

平成 30 年度

# 奈良県保健研究センター一年報

No.53

2018

ANNUAL REPORT OF  
NARA PREFECTURAL INSTITUTE  
OF HEALTH

奈良県保健研究センター

## はじめに

平素は奈良県保健研究センターの業務の推進にご理解ご協力を賜り厚くお礼申し上げます。当センターは、県民生活における保健衛生面の安心・安全を確保するために、調査研究、試験検査、研修指導、公衆衛生情報の収集・解析・提供を中心とした各種業務を実施しております。

今年度は6月に大阪でのG20、秋にはラグビーワールドカップと、ビッグイベントが開催され各種対策が実施されたと聞いております。来年は東京オリンピック・パラリンピックが開催されますが、首都圏では既に感染症、食品衛生やテロ等の様々な事案に対し検討・対策が行われております。関西ではそれ以降も、2021年にはワールドマスターズゲーム関西、2025年には大阪万博の開催が予定されており、今後も健康危機管理体制の更なる充実が求められます。

感染症関係では、昨年夏の首都圏での風疹の流行に端を発し、県内でも風疹患者が発生し、以降はなかなか収まらない状況が続き、更に今年に入ってから、近隣自治体での麻疹の流行もあって、麻疹患者が継続的に発生する状況になりました。これらの疾患は臨床診断のみでの判断が困難な場合もあり、地方衛生研究所での遺伝子検査による検査診断を実施しておりますが、加えて感染経路推定のため病原体の詳細な解析が求められております。2015年にWHOから我が国の麻疹排除が認定される際には、解析により国内流行株を否定し続けた地方衛生研究所の貢献が大きいとされており、今後、2020年度末を目標とする麻疹排除に対しても、地方衛生研究所の立場から迅速で精度の高い検査対応を続けて参りたいと考えております。

食品検査分野では、国際的整合性の観点からISO/IEC17025を基本とした制度導入のため、食品GLPの省令改正等が具体的に検討されております。今までになかったマネジメントシステムや検査員の資質に関する要件等の新たな内容が追加されるよう聞いており、施行後約20年が経過している食品GLPがより良い制度になるよう期待すると共に、新たなシステム導入や教育訓練・研修機会の充実等、今後更なる検査業務の質的向上に向けた取組みが必要になると思われます。

このような時代の流れに対応すべく、各種検査の充実や検査精度確保等のため、調査研究等を進めており、理化学分野では、フグ食中毒発生時のフグ毒定量法や遺伝子によるフグ魚種鑑別法について検討いたしました。細菌分野では、食用野生鳥獣の食中毒菌保有状況や保有菌の薬剤耐性傾向調査を行いました。ウイルス分野では、感染症発生動向調査の実施に加え、極微量ノロウイルスの検査法に取り組み、環境中のノロウイルス検出状況等についても調査を実施いたしました。今後とも、検査技術の維持・向上に努めていきたいと考えております。

この度、平成30年度に実施した試験検査、精度管理、調査研究等の業務を取りまとめ、年報が出来上がりましたのでお届け致します。

今後とも、関係各位のご理解、ご支援及びご協力を賜りますようお願い致します。

令和元年10月

奈良県保健研究センター  
所長 堀 重 俊



# 目 次

## 第1章 総 説

1. 沿 革	1
2. 組 織	1
1) 機構と事務分掌	1
2) 職員構成	2
3) 人事記録	2
4) 職員名簿	3
3. 施 設	4
1) 土 地	4
2) 建 物	4
3) 保健研究センター庁舎配置図	5
4. 新規購入備品	6
5. 予算及び決算	6
6. 企画情報関連	8
1) 職員の出席した学会，研究会，講習会，研修会等	8
2) 施設見学	10
3) 保健研究センター職員を講師とする講演会，技術・研修指導	11
4) 保健研究センター研究発表会	11
5) 保健研究センターホームページによる情報提供	12
6) 夏休みこども科学教室	12
7) 厚生労働科学研究事業等への研究協力	13
8) 奈良県公衆衛生学会への協力	13
9) 信頼性確保業務	14
10) 健康危機事象模擬訓練	15
11) 外部評価制度	16

## 第2章 試験・検査概況

食品担当	19
細菌担当	24
ウイルス・疫学情報担当	31

奈良県感染症情報センター

## 第3章 調査研究・報告

### 第1節 原 著

1. フグ組織及び尿からのテトロドトキシンの定量法	43
..... 村上友規・安藤尚子・立本行江	

2. 健康危機管理体制の強化：魚による食中毒における遺伝子を用いた鑑別方法の確立 .....	安藤尚子・村上友規・立本行江	48
<b>第2節 報告</b>		
1. 奈良県内に流通する農産物中の残留農薬調査(2011～2018) .....	米田正樹・南浦茉奈・北岡洋平・樋上 絢・西山隆之・立本行江	53
2. 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の分析法の検討 .....	樋上 絢・米田正樹・南浦茉奈・北岡洋平・立本行江	57
3. 奈良県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の遺伝子検出状況（2017-2018年） .....	吉田孝子・森村実加・田邊純子・内田美枝	60
4. 食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況および薬剤耐性傾向調査 .....	佐伯美由紀・平城 均・久野翔平・森村実加・田邊純子・内田美枝	64
5. 水中および環境中のノロウイルス検査法の検討 .....	千葉翔子・松本朋子・尾西美咲・藤谷美沙子・中野 守・稲田真知	68
6. 奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について－2017/2018 シーズン－ .....	藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守・稲田真知	71
7. 感染症発生動向調査による患者発生状況：平成30年（2018年） .....	千葉翔子・藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・中野 守・稲田真知	74
<b>第3節 資料</b>		
1. 奈良県における結核菌の分子疫学調査（2018年度） .....	佐伯美由紀・田邊純子・内田美枝	81
2. 奈良県における腸管出血性大腸菌検出状況：2018年度 .....	森村実加・佐伯美由紀・吉田孝子・田邊純子・内田美枝	83
3. 奈良県におけるA群ロタウイルスG3の検出状況（2014/15～2017/18シーズン） .....	松本朋子・尾西美咲・藤谷美沙子・千葉翔子・中野 守・稲田真知	85
4. 奈良県におけるA型肝炎ウイルスの検出状況について（2018年） .....	藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守・稲田真知	87
5. 平成30年度の風疹及び麻疹検査の状況について .....	稲田真知・藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守	89
<b>第4節 他誌掲載論文の要旨</b> .....		91
<b>第5節 報告書の要旨</b> .....		93
<b>第6節 研究発表の抄録</b> .....		95
奈良県保健研究センター年報投稿規定 .....		101

# 第1章 総 説



## 1. 沿革

- (1) 昭和 23 年 6 月 25 日 奈良県告示第 167 号を以て、奈良市登大路町奈良県庁内に奈良県衛生研究所を設置
- (2) 昭和 28 年 3 月 31 日 奈良県条例第 11 号を以て、奈良市油阪町に庁舎を新築移転
- (3) 昭和 41 年 3 月 30 日 奈良市西木辻八軒町に奈良保健所との合同庁舎を新築移転
- (4) 昭和 46 年 3 月 24 日 奈良市大森町に独立庁舎を新築移転
- (5) 昭和 46 年 5 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、総務課、環境公害課、予防衛生課の 3 課を設置
- (6) 昭和 48 年 4 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、食品化学課を新設
- (7) 昭和 50 年 2 月 28 日 前庁舎に接して約 1,276 m<sup>2</sup>の庁舎を新築
- (8) 昭和 62 年 4 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、総務課、公害課、環境課、食品化学課、予防衛生課の 5 課制に編成替え
- (9) 平成 2 年 4 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、総務課、大気課、水質課、食品生活課、予防衛生課に編成替え
- (10) 平成 12 年 4 月 1 日 県感染症情報センターを所内に設置
- (11) 平成 14 年 4 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、奈良県保健環境研究センターと名称変更し総務課と試験研究グループ（大気環境担当、水環境担当、食品担当、ウイルス・細菌担当）に編成替え
- (12) 平成 18 年 4 月 1 日 奈良県行政組織規則の改正により、総務課、精度管理担当、大気環境担当、水環境担当、食品担当、ウイルス・細菌担当に編成替え
- (13) 平成 22 年 4 月 1 日 技術担当を置く
- (14) 平成 23 年 4 月 1 日 技術担当を解く
- (15) 平成 25 年 4 月 1 日 桜井市栗殿に新築移転、奈良県行政組織規則の改正により名称を奈良県保健研究センターに改め、総務課、精度管理担当、食品担当、細菌担当、ウイルス・疫学情報担当に編成替え  
大気環境担当及び水環境担当は奈良県景観・環境総合センター大気係、水質係に編成替え

## 2. 組織

### 1) 機構と事務分掌 (平成 31 年 4 月 1 日現在)

所長 副所長	総務課	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. 人事・予算・決算及び会計経理に関すること</li> <li>2. 土地建物及び物品の維持管理に関すること</li> <li>3. その他庶務に関すること</li> </ul>
	精度管理担当	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. 企画情報に関すること</li> <li>2. 総合調整に関すること</li> <li>3. 信頼性確保部門の指定職員業務その他精度管理に関すること</li> </ul>
	食品担当	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. 食品、食品添加物、食器、容器包装、家庭用品等の理化学的試験研究に関すること</li> <li>2. 食品中の残留農薬、重金属等有害化学物質の試験研究に関すること</li> <li>3. 飲料水等の理化学的検査に関すること</li> <li>4. その他食品衛生の理化学的試験研究に関すること</li> </ul>
	細菌担当	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. 食品衛生、環境衛生等の細菌学的検査及び調査研究に関すること</li> <li>2. 病原細菌の検査及び調査研究に関すること</li> <li>3. 細菌学的検査の研修・技術指導に関すること</li> </ul>
	ウイルス・疫学情報担当	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. ウイルス等の病原体の検査及び調査研究に関すること</li> <li>2. 感染症情報センターに関すること</li> <li>3. その他ウイルス性感染症等の研修・技術指導に関すること</li> </ul>



2) 職 員 構 成 (平成 31 年 4 月 1 日現在)

区 分	事務職員	技 術 職 員				計
		薬 学	獣医学	理工農学	臨床検査学	
所 長		1				1
副所長(兼)精度管理担当		1				1
総 務 課	2					2
精 度 管 理 担 当	1				1	2
食 品 担 当		2		6(1)	1	9(1)
細 菌 担 当		3	1	2	2	8
ウイルス・疫学情報担当		5		1		6
計	3	12	1	9(1)	4	29(1)

( )は育休代替職員

3) 人 事 記 録

退職及び転出

31. 3. 31	総 括 研 究 員	中 野 守	退職
	技 師	平 城 均	退職
31. 4. 1	総 務 課 長	鈴 木 小 百 合	奈良県立医科大学へ
	総 括 研 究 員	田 邊 純 子	薬事研究センターへ
	主 任 研 究 員	村 上 友 規	環境政策課へ
	主 任 技 師	久 野 翔 平	薬務課へ
	主 任 技 師	藤 谷 美 沙 子	郡山保健所へ

転入及び昇格

30. 9. 1	主 事	陰 地 義 樹	新規採用 (育休代替)
31. 4. 1	総 務 課 長	山 下 真 紀 子	女性センターから
	総 括 研 究 員	吉 田 孝 子	指導研究員から
	主 任 研 究 員	竹 田 依 加	エネルギー政策課から
	主 任 研 究 員	仲 井 菜 都 希	主任主事から
	主 任 研 究 員	松 井 恵 梨 子	郡山保健所から
	主 任 研 究 員	中 野 守	再任用
	主 任 研 究 員	阪 本 孝 幸	郡山保健所から
	主 任 研 究 員	千 葉 翔 子	主任主事から
	主 任 技 師	松 本 朋 子	技師から
	主 任 技 師	尾 西 美 咲	技師から
	技 師	松 浦 侑 輝	新規採用

4) 職 員 名 簿

(平成 31 年 4 月 1 日現在)

課・係名	職 名	氏 名	課・係名	職 名	氏 名		
総務課 総務係	所 長	堀 重 俊	細菌担当 細菌チーム	統括主任研究員	内 田 美 枝		
	副 所 長	榮 井 毅		総括研究員	吉 田 孝 子		
	課 長	山 下 真 紀 子		主任研究員	森 村 実 加		
	(兼)係長	山 下 真 紀 子		主任研究員	佐 伯 美 由 紀		
	主任主査	米 川 由 美		主任研究員	松 井 恵 梨 子		
	精度管理担当	(兼)統括主任研究員		榮 井 毅	主任研究員(再)	辻 本 真 弓	
		総括研究員		森 居 京 美	主任研究員(再)	中 野 守	
		主 査		本 間 美 樹	主任技師	河 口 友 理	
	食品担当 食品化学チーム	統括主任研究員		立 本 行 江	ウイルス・ 疫学情報担当 ウイルス・ 疫学情報チーム	統括主任研究員	稲 田 眞 知
		総括研究員		安 藤 尚 子		主任研究員	阪 本 孝 幸
指導研究員		西 山 隆 之	主任研究員	千 葉 翔 子			
主任研究員		竹 田 依 加	主任技師	松 本 朋 子			
主任研究員		仲 井 菜 都 希	主任技師	尾 西 美 咲			
主 事		陰 地 義 樹	技 師	松 浦 侑 輝			
生活化学チーム		総括研究員	米 田 正 樹				
		主任研究員	樋 上 絢				
		主任研究員	北 岡 洋 平				
		主 事	南 浦 茉 奈				

### 3. 施 設

#### 1) 土 地

(平成 31 年 4 月 1 日現在)

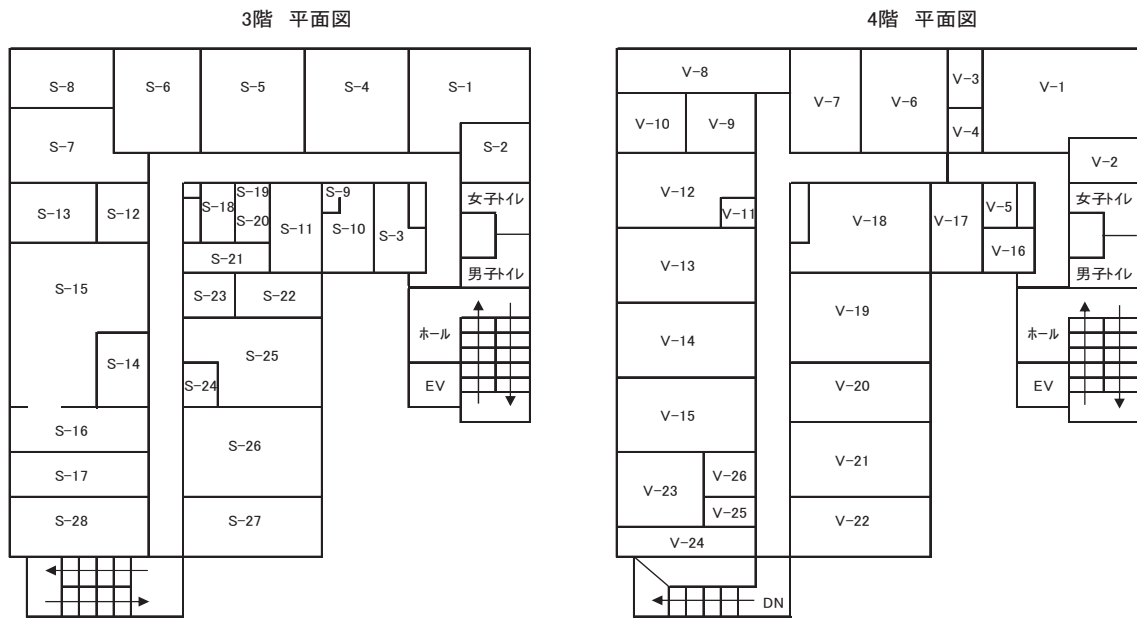
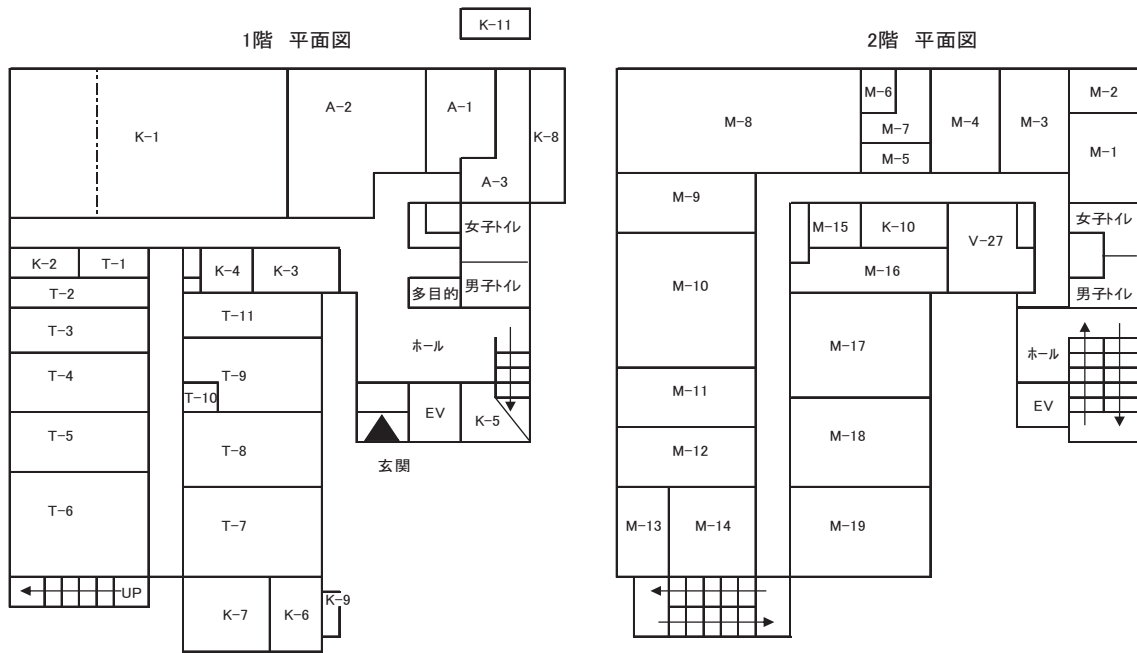
地 名	地 目	面 積	現在の状況	所 有 者
桜井市粟殿 1000 番地	宅 地	3,709.88 m <sup>2</sup>	宅 地	奈 良 県

#### 2) 建 物

(平成 31 年 4 月 1 日現在)

施 設	面 積	使用年月日	建物経過年数	所 有 者
本館鉄筋コンクリート 4 階	3,264.17 m <sup>2</sup>	平成 25 年 4 月 1 日	6 年	奈 良 県
(本 館 1 階)	(860.13)			
(本 館 2 階)	(786.77)			
(本 館 3 階)	(786.77)			
(本 館 4 階)	(786.77)			
(本 館 P1 階)	(43.73)			
倉 庫	7.00	平成 25 年 4 月 1 日	6 年	

### 3) 保健研究センター庁舎配置図



- |                |                  |                  |                      |
|----------------|------------------|------------------|----------------------|
| A-1 所長室        | M-1 水質検体受付室      | S-1 食品担当執務室      | V-1 細菌・ウイルス疫学情報担当執務室 |
| A-2 総務課事務室     | M-2 水質検体保管室      | S-2 理化学GLP管理室    | V-2 感染症情報センター        |
| A-3 倉庫         | M-3 水質器具器材庫      | S-3 食品検体受付室      | V-3 微生物GLP管理室        |
| K-1 会議室        | M-4 水質機器分析室 I    | S-4 食品検査室 I      | V-4 微生物検体受付室 I       |
| K-2 委託業者控室     | M-5 環境天秤室        | S-5 食品検査室 II     | V-5 微生物検体受付室 II      |
| K-3 更衣室(女)     | M-6 倉庫 I         | S-6 食品検査室 III    | V-6 食品細菌検査室 I        |
| K-4 更衣室(男)     | M-7 倉庫 II        | S-7 食品検査室 IV-1   | V-7 食品細菌検査室 II       |
| K-5 消化ポンプ室     | M-8 水質検査室        | S-8 食品検査室 IV-2   | V-8 微生物低温室           |
| K-6 廃棄物保管庫 I   | M-9 BOD測定室       | S-9 食品検査前室       | V-9 微生物器具器材庫         |
| K-7 廃棄物保管庫 II  | M-10 水質機器分析室 II  | S-10 食品検査室 V-1   | V-10 保管室             |
| K-8 ポンベ置場 I    | M-11 水質機器分析室 III | S-11 食品検査室 V-2   | V-11 ウイルス検査前室        |
| K-9 ポンベ置場 II   | M-12 水質機器分析室 IV  | S-12 食品選心機室      | V-12 ウイルス検査室 I       |
| K-11 ポンベ倉庫     | M-13 水質機器分析室 V   | S-13 食品洗浄室       | V-13 ウイルス検査室 II      |
| T-1 倉庫 I       | M-14 水質機器分析室 VI  | S-14 標準品調製室      | V-14 ウイルス検査室 III     |
| T-2 大気器具器材庫    | M-15 水質恒温室       | S-15 農業検査室 I     | V-15 ウイルス検査室 IV      |
| T-3 大気機器分析室 I  | M-16 環境洗浄室       | S-16 農業検査室 II    | V-16 微生物洗浄室          |
| T-4 大気測定前処理室   | M-17 水質前処理室 I    | S-17 食品器具器材庫     | V-17 食品準備室           |
| T-5 大気機器分析室 II | M-18 水質前処理室 II   | S-18 食品冷蔵室       | V-18 病原細菌検査室 I       |
| T-6 大気検査室 I    | M-19 水質前処理室 III  | S-19 食品冷凍前室      | V-19 病原細菌検査室 II      |
| T-7 大気検査室 II   | V-27 水質細菌検査室     | S-20 食品冷凍室       | V-20 病原細菌検査室 III     |
| T-8 放射能測定前処理室  | K-10 図書室         | S-21 倉庫 I        | V-21 病原細菌検査室 IV      |
| T-9 放射能測定室     |                  | S-22 倉庫 II       | V-22 保管室             |
| T-10 保管室       |                  | S-23 食品天秤室       | V-23 高度安全実験室         |
| T-11 騒音評価室     |                  | S-24 コンプレッサー室    | V-24 準備室             |
|                |                  | S-25 食品機器分析室 I   | V-25 エアロック室          |
|                |                  | S-26 食品機器分析室 II  | V-26 機械室             |
|                |                  | S-27 食品機器分析室 III |                      |
|                |                  | S-28 食品機器分析室 IV  |                      |

4. 新規購入備品 (単価 20 万円以上)

品名	規格	購入年月日
吹付け式試験管濃縮装置一式	MGS-3100G ノズル本数 16 本、加温ユニット	平成 30 年 6 月 14 日
超低温フリーザー	CLN-50CD1	平成 30 年 8 月 9 日
サーマルサイクラー	T100	平成 30 年 11 月 9 日
自動核酸精製装置	QIAcube Priority	平成 31 年 1 月 28 日
バイオフィリーザー	MDF-MU339-PJ	平成 31 年 3 月 22 日

5. 予算及び決算 (平成 30 年度)

歳入

(単位 円)

款	項	目	節	説明	予算額	収入
使用料及び 手数料	手数料	保健研究 センター 手数料	保健研究 センター 手数料	1. 食品検査	877,660	698,750
				(1) 一般食品検査	632,110	490,730
				(2) 食品細菌検査	245,550	208,020
				2. 水質検査	3,837,510	3,196,030
				(1) 飲料水検査	3,066,260	2,424,780
				(2) プール水検査	771,250	771,250
				3. 細菌検査	1,192,680	1,160,310
				(1) 結核菌等検査	183,000	304,470
				(2) 培養・同定	1,009,680	855,840
4. ウイルス等検査	1,359,000	1,103,150				
5. 臨床病理検査						
6. 衛生害虫検査						
7. その他の試験	1,108,870	961,370				
8. 証明書発行	1,230	1,230				
計					8,376,950	7,120,840

## 歳 出

(単位 円)

款 ・ 項 ・ 目	予 算 額	支 出 額	残 高
(款) 福祉保険費	31,185,124	30,511,712	673,412
(項) 地域福祉費	31,185,124	30,512,712	673,412
(目) 保健研究センター費	30,834,124	30,163,407	670,717
(目) 地域福祉推進費	351,000	348,305	2,695
(款) 医療政策費	3,795,000	3,791,086	3,914
(項) 疾病対策費	3,795,000	3,791,086	3,914
(目) 疾病対策推進費	3,795,000	3,791,086	3,914
(款) くらし創造費	11,514,000	11,504,250	9,750
(項) 消費生活安全費			
(目) 消費生活安全対策費	11,514,000	11,504,250	9,750
(目) 生活衛生指導費	11,112,000	11,102,725	9,275
(目) 動物愛護費	300,000	299,692	308
(目) 動物愛護費	102,000	101,833	167
(款) 産業振興費	119,000	116,420	2,580
(項) 産業政策費	119,000	116,420	2,580
(目) 産業政策推進費	119,000	116,420	2,580
合 計	46,613,124	45,923,468	689,656

\* 保健研究センター執行分のみ計上 (人件費・大型備品・営繕費を含まず)

## 6. 企画情報関連

### 1) 職員の出席した学会、研究会、講習会、研修会等

年・月・日	内 容	開 催 地	担 当
H30. 4.19~20	平成 30 年度地方衛生研究所サーベイランス業務従事者研修	東 京	ウイルス・疫学情報
5.10	ライフテクノロジーズ「初めてのリアルタイムPCRセミナー」	大 阪 市	食 品
5.11	Waters バイオセパレーションセミナー	大 阪 市	食 品
5.28	Agilent トリプル四重極 GC/MS セミナー	大 阪 市	食 品
6. 1	平成 30 年度病原体等の包装・運搬講習会	大 阪 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
6.15	阪神地区感染症懇話会 平成 30 年度第 1 回講演会	大 阪 市	ウイルス・疫学情報
6.15	ライフテクノロジーズ「初めてのリアルタイム PCR セミナー」	大 阪 市	ウイルス・疫学情報
6.29	平成 30 年度奈良県衛生関係職員研修会	大和郡山市	食 品 細 菌 ウイルス・疫学情報
7. 4	平成30年度地方衛生研究所現場の会・研究会	大 津 市	細 菌
7. 5	衛生微生物技術協議会第 39 回研究会	大 津 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
7.10	厚生労働科学研究費補助金「食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究」第 2 回班会議及び研修会	横 浜 市	食 品
7.15	厚生労働科学研究費補助金「成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究」第 1 回班会議	東 京	細 菌
7.20	Agilnet 食品分析向けサンプル前処理ワークショップ	吹 田 市	食 品
7.26~27	平成 30 年度結核予防技術者地区別講習会（近畿地区）	京 都 市	細 菌
7.30	平成 30 年度黒田班 Gen Epid - j 研修会	東 京	細 菌
8.10	Waters 食品分析セミナー	大 阪 市	食 品
8.23	Waters インハウスセミナー	桜 井 市	食 品
8.23	ライフテクノロジーズ「初めてのリアルタイム PCR セミナー」	大 阪 市	細 菌
9. 6	ライフテクノロジーズジャパンセミナー・ハンズオントレーニング（リアルタイム PCR）」	東 京	ウイルス・疫学情報
9. 7	平成 30 年度全国公衆衛生獣医師協議会調査研究発表会	東 京	細 菌
9.11	第 30 回奈良県食品安全・安心懇話会	奈 良 市	食 品 細 菌 ウイルス・疫学情報
9.13~14	平成 30 年度薬剤耐性菌の検査に関する研修	東 京	細 菌
9.20~21	平成 30 年度感染症疫学基礎研修会	岡 山 市	ウイルス・疫学情報
9.27~28	第 39 回日本食品微生物学会学術総会	大 阪 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
10. 5	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部 ウイルス部会研究会	京 都 市	ウイルス・疫学情報

10.11	部局研修支援事業 産業振興総合センター・農業研究開発センター職員研修 「研究発表に役立つデザインの基本ルール」	桜井市	食 品 ウイルス・疫学情報
10.14	平成 30 年度獣医学術近畿地区学会	堺市	細 菌
10.22	奈良県生活協同組合連合会「食の安全懇談会」	奈良市	食 品
10.23	Waters MS フォーラム	大阪市	食 品
10.31	サーモフィッシュャーサイエンティフィック エレメンタルセ ミナー2018	大阪市	食 品
11. 2	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部 細菌部会研修会	和歌山市	細 菌
11. 8~ 9	第 22 回腸管出血性大腸菌感染症研究会	東 京	細 菌
11. 9	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	神戸市	食 品
11.13~14	日本防菌防黴学会第 45 回年次大会	東 京	細 菌
11.15	第 39 回奈良県公衆衛生学会	橿原市	総 務 課 各 担 当
11.16	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	ウイルス・疫学情報
11.16	兵庫県立健康科学研究所設立 70 周年記念シンポジウム	加古川市	細 菌
11.22	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部 理化学部会研修会	東大阪市	食 品
11.27	2018 年近畿ブロック・薬剤耐性菌に関する研修	大阪市	細 菌
11.28~29	日本農薬学会 残留農薬分析セミナー2018 (関西)	桜井市	食 品
11.29~30	第 55 回全国衛生化学技術協議会年会	横浜市	食 品
12. 7	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部 疫学情報部会定期研究会	桜井市	食 品 細 菌 ウイルス・疫学情報
12. 8	第 22 回近畿耐性菌研究会特別講演会	大阪市	細 菌
12.11	平成 30 年度奈良県感染症発生動向調査事業感染症関連講演 会	橿原市	細 菌 ウイルス・疫学情報
12.12~13	ライフテクノロジーズジャパンセミナー・ハンズオントレ ニング (ダイレクトシーケンス)	東 京	ウイルス・疫学情報
12.19	大阪感染症情報解析評価委員会 (12/26・1/30・2/27)	大阪市	ウイルス・疫学情報
H31. 1. 7	阪神地区感染症懇話会 平成 30 年度第 2 回講演会	大阪市	細 菌 ウイルス・疫学情報
1.20	平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金「成人の侵襲性細菌 感染症サーベイランスの構築に関する研究」第 2 回班会議	東 京	細 菌
1.24~25	第 32 回公衆衛生情報研究会	岡山市	ウイルス・疫学情報
1.25	平成 30 年度地方感染症情報センター担当者会議	岡山市	ウイルス・疫学情報



1.26	平成 30 年度ストップ結核パートナーシップ関西 第 6 回ワークショップ	大 阪 市	細 菌
2. 1	化学物質のリスクアセスメントと GHS ラベルを用いた How to 職場の安全衛生教育	大 阪 市	食 品 細 菌
2. 1~ 3	第 30 回日本臨床微生物学会学術集会	東 京	細 菌
2. 5	JASIS 関西 2019 及び JAIMA セミナー	大 阪 市	食 品
2. 7	平成 30 年度生活衛生関係技術担当者研修会	東 京	細 菌
2. 8	平成 30 年度なら食に関するリスクコミュニケーション	奈 良 市	細 菌
2.15	G20 大阪サミット 感染症対策関係機関説明会・研修会	大 阪 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
2.18	平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会 衛生理化学分野研修会	川 崎 市	食 品
2.19~20	平成 30 年度希少感染症診断技術研修会	東 京	細 菌 ウイルス・疫学情報
2.21	Tokyo AMR One-Health Conference 国際シンポジウム	東 京	細 菌
3. 1	奈良県農業研究開発センター成果発表会	桜 井 市	食 品
3. 7	滋賀県衛生科学センター集談会研究発表会	大 津 市	食 品
3. 7	平成 30 年度奈良県・奈良市コホート検討会	奈 良 市	細 菌
3. 8	第 3 回日本食品衛生学会近畿地区勉強会	大 阪 市	食 品
3.12	第 31 回奈良県食品安全・安心懇話会	奈 良 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
3.12	2018 年度レジオネラ属菌検査セミナー	東 京	細 菌
3.27	Agilent 食品分析向けサンプル前処理ワークショップ	吹 田 市	食 品

(各担当：精度管理，食品，細菌，ウイルス・疫学情報)

## 2) 施設見学

年・月・日	見 学 者	人 数	担 当
H30. 5.18	滋賀県衛生科学センター	2 名	総 務 課
6.20	近畿大学薬学部	20 名	各 担 当
10. 2	奈良県立医科大学医学部看護学科	30 名	各 担 当
H31. 3. 2	堺市衛生研究所ほか	3 名	総 務 課

(各担当：食品，細菌，ウイルス・疫学情報)

### 3) 保健研究センター職員を講師とする講演会、技術・研修指導

#### (1) 講演会

年・月・日	会等の名称	内 容	発 表 者
H30. 5.27	全国心臓病の子どもを守る会 奈良県支部	なら県政出前トーク 「感染症ウイルス～こどもの感染症 を中心に～」	ウイルス・疫学情報 担当：稲田
11.12	ふれあいサロン(朱雀4丁目集会所)	なら県政出前トーク 「感染症ウイルス（高齢者向け）」	ウイルス・疫学情報 担当：稲田，千葉

#### (2) 研修指導

年・月・日	内 容	対 象 者	人 数	担 当
H30. 6.15	保健所感染症担当者研修会	県疾病対策課・県各保健所 奈良市保健所感染症担当者	9名	細 菌 ウイルス・疫学情報
10.30～ 11.2	平成30年度奈良県立医科大学 公衆衛生学実習	奈良県立医科大学医学部 4年生	15名	各 担 当
H31. 1.17	レジオネラ属菌検査 (濃縮、抽出、前処理、培養)	中和保健所生活衛生課	3名	細 菌
1.24	レジオネラ属菌検査 (遺伝子検査、同定検査)	中和保健所生活衛生課	2名	細 菌

(各担当：食品，細菌，ウイルス・疫学情報)

### 4) 保健研究センター研究発表会

#### (1) 平成30年6月22日

発 表 者	発 表 演 題
安藤 尚子	奈良県における遺伝子組換え食品の検査結果について (平成17年度～平成29年度)
吉田 孝子	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌検査における非定型事例について
稲田 眞知	奈良県におけるヒトパレコウイルス検出状況 (2010年から2017年)

(2) 平成 31 年 2 月 22 日

発 表 者	発 表 演 題
南浦 茉奈	水質依頼検査の結果概要について（平成 25 年度～平成 29 年度）
平城 均	依頼検便検査マニュアルの改訂について
松本 朋子	奈良県における A 群ロタウイルス G3 株の遺伝子解析 (2014/15～17/18 シーズン)

5) 保健研究センターホームページによる情報提供

平成 13 年 2 月 1 日より奈良県保健環境研究センター（当時）のホームページを公開し、情報提供を行っている。平成 25 年 4 月 1 日より大気、水質に関する環境部門が分離され、保健研究センターホームページとなったが、引き続き当センター研究発表会の概要を掲載する等情報提供を行った。

ホームページのアドレス（平成 30 年 4 月 1 日現在）

奈良県保健研究センター：<http://www.pref.nara.jp/4827.htm>

6) 夏休みこども科学教室

小学 4 年から 6 年生を対象に夏休みこども科学教室を開催した。

日 時	平成 30 年 8 月 3 日 午後 1 時～4 時
参 加 者	16 名
内 容	<ul style="list-style-type: none"><li>・スポーツドリンクゼリーで電池を作ってみよう！</li><li>・ミクロの世界をのぞいてみよう！（ミジンコなどの鏡検）</li><li>・上手な「手洗い」ってどうするの（手洗い実習）</li><li>・お肉の正しい焼き方を学ぼう！（模擬体験）</li></ul>

## 7) 厚生労働科学研究事業等への研究協力

### (1) 食品の安全確保推進研究事業

- ① 研究課題「食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究」  
分担研究課題「ISO/IEC17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究」(食品担当)
- ② 研究課題「食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究」  
分担研究課題「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の動向調査」(細菌担当)
- ③ 研究課題「食品中の食中毒細菌の制御法の確立のための研究」  
分担研究課題「*Escherichia albertii* の制御法の確立」(細菌担当)  
分担研究課題「*Arcobacter butzleri* の制御法の確立」(細菌担当)

### (2) 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

- ① 研究課題「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」  
分担研究課題「EHEC O157 の IS-printing System の精度管理」(細菌担当)
- ② 研究課題「成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究」(細菌担当)
- ③ 研究課題「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」  
分担研究課題「抗酸菌型別分析における精度保証」(細菌担当)

### (3) 健康安全・危機管理対策総合研究事業

- 研究課題「公衆浴場等施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」  
分担研究課題「レジオネラ属菌検査法の標準化に向けた取り組み」(細菌担当)

### (4) 日本医療研究開発機構 (AMED) 研究費 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

- ① 研究課題「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」  
分担研究課題「地方衛生研究所における感染症危機管理ネットワークの構築」(細菌担当)
- ② 研究課題「ワクチンで予防可能な疾病のサーベイランスとワクチン効果の評価に関する研究」  
分担研究課題「ムンプスウイルスの分子疫学的解析に関する研究」(ウイルス・疫学情報担当)

## 8) 奈良県公衆衛生学会への協力

奈良県公衆衛生協議会が主催し、平成 30 年 11 月 15 日 (木) 奈良県医師会館で開催された「第 39 回奈良県公衆衛生学会」において、学会事務局として学会開催案内、発表演題募集、発表抄録集作成、開催時の準備などを行った。

## 9) 信頼性確保業務

### (1) 食品関係試験検査事業

「奈良県食品関係試験検査業務管理要綱」に基づく食品関係試験検査業務の信頼性確保のため、「内部点検」、「精度管理」、「外部精度管理」を実施している。

#### ① 内部点検

理化学検査 5 項目，細菌検査 2 項目について実施した。

#### ② 精度管理

理化学検査 60 項目，細菌検査 6 項目について実施した。

#### ③ 外部精度管理

i) 一般財団法人食品薬品安全センターの外部精度管理調査に毎年参加している。

理化学調査	クロルピリホス マラチオン
	ソルビン酸
	栄養成分検査
	遺伝子組み換え食品検査
微生物学調査	E.coli 検査
	サルモネラ属菌検査

ii) 厚生労働科学研究として一般財団法人食品薬品安全センターが実施した精度管理研究に参加した。

厚生労働科学研究	クロルピリホス，ダイアジノン フェニトロチオン，マラチオン
----------	----------------------------------

## (2) 感染症関係試験検査事業

「奈良県保健研究センター病原体等検査業務管理要領」に基づく病原体等検査業務の信頼性確保のため、「内部監査」、「信頼性確保試験」、「外部精度管理」を実施している。

### ① 内部監査

細菌に関する検査 1 項目、ウイルスに関する検査 1 項目を実施した。

### ② 信頼性確保試験

細菌に関する検査 4 項目、ウイルスに関する検査 4 項目について実施した。

### ③ 外部精度管理

i) 厚生労働省精度管理事業に参加した。

課題 1	麻疹・風疹ウイルス核酸検出検査
課題 2	腸管出血性大腸菌同定検査

ii) 厚生労働科学研究各研究班等が実施した精度管理研究に参加した。

厚生労働科学研究	レジオネラ属菌検査外部精度管理調査
厚生労働科学研究	結核菌遺伝子型別外部精度評価
日本医療研究開発機構 (AMED) 研究班	風疹ウイルス遺伝子型検査の外部精度管理評価
国立感染症研究所 インフルエンザウイルス 研究センター	インフルエンザウイルス分離培養・同定技術実態調査

## 10) 健康危機事象模擬訓練

平成 30 年 10 月 16 日（火）に、「健康危機発生時における近畿 2 府 7 県地方衛生研究所の協力に関する協定書」に基づく、健康危機事象模擬訓練を実施した。当センターは、下痢性貝毒（ジノフィシストキシン-1）を原因物質とする食中毒事案を想定した訓練を企画し、シナリオ作成と当日のメール送信及び模擬検体の作製・事前送付を担当した。

近畿ブロックから 15 機関が参加した。各参加機関から送られた回答とアンケートは当センターで集計、解析し、同年 12 月 7 日（金）に当センターで開催した疫学情報部会定期研究会における検証会で報告した。

## 11) 外部評価制度

### (1) 外部評価制度の導入

調査研究業務に客観的かつ公正な評価を加え、調査研究の充実とその成果の普及を図ることを目的に、平成 19 年度から外部評価制度を導入している。

外部評価委員 (平成 30 年 4 月 1 日現在)

	氏 名	所 属
委員長	藤井 智康	奈良教育大学
委 員	多賀 淳	近畿大学
委 員	矢野 寿一	奈良県立医科大学
委 員	須崎 康恵	奈良県立医科大学
委 員	瀬戸 繭美	奈良女子大学

### (2) 平成 30 年度評価対象となった調査研究

担 当	主任研究者	課 題 名	共同研究者
食 品	村上 友規	フグ食中毒におけるテトロドトキシンの定量法及び遺伝子による魚種鑑別方法の確立	安藤 尚子
細 菌	佐伯美由紀	食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況および薬剤耐性傾向調査	平城 均 久野 翔平 辻本 真弓 森村 実加 吉田 孝子 田邊 純子
ウイルス・ 疫学情報	千葉 翔子	水中ノロウイルスの検査法確立と環境中のノロウイルス調査	中野 守 藤谷美沙子 尾西 美咲 松本 朋子

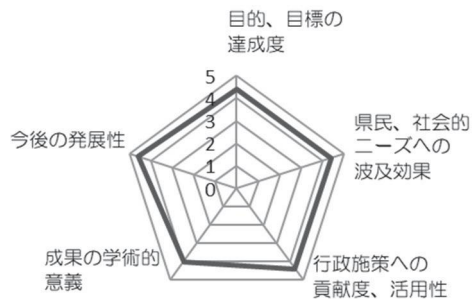
(3) 外部委員による総合評価

- ・専門外では難しいところもあるが、わかりやすく丁寧に説明、報告されている。
- ・新たに見つけた課題については、解決に向け今後も継続してください。
- ・成果は、論文投稿や、発表会等で報告されている。
- ・県民に対してもわかりやすく説明する工夫をしてほしい。

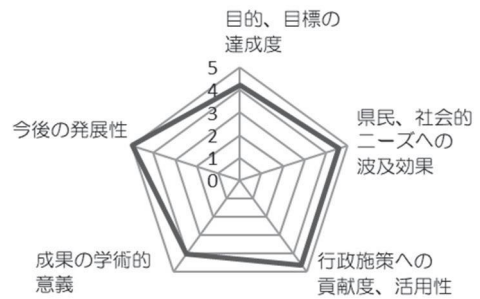
(4) 外部委員による個別評価

外部委員による評価は、①目的・目標の達成度、②県民・社会的ニーズへの波及効果、③行政施策への貢献度、④成果の学術的意義、⑤今後の発展性の観点から行われる。

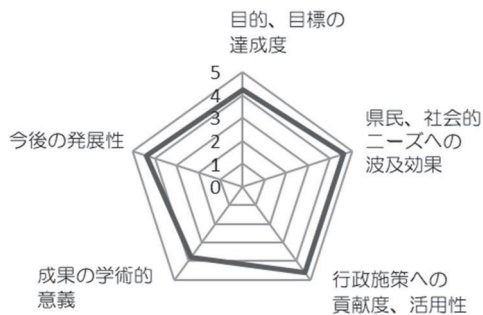
それぞれについて、5段階評価で行い各委員の平均で表した。



フグ食中毒におけるテトロドトキシンの定量法  
及び遺伝子による魚種鑑別方法の確立



食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の  
保有状況および薬剤耐性傾向調査



水中ノロウイルスの検査法確立と環境中の  
ノロウイルス調査





## 第 2 章 試験・検査概況



# 食 品 担 当

食品担当では、県民の食の安全・安心を確保するため、食品関係の試験検査、調査研究、研修等を行っている。試験検査では、保健所等の行政機関や給食施設、食品加工業者等からの依頼を受け、市場に流通する食品について、食品の成分規格に関する試験、食品中の添加物、重金属、農薬、動物用医薬品に関する試験などの理化学検査を行っている。また、食品に関する苦情・異物混入事例などの原因調査のための検査も行っている。さらに、飲料水等の一般依頼検査を実施している。

また、健康危害の原因究明と被害拡大防止に資するため、平成27年3月6日付け食安基発0306第4号、食安監発0306第2号厚生労働省課長通知「下痢性貝毒（オカダ酸群）の検査について」により、下痢性貝毒の検査手法を確立した。さらにフグ毒による食中毒に対し、フグ組織及び尿検体中に含まれるテトロドキシンの定量法を構築した。これらの標準作業書の作成を行い、自然毒に係る食中毒発生時への検査体制の強化を図った。

平成30年度に実施した業務概況は次のとおりである。

## 1. 食品化学チーム業務概況

試験検査の概要は、表1(検体数)及び表2(項目数)のとおりであった。

### 1) 行政検査

#### (1) 食品収去検査

検査した食品の種類、検査項目を表3に示した。その中で食品中の添加物の検査数は延べ173項目、成分の定量36項目、規格基準147項目、暫定基準8項目、国及び県の指導基準に関するもの等13項目であった。規格基準のうち、53検体106項目は放射性物質の検査であった。

平成16年度より行っている遺伝子組換え食品の検査は、豆腐7検体について遺伝子組換え大豆の定性を行った結果、1検体で遺伝子組換え大豆の混入を確認したが、分別生産流通管理が行われており表示は適切であった。

基準違反等の食品を表4に示した。油揚げの酸価について県指導基準を超えたものが2件あった。

#### (2) 行政依頼検査

行政指導、食中毒、苦情処理のために保健所等から依頼された検査は6検体であった。内訳は、尿のテトロドキシンの検査が1検体1項目と開きサバのヒスタミン検査が5検体5項目であった。

放射性物質の検査は、1検体2項目であった。

#### 2) 依頼検査

依頼検査は10検体であった。依頼者別では学校給食関係が9検体、事業者が1検体であった。

##### (1) 一般食品

学校給食関係からの検査依頼が5検体であった。

##### (2) 容器包装等

学校給食関係からの検査依頼が4検体、事業者からの検査依頼が1検体であった。

表1 平成30年度食品担当食品化学チーム検査一覧表（検体数）

事業区分	検査の種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
行政検査	一般食品	0	19	9	11	6	10	15	3	16	9	8	1	107
	牛乳	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	食品添加物	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
	容器包装等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	放射性物質	0	12	6	0	10	0	6	0	6	0	6	8	54
	その他	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小計		0	31	16	11	16	10	22	4	22	9	14	9	164
依頼検査	一般食品	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1	5
	牛乳	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品添加物	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	容器包装等	1	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	5
小計		1	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	1	10
調査・研究等		205	96	53	40	10	47	40	41	34	86	19	44	715
合計		206	127	69	51	26	57	66	49	56	95	33	54	889

表2 平成30年度食品担当食品化学チーム検査一覧表（項目数）

事業区分	検査の種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
行政検査	一般食品	0	31	15	39	12	20	17	3	75	15	42	1	270
	牛乳	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	4
	食品添加物	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	9
	容器包装等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	放射性物質	0	24	12	0	20	0	12	0	12	0	12	16	108
	その他	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
小計		0	55	28	39	32	20	33	12	87	15	54	17	392
依頼検査	一般食品	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1	5
	牛乳	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品添加物	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	容器包装等	5	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	13
	小計		5	0	0	0	0	8	4	0	0	0	1	18
調査・研究等		239	111	86	49	22	104	40	98	86	160	58	110	1,163
合計		244	166	114	88	54	124	81	114	173	175	112	128	1,573

表3 平成30年度食品担当食品化学チーム収去・買い上げ検査一覧表

食品分類	検体数	項目数	食品中の添加物													遺伝子組換え食品	成分の定量	規格基準	暫定基準	指導基準
			不適	検体数	項目数	甘味料	殺菌料	酸化防止剤	着色料	発色剤	漂白剤	品質保持剤	保存料	防かび剤	その他					
牛乳	1	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
魚介類	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0
冷凍食品（加熱-加熱後摂取）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
冷凍食品（未加熱-加熱後摂取）	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
魚介類加工品	4	4	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
肉卵類及びその加工品	5	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
乳製品	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0
乳類加工品	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
アイスクリーム類・氷菓	6	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0
穀類及びその加工品	25	54	0	0	0	5	0	0	0	5	6	0	0	0	0	36	2	0	0	0
野菜類・果物類、その加工品	92	236	2	2	34	0	0	2	0	2	0	58	16	0	7	0	108	0	9	0
菓子類	5	19	0	0	6	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	4	0
清涼飲料水	7	34	0	0	18	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	14	0	0	0
酒類	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
添加物及びその製剤	1	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0
その他の食品	1	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
器具及び容器包装	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
おもちゃ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	157	384	2	2	58	9	1	2	5	7	6	69	16	0	7	36	147	8	13	0

（内訳）成分の定量：揚げ油の酸価，過酸化物質，油揚げの過酸化物質，麺類の水分，栄養分析。

規格基準：乳及び乳製品の比重，酸度，乳脂肪分及び無脂乳固形分，アイスクリームの乳脂肪分及び乳固形分，生あんのシアン，清涼飲料水のヒ素，鉛及びスズ，タール色素製剤及び食品添加物の規格試験，即席めん類の酸価，過酸化物質，放射性セシウム

暫定基準：鮮魚介類の総水銀

指導基準：油菓子の酸価，過酸化物質，油揚げの酸価，割りばしの防かび剤

表4 収去・買い上げ検査基準違反等一覧表

検体名	検体数	不適項目	検査成績
野菜類・果物類、その加工品	油揚げ	2	県の指導基準 酸価 3.4、酸価 6.4

### 3) 食品検査業務管理 (GLP)

外部精度管理, 内部精度管理及び機器の点検を実施した。

#### (1) 外部精度管理

あん類中の保存料 (ソルビン酸) の透析-液体クロマトグラフ法による定量試験, 畜肉ソーセージ中の栄養成分 (熱量, たんぱく質, 脂質, 炭水化物, 食塩相当量 (ナトリウム), 水分, 灰分) の定量試験と安全性未審査の遺伝子組換えパパイヤ (PRSV-HN) の定性試験を行った。

#### (2) 内部精度管理

通常の試験品を用いて, 定められた方法により検査等の結果の再現性を維持できる技能の評価を5回行った。添加量が明らかな試験品を用いて, 定められた方法により検査する技能のうち, 添加量が明らかな試験品1検体の検査での回収率の評価を22回行った, また, 添加量が明らかな試験品について少なくとも5回以上の繰り返し検査でのZスコアの評価を4回行った。

#### (3) 機器の点検

高速液体クロマトグラフ, 超高速液体クロマトグラフ, ガスクロマトグラフ, 原子吸光光度計, 水銀分析計, リアルタイムPCR, pHメータ, 高速冷却遠心機, 分光光度計, 電子天秤において, 定期点検を各1回と使用時毎における使用時点検を行った。蒸留水製造装置において, 定期点検を2回と使用時毎における使用時点検を行った。また, 冷蔵庫・冷凍庫において, 毎日の日常点検を行った。異常時点検は, 高速液体クロマトグラフにおいて1回, 超高速液体クロマトグラフにおいて2回, 水銀分析計において3回, 原子吸光光度計において1回あった。

#### 4) 調査研究等

##### (1) 調査研究

フグ食中毒におけるテトロドトキシンの定量法及び

遺伝子による魚種鑑別方法の確立 [村上友規他]

奈良県における健康危機管理体制を強化することを目的として, UPLC-MS/MSを用いたフグ組織及び臨床検体からの「テトロドトキシンの定量法」と「遺伝子による魚種鑑別」方法を確立した。

##### (2) 事業に係る技術等検討

事業に係る技術等検討として以下の1題を行った。

①魚類食中毒における遺伝子解析による魚種鑑別方法の検討 [安藤尚子他]

## 2. 生活化学チーム業務概況

### 1) 行政検査

検査検体数を表5に, 検査項目数を表6に示した。

#### (1) 農作物中の農薬検査

県内で使用量が多く, 過去の検出事例が多い項目を中心に, 213検体について延べ24,708項目を検査し, 検出事例を表7に示した。49検体について延べ69項目の農薬を検出したが, 残留基準値を超えていたものはなかった (表7)。

#### (2) 加工食品の農薬検査

輸入加工食品9検体について延べ414項目を検査した結果, 全て検出しなかった。

#### (3) 食肉等の動物用医薬品検査

鶏肉5検体について延べ100項目を検査した結果, 全て検出しなかった。また卵3検体について延べ18項目を検査した結果, 全て検出しなかった。

### 2) 依頼検査

食品中の残留農薬等の依頼検査は奈良県産の農作物を中心に, 7検体延べ12項目実施した。水質検査は飲料水を中心に, 571検体延べ3,387項目実施した。

### 3) 苦情・相談

電話や来所による相談が9件あった。内容別にみると農薬やその他の検査に関するものが5件, 飲料水に

表5 平成30年度食品担当生活化学チーム検査一覧 (検体数)

区分	業務	検査の種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	
行政検査	食品衛生	農作物の農薬	0	8	33	13	39	19	24	29	19	21	0	8	213	
		加工食品の農薬	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	9
		食肉等の動物医薬品	0	0	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8
		アフラトキシン	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4
		小計	4	8	38	16	39	19	24	30	19	21	4	13	235	
依頼検査	食品衛生		0	0	1	0	0	0	0	4	1	0	0	1	7	
	水質検査		33	67	78	58	35	31	38	31	30	19	83	68	571	
	小計		33	67	79	58	35	31	38	35	31	19	83	69	578	
調査・研究等			12	216	226	159	104	112	287	171	213	138	240	33	1,911	
合計			49	291	343	233	178	162	349	236	263	178	327	115	2,724	

表6 平成30年度食品担当生活化学チーム検査一覧(項目数)

区分	業務	検査の種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	
行政検査	食品衛生	農作物の農薬	0	928	3,828	1,508	4,524	2,204	2,784	3,364	2,204	2,436	0	928	24,708	
		加工食品の農薬	184	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	230	414
		食肉等の動物医薬品	0	0	100	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	118
		アフラトキシン	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	32	0	32
		小計	184	928	3,928	1,526	4,524	2,204	2,784	3,365	2,204	2,436	32	1,158	25,273	
依頼検査	食品衛生	0	0	1	0	0	0	0	0	4	6	0	0	1	12	
	水質検査	205	365	397	325	209	190	235	182	170	100	535	474	3,387		
	小計	205	365	398	325	209	190	235	186	176	100	535	475	3,399		
調査・研究等			45	642	852	1,372	5,612	4,083	5,410	4,420	4,037	5,205	6,653	1,569	39,900	
合計			434	1,935	5,178	3,223	10,345	6,477	8,429	7,971	6,417	7,741	7,220	3,202	68,572	

表7 平成30年度農薬検出一覧(農作物)

作物	農薬	濃度(ppm)	基準値*(ppm)	
果実類	いちご	ミクロブタニル	0.02	1
	いちご	アゾキシストロビン	0.06	10
		エトキサゾール	0.05	0.5
		シメコナゾール	0.01	3
		ミクロブタニル	0.04	1
		アゾキシストロビン	0.04	10
	いちご	シメコナゾール	0.01	3
		プロシミドン	0.02	5
	いちご	クレゾキシムメチル	0.61	5
	いちご	シフルフェナミド	0.03	0.7
		チアクロプリド	0.03	5
	うめ	クレゾキシムメチル	0.01	5
		テブコナゾール	0.02	3
	うめ	クレゾキシムメチル	0.12	5
		テブコナゾール	0.06	3
	うめ	ジフェノコナゾール	0.04	3
	うめ	ジフェノコナゾール	0.01	3
	オレンジ	ピリメタニル	0.08	10
		クロルピリホス	0.11	1
	かき	ジフェノコナゾール	0.02	0.7
		ジフェノコナゾール	0.02	0.7
	かき	フェンプロバトリン	0.07	2
		ジフェノコナゾール	0.03	0.7
		テブコナゾール	0.06	1
	かき	ジフェノコナゾール	0.04	0.7
	かき	ジフェノコナゾール	0.02	0.7
	かき	ジフェノコナゾール	0.03	0.7
		フェンプロバトリン	0.04	2
	かき	ジフェノコナゾール	0.01	0.7
		ジフェノコナゾール	0.03	0.7
かき	ジフェノコナゾール	0.01	0.7	
	クロルフェナビル	0.01	1	
	ジフェノコナゾール	0.01	0.7	
	ブプロフェジン	0.02	1	
なし	ピフェントリン	0.01	0.5	
なし	アゾキシストロビン	0.01	2	
	クレゾキシムメチル	0.03	5	
	ピフェントリン	0.02	0.5	
なし	ピフェントリン	0.01	0.5	
はっさく	トルフェンピラド	0.05	3	
	メチダチオン	0.35	5	
ぶどう	アゾキシストロビン	0.02	10	
野菜類	えだまめ	エトフェンブロックス	0.08	3
	かぼちゃ	テトラコナゾール	0.01	1
	きゅうり	アゾキシストロビン	0.04	1
		アゾキシストロビン	0.01	1
	きゅうり	クロルフェナビル	0.03	5
	きゅうり	プロシミドン	0.06	5
	きゅうり	ジエトフェンカルブ	0.02	5
		プロシミドン	0.19	4
	きゅうり	ピリダベン	0.02	0.7
	小松菜	アゾキシストロビン	0.03	15
	小松菜	ホスチアゼート	0.02	0.1
	だいこん類の根	ホスチアゼート	0.06	0.2
		ホスチアゼート	0.01	0.2
	トマト	アゾキシストロビン	0.03	3
		アゾキシストロビン	0.02	3
	なす	アゾキシストロビン	0.04	3
		フェンプロバトリン	0.02	2
	なす	クロルフェナビル	0.12	1
		フェンプロバトリン	0.05	2
	なす	エトフェンブロックス	0.07	2
白菜	トルフェンピラド	0.06	2	
	ピリダベン	0.08	3	
	プロシミドン	0.08	5	
ピーマン	ホスチアゼート	0.01	0.1	
	アゾキシストロビン	0.03	3	
未成熟いんげん	アゾキシストロビン	0.01	1	
未成熟えんどう	トルフェンピラド	0.03	2	

\*) 基準値は、検出時における値である。

関することが4件であった。

#### 4) 食品検査業務管理 (GLP)

GLPの一環として内部精度管理, 外部精度管理及び機器点検を実施した。内部精度管理は野菜の農薬, 鶏肉の動物用医薬品について行った。添加量が明らかな試験品を用いて, 定められた方法により検査する技能のうち, 添加量が明らかな試験品1検体の検査での回収率の評価を27回行った。また, 添加量が明らかな試験品について少なくとも5回以上の繰り返し検査でのZスコアの評価を2回行った。外部精度管理はかぼちゃペースト中のクロルピリホスとマラチオンについて行った。機器点検は, ガスクロマトグラフ, ガスクロマトグラフ質量分析計, 液体クロマトグラフ質量分析計の定期点検を各1回以上と使用時毎における使用時点検を行った。保冷庫, 上皿天秤については定期点検を2回ずつ行った。

#### 5) 調査研究等

##### (1) 食品衛生検査を実施する試験所における品質保証システムに関する研究 (厚生労働科学研究事業)

一般財団法人食品薬品安全センター, 国立医薬品食品衛生研究所及び地方衛生研究所等他17機関による共同研究に協力し, 技能試験プログラム (パイロットスタディ) に参加し GC-MS/MS を用いてえだまめ中の残留農薬の測定を行った。また, 会議に参加し情報交換等を行った。

##### (2) 事業に係る技術等検討

平成30年度は以下の5課題について検討を行った。

- ①内部精度管理データの有効利用方法の検討 [米田正樹他]
- ②総アフラトキシン分析法の検討 [西山隆之他]
- ③加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の迅速検出法の検討 [樋上 絢他]
- ④豚の筋肉及び牛の筋肉についてのテトラサイクリン系抗生物質の分析法の開発 [北岡洋平他]
- ⑤残留農薬検査項目の拡大に関する事前検討 [南浦茉莉奈他]



# 細菌担当

細菌担当では、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律(以下、感染症法)、食品衛生法、公衆浴場法等に基づき各種行政検査、一般依頼検査、調査研究、研修等を実施している。

感染症法に関する行政検査では、感染症予防対策事業に基づいて感染症患者から分離された菌株の各種型別・遺伝子検査、感染症起因菌の保菌者検索等の検査を 299 検体延べ 1,372 項目実施した。

食品衛生法に関する行政検査では、食品の検査による安全確認事業に基づいて収去検査、食中毒関連検査、その他苦情、監視員検便等の検査を 461 検体延べ 1,934 項目実施した。

公衆浴場法等の生活衛生に関する行政検査では、生

活衛生関係営業六法施行事業等に基づいて浴槽水関連検査等を 28 検体延べ 57 項目実施した。

その他に一般依頼検査としてヒト糞便の腸内細菌検査、食品等、浴場水等、飲料水及びプール水の細菌検査を実施した。また調査研究として「食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況および薬剤耐性傾向調査」の実施や、厚生労働科学研究事業研究班への参加協力等を行い、平成 30 年度の総検体数は 2,986 検体、総検査項目数は 7,846 項目であった(表 1、2)。

平成 30 年度に実施した業務概況は次のとおりである。

表 1 平成 30 年度細菌担当検査一覧(検体数)

区分	種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	
行政検査	感染症	三類感染症菌株検査	0	2	1	3	2	7	4	4	0	0	0	5	28
		保菌者検索検査	0	2	15	3	17	13	4	1	0	0	0	85	140
		結核菌分子疫学調査	1	7	6	10	1	8	8	2	10	2	1	16	72
		CRE感染症検査	1	5	4	1	2	11	4	4	5	6	1	2	46
		その他の検査	2	0	2	0	4	0	3	0	0	0	2	0	13
		小計	4	16	28	17	26	39	23	11	15	8	4	108	299
	食品衛生	収去検査	21	21	21	38	25	22	28	39	34	20	8	0	277
		食中毒関連検査	34	17	8	3	8	12	4	8	6	11	8	2	121
		その他の検査	6	52	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	63
		小計	61	90	29	41	33	34	32	47	40	31	16	7	461
	生活衛生	浴槽水関連検査	0	0	0	1	0	3	0	2	0	5	5	8	24
		その他の検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4
		小計	0	0	0	1	0	3	0	2	0	5	9	8	28
	一般依頼検査	腸内細菌検査	65	41	56	80	35	48	62	58	31	45	28	50	599
		食品細菌検査	8	1	3	3	4	1	9	5	4	1	3	0	42
浴場水等検査		2	20	14	2	0	2	4	3	8	2	14	3	74	
飲料水検査		22	39	30	28	21	21	25	20	17	10	59	56	348	
プール水検査		6	8	33	26	9	6	7	6	6	6	6	6	125	
小計		103	109	136	139	69	78	107	92	66	64	110	115	1,188	
調査・研究等	17	65	44	37	70	75	106	170	96	192	94	44	1,010		
合計		185	280	237	235	198	229	268	322	217	300	233	282	2,986	

表2 平成30年度細菌担当検査一覧（項目数）

区分	種類	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計	
行政検査	感染症	三類感染症菌株検査	0	8	4	12	8	28	16	16	0	0	0	20	112
		保菌者検索検査	0	2	15	3	17	15	4	3	0	0	0	97	156
		結核菌分子疫学調査	13	91	78	130	13	104	104	26	130	26	13	208	936
		CRE感染症検査	3	15	12	3	6	33	12	12	15	18	3	6	138
		その他の検査	6	0	6	0	8	0	6	0	0	0	4	0	30
		小計	22	116	115	148	52	180	142	57	145	44	20	331	1,372
	食品衛生	収去検査	63	53	57	110	96	66	72	116	96	56	14	0	799
		食中毒関連検査	255	168	61	3	27	22	4	35	60	109	78	20	842
		その他の検査	18	260	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15	293
		小計	336	481	118	113	123	88	76	151	156	165	92	35	1,934
	生活衛生	浴槽水関連検査	0	0	0	1	0	9	0	6	0	10	8	15	49
		その他の検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8
		小計	0	0	0	1	0	9	0	6	0	10	16	15	57
	一般依頼検査	腸内細菌検査	193	123	158	238	105	144	186	174	93	135	84	150	1,783
		食品細菌検査	16	2	9	7	10	1	22	5	12	3	9	0	96
浴場水等検査		2	28	24	2	0	3	5	3	13	2	27	6	115	
飲料水検査		44	77	60	55	42	41	50	39	34	19	118	111	690	
プール水検査		18	24	99	78	27	18	21	18	18	18	18	18	375	
小計		273	254	350	380	184	207	284	239	170	177	256	285	3,059	
調査・研究等	74	77	53	46	76	75	106	194	165	366	141	51	1,424		
合計	705	928	636	688	435	559	608	647	636	762	525	717	7,846		

## 1. 検査業務概況

### 1) 感染症関係

#### (1) 三類感染症菌株検査

腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の患者及び無症状病原体保有者から分離された菌株 27 株（内 5 株は当センターで分離）について、性状確認、血清型別、毒素型別、薬剤感受性試験及び分子疫学解析を実施した。菌株は通知に基づき国立感染症研究所細菌第一部（以下、感染研）へ送付し、DNA 型別解析結果が還元された（詳細は本年報に別途報告）。

他に、細菌性赤痢患者 1 名から分離された赤痢菌（*Shigella sonnei*）1 株について、性状確認、血清型別等を実施し、菌株は通知に基づき感染研へ送付した。感染研から赤痢菌 MLVA 型について、10 月に山梨県で発生した食中毒事例関連株に一致、との結果が還元された。

#### (2) 保菌者検索等検査

三類感染症患者発生に伴う保菌者検索の依頼が保健所からあり、家族や接触者等関係者の糞便等検査を

実施した（表 3）。

EHEC 感染症患者の接触者 139 名の検体を検査した結果、患者家族及び接触者 4 名の O157 陽性を確認した。

またコレラ患者の接触者 1 名について検査した結果は陰性であった。

#### (3) 結核菌分子疫学調査

県内の結核患者から分離された結核菌 72 株（奈良市依頼分 24 株を含む）が搬入され、JATA(12)-VNTR 法による遺伝子型別を実施して結果を保健所及び本庁に報告した。さらに各菌株の JATA(12)-VNTR 型については過去の菌株も含めてクラスター形成を確認し、保健所の患者情報を合わせたデータベースを作成して保健所及び本庁と情報を共有した（詳細は本年報に別途報告）。

#### (4) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症検査

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生に伴い、分離された菌株 46 株について、β-ラクタ

表3 平成30年度保菌者検索等検査

事例番号	検査開始日	保健所	検査項目	検体数	陽性数	備考
1	5月3日	中和	EHEC O103 (VT1)	2	0	
2	6月4日	吉野	コレラ菌	1	0	
3	6月5日	内吉野	EHEC O157 (VT1, VT2)	9	0	
4	6月5日	内吉野	EHEC O157 (VT1, VT2)	4	0	
5	6月26日	中和	EHEC O157 (VT1)	1	0	
6	7月9日	中和	EHEC O157 (VT2)	2	0	
7	7月18日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	1	0	
8	8月5日	郡山	EHEC O157 (VT2)	2	0	
9	8月8日	中和	EHEC O157 (VT2)	2	0	
10	8月21日	内吉野	EHEC O157 (VT1, VT2)	5	0	
11	8月21日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	1	0	
12	8月23日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	4	0	
13	8月30日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	3	0	
14	9月5日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	1	0	
15	9月5日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	9	0	
16	9月19日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	1	0	
17	9月21日	中和	EHEC O91 (VT1)	2	0	
18	10月23日	郡山	EHEC O157 (VT1, VT2)	2	0	
19	10月30日	吉野	EHEC O157 (VT1, VT2)	2	0	
20	11月1日	吉野	EHEC O145 (VT2)	1	0	
21	3月4日	郡山	EHEC O157 (VT1)	5	1	接触者1名から検出
22	3月6日	郡山	EHEC O157 (VT1, VT2)	80	3	家族2名, 接触者1名から検出
合 計				140	4	

マーゼ産生性確認、薬剤耐性遺伝子の保有の有無を検査した。結果については、保健所及び本庁に報告した（詳細は本年報に別途報告）。

(5) その他の検査

コレラ疑い患者2名、赤痢、レジオネラ症疑い患者各1名の確定診断のため、当センターで菌株の同定試験を実施した。結果は全て陰性であった。

ライム病疑い患者3名の確定診断のため、感染研へ検体（血清及び髄液）を送付し検査を依頼した。結果は陰性であった。

レジオネラ症患者1名の臨床検体からの菌分離等を依頼するため、感染研へ検体（喀痰）を送付した。結果は、レジオネラ属菌（*Legionella pneumophila* 血清群1）が分離され、遺伝子型はST642と同定された。

侵襲性髄膜炎感染症患者1名から検出された髄膜炎菌の血清群、遺伝子型等を確認するため、感染研へ菌株を送付した。結果は、血清群 Y、遺伝子型 1655

(ST-23 complex) と判定された。

2) 食品衛生関係

(1) 収去検査

平成30年度収去検査実施計画に基づき、県内4保健所が収去した食品等277検体、延べ799項目について、食品衛生法の規格基準、衛生規範、県の指導基準、その他の食中毒菌等について検査した（表4）。

食品衛生法の規格基準に違反する食品はなかった。

洋生菓子の衛生規範について、細菌数が1検体、大腸菌群が6検体で基準に適合しなかった。

県の指導基準について、弁当・そうざい等は細菌数が2検体、*E.coli*が3検体で基準に適合しなかった。

豆腐は細菌数が1検体、大腸菌群が2検体で基準に適合しなかった。和生菓子は細菌数が2検体、黄色ブドウ球菌が1検体で基準に適合しなかった。

上記以外の検出状況として、食鳥肉の7検体からサルモネラ属菌、7検体からカンピロバクター、12検体

表 4 平成 30 年度食品収去検査

食品名	検体数	項目数	検出状況 (検体数)
弁当・そうざい等	139	423	細菌数 (2), E.coli (3)
漬物 (一夜漬)	4	8	
カットフルーツ・カット野菜	5	45	
豆腐	19	38	細菌数 (1), 大腸菌群 (2)
生食用鮮魚介類	4	8	
食肉製品	5	16	
食鳥肉	12	36	<i>S. manhattan</i> (2), <i>S. infantis</i> (3) <i>S. schwarzengrund</i> (2), <i>C. jejuni</i> (7) E.coli (12)
卵	9	20	
牛乳	1	2	
発酵乳・乳酸菌飲料	2	4	
アイスクリーム類	6	12	
ソフトクリーム	3	6	
清涼飲料水	7	7	
冷凍食品	9	18	
洋生菓子	20	60	細菌数 (1), 大腸菌群 (6)
和生菓子	20	60	細菌数 (2), 黄色ブドウ球菌 (1)
生麺	1	3	
ゆでめん	5	15	
こんにゃく	1	3	
食肉 (ジビエ)	5	15	E.coli (3)
合 計	277	799	

から E.coli を検出し、また食肉 (ジビエ) の 3 検体から E.coli を検出した。

### (2) 食中毒関連検査

食中毒疑いの行政検査として、患者の便や吐物、従事者の便、食品の検食、及び施設拭き取り等、保健所から搬入された検体について、平成 30 年度は 121 検体延べ 842 項目の検査を実施した (表 5)。食中毒菌は、カンピロバクターを 16 検体、サルモネラ属菌を 1 検体、腸管出血性大腸菌を 1 検体、ウエルシュ菌を 1 検体から検出した。

### (3) その他の検査

苦情調査等に関連した行政検査として、食品製造施設及び従事者の手指の拭き取り 6 検体が保健所から搬入され、細菌数、E.coli、黄色ブドウ球菌の検査を実施した。同様に、食品 2 検体及び食品製造施設の拭き取り 3 検体が保健所から搬入され、細菌数、大腸菌群、黄色ブドウ球菌の検査を実施した。

食品衛生監視員等衛生監視に携わる職員の検便 52 検体について、赤痢菌、サルモネラ属菌及び腸管出血性大腸菌 O26, O111, O157 の検査を実施した。

### 3) 生活衛生関係

#### (1) 浴槽水関連検査

レジオネラ症患者発生に伴う公衆浴場及び旅館の入浴施設の浴槽水について、保健所から検査依頼があり、4 施設の浴槽水 8 検体のレジオネラ属菌検査を実施した。培養法では 8 検体を検査した結果、5 検体からレジオネラ属菌を検出した。LAMP 法では、5 検体を検査した結果、全て陽性であった。

レジオネラ属菌を検出した公衆浴場の衛生指導のため、保健所から検査依頼があり、1 施設について、浴槽水 1 検体、拭き取り 3 検体、炭 12 検体のレジオネラ属菌検査を実施した。培養法では浴槽水 1 検体、拭き取り 3 検体、炭 12 検体を検査した結果、炭 6 検体からレジオネラ属菌を検出した。LAMP 法では、拭き取り 3 検体、炭 6 検体を検査した結果、全て陰性であった (表 6)。

#### (2) その他の検査

飲料水 4 検体について一般細菌数及び大腸菌群の検査を実施した。

表5 平成30年度食中毒関連検査

事例番号	検査開始日	保健所	検体数			項目数			検出状況
			ヒト	食品等	合計	ヒト	食品等	合計	
1	4月2日	中和	1	0	1	10	0	10	
2	4月2日	中和	4	0	4	40	0	40	
3	4月6日	中和	3	0	3	5	0	5	<i>C. jejuni</i> (2)
4	4月6日	内吉野	8	0	8	35	0	35	<i>C. jejuni</i> (1), <i>C. coli</i> (1)
5	4月8日	郡山	6	0	6	60	0	60	<i>S. Thompson</i> (1)
6	4月12日	郡山	3	0	3	30	0	30	
7	4月24日	中和	9	0	9	75	0	75	
8	5月2日	郡山	2	0	2	20	0	20	
9	5月17日	郡山	2	0	2	20	0	20	
10	5月23日	中和	2	0	2	20	0	20	
11	5月25日	中和	2	0	2	18	0	18	
12	5月31日	中和	9	0	9	90	0	90	
13	6月28日	吉野	6	2	8	59	2	61	
14	7月9日	中和	3	0	3	3	0	3	
15	8月3日	郡山	3	3	6	22	3	25	<i>C. jejuni</i> (1)
16	8月21日	中和	1	0	1	1	0	1	
17	8月23日	中和	1	0	1	1	0	1	
18	9月5日	中和	8	3	11	9	3	12	腸管出血性大腸菌O157 (1)
19	9月12日	中和	1	0	1	10	0	10	<i>C. jejuni</i> (1)
20	10月24日	中和, 郡山, 吉野	8	0	8	8	0	8	
21	11月12日	中和	1	0	1	1	0	1	
22	11月19日	中和	2	0	2	20	0	20	
23	11月19日	郡山	1	0	1	10	0	10	<i>C. jejuni</i> (1)
24	12月3日	中和	2	0	2	20	0	20	
25	12月18日	郡山	1	0	1	10	0	10	<i>C. jejuni</i> (1)
26	12月20日	郡山	3	0	3	30	0	30	<i>C. jejuni</i> (3)
27	1月19日	郡山	11	0	11	109	0	109	ウエルシュ菌 (1)
28	2月28日	郡山	8	0	8	78	0	78	<i>C. jejuni</i> (5)
29	3月13日	中和, 郡山	2	0	2	20	0	20	
合計			113	8	121	834	8	842	

※食中毒と判断され厚生労働省に届け出された事例番号：3, 26, 28

表6 平成30年度浴槽水関連検査

検査事由	事例番号	検査開始日	保健所	検体種類別	検体数	項目数 (陽性)		検出状況
						培養法	LAMP法	
患者発生	1	7月11日	中和	浴槽水	1	1	0	
	2	9月6日	吉野	浴槽水	3	3 (3)	3 (3)	<i>L. pneumophila</i> SG1 (3), SG2 (1), SG5 (1), SG15 (1), <i>Legionella</i> spp. (2)
	3	11月26日	郡山	浴槽水	2	2 (2)	2 (2)	<i>L. pneumophila</i> SG1 (1), SG3 (2), SG6 (2), SG9 (2),
	4	2月9日	中和	浴槽水	2	2	0	
衛生指導	1	1月23日	中和	炭	5	5 (5)	0	<i>L. pneumophila</i> SG1 (5), SG6 (1)
	2	2月1日	中和	拭き取り	3	3	3	
	3	2月25日	中和	炭	6	6 (1)	6	<i>L. pneumophila</i> SG1 (1)
	4	3月6日	中和	浴槽水	1	1	0	
	5	3月14日	中和	炭	1	1	0	
合計					24	24 (11)	14 (5)	



#### 4) 一般依頼検査

##### (1) 腸内細菌検査

県内事業所の従事者及び住民からの依頼に対して、腸内細菌検査（赤痢菌，サルモネラ属菌，腸管出血性大腸菌 O157）を実施している。平成 30 年度は 599 検体について延べ 1,783 項目の検査を実施した。

##### (2) 食品細菌検査

県内の食品製造業，食品流通業界，病院，学校等から依頼のあった各種食品等 42 検体について延べ 96 項目（一般細菌数，大腸菌群，糞便系大腸菌群，大腸菌，黄色ブドウ球菌，サルモネラ属菌，カンピロバクター，腸管出血性大腸菌 O157）の検査を行った。

##### (3) 浴場水・飲料水・プール水検査

県内の公衆浴場，社会福祉施設等から依頼のあった浴場水等 74 検体延べ 115 項目についてレジオネラ属菌，大腸菌群の検査を実施した。

また県内事業者，学校関係，行政機関等から依頼された飲料水 348 検体延べ 690 項目，プール水 125 検体延べ 375 項目について一般細菌数，大腸菌の検査を実施した。

## 2. 調査研究等

### 1) 調査研究

食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況および薬剤耐性傾向調査 [佐伯美由紀]

県内でジビエとして食用に供される野生鳥獣について，食中毒起因菌の保有状況および保有菌株の薬剤耐性傾向調査を実施した。野生のシカおよびイノシシが糞便中に食中毒を起こす可能性のある細菌を保有することが明らかになり，また，少数ではあるが薬剤耐性菌が検出された（詳細は本年報に別途報告）。

### 2) 事業に係る技術等検討

以下の 6 題について実施した。

#### (1) 保存菌株の整理と管理 [田邊純子]

(2) 薬剤耐性に係る検査における精度管理手法の検討及びマニュアル化 [吉田孝子]

(3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE) における  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子保有調査 [森村実加]

(4) カンピロバクター属菌のパルスフィールドゲル電気泳動法の検討 [辻本真弓]

(5) 収去検体の生肉におけるリステリア属菌の汚染実態調査 [久野翔平]

(6) 依頼検便検査マニュアルの見直しについて [平城均]

### 3) 厚生労働科学研究事業等への研究協力

#### (1) 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業

「食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究」

平成 30 年度近畿ブロック分担研究において，近畿 IS データベースへの登録に参加した。

(2) 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの構築に関する研究」

平成 30 年度分担研究「奈良県における成人の侵襲性肺炎球菌・インフルエンザ菌感染症・劇症型溶血性レンサ球菌感染症・侵襲性髄膜炎菌感染症サーベイランスに関する研究」に協力し，県内の侵襲性肺炎球菌感染症，侵襲性インフルエンザ菌感染症及び劇症型溶血性レンサ球菌感染症の成人患者から分離された肺炎球菌 21 株，インフルエンザ菌 3 株，溶血性レンサ球菌 11 株及び髄膜炎菌 2 株を血清型決定等のため感染研へ送付した。還元された結果は分担研究者を通じて協力医療機関へ情報提供された。

(3) 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業「国内の病原体サーベイランスに資する機能的なラボネットワークの強化に関する研究」

平成 30 年度分担研究「抗酸菌型別分析における精度保証」において，結核菌 VNTR 解析の外部精度評価に参加した。

(4) 健康安全・危機管理対策総合研究事業「公衆浴場施設の衛生管理におけるレジオネラ症対策に関する研究」

レジオネラ属菌検査外部精度管理調査に参加し，送付された試料（BioBall）について検査を実施した。

(5) 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」

平成 30 年度分担研究「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の動向調査」において，食品及びヒトから分離したサルモネラ属菌，下痢原性大腸菌，及びカンピロバクター属菌について，CLSI ディスク拡散法により，薬剤感受性試験を実施した。

(6) 食品の安全確保推進研究事業「食品中の食中毒細菌の制御法の確立のための研究」

平成 30 年度分担研究「*Escherichia albertii* の制御法の確立」において，食品等での汚染実態調査を実施した。また，「*Arcobacter butzleri* の制御法の確立」において，*Arcobacter* 属菌の食中毒への関与に関する検討に参加した。

(7) AMED 日本医療研究開発機構委託研究「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」において，

GenEpid-j システムでの次世代シーケンスゲノム解析データの解析方法の研修に参加した。

#### 4) 検査業務管理 (GLP)

##### (1) 感染症検査

病原体等検査の業務管理における内部精度管理として、結核菌 VNTR 型別、腸管出血性大腸菌、赤痢菌の同定及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の遺伝子検査を実施した。

##### (2) 食品検査

GLP の一環として食品検査における外部精度管理及び内部精度管理を実施した。

外部精度管理は、E.coli 検査とサルモネラ属菌検査について実施した。内部精度管理は、一般細菌数について添加回収試験を実施した。

### 3. 技術相談

電話や来所による相談が 17 件あった。内容は、感染症関連 9 件、食品衛生関連 2 件、生活衛生関連 6 件であった。

# ウイルス・疫学情報担当

ウイルス・疫学情報担当では、ウイルス等検査を中心に調査研究、情報発信等を行っている。ウイルス等検査は、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律（感染症法）に基づく感染症発生動向調査や流行予測調査等、食品衛生法に基づく食中毒関連検査を実施している。また、奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき当センターに設置された感染症情報センターを担当している。平成 30 年度は、地研全国協議会近畿支部疫学情報部会事務局を担当した。平成 30 年度に実施した業務概況は次のとおりである。

## 1. 検査業務概況

感染症法において大きな柱に位置づけられている感染症発生動向調査として、当センターでは病原体定点医療機関等から提出される検体や全数把握対象疾患検体のウイルス等検査を実施している。また、感染症法第 15 条に基づく積極的疫学調査として、集団感染症の原因病原体検索、抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランス、感染症媒介蚊の生息密度調査での蚊の鑑定及び動物（犬）を対象とした狂犬病検査等を実施した。さらに、全国的に実施される流行予測調査とし

て、本県ではポリオ感染源調査（ポリオウイルス環境水サーベイランス）を実施した。また、食品衛生法に基づく食中毒関連検査として、食中毒ウイルス等の検出及びウイルス遺伝子解析を行った。

検出した病原体に関する情報は、患者への適切な医療の提供と感染症等の発生の予防及びまん延防止のため、感染症情報センターが発信する週報等を通じて医療機関及び教育関係機関等に提供した。

### 1) 感染症発生動向調査

#### (1) 定点把握対象疾患

奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱に従い、各病原体定点医療機関及び指定提出医療機関（奈良市依頼検査を含む）から提供された臨床検体について検査を行った（表 1, 2, 3）。検体の種類及び数は、咽頭ぬぐい液 310 件（うち、奈良市：33 件）、便 157 件（同：5 件）、髄液 29 件（同：4 件）、血清・その他 37 件（同：1 件）の計 533 件であった。これらについて、遺伝子検査および培養細胞（RD-A, HEp-2, A549, MDCK）を使用したウイルス分離を行った。分離したウイルスについては、中和試験・HI 試験及び遺伝子学的検査によりウイルス同定を行い、合計 350 株のウイルスを検出した（表 3）。

表 1 平成 30 年度ウイルス検査一覧（検体数）

検査の種類			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計		
行政検査	感染症法	定点把握感染症（サーベイランス）等	咽頭ぬぐい液	16	21	14	25	12	26	15	24	34	38	41	11	277	
			便	21	19	15	16	8	5	6	8	12	9	10	23	152	
			髄液	1	2	1	2	4	2	2	3		3	2	3	25	
			血清 他	2	7	2	1	3	1		6	3	2	5	4	36	
		全数把握感染症（二類～五類）	9	10	3	1	13	2	12	9	8	15	21	21	124		
		インフルエンザ集団発生（初発）									4	9	9			22	
		感染性胃腸炎集団発生	5	3	6						6			7		27	
		流行予測調査（環境水ポリオ）	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	72
	食品衛生法	食中毒（疑）等	31	52	17		3	1		3	6	11	9	5	138		
	小計			91	120	64	51	49	43	41	69	78	93	101	73	873	
依頼検査	感染症法（奈良市）	定点把握感染症（サーベイランス）等	咽頭ぬぐい液	2	2	3	2				1	4	9	8	2	33	
			便	1		1	2					1				5	
			髄液							2		1	1				4
			血清 他									1					1
		全数把握感染症（二類～五類）		3	3		5	4	1		1	3	10	6		36	
		インフルエンザ集団発生（初発）								5						5	
	蚊生息密度調査			1	1			1							3		
小計			3	5	8	5	5	7	6	2	8	12	18	8	87		
総計			94	125	72	56	54	50	47	71	86	105	119	81	960		



表2 平成30年度ウイルス検査一覧(項目数)

検査の種類			4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計	
行政 検査	感染症法	定点把握感染症 (サーベイランス) 等	咽頭ぬぐい液	64	84	56	100	48	104	60	96	136	152	164	44	1,108
			便	84	76	60	64	32	20	24	32	48	36	40	92	608
			髄液	4	8	4	8	16	8	8	12		12	8	12	100
			血清他	8	28	8	4	12	4		24	12	8	20	16	144
		全数把握感染症(二類～五類)	9	10	3	1	13	2	12	9	8	15	21	21	124	
		インフルエンザ集団発生(初発)									8	18	18			44
		集団感染症(ノロウイルス等)	10	6	12					12				14		54
		流行予測調査(環境水ポリオ)	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18	18
	食品衛生法	食中毒(疑)等	86	105	34		6	2		4	12	26	18	10	303	
	小計			283	335	195	195	145	158	122	215	252	285	303	213	2,701
依頼 検査	感染症法 (奈良市)	定点把握感染症 (サーベイランス) 等	咽頭ぬぐい液	8	8	12	8				4	16	36	32	8	132
			便	4		4	8					4				20
			髄液						8		4	4				16
			血清他									4				4
		全数把握感染症(二類～五類)		3	3		5	4	1		1	3	10	6	36	
		インフルエンザ集団発生(初発)							10							10
		蚊生息密度調査			1	1		1								3
	小計			12	11	20	17	5	13	11	8	29	39	42	14	221
総計			295	346	215	212	150	171	133	223	281	324	345	227	2,922	

呼吸器系疾患の代表的ウイルスであるインフルエンザウイルスは、AH1pdm09、AH3(香港型)及びB型山形系統を分離・検出した。2018/2019シーズンは、2018年末まではAH1pdm09の検出が多かったが、2019年始からはAH3(香港型)の検出が増加し、2回目のA型インフルエンザ感染事例からの検出もあった。B型は昨年度とは異なり例年のように流行のピークが過ぎてからの検出であった。

インフルエンザ以外の呼吸器疾患感染症の検体からは、パラインフルエンザウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ライノウイルス等検出した。

アデノウイルスは特に季節性はなく年間を通して検出した。臨床診断名としては下気道炎(気管支炎、肺炎)、上気道炎(咽頭炎)のほか、感染性胃腸炎、発疹症等臨床症状は多彩であったが、咽頭結膜熱からは2型1株のみであった。

エンテロウイルス属のウイルスは、夏期を中心に検出が多かった。検出したウイルスは、コクサッキーウイルスA群(4型、6型、9型、10型、16型)、コクサッキーウイルスB群4型、エコーウイルス(7型、11型)、エンテロウイルス(D68型、71型)を検出した。平成30年度には、小児の急性弛緩性麻痺との関連が懸念されているエンテロウイルスD68型の検出があったが、検出した患者の診断名は、下気道炎4例の他、感染性胃腸炎、不明熱(川崎病)がそれぞれ1例であった。また他に、ヒトパレコウイルス3型の検出もあった。

ヘルペスウイルスとしては、水痘・帯状疱疹ウイルス、EBウイルス、サイトメガロウイルス、ヒトヘルペス6型・7型の検出があった。また、ムンプスウイルスは、無菌性髄膜炎患者からのワクチン株の検出があった。3月にはパルボB19ウイルスの検出があった。

感染性胃腸炎を疑う検体(便)からは、ノロウイルス、A群ロタウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルス40/41型等多種のウイルスを検出した。ノロウイルス及びA群ロタウイルスは、ともに多彩な遺伝子型を検出しており、1つの遺伝子型が飛び抜けて多い状況ではなく、検出数も例年に比べると少なかった。なお、前述のアデノウイルス1、2、4、5型、エコーウイルス11型、エンテロウイルスD68型、コクサッキーウイルスA群4、10型のそれぞれ1株は、感染性胃腸炎患者からの検出であった。

## (2) 全数把握対象疾患

全数把握対象疾患のうち、届出基準として病原体検出が必要な疾患や特定予防指針等で検査が指示されている疾患及び検体の確保が指示されている疾患等について、各保健所からの依頼に基づき検査を実施した。平成30年度には160検体の依頼があった(表4)。

### ① 届出基準に基づく病原体検出

届出基準として病原体検出が必要な疾患として、MERS(中東呼吸器感染症)の鑑別診断、SFTS(重症熱性血小板減少症候群)、日本紅斑熱の検査依頼があった。

表3 平成30年度 定点把握感染症(サーベイランス)等検体からのウイルス検出状況

病原体 (検出月)	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
インフルエンザウイルスAH1pdm09							1	1	1	17	8	3	31
インフルエンザウイルスAH3	5		3						2	3	14	13	40
インフルエンザウイルスB・Yamagata	9											1	10
パラインフルエンザウイルス1型			2				2						4
パラインフルエンザウイルス3型							1						1
RSウイルス					1	1	1	8		1			12
ヒトメタニューモウイルス	2	1	1									4	8
アデノウイルス1型	1			1		1					1		4
アデノウイルス2型	1		4	3						2			10
アデノウイルス3型	1									1		1	3
アデノウイルス4型					2								2
アデノウイルス5型			2		3					1			6
アデノウイルス8型									1				1
アデノウイルス40/41型	1								1				2
ライノウイルスNotTyped	4	4	6		8		2	9		7		4	44
ライノウイルスA				1	2	1			2	4	2		12
ライノウイルスC				1					3	2	4		10
コクサッキーウイルスA群4型										1			1
コクサッキーウイルスA群6型					3			1		2		1	7
コクサッキーウイルスA群9型					2	2	2	3					9
コクサッキーウイルスA群10型			1	1	1					1			4
コクサッキーウイルスA群16型					1			1					2
コクサッキーウイルス B群4型				1					2				3
エコーウイルス7型				1									1
エコーウイルス11型						4		2		1			7
エンテロウイルスD68型								1	5				6
エンテロウイルス71型						1							1
ヒトパレコウイルス3型				2				2					4
水痘・帯状疱疹ウイルス						1				1			2
EBウイルス	1	1	4		1			1		1			9
サイトメガロウイルス	2	2	1		2	1	4	1					13
ヒトヘルペスウイルス6型		3	1		2		1			1			8
ヒトヘルペスウイルス7型		1	2										3
ムンプスウイルスB型(星野株)		1											1
ムンプスウイルスB型(鳥居株)								1					1
バルボB19ウイルス												1	1
ノロウイルスGI.2								1					1
ノロウイルスGI.4										1			1
ノロウイルスGI.7		1											1
ノロウイルスGII.2	1		3	3	4					1			12
ノロウイルスGII.3												1	1
ノロウイルスGII.4		1								1		1	3
ノロウイルスGII.6				1		1							2
A群ロタウイルスG1	1	2	1				2						6
A群ロタウイルスG2	1	2										5	8
A群ロタウイルスG3	4	5										2	11
A群ロタウイルスG8	7												7
A群ロタウイルスG9	1	2	2		1							1	7
サポウイルス		2			1							1	4
アストロウイルス			2	1									3
合計	42	28	35	16	34	13	16	32	17	49	29	39	350

表4 平成30年度 全数把握感染症（二類～五類）の検査状況（検体数）

病原体	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
MERS		2											2
SFTSウイルス					1								1
デングウイルス		2											2
日本紅斑熱			2			2							4
A型肝炎ウイルス			1	1	3	1				2			8
急性弛緩性麻痺					8								8
急性脳炎									5				5
風しんウイルス	6		3		3	3	13	6	4	9	19	6	72
麻しんウイルス	3	9			3			3		7	12	21	58
合計	9	13	6	1	18	6	13	9	9	18	31	27	160

MERSは60代の男女で、エジプト渡航中にラクダとの接触があり、帰国後の健康観察中に発熱がみられたため鑑別診断として検査依頼されたが、リアルタイムPCRによる遺伝子検査は陰性であった。

SFTSは、70代男性、ダニ刺咬については不明だが農作業等があるとされ、ショック症状や発熱、下痢のほか、白血球減少がみられたため、検査依頼があったが、陰性であった。

日本紅斑熱は、2症例の検査依頼があった。6月の症例は70代男性で、前々週に草むらに入り先週から発熱していたが、依頼当日に刺咬中のマダニを発見したとして、検査依頼があった。通常、日本紅斑熱リケッチャは瘡蓋からは検出可能とされているが、血液からの検出はほぼ不可能であり、本県ではこれまで検出したことがなく、通常はペア血清による抗体価測定を国立感染症研究所に依頼している。この事例はマダニ虫体が確保できたことから、マダニ虫体からの病原体検出が届出基準を満たすわけではないが、虫体から検出があれば抗体価測定を依頼することとして、血清及びマダニ虫体中の紅斑熱群リケッチャの検索を行った。結果、日本紅斑熱リケッチャは検出しなかった。なお、通常発症の頃にはマダニ刺し口は瘡蓋化していることが多く、発症時点でマダニが刺咬中であることは希である。

9月の症例は、マダニに咬まれた自覚はなかったが、40℃の発熱と頭痛、翌日からは全身に紅斑が出現し、CRP21と高値であったことから入院となった70代の男性であった。MEPM及びVCMが奏効せず、左後頸部にマダニ刺し口と思われる痂皮が見つかったことから、その他の症状と併せて日本紅斑熱の疑いとして検査依頼があった。ペア血清による抗体価測定を国立感

染症研究所に依頼し、ツツガムシリケッチャは陰性、日本紅斑熱リケッチャは抗体価の有意な上昇が見られた。なお、診断日は国立感染症研究所から結果報告があった平成31年4月であることから、別に報告する平成30年の患者発生状況には掲載されていない。また、推定感染地は三重県とされている。

#### ② 特定感染症予防指針に基づく病原体検出

特定感染症予防指針で地方衛生研究所での検査が指示されている疾患として、蚊媒介感染症のデング熱、風疹及び麻疹の検査を実施した。

デング熱は、医療機関でのNS1抗原の検出があったことから届出された20代の男女で、フランス領タヒチへの渡航歴があった。指針に基づき当センターで遺伝子型別検査を実施し、2名とも1型であった。

風疹及び麻疹は、指針により全例について遺伝子検査及び遺伝子配列検査が指示されている。平成30年度には、風疹が夏以降全国的に流行し、また麻疹は近隣自治体で、春及び冬に患者が増加するなどがあったことから、検査依頼も非常に多かった（詳細は本年報に別途報告）。

#### ③ 通知等に基づく病原体検出

通知等で検体の確保や病原体の検出が指示されている疾患として、A型肝炎、急性弛緩性麻痺、急性脳炎等の検査依頼があった。

平成22年通知に基づき、A型肝炎の届出があった場合は、患者の便を確保することとなっていることから、当センターで遺伝子検査を実施している。A型肝炎の届出は、平成30年度は例年に比べて多く、平成26年に次ぐ届出数であった。検査依頼があった8名のうち5名からA型肝炎ウイルスIA型を検出した（詳細は本年報に別途報告）。

急性弛緩性麻痺は、平成 30 年 5 月から全数把握対象疾患に追加された疾患で、急性弛緩性麻痺症状を呈した 15 歳未満の患者のうち、ポリオを否定された症例が届出対象となる。平成 27 年度に国内でエンテロウイルス D68 型の流行に伴う急性弛緩性麻痺患者が増加したこともあり、全数把握対象疾患追加の際に「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」が出され、急性弛緩性麻痺（AFP）の病原体検索について記載されているが、エンテロウイルス D68 の特異的検出プライマー等が必要とされている。8 月に 3 歳男児の検査依頼があったが、当センターでは検査体制が整わず、国立感染症研究所へ検査を依頼した。提出のあった咽頭拭い液、鼻腔ぬぐい液、採取日の異なる便 2 検体、髄液、血清、全血（PBMC）、尿検体のうち、便 1 検体からコクサッキー A 群 6 型が検出された。

急性脳炎は、平成 29 年事務連絡に基づき、病原体検索を実施した。患者は 40 代女性、発症前に家族がインフルエンザを罹患していたことによるインフルエンザ脳炎疑いであったが、医療機関の迅速検査ではインフルエンザ陰性であったため検査依頼があった。提出された 5 検体（咽頭ぬぐい液、肛門ぬぐい液、髄液、血液、尿）について当センターで遺伝子検査を実施した。咽頭ぬぐい液、髄液、血液についてはインフルエンザウイルスのリアルタイム PCR を実施し、咽頭拭い液から AH1pdm09 ウイルスを検出した。また、全ての検体についてエンテロウイルス検査を実施したが検出しなかった。

### 3) エイズ検査相談事業

当センターでは、各保健所の迅速検査で陽性（擬陽

性含む）となった検体について、HIV 抗体の確認検査を実施している。平成 30 年度は、確認検査依頼はなかった。その他、各保健所で使用する迅速診断キット、検査試薬及び消耗品等の配布を毎月行った。

## 2) 積極的疫学調査

### (1) インフルエンザ集団発生（初発）における原因病原体調査

本県の感染症報道発表基準により、インフルエンザは初回の集団発生については報道発表されることから、9 月からのインフルエンザの新シーズン調査開始にあわせて、奈良市を含む全ての保健所で初発の集団事例について、咽頭うがい液検体を確保し、流行確認及び規模の把握を行っている。

平成 30 年度の県内初発事例は、10 月に奈良市保健所管内で発生しており、AH1pdm09 ウイルスを検出した。その後の集団発生でも全て、AH1pdm09 ウイルスを検出した（表 5）。

### (2) 感染性胃腸炎集団発生における原因病原体調査

本県では、感染性胃腸炎の集団発生時に、県民に対する注意喚起のため、公表されることになっている。さらに、原因ウイルスごとのシーズン初発事例、死亡者・入院等の重症者発生事例及び学級閉鎖等措置が実施された事例の場合には報道発表される。この集団発生の基準は、「10 人以上の集団であり、そのうち 2 名以上の確定診断がされていること」とされていることから、2 名以上について、医療機関等での検査で共通した原因病原体が検出されていない場合には、検査が依頼される。

平成 30 年度には、保育所及び小学校等で発生した感染性胃腸炎集団発生事例について、4 月から 6 月、

表 5 平成 30 年度 インフルエンザ集団発生（初発）の検査状況（検体数）

保健所名	検体採取日	検体数	陽性数	検出ウイルス
奈良市保健所	H30.10.24	5	4	AH1 pdm09
中和保健所	H30.11.13	4	3	AH1 pdm09
郡山保健所	H30.12.18	9	5	AH1 pdm09
内吉野保健所	H31.1.15	4	3	AH1 pdm09
吉野保健所	H31.1.16	5	4	AH1 pdm09

表 6 平成 30 年度 感染性胃腸炎集団発生における原因病原体調査(検体数)

		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
検体数（便）		5	3	6					6			7		27
陽性数	ノロウイルス G I	2							5			4		11
	ノロウイルス G II	2	2	5										9



11月及び2月に検査依頼があった(表6)。全体で9事例27検体の依頼があり、2月の1事例を除き、他は全てノロウイルスを検出した。内訳はGI:4事例、GII:4事例であった。2月の1事例は保育所での集団発生であったが、成人の検体しか確保できなかったため、ノロウイルスが陰性であったことから検査は終了となった。平成30年度はGIによる集団発生が比較的多かった。

### (3) 新型インフルエンザ対策事業

本事業として、国立感染症研究所の協力依頼に基づき、抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスを実施している。検出したインフルエンザウイルスのうち、AH1pdm09ウイルスについては当センターでH275Y耐性マーカーの検出を実施している。なお、AH3及びB型ウイルスについては、国立感染症研究所で薬剤感受性試験が実施されるため、分与依頼に基づき、当センターの分離株を国立感染症研究所に送付する。

感染症発生動向調査等で検出したAH1pdm09ウイルスを無作為抽出して検査対象とする。なお、検出感度のため、HA価が8以上の培養細胞上清を用いることとなっているため、当センターでの分離株のうち、国立感染症研究所に分与した株を除いて全てを対象としている。平成30年度には、29株のAH1pdm09ウイルスについて調査し、全て感受性(耐性ではない)であった。

### (4) 蚊生息密度調査

「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」及び「デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き地方公共団体向け」に基づき、平常時の対策として、国内での代表的な媒介蚊とされるヒトスジシマカについて、リスク評価に基づき決定されたリスク地点における発生状況の継続的な観測(定点モニタリング)を行っている。県内のリスク地点とされた

奈良市内公園内において、6月から9月の月1回、CDC型捕虫器(ドライアイス誘因)を用いて蚊成虫が捕獲され、当センターでは蚊(ヒトスジシマカ)の鑑別を行った(表1)。平成30年度はヒトスジシマカ(雌成虫)の捕集はなかった。なお、8月は降雨のため調査が中止された。

### (5) 動物(犬)を対象とした狂犬病検査(演習参加)

「国内動物を対象とした狂犬病検査の実施について(協力依頼)」(平成26年8月4日付け健感発0804第1号)により、咬傷事故の加害犬で、経過観察期間中に死亡したもの等については、地方公共団体で検査を実施することが必要となった。以降、消費・生活安全課長による実技演習が毎年実施されており、当センターも参加している。平成30年度は平成31年2月7日に実施された演習で、当センターに冷蔵状態で搬入された中枢神経組織6検体について、狂犬病検査マニュアルに基づき、FITC標識抗体を用いた直接蛍光抗体法によるウイルス抗原の検索等演習を行った。毎年の演習で、狂犬病検査体制を再確認している。

### 3) 感染症流行予測調査

予防接種法に基づく定期接種対象疾病について集団免疫の現況把握(感受性調査)および病原体検索(感染源調査)などの調査を行い、予防接種事業の効果的な運用を図り、疾病の流行を予測することを目的とし実施される感染症流行予測調査に、本県では、ポリオ感染源調査(流入下水に対するポリオウイルス環境水サーベイランス)で参加している。

県内一カ所の下水処理場で、年間を通して毎月1回、流入下水を採水し、陰電荷膜法によりウイルス濃縮を行い、培養細胞によるウイルス分離を行った。いずれの月もポリオウイルスの検出はなかった。その他、エコーウイルスやコクサッキーB群ウイルスの検出があった(表7)。

表7 平成30年度 感染症流行予測調査事業 感染源調査  
(環境水からのポリオウイルス分離・同定)の検査状況(検体数)

	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	合計
検体数(環境水)	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	72
ポリオウイルス	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
検出ウイルス	エコーウイルス7型			2	2								4
	エコーウイルス11型		1	1	2	3	5	4	6	4	4		30
	コクサッキーB群3型		7		3								10
	コクサッキーB群4型			1									1
	コクサッキーB群5型										2		2

表8 平成30年度 食中毒(疑)等の検査状況(検体数)

		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
検体数(便)		31	52	17		3	1		3	6	11	9	5	138
陽性数	ノロウイルスGI	4												4
	ノロウイルスGII	11	12	9						1	9		3	45
	ノロウイルスGI+GII	2												2
	A群ロタウイルス		9											9

#### 4) ウイルス検査業務管理(感染症 GLP)

##### (1) 外部精度管理

厚生労働省健康局結核感染症課が実施する外部精度管理事業のうち、「麻疹・風疹ウイルスの核酸検出検査」に参加した。また、AMED「麻疹・風疹研究班」による風疹ウイルス遺伝子型検査の外部精度管理評価に参加した。その他、インフルエンザウイルス分離培養・同定技術実態調査及び抗インフルエンザ薬剤耐性検査の実態調査にも参加した。

##### (2) 機器点検等

安全キャビネット及び高圧蒸気滅菌器の保守点検、マイクロピペッターの校正等を行った。

#### 5) 食中毒(疑)ウイルス等検査

ウイルスが原因と疑われる食中毒(疑いを含む)事例について、保健所からの依頼に基づき検査を行った。平成30年度は、23事例138検体についてノロウイルス等検査を実施した(表8)。検出があったのは、ノロウイルスGIが4検体、ノロウイルスGIIが45検体、別に2検体からは、GIとGIIの両方を検出した。またA群ロタウイルスが9検体から検出があった。なお、5月に中和保健所管内で発生した食中毒事例の原因ウイルスはノロウイルスGII.2、1月に郡山保健所管内で発生した食中毒事例はノロウイルスGII.4であった。

## 2. 感染症情報センター業務概況

奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱・同要領に従い、医療機関等からの患者発生届・報告や病原体検出情報から、感染症の流行状況を把握・解析し、情報発信を行った。

### 1) 感染症サーベイランスシステム

奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱・同要領に従い、医療機関で診断された患者について、FAX等により管轄の保健所に届出・報告され、各保健所で感染症サーベイランスシステム(National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease: NESID)に登録される。その内容について、感染症情報センターで確認を行い、中央感染症疫学センター(国立感染症研究所)に送付している。

平成30年度には、全数把握対象疾患については、639件の届出があった(届出基準に合致しない等の理由で削除された40件を含む)。定点把握対象疾患については、知事が定点医療機関として指定した延べ116件の医療機関から毎週または毎月報告があった。

届出・報告内容について、感染症拡大の未然防止のため、希少感染症の届出・患者数の急増などを把握・解析し、必要に応じて情報発信を行った。

### 2) 「奈良県感染症情報」の発行

週単位で報告される疾患等について、中央感染症情報センターで集約・還元される全国情報をとりまとめ、「奈良県感染症情報」(週報)として毎週発行している。月単位で報告される疾患については、上記に合わせて月1回月報として発行している。毎週の奈良県感染症情報には流行状況を解析し、流行する疾患及びその予防方法について県内概況としてとりまとめ、一般の方々にもわかりやすい情報を提供するように努めた。更に、検出した病原体情報や話題になっている感染症等についても併せて情報提供した(表9)。また、法改正や全国での流行疾患、国・検疫所等からの注意喚起などについては、トピックスとして紹介した。

表9 奈良県感染症情報(週報)提供記事

掲載日	タイトル
4月20日	ゴールデンウィークに海外へ渡航される皆さまへ! 感染症にご注意を!
5月8日	マダニに注意してください
6月1日	6月1日から7日は、HIV検査普及週間
6月29日	夏休みに海外に渡航される皆さまへ
7月27日	蚊媒介感染症について
8月24日	風しんに関する注意喚起
9月21日	A型肝炎の報告が増えています!!
11月2日	インフルエンザに感染しないようにするためには
11月30日	ノロウイルスによる感染性胃腸炎の予防と消毒法について
12月28日	~海外へ渡航される方へ~
1月25日	インフルエンザの施設内感染拡大防止について
2月22日	麻しん(はしか)に注意しましょう
3月22日	海外渡航を予定されている皆様へ

発行手段としては、保健研究センター内での掲示、感染症情報センターホームページへの掲載に加え、関係機関（医師会、教育機関、福祉関係施設等）へメールにより配信している。更に医師会から、医師会感染症部理事などで構成するサーバイメーリングリスト（26件）や定点医療機関のメーリングリスト（FAX送信含む）（134件）で送信され、更に各地区医師会経由でその他の医療機関へメール転送やFAX送信（251件）された。当センターから関係機関へ直接メール配信した配信先数は577件であった（表10）。学校欠席者サーベイランスでも週報配信について周知の機会を得るなどして、増数を図った。今後も配信先の増数を模索していきたい。

表10 配信施設分類

施設	件数	施設	件数
乳児院	2	児童養護施設	6
幼稚園	91	母子生活支援施設	1
保育園	79	特別支援学校	7
こども園	10	障害者支援施設	26
小学校	69	介護保険施設	61
中学校	39	包括支援センター	5
高等学校	33	医療機関	29
中学校・高等学校	3	役所	51
大学	17	公共施設	26
専門学校	7	その他	2
教育委員会	13	合計	577

### 3) 「保健研究センターだより」及び「気になる話題等」の作成及び奈良新聞への記事提供

微生物検査・研究の状況については「保健研究センターだより」として、また話題の感染症や緊急情報については「気になる話題」として作成し、奈良県感染症情報に記事として掲載した（表11）。また平成26年度より開始した奈良新聞での感染症コラム等へ記事提供も継続して実施した。感染症発生状況が毎週、また感染症に関するコラムが月1回掲載された（表12）。

### 4) 感染症情報センターホームページ

感染症情報センターは、保健研究センターとは別にIDを取得し、独自にホームページを運営している。「奈良県感染症情報」に関するアーカイブとして、またタイムリーな話題・注意喚起の掲載など、積極的な情報提供を行った。インフルエンザが流行する時期には問い合わせが増えることから、平成28年度より開始したインフルエンザ速報値を今年度も掲載した。

平成30年度のアクセス数は、65,393件（トップページ及び週報ページ）で、昨年度より大幅に増加している（表13）。

### 5) 問い合わせ状況

感染症に関して、各方面や県民から電話等で問い合わせが113件あった。その内訳は、県民から38件、医療機関から20件、教育機関から2件、福祉機関から9件、報道機関から27件、行政機関から19件及びその他4件であった。報道機関や行政機関からの問い合わせが減少したが、県民や医療機関等からの問い合わせが増加した。

表11 奈良県感染症情報掲載記事

掲載日	タイトル
7月 6日	夏に注意したい！感染症！
11月 2日	RSウイルス感染症
11月 22日	エンテロウイルスD68型の検出について
12月 21日	梅毒について
2月 8日	百日咳
3月 8日	今シーズンのインフルエンザについて

表12 奈良新聞提供記事

掲載日	タイトル
4月 12日	マダニが媒介する感染症
5月 10日	沖縄県で広がる麻疹（はしか）
6月 14日	海外旅行（渡航）で気をつける感染症（上）
7月 12日	海外旅行（渡航）で気をつける感染症（下）
8月 9日	夏に流行する日本脳炎
9月 13日	増加が続く梅毒
10月 11日	風疹と胎児への影響
11月 8日	冬に増えるノロウイルス
12月 13日	ワクチン接種のすすめ
1月 10日	薬剤耐性菌の問題
2月 14日	感染症の感染経路と予防
3月 14日	百日咳一県内の発生状況を中心に

表13 ホームページアクセス件数

	トップページ 訪問者数	週報ページ 訪問者数
4月	1,946	1,271
5月	2,178	1,460
6月	1,578	1,185
7月	1,067	871
8月	1,114	906
9月	1,558	1,070
10月	2,382	1,608
11月	3,205	2,244
12月	4,121	2,563
1月	12,416	5,446
2月	6,095	3,632
3月	3,252	2,225
合計	40,912	24,481

## 6) 特記すべき疾患

平成 30 年度に警報発令となったのは、インフルエンザのみであった。警報発令について奈良県感染症情報やホームページ上でわかりやすい周知に努めた。また、流行するウイルスが年末年始の頃から変化したとの情報もあり、積極的な検査を依頼し、検出病原体や今後の流行予測等を情報提供した。また平成 30 年度では、麻疹及び風疹の国内流行が挙げられる。患者発生及び増加に伴い、問い合わせ等も増加したため、多方面での積極的な情報提供に努めた。さらに A 型肝炎についても、これまでのような食品由来ではなく、性感染症という感染経路が多くなっていること等注意喚起を行った。

なお、警報の発令等については、誰にでも判断出来るよう、国立感染症研究所が使用する数値を用いて、平成 25 年に当センターでの発令等の基準を定めている。平成 30 年度には水痘の基準値の改正があり、それにあわせて本県でも変更している。

## 3. 調査研究等

### 1) 調査研究

水中ノロウイルスの検査法確立と環境中のノロウイルス調査 [千葉翔子]

#### (1) 水中ノロウイルス検査法の確立について

極低濃度のノロウイルスを検出するため、ウイルス濃縮法について検討した。学術論文等を参考に当センターで検査可能な方法として、3 法検討した。3 法の中では、陰電荷膜吸着/誘出法の回収率が最も高く、ウイルス濃縮法として採用した。

#### (2) 環境水（河川水）中のノロウイルス調査について

県内の 2 河川、各 1 地点の計 2 地点で採水し、陰電荷膜吸着/誘出法によりウイルス濃縮を行い、その濃縮産物について、リアルタイム PCR 法によるノロウイルスの定量的検出を行った。結果、おおよそ夏季（8、9 月）を除いてノロウイルスを検出する事ができた。ノロウイルス濃度が最も高かった月は 1 月であった。

#### (3) 拭き取り検体からのノロウイルス検出について

ウイルス濃縮を用いない方法で検討した。検討では、4 種類の拭き取り器材（プース、市販キット、異素材綿棒 2 種）を使用して拭き取り、リアルタイム PCR 法によるノロウイルスの定量的検出により回収率を算出した。結果、綿棒（綿球素材：ポリエステル）の回収率が最も高かった。

### 2) 事業に係る技術等検討

#### (1) ウイルス分離に関する検討 [中野守]

#### (2) 感染症情報センターホームページの各疾患ページ

の作成について [藤谷美沙子]

#### (3) 奈良県での RS ウイルスの遺伝子解析調査 2017 年シーズン [尾西美咲]

#### (4) 奈良県でのロタウイルスの遺伝子解析による継続調査 2017/2018 シーズン及び G3 株の遺伝子型に関するさかのぼり調査 [松本朋子]



## 4. 平成 30 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部第 34 回疫学情報部会定期研究会の開催

### 1) 開催概要

日 時：平成 30 年 12 月 7 日（金） 10：30～17：00

場 所：奈良県保健研究センター 1 階 会議室

参加機関：近畿支部 13 地研，広域連携協定等に基づく参加機関（三重県地研，福井県地研，徳島県地研），  
国立感染症研究所，その他関係行政機関等

参加人数：72 名

### 2) プログラム概要

#### 【挨拶】

（開会・閉会） 地研全国協議会近畿支部疫学情報部会長 奈良県保健研究センター所長 堀 重俊  
（支部長） 地研全国協議会近畿支部長 京都市衛生環境研究所長 斉藤 泰樹

#### 【特別講演 1】

「最近話題の感染症～疫学と検査と対策～」国立感染症研究所 感染症疫学センター 神谷 元

#### 【一般演題】

「滋賀県における疫学および感染症対策に関連する研修需要と研修内容」滋賀県衛生科学センター 鈴木 智之

#### 【感染症情報センター担当者意見交換会】

#### 【健康危機管理事業検証会】

#### 【特別講演 2】

「水圏生物毒による食中毒」国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部第二室長 大城 直雅

### 3) 研究会内容

(1)特別講演 1 では，マスギャザリングと百日咳についてご講演いただいた。マスギャザリングでは，伊勢志摩サミットにおいて，国立感染症研究所が実施した強化サーベイランスの紹介があった。マスギャザリングにおける感染症サーベイランスでは，平時の状況把握，「異常」の早期探知・早期対応，及び開催期間によっては，終了後にもモニタリングが必要となる。また，疑似症サーベイランスは，期待する効果を得るために，症例定義の変更が検討されていることが示された。

百日咳については，重症化する乳児へ病原体を近づけない事を念頭に，これまでの調査で得られた患者情報(学童期の患者が多い，乳児は同胞や父母等から感染を受けている，等)を基に，予防接種制度の変更が検討されていることが示された。この制度変更については，感染症サーベイランスが重要な役割を果たしており，引き続き，地方自治体職員の調査協力が重要であることが紹介された。

(2)一般演題では，滋賀県衛生科学センターの健康危機管理情報センターの業務の 1 つである職員研修は，保健所等での需要を把握して実施している。近年の人事異動の活発化により，感染症担当者への研修は需要が高い。平成 30 年度の研修内容などについて報告があった。

(3)感染症情報センター担当者意見交換会では，人材確保や日常業務の工夫などに関して実施したアンケートを基に質疑応答を行い，意見交換を行った。

(4)健康危機管理事業検証会では，各地衛研での検討内容・検査等の状況について報告があった。また疑似検体の作成方法及び原因物質の安定性等について報告があった。事後アンケートでは，今後の開催方法，日程などについての意見が出された。

(5)特別講演 2 では，食中毒の原因となる自然毒，特に海水圏の生物毒を中心に，原因と症状及び発生要因など，網羅的にわかりやすくご講演いただいた。自然毒による健康被害は，発生件数は少ないものの，症状は重篤化する事が多く，迅速に原因究明し，被害拡大を防止する必要がある。しかし，発生件数が少ないことから，農薬のように AD<sub>50</sub>のような規制値が設定できていないものが多い。自然毒食中毒についての規制値設定のための基礎データを収集できるのは，事件を調査する地方自治体である。更には，食中毒症状と検出物質・検出量を勘案し，原因究明していくことが重要であることを実例を交えて示された。

### 3) 開催状況写真



受付



堀 所長 挨拶



国立感染症研究所 神谷 元 主任研究官



国立医薬品食品衛生研究所 大城 直雅 室長





## 第3章 調査研究・報告

### 第1節 原 著



## フグ組織及び尿からのテトロドトキシンの定量法

村上友規・安藤尚子・立本行江

## Determination of Tetrodotoxin from Puffer fish Tissue and Urine

Yuki MURAKAMI・Naoko ANDO and Yukie TATSUMOTO

フグ組織及び尿検体中に含まれるテトロドトキシン（以下、TTX）の定量法を構築した。フグ組織（筋肉、皮、肝臓及び卵巣）の前処理方法として、遠心分離及び脂質除去方法について検討した。遠心分離の回転数を 9,000 rpm で上清の夾雑物を沈降除去し、脂質は Bond Elut C18(500 mg)を使用したパススルー法で除去した。構築した方法で添加回収試験を実施したところ、平均回収率は 85.8%～95.1%、RSD(%)は 2.8～13.5 であった。尿検体の塩類夾雑物除去方法として Supel-Select SCX(60 mg)に TTX を保持させ、2%ギ酸で溶出する方法が最も効果的であった。添加回収試験を実施したところ、平均回収率は 95.3%、RSD(%)は 3.7 となった。

## 緒言

我が国では厚生労働省通知「フグの衛生確保について」<sup>1)</sup>で食用可能なフグの種類、部位、漁獲地域を定め、都道府県条例等でフグ取扱いの場所と人を制限して安全性を確保している。しかし、動物性自然毒を病因物質とする食中毒事件のフグによる割合は約 70%にもなり、日本人の食文化を考慮すると、身近に発生しやすい食中毒と言える。

平成 28 年 1 月に本県でフグ毒による食中毒が発生し、残食、吐物、患者の気管内容物等の検査をそれぞれ実施した結果、残食中の魚卵と患者の気管内容物から高濃度の TTX を検出した。当時は健康危機管理事象として緊急の対応を要し、公定法などを参考に急遽検査を実施した。しかし、当センターには食中毒発生時にフグ組織の他に患者尿などの生体試料も搬入され、各状況に応じた検査対応が必要となることから、早急な検査体制の確立が急務である。

そこで本研究では、フグ組織及び尿検体からの TTX 定量方法を構築したので報告する。

## 方法

## 1. 試料

## 1) フグ組織

本検討に際し、消費・生活安全課よりトラフグを含む 14 種類のフグ検体の提供を受けた。なお、これら検体は水揚げ後、未加工のまま冷凍保管され、仕入れたものであり、全解凍後に筋肉、皮、肝臓及び卵巣に切り分けた。

## 2) 尿検体

尿検体は奈良市保健所より提供を受けたものを使用した。

## 2. 試薬及び固相抽出カートリッジ

標準品：テトロドトキシン（生化学用）

標準原液：標準品を 0.1%酢酸で溶解し、50 µg/mL に調製した。

標準溶液：標準原液を 0.1%酢酸で溶解し、100 ng/mL に調製した。

ギ酸溶液：ギ酸を超純水で溶解し、0.2%及び 2%のギ酸溶液を調製した。

酢酸溶液：酢酸を超純水で溶解し、0.1%及び 2%の酢酸溶液を調製した。

以上の試薬はすべて富士フイルム和光純薬(株)製を用いた。また、アセトニトリル (LC/MS 用)を除く全ての試薬は特級グレードを用いた。超純水は MILLIPORE 社製 Simplicity UV で精製したものをを用いた。

Amicon Ultra-4(10,000 NMWL)：使用前に超純水 2 mL を用いて、25℃で遠心分離(3,500 rpm, 10 min)することで予洗いした。

Bond Elut C18(500 mg)：使用前にメタノール 10 mL、水 10 mL、0.1%酢酸 10 mL の順にコンディショニングした。

各種陽イオン交換カラム：使用前にメタノール 10 mL、水 10 mL の順にコンディショニングした。以下の陽イオン交換カラムを使用した。

Bond Elut CBA (100 mg)

Oasis WCX (60 mg)

Supel-Select SCX (60 mg)

Bond Elut PRS (500 mg)  
 Bond Elut SCX (500 mg)  
 Strata X-C (500 mg)  
 Oasis MCX (150 mg)

### 3. 装置及び測定条件

#### 1) 装置

UPLC-MS/MSはACQUITY UPLC H-Class Xevo TQ-S micro(Waters社製)を使用した。ホモジナイザーはKINEMATICA社製POLYTRON PT 10-35 GTを、遠心分離機はhimac CR22G(アングルロータータイプ)及びKUBOTA MODEL 5800(スイングロータータイプ)を使用した。

#### 2) 測定条件

UPLC-MS/MSによる測定条件を以下の表1に示す。

表1 UPLC-MS/MS 測定条件

表1 UPLC-MS/MS 測定条件	
(LC条件)	
Column	: ACQUITY UPLC BEH Amide(1.7 μm, 2.1 mm×100 mm)
Flow rate	: 0.2 mL/min
Column Temp	: 40℃
Inj. vol	: 3 μL
Mobile phase	A: 0.2% Formic acid B: Acetonitrile
	※ A: 0~2 min(10% Hold) A: 2~6 min(10%→50%) A: 6~10 min(10% Hold)
(MS条件)	
Ion mode	: ESI(+)
Measurement mode	: MRM
Desolvation Temp(℃)	: 550℃
Desolvation flow rate(L/Hr)	: 1000 L/Hr
Capillary voltage(kV)	: 3.0 kV
Ion source Temp(℃)	: 100℃
Cone(V)	: 35 V
Cone(L/hr)	: 50 L/Hr
Precursor ion	: m/z=320
Product ion	: m/z=302 (定量), Collision Energy(V): 22 V : m/z=162 (定性), Collision Energy(V): 44 V

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) フグ組織

##### (1) 抽出

試料約 50 g をホモジナイズして均質化した中から、5 g を PP 製遠心管にとり、0.1%酢酸を 30 mL 加え、ホモジナイザーで均質化した。PP 製遠心管の栓を締め、沸騰水浴中で 10 分加熱し、冷後、遠心分離した (9,000 rpm, 10 min)。得られた上清を綿栓ろ過して 50 mL 比色管にとり、0.1%酢酸で 50 mL に定容して、これを抽出液とした。

##### (2) 精製

抽出液 1 mL を 0.1%酢酸で 10 mL に定容し、予めコンディショニングした Bond Elut C18(500 mg)に負荷した。初流 3 mL を廃棄し、残り 7 mL を採取して

得た通過液を 0.2 μm メンブレンフィルターでろ過し、これを試験溶液とした。なお、TTX 濃度が検量線範囲を越える場合は 0.1%酢酸で適宜希釈した。

#### 2) 尿

尿検体約 4 mL を予洗いした Amicon Ultra-4 (10,000 NMWL)にとり、遠心分離した (3,500 rpm, 10 min)。ろ液 1 mL を 0.1%酢酸で 10 mL に定容し、予めコンディショニングした Bond Elut C18 (500 mg)に負荷した。初流 3 mL を廃棄し、残り 7 mL を採取して、これを通過液とした。通過液を正確に 1 mL とり、メタノールで 10 mL としたものを予めコンディショニングした Supel-Select SCX(60 mg)に負荷した。メタノール 10 mL, 水 10 mL, 0.1%酢酸 10 mL の順に洗浄し、2%ギ酸 5 mL で溶出した。その後、0.20 μm のメンブレンフィルターでろ過して、これを試験溶液とした。

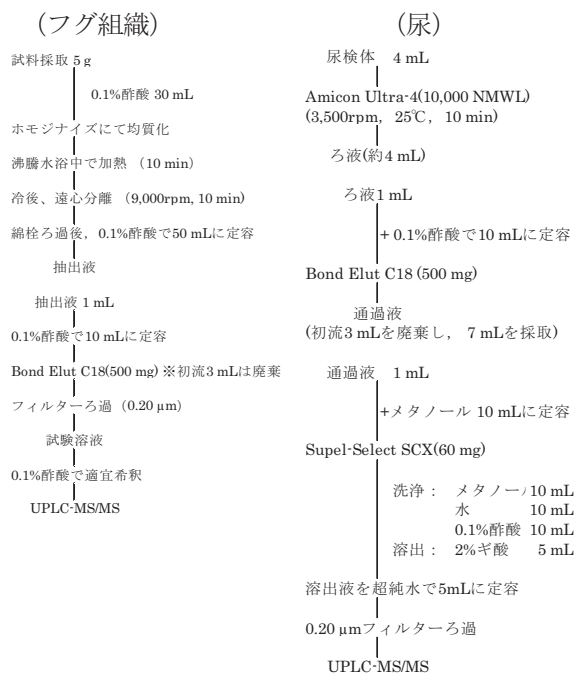


図1 操作フロー図

### 5. 定量

#### 1) 検量線 (フグ組織からの定量)

TTX 標準溶液 (100 ng/mL) を 0.1%酢酸で適宜希釈し 1~50 ng/mL の範囲で検量線を作成した。

#### 2) マトリックス検量線 (尿からの定量)

TTX 標準溶液 (100 ng/mL) を 0.1%酢酸で適宜希釈し 2, 4, 10 及び 20 ng/mL の各検量用標準液を調製した。TTX を含まない尿を「4. 試験溶液の調製 2) 尿」に従って精製し、2%ギ酸溶液 2.5 mL で溶出して、これをブランク尿とする。各検量線用標準液とブランク尿が 1:1 となるように混合し、1, 2, 5 及び 10



ng/mL の各マトリックス検量線用標準液を調製した。

1) 及び 2) 共に UPLC-MS/MS で測定し、検量線及びマトリックス検量線を作成した。共に相関係数は 0.999 以上であり、良好な直線性を示した。

## 結果及び考察

### 1. 分析条件の検討

#### 1) MS/MS 条件

1,000 ng/mL に調製した TTX 標準溶液をシリンジポンプで直接 MS/MS に注入し、IntelliStart の Combine モードで MS/MS 条件の最適化を実施した。イオン化モードをポジティブモードで実施したところ、プレカーサーイオンとして TTX にプロトンが付加した  $[M+H]^+$  ( $m/z=320$ ) が確認された。更に、コーン電圧を手動で調整したところ 35 V の時に最大のピーク面積を得た (図 2)。

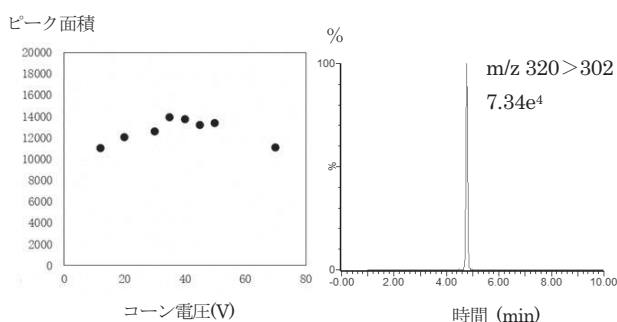


図 2 コーン電圧とピーク面積の関係

図 3 TTX のクロマトグラム

#### 2) UPLC 条件

TTX は両性イオンであり、ODS カラムなどの疎水性相互作用を利用したカラムでは保持することが出来ない。そのため、順相カラムの ACQUITY UPLC BEH Amide を用いて、アイソクラティック条件で分析したところ、カラムへの保持は確認出来たが、保持時間が不安定であった。そこで、グラジエント条件に切り替えたところ、保持時間が安定し、感度も約 1.3 倍向上した。グラジエントにより、TTX と夾雑物を効率よく分離でき、夾雑物によるピークの障害を低減できたことが要因と考えられる。得られたクロマトグラムは図 3 に示す。

### 2. フグ組織からの TTX の定量

#### 1) 前処理条件の検討

##### (1) 遠心分離条件の検討

公定法<sup>2)</sup>の前処理方法ではホモジナイズ時に発生した微細な夾雑物がろ紙を目詰まりさせ、遠心分離後の上清のろ過を効率よく行うことができない。そこで、遠心分離による微細な夾雑物の沈降除去を目的に、上清の夾雑物量と遠心分離の回転数との関係を検証した。

フグ組織として筋肉、皮、肝臓及び卵巣を使用し、上清の夾雑物量の指標として 3,000 rpm における各組織の吸光度 (210 nm 波長域) を 100 として比較した結果を図 4 に示す。結果は回転数を 9,000 rpm にしたときに最も夾雑物を除くことが出来たので、これを最適な回転数とした。

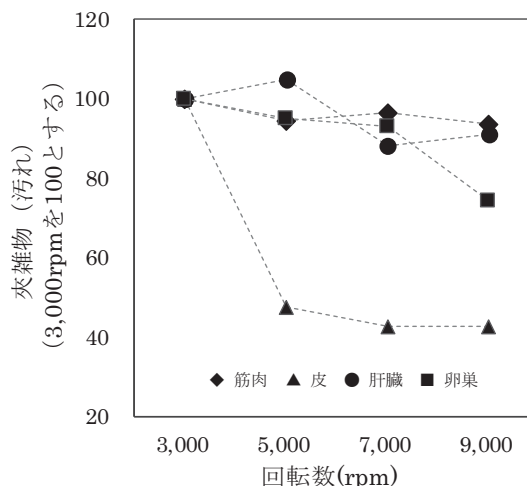


図 4 回転数と上清の夾雑物の関係

#### (2) 脂質除去方法の検討

フグ臓器の中でも肝臓は特に脂質を多く含み、前処理で除去しきれなかった脂質はカラム及び装置を汚染する。そこで、脂質除去のためヘキサンを用いた液液抽出法及び Bond Elut C18(500 mg)を用いた固相抽出法の両方法を比較検討した。検討方法として肝臓検体に 2.0  $\mu\text{g/g}$  ( $\approx 10 \text{ MU/g}$ ) となるように TTX を添加して  $n=3$  の添加回収試験を実施し、操作性及び回収率を比較した。結果は、ヘキサン抽出法では回収率が 90.7%、RSD(%)が 4.2 となり、固相抽出法では回収率が 95.6%、RSD(%)が 3.9 となった。ヘキサン抽出法は操作が煩雑であり、回収率も固相抽出法に劣るため、本検討では固相抽出法による脂質除去を行う事とした。

#### 2) 添加回収試験

TTX が検出されない事を確認したトラフグの筋肉、皮、肝臓に 2.0  $\mu\text{g/g}$  ( $\approx 10 \text{ MU/g}$ ) となるように TTX を添加した。卵巣は当センターの保管量の都合上、ゴマフグの卵巣を使用した。一般的に卵巣は高濃度の TTX を含むため、TTX 添加後の分析値から本来含有している TTX 量を差し引くことで回収率を算出した。マトリックス効果による回収率の減少が確認されたため、UPLC-MS/MS で分析する前の試験溶液を 10 倍希釈したところマトリックス効果を抑制でき、平均回収率は 85.8%~95.1%、RSD(%)は 2.8~13.5 であった (表 2)。



表2 添加回収試験 (フグ組織)

	回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)		回収率 (%)	平均回収率 (%)	RSD (%)
筋肉 (トラフグ)	92.5	89.2	2.8	肝臓 (トラフグ)	94.6	95.1	4.7
	88.4				98.0		
	91.2				102.1		
	88.5				90.7		
	85.3				90.1		
88.7	83.8						
皮 (トラフグ)	94.5	85.8	6.4	卵巣 (ゴマフグ)	90.3	89.1	13.5
	85.9				77.4		
	81.1				111.7		
	79.1				82.4		

### 3) 毒性一斉調査

提供頂いたフグ検体 14 種類の各部位 (筋肉, 皮, 肝臓及び卵巣) について, 毒性を調査した結果を表 3 に示す. 谷巖氏が調査した「日本産フグの毒力表」<sup>3)</sup>によると, トラフグ属の肝臓及び卵巣に含まれる毒力は多くが猛毒 (1,000 MU/g 以上) と報告されているが, 本検討結果では猛毒を示したのはマフグの卵巣のみであった. フグ毒力は季節により著しく差があることが知られている. 本検討には仕入れの都合上, 夏から秋 (無卵期) にかけて水揚げされ, 冷凍保管していた検体を使用しており, 一般的に毒性が低いとされる季節のフグを検査したことが低い毒性を示した原因であると考えられる. マフグについては夏から秋にかけて毒性が強くなることが知られており, 肝臓及び卵巣から猛毒に匹敵する 1,000 MU/g に近い値が検出された.

また, 表 3 の網掛け部分は厚生省通知「フグの衛生確保について」で可食とされている種類・部位であるが, 可食部位のマフグ及びコモンフグの筋肉から 16~18 MU/g 程度の TTX が検出された. 塩見らの報告によれば, フグ未加工のまま冷凍したものは解凍時に毒成分が筋肉に移行する可能性があるため, 半解凍状態で迅速に有毒部位を除し, 完全解凍を避けなければならないと言及している<sup>4)</sup>. 本検討に使用したフグは完全解凍された状態の丸体を切り分け, 試験に使用したため本来毒成分を含有しない筋肉から TTX を検出したのではないかと考えられる.

表3 フグの毒性一斉調査結果

属性	標準名	産地	筋肉 (MU/g)	皮 (MU/g)	肝臓 (MU/g)	卵巣 (MU/g)
トラフグ属	トラフグ	長崎	—	—	—	実施せず
	カラス	山口	—	—	—	33
	マフグ	山口	18	52	990	1268
	シマフグ	福岡	—	—	—	76
	ショウサイフグ	福岡	—	—	—	—
トラフグ属	ナシフグ	山口	111	100	92	479
	ヒガンフグ	山口	—	—	63	153
	ゴマフグ	山形	—	—	—	62
	コモンフグ	山口	16	46	13	70
	シロサバフグ	山口	—	—	—	—
サバフグ属	クロサバフグ	山口	—	—	—	—
	カナフグ	山口	実施せず	—	—	—
ヨリトフグ属	ヨリトフグ	島根	—	—	—	—
ハコフグ属	ハコフグ	長崎	—	実施せず	実施せず	—

※網掛け部分は可食部

## 2. 尿の前処理方法の検討

### 1) 陽イオン交換カラムの選択

尿中には高濃度の塩類夾雑物が含まれており, これらが引き起こすマトリックス効果により TTX を正確に定量出来ないことがある. そこで各種陽イオン交換カラムを使用し, キャッチ&リリース法による塩類夾雑物の除去方法について検討した. 陽イオン交換カラムと溶出液の最適な組み合わせを決定するため, 組み合わせを変えて n =1 の添加回収試験を行い, 回収率を指標としたスクリーニング試験を実施した. なお, 同一条件下で検証するため JIS T3214<sup>5)</sup> に基づいて作成した人工尿を調製し (表 4), これに濃度が 200 ng/mL になるように TTX を添加した.

表4 JIS T3214 人工尿組成

尿素	25.0 g
塩化ナトリウム	9.0 g
無水りん酸水素二ナトリウム	2.5 g
塩化アンモニウム	3.0 g
りん酸二水素カリウム	2.5 g
クレアチニン	2.0 g
亜硫酸ナトリウム	3.0 g
蒸留水	1,000 mL

添加回収試験の結果を表 5 に示す. 弱陽イオン交換カラムとして, Bond Elut CBA(100 mg)及び Oasis WCX(60 mg)を検証したところ, 回収率は前者が 21.8%, 後者が 58.1%であった. 低回収率の原因を調べるため, 負荷, 洗浄, 溶出及び溶出後の各分画における TTX 濃度を確認したところ, 負荷及び洗浄分画で TTX が回収された (図 5). この結果は弱陽イオン交換カラムの保持力が弱く, TTX を保持しきれずに漏出したことを示しており, 結果的に回収率が低くなった.

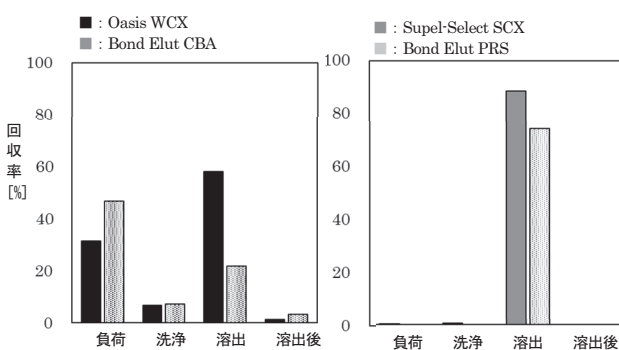


図5 各分画における TTX 回収率  
(左) 弱陽イオン交換カラム (右) 強陽イオン交換カラム

強陽イオン交換カラムは TTX を強固に保持するた

め、操作中の TTX の漏出を抑えることが出来る。一方で、溶出操作において陽イオン交換カラムの官能基と TTX の相互作用を切り離し、TTX のみを溶出できる液を選択する必要がある。表 5 の結果によると、検討した 5 種類の陽イオン交換カラムのうち 3 種類は TTX の回収率が 0% 程度であり、更に負荷～溶出後までのどの分画でも TTX が回収されなかった。この 3 種類には共通してベンゼン環にスルホン酸が修飾されている一方で、回収率が 60% 以上の 2 種類に共通していたのはプロピル基にスルホン酸を修飾させていたものであった。対イオン選択性によると、プロピルスルホン酸と比較してベンゼンスルホン酸は保持力が強く、2%ギ酸を用いても TTX が溶出しきらなかったのではないかと考えられる。結果的に強陽イオン交換カラムとして Supel-Select SCX(60 mg) を使用し、2%ギ酸で溶出する方法を最適な方法とした。なお、溶出液については表 5 に記載のもの以外に塩化ナトリウムなども検討したが、不揮発性塩であり MS 汚染も懸念されたため適用を見送った。

表 5 各種陽イオン交換カラムと溶出液の組み合わせ

検体	回収率 (%)	2% 酢酸		2% ギ酸		修飾基	
		21.8	58.1	実施せず	実施せず		
弱陽イオン交換カラム	Bond Elut CBA(100mg)	21.8	実施せず	C2	COOH		
	Oasis WCX(60mg)	58.1	実施せず	DB・NVP	COOH		
強陽イオン交換カラム	Supel-Select SCX(60mg)	64.9	88.5	C3	SO <sub>3</sub> H		
	Bond Elut PRS(500mg)	0.0	74.3	C3	SO <sub>3</sub> H		
	Bond Elut SCX(500mg)	1.9	0.2	B	SO <sub>3</sub> H		
	Strata X-C(500mg)	実施せず	0.3	B	SO <sub>3</sub> H		
	Oasis MCX(150mg)	0.0	0.2	DB・NVP	SO <sub>3</sub> H		

※ DB・NVP: ジビニルベンゼン-N-ビニルピロリドン

※ B: ベンゼン ※C2: エチル ※C3: プロピル

## 2) 添加回収試験

人の尿に TTX を添加し、n=5 の添加回収試験を実施した。濃度が 200 ng/mL になるように TTX を添加した尿検体を限外ろ過(Amicon Ultra-4, 10K)及び Bond Elut C18(500 mg)により精製した後、Supel-Select SCX(60 mg) を用いて塩類夾雑物を除去した。結果は、平均回収率が 95.3%、RSD(%)は 3.7 となり良好な結果が得られた。クロマトグラムを図 6 に示す。この結果より、強陽イオン交換カラムを使用した分析法の有用性が確認された。

### まとめ

UPLC-MS/MS を使用したフグ組織及び尿中の TTX の定量について検討した。

フグ組織を用いた検討では遠心分離の回転数を高くして夾雑物の沈降除去を促し、Bond Elut C18(500 mg)を用いて操作の簡便なパススルー法で脂質除去を

実施した。添加回収試験の平均回収率は 85.8%～95.1%、RSD(%)は 2.8～13.5 となった。

尿を用いた検討では限外ろ過、Bond Elut C18(500 mg)を用いて精製した後、強陽イオン交換カラムを使用して塩類夾雑物等除去した。添加回収試験の平均回収率は 95.3%、RSD(%)は 3.7 となった。

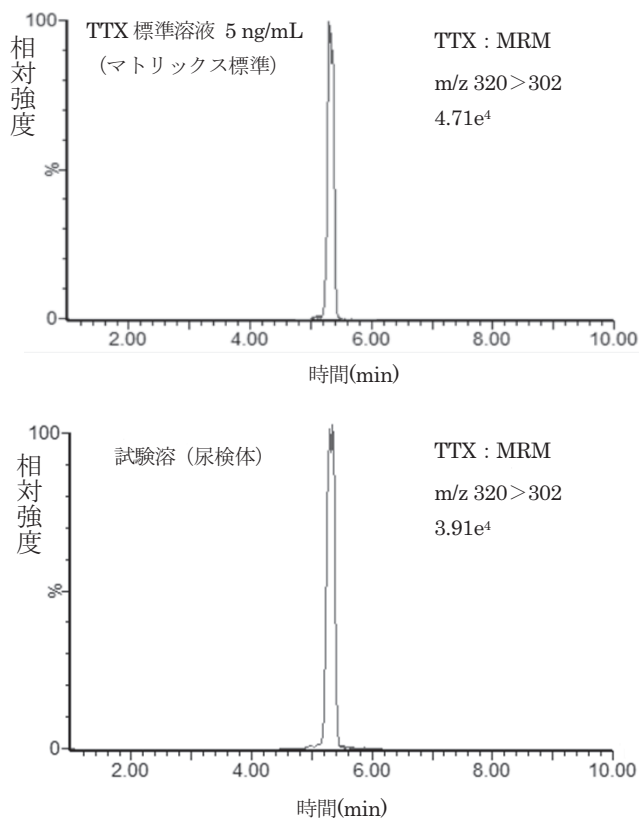


図 6 マトリックス標準及び尿検体のクロマトグラム

### 文献

- 1) 環境衛生局長通知:「フグの衛生確保について」、環乳第 59 号、(昭和 58 年 12 月 2 日)
- 2) 日本薬学会編:衛生試験法・注解, 306-313(2015)
- 3) 谷巖, 日本産フグの中毒学的研究, 帝国図書, 97-103(1945)
- 4) 塩見一雄:日本水産学雑誌, 62, 950-951(1996)
- 5) JIS T3214 ぼうこう留置用カテーテル 附属書 A カテーテル強度試験, 6

## 健康危機管理体制の強化 魚による食中毒における遺伝子を用いた鑑別方法の確立

安藤尚子・村上友規・立本行江

Enhancement of Health Risk Management System  
Method for Identifying Species by Gene Analysis in Food Poisoning Caused by Fish

Naoko ANDO・Yuki MURAKAMI and Yukie TATSUMOTO

当センターでは健康危機管理体制を強化するため、魚の食中毒事件発生時に対応可能な DNA の迅速抽出法を用いたミトコンドリア DNA の 16S rRNA, cytochrome *b* (以下「Cyt *b*」という.) 及び cytochrome *c* oxidase subunit I (以下「Cyt *c*」という.) 遺伝子領域の塩基配列による鑑別方法を確立した。また、調理品や吐物からも魚種を鑑別できる可能性を示唆した。フグ組織及び尿中のテトロドトキシン定量法と合わせてフグ食中毒時の検査体制を強化した。

### 緒言

厚生労働省では「フグの衛生確保について」<sup>1)</sup>において食べることのできるフグの種類、その部位等を定めているが、定められた以外のものを食べたことが原因で、毎年、死亡事例を含む食中毒が発生している。

奈良県でも平成 28 年 1 月にフグの食中毒による患者が発生した。その際、検体として魚の身と内臓の調理品、吐物、患者の気管内容物が持ち込まれたが、形態鑑別に必要な体や鱗の色、体表面の小棘の有無や分布パターンが分かる検体はなかった。

「魚類乾製品等のフグ混入検査について」<sup>2)</sup>及び「輸入魚類加工品のフグ種鑑別検査法について」<sup>3)</sup>により検査所において輸入魚類加工品を対象に実施するフグ混入有無の確認のための遺伝子鑑別検査法が示されている。その検査法は、DNA 抽出精製はキットを用い、フグ種を同定するためにミトコンドリア DNA の 16S rRNA 遺伝子領域、必要であれば Cyt *b* 遺伝子領域の塩基配列を決定し、通知法別紙の塩基配列に対して 99%以上の配列相同性を有した場合のみ同一種と判定する方法である。また、魚類全種について、証拠標本に基づくバーコードライブラリを構築することを目的とする国際魚類バーコードオブライフィニシアチブ (Fish Barcode of Life:FISH-BOL) のプロトコル<sup>4)</sup>では動物で用いられる Cyt *c* 遺伝子領域の塩基配列の解析法が用いられている。これらの方法等<sup>5)</sup>を参考に遺伝子を用いた鑑別方法を検討した。

### 方法

#### 1. 試料

DNA 抽出と PCR 方法の検討用試料として、魚類による食中毒発生件数の最も多いフグを想定し、手に入りやすいタラの筋肉、タラの皮、赤カレイの卵巣及びタラの精巣と後述の魚種鑑別用試料からカラスの肝臓の 5 種類を用いた。

調理による影響の検討用試料として、サーモントラウトの塩焼き、カレイの唐揚げ、サバの味噌煮、トラフグの皮湯引き、サンマの蒲焼缶詰及びたらこの 6 種類と対照品としてトラフグの刺身を用いた。

人工胃液による影響の検討用試料として、未調理品のトラフグの刺身と調理品のサバの味噌煮、トラフグの皮湯引き及びたらこの合計 4 種類を用いた。

魚種鑑別用試料として、奈良県消費・生活安全課より提供を受けた 14 種類 22 検体のフグ (表 6 参照) を用いた。フグは、山口県、九州などの日本海側で 7 月～11 月に水揚げされ、処理せずにそのまま冷凍保存されていたものである。

#### 2. 試薬等

1 M トリス塩酸緩衝液 (pH7.0) ((株) ニッポンジーン製), 0.5 M EDTA 溶液 (pH8.0) (ナカライテスク (株) 製), TaKaRa Ex Taq<sup>®</sup> Hot Start Version (タカラバイオ (株) 製), Ampdirect<sup>®</sup> Plus ((株) 島津製作所製), アガロース (低電気浸透, 高ゲル強度) (ナカライテスク (株) 製), GelRed<sup>™</sup> 核酸ゲル染色液 (×10,000) 水溶液 (Biotium (株) 製), 100 bp DNA Ladder (東洋紡 (株) 製), FastGene Gel/PCR Extraction Kit (日本ジェネティックス (株) 製), BigDye<sup>™</sup> Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific 製), BigDye XTerminator<sup>™</sup>

Purification Kit (Thermo Fisher Scientific 製) を用い、PCR プライマーは合成品を用いた (表 1)。試薬は特級を用いた。

アルカリ溶液は、200 mM 水酸化ナトリウム溶液に 45 mM になるように 0.5 M EDTA 溶液 (pH8.0) を加えた溶液を用い、中和液は、150 mM トリス塩酸緩衝液 (pH7.0) を用いた。

ペプシンはブタ胃粘膜由来の 1:10000 (富士フィルム和光純薬 (株) 製) を用い、人工胃液は、0.1% ペプシン含有溶出試験第 1 液<sup>®</sup>を用いた。

### 3. 装置

ディスポーザブルホモジナイザーはバイオマッシャー<sup>®</sup> II と専用電動攪拌機パワーマッシャー II ((株) ニッピ製)、分光光度計は SmartSpec<sup>™</sup> Plus (BIO-RAD 製)、サーマルサイクラーは LifeECO (日本ジェネテックス (株) 製)、電気泳動装置は Mupid<sup>®</sup>-ex ((株) ミューピッド製)、トランスイルミネーターは LED505-TR60W ((株) 美館イメージング製)、シーケンサーは ABI PRISM<sup>®</sup> 310 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific 製) を用いた。

### 4. 遺伝子解析

ミトコンドリア DNA の 16S rRNA 領域 (約 600 bp)、Cyt *b* 領域 (約 500 bp) 及び Cyt *c* 領域 (約 700 bp) の遺伝子増幅を実施し、得られた産物は電気泳動で目的サイズを確認した。その後、塩基配列を決定し、DDBJ (DNA Data Bank of Japan) の BLAST 解析により国際塩基配列データベースの登録配列と比較し、99%以上の配列相同性により種を鑑別した。

### 5. 遺伝子を用いた鑑別方法の検討

検討結果の確認は、目的サイズの DNA 増幅の有無によって行った。

#### 1) DNA 抽出方法の検討

タンパク質をアルカリ溶液と熱で溶解後、中和 (pH8.0 程度) し、DNA を抽出する方法を検討した。試料量が多い場合やアルカリ溶液の濃度が低いと加熱後卵巣が凝固し、アルカリ溶液の濃度を高くすると DNA が抽出しにくくなったので、DNA の分解を防ぐためアルカリ溶液に EDTA を添加する DNA 抽出方法<sup>7)</sup> を検討した。

#### 2) PCR 方法の検討

DNA 抽出液の希釈倍率 (50, 100, 200 及び 400 倍希釈)、プライマー濃度 (16S rRNA 及び Cyt *b*; 各 0.6, 0.8 及び 1.0  $\mu$ M, Cyt *c*; 各 0.3, 0.4 及び 0.5  $\mu$ M)、アニーリング温度 (56, 58, 60 及び 62 $^{\circ}$ C)、初回変性ステップ時間 (0, 0.5, 1 及び 2 分間) 及び最終伸長ステップ時間 (0, 5 及び 10 分間) 等を変更して検討

した。また、精製していない DNA 抽出液は夾雑物が多いため、非特異的な DNA 増幅を減らし、特異的な DNA 増幅を促すタッチダウン PCR を検討した。

### 3) 調理及び人工胃液による影響

調理による DNA 抽出と増幅への影響を確認した。

また、細切りにした試料 20 g に 0.1% ペプシン含有人工胃液 (溶出試験第 1 液) 100 mL を加え、攪拌しながら 37 $^{\circ}$ C でインキュベートし、一定時間 (1 時間までは 15 分, 3 時間までは 30 分) 毎に試料を採取し、DNA 抽出と増幅への影響を確認した。

### 6. フグ試料での魚種鑑別

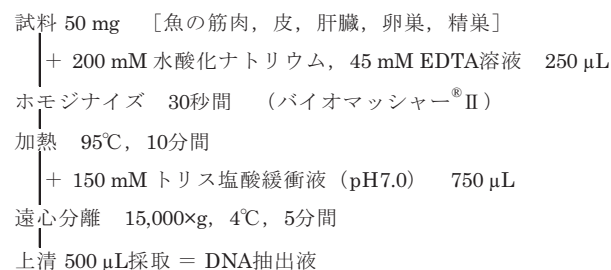
確立した鑑別方法でミトコンドリア DNA の 16S rRNA, Cyt *b* 及び Cyt *c* 領域による魚種鑑別を行った。

## 結果

### 1. 遺伝子を用いた鑑別方法の検討結果

#### 1) DNA 抽出方法

5 種類の試料で目的サイズの増幅が最も明確に確認できたことから、試料 50 mg に 200 mM 水酸化ナトリウム, 45 mM EDTA 溶液を 250  $\mu$ L 添加し、バイオマッシャー<sup>®</sup> II で 30 秒間組織をすり潰し、95 $^{\circ}$ C で 10 分間加熱後、150 mM トリス塩酸緩衝液 (pH7.0) 750  $\mu$ L を加えて中和した。中和後、15,000 $\times$ g, 4 $^{\circ}$ C, 5 分間遠心分離し、上清 500  $\mu$ L を採取した (図 1)。



#### 2) PCR 方法 図 1 DNA 抽出方法

5 種類の試料で目的サイズの増幅が最も明確に確認できたことから、鋳型 DNA は DNA 抽出液の 100 倍希釈、プライマー濃度は 16S rRNA 及び Cyt *b* は各

表 1 ミトコンドリア DNA の 3 領域のプライマー

プライマー	配列 (5'→3')	F/R	Tm値
16S rRNA 領域 [DNAの増幅とシーケンシング用]			
16S arL	CGCCTGTTTATCAAAAACAT	F	59.1
16S brH	CCGGTCTGAACCTCAGATCACGT	R	67.6
Cyt <i>b</i> 領域 [DNAの増幅とシーケンシング用]			
L14317 Glu	CAGGATTTAACCAGGACTAATGGCTTGAA	F	70.9
H15149	CCCTCAGAATGATATTTGTCCTCA	R	64.9
Cyt <i>c</i> 領域 [DNAの増幅用]			
VF2_t1	TGTA AAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAGACATTTGGCAC	F	68.3
FishF2_t1	TGTA AAAACGACGGCCAGTCAACCAACCACAAGACATTTGGCAC	F	66.4
FishR2_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAAGAATCAGAA	R	67.3
FR1d_t1	CAGGAAACAGCTATGACACTTCAGGGTGACCGAARAAYCARAA	R	66.4
Cyt <i>c</i> 領域 [シーケンシング用]			
M13F	TGTA AAAACGACGGCCAGT	F	61.7
M13R	CAGGAAACAGCTATGAC	R	50.6

F/R : フォワード/リバース



表 2 PCR 反応組成液

	ミトコンドリアDNA領域			備 考
	16S rRNA	Cyt <i>b</i>	Cyt <i>c</i>	
TaKaRa Ex Taq HS	0.1 μL	0.1 μL	0.1 μL	5 units/μL
2 × Ampdirect Plus	10.0 μL	10.0 μL	10.0 μL	3mM MgCl <sub>2</sub> , 400 μM each dNTPs
10 μM F-プライマー	1.6 μL	1.6 μL	0.8 μL	
10 μM F'-プライマー			0.8 μL	
10 μM R-プライマー	1.6 μL	1.6 μL	0.8 μL	
10 μM R'-プライマー			0.8 μL	
100倍希釈DNA抽出液	2.0 μL	2.0 μL	2.0 μL	
滅菌水	4.7 μL	4.7 μL	4.7 μL	
	20.0 μL	20.0 μL	20.0 μL	

表 3 PCR 反応条件

タッチダウンPCR		5サイクル	アニーリング温度をサイクル毎に1℃ずつ下げる
98℃	10 秒		
63℃ → (-1℃) → 59℃	30 秒		
72℃	1 分		
98℃	10 秒	30サイクル	
58℃	30 秒		
72℃	1 分		
72℃	10 分		

0.8 μM, Cyt *c* は各 0.4 μM, アニーリング温度は 58℃, 初回変性ステップは 0 分間, 最終伸長ステップは 10 分間でタッチダウン PCR とした。

PCR は, 表 1 のミトコンドリア DNA3 領域の DNA の増幅用プライマーを用いて表 2 の PCR 反応組成液を表 3 の PCR 反応条件で DNA を増幅した。

### 3) 調理及び人工胃液による影響

#### (1) 調理による影響

サバの味噌煮, トラフグの皮湯引き及びたらこ対照品のトラフグの刺身では, 3 領域全てで目的サイズの DNA 増幅が確認でき, 調理による影響は見られなかった。

しかし, サーモントラウトの塩焼きでは, 16S rRNA 領域でしか目的サイズの DNA 増幅が確認できず, 一部調理による影響が見られた。さらに, カレイの唐揚げとサンマの蒲焼缶詰では全ての領域で DNA 増幅が確認できず, 調理による影響が見られた。

#### (2) 人工胃液による影響

トラフグの刺身, トラフグの皮湯引き及びたらこでは, 3 時間後まで 3 領域全てで目的サイズの DNA 増幅が確認でき, 人工胃液による影響は見られなかった。

サバの味噌煮では, 3 領域全てで目的サイズの DNA 増幅が確認できたのは 1 時間後までで, 16S rRNA 領域では 1.5 時間後, Cyt *b* 領域では 3 時間後までで, 一部人工胃液による影響が見られた。

また, 4 時間後には全試料で固形物が確認できず, 試料が採取できなかった。

### 2. フグ試料での魚種鑑別結果

図 2 に示した方法で魚種鑑別を行った結果を表 6 に示す。トラフグとカラスでは, 3 領域全てで配列相同性が高く区別がつかなかった。それ以外のフグ試料では, 形態鑑別による結果と同じ魚種を鑑別した。

100倍希釈DNA抽出液

PCR 16S rRNA, Cyt *b*, Cyt *c* 領域のDNA増幅  
表1(DNAの増幅用プライマー), 表2~3参照

電気泳動 2%アガロース (前染色, TAE緩衝液), 100 V, 25分間  
PCR増幅反応液 20 μL + ゲルローディング緩衝液 4 μL  
12 μL/ウェル

目的サイズのバンドを切り出す  
16S rRNA領域: 約600 bp, Cyt *b*領域: 約500 bp,  
Cyt *c*領域: 約700 bp

アガロースゲルからのDNA抽出 FastGene Gel/PCR Extraction Kit

DNAの260 nmの吸光度測定とDNA濃度算出  
260 nmの吸光度の値1を50 ng/μL DNA

DNAの断片化と末端の蛍光標識化

BigDye™ Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit  
表1(シーケンシング用プライマー), 表4~5参照  
F-プライマーとR-プライマーの両方実施

DNAの精製 BigDye XTerminator™ Purification Kit

DNAシーケンサー ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer

BLAST解析

図 2 遺伝子を用いた魚種鑑別方法

表 4 シーケンシング用反応組成液

	容 量	備 考
Ready Reaction Mix(Sequencing RR-24)	1.0 μL	
5 × Sequencing Buffer	2.0 μL	
10 μM F- 又は R-プライマー	0.5 μL	
DNA溶液	※ μL	DNA 5~20 ng
滅菌水	up to 10.0 μL	
	10.0 μL	

表 5 シーケンシング用反応条件

96℃	1 分	25サイクル
96℃	10 秒	
50℃	5 秒	
60℃	4 分	

### 考 察

DNA を 30 分以内に抽出し, 精製せず, 夾雑物の多い DNA 抽出液から DNA を増幅するため, PCR 阻害物質の作用を抑制する PCR バッファーを用い, 増幅領域以外の非特異反応を抑制するタッチダウン PCR を採用する等により遺伝子を用いた魚種鑑別方法を確立した。

調理による影響は, 調理温度の高い揚げ物や加工度の高い缶詰に影響が見られ, 調理温度の比較的低い煮物や湯引き, 塩漬けでは影響が見られず, 3 領域全てで DNA の増幅が確認できた。食中毒事件時に搬入される調理温度や加工度の低い食品からの魚種鑑別が可能であることが示唆された。

また, 人工胃液による影響は, 食後 3 時間後までの吐物又は吐物中に魚と確認できるものがあれば, 魚種鑑別が可能であることが示唆された。

さらに, 魚種鑑別の際に, Cyt *b* 領域で DNA の増幅が確認できない試料は, 他の 2 領域の併行解析により鑑別を可能とした。部位では, 精巣及び卵巣で魚種鑑

別し易かった。

これにより以前にキノコ<sup>8)</sup>と今回の魚の遺伝子を用いた鑑別方法を確立したので、今後は植物の遺伝子を用いた鑑別方法の導入を検討する。

7) Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, *et al.* : *Bio Techniques*, 29, 52-54 (2000)

8) 安藤尚子, 仲井菜都希, 村上友規, 他 : 奈良県保健研究センター年報, 51, 37-40 (2016)

## 文 献

- 1) 環境衛生局長通知「フグの衛生確保について」, 環乳第 59 号, (昭和 58 年 12 月 2 日)
- 2) 医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室長通知「魚類乾製品等のフグ混入検査について」, 食安輸発第 0425005 号, (平成 20 年 4 月 25 日)
- 3) 医薬食品局食品安全部監視安全課輸入食品安全対策室長通知「輸入魚類加工品のフグ種鑑別検査法について」, 食安輸発 0906 第 1 号, (平成 23 年 9 月 6 日)
- 4) Steinke D, Hanner R : *Mitochondrial DNA*, 22(Suppl 1), 10-14 (2011)
- 5) 村上太郎, 昌山敦, 紀雅美, 他 : 食衛誌, 52, 348-353 (2011)
- 6) “第十七改正日本薬局方” 328 (2016), 告示第 64 号

表 6 フグ試料での魚種鑑別結果

番号	形態鑑別		遺伝子を用いた鑑別					部位	
	標準和名	学名	Accession No.	学名	塩基長	相 同 性			
						16S rRNA領域	Cyt b領域	Cyt c領域	
1	トラフグ	<i>Takifugu rubripes</i> *1	AP006045	<i>Takifugu rubripes</i>	16449 bp	569/570 99%	429/429 100%	681/683 99%	卵巣
			AP009534	<i>Takifugu chinensis</i>	16447 bp	570/570 100%	427/429 99%	681/683 99%	
2	カラス	<i>Takifugu chinensis</i> *1	AP009534	<i>Takifugu chinensis</i>	16447 bp	571/571 100%	434/436 99%	688/692 99%	卵巣
			AP006045	<i>Takifugu rubripes</i>	16449 bp	570/571 99%	435/436 99%	688/692 99%	
3	マフグ	<i>Takifugu porphyreus</i>	AP009529	<i>Takifugu porphyreus</i>	16447 bp	569/569 100%	435/435 100%	690/692 99%	卵巣
4	マフグ	<i>Takifugu porphyreus</i>	AP009529	<i>Takifugu porphyreus</i>	16447 bp	571/572 99%	434/436 99%	688/692 99%	卵巣
5	シマフグ	<i>Takifugu xanthopterus</i>	AP009533	<i>Takifugu xanthopterus</i>	16442 bp	569/569 100%	430/430 100%	689/692 99%	卵巣
6	ショウサイフグ	<i>Takifugu snyderi</i>	AP009531	<i>Takifugu snyderi</i>	16450 bp	567/567 100%	426/428 99%	688/692 99%	卵巣
7	ショウサイフグ	<i>Takifugu snyderi</i>	AP009531	<i>Takifugu snyderi</i>	16450 bp	573/573 100%	431/431 100%	689/692 99%	精巣
8	ナシフグ	<i>Takifugu vermicularis</i>	AP009532	<i>Takifugu vermicularis</i>	16443 bp	571/572 99%	431/435 99%	687/692 99%	卵巣
9	ナシフグ	<i>Takifugu vermicularis</i>	AP009532	<i>Takifugu vermicularis</i>	16443 bp	572/573 99%	431/435 99%	686/692 99%	卵巣
10	ヒガンフグ	<i>Takifugu pardalis</i>	AP009528	<i>Takifugu pardalis</i>	16463 bp	572/572 100%	433/435 99%	682/683 99%	卵巣
11	ヒガンフグ	<i>Takifugu pardalis</i>	AP009528	<i>Takifugu pardalis</i>	16463 bp	570/571 99%	428/428 100%	685/687 99%	精巣
12	ゴマフグ	<i>Takifugu stictonotus</i>	AP009530	<i>Takifugu stictonotus</i>	16451 bp	572/572 100%	427/428 99%	689/692 99%	卵巣
13	コモンフグ	<i>Takifugu poecilonotus</i>	AP009539	<i>Takifugu poecilonotus</i>	16448 bp	566/566 100%	433/433 100%	674/676 99%	卵巣
14	コモンフグ	<i>Takifugu poecilonotus</i>	AP009539	<i>Takifugu poecilonotus</i>	16448 bp	566/566 100%	436/436 100%	682/684 99%	卵巣
15	クロサバフグ	<i>Lagocephalus gloveri</i> *2	AB742032	<i>Lagocephalus gloveri</i>	569 bp	565/569 99%	*3		皮
			LC155437	<i>Lagocephalus gloveri</i>	636 bp			634/636 99%	
16	シロサバフグ	<i>Lagocephalus wheeleri</i>	AP009538	<i>Lagocephalus wheeleri</i>	16453 bp	570/570 100%	*3	686/692 99%	卵巣
17	シロサバフグ	<i>Lagocephalus wheeleri</i>	AP009538	<i>Lagocephalus wheeleri</i>	16453 bp	570/570 100%	*3	686/692 99%	卵巣
18	クロサバフグ	<i>Lagocephalus gloveri</i> *2	AB742032	<i>Lagocephalus gloveri</i>	569 bp	566/569 99%	*3		卵巣
			LC155437	<i>Lagocephalus gloveri</i>	636 bp			635/636 99%	
19	カナフグ	<i>Lagocephalus inermis</i> *2	AB742030	<i>Lagocephalus inermis</i>	570 bp	570/570 100%	*3		卵巣
			LC155441	<i>Lagocephalus inermis</i>	636 bp			636/636 100%	
20	ヨリトフグ	<i>Sphoeroides pachygaster</i>	AP006745	<i>Sphoeroides pachygaster</i>	16444 bp	570/570 100%	433/433 100%	690/695 99%	卵巣
21	ハコフグ	<i>Ostracion immaculatus</i>	AP009176	<i>Ostracion immaculatus</i>	16502 bp	570/570 100%	434/436 99%	687/690 99%	卵巣
22	ハコフグ	<i>Ostracion immaculatus</i>	AP009176	<i>Ostracion immaculatus</i>	16502 bp	573/573 100%	*3	687/689 99%	筋肉

\*1 : トラフグとカラスは, 16S rRNA, Cyt b 及び Cyt c 領域の 3 領域全てで, トラフグとカラスに 99%以上の相同性を示し, トラフグとカラスを区別できなかった。

\*2 : 国際塩基配列データベースの登録配列と比較した際, 16S rRNA, Cyt b 及び Cyt c 領域の 3 領域全ての塩基配列をもつ登録配列との相同性を確認できず, 16S rRNA 又は Cyt c 領域の塩基配列をもつ登録配列との 99%以上の相同性が確認できた。

\*3 : Cyt b 領域での DNA の増幅が確認できなかった。



## 第3章 調査研究・報告

### 第2節 報 告





## 奈良県内に流通する農産物中の残留農薬調査(2011～2018)

米田正樹・南浦茉奈・北岡洋平・樋上 絢・西山隆之・立本行江

### Investigation of Pesticide Residues in Agricultural Products in Nara Prefecture (2011～2018)

Masaki YONEDA・Mana MINAMIURA・Yohei KITAOKA・Aya HIGAMI・Takayuki NISHIYAMA  
and Yukie TATSUMOTO

#### 緒言

2006年5月29日に食品衛生法が改正され、農薬等のポジティブリスト制度が施行された。従来の農薬の基準値以外に、それまで規制がなかった農薬と食品の組合せにおいても、0.01 ppm の一律基準、あるいは暫定基準が設定された。そのため、この制度に対応すべくほぼ毎年農薬検査項目の見直しを実施してきたが、一律基準等の設定により、食品衛生法違反事例の増加が懸念されている。奈良県ではポジティブリスト制度施行に備えて、制度の施行前の1998年度から2005年度までの8年間について収去検査結果を集計した<sup>1)</sup>。また、施行後の2006年度から2010年度までの5年間および2011年度から2013年度までの3年間の収去検査結果を集計し、それぞれ検出頻度の高い農薬、農薬検出率の高い農産物および違反事例について集計し報告した<sup>2),3)</sup>。今回、前回の3年間の報告内容と2014年度から2018年度までの5年間の収去検査結果を併せ、8年間の収去検査結果について同様に集計したので報告する。

#### 方法

##### 1. 使用データ

2011年4月から2019年3月までの8年間に奈良県内で収去され当センターで残留農薬検査を実施した農産物1,626検体(国産品1,584, 輸入品42)の検査結果を集計した。

##### 2. 検査対象農薬

農産物については、ポジティブリスト施行後、原則的に毎年116項目の農薬を検査しているが、搬入される農産物の変化に対応するため適宜検査項目の入れ替えを行っている。今回の調査期間の8年間の検査では、のべ200項目の農薬を測定した。200項目の内訳を用途別に表1に示した。

#### 結果および考察

##### 1. 残留農薬の検出率

2011年度から2018年度までの8年間に収去された農産物1,626検体のうち、検査対象農薬が検出された検体の検出率を表2に示した。調査の結果、357検体(22.0%)から検査対象農薬が検出した。このうち、国内産では1,584検体中、340検体(21.5%)、輸入品では42検体中17検体(40.5%)の検出率であった。農産物の分類別では輸入果実類の検出率が最も高く、52.2%で

表1 検査対象農薬

用途	農薬名	項目数
殺虫剤	EPN, イサゾホス, イソキサチオン, イソフェンホス, エディフェンホス, エトキサゾール, エトフェンブロックス, エトプロホス, エトリムホス, カズサホス, カルバリル, キナルホス, クロマフェノジド, クロルピリホス, クロルピリホスメチル, クロルフェナビル, クロルフェンビンホス(a,b), クロルベンジレート, シアノホス, ジクロフェンチオン, シハロトリン, シペルメトリン, ジメチルビンホス, ダイアジノン, チアクロプリド, チオメトン, テトラクロルビンホス, テトラジホス, テブフェンピラド, テルブホス, トリアゾホス, トルフェンピラド, パラチオン, パラチオンメチル, ピフェントリン, ビラクロホス, ビリダフェンチオン, ビリダベン, ビリプロキシフェン, ビリミカーブ, ビリミホスメチル, フェナミホス, フェニトチオン, フェノチオカルブ, フェノトリン, フェンクロルホス, フェンスルホチオン, フェンチオン, フェントエート, フェンバレレート, フェンプロバトリン, プロブフェジン, フルアクリピリム, プロチオホス, プロバホス, プロモプロピレート, プロモホス, プロモホスエチル, ベルメトリン, ペンダイオカルブ, ホキシム, ホサロン, ホスチアゼート, ホスファミドシ, ホレート, マラチオン, メチダチオン, メトキシクロール, メトキシフェノジド, モノクロトホス	70
殺菌剤	アザコナゾール, アゾキシストロビン, イソプロチオラン, イソバリカルブ, イプロベンホス, オキサジキシル, キノキシフェン, キントゼン, クレソキシムメチル, ジェトフェンカルブ, ジクロシメット, ジクロラン, ジニコナゾール, ジフェノコナゾール, シフルフェナミド, シプロジニル, シメコナゾール, チフルザミド, テクナゼン, テトラコナゾール, テブコナゾール, トリアジメノール, トリアジメホス, トリフロキシストロビン, トルクロホスメチル, ニトロタールイソプロピル, ビテルタノール, ビラゾホス, ビリフェノックス(E,Z), ビリメタニル, ビロキロン, ビンクロゾリン, フェナリモル, フェンアミドシ, フェンプロコナゾール, フェンプロビモル, プビリメート, フラメトビル, フルキンコナゾール, フルシラゾール, フルトラニル, フルトリアホール, プロシミドシ, プロビコナゾール, ヘキサコナゾール, ベナラキシル, ペンコナゾール, ペンシクロン, ミクロブタニル, メブロニル	50
除草剤	アセトクロール, アトラジン, アニロホス, アメトリン, アラクロール, インダノファン, エスプロカルブ, エタルフルラリン, エトフメセート, オキサジアゾン, オキシフルオルフェン, カフェンストロール, カルフェントラゾンエチル, クミルロン, クロマゾン, クロリダゾン, クロルタルジメチル, クロルプロファミン, クロロクシロン, シアナジン, ジウロン, ジクロホップメチル, ジチオビル, シンドンエチル, シハロホップブチル, ジフェナミド, シマジン, ジメタメトリン, ジメチベン, ジメチナミド, シメトリン, ジメビレート, ターパシル, ダイムロン, チオベンカルブ, テニルクロール, テルブトリン, トリアレート, トリフルラリン, ナプロバミド, ノルフルラジン, ビコリナフェン, ビペロホス, ビラフルフェンエチル, ビリブチカルブ, ビリミノバックメチル, プタクロール, プタフェナシル, プタミホス, フラムプロップメチル, フルフェナセート, フルミオキサジン, フルミクロラックペンチル, フルリドン, プレチラクロール, プロパクロール, プロバジン, プロバニル, プロビザミド, プロメトリン, プロモブチド, ヘキサジノン, オキサジメタリン, ペンティメタリン, ペンチキサゾン, ペンフルラリン, ペンフレセート, メタベンズアズロン, メフェナセート, モノリニユロン, リニユロン, レナシル	71
その他	イソプロカルブ, ウニコナゾールP, クロキントセットメキシル, クロルプロファミン, バクロブトラゾール, ビペロニルプロキシド, フルシトリネート, メフェンビルジェチル, メビンホス	9
計		200

あった。次いで、国産果実類が47.4%と続いた。国産野菜類と輸入野菜類の検出率は、それぞれ、13.3%、26.3%であった。

全体の検出率をポジティブリスト制度施行前と比較すると、1998年度から2005年度の調査では16.6%であったことから、今回の2011年度から2018年度の調査結果から5.4%の上昇が見られた。中でも、輸入果実類での検出率が15.6%から52.2%と大きく上昇したことが確認された。2006年度から2010年度の調査結果と比較すると、全体の検出率は今回の調査では4.1%上昇した。中でも、国産果実類での検出率が26.1%から47.4%、また輸入野菜類が4.4%から26.3%に上昇した。一方、輸入果実類では65.4%から52.2%に13.2%検出率が下がった。

総検体数に占める輸入農産物の割合が2006年度から2010年度の調査から大きく減少しているため単純な比較はできないが、輸入果実類からの検出率は2006年度から2010年度の調査結果と同様に最も高い検出率となっていることから、今後も注意していく必要があると考えられた。

表2 検体数と農薬検出検体数および検出率

農産物内訳	調査年度				
	2011～2018		2006～2010		1998～2005
	検体数	検出数	検出率(%)	検出率(%)	検出率(%)
国産 野菜類	1,206	161	13.3	10.8	9.2
果実類	378	179	47.4	26.1	36.0
総数	1,584	340	21.5	16.5	16.5
輸入 野菜類	19	5	26.3	4.4	14.0
果実類	23	12	52.2	65.4	15.6
総数	42	17	40.5	26.8	16.8
計	1,626	357	22.0	17.9	16.6

次に、検査項目数と検出項目数および検出率を表3に示した。全検査項目数188,616項目のうち総検出項目数は507項目で検出率は農薬全体で0.27%、うち国産品は0.26%、輸入品は0.43%であった。農産物の分類別では、国産果実類が最も高く0.65%であった。ポジティブリスト施行前の1998年度から2005年度の調査と比較すると、輸入果実類の検出率が0.28%から0.45%に上昇したものの、全体の項目の検出率は0.33%から0.27%に減少した。全体的な項目の検出率の減少は、測定農薬数が増加したために検出されない項目数の割合が上昇したためであると考えられる。ポジティブリスト施行後の2006年度から2010年度の調査と比較すると、国産果実類、輸入野菜類で項目の検出率がそれぞれ0.29%、0.34%上昇し、全体では0.22%から0.27%に上昇した。

今後、農家ででの使用農薬の種類が増加する可能性も

あることから、今後は項目の入れ替えだけでなく、前処理法の改良や、高性能の測定機器への更新により、検査対応可能な農薬を増加し、常時検査する検査項目数を見直し、残留農薬の検査態勢の充実を図ることで、県民の食の安全・安心に貢献することが重要である。

表3 検査項目数と農薬検出項目数および検出率

農産物内訳	調査年度				
	2011～2018		2006～2010		1998～2005
	検査項目数	検出項目数	検出率(%)	検出率(%)	検出率(%)
国産 野菜類	139,896	199	0.14	0.12	0.15
果実類	43,848	287	0.65	0.36	0.71
総数	183,744	486	0.26	0.22	0.33
輸入 野菜類	2,204	9	0.41	0.07	0.57
果実類	2,668	12	0.45	0.66	0.28
総数	4,872	21	0.43	0.30	0.54
計	188,616	507	0.27	0.22	0.33

## 2. 検出農薬の内訳

検出農薬と農薬が検出された作物名および作物毎の内訳を表4に示した。検査対象農薬200項目のうち、今回の8年間で検出されたのは殺虫剤70種のうち26種(37.1%)、殺菌剤50種のうち18種(36.0%)、除草剤71種のうち2種(2.8%)、全体では200種のうち46種(23.0%)で、前回調査の17.0%から6.0%上昇した。検出された農薬のうち、殺虫剤ではエトキサゾール、エトフェンプロックス、クロマフェノジド、チアクロプリド、ピフェントリン、ピリダベン、ピリミホスメチル、ピリプロキシフェン、ブプロフェジンおよびホスチアゼートの10種、殺菌剤ではアズキシストロビン、シフルフェナミド、シプロジニル、シメコナゾール、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリフロキシストロビン、ピリメタニルおよびフルトラニルの9種、除草剤のトリフルラリンおよびペンディメタリンの2種の計21種の農薬が1998年度から2010年度の調査では検出されておらず、今回の調査期間で初めて検出された。また検出農薬ののべ項目数は、1998年度から2005年度の調査では8年間で114項目(仮に単純に年平均すると約14項目)、2006年度から2010年度の調査が5年間で118項目(年平均約24項目)であったが、今回の調査では8年間で504項目(年平均約64項目)であった。

各農薬の検出総数を農薬用途別に見ると、殺虫剤では、クロルフェナピルが38検体から検出され最も多く、以下、トルフェンピラド21検体、エトフェンプロックス16検体、ホスチアゼート12検体、シペルメトリン、フェンプロパトリン、メチダチオンが各10検体と続いた。殺菌剤では、ジフェノコナゾールが61検体と最も多く、以下、クレソキシムメチル56検体、プロシミドン52検体、アズキシストロビン43検体、ミクロブタニル35検体、ビテルタノール13検体、シ

表4 検出農薬と検出作物

用途	検出農薬	野菜類		作物名(検出数)	果実類		作物名(検出数)	
		検出総数	国産 輸入		国産 輸入			
殺虫剤	EPN	2	2	ねぎ(2)				
	エトキサゾール※	5	1	なす(1)	4	4	苺(4)	
	エトフェンプロックス※	16	16	なす(4)、いんげんまめ(3)、えだまめ(2)、大根の根(2)、きゅうり(2) オクラ(1)、白菜(1)、やまとまな(1)				
	クロマフェノジド※	1	1	なす(1)				
	クロルピリホス	6	1	大根の根(1)	5	5	バナナ(3)、レモン(1)、オレンジ(1)	
	クロルフェナピル	38	27	1	なす(12)、トマト(3)、チンゲン菜(3)、キャベツ(2)、きゅうり(2) パプリカ(1)、ふき(1)、白菜(1)、えんさい(1)、かぼちゃ(1)、オクラ(1)	10	10	いちじく(5)、ぶどう(2)、かき(2)、なし(1)
	シハロトリン	1			1	1	かき(1)	
	シベルメトリン	10	5	1	ねぎ(2)、ほうれんそう(2)、にんにくの芽(1)、水菜(1)	4	4	かき(3)、なし(1)
	ダイアジノン	6	3		ごぼう(2)、大根の葉(1)	3	3	なし(2)、ぶどう(1)
	チアクロプリド※	3			3	3	苺(3)	
	テブフェンピラド	6	2	1	なす(2)、パプリカ(1)	3	3	苺(2)、かき(1)
	トルフェンピラド	21	18		なす(9)、ねぎ(4)、白菜(2)、えんさい(1)、えんどうまめ(1)、トマト(1)	3	3	清見(1)、セミノール(1)、はっさく(1)
	ピフエントリン※	5			5	5	なし(5)	
	ピリダベン※	7	7		トマト(3)、ふき(1)、ししとう(1)、ピーマン(1)、きゅうり(1)			
	ピリミホスメチル※	1	1		パプリカ(1)			
	ピリプロキシフェン※	3			3	3	オレンジ(3)	
	フェニトロチオン	3	2		えだまめ(1)、モロヘイヤ(1)	1	1	うめ(1)
	フェントエート	1	1		ねぎ(1)			
	フェンシバレート	7	6		白菜(3)、レタス(1)、キャベツ(1)、なす(1)	1	1	かき(1)
	フェンプロバトリン	10	2		なす(2)	7	7	かき(5)、オレンジ(1)、清見(1)、セミノール(1)
ジフェノジン※	7	2		トマト(2)	5	5	かき(5)、うめ(1)	
プロチオホス	6			6	6	かき(5)、うめ(1)		
ベルメトリン	8	7		オクラ(3)、ねぎ(1)、なす(1)、小松菜(1)、ほうれんそう(1)	1	1	ぶどう(1)	
ホスチアゼート※	12	11		大根の根(6)、にんじん(2)、ピーマン(1)、小松菜(1)、ししとう(1)	1	1	苺(1)	
マラチオン	2	2		えだまめ(1)、ねぎ(1)				
メチダチオン	10		3		7	7	うめ(4)、はっさく(2)、清見(2)、セミノール(1)、グレープフルーツ(1)	
小計	197	116	7		小計	65	9	
殺菌剤	アゾキシストロビン※	43	26	1	トマト(6)、ねぎ(6)、きゅうり(4)、なす(3)、いんげんまめ(3) 小松菜(2)、オクラ(1)、ピーマン(1)、モロヘイヤ(1)	15	1	苺(9)、ぶどう(3)、いちじく(2)、なし(1)、レモン(1)
	オキサジキシル	2	2		きく菜(1)、チンゲン菜(1)			
	クレソキシムメチル	56	9		なす(4)、ねぎ(2)、とうがらし(1)、えんどうまめ(1)	47	47	苺(23)、うめ(14)、なし(8)、かき(2)
	ジエトフェンカルブ	4	4		トマト(3)、きゅうり(1)			
	ジフェノコナゾール	61	1		トマト(1)	60	60	かき(48)、うめ(11)、なし(1)
	シフルフェナミド※	8	3		なす(3)	5	5	苺(5)
	シプロジニル※	1			1	1	なし(1)	
	シメコナゾール※	12			12	12	苺(12)	
	テトラコナゾール※	4	1		かぼちゃ(1)	3	3	苺(1)、ぶどう(1)、かき(1)
	テブコナゾール※	2			2	2	うめ(2)	
	トリアジメニール	1	1		いんげんまめ(1)			
	トリプロキシストロビン※	1	1		きゅうり(1)			
	ビテルタノール	13			13	13	苺、うめ(12)	
	ピリメタニル※	1			1	1	オレンジ(1)	
	フェナリモル	8	1		なす(1)	7	7	苺(7)
	フルトラニル※	1	1		さといも(1)			
	プロシミドン	52	21	1	トマト(6)、きゅうり(4)、ピーマン(3)、なす(3)、キャベツ(3) いんげんまめ(1)、ばいりょう(1)、パプリカ(1)	30	30	苺(28)、メロン(2)
	ミクロブタニル	35	11		なす(4)、ねぎ(2)、ピーマン(2)、ふき(1)、ししとう(1)、みずな(1)	24	24	苺(24)
	小計	305	82	2		小計	219	2
	除草剤	トリフルラリン※	1	1		小松菜(1)		
ペンディメタリン※		1	1		ねぎ(1)			
小計		2	2	0		小計	0	0
合計	504	200	9		小計	284	11	

※今回の調査で初めて検出された項目

メコナゾール 12 検体と続いた。その他、除草剤のトリフルラリンおよびペンディメタリンは各 1 検体から検出された。

検出農薬と作物の組合せを農薬用途別に見ると、殺虫剤は、なすからクロルフェナピルが 12 検体検出されたのが最も多かった。殺菌剤は、かきからジフェノコナゾールが 48 検体検出されたのが最も多く、以下、苺からプロシミドンが 28 検体、ミクロブタニルが 24 検体、クレソキシムメチルが 23 検体、うめからクレソキシムメチルが 14 検体、苺からシメコナゾール、うめからビテルタノールが各 12 検体、うめからジフェノコナゾールが 11 検体と続いた。また、除草剤はトリフルラリンが小松菜から、ペンディメタリンがねぎから各 1 検体検出された。

作物毎の検査数が一律ではないので一概にはいえないが、かきのジフェノコナゾールなど、果実類では使用頻度が高いと考えられる組合せが確認された。今後、集計結果を検査項目の選定の参考とし、検出率の向上を図りたい。

### 3. 残留基準値を超過した事例

検出農薬のうち、食品衛生法の残留基準値を超過した事例を表 5 に示した。調査期間の 8 年間に、3 検体のべ 3 項目で基準値を超過する違反が発生した。違反

は全て一律基準である 0.01 ppm を超過した事例であった。基準値を超過した検体は全て国産であり、殺虫剤 2 種、殺菌剤 1 種が基準値を超過する事例であった。総検体数に対する基準値を超過した検体数の割合(違反率)は 1,626 検体中 3 検体で 0.18%であった。

ポジティブリスト制度施行前の 1998 年度から 2005 年度の 8 年間の調査での違反率が 0.2%、2006 年度から 2010 年度の制度施行後 5 年間の調査では 1.0%であったことから、ポジティブリスト施行により違反率が一旦上昇したが、時間が経過し、制度の理解が深まったことから違反率が低下したと考えられた。一律基準の超過は、本来残留しないはずの農薬が残留していることを意味しており、違反を防ぐためには農薬の適正な使用、管理が必要不可欠であると考えられる。

表 5 残留基準値を超過した事例

検査年度	作物	産地	検出項目	検出値(ppm)	基準値(ppm)
2013	さといも	国産	フルトラニル	0.06	0.01
2016	うめ	国産	プロチオホス	0.03	0.01
2017	えんさい	国産	トルフェンピラド	0.10	0.01

今後は、以上の結果をもとに、他府県で実施されている残留農薬の検査結果も参考にしながら検査項目の増加、見直しを行い、残留農薬検査の有効性を高めるよう努めたい。また、定期的に収去検査の結果を集計することで、残留農薬検査の項目選定の一助としたい。

## まとめ

2011年度から2018年度の奈良県内に流通する農産物中の残留農薬検査結果を集計したところ、以下のことが明らかとなった。

1. 検査検体の22.0%から農薬を検出した。
2. 2006年度から2010年度の調査より農薬の検出率が4.1%上昇した。
3. 検出農薬は46種で、うち21種は今回の調査期間で初めて検出した。
4. 残留基準値の超過事例は3事例あったが、違反率はポジティブリスト制度施行前の水準まで低下した。

## 文献

- 1) 伊吹幸代, 植田直隆, 宇野正清: 奈良県保健環境研究センター年報, 40, 77-81(2005)
- 2) 山下浩一: 奈良県保健環境研究センター年報, 46, 58-61(2010)
- 3) 山下浩一, 西山隆之, 北岡洋平, 山本雄也, 陰地義樹, 岡山明子: 奈良県保健研究センター年報, 49, 35-37(2013)



## 加工食品中に高濃度に含まれる農薬等の分析法の検討

樋上 絢・米田正樹・南浦茉奈・北岡洋平・立本行江

## Examination of Analysis of Organophosphorus Pesticides in Processed Foods

Aya HIGAMI・Masaki YONEDA・Mana MINAMIURA・  
Yohei KITAOKA and Yukie TATSUMOTO

## 緒言

平成20年1月に問題となった有機リン系農薬の冷凍餃子への混入事件以降、当センターでは輸入冷凍食品を対象に有機リン系農薬46項目の検査を実施しているが、検査には老朽化したGC-FPDを使用しているため、今後の故障が懸念されている。

そこで今回、検査項目の見直しも目的として、平成25年3月26日付け医薬食品局食品安全部基準審査課事務連絡を参考に、GC-MS/MSを用いた分析法を検討したので報告する。

## 方法

## 1. 試料

これまでの検査実績を考慮し、添加回収試験の試料は冷凍焼き鳥、冷凍餃子および冷凍フライドポテトの3種類とした。

試料はフードプロセッサであらかじめ均一化し、凍結保存した。また、試料は評価対象とする農薬が検出されないことを事前に確認したものを使用した。

## 2. 試薬等

## 1) 標準品

残留農薬試験用パラチオン（富士フィルム和光純薬工業製）、残留農薬試験用パラチオンメチル（富士フィルム和光純薬工業製）、残留農薬試験用ホスファミドン（富士フィルム和光純薬工業製）、有機りん農薬混合標準液FA-1, 2および3（富士フィルム和光純薬工業製）を使用し、計60種の農薬を対象とした。

## 2) 標準溶液

農薬混合標準溶液は1 µg/mLの濃度になるようアセトンで希釈混合し、適宜希釈して使用した。パラチオン、パラチオンメチルおよびホスファミドンはアセトンで1 mg/mL溶液を調製後、適宜希釈して使用した。

## 3) その他試薬

酢酸エチル、n-ヘキサン、トルエン、アセトニトリルおよびアセトンは全て富士フィルム和光純薬工業製

残留農薬分析用を、無水硫酸マグネシウムは富士フィルム和光純薬工業製特級を使用した。

精製用ミニカラムはSUPELCO社製ENVI-Carb（250 mg, 6 mL）を使用した。ミニカラムは使用前にアセトン/n-ヘキサン混液（1:1）5 mLを通過させた。なお精製用ミニカラムでの通液は、全て自然落下で行った。

## 3. 器具および機器

50 mLポリプロピレン製遠沈管は日本ジェネティクス製を、フードプロセッサは東芝（株）製CQM-T1を、高速ホモジナイザーはKINEMATICA製Polytron PT-10-35 GTを、遠心分離機は日立工機（株）製Himac CR 22Gを、ロータリーエバポレーターはヤマト科学（株）製RE801を使用した。GC-MS/MSはAgilent社製7000Bを使用した。

## 4. 試験溶液の調製

試験溶液の調製方法を図に示した。試料5.00 gを50 mLポリプロピレン製遠沈管に量り採り、これに酢酸エチル25 mLおよび無水硫酸ナトリウム20 gを加え、ポリトロンで1分間ホモジナイズした後、3分間振とうし、室温で3,500 rpm、5分間遠心分離し、分離後の上層の酢酸エチル層を採取した。残留物に酢酸エチル20 mLを加え、同様に振とう後、遠心分離し、酢酸エチル層を採取した。先の酢酸エチル層と合わせ、酢酸エチルで正確に50 mLに定容し抽出液とした。

抽出液5 mLを採り、窒素気流下で乾固後、残留物にアセトニトリル4 mL及びアセトニトリル飽和n-ヘキサン2 mLを加えて3分間振とうした後、室温で3,500 rpm、5分間遠心分離し、上層のn-ヘキサン層を除去した。下層のアセトニトリル層を窒素気流下乾固後、残留物にアセトン/n-ヘキサン混液（1:1）2 mLを加えて溶解液とした。

コンディショニング済みのENVI-Carb（250 mg, 6 mL）に溶解液を全量注入し、4 mLのアセトン/n-ヘキサン混液（1:1）で溶出した。溶解液を全量注

入した際の通過液と溶出液は、メスアップ用試験管に回収し、40℃以下の窒素気流下で2 mL以下に濃縮し、アセトン/n-ヘキサン混液 (1:1) で2 mLに定容した。

この溶液 1 mL に 1 vol% ポリエチレングリコール含有アセトン溶液 50 μL を加え、アセトン/n-ヘキサン混液 (1:1) を用いて 2.5 mL に定容したものを試験溶液とし、GC-MS/MS で測定した。

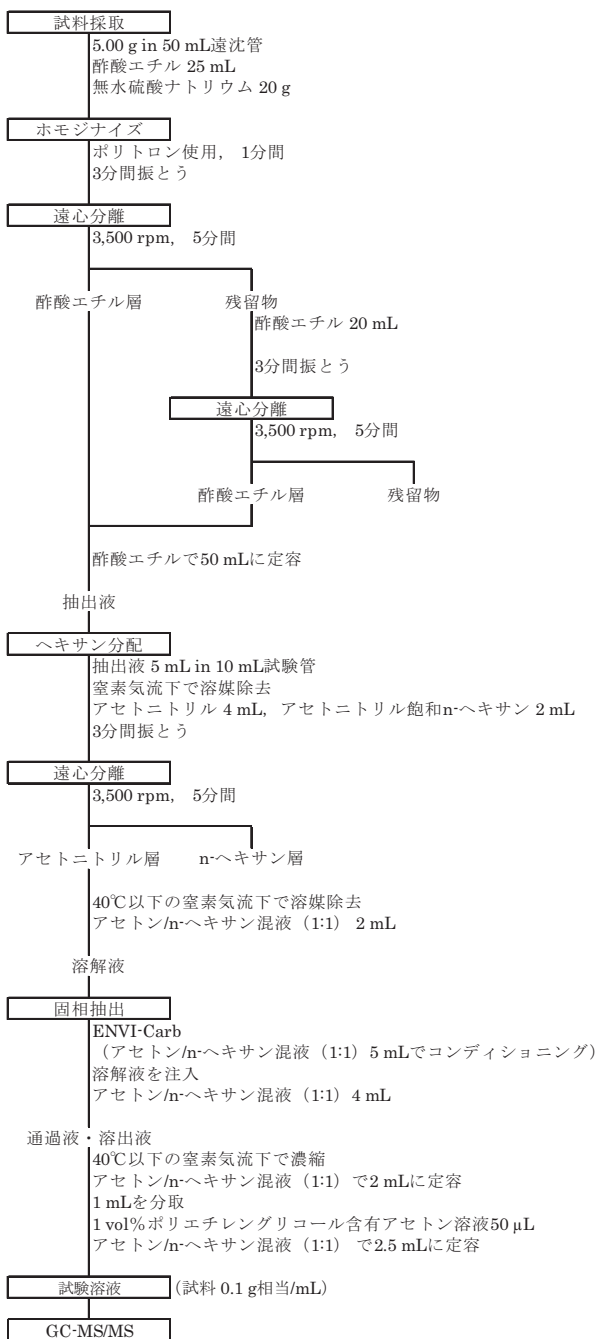


図 フローシート

## 5. 測定条件

GC条件を表1に、MS/MS条件を表2に示した。

表1 GC条件

カラム	DB-5MS 30 m × 250 μm × 0.25 μm
オープン温度	50℃(1 min)・ 25℃/min ・ 125℃・ 10℃/min ・ 300℃(5 min)・ 20℃/min ・ 310℃(10 min)
注入口温度	250℃
キャリアーガス	He
イオン化モード (電圧)	EI (70 eV)
注入モード	Splitless, 2 μL
インターフェース温度	280℃
四重極温度	150℃
流量	1.0 mL/min Constant Flow

## 6. 検量線

各農薬濃度がそれぞれ5, 10, 20, 50, 100 ppbになるように標準溶液を0.02 vol%ポリエチレングリコール含有アセトン/n-ヘキサン混液 (1:1) で適宜希釈し、検量線用標準溶液とした。定量は絶対検量線法で行った。

## 結果

### 1. 検量線とクロマトグラム

標準溶液 5 ppb から 100 ppb の範囲で良好な直線性 ( $R^2 \geq 0.999$ ) が得られた。

### 2. 添加回収試験

試行数 3, 添加濃度 0.1 mg/kg で実施した結果を表 2 に示した。

## 考察

今回検討した方法では、ジクロロボス、ホルモチオン、ホスメットおよびホサロンの 4 物質を除いた 56 項目が 3 食品全てにおいて事務連絡で示されている性能評価の選択性 (標準溶液を添加しない試料において妨害ピークが検出されないこと)、回収率 (50%~200%), 併行精度 (RSD% < 30) を満たした。今後、GC-FPD で農薬の検出があった場合の確認手段として使用できると考えられた。

## 文献

- 1) 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)

表2 MS/MS 条件および添加回収試験結果

農薬	R.T.	プリカーサ イオン	プロダクト イオン	CE	焼き鳥		餃子		フライドポテト	
					回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)	回収率(%)	RSD(%)
EPN	19.0	169	141	2	123.2	5.7	123.4	9.2	100.7	4.5
アジンホスエチル	20.3	132	104	4	110.0	5.1	115.4	9.7	93.9	3.2
アジンホスメチル	19.7	160	132	2	175.3	8.4	194.3	10.6	143.6	6.3
アセフェート	8.8	136	42	6	180.3	2.4	155.5	7.5	144.9	8.6
イソキサチオン	16.9	177	130	4	119.1	7.3	122.6	9.4	104.4	5.7
イソフェンホス	15.4	213	121	14	84.4	5.2	93.3	9.0	79.4	3.9
イプロベンホス	13.2	204	91	6	97.1	4.3	102.4	10.5	92.2	4.9
エチオン	17.3	231	129	20	140.5	5.8	143.0	9.7	121.6	7.9
エディフェンホス	17.9	173	109	8	113.4	5.9	125.3	7.7	101.9	5.7
エトプロホス	11.1	158	97	14	90.1	1.9	99.6	11.4	81.1	7.3
エトリムホス	13.0	292	181	4	83.4	3.5	89.3	10.1	76.7	3.5
オメトエート	10.6	156	110	4	148.9	2.4	150.3	6.7	141.3	9.2
カズサホス	11.6	158	97	14	89.8	2.3	99.3	11.0	80.2	7.6
キナルホス	15.6	146	118	10	89.5	5.8	94.5	8.6	82.9	3.4
クマホス	20.9	362	109	14	79.8	6.1	111.9	8.0	59.2	18.0
クロルピリホス	14.6	314	258	14	103.1	4.4	101.0	10.7	87.0	6.4
クロルピリホスメチル	13.7	286	93	20	88.5	3.8	97.6	10.9	82.0	3.7
クロルフェンビンホス (α)	15.2	323	267	14	130.5	4.5	135.0	9.6	118.3	8.3
クロルフェンビンホス (β)	15.5	323	267	14	84.0	6.0	89.9	8.7	79.4	2.5
シアノフェンホス	17.9	303	141	14	94.0	6.8	95.1	11.5	72.8	6.3
シアノホス	12.6	243	109	8	81.2	2.7	91.9	9.2	78.4	2.8
ジオキサベンゾホス	11.5	216	201	8	84.1	1.7	92.8	11.0	75.6	3.2
ジクロフェンチオン	13.6	279	223	14	79.4	3.3	86.5	10.2	74.4	4.0
ジクロルボス	6.8	185	93	10	32.4	29.6	55.7	20.8	35.5	41.6
ジスルホトン	12.6	88	60	4	73.5	20.8	119.2	15.5	187.6	6.3
ジメチルビンホス (E)	14.4	295	109	14	130.6	4.2	131.1	9.3	110.8	6.5
ジメチルビンホス (Z)	14.6	295	109	14	132.6	5.5	129.9	9.3	113.9	6.7
ジメトエート	12.6	125	47	14	95.3	1.3	99.2	10.3	85.7	4.9
スルプロホス	17.7	322	156	8	167.5	7.1	156.9	8.6	139.8	3.2
ダイアジノン	12.7	304	179	8	76.7	2.9	82.2	10.6	71.6	3.4
チオメトン	12.0	88	60	2	89.1	15.0	127.4	13.4	166.2	7.7
テルブホス	12.6	231	129	20	68.9	1.8	83.0	8.0	80.8	1.8
トルクロホスメチル	13.8	265	250	14	86.7	2.6	93.1	11.1	80.2	3.7
バミドチオン	15.4	145	87	6	127.0	8.0	117.3	10.2	126.0	8.0
バラチオン	14.8	291	109	10	130.4	3.2	127.7	10.2	108.6	6.1
バラチオンメチル	13.8	263	109	10	102.7	3.5	109.6	9.3	93.6	5.8
ピラクロホス	20.4	360	194	8	162.2	7.0	184.4	10.9	132.8	5.0
ピリダフェンチオン	18.8	340	199	2	132.4	5.1	125.3	8.5	107.5	4.1
ピリミホスメチル	14.2	290	125	20	111.5	4.1	107.3	10.6	87.0	6.9
フェナミホス	16.2	154	139	10	148.8	5.5	145.4	6.4	150.6	1.3
フェントロチオン	14.3	277	260	2	128.4	3.2	123.5	9.1	97.0	5.5
フェンスルホチオン	17.2	293	97	20	163.1	6.6	161.0	10.3	136.1	8.3
フェンチオン	14.7	278	109	20	114.2	4.8	118.4	8.3	114.0	2.8
フェントエート	15.6	274	121	8	93.2	3.7	98.3	9.4	85.1	3.7
ブタミホス	16.2	286	202	14	138.1	5.5	133.6	11.4	116.7	5.2
プロチオホス	16.4	267	239	8	94.6	5.6	97.9	9.0	83.6	6.3
プロパホス	15.9	304	220	14	104.9	5.8	113.3	7.0	116.1	2.4
プロフェノホス	16.5	339	269	14	136.9	6.3	136.6	10.0	122.8	3.9
プロモホスエチル	15.9	359	303	14	75.2	5.8	80.8	8.1	69.0	3.9
ホサロン	19.6	182	111	14	297.7	5.0	328.6	9.2	229.1	7.4
ホスチアゼート I, II	15.1	195	103	2	143.6	4.1	145.0	9.7	127.4	7.9
ホスファミドン I	12.7	264	127	14	97.9	3.5	97.6	8.3	97.2	11.1
ホスファミドン II	13.5	264	127	14	108.1	2.1	120.1	5.5	107.4	6.9
ホスメット	18.9	160	77	24	1060.1	5.1	1187.8	7.6	933.9	5.1
ホルモチオン	13.5	170	93	2	752.6	7.9	914.5	7.3	900.0	5.9
ホレート	11.7	260	75	2	86.9	1.5	102.3	9.8	93.3	4.3
マラチオン	14.4	173	99	14	190.1	4.4	168.8	10.6	143.3	5.7
メタミドホス	6.7	141	95	6	86.4	3.4	78.6	6.9	81.8	10.0
メチダチオン	15.9	145	85	2	103.9	4.9	108.8	10.5	90.7	4.6
モノクロトホス	11.6	127	95	14	122.7	3.2	127.8	8.2	109.0	9.9

(評価濃度 (0.1 mg/kg) , n=3)



## 奈良県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の遺伝子検出状況（2017-2018年）

吉田孝子・森村実加・田邊純子・内田美枝

Detection of the Antimicrobial-Resistant Genes in Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolated in Nara Prefecture : 2017-2018

Takako YOSHIDA・Mika MORIMURA・Sumiko TANABE and Yoshie UCHIDA

## 緒言

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: CRE）はメロペネムなどのカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌の総称である。カルバペネム系薬剤は、グラム陰性菌による重篤な感染症の治療において、最も重要な抗菌薬であり、耐性菌の出現は医療上の大きな問題となっている。

近年、世界規模でのCREの増加が懸念されており、日本でも、海外からの輸入事例の早期探知、国内での感染拡大防止を目的として、2014年9月19日から感染症法の五類全数把握対象疾患に指定された。当センターでは、2015年4月から2017年3月までの間、協力医療機関より菌株を収集し、カルバペネマーゼ遺伝子検査を実施した。結果については既報により報告<sup>1,2)</sup>した。2017年3月、厚生労働省通知<sup>3)</sup>により、CRE感染症として届出のあった菌株は地方衛生研究所で試験検査を実施するように明記された。そのため、県内全医療機関において、患者から分離された菌株は保健所等の協力により、当センターに搬入され、β-ラクタマーゼ産生性及びβ-ラクタマーゼ遺伝子の検査を実施している。

今回、2017年4月から2018年12月に、奈良県で届出されたCRE感染症の菌株について、検査を実施したので結果をまとめて報告する。

## 方法

## 1. 材料

2017年4月から2018年12月までの間に、奈良県内の医療機関においてCRE感染症として届出され、当センターに搬入された61株について、検査を実施した。なお、患者情報、菌種等は発生届に基づく。

## 2. ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性確認試験

メタロ-β-ラクタマーゼ産生性確認試験として、ミューラーヒントン寒天培地上に、メロペネム (MEPM)

とセフトジジム (CAZ) のセンシディスク (日本BD) と、メタロ-β-ラクタマーゼ活性阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム (SMA) ディスク (栄研化学) を配置した。ディスク拡散法 (double disk synergy test (DDST)) により、いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円径の拡張を確認した場合を陽性と判定した<sup>4)</sup>。

また、KPC型カルバペネマーゼ産生性確認試験として、MEPMとイミペネム (IPM) のセンシディスク及びKPC型カルバペネマーゼ活性阻害剤である3-アミノフェニルボロン酸 (APB) 500 μg を添加したMEPMとIPMディスクを使用した。いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円径の拡張が5 mm以上ある場合を陽性と判定した<sup>4)</sup>。

基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生性確認試験として、セフトキサシム (CTX) とCAZの間に、アモキシシリン・クラバン酸 (AMPC /CVA)、及びアンピシリン・スルバクタム (ABPC /SBT) のセンシディスクを配置し、CTXとCAZの阻止円径の比較と、CVA及びSBTによる阻害効果を確認した (DDST)。結果については、国立感染症研究所による薬剤耐性菌研修会資料<sup>5)</sup>に記載の判定基準に基づき、CTX-M型、TEM-,SHV-型、判定保留の判定を行った。

AmpC β-ラクタマーゼ (AmpC) 産生性確認試験として、セフメタゾール (CMZ) とセフミノクス (CMNX) のセンシディスク及びAmpC活性阻害剤であるAPB 500 μg を添加したCMZとCMNXディスクを使用した。いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円径の拡張が5 mm以上ある場合を陽性と判定した<sup>5)</sup>。

## 3. β-ラクタマーゼ遺伝子型確認試験

PCR法によりカルバペネマーゼ遺伝子<sup>4)</sup> (IMP型、NDM型、KPC型、OXA-48型)、ESBL遺伝子<sup>6,7)</sup> (TEM型、SHV型、CTX-M-1 group(G)、CTX-M-2 group(G)、CTX-M-9 group(G))、AmpC遺伝子<sup>4)</sup> (MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型) の保有の有無を確認した。

## 結 果

### 1. 菌株の由来

供試した 61 株の由来は、性別では、男性 42 株、女性 19 株と男性が多かった。年齢は、20 歳未満はなく、70～79 歳が最も多く、60 歳以上の高齢者が 85%を占めた (図 1)。

検出部位は、血液が最も多く 20 株 (33%) であった。次いで、尿 14 株 (23%) で、その他は喀痰、膿、胆汁などであった。

菌種は、*Klebsiella aerogenes* が 17 株 (28%) で最も多く、次いで、*Klebsiella pneumoniae* が 12 株 (20%)、*Escherichia coli* が 11 株、*Enterobacter cloacae* が 7 株、*Serratia marcescens* が 5 株などであった (表 1)。

### 2. ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性確認試験

メタロ-β-ラクタマーゼ産生性確認試験では、阻止円径の拡張が確認できたのは、23 株 (38%) で、その菌種は *K. pneumoniae* が 11 株、*E. coli* が 9 株、*Klebsiella oxytoca* が 2 株、*Raultella ornithinolytica* が 1 株であった。

KPC 型カルバペネマーゼ産生性確認試験では、1 株が陽性で、*S. marcescens* であった。

ESBL 産生性確認試験では、CTX-M-型と判定したのは 17 株であった。TEM-,SHV-型と判定した菌株は 4 株で、判定保留が 3 株あった。

AmpC 産生性確認試験では 35 株が陽性であった。

いずれのβ-ラクタマーゼ阻害剤でも阻害の効果が認められない菌株が 2 株あった。

### 3. β-ラクタマーゼ遺伝子型確認試験

PCR 法の結果、全 61 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子では、IMP-1 型を 23 株 (38%) 検出した。菌種は *K. pneumoniae* が 11 株、*E. coli* が 9 株、*K.*

*oxytoca* が 2 株、*R. ornithinolytica* が 1 株であった。メタロ-β-ラクタマーゼ産生性確認試験で陽性の 23 株からは、全て IMP-1 型を検出した。KPC 型カルバペネマーゼ産生性確認試験で陽性の 1 株からは、今回検査を実施したいずれのカルバペネマーゼ遺伝子も検出しなかった。

ESBL 遺伝子では、CTX-M-2 G を検出した菌株が 22 株、SHV 型を検出した菌株が 11 株、CTX-M-9 G を検出した菌株が 5 株、TEM 型を検出した菌株が 6 株、CTX-M-1 G を検出した菌株が 2 株あった。なお、ESBL 遺伝子を重複して保有する菌株が 17 株あった。

AmpC 遺伝子では、EBC 型を検出した菌株が 3 株、CIT 型を検出した菌株が 2 株あった。

今回確認したいずれの薬剤耐性遺伝子も検出しなかった菌株が 30 株あった。

## 考 察

カルバペネム系薬剤耐性メカニズムは、2 つに大別される。1 つは、カルバペネム系薬剤分解酵素であるカルバペネマーゼを産生するカルバペネマーゼ産生菌 (carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* : CPE) であり、もう 1 つはカルバペネマーゼを産生せず、AmpC 産生菌や、ESBL 産生菌の外膜蛋白ポーリンが欠損または欠失したことによる薬剤の膜透過性低下である。CPE については、カルバペネマーゼ産生遺伝子がプラスミドの水平伝達により、菌種を超えて拡散する可能性や、他系統の薬剤にも耐性になることが多いため、临床上重要視されている。

今回の調査では、医療機関で CRE と判定され、発生届出がされた 61 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子である IMP-1 型を検出したのは 23 株であった。IMP-1 型の 1 つで、西日本で多く検出<sup>5)</sup>されているカルバペネマーゼ遺伝子 *bla*<sub>IMP-6</sub> は、当センターにおいても過去に検出報告<sup>1,2)</sup>がある。この *bla*<sub>IMP-6</sub> は、IPM に対しては、耐性を示さない<sup>6)</sup>ことがあるため、初期のスクリーニングで見逃される恐れがあることが、大きな問題として指摘されているが、今回、IMP-1 型を検出した 23 株のうち、21 株が IPM 感性若しくは中間型であった。また、IMP-1 型を検出した菌株は、*K. oxytoca* 1 株を除き、残りの 22 株全てから ESBL 遺伝子である CTX-M-2 G を検出した。*bla*<sub>IMP-6</sub> と CTX-M-2 G の両方の遺伝子を同一プラスミド上に保有していた複数菌種の腸内細菌科細菌による大規模な院内感染事例<sup>9)</sup>も報告されていることから、国内で拡散傾向のある CPE の広がりには注意が必要である。

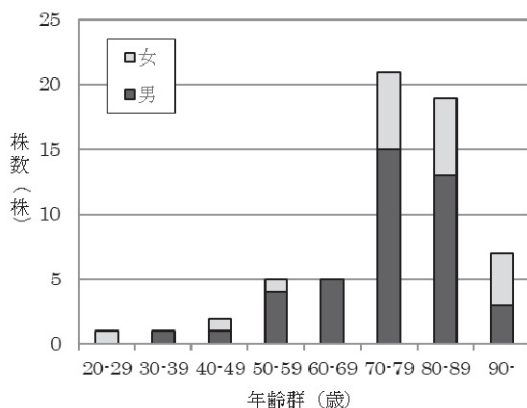


図 1 菌株の由来 (性別年齢分布)

表1 検査結果

番号	菌種	阻害剤による確認試験				PCR法による検出遺伝子		
		SMA	APB(KPC)	CVA, SBT	APB(AmpC)	カルバペネマーゼ	ESBL	AmpC
1	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
2	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
3	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
4	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
5	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
6	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
7	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
8	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
9	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
10	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
11	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
12	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
13	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
14	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
15	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
16	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
17	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-
18	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-
19	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
20	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
21	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
22	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
23	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
24	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
25	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	TEM,SHV-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
26	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	TEM,SHV-型	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
27	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	TEM,SHV-型	-	IMP-1型	TEM,SHV型,CTX-M-1,2G	-
28	<i>K. pneumoniae</i>	+	-	判定保留	-	IMP-1型	SHV型,CTX-M-2G	-
29	<i>K. pneumoniae</i>	-	-	判定保留	-	-	TEM,SHV型,CTX-M-1G	-
30	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-
31	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-
32	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2,9G	-
33	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2,9G	-
34	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2,9G	-
35	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2,9G	-
36	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	TEM型,CTX-M-2G	-
37	<i>E. coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	TEM型,CTX-M-2G	-
38	<i>E. coli</i>	+	-	-	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-
39	<i>E. coli</i>	-	-	CTX-M-型	+	-	CTX-M-9G	-
40	<i>E. coli</i>	-	-	TEM,SHV-型	+	-	TEM型	CIT型
41	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	EBC型
42	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	EBC型
43	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	EBC型
44	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	-
45	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	-
46	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	-
47	<i>E. cloacae</i>	-	-	-	+	-	-	-
48	<i>S. marcescens</i>	-	+	-	+	-	TEM型	-
49	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	+	-	-	-
50	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	+	-	-	-
51	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	-
52	<i>S. marcescens</i>	-	-	-	-	-	-	-
53	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	-
54	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	-
55	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	-
56	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	-
57	<i>K. oxytoca</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-
58	<i>K. oxytoca</i>	+	-	-	-	IMP-1型	-	-
59	<i>C. braakii</i>	-	-	-	+	-	-	-
60	<i>C. freundii</i>	-	-	-	+	-	-	CIT型
61	<i>R. ornithinolytica</i>	+	-	判定保留	-	IMP-1型	CTX-M-2G	-

KPC 型カルバペネマーゼ産生性の確認試験において、*S. marcescens* 1 株が陽性となったが、PCR 法では KPC 型は検出しなかった。このように、KPC 型においては、ディスク拡散法で確認試験が陽性であっても、遺伝子を保有しない菌株があることが報告<sup>10)</sup>されており、遺伝子検査での確認が重要である。

全 61 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子を保有していない菌株は、38 株と半数以上あった。これらの菌株のうち、ディスク拡散法で、ESBL 産生株が 2 株、AmpC 産生株が 35 株あった。PCR 法による遺伝子型の確認では、ESBL 遺伝子である TEM 型を 3 株、SHV 型を 1 株、CTX-M-1 G を 1 株、CTX-M-9 G を 1 株、AmpC 遺伝子では EBC 型を 3 株、CIT 型を 2 株から検出した。検出した ESBL 遺伝子、及び AmpC 遺伝子はプラスミド性<sup>11)</sup>もあり、カルバペネマーゼ遺伝子を保有していない菌株についても、薬剤耐性遺伝子を保有するプラスミドの水平伝播の可能性が危惧される結果であった。

CRE の増加は、臨床上、さらに院内感染対策上、重大な問題であるが、現在の届出基準では、カルバペネマーゼ遺伝子を保有していない菌株も届出対象になる。カルバペネマーゼ遺伝子を含む  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子保有の有無を確認する上で、地方衛生研究所の果たす役割は大きいと考えられる。

今後も継続して調査を実施し、医療機関等への情報還元を行っていく必要がある。

## 謝 辞

今回の調査を実施するにあたり、菌株を提供して頂きました医療機関、並びに保健所の皆様に深く御礼申し上げます。

## 文 献

- 1) 吉田孝子, 河口友理, 佐伯美由紀, 他 : 奈良県保健研究センター年報 , 51, 48-50 (2016)
- 2) 吉田孝子, 田邊純子, 橋田みさを, 他 : 奈良県保健研究センター年報 , 52, 49-52 (2017)
- 3) 健康局結核感染症課長通知「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症等に係る試験検査の実施について」, 健感発 0328 第 4 号, (平成 29 年 3 月 28 日)
- 4) 国立感染症研究所「病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌」(2016 年 12 月)
- 5) 国立感染症研究所細菌第二部第一室「薬剤耐性菌研修会資料」(2016 年 9 月)
- 6) Xu. L, Ensor. V, Gossain. S, *et al.* : *J. Medical*

*Microbiology*, 54, 1183-1187 (2005)

- 7) Monstein. H, Ostholm-Balkhed. A, Nilsson. M, *et al.* : *APMIS*, 115, 1400-1408 (2007)
- 8) Shigemoto. N, Kuwahara. R, Kayama. S, *et al.* : *Diagn Microbiol Infect Dis.* , 72, 109-112 (2012)
- 9) 国立病院機構大阪医療センターにおけるメタロ  $\beta$ -ラクタマーゼ (MBL) 産生腸内細菌科の集積に関する外部調査報告書(平成 28 年 2 月 10 日)
- 10) 原田崇浩, 外山雅美, 長野由紀子, 他 : 日本臨床微生物学雑誌 , 25, 56-64 (2015)
- 11) 中村竜也 : 臨床と微生物, 42, 548-552 (2015)



## 食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況および薬剤耐性傾向調査

佐伯美由紀・平城 均・久野翔平・森村実加・田邊純子・内田美枝

Prevalence and Antimicrobial Susceptibility of Foodborne Bacteria in Wild Animals Used for Food

Miyuki SAEKI・Hitoshi HEIJO・Shohei HISANO・Mika MORIMURA・Sumiko TANABE and  
Yoshie UCHIDA

## 緒言

平成 26 年 5 月、「鳥獣の保護及び狩猟の適正化に関する法律」が改正され、その中で環境中のシカやイノシシの個体数の管理が新たに求められることとなり、その捕獲数は年々増加している。それに伴い、捕獲した野生鳥獣の有効活用や地域産業育成を目的とした食用としての利用の増加が各地で散見されている。奈良県においても、山間地域を中心に同様の傾向があり、衛生的で安全な野生獣肉（ジビエ）の確保が課題となっている。奈良県では、平成 21 年に「野生獣肉に係る衛生管理ガイドライン」を作成し、野生鳥獣を食用として処理・販売する事業者に対し衛生指導を実施している。しかし、野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況については明らかになっていない点も多く、野生鳥獣とヒトの生活圏が近くなった結果、野生鳥獣が保有する病原細菌がヒトや家畜などに伝播する可能性や、逆に、ヒトの生活圏で問題となっている薬剤耐性菌が環境を通じ野生鳥獣に伝播する可能性が指摘されている。そこで、県内においてジビエとして食用に供される野生鳥獣の食中毒起因菌の保有状況および保有菌株の薬剤耐性傾向を把握することを目的に調査を行った。

## 材料と方法

## 1. 材料

平成 29 年 10 月から平成 31 年 1 月の間に県内 7 地域（A～G）で捕獲されたシカ 21 頭、イノシシ 24 頭の糞便（直腸便または盲腸便）を用いて試験を実施した（図 1）。検体は、県内食肉処理施設または猟友会員より提供をうけた。

## 2. 菌の分離および同定

対象菌は大腸菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター・ジェジュニ／コリとした。なお、分離培養については奈良県食品衛生検査所食肉検査課で実施し、大腸菌およびサルモネラ属菌については TSI 培地および LIM 培地、カンピロバクター属菌についてはグラム染

捕獲地域	検体数	
	シカ	イノシシ
A	7	12
B	3	5
C	3	0
D	0	1
E	0	1
F	1	4
G	7	1
計	21	24

出典：地理院地図

図 1. 捕獲地域および検体数

色によりスクリーニングを実施し、疑わしい性状を示した菌株が当センターに搬入された。当センターでは分離菌株の同定、血清型別試験、病原因子遺伝子の検索等を実施した。

## 1) 大腸菌

検体を DHL 培地に塗抹し、37°C、18 時間培養後、培地上の定型的集落を 1 検体につき 10 コロニーを上限に釣菌した。また、乳糖・白糖非分解の透明コロニーが認められた場合、併せて釣菌した。生化学的性状試験の結果、大腸菌と同定された菌株について、病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて O 血清型別試験を実施した。また PCR 法による病原因子遺伝子（VT, LT, ST, *invE*, *eae*, *bfpA*, *aggR*, *astA*）の検索<sup>1,2,3)</sup>を実施した。

## 2) サルモネラ属菌

検体を EEM 培地に接種し、37°C、18 時間前培養後、HTT 培地で 37°C、12～72 時間増菌培養を実施した。培養液を DHL 培地および MLCB 培地に塗抹し、37°C、18 時間培養後、培地上の定型的集落を釣菌し、生化学的性状試験および血清型別試験を実施した。

## 3) カンピロバクター属菌

検体をプレストン培地に接種し、42°C、48 時間微好気培養後、培養液を CCDA (SEL) 培地に塗抹し、42°C、48 時間微好気培養した。培地上の定型的集落について

グラム染色で性状確認後、PCR法による菌種の同定<sup>4,5)</sup>を実施した。また、必要に応じ16S rRNA遺伝子領域の塩基配列をダイレクトシーケンスにより決定し、National Center for Biotechnology Information (NCBI) のBLASTによる解析を行った。

### 3. 薬剤耐性傾向調査

分離した大腸菌について、ディスク拡散法 (CLSI 準拠) による薬剤感受性試験を実施した。供試薬剤は

アンピシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、セフトキシム (CPDX)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、シプロフロキサシン (CPFX)、ナリジクス酸 (NA)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST)、クロラムフェニコール (CP)、ホスホマイシン (FOM) の12薬剤とした。

表 1. 分離大腸菌の病原因子遺伝子、O 群血清型別、薬剤感受性試験の結果

検体採取年月	検体名	捕獲地域	分離株数	病原因子遺伝子 (菌株数)	O 群血清型 (菌株数)	耐性薬剤 (菌株数)
H29.12	シカ①	A	6	<i>astA</i> (5)	UT(6)	—
H29.12	シカ②	A	0	—	—	—
H29.12	シカ③	A	3	—	159(1), 114(1), UT(1)	—
H29.12	シカ④	A	0	—	—	—
H30.2	シカ⑤	A	10	—	124(1), UT(9)	—
H30.2	シカ⑥	A	10	—	124(4), UT(6)	—
H30.2	シカ⑦	A	10	—	8(1), UT(9)	—
H30.11	シカ⑧	G	1	—	74(1)	—
H30.11	シカ⑨	G	7	<i>astA</i> (6)	UT(7)	—
H30.11	シカ⑩	G	0	—	—	—
H30.11	シカ⑪	G	10	<i>astA</i> (7)	74(1), UT(9)	—
H30.11	シカ⑫	F	10	<i>astA</i> (2)	112ac(9), UT(1)	—
H30.11	シカ⑬	C	5	—	1(3), UT(2)	—
H31.1	シカ⑭	B	10	—	8(1), UT(9)	—
H31.1	シカ⑮	B	10	<i>astA</i> (8)	128(8), 57(1), UT(1)	—
H31.1	シカ⑯	B	10	—	8(10)	—
H31.1	シカ⑰	C	5	—	UT(5)	—
H31.1	シカ⑱	C	10	<i>astA</i> (5)	UT(10)	—
H31.1	シカ⑲	G	10	—	UT(10)	—
H31.1	シカ⑳	G	10	<i>astA</i> (10)	UT(10)	—
H31.1	シカ㉑	G	0	—	—	—
小計			137	43		
H29.10	イノシシ①	A	10	<i>eae</i> (9)	UT(10)	—
H29.10	イノシシ②	A	10	<i>eae</i> (1)	UT(10)	—
H29.12	イノシシ③	A	9	—	UT(9)	ABPC+FOM(3)
H29.12	イノシシ④	A	10	—	18(2), UT(8)	—
H29.12	イノシシ⑤	A	7	<i>astA</i> (5)	UT(7)	—
H29.12	イノシシ⑥	A	2	—	UT(2)	—
H29.12	イノシシ⑦	A	0	—	—	—
H30.2	イノシシ⑧	A	10	—	1(8), UT(2)	—
H30.2	イノシシ⑨	A	1	—	159(1)	—
H30.2	イノシシ⑩	A	0	—	—	—
H30.2	イノシシ⑪	A	10	LT+ <i>astA</i> (1), <i>eae</i> (5)	143(1), UT(9)	—
H30.2	イノシシ⑫	A	7	—	126(7)	—
H30.10	イノシシ⑬	B	5	—	121(1), UT(4)	—
H30.10	イノシシ⑭	B	8	ST(6), <i>astA</i> (1)	UT(8)	—
H30.10	イノシシ⑮	B	9	—	29(1), 112ac(1), 144(1), UT(6)	—
H30.10	イノシシ⑯	B	10	—	29(1), 112ac(2), UT(7)	—
H30.10	イノシシ⑰	B	11	—	25(10), 86a(1)	TC(1)
H30.11	イノシシ⑱	E	10	—	UT(10)	—
H30.11	イノシシ⑲	F	13	LT+ <i>astA</i> (1)	128(4), UT(9)	—
H30.11	イノシシ⑳	F	10	<i>astA</i> (3)	91(7), UT(3)	—
H30.11	イノシシ㉑	D	10	—	UT(10)	—
H30.11	イノシシ㉒	F	10	—	159(1), UT(9)	—
H30.11	イノシシ㉓	G	11	<i>astA</i> (3)	UT(11)	—
H30.12	イノシシ㉔	F	10	<i>astA</i> (1)	1(4), 128(2), UT(4)	—
小計			193	36		
合計			330	79		

## 結果

### 1. 菌の分離及び同定

#### 1) 大腸菌

DHL培地上より大腸菌疑い株 384 株(シカ由来 158 株, イノシシ由来 226 株) を分離し, 生化学的性状試験を実施した. その結果, 大腸菌が 330 株(シカ由来 137 株, イノシシ由来 193 株), その他の菌が 54 株(シカ由来 21 株, イノシシ由来 33 株) であった. 大腸菌と同定した 330 株について, 病原因子遺伝子の検索および血清型別試験を実施したところ, 79 株(シカ由来 43 株, イノシシ由来 36 株) より病原因子遺伝子を検出した(表 1). その内訳は, LT および *astA* 保有株が 2 株(イノシシ由来 2 株), ST 保有株が 6 株(イノシシ由来 6 株), *eae* 保有株が 15 株(イノシシ由来 15 株), *astA* 保有株が 56 株(シカ由来 43 株, イノシシ由来 13 株) であった. その他の 4 種類の病原因子遺伝子(VT, *invE*, *bfpA*, *aggR*) の検出はなかった. なお, イノシシ 2 検体からは, 同一検体から 2 種類の病原因子遺伝子保有株を検出した. 病原因子遺伝子を保有する菌株の O 群血清型は, LT および *astA* 保有株のうち 1 株が O143, *astA* 保有株のうち 8 株が O128, 2 株が O112ac, その他の株は OUT(O 群血清型別不能) であった.

また, 大腸菌と同定されなかった 54 株について菌種を同定したところ, *Yersinia enterocolitica* (シカ由来 8 株, イノシシ由来 7 株), *Hafnia alvei* (シカ由来 2 株, イノシシ由来 2 株), *Escherichia hermannii* (シカ由来 1 株), *Klebsiella pneumoniae* (イノシシ由来 6 株), *Proteus mirabilis* (イノシシ由来 3 株), *Raoultella spp.* (シカ由来 10 株, イノシシ由来 8 株), *Citrobacter spp.* (イノシシ由来 7 株) であった.

#### 2) サルモネラ属菌

分離培地上にサルモネラ様集落を認めた検体はあったが, 同定試験の結果, 全て陰性であった.

#### 3) カンピロバクター属菌

CCDA (SEL) 培地上から, カンピロバクター属菌疑い株を 5 株(イノシシ由来 5 株) 分離し PCR 法による菌種(ジェジュニ/コリ) の同定を実施した. その結果, 全ての菌株でいずれの遺伝子も陰性であった(表 2). これら 5 株について, 16S rRNA 遺伝子の相同性解析を実施したところ, 2 株が *Campylobacter lanienae*, 3 株が *C.hyointestinalis* であった.

### 2. 薬剤耐性傾向調査

分離した大腸菌 330 株について, ディスク拡散法による薬剤感受性試験を実施した. その結果, ABPC および FOM 耐性株を 3 株(イノシシ由来 3 株), TC 耐

表 2 カンピロバクター属菌の結果

検体名	捕獲地域	分離株数	PCR結果		16S rRNA 遺伝子解析
			<i>jejuni</i>	<i>coli</i>	
イノシシ③	A	1	陰性	陰性	<i>C. hyointestinalis</i>
イノシシ⑤	A	1	陰性	陰性	<i>C. hyointestinalis</i>
イノシシ⑧	A	1	陰性	陰性	<i>C. lanienae</i>
イノシシ⑨	A	1	陰性	陰性	<i>C. lanienae</i>
イノシシ⑩	F	1	陰性	陰性	<i>C. hyointestinalis</i>
合計		5			

性株を 1 株(イノシシ由来 1 株) 検出した(表 1).

### 考 察

食中毒起因菌の保有状況調査では, 大腸菌については, シカおよびイノシシ由来検体より 330 株を分離し, そのうち 79 株がヒトの下痢原性に関与する病原因子遺伝子を保有していた. 検体別では, シカ 21 検体中 7 検体, イノシシ 24 検体中 9 検体から病原因子遺伝子保有の大腸菌を検出した. 国内において, 今回検出された下痢原性大腸菌による集団下痢症の発生も報告されており<sup>6)</sup>, これらの菌により食肉が汚染された場合, 食中毒につながる可能性が示唆された.

サルモネラ属菌については, 本研究での検出はなかった. 国内の他の報告においても, 野生のシカやイノシシからのサルモネラ属菌の分離率は低く<sup>7)</sup>, 県内の状況もこれまでの調査と同様の傾向であった.

カンピロバクター属菌については, イノシシ由来検体からカンピロバクター・ジェジュニ/コリ以外のカンピロバクター属菌を検出した. 本研究で検出したカンピロバクター属菌については, 海外においてヒトからの検出が報告されており<sup>8,9)</sup>, 病原性が疑われている. 今後, これらの菌種による食中毒が発生する可能性もあり, 注視していきたいと考えている.

本研究では, 調査対象としていた下痢原性大腸菌の他, 食中毒起因菌として指定されている *Y. enterocolitica* やヒトへの病原性が疑われているカンピロバクター属菌を検出し, 野生のシカおよびイノシシが食中毒を起こす可能性のある細菌を保有していることが明らかになった. 今後, このような野生鳥獣における食中毒起因菌保有状況を情報提供することで, 野生鳥獣を食用として処理・販売する事業者に対する解体処理時の腸内容物による食肉汚染防止等の衛生指導や, 消費者に対するジビエの生食の危険性等の衛生知識の啓発につなげていきたいと考えている.

薬剤耐性傾向調査では, イノシシ由来の大腸菌より ABPC および FOM 耐性大腸菌を 3 株, TC 耐性大腸

菌を1株検出した。人の治療上重要なセフェム系およびフルオロキノロン系薬剤に耐性を示す株はなかった。TCやABPCは国内で家畜に対する使用量が多く、家畜からの分離菌において多くの菌種で共通して耐性割合が高い傾向がある<sup>10)</sup>。また、TC系の薬剤の中には農薬として圃場等でも使用されているものもあり、これらによって生じた耐性菌が農場や環境を通じて野生動物に伝播した可能性も考えられる。一方、FOMは腸管出血性大腸菌感染症等の治療に使用され、食品安全委員会の「食品を介してヒトの健康に影響を及ぼす細菌に対する抗菌性物質の重要度のランク付けについて」では、ランクII（高度に重要）に分類されている抗菌薬である。野生鳥獣における薬剤耐性菌保有状況については、今後も定期的に県内のモニタリングを行い、動向を把握する必要があると考えている。

### 謝 辞

本研究にあたり検体の収集にご協力いただきました関係者ならびに保健所の皆様に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 伊藤文明, 荻野武雄, 伊藤健一郎, 他: 日本臨床, 50,343-347 (1992)
- 2) H.Karch, T.Meyer : *J.Clin.Microbiol.* , 27 , 2751-2757 (1989)
- 3) 小林一寛, 勢戸和子, 八柳潤, 他: 感染症誌, 76, 911-920 (2002)
- 4) D.K.Winters, *et al.* : *Molecular and Cellular Probes.*, 9, 307-310 (1995)
- 5) D.Linton, *et al.* : *J.Clin.Microbiol.* , 35, 2568-2572 (1997)
- 6) 病原微生物検出情報(IASR), 国立感染症研究所, 33, 1-4 (2012)
- 7) 高井伸二, 他: 厚生労働科学研究 野生鳥獣由来食肉の安全性確保に関する研究 平成 29 年度総括報告書 (2017)
- 8) M.J.Logan, A.Burnens, D.Linton, *et al.* : *Int J Syst Evol Microbiol.*, 50, 865-872 (2000)
- 9) S.Bullman, J.O'Leary, D.Corcoran, *et al.* : *Epidemiol Infect.*, 140, 684-688 (2012)
- 10) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会: 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2018 (2018)



## 水中および環境中のノロウイルス検査法の検討

千葉翔子・松本朋子・尾西美咲・藤谷美沙子・中野 守・稲田真知

### Evaluation of Detection Methods of Norovirus from Water and Environmental Swabs

Shoko CHIBA・Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Misako FUJITANI・Mamoru NAKANO  
and Machi INADA

#### 緒言

ノロウイルス (NV) は、冬季を中心に多発する感染性胃腸炎や食中毒の主要な原因ウイルスであり、小児から高齢者まで幅広い年齢層が感染し、嘔吐や下痢等の急性胃腸炎症状を引き起こす。

近年では、NV に汚染された飲用水等を原因とする食中毒も発生しており<sup>1-3)</sup>、原因究明のためには、低濃度試料からの NV 検出が必須となりつつある。

また、NV は比較的少量のウイルス粒子でも感染するため、感染者が触れた施設内環境から二次感染を引き起こし、汚染が拡大する。そのことから、NV による食中毒や集団感染が発生した場合、感染経路の解明のために拭き取り検査が行われている<sup>4)</sup>。

しかし、水中および環境中のノロウイルス検査法は、ウイルス培養が不可能なため、定められた手法はなく、本県では実施していなかった。今回、極低濃度で存在する水中および環境中のノロウイルス検査法について検討を行い、手法を設定したので報告する。

#### 方法

##### 1. 水中 NV の検査法

###### 1) ウイルス試料水の作成

NV (G II) 陽性の糞便検体を用いて、10%糞便懸濁液を作成し、これに 1/5 量のクロロホルムを加えてボルテックス後、遠心 (14000 rpm, 10 min, 4°C) した上清をウイルス原液とした。これを MilliQ 水に適宜添加し、十分に混合したものをウイルス試料水とした。

###### 2) ウイルス濃縮法

1) で作成したウイルス試料水からのウイルスの濃縮方法について、下記の 3 法の検討を実施した。

###### (1) 陰電荷膜吸着/誘出法<sup>5)</sup> (以下、陰電荷膜法)

ウイルス試料水 400 mL に、2.5 M 塩化マグネシウム 8 mL (最終濃度 0.05 M) を添加し、0.5 N 塩酸を用いて攪拌しながら pH 3.5 に調整後、混合セルロースエステルタイプ陰電荷膜 (HA 膜, Advantech : A045A047A) を用いて吸引ろ過し、HA 膜にウイルス

を吸着させた。この HA 膜を遠沈管に回収して滅菌したはさみで細断し、ここに 3% ビーフエキストラクト溶液 4 mL 及び滅菌ガラスビーズ適量を加え、3 分間ボルテックスして誘出し、遠心 (3000 rpm, 15 min, 4°C) した上清を 0.45 μm シリンジフィルター (Merck Millipore : Millex-HV SLHV033RS) にてろ過し、濃縮産物を得た (100 倍濃縮)。

###### (2) 陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法<sup>6)</sup> (以下、Mg 法)

ウイルス試料水 250 mL に 2.5 M 塩化マグネシウム 5 mL (最終濃度 0.05 M) を添加し、十分に攪拌後、(1) と同様に HA 膜でろ過し、この HA 膜を 0.5 mM 硫酸 200 mL を用いて酸洗浄した後、1 mM 水酸化ナトリウム 5 mL による誘出を行った。膜を透過した誘出液は 100 mM 硫酸 25 μL と 100×TE バッファー 50 μL を入れた遠心管で回収した。次に、2 次濃縮のため、遠心式フィルターユニット (Merck Millipore : Centriprep YM-50) を用いて限外ろ過を行った。遠心式フィルターユニットに濃縮液を全量入れ、遠心 (2500 rpm, 10 min) して内液を捨て、再度遠心 (2500 rpm, 5 min) し、限外ろ過膜を通過しなかった外液 約 500 μL~700 μL を回収し、濃縮産物を得た (350~500 倍濃縮)。

###### (3) ポリエチレングリコール濃縮法<sup>7)</sup> (以下、PEG 法)

ウイルス試料水 400 mL にポリエチレングリコール 6000 を 48 g (最終濃度 12%) と塩化ナトリウム 23.4 g (最終濃度 1 M) を加え、4°C で一晩静置した。これを遠心 (9000 rpm, 20 min, 4°C) 後、上清を完全に取り除き、沈渣に PBS(-) 4 mL を添加し再懸濁した後、超音波処理を加え十分に溶解させ、0.45 μm シリンジフィルター (Merck Millipore : Millex-HV SLHV033RS) にてろ過し、濃縮産物を得た (100 倍濃縮)。

##### 3) 定量と回収率測定

ウイルス原液および各濃縮産物 140 μL から QIAamp Viral RNA MiniKit (Qiagen) を用いて添付

のプロトコールに従って RNA を抽出し, Super Script III RT (Invitrogen) を用いて逆転写反応を行った. その後, ABI 7500 Fast によりリアルタイム PCR<sup>8)</sup> を実施し, NV (G II) の RNA コピー数を測定した. 添加したウイルス原液の RNA コピー数から回収率を算出し, 比較検討した.

## 2. 拭き取り検体からの NV 検出

### 1) ウイルス試料液の作成

1. 1) で作成したウイルス原液を  $10^2 \sim 10^3$  コピー/100  $\mu\text{L}$ <sup>9)</sup> になるよう MilliQ 水で適宜希釈したものをウイルス試料液とした.

### 2) 拭き取り器材と方法

ステンレス製バットを 100  $\text{cm}^2$  (10×10  $\text{cm}$ ) に区画し, 各区画にウイルス試料液を 100  $\mu\text{L}$  ずつ滴下し, 均一になるよう塗り拡げたのち, 風乾させた. 拭き取り器材として, ㊷プース (付着菌拭き取り用成型ガーゼ, 素材: 綿), ㊸市販キット「ST-25PBS」(株式会社エルメックス) (綿球素材: レーヨン, 液体: PBS(-)), および㊹綿棒 (綿球素材: ポリエステル) と㊺綿棒 (綿球素材: 綿) の 4 種類を用いた. 市販キット以外は, PBS(-) で湿らせたのち, 縦・横方向に各 10 回, 右ななめ下・左ななめ下方向に各 5 回拭き取った<sup>10)</sup>. これをサンプルバッグで, 十分に手で揉みほぐしたのち, 絞った液を拭き取り液として回収した.

### 3) 定量と回収率測定

ウイルス試料液および各拭き取り液 140  $\mu\text{L}$  から QIAamp Viral RNA MiniKit (Qiagen) を用いて添付のプロトコールに従って RNA を抽出し, Super Script III RT (Invitrogen) を用いて逆転写反応を行った. その後, ABI 7500 Fast によりリアルタイム PCR<sup>8)</sup> を実施し, NV (G II) の RNA コピー数を測定した. 滴下したウイルス試料液の RNA コピー数から回収率を算出し, 比較検討した.

## 結 果

### 1. 水中 NV の検査法

ノロウイルス (G II) の回収率は, 3 法の中では, 陰電荷膜法による濃縮法が  $36.1 \pm 7.6\%$  と最も高かった. Mg 法では最も回収率が低く  $4.3 \pm 0.4\%$  であり, PEG 法は  $5.4 \pm 0.4\%$  であった (表 1). なお, 陰電荷膜法については, 回収率にばらつきがみられたため, 追加で 3 回試験を実施し, 回収率を算出した.

表 1 各濃縮法による NVG II 回収率

	回数	添加量※ (コピー数/L)	回収量 (コピー数)	回収率 (%)	
				mean	±SD
(1) 陰電荷膜吸着 誘出法	1回目	$1.1 \times 10^9$	$4.6 \times 10^8$	42.5	36.1±7.6
	2回目	$1.2 \times 10^9$	$3.3 \times 10^8$	27.5	
	3回目	$1.0 \times 10^9$	$4.1 \times 10^8$	39.4	
	4回目	$3.9 \times 10^9$	$1.8 \times 10^9$	45.8	
	5回目	$1.7 \times 10^6$	$4.7 \times 10^5$	28.2	
	6回目	$1.8 \times 10^6$	$5.9 \times 10^5$	33.3	
(2) 陽イオン吸着 ・酸洗浄 ・アルカリ誘出法	1回目	$4.5 \times 10^9$	$1.9 \times 10^8$	4.2	4.3±0.6
	2回目	$5.0 \times 10^9$	$2.4 \times 10^8$	4.9	
	3回目	$4.3 \times 10^9$	$1.6 \times 10^8$	3.7	
(3) ポリエチレン グリコール濃縮法	1回目	$1.1 \times 10^9$	$6.0 \times 10^7$	5.5	5.4±0.5
	2回目	$1.2 \times 10^9$	$6.9 \times 10^7$	5.8	
	3回目	$1.0 \times 10^9$	$5.0 \times 10^7$	4.8	

※添加量は, リアルタイム PCR により得られたウイルス原液のコピー数から理論値を算出した値

## 2. 拭き取り検体からの NV 検出

それぞれの手法を用いて 4 回の拭き取りを実施した結果, ㊹綿棒 (綿球素材: ポリエステル) を使用した場合の回収率が  $58.1 \pm 8.2\%$  と最も高かった. ㊷プースを使用した場合, 4 回全ての検討でノロウイルスは検出されなかった (表 2).

表 2 各拭き取り器材による NVG II 回収率

	回数	添加量 (コピー数)	回収量 (コピー数)	回収率 (%)	
				mean	±SD
㊷プース	1回目	464.7	0	0	0
	2回目	297.3	0	0	
	3回目	1371.6	0	0	
	4回目	845.9	0	0	
㊸市販キット	1回目	464.7	27.6	5.9	12.6±5.3
	2回目	297.3	32.2	10.8	
	3回目	1371.6	238.3	17.4	
	4回目	845.9	138.5	16.4	
㊹綿棒 (ポリエステル)	1回目	464.7	268.6	57.8	58.1±8.2
	2回目	297.3	138.8	46.7	
	3回目	1371.6	875.4	63.8	
	4回目	845.9	542.3	64.1	
㊺綿棒 (綿)	1回目	464.7	188.0	40.5	48.0±8.1
	2回目	297.3	147.2	49.5	
	3回目	1371.6	805.3	58.7	
	4回目	845.9	367.4	43.4	

## 考 察

### 1. 水中 NV の検査法

本県では, これまで環境水 (流入下水) 中のポリオウイルスについて, 細胞培養によるウイルス同定の手法を用い検査を実施してきたが, 培養のできないノロウイルスについては検査を実施できていなかった. 本研究では, ノロウイルスの濃縮法について複数検討を実施したが, これまで環境水 (流入下水) のポリオウイルス調査で実施していた陰電荷膜法の回収率が最も

高い結果であった。この手法は、ビーフェキストラクト溶液を使用するため、PCR に対する阻害作用がみられるとされていることから<sup>1)</sup>、他の手法を模索したが、本県では最も効率よくウイルス濃縮できることがわかった。また、本手法による回収率が確認できたことは、一定の成果であった。他 2 法の回収率が想定よりも低かった理由としては、Mg 法では濃縮操作の過程が多く、ウイルスの損失があった可能性や、PEG 法では使用できる遠心機の高回転数が足りなかった可能性があると考えている。また、陰電荷膜法の検討を通して、水中ノロウイルスの濃度が高いと比較的回収率も高くなるが、濃度が低いと回収率も下がることが示唆された。

## 2. 拭き取り検体からの NV 検出

これまでの結果から、ウイルス濃縮を用いない方法を検討することとした。拭き取り器材として、洗い出す溶媒が少量となるよう、市販の製品を参考に、異なる素材の綿棒複数について検討した。また、検討に使用したウイルス試料液は、高齢者福祉施設における集団感染時の施設内拭き取り検査において検出のあった<sup>9)</sup>濃度付近とした。結果、本県においても拭き取り検体からのノロウイルスの検出が可能であることがわかり、拭き取り器材は、⑦綿棒（綿球素材：ポリエステル）を用いた場合、最も回収率が高くなった。一方、⑧プースにおいては、ノロウイルスを全く検出できなかった。綿棒による拭き取り検査は、ウイルス濃縮を実施しないため、操作も簡便であり、また、市販キットと違いコストも安価なことから調理現場等のノロウイルス汚染が考えられる場所での拭き取り検査においても実用できると考えている。

## 最後に

本研究では極低濃度で存在する水中からのノロウイルス検査の手法を確立することができ、また拭き取り検体についてもノロウイルスを検出することができた。今後、食中毒等事件の発生時には、飲料水等の検体や施設環境の拭き取り検体からのノロウイルス検査について、一定の対応が可能であるとわかったが、感染源や感染経路等の特定に寄与できるよう、保健所職員の協力も得ながら、実用に向けての改良に努めていきたい。

## 文 献

- 1) 田村務, 西川眞, 飯田和久, 他: 病原微生物検出状況, **38**, 330-331 (2005)
- 2) 徳竹由美, 小林正人, 秋山美穂, 他: 感染症学雑誌, **80**, 238-242 (2006)

- 3) 吉富秀亮, 芦塚由紀, 中村麻子, 他: 病原微生物検出状況, **37**, 159-160 (2016)
- 4) 古田敏彦, 大田邦生, 寺田善直, 他: 病原微生物検出状況, **35**, 164-165 (2014)
- 5) 国立感染症研究所: ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル
- 6) Katayama H, Shimasaki A, Ohgaki S: *Appl Environ Microbiol*, **68**, 1033-1039 (2002)
- 7) 金成篤子, 北川和寛, 千葉一樹, 他: 福島県衛生研究所年報, **32**, 31-40 (2014)
- 8) 医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「ノロウイルスの検出法について」, 食安監発第 1105001 号, (平成 15 年 11 月 5 日)
- 9) 西尾治: 公衆衛生, **71**(12), 972-980 (2007)
- 10) 栄研化学株式会社編: 食品衛生検査マニュアル (改訂第 2 版), 246-247 (2009)
- 11) Schwab SK, De Leon R, Sobsey MD: *Appl Environ Microbiol*, **61**, 531-537 (1995)

# 奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について -2017/2018 シーズン-

藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守・稲田真知

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norovirus in Nara Prefecture : 2017/2018 Season

Misako FUJITANI・Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Shoko CHIBA・Mamoru NAKANO  
and Machi INADA

## 緒言

ノロウイルス (Norovirus, 以下 NV) は、冬季に発生が多くみられるウイルス性急性胃腸炎の主な原因ウイルスである。当センターにおいても冬季に行政依頼検査が集中し、保育所、小学校、老人福祉施設等で原因病原体として NV を検出してきた。

NV は、経口感染や飛沫感染によりヒトの小腸で増幅し、吐物や糞便とともに排泄される。患者から排泄された NV が、手指やドアノブ等を介してヒトからヒトへと感染する。また、NV は加熱不十分な二枚貝やウイルスに汚染された食品の喫食により引き起こされる食中毒の原因ウイルスとしても知られている。NV は遺伝子学的多様性に富むことから、その感染予防には幅広い疫学的知見の蓄積が不可欠である。

当センターでは奈良県(奈良市を除く.)における NV の流行状況を詳細に把握するため、散发事例、食中毒および集団感染事例を対象とし、NV の遺伝子学的、疫学的解析を継続的に実施している<sup>1)</sup>。今回、2017/2018 シーズンに発生した事例について解析を実施したので報告する。

## 方法

### 1. 調査対象事例

2017年9月から2018年8月の間に当センターにお

いて県外自治体からの調査依頼事例を除く食中毒(有症苦情を含む)事例および集団感染事例(疑い事例を含む)で検査を実施した20事例のうちNVを検出した15事例を調査対象事例とした。

### 2. ウイルス RNA 抽出および NV 遺伝子解析

QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を用い、添付のプロトコールに従って10%糞便懸濁上清140μLからウイルスRNAを抽出した。プライマーCOG1F/G1-SKRおよびCOG2F/G2-SKRを用いたRT-PCR法<sup>2)</sup>によりNV capsid領域の増幅を行い、得られた遺伝子増幅産物について、BigDye Terminator Ver1.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems) を用い、添付のプロトコールに従ってダイレクトシーケンスを実施した。塩基配列を決定した後、Norovirus genotyping toolを用いて遺伝子型を判定した。GII.4と判定された株について、近隣結合法 (NJ) 法により参照株を用いた系統樹解析を実施した。またGII.2と判定された株については、Yuri22F/G2-SKRを用い、RdRp領域について capsid領域同様に増幅を行い、塩基配列を決定し、capsid領域及びRdRp領域の系統樹解析を実施した。

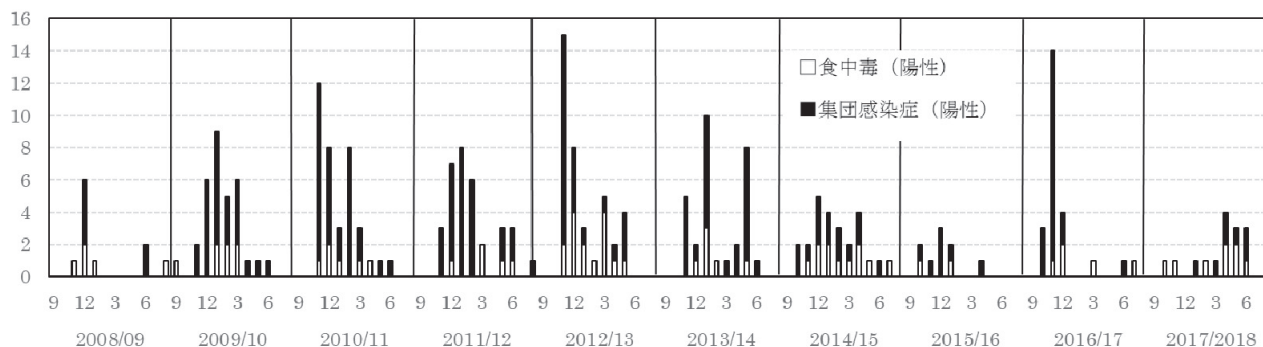


図1 ノロウイルスによる食中毒・集団感染事例数 (当センター検出事例)



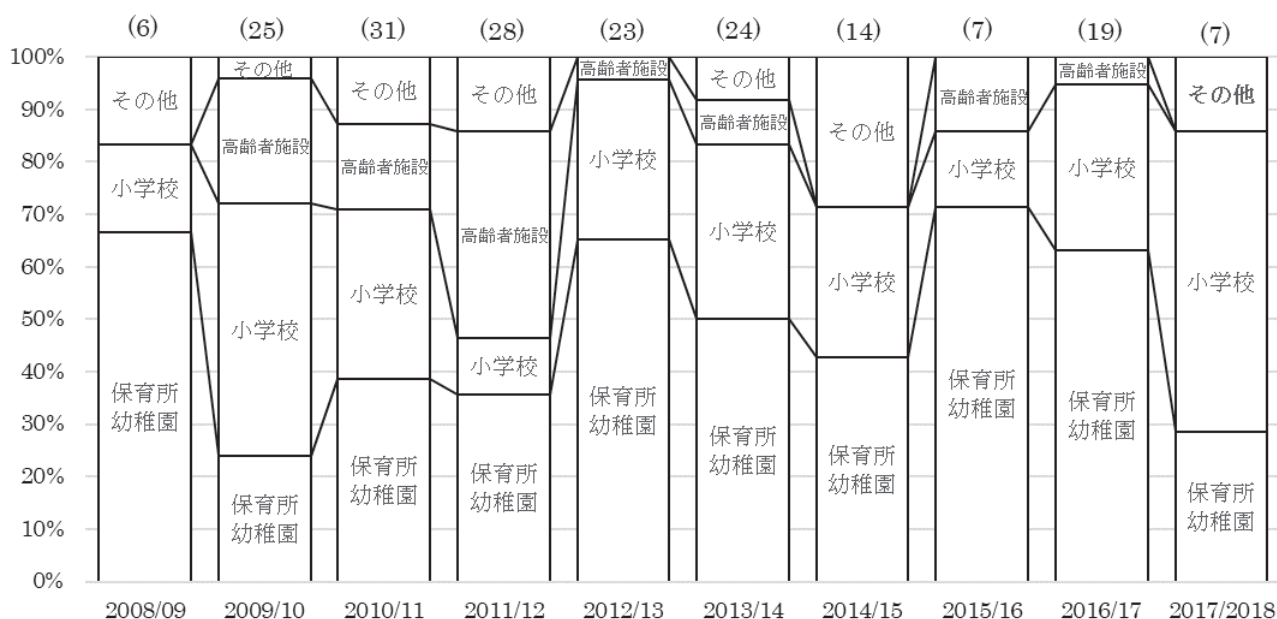


図2 ノロウイルスによる集団感染症事例の発生施設別内訳  
 図上段 ( ) 内の数字は事例数を示す

## 結果

### 1. NVによる食中毒・集団感染事例の発生状況

食中毒・集団感染事例の検体採取月別発生状況は、2017年10月1事例、11月1事例、2017年1月1事例、2月1事例、3月1事例、4月4事例、5月3事例、6月3事例であった(図1)。食中毒事例は8事例、集団感染事例は7事例発生した。15事例のうち13事例が1月以降の発生であり、6月まで毎月発生がみられた。

集団感染事例を発生施設別に区分すると、保育所・幼稚園2事例、小学校4事例、その他1事例であった(図2)。

### 2. 遺伝子型解析結果

2017/2018シーズンに検出したNVの遺伝子型を表1に示した。15事例の内訳は、GI単独によるものが2事例(13%)、GII単独によるものが12事例(80%)、GIとGIIの両方を検出した事例が1事例(7%)あり、これまでの状況と同様にGIIによる事例が多かった。

ダイレクトシーケンスを行った結果、15事例のうちGII.2単独によるものが7事例(47%)で最も検出数が多かった。その他、GI.2が1事例、GI.6が1事例、GII.3が1事例、GII.4が2事例、GII.6が1事例、GII.17が1事例、GI.3とGII.2の両方を検出した事例が1事例あり、検出遺伝子型に多様性がみられた。

これまでの主流遺伝子型のGII.4について系統樹解

析を行った結果、2事例とも2012年に大流行を引き起こした株の近縁株であった。また最も検出数の多かったGII.2のキャプシド領域について系統樹解析を行った結果、2016/2017シーズンに流行し<sup>3)</sup>、本県でも検出されていた株の近縁株であった(図3)。またRdRp領域の遺伝子型解析を行った結果、GII.P16が6事例、GII.P7が1事例あった。GII.P16を検出した6事例について系統樹解析を行った結果、こちらの領域についても2016/2017シーズンに全国的に流行を引き起こし、本県でも検出していた株と近い株であった(図4)。

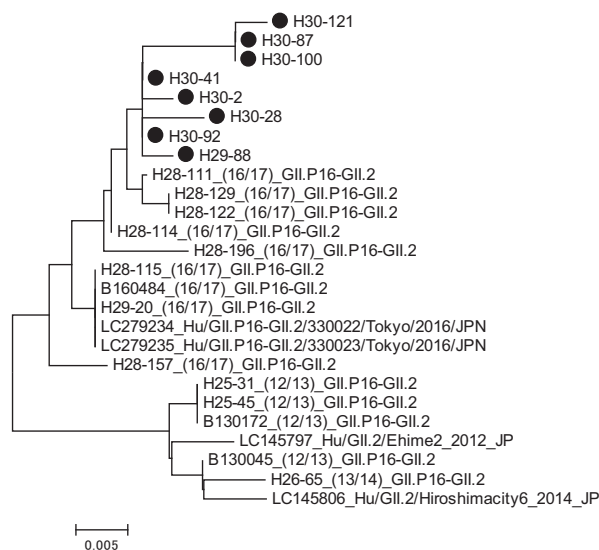


図3 GII.2株のキャプシド領域の塩基配列を用いた系統樹

表1 ノロウイルスによる食中毒・集団感染事例数（当センター検出事例数）

	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	遺伝子型別合計
G I .2								1					1
G I .3								1					1
G I .6					1								1
G II .2		1						3	3	1			8
G II .3										1			1
G II .4		1					1						2
G II .6										1			1
G II .17						1							1
事例数合計		2			1	1	1	4	3	3			

考 察

2017/2018 シーズンの奈良県内における NV による食中毒・集団感染症事例について調査した。件数は多くないが、1月から6月まで毎月集団発生が続いた。検出遺伝子型は、およそ半分を G II .2 が占め、これまでの主流遺伝子型の G II .4 は2事例のみであった。G II .2 および G II .4 以外にも 6 種類の遺伝子型が検出され、さまざまな遺伝子型が流行したシーズンであった。

これまでの主流遺伝子型であった G II .4 を検出した 2 事例の株は、いずれも 2012 年に大流行を引き起こした株の近縁株であり、例年と同様の状況であった。最も検出の多かった G II .2 は、キャプシド領域および RdRp 領域ともに 2016/2017 シーズンに流行を引き起こした株の近縁株であり、昨シーズンに続き同様の株

が県内で流行していることが明らかとなった。両領域の解析により、G II .P16-G II .2 が流行していることが確認でき、RdRp 領域の遺伝子型とキャプシド領域の遺伝子型の組換えが起こっていないこともわかった。また一例ではあるが G II .P7-G II .2 が検出されている。今後 G II .P16-G II .2 の動向と共に注視していく必要がある。

本報告が示すように長期にわたる調査を継続し、様々な疫学情報を蓄積することは、NV の発生動向を把握するために必要である。また今後は、長鎖領域の解析による塩基配列データの蓄積も必要であると考えている。

文 献

- 1) 藤谷美沙子, 尾西美咲, 千葉翔子, 他 : 奈良県保健研究センター年報, 52, 59-61 (2017)
- 2) 医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「ノロウイルスの検出法について」, 食安監発第 1105001 号 (平成 15 年 11 月 5 日)
- 3) 稲田真知, 藤谷美沙子, 尾西美咲, 他 : 病原微生物検出情報, 39, 11-12 (2018)

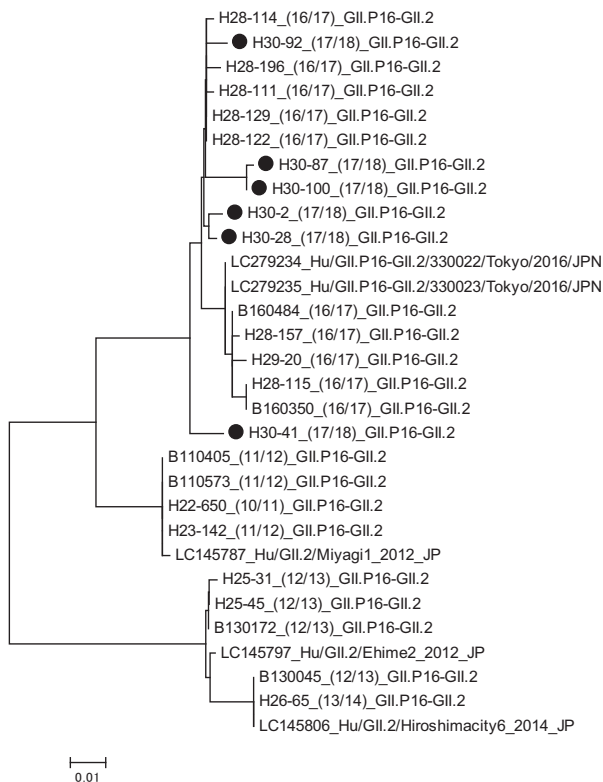


図4 G II .2 株の RdRp 領域の塩基配列を用いた系統樹

## 感染症発生動向調査による患者発生状況：平成30年（2018年）

千葉翔子・藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・中野 守・稲田真知

Status of Infection Diseases in Nara Prefecture, 2018

Shoko CHIBA・Misako FUJITANI・Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Mamoru NAKANO  
and Machi INADA

### 緒言

感染症発生動向調査は、平成11年4月から施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）の大きな柱に位置づけられている。感染症患者発生の情報について、正確に把握・分析し、その結果を国民や医療関係者への確に提供・公開することにより、感染症発生の予防や蔓延を防止することを目的に、医師等の医療関係者の協力をうけ、全国的に実施されている。奈良県でも、感染症発生動向調査の結果を迅速かつ的確に活用し、事前対応型の感染症予防対策とするため、奈良県感染症発生動向調査事業実施要綱、同要領に基づき調査を実施している。

今回、本県の平成30年の患者発生状況についてとりまとめたので報告する。

### 方法

全数把握対象疾患は、診断した全ての医師が保健所に届出を行い、発生状況を把握している。また、定点把握対象疾患は、知事が指定した定点医療機関（のべ116医療機関、平成30年5月～）を受診した患者数を把握することで流行状況を調査している。

平成30年には以下のような改正が実施された。平成30年1月1日に、百日咳が定点把握対象疾患（五類感染症）から全数把握対象疾患（五類感染症）に変更された。また、「風しんに関する特定感染症予防指針」の改定に伴い、風しんの届出が診断後「7日以内」から「直ちに」に変更され、「原則、ウイルス遺伝子検査の全例実施」、「1例でも発生した場合、積極的疫学調査の実施」が求められることとなった。他には、平成30年5月1日には、急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）が、全数把握対象疾患（五類感染症）に追加された。さらに、定点数の見直しが実施され、第18週からインフルエンザ（内科）定点数が変更された。

平成30年に届出された全数把握対象疾患及び報告された定点把握対象疾患について、感染症サーベイラ

ンスシステム（NESID）より情報を収集・解析した。

### 結果

#### 1. 全数把握対象疾患の発生状況

平成30年の全数把握対象疾患の患者届出は延べ541件であった（表1）。なお、現時点（平成31年4月時点）では速報値であり、後日変更されることがある。

表1 平成30年 全数把握対象疾患 届出数

類別	疾患名	届出数
二類	結核	234
三類	細菌性赤痢	1
	腸管出血性大腸菌感染症	26
四類	A型肝炎	7
	デング熱	2
	レジオネラ症	20
五類	アメーバ赤痢	9
	ウイルス性肝炎	1
	カルバペネム耐性腸内細菌感染症	45
	急性弛緩性麻痺	1
	急性脳炎	7
	クロイツフェルト・ヤコブ病	2
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	15
	後天性免疫不全症候群	6
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	4
	侵襲性髄膜炎菌感染症	1
	侵襲性肺炎球菌感染症	28
	水痘（入院例）	5
	梅毒	53
	播種性クリプトコックス症	2
	破傷風	1
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	7
	百日咳	56
	風しん	10

診断日による集計

#### 1) 一類感染症

届出はなかった。

#### 2) 二類感染症

結核は234例の届出があり、昨年の285例から減少した。類型は、患者161例、感染症死亡者の死体3例、



疑似症患者 1 例, 無症状病原体保有者 69 例であった。  
患者の病型は, 肺結核が 119 例, その他の結核 (結核性胸膜炎, 結核性心膜炎, 結核性髄膜炎, リンパ節結核, 粟粒結核等) が 33 例, 肺結核及びその他の結核が 9 例であった。全届出の年齢階層は, 0 歳 7 例, 1~10 歳未満 6 例, 10 代 5 例, 20 代 13 例, 30 代 14 例, 40 代 17 例, 50 代 20 例, 60 代 31 例, 70 代 47 例, 80 代 54 例, 90 代 19 例, 100 代 1 例で, 80 代の届出が最も多く, 70 歳以上が全体の 51.7% を占めていた。

### 3) 三類感染症

細菌性赤痢 1 例, 腸管出血性大腸菌感染症 26 例の届出があった。

細菌性赤痢は 10 月に届出があり, 70 代女性で, 菌種は *S. sonnei* (D 群), 山梨県の宿泊施設での喫食が原因と推定されている。

腸管出血性大腸菌感染症は, 昨年よりわずかに増加した。類型は, 患者 21 例, 無症状病原体保有者が 5 例で, その年齢階層は, 10 代 3 例, 20 代 10 例, 30 代 3 例, 40 代 2 例, 50 代 3 例, 60 代 3 例, 80 代 2 例であった。血清型・検出病原体は, O157 が 19 例 (VT1&VT2 が 15 例, VT2 が 4 例), O26 が 3 例 (VT1 が 3 例), O91 が 1 例 (VT1&VT2 が 1 例), O103 が 1 例 (VT1 が 1 例), O145 が 1 例 (VT2 が 1 例), O146 が 1 例 (VT2 が 1 例) であった。推定感染経路は, 経口感染が 14 例, 不明が 12 例であった。経口感染が推定されている事例には, 肉類を喫食した記載のある事例が 10 例あり, その中でもユッケ等の生肉を喫食した記載のある事例が 3 例あった。また, 生の鶏肉に触れた手指で直接飲食したとの記載も 1 例あった。

### 4) 四類感染症

A 型肝炎 7 例, デング熱 2 例, レジオネラ症 20 例の届出があった。

A 型肝炎は, 平成 26 年に急増し, その後例年通りの 1~3 例の届出であったが, 再び急増した。男性 5 例 (30 代 1 例, 40 代 2 例, 50 代 1 例, 80 代 1 例), 女性 2 例 (40 代 1 例, 70 代 1 例) であり, 推定感染経路は, 経口感染が 5 例, 性的接触 (同性間) 1 例, 不明が 1 例であった。経口感染が推定されている事例には, 冷凍のエビや牡蠣等の海鮮物を喫食した記載のある事例が 3 例あった。なお, 当センターのウイルス遺伝子検査により, 5 例から IA 型を検出している。

デング熱は, 5 月に 2 例 (20 代男女 1 例ずつ) 届出があり, 患者の病型は 2 例ともデング熱型で, 感染地域はともにタヒチであった。当センターで実施したウイルス遺伝子検査の結果は, 2 例ともデング 1 型であ

った。

レジオネラ症 20 例の病型は全て肺炎型で, 男性が 17 例 (50 代 3 例, 60 代 8 例, 70 代 2 例, 80 代 4 例), 女性が 3 例 (70 代 2 例, 80 代 1 例) であった。推定感染経路は水系感染が 8 例, 塵埃感染が 1 例, 水系感染および塵埃感染が 1 例, 不明が 10 例となっている。

### 5) 五類感染症

アメーバ赤痢 9 例, ウイルス性肝炎 1 例, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 45 例, 急性弛緩性麻痺 1 例, 急性脳炎 7 例, クロイツフェルト・ヤコブ病 2 例, 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 15 例, 後天性免疫不全症候群 6 例, 侵襲性インフルエンザ菌感染症 4 例, 侵襲性髄膜炎菌感染症 1 例, 侵襲性肺炎球菌感染症 28 例, 水痘 (入院例) 5 例, 梅毒 53 例, 播種性クリプトコックス症 2 例, 破傷風 1 例, バンコマイシン耐性腸球菌感染症 7 例, 百日咳 56 例, 風しん 10 例の届出があった。

アメーバ赤痢の病型は, 腸管アメーバ症 8 例, 腸管外アメーバ症 1 例であった。患者は, 9 例すべて男性 (40 代 1 例, 50 代 2 例, 60 代 3 例, 70 代 3 例) で, 推定感染経路は経口感染 1 例, 性的接触 (同性間) 1 例, 性的接触 (異性間) 2 例, 性的接触 (経口) 1 例, 性的接触 (詳細不明) 1 例, その他として温水洗浄便座による感染が 1 例, 不明が 2 例であった。推定感染地域は, 奈良県 3 例, 県外 (都道府県不明含む) 3 例, 不明が 3 例であった。70 代からの届出のうち 1 例は, アメーバ性肝膿瘍の治療歴ありと記載されていた。

ウイルス性肝炎 1 例は 20 代男性で, 病型は B 型であり, B 型肝炎ワクチンの接種歴はなかった。推定感染経路は性的接触 (異性間) であった。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は全国的に届出が増加しており, 本県でも平成 26 年に全数把握対象疾患に追加されてから, 最も届出の多い年となった。男性 30 例 (30 代 1 例, 40 代 1 例, 60 代 5 例, 70 代 11 例, 80 代 10 例, 90 代 2 例), 女性 15 例 (20 代 1 例, 40 代 1 例, 50 代 1 例, 70 代 4 例, 80 代 4 例, 90 代 3 例, 100 代 1 例) であり, 80 代男性のうち 1 例は検体提出後に死亡している。全国での状況と同様に 60 歳以上が多く全体の 8 割以上を占めた。病原体検出部位・菌種としては, 血液 12 例 (*Enterobacter aerogenes* 2 例, *Enterobacter cloacae* 2 例, *Serratia marcescens* 3 例, *Klebsiella pneumoniae* 3 例, *Klebsiella oxytoca* 1 例, *E. coli* 1 例), 腹水 2 例 (*Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*), 腹腔内膿瘍 1 例 (*Enterobacter aerogenes*), 胆汁 2 例 (*Enterobacter cloacae* 1 例, 不明 1 例), 血液・

カテーテル1例 (*Enterobacter cloacae*), 血液・喀痰1例 (*Enterobacter aerogenes*), 喀痰7例 (*Enterobacter aerogenes* 2例, *Enterobacter cloacae* 2例, *Klebsiella pneumoniae* 3例), 腹水・膿1例 (*Klebsiella pneumoniae*), 膿3例 (*Enterobacter aerogenes* 1例, *Enterobacter cloacae* 2例), 膿・褥瘡1例 (大腸菌), 血液・尿2例 (*Klebsiella oxytoca*, *E. coli*), 喀痰・尿2例 (*Klebsiella pneumoniae* 2例), 尿8例 (*Enterobacter aerogenes* 4例, *Enterobacter cloacae* 1例, *Serratia marcescens* 1例, *Klebsiella pneumoniae* 1例, *E. coli* 1例), 便汁1例 (*Citrobacter freundii*), 膣分泌物1例 (*Enterobacter aerogenes*) であった。推定感染経路は以前からの保菌が19例, 中心静脈カテーテルからが5例, 尿路カテーテルからが2例, 手術部位(手術手技)が7例, その他院内感染が3例, 受傷時1例, 腸閉塞1例, 不明7例であった。

急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く.)は, 5月から全数把握対象に追加された疾患である。患者は, 3歳男児で両下肢に弛緩性麻痺があり, その他に髄液細胞数増加, 発熱, 下痢, 嘔吐の症状の記載があった。感染経路は不明であり, 国立感染症研究所におけるウイルス遺伝子検査では, 便検体からのみコクサッキーA群6型を検出している。

急性脳炎の届出は, 年々増加しており, 類型は患者6例(1月:2歳女児, 60代女性, 2月:2歳男児, 4月:12歳男児, 12月:20代女性, 40代女性), 感染症死亡者の死体1例(1月:30代男性)であり, この1例については, 発病した翌日に死亡している。原因病原体は, 1月の届出では全てインフルエンザAであり, 2月ではインフルエンザBであった。また, 12月の20代女性からはエコーウイルス11型を検出しており, その子ども(乳児)から感染したとされている。なお, その他は病原体不明となっている。

クロイツフェルト・ヤコブ病は, 6月に60代男性, 12月に70代男性の届出があった。病型は, 両事例とも古典型クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)であり, 進行性認知症, ミオクローヌスを呈していた。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は, 昨年より増加しており, 患者は男性12例(40代1例, 50代1例, 60代5例, 70代3例, 80代2例), 女性3例(40代1例, 80代2例)であった。このうち, 60代男性1例の血清型はG群, 80代男性2例の血清型はB群とC群, 80代女性1例の血清型はG群であり, これら4例とも発病1~2日後に死亡しており, 推定感染経路は80代女性1例が創傷感染であり, その他は不明で

あった。また, すべての事例でショック症状を呈していた。

後天性免疫不全症候群の届出は6例あった。1月は40代男性で病型は無症状病原体保有者, 3月は60代男性で病型はAIDS, 4月は50代男性で病型はAIDS, 8月は2例あり30代男性で病型はAIDS, 50代男性で病型は無症状病原体保有者, 12月は20代女性で病型は無症状病原体保有者の届出があった。AIDSと診断した3例の指標疾患は, ニューモシスティス肺炎2例, 活動性結核(肺結核又は肺外結核)1例であった。推定感染経路は, 性行為感染(異性間性的接触)が2例, 性行為感染(同性間性的接触)1例, 性行為感染(異性間・同性間性的接触)1例, 不明2例であった。

侵襲性インフルエンザ菌感染症は, 1月に60代男性, 5月に70代男性, 10月に1歳男児, 12月に70代男性の計4例の届出があり, このうち60代男性はヒブワクチンの接種歴が無く, 死亡している。また, 1歳男児は, ヒブワクチン接種歴が3回と記載されていた。

侵襲性髄膜炎菌感染症1例は, 12月に届出のあった80代女性であり, 推定感染経路は飛沫・飛沫核感染であった。なお, この女性は独居であり, 濃厚接触者はみられないとされている。

侵襲性肺炎球菌感染症の届出は28例あり, 昨年の40例から減少した。男性19例, 女性9例で, 2歳児1例, 40代1例, 50代1例, 60代6例, 70代11例, 80代5例, 90代2例, 100代1例であった。ワクチン接種歴は, 2歳男児では4回終了しており, その他接種歴有りは3例, 接種歴無しは9例, 不明15例であった。

水痘(入院例に限る)5例の病型は, 臨床診断例4例, 検査診断例1例であった。4歳女児, 20代男性, 30代男性, 60代女性, 70代男性の1例ずつであり, 4歳女児のみワクチン接種が確認されている。推定感染経路は, 飛沫・飛沫核感染が2例あり, そのうち1例は家族内感染が疑われる事例であった。その他, 接触感染1例, 院内感染1例, 不明1例であった。

梅毒は平成26年より届出数の増加が続いており, 昨年はやや減少したものの, 平成30年には過去10年で最多の53例の届出があった。男性43例(10代2例, 20代9例, 30代12例, 40代9例, 50代4例, 60代6例, 80代1例), 女性10例(10代1例, 20代4例, 30代1例, 40代1例, 50代1例, 70代2例)であり, 男性は全ての年代で増加し, 特に30代の増加が著しい。また, 平成26年度以降, 10代からの報告が続いている。なお, 20代女性の1例は, 妊娠23週であった。患者の病型は, 早期顕症梅毒40例(I

期：男性 24 例，女性 3 例，Ⅱ期：男性 10 例，女性 3 例），晩期顕症梅毒 1 例（30 代男性 1 例），無症候（無症状病原体保有者）12 例（男性 8 例，女性 4 例）であった。感染経路は性的接触が 46 例（同性間 4 例，異性間 33 例，経口 1 例，不明 8 例），不明 7 例であり，同性間は男性のみであった。推定感染地は，奈良県が 16 例，奈良県以外（都道府県不明を含む）が 33 例あり，そのうち国外（タイ）1 例も含まれている。また，不明は 4 例であった。

播種性クリプトコックス症 2 例は，いずれも 80 代男性であった。うち 1 例は，過去に鳩の飼育経験有りと記載されていた。

破傷風 1 例は 70 代女性で，感染原因や経路の記載はなく，症状からの臨床決定であった。症状は，筋肉のこわばり，開口障害，嚥下障害，発語障害とされていた。

バンコマイシン耐性腸球菌感染症は，過去 10 年で最多の 7 例届出があった。全て男性で，50 代 1 例，60 代 2 例，70 代 1 例，80 代 3 例であった。病原体検出部位・菌種としては，血液 4 例（*Enterococcus faecium* 3 例，不明 1 例），腹水 2 例（*Enterococcus faecium*，*Enterococcus faecalis*），後腹膜膿瘍 1 例（*Enterococcus faecium*）であった。このうち耐性遺伝子の検索は 2 例実施されており，それぞれ VanA，VanB であった。

百日咳は，1 月から全数把握対象に変更にされた疾患である。男性 24 例（6 ヶ月未満 6 例，5～10 歳未満 9 例，10 代 4 例，20 代 1 例，40 代 2 例，50 代 2 例），女性 32 例（6 ヶ月未満 2 例，6 ヶ月～5 歳未満 3 例，5～10 歳未満 15 例，10 代 8 例，20 代 2 例，30 代 1 例，40 代 1 例）であり，小児だけでなく幅広い年齢層から届出があった。感染経路は家族内感染（母親）3 例，家族内感染（母親・同胞）1 例，家族内感染（同胞）8 例，家族内感染（祖母・叔母）1 例，家族内感染（不明）16 例，不明 20 例であり，その他学校での流行が 7 例あった。ワクチン接種歴は，6 ヶ月～未成年では 39 例中 36 例で 4 回接種の記載があり，3 例は不明であった。成人では，9 例中 2 例が接種歴無しで，7 例は不明であった。

風しんの届出は 10 例あり，平成 25 年以降の流行である。7 月末頃から関東地方で流行し始め，都市部から流行が拡大し，全国的に届出数が増加し。男性 7 例（20 代 1 例，30 代 1 例，40 代 2 例，50 代 2 例，60 代 1 例），女性 3 例（10 代 1 例，20 代 1 例，50 代 1 例）であり，全国状況と同様，男性からの届出，特に 40～50 代からの届出が多かった。ワクチン接種歴は，

50 代の男女 1 例ずつのみ接種歴有りの記載があったが，その他については無しまたは不明であった。推定感染経路は，飛沫感染 2 例，職場における風しん患者との接触感染 1 例，その他は不明であった。推定感染地域は，奈良県 2 例，県外（都道府県不明含む）2 例，その他は不明であった。また，全て検査診断例であり，当センターでウイルス遺伝子検査が実施された 5 例からは全国的に検出されている 1E 型が検出されている。

## 2. 定点把握対象疾患の流行状況

県内の定点医療機関数を表 2 に示す。第 18 週から，吉野保健所管内における成人のインフルエンザ患者の把握のため，インフルエンザ（内科）定点が 1 定点追加された。

表 2 患者定点医療機関数（平成 30 年第 18 週～）

地区 保健所	北部		中部		南部		合計
	奈良市	郡山	中和(東)	中和(西)	内吉野	吉野	
インフルエンザ定点	14(5)	14(1)	11(3)	10(3)	2	4(1)	55(13)
小児科定点	9(4)	9(1)	7(2)	6(3)	1	2(1)	34(11)
眼科定点	3	3	2(1)	2	-	-	10(1)
基幹定点	1(1)	2(2)	1(1)	1(1)	-	1(1)	6(6)
性感染症定点	3	3	2	3	-	-	11

( )内は，病原体定点数

### 1) 週単位報告対象疾患（週報）

週報告対象の 18 疾患について，週別患者報告数を表 3 に示す。突発性発しんの定点当たり報告数及び県の出生率（人口千対：2017 年）を基に小児科定点把握対象疾患に限り定点当たり報告数を修正し比較すると，全国レベルよりも多いもの，少ないもの，全国並のものに分けられた。全国より多かった疾患は，RS ウイルス感染症であり，特に全国より少なかった疾患は，伝染性紅斑，流行性耳下腺炎であった。平成 30 年の年間定点当たり報告数で，上位 5 疾患の①インフルエンザ，②感染性胃腸炎，③A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎，④RS ウイルス感染症，⑤手足口病について，以下に発生状況を述べる。



表3 平成30年 週単位報告対象疾患 報告数

定 点	疾患名\週	1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	11	12	13	14	15	16	17	18	19	2	21	22	23	24	25	26	27	28	29	
※	インフルエンザ	679	1213	2247	2582	2450	1843	1439	1122	781	519	323	151	115	70	48	20	18	6	12	3	5	0	1	1	1	3	0	0	1	
	RSウイルス感染症	50	26	13	23	14	14	13	20	7	5	9	19	10	4	3	3	3	3	7	1	0	2	1	1	1	4	7	5	10	12
	咽頭結核熱	4	13	5	5	4	8	13	15	5	10	10	7	5	16	3	3	7	29	22	27	27	26	30	25	18	29	14	10	3	
	A群溶連菌咽頭炎※※	34	28	71	71	67	64	54	67	68	74	57	55	64	36	55	73	71	27	67	118	92	85	96	87	71	92	69	57	39	
	感染性胃腸炎	123	147	203	194	159	167	121	192	170	184	200	172	171	175	134	188	210	116	259	335	354	326	254	257	200	177	147	124	104	
	水痘	15	17	8	11	8	5	5	5	5	4	4	4	8	9	7	9	16	4	25	7	20	10	9	24	14	8	14	12	9	
	手足口病	2	1	4	5	3	4	1	4	4	1	5	3	0	1	1	2	6	2	7	12	13	7	11	20	17	31	28	52	60	
	伝染性紅斑	0	0	1	2	2	0	1	2	6	3	4	3	5	4	2	14	3	11	5	15	9	9	8	7	10	10	9	11	5	
	突発性発しん	7	13	11	13	9	14	3	18	15	14	9	13	13	14	11	13	23	7	22	17	16	12	22	12	13	20	18	21	14	
	ヘルパンギーナ	1	3	2	1	0	3	1	7	3	0	0	0	0	0	2	2	1	0	0	2	12	17	7	25	26	43	59	80	70	
	流行性耳下腺炎	3	2	5	4	3	0	0	0	0	0	2	1	0	2	1	1	2	0	6	2	4	1	4	2	2	4	3	3	9	
	急性出血性結核炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	流行性角膜炎	1	2	5	2	1	1	0	1	2	3	4	2	1	4	9	4	6	2	7	4	7	5	1	2	2	7	4	5	9	
	細菌性髄膜炎	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	2	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	
	無菌性髄膜炎	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	
	マイコプラズマ肺炎	1	1	1	0	2	1	0	0	0	2	2	2	0	1	0	3	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0
	クラミジア肺炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	感染性胃腸炎(ロタウイルス)	1	0	3	1	1	0	3	2	4	0	7	2	6	3	4	4	3	0	2	3	3	1	1	0	0	0	0	0	0	
定 点	疾患名\週	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	合計	(県) 定 点 当	(全国) 定 点 当	(修正・県 定 点 当*)			
※	インフルエンザ	0	0	0	0	0	11	2	0	5	2	9	2	4	27	17	45	39	43	98	60	286	578	531	17411	322.43	384.32	—			
	RSウイルス感染症	7	12	22	58	61	108	133	165	168	105	108	75	74	54	48	22	22	20	14	20	7	27	22	1638	48.18	38.29	44.22			
	咽頭結核熱	8	5	5	6	8	8	10	14	3	18	22	8	12	16	17	19	20	10	26	20	21	20	15	704	20.71	23.45	19.01			
	A群溶連菌咽頭炎※※	52	51	29	39	34	29	27	30	22	29	23	29	38	45	38	64	51	54	62	73	88	93	66	2975	87.5	113.63	80.30			
	感染性胃腸炎	111	94	56	96	118	87	104	120	74	75	78	91	85	100	87	127	145	123	191	216	172	236	209	8358	245.82	269.49	225.61			
	水痘	6	4	3	5	2	3	2	2	3	6	1	9	5	13	4	5	13	11	19	8	26	18	13	477	14.03	17.6	12.88			
	手足口病	60	35	37	34	25	32	46	43	31	33	64	32	42	45	35	58	60	43	34	24	28	16	10	1174	34.53	38.92	31.69			
	伝染性紅斑	6	14	4	5	7	7	5	3	5	4	3	3	7	4	3	4	1	2	3	5	5	3	7	271	7.97	15.59	7.31			
	突発性発しん	14	9	11	10	19	17	20	20	19	5	16	16	11	15	11	11	18	16	17	15	13	12	13	737	21.68	22.57	19.90			
	ヘルパンギーナ	102	86	70	62	51	38	25	20	17	15	24	13	12	13	5	1	9	2	7	2	0	1	2	944	27.76	31.5	25.48			
	流行性耳下腺炎	5	3	2	1	3	1	2	3	3	1	3	0	2	4	2	5	1	2	3	1	6	5	2	126	3.71	7.51	3.40			
	急性出血性結核炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	3	0.3	0.8	—			
	流行性角膜炎	7	8	4	22	15	13	12	19	16	19	18	19	8	9	15	5	11	9	6	9	7	7	11	372	37.2	44	—			
	細菌性髄膜炎	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	14	2.33	1.06	—			
	無菌性髄膜炎	0	0	1	0	0	0	2	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	11	1.83	1.68	—			
	マイコプラズマ肺炎	2	1	2	1	2	0	2	2	2	1	0	3	3	6	2	3	4	1	3	5	1	0	1	67	11.17	11.66	—			
	クラミジア肺炎	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—		
	感染性胃腸炎(ロタウイルス)	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56	9.33	6.74	—			

※インフルエンザ

※※A群溶血性レンサ球菌咽頭炎はA群溶連菌咽頭炎と表示している

※)人口千対出生数(出生率)からみたら新生児数の全国との比較:全国7.6,奈良県6.7(ともに2017年値),突発性発しんからみた捕拮割合を22.57/21.68として,本県の定点点たり報告数に,(22.57/21.68x6.7/7.6)を乗じて計上してみた.

### (1) インフルエンザ

平成 30 年の初め、第 3 週に定点当たり報告数が警報開始基準の 30 を超えて警報発令となった。その後、第 4 週まで報告数は増加し、その後徐々に減少し、第 9 週まで警報は継続した。また、年末の第 48 週に流行の目安となる 1 を超え、第 51 週に全国より 1 週早く注意報基準値の 10 を超えた (図 1)。

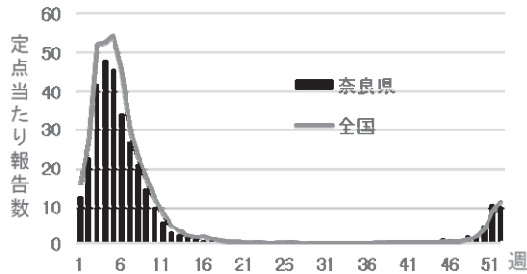


図 1 インフルエンザ

### (2) 感染性胃腸炎

昨年に比べ、わずかに報告数は増えており、第 20 週～第 22 週にかけて定点当たり報告数が全国より多くなった。ピークは、第 21 週の定点当たり報告数 10.41 であった (図 2)。

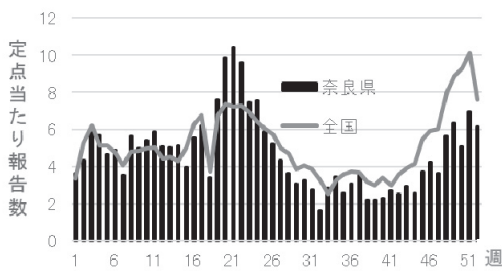


図 2 感染性胃腸炎

### (3) A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎

概ね、全国と同様の推移であったが、第 20 週では定点当たり報告数が 3.47 となり、全国より多かった (図 3)。

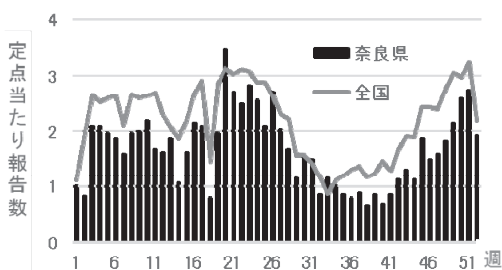


図 3 A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎

### (4) RS ウイルス感染症

第 33 週頃より増加が始まり、第 38 週に定点当たり報告数が 4.94 とピークを迎え、その後徐々に減少した。

全国より報告数は多い状況であった。(図 4)。

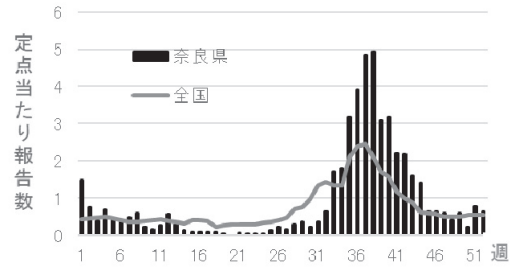


図 4 RS ウイルス感染症

### (5) 手足口病

昨年に比べ、報告数は大きく減少した。第 28 週頃にピークを迎え、その後、全国同様に減少するよう思われたが、第 40 週と第 46 週には、第 28 週と同程度のピークがみられた (図 5)。

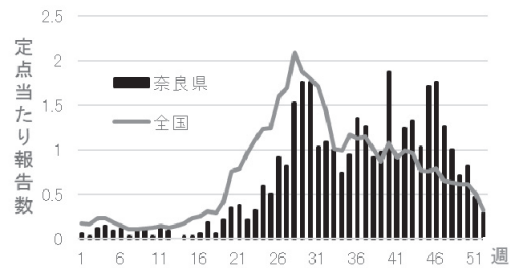


図 5 手足口病

## 2) 月単位報告対象疾患 (月報)

月報対象の性感染症 4 疾患及び薬剤耐性菌感染症 3 疾患について月別の報告数を表 4 に示す。

性感染症は、性器クラミジア感染症が昨年に比べ男女とも報告数が増加しており、尖圭コンジローマは女性からの報告が半減し、その他 2 疾患は昨年からはほぼ横ばいであった。なお、4 疾患とも 15 歳未満からの報告はなかった。

薬剤耐性菌感染症は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症が、過去 7 年間で最も多くなっており、その他 2 疾患は昨年からはほぼ横ばいであった。また、3 疾患とも 70 歳以上が最も多かった。

## 考 察

平成 30 年は、全国的に A 型肝炎の報告数が多くなり、本県での報告数も増加した。本県で発生があった場合は、検体確保を行い、ウイルス遺伝子検査を実施する等、流行状況の把握に努めた。また、A 型肝炎の感染経路は食事等の経口感染の他に、性的接触があり、男性の同性間性的接触による感染が増加していることから、今後も動向に注視し、適宜注意喚起に努めたい。

風しんは夏頃から全国的に流行が始まり、県内でも

表4 平成30年 月単位報告対象疾患 報告数

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	総数
性器クラミジア感染症	男	8	6	7	5	8	11	6	6	6	7	6	8	84
	女	10	5	8	2	6	5	10	8	9	8	10	11	92
性器ヘルペスウイルス感染症	男	1		1	1	1	2	1		1	1			9
	女	3	7	5	6	3	4	4	6	3	3	2	4	50
尖圭コンジローマ	男	2	2	4	5	5	1	4	3	2	2	1	3	34
	女		1	1	2	4	2			3	1	1		15
淋菌感染症	男	5	3	3	2	4	4	4	4	3	3	3	4	42
	女	1						1		1	1		1	5
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	男	46	32	29	26	22	24	19	42	24	32	33	29	358
	女	19	15	18	23	14	14	26	22	23	25	14	8	221
ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	男	11	2	5	5	2	2	1	1	2	2		2	35
	女	1	2	2	1	2	1	3	1	1			3	17
薬剤耐性緑膿菌感染症	男		2						1	2	2			7
	女													

8月以降報告がみられるようになった。風しん自体は通常あまり重い症状を呈さないが、妊婦が風しんに感染することにより、その赤ちゃんが先天性風しん症候群による障がいをもつことが大きな問題とされているため、妊娠を希望する男女等に対し、ワクチンの重要性等について、週報やホームページ等で繰り返し情報提供および注意喚起を行った。

百日咳は、定点医療機関を受診しない小児の発生状況や小児以外の年齢層も含めた発生動向の把握が可能となったため、今後も動向に注視し、情報提供を行いたい。

他には、インフルエンザ等の定点把握対象疾患（五類感染症）について、流行期前にはホームページにて詳細な情報について掲載し、情報提供に努めた。

今後も感染症に関する情報収集と迅速な情報提供を心がけ、感染症対策の一助となるよう努めたい。

### 謝 辞

奈良県感染症発生動向調査事業にご協力いただきました奈良県医師会、各医療機関の方々及び関係機関の方々に深謝いたします。

## 第3章 調査研究・報告

### 第3節 資 料





## 奈良県における結核菌の分子疫学調査（2018年度）

佐伯美由紀・田邊純子・内田美枝

Molecular Epidemiological Research of *Mycobacterium tuberculosis* in Nara Prefecture (2018)

Miyuki SAEKI・Sumiko TANABE and Yoshie UCHIDA

## 緒言

結核は、国内患者数および罹患率（人口10万人に対する新登録結核患者数）が減少傾向にあるものの、2017年の新登録結核患者数は16,789人報告されており、我が国の主要な感染症である（厚生労働省：平成29年結核登録者情報調査年報集計結果、[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/000175095\\_00001.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/000175095_00001.html)）。奈良県における2017年の新登録結核患者数は171人で前年（191人）より減少した。罹患率は12.7で、前年値（14.1）より減少し、全国値（13.3）より低い値となった。

平成28年に「結核に関する特定感染症予防指針」が改正され、菌が分離された全患者の結核菌株を確保し、その検査結果を積極的疫学調査等に活用するよう努めることと明記され、地方衛生研究所では遺伝子型別手法である Variable numbers of tandem repeats (VNTR) 型別による解析が進められている。奈良県と奈良市は2013年度から結核菌分子疫学調査事業として県内患者由来の結核菌株を収集し、当センターにおいてVNTR型別を実施している。

今回、2018年度に当センターへ搬入された結核菌について、VNTR型別を実施した結果をまとめたので報告する。

## 材料と方法

## 1. 材料

医療機関等で結核菌と同定され、2018年4月から2019年3月までに当センターへ搬入された72株を用いて試験を実施した。患者情報は届出内容及び保健所調査情報に基づいた。

## 2. 方法

## 1) VNTR 型別

結核菌からのDNA抽出方法は既報<sup>1)</sup>のとおり。

VNTR型別は、国内標準法として提唱されている Japan Anti-Tuberculosis Association (JATA) (12)-VNTR法<sup>2)</sup>を実施した。PCR条件は既報<sup>1)</sup>のとおりとし、得られたPCR産物は、マイクロチップ電

気泳動装置 MultiNA (MCE-202; 島津製作所) およびアガロースゲルによる電気泳動を実施し、測定値から各領域の反復数を算出した。全12領域の反復数が完全に一致した菌株群は、同一クラスターと判定した。

## 2) 遺伝系統の推定

VNTR型別結果のパターンから遺伝系統を推定するツール<sup>3)</sup>を利用した。

## 結果

## 1. 検体

結核菌72株の患者年齢階級別および性別菌株数を表1に、保健所別搬入菌株数を表2に示す。年齢階級別で見ると、70歳以上が42株(58.3%)あり、半数以上が高齢者由来であった。保健所別では中和保健所からの菌株が最も多く、南和地域は3株と少なかった。

表1 患者年齢階級別および性別菌株数

年齢階級	男性	女性	計
0~19	0	2	2
20~29	3	2	5
30~39	1	2	3
40~49	2	0	2
50~59	5	0	5
60~69	7	6	13
70~79	5	5	10
80~89	15	10	25
90~	1	6	7
計	39	33	72

表2 保健所別搬入菌株数

保健所	菌株数
奈良市	24
郡山	15
中和	30
吉野	0
内吉野	3
計	72

表3 JATA(12)-VNTR型におけるクラスター形成

No.	菌株番号	JATA(12)-VNTR												疫学情報	奈良県クラスターID
		J01	J02	J03	J04	J05	J06	J07	J08	J09	J10	J11	J12		
1	tb18031	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5		12TB14008
	tb18047	3	3	3	4	7	3	7	5	5	7	2	5		
2	tb18006	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5		12TB15009
	tb18016	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5		
	tb18023	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5		
	tb18051	4	1	3	2	7	4	7	4	5	7	8	5		
3	tb18027	4	1	3	2	7	4	9	4	5	7	8	5		12TB17025
	tb18066	4	1	3	2	7	4	9	4	5	7	8	5		
4	tb18012	4	1	3	2	7	5	7	4	5	7	7	5		12TB18012
	tb18013	4	1	3	2	7	5	7	4	5	7	7	5		
5	tb18038	4	3	2	4	3	3	7	4	5	7	5	5	同一患者由来のINH, SM耐性株と感受性株	12TB18038
	tb18043	4	3	2	4	3	3	7	4	5	7	5	5		
6	tb18019	4	3	4	3	5	3	6	4	5	10	8	3		12TB13005
	tb18024	4	3	4	3	5	3	6	4	5	10	8	3		
7	tb18008	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3		12TB13018
	tb18017	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3		
	tb18040	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3		
	tb18069	4	3	4	3	5	3	7	4	5	7	8	3		

## 2. VNTR 型別

VNTR 型別の結果、結核菌 72 株は 61 パターンの JATA(12)-VNTR 型に分かれ、18 株 (25.0%) が 7 クラスターを形成した (表 3)。

## 3. 遺伝系統の推定

JATA(12)-VNTR 型から遺伝系統を推定した結果、非北京型 8 株 (11.1%)、北京祖先型 45 株 (62.5%)、北京新興型 19 株 (26.4%) であると推定された (表 4)。患者年齢を見ると、69 歳以下では北京祖先型と北京新興型が多く、70 歳以上は北京祖先型が多かった。

表 4 遺伝系統の推定

遺伝系統	菌株数	年齢層別菌株数	
		0-69	70-
非北京型	8	3	5
北京祖先型	45	14	31
北京新興型	19	13	6
計	72	30	42

## 考 察

2018 年度、JATA(12)-VNTR 型が全て一致した菌株群は 7 クラスターあった。そのうち 1 クラスターは同一患者由来のイソニアジド (INH) およびストレプトマイシン (SM) 耐性株と感受性株であった (表 3)。

一方で疫学的関連情報がなく一致した菌株群は 6 クラスター見られた。JATA(12)-VNTR 法は、疫学的関連性の低い菌株を含むサーベイランス分析において分離できず同一型になる菌株が多く見出されている。これらの菌株をより厳密に異同判定するため、解析領域

を追加し分解能を向上させる方法もある。しかし全て識別することは困難であり、クラスター形成株については実地疫学情報の有無が重要になる。今後は取得済み患者情報の比較や追加疫学調査について、保健所や主管課と検証していく必要があると思われる。

2013 年度から開始した事業により、2018 年度までに結核菌 307 株の JATA(12)-VNTR 型別結果が得られた。2018 年度までのクラスター形成率は 43.6% (134 株/307 株) で、2017 年度まで (45.5%) より減少した。遺伝系統の推定も含めて、県内患者由来株についてさらに解析を進めたいと考えている。

今後も科学的根拠となる分子疫学解析情報を提供するため、県内の結核菌 VNTR 型別データベースを充実させていき、奈良県の結核対策に寄与していきたい。

## 謝 辞

本報は、奈良県ならびに奈良市結核菌分子疫学調査事業で得られたデータを解析してまとめたものであり、関係機関の皆様には深謝いたします。

## 文 献

- 1) 辻本真弓, 田邊純子, 橋田みさを, 他: 奈良県保健研究センター年報, 51, 65-66 (2016)
- 2) 前田伸司, 村瀬良朗, 御手洗聡, 他: 結核, 83, 673-678 (2008)
- 3) Seto J, Wada T, Iwamoto T, et al.: *Infect. Genet. Evol.*, 35, 82-88 (2015)

## 奈良県における腸管出血性大腸菌検出状況：2018年度

森村実加・佐伯美由紀・吉田孝子・田邊純子・内田美枝

Prevalence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Detected in Nara Prefecture, 2018

Mika MORIMURA・Miyuki SAEKI・Takako YOSHIDA・Sumiko TANABE and Yoshie UCHIDA

### 緒言

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) 感染症は、感染症法で三類感染症に指定され、診断した医師の全数届出が義務付けられている。感染者から分離された菌株は、保健所等の協力で当センターに搬入され、性状、血清型及び毒素型等の確認後、厚生労働省通知に基づき国立感染症研究所(以下、感染研)へ送付する。感染研では全国からの菌株についてDNA型別解析を実施し、全国的状況を把握すると共に、結果を地方衛生研究所へ還元する。当センターではその結果を保健所等へ報告している。

本報では、2018年4月から2019年3月の間に奈良県で届出され搬入されたEHEC感染症患者由来株と、当センターで分離したEHEC菌株について、患者情報や細菌検査の結果等をまとめたので報告する。

### 材料と方法

#### 1. 材料

2018年4月から2019年3月の間に奈良県で報告されたEHEC感染者は28例あり、内5例は当センターの接触者検便等で菌を検出した。保護者の同意が得られず菌株の譲渡がされなかったEHEC O157の1例を除く保健所等から搬入された22株と合わせてEHEC菌株27株を対象として検査を実施した。患者情報は、保健所の調査結果に基づく。

#### 2. 血清型別及びベロ毒素(VT)型別

血清型別は、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を使用した。VT型別は、Cebulaら<sup>1)</sup>のプライマーによるPCRで遺伝子を確認し、またWangら<sup>2)</sup>のプライマーによるPCRで変異型VT2遺伝子(*stx2c*, *stx2d*, *stx2e*及び*stx2f*)の保有状況を調査した。

#### 3. 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、セフトキシム(CTX)、セフポドキシム(CPDX)、ゲンタマイシン(GM)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CPFX)、ナリジクス酸(NA)、ST合剤(ST)、クロラムフェニ

コール(CP)及びホスホマイシン(FOM)の12薬剤について、センシ・ディスク(日本BD)を用いた感受性試験をCLSI法に準拠して実施した。

#### 4. 分子疫学解析

O157株は当センターにおいてIS-printing system(東洋紡、以下IS)法による遺伝子型別を実施した。また、感染研へ送付した菌株O157, O26, O103, O145及びO91株は反復配列多型解析(MLVA)法による分子疫学解析が実施され、結果の情報提供をうけた。

### 結果

#### 1. 腸管出血性大腸菌の検出状況

月別では、8月に7株(26%)と最多で7~10月に17株(63%)と例年同様、夏期に多かった。3月はこども園園児を初発とした集団発生があり検出数が多かった(図1)。年齢は2歳から86歳までと幅広く、性別で見ると男性10人、女性17人であった(図2)。

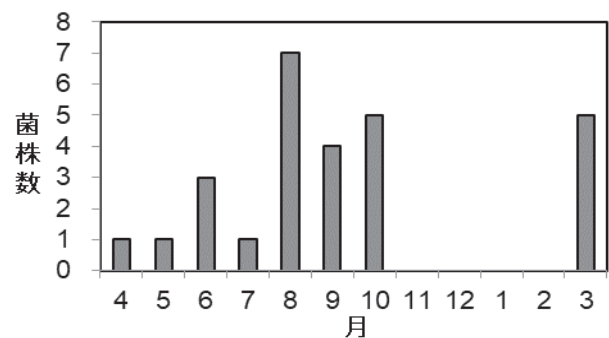


図1 月別検出状況

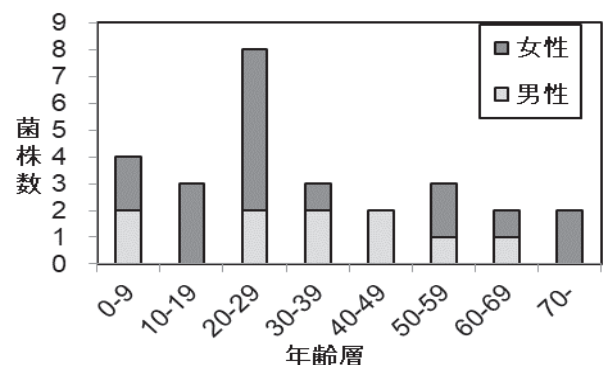


図2 年齢別・性別検出状況

## 2. 臨床症状

対象とした EHEC 菌株 27 株における感染者の臨床症状を見ると、O157 感染 22 例中 17 例が有症で、下痢 (17 例)、腹痛 (14 例)、血便 (14 例) が多く、他は発熱 (6 例)、嘔吐または嘔気 (3 例)、急性腎不全 (1 例) であった。O26 感染 2 例と O145 感染 1 例はいずれも有症で血便が見られた。O103 感染 1 例は有症で、血便は見られなかった。O91 感染 1 例は無症状病原体保有者であった。溶血性尿毒症症候群 (HUS) 発症例はなかった。

## 3. 血清型・毒素型

O 血清群は 5 種類あり、O157 が 22 株 (81.4%) と最も多く、17 株が O157:H7、5 株が O157:H- であった。O26 は 2 株 (7.4%) あり O26:H11 であった。他に O91:H-、O103:H2 及び O145:H- が各 1 株あった。毒素型は、O157 は VT1&VT2 が 18 株、VT2 単独が 4 株であった。O26、O103 は全ての株が VT1 単独であり、O91 は VT1&VT2 であった。また、O145 は VT2 単独であった。変異型 VT2 遺伝子は、*stx2c* 遺伝子を O157 の 7 株から、*stx2d* 遺伝子を O91 の 1 株から検出した (表 1)。

表 1 血清型と毒素型

血清型	VT型	菌株数	変異型VT2遺伝子	
			<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>
O157:H7	VT2	4	2	0
O157:H7	VT1&VT2	13	0	0
O157:H-	VT1&VT2	5	5	0
	小計	22	7	0
O26:H11	VT1	2	0	0
O91:H-	VT1&VT2	1	0	1
O103:H2	VT1	1	0	0
O145:H-	VT2	1	0	0
合計		27	7	1

## 4. 薬剤感受性試験

1 剤以上に耐性の菌株は 5 株あり、4 剤耐性が O157 に 1 株、3 剤耐性が O157、O26 及び O103 に各 1 株見られた。O91 と O145 の菌株は 12 薬剤に感受性を示した (表 2)。

表 2 薬剤感受性試験

O血清群	耐性	耐性薬剤名	菌株数
O157	4剤	ABPC, CTX, CPDX, CP	1
	3剤	ABPC, SM, TC	1
	1剤	CP	1
	なし	—	19
O26	3剤	ABPC, CTX, CPDX	1
	なし	—	1
O91	なし	—	1
O103	3剤	ABPC, CTX, CPDX	1
O145	なし	—	1

## 5. 分子疫学解析

O157 菌株 22 株について IS 法を実施し、データを近畿 IS データベースに準じてセット毎に十進数の数値に変換した (IS コード)。その結果、22 株は 9 タイプに分類され、2 株以上で一致した IS コードは 3 タイプあった。そのうち 2 タイプは疫学的関連性があり、1 タイプは疫学的関連性がなかった。

## 考 察

全国における 2018 年 1 月から 12 月までの EHEC 感染症報告数は 3,852 例あった<sup>3)</sup>。奈良県においては 2018 年 4 月から 2019 年 3 月の間に 28 例の報告があり、前年の 22 例より増加した。

疫学情報及び分子疫学解析より、関連性が疑われた株の集積は 2 事例あった。1 つは、同じ焼肉店を利用した 2 グループ 3 名から O157 を検出した事例で、遺伝子解析の結果、MLVA type が一致した。一方、3 株中 1 株は IS コードが異なり、1 バンド違いであった。分離株 3 株の類似度は高かったが、各グループの喫食日時が異なり、食品等の残品がなかった為、感染原因の特定には至らなかった。もう 1 つの事例は、初発患者がこども園園児であり、接触者 85 名の検便検査によって、同じ組の園児 2 名及びその同居家族 2 名からそれぞれ O157 を検出した。遺伝子解析の結果、MLVA 法と IS 法はすべて同じ type であり、分離株の遺伝学的類似性が高く、感染源は同一であると示唆された。

EHEC 感染は、患者調査情報によると、焼肉等肉料理を喫食した事例が多く、EHEC 感染者減少のためには、引き続き食肉の適切な加熱と、調理時の二次汚染防止の徹底が重要であり、またこども園などの乳幼児の集団生活施設では、接触感染による感染拡大が起きやすく注意が必要である。

今後も EHEC 感染症事例における分離株について、各種試験の実施やデータ蓄積を継続して、科学的側面から県内感染症の予防と拡大防止に寄与していきたいと考えている。

菌株収集にご協力を頂いた医療機関等と保健所関係者の皆様、そして DNA 型別解析結果を還元して頂いた国立感染症研究所の皆様にお礼申し上げます。

## 文 献

- 1) Cebula TA, Payne WL, Feng P, *et al.* : *J. Clin. Microbiol.*, 33, 248-250 (1995)
- 2) Wang G, Clark CG, Rodgers FG, *et al.* : *J. Clin. Microbiol.*, 40, 3613-3619 (2002)
- 3) 病原微生物検出情報, 40, 71-72 (2019)



## 奈良県におけるA群ロタウイルスG3の検出状況（2014/15～2017/18シーズン）

松本朋子・尾西美咲・藤谷美沙子・千葉翔子・中野 守・稲田真知

## Detection of Group A Rotavirus G3 in Nara Prefecture (2014/15 - 2017/18 Epidemic Seasons)

Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Misako FUJITANI・Shoko CHIBA・Mamoru NAKANO  
and Machi INADA

## 緒言

A群ロタウイルス（以下、RVA）は、小児下痢症の代表的な原因ウイルスの一つである。生後6ヶ月～2歳の乳幼児に多く、先進国であっても5歳までにほぼ100%のヒトが一度は感染すると考えられている。

RVAは、11分節からなる2本鎖RNAウイルスで、外殻を構成するVP7およびVP4は中和抗原を有する。この2種のタンパクに対する免疫応答では、初感染ではタイプ特異的だが、再感染によって交差反応性が強くなる<sup>1)</sup>。そのため、初感染では症状が重く、感染を繰り返すたびに軽症化する傾向がある。

RVAの疫学調査では、VP7およびVP4の遺伝子配列により、G型、P型のみで遺伝子型を簡便に示すことが多く、本邦で流行しているG1P[8]、G3P[8]、G4P[8]、G9P[8]はこれまでWa遺伝子群（P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1）に属し、G2P[4]はDS-1遺伝子群（P[4]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2）に属していた。しかしRVAは混合感染の際に遺伝子再集合（リアソートメント）を起こすことが知られており、近年、VP7とVP4の遺伝子型のみでは発見できない非典型的な変異株が報告されている。2012年以降は、DS-1遺伝子型構成を有するG1P[8]であるDS-1-like G1P[8]が奈良県でも検出されており<sup>2)</sup>、2014年以降は、ウマロタウイルスに類似したVP7を有し、DS-1遺伝子型構成を有するG3P[8]であるEquine-like G3が全国の広い地域から相次いで検出されている<sup>3)</sup>。今回、奈良県で2014/15シーズン以降に検出されたG3について、Equine-like G3の検出状況を報告する。

## 対象及び方法

奈良県感染症発生動向調査において2014/15～17/18シーズン（2014年9月～2018年8月）にRVAを検出した検体について、国立感染症研究所病原体検出マニュアル<sup>4)</sup>に準じたマルチプレックスRT-PCR法により、G型別を行った。G3と判定した51株について、NSP4およびNSP5/6遺伝子をRT-PCR法によ

り増幅し、両者の全長を比較することでEquine-like G3の推定分類を行った<sup>5)</sup>。一部の検体についてはパーシャルシーケンスにより遺伝子型を決定した。患者情報については、感染症発生動向調査病原体検査票から、年齢、性別等を抽出した。

## 結果

2014/15～17/18シーズンにおいてG3が検出された51株について、Equine-like G3の推定分類を行ったところ、49株が分類できた。

2014/15シーズンの17株および2015/16シーズンの2株はすべて野生株であった。2016/17シーズンにEquine-like G3が初めて検出され、18株のうち、Equine-like G3は15株であった。2017/18シーズンでは12株のうちEquine-like G3は10株であった（表）。

表 G3のシーズン別検出状況

シーズン	G3分類 (%)		合計
	野生株	Equine-like	
2014/15	17	0	17
2015/16	2	0	2
2016/17	3 (16.7)	15 (83.3)	18
2017/18	2 (16.7)	10 (83.3)	12
合計	24	25	49

また、年齢別に見ると、野生株が検出された患者は2歳以下の患者が半数以上を占めており、平均年齢は3.3歳であった。一方Equine-like G3では5歳以上の患者が半数以上を占め、平均年齢は5.0歳であり、Equine-like G3の患者年齢が高い傾向にあった（図）。

臨床症状について、37.5℃以上の発熱がみられた例は、野生株が検出された患者24例のうち12例（50.0%）、Equine-like G3では25例のうち19例（76.0%）と、Equine-like G3が検出された患者の方が発熱がみられやすい傾向にあった。下痢・嘔吐症状

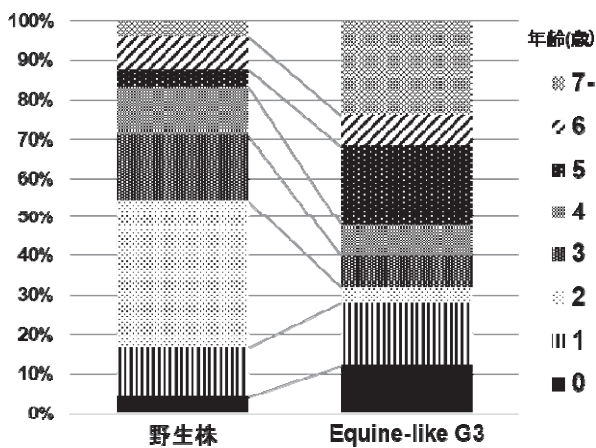


図 G3 の年齢別検出状況

の有無や回数など、その他の症状において明らかな違いは認められなかった。

### 考 察

G3 株のさかのぼり調査により、奈良県において Equine-like G3 が検出されたのは 2016/17 シーズン以降であり、2016/17 シーズン、2017/18 シーズンでは検出された G3 のうち大部分を占めていたことが明らかになった。2016/17 シーズンにおいては、神戸、北海道、東京など他の都道府県からも続々と Equine-like G3 が検出されており、奈良県での検出も全国と同時期であることが分かった。また、野生株が検出された例は 2 歳以下の患者が半数以上を占める一方、Equine-like G3 では 5 歳以上の患者が半数以上を占め、Equine-like G3 の患者年齢が高い傾向にあった。その理由として、ウイルスの遺伝子変異により、すでに免疫を獲得している年長の患者にも感染が拡大したことが考えられるが、2011 年にロタウイルスワクチンが導入されて以降、低年齢層の患者が年々減少し、ワクチン接種の機会がなかった年齢層の患者の割合が相対的に増加傾向にあることも一因として考えられる。

Equine-like G3 は国内だけでなくオーストラリアやヨーロッパ、ブラジル、東南アジアの国々でも相次いで検出されているが<sup>3)</sup>、発生した要因は明らかにされておらず、国内における感染拡大の経緯も分かっていない。奈良県においては 2016/17 シーズンに初めて Equine-like G3 が検出されて以来、G3 の 8 割以上を占めており、主流株の一つとなる可能性を示している。

今後も、今までに報告がない非典型的な遺伝子型が新たに出現する可能性が十分に考えられる。ワクチン導入の評価や感染症対策のため、流行株の調査を継続するとともに、非典型的な遺伝子型の動向の把握に努

めていく必要がある。

### 謝 辞

検体の提供にご協力いただいた奈良県感染症発生動向調査病原体定点の先生方に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 谷口孝善：ウイルス, 62(1), 87-96 (2012)
- 2) 杉本大地, 中野守, 稲田真知, 他：臨床とウイルス, 44(3), 121-126 (2016)
- 3) 藤井克樹：病原微生物検出情報, 38, 172-173 (2017)
- 4) 病原体検出マニュアル 感染性胃腸炎 (ロタ) 2014 年 12 月版：国立感染症研究所
- 5) Kuzuya M, Fujii R, Hamano M, *et al.* : *J. Med. Virol.* DOI 10.1002/jmv.23746 (2013)



## 奈良県におけるA型肝炎ウイルスの検出状況について（2018年）

藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守・稲田真知

## Detection of Hepatitis A virus in Nara Prefecture(2018)

Misako FUJITANI・Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Shoko CHIBA・Mamoru NAKANO  
and Machi INADA

## 緒言

A型肝炎は、A型肝炎ウイルス（HAV）が原因の一過性急性肝炎が主症状の疾患である。HAVは6つの遺伝子型（I～VI）に分類され、それぞれがAとBのサブグループに分けられる。ヒトから検出されるのはI～III型とされ、血清型は1種類である。感染経路は、食事等の経口感染や性的接触である。HAVは糞便中に排泄されるため、上下水道の整備が進んでいる先進国では感染者が減少しているが、発展途上国では未だ蔓延している。そのため、先進国でも国際交流や発展途上国からの輸入食品を介して感染者が増加する可能性がある。日本は、世界的に見てもA型肝炎の少ない地域であり、抗体保有率は低下しているため、特に注意が必要である。

A型肝炎は潜伏期間が長く、感染経路が多岐に渡ることから、聞き取り調査による感染源の遡り調査が困難な場合がある。そのため感染源の共通性を見出すためには、患者糞便から分離されるウイルス株の分子疫学的解析が重要となる。疫学的解析が行えるようA型肝炎の発生届けがあった場合、検体を確保するよう通知が発出されている<sup>1)</sup>。この通知に基づき、奈良県ではこれまでA型肝炎の発生があった場合には、検体確保に努め、遺伝子検査を実施してきた。2018年は全国的にA型肝炎の報告が多く、奈良県でも例年より報告数が多くみられたため、2018年の検出状況および遺伝子型解析結果等について報告する。

遺伝子検査を実施し、解読した塩基配列はNESIDに登録するとともに、国立感染症研究所ウイルス第二部第五室に報告した。

## 方法

## 1. 検査対象

2018年1月から2018年12月の間のA型肝炎の届出7例を対象とし、そのうち糞便検体が確保できた6例について遺伝子検査を実施した。

## 2. 検査方法

糞便をQIAamp Viral RNA Mini Kit（QIAGEN）を用いて、添付のプロトコールに従ってRNAを抽出・精製した。その後、プライマーHAV+2799（5'-ATTTCAGATTAGACTGCCTTGGTA-3'）/HAV-3273（5'-CCAAGAAACCTTCATTATTTTCATG-3'）を用いたRT-PCRを実施した<sup>2)</sup>。得られた遺伝子増幅産物についてダイレクトシーケンスを行い、塩基配列決定後、近隣結合（NJ）法により標準株を用いた系統樹解析を実施した。

## 結果

糞便検体を確保できた6例のうち5例からHAVを検出した。5例の患者概要を表1に示す。報告は6月から8月にあり、性別に偏りはみられず、年齢は40代が多かった。推定感染経路は、同性間性的接触が1例、冷凍の海産物の喫食による感染が2例、不明が2例であった。いずれの患者も海外渡航歴はなく、ワクチン接種歴も認められなかった。得られた塩基配列より系統樹解析を行った結果、5例すべてがIA型であった（図1）。5例は2つの異なるクラスターに分類され、表1のNo.1～No.3の3例は、2018年に全国的に流行していた株と同様の株であった。No.4およびNo.5は、2017年に長野県等で集団発生を引き起こした原因食材の一つとされる中国産冷凍殻付きアサリから検出された流行株と同じクラスターに分類された。

表1 患者概要

No.	報告月	性別	年齢	推定感染経路
1	6月	男	46	同性間性的接触
2	7月	女	74	不明
3	8月	男	39	不明
4	8月	女	43	冷凍のエビを加熱後喫食
5	8月	男	47	冷凍の海産物を加熱して喫食

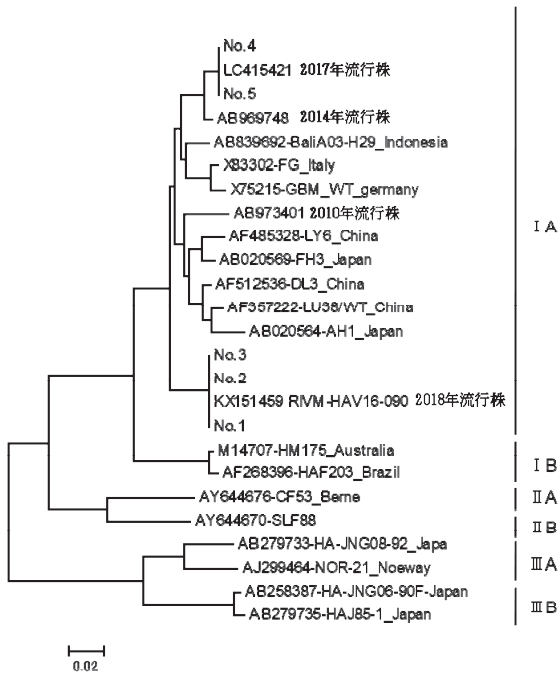


図1 A型肝炎ウイルス416bpにおける系統樹

### 考察

2018年は全国的にA型肝炎の報告が多く、奈良県でも例年より報告数の多い年であった。日本は50歳以下のHAV抗体保有率が極めて低いとされているが、HAVを検出した5例のうち4例は50歳以下の症例であったため、抗体保有率の低下と発症年齢の関連がうかがえる。

また2018年は、全国的に男性の同性間性的接触による報告が増加した。本県で検出した5例の中にも同性間性的接触が推定感染経路とされる報告が1例含まれていた。2018年に全国的に流行したRVM-HAV16-090株は、ヨーロッパ内外において男性同性愛者(MSM)でアウトブレイクを引き起こした株の一つである<sup>3)</sup>。またヨーロッパではMSMから非MSMへの感染の拡大も認められている。日本もHAVに対する感受性者が増えていることからMSMから非MSMへの伝播は容易である。RVM-HAV16-090株と同クラスターであった事例は、同性間性的接触が感染経路とされる事例以外に、感染経路は不明であるが2例検出している。この2例のうち1例は女性であったためMSMから非MSMへの感染拡大の可能性が示唆され、今後の動向に注意が必要である。

また冷凍の海産物の喫食歴のある2例は、2017年に長野県等で集団発生を引き起こした原因食材の一つとされる中国産冷凍殻付きアサリから検出されたウイルス株と同じクラスターに分類された。喫食した海産物が、集団発生を引き起こした原因食材と同じ海域で

捕られたものであるか、同じ業者の商品であるかなどの詳細はわかっていないが、集団感染事例と何らかの関連があると考えられる。

A型肝炎の感染源の特定は、感染経路が多岐に渡ることや潜伏期間が長いことから遡り調査では困難な場合がある。そのため、糞便検体からの疫学的解析は非常に重要性が高い。またMSMでの流行株が非MSMへ感染を拡大させ、県内で大きな流行を引き起こす可能性があることから今後の動向にも注意が必要である。

### 文献

- 1) 医薬食品局食品安全部監視安全課長通知「A型肝炎発生届受理時の検体等の確保について」、健感発第0426第2号、食安監発0426第4号(平成22年4月26日)
- 2) 病原体検出マニュアル A型肝炎 第2版 平成30年12月:国立感染症研究所
- 3) Ingrid HM Friesema, Gerard JB Sonder, Mariska WF Pettrignani, *et al*: Euro Surveil, 23 (23), pii: 1800265 (2018)

## 平成30年度の風疹及び麻疹検査の状況について

稲田真知・藤谷美沙子・松本朋子・尾西美咲・千葉翔子・中野 守

About the Situation of Rubella and Measles Examination(2018)

Machi INADA・Misako FUJITANI・Tomoko MATSUMOTO・Misaki ONISHI・Shoko CHIBA  
and Mamoru NAKANO

## 緒言

風疹及び麻疹は、ともに発熱、発疹を呈する急性ウイルス感染症で、それぞれ風疹ウイルスはマトナウイルス科、麻疹ウイルスはパラミクソウイルス科と大きく異なるウイルスだが、類似した症状を呈する。風疹が問題になるのは妊娠早期の感染により胎児への影響が大きいことで、麻疹については、強い免疫低下を起こすことから合併症も多く、中には急性脳炎により重篤な後遺症が残ることや死亡する場合があること、さらに感染力が非常に強いことがあげられる。

我が国では、昭和52～53年より定期接種が開始され、季節的な流行は減少し患者数が激減した。しかし、数回にわたる予防接種制度の改正があり、接種の機会が全くなかった年代や1回のみしか接種していない年代などがあることから、海外からの輸入事例を発端とする患者数の増加は、ほぼ毎年発生している。

WHOの麻疹及び風疹の排除目標にあわせて我が国でも、特定予防指針が改正され、麻疹は平成25年4月<sup>1)</sup>から、風疹は平成30年1月<sup>2)</sup>から、原則として全症例について、医療機関での抗体検査に加えて、地方衛生研究所での遺伝子検査が指示された。平成30年度には、全国で風疹及び麻疹両方が流行し、検査依頼が増加した。平成30年度の検査状況及び患者発生状況について報告する。

## 方法

## 1. 対象

奈良市を含む県内の医師から平成30年度(4月～翌年3月)に、風疹または麻疹として届出があった患者のうち、検体の提出があったものを対象とした。

## 2. 方法

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>3,4)</sup>に従って実施した。検体は1例につき原則として、咽頭拭い液、凝固防止末梢血液、尿の3検体が必要で、さらに麻疹検査では、凝固防止末梢血液を血漿と末梢血単

核球に分画して検査に用いた。遺伝子検査は、リアルタイムRT-PCR等により、迅速なウイルス遺伝子の検出を行い、ウイルス排出の有無を判定した。次に、ウイルス遺伝子を検出した場合には、ウイルスの遺伝子配列解析を実施し、遺伝子型を判定した。

## 結果

平成30年度には、風疹の検査依頼は26例、麻疹は19例あった。夏以降、風疹の流行が続く中、バレンタインの頃に近隣自治体の大型商業施設で麻疹患者が発生したことなどから、風疹検査依頼に麻疹検査を追加したのが7例、麻疹検査依頼に風疹検査を追加したのが9例あった。これらのうちウイルスを検出したのは、風疹ウイルスでは風疹検査を依頼された26例中9例、麻疹に追加して行った9例中4例あった。また麻疹ウイルスでは麻疹検査を依頼された19例中5例、風疹に追加して行った7例中1例あった。中には、MRワクチン接種後に麻疹疑いとして検査依頼があり、麻疹及び風疹ウイルスの両方を検出したものもあった。

検出したウイルスの遺伝子配列による系統樹解析では、風疹は全国的に流行している1E型がほとんどであったが、ワクチン型(1a型)の検出もあった。麻疹ウイルスについても、D8型がほとんどであったが、ワクチン型(A型)の検出もあった(図1, 2)。

また、当センターの検査ではウイルス遺伝子の検出がなく、陰性と判定したが、医療機関等で実施する抗体の検出を元に届出された症例が、風疹で7例あり、麻疹はなかった。

## 考察

これまで風疹及び麻疹の検査依頼は、両項目合わせても年平均13.7件程度であったが、平成30年度は合計61件と、非常に多い年となった(図3)。また、陽性となった患者数もこれまでで最も多く、麻疹では、陽性割合(陽性例/依頼例)が3月に37.5%であった。

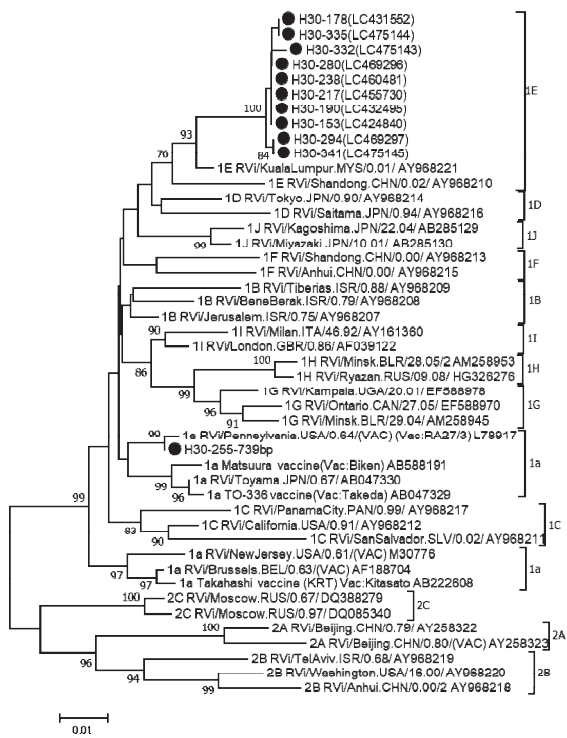


図1 風疹ウイルス E1 遺伝子(739bp)に基づく分子系統樹 (NJ法)

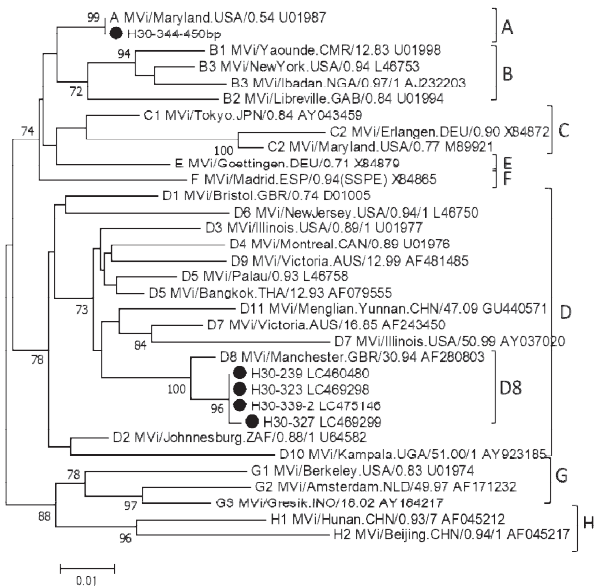


図2 麻疹ウイルス N 遺伝子(450bp)に基づく分子系統樹 (NJ法)

ウイルスを検出した中には、MR ワクチン接種後に風疹または麻疹の症状を呈し、担当医から届出されたが、当センターの検査でワクチン型ウイルスと判明したため、ワクチンの副反応として届出が取り下げられた症例が2例あった。ともに成人男性であった。流行中であったため、副反応を強く疑いながらも、野生株の感染が否定できないとして、患者には担当保健所から外出を控えるよう依頼されることから、ウイルス遺伝子型の解析は、迅速に行う必要があった。

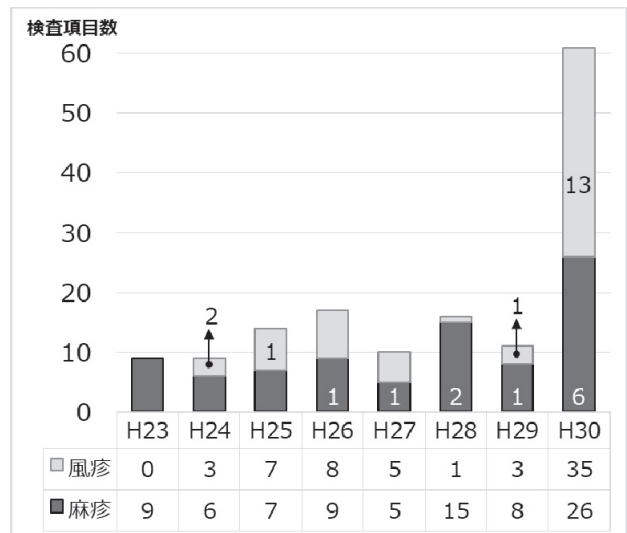


図3 年度別検査項目数 (グラフ内：検出数)

また、当センターの検査で陰性判定であったが、医療機関等で実施する抗体の検出を元に届出された症例が、風疹で7例あったことについては、通常風疹は、臨床症状から診断する臨床診断では判断しにくく、抗体価の検出による検査診断の後に届出及び遺伝子検査を依頼されることがほとんどであり、陰性となった検体は発症後遺伝子検査検体採取まで日数が平均10.4日(6, 8, 10, 10, 10, 13, 16日)と、陽性であった検体の平均4.2日(1, 1, 2, 4, 6, 11日)より遅れて提出されることが多かったためと思われる。病原体検出マニュアルによると、遺伝子検査に最適な検体採取時期としては、発症2,3日前から発症後1週間程度とされていることから、今後は適期の採取を働きかけていきたい。

今後の状況としては、海外では麻疹が前年を上回る規模で流行しており<sup>5)</sup>、渡航者による輸入例やそれを発端とした地域流行が予想されることから、引き続き検査依頼は多いと思われる。さらに、令和元年度から成人男性を対象とした風疹ワクチンの第5期定期接種が開始されることから、野生株とワクチン株の鑑別診断も増加すると思われる。

## 文献

- 1) 「麻しんに関する特定感染症予防指針」, 厚生労働省, 最終改訂平成25年4月1日適用
- 2) 「風しんに関する特定感染症予防指針」, 厚生労働省, 最終改訂平成30年1月1日適用
- 3) 病原体検出マニュアル 風疹第3.2版 平成29年8月: 国立感染症研究所
- 4) 病原体検出マニュアル 麻疹第3.4版 平成29年4月: 国立感染症研究所
- 5) Measles and Rubella Surveillance Data, WHO

## 第3章 調査研究・報告

### 第4節 他誌掲載論文の要旨





## 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

村上友規・仲井菜都希・安藤尚子・岡山明子

食品衛生学雑誌, 59, 121-125 (2018)

測定時間短縮を目的として、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の迅速分析法を検討した。トリクロロ酢酸を用いて抽出し、遠心分離後の上清をろ過後、固相抽出をせずに蛍光誘導体化し試験溶液とした。移動相にはイオンペアを使用せずに 10 mM リン酸塩-アセトニトリル (75 : 25) を用いた。鮮魚、調味料およびそれらの加工品などを対象に妥当性試験を実施し、食品ごとの平均回収率は 95.8~117.7%であった。本法は前処理から測定まで迅速に行うことができることから、緊急性を要する食中毒発生時の測定に有用である。

## GC-MS を用いた分析での共存農薬による対象農薬のピーク増強効果

吉光真人<sup>1)</sup>・阿久津和彦<sup>1)</sup>・北川陽子<sup>1)</sup>・高取聡<sup>1)</sup>・福井直樹<sup>1)</sup>・小阪田正和<sup>1)</sup>・山口聡子<sup>2)</sup>・並河幹夫<sup>3)</sup>・伴創一郎<sup>3)</sup>・大久保祥嗣<sup>4)</sup>・中島涼<sup>4)</sup>・丸山量子<sup>4)</sup>・角谷直哉<sup>1)</sup>・宮本伊織<sup>1)</sup>・山下浩一<sup>5)</sup>・西山隆之<sup>5)</sup>・神藤正則<sup>5)</sup>・山本直美<sup>5)</sup>・高井靖智<sup>6)</sup>・樋下勝彦<sup>7)</sup>・梶村計志<sup>1)</sup>・尾花裕孝<sup>8)</sup>・渡辺卓穂<sup>9)</sup>

食品衛生学雑誌, 59, 146-150 (2018)

共存農薬による測定対象農薬へのピーク増強効果の普遍性を確認するため、我々は共同研究を実施した。まず、溶媒中で共存農薬数によるピーク増強の確認を行った。次に、希釈枝豆マトリックス存在下で、測定対象農薬 3 種類のみ、および共存農薬 166 種類を含む、2 種類の検量線を用いて測定対象農薬を定量した。どちらにおいても、すべての機関で共存農薬によるピーク増強効果を確認した。それらは、枝豆マトリックスの添加により軽減された。以上から、GC-MS を用いて食品中の残留農薬を正確に定量するには、試験液や検量線に含まれる、測定対象農薬以外の共存農薬からの影響に注意する必要がある、またその影響は、食品マトリックス添加により軽減される可能性があると考えられた。

<sup>1)</sup> 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所, <sup>2)</sup> 大阪府藤井寺保健所, <sup>3)</sup> 京都市衛生環境研究所, <sup>4)</sup> 神戸市環境保健研究所, <sup>5)</sup> 堺市衛生研究所, <sup>6)</sup> 和歌山県環境衛生研究センター, <sup>7)</sup> 和歌山県新宮保健所串本支所, <sup>8)</sup> 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社, <sup>9)</sup> 一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所

## 入浴施設の拭き取り検体におけるレジオネラ属菌生菌迅速検査法の評価

吉田孝子・河口友理・辻本真弓・橋田みさを・内田美枝

日本防菌防黴学会誌, 46, 401-405 (2018)

近年、レジオネラ属菌において、生菌のみを検出する迅速検査法 LC EMA-qPCR 法が開発された。浴槽水についての有効性は報告されているが、拭き取り検体については知見に乏しい。そこで今回、拭き取り検体 32 検体について、LC EMA-qPCR 法と培養法、及び LAMP 法を比較し評価した。LC EMA-qPCR 法の培養法に対する感度は 93% (13/14)、特異度は 67% (12/18) であった。培養法陽性、LC EMA-qPCR 法陰性は 1 検体 (20CFU/プース) のみであった。LAMP 法の培養法に対する感度は 50% (7/14)、特異度は 67% (12/18) であり、培養法で 10~50CFU/プースの低菌数検体 5 検体全てで LAMP 法陰性となった。さらに、高菌数検体でも LAMP 法陰性となった検体が存在した。LC EMA-qPCR 法は、LAMP 法より検出率が高く、良好な感度が得られた。また、培養法に対する LC EMA-qPCR 法の定量値の比較では  $R^2=0.7457$  と高い相関を示していた。LC EMA-qPCR 法は、拭き取り検体についても、培養法の結果を良好に反映する方法であった。

## 第3章 調査研究・報告

### 第5節 報告書の要旨



## ISO/IEC 17025 認定取得に向けた試験所の検討に関する研究

渡辺卓穂<sup>1)</sup>・石井里枝<sup>2)</sup>・菅谷京子<sup>3)</sup>・庄司 正<sup>4)</sup>・井上裕子<sup>2)</sup>・吉田栄充<sup>2)</sup>・近藤貴英<sup>5)</sup>・大門拓実<sup>6)</sup>・  
門倉圭佑<sup>7)</sup>・笹本剛生<sup>8)</sup>・脇ますみ<sup>9)</sup>・高橋京子<sup>10)</sup>・橋口成喜<sup>11)</sup>・小池恭子<sup>12)</sup>・栗津 薫<sup>13)</sup>・  
神藤正則<sup>14)</sup>・上田泰人<sup>15)</sup>・米田正樹・高井靖智<sup>16)</sup>・土山智之<sup>17)</sup>・渡邊敬浩<sup>18)</sup>

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）分担研究報告書

食品衛生検査の業務管理について、昨年度は ISO/IEC 17025 を基礎とした取組みが地方自治体の食品衛生検査施設に導入された場合の検査の品質保証に与える影響と課題を明らかにし、それらを解決する方策を検討した。

本年度はこれら研究成果を地方衛生研究所全国協議会・臨時総会において地方自治体の食品衛生検査施設の長と導入に向けての課題やその解決策、今後導入にあたり必要となる準備などについて情報共有を図った。

さらに、地方自治体への ISO/IEC 17025 に準拠した品質保証導入に向け、具体的事例として、すでに公的検査機関として 5 つの分野で ISO/IEC 17025 認定を取得している横浜検疫所輸入食品・検査センターを視察し、その取組みについて情報収集を行った。

この情報を基にして、食品衛生検査施設において ISO/IEC 17025 に準拠したガイドラインに従った新たな品質保証に関する取組み実施の一助となるよう、現行の業務管理要領に規定されていないマネジメントシステムや技術的な必要事項について地方自治体に向けたマニュアル及び手順書案を作成した。

また、新規手法により開発された試料や安定性及び均一性の改善を目的に開発された技能試験試料を分析し、実際に分析を行う試験所の立場から技能試験プログラムの開発に資する助言を行った。

<sup>1)</sup>一般財団法人食品薬品安全センター、<sup>2)</sup>埼玉県衛生研究所、<sup>3)</sup>栃木県保健環境センター、<sup>4)</sup>群馬県食品安全検査センター、<sup>5)</sup>さいたま市健康科学研究センター、<sup>6)</sup>越谷市保健所、<sup>7)</sup>千葉県衛生研究所、<sup>8)</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>9)</sup>神奈川県衛生研究所、<sup>10)</sup>横浜市衛生研究所、<sup>11)</sup>川崎市健康安全研究所、<sup>12)</sup>愛知県衛生研究所、<sup>13)</sup>地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所、<sup>14)</sup>堺市衛生研究所、<sup>15)</sup>神戸市食品衛生検査所、<sup>16)</sup>和歌山県環境衛生研究センター、<sup>17)</sup>名古屋市衛生研究所、<sup>18)</sup>国立医薬品食品衛生研究所

## 水中ノロウイルスの検査法確立とそれを用いた河川水中のノロウイルス定量

千葉翔子

公益財団法人 大同生命厚生事業団 平成 29 年度「地域保健福祉研究助成」報告集

本県では、これまで環境水（流入下水）中のポリオウイルス調査を実施してきたが、細胞培養によるウイルス同定を前提としているため、培養のできないノロウイルス（NV）については検査を実施できていなかった。そこで、環境水の調査で実施している陰電荷膜法に加え、Mg 法と PEG 法を追加し、3 法についてウイルス回収率の比較検討を実施した。その結果、これまで実施してきた陰電荷膜法による濃縮法の回収率が最も高く、本県においては他の濃縮法より効率よく濃縮できることがわかった。また、この陰電荷膜法により河川水の調査を実施したところ、NV が極低濃度で存在すると考えられる河川水中からも NV を検出することができた。河川水の調査結果と感染症発生動向調査で得られた NV 検出状況についての比較では、異なる部分もあり、河川水の調査結果と感染症発生動向調査における患者発生状況との関係性については見いだすことは出来なかった。



## 第3章 調査研究・報告

### 第6節 研究発表の抄録



## UPLC への分析メソッド移管について

村上友規・仲井菜都希・安藤尚子・立本行江

平成 30 年 6 月 29 日（大和郡山市） 平成 30 年度奈良県衛生関係職員研修会

当センターでは食品添加物の収去検査に HPLC を用いてきたが、UPLC 導入に伴い HPLC の分析メソッドを UPLC に移管する作業を進めており、現在までに保存料（ソルビン酸、安息香酸、デヒドロ酢酸）、保存料（パラオキシ安息香酸）及び着色料の検査項目のメソッド移管が完了した。

保存料について移管した分析方法で添加回収試験を実施したところ、夾雑物及び各成分ともにピークの分離が確認され、保存料（ソルビン酸、安息香酸、デヒドロ酢酸）の平均回収率は 92.8%、RSD(%)は 1.08、保存料（パラオキシ安息香酸）の平均回収率は 105.3%、RSD(%)は 0.99 となり UPLC でも分析可能となった。

着色料については定性試験での UPLC 使用を想定しており、保持時間のバラつきを抑え、検体と標準溶液のスペクトルを一致させる必要がある。本検討の n=5 の繰り返し試験において保持時間の誤差を 0.03 min 以内に抑えることができ、検体及び標準溶液間でのスペクトルの一致が認められたことから、UPLC を用いた着色料の定性試験が可能となった。

## フグ食中毒におけるテトロドトキシン分析法の検討

村上友規・安藤尚子・立本行江

平成 30 年 11 月 9 日（神戸市）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

当センターでは 2016 年の食中毒発生以降、フグ毒の病因物質であるテトロドトキシン（以下、TTX）の検査体制の整備を進めている。方針として UPLC-MS/MS を用いたフグ組織及び尿検体中の「TTX の定量法」と「遺伝子による魚種鑑別法」を確立し、それらを総合的に複合させフグ食中毒における病因物質の同定・定量及び魚種鑑別が実施できる検査体制の構築を目指している。

なかでも、尿検体中には高濃度の塩類夾雑物が含まれており、これらに起因するマトリックス効果が TTX 回収率低下の原因となる。そこで、各種陽イオン交換カラムを使用し、キャッチ&リリース法による夾雑物除去を検討した。尿検体の塩類夾雑物除去方法として Supel-Select SCX(60 mg)に TTX を保持させ、2%ギ酸で溶出する方法が最も効果的であった。添加回収試験を実施したところ、平均回収率は 95.3%、RSD(%)は 3.7 となった。

## 奈良県におけるフグ毒検査体制強化の取り組みについて

村上友規・安藤尚子・立本行江

平成 30 年 11 月 15 日（橿原市）第 39 回奈良県公衆衛生学会

フグ食中毒は患者の症状が重篤化しやすく、意識障害に至った患者からの喫食状況の聞き取りは困難になることもある。更に、検査試料も臨床検体や目視で判別の難しい調理品など様々であり、病因物質及び原因食品の特定は困難を極めるが、いかなる状況下でもそれらを迅速かつ正確に特定する事は健康危機管理の上で必務である。当センターでは 2016 年の食中毒発生以降、フグ毒の病因物質であるテトロドトキシン（以下、TTX）の検査体制強化を進めている。今回は UPLC-MS/MS を用いたフグ組織及び尿検体中に含まれる TTX の定量法を構築した。フグ組織（筋肉、皮、肝臓及び卵巣）の前処理方法として、遠心分離及び脂質除去方法について検討した。遠心分離の回転数を 9,000 rpm で上清の夾雑物を沈降除去し、脂質は Bond Elut C18(500 mg)を使用したパススルー法で除去した。構築した方法で添加回収試験を実施したところ、平均回収率は 85.8%～95.1%、RSD(%)は 2.8～13.5 であった。尿検体の塩類夾雑物除去方法として Supel-Select SCX(60 mg)に TTX を保持させ、2%ギ酸で溶出する方法が最も効果的であった。添加回収試験を実施したところ、平均回収率は 95.3%、RSD(%)は 3.7 となった。

## LC-MS/MS による畜産物中からのテトラサイクリン系抗生物質 一斉分析法の検討

北岡洋平・米田正樹・南浦茉奈・樋上 絢・西山隆之・山下浩一<sup>1)</sup>・立本行江・堀 重俊

平成 30 年 11 月 30 日（横浜市）第 55 回全国衛生化学技術協議会年会

テトラサイクリン系抗生物質は、動物用医薬品や飼料添加物として広く使用され、食品中の残留農薬等検査結果（厚生労働省）においても検出事例の上位を占めていることから、畜産物中に残留している可能性が高い。現在、テトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリンの 3 種類で通知法が示されているが、移動相として使用する緩衝液が高濃度のため、測定機器に負担がかかることや、蛍光検出器を用いた HPLC 法のため、疑い物質検出時の物質同定ができない等の難点が多い。また、ドキシサイクリンは残留基準値が設定されているが、試験法は示されていない。

今回、上述の問題点の改善及びドキシサイクリンの試験法の構築のため、分析装置に LC-MS/MS を用い鶏の筋肉、豚の筋肉及び牛の筋肉からのテトラサイクリン系抗生物質の 4 種類の一斉分析法の検討を行った。その結果、豚の筋肉及び牛の筋肉は、精製条件の追加検討が必要と考えられたが、鶏の筋肉は妥当性評価ガイドラインの基準を満たし、通知法より高感度の分析法を確立した。

<sup>1)</sup>奈良県景観・環境総合センター

## 食用に供される野生鳥獣における食中毒起因菌の保有状況調査

佐伯美由紀・平城 均・久野翔平・田邊純子・内田美枝・前田寛之\*・竹中恵子\*

平成 30 年 6 月 29 日（大和郡山市） 平成 30 年度奈良県衛生関係職員研修会

県内で捕獲され食用に供される野生鳥獣（シカおよびイノシシ）の糞便中の食中毒起因菌の保有状況を調査した。対象菌は大腸菌，サルモネラ属菌，カンピロバクター属菌とし，大腸菌については病原因子遺伝子（VT, LT, ST, *invE*, *eae*, *bfpA*, *aggR*, *astA*）の検索，カンピロバクター属菌については PCR 法による菌種（ジェジュニ／コリ）の同定を実施した。シカ由来 7 検体，イノシシ由来 12 検体の糞便について検査をした結果，病原因子遺伝子保有の大腸菌が 5 検体（シカ由来 1 検体，イノシシ由来 4 検体）から検出された。サルモネラ属菌およびカンピロバクター・ジェジュニ／コリの検出はなかったが，4 検体（イノシシ由来 4 検体）よりカンピロバクター・ジェジュニ／コリ以外のカンピロバクター属菌を検出した。

\* 奈良県食品衛生検査所食肉検査課

## 腸管毒素原性大腸菌の食品での試験法のコラボレイティブスタディによる評価（2）

吉田孝子・白石祥吾<sup>1)</sup>・稲垣俊一<sup>2)</sup>・森 哲也<sup>3)</sup>・平塚貴大<sup>4)</sup>・永井佑樹<sup>5)</sup>・磯部順子<sup>6)</sup>・  
和田裕久<sup>7)</sup>・山崎匠子<sup>8)</sup>・小西典子<sup>9)</sup>・大塚佳代子<sup>10)</sup>・土屋彰彦<sup>11)</sup>・岩渕香織<sup>12)</sup>・  
甲斐明美<sup>13)</sup>・寺嶋 淳<sup>14)</sup>・工藤由起子<sup>14)</sup>

平成 30 年 9 月 28 日（大阪市） 第 39 回日本食品微生物学会学術総会

食品からの腸管毒素原性大腸菌（ETEC）検査法確立のため，主要 O 血清群のうち O159 及び O148 を対象としたコラボレイティブスタディを実施した。ETEC 食中毒の主な原因食品とされる，キュウリと長ネギを検体に設定して検査を実施し，リアルタイム PCR 法は分離培養法より概ね検出率が高くスクリーニング法として優れていること，ビーズ法によって分離率が向上することが示された。コラボレイティブスタディの研究結果から，mEC 培地での増菌培養（42℃），ST・LT 遺伝子のリアルタイム PCR 法でのスクリーニング，ビーズ法，選択分離培地での分離培養を組み合わせることによって，食品中の ETEC が比較的高率に検出されることが判明した。

1)神戸検疫所，2)横浜検疫所，3)（一財）東京顕微鏡院，4)広島総研保環セ，5)三重保環研，6)富山衛研，7)静岡市環保研，8)杉並衛セ，9)東京都健安研，10)埼玉衛研，11)さいたま市健科研，12)岩手県環保研セ，13)（公社）日食協，14)国立衛研

## 食品を対象とした腸管毒素原性大腸菌検出法確立のための コロボレイティブスタディによる評価

小西典子<sup>1)</sup>・大塚佳代子<sup>2)</sup>・山崎匠子<sup>3)</sup>・和田裕久<sup>4)</sup>・磯部順子<sup>5)</sup>・永井佑樹<sup>6)</sup>・平塚貴大<sup>7)</sup>・  
森 哲也<sup>8)</sup>・稲垣俊一<sup>9)</sup>・白石祥吾<sup>10)</sup>・土屋彰彦<sup>11)</sup>・吉田孝子・岩淵香織<sup>12)</sup>・  
甲斐明美<sup>13)</sup>・寺嶋 淳<sup>14)</sup>・工藤由起子<sup>14)</sup>

平成 30 年 11 月 15 日（広島市） 日本食品衛生学会第 114 回学術講演会

食品を対象とした腸管毒素原性大腸菌（EPEC）検出法確立のため、地方衛生研究所及び検疫所等の合計 13 機関によるコロボレイティブスタディを実施した。EPEC 血清群は O159 及び O148 とし、それぞれキュウリ及び長ネギに低菌数または高菌数を接種し検査を実施した。その結果、EPEC の検査法は mEC 培地での増菌培養後、ST 及び LT 遺伝子のリアルタイム PCR 法でのスクリーニング試験を行い、陽性検体から菌の分離を試みる方法が有用であることが判明した。また、免疫磁気ビーズや抗菌剤を添加した平板培地も有効であった。

1)都健安研, 2)埼玉衛研, 3)杉並衛セ, 4)静岡市環保研, 5)富山衛研, 6)三重保環研, 7)広島総研保環セ,  
8)（一財）東京顕微鏡院, 9)横浜検疫所, 10)神戸検疫所, 11)さいたま市健科研, 12)岩手県環保研セ,  
13)（公社）日食協, 14)国立衛研

## 浴槽水のレジオネラ属菌 LAMP 法検査における DNA 抽出法改良の検討

辻本真弓・久野翔平・河口友理・佐伯美由紀・吉田孝子・田邊純子・内田美枝

平成 30 年 11 月 15 日（橿原市） 第 39 回奈良県公衆衛生学会

レジオネラ属菌の LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification) 法検査における遺伝子増幅反応の阻害物質の影響軽減を目的として DNA 抽出法の検討を実施した。LAMP 法で反応阻害を生じるフミン酸濃度及び鉄イオン濃度に調製したレジオネラ属菌液について、アルカリ熱抽出法（現行法）、NucleoSpin Tissue XS(タカラバイオ)、QIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN)、キレックス処理、低速遠心+キレックス処理の 5 種類の DNA 抽出法による LAMP 法の比較を行ったところ、低速遠心+キレックス処理のみでフミン酸及び鉄イオンの両方の反応阻害軽減が認められたため、低速遠心+キレックス処理を改良法と決定した。実検体を用いて改良法による LAMP 法を実施したところ、現行法で反応阻害が考えられた浴槽水 7 検体のうち 4 検体で LAMP 法の結果が陽性に転じ、反応阻害の影響軽減に有効であった。また、現行法で LAMP 法陽性の浴槽水 9 検体について、改良法で検査を実施した結果、8 検体で LAMP 法陽性となり、培養法で低菌数の 1 検体を除いて、現行法とほぼ同様の検出感度であった。今後は、更なる実検体でのデータ集積と解析のため、現行法と併用しながら、検査対応に活用していきたい。



## 食品におけるリステリア・モノサイトゲネス汚染状況

久野翔平・辻本真弓・吉田孝子・田邊純子・内田美枝

平成 30 年 11 月 15 日（橿原市） 第 39 回奈良県公衆衛生学会

平成 26 年に非加熱食肉製品及びナチュラルチーズに *L.monocytogenes* の規格基準値（100 cfu/g）が設定された。一方で基準が定められていない Ready-to-Eat 食品（RTE 食品）や、食肉製品の原料となる食肉からも同菌の検出報告があることから、県内流通食品における汚染状況の把握を目的として、汚染実態調査を行った。平成 28 年 6 月から平成 30 年 6 月の間に搬入された食品 35 検体について厚生労働省通知「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」に準じ、定性試験によるスクリーニングを行ったところ、食鳥肉 1 検体から *L.monocytogenes* を、3 検体から *L.innocua* を、一夜漬け 1 検体から *L.welshimeri* を検出した。

*L.monocytogenes* を検出した食鳥肉について定量試験を実施した結果、検出限界（10 cfu/g）未満であった。検出したリステリア属菌 5 株について PCR を実施した結果、*L.monocytogenes* のみ病原遺伝子 *hly*, *prfA* を保有していた。今回実施した RTE 食品については、いずれも陰性であったが、日本国内においてもナチュラルチーズを原因と推定する集団事例が報告されていることから、今後も引き続き汚染状況の把握が必要と考える。

## 2016 年-2017 年に国内で流行したムンプスウイルスの分子系統学的解析

木所 稔<sup>1)</sup>, 中田恵子<sup>2)</sup>, 佐野貴子<sup>3)</sup>, 成相 絵里<sup>4)</sup>, 後藤 慶子<sup>5)</sup>, 稲田 眞知<sup>6)</sup>, 藤谷 美沙子<sup>6)</sup>, 広川 智香<sup>7)</sup>, 斎藤 博之<sup>8)</sup>, 柴田ちひろ<sup>8)</sup>, 伊藤 雅<sup>9)</sup>, 皆川 洋子<sup>9)</sup>, 竹田 誠<sup>1)</sup>, 菅 秀<sup>10)</sup>

平成 30 年 6 月 10 日（栃木県） 第 59 回日本臨床ウイルス学会

おたふくかぜワクチンの定期接種化を見据えて、国内でのムンプスウイルスの分子疫学データの集積は喫緊の課題となっている。我々は、全国の地方衛生研究所および拠点病院との共同研究により、各地で検出されるムンプスウイルスの遺伝子型の集約と解析を行ってきた。2016 年は 237 検体、2017 年は 93 検体の検出情報が得られた。2016 年は前年に始まった全国的な流行がピークに達したのを反映して、これにまでない検出数が報告された。その 99% が遺伝子型 G であり、その内 88%（289 例）を Gw が占めた。一方、これまで国内で報告例のない新たな系統の G が三重県内で 2 例、茨城県で 2 例検出された。また、2015 年に沖縄県で検出された香港由来と考えられる G 亜型（Ghk）が北九州市で 2 例検出された。その他、愛知県では中国由来の F が 1 例検出され、奈良県では韓国由来の H が 2 年連続して検出された。これらの新たな系統が今後国内でどのような動きを見せるか注目される。

この研究は、東輝明（北九州市保健環境研究所）、酒井崇（熊本県保健環境科学研究所）、米谷僚子（滋賀県衛生科学センター）、浜端宏英（アワセ第一医院）、新妻隆広（順天堂大学医学部附属浦安病院）、久場由真仁（沖縄県衛生環境研究所）、浅沼理子（静岡市環境保健研究所）、坂本美砂子（千葉市環境保健研究所）の諸先生方との共同研究である。

国立感染症研究所<sup>1)</sup>, 大阪健康安全基盤研究所<sup>2)</sup>, 神奈川県衛生研究所<sup>3)</sup>, 石川県保健環境センター<sup>4)</sup>, 茨城県衛生研究所<sup>5)</sup>, 奈良県保健研究センター<sup>6)</sup>, 新潟県保健環境科学研究所<sup>7)</sup>, 秋田県健康環境センター<sup>8)</sup>, 愛知県衛生研究所<sup>9)</sup>, 国立病院機構三重病院<sup>10)</sup>

## ノロウイルスによる集団発生状況について

藤谷美沙子・千葉翔子・尾西美咲・松本朋子・中野 守・稲田眞知

平成 30 年 6 月 29 日（大和郡山市） 平成 30 年度奈良県衛生関係職員研修会

ノロウイルス（NV）は感染力が非常に強く、大流行を引き起こすと集団発生件数も増加し、社会に与える影響が大きい。本県の 2005/2006 シーズンから現在までの発生状況と NV の変異や新規遺伝子型の出現時期を比較すると、GⅡ.4 が変異した 2006 年、2012 年、また新規遺伝子型 GⅡ.17 が出現し、本県で検出し始めた 2015 年に集団発生、特に食中毒事例が増加している。幼少期は多様な遺伝子型の暴露を受けるため、毎シーズン集団感染症が発症するが、成人は集団免疫の存在により成人中心の集団発生件数は少ない。しかし変異や新規遺伝子型が出現すると、子どもだけでなく成人も免疫を持っていないため成人を中心とする集団発生（食中毒事例）が増加すると考える。GⅡ.4 の前回の変異が確認されてから今年で 6 年が経ち、いつ変異してもおかしくないと考えている。2018 年 4 月からの集団発生事例数はここ数年の中で最も多く、食中毒事例は 9 例、感染症事例は 4 例である。今後も注意喚起を継続して行い、冬季のピークを迎える前に流行拡大防止のために更なる強化が必要であると考えている。

## 2009 年から現在までの奈良県における梅毒患者の発生状況

藤谷美沙子・千葉翔子・尾西美咲・松本朋子・中野 守・稲田眞知

平成 30 年 11 月 15 日（橿原市） 第 39 回奈良県公衆衛生学会

梅毒は梅毒トレポネーマという病原体が原因の感染症であり、性的な接触（他人の粘膜や皮膚と直接接触すること）などにより感染する。病型は、感染早期を示す早期顕性梅毒（Ⅰ期、Ⅱ期）、感染後数年～数十年の晩期顕性梅毒、無症状病原体保有者に分類される。2010 年以降、梅毒の患者報告数は全国的に増加し、現在も報告数の多い状況が続いている。奈良県では 2014 年から報告数が増加し始め、多い状況のまま推移している。特に男性の増加が著しく、2018 年はすでに過去 10 年で最も報告数が多くなっている。また患者年齢は 2014 年より 10 代からの報告が続いており、若者への予防啓発が必要である。病型は、早期顕性梅毒Ⅱ期と晩期顕性梅毒を合わせると全体のおよそ 4 割を占めるため、早期顕性梅毒Ⅰ期のうちに発見できるよう、初期症状の啓発が重要と考える。感染経路は、男性は同性間性的接触の割合は変わらず、異性間性的接触の割合が増加している。女性は過去から変わらず異性間性的接触が多い。近年、全国的に患者年齢が若年化してきていることや女性の報告が増加していることから厚生労働省では、性感染症に対する予防啓発のポスターに女性に人気のキャラクターを掲載するなどの工夫をされている。奈良県感染症情報センターでも、若者にも興味をもってもらえるような、また早期発見・早期治療へと繋げられるような予防啓発を継続、強化していきたいと考えている。

## 奈良県保健研究センター年報投稿規定

1. 奈良県保健研究センター年報は、本研究センターにおいて行った研究・調査の業績を掲載する。
2. 投稿者は、本研究センター職員とする。ただし、共同研究者はこの制限を受けない。
3. 原稿の種類と内容

### 1) 原著

調査研究などで新知見を含むまとめたものは、原著として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、要旨（200字程度）、緒言、方法、結果、考察、文献とする。

### 2) 報告

調査研究、事業に係る技術等検討などでまとめておく必要のあるものは、報告として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、緒言、方法、結果、考察、文献とする。

### 3) 資料

事業に係る技術等検討及び特に記載してまとめておく必要のあるものは、資料として投稿できる。記述の順は、表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、本文とする。本文には緒言、方法、結果、考察に相当する内容を含め、体裁にとらわれず自由に記述することができる。資料の長さは刷り上り2ページを超えない。

### 4) 他誌掲載論文の要旨

他誌に掲載した論文の内容を紹介する。記述の順は、表題、著者名、掲載誌名、要旨（欧文も可）とする。

### 5) 研究発表の抄録

学会（研究会を含む）に発表した内容を紹介する。記述の順は、表題、発表者名、学会名（研究会名）、抄録（欧文も可）とする。抄録の内容は400字以内（欧文は10行以内）にまとめる。

## 4. 原稿作成要領

### 1) 執筆要領

- (1) 本文は日本語を用いる。

本文中の和文フォント（漢字・ひらがな・カタカナ）はMS明朝（全角）、英数フォント（数字・アルファベット）はCentury（半角）を用いる。フォントサイズは10ポイントを用いる。

- (2) 原稿はワープロソフトで作成し、句読点は「，」「．」（全角）とする。

- (3) 原稿はA4版用紙を使用する。

表題（和文、欧文）、著者名（和文、欧文）、要旨は、1行46文字、緒言以下は、1行24文字、1頁46行の2段組とする。表題は12ポイントを用いる。

- (4) 見出し等の番号は以下のように記載する。頭出しの数字、カッコ、ドットは半角を用い、見出し文との間に半角スペースを入れる。

1. Arial（半角）・・・見出し

1) Arial（半角）・・・小見出し

(1) Century（半角）、① MS明朝（全角）、i) Century（半角）・・・細分見出し

見出し文および小見出し文の英数フォントはArial（半角）、細分見出し文の英数フォントはCentury（半角）を用いる。

- (5) 単位は国際的に慣用されているものを使用し、数字と単位の間は半角スペースを1つ挿入する。

ただし％、℃はMS明朝（全角）を用い、記号と数字の間はスペースを入れない。

### 2) 表題、著者名、所属機関名

- (1) 表題の和文フォントはMSゴシック（全角）とし、英数フォントはArial（半角）とする。表題の欧文フォントはCentury（半角）とし、冠詞、前置詞・副詞、接続詞以外の単語は第1字目を大文字にする。

- (2) 著者名の欧文は、名は最初の1文字のみを大文字とし、姓はすべて大文字とする。

- (3) 本研究センター職員以外の著者名については、その右肩に「\*、\*\*」の記号をつけ、それぞれの所属機

関名をその頁の最下段に脚注として記載する。

### 3) 図・表および写真

- (1) 図・表および写真は白黒とする。
- (2) 図・写真では下にタイトルと説明を、表では上にタイトル、下に説明を記載する。なお、タイトルと説明は画像貼付しないこととする。
- (3) 図は線の太さ、文字の大きさなど縮尺を考慮して作成し、本文中に挿入しておく。
- (4) 表中の和文フォント（漢字・ひらがな・カタカナ）はMS明朝（全角）、英文フォント（数字・アルファベット）はCentury（半角）を用いる。グラフ中のフォントはそれぞれMSゴシック（全角）とArial（半角）を用いる。

### 5) 脚注および引用文献

- (1) 脚注は「\*」を用い、欄外に入れる。
- (2) 引用文献は<sup>1)</sup>, <sup>1,2)</sup>, <sup>1-3)</sup> のように右肩に示し、最後一括して番号順に列記する。
- (3) 文献は下記のように著者名（3名まで）、雑誌名、巻、ページ、年号（西暦）の順に記載し、巻数はゴシック体、欧文雑誌名はイタリック体とする。以下に例を示す。
  - 1) 佐藤恭子, 山田隆, 義平邦利, 他: 食衛誌, 27, 619-623 (1986)
  - 2) Hine J, Dowell A, Singley JE, et al.: *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 479-483 (1956)
  - 3) “食品衛生検査指針理化学編” 厚生省生活衛生局監修, 212-216 (1991), (社) 日本食品衛生協会
- (4) インターネット上のホームページ等の変更・削除されることがあるので本文中に記載する。

### 5. 原稿の提出について

- 1) A4版用紙に印字した原稿1部とする。なお、紙情報にあわせて原稿・図・表の電子情報の形で提出のこと。
- 2) 原稿は所属担当統括主任研究員を経て編集委員に提出する。
- 3) 提出期限は編集委員会で定める。

### 6. 審査

原稿は編集委員会において審査し、採否を決定する。また編集委員会は必要に応じて、種類・内容の変更を求めることができる。

### 7. 校正

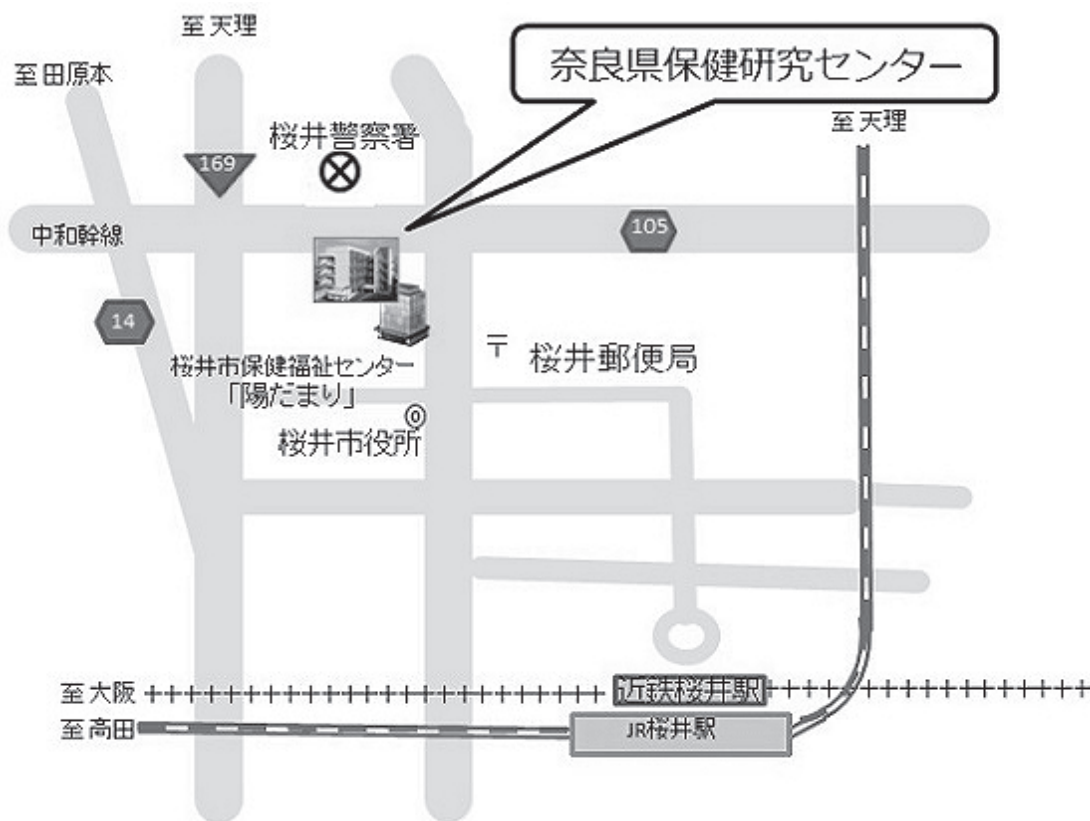
校正はすべて著者の責任とするが、編集委員会は編集の都合上変更を求めることができる。

### 8. その他

- 1) 年報編集に関し必要な事項は、すべて編集委員会において決定する。なお編集委員会はセンター所長（編集委員長）、副所長及び食品、細菌、ウイルス・疫学情報担当各1名の編集委員で構成する。
- 2) 編集委員の任期は1年とし、業務は年報の発送をもって終了する。
- 3) 本投稿規定は編集委員の決議により、改正することが出来る。
- 4) 編集委員は年報全体の統一を図る目的でスタイルの調整を行うことができる。

### 9. 附則

- 1) この奈良県保健研究センター年報投稿規定は、平成19年4月12日から施行(改正)する。
- 2) この規定は、平成25年4月1日に改正する。
- 3) この規定は、平成28年6月1日に改正する。
- 4) この規定は、平成29年5月16日に改正する。
- 5) この規定は、平成30年5月15日に改正する。



【編集委員】

堀 重 俊 (委員長)  
 榮 井 毅  
 米 田 正 樹  
 河 口 友 理  
 阪 本 孝 幸

奈良県保健研究センター年報

第53号 平成30年度(2018年)

編集発行人 奈良県保健研究センター  
 〒633-0062 奈良県桜井市栗殿 1000 番地  
 電話 0744-47-3160  
 FAX 0744-47-3161

印刷所 株式会社アイプリコム  
 〒636-0246 奈良県磯城郡田原本町千代 360-1  
 電話 0744-34-3030

