

ISSN 0513-4706
CODEN YEKHAP

山形県衛生研究所報

REPORT
OF
THE YAMAGATA PREFECTURAL
INSTITUTE
OF
PUBLIC HEALTH

No. 48

2015

山形県衛生研究所

The Yamagata Prefectural Institute of Public Health

はじめに

山形県衛生研究所における平成 26 年度の研究成果及び業務実績等について、所報第 48 号としてとりまとめました。

地方衛生研究所は、地域における公衆衛生の科学的・技術的拠点として、疾病予防および健康増進等に係る試験検査や調査研究、公衆衛生情報の収集解析、地域保健関係者の研修指導を主な業務としています。

平成 24 年には、地域保健法第 4 条に基づき、「地域保健対策の推進に関する基本的な指針（厚生労働省告示）」が改正され、「地域における科学的かつ技術的に中核となる機関として機能の一層の充実強化を図ること、と改正・追加がなされました。

平成 26 年度は、エボラ出血熱やデング熱が大きな話題となり、衛生研究所でもデング熱への検査対応に追われました。ツキヨタケやサバの喫食による食中毒・アレルギー事件への対応もありました。

こうした危機管理事例に対応することができたことは、結核・マイコプラズマ・コロナウイルスなどの感染症疫学研究、植物性自然毒をターゲットにした中毒原因となる自然毒の多成分一斉分析法の開発、ヒスタミンによる食中毒防止の研究など、日ごろから調査研究課題に取り組んできたことの 1 つの成果であると考えています。

危機管理への対応は、調査研究を通じて手を動かし、なぜそうなるのかを自問自答して精進していくことなしにはありえません。今後も焦点を絞って調査研究を実施して行きます。

本号を通じて当研究所の業務内容および研究成果をご高覧のうえ、ご批判やご意見等をお寄せいただければ幸いです。

平成 27 年 10 月

山形県衛生研究所

所 長 水田 克巳

目 次

I 調査研究報告

1 短 報

中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発	笠原 翔悟 他	1
-------------------------	---------	---

2 資 料

山形県におけるC型インフルエンザウイルスの分離状況(2014)	田中 静佳 他	5
ヒスタミン測定キットを利用した水産調理加工品中のヒスタミン分析法検討	太田 康介	9
LC-MS/MSを用いた不揮発性アミンの一斉分析法の検討	佐藤 陽子 他	13
自然毒による食中毒事例(2014年)	長岡 由香 他	17
ツキヨタケ中の中毒成分 illudin S の含有量および塩蔵による消長	大河原龍馬 他	20
畜水産食品中の動物用医薬品における LC-MS/MS 一斉分析法の妥当性評価	須貝 裕子	24

3 抄 録

1) 他誌掲載論文

接触者健康診断における高齢者に対するインターフェロン- γ 遊離試験の有用性の検討	瀬戸 順次 他	28
Epidemiological information regarding the periodic epidemics of influenza C virus in Japan (1996-2013) and the seroprevalence of antibodies to different antigenic groups.	Matsuzaki Y., et al.	28
Molecular epidemiology of enterovirus 71 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1990 and 2013.	Mizuta K., et al.	29
Detection of the human coronavirus 229E, HKU1, NL63 and OC43 between 2010 and 2013 in Yamagata, Japan.	Matoba Y., et al.	30
Picornavirus-like cytopathic effects on RD-18S cell lines were induced by human coronavirus 229E not picornaviruses.	Matoba Y., et al.	30
Analysis of the population genetics of clades of enterohaemorrhagic <i>Escherichia coli</i> O157:H7/H- isolated in three areas in Japan.	Hirai S., et al.	30
Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A(H1N1)pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants.	Matsuzaki Y., et al.	31
The dominant antigenic group of influenza C infections changed from C/SaoPaulo/378/82-lineage to C/Kanagawa/1/76-lineage in Yamagata, Japan in 2014.	Tanaka S., et al.	32
山形県における飼い猫のジフテリア毒素原性 <i>Corynebacterium ulcerans</i> 感染状況調査	瀬戸 順次 他	32
山形県で2004年から2013年の10年間に分離した <i>Mycoplasma pneumoniae</i> のマクロライド耐性遺伝子変異および <i>p1</i> 遺伝子型解析	鈴木 裕 他	33
A case of pneumonia caused by <i>Legionella pneumophila</i> serogroup 12 and treated successfully with imipenem.	Nishizuka M., et al.	33
Clonality and Micro-Diversity of a Nationwide Spreading Genotype of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in Japan.	Wada T., et al.	34

2) 学会発表

山形におけるエンテロウイルス71型の分子疫学(1990~2013年)	水田 克巳 他	35
宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は、急性呼吸器感染症ウイルスの生体内活性化酵素である	竹田 誠 他	35
IS-printing を用いた腸管出血性大腸菌 O157 の clade 推定法の確立	平井 晋一郎 他	36

新興病原体 <i>Escherichia albertii</i> のゲノムおよび疫学解析	大岡 唯祐 他	37
地域での集団感染事例から学ぶ	山田 敬子 他	38
低罹患率地域における結核菌臨床分離株の伝播経路追跡	和田 崇之 他	39
サフォードカルディオウイルス 2 型の RD-18S 細胞による分離	水田 克巳 他	40
山形県で分離された <i>Mycoplasma pneumoniae</i> の p1 遺伝子型解析	鈴木 裕 他	40
山形県で分離された <i>Mycoplasma pneumoniae</i> のマクロライド耐性遺伝子変異解析	鈴木 裕 他	41
山形県における気象データを用いたつが虫病患者数予測モデルの構築	瀬戸 順次 他	42
2014 年山形県における C 型インフルエンザウイルスの分離状況	田中 静佳 他	42
ツキヨタケの有毒成分 illudin S の含有量および特性	大河原龍馬 他	43
中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発	笠原 翔悟 他	44
II 業務の概要		
1 業務の概要		45
2 生活企画部		46
3 理化学部		50
4 微生物部		56
5 研修業務等		59
6 年間動向		
1) 会議・検討会等出席		61
2) 学会・研究会等出席		61
3) 研修会・講習会等出席		62
4) 講演会等		63
5) 表彰等		64
III 衛生研究所の概要		
1 沿革		65
2 施設		65
3 主要設備		66
4 業務		67
5 組織機構		67
6 職員配置		68
7 平成 26 年度歳入歳出決算		
1) 歳入		68
2) 歳出		69
投稿規定		70

Reports of The Yamagata Prefectural Institute of Public Health

No 48 (2015)

CONTENTS

I Reports on Research and Study**1 Notes**

- Development of Simultaneous Analysis Method for Natural Toxins in Poisonous Plants Shogo KASAHARA., et al 1

2 Materials

- Detection and Antigenic Analysis of Influenza C virus from Patients in Yamagata Prefecture(2014) Shizuka TANAKA., et al 5

- Studies on Determination of Histamine in Marine Products Using Histamine Measuring Kit Kosuke OTA 9

- Studies on Simultaneous Analysis of Non-volatile Amines by LC-MS/MS Yoko SATO., et al 13

- Food Poisoning by Natural Toxins in Yamagata Prefecture in 2014 Yuka NAGAOKA., et al 17

- Concentration of illudin S in *Omphalotus guepiniformis* and its reduction by salting Ryuma OKAWARA., et al 20

- The validity value of the LC-MS/MS simultaneous analysis way in medical supplies for animals in the Livestock Products and Seafoods Hiroko SUGAI 24

3 Abstracts

- 1) Papers in Other Publications 28

- 2) Presentations in Society Meetings 35

II Reports of Work

45

III Outline of Institute

65

The Yamagata Prefectural Institute of Public Health

1-6-6, Toka-machi, Yamagata-city, Yamagata, 990-0031, JAPAN

I 調 査 研 究 報 告

短 報

中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発

笠原 翔悟, 笠原 義正

Development of Simultaneous Analysis Method for Natural Toxins in Poisonous Plants

By Shogo KASAHARA and Yoshimasa KASAHARA

自然毒による食中毒が起きた際の原因究明方法として、同一の方法で複数の毒成分を同時に分析できるLC-MS/MSによる一斉分析法について検討した。5種類の植物の14成分について検討を行ったところ、マルチモードカラムを用いることで極性の異なる成分を同時に測定可能な分析条件が得られた。また、試料の抽出、精製などの前処理方法についても検討を行った。さらに、この方法を用いた有毒植物の分析により新たな知見が得られた。

Key Word : 自然毒 Natural Poisons, 一斉分析法 Simultaneous Analysis Method, 高速液体クロマトグラフ
タンデム質量分析計 LC-MS/MS

I はじめに

山形県は山に囲まれ自然が豊かであることから、山菜やキノコを採る人が多く、それゆえ誤食による食中毒が後を絶たない。厚生労働省が公表している2000年から2014年までの食中毒統計によると、山形県は植物性自然毒による食中毒発生件数が全国で2番目に多い県である(Fig. 1)。また人口10万人あたりの発生率は全国で最も高い。これらの自然毒による食中毒を未然に防ぐには、自然毒に関する多くの知見を得ること、中毒発生時に迅速に原因を究明すること、自然毒に関する情報を広く発信していくことが不可欠である。

自然毒による食中毒が起きた際の原因食品の特定では、はじめに未調理品や残品の形態調査を行う。しかし、たいていは調理済みであり元の状態が判別できない場合が多い。また形態的特長および中毒症状で原因を特定するためには、植物の分類や中毒症

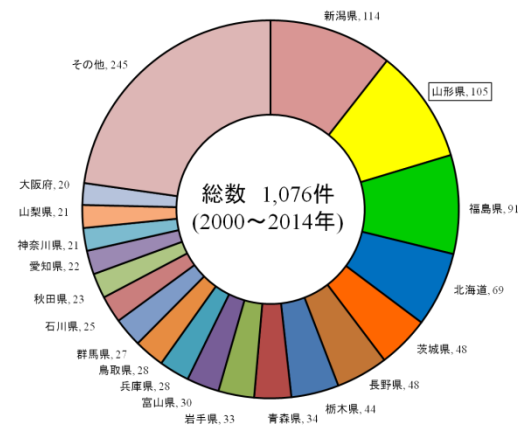


Fig.1 植物性自然毒による食中毒発生件数

状に関する専門的な知識が要求される。以上の方法で原因が特定されない場合、分析機器を用いた成分分析法が用いられる。この方法は前述のような形態学的、医学的知識が必要でなく、毒の標準品があれば分析機器を用いて特定できる。しかしながら、現状では中毒原因となりうる各植物に対して、試料前処理方法や機器の分析条件が異なっている。これら

を同一の方法で行うことができれば、時間、操作ともに簡略化され、より迅速に中毒の原因究明を行うことができる。そこで本研究では、同一の方法で多様な植物の有毒成分が分析可能になる一斉分析法について検討した。本研究で対象としたのは、山形県において中毒の報告が多いトリカブト、スイセン、チョウセンアサガオ、バイケイソウおよび、全国的に中毒の多いジャガイモの5種類14成分とした (Table 1)。また、この方法の検討により、一斉分析法に関する知見だけでなく、植物の毒成分に関する新たな知見が得られたのであわせて報告する。

Table 1 対象植物および成分

植物	毒成分	
トリカブト	アコニチン	メサコニチン
	ヒバコニチン	ジェサコニチン
バイケイソウ	ベラトリン	ベラトラミン
	ジェルピン	プロトベラトリンA
チョウセンアサガオ	アトロピン	スコポラミン
スイセン	リコリン	ガランタミン
ジャガイモ	α -ソラニン	α -チャコニン

II 実験

試料

分析法検討用試料として、衛生研究所敷地内で採取したスイセン、衛生研究所で栽培したチョウセンアサガオ、山形市蔵王で採取したコバイケイソウおよび県内で流通しているジャガイモを用いた。

試薬

標準品：アコニチン、ヒバコニチン、メサコニチン、ジェサコニチンは三和生薬（株）、アトロピン、スコポラミン、ジェルピン、ソラニン、ガランタミンは和光純薬工業（株）、ベラトラミン、プロトベラトリンA、チャコニン、リコリンはフナコシ（株）、ベラトリンはSigma-Aldrich社から購入した。その他の試薬：ギ酸、ギ酸アンモニウムは和光純薬工業（株）製、メタノール、アセトニトリルはそれぞれ関東化学（株）製、Sigma-Aldrich社製の高速液体クロマトグラフィー用を用いた。

固相カートリッジ：Waters社製 OasisHLB 6 cc (500 mg)を用い、使用前にメタノールおよび水でコンディショニングした。

装置

高速液体クロマトグラフはAgilent社製1100シリーズ、質量分析装置はAB Sciex社製API2000を用いた。装置の詳細および測定条件をTable 2に示す。

Table 2 測定装置及び測定条件

LC装置	Agilent社製1100シリーズ
カラム	Imtakt社製 Scherzo SM-C18 (2.0 mm i.d. × 150 mm, 3 μ m)
移動相	A液: 10 mMギ酸アンモニウム水溶液 B液: メタノール系
流量	0.2 mL/min
注入量	5 μ L
カラム温度	40 $^{\circ}$ C
MS/MS装置	AB Sciex社製API2000
イオン化	ESI

試料溶液の調製

試料の抽出および精製はFig. 2~4に示す3方法で行った。すなわち、方法I：メタノールで抽出した後固相カートリッジによる精製を行う方法 (Fig. 2)、方法II：酸性条件下で塩酸抽出した後固相カートリッジによる精製を行う方法 (Fig. 3)、方法III：メタノールで抽出し希釈する方法 (Fig. 4)である。

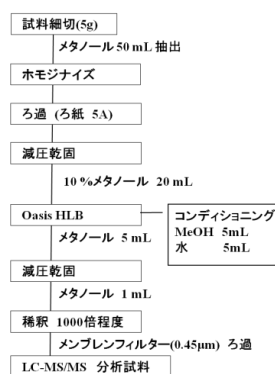


Fig. 2 試料調製方法

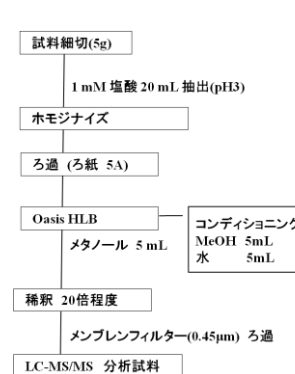


Fig. 3 試料調製方法

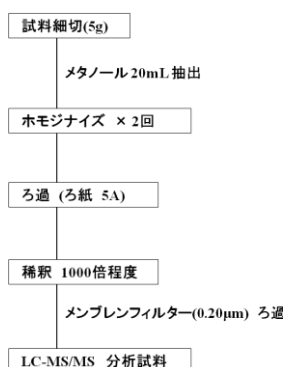


Fig. 4 試料調製方法

III 結果及び考察

一斉分析条件の検討

LC-MS/MS 条件

初めに, Table 1 に示した毒成分の標準品を用いて, これらを測定するために最適な LC-MS/MS の条件の検討を行った. イオン化法は ESI を用い, MRM (Multiple Reaction Monitoring) モードで行った. 全ての対象成分においてポジティブモードでプロトンが付加した分子がみられたため, これをプレカーサーイオンとし, プロダクトイオンのうち, もっとも感度が高いものを定量用, 次を確認用とした. この結果を Table 3 に示す.

Table 3 14 成分モニタリングイオン

	Precursor ions (m/z)	Product ions ^{a)} (m/z)	Product ions ^{b)} (m/z)
Solanine	869.2	98.3	398.9
Chaconine	853.3	98.2	707.3
Hypaconitine	616.2	76.9	555.9
Mesaconitine	632.4	104.9	571.7
Aconitine	646.2	105.1	586.1
Jesaconitine	676.3	135.0	615.9
Lycorine	288.2	147.1	119.2
Galanthamine	288.3	213.2	198.2
Atropine	290.3	124.2	103.1
Scopolamine	304.3	138.1	156.2
Jervine	426.4	66.9	91.0
Veratramine	410.4	295.3	84.3
Veratrine	592.3	456.1	438.4
ProtoVeratrine A	816.4	698.5	658.9

^{a)} Used for quantitation

^{b)} Used for confirmation

LC 条件

対象となる毒成分の分子量は 100 程度から 900 と幅広く, 極性も様々であるため, 一斉分析には極性が異なる物質を幅広く保持できるカラムが必要であ

る.そこで本研究では, 逆相系の ODS とイオン交換の性質を併せ持つマルチモードカラムを用いて検討を行った. 初めに, 移動相として A 液を 10 mM ギ酸アンモニウム, B 液をメタノールとしていたが, 一部でピークの重なりがみられた. そこで B 液をメタノール:アセトニトリル (98:2) としたところ, Fig. 5 に示したように, 全成分について良好な分離となり一斉分析可能な LC-MS/MS の条件が得られた.

試料分析法の検討

次に, 対象とする植物ごとに実際の植物を用いて毒成分の抽出方法について検討した.

ジャガイモ: 日光に晒し緑化させたジャガイモを用い, 試料調製方法 I, II により抽出を行ったところ, α -ソラニン, チャコニンの含有量はそれぞれ 0.86 $\mu\text{g/g}$, 0.082 $\mu\text{g/g}$ であり, とともに抽出が可能であった. またこの 2 成分はグリコアルカロイドと呼ばれるアルカロイドであることから, 既に報告されている¹⁾ トリカブト毒の抽出法である塩酸による抽出も試みた. その結果, α -ソラニン 0.98 $\mu\text{g/g}$, チャコニン 0.096 $\mu\text{g/g}$ であり, いずれの抽出溶媒でも抽出可能であった.

スイセン: 鱗茎部を用いて検討を行ったところ, Table 4 に示すとおり, ガランタミンのみが検出され, リコリンは検出されなかった. この原因については後述する. また検出されたガランタミンについては, 鱗茎が大きくなるとともに含有量の減少傾向が見られた.

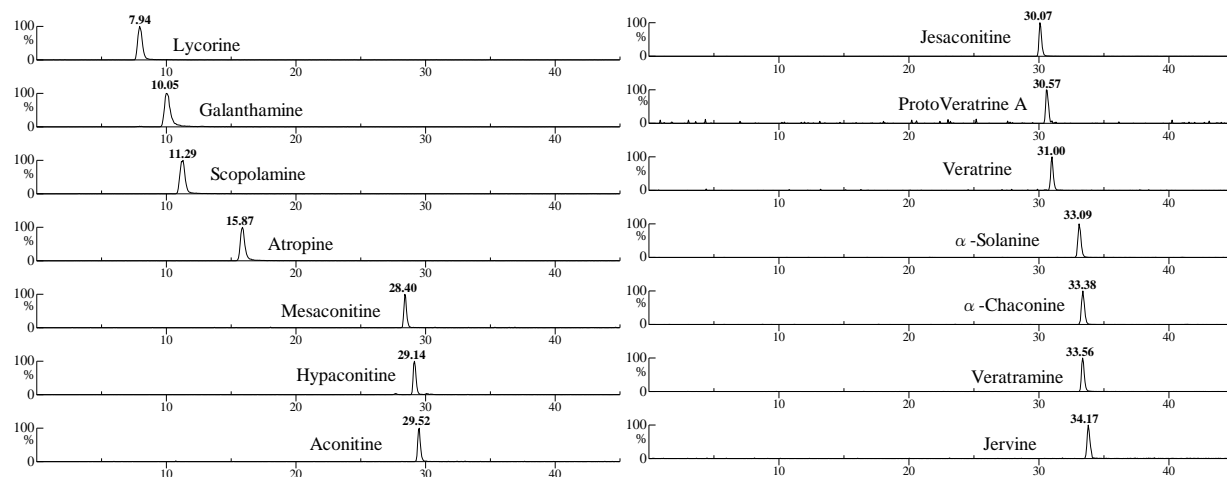


Fig.5 14 成分一斉クロマトグラム

Table 4 スイセン鱗茎中のリコリン, ガランタミン含有量

重量(g)	鱗茎の		鱗茎1個当たりのガランタミン含有量(μg)
	アルカロイド含有量(μg/g)		
	リコリン	ガランタミン	
1.22	N.D.	135	165
2.41	N.D.	114	274
3.23	N.D.	120	386
4.37	N.D.	99	433
5.73	N.D.	98	560

チョウセンアサガオ：葉を用いて抽出を行ったところ Table 5 に示す結果となり、スコポラミンのみが検出され、アトロピンは検出されなかった。またスコポラミン含有量は葉の大きさが大きくなるほど減少していた。

Table 5 チョウセンアサガオの葉中のアトロピン, スコポラミン含有量

重量(g)	アルカロイド類含有量(mg/g)		葉1枚当たりのスコポラミン含有量(μg)
	アトロピン		
	アトロピン	スコポラミン	
0.093	N.D.	1.097	102
0.552	N.D.	0.243	134
1.197	N.D.	0.049	58.5

コバイケイソウ：メタノール抽出、塩酸抽出のいずれの方法においても、バイケイソウ類の4種の毒成分のうちベラトラミン、ジェルビンのみが検出された。また、試料調製方法 II および III で前処理時間を比較したところ、方法 III では固相抽出カートリッジによる精製を行わないため、方法 II に比べ1時間以上短い時間で調製が可能であった。食中毒検査のような迅速性が求められる検査の場合では方法 III がより適していると考えられる。しかし、精製が不十分であるため、試料には夾雑成分も多く含まれてしまう。通常、LC-MS/MS による測定では夾雑を多く含んだ状態で測定を行うと、マトリックス効果によりイオンサプレッションやイオンエンハンスメントが引き起こされる場合がある。本検討においてはマトリックスによる影響は確認されず、精製を簡略化した方法でも測定が可能であることがわかった。

スイセン、チョウセンアサガオ、コバイケイソウで検出されない成分があった原因について、以下のことが考えられる。Fig 2 に示したとおり、標準品を用いた分析ではすべて検出されていることから今回設定した分析条件に不備があるとは考えられ

ない。またいずれの成分もアルカロイドの一種であり、メタノールもしくは塩酸による抽出が可能であると考えられる。ジャガイモでは2成分ともに抽出されており、他の植物でも1成分以上は抽出されていることから抽出溶媒によって特定の成分が抽出されないことは考えにくく、抽出操作が原因である可能性も低い。一方で、トリカブトでは種や地域によって4種のアコニチン類の含有率が異なっており、毒成分が全く含まれていないトリカブトがあることを我々は報告している。これらのことから今回、一部の成分が検出されなかった原因は、分析を行った試料にそれらの成分が含まれていなかった可能性が高い。しかしながら、前処理過程における消失や構造変化など不確定な部分が多いため今後さらなる検討が必要である。

まとめ

食中毒の原因物質となる有毒植物の毒成分について、LC-MS/MS を用いた一斉分析法を検討した。

ODS とイオン交換の性質を併せ持つマルチモードカラムを用いることにより、極性の異なる14成分の毒成分を分離可能な条件を確立した。

対象とする植物を用いて前処理条件の検討を行ったところ、14成分のうち4成分が検出されなかったが、これは前処理方法によるものではなく、用いた試料にもとから含まれていなかった可能性が示唆された。

IV 文献

- 1) 笠原義正, 伊藤健: トリカブトおよび食中毒原因食品中のアコニチン系アルカロイドの一斉分析, 食品衛生学雑誌, 42, 76-81(2008)

資料

山形県におけるC型インフルエンザウイルスの分離状況(2014)

田中 静佳, 的場 洋平, 青木 洋子, 矢作 一枝, 水田 克巳

Detection and Antigenic Analysis of Influenza C virus from Patients in Yamagata Prefecture (2014)

by Shizuka TANAKA, Yohei MATOBA, Yoko AOKI, Kazue YAHAGI and Katsumi MIZUTA

2014年1月から12月の1年間に山形県内の医療機関で採取された咽頭拭い液および鼻汁1957検体について山形県感染症動向調査に基づきウイルス分離を行ったところ, 22検体からC型インフルエンザウイルスが分離された. 分離は4月から8月の期間に集中し, A型, B型インフルエンザのシーズンが終息した春に流行するというこれまでの傾向が続いていることが確認された. またC型インフルエンザウイルス分離株の抗原性解析により, 2014年はSao Paulo/82系統からKanagawa/76系統へと流行株が変わっていることが明らかとなった.

Key Words : C型インフルエンザウイルス (influenza C virus), 抗原解析

I はじめに

C型インフルエンザウイルス (FluC) は小児における上気道炎の起因ウイルスの1つである. 一般的に症状は軽度であるとされているが, 気管支炎や肺炎などの下気道炎を引き起こすことも知られている¹⁾.

当所では山形県感染症発生動向調査事業に基づき, 急性ウイルス性呼吸器疾患の発生状況を把握することを目的にウイルスの分離, 同定を実施している.

今回, 2014年の調査におけるFluCの分離状況, ならびに分離株の抗原性について検討を行った.

II 材料及び方法

1. 調査対象

2014年1月から12月までに県内医療機関を受診した患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液および鼻汁1957検体を対象とした.

2. ウイルスの分離・同定

ウイルス分離は HEF, HEp-2, VeroE6, MDCK, RD18S, GMK の6種類の細胞を用いた96wellマイクロプレート法により実施した²⁾. FluCの分離はMDCK細胞での細胞変性効果の確認と, 0.8%モルモット血球および0.5%ニワトリ血球を用いた血球凝集試験で判定し(図1), Conventional RT-PCR法で同定を行った.

3. FluCのConventional RT-PCR法

ウイルス培養上清からHigh Pure Viral RNA kit (Roche) を使用してRNAを抽出後, PrimeScript RT Master Mix (タカラバイオ) を使用して逆転写反応を行った. PCRはNS遺伝子をターゲットとするMatsuzakiらのプライマー³⁾を用いて実施した.

4. 抗原解析

抗原解析はFluCの表面蛋白であるヘマグルチニンエステラーゼ(HE)に対するモノクローナル抗体をプローブとし, 0.5%ニワトリ血球を用いた血球凝集抑制(HI)試験により実施した^{4) 5)}.

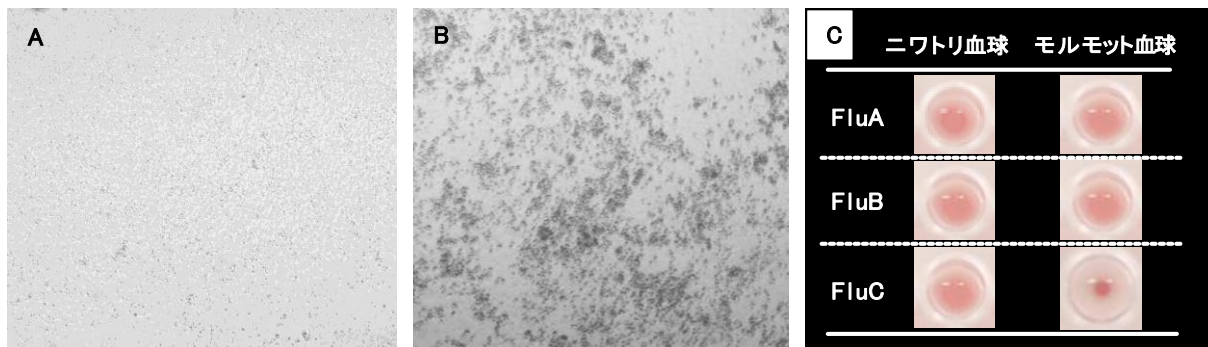


図 1. C型インフルエンザウイルスによる細胞変性効果 (CPE) 像および血球凝集像

A. MDCK 細胞 (検体未接種, ×100) B. FluC による CPE が現れた MDCK 細胞 (×100) C. インフルエンザウイルスによる血球凝集像

III 結果

1. FluC の分離状況

2014 年 1 月から 12 月までに 22 検体から FluC が分離された。月別の分離状況を図 2 に示す。分離は 4 月から始まり 5 月をピークとして 8 月まで毎月続き、この期間に 21 株が分離された。以降は 9 月から 11 月まで分離はなく、12 月に散発的に 1 件分離されたのみであった。分離数が最も多かった 5 月における分離率は 7.6 % (11 株/145 検体) であった。

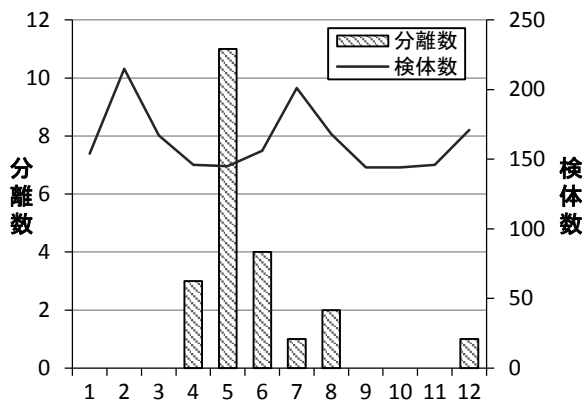


図 2. C型インフルエンザウイルス月別分離状況

2. 抗原解析

分離された 22 株について抗 HE モノクローナル抗体を用いて抗原解析を行った。分離代表株の HI 試験結果の一例を表 1 に示す。抗原性既知の参照株と分離株の抗原共通性を各抗 HE モノクローナル抗体に対する反応パターンで比較すると、2014 年分離株は J14 のみに

強く反応し、U4, U9, U1 に対してはほとんど反応しない点で Kanagawa/76 系統と共通する 14 株と、J14, U4, U9, U1 のいずれにも反応を示す点で Sao Paulo/82 系統と共通する 8 株に大別された⁶⁾(図 3)。

表 1. 抗モノクローナル抗体を用いた HI 試験結果

分離株	HE系統	HI値			
		J14	U4	U9	U1
参照株					
C/Kanagawa/1/76	Kanagawa/76	512000	40	160	<20
C/Yamagata/2/2010	Sao Paulo/82	64000	1600	64000	128000
C/Yamagata/29/2012	Sao Paulo/82	64000	3200	64000	128000
2014年分離株					
C/Yamagata/13/2014	Kanagawa/76	1024000	40	640	<20
C/Yamagata/14/2014	Kanagawa/76	512000	20	320	<20
C/Yamagata/16/2014	Kanagawa/76	1024000	40	320	<20
C/Yamagata/35/2014	Kanagawa/76	512000	40	160	<20
C/Yamagata/6/2014	Sao Paulo/82	16000	1600	16000	16000
C/Yamagata/33/2014	Sao Paulo/82	25600	1600	32000	32000

IV 考察

2014 年の調査において 22 株の FluC が分離された。うち 21 株は 4 月から 8 月に集中して分離されており、この時期に FluC の地域的な流行があったと推測された。我々のこれまでの調査により、山形県における FluC の流行は 1 年おき偶数年の、A 型、B 型インフルエンザのシーズンが終息した春に発生する傾向があることがわかっている⁷⁾。2013/2014 シーズンのインフルエンザの流行の終盤頃から始まった今回の流行は、2012 年以来 2 年ぶりの発生であり、この傾向から予測された通りであった (図 3)。

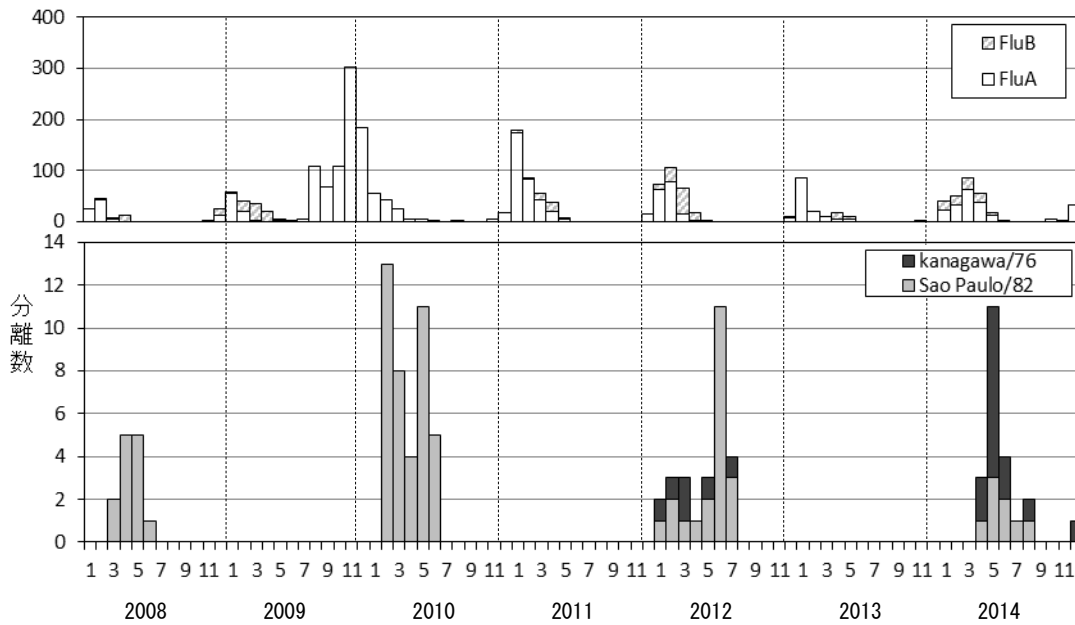


図3. インフルエンザウイルスの月別分離数(2008-2014)

上段：A、B型インフルエンザウイルス（FluA、B）の分離数、下段：FluCの月別系統別分離数（Tanaka et al⁶⁾を引用・改変）

FluCはHEの抗原性の違いにより6つの系統（Taylor/47, Kanagawa/76, Mississippi/80, Yamagata/81, Aichi/81, Sao Paulo/82）に分類され、山形県においてはこれまでにTaylor/47系統を除く5つの系統のFluCが分離されている。Sao Paulo/82系統は2006年から2012年まで流行の主流株となっていた⁷⁾。しかし、2014年はKanagawa/76系統の分離が優勢となり、流行株の系統が交代していることが明らかとなった。山形県における流行株の交代は2002年にYamagata/81系統からKanagawa/76系統へ、2006年にKanagawa/76系統からSao Paulo/82へと、過去2回確認されている⁷⁾。特に2002年とそれに続く2004年にはKanagawa/76系統による大きな流行が確認されている³⁾ことから、今後も調査を継続し発生動向を注視する必要がある。

V 文献

1) Matsuzaki Y et al. Clinical features of

influenza C virus infection in children. J Infect Dis. 2006;193: 1229-35.

2) Mizuta K. et al. Analysis of monthly isolation of respiratory viruses from children by cell culture using a microplate method:a two-year study from 2004 to 2005 in Yamagata,Japan. Jpn.J.Infect.Dis. 2008;61:196-201.

3) Matsuzaki Y et al. A nationwide epidemics of influenza C virus infection in Japan 2004. J Clin Microbiol. 2007;45:783-8

4) Matsuzaki Y et al. Antigenic and genetic characterization of influenza C viruses which caused two outbreaks in Yamagata City, Japan in 1996 and 1998. J Clin Microbiol. 2002;40:422-429

5) Sugawara K et al. Construction of an antigenic map of the haemagglutinin-esterase protein of influenza C virus.J Gen Virol. 1993;74:1661-6

- 6) Tanaka S et al. The dominant antigenic Group of influenza C infections changed from C/Sao Pauo/378/82-lineage to C/Kanagawa/1/76-lineage in Yamagata, Japan in 2014. *Jpn J Infect Dis* 2015;68:166-168
- 7) Matsuzaki Y et al. Epidemiological information regarding the periodic epidemics of influenza C virus in Japan (1996-2013) and the seroprevalence of antibodies to different antigenic groups. *J Clin Virol.* 2014;61:87-93

資料

ヒスタミン測定キットを利用した水産調理加工品中のヒスタミン分析法検討

太田 康介

Studies on Determination of Histamine in Marine Products
Using Histamine Measuring Kit

By Kosuke OTA

水産調理加工品に含まれるヒスタミンの分析法として、蛍光誘導体化後に高速液体クロマトグラフで分析する方法をはじめとし、様々な方法が報告されている。そのうち、生魚等を試料とした場合において迅速にヒスタミンの定量が可能なヒスタミン測定キットが市販されている。このキットを用いて水産調理加工品に含まれるヒスタミンの分析を行うため、精製工程を追加して添加回収試験を行ったところ、生魚だけでなく水産調理加工品でもヒスタミンの回収率は90%以上と良好であった。

Key Word : ヒスタミン, ヒスタミン測定キット, 添加回収試験, 精製

I はじめに

ヒスタミンによる食中毒は摂食直後から数時間以内に発疹、頭痛、吐き気などの症状を呈する食中毒であり、原因食品のほとんどは魚類やその加工品、調理品である。また、原因食品を調理方法で比較すると焼きものが全体の約60%を占め、生ものは7%にすぎなかった¹⁾という報告がある。

当所では、食品衛生検査指針理化学編(2005)に高速液体クロマトグラフ法(B)(参考法)法²⁾として掲載されているダンシルクロライドでの蛍光誘導体化後に高速液体クロマトグラフで分析する方法(以下、DC誘導体化-HPLC法)を採用し、ヒスタミンによる食中毒が疑われる検体の検査を行っている³⁾。しかし、当該分析法の前処理は煩雑であり、数時間を要する。

この他にヒスタミンの分析方法として、食品衛生検査指針理化学編(2015)掲載の高速液体クロマトグラフ法(定性・定量)(B)(参考法)⁴⁻⁶⁾、液体クロマトグラフィー・タンデム質量分析計⁷⁻⁹⁾やヒスタミン

測定キットなどを用いる方法がある。

このうち、ヒスタミン測定キットによるヒスタミンの定量は迅速かつ簡便な手法であり、他の分析法のように高額な機器を必要としないというメリットがある。一方で、調理加工品や発酵食品などを試料とした場合には色素や酸化還元物質などの影響を受けるため使用できない。そこで、ヒスタミン測定キットでの通常処理に精製工程を追加し、ヒスタミンの定量を試みた。

II 材料および方法

1 試料

市販のサバ(生、干物、照り焼き)、ナンプラーを用いた。サバはあらかじめ細切、均一化したものを試料とした。また、生サバ5gに対してベニバナのメタノール抽出物(以下、ベニバナエキス)を1gの比率で添加し、均一化したものも試料とした。

2 試薬

ヒスタミン二塩酸塩(特級)、オクタンスルホン酸

ナトリウム（鹿 1 級），メタノール（HPLC 用）は関東化学製，りん酸水素二ナトリウム・12 水和物（特級），りん酸二水素ナトリウム・2 水和物（特級），25 %アンモニア水（有害金属測定用），1M 塩酸（容量分析用）は和光純薬製，EDTA・2Na・2H₂O（純度 99.5 %）は同仁化学研究所製を用いた．水はヤマト科学製 Autostill WA770 および東洋製作所製 RUF424BB で精製した超純水を用いた．ODS ミニカラムには MEGA BE-C18(1000 mg, 6 mL)，強陽イオン交換ミニカラムには Bond Elut SCX(500 mg, 3 mL)を用いた（以上，Agilent Technologies 社製）．ヒスタミン測定キットはキッコーマンバイオケミファ製のチェックカラーヒスタミン（以下，キット）を用いた．なお，キット付属のマニュアルは版数 201141 を参照した．ヒスタミン二塩酸塩を 0.1M 塩酸に溶解することで 1000 ppm としたものを標準原液とし，これを 0.1M 塩酸で希釈し，100 ppm としたものを添加用標準液として用いた．

3 装置

紫外可視分光光度計は島津製作所製 UV-2500PC を使い，10 mm 角の石英セルを使い，波長 470 nm での吸光度測定，および波長 800 - 400 nm の吸収スペクトル測定を行った．冷却遠心分離機は久保田製作所製 5922 を用いた．

4 試験溶液の調製

4. 1 前処理

キット付属のマニュアルに従って抽出を行った．試料 1g を 50 mL ポリプロピレン製遠沈管にはかりとり，0.1M EDTA 水溶液 24 mL を加え，沸騰水中で約 20 分間加熱した．氷冷の後，スパチュラで細かくほぐしてから冷却遠心機にて 5 分間（10 krpm, 5℃）遠心分離し，上澄み液をろ紙（No. 5C）にてろ過し，そのろ液を抽出液とした．

4. 2 精製

ODS ミニカラムを用いた精製は DC 誘導体化-HPLC 法での精製方法に準じて行った．すなわち，メタノール 10 mL，水 5 mL，0.05M オクタンスルホン酸ナ

トリウム水溶液 5 mL であらかじめコンディショニングした ODS ミニカラムに，試料 5 mL と 0.1M オクタンスルホン酸ナトリウム 5 mL をよく混ぜ，さらに塩酸で pH1.5 付近に調整したものを負荷した．続いて，ミニカラムを水 10 mL で洗浄した後，60 %メタノール水溶液 10 mL で溶出させた．溶出液をロータリーエバポレーターで濃縮，窒素ガスにより乾固させたのち，0.1M EDTA 水溶液 5 mL に溶解させた．

タンデム固相抽出法での精製は既報⁸⁾に準じて行った．すなわち，ODS ミニカラムの下に SCX ミニカラムを連結させ（以下，タンデム固相カラム），メタノール 5 mL，水 5 mL，100 mM りん酸緩衝液 5 mL であらかじめコンディショニングした．このタンデム固相カラムに，抽出液 10 mL と 100mM りん酸緩衝液 10 mL をよく混ぜたものを負荷した後，50mM りん酸緩衝液 10mL で洗浄を行った．ここで，ODS ミニカラムと SCX ミニカラムの連結をはずして SCX ミニカラムのみとし，さらに 25mM りん酸緩衝液 10 mL，水 10 mL，メタノール 10 mL で洗浄を行った．溶出は 25 % アンモニア水・メタノール（5:95）10 mL で行い，得られた溶出液はロータリーエバポレーターで濃縮，窒素ガスにより乾固させたのち，0.1M EDTA 水溶液 10 mL に溶解させた．

4. 3 ヒスタミンの定量

キット付属のマニュアルに従い，遮光しながら水浴中（37℃）で 15 分間反応をさせ，分光光度計にて吸光度の測定を行った．

III 結果および考察

キットを使い，5 種類の試料（生サバ，サバ干物，サバ照り焼き，ナンブラー，ベニバナエキス添加生サバ）についてヒスタミンの添加回収試験（n=3）を行った．平均回収率は生サバで 90 %以上となったが，サバ干物とサバ照り焼きは約 70 %，ナンブラーは約 50 %，ベニバナエキス添加生サバでは吸光度が 1 を超えてしまったため測定不可能であった（表 1）．これは，食品由来の色素や油分などの影響と考えられたため，精製工程の追加を検討した．

はじめに DC 蛍光誘導体化-HPLC 法での精製法を試みた。試料としてベニバナエキス 0.2 g を 0.1 M EDTA 水溶液 25 mL に溶解したものをを用いた。試料溶液を 5 mL 分取し、20 % トリクロロ酢酸水溶液 1 mL、0.1 M オクタンスルホン酸ナトリウム 5 mL を添加し混和した後、ODS ミニカラムによる精製を行った。すなわち、ODS ミニカラムに試料を負荷し、水で洗浄後、60 % メタノール水溶液で溶出させ、溶出液は濃縮乾固後に、0.1 M EDTA 水溶液 5 mL に溶解させた。これを分光光度計で吸収スペクトルを測定した。その結果、精製後の吸光度は精製前よりわずかに低くなったが、キットでの測定波長 470 nm 付近の吸光度は 1 をはるかに超えていた(図 1)。これは 60 % メタノール水溶液で溶出させる際に、ODS ミニカラムに保持されていた色素も溶出されてしまったためと考える。

そこで、タンデム固相抽出法での精製法⁴⁻⁶⁾を試みた。この精製方法は、逆相系カラムである ODS ミニカラムの下部に強陽イオン交換カラムである SCX

ミニカラムを連結させたタンデム固相カラムを使い精製を行うものである。SCX ミニカラムでイオン交換により保持させた化合物はアンモニウムイオンと競合させることで溶出させるため、溶出を行う前に水やメタノールでミニカラムを洗浄できることから、より幅広い夾雑物を除去できることが期待された。試料はベニバナエキス 0.2 g を 0.1 M EDTA 水溶液 25 mL に溶解したものをを用いた。これを 10 mL 分取し、100mM リン酸緩衝液(10 mL)とよく混和させた後、タンデム固相抽出法による精製を行った。すなわち、ODS ミニカラムと SCX ミニカラムを連結させたものに試料を負荷し、50mM リン酸緩衝液での洗浄後に ODS ミニカラムを外して SCX ミニカラムだけとした後、25mM リン酸緩衝液、水、メタノールでの洗浄後、25 % アンモニア水・メタノール(5:95)で溶出させた。溶出液は濃縮乾固させたのち、0.1 M EDTA 水溶液 10 mL に溶解させた。これを分光光度計にて吸収スペク

トルの測定を行った。その結果、精製前と比較して精製後の波長 470 nm 付近の吸光度は著しく低下し、超純水と同等の吸収スペクトルが得られた(図 1)。

ベニバナにはカルタミン、サフロミン A、サフロミン B 等が含まれており、これらの色素の極大吸収波長はキットでの測定波長の比較的近傍にある。しかし、今回検討したタンデム固相抽出法を適用することで、キットでの分析が可能になるような精製効果が得られることが示唆された。

そこで、実際に抽出後にタンデム固相抽出法での精製を追加して、キットを用いたヒスタミンの添加回収試験(n=3)を行った。試料として生サバ、サバ干物、サバ照り焼き、ナンブラー、ベニバナエキス添加生サバを用いた。その結果、

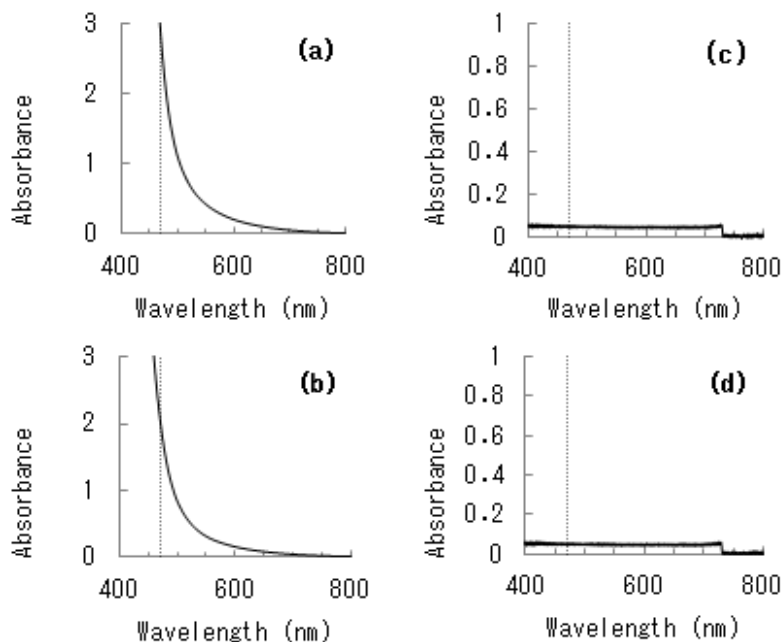


図 1. ベニバナエキス添加 EDTA 水溶液(試料溶液)の精製前後、および超純水の吸収スペクトル

(a) 試料溶液。(b) 試料溶液を ODS ミニカラムで精製し濃縮乾固後に 0.1 M EDTA 水溶液に溶解。(c) 試料溶液をタンデム固相抽出法で精製し濃縮乾固後に 0.1 M EDTA 水溶液に溶解。(d) 超純水

表1 ヒスタミン測定キットによる添加回収試験

試料	添加量	平均回収率(%) (n=3)	
		通常法	改良法 ^{a)}
サバ	生	91.2	97.4
	干物	72.3	91.4
	照り焼き	72.3	90.1
	ベニバナエキス添加	- ^{b)}	95.5
	ナンプラー	48.9	92.2

a) 通常法にタンデム固相抽出法による精製を追加した方法

b) ” - “は測定不可であったことを意味する

全ての試料で回収率 90 %を超えた(表 1).

以上のことから、本手法を用いることで水産調理加工品もキットでの測定対象となりうることが示唆された。

しかし、ヒスタミン以外の不揮発性アミンもこの食中毒の原因として関与している可能性も考えられている¹⁰⁾ため、不揮発性アミンの迅速な一斉分析法の検討を引き続き行いたいと考える。

IV 文献

- 1) Toda, M. Yamamoto, M., Uneyama, C., Morikawa, K. Histamine food poisonings in Japan and other countries. *Bulletin of National Institute of Health Sciences*, 127, 31-38(2009).
- 2) 厚生労働省監修. 食品衛生検査指針理化学編 2005. 東京, 日本食品衛生協会, 2005, pp. 621-630
- 3) 「食中毒の発生状況-平成 26 年」2014 年 12 月 26 日更新 山形県ホームページ(<http://www.pref.yamagata.jp/ou/kankyoenergy/020071/05/05-01.html>) (2015 年 8 月現在)
- 4) Awazu, K., Nomura, C., Yamaguchi, M., Obana, H. Determination of histamine in fish and fish products by tandem solid-phase extraction. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Saf. Sci.)*, 52, 199-204(2011).
- 5) Kikuchi, H., Tsutsumi, T., Matsuda, E. Performance evaluation of a fluoresceamine-HPLC method for determination of histamine in fish and fish products. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Saf. Sci.)*, 53, 121-127(2012).
- 6) 食品衛生検査指針理化学編 2015. 東京, 日本食品衛生協会, 2015, pp. 791-794
- 7) Kakigi, Y., *et al.* Quantification of non-volatile amines in beer using hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometer. *Bunseki Kagaku*, 60, 157-162 (2011)
- 8) Takizawa, Y., Shoji, M., Chiba, Y., Okura, Y. Examination of the quick analysis method of the histamine. *Annual Report of Miyagi Prefectural Institute of Public Health and Environment*, 32, 73-76(2014)
- 9) G. Sagratini, *et al.* Simultaneous determination of eight underivatized biogenic amines in fish by solid phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Food Chemistry*, 132, 537-543(2012).
- 10) EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ). Scientific opinion on risk based control of biogenic amine formation in fermented foods. *EFSA Journal*, 9, 2393, 1-93(2011)

資料

LC-MS/MS を用いた不揮発性アミンの一斉分析法の検討

佐藤 陽子, 太田 康介, 笠原 義正

Studies on Simultaneous Analysis of Non-volatile Amines by LC-MS/MS

By Yoko SATO, Kosuke OTA and Yoshimasa KASAHARA

蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフを用いた食品中の不揮発性アミンの分析は誘導体化が必要なため、前処理に長時間を要する。そこで、誘導体化を必要としない高速液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計を用いて不揮発性アミン 5 種の一斉分析を検討した。生サバを対象として検討したところ、ヒスタミンを含めた 5 種の不揮発性アミンは分析可能で、添加回収試験では 92.2–119 % の回収率であった。

Key Word : ヒスタミン, 不揮発性アミン, 食中毒, LC-MS/MS

I はじめに

平成 26 年 9 月に山形県内でヒスタミン(Him)が原因と疑われる食中毒が発生し、当所において検査を実施した。検査方法は食品衛生検査指針の参考法¹⁾にしたがい蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ(HPLC-FL)を用いHimを含め5種類の不揮発性アミンの一斉分析を実施した。しかし、この検査法は抽出、精製後、ダンシルクロライドにより誘導体化する過程が含まれ前処理に長時間を要する。そこで、選択性の高い高速液体クロマトグラフ・タンデム質量分析計(LC-MS/MS)を用いて誘導体化を必要としない一斉分析法について検討した。

生サバを用いた添加回収試験を指標に HPLC-FL 法と LC-MS/MS 法を比較した。同時に、サバの干物及び照焼きについても検討した。

II 材料および方法

1. 試料

市販の生サバ、サバの干物及び照焼きをフードプロセッサで細切、均質化後冷凍保存したものを解凍して用いた。

2. 装置

HPLC-FL は日本分光製 Galliver1500 シリーズを用

いた。LC-MS/MS は Agilent 社製 1100 シリーズ(LC)及び AB SCIEX 社製 API2000 (MS/MS) を用いた。

3. 標準品

ヒスタミン二塩酸塩、チラミン塩酸塩、カダベリン二塩酸塩は関東化学製、プトレシンは和光純薬工業製、スベルミジン三塩酸塩は MP Biomedicals 社製を用いた。Him, チラミン(Tym), カダベリン(Cad), プトレシン(Put), スベルミジン(Spd)は 1000 µg/mL となるように、それぞれ 0.1 M 塩酸に溶解し標準原液とした。混合標準溶液は各標準原液から 0.1 M 塩酸:アセトニトリル(2:8)で希釈して調製し用いた。

4. 測定条件

4.1 HPLC-FL 条件

LCカラムは Inertsil ODS-SP 4.6 mm i. d. ×250 mm, 5 µm (GL Science 社製) を用い、カラム温度は 40 °C とした。移動相には A 液:アセトニトリル-水(6:4), B 液:アセトニトリル-水(7:3)のグラジエント条件(100 %A 液(0 min)→100 %A 液(23 min)→0 %A 液(24 min)→0 %A 液(39 min)→100 %A 液(40 min))で溶出を行った。移動相流量は 1.0 mL/min, 試料注入量は 10 µL とした。検出波長は励起波長 325 nm, 蛍光波長 525 nm とした。

4.2 LC-MS/MS 条件

LC カラムは CAPCELL CORE PC 2.1 mm i. d. ×150 mm, 2.7 μm (資生堂製) を用い, カラム温度は 40 °C とした. 移動相は A 液:アセトニトリル-100 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.0) (9:1), B 液:10 mM ギ酸アンモニウム (pH 3.0) のグラジエント条件 (90 %A 液 (0 min) →90 %A 液 (1 min) →10 %A 液 (10 min) →90 %A 液 (10 min)) による溶出を行った. 移動相流量は 0.25 mL/min, 試料注入量は 5 μL とした. MS/MS のイオン源には ESI(positive) を用い, イオンスプレー電圧は 4200 V, イオン源温度は 500 °C に設定した. 測定は MRM モードで行い, 定量イオン (m/z) は 112 → 95 (Him), 138 → 121 (Tym), 103 → 86 (Cad), 89 → 72 (Put), 146 → 72 (Spd) とした.

5. 試験溶液の調製

5.1 HPLC-FL 法

試料 5.0 g を食品衛生検査指針の参考法¹⁾にしたがい試験溶液を調製した (Fig. 1).

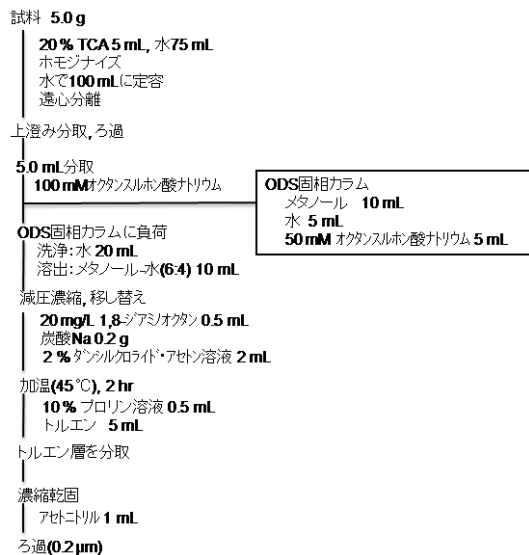


Fig. 1 HPLC-FL 法の試験溶液調製法

5.2 LC-MS/MS A 法

試料 5.0 g を HPLC-FL 法と同様の操作により抽出して精製し得られた溶液を濃縮乾固後, 誘導体化せず 0.1 M 塩酸-アセトニトリル (2:8) 2 mL に溶解した. この溶液を 1 mL 分取し同溶媒で 25 mL に定容, 0.2 μm のメンブランフィルターを通し試験溶液とした

(Fig. 2).

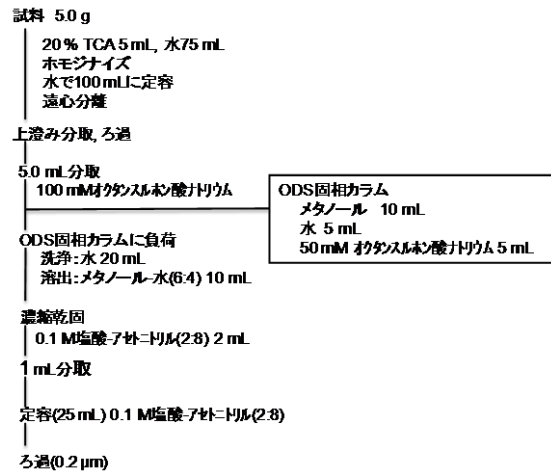


Fig. 2 LC-MS/MS A 法の試験溶液調製法

5.3 LC-MS/MS B 法

試料 2.0 g を 50 mL 目盛付遠沈管に採り, 抽出溶媒 30 mL を加えホモジナイズ後, 50 mL に定容した. これを攪拌し静置後, 遠心分離を行った. この上澄み液 1.0 mL を分取し 0.1 M 塩酸-アセトニトリル (2:8) で 20 mL に定容, 0.2 μm のメンブランフィルターを通し試験溶液とした²⁻⁶⁾ (Fig. 3).

抽出溶媒の検討は, ①1.3% トリクロロ酢酸水溶液, ②1.5% トリフルオロ酢酸水溶液 (TFA aq.)-アセトニトリル (15:85), ③0.1 M 塩酸-アセトニトリル (2:8) 及び④0.1 M EDTA · 2Na 水溶液 (pH 8) の 4 種を用いて行った. 抽出溶媒②, ③, ④を使用した場合ホモジナイズ後の定容 (50 mL) にそのまま抽出溶媒を用いたが, ①の場合は精製水を用いた.

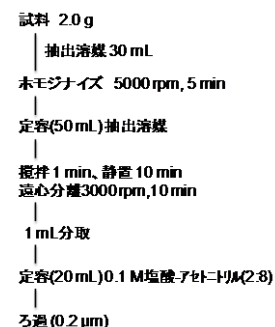


Fig. 3 LC-MS/MS B 法の試験溶液調製法

III 結果および考察

1. 試験溶液の溶媒の検討

水-メタノールの比率を水, (2:8), (5:5), (8:2), メタノールに調製し, 同様に 0.1 M 塩酸-メタノール, 水-アセトニトリル及び 0.1 M 塩酸-アセトニ

トリルについても同じ比率で調製し混合標準溶液を作成し、各アミンのピーク高及び形状を比較した。Spdについてはどの溶媒を用いても良好なピーク形状は得られなかった。Spd以外のアミンでは0.1 M 塩酸-アセトニトリル(2:8)を用いた場合に良好なピークが得られたため、これを試験溶液の溶媒とした。

2. 試験溶液調製方法の検討

生サバにアミン濃度が各々100 µg/gとなるよう標準溶液を添加し、LC-MS/MS法とHPLC-FL法の回収率を比較した(Table 1)。

LC-MS/MS A法では、各アミンの回収率は86.3-105%と良好な結果が得られた。この方法は抽出、精製する過程はHPLC-FL法と同じであるが、誘導体化を行わず測定するため、前処理に要する時間は短縮できる。

LC-MS/MS B法では、ホモジナイズ後、遠心分離し、上澄みを希釈し試験溶液とする方法である。この方法では固相カラムによる精製過程及び誘導体化がないため、操作がHPLC-FL法及びLC-MS/MS A法に比べ簡便で迅速に検査結果を得ることができる。抽出溶媒に②0.1 M 塩酸-アセトニトリル(2:8)を用いたときの各アミンの回収率は92.2-119%と他溶媒を使用した場合に比べ良好であった。

3. 添加回収試験

次に食中毒検体として想定されるサバの干物及び照焼きを用いて添加回収試験を行った。アミン濃度は各々100 µg/gとなるよう試料に添加した。各アミンの回収率は干物では95.7-111%、照焼きでは49.1-98.2%であった(Table 2)。照焼きで回収率が低かった要因は調味料や油分等の夾雑物が多いため、イオン化の抑制が生じたものと考えられる。

なお、Himに限れば回収率は干物では101%、照焼きでは77.8%と残留農薬等の妥当性評価ガイドラインの真度の目標値70-120%の範囲内であった。

また、今回用いたHimの検量線では標準溶液の最小濃度が12.5 ppbなので、これはLC-MS/MS B法の試料濃度に換算すると6.25 ppmになる。これは

HPLC-FL法のHimの定量限界20 ppm¹⁾に比べても感度が良い。なお、この最小濃度(12.5 ppb)でのS/N比は356と定量限界の目安となるS/N比10よりも十分大きい。

文献⁷⁾によると食品中のHim濃度が50-100 ppmで感受性の高いグループは食中毒をおこす可能性が指摘されているが、現在、国内では食品中のHim濃度の基準値は設定されていない。しかし、Himによる食中毒の原因究明のためには多様な食品が検体として想定されるため、夾雑物の多い調理品でも一斉分析が可能となるよう分析法の検討が必要と考える。

IV 文献

- 1) 食品衛生検査指針理化学編，厚生労働省監修，日本食品衛生協会，東京，2005，p.621-630
- 2) 山本圭吾，木本聖子，森居京美，城山二郎：LC-MS/MSによる魚介類中ヒスタミン分析法の検討，奈良県保健環境研究センター年報，44，53-57(2009)
- 3) 吉田達雄 他：水産物中ヒスタミン分析の検討，熊本県保健環境科学研究所，40，20-24(2010)
- 4) 大月史彦，肥塚加奈江，林隆義，山本淳：LC/MS/MSを用いた不揮発性腐敗アミンの一斉分析法の検討，岡山県環境保健センター年報，34，99-103(2010)
- 5) 多田裕之，南谷臣昭，神山恵里奈，河村博：LC-MS/MSによるキノコ及び魚介類の中毒成分迅速分析法，岐阜県保健環境研究所報，21，1-7(2013)
- 6) 瀧澤裕，庄司美加，千葉美子，大倉靖：LC-MS/MSによる不揮発性アミン類迅速分析法，第50回全国衛生化学技術協議会年会 講演集，174-175(2013)
- 7) 登田美桜，山本都，畝山智香子，森川肇：国内外におけるヒスタミン食中毒，国立医薬品食品衛生研究報告，127，31-38(2009)

Table 1. 添加回収試験の結果

調製方法	平均回収率 (%)*				
	Him	Tym	Cad	Put	Spd
HPLC-FL 法	102	97.9	96.9	96.9	88.7
LC-MS/MS A 法	105	87.2	90.4	86.2	98.9
LC-MS/MS B 法					
①1.3 % トリクロロ酢酸水溶液	116	100	91.2	87.5	124
②0.1 M 塩酸-アセトニトリル(2:8)	112	105	92.4	92.2	119
③1.5 % TFA aq.-アセトニトリル(15:85)	119	90.8	85.1	63.5	119
④0.1 M EDTA・2Na 水溶液	21.1	101	34.9	0	23.4

※添加濃度 各アミン 100 µg/g, n=3

Table 2. 添加回収試験の結果

試料	平均回収率 (%)*				
	Him	Tym	Cad	Put	Spd
干物	101	104	109	111	95.7
照焼き	77.8	98.2	50.9	76.3	49.1

※添加濃度 各アミン 100 µg/g, n=3

資料

自然毒による食中毒事例（2014年）

長岡 由香, 笠原 義正

Food Poisoning by Natural Toxins in Yamagata Prefecture in 2014

By Yuka NAGAOKA and Yoshimasa KASAHARA

2014年に山形県内で発生した自然毒による食中毒事例は6件であった。これらは、すべて植物性自然毒であり、原因物質としては、スイセンによる食中毒1件、ツキヨタケによる食中毒4件、ハイイロシメジによる食中毒1件であった。

そのうち当研究所に検査依頼のあった事例は3件であった。この3件は、いずれもキノコの調理品を喫食し、吐き気、嘔吐、腹痛、下痢等の症状を呈した事例である。残品について、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC-MS/MS)により分析した結果、いずれもツキヨタケの誤食による食中毒と判明した。

その他の3件については、残品の形態的特徴等で判定可能であったため、検査依頼がなかった。

Key Word : 食中毒, 自然毒, 植物性自然毒, ツキヨタケ, illudin S

I はじめに

自然毒による食中毒事例において、理化学的検査が必要な場合は、食品安全衛生課又は管轄保健所長から依頼を受け、当所で原因物質の調査を行っている。

2014年、自然毒による食中毒は6件発生しており(Table 1)、そのうち、植物性自然毒のツキヨタケによる食中毒3件について検査依頼があり実施した。それらの検査概要について報告する。

事例の概要は、保健所及び食品安全衛生課による調査報告からまとめた。当所で調査を行った分析条件や結果については、当所の検査報告書からまとめた。

II 事例の概要

事例1 : ツキヨタケの煮物による食中毒

10月9日、医療機関から保健所に、キノコによる食中毒を疑う患者2人が受診した旨の連絡があった。保健所が調査したところ、10月8日に山林でキノコを採取し、午後7時頃自宅で調理し食べたところ、喫食者5人中4人が午後8時頃から吐き気、嘔吐を呈し、医療機関を受診した。入院患者はなかった。

事例2 : ツキヨタケの炒め物による食中毒

10月13日、医療機関から保健所に、キノコによる食中毒を疑う患者2人が受診した旨の連絡があった。保健所が調査したところ、同日に山林でキノコを採取し、午後1時30分頃自宅で調理し食べたところ、喫食者3人中2人が午後8時頃から吐き気、嘔吐、下痢、腹痛を呈し、医療機関を受診した。その後の報告による発症者数は3人であった。入院患者はなかった。

事例3：販売されたムキタケにツキヨタケが混入したことによる食中毒

10月17日、山形県内の果実野菜販売業の店舗において購入したムキタケを、10月18日午前9時頃から調理し食べたところ、喫食者2人中2人が午前10時頃から吐き気、嘔吐、倦怠感の症状を呈した。患者は仙台市在住であり、医療機関受診者は1人、入院患者数は1人であった。10月19日、仙台市の管轄保健所から山形の販売店舗管轄保健所に調理済み残品（ツキヨタケのお吸いもの）が搬入され、山形の保健所から検査依頼があった。また、食中毒患者が食したムキタケと同一と考えられるキノコは、その他3店舗で販売されており、販売者が自主回収を行った。他に発症報告はなかった。同日、山形の販売店舗管轄保健所により、当該食品を購入した飲食店がありツキヨタケ混入の疑いがあるとの理由で調理品が回収された。その調理品2検体（喫食者なし）について検査依頼があった。

III 材料及び方法

1. 試料

事例1は、調理済み残品1検体を均質化して試料とした。事例2は、未調理品及び調理済み残品をそれぞれ均質化して試料とした。事例3は、仙台市の食中毒検体1検体及び飲食店調理品2検体をそれぞれ均質化して試料とした。

2. 標準品

ツキヨタケからメタノールエキスを作成し、これを各種クロマトグラフィーで分離精製し、illudin Sを単離した¹⁾。Illudin Sを5.0 mg秤量し、5.0 mLのメタノールに溶解したものを適宜希釈して標準溶液とした。

3. 抽出及び精製

試料5.0 gを量り、メタノール50 mLを加えてホモジナイズした。これをろ過後減圧濃縮して、10%メタノール20 mLに溶解し、メタノール

5 mL、水5 mLでコンディショニングを行った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で溶出した。これを減圧濃縮し、メタノール1 mLに溶解して試料溶液とした。試料量が5 gに満たない場合には全量はかりとった。

4. 分析条件

装置は、高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計(LC-MS/MS)（高速液体クロマトグラフ：Agilent社製Agilent 1100シリーズ、質量分析計：AB Sciex社製API 2000）を用いた。

既報²⁾に従いLC-MS/MSを次の条件で測定した。分析カラムはInertsil ODS-3 (2.1 mm i.d. × 150 mm, 5 μm)を用い、カラム温度は40 °C、移動相は5 mMギ酸アンモニウム：メタノール(7 : 3)、移動相流速は0.2 mL/minとした。イオン化法はESI(Positive)、ターボガス温度は450 °C、試料注入量は5 μLとした。定量用モニタリングイオンは(m/z) : 265→217、確認用モニタリングイオンは(m/z) : 265→201とした。

IV 結果及び考察

本法におけるilludin Sの定量限界は0.28 μg/gである¹⁾。検査依頼は、illudin Sが検出されるかどうかの定性試験であったが、定量限界を超えた検体について、検出と判定した。

事例1の検体からはilludin Sが検出された(定量値：28 μg/g)。事例2の検体は、未調理品及び調理済み残品のどちらからもilludin Sが検出された。(未調理品定量値：1067 μg/g、調理済み残品定量値：106 μg/g)。事例3の仙台市の食中毒検体からはilludin Sが検出された(定量値：1 μg/g)。飲食店調理品2検体からは検出されなかった。

山形県内において、ツキヨタケによる食中毒は頻繁に発生している。ムキタケ、ヒラタケ等の食用キノコと形態が似ていることが誤食の原因と考えられる。

ツキヨタケに関しては中毒症状とそれを引き起こす illudin S の量の正確な知見は無いが、illudin S として 1 mg 以上の摂食により中毒が起こると推定されている。

2014 年は、ツキヨタケによる食中毒は 4 件発生し、そのうちの 3 件について理化学的検査を行った。1 件は残品の形態的特徴等で判定可能であったため、検査依頼がなかった。

調理品の場合、illudin S は、煮汁にも移行している。事例 1 及び事例 3 における illudin S の定量値が低い理由は、食中毒検体が具材のみであり、illudin S の多くが汁に移行していたためと推定される。また、事例 3 の飲食店調理品については、検体に煮汁も含まれていたが検出されなかったことより、ツキヨタケが混入していなかったと考えられる。食中毒の原因物質の理化学的検査において、検体が調理品の場合、可

能であれば煮汁も共に回収してもらうように依頼することが必要と考えられる。

自然毒の食中毒は、事例 1 及び事例 2 のように、採取者が家庭内で調理し誤食することで発生するケースが多い。しかし、事例 3 のように、市場流通品の食用キノコに有毒キノコが混入した場合、被害が広域に発生する危険性がある。今回の発症者は 1 家族 2 人であったが、被害を最小限にするためにも、迅速な原因物質の究明を行うことが必要である。

V 文献

- 1) 笠原義正ら：LC/MS/MS によるツキヨタケおよび食中毒原因食品中の illudin S の分析，食品衛生学雑誌，50，167-172，(2009)
- 2) 和田章伸，笠原義正：ツキヨタケの中毒成分 illudin S の LC/MS/MS による分析，山形県衛生研究所報，43，1-5，(2010)

Table 1 2014 年に発生した自然毒による食中毒事例の概要

発生	発症時間	発症者数	喫食者数	原因食品	症状	原因物質
5 月	30 分後	4	4	スイセンの葉	吐き気、嘔吐、腹痛	スイセン
10 月	1 時間後	4	5	ツキヨタケの煮物	吐き気、嘔吐	ツキヨタケ ※
10 月	1 時間半後	3	3	ツキヨタケの炒め物	吐き気、嘔吐、下痢、腹痛	ツキヨタケ ※
10 月	直後	4	5	ツキヨタケの煮物	吐き気、嘔吐、下痢	ツキヨタケ
10 月	1 時間後	2	2	ツキヨタケのお吸い物	吐き気、嘔吐、倦怠感	ツキヨタケ ※
10 月	不明	1	10	ハイイロシメジの焼物	下痢、嘔吐	ハイイロシメジ

※：検査依頼のあった事例（依頼のなかった事例は残品の形態鑑定で判定した）

資料

ツキヨタケ中の中毒成分 illudin S の含有量および塩蔵による消長

大河原 龍馬, 和田 章伸, 笠原 義正

Concentration of illudin S in *Omphalotus guepiniformis*
and its reduction by salting

by Ryuma OKAWARA, Akinobu WADA and Yosimasa KASAHARA

ツキヨタケ中の illudin S 含有量は子実体が大きくなるほど増加するが、ある重量で減少に転じることが分かった。また、石突の黒紫色のシミの部分に毒があり、これを取り除くと中毒しないという伝承は、illudin S を定量することにより否定された。さらに、塩蔵による毒抜きを検討したところ、半分に切断したツキヨタケの場合では、1ヶ月間の塩蔵により illudin S 残存率が 0.4 % となったが、サンプル調製の際の切り方で残存率が変化する可能性が示唆された。

Key Words: ツキヨタケ *Omphalotus guepiniformis*, イルジン S illudin S, 塩蔵 salting

I はじめに

ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*) による食中毒は毎年のように発生しているが、これは食用のヒラタケ、ムキタケ、シイタケなどと形態が似ていることが原因と考えられる。これを誤食すると 30 分から 3 時間で嘔吐、腹痛、下痢などの症状を呈する。

厚生労働省の統計によると、全国のツキヨタケ中毒の件数は平成 12 年から平成 26 年までの 15 年間で 296 件である¹⁾。これはキノコによる食中毒の発生件数の約 4 割を占める。我々は既にツキヨタケの食中毒原因物質の illudin S について固相抽出を用いた前処理法および高速液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計 (LC-MS/MS) を用いた定量法を確立した²⁾。

前報²⁾ではこの方法を用いてツキヨタケの採取地域の違いによる illudin S 含有量の差について検討を行った。今回はツキヨタケの子実体の大きさまたは部位の違いについて検討を行った。また、毒キノコについて「塩蔵すると毒が抜ける」、「干して乾燥すれば食べられる」、「ナスと一緒に調理すると食べられる」等といったような言い伝えが全国的に知られている³⁾。さらに、以前我々が行ったアンケ

ート調査からも同様に、キノコを毒抜きして食べるかという問いに対して「水に浸す」、「塩蔵をする」ことで食するという回答があった⁴⁾。そこで塩蔵による減毒について真偽のほどを検証した。

II 材料および方法

1. 試料

2009 年、2010 年および 2013 年に山形県鶴岡市田俣侯および西川町志津に自生していたツキヨタケを採取し、 -20°C で凍結保存したものを用いた。

2. 試薬

標準品：illudin S は前報²⁾に従い、ツキヨタケから分離精製したものを用いた。標準溶液は illudin S を 5 mg 秤量し、5 mL のメタノールに溶解したものを適宜希釈したものを用いた。

試薬：ギ酸およびギ酸アンモニウムは関東化学株製の特級、メタノールは関東化学株製の高速度液体クロマトグラフィ用を使用した。食塩は食用の市販品を用いた。

固相カートリッジ：Waters 社製 Oasis HLB 6 cc (500 mg) を用いた。使用前にメタノール 5 mL 及び水 5 mL を用いてコンディショニングを行った。

3. 装置

LC-MS/MS：高速液体クロマトグラフはAgilent社製Agilent 1100シリーズを用いた。質量分析計は株式会社エービーサイエックス社製API2000を用いた。

4. 測定条件

LC-MS/MSは前報²⁾に従って、移動相を5 mM ギ酸アンモニウム-メタノール (7:3) とした。定量用モニタリングイオン(m/z)を265 → 217, 確認用モニタリングイオン(m/z)を265 → 201とした。

5. 試料溶液の調製

細切したツキヨタケ5 gを量り取り、メタノール50 mLを加えてホモジナイズした後、ろ過した。ろ液を減圧濃縮後、10%メタノールで溶解し、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で溶出させた。これを減圧濃縮し、メタノール1 mLで溶解して0.45 μmのメンブレンフィルターを通し試料溶液とした。

6. 検量線および定量

Illudin Sを1, 5, 10, 25 μg/mLになるように調製し、その5 μLをLC-MS/MSに注入した。測定で得られたクロマトグラムからピーク面積を求め、絶対検量線法により検量線を作成した。

7. 塩蔵による illudin S の消長

食用きのこ間違われやすい大きさのツキヨタケ(25.3 g~33.3 g)を、ツキヨタケの重量に対して1.5~2倍の重量の食塩と混合して一定期間塩漬を行った後に、流水で24時間塩抜きした菌体について「5. 試料溶液の調製」にしたがい試料溶液を作成した。

III 結果および考察

1. 子実体の大きさの違いによる illudin S 含有量の差

2009年9月に山形県鶴岡市田麦俣で採取した様々な大きさのツキヨタケについて、それぞれの illudin S 含有量を測定した。ツキヨタケの重量は20~50 gを中心に2.2~120.3 gであった(30個)。その結果、子実体1個当たりの illudin S 含有量は0.018~32.57 mgであった(Figure 1)。子実体が大きくなるほど、そこに含まれる illudin S は増加していくが、約70 gを超えると減少傾向に転じることが分かった。このことから、ツキヨタケがある程度まで成長

すると illudin S の生産が行われなくなることが示唆される。

さらに、発生する倒木の違いによって illudin S 含有量に差があるのかわかるために、倒木ごとに分けてツキヨタケを採取し、illudin S 含有量を測定した。測定には2010年に西川町志津で採取したものをを用いた。このツキヨタケはそれぞれ隣接する3本の倒木(倒木A, B, Cとする)に自生していた。よって、場所、時期、気象条件等は同様である。

その結果、子実体1個当たりの illudin S 含有量は重量の大きい個体ほど大きくなることは同様であるが、その増え方に一定の傾向は見られなかった。しかし、70 g以上のツキヨタケを採取できなかったため、Fig. 1に示したような illudin S の減少は確認できなかった(Figure 2)。

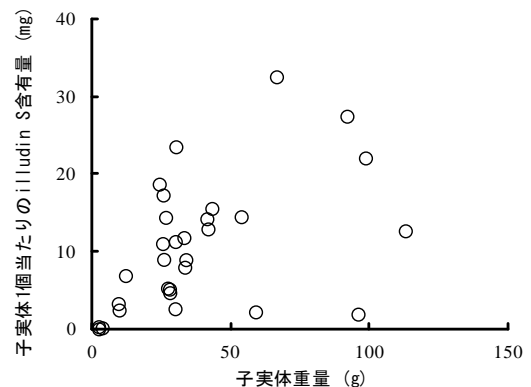


Fig. 1. 様々な大きさのツキヨタケ中の illudin S

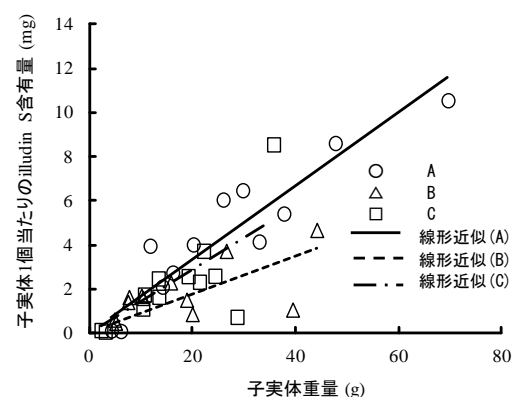


Fig.2. illudin S contents in *Omphalotus guepiniformis* of different tree growing

2. 部位の違いによる illudin S 含有量の差

ツキヨタケの柄の基部に位置する石突の中央部には黒紫色のシミがあり、他の食用キノコとツキヨタケとを判別する最大の特徴とされている。聞き取り調査によれば、この黒紫色のシミの部分に毒があるとされている。したがって石突の部分を取り去れば中毒しないと言われている。そこで、黒紫色のシミの部分に illudin S が集まっているのか、また、それ以外には含まれていないのか検討を行った。

試料は2009年9月に鶴岡市田麦俣および2013年10月に西川町志津で採取したツキヨタケを用いて、おのおの黒いシミを含む石突部分、傘の部分、傘と石突の中間の柄の部分の3つの部位に分けて、illudin S 含有量を測定した。

測定の結果、鶴岡市田麦俣のツキヨタケでは石突に含まれる単位重量当たりの illudin S 含有量は傘の4.1倍であり、西川町志津では2.4倍、柄についてはそれぞれ傘の1.9倍、1.2倍であった。すなわち、いずれも石突、柄、傘の順に多かった(Table 1)。一柳らは菌糸体で illudin S が生産され、子実体発生時に吸い上げられて蓄積されることを示唆している⁵⁾。これらのことから、シミの部分に毒が集まるというよりも、菌糸体から石突を通して子実体全体に illudin S が供給されていると考える。したがって、菌糸体に近い石突部分のほうが単位重量当たりの illudin S 含有量が大きくなり、先端に行くほど illudin S が稀釈されて小さくなっていくものと考えられる。

一方、単位重量当たりではなく傘、柄、石突おのおのに含まれる illudin S 含有量を見ると、傘の部分の最大であった。よって、シミ(石突)を除けば食べられるという言い伝えは否定される。

3. 塩蔵による illudin S 含有量の消長

山形県内の一部地域では、有毒キノコであるツキヨタケを塩蔵して毒抜きを行い食す習慣があったと言う。また、2005年に実施した山形県内の食生活改善推進協議会会員

Table 1. ツキヨタケの部位の違いによる illudin S 含有量の差

採取地	含有量 (µg/g) ^{a)}		
	傘	柄	石突
鶴岡市田麦俣 ^{b)}	291.8 ± 126.9	638.6 ± 98.4	1221.8 ± 462.0
西川町志津 ^{c)}	63.7 ± 23.8	131.1 ± 67.7	158.6 ± 87.8

a) 平均値±標準偏差 (n=4-5)
b) 2009年採取 (n=4)
c) 2013年採取 (n=5)

を対象としたアンケート調査では、ツキヨタケを水に浸す、あるいは塩漬けにして毒抜きをして食すると回答した人が2.8%いた⁴⁾。

塩蔵の方法は生のキノコを茹でた後流水にさらし、水切りした後に大量の塩で漬ける。さらに1~3ヵ月後に水にさらして塩抜きを行った後に調理に供すると言う。

今回、この塩蔵の過程において各段階でどの程度 illudin S が減少するかを検討するために、単位重量当たりの含有量を比較した。

そこで、塩漬け前の illudin S 含有量が分かっているならば、ツキヨタケを細切して均一に混合し、その一部を塩漬け前の含有量とした。それ以外は1週間、1ヶ月、2ヶ月、3ヶ月塩蔵した後に含有量を測定した。その結果、1ヶ月後には微量になり、2ヶ月後には検出されなかった(Table 2)。

Table 2. ツキヨタケの塩蔵による illudin S 含有量の経時変化(細切)

塩蔵期間	単位重量当たりの含有量 (µg/g) ^{a)}
塩蔵前	130.37 ± 15.62
1週間	0.36 ± 0.37
1ヶ月	0.05 ± 0.05
2ヶ月	N.D.
3ヶ月	N.D.

a) 平均値±標準偏差 (n=4-5)

しかし実際に塩蔵して3ヶ月後に塩抜きしても中毒した事例があるので、illudin S が検出されないことは考えにくい。これは細切したために illudin S が流出して減少した可能性が高い。そのため、菌体の左右で含有量が変わらないことをあらかじめ確認したうえで、半分にして片方を定量し、もう一方を塩蔵して1週間後および1ヵ月後に illudin S を定量した。

その結果を Table 3 に示した。半分にしたものは1ヵ月後

Table 3. ツキヨタケの塩蔵による illudin S 含有量の経時変化

塩蔵期間	単位重量当たりの含有量 (µg/g) ^{a)}			
	半分		細切	
塩蔵前	401.7 ± 244.2	401.7 ± 244.2	401.7 ± 244.2	401.7 ± 244.2
1週間	1.24 ± 0.29	0.143 ± 0.175	0.143 ± 0.175	0.143 ± 0.175
1ヶ月	1.79 ± 1.49	0.005 ± 0.008	0.005 ± 0.008	0.005 ± 0.008

a) 平均値±標準偏差 (n=4-5)

に1.79 µg/gになり,細切したものは0.005 µg/gであった.
細切したもののほうが半分にしたものと比較して含有量が
小さくなったことから,細かく切断することでより
illudin S が流出しやすくなる可能性が高い.したがって,
今後はキノコを切断せずに塩蔵を評価する方法を検討する.

IV 文献

- 1) 厚生労働省:食中毒に関する情報,4食中毒統計資料
(http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/index.html)
- 2) 和田章伸,笠原義正:ツキヨタケの中毒成分
illudin S のLC/MS/MSによる分析,山形県衛生研
究所報,43,1-5,2010
- 3) 登田美桜,畝山智香子,豊福肇,森川馨:わが国に
おける自然毒による食中毒事例の傾向(平成元年~
22年),食品衛生学雑誌,53,105-121,2012
- 4) 笠原義正,伊藤健:健康と食べ物の言い伝えに関す
るアンケート調査,山形県衛生研究所報,39,25-33,
2006
- 5) 一柳剛他:ツキヨタケ (*Omphalotus guepiniformis*)
による illudin S の生産,日本きのこ学会誌,21(2),
98-102,2013

資料

畜水産食品中の動物用医薬品における LC-MS/MS 一斉分析法の妥当性評価

須貝 裕子

The validity value of the LC-MS/MS simultaneous analysis way in medical supplies for animals in the Livestock Products and Seafoods

By Hiroko SUGAI

畜水産食品中に残留する動物用医薬品を高速液体クロマトグラフ質量分析計により測定するために、「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」(以下、ガイドライン)に基づき妥当性評価を実施した。すなわち、移動相及び希釈倍率等に検討を加えた方法を用い、表面多孔性(コアシェル型)カラムを選定した場合、今回対象としたすべての食品、動物用医薬品においてガイドラインに適合する結果が得られた。

Key Words : 動物用医薬品, 畜水産食品, 妥当性評価, LC-MS/MS

I はじめに

当所における残留動物用医薬品(以下、動物薬)検査は、「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I(畜水産物)(以下、一斉法I)」等により、紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフ(HPLC-UV)を中心に測定を実施してきたが、一斉法Iは精製操作が十分ではなく、紫外線吸光度を指標にしているため、様々な目的外成分(夾雑成分)を含んでいる畜水産食品の測定には困難なことが多かった。

また、平成22年に「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」(以下、ガイドライン)が改正され、さらに平成25年12月14日以降はこのガイドラインに基づき、妥当性を確認したものでなければ検査対象とならないこととなった。このため、一斉法Iにおける妥当性評価を実施したところ、ガイドラインで評価すべきパラメータのうち、特に「選択性」を満足しない成分がほとんどであった。

一方、高速液体クロマトグラフ質量分析計

(LC-MS/MS)はHPLC-UVに比べて高感度であり、物質を質量の違いで特定するため同定能力に優れているが、夾雑成分が目的成分のイオン化に影響を及ぼすことが考えられる。

そこで、夾雑成分の影響を減らしLC-MS/MSにより測定を行うために、一斉法Iに検討を加えた方法(以下、「検討法」という。)により、妥当性評価を行ったので報告する。

II 材料と方法

LC-MS/MS測定において夾雑成分の影響を減らすために、試験液を希釈する検討を行った。

1 対象食品及び対象成分

対象食品は鶏卵、養殖魚、生乳及び食鳥肉(鶏筋肉)であり、対象成分はチアベンダゾール(TBZ)、5-ヒドロキシチアベンダゾール(5-OH-TBZ)、ピリメタミン(PYR)、スルファジアジン(SDZ)、スルファメトキサゾール(SMXZ)、オキシソリニック酸(OXA)、スルファメラジン(SMR)、オルメトプリム(OMP)、

スルファジミジン (SDD), スルファモノメトキシシ (SMMX), スルファクロルピリダジン (SCPD), トリメトプリム (TMP), スルファキノキサリン (SQX), スルファジメトキシシ (SDMX) 及びフルベンダゾール (FBZ) の 14 項目 (15 成分) である.

2 装置及び測定条件

高速液体クロマトグラフ (LC) は Agilent 社製 1200 シリーズ, タンデム型質量分析計 (MS/MS) は AB SCIEX 社製 API2000 をそれぞれ用いた.

測定条件の検討内容を Table 1 に示した. 移動相は①から③の 3 種類, 試験液溶媒はアセトニトリル及び水の混合液 (①から④) とし, 混合割合を変えて最も感度の高い組み合わせを検討した.

測定カラムは分離の良い表面多孔性充填剤 (コアシェル型) カラム①及び従来型の全多孔性充填剤カラム②を用い, LC-MS/MS により測定を行った.

Table 1. LC-MS/MS 測定条件の検討

移動相	
①A 液 ; 0.05%ギ酸	B 液 ; アセトニトリル
②A 液 ; 5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液	B 液 ; アセトニトリル
③A 液 ; 5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液	B 液 ; 5mmol/L 酢酸アンモニウムメタノール溶液 各グラジェント溶出
試験液溶媒	
①アセトニトリル-水 (1:9)	
②アセトニトリル-水 (2:8)	
③アセトニトリル-水 (3:7)	
④アセトニトリル-水 (4:6)	
分析カラム	
①資生堂社製 CAPCELLCORE C18 2.1mmi. d. ×150mm	
②Waters 社製 Atlantis®T3 2.1mmi. d. ×150mm	

3 定量限界

ここで, 動物薬のうち, 抗生物質や合成抗菌剤で残留基準値が定められていないものは, 「残留してはならない」とされている. この場合, ガイドラインによる定量限界は, 定量限界相当の抽出液を添加した標準液又は添加サンプルにおいて $S/N \geq 10$ であることとされ, マトリックスの共存下における S/N 比を求める必要がある.

マトリックスの共存下ではイオン化に影響を与

える可能性があるため, 希釈倍率は, 「2 装置及び測定条件」の測定条件の検討で得られた条件を用いて, 定量限界相当の標準液の測定を行い, 目的成分のピークの S/N を求めて $S/N \geq 10$ である濃度範囲を算出し, マトリックスによる影響を考慮した上で決定した.

4 試験溶液の調製

一斉法 I においては脱脂操作に用いた溶媒 (アセトニトリル-水 (4:6)) がそのまま試験液溶媒となるが, これを変更する場合, 脱脂操作から溶媒を変更することが可能かどうか確認する必要がある. そこで, 試験液溶媒と同じ 4 種類の溶媒 (①から④) により脱脂操作を行い, 最適となる条件を「検討法」とした.

5 妥当性評価

ガイドラインに基づき, 妥当性評価を実施した. 添加濃度は, 鶏卵, 生乳及び食鳥肉においてはそれぞれの食品の残留基準値相当濃度, 養殖魚は複数の魚種の検査を実施しているため, 0.1ppm 及び 0.01ppm 相当の 2 濃度とした.

III 結果および考察

1 「検討法」

1.1 LC-MS/MS 測定条件

Table 1 により, 試験液の溶媒を変えて標準液の LC-MS/MS 測定を行ったところ, ①アセトニトリル-水 (1:9) の標準液のピーク形状が最も良かった. 移動相においては, 対象成分によって感度の良し悪しは異なっており, 一概にどの移動相が良いとは言えなかったが, 最も感度の小さい SDZ の S/N 比が最大となった移動相①を用いることにした. また, カラム①の方がカラム②に比べて感度が高かったため, カラム①を用いることにした (Table 2).

希釈倍率については, 移動相①において SDZ ピークが $S/N \geq 10$ となる濃度範囲を求めたところ, 20ng/ml 以上となり, 定量限界は 0.01ppm (一斉法 I においては 50ng/ml に相当) であるので, 2.5 倍まで希釈可能であることがわかった.

Table 2. LC-MS/MS 測定条件

移動相	
A 液	: 0.05%ギ酸
B 液	: アセトニトリル グラジエント溶出
試験液溶媒	
アセトニトリル-水 (1:9)	
分析カラム	
資生堂社製 CAPCELLCORE C18 2.1mm i.d. ×150mm	
測定温度	: 40°C
注入量	: 5 μl
流速	: 0.2ml/min
イオン化モード	: ESI ポジティブモード

1.2 抽出操作の検討

1.2.1 脱脂操作

LC-MS/MS 測定から試験液溶媒を①アセトニトリル-水(1:9)に変更することにしたが、一斉法 I においては、脱脂操作に用いた溶媒がそのまま試験液となるため、脱脂操作から溶媒の変更が可能かどうか Table 1 に示す 4 種類の溶媒により検討した。その結果、水が多くなるにつれて夾雑成分が n-ヘキサン層に分配しにくくなることがわかり、一斉法 I 道おりのアセトニトリル-水(4:6)が最も良好であった。

1.2.2 希釈倍率

本検討には、新たな精製操作を加えたわけではないが、試験液を希釈することにより、試験液中の夾雑成分の割合を減らすことができた。

そこで、検討した条件により標準液を測定したところ、定量限界相当の標準液において 2.5 倍までの希釈が可能であることが分かったが、前述の II-3 のとおり、マトリクス成分の影響を考慮して 2 倍に希釈することにした。

また、抽出操作において、最終試験液の量を 2 倍にすることが最も簡単であるが、脱脂工程における液液分配の際の層分離が不十分であることから、n-ヘキサンによる脱脂効果を上げるため、加える溶媒を 2ml、アセトニトリル飽和-n-ヘキサンを 1ml とし、遠心分離後にアセトニトリル-水層を 1ml 分取し、再度乾固してアセトニトリル-水(1:9)1ml に溶解し試験液とした (Fig.1)。

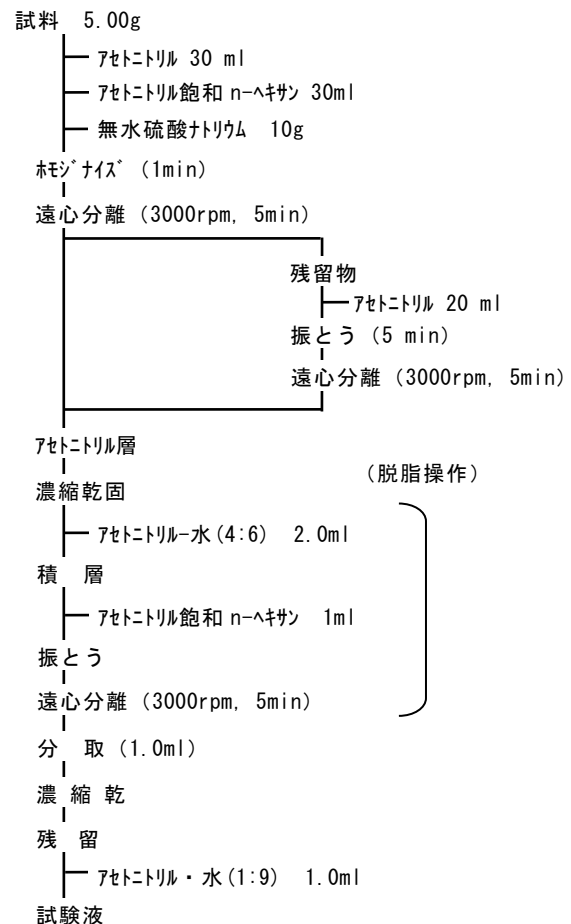


Fig.1. 「検討法」フローシート

2 妥当性評価

妥当性評価実施結果を Table 3 に示した。

2.1 各食品における「検討法」の効果

カラム①において「検討法」における妥当性評価の結果を一斉法 I による結果と比較した場合、一斉法 I においては、ガイドラインに不適合であった動物薬が各食品では異なるものの、食鳥肉で 4 成分、他の 3 食品では 2 成分ずつあったのに対し、「検討法」ではすべての食品、動物薬でガイドラインに適合する結果が得られた。

2.2 カラムの比較

また、「検討法」による試験液を各々のカラムで測定した結果を比較すると、表面多孔性充填剤であるカラム①は、今回対象としたすべての動物薬がガイドラ

インに適合するという結果だった。

一方,全多孔性充填剤であるカラム②においては不適合となった動物薬成分が,鶏卵,生乳及び食鳥肉においてそれぞれ2,5及び1成分あり,パラメータとしては真度や併行及び室内精度が適合していなかった。

カラム①及び②における充填剤の粒子径はそれぞれ2.7 μ m及び5 μ mであり,カラム①の方が小さいため,カラムの分離等の指標となる理論段数はカラム

①の方が大きくなり,カラムの分離がよくなる。

また,表面多孔性充填剤(カラム①)はその構造から目的成分の拡散距離が短くなるため,理論段数は全多孔性充填剤(カラム②)の1.5倍になるといわれている。

以上のことから,カラム①の性能(ピークの分離等)が良くなり,イオン化の影響を受けにくくなるため,ガイドラインに適合する結果が得られたと考えられる。

Table 3. カラム①及び②により測定を実施した妥当性評価の結果((a);「検討法」,(b);一斉法I)

動物薬成分	鶏卵						養殖魚			生乳			食鳥肉(鶏肉)			
	残留基準値(ppm)	試験法		試験法		残留基準値(ppm)	試験法		残留基準値(ppm)	試験法		残留基準値(ppm)	試験法			
		(a)		(b)			(a)			(b)			(a)		(b)	
		①	②	①	②		①	②		①	②		①	②	①	
TBZ	和として	○	○	○	○	○	○	○	和として	○	○	○	和として	○	○	×
5-OH-TBZ	0.1	○	×	×	○	○	○	○	0.10	○	○	×	0.05	○	○	○
PYR	含有せず	○	×	×	○	○	○	○	含有せず	○	○	○	0.05	○	○	×
SDZ	0.02	○	○	○	○	○	○	○	0.07	○	×	×	0.1	○	○	○
SMXZ	含有せず	○	○	○	○	○	○	○	含有せず	○	○	○	0.02	○	○	○
OXA	含有せず	○	○	○	○	○	○	○	含有せず	○	○	○	0.03	○	○	×
SMR	含有せず	○	○	○	○	○	○	×	含有せず	○	×	○	含有せず	○	○	○
OMP	含有せず	○	○	○	○	○	○	○	含有せず	○	○	○	0.1	○	○	○
SDD	0.01	○	○	○	○	○	○	×	0.025	○	○	○	0.10	○	○	○
SMMX	含有せず	○	○	○	○	○	○	○	含有せず	○	×	○	0.1	○	○	○
SCPD	含有せず	○	○	○	○	○	○	○	含有せず	○	×	○	含有せず	○	○	○
TMP	0.02	○	○	○	○	○	○	○	0.05	○	○	○	0.05	○	○	○
SQX	0.01	○	○	○	○	○	○	○	0.01	○	×	○	0.05	○	○	○
SDMX	1	○	○	○	○	○	○	○	0.02	○	○	○	0.05	○	○	○
FBZ	0.40	○	○	○	○	○	○	○	0.01	○	○	○	0.20	○	×	×

○; ガイドラインに適合成分, ×; ガイドラインに不適合成分, 斜線; 妥当性評価未実施成分

IV まとめ

一斉法Iに検討を加えた「検討法」により,4食品,動物薬14項目(15成分)について妥当性評価を実施した。「検討法」はn-ヘキサンによる脱脂効果を上げ,試験液を2倍に希釈することにより,夾雑成分の影響を減らすことを目的とした試験法である。この方法を用いることによって,LC-MS/MS測定におけるイオン化の影響を抑えることができ,特に表面多孔性充填剤(コアシェル型)カラム①を用いた場合,4食品,15成分すべてにおいて妥当性評価に適合する結果が得られた。

今後は,脂質成分の多い食品やその部位につい

ても「検討法」による妥当性評価を実施し,必要に応じて検討法に改良を加えながら,検査対象食品としていきたい。

V 参考文献

- 1)「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)
- 2)「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」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知)

抄 録

1) 他誌掲載論文

接触者健康診断における高齢者に対するインターフェロン- γ 遊離試験の有用性の検討

瀬戸 順次, 阿彦 忠之

結核 89:503-508, 2014

〔目的〕接触者健診における高齢者に対するQFT-3G 検査の有用性を検討すること。〔方法〕2010 年9 月～2013 年5 月, 山形県での結核患者の濃厚接触者等2,420 人に対して実施したQFT-3G 検査成績を分析し, QFT-3G 陽性者のLTBI 届出の有無および結核発病状況を調査した。〔結果〕QFT-3G陽性率は7.3% (95% CI 6.2 ~ 8.3%) であり, 年齢階級の上昇とともに陽性率が高くなる傾向が確認された ($P < 0.001$)。〔考察〕QFT-3G陽性率は高齢者 (60 歳以上) で高い傾向を認めたものの, 結核推定既感染率に対して大きく下回っており, 過去の古い結核感染歴があっても必ずしもQFT-3G 陽性にはならないと考えられた。さらに, QFT-3G 陽性者の分析から, 60 歳代の2 分の1, 70 歳代の3 分の1, 80 歳以上の4 分の1 程度は最近の結核感染と推定された。結論として, 高齢者のQFT-3G 検査結果の解釈は結核患者との接触状況等を踏まえ慎重に行う必要があるものの, 結核患者との濃厚接触歴のある高齢者に対してQFT-3G 検査を実施することは, 潜在性結核感染症のスクリーニングとしては意義があると考えられた。

Epidemiological information regarding the periodic epidemics of influenza C virus in Japan (1996–2013) and the seroprevalence of antibodies to different antigenic groups.Matsuzaki Y., Sugawara K., Abiko C., Ikeda T., Aoki Y., Mizuta K., Katsushima N., Katsushima F., Katsushima Y., Itagaki T., Shimotai Y., Hongo S., Muraki Y. and Nishimura H.

J.Clin.Virol. 61(1):87-93,2014.

BACKGROUND:

Although influenza C virus is widely distributed throughout the world, epidemiological information, based on long-term surveillance, has not yet been acquired.

OBJECTIVES:

To clarify the epidemiological features of influenza C virus infection, and to examine whether the prevalence of the antibodies against the influenza C virus is associated with the epidemics.

STUDY DESIGN:

Between 1996 and 2013, 36,973 respiratory specimens were collected from two pediatric outpatient clinics in Yamagata, Japan. The specimens were examined for the presence of influenza C virus using cell culture methods. Isolated viruses were antigenically analyzed. The differences in seropositivity, with respect to the different antigenic groups, were examined using serum samples collected in 2001 and 2011 by a hemagglutination inhibition assay.

RESULTS:

Influenza C viruses were isolated from 190 specimens during an 18-year period. Most influenza C viruses were isolated from winter to early summer in even-numbered years, and the frequency of virus isolation per year ranged from 0.43% to 1.73%. An antigenic analysis revealed that the dominant antigenic groups were the C/Yamagata/26/81 from 1996 to 2000, the C/Kanagawa/1/76 in 2002 and 2004, and the C/Sao Paulo/378/82 from 2006 to 2012. When compared to the other antigenic groups, the seroprevalence of the C/Sao Paulo/378/82 group was lower in 2001 for individuals older than 5 years and was higher in 2011 in individuals younger than 40 years.

CONCLUSIONS:

The results from our study suggest that epidemics of influenza C virus infection periodically occur and the replacement of the dominant antigenic group may be caused by immune selection within older children and/or adults in the community.

Molecular epidemiology of enterovirus 71 strains isolated from children in Yamagata, Japan between 1990 and 2013.

Mizuta K., Aoki Y., Matoba Y., Yahagi K., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., Ito S., Hongo S., and Matsuzaki Y.

J.Med.Microbiol. 63:1356-1362,2014.

Enterovirus 71 infections have become a major public issue in the Asia-Pacific region due to the large number of fatal cases. To clarify the longitudinal molecular epidemiology of enterovirus 71 (EV71) in a community, we isolated 240 strains from children, mainly with hand-foot-and-mouth diseases, between 1990 and 2013 in Yamagata, Japan. We carried out a sequence analysis of the VP1 region (891 bp) using 223 isolates and identified six subgenogroups (B2, B4, B5, C1, C2 and C4) during the study period. Subgenogroups C1 and B2 were found only between 1990 and 1993 and have not reappeared since. In contrast, strains in subgenogroups C2, C4 and B5 appeared repeatedly with genomic variations. Recent reports from several local communities in Japan have suggested that identical predominant subgenogroup strains, which have also been found in the Asia-Pacific region, have been circulating in a wide area in Japan. However, it is likely that there is a discrepancy between the major subgenogroups circulating in the Asia-Pacific region and those in Europe. It is necessary to continue the analysis of the longitudinal epidemiology of EV71 in local communities, as well as on regional and global levels, to develop strategies against severe EV71 infections.

Detection of the human coronavirus 229E, HKU1, NL63 and OC43 between 2010 and 2013 in Yamagata, Japan.

Matoba Y., Abiko C., Ikeda T., Aoki Y., Suzuki Y., Yahagi K., Matsuzaki Y., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., and Mizuta K.

Jpn.J.Infect.Dis. 68:138-141,2015.

The available literature on human coronaviruses (HCoVs) in Japan is limited to epidemiological studies conducted over a maximum of 1 year. We conducted a 4-year study of HCoVs by analyzing 4,342 respiratory specimens obtained in Yamagata, Japan, between January 2010 and December 2013. A pan-coronavirus reverse transcription-PCR screening assay was performed, and all HCoV-positive specimens were subsequently confirmed by sequencing of the PCR products. We detected in 332 (7.6%) HCoV strains during the study period, comprising 133 (3.1%) HCoV-NL63, 83 (1.9%) HCoV-HKU1, 78 (1.8%) HCoV-OC43, and 38 (0.9%) HCoV-229E strains. HCoV detection per year ranged from 3.5% to 9.7%. HCoVs were detected mainly in winter, with January (28.5%) and February (25.3%) 2011 and December 2012 (14.6%) being the only months in which HCoV-NL63 detection per month exceeded 10.0%. HCoV-HKU1 displayed clear biennial peaks in January (18.3%) and February (10.7%) 2010 and in February (18.8%) and March (14.7%) 2012. The peak detection of HCoV-OC43 was 13.6% in November 2010, while that of HCoV-229E was 10.8% in March 2013. Our results indicated that there may be annual variations in the circulation of individual HCoV strains. Further long-term surveillance is necessary to clarify HCoV prevalence and circulation patterns in Japan.

Picornavirus-like cytopathic effects on RD-18S cell lines were induced by human coronavirus 229E not picornaviruses,

Matoba Y., Aoki Y., Tanaka S., Yahagi K., Itagaki T., Matsuzaki Y., and Mizuta K.

Jpn.J.Infect.Dis. 68:78-79,2015.

抄録なし

Analysis of the population genetics of clades of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7/H- isolated in three areas in Japan.

Hirai S, Yokoyama E, Etoh Y, Seto J., Ichihara S, Suzuki Y., Maeda E, Sera N, Horikawa K, and Yamamoto T.

J Appl Microbiol. 117:1191-7,2014

AIMS:

The genetic differences of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 (O157) strains isolated from humans in three widely-separated areas in Japan were analysed to provide information on possible geographic aspects of O157 pathogenicity.

METHODS AND RESULTS:

Epidemiologically unlinked O157 strains were isolated in Chiba (300 strains), Fukuoka (260 strains) and Yamagata (81 strains) prefectures. These strains were classified in clades by single nucleotide polymorphism in seven loci and lineage-specific polymorphism assay-6, and differences between the strains in each clade were compared by population genetic analyses using the IS-printing system. Analysis of the clades from the three areas showed linkage disequilibrium of the strains in each clade. Comparison of the genetic differences of strains from the three areas in each clade, from calculated Φ_{PT} values, indicated that the strains in each clade were the same population in all three areas, except possibly the clade 12 strains.

CONCLUSIONS:

Population genetics analyses confirmed that the distribution of O157 strains in the clades isolated in three areas in Japan were similar and stable.

SIGNIFICANCE AND IMPACT OF THE STUDY:

The pathogenicity of O157 strains infecting humans was comparable due to the similar, stable geographic distribution of O157 clades.

Epitope mapping of the hemagglutinin molecule of A/(H1N1)pdm09 influenza virus by using monoclonal antibody escape mutants.

Matsuzaki Y., Sugawara K., Nakauchi M., Takahashi Y., Onodera T., Tsunetsugu Y., Yokota Y., Matsumura T., Ato M., Kobayashi K., Shimotai Y., Mizuta K., Hongo S., Tashiro M., and Nobusawa E.

J.Virol.88:12364-12373,2014.

Abstract

We determined the antigenic structure of pandemic influenza A(H1N1)pdm09 virus hemagglutinin (HA) using 599 escape mutants that were selected using 16 anti-HA monoclonal antibodies (MAbs) against A/Narita/1/2009. The sequencing of mutant HA genes revealed 43 amino acid substitutions at 24 positions in three antigenic sites, Sa, Sb, and Ca2, which were previously mapped onto A/Puerto Rico/8/34 (A/PR/8/34) HA (A. J. Caton, G. G. Brownlee, J. W. Yewdell, and W. Gerhard, Cell 31:417-427, 1982), and an undesignated site, i.e., amino acid residues 141, 142, 143, 171, 172, 174, 177, and 180 in the Sa site, residues 170, 173, 202, 206, 210, 211, and 212 in the Sb site, residues 151, 154, 156, 157, 158, 159, 200, and 238 in the Ca2 site, and residue 147 in the undesignated site (numbering

begins at the first methionine). Sixteen MAbs were classified into four groups based on their cross-reactivity with the panel of escape mutants in the hemagglutination inhibition test. Among them, six MAbs targeting the Sa and Sb sites recognized both residues at positions 172 and 173. MAb n2 lost reactivity when mutations were introduced at positions 147, 159 (site Ca2), 170 (site Sb), and 172 (site Sa). We designated the site consisting of these residues as site Pa. From 2009 to 2013, no antigenic drift was detected for the A(H1N1)pdm09 viruses. However, if a novel variant carrying a mutation at a position involved in the epitopes of several MAbs, such as 172, appeared, such a virus would have the advantage of becoming a drift strain.

IMPORTANCE:

The first influenza pandemic of the 21st century occurred in 2009 with the emergence of a novel virus originating with swine influenza, A(H1N1)pdm09. Although HA of A(H1N1)pdm09 has a common origin (1918 H1N1) with seasonal H1N1, the antigenic divergence of HA between the seasonal H1N1 and A(H1N1)pdm09 viruses gave rise to the influenza pandemic in 2009. To take precautions against the antigenic drift of the A(H1N1)pdm09 virus in the near future, it is important to identify its precise antigenic structure. To obtain various mutants that are not neutralized by MAbs, it is important to neutralize several plaque-cloned parent viruses rather than only a single parent virus. We characterized 599 escape mutants that were obtained by neutralizing four parent viruses of A(H1N1)pdm09 in the presence of 16 MAbs. Consequently, we were able to determine the details of the antigenic structure of HA, including a novel epitope.

The dominant antigenic group of influenza C infections changed from C/SaoPaulo/378/82-lineage to C/Kanagawa/1/76-lineage in Yamagata, Japan in 2014.

Tanaka S., Aoki Y., Matoba Y., Yahagi K., Mizuta K., Itagaki T., Katsushima F., Katsushima Y., and Matsuzaki Y.

Jpn.J.Infect.Dis. 68:166-168,2015.

抄録なし

山形県における飼い猫のジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* 感染状況調査

瀬戸 順次, 安孫子 千恵子, 小宮 貴子, 山本 明彦

日獣会誌 67 : 613-616, 2014

人におけるジフテリア毒素原性 *Corynebacterium ulcerans* (*C. ulcerans*^{tox+}) 感染の可能性の有無を把握することを目的として、2012年5~7月に山形県全域の飼い猫を対象に *C. ulcerans*^{tox+} 感染状況調査を实

施した。血清ジフテリア抗毒素価測定の結果、猫187 匹中2 匹 (1.1%) から抗毒素を検出した (0.651IU/ml 及び0.230IU/ml)。結論として、山形県内の一般家庭に飼育されている猫の中にジフテリア抗毒素が検出される猫が存在することが明らかとなり、われわれに身近な「飼い猫」から人への *C. ulcerans*^{cat+} 感染の可能性が示唆された。

山形県で2004年から2013年の10年間に分離した *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異および *p1* 遺伝子型解析

鈴木 裕, 瀬戸 順次, 板垣 勉, 青木 敏也, 安孫子 千恵子, 松寄 葉子

感染症学雑誌 89:16-22, 2015.

山形県で2004年から2013年の10年間に分離された *M. pneumoniae* 358株を対象として、マクロライド系抗菌薬 (以下、マクロライド) 耐性遺伝子変異および *p1* 遺伝子型解析を実施した。その結果、*M. pneumoniae* にマクロライド耐性をもたらす23SリボゾームRNA (以下、rRNA) ドメインVの点変異を6種類検出した (A2063G変異81株, A2063T変異43株, A2063C変異1株, A2064C変異1株, C2617G変異4株およびC2617A変異1株)。変異株は2009年以前には2株のみであったが、2009年はA2063T変異を多く検出し、2010年以降はA2063G変異が増加した。2009年以降の年間の変異検出率は20.4% (2011年) から76.4% (2009年) の間で推移した。

また、本県で分離された *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型は、1型 (278株) および3種類の2型亜種 (2a型〈10株〉, 2b型〈5株〉および2c型〈65株〉) に分けられた。2012年以前は1型菌が多く、年間の1型菌の割合は85.2% (2004年) から100% (2008年, 2009年) で推移したが、2012年以降2型菌亜種の割合が増加し、(2012年; 26.5%, 2013年; 66.1%)、本県において流行の主流を成す *M. pneumoniae* の *p1* 遺伝子型が1型から2型亜種に置き換わっている可能性が示された。

さらに、2012年以降に本県で分離された *M. pneumoniae* のうち、*p1* 遺伝子1型菌は高率にマクロライド耐性遺伝子変異を保有していた (2012年; 65.1%, 2013年; 95.2%) のに対して、2型菌亜種からは遺伝子変異が検出されず、本県では2型菌亜種のマクロライド耐性遺伝子変異の獲得が進んでいないことが示唆された。

A case of pneumonia caused by *Legionella pneumophila* serogroup 12 and treated successfully with imipenem.

Nishizuka M, Suzuki H, Ara T, Watanabe M, Morita M, Sato C, Tsuchida F, Seto J, Amemura-Maekawa J, Kura F, Takeda H.

J Infect Chemother. 20:390-3, 2014

The patient was an 83-year-old man hospitalized for Haemophilus influenzae pneumonia, who developed recurrent pneumonia after improvement of the initial episode. Legionella pneumophila serogroup 12 was isolated from the sputum, accompanied by increased serum antibody titers to L.

pneumophila serogroup 12. Therefore, the patient was diagnosed as having Legionella pneumonia caused by L. pneumophila serogroup 12. Case reports of pneumonia caused by L. pneumophila serogroup 12 are rare, and the case described herein is the first report of clinical isolation of this organism in Japan. When the genotype was determined by the protocol of The European Working Group for Legionella Infections (Sequence-Based Typing [SBT] for epidemiological typing of L. pneumophila, Version 3.1), the sequence type was ST68. Imipenem/cilastatin therapy was found to be effective for the treatment of Legionella pneumonia in this patient.

Clonality and Micro-Diversity of a Nationwide Spreading Genotype of Mycobacterium tuberculosis in Japan.

Wada T., Iwamoto T., Tamaru A., Seto J. Ahiko T., Yamamoto K., Hase A., Maeda S. and Yamamo T.

PLoS One. 10: e0118495. 2015

Mycobacterium tuberculosis transmission routes can be estimated from genotypic analysis of clinical isolates from patients. In Japan, still a middle-incidence country of TB, a unique genotype strain designated as 'M-strain' has been isolated nationwide recently. To ascertain the history of the wide spread of the strain, 10 clinical isolates from different areas were subjected to genome-wide analysis based on deep sequencers. Results show that all isolates possessed common mutations to those of referential strains. The greatest number of accumulated single nucleotide variants (SNVs) from the oldest coalescence was 13 nucleotides, indicating high clonality of these isolates. When an SNV common to the isolates was used as a surrogate marker of the clone, authentic clonal isolates with variation in a reliable subset of variable number of tandem repeat (VNTR) genotyping method can be selected successfully from clinical isolates populations of M. tuberculosis. When the authentic clones can also be assigned to sub-clonal groups by SNVs derived from the genomic comparison, they are classifiable into three sub-clonal groups with a bias of geographical origins. Feedback from genomic analysis of clinical isolates of M. tuberculosis to genotypic markers will be an efficient strategy for the big data in various settings for public health actions against TB.

2) 学会発表

山形におけるエンテロウイルス 71 型の分子疫学 (1990~2013 年)

水田 克巳, 松崎 葉子, 本郷 誠治

第 55 回臨床ウイルス学会, 2014 年 6 月 14-15 日, 於札幌

【目的】

エンテロウイルス 71 型 (EV 71) は, 小児の夏かぜ, 手足口病の病原体であり, 予後の良い疾患であった。しかし, 20 世紀終盤から, 主にアジア地域で, 脳炎などの合併症による多数の死者がでるなど, 公衆衛生上重要な課題の 1 つとなっている。我々は, EV 71 山形分離株を多数保有しているため, これらを用いた疫学研究を実施することで, EV71 感染症対策に貢献することを目指している。本学会では, 1990~2013 年の分離株解析結果について発表する。

【材料と方法】

手足口病等の検体からマイクロプレート法により, 1990~2013 年に 225 株の EV 71 を分離した。うち 147 株について, 既報告の方法により VP1 の配列 (891bps) を解析, 遺伝子型を決定した。

【結果と考察】

調査期間に B2, B5, B5, C1, C2, C4 の 6 つの遺伝子型を確認した。山形という 1 つのコミュニティで経時的变化をみると, 1 つまたは 2 つの遺伝子型が入れ替わりながら変遷していた。C2, C4, B5 は進化しながら, 繰り返し出現した。

2009~2010 年に山形で観察した C2 の配列は, 大阪市や横浜市で検出した株や 2008 年のシンガポール株に近く, EV 71 が広く国内・アジア地域で広がっていることを示唆していると考えられる。その一方, 21 世紀のアジア地域で主体となっている遺伝子型の 1 つに C4 があるが, ヨーロッパ地域では C1 または C2 の報告がほとんどであり, また B5 はアジア地域のみから報告されるなど, 両者で主流となっている遺伝子型に違いがあることが明らかになりつつある。

なお, 本研究は, 東北乳酸菌研究会から補助を受けて実施した。

[非会員研究協力者: 板垣勉 (山辺こどもクリニック), 勝島史夫・勝島由利子 (勝島小児科医院), 青木洋子・的場洋平・矢作一枝・阿彦忠之 (山形衛研)]

**宿主プロテアーゼ TMPRSS2 は, 急性呼吸器感染症ウイルスの
生体内活性化酵素である**

竹田 誠, 中島 典子, 水田 克巳

第 55 回臨床ウイルス学会, 2014 年 6 月 14-15 日, 於札幌

多くの呼吸器ウイルスは, プロテアーゼによってウイルス膜タンパクが開裂することによって, はじ

めて感染力を持つ。呼吸器上皮に発現している II 型膜貫通型セリンプロテアーゼ TMPRSS2 の遺伝子をノックアウトしたマウス (TMPRSS2 KO マウス) の肺内ではインフルエンザウイルスの増殖性は非常に低く、病原性がほとんど無くなっていた。中国で発生している H7N9 インフルエンザウイルスも、TMPRSS2 KO マウスの肺内では、増殖性が極端に低下していた。このことは、TMPRSS2 がインフルエンザウイルスの病原性発現に必須の宿主因子であることを示している。インフルエンザウイルスの膜タンパク (HA タンパク) の他に、パラインフルエンザウイルスの F タンパク、ヒトメタニューモウイルスの F タンパク、コロナウイルスの S タンパクなどが、TMPRSS2 で開裂を受け、活性化することをわれわれは明らかにした。中東呼吸器症候群 (MERS) コロナウイルスも、TMPRSS2 で活性化することが示されている。これらの結果は、急性呼吸器感染症ウイルスの多くのものが、増殖のために TMPRSS2 を利用していることを示しており、TMPRSS2 の活性阻害剤が、新興呼吸器感染症ウイルスを含む広範囲の呼吸器ウイルスに効く抗ウイルス剤になる可能性を示している。

IS-printing を用いた腸管出血性大腸菌 0157 の clade 推定法の確立

平井 晋一郎, 横山 栄二, 江藤 良樹, 瀬戸 順次, 市原 祥子, 鈴木 裕, 前田 詠里子,
堀川 和美

第 35 回日本食品微生物学会, 2014 年 9 月 18-19 日, 於大阪

【目的】腸管出血性大腸菌 0157 (0157) は、食中毒の原因菌として、感染者数及び症状の重篤性から重要な地位を占めている。0157 は進化系統群の clade に型別され、clade 間では病原性の強さに差があると考えられている。従って、特定の地域における clade の分布状況を把握することは、食中毒対策に有効だと思われる。しかしながら、clade の型別には、ゲノム上の 32 領域での一塩基多型の解析が必要であり、容易に行えない。一方、我々は、clade と Insertion Sequence (IS) 629 保有パターンに関連性があることを報告した。そこで、本研究では、その関連性を利用して、0157 菌株の IS629 保有パターンから clade を推定する方法の確立を目指す。

【方法】1996～2013 年に、千葉県で分離された感染者由来 0157 菌株の内、疫学的関連性が確認されなかった 1064 株を用いて、IS-printing (IS 法) 及び clade 型別を行い、各 clade の IS629 保有パターンのデータベースを作成する。このデータベースを基に相対的相似度 (*J. Gen. Microbiol.* 1973. 77. 317-330) の算出式を得る。次に、1996～2012 年に福岡県で、2002～2007 年に山形県で発生した 0157 感染症の内、疫学的関連性がない 0157 菌株について、IS 法を行う。IS629 保有パターンから相対的相似度を算出して clade を推定する。この推定の結果と clade 型別の結果の一致率から推定精度を求める。

【結果】千葉県、福岡県及び山形県の全ての地域で、clade 2, 3, 6, 7, 8 及び 12 が優勢に分布しており、これらの合計は全体の 90%以上であった。相対的相似度の算出式を利用し、福岡県及び山形県で分離された 0157 菌株の clade を推定すると、どちらの地域においても、clade 3, 6 及び 8 の推定精度は、ほぼ 100%であり、clade 7 の推定精度は、88%であった。一方で、clade 2 及び 12 の 0157 菌株に対する推定精度は、福岡県では 95%程度であったのに対して、山形県では 80%程度と低かった。しかし、推定を誤った山形県の 0157 菌株は、clade 2 が 17 株中 3 株であり、clade 12 が 5 株中 1 株と少なかった。これら菌株の IS629 保有パターンは、clade 特有の保有パターンとは異なっていた。

【考察】IS629 の保有パターンによる clade 推定法は、確率的な手法であるため、clade 特有の保有パ

ターンを持たない 0157 菌株に対しては、推定は誤る可能性がある。しかしながら、このような菌株の全体に占める割合は小さかった。従って、本研究により IS 法による clade 推定法の有効性が示された。

地方衛生研究所では 0157 による散発的集団食中毒の早期探知のために、IS 法が広く用いられている。IS 法を利用した clade の推定法を、他自治体の地方衛生研究所でも実施することで、日本各地の clade の分布状況の把握が可能になり、0157 の食中毒対策に活用できると思われる。

新興病原体 *Escherichia albertii* のゲノムおよび疫学解析

大岡 唯祐, 勢戸 和子, 小野 英俊, 河野 喜美子, 小林 秀樹, 吉野 修司, 瀬戸 順次,
山口 敬治, 古川 真斗, 徳岡 英亮, 井口 純, 藺牟田 直子, 原田 誠也, 西順 一郎,
桂 啓介, 小椋 義俊, 林 哲也

第 35 回日本食品微生物学会, 2014 年 9 月 18-19 日, 於大阪

【目的】*Escherichia albertii* (*E. albertii*) は、近年同定された大腸菌近縁の腸管感染症起因菌である。我々は、国内外で発生した食中毒の検査において非典型的な大腸菌として分離された株の中に本菌が数多く存在し、本菌がヒトでも重要な下痢症起因菌であることを示した。また、本菌に”志賀毒素産生菌”が含まれ、食品衛生法だけでなく、感染症法でも注意すべき菌種であることを示した (1, 2)。本菌の病原因子については、LEE 領域にコードされる 3 型分泌系 (T3SS) が唯一同定されているが、その病原機構は未だ不明な点が多い。また本菌は、分離例が少なく、基本的な性状が未確定であるため、大腸菌と識別できる確実な診断疫学マーカーも確立されていない。その上、感染源や自然宿主に関する研究もほとんど進んでいない。本研究では、下痢患者及び動物から分離した *E. albertii* 29 株のゲノム解析を行い、本菌のゲノムの特徴を明らかにするとともに、診断疫学マーカーを作製して、家畜等の保菌状況を調査した。

【方法】ゲノム解析及びゲノム比較解析：*E. albertii* 29 株について、次世代シーケンサーを用いて概要配列を取得した。そのうちの 3 株は、全ゲノム配列を取得し、本菌種内及び大腸菌属の各菌種間の比較解析を行った。*E. albertii* 種特異的プライマーの作製：*E. albertii* 29 株のゲノム情報を基に、種特異的な primer pair を設計した。家畜及び野鳥での *E. albertii* の保菌調査：食鳥及び食肉処理場に持ち込まれた家畜の糞便、さらに野鳥の糞便について PCR 法によるスクリーニングを実施した。陽性検体から菌を分離し、系統や病原因子を調べた。

【結果と考察】*E. albertii* 29 株の平均ゲノムサイズは約 4.7Mb であり、病原性大腸菌と比べて小さいこと、かつゲノム全体での相同性からも他の大腸菌属と明らかに別菌種であることを示した。また、本菌のゲノムの特徴として、T3SS の他に線毛や Cdt 毒素などの病原因子や代謝系など、多くの診断疫学マーカー候補を同定した。また、大腸菌 O 血清との凝集反応及び大腸菌 O 抗原コード領域との比較から、O 抗原についても赤痢菌などと同様、独自の進化を遂げてことが推測され、各種 *E. albertii* 株に対する O 抗原血清を作製することで、検査にも応用できる可能性が示唆された。保菌状況に関しては、ウシでは 105 検体 (21 農場各 1~10 検体) 中 1 検体のみ、ブタでは 100 検体 (10 農場各 10 検体) 中 12 検体 (5 農場) が陽性となり、特にブタでの保菌率が高かった。また、ニワトリは、ブロイラー 200 検体 (20 農場各 10 検体)、地鶏 80 検体 (4 農場各 20 検体) の検査を行い、ブロイラーでは

1 検体，地鶏では 26 検体(4 農場)が陽性となり，屋外飼育での汚染の可能性が示唆された．さらに，汚染源の可能性として，現在までに，野鳥糞便約 70 検体を検査したが，陽性検体は得られていない．今後は，野鳥・野生動物など解析対象を増やし，自然宿主や感染源の解明を行う．

【参考文献】1.T.Ooka et al. Emerg. Infect. Dis., 18(3):488-492, 2012. 2. T. Ooka et al. Emerg. Infect. Dis., 19(1):144-146, 2013.

地域での集団感染事例から学ぶ

山田 敬子，稲毛 稔，平間 紀行，小坂 太祐，中野 寛之，武田 宰，瀬戸 順次，
阿彦 忠之

第 90 回日本結核病学会総会，2015 年 3 月 27-28 日，於長崎

はじめに：山形県では平成 21 年度から，原則として菌陽性結核患者全例の結核菌株に対して VNTR(24 領域)分析を実施している．既に阿彦らは当学会にて，その有用性や活用について報告しているが，今回，同分析の結果から，約 2 年前に「肺がん」で死亡したと診断された事例が結核の院内感染源と推定され，地域での感染拡大防止策を実施できたので報告する．

経過：平成 25 年 6 月，A 病院から 90 代女性(bⅡ2, 吸引痰 G2) <事例 1>の届け出があった．当初から主治医が結核を疑っていたため，事例 1 と接触した看護師等は N95 マスクを装着して対応していたが，接触者健診を実施したところ 3 名が QFT-3G(以下，QFT)陽性であった．主治医が念のために，同じ病棟で事例 1 に接触していない看護師等にも順次 QFT を実施したところ，新たな陽性者が出たため保健所に一報を入れ，院内感染対策委員会での検討を依頼した．その矢先，平成 26 年 1 月の定期健康診断の胸部 X 線検査で，事例 1 が入院していた病棟に勤務する 2 名の看護助手<事例 2・3>に異常影が認められ，紹介先の B 病院で肺結核と診断された．但し，事例 2 は 1Ⅲ1 気管支洗浄液集菌法 1+，事例 3 は rⅢ1 喀痰培養陽性で，ともに咳症状は全くなく，両者の間での感染は考えにくい状況であった．事例 2 は平成 25 年 9 月に実施した QFT が陰性で，平成 26 年 1 月に陽性となったため，保健所では，A 病院に対し，平成 25 年 9 月前後に同病院の当該病棟に入院した患者(死亡例を含む)の中から結核が疑われる事例のリストアップを依頼した．一方，定期健診で異常なしとされた職員を含め，新たな陰影が出現した者が他にいないかを確認するため，全職員の胸部 X 線フィルムの見直しを行った．また，直ちに A 病院の院内感染対策委員会に出席し対策の説明を行うとともに，全職員への講話や QFT 陽性職員 11 名への個別説明を実施した．その後，同年 2 月末に確定した VNTR 分析結果から，事例 1~3 の他に，同地域に居住し平成 25 年 8 月に肺結核(bⅡ2, G2 号)と診断された 60 代女性<事例 4>の VNTR 一致が明らかになった．事例 4 は A 病院の通院歴が全くない上に地域での接点も見いだせなかったが，担当保健師の聞き取りにより，事例 4 の母(80 代女性)<事例 5>が平成 24 年に同病院で死亡していた事実が判明したため，事例 4 の了解のもと，A 病院に保管されていた事例 5 の胸部 X 線写真やカルテを過去に遡って確認した．その結果，約 60 年前に結核の治療歴があったこと，および胸部 X 線画像の特徴と経過から，肺結核で死亡したものと推察された．

事例 5(推定感染源)の状況：本例は，平成 22 年 6 月に胸部の結節影が増大したとのことで，A 病院から C 総合病院に紹介され，気管支鏡検査と腫瘍マーカー(シフラ)の上昇から肺がん疑いとの診断を受けていた．約半年間 C 病院で経過観察ののち，高齢のため積極的な治療は行わないという希望から A 病院に定期通院を続けていたが，平成 24 年 8 月，自宅で倒れているところを家人に発見され救急入院となっ

た。入院時の胸部 X 線写真と CT 所見をもとに、放射線科の専門医が「末期の肺がん」と診断したため、当時の主治医がターミナルケアの目的でステロイドを投与したところ、急激に病状が悪化し死亡していた。頻回の吸引が必要であったことや、夏場であったため吸引時のマスク装着が徹底していなかったこと、看護助手は口腔ケアを担当していたこと等が疫学調査から明らかになった。なお、事例 1 は同時期に同病棟に入院していたが、病状が重く部屋を出ておらず、また、病棟内の各部屋が独立換気だったこと、唯一入院期間中に実施した CT 検査室での接点が疑われたが、事例 1 が先に検査を行っており、検査室内での 2 次感染は否定的で感染状況は不明であった。

地域での接触者健診等：既に事例 5 の死亡後 2 年近くが経過していたが、その娘<事例 4>の協力を得て、事例 5 の友人・よく通った店の店員等を対象に接触者健診を実施した。その後、LTBI 治療中の看護師 1 名が新たに肺結核と診断され VNTR が一致したが、一般住民への感染拡大は確認されていない。

まとめ：VNTR 分析と保健師の疫学調査の突合に加えて、地域の医療機関と患者家族の協力により、過去の死亡事例からの院内感染対策および地域での感染拡大防止策を実施できた。

低罹患率地域における結核菌臨床分離株の伝播経路追跡

和田 崇之、瀬戸 順次、山本 太郎、阿彦 忠之

第 90 回日本結核病学会総会，2015 年 3 月 27-28 日，於長崎

[目的] 結核患者由来菌株の遺伝多型によって伝播経路を推定する結核分子疫学では、現在 VNTR 型別法が導入され、感染源究明に役立てられている。VNTR 型別は容易に分析可能である反面、偶発的な型別一致・変化による誤判定や、実地疫学調査との齟齬など、個々の事例についてはなお詳細な検証が必要である。本研究では、次世代シーケンサーを活用した菌株ゲノム比較によって高精度な菌株多型情報を獲得し、正確な伝播経路の解明を目指すと共に、VNTR 型別の精度に関する知見を得ることを目的とした。

[方法] 2009～2011 年に山形県内で新規登録された菌陽性肺結核患者（266 人）のうち、VNTR 型別解析が可能であった 184 株（69.2%）を対象とした。VNTR 型別は多変領域を含む 24 領域を解析し、23 領域以上の一致株をクラスターと定義した。その結果、クラスターは 17 組（49 株）となり、本研究ではこれらをすべて Illumina HiSeq 2000 によるショートリード解析に供した。H37Rv を対照配列としたマッピング解析を行い、各株の点変異（SNV: Single Nuclear Variation）をゲノムワイドに検出した。解析には CLC Genomics Workbench を用い、SNV 検出領域は遺伝子コード領域（相同遺伝子を除く）に局限して解析した。

[結果および考察] SNV 数 5 bp 以下を同一株として解析したところ、17 クラスターのうち 7 クラスターのみが同一株による事例であることが明らかとなった。VNTR 型別実施前に実地疫学調査によって既に関連性が判明していた 6 クラスターは、すべてゲノム比較によっても各々同一株による感染であったことが確認された。VNTR 型別一致後の調査から共通感染源の可能性が示唆された 4 クラスターでは、1 クラスターのみが同一株であった。また、患者間の関連が認められなかった 8 クラスターでは、1 クラスターのみが同一株であった。ゲノム比較によって異なる菌株と判定された VNTR クラスターは、菌株系統的には非北京型、北京型 ST3 群、北京型 ST25/19 群に集中しており、これらの系統株における過去の流行や、VNTR 型別における低分解能に起因する可能性が示唆された。非会員共同研究者：小椋義俊、林哲也（宮崎大）

サフォードカルディオウイルス 2 型の RD-18S 細胞による分離

水田 克巳, 青木 洋子, 的場 洋平, 田中 静佳, 矢作 一枝, 板垣 勉, 松寄 葉子

第 68 回日本細菌学会東北支部総会, 2014 年 8 月 22-23 日, 於仙台

【目的】我々は, 2009 年の 8-11 月にサフォードカルディオウイルス 2 型 (SAFV2) による小児の急性気道感染症の流行を経験し, 公表した (Saffold cardiovascular infection in children associated with respiratory disease and its similarity to coxsackievirus infection, *Pediatr. Infect. Dis. J.* 30: 680-683, 2011). この研究では SAFV2 のスクリーニング検出は, Reverse transcription (RT)-polymerase chain reaction (PCR) 法及びシーケンス配列で陽性を確認した. その際, 我々が通常使用している細胞での分離も試みたが, 失敗に終わった. 一方, 新潟県保健環境科学研究所の広川らは, RD-18S 細胞により SAFV2 (2013 年の 5 株) および SAFV3 (2007~2008 年の 4 株) の分離に成功している (第 55 回日本臨床ウイルス学会; 2B-12). 我々は, 新潟県保健環境科学研究所からこの RD-18S 細胞の分与を受け, 2009 年に SAFV2 が陽性であった検体を接種, 分離を試みた.

【方法】54 例の RT-PCR 陽性例のうち 49 例について, 検体を新潟県由来の RD-18S 細胞に接種し, 4 代目まで継代し, cytopathic effect (CPE) の有無を観察した. CPE があったものについては, virus protein 1 (VP1) について PCR 法で増幅, シーケンスにより SAFV2 であることを確認した.

【結果及び考察】スクリーニング検出で 1stPCR 陽性であった検体 33 例中 18 例で CPE を認め, SAFV2 が分離された. Nested PCR 陽性であった 16 例からは分離できなかった. これらのことから, 新潟県から分与を受けた RD-18S 細胞は SAFV2 の感受性に優れていることが確認された. 今後は, 2010 年以降についても, スクリーニング陽性例について分離を進め, また血清疫学を実施するなど, 疫学解析を進展させていきたい.

RD-18S 細胞を分与して下さいました, 新潟県保健環境科学研究所ウイルス科, 田村務先生, 広川智香先生に深謝いたします.

山形県で分離された *Mycoplasma pneumoniae* の *p1* 遺伝子型解析

鈴木 裕, 瀬戸 順次, 板垣 勉, 勝島 由利子, 勝島 史夫, 青木 敏也, 安孫子 千恵子,
矢作 一枝, 水田 克巳, 松寄 葉子, 本郷 誠治

第 68 回日本細菌学会東北支部総会, 2014 年 8 月 22-23 日, 於仙台

【目的】*Mycoplasma pneumoniae* (以下, Mp) は, 若年者に多く, 発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起原菌である. Mp のヒト粘膜上皮細胞への接着性を担う中心的な接着分子である P1 蛋白をコードする *p1* 遺伝子は, 塩基配列の違いにより 1 型, 2 型および 2 型亜種 (2a, 2b, 2c 型) の計 5 種類に分類される. 本研究は, 山形県で流行する Mp の *p1* 遺伝子型の動向把握を目的として, 本県で過去 10 年間に分離された Mp の *p1* 遺伝子型解析を実施した.

【方法】2004 年から 2013 年の 10 年間に山形県で分離された Mp 358 株を対象とし, PCR-RFLP 法により *p1* 遺伝子型を解析した. Mp ゲノムの *p1* 遺伝子領域を PCR で増幅し, 増幅産物を制限酵素 *Hae*III で切断した. 得られた PCR-RFLP パターンを先行研究の報告と比較し, 1 型, 2 型, 2a 型および 2b 型を同定し

た。一方、2c 型は PCR-RFLP パターンの報告がないため、既報の 2c 型の塩基配列から予想される PCR-RFLP パターンを示した菌株について、PCR ダイレクトシーケンスにより 2c 型に特有の塩基配列を検出することで同定した。

【結果】 山形県で分離された Mp 358 株は、278 株 (77.7%) が *p1* 遺伝子型 1 型、80 株 (22.3%) が 2 型亜種 (2a 型 ; 10 株, 2b 型 ; 5 株, 2c 型 ; 65 株) と同定され、2 型菌は検出されなかった。本県では 2012 年以前は 1 型菌が多かったが (85.2%~100%)、2012 年以降 2 型菌亜種の割合が増加した (2012 年 ; 26.5%, 2013 年 ; 66.1%)。

【考察】 わが国で流行の主流を成す Mp の *p1* 遺伝子型は 8 年から 10 年毎に 1 型菌と 2 型菌で置き換わると推定されている。先行研究によれば、1 型菌が流行の主流となった 2005 年以降現在にいたるまで、*p1* 遺伝子型が置き換わる兆候は報告されていない。しかし本研究において、2 型菌亜種の割合が 2012 年以降増加していることが示された。このことは、少なくとも山形県という国内の一地域においては、流行の主流を成す Mp の *p1* 遺伝子型が 1 型から 2 型亜種に置き換わっている可能性を示している。

山形県で分離された *Mycoplasma pneumoniae* のマクロライド耐性遺伝子変異解析

鈴木 裕, 瀬戸 順次, 板垣 勉, 安孫子 千恵子, 矢作 一枝, 水田 克巳, 松寄 葉子

第 35 回山形県医学検査学会, 平成 26 年 10 月 25 日-26 日, 於長井

【はじめに】 *Mycoplasma pneumoniae* (以下, Mp) は、若年者に多く、発熱や長引く咳を主症状とするマイコプラズマ肺炎の起原菌である。Mp 感染症の第一選択薬であるマクロライド系抗菌薬 (以下, マクロライド) に耐性を示す Mp は 2001 年に初めて報告されて以降増加傾向にあり、問題視されている。Mp のマクロライド耐性機序として、マクロライドの作用標的である 23S リボソーム RNA (以下, rRNA) ドメイン V の 2063 位, 2064 位および 2617 位の点変異が示されているが、山形県におけるマクロライド耐性 Mp の動向は明らかではない。そこで今回、本県におけるマクロライド耐性 Mp の動向把握を目的として、山形県衛生研究所で分離した Mp のマクロライド耐性遺伝子変異保有状況を解析した。

【対象及び方法】 2004 年から 2013 年 (10 年間) に山形県内の診療所を中心とする 6 医療機関で、Mp 感染症が疑われた患者より採取された咽頭拭い検体 1, 391 検体から分離した Mp 358 株を対象とした。供試菌株の培養液から DNA を抽出し、23S rRNA 遺伝子ドメイン V 領域を PCR で増幅した。PCR 産物の塩基配列をダイレクトシーケンスにより決定してマクロライド耐性遺伝子変異の有無を解析した。

【結果】 対象とした Mp 358 株中 131 株 (36.6%) にマクロライド耐性遺伝子変異を検出した (A2063G ; 81 株, A2063T ; 43 株, A2063C ; 1 株, A2064C ; 1 株, C2617G ; 4 株, C2617A ; 1 株)。年次推移は、2006 年に A2063G 変異株、2007 年に A2064C 変異株を各 1 株ずつ検出した後、2009 年 7 月から 2010 年 1 月にかけて A2063T 変異株を 43 株検出した。以降、A2063G 変異株を中心に A2063C, C2617G および C2617A 変異株の 4 種類を検出した。2009 年以降の変異検出率は 2009 年 ; 76.4% (42/55), 2010 年 ; 37.5% (3/8 株), 2011 年 ; 20.4% (10/49 株), 2012 年 ; 48.2% (54/112 株), 2013 年 ; 32.3% (20/62 株) だった。

【考察】 わが国のマクロライド耐性遺伝子変異検出率は、諸角らの報告¹⁾では年々増加しており 2006 年に 30.6%, 2011 年に 89.5%に達したとされる。また Kawai ら²⁾も、A2063G 変異を中心とする変異株が 2008 年に 50%を、2012 年に 80%を超えたことを報告している。

我々の解析では、2008 年以前に分離された変異株は 2 株のみであり、2009 年は A2063T 変異株を多数検出した (変異検出率 ; 76.4%) もの、その全てが同一地域の 3 施設 (中学校 1 校および小学校 2 校) に

限局した集団発生事例³⁾の分離株であった。2010年以降はA2063G変異を中心とした変異株が継続的に検出され、変異検出率は20-50%で推移した。以上のことから、2010年以降、全国的なMpのマクロライド耐性化が本県にも波及したことが、変異検出率には地域差や年による変動があり継続的な監視が必要であることが明らかになった。

- 1) 諸角美由紀ら, 臨床とウイルス 2013 ; 41 : 273-9.
- 2) Kawai et al. Antimicrob Agents Chemother 2013 ; 57 : 4046-9.
- 3) Suzuki et al. Pediatr Infect Dis 2013 ; 32 : 237-40.

山形県における気象データを用いたつつが虫病患者数予測モデルの構築

瀬戸 順次

第21回リケッチア研究会, 2014年12月20日, 於東京

【はじめに】山形県では春のつつが虫病が多いが、その患者数は年によって大きなばらつきがある。本研究では、越冬性のツツガムシ（夏～秋にかけて産卵・孵化後、幼虫が一部越冬して春にヒトへ吸着する）の数が気象の影響を受けて増減することで、春のつつが虫病患者数のばらつきをもたらしていると考え、気象因子から春のつつが虫病患者数を予測するモデルを構築することを目的とした。

【方法】1984～2014年（31年間）の本県における4～7月のつつが虫病患者数を応答変数とした。説明変数は、前年7月～当年6月の月平均気温、前年12月～当年3月の月降雪量および月最深積雪量、ならびに前年12月～当年3月の総降雪量（計21項目）とした。気象データは、気象庁観測地点のうち、本県でつつが虫病患者が集中している最上川周辺の4地点の平均値を用いた。負の二項回帰単変量モデルで有意（ $p < 0.01$ ）となった説明変数を抽出後、AIC（赤池情報量基準）を指標に最適な負の二項回帰多変量モデルを選択した。解析にはR ver. 3.0.2を用いた。

【結果】前年7月・8月平均気温、当年1月・2月最深積雪量、および前年12月～当年3月の総降雪量（5項目）と春のつつが虫病患者数との間にそれぞれ有意な正の関連性を認めた。これら5項目による多変量モデルを検討した結果、以下の患者数予測式を得た； $y_i = e^{-6.48 + 0.12^*x_1 + 0.23^*x_2 + 0.0008^*x_3}$, x_1 ; 前年7月平均気温, x_2 ; 前年8月平均気温, x_3 ; 前年12月～当年3月の総降雪量。

【考察】本研究により、前年の夏が暑く、冬の降雪量が多いほど翌春のつつが虫病患者数が増えることが示され、具体的な患者数を予測するモデルの構築に成功した。今後、春の患者数が多くなると予測された年には、事前に県民に警戒情報を流すことで、つつが虫病予防の徹底を促すことが可能になる。

2014年山形県におけるC型インフルエンザウイルスの分離状況

田中 静佳, 的場 洋平, 青木 洋子, 矢作 一枝, 水田 克巳, 勝島 史夫, 勝島 由利子,
板垣 勉, 松寄 葉子

第41回山形県公衆衛生学会, 2015年3月5日, 於山形

【はじめに】インフルエンザウイルスには、A型、B型、C型がある。C型インフルエンザウイルスは一般的に

小児の上気道炎をおこす原因の1つとされているが、気管支炎や肺炎などの下気道炎を引き起こすことも知られている。我々は、山形県感染症発生動向調査事業に基づき、急性ウイルス性呼吸器疾患の発生状況を把握することを目的にウイルスの分離を実施している。今回、2014年の調査において、C型インフルエンザの流行が確認された。

【対象と方法】 2014年1月から12月までに県内医療機関を受診した患者から採取された鼻咽頭ぬぐい液および鼻汁 1960 検体を対象とし、培養細胞を用いたマイクロプレート法によるウイルスの分離を行った。C型インフルエンザウイルスの分離は MDCK 細胞における細胞変性効果の確認およびモルモット血球、ニワトリ血球を用いた血球凝集試験により行い、RT-PCR 法による遺伝子の検出で同定した。さらに、分離したウイルスについて C 型インフルエンザの表面抗原であるヘマグルチニンエステラーゼ (HE) に対するモノクローナル抗体を用いた血球凝集抑制試験による抗原解析を実施した。

【結果】 2014年1月から12月までに 21 検体から C 型インフルエンザウイルスが分離された。分離は全て4月～8月の期間に集中し、分離数が 11 検体と最も多かった5月においては、当月の総検体数 145 検体の約 8%に及んだ。分離された患者の 17 例(80%)が 5 歳以下の小児で、38℃以上の発熱が 18 例(85%)、咽頭炎、鼻炎等の上気道炎が 18 例(85%)に認められ、下気道炎も 3 例あった。

分離された C 型インフルエンザウイルス 21 株について行った抗原解析では、抗 HE モノクローナル抗体に対する反応パターンが Kanagawa/76 系統と一致する 13 株と、Sao Paulo/82 系統と一致する 8 株に大別され、2つの系統が同時に流行していることがわかった。

【考察】 C 型インフルエンザの流行は 1 年おきの偶数年に発生し、A 型、B 型インフルエンザのシーズンが終息した春に発生する傾向にある。今回の流行も既報の予測どおり 2014 年の春に確認された。また、C 型インフルエンザウイルスは HE の抗原性により 6 つの系統 (Taylor/47, Kanagawa/76, Mississippi/80, Yamagata /81, Aichi/81, Sao Paulo/82) に分類される。山形県においては 2006 年から 2012 年まで Sao Paulo/82 系統が流行の主流であったが、2014 年は Kanagawa/76 系統の分離が優勢となった。山形県におけるこのような流行株の交代は 2002 年と 2006 年に起こっており、特に 2002 年とそれに続く 2004 年には Kanagawa/76 系統による大きな流行が確認されていることから、今後も調査を継続し発生動向を注視する必要がある。

ツキヨタケの有毒成分 illudin S の含有量および特性

大河原 龍馬, 和田 章伸, 笠原 義正, 水田 克巳 (山形県衛生研究所)

第 41 回山形県公衆衛生学会, 2015 年 3 月 5 日, 於山形

ツキヨタケによる食中毒は平成 12 年～25 年の 14 年間に全国で 281 件発生しており、山形県はその件数が全国で最多である。これを防止するためには毒キノコを良く知る必要であり、その研究は公衆衛生学上きわめて重要である。今回は野生のツキヨタケ中の illudin S 含有量について、部位に違いによる差について検討を行ったが、傘の部分に最も多く含まれていることが分かった。また、塩蔵による毒抜きを検討したところ、1ヶ月間塩蔵した場合でも illudin S は残存することが分かった。

中毒原因となる有毒植物の多成分一斉分析法の開発

笠原 翔悟, 和田 章伸, 笠原 義正, 水田 克巳 (山形県衛生研究所)

第 41 回山形県公衆衛生学会, 2015 年 3 月 5 日, 於山形

植物性自然毒による食中毒が全国で 2 番目に多い山形県において, 中毒発生時に迅速にその原因となった植物を特定する方法を開発することは非常に重要である. 本研究では, 同一の方法で複数の毒成分を同時に分析できる LC-MS/MS による一斉分析法について検討した. ODS とイオン交換の性質を併せ持つマルチモードカラムを用いることにより, 極性の異なる 5 種類の植物の 14 毒成分分析可能な条件を確立した. また, 試料の抽出, 精製などの前処理方法についても検討を行った.

Ⅱ 業務の概要

1 業務の概要

部	試 験 検 査 等	調 査 研 究 等
生活企画部	1 花粉症予防対策事業	1 ヒスタミンによる食中毒防止のための研究
	2 公衆衛生情報の収集・解析・提供	
	3 山形県感染症発生動向調査事業	
	4 医薬品検査	
	5 家庭用品検査	
	6 食品中のアレルギー物質検査	
	7 温泉成分分析	
	8 排水検査	
	9 所報、衛研ニュースの編集・発行	
	10 研修等の企画調整	
理化学部	1 食品中の残留農薬検査	1 中毒原因となる自然毒の多成分一斉分析法の開発
	2 畜水産食品中の残留有害物質モニタリング検査	
	3 水道水質検査の外部精度管理	
	4 環境放射能水準調査	
	5 放射性物質検査(環境及び食品)	
微生物部	1 感染症、食中毒発生時の病因探索	1 山形県における <i>Mycoplasma pneumoniae</i> の疫学解
	2 感染症流行予測調査事業	析及び薬剤耐性遺伝子変異迅速検出系の確立
	3 山形県感染症発生動向調査事業	2 コロナウイルスの疫学研究
	4 C型肝炎抗体・B型肝炎抗原検査	3 パレコウイルス3型の疫学研究
	5 後天性免疫不全症候群対策事業	
	6 結核感染診断のためのQFT検査	
	7 麻しん排除に向けた麻しん検査	
研修業務等	1 保健所試験検査担当職員研修会	
	2 衛生研究所業務報告会	
	3 インターンシップの受入	

2 生活企画部

1) 花粉症予防対策事業

平成 27 年の春に県内で飛散する花粉数を予測し、衛研ニュースや衛生研究所のホームページで情報提供した。

また、スギ花粉飛散シーズンの平成 27 年 2 月～5 月にかけて、県内 4 地点（庄内、最上、置賜の各保健所および衛生研究所）のダークラム型花粉捕集器で得られた日々のスギ・ヒノキ科花粉飛散数を衛生研究所と県医師会のホームページで公開し、日本気象協会東北支局等へ Fax 提供した(表 3)。

さらに、スギ花粉の飛散開始前から飛散開始初期（平成 27 年 2 月～3 月）にかけては、スギ花粉アレゲン(Cry j 1) 濃度について同ホームページで提供した。

平成 26 年 5 月～10 月には、春から秋にかけて飛散する種々の花粉症原因花粉の飛散状況について、衛生研究所および県医師会のホームページで週ごとに提供した。

2) 行政検査

① 医薬品

健康福祉企画課の依頼により、厚生労働省の指示に基づく医薬品等一斉監視指導における後発医薬品品質確保対策による収去試験を実施した(表 1)。

その結果、実施した項目において不適品はなかった。

表 1 医薬品収去試験(後発医薬品 溶出試験)

収去試験品目	件数	データ数
グリクラジド錠	6	36
合 計	6	36

② 家庭用品

家庭用品規制に係る監視指導要領に基づく試買試験を実施した(表 2)。

その結果、実施した項目において不適品はなかった。

表 2 家庭用品試買試験

試買試験品目	件数	検査項目	データ数
生後 24 ヶ月以下の乳幼児用の繊維製品	13	ホルムアルデヒド 有機水銀化合物	13 9
合 計	13		22

⑤ 食品中のアレルギー物質検査

食品安全衛生課の依頼により、県内で製造された加工食品のうち卵と落花生を原材料として含まない食品 10 検体についてアレルギー物質の検査を実施した。

その結果、すべての検体の検査結果は陰性であり、アレルギー物質（卵又は落花生）を含む旨の表示はなかった。

3) 公衆衛生情報の収集及び提供事業

学術雑誌等資料を年 11 回(No.252-262)作成し、保健所等県関係機関に配布した。これに対し保健所等から請求があった 61 件の文献を収集し提供した。

所報No.47 を作成し、衛生研究所ホームページで公開した(表 4)。

No.40 までは印刷製本した所報を国内の専門情報機関及び関係研究機関等に配布していたが、No.41 からは PDF ファイルによる電子公開とした。

衛研ニュースを年 4 回(No.172-175)作成し、衛生研究所ホームページで公開した(表 5)。

No.171 までは印刷(外注)した衛研ニュースを国内の専門情報機関、関係研究機関及び県内の関係機関、教育機関等に配布していたが、No.172 からは PDF ファイルによる電子公開とした。

4) 図書及び資料等の収集管理

送付された報告書、雑誌、資料等の整理、学術雑誌の定期刊行物の製本(44 冊)を行った。

5) 職員研修 (内容は「5 研修業務等」参照)

(1) 保健所試験検査担当職員の検査技術の向上を図るための技術研修を行った。

(2) 第 35 回山形県衛生研究所業務報告会を実施した。

表3 ダーラム法によるスギ・ヒノキ科花粉の調査結果(平成26年)

	山形市	新庄市	米沢市	三川町
初観測日	2月26日	2月21日	2月7日	2月7日
飛散開始日	2月28日	3月4日	2月28日	2月21日
飛散終了日	4月27日	5月8日	4月28日	5月21日
最大飛散日	3月22日	4月3日	4月3日	3月19日
最大飛散数(個/cm ²)	553	1,689	1,039	1,223
総飛散数(個/cm ²)	6,159	12,716	5,925	5,807
総飛散数の過去平均値(*) (個/cm ²)	3,173	3,396	3,223	4,031

* 過去平均値は、山形市は昭和58年～平成27年(n=33)、新庄市および米沢市は平成元年～27年(n=27)、三川町は平成12年～27年(n=16)の平均を示す。

表4 山形県衛生研究所報 No.47

No.	題名	著者
1	山形県におけるマダニ分布調査	瀬戸 順次 他
2	食品中の放射性物質検査における検出下限値調査と最適測定条件の検討	笠原 翔悟 他
3	山形県の先天性代謝異常等のマス・スクリーニング検査の推移	安孫子 正敏 他
4	平成25年度先天性代謝異常等のマス・スクリーニング	最上 久美子 他

表5 衛研ニュース

No.	題名	著者
172	・ウイルス関連の研究成果が世界的な教科書で引用されました！	所 長 水田 克巳
	・山形から世界に先駆けて報告した“パレコウイルス3型による成人の筋痛症”は山形だけの病気なのか？	所 長 水田 克巳
	・薬になる植物(102) サフランについて	理 化学部 笠原 義正
173	・放射性物質検査における検出下限値について	理 化学部 笠原 翔悟
	・薬になる植物(103) サルトリイバラについて	理 化学部 笠原 義正
174	・来年春に飛散するスギ花粉飛散数の予測 一例年の約1.5倍、飛散数の少なかった今春の3～4倍多く飛散する見込みー	生活企画部 最上 久美子
	・山形県におけるエンテロウイルス71型の20年以上に及ぶ発生動向調査	所 長 水田 克巳
	・残留農薬検査の新たな方向性	理 化学部 山口 博子
	・薬になる植物(104) アミガサユリについて	理 化学部 笠原 義正
175	・調査研究により確認された山形県内のヒトコロナウイルス流行	微 生物部 的場 洋平
	・食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価	理 化学部 齊藤 寿子
	・薬になる植物(105) ツルドクダミについて	理 化学部 笠原 義正

◇ 感染症情報センター ◇

1) 山形県感染症発生動向調査

2014年第1週から第52週(2013年12月30日から2014年12月28日)までに県内の保健所に届出された疾病について、県内の感染症発生状況と病原体に関する情報を収集分析した。その結果を週報・月報として、関係機関(医療機関、保健所、教育庁等)にメール配信を行い、またホームページを通して広く情報を提供した。また、事業報告書(年報)を作成し、関係機関に配布した。

全数把握感染症は、16疾病317人の感染者が報告された(表1)。結核が175人と最も多く、置賜地区で人口当たりの報告数が多かった。腸管出血性大腸菌感染症は、37事例68人が報告され、うち3例20人は食中毒と断定された。アメーバ赤痢は、過去最多の報告数となった昨年に続き置賜地域を中心に多く報告された。また、エキノコックス症1人が1999年以降県内で初めて感染者が報告されたが、感染原因は不明である。なお、昨年全国的に大流行した風しんについては、県内では感染報告がなかった。

定点把握感染症(26疾病)では、A群溶血性レンサ球菌感染症と百日咳が過去10年間で最多の報告数となった。

インフルエンザの報告数は、2013-2014年季は全国より遅い流行で、迅速キットによる型別ではA型とB型が混在しており、特に村山地域では同時に流行した。

インフルエンザ、ヘルパンギーナは、流行期に県平均の定点当たり報告数が警戒レベルを上回ったため、県は警戒を発令し注意喚起を行った。

表1 全数把握感染症

No.	疾 病 名	報告数
1	結核	175
2	腸管出血性大腸菌感染症	68
3	E型肝炎	1
4	A型肝炎	2
5	エキノコックス症	1
6	つつが虫病	3
7	マラリア	1
8	レジオネラ症	18
9	レプトスピラ症	1
10	アメーバ赤痢	7
11	クロイツフェルト・ヤコブ病	1
12	後天性免疫不全症候群	2
13	侵襲性インフルエンザ菌感染症	3
14	侵襲性肺炎球菌感染症	25
15	梅毒	8
16	破傷風	1
計		317

表2 定点把握感染症

No.	疾 病 名	報告数
1	インフルエンザ	17,205
2	RSウイルス感染症	1,161
3	咽頭結膜熱	885
4	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	5,258
5	感染性胃腸炎	11,712
6	水痘	1,648
7	手足口病	1,078
8	伝染性紅斑	238
9	突発性発しん	947
10	百日咳	32
11	ヘルパンギーナ	1,752
12	流行性耳下腺炎	592
13	急性出血性結膜炎	0
14	流行性角結膜炎	70
15	感染性胃腸炎(ロタウイルス)	91
16	クラミジア肺炎	24
17	細菌性髄膜炎	5
18	マイコプラズマ肺炎	88
19	無菌性髄膜炎	13
20	性器クラミジア感染症	252
21	性器ヘルペスウイルス感染症	58
22	尖形コンジローマ	35
23	淋菌感染症	26
24	ペニシリン耐性肺炎感染症	23
25	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	299
26	薬剤耐性緑膿菌感染症	3
計		43,495

2) 病原体検出状況

県内の衛生研究所・保健所4施設・医療機関17施設の計22施設で検出した病原体数を月単位で検査材料別に報告を受け、これらを集計し関係機関に提供した。衛生研究所および4保健所からの報告は57件(表3)あり、17医療機関からは20,979件の報告(表4)があった。

表3 病原体検出状況(衛生研究所・保健所)

病原体	検出数
E. coli 腸管出血性(EHEC/VTEC)	31
E. coli 腸管病原性(EPEC)	4
Salmonella 04	1
Salmonella 07	2
Salmonella 08	1
Salmonella 09	1
Salmonella 群不明	1
Yersinia enterocolitica	3
Staphylococcus aureus	1
Bacillus cereus	2
Legionella pneumophila	4
Leptospira spp.	1
Mycoplasma pneumoniae	5
計	57

(検査材料：ヒト由来のみ)

表4 病原体検出状況(協力医療機関17ヶ所)

病原体 菌種・群・型	検査材料別 検出数								合計
	糞便	喀痰	咽頭	穿刺液	髄液	血液	尿	陰部	
Escherichia coli 腸管出血性(EHEC/VTEC)	36								36
Escherichia coli 腸管毒素原性(ETEC)	7								7
Escherichia coli 腸管病原性(EPEC)	5								5
Escherichia coli 他の下痢原性	70								70
Salmonella Typhi						5			5
Salmonella O4	22								22
Salmonella O7	7								7
Salmonella O8	5								5
Salmonella O9	4								4
Salmonella 群不明	1								1
Listeria monocytogenes						1			1
Yersinia enterocolitica	13								13
Yersinia pseudotuberculosis	3								3
Aeromonas hydrophila	9								9
Aeromonas sobria	1								1
Aeromonas hydrophila/sobria 種別せず	2								2
Plesiomonas shigelloides	3								3
Campylobacter jejuni	41								41
Campylobacter coli	3								3
Campylobacter jejuni/coli 種別せず	110								110
MRSA	105	1,259		16	2	57	162		1,601
Staphylococcus aureus(MRSA以外)	92	1,523		66	2	136	194		2,013
Cryptosporidium spp.	10								10
Escherichia coli				76	1	397	2,918		3,392
Klebsiella pneumoniae		1,215		31			547		1,793
Haemophilus influenzae		707	1,308	1		1			2,017
Pseudomonas aeruginosa		1,286		20		38	706		2,050
Staphylococcus, コアグラールゼ陰性				46		359	589		994
PRSP/PISP		159	99			3			261
Streptococcus pneumoniae (PRSP/PISP以外)		505	909	2	3	28			1,447
Anaerobes		121		74		50			245
Mycoplasma pneumoniae		2							2
Streptococcus B		399				1	21	788	1,209
Streptococcus A T6			3						3
Streptococcus A T25			1						1
Streptococcus A T28			1						1
Streptococcus A TB3264			1						1
Streptococcus A S.dysgalactiae subsp. equisimilis		1							1
Streptococcus A 型別せず		46	542						588
Enterobacter spp.							228		228
Acinetobacter spp.							56		56
Enterococcus spp.							1,335		1,335
Candida albicans							192	617	809
Mycobacterium tuberculosis		78							78
Mycobacterium avium - intracellulare complex		480							480
Legionella pneumophila		4							4
Neisseria gonorrhoeae								6	6
Chlamydia trachomatis								3	3
Trichomonas vaginalis								1	1
合計	549	7,785	2,864	332	9	1,096	6,927	1,415	20,977

3 理化学部

1) 行政検査

(1) 食品部門

① 農産物検査

食品安全衛生課の依頼により、県内に流通する農産物について残留農薬検査を実施した(表 1)。

その結果、残留基準を超えた農産物はなかった。

② 冷凍加工野菜検査

食品安全衛生課の依頼により、県内に流通する冷凍加工野菜について残留農薬検査を実施した(表 2)。

その結果、農薬は検出されなかった。

③ 残留動物用医薬品検査

食品安全衛生課の依頼により、県内産畜水産食品の残留有害物質のモニタリング検査として、はちみつ、鶏卵、養殖魚、生乳、食鳥肉に残留する抗生物質、合成抗菌剤及び内寄生虫用剤を検査した(表 3)。

その結果、残留基準を超えたものはなかった。

④ 山形県放射性物質検査(食品)

2011年3月に発生した東京電力福島第一原子力発電所事故を受け、山形県広域支援対策本部の依頼により、県産農畜水産物 132 検体、流通食品 125 検体、学校給食食材 160 検体、児童福祉施設給食 46 検体、水道水 50 検体の放射性物質検査を行った(表 4)。

その結果、基準値を超えて検出された人工放射性物質はなかった。

(2) 環境部門

① 環境放射能水準調査

全国の環境放射能水準調査の一環として原子力規制庁の依頼により県内の降水、大気浮遊じん、降下物、陸水(蛇口水)、海産生物及び空間線量率について調査を実施した。

定時降水試料(雨水)中の全β放射能調査結果を表 5 に、ゲルマニウム半導体検出器による核種分析測定調査結果を表 6 に、また、空間放射線量率測定結果を表 7 に示した。

② 山形県放射性物質検査(環境)

週間降下物 51 検体について調査を実施した。その結果、人工放射性物質は検出されなかった。

2) 調査研究

(1) 中毒原因となる自然毒の多成分一斉分析法の開発(所経常研究 H.25~26)

ジャガイモの毒であるグリコアルカロイド(α-ソラニ

ン、α-チャコニン)について、LC-MS/MSを用いた分析を可能にした。5種類の有毒植物(スイセン、トリカブト、チョウセンアサガオ、バイケイソウ、ジャガイモ)の毒成分計 14 種類を同時に一斉分析できる方法を確立した。

また、一部の毒キノコの毒成分についても標準品を用いた分析方法の検討を行った。

3) 外部精度管理

(1) 平成 26 年度食品衛生外部精度管理調査(参加)

平成 26 年 10 月、11 月に(財)食品薬品安全センターが実施した鶏肉ペースト中の残留動物用医薬品検査及びとうもろこしペースト中の残留農薬検査に参加した。

表1 平成26年度県内流通農産物の残留農薬検査結果 (1/3)

単位：ppm

検査対象農産物 検査対象農薬	だいこん	ほうれんそう	すもも	たまねぎ	ブロッコリー	ばれいしょ	こまつな	かき	はくさい
	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体
EPN	N. D	-	N. D	N. D	N. D	-	-	N. D	-
XMC	-	N. D	N. D	-	-	N. D	N. D	N. D	N. D
アクリナトリン	N. D	N. D	-	N. D	N. D	-	N. D	-	N. D
アセトクロール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
アセフェート	-	-	-	-	N. D	-	-	-	-
アトラジン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
アエロホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
アラクロール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
イソキサチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
イソプロパルブ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
イソプロチオラン	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D	-
イプロベンホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
イミダクロプリト	-	-	-	-	-	-	N. D~0.03(1)	-	-
エスプロパルブ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エタルフルレリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エチイフェンホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エトキサゾール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エトフェンプロックス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
エンドスルファン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
オキサジンアゾン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
オキサジキシル	-	N. D	N. D	-	-	N. D	N. D	N. D	N. D
オキシフルオルフェン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
カルハリル	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
キナルホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
キノキシフェン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
キノクラミン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D
キントゼン	N. D	N. D	-	N. D	N. D	-	N. D	-	N. D
クレソキシムメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロチアジジン	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
クロタルジメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルピリホス	N. D	N. D	N. D~0.03(1)	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルピリホスメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルフェナピル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルフェンピホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルプロファミ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
クロルベンジレート	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
シアナジン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
シアノホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジエトフェンカルブ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジクロシメット	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D
ジクロフェンチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジクロホップメチル	-	N. D	-	-	-	N. D	N. D	-	N. D
ジクロラン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
シハロトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
シハロホップブチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジフェナミド	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジフェノキサゾール	-	N. D	N. D	-	-	N. D	N. D	N. D	N. D
シフルトリン	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
ジフルベンスロン	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
シプロコキサゾール	N. D	N. D	-	N. D	N. D	-	N. D	-	N. D
シベルメトリン	N. D	N. D~0.33(2)	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D~0.28(4)	N. D	N. D

N. D：検出せず ()内は検出データ数

表1 平成26年度県内流通農産物の残留農薬検査結果 (2/3)

単位 : ppm

検査対象農産物 検査対象農薬	だいこん	ほうれんそう	すもも	たまねぎ	ブロッコリー	ばれいしょ	こまつな	かき	はくさい
	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体
シマジン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジメタメトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジメチナミド	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジメトエート	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
シメトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ジメビヘレート	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ダイアジノン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
チアトキサム	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
チオヘンカルブ	-	N. D	N. D	-	-	N. D	N. D	N. D	N. D
テトラクロルピホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テトラコナゾール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テトラジホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テニルクロール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テブコナゾール	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D~0.09(2)	-
テブフェノジド	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
テブフェンピラト	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テフルトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テルメトリン及びトラロメトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
テルブトリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
トリアジメホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
トリアレート	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
トリブホス	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
トリフルラリン	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
トリプロキシストロピン	-	-	N. D	-	-	N. D	-	N. D	-
トルクロホスメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ナブロハミド	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ニトタールイソプロピル	-	N. D	N. D	-	-	N. D	N. D	N. D	N. D
パクロフトラゾール	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
パラチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D
パラチオンメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ハルフェンプロックス	N. D	N. D	-	N. D	N. D	-	N. D	-	N. D
ピフェントリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピヘロホス	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピラクロホス	-	N. D	-	-	-	N. D	N. D	-	N. D
ピラゾホス	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
ピラフルフェンエチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリダフェンチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリダベン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリプチカルブ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリプロキシフェン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリミノホックメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリミホスメチル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピリメタニル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D
ピロキロン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
ピンクロソリン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
フェナリモル	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
フェントロチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
フェノチオカルブ	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
フェノカルブ	-	-	-	-	-	-	N. D	-	-
フェンシルホチオン	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D
フェントエート	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
フェンバレート	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D
フェンコナゾール	N. D	N. D	N. D~0.02(1)	N. D	N. D	-	N. D	N. D	N. D
フェンプロパトリン	N. D	-	N. D	N. D	N. D	N. D	-	N. D~0.02(1)	-

N. D : 検出せず ()内は検出データ数

表1 平成26年度県内流通農産物の残留農薬検査結果 (3/3)

単位：ppm

検査対象農産物 検査対象農薬	だい こん	ほう れん そう	すも も	たま ねぎ	ブ ロ ッ コ リ	ば れ い し よ	こ ま つ な	か き	は く さ い
	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体	10検体
フェンブ ^{ロビ} モルフ	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
フサイト ^ロ	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
ブ ^タ クロー	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^タ ミホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ビ リメート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^{プロ} フェン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
フルアクリ ^ビ リム	-	N.D	N.D	-	-	N.D	N.D	N.D	N.D
フルキンコナゾ ^{ール}	-	N.D	-	-	-	N.D	N.D	-	N.D
フルシト ^リ ネート	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
フルト ^ラ ニル	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
フルバ ^リ ネート	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
フルフェノクス ^{ロン}	-	-	-	-	-	-	N.D~0.47(1)	-	-
フルミオキサジ ^ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
フルリ ^ト ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D
ブ ^レ チクロー	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ シト ^ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ チオホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ バ ^ク ロー	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ バ ^ジ ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ バ ^ニ ル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ バ ^ル キ ^{ット}	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ ビ ^コ ナゾ ^{ール}	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D	-
ブ ^ロ ビ ^サ ミ ^ト	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ フェノホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ ホ ^キ スル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ マシ ^ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ メト ^リ ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ モブ ^ロ ビ ^レ ート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ブ ^ロ モホス	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ハキサコナゾ ^{ール}	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ハ ^ナ ラキシ ^ル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ハ ^ノ キサコ ^{ール}	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ベ ^ル メト ^リ ン	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D~0.05(1)	-	N.D
ベ ^ン コナゾ ^{ール}	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ベ ^ン テ ^イ メタ ^リ ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ベ ^ン フル ^レ ア ^リ ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ベ ^ン フル ^セ ート	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ホサ ^ロ ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D
ホスチアセ ^{ート}	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D~0.02(1)	-	N.D
ホスファミ ^ト ン	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D
マラチ ^{オン}	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
ミクロ ^バ タ ^ニ ル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メタミ ^ト ホス	-	-	-	-	N.D	-	-	-	-
メタキシ ^ル 及びメフェノキサ ^ム	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メチ ^タ チ ^{オン}	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D	-
メトキシ ^ク ロー	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メトラ ^ク ロー	N.D	N.D	-	N.D	N.D	N.D	N.D	-	N.D
メフェ ^ナ セ ^{ット}	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メフェン ^ビ ルジ ^エ チ ^ル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
メブ ^ロ ニ ^ル	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D	N.D
ルフェ ^ス ロン	-	-	-	-	-	-	N.D	-	-
データ数	1360	1390	1250	1360	1380	1330	1480	1250	1390
検出されたデータ数	0	2	2	0	0	0	8	3	0
基準値を超えたデータ数	0	0	0	0	0	0	0	0	0

N.D：検出せず ()内は検出データ数

表2 冷凍加工野菜の残留農薬検査結果

検査項目	検査対象	さととも	ブロッコリー	いんげん	ほうれんそう
		3検体	2検体	4検体	1検体
EPN		N.D	N.D	N.D	N.D
アセフェート		N.D	N.D	N.D	N.D
エチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
キナルホス		N.D	N.D	N.D	N.D
クロルピリホス		N.D	N.D	N.D	N.D
クロルフェンビンホス		N.D	N.D	N.D	N.D
ジクロフェンチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
ジメトエート		N.D	N.D	N.D	N.D
ダイアジノン		N.D	N.D	N.D	N.D
トルクロホスメチル		N.D	N.D	N.D	N.D
パラチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
パラチオンメチル		N.D	N.D	N.D	N.D
ピリダフェンチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
ピリミホスメチル		N.D	N.D	N.D	N.D
フェントロチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
フェントエート		N.D	N.D	N.D	N.D
ブタミホス		N.D	N.D	N.D	N.D
プロチオホス		N.D	N.D	N.D	N.D
プロフェノホス		N.D	N.D	N.D	N.D
ホサロン		N.D	N.D	N.D	N.D
ホスチアゼート		N.D	N.D	N.D	N.D
マラチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
メタミドホス		N.D	N.D	N.D	N.D
メチダチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
エディフェンホス		N.D	N.D	N.D	N.D
エトリムホス		N.D	N.D	N.D	N.D
カズサホス		N.D	N.D	N.D	N.D
ジクロルボス		N.D	N.D	N.D	N.D
ジメチルビンホス		N.D	N.D	N.D	N.D
ホスメット		N.D	N.D	N.D	N.D
ホルモチオン		N.D	N.D	N.D	N.D
データ数		93	62	124	31

N.D: 検出せず

表3 残留動物用医薬品検査結果

検査項目	検査対象	はちみつ	養殖魚	生乳	鶏卵	食鳥肉
		6検体	11検体	7検体	12検体	4検体
抗生物質	オキシテトラサイクリン	N.D	N.D (注)	N.D	/	N.D
	クロルテトラサイクリン					
	テトラサイクリン					
合成抗菌剤	オキシリニック酸	/	N.D	N.D	N.D	/
	オルメトプリム	/	N.D	N.D	N.D	N.D
	スルファキノキサリン	/	N.D	N.D	N.D	N.D
	スルファクロルピリダジン	/	/	/	N.D	N.D
	スルファジアジン	/	N.D	/	N.D	N.D
	スルファジミジン	/	/	N.D	N.D	N.D
	スルファジメトキシム	/	N.D	N.D	N.D	N.D
	スルファメトキサゾール	/	/	N.D	N.D	N.D
	スルファメラジン	/	/	N.D	N.D	N.D
	スルファモノメトキシム	/	N.D	N.D	N.D	N.D
トリメトプリム	/	N.D	N.D	N.D	N.D	
内寄生虫用剤	フルベンダゾール	/	/	N.D	N.D	/
データ数		6	88	77	144	44

N.D: 検出せず

(注)養殖魚はオキシテトラサイクリンのみ

表4 山形県放射性物質検査結果(食品)

試料分類	件数	放射能(Bq/kg)					
		I-131		Cs-134		Cs-137	
		最低値	最高値	最低値	最高値	最低値	最高値
農畜水産物	132	—	N.D	—	N.D	—	N.D
流通食品	125	—	N.D	—	N.D	—	N.D
給食食材	160	—	N.D	—	N.D	—	N.D
児童福祉施設給食	46	—	N.D	—	N.D	—	N.D
水道水	50	—	N.D	—	N.D	—	N.D

N.D: 検出限界以下

—: 最高値N.Dの場合、最低値なし

表5 定時降水試料中の全β放射能調査結果

採取年月	降水量(mm)	測定数	放射能(Bq/L)		月間降下量(MBq/km ²)	
			最低値	最高値		
平成26年	4月	34.0	4	—	N.D	N.D
	5月	73.5	11	—	N.D	N.D
	6月	83.5	8	—	N.D	N.D
	7月	168.0	11	—	N.D	N.D
	8月	157.5	7	—	N.D	N.D
	9月	27.0	4	—	N.D	N.D
	10月	172.5	8	—	N.D	N.D
	11月	70.5	10	—	N.D	N.D
平成27年	12月	232.5	15	—	N.D	N.D
	1月	60.5	9	—	N.D	N.D
	2月	71.5	7	—	N.D	N.D
3月	93.5	12	—	N.D	N.D	
年間値	1244.5	106	—	N.D	N.D	

N.D: 検出限界以下

—: 最高値N.Dの場合、最低値なし

表 6 核種分析測定調査結果

試料名	採取地	件数	I-131		Cs-134		Cs-137		単 位
			最低値	最高値	最低値	最高値	最停値	最高値	
大気 浮遊じん	山形市	4	—	N. D	—	N. D	—	N. D	mBq/m ³
降下物	山形市	12	—	N. D	0.054	1.4	0.23	3.8	MBq/km ²
陸水 (蛇口水)	山形市	5	—	N. D	N. D	0.89	1.4	2.6	mBq/L
海産 生物	サザエ 酒田市	1	—	N. D	—	N. D	—	N. D	Bq/kg生
	ワカメ 酒田市	1	—	N. D	—	N. D	—	N. D	

N. D : 検出限界以下

— : 最高値 N. D の場合、最低値なし

表 7 空間線量率測定結果

測定年月	モニタリングポスト(nGy/h)			サーベイメータ (nGy/h)	
	最低値	最高値	平均値		
平成 26年	4月	45	55	47	40
	5月	45	61	47	50
	6月	45	53	47	40
	7月	45	60	47	50
	8月	45	64	47	50
	9月	45	56	47	50
	10月	45	60	47	40
	11月	44	64	47	40
	12月	39	75	47	50
平成 27年	1月	37	59	40	50
	2月	37	67	42	40
	3月	44	61	46	40
年間値	37	75	46	40~50	

4 微生物部

◇ 細菌部門 ◇

1) 一般依頼検査

有料である一般依頼検査では、原虫・寄生虫検査として、水道事業者からの依頼により水道水中のクリプトスポリジウム及びジアルジアの検査を17件行った。血液検査として、医療機関からの依頼によりツツガムシ病の血液検査を11人について行い、2人のツツガムシ病患者が確認された。(表1)

表1 一般依頼検査

検査項目	検体数	データ数
(1)原虫・寄生虫検査 クリプトスポリジウム・ジアルジア	17	34
(2)血液検査 つつが虫病血液検査	11	40
合計	28	74

2) 行政検査

県保健業務課からの依頼による感染症及び感染症発生動向調査事業に係る検査、並びに県食品安全衛生課からの依頼による食中毒に係る検査を行った(表2)。

(1) 感染症対策事業

腸管出血性大腸菌等の精査(性状、病原因子確認、DNA型別)が54件あった。

(2) 感染症発生動向調査

感染症発生動向調査事業として、レジオネラ症、マイコプラズマ肺炎、ライム病、Q熱、レプトスピラ症、マラリア、ジフテリア等が疑われるものについて病原学的検査を行った。

(3) 後天性免疫不全症候群対策

後天性免疫不全症候群対策の一環として性器クラミジア感染症血液検査を行った。検査を希望する人を対象に保健所で採血が行われた。340人の検査を行い、50人が陽性であった。

(4) 結核予防対策

結核予防対策の一環として接触者等におけるインターフェロンガンマ遊離試験(QFT検査)を実施した。また、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第15条の規定による積極的疫学調査の一環として、結核菌反復配列多型(VNTR)分析を実施した。

(5) 三類感染症発生状況

腸管出血性大腸菌感染症では、68人の感染者が確認された。

3) 調査研究

(1) 山形県における *Mycoplasma pneumoniae* の疫学解析及び薬剤耐性遺伝子変異迅速検出系の確立

山形県で分離された肺炎マイコプラズマの疫学解析を実施した。さらに、臨床検体から薬剤耐性遺伝子変異を直接検出する系を検討した。

(2) 病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究(厚生労働科学研究費補助金、新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業、研究代表者 泉谷秀昌)

分担研究として秋田県健康環境センター熊谷優子氏の協力研究を行った。

表2 行政検査

検査項目	検査内容	検体数	データ数
(1) 感染症予防対策事業	菌株精査(病原因子、DNA型別等)	85	94
(2) 感染症発生動向調査事業	A群溶レン菌、レジオネラ症等	116	254
(3) 後天性免疫不全症候群対策	性器クラミジア	340	680
(4) 結核予防対策	結核菌インターフェロンガンマ遊離試験 反復配列多型(VNTR)分析	1241 100	1241 2400
合計		1882	4669

◇ウイルス部門◇

1) 行政依頼検査

(1) 防疫対策事業

2014/2015 シーズンのインフルエンザの流行を予測するため、県内在住の372名の血清HI抗体価を測定した。AH1pdm2009(2009年の新型)のA/カリフォルニア/7/2009(H1pdm)に対する抗体保有率(1:40以上)は、36.4~85.7%であった。A 香港のA/ニューヨーク/39/2012に対する抗体保有率は77.4~100%と比較的高くなっていた。B/マサチューセッツ/2/2012(山形系統)に対する抗体保有率は、19.5~100%であった。B/ブリスベン/60/2008(ビクトリア系統)については、

2.4~71.4%の抗体保有率であった。その他、206名、214名の皆様にご協力いただき、それぞれ麻疹、ポリオウイルスに対する抗体保有状況調査を実施した。結果は衛生研究所微生物部ホームページを参照。

(2) 感染症発生動向調査事業

検査定点等から送付された、上気道炎由来、胃腸炎由来、眼科疾患由来、神経系疾患由来など2094検体についてウイルス検査を実施した。検査は細胞培養によるウイルス分離と一部PCR法による遺伝子検出により行い、アデノウイルス95株、インフルエンザ174株などが分離または検出された(表)。

表 臨床診断別ウイルス分離・検出数(平成26年度)

診断名	アデノウイルス					インフルエンザウイルス					RS	hMPV	パラインフルエンザウイルス			
	1	2	3	5	54	AH1pdm09	AH3	BY	BV	C			Para1	Para2	Para3	Para4
インフルエンザ						9	102	27	2							
上気道炎	12	14	39	4		2	4	4		17	20	46	30	16	46	6
下気道炎			4	1	1			1		3	2	15	4	4	17	
ヘルパンギーナ			2	2						1			2	2	3	
手足口病				1												
ウイルス性発疹	1												1	1	1	
流行性耳下腺炎	1														1	
流行性角結膜炎				4						1						
ウイルス性髄膜炎					1									1		
麻疹・風疹																
脳炎・脳症																
感染性胃腸炎	1	1								1			2		1	
その他		2	4					1				2		3	3	1
合計	15	23	51	5	1	11	106	33	2	22	22	63	39	27	72	7

診断名	ピコルナウイルス															
	CoxA4	CoxA5	CoxA9	CoxA10	CoxA16	CoxB2	CoxB3	CoxB5	Echo3	Echo11	Echo18	Echo30	Cardio	Parecho1	Parecho2	Rhino
インフルエンザ																
上気道炎	36	1	1	2	2	1	20	1	1	28	1			5	9	24
下気道炎	3					1	2	2	1	2				2	2	6
ヘルパンギーナ	40			51			4			1					10	2
手足口病					9					1						
ウイルス性発疹	2		3							3			1		3	4
流行性耳下腺炎											1				1	
流行性角結膜炎																
ウイルス性髄膜炎	1									2		4				
麻疹・風疹	1															
脳炎・脳症																
感染性胃腸炎	1									4	1			1		
その他	4					1	2	1		4		2		1	13	4
合計	88	1	4	53	11	3	28	4	2	45	3	6	1	9	38	40

診断名	Mumps	サトウカ	ヘルペス	コロナウイルス			ノロ	合計
				229E	NL63	OC43		
インフルエンザ								140
上気道炎		28	9	2	25	8		462
下気道炎		2			4			79
ヘルパンギーナ		2	1	1	2			77
手足口病								11
ウイルス性発疹		1			1			22
流行性耳下腺炎								4
流行性角結膜炎								4
ウイルス性髄膜炎								8
麻疹・風疹								1
脳炎・脳症								0
感染性胃腸炎	1	1		1				16
その他		3	2	1			1	55
合計	1	37	12	5	32	8	1	879

(3)後天性免疫不全症候群（HIV）確認検査

HIV-1 型と HIV-2 型の確認検査を 1 件実施し、陽性はなかった。

(4)クラミジア抗体検査

340 件の検査を実施し、50 検体が陽性であった。

(5)C 型肝炎ウイルス抗体検査

395 件実施し、2 検体が抗体強力価（1:4096 倍以上）であった。

(6)B 型肝炎ウイルス抗体検査

406 件の検査を実施し、1 検体が陽性であった。

(7)食中毒関連検査

ウイルス起因疑いの食中毒（様）事件の患者便とウイルス性感染性胃腸炎疑いの集団発生例について Norovirus (NV) の検査を行った。その結果、31 事例において患者糞便等 298 検体中 154 検体から NV 遺伝子が検出された。

2) 調査研究

(1) 麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートする実験室検査に関する研究（平成 25～27 年度厚生労働科学研究費補助金新興・再興感染症研究事業）

(2) エンテロウイルス 71 型の分子疫学研究（平成 26 年度東北乳酸菌研究会）

(3) コロナウイルスの疫学研究（平成 27～29 年度）などを実施した。

3) 発生動向調査及び血清疫学調査のデータ還元

県内のウイルス感染症流行状況のデータを県民の皆様・医療機関に還元し、また県民の皆様の感染症に対する関心を高めるために、毎週、ウイルス検出情報、地区別インフルエンザウイルス検出状況（流行時のみ）を更新した。

5 研修業務等

1) 平成 26 年度保健所試験検査担当職員研修会

研修目的：保健所で行う試験検査等に必要な技術及び知識等の習得と検査精度の向上を目的とする。

<課題研修>

- ・開催日：平成 26 年 6 月 4 日～6 月 6 日
- ・参加者：17 名
- ・研修内容

理化学関係実習

1. 理化学検査の技能評価に関すること
2. 理化学分析の基礎に関すること
3. 放射性物質検査に関すること

微生物関係実習

1. 病原体取扱いの基礎習得
2. 三類感染症病原体（腸管出血性大腸菌，赤痢菌，コレラ菌）の検査法
3. 遺伝子検出法の習得

業務検討会

1. クロモアガー-STEC をスクリーニング培地として用いた検便検査について
2. やまがた樹氷国体に係る宿泊施設等のふき取り検査結果について
3. 食中毒菌汚染実態調査について

2) 第 35 回山形県衛生研究所業務報告会

- ・開催日：平成 27 年 2 月 27 日

理化学部

- ・平成 26 年度県内流通農産物等残留農薬検査結果について 千島 克隆
- ・ドリン系及び DDT 農薬検査にかかる GC-MS 測定
の検討 山口 博子
- ・かきにおけるテブコナゾールの消長
萬年美穂子

- ・農薬シマジンの検出が疑われた事例

齊藤 寿子

- ・動物用医薬品一斉試験法における妥当性評価

須貝 裕子

- ・中毒原因となる自然毒の多成分一斉分析法の開発

笠原 翔悟

- ・ツキヨタケ食中毒による健康被害防止のための
毒性研究

大河原 龍馬

- ・栽培したトリカブト属植物のアコニチン類に
関する考察

長岡 由香

- ・ヒスタミンによる食中毒防止のための研究

—LC-MS/MS を用いた魚肉中アミン類の迅速分析法検討—

佐藤 陽子

微生物部

- ・2013 年山形県におけるサフォードウイルスの
流行状況

青木 洋子

- ・山形県におけるコロナウイルスの検出状況

的場 洋平

- ・2014 年山形県における C 型インフルエンザ
ウイルスの分離状況

田中 静佳

- ・山形県におけるマダニ分布調査

瀬戸 順次

- ・リアルタイム PCR を用いた *Mycoplasma pneumoniae*
マクロライド耐性遺伝子変異迅速検出系の確立

鈴木 裕

生活企画部

- ・ヒスタミンによる食中毒防止のための研究
—分析法比較と産生阻害スクリーニング法の検討—

太田 康介

- ・山形県における 2014 年のスギ花粉飛散状況と
今シーズンの飛散予測

酒井 真紀子

- ・山形県における 2014 年の感染症発生動向

最上 久美子

3) インターンシップの受入

(1) 山形大学医学部医学科

公衆衛生学講座 4 年生 5 名

期間：平成 26 年 6 月 3 日

実習内容：

- ・感染症対策について
- ・ノロウイルス検査の概要
- ・検査室の見学

(2) 山形大学理工学研究科生物学専攻 1 年生 2 名

山形大学理学部生物学科 3 年生 1 名 計 3 名

期間：平成 26 年 8 月 4 日～8 日

実習内容：

- ・理化学部の研修内容
 - 食品残留農薬検査
 - 食品成分及び自然毒
 - 食品中残留放射能検査
- ・生活企画部の研修内容
 - 花粉症予防対策事業
 - 医薬品・アレルギー物質検査
 - 感染症発生動向調査
- ・微生物部の研修内容
 - 教育訓練
 - 感染症，細菌，ウイルス
- ・若手研究員との意見交換

(3) 北里大学獣医学部獣医学科 4 年生 1 名

酪農学園大学 5 年生 2 名 計 3 名

期間：平成 26 年 9 月 4 日

実習内容：

- ・残留農薬検査，放射性物質検査について
- ・感染症検査について
- ・感染症発生動向調査について

6 年間動向

1) 会議・検討会等出席

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 6月	平成26年度全国地方衛生研究所長会議	東 京 都	土田達朗
2014年 6月	東北食中毒研究会幹事会	仙 台 市	矢作一枝
2014年 7月	第1回研究評価委員会	山 形 市	笠原義正 他3名
2014年 7月	平成26年度地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟 支部総会	新 潟 市	水田克巳・青木洋子
2014年 8月	平成26年度地域保健総合推進事業第1回地方衛生研究所地域 ブロック会議	仙 台 市	土田達朗
2014年 8月	温泉分析法指針（平成26年改訂）説明会	東 京 都	太田康介
2014年 8月	温泉法に基づく揭示等の基準改定の対応と打ち合わせ	山 形 市	太田康介
2014年 9月	東北食中毒研究会幹事会第27回全体会議及び研修会	秋 田 県 秋 田 市	矢作一枝
2014年 9月	紅花振興連絡会議	山 形 市	笠原義正・長岡由香
2014年 10月	平成26年度地方衛生研究所全国協議会 北海道・東北・新潟 支部 衛生化学研究部会総会	青 森 県 青 森 市	齊藤寿子・長岡由香
2014年 10月	平成26年度地域ブロック理化学部門専門家会議	青 森 県 青 森 市	笠原翔悟
2014年 11月	平成26年度第65回地方衛生研究所全国協議会総会	栃 木 県 宇 都 宮 市	水田克巳
2014年 11月	平成26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 会	和 歌 山 県 和 歌 山 市	笠原義正・太田康介
2014年 11月	山形県理化学分析センター平成26年度第2回定時理事会	山 形 市	水田克巳
2014年 11月	平成26年度「地域保健総合推進事業」全国疫学情報ネットワー ク構築会議	東 京 都	酒井真紀子
2014年 11月	第2回研究評価委員会	山 形 市	酒井真紀子
2014年 12月	平成26年度地域保健総合推進事業第2回地方衛生研究所地域 ブロック会議	仙 台 市	水田克巳
2015年 1月	第28回公衆衛生情報研究協議会・研究会および関連会議	栃 木 県 宇 都 宮 市	最上久美子
2015年 2月	平成26年度狂犬病予防業務担当者会議	東 京 都	瀬戸順次
2015年 3月	山形県理化学分析センター平成26年度第3回定時理事会	山 形 市	水田克巳
2015年 3月	平成26年度放射線監視結果収集調査検討会	東 京 都	大河原龍馬・笠原龍馬

2) 学会・研究会等出席

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 5月	第89回日本結核病学会	岐 阜 県 岐 阜 市	瀬戸順次
2014年 5月	第107回日本食品衛生学会学術講演会	東 京 都	笠原義正
2014年 5月	第20回日本食品化学会総会・学術大会	東 京 都	笠原義正

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 6月	第55回日本臨床ウイルス学会	札幌市	水田克巳・青木洋子
2014年 6月	結核菌分子疫学および実地疫学に関する研究打ち合わせ	長崎県市	瀬戸順次
2014年 6月	衛生微生物技術協議会第35回研究会・総会	東京都	矢作一枝・田中静佳
2014年 7月	平成26年度東北乳酸菌研究会総会	仙台市	水田克巳
2014年 8月	第68回日本細菌学会東北支部総会	仙台市	水田克巳・鈴木裕
2014年 9月	厚生労働省科学研究 麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査にかかる研究班会議	東京都	青木洋子
2014年 10月	第37回農薬残留分析研究会	仙台市	齊藤寿子・萬年美穂子・山口博子
2014年 10月	平成26年度東北地区獣医師大会	仙台市	瀬戸順次
2014年 10月	第35回山形県医学検査学会	長井市	田中静佳・鈴木裕
2014年 10月	第63回日本感染症学会東日本地方総会学術集会	東京都	鈴木裕
2014年 10月	日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム	東京都	矢作一枝
2014年 12月	厚生労働省科学研究 病原体サーベイランスに関する意見交換会議	東京都	青木洋子
2014年 12月	第21回リッチケア研究会	東京都	瀬戸順次
2015年 1月	平成26年度厚生労働省科学特別研究事業 科学的根拠に基づく病原体サーベイランス手法の標準化に関する緊急研究検討会	東京都	水田克巳
2015年 1月	第26回日本臨床微生物学会総会・学術集会	東京都	田中静佳・鈴木裕
2015年 1月	平成26年度結核講演会	山形市	瀬戸順次
2015年 2月	第284回液体クロマトグラフィー研究懇談会	東京都	太田康介
2015年 2月	医薬品品質フォーラムシンポジウム	東京都	安孫子正敏
2015年 2月	平成26年度日本獣医師会獣医学術学会年次大会	岡山市	矢作一枝・的場洋平
2015年 2月	厚生労働省科学研究 麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験室検査にかかる研究班会議	大阪市	青木洋子
2015年 3月	第90回日本結核病学会総会	長崎県市	瀬戸順次
2015年 3月	第41回山形県公衆衛生学会	山形市	水田克巳 他14名

3) 研修会・講習会等出席

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 4月	PIC/S 教育訓練	山形市	安孫子正敏・酒井真紀子
2014年 5月	病原体包装運搬講習会	東京都	的場洋平
2014年 6月	Agilent 6890GC/MSD オペレーション基礎講座	横浜市	山口博子
2014年 6月	防火管理資格講習	山形市	土田達朗
2014年 7月	第57回山形県獣医技術研修会	山形市	瀬戸順次・的場洋平
2014年 7月	山形県獣医師会主催産業動物講習会	山形市	的場洋平
2014年 7月	結核対策とQFTの有効性について (QFTセミナー)	仙台市	瀬戸順次・田中静佳

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 7月	環境放射能分析・測定の基本	千 葉 市	大河原龍馬
2014年 9月	ナルセフォーラム 2014 (PIC/S 関係セミナー)	山 形 市	酒井真紀子・太田康介
2014年 9月	平成 26 年度バリデーション研修 (2) 試験検査	東 京 都	酒井真紀子
2014年 9月	統計専門研修	山 形 市	瀬戸順次・太田康介
2014年 10月	平成 26 年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東 京 都	萬年美穂子
2014年 10月	PCR 研修	神 奈 川 県 厚 木 市	最上久美子
2014年 10月	平成 26 年度国立保健医療科学院ウイルス研修	東 京 都 武 蔵 村 山 市	的場洋平
2014年 11月	環境測定分析レベルアップセミナー	山 形 市	千島克隆
2014年 11月	平成 26 年度動物由来感染症対策技術研修会	東 京 都	青木洋子
2015年 1月	平成 26 年度指定薬物分析研修会議	東 京 都	酒井真紀子・太田康介
2015年 1月	食物アレルギー (特定原材料) 検査実技実習	東 京 都	最上久美子
2015年 1月	感染症危機管理研修	山 形 市	矢作一枝・瀬戸順次・的場洋平
2015年 1月	平成 26 年度残留農薬等研修会	東 京 都	千島克隆
2015年 2月	放射線・原子力災害対策研修会	山 形 市	大河原龍馬・笠原翔悟
2015年 2月	地方衛生研究所全国協議会衛生化学分野研修会	東 京 都	長岡由香・佐藤陽子・太田康介
2015年 2月	食品化学分野研究者育成セミナー	東 京 都	長岡由香・佐藤陽子・太田康介
2015年 2月	平成 26 年度希少感染症診断技術研修会	東 京 都	瀬戸順次・的場洋平
2015年 2月	山形県獣医師会公衆衛生講習会	山 形 市	水田克巳 他 3 名
2015年 2月	新型インフルエンザ等対策研修会	山 形 市	水田克巳 他 4 名
2015年 3月	医学系研究の倫理等に関する研修会	山 形 市	水田克巳 他 2 名

4) 講演等

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 4-7月	山形大学地域教育文化学部講師	山 形 市	笠原義正
2014年 6月	公聴事案対応講師	山 辺 町	笠原義正
2014年 6月	日本大学生物資源科学部講師	神 奈 川 県 藤 沢 市	瀬戸順次
2014年 6月	北里大学獣医学部獣医学科講師	青 森 県 十 和 田 市	瀬戸順次
2014年 7月	山形市立第三中学校薬物乱用防止講話講師	山 形 市	笠原義正
2014年 10月	平成 26 年度最上地域新型インフルエンザ等対策研修会講師	新 庄 市	水田克巳
2014年 10月	第 47 回日本薬剤師会学術大会、分科会 8 感染制御講師	山 形 市	水田克巳
2014年 10月	第 13 回山形県科学技術奨励賞授与式及び特別講演	山 形 市	水田克巳 他 4 名
2014年 10月	酪農学園大学獣医学群講師	北 海 道 江 別 市	瀬戸順次

年 月	名 称	開 催 地	出 席 者
2014年 11月	平成26年度村山地域感染症対策連絡会議（エボラ出血熱対策連絡会議）講師	山 形 市	水田克巳
2014年 12月	村山保健所衛生委員会研修会講師	山 形 市	水田克巳
2014年 12月	平成26年度佐賀県衛生薬業センター健康危機管理研修会講師	佐 賀 県 佐 賀 市	笠原義正
2015年 2月	平成26年度置賜地域新型インフルエンザ等研修会講師	米 沢 市	水田克巳
2015年 3月	第20回国際結核セミナー講師	東 京 都	瀬戸順次
2015年 3月	平成26年度村山保健所管内検査担当者研修会講師	山 形 市	水田克巳
2015年 3月	平成26年度山形県学校薬剤師会研修会講師	山 形 市	笠原義正

5) 表彰等

年 月	名 称	開 催 地	受 賞 者
2014年 7月	地方衛生研究所全国協議会支部長表彰	新 潟 市	青木洋子
2014年 10月	第13回山形県科学技術奨励賞受賞	山 形 市	水田克巳
2015年 3月	平成26年度日本結核病学会研究奨励賞受賞	長 崎 県 長 崎 市	瀬戸順次

Ⅲ 衛生研究所の概要

1 沿 革

- 昭和23年 1月 1日 「地方衛生研究所設置要綱」（昭和23年4月7日付厚生省）により山形市旅籠町301番地県庁構内に山形県細菌検査所と山形県衛生試験所が設置された。
- 昭和29年 4月 1日 細菌検査所と衛生試験所を統合し、山形県衛生研究所が設置された。理化学科、細菌血清科の2科、専任所長以下21名（内兼務7名）で発足する。
- 昭和29年 6月26日 山形市桜町7番地17号山形県立中央病院の構内に本館、動物舎、渡廊下等新庁舎竣工。竣工した機会に保健衛生の各領域における調査研究をも併せて行う機関となり、病理科、生理科の2科を加え、総務室が置かれる。
- 昭和31年 8月 1日 県立中央病院の建物2棟を借り受け、理化学科が県庁構内から移転する。
- 昭和32年12月21日 生化学科新設される。
- 昭和39年 4月 1日 次長をおき総務室は総務課となる。
- 昭和39年10月10日 血液科を新設し、保存血液の製造にあたる。
- 昭和41年 4月 2日 副所長をおく。
- 昭和42年 4月 1日 顧問（2名）をおく。
- 昭和43年 1月30日 血液科採血室が増築される。
- 昭和44年 4月 1日 生理科廃止される。
- 昭和45年11月16日 公害科新設される。
- 昭和46年 9月 1日 血液センター設立のため血液科分離される。
- 昭和47年 5月18日 日本育英奨学金返還特別免除機関に指定される。
- 昭和47年 9月30日 山形市十日町一丁目6番6号山形県保健福祉センター構内に新庁舎竣工。
- 昭和47年10月20日 旧庁舎から移転する。
- 昭和48年 4月 1日 公害センター設置のため公害科分離される。
- 昭和49年 4月 1日 部制をとり、理化学、環境医学、細菌血清の3部1課となる。
- 昭和53年 3月31日 コンクリートブロック造、特殊ガスボンベ格納庫を新築する。
- 昭和56年10月 1日 特殊医薬品委託試験実施機関に指定される。
- 昭和57年10月 1日 感染動物実験室が設置される。
- 昭和62年 4月 1日 環境医学部が生活疫学部になり、細菌血清部が微生物部に改称される。
- 平成元年 3月14日 核種分析室が設置される。
- 平成 3年 9月12日 第43回保健文化賞を受賞する。
- 平成 4年 4月 1日 疫学情報室が新設され、3部1課1室となる。
- 平成10年 4月 1日 副所長2人（事務、技術）体制となる。
- 平成12年 4月 1日 疫学情報室が企画情報室に改称される。感染症情報センターをおく。
- 平成16年 4月 1日 企画情報室と生活疫学部を統合し、生活企画部が設置される。3部1課となる。
- 平成18年 4月 1日 技監を置く。
- 平成20年 3月24日 バイオセーフティーレベル（BSL）3実験室が設置される。
- 平成20年 3月31日 技監を廃止する。
- 平成23年 1月18日 耐震改修工事及び屋上防水工事を実施。
- 平成24年12月 5日 配管等更新工事を実施。
- 平成26年 4月 1日 副所長1人（事務）体制となる。
- 平成26年 4月 1日 先天性代謝異常検査を外部委託（委託は県庁子ども家庭課から発注）。
- 平成26年11月18日 温泉成分分析業務廃止（登録分析機関から抹消）。
- 平成27年 3月26日 非常用回路増設工事及び非常用発電機更新。
- 平成27年 4月 1日 副所長2人（事務、技術）体制となる。

2 施 設

所在地 山形市十日町一丁目6番6号
着 工 昭和46年11月26日

完 成 昭和47年 9月30日

敷地面積 16,036㎡

建築面積 642.9㎡ (194.48坪) , 延床面積 3,715.13㎡ (1,123.83坪)

建物構造 鉄筋コンクリート造り, 地下1階・地上5階

総事業費 2億4,732万7千円

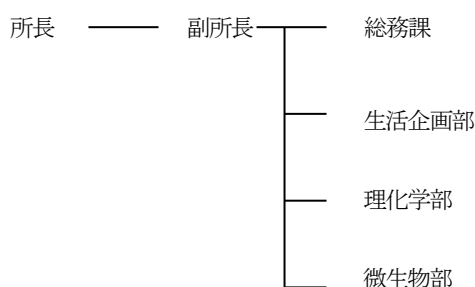
3 主要設備 (指定物品)

品 名	設置場所	購入年度	購入価格 (千円)	摘要
1 安全キャビネット	微生物部	S60	2,163	日立製作所
2 密度比重計	理化学部	H3	2,148	京都電子工業
3 モニタリングポスト	理化学部	H4	7,320	アロカ
4 高速液体クロマトグラフ	理化学部	H5	8,858	日本分光工業
5 非常用蓄電池	総務課	H7	2,949	ユアサ
6 水質検査用顕微鏡	微生物部	H9	6,982	カールツアイス
7 残留農薬 GPC 前処理装置	理化学部	H10	4,830	島津製作所
8 紫外可視分光光度計	理化学部	H10	2,068	島津製作所
9 溶出試験システム	理化学部	H10	5,775	日本分光
10 全自動カーバメイト系農薬分析システム	理化学部	H11	5,229	島津製作所
11 微量分析用高速液体クロマトグラフ	理化学部	H11	4,945	日本分光
12 ドラフトチャンバー	理化学部	H12	3,045	ダルトン
13 消臭・脱煙装置付電気炉	理化学部	H12	4,893	東京技術研究所
14 液体クロマトグラフ質量分析計	理化学部	H14	32,445	アプライドバイオシステムジャパン
15 安全キャビネット	微生物部	H15	2,992	ダルトン
16 ドラフトチャンバー	生活企画部	H17	3,071	ダルトン
17 ガスクロマトグラフ質量分析装置	理化学部	H17	13,650	アジレント
18 ドラフトチャンバー	理化学部	H17	3,071	ダルトン
19 リアルタイム PCR システム	微生物部	H18	6,069	アプライドバイオシステムズ
20 パルスフィールドゲル電気泳動解析ソフト	微生物部	H18	2,152	日本バイオ・ラッドラボラトリーズ
21 バイオセーフティーレベル3 実験室	微生物部	H19	18,417	ダルトン
22 イオンクロマトグラフ	理化学部	H20	6,090	日本ダイオネクス
23 パルスフィールドゲル電気泳動装置	微生物部	H20	3,591	バイオ・ラッド ラボラトリーズ
24 DNA シークエンサー	微生物部	H21	3,854	アプライドバイオシステムズ
25 バイオハザード対策用キャビネット	微生物部	H21	3,308	オリエンタル技研工業
26 リアルタイム PCR システム	微生物部	H21	7,035	アプライドバイオシステムズ
27 タイムラプス画像取得装置	微生物部	H22	3,000	アステック
28 バイオハザード対策用キャビネット	微生物部	H22	2,504	オリエンタル技研工業
29 ゲルマニウム半導体核種分析装置	理化学部	H22	6,458	セイコーEG&G
30 ガスクロマトグラフ	理化学部	H23	5,009	島津製作所
31 原子吸分光光度計	理化学部	H23	5,670	日立ハイテクノロジーズ
32 ベータ線自動測定装置	理化学部	H23	4,347	日立アロカメディカル
33 ガスクロマトグラフ質量分析装置	理化学部	H23	17,325	アジレントテクノロジー
34 超遠心機	微生物部	H24	4,095	日立工機
35 モニタリングポスト	理化学部	H24	8,978	日立アロカメディカル
36 倒立顕微鏡	微生物部	H25	4,038	ニコン
37 マイクロチップ電気泳動装置	微生物部	H26	2,646	島津製作所

4 業務（山形県行政組織規則第61条）

- 1 薬品その他の理化学的試験検査に関すること
- 2 食品試験検査に関すること
- 3 環境衛生試験検査に関すること
- 4 病理試験検査に関すること
- 5 病原の検索及び血清学的検査に関すること
- 6 疫学に関する情報の収集及び分析に関すること
- 7 その他衛生に必要な調査研究に関すること
- 8 保健所その他の衛生に関する試験検査施設の指導に関すること
- 9 衛生に関する研究生の指導養成に関すること

5 組織機構〔平成27年4月1日現在〕



職員異動

(転入)

氏名	新職名	旧所属
大滝 麻井子	専門研究員	健康福祉企画課
小川 直美	研究員	新庄病院
新藤 道人	研究員	村山総合支庁
篠原 秀幸	研究員	新規採用

(転出)

氏名	旧職名	新所属
齊藤 寿子	研究専門員	村山総合支庁
最上 久美子	専門研究員	村山総合支庁
千島 克隆	研究員	村山総合支庁
竹俣 久美子	研究員	(退職)

6 職員配置 [平成27年4月1日現在]

(職種内容)

所 属	職 名	医 師	事 務	化 学	薬 劑 師	臨 床 検 査 技 師	獸 医	合 計	摘 要
(5名)	所長	1						1	
	副所長		1		1			2	
	研究主幹				1		1	2	
総務課 (1名)	(総務課長)		(1)					(1)	副所長兼務
	総務主査		1					1	
生活企画部 (3名)	(部長)				(1)			(1)	研究主幹兼務
	主任専門研究員				1			1	
	研究員			1		1		2	
理化学部 (10名)	(部長)				(1)			(1)	副所長兼務 *1
	研究専門員				1			1	放射能測定 1名増員
	主任専門研究員				1			1	(暫定措置)
	専門研究員			1	2			3	
	研究員			3	2			5	
微生物部 (5名)	(部長)						(1)	(1)	研究主幹兼務*2
	研究専門員				1			1	
	専門研究員					2	2	4	
合 計		1	2	5	10	3	3	24	他に嘱託3名

*1 危機管理・くらし安心局食品安全衛生課食品検査主幹兼務

*2 危機管理・くらし安心局食品安全衛生課微生物検査主幹兼務

7 平成26年度歳入歳出決算

1) 歳入

単位：円

予算科目		調 定 額	収入済額	過誤納額又は 不納欠損額	収入 未済額	備 考		
款 項 目	節又は細節							
8	1	1	土地建物使用料	12,244	12,244	0	0	
8	3	1	証紙収入	359,980	359,980	0	0	
10	2	2	不用品売払収入	2,538	2,538	0	0	
14	8	5	一般社会保険料	476,263	476,263	0	0	
14	8	5	雑入	300,000	300,000	0	0	研究助成金
計				595,511	595,511	0	0	

2) 歳出

単位：円

予算科目				決算額	事業名
予算主管課	款	項	目の名称		
人事課	2	1	1 一般管理費	617,000	全国育樹祭行啓に係る食品衛生指導、検査実施経費
	2	1	2 人事管理費	59,129	職員研修費
総務厚生課	2	1	2 人事管理費	39,000	QFT検査資材経費
財政課	2	1	1 一般管理費	272,748	赴任旅費
危機管理課	4	2	2 食品衛生指導費	9,340,986	食品衛生監視指導費 乳肉営業指導費 県内流通農産物残留農薬検査事業費 食品検査信頼性確保事業費 食品アレルギー物質対策推進業費 放射性物質関連食品安全対策事業費
	4	2	3 環境衛生指導費	72,000	水道水安全確保対策事業費
	4	2	4 環境保全費	3,042,706	環境放射能水準調査費 放射線対策事業費
産業政策課	2	2	2 計画調査費	26,410	アドバイザリーボード
環境企画課	4	4	4 薬務費	40,930	温泉行政費
健康福祉企画課	4	1	1 公衆衛生総務費	1,299,488	嘱託職員費 児童手当
	4	1	3 予防費	8,405,000	感染症対策費 感染症発生動向調査費 ウイルス性肝炎総合対策事業費 後天性免疫不全症候群対策費 新型インフルエンザ危機管理対策事業費
	4	1	5 衛生研究所費	19,264,872	管理運営費 試験検査費 調査研究研修費 抗血清費
	4	3	1 保健所費	4,187,400	結核対策費 保健所情報システム整備事業費
	4	4	4 薬務費	439,083	医薬品等製造業許認可費、医薬品検定検査
子育て支援課	3	2	1 児童福祉総務費	158,296	地域子育て支援事業費
	3	2	3 母子福祉費	2,371,994	新生児疾患早期発見対策事業費
農業技術環境課	6	1	1 農業総務費	470,000	農畜産物放射性物質検査事業費
教育庁総務課	10	8	1 保健振興費	338,985	放射性物質検査経費
			計	50,446,027	

山形県衛生研究所報投稿規定

1 投稿者の資格

原則として当所職員とする。ただし、共著者や依頼原稿の場合はこの限りではない。

2 原稿の種類

原稿は総説、原著、短報、資料および抄録とする。

総説： 研究・調査論文の総括、解説であり内容は自由。原稿は20ページ以内。

原著： 独創性に富み、新知見を含む研究業績。原稿は20ページ以内。

短報： 断片的な研究業績で、新知見が認められるもの。原稿は10ページ以内。

資料： 試験、検査、調査等で記録しておく必要のあるもの。図表等を含む。原稿は30ページ以内。

抄録： 本誌以外の学術雑誌、または学会で発表したもの。

3 原稿の締め切りおよび受理

(1) 原稿の締め切り

毎年6月末日とする。ただし、所属長の判断で必要に応じて変更することができる。

(2) 原稿の受理と編集

生活企画部が指定したフォルダに原稿データを保存した段階で受付とする。採否は所属長が決定する。編集は生活企画部が担当する。

4 原稿の形式

総説： 自由。

原著： 表題（日本語、英語）、著者名（日本語、英語）、要旨（英語）、キーワード、はじめに、材料と方法、結果、考察、文献の区分を原則として設ける。要旨は本文を読まなくても要点が理解できるように250語程度で記載する。キーワードは5語以内。国際的に広く通用するものを表題および要旨から抽出し、不十分な場合は本文から補充する。

短報： 原著に準ずる。

資料： 原著に準ずる。要旨は日本語で500字程度とする。

抄録： 他誌掲載論文は題名、著者名、雑誌名、巻（号：通し頁の場合は省略）、始頁-終頁、発行年、要旨を記載する。
学会発表は題名、発表者名、学会名、開催年月、会場都市名、要約をそれぞれ順に記入する。原則、会場都市名は都道府県名と市区町村名の両方を記載とする。ただし、山形県内および政令指定都市の場合は該当する市区町村名のみとする。

5 原稿の書式

(1) レイアウト

原稿はMicrosoft office (Word 2007以降)を用いて作成する。原稿サイズはA4とする。余白は上35mm、下25mm、左25mm、右25mmとする。1ページの行数は37行、文字数は1行あたり47字とする。本文は2段組みとして、文字数は1行あたり23字とする。ページ番号は付けない。

(2) フォント

表題	MS ゴシック, 12 pt, 太字, 中央揃え
著者名	MS 明朝, 10.5 pt, 中央揃え (日本語著者名) Century, 10.5 pt, 中央揃え (英語著者名)
要旨	MS 明朝, 9 pt, 左揃え
キーワード	MS 明朝, 9 pt
本文	MS 明朝, 9 pt, 左揃え
図表	MS ゴシック, 9 pt, 太字 (通し番号, 表題)

(3) 図表

図表は本文中の希望する場所に貼り付ける。カラー、白黒どちらでもよい。表は上に通し番号と表題を、図は下に通し番号と表題を記載する。

(4) 文献

本文の引用あるいは参考箇所の右肩に1)や1)~5)と記載し、論最後にまとめて以下の形式で記載する。雑誌名は日本語誌名の場合は完全誌名を記し、英語誌の場合は国際的慣行に従って略記する。著者名は原則として5名まで記入する。著者数が5人以上のときは1名のみ記入し、他のものは日本語では“他”、英語では“et al.”とする。

- 雑誌の例 番号) 著者名: 表題, 雑誌名巻(号), 始頁-終頁, 発行年
- 1) 堀口申作, 斉藤洋三: 栃木県日光地区におけるスギ花粉症 Japanese Cedar Pollinosis の発見, アレルギー 13, 16-18, 1964
 - 2) Brewster DH, et al. : An Outbreak of Escherchia coli 0157 Associated with a Children's Paddling Pool, Epidemiol Infect 112(3), 441-448, 1994
- 単行本の例 番号) 著者名: 表題, 書名, 出版社, 出版地(出版年), pp. 始頁-終頁,
- 1) 斉藤行生: 農薬等による環境汚染, 食品衛生ハンドブック, 藤原喜久夫, 栗飯原景昭 監修, 南江堂, 東京(1992), pp. 670-682
 - 2) Doll R, Peto R: The Causes of Cancer, Oxford University Press, New York(1981), pp. 120-124

(5) 脚注

本文に*を用い記述する。

(6) その他

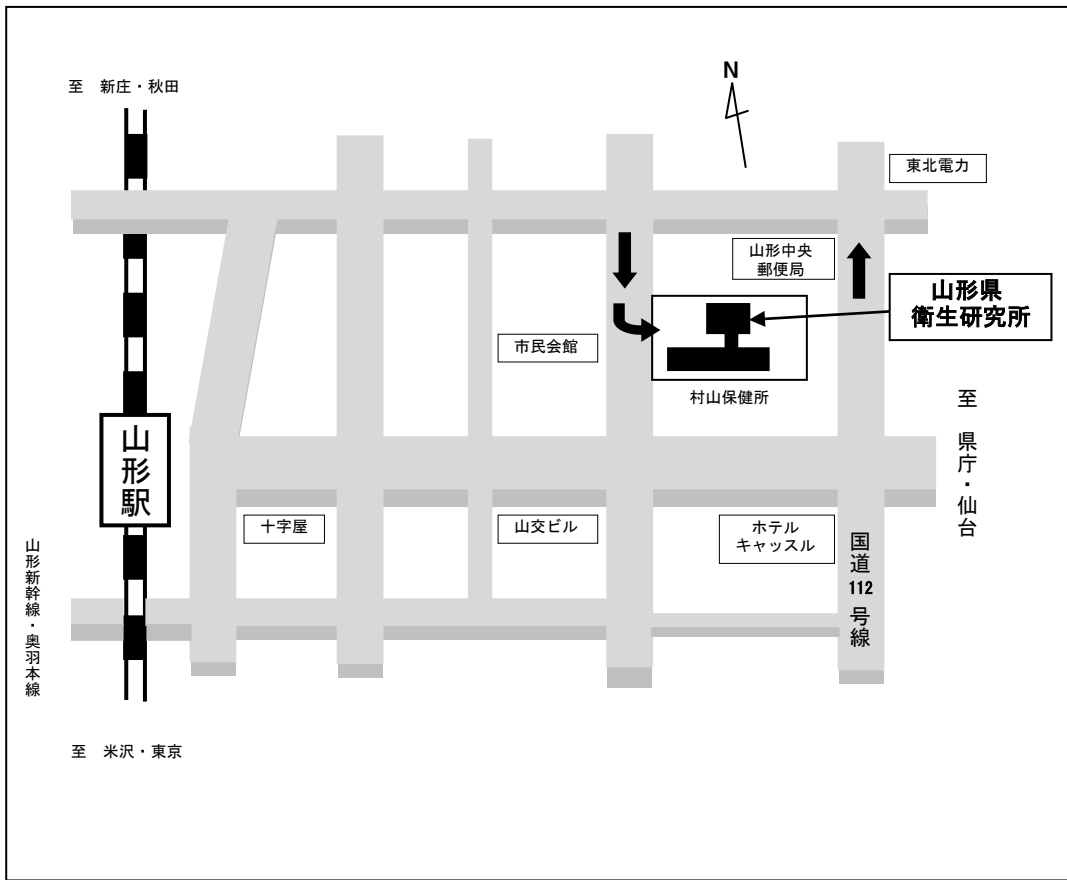
原稿は常用漢字, 現代仮名遣いを用い, 簡潔で理解しやすい表現にする。句読点は使わず, カンマおよびピリオドとする。行を改めるときは1字あけて書き始める。数字は算用数字を用いる。単位は国際単位(SI)およびSI併用単位を用い, 数字と単位の間は半角で1字あける。

5 その他

編集に関する必要事項は生活企画部が提案し所属長が決定する。著者校正は行わず, 所内での決裁時に, 投稿者は各自の論文を確認する。ページを付ける作業, PDF化及びホームページに掲載する作業は生活企画部が行う。最終決裁後の新たな追加あるいは修正は認めない。

6 適用

この投稿規定は, 2015年7月15日から適用する。



山形県衛生研究所報

第48号

発行日 平成27年10月31日

編集 山形県衛生研究所生活企画部

発行 山形県衛生研究所

〒990-0031

山形市十日町一丁目6番6号

TEL (023)627-1358

FAX (023)641-7486