

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16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8件で、細菌性食中毒(粘液胞子虫を原因とするものを含む)が7件、ウイルス性食中毒が1件であった。

原因の内訳は、カンピロバクター属菌によるものが4件、黄色ブドウ球菌によるものが1件、サルモネラ属菌によるものが1件、クドア・セプテンブクタータによるものが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	5	1	2				3	1				1	カンピロバクター
★2	6	6	3	7			16						カンピロバクター
3	7	3					3						カンピロバクター
★4	7	11	3	10	11		35	11	3			14	黄色ブドウ球菌
★5	10	6	1	7			14						カンピロバクター
★6	10	21	2	4	17		44	21	2			23	サルモネラ属菌
★7	10	2	1	10			13						カンピロバクター
★8	11	4	1				5						クドア・セプテンブクタータ
9	11							3				3	ノロウイルスGⅡ
10	11	2		10			12						
11	11	19	6		24		49						黄色ブドウ球菌
12	1	1					1						カンピロバクター、三重県依頼
13	2							19	1			20	ノロウイルスGⅡ
14	3	1					1						大分市依頼
15	3	2	2	7			11						カンピロバクター
★16	3							16	6	3		25	ノロウイルスGⅡ
計		79	21	55	52	0	207	71	12	3	0	86	

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4年5月23日	八幡西区	3	3	不明(鶏料理を含む料理)	カンピロバクター	飲食店
6月4日	小倉北区	7	5	不明(鶏料理を含むコース料理)	カンピロバクター	飲食店
7月21日	小倉北区	76	21	不明(仕出し弁当)	黄色ブドウ球菌	飲食店
10月9日	小倉北区	6	4	不明(鶏料理を含むコース料理)	カンピロバクター	飲食店
10月15日	八幡西区	161	33	不明(当該施設で調理された給食)	サルモネラ属菌	認定こども園
10月17日	小倉北区	2	2	不明(鶏のレバー刺しを含む料理)	カンピロバクター	飲食店
11月10日	小倉北区	4	4	ヒラメの刺身	クドア・セプテンブクタータ	家庭
令和5年3月24日	小倉南区	49	18	不明(施設で調理された料理)	ノロウイルス	高齢者施設

(2) 食品衛生に関わる細菌・ウイルス及び残留抗生物質等の検査

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4年度に行った微生物学的試験は、392検体1,218項目で、詳細を表3に示す。

検査の結果、食品衛生法の成分規格はすべての検体で適合していた。

北九州市食品衛生成分規格指導基準(表7)に不適合検体として、魚介類(生食用ウニ)1検体、菓子類(生菓子)3検体および、その他の食品(そうざい)2検体で細菌数が基準超過をしていた。また、穀類加工品(生めん)1検体ではE.coliを検出した。菓子類(生菓子)では5検体より大腸菌群を検出した。

市の指導基準にはないが、魚介類(刺身)7検体より大腸菌群、魚介類(刺身)3検体より黄色ブドウ球菌を検出した。他、魚介加工品(昆布ちりめん)1検体より大腸菌群を検出した。また、市場鮮魚棟使用水40検体中39検体(97.5%)より年間を通して大腸菌群を検出した。

ア 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。

イ 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4年度は総計52検体を検査した結果、鶏たたき1検体からサルモネラO4群およびカンピロバクター・ジェジュニを検出した。腸管出血性大腸菌については、すべて陰性であった。

ウ 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3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8検体を検査した結果、すべて陰性であった。

エ 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、トウモロコシ加工品10検体について、安全性未審査の遺伝子組換えトウモロコシCBH351の遺伝子を定性PCR法により検査した。結果はすべて陰性であった。

(3) 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4年度は、総計43検体のうち29検体から表4に示すウイルスを検出した。

(4) インフルエンザの流行状況

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4年度は9月4日までが昨シーズンとなる。今シーズンは令和4年12月から検体が搬入され、年度末までに21検体の検査を行い、18検体からインフルエンザウイルスが検出された。型・亜型の内訳はA/H3が15株、Bビクトリア系統が3株であった。

(5) 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352検体を検査した結果、すべて陰性であった。

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354検体を検査した結果、陽性は140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354検体を検査した結果、陽性は23検体であった。

(6) 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4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(22名)、O26:H11(1名)、O128:H2(1名)、O111:H-(1名)、O115:H-(1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16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9株あった。以上の結果を表5に示す。

② 薬剤耐性菌

令和4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(75%)、*Enterobacter cloacae complex* 2株(13%)及び*Klebsiella pneumonia* 2株(13%)の合計16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、*Klebsiella pneumonia* 1株からIMP型カルバペネマーゼ遺伝子が検出された。

③ 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、O18であることが判明した。

④ 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

SFTS疑いの患者3名の血清3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。

⑤ デング熱

デング熱疑いの患者1名の血清1検体について、リアルタイムRT-PCR検査を行った。検査結果はデングウイルス1型が検出された。

⑥ 急性脳炎

急性脳炎の患者1名の血清等3検体について、ヒトヘルペスウイルスのRT-PCR検査を行った。検査結果は1検体からヒトヘルペスウイルス6型が検出された。

⑦ 急性弛緩性麻痺

急性弛緩性麻痺疑いの患者2名の血清等13検体について、エンテロウイルスD68のRT-PCR検査を行った。検査結果は1検体からエンテロウイルスD68が検出された。

⑧ 感染性胃腸炎(集団感染)

感染性胃腸炎(集団感染)疑いの患者23名の便23検体について、アデノウイルスのRT-PCR検査を行った。検査結果はすべて陰性であった。

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828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84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、42検体について海外変異株スクリーニング検査を、2,873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 小児の原因不明の急性肝炎

令和4年4月27日付事務連絡厚生労働省健康局結核感染症課事務連絡の別紙中「(1) 暫定症例定義について」に該当する患者3名の血液等16検体について、アデノウイルス及びヒトヘルペスウイルスのRT-PCR検査を行った。検査結果は3検体からヒトヘルペスウイルス7型が検出された（うち1検体はヒトヘルペスウイルス6型も検出）。

⑪ 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。

(7) 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（6、7月）に15施設57検体、秋季（10、11月）に17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8施設20検体で、秋季は12施設33検体で遺伝子を検出した。定量試験の結果、夏季は3施設3検体、秋季は7施設12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。

(8) その他

令和4年5月24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、劇症型溶血性レンサ球菌及び侵襲性髄膜炎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。

① 侵襲性肺炎球菌感染症

肺炎球菌の菌株12名分14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が3名、15Aが2名、6C、10A、16F、20、24B、34及び35B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6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f型が1株、その他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6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1検体、G群溶血性レンサ球菌が3検体であった。

④ 侵襲性髄膜炎菌感染症

侵襲性髄膜炎菌1名分2菌株を送付し、国立感染症研究所での検査の結果、血清型はすべてB群であった。

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4年度は、一般細菌数、サルモネラ属菌、E.coli、及び黄色ブドウ球菌の計4項目を実施し、すべて良好な結果であった。令和4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										
			細菌数	大腸菌群	腸管出血性大腸菌	E.coli	腸炎ビブリオ	サルモネラ属菌	黄色ブドウ球菌	カンピロバクター属菌	残留抗生物質(再掲)	ノロウイルス(再掲)	GMO食品遺伝子(再掲)
魚介類	50	178	50 (1)	34 (7)		16	50		20 (3)			8	
魚介加工品(カン詰・ビン詰を除く)	60	189	60	53 (1)			23		53				
肉卵類(市内流通食品のモニタリング検査含む)	10	51			30			10 (1)		5 (1)	6		
肉卵類加工品(カン詰・ビン詰を除く)	10	40	10			10		10	10				
乳・乳類加工品・乳製品	4	13	4	4					4		1		
アイスクリーム類・氷菓	10	20	10	10									
冷凍食品	10	18	10	7		1							
穀類加工品(遺伝子組み換え食品検査含む)	38	93	28	15		13 (1)			27				10
野菜類・果物(市内流通食品のモニタリング検査)	38	144	6		120	18							
野菜類・果物加工品(カン詰・ビン詰を除く) (市内流通食品のモニタリング検査含む)	23	57	12	17		6	6		16				
菓子類	41	151	41 (3)	41 (5)				28	41				
清涼飲料水	13	39	13	13					13				
水・氷雪	55	124	15	55 (39)			54						
その他の食品(そうざい)	30	101	30 (2)	30				11	30				
計	392	1,218	289	279	150	64	133	59	214	5	7	8	10

()内数値は、陽性検体数もしくは市指導基準値超過検体数を示す。

腸管出血性大腸菌は、O26,O103,O111,O121,O145,O157の6血清型を検査対象項目とした。

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)
インフルエンザ様疾患(21)	咽頭ぬぐい液(21)	3	18	Inf A/H3 (15)、inf B/Vic (3)
ヘルパンギーナ(2)	咽頭ぬぐい液(2)	0	2	CA4 (1)、CA6 (1)
感染性胃腸炎(2)	糞便(2)	1	1	NoroG II (1)
手足口病(5)	咽頭ぬぐい液(5)	3	2	CA6 (2)
急性出血性結膜炎(1)	咽頭ぬぐい液(1)	1	0	
無菌性髄膜炎(6)	咽頭ぬぐい液(2)	0	2	HPeV3 (1)、PaA (1)
	血液(1)	0	1	HPeV3 (1)
	尿(2)	2	0	
	糞便(1)	0	1	HPeV3 (1)
流行性耳下腺炎(3)	咽頭ぬぐい液(3)	3	0	
突発性発疹(1)	咽頭ぬぐい液(1)	1	0	
伝染性紅斑(1)	咽頭ぬぐい液(1)	0	1	EvD68 (1)
その他(1)	尿(1)	0	1	Ad11 (1)
計		14	29	

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 T 1	V T 2
1	5/25	26	11	+	-
2	6/13	157	7	+	+
3	6/17	111	-	+	-
4	6/27	157	7	+	+
5	7/5	157	7	+	+
6	7/19	157	7	+	+
7	7/19	157	7	+	+
8	8/2	157	7	-	+
9	8/8	157	7	-	+
10	8/8	157	7	-	+
11	8/12	157	-	+	+
12	8/18	157	7	+	+
13	8/20	157	7	+	+
14	8/22	157	7	-	+
15	8/29	157	7	+	+
16	9/7	157	7	+	+
17	9/10	157	7	+	+
18	9/21	157	-	+	-
19	9/29	157	7	-	+
20	10/22	157	7	-	+
21	10/24	157	7	+	+
22	10/27	157	7	+	+
23	11/11	157	7	+	+
24	12/8	128	2	+	+
25	12/26	157	7	-	+
26	12/27	157	7	+	+
27	1/6	115	-	-	+
28	3/24	157	7	-	+

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

表7 北九州市食品衛生成分規格指導基準表

基準項目 食品区分		細菌数 (1g当たり) ※1	大腸菌群 (希釈倍数)	病原細菌		
				E.coli	黄色ぶどう 球 菌	腸 炎 ビブリオ
そうざい	加熱調理食品	100,000	陰性 ($\times 10^2$)		陰性	
	未加熱調理食品	100,000				
調理ごはん		100,000	陰性 ($\times 10^2$)			
調理パン		100,000	陰性 ($\times 10^2$)			
めん類	生めん	3,000,000		陰性 ($\times 10$)	陰性	
	ゆでめん	100,000	陰性 ($\times 10$)		陰性	
豆腐(無菌充填を除く。)	包装豆腐	1,000	陰性 ($\times 10$)			
	その他の豆腐	100,000	陰性 ($\times 10^2$)			
魚肉ねり製品	魚肉ハム、魚肉ソーセージ、特殊包装かまぼこ	1,000	※2			
	その他の魚肉ねり製品	100,000	※2			
生菓子		100,000	陰性 ($\times 10^2$)		陰性	
生食用鮮魚介類		100,000				※2
漬物(浅漬)				陰性 ($\times 10^2$)		陰性

(注) ※1 通常発酵工程又は生菌を添加する食品の場合は細菌数の適用はしない。
 ※2 法定基準により成分規格が定められているもの。
 ※3 ()内数値は、検体の希釈倍数を示す。

2 調査研究



令和4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4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4年度
	2	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
	3	災害時等における化学物質の網羅的簡易迅速測定法を活用した緊急調査プロトコルの開発（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4～6年度
	4	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－模擬訓練の実施－		令和4年度
衛生化学	5	着色料（酸性タール色素）の分析法の検討		令和3～4年度
	6	割りばし中防カビ剤のGCMSによる一斉定量分析		令和4年度
	7	家庭用品中の新メタノール試験法への対応		令和4～5年度
微生物	8	qPCR法による食中毒起因菌の一斉スクリーニング検査法の検討		令和4年度
	9	北九州市内で製造されたそうざいの細菌汚染状況と保存温度の影響		令和4年度～5年度
	10	給食施設での一般的な衛生管理によるウエルシュ菌への効果の検証と市内流通食品のウエルシュ菌汚染実態調査		令和4年度～6年度
	11	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
	12	サル痘ウイルス検査法の確立並びに代替試薬及び陽性コントロールに関する検討		令和4年度
	13	Miseqのクオリティコントロールに関するライブラリプーリングサンプルの最適希釈率をQubitにて簡易的に確定できる換算表の作成について		令和4年度
	14	新型コロナウイルスのゲノム解析におけるプーリングサンプルの濃度測定法の比較検討		令和4年度
	15	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5年度
	16	エンテロウイルスD68（EV-D68）の検査法の確立		令和3～5年度

1 化学物質環境実態調査(エコ調査) (環境省受託) (令和4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4年度は、分析法開発(スクリーニング調査)、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、分析法開発(スクリーニング調査)で水質試料中の4-tert-ブチルフェノール、N-ニトロソジ-n-ブチルアミン、リン酸トリス(1,3-ジクロロ-2-プロピル)及びN,N-ジエチル-3-メチルベンズアミドを、初期環境調査で水質試料中の2,5,8,11-テトラオキサドデカン及び2-メルカプトベンゾチアゾールの分析を行った。

(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 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3～5年度)

(1) 調査研究報告

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經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

令和3年度より続き、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(大阪府 淀川)及びMPの分析セミナー(オンライン)に参加した。

また、国立環境研究所よりⅡ型共同研究参加機関

向けの共用の試料採取器具を借用し、市内河川(板櫃川)4地点で試料採取を実施した。採取した試料についてはガイドライン法に基づいて処理を実施し、実体顕微鏡での観察、およびFT/IRでの測定を実施した。

板櫃川でのMPの個数密度は0.4～0.6個/m³となり、地点間での違いはあまり見られなかった。また、FT/IRによる測定では、ポリエチレンとポリプロピレンが各々総数の40%を占めていた。

(3) 成果の活用等

引き続き市内河川の調査を実施し、知見を得る予定である。

3 災害時等における化学物質の網羅的簡易迅速測定法を活用した緊急調査プロトコルの開発(Ⅱ型共同研究)(令和4～6年度)

(1) 調査研究報告

近年各地で頻発している豪雨や地震などの災害では、ガス容器の流出や毒物劇物保管庫の浸水などにより化学物質が流出する事故が発生している。災害時の化学物質による健康被害等を防ぐために災害時及び災害後の環境モニタリングが注目されている。本研究では環境モニタリングに有効な自動同定定量システム(以下「AIQS」という。)を用いて災害時等における緊急調査プロトコルを開発するものである。

(2) 実施結果又は経過

AIQSを使用するためには、使用するGCMSの条件を規定された状態にする必要がある。本研究を通じて条件に適合させる方法について情報収集を行った。

また、装置の性能が条件を満たしたため、前述の「1 化学物質環境実態調査(エコ調査)」の分析法開発(スクリーニング調査)で洞海湾の試料の分析を行い4化学物質の解析を行った。

さらに本研究ではAIQSのデータベース(以下「DB」という。)に収載されている化学物質について各研究機関で保有する物質のリテンションインデックスを再測定し補正值を算出することでDBを更新することを目的としている。本所で所有する化学物質の一部について分析を実施した。

(3) 成果の活用等

本プロトコルを実践するため、平常時の市内公共用水域の調査を実施し、災害時に備えた平常時の状態を確認する予定である。

また引き続き本所で所有する化学物質についてリテンションインデックスを再測定しDBの更新に協力する。

4 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 ー模擬訓練の実施ー

(令和4年度)

(1) 調査研究内容

水質事故等に係る検査依頼に対する分析技術の水準を維持・向上させることを目的に、令和3年度に「水質事故・苦情に係る検査依頼への対応力向上」に取り組み、水質事故等に係る検査依頼に対して原因を追究する実施手順を整備した。

実施手順の内容を確認し、水質事故時に適切に検査を実施できる体制を整えることを目的に、実際の水質事故を想定した模擬訓練を実施した。

(2) 実施結果又は経過

①水質事故シナリオを全員に配付し、各自で原因物質を事前に想定した。②実施手順に従い、模擬検体を分析した。分析実施後は結果を全員に共有し、各自で分析結果から原因物質を推定した。③正解(水性塗料)発表後、自身の推定と正解を比較し、新たに得た知見、改善点、推定とのずれに係る考察等を各自で実施した。④上記①～③の内容を全員で共有し、分析を実施する際に注意する点等を共有した。

(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。

5 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、未だにキサンテン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

トリプ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ンテン系色素の回収率は、定量検査可能なレベルに改善した。

アゾ色素についても同レベルの回収率を目指したが、高タンパク質試料によるHPLCの経路、カラムの汚染が判明したため、分析装置への負荷を考慮し、TLCによる検出に戻し、現実的かつ確実な定性分析を行うこととした。

TLCであっても、タンパク質によりスミアなバン

ドや移動度への影響が懸念された。実際、抽出液にTHFを用いると夾雑物が増えることから、抽出はアンモニア添加エタノールのみとした。トリプシン処理も、その分解産物とトリプシン自体が夾雑物となりうることから省略した。

以上の結果、適切なスポット回数で実施すればアゾ色素の検出もほぼ問題ないことが確認された。

(3) 成果の活用等

標準作業書を整備し、より安定的に試験検査を実施していく。

6 割りばし中防カビ剤のGCMSによる一斉定量分析

(令和4年度)

(1) 調査研究内容

「割りばしに係る防カビ剤の検査については、厚労省食安艦・食安基発第1113001号に基づき、HPLCによる定量試験を行っている。対象物質はオルトフェニルフェノール(OPP)、チアベンダゾール(TBZ)、ジフェニル(DP)、イマザリル(IMZ)であるが、IMZは移動相が異なるため、同一検液に対して2回の試験が必要となる。さらにいずれかの物質のピーク検出時には、GCMSによる確認試験(定性)を行う必要がある。

当所では、既に農産物の防カビ剤に対する一斉分析法を確立しており、OPP、DPについてはGCMSを用いて定量分析を実施している。同法ではTBZ、IMZに関しては、LCMSMSを用いているがGCMSでも検出可能であり、割りばしに含まれる防カビ剤の基準が「(HPLCを用いた試験で)検出されないこと」であることから、HPLCより高性能なGCMSで感度的には充分対応できる。

以上のことから、GCMS単独で分析対象4物質を一斉分析することにより、検査の高精度化、操作の合理化と時間短縮を図ることを目的とした。

なお、本試験に関する根本的な問題として、添加回収試験において、多孔質である割りばし素材に標準物質が吸着されてしまい、回収率が低いという指摘が内外から挙げられている。

HPLCの場合、溶出溶媒は食品疑似溶媒である20%エタノールが規定されている。GCMSでは100%メタノールとされており、多少なりとも回収率の改善が見込めるが、さらなる改善のため、他の溶媒による溶出も検討した。

(2) 実施結果又は経過

試料がメタノール溶出となることから、標準列も同溶媒で作成し検量線を引いた。そのままでは曲線となるものが多かったことから、装置経路への吸着が疑われた。そこで、農産物防カビ剤分析時と同様、

疑似マトリクスとしてPEGを混合し、精度を高めるため内標と共に注入することとした。なお、島津GCMSのオートサンプラーに付随の機能を利用し、これらはサンドイッチ注入とした。

その結果良好な直線性が得られたので、定量試験が可能と判断した。

試料の添加回収試験を試みた。GCMS分析となることから溶出には水を用いないため、メタノールを用いた。通知法は1回の温浴のみであるが、2回の温浴と超音波抽出、最後に遠心機によるスピンドウンにより、極力損失を抑えることとし、OPP以外は通知法を大きく上回る回収率が得られた。

OPPは水溶性が高いため、5%の水を添加した溶出液で追加の溶出を行えば、若干回収率の上積みできたが、その程度は5～10%に過ぎなかった。実際の試験ではOPPは検出例がないことから、ピーク検出時には従来法で再検査することとしたい。

(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。

7 家庭用品中の新メタノール試験法への対応 (令和4年度～5年度)

(1) 調査研究内容

当所では、保健所からの依頼により家庭用品中のメタノール含有量等の測定を行っている。

令和4年3月、当該メタノール試験法が改定され、GC-FID（水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ）による試験法からGC-MSを用いた試験法（新試験法）に代わった。また、他の試験法による試験の採用も可能となった。

よって、新試験法について、当所でも対応可能かどうかを検討するとともに、対応できない場合には他の同等以上の精度をもった試験法について検討する。

(2) 実施結果又は経過

新試験法はヘッドスペースガスクロマトグラフの測定方法であるが、当部門ではヘッドスペースのオートサンプラー、加温振とう機等所有していないため、機器や試験方法等の創意工夫し、標準作業書を整備することが求められている。令和4年度は、振とう機と加温機を組み合わせることで加温振とう機の代用とし試料等を調整し、測定装置は既設のGCMS内にYコネクタを使用し、「メタノールカラム」「メタノール以外カラム」の2種類のカラムを取り付けた。メソッドは厚生労働科学研究費補助金対象の「家庭用品中の溶剤試験法に関する研究」を参考にメソッドを作成した。

(3) 成果の活用等

今後、測定を実施し、標準作業書を整備していく。

8 qPCR法による食中毒起因菌の一斉スクリーニング検査法の検討 (令和4年度)

(1) 調査研究内容

食中毒事件においては迅速な原因物質の特定が求められるが、現在の細菌性食中毒の培養検査では、原因菌の確定までに平均5日ほどの日数を要する。そこで、細菌性食中毒検査の迅速化・省力化を目的に、16種類の遺伝子をターゲットとしたリアルタイムPCR法による食中毒菌一斉スクリーニング検査法の検討を行った。

(2) 実施結果又は経過

解析を行った遺伝子のうち15遺伝子について指数関数的増幅を認めるとともに、融解曲線分析で各遺伝子に特異的なTm値の再現性を確認した。また各反応系2種類のTm値はそれぞれ明瞭に判別できることを確認した。さらに、実際の食中毒事例の便検体で一斉スクリーニングを試みたところ、培養法では確定までに5日を要するところ、4時間半で原因菌を推定し、培養法と同等の結果を得ることができた。

(3) 成果等の活用

本法の説明を保健所等に行い、今後の食中毒事件での導入に向けての意見交換を行うとともに、令和4年度保健福祉発表会論文にて発表。

9 北九州市内で製造されたそうざいの細菌汚染状況と保存温度の影響 (令和4年度～5年度)

(1) 調査研究内容

市内で製造されたそうざいの取去検査結果について過去5年分をまとめ、細菌汚染実態を把握するとともに、スーパー等のそうざいを家庭で常温または冷蔵保存した場合の細菌数の経時変化について実験を行った。

(2) 実施結果又は経過

そうざいの細菌数の指導基準不適（10万/g超過）率は全体で7.1%であった。しかし、スーパー等に限ると指導基準不適率は13.4%とやや高く、さらに大腸菌群陽性や黄色ブドウ球菌陽性の検体もあった。常温（25℃）保存試験では、全6検体のうち24時間経過後は5検体が指導基準値を超えた。また、冷蔵（4℃）保存試験でも全6検体中、1検体だけ細菌数が指導基準値を超え、冷蔵保存でも細菌の増殖を完全に防ぐことは難しいことが確認された。

(3) 成果等の活用

調査結果を保健所等に情報提供を行うとともに、令和4年度保健福祉発表会論文及び保環研だより4号にて発表。

10 給食施設での一般的な衛生管理によるウエルシュ菌への効果の検証と市内流通食品のウエルシュ菌汚染実態調査

(令和4年度～6年度)

(1) 調査研究内容

ウエルシュ菌食中毒は「給食病」の異名があり、市内でも2018～2021年の間に4件のウエルシュ菌食中毒が給食施設で発生している。厚生労働省より示されている「大量調理施設衛生管理マニュアル」におけるウエルシュ菌の増殖抑制効果を検証するとともに、ウエルシュ菌検出の技術習得・SOP作成を目的とする。また、市内流通食肉(牛、豚、鶏肉)・食肉製品のウエルシュ菌汚染実態調査を併せて行う。

(2) 実施結果又は経過

文献調査を行い、定量試験法・定性試験法ともにウエルシュ菌検査技術を確立することができた。食肉製品の汚染実態調査は収去検体を用い行ったが不検出であったため、市内の状況を把握するためには今後も調査を継続する必要があると思われる。

(3) 成果等の活用

ウエルシュ菌検査方法のSOPを作成するとともに、引き続き「大量調理施設衛生管理マニュアルに沿った衛生管理」によるウエルシュ菌の増殖抑制効果の検証試験及び汚染実態調査に取り組む。

11 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を入手し、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%)

次に、ゲノム解析を実施した学校関係のクラスター9施設について、同時期の市内患者1,300名のゲノム解析の結果と合わせて、ハプロタイプネットワークの作成を行い、他のクラスターとの関係性がないか等の解析を行った。

(3) 成果の活用等

今後、新たな感染症が発生した際、保健所等と連携し、ゲノム解析結果を還元するよう努める。

12 サル痘ウイルス検査法の確立並びに代替試薬及び陽性コントロールに関する検討

(令和4年度)

(1) 調査研究内容

サル痘ウイルス(現：エムボックスウイルス)病原体検出マニュアル第2版(令和4年8月改訂、国立感染症研究所、以下、「感染研法」という。)が公表されたことから、感染研法を基にしたSOP作成を目標とした。

(2) 実施結果又は経過

感染研法記載の試薬を用いて、2種類のリアルタイムPCR装置(7500Fast及びLC480Ⅱ)でサル痘ウイルス遺伝子(MPXV)の検出を行ったところ、SYBR Green法において、LC480Ⅱの方が7500Fastと比べ検査時間を約30分短縮することができた。

次に、TaqMan Probe法の検査について、感染研法記載試薬①QuantiTect Probe PCR Master Mix及び3種類の代替試薬(②QuantiTect Probe RT-PCR Kit、③Premix Taq、④TaqMan Fast Virus 1-step Master Mix)を用いて、7500Fast及びLC480ⅡでリアルタイムPCRを行った。

A：7500Fast

MPXV及び水痘ウイルス(VZV)について、①及び④で試験が成立し(40サイクル以内にスタンダードDNAの102コピーのシグナルの立ち上がりを確認でき)、④は①に比べCt値が低く、蛍光シグナル強度も約10倍強かった。

B：LC480Ⅱ

MPXV及びVZVについて、①、③及び④において試験が成立し、最もCt値が低かったのは④だった。また、①と④の蛍光シグナル強度は変わらず、③の強度は、それに比べてやや低かった。

以上より、感染研法記載試薬①より代替試薬④の方がCt値、蛍光シグナル強度について良好な結果が得られたため、代替試薬となる可能性が示唆された。

(3) 成果の活用等

今後、作成したSOPに基づき検査する。

13 Miseqのクオリティコントロールに関するライブラリプーリングサンプルの最適希釈率をQubitにて簡易的に確定できる換算表の作成について (令和4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)して測定を行うが、プーリングサンプルを適切な濃度(4nM)に希釈することが重要である。本所ではリアルタイムPCRを用いてプーリングサンプルのモル濃度を算出しているが、この方法は約3時間程時間を要している。その一方で、Qubitを用いた方法では約10分で重量濃度を測定可能であることから、本研究ではこれまでに実施したゲノム解析の結果から重量濃度とモル濃度の相関関係を調べ、重量濃度をモル濃度へ換算することでプーリングサンプルをQubitにて簡易的に定量することが可能か検討した。

(2) 実施結果又は経過

令和4年8月～令和5年3月までに行った18回のゲノム解析で測定したプーリングサンプルのモル濃度と重量濃度を調べたところ、両者の間に相関関係は見られなかったため換算表の作成には至らなかった。

(3) 成果の活用等

今後もリアルタイムPCRを用いてプーリングサンプルの濃度測定を行っていく。

14 新型コロナウイルスのゲノム解析におけるプーリングサンプルの濃度測定法の比較検討 (令和4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)して測定を行うが、プーリングサンプルを適切な濃度(4nM)に希釈することが重要である。本所ではリアルタイムPCRを用いたTaqMan Probe法でプーリングサンプルの濃度を測定しているが、TaqMan Probe法とSYBR Green法とでは、どちらがより正確なライブラリーサンプルの定量を行うことができるか比較検討した。

(2) 実施結果又は経過

令和3年8月～令和4年1月までに行われたゲノム解析で用いたシーケンス済みのプーリングサンプル10検体について、両方法を比較した結果、

TaqMan Probe法の方が正確に測定できていることが判明した。

(3) 成果の活用等

今後もTaqMan Probe法でプーリングサンプルの濃度測定を行う。

15 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5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、市内におけるMuV流行状況の実態把握を目的に、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の検出を試みる。MuVが検出された場合は、シーケンサーにより塩基配列を解析し、その結果を国立感染症研究所に提供する。

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4年度は10検体の検査を行ったが、すべてMuV陰性だった。令和4年度は、令和3年度(26検体中1検体陽性)同様、MuVの流行が落ち着いていた。

(3) 成果の活用等

MuVは、3～4年周期で発生の増減があることから今後とも発生動向を注視し、共同研究に協力していく。

16 エンテロウイルスD68 (EV-D68) の検査法の確立 (令和3年度～5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、サーベイランスにおいてCODE-HOP法により陽性となり、シーケンサーでEV-D68と判明した検体を用いてEV-D68の検査法

の確立を目的に、高感度検出PCRを行った。

(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(以下、「手引き」という。)」記載のEV-D68高感度検出PCRを参考にプライマーの選定を行い、コンベンショナルPCRを行った。手引きには、cDNA合成を行った後にPCRを行う2Step-PCRでの手法が掲載されていたが、本研究ではQIAGEN One Step RT-PCR Kitを用いて、cDNA合成とPCRを同時に行って検査時間を短縮できる1Step-PCR法を用いた。

検査の結果、電気泳動後に、PCR増幅産物が確認できたため、シーケンサーにより塩基配列を得てBLAST解析した結果、EV-D68の塩基配列であることが確認できた。これらの結果をもとに、EV-D68のSOPを制定した。

また、この制定したSOPを用いて、当所に搬入された急性弛緩性麻痺患者2名の臨床検体を検査したところ、1名1名の尿検体からEV-D68を検出した。

(3) 成果の活用等

今回制定したSOPの有用性を実際の検査においても確認できた。しかし、手引きに掲載されているcDNA合成を行った後にPCRを行う2Step-PCRでの手法とSOPで制定した1Step-PCRでの手法の測定感度や検査時間などの比較試験を実施できていないため、今後は比較試験を行い、制定したSOPを検証していく。