

ISSN 0515 - 7803

# 愛知県衛生研究所報

Report of Aichi Prefectural Institute of Public Health

第 6 7 号

愛知県衛生研究所

平成 29 年 3 月

愛知衛所報

Rep. Aichi Inst. Pub. Hlth.

 愛知県



# 愛知県衛生研究所報

第 67 号 平成 29 年 3 月

## 目 次

### 調査研究

愛知県における特定健診・保健指導情報からみた保健指導の効果評価	1
広瀬かおる、續木雅子、大参寛典、中村瑞那、垣添寛和、皆川洋子	
愛知県感染性胃腸炎患者におけるノロウイルス流行状況と分子疫学解析 —2013/14~2014/15 シーズン—	10
中村範子、秦 眞美、尾内彩乃、廣瀬絵美、安達啓一、伊藤 雅、 安井善宏、小林慎一、松本昌門、皆川洋子	
黄色ブドウ球菌の分子疫学解析における Cica Geneus Staph POT KIT の有効性検討	17
青木美耶子、山田和弘、鈴木匡弘、松本昌門、皆川洋子	
2008~2016 年度における愛知県産加工食品中特定原材料の調査について	23
早川大輔、長谷川晶子、柘植 康、松本昌門、皆川洋子	
愛知県内に流通する農産物中のネオニコチノイド系殺虫剤の実態調査	31
渡邊美奈恵、上野英二、梅村優子、市川義多加、戸塚昌子、棚橋高志、 猪飼誉友、皆川洋子	
室内 PM2.5 濃度について	39
青木梨絵、山本優子、小島美千代、小池恭子、猪飼誉友、皆川洋子	
他誌掲載論文抄録	48

Report of Aichi Prefectural Institute of Public Health  
(Aichi-ken Eisei Kenkyusyoho)

Volume 67, March 2017

Contents

Original Papers

The effects of “Specific Health Guidance Program” with particular focus on  
metabolic syndrome across Aichi Prefecture using specific health checkup data

.....1

Kaoru Hirose, Masako Tsuzuki, Hironori Ohmi, Mizuna Nakamura,  
Hirokazu Kakizoe, Hiroko Minagawa

Detection and genetic characterization of Norovirus obtained from infectious  
gastroenteritis patients in Aichi Prefecture from 2013–14 to 2014–15 seasons

.....10

Noriko Nakamura, Mami Hata, Ayano Onouchi, Emi Hirose, Hirokazu Adachi,  
Miyabi Ito, Yoshihiro Yasui, Shinichi Kobayashi, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

Evaluation of Cica Geneus Staph POT KIT in molecular epidemiology  
of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

.....17

Miyako Aoki, Kazuhiro Yamada, Masahiro Suzuki, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

Study of allergenic substances in processed food manufactured  
in Aichi Prefecture, 2008-2016

.....23

Daisuke Hayakawa, Akiko Hasegawa, Kou Tsuge, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

Survey of residual neonicotinoid insecticides  
in agricultural products in Aichi Prefecture

.....31

Minae Watanabe, Eiji Ueno, Yuko Umemura, Yoshitaka Ichikawa, Masako Totsuka,  
Takashi Tanahashi, Yoshitomo Ikai, Hiroko Minagawa

Concentration of PM2.5 in room air

.....39

Rie Aoki, Yuko Yamamoto, Michiyo Kojima, Yasuko Koike, Yoshitomo Ikai,  
Hiroko Minagawa

Summaries of papers accepted to other journals

.....48

---

## 調 査 研 究

---

# 愛知県における特定健診・保健指導情報からみた 保健指導の効果評価

広瀬かおる、續木雅子、大参寛典、中村瑞那、垣添寛和、皆川洋子

### 要 旨

地域における生活習慣予防対策の策定にあたり科学的根拠を賦与するには、まず社会資源等の実情を踏まえて独自に重要な課題を明確にする必要がある。そこで愛知県における特定健康診査・特定保健指導データを活用し保健指導の効果評価を行い、今後の効果的・効率的な保健指導につなげるための検討を試みた。平成 20-22 年度の 3 年間に年齢 40 歳～74 歳実施分（平成 20 年度 876,825 件、21 年度 1,077,562 件、22 年度 1,034,891 件）を解析対象として、保健指導対象者における内臓脂肪症候群レベルや健診項目、階層化判定レベル、リスク保有状況などを指標として保健指導利用の効果評価を行った。内臓脂肪症候群レベルからみた改善では動機づけ支援対象者全体では 28.7%が改善し、支援終了者では未利用者の 27.5%と比較し 38.3%と有意に改善率は高かった。積極的支援対象者では改善率はより高く、支援対象者全体で 35.8%、未利用者 35.1%に対し、支援終了者では 55.8%と、保健指導終了者における保健指導の効果として有意に高い改善率が認められた。男の平成 20 年度積極的支援終了者（568 名）のうち 2 年後に保有リスク数が減少した割合は 46.7%、逆に保有リスクの増加した者の割合は 7.7%であり、積極的支援の効果が認められた。しかし 3 年連続受診者全体でみると 20 年度から 22 年度の間保有リスク数からみた改善・悪化割合はそれぞれ、男 20.0%・23.0%、女 16.2%・24.1%と男女ともに悪化した者の割合の方が高く、対象集団全体の健康水準改善に繋がっていない可能性が示唆された。さらに保健指導の終了率が未だ低いこと、特定健診受診者では保有リスク数が増加し悪化を示す者が一定割合存在するなどの課題が明確になった。

キーワード：特定健康診査・特定保健指導、効果評価、保健指導終了者、内臓脂肪症候群

### 序 文

「地域診断」とは対象となる地域（市町村、保健所管轄区域、二次医療圏、都道府県）の詳細な観察や保健医療統計を用い地域ごとの課題や特徴を把握することを指し、科学的根拠に基づいた健康政策を展開する上で最も重要な根拠を提供することができる。地方自治体における地域保健医療計画などの健康増進に関する計画の企画・立案・

評価は、本来、地域集団の客観的評価の根拠に基づくべきであるが、現状では国の示した指針や先行する自治体の計画を参考に作成されることが多い。当企画情報部は地方衛生研究所設置要綱に明記されている公衆衛生疫学情報の収集・解析・提供業務の一環として、愛知県における特定健康診査・特定保健指導（以下、特定健診・保健指導）データを活用して服薬状況別にみた生活習

慣病コントロールの現状を報告<sup>1)</sup>するなど健康課題を明確にし健康づくり施策に有用となる情報提供を行ってきた。

政策目標を達成する目的で、わが国では平成 20 年度から導入された特定健診・保健指導制度では効果的な保健指導の標準化が図られた<sup>2)</sup>。健康介入プログラムは無作為割付試験 (RCT) 等により効果が検証され、科学的根拠に基づき導入されるのが通常である。しかしながら「標準的な特定健診・保健指導プログラム」自身の科学的根拠は示されていない。一方、制度の効果に関する定量的評価も進みつつあり<sup>3-6)</sup>、今後、本事業の保健指導の在り方についても見直しを実施されていくことになる。本研究では、事業見直しの基礎資料作成及び愛知県内における今後の効率的・効果的な保健指導実施に資することを目的に県内で協力の得られた医療保険者から提供された保健指導データに基づき、内臓脂肪症候群レベル、階層化判定レベル、保有リスクの減少などを指標として保健指導の効果評価を実施した。

### 資料と方法

愛知県内で協力の得られた健康保険組合・共済組合・全国健康保険協会・国民健康保険の各医療保険者から提供された特定健診・保健指導データに基づき集計解析用のデータベースを作成した。年齢 40 歳～74 歳実施分 (平成 20 年度 876,825 件、21 年度 1,077,562 件、22 年度 1,034,891 件) を解析対象とした。「都道府県別人口をベースにした推定値」(厚生労働省、平成 22 年 7 月) による愛知県の平成 20 年度特定健康診査受診者数は 1,174,910 人であり、今回の有効データは推定受診者数の 74.6%にあたる。

内臓脂肪症候群レベル (メタボリックシンドローム該当群・予備群・非該当群) 及び階層化判定レベル (情報提供・動機づけ支援・積極的支援の何れかに該当) の判定は厚生労働省健康局の「標準的な健診・保健指導プログラム (確定版)<sup>7)</sup>」に基づき行った。保健指導対象者における内臓脂肪症候群レベルや血圧・血糖・脂質などのリスク要因の改善からみた指導の効果の評価し

た。また、積極的支援該当者を対象として 1～2 年後の階層化判定レベルを指標として評価を実施した。なお、動機づけ支援の場合には初回面接から 6 か月後の評価が実施できた場合、あるいは 6 か月後の評価ができない場合でも確認回数が 2 回以上の場合を支援終了者とした。積極的支援の場合には支援内容のポイントが支援 A (計画の進捗状況の評価など積極的関与タイプ) の方法で 160 ポイント以上、支援 B (励ましや賞賛を行うタイプ) の方法で 20 ポイント以上、合計 180 ポイント以上の支援を実施した者を支援終了者とした。

さらに腹囲及び糖尿病・高血圧・脂質異常のリスク保有状況を指標として保健指導の効果評価を行った。リスク保有数の経年的増減割合を対象集団全体及び積極的支援終了者別に算出した。

分析対象の各群間における改善 (若しくは悪化) 率の有意差についてはカイ 2 乗検定を行った。集計解析には解析用統計パッケージ SAS ver.9.4 (SAS Institute, Cary, NC) を使用した。なお集計解析の実施にあたり提供された特定健診・保健指導データにおける受診者情報のうち、氏名や被保険者の記号・番号等個人が特定される情報は予め削除されており、代わりに付番される整理用番号を用いた。研究に使用したデータはすべて連結不可能匿名化されており、解析は疫学倫理指針を厳守して行った。

### 結果

#### 1 内臓脂肪症候群レベルからみた保健指導の効果評価 (対象：平成 20 年度・21 年度両年健診受診者)

平成 20 年度にメタボリックシンドローム該当 (以下、該当) であった者が翌 21 年度に、予備群もしくは非該当群に、あるいは予備群が非該当群になった場合を改善とし、保健指導の効果評価を行った。但し平成 21 年度服薬治療者については対象から除外した。動機づけ支援対象者全体では 28.7% が改善し、支援終了者では未利用者の 27.5% と比較し 38.3% と有意に改善率は高かった。また、積極的支援対象者の改

善率はより高く(35.8%)、未利用者(35.1%)に比べて支援終了者は55.8%と有意に高い改善率が認められた(図1)。

平成20・21年度の健診結果の比較を行った。平成20年度に収縮期血圧が130 mgHg以上であった者、中性脂肪が150 mg/dL以上であった者、血糖値が110 mg/dL以上であった者がそれぞれ平成21年度に検査値が前年度より低下した場合を改善として評価した。いずれの健診項目においても積極的支援では動機づけ支援より改善者の割合は高かった。また、動機づけ及び積極的支援群両群において指導終了者は未利用者に比べて血圧・血糖・中性脂肪などいずれも有意に改善割合が高かった。

## 2 階層化判定レベルからみた保健指導の効果評価(対象:平成20~22年度3年連続健診受診者)

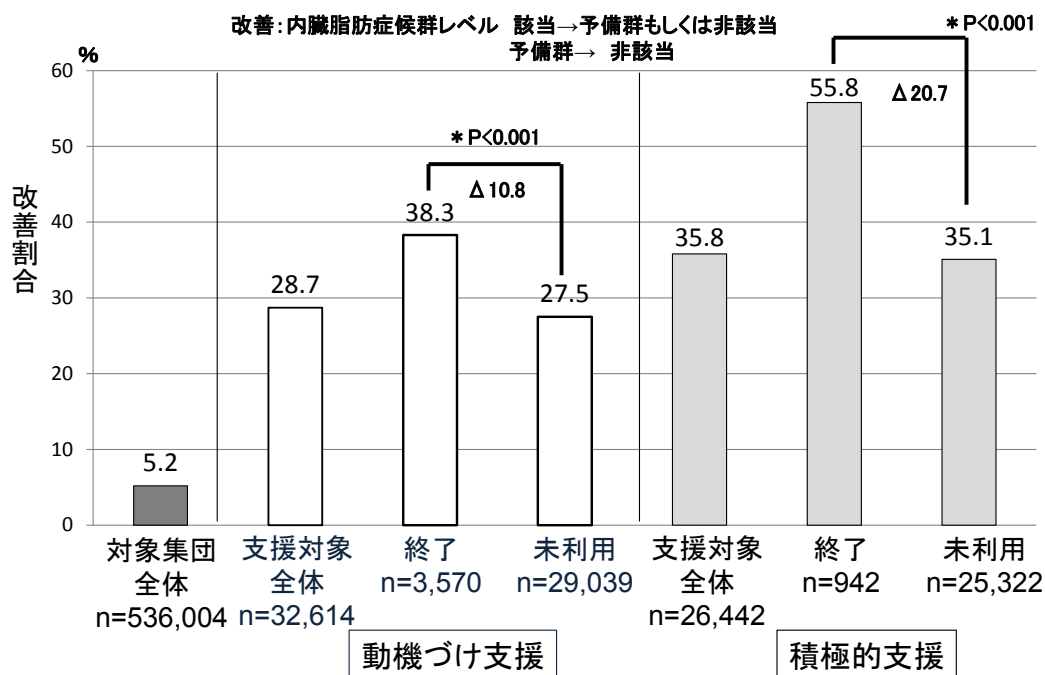
平成20~22年度に3年連続で特定健診を受診した対象者(男133,421名、女157,601名)のうち20年度積極的支援レベル該当者の男14,308名について1年後(21年度)の階層化判定レベルをみると動機づけ支援(1段階改善)、情報提供(2段階改善)

レベルへの改善割合はそれぞれ12.7%、18.7%であったが、積極的支援レベルで変化のなかった割合は57.3%、服薬治療へ移行した者の割合は11.4%であった。2年後(22年度)の改善割合は34.1%、服薬治療への悪化の割合は17.5%であった(図2-1)。20年度積極的支援レベル該当の女3,411名では2年後(22年度)の改善割合は40.9%であったが、服薬治療へ移行した割合は28.3%と男より高い結果であった(図2-2)。

## 3 リスク保有状況からみた保健指導の効果評価(対象:平成20~22年度3年連続健診受診者)

内臓脂肪レベルの指標となる腹囲と基準値の設定されている血糖・血圧・脂質の4項目のリスク保有状況から効果評価を実施した。

平成20年度男の積極的支援終了者(568名)のうち2年後(22年度)に保有リスク数の減少した割合は46.7%、逆に保有リスクの増加した者の割合は7.7%であり、積極的支援の効果が認められた(表1)。平成20年度女の積極的支援終了者(231名)の2年後の保有リスク数減少・増加割合は45.9%、8.7%であり、男とほぼ同様の傾向であった。



※平成20年度、21年度両年の健診受診者で平成21年度服薬治療者を除く。

図1 各保健指導対象者における内臓脂肪症候群レベル改善の割合(平成20年度→21年度比較)

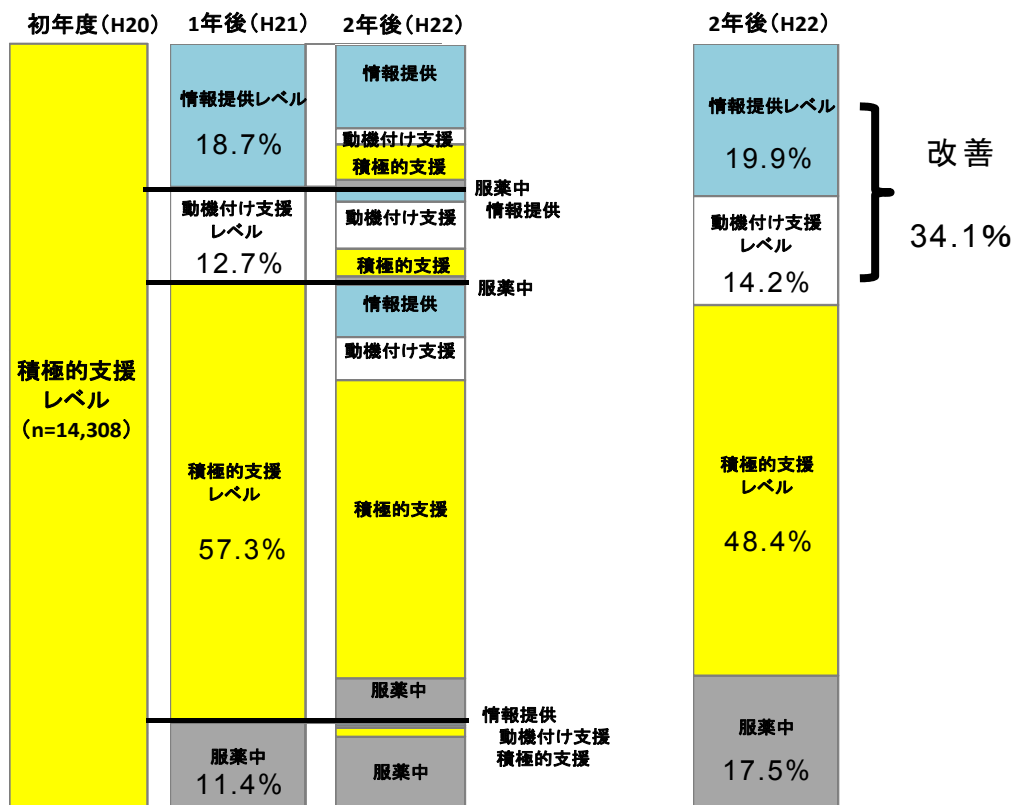


図 2-1 平成 20 年度積極的支援レベル該当者の 2 年後の階層化判定（男）

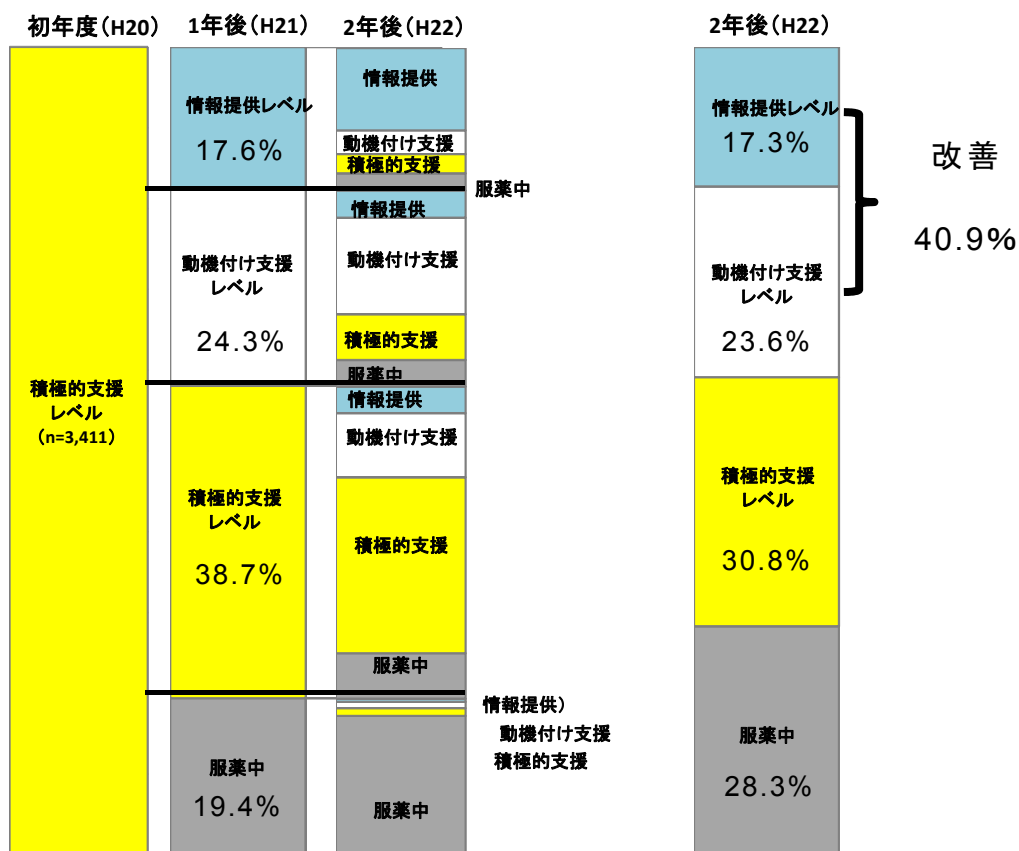


図 2-2 平成 20 年度積極的支援レベル該当者の 2 年後の階層化判定（女）



【平成20年度積極的支援指導終了者の平成20年度→22年度改善率】

n = 568		平成22年度				
		リスク0	リスク1	リスク2	リスク3以上	計
平成20年度	リスク0					
	リスク1	4 25.0%	7 43.8%	3 18.8%	2 12.5%	16 100.0%
	リスク2	26 12.1%	63 29.4%	86 40.2%	39 18.2%	214 100.0%
	リスク3以上	22 6.5%	58 17.2%	92 27.2%	166 49.1%	338 100.0%

(平成20年度健診時リスク保有数別にみた割合)

平成20年度支援終了者のうち平成22年度に改善した人の割合; 46.7%  
 平成20年度支援終了者のうち平成22年度に悪化した人の割合; 7.7%

表 1 積極的支援指導終了者のリスク減少の評価 (男)

3年連続受診者全体でみると20年度→21年度に保有リスク数が減少(改善)した割合は男で20.4%、増加(悪化)した割合は20.7%、女ではそれぞれ17.3%、20.9%でありいずれも悪化割合の方が高かった。2年後の20年度→22年度の保有リスク数からみた改善、悪化割合はそれぞれ、男20.0%、23.0%、女16.2%、24.1%とさらに悪化の割合は高くなった(表2-1、2-2)。

3年連続受診者の2年後のリスク数の増減を性・年齢階級別にみると男性では改善割合は年代とともに減少傾向を示す一方で、どの年代においても約23%で健診受診2年後にはリスク保有数が増加することが観察された。女性でも40歳代を除くどの年齢層でも約24%で保有リスク数は増加しており、特定健診受診者にはリスク保有数が増加する者が一定割合で存在することが示唆された(図3)。

### 考 察

愛知県内で協力の得られた各種医療保険者から提供を受けた特定健診・保健指導データを活用することにより、保健指導の効果評価を実施することができた。本調査研究対象者は愛知県における推定受診者数の約75%にあたり、愛知県全体の状況をかなりよく反映しており重要な分析結果が提示できたものと考えられる。

積極的支援と動機づけ支援の比較では、内臓脂肪症候群レベル若しくは健診項目を指標とした場合、いずれも積極的支援群での改善割合が高く、積極的支援がより生活習慣改善につながっていることが確認された。また、積極的・動機づけ支援両支援群において支援終了者では未利用者よりも改善割合は高かった。津下ら<sup>3)</sup>によれば保健指導対象者のうち指導参加群は非参加群に比べ、HDLコレステロール値や血圧、ヘモグロビンA1cなどの有意な改善がみられている。同様に今井ら<sup>4)</sup>によっても指導参加群では体重、腹囲、中性脂肪などすべての指標で改善効果がみられ、指導の効果が高いと結論づけられている。本研究においても既存研究同様、積極的支援では動機づけ支援より、また、指導終了者では未利用者より改善傾向が高い傾向が認められた。支援対象者に自らの健康状態、生活習慣の改善の必要性を自覚させ支援を受けるよう促すこと、さらに中断・脱落なく支援を終了させることが重要と考えられる。今回は平成20・21年度両年の健診受診者を解析対象としたが、支援対象者で支援を終了した者の割合は、動機づけ支援10.9%、積極的支援3.6%と低い割合であった。保健指導終了率は厚生労働省の報告によれば制度導入当初の平成20年度は7.7%であったものが、平成26年度には17.8%にまで上昇し

【平成20年度特定健診受診者の平成20年度→22年度改善率】

n = 133,421		平成22年度				
		リスク0	リスク1	リスク2	リスク3以上	計
平成20年度	リスク0	12,733 59.4%	6,518 30.4%	1,812 8.5%	369 1.7%	21,432 100.0%
	リスク1	6,561 17.6%	18,646 50.0%	9,351 25.1%	2,735 7.3%	37,293 100.0%
	リスク2	1,722 4.6%	8,245 22.0%	17,653 47.0%	9,923 26.4%	37,543 100.0%
	リスク3以上	343 0.9%	2,083 5.6%	7,762 20.9%	26,965 72.6%	37,153 100.0%

(平成20年度健診時リスク保有数別にみた割合)

平成20年度受診者のうち平成22年度に改善した人の割合; 20.0%

平成20年度受診者のうち平成22年度に悪化した人の割合; 23.0%

表 2-1 3年連続受診者のリスク減少の評価(男)

【平成20年度特定健診受診者の平成20年度→22年度改善率】

n = 157,601		平成22年度				
		リスク0	リスク1	リスク2	リスク3以上	計
平成20年度	リスク0	27,523 66.1%	11,414 27.4%	2,372 5.7%	357 0.9%	41,666 100.0%
	リスク1	8,330 16.4%	27,536 54.2%	12,257 24.1%	2,690 5.3%	50,813 100.0%
	リスク2	1,363 3.5%	8,604 22.2%	19,914 51.5%	8,817 22.8%	38,698 100.0%
	リスク3以上	161 0.6%	1,353 5.1%	5,786 21.9%	19,124 72.4%	26,424 100.0%

(平成20年度健診時リスク保有数別にみた割合)

平成20年度受診者のうち平成22年度に改善した人の割合; 16.2%

平成20年度受診者のうち平成22年度に悪化した人の割合; 24.1%

表 2-2 3年連続受診者のリスク減少の評価(女)

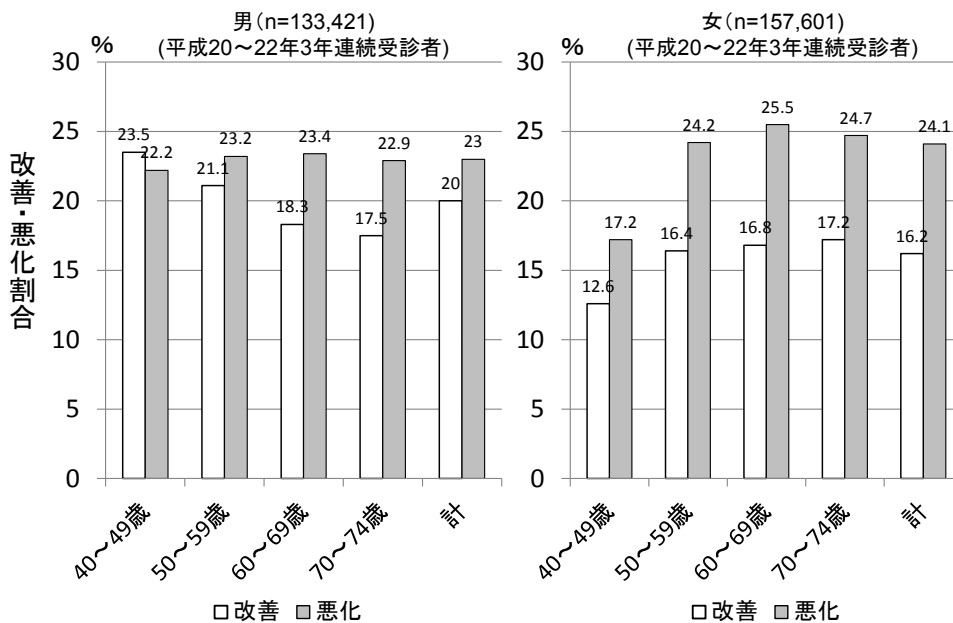


図 3 平成 20 年度特定健診受診者における 2 年後の年齢階級別改善率・悪化率

た<sup>8)</sup>がさらなる保健指導利用率向上に積極的に取り組む必要がある。一方で、地域の保健指導の資源を考慮し現在実施している6か月にわたる継続的な積極的支援を行うより、健診後1回程度の動機づけ支援を基本スタイルとする等、保健指導実施方法についても検討する必要がある。また、性別、年齢、職業、生活様式、健康問題に関する考え方など健診受診者の特性や環境などには個人差があり画一的な手法では効果が得られない可能性もある。生活習慣の改善を促すためには行動科学に基づいた行動変容プログラムの開発も求められる。これら保健指導のあり方の見直しの検討のためには平成20年度以降蓄積されてきた事業実績を活用していくことが重要である。

3年連続特定健診受診者のうち20年度に積極的支援レベル該当者であった者についてその後2年間の支援レベルの経年変化を検討した。男では翌年レベルが改善した割合は31.4%であったが、積極的支援レベルで変化のなかったのは57.3%、服薬へ移行したのは11.4%であった。2年後に改善レベルにあったのは34.1%、積極的支援レベルで変化のなかったのは48.4%、服薬へ移行したのはさらに増えて17.5%であった。女で2年後にレベルが改善していたのは男より多く40.9%であったが、服薬へ移行した割合も男より高く28.3%であった。本調査結果からも支援終了者では未利用者に比べ改善傾向が大きいことが認められており、支援対象者の保健指導終了率を高めることの重要性が再確認された。医療介入が望ましい対象者には受診勧奨を行う一方で、支援対象者に自らの健康状態を認識できるよう支援し生活習慣改善への行動変容を促進するような啓発活動も有効と考えられる。また、今回の解析において支援対象とならなかった者も含めた対象集団全体でも内臓脂肪症候群レベルや健診項目において改善が認められた。特定健診の判定結果の通知などにより対象者の行動変容につながった可能性が示唆された。これはいわば特定健診・保健指導制度導入の成果とも考えられる。国民の生涯にわたっての生活の質の維

持・向上のため糖尿病、高血圧症、脂質異常症等の発症、重症化、合併症への進行予防に自身の健康状態を認識し生活習慣の改善を優先して行う機会としての特定健診・保健指導は重要である。

特定健診・保健指導の在り方に関する第6回の検討会資料<sup>9)</sup>として示されたエビデンスによると40-64歳のカテゴリでは、男性の場合リスクファクター数が多いほど心血管疾患発症リスクが高く、女性ではリスクファクターがひとつでも存在すると心血管疾患発症リスクが高い傾向があり、リスクの生活習慣病へ影響の重要性が示された。本調査研究では積極的支援終了者の2年後のリスク保有状況は約半数で改善がみられたものの、3年連続受診者全体でみると男女ともに改善した者の割合より悪化した者の割合の方が高かった。年齢階級別の比較からは健診受診者では保有リスク数が増加し悪化を示す者が一定割合存在することが明らかとなった。健診受診時や保健指導の際にはリスクファクターの生活習慣病への発症予測の重要な指標となることへのさらなる周知が必要である。

本研究より特定保健指導の介入が一定の効果をもたらすことが明らかとなった。特に介入支援終了者では有意な改善がみられた。今回の観察期間は3年間と短く中長期的な効果についてさらなる検証が必要である。今回の解析対象集団である特定健診受診者は比較的健康管理意識が高いと考えられ、未受診者は除外されていることを考慮する必要がある。また、本研究では2年あるいは3年連続で特定健診を受診した者を分析対象としているため保健指導の効果推定にバイアスがかかっている可能性も考えられる。健康リスクアセスメントに基づく指導の効果について検証したシステマテックレビューによると血圧やコレステロール等の改善がみられると報告されている<sup>10)</sup>。今後も大規模データを用いて、特定健診・保健指導の効果について中長期にわたり検証を行っていくことが必要である。保健指導による一定の効果が認められる一方で、地域集団全体としての健康水準の改善につ

ながっていない可能性が示唆された。特定健診受診率及び保健指導実施率向上は喫緊の課題である。「メタボリックシンドローム」というキーワードの導入により生活習慣病予防の概念が普及し地域住民の意識も高まってきてはいるが、さらに行動変容につながる知識普及の取り組みも強化する必要がある。また、若いリスク保有者はその暴露期間が長いこと生活習慣病罹患リスクも高く、医療費の増大にもつながる。働き盛りの世代のニーズに応じた健診や介入プログラムの開発も欠かせない。さらに特定健診・保健指導の効果に対する費用についての検討も求められる。少子高齢化が急速に進展するわが国において、限られた資源をどのように施策に配分することで効果的・効率的に社会の健康改善が実現できるかが重要な焦点になるものと考えられる。

今後とも地域における健康課題を明確にし愛知県における健康増進計画策定などに有用となる情報提供をめざして、特定健診・保健指導データや保健医療統計データを活用した地域診断を実践する予定である。

## 謝 辞

特定健診・保健指導データ提供にご協力いただきました愛知県健康福祉部保健医療局健康対策課及び各医療保険者の皆様にあらためて深謝いたします。

## 文 献

- 1) 広瀬かおる, 小栗信, 濱武通子, 大参寛典, 皆川洋子: 愛知県における特定健康診査データを活用した地域診断—服薬状況別にみた生活習慣病コントロールの現状—. 愛知県衛生研究所報 64: 1-8, 2014.
- 2) 福田吉治, 今井博久: 地域における特定健診・保健指導の進め方—エビデンスと理論に基づく実践とスキルアップに向けて—. 保健医療科学 57:22-27, 2008.
- 3) 津下一代: 厚生労働科学研究費補助金循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業「生活習慣予防活動・疾病管理による健康指標に及ぼす効果と医療費適正化効果に関する研究」平成 22 年度総括・分担研究報告書, 2011.
- 4) 今井博久: 厚生労働科学研究費補助金循環器疾患・糖尿病等生活習慣病対策総合研究事業「特定保健指導プログラムの成果を最大化する保健指導介入方法に関する研究」平成 20 年度～22 年度総合研究報告書, 2011.
- 5) 岡山明: 厚生労働科学研究費補助金政策科学総合研究事業「医療保険者による特定健診・保健指導が医療費に及ぼす影響に関する研究」平成 22 年度総括・分担研究報告書, 2011.
- 6) 福田吉治: 特定保健指導の評価 (2): 国保データによる準実験デザインを用いて. 日本衛生学雑誌 66:736-740, 2011.
- 7) 厚生労働省健康局: 標準的な健診・保健指導プログラム (確定版). 2007. [http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/kenkou/seikatsu/index.html](http://www.mhlw.go.jp/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/kenkou/seikatsu/index.html)
- 8) 厚生労働省: 平成 26 年度特定健診・特定保健指導の実施状況について. [http://www.mhlw.go.jp/bunya/shakaihoshou/iryouseido01/info03\\_h26.html](http://www.mhlw.go.jp/bunya/shakaihoshou/iryouseido01/info03_h26.html)
- 9) 厚生労働省: 第 6 回特定健康診査・特定保健指導の在り方に関する検討会 (2016 年 5 月 10 日). [http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000111249\\_7.pdf](http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10901000-Kenkoukyoku-Soumuka/0000111249_7.pdf)
- 10) Community Preventive Services Task Force. Assessment of health risks with feedback plus health education with or without other intervention. 2013. 3. 27. <http://www.thecommunityguide.org/worksites/RRahrpluseducation.html>

# The effects of “Specific Health Guidance Program” with particular focus on metabolic syndrome across Aichi Prefecture using specific health checkup data

Kaoru Hirose, Masako Tsuzuki, Hironori Ohmi, Mizuna Nakamura,  
Hirokazu Kakizoe, Hiroko Minagawa

The specific health checkup and specific health guidance (Tokutei Kenshin Hokenshido) with particular focus on metabolic syndrome (MetS) started in 2008. We examined the effect of specific health guidance across Aichi Prefecture using data of specific health checkup and specific counseling guidance program. We analyzed data on 2,989,278 participants from 2008 to 2010, provided by the insurers pursuant to the national uniform requirements set. We compared changes in the MetS level, the finding of health checkups in 2008 to 2009 between intervention subjects who completed healthcare program and those who did not receive advice. The guidance program was effective at reducing MetS status and other relevant parameters. The following showed significant differences in the improvement in MetS level between completed and non-completed groups: 38.3% vs. 27.5 for motivational support program, 55.8% vs. 35.1% for intensive support program. With utilizing the changes of 4 risk factors (waist circumstance, hypertension, hyperglycemia and hyperlipidemia) after two years, we evaluated the effect among the participants through three years. The proportions of subjects who decreased the number of risk factors were 20.0% in male, 16.2% in female, respectively. On the contrary, the proportions of subjects who increased the number of risk factors were 23.0% in male, 24.1% in female, respectively. Certain segments which increased in MetS-related risk factors were included in the participants of the specific health checkup program and this trends were observed for any age groups and both sexes. Although specific health guidance program helped in improving factors associated with MetS, the results obtained from this study may not support the improvement in health level among health checkup program participants on the whole.

Key words : specific health checkup, specific health guidance program, evaluation,  
the completion of the program, metabolic syndrome

---

---

調 査 研 究

---

---

## 愛知県感染性胃腸炎患者におけるノロウイルス流行状況と 分子疫学解析

— 2013/14～2014/15 シーズン —

中村範子、秦 眞美、尾内彩乃、廣瀬絵美、安達啓一、  
伊藤 雅、安井善宏、小林慎一、松本昌門、皆川洋子

### 要 旨

ノロウイルス (NoV) は感染性胃腸炎及びわが国における食中毒の主要な病原ウイルスである。2013/14 から 2014/15 の 2 シーズンに愛知県内の病原体定点医療機関で感染性胃腸炎患者から採取された糞便及び吐物 578 検体について semi-nested RT-PCR 法を用いて NoV 遺伝子検査を実施した。184 検体 (31.8%) から 192 の NoV 遺伝子が検出され、遺伝子グループ I (GI) 陽性が 10 検体 (5.2%)、遺伝子グループ II (GII) 陽性が 182 検体 (94.8%) であった。NoV 陽性検体の遺伝子配列に基づく系統樹解析の結果、GI は 2、3、6 の 3 遺伝子型に、GII は 1、2、3、4、6、14、17 の 7 遺伝子型に型別された。それらの中で GII.4 が主要な遺伝子型であった。NoV GII.4 の遺伝子亜型解析を目的に、106 の NoV GII.4 をクラスター分類したところ、Asia\_2003、Den Haag\_2006b、Sydney\_2012 の 3 亜型に分類された。2012/13 シーズンに Sydney\_2012 亜型が新たに出現して以来、本亜型が Den Haag\_2006b 亜型に代わり大勢を占めていた。NoV 感染症の制御や流行予測の実用化には、NoV の遺伝子型及び変異型の継続的監視が重要である。

キーワード：感染性胃腸炎、ノロウイルス、分子疫学、サーベイランス

### 序 文

ノロウイルス (Norovirus; NoV) は食中毒や感染性胃腸炎の原因として、世界的に公衆衛生上重要なウイルスである。NoV 感染症は日本でも年間を通じて発生しているが、毎年冬季に NoV に起因する食中毒事件の発生や感染性胃腸炎患者の急増が認められる。NoV は全長約 7.6kb のプラス一本鎖 RNA ウイルスであり<sup>1)</sup>、カリシウイルス科ノロウイルス属に分類される。NoV のゲノム塩基配列は多様性に富み、塩基配列の相同性にに基づき少なくとも 5 つ (GI～GV) の

遺伝子群 (Genogroup; G) に分類され、ヒトからは主に GI 及び GII、まれに GIV が検出される<sup>2)</sup>。NoV GII には 22 の遺伝子型 (Genotype) があり<sup>3)</sup>、中でも近年の流行の主体である Genotype 4 (NoV GII.4) は世界中で高頻度に検出されている。NoV GII.4 はさらに亜型 (変異型) に分類されるが、数年ごとに出現する新たな亜型は世界的流行の原因となる可能性があり、2006/07 シーズン及び 2012/13 シーズンにはそれぞれ Den Haag\_2006b 亜型、Sydney\_2012 亜型に起因する NoV の大流行が起こった<sup>4)-6)</sup>。

日本における感染性胃腸炎の発生動向には NoV の流行状況が大きく関与すること、また、感染性胃腸炎患者から検出される NoV は食中毒や集団感染事例の原因ウイルスともなり得ることから、NoV の防疫対策や流行予測には NoV の流行動態の実態把握が重要である。

本稿では県内の NoV 流行状況把握を目的として実施した、愛知県感染症発生動向調査事業で収集された感染性胃腸炎患者由来検体の NoV 検出状況及び NoV の遺伝子型別、NoV GII.4 亜型のクラスター解析の結果について報告する。

## 材料と方法

### 1. 検体

2013年9月から2015年8月までの2シーズン（2013/14 及び 2014/15 シーズン）に愛知県内（名古屋市を除き中核市を含む）の感染症発生動向調査病原体定点医療機関（31 機関）で採取された、散発性感症性胃腸炎患者（年齢範囲：0 ヶ月～84 歳（表 1））

由来の 578 検体（2013/14 シーズン：292 検体（糞便 257 検体及び吐物 35 検体）、2014/15 シーズン：286 検体（糞便 262 検体及び吐物 24 検体））を用いた。

### 2. NoV 検出及び解析法

Veal infusion broth で糞便検体を 10% (w/v) 乳剤、吐物検体を 50% (w/v) 乳剤にした後、10,000xg で 20 分遠心分離した。遠心上清 200  $\mu$ L から、High Pure Viral RNA Kit (Roche, Switzerland) を用いて最終溶出量 50  $\mu$ L でウイルス RNA を抽出した。NoV 遺伝子検出は、ウイルス性下痢症診断マニュアル<sup>7)</sup>に収載されたプライマーを用いた RT-PCR (Reverse transcription polymerase chain reaction: 逆転写ポリメラーゼ連鎖反応) 法により実施した。

NoV の遺伝子型は、構造タンパク遺伝子の PCR 増幅産物を Wizard SV Gel and PCR Clean-up System (Promega, USA) で精製し、BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) と DNA シーケンサー 3130 (Thermo Fisher

表 1 年齢別ノロウイルス検出状況

年齢	検体数	NoV 検出数	NoV GI	NoV GII
0	114	35	1 (2.9)	34 (97.1)
1	133	55	1 (1.8)	54 (98.2)
2	66	31	1 (3.2)	30 (96.8)
3	45	9	1 (11.1)	8 (88.9)
4	50	14	1 (7.1)	13 (92.9)
5	36	7	2 (28.6)	5 (71.4)
6	24	8	2 (25.0)	6 (75.0)
7	20	6	1 (16.7)	5 (83.3)
8	12	2	0 (0.0)	2 (100.0)
9	16	5	0 (0.0)	5 (100.0)
10	10	2	0 (0.0)	2 (100.0)
11～15	31	9	0 (0.0)	9 (100.0)
16～	9	3	0 (0.0)	3 (100.0)
不明	12	6	0 (0.0)	6 (100.0)
計	578	192	10 (5.2)	182 (94.8)

( ): %

Scientific) を用いたダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、Katayama らの方法<sup>8)</sup>に従い遺伝子型別した。NoV GII.4 陽性検体については、さらに GII.4 のクラスター分類を目的として既知の GII.4 亜型との相同性を解析し、ClustalW を用いた最尤 (ML) 法で系統樹解析した。これらの解析にはフリーソフトウェアの Kakusan4 及び MEGA (version 6.06) を使用した。

## 結 果

### 1. NoV 検出状況

感染性胃腸炎患者由来の 578 検体中 184 検体 (184/578: 31.8%) から 192 の NoV 遺伝子が検出された。検出された NoV の内訳は NoV GI が 10 (2013/14 シーズン: 2、2014/15 シーズン: 8)、NoV GII が 182 (2013/14 シーズン: 81、2014/15 シーズン: 101) であり、GI と比較して GII が高率に検出された。その内 1 検体からは NoV GI 及び GII の両方が検出された。両シーズンの検査検体はほぼ同数であったが、NoV は 2013/14 シーズンよりも 2014/15 シーズンにおいて高率に検出された (2013/14 シーズン: 28.4%、2014/15 シーズン: 38.1%)。年齢別では、NoV GI は 7 歳以下の患者検体からのみ少数検出されたのに対して、NoV

GII はいずれの年齢からも複数の検出が認められた (表 1)。NoV GI 及び GII を重複検出した検体は 6 歳の患者由来であった。図 1 に検査検体採取月別の NoV 検出状況を示した。感染性胃腸炎の流行は例年 12 月にピークを迎えるが、本調査期間においても両シーズン共に感染性胃腸炎の流行に合わせて検査検体数のピークは 12 月であった。NoV 検出数については、2014/15 シーズンでは検体数と一致して 12 月にピークが見られたが、2013/14 シーズンは検体数にかかわらず低いピークであった。2013/14 シーズンの検体数最多であった 12 月の検体の多くは、NoV 以外の胃腸炎関連ウイルス (アストロウイルス、サポウイルス、腸管アデノウイルス、A 群ロタウイルス) も検出されなかった<sup>9)</sup>。

### 2. NoV 遺伝子型別

遺伝子検出陽性であった 10 の NoV GI 及び 182 の NoV GII について遺伝子解析を行った結果、NoV GI は GI.2、GI.3、GI.6 の 3 遺伝子型に、NoV GII は GII.1、GII.2、GII.3、GII.4、GII.6、GII.14、GII.17 の 7 遺伝子型に分類され、県内での多様な NoV 遺伝子型の流行を認めた (図 2)。NoV GI 及び GII を重複検出した検体の遺伝子型は GI.2 及び GII.4 であった。NoV GII では両

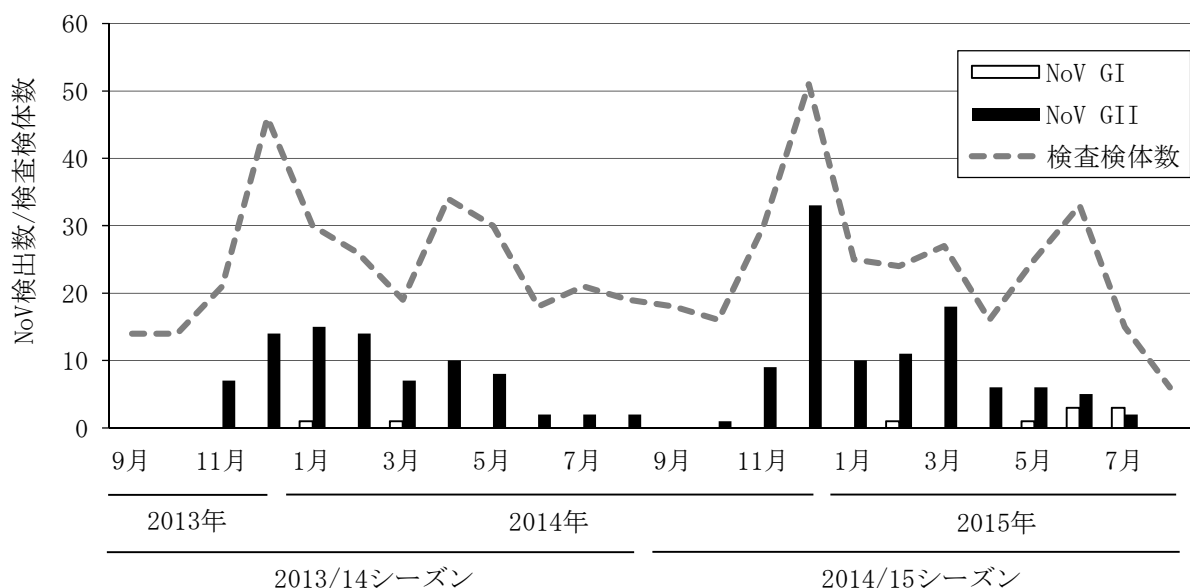


図1 月別ノロウイルス検出状況



シーズンともに GII.4 が最多であった。近年愛知県では検出のなかった GII.17 が、2014 年 12 月以降半年間 1~3 検体/月で検出された。これらの GII.17 はすべて、2015 年に川崎市で初めて報告された GII.P17-GII.17<sup>10)</sup>に分類された。

### 3. NoV GII.4 の亜型解析

2006/07 シーズンの Den Haag\_2006b 亜型、また 2012/13 シーズンの Sydney\_2012 亜型が新たに出現した際に、NoV 感染症は世界的に大流行した。そこで GII.4 亜型の動向把握を目的として、今回検出された 106 の NoV GII.4 についてクラスター解析を行った(図 3: 代表的な配列のみ示す)。2013/14 シーズンの NoV GII.4 は、1 の Asia\_2003 亜型 (1/47 : 2.1%、図 3 の o186-14) 及び 46 の Sydney\_2012 亜型 (46/47 : 97.9%) に分類された。2014/15 シーズンの NoV GII.4 は、8 の Den Haag\_2006b 亜型 (8/59 : 13.6%、図 3 の o290-14) 及び 51 の Sydney\_2012 亜型 (51/59 : 86.4%) に分類された。

### 考 察

2013 年 9 月から 2015 年 8 月までに名古屋市を除く愛知県内の感染症発生動向調査病原体定点で採取された、散発性感染性胃腸炎患者の糞便及び吐物合計 578 検体中

184 検体 (31.8%) から NoV が検出された。検出ウイルスの大勢は NoV GII であり、遺伝子解析の結果、主要な流行遺伝子型は GII.4 であった。2006/07 シーズンの NoV 大流行に關与した NoV GII.4 Den Haag\_2006b 亜型に代わって、2012/13 シーズン以降主に検出される NoV は GII.4 Sydney\_2012 亜型であり<sup>11)</sup>、調査期間中には新たな GII.4 亜型の出現は報告されなかった。Den Haag\_2006b 及び Sydney\_2012 ともに、全世界規模で同時多発的に流行したが、世界的流行の要因特定には至っていない<sup>5), 6)</sup>。

本調査期間中、川崎市から初めて NoV GII.P17-GII.17 が報告され、愛知県においても 12 の NoV GII.P17-GII.17 が検出された。NoV GII.P17-GII.17 は、小児を中心とする本調査の検査検体では GII.4 を大きく下回る検出数であったが、同時期の主に成人由来の食中毒事例検体からは多数検出されていた。現在のところ GII.17 は成人を中心とした流行が主体のように思われるが、今後小児の間でも GII.P17-GII.17 による流行が起こる可能性も考えられるため注意が必要である。

以前より GII.4 は、ヒト-ヒト感染を繰り返す中で多様な変異型が出現し、その中から感染性や増殖性に優れたウイルスが大

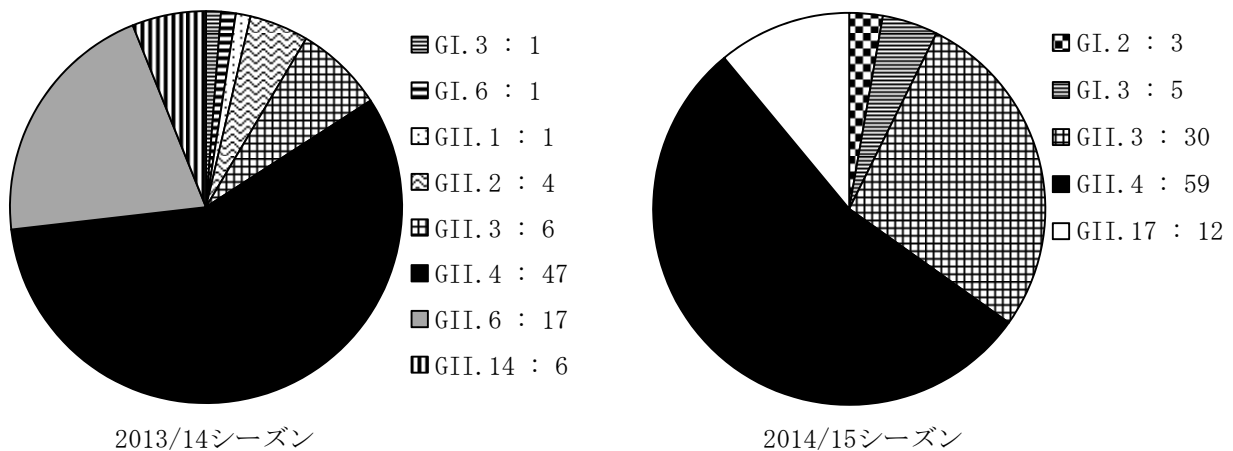


図2 シーズン別ノロウイルス遺伝子型検出状況 (凡例は遺伝子型 : 検出数)

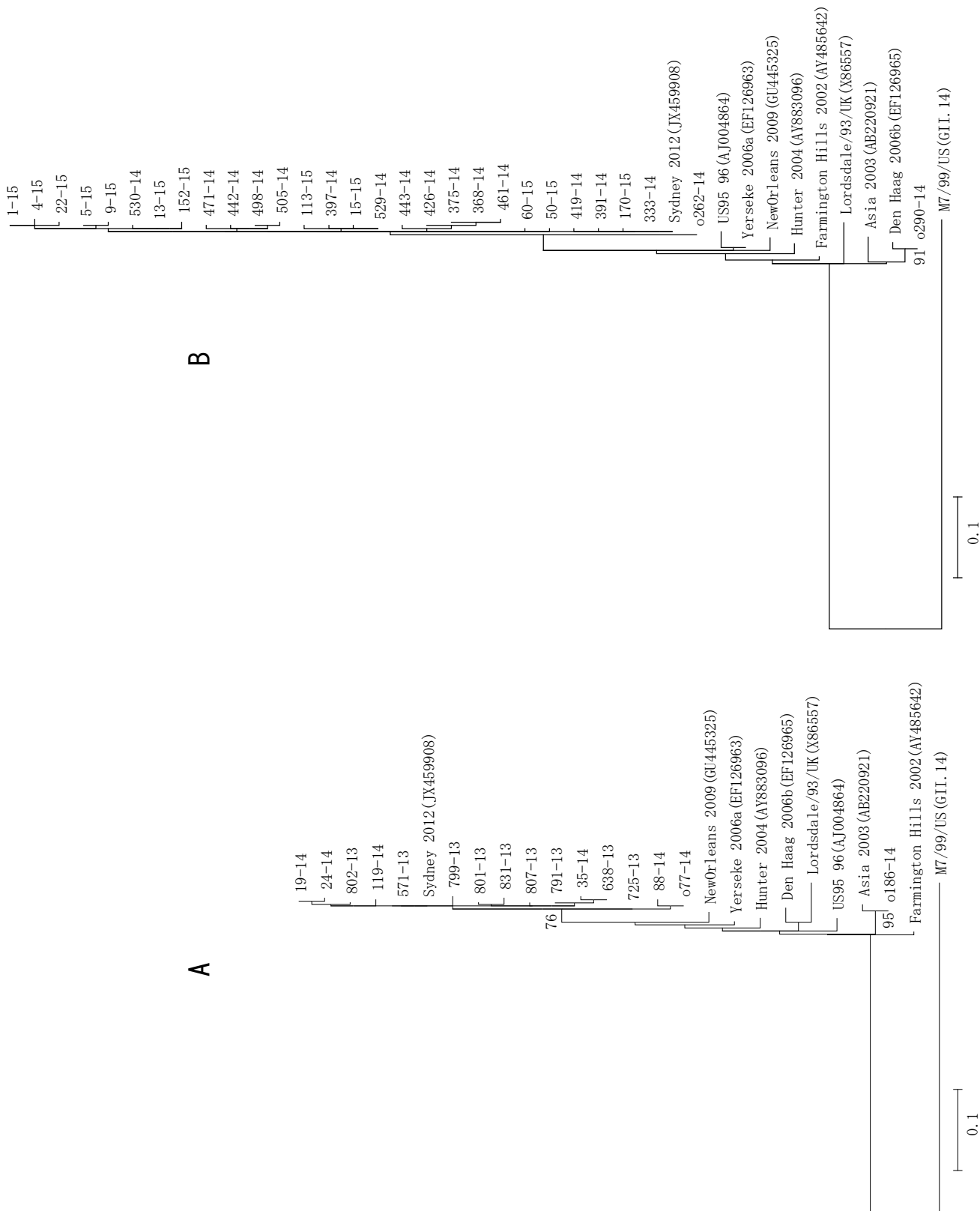


図3 ノロウイルス GII.4 クラスター解析 (A : 2013/14 シーズン、B : 2014/15 シーズン)

規模流行を起こすとされるが、GII.4 以外の遺伝子型においても、本調査期間中に出現した GII.P17-GII.17 のように組み換え等により出現した新たな亜型は、流行を引き起こす可能性があることが推察された。

NoV 流行予測や防疫対策には、感染症発生動向調査はじめ、集団発生若しくは食中毒事例関連疫学調査における NoV の遺伝子型や遺伝子変異の継続的監視が重要である。

### 謝 辞

愛知県内の定点医療機関、愛知県、豊田市、豊橋市及び岡崎市の各保健所、愛知県健康福祉部保健医療局健康対策課及び生活衛生課の皆様に深謝致します。

### 文 献

- 1) Jiang X, Wang M, Wang K, Estes MK: Sequence and genomic organization of Norwalk virus. *Virology* 195(1):51-61, 1993.
- 2) Lindesmith LC, Donaldson EF, Lobue AD, Cannon JL, Zheng DP, Vinje J, Baric RS: Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations. *PLoS Medicine* 5(2):e31, 2008.
- 3) Kroneman A, Vega E, Vennema H, Vinjé J, White PA, Hansman G, Green K, Martella V, Katayama K, Koopmans M: Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Archives of Virology* 158(10):2059-2068, 2013.
- 4) Motomura K, Oka T, Yokoyama M, Nakamura H, Mori H, Ode H, Hansman GS, Katayama K, Kanda T, Tanaka T, Takeda N, Sato H; Norovirus Surveillance Group of Japan: Identification of monomorphic and divergent haplotypes in the 2006-2007 norovirus GII/4 epidemic population by genomewide tracing of evolutionary history. *Journal of Virology* 82(22):11247-11262, 2008.
- 5) Centers for Disease Control and Prevention (CDC): Emergence of new norovirus strain GII.4 Sydney--United States, 2012. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 62(3):55, 2013.
- 6) van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, Eden JS, Fonager J, Hewitt J, Iritani N, Kroneman A, Vennema H, Vinjé J, White PA, Koopmans M; NoroNet: Indications for worldwide increased norovirus activity associated with emergence of a new variant of genotype II.4, late 2012. *Eurosurveillance* 18(1):8-9, 2013.
- 7) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル ウイルス性下痢症検査マニュアル(第3版), 2003.
- 8) Katayama K, Shirato-Horikoshi H, Kojima S, Kageyama T, Oka T, Hoshino F, Fukushi S, Shinohara M, Uchida K, Suzuki Y, Gojobori T, Takeda N: Phylogenetic analysis of the complete genome of 18 Norwalk-like viruses. *Virology* 299(2):225-239, 2002.
- 9) 愛知県衛生研究所: 愛知県感染症情報 2013年52週 (12月4週 12/23~12/29) <http://www.pref.aichi.jp/eiseiken/kansen/2013/201352.pdf>
- 10) Matsushima Y, Ishikawa M, Shimizu T, Komane A, Kasuo S, Shinohara M, Nagasawa K, Kimura H, Ryo A, Okabe N, Haga K, Doan YH, Katayama K, Shimizu H: Genetic analyses of GII.17 norovirus strains in diarrheal disease outbreaks from December 2014 to March 2015 in Japan reveal a novel polymerase sequence and amino acid substitutions in the capsid region. *Eurosurveillance* 20(26):pii 21173, 2015.
- 11) 小林慎一, 中村範子, 安達啓一, 伊藤雅, 安井善宏, 山下照夫, 皆川洋子: 愛知県におけるノロウイルス流行状況と分子疫学解析—2008/09~2012/13 シーズン—. *愛知県衛生研究所報* 64:9-14, 2014.

# Detection and genetic characterization of Norovirus obtained from infectious gastroenteritis patients in Aichi Prefecture from 2013-14 to 2014-15 seasons

Noriko Nakamura, Mami Hata, Ayano Onouchi, Emi Hirose, Hirokazu Adachi,  
Miyabi Ito, Yoshihiro Yasui, Shinichi Kobayashi, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

Norovirus (NoV) is recognized as one of the most common causative agent of acute gastroenteritis. A total of 578 fecal samples were collected from patients with acute gastroenteritis in the pediatric sentinel hospitals in Aichi Prefecture during the 2013–14 and 2014–15 seasons, and then tested for NoV by semi-nested RT-PCR. One hundred ninety-two NoVs were detected in 184 (31.8%) of these samples. Of the 192 NoVs, 10 (5.2%) belonged to Genogroup I (GI), 182 (94.8%) belonged to Genogroup II (GII). NoV-positive samples were further characterized by sequencing of the PCR products and phylogenetic analysis. For NoV GI, three genotypes were identified: GI.2, GI.3 and GI.6. NoV GII could be classified into seven distinct genotypes: GII.1, GII.2, GII.3, GII.4, GII.6, GII.14, and GII.17. GII.4 were found to be the most frequently detected genotypes. Phylogenetic analysis indicated that 106 GII.4-positive strains were classified into three GII.4 variants including Asia\_2003, Den Haag\_2006b and Sydney\_2012 within a GII.4 cluster. Emergence of GII.4 Sydney\_2012 variant replaced Den Haag\_2006b epidemic in 12/13 season. Continuous monitoring of the NoV genotypes and emergence of GII.4 variant should be needed to control and forecast the NoV infection.

Key words : infectious gastroenteritis, Norovirus, genetic analysis, surveillance

---

---

調 査 研 究

---

---

## 黄色ブドウ球菌の分子疫学解析における Cica Geneus Staph POT KIT の有効性検討

青木美耶子、山田和弘、鈴木匡弘、松本昌門、皆川洋子

### 要 約

黄色ブドウ球菌は日本における毒素性食中毒の起因菌として重要であるが、健常者の鼻腔、咽頭、腸管等にも生息するため、食中毒検査においてはコアグラゼ型別やパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法等を実施して菌株の識別を行う必要がある。しかし、市販のコアグラゼ型別キットの型別能力は満足いくものではなく、PFGE法は手技が煩雑で時間がかかる。そこで、より簡便で迅速に分子疫学解析が可能な手法としてメチシリン耐性黄色ブドウ球菌の分子疫学解析を目的として開発された *S. aureus* PCR-based ORF typing (SA-POT) 法が、食中毒検査においても PFGE 法に代わる手法として有効であるか、SA-POT 法を利用した市販キットである Cica Geneus Staph POT KIT について検討した。

食中毒事例等から分離されたメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 104 株を検討したところ、PFGE 法で 89 PFGE パターンに、SA-POT 法で 75 POT 型に分類された。Simpson's Index は PFGE 法で 0.995、SA-POT 法で 0.987 と SA-POT 法の菌株識別能力はやや低い傾向であったものの、実用には十分耐えらると思われた。SA-POT 法は疫学情報を併用することで黄色ブドウ球菌食中毒時における分子疫学解析法として有効な方法であると思われた。

キーワード：黄色ブドウ球菌、PFGE 法、Cica Geneus Staph POT KIT

### 序 文

黄色ブドウ球菌は毒素性食中毒の起因菌であり、日本における細菌性食中毒の中ではカンピロバクターに次いで多く、サルモネラと並んで年間 10% 前後の発生件数を占めている<sup>1)</sup>。また、黄色ブドウ球菌は生活環境中に常在菌として存在し、健常者の鼻腔、咽頭、腸管等にも生息している<sup>2)</sup>。そのため、食中毒発生時の検査の際に常在菌が検出されることが多く、食中毒原因菌と判別するために、コアグラゼ型別やパルスフィールドゲル電気泳動（pulsed-field gel electrophoresis：PFGE）法による菌株の識別が行われる。これらの鑑別

によって同一型となった場合、食中毒の原因菌であることを疑う。コアグラゼ型別は黄色ブドウ球菌が産生するコアグラゼを利用した型別法である。市販のキットが利用可能で容易にできるが、コアグラゼ I～VIII 型の 8 タイプにしか鑑別できないうえ、型別不能の株もあるため、菌株識別能力に劣る。PFGE 法は全ゲノム DNA を制限酵素で切断し、その DNA 断片の泳動パターンにより株同士を区別する分子疫学解析法である。菌株識別能力及び再現性に優れているが、手技が煩雑で解析結果が得られるまでに時間がかかるという欠点がある。

近年、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

(Methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) の集団感染時に容易に分子疫学解析を実施可能とすることを目的に *S. aureus* PCR-based ORF typing (SA-POT) 法が開発された。SA-POT 法は菌株毎に保有状況が異なる open reading frame (ORF) の保有パターンを Multiplex PCR によって検出し、増幅バンドの有無を 1、0 に置き換え、さらに十進数に変換することで POT 型を決定する方法である<sup>3)</sup>。SA-POT 法は MRSA において菌株識別能力が PFGE 法と同等であること、約半日で解析可能な迅速性のある方法であること、市販キットが利用できることから、MRSA の院内サーベイランスや病院内での集団感染の検知に使用されている<sup>4)、5)</sup>。SA-POT 法はターゲット遺伝子に MRSA に特異的な *mecA* 遺伝子や *SCCmec* 関連遺伝子が含まれており、MRSA の解析に最大の効果を発揮するよう開発されている。そのためか、同じ黄色ブドウ球菌ではあるが、SA-POT 法を用いてメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) に対する菌株識別能力を調べた文献は筆者の知りうる限り無い。

そこで今回、当所で保存されている食中毒関連検体から検出された黄色ブドウ球菌と臨床由来の MSSA を用いて、SA-POT 法と PFGE 法を比較することで食中毒時における分子疫学解析法として SA-POT 法が有効であるか検討を行った。

### 材料及び方法

供試菌株：当所保存株である MSSA 104 株を用いた。うち 6 株は黄色ブドウ球菌食中毒由来株である。

PFGE 法：供試菌を Luria-Bertani 培地 (BD, USA) に接種し、37°C で一晩振盪培養した。培養液を 10,000 rpm で 2 分間遠心後、上清を捨て、沈渣をリゾスタフィン (sigma-aldrich, USA) 10  $\mu$ g 加 0.5 M EDTA で再懸濁し、Certified™ Megabase Agarose (Bio-Rad, USA) (0.5%) に直接包埋してプラグを作製した。プラグを 37°C で 4 時間放置して菌を融解し、ProteinaseK (関東化学、東京) による溶菌処理及び洗浄の後、各プラグの DNA を 30 U の Sma I (NEB, USA)

を用い 25°C で一晩制限酵素処理した。PFGE は CHEF DR III (Bio-Rad, USA) を用い、0.5  $\times$  Tris-borate-EDTA buffer (TBE) に、14°C、内角 120° で電圧 6 V/cm、スイッチングタイム 1.0 秒から 50.0 秒、22 時間の泳動を行った<sup>3)</sup>。サイズマーカーには、緑膿菌を Spe I (Roche, Switzerland) で処理したものをを用いた。泳動後のゲルは臭化エチジウム (0.5  $\mu$ g/mL) で染色してトランスイルミネーター下で可視化した。泳動パターンのクラスター解析には BioNumerics version 6.1 (Applied Maths, Belgium) を用い、optimization と position tolerance を両方とも 1% とし、同一の PFGE パターンを示したものを 1 つのクラスターとみなした<sup>3)</sup>。

SA-POT 法：Cica Geneus Staph POT KIT (関東化学、東京) を用いた。DNA 抽出にはシカジーニクス® DNA 抽出試薬 (関東化学、東京) を使用した。PCR 反応終了後、4% KANTO HC (短フラグメント用) (関東化学、東京) を用い 120 V 50 分間電気泳動を行い、臭化エチジウムで染色した。増幅産物は 24 本のバンドとして検出され、その内訳は *SCCmec* 特異領域 5 箇所、菌株の集合であるクローン識別に関連する領域 2 箇所、ファージなど菌株識別に有効な領域 15 箇所、各反応系に黄色ブドウ球菌マーカーが 1 つずつである (図 1)。この増幅産物の有無から添付文書に従い POT 型の値を算出した。POT 型は POT1-POT2-POT3 の 3 つの数値からなるが、そのうち POT1 でクローンを識別し、POT2 及び POT3 で菌株の識別を行う。同一株では 3 つの数値全てが一致する。

PFGE 法、SA-POT 法ともに Simpson's Index<sup>6)</sup> を算出した。Simpson's Index とは互いに関連のない 2 株をタイピングしたときに異なる株であると判定される確率である。

### 結果

黄色ブドウ球菌 104 株は PFGE 法で 89 PFGE パターンに、SA-POT 法では 75 POT 型に分類された (図 2)。同一 PFGE パターンでありながら 2 つの POT 型に分かれたもの

が5組12株、逆に同一POT型でありながら2~3つのPFGEパターンに分かれたものが11組35株あったが、残りの61株はPFGEパターンとPOT型が全て一対一で対応した。同一POT型でPFGEパターンが異なる株は、クラスター解析で比較的近縁に配置されたものが多く、相同性は90%以上であった。その一方、同一POT型であるにも関わらず、PFGEパターンが全く異なるものもあった。

POT1の値のみでは4つのクローンに分類され、POT1の値が同一のものはクラスター解析で比較的近縁な位置に配置された。POT2-POT3の値のみでは71種類に分類された。POT2に含まれるターゲット領域であるgenomic island (POT2-8)のORFを保有する株は56株あったが、POT1の値が2となった31株はすべてこのORFを保有していた。SA-POT法の平均バンド数は5.1本で、POT2-POT3の平均バンド数は4.3本、ファージのみの平均バンド数は3.6本だった(図1)。食中毒由来1例6株はPFGE法、SA-POT法共にすべて同一遺伝子型となった(図2の囲い)。

明らかに関連性のない99株によるSimpson's IndexはPFGE法で0.995、SA-POT法で0.987だった。また、POT1の値毎にSA-POT法のSimpson's Indexを計算すると、POT1の値が0のもの30株は0.956、2のもの31株は0.935、4のもの28株は0.989だった。6のもの10株は全て異なるPOT型だった。

### 考 察

SA-POT法はMRSAの集団感染に対しての分子疫学解析を想定しているため、*mecA*遺伝子やSCC*mec*関連遺伝子といったMRSAに特異的な遺伝子をPOT1の対象として検出している。これらの遺伝子はMSSAでは検出されないため、POT1を構成する7つの領域のうち遺伝的バックグラウンドを示すgenomic isletの2領域のみでPOT1の値を構成することとなり、その数は4種類と少なかった。しかし、クラスター解析でPOT1の値が同一の株は比較的近縁に配置されていることからクローン識別としては一定の効果を上げていると考えられる。また

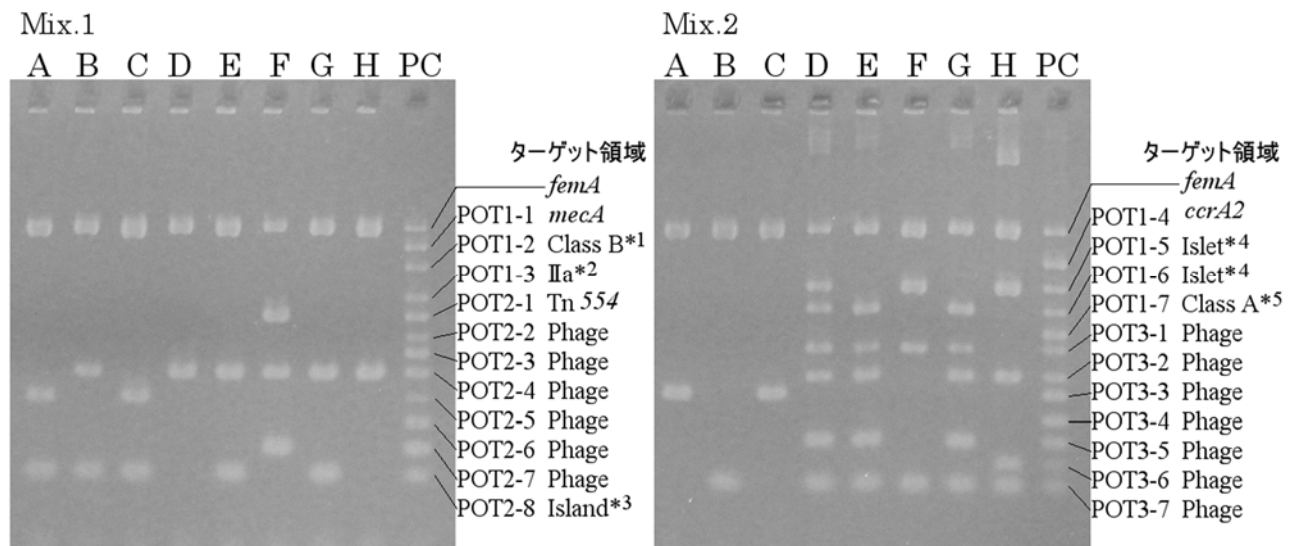


図1 SA-POT法の泳動例とターゲット領域

A~H: 菌株番号、PC: Positive Control

\*1. *mec* gene complex class B、\*2. SCC*mec* type II a specific、\*3. genomic island、

\*4. genomic islet、\*5. *mec* gene complex class A

POT型: A. 0-9-16、B. 0-17-1、C. 0-9-16、D. 6-16-101、E. 2-17-101、F. 4-146-65、  
G. 2-17-101、H. 4-16-35

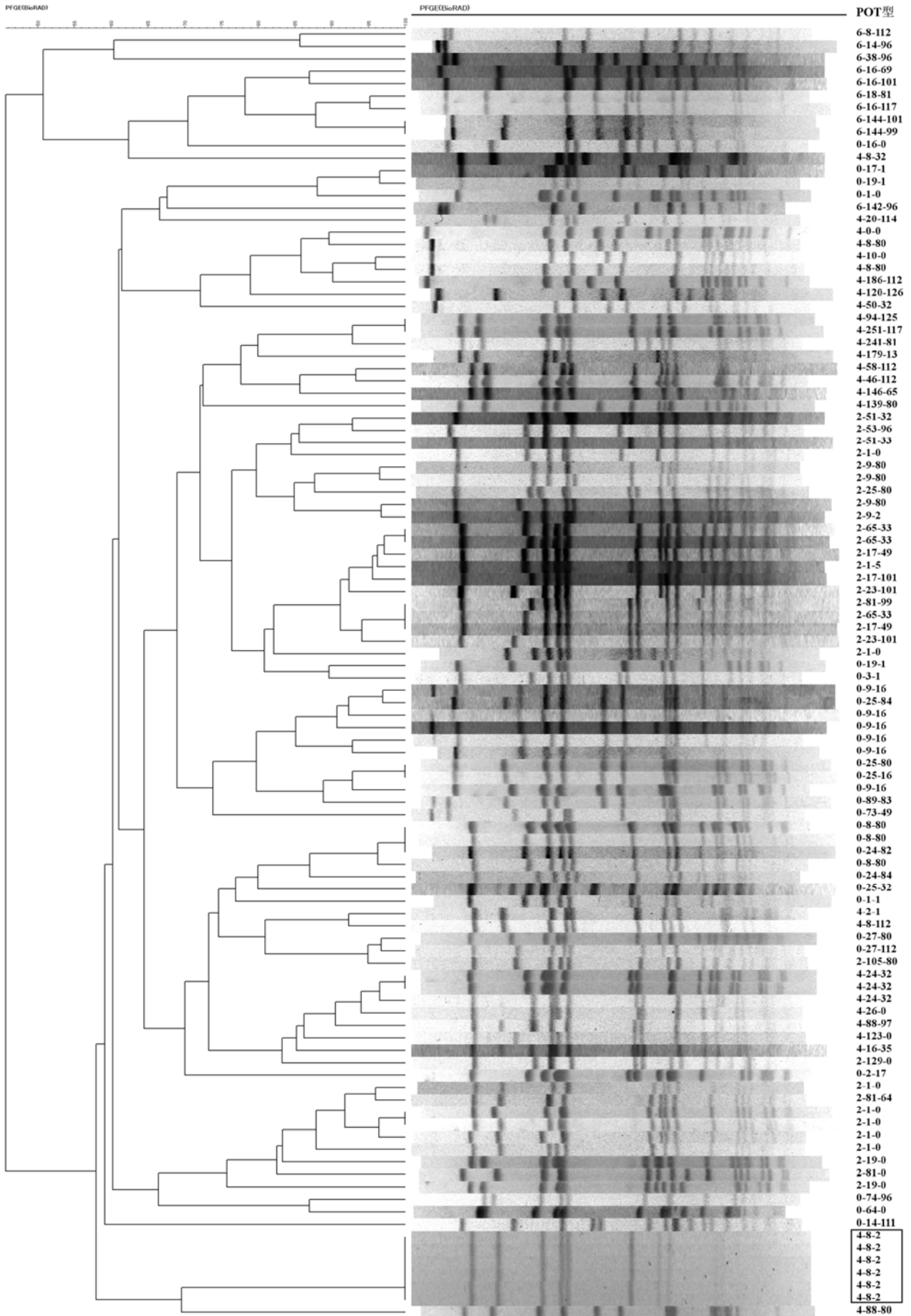


図 2 MSA の PFGE 法によるクラスター解析及び SA-POT 法による POT 型



POT2-POT3 における検出バンド数は少ない傾向にあった。しかし POT2-POT3 の値のみでも 71 種類に分類されていることから、検出されるバンドパターンには多様性があり、SA-POT 法は十分な菌株識別能を有していると考えられた。Simpson's Index は PFGE 法で 0.995、SA-POT 法で 0.987 と POT 法の菌株識別能力はやや低い傾向であったものの、実用には十分耐えると考えられた。その一方、POT1 の値が 2 となった 31 株は genomic island の ORF をすべての株が保有していたため、Simpson's Index が 0.935 と低くなった。POT1 の値が 2 となった株については同じ POT 型であっても同じ菌株かどうか慎重に判別する必要があると考えられた。

食中毒事例由来株では PFGE 法、SA-POT 法共にすべて同一遺伝子型となった。しかし同一 POT 型の株の中にも PFGE パターンが同じものから全く異なる株まで幅広く見られたため、POT 型のみで集団事例かどうかを判別するのではなく、疫学情報も併用することが重要である。

黄色ブドウ球菌は生活環境中や健常者からも分離される常在菌であるため、食中毒発生時に原因菌であるか判別するために分子疫学解析が実施されることが望ましい。SA-POT 法によって PFGE 法とほぼ同等の情報が半日程度で得られる効果は大きい。以上から SA-POT 法は黄色ブドウ球菌食中毒時においても疫学情報を併用することで、分子疫学解析法として有効な方法であると考えられる。

## 文 献

- 1) 資料 2 平成 27 年食中毒発生状況 厚生労働省ホームページ (<http://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-11121000-Iyakushokuhinkyoku-Soumuka/0000116566.pdf>)
- 2) 善養寺浩, 寺山 武, 潮田 弘, 五十嵐英夫, 丸山 務: ブドウ球菌食中毒に関する研究(第 2 報) 食品、調理器具等および健康人における黄色ブドウ球菌の分布とそのコアグラゼ型について. 食品衛生学雑誌 12(6):501-505, 1971.
- 3) Suzuki M, Tawada Y, Kato M, Hori H, Mamiya N, Hayashi Y, Nakano M, Fukushima R, Katai A, Tanaka T, Hata M, Matsumoto M, Takahashi M, Sakae K: Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. Journal of Applied Microbiology 101(4):938-947, 2006.
- 4) Nakaie K, Yamada K, Park K, Nakamura Y, Okada Y, Fujita A, Fujimoto H, Kaneko Y, Kakeya H: Effectiveness of weekly polymerase chain reaction-based open reading frame typing analysis of all newly isolated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains for controlling nosocomial infections. Journal of Infection and Chemotherapy 22(11):733-737, 2016.
- 5) Inomata S, Yano H, Tokuda K, Kanamori H, Endo S, Ishizawa C, Ogawa M, Ichimura S, Shimojima M, Kakuta R, Ozawa D, Aoyagi T, Gu Y, Hatta M, Oshima K, Nakashima K, Kaku M: Microbiological and molecular epidemiological analyses of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a tertiary care hospital in Japan. Journal of Infection and Chemotherapy 21(10):729-736, 2015.
- 6) Hunter PR, Gaston MA: Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. Journal of Clinical Microbiology 26(11):2465-2466, 1988.

Evaluation of Cica Geneus Staph POT KIT  
in molecular epidemiology  
of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*

Miyako Aoki, Kazuhiro Yamada, Masahiro Suzuki, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

*Staphylococcus aureus* is one of the most important bacteria causing food poisoning. However the bacterium is colonized in human body, therefore *S. aureus* isolated from food poisoning samples is not necessarily the causative agent. Consequently typing methods such as coagulase typing or pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) are essential to identify the strain causing an outbreak. On the other hand, the use of these methods has limitations. The discriminatory power of coagulase typing is insufficient, and PFGE is time-consuming and technically demanding. Therefore, fast and high-performance technique to identify strains has been awaited in food poisoning examinations. In this study, Cica Geneus Staph POT KIT (SA-POT) using a molecular typing method for methicillin-resistant *S. aureus* was evaluated for the discriminatory power for methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA).

A total of 104 isolates of MSSA were tested by SA-POT and PFGE. These isolates were classified into 75 POT types and 89 PFGE types, respectively. The Simpson's indexes were 0.987 for SA-POT, and 0.995 for PFGE. Although Simpson's index of SA-POT was rather lower than that of PFGE, discriminatory power of SA-POT was high enough to differentiate strains. SA-POT can be used to distinguish causative strain from colonizing ones in food poisoning examinations.

Key words : *Staphylococcus aureus*, pulsed-field gel electrophoresis,  
Cica Geneus Staph POT KIT

---

---

## 調 査 研 究

---

---

# 2008～2016 年度における 愛知県産加工食品中特定原材料の調査について

早川大輔、長谷川晶子、柘植 康、松本昌門、皆川洋子

### 要 旨

愛知県産加工食品における特定原材料（卵、乳、小麦、落花生、そば、えび及びかに）試験として当所において 2008 年 4 月から 2016 年 12 月までの期間に特定原材料の表示のない 886 検体に対して実施したスクリーニング試験（ELISA 法）及び確認試験（ウエスタンブロット法及び PCR 法）について検討した。886 検体中 19 検体がスクリーニング試験陽性となり、小麦 3 検体、そば 8 検体及びえび 5 検体の計 16 検体（1.8%）が特定原材料陽性と判定された。スクリーニング試験陽性となったものの確認試験で陰性となった検体は、卵 1 検体及び小麦 2 検体であった。特定原材料の注意喚起表示は、「検体全体」、「そば」及び「落花生」において特定原材料検出との間に相関がみられ、微量の摂取を避けるための一定の効果はあると考えられた。

キーワード：食物アレルギー、特定原材料、加工食品

### 序 文

日本国内において、全人口の 1～2%（乳児では約 10%）が何らかの食物アレルギー体質を有すると考えられている<sup>1)</sup>。現在のところ食物アレルギーについての根本的治療法は十分には確立されておらず、原因となるアレルギー物質を含む食品を避けることが一般的な治療・予防法となっている<sup>2)</sup>。

食品中のアレルギー物質の情報提供については、食品衛生法により 2001 年 4 月より卵、乳、小麦、そば及び落花生を含む食品について、特定原材料としてその表示が義務付けられ<sup>3)</sup>、2008 年 6 月には、えび及びかにが追加された<sup>4)</sup>。また、あわび、いか、いくら、オレンジ、カシューナッツ、キウイフルーツ、牛肉、くるみ、ごま、さけ、そば、大豆、鶏肉、バナナ、豚肉、まつたけ、

もも、やまいも、りんご及びゼラチンについても特定原材料に準ずるものとしてその表示が推奨されている<sup>5)</sup>。また、同一製造ラインを使用することや原材料の採取方法等により、特定原材料等の非意図的混入（コンタミネーション）防止策の徹底を図ってもコンタミネーションの可能性を排除できない場合は、原材料欄外に注意喚起表示が記載可能である<sup>1)</sup>。

表示制度の運用においては、加工食品中の特定原材料含有の有無と表示との整合性を確認する必要があるため試験法が通知<sup>6, 7)</sup>で示されており、当所では 2008 年より試験を実施している<sup>8)</sup>。本報では当所において 2016 年 12 月までに実施した愛知県産加工食品中の特定原材料試験結果の概要に考察を加えて報告する。

## 材料と方法

愛知県内で製造され保健所によって収去された食品で、特定原材料の表示がない食品 886 検体を対象とした。各年度における検体数及び対象項目を表 1、対象項目毎の検体の内訳を表 2 に示した。検体の分類は収去証の記載に従った。

### 1. 試薬

用いた試薬及びその調製は通知法<sup>6, 7)</sup>及び添付文書に従った。

#### 1-1. スクリーニング試験 (ELISA 法)

卵、乳、小麦、そば及び落花生については 2008 年 4 月から 2014 年 3 月までは FASTKIT エライザ Ver. II キット (卵、乳、小麦、そば、落花生) (日本ハム)、モリナガ FASPEK 特定原材料測定キット (卵白アルブミン、カゼイン、グリアジン、そば、落花生) (森永生科学研究所)、アレルゲンアイ ELISA (卵、牛乳、小麦、そば、落花生) (プリマハム) のうち任意の 2 製品を、え

び及びかにはについては 2010 年 4 月から 2014 年 3 月までは FA テスト EIA - 甲殻類「ニッスイ」(日水製薬) 及び甲殻類キット「マルハ」(マルハニチロ) の 2 製品をそれぞれ用いた。2014 年 4 月から 2016 年 12 月までは消費者庁次長通知<sup>9)</sup>に従い、FASTKIT エライザ Ver. III キット (卵、乳、小麦、そば、落花生) (日本ハム)、モリナガ FASPEK エライザ II (卵白アルブミン、カゼイン、グリアジン、そば、落花生) (森永生科学研究所)、FA テスト EIA - 甲殻類 II 「ニッスイ」(日水製薬) 及び甲殻類キット II 「マルハニチロ」(マルハニチロ) を用いた。

#### 1-2. ウェスタンブロット法による確認試験 (卵及び乳)

モリナガ FASPEK 卵ウェスタンブロットキット (卵白アルブミン、オボムコイド) 及びモリナガ FASPEK 牛乳ウェスタンブロットキット ( $\beta$ -ラクトグロブリン、カゼイン) (森永生科学研究所) を用いた。

表 1 2008 年度から 2016 年度における特定原材料検体数

年度	卵	乳	小麦	そば	落花生	えび・かに	合計数
2008	16	17	11	20	20	-	84
2009	20	20	20	20	20	-	100
2010	20	20	18	22	11	12	103
2011	20	20	20	20	10	10	100
2012	20	20	20	20	10	10	100
2013	20	20	20	20	10	10	100
2014	20	20	20	20	10	10	100
2015	20	20	20	20	10	10	100
2016	20	20	19	20	10	10	99
合計数	176	177	168	182	111	72	886

※えび・かには 2010 年度より試験実施

表 2 特定原材料検体内訳

	卵	乳	小麦	そば	落花生	えび・かに	合計数
冷凍食品	1	2	1	13	1	4	22
魚介類加工品	5	6	5	0	4	6	26
肉卵類及びその加工品	9	7	7	1	1	0	25
アイスクリーム類・氷菓	0	0	0	2	4	0	6
穀類及びその加工品	21	14	2	137	15	10	199
野菜類・果物及びその加工品	26	26	27	0	2	1	82
菓子類	73	80	79	12	65	33	342
清涼飲料水	17	17	16	3	3	0	56
かん詰・びん詰食品	6	6	4	2	2	3	23
その他の食品	18	19	27	12	14	15	105
合計数	176	177	168	182	111	72	886

### 1-3. PCR 法による確認試験（小麦、そば、落花生、えび及びびかに）

プライマーとして、アレルゲンチェッカー（「植物共通」「動物共通」「小麦」「そば」「落花生」）（オリエンタル酵母）、えび検出用プライマー（ファスマック）及びびかに検出用プライマー（ファスマック）を、DNA 抽出にはイオン交換樹脂タイプ DNA 抽出キット Genomic-tip 20/G (QIAGEN, Germany)、シリカゲル膜タイプ DNA 抽出キット DNeasy Plant Mini (QIAGEN, Germany) を、えび PCR 増幅産物の制限酵素処理には *Hae*III（タカラバイオ）をそれぞれ用いた。

## 2. 試験方法

スクリーニング試験（ELISA 法）及び確認試験（ウエスタンブロット法及び PCR 法）は、通知法<sup>6, 7)</sup>に示された判断樹（図 1）に従って行った。

### 2-1. スクリーニング試験（ELISA 法）

均質化した試料 1 g より、抗体固相化プレートを用いたサンドイッチ ELISA キットを用いて通知法及びキットの添付文書に従って ELISA 試験を行った。マイクロプレートリーダー（Model 680, Bio-Rad, USA）を用いて 3 ウェル併行で吸光度測定を行い、マイクロプレートマネージャー 5.2 PC データ解析ソフトウェアを用いて 4 係数 logistic 解析（2011 年 11 月以降は消費者庁事務連絡<sup>10)</sup>に従って 5 係数 logistic 解析）を行った。検出限界は 1  $\mu$ g/g とした。両キットとも 8  $\mu$ g/g 未満の場合はスクリーニング

試験陰性、どちらか一方または両キットを用いた測定結果が特定原材料由来のタンパク質含量 12  $\mu$ g/g 以上であったものをスクリーニング試験陽性と判定した。8~12  $\mu$ g/g の場合は、均質化した試料から再度 1 g 採取し、抽出操作以降の操作を行い、2 回の測定値の平均が 10  $\mu$ g/g 以上の場合陽性と判定した。スクリーニング試験において陽性と判定されたもののうち、製造記録に記載のないものは確認試験を行った。なお、えび及びびかにのスクリーニング試験は、両者を区別せず甲殻類の指標タンパク質であるトロポミオシンを検出するものである。

### 2-2. 確認試験（ウエスタンブロット法）

卵及び乳については、試料から抽出したタンパク質をポリアクリルアミドゲル電気泳動（SDS-PAGE）し、転写膜に転写後、特異的抗体を用いたウエスタンブロット法による確認試験をキットを用いて行った。均質化した試料 2 g より通知法及びキットの添付文書に従ってウエスタンブロット試験を行い、各特定原材料由来のタンパク質の分子量（SDS-PAGE における見かけ上の分子量：卵白アルブミン 50,000、オボムコイド 38,000、 $\beta$ -ラクトグロブリン 18,400 及びカゼイン 33,000~35,000）付近にバンドが確認できたものを確認試験陽性とした。

### 2-3. 確認試験（PCR 法）

小麦、そば、落花生、えび及びびかにについては、PCR 法による確認試験を行った。加工度の高い食品（加糖、油脂処理、加熱混合及び発酵などの処理が施された食品）においてはイオン交換樹脂タイプキット法を、加工度の低い食品（小麦粉、そば粉、落花生粉砕物及びそれらに準ずる加工食品）にはシリカゲル膜タイプキット法をそれぞれ用いて、通知法及びキットの添付文書に従って DNA 抽出を行った。用いた DNA 抽出法で DNA が抽出されない場合は、もう一方の DNA 抽出キット法を実施し、PCR 試験液とした。各試験液について通知法に従ってサーマルサイクラー（GeneAmp PCR System 9700, Applied Biosystems, USA）を用いて定性 PCR 試験を行い、PCR 増幅産物（小麦 141 bp、そば 127 bp、落花生 95 bp およびびかに 62 bp）

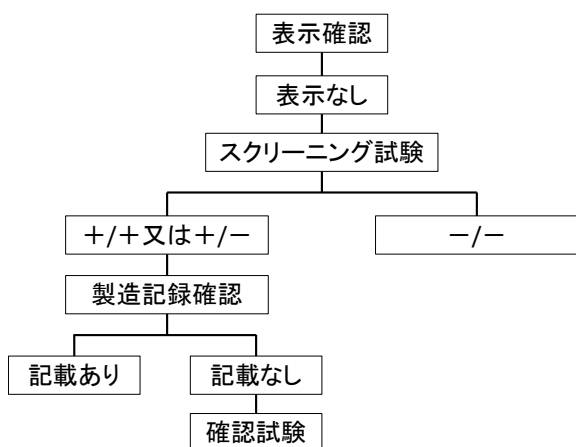


図 1 通知検査法の判断樹  
(通知法<sup>7)</sup>より一部改変)

のバンドが確認されたものを確認試験陽性とした。えびについては PCR 増幅産物の制限酵素 *Hae*III 処理を 37°C で 16 時間行い、えび由来断片 (149 bp) のバンドが確認された場合に確認試験陽性とした。

### 3. 注意喚起表示と陽性検体との関係

これらの結果について収去証・試験検査成績発行に付随する書類等の資料を調査した。検体における注意喚起表示の有無と陽性あるいはスクリーニング試験における 1  $\mu$ g/g 以上の検出との関係については、統計解析ソフト EZR<sup>11)</sup>を用いて Fisher の正確確率検定により検討し、 $P < 0.05$  の場合有意と判断した。

## 結果と考察

### a. 陽性検体

当所において 2016 年 12 月までに実施した県内産加工食品における特定原材料試験結果を表 3 から表 5 に示した。総計 886 検体についてスクリーニング試験を行い、19 検体 (2.1%) が確認試験実施対象となり、内 16 検体 (1.8% : 確認試験実施対象の 84.2%) が陽性と判定された。表 3 に各年度の確認試験実施数及び陽性検体数を、表 4 に特定原材料の品目別陽性検体数を、表 5 にスクリーニング試験陽性となったものの確認試験で陰性となった検体数を、それぞれ示した。

16 検体の陽性検体の年度別内訳は、2008 年度 (2 検体)、2009 年度 (1 検体)、2010 年度 (0 検体)、2011 年度 (4 検体)、2012 年度 (8 検体)、2013 年度 (1 検体) であり、2014 年度以降は陽性検体はない (表 3)。

特定原材料別の陽性数は、小麦 168 検体中 3 検体 (1.8%)、そば 182 検体中 8 検体 (4.4%) およびえび 72 検体中 5 検体 (6.9%) であった。卵 176 検体、乳 177 検体および落花生 111 検体については陽性と判定された検体はなかった (表 4)。各品目別の陽性となった製品は、小麦については大豆粉パン及び菓子類、そばについては 8 検体全て麺製品、えびについては魚介類加工品及び菓子類であった (表 4)。これらの陽性例はいずれも製造記録に原材料使用の記載がな

かったため確認試験を行ったものであった。

小麦及びそばを含む原材料の多くは粉末状であることから製造過程において周囲へ飛散しやすいことから、コンタミネーションが発生しやすいためと推測された。小麦について、肥前<sup>12)</sup>は菓子材料等の粉製品に小麦が混入していた事例を報告している。当所において検出された冷凍食品 (大豆粉パン) 及び菓子類等も、製造過程におけるコンタミネーションの可能性に加えて製品の製造段階以前に原料の粉が汚染されていた可能性が挙げられる。

えび及びかにかについては、先に表示義務化された卵、乳、小麦、そば及び落花生とは異なり、原材料である魚介類のえび及びかにかの捕食、原材料採取の際の混獲等による、加工食品への非意図的混入がある。渡邊<sup>13)</sup>は魚介類加工食品におけるえび及びかにかの混入を報告しているが、これは当所において試験された魚介類加工品 6 検体のうち 3 検体で陽性となったものと類似している。また、菓子類において陽性となった 2 検体についても、たこ及びコチの加工製品であったため同様の可能性がある。

なお、スクリーニング試験陽性となり、製品の表示不備が確認されたが製造記録に記載があり確認試験を行わなかった検体数は、小麦 1 検体及びそば 2 検体であった。

### b. スクリーニング試験陽性、確認試験陰性検体

スクリーニング試験陽性となったものの確認試験で陰性となった検体数は、卵 1 検体及び小麦 2 検体であった (表 5)。

スクリーニング試験で用いられている ELISA 法においては、交差反応等による偽陽性を示す食品の例が、スクリーニング試験キット製造業者により公表されている<sup>14, 15)</sup>。

卵の事例は肉卵類及びその加工品 (ソーセージ) であった。卵においては、スクリーニング試験キット製造業者が公表している偽陽性反応の情報において、増粘多糖類について示されている<sup>14)</sup>ほか、魚卵類及び鶏肉において交差反応による偽陽性が指摘されている<sup>16)</sup>。また、確認試験で対象としている卵白アルブミン、オボムコイドはい

ずれも卵白由来タンパクであることから、少量の卵黄のみを使用した場合ウエスタンブロット法による確認試験で明確な陽性判定が得られない事例<sup>17)</sup>が報告されている。当所においてソーセージで発生した事例についても同様の交差反応によるものであったこと、あるいは少量の卵黄のコンタミネーションが可能性として挙げられる。

小麦の事例は野菜類・果物及びその加工品（豆味噌）及び菓子類（海鮮せんべい）であった。小麦については、豆味噌において種麴として使用された香煎の主成分である大麦の交差反応の影響による偽陽性例が

報告されている<sup>18)</sup>。当所において豆味噌で発生した事例についても同様の交差反応によるものであったことが考えられる。また、高温加熱、発酵等の加工処理により DNA が断片化し、PCR 反応での小麦 DNA の増幅が不可能であった偽陰性と考えられる事例が報告されており<sup>19, 20)</sup>、当所における海鮮せんべい事例についても DNA 断片化の影響により確認試験では陰性となった可能性が挙げられる。

### c. 注意喚起表示と陽性検体との関係

注意喚起表示の有無と陽性との関係を Fisher の直接確率検定を用いて検討した。

表 3 2008 年度から 2016 年度における年度別陽性検体数

年度	検体数	確認試験実施数	陽性検体数	内訳
2008	84	3	2	卵 1、そば 2
2009	100	1	1	小麦 1
2010	103	0	0	
2011	100	4	4	小麦 1、そば 2、えび・かに 1
2012	100	8	8	小麦 1、そば 3、えび・かに 4
2013	100	2	1	小麦 1、そば 1
2014	100	0	0	
2015	100	1	0	小麦 1
2016	99	0	0	
合計数	886	19	16	※えび・かには全てえび陽性

表 4 2008 年度から 2016 年度における特定原材料別陽性検体数

特定原材料	陽性検体数	陽性率	内訳
卵	0	0.0%	
乳	0	0.0%	
小麦	3	1.8%	冷凍食品(大豆粉パン) 1、菓子類(シフォン、まんじゅう) 2
そば	8	4.4%	穀類及びその加工品(生めん 1、ゆでめん 2、乾麺 5) 8
落花生	0	0.0%	
えび・かに	5	6.9%	魚介類加工品(魚肉ねり製品) 3、菓子類(たこから揚げ、コチ姿焼き) 2
合計	16	1.8%	※えび・かには全てえび陽性

表 5 スクリーニング陽性となったものの、確認検査で陰性となった事例

特定原材料	陽性検体数	内訳	品名
卵	1	肉卵類及びその加工品 1	ソーセージ
乳	0		
小麦	2	野菜類・果物及びその加工品 1 菓子類 1	海鮮せんべい、豆味噌
そば	0		
落花生	0		
えび・かに	0		
合計	3		

スクリーニング試験陽性であった検体のうち製造記録に記載があり確認試験を行わなかった3検体も確認試験陽性とみなして解析したところ、全ての検体を対象にした場合のみ注意喚起表示ありとなしの間で有意差がみられた(P=0.004)対象項目別(小麦、そば及びえび)検討では有意差はみられなかった(表6)。また、スクリーニング試験において1  $\mu\text{g/g}$ 以上を検出した検体を対象として同様に検討した結果、全ての検体を対象にした場合において注意喚起表示ありとなしの間(P=0.0002)で、また項目別でもそば(P=0.018)及び落花生(P=0.045)においてそれぞれ有意差がみられた(表7)。加工食品において注意喚起表示された表記と実際の含量との関係について、杉本ら<sup>21)</sup>は菓子類を中心とした76検体中3検体(3.9%)でスクリーニング試験陽性相当、同5検体(6.6%)で1  $\mu\text{g/g}$ 以上を検出し、食物アレルギー症状の発症には個人差があり基準未満のごく微量の混入においても発症の危険性があることから注意喚起表示の必要性を指摘している。特定原材料の注意

喚起表示は食物アレルギー患者の健康危害防止についてごく微量の摂取を避けるための一定の効果はあると考えられるが、消費者の健康危害の発生あるいは過剰な表示によりアレルギー患者の食品選択の幅を過度に狭めることを防ぐためにもより一層正確な特定原材料の注意喚起表示が望ましいと考えられる。

#### d. 現状の問題点と今後の展望

食物アレルギーは微量でも症状を起こし、重篤な場合は生命に危機を及ぼす可能性がある。アレルギー物質の非意図的混入、製造者の知識不足及び確認ミス等による表示の不備を防ぎ、併せて注意喚起表示等の食品表示情報の正確性の向上が求められる。消費者庁は今後も食物アレルギー患者の発生状況、症状等の実態に即して制度改正を行うとしている<sup>1)</sup>ことから、当所としても特定原材料調査品目の追加及び変更等への対応が必要と見込まれる。また、加工食品中の特定原材料含有の有無についての試験法はあらゆる加工食品が対象であるため、原材料や製造工程等が試験の精度へ影響す

表6 注意喚起表示の有無と陽性数との関係

陽性数/ 検体数	卵	乳	小麦	そば	落花生	えび・かに	合計
注意喚起 あり	0% (0/60)	0% (0/51)	2.0% (1/49)	7.3% (9/124)	0% (0/30)	10.0% (4/40)	4.0% (14/354)
注意喚起 なし	0% (0/116)	0% (0/126)	2.5% (3/119)	1.7% (1/58)	0% (0/81)	3.1% (1/32)	0.9% (5/532)
合計数	0% (0/176)	0% (0/177)	2.4% (4/168)	5.5% (10/182)	0% (0/111)	6.9% (5/72)	2.1% (19/886)

注) スクリーニング試験陽性であった検体のうち、製造記録に記載があり確認試験を行わなかった3検体についても確認試験陽性として扱った。

\*\* : P<0.01

表7 注意喚起表示の有無とスクリーニング検出数との関係

検出数/ 検体数	卵	乳	小麦	そば	落花生	えび・かに	合計
注意喚起 あり	3.3% (2/60)	2.0% (1/51)	20.4% (10/49)	21.0% (26/124)	13.3% (4/30)	27.5% (11/40)	15.3% (54/354)
注意喚起 なし	4.3% (5/116)	3.2% (4/126)	14.3% (17/119)	6.9% (4/58)	2.5% (2/81)	21.9% (7/32)	7.3% (39/532)
合計数	4.0% (7/176)	2.8% (5/177)	16.1% (27/168)	16.5% (30/182)	5.4% (6/111)	25.0% (18/72)	10.5% (93/886)

\*: P<0.05; \*\*: P<0.01



る事柄について未知の部分も多く、通知法<sup>7)</sup>においても試験法を順次見直しを行っていく旨記載されており、引き続き事例を蓄積して問題点を把握し、関係者間で情報を共有する必要がある。

## 文 献

- 1) 消費者庁：アレルギー物質を含む加工食品の表示ハンドブック 2014（事業者向け）；[http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin560\\_1.pdf](http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin560_1.pdf)
- 2) 後藤哲久，佐藤吉朗，吉田満監修：食品危害要因 その実態と検出法．463-468，2014，テクノシステム、東京．
- 3) 食品衛生法施行規則および乳および乳製品の成分規格等に関する省令の一部を改正する省令の施行について：平成 13 年 3 月 15 日付け食発第 79 号厚生労働省医薬局食品保健部長通知
- 4) 食品衛生法施行規則の一部を改正する省令の施行について：平成 20 年 6 月 3 日付け食安発第 0603001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
- 5) アレルギー物質を含む食品に関する表示について：平成 25 年 9 月 20 日付け消食表第 257 号消費者庁次長通知
- 6) アレルギー物質を含む食品の検査方法について（一部改正）：平成 17 年 10 月 11 日付け食安発第 1011002 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知
- 7) アレルギー物質を含む食品の検査方法について：平成 22 年 9 月 10 日付け消食表第 286 号消費者庁次長通知
- 8) 長谷川晶子：食品におけるアレルギー物質表示と検査法について．衛研技術情報 37(1)，2013．
- 9) アレルギー物質を含む食品の検査方法について：平成 26 年 3 月 26 日付け消食表第 36 号消費者庁次長通知
- 10) アレルギー物質を含む食品の検査方法について（留意事項）：平成 23 年 10 月 31 日付け消費者庁食品表示課事務連絡
- 11) Kanda Y: Investigation of the freely available easy-to-use software ‘EZR’ for medical statistics. Bone Marrow Transplant 48(3):452-458, 2013.
- 12) 肥前昌一郎，林原亜樹，福崎睦美：食品中の特定原材料小麦実態調査および PCR 法における小麦の検出限界．福岡市保健環境研究所所報 32:81-84，2007．
- 13) 渡邊裕子，濟田清隆，赤星千絵，大澤伸彦，橋口成喜，宮澤眞紀：魚介類加工食品に含まれるアレルギー物質（えび・かに）の検出．食品衛生学雑誌 55(1):41-54，2014．
- 14) 森永生科学研究所：食品反応性データ；<http://www.miobs.com/product/tokutei/faspek2/reactive.html>
- 15) 日本ハム中央研究所：「FASTKIT エライザ Ver. III シリーズ」において偽陽性・偽陰性を示す食品一覧；<http://www.rdc.nipponham.co.jp/fastkit/3-foods-list.html>
- 16) 下井俊子，牛山博文，観 公子，斉藤和夫，鎌田国広：市販食品中の特定原材料（卵，乳）の検査事例．食品衛生学雑誌 47(4):189-195，2006．
- 17) 菅野陽平，兼俊明夫，鈴木智宏：平成 24 及び 25 年度における北海道産加工食品中のアレルギー物質のモニタリング検査について．北海道立衛生研究所報 64:35-38，2014．
- 18) 一色 博，竹川雄太，林 克弘，志村恭子：味噌の特定原材料検査（小麦）における大麦の影響について．三重県保健環境研究所年報 58:43-49，2013．
- 19) 萩野賀世，松本ひろ子，牛山博文：加工食品中の特定原材料検査（小麦）における PCR 法の検討．東京都健康安全研究センター研究年報 59:149-153，2008．
- 20) 橋本博之，眞壁祐樹，長谷川康行，佐二木順子，宮本文夫：ネステッド PCR 法を用いた食品中の特定原材料（小麦）の検出．食品衛生学雑誌 49(1):23-30，2008．
- 21) 杉本理恵，栗原聡美，宮川さゆり，望月康代，萩野愛美，加藤麻奈，八木愛子，豊田正武，森下直樹，松本貴之：欄外注意表記されている市販加工食品中特定原材料タンパク質の含有量調査．実践女子大学生生活科学部紀要 49:161-165，2012．

# Study of allergenic substances in processed food manufactured in Aichi Prefecture, 2008–2016

Daisuke Hayakawa, Akiko Hasegawa, Kou Tsuge, Masakado Matsumoto,  
Hiroko Minagawa

A total of 886 samples of various processed food manufactured in Aichi Prefecture were collected by health center personnel and examined in our laboratory for allergenic substances (egg, milk, wheat, buckwheat, peanut, shrimp and crab) in processed food from 2008 to 2016 using ELISA, western blot and PCR. Wheat, buckwheat and shrimp were detected in 3, 8 and 5 samples respectively (total: 16 samples, 1.8%), using both screening and confirmatory examinations. Egg and wheat were positive at screening but negative at confirmatory examinations in 1 and 2 samples respectively. Calling attention to the possibility for risk of contamination was correlative with detection of allergenic substances in whole, buckwheat and peanut samples respectively, and it was considered that there was a certain effect to avoid ingesting a trace amount of allergenic substances.

Key words : allergenic substance, food allergy, processed food

---

---

## 調 査 研 究

---

---

# 愛知県内に流通する農産物中の ネオニコチノイド系殺虫剤の実態調査

渡邊美奈恵、上野英二、梅村優子、市川義多加、戸塚昌子、  
棚橋高志、猪飼誉友、皆川洋子

### 要 旨

ネオニコチノイド系殺虫剤は、1990年頃に開発された比較的新しい農薬であり、人畜に対して低毒性で残効性に優れていることから、その使用量は増加傾向を示している。平成26年4月から平成28年8月に愛知県内に流通していた農産物51作物143検体についてネオニコチノイド系殺虫剤の残留実態調査を行った。その結果、いちご、にらなど19作物37検体からアセタミプリド、ジノテフラン等7農薬が検出され、その濃度範囲は0.01~0.80 ppmであった。その検出率は、有機リン系など他の殺虫剤よりも高く、これらが日本の農業における主要農薬の一つになっていることが示唆された。加えて、アセタミプリドが痕跡あるいはそれ以上の濃度で残留していた26検体について、その代謝物IM-2-1を測定した結果、アセタミプリドが痕跡レベルの3検体から0.01 ppm以上の濃度で検出され、残留分析にその代謝物を含めることの必要性が示唆された。農産物においては、IM-2-1は残留基準に含まれないが、今後も引き続き様々な農産物で両化合物を同時に測定することが必要であると考えられる。

キーワード：残留農薬、ネオニコチノイド系殺虫剤、農産物、LC-MS/MS

### 序 文

ネオニコチノイド系殺虫剤は、有機リン系農薬の代替農薬として1990年頃に開発された比較的新しい農薬であり、幅広い殺虫活性を持つにもかかわらず、人畜に対して低毒性で効果の持続性に優れていることから、その使用量は増加傾向を示している<sup>1)-3)</sup>。その特徴は、水溶性と浸透性であり、植物の根や葉から植物体内に取り込まれ、内部から効果を発揮し、使用後も土壌、水中に長期間残留するとされている<sup>1)-3)</sup>。近年、ミツバチの大量死の原因の一つとされ、EUでは、平成25年12月にネオニコチノイド系3種（イミダクロプリド、チアメトキサ

ム及びクロチアニジン）について暫定的に使用が制限されたが、日本では今のところ規制の強化は行われていない<sup>4)</sup>。

本報では平成26年4月から平成28年8月に愛知県内に流通していた農産物143検体を対象とし、ネオニコチノイド系殺虫剤の残留実態調査について報告する。アセタミプリドの残留基準値は、畜水産物においては、国の食品安全委員会農薬専門調査会（以下、食品安全委員会）が実施した食品健康影響評価を基に代謝物であるIM-2-1を含めた濃度が設定されているが、農産物ではアセタミプリドのみが対象となっている<sup>5)</sup>。IM-2-1は農産物においても主要な代

謝物であるが、濃度データなど詳細な情報は示されていない<sup>6)</sup>。そこで今回、上述の検体中の IM-2-1 の残留実態も併せて調査したので、結果を報告する。

## 試料と方法

### 1. 試料

平成 26 年 4 月から平成 28 年 8 月に愛知県内で流通していた農産物 143 検体（国産 125 検体：野菜 95 件、果実 30 件、輸入 18 検体：野菜 1 件、果実 17 件）を用いた。

### 2. 対象農薬

アセタミプリド、チアメトキサム、イミダクロプリド、ジノテフラン、チアクロプリド、クロチアニジン、フロニカミド、エチプロール、フィプロニル、IM-2-1（アセタミプリド代謝物）の 10 種類を今回の主要対象とした。また、比較検討の目的で、エンドスルファン、アセフェートなど 251 農薬も測定した。

### 3. 試薬及び標準品

試薬は和光純薬工業（株）の残留農薬試験用、LC/MS 用または特級品を用いた。

標準品は和光純薬工業（株）または林純薬工業（株）の残留農薬試験用を用い、アセトニトリルに溶解して 1 mg/mL 標準原液とした。この標準原液を混合し、メタノールで適宜希釈して混合標準溶液とした。

### 4. 装置及び測定条件

試料の粉碎には、グラインドミックス GM300（Retsch 社、ドイツ）を用いた。

GPC 装置は、（株）島津製作所製 GPC クリーンアップシステムに、昭和電工（株）製 CLNpak EV-2000 カラム（内径 20 mm、長さ 30 cm）及び CLNpak EV-G ガードカラム（内径 20 mm、長さ 10 cm）を装着して用いた。GPC 条件は、カラム温度 45℃、移動相 アセトン-シクロヘキサン（1:4）、流速 5 mL/min、モニター波長 254 nm に設定した<sup>7)</sup>。

LC 装置は、（株）島津製作所製 Nexera に、（株）資生堂製 Capcell Pak C18 AQ カラム（内径 2 mm、長さ 150 mm、粒子径 3 μm）及び Capcell Pak C18 AQ ガードカラム（内径 2 mm、長さ 10 mm、粒子径 3 μm）を装着して用い、以下の条件に設定した。移動

相：5 mmol/L 酢酸アンモニウム溶液（A 液）及びアセトニトリル（B 液）、グラジエント条件：0 分（A : B = 99 : 1）→ 1 分（A : B = 99 : 1）→ 1.01 分（A : B = 90 : 10）→ 25 分（A : B = 5 : 95）→ 26 分（A : B = 1 : 99）→ 40 分（A : B = 1 : 99）→ 40.01 分（A : B = 99 : 1）→ 48 分（A : B = 99 : 1）、移動相流速：0 分（0.2 mL/min）→ 20 分（0.2 mL/min）→ 40 分（0.35 mL/min）→ 40.01 分（0.2 mL/min）→ 48 分（0.2 mL/min）、カラム温度 40℃、サンプル注入量 3 μL。

MS/MS 装置には、QTRAP4500（AB SCIEX 社、MA、USA）を使用し、以下の条件に設定した。イオン化法：ESI ポジティブ/ネガティブスイッチングモード、イオンスプレー電圧：ポジティブ 5.5 kV 及びネガティブ -4.5 kV、ターボガス温度：400℃、Scheduled MRM データ取得幅：ポジティブ及びネガティブ いずれも 180 sec、Target Scan Time：ポジティブ 0.6 sec 及びネガティブ 0.3 sec、分解能 Q1 / Q3：Unit / Low。各農薬成分の保持時間及び MS/MS 条件は表 1 に示した。

### 5. 分析操作

#### (1) 試験溶液の調製

既報に従って調製した<sup>7)~10)</sup>。すなわち、試料からアセトニトリルで抽出し、溶媒を留去後、残渣を酢酸エチルに再溶解して無水硫酸ナトリウムで脱水後、GPC/グラファイトカーボン SPE で精製した。さらに、シリカゲル/PSA 連結 SPE により精製して試験溶液を調製した。

#### (2) 定量

保持時間及びピーク形状を確認し、ピーク面積を用いる絶対検量線法により定量した。定量下限値は 0.01 ppm とした。検量線は、0.5、1.0、2.0、5.0、10.0、20.0 ng/mL の混合標準溶液を用いて作成した。

## 結果及び考察

### 1. 調査結果

農産物からの対象農薬の検出状況を表 2 に示した。51 作物 143 検体について調査し、そのうち 19 作物 37 検体から対象農薬 7 種類が検出された。対象農薬が検出された検体は、すべて国産品であり、基準値を超過

表1 対象農薬のMS/MS条件

Compound	Retention time (min)	ESI	DP* <sup>1</sup> (V)	Target ion			Qualifier ion		
				MRM trace (m/z)	CE* <sup>2</sup> (V)	CXP* <sup>3</sup> (V)	MRM trace (m/z)	CE* <sup>2</sup> (V)	CXP* <sup>3</sup> (V)
Dinotefuran	6.2	+	49	203 > 113	15	7	203 > 129	15	7
Thiamethoxam	8.4	+	71	292 > 211	15	8	292 > 181	29	14
Flonicamid	8.8	-	-50	228 > 81	-14	-5	228 > 146	-28	-9
Clothianidin	9.4	-	-55	248 > 58	-30	-5	248 > 166	-12	-11
IM-2-1	9.5	+	76	209 > 126	23	8	209 > 90	43	6
Imidacloprid	9.9	+	56	256 > 209	23	14	256 > 175	27	12
Acetamiprid	10.4	+	61	223 > 126	31	8	223 > 73	77	6
Thiacloprid	11.7	+	71	253 > 126	31	8	253 > 99	59	8
Ethiprole	17.1	-	-72	395 > 331	-17	-11	395 > 250	-34	-8
Fipronil	20.3	-	-69	435 > 330	-21	-10	435 > 250	-36	-14

\*<sup>1</sup> Declustering potential

\*<sup>2</sup> Collision energy

\*<sup>3</sup> Collision cell exit potential

表2 農産物からのネオニコチノイド系殺虫剤の検出数

農産物名	検出検体数		検出農薬内訳						
	検出農薬数	検出農薬数	アセタミプリド	イミダクロプリド	チアクロプリド	チアメトキサム	クロチアニジン	ジノテフラン	フロニカミド
いちご	6 /	6	4	0	1	0	0	0	1
にら	4 /	7	0	0	0	0	4 (3)*	3 (3)	0
ほうれんそう	4 /	5	0	0	0	0	2 (1)	3 (1)	0
ぶどう	3 /	7	0	3 (2)	0	0	2 (2)	2 (2)	0
メロン	3 /	4	0	1	0	0	0	2 (1)	1 (1)
トマト	2 /	3	0	0	0	0	1 (1)	1	1 (1)
きゅうり	2 /	2	0	1	0	0	0	0	1
ミニトマト	2 /	2	2	0	0	0	0	0	0
もも	1 /	3	1 (1)	0	1 (1)	0	1 (1)	0	0
セロリ	1 /	2	1 (1)	0	0	0	0	1 (1)	0
ねぎ	1 /	1	0	0	0	0	1	0	0
キャベツ	1 /	1	0	0	0	1	0	0	0
だいこん	1 /	1	0	1	0	0	0	0	0
はくさい	1 /	1	0	0	0	0	0	1	0
なす	1 /	1	1	0	0	0	0	0	0
レタス	1 /	1	0	0	0	1	0	0	0
しゅんぎく	1 /	1	0	0	0	0	0	1	0
ふき	1 /	1	1	0	0	0	0	0	0
マンゴー	1 /	1	0	0	0	0	0	1	0
合計	37 /	50	10	6	2	2	11	15	4

\* ( ): 同時検出

して検出された農薬はなく、その検出濃度はいちごの1件（検出農薬：アセタミプリド）を除き、基準値の10%以下であった。輸入品からは平成24年度にはグレープフルーツからイミダクロプリドが検出されたが、EUでの使用制限がはじまった翌年の平成26年以降検出されていない。農薬別検出頻度は、ジノテフランの15検体（検出率：10.5%）が最も多く、次いでクロチアニジンの11検体（検出率：7.7%）、アセタミプリドの10検体（検出率：7.0%）であった。検出率の高い野菜は、にら、ほうれんそう及びトマト、果実は、いちご、ぶどう及びメロンであった。対象農薬が2種以上同時に検出された野菜は、にら、ほうれんそう（クロチアニジン、ジノテフラン）、トマト（クロチアニジン、フロニカミド）、セロリ（アセタミプリド、ジノテフラン）であった。果実では、ぶどう（イミダクロプリド、クロチアニジン、ジノテフラン）、もも（アセタミプリド、チアクロプリド、クロチアニジン）、メロン（ジノテフラン、フロニカミド）であった。農産物から検出された対象農薬の中央値、濃度範囲等について表3に示した。それぞれの最大値は、アセタミプリド 0.51 ppm（いちご）、イミダクロプリド 0.08 ppm（きゅうり）、クロチアニジン 0.28 ppm（にら）、チアクロプリド 0.11 ppm（いちご）、チアメトキサム 0.02 ppm（レタス）、ジノテフラン 0.80 ppm（ほうれんそう）、フロニカミド 0.07 ppm（いちご）

であった。ジノテフランは、2002年に登録された比較的新しい農薬であるが、広範な害虫に防除効果を示し、安全性が高いことから、その使用量が増加しており<sup>1)-3)</sup>、農林水産省の国内産農産物における農薬の残留状況調査結果では、平成24年から3年連続で最も多く検出されていた<sup>11)</sup>。今回の調査でも同様の結果が得られ、種々の農産物に幅広く使用されている実態が明らかとなった。

国産品 125 検体のうち殺虫剤が残留していた農産物は 54 検体あり、その 68.5%（37 検体）からネオニコチノイド系が検出された。検出濃度は、基準値の 10% 以下がほとんどであり、その残留レベルは一日摂取許容量 (ADI: Acceptable Daily Intake) と比較して十分に低く、健康に悪影響を与えないものと考えられるが、様々な農産物から同時に複数の農薬が検出されたことから、今後も引き続き継続的な調査を行い、その残留実態を把握することが重要であるとする。本調査は、調査期間が短く、年度ごとに対象農薬や農産物の種類も異なり、検体数も増減があるため、これまでの当所の調査結果<sup>9), 12)</sup>や他機関の調査結果<sup>11), 13-15)</sup>との単純な比較は困難であるが、検出率が有機リン系や有機塩素系で下落しているのとは対照的に上昇していることから、ネオニコチノイド系は、日本の農業における主要農薬の一角を占めていることが示唆された。

表3 農薬別検出状況

農薬名	中央値 (ppm)	濃度範囲 (ppm)	基準値に対する 割合 (%)	検出率 (%)
アセタミプリド	0.07	0.01 - 0.51	0.3 - 17.0	7.0
イミダクロプリド	0.05	0.01 - 0.08	0.7 - 8.0	4.2
クロチアニジン	0.04	0.01 - 0.28	0.1 - 4.3	7.7
チアクロプリド	0.09	0.01 - 0.11	2.2 - 6.0	1.4
チアメトキサム	0.02	0.01 - 0.02	0.2 - 0.7	1.4
ジノテフラン	0.06	0.01 - 0.80	0.1 - 6.8	10.5
フロニカミド	0.03	0.01 - 0.07	0.5 - 3.5	2.8

## 2. アセタミプリド及び代謝物 IM-2-1 の検出状況

アセタミプリドの残留が痕跡あるいはそれ以上認められた 26 検体を対象に、その代謝物である IM-2-1 の残留を調査した結果を表 4 に示した。IM-2-1 は、トマト、ほうれんそう、いちじく及びえだまめの 4 検体から 0.01 ppm 以上の濃度で検出されたが、その中の 3 検体のアセタミプリドの残留濃度は痕跡レベル(0.01 ppm 未満)であった。その検出率は 15.4%、痕跡レベルの IM-2-1 を含めた検出率は 76.9%であった。IM-2-1 が検出されたほうれんそうのクロマトグラムを図 1 に示した。

食品安全委員会が実施したアセタミプリドの評価において、IM-2-1 は当該農薬の主要な代謝物と位置づけられており、投与実験の結果、動物体内では、そのみが残留する事例もあったことから、畜水産物からの暴露評価には両者の測定が必要とされ、基準値も両者の合計値となっている。一方で、植物体内でも IM-2-1 は生成するものの、アセタミプリド自体が消失することはないことから、農産物では暴露評価のために測定する物質はアセタミプリドのみで問題ないと結論づけ、基準値もそのみの濃度となっている。しかし、IM-2-1 の植物体内での残留実態については濃度データなど詳細な情報は示されていない<sup>6)</sup>。今回の調査で、アセタミプリドが痕跡レベルにある 3 検体から IM-2-1 が 0.01 ppm 以上検出されていることより、本農薬の暴露評価対象にはその代謝物も含めるとともに、残留分析においては、畜水産物と同様に両者を測定する必要性が示唆された。ただし、本調査は例数が少なく、例外的に扱うことが妥当であるという可能性も否定できないため、さらに調査が必要であると考えらる。

### まとめ

平成 26 年 4 月から平成 28 年 8 月までに愛知県内に流通していた農産物 51 作物 143 検体についてネオニコチノイド系殺虫剤の残留実態調査を行った。ネオニコチノイド系殺虫剤が検出された検体は、すべて国産品

表 4 農産物からのアセタミプリド及び IM-2-1 の検出濃度

農産物名	検出濃度 (ppm)	
	アセタミプリド	IM-2-1
いちご	0.51	Tr*
いちご	0.20	Tr
いちご	0.07	Tr
いちご	0.02	Tr
トマト	0.09	0.05
トマト	0.07	Tr
もも	0.04	Tr
ふき	0.01	Tr
セロリ	0.01	Tr
ほうれんそう	Tr	0.08
メロン	Tr	Tr
ぶどう	Tr	Tr
いちじく	Tr	0.02
えだまめ	Tr	0.01

\* Trace level : 0.01 ppm 未満

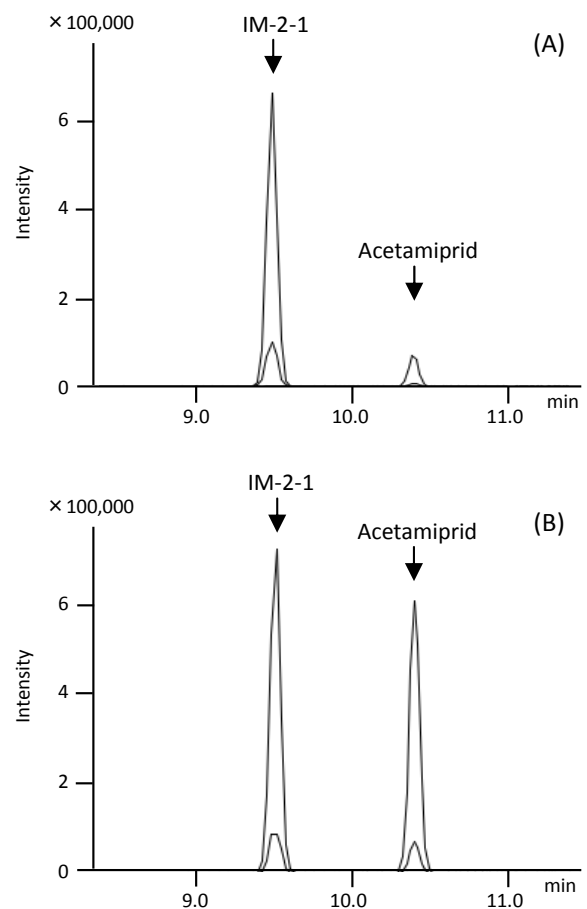


図 1 LC-MS/MS クロマトグラム

(A) ほうれんそうの試験溶液 (0.1 g 試料/mL)  
(B) 標準溶液 (0.01 µg/mL)

であり、基準値を超過して検出された農薬はなかった。国産品 125 検体のなかで殺虫剤が残留していた農産物は 54 検体であり、そのうちの 37 検体からネオニコチノイド系が検出された。これらの結果より、ネオニコチノイド系殺虫剤が日本の主要な農薬の一つになりつつある実態が明らかとなった。加えて、アセタミプリドが痕跡以上のレベルで残留する 26 検体について、その代謝物 IM-2-1 の残留量を測定した。その結果、アセタミプリドの残留量が痕跡レベルにある、ほうれんそう、いちじく及びえだまめから、IM-2-1 が 0.01 ppm 以上検出され、残留分析の対象成分にその代謝物を含める必要性が示唆された。本事例は例数が少ないため、今後も引き続き調査を行い、残留実態を反映したデータを収集することが必要であると考えられる。

### 謝 辞

本研究の一部は、文部科学省科学研究費補助金(挑戦的萌芽研究; 課題番号: JP26670343)による助成を受け実施した。また、本研究にあたり貴重なご指導を賜りました名古屋大学大学院医学系研究科上山純准教授、東海コープ事業連合斎藤勲博士に深謝いたします。

### 文 献

- 1) Jeschke P, Nauen R, Schindler M, Elbert A: Overview of the status and global strategy for neonicotinoids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59:2897-2908, 2011.
- 2) 農薬ハンドブック 2016 年版編集委員: 農薬ハンドブック 2016 年版. 87-103, 2016, 一般社団法人 日本植物防疫協会、東京.
- 3) 国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター: 化学物質データベース WebKis-Plus <http://w-chemdb.nies.go.jp> (2016 年 12 月現在)
- 4) 農林水産省: 農薬による蜜蜂の危害を防止するための我が国の取組 (2016.11 月改訂); [http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_mitubati/attach/pdf/index-1.pdf](http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_mitubati/attach/pdf/index-1.pdf)
- 5) 公益財団法人 日本食品化学研究振興財団: 残留農薬等基準 アセタミプリド; [http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/agrdtl.php?a\\_inq=3100](http://m5.ws001.squarestart.ne.jp/zaidan/agrdtl.php?a_inq=3100)
- 6) 食品安全委員会: 農薬評価書アセタミプリド(第 3 版). 18-23, 2014.
- 7) Ueno E, Oshima H, Saito I, Matsumoto H, Yoshimura Y, Nakazawa H: Multiresidue analysis of pesticides in vegetables and fruits by gas chromatography/mass spectrometry after gel permeation chromatography and graphitized carbon column cleanup. *Journal of AOAC International* 87:1003-1015, 2004.
- 8) Ueno E, Oshima H, Matsumoto H, Saito I, Tamura H: Determination of spinosad in vegetables and fruits by high-performance liquid chromatography with UV and mass spectrometric detection after gel permeation chromatography and solid-phase extraction cleanup on a 2-layered column. *Journal of AOAC International* 89:1641-1649, 2006.
- 9) Watanabe M, Ueno E, Inoue T, Ohno H, Ikai Y, Morishita T, Oshima H, Hayashi R: Simultaneous determination of pesticide residues in agricultural products by LC-MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hygiene and Safety Science)* 54(1):14-24, 2013.
- 10) Ueno E, Watanabe M, Umemura Y, Inoue T, Ikai Y: Validation study on a multi-residue method for determination of pesticides in agricultural products by LC-MS/MS. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hygiene and Safety Science)* 55(6):290-296, 2014.
- 11) 農林水産省: 国内産農産物における農薬の使用状況及び残留状況調査の結果について; [http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n\\_monitor.html](http://www.maff.go.jp/j/nouyaku/n_monitor.html)
- 12) Kabashima Y, Ueno E, Oshima H, Ohno T, Saito I: Study on the method of



setting limits for pesticides residues under the positive list system based on the data for pesticides in vegetables and fruits collected in aichi prefecture (fiscal years 2001-2005). Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Journal of the Food Hygienic Society of Japan) 49(4): 283-293, 2008.

13)厚生労働省：食品中の残留農薬等 食品中の残留農薬等検査結果； [http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou\\_iryuu/shokuhin/zanryu/index.html](http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/zanryu/index.html)

14)富澤早苗，大塚健治，田村康宏，八巻ゆみこ，増渕珠子，岩越景子，中川由紀子，増田諒子，須藤将太，小鍛治好恵，高野伊知郎，新藤哲也：国内産野菜・果実類の残留農薬実態調査－平成 26 年度－. 東京都健康安全研究センター 研究年報 66:189-195, 2015.

15)中島 涼，丸山量子，佐藤徳子，大久保祥嗣，米田篤司，八木正博：農産物中の残留農薬の検査結果(平成 25～27 年度). 神戸市環境保健研究所 研究報告(2015 年度)； [http://www.city.kobe.lg.jp/life/health/lab/kih/kenkyu\\_shohou/2016/gencho2.pdf](http://www.city.kobe.lg.jp/life/health/lab/kih/kenkyu_shohou/2016/gencho2.pdf)

# Survey of residual neonicotinoid insecticides in agricultural products in Aichi Prefecture

Minae Watanabe, Eiji Ueno, Yuko Umemura, Yoshitaka Ichikawa,  
Masako Totsuka, Takashi Tanahashi, Yoshitomo Ikai, Hiroko Minagawa

Neonicotinoid insecticides are relatively new pesticides and the amount of agricultural use have continuously increased because of its low toxicity to mammals including human. In order to evaluate the residue level of neonicotinoid insecticides in agricultural products, 51 crops (143 samples in total) were purchased from the market in Aichi Prefecture between April 2014 and August 2016 and applied to analysis. As the results, 7 neonicotinoid insecticides containing acetamiprid and dinotefuran were detected at the range of 0.01 - 0.80 ppm in 19 crops (37 samples) such as strawberry and leek. The detection rate was higher than that of the other pesticides such as organic phosphate insecticides, showing that neonicotinoid insecticides are one of the main pesticides in Japan. Additionally, determination of IM-2-1, the metabolite of acetamiprid, was performed on the positive sample of acetamiprid. The compound was detected in 3 of 26 samples over 0.01 ppm though the acetamiprid was in trace level, suggesting the necessity of determination of IM-2-1 together with acetamiprid in residual analysis.

Keywords : pesticide residue, neonicotinoid insecticides, agricultural products,  
LC-MS/MS

---

---

## 調 査 研 究

---

---

### 室内 PM2.5 濃度について

青木梨絵、山本優子、小島美千代、小池恭子、猪飼誉友、皆川洋子

#### 要 約

近年、大気中に浮遊する微小粒子状物質 (Particulate matter 2.5, PM2.5) が注目されている。大気中の PM2.5 濃度については、環境省から様々なデータが公表されているが、ヒトが長時間を過ごす室内については、ほとんど調査が行われておらず、公表データも少ない<sup>1)</sup>。今回、簡易測定装置を使用し、一般住宅の室内における PM2.5 濃度及びその発生源を調査し、さらに家庭用空気清浄機等を用いた除去効果を検討した。室内濃度については、大気中濃度とほぼ連動しており、その影響を受けていることが示唆された。しかし、1 時間値を比較すると大気中よりも濃度が高くなる時間帯があることから、室内にも発生源が存在することが示唆された。室内発生源としては、生活用品では燃焼及び発煙を伴うもの、スプレー類が該当し、生活行動では、発煙を伴う調理行為、埃が舞い散るような掃除行為が該当すると考えられた。換気扇及び空気清浄機には、PM2.5 の除去効果が認められ、換気扇の方が除去能力は大きい。空気清浄機は室内濃度を外気濃度以下にまで低減することができるため、外気濃度が高い場合や閉め切った部屋でエアコンディショナー (エアコン) 等を使用する夏及び冬には有効な手段であると考えられた。

キーワード : PM2.5、室内発生源、空気清浄機

#### 序 文

微小粒子状物質 (Particulate matter 2.5, PM2.5) とは、大気中に浮遊する粒子状物質のなかの粒径が 2.5  $\mu\text{m}$  以下の粒子<sup>2)</sup>を指し、その大きさゆえに肺胞まで到達するため、健康への影響が懸念されている。日本では主に呼吸器系への健康影響が報告されている<sup>3)</sup>が、諸外国においては、呼吸器系だけでなく、循環器系についても健康影響を及ぼすことが報告されている<sup>4)</sup>。米国では 1997 年に基準が設定され、2006 年には日平均値が、2013 年には年平均値が強化されている。また、WHO (世界保健機関) では 2006 年に大気質指針として設定されており、EU においても 2008 年に EU 指令で、他にも様々な国で PM2.5 に対する環境基準が

制定されている<sup>5)</sup>。我が国においても 2009 年 9 月に「1 年平均値が 15  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  以下であり、かつ、1 日平均値が 35  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  以下であること」という環境基準が定められた<sup>2)</sup>。さらに 2013 年には中国からの越境汚染がメディアに取り上げられたことを契機に、国民の関心が一気に高まった。

大気中の PM2.5 については環境省から様々なデータが公表されているが、ヒトがより長時間過ごす室内についてはほとんど調査が行われておらず、公表データも少ない。今回、簡易測定装置 (エアロゾルモニター DUSTTRAK 8530) を使用して一般住宅の室内 PM2.5 濃度を測定し、測定対象住宅から最も近い測定局の大気中濃度と比較することにより、その実態把握を行った。また、生

活用品及び生活行動について室内発生源調査を実施し、さらに低減方法として考えられる家庭用空気清浄機等を用いた除去効果について調査を行ったので報告する。

## 装置及び方法

### 1 装置

PM2.5 の測定にはエアロゾルモニター DUSTTRAK 8530 (TSI 社, MN, USA) を使用した。本装置は 1 年に 1 回輸入代行業者(東京ダイレック株式会社)が実施する校正を受けている。

### 2 一般住宅における室内と大気中の PM2.5 濃度の比較

2013 年 12 月から 2016 年 9 月にかけて、県内の一般住宅 13 軒(一般住宅 1~13)を対象に、室内 PM2.5 濃度を 6 日間連続して

測定した。得られた 1~3 分毎の測定データを平均して、1 時間値及び日平均値を求め、それらを大気中の濃度と比較した。また、測定時間中に行った調理や掃除などの生活行動、エアコンや空気清浄機の稼働状況等を調査した。生活行為を伴わない施設として、当所にある人の出入りのほとんどない事務所(事務所)でも同様の測定を行った。比較対象とした大気中の濃度は、「愛知県大気汚染常時監視結果」により、測定対象住宅に最も近い場所に設置された測定局の値を用いた<sup>6)</sup>。測定対象住宅と測定局との距離は 1.5 km から 6 km の範囲であった。

### 3 室内発生源調査

当所の一室(事務室 11 畳相当、容積 約 42 m<sup>3</sup>)を PM2.5 実験室として用い、表 1 に示す 19 項目の生活用品の使用、掃除行為

表 1 PM2.5 の発生源調査

分類	行為及び製品	測定装置との直線距離	濃度影響	持続性
スプレー類	消臭剤 A (ミスト)	部屋全体	-	
	消臭剤 B	部屋全体	+	×
	消臭剤 C	60 cm	+	×
	消臭剤 D	20 cm	-	△
	整髪料	40 cm	+	○
	制汗剤	45 cm	+	×
調理家電	オーブントースター	30 cm	-	
	ガスコンロ	30 cm	-	
発煙	蚊取り線香	220 cm	+	○
	線香	220 cm	+	○
	アロマ線香 (1 本)	220 cm	+	○
	アロマ (お香 1 個)	220 cm	+	○
	タバコ	220 cm	+	○
その他	電気蚊取り	20 cm	-	
	ろうそく (2 本)	①40 cm ②50 cm	+	×
	固形燃料	55 cm	-	
	レーザーコピー機	30 cm	-	
	シュレッダー	30 cm	-	
	石油ファンヒーター	35 cm	+	×
掃除行為	はたき	部屋全体	+	△
	掃除機	部屋全体	-	
調理行為	ゆでる (野菜)	80 cm	-	
	炒める (野菜)	80 cm	+	×
	炒める (ごはん)	80 cm	+	×
	焼く (卵、ベーコン)	80 cm	-	
	焼く (肉)	80 cm	+	×
	オーブントースター (パンを焦がす)	60 cm	+	×

- : 35 µg/m<sup>3</sup>未満

+ : 35 µg/m<sup>3</sup>以上

○ : 2 回中 2 回とも 1 時間以上持続性あり

△ : 2 回中 1 回だけ 1 時間以上持続性あり

× : 2 回中 2 回とも 1 時間以上持続性なし

2項目及び調理行為6項目について室内のPM2.5濃度に与える影響を調査した。(測定装置は原則、部屋の中央(床上約74cm)に設置した。調理行為については各1回、調理行為以外については各2回測定を行った。

#### 4 家庭用空気清浄機等を用いた除去効果

換気扇は羽根径25cmのものを使用し、空気清浄機は製造する国内メーカーがPM2.5除去効果ありとしている3機種(機種A、B及びC(適応床面積24~25m<sup>2</sup>))を用いた。調査方法については、一般社団法人日本電機工業会の家庭用空気清浄機の微小粒子状物質(PM2.5)に対する除去性能試験方法及び算出方法を参考とした<sup>7)</sup>。まず、上述の実験室中で、線香3本を10分間燃焼させて汚染空間を作成した。線香燃焼中はサーキュレーターを用いて、PM2.5濃度が均一になるように室内空気を攪拌した。空気清浄機又は換気扇、測定装置と発生源は、各々がほぼ等距離になるように設置した(図1)。ただし、空気清浄機は床置き、換気扇は床上約230cmで使用した。除去効果

の調査方法を図2に示した。方法①:線香を消火した後、空気清浄機を最大風量(空気清浄機A及びC:5.5m<sup>3</sup>/min、空気清浄機B:5.1m<sup>3</sup>/min)又は換気扇を稼働させた。方法②:空気清浄機又は換気扇を稼働させた状態で線香を燃焼させた。ただし、空気清浄機は最小風量(1.0m<sup>3</sup>/min)又は自動運転モードで使用した。

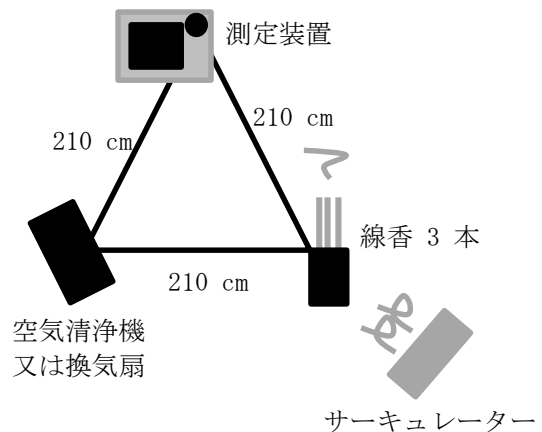


図1 空気清浄機または換気扇、測定装置、発生源及びサーキュレーターの配置図

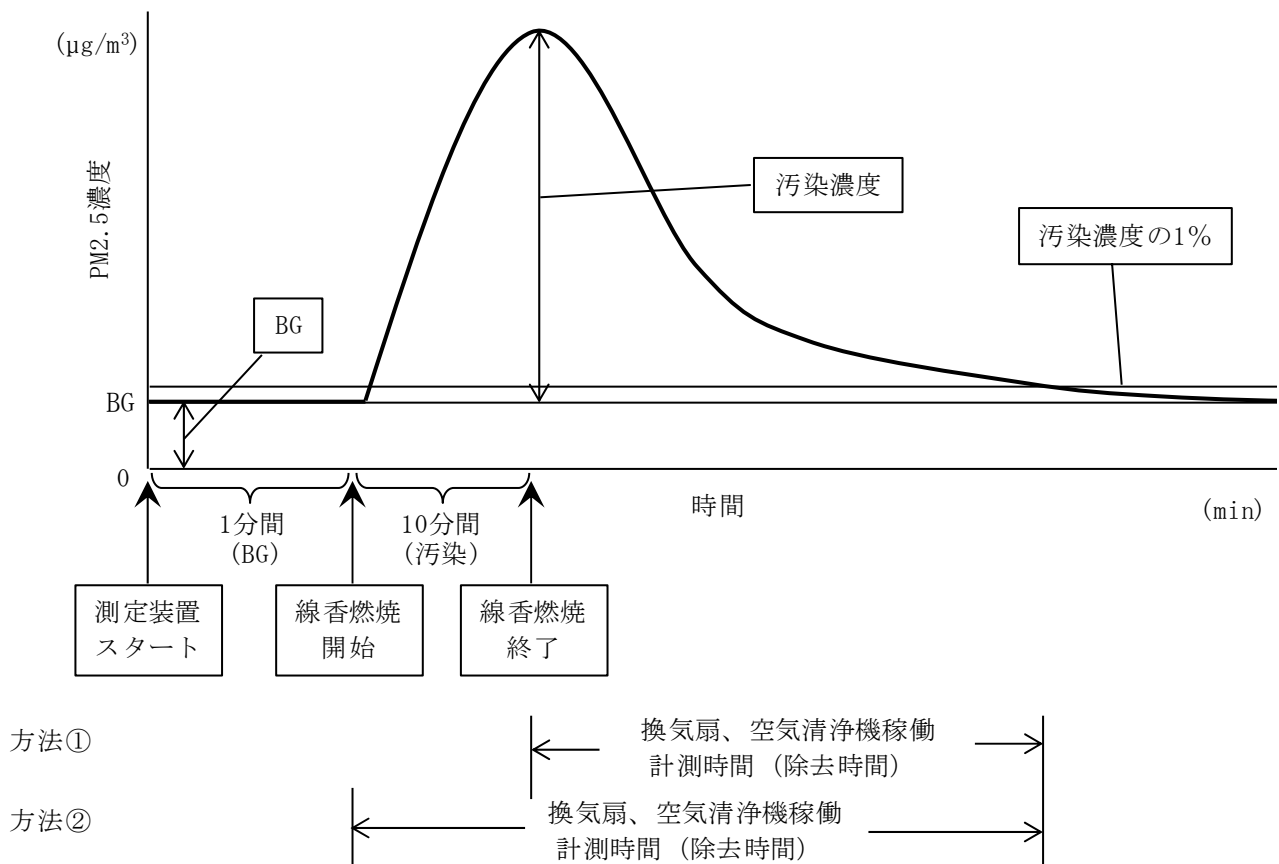


図2 PM2.5除去効果の調査方法

## 結果及び考察

### 1 一般住宅における室内と大気中の PM2.5 濃度の比較

一般住宅等の測定データ結果及び大気中の測定値を表 2 に示した。また、代表的な一般住宅及び事務所における PM2.5 濃度の推移を最も近い距離にある測定局の値とともに図 3 及び 4 に示した。一般住宅 8 において 1 日のみ環境基準の日平均値 ( $35 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ) を超える日を認めた。一般住宅 8 以外では日平均値を超える住宅は認められなかった。生活行為を伴わない事務所の PM2.5 濃度変動は大気中の変動とほぼ連動した。一般住宅室内においても、PM2.5 濃度は概ね大気中と同じ変動を示したが、時折大気よりも高濃度を示す場合があり、室内での発生が示唆された。各住宅と大気中の濃度を時間帯で比較したところ、室内濃度が大気中よ

りも高くなる時間帯は、11 時から 12 時と 18 時から 20 時であり、調査票から調理行為が主な原因であると考えられた。また、調理行為以外の時間帯で朝に高濃度を示した住宅ではスプレーの使用が、夜中に高濃度を示した住宅では、蚊取り線香の使用が確認されたため、これらに原因があると考えられた。

### 2 室内発生源調査

室内発生源調査の対象項目及び結果を表 1 及び図 5 に示した。生活用品では、スプレー類、タバコ、線香及びろうそく等が、生活行為では、調理及びはたきによる掃除がそれに該当した。なかでもタバコ及び線香等の発煙を伴う項目については、実験開始時点の濃度に戻るまでに 1 時間以上かかる場合があった。対象項目の中には、瞬間的に環境基準を大きく超過するものが存在し

表 2 一般住宅における室内と大気中の PM2.5 濃度の比較結果

	測定局 との距離 (km)	調査期間		PM2.5 濃度 ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )				
				1 時間値		日平均値		
				開始	終了	最大値	平均値	最大値
一般住宅 1	6	H25. 12. 30	H26. 1. 4	室内	49	14	22	14
				大気中	29	22	32	22
一般住宅 2	3	H25. 1. 12	H25. 1. 17	室内	139	11	18	11
				大気中	25	11	18	11
一般住宅 3	2	H26. 4. 16	H26. 4. 21	室内	68	19	34	19
				大気中	84	30	57	30
一般住宅 4	3	H26. 10. 12	H26. 10. 17	室内	26	10	19	10
				大気中	29	11	21	12
一般住宅 5	3	H27. 1. 16	H27. 1. 21	室内	30	10	20	10
				大気中	42	15	28	15
一般住宅 6	2	H27. 8. 14	H27. 8. 19	室内	22	9	15	9
				大気中	28	10	16	9
一般住宅 7	2	H27. 8. 27	H27. 9. 1	室内	54	9	13	9
				大気中	19	8	14	8
一般住宅 8	5	H27. 10. 21	H27. 10. 26	室内	72	26	36	26
				大気中	44	19	27	19
一般住宅 9	4	H27. 12. 4	H27. 12. 9	室内	57	8	14	8
				大気中	25	10	14	10
一般住宅 10	2	H27. 12. 25	H27. 12. 30	室内	313	8	20	8
				大気中	36	10	15	10
一般住宅 11	5	H28. 8. 2	H28. 8. 7	室内	196	12	19	12
				大気中	29	12	*	*
一般住宅 12	2	H28. 8. 20	H28. 8. 25	室内	29	4	8	4
				大気中	29	9	*	*
一般住宅 13	4	H28. 9. 16	H28. 9. 21	室内	23	8	17	8
				大気中	24	7	*	*
事務所	3	H26. 4. 8	H26. 4. 13	室内	42	21	30	21
				大気中	56	22	32	22

\*: 愛知県大気汚染実態調査結果 2017. 1. 4 現在未発表

た。なかでも数百  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  という高い濃度上昇を観測したスプレー型の整髪料及び制汗剤については直接人に向けて使用し、使用頻度も比較的高いことから高感受性者には注意が必要と考えられた。タバコについては、450  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  以上の濃度が認められ、従

来から知られているタールやニコチンに加えて、PM2.5による健康影響も懸念される。ほぼ毎日行われる調理では、調理方法、特に焦がしたり、油を燃焼させたりすることによっては数百  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  に及ぶこともあり、調理の際の換気の重要性が示唆された。

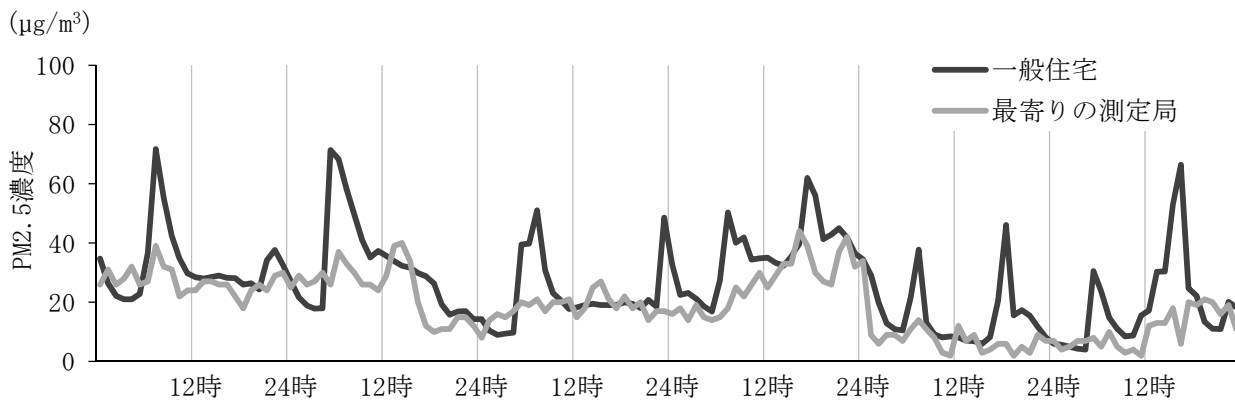


図3 一般住宅と測定局のPM2.5濃度推移

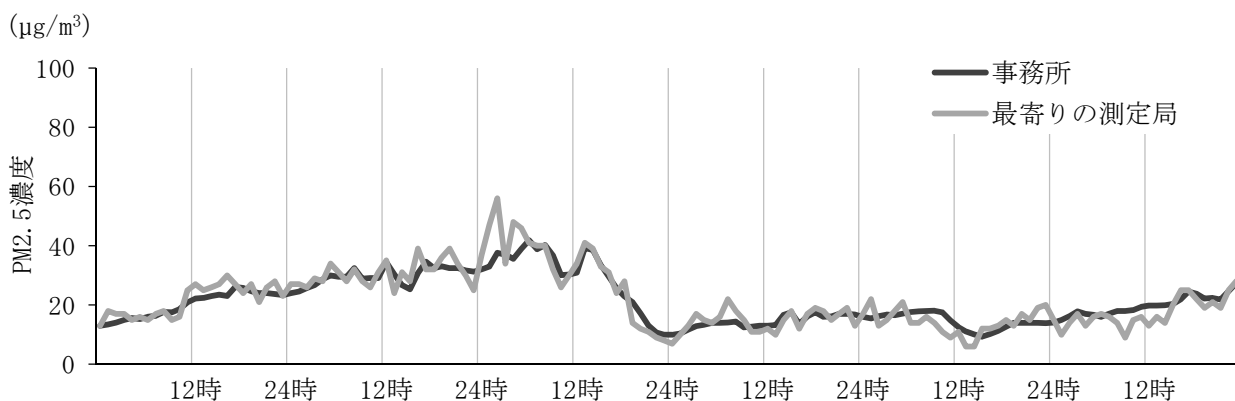


図4 事務所と測定局のPM2.5濃度推移

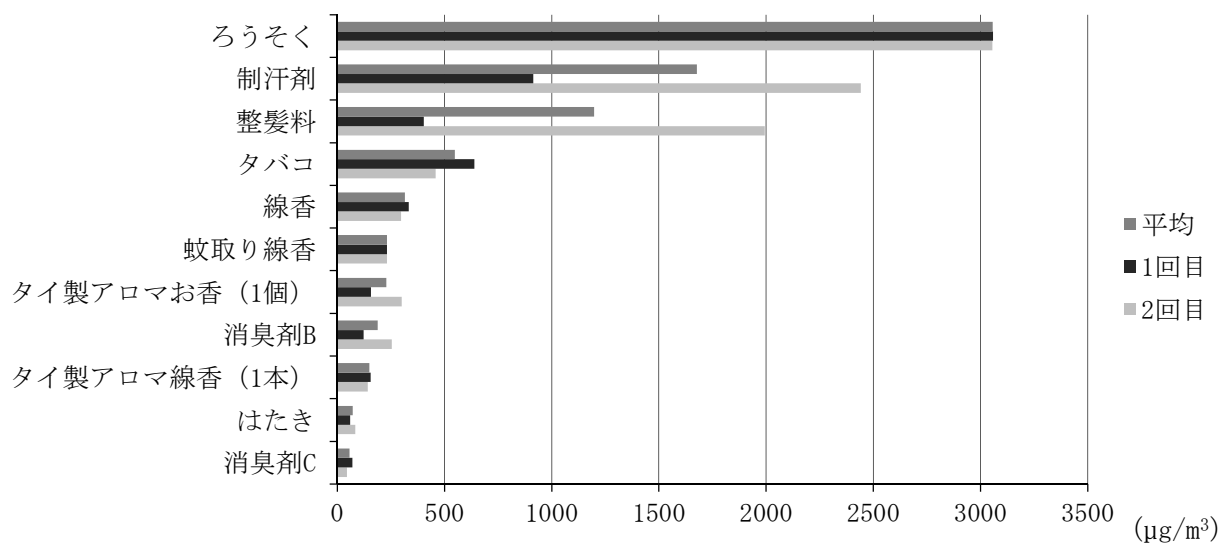


図5 生活用品及び行為がPM2.5に及ぼす影響

### 3 家庭用空気清浄機等を用いた除去効果

線香 3 本を燃焼させて作り出した PM2.5 汚染を、99%除去するために要する時間を比較することにより、空気清浄機及び換気扇の除去能力を評価した。方法①の結果を表 3 及び図 6 に、方法②の結果を表 4 及び図 7 に示した。空気清浄機は、同程度の風量及び適応面積の製品であったため、製品間の差は認められず、ほぼ同等の結果が得られた。方法①：換気扇及び空気清浄機を用いない場合（自然除去）の平均除去時間

は 109 分であったのに対し、換気扇または空気清浄機を使用した場合の除去時間はその 4 分の 1 以下に短縮された。除去速度は換気扇が最も大きく、空気清浄機も、最大風量で使用するという条件下では、換気扇と大差はなかった。方法②：自然除去の平均時間は 79 分であったのに対し、換気扇及び空気清浄機を使用した場合では、4 分の 3 以下に短縮された。空気清浄機の一般的な使用方法は、最小風量または自動モードでの常時運転であると考えられる。この条件

表 3 空気清浄機、換気扇による PM2.5 の除去効果（方法①）

	モード	風量 (m <sup>3</sup> /min)	汚染濃度 平均±標準偏差 (µg/m <sup>3</sup> )	除去時間 平均±標準偏差 (分)
自然除去	-	-	417 ± 12	109 ± 21
換気扇	-	約 20	396 ± 32	15 ± 1
空気清浄機 A	最大風量	5.5	399 ± 6	22 ± 1
空気清浄機 B	最大風量	5.1	383 ± 6	25 ± 0
空気清浄機 C	最大風量	5.5	399 ± 19	25 ± 1

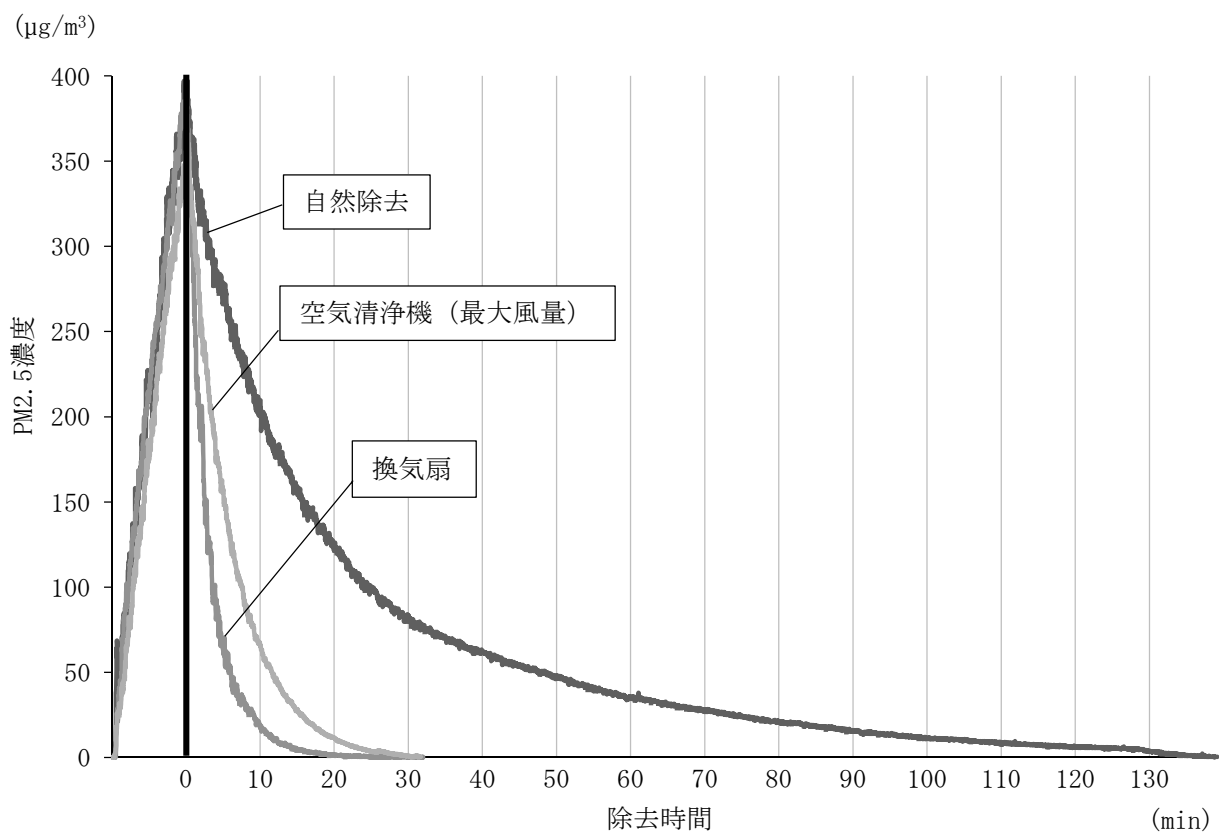


図6 空気清浄機、換気扇によるPM2.5の除去効果（方法①）



での使用は方法①には及ばないが、PM2.5 除去には十分効果があるだけでなく、方法①よりも最高濃度を若干低く抑えることができるという利点が認められた。さらに、空気清浄機には外気濃度が高い場合や閉め切った部屋でエアコン等を使用する夏及び冬場には有効な手段であると考えられた。

### まとめ

室内の PM2.5 濃度は、大気中濃度とほぼ連動して推移しているものの、生活を営んでいる一般住宅では大気中よりも高濃度となることがあり、室内発生源の存在が示唆された。種々の生活行為等を調査した結果、生活用品では発煙を伴うものやスプレー類、生活行為では発煙を伴う調理及び埃の舞う

表 4 空気清浄機、換気扇による PM2.5 の除去効果 (方法②)

	モード	風量 (m <sup>3</sup> /min)	汚染濃度 平均±標準偏差 (μg/m <sup>3</sup> )	除去時間 平均±標準偏差 (分)
自然除去	-	-	305 ± 26	79 ± 15
換気扇	-	約 20	158 ± 40	23 ± 2
空気清浄機 A	最小風量	1.0	285 ± 8	54 ± 1
空気清浄機 B	最小風量	1.0	282 ± 15	59 ± 12
空気清浄機 C	最小風量	1.0	309 ± 33	58 ± 13
空気清浄機 A	自動	-	204 ± 23	43 ± 6
空気清浄機 B	自動	-	202 ± 6	39 ± 7
空気清浄機 C	自動	-	197 ± 3	52 ± 3

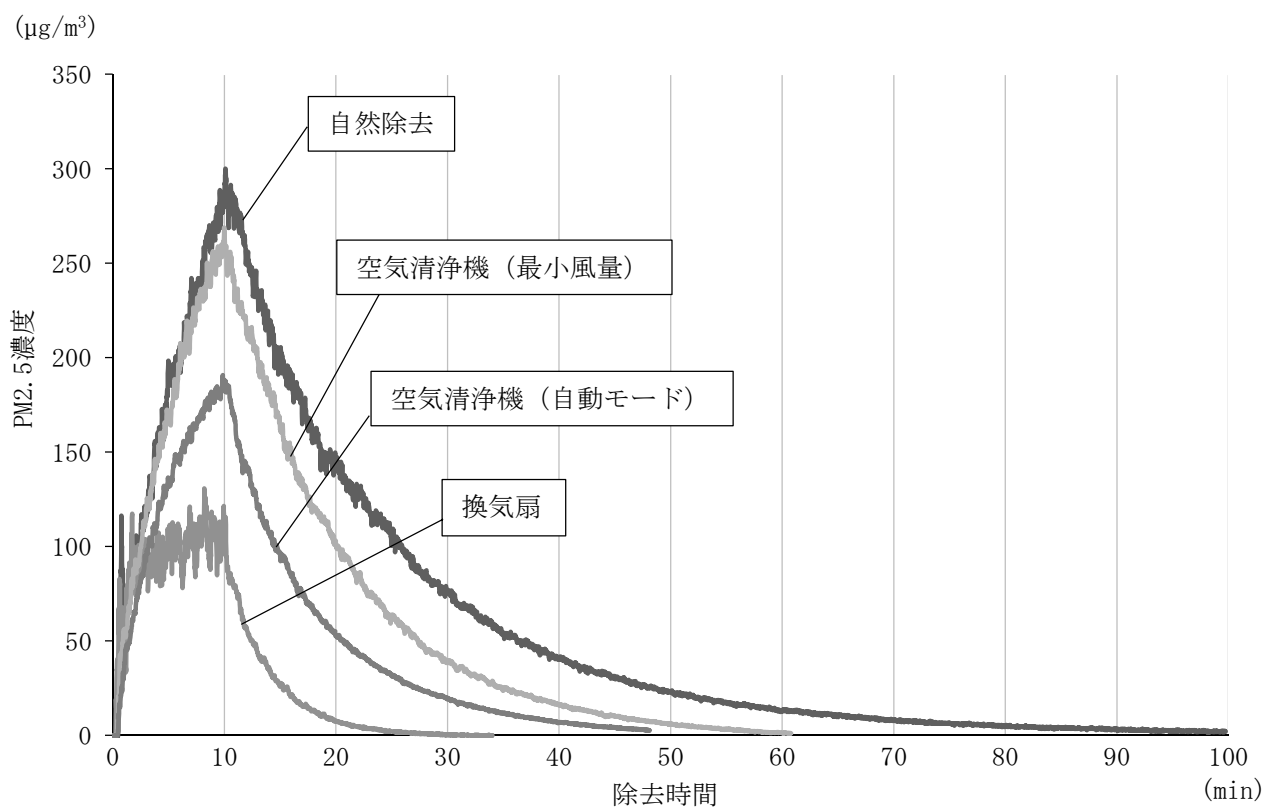


図7 空気清浄機、換気扇によるPM2.5の除去効果 (方法②)

ような掃除などが室内発生源となる可能性が高いと考えられた。これらの低減化に換気扇や空気清浄機が有効であることも明らかとなった。大気中のPM2.5濃度の調査は、環境省により2002年度から行われており、大気汚染防止法に基づく工場・事業場等のばい煙発生施設の排出規制や自動車排出ガス規制等の成果により、年平均値は減少傾向にある<sup>8)</sup>。本県の環境基準達成状況についても平成26年度には52局中12局(23%)であったが、平成27年度には55局中48局(87%)と改善されている<sup>9)</sup>。室内のPM2.5濃度は大気中濃度が低下すれば同様に低下すると考えられるが、それゆえ室内における発生が各家庭においてPM2.5濃度に寄与する割合は大きくなると考えられる。どのような行為がPM2.5の発生源となるかを把握し、曝露時間を低減することが求められており、今回の結果はその一助になると考える<sup>10)</sup>。

#### 謝 辞

本研究は、公益財団法人大同生命厚生事業団平成26年度「地域保健福祉研究助成」により実施しました。研究助成をいただきました大同生命厚生事業団に心より感謝申し上げます。

また、一般住宅における室内の選定及びデータ収集の担当者並びに貴重なご助言をいただいた愛知県健康・快適居住環境検討ワーキンググループ(事務局 生活衛生課)構成員とともに実施したことを記し、関係

各位に感謝申し上げます。

#### 文 献

- 1) 鍵直樹：室内空気環境における新たな汚染物質．保健医療科学 63(4):350-358, 2014.
- 2) 平成21年9月9日，環境省告示第33号，2009.
- 3) 環境省：微小粒子状物質曝露影響調査報告書．環境省，東京、2008.
- 4) 関根嘉香：微小粒子状物質(PM2.5)の健康影響について．室内環境 17(1):19-35, 2014.
- 5) 遠藤真弘：PM2.5による大気汚染の現状と対策．調査と情報 866:1-10, 2015.
- 6) 愛知県大気汚染常時監視結果ホームページ：<http://taiki-kankyo-aichi.jp/kankyo/download/Downloadkansaku.html>
- 7) 一般社団法人日本電機工業会ホームページ：<http://www.jema-net.or.jp/Japanese/ha/kuusei/hyokashiken/pm.pdf>
- 8) 環境省：最近の微小粒子状物質(PM2.5)による大気汚染への対応：<https://www.env.go.jp/air/osen/pm/info/attach/report20130227.pdf>
- 9) 愛知県：平成27年度大気汚染調査結果について：<http://www.pref.aichi.jp/soshiki/taiki/27-kouhyou.html>
- 10) 公益財団法人大同生命厚生事業団 地域保健福祉研究助成 助成実績：[http://www.daido-life-welfare.or.jp/research\\_papers/26/welfare\\_19.pdf](http://www.daido-life-welfare.or.jp/research_papers/26/welfare_19.pdf)

# Concentration of PM2.5 in room air

Rie Aoki, Yuko Yamamoto, Michiyo Kojima, Yasuko Koike,  
Yoshitomo Ikai, Hiroko Minagawa

Recently, much attention has been paid for a particulate matter 2.5 (PM2.5) suspended in the air. Although numerous reports and research data have been published from the Ministry of Environment concerning the atmospheric concentration of PM2.5, there are few reports concerning the PM2.5 concentration obtained indoors where people stay for the most time of life. In this study, we performed the following research using a small-scale monitoring apparatus of particulate matter the concentration of PM2.5 in the living rooms of houses and residential buildings, the potential of some housework and living items as indoor sources of PM2.5 and the utility of home air-cleaner and ventilating fan as eliminating apparatus of PM2.5 from the room air. As a result, the level of PM2.5 in the room air almost always correlated with that of outdoor and tended to drift according to that of outdoor. But the concentration increased temporally following cooking, house cleaning activity, smoking and usage of spray goods, all suggested indoor sources of PM2.5 in the room. Both the air-cleaner and the ventilating fan were able to remove PM2.5 from the room air, and the ventilating fan was somewhat superior in the elimination speed. However the air-cleaner has an ability to reduce PM2.5 below the level of outdoor, so it is recommended to use when the outdoor level is high or when an air-conditioner is in operation.

Key words : PM2.5, indoor source, air-cleaner

---

---

他誌掲載論文抄録

---

---

Molecular epidemiology of enteric viruses in patients with acute gastroenteritis in Aichi prefecture, Japan, 2008/09–2013/14.

Nakamura N<sup>1,2</sup>, Kobayashi S, Minagawa H, Matsushita T<sup>1</sup>, Sugiura W<sup>1,2</sup>, Iwatani Y<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Nagoya University Graduate School of Medicine, <sup>2</sup>Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center

Journal of Medical Virology 88(7):1180-1186, 2016

Acute gastroenteritis is a critical infectious disease that affects infants and young children throughout the world, including Japan. This retrospective study was conducted from September 2008 to August 2014 (six seasons: 2008/09–2013/14) to investigate the incidence of enteric viruses responsible for 1,871 cases of acute gastroenteritis in Aichi prefecture, Japan. Of the 1,871 cases, 1,100 enteric viruses were detected in 978 samples, of which strains from norovirus (NoV) genogroup II (60.9%) were the most commonly detected, followed by strains of rotavirus A (RVA) (23.2%), adenovirus (AdV) type 41 (8.2%), sapovirus (SaV) (3.6%), human astrovirus

(HAstV) (2.8%), and NoV genogroup I (1.3%). Sequencing of the NoV genogroup II (GII) strains revealed that GII.4 was the most common genotype, although four different GII.4 variants were also identified. The most common G-genotype of RVA was G1 (63.9%), followed by G3 (27.1%), G2 (4.7%) and G9 (4.3%). Three genogroups of SaV strains were found: GI (80.0%), GII (15.0%), and GV (5.0%). HAstV strains were genotyped as HAstV-1 (80.6%), HAstV-8 (16.1%), and HAstV-3 (3.2%). These results show that NoV GII was the leading cause of sporadic acute viral gastroenteritis, although a variety of enteric viruses were detected during the six-season surveillance period.

Evaluation of sensitivity of TaqMan RT-PCR for rubella virus detection in clinical specimens.

Okamoto K<sup>1</sup>, Mori Y<sup>1</sup>, Yasui Y, Minagawa H, Otsuki N<sup>1</sup>, Sakata M<sup>1</sup>, Komase K<sup>1</sup>, Takeda M<sup>1</sup> et al.

<sup>1</sup>Department of Virology III, National Institute of Infectious Diseases

Journal of Clinical Virology 80:98-101, 2016

**Background:** An easy and reliable assay for detection of the rubella virus is required to strengthen rubella surveillance. Although a TaqMan RT-PCR assay for detection of the rubella virus has been established in Japan, its utility for diagnostic purposes has not been tested. **Objectives:** To allow introduction of the TaqMan RT-PCR into the rubella surveillance system in Japan, the sensitivity of the assay was determined using representative strains for all genotypes and clinical specimens. **Study design:** The detection limits of the method for individual genotypes were examined using viral RNA extracted from 13 representative strains. The assay was also tested at 10 prefectural laboratories in Japan, designated as local reference laboratories for measles and rubella, to

allow nationwide application of the assay. **Results:** The detection limits and amplification efficiencies of the assay were similar among all the representative strains of the 13 genotypes. The TaqMan RT-PCR could detect approximately 90% of throat swab and urine samples taken up to 5 days of illness. These samples were determined positive by a highly sensitive nested RT-PCR. **Conclusions:** The TaqMan RT-PCR could detect at least 10 pfu of rubella virus. Although the sensitivity was somewhat lower than that of the conventional nested RT-PCR, the TaqMan RT-PCR could be more practical to routine tests for rubella laboratory diagnosis and detection in view of the rapid response and reducing risks of contamination.

Influenza A(H1N1)pdm09 virus exhibiting enhanced cross-resistance to oseltamivir and peramivir due to a dual H275Y/G147R substitution, Japan, March 2016.

Takashita E<sup>1</sup>, Fujisaki S<sup>1</sup>, Shirakura M<sup>1</sup>, Nakamura K<sup>1</sup>, Kishida N<sup>1</sup>, Kuwahara T<sup>1</sup>, Shimazu Y<sup>2</sup>, Shimomura T<sup>3</sup>, Watanabe S<sup>1</sup>, Odagiri T<sup>1</sup>, The Influenza Virus Surveillance Group of Japan (including Yasui Y)

<sup>1</sup>Influenza Virus Research Center, National Institute of Infectious Diseases, <sup>2</sup>Center for Public Health and Environment, Hiroshima Prefectural Technology Research Institute, <sup>3</sup>Hiroshima Nishi Medical Center

Eurosurveillance 21(24):30258. doi:10.2807/1560-7917.ES.2016.21.24.30258(2016)

An influenza A (H1N1) pdm09 virus carrying a G147R substitution in combination with an H275Y substitution in the neuraminidase protein, which confers cross-resistance to oseltamivir and peramivir, was detected from an immunocompromised inpatient in Japan,

March 2016. This dual H275Y/G147R mutant virus exhibited enhanced cross-resistance to both drugs compared with the single H275Y mutant virus and reduced susceptibility to zanamivir, although it showed normal inhibition by laninamivir.

## Applying a PCR-based open-reading frame typing method for easy genotyping and molecular epidemiological analysis of *Pseudomonas aeruginosa*.

Suzuki M, Yamada K, Aoki M, Hosoba E<sup>1</sup>, Matsumoto M, Baba H<sup>2</sup>, Iinuma Y<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Infectious Diseases and Immunology, Clinical Research Center, National Hospital Organization Nagoya Medical Center, <sup>2</sup>Department of Infectious Diseases, Kanazawa Medical University

Journal of Applied Microbiology 120(2):487-497, 2016

AIMS: Molecular epidemiological techniques, such as pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), or multilocus sequence typing (MLST) have facilitated our understanding of the transmission routes of nosocomial infections by *Pseudomonas aeruginosa*. However, they are time consuming and technically demanding. To perform molecular epidemiological analysis in a standard microbiology laboratory, we aimed to develop a simpler and effective molecular epidemiological technique based on the open-reading frame (ORF) distribution patterns detected by PCR, which we call PCR-based ORF typing (POT).

METHODS AND RESULTS: Ten ORFs from genomic islets, five ORFs from genomic islands, and the metallo- $\beta$ -

lactamases (MBLs) *bla*<sub>IMP</sub> and *bla*<sub>VIM</sub> were selected by comparing the whole-genome sequences of different *Ps. aeruginosa* strains (PAO1, PA7, UCBPP-PA14 and LESB58). These 17 ORFs were detected, along with a *Ps. aeruginosa* marker, using 9-plex and 10-plex PCR systems. The genotypes in the POT were compared to those obtained by using PFGE and MLST.

CONCLUSIONS: Using the POT method, molecular epidemiological analyses of *Ps. aeruginosa* can be completed in 4 h.

SIGNIFICANCE AND IMPACT OF THE STUDY: Since this method is very easy to perform, even in standard clinical laboratories, it could be a valuable tool for monitoring daily infection control measures.

## Description of the pathogenic features of *Streptococcus pyogenes* isolates from invasive and non-invasive diseases in Aichi, Japan.

Matsumoto M, Yamada K, Suzuki M, Adachi H, Kobayashi S, Yamashita T, Minagawa H, Tatsuno I<sup>1</sup>, Hasegawa T<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Bacteriology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Japanese Journal of Infectious Diseases 69(4):338-341, 2016

We identified hypervirulent *Streptococcus pyogenes* in 27 and 420 isolates from patients with invasive and non-invasive diseases, respectively, in Aichi Prefecture, Japan, between 2003 and 2012, in an attempt to understand why the prevalence of streptococcal toxic shock syndrome (STSS) suddenly increased in this location during 2011. Hypervirulent strains belong to the *emm1* genotype, with a mutation in the *covR/S* genes that regulate many other genes, encoding virulence determinants and resulting in the absence of the proteinase streptococcal exotoxin B and the production of virulence factors such as the superantigen streptococcal exotoxin A, the nuclease streptococcal DNase, the cytotoxin NAD-

glycohydrolase, and the hemolysin streptolysin O. We found 1 strain from invasive disease and 1 from non-invasive disease with traits similar to those of hypervirulent strains, except that the *sda1* gene was absent. We also found 1 non-*emm1* strain with phenotypic and genetic traits identical to those of the *emm1* hypervirulent strains except that it did not belong to *emm1* genotype, from non-invasive diseases cases in 2011. These findings suggested that hypervirulent and hypervirulent-like strains from invasive and non-invasive disease cases could have at least partially contributed to the sudden increase in the number of patients with STSS in Aichi during 2011.

## 愛知県衛生研究所 生物学部 ウイルス研究室

皆川洋子、安井善宏

臨床とウイルス 44(3):127-129, 2016

愛知県衛生研究所ウイルス研究室について、健康危機対応と研究機能の両立をめざして地  
その前身を含む沿革及び業務について紹介し、道な研究を続けている現状を述べた。

## 国内で流行するムンプスウイルスの分子疫学的解析

木所 稔<sup>1</sup>、村野けい子<sup>1</sup>、加藤大志<sup>1</sup>、久保田 耐<sup>1</sup>、竹田 誠<sup>1</sup>、愛知県衛生研究所他（協  
力地衛研及び医療機関）

<sup>1</sup> 国立感染症研究所ウイルス第三部

病原微生物検出情報 37(10):194-195, 2016

近年ムンプスワクチンの定期接種に対する社会的ニーズが高まっている。定期接種導入に際してはワクチンの効果や安全性評価のために、国内で流行するウイルスの分子疫学的データの集積が必須であり、そのためのネットワーク整備は喫緊の課題である。我々は、2012年から全国18の地方衛生研究所および4カ所の病院の協力を得て、各地で検出されたムンプスウイルスの塩基

配列情報を集約し、国内流行株の分子疫学的解析を行ってきた。現在のムンプスウイルスの系統分類基準では12の遺伝子型(A~N, ただしEとMは欠番)が同定されているが、国内では、2000年から現在まで遺伝子型Gの独占的流行が続いている。今回は主に2012年以降の国内流行状況について概説する。

## 不活化ワクチン導入前後のポリオの接種状況および抗体保有状況—感染症流行予測調査より

佐藤 弘<sup>1</sup>、多屋馨子<sup>1</sup>、清水博之<sup>2</sup>、愛知県衛生研究所他(ポリオ感受性調査実施都道府県)  
<sup>1</sup>国立感染症研究所感染症疫学センター、<sup>2</sup>国立感染症研究所ウイルス第二部  
病原微生物検出情報 37(2):26-27, 2016

感染症流行予測調査におけるポリオ感受性調査は、ポリオに対する感受性を把握し、効果的な予防接種施策を図るための資料にすることを目的として、乳幼児から高齢者まで幅広い年齢層における抗体保有状況ならびに予防接種状況の調査を行っている。

わが国におけるポリオの定期予防接種は1960年代以降、経口生ポリオワクチン(OPV)により実施されてきたが、2012年に不活化ポリオワクチンを含むワクチン[IPV含有ワクチン:単独不活化ポリオワクチン(cIPV ※野生株由来)、4種混合ワクチン(DPT-

sIPV ※弱毒株由来)]に切り替わった。ワクチンの切り替わりにより予防接種スケジュールも変更となり、それまでにOPVの接種を2回受けた者はIPV含有ワクチンの接種は必要ないが、OPV接種が1回の者はIPV含有ワクチン3回、OPV未接種の者はIPV含有ワクチン4回の接種が必要とされた。また、2015年12月には野生株由来の不活化ポリオワクチンを含む4種混合ワクチン(DPT-cIPV)の販売も開始された。これらIPV含有ワクチン導入前後のポリオの予防接種状況および抗体保有状況について報告する。

## 平成26年度感染症流行予測調査事業ポリオ環境水調査にて検出されたウイルスについて

吉田 弘<sup>1</sup>、愛知県衛生研究所他(ポリオ環境水サーベイランス協力地衛研)  
<sup>1</sup>国立感染症研究所ウイルス第二部  
病原微生物検出情報 37(2):27-29, 2016



1960年代初頭より定期接種用ワクチンとして用いられてきた経口弱毒生ポリオワクチンは2012年9月より不活化ポリオワクチンに切り替わった。環境水サーベイランスは、従来から一部の地方衛生研究所(地衛研)の調査研究で行われてきたが、不活化ポリオワクチンに切り替わったのち、平成25(2013)年度より感染症流行予測調査事業ポリオ感染源調査として新たに開始することとなった。また、同時期に予防接種法が改正され、事業自体が法的に位置付けられた。本調査の目的は輸入が想定されるポリオウイルスについて、流入下水を検査材料として効率よく監視することである。

初年度は8地衛研が事業として、5地衛研が調査研究として実施したところ、ポリオウイルスは検出されなかった。平成26(2014)年度は事業として14カ所、調査研究5カ所の計19カ所で調査を実施した。19カ所の下水利用人口は、延べ約500万人である。2014年10月1日に採水した下水濃縮物より3型ポリオウイルス株が分離された。分離株は実施要領に基づき国立感染症研究所(感染研)ウイルス第二部に送付され、型内鑑別の結果、ワクチン株(Sabin 3)であることが確認された。なお、検出された当該地域では、翌11、12月とも連続して、ポリオウイルスは検出されなかった。

## 平成27年度ポリオ環境水サーベイランス(感染症流行予測調査事業および調査研究)にて検出されたエンテロウイルスについて

吉田 弘<sup>1</sup>、愛知県衛生研究所他(ポリオ環境水サーベイランス協力地衛研)

<sup>1</sup>国立感染症研究所ウイルス第二部

病原微生物検出情報 37(10):208-209, 2016

経口生ポリオワクチン(OPV)に代わる定期接種用ワクチンとして、わが国では2012年9月より不活化ポリオワクチン(IPV)を導入した。そして2013年度より、輸入が想定されるポリオウイルスを効率よく監視する環境水サーベイランスを感染症流行予測調査事業感染源および各地方衛生研究所による調査研究として開始することとなった。本調査では2015年1月～2016年3月の間、月1回の頻度で流入下水を採取した。なお事業として16カ所、調査研究として2カ所、計18カ所の地衛研の協力を得ており、

調査対象地域の下水道利用人口は合計約600万人である。平成27年度感染症流行予測調査事業実施要領に基づき、流入下水を陰電荷膜法にて濃縮(50～100倍)し、ウイルス分離・同定を行った。平成27年度の調査期間においては、ポリオウイルスの検出はなかった。環境水からは主にエンテロウイルスB群に属するウイルスが検出された。今後も感染症発生動向調査の結果と組み合わせ質の高いポリオウイルスの監視を継続する必要がある。

## 2015/16シーズンのインフルエンザ分離株の解析

中村一哉<sup>1</sup>、岸田典子<sup>1</sup>、藤崎誠一郎<sup>1</sup>、白倉雅之<sup>1</sup>、高下恵美<sup>1</sup>、桑原朋子<sup>1</sup>、佐藤 彩<sup>1</sup>、秋元未来<sup>1</sup>、三浦秀佳<sup>1</sup>、小川理恵<sup>1</sup>、菅原裕美<sup>1</sup>、渡邊真治<sup>1</sup>、小田切孝人<sup>1</sup>、**地方衛生研究所インフルエンザ株サーベイランスグループ**（安井善宏他）

<sup>1</sup>国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センター  
病原微生物検出情報 37(11):214-219, 2016

2015/16 シーズンのインフルエンザは、2016年第1週に定点当たりの報告が1を超え、流行期に突入した。これは前シーズンより5週遅い流行入りであった。国内のインフルエンザウイルスの流行はA(H1N1)pdm09、A(H3N2)およびB型の混合流行であったが、A(H1N1)pdm09 ウイルスが2013/14 シーズン以来2年ぶりに流行の主

流であった。国立感染症研究所では2015/16 シーズンに全国の地方衛生研究所で分離および型・亜型同定されたウイルスの約10%について分与を受け、ヘマグルチニン遺伝子系統樹解析、抗原性解析および抗インフルエンザ薬耐性の検出と性状解析を行った。

## POT 法で解明された当院新生児センターにおける methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)アウトブレイクの伝播様式

山田貴子<sup>1</sup>、杉浦康行<sup>1</sup>、奥平正美<sup>1</sup>、稲富里絵<sup>1</sup>、巽 則雄<sup>1</sup>、磯部貴子<sup>1</sup>、原 徹<sup>1</sup>、岡村武彦<sup>1</sup>、犬塚和久<sup>2</sup>、**鈴木匡弘**

<sup>1</sup>安城更生病院 Infection Control Team、<sup>2</sup>愛知県厚生連医療事業部  
日本臨床微生物学雑誌 26(4):21-26, 2016

当院新生児センターでは感染管理のために、入院時には咽頭、胃液、耳孔、入院後は週一回の鼻腔を対象とした methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)の監視培養を実施しており、月に1~2件の新規発生MRSAが検出される状況であった。今回、2011年に5ヶ月間で計19名の患児より新規にMRSAが検出されるアウトブレイク事例を経験した。同時期に検出された新生児センター以外の小児科由来株を含めた伝播経路の検討を行った。

アウトブレイクが発生した2011年の5ヶ月間に検出された新規発生MRSA55株(新生児センター19株、小児病棟2株、小児科外来34株)を対象としPCR-based open reading frame typing (POT)法を実施した。

あわせて表皮剥離毒素 exfoliative toxin (ET-A、ET-B) 遺伝子検出も行い、患者移動情報とあわせて解析した。

POT法によって55株はグループAからFの6グループと散发例に分類された。新生児センターの19株のうち、13株がグループA(POT型73-158-122、ET-B陽性)に分類され、速乾性手指消毒剤の使用量に大きな変動がないにもかかわらず、特に5ヶ月目に新規発生数を多く認めた。解析結果より、MRSA保菌患児とベッドが隣接している患児から同一クローンが検出されており、水平伝搬が疑われた。

POT法を用いた分子疫学的解析により水平伝搬が証明され、職員の意識が高まり、終息に繋がったと考えられた。

## ニガナの白和えを原因食品とする *Escherichia albertii* による集団食中毒事例 — 沖縄県

高良武俊<sup>1</sup>、仲間絵理<sup>1</sup>、喜屋武向子<sup>1</sup>、柿田徹也<sup>1</sup>、久場由真仁<sup>1</sup>、加藤峰史<sup>1</sup>、久高 潤<sup>1</sup>、  
天久朝信<sup>2</sup>、伊元信治<sup>2</sup>、仲宗根猛智<sup>2</sup>、稲葉千恵<sup>2</sup>、上原えりな<sup>2</sup>、上間信平<sup>2</sup>、山田和弘、  
平山達也、青木美耶子、白鳥浩美、田中佑三世、鈴木匡弘、安井善宏、松本昌門

<sup>1</sup> 沖縄県衛生環境研究所、<sup>2</sup> 沖縄県北部保健所  
病原微生物検出情報 37(12):252-253, 2016

沖縄県に修学旅行に行った高等学校の食中毒の疑い検体の検査を行った。当該団体は2016年5月22日～24日の日程で旅行し、発症時間が集中する一峰性の患者発生パターンを示していた。愛知県衛生研究所における有症者の検査から、*E. albertii* が起因菌として同定され、沖縄県衛生環境研究所においても *E. albertii* 分離同定検査を実施したところ、ニガナ（キク科の葉野菜）の白和え及び従業員から *E. albertii*

が分離された。有症者、ニガナの白和え及び従業員由来株はパルスフィールド・ゲル電気泳動解析において、同一株であることが示唆された。また当該団体以外にはニガナの白和えは提供されておらず食中毒様症状を呈した有症苦情はなかったこともあり、本事例はニガナの白和えを原因食品とする *E. albertii* による集団食中毒事例であると断定された。

## ポリスチレン製器具・容器包装における揮発性物質試験の試験室間共同試験

菌部博則<sup>1</sup>、六鹿元雄<sup>2</sup>、阿部 孝<sup>3</sup>、阿部智之<sup>4</sup>、阿部 裕<sup>2</sup>、大坂郁恵<sup>5</sup>、大野春香、大野浩之<sup>6</sup>、大野雄一郎<sup>7</sup>、大畑昌輝<sup>8</sup>、尾崎麻子<sup>9</sup>、柿原芳輝<sup>10</sup>、小林 尚<sup>11</sup>、柴田 博<sup>12</sup>、関戸晴子<sup>13</sup>、高坂典子<sup>14</sup>、竹中佑<sup>1</sup>、但馬吉保<sup>15</sup>、田中葵<sup>16</sup>、外岡大幸<sup>17</sup>、中西徹<sup>18</sup>、野村千枝<sup>19</sup>、羽石奈穂子<sup>20</sup>、早川雅人<sup>21</sup>、疋田晃典<sup>22</sup>、松山重倫<sup>8</sup>、三浦俊彦<sup>23</sup>、山口未来<sup>2</sup>、渡辺一成<sup>24</sup>、佐藤恭子<sup>2</sup>、穠山 浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(一財)日本文化用品安全試験所、<sup>2</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3</sup>(一財)日本食品分析センター彩都研究所、<sup>4</sup>(公社)日本食品衛生協会、<sup>5</sup>埼玉県衛生研究所、<sup>6</sup>名古屋市衛生研究所、<sup>7</sup>(一財)千葉県薬剤師会検査センター、<sup>8</sup>(独)産業技術総合研究所、<sup>9</sup>大阪市立環境科学研究所、<sup>10</sup>(一財)日本穀物検定協会、<sup>11</sup>(一財)食品分析開発センターSUNATEC、<sup>12</sup>(一財)東京顕微鏡院、<sup>13</sup>神奈川県衛生研究所、<sup>14</sup>(一財)食品薬品安全センター秦野研究所、<sup>15</sup>(一財)食品環境検査協会、<sup>16</sup>(一社)日本海事検定協会、<sup>17</sup>さいたま市健康科学研究センター、<sup>18</sup>(一財)日本食品分析センター多摩研究所、<sup>19</sup>大阪府立公衆衛生研究所、<sup>20</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>21</sup>(一財)化学研究評価機構大阪事業所、<sup>22</sup>長野県環境保全研究所、<sup>23</sup>(一財)日本冷凍食品検査協会、<sup>24</sup>(一財)化学研究評価機構東京事業所  
食品衛生学雑誌 57(5):169-178, 2016

食品衛生法におけるポリスチレン製器具・容器包装の揮発性物質試験の性能を評価するため、ポリスチレン、アクリロニトリル・スチレン共重合樹脂、アクリロニトリル・ブタジエン・スチレン共重合樹脂のペレットを検体として、試験室間共同試験を行った。当試験には 21 機関が参加し、3 検体（各 2 測定）について規制対象であるスチレン、トルエン、エチルベンゼン、イソプロピルベンゼンおよびプロピルベンゼンの含有量を GC-FID、GC-MS およびヘッド

スペース (HS) -GC により定量した。GC-FID を用いた方法による併行精度 (RSDr) は 1.0 ~ 2.6%、室間再現精度 (RSDr) は 2.5 ~ 5.8% であり、その性能は目標値を満たしており、規格試験法として十分であった。GC-MS における RSDr は 1.4 ~ 7.8%、RSDr は 4.9 ~ 13%、HS-GC における RSDr は 2.0 ~ 2.6%、RSDr は 3.3 ~ 6.9% であり、それらの定量値は GC-FID とほぼ同等であった。そのため、これらは規格試験法の代替法として適用可能であった。

### ナイロン製器具・容器包装におけるカプロラクタム試験の試験室間共同試験

渡辺一成<sup>1</sup>、六鹿元雄<sup>2</sup>、阿部 孝<sup>3</sup>、阿部智之<sup>4</sup>、阿部 裕<sup>2</sup>、大坂郁恵<sup>5</sup>、大野春香、大野浩之<sup>6</sup>、大野雄一郎<sup>7</sup>、尾崎麻子<sup>8</sup>、柿原芳輝<sup>9</sup>、小林 尚<sup>10</sup>、近藤貴英<sup>11</sup>、柴田 博<sup>12</sup>、城野克弘<sup>13</sup>、関戸晴子<sup>14</sup>、菌部博則<sup>15</sup>、高坂典子<sup>16</sup>、但馬吉保<sup>17</sup>、田中 葵<sup>18</sup>、田中秀幸<sup>13</sup>、中西 徹<sup>19</sup>、野村千枝<sup>20</sup>、羽石奈穂子<sup>21</sup>、早川雅人<sup>22</sup>、疋田晃典<sup>23</sup>、三浦俊彦<sup>24</sup>、山口未来<sup>2</sup>、佐藤恭子<sup>2</sup>、穂山 浩<sup>2</sup>

<sup>1</sup>(一財)化学研究評価機構東京事業所、<sup>2</sup>国立医薬品食品衛生研究所、<sup>3</sup>(一財)日本食品分析センター彩都研究所、<sup>4</sup>(公社)日本食品衛生協会、<sup>5</sup>埼玉県衛生研究所、<sup>6</sup>名古屋市衛生研究所、<sup>7</sup>(一財)千葉県薬剤師会検査センター、<sup>8</sup>大阪市立環境科学研究所、<sup>9</sup>(一財)日本穀物検定協会、<sup>10</sup>(一財)食品分析開発センターSUNATEC、<sup>11</sup>さいたま市健康科学研究センター、<sup>12</sup>(一財)東京顕微鏡院、<sup>13</sup>(独)産業技術総合研究所、<sup>14</sup>神奈川県衛生研究所、<sup>15</sup>(一財)日本文化用品安全試験所、<sup>16</sup>(一財)食品薬品安全センター秦野研究所、<sup>17</sup>(一財)食品環境検査協会、<sup>18</sup>(一社)日本海事検定協会、<sup>19</sup>(一財)日本食品分析センター多摩研究所、<sup>20</sup>大阪府立公衆衛生研究所、<sup>21</sup>東京都健康安全研究センター、<sup>22</sup>(一財)化学研究評価機構大阪事業所、<sup>23</sup>長野県環境保全研究所、<sup>24</sup>(一財)日本冷凍食品検査協会  
食品衛生学雑誌 57(6):222-229, 2016

食品衛生法ではナイロン製器具・容器包装からのカプロラクタムの溶出量が規制されている。そこで、公定法である GC-FID 法とその代替法である GC-MS 法の性能を評価するため、20 機関で試験室間共同試験を行った。各試験機関は、濃度非明示の 20% エタノール溶液 (3 検体、各 2 測定) 中のカプロラクタムを GC-FID または GC-MS により定量した。公定法 (GC-FID を用いた絶対検量線による定量) における真度は 96 ~ 97%、併行精度 (RSDr) は 3.3 ~ 5.4%、室間再現

精度 (RSDr) は 4.0 ~ 6.7% であり、これらの値は目標値 (真度: 80 ~ 110%、RSDr: 10%、RSDr: 25%) を満たしていた。さらに、ヘプタラクタムを用いて内標準補正を行うといずれの性能パラメーターも向上した。GC-MS 法では、絶対検量線法において一部の RSDr が目標値の 10% を超えた。しかし、内標準補正を行うと真度は 94 ~ 96%、RSDr は 2.0 ~ 4.4%、RSDr は 7.0 ~ 9.4% であり、規格試験法の代替法として適用可能であった。

## Characteristic oxidation behavior of $\beta$ -cyclocitral from the cyanobacterium *Microcystis*.

Tomita K, Hasegawa M<sup>1</sup>, Arai S<sup>1</sup>, Tsuji K<sup>2</sup>, Bober B<sup>1,3</sup>, Harada K<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Graduate School of Environmental and Human Science and Faculty of Pharmacy, Meijo University, <sup>2</sup>Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, <sup>3</sup>Department of Plant Physiology and Development, Jagiellonian University  
Environmental Science and Pollution Research 23(12):11998-12006, 2016

The cyanobacterium, *Microcystis*, produces volatile organic compounds such as  $\beta$ -cyclocitral and 3-methyl-1-butanol. The lysis of cyanobacteria involving the blue color formation has been occasionally observed in a natural environment. In this study, we focused on the oxidation behavior of  $\beta$ -cyclocitral that contributed to the blue color formation in a natural environment and compared  $\beta$ -cyclocitral with a structurally-related compound concerning its oxidation, acidification and lytic behavior. The oxidation products of  $\beta$ -cyclocitral were identified by the addition of  $\beta$ -cyclocitral in water, in which 2,2,6-trimethylcyclohex-1-ene-1-yl formate and 2,2,6-trimethylcyclohexanone were structurally characterized. That is,  $\beta$ -cyclocitral was easily oxidized to produce the corresponding carboxylic acid and the enol ester in water without an oxidizing reagent, suggesting that this oxidation proceeded according to the

Baeyer-Villiger oxidation. The oxidation behavior of  $\beta$ -cyclocitral in a laboratory was different from that in the natural environment, in which 2,2,6-trimethylcyclohexanone was detected at the highest amount in the natural environment, whereas the highest amount in the laboratory was  $\beta$ -cyclocitric acid. A comparison of  $\beta$ -cyclocitral with structurally similar aldehydes concerning the lytic behavior of a *Microcystis* strain and the acidification process indicated that only  $\beta$ -cyclocitral was easily oxidized. Furthermore, it was found that a blue color formation occurred between pH 5.5 and 6.5, suggesting that chlorophyll a and  $\beta$ -carotene are unstable and decomposed, whereas phycocyanin was stable to some extent in this range. The obtained results of the characteristic oxidation behavior of  $\beta$ -cyclocitral would contribute to a better understanding of the cyanobacterial life cycle.

編集情報運営委員会

委員長 : 鈴木 正弘 (研究監)  
委員 : 石川 潔 (総務課)  
広瀬かおる (企画情報部)  
中村 瑞那 (企画情報部・健康科学情報室)  
伊藤 雅 (生物学部・ウイルス研究室)  
山田 和弘 (生物学部・細菌研究室)  
長谷川晶子 (生物学部・医動物研究室)  
梅村 優子 (衛生化学部・医薬食品研究室)  
齋藤 友睦 (衛生化学部・生活科学研究室)

愛知県衛生研究所報

第 67 号

平成 29(2017)年 3 月 発行

〒462-8576 名古屋市北区辻町字流 7 番 6

愛知県衛生研究所

所長 皆川洋子

愛知県衛生研究所ウェブサイト：<http://www.pref.aichi.jp/eiseiken>

電話：ダイヤルイン

所長	052-910-5604
次長	052-910-5683
研究監	052-910-5684
総務課	052-910-5618
企画情報部長	052-910-5619
健康科学情報室	
生物学部長	052-910-5654
ウイルス研究室	052-910-5674
細菌研究室	052-910-5669
医動物研究室	052-910-5654
衛生化学部長	052-910-5638
医薬食品研究室	052-910-5639
生活科学研究室	052-910-5643

FAX： 052-913-3641

e-mail: [eiseiken@pref.aichi.lg.jp](mailto:eiseiken@pref.aichi.lg.jp)

Published by

AICHI PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH  
7-6 Nagare, Tsuji-cho, Kita-ku, Nagoya, 462-8576 Japan

(この刊行物は再生紙を使用しています)