群に分類されている3)(Table 1)。

青森県では平成 28 年度から自然毒が疑われる 食中毒事例において LC-MS/MS による定性試験 を実施している。スイセンは全草に有毒成分とし て、リコリン、ガランタミンなどのヒガンバナ科 アルカロイドを含むことが知られており、筆者ら は食中毒発生時にはリコリン、ガランタミン、ガ ランタミノンをターゲットとし分析している。こ れらの構造式を Fig.1 に示す。

一般的にスイセンによる食中毒の主要な原因物質としてリコリンが知られており、分析事例の報告も多い 4-8)。しかし、平成 29 年度に青森県で発生した食中毒事例では、スイセンと疑われた植物片からリコリンは検出されず、ガランタミンおよびガランタミノンのみが検出され、スイセンの品種によってはリコリンを含まないものがあることが示唆された。

そこで、スイセンの品種によるアルカロイド組成の違いについて検討するために、家庭で栽培されていたスイセン 10 株を対象に、LC-MS/MS によるアルカロイド分析を実施した。

また、食中毒発生要因として、葉はニラと誤食され、味噌汁、おひたし、卵とじ、油炒め等、様々

Table 1 スイセン属 [Narcissus] の園芸分類と主要な園芸品種

	部門	部門の特徴	主要な園芸品種
1	ラッパズイセン (Trumpet narcissi or daffodils)	1茎1花。副花冠が花被片と同長か、それより長いもの。	エンペラー、キング・アルフレッド、マウン ト・フッド
2	大杯スイセン (Large-cupped narcissi)	1茎1花。副花冠が花被片の1/3以上であるが、花被片より短いもの。	カールトン、ゴールウェイ、フォーチュン
3	小杯スイセン (Small-cupped narcissi)	1茎1花。副花冠が、長くても花被片の 1/3であるもの。	チャングキング、オードゥボン、ロッコー ル、マーリン
4	八重咲きスイセン (Double daffodils)		タヒチ、アクロポリス
5	トライアンドラス・スイセン (Triandrus daffodils)	N.triandrus の特徴を持つもの。	サライア、トレサンブル、ニベス、ハーモ ニー・ベルズ
6	シクラミニウス・スイセン (Cyclamineus narcissi)	N.cyclamineusの特徴を持つもの。	ジェニー、テイタテイト
7	ジョンキラ・スイセン (Jonquilla narcissi)	キズイセン[ <i>N.jonquilla</i> ]の特徴を持つも の。	ベル・ソング、スージー、ベル・ソング
8	房咲きスイセン (Tazetta narcissi)	フサザキスイセン[ <i>N.tazetta</i> ]の特徴を持つ もの。	グラン・ソレイユ・ドール、ゼラニウム
9	口紅スイセン (Poeticus narcissi)	ほかの種の混ざらないクチベニズイセン [ <i>N.poeticus</i> ]の特徴を持つもの。	ミラン、アクタエア
10	野生種 (Species and wild forms and wild hybrids)	種、野生種のフォーム、野生の雑種。	
11	スプリットコロナ・スイセン (Split-corona narcissi)	副花冠が1/3以上裂けるもの。	オリンジェリー
12	その他のスイセン (Miscellaneous narcissi)	前記のどの部門にも属さないもの。	ジェサミー

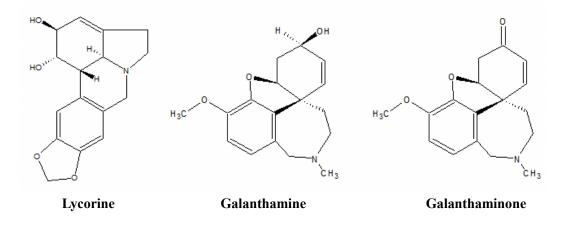


Fig. 1 Chemical structures of lycorine, galanthamine and galanthaminone

な調理法が報告されている<sup>49</sup>。上述の食中毒事例における食品残品(味噌汁の具のみ)を分析したところ、アルカロイド成分濃度は低く、味噌汁の液体に溶出したことが示唆されたため、調理によるアルカロイド成分の残存性について検討した。リコリン、ガランタミンとも水溶性であるため、おひたしおよび味噌汁を調製し、汁への移行を確認した。また、油炒めを想定して調理したものを分析し、調理による有毒成分の残存率を検討したので報告する。

# 2. 実験方法

#### 2. 1 試料

【保健所提供品】

試料1:平成28年度食中毒検体

試料 2: 平成 29 年度食中毒検体

#### 【園芸種】

試料3~12:元職員宅の庭(青森県黒石市)で栽培 していた開花時期(4月末から5月上旬)の園芸種 10種(別添資料参照)

保健所提供品は、調理せずに残されていた残品を 使用した。

採取した園芸種のスイセンは、採取日に水洗し、写真撮影後、花を除いた茎と葉(以下、葉とする)と鱗茎(ひげ根は除く)に分け、それぞれ包丁で 5 mm 程度に細切して試料とし、−20℃で冷凍したものを使用した。

葉はニラと誤認されることから、対照として市販 のニラを用いた。

#### 2. 2 試薬

リコリン標準品: リコリン塩酸塩 (フナコシ(株)製、M.W.323.77)

ガランタミン標準品:ガランタミン臭化水素酸塩 (東京化成工業(株)製、M.W.368.27)

ガランタミノン標準品: ガランタミノン (富士フイルム和光純薬 (株)製、M.W.285.34)

その他の試薬等:メタノールは関東化学(株)製、水は富士フイルム和光純薬(株)製のLC/MSグレード、ギ酸アンモニウムは富士フイルム和光純薬 (株)製の特級、ろ紙は(有)桐山製作所製 5C ろ紙、精製カラムは Waters 社製 Oasis HLB 60 mg/3 cc、試験溶液のろ過フィルターは Whatman 製 PVDF シリンジフィルター0.2  $\mu$ m を使用した。

#### 2. 3 標準溶液

リコリン標準原液(500  $\mu$ g/mL)は、リコリン標準品 5.7 mg をメタノールで溶解し 10 mL に定容した。

ガランタミン標準原液  $(500 \mu g/mL)$  は、ガランタミン標準品 6.4 mg をメタノールで溶解し 10 mL に定容した。

ガランタミノン標準原液(200  $\mu$ g/mL)は、ガランタミノン標準品 1.0 mg をメタノールで溶解し 5 mL に定容した。

混合標準溶液は、リコリン、ガランタミンおよびガランタミノン標準原液を混合し、メタノールで溶解し 100 ng/mL 混合標準溶液を調製した。これを $0.1\sim50 \text{ ng/mL}$  の濃度系列となるようにメタノールで希釈し、検量線を作成した。

#### 2. 4 装置および測定条件

高速液体クロマトグラフ: ACQUITY UPLC I-Class (Waters 社)

タンデム質量分析装置: Xevo TQ-S micro (Waters 社)

LC-MS/MS 測定条件を Table 2 に示す。

Table 2 LC-MS/MS operating condition

	•	•								
LC conditions										
Column	Scherzo SM C18 (2.0 mm i.d. $\times$ 50 mm, 3 $\mu$ m, Imtakt )									
Mobile phase	A: 10 mmol/L ammonium formate in water									
	B: methanol	B: methanol								
Linear gradient elute	A%(min) : 85 9	$A\%(min) \; : 85 \; \%(0\text{-}1.5 \; min) \to 10 \; \%(8\text{-}11 \; min) \to 85 \; \%(11\text{-}11 \; min) \to 10 \; \%(11) \; min \to 10 \; min \to 1$								
	13 min)									
Flow rate	0.25 mL/min									
Injection volume	2 μL									
Column temperature	40 °C									
Total run time	13 min									
MS conditions										
Ionization mode	ESI (Positive n	node)								
Source temperature	120 °C									
Desolvation gas	N <sub>2</sub> (350 °C, 90	00 L/hr)								
Cone gas	N <sub>2</sub> (50 L/hr)									
Collision gas	Ar									
SRM transition										
Lycorine	Q1/Q3(m/z)	288/147	288/119	288/270						
	DP(V)	30	30	30						
	CE(eV)	30	35	20						
Galanthamine	Q1/Q3(m/z)	288/213	288/198	288/231						
	DP(V)	30	30	30						
	CE(eV)	25	35	20						
Galantaminone	Q1/Q3(m/z)	286/229	286/225	286/201						
	DP(V)	30	30	30						
	CE(eV)	20	20	25						

#### 2.5 試験溶液の調製方法

# 2. 5. 1 品種による有毒成分の組成および含有量 の違い

和歌山県環境衛生研究センターの久野ら <sup>10)</sup> の迅速分析法を用いて、スイセンの品種による有毒成分組成および含有量の検討を行った。

試料としたスイセンの葉および鱗茎各1gにメタノール30 mLを加えホモジナイズ (10000 rpm、2分間) し、5C ろ紙でろ過した。メタノールで30 mLに定容(抽出原液)後、葉は抽出原液をメタノールで5倍希釈、鱗茎は20倍希釈した試験溶液をフィルターろ過し LC-MS/MS で分析した。フローをFig.2に示す。

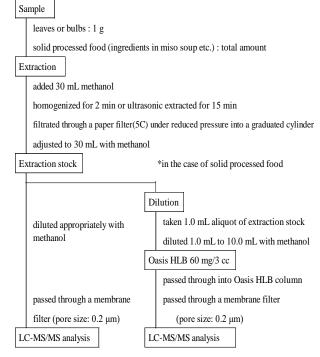


Fig. 2 Analytical procedure of plant toxin (plant pieces and solid processed food)

#### 2. 5. 2 調理による有毒成分の残存率の違い

試料には、2.5.1で成分組成を検討した結果より 葉からリコリンが検出されなかった試料2、リコリン含有量が非常に多かった試料3、リコリンとガランタミンのどちらも多かった試料10の葉を用いた。 調理方法として、水への溶出量および有毒成分の分解を確認するためおひたしおよび味噌汁を、油を加えて加熱したことによる分解を確認するため油炒めを選定した。

おひたしおよび味噌汁は、ビーカーに蒸留水を  $150 \, \text{mL}$  (味噌汁の場合は味噌も  $14 \, \text{g}$  加える) 加えて  $250 \, \text{C}$  のホットプレートで加温し、水の対流が見られるようになったら葉を  $3 \, \text{g}$  加えて  $3 \, \text{分間加熱}$  (沸騰なし) または  $10 \, \text{分加熱}$  (沸騰あり) して調製した。

5C ろ紙で吸引ろ過して具(葉と味噌)と汁に分けそれぞれを試料とした。具は、重量を秤量後、全量を 2.5.1 で示した葉および鱗茎と同様の方法で抽出し、抽出原液 1 mL を Oasis HLB で精製し LC-

MS/MS 分析した (Fig.2)。 汁は、液量を確認し、5mL を Oasis HLB で精製し LC-MS/MS で分析した (Fig.3)。

油炒めは、葉を 2.5 g 秤量し、植物油 1 g を加え 250  $\mathbb{C}$ のホットプレートで 1 分加熱し調製した。

ペーパータオルで油を除去し、重量を秤量後、全量を味噌汁具と同様に抽出、精製し LC-MS/MS で分析した(Fig.2)。

#### Sample

liquid processed food (boiling water, miso soup etc.): 5 mL

#### Oasis HLB 60 mg/3 cc

previously equilibarated with 5 mL methanol and 5 mL water loaded 5 mL sample

loaded 5 mL sample
passed through 5 mL-10% methanol to wash the column

passed through a membrane filter

eluted with 5.0 mL methanol into a test tube

(pore size: 0.2 µm)

#### LC-MS/MS analysis

Fig. 3 Analytical procedure of plant toxin (liquid processed food)

#### 3. 結果

#### 3.1 検量線の直線性

混合標準溶液を $0.1\sim50$  ng/mLの濃度系列となるようにメタノールで希釈し、検量線を作成したところ、すべての成分で  $r^2=0.995$  以上の良好な直線が得られた。

標準品の SRM クロマトグラムを Fig.4 に示した。

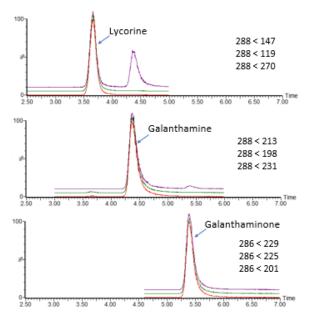


Fig. 4 Chromatograms of standard solutions

#### 3. 2 品種による有毒成分の違い

Table 3 に葉および鱗茎の定量結果 (各 n=1, 試料 2 および試料 10 の葉は n=5,試料 3 の葉は n=2 の平均) を示した。 $0.1 \mu g/g$  未満は N.D.とした。

分析の結果、品種により有毒成分が異なった。メタノール抽出では葉からリコリンが検出されない品種が3種(試料2、試料8、試料11)あった。しかし、試料8と試料11では鱗茎でリコリンが検出された。また、リコリンよりガランタミンを多く含有する品種が7種あった。反対に、試料12のようにガランタミンが検出されない品種も存在した。

含有している成分と量は、葉と鱗茎でおおむね相 関が見られ、葉と鱗茎を比較した場合、鱗茎の方が 数倍から数百倍有毒成分の含有量が高かった。

有毒成分の含有量は、葉ではリコリン  $0.1\sim390$   $\mu g/g$ 、ガランタミン  $0.4\sim260$   $\mu g/g$ 、ガランタミノン  $0.1\sim23$   $\mu g/g$  と品種により大きく異なった。ガランタミノンはガランタミンの代謝物と考えられたが、試料 9 のようにガランタミンと同程度の含有量があるものもあった。

今回の検討ではスイセンの品種が特定できな

かったため、分類された12群で有毒成分に違いがあるのかは確認できなかった。

#### 3. 3 調理による有毒成分の残存率

#### 3. 3. 1 ボイルによる残存率

Table 4 に葉 3g を 3 分間ボイルした場合と 10 分間ボイルした場合の、具と汁に残存した有毒成分(生葉として 3g 中に含まれる量)を示した。生葉の結果は、同日に同一検体を用いて分析した結果を示した。なお、検体量の都合により、試料 3 では10 分間ボイルは実施しなかった。

実験の結果、生葉に含まれる量と具と汁の合計 量はほぼ等しく、リコリン、ガランタミン、ガラン タミノンともボイルしても分解されない物質であ り、水への移行率も高いことがわかった。

ボイルによる損失がないと仮定した場合、具と 汁の合計量を100%とすると、リコリンは58~97%、 ガランタミンは53~97%、ガランタミノンは61~ 92%が汁中へ移行した。また、水でボイルした場合 と味噌汁中でボイルした場合の水への移行率はほ ぼ同じであった。

Table 3 Amaryllidaceae alkaloid contents of leaves and bulbs in Narcissus.

	Concentrations (μg/g)									
		Leaves			Bulbs					
	Lycorine	Galanthamine	Galanthaminone	Lycorine	Galanthamine	Galanthaminone				
Sample1	1.0	0.9	N.D.	45	240	2.1				
Sample2	$N.D.*^1$	$9.8 \pm 0.56^{*1}$	$0.4 \pm 0.05^{*1}$	N.D.	590	5.5				
Sample3	$390 \pm 65^{*2}$	$0.4 \pm 0.08^{*2}$	$0.1 \pm 0.09^{*2}$	380	1.2	0.5				
Sample4	120	48	2.5	340	220	3.4				
Sample5	0.1	0.5	0.3	0.3	1.8	1.2				
Sample6	0.1	28	0.3	0.3	57	1.0				
Sample7	1.8	260	2.4	15	240	1.7				
Sample8	N.D.	1.2	1.9	0.4	3.2	5.7				
Sample9	0.1	21	23	0.1	82	57				
Sample10	$57 \pm 9.2^{*1}$	$45\pm11^{*1}$	$1.5 \pm 0.36^{*1}$	180	120	3.5				
Sample11	N.D.	92	0.9	1.1	73	1.4				
Sample12	0.3	N.D.	0.1	18	N.D.	1.2				
Control (Leek)	N.D.	N.D.	N.D.	_	_	_				

<sup>\*1</sup> Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=5), \*2 values are the mean  $\pm$  S.D. (n=2), other values are obtained by one experiment, respectively.

Sample1: The food poisoning specimen in 2016

Sample3-12: Garden species

Sample 2: The food poisoning specimen in 2017

N.D.  $\leq$  0.1  $\mu g/g$ 

Table 4 Amaryllidaceae alkaloid contents of boiled *Narcissus* leaves, boiling water and miso soup

			Contents in 3 g of	fresh leaves (με	g)	
Parts	J	Boiled for 3 minu	tes	F	Boiled for 10 minu	ites
	Lycorine	Galanthamine	Galanthaminone	Lycorine	Galanthamine	Galanthaminone
Sample2						
Fresh leaves	N.D.	26	1.0	N.D.	31	1.3
Boiled leaves	N.D.	12	0.4	N.D.	4.1	0.2
Boiling water	N.D.	14	0.7	N.D.	23	0.8
Boiled leaves	N.D.*1	$7.0 \pm 0.42^{*1}$	$0.2 \pm 0.02^{*1}$	N.D.*2	$2.8 \pm 0.53^{*2}$	$0.1 \pm 0.01^{*2}$
Boiling miso soup	$\mathrm{N.D.}^{*1}$	$16 \pm 0.9^{*1}$	$0.6 \pm 0.01^{*1}$	$\text{N.D.}^{*2}$	$22 \pm 2.1^{*2}$	$0.8 \pm 0.06^{*2}$
Sample3						
Fresh leaves	1040	0.9	0.3	_	_	_
Boiled leaves	205	0.1	0.1	_	_	_
Boiling water	622	0.9	0.4	_	_	_
Boiled leaves	$154 \pm 130^{*1}$	$0.1 \pm 0.08^{*1}$	$0.1 \pm 0.03^{*1}$	_	_	_
Boiling miso soup	$622 \pm 8.9^{*1}$	$0.7 \pm 0.01^{*1}$	$0.4 \pm 0.04^{*1}$	_	_	_
Sample10						
Fresh leaves	180	106	3.4	$177 \pm 34^{*2}$	$151 \pm 33^{*2}$	$5.0 \pm 1.2^{*2}$
Boiled leaves	71	25	0.9	9.5	6	0.3
Boiling water	106	53	1.6	131	102	2.6
Boiled leaves	$73 \pm 15^{*1}$	$28 \pm 4.9^{*1}$	$0.9 \pm 0.09^{*1}$	$5.9 \pm 1.2^{*2}$	$3.6 \pm 0.60^{*2}$	$0.2 \pm 0.02^{*2}$
Boiling miso soup	$102 \pm 19^{*1}$	$49 \pm 10^{*1}$	$1.4 \pm 0.43^{*1}$	$164 \pm 31^{*2}$	$126 \pm 25^{*2}$	$2.8 \pm 0.46^{*2}$

<sup>\*1</sup> Values are the mean  $\pm$  S.D. (n=2), \*2 values are the mean  $\pm$  S.D. (n=3), others values are obtained in one experiment, respectively.

 $N.D. < 0.1 \ \mu g$ 

Table 5 Amaryllidaceae alkaloids contents of fried Narcissus leaves on salad oil

	Contents in 1 g of fresh leaves (µg)							
Parts	Fried for 1 minute at 250 $^{\circ}\mathrm{C}$							
	Lycorine	Galanthamine	Galanthaminone					
Sample2								
Fresh leaves	N.D.	8.7	0.3					
Fried leaves	$0.24 \pm 0.02$	$7.4 \pm 0.1$	$0.31 \pm 0.02$					
Sample3								
Fresh leaves	348	0.3	0.1					
Fried leaves	$304 \pm 3$	$0.25 \pm 0.02$	$0.12 \pm 0.01$					
Sample10								
Fresh leaves	60	35	1.0					
Fried leaves	$67 \pm 2$	$35 \pm 2$	$1.0 \pm 0.05$					

The contents in fresh leaves are obtained by one experiment, respectively.

The contents in fried leaves are indicated by the mean  $\pm$  S.D. (n=2).

 $N.D. < \ 0.1 \ \mu g/g$ 

試料 2 は平成 29 年度の食中毒検体であり、本検討で実施した 10 分間加熱した場合の味噌汁具に含まれるガランタミンおよびガランタミノンの量は、食中毒時に試料として持ち込まれた際の調理品残品(味噌汁具)の結果(ガランタミン  $0.86\,\mu g/g$ 、ガランタミノン  $0.02\,\mu g/g$ )とおおむね一致していた。当該事例では葉を山盛りに投入して味噌汁としたとのことから、ニラ 1 把分程度と仮定し、葉  $100\,g$ を入れた味噌汁を 1 L 作り 1 人が  $200\,m$ L 飲んだと仮定すると、その有毒成分の多くは汁から摂取したものであり、ガランタミン  $196\,\mu g$ 、ガランタミノン  $8\,\mu g$  を摂取したと考えられる。

#### 3. 3. 2 油炒めによる残存率

葉 2.5 g に植物油 1g を加えて加熱し、ペーパータオルで油を除去した全量中に含まれる有毒成分を 1 g 中に換算し Table 5 に示した。生葉の結果は、同日に同一検体を用いて分析した結果を示した。

油を加え高温で炒めても、有毒成分は分解することなくほぼ全量残存していた。

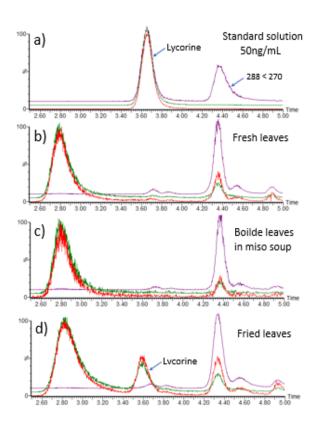


Fig. 5 Chromatograms of (a) Lycorine standard solution (50 ng/mL), and of sample 2 (b: fresh leaves, c: boiled leaves in miso soup, d: fried leaves)

試料2は、生葉に水を加えた加熱調理ではリコリンは検出されなかったが、油を加えた加熱調理ではリコリンが検出された。この試料は、リコリンのリテンションタイムより少し早い時間にリコリンと同じトランジッション(288<147、288<119)を持つピークが観測されていたことから、リコリンが類縁体の形で存在しており、油と熱を加えることでリコリンに変化したものと考えられる。

試料2のリコリンのクロマトグラムをFig.5に示した。

#### 4. 考察

本研究の結果、スイセンにはリコリンが検出されない品種もあることがわかった。類縁体の形で存在しているリコリンは、メタノール抽出だけでは確認できない可能性も示唆された。また、ガランタミンを含まない品種も存在した。これら有毒成分の含有量も大きく異なったが、品種のみによるものか地域性によっても違いがみられるのかは不明である。

ヒガンバナ科の植物は、スイセンの他にもタマスダレ、スノーフレーク、ヒガンバナなど毒を持つものが多く、俗にアマリリスと呼ばれているHippeastrum属では生体内代謝がよく研究されており、Norbelladineを前駆体としてリコリン、ホモリコリンになるもの、ガランタミンになるもの、Haemanthamineになるものがあり、さらにCrinine、Tazettine、Montanine、Narciclasineに変換する<sup>11)</sup>。これらの骨格を持つものはそれぞれ類縁体も数多く報告されている<sup>11)</sup>。スイセンも同じヒガンバナ科の植物であるため、これらを含む可能性は否定できない。

リコリンには催吐作用<sup>12)</sup>があり、マウス経口LD50 は10.7 g/kg<sup>13)</sup>であるため、喫食により死亡する確率は低いと考えられるが、ガランタミンのラット経口LD50は75 mg/kg(ガランタミン臭化水素酸塩)<sup>13)</sup>でありリコリンに比べて毒性が強い。また、ガランタミンは抗コリンエステラーゼ作用があり中枢作用も有する<sup>12)</sup>。北海道の死亡事例<sup>2)</sup>ではガランタミンが検出されており、岩手医科大から報告のあった死亡事例<sup>14)</sup>でもガランタミンを多量に含む鱗茎を喫食していた。これらのことから、スイセンの食中毒事例においては、リコリンだけでなくガランタミンにも注意して分析すべきことが示唆される。

また、リコリン、ガランタミンとも汁への移行率が非常に高かった。リコリンは水で抽出した分析法<sup>8) 15)</sup> も報告されており、また、ガランタミンの水に対する溶解度は33 mg/mL<sup>16)</sup>と非常に高い。今回、メタノールによる抽出を実施したが、ガランタミンの

メタノールに対する溶解度は5.3 mg/mL<sup>16)</sup>であることから、スイセン中のガランタミンの実際の含有量はもっと高濃度である可能性も示唆された。このことから、味噌汁のように汁ごと食して中毒となった場合には、食中毒時の聴き取りにおいて、汁をどのくらい摂取したかを確認することが重要と考えられる。

ガランタミンはアルツハイマー型認知症治療剤 レミニール®としても使用されており、高齢者や腎 機能や肝機能が低下している場合には排泄が遅延 し、体内に蓄積することが報告されている<sup>16)</sup>。ガラ ンタミンを主成分としたスイセンを誤食した場合、 喫食者の腎機能や肝機能の状態によっては排泄遅 延により死亡することも考えられることから、医師 への情報提供が必要と思われる。

#### 謝 辞

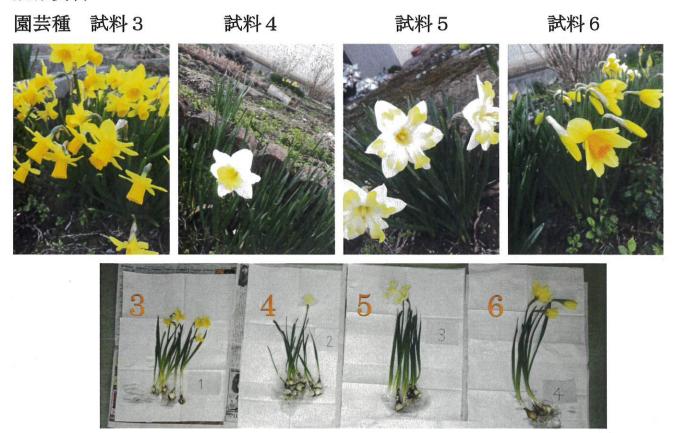
本研究の遂行に当たり、園芸用スイセンを提供していただきました佐藤裕久氏、スイセンの植物学的分類について御協力いただきました東青地域県民局地域農林水産部農業普及振興室の山内俊範氏および地方独立行政法人青森県産業技術センター農林総合研究所花き・園芸部の加藤直幹氏に深く感謝いたします。

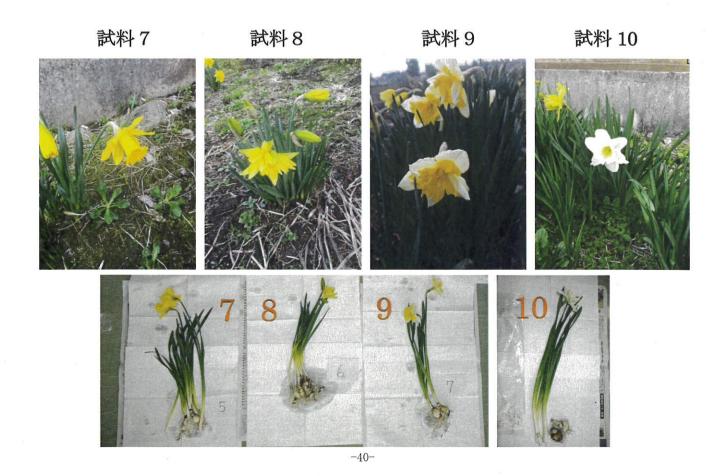
#### 引用文献

- 1) 登田美桜他:過去 50 年間のわが国の高等植物に よる食中毒事例の傾向. 食品衛生学雑誌 (Food Hyg. Saf. Sci.), 55, 55-63, 2014
- 2) スイセンによる食中毒. 食品衛生学雑誌(Food Hyg. Saf. Sci.), **58**, J-45-J-46, 2017
- 3) 園芸植物大事典[コンパクト版], 1196-1206, 小学館, 東京, 1994 (ISBN 4093051119)
- 4) 上田泰人他: スイセンの LC/MS/MS 分析について. 神戸市環境保健研究所所報、36,60-61,2008
- 5) 坂本智徳他: HILIC-MS/MS によるヒガンバナ科 植物中のリコリンおよびガランタミンの分析. 福岡市保健環境研究所所報, **35**, 89-92, 2009
- 6) 仙代真知子他: 調理済み食品からのヒガンバナ科 植物アルカロイドの分析手法の検討. 山口県環境保 健センター所報, **54**, 52-54, 2011

- 7) 浦山豊弘他: LC/MS/MS を用いた自然毒の迅速 分析法の検討 (1) 植物毒リコリンの迅速分析. 岡山 県環境保健センター年報, **37**, 125-128, 2013
- 8) 後藤智美他:食中毒の原因物質となる植物性自然毒 (リコリン,コンバラトキシン)の同時分析法,愛知県衛生研究所報,65,31-38,2015
- 9) 木村圭介他: 化学物質及び自然毒による食中毒及び有症苦情事件例(平成26年). 東京都健康安全研究センター年報,66,165-170,2015
- 10) 久野恵子他:健康危機管理に対応した自然毒ー 斉分析法の検討―有毒植物および毒きのこ 19 成分 ―. 第 48 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 118-119, 2011
- 11) Jean Paulo de Andrade et al.: Alkaloids from the Hippeastrum genus: chemistry and biological activity. Rev. Latinoamer. Quim., 40, 83-98 (2012).
- 12) 内藤裕史: 中毒百科—事例・病態・治療 改訂第 2 版. 526-527, 南江堂, 東京, 2001 (ISBN 4-524-20778-3)
- 13) 公益財団法人日本中毒情報センター保健師・薬 剤師・看護師向け中毒情報,ヒガンバナ科植物, Ver.1.00, 2009
- 14) 新津ひさえ他:スイセンの誤食後に死亡した一 剖検例. 法医学の実際と研究 (Res.Pract.Forens.Med.), **60**, 47-53, 2017
- 15) 杉浦潤他:調理食品中のリコリンおよびガランタミン分析における凝集剤の適用. 食品衛生学雑誌 (Food Hyg. Saf. Sci.), **56**, 108-113, 2015
- 16) 医薬品インタビューフォーム, アルツハイマー型認知症治療剤 レミニール®錠, レミニール®OD錠, レミニール®内用液, 2016, 第8版

# 別添資料





試料 11
 試料 12
 参考) ニラ
 葉の断面図
 スイセン
 ウスイセン
 ウスクロン
 ウスクロン
 ウスクロン
 ウスクセン
 ウスクロン
 <l

# Food poisoning from Narcissus

#### Akemi Yamamoto, Megumi Shibata

Narcissus is known to contain a type of Amaryllidaceae alkaloid (lycorine and galantamine); however, lycorine was not detected in a case of food poisoning caused by Narcissus. Investigation on whether there were differences in compositions or contents of toxic components among varieties was conducted using LC-MS/MS; methanol extraction method; and lycorine, galantamine, and galanthaminone analysis, which revealed that lycorine was not detected or more galantamine than lycorine was detected in some varieties. The contents of toxic components greatly differed depending on varieties. Furthermore, the alkaloid was confirmed to have high water solubility and remarkably transfer to soup through cooking. Because galantamine has stronger acute toxicity than lycorine and even anticholinesterase action, attention should be paid to not only lycorine but also galantamine in food poisoning caused by Narcissus.

Key words: Narcissus, Amaryllidaceae alkaloid, LC-MS/MS, Lycorine, Galantamine

# 有害大気汚染物質モニタリング調査におけるヒ素の高濃度事例 - 弘前市立第一中学校局におけるモニタリングデータ -

対馬典子 内海宣俊 北畠 茂

平成29年度から有害大気汚染物質モニタリング調査を実施している弘前市立第一中学校局において、令和元年10月にヒ素及びその化合物が指針値を超過した。他の測定項目との関連性等について考察した結果、ヒ素濃度が上昇したのは稲わら焼却が影響しているものと推測された。

Key words: Arsenic, Hazardous air pollutants monitoring, ICP-MS, Rice straw incineration, Yellow sand

#### 1. はじめに

本県では大気汚染防止法に基づき平成 9 年 10 月から有害大気汚染物質モニタリング調査(以下、有害大気モニタリング)を開始し、平成 29 年度からは弘前市立第一中学校局(以下、一中局)を加えた 5 地点において、環境省、青森市、八戸市及び青森県がモニタリングを実施しており、昨年度、優先取組物質の基礎的考察について報告した1)。

令和元年 10 月の一中局での有害大気モニタリングにおいて、ヒ素及びその化合物(以下、As)が 10 ng/m³ と単発ではあるが指針値 6 ng/m³ (年平均値で評価)を超過した事例が発生したことを踏まえ、今回、平成 29 年度からのモニタリングデータの中で、本事例も含め As 濃度が 5 ng/m³ を超えた 3 事例について若干の考察を加え紹介する。

#### 2. 一中局について

一中局はJR 弘前駅北西 1km 程に位置し、土淵川がすぐ西側を流れ、同局の西 500 m 程には弘前公園が位置している。

なお、PRTR 届出データによると、県内における As に関する大気中排出事業場は八戸地域の1事業場(非鉄金属製造業)のみであり(平成29、30年度)、一中局の付近にAs の発生源となる事業場はない。

#### 3. 県内の As 濃度レベル

有害大気モニタリングを実施している 5 地点の うち、As をモニタリングしている 4 地点(図 1) の平成 20~29 年度の年平均値の経年変化を図 2



図1 県内 As モニタリング地点

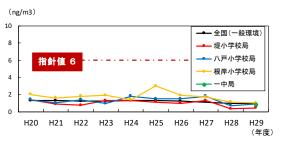


図 2 As の年平均値経年変化

表 1 平成 29 年度 県内の As モニタリング結果 (平成 31 年 3 月環境省公表)

		年間平均値		
測定地点名	調査区分	(最小値~最大値)		
		$(ng/m^3)$		
堤小学校局(青森市)	一般環境	$0.42 \ (0.044 \sim 1.7)$		
八戸小学校局 (八戸市)	一般環境	0.90 (0.18 ~ 2.6)		
根岸小学校局 (八戸市)	固定発生源周辺	1.0 (0.24 ~ 2.7)		
一中局(弘前市)	一般環境	$0.81 \ (0.27 \sim 1.8)$		

に示す。4 地点ともに指針値 6 ng/m³を下回り、近年は地点間の大きな格差はなく推移している。

平成 29 年度のデータを表 1 に示す。一中局を含む一般環境 3 地点の年間平均値は、いずれも全国平均値(一般環境) 0.97 ng/m³ と比べ低い値であった。

#### 4. As 高濃度事例

一中局において As 濃度が  $5 \text{ ng/m}^3$  を超えた 3 事 例(図 3) は、以下のとおりである。

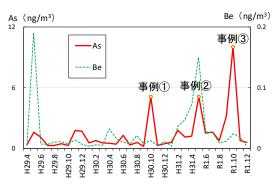


図3 一中局の As、Be 濃度 (平成29年4月~令和元年12月)

【事例①】平成30年10月3~4日(5.1 ng/m³) As 以外は特筆すべき事項は無かった。

【事例②】令和元年 5 月 8~9 日 (5.1 ng/m³)

As の他、ベリリウム及びその化合物(Be)及び粉じん濃度が高い値であった(図4)。

なお、Be は  $0.15 \text{ ng/m}^3$  であり、平成 29 年 5 月 の  $0.19 \text{ ng/m}^3$  と同様、平常時の濃度を大きく上回った(図 3)。

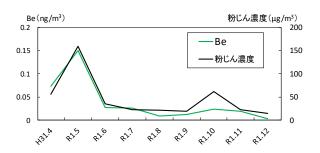


図 4 一中局の Be 及び粉じん濃度 (平成 31 年 4 月~令和元年 12 月)

なお、比較のため、平成 31 年 4 月と令和元年 5 月の調査において粉じんをサンプリングした石 英繊維ろ紙の写真を図 5 に示す。サンプリングは

ハイボリウムエアサンプラーを用い、1,100 L/min の流量で 24 時間吸引した。粉じん濃度は、平成 31 年 4 月が 55  $\mu g/m^3$ 、令和元年 5 月が 159  $\mu g/m^3$ であった。



図 5 石英繊維ろ紙上の粉じんの捕集状況 (左: H31.4、右: R1.5)

【事例③】令和元年 10 月 2~3 日 (10 ng/m³)

As と連動しアルデヒド類も高い値を示した (図 6)。また、一中局では大気汚染常時監視を実施しており、有害大気モニタリングのサンプリングを行った時間 ( $10/2\,11:00\sim10/3\,11:00$ ) の浮遊粒子状物質 (以下、SPM) 濃度の 1 時間値の平均値は 42  $\mu g/m^3$  であり、平常時の値と比べ高い値を示した(図 6)。なお、サンプリングを行った 10 月  $2\sim3$  日は、一中局の周囲では稲わら焼却による影響が顕著に感じられた(5.3 において後述)。

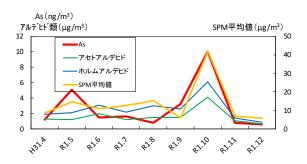


図 6 一中局の As、アルデヒド類及び SPM 濃度 (平成 31 年 4 月~令和元年 12 月)

表 2 ICP-MS による半定量分析結果

(単位: ng/L)

		7 Li	9 Be	11 B	23 Na	27 AI	31 P	34 S	35 CI	39 K	43 Ca	45 Sc	47 Ti	51 V	52 Cr
H30.11	比較対照	0.2	ND	4	4759	2021	82	2189	35	755	79	0.05	20	7	8
H30.10	事例①	1.3	ND	17	6956	4229	178	3294	71	1848	132	0.09	36	12	7
H29.5	黄砂の影響推察	22.5	1.1	17	14192	24886	1059	2442	200	8288	343	0.16	561	105	35
R1.5	事例②	25.1	0.9	49	28029	8683	872	9630	283	10994	942	0.12	486	105	43
R1.10	事例③	3.2	ND	49	1961	6123	251	10258	47	6584	227	0.16	60	21	9
		55 Mn	56 Fe	59 Co	60 Ni	63 Cu	66 Zn	69 Ga	75 As	79 Br	85 Rb	88 Sr	90 Zr	93 Nb	107 Ag
H30.11	比較対照	27	1195	0.6	6.8	27	105	13	2	8	2	10	8	0.2	0.10
H30.10	事例①	67	2426	0.9	7.9	30	131	17	42	19	5	18	19	0.5	0.15
H29.5	黄砂の影響推察	714	30139	10.9	17.9	73	339	96	12	15	16	123	115	7.3	1.18
R1.5	事例②	741	24502	10.5	24.7	77	410	103	39	28	49	157	114	7.5	0.28
R1.10	事例③	135	4017	1.6	8.1	88	266	23	75	51	9	20	15	0.7	0.33
		111 Cd	115 In	118 Sn	127 I	133 Cs	137 Ba	140 Ce	178 Hf	181 Ta	182 W	202 Hg	205 TI	208 Pb	209 Bi
H30.11	比較対照	0.2	0.03	2.3	2.4	0.1	48	1.6	0.38	0.02	0.12	0.02	0.07	19	0.20
H30.10	事例①	0.7	0.03	3.0	5.1	0.4	64	3.2	0.75	0.07	0.23	0.03	0.13	25	1.51
H29.5	黄砂の影響推察	1.1	0.12	6.4	5.7	2.8	332	8.1	3.46	0.64	1.71	0.14	0.43	65	1.05
R1.5	事例②	2.4	0.19	6.4	1.8	3.6	316	26.5	2.99	0.59	2.53	0.13	0.74	103	2.34
R1.10	事例③	4.4	0.08	4.8	16.4	0.6	66	4.9	0.32	0.07	0.73	0.12	0.40	139	2.30

#### 5. 考察

#### 5. 1 ICP-MS による半定量分析

有害大気モニタリングでは重金属類として、As、 Be、Mn、Ni、Cr 及び Hg の 6 項目について定量分 析を行っている。半定量分析による結果はあくま で概略濃度であり、特にブランクのバックグラウ ンドが高い元素の場合は真値と大きくずれる可能 性も高く、主に定量分析の予備情報として利用す るものであるが、今回の3事例に関し他の組成に も着目するため、Agilent ICP-MS 7900 での半定量 分析を行い、試料中に含まれる元素の概略濃度を 求めた。また、平成30年11月1~2日の検体(比 較対照)、及び本県において平成29年5月7~8日 に観測された黄砂の影響があったと推測される同 年 5 月 9~10 日の検体(5.2 において後述)につ いても同様に分析を行った。捕集フィルタを圧力 容器法で酸分解、濃縮後、25 mL に定容し、20 μg/L 標準液で半定量係数を補正しヘリウムモードで測

定した。測定値から同一ロットのフィルタブラン ク値を差し引いて分析値とした。半定量分析結果 の一部を表 2 に示す。

なお、表中の黄色塗り部分は、比較対照と比べ 概ね 10 倍程度高い部分を参考までマークしたも のである。

事例①については As が高い以外は、比較対照 と同程度であった。

事例②については As の他、Li、Be、P、Ti、V、Mn、Fe、Co、Rb、Sr、Zr、Nb、Cs、W などが比較対照である平成 30 年 11 月と比べワンオーダー高く、更に平成 29 年 5 月と似通った組成であり、大陸由来の粒子の影響を大きく受けている可能性が示唆された。

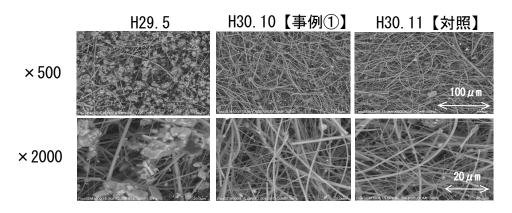


図7 走査型電子顕微鏡による表面観察像 (装置名:日立ハイテクノロジーズ製 FlexSEM1000)

事例③については As の他、Cd も比較対照と比べワンオーダー高かった。

As は、半導体原料、顔料、染料原料として使用されるほか、自然環境中に広く分布し、通常、土壌中にも含まれており、特に水田土壌において水を張った還元状態にすると稲わらに吸収されやすいと言われている<sup>2)</sup>。

コメは毒性の高い無機ヒ素の主要な摂取源であり、他の作物に比べて As を蓄積しやすい輸送に関する分子メカニズムが近年、明らかになってきている<sup>3)</sup>。また、Cd も As 同様、自然環境中に普遍的に存在する元素であり、農作物の栽培過程において栽培環境中に含まれるものが農作物に移行すると言われている。

以上のことから、事例③については稲わら焼却 との関連性が考えられ、今後も稲わら焼却時にお ける環境大気中の As 濃度の挙動について興味が もたれるところである。

# 5. 2 黄砂の影響

平成 29 年 5 月に石英繊維ろ紙にて捕集した粉じんの色が通常の観測時に見られる灰色ではなく、茶褐色がかっていた。一中局において Be は通常  $0.01~\rm ng/m^3$  未満あるいはその近傍であるのに対し  $0.19~\rm ng/m^3$ 、マンガン及びその化合物 (Mn) は平成 29 年度の年間平均値は  $14~\rm ng/m^3$  であるが  $5~\rm 月$  は年度間において突出して高い  $110~\rm ng/m^3$  であった。石英繊維ろ紙上に  $5/9\sim10$  に捕集された粒子について、走査型電子顕微鏡による表面観察を行った結果、平常時とは異なり  $2\sim20~\mu m$  程度の四角い形状の粗大な粒子が多数確認された(図 7)が、 $5/7\sim8$  にかけて本県を含む日本の広い範囲で黄砂が観測されており、黄砂の巻き上げの影響が示唆されたことを報告した $^{10}$ 。

なお、過去3年間における気象庁により本県で 黄砂が観測された日を表3に示した。

事例① (H30.10) での石英繊維ろ紙上に捕集された粒子についても平常時 (H30.11) 分と併せ同様の表面観察を行ったところ、両者とも、細かいものから多少粗い粒子が付着した観察像であり、事例①は平成 29 年 5 月時とは本質的に異なるものであることが推察された。

なお、平成 17 年 4 月の有害大気モニタリング (4月21~22 日) においても石英繊維ろ紙上に黄土色の粉じんが捕集され、黄砂により青森市及び 八戸市で従来の測定値をワンオーダー程度上回る 濃度の Be が観測された事例が報告されている %。

表 3 本県における黄砂観測日 (平成 29~31 年) (気象庁 HP より)

年(平成)		観測	観測日				
29	5/ 7	5/ 8					
30	3/28	3/29	4/12				
31	_						

気象庁によると、4/21 には本県を含む日本の広い 範囲で黄砂が観測されており、Be、Mn 等の濃度 上昇については春先における黄砂の影響の可能性 のひとつの指標となると考えられた。

#### 5.3 稲わら焼却の影響

北畠らによると、稲わら焼却が行われているときはアルデヒド類濃度及びベンゾ[a]ピレン濃度は上昇が認められ、浮遊粒子状物質濃度及び微小粒子状物質濃度とも良好な正の相関があることを津軽地域の大気汚染常時監視局のひとつである五所川原第三中学校局におけるデータから考察した5。

令和元年度は稲の刈取適期が例年より早まり、 それに伴い稲わら焼却のピークも9月下旬から10 月上旬に早めにシフトした。

稲わら焼却の集中した令和元年 9 月 27 日~10 月 5 日における津軽 5 局における大気汚染常時監視データ SPM の 1 時間値の推移を図 9 に示す。

津軽 5 局とは、一中局、五所川原第三中学校局 (以下、五三中局)、弘前市立文京小学校局(以下、 文京小局)及びスポカルイン黒石局(以下、黒石局)に大栄小学校局(青森市)を加えた 5 局であり、いずれの地点においても夕方から夜間にピークをもつ顕著な濃度上昇が複数回確認された。事例③の10月2~3 日においては、一中局のみならず津軽 5 局において総じて SPM が上昇し、稲わら焼却の影響が考えられたのに対し、事例①の平成30年10月3~4 日においては5 局ともに SPM 濃度は上昇しておらず、稲わら焼却の影響は受けていないものと考える。

また、図9における期間に対応する微小粒子状物質  $(PM_{2.5})$  の1時間値の推移を図10に示す。現在、県内には $PM_{2.5}$  に関する5局の大気汚染常時監視局が配置されており、津軽2局(五三中局、文京小局)の比較対照として甲田小学校局(青森市)、根岸小学校局及び六日町局(八戸市)をグラフに加えた。五三中局及び文京小局では図9における濃度ピークに対応した部分に $PM_{2.5}$ の濃度ピーク(18時前後)も確認され、この間に周辺では稲わら焼却が行われていることから、当該焼却

が影響した濃度上昇と推測された。甲田小局、根 岸小局及び六日町局では、五三中局と文京小局ほ どの濃度ピークは確認されなかった。



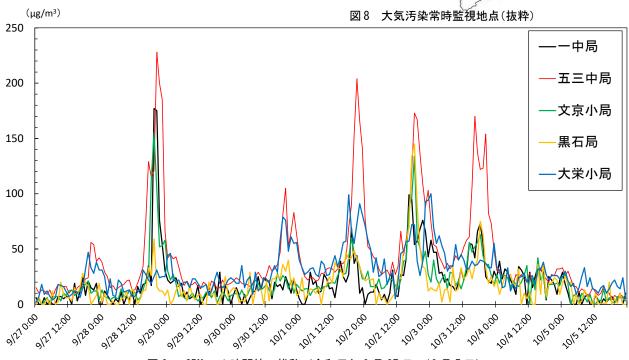
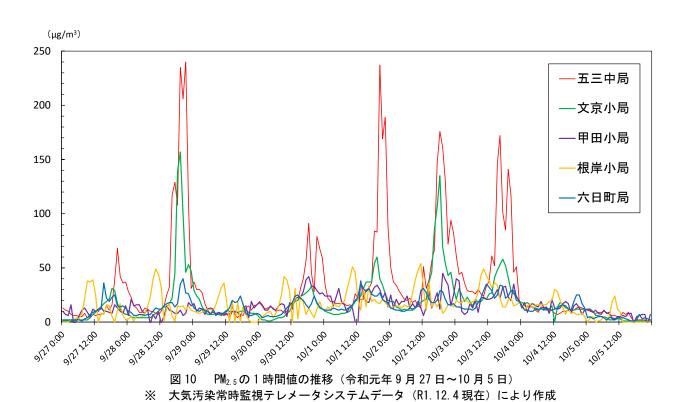


図 9 SPM の 1 時間値の推移(令和元年 9 月 27 日~10 月 5 日) ※ 大気汚染常時監視テレメータシステムデータ(R1.12.4 現在)により作成



また、令和元年度はつがる市木造地区の小学校2地点において、周辺で稲わら焼却を確認した10月3日に(図11)ハイボリウムエアサンプラーを用い、粉じんを800 L/minの流量で6時間吸引した。アセトアルデヒド、ホルムアルデヒド、ベンゾ[a]ピレン、Ni、As、Be、Mn、Crの8物質について分析したところ、いずれの物質も一中局の平成29年度からのデータと比べ高い値であり、Asに関しては11 ng/m³、9.6 ng/m³と事例③における一中局での濃度と同程度の値を示した。このことは、濃度推移のピークとなる時間帯を狙ったことは、濃度推移のピークとなる時間帯を狙ったこともあるが、いずれの地点においても周辺では稲わら焼却による焼却臭、煙が認められており、稲わら焼却が影響している可能性が高いと考えられた。

#### 5. 4 一中局における解析

# 5. 4. 1 基礎統計量

有害大気モニタリングの対象である 21 物質のうち、揮発性有機化合物と変動の小さい水銀(変動係数 29%)を除外した 8 項目(アセトアルデヒド、ホルムアルデヒド、ベンゾ [a] ピレン、Ni、As、Be、Mn、Cr)を対象とした。

平成 29 年 4 月~令和元年 12 月における 33 サンプル、8 項目の濃度の統計量を表 4 に示す。変動係数は  $42\sim162\%$  で、大きい順に Be、Mn、As、ベンゾ[a]ピレン、Cr、Ni、ホルムアルデヒド、アセトアルデヒドとなっており、アルデヒド類は 8 項目の中で変動係数が小さかった。

Be は通常定量下限値未満あるいはその近傍レベルで推移するが、8 項目中で変動係数が最も大きかったのは、平成 29 年 5 月及び令和元年 5 月の 2 つの高濃度事例に依存している。



図 11 稲わら焼却の状況 (令和元年 10 月 3 日 14 時頃、つがる市で撮影)

表 4 一中局における基礎統計量 (n=33) (H29.9~R1.12)

	平均	最大	最小	標準偏差	変動係数CV(%)
アセトアルデヒド (μg/m³)	1.5	4.1	0.68	0.63	42
ホルムアルデヒド(μg/m³)	2.2	6.1	0.88	1.1	50
ベンゾ[a]ピレン(ng/m³)	0.10	0.43	0.0082	0.11	107
ニッケル(ng/m³)	1.3	3.6	0.3	0.77	61
ヒ素(ng/m³)	1.4	10	0.21	2.0	137
ベリリウム (ng/m³)	0.03	0.19	0.003	0.04	162
マンガン(ng/m³)	17	110	0.25	25	147
クロム (ng/m³)	1.9	7.3	0.3	1.6	85

#### 5. 4. 2 単相関行列

上記8項目の各々の相関を見るため、単相関解析を行った(表5)。

アセトアルデヒド、ホルムアルデヒド、As の 3 項目のそれぞれについて有意水準 1%で正の相 関を示した。

また、Ni、Be、Mn、Crの4項目のそれぞれに ついても有意水準1%で正の相関を示した。

ベンゾ[a]ピレンについては他の7項目との間に 有意な相関は見られなかった。

表 5 単相関行列 (一中局、n=33)

\*:5%有意(>0.344) \*\*:1%有意(>0.442)

								1700(7 011107
	アセトアルデヒド	ホルムアルデヒド	ベンゾ[a]ピレン	ニッケル	ヒ素	ベリリウム	マンガン	クロム
	$(\mu \text{ g/m}^3)$	$(\mu  { m g/m}^3)$	$(ng/m^3)$	$(ng/m^3)$	$(ng/m^3)$	$(ng/m^3)$	$(ng/m^3)$	$(ng/m^3)$
アセトアルデヒド (μg/m³)	1	0.927**	0.161	0.136	0.614**	0.049	0.141	0.118
ホルムアルデヒド $(\mu  g/m^3)$		1	-0.106	0.117	0.550**	-0.004	0.096	0.002
ベンゾ $[a]$ ピレン $(ng/m^3)$			1	-0.132	0.036	0.133	0.109	0.136
ニッケル (ng/m³)				1	0.262	0.722**	0.745**	0.793**
ヒ素(ng/m³)					1	0.266	0.301	0.166
ベリリウム $(ng/m^3)$						1	0.968**	0.597**
マンガン $(ng/m^3)$							1	0.618**
クロム (ng/m³)								1

表6 固有値及び寄与率

		_
成分	主成分 1 主成分 2 主成分	3
固有値	3. 469 2. 222 1. 08	39
寄与率(%)	43. 36 27. 77 13. 6	32
累積寄与率	43. 36 71. 13 84. 7	15

表7	固有べク	トル	
成 分	主成分 1	主成分 2	主成分 3
アセトアルデヒド	0. 226	0. 58	0. 12
ホルムアルデヒド	0. 186	0. 591	-0. 134
ベンゾ [a] ピレン	0. 055	-0.008	0. 947
ニッケル	0. 462	-0. 168	-0. 254
ヒ素	0. 284	0.399	0.008
ベリリウム	0. 462	-0. 232	0.065
マンガン	0. 482	-0. 178	0.037
クロム	0 414	-0 202	0.033

表8	主成分負荷量

成 分	主成分 1	主成分 2	主成分 3
アセトアルデヒド	0. 421	0.865	0. 125
ホルムアルデヒド	0. 346	0. 881	-0. 14
ベンゾ [a] ピレン	0. 103	-0. 013	0. 988
ニッケル	0.861	-0. 251	-0. 265
ヒ素	0. 529	0. 595	0.008
ベリリウム	0.861	-0. 345	0.067
マンガン	0.897	-0. 265	0.038
クロム	0. 771	-0. 301	0. 035

#### 5. 4. 3 主成分分析 (PCA)

主成分分析とは、互いに相関のある多種類の特性値を少数個の総合的な特性値に集約する方法であり、今回、一中局における特性の把握を目的とし、平成29年4月~令和元年12月における8項目、33サンプルを用いて主成分分析を行った。その結果を表6~8及び図12に示す。

第1主成分(Z1)の寄与率は43%、第2主成分(Z2)の寄与率は28%で、Z2までの累積寄与率は71%であった。Z1については、すべての変量の主成分負荷量が正の符号をもつことから総合的な影響の程度を示す指標(総合的影響指標)と推察された。Z2については、稲わら焼却時に濃度が上昇したアルデヒド類、Asの主成分負荷量が正符号であり、大陸由来が推察された平成29年5月及び令和元年5月の2つの事例において濃度の上昇したNi、Be、Mn、Crの主成分負荷量が負の符号であることから、稲わら焼却あるいは長距離輸送といった由来に関連する指標(由来指標)と推察された。

なお、ベンゾ[a]ピレンについては、単相関行列 の解析結果と同様、他の項目とは集約されなかっ た。

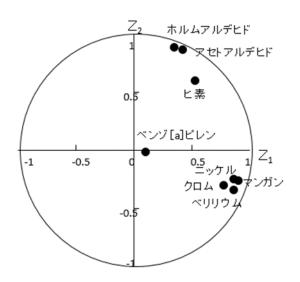


図12 Z1とZ2の負荷量散布図

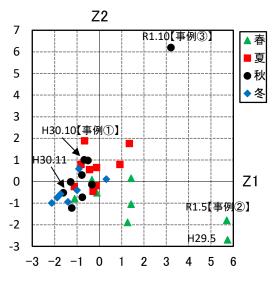


図 13 季節区分主成分スコア

また、季節により差が見られるかを確認するため、全スコア (33) の Z1 vs Z2 散布図について『春』『夏』『秋』『冬』の4区分による考察を行なった(図 13)。なお、季節区分については、春 (3~5月)、夏 (6~8月)、秋 (9~11月)、冬 (12~2月)とした。

その結果、秋、冬に関しては Z1、Z2 ともに概 ねある範囲内においてひとかたまりを形成しているが、春に関してはばらつきが見られ、Z1 の高め のサンプルにおいて Z2 が低めにばらつく傾向が 見られた。

夏に関しては秋、冬に比べると若干、Z1、Z2ともに正側にばらつく傾向が見受けられるものの、夏、秋、冬は基本ひとかたまりと見なすことができた。

秋の区分の中で、令和元年 10 月の事例③のみ Z1、Z2 ともに特異的な挙動を示したが、稲わら焼 却の影響によるまれな事象と考えられた。

なお、今回集約された主成分においては、事例 ①は事例②、③のような特異的なばらつきは見られず、ひとかたまりの範囲内におさまっていた。

#### 6. まとめ

·事例① (平成 30 年 10 月)

半定量分析において As 以外は比較対照と同程 度であること、また、主成分スコア散布図におい て特異的なばらつきは見られなかったため、原因 は不明であった。

· 事例② (令和元年 5 月)

令和元年5月については黄砂は観測されていないが、黄砂の影響が推察された平成29年5月の粉じんと似通った組成であり、大陸由来の粒子の影響を大きく受けている可能性が示唆された。

事例③(令和元年 10 月)

As と連動してアルデヒド類濃度も上昇し、現場周辺での稲わら焼却による煙も広範囲に確認した。大気汚染常時監視では、9月28日及び10月1~4日にかけて、稲わら焼却の影響と推察される SPM濃度の上昇が認められ(図9)、有害大気モニタリングの10月2~3日においても SPM濃度が上昇したことから、As濃度が上昇したのは稲わら焼却が影響していると推測された。

・平成29年4月~令和元年12月における8項目、33 サンプルについて主成分分析を行った結果、第1主成分(Z1) は総合的な影響の程度を示す指標、第2主成分(Z2) は由来に関連する指標と推察された。今回の3事例についてはAsが高濃度に至った要因(指標)は異なることが示された。

また、春先に大陸由来の影響が出現する傾向に あることが示された。

#### 7. おわりに

令和元年 10 月の有害大気モニタリングにおいて稲わら焼却が要因と推察された As の指針値超過事例があった。

浅野らはり、有害大気汚染物質として月に1回測定することにより、指針値超過の現象を確実に捉え、モニタリングし、発生源解析等を行うことは困難であり、PM2.5 成分分析のデータを合わせて用いることにより、有害大気汚染物質における発生源を推定することが可能であると述べており、今後の大気環境のモニタリングを考えていく必要がある。

指針値の性格としては、基本的には長期暴露による有害性を未然に防止する観点から設定されるものであり、指針となる数値を短期的に上回る状況があっても、直ちに人の健康に悪影響が現れるようなものではないものの、高濃度事象の要因を特定していくことは今後の予測にもつながるものと考える。

今回の一中局における平成 29 年度からのモニタリングの考察から、工業由来の発生源による影響は受けない一方、春先の黄砂など長距離輸送や自然由来による濃度変動が特異的に顕在化する地点であることがわかった。

今後も青森市、八戸市と連携を密にしながら、 潜在している要因を探り出すモニタリングを行っ ていきたいと考える。

#### 文 献

1)対馬典子他:青森県内における有害大気汚染物質モニタリング—優先取組物質のトレンドと季節変動を中心に—.青森県環境保健センター年報,**29.**59-77.2018

2)小林秀誉他:水稲におけるヒ素とカドミウムを めぐる諸問題. 日本土壌肥料学雑誌,**88**,73-78, 2017

3)石川覚:水稲のヒ素輸送機構とヒ素低減対策. 地球環境,22,61-66,2017

4)花石竜治他:黄砂飛来時における有害大気汚染物質の高濃度事例.青森県環境保健センター研究報告.16.31-34.2006

5)北畠茂他:青森県内における稲わら焼却による 大気汚染状況について.全国環境研会誌,**44**,10-15,2019

6)浅野勝佳他: 奈良県における有害大気汚染物質 (ヒ素) の現状について. 奈良県景観・環境総合 センター研究報告,3,35-39,平成27年度

# Cases of high arsenic levels in hazardous air pollutant monitoring – monitoring data from the Hirosaki Municipal Daiichi Junior High School site –

Noriko Tsushima, Nobutoshi Utsumi, Shigeru Kitabatake

At the Hirosaki Municipal Daiichi Junior High School site, where hazardous air pollutant monitoring has been conducted since fiscal year 2017, the amounts of arsenic and its compounds exceeded their guideline levels in October 2019. Consideration of factors such as relationship to other measurement parameters revealed that rice straw incineration was presumed to affect the increased arsenic level.

Key words: Arsenic, Hazardous air pollutant monitoring, ICP-MS, Rice straw incineration, Yellow sand

# 2 ノ ー ト

# 青森県の呼吸器症状を呈する臨床検体から検出された ヒトパラインフルエンザウイルスの分析学(2011年度~2018年度)

筒井理華 菩提寺營子 福田理

青森県内におけるヒトパラインフルエンザウイルス(HPIV)の呼吸器症状との関連を明らかにすることを目的として、2011 年 4 月から 2019 年 3 月までに県内の医療機関を受診し呼吸器症状を呈する小児患者 1327 名の検体の遺伝子検査を行った。その結果、54 名の検体から HPIV が検出され、HPIV の haemagglutinin-neuraminidase 遺伝子領域の塩基配列の解析では、HPIV1 型が 19 検体、HPIV3型が 32 検体、HPIV4型が 3 検体検出された。HPIV1型および HPIV3型と呼吸器症状の関連では、HPIV1型では上気道炎が、HPIV3型では下気道炎が多い傾向であった。

Key Words: Human Parainfluenzavirus, Molecular epidemiology

#### 1. はじめに

ヒトパラインフルエンザウイルス (Human Parainfluenzavirus:以下、HPIV)は、パラミクソウイルス科に属するマイナス一本鎖RNAウイルスである。パラミクソウイルス科には、レスピロウイルス属であるHPIV1型およびHPIV3型、ルブラウイルス属であるHPIV2型およびHPIV4型がある。HPIVは、小児を中心とした急性呼吸器感染症を引き起こす原因ウイルスの一つであり、クループや上気道炎、気管支炎や肺炎等下気道炎の原因としても知られている「・2)。多くの小児は生後2歳までにHPIV3型に感染し、5歳頃までには大半がHPIV1型、HPIV2型、HPIV4型に感染する「・2)。

今回、遺伝子群別と呼吸症状との関連を明らかにすることを目的として、本県で2011年4月から2019年3月までに呼吸器症状を呈する小児患者の検体から検出されたHPIVの分子疫学解析を行ったので報告する。

#### 2. 材料と方法

#### 2.1 検査材料

2011 年 4 月から 2019 年 3 月までに呼吸器症状を呈し、病原体定点医療機関に外来受診あるいは入院した小児患者から採取された咽頭ぬぐい液または鼻汁 1797 検体中インフルエンザと診断され

た検体 470 検体を除く 1327 検体を用いた。

#### 2.2 検査方法

#### 1) ウイルス RNA の抽出・HPIV 遺伝子の検出

QIAamp Viral RNA Mini Kit により RNA 抽出後、 筒井らの方法で行い <sup>3)</sup>、QIAGEN OneStep RT-PCR Kit を 使 用 し 、 HPIV の haemagglutininneuraminidase (以下、HN) 遺伝子領域のマルチプ レックス RT-PCR 法により増幅した。アニーリン グ温度は 55℃とした。PCR 反応後、電気泳動を行 い、陽性バンドが検出された検体の増幅産物をダ イレクトシークエンス法により同定した <sup>4)</sup>。

#### 2) 遺伝子解析

遺伝子群別は、ダイレクトシークエンス法で HPIV の HN 遺伝子領域の塩基配列を決定することにより行った (HPIV1型 223nt、HPIV3型 131nt、 HPIV4型 411nt)。系統解析は塩基配列解析ソフトウェアの Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)<sup>4)</sup>を使用し、ML法 (Maximum Likelihood:最尤法)により行った。遺伝子群の参照配列は、 HPIV1型では Beck ら 5)、 HPIV3型では Mizuta ら 6)の報告を参考にした。

また、ダイレクトシークエンス法により得られた塩基配列の相同性解析を行った。

#### 3. 結果

#### 3.1 検体採取年度別

横体採取年度別の結果を図1に示す。2011年度は8検体で HPIV3型7検体(87.5%)、HPIV4型1検体(12.5%)、2012年度は12検体で HPIV1型2検体(16.7%)、HPIV3型9検体(75.0%)、HPIV4型1検体(8.3%)、2013年度は5検体で HPIV1型2検体(40.0%)、HPIV3型3検体(60.0%)、2014年度は7検体で HPIV1型3検体(42.9%)、HPIV3型3検体(42.9%)、HPIV3型3検体(42.9%)、HPIV4型1検体(14.2%)、2015年度は3検体で HPIV1型2検体(66.7%)、HPIV3型1検体(33.3%)、2016年度は3検体で HPIV3型3検体(85.7%)、HPIV3型1検体(14.3%)、2018年度は9検体で HPIV1型4検体(44.4%)、HPIV3型5検体(55.6%)であった。

#### 3.2 検体採取月別

検体採取月別の結果を図 2 に示す。4 月は 1 検体で HPIV4型 1 検体(100%)、5 月は 2 検体で HPIV1型 2 検体(100%)、6 月は 16 検体で HPIV1型 1 検体(6.2%)、HPIV3型 15 検体(93.8%)、7月は 5 検体で HPIV1型 3 検体(60.0%)、HPIV3型 2 検体(40.0%)、8 月は 12 検体で HPIV1型 2 検体(16.7%)、HPIV3型 10 検体(83.3%)、9月は7検体で HPIV1型 3 検体(42.9%)、HPIV3型 4 検体(57.1%)、10月は1検体で HPIV4型 1 検体(100%)、11月は1検体で HPIV3型 1 検体(100%)、

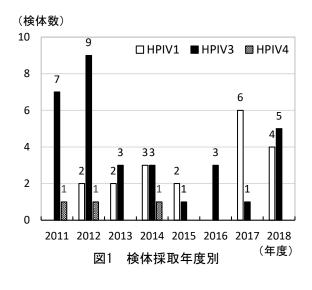
12月は2検体でHPIV1型2検体(100%)、1月は3検体でHPIV1型3検体(100%)、2月は2検体でHPIV1型1検体(50.0%)、HPIV4型1検体(50.0%)、3月は2検体でHPIV1型2検体(100%)であった。

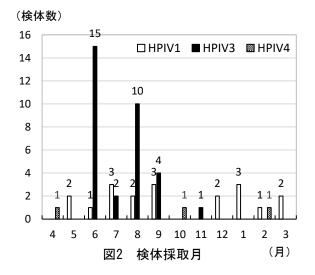
#### 3.3 年齢別

年齢別の結果を図3に示す。0~5ヶ月は5検体で HPIV1型4検体(80.0%)、HPIV3型1検体(20.0%)、6~11ヶ月は10検体で HPIV1型1検体(10.0%)、HPIV3型7検体(70.0%)、HPIV4型2検体(20.0%)、1歳は22検体で HPIV1型6検体(27.3%)、HPIV3型16検体(72.7%)、2歳は9検体で HPIV1型4検体(44.4%)、HPIV3型5検体(55.6%)、3歳は3検体で HPIV1型2検体(66.7%)、HPIV3型1検体(33.3%)、4歳は1検体で HPIV3型1検体(100%)、5歳は1検体で HPIV1型1検体(50.0%)、7明は1検体(50.0%)、HPIV4型1検体(50.0%)、不明は1検体で HPIV1型1検体(100%)であった。

#### 3.4 男女別

男女別の結果を図 4 に示す。男性は 33 検体で HPIV1 型 11 検体 (33.3%)、HPIV3 型 20 検体 (60.6%)、HPIV4型 2 検体 (6.1%)、女性は 21 検体で HPIV1型 8 検体 (38.1%)、HPIV3型 12 検体 (57.1%)、HPIV4型 1 検体 (4.8%) であった。





# (検体数) 18 16 ☐ HPIV1 ■ HPIV3 ■ HPIV4 16 14 12 10 8 6 4

図3

年齢別

#### 3.5 遺伝子検出

HPIV の HN 遺伝子領域を増幅した結果を表 1 に示す。HPIV は 1327 検体中 54 検体(4.1%)か ら検出された。そのうち HPIV1 型が 19 検体 (35.2%)、HPIV3 型が 32 検体 (59.3%)、HPIV4 型が3検体(5.5%)であった。また、HPIVの単 独感染は 54 検体中 40 検体であり、その内訳は HPIV1 型単独感染が 16 検体、HPIV3 型単独感染 が22 検体、HPIV4型単独感染が2 検体であった。 これら以外の14検体は、全てHPIVと他の呼吸器 系ウイルス等との2種類の混合感染であり、その 内訳は、HPIV1型ではヒトライノウイルス(HRV) が2検体、ヒトメタニューモウイルス (hMPV) が 1 検体、HPIV3 型では HRV が 6 検体、ヒト RS ウ イルス (hRSV)、ヒトボカウイルス (HBoV)、コ クサッキーウイルス (CV) B5 型およびヒトヘル ペスウイルス HHV6型が各1検体、HPIV4型では HRV が 1 検体であった。

#### 3.6 症状別検出状況

HPIV の検出状況を呼吸器症状の症状別に示す (表 2、図 5)。上気道炎 15 検体は、HPIV1 型単 独感染が 10 検体 (66.6%)、HPIV1 型と HRV の混 合感染が 1 検体 (6.7%)、HPIV 3 型単独感染が 3 検体 (20.0%)、HPIV3 型と HRV の混合感染が 1 検体(6.7%)であった。下気道炎 31 検体は、HPIV1 型単独感染が 5 検体 (16.1%)、HPIV1 型と HRV および HPIV1 型と hMPV の混合感染が各 1 検体 (各 3.2%)、HPIV 3 型単独感染が 13 検体(41.9%)、 HPIV3 型と HRV が 4 検体 (12.9%)、HPIV3 型と hRSV、HPIV3 型と HBoV、HPIV3 型と CVB5 型お よび HPIV3 型と HHV6 型の混合感染が各 1 検体 (各 3.2%)、HPIV4 型単独感染が 2 検体(6.5%)、

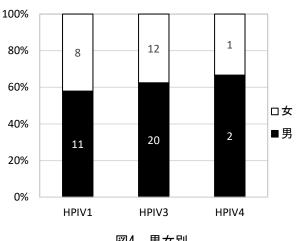


図4 男女別

HPIV4 型と HRV の混合感染が 1 検体 (3.2%) で あった。その他の呼吸器症状 8 検体は、HPIV1 型 単独感染が 1 検体、HPIV3 型単独感染が 6 検体、 HPIV3 型と HRV の混合感染が 1 検体であった。 なお、その他の呼吸器症状は、診断名または呼吸 器症状に上気道炎や下気道炎等詳細な内容が記載 されていなかった検体を示す。

#### 3.7 ML 法による系統解析

HPIV1型19検体、HPIV3型32検体と同定され た 51 検体のうち、遺伝子解析に用いる塩基数 (HPIV1型 223nt、HPIV3型 131nt) より短い検体 を除いた 35 検体 (HPIV1 型 16 検体、HPIV3 型 19 検体)について、MEGA法による分子系統解析を 行った結果を図6および図7に示す。HPIV遺伝 子を ML 法により系統解析した結果、HPIV1 型は 16 検体全て同一クラスターのクラスターI に分類 された。HPIV3型は19検体がクラスターIおよび Ⅱに分類された。

#### 3.8 相同性解析

HPIV1 型の塩基配列の相同性は 95~100%、 HPIV3 型の相同性は93~100%であった。

#### 4. 考察

#### 4.1 検体採取年度別

検体採取年度別で遺伝子群を比較すると、 HPIV1 型は 19 検体中 2017 年度が最も多く 6 検体 (31.6%)、次いで2018年度が4検体(21.1%)、 2014年度が3検体(15.8%)、2012年度、2013年 度および 2015 年度が各 2 検体 (各 10.5%) で採取 年度による違いが見られなかった。HPIV3型は32 検体中 2012 年度が最も多く 9 検体(28.1%)、次 いで 2011 年度が 7 検体 (21.9%)、2018 年度が 5 検体 (15.6%)、2013 年度、2014 年度および 2016 年度が各 3 検体 (各 9.4%)、2015 年度および 2017 年度が各 1 検体 (各 3.1%)で採取年度による違いが見られなかった。HPIV4 型は 3 検体で 2011 年度、2012 年度、2014 年度に各 1 検体(各 33.3%)で採取年度による違いが見られなかった。

今回の調査においては、検体採取年度別で遺伝 子群に差は見られなかった。

#### 4.2 検体採取月別

検体採取月別で遺伝子群を比較すると、HPIV1型では19検体が年間を通して1~3検体(5.3~

表 1 HPIV が検出された小児における 呼吸器系ウイルス検出状況

―――――――――――――――――――――――――――――――――――――								
検出されたウイルス	検体数	%						
HPIV1	19	35.2%						
HPIV3	32	59.3%						
HPIV4	3	5.5%						
内訳								
HPIV1	16							
HPIV1/HRV	2 19	1						
HPIV1/hMPV	1							
HPIV3	22							
HPIV3/HRV	6							
HPIV3/hRSV	1 32	ı						
HPIV3/HBoV	1	,						
HPIV3/CVB5	1							
HPIV3/HHV6B	1							
HPIV4	2							
HPIV4/HRV	1 3							
合計 (検体数)	54	100.0%						

15.8%) 検出され、採取月による違いが見られなかった。HPIV3型では32検体中6月が最も多く15検体(46.9%)、次いで8月が10検体(31.3%)、9月が4検体(12.5%)で6月から9月に31検体(96.9%)検出され、夏季に多く検出された。HPIV4型で3検体が4月、10月、2月に各1検体(33.3%)検出され、採取月による違いが見られなかった。

今回の調査においては、検体採取月別では、 HPIV3型で夏季に多く検出される傾向が見られた。 一方、HPIV1型およびHPIV4型では検体採取月別 との差が見られなかった。

表 2 呼吸器症状の症状別 HPIV 検出状況

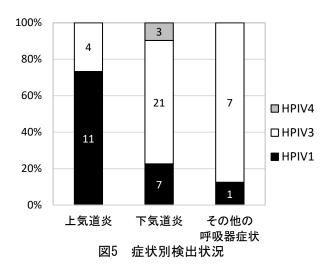
Z =			_ ,, ,,,,,			
	呼吸器症状					
検出された ウイルス	上気道炎	下気 道炎	その他 の呼吸 器症状			
HPIV1	10	5	1			
HPIV1/HRV	1	1				
HPIV1/hMPV		1				
HPIV3	3	13	6			
HPIV3/HRV	1	4	1			
HPIV3/hRSV		1				
HPIV3/HBoV		1				
HPIV3/CVB5		1				
HPIV3/HHV6		1				
HPIV4		2				
HPIV4/HRV		1				
合計 (検体数)	15	31	8			
<del>-</del>	<u> </u>					

表1および2の略語

HPIV : human Parainfluenzavirus HRV : human Rhinovirus HMPV : human Metapneumovirus hRSV : human RSvirus CVB : coxsackievirus B HBoV : human Bocavirus

HHV6 : human herpesvirus 6

・HPIV1/HRV: HPIV1型とHRVの2種類の混合感染を示す。



#### 4.3 年齢別

年齢別で遺伝子群を比較すると、HPIV1型では 19 検体中 1 歳が最も多く 6 検体 (31.6%)、次いで  $0\sim5$  ヶ月及び 2 歳が 4 検体 (21.1%)で、0 ヶ月~2 歳までで 15 検体 (78.9%) 検出された。HPIV3型では 32 検体中 1 歳が最も多く 16 検体 (50.0%)、次いで  $6\sim11$  ヶ月が 7 検体 (21.9%)、2 歳が 5 検体 (15.6%)で、0 ヶ月~2 歳までで 29 検体 (90.6%)検出された。HPIV4型では 3 検体中  $6\sim11$  ヶ月が 2 検体 (66.7%)、6 歳以上が 1 検体 (33.3%)で、いずれの遺伝子群も多くが 2 歳までに感染していることが示唆され、既報  $^{1,2}$ )と同様の結果であった。

#### 4.4 男女別

男女別で遺伝子群別を比較すると、HPIV1型では男性が19検体中11検体(57.9%)、女性が8検体(42.1%)で男女による違いが見られなかった。HPIV3型では32検体中男性が20検体(62.5%)、女性が12検体(37.5%)で男性が多かったものの男女による違いはあまり見られなかった。HPIV4型では3検体中男性が2検体(66.7%)、女性が1検体(33.3%)で男女による違いが見られなかった。

今回の調査においては、性別と遺伝子群との差 が見られなかった。

#### 4.5 症状別検出状況

遺伝子群別で症状を比較すると、HPIV1 型では 19 検体中上気道炎が 11 検体 (57.9%)、下気道炎が 7 検体 (36.8%)で上気道炎が多かった。HPIV3型では 32 検体中上気道炎が 4 検体 (12.5%)、下気道炎が 21 検体 (65.6%)で下気道炎が多かった。HPIV4型では、下気道炎のみ検出された。

今回の調査においても前回の報告 3)と同様、症例数が少ないことから遺伝子群と呼吸器症状との関連を明らかにするまでには至らなかった。

#### 4.6 ML 法による系統解析

HPIV1型16検体およびHPIV3型19検体のHN遺伝子領域を解析した結果、HPIV1型は山形県やアメリカで検出された株と類似する株で前回の報告³りと同様であった(図6)。HPIV3型はアメリカで検出された株と類似する株とMizutaら<sup>6</sup>が報告した株とは異なるグループに分類された株があり、アメリカ株と類似する株は、我々の前回の報告³りと同様であった(図7)。一方、異なるグループに分類された株は、前回の報告³)では見られず、今回新たな結果であったことから、さらにデータを蓄積する必要があることが示唆された。

#### 4.7 相同性解析

HPIV1 型および HPIV3 型の塩基配列の相同性がそれぞれ 93%以上であることから、2011 年 4 月から 2019 年 3 月までに青森県内で検出されたHPIV1 型および HPIV3 型はそれぞれ同様の遺伝子群であることが示唆された。

#### 5. まとめ

青森県内で 2011 年 4 月から 2019 年 3 月までに 検出された HPIV 54 検体は、HPIV1 型が 19 検体、 HPIV3 型が 32 検体、HPIV4 型が 3 検体であった。

HPIV1 型および HPIV3 型を検体採取月に分析した結果、HPIV3 型は夏季に多く検出された。

HPIV1 型、HPIV3 型および HPIV4 型を年齢別 に分析した結果、多くの小児が 2 歳までに感染していた。

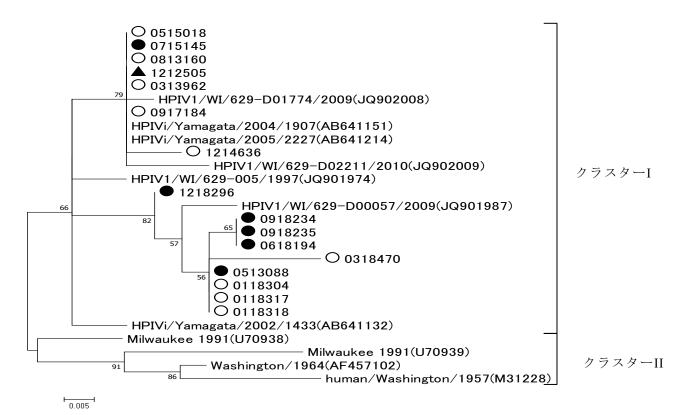
HPIV1 型および HPIV3 型の遺伝子解析を行った結果、HPIV1 型は同一クラスターに分類され、 県内の HPIV1 型は同様の遺伝子群であったこと、 HPIV3 型は 2 つのクラスターに分類され、県内の HPIV3 型は 2 つの遺伝子群であった。

HPIV1 型および HPIV3 型と呼吸器症状の関連では、HPIV1 型では上気道炎が、HPIV3 型では下気道炎が多いように見られたが、呼吸器症状と遺伝子群との関連を明らかにするためには、今後も継続してサーベイランスデータおよび遺伝学的データを蓄積する必要があると考えられた。

#### 文 献

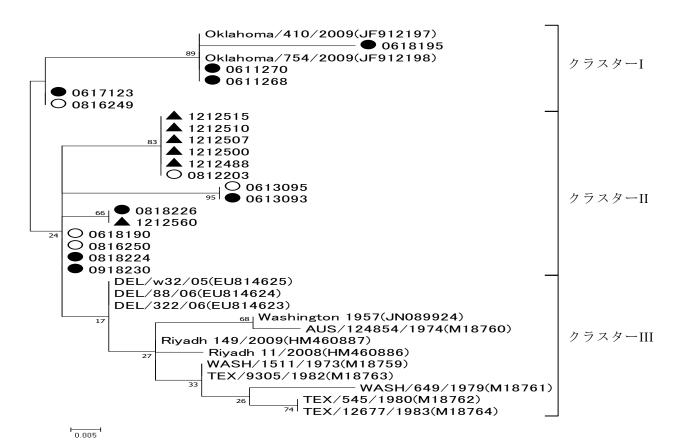
1) Karron R. A. et al.: Parainfluenza viruses. In Fields

- Virology, 5th Edition. 1497-1526, 2006
- 2)Henrickson K. J.: Parainfluenza viruses. *Clin Microbiol Rev.* **16(2)**, 242-264, 2003.
- 3)筒井ら:青森県におけるヒトパラインフルエン ザウイルスの分子疫学(2011~2017). 青森県環 境保健センター年報, 29, 78-82, 2018
- 4)Kumar S. et al.: MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, **33(7)**: 1870-1874, 2016
- 5)Beck E. T. et al.: Genome sequencing and phylogenetic analysis of 39 human parainfluenza virus type 1 strains isolated from 1997-2010. *PLoS One.* **7(9)**, e46048, 2009
- 6)Mizuta K. et al.: Molecular evolution of the haemagglutinin-neuraminidase gene in human parainfluenza virus type 3 isolates from children with acute respiratory illness in Yamagata prefecture, Japan. *J Med Microbiol.* **63(4)**, 570-577, 2014



# 図 6 HPIV1 型分子系統解析結果 (ML 法: HN 遺伝子 (223nt))

○:上気道炎、●:下気道炎、▲:その他の呼吸器症状



# 図7 HPIV3型分子系統解析結果(ML法: HN遺伝子(131nt))

○:上気道炎、●:下気道炎、▲:その他の呼吸器症状

#### 青森県における感染症流行予測調査 (日本脳炎感染源調査) 結果 (2001 年~2019 年)

福田 理 菩提寺營子 坂 恭平! 筒井理華

青森県では、厚生労働省が実施している感染症流行予測調査事業のうち、日本脳炎の感染源調査(ブタの日本 脳炎ウイルスに対する抗体保有状況の調査)に協力している。今般、2001年から2019年までの調査結果を取り まとめたところ、2479検体のうち41検体がHI抗体陽性であった。また、陽性率が高い年と低い年が比較的明 確に分かれ、2010年以降は陽性検体が無かった。

Key Words: Japanese encephalitis, hemagglutination inhibition test

#### 1. はじめに

日本脳炎は、ブタなどを増幅動物とし、主として アカイエカによって媒介されるウイルス感染症であ り、ヒトに重篤な急性脳炎を引きおこすり。感染症の 予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律 (以下「感染症法」という。)においては、四類感染 症として定められ、全数報告の対象となっている。

青森県においては、本稿で調査対象とした 2001 年から 2019 年までの期間では、感染症法に基づく日本 脳炎の患者の発生報告は無い。

厚生労働省健康局結核感染症課は、集団免疫の現況把握及び病原体の検索等の調査を行い、各種疫学資料と併せて検討し、予防接種事業の効果的な運用を図り、さらに長期的視野に立ち総合的に疾病の流行を予測することを目的として、感染症流行予測調査事業を行っている。このうち、青森県では、これまで、日本脳炎感染源調査(ブタの日本脳炎ウイルスに対する抗体の保有状況調査)に協力してきており、本稿では、2001年から2019年までの調査結果を取りまとめたので報告する。

#### 2. 方法

2001 年から 2019 年までに青森県内の 2 か所のと 畜場(十和田市、田舎館村)において採取したブタ の血液 2479 検体を用いた。

検体の採取時期は、2001年及び2002年は8月上

旬から9月下旬の各旬に1回、2003年から2019年 までは7月下旬から9月下旬の各旬に1回とした。

検体の採取数は、1回あたり10検体とした(ただし、2016年の8月下旬の田舎館村での採取は9検体)。

採取した検体から血清を遠心分離し、4回アセトン処理した後再溶解し、ガチョウ赤血球で吸収処理 したものを検査材料とした。

検査材料は、国立感染症研究所が作成した「感染症流行予測調査事業検査術式」に基づき、赤血球凝集抑制(hemagglutination inhibition、以下「HI」という。)試験を行った。

また、感染症流行予測調査実施要領における北海道・東北地区の判定方法に基づき、HI 抗体価が 1:10 以上であるものを HI 抗体陽性と判定した。

#### 3. 結果と今後の展望

調査時期ごとの HI 試験の結果を表に示す。

調査期間全体では、2479 検体のうち41 検体(1.7%) が HI 抗体陽性であった。年ごとの陽性検体数は、2001 年が1 検体、2002 年が10 検体、2004 年が1 検体、2006 年が4 検体、2007 年が14 検体、2008 年が10 検体、2009 年が1 検体で、そのほかの年は全て陰性であった。

HI 抗体陽性となる検体が多い年と少ない年が比較的明確に分かれる結果となった。また、2010年以降は、全ての検体で HI 抗体が陰性となった。

HI 抗体陽性となった 41 検体のうち、HI 抗体価の 内訳は、1:10 が 19 検体 (46.3%)、1:20 が 11 検体 (26.8%)、1:40 が 7 検体 (17.1%)、1:80 が 4 検体 (9.8%) であった。

先述のとおり、青森県では、本稿で調査対象とした期間には、患者発生の報告は無い。また、本調査の結果、直近10年間は、日本脳炎ウイルスに対する抗体を持ったブタは確認されなかった。

しかしながら、西日本を中心に、日本脳炎ウイルスに対する抗体を保有するブタが毎年確認されており<sup>2)</sup>、本調査の結果に示したとおり、青森県においても過去に確認されていることから、今後も継続してデータを蓄積し、動向を注視していきたい。

また、日本脳炎ウイルスを媒介するアカイエカの活動は、気象条件に影響されると考えられることから、今後、気温等の気象データと陽性率の相関などを見ていきたい。

#### 文 献

- 1) 厚生労働省/国立感染症研究所,注目すべき感染症,感染症発生動向調査感染症週報(IDWR),4,38,4,2002
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課他: 平成 29 年度 (2017 年度) 感染症流行予測調査報告, 127-131, 2019

表 HI 試験結果 (陽性数)

				表	HI試験紹	果(陽性数	<b>V</b> )				
年/旬	陽性/	<b>倹体数</b>	年/旬	陽性/	<b>)</b>	年/旬	陽性/	<b>食体数</b>	年/旬		<b>倹体数</b>
<del></del> / Đ	$T^*$	$I^*$	十/刊	$T^*$	I*	午/刊	$T^*$	$I^*$	<del></del> / •0	$T^*$	$I^*$
01/8 上	0/10	0/10	07/7 下	0/10	0/10	13/7 下	0/10	0/10	19/7 下	0/10	_
01/8 中	0/10	0/10	07/8 上	0/10	0/10	13/8 上	0/10	0/10	19/8 上	_	0/10
01/8 下	0/10	0/10	07/8 中	1/10	1/10	13/8 中	0/10	0/10	19/8 中	0/10	_
01/9 上	0/10	0/10	07/8 下	4/10	1/10	13/8 下	0/10	0/10	19/8 下	0/10	_
01/9 中	0/10	1/10	07/9 上	3/10	1/10	13/9 上	0/10	0/10	19/9 上	_	0/10
01/9 下	0/10	0/10	07/9 中	0/10	3/10	13/9 中	0/10	0/10	19/9 中	0/10	_
02/8 上	0/10	0/10	07/9 下	0/10	0/10	13/9 下	0/10	0/10	19/9 下	0/10	_
02/8 中	0/10	0/10	08/7 下	1/10	1/10	14/7 下	0/10	0/10	*T:十和田	市、I:田	舎館村
02/8 下	0/10	0/10	08/8 上	0/10	0/10	14/8 上	0/10	0/10			
02/9 上	2/10	1/10	08/8 中	0/10	0/10	14/8 中	0/10	0/10			
02/9 中	1/10	3/10	08/8 下	0/10	1/10	14/8 下	0/10	0/10			
02/9 下	2/10	1/10	08/9 上	0/10	0/10	14/9 上	0/10	0/10			
03/7 下	0/10	0/10	08/9 中	1/10	2/10	14/9 中	0/10	0/10			
03/8 上	0/10	0/10	08/9 下	3/10	1/10	14/9 下	0/10	0/10			
03/8 中	0/10	0/10	09/7 下	0/10	0/10	15/7 下	0/10	0/10			
03/8 下	0/10	0/10	09/8 上	0/10	1/10	15/8 上	0/10	0/10			
03/9 上	0/10	0/10	09/8 中	0/10	0/10	15/8 中	0/10	0/10			
03/9 中	0/10	0/10	09/8 下	0/10	0/10	15/8 下	0/10	0/10			
03/9 下	0/10	0/10	09/9 上	0/10	0/10	15/9 上	0/10	0/10			
04/7 下	0/10	0/10	09/9 中	0/10	0/10	15/9 中	0/10	0/10			
04/8 上	0/10	0/10	09/9 下	0/10	0/10	15/9 下	0/10	0/10			
04/8 中	0/10	0/10	10/7 下	0/10	0/10	16/7 下	0/10	0/10			
04/8 下	0/10	0/10	10/8 上	0/10	0/10	16/8 上	0/10	0/10			
04/9 上	0/10	0/10	10/8 中	0/10	0/10	16/8 中	0/10	0/10			
04/9 中	0/10	1/10	10/8 下	0/10	0/10	16/8 下	0/10	0/9			
04/9 下	0/10	0/10	10/9 上	0/10	0/10	16/9 上	0/10	0/10			
05/7 下	0/10	0/10	10/9 中	0/10	0/10	16/9 中	0/10	0/10			
05/8 上	0/10	0/10	10/9 下	0/10	0/10	16/9 下	0/10	0/10			
05/8 中	0/10	0/10	11/7 下	0/10	0/10	17/7 下	0/10	0/10			
05/8 下	0/10	0/10	11/8 上	0/10	0/10	17/8 上	0/10	0/10			
05/9 上	0/10	0/10	11/8 中	0/10	0/10	17/8 中	0/10	0/10			
05/9 中	0/10	0/10	11/8 下	0/10	0/10	17/8 下	0/10	0/10			
05/9 下	0/10	0/10	11/9 上	0/10	0/10	17/9 上	0/10	0/10			
06/7 下	0/10	0/10	11/9 中	0/10	0/10	17/9 中	0/10	0/10			
06/8 上	1/10	1/10	11/9 下	0/10	0/10	17/9 下	0/10	0/10			
06/8 中	1/10	0/10	12/7 下	0/10	0/10	18/7 下	0/10	_			
06/8 下	1/10	0/10	12/8 上	0/10	0/10	18/8 上	_	0/10			
06/9 上	0/10	0/10	12/8 中	0/10	0/10	18/8 中	0/10	_			
06/9 中	0/10	0/10	12/8 下	0/10	0/10	18/8 下	_	0/10			
06/9 下	0/10	0/10	12/9 上	0/10	0/10	18/9 上	0/10	_			
			12/9 中	0/10	0/10	18/9 中	_	0/10			
			12/9 下	0/10	0/10	18/9 下	0/10				

# 青森県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)の バンコマイシン耐性型と PFGE 分析(2018年)

髙橋洋平 山上剛志 武差愛美

2018年1月から2018年12月までの期間に青森県内で検出され青森県環境保健センターに搬入されたバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)29株を対象として、PCRによる菌種同定、ディスク拡散法によるバンコマイシン耐性型の推定、PCRによるvan遺伝子の検出及びパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による分子疫学解析を実施した。その結果、全ての菌株がvanAを保有する E. faecium であり、PFGE ではいずれの株も類似したバンドパターンを示すことが分かった。

Key words: VRE, vanA, E. faecium, PCR, PFGE

#### 1. はじめに

バンコマイシン(VCM)に対して抵抗性を持った 腸球菌(*Enterococcus* spp.)を、バンコマイシン耐性 腸球菌(Vancomycin-Resistant Enterococci; VRE)と呼 ぶ。

VRE は感染症法において五類全数把握対象疾患に位置付けられており、VCM の MIC 値が 16 μg/mL 以上の腸球菌で感染症の起因菌と判定された場合等は、診断から 7 日以内に届出が必要とされている。ただし、分離菌が VRE であっても、無症状病原体保有者は届出対象外となっている。感染症発生動向調査(NESID)によると、2018 年の VRE 感染症の累積報告数は、全国で80件、青森県では6件であったが、無症状病原体保有者を含めると、実際の検出数はこれより多いものと思われる。

VRE の VCM 耐性化の原因は、主に細菌細胞壁を形成するペプチドグリカンの合成に関与する van 遺伝子を獲得することによる。van 遺伝子のうち、疫学上特に問題とされているのは vanA 及び vanB である。VCM は、ペプチドグリカンの D-alanyl-D-alanine部分に結合し、細菌細胞壁の架橋反応を阻害することで抗菌作用を示すが、腸球菌が vanA や vanB を獲得すると、この部分が D-alanyl-D-lactate に変化するため、VCM が抗菌作用を示すことができなくなる い。さらに、vanA、vanB はプラスミド上に存在すること

が多いため、接合等により他の菌種に伝播することがあり、VCM に感性であった腸球菌が、プラスミド獲得により VCM 耐性となる可能性がある  $^{2}$ 。 また、臨床で分離される腸球菌のうち、vanA 又は vanB を保有する E. faecalis、E. faecium が、院内感染対策上重要視されている。

今回、2018 年に当センターに搬入された VRE に対し、PCR による菌種の確認、ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定、van 遺伝子の検出に加え、PFGE による分子疫学解析を実施したので報告する。

#### 2. 材料と方法

#### 2.1 材料

2018 年 1 月から 12 月までの期間に、青森県内で 検出され当センターに搬入された VRE 29 株を用い た。

#### 2.2 方法

#### (1) PCR による菌種の確認

アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型とし、国立感染症研究所で示している方法 <sup>2)</sup>にしたがい、*E. faecalis* 及び *E. faecium* の ddl 遺伝子を multiplex PCR により検出した。PCR には EX Taq (タカラバイオ) を用いた。反応溶液は、10× EX Taq Buffer 1.0 μL, dNTP Mix (2.5 mM) 0.8 μL, EX Taq (5 U/μL) 0.05 μL, water 6.15 μL, 10× primer mix 1.0 μL (終濃度は全て 0.2

 $\mu$ M), Template DNA 1.0  $\mu$ L の計 10  $\mu$ L を基本とした。 得られた増幅産物は、2 %又は 3 %のアガロースゲル で電気泳動した。

#### (2) ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定

VCM 及びテイコプラニン(TEIC)の KB ディスク (栄研化学)を用い、国立感染症研究所で示している方法  $^{20}$ にしたがって 1 濃度ディスク拡散法により実施した。McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン II 寒天培地(BD)に塗布し、ディスク配置後、35 °C、好気的条件下で 24 時間培養後判定した。

## (3) PCR による van 遺伝子の検出

国立感染症研究所で示している方法 $^{2}$ にしたがい、(1)の PCR と同じ条件で vanA, vanB, vanC1, vanC2/3 を multiplex PCR により検出した。プライマーの終濃度は(1)と同様に全て  $0.2 \, \mu M$  とした。

## (4) PFGE による分子疫学解析

国立感染症研究所からの助言・研修資料 <sup>3)</sup>及び既報の方法 <sup>4)</sup>を参考とした。プラグの作製において、Lysozyme (Sigma, 1 検体あたり 0.5 M EDTA 1mL に 2 mg を溶解して使用)、Proteinase K (Roche, 1 検体あたり N-lauroylsarcosine 10 mg を溶解した 0.5 M EDTA 1mL 中、Proteinase K が 1 mg/mL になるよう混合して使用)及び制限酵素処理(SmaI, Roche, 30 U/sampleとして使用)の時間はいずれも 1 終夜とし、Proteinase K の不活化には Pefabloc SC (Roche, 1 検体あたり TE 1 mL に 1 mg を溶解して使用)を用いた。

PFGE は、CHEF DR-III (Bio-Rad)により、0.5×TBE 中、1% SeaKemGold agarose (Lonza)で、バッファー温度 14 °C, 6 V/cm、パルス角度 120°、スイッチタイム 2.8~17.4 sec、泳動時間 19 h として実施した。ラダーマーカーには *Salmonella* Braenderup H9812 株を用いた。

泳動像の解析は、バンドパターンの直接比較に加え、ゲル間比較による系統樹解析を行った。解析には CLIQS 1D Pro (TotalLab)を使用し、 $R_f$  Vector (Tolerance)を 0.01, 類似度計算を Dice 法、クラスター解析を UPGMA 法とした。また、バンドの再現性に乏しい約 45 kbp 以下のバンドは解析から除外した。

#### 3. 結果

## 3.1 PCR による菌種の確認

PCR の結果、解析対象とした29株全でが *E. faecium* と同定された。

# 3.2 ディスク拡散法による VCM 耐性型の推定

VCM 及びTEIC に対する1濃度ディスク拡散法の結果、29 株全てにおいて VCM 及びTEIC のいずれにも阻止円が形成されなかったことから、VCM 耐性型は全て VanA型と推定された。

## 3.3 PCR による van 遺伝子の検出

PCR の結果、29 株全てで vanA が検出された。

## 3.4 PFGE による分子疫学解析

PFGE の結果、比較可能なバンドが 15 本程度得られた。得られた画像を系統樹解析に付した結果、図1 に示す結果が得られた。類似度 80%以上を目安として、3 つのクラスター (A~C) に分類した。

#### 4. 考察

一つの原因に暴露され短期間に一気に広がるような食中毒事例では、ほとんどの場合、分離株のPFGEパターンはほぼ同一となる。一方、薬剤耐性菌の院内感染事例のように、長期にわたり継続して原因菌が検出される事例の場合、食中毒事例とは異なり、分離株のPFGEパターンは菌株の変異により徐々に変化し、多様化していく3。

今回対象とした 29 株の PFGE では、系統樹解析に おいて最も類似度が低いクラスター (A, B と C) では類似度が 73%程度であったが、変異 1 箇所につき 最大 3 本のバンドが変化することを踏まえてバンドの相違を個別に比較していくと、全ての株が同一菌株由来と考えられた。最初の搬入株と最後の搬入株の検体採取時期は、それぞれ 1 月中旬、12 月中旬であり、1 年を通して継続的に検出・搬入されていたことから、菌株の変異により PFGE パターンが少しずつ変化していったものと推測される。なお、2019年以降も菌株の搬入は継続しており、PFGE パターンはさらに多様化していくことが予想されるため、株間比較には一層注意が必要と考えられる。

なお、クラスターAに含まれる 1株(図1中黒丸)は、2018 年初期に検出されているにもかかわらず、他の株と比べ PFGE パターンがやや異なっていた。国立感染症研究所におけるゲノム解析の結果、当該株のゲノムは、vanAのコードされているプラスミドが染色体に組み込まれた構造をしていることが分かった。PFGE では明らかにできないような、異なる菌株間におけるプラスミドの伝播を解明する場合等、ゲノム解析は分子疫学解析の強力なツールと考えられる。

## 5. まとめ

- 1) 2018 年に青森県内で検出され青森県環境保健センターに搬入された VRE 29 株全てが vanA を保有する E. faecium であった。
- 2) PFGE の結果、29 株全てが同一菌株由来と考えられた。
- 3) VRE をはじめとして、県内で検出される薬剤耐性 菌の菌種や病原遺伝子の保有状況等を病原体サーベ イランスにより把握しておくことは、青森県内の院 内感染対策や疫学調査の一助となるものと思われる。 今後も菌株の収集及び解析を実施し、モニタリング を継続していく。

#### 謝 辞

VRE のゲノム解析等の実施及び PFGE の実施方法等 についてご助言をいただきました、国立感染症研究 所 薬剤耐性研究センターの先生方に厚くお礼申し 上げます。また、菌株の搬入に御尽力いただいた、 県内各保健所の感染症担当の方々及び医療機関の 方々に厚くお礼申し上げます。

#### 文 献

- 1) 吉田眞一他編:戸田新細菌学改訂 34 版. 南山堂, 東京, 2013
- 2) 国立感染症研究所:病原体検出マニュアル 薬剤 耐性菌 平成28年12月改定版 ver 1.1. 15-19, 2016
- 3) 国立感染症研究所: 平成 30 年度薬剤耐性菌の検 査に関する研修 (タイピングコース) 研修資料
- 4) 福田千恵美他: 香川県内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学調査. 香川県環境保健研究センター所報、14,68-71,2015

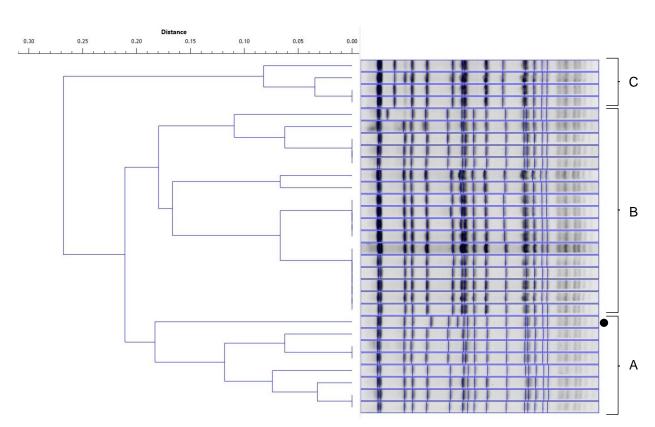


図1 搬入株の PFGE パターンと UPGMA 法による系統樹

# 青森県内でヒトから分離されたサルモネラ属菌の血清型と薬剤感受性(2018年)

髙橋洋平 山上剛志 武差愛美

2018年1月から2018年12月までの期間に県内11定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌41株を対象として、血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施した。血清型別試験の結果、Typhimuriumが最も多く、次いでO4:i:-とInfantis、Rissen、Schwarzengrundが多かった。また、薬剤感受性試験の結果、18株が1剤以上の薬剤に耐性であり、第3世代セフェム系薬剤に耐性を示す2株からはCIT型のプラスミド性AmpC $\beta$ -ラクタマーゼが検出された。血清型と薬剤耐性パターンを比較すると、O4:i:-やRissenには薬剤耐性株が多く、TyphimuriumやLivingstoneには薬剤耐性株が比較的少ない傾向が見られた。

Key words: Salmonella, serotype, PCR, Susceptibility test, AMR

## 1. はじめに

サルモネラ属菌(Salmonella spp.)は腸内細菌科 (Enterobacteriaceae)細菌に属するグラム陰性桿菌であり、O抗原、莢膜抗原(Vi 抗原)、鞭毛抗原(H 抗原)の組み合わせにより約 2,500 の血清型がある <sup>1)</sup>。

青森県環境保健センターでは、県内の11 定点医療機関でヒトから分離されたサルモネラ属菌の菌株を収集し、血清型別試験、薬剤感受性試験等を実施している<sup>2)</sup>。今回、2018 年に当センターに搬入されたサルモネラ属菌の血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施したので報告する。

## 2. 材料と方法

### 2.1 材料

2018年1月から12月に県内の11機関から搬入されたサルモネラ属菌46株のうち、同一患者から一定期間にわたり複数回分離された同一株を除く41株を用いた。

## 2.2 方法

#### (1) 血清型別試験

サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ生研)を用い、定法にしたがって血清型を確認した。

併せて、アルカリ熱抽出法により抽出した DNA を鋳型として既報のプライマー<sup>3)</sup> による multiplex

PCR を実施し、複相菌の2相発現に関与するfljB遺伝子保有状況等を確認した。PCR 試薬はQIAGEN Multiplex PCR plus kit (QIAGEN 社)を用い、試薬量及び反応条件はキットの取扱説明書にしたがった。得られた増幅産物は3%アガロースゲルで電気泳動した。

## (2) 薬剤感受性試験

KB ディスク(栄研化学)を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン II 寒天培地(BD)に塗布し、ディスク配置後、35 °C、好気的条件下で16~18時間培養後判定した。使用薬剤は、2018 年 3 月搬入分まではβ-ラクタム系薬剤 12 剤(ABPC, PIPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, CFPM, CMZ, FMOX, IPM, MEPM, AZT)及びそれ以外の薬剤 12 剤(FOM, GM, KM, AMK, TC, MINO, NA, CPFX, LVFX, ST, CP, CL)の計24薬剤とし、4 月以降に搬入された株に対しては、FMOX を LMOX に変更し、さらに FRPM, DOXY を追加した計26薬剤とした。

また、薬剤感受性試験で第3世代セフェム系薬剤に耐性を示した株については、国立感染症研究所で示している方法 4にしたがい、阻害剤を用いたディスク拡散法によるスクリーニング及び PCR による薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

## 3. 結果

#### 3.1 血清型別試験

2018 年に搬入されたサルモネラ属菌の全 19 血清型の内訳では、Typhimurium が 9 株と最も多かった。これ以降、O4:i:-及び Infantis (各 5 株)、Rissen (4 株)、Schwarzengrund (3 株)、Livingstone (2 株)と続き、残りの13血清型はいずれも1株のみであった(表1)。このうち、O13 の 1 株は、H 型別試験の結果からAgoueve 又は Cubanaと推測されたが、O22, O23 抗血清の手持ちがなかったため、血清型を一つに特定することができなかった。

PCR では、いずれの単相菌からも fljB は検出されなかった。O4の1株は、運動性が確認され、fljB も検出されたにもかかわらず、H型別試験では凝集が認められなかったため、O4:HUT とした。

Javiana と同定された 1 株は、2017 年搬入株と同様に PCR で *gatD* が検出されず、糖分解試験においても galactitol (dulcitol)利用能陰性であった。

表 1 2018 年搬入株の血清型

0 血清群・血清型	株数	(内訳)
O4		22
Bredeney		1
Derby		1
Heidelberg		1
O4:d:-		1
O4:HUT		1
O4:i:-		5
Schwarzengrund		3
Typhimurium		9
O6,7		14
Infantis		5
Livingstone		2
Mbandaka		1
Rissen		4
Singapore		1
Thompson		1
O9		2
Enteritidis		1
Javiana		1
O3,10		1
Meleagridis		1
O6,8		1
Newport		1

013	1
Agoueve or Cubana	1
総計	41

#### 3.2 薬剤感受性試験

薬剤耐性パターンと菌株数の内訳は表 2 のとおりであった。なお、CLには判定基準が設定されていないものの、阻止円径が目立って小さい株はなかった。 1 剤以上に耐性の株は 41 株中 18 株であった。このうち、ペニシリン系薬剤(ABPC、PIPC)1 剤以上に耐性の株は 12 株であり、このうち 8 株はテトラサイクリン系薬剤(TC、MINO、DOXY)1 剤以上にも耐性を示した。また、キノロン系薬剤である NA に耐性の株が 2 株認められた。このほか、アミノグリコシド系薬剤(GM、KM、AMK)に1 剤以上耐性の株が 2 株、ST 耐性株が 1 株、CP 耐性株が 2 株であった。

表 2 に示す株のうち、第 3 世代セフェム系薬剤 (CTX, CAZ) に耐性であった 2 株について、ディスク拡散法ではクロキサシリン(MCIPC)による阻害効果が認められ、PCR ではいずれの株からも CIT 型のプラスミド性 AmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子が検出された。

表 2 2018 年搬入株の薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	株数
全て感性	23
ABPC	3
ABPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, TC, MINO	1
ABPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, TC, MINO,	1
DOXY, NA, ST	1
ABPC, PIPC	1
ABPC, PIPC, GM, TC, MINO, DOXY	1
ABPC, PIPC, TC, CP	1
ABPC, PIPC, TC, MINO, DOXY	3
ABPC, TC, MINO, DOXY	1
KM	1
NA	1
TC	2
TC, DOXY, CP	1
TC, MINO, DOXY	1
総計	41

## 4.考察

血清型ごとの薬剤耐性パターンの内訳を表 3 に示す。この中で、2 番目に搬入数が多かった O4:i:-の 5

株のうち、4 株がテトラサイクリン系薬剤に耐性を示し、このうち 3 株はペニシリン系薬剤にも耐性であった。また、Rissen は搬入された 4 株全てが 1 剤以上に耐性を示した。一方で、搬入数が 9 株と最も多かった Typhimurium では薬剤耐性株は 1 株のみであり、搬入数 2 株の Livingstone は全株が全薬剤に感性であった。2017 年搬入株の結果 つも踏まえると、O4::-や Rissen には薬剤耐性株が多く、Typhimuriumや Livingstone には薬剤耐性株が比較的少ない傾向が見られた。

また、2018 年搬入株で CIT 型のプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子を保有していた血清型 は Derby と Heidelberg であった。2017 年搬入株で同様の遺伝子を保有していた血清型は O4:i:-であり、少なくともこの 2 年間における血清型の共通点はなかった。

#### 表 3 血清型と薬剤耐性パターンの内訳

血清型と薬剤耐性パターン	株数
Derby	1
ABPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, TC, MINO	1
Enteritidis	1
NA	1
Heidelberg	1
ABPC, CEZ, CTM, CTX, CAZ, TC, MINO,	1
DOXY, NA, ST	1
Infantis	5
-	2
ABPC, PIPC	1
TC	2
O4:i:-	5
-	1
ABPC, PIPC, TC, MINO, DOXY	3
TC, MINO, DOXY	1
Rissen	4
ABPC	2
ABPC, TC, MINO, DOXY	1
TC, DOXY, CP	1
Schwarzengrund	3
-	1
ABPC	1
KM	1
Singapore	1
ABPC, PIPC, GM, TC, MINO, DOXY	1

Typhimurium	9
-	8
ABPC, PIPC, TC, CP	1

※同一血清型の全株が全ての薬剤に感性であったものは、表から除外している。

#### 5. まとめ

- 1) 2018 年に 11 定点医療機関から青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌 41 株を対象に血清型別試験を実施した結果、Typhimurium が 9 株と最も多く、次いで O4:i:-と Infantis が 5 株、Rissen が 4 株、Schwarzengrund が 3 株と続いた。
- 2) 薬剤感受性試験の結果、41 株中 18 株が 1 剤以上の薬剤に耐性であった。その多くはペニシリン系薬剤又はテトラサイクリン系薬剤もしくはその両方に耐性を示し、NA 耐性株も 2 株認められた。また、第 3 世代セフェム系薬剤耐性の 2 株からは、CIT 型AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子が検出された。
- 3) O4:i:-は5 株中4 株が耐性株で、Rissen は4 株全てが耐性株であったのに対し、Typhimurium の耐性株は9 株中1 株のみで、Livingstone は2 株いずれも全薬剤に感性であった。2017 年から 2018 年にかけての搬入株には、血清型と薬剤耐性パターンにある程度の傾向が見られた。
- 4) サルモネラ属菌等の腸内細菌科細菌をはじめ、県内において検出頻度の多い病原性細菌の菌種や血清型、病原遺伝子の保有状況、薬剤耐性の傾向等を病原体サーベイランスにより把握しておくことは、感染症及び食中毒対策や疫学調査に資するものと考えられる。今後も菌株の収集及び性状解析を継続して実施し、データを蓄積・分析していくことが大切である。

## 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、青森市民病院、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 総合病院、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、公立野辺地病院の検査 担当の方々に厚くお礼申し上げます。

#### 文 献

 吉田眞一他編:戸田新細菌学改訂 34 版. 南山堂, 東京, 2013 青森県環境保健センター年報 第30号(2019)

- 2) 髙橋洋平他: 青森県内におけるサルモネラ属菌の 性状解析(2017年). 青森県環境保健センター年報, 28, 31-36-2017
- 3) Lee, K. et al. : A novel multiplex PCR assay for

Salmonella subspecies identification. J. Appl. Microbiol., **107**, 805-811, 2009

4) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター : 薬剤耐性菌研修会資料, 2017 年 9 月

# 青森県における梅毒の発生動向(2010年~2019年)

山上剛志 髙橋洋平 武差愛美

2010年1月から2019年12月までに届出された梅毒患者を対象として、感染症発生動向調査により蓄積されたデータをもとに、青森県における梅毒の発生動向について報告する。2016年以降急増した梅毒患者届出数は、2017年をピークとし、2019年には半減したが依然として多く、今後の発生動向を注視する必要がある。男性患者の約70%と女性患者の約76%を占める異性間性的接触による患者は、2016年以降、男性では幅広い年代で、女性では特に20代を中心に急増した。

Key words: 感染症発生動向調查;梅毒;青森県

#### 1. はじめに

国内の梅毒患者届出数は、性病予防法による全数報告が始まった1948年以降、一時的な小流行は見られるものの大きく減少していた。1999年4月から感染症法により全数把握対象疾患の五類感染症に指定され、本県においても、1999~2015年まで届出数は0~8例であった。しかし、近年、全国的に届出数が増加傾向にあり<sup>1,2)</sup>、青森県でも2016年以降、28~63例と増加し、2017年は1999年以降で最多となった(図1)。青森県の人口10万人当たり届出数は、2015年まで全国と比較して低位で推移していたが、2017年には急増し、全国平均を上回った(図2)<sup>3,4)</sup>。

このような状況において、梅毒の動向を十分に把

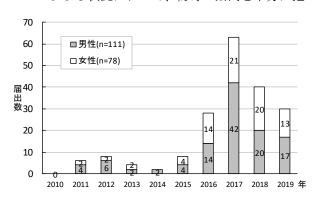


図1 青森県における男女別梅毒患者届出数、 2010~2019年

握し、対策を行う関係者に情報還元していくことが 重要である。そこで今回、本県の梅毒患者発生動向 を詳細に把握するため、2010~2019年に県内で届出 された梅毒患者の性別、年齢、推定感染経路および 病型を集計し、検討を行った。また、2019年より開 始となった新たな届出事項について集計し、分析を 行ったので報告する。

# 2. 方法

梅毒患者届出数は、感染症サーベイランスシステム(National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease: NESID)により集計された感染症発生動向調査のデータを利用し、2010~2019年に青森県内の

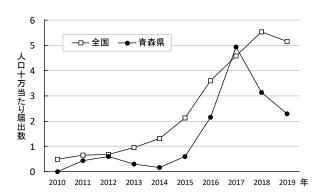


図2 全国及び青森県における人口10万人当たり 梅毒患者届出数、2010~2019年

医療機関で診断され、梅毒患者として届出された者を対象とした。分析には、性別、診断時の年齢、診断日、病型、性的接触の推定感染経路、感染地域、医療機関の所在地の情報を用いた。また、2019年分の患者情報として、性風俗の従事歴・利用歴、梅毒の既住歴、HIV 感染症の合併、妊娠の有無についても確認した。

## 3. 結果

#### 3.1 年齢

2010~2019 年に届出された 189 例のうち、男性は 111 例 (58.7%) で年齢の中央値は 36 歳 (範囲 0-86 歳)、女性は 78 例 (41.3%) で年齢の中央値は 27 歳 (範囲 0-90 歳) であった。

患者の年代は、男性では20~50代と幅広い年代でみられ、20代が23例(20.7%)、30代が30例(27.0%)、40代と50代がそれぞれ19例(17.1%)であった。2017年に幅広い年代の男性が急増し、2019年には半数以下となった。女性では、20代が34例(43.6%)、30代が18例(23.1%)と多くを占めた。2017年に20代の女性が急増し、2019年には減少したものの、20代が7例(53.8%)と依然として多い(図3)。

#### 3.2 推定感染経路

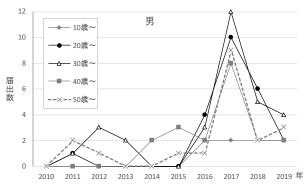
推定感染経路は、男性では異性間性的接触が 78 例

(70.3%) と最も多く、次いでその他・不明 17 例 (15.3%)、性的接触(詳細不明)9 例(8.1%)、同性間性的接触6例(5.4%)であり、2018年には1例(0.9%)の母子感染による先天梅毒事例があった。女性では異性間性的接触が59例(75.6%)と最も多く、次いでその他・不明14例(17.9%)、性的接触(詳細不明)4例(5.1%)、2018年には1例(0.9%)の母子感染による先天梅毒事例があり、同性間性的接触はみられなかった。

異性間性的接触による患者は、男性では 2017 年に 急増し、2019 年には半数以下となった。女性においても、2017 年にピークとなり、2019 年には半数以下 となった (図 4)。

同性間性的接触による患者は、男性のみ年間 0~1 例届出され、患者の年代は、30 代および 40 代がそれぞれ 3 例であった。

性的接触(詳細不明)とその他・不明の患者は、 男性では 2017 年をピークとして減少傾向にあるが、 女性では逆に増加傾向にあった。2019 年の性的接触 (詳細不明)とその他・不明の患者 6 例はすべて無 症状病原体保有者であり、20 代および 80 代がそれ ぞれ 3 例であった。



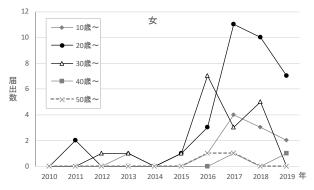


図3 青森県における年齢区分別梅毒患者届出数、2010~2019年

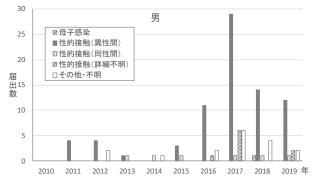




図 4 青森県における推定感染経路別梅毒患者届出数、2010~2019年

### 3.3 病型

患者の病型は、男性では早期顕症梅毒 I 期が 47 例 (42.3%) と最も多く、次いで早期顕症梅毒 II 期 31 例 (27.9%)、無症状病原体保有者 28 例 (25.2%)、晚期顕症梅毒 4 例 (3.6%)、先天梅毒 1 例 (0.9%)であった。女性では早期顕症梅毒 II 期が 36 例 (46.2%)と最も多く、次いで無症状病原体保有者 28 例 (35.9%)、早期顕症梅毒 I 期 9 例 (11.5%)、晚期顕症梅毒 4 例 (5.1%)、先天梅毒 1 例 (0.9%)であった (図 5)。

異性間性的接触では早期顕症梅毒 II 期が 51 例 (37.2%) と最も多く、次いで早期顕症梅毒 I 期 48 例 (35.0%)、無症状病原体保有者 33 例 (24.1%)、晚期顕症梅毒 5 例 (3.6%) であった。同性間性的接触では早期顕症梅毒 II 期が 3 例 (50.0%) と最も多く、次いで早期顕症梅毒 I 期 2 例 (33.3%)、無症状病原体保有者 1 例 (16.7%) であった。

2016年以降、男性では早期顕症梅毒 I 期の届出が多く、2017年をピークとし、2019年には3分の1以下となった。早期顕症梅毒 II 期も同様に減少傾向にあるが、無症状病原体保有者は横ばいのままであった。女性では、早期顕症梅毒 II 期の届出が多く、2017

年をピークとし、2019年には約4分の1となったが、 無症状病原体保有者が2015年から4年連続で増加し、 2019年には最も多い病型となった。

#### 3.4 感染地域

患者の感染地域は、男性、女性ともに県内が多く、 男性では 62 例 (55.6%)、女性では 63 例 (80.8%) であった。男性では、次いで県外 29 例 (26.1%)、 不明 19 例 (17.1%)、国外 1 例 (0.9%) であった。 女性では不明 10 例 (12.8%)、県外 5 例 (6.4%) であった (図 6)。

#### 3.5 新たな届出事項の状況(2019年)

2019 年の県内での梅毒患者届出数は計 30 例 (男性 17 例、女性 13 例) (2020 年 2 月 1 日現在)で、そのうち梅毒の既住歴については 1 例(女性、20 代、無症状病原体保有者)、HIV 感染症の合併については 1 例 (男性、40 代、早期顕症梅毒 II 期)の届出があった。また、女性のうち 4 例 (30.8%)が妊婦 (1 例は 20 代で早期顕症梅毒 II 期、10 代 1 例と 20 代 2 例は無症状病原体保有者)であった。

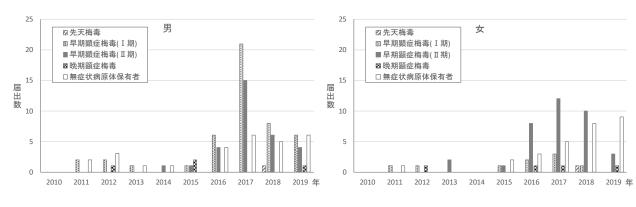


図 5 青森県における病型別梅毒患者届出数、2010~2019年

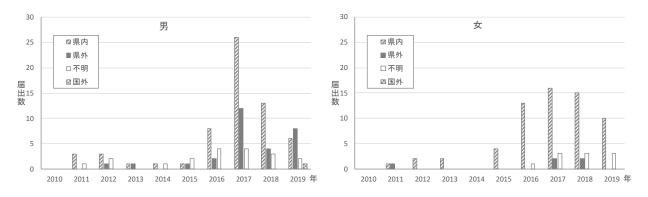


図 6 青森県における感染地域別梅毒患者届出数、2010~2019年

## 4. 考察

男性患者の約70%と女性患者の約76%を占める 異性間性的接触による患者は、2016年以降、男性で は幅広い年代で、女性では特に20代を中心に急増し たことから、若年層に向けた普及啓発が必要と考え られた。

男性患者の発生動向については、早期顕症梅毒 I 期が多いことから、早期発見と医療機関受診に繋がっていると言える。しかし、無症状病原体保有者が横ばい傾向にあり、今後の男性患者の発生動向に注視する必要がある。

女性患者の発生動向については、早期顕症梅毒II期が多いことから、早期顕症梅毒I期の症状について啓発を行い、早期の医療機関受診を促す等の取り組み強化が必要と考えられた。また、II期に次いで無症状病原体保有者が多く、増加傾向にあることから、梅毒に感染したとしても、すべての患者が顕症梅毒となるわけではなく、痛みがない者や特に治療をしなかった者も無症状病原体保有者となる可能性があるため、梅毒を疑い受診することの重要性を広く啓発していくことが求められる。

2019年1月1日から梅毒の届出様式が変更され、 妊娠の有無、直近6ヶ月以内の性風俗産業の従事歴 の有無等が届出内容に含まれた。2019年に報告され た妊娠症例は、10代後半から20代の女性4例であ り、いずれも性風俗従事歴がないことから、感染源 が男性パートナーである可能性が示唆された。また、4 例のうち3 例が無症状病原体保有者であることから、妊婦検診が有効に機能していると考えられた。妊婦が感染すると胎盤を通じて胎児に感染し、流産、死産、先天梅毒を起こす可能性がある。2018 年には先天梅毒症例が2 例届出されており、妊婦検診の未受診をなくし、梅毒母子感染を未然に防ぐことが重要となる。具体的には、県内保健所で実施している梅毒等の無料・匿名検査の積極的な利用や、医療機関受診や、妊婦健診により感染が判明した際の、パートナーの検査受診を広く啓発していく必要があると考えられた。

## 文 献

1) 国立感染症研究所: 日本の梅毒症例の動向について (2020年1月8日現在)

https://www.niid.go.jp/niid/ja/syphilis-m-3/syphilis-idwrs/7816-syphilis-data-20180105.html

- 2) 国立感染症研究所: IDWR 速報データ 2020 年 https://www.niid.go.jp/niid/ja/data.html
- 3) 国立感染症研究所感染症疫学センター: <特集> 梅毒. 病原微生物検出情報, **41**(1), 1-11, 2020
- 4) 国立感染症研究所感染症疫学センター: <特集>梅毒 2008 年~2014 年. 病原微生物検出情報, **36**(2), 17-26, 2015

IV 他誌投稿·学会等発表抄録

## 他誌投稿抄録

# 青森県内における稲わら焼却による大気汚染状況 について

北畠 茂 対馬典子 野澤直史<sup>1</sup>:全国環境研会誌 Vol. 44 No. 2 p. 10-15 (2019)

青森県津軽地域に設置している大気汚染常時監視測定局(五所川原第三中学校局)では、毎年10月期に稲わら焼却によるものと推察される浮遊粒子状物質濃度及び微小粒子状物質濃度の上昇が認められており、稲わら焼却時は、19時頃がピークとなっていた。10月期における浮遊粒子状物質濃度の月平均値は、2008年度までは横ばいで推移していたが、2009年度以降は稲わら焼却面積の割合の減少と相まって、低下傾向が見受けられた。また、アルデヒド類濃度及びベンゾ[a]ピレン濃度も、稲わら焼却が行われているときは明らかな上昇が認められ、浮遊粒子状物質濃度及び微小粒子状物質濃度とも良好な正の相関があった。

1 中南地域県民局環境管理部

# 地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部における検査業務の信頼性確保の推進に関する 取組について

筒井理華、小笠原和彦:第33回公衆衛生情報研究協議会研究会、2020.1.23-24(埼玉県和光市)

改正感染症法で求められた各地衛研が実施する 検査業務の質の向上のために、検査部門と信頼性 確保部門が協議し、各地衛研の実情に合わせて、 信頼性確保に向けた体制整備を図っている。令和 元年度北海道・東北・新潟支部微生物研究部会事 務局である当所は、当支部12地衛研に対し、信頼 性確保業務に関するアンケート調査を実施し、結 果を取りまとめた。調査内容は、信頼性確保部門 の現状、信頼性確保部門担当者への研修及び精度 管理の実施状況であった。改正感染症法で求めら れた各地衛研が実施する検査業務の質の向上のた めには、検査部門と信頼性確保部門が協議し、各 地衛研の実情に合わせて、信頼性確保の推進に向 けた取組を継続していくことが重要であった。

# 青森県環境保健センター年報

平成 31 年度 令和 2 年 5 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