

令和元年度

# 奈良県保健研究センター一年報

No.54

2019

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。

近年、ビッグイベント開催に対する食品衛生・感染症・テロ等の各種対策や、地震や頻発する台風・豪雨等の自然災害に対する対策など様々な課題が指摘・検討されています。地方衛生研究所全国協議会近畿ブロックでは以前から健康危機事象模擬訓練を実施しており、昨年度当センターが事務局を担当したことから、健康危機対応の再確認を目的に、ラグビーワールドカップ開催直前の8月に、炭疽菌テロを想定したシナリオで、炭疽菌遺伝子検査（微生物検査）と、犯人所持の白い粉の物質探索（理化学検査）を混ぜた内容で、模擬訓練を実施しました。

また、当センターが事務局を担当している県公衆衛生学会では、「大規模災害に備える」をテーマにシンポジウムを開催し、東日本大震災を体験された病院医療関係者や、紀伊半島大水害を経験されその後の復興に尽力された方々をお招きし、災害発生時に医療・保健衛生で何をすべきかを再認識する機会となりました。

今年に入ると、昨年12月に発生した新型コロナウイルス感染症（COVID-19）が瞬く間に日本はもとより世界中に拡散し、1月下旬にヒト・ヒト感染として日本人初の感染者が奈良県内で確認され、県内関係機関に衝撃が走りました。当センターでは、2月上旬からリアルタイムPCR法での検査を開始し、所内外から人員の応援を受けながら、機器整備を実施し検査体制強化を図っております。

それ以外でも、食品の安全性確保や世界的に懸念されている薬剤耐性菌の蔓延など、保健衛生関連で様々な問題が山積しております。

このような問題に対応すべく、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、QuEChERS法の導入による残留農薬検査項目の拡大について検討いたしました。細菌分野では、水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立について検討を行いました。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、令和元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2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	12
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) 奈良県公衆衛生学会への協力	13
8) 信頼性確保業務	13
9) 健康危機事象模擬訓練	14
10) 外部評価制度	15

## 第2章 試験・検査概況

食品担当	17
細菌担当	22
ウイルス・疫学情報担当	28
奈良県感染症情報センター	
新型コロナウイルス感染症の検査対応について（第一報）	38

## 第3章 調査研究・報告

### 第1節 原 著

1. QuEChERS 法による農産物中残留農薬の一斉試験法の検討 .....	南浦茉奈・米田正樹・北岡洋平・樋上 絢・立本行江	43
 <b>第2節 報告</b>		
1. ツキヨタケによる食中毒事件について .....	安藤尚子・仲井菜都希・竹田依加・西山隆之・立本行江	53
2. 食品中の異物検査フローの構築と苦情事例 (2019 年) .....	竹田依加・安藤尚子・仲井菜都希・西山隆之・立本行江	57
3. クワズイモ中のシュウ酸カルシウム結晶同定法の検討 .....	竹田依加・安藤尚子・仲井菜都希・西山隆之・立本行江	62
4. 健康危機管理模擬訓練の検体検証について (2018~2019) .....	立本行江・村上友規・樋上 絢・南浦茉奈・米田正樹・安藤尚子	67
5. レジオネラ症感染源調査における浴槽水等からの <i>Legionella spp.</i> 検出状況 (2016 年度~2019 年度 ; 奈良県) .....	内田美枝・吉田孝子・辻本真弓・佐伯美由紀・中野 守	71
6. 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 (2019 年) .....	吉田孝子・松井恵梨子・佐伯美由紀・森村実加・内田美枝	74
7. 奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について—2018/2019 シーズン— .....	尾西美咲・松浦侑輝・松本朋子・千葉翔子・阪本孝幸・稲田眞知	78
8. 感染症発生動向調査による患者発生状況 : 2019 年 .....	千葉翔子・阪本孝幸・尾西美咲・松本朋子・松浦侑輝・稲田眞知	81
 <b>第3節 資料</b>		
1. 食品中メチル水銀の定量分析のためのフェニル誘導体化 GC-MS 法の確立について .....	西山隆之・安藤尚子・立本行江	89
2. QuEChERS 法による鶏の筋肉中のサルファ剤の一斉試験法の検討 .....	米田正樹・西山隆之・立本行江	91
3. 奈良県における A 群ロタウイルスの遺伝子解析 (2018/19 シーズン) .....	松浦侑輝・尾西美咲・松本朋子・千葉翔子・阪本孝幸・稲田眞知	93
 <b>第4節 報告書等</b> .....		95
<b>第5節 研究発表の抄録</b> .....		99
 奈良県保健研究センター年報投稿規定 .....		106

# 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 (令和 2 年 4 月 1 日現在)

所長 一副所長	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事</li> <li>2. 土地建物及び物品の維持管理に関する事</li> <li>3. その他庶務に関する事</li> </ul>
	精度管理担当	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. 企画情報に関する事</li> <li>2. 総合調整に関する事</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事</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事</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事</li> <li>3. 飲料水等の理化学的検査に関する事</li> <li>4. その他食品衛生の理化学的試験研究に関する事</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事</li> <li>2. 病原細菌の検査及び調査研究に関する事</li> <li>3. 細菌学的検査の研修・技術指導に関する事</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事</li> <li>2. 感染症情報センターに関する事</li> <li>3. その他ウイルス性感染症等の研修・技術指導に関する事</li> </ul>

2) 職 員 構 成 (令和 2 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		3		5	1	9
細 菌 担 当		1	1	4	2	8
ウイルス・疫学情報担当		5		1		6
計	3	12	1	10	3	29

3) 人 事 記 録

退職及び転出

31. 4. 30	主 事	陰 地 義 樹	退職
1. 9. 30	主 任 技 師	松 本 朋 子	退職
1. 10. 31	主 任 技 師	河 口 友 理	退職
2. 4. 1	統括主任研究員	稲 田 眞 知	薬事研究センターへ
	総 括 研 究 員	森 居 京 美	水道管理センターへ
	主 任 研 究 員	樋 上 絢	中和保健所へ
	主 任 研 究 員	佐 伯 美 由 紀	薬務課へ
	主 任 研 究 員	北 岡 洋 平	景観・環境総合センターへ
	主 任 研 究 員	辻 本 真 弓	景観・環境総合センターへ

転入及び昇格

2. 4. 1	統括主任研究員	山 崎 聖 子	中和保健所から
	総 括 研 究 員	徳 田 恵	消費・生活安全課から
	主 任 研 究 員	美 並 衣 織	薬務課から
	主 任 研 究 員	井 上 健 太 郎	環境政策課から
	主 任 技 師	松 浦 侑 輝	技師から
	技 師	上 床 知 佐 奈	新規採用
	技 師	中 田 千 恵 子	新規採用
	主 事	田 中 慶 哉	新規採用
	主 事	井ノ上 美 紅	新規採用

4) 職 員 名 簿

(令和2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	松 井 恵 梨 子		
	主 任 主 査	米 川 由 美		主 任 研 究 員	井 上 健 太 郎		
	精度管理担当	(兼)統括主任研究員		榮 井 毅	主 任 研 究 員(再)	中 野 守	
		総 括 研 究 員		德 田 恵	主 事	田 中 慶 哉	
		主 査		本 間 美 樹	主 事	井ノ上 美 紅	
	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 ャ ム	統括主任研究員	山 崎 聖 子
		総 括 研 究 員		安 藤 尚 子		主 任 研 究 員	美 並 衣 織
指 導 研 究 員		西 山 隆 之	主 任 研 究 員	阪 本 孝 幸			
主 任 研 究 員		仲 井 菜 都 希	主 任 研 究 員	千 葉 翔 子			
生活化学チーム	技 師	中 田 千 恵 子	主 任 技 師	尾 西 美 咲			
	総 括 研 究 員	米 田 正 樹	主 任 技 師	松 浦 侑 輝			
	主 任 研 究 員	竹 田 依 加					
	主 事	南 浦 茉 奈					
	技 師	上 床 知 佐 奈					

### 3. 施 設

#### 1) 土 地

(令和2年4月1日現在)

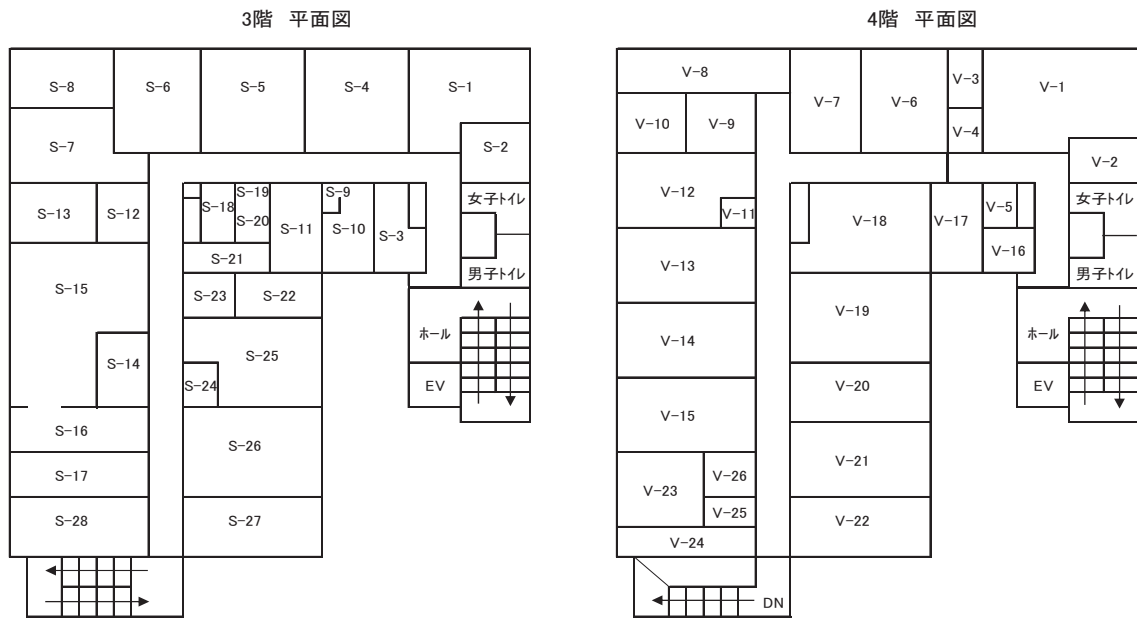
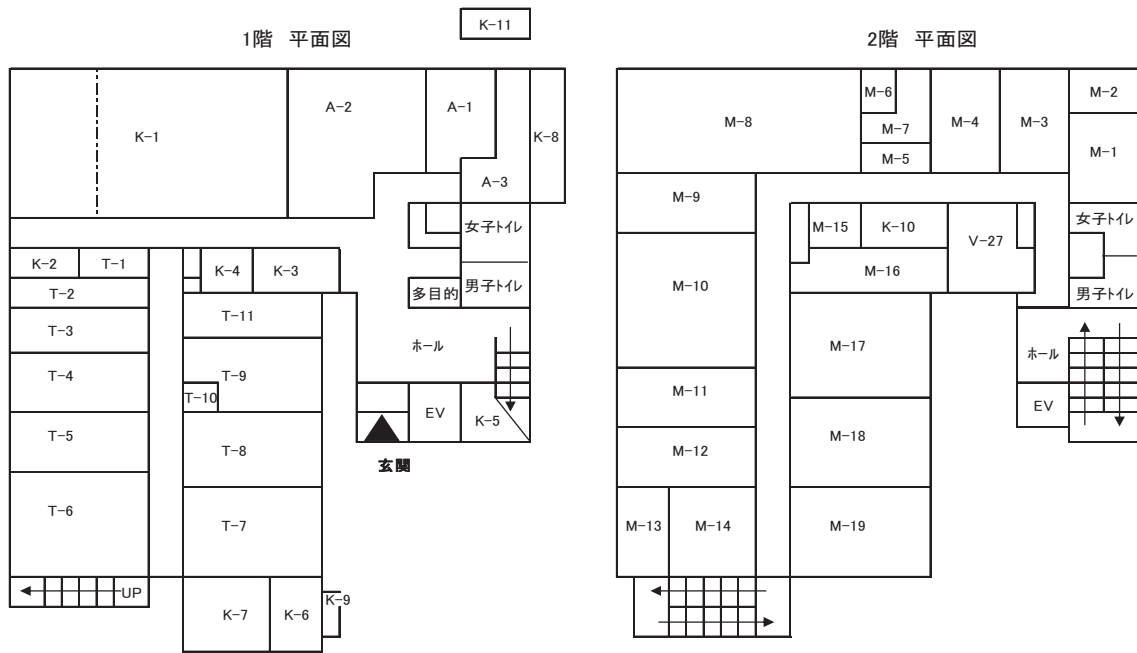
地 名	地 目	面 積	現在の状況	所 有 者
桜井市粟殿 1000 番地	宅 地	3,709.88 m <sup>2</sup>	宅 地	奈 良 県

#### 2) 建 物

(令和2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	7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	7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 消火ポンプ室     | 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
バイオフィリーザー	GS-5210HC	令和元年 5 月 28 日
サーマルサイクラー	Life Eco Ver2.0	令和元年 6 月 17 日
高圧蒸気滅菌器	HVE-50LB	令和元年 6 月 21 日
シークエンサー一式	Seq Studio Genetic Analyzer	令和元年 8 月 19 日
イオンクロマトグラフ	ICS-1000AS 50 型	令和元年 9 月 10 日
超低温フリーザー	Revco RLE30086A	令和元年 12 月 13 日
リアルタイム PCR 装置 (二式)	Quant Studio5	令和 2 年 3 月 27 日

5. 予算及び決算 (平成 31 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	813,280	435,870
				(1) 一般食品検査	595,220	321,220
				(2) 食品細菌検査	218,060	114,650
				2. 水質検査	3,675,100	3,093,960
				(1) 飲料水検査	2,873,000	2,349,820
				(2) プール水検査	802,100	744,140
				3. 細菌検査	1,288,080	990,640
				(1) 結核菌等検査	366,000	231,760
				(2) 培養・同定	922,080	758,880
				4. ウイルス等検査	1,269,090	1,571,440
5. 臨床病理検査						
6. 衛生害虫検査						
7. その他の試験	1,170,980	938,410				
8. 証明書発行	2,460	1,230				
計					8,218,990	7,031,550

## 歳 出

(単位 円)

款・項・目	予 算 額	支 出 額	残 高
(款) 福祉保険費	35,917,000	35,290,536	626,464
(項) 地域福祉費	35,917,000	35,290,536	626,464
(目) 保健研究センター費	30,738,000	30,112,487	625,513
(目) 地域福祉推進費	5,179,000	5,178,049	951
(款) 医療政策費	3,994,000	3,879,020	114,980
(項) 疾病対策費	3,994,000	3,879,020	114,980
(目) 疾病対策推進費	3,994,000	3,879,020	114,980
(款) くらし創造費	11,958,000	11,916,404	41,596
(項) 青少年・社会活動推進費	776,000	775,500	500
(目) くらし創造総務費	776,000	775,500	500
(項) 消費生活安全費	11,182,000	11,140,904	41,096
(目) 消費生活安全対策費	10,509,000	10,468,052	40,948
(目) 生活衛生指導費	300,000	299,980	20
(目) 動物愛護費	373,000	372,872	128
(款) 産業振興費	218,000	213,634	4,366
(項) 産業政策費	218,000	213,634	4,366
(目) 産業政策推進費	218,000	213,634	4,366
(款) 地域振興費	19,622	19,622	0
(項) 観光費	19,622	19,622	0
(目) 観光振興対策費	19,622	19,622	0
合 計	52,106,622	51,319,216	787,406

\* 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
H31. 4.18~19	平成 31 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
R 1. 5.15	Agilent インハウスセミナー	桜 井 市	食 品
5.30	サーモフィッシャーサイエンティフィック発現解析セミナーThe RNA Day～遺伝子発現解析のコツから最新情報まで～	大 阪 市	ウイルス・疫学情報
6. 3～ 4	第 9 回蚊類調査に係る技術研修プログラム	東 京	ウイルス・疫学情報
6. 6	令和元年度病原体等の包装・運搬講習会	大 阪 市	細 菌
6. 6	DionexIC 技術説明会 2019	豊 中 市	食 品
6. 7	令和元年度病原体等の包装・運搬講習会	大 阪 市	ウイルス・疫学情報
6.18	令和元年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東 京	精 度 管 理
6.20	令和元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
6.21	ISO/IEC 17025 試験所及び校正機関の能力に関する一般要求事項の概要説明	大 阪 市	細 菌
6.21	タカラバイオ技術セミナー「リアルタイム PCR の基礎～発現解析のコツ～」	大 阪 市	細 菌
6.30	令和元年度厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症及び予防接種施策推進研究事業」成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの充実化に資する研究班第一回会議	東 京	細 菌
7. 4	元素分析セミナー2019	豊 中 市	食 品
7.10~11	衛生微生物技術協議会第 40 回研究会	熊 本 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
7.11	食の安全懇談会	奈 良 市	食 品
7.19	Waters 食品分析セミナー	大 阪 市	食 品
7.22	MERS 疑い患者に係る検証会	橿 原 市	ウイルス・疫学情報
8. 6	イオンクロマトグラフィー操作研修	御 所 市	食 品
8.23	令和元年度 MLVA 初期導入研修会	大 阪 市	細 菌
8.29	第 60 回近畿食品衛生監視員研修会	神 戸 市	細 菌
9. 4	第 32 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
9.17	近畿ブロック結核菌 VNTR 担当者会議	大 阪 市	細 菌
9.20	令和元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
9.25~26	令和元年度薬剤耐性菌の検査に関する研修「タイピングコース I」	武蔵村山市	細 菌
9.25~26	日本防菌防黴学会第 46 回年次大会	豊 中 市	細 菌



9.28~30	第63回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会	秋田市	食品
10.6	令和元年度獣医学術近畿地区学会	堺市	細菌
10.7	日本食品衛生学会第115回学術講演会	東京	食品
10.15	令和元年度滋賀県衛生科学センター集談会講習会	大津市	食品 精度管理
10.23	アルボースセミナー2019	大阪市	細菌
10.24~25	令和元年度全国食品衛生監視員研修会	東京	細菌
11.8	令和元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
11.12~13	令和元年度森林・林業交流研究発表会	大阪市	食品
11.13	近畿厚生局登録検査機関及び食品衛生検査施設向け講習会	大阪市	食品
11.14	第40回奈良県公衆衛生学会	橿原市	各担当
11.14	第23回腸管出血性大腸菌感染症研究会	松山市	細菌
11.15	令和元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」食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究班 四宮小班会議	松山市	細菌
11.15	令和元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
11.22	令和元年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会	和歌山市	細菌
11.22	PPE 着脱 合同訓練	橿原市	ウイルス・疫学情報
11.26	令和元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	ウイルス・疫学情報
11.26	令和元年度奈良県感染症発生動向調査事業感染症関連講演会「輸入感染症の危機管理～インバウンド・マスキング・イベントに備える」	橿原市	細菌 ウイルス・疫学情報
11.28	ライフテクノロジーズジャパン「公衆衛生関係アプリケーションセミナー」	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
11.28~29	第40回日本食品微生物学会学術総会	東京	細菌
12.1	第35回生薬に関する懇談会	東京	食品
12.2	令和元年度「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
12.3	エボラ出血熱類似患者発生対応訓練	橿原市	ウイルス・疫学情報
12.3	第8回大安研セミナー	大阪市	細菌
12.5	ライフテクノロジーズジャパン株式会社 はじ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
12.5~6	第56回全国衛生化学技術協議会年会	広島市	食品
12.13	第9回FDSC食品衛生精度管理セミナー	東京	精度管理
12.14	第23回近畿耐性菌研究会特別講演会	大阪市	細菌
12.20	第52回日本食品微生物学会学術セミナー	大阪市	細菌

R 2.1.10	阪神地区感染症懇話会 令和元年度第一回講演会	大 阪 市	細 菌 ウイルス・疫学情報
1.18	令和元年度厚生労働科学研究費補助金「新興・再興感染症及び予防接種施策推進研究事業」成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの充実化に資する研究班第二回会議	東 京	細 菌
1.28	第33回奈良県食品安全・安心懇話会	奈 良 市	食 品 細 菌
1.29	令和元年度希少感染症診断技術研修会	東 京	ウイルス・疫学情報
1.30	令和元年度希少感染症診断技術研修会	東 京	細 菌
1.31~2.2	第31回日本臨床微生物学会総会・学術集会	金 沢 市	細 菌
2.6	タカラバイオ技術セミナー「レジオネラ属菌の遺伝子検査～基礎編～」	大 阪 市	細 菌
2.6	令和元年度厚生労働科学研究補助金研究事業「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1回班会議及び研修会	東 京	食 品
2.10	令和元年度地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会	東 京	食 品
2.14	AMED 研究班ローカルプラスト構築実習 薬剤耐性菌に関する研修	大 阪 市	細 菌
2.21	奈良県農業研究開発センター成果発表会及びスマート農業企画展示	桜 井 市	食 品
2.23	岐阜大学・日本獣医学会公衆衛生分科会共催シンポジウム「エキゾチックアニマルに由来する人獣共通感染症」	岐 阜 市	細 菌

(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
R 1.5.22	近畿大学薬学部	20名	各 担 当
6.5	県内公設試験機関 (研究分野統合本部事業)	9名	各 担 当
7.18	疾病対策課, HC 保健師	15名	細 菌 ウイルス・疫学情報
9.3	獣医学生インターンシップ研修	6名	細 菌
9.26	奈良県立医科大学医学部看護学科	13名	各 担 当

(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
R1.6.7	サロン瓦釜	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：安藤、竹田
7.2	サロン天理団地	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：立本、西山
7.16	サロン市営四ノ坪	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：立本
8.22	郡山まほろば学級	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：仲井、竹田
8.23	令和元年度感染症対策研修会	保育施設における感染症対策 (基礎編)	ウイルス・疫学情報 担当：稲田
10.17	サロン四ノ坪	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：立本
10.18	「食と健康」フォーラム	奈良県公設試験機関発表 「身近にある自然毒について」	食品 担当：安藤、立本
11.28	奈良市あやめ池生活学校	なら県政出前トーク 「自然毒中毒について」	食品 担当：立本

#### (2) 研修指導

年・月・日	内容	対象者	人数	担当
R1.7.18	保健所保健師研修	疾病対策課、各保健所保健師	15名	細菌 ウイルス・疫学情報
9.3	獣医学生インターンシップ研修	獣医学生	6名	細菌
10.8~11	令和元年度 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

(各担当：食品，細菌，ウイルス・疫学情報)

#### 4) 奈良県保健研究センター研究発表会

(1) 令和元年 6 月 28 日

発表者	発表演題
樋上 絢	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
佐伯 美由紀	腸管出血性大腸菌 O157 の分子疫学解析について
稲田 眞知	平成 30 年度の風疹及び麻疹の検査状況

(2) 令和 2 年 2 月 28 日 (新型コロナウイルス感染拡大防止により中止)

発表者	発表演題
西山 隆之	迅速・簡便な鶏の筋肉および卵のサルファ剤分析法の検討
松浦 侑輝	A 群ロタウイルスの VP7 遺伝子型決定法の検討および奈良県における A 群ロタウイルスの遺伝子解析 (2018/19 シーズン)
松井 恵梨子	食品収去検査における細菌検査結果について (2019 年度)
内田 美枝	レジオネラ症感染源調査における浴槽水等からの <i>Legionella</i> 属菌検出状況 (2016 年度～2019 年度)

#### 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 31 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	令和元年 7 月 26 日 午後 2 時～4 時
参 加 者	16 名
内 容	・水性ペンの色を分けてみよう！ ・防護服を着てみよう！

## 7) 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、令和元年11月14日（木）奈良県医師会館で開催された「第40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。

## 8) 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、結果は全て「適切」であった。

#### 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、結果は全て「良好」であった。

#### 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 プロチオホス
	着色料（酸性タール色素中の許可色素）
	栄養成分検査（基本項目＋ミネラル）
	遺伝子組換え食品検査
微生物学調査	E.coli 検査
	黄色ブドウ球菌検査

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	ヒスタミン 重金属（カドミウム）
----------	---------------------

## (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 3 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 2	麻疹・風疹ウイルス核酸検出検査
------	-----------------

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
厚生労働科学研究	結核菌遺伝子型別
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

## 9) 健康危機事象模擬訓練

令和元年 8 月 27 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、テロ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。訓練では、炭疽菌を疑う細菌の遺伝子粗抽出液として国立感染症研究所から提供を受けた炭疽菌 DNA 溶液と、不審な白色粉末として農薬クロルプロファムを試料とし、遺伝子粗抽出液については炭疽菌陽性・陰性の判定、白色粉末については物質の同定を求めた。

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 11 月 1 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。

## 10) 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31年4月1日現在)

	氏名	所属
委員	矢野 寿一	奈良県立医科大学
委員	多賀 淳	近畿大学
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
委員	山田 誠	龍谷大学

### (2) 令和元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	南浦 茉奈	QuEChERS法による農産物中残留農薬の一斉分析法の確立	米田 正樹 北岡 洋平 樋上 絢
細菌	辻本 真弓	水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立	中野 守 河口 友里 松井恵梨子 佐伯美由紀 森村 実加 吉田 孝子

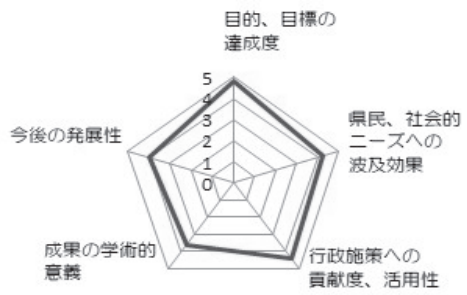
### (3) 外部委員による総合評価

- ・いずれも好適な結果を提案しており、充実した調査研究となっていました。
- ・成果を学術誌へ投稿することを期待します。
- ・一般市民目線では、成果の重要さや理解が困難だと感じられましたので、平易な言葉で説明をお願いしたい。

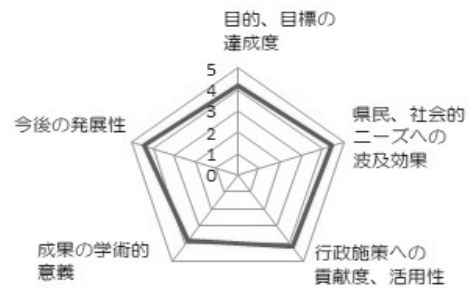
### (4) 外部委員による個別評価

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、活用性、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。



1 QuEChERS法による農産物中残留農薬の一斉分析法の確立



2 水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立



## 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、令和元年7月に農産物の残留農薬検査に使用するガスクロマトグラフ・タンデム型質量分析計を機器更新した。検査法の迅速化等の検討を踏まえ、平成19年11月15日付食安発1115001号厚生労働省部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、試験法の妥当性を評価した。これにより残留農薬検査項目数が増加し、来年度以降の収去計画への反映を進めることができた。

令和元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

### 1) 行政検査

#### (1) 食品収去検査

食品中の添加物の検査数は延べ139項目、成分の定量36項目、規格基準128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、51検体102項目は放射性物質の検査であった(表1, 2, 3)。

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6検体について遺伝子組換え大豆の定性を行った結果、3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。

基準違反等の食品はなかった。

### (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11検体であった。内訳は、異物の検査が7検体14項目と飲料水の検査が4検体36項目であった(表1, 2)。

### 2) 依頼検査

食品中の添加物や容器包装等の検査は、6検体10項目であった。昨年度まで生活化学チームが行っていた水質検査は、今年度から当チームで実施することとなった。水質検査は飲料水を中心に、543検体3,226項目であった。

#### (1) 一般食品

学校給食関係からの検査依頼が2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検体であった。

表1 令和元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	6	13	9	10	6	10	8	4	13	8	4	0	91
	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	0	0	0	0	0	0
	容器包装等	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	7
	放射性物質	0	12	6	8	0	0	7	0	6	0	6	6	51
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
水質検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	
小計		6	25	15	18	6	10	16	4	26	8	14	6	154
依頼検査	一般食品	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
	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	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	4
	水質検査	37	54	63	67	35	22	33	25	44	26	76	61	543
小計	37	54	63	67	35	26	33	27	44	26	76	61	549	
調査・研究等	13	27	70	90	126	109	134	49	105	68	207	126	1,124	
合計		56	106	148	175	167	145	183	80	175	102	297	193	1,827

(3) 水質検査

飲料水の検査は 376 検体 2651 項目、プール水の検査は 120 検体 480 項目、浴槽水等は 40 検体 88 項目、その他 7 検体 7 項目であった。

3) 苦情・相談

電話や来所による相談が 16 件あった。内容別にみると食品の検査に関すること 1 件、試験方法に関すること 2 件、その他の問い合わせが 13 件であった。

表 2 令和元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	12	19	16	27	12	20	10	4	70	14	20	0	224
	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	0	0	0	0	0	0
	容器包装等	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	14
	放射性物質	0	24	12	16	0	0	14	0	12	0	12	12	102
	その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
水質検査		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36	0	36
小計		12	43	28	43	12	20	28	4	96	14	68	12	380
依頼検査	一般食品	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2
	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	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	8
	水質検査	237	266	330	352	216	114	212	141	282	144	488	444	3,226
小計		237	266	330	352	216	122	212	143	282	144	488	444	3,236
調査・研究等		13	27	111	88	128	167	226	52	116	80	224	137	1,369
合計		262	336	469	483	356	309	466	199	494	238	780	593	4,985

表 3 令和元年度食品担当食品化学チーム取去・買い上げ検査一覧表

食品分類	検体数	項目数	不適		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
			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	4	0	0
魚介類	8	8	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
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
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
肉卵類及びその加工品	4	4	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
乳製品	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	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
アイスクリーム類・氷菓	6	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	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
野菜類・果物類、その加工品	88	214	0	0	26	0	0	1	0	0	0	48	16	0	6	0	104	0	13
菓子類	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
清涼飲料水	4	28	0	0	12	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	8	0	0
酒類	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他の食品	2	4	0	0	0	0	1	0	0	0	0	3	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
おもちゃ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
合計	143	330	0	0	38	9	1	1	4	5	6	59	16	0	6	36	128	8	13

(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, 種類の水分, 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, 鉛及びブス, 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.

#### 4) 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

あん類中の着色料 (酸性タール色素中の許可色素) の定性試験, シリアル (粉末状) 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, カルシウム, 鉄) の定量試験と安全性未審査の遺伝子組換えさけ (AquAdvantage) 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 9 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 10 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 6 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, ガスクロマトグラフ質量分析計, 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, NaI(Tl)シンチレーションスペクトロメータにおいて, 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, 定期点検と毎日の日常点検を行った。異常時点検は, 超高速液体クロマトグラフにおいて 2 回, ガスクロマトグラフ質量分析計において 1 回, 水銀分析計において 1 回, リアルタイム PCR において 1 回, 分光光度計において 1 回あった。

#### 5) 調査研究等

##### (1) 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 4 題を行った。

- ①アレルギーを含む食品の検査の導入について [安藤尚子他]
- ②GC-MS によるメチル水銀分析法の検討 [西山隆之他]
- ③異物検査手法の検討 [竹田依加他]
- ④LC-MS/MS による植物性自然毒 (スイセンのリコリンおよびガラランタミン) の分析法の検討 [仲井菜都希他]

## 2. 生活化学チーム業務概況

### 1) 行政検査

#### (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, 215 検体について延べ 24,940 項目を検査し, 検出事例を, 表 7 に示した。38 検体について延べ 49 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 5, 6, 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 4 検体について延べ 80 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, 5 検体延べ 10 項目実施した (表 5, 6)。

### 3) 苦情・相談

農薬等の検査に関する電話や来所による相談が 2 件あった。

表 5 令和元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	9	38	29	21	17	18	33	19	25	0	6	215	
		加工食品の農薬	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	9
		食肉等の動物医薬品	0	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9
		アフラトキシン	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
		その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		小計	0	18	42	29	21	17	19	33	19	25	0	11	234	
依頼検査	食品衛生	0	0	0	2	0	0	0	2	0	0	0	1	5		
調査・研究等			59	91	113	82	198	176	84	64	49	50	111	43	1,120	
合計			59	109	155	113	219	193	103	99	68	75	111	55	1,359	

表6 令和元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	1,044	4,408	3,364	2,436	1,972	2,088	3,828	2,204	2,900	0	696	24,940	
		加工食品の農薬	0	184	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	230	414
		食肉等の動物医薬品	0	100	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	180
		アフラトキシン	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
		その他	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	小計	0	1,328	4,488	3,364	2,436	1,972	2,089	3,828	2,204	2,900	0	926	25,535		
依頼検査	食品衛生		0	0	0	7	0	0	0	2	0	0	0	1	10	
調査・研究等			876	789	5,665	30,246	30,103	28,316	9,049	11,872	7,080	6,880	5,724	5,772	142,372	
合計			876	2,117	10,153	33,617	32,539	30,288	11,138	15,702	9,284	9,780	5,724	6,699	167,917	

表7 令和元年度農薬検出一覧（農作物）

作物	農薬	濃度(ppm)		
		濃度(ppm)	基準値*(ppm)	
果実類	いちご	シメコナゾール	0.13	3
	いちご	アゾキシストロビン	0.31	10
		プロシミドン	0.13	5
	いちご	アゾキシストロビン	0.06	10
	いちご	シフルフェナミド	0.01	0.7
		プロシミドン	0.32	5
	いちご	プロシミドン	0.08	5
	いちご	ボスカリド	0.22	15
	いちご	クレソキシムメチル	0.17	5
		プロシミドン	0.56	5
	いちご	プロシミドン	0.46	5
	いちご	プロシミドン	0.05	5
	いちご	ボスカリド	0.02	15
	いちじく	アゾキシストロビン	0.08	5
	うめ	クレソキシムメチル	0.10	5
	オレンジ	クロチアニジン	0.06	2
	オレンジ	クロチアニジン	0.04	2
かき	クロチアニジン	0.03	0.5	
かき	テブコナゾール	0.02	1	
ブドウ	クレソキシムメチル	0.14	15	
	テブコナゾール	0.07	10	
	クロチアニジン	0.15	5	

\*) 基準値は、検出時における値である。

作物	農薬	濃度(ppm)		
		濃度(ppm)	基準値*(ppm)	
野菜類	かぼちゃ	チアメトキサム	0.01	0.05
	キャベツ	トルクロホスメチル	0.01	2.0
		ジェトフェンカルブ	0.07	5
	きゅうり	プロシミドン	0.53	4
		ダイアジノン	0.02	0.1
	小松菜	ダイアジノン	0.02	0.1
	さつまいも	クロルピリホス	0.01	0.1
	トマト	アゾキシストロビン	0.03	3
	トマト	プロシミドン	0.15	3
	トマト	ボスカリド	0.28	5
	なす	アゾキシストロビン	0.02	3
	なす	イミダクロプリド	0.01	2
		イミダクロプリド	0.03	2
	なす	クレソキシムメチル	0.02	3
		マイクロプタニル	0.01	1
	白菜	アゾキシストロビン	0.01	3
		イミダクロプリド	0.03	0.5
	白菜	クロチアニジン	0.01	2
	白菜	チアメトキサム	0.03	3
		ボスカリド	0.04	40
	白菜	ボスカリド	0.02	40
	ピーマン	アゾキシストロビン	0.02	3
		プロシミドン	0.05	5
ピーマン	アゾキシストロビン	0.18	3	
	プロシミドン	0.01	5	
ほうれんそう	ボスカリド	0.01	40	
モロヘイヤ	アゾキシストロビン	0.13	70	
ラディキオ	ボスカリド	0.01	40	

#### 4) 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

外部精度管理はほうれんそうペースト中のクロルピリホスとプロチオホスについて行った。

##### (2) 内部精度管理

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35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。

##### (3) 機器の点検

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。また、冷蔵庫・保冷庫において、毎日の日常点検を行った。異常時点検は、ガスクロマトグラフで1回、ガスクロマトグラフ質量分析計で4回、液体クロマトグラフ質量分析計で13回あった。

#### 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及び地方衛生研究所等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）に参加し原子吸光度計を用いて玄米中のカドミウムの測定を行った。また、会議に参加し情報交換等を行った。

##### (2) 調査研究

QuEChERS法による残留農薬一斉分析法の確立 [南浦菜奈他]

迅速かつ簡便な QuEChERS 法を残留農薬検査に導入することを目的として、GC-MS/MS および UPLC-MS/MS を用いた農産物中残留農薬の一斉分析法を確立した。

(3) 事業に係る技術等検討

令和元年度は以下の 5 課題について検討を行った。

- ①超臨界流体抽出装置の活用方法の検討[米田正樹他]
- ②奈良県内産キハダの果実および葉の残留農薬実態調査 [米田正樹他]
- ③GC-MS/MS 更新に伴う各種マニュアルの整備および残留農薬測定項目の検討 [樋上 絢他]
- ④生活化学チーム GLP 標準作業書一式の再整備 [樋上 絢他]
- ⑤総アフラトキシン分析法の検討 [北岡洋平他]

# 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結核菌、腸管出血性大腸菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌、バンコマイシン耐性腸球菌等の各種菌株の型別、遺伝子検査を実施し、また、感染症起因菌の保菌者検索等の検査を177検体延べ1,212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279検体延べ985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公衆浴場関連検査等を20検体延べ43項目実施した。

その他、県民や県内事業者からの依頼検査として、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に対応し、また、厚生労働科学研究事業研究班への参加協力等を実施した。

更に、世界的な重要課題である薬剤耐性菌(AMR)問題に資するため、県内のAMR状況調査等を重要課題と位置づけ、調査研究として「水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立」を実施し、事業に係る技術等検討等として、各分野におけるAMRに関する調査・研究を実施した。

令和元年度の総検体数は2,277検体、総検査項目数は6,851項目であった(表1、2)。

令和元年度に実施した業務概況は次のとおりである。

表1 令和元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	2	1	3	0	2	1	7	1	0	2	0	2	21
		保菌者検索等検査	2	2	10	8	11	0	3	3	1	3	0	0	43
		結核菌分子疫学調査	7	6	5	0	13	6	0	12	1	7	13	4	74
		CRE検査	1	2	6	1	2	6	5	2	3	1	1	1	31
		その他の検査	0	3	0	0	4	0	0	0	0	1	0	0	8
		(小計)	12	14	24	9	32	13	15	18	5	14	14	7	177
	食品衛生	収去検査	25	14	17	21	13	20	19	16	22	13	11	0	191
		食中毒関連検査	5	0	2	2	0	0	0	2	5	0	7	5	28
		その他の検査	0	52	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	60
		(小計)	30	66	19	23	13	20	19	26	27	13	18	5	279
	生活衛生	浴槽水関連検査	0	0	6	4	4	0	0	0	1	0	0	1	16
		その他の検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4
		(小計)	0	0	6	4	4	0	0	0	1	0	4	1	20
一般依頼検査	腸内細菌検査	73	23	49	54	29	50	70	39	64	34	25	20	530	
	食品細菌検査	0	6	0	4	0	2	0	2	0	4	3	0	21	
	浴場水等検査	3	9	14	11	0	1	5	0	8	6	18	0	75	
	飲料水検査	26	27	25	30	22	11	23	16	31	15	53	54	333	
	プール水検査	6	7	29	28	9	7	6	6	6	6	6	4	120	
	(小計)	108	72	117	127	60	71	104	63	109	65	105	78	1,079	
調査・研究等	14	48	48	26	94	71	40	40	144	100	68	29	722		
- 合計 -		164	200	214	189	203	175	178	147	286	192	209	120	2,277	



表 2 令和元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	8	4	12	0	8	4	28	4	0	8	0	8	84
		保菌者検索検査	2	2	10	8	11	0	3	6	1	6	0	0	49
		結核菌分子疫学調査	91	78	65	0	169	78	0	156	13	91	169	52	962
		CRE検査	3	6	18	3	6	18	15	6	9	3	3	3	93
		その他の検査	0	9	0	0	12	0	0	0	0	3	0	0	24
		小計	104	99	105	11	206	100	46	172	23	111	172	63	1,212
	食品衛生	取去検査	75	33	45	67	82	56	53	44	58	36	28	0	577
		食中毒関連検査	15	0	11	4	0	0	0	19	50	0	10	15	124
		その他の検査	0	260	0	0	0	0	0	24	0	0	0	0	284
		小計	90	293	56	71	82	56	53	87	108	36	38	15	985
	生活衛生	浴槽水関連検査	0	0	16	10	4	0	0	0	2	0	0	3	35
		その他の検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8
		小計	0	0	16	10	4	0	0	0	2	0	8	3	43
	一般依頼検査	腸内細菌検査	218	69	147	160	87	145	210	116	192	102	75	60	1,581
		食品細菌検査	0	16	0	10	0	6	0	6	0	8	7	0	53
浴場水等検査		3	18	19	16	0	2	5	0	11	8	33	0	115	
飲料水検査		52	53	50	59	44	21	46	30	62	29	106	107	659	
プール水検査		12	14	58	56	18	14	12	12	12	12	12	8	240	
小計		285	170	274	301	149	188	273	164	277	159	233	175	2,648	
調査・研究等		30	77	50	45	115	114	232	47	576	336	293	48	1,963	
合計		509	639	501	438	556	458	604	470	986	642	744	304	6,851	

## 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 21 株について、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。なお、血清型別、毒素型別の内訳は、O157 VT1,VT2 が 7 株、O157 VT2 が 6 株、O26 VT1 が 4 株、O103 VT1 が 2 株、O8 VT2 及び O153 VT1,VT2 が 1 株ずつであった。

#### (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（他自治体発生事例を含む）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 43 名の検体を検査した結果、全て陰性であった。

#### (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 74 株（奈良

市依頼分 19 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。

#### (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 31 株（奈良市依頼分 6 株を含む）について、β-ラクタマーゼ産生性確認、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

バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）感染症の患者発生に伴い、分離された菌株 8 株について、バンコマイシン耐性遺伝子の保有の有無と菌種を検査した。結果は 8 株全てから *vanA* 遺伝子を検出し、菌種は全て *Enterococcus faecium* であった。

表3 令和元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	4月1日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	2	0	
2	5月20日	中和	EHEC O157 (VT1, VT2)	2	0	
3	6月7日	内吉野	EHEC O157 (VT2)	5	0	
4	6月23日	郡山	EHEC O157 (VT1)	5	0	
5	7月22日	郡山	EHEC O157 (VT1, VT2)	3	0	
6	7月29日	郡山	EHEC O157 (VT2)	5	0	
7	8月16日	吉野	EHEC O157 (VT2)	3	0	
8	8月16日	郡山	EHEC O157 (VT1, VT2)	4	0	
9	8月20日	郡山	EHEC O26 (VT型不明)	2	0	
10	8月26日	中和	EHEC O157 (VT2)	2	0	
11	10月1日	吉野	EHEC O103 (VT1)	3	0	
12	11月8日	中和	EHEC OUT (VT2)	3	0	
13	12月26日	郡山	EHEC O157 (VT1, VT2)	1	0	
14	1月15日	中和	EHEC O103 (VT1)	3	0	
合 計				43	0	

表4 令和元年度食品収去検査

食品名	検体数	項目数	検出状況 (検体数)
弁当・そうざい等	71	219	細菌数 (1)
漬物 (一夜漬)	2	4	
カットフルーツ・カット野菜	8	72	細菌数 (1)
豆腐	17	34	
生食用鮮魚介類	4	8	
食肉製品	4	13	
食鳥肉	10	30	<i>S. infantis</i> (3), <i>S. schwarzengrund</i> (2) <i>C. jejuni</i> (5), <i>C. coli</i> (1) E.coli (9)
卵	4	12	
牛乳	1	2	
発酵乳・乳酸菌飲料	1	2	
アイスクリーム類	6	12	大腸菌群 (1)
ソフトクリーム	3	6	
清涼飲料水	4	4	
冷凍食品	9	18	
洋生菓子	19	57	大腸菌群 (4)
和生菓子	17	51	細菌数 (1)
生麺	1	3	
ゆでめん	5	15	
食肉 (ジビエ)	5	15	E.coli (4)
合 計	191	577	

表 5 令和元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10日	郡山	5	0	5	15	0	15	
2	6月5日	郡山	1	0	1	1	0	1	
3	6月6日	中和	1	0	1	10	0	10	
4	7月11日	中和	2	0	2	4	0	4	<i>C. jejuni</i> (2)
5	11月15日	郡山	2	0	2	19	0	19	<i>C. jejuni</i> (1), 黄色ブドウ球菌 (1)
6	12月25日	内吉野	5	0	5	50	0	50	<i>C. jejuni</i> (4), ウエルシュ菌 (1)
7	2月4日	中和	7	0	7	10	0	10	
8	3月24日	郡山	5	0	5	15	0	15	
合計			28	0	28	124	0	124	

※食中毒と判断され厚生労働省に届け出された事例番号：5

## 2) 食品衛生関係

### (1) 収去検査

2019年度収去検査等実施計画に基づき、県内4保健所が収去した食品等191検体、延べ577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ついて、アイスクリーム類は大腸菌群が1検体で違反であった。

洋生菓子の衛生規範について、大腸菌群が4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1検体で基準に適合しなかった。カットフルーツ・カット野菜は細菌数が1検体で基準に適合しなかった。和生菓子は細菌数が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5検体からサルモネラ属菌、6検体からカンピロバクター、9検体からE.coliを検出し、また食肉(ジビエ)の4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、従事者の便等、保健所から搬入された検体について、令和元年度は28検体延べ124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7検体、黄色ブドウ球菌を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4検体及び食品製造施設の拭き取り4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。

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、7施設の浴槽水15検体のレジオネラ属菌検査を実施した。培養法では15検体を検査した結果、6検体からレジオネラ属菌を検出した。LAMP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の遺伝子を検出し、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検体のレジオネラ属菌検査を実施した。培養法で浴槽水1検体を検査した結果、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の検査を実施した。

## 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。令和元年度は530検体について延べ1,581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21検体について延べ53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

表 6 令和元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	6月11日	吉野	浴槽水	2	2 (2)	2 (2)	<i>L.pneumophila</i> SG1 (2), SG4 (1), SG5 (1), <i>Legionella</i> spp. (2)
	2	6月17日	吉野	浴槽水	4	4	4 (1)	
	3	7月25日	内吉野	浴槽水	3	3 (3)	0	<i>L.pneumophila</i> SG1 (3), SG6 (2), <i>Legionella</i> spp. (1)
	4	7月31日	中和	浴槽水	1	1	0	
	5	8月1日	内吉野	浴槽水	3	3	0	
	6	12月17日	中和	浴槽水	1	1	1 (1)	
	7	3月2日	吉野	浴槽水	1	1 (1)	1 (1)	<i>L.pneumophila</i> SG1 (1), SG6 (1), SG9 (1)
衛生指導	1	8月8日	中和	浴槽水	1	1	0	
合計					16	16 (6)	8 (5)	

浴場水等 75 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 333 検体延べ 659 項目，プール水 120 検体延べ 240 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

水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立 [辻本真弓]

水環境中の薬剤耐性菌検査法の確立を目的として，濃縮率，使用培地，さらに培地への添加薬剤の濃度についての検討を実施した。その結果，薬剤耐性菌汚染状況調査に用いる検査系及びターゲットとする薬剤耐性菌を検出する検査系の 2 法を確立した。

### 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) バンコマシン耐性腸球菌（VRE）検査の検査体制構築について [吉田孝子]
- (2) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）におけるβ-ラクタマーゼ産生性の確認 [森村実加]
- (3) 腸管出血性大腸菌の MLVA 法の検討 [佐伯美由紀]
- (4) 奈良県内で分離されたサルモネラ，カンピロバクター及び大腸菌の薬剤感受性動向調査 [松井恵梨子]
- (5) 奈良県内で分離されたカンピロバクターの Penner 型血清型別調査 [中野守]
- (6) 炭検体におけるレジオネラ属菌の動態についての検討 [河口友理]

### 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」

2019 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充実化に資する研究」

令和元年度分担研究「奈良県における成人の侵襲性細菌感染症サーベイランスの充実化に資する研究」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，劇症型溶血性レンサ球菌感染症及び侵襲性髄膜炎菌感染症の成人患者から分離された肺炎球菌 16 株，インフルエンザ菌 4 株及び溶血性レンサ球菌 8 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」

令和元年度分担研究「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「公衆浴場におけるレジオネラ症対策に資する検査・消毒方法等の衛生管理手法の開発のための研究」

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」

令和元年度分担研究「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。

2015年～2018年に分離したセフェム系薬剤に耐性のサルモネラ属菌及び下痢原性大腸菌について、ESBL及びAmpC遺伝子保有の有無を確認した。

(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」

令和元年度分担研究「*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」

「薬剤耐性菌のサーベイランスの強化および薬剤耐性菌の総合的な対策推進に関する研究」において、IMP型β-ラクタマーゼの亜型決定法の評価試験に参加した。

#### 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、腸管出血性大腸菌及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査を実施した。

##### (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 検査と黄色ブドウ球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14件あった。内容は、感染症関連5件、食品衛生関連3件、生活衛生関連5件、その他1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。令和元年度は、指定感染症となった新型コロナウイルス感染症の遺伝子（PCR）検査も実施した。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。令和元年度は、前年度に引き続き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。

令和元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、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、感染症媒介蚊の生息密度調査での蚊の鑑定を実施した。さらに、全国的に実施される流行予測調査として、ポリオ感染源調査（環境水調査）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。なお、令和元年度は新型コロナウイルス感染症の発生をうけ、感染症発生動向調査に関する検査等の一部業務を縮小、中断し、新型コロナウイルス感染症の検査対応を行った。

### 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 313 件（うち、奈良市：38 件）、便 234 件（同：

表1 令和元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	13	24	33	23	18	23	21	28	27	29	22	14	275	
			便	60	74	7	14	12	12	6	10	16	7	7		225	
			髄液	1		2	2	1	1	2	4	1	1			15	
			血清他			2	4	3	3		7	3	4	1		27	
		全数把握感染症（二類～五類）	12	11	18	10	9	9	10		6	3		6	94		
		全数把握感染症（指定感染症）											13	62	392	467	
		インフルエンザ集団発生（初発）								5	4	5	5			19	
		感染性胃腸炎集団発生										6	6			12	
		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	72	
		食品衛生法	食中毒（疑）等	6		2					2	17	17	11	7	62	
小計			98	115	70	59	49	54	50	61	87	91	109	425	1,268		
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		1	4	4	2	1		2	9	6	6	3	38	
			便		5	1			1		1	1				9	
			髄液										2				2
			血清他		1		2					1					4
		全数把握感染症（二類～五類）	8	23	5	7	3		3		3	1	3		56		
		全数把握感染症（指定感染症）											8	110	118		
		インフルエンザ集団発生（初発）							3							3	
		蚊生息密度調査			1	1			1							3	
小計			8	30	11	14	5	6	3	4	15	7	17	113	233		
総計			106	145	81	73	54	60	53	65	102	98	126	538	1,501		

表2 令和元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	52	96	132	92	72	92	84	112	108	116	88	56	1,100	
			便	240	296	28	56	48	48	24	40	64	28	28			900
			髄液	4		8	8	4	4	8	16	4	4				60
			血清他			8	16	12	12		28	12	16	4			108
		全数把握感染症（二類～五類）	12	11	18	10	9	9	10		6	3		6		94	
		全数把握感染症（指定感染症）											13	62	392	467	
		インフルエンザ集団発生（初発）								10	8	10	10			38	
		感染性胃腸炎集団発生										12	12			24	
		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	216	
	食品衛生法	食中毒（疑）等	17		4						4	38	34	26	14	137	
小計			343	421	216	200	163	183	154	226	272	254	226	486	3,144		
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		4	16	16	8	4		8	36	24	24	12	152	
			便		20	4			4		4	4					36
			髄液										8				8
			血清他		4		8					4					16
		全数把握感染症（二類～五類）	8	23	5	7	3		3		3	1	3			56	
		全数把握感染症（指定感染症）												8	110	118	
		インフルエンザ集団発生（初発）							6							6	
		蚊生息密度調査			1	1		1								3	
小計			8	51	26	32	11	15	3	16	51	25	35	122	395		
総計			351	472	242	232	174	198	157	242	323	279	261	608	3,539		

9件）、髄液17件（同：2件）、血清・その他31件（同：4件）の計595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419株のウイルスを検出した（表3）。

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型ビクトリア系統を分離・検出した。2019/2020シーズンは、AH1pdm09の検出が多く、B型は、前シーズン検出が多かった山形系統とは異なるビクトリア系統を検出した。

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、ライノウイルス等を検出した。

アデノウイルスは季節性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、発疹症等多彩な臨床症状を呈し、咽頭結膜熱と診断された検体からは2型2株、3型2株を検出した。

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（5型、6型、10型、16型）、コクサッキーウイルスB群（3型、5型）、エコーウイルス（18型、25型、30型）を検出した。手足口病は、大きな流行が

みられ、主にコクサッキーウイルスA群6型を検出した。また、ヒトパレコウイルス3型を7株検出した。

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、単純ヘルペスウイルス1型、ヒトヘルペス6型、7型の検出があった。発疹症、伝染性紅斑を疑う検体からパルボB19ウイルスを6株検出した。

感染性胃腸炎を疑う検体からは、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。ノロウイルスはGI.5, GII.2, GII.3, GII.4, GII.6の遺伝子型を検出し、GII.4の検出が最も多かった。A群ロタウイルスは、G2, G3, G9の遺伝子型を検出した。アデノウイルスは1, 2, 3, 5, 40/41型を検出した。

## (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。令和元年度には735検体（指定感染症を含む）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（中東呼吸器症候群）の鑑別診断、日本紅斑熱、つつが虫病の検査依頼があった。

表3 令和元年度 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									4	9	15	9	37
インフルエンザウイルスAH3	1	1							1				3
インフルエンザウイルスB・Victoria		2							1		3	1	7
パラインフルエンザウイルス1型		1											1
パラインフルエンザウイルス3型				5			1						6
RSウイルス			1			2	3	1	4	2			13
ヒトメタニューモウイルス	5			1									6
アデノウイルス1型	1		1		1	1			1				5
アデノウイルス2型		1	2	2	1	1	1			1			9
アデノウイルス3型			1	1								1	3
アデノウイルス5型				1		1							2
アデノウイルス40/41型							2						2
ライノウイルスNotTyped	1	2			2	2	2	5	1	1	8		24
ライノウイルスA		1	6	1	3	3	3		8				25
ライノウイルスB	4					1	1		2				8
ライノウイルスC	1	3		1	1	3	3	1	4	3	2	1	23
コクサッキーウイルスA群5型					1	1							2
コクサッキーウイルスA群6型			7	8	8		1						24
コクサッキーウイルスA群10型						1							1
コクサッキーウイルスA群16型										2			2
コクサッキーウイルスB群3型									1				1
コクサッキーウイルスB群5型					1								1
エコーウイルス18型			2	1				2	1	1			7
エコーウイルス25型								2					2
エコーウイルス30型						3	1	3	1	5			13
ヒトパレコウイルス3型				2	2		3						7
水痘・帯状疱疹ウイルス										1			1
EBウイルス								1	2	1			4
サイトメガロウイルス					2				2				4
単純ヘルペスウイルス1型								1	1				2
ヒトヘルペスウイルス6型	1		3		1		2		1				8
ヒトヘルペスウイルス7型				1					1				2
パルボB19ウイルス		1		2					2		1		6
ノロウイルスGI.5									1				1
ノロウイルスGII.2	2	1								1	1		5
ノロウイルスGII.3	1		1										2
ノロウイルスGII.4	1	3	1	2					4	1	2	1	15
ノロウイルスGII.6	1												1
A群ロタウイルスG2	5			1									6
A群ロタウイルスG3	8	3	5	1									17
A群ロタウイルスG9	42	54	1										97
サポウイルスNotTyped	1												1
サポウイルスGI			1	1	3				1				6
サポウイルスGII				1	1		1		1	2			6
アストロウイルス				1									1
合計	75	73	32	33	27	19	24	16	45	30	32	13	419



表 4 令和元年度 全数把握感染症（二類～五類，指定感染症）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コロナウイルス			2										2
A型肝炎ウイルス										1			1
チクングニアウイルス						1							1
ツツガムシリケッチア				1					3				4
デングウイルス	2				2		1						5
日本紅斑熱リケッチア					1	2							3
HIV			1										1
風しんウイルス	6	2	9	5	6	3	3		3	3	3	3	46
麻しんウイルス	12	32	11	11	3	3	9		3			3	87
新型コロナウイルス										13	70	502	585
合計	20	34	23	17	12	9	13	0	9	17	73	508	735

MERS は 60 代の男性で，中東渡航中にラクダとの接触があり，帰国後に発熱，咳，肺炎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。

日本紅斑熱は，2 例の検査依頼があった。うち 1 例は 70 代男性で，8 月に農作業中，虫に刺された感があり，1 週間後から発熱，悪寒，食思不振，その後全身に紅斑が認められた。右下腿の痂皮について遺伝子検査を実施したが 2 例とも陰性であった。国立感染症研究所にペア血清での抗体検査結果も急性期，回復期いずれも検出感度以下であった。

つつが虫病は 2 例の検査依頼があった。うち 1 例は 30 代女性で，11 月に発熱，発疹，気管支炎，結膜炎があり，ダニ等に咬まれた感はなかったが，右下腿外側に刺し口様の傷が認められた。医療機関での抗体検査の結果，つつが虫病として発生届が出された。痂皮について，遺伝子検査を実施し，ツツガムシリケッチア (Kawasaki (Irie) 型) を検出した。なお，もう 1 例は，陰性であった。

#### 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，チクングニア熱，風疹及び麻疹の検査を実施した。

デング熱は，4 例の検査を実施した。3 例は，医療機関での NS1 抗原の検出があったことから届出され，東南アジアまたはインドへの渡航歴があった。もう 1 例は臨床症状，東南アジアへの渡航歴等から届出されたもので，指針に基づき当センターで遺伝子型別検査の結果，1 型 2 例，3 型 2 例であった。

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。令和元年度は，前年度からの流行が上半期に続き，検査依頼は風疹 46 件，麻疹 87 件と多かった。これらのうち，ウイルスを検出したのは風疹が 2 例，麻疹が 5 例あった。遺伝子配列を解析したところ，風しんウイルスは 1E 型が 2 例，麻しんウイルスは D8 型を 2 例検出した。

#### 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 型肝炎の検査依頼があった。

A 型肝炎は平成 22 年通知に基づき，届出があった場合は，患者の便を確保し，遺伝子検査を実施している。令和元年度は 1 例の届出があった。患者は，全身倦怠感，食欲不振，黄疸，肝腫大，肝機能異常の症状があり，医療機関で血清 IgM 抗体が検出されたが，遺伝子検査結果は陰性であった。

#### ④ 新型コロナウイルス感染症

新型コロナウイルス感染症は，2 月 1 日に感染症法に基づき指定感染症に定められ，全数把握対象疾患となった。令和 2 年 1 月以降，多数の検査依頼があり，585 件の遺伝子検査を実施した（詳細は本年報に別途報告）。

#### (3) エイズ検査相談事業

各保健所における迅速検査で陽性（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。令和元年度は，1 例の検査依頼があり，HIV-1 陽性，HIV-2 判定保留となった。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，初回の集団発生について報道発表される．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における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．

令和元年度の県内初発事例は，9月下旬に奈良市保健所管内で発生し，AH1pdm09ウイルスを検出した．

10月の中和保健所管内，12月の郡山保健所管内の集団発生においても，AH1pdm09ウイルスを検出した．

11月の内吉野保健所管内の集団発生では，AH3（香港型）を，1月の吉野保健所管内での集団発生ではB型ビクトリア系統を検出した（表5）．

### (2) 感染性胃腸炎集団発生における原因病原体調査

感染性胃腸炎の集団発生時等に，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．令和元年度には，保育所及び小学校で発生した感染性胃腸炎集団発生事例について，12月と1月に検査

依頼があった（表6）．全体で3事例12検体の依頼があり，保育所1事例，小学校1事例でノロウイルスを検出した．検出した遺伝子群は全てGIIであった．ノロウイルスが検出されなかった1事例は，保育所の集団発生で，ロタウイルス，サポウイルス，アデノウイルス40/41型の検査を実施したが，いずれも陰性で検査終了となった．

### (3) 新型インフルエンザ対策事業

国立感染症研究所の抗インフルエンザ薬剤耐性株サーベイランスに協力している．令和元年度は，検出したインフルエンザウイルスのうち，AH1pdm09及びB型山形系統の分離株を国立感染症研究所に送付した．

### (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，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，7月，9月に計3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）．令和元年度は7月にヒトスジシマカ（雌成虫）1匹の捕集が認められたが，6月，9月において捕集はなかった．

表5 令和元年度 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	R1.9.26	3	3	AH1 pdm09
中和保健所	R1.10.10	5	4	AH1 pdm09
内吉野保健所	R1.11.6	4	2	AH3(香港型)
郡山保健所	R1.12.18	5	3	AH1 pdm09
吉野保健所	R2.1.17	5	3	B型ビクトリア系統

表6 令和元年度 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）										6	6			12
陽性数	ノロウイルスGI													
	ノロウイルスGII									6	4			10

### 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おいて、本県では、ポリオ感染源調査（環境水調査）に参加している。

県内一カ所の下水処理場で、毎月1回、年間を通して流入下水を採水し、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）。

### 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」に参加し、麻疹・風疹ウイルスの遺伝子配列解析を行った。その他、国立感染症研究所が実施するインフルエンザウイルス分離培養・同定技術実態調査（iTips）、国立感染症研究所と衛生微生物技術協議会人獣共通感染症レファレンスセンターが実施するSFTSのRT-PCR法による検出にも参加した。

#### (2) 機器点検等

遺伝子解析装置及びリアルタイムPCR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

ウイルス等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。令和元年度は、12事例62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36検体は、全てノロウイルスGIIであった。遺伝子配列を解析したところ、12月の事例はGII.2、1月の事例はGII.4、3月の事例ではGII.17を検出した。また、便検体4検体から*Kudoa septempunctata*の検査を実施し、陰性であった。

表7 令和元年度 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30型								1					1
	コクサッキーB群3型						2	5	4	4	1			16
	コクサッキーB群5型			4	3	3	1	2	3	2				18

表8 令和元年度 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）		6		2					2	17	17	11	7	62
陽性数	ノロウイルスGI													0
	ノロウイルスGII	1		2						9	11	6	7	36
	ノロウイルスGI+GII													0
	A群ロタウイルス													0

## 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。

令和元年度には、全数把握対象疾患（指定感染症を除く）については、593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46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。

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ベイメーリングリスト（27件）や定点医療機関のメーリングリスト（FAX送信含む）（139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580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9 奈良県感染症情報（週報）提供記事

掲載日	タイトル
4月19日	海外で注意したい動物由来感染症
5月8日	マダニに注意しましょう
5月31日	6月1日～7日は「HIV検査普及週間」
6月28日	海外へ渡航される皆様へ
7月26日	風しんの追加的対策について
8月23日	風疹に関する追加的対策
9月20日	感染症予防～インフルエンザやRSウイルス・百日咳の感染経路は、飛沫感染と接触感染です。～
10月18日	インフルエンザに感染しないために
10月31日	12月1日は「世界エイズデー」
11月29日	海外へ渡航される皆様へ
12月27日	インフルエンザの施設内感染拡大防止について
2月21日	手洗いは感染予防の基本
3月19日	新型コロナウイルス感染症を防ぐには

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	76	母子生活支援施設	1
保育園	80	特別支援学校	7
こども園	25	障害者支援施設	25
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	30
中学校・高等学校	3	役所	52
大学	17	公共施設	27
専門学校	7	その他	2
教育委員会	13	合計	580

### 3) 「保健研究センターだより」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」として作成し、奈良県感染症情報に記事として掲載した。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11）。

表 11 奈良新聞提供記事

掲載日	タイトル
4月 11日	風疹
5月 9日	こどもの夏風邪
6月 13日	ハチミツの摂取による乳児ボツリヌス症
7月 11日	夏に流行始まるRSウイルス感染症
8月 22日	MERS(中東呼吸器症候群)
9月 26日	カンピロバクター食中毒
10月 24日	インフルエンザの予防
11月 28日	黄色ブドウ球菌食中毒
12月 26日	マَسギヤザリングと感染症
1月 23日	中国の謎の肺炎
2月 27日	感染症を予防するために
3月 26日	新型コロナウイルス感染症(COVID-19)

#### 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。

令和元年度のアクセス数は、83,541 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 12）。

表 12 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	2,731	3,369
5月	2,126	2,904
6月	1,745	2,352
7月	1,687	2,136
8月	1,147	2,221
9月	2,478	1,940
10月	2,910	1,966
11月	3,567	1,844
12月	5,304	1,650
1月	13,434	1,566
2月	8,177	1,408
3月	13,849	1,030
合計	59,155	24,386

#### 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 115 件あった。その内訳は、県民 52 件、医療機関 12 件、教育機関 4 件、福祉機関 2 件、報道機関 20 件、行政機関 25 件であった。県民からの問い合わせは、風疹や新型コロナウイルス感染症に関することが増加した。

#### 6) 特記すべき疾患

令和元年度は手足口病が警報発令となった。警報発令は、第 24 週であり、例年に比べ早い時期から流行がみられた。また、インフルエンザは第 51 週に注意報発令となった。警報発令や注意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。新型コロナウイルス感染症については、国内のみならず世界的な流行が発生した。県内でも患者が発生し、問い合わせ等も増加したことから、積極的な情報提供に努めた。

なお、警報の発令等については、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。

### 3. 調査研究等

#### 事業に係る技術等検討

- (1) 水中及び拭き取り検体でのノロウイルス検査法の追加検討 [阪本孝幸]
- (2) ウイルス分離・同定検査手法の習得および伝達について [千葉翔子]
- (3) 感染症情報センターホームページの各疾患ページの拡充 [松本朋子]
- (4) RS ウイルスの遺伝子解析(2016 年) [尾西美咲]
- (5) ロタウイルスの VP7 遺伝子型決定法の検討および奈良県での遺伝子解析による継続調査 2018/19 シーズン [松浦侑輝]

## 4. 令和元年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部第 35 回疫学情報部会研究会の開催

### 1) 開催概要

日 時：令和元年 11 月 1 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，徳島県），国立感染症研究所，  
その他関係行政機関等

参加人数：57 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 齊藤 泰樹

#### 【感染症情報センター・NESID 担当者意見交換会】

「NESID 概要について」滋賀県衛生科学センター 鈴木 智之

#### 【一般演題】

「2019 年に大阪府北部で発生した麻しん集団感染事例の解析」大阪健康安全基盤研究所 鶴飼 友彦

「県別データを活用した健康寿命に関連する要因分析」滋賀県衛生科学センター 井上 英耶

#### 【特別講演 1】

「G20 大阪サミットにおける感染症強化サーベイランス」

大阪健康安全基盤研究所，国立感染症研究所 感染症疫学センター 柿本 健作

#### 【健康危機管理事業（健康危機模擬訓練）検証会】

#### 【特別講演 2】

「生物テロ対策と多機関連携」国立保健医療科学院 健康危機管理研究部 齋藤 智也

### 3) 研究会内容

- (1) 感染症情報センター・NESID 担当者意見交換会では，各自治体の担当者から事前に募集した質問に回答する形式で，滋賀県衛生科学センターから感染症発生動向調査と NESID について講演いただいた。引き続き，京都市衛生環境研究所 吉澤 徳一主任を座長とし，昼食をとりながら情報交換会を行った。グループワーク形式にて，各感染症情報センターが発行する週報を持ち寄り，積極的なディスカッションを行った。
- (2) 一般演題では，大阪健康安全基盤研究所からは，麻疹患者発生に関して国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース（FETP-J）へ支援要請を行い対応した事例について報告があった。滋賀県衛生科学センターからは，都道府県別の行動要因と環境要因のデータから，健康寿命の長い県の特徴を解析し，報告された。
- (3) 特別講演 1 では，G20 大阪サミットというマスメディアにおいて実施された感染症強化サーベイランスについてご講演いただいた。G20 大阪サミットにおける感染症リスクアセスメントの結果に沿った強化サーベイランス体制が構築され，既存のサーベイランス 4 種と臨時サーベイランス 5 種の合計 9 種のサーベイランスの情報から，大阪健康安全基盤研究所を拠点として日報が作成・還元された。活動は，開会 18 日前から閉会 17 日後まで実施されたが，この強化サーベイランスは会議開催の 9 ヶ月前から準備が始まり，2 回の机上訓練を経て実施されたものであった。さらに，関係者事後アンケートから明らかとなった今後のマスメディアに向けての課題が示された。
- (4) 健康危機管理事業検証会では，各施設の検討・検査状況や事後アンケート結果をとりまとめ，報告を行った。
- (5) 特別講演 2 では，生物テロの近況や対応，警察等との連携や地衛研に期待される対策についてご講演いただいた。主に炭疽菌について，これまで把握された生物テロおよびその対応内容の解説があり，警察と公衆衛生の連携が強化されている米国での体制について紹介があった。日本でも，川崎市において多機関合同で健康危機管理研修会が開催されており，参加者，特に警察関係者から好評であったことが紹介された。最後に，地衛研に期待される生物テロ対策について連携モデルを用いて解説があった。

### 3) 開催状況写真



受付



堀 所長 挨拶



大阪健康安全基盤研究所 柿本 健作 主任研究員



国立保健医療科学院 齊藤 智也 上席主任研究官



# 新型コロナウイルス感染症の検査対応について（第一報）

ウイルス・疫学情報担当

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）については、2019年の年末には、中国の限定した地域での患者発生が少数報道されている程度であったが、その後、中国国内でも流行拡大し、我が国では1月16日には第一例目が発生するなど、急激に、全世界に拡大した。これまで、新規のウイルス感染症については、国からの通知を受け、全国の地方衛生研究所で検査体制が整備され、患者発生に備えてきたが、今回のCOVID-19は感染拡大が非常に急激で、地方衛生研究所での検査態勢が整う前に国内で患者が発生しており、検査の現場では、相当な混乱が見られた。

今回、COVID-19の本県での患者発生や検査体制の確立、情報提供等の実施状況について、2020年3月までの状況をとりまとめたので報告する。

## 1. 当センターでの初期対応状況

### 1) 情報収集と所内体制整備に向けて

2020年1月6日の仕事始めには、情報収集を開始した。中国での患者発生状況について、厚生労働省の報道や中国武漢市の保健当局のホームページの情報を翻訳して感染症情報センターホームページに掲載するなど、注意喚起を開始した。また、国内侵入が予想されたため、1月16日には、所内調整会議を開催し、海外での発生状況等報告すると共に、2009年の新型インフルエンザの経験からウイルス・疫学情報担当だけでは対応不可能と判断し、他担当へ協力を求めた。

1月16日には、厚生労働省から中国武漢市に滞在歴のある患者が発表された<sup>1)</sup>。その後、23日午前10時（日本時間午前11時）に、中国武漢市が事実上封鎖されたが、春節（1月24日～）になっても、日本への渡航制限が実施されず、さらに全世界へ拡大していくこととなった。

### 2) 検査開始まで

全国の地方衛生研究所での検査体制整備より前に、国内で患者発生していたことから、当初は全て国立感染症研究所（以下、「感染研」）で検査が実施された。ただし、この時期の疑い患者は、中国武漢市での滞在歴がある等の制限があり、滞在歴等がない患者は、疑似症サーベイランス<sup>2)</sup>として取り扱われていた。

1月21日には国立感染症研究所から「2019-nCoV

（新型コロナウイルス）感染を疑う患者の検体採取・輸送マニュアル」（以下「採取・輸送マニュアル」）が発出され、それを元に、1月24日には検体採取や運搬方法、当センターでの検査体制整備の状況を取りまとめ、保健所に連絡調整を行った。これは、採取・輸送マニュアルが改正される度に行った。

1月25日（土）夕刻に、中国への渡航歴のない患者で、COVID-19を強く疑う患者の情報が入った。この時はまだ、ヒト-ヒト感染は国内では発生がなく、中国でも濃厚接触者に限定されていたため、疑似症サーベイランス<sup>2)</sup>として、感染研へ検査依頼することとなり、25日深夜、医療機関で検体を回収した。その後、当センターで前処理を行い、翌26日（日）に、ゆうパックにより感染研究に発送した。結果的にこの患者が、国内でのヒト-ヒト感染事例第1例目<sup>3)</sup>となった。

### 3) 検査体制の確立へ

1月24日（金）には、感染研から12本のプライマーが到着したが、陽性コントロールがなく、PCR反応工程も不明であったことから、病原体検出マニュアルを待つこととなった。27日（月）に入手した病原体検出マニュアル Ver.1に記載があったのは、2-step nested RT-PCR法で、当センターで保有しない逆転写酵素等が記載されており、緊急購入するなどして、陽性コントロールが到着した28日（火）から試行を開始した。31日（金）には、当センターでの遺伝子検査受付を開始し、第1例目<sup>3)</sup>に関連する検体等が搬入された。なお、検体搬入前の30日（木）には、新型コロナウイルスに関連する検体のBSLについてセンター内で協議を行い、今後しばらくは、BSL3として取り扱うこととした。

また、29日（水）には、病原体検出マニュアル Ver.2が発出され、リアルタイムPCR法が追記された。特異性が高く、結果判明までが速いことから、リアルタイムPCR法についても、同時に検討を開始したが、陽性コントロールの反応が弱く、試薬や機器、操作に問題があるのかと、対応に苦慮した。最終的に全国の地方衛生研究所に陽性コントロールが再配布され、当センターとしては2月6日から、リアルタイムPCR法による検査開始となった。



## 2. 検査体制整備

### 1) 検査体制

検査を担当するウイルス・疫学情報担当の職員は 5 名で、統括主任研究員は内外の調整、検査総括、全体補助等、他の検査員 4 名が検体受付から遺伝子検査、結果報告 (PDF 作成) 事務を行った。リアルタイム PCR 法による検査開始にあたり、結果報告の時間を一定にして欲しいと要望があり、検体数が開始時間直前まで確定できないことによる作業計画や試薬等管理面での非効率、搬入が開始直前に集中することによる職員への精神的負担などが懸念されたが、2 月 3 日から検査開始時刻を平日は 10 時と 15 時 (土日は原則 10 時のみ) とし、10 時開始分は当日の 16 時頃、15 時開始分は翌日の 10 時頃に結果報告するように対応した。

開始当初は、安定して検査を実施することができたが、検査依頼の増加を想定し、2 月 12 日にセンター内他部署職員による平日の応援体制を整備した。更に土日の検査が常態化してくると職員には代休を取得させる必要があり、平日の検査体制に支障が出てきたため、2 月 20 日からは他部署職員の応援を受けた。

当初、検査に使用していた主要機器は、自動核酸抽出機 (QIACube) 2 台及びリアルタイム PCR 装置 (7500Fast) 1 台で、検体の前処理は BSL3 の高度安全実験室 (P3) を使用した。P3 での個人防具 (PPE) は、在庫数に不安があったことから、タイベックは使用せず、サージカルガウン及び N95 マスク、ヘアキャップ等とした。

### 2) 検査フロー

以下、リアルタイム PCR 法による検査について説明する。

#### (1) 受付

医療機関で採取された検体の搬入は保健所が担当した。輸送は、国連容器での 3 重梱包を使用するよう依頼した。検体受付室で 2 次容器を受け取り、BSL3 若しくは BSL2 の安全キャビネット内での受付とした。病原体検出マニュアルで指示された検体は、上気道検体 (咽頭鼻咽頭等拭い液) 及び下気道検体 (喀痰、吸引痰) で、事前に連絡があった検体種とは異なる検体が搬入されることも多く、混乱が見られたため、受付業務には必ず 2 名体制で対応することとした。

#### (2) 遺伝子検査

P3 では、ウイルス粒子が不活化する工程を行い、ウイルス遺伝子の抽出は、BSL2 区域で行い、以下平素の遺伝子検査と同様に扱った。

病原体検出マニュアルでは、リアルタイム PCR には、N 領域の 2 カ所を増幅する 2 系統のプライマー・

プローブセット (N セット, N2 セット) をそれぞれ duplicate で行うことが指示された。そのため、コンタミネーションや再検査を考慮し、1 回に検査できる検体数は 12 検体 (24 検体/日) とした。また、陽性コントロールは、使用時の段階希釈が検出マニュアルで指示されており、毎日段階希釈を行った。

## 3. 検査状況とさらなる体制強化

### 1) 初期の検査状況

前述の県内 1 例目の発生以降、疑い例または濃厚接触者の検査依頼が続いた。cPCR 法を用いていた 1 月 31 日～2 月 5 日までの間の検査数は 17 検体で、全て陰性であった。その後、リアルタイム PCR 法を導入後の 2 月 6 日～13 日は検査依頼がなかった。

2 月 13 日には、国内初の死亡例が報道された。それまでは、明らかに接触歴等がある患者が多かったが、この事例が高齢女性であったことから、高齢者の重症肺炎全てが疑わしいとされ、2 月 14 日からは、検査依頼が増加し、2 月 14 日～16 日の 3 日間で 8 検体、2 月 17 日～23 日の 7 日間で 30 検体、2 月 24 日～3 月 1 日の 7 日間で 32 検体と、検体搬入はほぼ連日となった。

### 2) 陽性検出事例

当センターで検査を開始後、2 月 22 日 (土) には、初めての陽性事例があった。3 月 6 日 (金) には、大阪市のライブハウス関連の 1 名の陽性が判明し、その後もライブハウス関連で陽性が続いたが、3 月末頃まではほぼ全ての感染者の疫学的リンクは追跡できており、他の大多数の検体は陰性であった。

### 3) さらなる検査依頼の増加に備えて

2 月下旬には国内でクラスターの発生が多数確認されており、県内でも検査数の増加が見込まれた。当時当センターは、県内唯一の新型コロナウイルス検査実施機関であり、検査体制を強化するため 2 月末にはリアルタイム PCR 装置の増設を要望した (3 月 27 日設置)。3 月初頭にはウイルス・疫学情報担当の主業務である感染症発生動向調査に関する業務のうち病原体サーベイランスを停止せざるを得なくなった。また、検査経験を有する他所属の職員を緊急で配置し、3 月 23 日からは、検査能力を 24 検体/日から 30 検体/日に拡大させた。

それらと並行して、一部試薬類の予製実施、使用試薬を変更することで調製作業を簡略化する等、全工程の効率化をはかり、新型コロナウイルス感染症の検査に特化した体制を整え、検査依頼の増加に対応した。

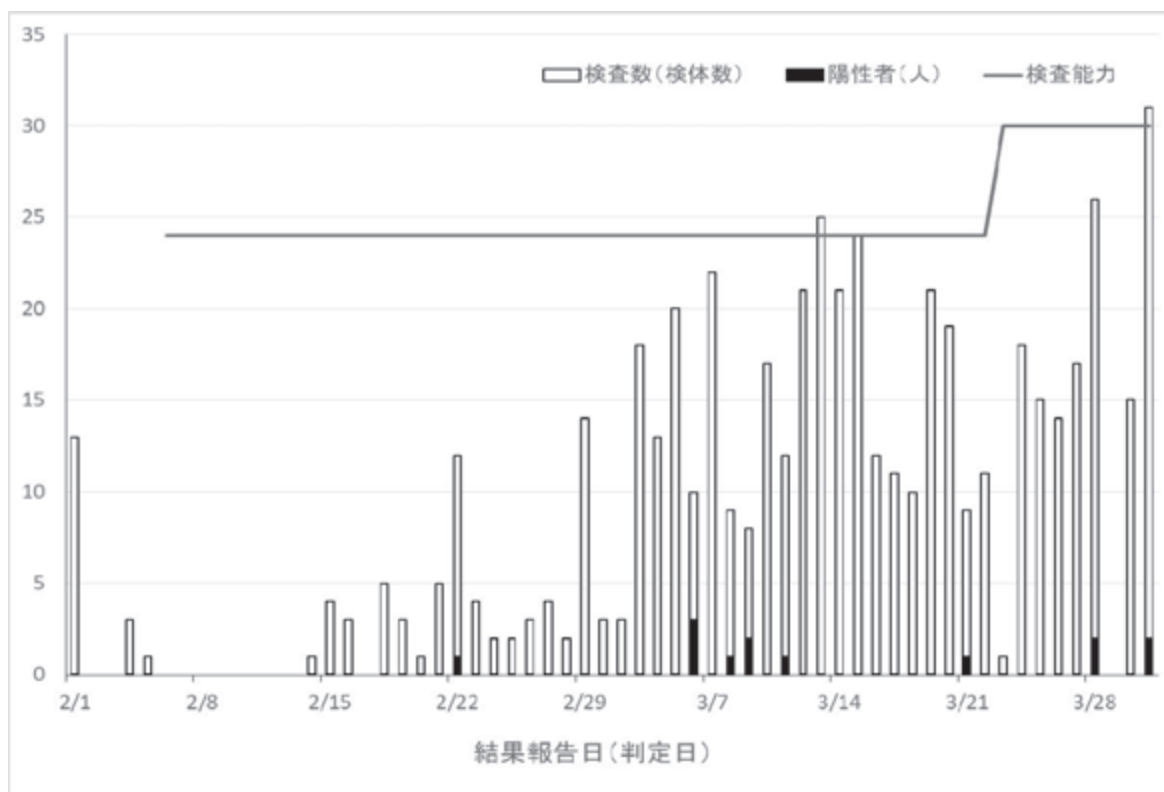


図 検査数の推移と新規陽性感染者数

#### 4) 検査総数と年度末の状況

1月31日～3月末までの県内保健所(奈良市を含む)からの検査依頼については、全て当センターで実施した(図)。検査総数は、同一感染者からの複数検体提出や陽性感染者の陰性確認を含め585検体(436人)であった。検体種別は拭い液が487検体、痰が98検体であった。

3月に入ると、著名人の死亡や味覚異常で感染が判明した野球選手の情報により関心が高まったこともあり、検査依頼は増加し、さらに3連休後の3月末には急増して、連日搬入検体数が検査可能な検体数を上回り、繰り越し検体が増加し続け、逐次変化する状況への対応が必要で、検査を担当する職員には、休まる日は全くなかった。

#### 4. 今後への課題

当センターでは、人員の増員や機器の新規導入、検査工程の効率化を進め、検査体制を構築してきた。しかし、新型のウイルス感染症という未知の要素や長期かつ連日の対応のため、検査業務に多くの苦慮した事例や課題が生じた。

##### 1) 資材・試薬等の確保、機器管理

当初、新型コロナウイルス検査は、全国の地方衛生研究所で実施されたが、患者の増加が急激で、どの検査機関においても試薬等資材が不足する状況となった。

地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会では、各地衛研での検出の状況の情報交換や試薬の融通を行った。しかし、年度末でもあったことから、補正予算が確保されるまでは、今後の発生を予測しての試薬・資材を多めに確保する事は困難で、逆に補正予算が確保された後は、物品の発注業務に追われた。

さらに、3月以降の患者の増加に伴い、医療機関や大学など様々な機関で検査が開始されたことから、サージカルガウンなどの資材の確保はますます困難となった。サージカルガウン、マスク類(サージカル及びN95)、手袋、エタノールは、十分保有していたにもかかわらず、その使用数量が多いことから、特にサージカルガウン、マスク類は不足が予想されたため、再利用するなど対応が必要となった。試薬についても同様に、輸入を待って緊急購入で確保するなどして、検査継続のため、慌ただしい対応が必要となった。

また、自動核酸抽出装置やリアルタイムPCR装置等の検査機器についても、平時をはるかに超える検査依頼数に対応しており、数週間～1か月間で年単位に相当する稼働回数となった。これらの機器は高価かつ導入・設置に日数を要するもので容易に代替や補充ができないため、異常の有無には細心の注意が必要であった。

##### 2) 関係機関の連絡体制

当センターへの検査依頼が本格化した2月14日以

降、多数の検体が医療機関で採取され、保健所職員が搬送を行った。医療機関で採取された一部検体は、1次容器から漏れている恐れのあるもの、容器に氏名の記載がないものや組成が把握できないゲル中にスワブが保存されたもの等があった。また、患者数増加に伴い、医療機関と保健所間の連絡も十分とは言えなかったことから、搬入される検体数、検体種別が搬入時まで把握できないことがあった。

### 3) 地方衛生研究所の検査能力

地方衛生研究所は、公衆衛生分野の試験検査、調査研究、情報等の収集・解析・提供を行っている機関である。ウイルス・疫学情報担当でも、食中毒や感染症の行政検査に対応しているが、大量の検体を対象とした自動化された機器は有しておらず、検査員も5名と平素の検査に対応する検査能力であり、今般のような爆発的に感染拡大した新規感染症に迅速に対応できる機器・検査員数ではない。求められる検査依頼に対応するためには、所属内外からの協力は必須であった。

### 4) 検査員の経験年数

ウイルス・疫学情報担当の職員は、近年特に人事異動が激しく、検査員の平均経験年数は、2.0年(4.75～0.75年：12月末時点)と、若く経験が浅い。そもそもウイルスは、その取扱いにより感染暴露を受けやすいことから、細心の注意が必要であるが、これまでBSL3病原体を取り扱った経験が無い検査員であるため、感染暴露や病原体の飛散を避ける目的もあり、当初は、新型コロナウイルスの取扱をBSL3と定めた。検査員にとっては、P3での検査やPPEの着用という日々慣れない作業を、毎日繰り返すこととなり、さらに未知の病原体を取り扱うことに恐怖もあったと思われる。また、検査員には新規ウイルスの検査手法確立の経験がなかったことから、検査手法確立は統括主任研究員と他担当のウイルス検査経験を持つ職員とで行った。ウイルス・疫学情報担当では、新たな検査手法確立に必要な知識や経験を持つ職員を至急確保し、後継育成のための体制を日頃から維持・継続することが喫緊の課題である。

## 5. 総括

今般の新型コロナウイルス感染症については、検査開始から3月末時点までのわずか2か月間で500検体を超えており、通常の検査能力を大きく超える検体数、検査頻度であった。

検査を行うにあたって、新たな知見が頻繁に発信され、検体採取の優先順位の変更等の日々の情報更新に速やかに対応する必要があった。また、検査の「正確

性」は当然求められるが、指定感染症であるため、陽性の場合、検査対象者には入院等の措置がとられることから、検査結果によっては、検査対象者の日常生活が制限されることになる。しかも、検査開始6時間後には結果報告を待たれているという、検査の「確実性」と「迅速性」が強く求められ、失敗の許されない非常に緊張を迫られる、また大きな責任を伴う業務であった。

国内では、2009年にパンデミックを引き起こした新型インフルエンザ(AH1pdm09)の流行を経験した。その際は、既に迅速診断キットやオセルタミビル等治療薬が存在した。今回の新型コロナウイルス感染症では、広く使用できる迅速診断キットや明確な治療薬がなく、PCR検査のみが感染確認の判定方法で、その結果が行政機関による感染拡大防止施策のための科学的根拠にとどまらず、診断や治療に多大な影響を与える点で、2009年の新型インフルエンザと大きく異なる状況であった。また、SARS、MERSとも異なり、無症状病原体保有者が多くみられたことから、臨床診断では患者特定が困難であったことも特徴的であった。

物品等の供給難については、平時から、ある程度の備蓄をしていたことから当初の検査対応が可能ではあったが、試薬などについては、他地方衛生研究所との情報交換や何度も改訂される病原体検出マニュアルへの対応可否を速やかに判断し、対応する必要があることから、検査技術や病原体に関する知識を有した人員の確保・育成が、日頃から出来る最も重要な課題であると考えられる。

2020年3月末時点で、新型コロナウイルス感染症の感染者は、国内で約2000人を超え、感染拡大が続いている。

今後、保健行政を担う地方衛生研究所として、未知の新興感染症への検査体制の構築等、その役割について十分に検討していく必要があると考える。

## 文 献

- 1) 厚生労働省報道発表資料、「新型コロナウイルスに関連した肺炎の患者の発生について(1例目)」(令和2年1月16日)
- 2) 国立感染症研究所、「疑似症サーベイランスの運用ガイドンス 第三版」(2020年1月10日)
- 3) 国立感染症研究所、「国内初の新型コロナウイルスのヒトヒト感染事例」,病原微生物検出情報, 41, 63-64 (2020)

表 新型コロナウイルス感染症に関する国内外の動向

		国外	国内	県内・保健研究センター
12月	下旬	WHOに原因不明の肺炎を報告(31日)		
1月	上旬		原因不明の肺炎の注意喚起(6日)	
	中旬	新型コロナウイルスを確認(12日)	国内1例目を確認(14日)	
	下旬	武漢市封鎖(23日)	検体採取・輸送マニュアル公開(21日) 自治体に検査対応の協力依頼(23日) 検査マニュアル公開(24日)	疑似症届出、感染研へ検査依頼(25日) 県内1例目(国内6例目)公表(28日) 相談窓口開設(29日)
		PHEICを宣言(30日)	対策本部設置(30日)	検査開始(PCR法)(31日)
2月	上旬		感染症法で指定感染症に指定(1日) クルーズ船入港(3日)	帰国者・接触者相談センター開設(5日) リアルタイムPCR法での検査開始(6日) 検査数24検体/日に拡大(6日)
	中旬		専門家会議の開催を決定(14日) 受診・相談の目安をまとめる(17日)	所属内で応援体制(12日)
	下旬		累計感染者数が100人を超える(21日)  感染症対策の基本方針策定(25日) 学校の休校を要請(27日) 北海道で緊急事態宣言(28日)	当センターで最初の陽性判定(22日) 相談センター夜間受付開始(25日)
3月	上旬	累計感染者数が10万人を超える(6日)	大阪市ライブハウス関連で複数感染者確認	累計検査数100検体を超える(3日) 累計検査数200検体を超える(10日)
	中旬	パンデミックを表明(11日)		所属外から応援人員1名(12日)
		欧州で感染者増加 米国で感染者増加	クラスターマップを公開(15日) 診療の手引き策定(17日)  累計感染者が1000人を超える(20日)	
下旬	累計感染者数が50万人を超える(27日)	欧州からの帰国者で複数感染者確認  海外への不要不急の渡航自粛要請(25日) 1日の感染者数が100人を超える(27日)  1日の感染者数が200人を超える(31日) 累計感染者数が2000人を超える(31日)	検査数30検体/日へ強化(23日) リアルタイムPCR装置1台追加(27日) 累計検査数500検体を超える(30日)	

## 第3章 調査研究・報告

### 第1節 原 著



## QuEChERS 法による農産物中残留農薬の一斉試験法の検討

南浦茉奈・米田正樹・北岡洋平・樋上 絢・立本行江

### Examination for Simultaneous Analysis of Pesticides in Agricultural Products with QuEChERS Method

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

近年、安全で迅速かつ簡便な残留農薬試験法として導入が進んでいる QuEChERS 法を「GC/MS による農薬等の一斉試験法」（以下、GC 法とする）および「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I, II」（以下、LC I 法および LC II 法とする）に導入し、5 つの農産物を試料として妥当性評価を実施した。妥当性評価の結果より、本試験法は従来の溶媒抽出法と同等以上の性能を有することを確認し、一部の酸性農薬への適用も可能となった。

#### 緒言

平成 15 年の食品衛生法改正における「食品中に残留する農薬等に関するポジティブリスト制度」の導入により、規制対象農薬数が 800 種類以上に増大し、迅速かつ簡便な一斉試験法の開発に多くの自治体取り組んでいる。当センターではこれまで、厚生労働省通知<sup>1)</sup>に基づいて残留農薬検査を実施してきた。今回、Anastassiades らが開発した精製時に使用する人体に有害な有機溶媒の使用量が少ない QuEChERS 法<sup>2)</sup>のうち、高取らが応用し報告した方法<sup>3)</sup>を参考に、GC 法、LC I 法について前処理方法の検討を行った。厚生労働省通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性ガイドライン」<sup>4)</sup>（以下、ガイドラインとする）に従い妥当性評価を実施することで、従来の溶媒抽出法と比較を行ったので報告する。また、酸性農薬を対象とする LC II 法についても、QuEChERS 法を導入した前処理方法の妥当性評価を行ったので報告する。

#### 方法

##### 1. 試料

ガイドラインの追加を行う食品の選定に関する記述に従い、農産物中のマトリックスを考慮して GC 法ではほうれんそう、ばれいしょ、だいこん類の根、ゆず、かきを、LC I 法ではほうれんそう、ばれいしょ、だいこん類の根、オレンジ、かきの 5 種類を試料とした。LC II 法ではオレンジのマトリックス効果（マトリックス存在下の標準溶液面積値/溶媒標準溶液面積値）が大きかったため、近年の検査実績を考慮しほうれんそう、ばれいしょ、だいこん類の根、なす、かきを試料とした。

試料は試験部位をフードプロセッサであらかじめ均質化し、凍結解凍を繰り返さないよう試験日毎に使用する量に分割し、-20℃で凍結保存した。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が、オレンジは農薬を含まない試料が確保できなかったため、一部農薬を含む試料を用いた。

##### 2. 試薬等

###### 1) 標準品

GC-MS/MS による測定は林純薬工業(株)製 GC/MS 用農薬混合標準溶液 7 グループ、354 化合物を対象として MRM 条件等を設定した。混合標準溶液に含まれる化合物のうち、S/N 比 $\geq 10$ で定量下限が 0.005  $\mu\text{g/mL}$  以下であった 332 化合物を妥当性評価の対象化合物とした。LC-MS/MS による測定は富士フィルム和光純薬(株)製 LC/MS 用農薬混合標準溶液 6 グループ、167 化合物を対象として MRM 条件等を設定した。混合標準溶液に含まれる化合物のうち、S/N 比 $\geq 10$ で定量下限が 0.005  $\mu\text{g/mL}$  以下であった 158 化合物（うち酸性農薬 47 化合物を含む）を妥当性評価の対象化合物とした。

###### 2) 標準溶液

GC/MS 用農薬混合標準溶液 7 グループは 2  $\mu\text{g/mL}$  の濃度になるようアセトンで希釈混合し、LC/MS 用農薬混合標準溶液 6 グループは 2  $\mu\text{g/mL}$  の濃度になるようメタノールで希釈混合して使用した。

###### 3) その他試薬

前処理に使用した n-ヘキサン、トルエン、アセトン、アセトニトリルおよびメタノールは全て富士フィルム

和光純薬（株）製残留農薬分析用を、トリエチルアミン、無水硫酸マグネシウム、クエン酸 3 ナトリウム 2 水和物、クエン酸水素 2 ナトリウム 1.5 水和物および塩化ナトリウムは全て富士フィルム和光純薬（株）製特級を、LC-MS/MS 移動相用の超純水、メタノールおよび酢酸アンモニウムは全て富士フィルム和光純薬（株）製の LC/MS グレードを使用した。

精製用ミニカラムは SUPELCO 社製 ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> (500 mg / 500 mg, 6 mL), ENVI-Carb II/PSA (500 mg / 500 mg, 6 mL), Agilent 社製 Bond Elut C18 (1,000 mg, 6mL), Sigma-Aldrich 社製 Discovery DSC-Si, ジーエルサイエンス社製 InertSep SI, Agilent 社製 Bond Elut SI および Waters 社製 Sep-Pak Vac Silica を使用した。ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> および ENVI-Carb II/PSA はアセトニトリル/トルエン混液 (3:1) 10 mL を、Bond Elut-C18 はアセトニトリル 10 mL を流して活性化させた。シリカゲルミニカラムはメタノール、アセトン各 5 mL を順次注入した後、*n*-ヘキサン 10 mL を注入し活性化させた。なお精製用ミニカラムでの通液は加圧または吸引せず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心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-V2 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 社製ガスクロマトグラフ GC7890B および同社製質量分析計 7000D を、LC-MS/MS は Waters 社製液体クロマトグラフ ACQUITY UPLC H-Class システムおよび同社製質量分析計 Xevo TQ-S micro を使用した。

### 4. 試験溶液の調製

#### 1) 抽出工程

試験溶液の調製方法を図に示した。試料 10.0 g を 50 mL ポリプロピレン製遠心管に量り採り、これにアセトニトリル 10 mL を正確に加え、高速ホモジナイザーで 1 分間抽出した。次に、塩化ナトリウム 1 g、クエン酸 3 ナトリウム 2 水和物 1 g、クエン酸 2 ナトリウム 1.5 水和物 0.5 g および無水硫酸マグネシウム 4 g を添加して 1 分間手で強く振とうした後、室温で 3,000 rpm, 10 分間遠心分離した。

#### 2) 精製工程

#### (1) GC 法および LC I 法

あらかじめコンディショニングを行った Bond Elut C18 に遠心分離後の上層のアセトニトリル層を正確に 4 mL 注入し、ミニカラムにリザーバーを接続し 20 mL のアセトニトリルで溶出した。抽出液を注入した際の通過液と溶出液は、100 mL のナス型フラスコに回収した。ナス型フラスコに回収した溶液は、40°C の水浴上で減圧濃縮し、乾固手前で減圧濃縮を終了した。

ナス型フラスコに 2 mL のアセトニトリル/トルエン混液 (3:1) を加えて溶解し、溶解液をあらかじめコンディショニングした ENVI-Carb II/PSA に注入した。再度、ナス型フラスコに 2 mL のアセトニトリル/トルエン混液 (3:1) を加え溶解し、溶解液をミニカラムに注入した。次にナス型フラスコ内に 10 mL のアセトニトリル/トルエン混液 (3:1) を加えて、軽く超音波をあてフラスコ内の残留物を溶解し、溶解液はリザーバーを接続したミニカラムに注入した。さらに、ナス型フラスコ内に 20 mL のアセトニトリル/トルエン混液 (3:1) を加えフラスコ内を洗浄し、洗浄液をリザーバーに注入した。溶解液および洗浄液を注入した際の通過液と溶出液は、別の 100 mL のナス型フラスコに回収した。

ナス型フラスコに回収した溶液は、40°C の水浴上で乾固手前まで減圧濃縮し、窒素気流下で乾固した後、アセトン/*n*-ヘキサン混液 (1:1) で溶解し、目盛り付き試験管で正確に 2 mL に定容した。0.5 mL を分取し、1.5 mL のアセトン/*n*-ヘキサン混液 (1:1) で希釈を行った（試験液 I）。

次に、希釈前の溶液を別の試験管に正確に 0.5 mL 採取し、窒素気流下で乾固した後、メタノールを 2 mL 加えて再溶解し、0.2 μm メンブレンフィルターを用いてろ過した（試験液 II）。

#### (2) LC II 法

Bond Elut C18 にアセトニトリル層を 4 mL 注入し、20 mL のアセトニトリルで溶出した後、減圧濃縮した。アセトン/トリエチルアミン/*n*-ヘキサン混液 (20:0.5:80) 2 mL を加えて溶解し、Discovery DSC-Si (500 mg) に注入後、アセトン/トリエチルアミン/*n*-ヘキサン混液 (20:0.5:80) 10 mL でミニカラムを洗浄し、流出液を捨てた。アセトン/メタノール混液 (1:1) 2 mL でフラスコ内を洗浄後、アセトン/メタノール混液 (1:1) 18 mL で溶出し、減圧濃縮した。窒素気流下で乾固し、メタノールで溶解し 4 mL に定容した後、1 mL を分取し、メタノール 1 mL で 2 倍希釈した。その後、0.2 μm メンブレンフィルターを用いてろ過した（試験液 III）。



試験液IをGC-MS/MS, 試験液IIおよびIIIをLC-MS/MSを用いて分析した。

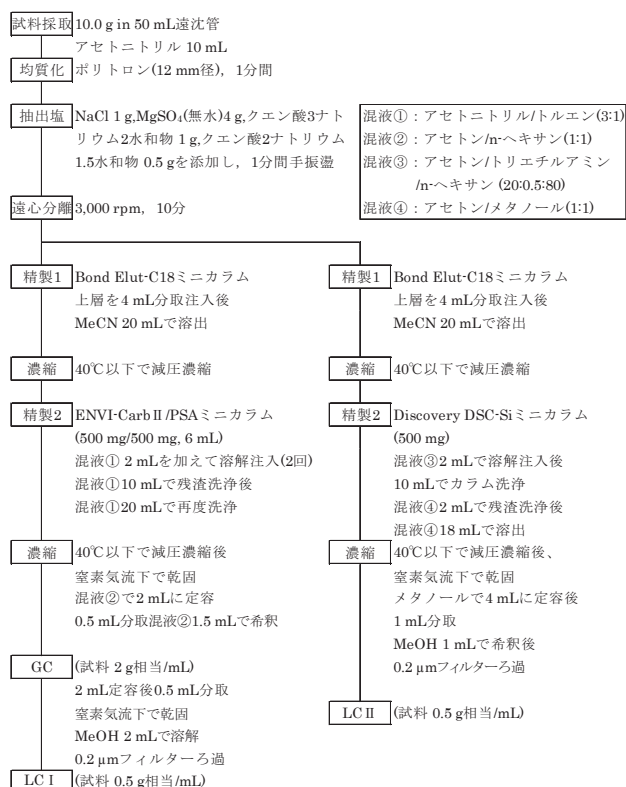


図 フローシート

## 5. 測定条件

GC-MS/MS および LC-MS/MS の装置測定条件を表1に示した。

表1 装置測定条件

GC-MS/MS条件	
カラム	VF-5MS カラム長30 m×内径250 μm×膜厚0.25 μm
オープン温度	70°C (2 min) - 25°C/min → 150°C - 3°C/min → 200°C (5 min) - 8°C/min → 310°C (5 min)
注入口温度	250°C
注入モード	Splitless, 2 μL
キャリアーガス	He
流速	1.5 mL/min Constant Flow
イオン化法	EI(70eV)
Interface温度	280°C
四重極温度	150°C
LC-MS/MS条件	
カラム	ACQUITY UPLC®BEH C18, 粒子径1.7 μm 内径2.1 mm×カラム長100 mm
カラム温度	50°C
注入量	2 μL
流速	0.4 mL/min
移動相	(A) 5 mM 酢酸アンモニウム (B) 5 mM 酢酸アンモニウムメタノール溶液
グラジエント (B%)	5%→5%(1 min)→95%(15 min)→95%(20 min) →5%(20.1 min)→5%(25 min)
イオン化法	ESI(+), ESI(-)
Capillary 電圧	3,000 V
Desolvation温度	400°C
Source温度	150°C

## 6. 検量線

GC-MS/MS 分析は各農薬濃度がそれぞれ 2.5, 5, 15, 25, 37.5 ng/mL になるように, 作業標準溶液をブランク試料から操作して得られた試験溶液で希釈し, マトリックス添加標準溶液 (試料 0.5 g 相当/mL) を調製した。

LC-MS/MS 分析は各農薬濃度がそれぞれ 2, 5, 10, 20, 50, 100 ng/mL になるようにメタノールで希釈し調製した。

## 7. 妥当性評価

各ブランク試料に対し, 各標準品を試料中濃度が 0.01 mg/kg と, GC 項目では 0.05 mg/kg, LC 項目では 0.1 mg/kg となるよう添加した。添加後, 30 分以上経過後に試験溶液の調製を行った。妥当性評価はガイドラインに示された枝わかれ実験計画に従い, GC 法, LC I 法は 3 名で 1 日 2 併行試験を 2 日間, LC II 法は 1 名で 1 日 2 併行試験を 5 日間行った。得られた結果より真度, 併行精度, 室内精度を求め, ガイドラインに従い評価を行った。

## 結果および考察

### 1. 前処理方法の検討

#### 1) LC I 法における 2 層式ミニカラムの検討

精製条件は夾雑物の多い農産物であるほうれんそうを代表試料として精製時に使用するミニカラムを検討した。2 層式ミニカラムにグラファイトカーボン/エチレンジアミン-N-プロピルシリル化シリカゲルミニカラムである SUPELCO 社製 ENVI-Carb II/PSA (500 mg/500 mg, 6 mL) とグラファイトカーボン/アミノプロピルシリル化シリカゲルミニカラムである ENVI-Carb/LC-NH<sub>2</sub> (500 mg/500 mg, 6 mL) を使用し, ほうれんそうを用いた添加回収試験での回収率が 70%~120%の化合物数およびブランク試験の試験溶液の SCAN 測定による夾雑物量の比較を行ったところ, 顕著な差は見られなかった。2 層式ミニカラムは他機関での使用実績を考慮し, ENVI-Carb II/PSA を採用することとした。

#### 2) LC I 法における C18 ミニカラムの検討

各 2 層式ミニカラムによる精製工程の前で, オクタデシルシリル化シリカゲル (C18) ミニカラム (Agilent 社製 Bond Elut-C18 1,000 mg, 6 mL) の使用の有無による, ほうれんそうを用いた添加回収試験の回収率が 70%~120%の化合物数およびブランク試験の試験溶液の SCAN 測定による夾雑物量の比較を行ったところ, 顕著な差は見られなかった。しかし, C18 ミニ

カラムの使用により一部夾雑ピークの除去が確認できたため、今後多様な農産物の夾雑物にも対応することを考慮し、C18 ミニカラムを使用することとした。

### 3) LC II 法におけるシリカゲルミニカラムの検討

シリカゲルミニカラム（充填量 500 mg）は Discovery DSC-Si (Sigma-Aldrich 社製), InertSep SI (ジーエルサイエンス社製), Bond Elut SI (Agilent 社製) および Sep-Pak Vac Silica (Waters 社製) の 4 社のミニカラムで検討を行った。ほうれんそうを用いて各ミニカラムで処理した添加回収試験での回収率が 70%~120%の化合物数の比較では Discovery DSC-Si が最も良好であった。ブランク試験の試験溶液を SCAN 測定したところ、夾雑物量に顕著な差は見られなかったが、試験溶液の通液性について、Bond Elut SI は低速で迅速性に欠け、Sep-Pak Vac Silica は非常に高速であったため、カラム内での相互作用が不十分である恐れがあると考えられた。一方、Discovery DSC-Si および InertSep SI は適正な速度であった。以上のことを総合的に判断して、Discovery DSC-Si を採用することとした。

### 4) GC 法における測定時希釈濃度の検討

GC/MS 一斉試験法における測定時に、マトリックスの影響を低減するため、試験溶液の希釈についてほうれんそう、ばれいしょ、だいこん類の根、オレンジおよびかきの 5 つの農産物を用いて検討を行った。マトリックス溶液（試料 2 g 相当/mL）に GC/MS 用農薬混合標準溶液 20 µg/L を添加した試験溶液を段階希釈し、各試験溶液のマトリックス効果を算出し、80%~120%の範囲内に収まった化合物数を表 2 に示した。希釈によるマトリックス効果の低減度および測定装置の感度を総合的に考慮した結果、最終検液濃度 5 µg/L である試料 0.5 g 相当/mL を採用した。

表 2 試験溶液濃度毎のマトリックス効果の比較

試験溶液濃度 (µg/L)	マトリックス 濃度(g/mL)	ほうれんそう	ばれいしょ	だいこん 類の根	オレンジ	かき
2.5	0.25	176	222	209	180	221
5	0.5	195	234	182	177	200
10	1	159	208	166	123	188
20	2	197	201	168	169	192

## 2. 妥当性評価結果

ガイドラインに従い、真度および精度（併行精度、室内精度）の評価を行い、各試料・化合物ごとに得られた真度、精度に応じて A（真度、精度とも目標値を満たす）、B（A 以外で真度が 50%~150%）、C（A 以外で真度が 30%~50%もしくは 150%~）および D（真

度 30%未満もしくは、精度、選択性の目標値を満たさない）の 4 つの判定に分類した。各試料別の評価結果を GC 法は表 3 に、LC I 法は表 4 に、LC II 法は表 5 に示した。

GC 法は 332 化合物中、ほうれんそうは 291 化合物、ばれいしょは 287 化合物、だいこん類の根は 287 化合物、ゆずは 291 化合物、かきは 283 化合物がガイドラインの基準に適合した。全 5 種類の試料でガイドラインの基準に適合したのは 248 化合物であり、75%の化合物について妥当性が確認できた。従来の溶媒抽出法では、全 5 種類の試料（ほうれんそう、ばれいしょ、キャベツ、トマト、りんご）でガイドラインの基準に適合したのは 215 化合物であったため、QuEChERS 法を導入した本試験法は迅速かつ簡便であり、さらに、従来の溶媒抽出法と同等またはそれ以上の化合物がガイドラインの基準に適合したことで、GC 法対象化合物において有効性が確認できた。

LC I 法は 158 化合物中、ほうれんそうは 84 化合物、ばれいしょは 94 化合物、だいこん類の根は 78 化合物、オレンジは 80 化合物、かきは 82 化合物がガイドラインの基準に適合した。全 5 種類の試料でガイドラインの基準に適合したのは 53 化合物であり、34%の化合物について妥当性が確認できた。LC II 法の対象である酸性農薬 47 化合物から妥当性を確認できたものはなかった。従来の溶媒抽出法では、全 5 種類の試料（ほうれんそう、ばれいしょ、キャベツ、トマト、りんご）でガイドラインの基準に適合したのは 50 化合物であったため、本試験法は迅速かつ簡便であることを考慮すると、LC I 法において有効性が確認できた。

酸性農薬を対象とする LC II 法は 47 化合物中、ほうれんそうは 27 化合物、ばれいしょは 29 化合物、だいこん類の根は 39 化合物、なすは 39 化合物、かきは 46 化合物がガイドラインの基準に適合した。全 5 種類の試料でガイドラインの基準に適合したのは 18 化合物であり、38%の化合物について妥当性が確認できた。今回、オレンジではマトリックス効果が 30%~220%の広範囲に分布していることからマトリックスマッチングの必要性があることが明らかとなり、今後の検討課題とし、妥当性評価の対象からははずした。LC II 法を用いてオレンジの分析を行う場合はマトリックスマッチングを行い、妥当性評価を実施する必要があると考えられた。以上より、本試験法は一部の作物はマトリックスの影響で検査の実施が困難であったが、一部の酸性農薬にも適用が可能であることを確認した。











表 6 QuEChERS 法と溶媒抽出法の抽出効率の比較

測定装置	農産物名	成分名	検出濃度[mg/kg] (QuEChERS法)	検出濃度[mg/kg] (溶媒抽出法)	検出濃度比[mg/kg] (Q法/抽出法)	妥当性評価判定 (QuEChERS法)	妥当性評価判定 (溶媒抽出法)
LC-MS/MS	はくさい	チアメトキサム	0.028	0.027	104	A	A
		ボスカリド	0.037	0.047	79	A	A
	やまとまな	シアゾファミド	0.065	0.072	90	A	B
	いちご	インドキサカルブ	0.072	0.082	88	A	A
		シメコナゾール	0.177	0.165	107	B	A
		メパニピリム	0.498	0.586	85	A	A
	オレンジ	クロチアニジン	0.060	0.083	72	A	A
GC-MS/MS	ピーマン	アゾキシストロビン	0.009	0.014	64	A	A
		プロシミドン	0.031	0.033	94	A	A
	いちご	アゾキシストロビン	0.146	0.197	74	A	A
		プロシミドン	0.124	0.138	90	A	A
	すだち	ピリダベン	0.041	0.036	114	A	A
		フェンプロパトリン	0.110	0.087	126	A	A
		ブプロフェジン	0.009	0.009	100	A	A

以上の結果より、QuEChERS 法は迅速かつ簡便であるため緊急検査への対応や技術継承が容易になった。また、QuEChERS 法は有害な有機溶媒の使用量が少ないため、環境面および検査員の安全面にも配慮した方法として今後の検査が可能となった。

### 3. QuEChERS 法と溶媒抽出法による抽出効率の比較

添加試料の分析だけでは、農産物に残留する農薬の抽出効率を評価できない可能性があるため、農薬残留のある農産物を用いて、従来の溶媒抽出法と QuEChERS 法で前処理を行い、抽出効率を比較した。機器分析の際にはマトリックス濃度を同一にするため希釈を行った。LC-MS/MS では 4 作物で 7 化合物、GC-MS/MS では 3 作物で 7 化合物を対象とした。2 つの前処理法で処理を行った各化合物の検出濃度および妥当性評価の判定結果を表 6 に示した。農薬の疎水性の指標であるオクタノール/水分配係数と検出濃度の比の比較を行ったが、一定の傾向は見られなかった。この結果より、検出濃度の比が概ね 100%±20% の範囲内に収まっているため、QuEChERS 法が溶媒抽出法と同程度の抽出効率であることを確認した。

### 文 献

- 1) 医薬食品局食品安全部長通知「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の化合物である物質の試験法」、食安発第 0124001 号、(平成 17 年 1 月 24 日)
- 2) Anastassiades M., Lehotay S. J., Stajnbaher D., *et al.*: *JAOAC Int.*, 86, 412-431 (2003)
- 3) 高取聡, 山本遥菜, 福井直樹, 他: 食衛誌, 54, 237-249 (2013)
- 4) 医薬食品局食品安全部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」、食安発第 1115001 号、(平成 19 年 11 月 15 日)



## 第3章 調査研究・報告

### 第2節 報 告



## ツキヨタケによる食中毒事件について

安藤尚子・仲井菜都希・竹田依加・西山隆之・立本行江

Food Poisoning Caused by *Omphalotus japonicus*Naoko ANDO・Natsuki NAKAI・Erika TAKEDA・Takayuki NISHIYAMA  
and Yukie TATSUMOTO

## 緒言

毎年、夏の終わりから秋にかけて、有毒な野生キノコを食用キノコと誤認して採取、喫食したことによる食中毒が多く発生している。中でもツキヨタケは、食中毒の発生件数が多く、食用のシイタケ、ヒラタケ、ムキタケと間違えて喫食し、食後30分～1時間で嘔吐、下痢、腹痛などの消化器系の中毒症状が現れる（厚生労働省：自然毒のリスクプロファイル：ツキヨタケ、<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/000142114.html>）。

奈良県でも令和元年11月14日にツキヨタケによる食中毒が発生した。食中毒事件後、ツキヨタケの簡易鑑別、毒成分イルジンSの定量と遺伝子による種鑑別を実施したので報告する。

## 方法

## 1. 試料

11月13日に山林で採取され、14日に煮物に調理・喫食し食中毒を発生させた調理前の残品で、県森林技術センターの鑑別でツキヨタケと判明したものをを用いた。ツキヨタケ（1枚＝約140g）は、ビニール袋に入れて常温保管されていたものを11月20日に入手し、簡易鑑別後、冷凍保存した。毒成分イルジンSの定量と遺伝子による種鑑別には冷凍保存したものをを用いた。

## 2. 簡易鑑別

ツキヨタケの簡易鑑別は、太田ら<sup>1)</sup>の方法を参考にを行った。

## 1) 試薬等

富士フィルム和光純薬(株)製のJIS特級を用いた。ビーム試薬は、5w/v%水酸化カリウム含有エタノールを用いた。

## 2) 鑑別方法

ツキヨタケの傘表皮を剥ぎ取り約0.5g採取し、エタノール5mLを添加し混合後、ツキヨタケ傘表皮を取り出した。エタノール抽出液にビーム試薬1～2mL

添加後、呈色反応を確認した。対照としてシイタケを用いて同様の操作を行った。

## 3. 毒成分イルジンSの定量

毒成分イルジンSの定量は、笠原ら<sup>2,4)</sup>の方法を参考に定量した。

## 1) 試薬等

標準品は、林純薬工業(株)製のイルジンS 1000 µg/mLを用いた。メタノールはLC/MS用と高速液体クロマトグラフ用、ギ酸はLC/MS用の富士フィルム和光純薬(株)製を用いた。

固相抽出カートリッジは、Waters社製のOasis HLB 12 cc/500 mgを用いた。使用前にメタノール5 mLでコンディショニング後、水5 mLで平衡化した。

## 2) 装置及び測定条件

LC-MS/MSは、Agilent社製で高速液体クロマトグラフはAgilent1200シリーズLC、質量分析計はAgilent6430トリプル四重極LC/MSシステムを用いた。

HPLC-PDAは、(株)島津製作所製のLC-10Aシリーズ、PDA検出器はSPD-M10Avpを用いた。

LC-MS/MS及びHPLCの測定条件はそれぞれ表1及び表2に示す。

表1 LC-MS/MSの測定条件

《LC条件》	
Column	Inertsil ODS-3V (3 µm, 150×2.1 mm i.d.)
Column Temp.	40°C
Flow rate	0.2 mL/min
Mobile phase	0.1%ギ酸：メタノール (7：3)
Injection volume	5 µL
《MS条件》	
Ionization	ESI, positive
Analysis mode	MRM
Drying gas	13 L/min at 300°C
Nebulizer gas	N <sub>2</sub> , 50 psi
Capillary voltage	5,500 V
Fragmentor voltage	90 V
Target ion	m/z 265→m/z 217 Collision energy 4 V
Qualifier ion	m/z 265→m/z 201 Collision energy 8 V

表2 HPLC-PDA の測定条件

Column	Inertsil ODS-3V (5 μm, 150×4.6 mm i.d.)
Column Temp	40°C
Flow rate	0.7 mL/min
Mobile phase	水：メタノール (8：2)
Injection volume	10 μL
Wavelength	235 nm

### 3) 試験溶液の調製

ツキヨタケを8分割し、隣り合わない2片を細切り後、5g 秤取した。メタノール 40 mL を加えてホモジナイズし、3,000 rpm で5分間遠心分離後、上清をNo.2 ろ紙でろ過した。ろ液を40°Cで減圧濃縮し、10%メタノール 20 mL に溶解後、Oasis HLB に負荷した。20%メタノール 5 mL で洗浄後、メタノール 5 mL でイルジン S を溶出し、溶出液にメタノールを加え 10 mL とした。0.20 μm のメンブレンフィルターでろ過し、ろ液を試験溶液とした。

### 4) 検量線及び定量

1000 μg/mL イルジン S をメタノールで希釈し 1, 2, 4, 10 及び 20 μg/mL に調製した。LC-MS/MS 及び HPLC-PDA で測定し、絶対検量線法で検量線を作成した。

試料中のイルジン S は、LC-MS/MS 及び HPLC-PDA で測定し、検量線を用いて定量した。

## 4. 遺伝子による種鑑別

遺伝子による種鑑別は、既報<sup>5)</sup>の方法で鑑別した。

### 1) 試薬等

DNA の抽出溶液は、100 mM Tris-塩酸 (pH9.5)、1 M 塩化カリウム、10 mM EDTA 溶液<sup>6)</sup>を用いた。その他の試薬は既報<sup>5)</sup>のとおり。

### 2) 装置

分光光度計は Implen 社製の NanoPhotometer NP80、サーマルサイクラーは Bioer Technology 社製の LifeECO を用いた。その他の装置は既報<sup>5)</sup>のとおり。

### 3) DNA の抽出

ツキヨタケの傘と柄を各 100 mg 採取し、抽出溶液 100 μL 添加してバイオマッシャー II で 30 秒間ホモジナイズした。バイオマッシャー II の攪拌棒を抽出溶液 100 μL で洗い、抽出溶液を合わせた。95°C で 10 分間加熱後、12,000 rpm、4°C で 5 分間遠心し、上清 200 μL 採取し DNA 抽出液とした。

### 4) PCR と電気泳動

DNA 抽出液の 260 nm の吸光度 (A<sub>260</sub>) を測定し、A<sub>260</sub> の値 1.0 を 50 ng/μL DNA として DNA 濃度を算出した。得られた DNA 濃度から滅菌水で 50 ng/μL に

希釈し、DNA 試料液とした。

ITS 領域、D1/D2 領域及び DNA が劣化している可能性を考慮して ITS1 領域と ITS2 領域の 4 領域の DNA を増幅した (図 1)。PCR 用反応液は、2×Ampdirect Plus、0.5 μM Forward、Reverse 各プライマー (表 3) 及び 0.25 units TaKaRa Ex Taq HS を含む反応液に DNA 試料液 1 μL を加え、滅菌水で全量を 10 μL とした。反応条件は、98°C で 10 秒、60°C で 30 秒及び 72°C 60 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル後、72°C で 10 分とした。

PCR 増幅反応液を 2% アガロースゲル電気泳動により分離し、DNA 増幅バンドを確認して目的長のバンドを切り出した。

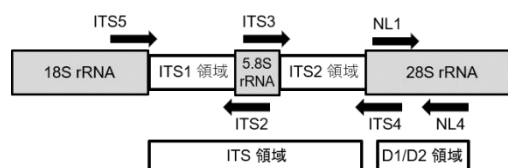


図1 ITS 領域及び D1/D2 領域とプライマー

表3 ITS 領域及び D1/D2 領域のプライマー

領域	プライマー	配列 (5'→3')	F/R	文献
ITS	ITS5	GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG	F	7)
	ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	R	7)
ITS1	ITS5	ITS 領域の ITS5 プライマーと同じ		
	ITS2	GCTGCGTTCCTCATCGATGC	R	7)
ITS2	ITS3	GCATCGATGAAGAACGCAGC	F	7)
	ITS4	ITS 領域の ITS4 プライマーと同じ		
D1/D2	NL1	GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG	F	8)
	BL4	GGTCCGTGTTTCAAGACGG	R	8)

F: フォワード, R: リバース

### 5) 塩基配列解析と種鑑別

切り出したバンドを FastGene Gel/PCR Extraction Kit で精製し、BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit 及びプライマー (表 3) を用いて蛍光ラベル化反応後、BigDye X Terminator Purification Kit で精製した。精製後、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer で塩基配列を解析した。

解析した Forward 配列と Reverse 配列から塩基配列を決定し、決定した塩基配列を DDBJ (DNA Data Bank of Japan) の BLAST にて相同性検索を行い、キノコの種を鑑別した。

## 結果

### 1. 簡易鑑別

ツキヨタケは黄色に呈色し、シイタケでは色の変化はなかった。太田ら<sup>7)</sup>によるとツキヨタケは緑色に呈色するとあったが、黄色に呈色した。

## 2. 毒成分イルジン S の定量

### 1) LC-MS/MS 条件の検討

イルジン S の MS パラメーターの最適化を行った。プリカーサーイオンはプロトン負荷した  $m/z$  265 とし、プロダクトイオンは  $m/z$  217, 95, 201 が得られたので、感度が最も高い  $m/z$  217 を定量イオンとし、分子量が大きい  $m/z$  201 を確認イオンとした。

LC 条件は、カラムの粒子径以外は笠原ら<sup>2)</sup> どおりとした。

### 2) HPLC-PDA 条件の検討

笠原ら<sup>2)</sup> の測定条件でイルジン S の標準品を測定したところ保持時間が 8.0 分となった。検出波長が 235 nm (吸収極大波長 231 nm) と短く、夾雑物が多い試料では夾雑物のピークと分離できない可能性を考慮し、移動相の水:メタノールを 7:3 から 8:2、流速を 0.8 mL/min から 0.7 mL/min に変更し、保持時間 19.0 分で測定した。

### 3) 検量線

LC-MS/MS 及び HPLC-PDA の検量線は、1~20  $\mu\text{g/mL}$  の範囲で相関係数 0.9941 及び 0.9999 であった。また、LC-MS/MS 及び HPLC-PDA での 1  $\mu\text{g/mL}$  のピークは、S/N 比 $\geq$ 10 であった。

### 4) ツキヨタケの毒成分イルジン S の定量

ツキヨタケの細切り 5 g を 4 検体採取し、そのうち 2 検体に試料中のイルジン S 含量が 20  $\mu\text{g/g}$  となるようにイルジン S を添加し、試験溶液を調製した。試験溶液をメタノールで 5 倍希釈し、表 1 及び表 2 の測定条件で LC-MS/MS 及び HPLC-PDA で測定し、検量線を用いて定量した (図 2 及び図 4)。

LC-MS/MS と HPLC-PDA の定量結果はほぼ同じで、MS スペクトル (図 3) 及び吸収スペクトル (図 5) から夾雑物の影響なくイルジン S が定量できた。

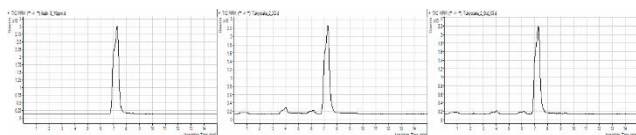


図 2 LC-MS/MS の MRM クロマトグラム

左: 10  $\mu\text{g/mL}$  イルジン S 中央: ツキヨタケ  
右: ツキヨタケ+イルジン S

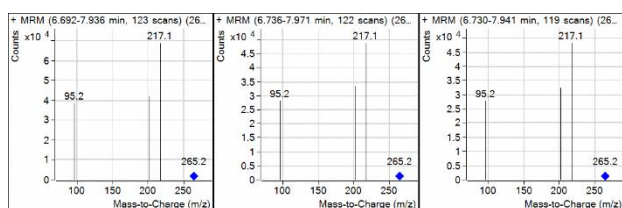


図 3 LC-MS/MS の MS スペクトル

左: 10  $\mu\text{g/mL}$  イルジン S 中央: ツキヨタケ  
右: ツキヨタケ+イルジン S

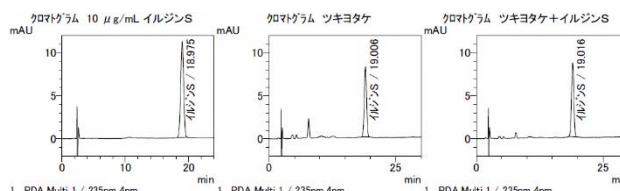


図 4 HPLC-PDA のクロマトグラム  
左: 10  $\mu\text{g/mL}$  イルジン S 中央: ツキヨタケ  
右: ツキヨタケ+イルジン S

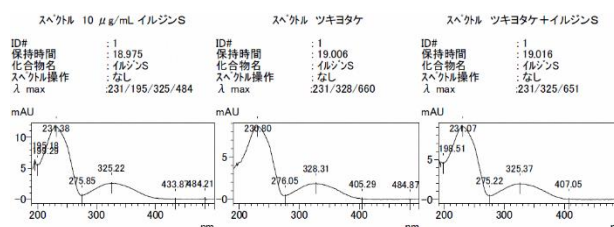


図 5 HPLC-PDA の吸収スペクトル  
左: 10  $\mu\text{g/mL}$  イルジン S 中央: ツキヨタケ  
右: ツキヨタケ+イルジン S

HPLC-PDA の定量により、ツキヨタケにはイルジン S が 58  $\mu\text{g/g}$  含まれ、添加回収試験の回収率は 93% で良好であった (表 4)。

表 4 ツキヨタケの毒成分イルジン S の定量結果

	イルジン S 含量 ( $\mu\text{g/g}$ )	
	LC-MS/MS	HPLC-PDA
ツキヨタケ	58.5	58.0
ツキヨタケ+イルジン S	73.3	76.4
回収率 (%)	75.1	93.4

## 3. 遺伝子による種鑑別

### 1) PCR

PCR 増幅反応液を電気泳動し、DNA 増幅バンドを確認した。全領域においてツキヨタケの柄で、より明確なバンドが確認でき、ITS 領域、ITS1 領域、ITS2 及び D1/D2 領域の目的長である 800 bp, 350 bp, 500 bp 及び 500 bp のバンドが確認できた。

### 2) 種鑑別

DNA 増幅バンドが明確なツキヨタケの柄を用いて塩基配列を決定し、DDBJ (DNA Data Bank of Japan) の BLAST にて同源性検索を行った。ITS1+ITS2 領域は、ITS1 領域と ITS2 領域をつなげて塩基配列を決定した。 *Omphalotus japonicus* (ツキヨタケ) と ITS 領域で 99%、D1/D2 領域で 98% の同源性が確認できた (表 5)。

## 考察

調理前の食中毒残品のツキヨタケには、イルジン S が 58  $\mu\text{g/g}$  含まれていた。笠原ら<sup>2)</sup> により 1 mg 程度のイルジン S を摂取すると中毒症状が現れる可能性が示唆されており、このことから 17 g 程度を摂取するだ

表5 ツキヨタケの遺伝子による種鑑別

国際塩基配列データベース (INSD)			相 同 性		
Accession No.	学名	塩基長	ITS 領域	ITS1+ITS2 領域	D1/D2 領域
LC198705	<i>Omphalotus japonicus</i>	787 bp	731/733 99%	771/772 99%	—
AF135172	<i>Omphalotus japonicus</i>	1080 bp	—	—	573/582 98%

※ITS1+ITS2 領域：ITS1 領域と ITS2 領域の塩基配列を一つにつなげた塩基配列

けで中毒症状が現れる可能性がある。実際に今回の食中毒では煮物にして味見程度喫食しただけで中毒症状を呈している。

県森林技術センターでツキヨタケと鑑別されたキノコは、遺伝子による種鑑別でも *Omphalotus japonicus* (ツキヨタケ) と鑑別された。国際共同研究グループが菌類の種の判別に最も適しているとした ITS 領域<sup>9)</sup>のみならず D1/D2 領域でも鑑別が可能であった。また、DNA 増幅バンドから部位では傘よりも柄の方が遺伝子の種鑑別には適していた。

調理前の食中毒残品が、形態鑑別及び遺伝子鑑別からツキヨタケであることが確認されたにもかかわらず、簡易鑑別で太田ら<sup>1)</sup>は緑色に呈色するとあるのが、黄色に呈色したのは、簡易鑑別をした時点のツキヨタケが水分を多く含み劣化していたためと考えられる。

調理前の食中毒残品の簡易鑑別、毒成分のイルジン S の定量及び遺伝子による種鑑別により食中毒の原因食品がツキヨタケであることが確認できた。

今後、今回の事例を参考にツキヨタケの食中毒事件に対応できるように検査体制の拡充を検討する。

## 文 献

- 1) 太田康介, 大河原龍馬, 篠原秀幸, 他: 令和元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講演要旨集 (2019)
- 2) 笠原義正, 伊藤健: 食衛誌, 50, 167-172 (2009)
- 3) 長岡由香, 笠原義正: 山形県衛生研究所報, 48, 17-19 (2015)
- 4) 大河原龍馬, 篠原秀幸, 佐田厚史: 山形県衛生研究所報, 52, 1-7 (2019)
- 5) 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)
- 6) D. Thomson, R. Henry: *Biotechniques*, 19, 394-397,400 (1995)
- 7) T. J. White, T. Bruns, S. Lee, *et al.*: PCR protocols: A guide to methods and applications, 315-322 (1990), *Academic Press*
- 8) “衛生試験法・注解 2015” 公益社団法人日本薬学会編, 122-124 (2015), 金原出版 (株)
- 9) Conrad L. Schoch, Keith A. Seifert, Sabine Huhndorf, *et al.*: *PNAS*, 109, 6241-6246 (2012)

## 食品中の異物検査フローの構築と苦情事例（2019年）

竹田依加・安藤尚子・仲井菜都希・西山隆之・立本行江

### Flow for Inspecting Foreign Matter in Food and Case Studies on Complaints against Foods (2019)

Erika TAKEDA・Naoko ANDO・Natsuki NAKAI・Takayuki NISHIYAMA  
and Yukie TATSUMOTO

#### 緒言

近年、輸入食品の増加、外食・調理済み食品等の購入の増加に加えて、東京オリンピック・パラリンピックなど国際的な行事が多く開催されることから、食品の安全と安心に対する消費者の関心は一段と高まっており、食品への異物混入が大きく注目されている。また、平成30年6月の食品衛生法の改正により、HACCPに沿った衛生管理が制度化され、製造工程における異物混入の低減・除去が重要視されている。

奈良県でも平成23年度に当センターに苦情検体12検体が搬入され、その中で異物混入が5検体あったことが報告されている<sup>1)</sup>。混入する異物は石、ガラスといった無機物や合成樹脂、木といった有機物があり、異物の種類や状態は様々で、それぞれの異物に対して検査方法を選択することが重要である。しかし、多種多様な異物に対し、的確な検査方法を選択し効率的に検査を実施することは困難であるため、異物検査フローの作成や異物ライブラリーの構築が進められている<sup>2,3)</sup>。また、非破壊検査で異物検査を実施し、原因物質の特定を進める事例は多くある<sup>4)</sup>。

そこで、当センターにおいて迅速・正確かつ効率的に異物検査を進めるため、非破壊検査を中心に検討を行い、異物との比較に必要なデータベースの拡充と異物検査フローの構築に取り組んだ。そのフローに沿って2019年度に対応した苦情事例2件について報告する。

#### 検査対象

当センターに過去に検査依頼があった異物混入事例を参考に、表1に示す試料を選定・収集した。

#### 方法

##### 1. 分析方法

丸山ら等<sup>2,5,6)</sup>を参考に、異物検査フローを検討し

表1 検査対象試料

植物類	もみじの葉、カキツバタの葉、槇の葉、つまようじ、割り箸、白菜（葉、軸）、さつまいも（皮、実、ひげ根）、えのき（軸、かさ、いしづき）、クワズイモ、エリンギ（軸、かさ、いしづき）、たまねぎ（生、加熱）（皮、実）、小麦粉、水（蒸留水）
紙類	コピー用紙、ティッシュペーパー、ペーパータオル、キムワイブ
毛類	毛髪、犬の毛
高分子類	お弁当用カップ（2種）、包装用PPフィルム、包装材（プラ容器）、サランラップ、ポリ袋、シリコンチューブ、パラフィルム、ゴム手袋（白・青）、包装材（ナイロン）、ポリスチレン
糸・毛糸類	糸（白・黒）、毛糸（白・青）
金属類	アルミホイール、ホチキスの針、ゼムクリップ、あき缶（タブ）
無機物類	小石、砂、スライドガラス
魚介類	エビの殻、エビの足、シジミの貝殻

た。試料をデジタルマイクロスコープにより形状等を観察・確認し、非破壊検査の異物検査手法である蛍光X線分析装置及びフーリエ変換赤外分光光度計（以下、FTIRという）で分析を行った。

##### 2. 装置

デジタルマイクロスコープVHX-2000（株式会社キーエンス）、蛍光X線分析装置XGT-7200（株式会社堀場製作所）、フーリエ変換赤外分光光度計FT/IR-4200（日本分光株式会社）を使用した。FTIRのATR法は1回反射測定装置（ATR PRO450-S）を用い、透過法はサンプルホルダーを用いた。

##### 3. 分析条件

###### 1) 蛍光X線分析装置

管電圧30 kV、電流1 mA、測定時間100 sで試料の3箇所以上について測定した。

###### 2) FTIR

分析はATR法を用いた。積算回数64回、分解能4

cm<sup>-1</sup>, 測定範囲は 4,000~400 cm<sup>-1</sup>とした. プリズムは Diamond を用い, 吸収率を測定した.

試料とプリズムの密着性が悪い場合, 透過法の KBr プレート法または KBr 錠剤法を用いた. 積算回数 64 回, 分解能 4 cm<sup>-1</sup>, 測定範囲は 4,000~400 cm<sup>-1</sup>とし, 透過率を測定した.

## 結果

### 1. 分析条件の検討

#### 1) 蛍光 X 線分析装置

管電圧及び測定時間について検討した. 試料は金属異物に対応するため, 装置付属の Cu 板を使用した. 管電圧を 15 kV, 30 kV, 50 kV と大きくすると, 強度が大きくなった. 軽元素のみから構成される試料は 15 kV を印加し, 重元素のみから構成される試料は 50 kV を印加することが望ましいとされる. また, 必要以上に大きな管電圧を印加すると測定試料内部で散乱し, バックグラウンドが大きくなる可能性がある<sup>7)</sup>. そこで異物は構成元素が不明であることから, 中程度の管電圧 30 kV を採用した.

測定時間は 5, 10, 50, 100, 200, 300 s とし, 強度及び質量濃度を測定した. 図 1 に示すように 100 s 以降で強度及び質量濃度が安定したことから, 測定時間を 100 s とした.

#### 2) FTIR

ATR 法及び透過法の積算回数を 2<sup>n</sup> 回 (n=1~8) で IR スペクトルを確認した. 試料は異物で混入しやすいビニール様異物と紙様異物<sup>4,8)</sup> とし, 市販のポリ袋とペーパータオルを用いた. 回数が増加するにつれ, ノイズは低減されたが, 測定時間は長くなった. 異物検査では短時間での測定が重要なことから, ノイズが小さく, 測定時間が 1 分程度の積算回数 64 回とした.

ATR 法で使用するプリズムと測定可能な試料量を検討した. 使用できるプリズムは Diamond, ZnSe, Ge がある. Ge は吸収率の強度が低く, ZnSe は傷つきやすいため, 傷つきにくく吸収率の強度が高く, さらに測定可能な波数範囲が広い Diamond とした.

測定可能な試料量の検討として, 小麦粉を試料とし, 重量 1, 5, 10 mg でそれぞれ IR スペクトルを確認した. 小麦粉を用いたのは多くの食品に用いられており, 食パン等の小麦粉を使用した食品への異物混入事例も報告されているためである<sup>9)</sup>. 図 2 に示すように 5, 10 mg 対し, 1 mg の IR スペクトルのピークがわずかに小さくなった. 試料量としてはプリズムを覆うことが可能な量が必要であるため, 粉体試料量 1 mg を測定下限の目安とした.

ATR 法で測定困難な試料は, 透過法で測定するため,

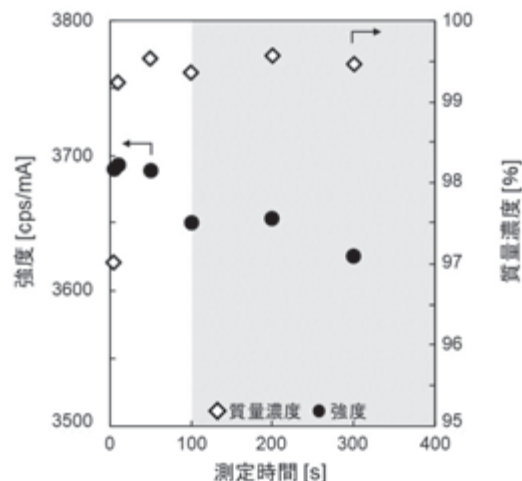


図 1 測定時間に対する強度及び質量濃度の推移

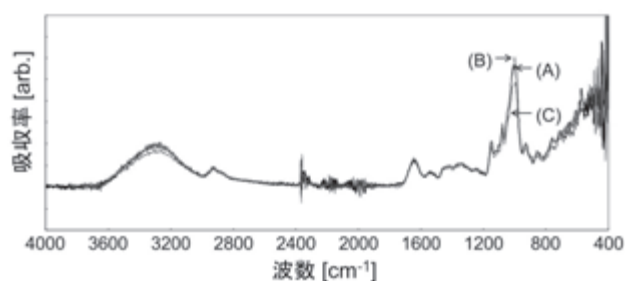


図 2 試料量に対する IR スペクトルの変化  
(A) 10 mg (B) 5 mg (C) 1 mg

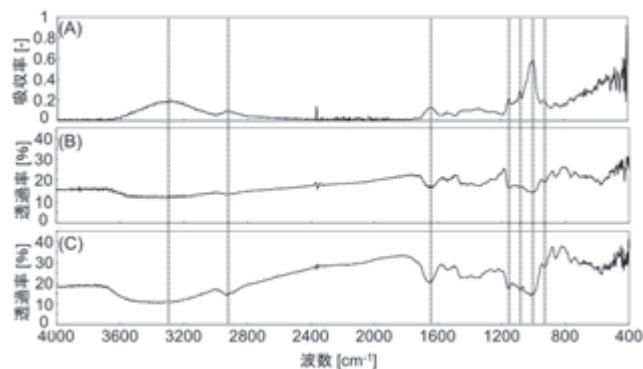


図 3 各測定手法における IR スペクトル  
(A) ATR 法 (B) KBr プレート法  
(C) KBr 錠剤法

身近な粉体であり, 多くの食品に用いられている小麦粉を用い, KBr プレート法と KBr 錠剤法の IR スペクトルを ATR 法と比較した. 図 3 に示すように ATR 法, KBr プレート法及び KBr 錠剤法の IR スペクトルのピーク位置は一致した. これにより ATR 法で測定困難な試料は透過法の KBr プレート法または KBr 錠剤法を用いることとした.



## 2. 異物検査フロー

図4のように情報収集から各種分析までの異物検査フローを決定した。外観や触感、磁性の有無等から蛍光 X 線分析装置または FTIR を選択することとした。今回異物として混入しうる身近な 8 種類 55 個の検体について全 104 種類の見本データを構築することができた。

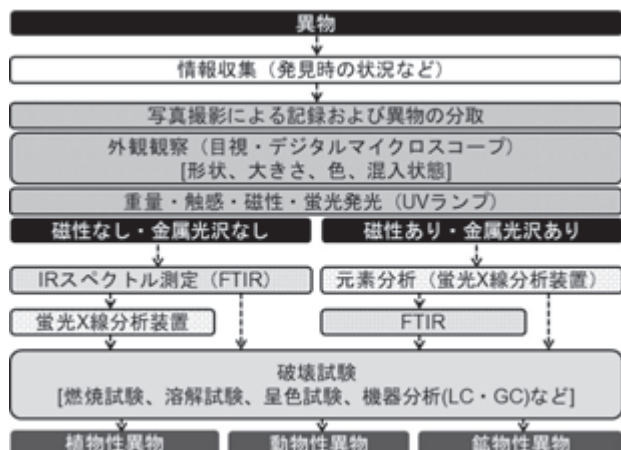


図4 異物検査フロー

### 検査事例

#### 1. 惣菜パンに混入した紐状異物

##### 1) 概要

スーパーマーケットで購入した惣菜パンを自宅で食べたところ、口の中に違和感があり、紐状の異物が出てきた。異物確認について保健所に届出があった。

##### 2) 試料

惣菜パンに混入した異物(図5)、対照品としてタマネギとビニール片。

##### 3) 検査方法および結果

惣菜パンはチーズやタマネギをトッピングして焼き、包装はされていなかった。混入した異物は細長い

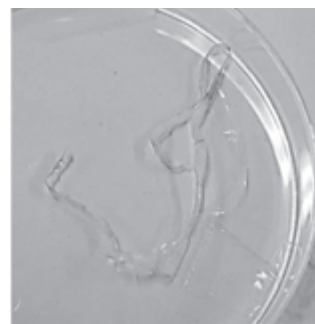


図5 惣菜パンに混入した異物

紐状であり、ビニール紐または植物の様であった。デジタル顕微鏡による外観観察と FTIR (ATR 法) で測定した。外観観察は、メチレンブルー0.1%溶液を滴下し、カバーガラスをかけて観察をおこなった。惣菜パンは加熱調理されていたため、電子レンジ(700 W)で約10秒加熱したタマネギを対照品とした。

外観観察の結果を図6に示す。惣菜パンに混入した異物(A)およびタマネギ(B)には表面に細胞壁を認めた。ビニール片(C)は平滑な表面が確認できた。この結果より、惣菜パンに混入した異物はビニール片ではなく、植物片であることが示唆された。

図7に惣菜パンに混入した異物とタマネギの IR スペクトルを示す。惣菜パンに混入した異物(A)に見られる  $2,800\sim 3,600\text{ cm}^{-1}$  の特徴的なピークはタマネギの実(B)には見られなかったがタマネギの皮(C)と一致した。一方、惣菜パンに混入した異物(A)の  $800\sim 2,000\text{ cm}^{-1}$  にみられるピークはタマネギの皮(C)と一致しなかった。この結果より、惣菜パンに混入した異物は植物の皮であると推測できるが、IR スペクトルが完全に一致しなかったため、タマネギと断定できなかった。タマネギの  $800\sim 2,000\text{ cm}^{-1}$  にあるピークが惣菜パンに混入した異物と一致しなかった原因として、高温加熱による変性、油分や他の調味料の付

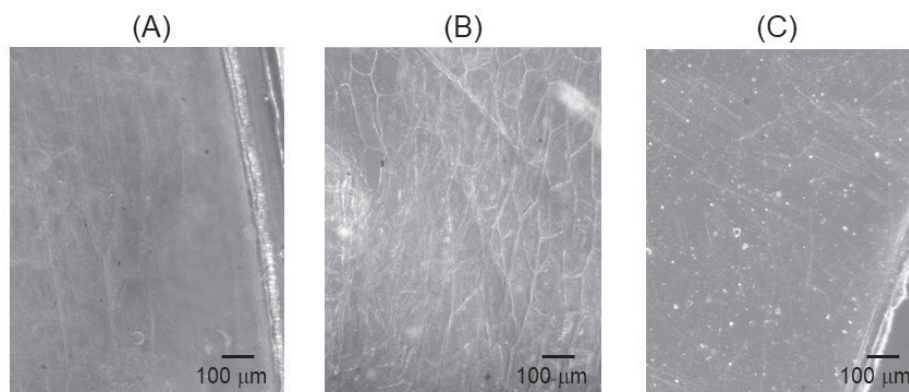


図6 異物と対照品の外観

(A) 異物 (B) タマネギ(加熱) (C) ビニール片

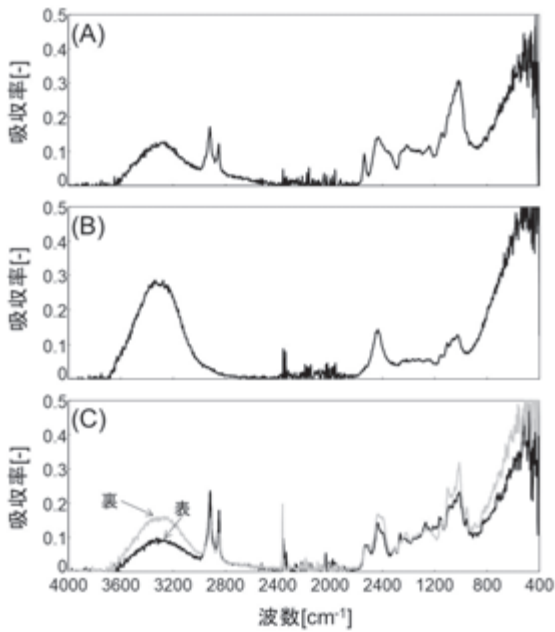


図7 異物と加熱したタマネギのIRスペクトル  
(A) 異物 (B) タマネギ (実) (C) タマネギ (皮)

着、タマネギ以外の植物であるといったことが考えられた。

## 2. 巻き寿司に混入したプラスチック様異物

### 1) 概要

店舗で購入した巻き寿司を自宅で食べたところ、巻き寿司の具材のきゅうりと高野豆腐の間から透明な物を発見した。触ってみたところ、固かったため、異物であると認識した。店舗側に伝達し、話し合いをしたが納得できず、異物確認について保健所に届出があった。

### 2) 試料

巻き寿司に混入したプラスチック様異物 (図8)、対照品として店舗で使用されていた巻き寿司の具 (かんぴょう、ごぼう、にんじん、たまご、しいたけ、高野豆腐) が各々入っていた包材片。

### 3) 検査方法および結果

巻き寿司に混入した異物は透明なプラスチック様異物であった。フィルムの圧着部分についてデジタル顕微鏡による外観観察と FTIR (ATR 法) で測定した。

外観観察の結果を図9に示す。図9 (A) ~ (G) より、対照品はそれぞれ異なった圧着模様がみられることがわかった。圧着模様を比較すると、巻き寿司に混入した異物の外観 (A) と高野豆腐が入っていた原材料の包材片の外観 (G) が類似していた。

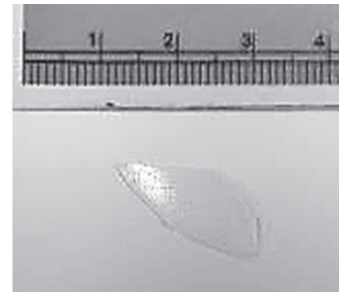


図8 巻き寿司に混入した異物

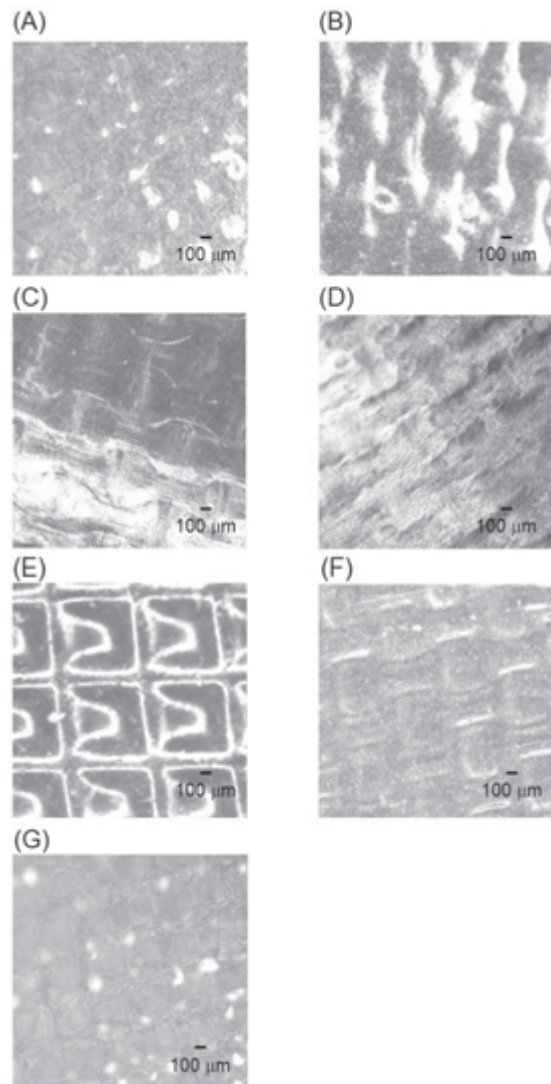


図9 異物と原材料の包材の圧着部分形状  
(A) 異物 (B) かんぴょう (C) ごぼう  
(D) にんじん (E) たまご (F) しいたけ  
(G) 高野豆腐

また、巻き寿司に混入した異物と各材料が入っていた原材料の包材片のIRスペクトルの比較結果を図10に示す。巻き寿司に混入した異物(A)とかんぴょう(B)、ごぼう(C)、にんじん(D)、しいたけ(F)高野豆腐(G)が入っていた原材料の包材片のIRスペクトルは

よく一致した。FTIR のライブラリーによりナイロン 6/10 であると判断された。この結果より、巻き寿司に混入したプラスチック様異物と高野豆腐が入っていた原材料の包材片では大きな差異は見られなかった。

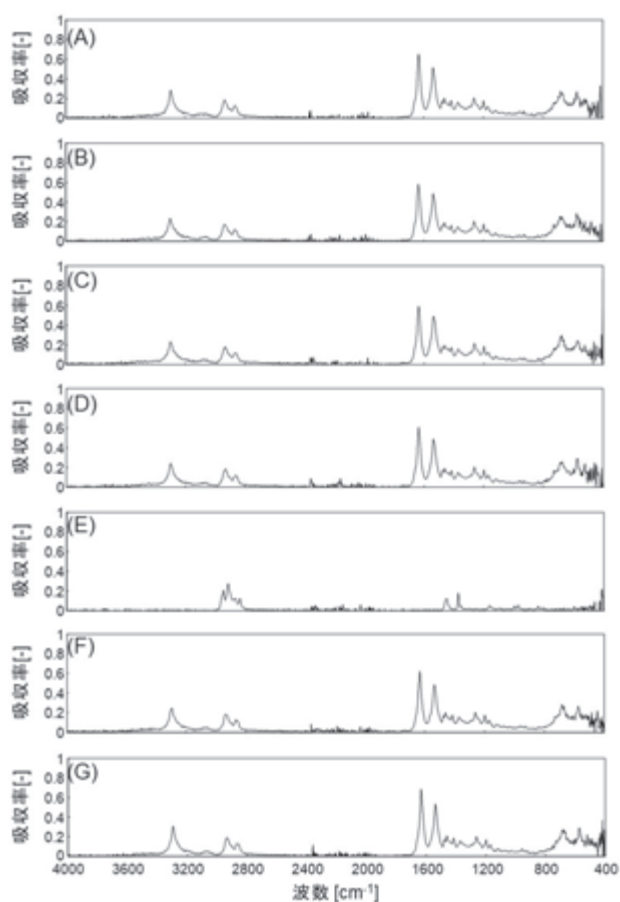


図 10 異物と原材料の包材の IR スペクトル  
 (A) 異物 (B) かんぴょう (C) ごぼう  
 (D) にんじん (E) たまご (F) しいたけ  
 (G) 高野豆腐

### ま と め

非破壊検査について現有機器の分析条件を検討し、当センターで迅速・正確かつ効率的に実施可能な異物検査フローを決定した。分析法を組み合わせることで検査事例から詳細な異物同定を可能とした。今回、食品中に混入が予想される身近な素材についてスペクトルデータを見本データとして保存し、検査に生かす取り組みとした。今後も継続的に実施する必要がある。なお、本調査は各関連の保健所と協力して実施したものである。

### 文 献

- 1) 城山二郎, 木本聖子, 森居京美, 他: 奈良県保健環境研究センター年報, **46**, 55-57 (2012)
- 2) 丸山友美, 林典子, 遠藤利加, 他: 岐阜県保健環境研究所報, **26**, 1-5 (2018)
- 3) 三宅由子, 谷口洋子, 日比野剛, 他: 三重県科学技術振興センター工業研究部研究報告, **29**, 58-66 (2004)
- 4) 田中智哉, 木村圭介, 観公子, 他: 東京都健康安全研究センター年報, **70**, 135-141 (2019)
- 5) 田口信夫: 日本調理科学会誌, **43**, 314-318 (2010)
- 6) “食品衛生検査指針 理化学編 追補 2019”, 2-45 (2019), (社) 日本食品衛生協会
- 7) “蛍光 X 線分析の実際” 中井泉編, 日本分析化学会 X 線分析研究懇談会監修, 34 (2005), (株) 朝倉書店
- 8) 木村圭介, 浅倉弘幸, 観公子, 他: 東京都健康安全研究センター年報, **68**, 151-157 (2017)
- 9) 三浦泉, 津田元彦, 藤原美智子, 他: 山口県環境保健センター所報, **50**, 54-57 (2007)

## クワズイモ中のシュウ酸カルシウム結晶同定法の検討

竹田依加・安藤尚子・仲井菜都希・西山隆之・立本行江

Consideration of the Identification Method of Calcium Oxalate Crystals in *Alocasia odora*Erika TAKEDA・Naoko ANDO・Natsuki NAKAI・Takayuki NISHIYAMA  
and Yukie TATSUMOTO

## 緒言

クワズイモはサトイモ目サトイモ科クワズイモ属の全体の高さが1 m以上になる多年草で、しばしば観用植物として鉢植えで栽培される。クワズイモには不溶性のシュウ酸カルシウムが含まれるため、喫食した際にはシュウ酸カルシウムの針状結晶による刺激で皮膚炎、悪心、嘔吐、下痢、麻痺といった中毒症状がすぐに現れる(厚生労働省:自然毒のリスクプロファイル, <https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/000075832.html>)。クワズイモは食用のサトイモと間違われて喫食されることがあり、食中毒は平成22年から令和元年の10年間で15件発生し、患者数は30名報告されている(厚生労働省:食中毒統計調査, <https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450191&kikan=00450&tstat=000001040259>)。また、クワズイモは観葉植物として普及しており、誤食による食中毒事例も報告されている<sup>1-3)</sup>。

クワズイモの食中毒では光学顕微鏡によるシュウ酸カルシウムの針状結晶の観察がよくおこなわれている<sup>1-3)</sup>。また、シュウ酸カルシウムの同定法として蛍光X線分析によるカルシウムの確認やフーリエ変換赤外分光光度計(以下、FTIRという)の透過法によるIRスペクトルの測定もおこなわれている<sup>4)</sup>。

食中毒の原因究明に対応するためには迅速な検査が必要である。本報では、クワズイモのシュウ酸カルシウム結晶の同定法を検討し、さらに食中毒を想定した加熱および調味料の影響についても検討したので報告する。

## 方法

## 1. 試料

観用植物として市販されているクワズイモを用いた。また、シュウ酸カルシウム結晶同定法の検討では、対照品として市販品のサトイモとジャガイモを用いた。いずれの試料も地下茎の部分(以下、イモという)を

用いた。

## 2. 測定検体の作製

外観観察用はクワズイモ及び対照品は全て生の状態で横断薄片を作製し、スライドガラス上に採取した。IRスペクトル測定用は横断切片を使用した。蛍光X線分析用は一晩スライドガラス上で自然乾燥した横断薄片を使用した。

## 3. 加熱及び調味料処理

## 1) 加熱処理

クワズイモ1.5 cm角程度を蒸留水100 mLに浸し、100°Cで加熱時間を5, 10, 15, 20 minと変更した。生のクワズイモをゆで時間0 minとした。

## 2) 調味料処理

クワズイモ1.5 cm角程度を蒸留水100 mLに浸し、調味料(表1①~④)をそれぞれ加えて100°Cで10 min加熱した。

表1 調味料の添加量

①塩	0.1 g
②砂糖	1 g
③しょう油	5 mL
④砂糖+しょう油	1 g + 5 mL

## 4. 装置及び試薬

デジタルマイクロスコープはVHX-2000(株式会社キーエンス)、FTIRはFT/IR-4200(日本分光株式会社)、蛍光X線分析装置はXGT-7200(株式会社堀場製作所)を使用した。1回反射測定装置はATR PRO450-S(日本分光株式会社)を用いた。ホットスターラーはEM-1(株式会社アズワン)を用いた。

また、シュウ酸カルシウムの標準品はシュウ酸カルシウム一水和物(富士フィルム和光純薬株式会社)の和光一級を用いた。

## 5. 分析条件

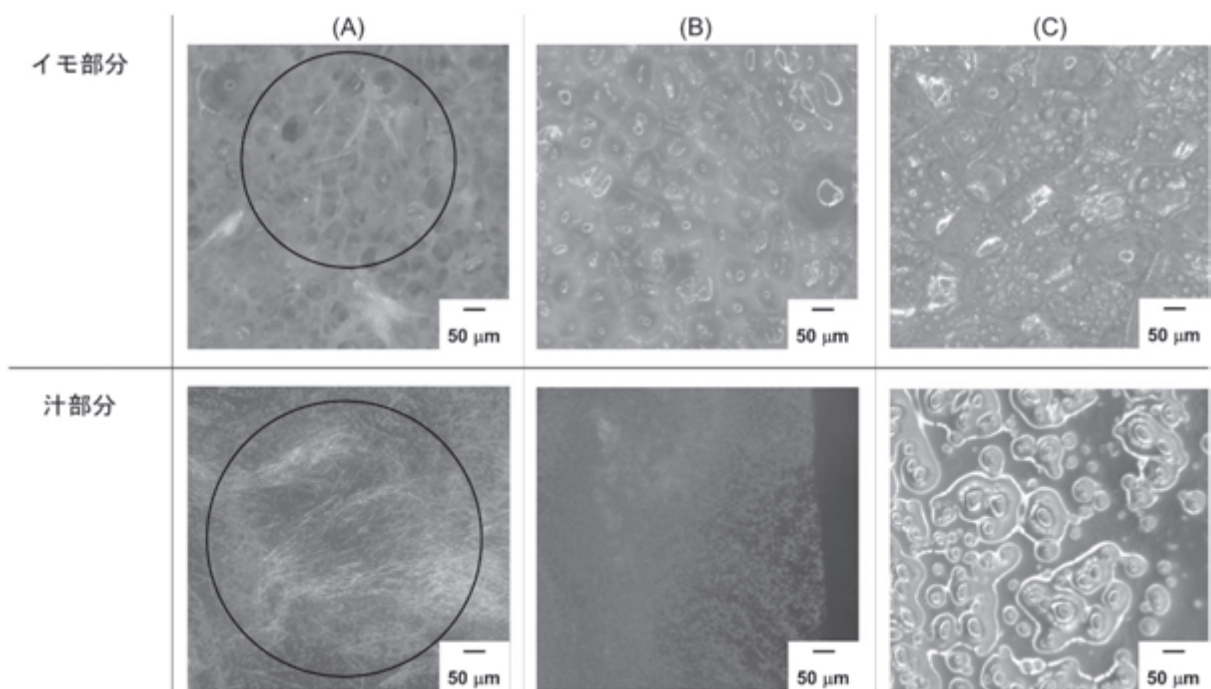


図1 イモの外観

(A) クワズイモ (B) サトイモ (C) ジャガイモ

### 1) デジタルマイクロスコープ

ステージを透明とし、同軸落射照明を用いて、スライドガラス上の試料を観察した。イモ自体の観察をイモ部分とし、イモの切断面から滲み出た水分を汁部分とした。

### 2) FTIR

分析はATR法を用いた。積算回数64回、分解能 $4\text{ cm}^{-1}$ 、測定範囲 $4,000\sim 400\text{ cm}^{-1}$ とした。プリズムはDiamondを用い、吸収率を測定した。

### 3) 蛍光X線分析装置

管電圧30 kV、電流1 mA、測定時間100 sで一つの測定検体に対し3箇所について測定した。

## 結果及び考察

### 1. シュウ酸カルシウム結晶同定法の検討

#### 1) デジタルマイクロスコープ

デジタルマイクロスコープによる観察結果を図1に示す。クワズイモ(A)にはイモ部分および汁部分に約 $100\text{ }\mu\text{m}$ 程度の針状結晶(図1, 丸印)が確認された。一方、サトイモ(B)やジャガイモ(C)には針状結晶は確認できなかった。シュウ酸カルシウムの針状結晶は生のイモをデジタルマイクロスコープで観察することで確認ができた。

#### 2) FTIR

FTIRによるIRスペクトルの比較を図2に示す。クワズイモ(A)には波数 $1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度にサトイモ(B)

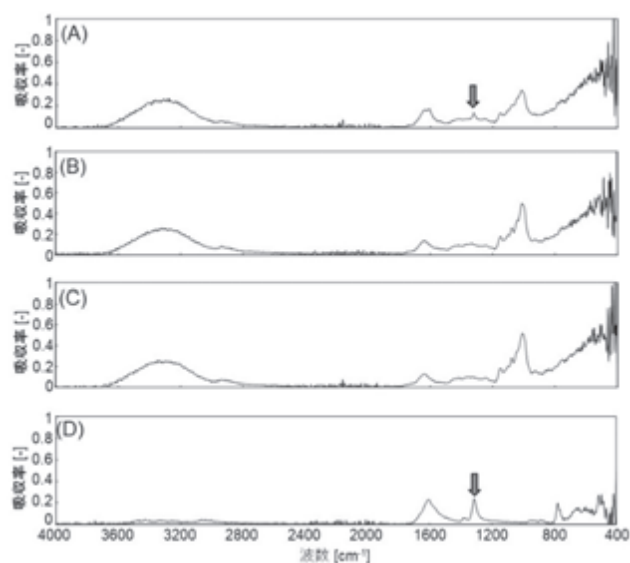


図2 イモのIRスペクトル比較

(A) クワズイモ (B) サトイモ (C) ジャガイモ (D) 標準品

とジャガイモ(C)には見られないピークがある。シュウ酸カルシウム由来のピークは $1,313\sim 1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度にあるとされている<sup>46)</sup>。実際、シュウ酸カルシウム一水和物標準品(D)は $1,310\text{ cm}^{-1}$ 程度にピークが見られている。以上のことより、クワズイモ(A)のみに見られる $1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度のピークはシュウ酸カルシウム由来であると考えられた。IRスペクトル測定は針状結晶観察と合わせてシュウ酸カルシウムの同定法として用いることができた。

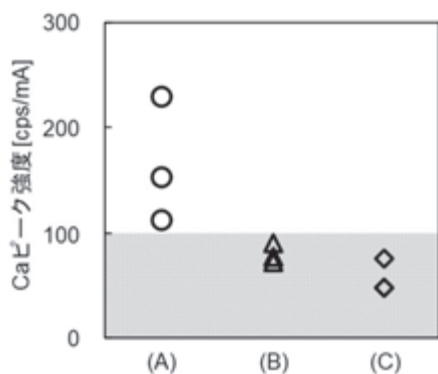


図3 イモのCaピーク強度  
(A) クワズイモ (B) サトイモ (C) ジャガイ

### 3) 蛍光X線分析装置

蛍光X線分析によるカルシウムのピーク（以下、Caピークという）の確認結果を図3に示す。全てのイモにCaピークが確認できた。特に、クワズイモ(A)ではCaピーク強度が100 cps/mAを超えた。これによりCaピーク強度が100 cps/mAを超えるとクワズイモのシュウ酸カルシウムである可能性が高いと考えられた。

## 2. 加熱処理及び調味料処理

### 1) 加熱処理

ゆで時間を変更したクワズイモについて、それぞれデジタルマイクロスコープで観察したところ、図4に示すように、いずれの場合においても図1(A)と類似した針状結晶が確認できた。FTIRによるIRスペクトル測定では、図5に示すように、ゆで時間10 min以前について $1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度にシュウ酸カルシウム由来と推測できるピークが見られた。一方、ゆで時間10 min以降には該当ピークは見られなかった。蛍光X線分析装置による元素分析では、図6に示すように、ゆで時間10 min以降でCaピーク強度が低下した。これはIRピークが見られなくなったことと一致しており、ゆで時間10 min以降でイモ中のシュウ酸カルシウム含有量が減少したと考えられる。

以上より、ゆで時間が長くなると、ゆでることによるクワズイモの細胞破壊が進み、クワズイモを切断した際にシュウ酸カルシウム結晶が細胞内から細胞外へ移動しやすくなると考えられた。ゆえに長時間ゆでたクワズイモについてはシュウ酸カルシウム結晶の喫食時の口内への流出が示唆される。

### 2) 調味料処理

デジタルマイクロスコープで観察した結果を図7に示す。いずれの場合においてもシュウ酸カルシウムの

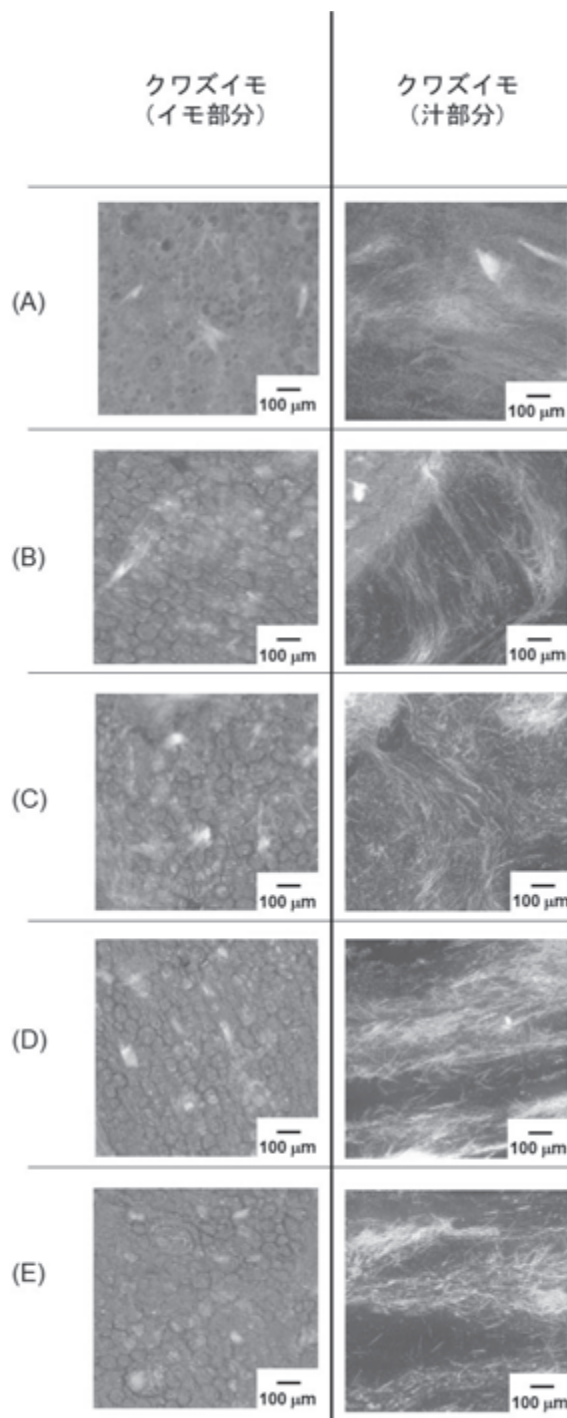


図4 加熱処理後の外観

(A) 0 min (B) 5 min (C) 10 min  
(D) 15 min (E) 20 min

針状結晶が確認できた。

次にFTIRによるIRスペクトルを確認した。特に調理で想定される砂糖+しょう油を加えた場合のIRスペクトルを確認するとシュウ酸カルシウム由来のピークが $1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度に見られた(図8)。

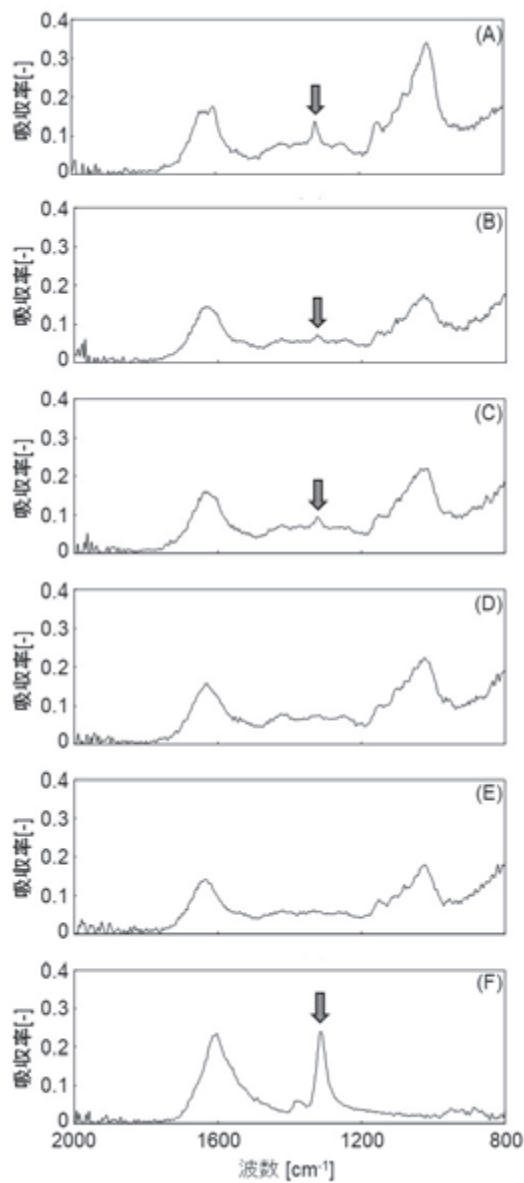


図5 加熱処理後のIRスペクトル

(A) 0 min (B) 5 min (C) 10 min  
(D) 15 min (E) 20 min (F) 標準品

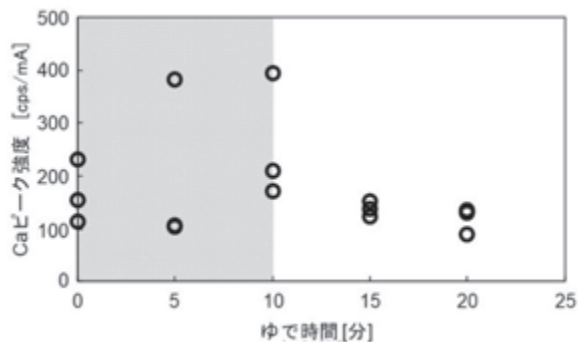


図6 加熱処理後のイモのCaピーク強度

塩、砂糖、しょう油のいずれの調味料を加えた場合についても、デジタルマイクロscopeによる針状結晶が観察できたため、調味料が針状結晶観察を阻害す

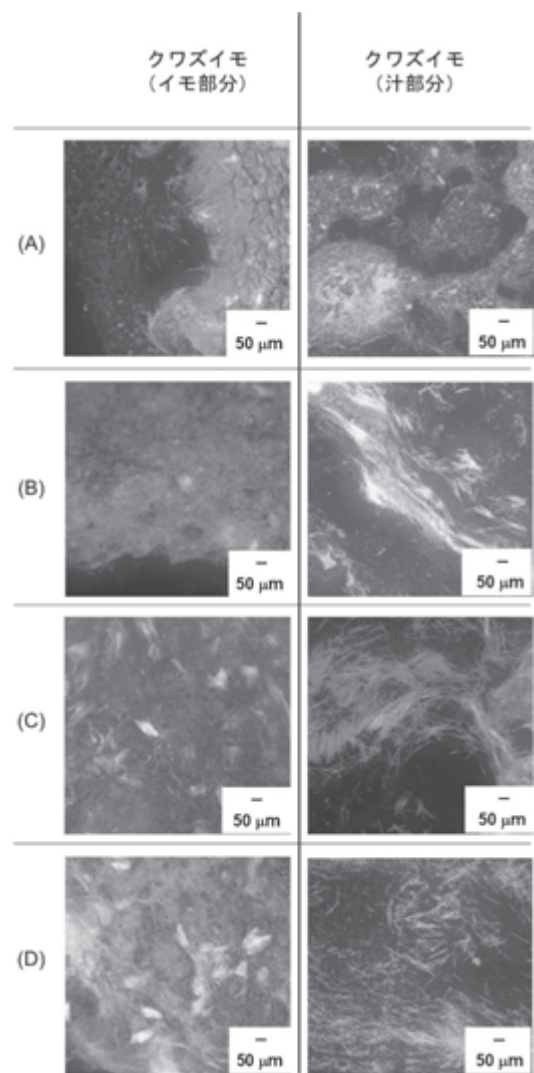


図7 調味料処理後の外観

(A) 塩 (B) 砂糖 (C) しょう油  
(D) 砂糖+しょう油

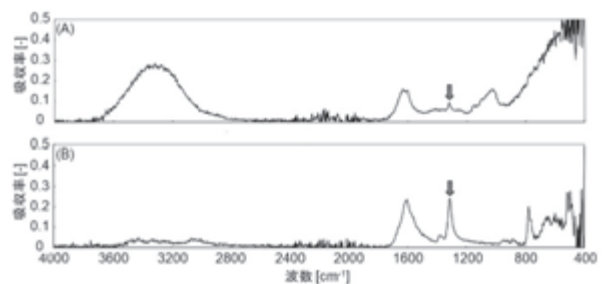


図8 調味料処理後のIRスペクトル

(A) 砂糖+しょう油 (B) 標準品

る可能性は低いことが示唆された。また、調理を想定したしょう油と砂糖を組み合わせた場合について、IRスペクトルでシュウ酸カルシウム由来のピークが確認できていることから、IRスペクトルについても調味料によるシュウ酸カルシウム由来のピーク検出に対する阻害は低いと考えられる。

## ま と め

クワズイモのシュウ酸カルシウム結晶について同定法を検討した。デジタルマイクロスコープを用いた外観観察では生及び加熱や調味料処理後のシュウ酸カルシウムの針状結晶の観察が可能であった。また、FTIRを用いたIRスペクトル測定によるシュウ酸カルシウム由来と考えられる $1,320\text{ cm}^{-1}$ 程度に見られるピークの確認や蛍光X線分析装置を用いたCaピーク強度の測定は結晶観察と合わせてシュウ酸カルシウム同定法として適用が期待できる。

## 文 献

- 1) 木村圭介, 浅倉弘幸, 観公子, 他: 東京健康安全研究センター年報, **66**, 165-170 (2015)
- 2) 村上太郎, 昌山敦, 大島詔, 他: 大阪健康安全基盤研究所研究年報, **2**, 63-67 (2018)
- 3) 熊野眞佐代, 石飛栄二, 石崎修造, 他: 長崎県衛生公害研究所報, **46**, 83-85 (2000)
- 4) S Subashini, K Sathish Kumar : *Indian J. Biochem. Biophys.*, **54**, 156-163 (2017)
- 5) 神ちひろ, 福田清一, 佐藤春彦, 他: 分析化学, **53**, 735-741 (2004)
- 6) 北出かおる, 片山詔久, 桑江彰夫: 日本食品科学工学会誌, **57**, 215-219 (2010)



## 健康危機管理模擬訓練の検体検証について（2018～2019）

立本行江・村上友規\*・樋上 絢・南浦茉奈・米田正樹・安藤尚子

Sample Verification of Health Crisis Management Simulation Training Conducted in 2018～2019

Yukie TATSUMOTO・Yuki MURAKAMI・Aya HIGAMI・Mana MINAMIURA・Masaki YONEDA  
and Naoko ANDO

## 緒 言

平成20年度より、近畿14地方衛生研究所に福井県、三重県及び徳島県の3地方衛生研究所を加えた17地方衛生研究所（平成27年度より（独）大阪健康安全基盤研究所になり16地方衛生研究所）では、近畿ブロック事業として年1回健康危機事象発生時の各機関における対応体制の点検とその見直しを目的として、健康危機管理模擬訓練を実施している。平成30年度と令和元年度は奈良県が事務局を担当した。

平成30年度は下痢性貝毒の一つであるジノフィシストキシン-1（以下、DTX1とする）を原因物質とする食中毒事案を想定した訓練内容とした。下痢性貝毒オカダ酸群（以下、OAとする）は厚生労働省通知りて機器分析法と規制値が示されてから3年以上が経過していることから、各機関における検査体制の確認を行った。

令和元年度は炭疽菌及び化学物質（クロルプロファム）によるテロ疑い事案を想定した訓練内容とし、各機関の危機管理対応等の点検・確認を行うことを目的とした。

理化学にかかる模擬訓練検体を作製し、訓練を円滑に実施するために事前検証した内容を取りまとめたので報告する。

## 方 法

## 1. 試薬

## 1) 平成30年度

DTX1は富士フィルム和光純薬（株）製生化学用、アガロースはナカライテスク（株）製低電気浸透高ゲル強度、メタノールは富士フィルム和光純薬（株）製液体クロマトグラフ用、アセトニトリルは富士フィルム和光純薬（株）製LC-MS用、その他の試薬は富士フィルム和光純薬（株）製試薬特級を使用した。食用黄色5号は東京化成工業（株）製官封食用色素を使用した。精製にはAgilent社製Bond Elut C18(500mg)

\*現、環境政策課

を使用した。

## 2) 令和元年度

クロルプロファムは東京化成工業（株）製（純度99%以上）、農薬標準品混合溶液（PL2005農薬GC/MS Mix I～7）は林純薬工業（株）製、ポリエチレングリコール300（以下、PEGとする）、n-ヘキサンおよびアセトンは全て富士フィルム和光純薬（株）製残留農薬分析用を使用した。

## 2. 検体

## 1) 平成30年度

試料は模擬残食と模擬便の2種類の検体を作製した。DTX1の添加濃度を、貝の可食部に含まれるDTX1含有量と、ヒトへの最小毒性量及び想定される残食の食材比率から0.25 µg/gに決定した。模擬残食として、低濃度アガロースにDTX1を0.25 µg/mLとなるように添加し作製した。これを送付用容器（ポリプロピレン製：50 mL）に20gずつ採り、宅配便（冷蔵）で発送した。模擬便は、模擬残食との識別のため、低濃度アガロースを色素で着色し、送付用容器に20gずつ採り発送した。いずれも発送まで5℃の冷蔵庫で保管した。

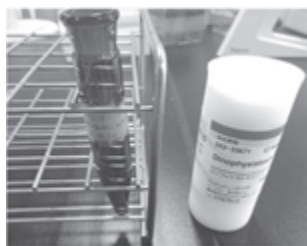


図1 DTX1



図2 模擬残食

## 2) 令和元年度

炭疽菌によるバイオテロに関連し、第二の原因物質として「不審な白色粉末」を設定した。選定にあたり、①形状的に白い粉、②通常の送付が可能（毒物劇物等の規制対象外）で急性毒性のあるもの、③通常の分析機器の検査が可能であるものとして農薬のクロルプロファムを選定した。添加剤を含まない純度99%以上のクロルプロファム試薬を送付用容器（ポリプロピレン

製：15 mL) に 2 g ずつ採り，宅配便（冷凍）で送付した。



図3 クロロプロファミン

### 3. 装置及び測定条件

#### 1) 平成 30 年度

既報<sup>2)</sup>に従い，下記の方法で実施した。

測定条件 OA 及び DTX1 の MS 条件は表 1 に記載した。試料溶液の調製フローは図 4 に記載した。

表 1 UPLC-MS/MS 条件

装置	ACQUITY UPLC H-Class Xevo TQ-S micro
カラム	ACQUITY UPLC® BEH C18(粒径1.7 µm, 2.1×100 mm)
カラム温度	40°C
流速	0.2 mL/min
注入量	5 µL
移動相	A液: 0.1%ギ酸10 mMギ酸アンモニウム B液: アセトニトリル
グラジエント(B%)	0~1 min(30%), 1~8 min(30%→90%), 8~11 min(90%), 11~15 min(30%),
イオン化モード	ESI(-)
キャピラリー電圧	1.50 kV
脱溶媒ガス温度	400°C
脱溶媒ガス流量	1,000 L/h (N <sub>2</sub> )
イオンソース温度	150°C

Analyst	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Cone(V)	Collision energy(eV)
OA	803.5	113	10	70
	803.5	255	10	55
DTX1	817.5	113	40	65
	817.5	255	40	45

※m/z=255で定量を実施

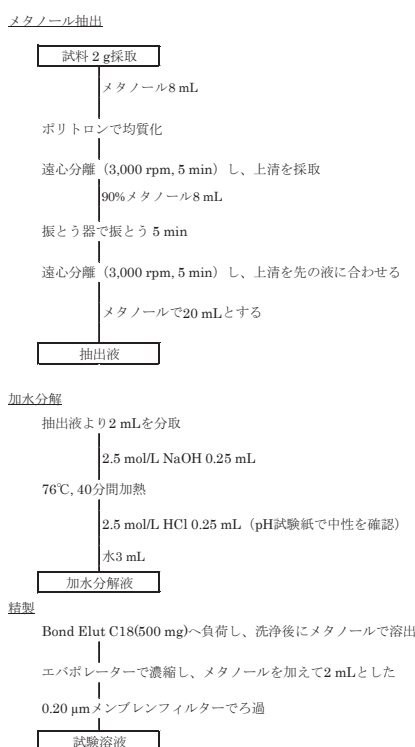


図 4 試料溶液の調製フロー

#### 2) 令和元年度

各機関で測定を行うと想定される検査機器（フーリエ変換赤外分光分析計 (FT-IR)，蛍光 X 線分析装置, LC-MS/MS, GC-MS/MS) について，機器を使用して測定状況を検証した。その中で，残留農薬検査での使用頻度が高く，高濃度の試料測定を行うと機器破損のリスクが大きい GC-MS/MS の検証条件を示した。

GC-MS/MS は Agilent 社製 GC7890A 及び 7000B を使用した。測定条件は表 2 に記載した。

表 2 GC-MS/MS 測定条件

装置	Agilent 7000B
カラム	DB-5MS 30 m × 250 µm × 0.25 µm
オープン温度	50°C(1 min) - 25°C/min - 125°C - 10°C/min - 300°C (5 min) - 20°C/min - 310°C (10 min)
注入口温度	250°C
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°C
四重極温度	150°C
流量	1.0 mL/min Constant Flow
測定イオン (Collision energy)	213.0→217.0 213.0→171.0(CE 4 eV)

### 4. 検証方法

#### 1) 平成 30 年度

作製した模擬残食試料中の DTX1 濃度を既報<sup>2)</sup>により測定し，以下の検証を行った。

##### (1) 事前検証

均質性試験として，試料の作製後 1 日目に 3 検体を無作為に選び，それぞれについて測定した。

模擬訓練結果報告期限日までの安定性試験として，試料の作製後 3 日目，8 日目，18 日目に各 1 検体を選び無作為に 3 部位を採取して，それぞれについて測定した。

##### (2) 発送前均質性試験

発送前の均質性試験として，各機関に配布するために用意した試料の作製後 1 日目に 1 検体を選び，無作為に 3 部位を採取して，それぞれについて測定した。

##### (3) 長期安定性試験

長期間の試料の安定性を確認するため，各機関に配布するために用意された試料の作製後 50 日経過後に 1 検体を選び無作為に 3 部位を採取して，それぞれについて測定した。

##### (4) その他

減圧濃縮時の完全乾固の影響の確認として，長期安定性試験の精製過程で，溶出液を減圧濃縮で完全に乾固させて測定した。

さらに，固相カラム精製時における通液速度の影響

の確認として、長期安定性試験の精製過程で Bond Elut C18 (500 mg) の通液速度を速めて測定した。

## 2) 令和元年度

純度 99%以上のクロロプロファミ試薬をアセトン/n-ヘキサン (1:1) 溶液で順次段階希釈し、10, 100, 1,000 ng/mL の混合溶液を調製し試料とした。また、250 ng/mL の PEG 含有アセトンを各混合溶液試料に添加し、PEG 含有試料としてピーク形状の確認を行った。機器への成分残留の有無を確認するため、上限濃度 1,000 ng/mL の標準溶液の測定後にブランクとしてアセトンを測定した。

## 結果

### 1. 平成 30 年度

結果を表 3~5 に示した。事前検証の均質性試験では、平均回収率 91%, RSD3.0%, 安定性試験では 3

表 3 均質性試験及び安定性試験

試験日 (試験項目)	検体	平均回収率 (%) (n=3)	RSD (%) (n=3)
1 日目 2018.6.26 (均質性試験)	Sample ①~③ (n=1 ずつ採取)	91.0	3.0
3 日目 2018.6.28 (安定性試験)	Sample ④ (n=3)	94.0	2.1
8 日目 2018.7.3 (安定性試験)	Sample ⑤ (n=3)	94.0	5.2
18 日目 2018.7.13 (安定性試験)	Sample ⑥ (n=3)	99.0	3.0

表 4 発送前均質性試験

試験日 (試験項目)	検体	平均回収率 (%) (n=3)	RSD (%) (n=3)
2018.10.2	Sample ㉔ (n=3)	92.0	1.7

表 5 長期安定性試験他

試験日 (試験項目)	検体	回収率 (%) (n=1)	RSD (%)
2018.11.21	Sample ㉕ ※	92.0	---
	Sample ㉕ ※※	92.0	
	Sample ㉕ ※※※	91.0	

※分析方法に基づく通常操作

※※減圧濃縮時に完全乾固

※※※負荷, 洗浄, 溶出は 3~4 滴/秒

日目から 18 日目までの平均回収率は 94~99%, RSD2.1~5.2%となった。また、模擬残食は良好なピーク形状を示した (図 5)。この結果より事前検証として試料の均一性と安定性に問題は無いと判断した。

発送前均質性試験では平均回収率 92%, RSD1.7%で発送試料の均質性を確認した。長期安定性試験として作製 50 日経過後の回収率は 92%となり、長期安定性に問題は無いと判断した。さらに、50 日経過後の確認試験として、精製工程の溶出液の減圧濃縮時に完全乾固と、精製工程の固相カラムの通液速度の検証を行ったところ、完全乾固でも、通液速度を過度に速めても濃度の減少は見られなかった。以上より模擬訓練の送付試料として十分な品質であることを確認することができた。

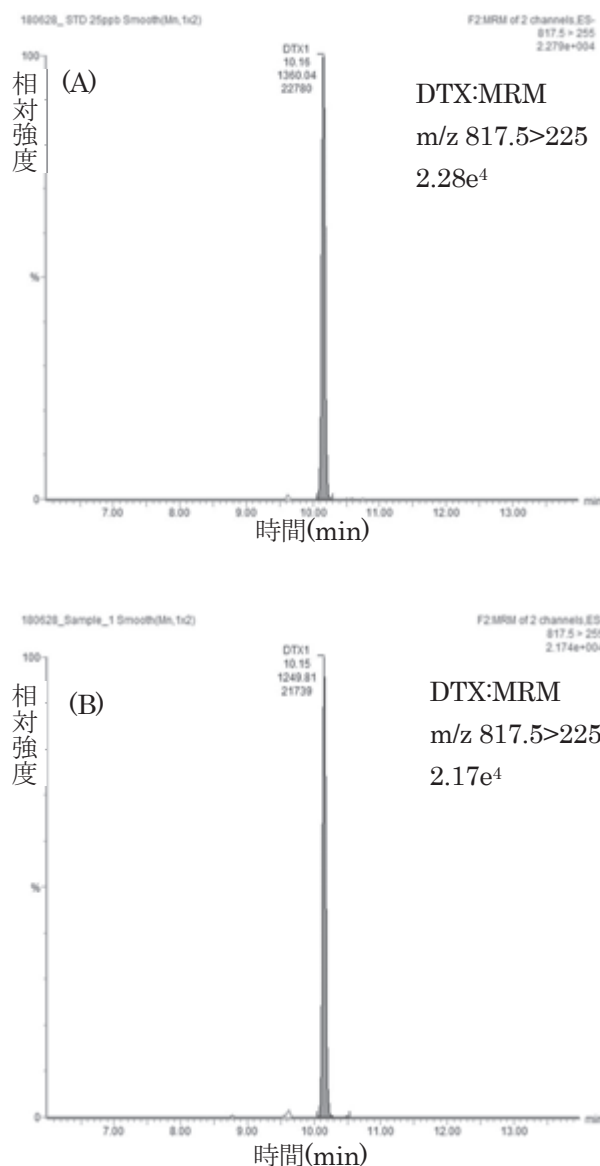


図 5 クロマトグラム

(A) : 標準溶液 25 ng/mL (B) : 模擬残食

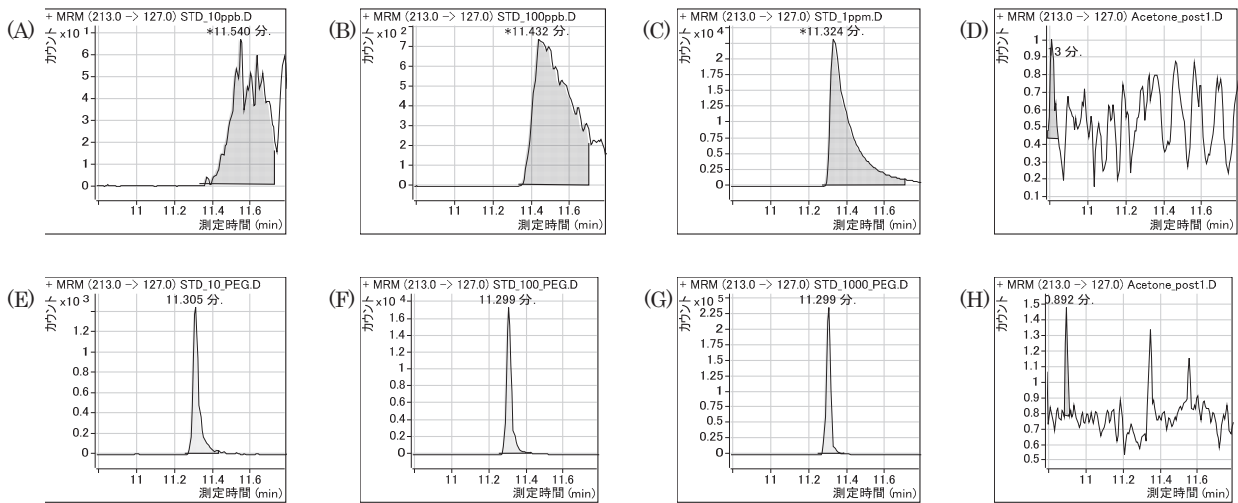


図6 クロマトグラム クロルプロファミ試薬アセトン/n-ヘキサン (1:1) 溶液

(A)10 ng/mL (B)100 ng/mL (C)1,000 ng/mL (D) 1,000 ng/mL 後のアセトン (E)10 ng/mL +250 ng/mLPEG (F)100 ng/mL+250 ng/mLPEG (G)1,000 ng/mL+250 ng/mLPEG (H)1,000 ng/mL+250 ng/mLPEG 後のアセトン

## 2. 令和元年度

結果を図6に示した。各濃度の混合溶液試料の測定ピークが著しくテーリングした(図6(A)~(C))。また、1,000 ng/mL 混合溶液試料の測定後、アセトンを測定したところ、成分の残留は無いことを確認した(図6(D))。次に PEG 含有の各濃度の混合溶液試料を測定したところ、良好なピーク形状を確認できた(図6(E)~(G))。さらに PEG 含有 1,000 ng/mL 混合溶液試料の測定後、アセトンを測定したところ成分の残留は無いことを確認した(図3(H))。GC-MS/MS の検証において、1,000 ng/mL までの濃度で PEG を添加することにより機器に負担をかけることなく測定が可能であることを確認した。

## 考 察

平成30年度は、送付した試料をもとに模擬訓練に参加した15機関の全てが原因物質を確認・推定することができた。

模擬訓練の実施前に、当センターでは厚生労働省通知<sup>1)</sup>に基づき標準品の確保、機器の整備、分析方法の確立を行い、下痢性貝毒に係る食中毒事例への検査体制を整えた。これにより、模擬訓練の検体の均一性や長期安定性を検証のうえ、分析に問題ない試料を作製し模擬訓練を進めることができた。訓練の結果、下痢性貝毒は、ほとんどの機関において検査できる体制ができていたことが分かった。訓練終了後のアンケート結果より、下痢性貝毒を含めた自然毒全般に対する分析方法の構築や検査体制の強化の必要性を認識する意見が多数あった。

令和元年度は送付した検体をもとに模擬訓練に参加

した15機関の一部の機関を除き、原因物質を推定・特定することができた。令和元年の模擬訓練は、健康危機事案への対応内容を検討し、多数の人が集まる場でのテロ対策をテーマとした。訓練のシナリオを作成する前に、奈良県警察科学捜査研究所や関係地方衛生研究所へ、バイオテロを想定した不明な検体の受け入れ方法や検査体制の情報収集を行い、当センターの健康危機管理に係る理化学検査体制の一部見直しを図った。また、不審な白色粉末として、高濃度の農薬試薬原末を小分け送付することによる検査者や検査機器への悪影響を避けるため、事前検証は、上限濃度1,000 ng/mLでGC-MS/MSの分析に影響が無いことを確認した。これにより、訓練のシナリオに取扱の制限を明記し、各機関の実情に応じて、機器を用いた検査訓練か、机上訓練を行う形とした。この訓練後、地方衛生研究所間で理化学分野の検査フローの情報共有が行われ、他の地方衛生研究所の検査体制から多くを学ぶ場となった。

いずれの訓練とも理化学部門及び微生物部門における危機管理対応の点検や確認を行う内容となり、機関全体で訓練に取り組むことで模擬訓練の目的である各地方衛生研究所における健康危機管理体制の検討、見直しを行う貴重な機会となったと考える。

## 文 献

- 1) 医薬食品局食品安全部基準審査課長、監視安全課長通知「下痢性貝毒(オカダ酸群)の検査について」、食安基発0306第3号、食安監発0306第1号、(平成27年3月6日)
- 2) 村上友規、仲井菜都希、安藤尚子、他：奈良県保健研究センター年報、52、69-70(2017)

## レジオネラ症感染源調査における浴槽水等からの *Legionella* spp. 検出状況 (2016年度～2019年度；奈良県)

内田美枝・吉田孝子・辻本真弓・佐伯美由紀・中野 守

Detection of *Legionella* Species from Public Bath Water etc. in the Investigation of the Source of Legionnaires' Disease Infection, 2016-2019 in Nara Prefecture

Yoshie UCHIDA・Takako YOSHIDA・Mayumi TSUJIMOTO・Miyuki SAEKI and Mamoru NAKANO

### 緒言

レジオネラ症は感染症法において四類感染症に位置づけられ、1999年から全数把握の対象となっている疾患である。土壌や淡水などの環境中に広く生息するレジオネラ属菌に汚染されたエアロゾルを吸入することで感染し、劇症型の肺炎、あるいは熱性疾患を引き起こす。

近年では冷却塔、循環式浴槽、加湿器などの人工的な水環境が主要な感染源として注目されており、奈良県では、レジオネラ症患者の感染源調査で、公衆浴場の発症前利用が判明した場合には、当該浴場の浴槽水等のレジオネラ属菌検査を実施している。

レジオネラ症感染拡大防止、並びに公衆浴場の衛生確保に資することを目的に、2016年度から2019年度まで4年間のレジオネラ属菌検査の結果を集計解析し、更に、レジオネラ属菌による浴槽水汚染に影響があると推測される各項目について統計解析を実施した。

### 方法

#### 1. 材料

2016年4月から2020年3月までの間、県内外の医療機関から管轄保健所へ届出されたレジオネラ症患者の感染源調査で判明した、発症前に利用した奈良県内（中核市である奈良市を除く）の公衆浴場の浴槽水49検体、施設拭き取り21検体を解析対象とした。

検体採水時の遊離残留塩素濃度、業種（旅館・公衆浴場）、浴槽設置環境（露天・室内）、原水種類（温泉・温泉以外）、及び泉質pH（中性・弱アルカリ性）は、公衆浴場を管轄する保健所による調査及び温泉分析表を参考とした。

#### 2. 浴槽水検体等におけるレジオネラ属菌検査

浴槽水検体におけるレジオネラ属菌の分離同定は、レジオネラ症防止指針第3版の検査法に準じ（2016年度～2017年度検体）、または、同指針第4版の検査法（2018年度～2019年度検体）に従い実施した。採

水時にチオ硫酸ナトリウムで中和処理を行った検水500 mLを、0.2 μmの滅菌メンブランフィルターで吸引濾過し、濾過後のフィルターを滅菌蒸留水2.5 mLまたは5.0 mLが入った遠沈管に入れ、1分間攪拌後、200倍または100倍濃縮試料とした。酸処理（0.2 M HCL-KCL溶液を等量添加し、攪拌後静置）、または熱処理（50°C、30分間加熱）の後、処理液を選択培地（GVPC寒天培地（日水製薬）、GVPCα寒天培地（日研生物）、WYOα寒天培地（栄研科学））に塗布し、37°Cで5日から7日間培養した。培養後、レジオネラ属菌に特徴的な灰白色湿潤の発育集落数を計測し、検体100 mL当たりの菌数を算出した。検出下限値を1 CFU/100 mL（2016年度～2017年度検体）または10 CFU/100 mL（2018年度～2019年度検体）とした。典型的な集落を釣菌し、羊血液/BCYEα寒天培地（日研生物）への発育状況により同定を行い、レジオネラ免疫血清「生研」（デンカ生研）を用いた凝集反応で血清型別試験を実施した。

施設拭き取り検体におけるレジオネラ属菌の分離同定は独自法により実施した。浴槽縁等を10 cm×10 cmを目安に拭き取ったプース（付着菌拭き取り用成型ガーゼ）1個につき、滅菌蒸留水10 mLを添加し、ストマッカーで1分間処理した抽出液を検査試料とした。培養法は浴槽水検体と同様の方法により実施し、検出下限値を10 CFU/プースとした。菌種同定および血清型別は、浴槽水検体と同様の方法により実施した。

#### 3. 統計解析

レジオネラ属菌による浴槽水汚染に影響があると推測される項目（表1）を選定し、菌数および血清群

表1 浴槽水汚染に影響があると推測される項目

解析項目	選定理由	分類
遊離残留塩素濃度	レジオネラ属菌の消毒・殺菌	5階級分類
業種	衛生意識の差	旅館業/公衆浴場業
浴槽設置環境	供給源（土壌）の影響	露天/屋内
原水種類	供給源（源泉）の影響	温泉/温泉以外
泉質pH	レジオネラ属菌消毒効果への影響	弱アルカリ性/中性

への影響を統計解析した。

### 結果および考察

#### 1. 浴槽水および施設拭き取り検体におけるレジオネラ属菌の検出状況 (表2)

浴槽水検体のレジオネラ属菌コロニー陽性率63.3%、および、病原性が高く患者からの分離率の高い *Legionella pneumophila* 血清群1 (以下SG1) の検出率74.2%は、患者発生に関わりなく無作為に抽出した浴槽水における他の報告<sup>1,2)</sup> に比べ高い傾向を認めた。また、70.0%の施設で浴槽水1検体以上にコロニー陽性を認め、検出した血清群、並びに複数血清群の組み合わせは、同一施設の浴槽水検体において近似する傾向を示した。施設拭き取り検体のコロニー陽性率は平常時に比べ有意に高く、浴槽水中で増殖したレジオネラ属菌を、施設利用客の身体、持ち込み品(ロッカーの鍵等)、清掃用具等を介して、施設全体へ汚染拡大させている可能性が推測された。

#### 2. 浴槽水検体の各項目におけるレジオネラ属菌の検出状況

##### 1) 採水時の遊離残留塩素濃度 (図1)

44.9%の検体が、厚労省告示に基づく衛生等管理要領に規定される基準値0.2 mg/L未満であり、そのコロニー陽性率は95.5%であった。令和元年9月19日以降の新基準値である0.4 mg/L~1.0 mg/L濃度階級におけるコロニー陽性率が最も低く、新基準の順守に

より、レジオネラ属菌の増殖をほぼ抑えることが出来ることが裏付けられた。一方、1.0 mg/Lを超える高濃度階級においても6検体からレジオネラ属菌を検出し、塩素による菌の完全死滅は不可能であることも確認された。

約30%の検体で遊離残留塩素濃度が1.0 mg/Lを超え、中には、計測機器の上限2.0 mg/Lを超える高濃度検体も10%程度存在した。SG1は塩素耐性獲得に伴う浴槽水中での優性化が懸念されていることから<sup>3)</sup>、SG1検出率の上昇に繋がる恐れのある、必要以上の塩素剤投入は控えるべきであり、営業者への周知が重要と考える。

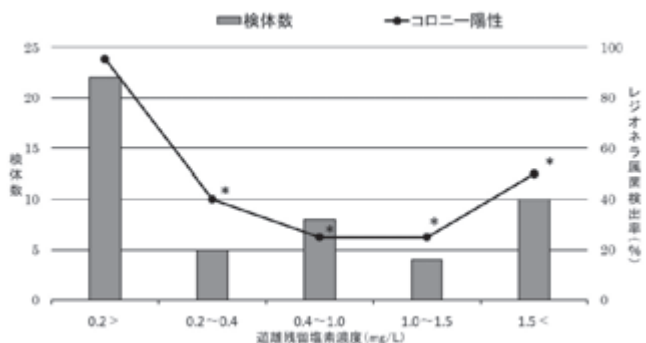


図1 浴槽水検体における採水時の遊離残留塩素濃度とレジオネラ属菌検出状況

\*有意水準5% (基準値0.2 mg/L未満濃度階級と比較)

表2 浴槽水等検体におけるレジオネラ属菌検出状況

調査期間：2016年度～2019年度		浴槽水	施設拭き取り	施設拭き取り※2 (平常時)
検体		49	21	27
	コロニー陽性検体	31 (63.3%)	14 (66.6%) *	4 (14.8%)
	<i>L.pneumophila</i> 検出	31 (100%)	13 (92.9%)	4 (100%)
	<i>L.p</i> SG1	23 (74.2%)	8 (61.5%)	1 (25.0%)
	<i>L.p</i> SG2	2 (6.5%)	1 (7.7%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG3	3 (9.7%)	1 (7.7%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG4	1 (3.2%)	2 (15.4%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG5	4 (12.9%)	5 (38.5%)	2 (50.0%)
	<i>L.p</i> SG6	14 (45.2%)	5 (38.5%)	1 (25.0%)
	<i>L.p</i> SG8	0 (0%)	4 (30.8%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG9	4 (12.9%)	0 (0%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG10	6 (19.4%)	0 (0%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG12	1 (3.2%)	0 (0%)	0 (0%)
	<i>L.p</i> SG15	4 (12.9%)	2 (15.4%)	0 (0%)
	レジオネラ属菌最大値(CFU/100mL)	78,000		
	レジオネラ属菌平均値(CFU/100mL)	4,475		
	遊離残留塩素濃度平均(mg/L)	0.65		
施設		20	5	17
	コロニー陽性施設 ※1	14 (70.0%)	5 (100%) *	3 (17.6%)
	<i>L.pneumophila</i> 検出 ※1	14 (100%)	5 (100%)	3 (100%)
	<i>L.p</i> SG1 ※1	12 (85.7%)	3 (60.0%)	1 (33.3%)

※1. 1検体以上が該当する施設 ※2. 参考データ \*有意水準5% (平常時と比較)

## 2) 業種, 浴槽設置環境, 原水, 泉質 pH (表 3)

旅館業と公衆浴場業に分類した業種別比較では, 旅館業は公衆浴場業に比べレジオネラ属菌による汚染が有意に高かった. 旅館業では遊離残留塩素濃度基準の順守率が 16%と低く, 58%が基準値 0.2 mg/L 未満であったことが, 大きく影響すると推察された (図 2).

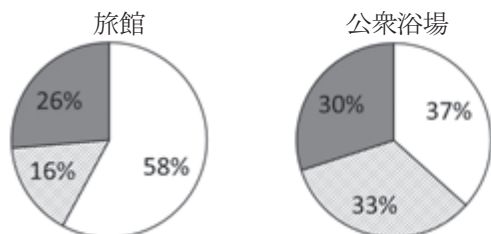


図 2 採水時の遊離残留塩素濃度基準の遵守状況  
□ 基準値未満   ▨ 基準値遵守   ■ 基準値超過

土壌に多いとされる<sup>4)</sup> SG1 の供給源に着目し, 露天と屋内に分類した浴槽設置環境別比較では, 検出率には差は認めなかった. むしろ, 土壌影響の少ない屋内設置浴槽におけるレジオネラ属菌数が多く, 菌が増殖しやすい傾向にあることが判明した.

温泉の源泉からも検出されることのある SG1 の供給源に着目し, 温泉(「温泉+他の原水」を含む)と温泉以外(水道水等)に分類した原水別比較では, 検出率には差は認めなかった. また, 水道水のみを原水とする浴槽水検体からも菌の検出を認めた. レジオネラ属菌数は温泉で多い傾向を示し, 菌が増殖しやすい傾向にあることが判明した.

温泉 30 検体の泉質 pH は 6.4~8.3 の範囲であった(温泉分析表による). 中性(pH6.0~7.5), 弱アルカリ性(pH7.5~8.5)に分類した pH 比較では, 弱アルカリ性検体で SG1 検出率が高い傾向を示し, また, レジオネラ属菌数が有意に多く, 菌が増殖しやすい状態

であることが確認された. pH は化学的に遊離残留塩素濃度に負の影響を与え, pH6.8~8.4 の泉質ではレジオネラ属菌が多くなるとの報告もある<sup>5)</sup>. 弱アルカリ性の温泉を原水とする浴槽水においては, 予め, 塩素による消毒効果の検証が望ましい.

近年, 全国的なレジオネラ症患者の増加に伴い, 感染源調査の一環として浴槽水等のレジオネラ属菌検査実施数が増加している. 感染源施設の確定には, 患者由来菌株とのパルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別解析が必要とされるが, 患者由来株の入手が難しく, 感染源である可能性の高い施設に対し行政処分に至らず, 行政指導に留まるケースが多い. レジオネラ症患者の約 20%が死亡する現状から, 公共浴場施設への衛生監視指導の強化は, これまで以上に必要である.

奈良県では南部地域に温泉郷を有し, また, ゴルフ場等に設置されている公衆浴場等を利用する県外からの来県者も多く, 公共浴場を原因とするレジオネラ症患者の発生を防ぐことは重要な行政業務である. 今後も調査を継続し, レジオネラ症の発生防止, 感染拡大防止に貢献したい.

## 文 献

- 1) 古畑勝則, 原元宣, 吉田真一, 他: 感染症学雑誌, 78, 710-716 (2002)
- 2) 関口真紀, 上田ひろみ, 笠原ひとみ, 他: 長野県環境保全研究所研究報告, 11, 45-49 (2015)
- 3) 大野章: 科学研究費助成事業研究成果報告書 (2015)
- 4) 伊藤直美: 感染症学雑誌, 57, 682-693 (1983)
- 5) 笹原武志, 菊野理律子, 奥田舜治, 他: 感染症学雑誌, 78, 545-553 (2004)

表 3 浴槽水検体におけるレジオネラ属菌検出状況 (業種, 浴槽設置環境, 原水, 泉質 pH)

調査期間: 2016年度~2019年度		業種別		浴槽設置環境別	
		旅館	公衆浴場	露天	室内
浴槽水検体		19	30	14	35
コロニー陽性検体		17 (89.5%) *	14 (46.7%)	9 (64.3%)	22 (62.9%)
L.p SG1		12 (70.6%)	11 (78.6%)	7 (77.8%)	16 (72.7%)
レジオネラ属菌最大値(CFU/100mL)		78,000	14,000	15,000	78,000
レジオネラ属菌平均値(CFU/100mL)		9,254 *	1,448	1,579	5,633
遊離残留塩素濃度平均(mg/L)		0.55	0.71	0.68	0.64

調査期間: 2016年度~2019年度		原水種類別		泉質 (pH)	
		温泉	温泉以外	中性 (pH6.0-7.5)	弱アルカリ性 (pH7.5-8.5)
浴槽水検体		30	19	18	12
コロニー陽性検体		20 (66.7%)	11 (57.9%)	12 (66.7%)	8 (66.7%)
L.p SG1		14 (70.0%)	9 (81.8%)	7 (58.3%)	7 (87.5%)
レジオネラ属菌最大値(CFU/100mL)		78,000	14,000	15,000	78,000
レジオネラ属菌平均値(CFU/100mL)		6,143	1,842	1,473	13,148 *
遊離残留塩素濃度平均(mg/L)		0.6	0.73	0.66	0.51

\*有意水準 5% (各項目で比較)

## 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（2019年）

吉田孝子・松井恵梨子・佐伯美由紀・森村実加・内田美枝

Detection of the Antimicrobial-Resistant Genes in Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Isolated in Nara Prefecture (2019)

Takako YOSHIDA・Eriko MATSUI・Miyuki SAEKI・Mika MORIMURA 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。

CRE感染症は、感染症法の五類全数把握対象疾患に指定されており、2017年3月、厚生労働省通知<sup>1)</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、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、2019年1月から2019年12月に、奈良県で届出され搬入された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

2019年1月から2019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34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>2)</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)500μg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5mm以上ある場合を陽性と判定した<sup>2)</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、セフトキシム(CTX)とCAZの間に、アモキシシリン・クラブラン酸(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>3)</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APB500μg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5mm以上ある場合を陽性と判定した<sup>3)</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>2)</sup>(IMP型、NDM型、KPC型、OXA-48型)、ESBL遺伝子<sup>4,5)</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>3)</sup>(MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型)の保有の有無を確認した。

## 4. 薬剤耐性遺伝子の同定

カルバペネマーゼ遺伝子を検出した菌株については、IMP-1型シーケンス用プライマー<sup>2)</sup>を用い、ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し、National Center for Biotechnology Information (NCBI)のBLAST解析により薬剤耐性遺伝子を同定した。



## 結果

### 1. 菌株の由来

供試した 34 株の由来は、性別では、男性 14 株、女性 20 株と女性が多かった。年齢は、80～89 歳が最も多く、70 歳以上の高齢者が約 80%を占めた (図 1)。

検出部位は、血液、尿がいずれも 11 株 (32%) と多かった。次いで、喀痰 5 株 (15%) で、その他は膿、腹水、胆汁などであった。

菌種は、*Klebsiella pneumoniae* が 9 株 (26%) で最も多く、次いで *Klebsiella aerogenes* が 7 株 (21%)、*Escherichia coli* が 5 株 (15%)、*Enterobacter cloacae* が 4 株 (12%) 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、18 株 (53%) で、その菌種は *K. pneumoniae* が 8 株、*E. coli* が 4 株、*E.*

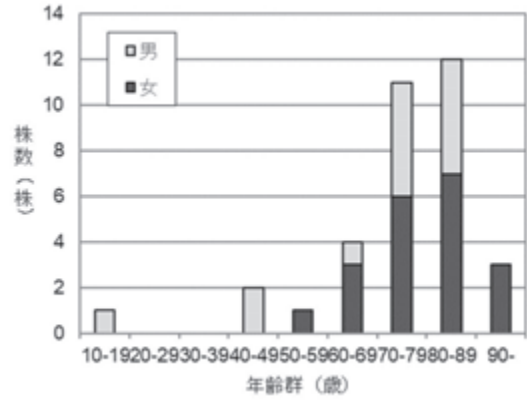


図 1 菌株の由来 (性別年齢分布)

*cloacae* が 4 株、*Citrobacter freundii* が 1 株、*Providencia stuartii* が 1 株であった。

KPC 型カルバペネマーゼ産生性の確認試験では、2 株が陽性で、*K. aerogenes* が 1 株、*Serratia marcescens* が 1 株であった。

ESBL 産生性の確認試験では、CTX-M-型と判定し

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			シーケンス結果
		SMA	APB (KPC)	CVA, SBT	APB (AmpC)	カルバペネマーゼ	ESBL	AmpC	
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
6	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	TEM-,SHV型	-	IMP型	SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	判定保留	-	IMP型	SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
8	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	TEM 型,SHV 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	-	-	-	-	-	SHV 型	-	
10	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	+	-	-	-	-	-	
11	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
12	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
13	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
14	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
15	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
16	<i>Klebsiella aerogenes</i>	-	-	-	+	-	-	-	
17	<i>Escherichia coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
18	<i>Escherichia coli</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
19	<i>Escherichia coli</i>	+	-	-	-	IMP型	TEM 型,CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
20	<i>Escherichia coli</i>	+	-	判定保留	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
21	<i>Escherichia coli</i>	-	-	TEM-,SHV型	+	-	TEM 型	CIT 型	
22	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
23	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
24	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
25	<i>Enterobacter cloacae</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
26	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	EBC 型	
27	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	-	-	-	+	-	-	-	
28	<i>Serratia marcescens</i>	-	+	-	-	-	-	-	
29	<i>Serratia marcescens</i>	-	-	-	+	-	TEM 型	-	
30	<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	CIT 型	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub>
31	<i>Enterobacter ludwigii</i>	-	-	-	+	-	-	-	
32	<i>Klebsiella oxytoca</i>	-	-	-	+	-	-	DHA 型	
33	<i>Morganella morganii</i>	-	-	-	+	-	-	DHA 型	
34	<i>Providencia stuartii</i>	+	-	CTX-M-型	-	IMP型	CTX-M-2G	-	<i>bla</i> <sub>IMP-1</sub>

たのは 14 株であった。TEM<sup>-</sup>、SHV<sup>-</sup>型と判定した菌株は 2 株で、判定保留が 2 株あった。

AmpC 産生性の確認試験では 13 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 1 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 34 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子では、IMP 型遺伝子を 18 株 (53%) 検出した。菌種は *K. pneumoniae* が 8 株、*E. coli* が 4 株、*E. cloacae* が 4 株、*C. freundii* が 1 株、*P. stuartii* が 1 株であった。

ESBL 遺伝子では、CTX-M-2G を検出した菌株が 18 株、SHV 型を検出した菌株が 7 株、TEM 型を検出した菌株が 4 株あった。なお、ESBL 遺伝子を重複して保有する菌株が 7 株あった。

AmpC 遺伝子では、CIT 型を検出した菌株が 2 株、DHA 型を検出した菌株が 2 株、EBC 型を検出した菌株が 1 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 10 株あった。

### 4. 薬剤耐性遺伝子の同定

PCR 法で IMP 型遺伝子を検出した 18 株について、塩基配列を決定し、BLAST による相同性解析を実施した。その結果、17 株が *bla*<sub>IMP-6</sub> と、1 株が *bla*<sub>IMP-1</sub> と一致した。

## 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 34 株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子である IMP 型を検出したのは 18 株であった。このうち 17 株は *bla*<sub>IMP-6</sub> であった。これは、西日本で多く検出<sup>3)</sup>されているカルバペネマーゼ遺伝子であり、当センターにおいても過去にも検出報告<sup>6,7)</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>8)</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。さらに今回、県内届出株より初めて *bla*<sub>IMP-1</sub> を検出した。*bla*<sub>IMP-1</sub> は全国的に広く検出されている遺伝子であるが、*P. stuartii* と希な菌種から検出されたことから鑑み、今後のさらなる耐性遺伝子の拡散、菌種の拡大傾向には注意が必要である。

カルバペネマーゼ遺伝子を保有していない菌株は、16 株と半数近くあった。これらの菌株のうち、ディスク拡散法で、AmpC 産生株が 13 株と多く存在した。また、2 株は KPC 型カルバペネマーゼ産生性の確認試験で陽性となったが、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>9)</sup>されている。しかし、カルバペネム系薬剤に対して APB による阻害効果が確認できたことから、今回確認している以外の薬剤耐性機序を保持している可能性がある。残りの 1 株は、SHV 型の遺伝子を検出しており、その影響と考えられた。

CRE の増加は、临床上、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β-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) 厚生労働省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)
- 2) 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)
- 3) 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)
- 4) Xu. L, Ensor. V, Gossain. S, et al. : *J. Medical Microbiology*, 54, 1183-1187 (2005)
- 5) Monstein. H, Ostholm-Balkhed. A, Nilsson. M, et al. : *APMIS*, 115, 1400-1408 (2007)

- 6) 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)
- 7) 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)
- 8) Shigemoto. N, Kuwahara. R, Kayama. S, *et al.* : *Diagn Microbiol Infect Dis.* , 72, 109-112 (2012)
- 9) 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)

## 奈良県におけるノロウイルス胃腸炎集団発生について -2018/2019 シーズン-

尾西美咲・松浦侑輝・松本朋子・千葉翔子・阪本孝幸・稲田真知

Outbreaks of Gastroenteritis Caused by Norovirus in Nara Prefecture : 2018/2019 Season

Misaki ONISHI・Yuki MATSUURA・Tomoko MATSUMOTO・Shoko CHIBA・Takayuki SAKAMOTO  
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、2018/2019 シーズンに発生した事例等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

2018年9月から2019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8事例のうち NV を検出した4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140 μL 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 キャプシド領域の増幅を行い、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。また、GII.4 と判定された株について、近隣結合 (NJ) 法により参照株を用いた系統樹解析を実施した。

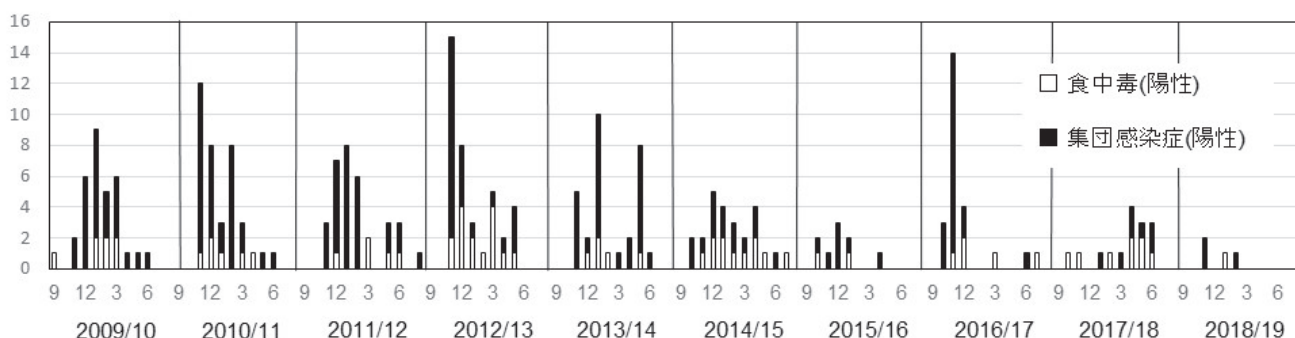


図1 ノロウイルスによる食中毒・集団感染事例数 (当センター検出事例)

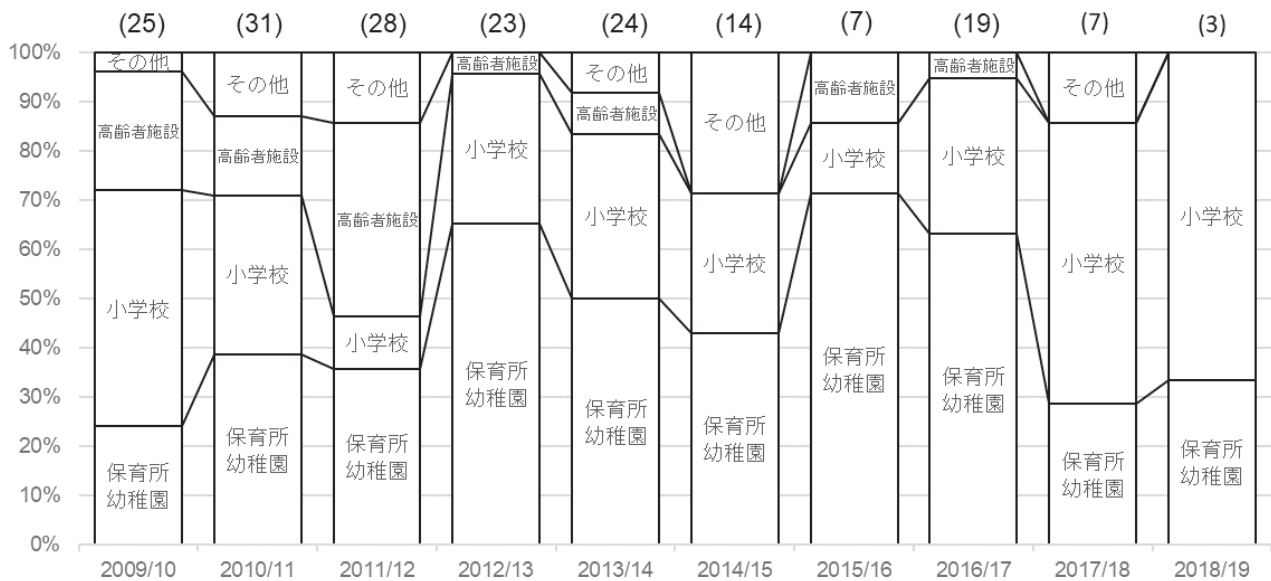


図2 ノロウイルスによる集団感染症事例の発生施設別内訳  
 図上段 ( ) 内の数字は事例数を示す

## 結果

### 1. NVによる食中毒・集団感染事例の発生状況

NVによる食中毒・集団感染事例の検体採取月別発生状況は、2018年11月2事例、2019年1月1事例、2月1事例であった(図1)。食中毒事例は1事例、集団感染事例は3事例発生した。

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

地域で区分すると、食中毒事例1例は郡山保健所管内、集団感染事例は3事例とも中和保健所管内での発生であった。

### 2. 遺伝子型解析結果

2018/2019シーズンに検出したNVの遺伝子型を表1に示した。4事例の内訳は、GIによるものが3事例(75%)、GIIによるものが1事例(25%)であり、事例数は少ないがGIがGIIを上回る結果となった。

ダイレクトシーケンスを行った結果、GIの事例はすべてGI.2、GIIの事例はGII.4であった。

GII.4について系統樹解析を行った結果、2012年に流行したSydney/NSW0514/2012/AUに近い株が検出された(図3)。

## 考察

2018/2019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。2018/2019シーズンは、GI.2を3事例、GII.4を1事例から

検出した。2015年から検出し始めた新規遺伝子GII.17や、2016/2017シーズンと2017/2018シーズンに県内で最多検出の遺伝子型であったGII.2は検出されなかった。また、過去10シーズンで事例数が最も少なく、大規模事例もなかった。

2018/2019シーズンを含む過去10シーズンの検出状況について、ノロウイルスGIでは、GI.2、GI.3、GI.4、GI.6等が検出されており、特定の傾向はみられなかった。ノロウイルスGIIでは、GII.4が毎シーズン検出され、GII.2も多くのシーズンで検出されていた(図4)。シーズンごとでは、2012/2013シーズンがGII.4、2014/2015シーズンがGII.17、2016/2017シーズンがGII.2が最多検出の遺伝子型となっており、

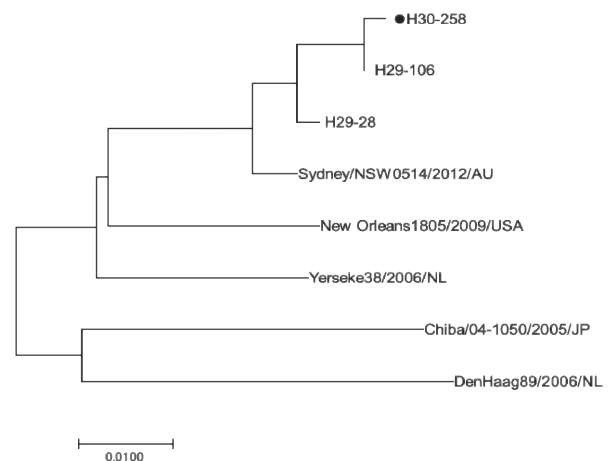


図3 GII.4株のキャプシド領域の塩基配列を用いた系統樹

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			2			1							3
G II.4					1								1
事例数合計			2		1	1							

それぞれ同時期に変異株が国内で検出され<sup>3-6)</sup>、流行していることから、変異株が県内の流行にも大きな影響をもたらしていたと考えられる。

2018/19 シーズンに本県で検出された G II.4 について系統樹解析を行ったところ、2012 年に大きな流行を引き起こした Sydney/NSW0514/2012/AU の近縁株であり、県内では 2012/2013 シーズンから 2018/2019 シーズンまで毎シーズン検出されている。Sydney/NSW0514/2012/AU 近縁株の RdRp 領域は、2017 年の東京都での G II.P12-G II.4\_Sydney\_2012 による食中毒事例<sup>7)</sup>や、2016 年の大阪市での G II.P16-G II.4\_Sydney\_2012 による集団胃腸炎事例<sup>8)</sup>、また、2016 年度の大阪府の G II.Pe-G II.4\_Sydney\_2012 による食中毒事例<sup>9)</sup> など、様々な型が報告されている。本県は過去に G II.P17-G II.17 や G II.2 の RdRp 領域の解析を行っており、G II.4 においても流行状況の把握のため、検討が必要と考える。

本報告が示すように長期にわたって調査を継続し、様々な疫学情報を蓄積することは、NV の長期的な発生動向を把握するために必要であると考えられる。

## 文 献

- 1) 藤谷美沙子, 松本朋子, 千葉翔子, 他: 奈良県保健研究センター年報, 53, 51-63 (2016)
- 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) 国立感染症研究所感染症情報センターホームページ: <速報> ノロウイルス GII/4 の新しい変異株の遺伝子解析と全国における検出状況
- 4) 松島勇紀, 石川真理子, 清水智美, 他: 病原微生物検出情報, 36, 175-178, 2015
- 5) 楠原一, 赤池重弘, 小林隆司, 他: 病原微生物検出情報, 36, 91-92, 2015
- 6) Nagasawa K, *et al.*, Genetic Analysis of Human Norovirus Strains in Japan in 2016-2017, *Front Microbiol.*, 18, 9:1, 2018.
- 7) 世田谷区世田谷保健所生活保健課, 元井勇, 稲崎倫子, 他: 病原微生物検出情報, 39, 146-147(2018)
- 8) 入谷展弘, 上林大起, 改田厚, 他: 病原微生物検出情報, 37, 136-138(2016)
- 9) 高田利香, 左近直美, 中田恵子, 他: 大阪健康安全基盤研究所研究年報, 1, 10-19(2017)

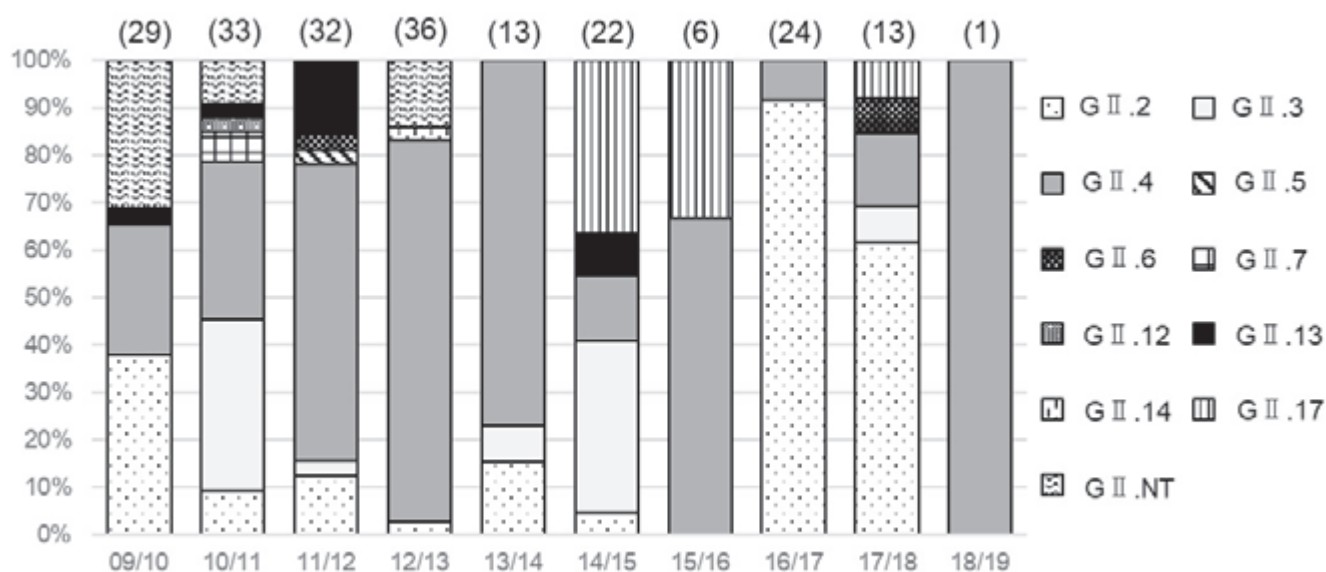


図4 検出されたノロウイルス GII の遺伝子型(2009/2010 シーズン～2018/2019 シーズン)

図上段 ( ) 内の数字は事例数を示す

## 感染症発生動向調査による患者発生状況：2019年

千葉翔子・阪本孝幸・尾西美咲・松本朋子・松浦侑輝・稲田真知

Status of Infection Diseases in Nara Prefecture, 2019

Shoko CHIBA・Takayuki SAKAMOTO・Misaki ONISHI・Tomoko MATSUMOTO・Yuki MATSUURA  
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。感染症患者発生に関する情報について、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2019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)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。

2019年には、後天性免疫不全症候群および梅毒の記載項目の追加等による届出様式の改正、また、疑似症の範囲や指定届出機関の指定基準の改正が実施された。

2019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

2019年の全数把握対象疾患の患者届出は延べ602件であった(表1)。なお、現時点(2020年5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 2019年 全数把握対象疾患 届出数

類別	疾患名	届出数
二類	結核	283
三類	腸管出血性大腸菌感染症	23
四類	E型肝炎	1
	A型肝炎	3
	チクングニア熱	1
	つつが虫病	1
	デング熱	4
	日本紅斑熱	1
	マラリア	1
	レジオネラ症	20
	レプトスピラ症	1
五類	アメーバ赤痢	11
	ウイルス性肝炎	3
	カルバペネム耐性腸内細菌感染症	36
	急性脳炎	10
	クロイツフェルト・ヤコブ病	4
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	10
	後天性免疫不全症候群	7
	ジアルジア症	2
	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	23
	水痘(入院例)	9
	梅毒	74
	播種性クリプトコックス症	3
	破傷風	1
	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	4
	百日咳	37
	風しん	15
	麻疹	9

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283例の届出があり、2018年の234例から増加した。類型は、患者192例、疑似症患者2例、無症状病原体保有者89例であった。患者の病型は、肺結核が150例、その他の結核(結核性胸膜炎、結核性腹膜炎、結核性髄膜炎、リンパ節結核、粟粒結核等)が32例、肺結核及びその他の結核が10例であった。

全届出の年齢階層は、0歳5例、1～10歳未満2例、10代2例、20代9例、30代20例、40代16例、50代31例、60代35例、70代68例、80代65例、90代29例、100代1例で、70代の届出が最も多く、70歳以上が全体の57.6%を占めていた。

### 3) 三類感染症

腸管出血性大腸菌感染症は23例の届出があり、2018年の26例からわずかに減少した。類型は、患者18例、無症状病原体保有者が5例で、その年齢階層は、1～10歳未満8例、10代2例、20代6例、30代2例、40代3例、70代1例、80代1例であった。なお、HUSの事例はみられなかった。血清型・検出病原体は、O157が17例(VT1&VT2が12例、VT2が5例)、O26が4例(VT1が4例)、O103が1例(VT1が1例)、O8が1例(VT2が1例)であり、全国と同様の検出状況であった。推定感染経路は、経口感染が8例、接触感染が6例、不明が9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5例あり、その中には牛の生肝や牛肉のたたき、生焼けの肉類等、生肉を喫食した記載のある事例も含まれていた。

### 4) 四類感染症

E型肝炎1例、A型肝炎3例、チクングニア熱1例、つつが虫病1例、デング熱4例、日本紅斑熱1例、マラリア1例、レジオネラ症20例、レプトスピラ症1例の届出があった。

E型肝炎は、8月に40代男性から1例の届出があり、生肉の喫食による経口感染が推定感染経路とされている。

A型肝炎は、1月に70代男性と60代女性、6月に80代女性の届出があった。1月に届出のあった2例の推定感染経路は経口感染とされており、推定感染地域はエジプトと記載があった。6月に届出のあった1例については、感染経路は不明とされている。

チクングニア熱は、11月に40代男性から1例の届出があり、推定感染地域はミャンマーとされている。

つつが虫病は、12月に30代女性から1例の届出があった。推定感染地域は奈良県であり、自宅は山手に所在するものの、外出もほとんどないと記載があった。痂皮について、当センターにてウイルス遺伝子検査を実施したところ、Kawasaki (Irie) 型であることがわかった。なお、これは、当センターにおいて遺伝子検査によるツツガムシリケッチア (*Orientia tsutsugamushi*) を検出した初めての事例となった。

デング熱は、30代男性、50代男性、5歳女性、10代女性の4例届出があり、病型はすべての事例でデ

ング熱型であった。4例とも当センターでウイルス遺伝子検査を実施しており、感染地域がカンボジアとインド(グルガウン)の事例でデング1型、タイ(バンコク)とインド(デリー、ジャイプール、アグラ、ラナーシ)でデング3型が検出されている。

日本紅斑熱は、4月に1例の届出があり、2014年以降の届出となった。70代男性で、発熱・発しん・肝機能異常を呈しており、推定感染地域は、三重県南伊勢とされている。

マラリアは、1月に40代女性から1例の届出があり、病型は熱帯熱であった。感染地域はガーナとされている。

レジオネラ症20例の病型は肺炎型17例、ポンティアック熱型3例であり、男性15例(40代1例、50代4例、60代5例、70代4例、80代1例)、女性5例(40代1例、50代1例、60代1例、80代2例)であった。推定感染経路は水系感染が5例、塵埃感染が2例、水系感染および塵埃感染が1例、不明が12例であった。

レプトスピラ症は、2010年の1例以降の届出である。10月に届出のあった40代男性は、京都の川で下腿を負傷したこと、大阪で沢登りに行ったことが記載されていた。

### 5) 五類感染症

アメーバ赤痢11例、ウイルス性肝炎3例、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症36例、急性脳炎10例、クロイツフェルト・ヤコブ病4例、劇症型溶血性レンサ球菌感染症10例、後天性免疫不全症候群7例、ジアルジア症2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23例、水痘(入院例)9例、梅毒74例、播種性クリプトコックス症3例、破傷風1例、バンコマイシン耐性腸球菌感染症4例、百日咳37例、風しん15例、麻しん9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10例、腸管外アメーバ症1例であった。患者は男性10例(30代2例、40代4例、50代2例、60代1例、70代1例)、女性1例(50代)で、推定感染経路は経口感染3例、性的接触(同性間)2例、性的接触(異性間)2例、不明が4例であった。推定感染地域は、奈良県2例、県外1例、国外2例(ブラジル、インドネシア)、不明6例であった。

ウイルス性肝炎3例のうち2例はB型であり、20代男性と40代男性であった。B型肝炎ワクチンの接種歴は無しおよび不明であり、推定感染経路はともに性的接触(異性間)であった。残り1例はサイトメガ



ロウイルスによるものであり、40代女性であった。症状は、肝機能異常の他に皮膚掻痒感の記載もあり、感染原因や経路は不明であった。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は、男性15例（10代1例、40代2例、60代1例、70代6例、80代5例）、女性21例（50代1例、60代3例、70代6例、80代8例、90代3例）であり、60代女性のうち1例は発病後4日目に死亡している。また、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8例（*Enterobacter aerogenes* 1例、*Enterobacter cloacae* 2例、*Klebsiella pneumoniae* 1例、*Klebsiella aerogenes* 1例、*E. coli* 2例、不明1例）、腹水2例（*Enterobacter aerogenes*、*Enterobacter cloacae*）、胆汁1例（*Enterobacter cloacae*）、血液・尿2例（*Serratia marcescens*、*Providencia stuartii*）、喀痰5例（*Enterobacter cloacae* 1例、*Klebsiella pneumoniae* 4例）、膿2例（*E. coli*、*Citrobacter freundii*）、尿13例（*Enterobacter aerogenes* 2例、*Enterobacter cloacae* 1例、*Serratia marcescens* 1例、*Klebsiella pneumoniae* 4例、*E. coli* 3例、*Morganella morganii* 1例、*Enterobacter oxytoca* 1例）、浸出液1例（*Enterobacter aerogenes*）、不明2例（*Enterobacter ludwigii*、*Klebsiella pneumoniae*）であった。推定感染経路は以前からの保菌が11例、院内が1例、中心静脈カテーテルからが2例、尿路カテーテルからが7例、動脈カテーテル（鼠径部）からが1例、手術部位（手術手技）が1例、その他に穿孔性腹膜炎1例、食道癌術後の食道肺瘻1例、特発性細菌性腹膜炎1例、不明10例であった。

急性脳炎の届出は、年々増加しており、10例（1～10歳未満6例、10代3例、60代1例）であった。1月の届出は5例あり、原因病原体は全てインフルエンザで、A型4例、B型1例であった。3月の届出は60代男性であり、病原体は不明であった。7月の届出は2例あり、ともにマイコプラズマが原因病原体であった。12月の届出は2例あり、ともにインフルエンザA型が原因病原体であった。

クロイツフェルト・ヤコブ病は、70代男性2例、70代女性と80代女性1例ずつの計4例の届出があった。そのうち3例の病型は、古典的クロイツフェルト・ヤコブ病(CJD)であった。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は、男性4例（0歳1例、50代1例、60代1例、70代1例）、女性6例（40代1例、60代2例、70代1例、80代2例）であり、このうち80代女性1例については、発病した

当日に死亡している。血清群は、A群4例、B群3例、G群2例、不明1例であり、推定感染経路は、0歳男性1例が産道感染とされており、その他創傷感染1例、腹水感染1例、胆のう炎による感染1例、不明6例であった。

後天性免疫不全症候群は、男性7例（17歳1例、30代1例、40代2例、50代3例）であり、病型は40代男性1例と50代男性1例でAIDS、その他5例は無症候性キャリアであった。AIDSと診断した2例の指標疾患は、1例はニューモシステリス肺炎であり、もう1例はニューモシステリス肺炎とカンジダ症であった。推定感染経路は、性行為感染（同性間性的接触）2例、性行為感染（同性間性的接触）及び静注薬物使用1例、性行為感染（不明）1例、輸血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30代女性、5月に90代女性、6月に2歳男児、12月に30代女性の計4例の届出があった。また、2歳男児は、ヒブワクチン接種歴が4回と記載されていた。

侵襲性髄膜炎菌感染症1例は、1月に届出のあった70代女性であり、感染原因・経路は不明とされている。接触歴はなく、買い物も電話で注文するので外にほとんど出ないとの記載があった。

侵襲性肺炎球菌感染症の届出は23例あり、2018年の28例から減少した。男性16例、女性7例で、0歳3例、1歳1例、10代1例、60代3例、70代8例、80代4例、90代3例であった。ワクチン接種歴は、0歳3例では3回、1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6例、不明10例であった。

水痘（入院例に限る）の病型は、臨床診断例4例、検査診断例5例であった。男性8例（1～10歳未満1例、20代1例、30代2例、40代1例、50代3例）、女性1例（10代）であり、ワクチン接種歴は無しが1例、不明が8例であった。推定感染経路は、飛沫・飛沫核感染が2例、接触感染2例、院内感染1例、不明4例であった。

梅毒は2014年より届出数の増加が続いており、2019年には過去10年で最多の74例の届出があった。男性52例（10代1例、20代13例、30代17例、40代8例、50代9例、60代3例、80代1例）、女性22例（10代3例、20代8例、30代7例、40代2例、90代2例）であり、2014年以降、10代からの報告が続いている。女性の届出数は昨年に比べ倍増しており、特に20代～30代での増加が著しく、20代女性のうち2例は、妊娠13週および15週であった。患者の病型

は、早期顕症梅毒 61 例（Ⅰ期：男性 35 例，女性 5 例，Ⅱ期：男性 10 例，女性 11 例），無症候（無症状病原体保有者）13 例（男性 7 例，女性 6 例）であり，無症候のうち 50 代男性 1 例は，HIV 感染症の合併があった．感染経路は性的接触が 65 例（同性間 7 例，異性間 48 例，経口 2 例，不明 8 例），不明 9 例であり，同性間 7 例のうち 6 例は男性であった．また，性風俗産業の従事歴（直近 6 か月以内）があった事例は 5 例あり，性風俗産業の利用歴（直近 6 か月以内）があった事例は 18 例であった．推定感染地域は，奈良県が 26 例，奈良県以外（都道府県不明を含む）が 25 例，不明は 23 例であった．

播種性クリプトコックス症 3 例は，60 代男性，70 代男性，40 代女性であった．60 代男性では，後天性免疫不全症候群によるものとされており，40 代女性では髄腔播腫，70 代男性では心臓手術後に発症したと記載があった．

破傷風 1 例は 30 代男性で，感染原因や経路は不明であり，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，その他発汗・発熱と記載されていた．

バンコマイシン耐性腸球菌感染症は，男性 1 例（80 代），女性 3 例（60 代 2 例，80 代 1 例）の計 4 例の届出があった．病原体検出部位（菌種）としては，血液・便 1 例（*Enterococcus faecium*），腹水 1 例（*Enterococcus faecium*），胆汁 1 例（不明），尿 1 例（*Enterococcus faecium*）であった．いずれも耐性遺伝子の検索は実施されていなかった．感染原因・経路は，接触感染 1 例，尿路感染 1 例，不明 1 例あり，その他進行がんによる小腸切除により少量の腸液が漏出し，腹水に感染したものと考えられる旨の記載があった．

百日咳は，2018 年より全数把握対象に変更にされた疾患であり，男性 16 例（6 ヶ月未満 1 例，1～5 歳未満 1 例，5～10 歳未満 3 例，10 代 4 例，20 代 1 例，40 代 1 例，50 代 2 例，60 代 2 例，70 代 1 例），女性 21 例（6 ヶ月未満 3 例，1～5 歳未満 1 例，5～10 歳未満 2 例，10 代 5 例，30 代 1 例，40 代 2 例，50 代 2 例，60 代 2 例，70 代 3 例）であった．届出数は昨年の 56 例より減少したが，小児だけでなく幅広い年齢層から届出があり，2019 年では 60 代以降からの届出もみられた．感染経路は家族内感染（母親）1 例，家族内感染（父親）1 例，家族内感染（同胞）6 例，家族内感染（不明）4 例，職場にて 1 例，友人から 1 例，その他学校での流行が 2 例，職場での流行 1 例，地域での流行が 2 例，不明が 18 例あった．ワクチン接種

歴は，1 歳～20 歳未満では 16 例中 9 例で 4 回接種，1 例は 1 歳のため 3 回接種までの記載があり，4 例は未接種，2 例は不明であった．成人では，17 例中 2 例で 4 回接種，15 例は不明であった．

風しんの届出は 15 例あり，2018 年の夏頃から流行がはじまり，2019 年も報告数は増加した．なお，15 例の報告のうち，12 例は 1～3 月に届出があった．患者は，男性 12 例（10 代 1 例，20 代 1 例，30 代 2 例，40 代 3 例，50 代 3 例，60 代 2 例），女性 3 例（10 代 1 例，20 代 2 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，20 代男女各 1 例では 1 回接種歴有り，10 代女性 1 例では 2 回接種歴有り，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 3 例，その他 12 例は不明であった．推定感染地域は，奈良県 3 例，県外（都道府県不明含む）5 例，中華人民共和国 1 例，不明 6 例であった．また，検査診断例は 13 例あり，当センターでウイルス遺伝子検査が実施された 12 例中 7 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．なお，残りの 5 例については風しんウイルスが検出されず，発疹出後，遺伝子検査検体採取までの日数が約 1 週間以上経過していた．

麻しんは，全数把握対象疾患となった 2008 年では 12 例の届出があり，それ以降は 0～3 例の届出であったが，2019 年では 9 例の報告があり，2009 年以降で最多となった．男性 6 例（1～5 歳未満 2 例，20 代 1 例，30 代 2 例，40 代 1 例），女性 3 例（10 代 1 例，20 代 1 例，30 代 1 例）であり，病型は麻しん（検査診断例）4 例，修飾麻しん（検査診断例）5 例であった．ワクチン接種歴は，1～5 歳未満の 2 例および 30 代男女各 1 例で 1 回接種，20 代男性で 2 回接種，その他については無しまたは不明であった．病型別のワクチン接種歴は，麻しん 4 例中 2 例で 1 回接種，残り 2 例は無しまたは不明であり，修飾麻しん 5 例中 1 例で 2 回接種，2 例で 1 回接種，残り 2 例は無しまたは不明であった．患者推定感染経路は，飛沫感染 2 例，接触感染 1 例，その他（国外からの持ち込み）1 例，不明 5 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，国外 2 例（タイ，ミャンマー），不明 1 例であった．また，全例について，当センターでウイルス遺伝子検査が実施されており，6 例から全国的に検出されている D8 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。

表2 患者定点医療機関数（2019年4月現在）

地区	北部		中部		南部		合計
保健所	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：2018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、全国並み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、全国並みであった疾患は、咽頭結膜熱、感染性胃腸炎、全国より少なかった疾患は、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、水痘、手足口病、伝染性紅斑、ヘルパンギーナ、流行性耳下腺炎であった。令和元年の年間定点当たり報告数で、上位5疾患の①感染性胃腸炎、②インフルエンザ、③手足口病、④A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、⑤RSウイルス感染症について、以下に発生状況を述べる。

#### (1) 感染性胃腸炎

概ね、全国と同様の推移であったが、前半の第20週までは、報告数が全国を上回る週が多くみられ、その期間でのピークの定点当たり報告数は第17週の11.41であった。また、後半では第46週以降、報告数が全国より多くなり、第51週には定点当たり報告数が10.62と二度目のピークを迎えた（図1）。

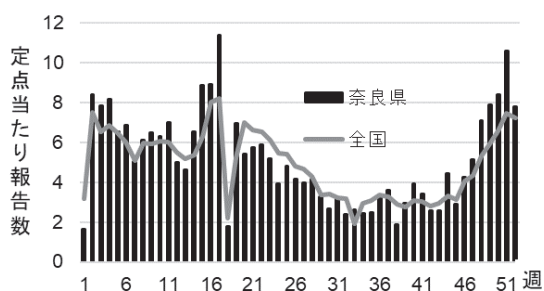


図1 感染性胃腸炎

#### (2) インフルエンザ

1年を通して、報告数は全国より少なかった。第2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週をピークとし、第6週まで警報は継続した。また、年末の第47週に流行の目安となる1を超え、第51週に全国より1週遅く注意報基準値の10を超えた（図2）。

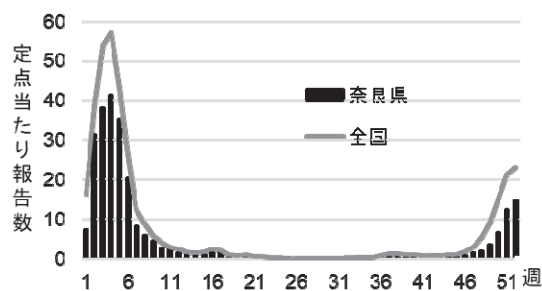


図2 インフルエンザ

#### (3) 手足口病

第24週に定点当たり報告数が警報開始基準値の5を超え、第34週まで警報が続いた。ピークは、第28週の定点当たり報告数が10.91のときであり、全国より早く減少した（図3）。

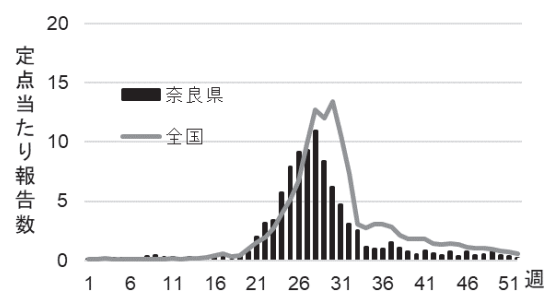


図3 手足口病

#### (4) 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16週では定点当たり報告数が3.44となり、全国より多かった（図4）。

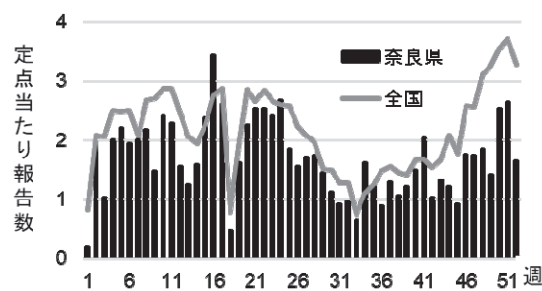


図4 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

#### (5) RSウイルス感染症

第35週頃より増加が始まり、第37週に定点当たり報告数が5.94とピークを迎え、その後徐々に減少した。

表3 2019年 週単位報告対象疾患 報告数

定点	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29					
※	インフルエンザ	406	1730	2097	2283	1947	1121	461	329	251	152	136	83	58	47	54	107	110	10	22	32	10	14	7	1	0	6	2	0					
	RSウイルス感染症	4	6	14	27	6	11	10	20	39	31	34	30	33	19	13	25	26	0	10	23	12	5	2	2	3	4	9	6					
	咽頭結膜熱	6	11	8	12	12	20	21	15	19	19	11	7	9	8	16	19	22	7	26	17	20	22	17	27	31	32	19	27	48				
	A群溶連菌咽頭炎※※	6	68	35	68	75	66	68	74	50	82	78	53	42	54	81	117	89	16	55	77	86	86	82	91	63	53	58	59	49				
	感染性胃腸炎	55	286	267	278	223	234	172	208	221	214	238	170	157	223	302	304	388	61	236	185	196	201	176	133	164	141	135	141	111				
	水痘	7	12	4	21	4	12	7	12	4	12	12	8	3	7	9	1	7	1	8	7	6	11	25	17	23	12	10	11	4				
	手足口病	4	4	7	6	7	7	0	12	14	9	10	3	9	6	7	11	17	2	15	26	67	108	116	195	268	310	317	371	285				
	伝染性紅斑	3	7	6	6	1	1	5	0	2	3	3	6	10	7	8	6	13	0	6	13	12	9	25	13	28	33	24	31	23				
	突発性発しん	4	18	13	9	6	7	9	14	10	7	15	10	12	11	14	12	8	3	16	14	22	15	23	19	18	12	14	23	11				
	ヘルパンギーナ	0	1	1	2	1	0	1	1	0	0	1	1	1	0	0	1	2	1	3	5	6	13	27	24	39	66	64	85	64				
	流行性耳下腺炎	1	1	4	0	0	3	0	1	1	2	1	0	1	2	1	1	2	1	0	1	2	4	3	5	3	2	3	1	2	2			
	急性出血性結膜炎	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	0			
	流行性角膜炎	4	13	5	6	1	3	7	9	6	6	7	7	9	8	5	9	4	0	11	6	12	9	6	7	3	6	5	7	6	6			
	細菌性髄膜炎	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0		
	無菌性髄膜炎	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	
	マイコプラズマ肺炎	2	1	3	1	2	2	0	1	1	0	2	2	1	3	2	3	1	0	1	0	1	2	0	1	1	1	0	0	0	0	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	0	0	0	0
	感染性胃腸炎(ロタウイルス)	0	0	0	0	0	1	0	2	0	0	14	2	4	6	9	4	15	7	6	1	2	1	1	1	1	1	0	2	1	0	1	0	1
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	1	0	1	2	0	2	15	10	15	21	12	7	16	16	19	31	48	78	112	203	365	679	812	13964	253.89	379.73	-						
	RSウイルス感染症	13	29	30	37	52	99	147	202	149	134	146	120	87	80	53	32	26	11	36	27	28	15	34	2017	59.32	44.38	56.30						
	咽頭結膜熱	17	17	10	18	17	15	14	13	5	8	19	20	5	18	15	9	13	6	9	15	14	25	17	817	24.03	23.91	22.81						
	A群溶連菌咽頭炎※※	38	31	33	22	55	41	30	44	36	41	51	69	35	45	41	31	60	59	63	48	86	90	56	2986	87.82	112.51	83.35						
	感染性胃腸炎	90	109	81	89	83	85	109	122	64	101	134	116	87	87	151	99	144	174	242	269	286	361	265	9168	269.65	256.36	255.91						
	水痘	7	9	4	0	6	2	7	11	1	5	1	3	1	2	4	7	4	8	5	14	10	12	11	411	12.09	18	11.47						
	手足口病	211	159	104	86	39	32	34	52	35	25	18	29	21	14	24	13	26	15	17	25	15	11	7	3225	94.85	127.54	90.02						
	伝染性紅斑	26	30	10	17	25	23	21	14	9	7	22	14	13	32	24	34	27	40	30	44	30	36	34	866	25.47	34.29	24.17						
	突発性発しん	17	16	16	6	18	16	17	19	8	13	10	13	14	8	11	8	13	8	12	14	14	10	13	663	19.5	20.44	18.51						
	ヘルパンギーナ	62	74	58	56	17	46	36	32	5	9	9	5	1	1	3	5	4	1	1	3	2	1	2	842	24.76	30.76	23.50						
	流行性耳下腺炎	4	3	1	0	4	3	1	2	2	2	4	1	1	0	3	1	1	1	1	1	1	4	1	91	2.68	4.8	2.54						
	急性出血性結膜炎	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	0	0	0	
	流行性角膜炎	6	3	7	5	2	6	4	10	6	4	6	6	3	3	4	2	3	4	2	9	2	0	2	286	28.6	33.25	-						
	細菌性髄膜炎	2	1	2	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	4	22	3.67	1	-	-	-	-	-		
	無菌性髄膜炎	0	1	0	0	3	4	1	0	0	2	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	23	3.83	1.69	-	-	-	-	-	-	
	マイコプラズマ肺炎	3	4	1	1	3	0	0	3	1	2	1	1	1	4	0	4	2	1	2	2	0	4	1	76	12.67	12.67	-	-	-	-	-	-	
	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	0	0	0	0
	感染性胃腸炎(ロタウイルス)	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	81	13.5	9.82	-	-	-	-	-	-	

※インフルエンザ  
※※A群溶血性レンサ球菌咽頭炎と表示している

※)人口千対出生数(出生率)からみた新生児数の全国との比較:全国7.4,奈良県6.7(ともに2018年値),突発性発しんからみた  
捕捉割合を20.44/19.5として,本県の定点当たり報告数は,(20.44/19.5×6.7/7.4)を乗じて計上してみた。

全国より報告数は多い状況であった。(図5)。

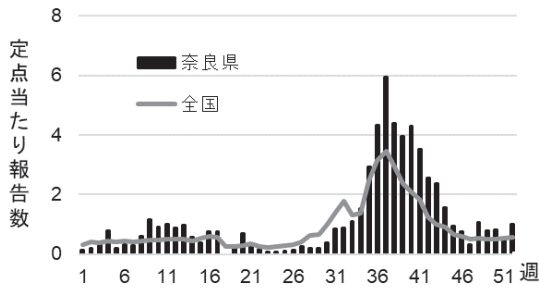


図5 RSウイルス感染症

## 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、尖圭コンジローマの男性からの報告数が減少したが、その他3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、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

近年、全国的に梅毒の報告数は増加しており、本県においても急増し、2019年では過去10年で最多となった。男性の届出数は年齢幅が広いのに対して、女性は10代から30歳で8割以上を占めており、全国同様、若齢女性の届出数増加が目立っていた。今後も動向に注視し、適宜注意喚起に努めたい。

風しんは2018年の夏以降から全国的に流行が広がり、麻しんは2019年2月頃に近隣自治体の大型商業施設における患者の発生があったことから、本県においても両疾患のウイルス遺伝子検査数は増加し、届出

数も増加した。風しんおよび麻しんは、ともに2019年の後半には届出数が落ち着いたが、今後も積極的な注意喚起を実施し、今後の患者発生を抑えるよう努めていきたい。

手足口病や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、流行期には、週報やホームページ等で、情報提供および注意喚起を行った。

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。

表4 2019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 感 染 症	性器クラミジア感染症	男 女	9 14	6 4	8 10	7 10	4 5	8 5	10 8	8 2	8 8	8 10	4 7	8 11	88 94
	性器ヘルペスウイルス感染症	男 女				2 4	2 3	2 6	1 4	1 4	3 3	3 3	3 3	4 4	10 48
尖 圭 コ ン ジ ロ ー マ		男 女		1 3	2 1		3 1		2 3	1 3	1 5	1 1	1 1	1 1	9 23
	淋菌感染症	男 女	2 2	4 4	4 2	4 2	2 2	4 2	6 6	5 5	3 3	1 1	2 2	2 2	39 8
薬 剤 耐 性 菌	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	男 女	34 17	41 17	25 10	41 14	27 19	27 14	27 11	29 23	30 14	28 18	36 20	28 3	373 180
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	男 女	3 2	3 2	2 2	3 3	3 5	2 1	3 2		2 1	2 2	2 1	1 1	23 20
	薬剤耐性緑膿菌感染症	男 女		1 1							2			3 1	



## 第3章 調査研究・報告

### 第3節 資 料





# 食品中メチル水銀の定量分析のためのフェニル誘導体化 GC-MS 法の確立について

西山隆之・安藤尚子・立本行江

Establishment of the GC-MS Method Following Phenylation to Quantify Methylmercury in Foods

Takayuki NISHIYAMA・Naoko ANDO and Yukie TATSUMOTO

## 緒言

メチル水銀は、環境中に蓄積し分解されにくいいため、摂取量が多い場合には、水俣病のような中毒症状を引き起こすほか、胎児の中枢神経の発達にも影響を及ぼすことが報告されている。また、メチル水銀は、生物濃縮のため食物連鎖の上位に位置するマグロなど大型水産動物に特に多く含まれている。これに対し厚生労働省は、該当する水産動物の大量摂取を介した健康危害の未然防止の観点から、妊婦らを対象とし、摂取に関し注意を喚起している。

(<https://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/dl/index-a.pdf>)

当センターにおいて食品に含まれるメチル水銀の分析は、塩酸・ベンゼン抽出、ガスクロマトグラフィー電子捕獲型検出 (GC-ECD) 法が通知法として示され実施している。通知法は発がん性が指摘されているベンゼンを使用することに加え、パックドカラムを使用するために分解能が低い。また、検出器の選択性及び安定性にも問題がある。

本検討では、厚生労働科学研究補助金食品の安全確保推進事業<sup>1)</sup>を参考に、フェニル誘導体化を介して、測定に汎用性の高い GC-MS により測定する方法を検討し、定量法を確立したので報告する。

## 方法

### 1. 試料

試料は県内で入手した北海道産サンマを用いた。サンマはフードプロセッサであらかじめ均質化し、冷凍保存した。また、試料の総水銀は 0.06 ppm であった。

### 2. 試薬

メチル水銀標準品は東京化成工業 (株) 製塩化メチル水銀 (純度 > 75%) を使用した。無水硫酸銅 (II) は試薬一級、テトラフェニルほう酸ナトリウムはガスクロマトグラフ用、その他の試薬は試薬特級の富士フイルム和光純薬 (株) 製を使用した。

メチル水銀標準原液 (1,000 ppm) は、塩化メチル水銀 77.6 mg をトルエンで溶解し 50 mL に定容した。

標準原液 1 mL を採取しトルエンで 100 mL に定容し、さらにその 1 mL を採取しトルエンで 100 mL に定容したものをメチル水銀標準溶液とした (メチル水銀として 0.1 ppm)。

硫酸銅 (II) 飽和 4 mol/L 硫酸は水 600 mL に濃硫酸 200 mL を加え、放冷後、水で 900 mL に定容した後、無水硫酸銅 (II) を飽和するまで溶解した。

1% L-システイン溶液は硫酸ナトリウム 125.0 g を量りとり加温溶解し、L-システイン塩酸塩一水和物 10.0 g、酢酸ナトリウム三水和物 8.0 g を加えて溶かし全量を 1 L とした。

1% テトラフェニルほう酸ナトリウム溶液はテトラフェニルほう酸ナトリウム 0.2 g を 0.2 mol/L りん酸緩衝液 (pH 7.0) で溶解 20 mL に定容した。

### 3. 装置及び測定条件

遠心分離機は日立工機 (株) 製 Himac CR 22G、GC-MS は島津 (株) 製 GC/MS-QP2010SE を使用した。GC-MS の測定条件を表に示した。

表 GC-MS 条件

カラム	DB-5MS (内径 0.25 mm, 膜厚 0.25 μm × 長さ 30 m)
注入モード	Splitless
キャリアガス	He
線速度モード	36.2 cm/秒
気化室温度	250°C
カラム温度	70°C (2 min) - 15°C/min - 280°C (5 min)
注入量	1 μL
イオン源温度	250°C
インターフェイス温度	270°C
イオン化モード	EI
測定モード	SIM
モニターイオン	m/z 294 (定量), 292 (定性)

### 4. 試験溶液の調製

試験溶液の調製方法を図に示した。既報<sup>2)</sup>のフェニル誘導体化までの工程 1/4 スケールで検討を行った。

均質化した試料 2.5 g を秤取し、アセトンを 25 mL 加え 30 秒間振とう後、室温で 3,000 rpm、5 分間遠心分離し、デカンテーションによりアセトンを除去した。残渣にトルエン 25 mL を加え同様に操作しトルエンを除去した。

残渣に、1 mol/L 臭化カリウム溶液 10 mL、硫酸銅 (II) 飽和 4 mol/L 硫酸 10 mL 及びトルエン 20 mL を加え、30 分間振とう後、室温で 3,000 rpm、20 分

間遠心分離し、トルエン層を採取した。再度、水層にトルエン 12.5 mL を加え 10 分間振とう後、同様に遠心分離し、先のトルエン層に合わせた。

トルエン層に 1%L-システイン溶液 12.5 mL を加え、5 分間振とうした。エマルジョンが生じた場合、室温で 3,000 rpm、10 分間遠心分離し、静置後、水層を採取し、これに 6 mol/L 塩酸 7.5 mL、トルエン 7.5 mL を加え、5 分間振とう後トルエン層を採取した。水層にトルエン 7.5 mL を加え 5 分間振とう後トルエン層を採取する操作を 2 回繰り返す、トルエン層を合わせトルエンで 25 mL に定容した。

定容後のトルエン溶液 4 mL を正確に量り取り、0.2 mol/L リン酸緩衝液 (pH7.0) 5 mL、1%テトラフェニルほう酸ナトリウム溶液 1 mL を加え、室温で 10 分間振とうしフェニル誘導体化を行った。

誘導体化反応後の溶液を室温で 3,000 rpm、10 分間遠心分離しトルエン層を採取し、無水硫酸ナトリウムを加えて脱水した。脱水したトルエン溶液 1 mL を試験溶液とし、GC-MS で測定した。

## 5. 検量線

メチル水銀標準溶液を量り採りトルエンで段階希釈し 0, 5, 10, 25, 50, 75, 100 ppb とした。試料と同様にフェニル誘導体化以降の操作を行い、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

標準溶液 0~100 ppb の範囲で良好な直線性 ( $R^2 \geq 0.999$ ) が得られた。5 ppb の S/N 比は、52 であった。

### 2. 添加回収試験

試料 2.5 g に 0.3 ppm となるようにメチル水銀を添加し、30 分間室温放置後、 $n=3$  の添加回収試験を実施した。回収率 75~80%、CV (%) 4.3 の良好な結果であった。

## 考察

フェニル誘導体化 GC-MS を使用した魚介類のメチル水銀の定量について検討した。添加回収試験の平均回収率は 75~80%、CV (%) は 4.3 となった。今後、魚介類中の総水銀が 0.4 ppm を超えた場合に GC-MS によるメチル水銀の定量法として使用できると考えられた (定量下限値 0.005 ppm)。

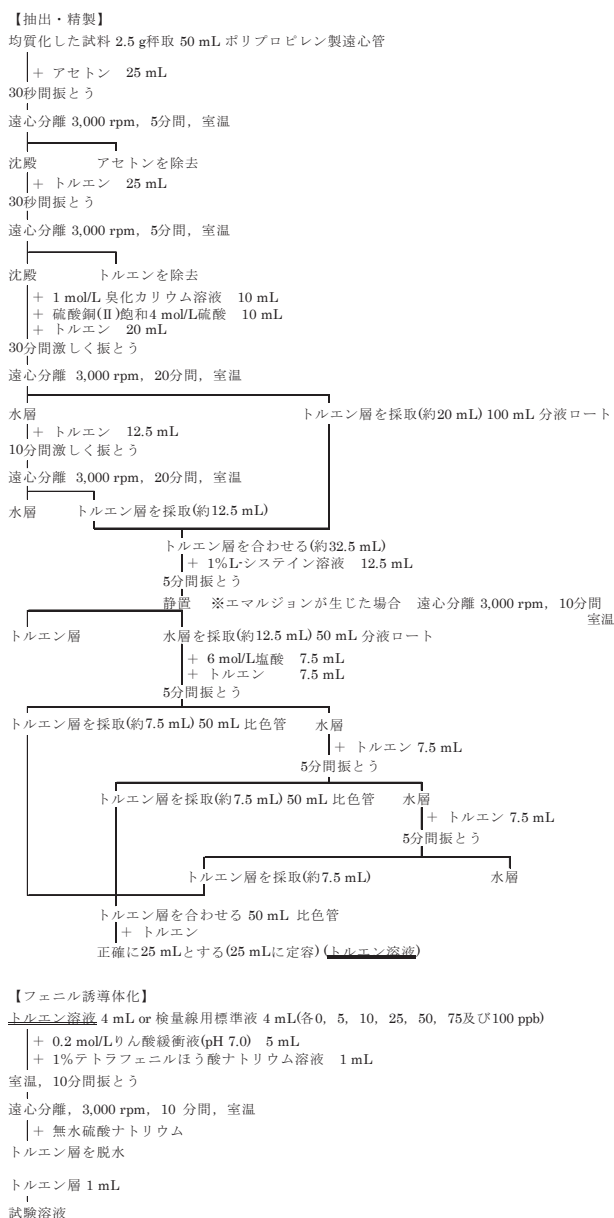


図 試料溶液の調製フロー

## 文献

- 1) 渡邊敬浩, 片岡洋平: 平成 25 年度厚生労働科学研究補助金食品の安全確保推進研究事業「食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究」
- 2) 渡邊敬浩, 菊池博之, 松田りえ子, 他: 食衛誌, 56, 69-76 (2015)

## QuEChERS 法による鶏の筋肉中のサルファ剤の一斉試験法の検討

米田正樹・西山隆之・立本行江

Simultaneous Analysis of Sulfonamides in Chicken Muscle by QuEChERS methods

Masaki YONEDA・Takayuki NISHIYAMA and Yukie TATSUMOTO

### 緒言

農薬等のポジティブリスト制度が施行されたことにより、動物用医薬品は従来の33項目から約250項目に対象が拡大され、より簡便な方法で多種の動物用医薬品を対象とした一斉試験法の開発が急務となっている。一方、厚生労働省の通知で定められた試験法以外の方法によって試験を実施する場合には、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン<sup>1)</sup>」(以下、「ガイドライン」という。)により、独自試験法が基準に適合しているかを確認することが求められている。

そこで、近年導入が進んでいる QuEChERS 法<sup>2)</sup>を鶏の筋肉中のサルファ剤の一斉試験法に適用しガイドラインへの適合状況を確認したので報告する。

### 方法

#### 1. 試料

奈良県内で流通している鶏の筋肉を用いた。試料はメスで脂肪を除去した後、フードプロセッサーで均一化した。すぐに使用しない場合は小分け冷凍保存し、使用時に解凍して用いた。

#### 2. 検査対象

富士フィルム和光純薬(株)製動物用医薬品混合標準液(サルファ剤+葉酸代謝拮抗薬)(各20 µg/mL)に含まれるサルファ剤23化合物を対象とし適宜希釈して使用した。

#### 3. 試薬等

アセトニトリルは富士フィルム和光純薬(株)製残留農薬分析用、超純水は富士フィルム和光純薬(株)製 LC/MS 用、メタノールは富士フィルム和光純薬(株)製残留農薬分析用および LC/MS 用を用いた。ギ酸は富士フィルム和光純薬(株)製高速液体クロマトグラフ用を用いた。QuEChERS 法による抽出および精製は以下のキットを使用した。QuEChERS 抽出キットは Agilent 社製 QuEChERS extraction kit, Veterinary Drugs, non-buffered を、分散キットは Agilent 社製 QuEChERS Dispersive Kit, Vet Drug in

Food, AOAC method を使用した。追加の精製としてタンパク質およびリン脂質の除去に Agilent 社製 Captiva 3 mL Non-Drip Lipids を使用した。15 mL 用および 50 mL 用セラミックホモジナイザは Agilent 社製を用いた。

#### 4. 装置

LC-MS/MS は、Waters 社製の液体クロマトグラフ ACQUITY UPLC H-Class および同社製質量分析計 Xevo TQ-S micro を使用した。遠心機は日立工機(株)社製 Himac CR22G を使用した。

#### 5. 測定条件

##### 1) LC 条件

カラム: Waters 社製 AQUITY UPLC BEH C18 (内径 2.1 mm, 長さ 100 mm, 粒子径 1.7 µm), カラム温度: 40°C, 注入量: 2 µL, 移動相: 0.1%ギ酸(A液)および0.1%ギ酸メタノール溶液(B液), 移動相流速: 0.3 mL/min, グラジエント条件: 0 min (A:B = 95:5) → 1 min (A:B = 95:5) → 7 min (A:B = 75:25) → 9 min (A:B = 55:45) → 10.5 min (A:B = 10:90) → 12 min (A:B = 10:90) → 13 min (A:B = 95:5) → 16 min (A:B = 95:5)

##### 2) MS 条件

イオン化法: ESI(+), キャピラリー電圧: 3.5 kV, ソース温度: 150°C, 脱溶媒温度: 350°C, 脱溶媒ガス流量: 650 L/h, 各農薬の測定イオン (m/z): 表に示した。

#### 6. 試料溶液の調製

均一化した試料 10.0 g を 50 mL チューブに量り採り、1%ギ酸含有アセトニトリル溶液 10 mL を正確に加え、さらに 50 mL 用セラミックホモジナイザを入れ3分間振とうした。抽出キットを加えさらに1分間振とう後、3,500 rpm で15分間遠心分離した。遠心分離後、15 mL チューブに入った分散キットに上記のアセトニトリル層 4 mL を正確に分取し 15 mL 用セラミックホモジナイザを入れ、1分間振とう後、3,500 rpm で15分間遠心分離した。上清 1 mL を Captiva 3 mL Non-Drip Lipids に負荷し通過液 500 µL を分取し、

表 測定条件および妥当性評価結果

化合物名	R.T.	Precursor ion (m/z)	Product ion (m/z)	Cone (V)	Collision (V)	添加濃度 0.01 µg/g			添加濃度 0.05 µg/g		
						真度	併行精度	室内精度	真度	併行精度	室内精度
Sulfanilamide	-	173	141	2	6	-	-	-	-	-	-
Sulfacetamide	2.7	215	256	25	12	69%	7%	8%	80%	4%	6%
Sulfadiazine	4.0	251	92	30	27	77%	4%	4%	84%	6%	8%
Sulfisomidine	4.5	279	124	36	22	55%	7%	8%	59%	7%	7%
Sulfathiazole	4.9	256	92	31	25	72%	5%	6%	73%	8%	9%
Sulfapyridine	5.3	250	108	33	25	64%	6%	6%	68%	6%	6%
Sulfamerazine	5.7	265	92	35	25	80%	6%	6%	82%	6%	7%
Sulfisozole	5.9	240	92	28	24	80%	7%	7%	89%	7%	7%
Sulfametoxydiazine	6.8	281	92	12	28	84%	6%	6%	91%	5%	6%
Sulfadimidine	7.2	279	92	35	30	76%	6%	6%	81%	6%	7%
Sulfamethoxyppyridazine	7.6	281	92	35	30	74%	5%	5%	82%	7%	8%
Sulfachloropyridazine	8.0	285	92	32	28	86%	6%	7%	89%	6%	6%
Sulfamethoxazole	8.3	254	92	30	25	85%	6%	6%	92%	7%	7%
Sulfamonomethoxine	8.4	281	92	35	35	84%	6%	8%	88%	5%	8%
Sulfatroxazole	8.6	268	92	42	28	78%	5%	6%	89%	5%	6%
Sulfadoxine	9.1	311	156	35	15	79%	6%	7%	92%	6%	6%
Sulfisoxazole	9.1	268	156	30	13	85%	4%	6%	91%	6%	7%
Sulfabenzamide	9.5	277	92	30	25	72%	5%	6%	84%	5%	5%
Sulfaethoxyppyridazine	9.9	295	92	44	32	74%	6%	6%	82%	6%	7%
Sulfadimethoxine	10.5	311	156	36	20	83%	5%	6%	90%	6%	6%
Sulfaquinoxaline	10.7	301	92	32	30	80%	5%	7%	85%	5%	7%
Sulfanitran	11.4	336	65	42	42	89%	7%	8%	93%	3%	4%
Sulfabromomethazine	11.5	357	92	2	36	73%	5%	8%	81%	6%	9%

40℃以下、窒素気流下で溶媒を除去した。0.1%ギ酸含有 20%メタノール溶液 500 µL を加え残留物を溶解後、0.2 µm のフィルターでろ過し試験溶液とした。定量は 5, 10, 30, 50 および 75 ng/mL の標準溶液を調製し、装置に注入してピーク面積での絶対検量線法により行った。検量線は溶媒検量線による一次式を採用した。

## 7. 妥当性評価

添加濃度 0.01 µg/g および 0.05 µg/g の 2 濃度で分析者 1 名が併行数 2 で 5 日間の枝分かかれ試験により実施した。

## 結果

妥当性評価の結果を表に示した。23 化合物中 Sulfanilamide, Sulfacetamide, Sulfisomidine および Sulfapyridine の 4 化合物を除く 19 化合物でガイドラインの目標値 (0.01 µg/g は真度 70~120%, 併行精度 25% >, 室内精度 30% >, 0.05 µg/g は真度 70~120%, 併行精度 15% >, 室内精度 20% >) を達成した。Sulfanilamide は今回の条件ではクロマトグラムでピークが確認できなかった。Sulfacetamide, Sulfisomidine および Sulfapyridine は併行精度および室内精度は目標値を達成したが、真度はガイドラインの目標値である 70~120% を達成しなかった。

## 考察

今回使用した QuEChERS 法のキットでは 23 化合

物中 19 化合物でガイドラインの目標値を達成し、概ね良好な結果が得られた。一方で今回検討した試験法は Captiva 3 mL Non-Drip Lipids による追加精製時の通液性が悪く、またその後の溶媒除去に時間を要する等、操作上の課題も残った。

今後は鶏卵や牛や豚等のその他の家畜試料についても検討し、さらにサルファ剤だけでなくテトラサイクリン系抗生物質等使用量の多い他の動物用医薬品も一斉に試験できる試験法を検討することで、検査体制の充実をはかっていきたい。また QuEChERS 法のキットは各社から多種多様なキットが販売されている。各種キットの性能を比較することでコスト面を意識しながら、当センターの検査室の環境下でより最適なものを選択していくことが今後の検査項目の充実をはかる上で重要と考える。

## 文献

- 1) 医薬食品局食品安全部長通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」、食安発第 1115001 号、(平成 19 年 11 月 15 日)
- 2) Anastassiades M., Lehotay S. J., Stajnbaher D. et al.: *JAOAC Int.*, 86, 412-431(2003)

## 奈良県における A 群ロタウイルスの遺伝子解析 (2018/19 シーズン)

松浦侑輝・尾西美咲・松本朋子・千葉翔子・阪本孝幸・稲田真知

### Clinical and virological surveillance of Group A Rotavirus in Nara prefecture. (2018/19 Epidemic Seasons)

Yuki MATSUURA・Misaki ONISHI・Tomoko MATSUMOTO・Shoko CHIBA・Takayuki SAKAMOTO  
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, 先進国であっても 5 歳までにほとんど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, なかでも中和抗原を有するとされる外殻蛋白の VP7 領域 (外殻糖蛋白, G 型), VP4 領域 (スパイク蛋白, P 型) の遺伝子型で分類されることが多い。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。

現在, 単価 (G1P[8]) と 5 価 (G1, G2, G3, G4, P[8]) の 2 種類の経口弱毒生ロタウイルスワクチンがあり, 既に 80 カ国以上で定期接種化されている。RVA の主要な流行遺伝子型は, ワクチン導入以前は G1, G2, G3, G4, G9 型の 5 種類とされていたが, ワクチン導入後は, 非典型的な遺伝子型構成を持つ DS-1-like G1 や DS-1-like G3 (equine-like G3), 以前はマイナーだった G8 (bovine-like G8) など, 新規の流行株が続々と出現し, 広く流行が認められている<sup>2, 3)</sup>。流行する遺伝子型分布への影響を監視するためには, より詳細な分子疫学調査が必要とされている。

奈良県では, 1999 年から継続して, RVA の G 型 P 型について調査している<sup>4, 5)</sup>。今回は奈良県における 2018/19 シーズンの RVA の遺伝子型に関する調査結果について報告する。

#### 方法

奈良県感染症発生動向調査において 2018/19 シーズン (2018 年 9 月~2019 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>6)</sup> に準じたマルチプレックス RT-PCR 法により, G および P 型別を行った。一部の検体についてはパーシ

ャルシークエ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, ワクチン接種歴等を抽出した。

#### 結果

2018/19 シーズンの小児の検体で RVA を検出したのは 127 検体であり, 遺伝子型は G9P[8]型 (103 検体, 81.1%) を最も多く検出した。次いで G3P[8]型 (18 検体, 14.2%), G2P[4]型 (5 検体, 3.9%) となった (表)。近年の奈良県の流行株は G2P[4]型, G3P[8]型で, G9P[8]型が主流株となるのは 5 シーズンぶりであった。

表 遺伝子型別検出数

遺伝子型	検出数
G2P[4]	5
G3P[8]	18
G9P[8]	103
不明	1
計	127

検出した患者の年齢は, 0 歳 4 例, 1 歳 38 例, 2 歳 22 例, 3 歳 14 例, 4 歳 17 例, 5 歳 14 例, 6 歳 5 例, 7 歳 4 例, 8 歳 3 例, 9 歳以上 6 例であった。検出した者のうちワクチン接種歴があったのは 70 例 (単価 33 例, 5 価 37 例) であった。

患者の症状は, 下痢・嘔吐からみると, 下痢・嘔吐 1 回 2 例 (ワクチン接種無し 2 例 (100%)), 下痢・嘔吐 2 回以上 116 例 (単価ワクチン接種有り 31 例 (26.7%), 5 価ワクチン接種有り 35 例 (30.2%), ワクチン接種無し 49 例 (42.2%), 不明 1 例 (0.9%)), 下痢・嘔吐回数不明 9 例 (単価ワクチン接種有り 2 例 (22.2%), 5 価ワクチン接種有り 2 例 (22.2%), ワクチン接種無し 4 例 (44.4%), 不明 1 例 (11.1%)) であった。

検出した遺伝子型は, 患者のワクチン接種歴からみると, 単価ワクチン接種者では G2P[4]1 例 (3.0%),

G3P[8]2例(6.1%), G9P[8]29例(87.9%), 5価ワクチン接種者ではG3P[8]2例(5.4%), G9P[8]35例(94.6%), ワクチン無接種者ではG2P[4]4例(7.3%), 3P[8]13例(23.6%), G9P[8]38例(69.1%)であった。

### 考 察

2018/19シーズンの主流行株はG9P[8]型であり、近隣の大阪府・兵庫県で多く検出された株とおなじ遺伝子型をもつ株であった。G2P[4]型が主流行型であった2016/2017シーズン、G3P[8]型が主流行型であった2017/2018シーズンと比較すると、主流行型の年次変動が続いていることが明らかになった。また、2018/19シーズンより以前、奈良県のG9P[8]型の検出数は微増と微減を繰り返しており、大きな変化は見られなかったが、2018/19シーズンで大きく増加し、過去20シーズンで最大の検出数となった。一方で、ワクチン導入後、全国的に検出数が大きく増加したG8型<sup>7)</sup>は、奈良県では検出されず、全国的な流行状況との解離があることが明らかになった(図1, 2)。2018年3月にG9P[8]のうちL6に属するウイルスのNSP4遺伝子がE1からE2に組み換わったモノリアソータントウイルスを原因とする、大阪府内の新生児集中治療室(NICU)におけるRVAの集団発生が報告されており、大阪府におけるG9P[8]の流行もこのモノリアソータントウイルスが一因であることが示唆されている<sup>8)</sup>。奈良県でのG9P[8]型の流行についても同一ウイルスが原因である可能性があるため、変異株の発生を把握するためには、NSP4領域のようなVP7, VP4領域以外の領域についても型識別を行い、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。

患者年齢についてみると、0~2歳の患者の割合が50.3%(127例中64例)であり、2004年9月~2019年8月に全国で検出された0~2歳の患者の割合である67%<sup>7)</sup>と比較すると、0~2歳の患者の割合がやや少なく、3歳以上の患者の割合が高くなっていった。

ワクチンの接種歴と症状についてみると、接種歴の有る者と無い者で、下痢・嘔吐の回数に差は見られなかった。一方で、検出された遺伝子型についてみると、接種歴の有る者では、G2P[4]型、G3P[8]型を検出する割合が低く、G9P[8]を検出する割合が高くなった。

2020年10月1日から、ロタウイルスワクチンを定期接種の対象とすることが厚生科学審議会予防接種・ワクチン分科会で決定され、国内においてワクチンを導入した際の有効性や安全性を監視することが今後の主な課題となった。ワクチン導入前後の重症例を中心

としたロタウイルスによる感染症の発生動向、ワクチンの選択圧等による野生株のウイルス学的な変化について注意する必要がある、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必要があると考える。

図1 奈良県のVP7遺伝子型検出数

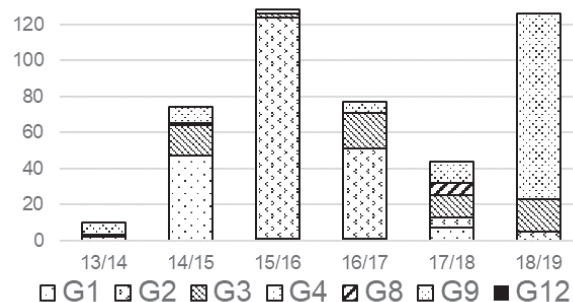
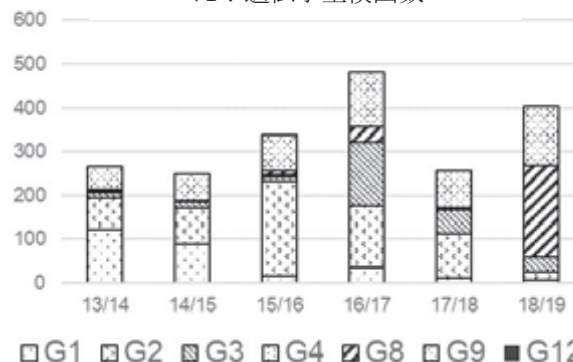


図2 全国(奈良県をのぞく)のVP7遺伝子型検出数



### 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, 87-96 (2012)
- 2) Fujii Y, et al: *Front Microbiol*, 10, 38, (2019)
- 3) Komoto S, et al: *J. Med. Virol.*, 90, 890-898, (2018)
- 4) 杉本大地, 中野守, 稲田真知, 他: *臨床とウイルス*, 44, 121-126 (2016)
- 5) 米田正樹, 北堀吉映: *感染症学雑誌*, 89, 609-612 (2015)
- 6) 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
- 7) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報 40 201-203 (2019)
- 8) 左近直美, 白井達也, 本村和嗣, 他: 病原微生物検出情報, 40, 208-209 (2019)

## 第3章 調査研究・報告

### 第4節 報告書等





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）

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（研究代表者 渡辺卓穂<sup>1)</sup>）

研究分担報告書

## 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>

<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

令和元年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究（代表研究者 泉谷秀昌<sup>1)</sup>）

分担研究報告書

## 高度解析法の構築と近畿ブロックにおける情報共有体制の構築の検討

河合高生<sup>2)</sup>・若林友騎<sup>2)</sup>・梅川奈央<sup>2)</sup>・高橋佑介<sup>2)</sup>・原田哲也<sup>2)</sup>・河原隆二<sup>2)</sup>・勢戸和子<sup>2)</sup>・  
河野智美<sup>3)</sup>・小仲兼次<sup>4)</sup>・武田直樹<sup>4)</sup>・渡辺正義<sup>5)</sup>・荻田堅一<sup>6)</sup>・濱 夏樹<sup>7)</sup>・野本竜平<sup>7)</sup>・  
横田隼一郎<sup>8)</sup>・黒田久美子<sup>8)</sup>・村山隆太郎<sup>9)</sup>・平垣内雅規<sup>9)</sup>・福田弘美<sup>10)</sup>・岩崎直昭<sup>10)</sup>・  
佐伯美由紀・池端孝清<sup>11)</sup>・寺杣文男<sup>12)</sup>・中岡加陽子<sup>12)</sup>

<sup>1)</sup>国立感染症研究所，<sup>2)</sup>大阪健康安全基盤研究所，<sup>3)</sup>滋賀県衛生科学センター，<sup>4)</sup>京都府保健環境研究所，  
<sup>5)</sup>京都市衛生環境研究所，<sup>6)</sup>兵庫県立健康生活科学研究所，<sup>7)</sup>神戸市環境保健研究所，<sup>8)</sup>姫路市環境衛生研  
究所，<sup>9)</sup>尼崎市衛生研究所，<sup>10)</sup>堺市衛生研究所，<sup>11)</sup>和歌山市衛生研究所，<sup>12)</sup>和歌山県環境衛生研究センタ  
ー

令和元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）

食品中の食中毒細菌の制御法の確立のための研究（代表研究者 工藤由起子<sup>1)</sup>）

総括研究報告書

工藤由起子<sup>1)</sup>・大岡唯祐<sup>2)</sup>・大西貴弘<sup>1)</sup>・大塚佳代子<sup>3)</sup>・小西典子<sup>4)</sup>・尾畑浩魅<sup>4)</sup>・畠山 薫<sup>4)</sup>・鈴木 淳<sup>4)</sup>・山中拓哉<sup>5)</sup>・太田美香子<sup>5)</sup>・高橋幸子<sup>5)</sup>・佐藤德行<sup>5)</sup>・今野貴之<sup>6)</sup>・山谷聡子<sup>7)</sup>・佐藤千鶴子<sup>7)</sup>・床井由紀<sup>8)</sup>・磯部順子<sup>9)</sup>・木全恵子<sup>9)</sup>・柳本恵太<sup>10)</sup>・長岡宏美<sup>11)</sup>・赤地重宏<sup>12)</sup>・小林章人<sup>12)</sup>・永井佑樹<sup>12)</sup>・梅原成子<sup>13)</sup>・長谷川嘉子<sup>13)</sup>・吉田孝子・佐伯美由紀・平塚貴大<sup>14)</sup>・原田誠也<sup>15)</sup>・成松浩志<sup>16)</sup>・溝腰朗人<sup>16)</sup>・吉野修司<sup>17)</sup>・内山浩子<sup>17)</sup>・福留智子<sup>17)</sup>・宮平勝人<sup>18)</sup>・柿田徹也<sup>18)</sup>・大山み乃り<sup>18)</sup>・山田香織<sup>19)</sup>・土屋彰彦<sup>20)</sup>・曾根美紀<sup>20)</sup>・加藤直樹<sup>20)</sup>・高橋直人<sup>21)</sup>・濱 夏樹<sup>22)</sup>・丸山浩幸<sup>23)</sup>・甲斐明美<sup>24)</sup>・新井沙倉<sup>1)</sup>・大屋賢司<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>国立医薬品食品衛生研究所，<sup>2)</sup>鹿児島大学大学院医歯学総合研究科，<sup>3)</sup>埼玉県衛生研究所，<sup>4)</sup>東京都健康安全研究センター，<sup>5)</sup>岩手県環境保健研究センター，<sup>6)</sup>秋田県健康環境センター，<sup>7)</sup>宮城県保健環境センター，<sup>8)</sup>宇都宮市衛生環境試験所，<sup>9)</sup>富山県衛生研究所，<sup>10)</sup>山梨県衛生環境研究所，<sup>11)</sup>静岡県環境衛生科学研究所，<sup>12)</sup>三重県保健環境研究所，<sup>13)</sup>滋賀県衛生科学センター，<sup>14)</sup>広島県立総合技術研究所保健環境センター，<sup>15)</sup>熊本県保健環境科学研究所，<sup>16)</sup>大分県衛生環境研究センター，<sup>17)</sup>宮崎県衛生環境研究所，<sup>18)</sup>沖縄県衛生環境研究所，<sup>19)</sup>仙台市衛生研究所，<sup>20)</sup>さいたま市健康科学研究センター，<sup>21)</sup>静岡市環境保健研究所，<sup>22)</sup>神戸市環境保健研究所，<sup>23)</sup>福岡市環境局保健環境研究所，<sup>24)</sup>(公社)日本食品衛生協会

令和元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）

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究（代表研究者 渡邊治雄<sup>1)</sup>）

研究分担報告書

## 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

四宮博人<sup>2)</sup>・調 恒明<sup>3)</sup>・小川恵子<sup>4)</sup>・大野祐太<sup>4)</sup>・三津橋和也<sup>4)</sup>・宮島祥太<sup>4)</sup>・池田徹也<sup>4)</sup>・  
森本 洋<sup>4)</sup>・山上剛志<sup>5)</sup>・高橋洋平<sup>5)</sup>・武差愛美<sup>5)</sup>・佐藤千鶴子<sup>6)</sup>・小林妙子<sup>6)</sup>・倉園貴至<sup>7)</sup>・  
小西典子<sup>8)</sup>・間 京子<sup>9)</sup>・榎本啓吾<sup>9)</sup>・古川一郎<sup>10)</sup>・政岡智佳<sup>10)</sup>・松本裕子<sup>11)</sup>・小泉充正<sup>11)</sup>・  
柳本恵太<sup>12)</sup>・綿引正則<sup>13)</sup>・磯部順子<sup>13)</sup>・東方美保<sup>14)</sup>・永田暁洋<sup>14)</sup>・横山孝治<sup>14)</sup>・児玉 佳<sup>14)</sup>・  
柴田伸一郎<sup>15)</sup>・坂田淳子<sup>16)</sup>・梅川奈央<sup>16)</sup>・西嶋駿弥<sup>16)</sup>・下中晶子<sup>16)</sup>・若林友騎<sup>16)</sup>・河原隆二<sup>16)</sup>・  
福田弘美<sup>17)</sup>・東野和直<sup>17)</sup>・吉田孝子<sup>17)</sup>・荻田堅一<sup>18)</sup>・坂野 桂<sup>18)</sup>・齋藤悦子<sup>18)</sup>・川瀬 遵<sup>19)</sup>・  
小谷麻祐子<sup>19)</sup>・狩屋英明<sup>20)</sup>・清水裕美子<sup>21)</sup>・山本泰子<sup>21)</sup>・青田達明<sup>21)</sup>・福田千恵美<sup>22)</sup>・  
大羽広宣<sup>23)</sup>・藤崎道子<sup>23)</sup>・有川衣美<sup>23)</sup>・鈴木仁人<sup>1)</sup>・松井真理<sup>1)</sup>・鈴木里和<sup>1)</sup>・甲斐明美<sup>24)</sup>・  
山下育孝<sup>25)</sup>・浅野由紀子<sup>25)</sup>・木村千鶴子<sup>25)</sup>・阿部祐樹<sup>25)</sup>

1)国立感染症研究所，2)愛媛県立衛生環境研究所，3)山口県環境保健センター，4)北海道立衛生研究所，  
5)青森県環境保健センター，6)宮城県保健環境センター，7)埼玉県衛生研究所，8)東京都健康安全研究セン  
ター，9)千葉県衛生研究所，10)神奈川県衛生研究所，11)横浜市衛生研究所，12)山梨県衛生環境研究所，  
13)富山県衛生研究所，14)福井県衛生環境研究センター，15)名古屋市衛生研究所，16)大阪健康安全基盤研  
究所，17)堺市衛生研究所，18)兵庫県立健康科学研究所，19)島根県保健環境科学研究所，20)岡山県環境保健  
センター，21)広島市衛生研究所，22)香川県環境保健研究センター，23)北九州市保健環境研究所，24)東京  
医科大学，25)愛媛県立衛生環境研究所

## 第3章 調査研究・報告

### 第5節 研究発表の抄録



## フグのテトロドトキシン含有量と魚種鑑別

安藤尚子・村上友規・仲井菜都希・立本行江・堀 重俊

令和元年 6 月 20 日（大和郡山市） 令和元年度奈良県衛生関係職員研修会

平成 29 年 11 月に消費・生活安全課から研究材料としてフグを提供いただき、テトロドトキシン定量法と魚種鑑別法を確立しましたので、分析法と提供いただいたフグのテトロドトキシン含有量とフグ種を報告します。

## 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・南浦茉奈・北岡洋平・米田正樹・立本行江

令和元年 6 月 20 日（大和郡山市） 令和元年度奈良県衛生関係職員研修会

加工食品の残留農薬検査は GC-FPD を用いて行ってきたが、平成 25 年 3 月 26 日付け事務連絡「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」を参考に、GC-PFPD 及び GC-MS/MS を用いた分析法への移行を検討したので報告する。

## トウキ葉に含まれる精油成分の効率的な抽出法について

西原正和<sup>1)</sup>・米田正樹・立本行江・大住優子<sup>1)</sup>・堀重俊・田中尚<sup>1)</sup>

令和元年9月28日（秋田県）第63回精油・テルペンおよび精油化学に関する討論会

室温に近い状態で抽出でき、温度に不安定な物質などの物質に利用されている超臨界流体抽出法により、短期的な収入源として期待される大和当帰葉を用いて精油成分である(Z)-リグスチリドの効率的な抽出法を検討した結果、大和当帰葉中の(Z)-リグスチリドの効率的な抽出法を見いだした。また、超高速液体クロマトグラフィー装置を用いることにより、従来法であるHPLCよりも分析時間が短縮した。これにより、大和当帰葉より効率的に精油抽出できる方法が確立できた。

<sup>1)</sup>奈良県薬事研究センター

## 奈良県内各地で採取したキハダの果実および葉の残留農薬実態調査

米田正樹・樋上 絢・立本行江

令和元年10月3日（東京都）第115回日本食品衛生学会学術講演会

2019年6月から8月にかけて、県内各地で採取したキハダの果実および葉を用い果実は232化合物、葉は298化合物を残留農薬の調査対象化合物として選定し、残留農薬の実態調査を実施した。調査の結果、2,6-ジクロロベンズアミドが葉1試料から検出された。今回の調査で一部の試料から農薬成分が検出されたことから、今後、キハダの果実および葉を食材として利用する場合、隣接地で生産される農産物とキハダの果実や葉の残留基準値を考慮した農薬の使用方法に配慮する必要があると考えられた。



## 国産キハダの栽培推進と優良な県産製品の拡大に向けた 奈良県研究分野統合本部の挑戦

西原正和<sup>1)</sup>・立本行江・林田平馬<sup>2)</sup>

令和元年 11 月 12 日～13 日（大阪市）令和元年度森林・林業交流研究発表会

キハダはミカン科の広葉樹で、*Phellodendron amurense* Ruprecht の周皮を除いた樹皮を生薬オウバクとして利用しており、奈良県で古来より生産されている胃腸薬「陀羅尼助」を初め、苦味健胃胃腸薬の原料に使用されている。

奈良県では、2018 年度より 6 公設試験研究機関で構成される奈良県研究分野統合本部を設置し、キハダの有効活用を目指し、オウバクの地産地消のため原料の需要と供給を結びつけること、伐採後の副産物である葉、実、心材を用いて付加価値の高い新たな製品を開発することを研究の主要課題とした。

県内のキハダの植林地状況を正確に把握するため、生育地点及び生育状況を踏まえた GPS データマップを作成した。また、各調査地点で得られたキハダの内皮について、ベルベリンの含量を測定の上、胸高直径、樹齢、地域別について雌雄の違いも踏まえ相関性を評価したところ雄木と胸高直径に有意な相関性があることを確認した。また、採取したキハダ葉すべてにおいて、抗酸化作用を有する成分のクロロゲン酸の含有を確認した。

<sup>1)</sup>奈良県薬事研究センター、<sup>2)</sup>奈良県産業振興総合センター

## LC-MS/MS を用いた QuEChERS 法による農産物中残留農薬の一斉分析法の検討

南浦茉奈・米田正樹・北岡洋平・樋上 絢・立本行江

令和元年 11 月 14 日（橿原市）第 40 回奈良県公衆衛生学会

近年、安全で迅速かつ簡便な残留農薬試験法として導入が進んでいる QuEChERS 法を「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I および II」（以下、LC I 法および LC II 法とする）に応用し、5 つの農産物を試料として妥当性評価を実施した。妥当性評価の結果、全ての試料でガイドラインの目標値を達成した成分は LC I 法で 161 成分中 62 成分、LC II 法で 49 成分中 18 成分であった。LC I 法の結果から、本法は従来の通知法と同等以上の性能を有することを確認した。また、LC II 法の結果から一部の酸性農薬への適用も可能となった。QuEChERS 法は従来の通知法と比較すると有害な有機溶媒の使用量が少ないため、環境面および検査員の安全面にも配慮した方法で今後の検査が可能となった。

## GC-MS/MS, LC-MS/MS を用いた QuEChERS 法による 農産物中残留農薬の一斉分析法の検討

南浦茉奈・米田正樹・北岡洋平・樋上 絢・立本行江

令和元年 12 月 6 日（広島県）第 56 回全国衛生化学技術協議会年会

近年、安全で迅速かつ簡便な残留農薬試験法として導入が進んでいる QuEChERS 法を「GC/MS による農薬等の一斉試験法」（以下 GC 法とする）および「LC/MS による農薬等の一斉試験法 I, II」（以下 LC I 法および LC II 法とする）に導入し、5 つの農産物を試料として妥当性評価を実施した。妥当性評価の結果、全ての試料でガイドラインの目標値を達成した成分は GC 法で 340 成分中 139 成分、LC I 法で 161 成分中 62 成分、LC II 法で 49 成分中 18 成分であった。GC 法、LC I 法の結果から、本法は従来の通知法と同等以上の性能を有することを確認した。また、LC II 法の結果から一部の酸性農薬への適用も可能となった。QuEChERS 法は従来の通知試験法と比較すると有害な有機溶媒の使用量が少ないため、環境面および検査員の安全面にも配慮した方法で今後の検査が可能となった。

## 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（平成 29－30 年度）

佐伯美由紀・辻本真弓・森村実加・吉田孝子・内田美枝・前田寛之<sup>1)</sup>・竹中恵子<sup>1)</sup>

令和元年 6 月 20 日（大和郡山市） 令和元年度奈良県衛生関係職員研修会

捕獲した野生鳥獣の食利用が増加しているが、食中毒起因菌の保有状況は不明な点も多い。今回、平成 29 年度から 30 年度に県内で食用目的に捕獲された野生鳥獣の食中毒起因菌保有状況について、結果をまとめたので報告する。

<sup>1)</sup>奈良県食品衛生検査所食肉検査課

## 平成 30 年度収去食品中の細菌検査結果

辻本真弓・吉田孝子・内田美枝

令和元年 6 月 20 日（大和郡山市） 令和元年度奈良県衛生関係職員研修会

当センターでは「奈良県食品衛生監視指導計画」に基づき、食品の安全確保及び食中毒の未然防止を目的とし、県内流通食品等の検査を行っている。平成 30 年度の収去の細菌検査結果等について報告する。

## 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・辻本真弓・森村実加・吉田孝子・内田美枝・前田寛之<sup>1)</sup>・竹中恵子<sup>1)</sup>

令和元年 8 月 29 日（神戸市） 第 60 回近畿食品衛生監視員研修会

捕獲した野生鳥獣の食利用が増加しているが、食中毒起因菌の保有状況は不明な点も多い。今回、平成 29 年度から 30 年度に県内で食用目的に捕獲された野生鳥獣の食中毒起因菌保有状況について、結果をまとめたので報告する。

<sup>1)</sup>奈良県食品衛生検査所食肉検査課

## 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・辻本真弓・森村実加・吉田孝子・内田美枝・前田寛之<sup>1)</sup>・竹中恵子<sup>1)</sup>

令和元年 10 月 24 日（東京都） 令和元年度全国食品衛生監視員研修会

捕獲した野生鳥獣の食利用が増加しているが、食中毒起因菌の保有状況は不明な点も多い。今回、平成 29 年度から 30 年度に県内で食用目的に捕獲された野生鳥獣の食中毒起因菌保有状況について、結果をまとめたので報告する。

<sup>1)</sup>奈良県食品衛生検査所食肉検査課

## 奈良県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の薬剤耐性遺伝子の検出状況（2017 年）

森村実加・河口友理・吉田孝子・内田美枝

令和元年 11 月 14 日（橿原市） 第 40 回奈良県公衆衛生学会

2017 年に県内で届出され搬入されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : CRE）菌株の薬剤耐性遺伝子の保有状況について調査した。当センターに搬入された CRE 菌株 25 株を対象とし、PCR 法によるカルバペネマーゼ遺伝子（IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型）の保有の有無を確認した。カルバペネマーゼ遺伝子が検出された株は 14 株（56%）であり、すべて IMP 型であった。14 株の菌種内訳は、*Escherichia coli*（7 株）、*Klebsiella pneumoniae*（5 株）、*Enterobacter cloacae*（1 株）、*Raoultella ornithinolytica*（1 株）であった。

今後も継続してカルバペネマーゼ遺伝子の検出状況を把握し、医療機関等へ情報を還元することにより、薬剤耐性菌の増加・拡大防止に寄与していきたい。

## 水中および環境中のノロウイルス検査法の確立について

千葉翔子

令和元年 6 月 20 日（大和郡山市） 令和元年度奈良県衛生関係職員研修会

ウイルス培養ができないノロウイルスでは、水中および環境中の検査法は、定められた手法がない。今回、極低濃度で存在する水中のノロウイルス検査法について、ウイルス濃縮法として 3 法（陰電荷膜吸着/誘出法，陽イオン吸着・酸洗浄・アルカリ誘出法，ポリエチレングリコール濃縮法）の検討を実施し，環境中のノロウイルス検査法（拭き取り検査）については，拭き取り器材として 4 種（プース，市販キット，綿棒（綿球素材：ポリエステル），綿棒（綿球素材：綿））を用いて検討を実施し，水中および環境中のノロウイルス検査法について手法を設定したので報告する。

## 奈良県における風疹及び麻疹の検査状況について

千葉翔子・松浦侑輝・松本朋子・尾西美咲・阪本孝幸・稲田真知

令和元年 11 月 14 日（橿原市） 第 40 回奈良県公衆衛生学会

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，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。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 年度と令和元年度（4 月～8 月末）の検査状況について報告する。

## 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まったものは、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

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，掲載誌名とする。著者に本研究センター以外の者が含まれる場合には，本研究センターの著者に下線を付して明示する（5），6も同様とする）。

### 5) 報告書等

厚生労働科学研究費補助金分担報告書等を紹介する（筆頭著者に限定しない）。記述の順は，報告書等の名称（必要な場合には研究課題名・代表研究者名等を含む），表題，著者（報告者）名とする。

### 6) 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。抄録に相当するものがある場合には，そのまま掲載するが，ない場合には抄録の内容を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は変更・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

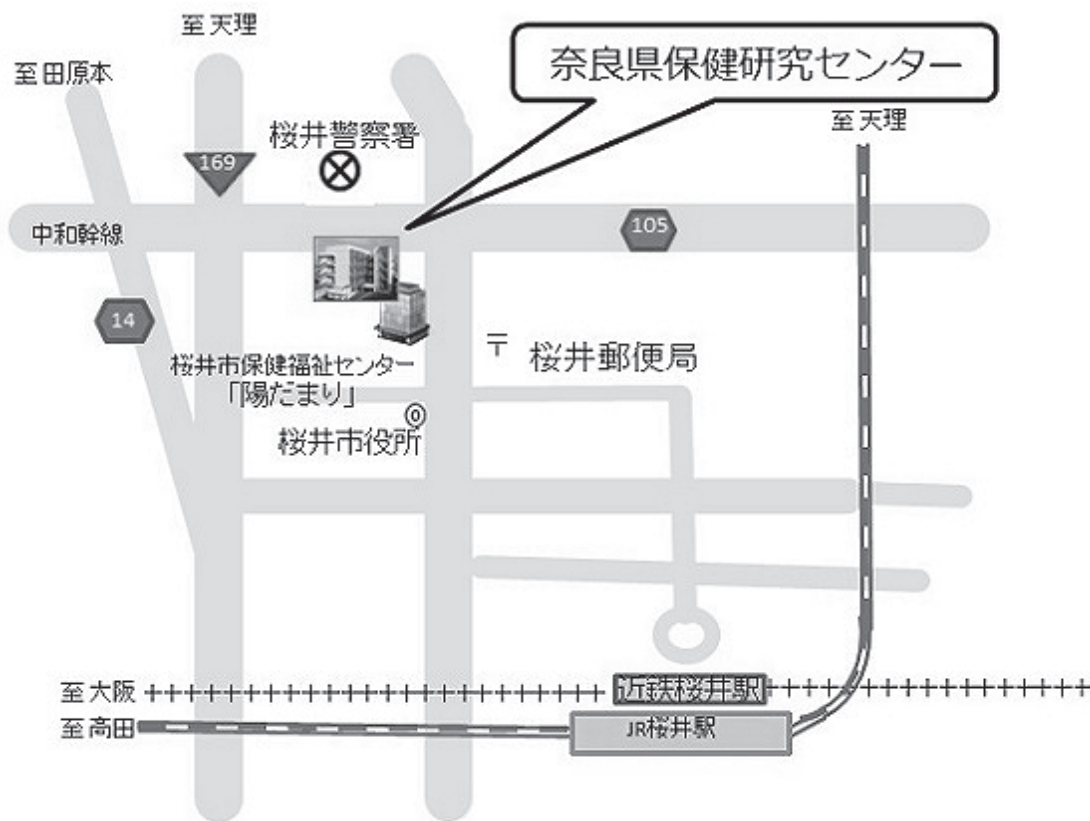
校正はすべて著者の責任とするが、編集委員会は編集の都合上変更を求めることができる。

## 8. その他

- 1) 年報編集に関し必要な事項は、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。
- 6) この規定は、令和2年10月1日に改正する。



【編集委員】

堀 重 俊 (委員長)  
 榮 井 毅  
 仲 井 菜都希  
 松 井 恵梨子  
 美 並 衣 織

奈良県保健研究センター年報

第54号 令和元年度(2019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