

微生物部門



1 試験検査業務

(1) 食中毒・有症苦情等の細菌・ウイルス検査

保健所東部生活衛生課及び西部生活衛生課の依頼により、食中毒の疑い(有症苦情を含む)で8事例について食中毒原因菌、ウイルスの検査を行った。

ウイルス検査は、原則ノロウイルスを対象とした。

表1に検査件数と結果を示した。

このうち、市内発生の細菌性・ウイルス性食中毒事件は3件で、細菌性食中毒が2件、ウイルス性食中毒が1件であった。

原因の内訳は、ウェルシュ菌によるものが1件、カンピロバクター属菌によるものが1件、ノロウイルスによるものが1件であった。

表2に市内発生の食中毒事件の概略をまとめた。

表1 食中毒(疑)・有症苦情等検査件数 ★は食中毒事件と判定されたもの

事例番号	※発生月	細菌検査(寄生虫含む)						ウイルス検査					検出微生物もしくは特記事項
		患者便等	従業員便	ふき取り	食品・水	その他	計	患者便等	従業員便	ふき取り	食品	計	
★1	8	13	7		7		27	13	7			20	ウェルシュ菌
2	9	3	2	9	7		21						
3	11	2					2						下関市依頼
4	11	2	2	9			13						カンピロバクター
5	11	1	2	5		2	10						カンピロバクター
6	12	2	3				5						
★7	1						0	9	5			14	ノロウイルスGⅡ
★8	1	3	5				8						カンピロバクター
計		26	21	23	14	2	86	22	12			34	

表2 市内発生食中毒事件の概略

発生年月日	発生場所	摂食者数	患者数	原因食品	原因物質	原因施設
令和3年8月19日	八幡西区	32	14	ほうれんそうの煮びたし	ウェルシュ菌	高齢者施設
令和4年1月2日	八幡西区	74	48	仕出し料理	ノロウイルス	飲食店
1月9日	小倉北区	4	3	不明(鶏料理を含むコース料理)	カンピロバクター	飲食店

(2) 食品衛生に関わる細菌・ウイルス及び残留抗生物質の検査

① 市内流通食品の収去等検査

保健所東部生活衛生課及び西部生活衛生課が行う食品の収去品等の検査を行った。令和3年度に行った微生物学的試験は、324検体976項目で、詳細を表3に示す。

② 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査

厚生労働省実施事業「畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査」の一環として、保健所東部生活衛生課の依頼により、国内産の鶏卵4検体、鶏肉2検体、生乳1検体について、食品の規格基準に基づく抗生物質の残留検査を行った。検査の結果、全て基準値未満であった。

③ 市内流通食品のモニタリング検査

平成30年度まで厚生労働省からの委託事業として行っていた「食中毒菌汚染実態調査」を、令和元年度からは本市の独自事業として、市内流通食品を対象に微生物検査を実施している。令和3年度は総計43検体を検査した結果、1検体から大腸菌を検出した。腸管出血性大腸菌、サルモネラ属菌及びカンピロバクター・ジェジュニ／コリについては、すべて陰性であった。

④ カキのノロウイルス汚染実態調査

保健所東部生活衛生課の依頼により、12月から1月までの冬季の2か月間、月1回、市内4か所の養殖場のカキ(浄化後)について、リアルタイムPCR法を用いてノロウイルスの検査を実施した。総計10検体を検査した結果、すべて陰性であった。

(3) 遺伝子組換え食品検査

保健所東部生活衛生課及び西部生活衛生課の依頼により、ばれいしょ加工品10検体について、安全性未審査の遺伝子組換えばれいしょ F10、J3、Y9、X17の遺伝子をリアルタイムPCR法により検査した。結果はすべて陰性であった。

(4) 感染症発生動向調査事業の病原体調査

感染症サーベイランス事業における市内の病原体定点から送付される患者検体について病原体検査を実施した。

ウイルス分離には、HEp-2、RD-18S、Vero及びRD-Aの4種類の細胞(インフルエンザ様疾患についてはMDCKを加えた5種類)を用い、CPEを指標に3代目まで継代を行った。分離されたウイルスは、型特異抗血清を用いた中和試験、直接蛍光抗体法またはPCR検査等により同定した。感染性胃腸炎の便検体は、IC検査とPCR検査で同定した。

令和3年度は、総計62検体のうち16検体から表4に示すウイルスを検出した。

(5) インフルエンザの流行状況

① 感染症サーベイランス事業の病原体検査

インフルエンザのシーズンは9月初旬ごろに切り替わるため令和3年度は9月4日までが昨シーズンとなる。今シーズンは検体が搬入されなかったため、検査は行わなかった。

② 集団発生の探知

例年、保健所保健予防課から依頼された集団発生事例の検査を行っているが、令和3年度は集団発生が無かったため、検査は行わなかった。

(6) 性感染症の抗体検査

① HIV(ヒト免疫不全ウイルス)抗体検査

エイズ対策推進の一環として、保健所保健予防課並びに小倉北区及び八幡西区役所保健福祉課の依頼によりHIV抗体検査を行った。月1回の保健所での夜間受付検体のうち確認が必要な検体及び毎週1回の2ヶ所の区役所で採取した血液について検査した。

スクリーニングはIC法で行い、陽性検体はEIA法及び確認検査としてIC法(スクリーニングとは異なる検査キット)を実施した。総計273検体を検査した結果、陽性は2検体であった。

② クラミジア抗体検査

小倉北区及び八幡西区役所保健福祉課の依頼により、性感染症対策の検査(平成14年開始)で採血した検体について、クラミジア抗体検査を行った。EIA法によりIgA抗体及びIgG抗体を測定した。総計270検体を検査した結果、陽性は111検体であった。

③ 梅毒抗体検査

小倉北区及び八幡西区役所保健福祉課の依頼により、性感染症対策の検査(平成14年開始)で採血した検体について、梅毒抗体検査を行った。IC法で抗TP抗体の測定、炭末凝集法でカルジオライピン抗体の測定を行った。総計270検体を検査した結果、陽性は12検体であった。

(7) その他の感染症関連検査

市内で発生した感染症法関連の患者や感染者、接触者等について、保健所保健予防課の依頼により、分離株の同定、生化学性状の確認や血清型別を行った。

① 腸管出血性大腸菌

令和3年度に市内の医療機関から報告のあった腸管出血性大腸菌感染者は28名であった。検出された血清型はO157:H7(23名)、O26:H11(1名)、

O111 : H- (2名)等であった。

毒素遺伝子については、VT1及びVT2遺伝子を保有するものが19株、VT1遺伝子のみ保有するものが3株、VT2遺伝子のみ保有するものが6株あった。以上の結果を表5に示す。

② 薬剤耐性菌

令和3年度に医療機関からの届出に基づき当所に搬入されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) は、*Klebsiella aerogenes* 12株 (48 %)、*Enterobacter cloacae* complex 9 株 (36 %)、*Escherichia coli* 2 株 (8 %)、*Klebsiella pneumonia* 1株 (4 %)、その他1株 (4 %) の合計25株であった。これらについてPCR法による遺伝子解析を行ったところ、*Escherichia coli* 1株からNDM型カルバペネマーゼ遺伝子が検出された。

同様にバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) は、*Enterococcus casseliflavus* 1株、*Enterococcus faecium* 1株が搬入され、*E. casseliflavus*から*vanC2/3*遺伝子、*E. faecium*から*vanB*遺伝子が検出された。

また、薬剤耐性アシネトバクター (MDRA) は、1株が搬入され、*Acinetobacter baumannii* complexからOXA-23-like遺伝子が検出された。

③ レジオネラ属菌

特別養護施設の浴槽水、拭き取り等6検体について、レジオネラ属菌の検査を行った。検査の結果、すべて陰性であった。

④ コレラ

コレラ疑いの患者1名から分離された菌株について、同定確認を行った。検査した結果、*Vibrio cholerae* non-O1, non-O139であった。その後、国立感染症研究所による血清型別試験の結果、O14であることが判明した。

⑤ 麻疹

麻疹疑いの患者2名の咽頭ぬぐい液、尿及び血液について、リアルタイムRT-PCR検査を行った。総計6検体を検査した結果、すべて陰性であった。

⑥ 風疹

風疹疑いの患者2名の咽頭ぬぐい液、尿及び血液について、リアルタイムRT-PCR検査を行った。総計6検体を検査した結果、すべて陰性であった。

⑦ 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

SFTS疑いの患者2名の血清2検体について、RT-PCR検査を行った。検査結果はすべて陰性であった。

⑧ 急性脳炎

急性脳炎の患者4名の血清等20検体について、それぞれエンテロウイルス等4種のウイルスのRT-PCR検査を行った。1名の患者の検体からヒトヘル

ペスウイルス7型及びエンテロウイルスが検出された。

⑨ 新型コロナウイルス感染症

新型コロナウイルス感染症疑いの患者等の鼻咽頭ぬぐい液等17,692検体についてリアルタイムRT-PCR検査を行った。検査結果は884検体が陽性であった。

また、厚生労働省からの要請(令和3年2月5日付け健感発0205第4号)により、3,775検体について海外変異株スクリーニング検査を、311検体について次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行った。

⑩ 感染症媒介蚊のウイルス保有調査

7～9月に全4回、市内3ヶ所の公園(戸畑区：夜宮公園、小倉北区：勝山公園、八幡西区：曲里公園)の各東西南北4ヶ所で捕獲された感染症媒介蚊(ヒトスジシマカ)について、デング、ジカ及びチクングニアウイルスの検査を行った。総計38検体を検査した結果、すべて陰性であった。

(8) 公衆浴場水のレジオネラ属菌検査

保健所東部生活衛生課及び西部生活衛生課の依頼により、市内の公衆浴場水を対象としたレジオネラ属菌遺伝子の定性試験および菌の定量試験を行った。夏季(7月)に13施設55検体、秋季(10、11月)に19施設59検体の検査を行った。遺伝子の定性試験はLAMP法を用いて行い、夏季は11施設34検体で、秋季は14施設28検体で遺伝子を検出した。定量試験の結果、夏季は9施設17検体、秋季は9施設13検体が公衆浴場における水質基準に関する指針値である「10CFU/100ml未満」を満たしていなかった。

(9) その他

令和3年6月11日付事務連絡厚生労働省健康局結核感染症課依頼通知に基づき、医療機関で分離された無菌的検体由来の侵襲性肺炎球菌、侵襲性インフルエンザ菌および劇症型溶血性レンサ球菌の菌株を国立感染症研究所に送付し、血清型等の検査結果の報告を受けた。なお、令和3年度に北九州市内における侵襲性髄膜炎菌の分離はなかった。

① 侵襲性肺炎球菌感染症

肺炎球菌の菌株16名分21検体を送付し、国立感染症研究所での検査の結果、血清型3、10A及び15Aが各2名、6B、6C、11A/E、15B、19F、23A、23B、24B、35B、37が各1名ずつであった。

② 侵襲性インフルエンザ菌感染症

侵襲性インフルエンザ菌4菌株を送付し、国立感染症研究所での検査の結果、莢膜血清型はすべて型別不能であった。

③ 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

溶血性レンサ球菌レファレンスセンター（大分県衛生環境研究センター）を通じて、国立感染症研究所に劇症型溶血性レンサ球菌7菌株を送付した。検査の結果、Lancefieldの血清群別ではA群溶血性レンサ球菌が2検体、B群溶血性レンサ球菌が2検体、G群溶血性レンサ球菌が3検体であった。

2 食品検査信頼性確保

食品衛生検査施設における適正管理基準の実施に伴い、外部精度管理調査を毎年実施している。

令和3年度は、一般細菌数、サルモネラ属菌、E.coli、黄色ブドウ球菌及び遺伝子組換え食品の計5項目を実施し、すべて良好な結果であった。令和3年度の実施項目は表6のとおり。

表3 市内流通食品の収去等検査

	検体数小計	項目数小計	微生物学的試験										理化学的検査	遺伝子組換え食品
			細菌数	大腸菌群	腸管出血性大腸菌	E.coli	腸炎ビブリオ	サルモネラ	黄色ブドウ球菌	カンピロバクター	その他の細菌	ウイルス		
魚介類	40	155	40	25		15	40		10			10	15	
魚介類加工品 (カン詰・ビン詰を除く)	56	173	49	49			26		49					
肉卵類	5	10						5		5				
肉卵類加工品 (カン詰・ビン詰を除く)	11	41	10			10		10	10		1			
乳製品	7	7									7			
アイスクリーム類・氷菓	10	20	10	10										
穀類加工品 (カン詰・ビン詰を除く)	10	30	10	10					10					
野菜類・果物	38	144	6		120	18								
野菜類・果物加工品 (カン詰・ビン詰を除く)	18	34	6	18					10					
菓子類	30	111	30	30				21	30					
清涼飲料水	13	39	13	13					13					
氷雪	1	2	1	1										
水	51	117	15	51			51							
その他の食品	30	81	20	20				11	20					10
乳	4	12	4	4					4					
合 計	324	976	214	231	120	43	117	47	156	5	8	10	15	10

表4 感染症サーベイランス検査結果

臨床診断名(検体数)	検査材料(検体数)	検査結果		
		陰性	陽性	検出ウイルス(検出数)
ヘルパンギーナ(4)	咽頭ぬぐい液(4)	2	2	CA6 (1)、Ec6 (1)
感染性胃腸炎(7)	糞便(2)	1	1	NoroG II (1)
	尿(2)	1	1	NoroG II (1)
	血液(2)	2	0	
	髄液(1)	1	0	
手足口病(12)	咽頭ぬぐい液(10)	5	5	CA6 (3)、Ec6 (1)、HParvoB19 (1)
	糞便(1)	1	0	
	髄液(1)	1	0	
細菌性髄膜炎(5)	咽頭ぬぐい液(1)	0	1	PaA (1)
	髄液(1)	1	0	
	血液(1)	1	0	
	尿(1)	1	0	
	糞便(1)	1	0	
無菌性髄膜炎(11)	咽頭ぬぐい液(3)	3	0	
	髄液(3)	3	0	
	血液(2)	2	0	
	糞便(3)	2	1	HPeV1 (1)
流行性耳下腺炎(7)	咽頭ぬぐい液(7)	4	3	Ec6 (1)、HPeV1 (1)、Mump (1)
突発性発疹(4)	咽頭ぬぐい液(2)	2	0	
	糞便(2)	2	0	
伝染性紅斑(1)	咽頭ぬぐい液(1)	1	0	
不明・記載なし(11)	咽頭ぬぐい液(5)	5	0	
	髄液(1)	1	0	
	血液(1)	0	1	HPeV1 (1)
	尿(1)	1	0	
	糞便(3)	2	1	PaA (1)
計		46	16	

表5 腸管出血性大腸菌の血清型及び毒素遺伝子検査結果

No.	分離 月日	血清型		ベロ毒素 遺伝子型	
		O型	H型	V T1	V T2
1	5/24	111	—	+	—
2	6/8	157	7	—	+
3	6/19	157	7	+	+
4	6/21	157	7	+	+
5	6/28	157	7	—	+
6	6/28	157	7	—	+
7	7/6	157	7	+	+
8	7/5	157	7	+	+
9	7/14	157	7	+	+
10	8/3	157	7	—	+
11	8/12	157	7	+	+
12	8/23	157	7	+	+
13	8/23	157	7	+	+
14	8/26	157	7	+	+
15	8/26	182	25	+	—
16	8/25	157	7	—	+
17	10/21	157	7	+	+
18	10/22	157	7	+	+
19	10/25	157	7	+	+
20	10/22	157	7	+	—
21	11/12	157	7	+	+
22	11/12	157	7	+	+
23	11/18	157	7	+	+
24	12/2	157	7	+	+
25	12/6	157	7	+	+
26	2/3	111	—	+	+
27	2/9	153/178	19	—	+
28	3/24	26	11	+	—

表6 外部精度管理調査の実施項目一覧

項 目	試 料
E.coli	ハンバーグ
一般細菌数	ゼラチン基材
黄色ブドウ球菌	マッシュポテト
サルモネラ属菌	液卵
遺伝子組換え食品（安全性未審査の遺伝子組換えコムギMON71200、MON71100/71300、MON71700、MON71800）	コムギ粉碎物、DNA溶液試料

2 調査研究



令和3年度調査研究テーマ一覧

部門	No	調査研究テーマ	共同研究機関	期間
環境	1	令和3年度化学物質環境実態調査（エコ調査） 【環境省受託】	環境省受託	令和3年度
	2	光化学オキシダントおよびPM _{2.5} 汚染の地域的・ 気象的要因の解明（Ⅱ型共同研究）	国立環境研究所、Ⅱ型 研究参加機関（全国の 地方環境研究所）	令和元～3年度
	3	河川中プラスチックごみの排出実態把握と排出 抑制対策に資する研究（Ⅱ型共同研究）	国立環境研究所、Ⅱ型 研究参加機関（全国の 地方環境研究所）	令和3～5年度
	4	HPLC-ICP/MSによる大気粉じん中の六価クロ ム化合物の測定の検討		令和3年度
	5	水質事故・苦情に係る検査依頼への対応力向上 の取り組み		令和3年度
	6	本市近海の水温等の経年変化について		令和3年度
	7	走査型電子顕微鏡（SEM）による粉じん分析の データベース構築		令和3年度
衛生化学	8	食肉中の有機塩素系農薬の効率的な抽出法の検 討		令和2～3年度
	9	魚介類中のPCB検査結果の取扱い検討		令和2～3年度
	10	品質保持剤プロピレングリコールの分析法検討		令和2～3年度
	11	指定外着色料を含む一斉試験法の検討		令和3～4年度
	12	残留農薬試験等における抽出法の改良		令和3年度
微生物	13	着色料（酸性タール色素）の分析法の検討		令和3～4年度
	14	カンパチ等に寄生する <i>Unicapsula seriolae</i> の検 査体制確立に向けたアプローチ		令和2～3年度
	15	チフス菌及びパラチフスA菌の同定に係る標準 作業書の作成		令和3年度
	16	市内流通の牛の肝臓の汚染実態調査		令和2～3年度
	17	当所での感染症胃腸炎マルチプレックスPCR検 査法の確立		令和3年度
	18	当所でのサポウイルスの検査体制の確立		令和3年度
	19	QIAGEN One Step RT-PCR Kitを用いたヒト パレコウイルス（HPeV）の検出法の検討		令和3年度
	20	コンベンショナルPCRのOne Step RT-PCR試薬 のメーカー比較		令和3年度
	21	次世代シーケンサーによる全ゲノム解析に関わ るノーマライズ工程の自動最適化		令和3年度
	22	市内で発生した新型コロナウイルス感染症に係 る積極的疫学調査結果の解析	国立感染症研究所	令和3～4年度
	23	北九州市におけるムンプスウイルス流行状況調 査	国立感染症研究所	平成25～令和3年度
	24	エンテロウイルスD68（EV-D68）の検査法の確 立		令和3～4年度

1 化学物質環境実態調査(エコ調査) (環境省受託) (令和3年度)

(1) 調査研究内容

環境省は「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)」の施行に伴い、一般環境中の既存化学物質の残留状況の把握を目的として、昭和49年度から化学物質環境汚染実態調査を実施している。

当研究所は、調査開始当初からこの調査に参加しており、令和3年度は、初期・詳細環境調査及びモニタリング調査を行った。そのうち、当研究所では、水質試料について1,3-ジオキソラン及びベンゾフェノン-3、大気試料について6-ニトロクリセンの分析を行った。

(2) 実施結果又は経過

要求される分析精度を満足する測定結果を得られた。

(3) 成果の活用等

事業の受託により、環境中の化学物質の残留状況を把握するとともに、職員の能力向上を図る。

2 光化学オキシダントおよびPM_{2.5}汚染の地域的・気象的要因の解明(Ⅱ型共同研究第7期) (令和元年度～3年度)

(1) 調査研究内容

大気汚染系Ⅱ型共同研究第7期のテーマ(目的)は「光化学オキシダントおよびPM_{2.5}汚染の地域的・気象的要因の解明」であり、本市はサブテーマ「PM_{2.5}成分データ詳細解析」のグループに参加することとした。本グループの最終目標は「PM_{2.5}の成分データを用いて、PM_{2.5}の主成分(硫酸塩、有機物、硝酸塩)に関わる国内発生源がPM_{2.5}濃度に及ぼす影響を地域の特性に応じて把握する。」ことであり、レセプターモデル(PMF)解析により発生源解析を行うこととなった。

(2) 実施結果又は経過

令和3年度は、製鉄所関連の発生源がPM_{2.5}質量濃度に及ぼす影響を評価するため、本市を含む全国10箇所の製鉄所近傍に設置された13箇所の調査地点で採取されたデータ(平成29、30年度データ)を用いてPMF解析を行なった。また、CPF解析により発生源を推定した。その結果、工業系粉じんは各地域で発生源として推定される施設の方角と概ね一致した。

工業系粉じんと推定した因子が製鉄所由来であると仮定した場合、製鉄所のPM_{2.5}質量濃度に対する寄与率は、地点ごとに平均で約2～8%、最大で約10～40%と推計された。

(3) 成果の活用等

PMF解析や関連する解析手法に係る知見を職員間で共有し、日常業務に活かす。

3 河川中プラスチックごみの排出実態把握と排出抑制対策に資する研究(Ⅱ型共同研究) (令和3年度～5年度)

(1) 調査研究内容

環境省の調査によると日本近海に浮遊するマイクロプラスチック(以下、MPとする)の量は世界平均の27倍であり、日本周辺地域はMPのホットスポットであると報告されている(出典:立法と調査2018.11 No.406 p48-49)。海域のMPの主な発生源は河川を経由した陸域からの流出と考えられるため、国では河川水中のMPの状況把握を目的としたガイドライン(河川マイクロプラスチック調査ガイドライン 令和3年6月 環境省水・大気環境局水環境課 以下ガイドラインとする)を公表している。しかしながら、河川における試料採取については流量や水深についての制約が多く、現在、国立環境研究所のⅡ型研究において参加自治体によりガイドラインの実証が行われている。

(2) 実施結果又は経過

今回、当該Ⅱ型研究に参加してガイドラインの運用における課題等について情報収集するとともに、試料採取の講習会(御笠川)及びMPの分析セミナー(オンライン)に参加した。

既存のFT/IRを用いて分析環境を整備した。試験的に底質中のMPについて採取・分析を行い、微量ながら塩化ビニル、ポリエチレン及びAS樹脂が複合したMPの存在を確認した。

(3) 成果の活用等

今後、①適当な調査河川の選定、②国立環境研究所からサンプリング機材を調達、③ガイドラインに従ったMP調査、を実施し運用上の課題等を整理するとともに本市河川のMP濃度について知見を得る予定である。

4 HPLC-ICP/MSによる大気粉じん中の六価クロム化合物の測定の検討(令和3年度)

(1) 調査研究内容

大気粉じん中の六価クロム化合物は、有害大気汚染物質測定方法マニュアル(環境省 平成31年3月)(以下、マニュアルとする)でイオンクロマトグラフ-ICP/MS法及びイオンクロマトグラフ-ポストカラム吸光光度法が採用されている。

今回、HPLCにおいて強アニオン交換樹脂を充填した分離カラムを使用しかつ接液部をできるだけ樹

脂製品で置き換えることでイオンクロマトグラフと同様の機能を持たせてICP/MSと接続し、大気粉じん中六価クロムの分析を検討した。

(2) 実施結果又は経過

①分析精度の検討

HPLC-ICP/MSを用い重クロム酸カリウム標準液を測定して、六価クロムについて装置ブランク及び装置の検出下限値を算出した。またマニュアルに従い試料採取用アルカリ含浸フィルタを調製し操作ブランク及び定量下限値を算出した。その結果マニュアルが要求する分析精度を満足できることが分かった。

②環境大気試料の測定

①で調製したアルカリ含浸フィルタを用い、マニュアルに従って環境大気試料を捕集した。試料採取地点は保健環境研究所(戸畑)屋上とし、期間はR2.12～R3.1のうち5日間とした。これをマニュアルに従って前処理しHPLC-ICP/MSで測定した。その結果はND～0.84ng/m³であり、他自治体の測定結果と概ね同様のレベルであった。また、クロマトグラムにおいて妨害やバックグラウンドの上昇など測定の支障は見られなかった。

(3) 成果の活用等

調査結果は適宜公表するとともに、環境大気中の六価クロムの測定に応用することを予定する。

5 水質事故・苦情に係る検査依頼への対応力向上の取り組み (令和3年度)

(1) 調査研究内容

原因物質不明の水質事故や苦情(油流出、白濁等)に係る検査依頼への対応能力を向上させるための体制を整備した。また、新たな視点で過去のデータを解析した。

(2) 実施結果又は経過

「河川」、「白濁」、「苦情」等の単語を含む他地環研の報告書のうち、水質事故や苦情発生時の対応について詳細に記載されていた報告書を抽出し、内容を整理した。これを基に、当所で実施可能な検査内容を整理し、手順書を作成した。

この手順書に従い、過去の河川白濁事案の際にGC/MSで測定したTICクロマトグラムを解析した結果、溶剤、インキ溶剤等が主に含まれていることが示唆された。当該事案では、後に河川近傍の塗装業者が誤って塗材を流出させていたことが判明しており、今回構築した体制が原因究明に寄与しうることが示された。

(3) 成果の活用等

水質事故や苦情に係る検査を実施する際に活用

する。

6 本市近海の水温等の経年変化について

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

気候変動監視レポート2020(気象庁)では地球温暖化の影響によると考えられる極端な気象現象の長期的な変化傾向が報告されている。本市における地球温暖化と水温等の環境情報をまとめた事例は少ないことから、気温及び海水温について長期的な傾向を確認した。

(2) 実施結果又は経過

海水温の年平均値については、確認した全ての環境基準点等において上昇傾向は確認できなかった。一方年平均気温は全国と同様に上昇傾向が確認された。また、8月の海水温については、上昇傾向が確認され、季節により影響に差があることが示唆された。

(3) 成果の活用等

将来的な調査研究の基礎的知見を蓄積する。

7 走査型電子顕微鏡(SEM)による粉じん分析のデータベース構築 (令和3年度)

(1) 調査研究報告

本市では降下ばいじん等の大気汚染は改善傾向にあるが、年に数回程度、粉じん苦情に関する測定依頼が発生している。

これらの依頼に対しては、SEM粒子像、EDSから得られた成分情報について報告するに留まっているが、より粉じん発生源の特定過去の類似事例から発生源特定の参考となるデータベースを作成することを目的とし、文献調査、測定等を実施した。

(2) 実施結果又は経過

文献調査については、他自治体の所報等から粉じんの発生源特定に関する論文等の収集を実施した。

また、研究所近傍で試料を採取し、令和2年度に導入したSEMに搭載されている粒子解析ソフトを用いて粒径分布等の測定を行った。

(3) 成果の活用等

得られた結果をデータベース化し、原因考察の基礎的知見としたい。

8 食肉中の有機塩素系農薬の効率的な抽出法の検討 (令和2年度～3年度)

(1) 調査研究内容

食肉中の有機塩素系農薬分析において、前処理としてゲル浸透クロマトグラフィー(GPC)を用い、後段にPSAカラムによる固相抽出(SPE)を組み合わせた方法が用いられている。

そこで、冷凍、液-液分配、あるいは他のSPEカラムによるクリーンアップを検討し、本法を置き換え、あるいは組み合わせることで、操作の効率化、作業負担の低減、分析精度の向上を図った。

(2) 実施結果又は経過

抽出操作は、試料を50mL遠心管にとり、セラミックホモジナイザーにより破碎することで液量を大幅に減らせた。またコンタミネーションの軽減、抽出後の濃縮工程も不要となった。

精製は、第一段階には多孔質ケイソウ土カラムを用いた。この処理単独で、脂肪分の97%以上が除去できることが確認された。残余の脂肪除去にはC18ミニカラム、PSAミニカラムを連結して用いる方法を採用した。

(3) 成果の活用等

検査実施標準作業手順書を改正し、食肉筋肉中の有機塩素系農薬の行政検査に活用する。

9 魚介類中のPCB検査結果の取扱い検討

(令和2年度～3年度)

(1) 調査研究内容

「PCB及び水銀試験法の開発に関する研究」(14年度厚生労働科学研究費補助金)によれば、アルカリ分解、フロリジルカラム精製/キャピラリーカラム-ガスクロマトグラフ/質量分析計によるPCB異性体分析法(以下「GC/MS法」という。)では、公定法(S47.8.24環食第442号「食品中に残留するPCBの規制について」)と異なる値になることが判っている。

よって今回、魚介類中のPCB検査にGC/MS法を導入するにあたって、公定法との差異等を明らかにし、検査結果等の取扱いについて定めることを目的とした。

(2) 実施結果又は経過

5種類の魚類(実試料)、8種類の魚類(PCB標準液を添加)について、GC/MS法及び公定法による分析を実施。

- ・定量下限値付近の低濃度では、公定法に比べGC/MS法が低い結果となった。
- ・PCB標準液を添加した試料(基準値の半分程度)では、公定法がGC/MS法に比べ、最大0.022 $\mu\text{g/g}$ (26.2%)高い値となることが判った。

(3) 成果の活用等

GC/MS法の検査実施標準作業書に、PCB濃度が基準値に近似した場合に、公定法による再試験を実施する規定を追加した。

10 品質保持剤プロピレングリコールの分析法検討

(令和2年度～3年度)

(1) 調査研究内容

プロピレングリコール(以下「PG」という。)は、保湿性、湿潤性を持つことから麺類や餃子の皮等に広く用いられ、昭和56年に規制基準が設けられたところである。PGの定量は、バックドカラムを用いたGC/FIDとされている。しかし当所のGC/FIDは、オートサンプラーが付属していないため、多数の検体を検査することが困難である。よって、キャピラリーカラムを用いたGC/MS分析法の可能性について検討した。

(2) 実施結果又は経過

試料前処理はヘキサンで脱脂し、超音波抽出、SAX/PSAカートリッジにより精製した。この方法による添加回収試験では72%の回収率が得られた。

定量下限付近の標準液(0.2 $\mu\text{g/mL}$)のピークはS/N比で10以上となり、試料中の濃度では0.009% (90 $\mu\text{g/g}$)で問題のないものであった。

(3) 成果の活用等

検査実施標準作業書のための基礎データに活用する。

11 指定外着色料を含む一斉試験法の検討

(令和3年度～4年度)

(1) 調査研究内容

国内外において輸入食品から指定外着色料が検出される事例が報告されており、指定外着色料を含む迅速な試験が求められている。本研究では、許可着色料12種類と指定外着色料を含む一斉試験法の確立を目指した。

(2) 実施結果又は経過

厚労省が公表している違反事例を参考に、8種類の指定外着色料を選定し、許可着色料を含む一斉分析方法を確立することができた。

また、現在当所で行っているポリアミド及びPSAカラムによる精製を検討した結果、7成分の指定外着色料(酸性)については現行の方法で精製が可能であった。また、塩基性色素であるローダミンBについては、陽イオン交換樹脂であるPRSカラムにて精製が可能であった。

- ・抽出に30%エタノールを用いた抽出の方が抽出効率が良く、ポリアミドで21～106%、PSAで40～136%の回収率となり、定性可能な結果を得られた。

(3) 成果の活用等

指定色素に指定外色素を加えた標準作業手順書を新たに作成した。

12 残留農薬試験等における抽出法の改良 (令和3年度)

(1) 調査研究内容

通常添加回収試験では、試料に抽出液を加え、シャフト型ホモジナイザー等の強い外力で破碎、攪拌することにより目的成分の抽出効率の最大化を図る方法がとられている。この方法は、ミスト等の発生－コンタミネーションの危険性－があること、器具にかなりの破碎残渣や液が付着、残留することから回収率に影響を及ぼす可能性がある等の問題がある。また多検体処理時にはかなりの時間と労力を要する。

そこで、抽出効率を維持しつつ、精度と安全性、操作性を改善するため、近年単品販売されるようになったセラミックホモジナイザー(以下セラミック)との抽出効率を比較検討した。

(2) 実施結果又は経過

logPowの大小によらず、また、高浸透移行性の農薬であるか否かにかかわらず、セラミック法での結果は、従来法の結果と同等であった。

セラミック法では、手振りによる方が優れていると判断し、「決められた回数もしくは時間以上」という形で指定することで再現性を担保した。検体によっては、採取秤量時の均一性が保てない可能性があるものについての対応も検討した。

(3) 成果の活用等

シャフト型ホモジナイザーを用いている他の検査においても、適宜置き換えを検討していく。

13 着色料(酸性タール色素)の分析法の検討 (令和3年度～4年度)

(1) 調査研究内容

高タンパク質食品、特に明太子製品では、未だにキサnten系色素の検出が困難とされていることから、本研究では、現在の簡易で効率的な前処理方法に沿いつつ、使用する試薬や器具を見直し、さらなる検出率向上を図ることとした。

(2) 実施結果又は経過

トリブシンによる処理を適切に行えば2回以内でタンパク質を分解、沈殿を消失させるか、沈殿が生じても白色で、色素が遊離することが確認された。またPAカラム(均一密度で充填されているメーカー製のもの)が、耐目詰まり性、吸着・脱着性能が高かった。

これにより、当初の目的であったキサnten系色素の回収率は、定量検査可能なレベルに改善した。しかし、アゾ色素である、Y4、Y5、R3、R102等の回収率は低値であり、その原因はPA樹脂の性能その

ものに起因していることが、先行研究及び今回実際に標準原液を処理したカラムクロマトグラムから判明した。

(3) 成果の活用等

最終的にはキサnten系以外の色素も含めて、定量分析可能なレベルにし、行政検査で活用する。

14 カンパチ等に寄生する*Unicapsula seriolae*の検査体制確立に向けたアプローチ (令和2年度～3年度)

(1) 調査研究内容

近年、カンパチ等に寄生する粘液胞子虫の一種である*Unicapsula seriolae*(以下、*U.seriolae*)が有症事例の原因微生物として示唆される事例が全国で散見されることから、当所の検査体制を確立するとともに市内流通品の汚染状況を調べる。

(2) 実施結果又は経過

市内魚介類販売店で購入したカンパチとヒラマサ各17検体、平成31年に発生した食中毒疑い事案の際に搬入された患者便22検体及び従事者便1検体について、コンベンショナルPCR法及びリアルタイムPCR法による遺伝子検査を行った。その結果、カンパチ1検体から*U.seriolae*遺伝子を検出したが、顕微鏡検査では、定量限界未満(定量限界：105孢子/g)であった。この検体の魚肉懸濁液を遠心処理後、直接塗抹したサフラニン単染色標本では*U.seriolae*胞子を確認した。これらの検査結果を元に試験検査標準作業書を整備した。

(3) 成果の活用等

今後も保健所と連携し、有症苦情等の依頼検査への対応に努める。

15 チフス菌及びパラチフスA菌の同定に係る標準作業書の作成 (令和3年度)

(1) 調査研究内容

三類感染症のチフス菌・パラチフスA菌について、国立感染症研究所の病原体検出マニュアルが2021年9月に改訂されたことに伴い、遺伝子検査の項目を設けていなかった現行の標準作業書を見直し、改訂を行うもの。

(2) 実施結果又は経過

上記検出マニュアルに則り熱抽出法によりDNA抽出しコンベンショナルPCRを実施したところ、毎回パラチフスA菌における*tyv*遺伝子検出で非特異バンドが認められたが、核酸抽出に市販キットを使用し、またアニーリング温度を55℃から64℃に変更することで、安定して良好な結果が得られた。これらの試験結果を元に標準作業書を改訂した。

(3) 成果の活用等

整備した標準作業書を活用し、より安定的に試験検査を実施していく。

16 市内流通の牛の肝臓の汚染実態調査

(令和2年度～3年度)

(1) 調査研究内容

食品の細菌汚染実態を把握することを目的として、市内流通の牛の肝臓を対象に、腸管出血性大腸菌(O26、O103、O111、O121、O145、O157)及びカンピロバクター・ジェジュニ／コリの汚染実態を調査するもの。

(2) 実施結果又は経過

牛の肝臓28検体について検査を実施したところ、腸管出血性大腸菌は全て陰性だったが、3検体からVT遺伝子を検出した。また、カンピロバクター・ジェジュニ陽性が3検体、カンピロバクター・コリ陽性が1検体であった。

(3) 成果の活用等

令和3年度保健福祉発表会論文に登録

17 当所での感染症胃腸炎マルチプレックスPCR検査法の確立

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル「ノロウイルス」に、感染性胃腸炎の原因となるウイルスを複数同時検索する「マルチプレックスによるconventional PCR法」(以下、「感染研法」という。)が掲載された。本研究では、感染研法のNoroV系にアイチウイルスを加えた系とRotaV系にOne-Step RT-PCR試薬を用いる検査法の導入を目指すもの。

(2) 実施結果又は経過

感染研法によるNoroV系にAichiV Primerを加えて検査することが可能であると判明した。また、SapoV及びNoroG2のバンドが非常に近接しているため、分離に使用するアガロースゲル濃度3%、泳動時間40～50分にすることで良好な結果が得られることが分かった。

(3) 成果の活用等

SOPの改訂を行い、今後病原体発生動向調査で提出される感染性胃腸炎疑いの検体については、本検査法を用いて検査を実施する。

18 当所でのサポウイルスの検査体制の確立

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル「サポウウイルス」に、「リアルタイムPCR法」(以下、「感染研

法」という。)及び遺伝子型の特定が可能な「コンベンショナルPCR法」が掲載された。本研究では、感染研法の改良を行いこれら2種類の検査法の導入を目指すもの。

(2) 実施結果又は経過

【リアルタイムPCR法】

3種類の試薬、2通りのプライマー濃度、2種類のリアルタイムPCR装置の3要素で最適な組み合わせを決定した。また、感染研法では4時間かかるのに対し、2.5時間での検出を可能にした。

【コンベンショナルPCR法】

バンドサイズにより4つの遺伝子型(GI、GII、GIV、GV)の検出が可能となった。

(3) 成果の活用等

SOPの制定を行い、サポウウイルスが疑われる検体については本検査法を用いて検査を実施する。

19 QIAGEN One Step RT-PCR Kitを用いたヒトパレコウイルス(HPeV)の検出法の検討

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

本所ではDNaseI処理、RT反応の操作の後に、1st及び2nd PCRを行う2 Step RT-PCRでHPeVの検査を行っているが、RT反応とPCRをOneStepで行う、QIAGEN OneStep RT-PCR Kit(QIAGEN)を用いる検査法でも検査可能か臨床検体(血清及び便)を用いて検討した。

(2) 実施結果又は経過

従来の2 Step RT-PCR法では検出できなかった便検体からもバンドを検出でき、以前よりも高感度での検出が可能となった。また、2nd PCRで陽性コントロールのバンドが複数出現するため、1st PCR産物からの持ち込み量を少なくすることで改善が見込まれることがわかった。

(3) 成果の活用等

本結果の条件にてSOPを制定した。今後病原体発生動向調査で提出されるHPeVが疑われる検体については、本検査法を用いて検査を実施する。

20 コンベンショナルPCRのOne Step RT-PCR試薬のメーカー比較

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

本所では、1step試薬を用いる反応系にてSFTSの検査を実施しているが、A社試薬を用いた場合陽性コントロールのバンドが検出されないことがあったため、2社の試薬(A社、B社)について陽性コントロール(PC)バンドの検出可否にて比較検討する。また、蚊を媒介とした感染症であるデング、チクング

ニア及びジカウイルスの検査においてもA社の試薬を使用しているため、同様にB社の試薬での代替が可能か検討するもの。

(2) 実施結果又は経過

【SFTS】

国立感染症研究所より供与されたPC(×100)から×10、×2、×1濃度に希釈調整したものを使用し、バンド検出の可否を確認した。A社製では全ての希釈段階でPCバンドが検出できなかったのに対し、B社製では全ての希釈段階でPC検出ができた。

【デング、チクングニア、ジカ】

両試薬でPCバンドの検出ができたが、B社製の方がよりバンドが濃く検出できた。

(3) 成果の活用等

本結果の条件にてSFTSのSOPの改訂、デング熱等媒介蚊の検査(デング、チクングニア、ジカ)のSOPの制定を行った。今後は本検査法を用いて実施する。

21 次世代シーケンサーによる全ゲノム解析に関わるノーマライズ工程の自動最適化

(令和3年度)

(1) 調査研究内容

NGSによる新型コロナウイルスの全ゲノム解析では、複数の検体を一つの系にミックス(ライブラリプーリング)して測定し、その後個別に付与されたライブラリ配列を目印にして、個々の検体の解析データを得るものである。この方法では一度に多数のゲノム配列を確定できるが、各検体の状態が系全体に影響を及ぼすデメリットも存在する。作業者間の経験的差異を埋め、複数人での作業分担を容易にすることを目的に本研究では、特にノーマライズ工程について、エクセルの自動算出によりDNAライブラリの混合量を数値化する手法を検討した。

(2) 実施結果又は経過

ノーマライズ後に期待される出力値比の標準偏差が最も低くなるよう最適な式を決定し、各検体の濃度ごとに分取する液量の組み合わせを決定した。

(3) 成果の活用等

新型コロナウイルスのゲノム解析におけるノーマライズ工程の煩雑さを無くし、誰にでも容易に操作を行う事を可能とした。

22 市内で発生した新型コロナウイルス感染症に係る積極的疫学調査結果の解析

(令和3年度～4年度)

(1) 調査研究内容

新型コロナウイルス感染症に係る積極的疫学調査の一環として、陽性検体を国立感染症研究所へ提出

し、得られたゲノム情報の解析結果を集計している。本研究では、患者調査によって得た疫学情報等入手し、ゲノム情報の解析結果と結びつけることにより、市内で発生した新型コロナウイルス感染症の感染拡大の傾向や地域的な特徴等について考察する。

(2) 実施結果又は経過

令和3年11月頃までの患者一覧表及び疫学調査票をもとに、その中から学校関係のクラスター(幼稚園、保育園、小学校、中学校、高校、大学等)に注目して情報を整理し、集計を行った。

その結果、クラスターは28施設で発生し、調査対象の患者は230名であった。そこから疫学調査票の存在しない者、一人暮らしの者などを除く126名を調査したところ、同居家族は合計で367名、そのうち感染が確認された者は103名いることが分かった。(感染率28.1%)

(3) 成果の活用等

引き続き、ゲノム情報の解析結果と結び付けることにより、感染拡大の特徴や要因等について考察する。

23 北九州市におけるムンプスウイルス流行状況調査

(平成25年度～令和3年度)

(1) 調査研究内容

当研究所では、以前より、ムンプスウイルス(以下MuV)が原因の可能性のある感染症サーベイランスの検体が搬入されていたが、MuVを分離・検出した例が殆どない状況であった。本調査研究では、検出感度の高いnested RT-PCR法を用いて、流行性耳下腺炎、無菌性髄膜炎、脳炎・脳症として搬入された検体からMuVの検出を試み、市内におけるMuVの流行状況を調査する。

なお、この調査は国立感染症研究所ウイルス第3部第3室の「ワクチンで予防可能な疾病のサーベイランス及びワクチン効果の評価に関する研究」の共同研究者として実施している。

(2) 実施結果又は経過

令和3年度は26検体の検査を行い1検体からMuVを検出した。検出したMuVについては、ダイレクトシーケンスによりSH領域の遺伝子配列を解析した。遺伝子型はG型であった。

(3) 成果の活用等

国立感染症研究所ウイルス第3部第3室に、MuVの検出状況及び遺伝子配列の解析結果を提供した。

24 エンテロウイルスD68 (EV-D68) の検査法の確立 (令和3年度～4年度)

(1) 調査研究内容

5類感染症全数把握疾患である急性弛緩性麻痺は、ウイルスなどの種々の病原体の感染により弛緩性の運動麻痺症状を呈する感染症であり、原因ウイルスとしてポリオウイルス、エンテロウイルスA71 (EV-A71)、エンテロウイルスD68 (EV-D68) が代表例である。その中でもEV-A71についてはCODE-HOP法により検出可能であり、当研究所でも検出実績があるものの、EV-D68は検査実績がない状況であった。そこで本研究では、過去のEV-D68流行期におけるエンテロウイルスの型別不明の検体を用いてGLP作成を目標に行った。

(2) 実施結果又は経過

「急性弛緩性麻痺を認める疾患のサーベイランス・診断・検査・治療に関する手引き」を参考にプライマーを選定し、過去のEV-D68流行期におけるエンテロウイルスの型別不明の2検体を用いてEV-D68高感度検出PCRを行った。どちらともEV-D68は検出されず、陽性コントロールの確保及び検査法の確立までには至らなかった。

(3) 成果の活用等

今後、当研究所に搬入された患者検体から十分な濃度の陽性コントロールが入手できた際は、速やかに検査法を確立することとする。