

青森県環境保健センター研究報告

Bulletin
of
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center

No.26 2015

青森県環境保健センター

は じ め に

青森県環境保健センターは、県民の生活環境の保全及び保健衛生の向上に係る試験研究並びに情報提供を組織目標に掲げて、国や地方衛生・環境研究所、保健所や環境管理事務所、医療機関等と緊密な連携を取りながら業務を遂行し、本県の環境行政、保健衛生行政の推進に大きな役割を果たしてきています。

保健衛生の面では、昨年は、韓国でMERS（中東呼吸器症候群）が流行し、当所でも検査体制を整備しましたが、今また、ブラジルでジカ熱が流行し、ジカウイルス感染症の検査への対応が求められました。これらは、グローバル化により、世界のどの地域で流行した感染症でも、世界的な流行を引き起こす可能性があり、当所においても、直ちに対応する能力・体制が求められているということを、改めて認識させるものでした。

また、環境保全対策の面では、PM_{2.5}による広域大気汚染問題が取り上げられていますが、PM_{2.5}については、越境汚染とともに都市汚染が影響していると言われており、国内対策と国際対策をとともに推進することが必要とされています。国内対策と国際対策を同時に推進するためには、環境省や国立環境研究所、当所などの地方環境研究所等が連携して調査研究を行い、情報を共有することが必要かつ重要です。

さて、当所では、精度管理に裏付けされた正確な検査結果を迅速に提供することを常に心がけていますが、平成28年4月1日施行の感染症法の改正により、GLPの考え方が微生物分野にも拡大されることから、改めてすべての試験検査において、より一層迅速かつ信頼性の高い試験検査を実施してまいります。

ここに当所の調査研究の成果を平成27年度研究報告（第26号）として取りまとめました。この研究報告は、職員が通常業務としての試験検査を行っている中から課題を見つけ出し、研究テーマとして取り組んだものです。御高覧のうえ皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

今後とも御指導、御支援を賜りますようお願いいたします。

平成28年3月

青森県環境保健センター所長
所 長 工 藤 真 哉

目 次

I 報 文

青森県内において過去5年間に分離されたサルモネラ症由来分離株の血清型と薬剤耐性 対馬典子 武沼浩子 福田 理	1
青森県におけるヒトメタニューモウイルスの分子疫学解析 (2014) 筒井理華 古川紗耶香 木村政明	7
青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向 (2014) と 分離された菌株の遺伝子学的解析及び薬剤耐性 武沼浩子 対馬典子 福田 理	11

II ノート

食品苦情事例等 (平成25年度～平成26年度) 工藤志保 花石竜治 木村淳子 五日市健夫 柴田めぐみ 増田幸保 山本明美 佐藤裕久	15
重金属のフレイム原子吸光分析における酸の増感効果について —クロム/硝酸/過塩素酸の系を中心に— 花石竜治 佐藤裕久	20
青森県における微小粒子状物質 (PM _{2.5}) の観測結果について (第1報) 大坂直人	24
十和田湖底質中の有機物及び栄養塩等について (平成4年度～平成26年度) 工藤香織	30

III 他誌投稿・学会等発表抄録	34
------------------------	----

Contents

I Original Articles

Serotypes and drug resistance of isolated salmonella strains over the past 5 years in Aomori Prefecture Noriko Tsushima, Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda	1
Molecular epidemiological analysis of human metapneumoviruses in Aomori Prefecture (2014) Rika Tsutsui, Sayaka Kogawa, Masaaki Kimura	7
Trends in enterohemorrhagic Escherichia coli infection in Aomori Prefecture (2014) and genetic analysis and drug resistance of isolated bacteria Hiroko Takenuma, Noriko Tsushima, Osamu Fukuda	11

II Notes

Case studies on food product complaints (2013 to 2014) Shiho Kudo, Ryuji Hanaishi, Junko Kimura, Takeo Itsukaichi, Megumi Shibata, Yukiyasu Masuda, Akemi Yamamoto, Hirohisa Sato	15
Sensitization effects by acids in flame atomic absorption spectrophotometry of heavy metal: focusing on a system composed with chromium, nitric acid and perchloric acid Ryuji Hanaishi, Hirohisa Sato	20
Reports of observation of fine particles (PM _{2.5}) in Aomori Prefecture (Report 1) Naoto Osaka	24
Concentrations of organic matters and nutrient salts in Lake Towada sediment(1992 to 2014) Kaori Kudo	30

III Summaries of Other Publications/

Abstracts of Presentations in Conferences and Society meetings	34
--	----

I 報 文

青森県内において過去5年間に分離されたサルモネラ症由来分離株の血清型と薬剤耐性

対馬典子 武沼浩子 福田 理¹

2010年から2014年に県内の細菌検査施設で人から分離されたサルモネラ属菌194株について、月別患者数、年齢別患者数、血清型及び薬剤感受性について検討した。血清型別については、過去5年間でみると *Salmonella* Typhimurium (以下、*S. Typhimurium*) が最も多く、次いで *Salmonella* O4:i:- (以下、*S. O4:i:-*)、*S. Infantis*、*S. Enteritidis* であった。国内において増加が報告されている *S. O4:i:-* は、青森県内においても2012年より確認されており、2014年にはこれまでに最も多い13株が分離された。2014年については3つの薬剤耐性パターンに分類され、複数系統の存在が確認された。

Key words : *Salmonella*, drug susceptibility, diffuse outbreak, *Salmonella* O4:i:-

1. はじめに

サルモネラ属菌は、O抗原およびH抗原の組み合わせにより、約2,500種類の血清型が明らかにされているが、チフス菌、パラチフスA菌などを除く、大部分のサルモネラ属菌は食中毒の原因となる。

当センターでは、食中毒由来や医療機関で人から分離されたサルモネラ属菌の菌株について血清型別試験、薬剤感受性試験、遺伝子解析等を行い、その概要をとりまとめている¹⁻⁶⁾。今回、定点機関より収集している過去5年分のサルモネラ属菌の菌株を対象として分離時期、血清型別、薬剤感受性などの考察を行ったので報告する。

2. 方法

2.1 菌株

2010年から2014年までの期間に定点医療機関で分離、収集されたサルモネラ属菌株194株(2010年:43株、2011年:34株、2012年:18株、2013年:35株、2014年:64株)を対象とした。

なお、定点医療機関は2014年より1定点医療機関増の合計11施設(青森市3施設、弘前市、八戸市各2施設、五所川原市、十和田市、むつ市、野辺地町各1施設)である。

2.2 血清型別試験

デンカ生研製サルモネラ免疫血清『生研』を用い、血清型別試験を行った。

2.3 薬剤感受性試験

BD製センチ・ディスクを用い、KB法(Kirby-Bauer法)により行った。菌液はMcFarland濃度0.5に調製し、Mueller-Hinton寒天培地に塗布し、ディスクを置き、35℃好气的条件下で16~24時間培養後判定した。使用薬剤はAmpicillin(ABPC)、Ceftazidime(CAZ)、Cefalotin(CET)、Cefepime(CFPM)、Cefoxitin(CFX)、Cefotaxime(CTX)、Fosfomycin(FOM)、Imipenem(IPM)、Kanamycin(KM)、Norfloxacin(NFLX)、Tetracycline(TC)の11種類を使用した。

3 結果と考察

3.1 月別分離数

過去5年間の月別分離数は、全国の分離状況⁷⁾と同様に、夏季を中心に年間を通じて分離されている(図1)。

3.2 年齢層別分離数

過去5年間の年齢層別分離数は(図3)、9歳以下の年齢層で37%と最も多く、次いで10~19歳の21%となっている。

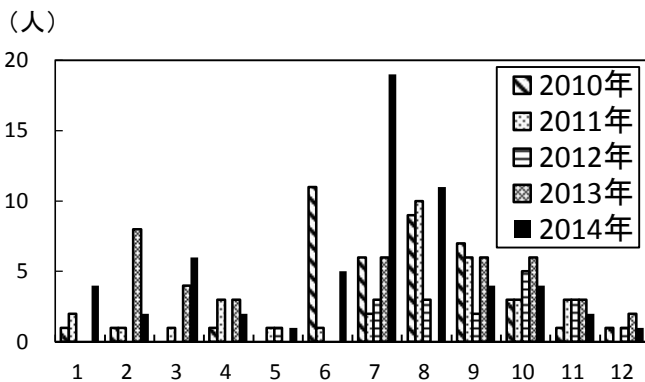


図1 県内の月別患者数 (月)

1 環境生活部環境保全課

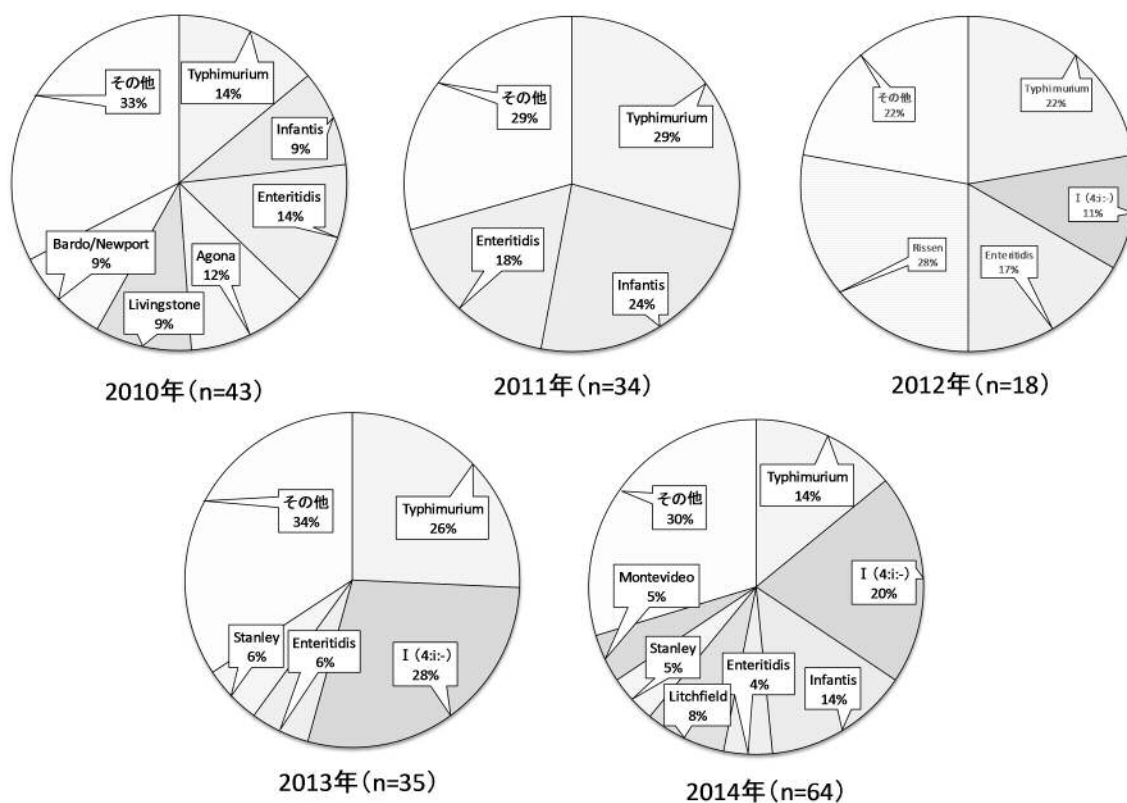


図2 青森県内における人由来 *Salmonella* の血清型別割合 (2010年~2014年)

3. 3 血清型別割合

全国のサルモネラ属菌の血清型は *S. Enteritidis* が最も多いが、その割合は年々減少し、様々な血清型が食中毒の原因となっている。(7)、8)

本県の血清型別については、過去5年間でみると194株中 *S. Typhimurium* (38株) が最も多く、次いで *S. O4:i:-* (25株)、*S. Infantis* (23株)、*S. Enteritidis* (20株) であった。年毎の血清型別割合(図2、表1)をみると、2012年より *S. O4:i:-* が分離され、2013年、2014年には *S. Typhimurium* の割合を上回っている。

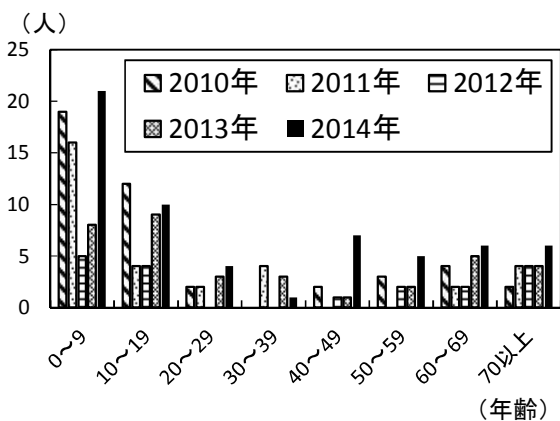


図3 県内の年齢別患者数

3. 4 *Salmonella* O4:i:- の分離状況

年別の分離株全体におけるO4群、O7群及びその他の占める割合は(図4)、O4群が最も多く占め(37.2~68.6%)、次いでO7群(11.4~38.9%)であった。

最も高い割合を占めているO4群の中で *S. O4:i:-* は青森県内においても2012年より確認されており、2014年には13株とこれまでに最も多く分離された(表1、図5)。*S. Typhimurium* の単相変異型とされる *S. O4:i:-* は、人及び家畜のサルモネラ症の原因菌として世界的に増加傾向であり、国内においても本菌の増加が指摘されている。本県において2015年には9月末現在で10株分離されている。

2010年8月に *S. O4:i:-* による牛サルモネラ症が青森県内で初めて報告された⁹⁾。その後、2012年にも同一町内の5kmほどの狭い範囲内において *S. O4:i:-* による成牛のサルモネラ症が散発するといった事例が発生した¹⁰⁾。これは、*S. O4:i:-* が本県において人からはじめて分離された2012年と時期的に一致していた。サルモネラは自然界に広く分布し、ペット、鳥類、爬虫類、両生類が保菌し、とくに家畜(豚、鶏、牛)の腸管内では、常在菌として保菌していることが知られているが、今後も、疫学情報とあわせて本血清型の推移を注視していく必要がある。

表1 青森県内における人由来 *Salmonella* の血清型の年別推移 (2010年～2014年)

	血清型	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年
O3,10	Vejle				1	
	Weltevreden				1	
O4	Typhimurium	6	10	4	9	9
	Agona	5				1
	ParatyphiB	2	1			1
	Stanley	2	1		2	3
	I (4:i:-)			2	10	13
	Saintpaul	1		1		1
	Derby		1			
	Schleissheim				1	
	Schwarzengrund		1			1
	Tsevie			1		
	Chester				1	
	Tumodi				1	
	Heudelberg					1
Bredeney					1	
O6,8	Muenchen				1	
	Newport					1
	Litchfield					5
	Manhattan					1
O7	Infantis	4	8	1	1	9
	Rissen	1		5		
	Livingstone	4				2
	Thompson	2	1	1		2
	Bareilly	2				
	Montevideo		1		1	3
	Braenderup				1	1
	I (O7:HUT)				1	
	IIIa (O7:UT:UT)					1
Mbardaka					1	
O6,7	Singapore					1
O8	Bardo/Newport	4				
	Virginia/Muenchen	1	1			
	Korbol/Nagoya		1			
	UT	1				
	Corvallis					1
O9	Enteritidis	6	6	3	2	3
	Berta		1			
	Panama/Houston		1			
O13	Poona/Farmsen	2				1
	Agbeni					1
O16	I (O16:l,v:-)				1	
O48	IIIb (O48:l,v,Z13:1,5,7)				1	
	計	43	34	18	35	64

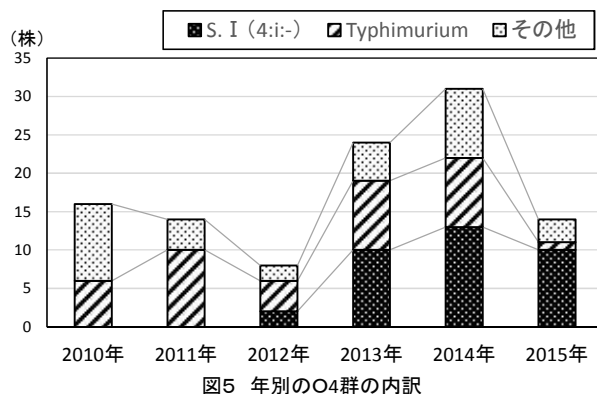
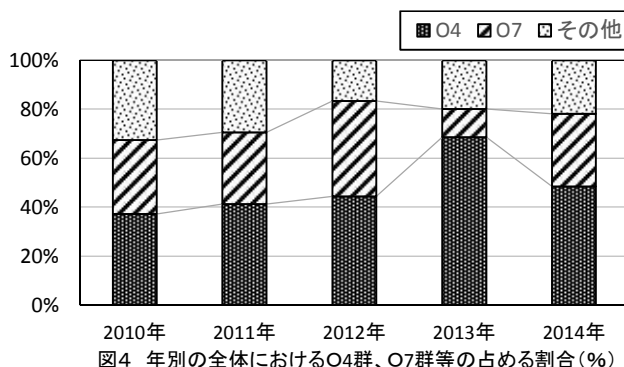
3. 5 薬剤感受性試験

2014年の分離株(64株)について薬剤感受性試験を実施した結果を表2に示す。なお、感受性が中間(I)であったものは、耐性として集計した。臨床的に有効性が認められているものは、アンピシリン(ABPC)、ホスホマイシン(FOM)およびニューキノロン薬に限られ、わが国の非チフス性サルモネラの薬剤耐性率はABPCに20~30%、FOMに対し10%未満であり、ニューキノロン薬耐性はほとんどみられないとされているが¹¹⁾、本調査結果ではABPC耐性株は64株中14株(21.9%)で、FOM、NFLXに耐性を示す株は確認されなかった。また、テトラサイクリン(TC)に対して耐性を持つ株は64株中17株(26.6%)であった。

また、薬剤耐性なしが43株(67.2%)、1剤耐性が8株(12.5%)、2剤耐性が13株(20.3%)であった(表2)。

表2 人由来Salmonella分離株の薬剤耐性(2014年)

血清型	薬剤耐性パターン	菌株数
<i>S. IIIa</i> (O7:UT)	(耐性無し)	1
<i>S. I</i> (O4:i:-)	(耐性無し)	4
	ABPC	1
	TC	1
	ABPC,TC	7
<i>S. Agbeni</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Agona</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Braenderup</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Bredeney</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Corvallis</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Enteritidis</i>	(耐性無し)	3
<i>S. Heidelberg</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Infantis</i>	(耐性無し)	4
	TC	4
	KM,TC	1
<i>S. Litchfield</i>	(耐性無し)	5
<i>S. Livingstone</i>	(耐性無し)	2
<i>S. Manhattan</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Mbandaka</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Montevideo</i>	(耐性無し)	3
<i>S. Newport</i>	ABPC,TC	1
<i>S. Paratyphi B</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Poona/Farmsen</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Saintpaul</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Schwarzengrund</i>	KM	1
<i>S. Singapore</i>	(耐性無し)	1
<i>S. Stanley</i>	(耐性無し)	3
<i>S. Thompson</i>	(耐性無し)	2
<i>S. Typhimurium</i>	(耐性無し)	4
	ABPC	1
	ABPC,KM	1
	ABPC,TC	3



(※2015年については、9月末現在での分離数)

なお、ABPC、KM、TC以外の薬剤に耐性を示す株は認められなかった。

我が国においても*S. Typhimurium*が多剤耐性化の傾向にあるが、本結果の2剤耐性菌13株のほとんどが*S. Typhimurium*、*S. O4:i:-*でもあることから、今後も注視していく必要がある。

また、東北地方に2006年度に浸淫した*S. O4:i:-*には少なくとも二つの系統(薬剤すべてに感受性およびABPCとTCに耐性獲得株)が存在することが示唆されたが¹²⁾、本県において2012年に分離された*S. O4:i:-*2株、2013年に分離された*S. O4:i:-*10株についてはすべての株が2剤耐性(ABPC、TC)であったが、2014年については表2に示すとおり、薬剤すべてに感受性、1剤耐性(TC)(ABPC)そして2剤耐性(ABPC、TC)の3つの耐性パターンに分類され、複数系統の存在が確認された。

4 まとめ

本県において近年は、*S. Typhimurium*が多く検出される傾向が続いているが、国内において増加が報告されている*S. O4:i:-*は、青森県内においても2012年より確認され、増加傾向である。

また、2014年分の*S. O4:i:-*については、薬剤すべてに感受性、1剤耐性、そして2剤耐性の複数パターンに分類され、複数系統の存在が推測された。

サルモネラ属菌による食中毒は、全国的にも発生件数、患者数ともに2000年以降減少傾向にあり、本県においても、近年サルモネラの集団発生はみられていないが、全体に占める乳幼児の感染割合は多い。サルモネラは健康な成人ではその症状が胃腸炎にとどまるが、小児や高齢者では重篤となることがある。1999年に川崎市で発生し全国規模に及んだ県内の工場で製造された子供用乾燥イカ菓子が原因の*S. Oranienburg*は、後者の典型的事例であった²⁾、⁸⁾が、発生に端を発する直前に、県内医療機関において、本事件の原因菌が幼児から集中的に検出されており、散発患者から分離される菌の血清型の常時監視は、潜在的集団発生(diffuse outbreak)の発見に有用である可能性が示唆され²⁾、各医療機関のサルモネラ属菌分離状況について、考察、フィードバックすることで集団発生を未然防止する体制作りの目的で、「青森県病原微生物検出情報」システムが1999年に構築され、2001年から本格稼働し¹³⁾、¹⁴⁾、更には2014年に現状に合わせた見直しを行ったところである¹⁵⁾。現在、本システムによる病原体検出情報の発信は、ビブリオ属菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター、エルシニア、ESBL(基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌)、MRSA(メチシリン耐性黄色ブドウ球菌)の分離株数について、毎週当センターホームページに掲載している¹⁶⁾。

今後も、医療機関から毎週報告を受けているサルモネラ属菌の分離状況や収集菌株について、単に集計、同定に終わらず、疫学情報や分子疫学的解析結果などと併せ、更に詳細な情報を発信していくことが重要であると考えます。

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、つがる西北五広域連合西北中央病院、十和田市立中央病院、一部事務組合下北医療センターむつ総合病院、公立野辺地病院の細菌検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

文 献

- 1)野呂キョウ, 他: 青森県におけるサルモネラ・エンテリティディスの疫学. 青森県環境保健センター研究報告,8,41-42,1997.
- 2)対馬典子, 他: イカ菓子食中毒事件に係るサル

モネラ汚染実態の疫学的考察. 青森県環境保健センター研究報告,10,1-10,1999.

- 3)和栗敦, 他: 県内で発生したサルモネラ食中毒の分子疫学的解析. 青森県環境保健センター研究報告,15,45-47,2004.

- 4)和栗敦, 他: 2000年から2009年までの県内におけるサルモネラ属菌の動向と分離菌株の血清型、薬剤感受性試験及びP F G E法による解析. 青森県環境保健センター研究報告,21,1-5,2010.

- 5)福田理, 他: 県内の散発サルモネラ症由来分離株の血清型別(2010年~2012年). 青森県環境保健センター研究報告,24,1-5,2013.

- 6)福田理, 他: 県内の散発サルモネラ症例由来分離株の傾向(2013年). 青森県環境保健センター研究報告,25,14-17,2014.

- 7)国立感染症研究所: 病原微生物検出情報.

サルモネラ月別および血清型割合、2011~2015年 (URL:<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1524-iasrgb.html>)

- 8)食品健康影響評価のためのリスクプロファイル~鶏肉におけるサルモネラ属菌~(改訂版)

2012年1月 食品安全委員会

- 9)中村紀文, 他: 酪農場で発生した*Salmonella* O4群:i:-による下痢症と浄化対策. 平成22年度青森県家畜衛生業績発表会.

- 10)長谷部加奈, 他: 牛の糞便から分離された*Salmonella*O4群:i:-の疫学解析. 平成26年度青森県家畜衛生業績発表会.

- 11)田村和満: 感染症発生動向調査感染症週報2004年第5週号「サルモネラ感染症」

- 12)東北食中毒研究会: 東北地方で2006(平成18)年度に分離されたサルモネラの血清型と薬剤耐性. 病原微生物検出情報(IASR), 164-166, Vol.29 No.6 (2008.6)

- 13)大友良光: 病原微生物の週報構築. 青森県環境保健センター研究報告,13,14-17,2002

- 14)和栗敦, 他: 青森県病原微生物検出情報システムを活用した病原体情報の解析. 青森県環境保健センター研究報告,19,1-7,2008

- 15)武沼浩子, 他: 青森県病原微生物検出情報システムの変更. 青森県環境保健センター研究報告,25,40-44,2014.

- 16)青森県病原微生物検出情報 (URL: <http://www.pref.aomori.lg.jp/welfare/health/ByougenBiseibutu.html>)

Serotypes and drug resistance of isolated salmonella strains over the past 5 years in Aomori Prefecture

Noriko Tsushima, Hiroko Takenuma, Osamu Fukuda

For the 194 *Salmonella* strains isolated from humans at bacterial testing institutions in the prefecture from 2010 to 2014, we investigated the number of patients in each month, the numbers of patients in each age group, serotypes and drug susceptibility. By serotype, *Salmonella* Typhimurium (“*S.* Typhimurium”) was the most common over the past 5 years, followed by *Salmonella* O4:i:- (“*S.* O4:i:-”), *S.* Infantis and *S.* Enteritidis. *S.* O4:i:-, which has been reported to be increasing in Japan, was also found in Aomori Prefecture in 2012, and in 2014, 13 strains were isolated, the largest number so far. Strains in 2014 were categorized into 3 drug resistance patterns, and it was found that multiple strains were present.

Keywords: *Salmonella*, drug susceptibility, diffuse outbreak, *Salmonella* O4:i:-

青森県におけるヒトメタニューモウイルスの分子疫学解析 (2014)

筒井理華 古川紗耶香⁽¹⁾ 木村政明

青森県におけるヒトメタニューモウイルス (hMPV) が関与する呼吸器ウイルスの発生動向と臨床症状との関連を明らかにするため、2014 年 4 月から 2015 年 3 月までに呼吸器症状を呈して医療機関を受診した小児患者由来検体 176 検体を対象に遺伝子検査を行った。その結果、hMPV は 24 検体 (13.6%) から検出された。そのうち 19 検体について遺伝子型別を行った結果、hMPV subgroup A2 (-A2) と hMPV-B1 に分類され、hMPV-A2 が 18 株 (94.7%)、hMPV-B1 が 1 株 (5.3%) 検出された。hMPV の遺伝子型と呼吸器症状の関連性を検討した結果、hMPV-A および hMPV-B との間に顕著な差異は認められなかった。今回の調査では、hMPV の遺伝子型と呼吸器症状との関連性はないことが示唆された。

Key Words : human metapneumovirus, phylogenetic analysis

1. はじめに

ヒトメタニューモウイルス (human metapneumovirus ; 以下hMPV) は、パラミクソウイルス科ニューモウイルス亜科メタニューモウイルス属に属する一本鎖RNAウイルスである。hMPVは急性呼吸器疾患の原因ウイルスの1つである。また、乳幼児の感冒や気管支炎、肺炎など重症な下気道呼吸器疾患にも関与する病原体ウイルスであることが知られている¹⁾。

本研究では、呼吸器症状を呈する小児を対象に採取された検体について、hMPV 分子疫学解析を行った。

2. 材料と方法

2.1 検査材料

2014 年 4 月から 2015 年 3 月までに急性呼吸器症状を呈し、病原体定点医療機関を外来受診あるいは入院小児患者から採取された吸引鼻汁、咽頭ぬぐい液および鼻汁 176 検体のうち hMPV が検出された 24 検体を用いた。

2.2 検査方法

臨床検体を QIAamp Viral RNA mini Kit (Qiagen) を用いてウイルス RNA を抽出した。

1st RT-PCR は QIAGEN One-Step RT-PCR Kit (QIAGEN) により行った。2nd PCR は TaKaRa Ex Taq (TaKaRa) により行った。1st RT-PCR では MPVF1f (5' -CTTTGGACTTAATGACAGATG -3')、MPVF1r (5' -GTCTTCCTGTGCTAACTTTG -3')、2nd PCR では MPVF2f (5' -CATGCCGACCTCTGCAGGAC -3')、MPVF2r (5' -ATGTTGCAYTCYYTTGATTG -3') のプライマーを使用し F 遺伝子領域を増幅した。アニーリング温度は 1st RT-PCR が 55°C、2nd PCR が 54°C とした。PCR 反応後、F 遺伝子領域の増幅産物が確認できた検体について、DNA ダイレクトシーケンシング法により塩基配列を決定し、ウイルスの同定を行い、系統解析を実施した。

2.3 遺伝子解析法

遺伝子型別は hMPV の F 遺伝子領域の塩基配列が増幅された 24 検体のうち 19 検体を ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer を用いた DNA ダイレクトシーケンシング法で塩基配列を決定した。解読した塩基配列のうち 273bp について、Nakamura²⁾ および Nor'e³⁾ の報告を参考に GenBank から入手した 9 検体 (括弧内は GenBank accession No.)、00-1 (AF371337)、CAN99-81 (AY145294)、

NL/17/00 (AY304360)、JTY06-3 (EU127919)、NL/1/99 (AY304361)、JPS03-194 (AY530094)、MY-1525_2012 (KJ196318)、NL/1/94 (AY304362)、JP/03/10036 (AB126611) を標準参照株として用いて、相同性について比較した。系統解析は塩基配列解析ソフトウェア Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 6.0⁴⁾を用い、近隣結合法 (Neighbor-Joining ; NJ 法) により系統樹を作成することにより行った。Bootstrap test は 1000 回行った。

3. 結果

hMPV が検出された 24 検体のうち 21 検体 (87.5%) は hMPV 単独感染、3 検体 (12.5%) は 2 種混合感染であった。混合感染の組み合わせは、hMPV と RS ウイルス (RSV)、ライノウイルス (HRV)、パラインフルエンザウイルス (HPIV) が各 1 検体から検出された (表 1)。

hMPV の検出状況を呼吸器症状別に示した (表 2)。24 名中、上気道炎を呈する小児は 5 名 (20.8%)、気管支炎を呈する小児は 5 名 (20.8%)、喘息様気管支炎を呈する小児は 2 名 (8.4%)、肺炎を呈する小児は 12 名 (50.0%) であった。

遺伝子解析に使用した hMPV 19 検体について、F 遺伝子領域の分子系統樹解析を行った結果、hMPV-A2 が 18 検体、hMPV-B1 が 1 検体に分類された (図 1)。

患者年齢は 0~14 歳 (2.8±2.8 歳 (mean±SD)) であった。

月別発生状況を図 2 に示した。hMPV-A2 は、年間を通して検出された。hMPV-B1 は、3 月に検出された。

表 1. 呼吸器疾患検体におけるウイルス検出状況

検出されたウイルス	検出数	%
hMPV 単独感染	21	87.5
2 種混合感染	3	12.5
hMPV/RSV	1	/
hMPV/HRV	1	/
hMPV/HPIV	1	/
合計	24	100

4. 考察

Nakamura ら²⁾ や Matsuda ら⁵⁾、筒井ら⁶⁾の報告では、hMPV は主に hMPV-A2 が検出されており、同様の結果が得られた。また、解析された subgroup A 18 株は 97.1%~100% と高い相同性を

示し、遺伝子学的に近縁な株が流行していたと示唆された。

hMPV は、国内では 3~6 月を中心に流行するが、通年性である可能性があるとする報告がある¹⁾。hMPV-A2 は、筒井らの報告⁶⁾では散発的に年間を通して検出され、今回も同様の結果が得られた。hMPV-B1 は筒井らの報告⁶⁾では 4~6 月、今回の報告では 3 月に検出され、春~初夏にかけて検出される傾向にあると示唆された。筒井らの報告⁶⁾では A2、B1 および B2 の 3 つの subgroup が検出され、今回の報告では A2 および B1 の 2 つの subgroup が検出され、全国と同様に遺伝学的に多様な検体が流行していた可能性が示唆された^{2,5,7)}。

hMPV は乳幼児では上気道感染症に関与しているといわれているが、細気管支炎、喘息様気管支炎、肺炎など重症な下気道呼吸器感染症にも関与するという報告^{5,7)}がある。本県においては、hMPV の 20.8% が上気道炎患者から、79.2% が下気道炎患者から検出され、全国と同様の傾向が得られた^{2,5)}。hMPV と RSV が重感染を起こすと、重症化すると報告が多いが、RSV 感染症の重症化に hMPV の重感染は影響を及ぼさないという報告¹⁾もあり、今後も継続した急性呼吸器疾患ウイルスサーベイランスが必要である。

5. まとめ

hMPV は呼吸器症状を呈する小児 176 名中 24 名 (13.6%) から検出された。また、hMPV は 12.5% が 2 種混合感染であった。分子疫学解析の結果、主に hMPV-A2 が流行し、散発的に年間を通して A2 が検出された。hMPV は上気道炎患者の 20.8%、79.2% が下気道炎患者から検出された。

表 2. 呼吸器症状別 HMPV 検出状況

呼吸器症状	検出数	%
上気道炎	5	20.8
気管支炎	5	20.8
喘息様気管支炎	2	8.4
肺炎	12	50.0
合計	24	100

文 献

- 1) 菊田英明 : ヒト・メタニューモウイルス, ウイルス, **56**, 173-182, 2006
- 2) Nakamura et al : Molecular Epidemiology of Human Metapneumovirus from 2005 to 2011 in Fukui, Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, **66**, 56-59, 2013

3)Nor'e et al : Phylogenetic analysis of human metapneumovirus among children with acute respiratory infections in Kuala Lumpur, Malaysia. Tropical Biomedicine, **31**, 562-566, 2014

4)Tamuta et al : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. Molecular Biology and Evolution, **30**, 2725-2729, 2013

5)Matsuda et al : Characteristics of Human Metapneumovirus Infection Prevailing in Hospital

Wards Housing Patients with Severe Disabilities. Jpn. J. Infect. Dis., **66**, 195-200, 2013

6)筒井理華他：青森県におけるヒトメタニューモウイルスの遺伝子学的検討. 青森県環境保健センター研究報告,**25**, 9-13,2014

7)高尾信一他：小児の急性呼吸器感染症に関与するヒト・メタニューモウイルスの実態について. 広島県獣医学雑誌,**24**, 87-92,2009

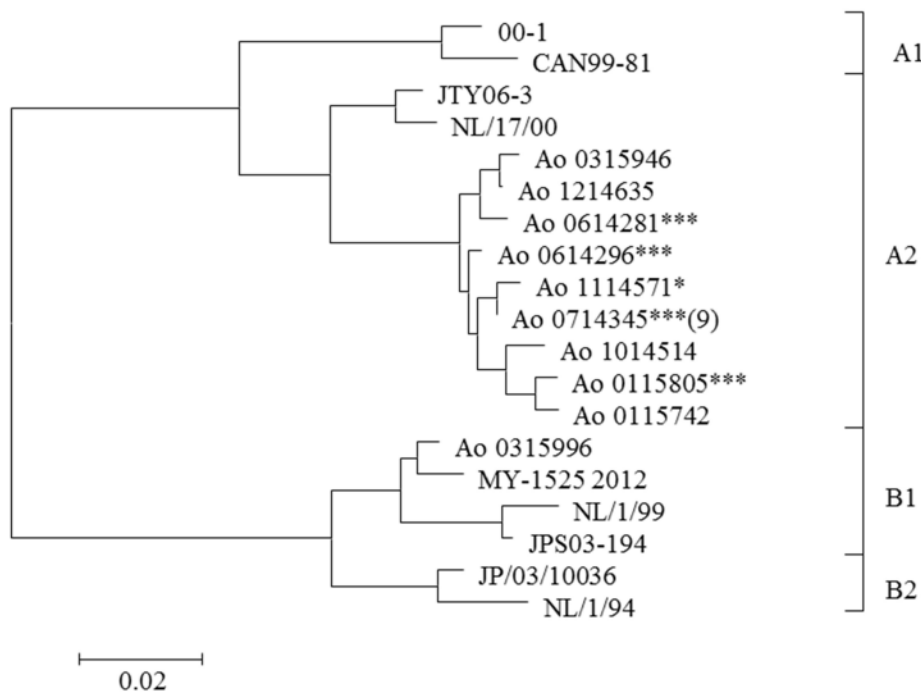


図1 hMPV(F)遺伝子：273nt)NJ法による分子系統樹
 ***:肺炎、**:気管支炎、*:喘息様気管支炎、無印:上気道炎

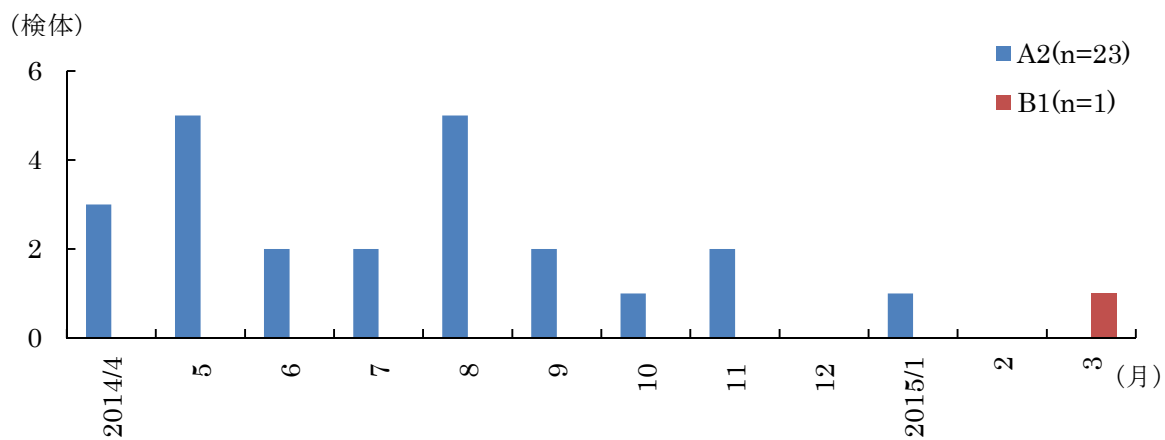


図2 月別検出数(n=24)

Molecular epidemiological analysis of human metapneumoviruses in Aomori Prefecture (2014)

Rika Tsutsui, Sayaka Kogawa, Masaaki Kimura

To reveal the relationship between trends in respiratory virus infections involving human metapneumoviruses (hMPVs) infection in Aomori Prefecture and clinical symptoms, we performed genetic tests on 176 specimens from pediatric patients who had exhibited respiratory symptoms and visited medical institutions between April 2014 and March 2015. As a result, hMPV was detected from 24 specimens (13.6%). Of these, genetic analysis was performed on 19 specimens, and these were categorized into hMPV subgroup A2 (-A2) and hMPV-B1, with 18 strains of hMPV-A2 (94.7%) and 1 strain of hMPV-B1 detected. We investigated the relationship between the genotype of hMPV and respiratory symptoms, and found no marked difference between hMPV-A and hMPV-B. This survey suggested that there is no relationship between the genotype of hMPV and respiratory symptoms.

Keywords: human metapneumovirus, phylogenetic analysis

青森県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向 (2014) と 分離された菌の遺伝子学的解析及び薬剤耐性

武沼浩子 対馬典子 福田 理¹

2014年に青森県内で届出のあった腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *E.coli*, 以下EHEC) 感染症患者は、28人であった。分離された株の血清型は、O157が16株、O26が5株、O145が4株、O111が2株、O121が1株であった。集団感染事例では、それぞれパルスフィールドゲル電気泳動 (以下PFGE) 結果とIS printing System (以下IS法) による解析結果は一致し、疫学調査と合わせて同じ感染源であることが示唆された。薬剤感受性試験を実施した24株のうち、散发事例からESBL産生菌が1株検出された。

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

1. はじめに

EHEC感染症は、感染症法において3類全数報告対象疾患であり、ベロ毒素を産生するEHECによる全身性疾患である。症状は、腹痛、水様性下痢および血便であり、嘔吐や高熱を伴うこともある。

さらにベロ毒素産生による溶血性貧血、急性腎不全を発症し、溶血性尿毒症症候群(Hemolytic Uremic Syndrome、以下HUS)を引き起こした場合、小児や高齢者では致命症となる。

IS法は、林らにより近年開発された方法である。EHEC O157のゲノム中に存在する32箇所のInsertion Sequence (IS) と病原因子 (*cae*、*hlyA*、*stx1*、*stx2*) の合計36箇所をmultiplex PCR法により検出するため、数時間で判定可能で、比較的簡便な解析方法である。疫学調査において有効な手段となった事例も報告されている¹⁾。

近年、多様な病原細菌を対象に、特異性の高い株の異同解析法として反復配列多型解析法

(multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis; MLVA法)が開発された。国立感染症研究所においては、同一の感染源による広域散发事例をより一層迅速に把握するため、EHEC O157、O26、O111の分子型別にMLVAを利用し、EHECの分子疫学解析の全国的データの共有化が行われている²⁾。

大腸菌の薬剤耐性については、第三セフェム系薬剤を分解する基質拡張型β-ラクタマーゼ

(Extended Spectrum beta(β) Lactamase、以下ESBL)を産生する菌が増加傾向にあり、多剤耐性菌が問題となっている³⁻⁶⁾。

2. 目的

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

3. 方法

3.1 供試株

2014年に青森県内で届出のあったEHEC患者は28人であった。そのうち、15事例由来の24株を用いた。

3.2 IS法による解析

24株のうち、EHEC (O157) 患者由来16株を、IS printing System (東洋紡)キットを使用して、取扱説明書に従って行った。判定は、増幅産物の有無を目視で確認し、有りの場合は1、無しの場合は0として算出した。また、IS法の結果は、福岡県保健環境研究所江藤の方法IS-printing Analyzer O157 Ver2.3ソフトを使用し、コード変換により解析した(表2)。

3.3 血清型別

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

1 環境生活部環境保全課

3.4 薬剤感受性試験

15 事例由来の 24 株について行った。薬剤感受性試験は、NCCLS 法の規格に準拠した一濃度ディスク法（Kirby-Bauer 法：BD 社製）により感受性試験を行った。菌液は MacFarland 0.5 に調整し Mueller-Hinton agar (MHA) 培地に塗布し、35℃の好氣的条件下で 16～24 時間培養した。供試薬剤は、第三セフェム系の Cefpodoxime (CPDX)、Ceftazidime (CAZ)、Cefotaxime (CTX)、カルバペネム系 Imipenem (IPM) を使用した。

3.5 耐性遺伝子の検出

24 株のうち、ディスク法で耐性が確認された 1 株について耐性遺伝子の検出を行った。PCR 法の反応系は、滅菌精製水を 22.3μL、10×Buffer を 3μL、dNTP を 2.4μL、プライマーを各 0.6μL（20pM/μL に調整済み）、Taq ポリメラーゼを 0.15μL、DNA テンプレート（McFarland0.5 の濃度の菌液を 100℃10 分間煮沸し、4℃5 分間遠心した上清を用いる）を 1μL の約 30μL の系で実施した。

反応条件は、94℃2 分の熱変性反応後、熱変性 94℃1 分、アニーリング 55℃1 分、伸長反応 72℃1 分 30 秒を 29 サイクル後に 72℃5 分の延長反応を行った。

3.6 患者情報

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

4. 結果及び考察

1) O157以外の8株のPFGEを目視で確認した結果では、Ech14022、Ech14023、Ech14024、Ech14025 が同じ遺伝子パターンであった（図2、表1）。4人は家族内感染であり、疫学調査と一致した結果であった。

2)血清型がO157の16株のうち、集団事例のPFGEでは、4種類の遺伝子型が認められた（図3、表2）。これらは、IS法及び国立感染症研究所が行ったMLVA法においてもそれぞれ同一の遺伝子型であった。いずれも家族内感染であり疫学調査と一致した結果であった。

血清型別 O157 : H7 の毒素型は VT1&VT2 陽

性が 12 例であり、VT2 陽性が 2 例であった。家族内感染の血清型別 O157 : H- の毒素型は、VT1&VT2 が 2 例であった。

3) 2014 年の EHEC の血清型別患者数は O157 が最も多く 57.1%（16/28）、O26 が 17.9%（5/28）、O145 が 14.3%（4/28）、O111 が 7.1%（2/28）、O121 が 4.0%（1/28）であった。

4) 2014 年の EHEC の月別患者数を示した（図1）。1月から5月までは届出が無く8月にピークを形成した。また、11月から12月の冬季にも届出があった。

5) 2014 年の EHEC の年齢別分離数では、0歳から50歳代まで幅広い年齢層での届出があった。性別では、過去5年すべての年次において女性が多い結果であった。

6) 当所に搬入された24株を用いて薬剤感受性試験を実施した結果、散発事例からESBL産生菌が1株検出された。

患者は家畜と接触後に発症した事例であった。血清型別はO111 : H-、毒素型はVT1であった。薬剤感受性試験では、CAZ (I)、CTX (R)、IPM (S)、CPDX (R) であった。耐性遺伝子の解析では、TEM (-)、SHV (-)、CTX-M-1 (+)、CTX-M-2 (-)、CTX-M-9 (-) であった。

近年、健常成人および食肉からESBLを産生する大腸菌の分離報告例もある⁷⁾。本事例は家畜から感染したことが否定できない。ESBL産生菌は、2005年頃から市中において分離されるようになり、増加傾向にあることから、今後も薬剤感受性試験を継続していく必要があると考えられた。

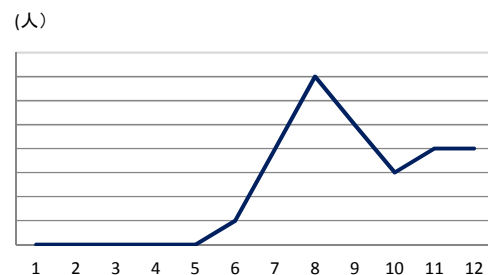


図1 EHECの月別患者数（2014）

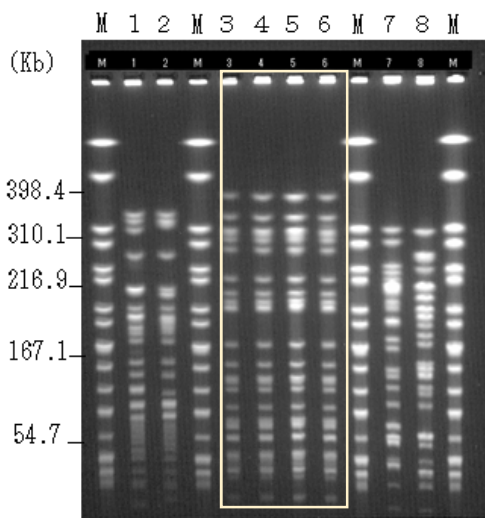


図2 PFGE画像 O157以外
M: *Salmonella* Braenderup

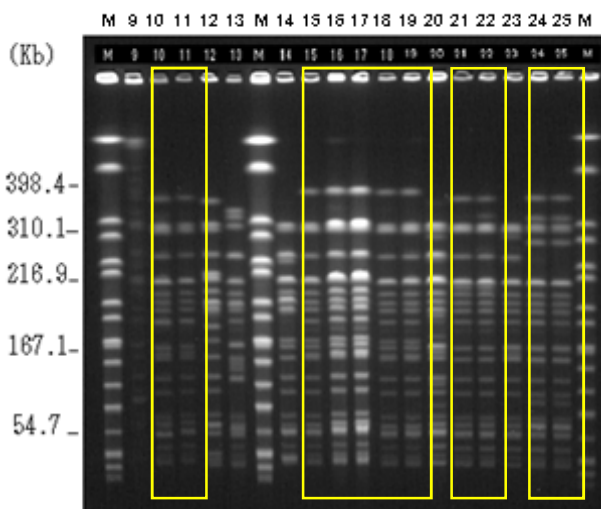


図3 PFGE画像 O157
M: *Salmonella* Braenderup

表1 EHEC : O157以外 (図2の詳細)

Lane	菌株番号	血清型別	毒素型	年齢	性別	感染経路	MLVA type	報告月日	症状
1	Ech14020	O111:H-	VT1	25	男	散発	14m3034	10月16日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱
2	Ech14016	O111:H-	VT1	21	男	散発	14m3023	9月7日	腹痛、水様性下痢
3	Ech14022	O145:H-	VT2	4	男	家族内感染		11月28日	腹痛、水様性下痢、血便
4	Ech14023	O145:H-	VT2	36	男	家族内感染		12月2日	なし
5	Ech14024	O145:H-	VT2	1	女	家族内感染		12月2日	その他(軟便)
6	Ech14025	O145:H-	VT2	58	女	家族内感染		12月2日	なし
7	Ech14021	O26:H11	VT1VT2	63	女	散発	14m2172	11月5日	腹痛、血便
8	Ech14015	O26:H11	VT1	23	男	散発	14m2092	9月10日	腹痛

表2 EHEC : O157 (図3の詳細)

Lane	菌株番号	血清型別	毒素型	年齢	性別	感染経路	IS法 (10進コード)	MLVA type	報告月日	症状
9	Ech14005	O157:H7	VT1VT2	57	女	散発	66457369547	13m0138	8月5日	腹痛、血便
10	Ech14003	O157:H7	VT1VT2	74	女	家族内感染	I 57867500491	13m0177	7月30日	腹痛、水様性下痢、血便
11	Ech14004	O157:H7	VT1VT2	53	男	家族内感染		13m0177	8月1日	なし
12	Ech14001	O157:H7	VT2	27	男	散発		22081687688	14m0045	7月2日
13	Ech14013	O157:H7	VT2	52	男	散発	22299793667	14m0291	9月4日	腹痛、血便
14	Ech14002	O157:H7	VT1VT2	29	女	散発	66324265935	14m0336	7月9日	腹痛、水様性下痢、血便
15	Ech14006	O157:H7	VT1VT2	93	女	家族内感染	II 66324257231	14m0337	8月14日	なし
16	Ech14007	O157:H7	VT1VT2	63	男	家族内感染		14m0337	8月14日	なし
17	Ech14008	O157:H7	VT1VT2	33	女	家族内感染		14m0337	8月14日	水様性下痢、血便
18	Ech14009	O157:H7	VT1VT2	58	女	家族内感染		14m0337	8月12日	腹痛、水様性下痢、血便
19	Ech14010	(Ech14009と同一患者から分離された菌株であり、異なるコロニーとして搬入されたが同一の性状であった)								
20	Ech14011	O157:H7	VT1VT2	12	男	散発	66190040011	14m0338	8月22日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱
21	Ech14014	O157:H7	VT1VT2	1	女	家族内感染	III 57867500491	14m0339	9月5日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱
22	Ech14017	O157:H7	VT1VT2	3	女	家族内感染		14m0339	9月23日	腹痛、水様性下痢、血便
23	Ech14012	O157:H7	VT1VT2	82	女	散発	66457435083	14m0341	8月20日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱
24	Ech14018	O157:H-	VT1VT2	72	男	家族内感染	IV 57868548555	14m0548	10月2日	腹痛、水様性下痢
25	Ech14019	O157:H-	VT1VT2	70	女	家族内感染		14m0548	10月5日	なし

5. まとめ

2014年に青森県内で届出のあったEHEC感染症患者は、28人であり、当所に搬入された24株は集団事例が5事例、散発事例が10事例であった。また、集団事例は、O145型が1事例、O157が4事例であった。散発事例は、O157が6事例、O111型が2事例、O26が2事例であった。分離された血清型の内訳は、O157が16人、O26が5人、O145が4人、O111が2人、O121が1人であった。

NESIDによる報告では、2014年の症状別割合は、腹痛が64.3% (18/28)、次いで水様性下痢が57.1% (16/28)、血便が46.4% (13/28)、無症状28.6% (8/28)、発熱が17.9% (5/28)でありHUS発症者は認められなかった。

患者の届出は、8月にピークを形成し、性別では女性が多く、年齢別では0歳から50歳代まで幅広い年齢層での発生が見られた。薬剤感受性試験を実施した24株のうち、散発事例からESBL産生菌が1株検出された。

文 献

- 1) 濱夏樹ほか：一学校施設で発生した腸管出血性大腸菌O157の集団感染事例におけるPFGEおよびIS-Printingによる分子疫学的解析, 神戸市所報第39巻, (2011) 37-39
- 2) 石原朋子ほか：腸管出血性大腸菌の分子型別, 病原微生物検出情報IASR Vol. 35p. 129-130:2014年5月号
- 3) 筒井敦子ほか：JANISデータからみた薬剤耐性菌の分離状況と薬剤耐性菌による感染症の発生状況, 病原微生物検出情報IASR Vol. 32p. 3-4:2011年1月号
- 4) 松下秀ほか：食品由来大腸菌におけるフルオロキノロン系薬剤耐性菌および基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌の動向, モダンメディア 54:10-17, 2008
- 5) 石井良和ほか：基質特異性拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 産生菌, モダンメディア53:8-14, 2007
- 6) 中村竜也ほか：Extended spectrum β-lactamase産生Escherichia coli及びKlebsiella pneumoniaeの各種抗菌薬に対する薬剤感受性について, THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIMIOTICS, 1-10, 2005
- 7) 石井良和ほか：家畜および食肉から分離されるESBL産生菌, THE CHEMICAL TIMES 216:9-12, 2010

Trends in enterohemorrhagic Escherichia coli infection in Aomori Prefecture (2014) and genetic analysis and drug resistance of isolated bacteria

Hiroko Takenuma, Noriko Tsushima, Osamu Fukuda

In 2014, 28 patients with Enterohemorrhagic E. coli ("EHEC") infections were reported in Aomori Prefecture. The serotypes of the isolated strains were O157 in 16 strains, O26 in 5 strains, O145 in 4 strains, O111 in 2 strains and O121 in 1 strain. In cases of group infection, the results of pulsed field gel electrophoresis ("PFGE") and IS printing system analysis ("IS analysis") matched, and together with the results of an epidemiologic study, this suggested that the group infections had the same source. Drug susceptibility tests were performed on 24 strains, and of these, 1 strain from an outbreak which was an ESBL producing bacterium was detected.

Keywords: EHEC, IS printing System, PFGE, drug sensitivity

II ノ 一 ト

食品苦情事例等 (平成25年度～平成26年度)

工藤志保 花石竜治 木村淳子 五日市健夫¹
柴田めぐみ² 増田幸保 山本明美 佐藤裕久

平成25年度及び平成26年度に発生した食品苦情事例についてとりまとめた。平成25年度に発生したマラチオンの混入が疑われた冷凍食品の検査では、当所に搬入された検体からマラチオンは検出されなかった。平成26年度に東京都内の飲食店で発生した食中毒では、原因食品と疑われた3種類のいしる漬干しのうちぶりいしる漬干しから、ヒスタミンが高濃度で検出された。

Key words : frozen food,malathion,food-poisoning,histamine

1. はじめに

平成25年度及び平成26年度に青森県内で発生した化学物質によると疑われる食品苦情事例について報告する。

2. 事例1 マラチオンの混入が疑われた冷凍食品の検査

2.1 概要

平成25年12月末に(株)アクリフーズ群馬工場で製造された冷凍食品からマラチオンが検出された事件に関連し、県内の保健所にも冷凍食品が原因と疑われる健康被害を訴える相談が多数寄せられた。このため、原因究明調査として残品があるものについてマラチオン検査を実施することになった。

2.2 調査方法

(1) 検体

県内4保健所に有症苦情相談の届出があった冷凍食品7品目20検体を対象とした。(表1)

これらの検体は、平成26年1月6日から1月27日までに各保健所から随時搬入された。

(2) 検査項目

マラチオン

表1 検査対象検体一覧

商品名	検体数
照り焼ソースの鶏マヨ	3
ミックスピザ	2
えびとチーズのグラタン	7
パイシート	2
チーズがのび〜るグラタンコロ!	3
とろ〜りコーンクリームコロッケ	2
ラザニア	1
合計	20

(3) 試験方法

試験溶液は、平成19年度に発生した中国冷凍ギョーザ事件の際に示された試験法である「食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について」¹⁾を一部変更した方法(以下有機リン系農薬試験法とする。)で調製し、GC/MSで測定した。

(図1)

装置及び分析条件を以下に示す。

GC/MS装置: GCMS-QP2010 Ultra
(株式会社島津製作所)

カラム: Rtx[®]-5MS W/Integra-Guard[®]
(30 m,0.25 mmID,0.25 µm_{df})

カラム温度: 50°C(1 min)-25°C/min-125°C-
10°C/min-250°C-25°C/min-300°C(12 min)

分析時間: 30分

気化室温度: 250°C

イオン源温度: 200°C

1 三八地域県民局地域連携部八戸環境管理事務所
2 東青地域県民局地域健康福祉部保健総室
(東地方保健所)

インターフェース温度：250℃

注入量：1μL

定量イオン(m/z)：173

確認イオン(m/z)：93 125 127 158

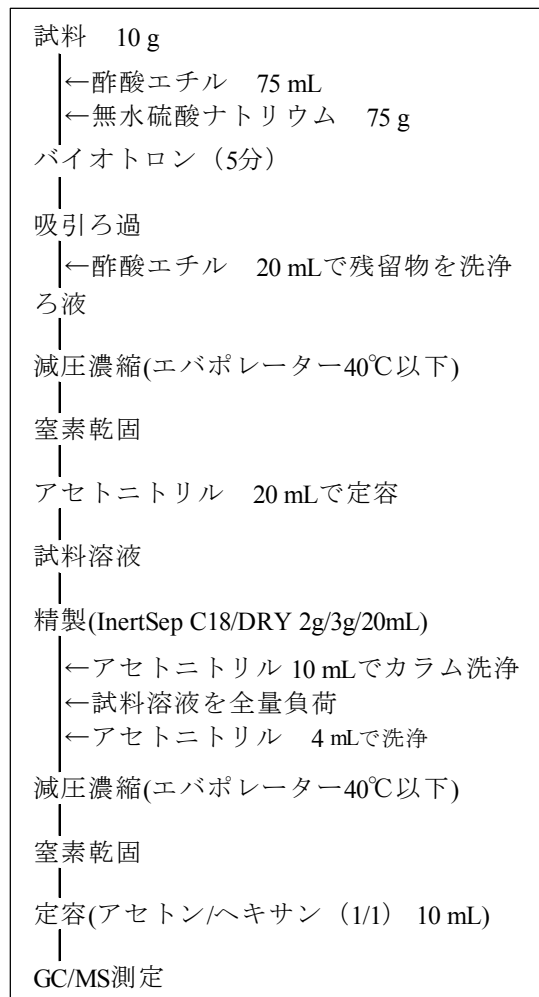


図1 有機リン系農薬試験法

(4) 試験法の性能評価

検体搬入前に「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」²⁾に基づき、今回使用する試験法の性能評価を実施した。

あらかじめマラチオンが検出されないことを確認した他社の類似した検体(から揚げ及びピザ)をブランク試料とし、マラチオン濃度が0.2 mg/kg(評価濃度)となるように添加した。添加後30分間放置後、図1に示した方法で試験溶液を調製しGC/MS測定を行った。

その結果について、表2に示した各性能パラメーターが目標値を満たしているか確認した。

試験の併行回数は各検体につき3併行で実施した。

表2 性能パラメーター及び目標値

性能パラメーター	目標値
選択性	ブランク試料を分析し、妨害ピークがないことを確認する。妨害ピークを認める場合には、添加濃度に相当するピークの面積の1/3未満であることを確認する。
回収率	添加試料3個以上 50%~200%
併行精度	RSD% < 30%
添加濃度(クロマトピークの確認)	S/N ≥ 10

2.3 調査結果

(1) 試験法の性能評価結果

選択性については、ブランク試料のから揚げ及びピザのどちらにおいてもマラチオンのピーク付近(リテンションタイム：14.6分)に妨害ピークがないことを確認した。(図2~4)

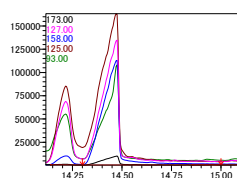


図2 から揚げ無添加

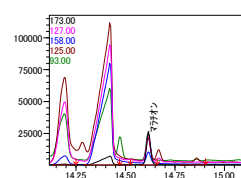


図3 から揚げ添加

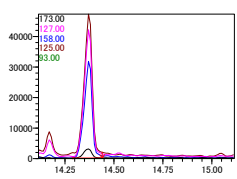


図4 ピザ無添加

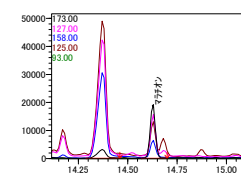


図5 ピザ添加

回収率については、から揚げ111%、ピザ104%となり、目標値を満たしていた。

併行精度については、から揚げ3.2%、ピザ6.0%となり、目標値を満たしていた。

マラチオン0.2 mg/kgとなるように添加したピークのS/Nはすべて10以上であった。(表3)

性能パラメーター	から揚げ	ピザ
選択性	妨害ピークなし	妨害ピークなし
回収率(3個の平均)	111%	104%
併行精度	3.2%	6.0%
添加濃度(クロマトピークのS/N)	350~600	180~500

表3 ブランク試料の性能評価結果

以上の結果から全ての性能パラメーターについて目標値を満たしていたことから、今回の有機リン系農薬試験法は迅速検出法として、0.2 mg/kg(評価濃度)よりも高濃度に含まれるマラチオンの検査に適用できることが確認された。

(2) 検体からのマラチオン検出状況

冷凍食品20検体に含まれるマラチオンを検査したところ、すべて評価濃度未満であった。

また、検体の試験溶液調製時に、検体にマラチオン（濃度：0.2 mg/kg）を添加した添加回収試験も同時に実施したところ、すべての検体について回収率の目標値を満たしていた。（表4）

表4 添加回収試験結果

商品名	平均回収率 (%)
照り焼ソースの鶏マヨ	121
ミックスピザ	111
えびとチーズのグラタン	117
パイシート	107
チーズがのびるグラタンコロ!	124
とろ〜りコーンクリームコロッケ	113
ラザニア ^{※1}	103

※1 ラザニアのみ添加回収試験1回分のデータの値

今回実施した有機リン系農薬試験法は、平成19年度に発生した中国冷凍ギョーザ事件の際に当所で実施した方法を参考にしたものであるが、その時との違いは、酢酸エチルでの抽出後に脱水と脱脂が同時にできるC18/DRY固相ミニカラムによる精製工程を追加し、分析機器もGC-FPDではなくGC/MSによる測定としたことである。

搬入検体がギョーザよりも脂肪分等が多いと考えられるクリームコロッケやグラタン等であったが、固相ミニカラムによる精製を行うことにより、すべての検体についてマラチオンのクロマトピーク付近には妨害ピークが認められず、また、検体に添加したマラチオンのクロマトピークのS/Nもすべて10以上であった。

今回は、保健所からの検査要請後、検体搬入までが短時間（半日）であったが、ギョーザ事件時の試験法及び対応等を参考に試験法を決定し、「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」²⁾に基づき性能評価を実施し、迅速に試験法を確定できた。また、この方法を用いることにより、検体搬入後当日中または遅くとも次の日には各保健所へ結果報告可能となった。

3. 事例2 ヒスタミンを原因とする食中毒

3.1 概要

東京都内の飲食店において、ヒスタミンが原因と疑われる食中毒が発生した。

飲食店で銀さば、さけ、ぶりの焼き魚を喫食後、ピリピリとした刺激を感じ顔面紅潮などの食中毒用症状を呈したことから、東京都が調査したとこ

ろ、飲食店から収去したぶり切身及びぶりいしる漬干しからヒスタミンが高濃度で検出された。

原因食品と疑われた銀さば、さけ、ぶりのいしる漬干し（冷凍食品）は、青森県内で製造されている食品のため、東京都から当県担当課に原因究明調査の依頼があったものである。

当所では、管轄保健所が製造所から収去した銀さば、さけ切身、ぶりのいしる漬干しについて、ヒスタミン分析を行った。

3.2 調査方法

(1) 試料

製造所から収去した未開封の試料は以下のとおりである。ぶりいしる漬干しについては、東京都が収去したものと同一ロット品である。いずれも冷凍状態で搬入された。

ア 銀さばいしる漬干し 1袋（5切入り）

イ さけ切身いしる漬干し 1袋（5切入り）

ウ ぶりいしる漬干し 3袋（各5切入り）

(2) 検査項目

ヒスタミン

(3) 試験方法

以下に示す2種類の方法で定量した。

ア 超高速液体クロマトグラフィー（以下UPLCとする。）による定量

衛生試験法・注解³⁾に準じて行った。また、試料の前処理では、抽出補助剤として20%トリクロロ酢酸溶液⁴⁾を用いる抽出を行い、ダンシル化した試験溶液をUPLCで測定した。（図6）

装置及び分析条件を以下に示す。

UPLC装置：ACQUITY UPLC H-Class（Waters）

検出器：FLR Detector

励起波長325 nm 蛍光波長525 nm

カラム：ACQUITY UPLC BEH C18

2.1×100 mm 1.7 μm

カラム温度：40℃

注入量：5 μL 流量：0.2 mL/min

移動相：アセトニトリル:水（62：38）

分析時間：20分

イ ELIZA法による検査キットによる定量

ヒスタマリン EIA キット（AOAC PTM 認証）（製造元：IMMUNOTECK社）（以下ヒスタマリンキットとする。）を使用し、吸光度測定した。

（図7）

装置及び分析条件を以下に示す。

マイクロプレートリーダー：MTP-300Lab

主波長：415 nm 副波長：610 nm

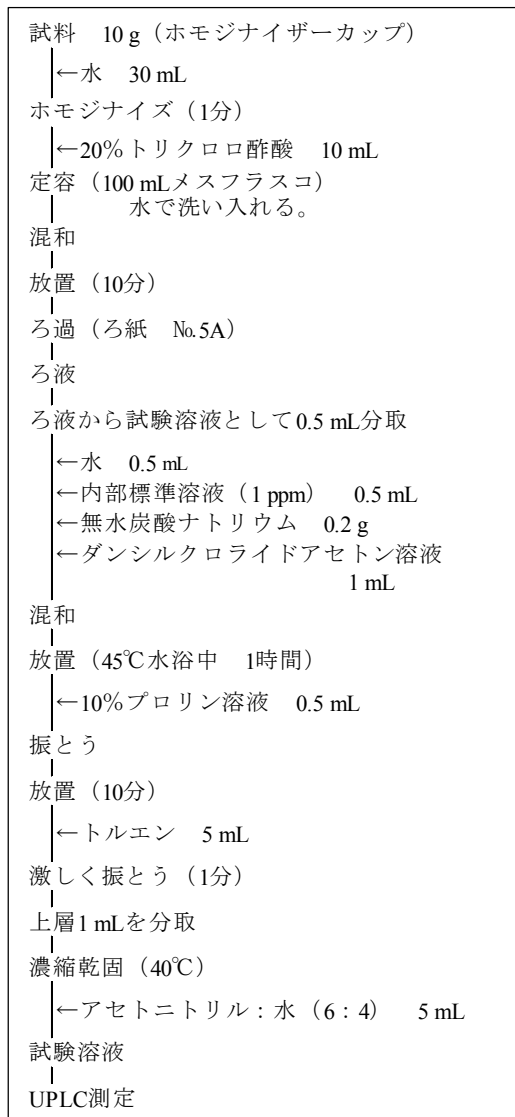


図6 UPLCによるヒスタミンの分析法

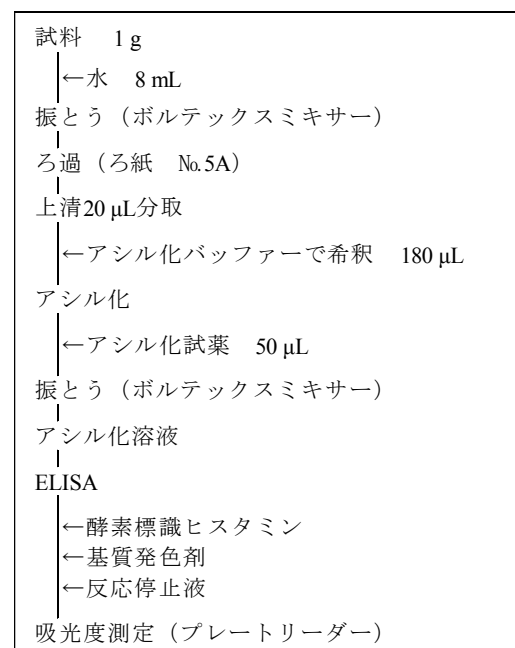


図7 ヒスタマリンキットによる分析法

3.3 調査結果

検査結果を表5に示した。

ぶりいしる漬干しから高濃度のヒスタミンが検出された。

食品中ヒスタミンの食中毒濃度は、100 mg%以上であれば食中毒を生じる可能性が高く、重篤な症状を呈するとされている⁵⁾。本事例はそれを上回る濃度が検出されたことから、原因食品はぶり加工品によるものとされ、同製造所で製造された同じ原料で製造したぶり加工品について、回収命令がなされた。

表5 ヒスタミン検査結果

試料名	ヒスタミン濃度 (mg%)	
	UPLC	ヒスタマリンキット
1 銀さばいしる漬干し	定量下限未満	0.1
2 さけ切身いしる漬干し	定量下限未満	0.1
3 ぶりいしる漬干し-1	199	280
4 ぶりいしる漬干し-2	291	418
5 ぶりいしる漬干し-3	357	399
定量下限	4	0.1

国内のヒスタミン食中毒事例の調理方法では、特に照焼や漬焼などの加熱前に調味液への漬け置き作業が行われた事例が多く報告されており、調味液への漬け込み作業等の加工及び調理工程における衛生管理（特に温度）の不備がヒスタミン増加の原因として示唆されているが、一方で加工及び調理場へ納入される以前にヒスタミン含有量が増加した疑いがあり、魚が水揚げされてからの流通工程における管理不備の可能性も指摘されている⁵⁾。

今回の事例は、製造所で冷凍保存していた加工品から検出されていることから、飲食店における調理工程等での管理不備によるものではなく、魚の流通工程及び製造所での加工工程における管理不備等が考えられるが、詳細は不明である。

UPLCとヒスタマリンキットのヒスタミン濃度を比較するとUPLCのほうがヒスタマリンキットより低濃度となった。これは、検査開始日の違いによるものと思われる。UPLCによる検査は、検体搬入後常温で半解凍した状態で粉碎したのから直ちに必要量の試料を採取し、前処理操作し機器分析したものであるが、ヒスタマリンキットによる検査は、UPLCで使用した粉碎試料を2日間冷蔵保存したものから必要量の試料を採取し検査し

たため、保存中にヒスタミンが増加したと思われる。

4. まとめ

平成 25 年度及び平成 26 年度に当センターで実施した食品苦情事例等について取りまとめた。

- 1) 冷凍食品のマラチオン検査について、検体搬入前に試験法の性能評価を行い、精度を確認し実施した。20 検体搬入されたが、すべて評価濃度未満であった。
- 2) いしる漬干しのヒスタミン検査では、ぶりいしる漬干しから高濃度のヒスタミンが検出された。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課
事務連絡：「食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法について」（平成20年3月7日）
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課
事務連絡：「加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法について」（平成25年3月26日）
- 3) 日本薬学学会編：衛生試験法・注解2005. 180-182,2005,金原出版
- 4) 観公子ほか：イワシの蒲焼きによるヒスタミン食中毒. 東京衛研年報,**52**,163-166,2001
- 5) 登田美桜ほか：国内外におけるヒスタミン食中毒. 国立衛研報,**127**,31-38,2009

重金属のフレイム原子吸光分析における酸の増感効果について

—クロム／硝酸／過塩素酸の系を中心に—

花石 竜治 佐藤 裕久

食品中の重金属分析のうち、クロムのフレイム原子吸光分析における酸の増感効果について報告する。当所の標準作業手順書(SOP)で採用している、硝酸／過塩素酸の混酸での湿式灰化処理後のフレイム原子吸光分析をクロムについて行くと、増感効果が認められた。この原因について調査し、文献を検討したところ、原子吸光分析の検液に存在する過塩素酸が増感効果を与えることが判明した。さらに酸処理後の定容操作に用いる硝酸さえも、増感効果があることが明らかになった。過塩素酸の存在によりクロムの存在形態としての酸化数と、存在形態の違いによる酸の増感効果の差異についても検討した。

Key words : chromium, flame atomic absorption spectrophotometry, acid, interference

1. 緒言

重金属類のフレイム原子吸光分析は古典的手法である¹⁾が、食品衛生の分野では現在でも有効な方法である。より感度の優れた電気加熱原子吸光分析法、誘導結合プラズマ発光分析法(ICP-AES)、ICP質量分析法(ICP-MS)が導入されても、食品ゆへの強いマトリクス効果が影響すると懸念される状況では、フレイム原子吸光分析法は、堅牢な分析法として、その存在意義があると考えられる。

これらの重金属類の中で、クロムも食品衛生分野では原子吸光法で測定する。他分野の、例えば環境科学分野では、6価クロムとしてジフェニルカルバジド吸光度法¹⁾や、その前処理としてはニッケルるつぼ中におけるアルカリ融解が行われ、ごく微量で共存物質の影響が少ない場合は、硝酸／フッ化水素酸／過酸化水素分解後のICP-MS法²⁾が採用される。よって、重金属分析技術が発達して原子吸光が古典的手法となった環境分野からすれば、クロムの原子吸光による微量分析は、分析手法がよく検討されてきたとは決して言えない状況である。

当所におけるホタテ貝等の食品中のクロムの分析は、フレイム原子吸光分析が機器分析法として標準作業手順書(SOP)化されているが、筆者が昨年度、実際の検体の分析に先んじて行った内部精度管理で、異常回収率を示し、電気加熱法に移行した。電気加

熱原子吸光分析法は、高感度で優れた手法であるが、高価な消耗性部品を使用すること、分析に長い時間を要するなどの欠点を持つ。他方、フレイム原子吸光分析法は迅速な分析が可能であり、クロム以外の元素については干渉効果も少ないという、分析化学的利点があり、維持費も安価というメリットもあって、食品衛生の分野では、必須な手法である。

本研究では、クロムのフレイム原子吸光分析における干渉効果を検討し、若干の知見を得たので報告する。得られた結果は、この元素についてのフレイム原子吸光分析の基礎的知見になると考えられる。

2. 装置及び試薬

分析装置はPerkin Elmer社フレイム原子吸光装置AAnalyst200を用いた。アセチレン-空気炎を用い、クロムの測定波長は357.87 nmで、D₂ランプによるバックグラウンド補正をして測定した。

試薬は、クロムミョウバンはAlfa Aesar社製、それ以外は和光純薬工業社製のものをを用いた。

3. 方法、結果及び考察

3.1 過塩素酸の増感効果

3.1.1 硝酸／過塩素酸処理を模したクロム溶液のフレイム原子吸光分析

文献³⁾によれば、あらゆる湿式灰化法では食品中

のクロムは3価になって、試験検液に存在すると言われている。そこで、まず、実験室内で一般的なクロムの存在形態として、標準溶液の6価のクロム溶液を希釈したものと、これに硝酸の存在下エタノールで還元した3価のクロム溶液を調製した。この還元法は文献などでよく知られている方法である。すなわち、2.5 mLの10 mgCr(6+)/L (硝酸(3+97)で調製)に約1 mLのエタノールを加え、熱板上で15分間加熱した。この操作によりエタノールは還元反応で消費されるとともに揮散した。放冷して室温にして以後の操作に供した。

過塩素酸白煙処理の模擬試験として、50 mL ビーカーに、クロム相当量として25 µg 分取した上で、10 mLの硝酸を加え、熱板上で40分間加熱し、数mLに濃縮し、室温まで放冷して5 mLの過塩素酸を加え、さらに熱板上で加熱して白煙処理を行った。室温まで放冷し、硝酸(3+97)を加えて50 mLに定容した。

さらに文献³⁾に基づき、湿式灰化法で得られた3価クロム溶液を酸化して6価にし、溶媒抽出によってクロムを分離抽出する方法によって、溶媒抽出の試験検液を調製した。すなわち、全量ピペットにより10 mLの0.5 mgCr/L溶液を100 mL ビーカーに分取し、10%ペルオキシ二硫酸アンモニウム溶液を5 mL加え、アンモニア水(1+1)を滴下してpH試験紙でpH=3とした。これを時計皿で覆って、熱板上で15分間加熱し、放冷して室温にした。水45 mLを用い、100 mLの分液漏斗へ洗いこみ、酢酸/酢酸ナトリウム緩衝液を5 mL (pH=5となるように)加えてよく振り混ぜ、2%の*N,N*-ジエチルジチオカルバミド酸ナトリウム(DDTC)溶液5 mLを加え、4-メチル-2-ペンタノン(MIBK)10 mLを加えて3分間振とうした。有機層を50 mL ビーカーに移し、水層はさらに5 mLのMIBKを加えて3分間振とうし、ここで得られた有機層を1回目の抽出の有機層とあわせた。抽出有機層を入れたビーカーは、熱板上で穏やかに加熱してMIBKを揮散させ、完全に乾固し、2 mLの硝酸、1 mLの過塩素酸をこの順序で加えて、さらに熱板上で加熱し、錯体を分解した。過塩素酸の濃い白煙が生ずるまで加熱し、室温に放冷し、硝酸(3+97)で溶解して10 mLの比色管で定容した。文献³⁾の方法では、抽出有機層を直接フレーム原子吸光に供するが、有機溶液噴霧の方法では、原子吸光分析装置の噴霧部部品の劣化を惹起するので、逆抽出によって、過塩素酸を含んだ硝酸溶液として、原子吸光分析に供した。なお、溶媒抽出を行って得られた試験検液は、過塩素酸については、溶媒抽出を行わない試験検液

と同濃度を含むものであった。

検討の結果を表1に示す。なお、表1において回収率は、硝酸(3+97)で調製したクロム標準液の検量線により測定した結果で、回収率100%とは、0.5 mgCr/Lの濃度に相当し、表1における各runでは、クロムの濃度をその濃度に調製したものであった。

表1 クロムの価数と溶媒抽出による回収率の変化

Run	EtOH 処理 (Cr ⁶⁺ →Cr ³⁺)	溶媒抽出	回収率
1	有	有	223 %
2	有	無	245 %
3	無	有	239 %
4	無	無	218 %

表1から、すべての組み合わせにおいて、回収率が200%を超え、異常となった。

3.1.2 過塩素酸による増感効果

異常回収率を受けて、フレーム原子吸光分析装置のバックグラウンド補正の程度や光源ランプの点検を含めた機器の調整を行い、多数回の実験を行った結果、硝酸/過塩素酸分解・過塩素酸白煙処理に用いていた過塩素酸が、増感効果をもたらしていることが分かった。

これは、原子吸光分析の検量線を描くために用いた標準溶液が、市販のクロム標準液(1000 mg/LのCr⁶⁺を含む)を単に硝酸(3+97)で希釈して調製されているため、検量線用の標準溶液は過塩素酸を含まず、試験検液は含んでおり、その違いが反映されたものと判明した。

表2に、過塩素酸を含まない0.5 mgCr/L(Cr⁶⁺)溶液、過塩素酸を含んだ同Cr濃度の溶液を、この順に噴霧して測定した結果を示す。

表2 過塩素酸による増感効果

測定順序	Run	過塩素酸添加	回収率
↓	1	無	106 %
	2	有	223 %

表2に示した結果により、過塩素酸の増感効果が存在することが明らかであった。

この増感効果を精査したところ、

- ① 過塩素酸は、設定した添加濃度(5 mLを取って50 mLに定容)で、クロムの濃度を約2倍に検量させる。

- ② この効果は検液噴霧後も持続し、15 分間の純水噴霧後も継続する。よって分析装置の噴霧系が効果を保持するものと考えられる。

したがって、例えば、この増感効果を標準溶液と試験検液とで同一にするなどの調整はできないことになる。なんとすれば、酸分解の酸化反応で、過塩素酸の消費が考えられ、試験検液で一定濃度にならない可能性が大きいと想定されるからである。

文献^{4,5)}によれば、過塩素酸がクロムのフレイム原子吸光分析において増感効果を示すとある。文献⁴⁾で述べられている過塩素酸の濃度は、本報告の試験で用いたものよりもはるかに低濃度であり、その報告以上の影響があるものと推定された。

また、一般的な原子吸光分析の分析技術概説書⁶⁾では、酸の濃度は測定値に大きく影響する、とある。その文献の中では、硝酸/過塩素酸分解が湿式灰化法の一つとして記述されている。

3.2 過塩素酸白煙処理後のクロムの存在形態

文献³⁾には、あらゆる湿式灰化法で得られた試験検液において、クロムは3価で存在するとある。この記述の湿式灰化法には、硝酸/過塩素酸分解・過塩素酸白煙処理も含まれると読めるが、過塩素酸は強力な酸化剤であって、クロムの酸化状態を高める可能性も考えられた。一般的に、酸化還元反応の可能性を考えるには、標準電極電位の差を論ずるが、これはあくまでも希薄溶液でのことであり、今話題になっているのは、濃い酸溶液での話である。よって、文献等に記載のある電極電位の議論から離れて、実際の条件でクロムの価数がどうなるのかを検討した。

3 価クロムの溶液として、当初は 6 価クロム溶液を希酸存在下のエタノール処理することで得ていたが、以後は、クロムミョウバンを用いた。その理由は、クロムの 3 価の硫酸塩や硝酸塩は、結晶水の保持が不安定で、クロム溶液の重量法によるファクターの決定が困難だからである。クロムミョウバン $\text{CrK}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ は結晶水を堅固に保持しており、風解などの現象がなく、精密に重量を測定し、ファクターを決定できるという利点がある。

実験は、3 価及び 6 価の 10 mgCr/L クロム溶液 (硝酸(3+97)で希釈) を 50 mL ビーカーに 2.5 mL 分取した。過塩素酸処理は、5 mL の過塩素酸を加えて、時計皿で覆い、熱板上で 30 分間加熱し白煙処理をしたものである。クロムの価数別定量は、諸言の項で述べたジフェニルカルバジド発色・吸光光度法で行っ

た。過塩素酸処理を行ったもの、行わなかったものを、水で 50 mL に定容し、硫酸(1+9)を 5 mL 加え、さらに 1%ジフェニルカルバジド・50%アセトン溶液を 2 mL 加えて発色させ、吸光光度計で 540 nm での吸光度を測定した。標準溶液はクロム(Cr^{6+})標準液を硝酸(3+97)で希釈し、0.1~2 mgCr/L を調製して、検液と同様に操作し、検量線を求め、定量に供した。

表 3 に 6 価クロムの回収率を示す。

表 3 クロムの価数の過塩素酸処理による変化

Run	クロムの価数	過塩素酸処理	6 価クロム回収率
1	Cr^{3+}	無	0 %
2	Cr^{3+}	有	1 %
3	Cr^{6+}	無	105 %
4	Cr^{6+}	有	24 %

表 3 で分かることは、

- ① 過塩素酸処理によって、3 価クロムは 6 価にはならない。
- ② 過塩素酸処理によって、6 価クロムは部分的に 3 価になる。

ということである。単に過塩素酸処理を行っても、6 価クロムは得られないということであった。

3.3 硝酸の増感効果

クロムのフレイム原子吸光分析で、前述のように過塩素酸が著しい増感効果を示すことが明らかであった。それに協調する因子として、硝酸の存在が考えられたので、これについても検討を行った。試験溶液は、3 価または 6 価のクロム溶液(10 mgCr/L)の 2.5 mL に、それぞれの条件の酸を加えて硝酸(3+97)で 50 mL に定容した、0.5 mgCr/L 溶液を使用した。

表 4 に検討結果を示す。なお、測定順序を工夫しており、過塩素酸無添加→添加 (第一原則)、硝酸添加 (量の少ないほう→多いほうへ、第二原則) とした。

表 4 から、硝酸もまたクロムのフレイム原子吸光分析において増感効果があることがわかる。この現象は、過塩素酸が存在するか否かに拘わらず、認められた。また、6 価クロムのほうが、3 価クロムよりも硝酸の増感効果を受けやすいことがわかった。さらに、過塩素酸と硝酸の増感効果の程度を比較すると、過塩素酸のほうが増感効果が強いことがわかった。過塩素酸の増感効果は、クロムの価数、硝酸の添加量の条件で一定の比であり、約 1.8 倍と認めら

れた。

硝酸の増感効果については、過塩素酸と異なり、噴霧系に持続するものではないことが、実験により示された。

表4 硝酸の増感効果

Run	クロムの価数	過塩素酸 5 mL	硝酸添加 体積/mL	回収率
1	Cr ⁶⁺	有	0	201 %
2	Cr ⁶⁺	有	5	266 %
3	Cr ⁶⁺	有	10	316 %
4	Cr ⁶⁺	無	0	106 %
5	Cr ⁶⁺	無	5	144 %
6	Cr ⁶⁺	無	10	192 %
7	Cr ³⁺	有	0	194 %
8	Cr ³⁺	有	5	261 %
9	Cr ³⁺	有	10	301 %
10	Cr ³⁺	無	0	92 %
11	Cr ³⁺	無	5	133 %
12	Cr ³⁺	無	10	167 %

4. 結語

当所 SOP が採用している、食品中クロムの硝酸／過塩素酸分解・過塩素酸白煙処理によるフレイム原子吸光分析での酸の効果について検討した。その結果、

- 1) 酸化分解（湿式灰化）を完全にするために行う過塩素酸の添加及びそれによる白煙処理で得られた試験検液についてフレイム原子吸光分析でクロムを定量しようとする、過塩素酸による

増感効果が著しい。

- 2) 過塩素酸処理によって、6 価クロムは部分的に 3 価になるが、逆に 3 価クロムが 6 価になることはない。
- 3) 過塩素酸より程度は弱いものの、硝酸も増感効果がある。

ということが結論として得られた。本研究で得られた知見は、クロムの原子吸光分析における基礎的なものである。試料溶液に含まれる酸の濃度を揃える方法は原子吸光分析で一般的方法であり、元素によっては大きな感度変化をもたらすものがあると再認識する必要があると考えられた。

文 献

- 1) 日本化学会編：「新実験化学講座 9 分析化学[I]」, 丸善, 東京, 1976
- 2) 環境省編：「有害大気汚染物質測定分析マニュアル」, 2011
- 3) 日本薬学会編：「衛生試験法・注解 2015」, 金原出版, 東京, 2015
- 4) 大黒 紘：「原子吸光分析における過塩素酸の干渉」, 分析化学, **23**, 1362-1369, 1974
- 5) 大黒 紘：「クロムの原子吸光分析における過塩素酸アンモニウムの増感効果を利用する鉄の干渉の除去」, 分析化学, **25**, 785-789, 1976
- 6) 太田清久他：「分析化学実技シリーズ 機器分析編 5 原子吸光分析」, 共立出版, 東京, 2011

青森県における微小粒子状物質 (PM_{2.5}) の観測結果について (第 1 報)

大坂直人

青森県は、微小粒子状物質について、平成 25 年度から根岸小学校・五所川原第三中学校一般環境大気測定局及び六日町・文京小学校自動車排出ガス測定局（以下「根岸小学校局」「五所川原第三中学校局」「六日町局」「文京小学校局」という。）の 4 測定局体制で、自動測定機による質量濃度の常時監視を行っている。平成 25 年度及び平成 26 年度の観測結果によると、平成 25 年度は根岸小学校局、平成 26 年度は五所川原第三中学校局において環境基準非達成であった。月平均値については、根岸小学校局と六日町局は同程度の値で推移しており、9 月及び 10 月における五所川原第三中学校局の値は、他測定局に比べ高い傾向が見られた。日平均値については、津軽地方の測定局間（文京小学校局—五所川原第三中学校局間）及び南部地方の測定局間（根岸小学校局—六日町局間）で特に強い相関が認められた。また、稲わら焼却の影響が考えられるデータは回帰直線からやや離れて打点される傾向が見られた。

Key words : PM_{2.5}, monitoring station, mass concentration, correlation, rice straw

1. はじめに

微小粒子状物質（以下「PM_{2.5}」という。）については、人の健康への影響が懸念されるために、平成 21 年 9 月環境省告示により環境基準が設定され、長期基準として年平均値 15 µg/m³ 以下かつ短期基準として日平均値 35 µg/m³ 以下と定められた。

青森県では、平成 22 年度から環境省試行事業として、根岸小学校一般環境大気測定局（以下「根岸小学校局」という。）において PM_{2.5} 自動測定機による常時監視を開始した。さらに、五所川原第三中学校一般環境大気測定局（以下「五所川原第三中学校局」という。）、文京小学校自動車排出ガス測定局（以下「文京小学校局」という。）及び六日町自動車排出ガス測定局（以下「六日町局」という。）にそれぞれ PM_{2.5} 自動測定機を整備し、平成 25 年度から計 4 測定局で質量濃度について常時監視を行っている。

本報告では、4 測定局体制で常時監視を実施した平成 25 年度及び平成 26 年度の観測結果を解析したので報告する。

2. 調査方法

調査地点及び測定方法を図 1 及び表 1 に示す。

平成 25 年 4 月 1 日から平成 27 年 3 月 31 日までの観測値を解析対象とした。

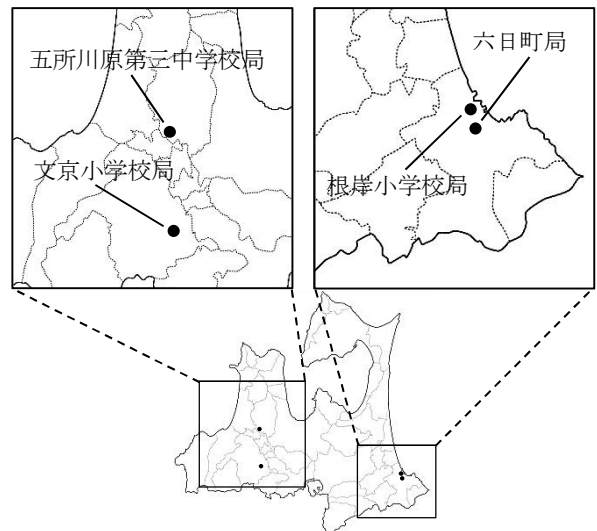


図 1 調査地点

表 1 調査地点及び測定方法

測定局	市町村 (地方)	サンプラー 型式	測定方法
根岸小学校局	八戸市 (南部地方)	APDA -3750A	β線吸収法
六日町局	八戸市 (南部地方)		β線吸収法
文京小学校局	弘前市 (津軽地方)	Model 5030 SHARP	・光散乱法 ハイブリッ ド法
五所川原 第三中学校局	五所川原市 (津軽地方)		

3. 結果及び考察

3.1 平成 25 年度の質量濃度の状況

平成 25 年度における PM_{2.5} 質量濃度の観測結果を表 2 に示す。年平均値は、根岸小学校局 12.3 μg/m³、六日町局 11.9 μg/m³、文京小学校局 11.1 μg/m³、五所川原第三中学校局 11.9 μg/m³であった。また、日平均値 (98 パーセンタイル値) は、根岸小学校局 35.4 μg/m³、六日町局 32.1 μg/m³、文京小学校局 29.5 μg/m³、五所川原第三中学校局 34.8 μg/m³であった。したがって、平成 25 年度の観測結果は、根岸小学校局において環境基準非達成であったが、六日町局・文京小学校局・五所川原第三中学校局において環境基準を達成していた。

根岸小学校局・五所川原第三中学校局は一般環境大気測定局の全国年平均値 15.3 μg/m³ を、六日町局・文京小学校局は自動車排出ガス測定局の全国年平均値 16.0 μg/m³ をそれぞれ下回った。また、短期基準を超過した観測日 (以下「超過日」という。) は、有効観測日のうち 1.1~2.2% に当たり、根岸小学校局 8 日、六日町局 5 日、文京小学校局 4 日、五所川原第三中学校局 7 日であり、全国平均の一般環境大気測定局 15 日、自動車排出ガス測定局 16 日と比較して少なかった。

各測定局の日平均値の出現頻度を図 2 に示す。4 測定局とも 5~15 μg/m³ の濃度で出現頻度が高かった。

表 2 平成 25 年度の観測結果

測定局	有効測定日数 (日)	年平均値 (μg/m ³)	日平均値の年間98%値 (μg/m ³)	日平均値が 35 μg/m ³ を超えた日数 (日)	日平均値が 35 μg/m ³ を超えた割合 (%)
根岸小学校局	362	12.3	35.4	8	2.2
六日町局	365	11.9	32.1	5	1.4
文京小学校局	365	11.1	29.5	4	1.1
五所川原第三中学校局	365	11.9	34.8	7	1.9
一般環境大気測定局 (全国平均) *	355	15.3	39.8	15	4.3
自動車排出ガス測定局 (全国平均) *	356	16.0	40.3	16	4.6

※平成 25 年度大気汚染状況報告書 (環境省) ¹⁾ から、有効測定日数が 250 日以上 の測定局について算術平均により算出

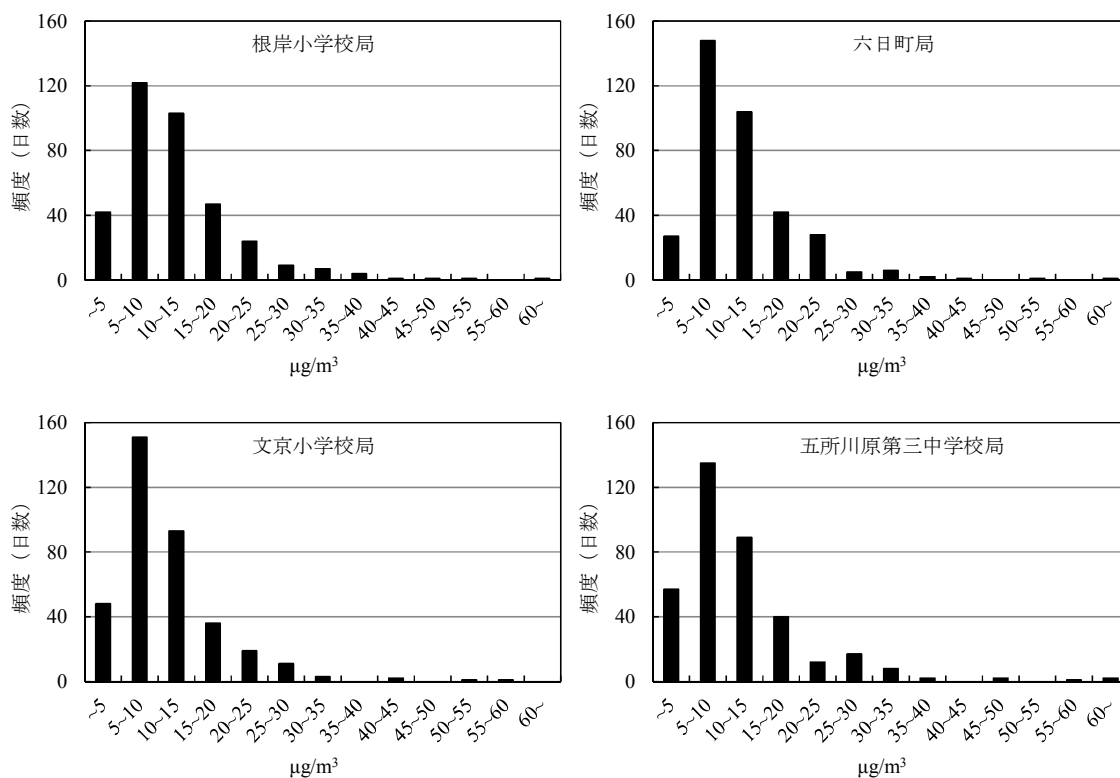


図 2 質量濃度の日平均値の出現頻度 (平成 25 年度)

月別の超過日の出現頻度を図3に示す。4測定局とも5～7月及び12月に超過日はみられなかった。

10月上旬における日平均値の推移を図4に示す。五所川原第三中学校局の超過日には、同測定局周辺

で稲わらの焼却による煙及び焼却臭が確認されたことから、原因の一つとして、稲わらの焼却による影響が考えられる。

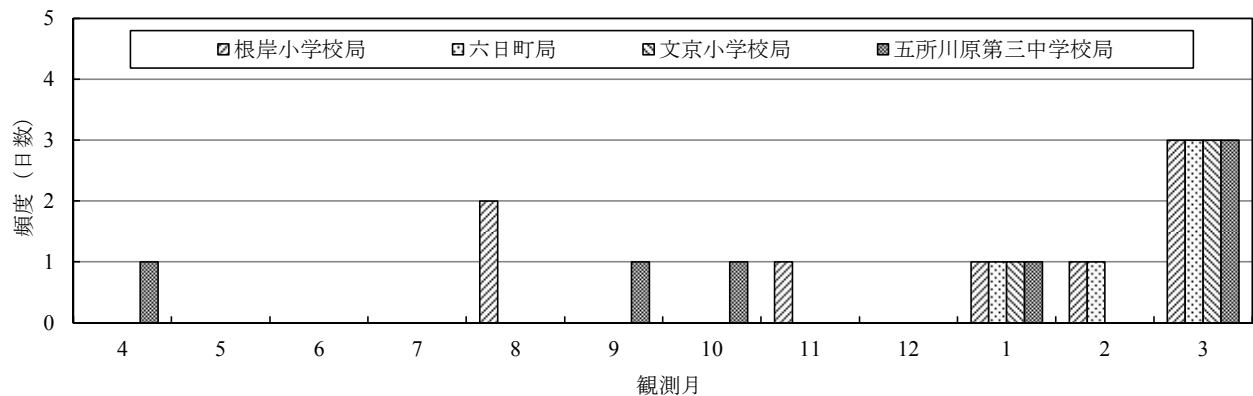


図3 超過日の出現頻度（平成25年度）

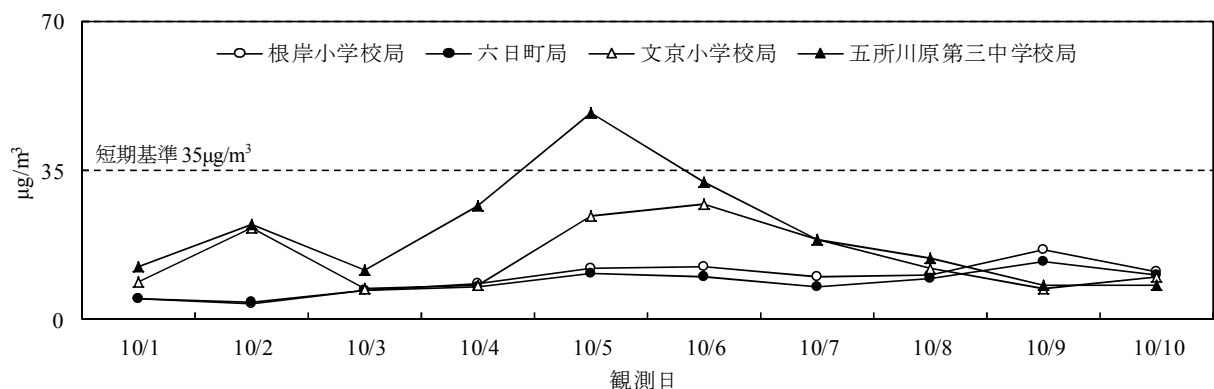


図4 質量濃度の日平均値の推移（平成25年10月上旬）

3.2 平成26年度の質量濃度の状況

平成26年度におけるPM_{2.5}質量濃度の観測結果を表3に示す。年平均値は、根岸小学校局 12.8 µg/m³、六日町局 12.6 µg/m³、文京小学校局 11.3 µg/m³、五所川原第三中学校局 12.9 µg/m³であった。また、日平均値（98パーセンタイル値）は、根岸小学校局 32.4 µg/m³、六日町局 31.8 µg/m³、文京小学校局 30.0 µg/m³、五所川原第三中学校局 37.5 µg/m³であった。したがって、平成26年度の観測結果は、五所川原第三中学校局において環境基準非達成であったが、根岸小学校局・六日町局・文京小学校局において環境基準を達成していた。

超過日は、有効観測日のうち1.1～2.8%に当たり、根岸小学校局 6日、六日町局 4日、文京小学校局 4日、五所川原第三中学校局 10日であった。

各測定局の日平均値の出現頻度を図5に示す。4測定局とも5～15 µg/m³の濃度で出現頻度が高かった。

月別の超過日の出現頻度を図6に示す。4測定局とも4月、6月、8月、9月及び11～2月に超過日はみられなかった。

10月前半における日平均値の推移を図7に示す。五所川原第三中学校局については、超過日に同測定局周辺で稲わらの焼却による煙及び焼却臭が確認されたことから、原因の一つとして、稲わらの焼却による影響が考えられる。また、文京小学校局については、超過日における同測定局周辺の状況を確認できなかったが、同日に最寄りの五所川原第三中学校局で稲わらの焼却による高濃度測定値が観測されたことから、原因として文京小学校局も稲わらの焼却による影響が疑われる。

表3 平成26年度の観測結果

測定局	有効測定日数(日)	年平均値($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	日平均値の年間98%値($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	日平均値が $35\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた日数(日)	日平均値が $35\mu\text{g}/\text{m}^3$ を超えた割合(%)
根岸小学校局	363	12.8	32.4	6	1.7
六日町局	364	12.6	31.8	4	1.1
文京小学校局	365	11.3	30.0	4	1.1
五所川原第三中学校局	356	12.9	37.5	10	2.8

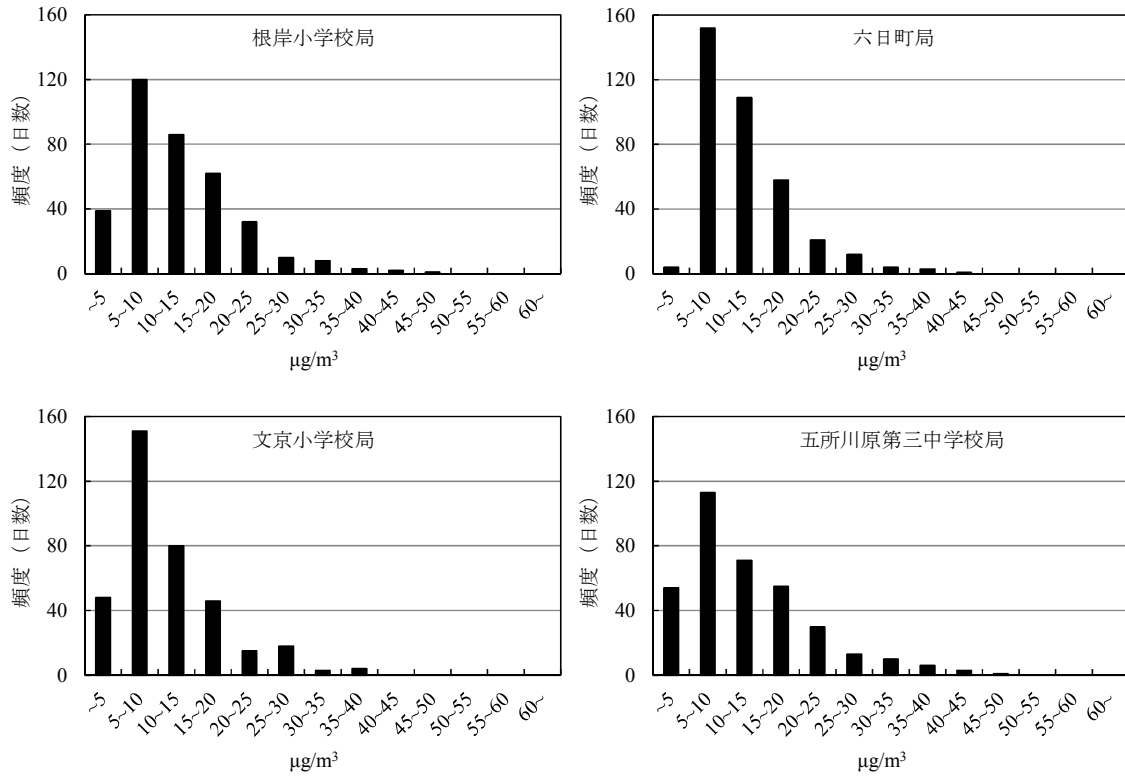


図5 質量濃度の日平均値の出現頻度(平成26年度)

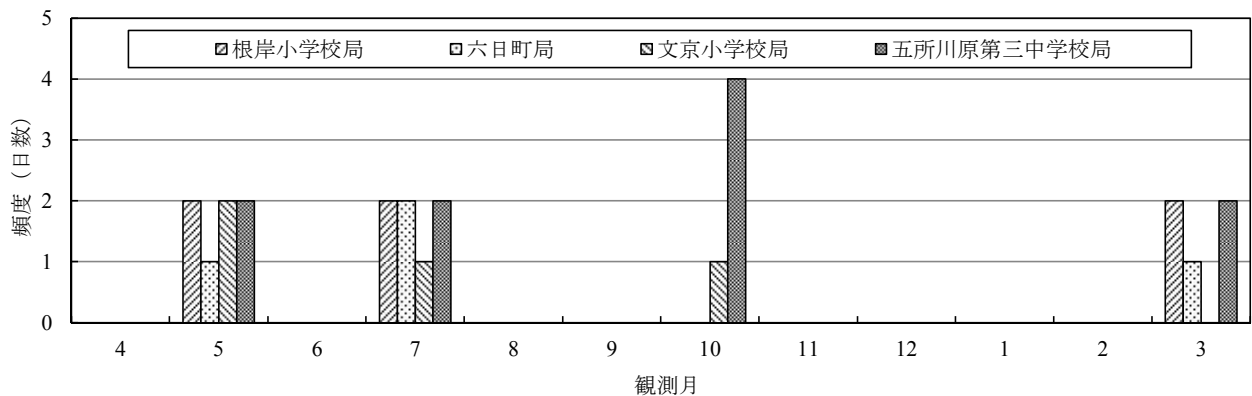


図6 超過日の出現頻度(平成26年度)

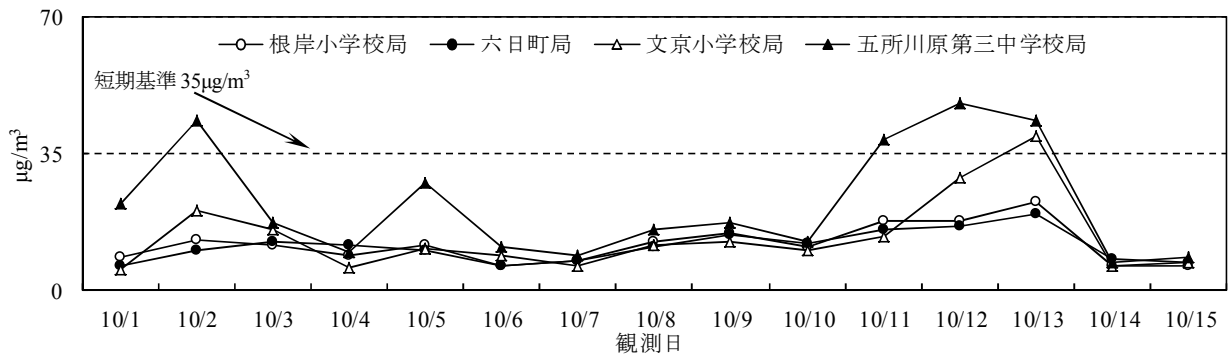


図7 質量濃度の日平均値の推移（平成26年10月前半）

3.3 各測定局間の質量濃度の相関

平成25年度及び平成26年度に各測定局で観測されたPM_{2.5}質量濃度の月平均値の推移を図8に示す。根岸小学校局の月平均値は、通年で六日町局のものと同程度の値で推移した。また、9月及び10月において、五所川原第三中学校局の月平均値は、他測定局に比べ高い傾向が見られた。

各測定局で観測されたPM_{2.5}質量濃度の日平均値（平成25年度及び平成26年度の2年間分）について、各測定局間の相関係数及び相関図を表4及び図9に示す。概ね全測定局間で相関が強い傾向（ $R \geq 0.78$ ）にあり、津軽地方の測定局間（文京小学校局－五所川原第三中学校局間： $R=0.92$ ）及び南部地方の測定局間（根岸小学校局－六日町局間： $R=0.96$ ）で特に強い相関が認められた。

また、図9の(2)、(3)及び(4)において、稲わら焼却の影響が考えられるデータにa（平成25年10月5日）、b（平成26年10月2日）、c（平成26年10月11日）、d（平成26年10月12日）及びe（平成26

年10月13日）を付した。いずれの相関図においてもa～eの5データは回帰直線からやや離れて打点される傾向にあることから、稲わら焼却の有無が相関係数の大小に影響を与えられられる。

表4 各測定局間における質量濃度の日平均値の相関係数

	根岸小学校局	六日町局	文京小学校局	五所川原第三中学校局
根岸小学校局	1	<u>0.96</u> ...(1)	0.87	<u>0.80</u> ...(2)
六日町局		1	0.86	<u>0.78</u> ...(3)
文京小学校局			1	<u>0.92</u> ...(4)
五所川原第三中学校局				1

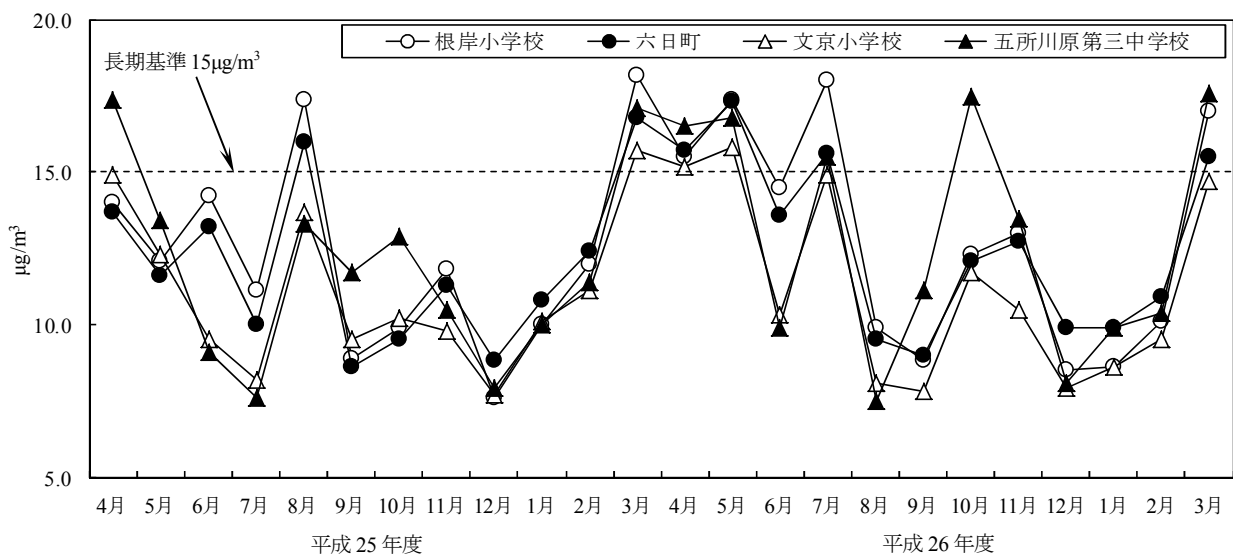


図8 質量濃度の月平均値の推移（平成25年度及び平成26年度）

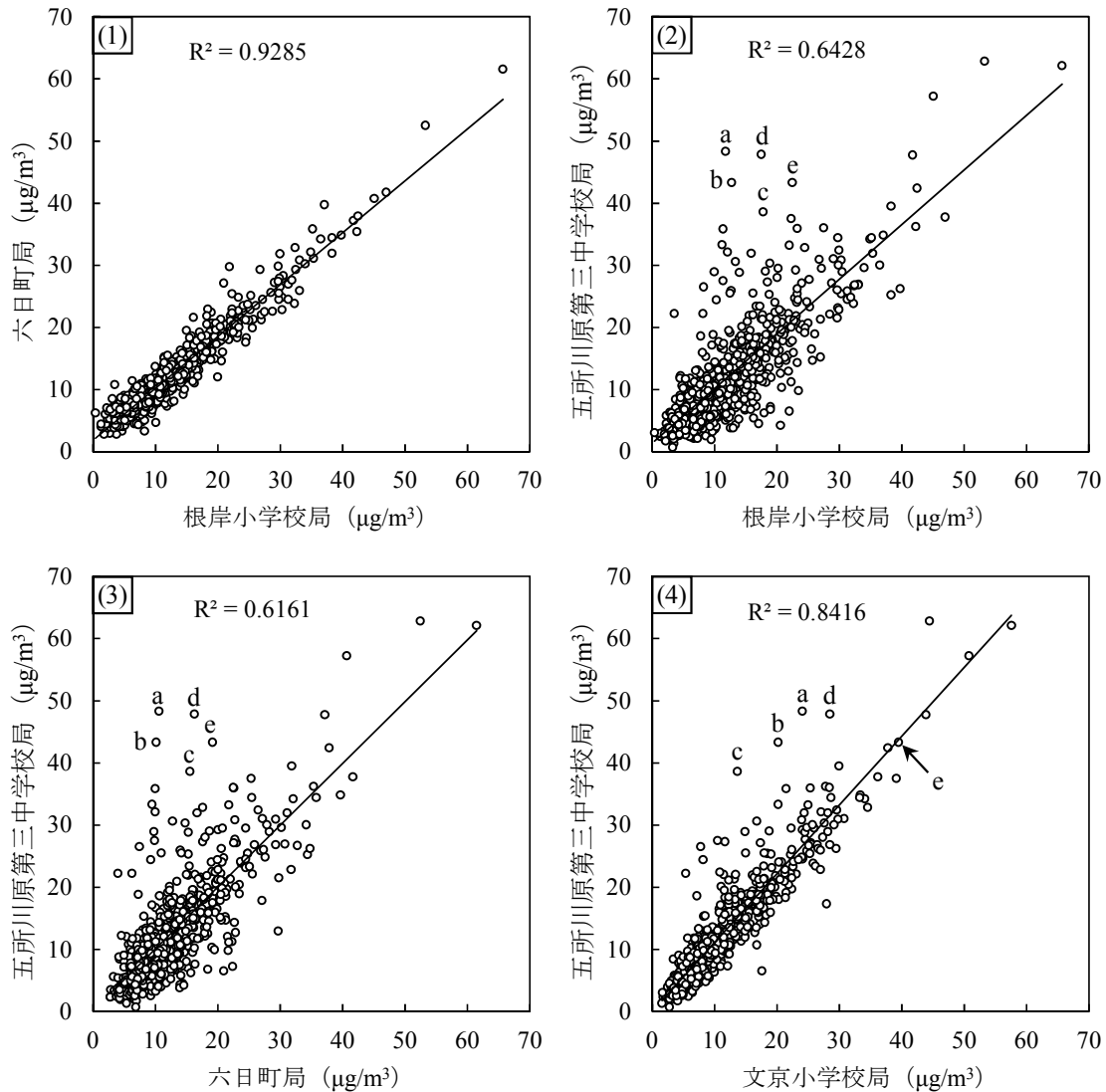


図9 各測定局間における質量濃度の日平均値の相関（表4中の(1)～(4)を記載）

4. まとめ

- 平成25年度及び平成26年度にPM_{2.5}自動測定機により県下の4測定局で質量濃度を観測したところ、平成25年度は根岸小学校局、平成26年度は五所川原第三中学校局において環境基準非達成であった。
- 平成25年10月及び平成26年10月に、五所川原第三中学校局において稲わら焼却の影響により短期基準を超過する事例が見られた。
- PM_{2.5}質量濃度の月平均値について、根岸小学校局と六日町局は同程度の値で推移しており、9月及び10月における五所川原第三中学校局の値は、他測定局に比べ高い傾向が見られた。
- PM_{2.5}質量濃度の日平均値について、津軽地方の測定局間（文京小学校局－五所川原第三中学校局間）及び南部地方の測定局間（根岸小学校局－六日町

局間）で特に強い相関が認められた。

- PM_{2.5}質量濃度の日平均値の相関において、稲わら焼却の影響が考えられるデータは、回帰直線からやや離れて打点される傾向にあり、稲わら焼却の有無が相関係数の大小に影響を与えることが示唆された。

文 献

- 1) 環境省水・大気環境局, 平成25年度大気汚染状況報告書, 平成27年8月

十和田湖底質中の有機物及び栄養塩等について (平成4年度～平成26年度)

工藤香織

平成4年度から平成26年度までの十和田湖における底質中有機物及び栄養塩等関連項目（強熱減量、COD、T-N、T-P、T-S）の濃度¹⁾を取りまとめた結果、濃度変動の大きい項目や一時的な濃度変動がみられた項目もあったが、経年的にみていずれの項目も概ね横ばいで推移していた。また、T-P濃度について過去の調査結果（昭和58年度報告²⁾）と比較した結果、大きな変動はしていないものと考えられた。

Key words : Lake Towada, sediment, organic matters, nutrient salts

1. はじめに

底質は、水環境を構成する重要な要素であり、水質汚濁に係る化学物質等が蓄積・溶出する媒体となることから、水質の状況を把握する上で貴重な情報の1つとなる。

本県では、公共用水域水質測定計画に基づき底質調査を実施しており、十和田湖については、湖内2地点で年1回の調査を行っている。当該調査では、有機物及び栄養塩等の関連項目と重金属等の健康項目、特殊項目について測定しており、重金属（Zn、Pb、As、T-Hg、Cd）については、既報³⁾において、平成9年度から平成24年度までの調査結果を報告した。

今回、有機物及び栄養塩等の関連項目（強熱減量、COD、T-N、T-P、T-S）に着目し、さらに5年間遡った平成4年度から直近の平成26年度までの調査結果を取りまとめたので報告する。

2. 調査概要

2.1 調査地点及び調査時期

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

表1 調査地点

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

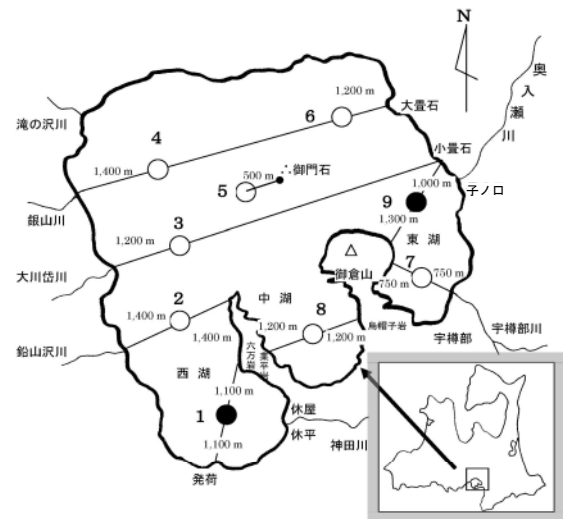


図1 調査地点図

2.2 調査方法

前述の2地点において、エクマンバージ採泥器を用いて採泥した。

2.3 分析方法

「底質調査方法（環水管127号及び環水大水発120725002号）^{4),5)}」に従った。

3. 結果と考察

3.1 項目別濃度と経年変化

平成4年度から平成26年度までの十和田湖底質調査結果概要を表2に、各項目の経年変化を図2～図6に示した。

強熱減量は、休屋前面における平均値が 10%、子ノ口前面における平均値が 8.8%であり、平成 16 年度の休屋前面及び平成 21 年度の子ノ口前面で高めの値がみられた以外は、両地点とも概ね平均値と同程度で推移していた (図 2)。

COD は、休屋前面で 0.86~55 mg/g、子ノ口前面で 0.68~41 mg/g と濃度に幅があり、他の項目に比べ濃度変動が大きいものの、近年は両地点とも概ね横ばい傾向がみられている (図 3)。

T-N は、平成 9 年度以降、両地点とも概ね横ばいで推移しており、平成 21 年度に両地点で一時的に低い値となったが、平成 22 年度以降は再び横ばい傾向がみられている (図 4)。

T-P は、休屋前面における平均値が 0.63 mg/g、子ノ口前面における平均値が 1.1 mg/g であり、表 2 のとおり平均値で子ノ口前面が休屋前面を上回ったのは T-P のみであった。なお、平成 9 年度から平成 18 年度までは子ノ口前面の方が高めに推移していたが、平成 19 年度以降は両地点が概ね同程度若しくは休屋前面の方が高い値となった年度もみられた (図 5)。

T-S は、休屋前面における平均値が 0.25 mg/g、子ノ口前面における平均値が 0.10 mg/g であり、平成 16 年度の休屋前面及び平成 19 年度の子ノ口前面で高めの値がみられた以外は、両地点とも概ね平均値と同程度で推移していた (図 6)。

表 2 十和田湖底質調査結果概要 (H4~H26)

項目	地点名	平均 (最小~最大)
強熱減量 (%)	休屋前面	10 (1~29)
	子ノ口前面	8.8 (<1~27)
COD (mg/g)	休屋前面	28 (0.86~55)
	子ノ口前面	21 (0.68~41)
T-N (mg/g)	休屋前面	2.4 (0.071~4.6)
	子ノ口前面	1.9 (0.046~3.4)
T-P (mg/g)	休屋前面	0.63 (0.15~2.0)
	子ノ口前面	1.1 (0.10~1.9)
T-S (mg/g)	休屋前面	0.25 (0.012~1.3)
	子ノ口前面	0.10 (0.003~0.64)

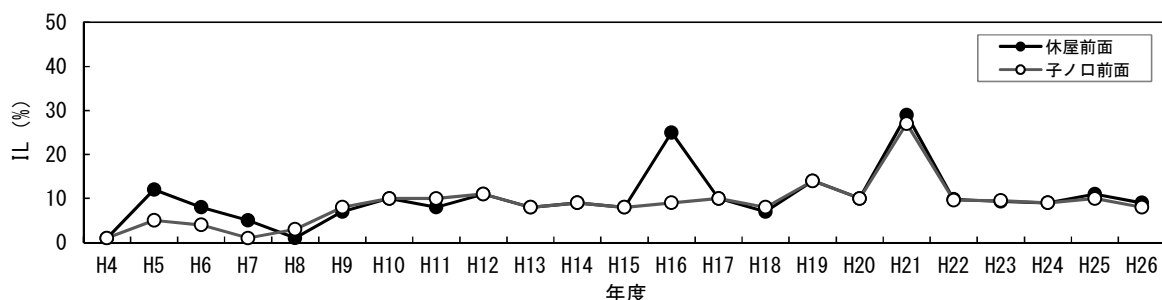


図 2 強熱減量の経年変化

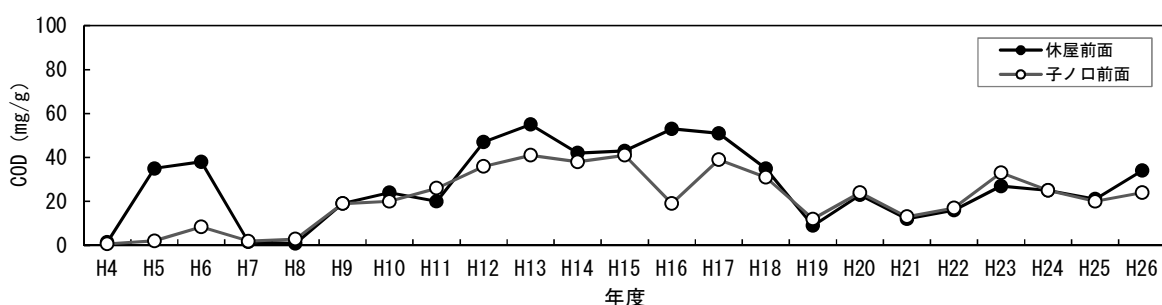


図 3 COD の経年変化

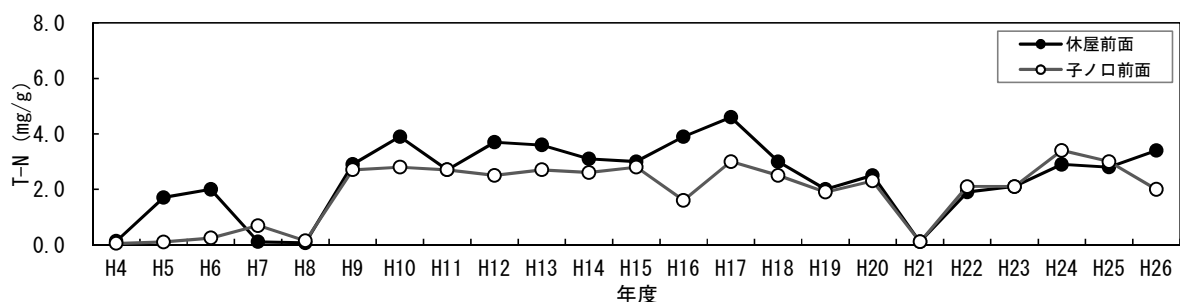


図 4 T-N の経年変化

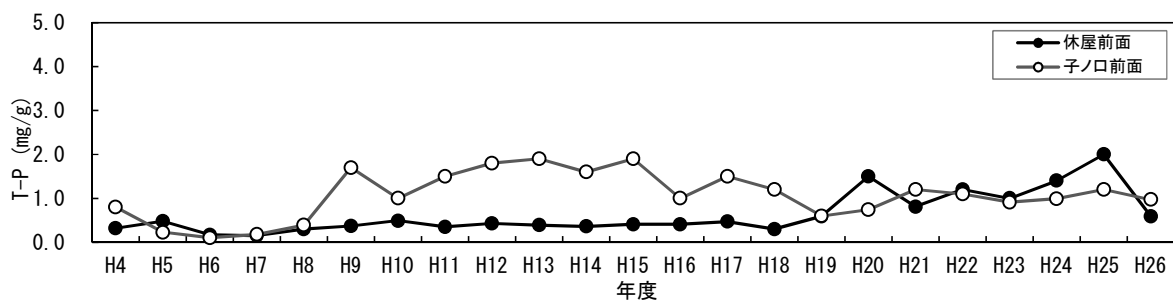


図5 T-Pの経年変化

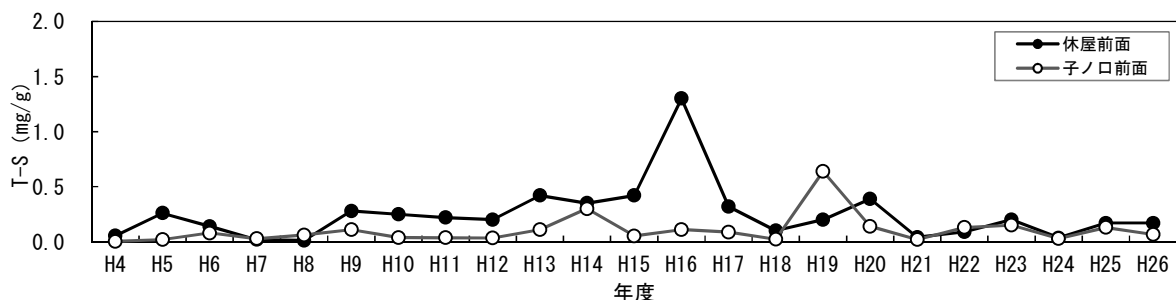


図6 T-Sの経年変化

3.2 項目間の相関

各項目の相互の関連性を確認するため、地点毎に項目間の相関を取りまとめ、表3、表4及び図7に示した。

休屋前面ではCODとT-N、子ノ口前面ではCODとT-N及びCODとT-Pで強い相関 ($r>0.7$) が認められた。

表3 項目間の相関 (休屋前面)

	強熱減量	COD	T-N	T-P	T-S
強熱減量	1.00				
COD	0.24	1.00			
T-N	0.12	0.80	1.00		
T-P	0.19	-0.15	0.06	1.00	
T-S	0.47	0.60	0.52	-0.10	1.00

表4 項目間の相関 (子ノ口前面)

	強熱減量	COD	T-N	T-P	T-S
強熱減量	1.00				
COD	0.26	1.00			
T-N	0.17	0.80	1.00		
T-P	0.35	0.82	0.69	1.00	
T-S	0.22	0.06	0.16	-0.05	1.00

3.3 過去の調査結果との比較

十和田湖底質の過去のデータとして、野田による柱状試料の層別調査結果²⁾がある。

この報告では、採取した柱状試料(底質)を外観

の違いから1~2cmの層に区分して分析しており、各層の重金属濃度とともに、T-P濃度について表5のとおり報告している。

表5 各層のT-P濃度 (S58年度報告²⁾表1抜粋)

地点名	層 (cm)	T-P ($\mu\text{g/g}$)
休屋前面	0 - 1.5	1,100
	1.5 - 3.0	700
	3.0 - 4.5	570
	4.5 - 5.5	470
子ノ口前面	0 - 2.0	770
	2.0 - 4.0	1,500
	4.0 - 5.0	3,300
	5.0 - 6.5	1,100

そこで、T-Pについて平成4年度から平成26年度までの調査結果と昭和58年度の調査結果を比較した。結果は表6のとおりであり、両地点におけるT-P濃度は、過去の調査時点から大きな変動はしていないものと考えられた。

表6 過去の調査結果との比較 (T-P) (単位: mg/g)

地点名	区分	平均(最小~最大)
休屋前面	H4~H26年度	0.63 (0.15~2.0)
	S58年度報告	0.73* (0.47~1.1)
子ノ口前面	H4~H26年度	1.1 (0.10~1.9)
	S58年度報告	1.5* (0.77~3.3)

* : 加重平均

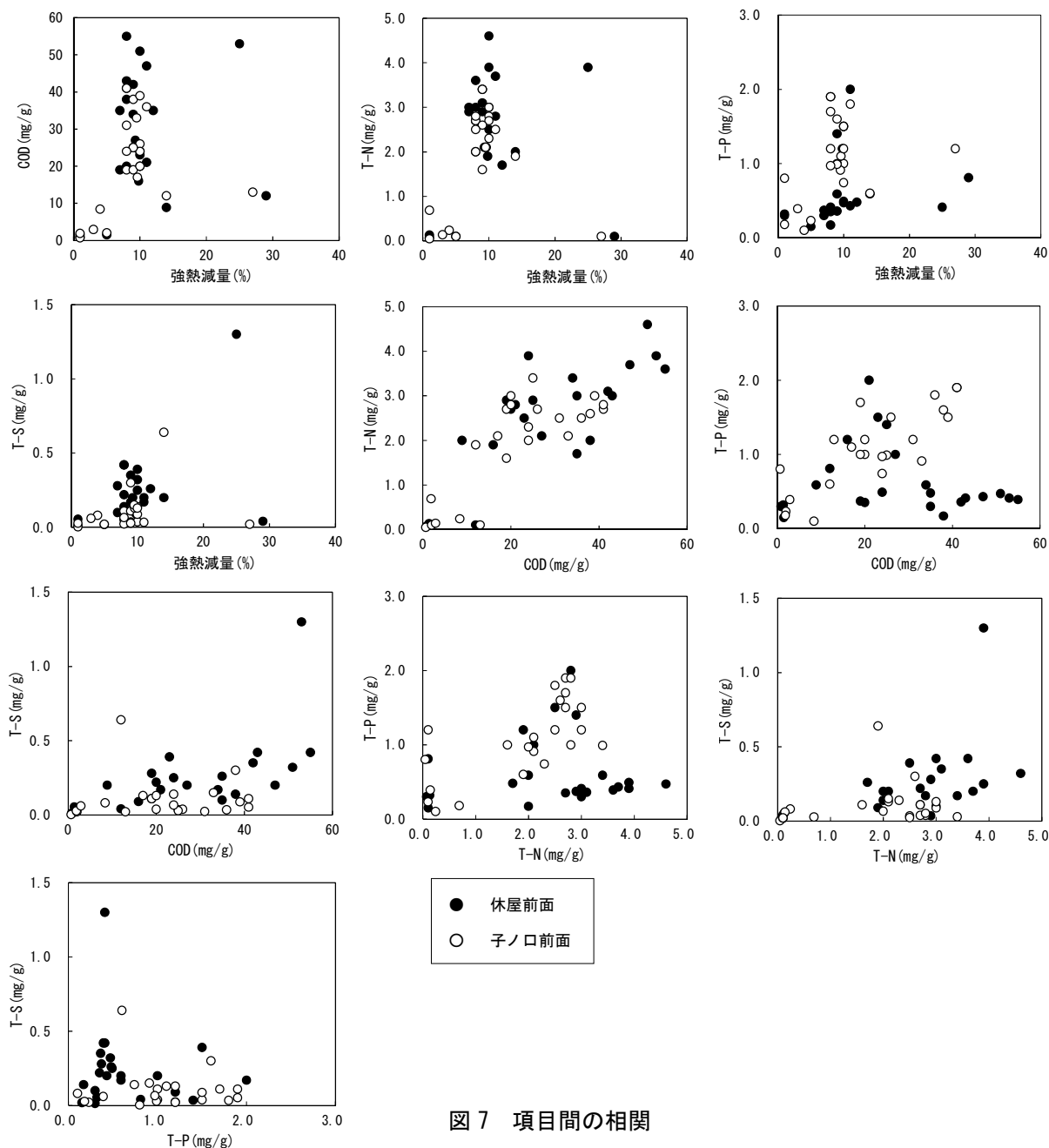


図7 項目間の相関

4. まとめ

平成4年度から平成26年度までの十和田湖底質中有機物及び栄養塩等関連項目の調査結果は、以下のとおりであった。

- 1)濃度変動の大きい項目(COD)や一時的な濃度変動がみられた項目(強熱減量、T-N、T-S)もあるが、経年的にみて休屋前面と子ノ口前面の各項目の値は概ね横ばいで推移していた。
- 2)地点毎に項目間の相関をみたところ、休屋前面ではCODとT-N、子ノ口前面ではCODとT-N及びCODとT-Pで強い相関($r>0.7$)が認められた。
- 3)T-P濃度については、両地点とも昭和58年度の調査結果と比較して、大きな変動はしていないものと考えられた。

文 献

- 1)青森県：環境白書(平成5年版～平成27年版)
- 2)野田正志：十和田湖柱状堆積物の重金属濃度及びその形態について.青森県公害センター所報,6,109-112,1983
- 3)五十嵐飛鳥：十和田湖底質中の重金属類について(平成9年度～平成24年度).青森県環境保健センター研究報告,24,43-45,2013
- 4)環境庁：底質調査方法の改定について.環水管127号,昭和63年9月8日
- 5)環境省：底質調査方法について.環水大水発120725002号,平成24年8月8日

Ⅲ 他誌投稿・学会等発表抄録

〈速報〉エンテロウイルス D68 型が検出された麻痺症状を呈する小児症例を含む 2 症例—青森県 筒井理華、武差愛美、坂恭平、藤田真司¹、鈴木豊¹、吉田弘² : IASR Vol. 37 p. 12-13: 2016 年 1 月号

エンテロウイルス 68 型 (EV-D68) は呼吸器感染症であるが、2014 および 2015 年に国内で急性弛緩性髄膜炎症例から確認された。今回、2015 年 9 月に青森県で麻痺症状を呈した小児患者 1 名から EV-D68 を検出した (症例 1)。また、8 月中旬に呼吸器症状を呈した小児患者 1 名から EV-D68 が分離・検出された (症例 2) ので報告する。2 症例の塩基配列について系統樹解析した結果、2014 年に中国やカナダで検出された株と同一のクラスターを形成した。症例 1 は気管支喘息の既往があり、弛緩性麻痺症状を示した症例であった。日本では EV-D68 の大きな流行は起こっていないが全国から報告されていることや米国国内の流行状況をみると、今後の動向には注意が必要である。

1 八戸市立市民病院、2 国立感染症研究所ウイルス第二部

魚類へい死事案調査結果 (弘前市だんぶり池)

前田寿哉、五十嵐飛鳥¹、松倉祐介²、三浦誓也 : 第 42 回環境保全・公害防止研究発表会, 2015.12.1 ~2 (東京都)

平成 26 年 7 月にだんぶり池 (弘前市) で魚類へい死事案が発生し、水質調査を実施した。

へい死地点上流には黄色の粉末状物質が大量に沈殿しており、へい死地点で採取した水質試料からはキャプタン及びオキシシン銅が検出された。

試料中のキャプタン濃度は、ゴルフ場農薬暫定指導指針値と比較して低濃度であったが、キャプタンの分解生成物であるテトラヒドロフタルイミドと考えられる物質も検出されたことから、採水時には既に分解によって濃度が低減していたものと考えられた。

魚類へい死発生事案は、その原因を特定することが容易ではないケースが多いが、本事案では原因物質と考えられる沈殿物の発見と分解生成物等の検出結果から、原因推測が可能となった事例である。

1 現青森県原子力センター、2 現青森県むつ環境管理事務所

編 集 者

工藤真哉 蝦名 章（研究報告部会長） 坂上博章
大野譲治 佐藤裕久 三浦誓也
対馬典子 花石竜治 大坂直人

青森県環境保健センター研究報告

（平成 27 年度）

平成 28 年 3 月発行

編 集 青森県環境保健センター

発 行 〒030-8566 青森市東造道 1-1-1

電 話(017)736-5411 FAX(017)736-5419

メールアドレス KANKYOSENTA@pref.aomori.lg.jp

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