

岡山県環境保健センター年報  
第45号  
(令和2年度)

Annual Report  
of  
Okayama Prefectural Institute  
for Environmental Science and Public Health

No.45

2021



# ま え が き

岡山県環境保健センターは、県民の生活環境の保全及び健康の保持増進に資するため、昭和51（1976）年4月に、旧公害防止センターと旧衛生研究所を発展的に統合して設置されました。環境保全及び保健衛生に関する調査研究、試験検査、研修指導及び情報の提供等を行い、県民の安全・安心を科学的・技術的側面から保障する総合的な試験研究機関としての役割を担っております。

例えば令和2年度は、環境分野では、12月中旬に発生した高病原性鳥インフルエンザへの対応として、防疫措置を実施した農場の周辺河川等における逆性石けんの濃度等の水質検査を行いました。また、保健分野では、国内外で流行した新型コロナウイルス感染症に対する検査を的確に実施するとともに、研修指導を通じ県内の検査体制の構築を推進しました。さらに、感染症情報センターが発表する週報等にて重点的に取り上げ、周知を図りました。このように、当センターにおいては、県民の安全・安心が脅かされる状況に適切に対応すべく、検査・監視体制の強化や、県民・関係機関への情報提供に努めてきたところです。

本年報においては、令和元年度から3か年計画で取り組んでいる調査研究の2年目の結果や、試験検査や監視測定から得られた情報を取りまとめて掲載いたしました。

御高覧いただき、御意見をお寄せいただけましたならば幸いです。今後とも、当センターの活動につきまして、より一層の御支援を賜りますようお願いいたします。

令和4年3月

岡山県環境保健センター

所 長 望 月 靖



# 目 次

## 調査研究・資料

### 大気科

#### 【資 料】

- 1 パッシブサンプラーを用いた大気中の揮発性有機化合物（VOCs）の測定について  
－キャニスター法との比較－  
赤木正章, 野村 茂, 西村佳恵, 山田克明, 平岡諒也, 林 隆義 . . . . . 1

### 水質科

#### 【調査研究】

- 2 事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
－LC-MS/MSによる河川水中のネオニコチノイド系農薬一斉分析法の検討－  
橋本清美, 大月史彦, 吉岡敏行 . . . . . 5

### 放射能科

#### 【資 料】

- 3 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査－野菜・精米－（第3報）  
中野拓也, 蜂谷博郎, 加藤大貴, 小川 登, 信森達也, 三宅和彰, 森上嘉亮 . . . . . 13
- 4 人形峠天王地区における河川水中の放射性核種濃度の経年変化とラドン濃度調査  
森上嘉亮, 中野拓也, 三宅和彰, 小川 登 . . . . . 19

### 細菌科

#### 【調査研究】

- 5 感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究（令和2年度）  
狩屋英明, 河合央博, 岡田達郎, 中嶋 洋 . . . . . 25

#### 【資 料】

- 6 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査（令和2年度）  
岡田達郎, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明 . . . . . 29

### ウイルス科

#### 【調査研究】

- 7 2018/19年シーズンに岡山県で初めて主流型となったロタウイルスA G8及びG9型の遺伝子解析  
松岡保博, 石井 学, 長尾和彦, 森重李南, 濱野雅子, 木田浩司 . . . . . 35

#### 【資 料】

- 8 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析（2019/20年シーズン）  
石井 学, 船橋圭輔, 長尾和彦, 松岡保博, 岡本尚子, 濱野雅子, 森重李南, 木田浩司,  
北村雅美, 村上由美, 森川大地 . . . . . 43
- 9 令和元年度感染症流行予測調査（ポリオ感染源調査）  
船橋圭輔, 松岡保博, 石井 学, 長尾和彦, 岡本尚子, 濱野雅子, 木田浩司, 森川大地 . . . . . 47

## 衛生化学科

### 【調査研究】

- 10 LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質に関する一斉分析法の検討  
難波順子, 浦山豊弘, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子 …… 51
- 11 LC-MS/MSを用いたはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質に関する一斉分析法の検討  
浦山豊弘, 難波順子, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子 …… 57

### 【資料】

- 12 LC-MS/MSを用いた牛の肝臓中のアミノグリコシド系抗生物質に関する一斉分析法の検討  
難波順子, 浦山豊弘, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子 …… 63
- 13 岡山県のアレルギー物質を含む加工食品の検査結果について（令和元年度～令和2年度）  
金子英史, 繁田典子, 浦山豊弘, 難波順子, 佐藤 淳 …… 67

## 感染症情報センター

### 【資料】

- 14 岡山県における感染症の患者発生状況について（2020年）  
北村雅美, 木村英治, 望月 靖 …… 73
- 15 岡山県における新型コロナウイルス感染症の発生状況について（2020年）  
北村雅美, 木村英治, 望月 靖 …… 95

他誌発表論文抄録 …… 99

報告書等 …… 101

学会発表 …… 111

【資 料】

# パッシブサンプラーを用いた大気中の揮発性有機化合物 (VOCs) の測定について － キャニスター法との比較 －

Atmospheric Volatile Organic Compounds Measurement by Passive Sampler  
－ Comparison with Canister Method －

赤木正章, 野村 茂, 西村佳恵, 山田克明, 平岡諒也, 林 隆義  
AKAKI Masaaki, NOMURA Shigeru, NISHIMURA Yoshie, YAMADA Katsuaki,  
HIRAOKA Ryouya, HAYASHI Takayoshi

## 要 旨

災害時等に簡便に大気環境を測定するため、パッシブサンプラーを用いて、環境大気を採取し、ベンゼン等の14物質の揮発性有機化合物を測定した。キャニスターを用いた測定結果と比較したところ、トルエン、ベンゼン、*m*-キシレン、*p*-キシレン、*o*-キシレン及びエチルベンゼンの6物質は相関が得られた。また、1,2,4-トリメチルベンゼン、1,3,5-トリメチルベンゼン、スチレン、トリクロロエチレン、1,2-ジクロロエタン及びテトラクロロエチレンは検出できたが相関は確認できなかった。1,1,2-トリクロロエタンは、環境中の濃度が低いため検出できなかった。なお、ジクロロメタンは、試料採取後の保管時に汚染があったため相関等の検討はしなかった。

[キーワード：パッシブサンプラー，揮発性有機化合物]

[Key words : Passive Sampler, Volatile Organic Compounds]

## 1 はじめに

パッシブサンプラーは、ポンプや流量計を必要とせず一定時間大気環境に曝すだけで環境中の化学物質を吸着するサンプラーであり、通常は室内濃度や作業環境測定に用いられている。これを大気環境の測定に用いることができれば、災害時等の電源がない場合でも、キャニスターのように事前に煩雑な準備をする必要もなく、迅速かつ容易に多数の地点でサンプリングができるため有用であると考えた。そこで、毎月実施している大気汚染防止法第22条第1項に基づく有害大気汚染物質調査において、有害大気汚染物質等測定方法マニュアル（以下「測定方法マニュアル」という。）<sup>1)</sup>で定められているキャニスターでの大気試料採取に加えて、パッシブサンプラーでも同時に試料採取し、相関を調べ、活用の可能性について検討した。

## 2 調査方法

### 2.1 調査地点・期間

令和2年4月から令和3年3月まで毎月1回、有害大気汚染物質モニタリング調査の実施日に、県下の大気測定局の屋上で24時間、パッシブサンプラーとキャニスターを用いて同時にサンプリングした。なお、パッシブ

サンプラーは水に濡れると採取に支障があるため、図1のようにプラスチック製ロート（口径75 mm，足径10 mm，足長58 mm），島津GC用セプタム，ビニル被覆針金（径1.7 mm，長さ240 mm），シリコンチューブ（内径5 mm，外径9 mm，長さ20 mmにカット）及び結束バンド（幅2.5 mm，厚さ1.0 mm，長さ100 mm）を用いて雨よけを作成しサンプリングした。

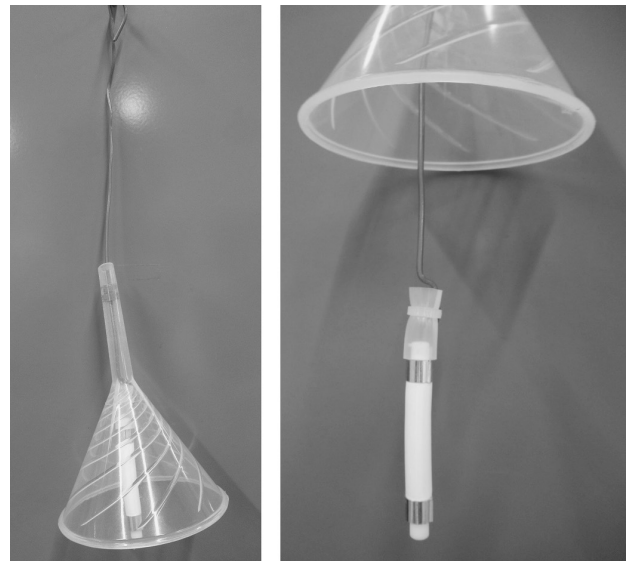


図1 自作の雨よけ（右は拡大図）

表1 選定したVOCsの一覧

	物質名	毒性重み 付け係数 (A)	PRTR届出排出量 (大気) kg/年 (B)	毒性重み付け 排出量 (A) × (B)
1	トルエン	3.8	1,520,558	5,778,120
2	ベンゼン	330	10,704	3,532,320
3	ジクロロメタン	6.7	434,523	2,911,304
4,5,6	キシレン(異性体を含む)	1.1	904,748	995,223
7	1,2,4-トリメチルベンゼン	17	47,379	805,443
8	1,1,2-トリクロロエタン	1,600	340	544,000
9	1,3,5-トリメチルベンゼン	17	20,261	344,437
10	スチレン	3.8	54,886	208,567
11	トリクロロエチレン	5.0	19,300	96,500
12	1,2-ジクロロエタン	630	65	40,950
13	エチルベンゼン	0.045	437,223	19,675
14	テトラクロロエチレン	5.0	1,532	7,660

注 PRTR届出排出量は平成29年度の値

## 2.2 測定対象物質の選定

岡山県のPRTR対象物質の大気排出量と、化合物の毒性を考慮して選定した。具体的には、大気放出量と毒性係数を乗じて順位付けし、キャニスター及びパッシブサンプラーで測定できる可能性のある揮発性有機化合物(以下「VOCs」という。)を表1のとおり14物質(キシレン異性体を含む。)を選定した。なお、PRTRの大気放出量は平成29年度のデータ<sup>2)</sup>、毒性係数はエコケミストリー研究会<sup>3)</sup>の値を用いた。

## 2.3 試薬等

パッシブサンプラー：パッシブガスチューブ(柴田科学製)

作業環境測定用二硫化炭素(富士フィルム和光純薬工業製)

標準液：VOCs混合標準原液(45種混合各1 mg/mL二硫化炭素溶液)(関東化学製)

1 mg/mL 1,1,2-トリクロロエタンメタノール溶液(関東化学製)

内部標準：1 mg/mLトルエン-d8メタノール溶液(関東化学製)

## 2.4 装置及び条件

装置：ガスクロマトグラフ質量分析計(GC-MS)

島津製作所製GCMS-QP2020 Ultra

カラム：GLサイエンス製 InertCap Pure-WAX

60 m × 0.25 mm, 膜厚：0.25 μm

カラム温度：40℃(5 min)→10℃/min→230℃(3 min)

気化室温度：220℃

イオン源温度：200℃

インターフェイス温度：220℃

キャリアーガス：ヘリウム 流速45 cm/s(線速度一定モード)

注入量：1 μL

試料注入法：スプリット(スプリット比=1:20)

スキャン範囲：50~170 m/z

モニターイオンは表2のとおり

表2 モニターイオン

	測定対象物質	定量イオン	定性イオン
1	トルエン	91	92
2	ベンゼン	78	77
3	ジクロロメタン	84	86
4	<i>m</i> -キシレン	91	106
5	<i>p</i> -キシレン	91	106
6	<i>o</i> -キシレン	91	106
7	1,2,4-トリメチルベンゼン	105	120
8	1,1,2-トリクロロエタン	99	85
9	1,3,5-トリメチルベンゼン	105	120
10	スチレン	104	103
11	トリクロロエチレン	130	132
12	1,2-ジクロロエタン	62	64
13	エチルベンゼン	91	106
14	テトラクロロエチレン	166	164
IS	トルエン-d8	98	-

## 2.5 前処理及び測定方法

パッシブサンプラーはその取扱説明書<sup>4)</sup>に準拠し、サンプラー内の活性炭全量を1.5 mLバイアルに入れ、1 μg/mLトルエン-d8二硫化炭素溶液1 mLを加え、時々振り混ぜて2時間後、上澄みを試験液として、GC-MSで分析した。キャニスターは、測定方法マニュアル<sup>1)</sup>の第1編第2部第1章の容器採取-ガスクロマトグラフ質量分析計(多成分同時測定方法)によりGC-MSで分析した。*m*-キシレン及び*p*-キシレンは、キャニスターのGC-MSではピークが重なり分離不可能なため、*m*-キシレン及び*p*-キシレンの和の1/2として計算した。

## 2.6 標準液の調製

VOCs混合標準原液及び1 mg/mL 1,1,2-トリクロロエタンメタノール溶液を作業環境測定用二硫化炭素で希釈



し1 µg/mLトルエン-d8を含む各0.05 ~ 2 µg/mL (ただし, *m*-キシレン及び*p*-キシレンは, VOCs混合標準原液中濃度が他の物質の1/2のため0.025~1 µg/mL) の混合標準液を調製した。

### 3 結果及び考察

キャニスター法による対象物質の測定結果の濃度範囲は, 表3のとおりであった。14物質のうち, 最大濃度は, エチルベンゼンの12 µg/m<sup>3</sup>であり, 最小濃度は, 1,1,2-トリクロロエタンの検出下限値 (0.004 µg/m<sup>3</sup>) 未満で

あった。また, パッシブサンプラーの試験液の濃度範囲は表4のとおりであった。さらに, パッシブサンプラーの試験液の濃度 (µg/mL) を横軸に, キャニスター法で測定した大気中濃度 (µg/m<sup>3</sup>) を縦軸にプロットしたところ, 図2のように, 比較的高濃度であったトルエン, ベンゼン, *m*-キシレンと*p*-キシレンの和の1/2, *o*-キシレン及びエチルベンゼンの6物質では相関係数R > 0.7の正の相関が得られた。特に, ベンゼン, *m*-キシレンと*p*-キシレンの和の1/2, *o*-キシレン及びエチルベンゼンでは相関係数R > 0.9と強い正の相関が得られた。1,2,4-

表3 キャニスター法による対象物質の測定結果の濃度範囲

	物質名	濃度 (µg/m <sup>3</sup> )	
1	トルエン	0.40	~ 6.3
2	ベンゼン	0.11	~ 3.3
3	ジクロロメタン	0.28	~ 1.5
4,5	<i>m</i> -キシレンと <i>p</i> -キシレンの和の1/2	0.043	~ 5.4
6	<i>o</i> -キシレン	0.086	~ 2.7
7	1,2,4-トリメチルベンゼン	0.15	~ 0.93
8	1,1,2-トリクロロエタン	検出下限値(0.004)未満	~ 0.043
9	1,3,5-トリメチルベンゼン	0.027	~ 0.23
10	スチレン	0.0062	~ 0.25
11	トリクロロエチレン	0.0051	~ 0.43
12	1,2-ジクロロエタン	0.026	~ 0.52
13	エチルベンゼン	0.14	~ 12
14	テトラクロロエチレン	0.014	~ 0.29

表4 パッシブサンプラーの試験液中の濃度範囲

	物質名	濃度 (µg/mL)		検出下限値 (µg/mL)	定量下限値 (µg/mL)	相関係数 (R)
1	トルエン	0.085	~ 0.53	0.005	0.015	0.735
2	ベンゼン	検出下限値未満	~ 0.34	0.011	0.036	0.912
3	ジクロロメタン	検出下限値未満	~ 8.8(注)	0.029	0.098	計算未実施(注)
4,5	<i>m</i> -キシレンと <i>p</i> -キシレンの和の1/2	検出下限値未満	~ 0.28	0.019	0.062	0.983
6	<i>o</i> -キシレン	検出下限値未満	~ 0.16	0.004	0.013	0.982
7	1,2,4-トリメチルベンゼン	検出下限値未満	~ 0.062	0.011	0.035	濃度範囲が小さく計算不可
8	1,1,2-トリクロロエタン	すべて検出下限値未満		0.03	0.11	すべて定量下限値未満であり計算不可
9	1,3,5-トリメチルベンゼン	検出下限値未満	~ 定量下限値未満	0.012	0.039	すべて定量下限値未満であり計算不可
10	スチレン	検出下限値未満	~ 定量下限値未満	0.009	0.029	すべて定量下限値未満であり計算不可
11	トリクロロエチレン	検出下限値未満	~ 定量下限値未満	0.021	0.070	すべて定量下限値未満であり計算不可
12	1,2-ジクロロエタン	検出下限値未満	~ 0.10	0.014	0.046	濃度範囲が小さく計算不可
13	エチルベンゼン	検出下限値未満	~ 0.86	0.009	0.031	0.995
14	テトラクロロエチレン	検出下限値未満	~ 定量下限値未満	0.013	0.043	すべて定量下限値未満であり計算不可

注) 試料採取後の保管時に汚染があったと考えられる。このため, 相関係数の計算を実施していない。

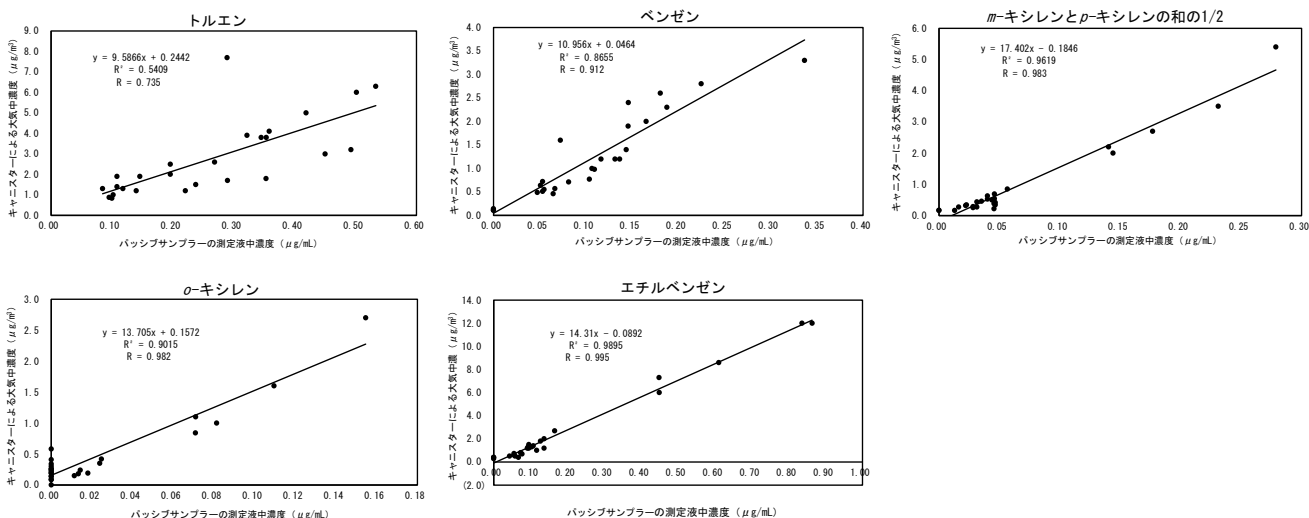


図2 大気中VOC濃度と試験液中濃度の関係

トリメチルベンゼン及び1,2-ジクロロエタンは、検出できたが、最大でも定量下限値の2倍程度と極低濃度であり相関は確認できなかった。1,3,5-トリメチルベンゼン、スチレン、トリクロロエチレン及びテトラクロロエチレンは、すべて定量下限値未満であった。1,1,2-トリクロロエタンは、濃度が小さく、パッシブサンプラーでは検出できなかった。また、ジクロロメタンは、定量下限値から活用可能性が示唆されたが、試料採取後のパッシブサンプラー保管時に汚染があったと考えられたため、相関係数の算出等の検討はしなかった。

パッシブサンプラーの捕集能力は、温度、湿度又は風速等の影響を受ける<sup>4)</sup>とされている。本研究は1年間を通じて様々な気象条件の下で試料採取をしたが、比較的高濃度であったベンゼン等の6物質はキャニスターと正の相関があった。従って、相関が得られた物質については、図2のように近似式を求めておくことで、パッシブサンプラーによる試料採取により、大気中の濃度を迅速に把握することができると考えられた。

今後は、既知濃度の高濃度標準VOCガスをパッシブサンプラーで試料採取することにより、低濃度から災害時等を想定した高濃度環境下まで、図2のような近似式が成立するかを調査していきたいと考えている。

## 文 献

- 1) 環境省：有害大気汚染物質等測定方法マニュアル（平成31年3月改訂）  
<https://www.env.go.jp/air/osen/manual2/index.html>（2021.6.23アクセス）
- 2) 環境省：平成29年度PRTRデータの概要～化学物質の排出量・移動量の集計結果～  
[http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/past\\_gaiyoH29.html](http://www.env.go.jp/chemi/prtr/result/past_gaiyoH29.html)（2021.9.6アクセス）
- 3) エコケミストリー研究会：<http://www.ecochemi.jp/PRTR2018/area/00000-000-006.pdf>（2021.6.23アクセス）
- 4) 柴田科学：パッシブガスチューブ取扱説明書

【調査研究】

事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究  
- LC-MS/MSによる河川水中のネオニコチノイド系農薬一斉分析法の検討 -  
Study on the development of analysis method of chemical substances at the time of water quality accidents  
- Simultaneous Analysis Method of Neonicotinoid Pesticide in river water by LC-MS/MS -

橋本清美, 大月史彦, 吉岡敏行

HASHIMOTO Kiyomi, OTSUKI Fumihiko, YOSHIOKA Toshiyuki

要 旨

ネオニコチノイド系農薬は、選択性と浸透移行性の高さから急速に普及したが、水環境及び生物生態系に影響を与えることが懸念される。このことから、ネオニコチノイド系農薬とその他農薬類の一斉分析法を検討した。ネオニコチノイド系農薬7種、その代謝物3種及びその他農薬類42種について検討を行い、ネオニコチノイド系農薬7種、その代謝物2種及びその他農薬類39種を合わせた48種が分析可能な一斉分析法を確立した。

[キーワード：ネオニコチノイド, 農薬, LC-MS/MS, 河川水]

[Key words : Neonicotinoid, Pesticide, LC-MS/MS, River water]

1 はじめに

ネオニコチノイド系農薬は、選択性と浸透移行性の高さから、従来の農薬に比べて人畜への毒性が低く、生産者の省力化に寄与するとして急速に普及している。一方で、ネオニコチノイド系農薬は水溶性であるので、水田から流出して水環境に影響を与えることが懸念されており<sup>1)</sup>。さらに、鳥根県の宍道湖における調査ではネオニコチノイド系農薬が、ウナギやワカサギの餌となる生物に影響を与えることでこれらの漁狩量を激減させていた可能性が指摘されている<sup>1)</sup>ほか、ネオニコチノイド系農薬が公共用水域等の環境中に飛散・流出することによりトンボ類及び野生ハナバチ類に及ぼす影響についても知見の集積が進められつつある<sup>2)</sup>。

しかし、本県の公共用水域におけるネオニコチノイド系農薬の濃度等に関する知見は乏しく、また分析に係る公定法も定められていない。そこで、当センターでこれまで開発したLC-MS/MSによる農薬類42種の一斉分析法<sup>3)</sup>(以下「既報」という。)を発展させ、ネオニコチノイド系農薬7種及びその代謝物3種も同時に分析することで、県内河川の状況を効率的に把握することを目標とした。今回は検討した一斉分析法について報告する。

2 方法

2.1 既報の分析法からの変更点

既報の分析法を参考に、次の変更を行った。

- (1) 検量線について、既報では、メタノールで調製した検量線を用いて定量を行っていたが、後述の検討の結果、今回はアセトニトリルで調製した検量線を用いて定量を行った。

これに伴い、AC-2(メタノール溶出液)から得られた試験液を濃縮後、アセトニトリルを加え再度濃縮し、アセトニトリル溶液とした。

- (2) 既報では、「懸濁物がある場合には0.45 µmろ過フィルターでろ過を行い」としているが、分析機器への負担を考慮し、全ての試験液で0.45 µmろ過フィルターを使用するとした。

2.2 検討対象農薬

表1に示すネオニコチノイド系農薬7種、その代謝物3種及びその他農薬類42種について検討した。

2.3 試薬

- (1) 32種農薬混合標準液：富士フィルム和光純薬製
- (2) 28種農薬混合標準液水質-3：富士フィルム和光純薬製
- (3) ネオニコチノイド系農薬10種混合標準液：富士フィルム和光純薬製
- (4) PL農薬サロゲート混合標準液Ⅶ：林純薬工業製
- (5) クミルロン標準液：富士フィルム和光純薬製
- (6) ピリフタリド標準液：富士フィルム和光純薬製
- (7) オキサジクロメホン標準品：関東化学製
- (8) ベンゾフェナップ標準品：林純薬工業製

表1 検討対象農薬

ネオニコチノイド系農薬7種		その他農薬42種	
1	Dinotefuran	11	Methamidophos
2	Nitenpyram	12	Acephate
3	Clothianidin	13	Asulam
4	Thiamethoxam	14	Methomyl
5	Acetamiprid	15	Tricyclazole
6	Imidacloprid	16	DEP
7	Thiacloprid	17	Flazasulfron
ネオニコチノイド系代謝物3種		18	Imazosulfron
8	CPMF	19	Halosulfronmethyl
9	CPF	20	Diuron
10	Thiacloprid-amide	21	Siduron
		22	Pendimethalin
		23	Tolclofos-methyl
		24	Cumyluron
		25	Isoxathion
		26	Pyriftalid
		27	Thiodicarb
		28	Oxaziclomefone
		29	SAP
		30	Azoxystrobin
		31	Bensulfron-methyl
		32	Benzofenap
		33	Pyrazolate
		34	Benzobicyclone
		35	Fipronil
		36	Carpropamid
		37	Carbofuran
		38	Dymuron
		39	Pencycuron
		40	Methyl dymron
		41	MPP oxon
		42	MPP oxon sulfoxide
		43	MPP oxon sulfone
		44	MPP sulfoxide
		45	MPP sulfone
		46	Bentazone
		47	Pyrazosulfron-ethyl
		48	MCPA
		49	MCPP
		50	Triclopyr
		51	Cyclosulfamuron
		52	2, 4-D

- (9) ピラゾレート標準品：関東化学製
- (10) ベンゾビシクロン標準品：林純薬工業製
- (11) ピラズスルフロンエチル標準品：富士フィルム和光純薬製
- (12) 農薬標準品 MCPA：GLサイエンス製
- (13) シクロスルファムロン標準品：関東化学製
- (14) イマゾスルフロン標準品：富士フィルム和光純薬製
- (15) 1 mol/L 硝酸：富士フィルム和光純薬製
- (16) アセトニトリル，メタノール：富士フィルム和光純薬製 LC/MS 用
- (17) 精製水：Millipore 製 Milli-Q Advantage により調製
- (18) 固相カートリッジ（活性炭系）：Waters 製 Sep-Pak Plus AC-2
- (19) 固相カートリッジ（逆相系）：GL Sciences 製 InertSep PLS-3 (200 mg)
- (20) ろ過フィルター：Millipore 製 Millex FilterUnit (13 mm, 0.45 μm)
- (21) 5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液：富士フィルム和光純薬製高速液体クロマトグラフ用 1 mol/L 酢酸アンモニウム水溶液と精製水で調製

#### 2.4 測定条件

LC-MS/MS の測定条件を次に示す。

(LC 条件)

使用機種：LC-20AD, 高圧グラジエント (Shimadzu 製)  
 カラム：XBridge C18 2.1 mm × 150 mm, 3.5 μm (Waters 製)

移動相：A (5 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液)：  
 B (メタノール)

0~1 min A: 90 → 50 B: 10 → 50 linear gradient  
 1~17 min A: 50 → 2 B: 50 → 98 linear gradient  
 17~23 min A: B = 2 : 98  
 23~23.1 min A: 2 → 90 B: 98 → 10 linear gradient  
 23.1~30 min A: B = 90 : 10

流量：0.2 mL/min

カラム温度：40 °C

注入量：5 μL

(MS 条件)

使用機種：QTRAP 5500 (AB Sciex 製)

カーテンガス流量：25 L/h

コリジョンガス流量：7 L/h

イオンプレース電圧：5.5 kV (Positive モード), -4.5 kV (Negative モード)

イオン化温度：450 °C

イオン化法：ESI Positive, ESI Negative

測定モード：MRM

イオン化条件等：表 2 に示す (ネオニコチノイド系農薬のみ記載し，その他農薬に関しては既報のとおりのため省略)

#### 2.5 前処理方法

水質試料 100 mL にサロゲート混合溶液 (PL 農薬サロゲート混合標準液Ⅶ希釈液 2 μg/mL) を 5 μL 添加し，1 mol/L 硝酸で pH 3.5 に調整した。あらかじめアセトニト

表2 ネオニコチノイド系農薬7種及びその代謝物3種のイオン化条件等

農薬名	Q1	Q3	DP	EP	CE	CXP
Dinotefuran*1	203.0	129.0	40	10	15	10
	203.0	113.9	60	10	25	10
Dinotefuran-d3*1	206.1	132.0	40	10	15	10
	206.0	116.0	30	10	15	10
Nitenpyram*1	270.9	125.9	60	10	35	10
	270.9	98.9	70	10	20	15
Nitenpyram-d3*1	273.9	126.1	60	10	40	5
	273.9	257.0	30	10	20	10
Clothianidin*1	249.9	168.9	50	10	20	10
	249.9	131.8	40	10	30	10
Clothianidin-d3*1	252.9	172.1	30	10	20	5
	252.9	113.0	40	10	35	10
Thiamethoxam*1	291.9	211.0	40	10	20	15
	291.9	181.0	40	10	30	5
Thiamethoxam-d3*1	295.0	214.0	50	10	20	10
	295.0	184.1	30	10	30	10
Acetamiprid*1	222.9	125.7	70	10	30	10
	222.9	72.9	70	10	75	5
Acetamiprid-d3*1	226.0	125.9	60	10	30	10
	225.9	73.1	70	10	75	10
Imidacloprid*1	256.0	175.0	50	10	25	5
	255.9	209.0	60	10	25	10
Imidacloprid-d4*1	260.1	178.9	30	10	30	15
	260.1	212.9	40	10	25	15
Thiacloprid*1	252.9	126.0	70	10	25	10
	252.9	98.9	80	10	55	10
Thiacloprid-d4*1	256.9	125.7	40	10	30	10
	256.9	99.0	70	10	60	10
CPMF*2	212.1	126.2	20	10	15	10
	212.1	73.1	50	10	60	10
CPF*2	199.1	128.1	20	10	15	10
	199.1	181.2	20	10	30	10
Thiacloprid-amide*2	271.6	125.8	40	10	40	10
	271.6	73.1	50	10	75	10

注 各農薬の上段：定量イオン，下段：確認イオン

\*1 参考文献<sup>4)</sup>からの値を参考にし，DP値は使用機器に合わせて+20の値に変更した

\*2 参考文献<sup>5)</sup>のQ1及びQ3の値を参考にした

リル10 mL，精製水20 mLの順で別々にコンディショニングした固相カートリッジをPLS-3 → AC-2の順に通水するよう連結し，pH調整した水質試料を10 mL/minの速さで通水し，捕集した。精製水15 mLで使用器具を洗い込みながら固相カートリッジを洗浄後，PLS-3とAC-2を分離してそれぞれ窒素で5分間通気乾燥した。PLS-3はアセトニトリル5 mL，AC-2はメタノール5 mLでそれぞれ溶出し，40℃で加温しながら窒素を吹付けて1 mL以下に濃縮した。濃縮後のPLS-3溶出液にはアセトニトリルを加えて精確に1 mLとした。また，濃縮後のAC-2溶出液にはアセトニトリルを2 mL加えて，40℃で加温しながら窒素を吹付けて1 mL以下まで濃縮し，アセトニトリルで精確に1 mLとした。それぞれの溶出液を0.45 μmろ過フィルターでろ過を行い，試験液とし，LC-MS/MS (MRM法)の分析に供した。分析フローを図1に示す。

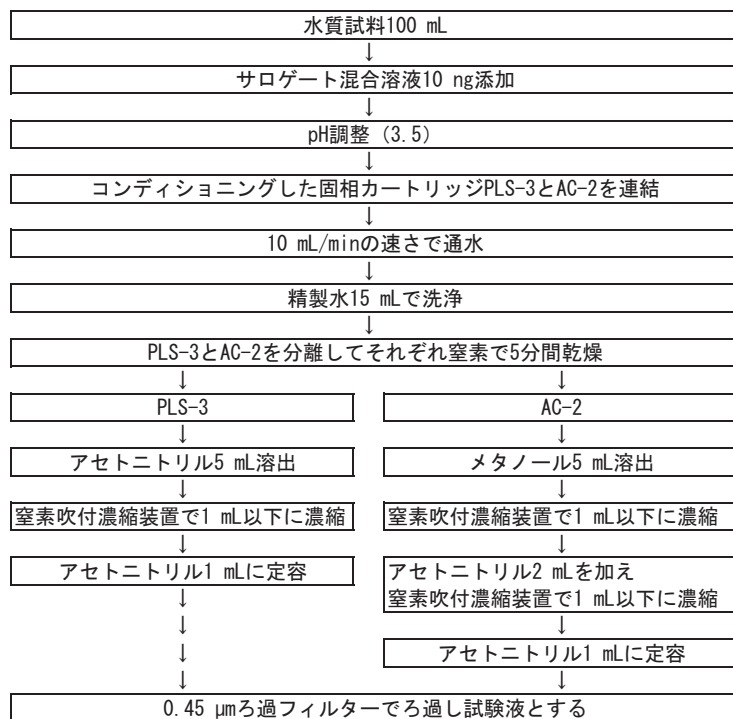


図1 前処理フロー図

## 2.6 検量線用標準液の作成

2.3 試薬に記載している (5)～(14) はアセトニトリルに溶解して1 mg/mL標準原液とし、それらを混合してアセトニトリルで10 µg/mLの10種混合溶液を調製した。これを(1)～(3)と混合してアセトニトリルで各種農薬類1 µg/mLに調製した溶液(以下「農薬混合標準液」という。)をアセトニトリルで希釈し、0.01～100 ng/mLの検量線用標準液を作成した。SAPは、標準品の都合により、他の物質の2倍濃度(0.02～200 ng/mL)とした。なお、ネオニコチノイド系農薬7種についてはサロゲート法を用いた。

## 2.7 添加回収試験方法

河川水を用いて5検体を併行で添加回収試験を実施した。添加回収試験は河川水100 mLに農薬混合標準液(各1 µg/mL, SAPのみ2 µg/mL)をマイクロピペットで

10 µL(各種農薬類10 ng, SAPのみ20 ng)添加後、30分放置してから前処理を行い分析した。無添加河川水試料を併せて分析し、無添加河川水試料の農薬類の測定値を差し引いて添加回収率の評価を実施した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 調製溶媒の検討結果

調製溶媒について、アセトニトリル試験液とメタノール試験液ではピークの形状が異なり、定量値に影響が出る物質があった。検量線と試験液の調製溶媒を揃えるため、また、アセトニトリルとPLS-3で抽出できる農薬類が多いことから、今回はアセトニトリルで調製した検量線を用いた。

### 3.2 検量線及び定量下限値

定量可能な検量線の最低濃度は、S/N ≥ 10を基準と

表3 定量可能な検量線の最低濃度 (S/N ≥ 10)

ネオニコチノイド系農薬7種		ng/mL	その他農薬42種		ng/mL	その他農薬42種		ng/mL
1	Dinotefuran	1	11	Methamidophos	0.5	32	Benzofenap	0.02
2	Nitenpyram	0.5	12	Acephate	1	33	Pyrazolate	0.02
3	Clothianidin	0.1	13	Asulam	0.5	34	Benzobicyclone	0.05
4	Thiamethoxam	0.05	14	Methomyl	0.1	35	Fipronil	0.2
5	Acetamiprid	0.05	15	Tricyclazole	0.02	36	Carpropamid	0.1
6	Imidacloprid	0.5	16	DEP	0.5	37	Carbofuran	0.05
7	Thiacloprid	0.05	17	Flazasulfron	0.05	38	Dymuron	0.02
ネオニコチノイド系代謝物3種		ng/mL	18	Imazosulfuron	1	39	Pencycuron	0.02
8	CPMF	0.5	19	Halosulfuronmethyl	0.05	40	Methyldymron	0.02
9	CPF	0.1	20	Diuron	0.05	41	MPP oxon	0.02
10	Thiacloprid-amide	5	21	Siduron	0.02	42	MPP oxon sulfoxide	0.05
			22	Pendimethalin	0.05	43	MPP oxon sulfone	0.1
			23	Tolclofos-methyl	0.1	44	MPP sulfoxide	0.02
			24	Cumyluron	0.02	45	MPP sulfone	0.1
			25	Isoxathion	0.01	46	Bentazone	0.1
			26	Pyriftalid	0.05	47	Pyrazosulfuron-ethyl	5
			27	Thiodicarb	0.05	48	MCPA	0.5
			28	Oxaziclomefone	0.01	49	MCPP	0.5
			29	SAP	0.1	50	Triclopyr	2
			30	Azoxystrobin	0.01	51	Cyclosulfamuron	2
			31	Bensulfuron-methyl	0.05	52	2,4-D	0.5

表4 無添加河川水試料から検出された農薬についての毒性評価について

	無添加河川水試料 (mg/L)	コイLC <sub>50</sub> * <sup>1</sup> /100* <sup>3</sup> (mg/L)	甲殻類ErC <sub>50</sub> * <sup>1*2</sup> /100* <sup>3</sup> (mg/L)	藻類ErC <sub>50</sub> * <sup>1*2</sup> /100* <sup>3</sup> (mg/L)
1	Dinotefuran	0.0000641	1.00	10.00
3	Clothianidin	0.0000668	1.00	0.40
4	Thiamethoxam	0.0000627	1.20	4.00
15	Tricyclazole	0.0000626	0.21	0.34
20	Diuron	0.0000169	0.18	0.12
24	Cumyluron	0.0000147	0.50	1.00
30	Azoxystrobin	0.0000461	0.016	0.028
31	Bensulfuron-methyl	0.00000890	0.959	1.30
38	Dymuron	0.0000145	0.0042	0.062
46	Bentazone	0.000106	1.00	1.25

\*1 文献<sup>6)</sup>を参照

\*2 文献<sup>7)</sup>を参照

\*3 毒性値(LC<sub>50</sub>, ErC<sub>50</sub>)をアセスメント係数100で割った値を生態リスク評価における予測無影響濃度として設定し評価を行う

した。その値を表3に示す。検討したLC-MS/MS分析条件でネオニコチノイド系農薬7種、その代謝物3種及びその他農薬類42種すべての同時分析が可能であった。なお、物質やLC-MS/MSの状態によって50 ng/mL以上では直線から外れる場合があったため、その場合は外れる濃度を検量線の範囲から外した。定量下限値は、検量線の最低濃度の試料換算値とした。

### 3.3 無添加河川水試料から検出された農薬の毒性評価

添加回収試験に使用した無添加河川水試料から10種

の農薬が検出された。検出された農薬の濃度及び毒性評価について表4に示す。コイ、甲殻類及び藻類の指標<sup>6), 7)</sup>を生態リスク評価における予測無影響濃度設定のためのアセスメント係数100<sup>8)</sup>で割った数値で検出値を評価すると、検出された全ての農薬について、コイ、甲殻類及び藻類に影響のない濃度であった。

### 3.4 河川水での添加回収試験結果

河川水への添加回収試験結果を表5、サロゲート回収率を表6、サロゲート補正前の回収率を表7に示す。評

表5 河川水への添加回収試験結果

		無添加河川水試料			併行試験結果平均(無添加河川水試料差し引き後の値)				
		PLS-3*	AC-2*	合計*	PLS-3*	AC-2*	試料換算値*	回収率	CV%
1	Dinotefuran	64.1	-	64.1	100	-	100	100%	6.5%
2	Nitenpyram	-	-	-	95.7	-	95.7	96%	9.7%
3	Clothianidin	6.7	-	6.7	92.5	-	92.5	92%	12.8%
4	Thiamethoxam	6.3	-	6.3	91.2	-	91.2	91%	6.2%
5	Acetamiprid	-	-	-	94.3	-	94.3	94%	5.4%
6	Imidacloprid	-	-	-	106	-	106	106%	7.5%
7	Thiacloprid	-	-	-	96.5	-	96.5	96%	9.1%
8	CPMF	-	-	-	8.1	21.0	29.1	29%	11.9%
9	CPF	-	-	-	76.8	-	76.8	77%	4.2%
10	Thiacloprid-amide	-	-	-	54.9	-	54.9	55%	5.9%
11	Methamidophos	-	-	-	-	71.7	71.7	72%	10.6%
12	Acephate	-	-	-	-	104	104	104%	8.6%
13	Asulam	-	-	-	10.8	-	10.8	11%	21.1%
14	Methomyl	-	-	-	87.8	-	87.8	88%	4.3%
15	Tricyclazole	6.3	-	6.3	89.8	-	89.8	90%	4.5%
16	DEP	-	-	-	74.2	-	74.2	74%	11.7%
17	Flazasulfron	-	-	-	79.8	-	79.8	80%	5.2%
18	Imazosulfuron	-	-	-	64.7	-	64.7	65%	5.4%
19	Halosulfuronmethyl	-	-	-	71.0	-	71.0	71%	5.5%
20	Diuron	1.7	-	1.7	82.9	-	82.9	83%	7.5%
21	Siduron	-	-	-	86.1	-	86.1	86%	4.2%
22	Pendimethalin	-	-	-	42.3	-	42.3	42%	5.4%
23	Tolclofos-methyl	-	-	-	62.8	-	62.8	63%	7.0%
24	Cumyluron	1.5	-	1.5	80.7	-	80.7	81%	4.9%
25	Isoxathion	-	-	-	68.7	-	68.7	69%	5.5%
26	Pyrifthalid	-	-	-	90.0	-	90.0	90%	5.1%
27	Thiodicarb	-	-	-	86.3	-	86.3	86%	4.7%
28	Oxaziclomefone	-	-	-	79.1	-	79.1	79%	4.7%
29	SAP (のみ20 ng添加)	-	-	-	171	-	171	86%	3.6%
30	Azoxystrobin	4.6	-	4.6	87.3	-	87.3	87%	8.6%
31	Bensulfuron-methyl	0.9	-	0.9	84.5	-	84.5	84%	3.7%
32	Benzofenap	-	-	-	68.5	-	68.5	69%	7.9%
33	Pyrazolate	-	-	-	75.2	-	75.2	75%	11.2%
34	Benzobicyclone	-	-	-	83.5	-	83.5	83%	6.6%
35	Fipronil	-	-	-	78.3	-	78.3	78%	6.1%
36	Carpropamid	-	-	-	84.1	-	84.1	84%	7.5%
37	Carbofuran	-	-	-	94.2	-	94.2	94%	6.2%
38	Dymuron	14.5	-	14.5	88.4	-	88.4	88%	5.5%
39	Pencycuron	-	-	-	76.2	-	76.2	76%	5.6%
40	Methyldymron	-	-	-	84.5	-	84.5	84%	5.7%
41	MPP oxon	-	-	-	86.1	-	86.1	86%	8.6%
42	MPP oxon sulfoxide	-	-	-	87.7	-	87.7	88%	7.5%
43	MPP oxon sulfone	-	-	-	83.0	-	83.0	83%	1.9%
44	MPP sulfoxide	-	-	-	87.5	-	87.5	88%	5.4%
45	MPP sulfone	-	-	-	84.9	-	84.9	85%	4.1%
46	Bentazone	106	-	106	74.9	-	74.9	75%	29.7%
47	Pyrazosulfuron-ethyl	-	-	-	87.0	-	87.0	87%	11.0%
48	MCPA	-	-	-	91.3	-	91.3	91%	4.1%
49	MCPP	-	-	-	106	-	106	106%	5.9%
50	Triclopyr	-	-	-	84.6	-	84.6	85%	11.2%
51	Cyclosulfamuron	-	-	-	77.0	-	77.0	77%	13.8%
52	2,4-D	-	-	-	81.3	-	81.3	81%	3.2%

□ : 回収率50%を下回った物質  
 ■ : ばらつきが見られる物質  
 - : 定量下限値未満(表3の値の試料換算値)  
 \* : 単位 ng/L

価方法については、河川中に含まれるできるだけ多くの農薬を一斉分析するためスクリーニング的に50%まで許容し、50~120%の回収率が得られることを目標とした。

表6 サロゲート回収率 (%)

使用したサロゲート物質	無添加河川水試料	添加回収	
		平均	CV%
Dinotefuran-d3	70	70	2.5
Nitenpyram-d3	69	63	4.1
Clothianidin-d3	44	44	6.3
Thiamethoxam-d3	60	57	4.7
Acetamiprid-d3	72	67	3.9
Imidacloprid-d4	68	62	6.1
Thiacloprid-d4	69	67	5.1

注 全てPLS-3で抽出され、AC-2で抽出されたサロゲート物質はない。

表7 添加回収試験におけるサロゲート補正前の添加回収率 (%)

	添加1	添加2	添加3	添加4	添加5	添加平均	CV%
Dinotefuran	63	68	69	76	76	71	7.9
Nitenpyram	57	59	66	59	61	60	6.0
Clothianidin	36	40	42	43	43	41	7.4
Thiamethoxam	48	50	54	53	52	51	4.7
Acetamiprid	60	63	65	67	60	63	4.7
Imidacloprid	68	70	61	65	62	65	5.8
Thiacloprid	62	70	62	62	64	64	5.6

注 Dinotefuran, Clothianidin, Thiamethoxamは、ブランク値(サロゲート補正前)差し引き後の値

### 3.4.1 ネオニコチノイド系農薬及びその代謝物

ネオニコチノイド系農薬7種全て及びその代謝物3種のうち2種については、目標とした回収率50~120%を満たしたが、Nitenpyramの代謝物であるCPMFは回収率50%未満となった。

今回、ネオニコチノイド系農薬7種についてはサロゲート法を用いたが、表6及び表7のとおりサロゲート補正前の回収率とサロゲート回収率が類似しており、サロゲート補正前の回収率は、Clothianidinが平均41%及びThiamethoxamが平均51%であったが、補正した回収率はClothianidinが平均92%及びThiamethoxamが平均91%となり、河川中の濃度を正確に知る上でサロゲート法が有用であった。

### 3.4.2 その他農薬42種

その他農薬42種のうち、Asulamは平均11%とかなり低い回収率であった。また、Pendimethalinは平均42%と回収率が低く、BentazoneはCV値29.7%とばらつきが大きい結果であった。なお、BentazoneのCV値が大きくなったのは無添加河川水試料の含有量が多かったことが原因と考えられた。

残り39種は回収率50~120%を満たし、今回検討した一斉分析法で定量分析が可能であった。

## 4 まとめ

ネオニコチノイド系農薬とその他農薬類の一斉分析法を検討し、次の結果を得た。

- (1) 設定したLC-MS/MS分析条件について、ネオニコチノイド系農薬7種、その代謝物3種及びその他農薬類42種の同時分析は可能であった。
- (2) ネオニコチノイド系農薬7種について、河川水への添加回収試験の結果は良好であった。サロゲート補正前の回収率が低いものがあったが、目的物質とサロゲートの挙動が類似していたことから、河川中の濃度を正確に知る上でサロゲート法が有用であると考えられた。
- (3) ネオニコチノイド系農薬の代謝物については、検討した3種のうちCPF及びThiacloprid-amideの2種は河川中の定量分析が可能であった。
- (4) その他農薬類は、検討した42種のうち39種の定量分析が可能であった。今後は、検討した分析法により県内河川における調査を行い、ネオニコチノイド系農薬等の濃度や季節変動等についての知見を得ることを目指すとともに、水質事故発生時の環境モニタリング等にも役立てたい。

## 文 献

- 1) 産業技術総合研究所：ウナギやワカサギの減少の一因として殺虫剤が浮上、  
[https://www.aist.go.jp/aist\\_j/press\\_release/pr2019/pr20191101/pr20191101.html](https://www.aist.go.jp/aist_j/press_release/pr2019/pr20191101/pr20191101.html) (2021.12.15アクセス)
- 2) 農薬の昆虫類への影響に関する検討会：我が国における農薬がトンボ類及び野生ハナバチ類に与える影響について、  
[http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/ecol\\_risk/honbun.pdf](http://www.env.go.jp/water/dojo/noyaku/ecol_risk/honbun.pdf) (2021.12.15アクセス)
- 3) 大月史彦, 山本浩司, 橋本清美, 吉岡敏行：事故時等緊急時の化学物質の分析技術の開発に関する研究－県内三主要河川における河川水中農薬類濃度レベルの実態調査－, 岡山県環境保健センター年報, 44, 19-25, 2020
- 4) 伊東優介, 藤田一樹, 鈴木義浩, 江原均, 井上雄一：川崎市内水環境中におけるネオニコチノイド系農薬等の実態調査結果 (2016~2018年度), 川崎市環境総合研究所年報, 7, 63-69, 2019
- 5) 富士フイルム和光純薬株式会社：ネオニコチノイド系農薬分析用試薬分析条件,  
<https://labchem-wako.fujifilm.com/jp/category/>



01944.html, (2021.3.31 アクセス)

- 6) 社団法人日本植物防疫協会：農薬ハンドブック 2011 年版, 2011
- 7) 環境省：水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準として環境大臣が定める基準の設定に関する資料 トリシクラゾール,  
<http://www.env.go.jp/water/suikaitei/kijun/rv/tricyclazole.pdf>, (2021.3.31 アクセス)
- 8) 日本環境毒性学会：化学物質の生態リスク評価と規制－農薬編－, 292, 2006



【資 料】

## 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査－野菜・精米－（第3報）

Complement Survey of Environmental Radiation Level around Ningyotoge  
- Vegetables and Polished rice - (3rd Report)

中野拓也, 蜂谷博郎, 加藤大貴, 小川 登, 信森達也, 三宅和彰, 森上嘉亮  
NAKANO Takuya, HACHIYA Hiroo, KATOU Daiki, OGAWA Noboru,  
NOBUMORI Tatsuya, MIYAKE Kazuaki, MORIKAMI Yoshiaki

### 要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等測定結果を評価する上での補完データの蓄積を目的として、平成30～令和2年度の3年間、県内で栽培された野菜（ハウレン草及びハクサイ）並びに精米を購入し、放射性核種（ウラン238、ラジウム226）及びふっ素（以下「放射性核種等」という。）の濃度を調査した。3年間の調査では、全ての試料で特異的な値は確認されなかった。また、人形峠周辺における監視測定結果と補完調査結果を比較したが、農産物中の放射性核種等の濃度は概ね同レベルであると考えられた。

[キーワード：環境放射能, ウラン238, ラジウム226, ふっ素]

[Key words : Environmental Radiation, U-238, Ra-226, Fluorine]

## 1 はじめに

岡山県では、国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺において環境放射線等の監視測定（以下「監視測定」という。）を昭和54年度から継続して行っている。これまで、監視測定結果の評価を補完することを目的に、環境放射線等のバックグラウンドレベルの把握として平成24～26年度は空間γ線線量率等を、また平成27～29年度は指標生物であるヨモギを調査した<sup>1)</sup>。他方、監視測定対象項目である野菜や精米に含まれる放射性核種（ウラン238（以下「U-238」という。）、ラジウム226（以下「Ra-226」という。）及びふっ素（以下「放射性核種等」という。）の濃度データは、人形峠周辺においては従来からの監視測定により十分な量のデータ蓄積があるが、他地域のデータ等については報告が少ない。

そこで、監視測定の結果を評価する上での補完データの蓄積を目的として、平成30～令和2年度までの3年間、監視測定の対象としている野菜（ハウレン草及びハクサイ）並びに精米に係る岡山県内の放射性核種等の濃度レベルの調査（以下「補完調査」という。）を実施したので、その結果を報告する。

## 2 材料と方法

### 2.1 試料入手方法、調査時期及び検体数

試料入手に当たっては、県内全域を対象とするため、地域の偏りがないように選定した農業協同組合直売所等において、栽培地域が特定可能なものを購入した。また、調査時期及び検体数については、各農作物の主な栽培期を考慮しつつ、監視測定と同時期に試料を入手することとし、各年度の上半期にハウレン草を7検体（平成30年度は6検体）、下半期にハクサイ及び精米をそれぞれ7検体とした。

### 2.2 測定項目、測定方法等

測定項目、測定方法及び使用した測定機器を表1に示す。監視測定では、文部科学省放射能測定法シリーズ<sup>2)</sup>に準拠して試料の前処理を行った後、U-238及びRa-226濃度は同シリーズに、ふっ素濃度はふっ素イオン電極法<sup>3)</sup>に準拠してそれぞれ測定しており、本調査においても同様の方法により行った。

### 2.3 試料の前処理

ハウレン草は根部を取り除いた葉部及び茎部を、ハクサイは根部及び芯を取り除いた葉部を分析対象試料とし、それぞれ水洗後に生重量を測定した。精米は生重量を測定した。

U-238及びRa-226の濃度測定に供する試料は、105℃の熱風循環式乾燥装置（富士科学器械製 S7P）で十分に乾燥させ、脱臭装置付電気炉（東京技術研究所製 TFF80-C）を用いて灰試料とした。

表1 測定項目, 測定方法, 測定機器一覧

測定項目	測定方法	測定機器
U-238	TBP抽出分離法及び α線スペクトロメトリ法	α線波高分析装置 (CANBERRA製α-Analyst)
Ra-226	EDTA-4Na分解・BaSO <sub>4</sub> 再沈法 及び全α計数法	2πガスフロー自動測定装置 (日立アロカメディカル製LBC-4311B)
ふっ素	ふっ素イオン電極法	ふっ素イオンメーター (サーモフィッシャーサイエンティフィック製VERSA STAR)

ふっ素濃度測定に供する試料については、ハウレン草及びハクサイは、105℃の定常恒温器（ヤマト科学製DK63）で試料を十分に乾燥させ、ウイレー型粉砕器（吉田製作所製1029-A）で粉砕した。精米は、超遠心粉砕器（Retsch製ZM200）で粉砕した後、105℃の定常恒温器で十分に乾燥させた。

#### 2.4 放射性核種等の濃度測定

U-238濃度は、α線波高分析装置（CANBERRA製α-Analyst）を、Ra-226濃度測定については、2πガスフロー自動測定装置（日立アロカメディカル製LBC-4311B）を用いて測定した。これらの濃度は、灰化率から生重量当たりの放射能濃度への換算を行った（Bq/kg生）。

ふっ素濃度については、ふっ素濃度イオンメーター（サーモフィッシャーサイエンティフィック製VERSA STAR）を用いて測定した。ふっ素濃度については、水分率から生重量当たりのふっ素濃度への換算を行った（mg/kg生）。

### 3 結果及び考察

各地点の今年度及びこれまで<sup>4), 5)</sup>の測定結果と、比較のための人形峠周辺における監視測定結果<sup>6)~10)</sup>を表2~4に示す。

なお、放射線計測による測定結果は、測定値が計数誤差の3倍を超える場合を有意値とし、3倍以下の場合にはND（不検出）と表記し、ふっ素の測定結果については、検出下限値（0.3 mg/kg乾）未満の場合は<0.3と表記した。

ハウレン草の放射性核種等濃度の測定結果（表2）について、各検体のU-238濃度はND~0.008 Bq/kg生、Ra-226濃度はND~0.06 Bq/kg生、ふっ素濃度は0.1~0.5 mg/kg生であった。

ハクサイの放射性核種等濃度の測定結果（表3）については、各検体のU-238濃度はND~0.013 Bq/kg生、Ra-226濃度はND~0.05 Bq/kg生、ふっ素濃度は<0.3

~0.1 mg/kg生であった。

精米の放射性核種等濃度の測定結果（表4）については、各検体のU-238濃度、Ra-226濃度はいずれも全ての検体で不検出、ふっ素濃度は<0.3~0.3 mg/kg生であった。

今回の補完調査結果と人形峠周辺における監視測定結果を比較するため、測定項目別の最大値、最小値及び平均値を図1~3に示す。なお、放射線計測及びふっ素分析における検出下限値未満は0として統計処理した。

補完調査結果と監視測定結果のU-238濃度範囲の比較（図1）では、ハウレン草は監視測定結果と比較して補完調査結果はやや低いレベルであり、比較的ばらつきが少なかった。ハクサイについてはほぼ同レベルであり、精米については全て検出下限値未満であった。

補完調査結果と監視測定結果のRa-226濃度範囲の比較（図2）では、ハウレン草及びハクサイは監視測定結果と補完調査結果は同レベルであり、いずれも両結果でばらつきが大きかった。また、精米については全て検出下限値未満であった。

補完調査結果と監視測定結果のふっ素濃度範囲の比較（図3）では、ハウレン草は監視測定結果と比較して補完調査結果はやや低いレベルであり、ハクサイ及び精米については同レベルであった。

監視測定結果と補完調査結果を比較すると、ハウレン草のU-238、Ra-226及びふっ素濃度、ハクサイのRa-226濃度の平均値については、監視測定結果が補完調査結果と比較しやや高い傾向であったが、ばらつきが大きく、いずれの項目もそれぞれの測定範囲が重なっていることから、概ね同レベルであると考えられる。

### 4 まとめ

平成30~令和2年度に実施した調査から、ハウレン草、ハクサイ及び精米の放射性核種等について、岡山県内の濃度レベルを把握することができた。また、この調

表2 ホウレン草の放射性核種等濃度の測定結果

上段: H30年度、中段: R1年度、下段: R2年度

地域	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)			
				乾	生 (換算値)	水分率 (%)	
A	2.70	ND (0.004±0.002)	ND (0.05±0.02)	3.0	0.4	87.4	
	2.10	0.007±0.002	ND (0.04±0.02)	2.1	0.2	90.9	
	1.70	ND (0.002±0.002)	ND (0.01±0.01)	1.3	0.1	93.2	
B	2.06	ND (0.001±0.001)	ND (0.01±0.02)	1.6	0.1	92.4	
	2.04	0.008±0.002	ND (0.01±0.01)	2.5	0.2	91.0	
	2.41	ND (-0.002±0.003)	ND (0.01±0.02)	1.4	0.1	89.9	
C	2.65	ND (0.004±0.002)	ND (0.00±0.02)	1.4	0.1	90.1	
	2.50	ND (0.001±0.001)	ND (0.02±0.02)	2.1	0.2	90.5	
	2.37	ND (0.003±0.003)	ND (0.03±0.02)	1.0	0.1	90.6	
D	2.15	ND (0.002±0.001)	ND (0.05±0.02)	1.8	0.1	92.0	
	1.93	ND (0.002±0.001)	ND (0.02±0.01)	1.3	0.1	92.5	
	2.33	ND (0.000±0.002)	ND (0.01±0.02)	1.3	0.1	91.0	
E	1.67	0.004±0.001	ND (0.02±0.01)	3.6	0.2	93.4	
	1.73	ND (0.004±0.001)	0.06±0.02	1.5	0.1	92.4	
	1.71	ND (-0.004±0.002)	ND (0.02±0.01)	3.8	0.5	87.1	
F	1.70	ND (0.004±0.001)	ND (0.00±0.01)	2.5	0.2	93.6	
	2.27	0.006±0.002	ND (0.01±0.02)	1.7	0.1	91.4	
	2.25	ND (0.004±0.003)	ND (0.02±0.02)	2.0	0.2	89.4	
G	/	/	/	/	/	/	
	2.06	0.004±0.001	ND (0.01±0.01)	2.1	0.2	92.2	
	2.49	ND (-0.004±0.003)	ND (0.00±0.02)	0.9	0.1	90.8	
測定値の範囲(H30~R2)		1.67~2.70	ND~0.008	ND~0.06	0.9 ~ 3.8	0.1 ~ 0.5	87.1~93.6
調査エリア	調査地点	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)		
					乾	生 (換算値)	水分率 (%)
人形峠周辺 (H28~R2)	天王	1.62~2.48	0.016 ~ 0.050	ND ~ 0.06	2.8 ~ 5.7	0.2 ~ 0.4	91.3~93.5
	赤和瀬	1.55~2.30	ND ~ 0.046	ND ~ 0.07	3.2 ~ 8.6	0.2 ~ 0.6	91.7~93.8
	中津河	1.54~2.43	ND ~ 0.057	ND ~ 0.08	/	/	/

表3 ハクサイの放射性核種等濃度の測定結果

上段:H30年度、中段:R1年度、下段:R2年度

地域	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)			
				乾	生 (換算値)	水分率 (%)	
A	0.53	ND (0.001±0.000)	0.05±0.01	1.2	0.05	95.7	
	0.75	ND (0.000±0.000)	0.03±0.01	0.4	0.02	95.4	
	0.66	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	0.6	0.03	95.3	
B	0.57	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	0.5	0.02	96.0	
	0.59	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.01)	2.0	0.08	95.8	
	0.53	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	0.4	0.02	94.9	
C	0.56	ND (0.000±0.000)	0.02±0.01	0.4	0.02	95.1	
	0.75	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.01)	0.5	0.02	95.4	
	0.60	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.7	0.03	96.2	
D	0.55	ND (0.000±0.000)	0.02±0.01	0.3	0.01	96.8	
	0.59	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.4	0.02	95.5	
	0.55	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	0.7	0.03	95.2	
E	0.55	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.5	0.02	95.9	
	0.57	0.013±0.001	ND (0.00±0.00)	0.6	0.03	95.4	
	0.64	ND (0.001±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.9	0.05	94.8	
F	0.65	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.4	0.02	95.0	
	0.57	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	2.3	0.1	95.6	
	0.73	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	1.3	0.06	95.7	
G	0.56	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	< 0.3	< 0.3	96.3	
	0.58	ND (0.000±0.000)	0.02±0.01	0.4	0.02	95.9	
	0.58	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	0.4	0.03	94.2	
測定値の範囲(H30~R2)		0.53~0.75	ND~0.013	ND~0.05	< 0.3 ~ 2.3	< 0.3 ~ 0.1	94.2~96.8
調査エリア	調査地点	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)		
					乾	生 (換算値)	水分率 (%)
人形峠周辺 (H28~R2)	天王	0.71~0.81	ND ~ 0.003	ND ~ 0.04	0.5 ~ 1.2	0.02 ~ 0.1	95.1~96.7
	赤和瀬	0.57~0.92	ND ~ 0.002	ND ~ 0.04	0.4 ~ 2.8	0.01 ~ 0.1	94.6~96.8

表4 精米の放射性核種等濃度の測定結果

上段: H30年度、中段: R1年度、下段: R2年度

地域	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)			
				乾	生 (換算値)	水分率 (%)	
A	0.72	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.4	
	0.47	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.1	
	0.81	ND (0.001±0.000)	ND (0.01±0.01)	< 0.3	< 0.3	14.1	
B	0.53	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	< 0.3	< 0.3	13.0	
	0.58	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.1	
	0.46	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.7	
C	0.54	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.1	
	0.63	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	12.3	
	0.77	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.01)	< 0.3	< 0.3	13.5	
D	0.54	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	< 0.3	< 0.3	13.8	
	0.69	ND (0.001±0.001)	ND (0.01±0.01)	< 0.3	< 0.3	12.8	
	0.61	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	0.4	0.3	13.4	
E	0.57	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	10.7	
	0.55	ND (0.000±0.001)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.0	
	0.69	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.2	
F	0.62	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.1	
	0.57	ND (0.000±0.001)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	13.0	
	0.57	ND (0.000±0.000)	ND (0.01±0.00)	< 0.3	< 0.3	13.9	
G	0.55	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	14.9	
	0.71	ND (0.000±0.001)	ND (0.01±0.01)	< 0.3	< 0.3	12.7	
	0.58	ND (0.000±0.000)	ND (0.00±0.00)	< 0.3	< 0.3	13.3	
測定値の範囲(H30~R2)		0.46~0.81	ND	ND	< 0.3 ~ 0.4	< 0.3 ~ 0.3	10.7~14.9
調査エリア	調査地点	灰化率 (%)	U-238 (Bq/kg生)	Ra-226 (Bq/kg生)	ふっ素 (mg/kg)		
					乾	生 (換算値)	水分率 (%)
人形峠周辺 (H28~R2)	天王	0.60~0.71	ND	ND	< 0.3	< 0.3	12.3~15.1
	赤和瀬	0.62~0.93	ND	ND	< 0.3	< 0.3	11.2~15.1
	中津河	0.55~0.68	ND	ND			

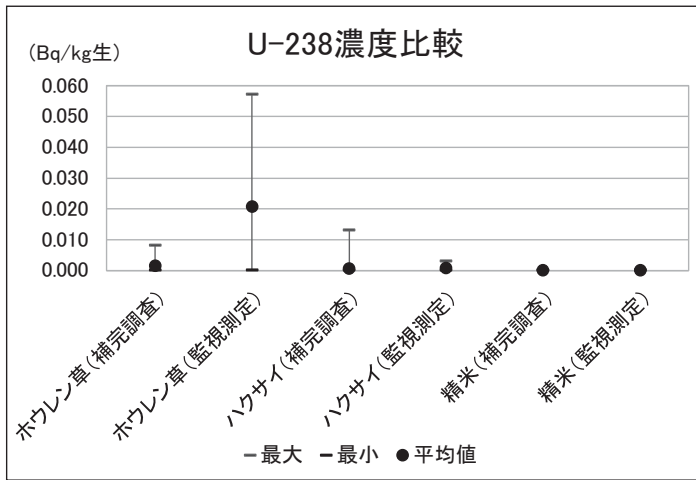


図1 補完調査結果と監視測定結果のU-238濃度範囲の比較

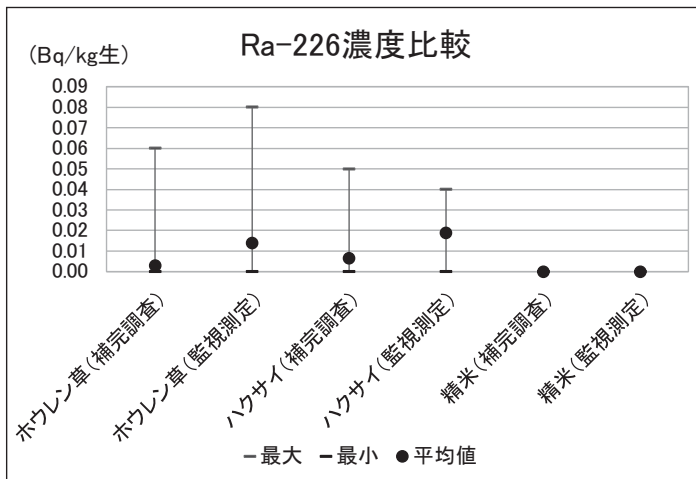


図2 補完調査結果と監視測定結果のRa-226濃度範囲の比較

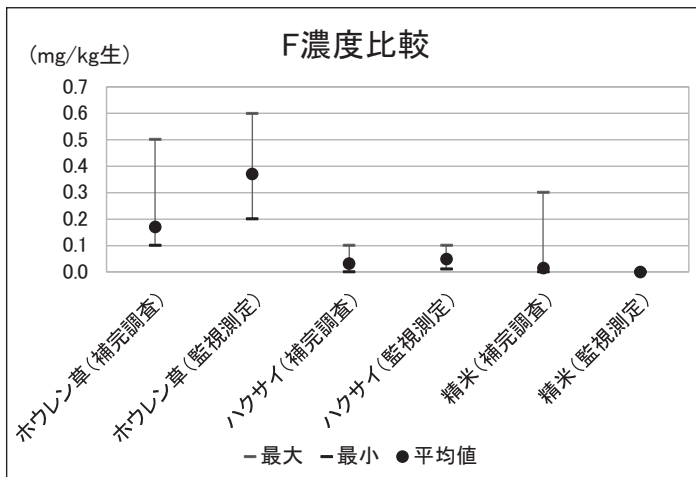


図3 補完調査結果と監視測定結果のふっ素濃度範囲の比較

査の範囲において、既報<sup>5)</sup>のとおり施肥等の影響によりU-238濃度が比較的高値となった可能性がある検体が確認されたものの、全体的に特異的な値は認められなかった。

監視測定結果と補完調査結果を比較すると、一部の項目で監視測定結果の方がやや高い傾向があったが、ばらつきが大きいものの測定範囲が重なっていることから、放射性核種等の濃度は概ね同レベルであると考えられる。

## 文 献

- 1) 蜂谷博郎, 木下浩行, 加藤大貴, 清水光郎, 小川 登: 岡山県内における環境放射能バックグラウンド調査-ヨモギ- (第3報), 岡山県環境保健センター年報, 42, 27-34, 2018
- 2) 文部科学省: 放射能測定法シリーズ <https://www.kankyo-hoshano.go.jp/library/series/> (2021.6.1 アクセス)
- 3) 柳沢三郎: 植物体中のフッ化物の測定法の検討, 環境保健レポート, 8, 33-37, 1972
- 4) 蜂谷博郎, 加藤大貴, 信森達也: 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査-野菜・精米- (第1報), 岡山県環境保健センター年報, 43, 69-72, 2019
- 5) 中野拓也, 蜂谷博郎, 加藤大貴, 小川 登, 信森達也: 人形峠周辺の環境放射線等測定に係る補完調査-野菜・精米- (第2報), 岡山県環境保健センター年報, 44, 41-44, 2020
- 6) 岡山県: 人形峠周辺の環境放射線等測定報告書, 39, 2017
- 7) 岡山県: 人形峠周辺の環境放射線等測定報告書, 40, 2018
- 8) 岡山県: 人形峠周辺の環境放射線等測定報告書, 41, 2019
- 9) 岡山県: 人形峠周辺の環境放射線等測定報告書, 42, 2020
- 10) 岡山県: 人形峠周辺の環境放射線等測定報告書, 43, 2021



【資料】

# 人形峠天王地区における河川水中の放射性核種濃度の経年変化とラドン濃度調査

Study on Radioactive Substances (U-238, Ra-226 and Rn-222) in River Water in Ningyotoge Tennou Area

森上嘉亮, 中野拓也, 三宅和彰, 小川 登

MORIKAMI Yoshiaki, NAKANO Takuya, MIYAKE Kazuaki, OGAWA Noboru

## 要 旨

国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター周辺の環境放射線等監視結果を解析したところ、天王用水取入口の河川水中ラドン濃度は上流地点である池河川中流に比べて高い濃度を示していた。濃度の上昇原因を調べるため、ラドン及び系列核種であるウラン、ラジウムについて経年変化を解析するとともに、周辺で調査を行ったところ、流入する表流水による確定的な影響は認められず、天王用水取入口直近において地下水等が影響した可能性が示唆された。

[キーワード：環境放射能, ウラン238, ラジウム226, ラドン222]

[Key words : Environmental Radiation, U-238, Ra-226, Rn-222]

## 1 はじめに

岡山県では、原子力施設である国立研究開発法人日本原子力研究開発機構人形峠環境技術センター（以下「人形峠センター」という。）周辺において、放射線のみならず、陸水や土壌、生物質等の環境試料の監視測定（以

下「監視測定」という。）を1979年度から継続して行っている。2020年度における測定地点及び測定試料を図1に示す。これらのうち「排水口」は、人形峠センターが水処理し、基準値以下であることを確認した後に敷地内を流れる池河川に施設排水として放流している地点であ

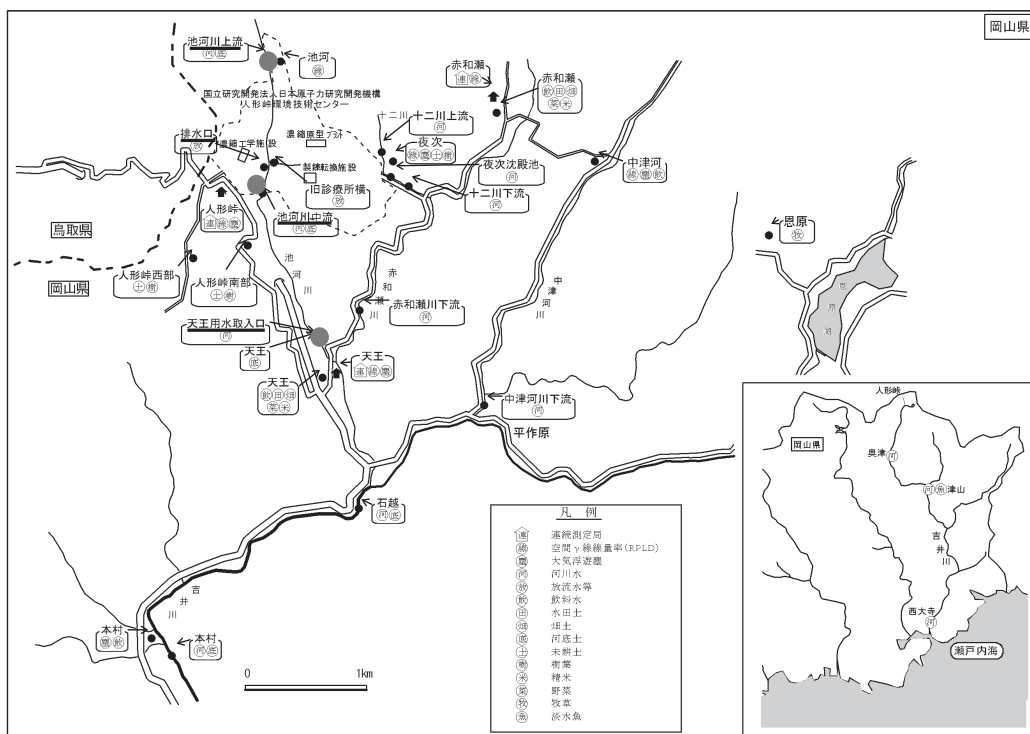


図1 人形峠環境技術センターに係る環境放射線等監視測定地図

る。県は、施設排水の影響を監視するため、排水口から最も近い下流側敷地境界である「池河川中流」、更に約1.3 km下流の「天王用水取入口」及び排水の影響がない上流側敷地境界である「池河川上流」を中心に河川水を採取し、放射性核種等を測定している。調査結果については、毎年度開催される岡山県環境放射線等測定技術委員会において、これまで異常値はないと評価されているが、ラドン222（以下「Rn-222」という。）について、天王用水取入口における濃度が上流地点に比べて比較的高い傾向にあった。今回、過去30年間に実施した放射性核種測定値の経年変化を解析するとともに、天王用水取入口のRn-222濃度の上昇原因について周辺での追加調査を行ったので、その結果を報告する。

## 2 材料と方法

### 2.1 監視測定結果の集計

監視測定結果は、人形峠周辺の環境放射線等測定報告書として県が毎年度とりまとめており、1991年度から2020年度までの30年間のデータを集計し、ウラン238（以下「U-238」という。）、ラジウム226（以下「Ra-226」という。）及びRn-222について統計処理を行い、経年変化図等を作成し、比較検討を行った。元素分析を行ったU-238については、検出下限値未満の場合は検出下限値を、放射線計測を行ったRa-226及びRn-222については、測定値を用いて統計処理した。なお、U-238濃度の検出下限値は、2004年度までは0.03 Bq/L、2005年度以降は0.003 Bq/Lとしている。

### 2.2 現地調査

#### 2.2.1 試料採取

試料採取に当たっては、天王用水取入口から池河川中流の間で概ね20 m間隔の河川中央部、池河川に流入する小沢及び天王用水取入口周辺の採取可能な10地点（①～⑩）において2020年11月6日に河川水を採取した（図2）。なお、①地点は天王用水取入口であり、⑧地点は小沢から池河川へ流下する直前の地点である。採取は、監視測定と同様にU-238及びRa-226は放射能測定法シリーズ<sup>1)</sup>に準拠し、Rn-222は1 L保存瓶（SHIBATA製 SPC保存瓶）にラドンが揮散しないよう静かに河川水を満水採取し、シリコン栓で密栓して試料とした。

#### 2.2.2 測定項目、測定方法等

測定方法及び使用した測定機器を表1に示す。U-238及びRa-226について、放射能測定法シリーズ<sup>1)</sup>に準拠して前処理を行った後、U-238及びRa-226濃度は同シリーズに、Rn-222は液体シンチレーションカウンタ法<sup>2)</sup>に準

拠してそれぞれ測定した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 監視測定からの解析

#### 3.1.1 経年変化

1991年度から2020年度までの河川水中のU-238、Ra-226及びRn-222濃度の経年変化図を図3、4、5に示す。また、同期間における最大値、最小値、平均値及び標準偏差について、測定結果を表2、3、4に示す。

U-238については、池河川上流では全て検出下限値未満であったが、池河川中流及び天王用水取入口では検出下限値未満から0.04 Bq/Lの測定範囲であり、全期間を通じて大きな変動傾向は認められなかった。

Ra-226について、池河川中流では、最大値が0.0063 Bq/Lであり、2005年頃に比べて近年上昇している傾向であったが、1990年台後半と同レベルであり、平均値は0.002 Bq/Lであった。池河川上流は、全期間を通じ

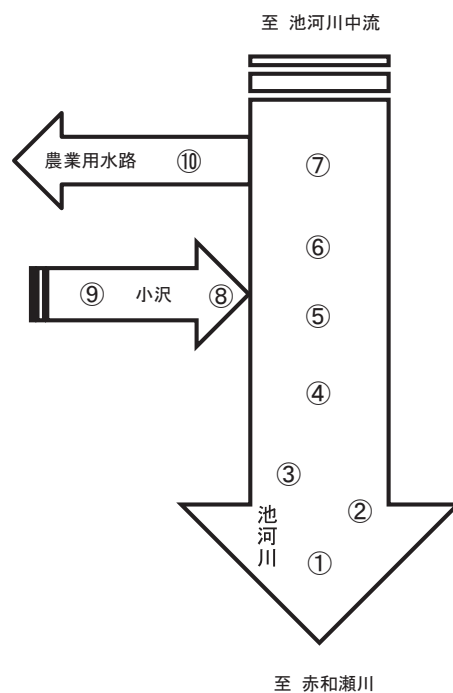


図2 天王用水取入口周辺の河川水採取地点  
※①～⑩は河川水の採取地点を示す。

表1 測定項目、測定方法、測定機器一覧

測定項目	測定方法	測定機器
U-238	ICP質量分析法	ICP質量分析装置 (サーモフィッシャーサイエンティフィック製 iCAPQc型)
Ra-226	EDTA-4Na 分解・BaSO <sub>4</sub> 再沈法及び全α計数法	2πガスフロー自動測定装置 (日立アロカメディカル製 LBC-4311B)
Rn-222	液体シンチレーションカウンタ法	液体シンチレーションカウンタ (日立アロカメディカル製 LSC-7400型)

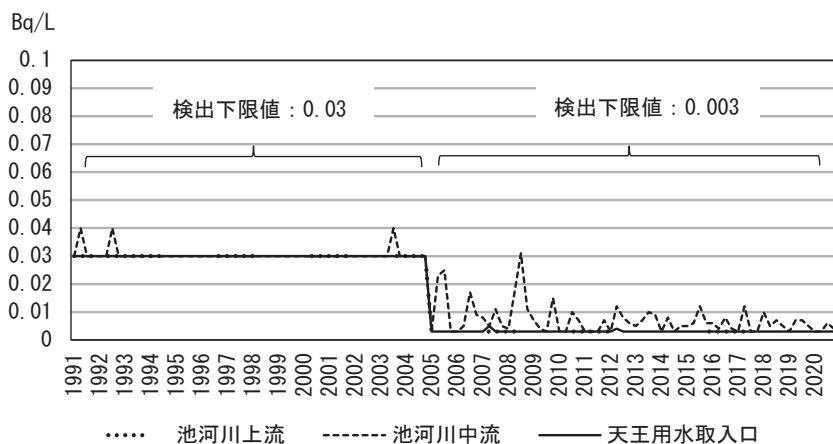


図3 河川水中U-238濃度経年変化図 (1991~2020)

表2 河川水中U-238濃度測定結果 (1991~2020)

単位：Bq/L

地点名	池河川上流		池河川中流		天王用水取入口	
	1991~2004	2005~2020	1991~2004	2005~2020	1991~2004	2005~2020
調査期間	1991~2004	2005~2020	1991~2004	2005~2020	1991~2004	2005~2020
最大値	0.03	0.003	0.04	0.031	0.03	0.005
最小値	0.03	0.003	0.03	0.003	0.03	0.003
平均値	0.030	0.003	0.031	0.007	0.030	0.003
標準偏差	0.000	0.000	0.002	0.006	0.000	0.000
検出下限値	0.03	0.003	0.03	0.003	0.03	0.003

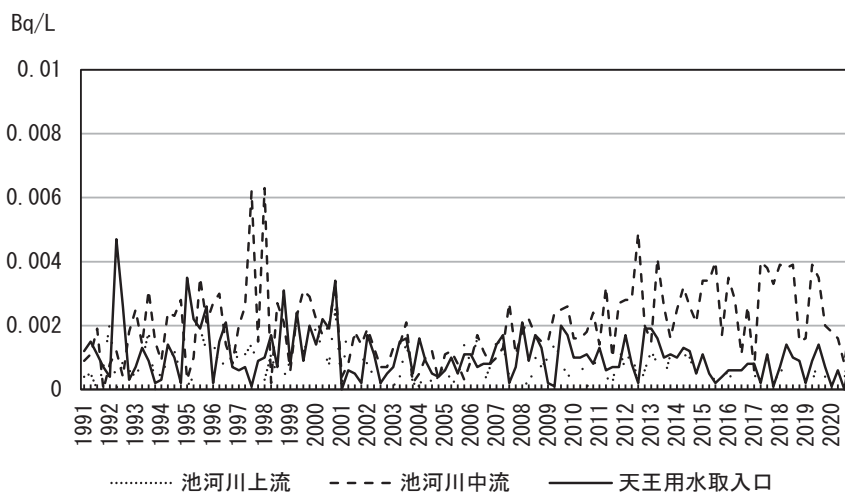


図4 河川水中Ra-226濃度経年変化図 (1991~2020)

表3 河川水中Ra-226濃度測定結果 (1991~2020)

単位：Bq/L

地点名	池河川上流	池河川中流	天王用水取入口
最大値	0.0025	0.0063	0.0047
最小値	0	0	0
平均値	0.001	0.002	0.001
標準偏差	0.001	0.001	0.001

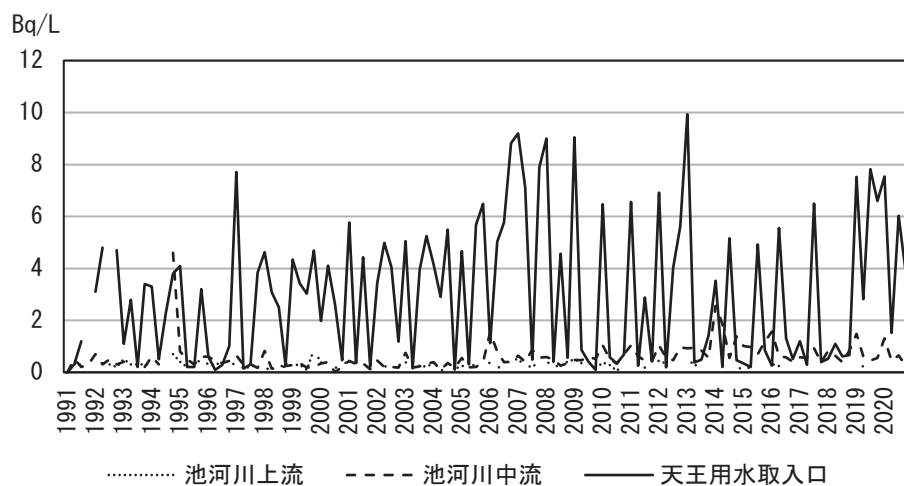


図5 河川水中Rn-222濃度経年変化図 (1991~2020)

表4 河川水中Rn-222濃度測定範囲 (1991~2020)

単位 : Bq/L

地点名	池河川上流	池河川中流	天王用水取入口
最大値	0.88	4.6	9.93
最小値	0.05	0.01	0.09
平均値	0.29	0.60	2.99
標準偏差	0.12	0.53	2.67

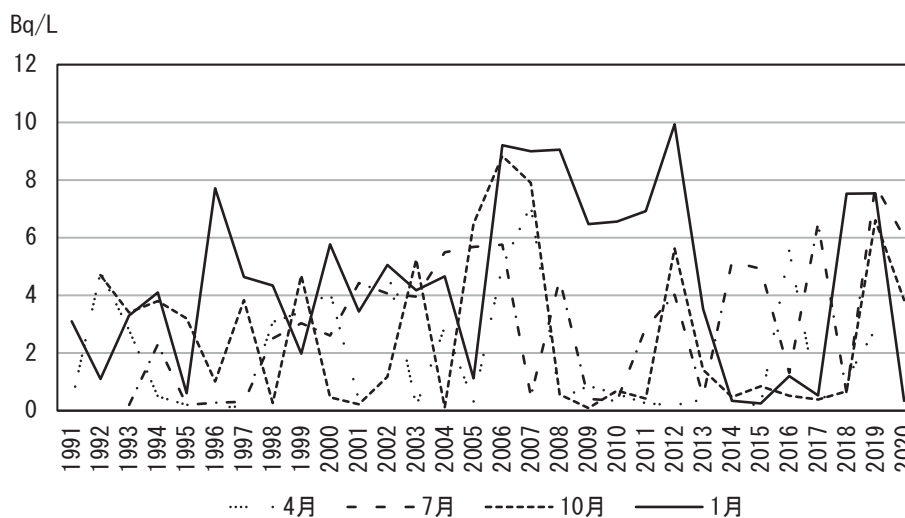


図6 河川水中Rn-222濃度季節別経年変化図 (天王用水取入口)

表5 池河川中流に対する天王用水取入口の河川水中濃度比 (1991~2020)

項目	U-238	Ra-226	Rn-222
最大値	1.0	11.7	260
最小値	0.1	0.0	0.0
平均値	0.8	0.9	9.2
標準偏差	0.3	1.5	24.4

て大きな変動はなく、また天王用水取入口は1990年代から2000年にかけてやや変動する年もあったが、それ以降大きな変動はなく、平均値が0.001 Bq/Lと、全地点がほぼ同レベルであった。

Rn-222について、池河川中流では、最大値が4.6 Bq/Lであり、しばしば濃度の上昇が見られたが、概ね池河川上流と同レベルであり、比較的低濃度で推移していた。一方、天王用水取入口では最大値が9.93 Bq/L、平均値が2.99 Bq/Lと他地点に比べて高い濃度で推移しているが、最小値は0.09 Bq/Lと他地点と同レベルであり、標準偏差は2.67 Bq/Lと大きな変動が認められた。

また、天王用水取入口のRn-222に係る季節別の経年変化を見たところ、バラツキが大きい、特定の季節に濃度の上昇があるなどの偏りは認められなかった。(図6)

### 3.1.2 池河川中流と天王用水取入口との濃度比較

各項目ごとに池河川中流と天王用水取入口の濃度の関係を比較するため、天王用水取入口と池河川中流の濃度比を求めたところ、バラツキは大きいものの、平均値で

U-238は0.8、Ra-226は0.9が得られた。一方Rn-222は濃度比が9.2であり、他と比較しても大幅に大きい、池河川中流と天王用水取入口の間に、Rn-222を特異的に上昇させる要因の存在が示唆された。(表5)

### 3.2 天王用水取入口周辺の調査

天王用水取入口周辺10地点(①～⑩)での調査結果を表6に示す。U-238については、⑧地点で0.003 Bq/Lを検出し、その他の地点は検出下限値未満であった。Ra-226については、全ての地点で検出下限値未満であった。Rn-222については、②地点で7.21 Bq/Lが検出され、従来の測定値と比較して同レベルであった。②地点の上流側である④～⑦では、2.21 Bq/L～4.20 Bq/Lの範囲であり、②地点と比較してやや低濃度であった。池河川へ流れ込む小沢で採取した⑧～⑨地点では0.06 Bq/L～0.14 Bq/Lと池河川の地点に比べて低濃度であった。②地点より下流の①地点では1.96 Bq/Lとやや低い濃度であった。②地点から約3 mのやや対岸側である③地点では、7.61 Bq/Lが検出され、同レベルであった。

表6 天王用水取入口周辺の調査結果一覧

単位：Bq/L

地点	U-238	Ra-226	Rn-222
①	<0.003	ND (-0.0002±0.0007)	1.96
②	<0.003	ND (0.0003±0.0007)	7.21
③	<0.003	ND (0.0011±0.0009)	7.61
④	<0.003	ND (0.0006±0.0008)	2.21
⑤	<0.003	ND (0.0000±0.0007)	4.20
⑥	<0.003	ND (-0.0001±0.0007)	3.01
⑦	<0.003	ND (0.0006±0.0008)	3.41
⑧	0.003	ND (0.0001±0.0007)	0.14
⑨	<0.003	ND (0.0003±0.0008)	0.06
⑩	<0.003	ND (0.0012±0.0009)	0.36

※地点は図2を参照

このことから、天王用水取入口極近傍でRn-222濃度を上昇させる要因の存在が示唆された。また、Rn-222はU-238やRa-226の子孫核種であるが、U-238やRa-226の濃度上昇は認められなかったことから、これらがRn-222に影響を与えたものではないと考えられた。

Rn-222は希ガスであり、河川水中では気体が溶存した状態で存在することから、河川を流下する際に揮散する性質がある他、湧水から高濃度に検出される例が知られている<sup>3)</sup>。天王用水取入口のRn-222濃度が比較的高いことについては、天王用水取入口地点付近には明らかな湧水は目視確認できなかったが、河川の傾斜が緩やかで、水が溜まりやすい地形となっているため、同地点の濃度を上昇させる湧水等が極近傍で存在する可能性が示唆された。

#### 4 まとめ

河川水に係る監視測定結果のとりまとめから、U-238及びRa-226については、比較的大きな変動はなく推移しており、池河川中流と天王用水取入口の約1.3 kmの間でほとんど希釈されていないことが分かった。一方、Rn-222については、大きな変動を示していたが、下流側である天王用水取入口周辺の濃度が上昇していた。その要因は季節による傾向は認められず、採取時の河川の状況によって大きな変動を持っているものと考えられた。

また、今回実施した追加調査から、天王用水取入口周辺では、U-238及びRa-226濃度は検出下限値未満又は極低レベルであり、Rn-222濃度に影響を与えるものとは考えられなかった。一方、Rn-222については、天王用水取入口の濃度が池河川へ流入する小沢を含む上流側及び下流側に比べて特異的に高いレベルであったことから、同地点の濃度を上昇させる要因は、極近傍に存在する湧水等である可能性が考えられた。

#### 文 献

- 1) 文部科学省：放射能測定法シリーズ  
<https://www.kankyo-hoshano.go.jp/library/series/>  
(2021.7.19アクセス)
- 2) 野口正安：液体シンチレーターによるRadonの放射能測定, *Radioisotopes*, 13, (5)362-367, 1964
- 3) 畑陽介, 清水光郎, 小川登, 森上嘉亮, 片岡敏夫：金剛川水系における河川水中ラドン濃度調査, *岡山県環境保健センター年報*, 37, 73-76, 2013

## 【調査研究】

## 感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究（令和2年度）

Investigation of Contamination Concerning Infectious Disease and Food Poisoning Related Bacteria  
(FY2020)

狩屋英明, 河合央博, 岡田達郎, 中嶋 洋

KARIYA Hideaki, KAWAI Hisahiro, OKADA Tatsuro, NAKAJIMA Hiroshi

## 要 旨

令和2年度も、令和元年度に引き続き、レジオネラ、サルモネラ、エルシニアによる感染症の感染源となる食品等の汚染状況や流行株の汚染実態を把握するため調査を行った。レジオネラについて県内のアスファルト道路上の水溜り30か所の汚染状況を調査したところ、その汚染率は61.1% (22/36検体) で160の分離株が得られ、レジオネラ症に関連する汚染源としての可能性が推測された。サルモネラについて、県南3系列のスーパーで販売されている国産生食肉及び野生動物等の汚染状況を調査した。国産生食肉は、牛肉0% (0/9)、豚肉0% (0/21)、牛豚ミンチ0% (0/12)、鶏肉17.4% (8/46) の汚染率であり、前回の調査と同様に、今回の調査においても、鶏肉の汚染が認められた。また、野生動物等からは検出されなかった。エルシニア感染症の発生実態把握のため、患者血清のエルシニア抗体価を測定した結果、エルシニア症を疑う患者58名のうち陽性は26名で、30名は陰性であり、2名は判定保留となった。

[キーワード：レジオネラ、水溜り、サルモネラ、エルシニア、抗体価]

[Key words : *Legionella*, Puddles, *Salmonella*, *Yersinia*, Antibody titer]

## 1 はじめに

レジオネラ症、腸管出血性大腸菌（以下「STEC」という。）、サルモネラ等の感染症について、患者の増加リスクに大きく寄与する感染源となる食品等の汚染状況や流行株の汚染実態を把握することは、感染症や食中毒の発生予防及びまん延の防止のため重要と考えられる。そこで、令和2年度も、令和元年度<sup>1)</sup>に引き続き、レジオネラの県内道路水溜りでの汚染状況、ヒト由来STEC株の収集と血清型別等（ヒト由来STECについては別報にて報告）、サルモネラの県南で市販された国産生食肉及び野生動物等の汚染状況を調査した。また、川崎病との関連が疑われるものの感染実態が不明であるエルシニア感染症の調査のため、疑い患者の血清抗体価を測定した。なお、エルシニア抗体価調査は、平成30年度に当センターの倫理審査委員会に諮り、承認を得て実施した。

## 2 材料及び方法

## 2.1 検体

レジオネラは、県内のアスファルト道路上の水溜り30か所の汚染状況を調査した。サルモネラの検査は、岡山県南3系列のスーパーで販売された国産生食肉（牛肉9検体、豚肉21検体、牛豚ミンチ12検体、鶏肉46検体）、

市販ハチミツ3検体、ニホンヤモリのふん便7検体（数匹分をまとめた0.2g~0.3gを1検体とした）、鳥のふん便11検体（ヒヨドリ4検体、ムクドリ4検体、ツバメ3検体、数羽分をまとめた1gを1検体とした）、イタチ又はテンのふん便1検体、アナグマの直腸内容物1検体を用いた。エルシニアの抗体価測定は、全国の医療機関の小児科等の外来患者又は入院患者のうち、エルシニア感染症又は川崎病との鑑別のため、抗体価測定の依頼があった58名の患者血清について実施した。

## 2.2 検査法

各菌種の検査は、以下の方法で実施した。

## 2.2.1 レジオネラ

## 2.2.1.1 道路上の水溜りからの分離

定法<sup>2)</sup>に準じて、GVPN培地等を用いて実施し、分離株がレジオネラ属菌であることは、血液寒天培地に発育しないこと、また斜光法における特徴的な外観構造を有することで確認した。検体100 mLから直接塗抹及びろ過濃縮法による分離試験を行った。

## 2.2.1.2 PCR法によるレジオネラ菌種の同定

16S rRNA遺伝子を標的としたレジオネラ属菌を特異的に検出するPCR法を実施した。また、陽性を示した株については、*mip*遺伝子を標的とした*Legionella*

*pneumophila* を特異的に検出するPCR法を実施した。

## 2.2.2 サルモネラ属菌

### 2.2.2.1 分離

令和2年4月から令和3年2月まで分離試験を行った。食肉、ハチミツ、アナグマの腸内容物並びにヒヨドリ、ムクドリ、ツバメ及びイタチ又はテンのふん便はそれぞれ1g、ニホンヤモリのふん便は0.2g~0.3gを使用し、定法<sup>3)</sup>に従いサルモネラ分離試験を行った。前増菌にBPW (OXOID)、選択増菌にRV培地 (OXOID)、分離培地にDHL寒天培地 (日水製薬) 又はX-SAL寒天培地 (日水製薬) を使用し、TSI寒天培地 (日水製薬) 及びLIM培地 (栄研化学) で性状を確認し、同定キットで菌種同定し、血清型別試験を行った。なお、食肉等の食品以外の検体では前増菌は行わなかった。

### 2.2.2.2 血清型別

サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ) 及びサルモネラ相誘導免疫血清「生研」(デンカ) を用いて血清型別試験を実施し、Kauffmann-Whiteの様式により血清型を確認した。

### 2.2.2.3 薬剤感受性試験

アンピシリン (ABPC)、カナマイシン (KM)、セフメタゾール (CMZ)、セフォタキシム (CTX)、セフェピム (CFPM)、セファゾリン (CEZ)、イミペネム (IMP)、メロペネム (MEPM)、ナリジクス酸 (NA)、ST合剤、ノルフロキサシン (NFLX)、ホスホマイシン (FOM)、クロラムフェニコール (CP)、レボフロキサシン (LVFX)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC) の計16剤について、センシ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン株式会社) を用いて寒天平板拡散法 (ディスク法) で行った。

### 2.2.3 エルシニアの抗体価測定

患者血清を56℃、30分間非働化後、PBSで10倍希釈し、これを2倍段階希釈した希釈系列を、使用する抗原数と同数作成した。抗原液として、当センターが保有する *Yersinia pseudotuberculosis* 血清群1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6, 7, 10, 15 株と *Y. enterocolitica* 血清群O3, O5, O8, O9 株を25℃、2日間培養し、菌体をPBSに浮遊して121℃で1時間加熱し、洗浄後にマックファーランドNo.0.7の濃度に調整したものを使用した。各希釈系列にそれぞれ1種類の抗原液を同量ずつ加え、混和して50℃で2時間反応後、室温で1晩静置後に判定し、1:160以上を陽性とした。

## 3 結果及び考察

### 3.1 レジオネラ

県内の道路の水溜り30か所を調べたところ、レジオネラ汚染率は61.1% (22/36検体) であり、昨年度の調査 (53.8%) と同様に高い汚染率であった。検体はアスファルト道路上の水溜りで、アスファルト上の水溜りは重要な環境中の汚染源との指摘もあることから<sup>4)</sup>、今後、水溜り由来株と患者由来株との関連の調査が必要と考えられた。

### 3.2 サルモネラの食肉等の汚染状況

岡山県南で販売される市販国産生食肉のサルモネラ汚染状況を調べた。牛肉9、豚肉21、牛豚ミンチ12、鶏肉46の計88検体を調べた。牛肉、豚肉及び牛豚ミンチからはサルモネラは検出されず、国産鶏肉8検体 (17.4%) から *Salmonella* Schwarzengrund (O4:d:1,7) が7株、*S. Infantis* (O7:r:1,5) が1株分離された。昨年度の調査 (平成31年4月~令和2年1月) に引き続き、鶏肉からサルモネラが検出され、衛生管理の重要性が認識された。昨年度の調査では、国産鶏肉40検体中3検体 (7.5%) の各検体からそれぞれ1種類の血清型菌が分離された。内訳は *S. Schwarzengrund* (O4:d:1,7) が2株、*S. Yovokome* (O8:d:1,5) が1株であった。今回は、8株中7株が *S. Schwarzengrund* であった。東京都健康安全研究センターの調査では、国産鶏肉は *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund* の順に多く検出され、平成21年~平成29年の年次推移としては *S. Infantis* の減少と *S. Schwarzengrund* の増加が認められたとの報告もある<sup>5)</sup>。また、病原微生物検出情報 (IASR)<sup>6)</sup> でも、近年は *S. Schwarzengrund* がヒトから分離されたサルモネラ血清型の上位5位内に入っており、注目すべき血清型と考えられた。

ニホンヤモリ、ヒヨドリ、ムクドリ、ツバメ、イタチ又はテンのふん便及びアナグマの腸内容物並びにハチミツからはサルモネラは検出されなかった。爬虫類はサルモネラを保菌することが知られており、昨年度に比較してニホンヤモリのふん便をより多く検査したが、サルモネラは検出されなかった。今後は更に野生のカメ等の検査も必要と考えられた。

サルモネラの薬剤耐性状況は、分離株全てがSM及びTCに耐性だった。さらに、KMにも耐性の株が5株あった。また、*S. Schwarzengrund* の7株中2株はSM、TC、KM、NA及びST合剤の全てに耐性だった。薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 (2020) では、食品由来の非チフス性サルモネラはSM及びTCに耐性の株が多いことが報告されている。また、国産食鳥肉由来の *S.*



表1 サルモネラ汚染率

検体	検査数	サルモネラ陽性数	汚染率(%)
牛肉	9	0	0
豚肉	21	0	0
牛豚ミンチ肉	12	0	0
鶏肉	46	8 ※	17.4
ハチミツ	3	0	0
ニホンヤモリふん便	7	0	0
鳥ふん便（ヒヨドリ）	4	0	0
鳥ふん便（ムクドリ）	4	0	0
鳥ふん便（ツバメ）	3	0	0
イタチ（テン）ふん便	1	0	0
アナグマ（直腸内容物）	1	0	0

※7検体*S. Schwarzengrund* 陽性, 1検体*S. Infantis* 陽性

表2 サルモネラの薬剤感受性パターン

	菌株No.							
	245	246	255	266	274	275	318	340
血清型	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.I</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>
薬剤								
アンピシリン	S	S	S	S	S	S	S	S
カナマイシン	S	R	R	S	R	R	R	S
セフメタゾール	S	S	S	S	S	S	S	S
セフォタキシム	S	S	S	S	S	S	S	S
セフェピム	S	S	S	S	S	S	S	S
セファゾリン	S	S	S	S	S	S	S	S
イミペネム	S	S	S	S	S	S	S	S
メロペネム	S	S	S	S	S	S	S	S
ナリジクス酸	S	S	S	S	R	S	R	S
ST合剤	S	R	S	S	R	R	R	S
ノルフロキサシン	S	S	S	S	S	S	S	S
ホスホマイシン	S	S	S	S	S	S	S	S
クロラムフェニコール	S	S	S	S	S	S	S	S
レボフロキサシン	S	S	S	S	S	S	S	S
ストレプトマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R
テトラサイクリン	R	R	R	R	R	R	R	R

S: 感受性 R: 耐性  
*S.S*: *S. Schwarzengrund*  
*S.I*: *S. Infantis*

*Schwarzengrund* は SM, TC 及び KM に耐性の株が多いとの報告もあることから<sup>7)</sup>, 今後も広く食鳥肉由来のサルモネラの薬剤耐性状況を継続調査することが必要と考えられた。

### 3.3 エルシニアの抗体価

エルシニア症又は川崎病を疑う患者 58 名のうち陽性は 26 名 (*Y. pseudotuberculosis* 23 名, *Y. enterocolitica* 3 名) で, 30 名は陰性であり, 2 名は非特異反応が見られた。

め判定保留となった。原因不明の川崎病との鑑別やエルシニア症の感染実態把握のために, 令和 3 年度末まで調査を実施していく予定である。

### 謝 辞

本調査の実施に際して, 各種の菌株の分与や検体採取に御協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 狩屋英明, 河合央博, 森本晃司, 仲 敦史, 中嶋 洋:  
感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究,  
岡山県環境保健センター年報, 44, 45-48, 2020
- 2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル レジオ  
ネラ症, 平成23年10月7日改訂
- 3) 公益社団法人日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針  
微生物編, 269~283, 2015
- 4) Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu  
M, et al.: Close Genetic Relationship between  
*Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from  
Sputum Specimens and Puddles on Roads, as  
Determined by Sequence-Based Typing, *Appl.*  
*Environ. Microbiol.*, 79(13), 3959-3966, 2013
- 5) 下島 優香子, 西野 由香里, 福井 理恵, 黒田 寿美,  
鈴木 淳ら, 東京都内に流通する食肉から分離された  
サルモネラの血清型および薬剤耐性, *食品衛生学雑  
誌*, 61(6), 211-217, 2020
- 6) 国立感染症研究所: IASR速報集計表 サルモネラ  
血清型 年別上位15血清型, [https://nesid4g.mhlw.  
go.jp/Byogentai/Pdf/data81j.pdf](https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data81j.pdf) (2021.8.30アクセ  
ス)
- 7) 吉原 純子, 野本 さとみ, 篠田 亮子, 佐々木 彩華,  
石橋恵美子ら: 食鳥肉におけるカンピロバクターと  
サルモネラの検出状況と分離菌株の薬剤感受性, *千  
葉市環境保健研究所年報*, 26, 70-75, 2019

【資料】

## 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査（令和2年度）

Epidemiological Study of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Okayama Prefecture  
(FY2020)

岡田達郎, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明

OKADA Tatsurou, KAWAI Hisahiro, NAKAJIMA Hiroshi, KARIYA Hideaki

### 要 旨

腸管出血性大腸菌感染症の感染源や感染経路の究明、そして感染予防や感染拡大防止対策の構築の一助とすることを目的として、令和2年度に岡山県内でヒトから分離されたEHEC株を収集し疫学調査を実施した。収集した70株のO血清群は、O157が56株（80.0%）と最も多く、次いでO26が6株（8.6%）、O111、O103、O81が2株（2.9%）、O55とO91が1株（1.4%）であった。反復配列多型解析（以下「MLVA」という。）及び疫学情報によるクラスター解析では、10種のクラスターが形成された。複数事例が同一クラスターに分類され、グループ事例以外にもMLVA型や居住地の一致等から疫学的な関連を疑う事例が認められた一方で、MLVA型が一致したにもかかわらず、疫学的な関連が不明の事例も多かった。今後は、更に多くの疫学情報を収集し、分子解析情報と併せた解析を継続することで、少しでも多くの感染源や感染経路の究明に繋げたい。

[キーワード：腸管出血性大腸菌, 疫学調査, 反復配列多型解析 (MLVA), 薬剤耐性]

[Key words : Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Epidemiological study,

Multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA), Drug resistance]

## 1 はじめに

腸管出血性大腸菌感染症は、志賀毒素を産生する腸管出血性大腸菌（以下「EHEC」という。）を起因菌とする感染性胃腸炎で、激しい腹痛、水様性下痢及び血便を主症状とし、嘔吐や発熱を伴う場合もある。EHECは牛等の家畜や鹿等の野生動物の腸内に保菌されることがあるため、これらの糞便に汚染された食品や水から感染する可能性がある。また、感染力が強いことから、しばしば集団感染を引き起こし、広域物流の発達した現代では、汚染された食品が製造された地域から遠く離れた地域に運ばれ喫食されることで、広域的な集団感染となることもある。しかしながら、EHECの感染菌量は、100個以下と推定されており<sup>1)</sup>、少量汚染であっても感染源となる可能性があるため、感染源や感染経路の特定はもとより、効果的な発生予防対策や感染拡大防止対策を講じることが困難なことが多い。当センターでは、これらの問題の解決の一助とするため、県内で得られたヒト由来株の性状や遺伝的情報などを解析し、疫学情報と合わせたデータベースを構築してきた<sup>2)~5)</sup>。令和2年度は、これまでの解析手法に加え、複数のクラスターが発生したO157については反復配列多型解析<sup>6)</sup>（以下「MLVA」と

いう。）法で得られたデータを基にMinimum Spanning Tree（以下「MST」という。）を作成し、菌株間の疫学的関連性を解析したので報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 菌株及び疫学情報

保健所、医療機関及び民間検査機関において、県内のEHEC感染者から分離されたヒト由来EHEC株70株を収集し、解析対象とした。患者の疫学情報については、保健所から提供を受けた。

### 2.2 検査法

#### 2.2.1 血清型別試験

病原性大腸菌免疫血清「生研」（デンカ）を用いて血清型別試験を実施し、O血清群及びH血清型を決定した。また、市販血清で同定できなかった菌株の血清型別試験は、国立感染症研究所（以下「感染研」という。）に依頼した。

#### 2.2.2 志賀毒素遺伝子及びインチミン遺伝子検出試験

志賀毒素遺伝子（以下「*stx*」という。）及びインチミン遺伝子（以下「*eae*」という。）の検出は、井口らが報告した方法<sup>7)</sup>に準拠し、*stx1*、*stx2*及び*eae*の3種類の遺

伝子を対象としたマルチプレックスPCR法により実施した。

### 2.2.3 stx サブタイプ型別試験

stx サブタイプ型別試験は、Scheutzらが報告した方法<sup>8)</sup>に準拠し、stx1は3種類 (stx1a, stx1c, stx1d), stx2は7種類 (stx2a, stx2b, stx2c, stx2d, stx2e, stx2f, stx2g) を型別するPCR法により実施した。

### 2.2.4 薬剤感受性試験

BDセンシ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を用い、Kirby-Bauer法により薬剤感受性試験を実施した。薬剤はアンピシリン (ABPC), セファゾリン (CEZ), セフメタゾール (CMZ), セフトキシム (CTX), セフェピム (CFPM), イミペネム (IMP), メロペネム (MEPM), カナマイシン (KM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), ホスホマイシン (FOM), ナリジクス酸 (NA), ノルフロキサシン (NFLX), レボフロキサシン (LVFX) 及びスルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST) の15種類を用いた。

### 2.2.5 MLVA法による分子疫学解析

O26, O103, O111及びO157株については、感染研にMLVA法による解析を依頼し、反復配列17領域のそれぞれのリピート数、解析結果から付与される菌株の記号 (以下「MLVA型」という。) 及びリピート数が17領域中1遺伝子座で異なるSingle Locus Variant (SLV) 等の関連性が推測される型をまとめた様式であるコンプレックス (以下「MLVAコンプレックス」という。) の情報提供を受けた。他の株については、PFGE法による解析を感染研に依頼した。

### 2.2.6 ヒト由来EHEC株のクラスター解析

O26, O103, O111及びO157株については、MLVA法による反復配列のリピート数の相違が2遺伝子座以内となる株を同一クラスターとして分類した。O81については、PFGE型が一致した株を同一クラスターとして分類した。また、患者の疫学情報から、居住地を市町村別、事例を散発事例又はグループ事例に分類し、クラスター分類と併せて解析した。

### 2.2.7 MST解析

O157については、MLVA情報集計・可視化システムMLVA-mateによりMSTを作成し、クラスター分類の結果と併せて菌株間の関連性を解析した<sup>9)</sup>。

## 3 結果及び考察

ヒト由来EHECの月別検出状況を図1に示した。ヒト由来EHECの検出数は、6月と9月の各18株が最も多

く、次いで10月の16株、7月の10株の順であった。夏季に多い傾向は例年どおりであったが、8月は4株と少なく、一方で9月～10月の秋季に検出数が多かった点は例年と異なっていた<sup>2)~4)</sup>。

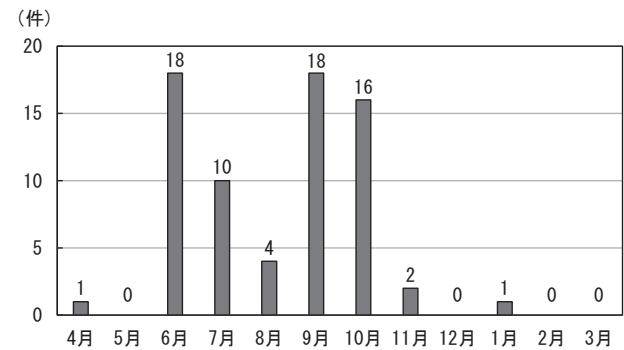


図1 ヒト由来EHEC株の月別検出状況

ヒト由来EHECの血清型、志賀毒素 (以下「Stx」という。) 型、stxサブタイプ及びeaeの有無並びに感染者の症状を表1に示した。ヒト由来EHECは、O157が56株 (80.0%), 次いでO26が6株 (8.6%), O111, O103, O81が各2株 (各2.9%), O55とO91が各1株 (各1.4%) であった。例年と同様に、O157及びO26の検出数が多く、この2つのO血清群で全体の88.6%を占めた<sup>2)~5)</sup>。Stx1型のサブタイプは、9株全てがstx1aであった。Stx2型のサブタイプは、5株のうち2株がstx2a, 2株がstx2c, 1株がstx2a+stx2cであった。Stx1&2型のサブタイプは、56株のうち52株がstx1a+stx2a, 4株がstx1a+stx2cであった。eaeは、66株 (O157, O26, O103, O111) が保有しており、このうち54株 (81.8%) が有症者由来株であったが、eae非保有の4株における有症者由来株は、1株 (25.0%) のみであった。eaeは腸管上皮細胞への接着を媒介するタンパク質であるインチミンをコードする病原遺伝子であり、発症や重症化に関与すると考えられている<sup>1)</sup>。本調査でも、eae保有株における有症率は高く、その病原性との関連性を裏付ける結果であった。

令和2年度に収集したEHEC感染者70名の内訳は、有症者が55名 (78.6%), 無症状病原体保有者が15名 (21.4%) であった。有症者のうち、急性腎不全を呈した者は1名、血便を呈した者は31名、急性腎不全及び血便を呈した者は1名であり (これらの症状のいずれかを呈した者を以下「重症者」という。), 重症者の割合は60.0%であった。また、血清型及びstxサブタイプの組合せで分類した場合の重症者の割合は、O103:H2 (Stx1;stx1a) 及びO81:H- (Stx1&2;stx1a+stx2a) がそれぞれ100%,

O157:H7 (Stx1&2;stx1a+stx2a) が70.3 %, O26:H11 (Stx1;stx1a) 及びO111:H- (Stx1&2;stx1a+stx2a) がそれぞれ50.0 %であり, 全ての株がstx1a又はstx1a+stx2aを有していた。また, 他の血清型及びstxサブタイプの組合せに重症者はなかった。stx2a保有株は, 他のサブタイプ保有株と比較して病原性が高い可能性を示唆する報告<sup>10)</sup>があり, 当センターにおける過去の調査でも同様の傾向が見られた<sup>2), 3), 5)</sup>。令和2年度の調査では, stx1a+stx2a保有株による有症者数が最も多く, また重症者の割合も高かったが, stx2aの単独保有株及びstx2a+stx2c保有株による重症者がいない点で, 例年の傾向と異なっていた<sup>2)-5)</sup>。この原因として, 収集した菌株数が病原性の評価には不十分であった可能性があるため,

今後も引き続き調査が必要であると考える。

ヒト由来EHEC株の薬剤感受性試験結果を表2に示した。15種類の薬剤のうち1剤以上に耐性を示した菌株は, 70株のうち10株(14.3 %)であり, 平成30年度(17.1 %)及び令和元年度(19.6 %)と同程度であった<sup>2), 3)</sup>。O血清群別での内訳は, O157は4株, O26は4株, O111は2株であった。耐性を示した薬剤は, ABPC, KM, TC, CP, NA及びSTの6剤で, TCが8株で最も多く, 次いでNAが6株, KM及びCPがそれぞれ4株, ABPC及びSTがそれぞれ2株であった。FOM, NFLX, KM及びニューキノロン系抗菌薬はEHEC感染症治療の第一選択薬であり, 临床上極めて重要な抗菌薬である。令和2年度は4株がKM耐性であった。近年では, 令和元

表1 ヒト由来EHEC株の血清型等及び感染者の症状

血清型	Stx型	stxサブタイプ	eae	株数	分離率(%)	症状			
						有症者			無症状病原体保有者数
						有症者数	重症者数	重症者数/有症者数(%)	
O157:H7	Stx2	stx2a	+	1	1.4	1	0	0.0	0
		stx2a+stx2c	+	1	1.4	1	0	0.0	0
		stx2c	+	2	2.9	2	0	0.0	0
	Stx1&2	stx1a+stx2a	+	48	68.6	37	26	70.3	11
		stx1a+stx2c	+	1	1.4	0	0	—	1
O157:H-	Stx1&2	stx1a+stx2c	+	3	4.3	3	0	0.0	0
O26:H11	Stx1	stx1a	+	6	8.6	6	3	50.0	0
O103:H2	Stx1	stx1a	+	2	2.9	2	2	100.0	0
O111:H-	Stx1&2	stx1a+stx2a	+	2	2.9	2	1	50.0	0
O55:H12	Stx1	stx1a	-	1	1.4	0	0	—	1
O81:H-	Stx1&2	stx1a+stx2a	-	2	2.9	1	1	100.0	1
O91:H-	Stx2	stx2a	-	1	1.4	0	0	—	1
計				70		55	33		15

\* 重症者: HUS、急性腎不全、血便のいずれかを呈した有症者とした。  
(内訳: 急性腎不全+血便: 1名、血便: 31名、急性腎不全: 1名)

表2 ヒト由来EHEC株の薬剤感受性試験結果 (O血清群別)

O血清群	株数	耐性株数	血清型 (Stx型)	薬剤耐性パターン (株数)
O157	56	4	O157:H7 (Stx1, 2)	KM・CP (2), TC (2)
O26	6	4	O26:H11 (Stx1)	TC・NA (4)
O111	2	2	O111:H- (Stx1, 2)	ABPC・KM・TC・CP・NA・ST (2)
O81	2	0		
O103	2	0		
O91	1	0		
O55	1	0		
計	70	10		

年度にKM耐性菌が2株、平成30年度にFOM耐性菌が3株、平成28年度にFOM耐性菌が1株と、断続的に耐性菌が検出されている<sup>2)~5)</sup>。第一選択薬に対する耐性菌は、EHEC感染症の早期治療に支障をきたすだけでなく、感染拡大防止にも影響を及ぼす可能性があるため、今後も継続して調査を行い、薬剤耐性化の傾向を把握する必要がある。なお、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（以下「ESBL」という。）産生EHECについては、令和2年度は疑われる事例がなかったが、過去には検出されており、今後も注視が必要と考える<sup>4), 5)</sup>。

ヒト由来EHECのO26、O81、O103、O111及びO157のクラスター解析の結果を表3に示した。O157によるグループ事例5件（グループ事例②、④、⑤、⑥、⑦）及びO111によるグループ事例1件（グループ事例⑨）は各事例内の菌株間でMLVA型が一致した。また、O81によるグループ事例1件（グループ事例⑧）はPFGE型が一致した。そのため、グループ事例②、④、⑤、⑥、⑦、⑧及び⑨は、それぞれ同一由来株に起因すると推定された。O157によるグループ事例2件（グループ事例①、③）は、同一事例内で1株のMLVA型が一致しなかったが、MLVAコンプレックスが一致しているため、株間には関連性があるものと考えられた。

O157の56株は23種類のMLVA型に分類され（データ示さず）、46株が6種類（A～F）のクラスターを形成した。クラスターAは県南部で発生し、グループ事例①及び②を含む12株から形成された。12株のうち11株は6月から7月にかけて検出され、MLVAコンプレックス「20c006」に分類された。MST解析の結果、MLVA型の異なるグループ事例①の2株「20m0067及び20m0093」には2遺伝子座の相違があり、同クラスターに属する散发事例2株「20m0081」は、その中間（グループ事例①の2株と1遺伝子座のみ異なる）に位置していた（図2）。「20m0093」については、グループ事例①で1株、グループ事例②で4株、散发事例で3株が確認され、グループ内のMLVA型で最も多かった。「20m0352」の1株は10月に検出され、他株の検出月（6～7月）と大きく離れていることから、事例間の疫学的な関連は低いと考えられた。クラスターBは県南部で発生し、グループ事例③を含む4株から形成され、全て同じMLVAコンプレックス「20c022」に分類された。「20c022」は、複数の自治体で検出される広域流行株として感染研による調査が行われたが、感染源の究明には至っていない。クラスターCは県南部で発生し、グループ事例④及び⑤を含む22株から形成された。全ての株は8月から10月にかけて検出

され、MLVAコンプレックス「20c038」に分類された。MLVA型は、22株のうち21株は「20m0245」であり、1株は1遺伝子座のみ異なる「20m0335」であった。5自治体の散发事例18株が「20m0245」であったことから、疫学的関連性は不明ながらも何らかの県内拡大要因があったと推察された。また、図1に示した例年と異なる秋季の検出数の増加は、「20m0245」の9月～10月の集中的な発生が要因であると考えられた。クラスターDは散发事例4株から形成された。このうち2株のMLVA型が「19m0145」であり、検出時期も近く、居住地区も一致していたことから、疫学的な関連が疑われた。クラスターE及びFは、それぞれ単一のMLVA型のグループ事例⑥⑦の各2株から形成された。

O26の6株は3種類のMLVA型に分類され（データ示さず）、このうち「20m2052」の4株がクラスターGを形成した。しかしながら、これらの疫学的関連性は不明であり、散发事例に分類された。また、O81の2株、O103の2株及びO111の2株はそれぞれ同じMLVA型又はPFGE型であり、それぞれクラスターH、I及びJを形成した。クラスターH及びJはグループ事例であったが、クラスターIを形成したO103の2株についても、MLVA型が同一の「19m4016」であり、検出時期も近く、居住地区も一致していたことから、疫学的な関連が疑われた。

集団事例や広域的な食中毒事案の早期探知には、自治体、保健所等の関係機関の情報共有が不可欠である。そのため、当センターでは収集したヒト由来EHEC株について、分子疫学解析等を行い、疫学情報と併せた菌株データベースの構築を進めてきた。しかしながら、現時点では菌株間の分子解析情報と患者の疫学情報の間に関連性が見出せないことも多い。今後は、更に多くの疫学情報を収集し、分子解析情報と併せた解析を継続することで、少しでも多くの感染源や感染経路の究明に繋げたい。

表3 ヒト由来EHEC株のクラスター解析結果

クラスター	血清型 (Stx型)	菌株No.	菌検出月	居住地 (市町村別)	事例種	MLVA型	MLVA コンプレックス	PFGE型
A	O157:H7 (Stx1,2)	1	2020.6	a	散発事例	20m0081	20c006	
		2	2020.6	b	散発事例	20m0067		
		3	2020.6	c	グループ事例①			
		4	2020.6	c	グループ事例②	20m0093		
		5	2020.6	b				
		6	2020.6	b				
		7	2020.7	b				
		8	2020.7	b	グループ事例②	20m0093		
		9	2020.7	b				
		10	2020.7	b	散発事例	20m0352		
		11	2020.7	b	散発事例			
		12	2020.10	b	散発事例	20m0352		
B	O157:H7 (Stx1,2)	13	2020.9	c	グループ事例③	16m0039	20c022	
		14	2020.8	c		20m0234		
		15	2020.9	c				
		16	2020.10	b	散発事例			
C	O157:H7 (Stx1,2)	17	2020.8	c	散発事例	20m0245	20c038	
		18	2020.9	c	散発事例			
		19	2020.9	d	グループ事例④			
		20	2020.9	d				
		21	2020.10	d	グループ事例⑤			
		22	2020.10	d				
		23	2020.9	b	散発事例			
		24	2020.9	b	散発事例			
		25	2020.9	b	散発事例			
		26	2020.9	b	散発事例			
		27	2020.9	b	散発事例			
		28	2020.10	e	散発事例			
		29	2020.9	f	散発事例			
		30	2020.9	c	散発事例			
		31	2020.9	c	散発事例			
		32	2020.10	c	散発事例			
		33	2020.10	b	散発事例			
		34	2020.10	b	散発事例			
		35	2020.10	b	散発事例			
		36	2020.10	c	散発事例			
37	2020.10	g	散発事例					
38	2020.10	c	散発事例	20m0335				
D	O157:H7 (Stx1,2)	39	2020.4	b	散発事例	20m0045		
		40	2020.6	b	散発事例	19m0145		
		41	2020.6	b	散発事例	20m0271		
		42	2020.10	b	散発事例			
E	O157:H7 (Stx1,2)	43	2020.9	b	グループ事例⑥	15m0385		
		44	2020.9	b				
F	O157:H7 (Stx1,2)	45	2020.10	h	グループ事例⑦	20m0366		
		46	2020.10	h				
G	O26:H11 (Stx1)	47	2020.6	i	散発事例	20m2052		
		48	2020.7	c	散発事例			
		49	2020.7	c	散発事例			
		50	2020.6	h	散発事例			
H	O81:H- (Stx1,2)	51	2020.9	j	グループ事例⑧			同一バンド パターン
		52	2020.9	j				
I	O103:H2 (Stx1)	53	2020.6	b	散発事例	19m4016		
		54	2020.6	b	散発事例			
J	O111:H- (Stx1,2)	55	2020.6	b	グループ事例⑨	20m3009		
		56	2020.6	b				

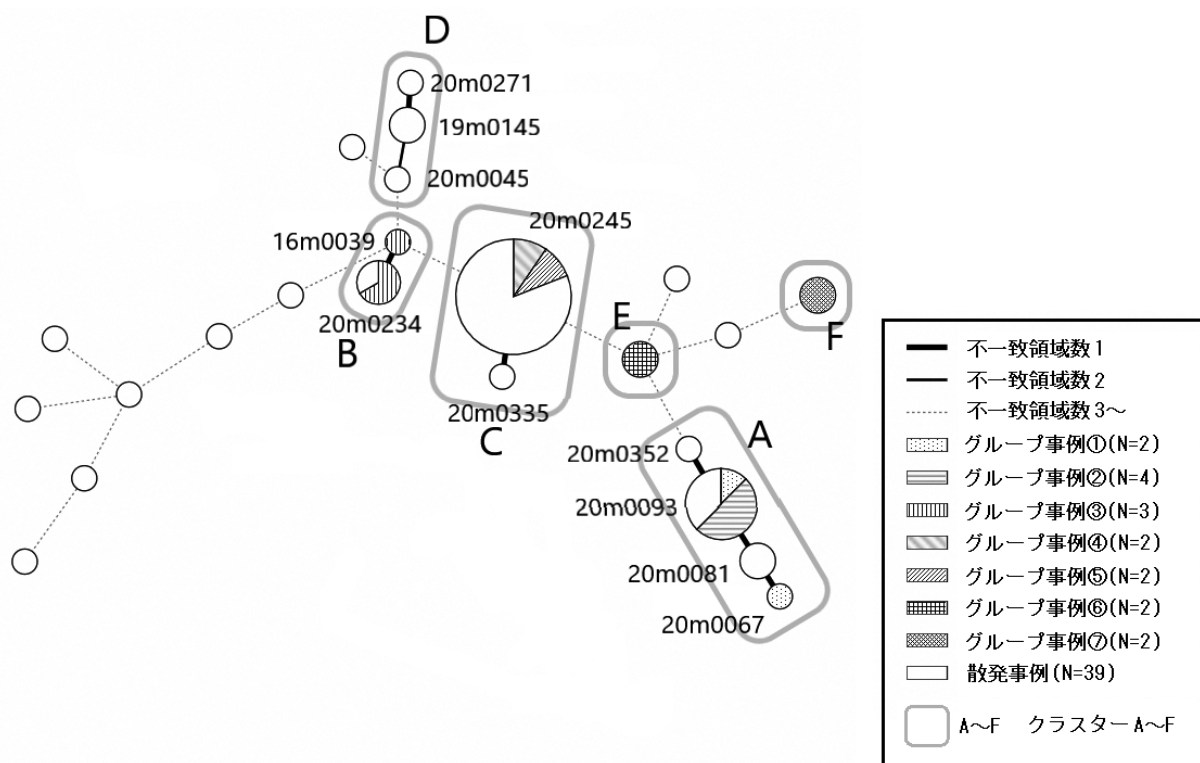


図2 O157 Minimum Spanning Tree (MST)

## 謝 辞

本調査の実施に際して、MLVA法による解析をお願いしました国立感染症研究所の泉谷秀昌先生、伊豫田淳先生、そして菌株の分与にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 仲西寿男, 丸山務監修: 食品由来感染症と食品微生物, 281-296, 中央法規, 東京, 2009
- 2) 河合央博, 森本晃司, 仲 敦史, 中嶋 洋, 狩屋英明: 岡山県における腸管出血性大腸菌感染症の発生動向調査 (2019年度), 岡山県環境保健センター年報, 44, 55-60, 2020
- 3) 森本晃司, 仲 敦史, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明: 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査 (平成30年度), 岡山県環境保健センター年報, 43, 73-78, 2019
- 4) 仲 敦史, 河合央博, 中嶋 洋, 狩屋英明: 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査 (平成29年度), 岡山県環境保健センター年報, 42, 35-42, 2018
- 5) 河合央博, 仲 敦史, 畑ますみ, 中嶋 洋: 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査 (平成28年度), 岡山県環境保健センター年報, 41, 51-57, 2017
- 6) Izumiya H, Pei Y, Terajima J, Ohnishi M, Hayashi

T et al.: New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: O157, O26, and O111, *Microbiol. Immunol.*, 54, 569-577, 2010

- 7) 井口 純, 秋吉充子, 伊豫田淳, 大西 真: 腸管出血性大腸菌の主要なO血清群と病原性遺伝子を判定するOne-shotマルチプレックスPCR法の開発と評価, *日本食品微生物学会雑誌*, 32(4), 215-218, 2015
- 8) Scheutz F, Teel L D, Beutin L, Piérard D, Buvens G, et al.: Multicenter Evaluation of a Sequence-Based Protocol for Subtyping Shiga Toxins and Standardizing Stx Nomenclature, *J. Clin. Microbiol.*, 50(9), 2951-2963, 2012
- 9) 南須原 亮, 灘岡陽子, 草深明子, 石川貴敏, 安中めぐみ ら: MLVA (VNTR) 情報の集計・可視化システムMLVA-mate の開発, *東京都健康安全研究センター年報*, 69, 279-284, 2018
- 10) 永井佑樹, 小林隆司, 小林章人, 赤地重宏: 三重県における腸管出血性大腸菌感染症について Stxパリアント解析とO157株のクレード解析, *三重県保健環境研究所年報*, 第18号, 44-50, 2016



【調査研究】

## 2018/19年シーズンに岡山県で初めて主流型となった ロタウイルス A G8及びG9型の遺伝子解析

Genetic Analysis of Rotavirus A type G8 and G9 Identified as the Major Epidemic-type  
First-ever during the 2018/19 Season in Okayama Prefecture

松岡保博, 石井 学, 長尾和彦, 森重李南\*, 濱野雅子, 木田浩司

\*現 岡山県備北保健所

MATSUOKA Yasuhiro, ISHII Manabu, NAGAO Kazuhiko,

MORISHIGE Rina\*, HAMANO Masako, KIDA Kouji

### 要 旨

2018/19年シーズンに岡山県で検出されたロタウイルス A の遺伝子型は、G8 及び G9 型のみという過去に例のない偏った流行であり、これは全国的にも同様であった。我々は、新たなリアソータント（遺伝子再集合体）の出現や遺伝子変異がその一因である可能性があると考え、検出株について、ゲノム全 11 分節の詳細な遺伝子解析を実施した。その結果、G8 型 5 株については、新たなリアソータントは認められず、うち 4 株は 2014 年に北海道でアウトブレイクを起こした G8 型株の近縁株、1 株はウシを本来の宿主とする株であると推察された。G9 型 8 株については、うち 5 株は従来株であり、3 株は 2018 年に東京で報告されたものと同様の、単一のゲノム分節のみ組み換わったモノリアソータントであった。本調査では、近年又は新規に出現したリアソータントの急激な拡大は認められず、流行が G8 及び G9 型株に偏った原因の特定には至らなかった。しかしながら、2020 年にはワクチンの定期接種が開始され、今回以上に偏った遺伝子型の流行や新たなリアソータントの出現が懸念される。そのため、我々は今後もゲノム全 11 分節を対象とした遺伝子解析を実施し、ロタウイルス A の正確な流行把握に努める予定である。

[キーワード：ロタウイルス A, 胃腸炎, 遺伝子再集合体, ワクチン, 系統樹解析]

[Key words : Rotavirus A, Gastroenteritis, Reassortant, Vaccine, Phylogenetic analysis]

### 1 はじめに

ロタウイルス A（以下「RVA」という。）は、小児の主要な胃腸炎起因ウイルスであり、重篤な症状を引き起こすこともあるが、本邦では、2011 年 11 月に単価の Rotarix<sup>®</sup>（グラクソ・スミスクライン社製）、2012 年 7 月に 5 価の RotaTeq<sup>®</sup>（メルク社製）が導入されて以降、患者は減少しつつある<sup>1)~3)</sup>。RVA は、レオウイルス科に属し、ゲノムに 11 分節の 2 本鎖 RNA を有する<sup>4)</sup>。このうち第 9 分節にコードされた外殻糖たん白（VP7）の塩基配列に基づき G 遺伝子型が、第 4 分節にコードされた外殻スパイクたん白（VP4）の塩基配列に基づき P 遺伝子型が分類されており、ヒトから検出される主要な型は、ワクチン導入前は G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] 及び G9P[8] の 5 種類であるとされてきた<sup>4), 5)</sup>。ところが、ワクチン導入以降、新たな遺伝子型の RVA が相次いで報告されている。国内における代表的な株は、2012 年の DS-1-likeG1P[8]<sup>6), 7)</sup>、2014 年に北海道でアウトブレイク

を起こした G8P[8]<sup>8)</sup> 及び 2015 年の DS-1-likeG3P[8]<sup>9)~11)</sup> である。これらの株は、リアソートメント（遺伝子再集合）によって誕生したリアソータント（遺伝子再集合体）と考えられ、特に 2014 年の G8P[8] 及び 2015 年の DS-1-likeG3P[8] については、動物の RVA 由来と考えられる遺伝子を保有しており、それぞれ bovine-like G8（ウシ RVA とのリアソータント）、equine-like G3（ウマ RVA とのリアソータント）とも呼ばれている。さらに近年では、2017 年に千葉県及び岡山県において、北海道でアウトブレイクを起こした G8P[8] 株の RNA 依存性 RNA ポリメラーゼ（VP1）をコードする第 1 分節のみが DS-1-likeG1P[8] 株由来のものに組み換わったと考えられるモノリアソータントが報告されている<sup>12), 13)</sup>。また、2018 年に東京都において、G9P[8] 株の非構造たん白（NSP4）をコードする第 10 分節のみが G2P[4] 株由来のものに組み換わったと考えられるモノリアソータントが報告されている<sup>14)</sup>。

これまで我々は、県内におけるRVA流行状況及び感染性胃腸炎患者を継続的に調査し、ワクチン導入前後のRVA遺伝子検出率、G遺伝子型、感染性胃腸炎患者数を比較解析することで、ワクチンの効果及び流行遺伝子型への影響を把握してきた<sup>13), 15)~22)</sup>。2018/19年シーズン(2018年9月~2019年8月)についてもこれまで同様に調査を実施したところ、検出されたG遺伝子型がG8及びG9型のみという過去に例のない偏った流行であることが判明した。この傾向は全国的にも同様であり、特にG8型については、ヒトから検出されること自体が少なく、2014年に北海道でアウトブレイクを起こした株についても、これまで他地域への流行拡大は認められていなかった。そこで今回我々は、これらの流行変化が新たなリアソータントの出現や遺伝子変異に起因する可能性があると考え、検出されたG8及びG9型について、ゲノム全11分節の詳細な遺伝子解析を実施した。

## 2 方法

### 2.1 対象

2019年2月~7月に、岡山県感染症発生動向調査事業において、感染性胃腸炎患者から検出されたRVAの14株全てを調査対象とした。これらの株のG遺伝子型の内訳は、G8型が5株及びG9型が9株であった(表1)。

### 2.2 遺伝子型の決定と近縁株の推定

病原体検出マニュアル「ロタウイルス」<sup>23)</sup>に従い、ゲノム全11分節それぞれのほぼ全長を標的としたPCR法を実施し、得られた増幅産物の一部について、PCRで使用したプライマーを用いたダイレクトシーケンス法により塩基配列を解読し、Rotavirus A Genotype

Determination (<https://www.viprbrc.org/brc/rvaGenotyper.spg?method=ShowCleanInputPage&decorator=reo>)により遺伝子型を決定した。また、近縁株を特定するため、BLAST検索(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)を実施した。

### 2.3 系統樹解析

G8型株のVP1遺伝子並びにG9型株のVP7遺伝子及びVP4遺伝子のそれぞれ一部について、MEGA7を用い、Maxmum likelihood method(以下「ML法」という。)による系統樹解析を実施した。

## 3 結果

### 3.1 遺伝子型構成の決定

検出株におけるゲノム全11分節の遺伝子型構成の解析結果を表2に示す。G8型5株のうち4株(Human/JPN/OK8-1~4/2019/G8P8)は、2014年に北海道でアウトブレイク<sup>8)</sup>を起こして以降、国内で報告されている株

表1 調査対象としたロタウイルス胃腸炎患者検体

G遺伝子型	検体番号	検体採取日	検体の種類
G8	38-2911	2019. 3. 9	ふん便
	38-2921	2019. 5. 23	ふん便
	38-2922	2019. 5. 29	ふん便
	38-2927	2019. 6. 20	ふん便
	22-502	2019. 7. 30	ふん便
G9	22-494	2019. 2. 12	ふん便
	41-138	2019. 2. 28	ふん便
	41-139	2019. 3. 11	ふん便
	41-141	2019. 3. 15	ふん便
	13-5	2019. 4. 5	直腸拭い液
	13-6	2019. 4. 5	直腸拭い液
	38-2917	2019. 4. 25	ふん便
	22-499	2019. 4. 25	ふん便
	38-2920	2019. 5. 16	ふん便

表2 遺伝子型構成解析結果

G遺伝子型	検体番号	株名	遺伝子型構成
G8型	38-2921	Human/JPN/OK8-1/2019/G8P8	G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2
	38-2922	Human/JPN/OK8-2/2019/G8P8	G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2
	38-2927	Human/JPN/OK8-3/2019/G8P8	G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2
	22-502	Human/JPN/OK8-4/2019/G8P8	G8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2
	38-2911	Human/JPN/OK8-5/2019/G8P14	G8-P[14]-I2-R2-C2-M2-A3-N2-T9-E2-H3
G9型	41-138	Human/JPN/OK9-1/2019/G9P8-E1	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1
	41-139	Human/JPN/OK9-2/2019/G9P8-E1	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1
	41-141	Human/JPN/OK9-3/2019/G9P8-E1	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1
	38-2917	Human/JPN/OK9-4/2019/G9P8-E1	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1
	13-6	Human/JPN/OK9-5/2019/G9P8-E1	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1
	22-494	Human/JPN/OK9-6/2019/G9P8-E2	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1
	22-499	Human/JPN/OK9-7/2019/G9P8-E2	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1
	38-2920	Human/JPN/OK9-8/2019/G9P8-E2	G9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1
	13-5	Human/JPN/OK9-9/2019/G9	解析不能

と同じG8-P[8]-I2-R2-C2-M2-A2-N2-T2-E2-H2であり、1株 (Human/JPN/OK8-5/2019/G8P14) はG8-P[14]-I2-R2-C2-M2-A3-N2-T9-E2-H3であった。一方、G9型9株のうち5株 (Human/JPN/OK9-1~5/2019/G9P8-E1) は従来から流行しているG9型と同じG9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E1-H1であり、3株 (Human/JPN/OK9-6~8/2019/G9P8-E2) は2018年に東京で検出されたモノリアソータント<sup>14)</sup>であるG9型と同じG9-P[8]-I1-R1-C1-M1-A1-N1-T1-E2-H1 (以下「G9P[8]-E2型」という。)であった。なお、G9型の1株 (Human/JPN/OK9-9/2019/G9) はPCRにおいて一部のゲノム分節が増幅されなかったため解析不能であった。

### 3.2 近縁株の推定及び系統樹解析

RVAについては、2017年に千葉県及び岡山県で検出されたモノリアソータントG8型株<sup>12), 13)</sup>のように、同じ遺伝子型構成であるにもかかわらず由来の異なるゲノム分節を有することがあるため、検出株の性状を正確に把握するためには詳細な遺伝子解析が必要である。そこで、検出されたG8型5株及びG9型8株のゲノム全11分節の塩基配列について、BLAST検索による近縁株の推定を行い、一部のゲノム分節については系統樹解析を実施した。

BLAST検索の結果、G8型については、5株のうち4株 (Human/JPN/OK8-1~4/2019/G8P8) は、11分節のゲノム全てが北海道アウトブレイク株と99%以上の高い一致率を示した (データは示さず)。また、残りの1株 (Human/JPN/OK8-5/2019/G8P14) は、11分節のゲノム全体が高い一致率を示す株はデータベース上に存在せず、6分節はヒト由来株3株、5分節はウシ由来株4株と最も一致率が高かった (表3)。

一方、G9型の遺伝子型構成については、8株のうち5

株 (Human/JPN/OK9-1~5/2019/G9P8-E1) は従来型、3株 (Human/JPN/OK9-6~8/2019/G9P8-E2) はG9P[8]-E2型であった。VP7遺伝子の一部 (833塩基) のML法による系統樹解析の結果 (図1)、従来型の5株のうち4株 (Human/JPN/OK9-1~4/2019/G9P8-E1) はPhanらの提唱する<sup>24)</sup> Lineage3のクレードに属し、1株 (Human/JPN/OK9-5/2019/G9P8-E1) はG9P[8]-E2型の3株 (Human/JPN/OK9-6~8/2019/G9P8-E2) とともに、Lineage6のクレードに属していた。次に、G9P[8]-E2型でリアソートメントを起こしていたNSP4遺伝子の一部 (621塩基) についてML法による系統樹解析を実施した結果 (図2)、従来型の5株 (Human/JPN/OK9-1~5/2019/G9P8-E1) とG9P[8]-E2型の3株 (Human/JPN/OK9-6~8/2019/G9P8-E2) は異なるクレードに属していた。さらに詳細にみると、従来型の5株 (Human/JPN/OK9-1~5/2019/G9P8-E1) は、VP7遺伝子の系統樹解析の結果と同様に、4株 (Human/JPN/OK9-1~4/2019/G9P8-E1) と1株 (Human/JPN/OK9-5/2019/G9P8-E1) の間に遺伝的距離が認められた。また、G9P[8]-E2型の3株 (Human/JPN/OK9-6~8/2019/G9P8-E2) は、東京で検出されたG9P[8]-E2型と同じクレードに属していた。G9型8株のその他9分節のゲノムについては、BLAST検索の結果、VP7遺伝子の系統樹解析の結果と同様に、Lineage3と同じクレードに属する4株 (Human/JPN/OK9-1~4/2019/G9P8-E1) とLineage6と同じクレードに属する4株 (Human/JPN/OK9-5~8/2019/G9P8-E1) がそれぞれ近縁であった。

## 4 考察

2018/19年シーズンに岡山県内において感染性胃腸炎患者から検出されたRVAはG8及びG9型のみと偏って

表3 Human/JPN/OK8-5/2019/G8P14ゲノム全11分節の近縁株

遺伝子	最も近縁な株	一致率
VP7	Human-wt/JPN/Tokyo/12-1375/2012/G8P[14]	97.28%
VP4	Cow-wt/JPN/Tottori-SG/2013/G15P[14]	97.80%
VP6	Cow-wt/JPN/Tottori-SG/2013/G15P[14]	98.09%
VP1	Human-wt/JPN/12597/2014/G8P[14]	97.36%
VP2	Cow-tc/USA/WC3/1981/G6P[5]	95.21%
VP3	Human-wt/JPN/Ni17-46/2017/G15P[14]	96.59%
NSP1	Human-wt/JPN/Tokyo/12-1375/2012/G8P[14]	96.28%
NSP2	Cow-tc/JPN/GB14-45/2007/G6P[11]	98.41%
NSP3	Human-wt/JPN/Ni17-46/2017/G15P[14]	95.81%
NSP4	Cow-tc/THA/A44/1989/G10P[11]	96.35%
NSP5	Human-wt/JPN/Tokyo/12-1375/2012/G8P[14]	99.20%

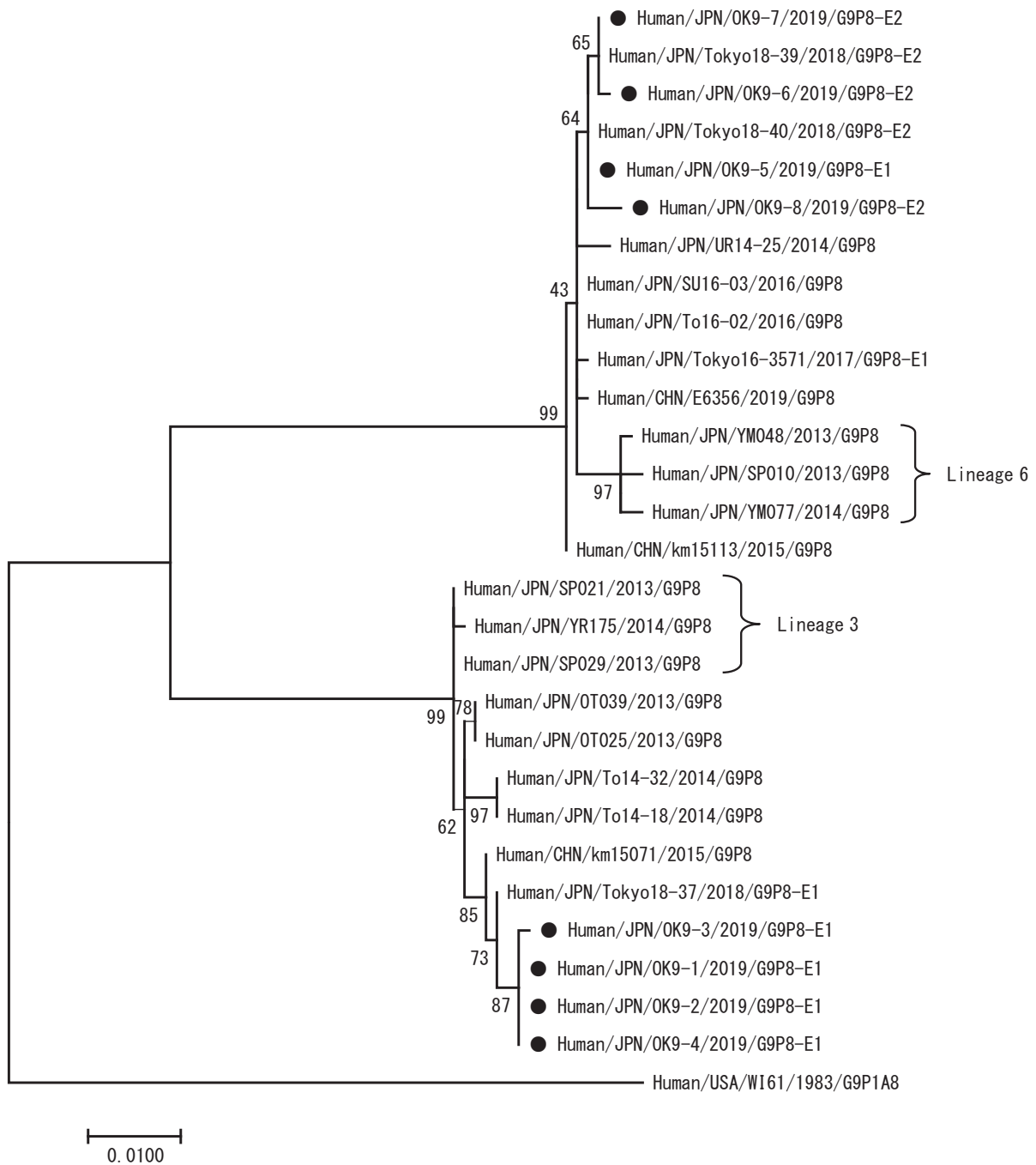


図1 G9型8株のVP7遺伝子領域系統樹

VP7遺伝子の一部（833塩基）について、ML法による系統樹解析を実施した（1,000 bootstrap）。

●：本調査検出株

いたため、その原因究明を目的として、これらの検出株について、11分節ゲノム全ての詳細な遺伝子解析を実施した。

その結果、G8型株については、新たなリアソータントは認められず、5株のうち4株が2014年に北海道でアウトブレイクを起こしたG8型株<sup>8)</sup>と近縁な株であり、2017年に千葉県及び岡山県で報告され、流行拡大が懸念されていたモノリアソータント<sup>12), 13)</sup>については検出

されなかった。残りの1株（Human/JPN/OK8-5/2019/G8P14）は、表3に示すとおり、6分節はヒト由来3株、5分節はウシ由来4株と最も一致率が高かったが、ヒト由来3株については動物株がヒトへ感染したと考えられており<sup>25)~27)</sup>、本株についてもウシを本来の宿主とする株がヒトへ感染した可能性がある。動物由来株については、その関連を疑うヒトの集団感染事例も報告されていることから<sup>25)</sup>、本株についても、今後こうした可能性を

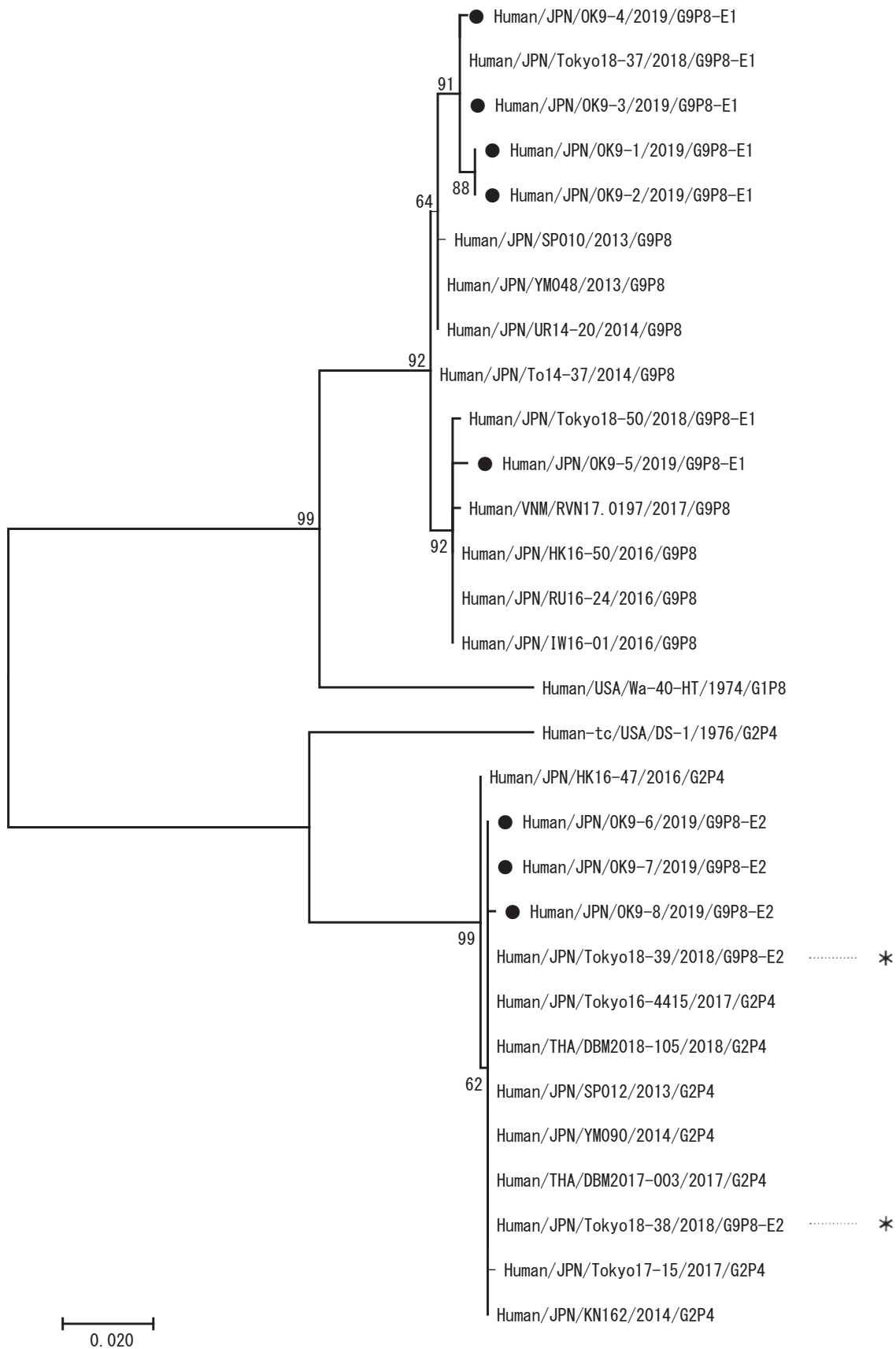


図2 G9型8株のNSP4遺伝子領域系統樹

NSP4遺伝子の一部（621塩基）について、ML法による系統樹解析を実施した（1,000 bootstrap）。

●：本調査検出株

\*：2017/18年シーズンに東京で報告されたモノリアソータント

含めて注視していくべきであると考え。

G9型については、8株のうち5株が従来株と同じ遺伝子型構成、3株が2018年に東京で報告されたモノリアソータント<sup>14)</sup>と同じ遺伝子型構成であった。これら8株は、VP7遺伝子の系統樹解析によりLineage3とLineage6の2種類に分類されたが、NSP4遺伝子の系統樹解析の結果、Lineage6の4株のうち3株が東京株に近縁なG9P[8]-E2型モノリアソータントであることが明らかになった。このことから、県内ではこの株がLineage6内の主流行型になりつつあると考えられる。しかしながら、G9型全体で見ると、その検出数は全8株のうち3株に過ぎず、むしろ従来株の方が5株と多かったことから、この株の県内進入は2018/19年シーズンのG9型の流行拡大の主要因ではないと推察される。

今回の解析では、近年又は新規に出現したRVAのリアソータントの急激な拡大は認められず、流行がG8及びG9型株に偏った原因の特定には至らなかった。しかしながら、過去にG8及びG9型が主流行型になったシーズンはないことから、本流行は、ワクチンによる何らかの影響の結果生じたものと推察される。RVAワクチンについては、2020年10月からの定期予防接種化により、接種率の上昇が予測されることから、今回以上に偏った遺伝子型のRVAの流行や新たなリアソータント出現が懸念される。特に、近年報告されるリアソータントは、リアソートメントを起こす分節ゲノムやその由来となる株の組み合わせが複雑になってきており、これらを正確に把握するためには、ゲノム全11分節を対象とした遺伝子解析が必須となる。そのため、我々は今後も継続的にRVAの遺伝子解析を実施し、流行の正確な把握に努める予定である。

## 文 献

- 1) Asada K, Kamiya H, Suga S, Nagao M, Ichimi R, et al. : Rotavirus Vaccine and Health-Care Utilization for Rotavirus Gastroenteritis in Tsu City, Japan, Western Pac. Surveill. Response J., 7(4), 28-36, 2016
- 2) Fujii Y, Noguchi A, Miura S, Ishii H, Nakagomi, et al. : Effectiveness of Rotavirus Vaccines Against Hospitalisations in Japan : BMC Pediatr., 17(1), 156, 2017
- 3) Araki K, Hara M, Tsugawa T, Shimanoe C, Nishida Y, et al. : Effectiveness of Monovalent and Pentavalent Rotavirus Vaccines in Japanese Children, Vaccine, 36(34), 5187-5193, 2018
- 4) 小林宣道, 浦沢正三 : ロタウイルス, ウイルス, 50, 157-172, 2000
- 5) Santos N, Hoshino Y : Global distribution of rotavirus serotypes/genotypes and its implication for the development and implementation of an effective rotavirus vaccine, Med. Virol., 15, 29-56, 2005
- 6) Fujii Y, Nakagomi T, Nishimura N, Noguchi A, Miura S, et al. : Spread and Predominance in Japan of Novel G1P[8] Double-Reassortant Rotavirus Strains Possessing a DS-1-like Genotype Constellation Typical of G2P[4] Strains, Infect. Genet. Evol., 28, 426-33, 2014
- 7) Komoto S, Tacharoenmuang R, Guntapong R, Ide T, Haga K, et al. : Emergence and Characterization of Unusual DS-1-Like G1P[8] Rotavirus Strains in Children With Diarrhea in Thailand, PLoS One, 10(11), e0141739, 2015
- 8) Kondo K, Tsugawa T, Ono M, Ohara T, Fujibayashi S, et al. : Clinical and Molecular Characteristics of Human Rotavirus G8P[8] Outbreak Strain, Japan, 2014, Emerg. Infect. Dis., 23(6), 968-970, 2017
- 9) Utsumi T, Wahyuni M R, Doan H Y, Dinana Z, Soegijanto S, et al. : Equine-like G3 Rotavirus Strains as Predominant Strains Among Children in Indonesia in 2015-2016, Infect. Genet. Evol., 61, 224-228, 2018
- 10) Cowley D, Donato M C, Roczo-Farkas S, Kirkwood D C : Emergence of a Novel Equine-Like G3P[8] Inter-Genogroup Reassortant Rotavirus Strain Associated With Gastroenteritis in Australian Children, J. Gen. Virol., 97(2), 403-410, 2016
- 11) Komoto S, Ide T, Negoro M, Tanaka T, Asada K, et al. : Characterization of Unusual DS-1-like G3P[8] Rotavirus Strains in Children With Diarrhea in Japan, J. Med. Virol., 90(5), 890-898, 2018
- 12) Kamiya H, Tacharoenmuang R, Ide T, Negoro M, Tanaka T, et al. : Characterization of an Unusual DS-1-Like G8P[8] Rotavirus Strain From Japan in 2017: Evolution of Emerging DS-1-Like G8P[8] Strains Through Reassortment, JPN. J. Infect. Dis., 72(4), 256-260, 2019
- 13) 松岡保博, 野宮加代子, 梶原香代子, 濱野雅子, 木

- 田浩司ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスA遺伝子再集合体株の解析（2012-2017）－，岡山県環境保健センター年報，44，57-62，2020
- 14) Fujii Y, Oda M, Somura Y, Shinkai T : Molecular Characteristics of Novel Mono-Reassortant G9P[8] Rotavirus A Strains Possessing the NSP4 Gene of the E2 Genotype Detected in Tokyo, Japan, JPN. J. Infect. Dis., 73, 26-35, 2020
- 15) 葛谷光隆，濱野雅子，藤井理津志，小倉 肇，金谷誠久ら：岡山県におけるA群ロタウイルス検出状況と血清型分布の最近の動向，病原微生物検出情報，26，4-6，2005
- 16) 葛谷光隆，濱野雅子，木田浩司，藤井理津志，岸本壽男ら：岡山県におけるA群ロタウイルスの検出状況と血清型分布の最近の動向，病原微生物検出情報，32，71-72，2011
- 17) 濱野雅子，木田浩司，藤井理津志，岸本壽男，葛谷光隆ら：岡山県におけるA群ロタウイルスの検出状況（2010/11～2012/13シーズン），病原微生物検出情報，35，68-69，2014
- 18) 濱野雅子，藤井理津志，木田浩司，葛谷光隆，榎原幸二ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2012/2013シーズン）－，岡山県環境保健センター年報，38，55-58，2014
- 19) 藤原香代子，藤井理津志，濱野雅子，磯田美穂子，松岡保博ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2013/2014シーズン）－，岡山県環境保健センター年報，39，119-123，2015
- 20) 藤原香代子，藤井理津志，濱野雅子，磯田美穂子，松岡保博ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2014/2015シーズン）－，岡山県環境保健センター年報，40，63-67，2016
- 21) 梶原香代子，濱野雅子，木田浩司，谷川徳行，磯田美穂子ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2015/2016シーズン）－，岡山県環境保健センター年報，41，67-72，2017
- 22) 木田浩司，野宮加代子，松岡保博，梶原香代子，濱野雅子ら：胃腸炎ウイルスの疫学的研究－岡山県の散発胃腸炎患者におけるロタウイルスAの流行状況（2009-2017）－，岡山県環境保健センター年報，43，99-105，2019
- 23) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル「ロタウイルス」，2019
- 24) Phan T G, Okitsu S, Maneekarn N, Ushijima H : Genetic Heterogeneity, Evolution and Recombination in Emerging G9 Rotaviruses, Infect. Genet. Evol., 7, 656-663, 2007
- 25) Mori K, Nakazawa H, Hase S, Nagano M, Kimoto K, et al. : Whole Genomic Analysis of Human G8P[14] Group A Rotavirus Detected from Community Gastroenteritis Outbreak, J. Med. Virol., 90, 1411-1417, 2018
- 26) Okitsu S, Hikita T, Thongprachum A, Khamrin P, Takanashi S, et al. : Detection and Molecular Characterization of Two Rare G8P[14] and G3P[3] Rotavirus Strains Collected from Children with Acute Gastroenteritis in Japan, Infect. Genet. Evol., 62, 95-108, 2018
- 27) Tsugawa T, Fujii Y, Akane Y, Honjo S, Kondo K, et al. : Molecular Characterization of the First Human G15 Rotavirus Strain of Zoonotic Origin from the Bovine Species, J. Gen. Virol., doi:10.1099/jgv.0.001581, 2021





【資料】

## 岡山県におけるインフルエンザ流行の疫学的解析（2019/20年シーズン）

Epidemiological Study of Influenza in Okayama Prefecture (2019/20)

石井 学, 船橋圭輔, 長尾和彦, 松岡保博, 岡本尚子, 濱野雅子,

森重李南\*, 木田浩司, 北村雅美\*\*, 村上由美\*\*\*, 森川大地\*\*\*

\*現 岡山県備北保健所, \*\*岡山県感染症情報センター, \*\*\*岡山県保健福祉部

ISHII Manabu, FUNAHASHI Keisuke, NAGAO Kazuhiko, MATSUOKA Yasuhiro,

OKAMOTO Naoko, HAMANO Masako, MORISHIGE Rina\*, KIDA Kouji,

KITAMURA Masami\*\*, MURAKAMI Yumi\*\*\*, MORIKAWA Daichi\*\*\*

### 要 旨

2019/20年シーズンの岡山県におけるインフルエンザは、感染症発生動向調査における患者発生状況及び学校等の臨時休業施設数から、2019年第47週（11月中旬から下旬）に始まり、2019年第52週（12月下旬）から2020年第4週（1月中旬から下旬）をピークとし、2020年第13週（3月下旬）に終息したと考えられる。今シーズンは、シーズンを通じて県内警報発令基準を超えず、例年と異なるパターンを示した。これは、新型コロナウイルスの国内侵入による国民の行動変化等の影響を受けたためと思われる。患者から検出したインフルエンザウイルスは37株で、その内訳は、AH1pdm09が27株、B型ビクトリア系統が9株、AH3亜型が1株であった。検出状況から、2019/20年シーズンはAH1pdm09が流行の主体であったと考えられる。また、B型については、流行のピークを過ぎた頃からビクトリア系統が検出され、2020年第9週（2月下旬から3月上旬）にかけて患者報告数の減少傾向が鈍化したことから、同系統による小流行が疑われた。細胞で分離された26株のAH1pdm09についてオセルタミビル耐性マーカー遺伝子を検索したところ、全ての株で検出されなかったが、うち1株は、耐性遺伝子特有の変異は見られなかったものの、別の部位に変異があり、SNPタイピングに反応しなかった。

[キーワード：インフルエンザウイルス、感染症発生動向調査、疫学解析、薬剤耐性株サーベイランス]

[Key words : Influenza virus, National Epidemiological Surveillance of Infectious diseases (NESID), Epidemiological study, Antiviral resistance surveillance]

## 1 はじめに

2019/20年シーズン（2019/9/2～2020/8/30）の岡山県におけるインフルエンザの流行状況を明らかにするため、感染症発生動向調査の定点医療機関における患者発生状況及び学校等における集団事例の発生状況を解析した。また、患者から採取された咽頭拭い液等について、インフルエンザウイルス（以下「Inf.V」という。）の検索を行った。

## 2 材料及び方法

### 2.1 インフルエンザ患者発生状況

2019年9月～2020年8月の感染症発生動向調査における県内のインフルエンザ定点84医療機関の患者報告数から、1 定点医療機関あたりのインフルエンザ患者報告数（1週間に1か所の定点医療機関を受診したインフ

ルエンザ患者報告数の平均値。以下「定点あたり患者報告数」という。）を算出した。また、全国の定点あたり患者報告数については、感染症発生動向調査システムから引用した。

### 2.2 学校等における集団事例の発生状況

岡山県保健福祉部健康推進課が取りまとめた「インフルエンザとみられる学校等の臨時休業」を基に臨時休業施設数を集計した。また、休業報告対象施設の在籍者を含む年齢層である0-19歳の患者報告数を2.1に示した方法で集計して比較した。

### 2.3 ウイルス検索材料

2019年9月～2020年3月に、県内の指定提出機関及び保健所が実施する積極的疫学調査において、インフルエンザ又はそれを疑う患者54症例から採取された咽頭拭い液等を検索材料とした。

## 2.4 遺伝子検出によるウイルス検索

遺伝子検出によるInf.V検索は、国立感染症研究所から示された方法<sup>1)</sup>に従って実施した。

## 2.5 Inf.V AH1pdm09の薬剤耐性マーカー遺伝子の検索

Inf.V AH1pdm09のオセルタミビル耐性マーカー遺伝子の検索は、国立感染症研究所から示された方法<sup>2)</sup>に従って実施した。すなわち、Inf.V AH1pdm09の遺伝子が検出された検体についてMDCK細胞によるウイルス分離培養を行い<sup>3)</sup>、培養上清から抽出したRNAを用いてリアルタイムPCRシステムによるSNPタイピングを実施した。培養上清に十分なウイルス量があるにもかかわらずSNPタイピングに反応しなかった株については、国立感染症研究所から示された方法<sup>1)</sup>に従って、ノイラミニダーゼ（以下「NA」という。）遺伝子の塩基配列の解析を行った。

# 3 結果

## 3.1 患者発生状況

2019/20年シーズンの感染症発生動向調査における県内及び全国の定点あたり患者報告数の推移を図1に示す。県内では、2019年第36週（9月上旬）に岡山市保健所、倉敷市保健所、備前保健所、備北保健所及び美作保健所管内から初めての患者が報告され、第44週（10月下旬から11月上旬）まで、県内各地域で散発的な報告が続いた。定点あたり患者報告数は、第45週（11月上旬）から増加し始め、第47週（11月中旬から下旬）には流行開始の指標である1.00人を超え（1.15人）、第52週（2019年12月下旬）には23.44人と加速度的に増加した。2020年第1週（2019年12月下旬から2020年1月上旬）に一旦減少したものの、第2週（1月上旬から中旬）には24.01人に再び増加し、第4週（1月中旬から下旬）の22.64人まで同程度の報告数で推移したが、県内警報発令基準である30.00人を超えることなく、第5週（1月下旬から2月上旬）以降、定点あたり患者報告数は急激に減少した。その後第9週（2月下旬から3月上旬）にかけて減少が鈍化したが、再燃することなく、第13週（3月下旬）には1.00人を下回り（0.98人）、流行はほぼ終息した。全国と比較すると、県内は流行開始がやや遅く、終息も

やや遅かった。また、定点あたり報告数のピークは同程度（岡山県：24.01人、全国：23.27人）であった。

一方、2019/20年シーズンの臨時休業施設数の累計は555施設であり、その内訳は、小学校376施設（67.7%）、中学校82施設（14.8%）、幼稚園64施設（11.5%）、高等学校29施設（5.2%）、その他4施設（0.7%）であった（保育園の臨時休業は0施設）。その推移及び0-19歳の患者報告数の推移を図2に示す。学校等の臨時休業は2019年第40週（9月下旬から10月上旬）に岡山市内の小学校から初めて報告された。その後は散発的に報告があったが、第46週（11月中旬）以降は学校等の休業期間を除いて継続的に報告された。特に2020年第3週（1月中旬）以降は報告が急増し、第4週（1月中旬から下旬）にはシーズン最多となる110施設となった。その後は継続して減少し、第9週（2月下旬から3月上旬）に一旦急増したものの、第10週（3月上旬）に激減し、以降は増加に転じることはなかった。臨時休業施設数の推移は、シーズンを通して0-19歳の患者報告数の動向と概ね一致していた。

## 3.2 Inf.V検出状況

インフルエンザ患者からの検体採取状況及びウイルス検出状況を表1に示す。検査した54症例からのウイルス検出数は37株で、AH1pdm09が27株と最も多く、次

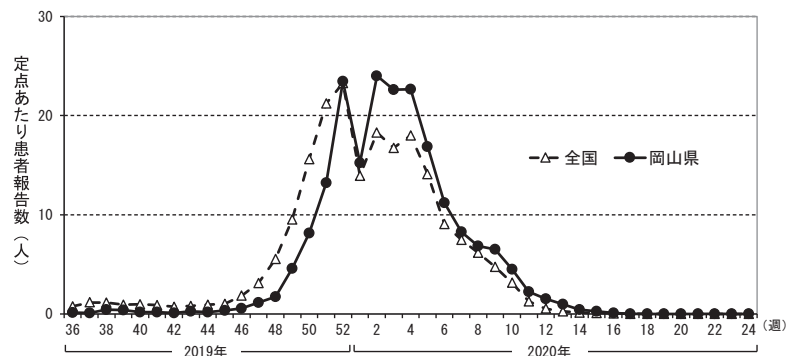


図1 岡山県及び全国の定点あたり患者報告数の比較

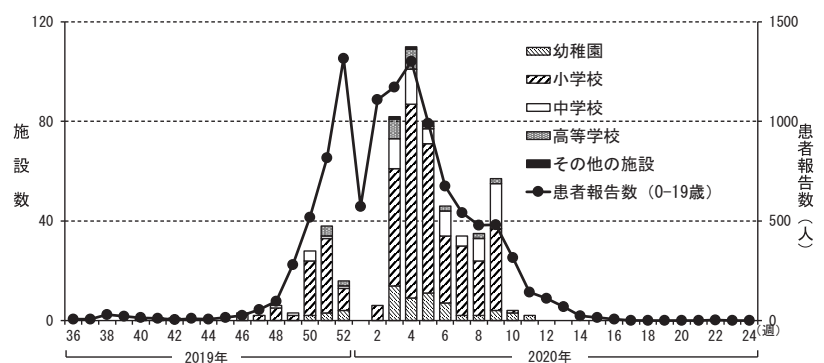


図2 インフルエンザによる学校等の週別臨時休業施設数及び0-19歳の患者報告数

いでB型ビクトリア系統が9株、AH3亜型が1株であった。

感染症発生動向調査における県内の定点あたり患者報告数及び週別のウイルス検出状況を図3に示す。AH1pdm09はシーズン当初から2020年第6週（2月上旬）まで検出され、2020年第3週（1月中旬）までの検体から検出された22株の全てを占めるなどシーズン前半に多く検出されたが、2020年に入り、流行のピークを迎えた後は検出数が減少した。AH3亜型は第9週（2月下旬から3月上旬）の1株のみであった。一方、B型は、第4週（1月中旬から下旬）から第10週（3月上旬）までビクトリア系統が検出されたが、シーズンを通して山形系統は検出されなかった。流行のピーク時（2019年第52週（12月下旬）から2020年第4週）に最も多く検出されたのは、AH1pdm09であった。

検出されたAH1pdm09のうち分離株の得られた26株について、SNPタイピングによる薬剤耐性マーカー遺伝子の検索を実施したところ、25株は薬剤耐性マーカー遺伝子を保有していなかったが、1株は反応しなかった。そこで、反応しなかった株についてNA遺伝子の416塩

基（695番目から1110番目）の塩基配列を解析したところ、SNPタイピングにおいてプローブが結合する部位の塩基配列のうち1箇所（NA遺伝子の831番目）の塩基に変異（GからAへの置換）があったが、翻訳されるアミノ酸（グルタミン酸）に変化はなく、そのほかの塩基配列は感受性株のもの一致した。

#### 4 考察

岡山県における2019/20年シーズンのインフルエンザは、感染症発生動向調査の患者報告数から、2019年第52週（12月下旬）から2020年第4週（1月中旬から下旬）をピークとした流行であったと考えられる。また、臨時休業施設数と0-19歳の患者報告数の動向を比較すると、学校等の冬季休業期間である2019年第52週に迎えた患者報告数の1度目のピーク時の臨時休業施設数が少なかったものの、シーズン全体では概ね一致していた。このことから、この年齢層においては、2019年第52週及び2020年第4週をピークとした二峰性の流行であったと考えられる。

定点あたり報告数は、例年、流行のピーク時には県内

表1 インフルエンザウイルス検出状況

検体採取状況			ウイルス検出・同定			
所管保健所名	検体採取年月日	検出*	同定			
			AH1pdm09	AH3亜型	B型 (ビクトリア系統)	B型 (山形系統)
備前保健所	2019.9.7 ~ 2020.2.29	4/4	2	1	1	
備中保健所	2019.11.13 ~ 2020.3.5	6/6	4		2	
美作保健所	2019.9.4 ~ 2020.1.31	4/8	4			
岡山市保健所	2019.9.11 ~ 2020.3.2	15/28	11		4	
倉敷市保健所	2019.12.2 ~ 2020.1.27	8/8	6		2	
合計			37/54 (68.5%)	1	9	0

\* 陽性症例数/検査症例数

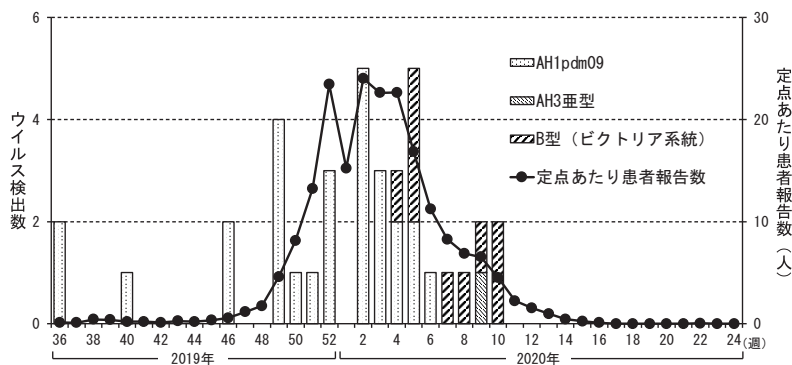


図3 定点あたり患者報告数及びウイルス検出状況

警報発令基準である30.00人を超えていたが、今シーズンは県内警報発令基準を超えることなくシーズンを終えた。これは、2020年初頭の新型コロナウイルスの国内侵入による感染防御意識の向上や、医療機関への受診抑制といった社会的な行動変化が、インフルエンザの流行にも影響したと考えられる。また、年齢層別で見ると、流行が加速度的に拡大していた年末年始に、学校等の休業によって0-19歳の感染者数が減少したことが、全体の流行縮小に最も大きく影響したと考えられる。なお、この年齢層における感染者数の顕著な減少が認められた第10週（3月上旬）も、多くの小学校、中学校及び高等学校における新型コロナウイルス感染症対策のための臨時休業の開始時期と一致しており、休業による接触機会の減少が流行抑制に効果的であったことを裏付ける結果であった。

Inf.Vの検出状況から、2019/20年シーズンはAH1pdm09が流行の主体であったと考えられる。ピーク後の2020年第5週（1月下旬から2月上旬）以降に着目すると、第5週にB型ビクトリア系統がAH1pdm09の2株を上回って3株検出され、その後もB型ビクトリア系統が最も多く検出された。検出数自体が少なく、同時期の患者報告数に著明な変化は認められなかったものの、第9週（2月下旬から3月上旬）にかけて患者報告数の減少傾向が鈍化したことから、B型ビクトリア系統による小流行が発生した可能性が考えられる。なお、全国の流行状況<sup>4)</sup>を見ると、AH1pdm09を主流型とし、シーズン終盤にはB型ビクトリア系統が増加してAH1pdm09を上回ったことから、岡山県の流行も全国と同様であったと考えられる。

AH1pdm09のオセルタミビル耐性マーカー遺伝子の検索において、分離された26株全てで薬剤耐性マーカー遺伝子は検出されなかった。このうち1株はSNPタイピングに反応しなかったが、NA遺伝子の塩基配列を解析したところ、耐性に影響するとされる塩基配列は感受性株のものと同じであり、変異が認められた塩基配列においても、翻訳されるアミノ酸に変化がなかったため、感受性株と判定した。SNPタイピングに反応しなかった原因は、プローブが結合する部位の塩基配列の変異により、プローブが結合できなかったためと推察される。

インフルエンザの感染症発生動向調査については、体制強化を目的として2016年に改正された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」により、指定医療機関からの検体提出が義務付けられた。しかしながら、今シーズンは、インフルエンザ患者数の減少に

伴い提出検体数も激減し、流行解析に支障を来した。新型コロナウイルスの出現以降、世界中で生活様式が大きく変化しており、同じ呼吸器感染症であるインフルエンザの今後の動向については、より注意深く監視していく必要があると考える。そのため、今後はこれまで以上に詳細な疫学解析を実施し、正確な流行把握や薬剤耐性株の監視に努めたい。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所：インフルエンザ診断マニュアル 第4版（平成30年12月）
- 2) 国立感染症研究所：A/H1N1pdm09 H275Y 耐性株 検出法実験プロトコール（2011年8月ver.2）
- 3) 飛田清毅：MDCK細胞によるインフルエンザウイルスの分離，臨床とウイルス，4，58-61，1976
- 4) 国立感染症研究所 感染症疫学センター：インフルエンザ 2019/20シーズン，病原微生物検出情報，41，191-193，2020

【資 料】

## 令和元年度感染症流行予測調査（ポリオ感染源調査）

Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases in Okayama Prefecture (2019-2020)  
- Surveillance of Poliovirus in Influent Sewage Water -

船橋圭輔, 松岡保博, 石井 学, 長尾和彦, 岡本尚子, 濱野雅子, 木田浩司, 森川大地\*

\*岡山県保健福祉部

FUNAHASHI Keisuke, MATSUOKA Yasuhiro, ISHII Manabu, NAGAO Kazuhiko,  
OKAMOTO Naoko, HAMANO Masako, KIDA Kouji, MORIKAWA Daichi\*

### 要 旨

感染症流行予測調査における感染源調査の一環として、ポリオウイルス野生株の侵入及びワクチン由来ポリオウイルス株の伝播の監視を目的に、県内の下水処理場1施設の流入下水におけるポリオウイルスサーベイランスを実施した。その結果、調査期間を通じてポリオウイルスは分離されなかった。一方で、ポリオウイルス以外のウイルスが71株分離されたため、感染症発生動向調査で検出されたウイルスと比較した。その結果、本調査で使用した細胞で増殖効率の良いコクサッキーウイルスB5型等については両調査で同時期に検出され、本調査によって地域流行の一端を把握できたと考えられた。しかしながら、感染症発生動向調査で検出されたコクサッキーウイルスA5型等、使用した細胞で増殖効率の悪いウイルスについては本調査では全く分離されず、地域流行の把握にはつながらなかった。今後もポリオウイルスの監視を継続するとともに、細胞分離法の改良や遺伝子クローニング技術等の活用によって本調査の充実を図り、ウイルス感染症の地域流行の把握に努めたい。

[キーワード：感染症, サーベイランス, ポリオウイルス, エンテロウイルス, 下水]

[Key words : Infectious disease, Surveillance, Poliovirus, Enterovirus, Sewage water]

## 1 はじめに

ポリオは急性灰白髄炎とも呼ばれ、エンテロウイルス属のポリオウイルスにより引き起こされる疾患である。免疫を持たない人がポリオウイルスに感染すると、多くは不顕性感染又はかぜ様症状を呈した後に回復するが、まれに麻痺性ポリオを発症する。現在のところ、ポリオに対する有効な治療薬は存在しないため、流行制御の基本はワクチンによる予防接種である。

厚生労働省委託事業である感染症流行予測調査は、予防接種が実施されている様々な感染症に対する集団免疫の把握（感受性調査）及び病原体の検索等の調査（感染源調査）を行うことで、総合的に感染症の流行を予測するとともに、予防接種事業の効果的な運用を図ることを目的としている。ポリオウイルスの感染源調査はその一環であり、流行地域からのポリオウイルス野生株の侵入及び国内でのワクチン由来ポリオウイルス株の伝播を継続的に監視するために実施されている。本調査は、下水処理場への流入下水を対象としていることから、顕性、不顕性感染にかかわらず、地域の人集団で伝播している

ポリオウイルスを効率よく検出することが可能である<sup>1)</sup>。また、付随して検出される他のウイルスについても疫学解析に利用できる。

今回我々は、平成31年（2019年）4月から令和2年（2020年）3月までの期間に県内の下水処理場1施設から採取した流入下水を対象に、ポリオウイルスの感染源調査を実施した。

## 2 材料と方法

### 2.1 材料

平成31年4月から令和2年3月までの期間に、県内のA下水処理場（処理人口約3万7千人）で毎月1回採取した流入下水500 mLを用いた。

### 2.2 ウイルスの分離及び同定

令和元年度感染症流行予測調査実施要領<sup>2)</sup>及び感染症流行予測調査事業検査術式（令和元年度改定版）<sup>3)</sup>に従い、材料の流入下水を陰電荷膜吸着誘出法により100倍濃縮したものを検体とし、試験に供した。Eagle's MEMを用いて24ウェルプレートに培養した4種類の細胞

(FL, RD-A, Hep2及びVeroE6)のそれぞれ3ウェルに検体を0.1 mLずつ接種し、5%炭酸ガス存在下、35℃で培養した。全てのウェルについて1週間ごとに継代し、2週間の観察期間中の細胞変性効果(cytopathic effect; 以下「CPE」という。)の出現を指標として、ウイルス検索を行った。CPEが出現したウェルの培養液は、L細胞にポリオウイルスレセプターを発現させたL20B細胞に再接種し、同様に培養した。L20B細胞でCPEが認められなかった非ポリオエンテロウイルスは、病原体検出マニュアル「手足口病」<sup>4)</sup>に従い、ダイレクトシーケンス法により決定したVP1遺伝子領域の一部の塩基配列を、データベースの既知株と比較し、ウイルスの種及び遺伝子型を同定した。また、L20B細胞でCPEが認められたものの、その形態からポリオウイルスではなくヒトアデノウイルス(以下「HAdV」という。)であると推定されたものについては、病原体検出マニュアル「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎」<sup>5)</sup>に従い、ダイレクトシーケンス法により決定したヘキソン遺伝子領域の一部の塩基配列を、データベースの既知株と比較して遺伝子型別を実施した。同様に、L20B細胞においてCPEが認められたものの、その形態から哺乳類オルソレオウイルス(以下「MRV」という。)であると推定されたものは、Learyらの方法<sup>6)</sup>に従い、RdRp領域の一部を増幅するPCRにより同定した。

### 3 結果及び考察

調査期間を通じてポリオウイルスが分離されなかったことから、A下水処理場の処理地域におけるポリオウ

ルス野生株の侵入及びワクチン由来ポリオウイルス株の伝播はなかったと考えられる。一方、ポリオウイルス以外のウイルスが71株分離され、その内訳は、エンテロウイルス属については、コクサッキーウイルスB(以下「CB」という。)3型が12月に2株、CB5型が6月～11月に27株、エコーウイルス(以下「E」という。)6型が9月に2株、E11型が12月に1株、E25型が7月に2株であり、その他のウイルスについては、HAdV1型が4月、1月及び2月に3株、HAdV2型が5月、10月、1月及び2月に9株、MRVが4月及び11月を除く月に23株、同定できなかったウイルスが1月に2株であった(表1)。

本調査に付随して分離された非ポリオウイルスについて、正確な地域流行の把握の一助とするため、感染症発生動向調査における検出結果と比較した(表2)。両調査ともに検出されたウイルスは、本調査で使用した細胞でよく増殖するCB5型、E11型、HAdV1型及びHAdV2型であった。これらの結果と昨年度の結果<sup>7)</sup>を勘案すると、今年度夏季を中心に流入水から6か月連続して分離されたCB5型や昨年度に続き分離されたE11型、更に今年度は分離されなかったが昨年度両調査で分離されたCB4型等は地域流行の一端を反映しうるものと考えられる。一方、感染症発生動向調査のみで検出されたウイルスのうち、コクサッキーウイルスA(以下「CA」という。)5型、CA6型及びCA16型は本調査で使用した細胞での増殖効率が悪く、HAdV31型及びHAdV41型は増殖しないとされている。そのため、現段階では、本調査の結果を感染症発生動向調査の結果と併せて解析し、

表1 流入下水からの採水月別ウイルス分離状況

分離ウイルス	採水月												合計
	2019.04	2019.05	2019.06	2019.07	2019.08	2019.09	2019.10	2019.11	2019.12	2020.01	2020.02	2020.03	
ポリオウイルス													0
コクサッキーウイルスB3型(CB3)									2				2
コクサッキーウイルスB5型(CB5)			3	5	5	2	2	10					27
エコーウイルス6型(E6)						2							2
エコーウイルス11型(E11)									1				1
エコーウイルス25型(E25)				2									2
ヒトアデノウイルス1型(HAdV1)	1									1	1		3
ヒトアデノウイルス2型(HAdV2)		1					3			1	4		9
哺乳類オルソレオウイルス(MRV)		3	3	2	3	3	3		1	1	3	1	23
未同定ウイルス										2			2
合計	1	4	6	9	8	7	8	10	4	5	8	1	71

多くのウイルス種を網羅する地域流行の把握につなげることは困難であると考える。

本調査では、1月に分離した2株が同定できなかった。VeroE6細胞におけるCPEの形態からMRVであると推定したが、MRVの検出PCRに反応しなかった。その原因として、PCRプライマーのミスマッチや類似したCPEを示す他種ウイルスである等の可能性が考えられるが、今後、網羅的遺伝子検出法等を用いて原因を特定する予定である。

本調査は、ポリオウイルスの伝播の監視が目的であるが、付随して他のウイルスも検出されるため、感染症発生動向調査の結果と併せて解析をすることで、正確な地域流行の把握につながる可能性がある。しかしながら、過去の調査<sup>7)~9)</sup>では、両調査で検出されるウイルス種には大きな離れが認められており、今回の調査でも同様であった。これは、本調査がポリオウイルスの分離を目的としているため、当該ウイルスがよく増殖する細胞種を選択していることが一因と考えられる。そのため、下水中にウイルスが混在した場合、使用する細胞に対して増殖効率のよいウイルス種のみが分離され、正確な流行把握を困難にしていると推察される。これらのことから、本調査の結果を有効活用するためには、方法の改良が不可欠であると考える。今後は、細胞分離法の改良は

もとより、遺伝子クローニング技術等も活用して本調査の充実を図り、ウイルス感染症の地域流行の把握に努めたい。

## 文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所感染症疫学センター：令和元年度（2019年度）感染症流行予測調査報告書，8-16，2021
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課：令和元年度感染症流行予測調査実施要領，5-8，2019
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課・国立感染症研究所感染症流行予測調査事業委員会：感染症流行予測検査術式令和元年度改訂版，4-21，2019
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル「手足口病」，17-35，2018
- 5) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎」，12-27，2017
- 6) Leary T P, Erker, J C, Chalmers M L, Cruz A T, Wetzel J D, et al. : Detection of Mammalian Reovirus RNA by Using Reverse Transcription-PCR Sequence Diversity within the lambda3-encoding L1 Gene, J.Clin.Microbiol., 40, 1368-1375, 2002

表2 流入下水及び感染症患者からの月別ウイルス検出状況

検出ウイルス	検体採取月											
	2019.04	2019.05	2019.06	2019.07	2019.08	2019.09	2019.10	2019.11	2019.12	2020.01	2020.02	2020.03
流入下水からの検出			CB5	CB5	CB5	CB5	CB5	CB5	CB3			
						E6						
				E25					E11			
	HAdV1									HAdV1	HAdV1	
		HAdV2					HAdV2			HAdV2	HAdV2	
		MRV	MRV	MRV	MRV	MRV	MRV		MRV	MRV	MRV	MRV
										NIV		
感染症患者からの検出		CA6	CA6	CA6			CA5					
					CA16		CA16					
					CB5				CB5			
									E11			
		HAdV1										
									HAdV2			HAdV2
		HAdV3				HAdV3						
							HAdV31					
		HAdV41										

CA：コクサッキーウイルスA      CB：コクサッキーウイルスB      E：エコーウイルス      HAdV：ヒトアデノウイルス  
 MRV：哺乳類オルソレオウイルス      NIV：未同定ウイルス

- 7) 松岡保博, 橋本清美, 石井 学, 長尾和彦, 木田浩司  
ら：平成30年度感染症流行予測調査（ポリオ感染  
源調査), 岡山県環境保健センター年報, 44, 67-69,  
2020
- 8) 梶原香代子, 磯田美穂子, 木田浩司, 谷川徳行, 松  
岡保博ら：平成28年度感染症流行予測調査（ポリ  
オ感染源調査), 岡山県環境保健センター年報, 42,  
63-65, 2018
- 9) 橋本清美, 松岡保博, 野宮加代子, 濱野雅子, 木田  
浩司ら：平成29年度感染症流行予測調査（ポリオ  
感染源調査), 岡山県環境保健センター年報, 43,  
111-113, 2019



【調査研究】

# LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質に関する一斉分析法の検討

Study on a Method for Simultaneous Determination of Quinolone and New Quinolone Antibacterial Substances in Cow Muscle by LC-MS/MS

難波順子, 浦山豊弘, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子

NAMBA Junko, URAYAMA Toyohiro, KANEKO Hidefumi, SATO Atsushi, SHIGETA Noriko

## 要 旨

キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の迅速かつ高感度な分析方法の確立を目指し、牛の筋肉において既報の分析法で困難であった5物質を追加対象として検討した。既報の分析法からアセトニトリル/ヘキサン分配の回数及びLC-MS/MS測定用試験溶液の組成を変更した方法で妥当性評価を行ったところ、新たに2物質が目標値を満たした。

[キーワード：キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質，牛の筋肉，一斉分析法，  
液体クロマトグラフタンデム質量分析計]

[Key words：Quinolone and new quinolone antibacterial substances, Cow muscle,  
Simultaneous determination, LC-MS/MS]

## 1 はじめに

動物用医薬品は、安定した高い生産性を得るために畜水産物に用いられる医薬品であるが、その畜水産物への移行・残留が懸念されている<sup>1)</sup>。このため、動物用医薬品が畜水産物に残留し人の健康を損なうことのないよう、農薬や飼料添加物と共に動物用医薬品が一定の量を超過して残留する食品の販売等を原則禁止するポジティブリスト制度により、安全性の確保が図られている。これに伴い、規制の対象となる農薬、飼料添加物及び動物用医薬品が多種類にわたることとなったため、高感度かつ迅速に分析できる一斉分析法の開発が求められている。ただし、厚生労働省が定めた「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」(平成17年1月24日付け食安発第0124001号)については、検体中に夾雑物が多く、その影響を排除するなどの作業が繁雑であることが報告されているため、各地方衛生研究所等において独自にLC-MS/MSを用いた一斉試験法の開発が行われている<sup>2)~5)</sup>。なお、厚生労働省が定めた「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号。以下「ガイドライン」という。)により、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品の分析を実施する場合において、分析機関ごとの妥当性評価が必要とされている。

本県では、畜水産物中のサルファ剤等合成抗菌剤を主とする抗菌性物質についてはLC-MS/MSを用いた一斉分析法<sup>6)</sup>により実施しているが、その他の抗菌性物質については理化学的分析法が確立されておらず、微生物学的分析法で行っている状況であった。このため、マクロライド系等の複数の系統の抗生物質の分析法を、合成抗菌剤との同時分析も含めて検討し、これまでにはちみつ及び牛の筋肉を用いて妥当性評価を行った結果を報告した<sup>7), 8)</sup>。今回、既報<sup>8)</sup>の一斉分析法では妥当性評価の目標値を満たさなかった抗菌性物質のうち、キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の分析法について再検討を行うこととした。キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質は、グラム陽性菌、グラム陰性菌、マイコプラズマなどに対して有効で抗菌力も優れているため動物用医薬品として汎用されている。また、人の医療上も重要な薬剤であることから、薬剤耐性菌出現を抑制するため、他の抗菌性物質が無効の場合のみ使用することなどのリスク管理処置が取られており<sup>9), 10)</sup>、検査の必要性が高い物質である。このことから、この度牛の筋肉を用いた分析法の更なる検討及び妥当性評価を行った。

## 2 方法

### 2.1 試料

厚生労働省から代表的な畜水産物であると示されてい

る牛の筋肉（横隔膜等）を使用した。なお、当該試料は、分析対象とする抗菌性物質が検出されないことを微生物学的分析法で確認後使用した。

## 2.2 標準品、固相カラム及び試薬

分析対象とする抗菌性物質

：既報<sup>8)</sup>のうち、キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質。

混合標準溶液

：林純薬工業株式会社製 PL動物薬 LC/MS Mix 2を用い、アセトニトリル：水（1:1）溶液で希釈した。（0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/mL）

マトリックス添加混合標準溶液

：牛の筋肉を用いて作成したブランク試験溶液に混合標準溶液を段階的に添加し、調製した。（0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/mL）

その他の試薬等：既報<sup>7)</sup>のとおり。

## 2.3 LC-MS/MS装置及び測定条件

MRM測定イオン：表1のとおり。

その他の条件等：既報<sup>7)</sup>のとおり。

表1 MRM測定イオン

抗生物質名	プリカーサーイオン (m/z)	プロダクトイオン (m/z)
Enrofloxacin	360.389	316.3
		245.0
Ciprofloxacin	332.273	231.2
		314.3
Oxolinic Acid	262.114	244.2
		216.1
Ofloxacin	362.349	318.1
		261.2
Orbifloxacin	396.286	352.3
		295.4
Sarafloxacin	386.273	368.2
		299.3
Difloxacin	400.256	356.2
		382.1
Danofloxacin	358.343	340.3
		255.0
Nalidixic Acid	233.173	215.3
		187.1
Norfloxacin	320.251	302.4
		276.2
Flumequine	262.160	244.2
		202.1
Piromidic Acid	289.165	271.2
		243.2
Marbofloxacin	363.148	72.0*
		345.1*
Miloxacin	264.126	246.2*
		215.1*

：分析法1で目標値を満たさず

## 2.4 試験溶液調製方法

既報<sup>8)</sup>の分析法（以下「分析法1」という。）にアセトニトリル／ヘキサン分配の回数追加及びLC-MS/MS測定用試験溶液の組成変更を行った分析法（以下「分析法2」という。）で調製を行った。牛の筋肉試料2 gを50 mLポリプロピレン製遠沈管に量り取り、10 mmol/L エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム（以下「Na<sub>2</sub>EDTA」という。）含有 0.1 mol/L トリス塩酸緩衝液（pH 7.5）（以下「抽出液」という。）15 mLを加えてホモジナイズした後、10分間振とうし、6900 × gで20分間、室温で遠心分離した。上層を分取し、沈殿を抽出液 5 mLで再抽出し、遠心分離後、上層を合わせ桐山ロートで吸引ろ過した。

HLB 1 gカラムをメタノール 10 mL、精製水 10 mL、抽出液 10 mLで順番にコンディショニングした。得られた上層全量をHLB 1 gカラムに負荷し、精製水 10 mLで洗浄し、遠心脱水後、アセトニトリル 20 mLで溶出させた。溶出液を分液ロートに移し、アセトニトリル飽和ヘキサン20 mLを加えて振とうし、アセトニトリル層を分取した後、再度アセトニトリル飽和ヘキサン20 mLを加えて振とうし、アセトニトリル層を分取した。アセトニトリルを0.5 mL以下になるまで減圧濃縮し、濃縮液をアセトニトリル：水（1:1）溶液で10 mLに定容後、0.45 µmメンブレンフィルターでろ過したものをLC-MS/MS測定用試験溶液とした。

## 2.5 妥当性評価の方法

ガイドラインに示された、分析者1名が2併行5日間実施する枝分かれ実験計画に基づき、添加濃度0.1 µg/g及び0.01 µg/gの2濃度で試料に対する添加回収試験を行い、定量限界、選択性、真度及び精度を評価した。

## 2.6 微生物学的検査法で陽性であった検体の分析

微生物学的検査法の簡易検査法で陽性となり、分別推定法でキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の残留が疑われる牛の筋肉検体を検討した分析法に従って5併行で前処理を行い、定量を行った。

## 3 結果及び考察

### 3.1 LC-MS/MS測定条件

MS条件は、マルボフロキサシンとミロキサシンの定量イオン（上段）と定性イオン（下段）を既報の条件より変更し、定量性及び感度良く測定できる条件とした。既報から変更した条件を表1に\*印で示す。

### 3.2 分析溶液中の含水率の検討

一部の標準品において、測定溶媒のアセトニトリルと水の組成比によって、ピーク形状及びピーク面積に変化

が見られたため、分析法1では、濃縮後の液量を一定にした後アセトニトリルで定容し、同様に操作したブランク試料に標準品を添加したマトリックス添加混合標準溶液で定量した。分析法1で妥当性評価の目標値を満たさなかった5物質（シプロフロキサシン、サラフロキサシン、ノルフロキサシン、マルボフロキサシン及びミロキサシン）のうち、ミロキサシンは測定溶媒のアセトニトリルと水の組成比によるピーク形状の変化はなかった。

ミロキサシン以外の4物質は、測定溶媒のアセトニトリルの割合が高い場合はピーク形状が悪いが、水の割合をアセトニトリルと同量以上にするとピーク形状は良好であった。測定溶媒のアセトニトリルと水の割合の変化によるマルボフロキサシン標準品のピーク形状の比較を図1に示す。また、測定溶媒がアセトニトリルの場合の面積を100%として、アセトニトリルと水の割合の変化による5物質のピーク面積の比較を図2に示す。面積はマ

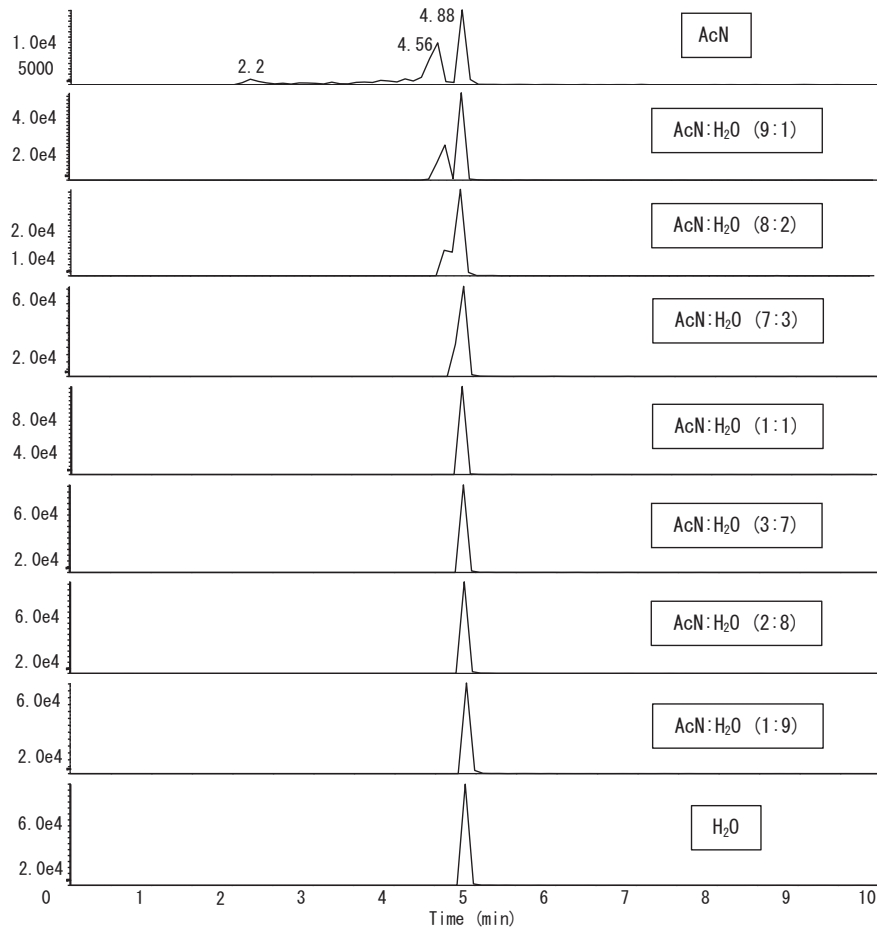


図1 測定溶媒の組成によるマルボフロキサシンのピーク形状の変化 (MRMクロマトグラム)

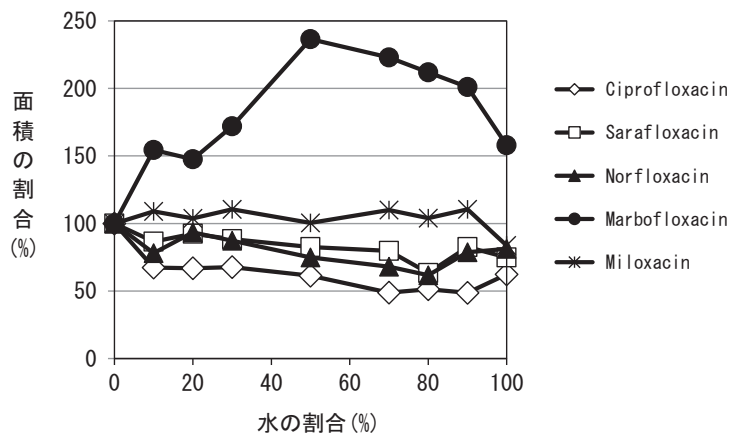


図2 測定溶媒のアセトニトリルと水の割合を検討

ルボフロキサシンではアセトニトリル：水（1:1）溶液に溶解した場合が最大となり、アセトニトリルに溶解した場合の2倍以上大きくなった。一方で、ミロキサシンはほぼ変化が無く、他の3物質は50～70%程度であった。ピーク形状等を考慮して、測定溶媒をアセトニトリルからアセトニトリル：水（1:1）溶液に変更した。

### 3.3 定量限界及び検量線

LC-MS/MSを用いた分析の問題点として、試料中のマトリックスによる目的成分のイオン化への影響がある。そのため、既報<sup>8)</sup>では実試料におけるこの影響を補正するためにマトリックス添加混合標準液を用いて定量している。牛の筋肉試料2gを前処理し10mLのLC-MS/MS測定溶液とするため、添加濃度0.01 µg/g及び0.1 µg/gはLC-MS/MS測定溶液濃度では0.002 µg/mL及び0.02 µg/mLに相当することから、検量線は0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/mLの6点調製し、各濃度でS/N比を求めた。全ての物質が0.001 µg/mLでS/N比 ≥ 10を満たしていた。

また、検量線は相関係数を考慮して、添加濃度0.01 µg/gの場合は0.001, 0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05 µg/mLの6点、添加濃度0.1 µg/gの場合は0.002, 0.005, 0.01, 0.02, 0.05, 0.1 µg/mLの6点とした。全ての標準品で良好な直線性 ( $r^2 \geq 0.99$ ) が得られた。

### 3.4 精製法の検討

牛の筋肉は、タンパク質や脂質などの夾雑物を多く含むため、固相ミニカラム及びアセトニトリル／ヘキサン分配で精製している<sup>8)</sup>。アセトニトリル／ヘキサン分配時のヘキサン層に不溶性白濁物質が多く見られるため、アセトニトリル／ヘキサン分配を追加して合計2回行うことで、マトリックス効果の低減による真度の改善が得られた。

### 3.5 妥当性評価結果

#### 3.5.1 選択性

ブランク試料として使用する牛の筋肉を2.4に従って前処理した後、LC-MS/MSで分析し、定量を妨害するピークの有無を確認したが、ガイドラインに示された選択性の目標値（ピークの面積が基準値のピーク面積の1/10未満）を超えるような妨害成分は認められなかった。

#### 3.5.2 真度及び精度

牛の筋肉2gに各標準品を0.2 µg（添加濃度0.1 µg/g）又は0.02 µg（添加濃度0.01 µg/g）添加し、試験溶液調製方法に従って前処理した後にLC-MS/MSで分析した時の真度及び精度の結果を、表2に示す。

分析法1で妥当性評価の目標値を満たさなかった5物質（シプロフロキサシン、サラフロキサシン、ノルフロキサシン、マルボフロキサシン及びミロキサシン）のう

表2 添加回収試験結果

抗生物質名	分析法1		分析法2						
	結果 まとめ	結果 まとめ	検量線 ( $>0.99$ )	添加濃度 0.1 µg/g			添加濃度 0.01 µg/g		
				真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
Enrofloxacin	○	×	○	85	5.7	25	-	-	-
Ciprofloxacin	×	×	○	70	7.7	20	-	-	-
Oxolinic Acid	○	○	○	101	6.9	6.9	90	16	21
Ofloxacin	○	×	○	78	11	16	-	-	-
Orbifloxacin	○	×	○	105	9.4	22	84	16	33
Sarafloxacin	×	×	○	70	7.4	31	-	-	-
Difloxacin	○	○	○	107	4.8	19	78	14	28
Danofloxacin	○	○	○	102	9.2	9.2	95	15	26
Nalidixic Acid	○	○	○	94	4.9	13	96	8.0	8.0
Norfloxacin	×	×	○	66	7.2	21	-	-	-
Flumequine	○	○	○	108	5.8	13	99	11	11
Piromidic Acid	○	○	○	102	2.8	5.9	92	13	13
Marbofloxacin	×	○	○	72	6.3	15	77	25	28
Miloxacin	×	○	○	84	8.9	16	98	13	13

：目標値を満たさず

ち、真度の目標値を両添加濃度で満たす物質はマルボフロキサシンとミロキサシンの2物質であった。真度の目標値を満たしたこれら2物質は精度の目標値も満たしていた。目標値を満たさない3物質は、真度が添加濃度 0.1 µg/g では70 %又はそれに近い値であり、添加濃度 0.01 µg/g ではピークを確認できたものの、定量値は定量限界以下であった。

分析法1で牛の筋肉で妥当性評価の目標値を全て満たしていた9物質のうち、分析法2で真度及び精度の目標値を両添加濃度で満たす物質はオキシリン酸、ジフロキサシン、ダノフロキサシン、ナリジクス酸、フルメキン及びピロミド酸の6物質であった。分析法2で目標値を満たさない3物質（エンロフロキサシン、オフロキサシン及びオルビフロキサシン）のうち、エンロフロキサシン及びオフロキサシンは添加濃度 0.01 µg/g ではピークを確認することはできたが、定量値は定量限界以下であった。これは分析法1ではLC-MS/MS測定用試験溶液を4 mLに定容したのに対して、分析法2では10 mLに定容したためと推測される。

分析法2の添加濃度0.1 µg/gでエンロフロキサシン、オルビフロキサシン、サラフロキサシン及びノルフロキサシンの4物質で室内精度がばらついた。また、これら4物質のうち、オルビフロキサシン以外の3物質は添加濃度 0.01 µg/gでは感度が不足している物質であった。このため、添加濃度0.1 µg/gでの室内精度のばらつきが認められたことも分析法における感度の不足が原因と考えられた。

以上の結果より、分析法2では検討した14物質のうち、8物質が真度及び精度の目標値を満たしていたので、分析法1で妥当性評価の目標値を全て満たしていた9物質に分析法2で新たに目標値を満たした2物質を追加することにより、キノロン及びニューキノロン系抗菌性物質は11物質の分析が可能となった。両分析法を用いても目標値を満たさない3物質（シプロフロキサシン、サラフロキサシン及びノルフロキサシン）は添加濃度 0.1 µg/g では真度が70 %又はそれに近い値であり、検討した分析法が0.1 µg/g程度含有する検体での確認検査としては有用であることが示された。

### 3.6 微生物学的検査法で陽性であった検体の分析結果

令和2年度は微生物学的検査法により牛の筋肉にキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の残留が疑われる事例が1件あったことから、分析法2により分析した。結果を表3に示す。マルボフロキサシンが平均0.43 ppmと基準値（0.1 ppm）を超えて検出された。また、相対

標準偏差も5 %程度と良好な結果であり、検討した分析法が実試料にも十分に対応できることが示された。

表3 微生物学的検査で陽性となった筋肉検体からのマルボフロキサシン検出値

検体番号	検出値 (ppm)	平均値 (ppm)	相対標準偏差 (%)
1	0.39	0.43	5.3
2	0.44		
3	0.45		
4	0.44		
5	0.44		

## 4 まとめ

LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中のキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の一斉分析法（分析法1）の改良を検討した。牛の筋肉2 gを10 mmol/L Na<sub>2</sub>EDTA含有0.1 mol/L トリス塩酸緩衝液（pH 7.5）でホモジナイズした後振とう抽出し、室温で遠心分離し上層を分取した。HLB 1 gによる固相抽出後、アセトニトリル／ヘキサン分配による脱脂操作を2回行った。アセトニトリル層を減圧濃縮し、アセトニトリル：水（1:1）溶液で10 mLに定容後、LC-MS/MSで測定を行う分析法2を構築した。妥当性評価を行ったところ、以下の結果を得た。

- (1) LC-MS/MS測定で14種類のキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質のMRMモードによる測定を行った結果、0.001 µg/mLで十分な定量感度（S/N比 ≥ 10）が得られた。また、全ての標準品で0.001 ~ 0.05 µg/mL又は0.002 ~ 0.1 µg/mLの範囲のマトリックス添加検量線で良好な直線性（ $r^2 \geq 0.99$ ）が得られた。
- (2) マトリックス効果の低減を目指して、アセトニトリル／ヘキサン分配による脱脂操作の回数を2回に増やし、LC-MS/MS測定用試験溶液をアセトニトリル：水（1:1）溶液10 mLに変更することで良好な結果が得られた。
- (3) 検討した全てのキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質で、選択性は目標値を満たしていた。
- (4) 検討した14物質のうち、8物質が真度及び精度の目標値を満たしていた。分析法1で妥当性評価の目標値を満たさなかった5物質のうち、分析法2で真度及び精度の目標値を満たす物質は、マルボフロキサシンとミロキサシンの2物質であった。目標値を満たさなかった3物質も、添加濃度0.1 µg/gでは真度

が65%程度であり、確認検査としての有用性が示された。

- (5) 微生物学的検査法でキノロン及びニューキノロン系抗菌性物質の残留が疑われる牛の筋肉検体について、検討した分析法2に従って5併行で分析したところ、マルボフロキサシンが平均0.43 ppmと基準値(0.1 ppm)を超えて検出された。相対標準偏差も5%程度と良好な結果であり、検討した分析法が実試料にも十分に対応できることが示された。

## 謝 辞

本件の調査に際して、試料を提供して頂いた岡山県食肉衛生検査所の皆様に感謝申し上げます。

## 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2015, 490-499, 金原出版, 2015
- 2) 中郡昭人：豚筋肉及び腎臓における限外ろ過膜を用いた動物用医薬品一斉分析法, 日本獣医師会雑誌, 68, 311-315, 2015
- 3) 藤井良昭, 西村一彦, 橋本 諭, 加賀岳朗：高速液体クロマトグラフィー／タンデム型質量分析法による畜肉中のテトラサイクリン系及び $\beta$ -ラクタム系抗生物質の一斉分析, 分析化学, 66, 5, 369-374, 2017
- 4) 甲斐茂美, 小管教仁, 脇ますみ, 岸 弘子：LC-MS/MSを用いた畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価, 神奈川県衛生研究所研究報告, 44, 9-14, 2014
- 5) アジレントテクノロジー：Agilent Captiva EMR-Lipid カートリッジクリーンアップおよびLC/MS/MSを用いた牛肉中の残留動物用医薬品の多成分同時分析,  
[https://www.chem-agilent.com/appnote/pdf/low\\_5991-8598JAJP.pdf](https://www.chem-agilent.com/appnote/pdf/low_5991-8598JAJP.pdf) (2021.4.7アクセス)
- 6) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 北村雅美：厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価(第3報), 岡山県環境保健センター年報37, 137-144, 2013
- 7) 難波順子, 肥塚加奈江, 金子英史, 赤木正章, 吉岡敏行：LC-MS/MSを用いたはちみつ中の動物用医薬品に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 42, 67-76, 2018
- 8) 難波順子, 筒井みちよ, 池田和美, 金子英史, 林隆義：LC-MS/MSを用いた牛の筋肉中の動物用医薬

品に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 43, 115-124, 2019

- 9) 木島まゆみ：—動物用抗菌性物質を取り巻く現状(X X I)—動物用抗菌剤の各論(その10)キノロン系抗菌剤, 日本獣医師会雑誌, 71, 227-232, 2018
- 10) 堀江正一：食品中に残留する動物用医薬品の規制と分析法,  
[https://www.kanto.co.jp/dcms\\_media/other/CT\\_257\\_02.pdf](https://www.kanto.co.jp/dcms_media/other/CT_257_02.pdf) (2021.4.7アクセス)

【調査研究】

## LC-MS/MSを用いたはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質に関する 一斉分析法の検討

Study on a Method for Simultaneous Determination of Tetracycline Antibiotics in Honey by LC-MS/MS

浦山豊弘, 難波順子, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子

URAYAMA Toyohiro, NAMBA Junko, KANEKO Hidefumi, SATO Atsushi, SHIGETA Noriko

### 要 旨

テトラサイクリン系抗生物質について、はちみつを試料としてLC-MS/MSを用いた一斉分析法を検討した。試料を水で希釈・均一化し、固相カラム（Oasis HLB 60 mg）による精製を行う方法で良好な回収率が得られた。分析法の妥当性評価を厚生労働省が示すガイドラインに基づき実施したところ、食品衛生法に基づく規格基準のある4物質を含む5物質で評価に係る目標値を満たした。

[キーワード：テトラサイクリン系抗生物質、はちみつ、一斉分析法、液体クロマトグラフタンデム質量分析計]

[Key words : Tetracycline antibiotics, Honey, Simultaneous determination, LC-MS/MS]

## 1 はじめに

動物用医薬品は、安定した高い生産性を得るため、ペットや家畜等の疫病予防又は成長促進を目的に家畜や養殖魚等に用いられる医薬品である。

食品への残留は、食品衛生法に基づく規格基準（昭和34年厚生省告示第370号）（以下「残留基準」という。）が定められており、平成18年のポジティブリスト制度施行により、個別の基準がある場合を除き、抗菌性物質を含有してはならないとされた。

このような経緯や食の安全・安心に対する県民意識の高まりを踏まえ、当センターでは残留動物用医薬品の検査を継続して実施している。

動物用医薬品の分析法としては、厚生労働省から「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」（平成17年1月24日付け食安発第0124001号）（以下「通知試験法」という。）により、「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ（畜水産物）」等が示されている。しかしながら、煩雑で時間も要する難点があったため、これまでに畜水産物中のサルファ剤等合成抗菌剤を主とする動物用医薬品について、有機溶媒と2種類の固相カラムを用いて簡単かつ確実にクリーンアップを行いLC-MS/MSで測定する一斉分析法を開発し、厚生労働省が示す「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」（平成19年11月15日付け、食安発第1115001号）（以下「ガイドライン」という。）に基づく妥当性評価を実

施し報告した<sup>1)</sup>。更に第2報<sup>2)</sup>及び第3報<sup>3)</sup>（以下「既報1」という。）において、同じ分析法で分析可能な物質を追加した。

また、抗生物質等についても、理化学的分析法を確立しておらず微生物学的分析法により分析を実施していたため、分析の効率性の向上等を目指し、はちみつを用いたマクロライド系抗生物質等の一斉分析法を検討し、妥当性評価を行った<sup>4)</sup>。（以下「既報2」という。）

今回、分析可能な抗生物質等の種類を増やすため、マクロライド系抗生物質等との同時分析では妥当性評価の目標値を満たさなかったテトラサイクリン系抗生物質の前処理法について、はちみつを用いて検討し、妥当性評価を行ったので報告する。

## 2 方法

### 2.1 試料

今回の試料として、ガイドラインで代表的な食品として挙げられる畜水産物の1つであるはちみつのうち、国産の純粋はちみつで、一般に流通しており入手が容易な、れんげはちみつ、あかしあはちみつ及びみかんはちみつの3種類を選択した。あかしあはちみつとれんげはちみつで基礎的な検討及び妥当性評価を行い、3種類のはちみつで、はちみつの種類による回収率の違いを確認した。

### 2.2 検討物質

いずれかの食品で残留基準が設定されているテトラサ

イクリン、クロルテトラサイクリン、オキシテトラサイクリン、ドキシサイクリンの4物質のほか、残留基準が設定されていないテトラサイクリン系抗生物質のうち標準物質が入手できたデメクロサイクリン、ミノサイクリン及びチゲサイクリンの3物質を加えた7物質について検討した。

### 2.3 標準品、固相カラム及び試薬

標準品：テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン、ドキシサイクリン、デメクロサイクリン、ミノサイクリン及びチゲサイクリン：富士フィルム和光純薬製

オキシテトラサイクリン：関東化学製

標準原液：各標準品10.0 mgを精秤後、メタノールに溶解し、10.0 mLに定容して標準原液（1000 µg/mL）を調製した。（溶解しにくい物質は少量のギ酸を添加してメタノールに溶解させた）  
混合標準原液：各標準原液（1000 µg/mL）を各1 mLずつ分取して混合し、メタノールで10 mLに定容して100 µg/mLの混合標準原液を調製した。

固相カラム：Waters製 Oasis HLB 1 cc Vac RC Cartridge, 60 mg Sorbent per Cartridge, 30 µm（以下「HLB 60 mgカラム」という。）

シリンジフィルター：Millipore製 Millex-LCR 0.45 µm

その他の試薬：LC/MS用、特級試薬を用いた。

### 2.4 装置及び測定条件

#### 1) LC条件

HPLC：島津製 LC-20A 高圧グラジエントシステム

カラム：Waters製 XTerra MS C18 2.1 mm × 150 mm, 3.5 µm

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  
グラジエント条件：A/B = 97/3 (0-3 min) → 57/43 (19 min) → 2/98 (24-33 min) → 97/3 (38-48 min)

移動相流量：0.2 mL/min

試料注入量：5 µL

#### 2) MS条件

MS機種：Applied Biosystems製 API3200 QTrap

インターフェース：Turbo V source

測定法：MRMモード

測定イオン：表1に示した。

イオン化モード：ESI positive モード

ターボガス温度：600 °C

イオン化電圧：5500 V

表1 測定イオン

抗生物質名	プリカーサーイオン(m/z)	プロダクトイオン(m/z)	
		定量	確認
Tetracycline	445.126	409.9	154.1
Chlortetracycline	479.005	444.0	154.3
Oxytetracycline	461.071	426.2	201.3
Doxycycline	445.185	428.2	154.2
Demeclocycline	465.016	447.9	153.9
Minocycline	458.079	441.2	283.1
Tigecycline	586.174	513.2	569.1

### 2.5 前処理操作

分析フローを図1に示す。はちみつ5 gを50 mLポリプロピレン（以下「PP」という。）製遠沈管に量り取り、精製水20 mLを加えて超音波で溶解し抽出溶液とした。

HLB 60 mgカラムをメタノール10 mL、精製水10 mLで順にコンディショニングした後、抽出溶液を負荷し、精製水10 mLで洗浄後、メタノール5 mLで15 mL LPP製遠沈管に溶出させた。溶出液を窒素ガスで0.5 mLまで濃縮し、濃縮液を10%メタノールで5 mLに定容後、0.45 µmメンブレンフィルターでろ過したものをPP製バイアルに入れLC-MS/MS測定用分析溶液とした。

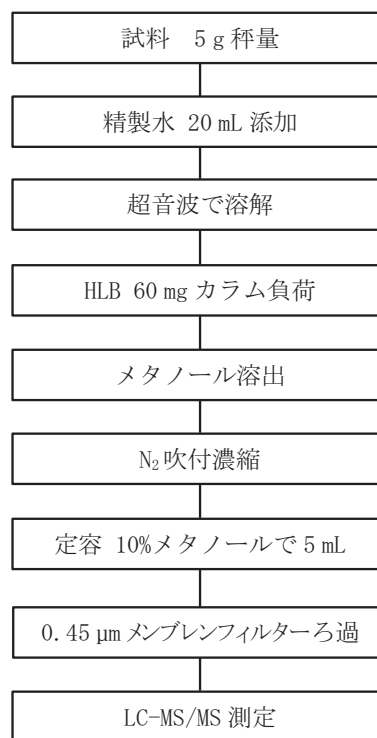


図1 分析フロー



## 2.6 妥当性評価の方法

ガイドラインに示された実施者1名が2併行を5日間実施する枝分かれ試験計画に基づき、はちみつ試料に対して添加濃度0.1 µg/g及び0.01 µg/gの2濃度で添加回収試験を行い、定量限界、選択性、真度及び精度を評価した。なお、いずれの食品にも残留基準が設定されていない3物質は定量限界濃度を添加する必要があることから、デメクロサイクリン及びミノサイクリンは0.01 µg/g、チゲサイクリンは0.05 µg/g（定量限界が農薬等での一律基準濃度である0.01 µg/gを満たさないため参考）で行った。また、テトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びドキシサイクリンもはちみつの残留基準が設定されていないため、定量限界濃度の0.01 µg/gで行った。

また、別の種類のはちみつ2種類を用い、ガイドライン中の「妥当性評価された試験法を評価対象とした食品と異なる食品に適用する場合」に準じ、添加濃度0.1 µg/g及び0.01 µg/g（チゲサイクリンは0.05 µg/g）の2濃度で5併行の添加回収試験を行い、選択性及び真度を評価した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 LC条件

LCの分析カラムは、各地方衛生研究所等での報告<sup>5), 6)</sup>や通知試験法のうち「ドキシサイクリン試験法（畜水産物）」（以下「ドキシサイクリン通知法」という。）でC18系が使用されており、既報1及び既報2でも使用したことから、XTerra MS C18を採用した。

移動相は、既報2でA液はギ酸水溶液が望ましいと報告したが、B液については検討していないため、既報1で

採用している0.1%ギ酸アセトニトリル、既報2で採用しているアセトニトリル、ドキシサイクリン通知法で採用しているメタノールについて感度（ピーク面積、ピーク高）及びピーク形状（ピークの半値幅）を比較した。表2のとおり0.1%ギ酸アセトニトリルよりアセトニトリルのピーク高が高く、ピーク面積が大きかったためアセトニトリルを採用した。なお、メタノールを用いた場合、ピーク面積は大きかったがピーク幅（半値幅）が広いため採用しなかった。

### 3.2 MS条件

ターボガス温度について、既報1で採用されている600℃と既報2で採用されている400℃を比較した。表2のとおり600℃のピーク面積が大きかったので600℃を採用した。

### 3.3 検量線

検量線は、チゲサイクリン以外の6物質では5~1000 ng/mLの範囲で相関係数0.99以上の直線性があった。

チゲサイクリンで直線性が確認されたのは20~200 ng/mLの狭い範囲であったが、二次近似では20~1000 ng/mLの広い範囲で相関があり、下に凸の曲線となることから、カラム等への吸着による影響と考えられた。

以下の検討では定量性を考慮し、チゲサイクリンを除き5~500 ng/mLの範囲の検量線で定量した。チゲサイクリンの定量には、直線性がある20~200 ng/mLの範囲の検量線を用いたが、みかんはちみつへの添加回収試験では検出濃度が200 ng/mLを超過するため、20~500 ng/mLの二次近似の検量線を用いた。

### 3.4 精製法の検討

精製には固相カラムOasis HLBが使用されていること

表2 B液の種類、ターボガス温度とピーク面積、ピーク高、半値幅

B液	ターボガス温度	Tetracycline			Chlortetracycline			Oxytetracycline			Chlortetracycline		
		ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)	ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)	ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)	ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)
メタノール	600℃	220,500	21,650	0.13	118,500	4,725	0.23	140,500	13,400	0.13	623,000	15,300	0.33
0.1%ギ酸アセトニトリル		96,500	12,000	0.10	49,000	3,580	0.11	59,700	7,715	0.10	230,500	11,200	0.14
アセトニトリル		125,000	15,500	0.10	63,350	4,765	0.11	73,750	9,655	0.10	324,500	16,150	0.14
	400℃	88,450	11,300	0.10	45,400	3,290	0.11	51,600	6,805	0.10	234,000	12,000	0.14

B液	ターボガス温度	Demeclocycline			Minocycline			Tigecycline		
		ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)	ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)	ピーク面積 (counts)	ピーク高 (cps)	ピーク半値幅 (min)
メタノール	600℃	72,550	6,740	0.14	147,500	13,700	0.15	44,650	4,190	0.09
0.1%ギ酸アセトニトリル		30,600	3,720	0.10	43,000	5,340	0.10	26,250	4,030	0.07
アセトニトリル		39,800	4,790	0.10	60,350	7,670	0.10	31,200	5,045	0.07
	400℃	29,250	3,550	0.10	39,750	5,075	0.10	17,050	2,770	0.07

が多いが、充填量はさまざまである。既報2では充填量1gとplus（充填量225mg）を比較したが、テトラサイクリン系では、充填量による差は見られなかった。今回、テトラサイクリン系の分析法として、HLB 60mgを用いてメタノールで溶出する方法<sup>5)</sup>と、HLB plusを用い逆方向からメタノール/0.1%ギ酸水溶液(1:1)で溶出する方法<sup>6)</sup>について、対象の7物質の分画状況を確認した。

結果を表3に示す。チゲサイクリンを除く6物質では、いずれの方法でも70~120%の良好な回収率であり、溶出溶媒を更に2mL加えた画分への溶出は1%以下であった。

### 3.5 抽出法の検討

畜水産物中のテトラサイクリン系抗生物質の抽出液としては、EDTA含有Tris-HCl緩衝液（既報2）、EDTA含有クエン酸緩衝液（ドキシサイクリン通知法）などが

使用されているが、はちみつにおいては水で希釈するだけで抽出可能であるとの報告<sup>5)</sup>があり、同報告での回収率も良好であったので、この方法を検討することとした。

はちみつ（あかしあはちみつを使用）5gに各0.1μg/gとなるよう標準物質を添加し、2.5に従い希釈・均一化し、メタノール10mL、精製水10mLで順番にコンデショニングした固相カラムに、抽出溶液を負荷し、精製水10mLで洗浄後、3.4と同様に溶出させた（2mLでの追加溶出はなし）。

結果を表4に示す。HLB plusではミノサイクリンとチゲサイクリンで回収率が120%を大幅に超過したので、HLB 60mgを採用することとした。

### 3.6 妥当性評価結果

#### 3.6.1 選択性

ブランク試料を2.5に従って前処理した後、LC-MS/

表3 カラムからの溶出率 (%)

カラム	HLB 60mg		HLB plus	
	メタノール		メタノール/ 0.1%ギ酸水溶液(1:1)	
溶出溶媒	メタノール		メタノール/ 0.1%ギ酸水溶液(1:1)	
溶出液量	0~5 mL	5~7 mL	0~4 mL	4~6 mL
Tetracycline	83	1	93	0
Chlortetracycline	85	0	87	0
Oxytetracycline	89	0	96	0
Doxycycline	90	0	92	0
Demeclocycline	88	0	91	0
Minocycline	88	0	95	0
Tigecycline	35	0	62	0

※網掛けは5~7 mL又は4~6 mLの溶出液を加えても、ガイドラインの真度の目標値を満たさない項目

表4 はちみつ（あかしあはちみつ）を用いた回収率の比較 (%)

カラム	HLB 60mg	HLB plus
溶出溶媒	メタノール	メタノール/ 0.1%ギ酸水溶液(1:1)
溶出液量	5 mL	4 mL
Tetracycline	98	104
Chlortetracycline	97	98
Oxytetracycline	95	111
Doxycycline	102	103
Demeclocycline	92	93
Minocycline	120	131
Tigecycline	166	267

※網掛けはガイドラインの真度の目標値を満たさない項目

表5 妥当性評価結果（れんげはちみつを使用）

動物性医薬品名	結果	選択性	高濃度(0.1 μg/g)			低濃度(0.01 μg/g) <sup>*1</sup>		
			真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)	真度 (%)	併行精度 (%)	室内精度 (%)
Tetracycline	○	○	(81)	(5)	(3)	83	4	11
Chlortetracycline	○	○	(85)	(5)	(4)	114	2	4
Oxytetracycline	○	○	85	8	3	108	13	12
Doxycycline	○	○	(88)	(3)	(5)	118	3	6
Demeclocycline	○	○	(83)	(4)	(4)	107	6	9
Minocycline		○	(92)	(2)	(9)	145	4	11
Tigecycline	○	○	(106)	(5)	(16)	114	9	15
目標値			70-120	<15	<20	70-120	<25 <sup>*2</sup>	<30 <sup>*3</sup>

※Oxytetracycline以外は、はちみつの残留基準が設定されていないため、評価対象としない高濃度の結果は括弧書きとした。

※網掛けはガイドラインの目標値を満たさない項目

\*1: Tigecyclineは0.05 μg/g, \*2: Tigecyclineは<15, \*3: Tigecyclineは<20

MS で分析し、妨害ピークの有無を確認した。ガイドラインに示された許容範囲を超える妨害ピークは認められず、表5のとおり7物質全てで選択性に問題はなかった。

### 3.6.2 真度及び精度

真度及び精度の結果を表5に示す。2濃度で添加した添加回収試験で、併行精度及び室内精度の目標値を全ての物質で満たしたが、ミノサイクリン (0.01 µg/g添加) は真度が120 %を超過し、目標値を満たさなかった。

真度及び精度の目標値を全て満たした物質は、6物質であった。

### 3.6.3 はちみつの種類による真度への影響

3.6.2の妥当性評価で用いたはちみつ(れんげはちみつ)とは別のはちみつ2種類(あかしあはちみつ、みかんはちみつ)を用いて選択性及び真度を評価した結果を表6に示す。

いずれのはちみつでも、ブランク試料から許容範囲を超える妨害ピークを認めず、選択性に問題はなかった。

真度の評価では、3.6.2で目標値を満たした6物質のうちチゲサイクリンは、あかしあはちみつ、みかんはちみつのいずれも120 %を超過し、はちみつの種類によって真度の目標値を満たさないことが分かった。このことか

ら、チゲサイクリンは目標値を満たした物質から除外した。

以上から、検討した分析法がはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質5物質の一斉分析法として適用できると判断された。

なお、ミノサイクリンとチゲサイクリンで真度が120 %を超え分析法の確立に至らなかったのは、マトリックス効果が原因と考えられる。

## 4 まとめ

LC-MS/MSを用いたはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質の一斉分析法を検討した。試料に精製水を加えて超音波で均一化し、HLB 60 mgカラムで精製し、LC-MS/MSで測定を行う分析法を構築した。妥当性評価を行ったところ、以下の結果を得た。

- (1) 検量線は、7物質のうち6物質で、5~1000 ng/mLの範囲で相関係数0.99以上の直線性があった。
- (2) 選択性は7物質の全てで目標値を満たしていたが、真度及び精度の目標値を全て満たした物質は5物質であった。
- (3) チゲサイクリンは、はちみつの種類によって真度の目標値を満たさない場合があった。

表6 別の種類のはちみつでの評価結果

はちみつの種類	動物性医薬品名	結果	選択性	高濃度 (0.1 µg/g)	低濃度 (0.01 µg/g*)
				真度 (%)	真度 (%)
あかしあ はちみつ	Tetracycline	○	○	(95)	84
	Chlortetracycline	○	○	(103)	92
	Oxytetracycline	○	○	106	95
	Doxycycline	○	○	(99)	83
	Demeclocycline	○	○	(101)	103
	Minocycline		○	(140)	143
	Tigecycline		○	(183)	190
みかん はちみつ	Tetracycline	○	○	(82)	78
	Chlortetracycline	○	○	(94)	94
	Oxytetracycline	○	○	88	94
	Doxycycline	○	○	(96)	93
	Demeclocycline	○	○	(84)	90
	Minocycline		○	(166)	187
	Tigecycline		○	(329)	389
	目標値			70-120	70-120

※Oxytetracycline以外は、はちみつの残留基準が設定されていないため、評価対象としない高濃度の結果は括弧書きとした。

※網掛けはガイドラインの目標値を満たさない項目

\* : Tigecyclineは0.05 µg/g

(4) いずれかの食品で残留基準が設定されている4物質を含む5物質で、選択性、真度及び精度の目標値を全て満たしたことから、本分析法がはちみつ中のテトラサイクリン系抗生物質5物質の一斉分析法として適用できると判断された。

今後は、牛の筋肉等、はちみつ以外の食品を用いて、夾雑物質を多く含む食品中のテトラサイクリン系抗生物質の一斉分析法を検討する予定である。

## 文 献

- 1) 大月史彦, 肥塚加奈江, 前田大輔, 山本 淳: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価, 岡山県環境保健センター年報, 35, 109-113, 2011
- 2) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 山本 淳: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価 (第2報), 岡山県環境保健センター年報, 36, 109-114, 2012
- 3) 浦山豊弘, 肥塚加奈江, 赤木正章, 山本 淳: 厚生労働省ガイドラインによる残留動物用医薬品一斉試験法の妥当性評価 (第3報), 岡山県環境保健センター年報37, 137-144, 2013
- 4) 難波順子, 肥塚加奈江, 金子英史, 赤木正章, 吉岡敏行: LC-MS/MSを用いたはちみつ中の動物用医薬品に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 42, 67-76, 2018
- 5) 石井里枝, 堀江正一, 村山三徳, 米谷民雄: LC/MS/MSによるハチミツおよびローヤルゼリー中のテトラサイクリン系抗生物質の分析, 食品衛生学雑誌, 47, 277-283, 2006
- 6) 内藤宏孝: LC-MS/MSによる水環境試料中のテトラサイクリン系抗生物質及びその代謝物の定量, 分析化学, 64, 25-34, 2015

【資 料】

## LC-MS/MSを用いた牛の肝臓中のアミノグリコシド系抗生物質に関する 一斉分析法の検討

Study on a Method for Simultaneous Determination of Aminoglycoside Antibiotics  
in Cow Liver by LC-MS/MS

難波順子, 浦山豊弘, 金子英史, 佐藤 淳, 繁田典子

NAMBA Junko, URAYAMA Toyohiro, KANEKO Hidefumi, SATO Atsushi, SHIGETA Noriko

### 要 旨

アミノグリコシド系抗生物質の迅速かつ高感度な分析方法の確立を目指し、9物質を同時分析するため、牛の肝臓を試料として、一斉分析法の検討を行った。試料を5%トリクロロ酢酸及び0.2 mol/Lヘプタフルオロ酪酸水溶液で抽出し、遠心分離後、固相カラム (PS-2, Plexa) による精製を行い、LC-MS/MSで測定を行う分析法を用い、基準値濃度の標準品を添加して妥当性評価を行ったところ、7物質で目標値を満たした。

[キーワード：アミノグリコシド系抗生物質, 牛の肝臓, 一斉分析法, 液体クロマトグラフトンデム質量分析計]

[Key words : Aminoglycoside Antibiotics, Cow Liver, Simultaneous Determination, LC-MS/MS]

### 1 はじめに

アミノグリコシド系抗生物質は、アミノ糖を含む配糖体抗生物質の総称であり、結核菌などに対して有効で抗菌力も優れているため、人に対する医療において外薬剤、経口剤及び注射剤として用いられるとともに、動物用医薬品や飼料添加物としても汎用されている<sup>1), 2)</sup>。家畜などの疾病治療や予防に有効であるが、その一方で、畜水産食品中への残留が食品衛生上懸念されている。

アミノグリコシド系抗生物質の分析法としては、微生物学的検査法と理化学的検査法が用いられている。微生物学的検査法は「平成6年度畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について」(平成6年7月1日付け衛乳発第107号。)により簡易検査法及び分別推定法を厚生労働省が定めている。しかし、これらの方法は検出限界濃度が高く、基準値での検出が困難な物質もある<sup>3)</sup>。一方、理化学的検査法は「食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について」(平成17年1月24日付け食安発第115001号。)により「ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン及びネオマイシン試験法」と「ゲンタマイシン試験法」を厚生労働省が定めている。しかし、これらの方法は十分な回収率が得られないこともあり、高感度かつ迅速に分析できるLC-MS/MSを用いた一斉分析法の開発が、各地方衛生研究所等において独自に行われている<sup>4)~7)</sup>。なお、厚生労働省が定めた

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(平成19年11月15日付け食安発第1115001号。以下「ガイドライン」という。)により、食品に残留する農薬、飼料添加物及び動物用医薬品の分析を実施する場合において、分析機関ごとに妥当性評価の実施が必要とされている。

本県では、アミノグリコシド系抗生物質については理化学的分析法が確立されておらず、微生物学的分析法で行っている状況である。そこで、LC-MS/MSを用いた一斉分析法を牛の筋肉及び腎臓を用いて検討し、妥当性評価を行った結果を報告した<sup>8)</sup>。今回、牛の肝臓を用いて検討し、妥当性評価を行ったので報告する。

### 2 方法

#### 2.1 試料

厚生労働省から代表的な畜水産物であると示されている、牛の肝臓を試料として使用した。添加回収試験に使用した試料は、分析対象とする抗生物質が検出されないことを確認後、使用した。

#### 2.2 標準品, 固相カラム及び試薬

標準品 : ストレプトマイシン (以下「SM」という。)はDr.Ehrenstorfer製、ジヒドロストレプトマイシン (以下「DHSM」という。)は林純薬製、スペクチノマイシン (以下「SPCM」という。), ネオマイシン (以下「NM」という。)及びカ

ナマイシン（以下「KM」という。）はLKT Labo製，ゲンタマイシン（以下「GEM」という。）はFluka製，アプラマイシン（以下「APM」という。）はLKT Labo製，トブラマイシン（以下「TOB」という。）はLKT Labo製，カスガマイシン（以下「KGM」という。）は富士フィルム和光純薬製の標準品を用いた。

標準原液：各標準品を，精製水に溶解し，標準原液（1000 µg/mL）を調製した。

#### 混合標準原液

：標準原液（1000 µg/mL）を混合し，表1に示す肝臓の基準値の10倍の混合標準原液を作成した。なお，TOB及びKGMは試料への添加濃度が1 ppmとなるようにした。

#### マトリックス添加混合標準溶液

：肝臓の分析対象物質を含まない試料（以下「ブランク試料」という。）を用いて作成した試験溶液に混合標準原液を添加し，試料濃度でそれぞれ基準値（TOB及びKGMは1 ppm）の1/10，1/5，1/2，1，2倍になるように作成した。

固相カラム：既報<sup>8)</sup>のとおり。

その他の試薬：残留農薬試験用，特級試薬を用いた。

### 2.3 LC-MS/MS装置及び測定条件

既報<sup>8)</sup>のとおり。

### 2.4 試験溶液調製方法

既報<sup>8)</sup>のとおり抽出を行った後，精製は固相カラムのPS-2とPlexaの連結カラムを用いた。このカラムからアセトニトリル：0.2 mol/L ヘプタフルオロ酪酸（以下

「HFBA」という。）水溶液（8：2）（以下「溶出液」という。）で既報の3 mLから変更して6 mLで溶出させた。溶出液を窒素ガスで0.5 mLまで濃縮し，濃縮液を20 mmol/L HFBA水溶液で1 mLに定容後，0.45 µmメンブレンフィルターでろ過したものを試験溶液とした。

### 2.5 妥当性評価の方法

ガイドラインに示された，分析者1名が2併行5日間実施する枝分かれ実験計画に基づき，ブランク試料にTOBとKGMを除く7物質を基準値濃度になるように添加して添加回収試験を行い，定量限界，選択性，真度及び精度を評価した。また，TOBとKGMは基準が「含有してはならない」であるが，検量線の直線性を考慮して，1 ppmになるように添加して添加回収試験を行った。

## 3 結果及び考察

### 3.1 定量限界及び検量線

LC-MS/MSを用いた分析の問題点として，試料中のマトリックスにより，目的成分のイオン化に影響があることが報告されている<sup>9)</sup>。実試料におけるこの影響を補正するために，既報<sup>8)</sup>と同様にマトリックス添加混合標準液を用いて定量することとした。基準値及び測定結果を表1に示した。SMは定量限界（S/N比が10以上）が，基準値の1/10より高く，基準値の1/5であったため，定量限界を検量線の最低濃度とした（表1 \*2）。DHSM，SPCM，NM，KM，GEM，APM，TOB，KGMの定量限界は，基準値の1/10以下の値であったため，検量線の最低濃度を基準値の1/10とした。全ての物質で良好な直線性（ $r^2 \geq 0.99$ ）が得られた。なお，既報の牛の筋肉と腎臓で，検量線で良好な直線性が得られなかった

表1 基準値及び測定結果

抗生物質名	基準値 (ppm)	測定溶液濃度 (ppm)	検量線範囲 (ppm)	定量限界 (ppm)	検量線 ( $\geq 0.99$ )
SM	0.6	0.3	0.06-0.6	0.06	○*2
DHSM		0.3	0.03-0.6	0.02	○
SPCM	2	2	0.2-4	0.01	○
NM	0.5	0.5	0.05-1	0.01	○
KM	1	1	0.1-2	0.05	○
GEM	2	2	0.2-4	0.02	○
APM	5	5	0.5-10	0.01	○
TOB	含有してはならない*1	1	0.1-2	0.01	○
KGM	含有してはならない*1	1	0.1-2	0.01	○

\*1：TOB及びKGMは試料濃度で1 ppmになるように添加

\*2：定量限界以上の濃度で検量線を調製した

TOBとKGMは、添加濃度を0.1 ppmから1 ppmに変更することにより、良好な直線性が得られた。

### 3.2 精製法の検討

牛の肝臓を試料として、既報<sup>8)</sup>と同様に試験溶液を調製したところ、NM及びGEMの回収率が50%未満となった(表2)。カラムからの溶出液量を3 mLから6 mLに変更したところ、回収率の改善が見られたので、カラムからの溶出液量を6 mLに変更した。

表2 添加回収試験結果\* (カラム溶出 3 mL)

抗生物質名	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
SM	81	8.8	11
DHSM	77	9.0	9.0
SPCM	97	9.8	10
NM	47	9.1	13
KM	72	7.2	7.2
GEM	42	6.8	7.1
APM	87	8.3	10
TOB	76	9.7	11
KGM	0	-	-

\* : TOB及びKGMは試料濃度で1 ppm, 他は基準値量を添加

☐ : 目標値を満たさず

### 3.3 妥当性評価結果

#### 3.3.1 選択性

ブランク試料として使用する肝臓を2.4に従って前処理した後、LC-MS/MSで分析し、定量を妨害するピークの有無を確認したが、ガイドラインに示された選択性の目標値(ピークの面積が基準値のピーク面積の1/10未満)を超えるような妨害成分は認められなかった。

#### 3.3.2 真度及び精度

添加回収試験を行った真度及び精度の結果を表3に示す。肝臓にTOBとKGMを除く7物質の標準品を試料濃度で基準値になるように添加した添加回収試験では、真度及び精度の目標値を7物質全てが満たした。

TOBとKGMを試料濃度で1 ppmになるように添加した添加回収試験では、TOBが真度及び精度において目標値を満たしていた。検討した分析法が、TOBを1 ppm程度含有する検体での確認検査としては有用であることが示された。

今後は、既報<sup>8)</sup>で牛の腎臓におけるGEMの回収率は60%程度であったので、カラムからの溶出液量を3 mLから6 mLに変更して再検討を行う。また、KGMは、固

相カラムの溶出で良好な回収率が得られなかったので、引き続き検討を行う。

表3 添加回収試験結果\* (カラム溶出 6 mL)

抗生物質名	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
SM	92	9.0	15
DHSM	91	8.8	11
SPCM	90	5.8	8.2
NM	73	7.3	14
KM	91	7.1	10
GEM	75	7.9	10
APM	93	9.3	9.3
TOB	95	5.2	10
KGM	0	-	-

\* : TOB及びKGMは試料濃度で1 ppm, 他は基準値量を添加

☐ : 目標値を満たさず

## 4 まとめ

LC-MS/MSを用いた牛の肝臓中のアミノグリコシド系抗生物質の一斉分析法を検討した。肝臓を試料とし、試料を5%トリクロロ酢酸及び0.2 mol/L HFBA水溶液で抽出し、遠心分離後、固相カラム(PS-2, Plexa)による精製を行い、LC-MS/MSで測定を行う分析法を用い、妥当性評価を行ったところ、以下の結果を得た。

- (1) LC-MS/MS測定で9物質のアミノグリコシド系抗生物質のMRMモードによる測定を行った。検量線は全ての物質で良好な直線性が得られた。
- (2) 精製は固相カラムのPS-2とPlexaの連結カラム用い、溶出液をアセトニトリル:0.2 mol/L HFBA水溶液(8:2)6 mLに変更して溶出させた結果、回収率が改善した。
- (3) TOBとKGMを除く7物質を試料濃度で基準値になるように添加して添加回収試験を行ったところ、選択性、真度及び精度の目標値を7物質全てが満たした。
- (4) TOBとKGMを試料濃度で1 ppmになるように添加して添加回収試験を行ったところ、TOBは選択性、真度及び精度において目標値を満たしていた。一方、KGMは真度及び精度の目標値を満たさなかった。

今後、牛乳等を用いて検討を行い、アミノグリコシド系抗生物質の一斉分析法で分析可能な畜水産物の種類の追加を目指すこととしている。

## 文 献

- 1) 日本薬学会編：衛生試験法・注解2015, 490-499, 金原出版, 東京, 2015
- 2) 内山万利子：－動物用抗菌性物質を取り巻く現状（XIV）－動物用抗菌剤の各論（その3）アミノグリコシド系抗生物質, 日本獣医師会雑誌, 70, 626 - 629, 2017
- 3) 草野友子, 神田真軌, 八巻ゆみこ, 平井昭彦, 鎌田国広：食肉中に残留するアミノグリコシド系抗生物質の微生物学的検査法, 東京都健康安全研究センター年報, 54, 142 - 145, 2003
- 4) 梶田弘子, 阿久津千寿子, 畠山えり子, 小向隆志：LC/MS/MSによる乳中のアミノグリコシド系抗生物質の一斉分析, 食品衛生学雑誌, 49, 3, 189 - 195, 2008
- 5) 雅楽川憲子, 蒲澤泰子, 丹治敏英：LC/MSを用いた食肉中のアミノグリコシド系抗生物質の検討, 新潟県保健環境化学研究所年報, 23, 70 - 74, 2008
- 6) 金井節子, 林 洋, 中島崇行, 神田真軌, 松島陽子ら：LC-MS/MSによるアミノグリコシド系抗生物質の分析, 第48回全国衛生化学技術協議会年会 講演集, 68 - 69, 2011
- 7) Agilent Bond Elut Plexa SPE, Agilent Poroshell 120 カラム, LC/タンデムMS を使用したウシ筋肉中のアミノグリコシドの分析, <https://www.chem-agilent.com/appnote/applinote.php?pubno=5991-1321JAJP> (2021.4.5 アクセス)
- 8) 難波順子, 浦山豊弘, 池田和美, 金子英史, 繁田典子：LC-MS/MSを用いた牛の筋肉及び腎臓中のアミノグリコシド系抗生物質に関する一斉分析法の検討, 岡山県環境保健センター年報, 44, 71 - 77, 2020
- 9) 甲斐茂美, 小管教仁, 脇ますみ, 岸 弘子：LC-MS/MSを用いた畜水産物中の動物用医薬品一斉分析法の妥当性評価, 神奈川県衛生研究所研究報告, 44, 9 - 14, 2014



【資 料】

## 岡山県のアレルギー物質を含む加工食品の検査結果について (令和元年度～令和2年度)

Survey of Processed Foods Containing Allergic Substances in Okayama Prefecture  
(FY2019 - 2020)

金子英史, 繁田典子, 浦山豊弘, 難波順子, 佐藤 淳

KANEKO Hidefumi, SHIGETA Noriko, URAYAMA Toyohiro, NAMBA Junko, SATO Atsushi

### 要 旨

岡山県では、市場の加工食品の表示が適正に行なわれているか確認する目的で、加工食品に含まれる特定原材料（アレルギー物質）の検査を実施している。令和元年度から令和2年度にかけて、特定原材料のうち“卵”“乳”“えび、かに”の3品目について原材料表示のない加工食品を試買しELISA法によるスクリーニング検査を実施したところ、“乳”について4検体が陽性となった。さらに、ウエスタンブロット法による確認検査は全て陽性であった。今回、市場の加工食品の表示違反が明らかとなったことから、食物アレルギーによる健康被害防止には、継続した特定原材料の検査の実施が重要と判断された。

[キーワード：アレルギー物質を含む食品, 乳, ELISA法, ウエスタンブロット法]

[Key words : Foods Containing Allergic Substances, Milk, ELISA Technique, Western Blot Technique]

### 1 はじめに

近年、乳幼児から成人に至るまで、特定の食物が原因でアレルギー症状を起こす人が増え、重篤なアナフィラキシーショックを起こす人も年々増加している。食物アレルギー患者は乳幼児が多く、0歳が31.5%、1歳が18.0%、2歳が10.1%であり、2歳までが59.7%、さらに6歳までが80.5%を占めている<sup>1)</sup>。そこで、食品による健康被害を防止するため、平成14年4月から、容器包装された加工食品には食品表示法に基づき、加工食品に含まれる特定原材料（以下「アレルギー物質」という。）についての表示が義務化された。この表示の目的は、消費者が、加工食品を選択する際にアレルギー物質に関する情報を分かりやすく得られるようにすることで、食物アレルギーを持つ消費者が食べても大丈夫な加工食品を選べることにある。

こうしたことを踏まえ、本県においては、食の安全・安心事業の一環として、平成15年度から県内で製造された製品を中心に、表示が適正に行われているか確認する目的で、アレルギー物質を含む加工食品の試買検査を実施している。

加工食品に含まれるアレルギー物質の検査は、「食品表示基準について」（平成27年3月30日付け消食表第139号）（以下「通知法」という。）に基づいて行われ、スク

リーニング検査は、抗原抗体反応を利用したELISA法が用いられる。検査結果は、試料中のアレルギー物質由来タンパク質含有量10 µg/gを基準値として判断されるが、スクリーニング検査が陽性の場合、“卵”“乳”についてはウエスタンブロット法、“えび、かに”についてはPCR法による確認検査の実施が必要となる場合がある。

本報では、令和元年度から令和2年度に、岡山県内で製造又は流通していた加工食品を対象に実施した“乳”“えび、かに”“卵”の検査結果を報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 試料

岡山県食品衛生監視指導計画<sup>2)</sup>に則り、令和元年度から令和2年度に岡山県内で購入した41検体を試料とした。令和元年度は“乳”及び“えび、かに”を、令和2年度は“乳”及び“卵”を試料とした。

#### 2.2 試薬等

試薬及びその調製は通知法に従った。

#### 2.3 スクリーニング検査

対象とする特定原材料に応じて、以下のELISAキットを用いた。

・卵

モリナガFASPEKエライザⅡキット（卵白アルブミ

ン)：森永生科学研究所製 (以下「モリナガ製」という。)

FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット (卵)：日本ハム中央研究所製 (以下「日本ハム製」という。)

#### ・乳

モリナガ FASPEK エライザⅡキット (カゼイン)：モリナガ製

FASTKIT エライザ Ver.Ⅲキット (牛乳)：日本ハム製

#### ・えび、かに

甲殻類キットⅡ「マルハニチロ」：マルハニチロ製

FAテストEIA - 甲殻類Ⅱ「ニッスイ」：日水製薬製

## 2.4 確認検査

ウエスタンブロット法には、以下の試薬を用いた。

モリナガ FASPEK 特定原材料ウエスタンブロットキット (カゼイン)：モリナガ製

Laemmli Sample Buffer, Mini-PROTEAN TGX Gels 4 - 15 %, 10 × Tris/Glycine, 10 × TBS : BIO-RAD 製

Tris-BES 泳動バッファー (10x)：テフコ製

SeeBlue Plus2 Pre-Stained Standard：ライフテクノロジー ジャパン (株) インビトロジェン製

2-メルカプトエタノール (鹿特級), メタノール (鹿特級)：関東化学製

Polyoxyethylene (20) Sorbitan Monolaurate (Tween20 相当)：富士フィルム和光純薬製

Albumin, bovine serum, minimum 98 % : SIGMA 製  
Vectastain ABC-AP Rabbit IgG kit, Alkaline Phosphatase Substrate Kit IV <BCIP/NBT> : VECTOR 製

Hybond-P (転写膜) 16 × 14 cm 0.45 μm : GEヘルスケアジャパン製

## 2.5 装置

ホモジナイザー：岩谷産業製 IFN-700

振とう機：TAITEC 製 RECIPRO SHAKER SR-2S  
TAITEC 製 MM-10

遠心機：久保田商事製 S700FR

Eppendorf 製 mini spin plus

マイクロプレートウォッシャー：TECAN 製 ハイドロフレックス

マイクロプレートリーダー：TECAN 製 サンライズ レインボーRC-R

電気泳動装置：BIO-RAD 製 ミニプロティアン3セル  
トランスブロットSDセル セミドライブロットティング  
装置：BIO-RAD 製

パワーサプライ電源装置：BIO-RAD 製 パワーパック  
HC

## 2.6 検査方法

スクリーニング検査及び確認検査は、共に通知法及び添付の説明書に従って検査を行った。スクリーニング検査は、ELISA法による定量検査法で行った。なお、一度目のスクリーニング検査を行った結果、特定原材料由来タンパク質の定量値が8 μg/g以上の場合、通知法に従って再試験を実施した。結果が10 μg/gより低い場合は、陰性と判定した。

“乳”のスクリーニング検査で陽性であった検体については、ウエスタンブロット法による確認検査を行った。

### 2.6.1 試料調製

粉砕均質混和した試料約1 gをプラスチック製遠心管に量りとり、キットに添付の説明書に従って調製した検体抽出液を19 mL加え、ボルテックスで検体を分散し、遠心管を横にして振とう機で一晩振とう抽出した。pH試験紙で抽出液のpHが6 - 8の間にあることを確認した後、3000 × g、室温で20分間遠心分離し、上清をろ紙でろ過し試験試料液とした。

### 2.6.2 スクリーニング

それぞれの試験試料液について、2種類のELISAキットを用いて、通知法及び添付の説明書に従って実施した。

### 2.6.3 確認検査

2.6.2の検査で陽性 (10 μg/g以上) と判定された“乳”の検体は、ウエスタンブロットキットに付属する試薬を用いて2.6.1のとおり試料を調整し、通知法及び添付の説明書に従って、ウエスタンブロット法で確認検査を行った。

## 3 結果

“乳”“えび、かに”“卵”について表示のない加工食品 (岡山県内で製造) を対象に、それぞれ2種類のELISAキットを用いて混入の有無を調査した。“えび、かに”“卵”については表1、表2のとおり各2種類のELISAキットですべて陰性であった。他方、“乳”については、令和元年度にスクリーニング検査、確認検査ともに陽性となった1検体が認められたことから、令和2年度も調査を継続することとした。2年間の調査の結果は、表3、表4のとおりである。2検体が2種類のELISAキットで陽性 (10 μg/g以上)、2検体がモリナガ FASPEK エライザⅡキット (カゼイン) のみで陽性となった。“乳”が陽性となった検体は、更にウエスタンブロット法による確認検査を行ったところ、4検体とも、標準品の“カゼ

表1 岡山県内で製造又は流通していた食品の特定原材料検査結果（えび・かに）（令和元年度）

検査項目	試料	スクリーニング検査(ELISA法)		判定	確認検査
		特定原材料(μg/g)			
		Kキット <sup>a)</sup>	Fキット <sup>b)</sup>		
えび・かに	魚肉練り製品①	ND <sup>c)</sup>	ND	— <sup>d)</sup>	
	魚肉練り製品②	ND	ND	—	
	魚肉練り製品③	ND	ND	—	
	和生菓子①	ND	ND	—	
	和生菓子②	ND	ND	—	
	和生菓子③	ND	ND	—	
	菓子①	ND	ND	—	
	菓子②	ND	ND	—	
	のり	ND	ND	—	
	調味料	ND	ND	—	
	菓子③	ND	ND	—	
	菓子④	ND	ND	—	
	醤油	ND	ND	—	
	菓子⑤	ND	ND	—	
	菓子⑥	ND	ND	—	
	菓子⑦	ND	ND	—	
	焼菓子①	ND	ND	—	
	焼菓子②	ND	ND	—	
	焼菓子③	ND	ND	—	
	焼菓子④	ND	ND	—	
シロップ	ND	ND	—		

- a) Kキット：甲殻類キットⅡ「マルハニチロ」  
 b) Fキット：FAテストEIA-甲殻類Ⅱ「ニッスイ」  
 c) ND：アレルギー物質由来タンパク質 8 μg/g 未満  
 d) スクリーニング検査判定 陰性 —：<10 μg/g

表2 岡山県内で製造又は流通していた食品の特定原材料検査結果（卵）（令和2年度）

検査項目	試料	スクリーニング検査(ELISA法)		判定	確認検査
		特定原材料(μg/g)			
		Mキット <sup>a)</sup>	Nキット <sup>b)</sup>		
卵	和菓子（もなか）①	ND <sup>c)</sup>	ND	— <sup>d)</sup>	
	和菓子（もなか）②	ND	ND	—	
	菓子②	ND	ND	—	
	菓子③	ND	ND	—	
	菓子④	ND	ND	—	
	レトルト食品①	ND	ND	—	
	レトルト食品②	ND	ND	—	
	レトルト食品③	ND	ND	—	
	菓子⑤	ND	ND	—	
	菓子⑥	ND	ND	—	
	菓子⑦	ND	ND	—	
	菓子⑧	ND	ND	—	
	菓子⑨	ND	ND	—	
	菓子⑩	ND	ND	—	
	菓子⑪	ND	ND	—	
焼菓子③	ND	ND	—		

- a) Mキット：モリナガ FASPEK エライザⅡ（卵白アルブミン）  
 b) Nキット：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲ（卵）  
 c) ND：アレルギー物質由来タンパク質 8 μg/g 未満  
 d) スクリーニング検査判定 陰性 —：<10 μg/g

表3 岡山県内で製造又は流通していた食品の特定原材料検査結果（乳）（令和元年度）

検査項目	試料	スクリーニング検査(ELISA 法)			判定	確認検査
		特定原材料(μg/g)				
		Mキット <sup>a)</sup>	Nキット <sup>b)</sup>			
乳	魚肉練り製品①	ND <sup>c)</sup>	ND	— <sup>d)</sup>		
	魚肉練り製品②	ND	ND	—		
	魚肉練り製品③	ND	ND	—		
	和生菓子①	ND	ND	—		
	和生菓子②	ND	ND	—		
	和生菓子③	18	ND	+ <sup>e), f)</sup>	+ <sup>g)</sup>	
	菓子①	ND	ND	—		
	菓子②	ND	ND	—		
	のり	ND	ND	—		
	調味料	ND	ND	—		
	菓子③	ND	ND	—		
	菓子④	ND	ND	—		
	醤油	ND	ND	—		
	菓子⑤	ND	ND	—		
	菓子⑥	ND	ND	—		
	菓子⑦	ND	ND	—		
	焼菓子①	ND	ND	—		
	焼菓子②	ND	ND	—		
	焼菓子③	ND	ND	—		
	焼菓子④	ND	ND	—		
シロップ	ND	ND	—			

- a) Mキット：モリナガ FASPEK エライザⅡ（カゼイン）  
 b) Nキット：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲ（牛乳）  
 c) ND：アレルギー物質由来タンパク質 8 μg/g 未満  
 d) スクリーニング検査判定 陰性 —：<10 μg/g  
 e) スクリーニング検査判定 陽性 +：≥10 μg/g  
 f) 2種類のキットのうち、1つでも 10 μg/g 以上であれば結果は陽性  
 g) ウエスタンブロット法による確認検査 陽性：+

表4 岡山県内で製造又は流通していた食品の特定原材料検査結果（乳）（令和2年度）

検査項目	試料	スクリーニング検査(ELISA 法)			判定	確認検査
		特定原材料(μg/g)				
		Mキット <sup>a)</sup>	Nキット <sup>b)</sup>			
乳	焼き菓子①	408	468	+ <sup>d)</sup>	+ <sup>e)</sup>	
	和菓子（もなか）①	ND <sup>c)</sup>	ND	— <sup>e)</sup>		
	和菓子（もなか）②	ND	ND	—		
	焼き菓子②	ND	ND	—		
	和菓子	ND	ND	—		
	菓子①	ND	ND	—		
	菓子②	ND	ND	—		
	菓子③	ND	ND	—		
	菓子④	ND	ND	—		
	レトルト食品③	ND	ND	—		
	菓子⑤	ND	ND	—		
	菓子⑥	ND	ND	—		
	菓子⑦	ND	ND	—		
	菓子⑧	46	27.3	+	+	
	菓子⑨	16.9	9.5	+ <sup>f)</sup>	+	
菓子⑩	ND	ND	—			
菓子⑪	ND	ND	—			

- a) Mキット：モリナガ FASPEK エライザⅡ（カゼイン）  
 b) Nキット：FASTKIT エライザ Ver.Ⅲ（牛乳）  
 c) ND：アレルギー物質由来タンパク質 8 μg/g 未満  
 d) スクリーニング検査判定 陽性 +：≥10 μg/g  
 e) スクリーニング検査判定 陰性 —：<10 μg/g  
 f) 2種類のキットのうち、1つでも 10 μg/g 以上であれば結果は陽性  
 g) ウエスタンブロット法による確認検査 陽性：+

イン“と同じ位置にバンドが認められた。

“乳”の結果について保健所職員が製造者に聴き取りをして、原因究明を行ったところ、いずれも原材料に“乳”が含有していたことを製造業者が見落としたことによるものであり、保健所による再発防止措置等の指導が行われた。

#### 4 まとめ

- (1) 令和元年度から2年度において岡山県内で製造された加工食品を対象に、“乳”“えび、かに”“卵”の表示が適切になされているか、それぞれ2種類のELISAキットを用いて検査を行った。検査した41検体のうち“えび、かに”表示のなかった21検体及び“卵”表示のなかった16検体については、検査結果は陰性であり正しく表示されていることが確認できた。一方“乳”表示のなかった38検体（令和元年度21検体、令和2年度17検体）のうち4検体のスクリーニング検査結果は陽性であった。
- (2) ウエスタンプロット法で確認検査を実施した。スクリーニング検査で“乳”陽性となった4検体は、ウエスタンプロット法で全て陽性であった。
- (3) 岡山県内で製造又は流通していた加工食品のうち、アレルギー物質表示が適切でない事例があることが明らかになった。食物アレルギーを持つ消費者が、これらの食品を誤って摂取した場合、重篤なアレルギー症状を発症する危険性もあることから、食物アレルギーによる健康被害の防止に向けて、今後ともアレルギー物質の検査を継続していくことが重要である。

#### 文 献

- 1) 平成30年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書  
[https://www.caa.go.jp/policies/policy/food\\_labeling/food\\_sanitation/allergy/pdf/food\\_index\\_8\\_190531\\_0002.pdf](https://www.caa.go.jp/policies/policy/food_labeling/food_sanitation/allergy/pdf/food_index_8_190531_0002.pdf) (2021.6.1アクセス)
- 2) 岡山県ホームページ保健福祉部生活衛生課 岡山県食品衛生監視指導計画・結果  
<https://www.pref.okayama.jp/page/detail-3088.html> (2021.6.1アクセス)



【資料】

## 岡山県における感染症の患者発生状況について (2020年) Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in Okayama Prefecture (2020)

北村雅美, 木村英治, 望月 靖

KITAMURA Masami, KIMURA Hideharu, MOCHIZUKI Yasushi

[キーワード：感染症, サーベイランス, 全数把握感染症, 定点把握感染症]

[Key words : Infectious disease, Epidemiological surveillance, Notifiable disease surveillance, Sentinel surveillance]

### 1 感染症発生動向調査

#### 1.1 調査方法

感染症発生動向調査事業実施要綱（平成11年3月19日付け健医発第458号。以下「要綱」という。）に基づき、各関係機関から報告された患者情報を感染症サーベイランスシステム（NESID：National Epidemiological Surveillance of Infectious Disease）により、国立感染症研究所感染症疫学センターへ報告しており、集計された全国の情報と比較しつつ、岡山県内の発生状況を解析した。

#### 1.2 届出対象感染症

対象となる感染症は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（平成10年法律第104号。以下「感染症法」という。）により定められており、一類～五類感染症及び指定感染症に分類されている。一類～四類感染症及び指定感染症は全数把握対象に、五類感染症は、全数把握対象と定点把握対象に区分されている（表1）。

##### 1.2.1 全数把握感染症

全数把握感染症とは、発生数が希少、又は周囲への感染拡大防止を図るため、発生した全ての患者を把握することが必要な感染症で、医師は該当する患者を診断したときには、最寄りの保健所へ届出することが、感染症法上規定されている。

##### 1.2.2 定点把握感染症

定点把握感染症とは、発生動向の把握が必要な感染症のうち、患者数が多数で、その全てを把握する必要がないもので、指定された医療機関（定点）から発生状況が週単位又は月単位で届出されることになっている。定点医療機関は、要綱の基準に基づき選定されており、岡山県の場合、小児科定点54、内科定点30、眼科定点12、性感染症定点17、基幹定点5が設定され、小児科定点と内科定点をあわせて、インフルエンザ定点84となっている。

定点把握感染症については、全国や過去のデータの比較においては、全ての定点医療機関から報告される患者数を定点医療機関数で割った値（以下「定点あたり報告数」という。）、又は年間の患者報告数を定点医療機関数で割った値（以下「定点あたり累積報告数」という。）を用いる。

#### 1.3 調査期間

全数把握感染症（表1-1）及び月報告の定点把握感染症（表1-2-②）の調査期間は、2020年1月1日～12月31日、週報告の定点把握感染症（表1-2-①）については、2020年第1週～第53週（2019年12月30日～2021年1月3日）とした。なお、インフルエンザは、流行時期にあわせて、第36週～翌年第35週（2019年9月2日～2020年8月30日）とした（感染性胃腸炎は、グラフのみ第36週～翌年第35週）。また、いずれの感染症も診断日を基準とした。なお、「感染原因・経路」については、「推定」も含むものとする。

## 2 結果

### 2.1 全数把握感染症の発生状況（表2, 3）

#### 2.1.1 一類感染症

一類感染症の届出はなかった。

#### 2.1.2 二類感染症

二類感染症は、結核の届出があった。急性灰白髄炎、ジフテリア、重症急性呼吸器症候群（病原体がベータコロナウイルス属SARSコロナウイルスであるものに限る。）、中東呼吸器症候群（病原体がベータコロナウイルス属MERSコロナウイルスであるものに限る。）、鳥インフルエンザ（H5N1）、鳥インフルエンザ（H7N9）の届出はなかった。

##### i) 結核

結核は252例の届出があった。2019年までは300例以上の届出が続いていたが、2020年は過去5年間と比較し

で最も少なかった（図1）。病型は、患者156例、無症状病原体保有者94例、疑似症患者1例、死亡者1例であり、届出のうち7例が医療・介護関係者（医師、看護師、介護職など）であった。性別は男性137例、女性115例で、年齢階級別（図2）では60歳以上の高齢者が67.1%を占めていた。また、昨年と同様に、20歳代の男性で届出が多く見られた（24例、9.5%）。なお、近年全国的に増加傾向にあった20歳代の若年層での新登録患者数は昨年と同様に多く（2019年は14,460例中1,164例（8.0%）、2020年は12,739例中1,027例（8.1%））、引き続き、同年代における外国生まれの患者の発生（2019年、2020年の新登録患者における割合はそれぞれ73.1%、71.3%）が注目される<sup>1)</sup>。

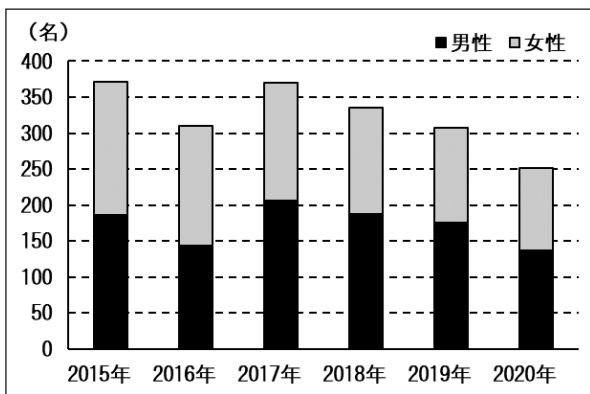


図1 結核 年次別発生状況

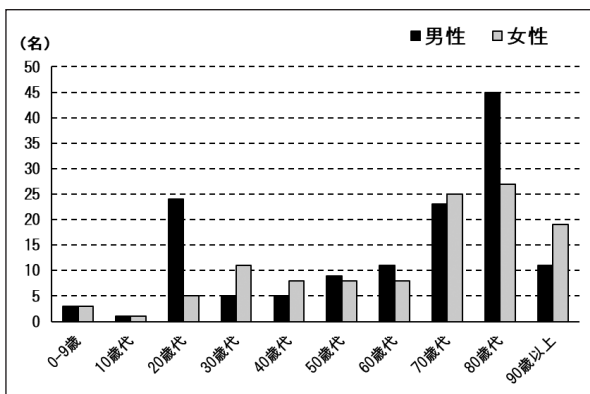


図2 結核 年齢階級別発生状況

### 2.1.3 三類感染症

三類感染症は、腸管出血性大腸菌群感染症、パラチフスの届出があった。コレラ、細菌性赤痢、腸チフスの届出はなかった。

#### i) 腸管出血性大腸菌感染症

腸管出血性大腸菌感染症は102例の届出があり、過去5年と比較して最も多かった（図3）。病型は、患者83例、無症状病原体保有者19例であった。性別は男性53例、

女性49例で、年齢階級別では、0～9歳（25例）、20歳代（19例）、30歳代（16例）の順に多かった。月別発生状況は6月及び10月（各22例ずつ）、9月（21例）、7月（16例）の順に多くなっており、梅雨～秋にかけて届出が多かった（図4）。血清群別の内訳は、図5のとおりであった。なお、血清群別の「その他」の内訳は、O103及びO111が各2例ずつ、O91及びO158が各1例ずつの6例である。

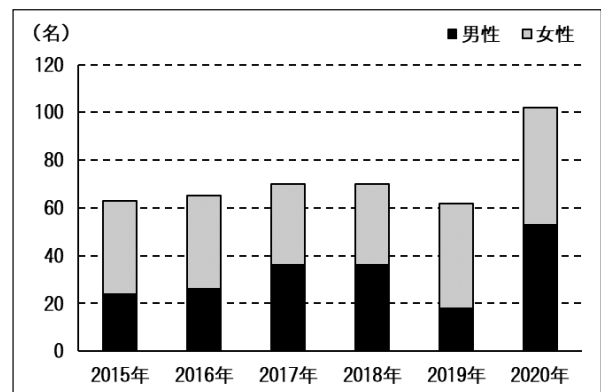


図3 腸管出血性大腸菌感染症 年次別発生状況

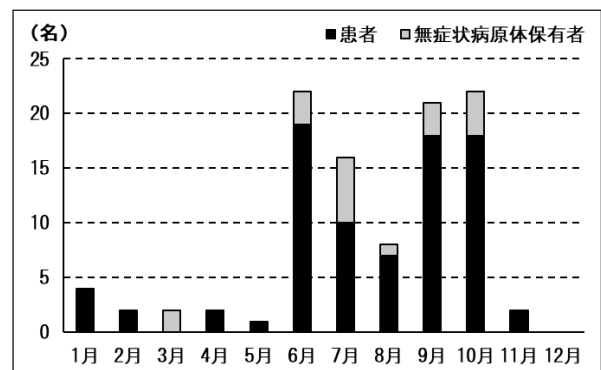


図4 腸管出血性大腸菌感染症 月別発生状況

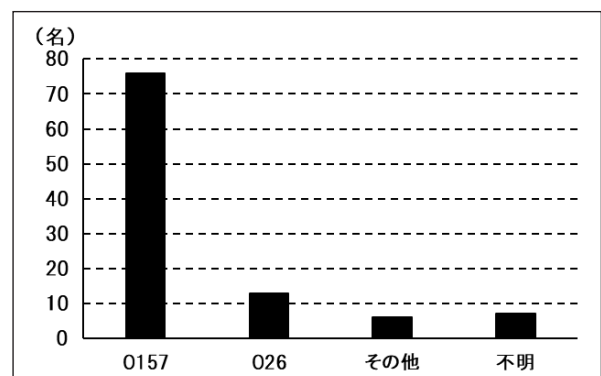


図5 腸管出血性大腸菌感染症 O血清群発生状況

#### ii) パラチフス

パラチフスは1例の届出があり、50歳代の男性であった。推定感染地域は、国外（ミャンマー）で、感染原因・



経路は経口感染と推定された。

#### 2.1.4 四類感染症

四類感染症は、E型肝炎、A型肝炎、重症熱性血小板減少症候群、つつが虫病、日本紅斑熱、日本脳炎、レジオネラ症の届出があった。その他の届出はなかった。

##### i) E型肝炎

E型肝炎は4例の届出があり、30歳代の女性2例と、70歳代の男性2例であった。推定感染地域は、全て国内（県内）で、感染原因・経路は3例は経口感染、1例は不明であった。経口感染のうち1例は、イノシシ肉を喫食していた。

##### ii) A型肝炎

A型肝炎は1例の届出があり、60歳代の男性であった。推定感染地域は、国内（県内）で、感染原因・経路は経口感染と推定された。

##### iii) 重症熱性血小板減少症候群

重症熱性血小板減少症候群は7例の届出があり、前年（3例）から増加した（図6）。感染症法で全数把握疾患となった2013年以降で最多となった。2013年からの累計報告数は17例となった。5月と、7月から10月にかけて届出があり、性別は男性4例、女性3例で、年齢階級別では70歳代が4例、50歳代、60歳代及び90歳代が各1例ずつであった。推定感染地域は全て国内（県内）で、感染原因・経路は、4例は動物・蚊・昆虫等からの感染が疑われ（1例はマダニと確定、動物からの感染が疑われる例が2例、野外での作業歴がある例が2例（重複あり））、3例は不明であった。

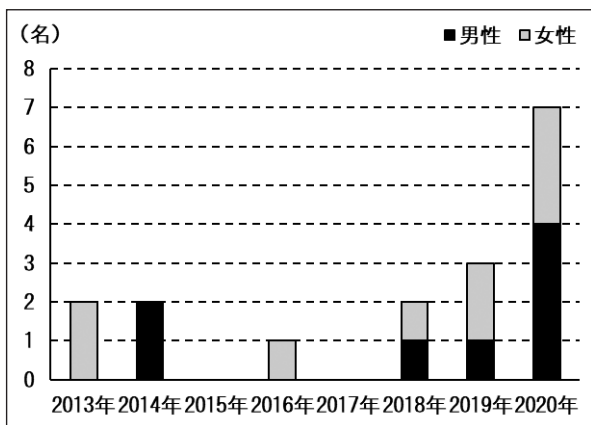


図6 重症熱性血小板減少症候群 年次別発生状況

##### iv) つつが虫病

つつが虫病は3例の届出があり、前年と同数であった。1月（1例）と10月（2例）に届出があり、50歳代、60歳代及び80歳代（各1例ずつ）の男性であった。推定感

染地域は、全て国内（県内）であった。

##### v) 日本紅斑熱

日本紅斑熱は11例の届出があり、前年（3例）から増加した。2009年の県内初の届出以降で最多となった（図7）。2009年からの累計報告数は45例となった。10月（4例）、7月及び8月（各3例ずつ）、5月（1例）に届出があり（図8）、性別は男性6例、女性5例で、年齢階級別では60歳代及び80歳代が各4例ずつ、70歳代が3例であった。推定感染地域は、10例が国内（県内）、1例が不明で、マダニの刺し口が7例で確認された。

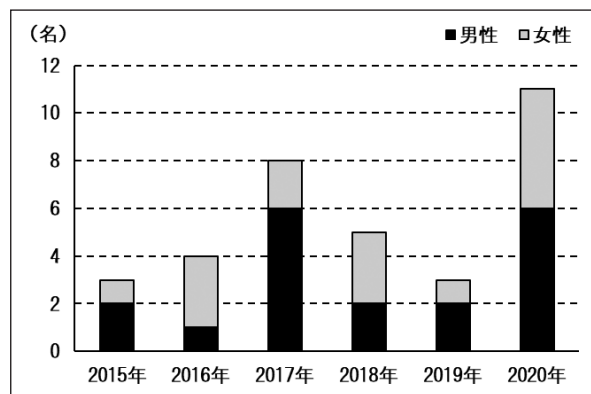


図7 日本紅斑熱 年次別発生状況

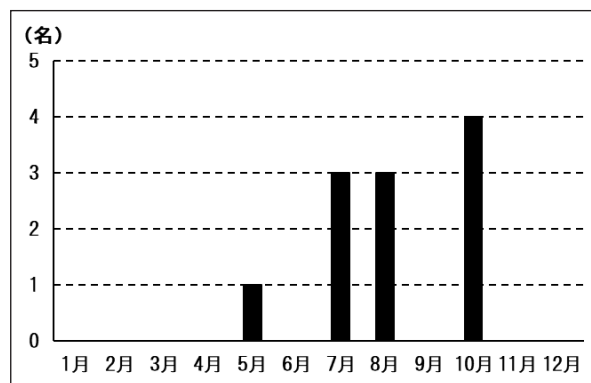


図8 日本紅斑熱 月別発生状況

##### vi) 日本脳炎

日本脳炎は2例の届出があった。80歳代の男性と60歳代の女性（うち1例は届出時点で死亡）で、2例とも10月に届出があった。2例とも遺伝子型はI型であった。わが国では1960年代までは日本脳炎患者は年間1,000例を超えていたが、1954年から日本脳炎ワクチンの接種が開始されたことから、1990年代以降は毎年10例程度と少なくなっている（I型が主、1980年代まではⅢ型のみ<sup>2)</sup>）。近年の患者の大半は抗体保有率の低い60歳以上の高齢者である。岡山県では、1999年の感染症発生動向調査開始以降では、2000年（1名）、2002年（1名）、2005年（2

名), 2013年(1名), 2016年(1名)に届出があった。  
vii) レジオネラ症

レジオネラ症は78例の届出があり, 届出が急増した2018年(83例)と同程度となった(図9)。病型は肺炎型が75例, ポンティアック熱型が3例であった。性別は男性65例, 女性13例で, 年齢階級別では60歳代(28例), 70歳代(20例), 50歳代及び80歳代(各11例ずつ)の順に多かった(図10)。感染原因・経路は, 水系感染18例, 塵埃感染4例, その他8例, 不明49例であった(重複あり)。水系感染のうち, 入浴施設の利用が6例, 加湿器の使用が2例で確認された。塵埃感染のうち, 2例で家庭菜園等での農作業の履歴が確認された。

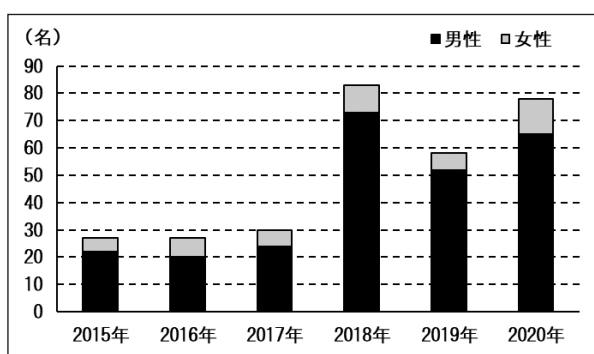


図9 レジオネラ症 年次別発生状況

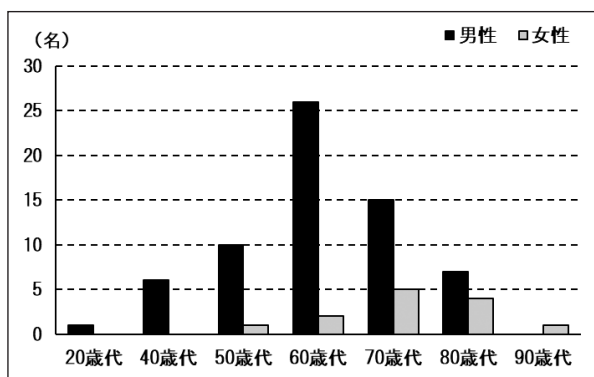


図10 レジオネラ症 年齢階級別発生状況

### 2.1.5 五類感染症(全数把握対象)

五類感染症では, 16の感染症で届出があった。クリプトスポリジウム症, ジアルジア症, 侵襲性髄膜炎菌感染症, 先天性風しん症候群, バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症, バンコマイシン耐性腸球菌感染症, 麻しん, 薬剤耐性アシネトバクター感染症の届出はなかった。

#### i) アメーバ赤痢

アメーバ赤痢は17例の届出があり, 前年(14例)から増加した(図11)。病型は全て腸管アメーバ症であった。性別は男性15例, 女性2例で, 年齢階級別では50歳代(8例), 40歳代(4例), 70歳代(3例), 60歳代(2

例)の順に多く, 患者は全て40歳以上の成人であった(図12)。推定感染地域は県内6例, 県外1例, 都道府県不明1例, 不明9例であった。感染原因・経路は性的接触5例, 飲食物からの経口感染3例の他は不明であった。

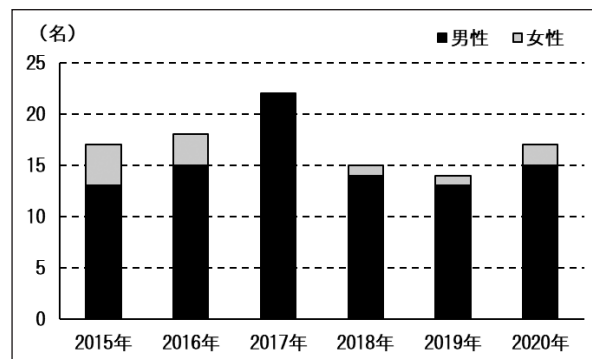


図11 アメーバ赤痢 年次別発生状況

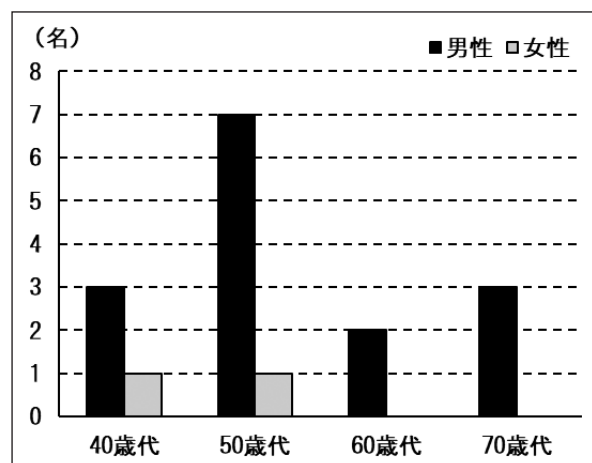


図12 アメーバ赤痢 年齢階級別発生状況

#### ii) ウイルス性肝炎(E型肝炎及びA型肝炎を除く)

ウイルス性肝炎は10例の届出があり, 前年(12例)から減少した(図13)。性別は男性7例, 女性3例であった。年齢階級別では20歳代及び40歳代(各3例ずつ), 50歳代(2例), 30歳代及び60歳代(各1例ずつ)の順

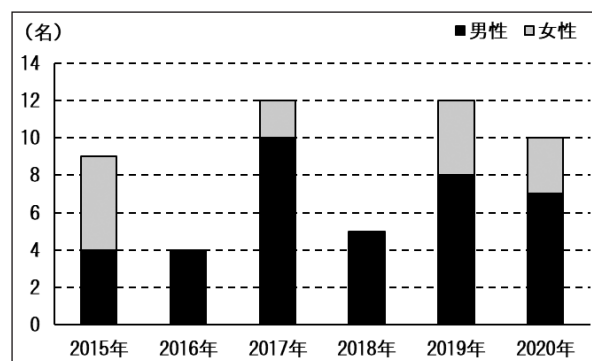


図13 ウイルス性肝炎 年次別発生状況

に多かった(図14)。病型は、B型が6例、その他が4例(EB(Epstein-Barr)ウイルス3例及びサイトメガロウイルス1例)であった。推定感染地域は国内が9例(県内5例、県外1例、都道府県不明3例)、不明が1例で、感染原因・経路は、性的接触4例、針等の鋭利なものの刺入による感染1例、不明5例であった。

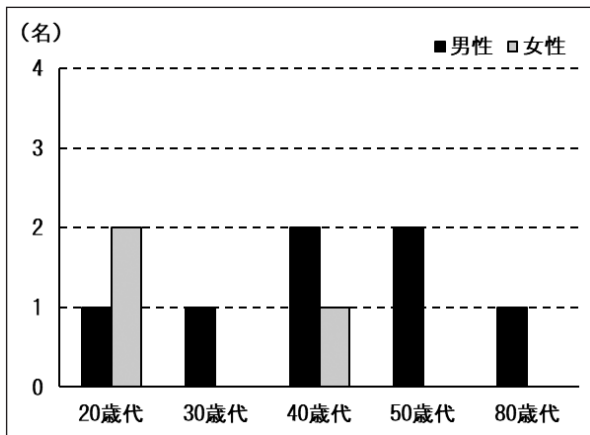


図14 ウイルス性肝炎 年齢階級別発生状況

iii) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症は32例の届出があり、前年と同数であった(図15)。性別は男性18例、女性14例で、年齢階級別(図16)では70歳代(12例)、80歳代(8例)、90歳代(6例)の順に多く、60歳以上で87.5%を占めていた。感染原因・経路は、以前からの保菌(15例、うち尿路・尿(4例)が最多)、院内感染及び手術部位感染(各3例ずつ)の順に多かった。検出された菌種は、*Escherichia coli*(8例)、*Enterobacter aerogenes*(6例)、*Enterobacter cloacae*(5例)、*Klebsiella pneumoniae*(3例)、*Serratia marcescens*及び*Providencia rustigiamii*(各2例ずつ)の順に多かった。

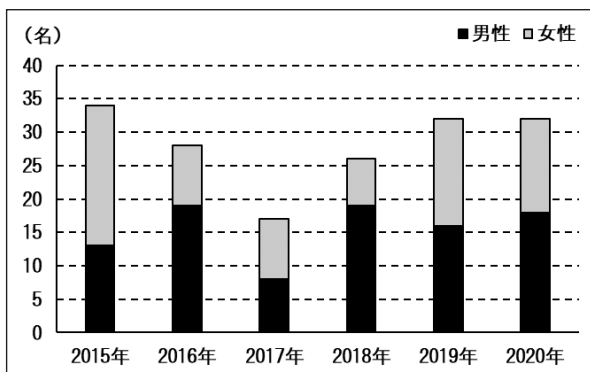


図15 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 年次別発生状況

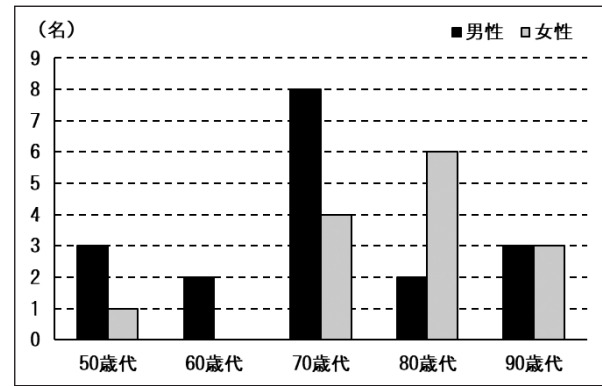


図16 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 年齢階級別発生状況

iv) 急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。)

急性弛緩性麻痺は1例の届出があり、幼児女性であった。ライノウイルス(2014年に米国で流行した急性弛緩性麻痺の原因とされたエンテロウイルスD68と類似したウイルス学的性状を有するとされる<sup>3)</sup>)が検出された。

v) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。)

急性脳炎は6例の届出があり、前年(19例)から大幅に減少した(図17)。検出された病原体は、インフルエンザウイルスA(3例)、アデノウイルス(1例)、病原体不明(2例)であった。性別は男性2例、女性4例で、年齢階級別では10歳未満(5例)、10歳代(1例)であった。

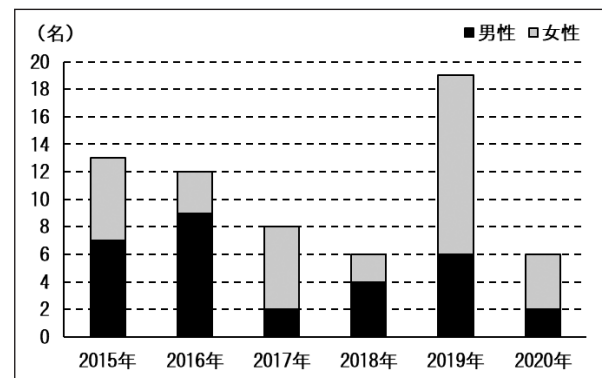


図17 急性脳炎 年次別発生状況

vi) クロイツフェルト・ヤコブ病

クロイツフェルト・ヤコブ病は1例の届出があり、70歳代の男性であった。病型は、孤発性プリオン病(古典型)であった。

vii) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

劇症型溶血性レンサ球菌感染症は7例の届出があり、前年と同程度であった(図18)。性別は男性3例、女性

4例で、年齢階級別では80歳代（4例）、70歳代（2例）、90歳代（1例）の順に多く、感染原因・経路は、創傷感染2例、不明5例であった。

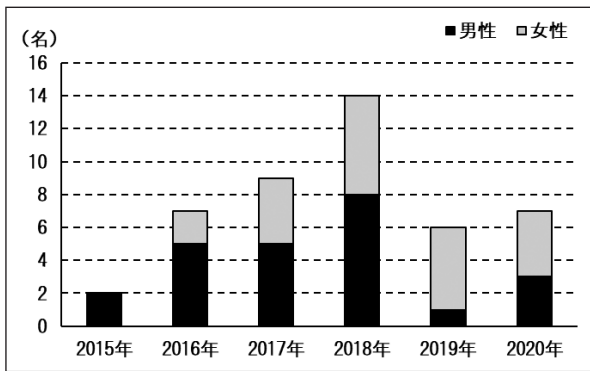


図18 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 年次別発生状況

viii) 後天性免疫不全症候群

後天性免疫不全症候群は15例の届出があり、前年（10例）から増加した（図19）。性別は男性14例、女性1例で、年齢階級別では20歳代及び40歳代（各6例ずつ）が最も多かった（図20）。病型はAIDS 8例、無症候性キャリア7例であった。推定感染地域は、国内12例、国外（ブラジル）1例、不明2例であった。感染原因・経路は性的接触11例（異性間2例、同性間10例（重複あ

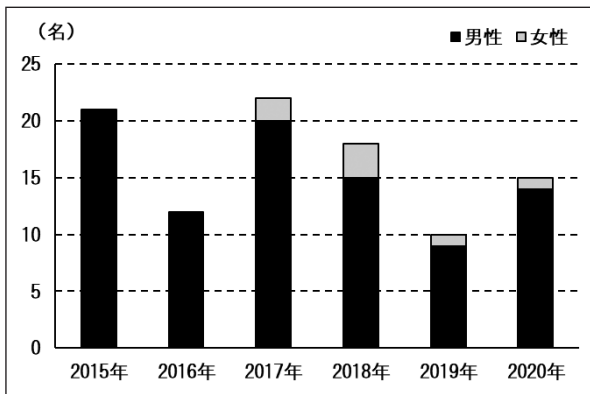


図19 後天性免疫不全症候群 年次別発生状況

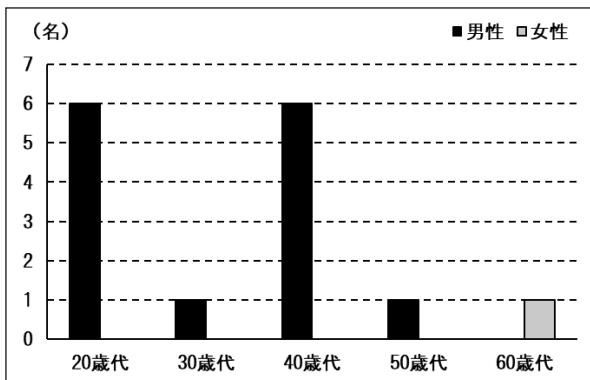


図20 後天性免疫不全症候群 年齢階級別発生状況

り)), 不明4例であった。後天性免疫不全症候群の感染症法に基づく届出様式については、2018年1月1日から「診断時のCD4陽性Tリンパ球数（CD4値）」が記載項目として新たに追加された。CD4値は200/mm<sup>3</sup>以下になるとカリニ肺炎等の日和見感染症を発症しやすくなる<sup>4)</sup>が、2020年の届出時点でCD4値が200/mm<sup>3</sup>以下であった進行した症例が7例あり、うち5例はCD4値が50/mm<sup>3</sup>以下の免疫能の極めて低下した状況で診断された症例であった。

ix) 侵襲性インフルエンザ菌感染症

侵襲性インフルエンザ菌感染症は1例の届出があり、50歳代女性であった。感染原因・経路は不明であった。

x) 侵襲性肺炎球菌感染症

侵襲性肺炎球菌感染症は11例の届出があり、前年（48例）から大幅に減少した（図21）。性別は男性7例、女性4例で、年齢階級別では、0～9歳（4例）、50歳代、70歳代及び80歳代（各2例ずつ）、20歳代（1例）の順に多かった（図22）。ワクチン接種歴別でみると接種歴あり5例、接種歴なし1例、不明5例であった。

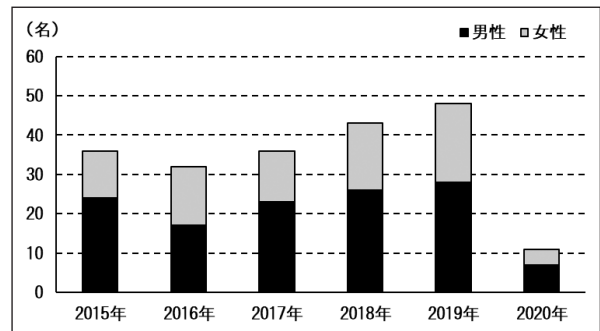


図21 侵襲性肺炎球菌感染症 年次別発生状況

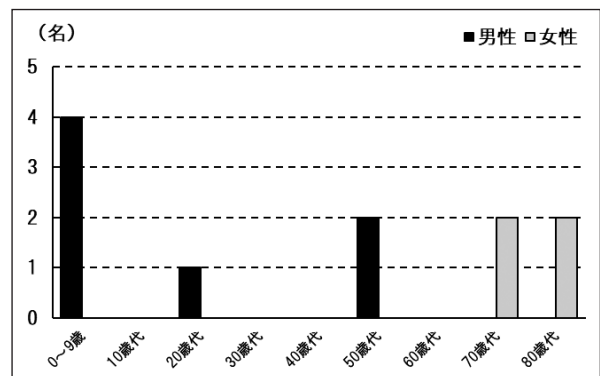


図22 侵襲性肺炎球菌感染症 年齢階級別発生状況

xi) 水痘（入院例に限る。）

水痘（入院例に限る。）は5例の届出があった。性別は男性3例、女性2例で、年齢階級別では80歳代（3例）、10歳代及び90歳代（各1例ずつ）の順に多かった。

感染原因・経路は、水痘患者との接触1例、不明4例であった。

xii) 梅毒

梅毒は162例の届出があった。過去5年間と比較すると、感染症法が施行された1999年以降で最多の届出数となった2019年(191例)からは減少したが、毎年150例を超える届出数が継続している(図23)。病型は早期顕症梅毒Ⅰ期70例、早期顕症梅毒Ⅱ期61例、晩期顕症梅毒5例、無症状病原体保有者25例、先天梅毒1例であった。性別は男性104例、女性58例で、年齢階級別では、男性は30歳代(32例)、40歳代(27例)、20歳代(16例)の順、女性は20歳代(27例)、10歳代(11例)、30歳代(8例)の順に多かった(図24)。特に女性は10歳代及び20歳代で女性全体の65.5%を占めていた。10歳代及び20歳代の女性の届出数は、年々増加傾向を示している(図25)。推定感染地域は国内147例(県内117例、県外24例、都道府県不明6例)、不明17例であった(重複あり)。感染原因・経路は、性的接触157例(異性間140例、同性間4例、詳細不明13例)、胎内・出産時1例、不明4例であった。

なお、梅毒の感染症法に基づく届出様式については、2018年1月1日から「性風俗産業の従事歴・利用歴の有無(直近6か月以内)」、「HIV感染症合併の有無」、「過去の治療歴の有無」、「妊娠の有無」が記載項目として新たに追加された。「性風俗産業の従事歴・利用歴の有無」については、2020年は、男性感染者(104例)のうち53例(51.0%)が性風俗産業の利用歴があり、年齢階級別では、30歳代(20例)の利用が最も多く、次いで40歳代(13例)、50歳代(9例)の順で多かった(図26)。また、女性感染者(58例)のうち16例(27.6%)が性風俗産業の従事歴があり、年齢階級別では、20歳代(8例、50.0%)が最も多かった(図27)。2019年と比較すると、女性の感染者数は減少しているが、性風俗産業従事歴の割合は増加している(2019年は17.9%)。「HIV感染症合併の有無」については、2020年は、男性感染者のうち2例(0.2%)がHIV感染症合併があり、2例とも40歳代であった。女性感染者では、HIV感染症の合併はなかった。「過去の治療歴の有無」については、男性が40歳代が2例(1年以内・直近6か月以内の性風俗産業利用歴有・HIV感染症合併無1例、1年より前・直近6か月以内の性風俗産業利用歴無・HIV感染症合併有)、女性が20歳代が1例(1年以内、直近6か月以内の性風俗産業従事歴有)で治療歴があった。「妊娠の有無」については、2020年は5例で妊娠が確認され、妊娠5週から19

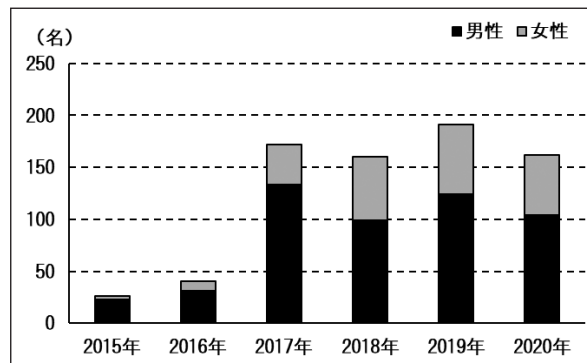


図23 梅毒 年次別発生状況

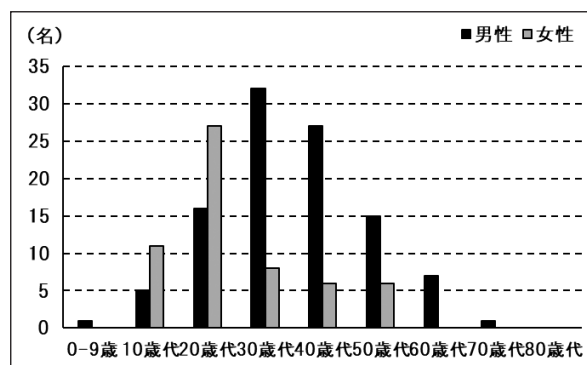


図24 梅毒 年齢階級別発生状況

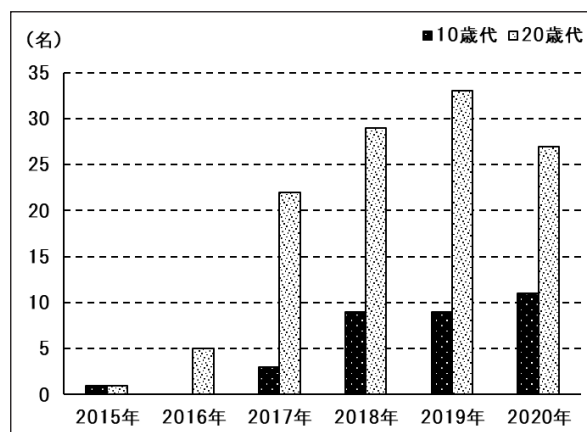


図25 梅毒 年次別(10歳代及び20歳代女性)

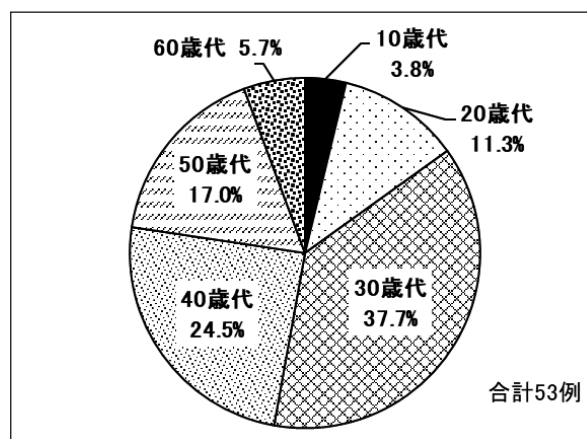


図26 梅毒 性風俗産業利用歴有(2020年, 男性)

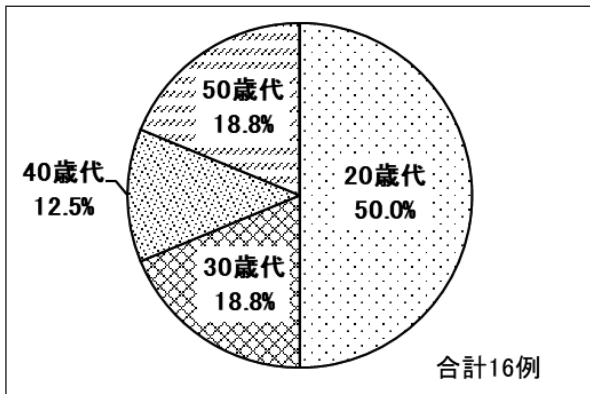


図27 梅毒 性風俗産業従事歴有 (2020年, 女性)

週で感染が判明していた。年齢階級は10歳代から20歳代であった。性風俗産業従事歴は、2例が無、3例が不明であった。4例は妊娠初期の梅毒検査で判明したと考えられた。

x iii) 播種性クリプトコックス症

播種性クリプトコックス症は2例の届出があった。患者は70歳代の男女で、感染原因・経路は免疫不全が共通しており、うち1例は鳥類の糞などとの接触も確認された。感染地域は国内（県内）であった。

xiv) 破傷風

破傷風は、3例の届出があった。性別は男性1例、女性2例で、年齢階級別では、20歳代、30歳代、70歳代（各1例ずつ）であった。感染原因・経路は創傷感染、針等の鋭利なものの刺入による感染、不明が各1例ずつであった。

xv) 百日咳

百日咳は、92例の届出があり、昨年（428例）より大幅に減少した。感染症法で全数把握疾患となった2018年（187例）以降で最少となった。性別は男性37例、女性55例で、月別の発生状況では、2月（31例）、3月（21例）、1月（17例）の順に多かった（図28）。2019年の流行期間であった7月～9月中の届出は2020年は2例のみで、3月以降届出数が急激に減少していることから、2020年の百日咳の届出数の大幅な減少は、新型コロナウイルス感染症の感染拡大防止のため、小中学校等の一斉臨時休校や外出自粛等で国民の行動が変化したことによるものと考えられた<sup>5)</sup>。

年次別年齢階級別では、小学生以上の届出数が2019年の349例から2020年の74例に、併せて1歳未満児についても2019年の16例（うち6か月未満児15例）から2020年の3例（うち6か月未満児2例）に大幅に減少し、（図29）全国のサーベイランスと同様の傾向を示した<sup>5)</sup>。

百日咳が全数把握対象疾患となった2018年から2020

年の累計で見ると、年齢階級別では、小学生（327例）、その他（172例）、幼児（102例）の順に多く、「その他」の中では30歳代及び40歳代がほぼ半数を占めていた。届出が多かった小学生の患者のうち、83.8%が百日咳ワクチンの接種を4回受けていた（図30）。また、重症化のリスクが高い6か月未満児では28例の届出があり、10例は同胞から、8例は祖父母、両親及びいとこからの感染が推定され、28例中8例が入院していた。

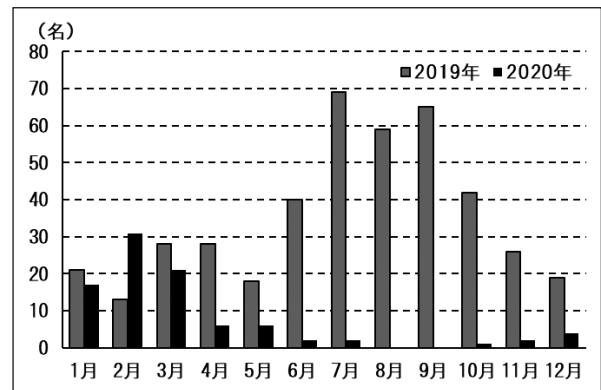


図28 百日咳 月別状況 (2019-2020年)

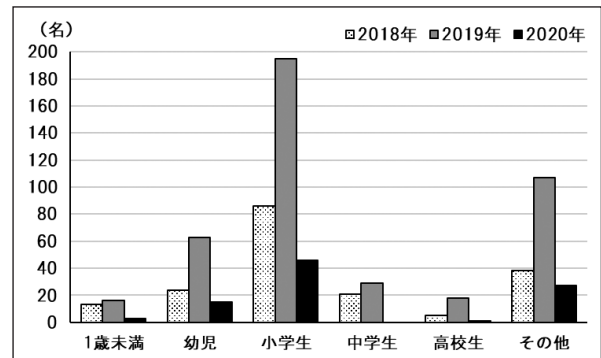


図29 百日咳 年齢階級別発生状況 (2018-2020年)

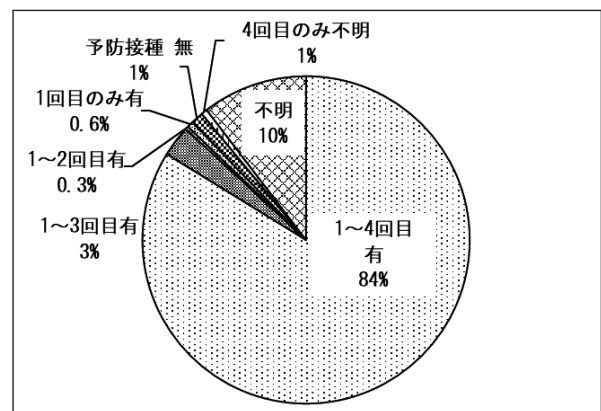


図30 百日咳 予防接種状況 (2018-2020年, 小学生)

x vi) 風しん

風しんは、1例の届出があり、40歳代の男性であった

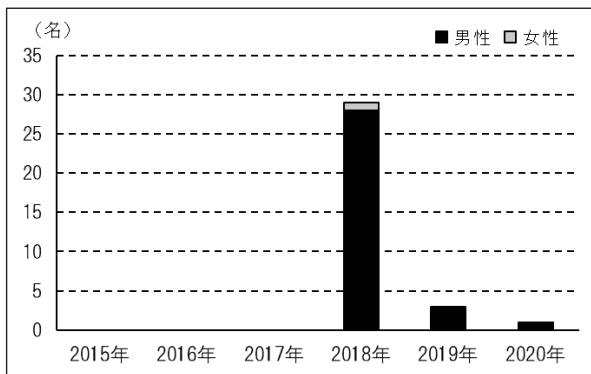


図31 風しん 年次別発生状況

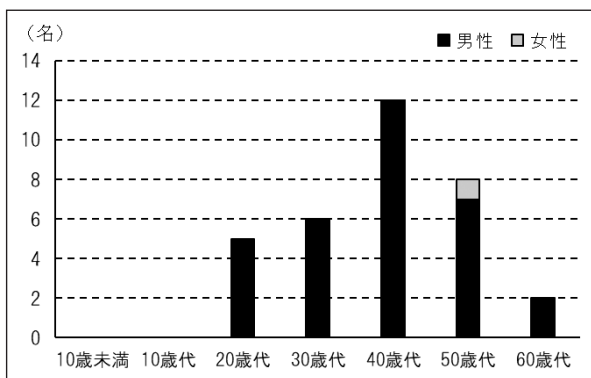


図32 風しん 年齢階級別発生状況 (2018-2020年)

(図31)。

風しんが再流行した2018年から2020年の累計で、年齢階級別発生状況(図32)を見ると、40歳代(12例)、50歳代(8例)、30歳代(6例)の順に多く、全国的に風しんの抗体保有率が低い40歳代及び50歳代に加え、ワクチンが医療機関での1回のみ個別接種であったため接種率が低いとされている30歳代の感染も見られた。

## 2.2 定点把握感染症(五類感染症)の届出状況

### 2.2.1 小児科・内科定点における週報告の感染症(表4, 5)

小児科・内科定点における週報告の感染症のうち、主

な感染症については、以下のとおりである。

i) インフルエンザ(2019/20年シーズン流行のまとめ)(図33)

2019/20年シーズン(2019/9/2~2020/8/30)、岡山県の患者報告数は、16,767人であった。これは、過去5シーズンと比較して最も少なかった。2019年第36週(9/2~9/8)にシーズン初めての患者が報告され、第47週(11/18~11/24)には定点あたり報告数1.15人となり、過去10シーズンと比較すると、2009/10年シーズン(第35週)に次いで2番目に早い流行シーズン入りとなった。その後、流行は拡大したが、2020年第2週(1/6~1/12)の定点あたり24.01人をピークとして、第4週(1/20~1/26)以降、警報発令基準の30.00人を超過することなく患者数は減少に転じた。警報発令に至らなかったのは、2010/11年シーズン以来9シーズンぶりであった。その後、第13週(3/23~3/29)には0.98人、第14週(3/30~4/5)には0.45人と、2週連続して定点あたり1.00人を下回ったため、県内に発令していた「インフルエンザ注意報」を4月9日をもって解除した。全国では、2019年第37週(9/9~9/15)に一度定点あたり1.17人となったが、これは沖縄県での局地的な流行による影響を強く受けたものとされ、流行入りとは見なされなかった。その後は第39週(9/23~9/29)から定点あたり1.00人未満となったが、第45週(11/4~11/10)に定点あたり1.03人となり、全国的な流行の指標である1.00人を上回ったため、流行シーズンに入った。その後、第52週(12/23~12/29)に23.24人となり、流行のピークを迎えた。以降、患者数は若干の増減をしながら減少し、2020年第12週(3/16~3/22)には定点あたり0.54人となり、1.00人を下回った。年齢階級別では10~14歳が17.7%と最も高かった。2018/19年シーズンと比較すると、7歳~14歳での割合が増加した。

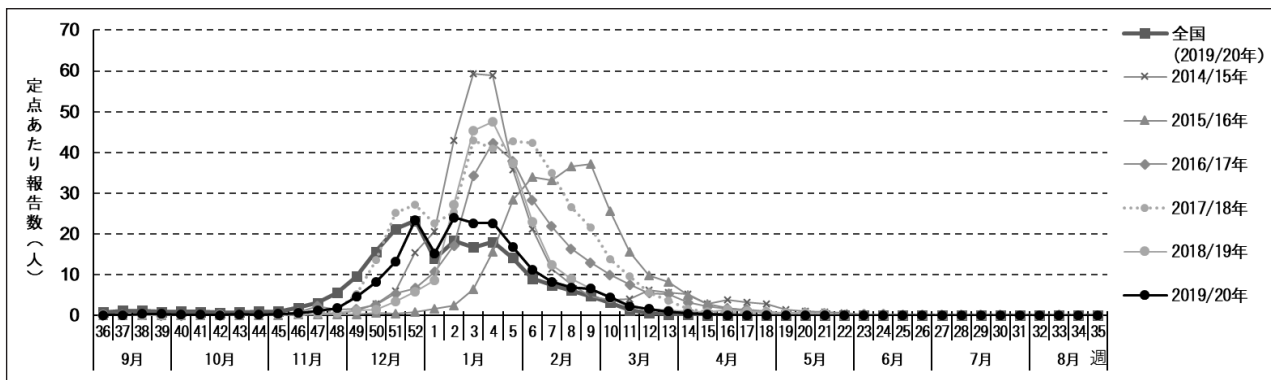


図33 インフルエンザ 発生状況

2019/20年シーズンに岡山県環境保健センターで検出されたインフルエンザウイルスは37株であった。その内訳は、AH1pdm09型27株（73.0%）が最も多く、次いでB型9株〔全てビクトリア系統〕（24.3%）、AH3亜型1株（2.7%）であった。なお、2018/19年シーズンは1月初旬までは2種類のA型（AH1pdm09型及びAH3亜型）がほぼ同程度流行し、1月中旬以降はAH3亜型が主流となった。また、3月下旬からB型（ビクトリア系統）が増え始め、4月下旬まで検出された。

ii) RSウイルス感染症（図34）

RSウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が3.34人であり、前年（30.96人）から大幅に減少した。流行は認められず、年間を通して全国と同様に推移した。年齢階級別では2歳以下の割合が全体の83.9%を占めた。

iii) 咽頭結膜熱（図35）

咽頭結膜熱は、定点あたり累積報告数が12.24人であり、前年（23.06人）から減少した。年間を通して全国とほぼ同様に推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の90.5%を占めた。

iv) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎（図36）

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎は、定点あたり累積報告数が29.69人であり、前年（68.46人）から大幅に減少した。全国と比較すると、1月から2月の間のピークがほぼ無く、年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では、6歳以下の乳幼児の割合が全体の63.3%を占めた。

v) 感染性胃腸炎（図37）

感染性胃腸炎は、定点あたり累積報告数が161.07人であり、前年（295.50人）から減少した。1月にピークがあり（第4週、9.11人）、その他はほぼ横ばいで推移した。全国と比較すると、年間を通して若干高めに推移した。

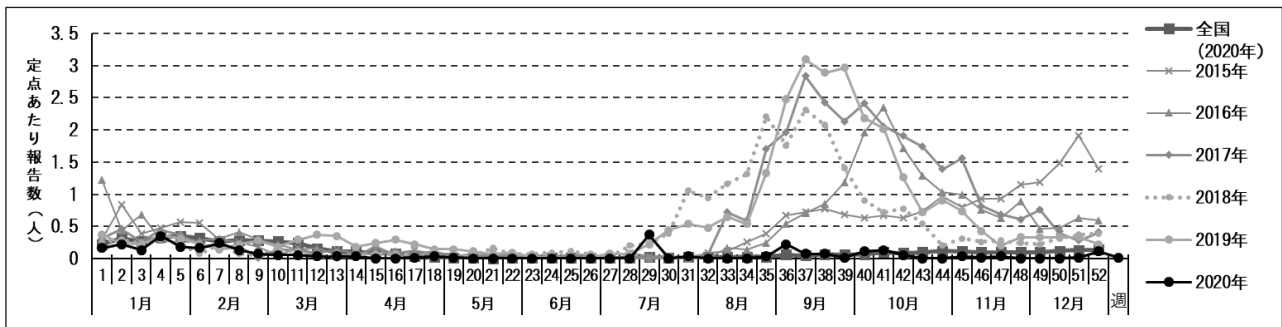


図34 RSウイルス感染症 発生状況

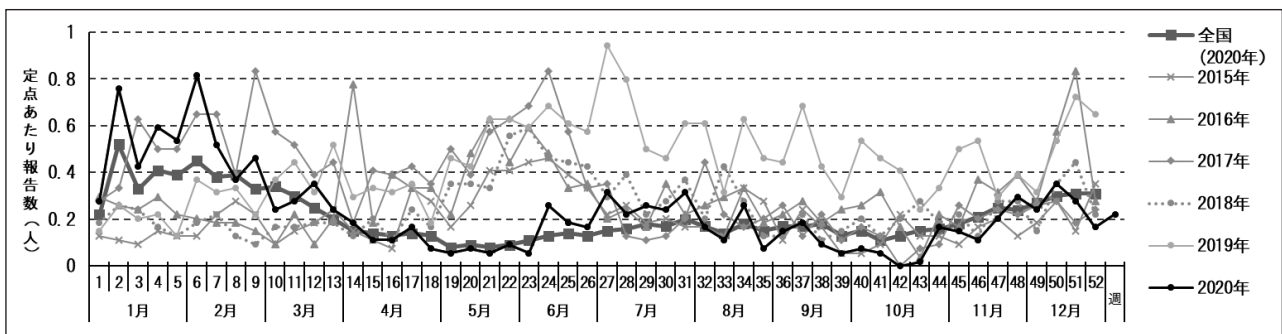


図35 咽頭結膜熱 発生状況

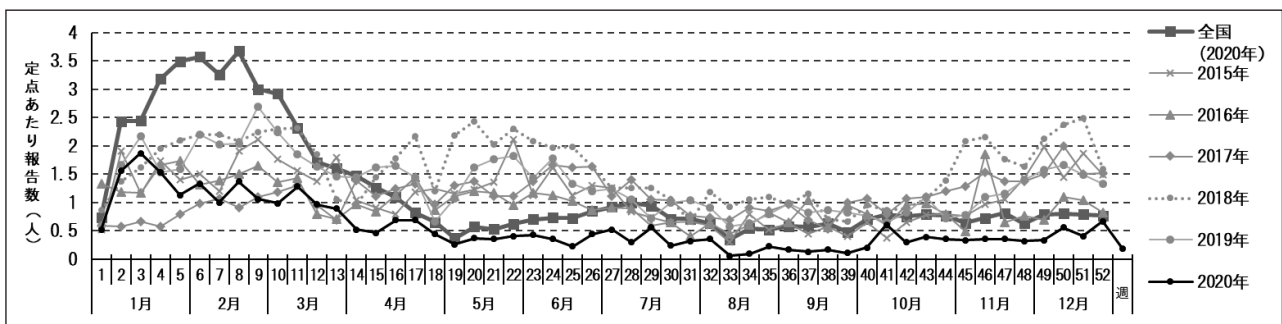


図36 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 発生状況



年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の58.6%を占めた。

vi) 水痘 (図38)

水痘は、定点あたり累積報告数が7.74人であり、前年(11.69人)から減少した。過去5年間と比較すると、最も少なかった。年間を通して全国とほぼ同様に推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の55.5%を占めた。

vii) 手足口病 (図39)

手足口病は、定点あたり累積報告数が8.04人であり、前年(116.43人)から大幅に減少した。全国とほぼ同様に推移した。年齢階級別では1歳以下の割合が全体の53.9%を占めた。手足口病は隔年で流行する傾向があることから、2020年は流行が予測されたが、大きな流行は見られなかった。

viii) 伝染性紅斑 (図40)

伝染性紅斑は、定点あたり累積報告数が6.11人であり、前年(15.30人)から大幅に減少した。全国では、年間を通じて定点あたり報告数0.40~1.00人の間を推移したが、岡山県でも同様に、年間を通して低いレベルで推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の75.5%を占めた。

ix) 突発性発しん (図41)

突発性発しんは、定点あたり累積報告数が14.63人であり、前年(13.94人)とほぼ同数であった。年間を通して全国より低めに推移した。年齢階級別では1歳以下の割合が全体の83.7%を占めた。

x) ヘルパンギーナ (図42)

ヘルパンギーナは、定点あたり累積報告数が15.07人であり、前年(24.37人)から減少した。全国では、年

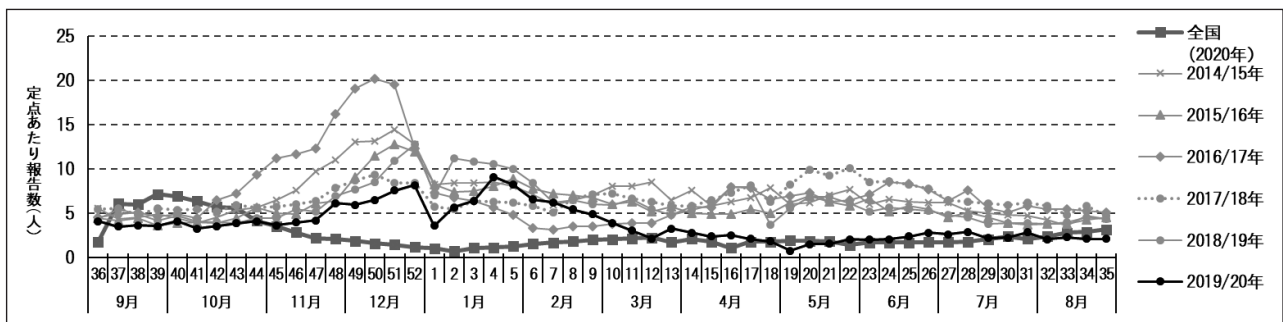


図37 感染性胃腸炎 発生状況

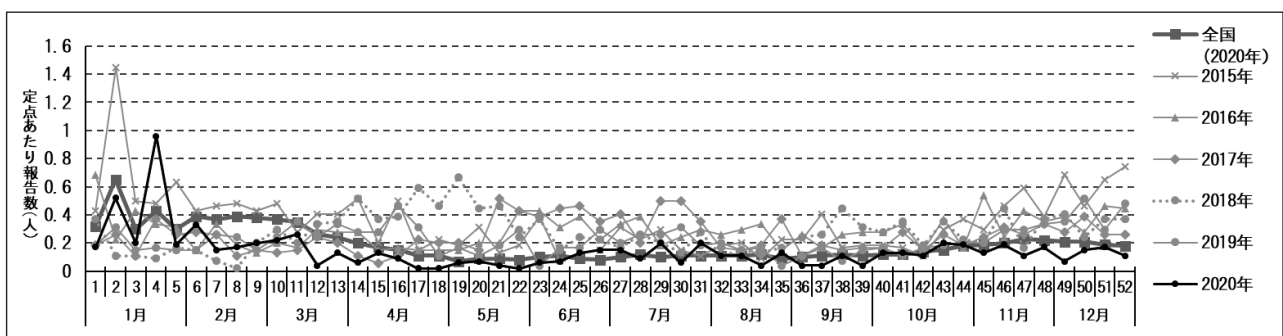


図38 水痘 発生状況

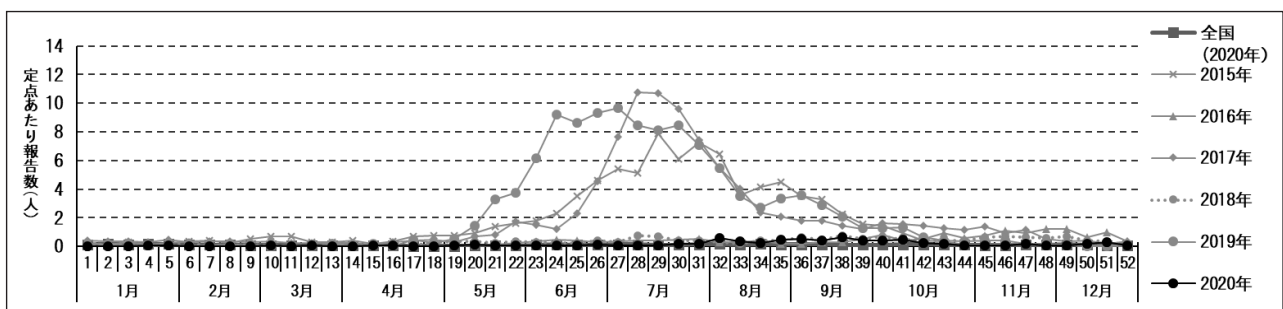


図39 手足口病 発生状況

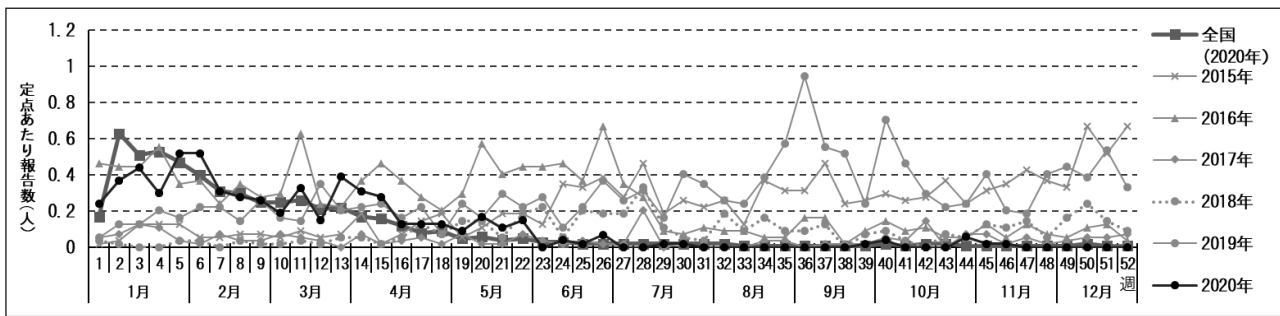


図40 伝染性紅斑 発生状況

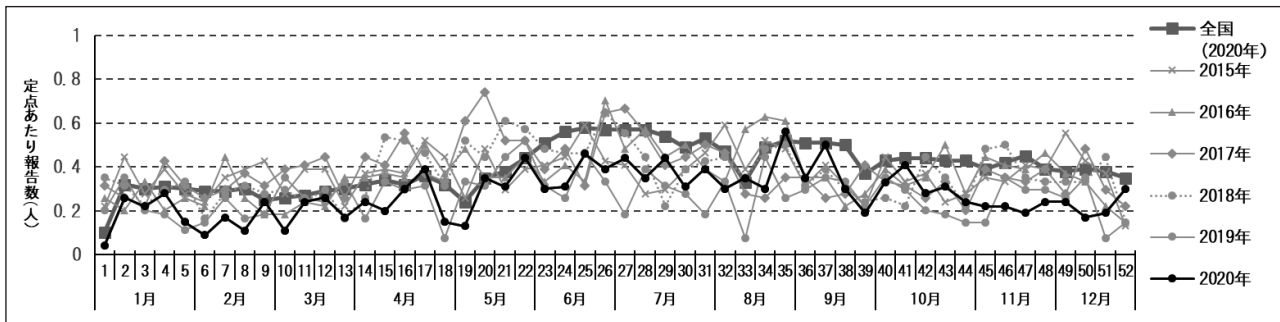


図41 突発性発しん 発生状況

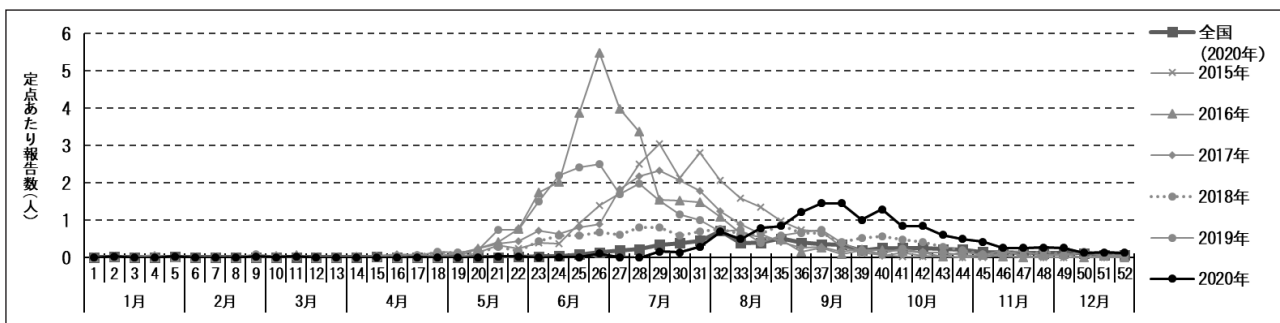


図42 ヘルパンギーナ 発生状況

間を通して低いレベルで推移したが、岡山県では9月に流行のピーク（第37週及び第38週，1.46人）があった。年齢階級別では1歳以下（45.5%），2歳（23.2%），3歳（11.4%）の順で多かった。

xi) 流行性耳下腺炎（図43）

流行性耳下腺炎は、定点あたり累積報告数が2.61人であり、前年（3.52人）から減少した。年間を通して全国とほぼ同様に低いレベルで推移した。年齢階級別では6歳以下の乳幼児の割合が全体の65.2%を占めた。

2.2.2 眼科定点における週報告の感染症（表4，5）

i) 急性出血性結膜炎

急性出血性結膜炎は、定点あたり累積報告数が0.42人であり、前年（1.17人）から大幅に減少した。

ii) 流行性角結膜炎（図44）

流行性角結膜炎は、定点あたり累積報告数が8.34人で

あり、前年（24.25人）から大幅に減少した。年齢階級別では、例年多く報告される9歳以下では5名，5.0%（2019年は74名，25.4%）と激減し，40歳代（22.0%），30歳代（21.0%）で多く報告された。

2.2.3 基幹定点における週報告の感染症（表4，5）

i) 細菌性髄膜炎（髄膜炎菌肺炎球菌，インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く。）

細菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が1.40人であり、前年（2.60人）から減少した。

ii) 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎は、定点あたり累積報告数が0.40人であり、前年（1.40人）から減少した。

iii) マイコプラズマ肺炎

マイコプラズマ肺炎は、定点あたり累積報告数が3.80人であり、前年（5.60人）から減少した。

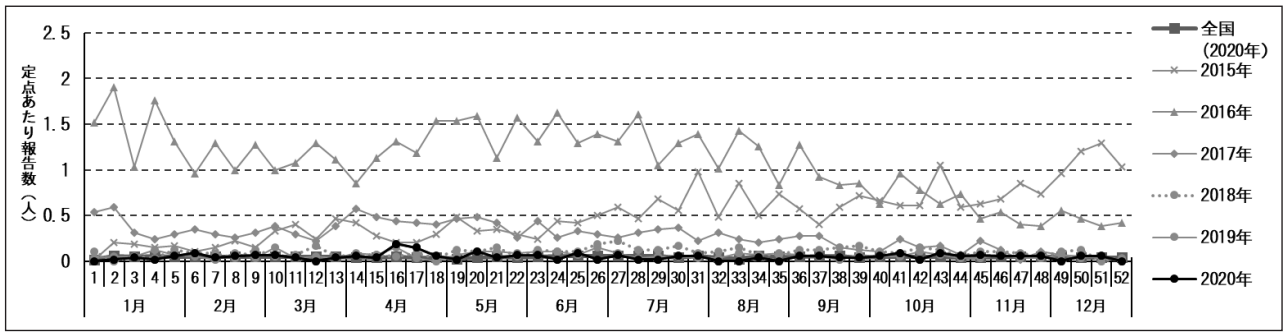


図43 流行性耳下腺炎 発生状況

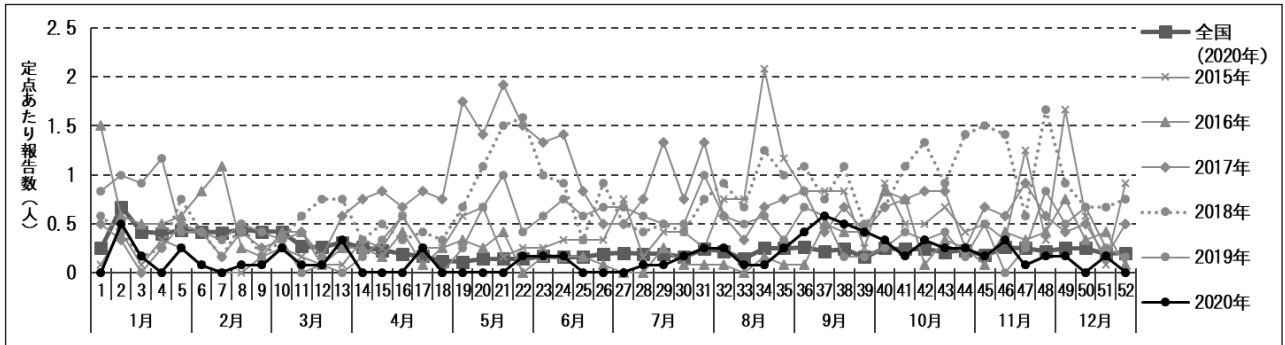


図44 流行性角結膜炎 発生状況

iv) クラミジア肺炎（オウム病を除く。）

クラミジア肺炎（オウム病を除く。）は、定点あたり累積報告数が0人であり、前年（0.20人）から減少した。

v) 感染性胃腸炎（病原体がロタウイルスであるものに限る。）

感染性胃腸炎（病原体がロタウイルスであるものに限る。）は、定点あたり累積報告数が0.20人であり、前年（9.20人）から大幅に減少した。

2.2.4 性感染症定点における月報告の感染症（表6, 7）

i) 性器クラミジア感染症

性器クラミジア感染症は、定点あたり累積報告数が18.12人であり、前年（18.35人）とほぼ同数であり、昨年と同様、全国と比較して少ない報告数であった（図45）。性別では男性15.3%，女性84.7%で、女性の割合が高かった。年齢階級別では20歳代が最も多かった（図46）。

ii) 性器ヘルペスウイルス感染症

性器ヘルペスウイルス感染症は、定点あたり累積報告数が4.41人で、前年（3.88人）からわずかに増加した。全国と比較して少ない報告数であった（図47）。性別では男性8.0%，女性92.0%で、女性の割合が高かった。年齢階級別では20歳代が最も多かった（図48）。

iii) 尖圭コンジローマ感染症

尖圭コンジローマ感染症は、定点あたり累積報告数が

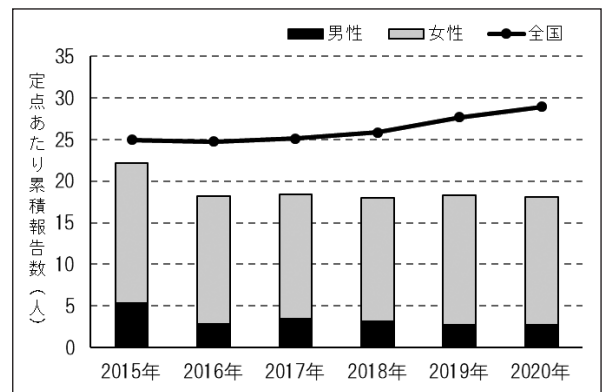


図45 性器クラミジア感染症 年次別発生状況

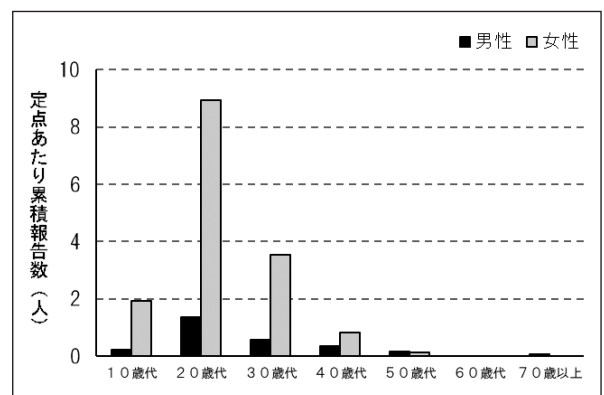


図46 性器クラミジア感染症 年齢階級別発生状況

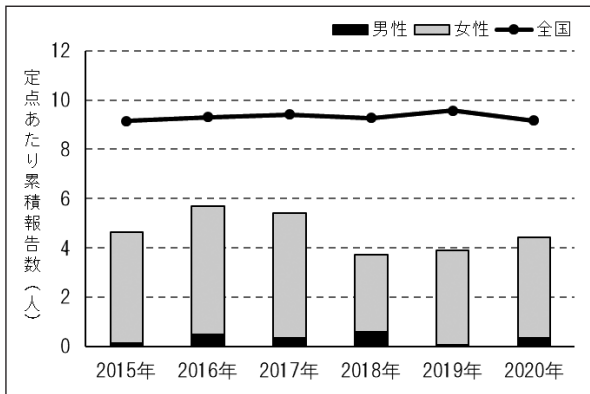


図47 性器ヘルペスウイルス感染症 年次別発生状況

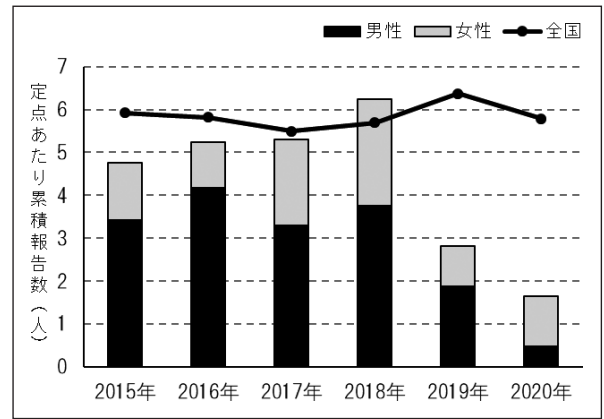


図49 尖圭コンジローマ感染症 年次別発生状況

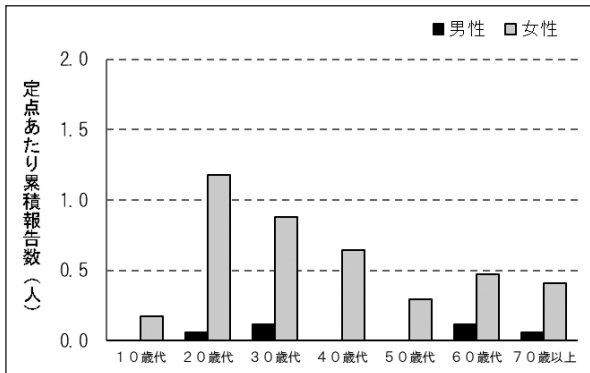


図48 性器ヘルペスウイルス感染症 年齢階級別発生状況

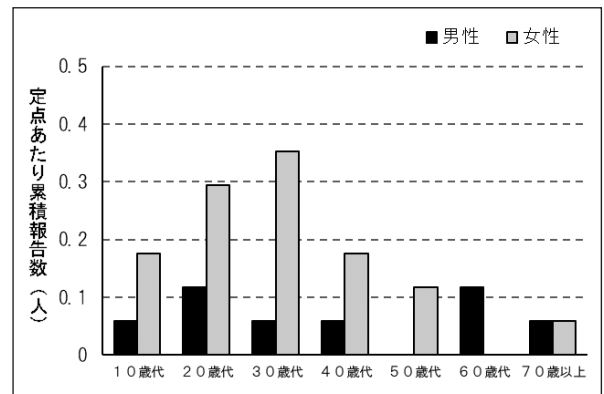


図50 尖圭コンジローマ感染症 年齢階級別発生状況

1.65人で、前年（2.82人）から減少した。過去5年間と比較して最も少なかった（図49）。性別では男性28.6%，女性71.4%で、女性の割合が多かった。年齢階級別では、20歳代～30歳代が多かった（図50）。

iv) 淋菌感染症

淋菌感染症は、定点あたり累積報告数が2.76人であり、前年（3.59人）から減少した（図51）。2014年から減少傾向にあり、全国と比べても少ない報告数であった。性別は男性42.6%，女性57.4%で、女性の報告数がやや多かった。年齢階級別では、20歳代が最も多かった（図52）。

2.5 基幹定点における月報告の感染症（表6，8）

i) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症は、定点あたり累積報告数が17.60人であり、前年（17.60人）と同数であった。年齢階級別では50歳代以上で81.8%を占めていた。

ii) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症

ペニシリン耐性肺炎球菌感染症は、定点あたり累積報告数が2.00人であり、前年（0人）から増加した。

iii) 薬剤耐性緑膿菌感染症

薬剤耐性緑膿菌感染症は、定点あたり累積報告数が

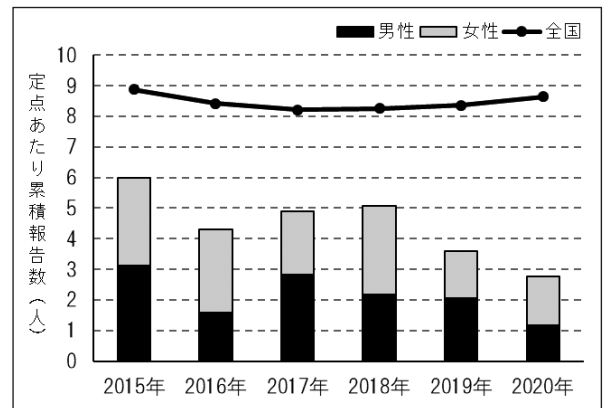


図51 淋菌感染症 年次別発生状況

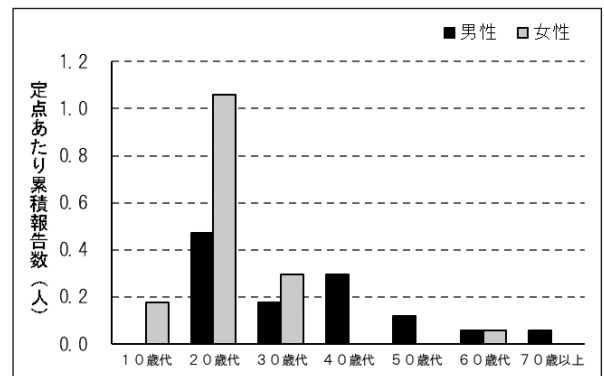


図52 淋菌感染症 年齢階級別発生状況

1.00人であり、前年（0.40人）から増加した。年齢階級別では70歳代以上で報告された。

### 3 まとめ

全数把握感染症のうち、結核の届出数は252例であり、2017年から漸減傾向にある。2019年までは300例以上の届出が続いていたが、2020年は過去5年間と比較して最も届出数が少なかった。年齢階級別では、60歳以上の高齢者が全体の67.1%を占めていた。50歳代以下では、20歳代が最も多かった。重症熱性血小板減少症候群は5月と、7月から10月にかけて届出があり、2013年に感染症法で全数把握疾患となってから最多の7例となった。つつが虫病は1月に1例、10月に2例の届出があり、2006年からの累計は24例となった。日本紅斑熱は11例の届出があり、2009年の県内初の届出以降最多となった。10月（4例）と7月及び8月（各3例ずつ）にかけて多く報告され、2009年からの累計は45例となった。これらマダニが媒介する感染症は増加傾向にあり、注意が必要である。レジオネラ症の届出数は78例であり、届出が急増した2018年（83例）と同程度となった。感染原因・経路は、水系感染が最も多く、うち入浴施設の利用（6例）が最も多く、加湿器の使用が2例で確認された。梅毒の届出数は162例であり、感染症法が施行された1999年以降で最多の届出となった2019年（191例）よりは減少したが、依然として150例を超える状況が継続した。全国の梅毒患者の届出数は2010年以降増加傾向にあり、岡山県でも2014年以降年々増加してきた。全国と比較しても届出数の増加が著しく、2019年に続き、2020年も人口100万人あたりの報告数で全国3位の報告数となった。特に若年女性を中心に今後の発生動向に十分注意する必要がある。

定点把握感染症に関して、2019/20年シーズンのインフルエンザは、過去5シーズンと比較して最も少なかった。警報発令基準の30.00人を超過することなく患者数は減少に転じたが、警報発令に至らなかったのは、2010/11年シーズン以来9シーズンぶりのことであった。全国の流行状況とほぼ同様の推移であった。

定点把握感染症のうち、小児科・内科・眼科・基幹定点については、突発性発しんを除き例年と比較して定点あたり報告数が減少した（突発性発しんは、年ごとの報告数の変動が小さいことから、小児科定点報告が安定的に運用されていることを示す指標とみなされている）。2020年においても他の小児科定点把握疾患は減少したが、突発性発しんは一定の報告があったことから、感染

症発生動向調査の精度が一定程度維持されていたことが示唆された<sup>6)</sup>。特に感染性胃腸炎については毎年冬季に「食中毒（ノロウイルス）注意報」が発令されると「感染性胃腸炎週報」を作成して、県民に対して注意喚起を行っていたが、2019-20年においては注意報が発令されなかった。このことは、例年と大きく異なる状況であった。他方、性感染症定点においては、前年から同等か増加したのもあった。新型コロナウイルス感染症流行下で感染防止対策が徹底されたことで飛沫・接触感染が感染経路の中心である感染症は流行がある程度抑制されたが、梅毒を始めとする性的接触が感染経路の中心である性感染症は、社会生活の変化の影響も受けにくく、感染拡大防止に係るアプローチを要するものと考えられる。

前述のとおり、2020年は新型コロナウイルス感染症の流行があり、感染症の発生状況が例年と異なる様相を示した。また、全数把握対象疾患の「急性弛緩性麻痺（急性灰白髄炎を除く。）」の症例からライノウイルスが検出されたが、2020年の新型コロナウイルス感染症流行下で、10歳未満の小児のライノウイルス感染症リスクの上昇が報告される<sup>7)</sup>等、新たな情報ももたらされる状況が想定される。

今後も引き続き、岡山県感染症情報センターでは、県内の感染症情報の収集・分析を迅速に行い、全国の感染症発生動向にも注意を払いながら、感染症対策の一助となるよう広く情報発信をしていきたい。

表1 感染症法に基づく届出対象感染症（2020年）

1. 全数把握感染症:全ての医師が、全ての患者発生について届出を行う感染症

<p>【 一類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) エボラ出血熱 (2) クミア・コンゴ出血熱 (3) 痘そう (4) 南米出血熱 (5) ペスト (6) マールブルグ病 (7) ラッサ熱</p>
<p>【 二類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) 急性灰白髄炎 (2) 結核 (3) ジフテリア (4) 重症急性呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 SARS コロナウイルスであるものに限る。) (5) 中東呼吸器症候群(病原体がベータコロナウイルス属 MERS コロナウイルスであるものに限る。) (6) 鳥インフルエンザ(H5N1) (7) 鳥インフルエンザ(H7N9)</p>
<p>【 三類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) コレラ (2) 細菌性赤痢 (3) 腸管出血性大腸菌感染症 (4) 腸チフス (5) パラチフス</p>
<p>【 四類感染症 】 直ちに届出</p> <p>(1) E型肝炎 (2) ウエストナイル熱(ウエストナイル脳炎含む) (3) A型肝炎 (4) エキノコックス症 (5) 黄熱 (6) オウム病 (7) オムスク出血熱 (8) 回帰熱 (9) キヤサヌル森林病 (10) Q熱 (11) 狂犬病 (12) コクシジオイデス症 (13) サル痘 (14) ジカウイルス感染症 (15) 重症熱性血小板減少症候群(病原体がフレボウイルス属 SFTS ウイルスであるものに限る。) (16) 腎症候性出血熱 (17) 西部ウマ脳炎 (18) ダニ媒介脳炎 (19) 炭疽 (20) チクングニア熱 (21) つつが虫病 (22) デング熱 (23) 東部ウマ脳炎 (24) 鳥インフルエンザ(H5N1 及び H7N9 を除く。) (25) ニパウイルス感染症 (26) 日本紅斑熱 (27) 日本脳炎 (28) ハンタウイルス肺症候群 (29) Bウイルス病 (30) 鼻疽 (31) ブルセラ症 (32) ベネズエラウマ脳炎 (33) ヘンドラウイルス感染症 (34) 発しんチフス (35) ボツリヌス症 (36) マラリア (37) 野兎病 (38) ライム病 (39) リッサウイルス感染症 (40) リフトバレー熱 (41) 類鼻疽 (42) レジオネラ症 (43) レプトスピラ症 (44) ロッキー山紅斑熱</p>
<p>【 五類感染症の一部 】 7日以内に届出 (侵襲性髄膜炎菌感染症, 風しんおよび麻しんは直ちに届出)</p> <p>(1) アメーバ赤痢 (2) ウイルス性肝炎(E型肝炎及びA型肝炎を除く) (3) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 (4) 急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。) (5) 急性脳炎(ウエストナイル脳炎, 西部ウマ脳炎, ダニ媒介脳炎, 東部ウマ脳炎, 日本脳炎, ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。) (6) クリプトスポリジウム症 (7) クロイツフェルト・ヤコブ病 (8) 劇症型溶血性レンサ球菌感染症 (9) 後天性免疫不全症候群 (10) ジアルジア症 (11) 侵襲性インフルエンザ菌感染症 (12) 侵襲性髄膜炎菌感染症 (13) 侵襲性肺炎球菌感染症 (14) 水痘(入院例に限る。) (15) 先天性風しん症候群 (16) 梅毒 (17) 播種性クリプトコックス症 (18) 破傷風 (19) パイコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (20) バンコマイシン耐性腸球菌感染症 (21) 百日咳 (22) 風しん (23) 麻しん (24) 薬剤耐性アシネトバクター感染症</p>
<p>【 指定感染症 】 直ちに届出</p> <p>新型コロナウイルス感染症(病原体がベータコロナウイルス属のコロナウイルス(令和二年一月に中華人民共和国から世界保健機関に対して、人に伝染する能力を有することが新たに報告されたものに限る。)であるものに限る。) 注)令和3年2月13日からは「新型インフルエンザ等感染症」に変更</p>

2. 定点把握感染症(五類感染症):指定した医療機関が、患者の発生について届出を行う感染症

①週単位報告

<p>【 小児科定点 】</p> <p>(1) RSウイルス感染症 (2) 咽頭結膜熱 (3) A群溶血性レンサ球菌咽頭炎 (4) 感染性胃腸炎 (5) 水痘 (6) 手足口病 (7) 伝染性紅斑 (8) 突発性発しん (9) ヘルパンギーナ (10) 流行性耳下腺炎</p>
<p>【 インフルエンザ定点 】</p> <p>(1) インフルエンザ(鳥インフルエンザ及び新型インフルエンザ等感染症を除く。)</p>
<p>【 眼科定点 】</p> <p>(1) 急性出血性結膜炎 (2) 流行性角結膜炎</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) 感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。) (2) クラミジア肺炎(オウム病を除く) (3) 細菌性髄膜炎(髄膜炎菌, 肺炎球菌, インフルエンザ菌を原因として同定された場合を除く。) (4) マイコプラズマ肺炎 (5) 無菌性髄膜炎</p>

②月単位報告

<p>【 性感染症定点 】</p> <p>(1) 性器クラミジア感染症 (2) 性器ヘルペスウイルス感染症 (3) 尖圭コンジローマ (4) 淋菌感染症</p>
<p>【 基幹定点 】</p> <p>(1) ペニシリン耐性肺炎球菌感染症 (2) メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症 (3) 薬剤耐性緑膿菌感染症</p>

表2 全数把握感染症 月別患者発生状況

2020年

		総数	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
一類感染症	エボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	短腸肺炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マダガスカル熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ラッサ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
二類感染症	急性灰白髄炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	結核	252	19	21	25	28	20	19	35	19	20	15	16	15
	重症急性呼吸器症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	東部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
三類感染症	鳥インフルエンザ(H5N1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(H7N9)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コレラ	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	細菌性赤痢	102	4	2	2	2	1	22	16	8	21	22	2	-
四類感染症	腸チフス	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	E型肝炎	4	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	1
	ウエストナイル熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	A型肝炎	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	エボラ出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オーストラリア熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	オーストラリア出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	回帰熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	キヤサスル森林病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Q熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	狂犬病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	コクシジオイデス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	サハラ熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ジカウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	重症熱性血小板減少症候群	7	-	-	-	-	1	-	1	2	1	2	-	-
	腎臓出血熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	西部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ダニ媒介脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	炭疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	チクングニア熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	つばが虫病	3	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-
	デング熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	東部ウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鳥インフルエンザ(鳥インフルエンザ(H5N1)を除く)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ニパウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	日本紅斑熱	11	-	-	-	-	1	-	3	3	-	4	-	-
	日本脳炎	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-
	ハンタウイルス肺症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	B型肝炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ブルセララ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ペネズエラウマ脳炎	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ヘンドラウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	発疹性チフス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ポツリヌス症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	マダガスカルリブ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	野兎病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ラッサ病	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	リッサウイルス感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	リフトバレー熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
類鼻疽	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
レジオネラ症	78	5	16	8	6	2	5	14	8	1	4	5	4	
レプトスピラ症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
ロッキーマウンテン紅斑熱	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
五類感染症	アムニオニチス	17	2	3	3	3	-	1	3	-	-	-	1	1
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	10	-	-	-	-	1	4	2	1	-	1	1	-
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	32	6	4	2	3	-	3	1	2	4	2	3	2
	急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。)	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	急性脳炎*	6	2	-	-	2	1	1	-	-	-	-	-	-
	クリプトスポリジウム症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	クロイツフェルト・ヤコブ病	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	7	2	-	-	1	-	1	2	-	-	1	-	-
	後天性免疫不全症候群	15	3	1	3	-	2	1	-	-	-	1	2	2
	ジエールジア症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性髄膜炎菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	侵襲性肺炎球菌感染症	11	2	2	1	1	-	3	1	1	-	-	-	-
	水痘(入院例)	5	1	1	-	-	-	-	1	-	1	-	-	1
	先天性風しん症候群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	梅毒	162	17	12	21	4	20	20	13	9	16	13	9	8
	播種性クリプトコックス症	2	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	破傷風	3	-	-	2	-	-	1	-	-	-	-	-	-
バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
百日咳	92	16	31	21	6	6	2	2	-	-	1	2	5	
風しん	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
麻疹	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
薬剤耐性アシネトバクター感染症	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

\*ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎日本脳炎、ペネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。

表3 全数把握感染症 年齢別患者発生状況

2020年

		総数	0～9歳	10歳代	20歳代	30歳代	40歳代	50歳代	60歳代	70歳代	80歳代	90歳～
一類	エボラ出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	クリミア・コンゴ出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	痘苗	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	南米出血熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	マールブルグ病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
二類	ラッサ熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	急性灰白髄炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	結核	252	6	2	29	16	13	17	19	48	72	30
	ジフテリア	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	重症急性呼吸器症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
三類	中東呼吸器症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	鳥インフルエンザ(H5N1)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	鳥インフルエンザ(H7N9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	コレラ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	細菌性赤痢	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
四類	腸管出血性大腸菌感染症	102	25	11	19	16	10	5	7	6	3	—
	腸チフス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	パルチフス	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
	E型肝炎	4	—	—	—	2	—	—	—	2	—	—
	ウエストナイル熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
五類	A型肝炎	1	—	—	—	—	—	—	1	—	—	—
	エキノкокクシス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	黄熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	オウムムス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	回帰熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
六類	キヤサヌル森林病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Q熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	狂犬病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	コクシジオリデス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	コサシ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
七類	ジカウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	重症熱性血小板減少症候群	7	—	—	—	—	—	1	1	4	—	1
	腎臓病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	西部ウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ダニ媒介脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
八類	炭疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	チクングニア熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	つが虫熱	3	—	—	—	—	—	1	1	—	1	—
	デング熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	東部ウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
九類	鳥インフルエンザ(H5N1を除く)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ニバウウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	日本紅斑熱	11	—	—	—	—	—	—	4	3	4	—
	日本脳炎	2	—	—	—	—	—	—	1	—	1	—
	ハンタウイルス肺症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十類	B型肝炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	鼻疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ブルセラ	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ベネズエラウマ脳炎	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ヘンドラウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十一類	発しんチフス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ボツリンス	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	マラリア	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	野兎病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	ライム病	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十二類	リップサウウイルス感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	リフトバレー熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	類鼻疽	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	レジオネラ症	78	—	—	1	—	6	11	28	20	11	1
	レプトスピラ症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十三類	ロッキーマン紅斑熱	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	アムニオニチス	17	—	—	—	—	4	8	2	3	—	—
	ウイルス性肝炎(E・Aを除く)	10	—	—	3	1	3	2	1	—	—	—
	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症	32	—	—	—	—	—	4	2	12	8	6
	急性弛緩性麻痺(急性灰白髄炎を除く。)*	1	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十四類	急性脳炎	6	5	1	—	—	—	—	—	—	—	—
	クリプトスポリジウム症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	クロイツフェルト・ヤコブ病	1	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—
	劇症型溶血性レンサ球菌感染症	7	—	—	—	—	—	—	—	2	4	1
	後天性免疫不全症候群	15	—	—	6	1	6	1	1	—	—	—
十五類	ジアルジア症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	侵襲性インフルエンザ菌感染症	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
	侵襲性髄膜炎菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	侵襲性肺炎球菌感染症	11	4	—	1	—	—	2	—	2	2	—
	水痘(入院例)	5	—	1	—	—	—	—	—	—	3	1
十六類	先天風しん症候群	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	梅毒	162	1	16	43	40	33	21	7	1	—	—
	播種性クリプトコックス症	2	—	—	—	—	—	—	—	—	2	—
	破傷風	3	—	—	1	1	—	—	—	1	—	—
	バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
十七類	バンコマイシン耐性腸球菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	百日咳	92	51	14	5	6	4	2	3	5	—	2
	風しん	1	—	—	—	—	—	1	—	—	—	—
	麻疹	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	薬剤耐性アシネトバクター感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

\*ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く。



表4 定点把握対象感染症の発生状況

定点あたり報告数, 週別(小児科定点, インフルエンザ(小児科・内科)定点, 眼科定点, 基幹定点)

2020年

	インフルエンザ	RSウイルス感染症	咽頭結膜熱	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	感染性胃腸炎	水痘	手足口病	伝染性紅斑	突発性発しん	ヘルパンギーナ	流行性耳下腺炎	急性出血性結膜炎	流行性角結膜炎	細菌性髄膜炎	無菌性髄膜炎	マイコプラズマ肺炎	クラミジア肺炎	感染性胃腸炎 (ロタウイルス)
総数	144.85	3.34	12.24	29.69	161.07	7.74	8.04	6.11	14.63	15.07	2.61	0.42	8.34	1.40	0.40	3.80	0.00	0.20
1週	15.24	0.17	0.28	0.52	3.61	0.17	—	0.24	0.04	—	—	—	—	0.20	—	0.20	—	—
2週	24.01	0.22	0.76	1.56	5.70	0.52	—	0.37	0.26	0.04	0.02	—	0.50	—	—	0.40	—	—
3週	22.61	0.13	0.43	1.87	6.41	0.20	0.04	0.44	0.22	—	0.04	—	0.17	—	—	0.20	—	—
4週	22.64	0.35	0.59	1.54	9.11	0.96	0.07	0.30	0.28	—	0.02	—	—	0.20	—	—	—	—
5週	16.86	0.19	0.54	1.13	8.22	0.19	0.06	0.52	0.15	0.04	0.06	—	0.25	0.20	—	—	—	—
6週	11.21	0.17	0.81	1.33	6.57	0.33	0.02	0.52	0.09	—	0.09	—	0.08	—	—	0.40	—	—
7週	8.27	0.24	0.52	1.00	6.24	0.15	0.04	0.31	0.17	—	0.04	—	—	—	0.20	0.20	—	0.20
8週	6.87	0.13	0.37	1.37	5.44	0.17	0.04	0.28	0.11	—	0.06	—	0.08	—	—	—	—	—
9週	6.54	0.07	0.46	1.06	4.89	0.20	0.02	0.26	0.24	0.04	0.07	0.08	0.08	—	—	0.40	—	—
10週	4.51	0.06	0.24	0.98	3.94	0.22	0.06	0.19	0.11	0.02	0.07	—	0.25	—	—	0.20	—	—
11週	2.24	0.06	0.28	1.28	3.06	0.26	0.02	0.33	0.24	0.04	0.04	0.08	0.08	—	—	0.40	—	—
12週	1.54	0.04	0.35	0.96	2.15	0.04	0.06	0.15	0.26	—	—	—	0.08	—	—	0.20	—	—
13週	0.98	0.04	0.24	0.89	3.30	0.13	—	0.39	0.17	—	0.04	—	0.33	—	—	—	—	—
14週	0.45	0.04	0.19	0.52	2.80	0.06	—	0.31	0.24	—	0.06	—	—	—	—	0.20	—	—
15週	0.25	—	0.11	0.46	2.39	0.13	0.07	0.28	0.20	—	0.04	—	—	—	—	0.40	—	—
16週	0.10	—	0.11	0.69	2.52	0.09	0.06	0.13	0.30	—	0.19	—	—	—	—	—	—	—
17週	0.01	0.02	0.17	0.69	2.13	0.02	—	0.13	0.39	0.02	0.15	—	0.25	0.20	—	0.20	—	—
18週	—	0.04	0.07	0.44	1.83	0.02	0.02	0.13	0.15	—	0.06	—	—	0.40	—	—	—	—
19週	—	0.02	0.06	0.26	0.78	0.06	0.07	0.09	0.13	—	0.02	—	—	—	—	—	—	—
20週	—	—	0.07	0.37	1.52	0.07	0.13	0.17	0.35	—	0.11	—	—	—	—	—	—	—
21週	—	—	0.06	0.35	1.57	0.04	0.09	0.11	0.31	0.04	0.04	—	—	—	—	—	—	—
22週	0.02	—	0.09	0.41	2.07	0.02	0.09	0.15	0.44	0.04	0.07	—	0.17	—	—	—	—	—
23週	—	—	0.06	0.43	2.02	0.06	0.09	—	0.30	—	0.07	—	0.17	—	—	—	—	—
24週	—	—	0.26	0.35	2.06	0.07	0.07	0.04	0.31	0.02	0.02	—	0.17	—	—	—	—	—
25週	—	—	0.19	0.22	2.39	0.13	0.09	0.02	0.46	0.02	0.09	—	—	—	—	—	—	—
26週	—	—	0.17	0.44	2.80	0.15	0.15	0.07	0.39	0.11	0.02	—	—	0.20	—	—	—	—
27週	—	—	0.31	0.52	2.65	0.15	0.07	—	0.44	0.02	0.07	—	—	—	—	—	—	—
28週	—	—	0.22	0.30	2.91	0.09	0.09	—	0.35	—	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
29週	—	0.37	0.26	0.56	2.22	0.20	0.07	0.02	0.44	0.17	0.02	—	0.08	—	—	—	—	—
30週	—	—	0.24	0.24	2.26	0.06	0.20	0.02	0.31	0.15	0.06	—	0.17	—	—	—	—	—
31週	—	0.04	0.31	0.31	2.85	0.20	0.20	—	0.39	0.30	0.06	—	0.25	—	—	—	—	—
32週	—	—	0.17	0.35	2.06	0.11	0.57	—	0.30	0.70	—	—	0.25	—	—	—	—	—
33週	—	—	0.11	0.06	2.31	0.11	0.37	—	0.35	0.50	—	—	0.08	—	—	—	—	—
34週	—	—	0.26	0.09	2.13	0.04	0.26	—	0.30	0.80	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—
35週	—	0.04	0.07	0.22	2.13	0.13	0.48	—	0.56	0.85	—	—	0.25	—	—	—	—	—
36週	—	0.22	0.15	0.17	2.70	0.04	0.52	—	0.35	1.22	0.06	—	0.42	—	0.20	—	—	—
37週	—	0.07	0.19	0.13	2.43	0.04	0.39	—	0.50	1.46	0.06	0.08	0.58	—	—	—	—	—
38週	—	0.07	0.09	0.17	2.35	0.11	0.63	—	0.30	1.46	0.04	—	0.50	—	—	0.20	—	—
39週	—	0.02	0.06	0.11	2.54	0.04	0.41	0.02	0.19	1.02	0.04	—	0.42	—	—	—	—	—
40週	0.01	0.11	0.07	0.20	2.20	0.13	0.39	0.04	0.33	1.30	0.06	—	0.33	—	—	—	—	—
41週	0.02	0.13	0.06	0.61	2.19	0.13	0.50	—	0.41	0.85	0.09	—	0.17	—	—	—	—	—
42週	—	0.06	—	0.30	2.17	0.11	0.26	—	0.28	0.85	0.02	—	0.33	—	—	—	—	—
43週	0.06	—	0.02	0.39	2.15	0.20	0.17	—	0.31	0.61	0.09	—	0.25	—	—	—	—	—
44週	0.02	—	0.17	0.35	2.07	0.19	0.07	0.06	0.24	0.50	0.06	0.08	0.25	—	—	—	—	—
45週	0.01	0.04	0.15	0.33	2.35	0.13	0.07	0.02	0.22	0.43	0.07	—	0.17	—	—	—	—	—
46週	0.05	0.02	0.11	0.35	2.54	0.19	0.07	0.02	0.22	0.26	0.06	—	0.33	—	—	—	—	—
47週	0.04	0.04	0.20	0.35	3.00	0.11	0.17	—	0.19	0.26	0.06	—	0.08	—	—	—	—	—
48週	0.04	—	0.30	0.31	2.96	0.17	0.09	—	0.24	0.28	0.06	—	0.17	—	—	—	—	—
49週	0.05	—	0.24	0.33	3.20	0.07	0.07	—	0.24	0.26	—	—	0.17	—	—	—	—	—
50週	0.02	—	0.35	0.56	2.87	0.15	0.17	—	0.17	0.13	0.06	—	—	—	—	—	—	—
51週	0.08	0.02	0.28	0.41	2.33	0.17	0.28	—	0.19	0.15	0.06	—	0.17	—	—	—	—	—
52週	0.05	0.11	0.17	0.67	2.52	0.11	0.09	—	0.30	0.13	—	0.08	—	—	—	0.20	—	—
53週	0.05	0.02	0.22	0.19	1.46	0.13	—	—	0.20	0.02	0.04	—	0.08	—	—	—	—	—

表5 週報告 定点把握感染症（小児科定点、インフルエンザ（小児科・内科）定点、眼科定点、基幹定点）年齢階級別患者報告数

疾患名	年齢区分 小児科 眼科 基	合計	2020年																			
			～6ヶ月	～12ヶ月	1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	7歳	8歳	9歳	10～14歳	15～19歳	20～29歳	30～39歳	40～49歳	50～59歳	60～69歳	70～79歳	80歳以上
			～6ヶ月	～12ヶ月	1歳	2歳	3歳	4歳	5歳	6歳	7歳	8歳	9歳	10～14歳	15～19歳	20～29歳	30～39歳	40～49歳	50～59歳	60～69歳	70歳以上	
インフルエンザ	イ	12167	61	145	392	387	435	566	648	721	715	700	608	2068	581	619	938	1003	602	461	300	217
RSV感染症	小	180	32	38	58	23	12	6	2	3	3	1	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-
咽頭結膜熱	小	661	3	65	260	100	63	38	37	32	13	7	11	19	4	9	-	-	-	-	-	-
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	小	1603	5	16	88	89	152	200	257	208	140	109	79	164	20	76	-	-	-	-	-	-
感染性胃腸炎	小	8698	106	586	1279	833	651	622	521	500	405	376	316	1047	279	1177	-	-	-	-	-	-
水痘	小	418	4	11	31	30	22	40	48	46	28	40	35	69	2	12	-	-	-	-	-	-
手足口病	小	434	6	29	199	105	34	18	13	7	2	3	4	8	-	6	-	-	-	-	-	-
伝染性紅斑	小	330	1	5	17	32	28	49	68	49	19	24	15	20	-	3	-	-	-	-	-	-
突発性発疹	小	790	15	251	395	93	15	13	6	1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
ヘルパンギーナ	小	814	3	79	288	189	93	56	36	22	16	12	7	10	2	1	-	-	-	-	-	-
流行性耳下腺炎	小	141	-	4	6	7	16	16	29	14	18	8	5	11	4	3	-	-	-	-	-	-
急性出血性結膜炎	眼	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-
流行性角結膜炎	眼	100	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	1	3	4	15	21	22	4	6	20	-
細菌性髄膜炎	基	7	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	1	2	-	-	-	-
無菌性髄膜炎	基	2	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
マイコプラズマ肺炎	基	19	-	2	7	3	3	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
クラミジア肺炎	基	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
感染性胃腸炎 (ロタウイルス)	基	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表6 月報告 定点把握感染症（性感染症定点、基幹定点）月別、定点あたり報告数

疾患名		総計	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
性感染症定点	性器クラミジア 感染症	計	18.12	1.88	1.35	1.18	1.12	1.06	1.06	1.71	1.71	1.76	1.82	2.06	1.41
		男性	2.76	0.35	0.12	0.12	0.24	0.12	0.24	0.24	0.29	0.18	0.41	0.35	0.12
		女性	15.35	1.53	1.24	1.06	0.88	0.94	0.82	1.47	1.41	1.59	1.41	1.71	1.29
	性器ヘルペス ウイルス感染症	計	4.41	0.35	0.65	0.41	0.35	0.35	0.29	0.24	0.41	0.29	0.35	0.24	0.47
		男性	0.35	-	0.12	0.06	-	-	-	-	0.06	0.06	0.06	-	-
		女性	4.06	0.35	0.53	0.35	0.35	0.35	0.29	0.24	0.35	0.24	0.29	0.24	0.47
	尖圭 コンジローマ	計	1.65	0.06	0.24	-	0.18	0.12	0.06	0.18	0.35	-	0.12	0.24	0.12
		男性	0.47	-	-	-	0.18	0.06	0.06	-	0.12	-	0.06	-	-
		女性	1.18	0.06	0.24	-	-	0.06	-	0.18	0.24	-	0.06	0.24	0.12
	淋菌感染症	計	2.76	0.24	0.53	0.12	0.06	0.24	0.35	0.06	0.29	0.35	0.12	0.24	0.18
		男性	1.18	0.18	0.18	0.12	-	0.12	0.18	0.06	0.12	0.06	0.12	0.06	-
		女性	1.59	0.06	0.35	-	0.06	0.12	0.18	-	0.18	0.29	-	0.18	0.18
基幹定点	メチシリン耐性 黄色ブドウ球菌 感染症	計	17.60	2.60	1.00	0.60	1.00	1.80	0.60	2.40	1.80	1.00	1.40	1.20	2.20
		男性	12.20	1.80	0.40	0.60	0.60	1.40	0.40	1.60	1.40	0.20	0.80	1.00	2.00
		女性	5.40	0.80	0.60	-	0.40	0.40	0.20	0.80	0.40	0.80	0.60	0.20	0.20
	ペニシリン耐性 肺炎球菌感染症	計	2.00	-	0.20	1.00	0.20	-	-	-	-	-	0.40	-	0.20
		男性	1.60	-	0.20	0.80	-	-	-	-	-	-	0.40	-	0.20
		女性	0.40	-	-	0.20	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-
	薬剤耐性 緑膿菌感染症	計	1.00	0.20	0.20	-	-	-	0.20	-	-	-	-	0.20	0.20
		男性	0.80	0.20	0.20	-	-	-	0.20	-	-	-	-	-	0.20
		女性	0.20	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.20	-

表7 月報告 定点把握感染症（性感染症定点）年齢階級別患者報告数

2020年

疾患名	0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計	
性器クラミジア感染症	計	—	—	—	—	6	47	103	61	34	33	12	9	1	1	—	1	308
	男性	—	—	—	—	4	16	7	5	5	2	4	3	—	—	—	1	47
	女性	—	—	—	—	2	31	96	56	29	31	8	6	1	1	—	—	261
性器ヘルペスウイルス感染症	計	—	—	—	—	3	13	8	7	10	4	7	1	4	6	4	8	75
	男性	—	—	—	—	—	1	—	—	2	—	—	—	—	1	1	1	6
	女性	—	—	—	—	3	12	8	7	8	4	7	1	4	5	3	7	69
尖圭コンジローマ	計	—	—	—	—	4	4	3	6	1	2	2	1	1	2	—	2	28
	男性	—	—	—	—	1	1	1	—	1	1	—	—	—	2	—	1	8
	女性	—	—	—	—	3	3	2	6	—	1	2	1	1	—	—	1	20
淋菌感染症	計	—	—	—	—	3	18	8	3	5	3	2	1	1	1	1	1	47
	男性	—	—	—	—	—	4	4	—	3	3	2	1	1	1	—	1	20
	女性	—	—	—	—	3	14	4	3	2	—	—	—	—	—	1	—	27

表8 月報告 定点把握感染症（基幹定点）年齢階級別患者報告数

2020年

疾患名	0歳	1歳～	5歳～	10歳～	15歳～	20歳～	25歳～	30歳～	35歳～	40歳～	45歳～	50歳～	55歳～	60歳～	65歳～	70歳～	総計
メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	4	—	2	—	—	—	—	1	2	5	2	2	1	2	7	60	88
ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	—	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1	—	8	10
薬剤耐性緑膿菌感染症	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	5	5

## 文 献

- 厚生労働省：2020年 結核登録者情報調査年報集計結果について、  
[https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000175095\\_00004.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000175095_00004.html) (2021.9.8アクセス)
- 国立感染症研究所：日本脳炎 2007～2016年 (IASR Vol.38 p151-152：2017年8月号),  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/je-m/je-iasrtpc/6827-450t.html> (2021.7.16アクセス)
- 「エンテロウイルス等感染症を含む急性弛緩性麻痺・急性脳炎・脳症の原因究明に資する臨床疫学研究」研究班：急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き 平成30(2018)年4月,  
<https://www.niid.go.jp/niid/images/idsc/disease/AFP/AFP-guide.pdf> (2021.7.13アクセス)
- 国立感染症研究所：AIDS（後天性免疫不全症候群）とは  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/400-aids-intro.html> (2021.7.19アクセス)
- 国立感染症研究所：新型コロナウイルス感染症流行下の国内百日咳の疫学のとめ (IASR Vol.42 p113-114：2021年6月号),

- <https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/2540-related-articles/related-articles-496/10456-496r03.html> (2021.7.5アクセス)
- 国立感染症研究所：突発性発しん 2000～2020年 (IASR Vol.41 p211-212：2020年12月号),  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/exanthem-subitum-m/exanthem-subitum-iasrtpc/9350-490t.html> (2021.7.12アクセス)
  - Takashita E, Kawakami C, Momoki T, Saikura M, Shimizu K, et al. : Increased risk of rhinovirus infection in children during the coronavirus disease-19 pandemic, Influenza and Other Respiratory Viruses.2021;15:488-494



【資料】

岡山県における新型コロナウイルス感染症の発生状況について（2020年）  
 COVID-19 Surveillance Reports in Okayama Prefecture (2020)

北村雅美, 木村英治, 望月 靖

KITAMURA Masami, KIMURA Hideharu, MOCHIZUKI Yasushi

[キーワード：新型コロナウイルス感染症, サーベイランス, クラスタ]

[Key words : COVID-19, Epidemiological surveillance, Cluster]

1 はじめに

新型コロナウイルス感染症は、2019年12月、中華人民共和国湖北省武漢市において確認されて以降、急速に世界的に流行が拡大した。2020年1月30日、世界保健機関（WHO）により「国際的に懸念される公衆衛生上の緊急事態（PHEIC）」が宣言され、3月11日にはパンデミック（世界的な大流行）の状態にあるとの表明がなされた<sup>1)</sup>。日本国内では1月16日に初めて患者が確認され、その後幾度かの感染者の大規模な発生を経て、全国的な流行拡大が進んでいる。なお、「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」（平成10年法律第104号。以下「感染症法」という。）による当該感染症の位置づけとして、当初感染症法第14条第1項に基づく疑似症サーベイランスの対象とされたが、2月1日に感染症法第6条第8項に基づく指定感染症に指定された（その後、2021年2月13日に新型インフルエンザ等感染症に法的位置づけが変更されている。）。岡山県も流行に関して例外ではなく、多くの感染者が発生している。ここでは2020年の発生状況を概観する。

2 感染症発生動向調査

2.1 調査方法

新型コロナウイルス感染者等情報把握・管理支援システム（HER-SYS：Health Center Real-time information-

sharing System on COVID-19）に報告された各関係機関からの感染者情報を元にした。全国のデータは厚生労働省のオープンデータ等を用い、岡山県のデータはHER-SYSの感染者情報に加えて県の公表資料を用い、解析を行った。

2.2 調査期間

2020年1月1日～12月31日とした。公表資料から作成したグラフは公表日を基準とした。なお、岡山県の死亡者については、2021年7月27日時点で、2020年中に死亡した者としてHER-SYSに入力されていたものをデータとして用いた（死亡年月日不明の者は除く。）。

3 結果

3.1 月別発生状況（公表資料より）

岡山県では、2020年3月22日に初めての新型コロナウイルス感染症患者の発生が公表された（発症日は3月17日、海外渡航歴あり。）。2020年中はその後増減を2回繰り返した。この間、学校保健安全法（昭和33年法律第56号）第20条に基づく全国一斉の臨時休業（小学校、中学校、高等学校及び特別支援学校）の要請に基づき、岡山県においても3月2日から春季休業終了まで休業措置がとられた。また、岡山県に係る緊急事態宣言は、4月16日から5月14日まで適用された。10月以降感染者数が急増し、12月は最多となる764名が公表され、2020年の合計は1,363名であった。岡山県の月別発生状況（図1）

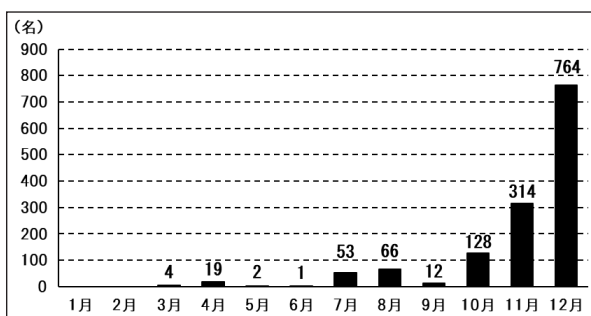


図1 月別発生状況（岡山県）

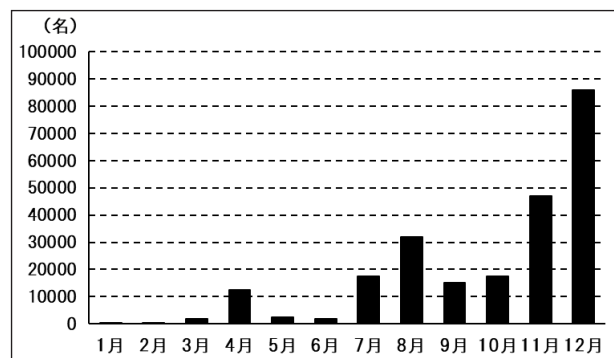


図2 月別発生状況（全国）

は、全国（図2）とほぼ同様の推移を示した。

### 3.2 性別、年齢階級別発生状況（公表資料より）

調査期間における岡山県の感染者の性別は、男性632名、女性647名、性別非公表84名であった。年齢階級別では、20歳代が290名で最も多く、次いで40歳代174名、30歳代172名、50歳代159名の順であった（図3）。全国の感染者の性別は、2021年1月6日18時時点までの状況を図4に示す。岡山県と全国の発生状況を比較すると、20歳代に次いで30～40歳代が多かったのは同様であったが、一方で岡山県では10歳未満が少なく、70歳代が多い傾向であった。

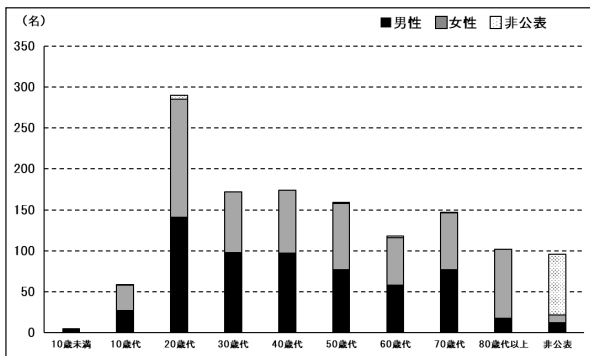


図3 年齢階級別発生状況（岡山県）

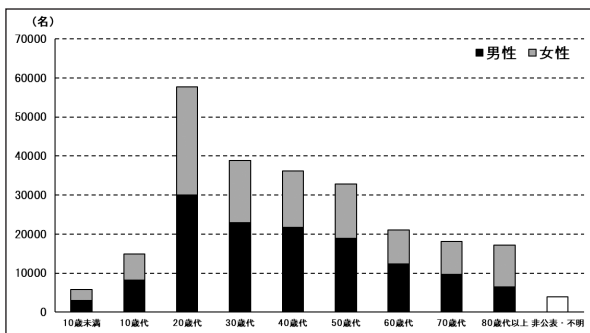


図4 年齢階級別発生状況（全国、2021年1月6日18時時点）

### 3.3 流行曲線（公表資料より）

発症日を基準とした流行曲線（無症状病原体保有者を除く。）では、感染者数のピークは12月14日の33名、次いで12月30日の32名、12月11日の31名の順が多かった（図5）。また、診断日を基準とした流行曲線では、感染者数のピークは12月19日の111名が最も多かった（図6）。潜伏期間が1～14日、暴露から発症までは平均5日程度とされているので、12月初旬から中旬に感染した人が多かったと推察され、これは、岡山県におけるいわゆる「第3波」の流行の拡大時期に当たると考えられる。

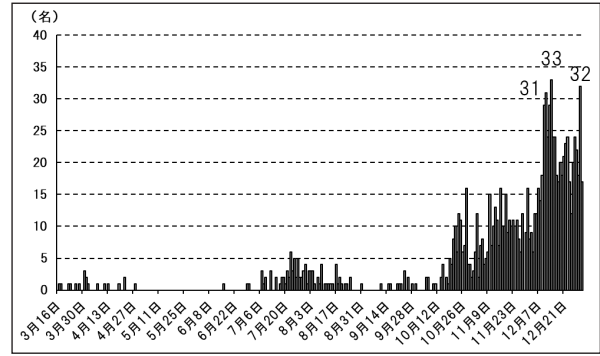


図5 流行曲線（発症日ベース）

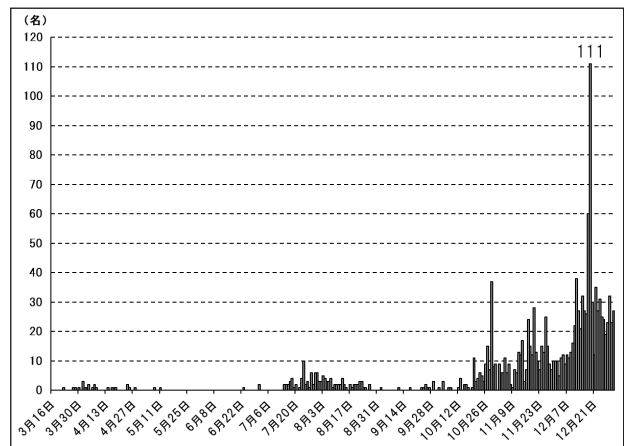


図6 流行曲線（診断日ベース）

### 3.4 クラスター種類別発生状況（公表資料より）

岡山県で発生したクラスターは、施設別では、「高齢者施設」の感染者数156名（発生数7件）が最も多く、次いで「会社・事業所」の87名（3件）、「接待を伴う飲食店」の82名（6件）の順であった（図7）。このうち、クラスター当たりの感染者数が最も多かったのは、12月に発生した「会社・事業所」の75名であった。また、週別では、第51週（12/14～12/20）の感染者数192名（8件）が、感染者数、発生件数ともに最も多かった（図8）。

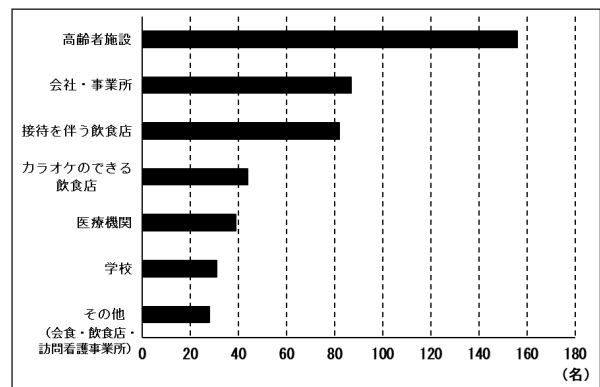


図7 クラスター発生状況（施設別）

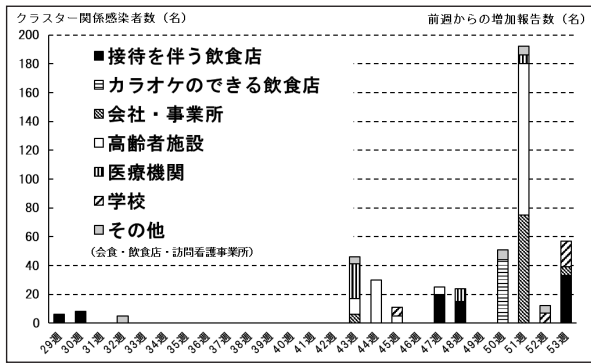


図8 週別・クラスター発生状況

### 3.5 年齢階級別死亡者割合

2020年中に死亡した者としてHER-SYSに入力されていた18名の年齢階級のグラフを図9に示す。全国については、2021年1月6日18時時点で厚生労働省が公開したデータに基づいて作成した年齢階級別死亡者数のグラフを図10に示す。死亡は、全国と同様、70歳代以上の高齢者に多く認められた。

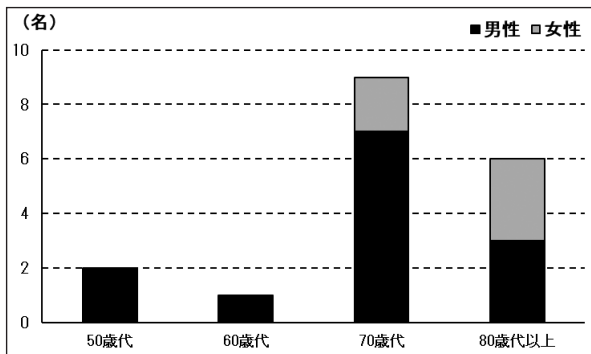


図9 年齢階級別死亡者数（岡山県，2021年7月21日時点でHER-SYSに入力があつた2020年中の死亡者数）

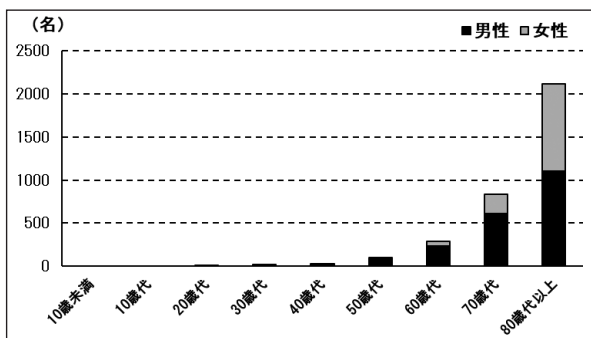


図10 年齢階級別死亡者数（全国，2021年1月6日18時時点）

### 3.6 変異株の発生

アルファ株（英国で最初に検出された変異株，VOC-202012/01）は、2020年12月上旬に英国で最初に報告された変異株である<sup>2)</sup>。イングランド南東部で確認され、

英国の感染者の急増の原因となり、その後世界各地で確認されることとなった。日本では2020年12月25日に、英国からの帰国者の空港検疫の検査陽性者から初めて検出された<sup>3)</sup>。なお、岡山県では、2021年2月上旬に発症した患者から初めてアルファ株が確認されたことから、2020年末までは県内への侵入はなかったものと考えられる<sup>4)</sup>。

## 4 まとめ

新型コロナウイルス感染症については、岡山県では2020年3月から感染者が発生し、その後は全国の流行状況に追隨する形で流行の波を経験することとなった。2020年末までは、従来株のみが流行しており、3密（密集・密閉・密接）の回避や、マスクの着用、手洗いなどの感染予防策を励行し、リスクの高い行動（大人数の飲食や、マスクなしのカラオケ等）を避けることで、ある程度は感染予防を図ることができていたと考えられる。しかし今後は、変異株の感染力の変化（デルタ株はアルファ株の1.5倍の感染力を有する可能性がある）も感染状況に影響を与えることを考慮に入れる必要があり、実際に2021年に入って以降はこれまでにない速さで感染が拡大している。

予防接種により、重症化予防効果が期待される。また、どの年齢層でも致死率が抑えられることが報告されており<sup>5)</sup>、今後も従来の感染予防策の徹底を図るとともに、広い年齢層への予防接種を推進することが重要である。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所：IDWR 2021年第29号<注目すべき感染症> 直近の新型コロナウイルス感染症およびRSウイルス感染症の状況，  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ka/corona-virus/2019-ncov/2487-idsc/idwr-topic/10564-idwrc-2129c.html> (2021.8.17アクセス)
- 2) European Centre for Disease Prevention and Control.Threat Assessment Brief : Rapid increase of a SARS-CoV-2 variant with multiple spike protein mutations observed in the United Kingdom.December 20,2020.  
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/SARS-CoV-2-variant-multiple-spike-protein-mutations-United-Kingdom.pdf>. (2021.8.11アクセス)
- 3) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症（変異株）

の患者等の発生について、

[https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage\\_15791.html](https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_15791.html)  
(2021.8.11 アクセス)

- 4) 岡山県：県内での新型コロナウイルス感染症（変異株）の患者等の発生について、

[https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/703521\\_6300650\\_misc.pdf](https://www.pref.okayama.jp/uploaded/life/703521_6300650_misc.pdf) (2021.8.13 アクセス)

- 5) 厚生労働省：第47回新型コロナウイルス感染症対策アドバイザリーボード（令和3年8月11日）資料2-5  
HER-SYSデータに基づく報告

<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000818356.pdf> (2021.8.17 アクセス)



## Periodic Genotype Shifts in Clinically Prevalent *Mycoplasma pneumoniae* Strains in Japan

Tsuyoshi Kenri, Masato Suzuki, Tsuyoshi Sekizuka, Hitomi Ohya, Yoichiro Oda,  
Tsutomu Yamazaki, Hiroyuki Fujii, Toru Hashimoto, Hiroshi Nakajima, Chihiro Katsukawa,  
Makoto Kuroda and Keigo Shibayama

Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, Vol.10, 2020

doi: 10.3389/fcimb.2020.00385

Nationwide increases in *Mycoplasma pneumoniae* pneumonia cases in Japan were reported in 2011, 2012, 2015, and 2016. In this study, we isolated 554 *M. pneumoniae* strains in 4 areas in Japan (Kanagawa, Okayama, Osaka, and Saitama) between 2006 and 2019, and performed genotyping analysis. More than 80% of the strains isolated in 2011 and 2012 harbored type 1 *p1* adhesin gene; however, strains harboring type 2 or its variant *p1* gene increased in 2015 and 2016 and dominated after 2017. These findings suggested that a shift in the prevalent genotype of *M. pneumoniae* clinical strains occurred recently in Japan. More than 90% of the type 1 strains isolated after 2010 harbored macrolide-resistance mutations in their 23S rRNA gene, whereas most type 2 lineage strains had no such mutations. Consequently, the increase in type 2 lineage strains in Japan has reduced the macrolide resistance rate of clinical *M. pneumoniae* strains. During this analysis, we also identified *M. pneumoniae* strains carrying a novel variant type 1 *p1* gene, and we classified it as type 1b. We then sequenced the genomes of 81 selected *M. pneumoniae* strains that we collected between

1976 and 2017 in Japan, and compared them with 156 *M. pneumoniae* genomes deposited in public databases to provide insights into the interpretation of *M. pneumoniae* genotyping methods, including *p1* typing, multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA), multi-locus sequence typing (MLST), and typing by 8 single-nucleotide polymorphism markers (SNP-8). As expected, *p1* typing, MLST, and SNP-8 results exhibited good correlation with whole-genome SNP analysis results in terms of phylogenetic relationships; however, MLVA typing results were less comparable to those of the other methods. MLVA may be useful for the discrimination of strains derived from a single outbreak within a limited area; however, is not reliable for classification of strains collected from distantly separated areas at different time points. This study showed the usefulness of genome-based comparison of *M. pneumoniae* for molecular epidemiology. Genome sequencing of more strains will improve our understanding of global propagation routes of this pathogen and evolutionary aspects of *M. pneumoniae* strains.

# In Vitro Characterization of Multidrug-Resistant Influenza A (H1N1) pdm09 Viruses Carrying a Dual Neuraminidase Mutation Isolated from Immunocompromised Patients

Emi Takashita, Seiichiro Fujisaki, Masaru Yokoyama, Masayuki Shirakura, Hiroko Morita, Kazuya Nakamura, Noriko Kishida, Tomoko Kuwahara, Hironori Sato, Ikuko Doi, Yuji Sato, Shinichi Takao, Yukie Shimazu, Takeshi Shimomura, Takuo Ito, Shinji Watanabe, Takato Odagiri and on behalf of The Influenza Virus Surveillance Group of Japan

Pathogens, 9(9), 725, 2020

Influenza A (H1N1) pdm09 viruses carrying a dual neuraminidase (NA) substitution were isolated from immunocompromised patients after administration of one or more NA inhibitors. These mutant viruses possessed an H275Y/I223R, H275Y/I223K, or H275Y/G147R substitution in their NA and showed enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir and reduced susceptibility to zanamivir compared to single H275Y mutant viruses. Baloxavir could be a treatment option

against the multidrug-resistant viruses because these dual H275Y mutant viruses showed susceptibility to this drug. The G147R substitution appears to stabilize the NA structure, with the fitness of the H275Y/G147R mutant virus being similar or somewhat better than that of the wild-type virus. Since the multidrug-resistant viruses may be able to transmit between humans, surveillance of these viruses must continue to improve clinical management and to protect public health.

## 報告書等

### 人形峠周辺の環境放射線等測定報告（令和2年度）

森上嘉亮，中野拓也，小川 登，三宅和彰，二階堂日出伸，望月 靖

岡山県：人形峠周辺の環境放射線等測定報告書（第43号）

## 中四国ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究（令和2年度）

狩屋英明，河合央博，岡田達郎，中嶋 洋 他

（厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究

令和2年度 分担研究報告書：110-132，2021

食品由来感染症の広域事例発生時には、症例間の関連性を明らかにするため、各症例由来株の分子疫学解析結果等を各自治体が共有し、病原体分離株の比較・解析を行うことが感染源特定や拡大防止のために有用である。そのためには、地方衛生研究所（地衛研）における病原体分離株の分子疫学解析手法の解析精度・解析能力の向上による精度管理体制の維持・強化が不可欠である。そこで、中四国ブロック内の地衛研を対象に、腸管出血性大腸菌（EHEC）O157菌株を用いたIS-printing System、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE法）及びmultiple-locus variable-number tandem-repeat analysis（MLVA法）による精度管理を実施した。その結果、一部の地衛研を除いて、ほとんどの施設で良好な結果が得られたが、一部の施設では技術の改善や工夫、検査結果の適正な点検が必要と思われた。また、MLVA法については、近年、MLVA法を導入する地衛研が増加してお

り、中四国ブロックにおける検査精度管理体制の強化のためには、MLVA法で解析を行う地衛研に対して、本研究成果に基づく継続的な技術的支援が、必要であると考えられた。

令和2年度に中四国ブロックで発生したEHECによる感染事例について、分子疫学解析結果や疫学情報を収集し、食品保健総合情報処理システム（NESFD）の全国のMLVA情報も参考としながら比較調査した。その結果、同一のMLVA型のEHEC菌株による感染事例が中四国ブロックを含む全国の複数の自治体で確認されたが、中四国ブロック内では同一汚染源による腸管出血性大腸菌食中毒は認められなかった。

本研究によってEHEC分子疫学解析手法であるIS-printing System、PFGE法、MLVA法による中四国ブロックの地衛研のサーベイランス技術水準の向上に貢献したものとする。

## 中四国ブロックにおける食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究（平成30年度～令和2年度）

狩屋英明，河合央博，森本晃司，仲 敦史，岡田達郎，中嶋 洋 他

（厚生労働科学研究費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

食品由来感染症の病原体の解析手法及び共有化システムの構築のための研究

平成30年度～令和2年度 総合研究報告書（分担報告）：83-95，2021

食品由来感染症の広域事例発生時には，症例間の関連性を明らかにするため，各症例由来株の分子疫学解析結果等を各自治体が共有し，病原体分離株の比較・解析を行うことが有用である。地方衛生研究所（地衛研）が実施した分離菌株の分子疫学解析結果を用いて各自治体保健衛生部局が適正に解析等を行うには，地衛研における分離菌株の分子疫学解析手法の技術維持や解析精度・解析能力の向上による精度管理体制の強化が必要不可欠である。そこで，中四国ブロック内の施設を対象に，腸管出血性大腸菌（EHEC）O157菌株を用いたIS-printing System，パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE法）及びmultiple-locus variable-number tandem-repeat analysis（MLVA法）による精度管理を実施した。その結果，一部の施設を除いて，ほとんどの施設で良好な結果が得られたが，一部の施設では技術の習熟，改善及び工夫が必要と思われた。また，MLVA法については，導入する地衛研は増加傾向にあり，更に全国的な普及が予想される。MLVA法を導入する施設に対して，技術研修及び本研究成果に基づくMLVA法導入に係る技術的支援並びに導入後の継続的な精度管理の実施が，中四国ブ

ロックにおける検査精度管理体制の強化のためには必要と考えられた。

平成30年度から令和2年度に，中四国ブロックで発生したEHECによる感染事例について，分子疫学解析結果や疫学情報を収集し，厚生労働省健康局結核感染症課及び厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課から平成30年6月29日に発出された事務連絡「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」に基づいた食品保健総合情報処理システム（NESFD）の全国のMLVA情報も参考としながら比較調査した。その結果，同一のMLVA型や同一のISコードのEHEC菌株による感染事例が複数の自治体で確認されたが，中四国ブロック内では同一汚染源による広域的な腸管出血性大腸菌を原因とする食中毒は認められなかった。

3年間にわたる本研究により，菌株解析を行う中四国ブロックの地衛研の解析技術の向上を図ることができたものと考ええる。更には，IS-printing System，PFGE法，MLVA法によるEHEC分子疫学解析手法の精度管理実施により，サーベイランス技術水準の向上に貢献したものと考ええる。

# 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究（令和2年度） （分担課題）地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離される サルモネラ，大腸菌，カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

四宮博人，狩屋英明 他

（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）

令和2年度 分担研究報告書：9-33, 2021

薬剤耐性菌を制御するためには、環境-動物-食品-ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。昨年度に引き続き、地研ネットワークの協力により、ヒト及び食品由来サルモネラ、大腸菌、カンピロバクターについて薬剤耐性状況を調査した。今期（2020年）分離株と合わせ、サルモネラに関しては、2015年～2020年に分離されたヒト由来1,947株中の774株（39.8%）、及び食品由来715株中の651株（91.0%）が、17剤中の1剤以上に耐性を示した。年次毎の耐性率はほぼ同様であり、現在の日本の状況を反映していると考えられる。2015年～2020年分離のサルモネラについて血清型別の詳細な解析を行ったところ、食品由来株では血清型別の耐性傾向に共通する部分が多いがそれぞれに特徴的な点も認められ、ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められた。また、ヒト由来株のうち食品からも分離された血清型、*S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan*ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。一方、大腸菌については、2015年～2020年分離のヒト由来1,852株中の658株（35.5%）、及び食品由来96株中の51株（53.1%）が1剤以上に耐性を示した。腸管出血性大腸菌（EHEC）以外の下痢原性

大腸菌の耐性率がEHECよりも2倍以上高かったが、多剤耐性状況は両者で類似していた。その他の大腸菌（病原因子陰性株など）は6剤以上の多剤耐性株が多く、下痢原性大腸菌よりも高度の多剤耐性傾向を示した。カンピロバクターについては、昨年度の本研究班で作成した全国地研で共通のプロトコル及び判定表を基に、感受性検査と判定を行った。2018年～2020年分離の*C. jejuni*と*C. coli*はともにヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。以上の薬剤感受性検査に加えて、2015年～2019年分離のサルモネラと大腸菌を対象に、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）産生遺伝子、AmpC型β-ラクタマーゼ（AmpC）遺伝子、コリスチン耐性遺伝子（*mcrI-10*）の検出を行った。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施されている。これらのデータは、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」及びWHOのGLASSに提供されている。また、JANISやJVARMなど既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することも本研究班で可能となり、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がる事が期待される。

# 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究（平成30年度～令和2年度） （分担課題）地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離される サルモネラ，大腸菌，カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

四宮博人，狩屋英明，森本晃司，仲 敦史 他

（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）  
平成30年度～令和2年度 分担（総合）研究報告書：14-48，2021

薬剤耐性菌を制御するためには，環境－動物－食品－ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。平成30～令和2年度に，地研ネットワークの協力により，ヒト及び食品由来サルモネラ，大腸菌，カンピロバクターについて薬剤耐性状況を調査した。前回の研究班での分離株と合わせ，サルモネラに関しては，2015年～2020年に分離されたヒト由来1,947株中の774株（39.8%），及び食品由来715株中の651株（91.0%）が，17剤中の1剤以上に耐性を示した。年次毎の耐性率はほぼ同様であり，現在の日本の状況を反映していると考えられる。2015年～2020年分離のサルモネラについて血清型別の詳細な解析を行ったところ，食品由来株では血清型別の耐性傾向に共通する部分が多いがそれぞれに特徴的な点も認められ，ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められた。また，ヒト由来株のうち食品からも分離された血清型，*S. Infantis*，*S. Schwarzengrund*，*S. Manhattan*ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり，食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。一方，大腸菌については，2015年～2020年分離のヒト由来1,852株中の658株（35.5%），及び食品由来96株中の51株（53.1%）が1剤以上に耐性を示した。腸管出血性大腸菌（EHEC）以外の下痢原性

大腸菌の耐性率がEHECよりも2倍以上高かったが，多剤耐性状況は両者で類似していた。その他の大腸菌（病原因子陰性株など）は6剤以上の多剤耐性株が多く，下痢原性大腸菌よりも高度の多剤耐性傾向を示した。カンピロバクターについては，本研究班で作成した全国地研で共通のプロトコル及び判定表を基に，感受性検査と判定を行った。2018年～2020年分離の*C. jejuni*と*C. coli*はともにヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり，食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。以上の薬剤感受性検査に加えて，2015年～2019年分離のサルモネラと大腸菌を対象に，基質特異性拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ（ESBL）産生遺伝子，AmpC型 $\beta$ -ラクタマーゼ（AmpC）遺伝子，コリスチン耐性遺伝子（*mcr1-10*）の検出を行った。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して，統一された方法による組織だった全国規模の調査は，本研究班で実施されている。これらのデータは，我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」及びWHOのGLASSに提供されている。また，JANISやJVARMなど既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することも本研究班で可能となり，ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がる事が期待される。

病原体検出マニュアル 4類感染症 レジオネラ症 2020年9月版

狩屋英明（コメント者） 他

病原体検出マニュアル 令和2年9月1日改訂



# 環境水を用いた新型コロナウイルス監視体制を構築するための研究

吉田 弘, 望月 靖, 木田浩司 他

(厚生労働行政推進調査事業費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)

指定研究 環境水を用いた新型コロナウイルス監視体制を構築するための研究

総括・分担研究報告書, 2-20, 2021

下水中の新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 監視体制を構築するためポリオ環境水サーベイランスを活用した調査体制について研究を行った。基盤的な検出手法の研究を行いつつ、暫定マニュアルの作成、ウェブ研修を行い、全国12か所の地方衛生研究所への水平展開を行った。更に調査を通じ実装化に向け技術面、運用面の課題について整理を行った。その結果、以下の知見が得られた。

1. 下水中のSARS-CoV-2定点を全国に構築することにより、地域毎の感染者の有無を定性的に示すことができたが感染者推計には更なる研究が必要である。
2. 採水頻度を増やした調査事例では感染者数の変動の早期探知への適用可能性を示したが検査キャパシティが課題である。

3. 技術面では下水中のコロナウイルス量は少ないため、検出法の改良は今後も必要である。また下水固有の特性 (水量等) を考慮した処理区内のウイルス量の推計モデルの開発が望まれ、感染者数と連動したデータを蓄積する必要性がある。
4. 運用面では関係部局間の情報共有範囲と共有方法、検出時の行政対応の在り方、データの公表時のリスクコミュニケーション、民間検査の活用と行政検査機関の役割 (精度管理等) について更に検討する必要がある。

下水中の新型コロナウイルス調査を継続しつつ上記課題の解決を図るとともに、下水の特性により測定結果に影響を受けにくいハイリスク施設、エリア等へ本調査の適用を検討することも必要である。

# 地方衛生研究所等における病原体検査の質保証に向けた人材養成に関する研究

吉田 弘, 望月 靖 他

(厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
地方衛生研究所における感染症等による健康危機の対応体制強化に向けた研究  
分担研究報告書

地方衛生研究所等における病原体検査の質保証体制を検討すべく、検査部門による検査の質の自主管理の取り組みとして1年間のヒヤリハット事例の収集を行った。取り組みは継続して実施することが望まれる。また、地方衛生研究所における人材養成の課題を整理し、OJT時

の新任・現任の検査担当者を対象としたコンピテンシーリスト作成を試みた。本リストは施設の検査体制に対応させるとともに、適宜内容をアップデートすることが必要と考えられる。

# COVID-19実験室診断追補版（地方衛生研究所用）の作成

高崎智彦, 望月 靖 他

(厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
地方衛生研究所における感染症等による健康危機の対応体制強化に向けた研究  
分担研究報告書

COVID-19の流行によるその病因ウイルスSARS-CoV-2のPCR検査をはじめとするウイルス遺伝子検査法が種々、保険適用となり検査マニュアルは、従来のような国立感染症研究所（感染研）と地方衛生研究所間のものではなくなり、民間の検査会社や医療機関も使用あるい

は参考にするものとなった。一方で、PCR検査数の増加に伴い、地衛研でもRNA抽出工程の容易なキットを使用する施設が増えた。実情に即したマニュアル追補版を作成した。

# 公衆衛生等の社会医学系分野で活躍する医師の育成・確保に向けた研究

磯 博康, 望月 靖 他

(厚生労働科学研究費補助金 健康安全・危機管理対策総合研究事業)  
公衆衛生等の社会医学系分野で活躍する医師の育成・確保に向けた研究  
総括研究報告書

## 学会発表

題 名	学会名	発表者
岡山県で検出されたロタウイルスAの遺伝子解析 (2018-19年シーズン)	第61回日本臨床ウイルス学会	松岡保博, 濱野雅子, 木田浩司
5年間の環境水サーベイランスにより検出されたエン テロウイルス伝播の解析	第79回日本公衆衛生学会	吉田 弘, 三好龍也, 小澤広規, 木田浩司, 後藤明子, 筒井理華, 高橋雅輝, 濱島洋介
LC-MS/MSによる牛の筋肉及び腎臓中アミノグリコシ ド系抗生物質一斉分析法の検討	第57回全国衛生化学技術協議会	難波順子
トリアジン系除草剤シアナジンの分析法と環境調査結 果について	第47回環境保全・公害防止研究 発表会	吉岡敏行, 大月史彦, 橋本清美, 沖 拓哉
浸出水中のポリ塩化ナフタレンの挙動と水質特性との 関係解析	第55回日本水環境学会年会	矢吹芳教, 伊藤耕二, 亀岡寛史, 井上 豪, 大久保香澄, 松村千里, 小口文子, 立野雄也, 小川知也, 古賀智子, 石垣智基, 遠藤和人, 山田正人





---

## 岡山県環境保健センター年報 第45号

(令和2年度)

令和4年3月1日発行

編集・発行 岡山県環境保健センター  
〒701-0298 岡山県岡山市南区内尾739-1

TEL 総務課	086-298-2681	企画情報室	086-298-2682
大気科	086-298-2683	水質科	086-298-2684
放射能科	086-298-2685	細菌科	086-298-2686
ウイルス科	086-298-2687	衛生化学科	086-298-2688

FAX 086-298-2088

ホームページ <https://www.pref.okayama.jp/soshiki/185/>

---