

# 青森県環境保健センター一年報

Annual Report  
of  
Aomori Prefectural Public Health and Environment Center

No.28 2017

青森県環境保健センター

## は じ め に

青森県環境保健センターは、県民のニーズに的確に対応するため、衛生研究所、公害センター及び公害調査事務所を統合し、公衆衛生、公害等に関する試験検査、指導及び研究並びに情報の提供を総合的に推進するために平成2年に設置された、地方衛生研究所と地方環境研究所の機能を併せ持った研究機関です。

現在、国では、働く方一人ひとりが、より良い将来の展望を持ち得るようにする、働く人の視点に立った働き方改革を推進しています。働き方実行計画では、長時間労働の是正、女性・若者の人材育成など活躍しやすい環境整備、子育て・介護等と仕事の両立などが掲げられていますが、地方衛生研究所や地方環境研究所を取り巻く環境は、厳しいと言わざるを得ません。

年々予算が削減される中、比較的短期間での人事異動、人員削減の流れの中、研究職の職員だけでなく事務職の職員も削減され、研究職の職員が事務の一部を担わざるを得ない状況となっているのが実情です。そのような状況の中でも、着実な技術承継が求められており、その上、新たな業務が加わっていくため、新たな知見の収集や、新たな技術の習得等も求められています。

こうした中で働き方改革を進めていくためには、これまで以上に業務の選択と集中、創意工夫による効率的な業務の推進、厳密なスケジュール管理、コスト意識の徹底等が求められてくるものと考えています。

ここに、職員が通常業務としての試験検査を行っている中から課題を見つけ出し、研究テーマとして取り組んだ研究報告に、当所の業務報告を加えた「青森県環境保健センター年報（No.28 2017）」を取りまとめました。

御高覧のうえ、皆様の率直な御意見をいただければ幸いに存じます。

今後とも御指導、御支援を賜りますようお願いいたします。

平成30年3月

青森県環境保健センター

所 長 工 藤 真 哉

# 目 次

## I 環境保健センターの概要

|                          |   |
|--------------------------|---|
| 1 沿 革                    | 1 |
| 2 組織、所掌事務及び職員の状況         | 2 |
| 3 ISO/IEC17025 に基づく試験所認定 | 4 |

## II 業務の概要（平成 28 年度実績）

|   |    |
|---|----|
| 1 総務室                                   | 5  |
| 2 微生物部                                  | 6  |
| 3 理化学部                                  | 11 |
| 4 公害部                                   | 15 |
| 5 研修等業務（所内研修会）                          | 18 |
| 6 年間動向                                  | 20 |
| 1) 講師等派遣                                | 20 |
| 2) 委員会、協議会等の委員                          | 20 |
| 3) 平成 28 年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」 | 21 |
| 4) 会議・学会・研修会等出席状況                       | 22 |

## III 研究報告

### 1 報 文

|   |    |
|---|----|
| 青森県におけるヒトライノウイルスの分子疫学(2014~2016)<br>筒井 理華 坂 恭平 武差 愛美 菩提寺誉子                                  | 25 |
| 青森県内におけるサルモネラ属菌の性状解析(2017年)<br>高橋 洋平 山上 剛志 武差 愛美  | 31 |
| 2016/17 シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎の遺伝子解析<br>坂 恭平 菩提寺誉子 筒井 理華                                   | 37 |
| 記憶喪失性貝毒ドモイ酸の超高速液体クロマトグラフィーによる測定について：<br>コアシェルカラムの使用による分離の達成<br>花石 竜治 柴田めぐみ 中谷 実 山本 明美 佐藤 裕久 | 45 |
| 十二湖青池の呈色機構に関する研究(第二報)：<br>自作した吸収スペクトル測定装置のハードおよびソフトウェア<br>花石 竜治 佐藤 裕久                       | 51 |
| 十二湖青池の呈色機構に関する研究(第三報)：光測定結果の解析について<br>花石 竜治 大坂 直人 柴田めぐみ 野澤 直史 佐藤 裕久                         | 56 |
| 八戸地域における環境大気中インジウム濃度<br>—ローボリウムエアサンプラー法による濃度調査より—<br>対馬 典子 中谷康次郎                            | 63 |

### 2 ノート

|  |    |
|--|----|
| 下痢性貝毒分析法の妥当性評価<br>柴田めぐみ 中谷 実 工藤 志保 山本 明美 佐藤 裕久 | 74 |
|--|----|

IV 他誌投稿・学会等発表抄録 ..... 77

# CONTENS (Study Reports)

## 1 Original Articles

|   |    |
|---|----|
| Molecular epidemiology of human rhinovirus in Aomori Prefecture (2014–2016)<br>Rika Tsutsui, Kyohei Saka, Manami Musashi, Motoko Bodaiji .....  | 25 |
| Characterization of <i>Salmonella</i> in Aomori Prefecture (2017)<br>Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi .....  | 31 |
| Genetic analysis of noroviruses responsible for gastroenteritis outbreaks in the 2016/17 season<br>Kyohei Saka, Motoko Bodaiji, Rika Tsutsui .....  | 37 |
| Analyses of the amnesic shellfish poison domoic acid using ultra-high performance liquid chromatography:<br>successful separation using a core-shell column<br>Ryuji Hanaishi, Megumi Shibata, Minoru Nakaya, Akemi Yamamoto, Hirohisa Sato ..... | 45 |
| Coloration mechanism of Aoike Pond in Lake Juniko (2nd report): hardware and software of a laboratory-built<br>apparatus for measurements of absorption spectra<br>Ryuji Hanaishi, Hirohisa Sato .....  | 51 |
| Coloration mechanism of Aoike Pond in Lake Juniko (3rd report): analyses of photometric results<br>Ryuji Hanaishi, Naoto Osaka, Megumi Shibata, Naofumi Nozawa, Hirohisa Sato .....   | 56 |
| Indium Concentration in Environmental Atmosphere in Hachinohe Area<br>— Investigation of Pollutant with the Low Volume Air Sampler —<br>Noriko Tsushima, Kojiro Nakaya .....  | 63 |

## 2 Notes

|  |    |
|--|----|
| Validation study of analytical method for diarrhetic shellfish poison<br>Megumi Shibata, Minoru Nakaya, Shiho Kudo, Akemi Yamamoto, Hirohisa Sato..... | 74 |
|--|----|

# I 環境保健センターの概要

## 1 沿革

### (1) 設置の目的

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

### (2) 沿革

#### 【環境保健センター】

| 年 月 日     | 概 要  |
|-----------|--|
| 平成2年4月1日  | 青森県環境保健センター、青森県環境保健センター八戸公害事務所、青森県環境保健センター六ヶ所放射線監視局設置  |
| 平成12年4月1日 | センター内に環境管理部新設、弘前市・八戸市・むつ市に環境管理事務所新設(八戸公害事務所廃止)         |
| 平成13年4月1日 | センター内に青森県感染症情報センター設置                                   |
| 平成15年4月1日 | 組織改正により、環境管理部が青森環境管理事務所に、放射能部及び六ヶ所放射線監視局が青森県原子力センターに移行 |
| 平成19年4月1日 | 組織改正により、青森・弘前・八戸・むつ環境管理事務所が地域県民局に移行                    |

#### 【旧衛生研究所】

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

#### 【旧公害センター】

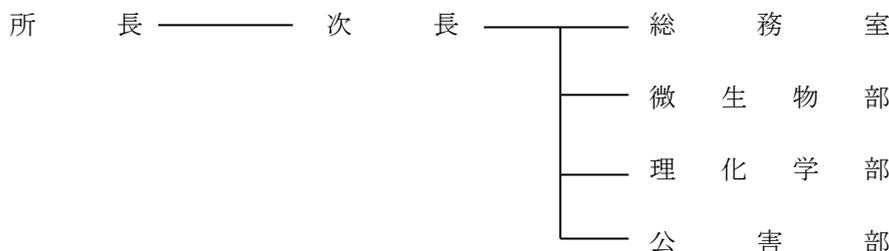
| 年 月 日     | 概 要         |
|-----------|-------------|
| 昭和46年4月1日 | 青森県公害センター開設 |

【旧公害調査事務所】

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

2 組織、所掌事務及び職員の状況

(1) 組織



(2) 所掌事務

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

(3) 分掌事務

総務室

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

微生物部

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

理化学部

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

⑥ その他必要な試験検査及び調査研究に関すること。

**公害部**

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

**(4) 職員の状況**

(平成29年4月1日現在)

| 区分   | 課長級 | 副参事級 | 総括主幹級 | 総括研究管理員 | 主研究幹管理員 | 主任査研員 | 主技事師 | 主専門員 | 技師 | 技師 | 非常勤事務員 | 非常勤労務員 | 非常勤技術員 | 専任当直員(非常勤) | 計  |
|------|-----|------|-------|---------|---------|-------|------|------|----|----|--------|--------|--------|------------|----|
| 所長   | 1   |      |       |         |         |       |      |      |    |    |        |        |        |            | 1  |
| 次長   |     | 1    |       |         |         |       |      |      |    |    |        |        |        |            | 1  |
| 総務室  |     |      | 1     | 1       | 1       |       |      |      | 1  | 1  |        |        |        | 2          | 7  |
| 微生物部 |     |      |       |         | 2       | 1     | 4    |      |    |    |        | 3      |        |            | 10 |
| 理化学部 |     |      | 1     | 2       | 2       |       |      | 2    | 1  |    |        | 2      |        |            | 10 |
| 公害部  |     |      |       |         | 4       | 1     | 1    |      |    |    |        | 1      |        |            | 7  |
| 計    | 1   | 1    | 2     | 9       | 5       | 5     | 5    | 2    | 2  | 1  | 6      | 2      | 2      |            | 36 |

### 3 ISO/IEC17025 に基づく試験所認定

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

平成 26 年度からは、下痢性貝毒検査については登録検査機関が行うことになり、認定範囲から外れましたが、平成 27 年 3 月に第 3 回 ISO/IEC17025 試験所認定更新が承認されました。

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

## Ⅱ 業務の概要(平成 28 年度実績)

## 1 総務室

### 1.1 職場見学者の受入れ

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

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

| 区 分    | H24 年度 | H25 年度 | H26 年度 | H27 年度 | H28 年度 |
|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 見学者（人） | 6      | 7      | 13     | —      | 4      |

### 2 センター内ベンチャー制度

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

平成 28 年度は、次の研究を採択した。

| 研 究 名            | 研究期間           |
|------------------|----------------|
| 十二湖青池の呈色機構に関する研究 | 平成 28 年度～29 年度 |

## 2 微生物部

### 2.1 調査研究

#### (1) 感染症流行予測調査事業

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

##### ア ポリオ感染源調査

平成 28 年度は 7 月から 12 月にかけて、青森市内下水処理施設から採水した下水処理前水 36 検体を対象にウイルス分離を実施した結果、コクサッキーウイルス A4 型 1 株、コクサッキーウイルス B 5 型 24 株、アデノウイルス 1 型 1 株、アデノウイルス 5 型 1 株及びエコーウイルス 6 型 5 株が分離された。

##### イ 日本脳炎感染源調査

平成 28 年度は 7 月から 9 月にかけて、十和田食肉衛生検査所及び田舎館食肉衛生検査所で採血したブタの血液 139 検体を対象に HI 抗体調査を実施した結果、10 倍以上の抗体価を保有している日本脳炎陽性ブタは認められなかった。

#### (2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

平成 11 年度から感染症法に基づき、県内の細菌・ウイルス・リケッチア・クラミジア等の病原体を把握するために感染症発生動向調査の一環として病原体検査を実施しており、平成 28 年度においては次のとおり行った。

##### ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

県内の医療機関が採取した材料 295 検体（糞便 46 検体、咽頭ぬぐい液 187 検体、髄液 29 検体、血液・血清 18 検体、尿 12 検体、その他 3 検体）からウイルス分離及び遺伝子検出を実施した結果は、次のとおりであった。

#### ウイルスの検出状況

| 疾患等                   | 検出されたウイルス                 | 検出株数 |
|-----------------------|---------------------------|------|
| インフルエンザ               | インフルエンザウイルス AH1pdm09      | 1    |
|                       | インフルエンザウイルス AH3 亜型        | 48   |
|                       | インフルエンザウイルス B 亜型（山形系統）    | 5    |
|                       | インフルエンザウイルス B 亜型（ビクトリア系統） | 14   |
| 呼吸器関連<br>（インフルエンザを除く） | RS ウイルス                   | 4    |
|                       | エコーウイルス 6 型               | 2    |
|                       | エコーウイルス 9 型               | 2    |
|                       | コクサッキーウイルス A10 型          | 1    |
|                       | コクサッキーウイルス B 1 型          | 1    |
|                       | ヒトパラインフルエンザウイルス 3 型       | 1    |
|                       | ヒトメタニューモウイルス              | 4    |
|                       | ヒトライノウイルス                 | 12   |
| 麻しん関連                 | エコーウイルス 9 型               | 1    |
|                       | ヒトヘルペスウイルス 7 型            | 1    |
| 風しん関連                 | エコーウイルス 9 型               | 2    |
|                       | ヒトライノウイルス                 | 2    |
| 感染性胃腸炎関連              | アデノウイルス 1 型               | 1    |
|                       | エコーウイルス 6 型               | 1    |
|                       | サポウイルス GI 型               | 1    |
|                       | ヒトライノウイルス                 | 2    |

| 疾患等       | 検出されたウイルス      | 検出株数 |
|-----------|----------------|------|
| 手足口病関連    | エコーウイルス9型      | 2    |
|           | コクサッキーウイルスA16型 | 2    |
| ヘルパンギーナ関連 | ヒトヘルペスウイルス7型   | 1    |
|           | 単純ヘルペスウイルス     | 1    |
| 無菌性髄膜炎関連  | エコーウイルス6型      | 6    |
|           | コクサッキーウイルスB1型  | 2    |
|           | 水痘帯状疱疹ウイルス     | 1    |
|           | ヒトライノウイルス      | 2    |
| その他       | エコーウイルス6型      | 4    |
|           | エコーウイルス9型      | 4    |
|           | コクサッキーウイルスA2型  | 1    |
|           | コクサッキーウイルスA4型  | 1    |
|           | コクサッキーウイルスB5型  | 2    |
|           | ヒトヘルペスウイルス6型   | 7    |
|           | ヒトヘルペスウイルス7型   | 2    |
|           | ヒトライノウイルス      | 10   |

イ 細菌等

県内の医療機関で、ジフテリア菌検出疑い患者から採取された菌株1株の遺伝子検査を実施した結果、ジフテリア毒素遺伝子陰性であった。ライム病疑い患者から採取された血液1検体の遺伝子検査を実施した結果、ライム病ボレリア陰性であった。また、マイコプラズマ肺炎患者から採取された鼻汁1検体の遺伝子検査を実施した結果、マイコプラズマが検出された。

(3) 結核菌のVNTR

平成24年度から、県の結核対策の一つとして、VNTR法による結核菌の遺伝子型別解析を行っている。平成28年度は14株について遺伝子解析を行った。

(4) 青森県病原微生物検出情報

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

ア 平成28年度は、提供を受けた検出情報及び気温等の環境情報を解析し、環境保健センターのホームページに週報として52回掲載した。

イ 収集した病原性菌株について血清型・薬剤感受性試験及びPFGE遺伝子解析を実施し、その結果を関係機関に提供している。

(5) 厚生労働科学研究事業

平成28年度に研究事業として厚生労働科学研究班等に参加した事業は、以下のとおりである。

ア 厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」分担研究「食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究」

イ 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」

ウ 厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」分担研究「全国地方衛生研究所において分離される人、食品由来薬剤耐性菌の情報収集体制の構築」

エ 日本医療研究開発機構（AMED）委託研究開発費 感染症実用化研究事業 新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業「迅速・網羅的病原体ゲノム解析法の開発及び感染症危機管理体制の構築に資する研究」新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「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」

#### (6) 菌株の収集事業

県内で発生した食中毒事例等及び感染症事例から分離されたサルモネラ属菌、ビブリオ属菌、腸管出血性大腸菌（O157 等）、カンピロバクター属菌について、生化学的性状試験、血清学的試験等を行い県並びに青森市及び八戸市保健所及び関係機関に対して情報提供を行っている。

#### (7) 感染症発生動向調査事業に係る青森県感染症発生情報

平成 13 年度から感染症患者の把握と予防啓発を目的に実施している。

平成 28 年度は、県内の感染症患者情報及び病原体検出情報を収集・分析し、その結果を週報として 52 回（インフルエンザ情報を適時掲載）、月報として 12 回、環境保健センターのホームページに掲載した。また、平成 27 年（1 月～12 月）の感染症発生動向調査事業報告書を作成し、ホームページに掲載するとともに関係機関に配付した。

### 2.2 試験検査

#### (1) ウイルス性食中毒等関連検査

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

平成 28 年度は、ウイルス性食中毒（疑いを含む）及び感染症集団胃腸炎事例が 22 事例あり、糞便 236 検体、吐物・胃液 5 検体、食品・水 75 検体、ふき取り 115 検体、計 431 検体について RT-PCR 法、リアルタイム PCR 法及びダイレクトシーケンス法により原因ウイルスの検索及び遺伝子解析を行った。

その結果、糞便 236 検体中ノロウイルス Genogroup I（G I 型）が 4 検体、ノロウイルス Genogroup II（G II 型）が 98 検体、A 型肝炎ウイルスが 3 検体から検出された。吐物・胃液 3 検体及びふき取り 2 検体からノロウイルス GII 型が検出された。

#### (2) 細菌等による食中毒等関連検査

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

#### (3) 対 EU 輸出ホタテガイ生産海域モニタリング調査

保健衛生課からの依頼により実施している。平成 28 年度は、平成 29 年 1 月から 3 月にかけて、6 定点（平内 2 定点、野辺地 2 定点、むつ、川内）で採取したホタテガイ合計 32 検体についてサルモネラ属菌及び大腸菌の検査を行った。その結果、すべて EU 向けホタテガイに関する衛生基準を満たしていた。

### 2.3 青森市及び八戸市に対する技術協力

青森市及び八戸市（平成 29 年 1 月 1 日以降）に対し、病原体等の試験研究等業務に対する県の技術的協力に関する協定に基づき、技術協力を行った。

#### (1) 食中毒等関連検査（ウイルス等・細菌等）

##### ア ウイルス等

平成 28 年度は、青森市でウイルス性食中毒（疑いを含む。）・感染症集団胃腸炎事例が 1 事例あり、糞便 7 検体についてダイレクトシーケンス法により原因ウイルスの遺伝子解析を行った。

##### イ 細菌等

平成 28 年度は、青森市で細菌性食中毒（疑いを含む。）・感染症集団胃腸炎事例が 1 事例あり、菌株 3 株について PFGE 法によるレジオネラ属菌の遺伝子解析を行った。

#### (2) 感染症発生動向調査事業（ウイルス等・細菌等）

##### ア ウイルス・リケッチア・クラミジア

青森市内の医療機関が採取した材料は、79 検体（糞便 27 検体、咽頭ぬぐい液 34 検体、髄液 8 検

体、血液・血清7検体、尿3検体)であった。

八戸市内の医療機関が採取した材料は、42検体(糞便6検体、咽頭ぬぐい液29検体、髄液3検体、血液・血清2検体、尿2検体)であった。

イ 細菌等

青森市内の医療機関が採取した材料は、2検体(咽頭ぬぐい液2検体)であった。

## 2.4 精度管理

### (1) ウイルス等

平成28年度は厚生労働省健康局結核感染症課で感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき実施しているインフルエンザウイルスに関する外部精度管理に参加し、検査技能は適正であると判定された。

### (2) 細菌等

平成28年度は一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所で実施しているサルモネラ属菌及び大腸菌に関する食品衛生外部精度管理に参加し、検査技能は適正であると判定された。

## 2.5 教育・指導

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

保健衛生課からの依頼により、対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング者育成を目的に研修を実施しており、平成28年度はサンプリング者に指名された者に対して、ホタテガイの無菌的採取法について、講義と実演を行った。

### (2) 病原体等の包装・運搬に係る研修

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

### (3) 衛生検査所に対する外部精度管理

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

## 2.6 健康危機管理

高病原性鳥インフルエンザが、ヒトに感染することによる新型インフルエンザ出現に警戒し、検査技術の導入及び検査体制の整備を行っている。

業務実績総括表（平成 28 年度）

| 分類                 | 部門                          | 件数    | 検査<br>項目数 | 検査<br>総数 |
|--------------------|-----------------------------|-------|-----------|----------|
| (1) ウイルス<br>(行政検査) | ① 感染症発生動向調査（ウイルス等）          |       |           |          |
|                    | ・インフルエンザウイルス                | 74    | 6         | 444      |
|                    | ・呼吸器関連ウイルス（インフルエンザウイルスを除く。） | 56    | 15        | 840      |
|                    | ・麻疹関連ウイルス                   | 10    | 5         | 50       |
|                    | ・風疹関連ウイルス                   | 5     | 5         | 25       |
|                    | ・感染性胃腸炎関連ウイルス               | 10    | 7         | 70       |
|                    | ・手足口病関連ウイルス                 | 6     | 10        | 60       |
|                    | ・ヘルパンギーナ関連ウイルス              | 2     | 10        | 20       |
|                    | ・無菌性髄膜炎関連ウイルス               | 20    | 6         | 120      |
|                    | ・その他のウイルス                   | 112   | 13        | 1,456    |
|                    | ② ポリオ感染源調査                  | 36    | 1         | 36       |
|                    | ③ 日本脳炎感染源調査                 | 139   | 1         | 139      |
|                    | ④ ウイルス性食中毒等関連検査             | 431   | 5         | 2,155    |
|                    | 小 計                         | 901   |           | 5,415    |
| (2) 細菌等<br>(行政検査)  | ① 感染症発生動向調査（細菌等）            |       |           |          |
|                    | ・ジフテリア菌                     | 1     | 1         | 1        |
|                    | ・ライム病ボレリア                   | 1     | 1         | 1        |
|                    | ・マイコプラズマ                    | 5     | 1         | 5        |
|                    | ② 結核菌VNTR                   | 14    | 1         | 14       |
|                    | ③ 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査   | 32    | 2         | 64       |
| ④ 病原性菌株の収集         | 173                         | 1     | 173       |          |
| ⑤ 病原微生物検出情報（菌株）    | 43                          | 1     | 43        |          |
|                    | 小 計                         | 269   |           | 301      |
|                    | 合 計                         | 1,170 |           | 5,716    |

### 3 理化学部

#### 3.1 試験検査

##### (1) 有害物質等検査

###### ア 県産農産物の残留農薬検査

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

平成 28 年度は次の 8 種 56 検体、1 検体当たり約 250 項目について検査を実施した。人参 6 検体（146 項目）、大根 8 検体（146 項目）、玄米 6 検体（109 項目）、ねぎ 8 検体（146 項目）、りんご 11 検体（152 項目）、長いも 6 検体（122 項目）、ほうれん草 5 検体（190 項目）、ごぼう 6 検体（144 項目）。（ ）内の項目数は試験法の妥当性が確認された項目数

その結果、人参、玄米、ねぎ、りんご及びほうれん草からは下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

大根、長いも及びごぼうについては、すべての項目について定量下限未満であった。

###### 検出農薬

| 作物名   | 検出農薬名（検出検体数）   |
|-------|--|
| 人参    | シペルメトリン（1）、エトフェンブロックス（1）                                       |
| 玄米    | トリシクラゾール（2）、フェリムゾン（1）、フサライド（1）、<br>エトフェンブロックス（1）、クロチアニジン（1）    |
| ねぎ    | トルフェンピラド（3）、アゾキシストロビン（1）、シペルメトリン（3）、<br>アセタミプリド（1）、フルジオキサニル（1） |
| りんご   | シペルメトリン（7）、アセタミプリド（4）、トリフロキシストロビン（4）、<br>フェンプロパトリン（1）          |
| ほうれん草 | ペルメトリン（1）、クロチアニジン（1）、チアメトキサム（1）                                |

###### イ 輸入農産物の残留農薬検査

県内に流通している輸入農産物の残留農薬検査を、1 検体当たり約 250 項目について実施した。平成 28 年度はパプリカ 8 検体（169 項目）レモン 2 検体（164 項目）及びオレンジ 4 検体（137 項目）について検査を実施した。下の表に示す農薬が検出されたが、いずれも基準値未満であった。

###### 検出農薬

| 作物名  | 検出農薬名（検出検体数）  |
|------|---|
| パプリカ | アクリナトリン（2）、クロチアニジン（2）、チアメトキサム（1）、<br>ピリダベン（3）、ピリプロキシフェン（2）、クロルフェナピル（2）、<br>チアクロプリド（1） |
| レモン  | アゾキシストロビン（1）、イマザリル（2）、チアベンダゾール（2）、  |
| オレンジ | イマザリル（4）、チアベンダゾール（4）  |

###### ウ ホタテガイの有機スズ化合物検査

漁網防汚剤として使用されていた有機スズ化合物について継続的に調査している。平成 28 年度はホタテガイ 5 検体について実施した結果、ジブチルスズ化合物、トリブチルスズ化合物、トリフェニルスズ化合物はすべて定量下限未満であった。

#### エ 魚介類中のPCB、水銀及びクロルデン類検査

県産魚介類の安全性を確保するため、暫定的規制値の定められているPCB、水銀及びシロアリ駆除剤であるクロルデン類（6項目）について、継続的に調査しており、平成28年度は県産魚介類4種5検体（マイワシ、アイナメ(2)、マコガレイ、ヒラメ）について実施した結果、水銀についてはすべての検体から検出（0.015～0.269ppm）されたが、いずれも暫定的規制値（0.4ppm）以下であった。PCB、クロルデン類については、すべてについて定量下限未満であった。

#### オ 流通貝の貝毒検査

下痢性及び麻痺性貝毒による食中毒を未然に防止するため、流通貝について貝毒検査を継続的に実施している。平成28年度はホタテガイ12検体（下痢性7検体、麻痺性5検体）について実施した結果、下痢性貝毒は5検体から検出されたが、全て規制値（0.16mg0A 当量/kg）未満であり、麻痺性貝毒はすべてについて定量下限未満であった。

#### カ りんごジュースのカビ毒検査

県産りんごジュースの安全性を確保するため、平成17年度から、カビ毒（パツリン）の検査を実施している。平成28年度は11検体について実施した結果、1検体から検出されたが基準値未満であった。

#### キ アレルギー物質検査

平成28年度は41検体（菓子30検体（再検査1検体を含む）、穀類加工品9検体、そうざい1検体、魚肉練り製品1検体）の特定原材料5品目（小麦・そば・落花生・卵・乳）について検査を実施した。その結果、乳で菓子1検体、小麦で菓子1検体が基準値を超えた（小麦が検出された菓子は保健所の指導後の再検査では基準値未満であった）。

#### ク 清涼飲料水検査

土産品として売られている清涼飲料水の安全性を確保するため、鉛等の検査を実施している。

平成28年度は8検体について鉛、pHを検査した結果、鉛はすべてについて定量下限未満であった。

#### ケ 遺伝子組換え体検査

平成28年度は大豆穀粒5検体について遺伝子組換え体の混入率の検査を実施した結果、遺伝子組換え体（RoundupReady Soybean）の混入率は全て定量下限（0.1%）未満であった。

### (2) 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

畜水産食品の安全性を図るため、合成抗菌剤、抗生物質及び寄生虫駆除剤についての動物用医薬品検査を実施している。平成28年度は県内で収去された鶏卵13検体（34品目）、牛乳7検体（42品目）について検査を実施した結果、すべてについて定量下限未満であった。

### (3) 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査

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

貝毒については、EU向けホタテガイの採捕期間中に毎週実施しており、平成28年度は1月～3月に6定点（平内2定点、野辺地2定点、むつ、川内）から採捕したホタテガイ51検体について、2項目（麻痺性及び記憶喪失性貝毒）の検査を実施した結果、いずれもEU向けホタテガイに係る基準を満たしていた。

環境汚染物質については、12検体（6定点・年2回（6月、11月））について、23項目（PCB、塩素系農薬、クロルデン類、ベンゾ[a]ピレン、総水銀、カドミウム、ヒ素、鉛、クロム、ニッケル、銅、亜鉛、銀）の検査を実施した結果、総水銀、カドミウム、亜鉛及びヒ素がすべての検体から検出されたが、いずれもEU向けホタテガイに係る基準を満たしていた。

### (4) 家庭用品の試買検査

昭和55年度から、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づく家庭用品の試買検査を実施している。平成28年度は、家庭用洗剤10検体について容器試験、塩酸消費量（合計4項目）の検査を、繊維製品11検体についてはホルムアルデヒドの検査を実施した結果、すべての項目で規格に適合していた。

### (5) 医薬品の収去検査

不良医薬品の製造及び流通を防止するため、医薬品等一斉監視指導において収去した医薬品の検査を実施している。平成 28 年度はアセトアミノフェンの定量試験を 6 検体について実施した結果、すべて規格に適合していた。

### (6) その他の行政検査

平成 28 年 6 月に県南地方において、自宅の畑から採取したニラ様植物を調理したものを喫食後、嘔吐しスイセン誤食による食中毒が疑われた。確認のため、調理品残品 2 検体、調理に用いたニラ様植物の鱗茎 1 検体及び畑から採取したニラ様植物 1 検体の計 4 検体についてスイセンの毒成分の検査を実施した。その結果、すべての検体から毒成分であるリコリン、ガラントミン、ガラントミノンが検出された。

## 3.2 精度管理調査

### (1) 食品薬品安全センター秦野研究所による外部精度管理調査

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

平成 28 年度は重金属（玄米のカドミウム）、残留農薬（ほうれんそうペーストのチオベンカルブ、マラチオン、クロルピリホス、テルブホス、フルシトリネート及びフルトラニルの 6 種農薬中 3 種）、残留動物用医薬品（鶏肉（むね）ペーストのスルファジミジン）、麻痺性貝毒（ホタテガイペースト）の 4 項目について実施した。いずれも結果は良好であった。

### (2) 水道水質検査の外部精度管理調査

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

平成 28 年度は、水質検査に従事する県内 5 施設を対象に、ヒ素、塩化物イオン及びその化合物について外部精度管理調査を実施した。各施設のデータを Xbar-R 管理図により解析した結果、全施設で全項目について管理限界内であった。Z スコアによる評価も全て良好であった。

## 3.3 試験所認定に係る維持管理事業

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

平成 28 年 1 月に第 8 回技術サーベイランス現地審査を受け、基準に適合していることが認められた。  
〔認定範囲：食品試験分野（麻痺性貝毒、記憶喪失性貝毒、大腸菌、サルモネラ属菌）〕

業務実績総括表（平成28年度）

| 分類           | 部門                         | 事業                   | 件数  | 項目数    |
|--------------|----------------------------|----------------------|-----|--------|
| 総 数          |                            |                      | 280 | 11,695 |
| 試験検査         | (1)有害物質検査                  | ①県産農産物の残留農薬検査※       | 56  | 8,084  |
|              |                            | ②輸入農産物の残留農薬検査※       | 14  | 2,228  |
|              |                            | ③ホタテガイの有機スズ化合物検査     | 5   | 15     |
|              |                            | ④魚介類のPCB、水銀、クロルデン類検査 | 5   | 40     |
|              |                            | ⑤流通貝の貝毒検査            | 12  | 12     |
|              |                            | ⑥りんごジュースのカビ毒検査       | 11  | 11     |
|              |                            | ⑦アレルギー物質検査           | 41  | 82     |
|              |                            | ⑧清涼飲料水検査             | 8   | 16     |
|              |                            | ⑨遺伝子組換え体検査           | 5   | 5      |
|              |                            | 小 計                  | 157 | 10,493 |
|              | (2)畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査    | 20                   | 736 |        |
|              | (3)対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリング検査 | ①環境汚染物質検査            | 12  | 276    |
|              |                            | ②貝毒検査                | 51  | 102    |
|              |                            | 小 計                  | 63  | 378    |
| (4)家庭用品の試買検査 | 21                         | 51                   |     |        |
| (5)医薬品の収去検査  | 6                          | 6                    |     |        |
| (6)その他の行政検査  | ①食中毒疑い（スイセン誤食）に係る検査        | 4                    | 12  |        |
| 合 計          |                            |                      | 271 | 11,676 |
| 精度管理調査       | (1)外部精度管理調査（食品薬品安全センター）    |                      | 4   | 9      |
|              | (2)水道水質検査の外部精度管理調査         |                      | 5   | 10     |
|              | 合 計                        |                      | 9   | 19     |

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

## 4 公害部

### 4.1 大気関係

#### (1) 環境大気監視

弘前市2地点、八戸市5地点、黒石市1地点、五所川原市1地点、十和田市1地点、三沢市1地点、むつ市1地点、六ヶ所村1地点及び鱒ヶ沢町1地点の計14地点(八戸市の中核市移行に伴い平成29年1月1日以降は八戸市以外の計9地点)で大気中の二酸化硫黄(SO<sub>2</sub>)、窒素酸化物(NO<sub>x</sub>)、一酸化炭素(CO)、光化学オキシダント(O<sub>x</sub>)、浮遊粒子状物質(SPM)、微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)、炭化水素(HC)について常時監視を実施した。これらのうち、環境基準が定められている6測定項目についての環境基準の達成状況(八戸市分を除く)は、下表のとおりであった。

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

| 測定項目 | 光化学オキシダント(O <sub>x</sub> ) |   | 浮遊粒子状物質(SPM) |       |   |       | 微小粒子状物質(PM <sub>2.5</sub> ) |      |            |   |            |   |
|------|----------------------------|---|--------------|-------|---|-------|-----------------------------|------|------------|---|------------|---|
|      | 適                          | 否 | 有効測定         | 短期的評価 |   | 長期的評価 |                             | 有効測定 | 短期基準に関する評価 |   | 長期基準に関する評価 |   |
|      |                            |   |              | 適     | 否 | 適     | 否                           |      | 適          | 否 | 適          | 否 |
| 測定局数 | 0                          | 4 | 8            | 8     | 0 | 8     | 0                           | 2    | 2          | 0 | 2          | 0 |

#### (2) 稲わら焼却による大気汚染状況調査

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

#### (3) 酸性雨実態調査

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

#### (4) 有害大気汚染物質モニタリング調査

有害大気汚染物質による大気汚染の状況を把握するため、八戸市1地点において、ベンゼン等優先取組物質21物質について毎月1回の調査を実施した結果(4月～12月まで実施)、環境基準が設定されているジクロロメタン等4物質及び指針値が設定されているアクリロニトリル等9物質については、いずれも基準値及び指針値を下回っていた。

また、八戸地域における重金属類による大気汚染状況を把握するため、八戸市2地点において、ニッケル化合物についてローボリウムエアサンプラーによる通年調査を実施した結果(4月～12月まで実施)、いずれも指針値を下回っていた。

(八戸市中核市移行に伴い平成29年1月1日以降は、八戸市が実施)

#### (5) 微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)成分測定調査

県内における微小粒子状物質(PM<sub>2.5</sub>)の成分組成の割合や発生源の寄与割合などを把握するため、八戸市1地点において、質量濃度、イオン成分8項目、無機元素成分29項目、炭素成分3項目につい

て3季節(春～秋)各季2週間の調査を実施した。

#### (6) アスベスト調査

平内町1地点において一般環境大気中のアスベスト濃度の測定を実施した。また、建築物解体現場等周辺地域9地点においてアスベスト濃度の測定を実施した結果、全ての地点で敷地境界規制基準内であった。なお、試料採取は各環境管理事務所が実施した。

### 4.2 水質関係

#### (1) 公共用水域・地下水の水質測定及びクロスチェック

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

#### (2) 水浴場水質調査

県内19水浴場における水質調査(化学的酸素要求量(COD)、ふん便性大腸菌群数等)を外部分析機関に委託して実施していることから、分析の精度を確保するため試料分割法によるクロスチェックを2検体について実施した。

#### (3) 十和田湖水質保全事業

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

#### (4) 排水基準監視クロスチェック

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

### 4.3 騒音、振動関係

#### (1) 航空機騒音調査

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

また、三沢市の1地点で日英共同訓練の実施に係る航空機騒音実態調査を実施した。

#### (2) 新幹線騒音調査

新幹線騒音の環境基準達成状況を把握するため、南部町及びおいらせ町の各1地点で調査を実施した結果、いずれも環境基準を達成した。

### 4.4 その他

#### (1) 精度管理

環境省が実施する統一精度管理調査に参加し、廃棄物試料1検体(対象項目:鉛、六価クロム、銅、亜鉛)及び模擬水質試料1検体(対象項目:ジクロロメタン、トリクロロエチレン、1,4-ジオキサン)について分析した。Zスコアによる評価は、すべての項目について満足できる結果であった。

また、全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会が実施する酸性雨分析精度管理調査に参加し、模擬水質試料2検体(対象項目:水素イオン濃度(pH)、電気伝導度(EC)、硫酸イオン( $\text{SO}_4^{2-}$ )、硝酸イオン( $\text{NO}_3^-$ )、塩化物イオン( $\text{Cl}^-$ )、ナトリウムイオン( $\text{Na}^+$ )、カリウムイオン( $\text{K}^+$ )、カルシウムイオン( $\text{Ca}^{2+}$ )、マグネシウムイオン( $\text{Mg}^{2+}$ )、アンモニウムイオン( $\text{NH}_4^+$ ))について分析した。

#### (2) 行政依頼検査等

関係課から緊急の依頼を受けた水質事故・魚類へい死等に係る分析を実施した。

業務実績総括表（平成 28 年度）

| 分類  | 事業      | 業務                                    | 地点・検体数 | 項目数   |
|-----|---------|---------------------------------------|--------|-------|
| 大気  | 環境監視・調査 | 環境大気常時監視（平成28年12月31日まで）               | 14     | 63    |
|     |         | 環境大気常時監視（平成29年1月1日から）                 | 9      | 36    |
|     |         | 有害大気汚染物質モニタリング調査（委託）                  | (9)    | (117) |
|     |         | 有害大気汚染物質モニタリング調査（毎月1回）                | 9      | 72    |
|     |         | 有害大気汚染物質モニタリング調査（通年）                  | 40     | 40    |
|     |         | 微小粒子状物質（PM <sub>2.5</sub> ）成分測定調査（委託） | (42)   | (126) |
|     |         | 微小粒子状物質（PM <sub>2.5</sub> ）成分測定調査     | 42     | 1,596 |
|     |         | 酸性雨実態調査                               | 78     | 858   |
|     |         | 稲わら焼却による大気汚染調査                        | 2      | 8     |
|     |         | アスベスト調査                               | 20     | 80    |
| 水質  | 水質保全    | 十和田湖水質保全事業調査                          | 19     | 284   |
|     |         | 公共用水域、地下水等クロスチェック分析                   | 16     | 19    |
|     |         | 排水基準監視クロスチェック分析                       | 1      | 2     |
| 騒音  | 騒音防止対策  | 新幹線騒音調査                               | 2      | 26    |
|     |         | 航空機騒音環境基準達成状況調査                       | 7      | 98    |
|     |         | 日英共同訓練の実施に係る航空機騒音実態調査                 | 1      | 16    |
| その他 | 精度管理    | 統一精度管理調査                              | 2      | 7     |
|     |         | 酸性雨分析精度管理調査                           | 2      | 60    |
|     | 行政依頼検査等 | 魚類へい死・水質事故等                           | 6      | 198   |
|     |         | 高病原性鳥インフルエンザ発生事案に係る水質分析               | 1      | 4     |

## 5 研修等業務（所内研修会）

| 実施日  | 研修名   | 対象者                               | 研修内容                                     | 受講者 | 開催部名 |
|--|---|-----------------------------------|--|-----|------|
| 2016/6/14                                      | 「地球にやさしい青森県行動プラン」（重点取組項目）実践研修   | 環境保健センター、青森環境管理事務所、原子力センター青森市駐在職員 | 環境保健センター庁舎における廃棄物の削減及びその取組に係る知識及び実践行動の習得 | 49  | 総務室  |
| 2016/7/29                                      | 財務事務基礎研修  | 環境保健センター職員                        | 歳入及び歳出に係る基礎的知識の習得                        | 23  | 総務室  |
| 2016/8/24                                      | 公文書管理研修   | 環境保健センター職員                        | 公文書の管理に関する基礎的研修                          | 23  | 総務室  |
| 隔月1回程度<br>(9回)                                 | 微生物部セミナー  | 環境保健センター職員                        | 微生物関係の知見及び発表方法の習熟                        | 115 | 微生物部 |
| 隔月1回程度<br>(2回)                                 | 理化学部セミナー  | 環境保健センター職員                        | 食品衛生 GLP 体制の理解、理化学分野の知見及び技術の習得           | 45  | 理化学部 |
| 隔月1回程度   | 公害部セミナー   | 環境保健センター職員                        | 環境分野の知見及び技術の習得                           | 50  | 公害部  |
| 2016/5/13                                      | ISO 検体受付研修  | ISO 対象検査受付担当者                     | ISO/IEC17025 関係の知識・技術の習得                 | 3   | 理化学部 |
| 2016/5/24                                      | ISO 所内研修  | 環境保健センター職員                        | ISO/IEC17025 関係の知識・技術の習得                 | 17  | 微生物部 |
| 2016/5/25                                      | 対 EU 輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリングに関する研修及び ISO/IEC17025 に係る対 EU 輸出ホタテガイサンプリングマンに対する研修会      | 検体採取員                             | ISO/IEC17025 関係の知識・技術の習得                 | 13  | 微生物部 |
| 2016/5/25<br>2016/6/3<br>2016/6/7<br>2017/2/20 | ISO 信頼性確保部門研修   | ISO 信頼性確保部門担当者                    | ISO/IEC17025 関係の知識・技術の習得                 | 8   | 微生物部 |
| 2016/7/1                                       | 平成 28 年度病原体等の包装・運搬講習会   | 保健所・検査機関関係職員                      | 微生物に関する知識・技術の習得                          | 42  | 微生物部 |
| 2016/12/5                                      | 対 EU 輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング補助者に対する研修会及び ISO/IEC17025 に係る対 EU 輸出ホタテガイサンプリング補助者に対する研修会 | 検体採取員補助者                          | ISO/IEC17025 関係の知識・技術の習得                 | 6   | 微生物部 |

| 実施日                    | 研修名                             | 対象者                             | 研修内容   | 受講者 | 開催部名 |
|------------------------|---------------------------------|---------------------------------|--|-----|------|
| 2016/4/19              | 温度計・湿度計検証の内部研修                  | 新規微生物検査担当者 (ISO 関連)             | 検査に係る温度計及び湿度計の検証方法を習得する                                    | 2   | 理化学部 |
| 2016/4/25              | 温度計・湿度計検証の内部研修 (データロガー検証)       | 新規貝毒検査・微生物検査担当者 (ISO 関連)        | 検査に係る温度計及び湿度計の検証方法を習得する                                    | 3   | 理化学部 |
| 2016/4/27              | 分銅検証の内部研修                       | 理化学・微生物検査担当者                    | ワーキング分銅の検証方法を習得する  | 3   | 理化学部 |
| 2016/5/13              | 検体受付新担当者研修                      | 受付新担当者 (ISO/GLP)                | 検体受付の流れ、器具・機材の取扱、検体授受書の書き方等の習得                             | 2   | 理化学部 |
| 2016/5/30              | ECD 研修会                         | GC 担当、ECD 操作担当者                 | 放射線業務従事者教育・訓練  | 8   | 理化学部 |
| 2016/7/21<br>2016/7/22 | H28 UPLC・LC/MS/MS 操作研修 (waters) | LC 及び LCMS 操作担当者                | UPLC, LC/MS/MS の原理、装置の構造、基本操作の習得                           | 8   | 理化学部 |
| 2016/7/20<br>2016/9/9  | H28 ガラス体積計検証の内部研修・実技試験          | 新規貝毒検査担当者 (ISO 関連)              | 貝毒検査で使用するガラス体積計の検証方法を習得・検証する                               | 3   | 理化学部 |
| 2016/12/21             | 検体受付担当者の研修 (ISO 関連)             | 受付担当者 (ISO 関連)                  | 受付担当者が年間計画、受付業務の流れ、器具・機材の取扱、検体採取資材等授受確認書の書き方及び注意事項について確認する | 9   | 理化学部 |
| 2017/1/27              | H28 年度あすをひらく                    | 環境生活部、健康福祉部、危機管理局、各地域県民局環境管理部職員 | 環境、公衆衛生、原子力関係の知見の習得  | 60  | 微生物部 |

## 6 年間動向

### (1) 講師等派遣

| 研修等の名称  | 内容<br>(対象者)                           | 講師派遣部<br>(職員氏名) | 実施日        |
|---|---------------------------------------|-----------------|------------|
| 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリングに関する研修及び<br>ISO/IEC17025に係る対EU輸出ホタテガイサンプリングマンに対する研修会      | ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得<br>(検体採取員)    | 微生物部<br>(筒井 理華) | 平成28年5月25日 |
| 対EU輸出ホタテガイ生産海域のモニタリングに係るサンプリング補助者に対する研修会及び<br>ISO/IEC17025に係る対EU輸出ホタテガイサンプリング補助者に対する研修会 | ISO/IEC17025関係の知識・技術の習得<br>(検体採取員補助者) | 微生物部<br>(筒井 理華) | 平成28年12月5日 |

### (2) 委員会、協議会等の委員

| 委嘱団体等の名称       | 委員の名称                      | 委員派遣部<br>(職員氏名) | 任 期                       |
|----------------|----------------------------|-----------------|---------------------------|
| 全国衛生化学技術協議会    | 理事                         | 所長<br>(工藤 真哉)   | 平成27年度～平成29年度             |
|                | 常任幹事                       | 理化学部<br>(佐藤 裕久) |                           |
| 全国環境研協議会       | 支部長理事<br>北海道・東北支部長         | 所長<br>(工藤 真哉)   | 平成27年度～平成28年度             |
| 青森県<br>(保健衛生課) | 青森県感染症発生動向調査<br>委員会委員      | 所長<br>(工藤 真哉)   | 平成27年2月1日<br>～平成29年1月31日  |
| 青森県<br>(医療薬務課) | 新型インフルエンザ等対策<br>青森県有識者会議委員 | 微生物部<br>(筒井 理華) | 平成27年8月20日<br>～平成29年8月19日 |
| 青森県<br>(医療薬務課) | 青森県精度管理専門委員                | 微生物部<br>(筒井 理華) | 平成29年1月19日<br>～平成32年1月28日 |
| 青森市            | 青森市精度管理専門委員                | 理化学部<br>(佐藤 裕久) | 平成28年4月1日<br>～平成30年3月31日  |

(3) 平成28年度青森県環境生活部出先機関等職員研究発表会「あすをひらく」

開催日時：平成29年1月27日（金）13：30～16：50

開催場所：青森県環境保健センター2階大会議室

| 発表者       |       | 演題名  |
|-----------|-------|--|
| 所属        | 氏名    |  |
| 微生物部      | 武差 愛美 | 青森県内で2015年に分離されたサルモネラ症由来菌株の血清型と薬剤耐性          |
| 微生物部      | 坂 恭平  | 青森県で発生したノロウイルスによる胃腸炎事例の遺伝子解析（2015/16シーズン）    |
| 理化学部      | 中谷 実  | 残留動物用医薬品検査に係る妥当性評価について                       |
| 理化学部      | 花石 竜治 | 十二湖青池の呈色機構に関する研究                             |
| 公害部       | 対馬 典子 | 青森県における稲わら焼却による大気汚染状況調査<br>－平成18～28年度のとりまとめ－ |
| 公害部       | 葛西 正毅 | 平成28年度十和田湖定点等における水質調査について                    |
| むつ環境管理事務所 | 開米 健  | 廃棄物不適正事案へのドローンの導入について                        |
| むつ環境管理事務所 | 嘉山 定伸 | 不適正対応マネジメントについて                              |
| むつ環境管理事務所 | 佐々木隆文 | 不適正事案の初期調査について                               |
| 原子力センター   | 小川 裕貴 | 時間間隔解析法を用いた大気浮遊じん中放射能について                    |
| 原子力センター   | 菅尾 聡也 | 農水産物の可食部と非可食部における放射性核種濃度について                 |
| 微生物部      | 大野 譲治 | エキノкокクスについて                                 |

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

(4) 会議・学会・研修会等出席状況

ア 会議・検討会等出席

| 名 称  | 対象者     | 開催地 | 開催月日         | 参加者 |
|--|---------|-----|--------------|-----|
| 平成 28 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         | 微生物部員   | 東京都 | 2016/11/22   | 1   |
| 弘前大学大学院保健学科にて研究打ち合わせ                       | 微生物部員   | 弘前市 | 2016/12/15   | 1   |
| 弘前大学大学院保健学科にて研究打ち合わせ                       | 微生物部員   | 弘前市 | 2017/1/11    | 1   |
| 弘前大学大学院保健学科にて研究打ち合わせ                       | 微生物部員   | 弘前市 | 2017/2/1     | 1   |
| 結核サーベイランス委員会                               | 微生物部員   | 青森市 | 2017/2/3     | 1   |
| 弘前大学大学院保健学科にて研究打ち合わせ                       | 微生物部員   | 弘前市 | 2017/2/16    | 1   |
| 平成 28 年度青森県感染症発生动向調査委員会                    | 微生物部員   | 青森市 | 2017/3/9     | 5   |
| 弘前大学大学院保健学科にて研究打ち合わせ                       | 微生物部員   | 弘前市 | 2017/3/23    | 1   |
| 平成 28 年度地域保健総合推進事業 地方衛生研究所地域レファレンスセンター連絡会議 | 微生物部員   | 福島県 | 2016/10/6～7  | 2   |
| 平成 28 年度「ウイルスを原因とする食品媒介性疾患の制御に関する研究」班会議    | 微生物部員   | 東京都 | 2017/1/25～26 | 1   |
| 国立感染症研究所での研究打ち合わせ                          | 微生物部員   | 東京都 | 2017/3/30～31 | 1   |
| 平成 28 年度「地域保健総合推進事業」地域ブロック専門家会議            | 理化学部員   | 山形県 | 2016/10/14   | 1   |
| 平成 28 年度第 1 回 GMP 調査当局担当者会議                | 理化学部員   | 東京都 | 2016/10/28   | 1   |
| 平成 28 年度第 2 回 GMP 調査当局担当者会議                | 理化学部員   | 東京都 | 2017/2/20    | 1   |
| 平成 28 年度全国環境研協議会第 1 回理事会                   | 所長      | 東京都 | 2016/5/26    | 1   |
| 平成 28 年度全国環境研協議会 北海道・東北支部総会                | 所長、公害部員 | 新潟市 | 2016/6/23    | 2   |
| 平成 28 年度環境測定分析統一精度管理ブロック会議                 | 公害部員    | 札幌市 | 2016/7/14    | 1   |
| 第 21 回全国越境大気汚染・酸性雨対策連絡会議                   | 公害部員    | 札幌市 | 2016/9/6     | 1   |
| 平成 28 年度十和田湖環境保全会議                         | 公害部員    | 秋田県 | 2016/11/18   | 2   |
| 平成 28 年度全国環境研協議会第 2 回理事会                   | 所長      | 奈良県 | 2016/12/2    | 1   |
| 第 45 回全国環境研協議会総会                           | 所長      | 東京都 | 2017/2/7     | 1   |
| 平成 28 年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議                | 所長      | 東京都 | 2017/2/8     | 1   |
| 平成 28 年度十和田湖資源対策会議                         | 公害部員    | 秋田県 | 2017/3/2     | 2   |
| 平成 28 年度十和田湖水質・生態系会議                       | 公害部員    | 秋田県 | 2017/3/3     | 2   |
| 平成 28 年度全国環境研協議会北海道・東北支部酸性雨広域大気汚染調査研究専門部会  | 公害部員    | 山形県 | 2017/3/7     | 1   |
| 平成 28 年度環境測定分析統一精度管理ブロック会議                 | 公害部員    | 札幌市 | 2017/3/16    | 2   |

イ 学会・研究会等出席

| 名 称   | 対象者   | 開催地 | 開催月日                      | 参加者 |
|---|-------|-----|---------------------------|-----|
| 「迅速・網羅的病原体ゲノム解析法の開発及び感染症危機管理体制の構築に資する研究」          | 微生物部員 | 東京都 | 2016/4/27～28              | 1   |
| 第 57 回日本臨床ウイルス学会                                  | 微生物部員 | 福島県 | 2016/6/18～19              | 1   |
| 東北食中毒研究会  | 微生物部員 | 仙台市 | 2016/9/21～22              | 2   |
| 第 30 回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会                           | 微生物部員 | 福島県 | 2017/1/26～27              | 1   |
| 第 65 回日本感染症学会東日本地方学術集会・第 63 回日本化学療法学会東日本支部総会 合同学会 | 微生物部員 | 新潟市 | 2016/10/26～28             | 1   |
| 平成 28 年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部公衆衛生情報研究部会総会・研修会   | 微生物部員 | 秋田県 | 2016/11/10～11             | 1   |
| 平成 28 年度結核菌 VNTR 技術研究会                            | 微生物部員 | 東京都 | 2016/11/2～3               | 1   |
| 第 30 回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会                           | 微生物部員 | 福島県 | 2017/1/26～27              | 1   |
| ウイルス性下痢症研究会平成 29 年度第 1 回幹事会                       | 微生物部員 | 東京都 | 2017/2/21                 | 1   |
| 平成 28 年度国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム                        | 理化学部員 | 東京都 | 2016/7/22                 | 1   |
| (公社)日本食品衛生学会第 19 回特別シンポジウム                        | 理化学部員 | 千葉市 | 2016/9/9                  | 1   |
| H28 東北ブロック水産業関係研究開発推進会議資源生産部会員毒研究分科会              | 理化学部員 | 仙台市 | 2016/11/29                | 1   |
| 平成 28 年度厚生労働省科学研究シンポジウム                           | 理化学部員 | 東京都 | 2017/2/9                  | 1   |
| H28 農薬残留分析研究会                                     | 理化学部員 | 兵庫県 | 2016/10/13～14             | 1   |
| H28 地衛研全国協議会北・東・新支部衛生化学研究部会総会                     | 理化学部員 | 山形県 | 2016/10/13～14             | 1   |
| 第 112 回日本食品衛生学会学術講演会                              | 理化学部員 | 北海道 | 2016/10/27～28             | 2   |
| 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会                               | 理化学部員 | 青森市 | 2016/11/17～18             | 1   |
| 第 111 回日本食品衛生学会学術講演会                              | 理化学部員 | 東京都 | 2016/5/19～20              | 1   |
| 日本法中毒学会第 35 年会                                    | 理化学部員 | 大阪府 | 2016/7/1～2                | 1   |
| 第 31 回日本中毒学会東日本地方会                                | 理化学部員 | 岩手県 | 2017/1/20～21              | 1   |
| Ⅱ型共同研究「PM2.5 の環境基準超過をもたらす地域的/広域的汚染機構の解明」キックオフ全体会合 | 公害部員  | 茨城県 | 2016/6/23                 | 1   |
| 平成 28 年度 第 2 回音環境セミナー (航空機騒音)                     | 公害部員  | 東京都 | 2016/7/27～<br>2016/7/29   | 1   |
| 第 57 回大気環境学会年会                                    | 公害部員  | 札幌市 | 2016/9/7～2016/9/9         | 1   |
| 第 42 回全国環境研協議会北海道・東北支部研究連絡会議                      | 公害部員  | 仙台市 | 2016/10/7                 | 2   |
| 第 43 回環境保全・公害防止研究発表会                              | 公害部員  | 山形県 | 2016/11/17～<br>2016/11/18 | 2   |
| 大気環境対策セミナー  | 公害部員  | 東京都 | 2017/2/16                 | 1   |
| 第 51 回日本水環境学会年会及び併設研究集会                           | 公害部員  | 熊本市 | 2017/3/15～<br>2017/3/17   | 1   |

ウ 研修会・講習会等出席

| 名 称   | 対象者   | 開催地 | 開催月日                      | 参加者 |
|---|-------|-----|---------------------------|-----|
| 国立感染症研究所での研修について  | 微生物部員 | 東京都 | 2016/4/18～19              | 1   |
| 平成 28 年度病原体等の包装・運搬講習会                                   | 微生物部員 | 東京都 | 2016/5/17～18              | 1   |
| 平成 28 年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会                          | 微生物部員 | 東京都 | 2016/5/26～28              | 1   |
| 平成 28 年度抗酸菌検査個別研修                                       | 微生物部員 | 東京都 | 2016/7/14～15              | 1   |
| みちのくウイルス塾受講   | 微生物部員 | 仙台市 | 2016/7/16～17              | 1   |
| 衛生微生物技術協議会第 37 回研修会                                     | 微生物部員 | 広島市 | 2016/7/21～22              | 2   |
| 平成 28 年度新興・再興感染症対策研修会                                   | 微生物部員 | 青森市 | 2016/11/25                | 1   |
| 平成 28 年度希少感染症診断技術研修会                                    | 微生物部員 | 東京都 | 2017/2/21～22              | 2   |
| 2016 年度レジオネラ属菌検査セミナー                                    | 微生物部員 | 東京都 | 2017/3/10                 | 1   |
| H28 関東甲信越ブロック GMP 調査員新任・復帰研修                            | 理化学部員 | 東京都 | 2016/4/20                 | 1   |
| 平成 28 年度指定薬物分析研修会                                       | 理化学部員 | 東京都 | 2016/10/28                | 2   |
| 平成 28 年地衛研全国協議会衛生理化学分野研修会                               | 理化学部員 | 東京都 | 2017/1/20                 | 1   |
| 食品化学分野研究者育成研修セミナー                                       | 理化学部員 | 東京都 | 2017/1/21                 | 1   |
| Eppendorf マイクロピペットセミナー                                  | 理化学部員 | 東京都 | 2017/2/10                 | 1   |
| 大気環境学会関東支部講演会   | 公害部員  | 東京都 | 2016/6/3                  | 1   |
| 平成 27 年度環境測定分析統一精度管理調査結果説明会                             | 公害部員  | 東京都 | 2016/7/21                 | 1   |
| 建材中の石綿含有率の分析方法に係る講習会                                    | 公害部員  | 仙台市 | 2016/9/9                  | 1   |
| 環境大気常時監視技術講習会   | 公害部員  | 東京都 | 2016/10/24～<br>2016/10/25 | 1   |
| 平成 28 年度廃棄物分析研修   | 公害部員  | 埼玉県 | 2016/10/17～<br>2016/10/28 | 1   |
| 第 32 回全国環境研究所交流シンポジウム                                   | 公害部員  | 茨城県 | 2017/2/16～<br>2017/2/17   | 1   |
| 第 36 回地方環境研究所と国立環境研究所との協力に関する検討会及び第 32 回全国環境研究所交流シンポジウム | 所長    | 茨城県 | 2017/2/16                 | 1   |
| マイクロ波前処理装置ユーザートレーニング                                    | 公害部員  | 川崎市 | 2017/2/17                 | 1   |
| 平成 28 年度大気分析研修  | 公害部員  | 埼玉県 | 2017/2/9～<br>2017/2/24    | 1   |
| 平成 28 年度環境測定分析統一精度管理調査 結果説明会                            | 公害部員  | 東京都 | 2017/3/9                  | 1   |

# III 研究報告

# 1 報 文

# 青森県におけるヒトライノウイルスの分子疫学(2014~2016)

筒井理華 坂 恭平 武差愛美 菩提寺誉子

青森県内におけるヒトライノウイルス(HRV)の発生動向と呼吸器症状の関連を把握するため、2014年4月から2017年3月までに呼吸器症状を呈し、医療機関を受診した小児患者の検体948検体の遺伝子検査を行った。その結果、HRVが95検体から検出された。検出されたHRVと臨床症状の関連を把握するため、HRVのVP4/VP2領域のRT-PCRにより検出された95検体について、遺伝子群別に分類した結果、HRV-A 47検体、B 4検体、C 44検体検出された。さらにHRVの遺伝子群と呼吸器症状の関連を検討した結果、HRV-AとHRV-Cとの間に顕著な差は認められなかった。今回の調査ではHRVの遺伝子群と呼吸器症状の間に関連性はないことが示唆された。

Key Words : Human Rhinovirus, Molecular epidemiology

## 1. はじめに

ヒトライノウイルス(Human Rhinovirus:以下、HRV)は、ピコルナウイルス科エンテロウイルス属に属する約7,100kbの一本鎖RNAウイルスである。HRVは急性呼吸器感染症を引き起こす病原体の一つであり、乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層に上気道炎症状や肺炎、気管支炎などの下気道炎を起こすことが知られている<sup>1)</sup>。

HRVは、100種類以上の血清型が存在し、これらのHRVはHRV-A、HRV-B、HRV-Cの3つの遺伝子群に分類されている<sup>2)</sup>。

近年、HRVは重症呼吸器症状や喘息発作の悪化に関与する病原体ウイルスとなるという報告もある<sup>3-5)</sup>。

そこで、本研究では2014年から2017年に掛けて感染症発生動向調査事業の病原体定点医療機関に呼吸器症状を呈し受診した小児を対象に検体を採取し、HRVの分子疫学解析を行った。

## 2. 材料と方法

### 2.1 検査材料

2014年4月から2017年3月までに呼吸器症状

を呈し、病原体定点医療機関を外来受診あるいは入院した小児患者から採取された咽頭ぬぐい液または鼻汁984検体を用いウイルス検索を行った。

### 2.2 検査方法

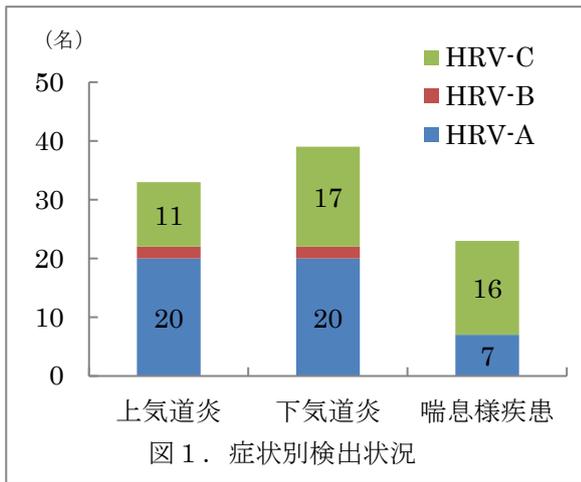
#### 1) ウイルスRNAの抽出・HRV遺伝子の検出

QIAamp Viral RNA Mini KitによりRNA抽出後、QIAGEN OneStep RT-PCR Kitを使用し、HRVのVP4/VP2領域の遺伝子をRT-PCR法により増幅した。増幅産物はダイレクトシーケンス法により同定を行った。

#### 2) 遺伝子解析

遺伝子群別は、VP4/VP2領域の塩基配列をMolecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA)<sup>6)</sup>により系統樹解析を行った。ダイレクトシーケンス法によりHRVのVP4/VP2領域の塩基配列を決定し(HRV392塩基)、得られた塩基配列をKimura 2-parameter modelを用いたML(Maximum Likelihood:最尤)法により系統樹を作成した。系統樹の信頼性の評価にはbootstrap法(反復回数1000)を用いた。遺伝子群の参照配列は、Yu Jinら<sup>7)</sup>の報告を参考した。





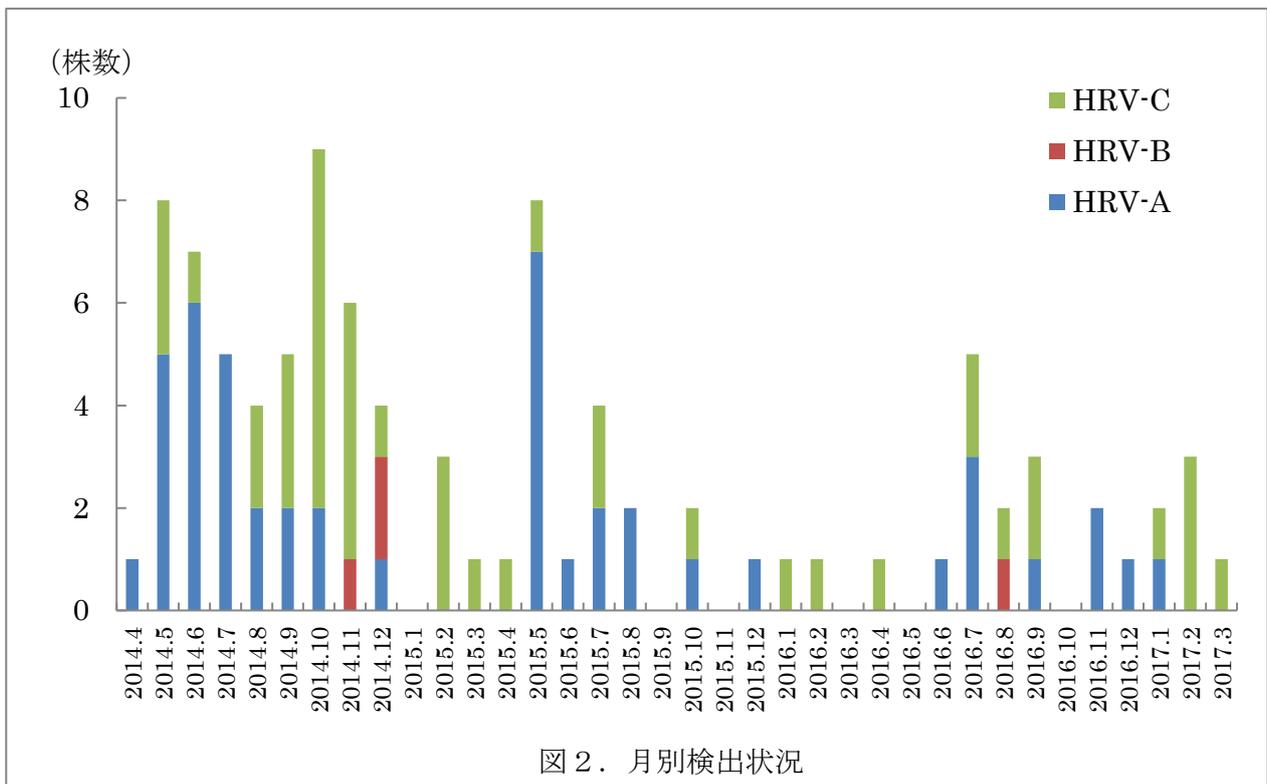
検体) について、MEGA 法による分子系統樹解析を行った結果を図 3 に示す。検出検体間の塩基配列の相同性は、HRV-A 24 検体では 71.9~100%、HRV-C29 検体では 22.7~47.1%であった。患者年齢が 0~14 歳 (2.5 (±2.7) 歳)、男女比は 54/41 であった。

#### 4. 考察

HRV 単独感染であった 75 検体を症状別にみると、上気道炎患者 27 名、下気道炎患者 27 名、喘息様症状患者 21 名で喘息様症状患者が少なかつたものの、呼吸器症状の重度による大きな差は認

められなかった。HRV と他の呼吸器ウイルスとの混合感染では、上気道炎患者 3 名 (HPIV、hMPV)、下気道炎患者 10 名 (hRSV、HPIV)、喘息様症状患者 2 名 (HPIV、hMPV) から検出された。混合感染の組み合わせは、下気道炎患者から hRSV が多く検出されたが、上気道炎患者、下気道炎患者、喘息様症状患者から HPIV が検出されており、重症化との関連は今回の調査においては明らかにできなかった (表 1、2)。福岡県<sup>8)</sup>も混合感染の組み合わせと重症化との関連について報告しており、本県と同様の傾向が示された。呼吸器症状の重度別に HRV 遺伝子群を分類した結果、HRV-A は上気道炎患者及び下気道炎患者から多く検出され、HRV-C は喘息様症状患者から多く検出された。臨床症状別に分類した結果、上気道炎患者から HRV-A が多く検出され、喘息様症状患者から HRV-C が多く検出され、下気道炎患者から HRV-A および HRV-C が同程度検出された。このことから症状が軽度では HRV-A の検出数が多く、重度では HRV-C の検出数が多い傾向であったが、遺伝子群間の傾向の差は認められず、福岡県<sup>8)</sup>の報告と同様の傾向が示された (図 1)。

HRV-A および HRV-C は軽度のかぜ症状等の上気道炎として知られているが、一方で HRV は、Mizuta ら<sup>9)</sup>の報告のように気管支炎や肺炎等多様



な急性呼吸器感染症に關与していることを考慮する必要がある。今回のデータでは、臨床症状情報から喘鳴の有無を確認することはできなかつたが、Tsukagoshi ら<sup>3)</sup>は喘息や呼吸器感染症の憎悪に關与することを報告しており、さらに調査研究が必要であると思われる。

経時的にみると、HRV-A は2014年4月～12月、2015年5月～12月、2016年6月～2017年1月に検出され、HRV-C は通年で散発的に検出されたことから、HRV-A および HRV-C は年間を通して混在して発生していたことが推測された(図2)。我々は、2011年4月～2013年3月の調査期間において HRV は通年で発生し、HRV-A が主となり HRV-C と混在し発生していることを報告した<sup>10,11)</sup>。また、福島県<sup>12)</sup>、千葉市<sup>13)</sup>、福岡県<sup>8)</sup>においても同様の傾向が示された。今回の調査研究においては HRV-C が主となり HRV-A が混在し発生していたことから、これまでの発生状況と異なっていた。また、HRV-A は検出株間の塩基配列の相同性が71.9～100%と遺伝学的に多様に分類された。HRV-C の相同性は、22.7～47.1%とかなり低く、遺伝学的に多様に分類され、既報の報告と同様の傾向が示された<sup>10,11)</sup>。そのことから、HRV-A および HRV-C は多様な遺伝子群が存在し、感染が繰り返し行われていることが示唆された(図3)。今後さらにデータを蓄積し、HRV 感染が臨床症状に及ぼす影響をより明らかにしたい。

## 5. まとめ

HRV は呼吸器症状を呈する小児984検体中95名(9.7%)から検出された。また、HRV が検出された検体のうち約21%は、他のウイルスと混合感染していた遺伝子群別を行った結果、HRV-A は49.5%、HRV-B は4.2%、HRV-C は46.3%であった。HRV-A および HRV-C は遺伝学的に多様な株が検出されたが、臨床症状と遺伝子学的な有意差が見られなかつた。

## 文 献

- 1)Gern JE, Palmenberg AC, Fields Virology 6th edition, p531-549
- 2)Palmenberg AC et al., Science, 324, 55-59, 2009
- 3)Tsukagoshi et al. : Molecular epidemiology of respiratory viruses in virus-induced asthma. Frontiers in MICROBIOLOGY. 4, 278, 2013
- 4)Tregoning et al. : Respiratory viral infections in infants: causes, clinical symptoms, virology, and immunology. Clin. Microbiol. Rev. 23, 74-98, 2010
- 5)Sigurs et al. : Respiratory syncytial virus bronchiolitis in infancy is an important risk factor for asthma and allergy at age 7. Am J Respir Crit Care Med. 161, 1501-1507, 2000
- 6)Tamura et al. : Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. Mol Biol Evol, 28, 2731-2739, 2011
- 7)Yu Jin et al., J. Clin. Microbiol. 47, 2895-2900, 2009
- 8)吉富秀亮ほか: ライノウイルスの分子疫学解析. 福岡県保健環境研究所年報, 40, 94-97, 2013
- 9)Mizuta et al: Phylogenetic and cluster analysis of human rhinovirus species A (HRV-A) isolated from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan. Virus Research. 147, 265-274, 2010
- 10)筒井理華ほか: 青森県におけるヒトライノウイルス及びRSウイルスの遺伝子学的検討. 青森県環境保健センター研究報告, 23, 12-18, 2012
- 11)筒井理華ほか: 青森県におけるヒトライノウイルスの分子疫学. 青森県環境保健センター研究報告, 24, 14-17, 2013
- 12)北川和寛ほか: 福島県で検出されたライノウイルスの分子疫学的解析. 福島県衛生研究所年報, 33, 41-45, 2015
- 13)西川和佳子ほか: 千葉市におけるヒトライノウイルスの検出状況. 千葉市環境保健研究所年報, 24, 60-66, 2017

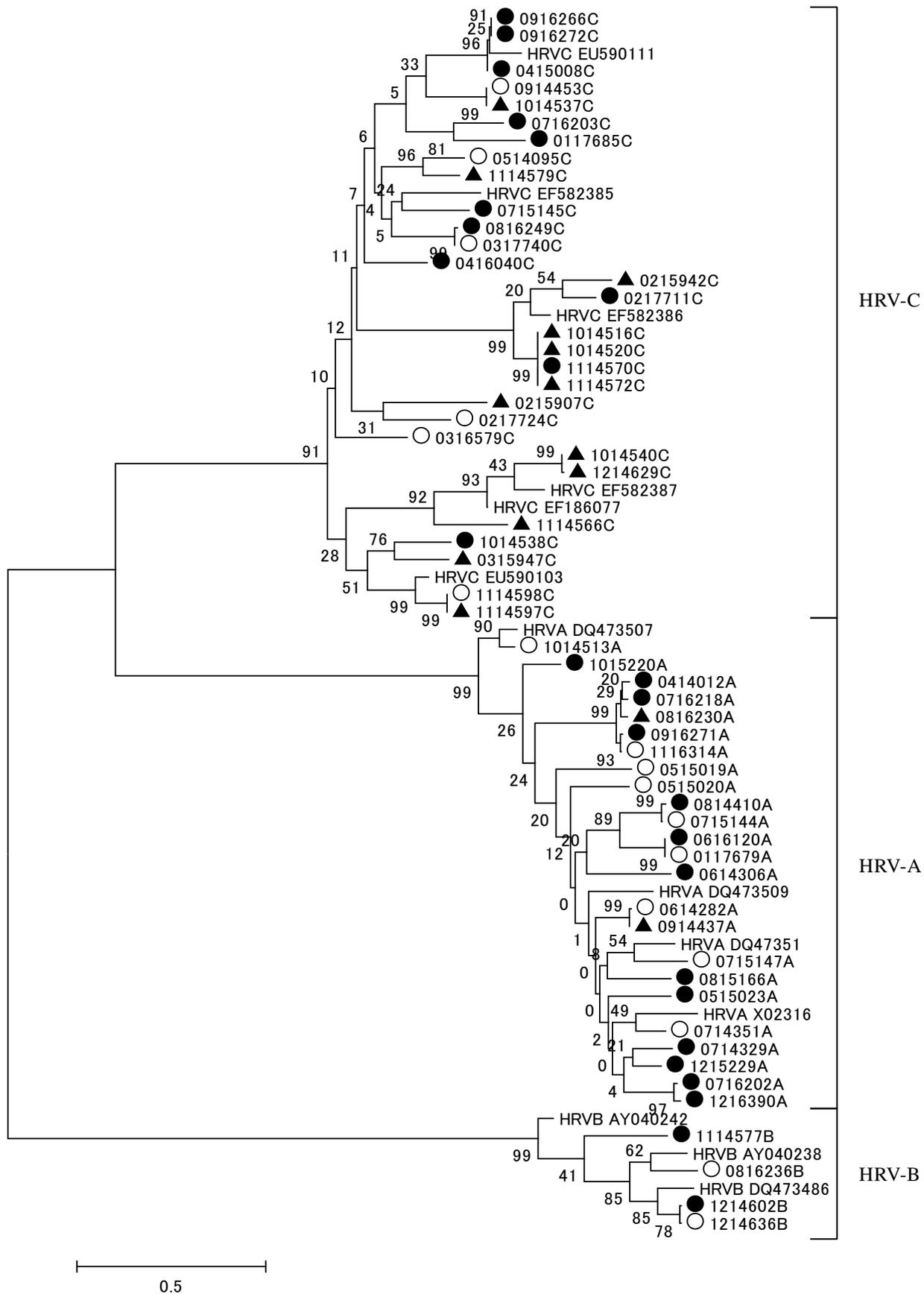


図3. HRV 分子系統樹解析結果 (ML 法: VP4/VP2 遺伝子 (HRV-A・B・C: 392nt))  
 ○: 上気道炎、●: 下気道炎、▲: 喘息様症状

## Molecular epidemiology of human rhinovirus in Aomori Prefecture (2014–2016)

Rika Tsutsui, Kyohei Saka, Manami Musashi, Motoko Bodaiji

To evaluate the relationship between the occurrence of human rhinovirus (HRV) and respiratory symptoms in Aomori Prefecture, we performed genetic analysis of 948 samples from pediatric patients who visited medical institutions because of respiratory symptoms between April 2014 and March 2017. In the analysis, HRV was detected in 95 samples. To determine the relationship between the detected HRV and clinical symptoms, the 95 samples in which HRV was detected using RT-PCR targeting the HRV *VP4/VP2* region were classified by gene group; HRV-A was detected in 47 samples, HRV-B in 4 samples, and HRV-C in 44 samples. In addition, the relationship between the HRV gene groups and respiratory symptoms was evaluated, and no marked difference was found between HRV-A and HRV-C. This study suggested that there was no relationship between the HRV gene groups and respiratory symptoms.

Key Words: Human Rhinovirus, Molecular epidemiology

## 青森県内におけるサルモネラ属菌の性状解析 (2017 年)

高橋洋平 山上剛志 武差愛美

2017 年 1 月～2017 年 12 月に青森県環境保健センターに搬入されたサルモネラ属菌 40 株の血清型別試験、PCR による遺伝子解析及び薬剤感受性試験を実施した。血清型別試験の結果、*Salmonella* O4:i:- が最も多く、続いて *S. Schwarzengrund* [O4:d:1,7] が多く検出された。遺伝子解析では、1 株を除き典型的な *S. enterica* subsp. *enterica* のバンドパターンを示し、単相性の株ではいずれも *fljB* が検出されなかった。また、薬剤感受性試験で第 3 世代セフェム系薬剤に耐性を示した 1 株について薬剤耐性因子を検索した結果、CIT 型のプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼが検出された。

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

### 1. はじめに

サルモネラ属菌は腸内細菌科(Enterobacteriaceae)細菌に属するグラム陰性桿菌であり、O 抗原、莢膜抗原(Vi 抗原)、鞭毛抗原(H 抗原)の組み合わせにより約 2,500 の血清型がある。サルモネラ属菌には *S. enterica* と *S. bongori* の 2 菌種が所属し、*S. enterica* には、*enterica*, *salamae*, *arizonae*, *diarizonae*, *houtenae*, *indica* の 6 つの亜種が存在する。腸チフス又はパラチフスの起因菌となるもののほか、大部分は食中毒の起因菌となる。また、サルモネラ属菌の宿主域は極めて広く、温血動物、冷血動物の多種の腸管から分離される<sup>1)</sup>。

サルモネラ属菌の鞭毛抗原 (H 抗原) には相変異という現象がみられ、その多くは複相性を示す。複相性のサルモネラ属菌の 2 相鞭毛タンパク質は *fljB* でコードされ、1 相菌と 2 相菌はオペロンを構成する *fljA* 及び *fliC* 及びインペルターゼ遺伝子 *hin* で可逆的に制御されている<sup>1-2)</sup>。

また、近年、薬剤耐性菌が世界的に問題となっている。中でもカルバペネム耐性腸内細菌科細菌は 2014 年に感染症法における 5 類全数把握疾患に指定されるとともに、2016 年には薬剤耐性(AMR)アクションプランが決定されるなど、国を挙げて対策が推進されている<sup>3-4)</sup>。サルモネラ属菌も腸内細菌科細菌に属するため、他の腸内細菌科細菌との間で薬剤耐性に関与するプラスミドが水平伝搬され、サルモネ

ラ属菌の多剤耐性化、また、他の腸内細菌科細菌の多剤耐性化を媒介する可能性が考えられる。

青森県環境保健センターでは、県内の 11 定点医療機関で分離されたサルモネラ属菌の菌株を収集し、血清型別試験、遺伝子解析、薬剤感受性試験等を実施している<sup>5)</sup>。今回、2017 年 1 月～12 月にセンターに搬入されたサルモネラ属菌の血清型、遺伝子解析、薬剤感受性試験及び薬剤耐性因子の検索を実施したので報告する。

### 2. 材料と方法

#### 2. 1 材料

2017 年 1 月～12 月に県内の 11 機関から搬入されたサルモネラ属菌 40 株を用いた (図 1)。11 機関の内訳は、青森市 3 施設、弘前市、八戸市各 2 施設、五所川原市、十和田市、むつ市、野辺地町各 1 施設である。

#### 2. 2 方法

##### 1) 血清型別試験

サルモネラ免疫血清『生研』(デンカ生研)を用い、血清型の確認を行った。

##### 2) 遺伝子解析

DNA を熱抽出し、Lee ら<sup>6)</sup>の方法にしたがい、PCR で亜種及び *fljB* 遺伝子保有状況の確認を行った。一部の菌株については、QIAGEN® Multiplex PCR plus kit (QIAGEN 社)を用いた multiplex PCR を行った。反

応溶液は、2× Multiplex PCR Master Mix 5.0 μL, 5× Q-Solution 1.0 μL, 10× CoralLoad Dye 1.0 μL, RNase-free water 1.0 μL, 10× primer mix 1.0 μL (終濃度は全て0.2 μM), Template DNA 1.0 μL の計 10 μL とした。反応条件はキットの取扱説明書にしたがった。すなわち、95 °C 5 分に続き、95 °C 30 秒、60 °C 90 秒、72 °C 30 秒を 30 サイクル実施後、68 °C 10 分とした。反応後、得られた増幅産物を 3 %アガロースゲルで電気泳動を行った。

### 3) 薬剤感受性試験

KB ディスク (栄研化学) を用い、1 濃度ディスク拡散法により行った。実施方法はディスクの添付文書にしたがった。すなわち、McFarland 濃度 0.5 に調製した菌液をミュラーヒントン S 寒天培地 (栄研化学) に塗布し、ディスクを置いた後、35 °C、好気的条件下で 16~18 時間培養後判定した。使用薬剤は表 1 の 24 薬剤とした。結果の解釈にあたり、感性(S)、耐性(R)とし、中間(I)は耐性に含めた。

表 1 薬剤感受性試験に用いた薬剤

#### β-ラクタム系薬剤

| 略号   | 一般名     | 系統        |
|------|---------|-----------|
| ABPC | アンピシリン  | 第3世代ペニシリン |
| PIPC | ピペラシリン  | 第4世代ペニシリン |
| CEZ  | セファゾリン  | 第1世代セフェム  |
| CTM  | セフォチアム  | 第2世代セフェム  |
| CTX  | セフォタキシム | 第3世代セフェム  |
| CAZ  | セフトジジム  | 第3世代セフェム  |
| CFPM | セフェピム   | 第4世代セフェム  |
| CMZ  | セフメタゾール | セファマイシン   |
| FMOX | フロモキシセフ | オキサセフェム   |
| IPM  | イミペネム   | カルバペネム    |
| MEPM | メロペネム   | カルバペネム    |
| AZT  | アズトレオナム | モノバクタム    |

#### β-ラクタム系以外の薬剤

| 略号   | 一般名        | 系統         |
|------|------------|------------|
| ST   | ST合剤       | サルファ剤      |
| CP   | クロラムフェニコール | クロラムフェニコール |
| FOM  | ホスホマイシン    | ホスホマイシン    |
| GM   | ゲンタマイシン    | アミノグリコシド   |
| KM   | カナマイシン     | アミノグリコシド   |
| AMK  | アミカシン      | アミノグリコシド   |
| TC   | テトラサイクリン   | テトラサイクリン   |
| MINO | ミノサイクリン    | テトラサイクリン   |
| NA   | ナリジクス酸     | キノロン       |
| CPFX | シプロフロキサシン  | ニューキノロン    |
| LVFX | レボフロキサシン   | ニューキノロン    |
| CL   | コリスチン      | ポリペプチド     |

### 4) 薬剤耐性因子の検出

薬剤感受性試験で第3世代セフェム系薬剤に耐性を示した1株について、国立感染症研究所の方法<sup>7)</sup>にしたがい、阻害剤を用いたディスク拡散法によるスクリーニング、PCRによる薬剤耐性遺伝子の検出及びmCIM(modified Carbapenem Inactivation Method)によるカルバペネマーゼの検出試験を行った。

## 3. 結果

### 3.1 血清型別試験

2017年に搬入されたサルモネラ属菌の血清型は、*Salmonella* O4:i:-が11株と最も多く、次いで*S. Schwarzengrund*(8株)、*S. Infantis*(5株)、*S. Rissen*(3株)、*S. Enteritidis*(2株)、*S. Livingstone*(2株)であった。*S. Typhimurium*は1株にとどまり、このほか、*S. Anatum*、*S. Bredeney*、*S. Javiana*、*S. Mbandaka*、*S. Othmarschen*、*S. Saintpaul*、*S. Senftenberg*及び*S. Thompson*がそれぞれ1株であった(図1)。

### 3.2 遺伝子解析

PCRにより各菌株の亜種を確認した結果、1株を除き、いずれも*gatD*、*invA*、*stm*及びSTM4057遺伝子が陽性、*mdcA*遺伝子が陰性であり、*S. enterica* subsp. *enterica*に典型的なバンドパターンを示した。血清型別試験で*Javiana*と判定された1株のみ、*gatD*遺伝子が検出されず、非典型的なパターンを示したため、当該菌株に対し、当該遺伝子のコードする酵素galactitol-1-phosphate dehydrogenaseの基質であるgalactitol(dulcitol)の分解試験を実施した。1%のgalactitolを添加した糖分解試験用培地に被検菌を接種し35 °Cで4日間培養した結果、当該菌株はgalactitol利用能陰性と判定され、PCRのバンドパターンと一致する結果となった。

また、*Salmonella* O4:i:-を含め、*S. Enteritidis*、*S. Othmarschen*、*S. Rissen*及び*S. Senftenberg*の単相性の菌株については、いずれも*fljB*遺伝子は検出されなかった。

### 3.3 薬剤感受性試験

各菌株の薬剤感受性試験の結果は表2及び表3のとおりとなった。CLには判定基準が設定されていないため、結果を阻止円径(mm)で示した。

β-ラクタム系薬剤では、ペニシリン系薬剤であるAMBC及びPIPCの耐性率がそれぞれ42.5%及び37.5%と高い値を示した。また、*Salmonella* O4:i:-の1株が第3世代セフェム系薬剤であるCAZ及びCTXに耐性を示した。その他の薬剤では、テトラサイクリン系薬剤の耐性率が非常に高く、特にミノサイクリンの耐性率が100%となった。

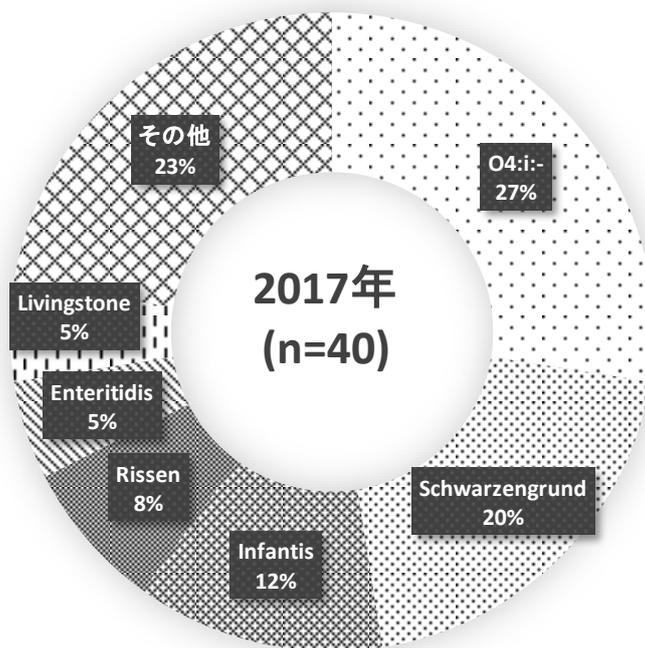


図 1 2017 年に搬入された血清型の割合

### 3. 4 薬剤耐性因子の検出

CAZ 及び CTX に耐性を示した *Salmonella* O4:i:- の 1 株について、薬剤耐性因子の検索を行った。阻害剤を用いたディスク拡散法では、クロキサシリン (MCIPC) 及びアミノフェニルボロン酸 (AMP) による阻害効果が認められたことから、AmpC β-ラクタマーゼの存在が示唆され、PCR では CIT 型のプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子が検出された。なお、mCIM は陰性であった。

## 4. 考察

### 4. 1 血清型と薬剤感受性の関係

血清型と薬剤感受性パターンとの関係を見ると、ある程度の関係性がみられた。搬入数の最も多かった *Salmonella* O4:i:- の 11 株のうち 9 株が、ペニシリン系薬剤である ABPC 及び PIPC の両方に耐性を示した。次に搬入数の多かった *S. Schwarzengrund* では、KM 耐性株が 5 株認められた。2017 年に搬入されたサルモネラ属菌のうち KM 耐性株は計 8 株であり、このうち 5 株を *S. Schwarzengrund* が占めた。また、2017 年に搬入された株のうち、CP に耐性を示した株は *S. Rissen* の 2 株のみであり、さらに、これらの株は ABPC、PIPC 及び ST にも耐性であった。*S. Infantis*、*S. Enteritidis* 及び *S. Livingstone* は多くの薬剤に感性を示す株が多かった。

第 4 世代セフェム系薬剤の CFPM のほか、FOM、AMK、ニューキノロン系薬剤の CPFX 及び LVFX に耐性を示す株はなかったが、オールドキノロンである NA に耐性を示す株が 3 株認められた。

また、*Salmonella* O4:i:- の 1 株は第 3 世代セフェム系薬剤にも耐性を示し、解析の結果、CIT 型の AmpC β-ラクタマーゼが検出された。当該菌株は、他の *Salmonella* O4:i:- では感性であったアミノグリコシド系薬剤の GM 及び KM にも耐性を示し、有効な薬剤が限られていることが分かった。

非チフス性サルモネラ属菌による感染症は対症療法が中心となるが、場合によってはキノロン系薬剤や第三世代セフェム系薬剤等が使用される。このため、これらの薬剤に耐性を示す株の増加は臨床的にも問題となると考えられる。また、*S. Typhimurium* の単相変異株とされる *Salmonella* O4:i:- は、欧米で多剤耐性株が問題視されている<sup>8)</sup>が、2017 年に当センターに搬入された株で最も多い血清型であり、今回の薬剤感受性試験でも複数の薬剤に耐性を示す株が多かったことから、今後も検出動向等を監視していく必要がある。

### 4. 2 テトラサイクリン系薬剤の感受性

これまで、当センターにおける薬剤感受性試験には、センシディスク及びミューラーヒントン II 寒天培地 (いずれも BD) を用いていたが、2017 年は試験

表 2 薬剤感受性試験結果 (β-ラクタム系薬剤)

|                |   |      |      |      |      |      |      |       |       |      |      |       |      |
|----------------|---|------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|------|-------|------|
| [O4:i:-]       | R   | R    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | S   | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | I    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | I    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | R    | R    | R    | R    | S    | S     | I     | S    | S    | I     | S    |
| [O4:i:-]       | I   | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | I    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | I    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | I     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| [O4:i:-]       | R   | R    | I    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Schwarzengrund | [O4:d:1,7]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Infantis       | [O7:r:1,5]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Infantis       | [O7:r:1,5]                                  | I    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Infantis       | [O7:r:1,5]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Infantis       | [O7:r:1,5]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Infantis       | [O7:r:1,5]                                  | S    | S    | I    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Rissen         | [O7:f,g:-]                                  | R    | R    | R    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Rissen         | [O7:f,g:-]                                  | R    | I    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Rissen         | [O7:f,g:-]                                  | R    | R    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Enteritidis    | [O9:g,m:-]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Enteritidis    | [O9:g,m:-]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Livingstone    | [O7:d:l,w]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Livingstone    | [O7:d:l,w]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Anatum         | [O3,10:e,h:1,6]                             | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Bredeney       | [O4:l,v:1,7]                                | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Javiana        | [O9:l,z <sub>28</sub> :1,5]                 | I    | I    | R    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | R    | S     | S    |
| Mbandaka       | [O6,7:z <sub>10</sub> e,n,z <sub>16</sub> ] | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Othmarschen    | [O6,7:g,m,t:-]                              | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Saintpaul      | [O4:e,h:1,2]                                | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Senftenberg    | [O1,3,19:g,s,t:-]                           | R    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Thompson       | [O7:k:1,5]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| Typhimurium    | [O4:i:1,2]                                  | S    | S    | S    | S    | S    | S    | S     | S     | S    | S    | S     | S    |
| 感性の割合(%)       |   | 60.0 | 67.5 | 80.0 | 97.5 | 97.5 | 97.5 | 100.0 | 100.0 | 95.0 | 97.5 | 100.0 | 97.5 |
| 耐性(R+)の割合(%)   |   | 40.0 | 32.5 | 20.0 | 2.5  | 2.5  | 2.5  | 0.0   | 0.0   | 5.0  | 2.5  | 0.0   | 2.5  |

的に KB ディスク及びミュラーヒントン S 寒天培地 (いずれも栄研化学) を用いた。また、今回初めて MINO を薬剤感受性試験に使用した。いずれの試薬等を用いた場合においても、標準菌株である *E.coli* ATCC25922 の阻止円径は適正範囲であった。しかし、2017年に当センターに搬入されたサルモネラ属菌では、TC の耐性率が 72.5%、MINO の耐性率が 100% と、テトラサイクリン系薬剤に耐性と判定された株が非常に多くなる結果となった。そこで、当センターで保存しているサルモネラ属菌を、ミュラーヒントン寒天培地 II (BD)、ミュラーヒントン寒天培地 (関東化学) 及びミュラーヒントン S 寒天培地 (栄研化学) に塗布し、各々に KB ディスクのテトラサイクリン、センシディスクのテトラサイクリン、KB ディスクのミノサイクリンの 3 剤を置いて 35 °C で 16~18 時間培養し、阻止円径を測定した。その結果、3 薬剤とも、ミュラーヒントン S 寒天培地における

阻止円径が、それ以外の培地における阻止円径より 5 mm 前後小さく形成される傾向にあった。このことについては、当センターで保存しているサルモネラ属菌のテトラサイクリン耐性遺伝子の保有状況を含め、今後さらに検討する必要があると考えられる。

### 5. まとめ

- 1) 青森県環境保健センターに 2017 年に搬入されたサルモネラ属菌は 40 株で、血清型は *Salmonella* O4:i:- が 11 株と最も多く、次いで *S. Schwarzengrund* が 8 株、*S. Infantis* が 5 株と続いた。
- 2) 遺伝子解析の結果、1 株を除き *S. enterica* subsp. *enterica* に典型的なバンドパターンを示した。残る 1 株は garactitol 利用能陰性であり、表現型と PCR の結果が一致した。また、単相性の菌株では *fljB* 遺伝子が検出されなかった。
- 3) 薬剤感受性試験の結果、血清型と薬愛感受性パタ

表 3 薬剤感受性試験結果 (β-ラクタム系薬剤以外の薬剤)

|   |      |      |       |      |      |       |      |       |      |       |       |    |
|---|------|------|-------|------|------|-------|------|-------|------|-------|-------|----|
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 11 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | R    | I    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 14 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | R    | S     | S     | 12 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 11 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | I    | S     | S     | 13 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| [O4:i:-]  | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | S    | S    | S     | S    | R    | S     | R    | I     | S    | S     | S     | 12 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | I    | S    | S     | S    | R    | S     | R    | I     | S    | S     | S     | 12 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | I    | S    | S     | S    | R    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | R    | S    | S     | S    | R    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Schwarzengrund [O4:d:1,7]                             | S    | S    | S     | S    | R    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 12 |
| Infantis [O7:r:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | R     | S    | S     | S     | 10 |
| Infantis [O7:r:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Infantis [O7:r:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Infantis [O7:r:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 13 |
| Infantis [O7:r:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Rissen [O7:f,g:-]                                     | R    | R    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Rissen [O7:f,g:-]                                     | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Rissen [O7:f,g:-]                                     | R    | R    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Enteritidis [O9:g,m:-]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | R     | S    | S     | S     | 11 |
| Enteritidis [O9:g,m:-]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 11 |
| Livingstone [O7:d:l,w]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | R     | S    | S     | S     | 13 |
| Livingstone [O7:d:l,w]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 12 |
| Anatum [O3,10:e,h:1,6]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 13 |
| Bredeney [O4:l,v:1,7]                                 | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | R     | S    | S     | S     | 12 |
| Javiana [O9:l,z <sub>26</sub> :1,5]                   | I    | S    | S     | S    | I    | S     | I    | R     | I    | S     | S     | 12 |
| Mbandaka [O6,7:z <sub>10</sub> ,e,n,z <sub>15</sub> ] | S    | S    | S     | R    | I    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 13 |
| Othmarschen [O6,7:g,m,t:-]                            | S    | S    | S     | S    | S    | S     | I    | I     | S    | S     | S     | 11 |
| Saintpaul [O4:e,h:1,2]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 12 |
| Senftenberg [O1,3,19:g,s,t:-]                         | S    | S    | S     | S    | S    | S     | R    | R     | S    | S     | S     | 14 |
| Thompson [O7:k:1,5]                                   | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 11 |
| Typhimurium [O4:i:1,2]                                | S    | S    | S     | S    | S    | S     | S    | I     | S    | S     | S     | 13 |
| 感性の割合(%)  | 85.0 | 95.0 | 100.0 | 95.0 | 80.0 | 100.0 | 27.5 | 0.0   | 92.5 | 100.0 | 100.0 |    |
| 耐性(R+I)の割合(%)   | 15.0 | 5.0  | 0.0   | 5.0  | 20.0 | 0.0   | 72.5 | 100.0 | 7.5  | 0.0   | 0.0   |    |

ーンに関係性がみられるものがあつた。また、第3世代セフェム系薬剤耐性の *Salmonella* O4:i:-からは、CIT型 AmpC β-ラクタマーゼが検出された。

4) テトラサイクリン系薬剤の感受性については、薬剤耐性遺伝子の保有状況を含め、今後も継続して検討が必要と考えられる。

5) サルモネラ属菌等の腸内細菌科細菌をはじめとして、県内において検出頻度の多い病原性細菌やその型、病原因子の保有状況、薬剤耐性の傾向、潜在的集団発生事例の有無等を把握し、感染症及び食中毒対策や疫学調査に資するため、今後も菌株の収集及び性状解析を継続して実施し、データを蓄積・分析していく必要がある。

### 謝 辞

菌株収集に御協力いただいた、青森県立中央病院、青森市医師会臨床検査センター、青森市民病院、弘

前市医師会健診センター、弘前市立病院、八戸市医師会臨床検査センター、八戸市立市民病院、つがる総合病院、十和田市立中央病院、一部事務組合下北医療センターむつ総合病院、公立野辺地病院の検査担当の方々に厚くお礼申し上げます。

### 文 献

- 1) 吉田眞一ほか編:戸田新細菌学改訂 34 版. 南山堂, 東京, 2013
- 2) 泉谷秀昌ほか: *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4:b:- 株の解析. 感染症学雑誌, **90**(5), 652-656, 2016
- 3) 国立感染症研究所感染症疫学センター:カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症. 病原微生物検出情報, **35**(12), 281-282, 2014
- 4) 厚生労働省健康局:薬剤耐性(AMR)対策について. 厚生労働省ホームページ <http://www.mhlw.go.jp/stf/>

seisakunitsuite/bunya/0000120172.html

5) 対馬典子ほか：青森県内において過去 5 年間に分離されたサルモネラ症由来分離株の血清型と薬剤耐性. 青森県環境保健センター研究報告, **26**, 1-6, 2015

6) Lee, K. et al. : A novel multiplex PCR assay for *Salmonella* subspecies identification. *J. Appl. Microbiol.*,

**107**, 805-811, 2009

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

8) 東北食中毒研究会：東北地方で 2006 (平成 18) 年度に分離されたサルモネラの血清型と薬剤耐性. 病原微生物検出情報, **29**(6), 164-166, 2008

## Characterization of *Salmonella* in Aomori Prefecture (2017)

Yohei Takahashi, Takeshi Yamagami, Manami Musashi

We performed serotyping, genetic analysis by PCR, and drug susceptibility testing of 40 *Salmonella* strains delivered to Aomori Prefecture Public Health and Environment Center between January and December 2017. Serotyping showed that *Salmonella* O4:i:- was most commonly detected, followed by *S. Schwarzengrund* [O4:d:1,7]. In genetic analysis, a typical band pattern of *S. enterica* subsp. *enterica* was observed in all but 1 strains and *fljB* was not detected in any haploid strains. In addition, drug resistance factors were explored in one strain, which was resistant to third-generation cepheims in the drug susceptibility test, and a CIT-type plasmid-encoded AmpC  $\beta$ -lactamase was detected.

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

## 2016/17 シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎の遺伝子解析

坂 恭平 菩提寺誉子 筒井理華

2016年9月～2017年8月(2016/17シーズン)までに青森県内で発生した集団胃腸炎のうち、14事例から検出されたノロウイルス(Norovirus、以下 NoV)の遺伝子解析を行った。その結果、GII.2 が最も多く検出され(9事例)、以前まで流行していた株とは系統が異なる GII.2 株が流行していたことが確認された。GII.2 に次いで、2014年に新規遺伝子型として報告された GII.17 が検出された(4事例)。青森県における NoV の主要流行株は、2013/14 シーズンまでは GII.4 であったが、2014/15 シーズン以降は GII.17 が増加し、2016/17 シーズンは GII.2 に転じた。

Key words : Norovirus, GII.2, GII.17, Molecular epidemiology

### 1. はじめに

NoV は、カリシウイルス科ノロウイルス属に属する約7,500塩基のプラス1本鎖RNAをゲノムに持つウイルスである。NoVに感染すると、1～2日の潜伏期間の後、嘔気、嘔吐、下痢を引き起こす。一般に症状は軽症で、特別な治療は必要とせず軽快するが、まれに重症化する例もあり、老人や免疫力の低下した乳児では死亡例も報告されている<sup>1)</sup>。また、症状が消失した後も感染者の便中に排出され、病後約6ヶ月にわたりNoV遺伝子が検出された例もある<sup>2)</sup>。そのため症状が見られなくなっても引き続き二次感染に注意が必要である。

NoVの培養については、Ettayebiら<sup>3)</sup>によって報告されたが、未だ一般的に確立されていないため、検出や分類の方法は、検体に含まれる遺伝子の検出によるものがメインである。NoV遺伝子は配列によって大きく遺伝子群(Genogroup,G)I～Vに分類される。ヒトに感染するのはGIとGIIで、遺伝子型については、GIは9種類(GI.1～9)、GIIは22種類(GII.1～22)に細分類される<sup>4)</sup>。

今回、青森県内で発生したNoVによる集団胃腸炎について、2013/14～2016/17シーズンの事例、NoV GII.2に関しては2011/12～2016/17シーズンの事例の遺伝子解析を行い、発生動向及び流行型等を分子疫学的に検討したので報告する。

### 2. 材料と方法

#### 2.1 検査材料

2016/17シーズンに県内(青森市を除く)で発生であったNoVによる集団胃腸炎10事例について、環境保健センターで検査した287検体(糞便:147、吐物:3、拭き取り:110、食品:27)を用いた(表1)。また、中核市である青森市に設置された青森市保健所管内で発生した4事例のNoV陽性27検体のcDNAの分与を得て解析に用いた(表2)。どちらについても原因施設等が県外であると推定される事例は除いた。なお、2017年1月に八戸市が中核市に移行したが、八戸市に設置された八戸市保健所管内では、2017年1月～8月にNoVによる集団胃腸炎は発生しなかった。

#### 2.2 検査方法

##### 1) ウイルスRNAの抽出・cDNA合成・NoV遺伝子の検出(リアルタイムPCR)

「ノロウイルスの検出法について」(平成15年11月5日付食安監発第1105001号)に準じて行った。

##### 2) 遺伝子解析

石川ら<sup>5)</sup>の方法に準じたダイレクトシーケンス法によりNoVのカプシド領域の塩基配列を決定し(GI:260塩基、GII:279塩基)、得られた塩基配列をNoroNetのNoV遺伝子型分類ツール(Norovirus Genotyping Tool Version 1.0)を用いて遺伝子型分類を行った。GII.2及びGII.17については、Kimura

2-parameter model を用いた Maximum-likelihood (ML) 法で系統樹を作成した。系統樹の信頼性の評価には bootstrap 法 (反復回数 1000) を用いた。標準株は片山ら<sup>4)</sup>及び松島ら<sup>6)</sup>に記載の株を使用した。

### 3. 結果

#### 3.1 2016/17 シーズンに検出された遺伝子型

2016/17 シーズンに発生した NoV が検出された集団胃腸炎事例の概要を表 1 及び表 2 に示した。全 14 事例で、食中毒として行政的に断定された事例は、表 1 に黄色で示した 2 事例であった (事例番号 N4、N5)。

糞便 96 検体、吐物 2 検体及び拭き取り 4 検体から NoV 遺伝子が検出されたが、食品 27 検体からは検出されなかった。

遺伝子群別では、GI のみ検出されたものが 1 事例、GII のみ検出されたものが 13 事例あった。NoV 陽性であった 14 事例 102 検体の遺伝子解析を行ったところ、99 検体 (74/75 検体 (表 1) +25/27 検体 (表 2)) について遺伝子型を同定することができた。遺伝子型別では、GI.9 が 1 事例、GII.2 が 9 事例、GII.4 が 1

事例、GII.6 が 2 事例、GII.17 が 4 事例から検出された。なお、事例番号 N10 から検出された GII.4 は、Sydney\_2012 に分類された。

#### 3.2 2016/17 シーズンに検出された GII.17

GII.17 は、2005 年以前も検出されていたが、2014 年 3 月に神奈川県川崎市で新規遺伝子型 GII.17 が検出され、既報の遺伝子型とは抗原性が異なるため、免疫を持たない集団による感染・流行の拡大が懸念された<sup>6)</sup>。青森県内においては、2015/16 シーズンに最も多くの事例から検出され、川崎類似株が流行していたことがわかった<sup>7)</sup>。2016/17 シーズンは、4 事例から GII.17 が検出されたが、すべて青森市保健所管内の事例であった (表 2)。2016/17 シーズンに青森県内で検出された GII.17 の詳細な解析のため、亜株の同定を行った。系統樹解析の結果、4 事例における GII.17 は、すべて川崎類似株に分類された (図 1)。なお、事例 aN4 は、279 塩基の内 192 番目の塩基が C のものが 4 検体、T のものが 3 検体あったため、それぞれ aN4(4/7)、aN4(3/7)とした。また、aN4(4/7) と aN4(3/7)の間にアミノ酸配列の変異は無かった。

表 1 青森県内(青森市保健所管内を除く)で発生した NoV による胃腸炎事例(2016/17 シーズン)

| 年度  | 事例番号 | 施設分類   | 発生日       | 検出病原体   | 遺伝子型              | 糞便  |     | 吐物  |     | 拭き取り |     | 食品  |     |
|-----|------|--------|-----------|---------|-------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
|     |      |        |           |         |                   | 陽性数 | 検査数 | 陽性数 | 検査数 | 陽性数  | 検査数 | 陽性数 | 検査数 |
| H28 | N1   | 児童館    | H28.11.6  | NoV GII | GII.2             | 8   | 11  | 2   | 2   | 0    | 9   | 0   | 0   |
|     | N2   | 飲食店    | H28.11.6  | NoV GII | GII.2             | 3   | 6   | 0   | 0   | 0    | 10  | 0   | 0   |
|     | N3   | 保育園    | H28.12.2  | NoV GII | GII.2             | 8   | 12  | 0   | 0   | 0    | 28  | 0   | 5   |
|     | N4   | 飲食店    | H28.12.10 | NoV GII | GII NT、GII.2      | 21  | 36  | 0   | 0   | 1    | 13  | 0   | 0   |
|     | N5   | 飲食店    | H28.12.19 | NoV GII | GII.2             | 7   | 28  | 0   | 0   | 0    | 19  | 0   | 4   |
|     | N6   | 保育園    | H28.12.21 | NoV GII | GII.2、GII.6       | 12  | 15  | 0   | 1   | 1    | 7   | 0   | 10  |
|     | N7   | 社会福祉施設 | H28.12.23 | NoV GI  | GI.9              | 4   | 8   | 0   | 0   | 0    | 6   | 0   | 8   |
|     | N8   | 公民館等   | H29.1.14  | NoV GII | GII.2             | 3   | 4   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   |
| H29 | N9   | 宿泊施設   | H29.6.8   | NoV GII | GII.2             | 1   | 13  | 0   | 0   | 0    | 9   | 0   | 0   |
|     | N10  | 飲食店    | H29.6.12  | NoV GII | GII.4 Sydney_2012 | 4   | 14  | 0   | 0   | 0    | 9   | 0   | 0   |
| 計   |      |        |           |         |                   | 71  | 147 | 2   | 3   | 2    | 110 | 0   | 27  |

黄色 : 食中毒事例、赤色 : 遺伝子型解析不能 (1 検体)

表 2 青森市保健所管内で発生した NoV による胃腸炎事例(2016/17 シーズン)

| 年度  | 事例番号 | 施設分類   | 発生日       | 検出病原体   | 遺伝子型               | 糞便  |     | 吐物  |     | 拭き取り |     | 食品  |     |
|-----|------|--------|-----------|---------|--------------------|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
|     |      |        |           |         |                    | 陽性数 | 検査数 | 陽性数 | 検査数 | 陽性数  | 検査数 | 陽性数 | 検査数 |
| H28 | aN1  | 病院     | H28.11.14 | NoV GII | GII.2、GII.6、GII.17 | 6   | 8   | 0   | 0   | 0    | 0   | 0   | 0   |
|     | aN2  | 飲食店    | H28.12.17 | NoV GII | GII.17             | 7   | 18  | 0   | 0   | 0    | 13  | 0   | 0   |
|     | aN3  | 老人福祉施設 | H29.1.30  | NoV GII | GII.17             | 4   | 4   | 0   | 0   | 1    | 5   | 0   | 0   |
|     | aN4  | 社会福祉施設 | H29.2.9   | NoV GII | GII NT、GII.17      | 8   | 8   | 0   | 0   | 1    | 5   | 0   | 0   |
| 計   |      |        |           |         |                    | 25  | 38  | 0   | 0   | 2    | 23  | 0   | 0   |

赤色 : 遺伝子型解析不能 (それぞれ 1 検体)

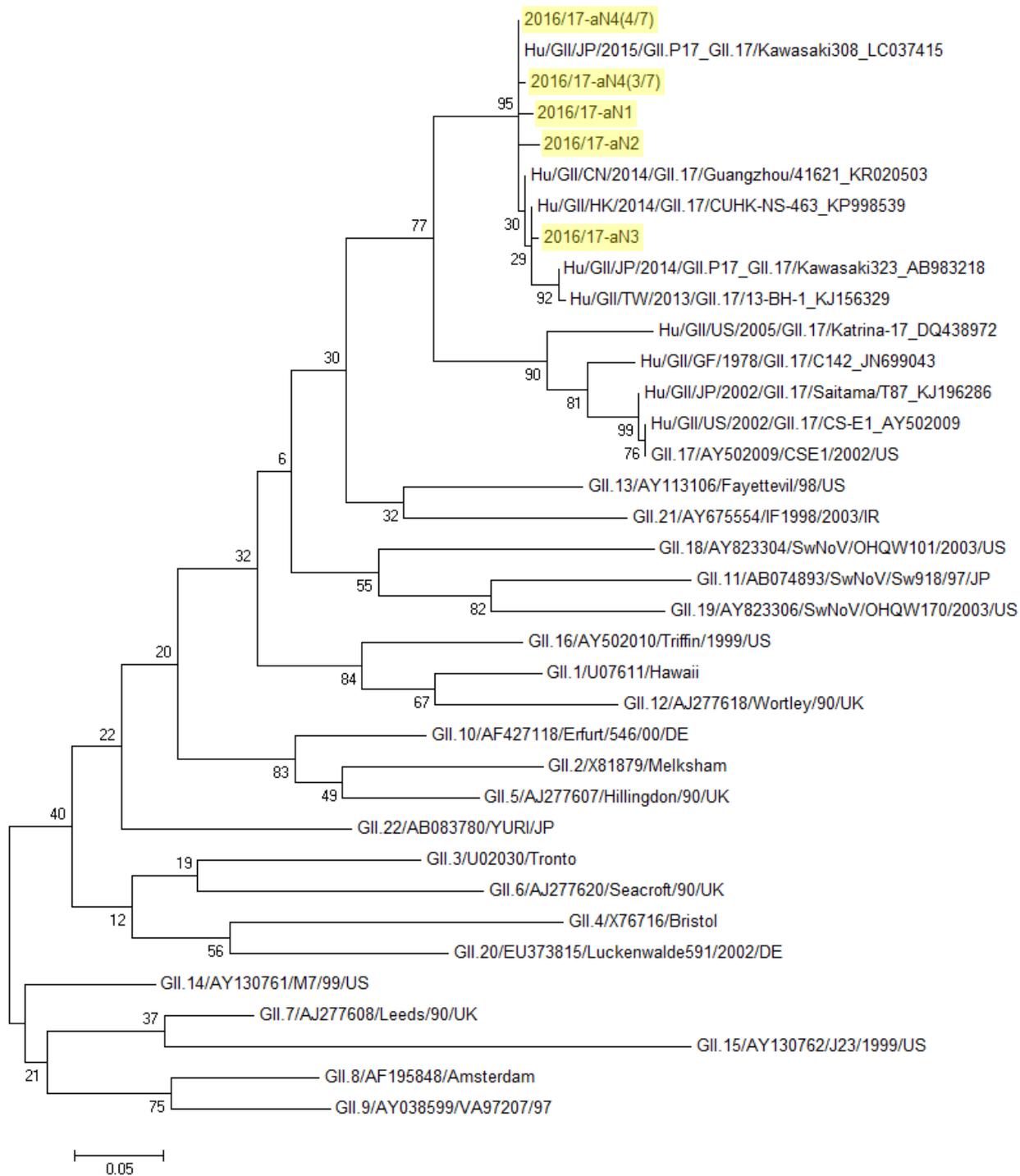


図 1 2016/17 シーズンに胃腸炎事例から検出された NoV GII. 17 の系統樹  
配列名 : 2016/17-表 2 の事例番号

### 3.3 青森県内の過去 4 シーズンの NoV の動向

2015/16 シーズンの事例について、2016 年 7 月に青森市保健所管内で発生した 2 事例について、同様に NoV 陽性検体の cDNA の分与を得て解析を行った。遺伝子型別では、1 事例が GII.2、1 事例が GII.4 Sydney\_2012 に分類された。

遺伝子配列データが残っている 2013 年 9 月～2017 年 8 月までの 4 シーズン（2013/14～2016/17 シーズン）に青森県内で発生し（県外感染は含まない）、NoV が検出された集団胃腸炎事例について、遺伝子型毎に事例数をカウントした（図 2）。以前の主要流行株であった GII.4 の検出数は、年々減少し、全国と同様の傾向であった<sup>4)</sup>。2015/16 シーズンに検出数が多かった GII.3 と GII.17 については、2016/17 シーズンにおいて、GII.3 は検出されず、GII.17 は 4 事例に留まった。GII.2 は、2013/14～2015/16 シーズンにかけて計 2 事例からしか検出されなかったが、2016/17 シーズンだけで 9 事例から検出された。なお、青森県内における GII.2 は、2010/11～2011/12 シーズンにかけて流行していた。

### 3.4 過去 6 シーズンに検出された GII. 2

GI.2 の詳細な解析のため、表 1 及び表 2 の 2016/17

シーズンの 9 株に加え、遺伝子配列データが残っている 2011/12 シーズン（7 株）、2012/13 シーズン（2 株）、2013/14 シーズン（1 株）、2015/16 シーズン（1 株）の GII.2 の亜株の同定を行った。1 つの事例内で塩基配列が異なるものについては、事例代表株として 1 つの配列だけを選んだ。系統樹解析の結果、2016/17 シーズンの 9 株は、それ以前の 5 シーズンの株とは系統が異なることが確認された（図 3）。なお、2011/12-2 と 2016/17 シーズンの 9 株の相同性は、97.8%～99.3%であった。

決定できた塩基配列を 93 アミノ酸の配列に置換し、系統樹解析を行った（図 4、図 5）。その結果、2011/12～2015/16 シーズンの 7 株は、71 番目のアミノ酸がセリン（S）であるのに対し、2016/17 シーズンを含む 13 株はアラニン（A）であった。また、2011/12 シーズンの 3 株は、35 番目のアミノ酸がバリン（V）であるのに対し、それ以外の 17 株は A であった。2016/17 シーズンの 9 株は、2011/12-2 及び GII.2 の標準株である GII.2/X81879/Melksham との間に、アミノ酸の違いは確認されなかった。

検出された GII.2 について、年月毎にカウントしたものを図 6 に示す。

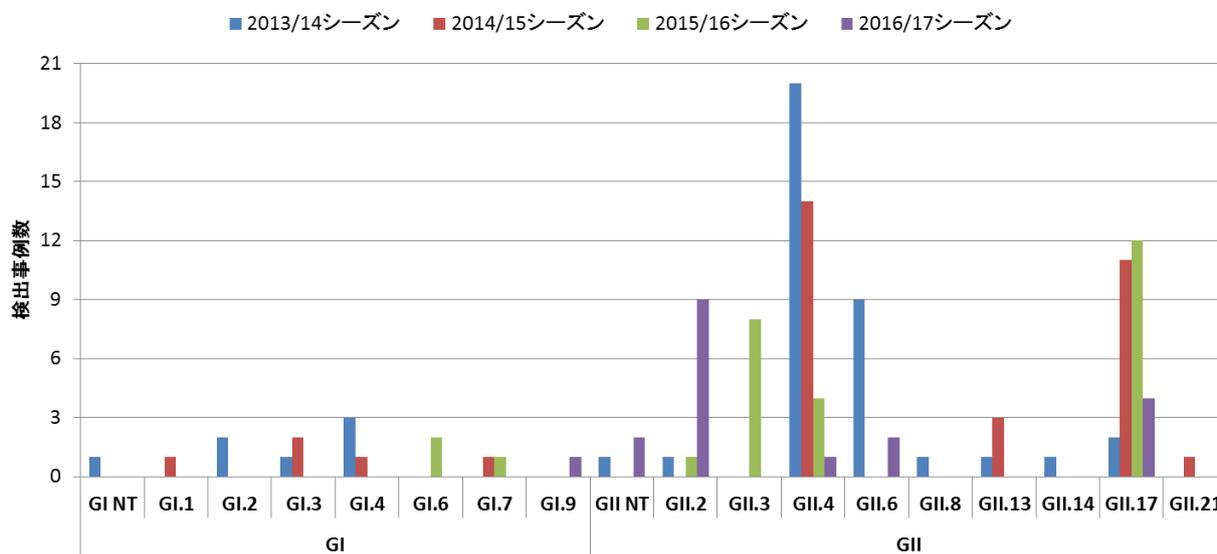


図 2 青森県内（青森市保健所管内を含む）の NoV による胃腸炎事例の遺伝子型別事例数（2013/14～2016/17 シーズン）

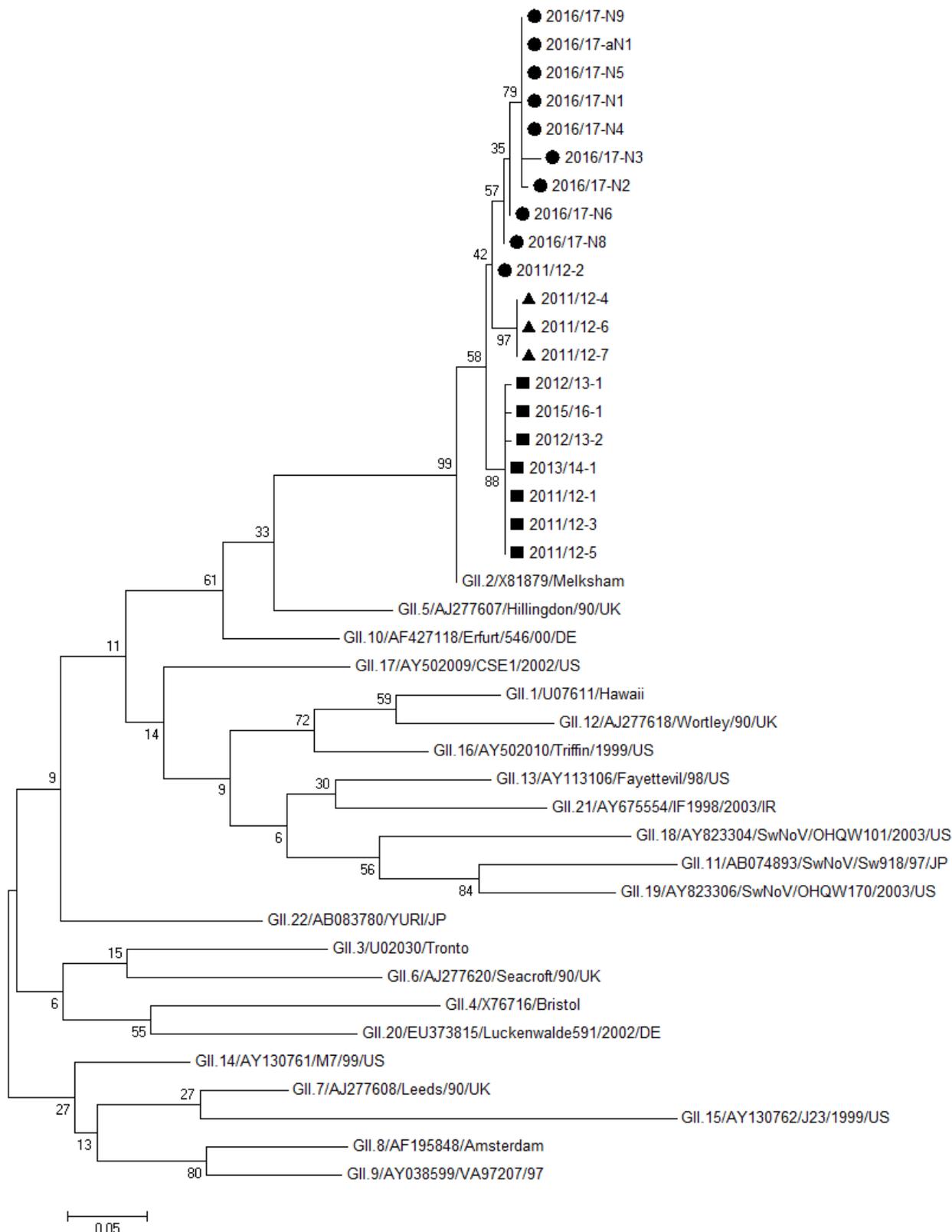


図 3 2011/12～2016/17 シーズンに胃腸炎事例から検出された NoV GII.2 (279nt) の系統樹

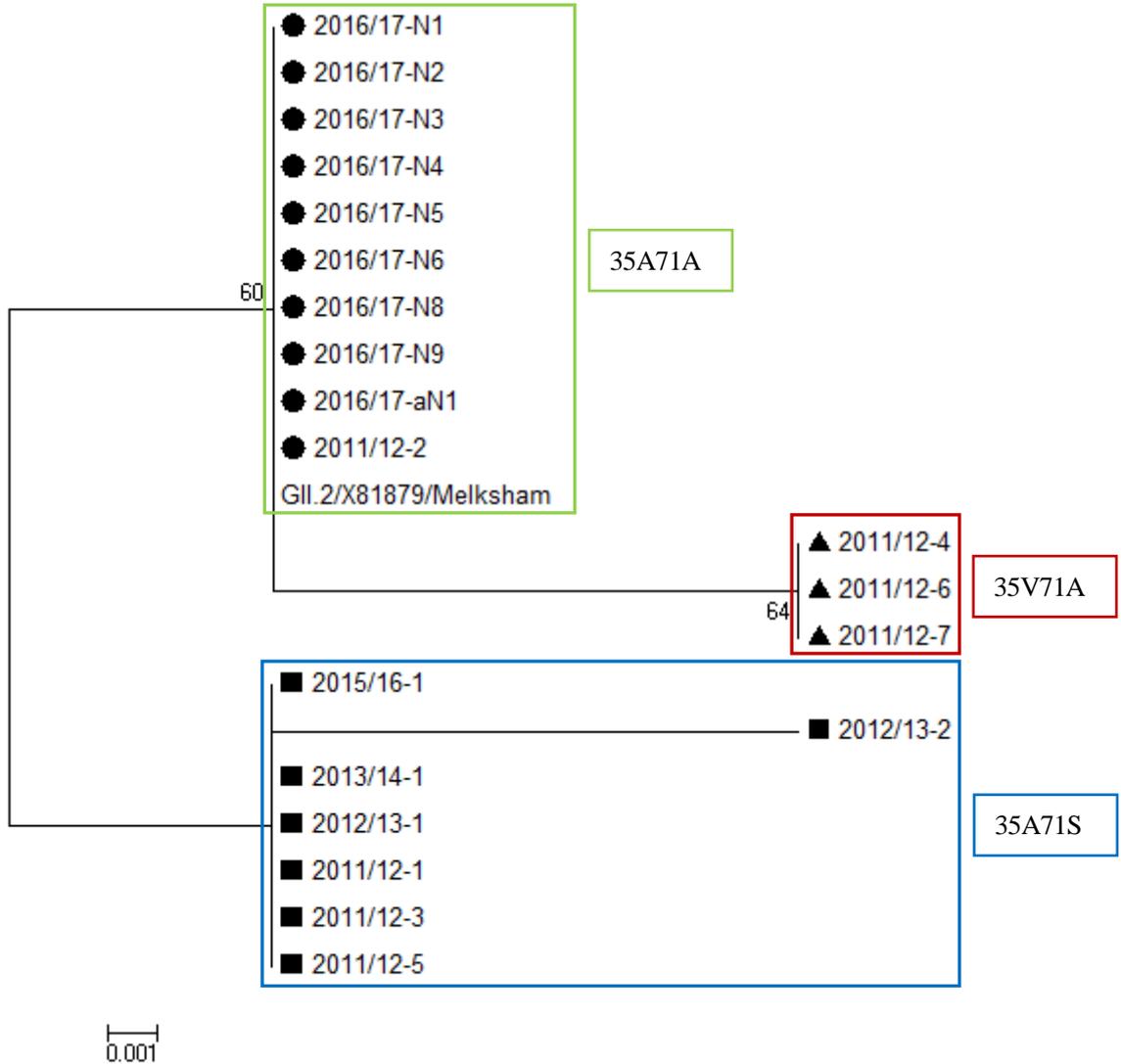


図 4 2011/12～2016/17 シーズンに胃腸炎事例から検出された NoV GII.2 (93aa) の系統樹

- : 35 番目および 71 番目のアミノ酸がアラニン (A)
- ▲ : 35 番目のアミノ酸がバリン (V)、71 番目のアミノ酸がアラニン (A)
- : 35 番目のアミノ酸がアラニン (A)、71 番目のアミノ酸がセリン (S)

| Species/Abbrv             | Group Name | Protein Sequences   |
|---------------------------|------------|---|
| 1. 2016/17-N1             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 2. 2016/17-N2             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 3. 2016/17-N3             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 4. 2016/17-N4             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 5. 2016/17-N5             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 6. 2016/17-N6             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 7. 2016/17-N8             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 8. 2016/17-N9             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 9. 2016/17-aN1            | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 10. 2015/16-1             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 11. 2013/14-1             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 12. 2012/13-1             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 13. 2012/13-2             | 35A71S     | MKMASNDAA PFDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL  |
| 14. 2011/12-1             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 15. 2011/12-2             | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 16. 2011/12-3             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 17. 2011/12-4             | 35V71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 18. 2011/12-5             | 35A71S     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 19. 2011/12-6             | 35V71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 20. 2011/12-7             | 35V71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |
| 21. GII.2/X81879/Melksham | 35A71A     | MKMASNDAA PSTDGAAGLVPE SNNEVMALEPVAGAAALAA PVIGQTNIIDPWI RANFVQAPNGEFTVSPRNA PGEVLLNLELGPENPYLAHL |

図 5 2011/12～2016/17 シーズンに胃腸炎事例から検出された NoV GII.2 (93aa) のアミノ酸配列

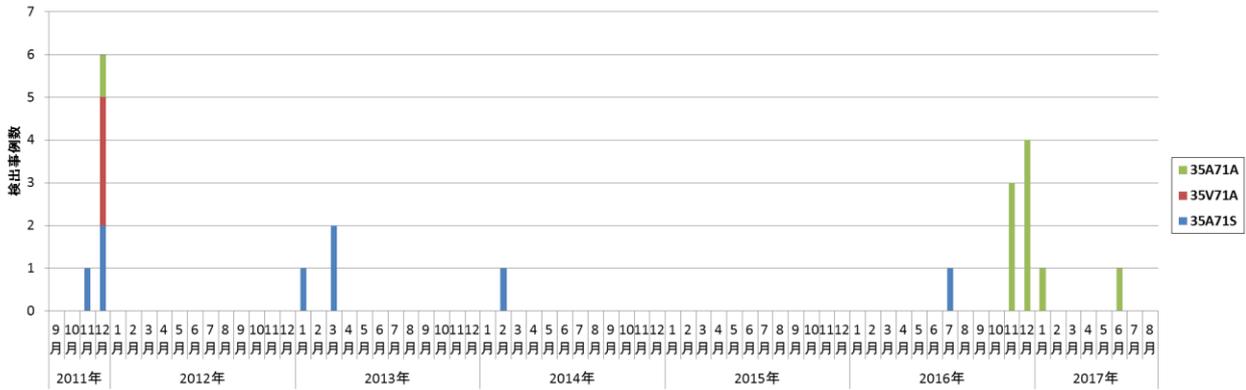


図 6 2011/12～2016/17 シーズンにおける NoV GII.2 の年月別検出事例数

#### 4. 考察

##### 4.1 過去 4 シーズンの NoV の動向

2016/17 シーズンは、GII.2 の検出数が最も多く、9/14 事例と過半数を占めていた (表 1、表 2)。GII.2 は、2013/14～2015/16 シーズンは検出数が少なかったが、2016/17 シーズンに急増した (図 2)。GII.2 は青森県以外でも全国的に多く検出されていた<sup>8-11)</sup>。2014/15～2015/16 シーズンにおける GII.17 と同様に、GII.2 に対する免疫を持たない小児等による感染・流行の拡大があったことなどが考えられる。今後も流行が拡大し続けるのかどうか、動向に注意が必要である。

GII.2 に次いで検出数が多かったのは、GII.17 であり、4/14 事例から検出され、すべて川崎類似株であった (表 2、図 1)。検出されたのは青森市においてのみであったが、母数が少ないため、遺伝子型と地域性の関連については不明である。過去の動向を見ると、2013/14～2015/16 シーズンにかけて検出数が増加したが、2016/17 シーズンは減少した (図 2)。GII.17 に対する免疫を持つ集団が増えてきたことが考えられるが、GII.4 のようにウイルスが更に変異を起こし、再び流行する可能性もあるため、注視する必要がある。

青森県において、以前までの主要流行株であった GII.4 は、2013/14 シーズンをピークに、この 4 シーズンで減少傾向を示した (図 2)。全国的に見ると、GII.4 は 2012/13～2014/15 シーズンにかけて減少傾向を示したが、2015/16 シーズンには検出数が増加した<sup>12)</sup>。2016/17 シーズンには再び減少したが、GII.2 に次ぐ検出数であった。オーストラリアでは GII.4 の新たな変異株も報告されており<sup>13)</sup>、再流行の可能性が否定できない状況である。

##### 4.2 過去 6 シーズンの GII.2

GII.2 の流行は、2011 年頃にもあった<sup>14)</sup>。2011/12～2016/17 シーズンにかけて 21 事例から検出された

GII.2 (279nt) について系統樹解析を行ったところ、2016/17 シーズンに検出された GII.2 は、以前まで流行していた株とは系統が異なることが示唆された (図 3)。アミノ酸配列を比較したところ、2016/17 シーズンに検出された GII.2 は、 capsid 領域の 35 番目と 71 番目のアミノ酸に違いが見られたが、2011/12 シーズンの 1 株及び GII.2 の標準株とは一致していた (図 4、図 5)。本稿の遺伝子解析では、NoV の capsid 領域の一部のみを標的にしているため、性状の変化についてはまでは断言できない。ORF2 の P2 ドメイン領域の 341 番目のアミノ酸が、リシン (K) からアルギニン (R) へ変異していたという報告もあり<sup>11)</sup>、塩基やアミノ酸の違いによる流行への影響の詳細な把握のためには、ポリメラーゼ領域も含めたより広い領域の遺伝子解析、最終的には全ゲノム解析が必要と考えられる。

近年流行している NoV の遺伝子型は、2～3 シーズンという短い期間で入れ替わっている。流行する遺伝子型を予測することは難しいが、検出された NoV について迅速に遺伝子解析を行うことは、拡大防止や行政指導の観点からも重要である。また、調理従事者由来 NoV と発症者由来 NoV の比較は、食中毒の原因究明の正しい判断材料にもなる。特に、これまでに流行していた GII.2、GII.4、GII.17 については、遺伝子型だけでなく、亜株まで同定することが重要だと思われる。

#### 5. まとめ

- 1) 青森県内で 2016/17 シーズンに発生した NoV による集団胃腸炎事例は 14 事例で、遺伝子群別では、GI のみが 1 事例、GII のみが 13 事例であった。
- 2) 検出ウイルスの遺伝子型は、GII.2 が最も多く 9 事例から検出され、次いで GII.17 が 4 事例から検出された。2013/14 シーズンまで主要流行株であった GII.4 の検出は、1 事例のみであった。

- 3) 2016/17 シーズンに検出された GII.17 は、すべて新規遺伝子型に分類された。
- 4) 2016/17 シーズンに検出された GII.2 は、以前まで流行していた株とは系統が異なっており、アミノ酸配列にも一部違いが見られた。

#### 文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症疫学センター：感染症発生動向調査週報ノロウイルス感染症 2004 年第 11 号
- 2) 国立感染症研究所：感染後のノロウイルス排出期間および排出コピー数. 病原微生物検出情報, **28**(10), 286-288, 2007
- 3) Ettayebi K et al. : Replication of human noroviruses in stem cell-derived human enteroids. *Science*, **353**(6306), 1387-1393, 2015
- 4) 片山和彦ほか：ノーウォークウイルス（ノロウイルス）の遺伝子型 2015 年改訂版. 病原微生物検出情報, 2015
- 5) 石川和子ほか：ノロウイルス分子疫学解析（2006～2008）. 青森県環境保健センター研究報告, **19**, 8-14, 2008
- 6) 松島勇紀ほか：新規遺伝子型ノロウイルス GII.P17-GII.17 の流行. 病原微生物検出情報, **36**(9), 175-178, 2015

- 7) 坂恭平ほか：2015/16 シーズンに発生したノロウイルスによる胃腸炎事例の遺伝子解析, **27**, 20-27, 2017
- 8) 植木洋ほか：宮城県内で流行しているノロウイルス（NoV）の遺伝子型について. 病原微生物検出情報, 2016
- 9) 坂本美砂子ほか：2016 年 9～11 月のノロウイルス感染集団発生事例について—千葉県. 病原微生物検出情報, 2016
- 10) 松島勇紀ほか：茨城県と川崎市における 2016/17 シーズンに検出されたヒトノロウイルス GII.P16-GII.2 の分子疫学. 病原微生物検出情報, 2016
- 11) 藤井慶樹ほか：広島市で検出されたノロウイルス GII.P16-GII.2 の遺伝学的解析. 病原微生物検出情報, 2017
- 12) 国立感染症研究所感染症疫学センター：ノロウイルス検出状況. 感染症疫学センターホームページ
- 13) Bruggink L et al. : A norovirus intervariant GII.4 recombinant in Victoria, Australia, June 2016: the next epidemic variant?. *Euro Surveill*, **21**(39), 2016
- 14) 東海林彰ほか：2011/12 シーズンに発生したノロウイルスによる集団胃腸炎事例の遺伝子学的解析. 青森県環境保健センター研究報告, **23**, 5-11, 2013

## Genetic analysis of noroviruses responsible for gastroenteritis outbreaks in the 2016/17 season

Kyohei Saka, Motoko Bodajji, Rika Tsutsui

We performed genetic analysis of norovirus (NoV) isolated from 14 cases of gastroenteritis outbreaks that occurred in Aomori Prefecture between September 2016 and August 2017 (the 2016/17 season). The analysis revealed that GII.2 was detected most frequently (9 cases), demonstrating that the GII.2 strain, whose type was different from the previously prevalent strains, was an epidemic strain. GII.2 was followed by GII.17 (4 cases), which had been reported as a new genotype in 2014. The main epidemic NoV strain in Aomori Prefecture had been GII.4 until the 2013/14 season, followed by GII.17 that increased in the 2014/15 and 2015/16 seasons, and subsequently changed to GII.2 in the 2016/17 season.

Key words: Norovirus, GII.2, GII.17, Molecular epidemiology

## 記憶喪失性貝毒ドウモイ酸の超高速液体クロマトグラフィーによる測定について：

### コアシェルカラムの使用による分離の達成

花石竜治 柴田めぐみ 中谷 実 山本明美 佐藤裕久

記憶喪失性貝毒のドウモイ酸について、超高速液体クロマトグラフ (UPLC) 法の分析条件を検討し、分析化学的に良好な条件を得た。"coreshell" カラムを採用し、単一組成移動相によって、ドウモイ酸 (DA) とエピドウモイ酸 (epiDA) の分離が、従来法の HPLC を超えた高い分離度で達成された。また、LC-MS/MS 法で、UPLC クロマトグラム上のピークの帰属ができた。さらにこの UPLC 条件で、DA と epiDA の検量線の傾きに有意差がないことを示した。また UPLC 法での試料における定量下限は、当所の目標定量下限内であった。結論として、"coreshell" カラムを装着した UPLC の使用は、従来法の HPLC 法の代替法として十分耐えうる性能を持つという結論に達した。

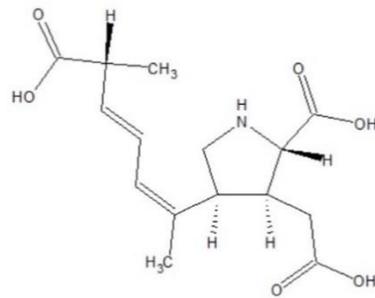
Key words: Amnesic shellfish poison, Domoic acid, HPLC, UPLC

#### 1. 緒言

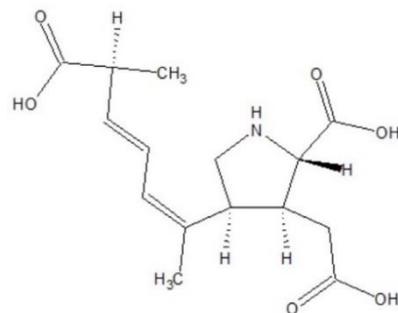
青森県における食品衛生試験部門での、ホタテガイ貝毒試験の重要性については、前報<sup>1)</sup>に記したとおりであり、当所では、ドウモイ酸 (DA) とその異性体であるエピドウモイ酸 (epiDA) (分子構造は図 1 参照) に係る記憶喪失性貝毒検査についても ISO/IEC17025 試験所認定を取得して実施している。

当所では本分析は、Hatfield 法<sup>2)</sup>を原法として、242 nm の光吸収検出による高速液体クロマトグラフ (HPLC) 法で実施してきた。

また、2013 年度に当所に導入された超高速液体クロマトグラフ (UPLC) を使用することにより、分析時間の短縮を図り、HPLC 法の代替法となりうる分析条件について、2014 年度から検討を行った<sup>3)</sup>。本報告では、その後、優れた分離度や理論段数等が得られた分析条件を報告し、さらに、その条件による記憶喪失性貝毒の HPLC 法の代替分析法としての分析精度等を検討したので報告する。



(a) DA



(b) epiDA

図 1 DA および epiDA の分子構造式

## 2. 方法

### 2.1 装置

HPLC 装置は、島津製作所 LC-20 を用い、カラムとして、資生堂 CAPCELL PAK C18 UG120 ( $\phi 4.6 \times 250$  mm) 粒径  $5 \mu\text{m}$  に、加えてガードカラムとして同社 CAPCELL C18 UG120 ( $4.0 \times 10$  mm) を用いた。

UPLC 装置は Waters 社 ACQUITY UPLC H-Class を用い、カラムとして、“coreshell” カラムの一種である、同社 CORTECS UPLC C18  $1.7 \mu\text{m}$  ( $\phi 2.1 \times 100$  mm) を用いた。なお、クロマトグラムの表示には、スムージングを使用していないが、ピーク面積値計算では、7 点の平均法によるスムージングを使用した。

LC-MS/MS 装置は Waters 社 ACQUITY UPLC I-Class/ Xevo TQ-S micro を用い、カラムは上述の UPLC 装置に装着したものと同一、“coreshell” カラムを使用した。数値処理にあたっては、7 点の平均法によるスムージングを使用した。ピーク検出には ApexTrack 法ではなく、従来法を用いた。なお、DA を LC-MS/MS で分析する方法は既報があり<sup>4)</sup>、MS 条件の設定などの測定の参考にした。

### 2.2 試薬および材料

検量線用の標準物質は、市販のカナダ NRC 社の認証標準物質 CRM-DA-g 溶液 (DA+epiDA として  $103.3 \pm 2.5 \mu\text{g/mL}$ ) を 10% アセトニトリルで適宜希釈して使用した。HPLC および UV 検出の UPLC 法では、最大  $1.2394 \mu\text{g/mL}$  (DA+epiDA として) の標準液を用い、LC-MS/MS 法では、最大  $0.6197 \mu\text{g/mL}$  (DA+epiDA として) の濃度の標準液を使用した。

その他の試薬については、既報<sup>1)</sup> のとおりであるので、記述を省略する。

DA 分析の陽性コントロールの認証標準物質としては、カナダ NRC CRM-ASP-Mus-d を用いた。

### 2.3 陽性コントロールの測定溶液調製方法

ホタテガイのホールボディの前処理方法は、山本らの既報<sup>3)</sup> に掲載されているので、ここでは認証標準物質の扱いのみ記す。

認証標準物質 CRM-ASP-Mus-d (DA+epiDA として  $49 \pm 3 \mu\text{g/g}$ ) の全量をスパーテルと 50% メタノールを用いて遠沈管に移し、50% メタノールを加えてホモジナイズした。遠心分離して、上清を孔径  $0.45 \mu\text{m}$  のフィルターでろ過した。これを、メタノール、水、50% メタノールの順でコンディショニングしておいた SAX ミニカラム (Agilent 社 Bond Elut LRC-SAX 500 mg) に負荷し、0.1 mol/L NaCl (10% アセトニトリル溶液) で不純物を溶脱させ、1 mol/L NaCl (10% アセトニトリル溶液) により目的成分を溶離させて調製した。検液は検量線範囲内に収まるよう、1 mol/L NaCl (10% アセトニトリル溶液) により 5 倍に希釈して測定溶液とした。

移動相は、A: アセトニトリル、B: 0.1v/v% ギ酸を含む水とし、A:B=1:9 として、勾配をかけずに単一組成とした。表 2 に条件を示した。

### 2.4 測定条件

#### (1) HPLC

既報<sup>1)</sup> のとおりとした。

#### (2) UPLC (UV 検出)

移動相に単一条件 (isocratic) を適用し、0.1 v/v% のギ酸を含んだ 10% アセトニトリルを用いた。表 1 に条件を示した。

表 1 UPLC 条件

|       |                 |
|-------|-----------------|
| 流速    | 0.4 mL/min      |
| カラム温度 | 30 °C           |
| 検出法   | UV-Vis 吸光度法     |
| 検出波長  | 242 nm          |
| 移動相   | Isocratic       |
| 分析時間  | 3.5 min         |
| 試料注入量 | 1 $\mu\text{L}$ |

#### (3) LC-MS/MS

移動相は、A: アセトニトリル、B: 0.1v/v% ギ酸を含む水とし、A:B=1:9 として、勾配をかけずに単一組成とした。表 2 に条件を示した。

表 2 LC-MS/MS 条件

#### (a) LC および MS 条件

|           |                 |
|-----------|-----------------|
| 流速        | 0.4 mL/min      |
| カラム温度     | 30 °C           |
| 移動相       | Isocratic       |
| 分析時間      | 5 min           |
| 試料注入量     | 5 $\mu\text{L}$ |
| イオンモード    | ES+             |
| キャピラリー電圧  | 0.53 kV         |
| エクストラクタ電圧 | 0 V             |
| イオン源温度    | 148 °C          |
| 解離温度      | 498 °C          |

#### (b) MS/MS 条件

|           |                 |                 |                 |
|-----------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 検出モード MRM | 312 > 266 (定量用) | 312 > 248 (確認用) | 312 > 193 (確認用) |
| コーン電圧     | 26 V            | 26 V            | 26 V            |
| 衝突エネルギー   | 16 V            | 18 V            | 16 V            |

### 2.5 HPLC 法と UPLC 法の比較方法

最大濃度の標準液および Mus-d 抽出液 (5 倍希釈) のクロマトグラムから、クロマトグラフィーにおける理論段数、DA および epiDA の分離度、シンメト

リー係数を比較した。

また、標準液の繰り返し測定により標準偏差等を求め、その結果から試料における検出下限および定量下限を算出した。

最後に、認証標準物質の Mus-d 抽出液を HPLC 法および UPLC 法で測定して得た濃度を比較し、認証値の範囲内に入るかを検討した。

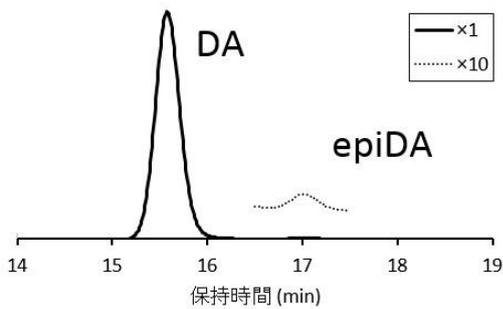
### 3. 結果

#### 3.1 HPLC クロマトグラム

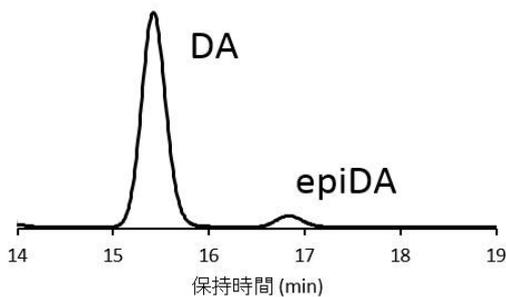
図 2(a) に標準溶液、(b) に Mus-d 抽出溶液のクロマトグラムを示す。DA と epiDA のピークは完全に分離していた。

#### 3.2 UPLC クロマトグラム

図 3(a) に標準溶液、(b) に Mus-d 抽出溶液のクロマトグラムを示す。UPLC でも、DA と epiDA のピークは完全に分離していた。

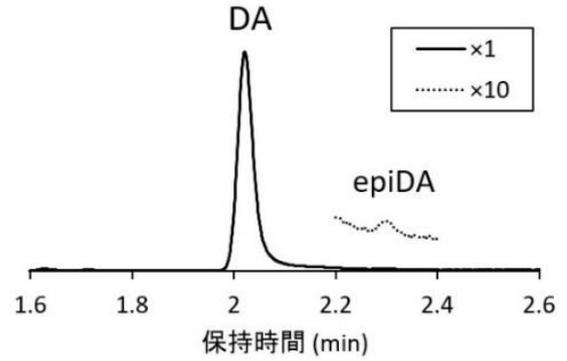


(a) 標準溶液

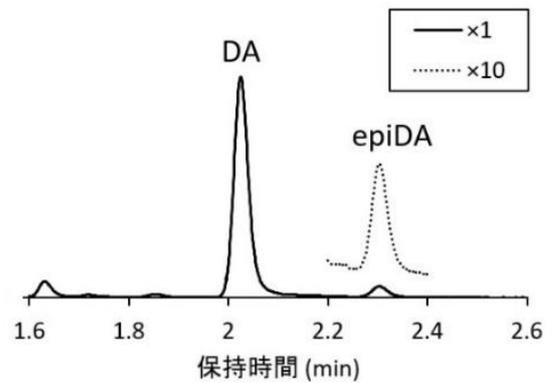


(b) Mus-d 抽出溶液 (5 倍希釈)

図 2 HPLC クロマトグラム



(a) 標準溶液



(b) Mus-d 抽出溶液 (5 倍希釈)

図 3 UPLC クロマトグラム

#### 3.3 LC-MS/MS クロマトグラム

図 4 に DA 標準液  $0.6197 \mu\text{g/mL}$  (DA+epiDA として) の LC-MS/MS クロマトグラムのうち、MRM:  $m/z = 312 > 266$  のものを示した。

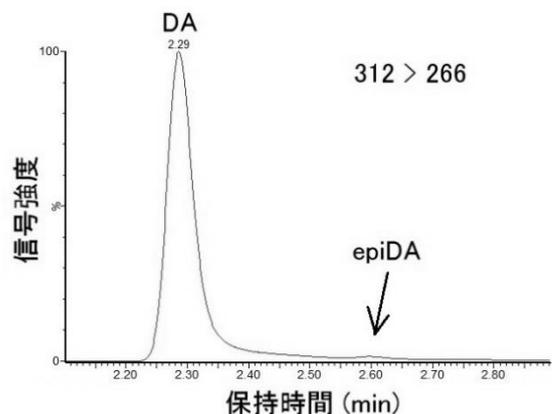


図 4 LC-MS/MS クロマトグラム

#### 3.4 UPLC 法による繰り返し測定結果

4 段階の濃度に設定した標準液を 10 回ずつ繰り返し測定し、原点通過の検量線データを得た結果を表 3 に示した。

表3 標準液の繰り返し測定による検量線用データの統計量（応答の平均および標準偏差の単位は（ $\mu\text{V}\cdot\text{秒}$ ））

| (a) DA                         |        |        |        |        |
|--------------------------------|--------|--------|--------|--------|
| 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 0.0492 | 0.2458 | 0.6144 | 1.2288 |
| 応答の平均                          | 518    | 2650   | 6683   | 14070  |
| 標準偏差                           | 25.7   | 40.8   | 160.2  | 157.7  |
| 変動係数%                          | 4.95   | 1.54   | 2.40   | 1.12   |
| (b) epiDA                      |        |        |        |        |
| 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 0.0004 | 0.0021 | 0.0053 | 0.0106 |
| 応答の平均                          | —      | 33     | 49     | 165    |
| 標準偏差                           | —      | 6.0    | 16.5   | 36.6   |
| 変動係数%                          | —      | 18.45  | 33.28  | 22.13  |
| (c) DA+epiDA                   |        |        |        |        |
| 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) | 0.0496 | 0.2479 | 0.6197 | 1.2394 |
| 応答の平均                          | 518    | 2660   | 6727   | 14235  |
| 標準偏差                           | 25.7   | 48.9   | 177.6  | 177.1  |
| 変動係数%                          | 4.95   | 1.84   | 2.64   | 1.24   |

#### 4. 考察

##### 4.1 UPLC 条件での DA および epiDA のピーク帰属

UV 検出法では、単一波長の吸光度を測定するので、化学種の同定に不確定な因子が加わる。

本研究で DA 認証標準物質として用いた CRM-ASP-Mus-d に添付されている分析認証の資料に LC-MS 条件での DA と epiDA のピーク帰属が報告されている<sup>9)</sup>。この条件は、 $m/z=312 > 266$  のタンデム MS 条件であり、本報告の 3.3 に示した MRM 条件と同一である。

DA と epiDA は、エナンチオマーの関係ではなく、エピマーの関係にあることから、必ずしもイオン開裂のパターン・強度が完全に同一とは判断できなかったが、この文献<sup>9)</sup>と図4のクロマトグラムによって、DA ピークの後に溶出してくる物質を epiDA と断定した。

LC-MS/MS と UV 検出の UPLC とでは、移動相がほぼ同じ組成であり、またカラムも同一であることから、図3に示したクロマトグラムの DA の後のピークを epiDA と帰属した。

##### 4.2 クロマトグラム解析による理論段数、分離度およびシンメトリー係数の算出

これらのパラメータについての定義等は前報<sup>1)</sup>に記している。

今回は、Visual Basic で、クロマトグラムのデジタルデータから、これらの理論段数、分離度及びシンメトリー係数などを算出するプログラムを作成し、実際の評価に使用した。

表4に Mus-d 抽出液のクロマトグラム（図2(b) および図3(b)）を用いて、今回の UPLC 条件での理論

段数等を HPLC と比較した結果を示す。

表4 HPLC および UPLC における理論段数と分離度、シンメトリー係数

| (a) HPLC |          |           |              |
|----------|----------|-----------|--------------|
|          | 理論段数 $N$ | 分離度 $R_s$ | シンメトリー係数 $S$ |
| DA       | 15300    | 2.65      | 1.06         |
| epiDA    | 15400    |           | 1.00         |
| (b) UPLC |          |           |              |
|          | 理論段数 $N$ | 分離度 $R_s$ | シンメトリー係数 $S$ |
| DA       | 22700    | 4.87      | 1.21         |
| epiDA    | 22900    |           | 1.15         |

表4に示したように、UPLC 法では、HPLC 法より高い理論段数および高い分離度が算出された。ただし、シンメトリー係数は、HPLC においてほぼ1に近かったが、UPLC ではやや1から乖離した結果となった。このことは、UPLC で若干のテーリングが生じていることを示した。

##### 4.3 UPLC 法における DA および epiDA の検量線の傾きの違いについて

UV 検出法の UPLC 法では、検出波長の 242 nm で、DA と epiDA とでモル吸光係数が同一であることから、検量線の傾きはこれらで同一と考えられた。このことを UPLC 法の検量線用データから検証した。

有意差検定は、表3(a)および(b)のデータを用い、原点通過の回帰直線の傾きについて分散分析を行い、等分散か不等分散かを判断し、それによって評価式を使い分け、t 検定<sup>9)</sup>を行う方針とした。危険率として5%を仮定した。

結果の概略を示す。DA と epiDA とでは、回帰直線の傾きを持つ誤差の分散に有意差があり、よって不等分散の t 検定を行うこととなった。等価自由度を 3.0098 と算出し、これと表5の標準誤差とから、t 検定の結果、二者の検量線の傾きに有意差はないと結論した。

表5 DA と epiDA の検量線の傾きの有意差検定に関する統計量（決定係数以外の量の単位は（ $\mu\text{V}\cdot\text{秒}$ ）/ $(\mu\text{g}/\text{mL})$ ）

|       | 傾き $a$ | 標準誤差 | 下限95% | 上限95% | 決定係数 $R^2$ |
|-------|--------|------|-------|-------|------------|
| DA    | 11478  | 81   | 11219 | 11737 | 0.9998     |
| epiDA | 14437  | 1744 | 6933  | 21941 | 0.9716     |

以上の結果は、これまでに示した、UPLC の高い分離能により、DA と epiDA とが分離定量されたことに起因すると判断した。

これらのピークの分離が不十分な場合には、装置の解析ソフトで、ピーク面積の取り方などを指定する必要がある。

さらにこれら二成分の分離は、注入する溶液に塩化ナトリウムが存在するかどうか（当所で採用している Hatfield 法で、塩化ナトリウムを使用）にも影響される（図 3(a) と (b) の、DA ピークのテーリングの程度が異なることに表れている。）。よって、塩化ナトリウムを含まない標準液と、それを含む検体の抽出液とで、統一的な解析条件設定をする必要が生じることになる。

今回の UPLC 条件では、DA と epiDA のピークが分離したので、上記の事態を回避することができた。

#### 4.4 UPLC 法における検出下限および定量下限

表 3 に示した検量線作成標準溶液の最低濃度の DA ピーク高さとはベースラインでのノイズ（スムージングをしない条件）の信号対雑音比  $s/n$  を求めると  $s/n = 33 \sim 63$  で、平均で 48 ( $n=10$ ) であった。

また、表 3(c) の DA+epiDA の検量線データから、その傾きを求めると  $a = 11339 (\mu\text{V} \cdot \text{秒}) / (\mu\text{g/mL})$  であった。これから標準偏差を  $\sigma$  とすれば、検出下限  $3\sigma$  は標準液濃度にして  $0.0068 \mu\text{g/mL}$  であり、当所の検体前処理法の標準作業手順書 (SOP) 記載の条件では、ホタテガイ検体中濃度  $0.085 \mu\text{g/g}$  に相当した。また定量下限  $10\sigma$  は、 $0.023 \mu\text{g/mL}$  であり、 $0.28 \mu\text{g/g}$  に相当した。

当所の SOP 記載の HPLC を用いる従来法では、検体中濃度として、定量下限を  $1 \mu\text{g/g}$  に規定<sup>7)</sup>している。今回検討した UPLC 法は、この目標定量下限を満足していたと判断した。

#### 4.5 認証標準物質中の DA+epiDA の濃度の検証

認証標準物質である CRM-ASP-Mus-d の濃度が、従来法の HPLC 法と、UPLC 法とで同一になるか検証した。表 6 に Mus-d からの抽出による DA+epiDA の濃度の測定結果を示す。

表 6 Mus-d 検体の HPLC と UPLC 結果の比較

|     | (DA+epiDA 単位 $\mu\text{g/g}$ ) |      |
|-----|--------------------------------|------|
|     | HPLC                           | UPLC |
| 検体1 | 47.4                           | 46.9 |
| 検体2 | 49.1                           | 47.7 |

表 6 に示したように、従来法の HPLC 法と今回、取り上げた UPLC 法とで、認証濃度範囲内 ( $49 \pm 3$ )  $\mu\text{g/g}$  の結果が得られた。よって、両者の方法は、ほぼ同一の結果を与えるものと判断した。

## 5. 結語

記憶喪失性貝毒のドウモイ酸の分析法について、UPLC 法の分析条件を検討した。その結果、

- (1) “coreshell”カラムと単一相の移動相を用いた UPLC 法では、従来の HPLC 法よりも、DA と epiDA の分離度が優れており、これらはクロマトグラム上で完全に分離した。
- (2) UPLC 法では、検量線の傾きが、DA と epiDA とで有意差のない結果を与えた。これはピーク分離が完全になされた結果と推定された。また、このことは、貝毒濃度の計算に用いる DA+epiDA としてのピーク面積計算等を容易にするものとなった。
- (3) UPLC 法での DA 分析の精度を求めたところ、目標定量下限を満たす結果が得られた。
- (4) 最後に、認証標準物質を用いて、HPLC 法と UPLC 法との測定結果が、値付けの範囲内に入ることを確認した。これにより、両者のドウモイ酸分析が、ほぼ同一の結果を与えるものと判断した。

UPLC の大きな長所の一つは、HPLC に比べて分析時間を数分の 1 に短縮できることである。本研究での分析法としての検討により、UPLC 法は、従来法の HPLC 法の代替法として十分耐えうる性能を持つという結論に達した。

## 文献

- 1) 花石竜治, 他:記憶喪失性貝毒ドウモイ酸の超高速液体クロマトグラフィーによる測定について.青森県環境保健センター年報,**27**,28-35,2016.
- 2) Hatfield, C. L. et al.:Salt clean-up procedure for the determination of domoic acid by HPLC. *Natural Toxins*, **2**,206-211,1994.
- 3) 山本明美, 他:ホタテ貝のドウモイ酸添加回収率における性差.青森県環境保健センター研究報告,**18**,13-17,2007.
- 4) European Union Reference Laboratory for Marine Biotoxins: Standard Operating Procedure for determination of domoic acid (ASP toxins) in molluscs by UPLC-MS, ver 1. Feb 2010.
- 5) Reeves, K.L. et al.: CRM-ASP-Mus-d, a mussel tissue reference material for domoic acid. *Biotxin Metrology*

Technical Report ASP-Mus-d-201112, National Research Council Canada, Halifax, March 2012.

6) 藤森利美：分析技術者のための統計的方法 第2版. 丸善,東京,1995.

7) 山本明美,他:二枚貝中の記憶喪失性貝毒分析法の妥当性確認. 食品衛生学雑誌, **58**, 281-287,2017.

## Analyses of the amnesic shellfish poison domoic acid using ultra-high performance liquid chromatography: successful separation using a core-shell column

Ryuji Hanaishi, Megumi Shibata, Minoru Nakaya, Akemi Yamamoto, Hirohisa Sato

We investigated the analysis conditions for domoic acid (DA), an amnesic shellfish poison, using ultra-high performance liquid chromatography (UPLC) and found adequate conditions from the viewpoints of analytical chemistry. DA and epi-domoic acid (epiDA) were successfully separated at a higher resolution using a “core-shell” column with an isocratic mobile phase than using the conventional method, high-performance liquid chromatography (HPLC). Furthermore, peaks on the UPLC chromatogram were identified by liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Under the UPLC conditions, the slope of calibration curves did not significantly differ between DA and epiDA. The quantification limit for UPLC was less than the expected lower limit of quantification in our laboratory. In conclusion, UPLC using a “core-shell” column turned out to provide satisfactory performance as an alternative to the conventional HPLC method.

Key words: Amnesic shellfish poison, Domoic acid, HPLC, UPLC

## 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第二報) : 自作した吸収スペクトル測定装置のハードおよびソフトウェア

花石竜治 佐藤裕久

十二湖青池の呈色機構の研究に当たり、青池湖内の実地での吸収スペクトルを測定するために自作した測定装置について報告する。装置は、水面下となる受光部から光ファイバで「ミニ分光器」に光を導入し、「ミニ分光器」とマイコンボードを LAN ケーブルで結び、水面下の光吸収スペクトルデータを PC で観測することを可能とした。そのハードおよびソフトウェアについて述べ、実際の応用例を報告する。

Key words: Spectrometer, Aoike Pond, Absorption spectrum

### 1. 緒言

筆者らは、津軽国定公園内の十二湖青池の呈色機構を研究しており、2017年度は、青池湖内での光吸収スペクトル測定を企図し、その測定機器を自作して、測定を行った。その結果を含んだ報告については、別途報告予定<sup>1)</sup>であり、この装置を用いて得られた結果は、「青池湖内の光吸収と水そのものの光吸収は同じ」という、青池の呈色機構研究において鍵となる重要なものとなった。本報告では、その測定装置のハードおよびソフトウェア、応用例について報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 測定装置の構成に使用した部分品・装置

本研究で使用した分光器は浜松ホトニクス「ミニ分光器」C12880MA-10<sup>4)</sup>、光ファイバケーブルは同社 A9762-01 であった。「ミニ分光器」を制御するマイコンボード Arduino Uno は、Arduino SRL 社の製品

を用いた。「ミニ分光器」と Arduino Uno の制御・通信および自作装置の垂下を兼ねた LAN ケーブルは、岡野電線の 3.1 mm φ の製品を用いた。LAN ケーブルから、青池湖内に垂下するために使用した釣り竿として、全長 5.4 m の磯釣り遠投用を用いた。

クロック波形の観測は、EZ Digital 社のデジタルオシロスコープ DS-1100C を、RS-232C 経由で自作の Visual Basic によるプログラムで制御して行った。このオシロスコープは、帯域が 100 MHz であった。

#### 2.2 機器の製作

##### (1) 測定装置の概要

図1に設計した測定装置の概念図を示す。「ミニ分光器」とマイコンボード Arduino Uno を LAN ケーブルで接続し、Arduino Uno を介して PC 上の Microsoft 社 Excel マクロにより制御した。



図1 測定システムの概念図

## (2) 測定装置のハードウェア

図2に自作した測定装置の画像のトレースを示した。

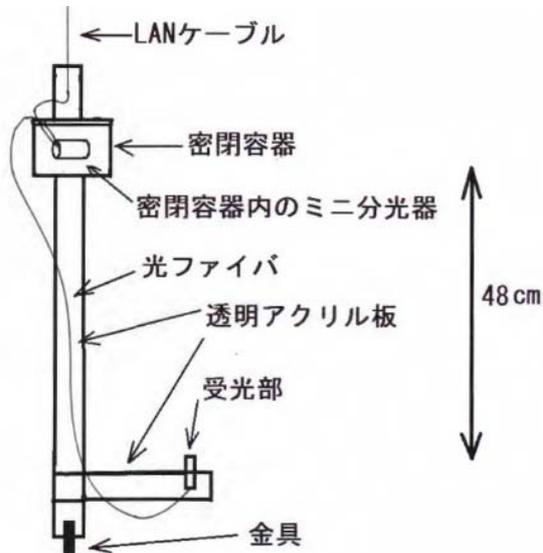


図2 自作した測定装置の画像のトレース

「ミニ分光器」部が水面上に位置するように、かつ、受光部が水深約50 cmとなるようにして、二重に防水した容器に格納した。

なお、LANケーブルにより釣り竿から装置を垂下し、湖内水深48 cmおよび湖面直上に位置させ、両者のスペクトルを採取した。

## (3) 測定装置のソフトウェア

「ミニ分光器」制御のArduino Unoの動作フローを図3に示した。

ノートPC上のExcelマクロから、文字列"s"をArduino Unoのシリアルポートに送信すると、デジタル信号により、「ミニ分光器」がスペクトル採取を行い、Arduino Unoのシリアルポートに結果を出力して、それをPC上のExcelマクロがExcelワークシートにスペクトル値として取り入れるように設計した。

### 2.3 分光器出力値からの吸光係数のスペクトルの演算方法

「ミニ分光器」出力値の、波長 $\lambda_i$ での湖内の光強度を $I(\lambda_i)$ 、湖面直上での光強度を $I_0(\lambda_i)$ とすると、これらは分光器の分光感度特性による波長依存の係数 $U(\lambda_i)$ も含み、純粋な光強度をそれぞれ $I'(\lambda_i)$ 、 $I'_0(\lambda_i)$ 、暗条件での出力値を $I_B(\lambda_i)$ とすれば、

$$\frac{I(\lambda_i) - I_B(\lambda_i)}{I_0(\lambda_i) - I_B(\lambda_i)} = \frac{I'(\lambda_i)U(\lambda_i)}{I'_0(\lambda_i)U(\lambda_i)} = \frac{I'(\lambda_i)}{I'_0(\lambda_i)}$$

となる。太陽光を利用して、湖内と湖面直上とで光測定を行い、スペクトルを得た。

測定対象としている吸収スペクトルに影響が少なく、比視感度が最大に近い550 nm付近のミニ分光器出力値との比を取り、それを3回繰り返して算術平均を取ってから光強度比とし、吸光係数を得るための対数変換へと移行した。比を取った後に算術平均を取ったのは、日光の経時的強弱変化を相殺するためであった。

吸光係数 $A(\lambda_i)$ の表式は、

$$A(\lambda_i) = -\frac{\log_e \left\{ \frac{I(\lambda_i) - I_B(\lambda_i)}{I_{550 \text{ nm}} - I_{B,550 \text{ nm}}} \right\}}{L} \frac{I_0(\lambda_i) - I_B(\lambda_i)}{I_{0,550 \text{ nm}} - I_{B,550 \text{ nm}}} \quad \dots (1)$$

ここで、 $L$ は光路長であり、直達日射と散乱日射の場合<sup>5),6)</sup>で扱いが異なる。また、分光器の550 nmの出力値は、添え字に550 nmと記している。暗条件は、実験室において受光部を黒布で覆うことにより設定した。

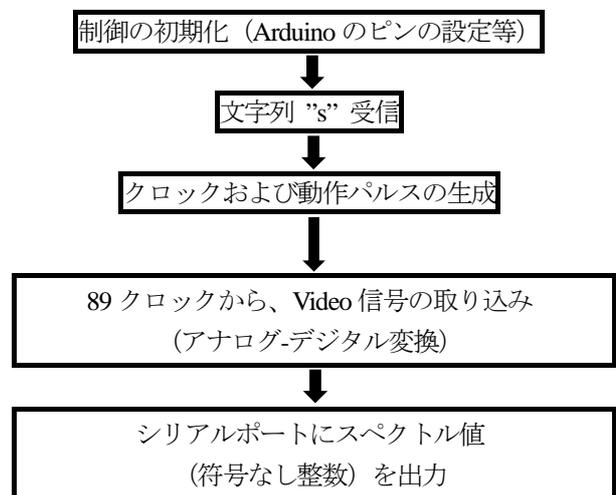


図3 Arduino Unoの動作フロー

## 2.4 機器の運用

2017年7月5日および6日に自作機器を用いた測定を行った。このときの日射の条件は「散乱日射」であった。

## 2.5 室内実験による光吸収スペクトル測定

紫外可視分光光度計である島津製作所 UV-1800 に光路長 10 cm の石英セルを装着し、同じ石英セルを空にして対照とした。青池の表層で採取しポリカーボネート製の瓶に入れ実験室へ輸送した湖水と超純水の吸収スペクトルを即日に測定し、吸光係数を求めた。

### 3. 結果

#### 3.1 LAN ケーブルで「ミニ分光器」と通信を行うことの適用性について

測定システムのクロックをオシロスコープにより観測したところ、周期が約 12.1  $\mu\text{s}$  であり、クロック

波形は、20 m の LAN ケーブルの末端で良好に On/Off が保たれていた。

よって、本研究の測定システムにおいて、デジタル信号が正確に伝わっていたことを確認できた。

#### 3.2 測定装置の運用により得た生データおよびその演算過程

図 4 に 2017 年 7 月 6 日 11 時台の測定結果（「ミニ分光器」出力値から演算過程の強度比スペクトルまで）を示した。また図 5 に、図 4 の演算に必要な暗条件でのミニ分光器出力値を示した。

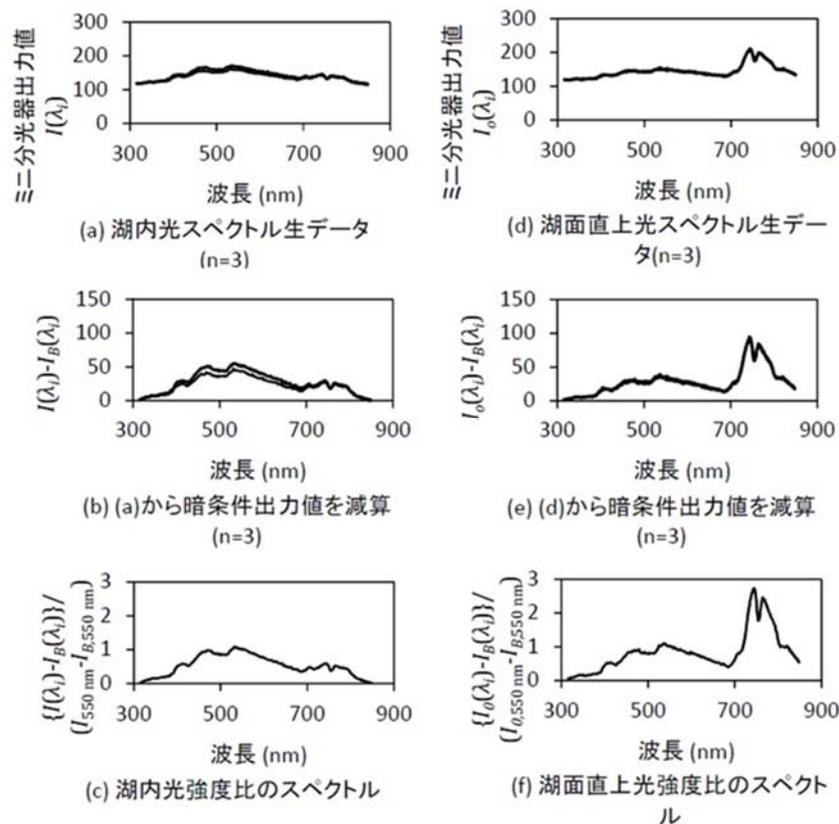


図 4 青池湖内および湖面直上における光スペクトル測定装置の生データ、演算過程のスペクトル

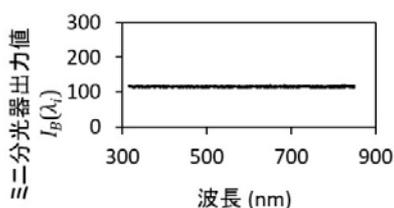


図 5 暗条件でのミニ分光器出力値 (図 4 の演算に使用)

#### 3.3 自作装置により測定した青池実地の光吸収スペクトルおよび室内測定での光吸収スペクトルの比較

図 6 に、調査期間の 4 つの時刻での光吸収スペクトル測定で式 (1) および考察の項で述べる「散乱日射における光路長の仮定」によるスペクトル計算結果を示し、同日採水の青池湖水および超純水の吸収スペクトルを併記した。

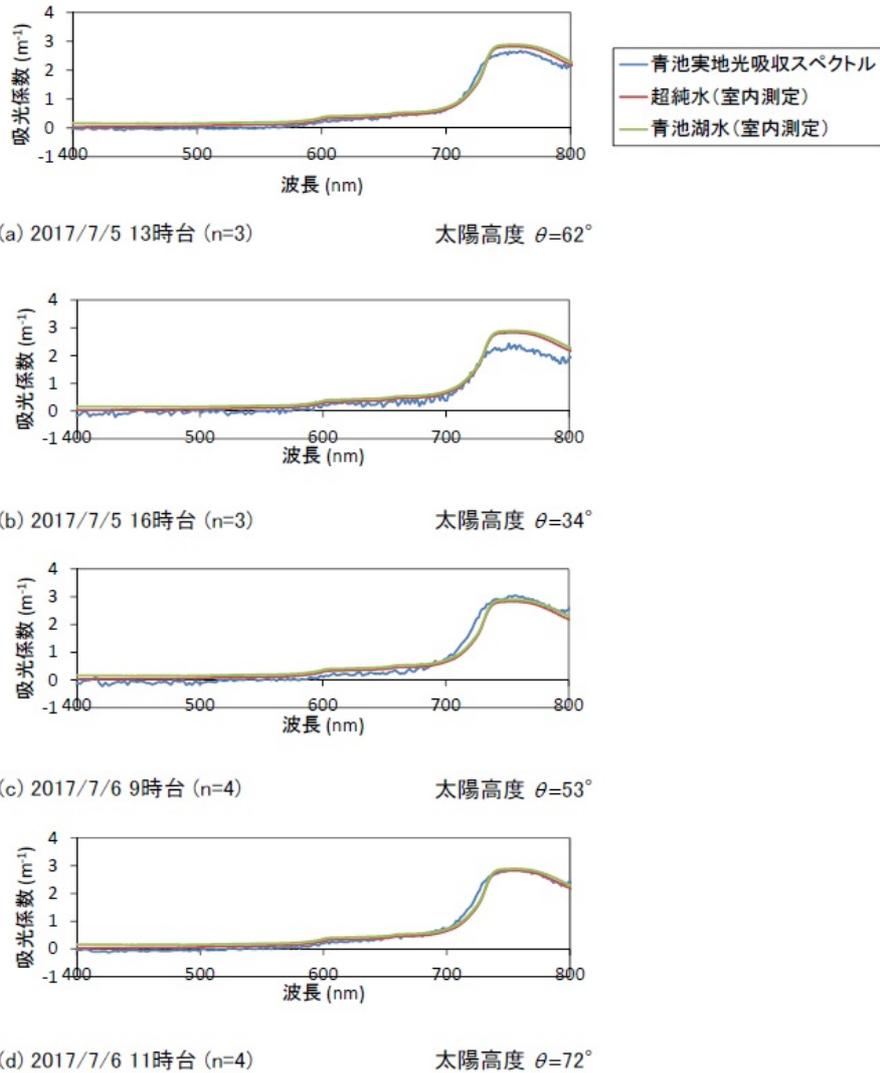


図6 自作した測定装置による2017年7月5日から7月6日にかけての4つの時間帯での青池実地での光吸収スペクトルと室内実験結果の比較

#### 4. 考察

##### 4.1 太陽高度の違いによる観測の有効性

式(1)には「光路長」が対数変換後の除数になっている。一方、技術資料によれば、受光部の光ファイバ先端は、有効受光角が $\pm 20^\circ$ と記述されている。

太陽からの日射は、「直達日射」と「散乱日射」とに分けられ<sup>5),6)</sup>、放射が一方向由来か(前者)、全天由来か(後者)の違いがある。

今回の測定時は、散乱日射の条件であり、厳密には、有効受光角における立体角での強度の積分が必要となる。しかし、その有効受光角が狭いことと受光部が真上を向いていることから、放射光が真上から受光部に達し、その光路長は受光部を沈めた深さに等しいと仮定した(以下、「散乱日射における光路長の仮定」とする)。この場合、フレネルの反射透過係数では、湖面反射光の強度がなくなり、真上か

らの光はすべて湖内に入射する<sup>7),9)</sup>。

図6に示したスペクトルで、太陽高度が高い場合(7月6日11時台)には、吸収係数が室内測定結果と一致している。一方、太陽高度が低い場合(例:7月5日16時台)には、吸収係数が室内測定結果の6割程度まで低下して観測された。

よって、この自作の測定機器で、前述の「散乱日射における光路長の仮定」を行う場合には、太陽高度が高い日時にのみ適用できると結論された。

##### 4.2 太陽光のフラウンホーファー線の影響の相殺

図6の4つの時刻で共通していることは、スペクトルの生データの図4の波長760nm付近の光強度の落ち込みが、演算処理後の、この図6の光吸収スペクトルでは表れていないことである。この波長760nm付近においては、太陽光が大気中の酸素分子で吸

収され、暗線としてのブラウンホーファー線となるものと考えられている。これが青池実地での光吸収スペクトルに表れないのは、太陽光を利用したこの自作の測定機器で得た結果を演算する式 (1) の方法が正しいことを示す。

## 5. 結語

青池における実地の光吸収スペクトル測定のために自作した測定装置について報告した。

暗条件での出力値の減算、550 nm 付近の測定値に対する比率計算により、太陽高度が高いときに、青池実地で得た吸収スペクトルが、その湖水の室内吸収スペクトルと構造および強度が一致し、分光学的に、青池実地における湖内光吸収を明らかにできた。

この自作した測定装置は、太陽高度の高い日時のみ運用可能であるが、得られるデータはスペクトルであり、従来の3色カラーセンサー法と比べて、より詳細な情報を持つ実験結果を与えると考える。

以上に述べたハードおよびソフトウェアからなるこの自作装置は、湖沼の湖水中における光吸収スペクトル測定装置として有用と判断した。

## 文 献

- 1) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する化学分析および光測定による研究. 投稿準備中.
- 2) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第三報): 光測定結果の解析について. 青森県環境保健センター年報, **28**, 56-61, 2017.
- 3) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第四報): 青色呈色のシミュレーション. 投稿準備中.
- 4) 浜松ホトニクス C12880 技術資料.
- 5) 田中丸治哉, 他: 地域環境水文学 シリーズ地域環境工学. 朝倉書店, 東京, 2016.
- 6) 久米 篤, 他監訳: 生物環境物理学の基礎 第2版 (原著: Gaylon S. C. et al.: "An Introduction to Environmental Biophysics", 2nd ed., 1997) , 森北出版, 東京, 2003.
- 7) 谷田貝豊彦: 光学. 朝倉書店, 東京, 2017.
- 8) 山口一郎: 応用光学 応用物理学シリーズ. 応用物理学会編, オーム社, 東京, 1998.
- 9) 鶴田匡夫: 応用光学 I 応用物理工学選書 1. 培風館, 東京, 1990.

## Coloration mechanism of Aoike Pond in Lake Juniko (2nd report): hardware and software of a laboratory-built apparatus for measurements of absorption spectra

Ryuji Hanaishi, Hirohisa Sato

In the course of research on the coloration mechanism of Aoike Pond in Lake Juniko, we report a laboratory-built apparatus for measurements of absorption spectra inside Aoike Pond. The spectrometer allowed us to take underwater light absorption spectrum data on a PC by introducing the light from the underwater photoreceptor part into the "mini spectroscope" through optical fibers and connecting the "mini spectroscope" with the microprocessor board using a LAN cable. We describe the hardware and software of the spectrometer and report its practical applications.

Key words: Spectrometer, Aoike Pond, Absorption spectrum

## 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第三報) : 光測定結果の解析について

花石竜治 大坂直人 柴田めぐみ 野澤直史 佐藤裕久

十二湖青池の青色呈色機構についての続報で、光測定結果に関する報告である。青池湖内の実地と実験室に持ち帰った湖水および超純水について、可視領域の吸光係数のスペクトルが構造・強度ともにほぼ一致し、赤色光領域で吸光係数が高い結果が得られた。また、この水の吸光係数により透過光の青色色調を再現できた。次いで3色カラーセンサーを水深2.5 mまで沈め、赤色光強度比が深さとともに減衰する結果が得られた。その結果を水の吸光係数をもとに解析したところ、得られた赤色素子の分光感度特性のパラメータにより光路長10~20 mでは赤色光がほとんど消失し、透過光は青色およびその半分程度の強度の緑色光となることが示された。以上から、青池における湖底での光の反射を条件とすれば、湖面に入射し透過・湖底での反射・透過・射出を経て観測される光は青色を呈すると推定され、青色呈色の原因は水による赤色光吸収という仮説を支持する結果が得られた。

Key words: Aoike Pond, Lake Juniko, Coloration with blue color, Absorption spectrum

### 1. 緒言

津軽国定公園内を構成する青森県西津軽郡深浦町の十二湖の青池(あおいけ、図1および図2参照)は透き通るような独特の青色を呈する。青池の青色呈色機構については、近年では高松ら<sup>1)</sup>により研究がなされ、そこでは「水の吸収機構を基調とし、レイリー散乱が関与」と結論されている。また、高貝ら<sup>2)</sup>は、青池は極めて透明度が高いと指摘し、総説<sup>3)</sup>で、湖沼の青色呈色の原因と考えられる因子を分類している。

著者らの2016年度の研究<sup>4)</sup>では、青池と、これに隣接する「青くない」鶏頭場ノ池(けとばのいけ)の湖水について化学分析を行い、青池湖水には、着色性の溶質や懸濁物質は極めて希薄という結果が得られた。このことから、青池の青色呈色は、鉍物微粒子由来と推定されている福島県五色沼<sup>2),3),5),6)</sup>や北海道「青い池」<sup>2),5)</sup>とは違って、湖水水質中の懸濁物質以外の要因が関与していると考えられた。

そこで、青池の青色呈色の原因は、水の光吸収によるものと推定し、光測定を青池実地や実験室内で実施し、その結果を解析したので報告する。

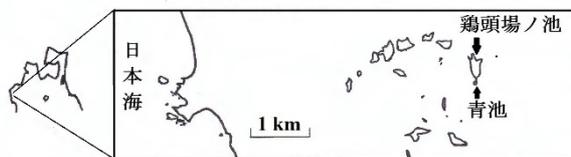


図1 青池等の位置図



図2 2017年5月2日 11:35の青池画像

### 2. 方法

#### 2.1 光吸収スペクトル測定

##### (1) 光吸収スペクトル測定の意義

青池の三上ら<sup>7)</sup>の水質調査で、透明度が全透と報告されていることと、湖底は灰白色を呈する岩石(十二湖凝灰岩と推定<sup>8)-10)</sup>からなると考えられること

から(図2参照)、湖底での反射の効果が大きいと想定された。

よって、湖面に入射した光が、湖内を透過して湖底に達し、反射され、さらに透過して湖面から射出し、観測されると考えられた。

それゆえ、青池の呈色を論じるためには、光の湖内透過の過程での光吸収を考慮することが不可欠であり、そのためには青池湖水の光吸収スペクトルの測定が必要である。

実験室で測定できない青池湖水の光挙動や、周囲の地形、太陽光強度およびそのスペクトルなどの因子が反映される可能性があることから、湖水を持ち帰っての室内実験の他に、青池実地の湖内において測定を実施した。

## (2) 青池実地における光吸収スペクトル測定

測定は花石らが報告<sup>11)</sup>した自作の測定装置により、2017年7月6日11時台に行った。これは、水深48cmと湖面直上での光強度スペクトルを測定できる装置である。青池展望台から全長5.4mの釣り竿でLANケーブルにより装置を垂下し、同時にマイコンボード Arduino Uno とミニ分光器(浜松ホトニクス C12880-MA)を接続した。

## (3) 実験室内での紫外可視吸収スペクトル測定

湖水水質検体の採取は2017年7月6日に行った。採取点を、青池は展望台直下、鶏頭場ノ池は湖岸の北緯40.5623度、東経139.9838度(世界測地系)とし、それらの表層水を検体とした。検体は、現地から実験室内までポリカーボネート瓶に入れて輸送し、採取即日に測定し、併せて超純水を測定した。

分光光度計は、島津製作所 UV-1800 を用いて、波長200nmから900nmまでを、光路長10cmの石英セルで、空の石英セルを対照として測定し、吸光度から吸光係数を求めた。

## 2.2 3色カラーセンサー法による測定

測定は2017年9月1日に行った。

実地での光吸収スペクトル測定は光ファイバの長さの制限から、水深48cmまでであるので、それより深い層(水深2.5mまで)での実地測定をこの3色カラーセンサー法で行い知見を補完した。

花石らが2016年度に報告した自作装置<sup>4)</sup>を改良し、図3に示すようにセンサー下方に金属製の鎖を装着し、水深によらずセンサーが上を向くようにした。マイコンボード Arduino Uno を介したセンサー(浜松ホトニクス S9706)とPCとの通信は、鈴木の方法<sup>12)</sup>に加え Microsoft Excel VBA マクロにより行った<sup>4)</sup>。

青池実地では、項2.1(1)と同様に、展望台から釣り竿とLANケーブルにより、青池湖内にセンサー部分を垂下し、通信を兼ねた。

この方法では、赤緑青(RGB)の3色の色別強度が出力されるが、その強度の絶対値はセンサーの傾きなどの影響を受けるので、この影響を相殺するため、 $R:G:B=R/G:1:B/G$ を10回繰り返し測定し、算術平均を結果とした。

なお、3色カラーセンサー法におけるRGB値は赤緑青色の各色素子の出力値としての実測値から求めたものであり、光吸収スペクトルから算出したRGB値(RGB表色系の値)とは定義が異なる。

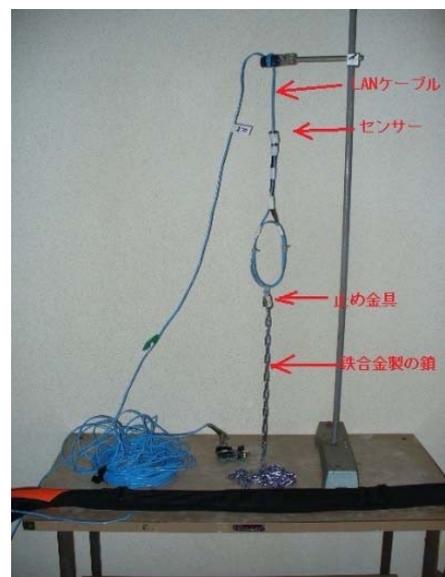


図3 3色カラーセンサー光測定装置

## 3. 結果

### 3.1 光吸収スペクトル測定

#### (1) 青池実地における測定結果

測定時の太陽高度が約72度<sup>13)</sup>であり、湖内での見かけの太陽高度は屈折により約77度と推定できた。ここで空気に対する水の相対屈折率を1.333とした。

測定時は散乱日射<sup>14)</sup>の条件であり、この場合、全天からの放射を考える必要がある。しかし、上方を向いた光ファイバ受光部の有効角度が±20度<sup>11)</sup>であったことから、真上からの放射光が観測されたと考え、水深48cmを光路長として吸光係数(単位:  $m^{-1}$ )を計算した。図4に結果を示し、その下部に波長に対応する色を併記した。

#### (2) 室内における測定結果

図4に室内測定の結果を併記した。

図5に水の吸光係数の文献値<sup>15)</sup>と今回の超純水

の実測値の比較を示した。

前項で述べた実地での測定は自作の測定装置で行ったが、吸収スペクトル算出過程において波長 550 nm 付近の吸光度で強度比を取って対数変換しているため、この因子が不定のバイアスとなった。よって、湖水検体の室内測定を実施し、この不定因子を補い精密なデータが得られた。

### (3) 青池実地と実験室内の各試料との測定結果の比較

図 4 に示したように、青池実地光吸収スペクトルと青池湖水および超純水の室内測定の結果は、表示した可視領域で、ほぼ一致した。よって、青池湖水の可視領域の光吸収は、水のそれと同一と判断した。

青池実地での測定については、項 2.1(1) で述べたとおり、室内測定で得られる結果以外の知見が得られる可能性があるため、その測定を企図した段階で想

定した。しかし、実地で得られた光吸収スペクトルは、花石らが報告<sup>11)</sup>したように、光源として用いた現地の太陽光のブラウンホーファー線も相殺された。また、前述のとおり、実験室内での青池湖水および超純水の測定結果と、ほぼ同一であった。したがって、青池の水質中の光挙動に関して、実験室における測定手段により計測できない要因は存在しないと解釈された。

鶏頭場ノ池湖水については、スペクトルにバイアスが重畳しており、これは前報<sup>4)</sup>で述べた浮遊懸濁物質 (SS) の影響と考えられた。

図 5 で、水の吸光係数文献値<sup>15)</sup>は、積分球を使用した厳密な測定法によったとされる。本論文の結果は、文献値とよく一致したので、分光光度計を用いる方法により評価に耐えうる測定値が得られると考えられた。

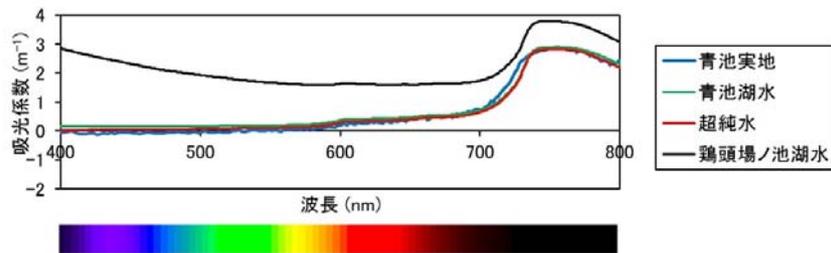


図 4 青池実地での湖内光吸収スペクトルと室内測定で得られた各試料の光吸収スペクトルとの比較

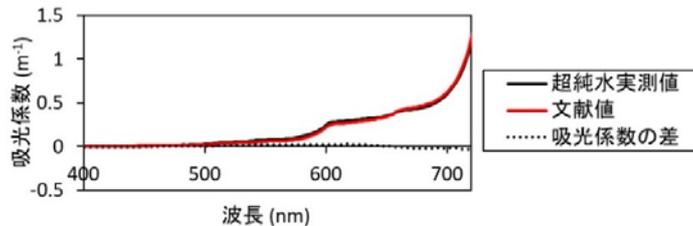


図 5 超純水の光吸収スペクトル実測値と文献値との比較

### 3.2 3色カラーセンサー法による結果

表 1 に結果を示した。水深が深くなるにつれて緑色光強度に対する赤色光強度比が減衰し、青色光強度比は漸増する傾向であった。なお、測定条件は直達日射<sup>14)</sup>であり、太陽高度  $\theta$  は約 55 度<sup>13)</sup>であった。

表 1 3色カラーセンサー法による測定結果 (RGB はそれぞれ赤緑青を示す)

| 水深 (m)  | 0.5   | 1.0   | 1.5   | 2.0   | 2.5   |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 時刻      | 12:27 | 12:25 | 12:22 | 12:17 | 12:14 |
| R/G 実測値 | 0.87  | 0.67  | 0.58  | 0.53  | 0.49  |
| B/G 実測値 | 1.12  | 1.11  | 1.07  | 1.14  | 1.15  |

## 4. 考察

### 4.1 光吸収スペクトル測定

水は赤い色の波長領域で吸光係数が大きく、青池湖水を透過した光の波長成分のうち、強く吸収されない青と緑の色が透過光として観測されることが考えら

れた。

水の吸光係数から、光路長 9 m および 18 m の場合（青池の最大水深が 8.8 m<sup>8)</sup> であり、湖底反射による往復の光路長を考慮）、直達日射の太陽光スペクトル<sup>16)</sup> を仮定して、JIS 法<sup>17),18)</sup> により透過光の色調計算を行った結果を図 6 に示した。

図 6(a) では、画面表示前の sRGB 値<sup>18)</sup> として R=7, G=155, B=179, (b) では R=0, G=98, B=176 であった。なお、PC での取り扱いのため RGB 値を 2<sup>8</sup>-1=255 で規格化して表記した。G (緑) と B (青) の中間色は「シアン」と表記されるが、計算結果 (b) 光路長 18 m では、G が B の約半分であり、「青」と「シアン」の中間の色調であった。

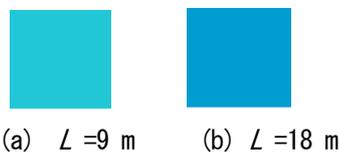


図 6 水の吸光係数から計算した色調 (L : 光路長)

#### 4.2 3 色カラーセンサー法の測定

##### (1) 3 色カラーセンサー法測定結果の解析方法

前項 4.1 で「青池における光吸収=水の光吸収」と判断したので、この見地から、3 色カラーセンサー光測定結果の解析を試みた。

解析の目標を、3 色カラーセンサーの赤色素子の分光感度ピークの長波長側を規定するガウス関数の標準偏差  $a$  の再現とした。

上記のパラメータ  $a$  の統計的推定を行った理由は、その波長領域 (赤色) において水の吸光係数が高いという重要性からである。

赤色素子の分光感度ピークから長波長側以外の色素子の分光感度特性については、技術資料<sup>19)</sup> から表 2 のとおりに設定した。ここで、 $T(R, \lambda)$ ,  $T(G, \lambda)$  および  $T(B, \lambda)$  を各色素子の波長  $\lambda$  における相対感度とした。また図 7 に表 2 の特性を図示した。図 7 で、 $T(R, \lambda)$  については、項 4.2(2) で求めたパラメータを用いて描画した。

解析は非線形最小二乗法 (NLLSQ) によった。実測値 R/G と、G の計算値から、R の実測値による推定値を求め、これをガウス関数の標準偏差 ( $a$ ) を含んだ理論式に当てはめた。

理論式は、直達日射の太陽光スペクトル<sup>16)</sup>、太陽高度、湖面入射のフレネルの反射透過係数<sup>20)-22)</sup> を含んだ。理論式の分母は (相対感度) × (太陽光強度) の波長に関する積分であり、分子は (相対感度) × (水の光吸収による光減衰比) × (太陽光強度) の

波長に関する積分にフレネルの反射透過係数を乗じたものであった。それらの商をパラメータ  $a$  により偏微分して偏導関数を導出し、NLLSQ 計算を Microsoft Excel VBA マクロで行った。

なお、緑色光強度および青色光強度については、表 2 に示した相対分光感度特性から、上述の理論式の方法と同様に計算値を得た。また、B の実測値からの推定値は、R の場合と同様に、実測値の B/G に G の計算値を乗じて求めた。

また、波長 730 nm より長波長は、文献<sup>16)</sup> に水の吸光係数の記載がないので、方法 2.1(2) により、超純水を分光光度計で測定した結果を用いた。

表 2 3 色カラーセンサーの相対分光感度特性の設定 ( $a$  はガウス関数の標準偏差)

| (a) 赤 $T(R, \lambda)$ |                                   |
|-----------------------|-----------------------------------|
| ピーク                   | 615 nm                            |
| 短波長側                  | 直線 (傾き: 0.0246 nm <sup>-1</sup> ) |
| 長波長側                  | ガウス関数 ( $a$ : NLLSQ により決定)        |
| (b) 緑 $T(G, \lambda)$ |                                   |
| ピーク                   | 540 nm                            |
| 短波長側                  | ガウス関数 ( $a=28.0$ nm)              |
| 長波長側                  | 直線 (傾き-0.0167 nm <sup>-1</sup> )  |
| (c) 青 $T(B, \lambda)$ |                                   |
| ピーク                   | 465 nm                            |
| 短波長側                  | 直線 (傾き 0.0118 nm <sup>-1</sup> )  |
| 長波長側                  | 直線 (傾き-0.0133 nm <sup>-1</sup> )  |

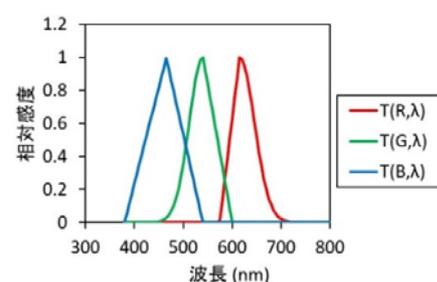


図 7 3 色カラーセンサーの相対分光感度特性設定値

##### (2) 解析・計算結果とその評価

今、NLLSQ 法で求めた標準偏差が技術資料値よりも大きい場合を想定すると、水の吸光係数を固定して計算しているため、水の光吸収以外の赤色素子減衰の要素の存在が求められるという解釈となる。もしそうではなく、求めた標準偏差が技術資料値と同程度以下であれば、水の光吸収により 3 色カラーセンサー法の測定結果が説明されると考えられる。

NLLSQ 法による解析結果として標準偏差  $a = 30.6$  nm (技術資料値<sup>19)</sup> 40.7 nm) を得た。図 8 に実測値の R/G、B/G と、標準偏差  $a$  による R/G の NLLSQ 計算値および B/G の計算値を示した。

今回の 3 色カラーセンサー法の測定結果の解析では、求めた標準偏差  $a$  が技術資料値の 25% 減であり、この方法による測定結果は水の光吸収で説明できると判断した。

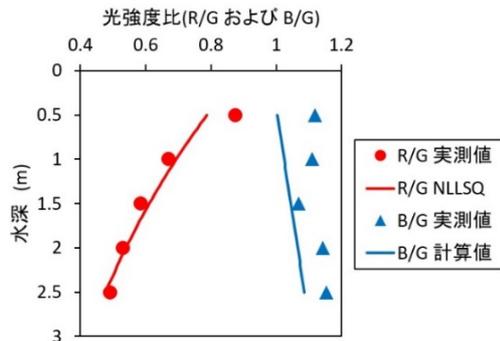


図 8 R/G、B/G の実測値など水深との関係

### (3) 赤色光減衰データ解析結果の統計的考察

3 色カラーセンサー法により得られた赤色光強度の実測値からの推定値と、その NLLSQ 法による計算値について、有意差を検討した。図 9 に赤色光強度とそれぞれの計算値を示し、青色光について併記した。

赤色光強度について、危険率 5% で、原点通過の直線  $y=bx$  ( $x$ : 計算値、 $y$ : 実測値からの推定値) による回帰統計を行い、95% 信頼区間を求めたところ、 $0.92 \leq b \leq 1.10$  であった。この範囲に 1 が含まれたので、実測値からの推定値と計算値の間に有意差はないと判断した。したがって、NLLSQ 法によるパラメータ  $a$  の決定は統計的に妥当と判断した。

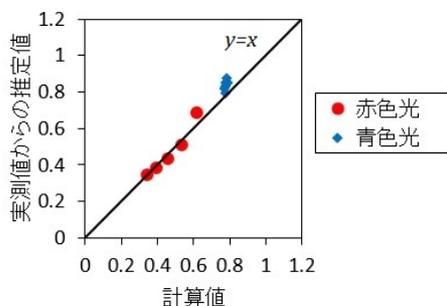


図 9 赤色光および青色光強度の計算値と実測値からの推定値との関係

### (4) 光路長を外挿した場合の呈色の試算

図 10 に、測定日時の条件下の赤色光強度および青

色光強度の実測値からの推定値をプロットし、赤色光強度については表 2 および NLLSQ 法で得たパラメータ  $a$  による計算値を、緑および青色光強度については表 2 のパラメータによる計算値を、それぞれ光路長 20 m まで外挿した結果を示した。光路長が長くなるほど赤色光 R が減衰し、光路長 18 m では、青色光 B が残り、緑色光 G は B の半分程度の強度となった。この試算結果は、項 4.1 の考察を支持するものであった。

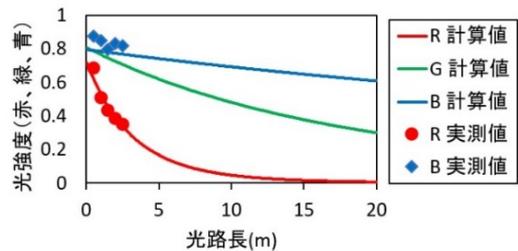


図 10 3 色カラーセンサー法による実測値からの推定値および計算値の光強度と光路長との関係

## 5. 結語

青池の青色呈色機構について、光測定とその結果の解析を行ったところ、次の結果を得た。

- 1) 光吸収スペクトルを、青池実地とその湖水の室内測定によって得た。
- 2) 青池実地のスペクトルと室内測定の青池湖水のスペクトルが一致し、さらにこれらが超純水のスペクトルと一致したことから、実験室で測定できない青池湖水の光挙動や、青池の地形、太陽光スペクトルなどの影響は否定された。
- 3) 水の光吸収スペクトルにより呈色を試算したところ、透過光の青色色調を示すことができた。光路長 18 m (青池の最大水深の 2 倍) では、赤色が消失し、青色光およびその半分の強さで緑色が残った。
- 4) 3 色カラーセンサー法による測定では、実測値としての赤色光強度が、水深が深くなるにつれて減衰する現象が観測された。これにより透過光として青色と緑色が残ると推定された。
- 5) 上記の水深別測定結果について、1) の水の光吸収スペクトルにより解析したところ、その結果を説明できた。光路長 18 m の透過光では、赤色光は消失し、緑色光強度が青色光強度の約半分の強度となると計算された。

以上のとおり、青池実地とその湖水等の光測定結果により、水による赤色光吸収が青池湖内における主要な光減衰の要因と推定された。これは 2016 年度

に提唱した仮説<sup>4)</sup>を支持する結果である。

湖面への太陽光の入射・透過・湖底での反射・透過を経る過程の透過段階で赤色光が吸収され、残った青色光と、その半分の強さの緑色光が湖面から射出して観測者に届き、青色呈色を示すと推定された。

### 謝辞

本研究を進めるに当たり、国立研究開発法人 国立環境研究所 田中 敦 氏より、貴重な御指導をいただきました。ここに記して厚くお礼申し上げます。

### 文献

- 1) 高松信樹, 他: 津軽十二湖青池の呈色機構に関する一考察. 日本陸水学会 要旨集, **73**, 284-284, 2008.
- 2) 高貝慶隆, 他: 五色沼湖沼群の青色要因の調査を目的とする日本各地の青色湖沼との共通点と相違点. 磐梯朝日自然環境保全研究所 福島大学共生システム理工学類 2014 年度報告書, 155-162, 2014.
- 3) 高貝慶隆, 塘 忠顕 編: 裏磐梯五色沼湖沼群の青色色彩とナノコロイド粒子との関わり. 裏磐梯・猪苗代地域の環境学, 福島民報社, 福島, 2016.
- 4) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第一報). 青森県環境保健センター 年報, **27**, 36-52, 2016.
- 5) 高貝慶隆, 他: 湖面の青色色彩に関する五色沼と北海道美瑛町青い池の化学的類似性と相違性について. 共生のシステム: 磐梯朝日遷移プロジェクト, **14**, 80-87.
- 6) 福島大学: 五色沼湖沼群案内.  
<http://www.sss.fukushima-u.ac.jp/bandai-asahi-project/12100501.html>  
(Accessed 11 Feb 2018)
- 7) 三上 一, 他: 青森県の湖沼 (I). 青森県環境保

健センター研究報告, **3**, 50-59, 1992.

- 8) 酒井軍治郎, 他: 十二湖周辺の利水調査報告書. 青森県企画部, 青森, 1962.
- 9) 青森県史編さん自然部会編: 青森県史自然編 地学. 青森県, 青森, 2001.
- 10) 青森県地学教育研究会編著: 青森の自然をたずねて 新訂版 日曜の地学-2. 築地書館, 東京, 2003.
- 11) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第二報): 自作した吸収スペクトル測定装置のハードおよびソフトウェア. 青森県環境保健センター 年報, **28**, 51-55, 2017.
- 12) 鈴木哲哉: ボクの Arduino 工作ノート. ラトルズ, 東京, 2013.
- 13) 赤坂 裕, 木村健一 編: 気象データとその利用 建築環境学 1, 丸善, 東京, 1992.
- 14) 田中丸治哉, 他: 地域環境水文学 シリーズ地域環境工学. 朝倉書店, 東京, 2016.
- 15) Pope, R. M. et al.: Absorption spectrum (380-700 nm) of pure water. II. Integrating cavity measurements. *Applied Optics*, **36**, 8710-8723, 1997.
- 16) 花石竜治, 他: 十二湖青池の呈色機構に関する研究 (第四報): 青色呈色のシミュレーション, 投稿準備中.
- 17) 日本工業規格 JIS Z8701 色の表示方法—XYZ 表色系及び  $X_{10}Y_{10}Z_{10}$  表色系.
- 18) 日本工業規格 JIS X9204 高精細カラーディジタル標準画像(XYZ/SCID).
- 19) 浜松ホトニクス: S9706 技術資料. 浜松ホトニクス, 東京, 2008.
- 20) 鶴田匡夫: 応用光学 I 応用物理工学選書 1. 培風館, 東京, 1990.
- 21) 山口一郎: 応用光学 応用物理学シリーズ. 応用物理学会編, オーム社, 東京, 1998.
- 22) 谷田貝豊彦: 光学. 朝倉書店, 東京, 2017.

## Coloration mechanism of Aoike Pond in Lake Juniko (3rd report): analyses of photometric results

Ryuji Hanaishi, Naoto Osaka, Megumi Shibata, Naofumi Nozawa, Hirohisa Sato

This is a follow-up report on the mechanism of blue coloration of Aoike Pond in Lake Juniko that describes the analysis results of photometry. For pond water samples measured inside Aoike Pond and after brought back to the laboratory and ultrapure water, the visible absorption spectra were almost identical to each other in terms of their structures and intensities, and the absorption coefficients were higher in the red-light region. By utilizing the water absorption coefficient, we successfully reproduced the blue color in the transmitted light. Furthermore, a three-color sensor was launched to Aoike Pond with the depths up to 2.5 m to measure the relative red-light intensity, which was found to decrease with increased depth of the sensor. This result was interpreted on the basis of the water absorption coefficient, indicating that the red light almost disappeared in the optical path length of 10-20 m using available spectral sensitivity parameters of the red light sensor element and that the transmitted light turned to blue light and green light with approximately half the intensity of the blue one. These results suggest that assuming that the light is reflected from the bottom of Aoike Pond, the light observed after entry into the pond surface, downward transmission, reflection, upward transmission, and emission through the surface may exhibit a blue color, and support the hypothesis that the blue coloration is caused by red-light absorption in pond water itself.

Key words: Aoike Pond, Lake Juniko, Coloration with blue color, Absorption spectrum

# 八戸地域における環境大気中インジウム濃度 —ローボリウムエアサンプラー法による濃度調査より—

対馬典子 中谷康次郎<sup>1</sup>

八戸地域における平成 28 年 4 月から 12 月の環境大気中インジウム濃度の期間平均値は、根岸小学校局で 0.048 ng/m<sup>3</sup>、八戸小学校局 0.033 ng/m<sup>3</sup>であった。

両地点における 2 週間平均濃度は、概して秋に比べ、北東系の風が吹く春、夏に高めに推移し、また、春、夏は、根岸小学校局が八戸小学校局よりもやや高めの濃度で推移し、南西系の風が吹く秋から冬は、両局の濃度はほぼ同程度で推移した。

Key words : ICP-MS , environmental air , low volume air sampler , indium , rare metal , heavy metal

## 1. はじめに

レアメタルの一種であるインジウム(以下、In)は、軟らかい銀白色の金属で、閃亜鉛鉱(ZnS)や方鉛鉱(PbS)を精錬するときに得られる副生成物として回収される。閃亜鉛鉱は最も重要な In を含む鉱物であるが、亜鉛鉱石中には ppm オーダーの In が含まれており、1%にも達することがあるといわれている。

In の日本の需要は世界の 85%を占めるが、In から製造される ITO (インジウム・スズ酸化物)は、液晶パネル等のフラットパネルディスプレイの透明電極膜として使用されており 1999 年以降需要が増加した。需要増加に伴い労働者の In 化合物曝露が増加し、世界に先駆け 2003 年にインジウム肺の症例報告がなされ<sup>1)</sup>、その健康影響や生体影響に関する研究が進められている<sup>2)</sup>。その一方、環境大気中のレアメタル濃度の調査報告例はほとんどなく、リスク評価は作業環境に限定されている<sup>3)</sup>。

今回、八戸地域における環境大気中濃度レベル及び季節変動の把握を目的として、平成 28 年 4 月から八戸市の中核市移行までの平成 28 年 12 月の 9 ヶ月間、ローボリウムエアサンプラー法(以下、LV 法)を用い、大気中 In 濃度の定量を行った。また、その他重金属 7 元素の濃度結果についても併せて報告する。

## 2. 調査方法

### 2. 1 調査地点

調査地点(八戸市立根岸小学校局、八戸小学校局)を図 1 に示す。

### 2. 2 対象期間

平成 28 年 4 月から 12 月

### 2. 3 試料採取

分粒装置を取り外したローボリウムエアサンプラー(LV)で 20 L/min にて全粒子(以下、ダスト)を 2 週間連続採取した(20 試料/地点)。

## 3. 分析方法

### 3. 1 器具

酸分解におけるテフロン製器具、検液の定容用 PP 製チューブ、標準溶液調製用 PFA 製メスフラスコ及び ICP-MS 用バイアルについては、アルカリ性洗浄剤で浸け置き洗浄後、(5+95)硝酸に一昼夜以上浸した後、超純水で洗浄、乾燥して使用した。

### 3. 2 試薬

内標準元素として使用したロジウム(Rh)の標準原液は、和光純薬(株)製、原子吸光分析用標準液(1000ppm)を用いた。最終調製濃度は 100 ppb とした。



図 1 調査地点

1 三八地域県民局環境管理部

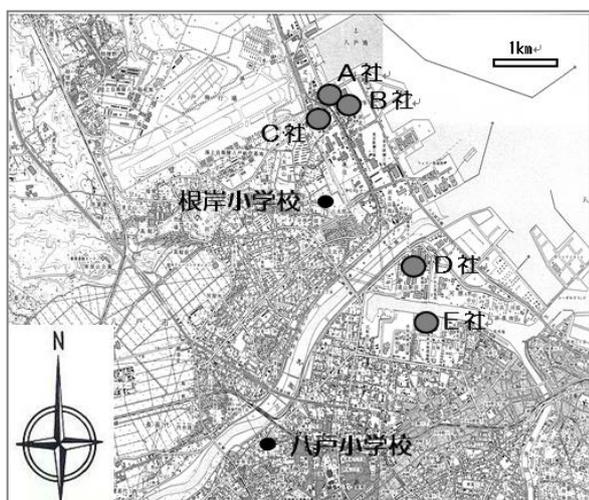


図2 調査地点及び重金属排出主要事業場（大気）

なお、過去に八戸地域での大気モニタリングにおいて、北東系の風が吹く春・夏期に臨海工業地帯方向からの影響と考えられる質量数 115 カウント値の顕著な増加が見られ、ICP-MS 法における定量分析の際の内標準元素として、 $^{115}\text{In}$  から  $^{103}\text{Rh}$  への切り替えを行ったところである<sup>4)</sup>。

また、酸分解及び検液調製に用いた酸類（フッ化水素酸、硝酸、過酸化水素水）は、関東化学(株)製の超高純度試薬を用いた。

### 3. 3 試料前処理

ダスト捕集後の石英繊維ろ紙（東京ダイレック(株)TYPE 2500QAT-UP）について、ろ紙全量（4.7cm 径×1 枚）を圧力容器法（フッ化水素酸 3 ml、硝酸 5 ml、過酸化水素水 1 ml）により全分解、25 ml 定容し、検液とした。

### 3. 4 対象物質及び定量分析

ダスト中の In、As、Pb、Zn、Cd、Ni、Mn、Cr について、誘導結合プラズマ質量分析装置（以下、ICP-MS）法（内標準元素 Rh）により多元素同時定量を行った。測定に用いた ICP-MS は、Agilent 7500cx である。

なお、In の定量は、感度を上げるためにノーガスモードで（In のスペクトル干渉はない）、その他の元素はヘリウムコリジョンモードで行った。

### 3. 5 定量下限値

In 及びその化合物については有害大気汚染物質測定方法マニュアル（平成 26 年 3 月 環境省）において目標定量下限値は示されていないが、測定可能な濃度として  $0.03 \text{ ng/m}^3$  と示されている。

本調査において、分析に用いる測定装置がこの濃度を満足するか否かを判断するため、装置定量下限値（検量線作成時の最低濃度について 5 回連続繰り返し測定した時の標準偏差を 10 倍したものを）を分析毎に算出したところ、概ね  $0.002 \text{ ng/m}^3$  前後であった。

定量分析により得られたダスト中の In 量及び大気吸引量から環境大気中の In 濃度を求め、期間平均値を求めた。

### 3. 6 感度チェック

標準濃度系列の中から 10 ppb の濃度を選び、概ね 10 試料に 1 回程度の頻度で感度の変動を確認した。判定は、検量線作成時の測定値からの変動が 20%以内とした。

### 3. 7 $^{118}\text{Sn}$ による同重体干渉補正

In の定量用質量数 115 には、スズ (Sn) の同位体も存在することから、試験溶液中の Sn の存在が In の測定値に影響（干渉）を与える。試験溶液中で In と Sn が同濃度または In の方が高濃度であれば、その影響は 1%以下であるが、ダスト中には Sn の方が In よりも高濃度に存在するので、大きな正の誤差を与える場合がある<sup>5)</sup>。

よって、In については、次に示すように  $^{115}\text{Sn}$  の同重体干渉補正を行った。

$$115\text{In} = (115\text{C}) - (118\text{Sn}) \times 0.34 / 24.2$$

115In :  $^{115}\text{In}/^{103}\text{Rh}$  のピーク強度比（補正後）

115C :  $^{115}\text{In}/^{103}\text{Rh}$  のピーク強度比（補正前）

118Sn :  $^{118}\text{Sn}/^{103}\text{Rh}$  のピーク強度比

0.34 :  $^{115}\text{Sn}$  の安定同位体存在比 (%)

24.2 :  $^{118}\text{Sn}$  の安定同位体存在比 (%)

## 4 結果と考察

### 4. 1 PRTR 届出データに基づく大気への排出量

#### (1) In 及びその化合物

In 及びその化合物（政令番号 44ID）については平成 20 年 11 月 21 日の特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の改善の促進に関する法律（化管法）政令改正において第二種指定化学物質から第一種指定化学物質に見直され、PRTR 制度の対象化学物質となり、排出量・移動量の把握は平成 22 年 4 月 1 日から開始されている。

平成 28 年度分においては現在、国でとりまとめ中であるが、平成 22～27 年度は本県において排出量及び移動量ともに届出事業者は無かった。

#### (2) As、Pb、Zn、Cd、Ni、Mn、Cr

八戸地域における PRTR 届出データに基づく重金属 7 元素に関する大気中排出主要事業場を図 2 に示す。A 社は金属製品製造業、B 社は非鉄金属製造業、C 及び E 社は船舶製造・修理業、D 社は鉄鋼業である。

また、平成 28 年度 PRTR 届出データに基づく大気への排出量を表 1 に示した。

表 1 PRTR 届出データに基づく大気への排出量  
(平成 28 年度)

#### 4. 2 調査期間中の気象

八戸市は青森県の南東部に位置し、太平洋に面する。調査期間中の風向についてイベント毎の風配図を図 3 に示す。夏はヤマセ（太平洋側で梅雨期から盛夏期にかけて吹く北東風）の影響を受けるといわれているが、概してヤマセの吹く春、夏に北東系、それ以外は南西系の傾向であった。

| 項目            | (kg/year) |      |     |     |     |
|---------------|-----------|------|-----|-----|-----|
|               | A社        | B社   | C社  | D社  | E社  |
| 砒素及びその化合物     |           | 22   |     |     |     |
| 鉛及びその化合物      | 1.5       | 1800 |     |     |     |
| 亜鉛の水溶性化合物     | 56        | 970  |     |     |     |
| カドミウム及びその化合物  |           | 26   |     |     |     |
| ニッケル          |           |      | 0.9 |     | 25  |
| ニッケル化合物       |           |      |     | 170 |     |
| マンガン及びその化合物   |           |      | 19  | 33  | 570 |
| クロム及び三価クロム化合物 |           | 0.3  | 2.0 | 59  | 75  |

#### 4. 3 環境大気中 In 濃度及び季節変動

環境省の有害大気汚染物質モニタリング調査業務報告書【東ブロック】によると<sup>6)</sup>、根岸小学校局における月 1 回の 24 時間調査による年間平均値については、平成 27 年度は 0.11 ng/m<sup>3</sup> (最小 0.026 ~ 最大 0.53)、平成 28 年度は 0.039 ng/m<sup>3</sup> (最小 0.0041 ~ 最大 0.19) であった。

化管法の第二種指定時に行われた環境省の平成 18 年度の実態調査では、国内 5 地点で調査し、検出下限値 0.007 ng/m<sup>3</sup> において全地点で検出された (検出範囲は 0.011 ~ 0.55 ng/m<sup>3</sup>)<sup>7)</sup>。また、国立研究開発法人国立環境研究所 (以下、国環研) では、平成 23 ~ 25 年度の 3 年間にわたり分野横断型提案研究「汎用 IT 製品金属類のライフサイクルに着目した環境排出・動態・影響に関する横断的連携研究」の研究成果を平成 27 年 3 月にとりまとめており、その中で、1980 年から 2010 年の過去 30 年間のアーカイブ試料 (東京都内) を分析した結果、In の大気中濃度の経年変化は、1993 年に 0.089 ng/m<sup>3</sup> を示したものの、1980 年から 2000 年付近まではほぼ横ばいで推移し、以降は国内需要の上昇とは逆に減少傾向を示し、最低濃度は 2010 年の 0.020 ng/m<sup>3</sup> であった<sup>3, 8)</sup>。

今回、LV 法により実施した根岸小学校局、八戸小学校局における In 濃度の推移を図 4 に示した。全体的に秋に比べ、ヤマセの吹く春、夏にかけて高めに推移した。

また、春、夏は、根岸小学校が八戸小学校よりもやや高めの濃度で推移し、秋から冬は、両局の濃度はほぼ同程度で推移した。

In 濃度の期間平均値は、根岸小学校は 0.048 ng/m<sup>3</sup> (最小 0.012 ~ 最大 0.11)、八戸小学校は 0.033 ng/m<sup>3</sup> (最小 0.010 ~ 最大 0.071) であった。

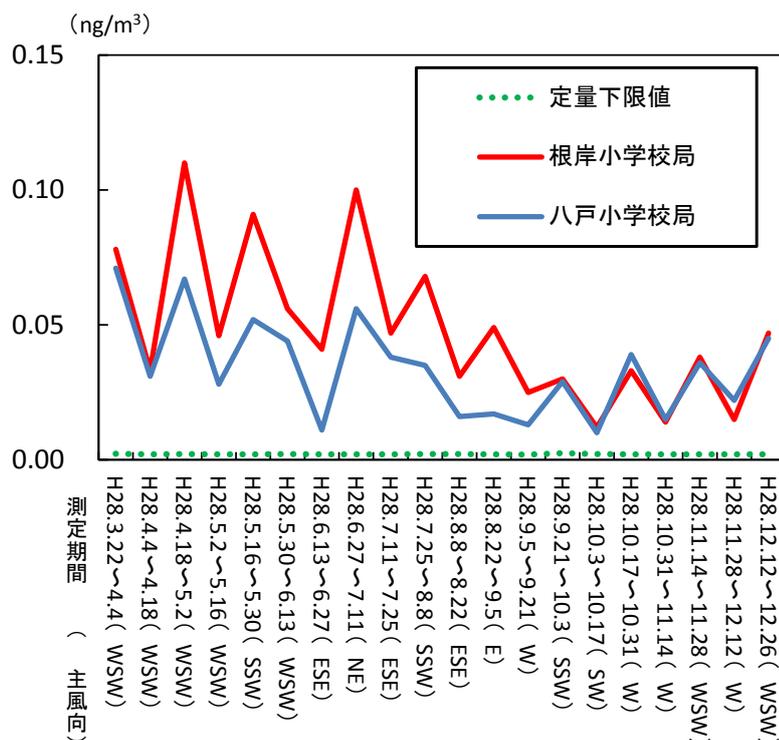


図4 環境大気中In濃度の推移(地点別)

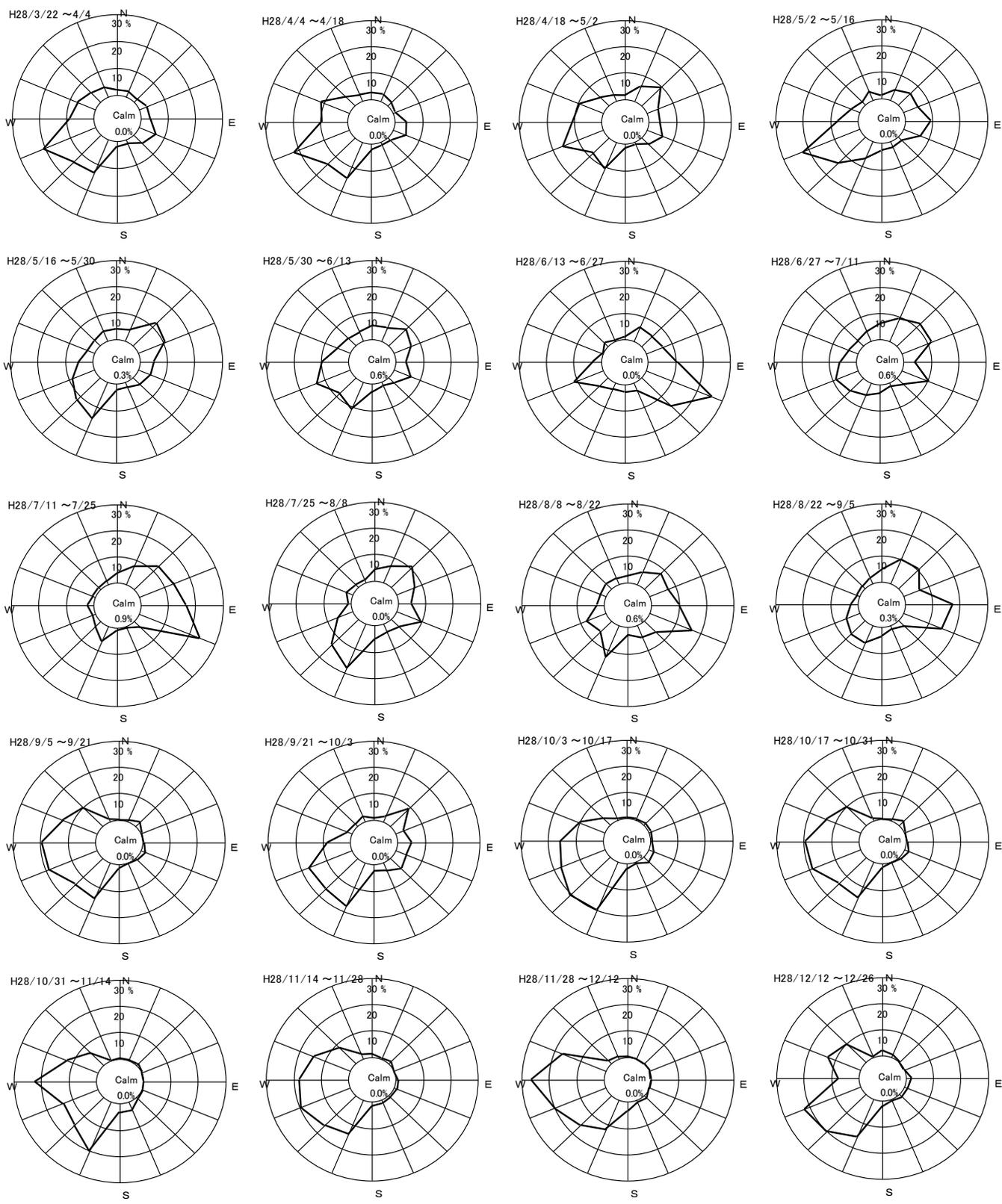


図3 LV法による試料採取時の風配図

(出典：気象庁電子閲覧室データ（八戸特別地域気象観測所）)

国環研によると「In は需要に対して国内生産量が低く、また高価であり需要との差分については積極的なリサイクルで補ったものと考えられ、結果的に一般環境中への廃棄、排出が以前よりも減少した可能性が示された」との報告がなされている。

今後、季節変動や経年変化などを踏まえたモニタリングと併せ、発生源の由来を含めた詳細な考察が必要であると思われる。

#### 4. 4 質量数 115 に占める $^{115}\text{Sn}$ の割合

3.7 でふれた通り、ICP-MS 測定において、質量数 115 のカウント値には Sn の同位体のカウント値 ( $^{118}\text{Sn} \times 0.34/24.2$ ) も含まれるが、質量数 115 (カウント値) に占める  $^{115}\text{Sn}$  (カウント値) の割合 (%) の季節の特徴を見る目的で、その推移を図 5 に示した。6~9 月において八戸小学校局が根岸小学校局よりも  $^{115}\text{Sn}$  の占める割合がやや高めに推移しており、それ以外の期間においてはほぼ同様の割合で推移した。

#### 4. 5 濃度と風向頻度の相関

環境大気中 In 濃度と風向頻度の相関を地点毎に図 6 に示した。ある標本をとって、その相関係数を求めたときに、その相関係数に意味があるのかどうかを決める(相関係数の有意性を検定すること)を「無相関検定」と呼ぶが、相関係数とその値より大きくなると有意とならない値(限界値)については標本数(サンプルサイズ)によって大きく異なる。今回、根岸小学校局及び八戸小学校局についてそれぞれの標本数は 20 個であり、5%有意水準での限界値は 0.444、1%有意水準での限界値は 0.561 である。

根岸小学校局は、NE 系を中心に有意水準 1% で正の相関を示し、ヤマセ (NE 系) の吹く時期に In 濃度が上昇することを示していた。一方、八戸小学校局は、NNW の風向のみに有意水準 1% で正の相関を示し、NNW の風向時に In 濃度が上昇することを示していた。

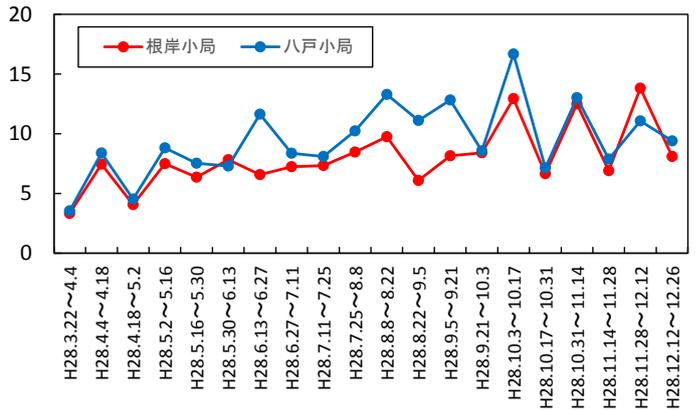


図5 質量数115に占める $^{115}\text{Sn}$ の割合 (%)

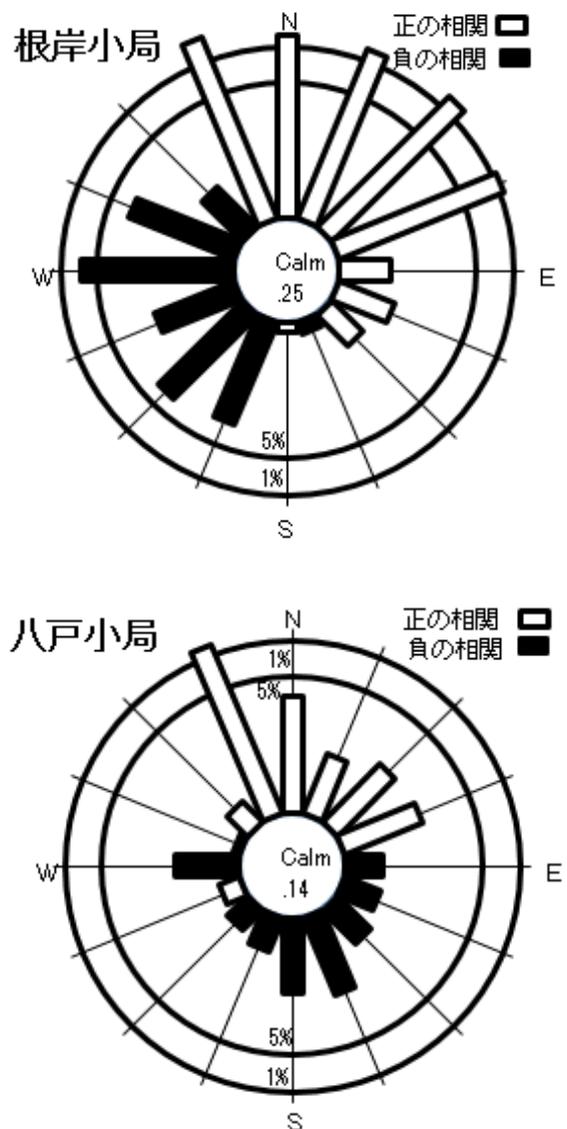


図6 大気中インジウム濃度と風向頻度の相関 (1%有意>0.561、5%有意>0.444)

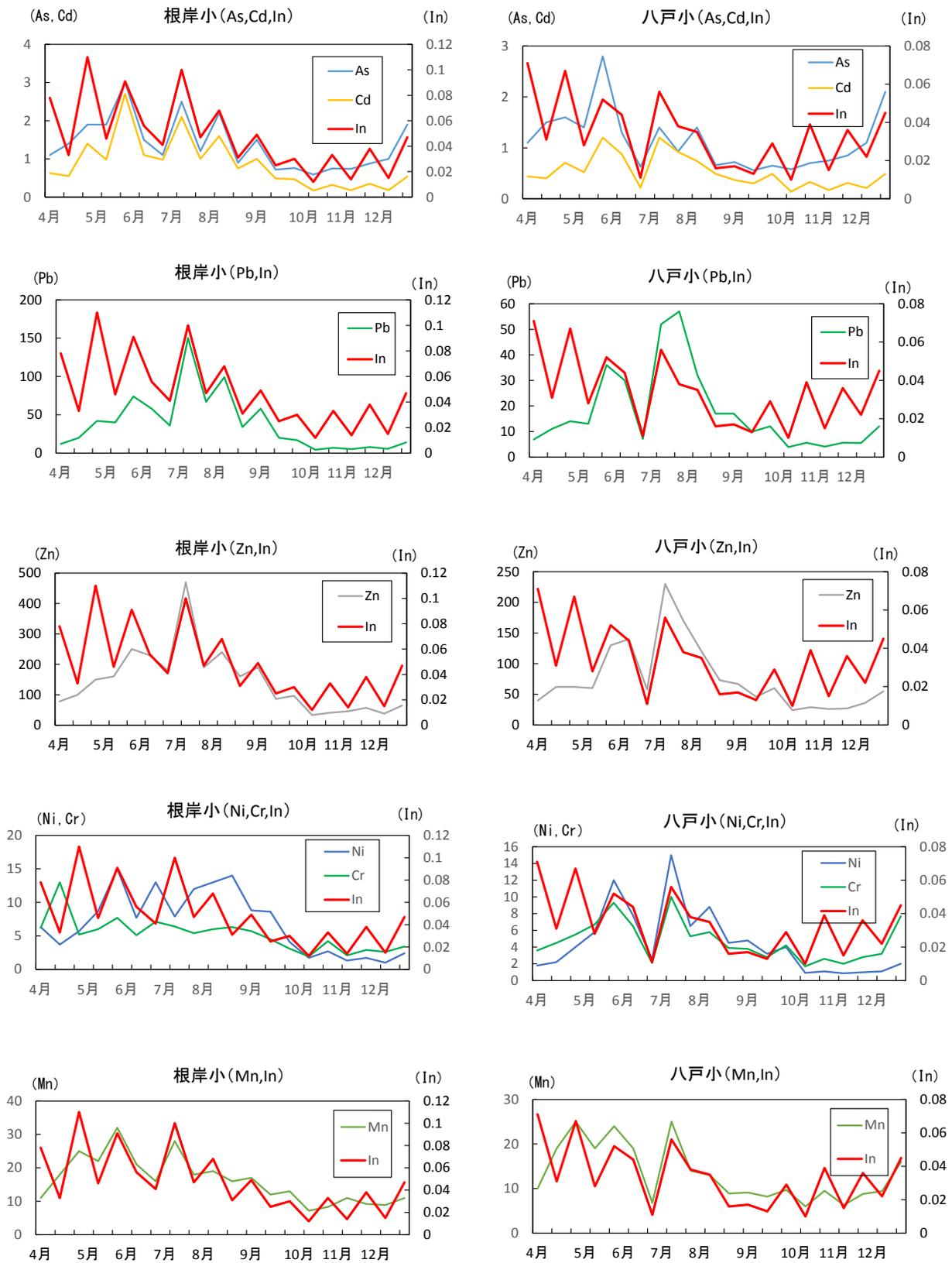


図7 根岸小学校局、八戸小学校局における環境大気中重金属濃度推移  
 (平成28年4~12月)  
 単位:  $\text{ng}/\text{m}^3$

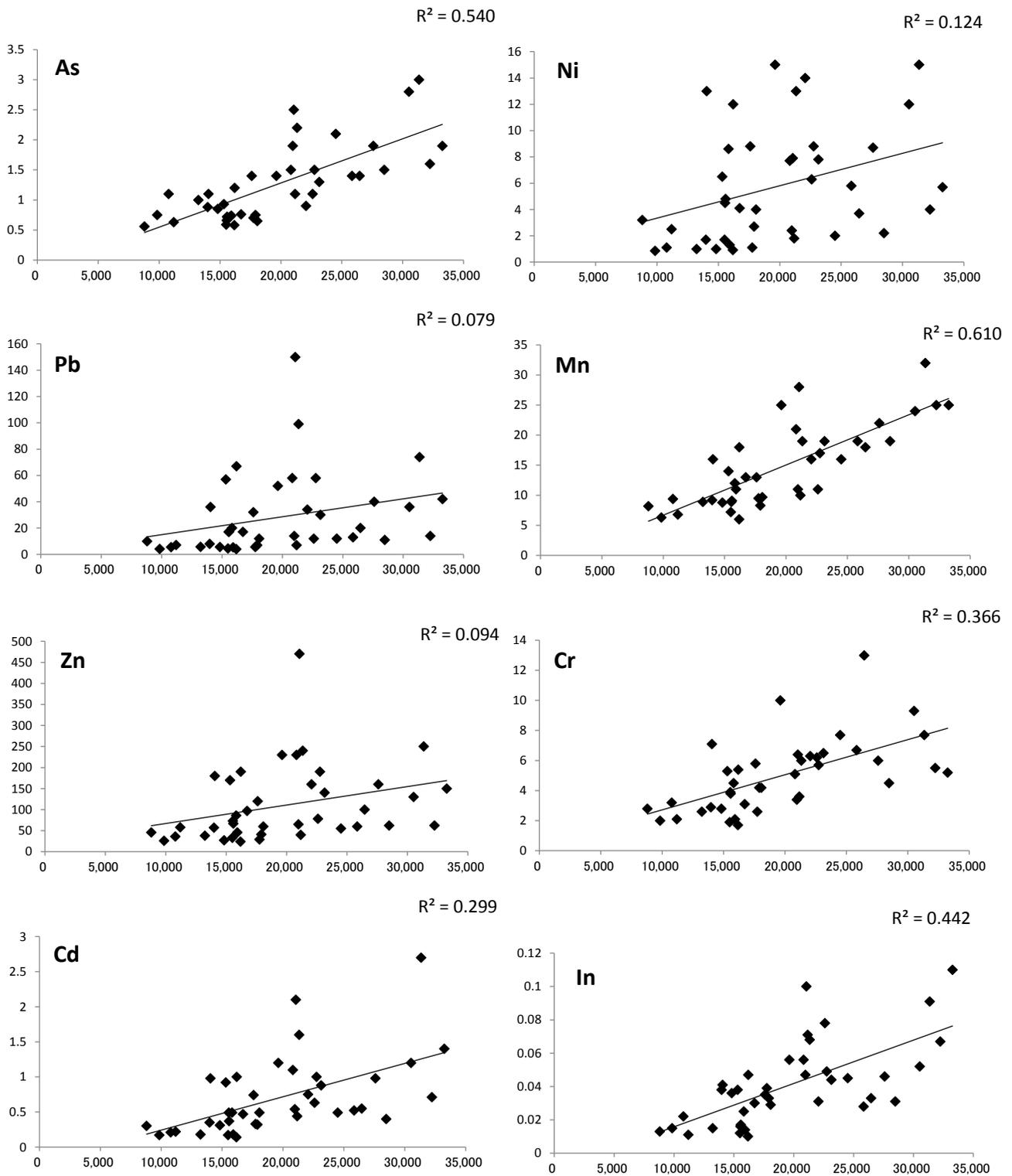


図8 ダスト濃度（横軸： $\text{ng}/\text{m}^3$ ）と重金属濃度（縦軸： $\text{ng}/\text{m}^3$ ）

#### 4. 6 In とその他 7 元素との相関

八戸地域におけるLV法による通年の環境大気中重金属濃度推移 (As、Pb、Zn、Cd、Ni、Mn、Cr) (平成 22 年度) については報告済み<sup>9)</sup>であるが、平成 28 年度 (4~12 月の 9 ヶ月間) においてもほぼ同様に、秋、冬に比べ、ヤマセ時期の春、夏にかけて高めに推移していた (図 7)。

根岸小学校局、八戸小学校局における各元素の期間平均値を表 2 に示した。8 元素すべてにおいて根岸小学校局が八戸小学校局よりも 1.1~2.2 倍高い値であった。

ヒ素及びその化合物の指針値 (6 ng/m<sup>3</sup>)、ニッケル及びその化合物の指針値 (25 ng/m<sup>3</sup>)、マンガン及びその化合物の指針値 (140 ng/m<sup>3</sup>)、鉛及びその化合物の WHO 欧州事務局ガイドライン (500 ng/m<sup>3</sup>) そしてカドミウム及びその化合物の EPA10<sup>-5</sup> リスクレベル基準 (6 ng/m<sup>3</sup>) に照らし合わせても 2 地点とも期間平均値はそのレベルを下回っていた。

5~10 月期には、根岸小学校局については In と As、Pb、Zn、Cd、Mn の濃度推移は連動し、八戸小学校局については In とその他 7 元素間において濃度推移が連動していた。

#### 4. 7 単相関解析

As、Pb、Zn、Cd、Ni、Mn、Cr、In についてそれぞれの単相関解析を行い、表 3 に示した。

Pb、Zn、Cd のそれぞれについての相関係数 (R) は、0.865~0.971 と、決定係数 (R<sup>2</sup>) が 0.6 を超えて高く、ことに Pb、Zn についての R<sup>2</sup> は 0.94 と非常に強い相関を示した。このことは、平成 28 年度 PRTR 届出データ (大気への排出量) より Pb、Zn について大気への主な発生源と推察される A 社 (金属製品製造)、B 社 (非鉄金属製錬) が、調査地点から見て同一方向に位置していることからうかがえる。

Mn と As、Cd 間の R についても、0.833、0.856、そして In と As、Cd、Mn 間の R についても 0.726~0.791 と強い相関があった。

表 2 環境大気中重金属 7 元素の期間平均濃度 (ng/m<sup>3</sup>)

| 項目 | 地点    |       |
|----|-------|-------|
|    | 根岸小局  | 八戸小局  |
| As | 1.4   | 1.1   |
| Pb | 38    | 17    |
| Zn | 140   | 74    |
| Cd | 0.87  | 0.51  |
| Ni | 16    | 13    |
| Mn | 5.2   | 4.7   |
| Cr | 6.9   | 4.4   |
| In | 0.048 | 0.033 |

#### 4. 8 ダスト濃度と重金属濃度

LV で捕集したダスト量から求めた大気中のダスト濃度 (ng/m<sup>3</sup>) とダスト中に含まれる重金属量から求めた大気中の重金属濃度 (ng/m<sup>3</sup>) について平成 28 年 3 月 22 日~12 月 26 日の期間の 40 試料 (サンプル) から得られたデータをプロットし、図 8 に示した。

Mn については両者の相関の R<sup>2</sup> は 0.610 と強い相関があり、気象条件によらずダスト中にほぼ一定割合の Mn が含まれていることを示すものであり、鉄鋼業などの由来とあわせて土壌の舞い上がりなどによるものと推察された。また、As については R<sup>2</sup> は 0.540 と強い相関が、そして In については R<sup>2</sup> は 0.442 と中程度の相関がみられ、Mn より程度は低いものの Pb、Zn、Cd、Ni、Cr と比較すると、気象条件による発生源由来とあわせ周辺土壌などに含まれる舞い上がりなどの寄与も推察された。

#### 4. 9 2 地点における主成分分析

主成分分析とは、互いに相関のある多種類の特性値の情報を少数個の総合的な特性値に集約する手法であるが、今回、平成 28 年 4~12 月における八戸地域のダスト中重金属濃度 (ダスト比) データの特性を指標化する目的で、In を含む 8 項目、40 サンプルについて主成分分析を適用した。その結果を表 4-1~4-3 及び図 9 に示す。

表 3 環境大気中重金属濃度の相関係数 (R)

|    | As    | Pb    | Zn    | Cd    | Ni    | Mn    | Cr    | In    |
|----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| As | 1.000 | 0.629 | 0.615 | 0.801 | 0.509 | 0.833 | 0.604 | 0.726 |
| Pb |       | 1.000 | 0.971 | 0.865 | 0.671 | 0.694 | 0.429 | 0.640 |
| Zn |       |       | 1.000 | 0.872 | 0.722 | 0.742 | 0.501 | 0.644 |
| Cd |       |       |       | 1.000 | 0.760 | 0.856 | 0.555 | 0.791 |
| Ni |       |       |       |       | 1.000 | 0.676 | 0.633 | 0.448 |
| Mn |       |       |       |       |       | 1.000 | 0.703 | 0.742 |
| Cr |       |       |       |       |       |       | 1.000 | 0.447 |
| In |       |       |       |       |       |       |       | 1.000 |

第1主成分（Z1）の寄与率は68.62%、第2主成分（Z2）の寄与率は12.73%でZ2までの累積寄与率は81.35%であった。

Z1については、すべての変量の主成分負荷量が正の符号をもつことから総合的な影響の程度を示す指標（総合的影響指標）と推察された。

Z2については、D社やE社が主な発生源と推察されるMn、Cr、そしてD社が主な発生源と推察されるNiの主成分負荷量が正の符号であり、B社が主な発生源と推察されるAs、Pb、Zn、Cdの主成分負荷量が負の符号であることから発生源に関連する指標と推察された。PRTR上届け出の無いInについてはZ1、Z2ともにAsと似通った主成分負荷量を示したが、このことは発生源からの影響よりも、土壌などに含まれる舞い上がりなどの寄与が大きいものと考えられる。Asについては、平成18年度に発生源と推定された事業者と行政が連携し、排出抑制対策を実施し、平成20年度には八戸地域のAs濃度は全国平均値と同レベルまで低減され、以降、ほぼ横ばいで推移している<sup>10)</sup>。

## 5 まとめ

今回、八戸地域における平成28年4月から12月の期間の根岸小学校局及び八戸小学校局における各々20試料から得られた環境大気中のInおよびその他7元素（重金属）の濃度について考察した結果、以下の知見が得られた。

1) In濃度の期間平均値は、根岸小学校局は0.048 ng/m<sup>3</sup>（最小0.012～最大0.11）、八戸小学校局は0.033 ng/m<sup>3</sup>（最小0.010～最大0.071）であり、東京都内における過去30年間のアーカイブ試料の分析結果である最大濃度0.089 ng/m<sup>3</sup>（1993年）、最低濃度0.020 ng/m<sup>3</sup>（2010年）と比較し、概ね同様のレベルであった。

2) 全体的に秋に比べ、ヤマセの吹く春、夏にかけて高めに推移していた。また、春、夏は、根岸小学校局が八戸小学校局よりもやや高めの濃度で推移していたが、秋から冬にかけてはほぼ同様の濃度で推移していた。

3) ヤマセの吹く時期には、根岸小学校局ではInとAs、Pb、Zn、Cd、Mnの濃度推移が、また、八戸小学校局ではInとその他7元素間において濃度推移が連動しており、また、In濃度と風向頻度との相関から、根岸小学校局は、ヤマセ（NE系）の吹く時期にIn濃度が上昇し、八戸小学校局は、NNWの風向時にIn濃度が上昇することを示し、臨海工業地帯方向からの影響が示唆された。

表4-1 固有値及び寄与率

| 成分     | 第1主成分 | 第2主成分 |
|--------|-------|-------|
|        | Z1    | Z2    |
| 固有値    | 5.49  | 1.018 |
| 寄与率(%) | 68.62 | 12.73 |
| 累積寄与率  | 68.62 | 81.35 |

表4-2 固有ベクトル

| 成分 | 第1主成分 | 第2主成分  |
|----|-------|--------|
|    | Z1    | Z2     |
| As | 0.289 | -0.403 |
| Pb | 0.394 | -0.142 |
| Zn | 0.404 | -0.021 |
| Cd | 0.408 | -0.095 |
| Ni | 0.335 | 0.492  |
| Mn | 0.387 | 0.091  |
| Cr | 0.279 | 0.581  |
| In | 0.302 | -0.469 |

表4-3 主成分負荷量

| 成分 | 第1主成分 | 第2主成分  |
|----|-------|--------|
|    | Z1    | Z2     |
| As | 0.678 | -0.406 |
| Pb | 0.922 | -0.144 |
| Zn | 0.947 | -0.022 |
| Cd | 0.957 | -0.096 |
| Ni | 0.785 | 0.496  |
| Mn | 0.906 | 0.091  |
| Cr | 0.654 | 0.587  |
| In | 0.708 | -0.474 |

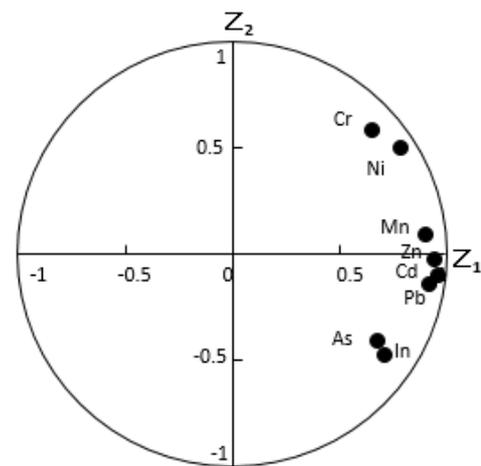


図9 Z1とZ2の負荷量散布図

## 文 献

- 1)中野真規子, 他: 診断後4年経過したインジウム肺の1例. 日本呼吸器学会誌,1(5),381-387,2012.
- 2)田中昭代, 他: インジウムナノ粒子と三酸化インジウムのラット気管内投与による体内動態. 第58回大気環境学会年会講演要旨集,521,平成29年.
- 3)中島大介, 他: 東京都内における大気中インジウム濃度の経年変化. 日本環境変異原学会大会プログラム要旨集,(43),91,2014-10-31.
- 4)対馬典子, 他: 環境大気中重金属類の ICP-MS 法による定量分析に関する留意点—八戸地域の調査における内標準元素についての一考察—. 青森県環境保健センター研究報告,22,56-59,2011.
- 5)有害大気汚染物質測定方法マニュアル 大気粉じん中の重金属類の測定方法(多元素同時測定方法),環境省水・大気環境局大気環境課,平成26年3月.
- 6)平成28年度有害大気汚染物質モニタリング調査業務報告書【東ブロック】,環境省図書館
- 7)インジウム及びその化合物(インジウムとして). 平成19年度版化学物質と環境,環境省環境保健部環境安全課,平成20年3月.
- 8)汎用IT製品中金属類のライフサイクルに着目した環境排出・動態・影響に関する横断連携研究(分野横断型提案研究). 国立環境研究所研究プロジェクト報告第108号,独立行政法人国立環境研究所,平成23~25年度.
- 9)対馬典子, 他: 八戸地域における環境大気中の重金属成分モニタリング. 青森県環境保健センター研究報告,22,11-22,2011.
- 10)工藤香織: 有害大気汚染物質排出抑制対策の取組みについて. 第56回全国大気汚染防止連絡協議会,平成22年11月2日(愛媛県松山市)

Indium Concentration in Environmental Atmosphere in Hachinohe Area  
— Investigation of Pollutant with the Low Volume Air Sampler —

Noriko Tsushima, Kojiro Nakaya

The mean indium concentration in Environmental Atmosphere in Hachinohe area during April and December 2016 was 0.048 ng/m<sup>3</sup> at the Negishi Elementary School site and 0.033 ng/m<sup>3</sup> at the Hachinohe Elementary School site.

At both sites, the 2-week mean concentration generally stayed at higher levels in the spring and summer, when the wind blows from the northeast, than in the fall. In the spring and summer, the concentrations at the Negishi Elementary School site were slightly higher than those at the Hachinohe Elementary School site; from the fall to winter, when the wind blows from the southwest, the concentrations at the Negishi Elementary School site remained at almost the same level as the Hachinohe Elementary School site.

Key words: ICP-MS, environmental air, low volume air sampler, indium, rare metal, heavy metal

2 ノ ー ト

## 下痢性貝毒分析法の妥当性評価

柴田めぐみ 中谷 実 工藤志保<sup>1</sup> 山本明美 佐藤裕久

ホタテガイにおける下痢性貝毒の機器分析法について、オカダ酸群のうち、オカダ酸及びジノフィシストキシン-1について、妥当性評価を行った。その結果、真度及び精度は通知法<sup>1)</sup>の目標値に適合していることを確認した。

Key words : Diarrhetic shellfish poison, Okadaic acid, Dinophysistoxin, Validation

### 1. はじめに

下痢性貝毒とは、渦鞭毛藻のプランクトン (*Dinophysis fortii*, *D. acuminata*等) が産生する毒で、そのプランクトンを摂餌した二枚貝等が毒化し、食物連鎖によってヒトに中毒を引き起こす。主症状は下痢や腹痛で、死亡事例や後遺症はない。また、多数のエーテル結合を分子内に有するポリエーテル化合物で脂溶性の毒であり、化学構造の違いにより3群に分類されており、中でも、オカダ酸群のオカダ酸 (okadaic acid ; OA) とジノフィシストキシン-1 (dinophysistoxin-1 ; DTX1) が強力な下痢原性を示す。オカダ酸群の化学的構造を図1に示した<sup>2)</sup>。

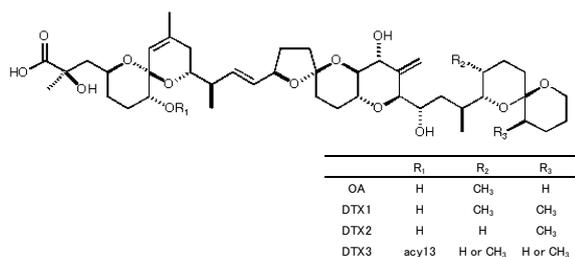


図1 オカダ酸群の化学的構造

わが国の下痢性貝毒検査では、マウス試験法が主に用いられてきたが、国際的に機器分析法への移行が進む中、平成27年3月6日付け厚生労働省通知「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて」<sup>1)</sup>及び「下痢性貝毒（オカダ酸群）の検査について」<sup>3)</sup>により、機器分析法（以下、通知法）が導入されることとなった。

通知法では、OA、DTX1、ジノフィシストキシン-2 (dinophysistoxin-2 ; DTX2) 及びこれらのエステル化合物 (dinophysistoxin-3 ; DTX3) を毒性等価係数によりOA当量に換算したものの総和を下痢性貝毒の規制値として定め、可食部1 kgあたりの毒量が、0.16 mgOA当量と定められた。

今回、通知法に基づき、当所における下痢性貝毒分析法について、抽出方法やLC-MS/MSによる分析条件の検討を実施し、妥当性評価を行ったので、その結果を報告する。

### 2. 方法

#### 2.1 妥当性評価試料

平成28年度にサンプリングした検体の中で、オカダ酸群を含まないことを確認し、冷凍保存していたホタテガイを試料として用いた。試料は、ホタテガイの殻を除いてむき身とした後、水切りし、その全部を細切混和してむき身全体を均一化したものである。

#### 2.2 標準品及び試薬等

標準品：NMIJ（国立研究開発法人 産業技術総合研究所 計量標準総合センター）認証付きOA及びDTX1標準物質をメタノールに溶解し、混合標準原液（200 ng/mL）を調製した。標準物質の認証値（質量濃度）を表1に示した。

表1 標準物質の認証値

| 化合物名 | 認証値<br>質量濃度 (µg/mL) |
|------|---------------------|
| OA   | 0.909               |
| DTX1 | 1.079               |

1 中南地域県民局環境管理部

試薬：関東化学製のLC-MS用メタノール、和光純薬工業製のLC-MS用超純水、残留農薬・PCB用ヘキサン、LC-MS用アセトニトリル、LC-MS用ギ酸、試薬特級水酸化ナトリウム及び塩酸、ギ酸アンモニウムを用いた。

固相抽出カラム：Waters社製のOasis PRIME HLB (200 mg/6 cc) を用いた。

### 2.3 試験溶液の調製方法

通知法を一部変更した方法で調製した。試験溶液の調製方法を図2に示した。

### 2.4 装置及び測定条件

LC-MS/MS装置：Waters社製 ACQUITY UPLC I-Class / Xevo TQ-S micro

カラム：Waters社製 CORTECS UPLC C18  
φ 2.1×100 mm 1.6 μm

注入量：5 μL

流速：0.3 mL/min

カラム温度：40 °C

移動相：A液 0.1 %ギ酸水溶液

B液 アセトニトリル

分析時間：9.0 min

グラジエント条件：

| 時間      | A液   | B液    |
|---------|------|-------|
| 初期条件    | 60 % | 40 %  |
| 2.0 min | 60 % | 40 %  |
| 4.0 min | 0 %  | 100 % |
| 6.0 min | 60 % | 40 %  |

イオン化法：ESI(-)

測定モード：MRM

定量イオン [m/z]：OA 803.4 > 255.0

DTX1 817.4 > 254.9

確認イオン [m/z]：OA 803.4 > 112.9

DTX1 817.4 > 113.0

### 2.5 検量線の作成

OA 及び DTX1 混合標準原液をメタノールで希釈し、0.1 ng/mL～20 ng/mL の検量線用標準溶液を調製した。それぞれを LC-MS/MS に注入し、ピーク面積における絶対検量線法により検量線を作成した。

### 2.6 妥当性評価方法

ブランク試料 2.0 gに、OA及びDTX1 混合標準原液 200 ng/mLを 0.5 mL添加し、自由度 4 以上となるように、分析者 2 名が 2 併行、3 日間の添加回

収試験を実施した。得られた分析結果について、通知法に従い、選択性、真度（回収率）、精度（併行精度及び室内精度）を評価した。各パラメータの目標値は、表 2 に示した。

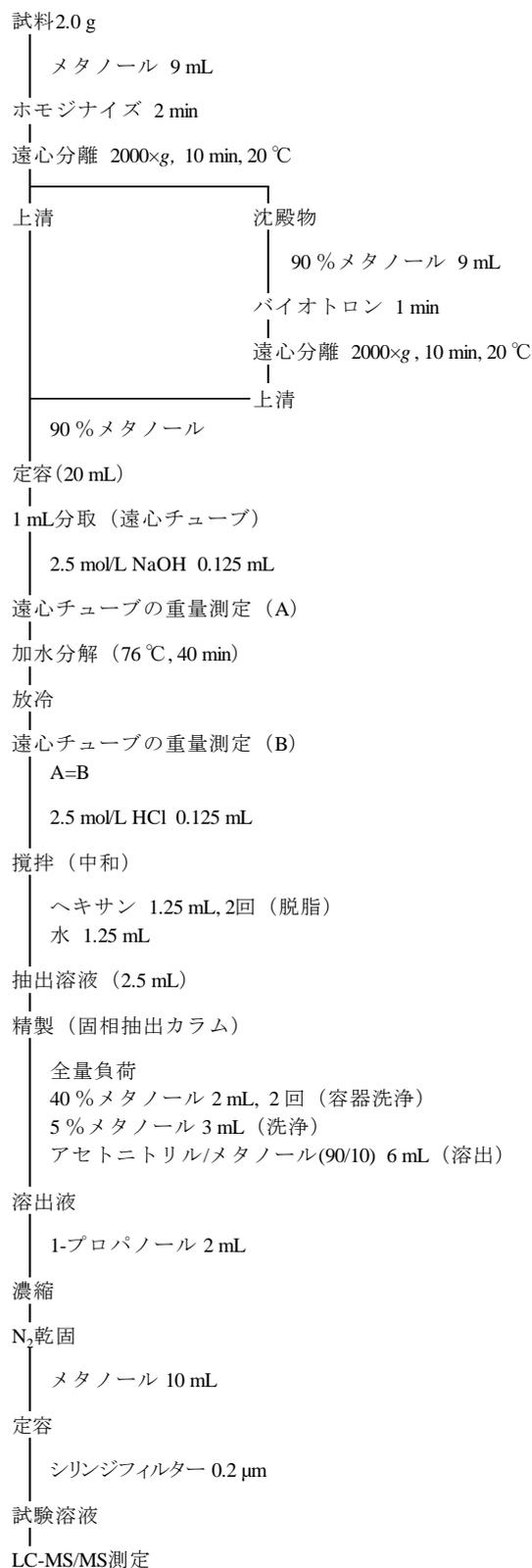


図 2 試験溶液の調製方法

添加濃度は、0.05 mg/kg、定量限界は、0.01 mg/kg とした。なお、DTX2 については、国内産貝類の汚染の可能性が低く、標準品の入手も困難なため、評価対象としなかった。

表 2 真度及び精度の目標値

| 化合物名 | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) |
|------|--------|-------------|-------------|
| OA   | 70~120 | 15 ≥        | 20 ≥        |
| DTX1 | 70~120 | 15 ≥        | 20 ≥        |

### 3. 結果及び考察

#### 3.1 選択性

ブランク試料を通知法に従って分析した結果、定量限界 0.01 mg/kg に相当する濃度の標準溶液 (0.1 ng/mL) から得られるピーク面積 (または高さ) の 1/10 を超える妨害ピークは見られなかった。0.1 ng/mL 標準溶液及びブランク試料の MRM クロマトグラムを図 3 に示した。

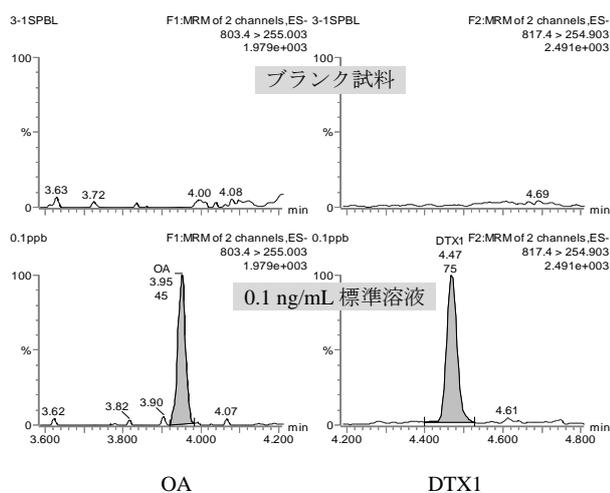


図 3 ブランク試料 0.1 ng/mL 及び標準溶液のクロマトグラム

#### 3.2 真度 (回収率)

真度及び精度について、妥当性評価結果を表 3 に示した。OA については、回収率 91.5 %、DTX1 については、回収率 85.1 % となり、共に目標値 70 % ~ 120 % を満たしていた。

#### 3.3 精度

併行精度及び室内精度を算出した結果、OA については、併行精度 2.8 %、室内精度 3.4 %、DTX1 については、併行精度 3.6 %、室内精度 4.2 % となり

共に目標値を満たしていた。

表 3 妥当性評価結果

| 化合物名 | 真度 (%) | 併行精度 (RSD%) | 室内精度 (RSD%) |
|------|--------|-------------|-------------|
| OA   | 91.5   | 2.8         | 3.4         |
| DTX1 | 85.1   | 3.6         | 4.2         |

試行回数 n=12

### 4. まとめ

LC-MS/MS による下痢性貝毒分析法の妥当性評価を行った結果、すべてのパラメータで通知法の目標値を満たし、妥当性が確認された。今後は、より高精度な分析法の確立のため、固相抽出カラムや溶出液濃度等の条件検討を行っていく。

### 文 献

- 1) 厚生労働省医薬食品局安全部長通知：「麻痺性貝毒等により毒化した貝類の取扱いについて」 (平成27年3月6日付け食安発0306第1号)
- 2) 鈴木敏之：「貝毒の規制値、監視体制と機器分析」 (食品衛生学雑誌、57(5)、117-132、2016)
- 3) 厚生労働省医薬食品局安全部基準審査課長、厚生労働省医薬食品局安全部監視安全課長通知：「下痢性貝毒 (オカダ酸群) の検査について」 (平成27年3月6日付け食安基発第0306第3号、食安監発0306第1号)

## IV 他誌投稿・学会等発表抄録

**二枚貝中の記憶喪失性貝毒分析法の妥当性確認**

山本明美 工藤志保<sup>1</sup> 中谷 実 花石竜治 増田幸保 木村淳子 櫻庭麻恵<sup>1</sup> 柴田めぐみ 工藤 翔<sup>2</sup> 五田市健夫<sup>3</sup> 佐藤裕久 村上淳子 古川章子：食品衛生学雑誌 第 58 巻 第 6 号 p. 281-287 (2017)

記憶喪失性貝毒は、日本では規制対象となっていないが EU などでは重要視されている貝毒のひとつである。筆者らは Hatfield らの方法等を参考に HPLC-UV による記憶喪失性貝毒の分析法を構築し、組成型認証標準物質を用いて性能を評価した。17 個の分析結果から推定された真度は 97.5%、室内精度は RSD として 1.5% で HorRat (r) 値は 0.16 であった。これらの推定値は Codex Procedural Manual に収載されたガイドラインに示されている分析法の性能規準値を満たしていた。また、組成型認証標準物質を用いて内部品質管理を実施した。処置限界は分析法の性能評価結果から設定した。大部分の結果が処置限界内となり、妥当性確認された分析法の性能から予測される分析値の品質が維持されていることを確認した。

本分析法を実際に使用する目的は、ホタテガイ中の記憶喪失性貝毒が 4.6 mg/kg 未満の確認であることから、この条件での適用性を、ホタテガイへの添加試料を用いて確認した。

- 1 中南地域県民局環境管理部
- 2 原子力センター
- 3 環境生活部環境保全課

**スイセンの品種による有毒成分の違いおよび調理法による残留量の違い**

山本明美、柴田めぐみ、佐藤裕久：第 54 回全国衛生化学技術協議会年会，2017.11.21-22（奈良市）

平成 28 年および 29 年に青森県でも発生したスイセンによる食中毒事例でリコリンが検出されなかったことから、品種による有毒成分の違いを検討した。その結果、品種により成分および毒量が異なり食中毒症状も異なることが示唆された。

また、スイセンの葉はニラと誤認されるため油いためや味噌汁等により残留量に違いがあるかを検討したところ、ゆで汁を廃棄するおひたしの場合には残留量は少なく、味噌汁は汁に有毒成分がかなり移行した。

**麻痺性貝毒試験における代替標準品に係る比較試験**

中谷 実、山本明美、工藤志保<sup>1</sup>、増田幸保、木村淳子、大城直雅<sup>2</sup>、鈴木達也<sup>3</sup>、高坂典子<sup>3</sup>（1 中南地域県民局環境管理部、2 国立医薬品食品衛生研究所、3 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所）：第 54 回全国衛生化学技術協議会年会，2017.11.21-22（奈良市）

AOAC959.08 による麻痺性貝毒試験法は、化学兵器禁止法に規定される特定物質を標準物質としてマウスの感度を確認し、毒量を記述する。規制対象外となる脱カルバモイル体を用いた試験法が AOAC959.08 の代替として使用可能か評価するため、同一施設および同一条件下で同標準品による試験法について検討した。

**白神山地山麓十二湖青池の呈色機構に関する研究**

花石竜治、野澤直史、佐藤裕久、工藤志保（中南地域県民局環境管理部）：日本陸水学会第 82 回大会，2017.9.28-10.1（秋田県仙北市）

白神山地山麓の十二湖青池の呈色機構についての研究内容を報告した。実施した調査は、化学分析、青池湖水の吸収スペクトル測定、青池実地における吸収スペクトル測定および 3 色カラーセンサーによる光測定であった。2016 年度に「青池の

青色呈色は水そのものの赤色光吸収による」という仮説を提唱したところであるが、本発表で公表した測定結果および水の吸光係数を用いたその結果の解析ならびに青色呈色の試算結果は、仮説を支持するものであった。

編 集 者  
工藤真哉 蝦名 章  
小田桐和枝 佐藤裕久 野澤直史  
中谷 実 工藤香織 竹内千晴 武差愛美

---

## 青森県環境保健センター年報

(平成 29 年度)  
平成 30 年 3 月発行

編 集 青森県環境保健センター

発 行 〒030-8566 青森市東造道 1-1-1

電 話(017)736-5411 FAX(017)736-5419

メールアドレス KANKYOSENTA@pref.aomori.lg.jp

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

---