

【学会発表(所員が First Author)】

大倉敏裕, 四宮博人

愛媛県保健福祉部健康増進課

鳥谷竜哉

Whole genome analysis of *Salmonella* Infantis isolates from foods and patients reveals their detailed relationships.

Keiko Semba, Mayumi Yamashita, Sachiyo Sonobe, Eiji Yokoyama, Tsuyoshi Sekizuka, Komei Shirabe, Makoto Kuroda, and Hiroto Shinomiya

Nontyphoidal *Salmonella* is the most commonly identified cause of bacterial foodborne illness. *Salmonella* Infantis is among the top 3 most common serotypes associated with human infections in 2014 in Japan. Seventy isolates of *S. Infantis* were collected in Ehime prefecture and analyzed by PFGE. These strains were isolated from diarrheal patients, chicken meat, pork, and pigs. To perform whole-genome analysis of these strains, next-generation DNA sequencing (NGS) technologies were used. Based on the NGS typing, the strains were classified into three major clusters; cluster A contained only clinical strains, while cluster B contained pig strains and clinical strains and cluster C contained meat strains and clinical strains. In the cluster C, it was found that SNV (single nucleotide variation) of several pairs of patient strains and chicken meat strains were identical or very similar, suggesting that the chicken meat was very close to the causative food of the respective patient. In addition, comparison with available DNA sequences revealed that *S. Infantis* isolates from chicken egg shells belong to our cluster A, suggesting that the patients carrying cluster A strains were infected with *S. Infantis* from eggs. These findings indicate that an NGS-based genome wide analysis is very useful for precisely resolving phylogenetic relationships among *Salmonella* strains.

第 89 回日本細菌学会総会
(2016.3. 大阪市)

地方衛生研究所(地研)における薬剤耐性菌解析の取り組み

愛媛県立衛生環境研究所

○仙波敬子, 園部祥代, 木村俊也

薬剤耐性菌(耐性菌)による院内感染は、近年益々深刻な問題となっている。当県では耐性菌の検査体制を整備するとともに、医療機関から五類感染症の起原菌である耐性菌株を収集し解析を実施している。

検査方法は国立感染症研究所(感染研)の病原体検出マニュアルと同細菌第二部研修資料に準拠し実施した。収集したカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)1株は *Enterobacter cloacae* であり、IMP と CMZ に耐性であったが、ディスク法と PCR 検査からカルバペネマーゼ産生菌株ではなかった。薬剤耐性緑膿菌(MDRP)9株はすべて IMP-1 型であった。ESBL は、CTX-M-9 グループ(G)102株(70%)、CTX-M-1G 36株(25%)、CTX-M-2G 5株(3%)であった。

また、研究的な取り組みとして、当県で分離されたサルモネラ属菌から見出された *Salmonella* 4,5,12:i:- のゲノム解析を、次世代シーケンサー(NGS)を用いて実施した(感染研黒田らとの共同研究)。同血清型菌は第2相H抗原が発現されない特徴があり、年サルモネラ胃腸炎の主要な原因菌として世界的に問題になっている。NGSによる迅速プラスミド解析によって、*bla*_{CTX-M-55} を含む 11 個の薬剤耐性遺伝子や数十個の接合伝達関連遺伝子の存在が明らかにされた。

耐性菌は地域によって遺伝子タイプや検出頻度も異なることから、基礎データとなるサーベイランスが重要である。また、耐性菌の耐性機構は複雑で、新しい耐性遺伝子が次々に報告されるような状況である。地研においては、感染研及びレファレンスセンターと連携しながら検査体制を整備することが望ましいと思われる。

衛生微生物技術協議会第 36 回研究会
(2015.7. 仙台市)

重症熱性血小板減少症候群(SFTS) ウイルスの遺伝子検査について

愛媛県立衛生環境研究所

○菅 美樹, 溝田文美, 山下育孝
大倉敏裕, 四宮博人

重症熱性血小板減少症候群(以下 SFTS : Sever Fever with Thrombocytopenia Syndrome) は、2011 年に中国で

初めて確認された新たなダニ媒介性感染症である。当研究所では、2013年3月末から、RT-PCR法によるウイルス検査を開始した。今回、検出したSFTSウイルスの遺伝子解析を行ったので報告する。

対象は、2013年3月～2015年3月31日までに、SFTSを疑い当研究所に搬入された検体52例（男性22例、女性30例）である。

SFTSウイルス検査マニュアルに従い、血清からウイルスRNAを抽出し、遺伝子の検出は、プライマーセット1(NP-1F,NP-1Rd)、プライマーセット2(NP-2F,NP-2R)の2セットを用いた。陽性例は、PCR増幅産物を精製し、BigDye Terminator v3.1 cycle sequencing kitを用いたダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、DDBJ(日本DNAデータバンク)でBLAST検索を実施するとともに、系統樹解析を行った。

遺伝子検査の結果は、52例中17例を陽性、1例を判定保留とした。内訳は、プライマーセット1では、陽性14例、判定保留1例、陰性3例で、プライマーセット2では、陽性17例、判定保留1例であった。陽性例について、SFTSウイルスNP領域(420bp)の系統樹解析を行った結果、日本株(accession number:SPL053A_AB821348他)と同一のクラスターに属し、相同性は、97.6～100.0%であった。また、中国株とは別々のクラスターを形成した。

今回、プライマーセット1(14/18)よりもプライマーセット2(17/18)の検出率が高かったことから、日本株についてはプライマーセット2の方が検出感度が高いと思われた。最近、日本株に加え、中国類似株の検出報告があることから、今後も2セットのプライマーを用いる必要があると考えられた。SFTSウイルスNP領域の系統樹解析により、中国株とは別のクラスターを形成し、日本株は、独立的に進化していることが示唆された。

平成27年度愛媛県臨床検査学会
(2015.6. 松山市)

愛媛県における感染症発生動向及び情報の活用

愛媛県立衛生環境研究所

○大塚有加、菅 美樹、木村俊也
大倉敏裕、四宮博人

愛媛県感染症情報センターでは、感染症の予防、医療、研究等に役立て、有効かつ的確な感染症対策の確

立に資することを目的とし、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(いわゆる感染症法)に基づき策定された「愛媛県感染症発生動向調査事業実施要綱」により、医師、医療機関、保健所の協力のもと感染症に関する患者発生や病原体の情報を収集・分析し、これらの結果を速やかに地域に公表している。

対象疾患は、一類から五類感染症、新型インフルエンザ等感染症、指定感染症及び疑似症の114疾患であり、全数把握対象疾患と定点把握対象疾患とに分類される。

全数把握対象疾患は、一類から四類感染症、五類感染症の一部、新型インフルエンザ等感染症及び指定感染症となっており、診断した医師は、疾患の種類により直ちにまたは7日以内に最寄りの保健所に届出を行うこととなっている。また、定点把握対象疾患では、疾患の種類により週毎または月毎に定点医療機関から保健所に患者数が報告される。

今回は、2015年に届出のあった感染症を中心に、愛媛県における発生動向の概要を報告するとともに、当センターの情報活用方法について紹介する。

第13回愛媛県薬剤師会学術大会
(2016.2. 松山市)

ヒト乳腺がん細胞を用いた塩素処理過程における農薬の毒性試験について

愛媛県立衛生環境研究所

○田坂由里、越智雄基、宮本紫織
服部智子、大倉敏裕

多くの農薬は浄水処理場における塩素処理過程で構造が変化し、変化体となるのが近年問題となっている。しかし、農薬取締法における登録審査の際、塩素処理過程で生成した変化体の毒性試験は全く実施されておらず、変化体に関する研究も十分になされていない。変化体の毒性を把握することは不可欠であり、浄水の水質管理を行う上でも重要である。本研究では、細胞生存率を指標とした塩素処理過程における農薬の毒性試験法を新規に確立するとともに、当所で実施した農薬の塩素処理過程における分解性実験において変化体を生成することが示唆された農薬(80種)のうち、親水性農薬(6種)とチオノ型(P=S)有機リン系農薬(6種)について、毒性試験を実施した。

MCF-7細胞において、親水性農薬は1mMの高濃度に

においても塩素未処理農薬及び塩素処理農薬で細胞生存率に差はなく、塩素処理過程における毒性の変化は確認できなかった。チオノ型有機リン系農薬では、EPN 及びフェントロチオンは原体よりオキソン体で毒性が高く、クロルピリホス及びブタミホスは原体とオキソン体で毒性に差はなく、ダイアジノン及びイソキサチオンは原体よりオキソン体で毒性が低かった。このことより、チオノ型有機リン系農薬は、個々の農薬によって原体とオキソン体で毒性に差があることが確認でき、塩素処理過程における安全性にも農薬によって違いがある可能性が示唆された。

第 13 回愛媛県薬剤師会学術大会
(2016.2. 松山市)

ページ・トラップ GC/MS 等水道法告示3法による水中かび臭物質分析結果の比較と妥当性評価

愛媛県立衛生環境研究所

○越智雄基, 田坂由里, 宮本紫織
服部智子, 大倉敏裕

かび臭物質として知られるジェオスミン及び 2-メチルイソボルネオール (2-MIB) は、水道における異臭の観点から水道水質基準項目に位置付けられている。告示で指定されているかび臭物質の検査方法には、ページ・トラップ・ガスクロマトグラフ・質量分析法 (PT/GC/MS)、ヘッドスペース・ガスクロマトグラフ・質量分析法 (HS/GC/MS)、固相抽出・ガスクロマトグラフ・質量分析法 (SPE/GC/MS) 等があり、それぞれ前処理方法が異なるが濃縮過程を経て微量分析を可能としている。

上記 3 法について、かび臭物質標準溶液を添加した水道水及び河川水を用いて妥当性評価を実施した結果、いずれにおいても真度、併行精度及び室内精度は目標を満たし、すべて妥当性が確認されたことから、当所がかび臭物質の分析に使用している PT-GC-MS に不具合が生じた場合は他の 2 法で対応可能である。

また、3 法によりジェオスミンを含有する精度管理試料を測定した結果、定量値の平均値は PT/GC/MS で 9.34 ppt, HS/GC/MS で 8.90 ppt, SPE/GC/MS で 9.38 ppt となり、変動係数はそれぞれ 10%以内と良好な結果であった。

第 52 回全国衛生化学技術協議会年会
(2015.12. 静岡市)

加工食品中に残留する有機リン系農薬に係る試験法の検討

愛媛県立衛生環境研究所

○白石泰郎, 大西美知代, 宇川夕子
服部智子, 大倉敏裕

平成 20 年に発生した中国製冷凍餃子の農薬メタミドホス混入事件に引き続き、平成 25 年のアクリフーズ社製冷凍食品の農薬マラチオン混入事件が発生したことにより、消費者の「食の安全・安心」に対する不安が高まっている。

そこで、食品への農薬混入事故等の緊急時にも対応できる迅速で精度の高い試験法を検討するため、厚生労働省から示されている試験法等について性能評価を実施した。その結果、いずれの試験法においても対象とした有機リン系農薬 11 成分のうち 9~11 成分について良好な結果を得ることができた。しかし、試験法によっては食品中の夾雑物による機器の汚染や精製工程に伴う一部成分の回収率低下等の問題も見られ、多種多様な農薬成分及び食品に対して効果的な手法を検討し、選択する必要があると示唆された。

今後は多くの農薬成分及び食品に適応可能な試験法を検討し、緊急時等にも迅速に対応できる体制の構築に努め、「食の安全・安心」に貢献していきたい。

第 13 回愛媛県薬剤師会学術大会
(2016.2. 松山市)

薬用植物の品質評価法について

愛媛県立衛生環境研究所

○福田裕子, 石丸宗徳, 服部智子, 大倉敏裕

現在、国内で使用されている医薬品原料薬用植物は、8 割以上中国からの輸入に依存しているが、中国国内での需要増加などにより、日本への供給量が不安定な状況となっている。このため、国内産薬用植物供給が急務であり、愛媛県内でも産地化に向けた動きが進んでいる。そこで、県内産薬用植物の県内企業での利用を促進するため、医薬関連製品開発の一助となるよう、県内で栽培研究が行われている薬用植物の一つであるトウキの品質評価法を検討した。

トウキの品質評価法として日本薬局方で定められているエキス含量の測定を実施するとともに、日本薬局方に定めのない有効成分分析法として、他の機関で

実施されている方法を用いてリグスチリド定量法の検討を行った。その結果、トウキの品質評価法として有効であることが確認され、県内で試験栽培されたトウキの品質は良好であった。

第 13 回愛媛県薬剤師会学術大会
(2016.2. 松山市)

愛媛県特定希少野生動植物ナゴヤダルマガエル減少要因の検討

愛媛県立衛生環境研究所

○山内啓治, 山中省子, 長尾文尊, 山中悟

愛媛県立とべ動物園

愛媛自然環境調査会

面河山岳博物館

環境省希少野生動植物種保存推進員 伊藤邦夫

河原医療大学校 宇和 孝

愛媛県における両生類無尾目は、ヒキガエル科 1 種、アマガエル科 1 種、アカガエル科 7 種、ヌマガエル科 1 種、アオガエル科 2 種が確認されている。このうちナゴヤダルマガエル（アカガエル科）が本県レッドリスト絶滅危惧 1 類に分類され、平成 21 年には本県の特定希少野生動植物に指定されている。

県では平成 24 年から 26 年度までの 3 年間、本種の生息地とされている瀬戸内海の西瀬戸自動車道（しまなみ海道）沿いの今治市大三島（大三島町、上浦町）と伯方島（伯方町）の水田地帯を中心に生息状況調査を実施したが、本種の個体を確認することはできなかった。

過去に実施された調査によると、本県で本種が確認された期間は 1977 年から 2005 年までの 29 年間である。そして、その分布が二つの島にまたがっていることや、大三島の島内広域に点在していたことから、かつては多数の個体が生息していたものと推測される。そこで、平成 26 年度末に本調査の関係者でその減少要因を検討した。

その結果、大三島町に関しては、江戸時代から昭和初期にかけての治山治水事業による湿地帯の減少、米の生産調整等による水田面積の減少、水路のコンクリート化、水稻の栽培品種の転換による中干し時期の前進、そして、近年の生息地の開発が減少要因として挙げられ、これらの要因が短期間に連続的に本種の生

息環境を悪化させたため、絶滅の危機に追い込んだのではないかと推測され、水田を生息場所とする他の希少種を絶滅の危機から回避させるための保全策を提言していきたい。

第 18 回自然系調査研究機関連絡会議
(2015.11. 千葉市)

愛媛のトンボ入門

愛媛県立衛生環境研究所

久松定智

愛媛県には何種類のトンボがいて、どんな所にどんなトンボが棲んでいるのでしょうか？県内全域で行った文献・標本・フィールド調査で見えてきた過去 100 年に及ぶトンボの姿を解説します。近年のトンボ情報に加え、トンボの採集方法や標本の作り方などなど、トンボがもっと身近に感じられるお話しです。

第 13 回サイエンスカフェ★えひめ
(2015. 6. 松山市)