

Annual Report
of
Kobe Institute of Health
L (2022)

神戸市健康科学研究所報

第 50 卷

2022

神戸市健康科学研究所

神戸市中央区港島中町4丁目6番5号
4-6-5 Minatojima-nakamachi, Chuo-ku, Kobe 650-0046, Japan

はじめに

神戸市健康科学研究所報第 50 巻の発刊をご報告申し上げます。

本所報では、令和 3 年度の健康科学研究所の活動実績、令和 4 年度に取り組んでいる調査研究テーマ、そして、研究報告としての「原著」、「著書及び発表論文記録(令和 3 年度)」、「学会発表記録(令和 3 年度)」をまとめて編纂しております。次ページに目次を添えておりますので、ご興味を引いた項目からでも目を通していただき、忌憚のないご意見、ご指導、そしてご支援いただければ幸甚です。

さて、本報の対象年度である令和 3 年度は、新型コロナウイルス感染症パンデミックの第 2 章ともいえる、変異株対応に多くの力を注ぎこんだ 1 年になりました。前年度末からのアルファ株、その後のデルタ株、そして、オミクロン株と、新たな変異株が次々と出現し、そのたびに感染の波が大きくなり、公衆衛生に携わる我々や社会全体に対して様々な課題を突き付けてきました。オミクロン株 BA.5 系統による感染の勢いは今も続いております。感染症対策のライフラインであるサーベイランスの手を緩めることなく、異変をいち早く捉え、実効性の高い感染拡大防止につなげてゆかなければなりません。

当研究所には、神戸市民の皆様はもとより本市を来訪される方々の安全・安心を確保するための保健衛生業務の科学的かつ技術的中核を担うという使命があります。今回のパンデミックで瞬く間に人間社会に定着した新型コロナウイルス感染症をはじめ、様々な健康危機事例に対して、最新の科学的知識と高い技術力で迅速に対応できるよう、職員一同、日々研鑽に励んでまいります。

市民の健康と安全・安心に向け今後とも一層の努力をしてゆきたいと思っておりますので、関係各位の皆様のご支援・ご協力を宜しくお願い申し上げます。

令和 4 年 9 月

神戸市健康科学研究所長
岩本 朋忠

目 次

はじめに

神戸市健康科学研究所長 岩本 朋忠

研究所概要(令和4年度)

I 組織・職員及び予算

1 組織	1
2 職員配置表	2
3 人事異動	2
4 令和3年度歳出入(決算額)	4

業務報告(令和3年度)

I 各部業務の概要

1 事務の概要	5
2 感染症部の概要	9
3 生活科学部の概要	16

II 業務実績

1 講演会・研修	
1) 健科研セミナー	25
2) 研修会・講習会	25
3) 著書及び発表論文	26
4) 学会等発表	28
2 検査件数	30

調査研究テーマ(令和4年度)	37
----------------	----

研究報告

I 原著

1 マルチプレックスリアルタイムPCRによる下痢原性大腸菌の 遺伝子検出法	谷本 佳彦 他	39
2 酸性タール系色素の精製時使用のポリアミドへの吸着に についての基礎的検討	上田 泰人 他	44

II 著書及び発表論文記録(令和3年度)	47
----------------------	----

III 学会発表記録(令和3年度)	55
-------------------	----

参考

沿革	59
----	----

所報編集委員会

研 究 所 概 要 (令和 4 年度)

I 組織・職員及び予算

1 組織(令和4年5月1日現在)

健康局保健所健康科学研究所 所長(技) 岩本朋忠	
事務部門 担当係長(再・事) 荒川宏史 担当係長(再・技) 都倉亮道	<ol style="list-style-type: none">1. 所の庶務及び所内事務の連絡調整2. 手数料等の徴収3. 施設の管理4. 動物飼育等の検査及び研究に付随する業務5. 感染症の発生動向の調査(病原体の情報に関するものに限る。)6. 感染症及び食品衛生の信頼性確保業務
感染症部 部長(技) 向井健悟 副部長(技) 森愛 副部長(技) 中西典子 副部長(技) 有川健太郎 副部長(技) 野本竜平	<ol style="list-style-type: none">1. 感染症、食中毒等の微生物学的試験検査及び調査研究2. 感染症の血清学的試験検査
生活科学部 部長(技) 大久保祥嗣 副部長(技) 山路章 副部長(再・技) 上田泰人 副部長(再・技) 八木正博	<ol style="list-style-type: none">1. 食品衛生の試験検査及び調査研究2. 家庭用品等の試験検査及び調査研究3. 大気汚染、水質汚濁等の試験検査及び調査研究4. 一般環境衛生の試験検査及び調査研究

2 職員配置表(令和4年5月1日)

	事務職員	健康科学 研究職	臨床 検査技師	獣医師	総合 科学職	病院 業務員	会計年度 育休代替	計
事務部門	3[2]	1			1[1]	4[3]	2	11[6]
感染症部		6	1[1]	1	7		*1	15[1]
生活科学部		2[1]		1	8[1]			11[2]
計	3[2]	9 [1]	1[1]	2	16[2]	4[3]	2	37[9]

[]は、職員数のうち再任用職員数を示す。

病院業務員は事務部門の所属であるが、感染症部に2[2]名、生活科学部に1名を配置している。

*は、育休代替任期付職員(集計に含めず)

3 人事異動

【昇任】

- R.4.4.1 健康科学研究所所長(技術職員) 岩本 朋忠 (健康科学研究所感染症部部長)
- R.4.4.1 感染症部副部長(技術職員) 中西 典子 (健康科学研究所感染症部)
- R.4.4.1 感染症部副部長(技術職員) 有川 健太郎 (健康科学研究所感染症部)

【転入】

- R.4.4.1 感染症部部長(技術職員) 向井 健悟 (健康科学研究所生活科学部部長)
- R.4.4.1 生活科学部部長(技術職員) 大久保 祥嗣 (西部衛生監視事務所担当課長)
- R.4.4.1 事務部門担当係長(再・技術職員) 都倉 亮道 (健康科学研究所感染症部)
- R.4.4.1 事務部門(再・事務職員) 五條 真利子 (健康科学研究所事務部門)
- R.4.4.1 事務部門(再・技術職員) 矢野 浩二 (健康科学研究所事務部門)
- R.4.4.1 感染症部(育休代替任期付職員) 秋吉 京子 (健康科学研究所事務部門)
- R.4.4.20 感染症部(技術職員) 伏屋 智明 (西部衛生監視事務所)
- R.4.4.20 感染症部(技術職員) 大西 優伽 (健康科学研究所生活科学部)
- R.4.4.20 生活科学部(技術職員) 加山 絵理 (食品衛生課)
- R.4.4.20 事務部門(再・事務職員) 山下 幸治 (行財政局 業務改革課)

【新規】

- R.4.4.20 感染症部(技術職員) 近藤 隆彦 (新規採用)

【退職】

- R.4.3.31 健康科学研究所所長(再・技術職員) 飯島 義雄 (期間満了退職)
- R.4.3.31 事務部門(事務職員) 五條 真利子 (定年退職)

R.4.3.31 事務部門(技術職員) 矢野 浩二 (定年退職)

【転出】

R.4.4.1 感染症部副部長(技術職員) 濱 夏樹 (食品衛生検査所)

R.4.4.20 感染症部(技術職員) 宮本 園子 (保健課)

R.4.4.20 感染症部(技術職員) 米澤 武志 (食品衛生課)

R.4.4.20 事務部門(再・事務職員) 五條 真利子 (福祉局 障害者更生相談所)

4 令和3年度歳出入(決算額)

(単位:千円)

歳 出		金 額	歳 入		金 額
健康科学研究所費等		339,834	健康科学研究所費等		539,846
	報酬	0	衛生手数料		507,142
	賃金	0	雑入※		26,352
	報償費	0	国庫補助金等		6,352
	旅費	0			
	需用費	159,958			
	役務費	48,029			
	委託費	7,944			
	使用料及賃借料	32,910			
	工事請負費	42,900			
	公有財産購入費	28,940			
	備品購入費	19,039			
	負担金補助及び交付金	114			

※雑入の内、分析調査受託分

(単位:千円)

件 名	金 額	依 頼 者	備 考
有害大気汚染物質分析調査	14,659	神戸市環境局	H9年度開始
化学物質環境実態調査	2,046	神戸市環境局	H21年度開始
地下水質調査	2,068	神戸市環境局	H20年度開始
精度管理調査	2,755	神戸市環境局	H21年度開始
ゴルフ場農薬調査	4,484	神戸市環境局	H21年度開始

業 務 報 告

I 各 部 業 務 の 概 要 (令和3年度)

I 各部業務の概要

1 事務部門の概要

事務部門 担当係長 荒川 宏史

事務部門は、所長 1 名、事務担当者 6 名(再任用・会計年度任用職員含む)、業務員 4 名(再任用含む。うち 3 名は他部に配置)の 11 名で構成され、業務は次のとおりである。

1 所の庶務及び所内事務の連絡調整

健康科学研究所内の人事・給与関係事務、予算・決算業務、物品調達ほか各種契約に伴う経理事務など、研究所全体の庶務事務及び所内事務の連絡調整を行っている。

健康科学研究所における調査研究においては、「市民に求められる研究所づくり」を目標に、感染症、食品衛生、環境衛生等それぞれの分野で調査研究テーマを決めて取り組んでいる。令和 3 年 8 月に「令和 3 年度調査研究テーマ集(第 31 集)」を発刊し、調査研究を実施した。

研究所職員並びに保健所等の保健衛生に従事する職員等の資質向上に資するため「健科研セミナー(旧環保研セミナー)」を毎年定期的の実施していたが、令和 3 年度は、新型コロナウイルス流行のため 3 月に 1 回のみ実施した。

2 手数料等の徴収

関係機関や市民等から依頼のある各種検査の受付業務を行い、神戸市健康科学研究所手数料条例及び同施行規則に基づき、検査手数料の請求及び徴収を行っている。

3 施設の管理

研究所の施設・設備の管理を担当しているが、現施設が築後 41 年を経過し老朽化が見られるため、保全改修計画に基づき、計画的に施設・設備の整備・改修・更新等を図っている。なお、耐震補強も平成 28 年 8 月に完了した。

また、病院業務員を配置し、所内各部の実験器具の滅菌・消毒・洗浄・整理、培地作製など試験検査の支援体制を整えている。

4 動物飼育等の検査及び研究に付随する業務

研究所 1 階に動物飼育室を設置しており、動物飼育等の検査及び研究に付随する事務も担当している。

5 感染症の発生動向の調査(病原体の情報に関するものに限る。)

1) 感染症の発生動向に関する情報提供

事務部門では、感染症部において実施されている病原体検査(定点届出対象の五類感染症のうち 15 疾病の病原体検査および全数把握対象の可能な限り実施した病原体検査)および市内の 13 病院、1 検査機関から送られてくる病原体検出情報を取りまとめ解析し、神戸市感染症情報センターが発行する週報、月報で情報の発信を行っている。また、病原体情報は国立感染症研究所感染症情報センターにも報告している。

(注)神戸市における感染症情報は、神戸市保健所内に設置されている「神戸市感染症情報センター」が取りまとめを行っている。医師が届出対象の感染症患者を診断した場合、保健所に届けが行われる。届出を行わなければならない疾患は、一類から四類感染症の全てと五類感染症の一部であり、残りの五類感染症は定点(病院)だけが届出を行う。これらのデータを、市内の各区、年齢別に整理し、「神戸市感染症発生動向調査週報」および「月報神戸市感染症情報」として、神戸市ホームページに公開している。また、保健所内の感染症情報センターから医師会を通して医療機関に提供するとともに厚生労働省に報告している。

2) 市内医療機関等への感染症情報のフィードバック

例年、市内の感染症発生動向調査結果をまとめ、感染症患者発生状況および病原体検出状況について、定点として協力いただいている医療機関並びに神戸市新型インフルエンザ等対策病院連絡協議会医療機関等を対象に研修会(神戸市感染症発生動向調査定点研修会)を開催していたが、新型コロナウイルス感染症発生のため令和元年度から 3 年続けて中止になった。

3) 「神戸市感染症の話題」

保健所保健課が発行する「神戸市感染症の話題」に疾病および病原体に関する話題を提供している。

令和 3 年

6 月 病原体検出状況(病院検査室定点) 2020 年
(令和 2 年)

8 月 2020 年病原体検出状況(神戸市実施分)

6 情報発信

1) 所報

「神戸市健康科学研究所報第 49 巻(2021)」を令和 3 年 11 月に発刊し、本市の関係機関(保健所、神戸市関係病院、環境局等)、地方衛生研究所、地方環境研究所、大学や国の関係機関(感染症研究所、国会図書館、環境省等)に配付し、情報を発信した。

2) ホームページの作成、更新

神戸市のホームページ上で、健康科学研究所の業務を、広く市民に理解されるよう、わかりやすい情報の発信に努めており、適宜、内容を更新し、新しい情報を提供している。特に研究所で実施している新型コロナウイルスの検査情報をタイムリーに掲載するように努めた。

また、平成 29 年度から開催されている倫理審査委員会専門部会の開催内容と承認された研究計画内容および問い合わせ先等を市民の方々に提示している。

7 食品衛生検査の信頼性確保業務

食品衛生法では、食品収去検査の信頼性を確保するために、業務管理(GLP)という制度の導入を義務付けている。健康科学研究所では、検査部門である感染症部が実施する微生物学的検査および生活科学部が実施する理化学的検査が適切に行われていることを確認するため、事務部門が信頼性確保部門の業務を担当している。

LA(Laboratory Accident)が発生した際には、LA の事実関係を共有し是正改善を行うために、検査施設管理者(所長)、両部の検査部門責任者(部長)・両部の全検査区分責任者(副部長)、および信頼性確保部門の指定された職員(事務部門担当係長)・担当者(事務部門)で、健康科学研究所 GLP 協議会を開催している。

1) 内部精度管理

微生物学的検査および理化学的検査について、信頼性確保部門責任者(保健所長)と協議の上、検査部門に対し年度計画を作成させ、その計画に基づき実施するよ

う指示し、内部点検時に検査部門の内部精度管理が適正に実施されているかについて確認した。

2) 外部精度管理

(一財)食品薬品安全センター(秦野研究所)が実施する「食品衛生外部精度管理調査」に参加した。感染症部は一般細菌数測定検査と細菌同定検査(大腸菌群、E. coli、腸内細菌科菌群、黄色ブドウ球菌、サルモネラ属菌)に参加し、良好な結果であった。また、生活科学部が参加実施した、食品添加物検査(着色料の定性、ソルビン酸の定量)、残留農薬検査(残留農薬の定性、クロロピリホス・ダイアジノン・フルトラニルの定量)、残留動物用医薬品検査(スルファジミジンの定量)、特定原材料検査(2 種類の検査キット使用)については、良好な結果であった。

3) 内部点検

感染症部および生活科学部に対して、内部点検実施計画に基づき、信頼性確保の基本的事項が適切に実施されているかを確認した。

実施日:令和 4 年 2 月 28 日(月)

内部点検の種類

- ・検査項目ごとに行う点検
- ・精度管理に関する点検
- ・外部精度管理調査の受け入れに関する点検
- ・その他の点検

8 病原体等の検査の信頼性確保業務

「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」および「検査施設における病原体等検査の業務管理要領の策定について」に基づいて、感染症部が実施している病原体等の検査が、適切に行われていることを確認するため、事務部門が信頼性確保部門の業務を担当している。

1) 内部精度管理

感染症部が実施した信頼性確保試験の結果の確認を行った。

2) 外部精度管理

厚生労働省が実施する外部精度管理事業「課題 1 新型コロナウイルスの次世代シーケンシングによる遺伝子の解読・解析」および「課題 2 新型コロナウイルスの拡散検出検査(リアルタイム RT-PCR 法)」に参加した。両課題ともすべて判定は正解であった。

また、結核予防会結核研究所による「結核菌 VNTR 遺伝子型別外部精度管理検査」に参加し、結果は良好であった。

3) 内部監査

内部監査実施年度計画に基づき、信頼性確保の基本的事項が適切に実施されているか確認をした。

実施日：令和3年12月9日(木)、10日(金)

内部監査の種類

- ・検査項目ごとに行う点検
- ・精度管理に関する点検
- ・外部精度管理調査の受け入れに関する点検
- ・その他の点検

9 倫理審査委員会専門部会

神戸市健康科学研究所は、市民生活にとって大切な健康・安全・安心に関する試験検査や調査研究を行っている。この中には人体より採取した試料(咽頭拭い液、尿、血液等)を用いる研究も含まれており、これらの研究を進める際には、科学のおよび倫理的妥当性が求められ、かつ個人情報保護をすることが必要となる。そのため専門性見地から、神戸市保健事業に係る研究倫理審査委員会専門部会で倫理審査を実施している。

専門部会は神戸市保健事業に係る研究倫理審査委員会の委員長が指名する委員及び臨時委員で組織している(神戸市保健事業に係る研究倫理審査委員会規則第5条第3項)。

1) 委員数 5名以上20名以内

2) 構成

- ・医学又は医療の分野において専門的知識又は経験を有する者
- ・倫理学又は法学の分野において専門的知識又は学識経験を有する者
- ・一般の立場から意見を述べることのできる者
- ・男女両性で構成されていること
- ・委員会の設置者の所属機関に所属しない者が複数含まれていること

3) 任期 2年

4) 審査状況

i) 通常審査(令和3年10月15日)

新型コロナウイルス感染症のため Web により開催し、専門部会委員8名のうち7名(臨時委員1名を含む)が出席し、「新型コロナウイルスのワクチン接種によって獲得された抗体の経時変化・ウイルス中和効果に関する研究」について審議し、承認された。

ii) 迅速審査

3回行い、すべての研究課題が承認された。

① 第1回迅速審査(令和3年7月8日)

- ・レジオネラ症患者発生時における感染源調査と分子疫学解析
- ・行政検査で下痢症疑い患者ならびにその関係者より検出された病原菌の分子疫学と感染制御に関する研究
- ・次世代シーケンス技術による結核菌分子疫学検査の高精度化と感染制御に関する研究
- ・大阪湾岸地域における結核菌広域感染拡大株の探索と迅速検出法の開発
- ・肺非結核性抗酸菌症の臨床診断法の開発：
肺 *Mycobacterium avium complex* 症の予後を予測出来る菌側因子の探索
- ・行政検査で検出されたウイルスの詳細な性状解析
- ・COVID-19 抗原検出試薬の研究開発
- ・神戸市内の侵襲性肺炎球菌感染症における血清型遷移と疫学的・細菌学的解析
- ・薬剤耐性菌のモニタリングと耐性機序の解析
- ・行政検査の対象となった5類感染症原因細菌の分子疫学解析
- ・急性脳炎・脳症患者検体からの次世代シーケンサーを用いた病原体探索

② 第2回迅速審査(令和3年9月7日)

- ・宿主ゲノム・病原体ゲノムの統合解析から迫る肺非結核性抗酸菌症の病態解明

③ 第3回迅速審査(令和3年11月22日)

- ・肺非結核性抗酸菌症の臨床診断法の開発：
肺 *Mycobacterium avium complex* 症の予後を予測出来る菌側因子の探索
- ・大阪湾岸地域における結核菌広域感染拡大株の探索と迅速検出法の開発

10 その他—健康危機管理業務

健康危機事象が発生すれば、健康危機に迅速かつ的確に対応するため、所長が必要と認めるときは、健康危機管理委員会が設置され、事務部門はその庶務を行う。

1) 健康危機管理委員会の運営

令和3年度、研究所として「健康危機管理委員会」を設置する大規模健康危機事象は起こらなかった。

2) 健康危機管理情報の収集および模擬訓練の実施

近畿地区の2府7県8市の地方衛生研究所が共同主催し、合同で一斉に実施される「健康危機事象模擬訓練」に毎回参加している。令和3年度は、精度管理事業として模擬試料に含まれる着色料の種類を判定する試験が行われた。結果は、3試料中2試料は正しく判定できたが、1試料は正しく判定できなかった。

また、毎週定期および臨時に「研究所健康危機管理会議」(参加メンバーは所長、各部長、副部長、事務部門長を固定し、必要に応じて担当職員)を開催し、健康危機情報の収集と共有を図った。

2 感染症部の概要

部長 岩本 朋忠

I 感染症部の構成と業務

感染症部は、検査・研究業務従事者 14 名、検査補助に従事する業務員 2 名と部長の合計 17 名で、食中毒や感染症等が発生した場合の健康危機管理対応、食品・環境衛生に係る行政検査、感染症法に基づく病原体サーベイランス、神戸空港の衛生対策等の業務、及びそれらに関連する調査・研究を実施している。

1 健康危機対応

神戸市内で発生する食中毒・身体異常や感染症の原因となった細菌やウイルスの検査を実施している。さらには、検出された微生物の遺伝子解析等を実施し、因果関係の究明、科学的根拠に基づく予防対策の構築に取り組んでいる。昨年度から引き続き、令和 3 年度も新型コロナウイルスの PCR 検査を感染症部全員と生活科学部からの応援人員で実施した。新型コロナウイルスの全ゲノム解析に基づくゲノムサーベイランスにも積極的に取り組んでおり、感染対策活動につなげている。さらに、懸念される変異株や注目すべき変異株が持つスパイク部分の変異の有無を検出する PCR 検査とゲノムサーベイランスを組み合わせた変異株監視体制を構築して、変異株の予兆の把握と感染拡大対策に努めている。

2 行政検査

神戸市内で製造若しくは流通する食品の衛生状態、食品衛生法に基づく細菌に関する成分規格等の検査を実施している。また、神戸市内のプール、公衆浴場、コインランドリー等が衛生的に保たれているかを確認するため、細菌の検査を実施している。これらの検査で問題が見つかれば、食品の回収や行政指導が行われる。

3 病原体サーベイランス

感染症の蔓延防止と予防のために、厚生労働省は感染症の発生状況を調査・集計する「感染症発生動向調査事業」を実施している。その一環として、感染症法で定める「病原体サーベイランス」を実施し、その発生状況や株の特色の把握に寄与している。病原体サーベイランスの対象となる主な感染症として、麻疹、風疹、インフルエンザ、手足口病、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、流行性角結膜炎、無菌性髄膜炎、感染性胃腸炎、結核、百日咳等がある。

4 神戸空港衛生対策

神戸空港に、国際チャーター便が就航できるようになったことに伴い、空港の衛生対策として、蚊の同定および蚊が媒介するフラビウイルス 4 種(デング、西ナイル、日本脳炎、黄熱)の検出、ネズミ族の同定および内・外部寄生虫、ペスト菌の検出を行っている。

II 令和 3 年度の検査実績

1 健康危機管理に伴う検査

1) 食中毒・身体異常等

食中毒・身体異常・感染性胃腸炎等の発生時には、患者検便・従業員検便や食材・ふきとりの検査を実施している。腸管出血性大腸菌 O157、O26、O111 については MLVA による分子疫学解析を実施し、予防対策に貢献している。また集団食中毒発生時には、分離した菌株の全ゲノム解析を実施、原因究明および拡散防止に寄与している。

令和 3 年度は、微生物に起因する食中毒として、行政処分された事例は 6 件であった(表 1)。新型コロナウイルスの影響で停滞していた社会経済活動が少しずつ再開されていることを受けてか、昨年より増加した。原因微生物は、アニサキスが 3 件、カンピロバクター・ジェジュニ、クドア・セプテンブクタータおよびノロウイルスが 1 件ずつであった。

これらの結果の科学的根拠となる検査として、食中毒・身体異常の患者および該当施設の従業員の検便検査を実施した。合計 19 検体の細菌検査を実施し、15 株の下痢原因菌を分離した(表 2)。カンピロバクター・ジェジュニが 6 件、黄色ブドウ球菌が 5 件、ウェルシュ菌が 2 件、サルモネラ属菌が 2 件検出された。

食中毒・身体異常に伴う食品および施設ふきとり検査は 59 検体実施し、腸管出血性大腸菌(O 型不明、VT1、VT2)が 1 件、腸管病原性大腸菌(O 型不明)が 1 件検出された。

同様に、6 食中毒疑い事例から、9 患者便、27 従業員便、計 36 検体の下痢症ウイルス検査を実施し(表 3)、患者便 4 検体(44%)から、従業員便 7 検体(26%)からノロウイルスを検出した。また、患者便、従業員便、計 21 検体についてアデノウイルスおよびロタウイルス検査を行った

が、これらのウイルスは検出されなかった。令和3年度はサポウイルス検査は無かった。

感染者の接触者ならびに経過観察者の検査を実施したが、腸管出血性大腸菌は検出されなかった(表2)。

感染症サーベイランスにおいては、腸管出血性大腸菌

表1 令和3年度 神戸市食中毒発生状況(微生物に起因するもの)

事例	発生月日	摂食者数	患者数	原因食品	病因物質	原因飲食店営業形態 または原因施設
1	7月15日	6	4	ヒラメを含む寿司	クドア・セブテンプリンクタータ	飲食店
2	8月5日	1	1	寿司(サバ、イカ、ヒラメ、マグロ)	アニサキス	飲食店
3	11月29日	1	1	炙りしめさば	アニサキス	飲食店
4	12月23日	10	7	12月22日に提供された食事	ノロウイルス G.II	飲食店
5	12月31日	9	7	12月29日に提供された鶏刺身を含む食事	カンピロバクター・ジェジュニ	飲食店
6	3月5日	2	1	シメサバ	アニサキス	飲食店

表2 令和3年度 下痢症原因菌分離状況

菌種名	食中毒 身体異常	経過者*	接触者*	定点**	計
<i>Salmonella</i> 属菌 O9 群	2	0	0	0	2
<i>Campylobacter jejuni</i>	6	0	0	0	6
<i>Clostridium perfringens</i>	2	0	0	0	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	0	0	0	5
検出菌総数	15	0	0	0	15
検査検体数	19	4	3	0	26

* 病原体サーベイランスで検出された患者の経過便、あるいは接触者便からの検出状況

**小児科定点の感染性胃腸炎検体からの検出状況

表3 令和3年度 下痢症ウイルス検査

検査項目 検体の種類			令和3年度(月)											陽性率 (%)			
			4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		3	合計	
ノロウイルス	患者便	検体数										9			9	44	
		陽性数											4				4
	従業員・関係者便	検体数								2	2	15	8			27	26
		陽性数								0	1	6	0			7	
ロタウイルス	患者便	検体数										9			9	0	
		陽性数											0				0
	従業員・関係者便	検体数										12				12	0
		陽性数										0				0	
アデノウイルス	患者便	検体数										9			9	0	
		陽性数											0				0
	従業員・関係者便	検体数										12				12	0
		陽性数										0				0	
サポウイルス	患者便	検体数															
		陽性数															
	従業員・関係者便	検体数															
		陽性数															
検体総数									2	2	24	8			36		
事例数									1		4	1			6		

2) 抗酸菌、QFT 検査

結核菌について、神戸市在住の新規結核患者より分離された結核菌の全てを保存する菌バンク機能を担っている。また、それらの菌株を用いて、縦列反復配列数多型解析(VNTR)という遺伝子型別解析法による分子疫学的調査を実施しており、結核菌の感染連鎖をモニタリングできる結核菌危機管理体制を整えている。さらに、クオンティフェロン(QFT)検査を実施し、結核患者の接触者検診での感染者特定に貢献している。抗酸菌の薬剤感性試験や菌種同定など通常の検査室で実施ならびに精度管理が難しい検査を実施している。

令和3年度は、遺伝子型別解析 160 検体、QFT 検査 154 検体を実施し、QFT 検査では 18 検体が陽性であった(表 4)。神戸市における両検査の検査数は年々減少傾向にある(表 5)。薬剤感受性検査は 1 検体実施した。菌種同定検査の依頼件数は 0 であった。

表4 令和3年度 抗酸菌症検査件数

	QFT 検査	遺伝子型別解析	同定	感受性検査
件数	154	160	0	1
陽性	18			

表5 平成28年度以降の結核菌検査数

	H28	H29	H30	H31	R2	R3
VNTR 検査数	215	220	170	189	173	160
QFT 検査数	379	333	275	256	196	154
QFT 検査陽性者数	43	36	33	25	23	18

2 行政検査

1) 食品収去検査

食品検査は、収去品の成分規格検査および指導検査を精度管理された標準作業書に基づき実施しており、精度管理は、内部および外部精度管理により厳しくチェックしている。

食品収去検査において、成分規格違反および不良検体と判断された指導基準不適の食品はなかった(表 6)。

生食用カキの検査においては 4 件を検査したがノロウイルスは検出されなかった。

小規模受水槽、特設水道等水道飲用水および飲用温泉水 51 件を検査した結果、すべて飲用に適していた。

表 6 令和 3 年度 食品等の収去成績

食品分類	収去数	不良検体数	成分規格違反		規範・指導基準など違反						
			件数	項目	腸管出血性大腸菌	細菌数	大腸菌群	E.coli	黄色ブドウ球菌	カンピロバクター	サルモネラ
魚介類	9										
冷凍食品	無加熱摂取冷凍食品	0									
	凍結直前に加熱された加熱後摂取冷凍食品	0									
	凍結直前未加熱の加熱後摂取冷凍食品	0									
	生食用冷凍鮮魚介類	0									
魚介類加工品	4										
肉卵類及びその加工品	8										
乳製品	4										
乳類加工品(アイスクリーム類を除き、マーガリンを含む)	0										
アイスクリーム類・氷菓	10										
穀類及びその加工品	0										
野菜類・果物及びその加工品	0										
菓子類	0										
清涼飲料水	0										
酒精飲料	0										
氷雪	1										
水	0										
牛乳	1										
その他の食品	0										
計	37										

缶詰、ビン詰め類を含めない

2) 環境検査

環境検査は、プール水の一般細菌数・大腸菌、浴場水

の大腸菌・大腸菌群の検査を実施した。令和 3 年度は、新型コロナウイルス感染症の流行により、消毒を要する洗

濯物の検査は実施しなかった。全体で 186 検体の検査を実施し、基準値を超える一般細菌数が検出された検体が 5 件、大腸菌が検出された検体が 4 件、大腸菌群が検出された検体が 1 件であった(表 7)。他に一般依頼検査として、1 件の浴場水の大腸菌群検査と 2 件の浴場水の大腸

菌検査を実施した。

また、浴槽水、冷却塔冷却水、プール水採暖槽、給湯水のレジオネラ属菌検査を実施した。102 検体中 21 検体からレジオネラ属菌を検出した(表 8)。他に一般依頼検査として、14 検体のレジオネラ属菌検査を実施した。

表 7 令和 3 年度 環境検査

分類	検体数	衛生基準または指導基準等の不適検査数				
		一般細菌数	大腸菌	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	その他のブドウ球菌
プール水	42	5	0			
浴場水	144		4	1		
計	186	5	4	1	0	0

表 8 令和 3 年度 レジオネラ属菌検査

分類	浴槽水	冷却塔冷却水	プール水採暖槽	給湯水	合計
検体数	86	8	5	3	102
レジオネラ属菌検出検体数	18	2	1	0	21
検出率(%)	20.9	25	20	0	20.6

3) HIV 確認検査

神戸市保健所が実施する HIV 検査のスクリーニング検査で陽性疑いの出た検体について、感染症部が確認検査を行っている。令和 3 年度は 8 検体の確認検査を実施し、そのうち 7 検体が HIV-1 型陽性、1 検体が陰性であった(表 9)。

表 9 令和 3 年度 HIV 確認検査

	検査数	陰性	判定保留	陽性	陽性率(%)
確認検査	8	1	0	7	87.5

4) 異物・衛生害虫検査

行政から依頼される食品等に混入している異物の検査を行っている。令和 3 年度においては異物鑑定が 1 件あり、食品試料表面からクラドスポリウム属(俗名クロカビ)を検出した。

3 病原体サーベイランス

感染症法で定めるサーベイランス対象の疾患を、細菌性のものとウイルス性のものに分けて実施している。

1) 細菌性病原体サーベイランス

1. 定点医療機関

小児科定点からは A 群溶血性レンサ球菌の検体搬入

はなかった。性感染症定点から生殖器材料 4 検体について検査を実施したが、淋菌は分離されなかった。

2. その他の細菌感染症

侵襲性肺炎球菌感染症 2 例の分離菌株について、血清型を同定した。PCR 法と膨化法により、12F(1 株)、PCR 法により、10A(1 株)と同定した。

侵襲性インフルエンザ菌感染症 2 例の分離菌株について、莢膜型は non-typable と同定した。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症として届出された腸内細菌科細菌 12 株の検査を実施した。腸内細菌科細菌として、*Klebsiella aerogenes* (6 株)、*Enterobacter cloacae* (3 株)、*Klebsiella pneumoniae* (1 株)、*Escherichia coli* (1 株)、*Enterobacter sp.* (1 株)を検査した。ディスク法による β -ラクタマーゼ産生のスクリーニングおよび薬剤耐性遺伝子の保有状況を調べた。その結果、クラス C β -ラクタマーゼ産生が示唆された菌種は、*Klebsiella aerogenes* (6 株)、*Enterobacter cloacae* (3 株)、であり、1 株の *Enterobacter sp.*から EBC 型 β -ラクタマーゼが検出された。

クラス A β -ラクタマーゼのみ検出された菌種は *Escherichia coli*(1 株)、*Klebsiella pneumoniae*(1 株)であった。*Escherichia coli* から CTX-M-1 型、TEM 型 β -ラクタ

マーゼを検出した。*Klebsiella pneumoniae*からはTEM型、SHV型、CTX-M-1型β-ラクタマーゼを検出した。

レジオネラ症患者由来菌株 *Legionella pneumophila* 血清群 6 の 1 株の検査を実施した。SBT(Sequence-based typing)による遺伝子型は、ST1994 と同定した。

劇症型溶血性レンサ球菌 6 株を収集した。内訳は A 群溶血性レンサ球菌 3 株、B 群溶血性レンサ球菌 3 株であった。A 群溶血性レンサ球菌 3 株の T 型別は、型別不能であった。*emm* 型は *emm11.0*、*emm77.0*、*emm81.0* であった。*emm11.0* と *emm77.0* の 2 株でエリスロマイシンとクリンダマイシンに耐性を示し、薬剤耐性遺伝子として *ermA* 遺伝子を保有していた。B 群溶血性レンサ球菌の血清型については、Ia 型(2 株)、II 型(1 株)であった。

ダニ媒介性感染症の行政検査として 10 症例、計 20 検体の搬入があり、日本紅斑熱 9 件、ツツガムシ病 2 件、および SFTS 2 件について検査を実施した。そのうち 8 件が日本紅斑熱陽性であった。

2) ウイルスサーベイランス

ウイルスサーベイランスとして RS ウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、風しんウイルス、麻しんウイルスなど多種類のウイルスの検査を行っている。今年度は、22,881 検体から 4,602 件を検出した(表 10)。

1. 新型コロナウイルスサーベイランス

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)に関しては、22,812 検体から 4,577 件の SARS-CoV-2 を検出した。そのうち新規の陽性検体が 4,265 検体、陰性確認での陽性検体が 312 検体であった。COVID-19 の市内での流行動態の把握やクラスター対策の一環として、研究所に搬入された行政検査検体に加え、市内の医療機関や民間検査センターで陽性となった検体を収集し、新型コロナウイルスのゲノムサーベイランスを実施した。令和 3 年度に採取された計 9,999 検体のゲノムを解読し、市内感染拡大期の分子系統の把握や院内感染事例での感染伝播様式の検証、変異株への対応など得られた情報を適宜保健所へ還元し、公衆衛生対策として活用した。

2. 新型コロナウイルス以外のウイルスサーベイランス

新型コロナウイルス以外のウイルス感染症の検体数は 69 件と少なかったが、昨年度とは異なり流行の見られた疾患もあった。

RS ウイルスは昨年度検出されなかったが、今年度は 5 月初旬～8 月初旬に全国的に大きな流行が見られ、当所でも 8 件から検出された。マスクの着用や手指消毒の徹

底が困難な乳幼児が中心の疾患であることに加え、前年に流行がなく感受性者が蓄積されていたことが要因になったと考えられる。

手足口病、無菌性髄膜炎等の 18 事例中、手足口病 10 事例(咽頭ぬぐい液)、その他感染症 1 事例(血清、咽頭ぬぐい液)からコクサッキーウイルス A 群 6 型(CA6)を検出した。エンテロウイルスを主因とする手足口病やヘルパンギーナは昨年度には全国的に流行が見られなかったが、今年度は 9～11 月にかけて低いながらも流行の山が見られた。

咽頭結膜熱 1 件、流行性角結膜炎 4 件の搬入があり、咽頭結膜熱からアデノウイルス 2 型、流行性角結膜炎のうち 1 件からアデノウイルス 37 型が検出された。

インフルエンザウイルスは、2019/20 シーズンの 3 月に最後に分離・検出されておらず、2 シーズン連続で国内流行がなかった。一方、2021/22 シーズンは、世界的にはヨーロッパや北米での A(H3N2)、中国での B(ビクトリア系統)等、流行の見られた地域もあった。国内流行がなかった要因として、海外との往来制限によりウイルスの流入が少ないこと、また、欧米等と比較してマスクの着用や手指衛生の実施が徹底されていること等が考えられる。

感染性胃腸炎は 3 件の搬入があり、そのうち 1 件からノロウイルス GII が検出された。

風疹疑い 1 事例、麻疹疑い 2 事例が搬入されたが、全て陰性であった。

新型コロナウイルス感染症の流行により、引き続き海外との往来が制限されていたため、輸入感染症であるデング熱、チクングニア熱、ジカ熱の検査依頼はなかった。

性感染症定点からのクラミジア抗原検出の検体数は 2 件で、うち 1 件が陽性であった(表 11)。

4 神戸空港衛生対策検査

蚊の調査を 16 回(4～11 月)、ネズミ調査を 8 回(7 月および 11 月に各 4 回)行った。CDCトラップにより、アカイエカ 42 匹、コガタイエカ 8 匹、ヒトスジシマカ 2 匹の成虫が捕獲された。幼虫は捕獲されなかった。これら捕獲された成虫についてフラビウイルス(西ナイル、日本脳炎、デング、黄熱、ジカ)およびチクングニアウイルスの遺伝子検査を実施したがすべて陰性であった。

ネズミの捕獲数は 0 匹であった。

5 依頼検査

一般からの検査も受け付けており、水の検査 21 件、食品検査 51 件の検査を実施した。

III 調査・研究

地方衛生研究所には、1)公衆衛生・地域保健に関する調査および研究、2)健康危機管理対応能力の向上、3)感染症予防対策の推進等の活動や貢献が求められている。

一方、食中毒・感染症を引き起こす病原体の種類は毎年のように拡大し、それを検出・診断する方法もより高度

になってきている。

このように多様化するニーズを踏まえて、令和4年度は、「調査研究テーマ」に記載する調査・研究に取り組む。

それぞれの研究者が切磋琢磨し、令和3年度に国際的な学術雑誌などに掲載されたものは「II 著書及び発表論文記録」に、学会発表等を行ったものについては、「III 学会発表記録」に記載した。

表 10 令和3年度 ウイルスサーベイランス

ウイルス名	令和3年度(月)												合計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
コクサッキーA群 6型					1	1	8	1	1				12
ライノ												1	1
RS	1	3	2	1	1								8
ノロ									1				1
アデノ 2型				1									1
アデノ 37型	1												1
VZV(水痘・帯状疱疹ウイルス)	1												1
SARS-CoV-2 * (新型コロナウイルス)	1,624 (310)	797 (2)	98	146	739	321	48	4	12	426	216	146	4,577 (312)
陽性検体数	1,627	800	100	148	741	322	56	5	14	426	216	147	4,602
総検体数	6,897	3,829	706	1,306	4,196	1,816	390	40	649	1,906	687	459	22,881

*()内は陰性確認検体での陽性検体数

表 11 令和3年度 クラミジア抗原検出状況

クラミジア・トラコマティス	令和3年度(月)												合計
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
検体数			1							1			2
陽性数			1										1

3 生活科学部の概要

部長 向井 健悟

生活科学部は、検査・研究業務従事者 11 名と検査補助に従事する業務員 1 名の 12 名で構成され、業務内容は食品関連検査業務と環境関連検査業務に大別される。

I 食品関連検査業務

食品関連検査業務として、令和 3 年度神戸市食品衛生監視指導計画に基づく食品中の添加物、残留農薬、動物用医薬品、放射性物質、自然毒、器具容器包装、特定原材料(アレルギー物質)、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づく家庭用品等の検査を実施している。また、これらの業務に関する調査・研究及び身体異常の原因追求や苦情等による緊急検査・調査も併せて実施している。

1 行政検査等

令和 3 年度の食品等の検査実施状況を表 1 に示す。収去検査及び苦情検査の実績は、検体数は 134、検査項目数は延べ 5,947 であった。

1) 収去検査

(1) 添加物

添加物検査においては、検査を行った検体数は 22、検査項目数は延べ 167 であり、わが国では指定されていない添加物(指定外添加物)の検査項目数は延べ 2 であった。また、使用基準違反が安息香酸について 2 検体あった。指定外添加物が検出された検体はなかった。

(2) 食品の成分規格等(セシウムを除く)

「食品、添加物等の規格基準(昭和 34 年 12 月 28 日厚生省告示第 370 号)」に基づき食肉製品 5 検体、「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令(昭和 26 年 12 月 27 日厚生省令第 52 号)」に基づき乳 1 検体、乳製品 2 検体について検査を実施した。

延べ 13 の検査項目について、いずれも規格基準違反等はなかった。

(3) 残留農薬

残留農薬検査においては GC-MS/MS、LC-MS/MS による多成分一斉試験法を実施しており、平成 18 年度に施行された残留農薬等に関するポジティブリスト制度に対応すべく、検査体制の強化を図ってきた。実施する検査項

目は対象食品毎に定めており、衛生監視事務所より依頼された青果物では GC-MS/MS 及び LC-MS/MS による 251 項目、畜産物では GC-MS/MS による 38 項目の検査を実施した。また、食品衛生検査所より依頼された青果物の検査では、LC-MS/MS による 70 項目の検査を実施した。検体数は 61、検査項目数は延べ 5,437 であった。衛生監視事務所が収去した青果物については、1 検体から 2 項目の農薬が検出され、食品衛生検査所が収去した農産物については、16 検体から 12 項目の農薬が延べ 23 項目検出された。これらのうち残留基準値を超過したものはなかった。また、畜産物については、農薬 38 項目のいずれも検出されなかった。

(4) 動物用医薬品・抗生物質

厚生労働省通知「畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の実施について」により、畜水産物 3 検体について、合成抗菌剤等 45 項目の検査を実施し、いずれも検出されなかった。検査項目数は延べ 135 であった。

また今年度から、食肉衛生検査所より依頼された食肉中の抗生物質 24 項目の検査を LC-MS/MS により実施した。検体数は 3、検査項目数は延べ 72 であった。このうち、1 検体から 1 項目の抗生物質が検出されたが、残留基準値の超過はなかった。

(5) 特定原材料(アレルギー物質)

アレルギー物質を含む食品については、健康危害の発生を防止する観点から、表示について法的に義務化されており、検査方法が通知されている。検査を行った検体数は 9(落花生 5、そば 4)、検査項目数は延べ 18 であった。ELISA 法によるスクリーニング検査の結果、いずれも陰性となり、表示違反はなかった。

(6) 遺伝子組換え食品

遺伝子組換え食品については今年度実施しなかった。来年度ダイズ製品について安全性審査済み遺伝子組換え体の検査を実施する予定である。

(7) 器具・容器包装

器具・容器包装については、原材料及び材質別、さらには用途別に規格が定められている。検査を行った検体数は 14、検査項目別には材質試験が延べ 17 項目、溶出

試験が延べ 60 項目、その他が延べ 5 項目で合わせて 82 項目であり、違反等はなかった。

(8) 放射性物質

本市では、ガンマ線測定機器であるゲルマニウム半導体検出器を整備し、平成 24 年 1 月より検査を実施しておりセシウム(Cs-134、Cs-137)を測定しているが、今年度は依頼がなく、実施しなかった。

(9) 自然毒

平成 27 年 3 月 6 日食安発 0306 第 1 号により下痢性貝毒の機器分析法が導入され、オカダ酸群の規制値が定められたことから、平成 27 年度より下痢性貝毒の検査を開始した。9 検体の検査を実施し、いずれの検体からも検出されなかった。

また、平成 27 年 7 月 23 日食安発 0723 第 1 号により乳に含まれるアフラトキシン M1 の取り扱いについて通知されたことを受け、検査を実施している。牛乳 1 検体について検査を実施し、検出されなかった。

2) 苦情食品等の検査

食の安全性に対する関心が高まるなか、市民から衛生監視事務所等に寄せられる食品に関する問い合わせ・苦情は、身体異常、食品の腐敗・変敗、異物、異味、異臭、カビの発生等多岐にわたる。当部では、衛生監視事務所等に寄せられた苦情食品に関して、必要に応じて理化学的検査を実施し、原因の究明や問題解決に有効な情報を提供している。令和 3 年度の苦情事例数は 8、検体数は 14、検査項目数は延べ 18 であった。

表 2 に、苦情事例として検査結果を含めその概要をまとめた。

3) 一般依頼検査

令和 3 年度、神戸市の行政機関等からの一般依頼検査は、検体数で 12、検査項目数で延べ 30 であった。そのうち 6 検体はゲルマニウム半導体検出器による学校給食及び保育所等の給食の食材の検査であった。

4) 家庭用品の検査

令和 3 年度の家庭用品品目別検体数は表 3 に示すとおり、家庭用エアゾール 1、家庭用洗剤 2、その他(防汚木材)1 など計 4 であった。また、検査項目別検体数は表 4 に示すとおりテトラクロロエチレン 2、トリクロロエチレン 2 など計 14 であり、いずれも基準に適合していた。

2 精度管理

食品衛生に関する検査データの信頼性確保を目的として、平成 9 年 4 月、国及び地方自治体の食品衛生検査施設に導入された GLP について、各標準作業書に基づく分析機器の日常及び定期の保守点検並びに外部精度管理調査の受け入れ及び内部精度管理などを実施した。また、令和 4 年 2 月、検査等の業務の管理状況について、信頼性確保部門による内部点検が行われるなど、検査の信頼性確保体制の整備を図った。実施した精度管理の内容は、以下のとおりである。

1) 外部精度管理

(一財)食品薬品安全センターが実施する外部精度管理調査のうち、食品添加物 I (着色料の定性)、食品添加物 II (ソルビン酸)、特定原材料(卵)、残留農薬 II (クロルピリホス、ダイアジノン、フルトラニル)、残留動物用医薬品(スルファジミジン)に参加した。結果は、いずれも良好であった。

2) 内部精度管理

食品添加物、農薬、動物用医薬品等 202 項目において実施した。添加量が明らかな試験品による、繰り返し回数 5 回の検査並びに 1 回の検査、及び陰性対照の試験品の検査を実施し、結果はいずれも良好であった。

3 調査・研究

当部では、食品衛生にかかる検査体制の整備、健康危機管理能力の向上に取り組んでいる。これまで食品等に起因する身体異常や苦情事例に迅速に対応するため GC-MS による有害化学物質等の迅速分析システムの充実、LC-MS/MS を用いた自然毒の迅速分析法の整備等を進めてきた。更に LC-QTOF/MS を導入し、未知混入物質による健康被害対策にも着手している。本機により、測定対象物質を特定することが困難な場合や、標準品が入手できない場合において、混入物質の網羅的な解析が期待できる。さらにこれまでは困難であった代謝物や反応副生物の測定も可能であることから、化学物質による健康被害発生時における原因物質の究明への活用、危機管理・対応能力向上に寄与している。

これらの成果も含め、学会発表等は別項のとおりである。

II 環境関連検査業務

環境関連検査業務は、飲料水・プール水・浴場水に關する一般環境衛生検査、ゴルフ場農薬・地下水などの水

質汚濁に係る検査、有害大気汚染物質や空気中アスベストなどの大気汚染に係る検査、これらの業務に関する調査研究等である。表5に水質関係業務別検査件数を、表6に大気関係業務別検査件数を示す。

1 行政検査等

1) 飲料水、浴場水等

専用・特設水道給水栓水については、水質基準に関する省令(平成15年5月30日厚生労働省第101号)に掲げる化学試験項目49項目を3検体分析した。飲用温泉水は、TOCについて3検体を分析した。簡易専用水道及び小規模受水槽については、pH、色度、濁度、Cl、TOC、硝酸性窒素及び亜硝酸性窒素の6項目(以下、「飲料水簡易セット項目」という。)および鉄、鉛、亜鉛、銅、蒸発残留物、亜硝酸性窒素の6項目、計12項目を45検体分析した。遊泳用プール水は、42検体について一般項目の分析を、そのうち10検体については総トリハロメタンの分析も行った。公衆浴場水は、一般項目を144検体分析した。結果としては、公衆浴場水の10検体でpH、色度、濁度、TOCの基準値超過があった。

2) ゴルフ場使用農薬

公共用水域(河川・湖沼)の5地点で公共用水域等における農薬の水質評価指針に定められているものも含め54項目を、また、ゴルフ場排水(排水口または調整池)23地点で31項目を、それぞれ採水して水質調査を行った。結果としては、ゴルフ場排水で、1地点からチアトキサム(殺虫剤)について神戸市ゴルフ場農薬指導指針値超過があった。

3) 地下水

概況調査として、3年連続調査予定の3年目の定点9地点で環境基準項目30項目を調査した。そのうち3地点については、要監視項目26項目(ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びペルフルオロオクタン酸(PFOA)を含む)も調査した。また、過去に基準値を超過したことがあるモニタリング地点(継続監視調査地点)4地点(うち1地点は概況調査地点を兼ねる)については、砒素などの基準超過項目の調査を行った。結果としては、概況調査地点では、1地点で環境基準項目(ふっ素)の基準値超過があった他、継続監視調査地点を兼ねる1地点でも環境基準項目(テトラクロロエチレン)の基準値超過があった。また、6地点で要監視項目(全マンガン、PFOS及びPFOA)の指針値超過があった。継続監視地

点では、前年度に引き続き鉛、砒素、トリクロロエチレン、テトラクロロエチレン、ふっ素、ほう素が基準値を超過していた。

4) 有害大気汚染物質

大気汚染防止法施行令に基づき令和3年度は市内6地点で毎月1回(24時間)の調査を行った。調査項目としては、平成23年10月15日付中央環境審議会答申において優先取組物質とされた塩化メチルとトルエン、さらには健康被害を誘発する可能性を指摘された1,2-ジクロロプロパンと大気中への排出量の比較的多いエチルベンゼン、キシレン及びトリメチルベンゼンを加えた揮発性有機化合物類(15項目)及びアルデヒド類(2項目)、重金属類(6項目)、多環芳香族・その他(2項目)、計25項目を対象として実施した。結果としては、環境基準値及び指針値を超過した地点はなかった。

5) 空気中アスベスト

民間事業者のアスベスト除去工事に対する環境局実施の監視調査及び神戸市発注事業に対する関係部局の監視調査の一環として空気中アスベスト検査を実施している。令和3年度の検体数は合計で17件であり、いずれの検体からも検出されなかった。

6) 健康危機(環境汚染を含む)に係る検査

健康危機・環境汚染事象発生時には、迅速な対応による原因究明および専門機関としての助言的業務が求められる。これらの期待に応えるためには、平常時における準備・体制整備・情報収集・健康危機管理に対する高い意識などが不可欠である。

令和3年度は工事現場からの濁水が隣接する河川に流出したことによる影響を調査するため、環境局環境保全指導課の依頼により河川水1検体中の六価クロム化合物、鉛及びその化合物、カドミウム及びその化合物について分析を実施した。

また、環境省通知「環水大発第2005281号、環水大土発第2005282号、令和2年5月28日」により、河川水等中の「ペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びペルフルオロオクタン酸(PFOA)」が新たに要監視項目に追加され、「PFOS及びPFOA」の指針値(暫定)として「0.00005mg/l以下」が提示された。それを受け令和3年度も環境局から共同研究の申し出があり、市内河川16地点、地下水9地点、農業排水処理施設7地点において、計85件を測定した。さらに研究所では独自に12地点を

追加すると共に、測定項目についても POPs 条約で追加される見込みの PFHxS など類縁物質を含め計 17 項目について測定し、神戸市での全体像を明らかにした。

7) 一般依頼検査

行政検査のほか、一般市民等からの依頼による簡易専用水道や井戸水の飲用適否検査を受け入れている。令和 3 年度の検体数は合計で 18 件であった。

2 精度管理

外部機関の実施する精度管理調査に参加し、検査データの信頼性確保に努めた。また、環境省から「環境測定を外部に委託する場合における精度管理に関するマニュアル H22 年 7 月」が示されており、これに基づき環境測定委託先機関の信頼性確保業務を環境局と共同実施した。

令和 3 年度の外部精度管理への参加状況は以下のとおりである。

1) 兵庫県水道水質検査外部精度管理(兵庫県水道水質管理連絡協議会)

参加項目 TOC(試料形態:模擬水質)

2) 厚生労働省・水道水質検査の精度管理調査

参加項目 塩素酸、四塩化炭素、テトラクロロエチレン、トリクロロエチレン(試料形態:模擬水質)

3) 環境省・環境測定分析統一精度管理

参加項目 COD(試料形態:模擬水質)

3 調査・研究

1) 化学物質エコ調査(環境省からの依頼)

この調査は、平成 5 年度より環境局と共同で実施している。令和 3 年度は初期環境調査、分析法開発について実施した。

(1) 初期環境調査

海水中の 2-ベンジリデンオクタナールについて分析し、その結果をまとめ、環境省へ報告した。

(2) 分析法開発

LC-MS/MS を用いて、水質試料中の 2-メルカプトベンゾチアゾールの分析法を開発し環境省へ報告した。

2) II 型共同研究(国と複数の自治体との共同研究)

(1)「災害時等の緊急調査を想定した GC-MS による化学物質の網羅的簡易迅速測定法の開発」への参加

事故・災害時において初動時スクリーニングに有効な GC-MS による全自動同定定量システム(AIQS)の構築を目的として国立環境研究所及び他の地方環境研究所等と共同研究を実施している。AIQS は分析装置の状態を一定に揃えることにより、登録された対象物質であれば、標準品を用いることなく、物質の同定と相対定量が可能なシステムであり、災害時等における網羅分析において非常に有用である。これまでに 920 物質が登録され、令和 3 年度は当所における健康危機管理体制の構築を目指し、環境試料を用いて AIQS による定性・定量分析を検討した。

(2)「LC-MS/MS による分析を通じた生活由来物質のリスク解明に関する研究」への参加

化学物質による環境汚染実態解明の研究において、LC-MS/MS や LC-QTOF/MS を用いた網羅分析の技術を駆使して環境中に存在する汚染物質を同定する報告事例が増えてきている。同定された化学物質の多くは、医薬品を始めとする生活由来物質が占めており、そのうち、医薬品は微量でも生態に影響を及ぼす可能性を否定できない。令和 3 年度は、選定した化学物質群 25 項目について、共有した分析法で河川等公共用水域での実態調査を実施した。

表1 令和3年度食品等検査件数

項目 食品群	検体数		食品添加物					残留農薬			動物用医薬品	放射性物質	自然毒	食品成分等				組換え遺伝子	特選食品	器具・容器包装			合計																
	保存料	着色料	甘味料	品質保持剤	漂白剤	発色剤	酸化防止剤	防かび剤	指定外添加物	再掲	小計	G C / M S 測定農薬	L C / M S 測定農薬	加工食品等の有機リン系農薬	動物用医薬品	放射性物質	9	食品成分	酸価・過酸化価	pH	重金属	毒性試験		シブシブ試験	規格試験	その他	小計	材質試験	溶出試験	その他	器具・容器包装								
魚介類	12																																4	13					
魚介類加工品	1																																1	1					
魚肉練り製品	2	4	4	1			1			10																								10					
肉卵類及びその加工品	11	12	24			5				41	114				207																			362					
乳類	1																																	5					
乳製品等	7	18					2			20			70																					24					
穀類及びその加工品	3																																	4					
麺類	4																																	8					
野菜果実類及びその加工品	63	2	5	1						8	1,253	4,000		5,253																				4					
漬物類																																							
弁当・惣菜																																							
冷凍食品																																							
菓子類	5	9	12	15						36																									2	38			
清涼飲料水																																							
酒類																																							
その他の食品	4	9	36	4	1	2				(2)																										52			
食品添加物及びその製剤																																							
器具・容器包装	14																																		17	60	5	82	
その他	7																																			11	11		
合計	134	54	76	25	0	2	5	5	0	(2)	167	1,367	4,070	5,437	207										8	8								18	5,947				

(収去検査及び苦情食品等の検査の合計)

表2 令和3年度苦情等検査結果

No.	受付日	事件名	発症内容(時間)	苦情品等	理化学検査検査項目	理化学検査結果	感染症部検査結果	備考
1	R3.4.16	食パンの白色異物	-	異物	赤外線吸収スペクトル 元素含有率(蛍光X線分析)	類似スペクトルを確認できず Ca:65.984%,P:24.101%,Al:3.546%,Si:2.002%,K:1.328%,Sr:1.299% たんぱく質、対照品(爪)と類似したスペクトルを確認 K:39.266%,S:36.012%,Ca:23.744%,Fe:0.524%,Zn:0.454% Ca:98.580% 異物と類似したスペクトルを確認 S:80.578%	-	「購入した食パンを喫食していたところ、サラム様の異物が混入していた。」との届出があった。健康科学研究所で検査したところ、Ca,P等の元素を有していることが分かったが、異物の特定には至らなかった。また、販売店の調査において製造所の特定ができなかったため、調査を終了した。
2	R3.5.6	グミの皮膚片様異物	-	異物 対照品:グミ 対照品:爪	赤外線吸収スペクトル 元素含有率(蛍光X線分析)	類似したスペクトルを確認 セルロース成分をもつものと類似したスペクトルを確認 Ca:45.388%,K:31.062%,P:7.027%,S:6.099%,Al:3.347%,Si:3.093% 異物とは類似していなかった Na:69.630%,K:10.326%,P:7.893%,S:7.543%,Ca:3.168%	-	「購入したグミを喫食していたところ、ヒトの爪様の異物が混入していた。」との届出があった。製造所を管轄する保健所の調査の結果、当該異物は皮膚等の上皮組織であることが判明した。また、製造所の立入検査の結果、異物混入対策は十分図られており、製造所由来で混入した可能性は極めて低く、原因の特定には至らなかった。
3	R3.5.13	アップルパイのプラスチック様異物	-	異物 対照品:アップルパイ	赤外線吸収スペクトル 元素含有率(蛍光X線分析)	類似したスペクトルを確認 セルロース成分をもつものと類似したスペクトルを確認 Ca:45.388%,K:31.062%,P:7.027%,S:6.099%,Al:3.347%,Si:3.093% 異物とは類似していなかった Na:69.630%,K:10.326%,P:7.893%,S:7.543%,Ca:3.168%	-	「量販店で購入したアップルパイを喫食していたところ、固いフィルムのようなプラスチック様異物が2つつ出てきた」との届出があった。当該施設の他店舗における過去の事例では、「原料の1つであるリンゴの種の周辺にある固い繊維の一部」との調査結果であった。IR・蛍光X線の分析結果とも矛盾しないことから、当該異物は原料の固い繊維の一部と推察された。
4	R3.8.4	貝ひもの縮状異物	-	異物 対照品:貝ひも	赤外線吸収スペクトル	アセチルセルロースと類似したスペクトルを確認	-	「量販店で購入した縮たまごを喫食したところ、縮のような異物を発見した。異物が何か知りたいたいの依頼が京都市医療衛生センターに寄せられた。健康科学研究所の検査の結果、異物はアセチルセルロースから製造される合成樹脂と推察された(異物は中心部まで貝ひもに類似した茶色に染まっている)。当該施設では、調味液で味付けされた縮たまごの貝ひもをバルクで仕入れて、小分け作業のみを行っていることから、小分け作業時に混入したとしても、当該異物の中心部まで調味液が浸透するとは考え難い。小分け作業場内への私物持ち込みを禁止していることから、当該施設での混入の可能性は低いと考えられた。
5	R3.9.28	クリームブリュレの異臭	-	苦情品 対照品:クリームブリュレ	SPME-GC/MS	酪酸、ヘキサン酸、オクタン酸、ノナン酸、デカン酸、ドデカン酸等のカルボン酸を検出 異臭成分と思われる化合物は検出せず	-	「飲食店で提供されたクリームブリュレを喫食していたところ、飲み込んだ時に喉が焼ける感じがあり、臭いを確認すると嘔吐物のような臭いを感じた。」との届出があった。健康科学研究所の検査の結果、苦情品から複数種のカルボン酸が検出された。検出されたカルボン酸の中には腐敗臭がするものもあることから、本件の異臭はこれらからの物質が原因と考えられる。しかしながら、当該施設の調査の結果、カルボン酸の混入・生成原因の断定には至らなかった。
6	R3.11.12	アーモンドの異臭	-	苦情品 対照品:アーモンド	SPME-GC/MS	アーモンド20粒中2粒から他に比べてヘキサナールが有意に高く検出 アーモンド20粒及び容器包装の一部分からリモネンを検出 アーモンド20粒ともほぼ同程度のヘキサナールを検出 アーモンド及び容器包装からリモネンは検出せず	-	「インターネットで購入したアーモンドを喫食していたところ、化粧品のような匂いがする。」との苦情が越谷保健所に寄せられた。健康科学研究所の検査結果では、アーモンド20粒のうち2粒から残り18粒よりヘキサナールが有意に高く検出され、20粒全てから同程度のリモネンが検出された。対照品については、20粒ともヘキサナールが同程度検出され、また、リモネンは検出されなかったことから、本件の異臭の原因はヘキサナールが20粒に2粒の割合で多く含まれていたことと、本件の異臭の原因はヘキサナールが20粒に2粒の割合で多く含まれていたことと推察された。しかしながら、ヘキサナールが多量に含まれていた原因及びリモネンが含まれていた原因の究明には至らなかった。
7	R3.11.29	チーズのカビ様異物	-	異物	-	-	Cladosporium spp (クロカビ)	「プロセスチーズを喫食しようとして開封したところ、カビ様異物が混入していた」との苦情が大阪市北部生活衛生監視事務所へ寄せられた。健康科学研究所の検査の結果、当該異物はクロカビ(クラドスポリウム)と推定された。製造所からの報告では、チーズを包装しているアルミ箔材にチーズ充填後または流通過程で傷がつき、そこから空気が流入しカビが発生したと考えられるとのことだった。
8	R4.2.4	だんごの石様異物	-	異物	元素含有率(蛍光X線分析)	Ca:75.782%,P:23.812%,K:0.342%,Sr:0.060%,Zr:0.0004%	-	「量販店で購入した団子を喫食していたところ、石または入れ歯様の異物が混入していた」との届出があった。健康科学研究所の検査の結果、当該異物は「歯」と推定されるが、混入経路の特定には至らなかった。

表3 令和3年度 家庭用品品目別検体数

	検査品目	検体数
乳 幼 児 用 織 維 製 品	おしめ	0
	おしめカバー	0
	よだれ掛け	0
	下着	0
	寝衣	0
	くつ下	0
	中衣	0
	外衣	0
	帽子	0
	手袋	0
	乳幼児用以外の寝衣	0
	家庭用エアゾール	1
	家庭用洗剤	2
	その他	1
	合計	4

表4 令和3年度 家庭用品検査項目別検体数

検査項目	検体数
ホルムアルデヒド	0
メタノール	1
塩化ビニルモノマー	1
テトラクロロエチレン	2
トリクロロエチレン	2
漏水試験	1
落下試験	1
圧縮変形試験	1
耐酸性試験	1
酸の量	1
耐アルカリ性試験	0
アルカリの量	0
その他	3
合計	14

表5 令和3年度 水質関係業務別検査件数

業務名	主な検査項目	検査件数
専用・特設水道給水栓水、 飲用温泉水など	水道法に基づく化学試験全項目 49 項目	150
井戸水、簡易専用水道、小規模受水 槽など	飲料水簡易セット項目(pH、色度、濁度、Cl、TOC、 NO ₂ +NO ₃ の6項目)、Fe、Pb、Zn、Cu、蒸発残留物など	270
プール水	pH、濁度、過マンガン酸カリウム消費量、トリハロメタン	136
浴場水 浴槽水	濁度、過マンガン酸カリウム消費量、TOC	96
上がり用水、上がり用湯	pH、色度、濁度、TOC	384
ゴルフ場使用農薬調査	イミダクロプリド、アゾキシストロビン、アシュラムなど 54 種類 の農薬	1,285
地下水調査	環境基準項目(30)、要監視項目(24)など	396
緊急性を要する検査、追跡調査、排水 基準を超える工場排水など	COD、T-N、導電率、水道法に基づく化学試験全項目 49 項 目、砒素など	3
一般依頼検査(井戸水、簡易水道、河 川水、池水、海水など)	飲料水簡易セット項目、水道法に基づく全項目、環境基準 項目など	18
環境測定を外部機関に委託する場合 の信頼性確保事業	COD、T-N、TOC、砒素、フッ素、ホウ素など	268
合 計		3,006

表6 令和3年度 大気関係業務別検査件数

業務名	検査件数
有害大気汚染物質測定	
揮発性有機化合物類	1,434
アルデヒド類	148
重金属	360
水銀	72
酸化エチレン	76
ベンゾ[a]ピレン	72
アスベスト検査	17
合 計	2,179

Ⅱ 業務実績（令和3年度）

II 業務実績

1 講演会・研修

1) 健科研セミナー

回	実施日	参加者数	所属	講師	演題
1	R4.3.29	26名	健康科学研究所	岩本 朋忠 飯島 義雄	研究倫理教育 感染症よもやま話

2) 研修会・講習会

研修・講習名	実施日	場所	内容	担当
兵庫県臨床検査技師会 学術部微生物検査研修会	R3.5.20	Web	新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の検査とゲノム解析	野本 竜平
衛生微生物技術協議会 第41回研究会	R3.6.9	Web	神戸市における COVID-19 検査の現状	岩本 朋忠
令和3年度 第1回 臨時 神戸市新型インフルエンザ 等対策病院連絡会	R3.6.24	神戸	神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況	中西 典子 野本 竜平
新型コロナウイルス感染症 対策本部 コアメンバー会 議	R3.7.7	神戸市 立医療 センター 中央 市民病 院	<ul style="list-style-type: none"> ・新型コロナウイルス変異株について ・新型コロナウイルスの遺伝的多様性とゲノムサーベイランス 	飯島 義雄 岩本 朋忠
NGS 解析研修	R3.7.15	神戸	SARS-CoV-2 の NGS 解析研修を大阪健康安全基盤研究所職員 2 名に対して実施	野本 竜平
NGS 解析研修	R3.9.27 R3.9.29	神戸	SARS-CoV-2 の NGS 解析研修を神戸大学医学部附属病院職員 5 名に対して実施	野本 竜平
令和3年度 第3回 臨時 神戸市新型インフルエンザ 等対策病院連絡会	R3.10.7	神戸	神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況	野本 竜平
令和3年度 明石公衆衛生 協会秋季研修会	R3.10.14	あかし 保健所	新型コロナウイルス感染症の第5波までを振り返って	飯島 義雄

NGS 解析研修	R3.11.10	神戸	SARS-CoV-2 の NGS 解析研修を兵庫県立淡路医療センター職員 1 名に対して実施	野本 竜平
地方衛生研究所 NGS 情報交換会	R3.11.12	Web	神戸市内における SARS-CoV-2 ゲノム解析状況と分子系統の変遷について	野本 竜平
令和 3 年度(第 47 回)地方衛生研究所全国協議会近畿支部 細菌部会研究会	R3.11.19	Web	レファレンスセンター報告	中西 典子
令和 3 年度 医師・歯科医師臨床研修	R3.11.19	神戸	新型コロナウイルス検査関連実習	谷本 佳彦 有川 健太郎
NGS 解析研修	R3.12.1	神戸	SARS-CoV-2 および薬剤耐性菌の NGS 解析研修を兵庫県立姫路循環器病センター職員 1 名に対して実施	野本 竜平
神戸市保健センター長会議	R3.12.6	Web	オミクロン株の変異と監視体制について	岩本 朋忠
NGS 解析研修	R3.12.8	神戸	SARS-CoV-2 の NGS 解析研修を姫路市環境衛生研究所職員 2 名に対して実施	野本 竜平
西宮市保健所職員研修会	R3.12.13	Web	最近話題の感染症・食中毒 – 新型コロナウイルスを中心に –	飯島 義雄
令和 3 年度 地方衛生研究所衛生化学分野研修会	R4.1.21	Web	異臭の分析について	上田 泰人
大阪府立大学大学院オープンセミナー	R4.2.18	Web	話題の感染症・食中毒 – 新型コロナウイルスを中心に –	飯島 義雄

3) 著書及び発表論文

表題	著者名 (当所職員はアンダーライン)	誌名
Genomic features of <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i> isolated from pigs in Japan	Tetsuya Komatsu, (略:19名), <u>Tomotada Iwamoto</u> , and Fumito Maruyama	Gigabyte 1-12, 2021
Seroepidemiological survey on pigs and cattle for novel K88 (F4)-like colonisation factor detected in human enterotoxigenic <i>Escherichia coli</i>	<u>Yoshihiko Tanimoto</u> , Miyoko Inoue, Kana Komatsu, Atsuyuki Odani, Takayuki Wada, Eriko Kage-Nakadai, Yoshikazu Nishikawa	Epidemiol Infect. 150, e6, 2022

Comparison of RT-PCR, RT-LAMP, and antigen quantification assays for the detection of SARS-CoV-2	<u>Yoshihiko Tanimoto, Ai Mori, Sonoko Miyamoto, Erika Ito, Kentaro Arikawa, Tomotada Iwamoto</u>	Jpn J Infect Dis. 75 (3): 249-253, 2022
Whole-Genome Sequencing of Shiga Toxin-Producing <i>Escherichia coli</i> OX18 from a Fatal Hemolytic Uremic Syndrome Case.	Kenichi Lee, (略 13 名), <u>Natsuki Hama, Ryohei Nomoto</u> , (略 4 名)	Emerg Infect Dis. 2021 (5): 1509-1512.
Occurrence of Carriage of Multidrug Resistant Enterobacteriaceae among Pregnant Women in the Primary Health Center and Hospital Setting in Surabaya, Indonesia.	Siti Rochmanah Oktaviani Sulikah, (略 4 名), <u>Noriko Nakanishi, Ryohei Nomoto</u> , (略 5 名)	Microb Drug Resist. 2022(1):48-55.
A discernable increase in the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 R.1 lineage carrying an E484K spike protein mutation in Japan.	Tsuyoshi Sekizuka, (略 7 名), <u>Ryohei Nomoto</u> , (略 4 名)	Infect Genet Evol. 2021 Oct;94:105013.
Characterization of a Novel Plasmid in <i>Serratia marcescens</i> Harboring <i>bla</i> _{GES-5} Isolated from a Nosocomial Outbreak in Japan	<u>Noriko Nakanishi, Shoko Komatsu, Tomotada Iwamoto, Ryohei Nomoto</u>	J Hosp Infect. 2022 Mar;121:128-131.
Complete Genome Sequences of Four <i>Streptococcus parasuis</i> Strains Obtained from Saliva of Domestic Pigs in Japan	<u>Ryohei Nomoto</u> , Kasumi Ishida-Kuroki, Ichiro Nakagawa, Tsutomu Sekizaki	Microbiol Resour Announc. 2022 Feb 17;11(2):e0124521.
False-positive results in SARS-CoV-2 antigen test with rhinovirus A infection	Shogo Otake, <u>Sonoko Miyamoto, Ai Mori, Tomotada Iwamoto</u> , Masashi Kasai	Pediatr Int. 63(9):1135-1137, 2021
新型コロナウイルス VOC-202012/01 感染者の陰性確認完了までに要した日数と Ct 値の推移に関する考察	<u>野本竜平、中西典子、森 愛、岩本朋忠、小寺有美香、尾崎明美、神戸市健康科学研究所 COVID-19 検査チーム</u>	IASR Vol. 42 p101-102: 2021 年 5 月号
SARS-CoV-2 検出検査の RT-qPCR 法と抗原定量法の比較	<u>谷本佳彦、森 愛、宮本園子、有川健太郎、岩本朋忠、神戸市健康科学研究所 COVID-19 検査チーム</u>	SARS-CoV-2 検出検査の RT-qPCR 法と抗原定量法の比較
瀬戸内海における海水中有機物の C:N:P 比と窒素・りん濃度の関係性について	鈴木元治、栢原博幸、大島詔、中村玄、 <u>向井健悟、藤田和男、小田新一郎、宇都宮涼、浅川愛、管生伸矢、安藤真由美、秋吉貴太、柳明洋、松尾剛、藤原建紀</u>	全国環境研会誌 Vol.46 No.3: 115-122、2021

理化学検査分野における食の安全確保について－神戸市健康科学研究所の取り組み(過去 20 年間)	<u>上田泰人</u>	FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN 227(1): 50-56, 2022
---	-------------	---

4) 学会等発表

(当所職員はアンダーライン)

演題名	発表者名	学会名	開催時期場所
結核菌全ゲノム解析による VNTR クラスターの信頼性の検証	<u>岩本朋忠</u> 、藤山理世、村瀬良朗、御手洗聡、 <u>有川健太郎</u>	第 96 回日本結核 非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会	2021 年 6 月 18 日、Web 開催
SARS-CoV-2 検出検査の RT-PCR 法と抗原定量法・LAMP 法の比較	<u>谷本佳彦</u> 、 <u>森愛</u> 、 <u>宮本園子</u> 、 <u>伊藤絵里香</u> 、 <u>有川健太郎</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	令和 3 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会	2021 年 10 月 8 日、Web 開催
神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況	<u>野本竜平</u>	第 80 回日本公衆衛生学会総会 地方衛生研究所研修フォーラム	2021 年 12 月 21-23 日、東京
神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況	<u>野本竜平</u> 、 <u>中西典子</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	第 41 回全国衛生微生物技術協議会	2021 年 6 月 9-10 日、Web 開催
COVID19 のクラスター事例における遺伝子解析結果の応用	<u>野本竜平</u>	令和 3 年度地研協議会近畿支部疫学情報部会研究会	2022 年 2 月 4 日、Web 開催
K-mer 関連解析を用いた <i>emm89</i> 型化膿レンサ球菌による侵襲性感染症の発症機構の解明	大野誠之、(略 12 名)、 <u>中西典子</u> 、(略 3 名)	第 44 回日本分子生物学会	2021 年 12 月 1-3 日、MBSJ2021 online
洗浄後浴室環境における非結核性抗酸菌の経時調査	<u>有川健太郎</u> 、前田親男、御厨真幸、原田一、越海義明、 <u>岩本朋忠</u>	日本防菌防黴学会 第 48 回年次大会	2021 年 9 月 8-9 日、Web 開催
VNTR でダブルピークが検出された結核菌株の全ゲノム比較解析	<u>有川健太郎</u> 、藤山理世、村瀬良朗、御手洗聡、 <u>岩本朋忠</u>	第 96 回日本結核 非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会	2021 年 6 月 18 日、Web 開催
地下式受水槽のノロウイルス汚染を原因とする食中毒事例と近年の神戸市で発生した下痢症ウイルス事例について	<u>有川健太郎</u> 、 <u>野本竜平</u> 、 <u>花房剛志</u> 、 <u>米澤武志</u> 、 <u>濱夏樹</u> 、 <u>中西典子</u> 、 <u>田中忍</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	ウイルス性下痢症研究会 第 32 回学術集会	2021 年 11 月 15 日、Web 開催

市内温泉施設における緊急事態宣言後のレジオネラ属菌の検出状況と遺伝子型の推移	<u>小松頌子</u> 、 <u>中西典子</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	令和3年度地研近畿支部細菌部会研究会	2021年11月19日、Web開催
アストロウイルス検出法の検討と遺伝子保有調査	<u>花房剛志</u> 、 <u>谷本佳彦</u> 、 <u>有川健太郎</u> 、 <u>森愛</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	第19回神戸市生活衛生研究発表会	紙面発表
浴槽水における <i>Legionella pneumophila</i> の検出状況について	<u>小松頌子</u> 、 <u>中西典子</u> 、 <u>田中忍</u> 、 <u>岩本朋忠</u>	第19回神戸市生活衛生研究発表会	紙面発表
LC-MS による畜産物中のアミノグリコシド系抗生物質分析法の検討	<u>山路章</u> 、 <u>吉野共広</u> 、 <u>向井健悟</u>	第58回全国衛生化学技術協議会年会	2021年11月25-26日、Web・紙上開催
水環境中 2-ベンジリデンオクタナールの分析法開発と実態調査	<u>吉野共広</u> 、 <u>八木正博</u> 、 <u>向井健悟</u>	第24回日本水環境学会シンポジウム「環境汚染物質分析へのMS技術の応用」(MS技術研究委員会)	2021年9月14日、Web開催
水環境中 2-ベンジリデンオクタナールの LC-MS/MS による分析法開発と実態調査及び LC-QTOF/MS によるスクリーニング分析	<u>吉野共広</u> 、 <u>八木正博</u> 、 <u>向井健悟</u>	第48回環境保全・公害防止研究発表会	2021年11月18-19日、Web開催

2 検査件数

令和3年度

部別依頼者別検査年報

感染症部

(4月から3月までの集計)

部別	検査項目	健康局		環境局		その他の市関係		市立病院		その他		合計	
		件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
感 染 症	細菌鏡検	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細菌培養同定(咽)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細菌サーベイランス	183	1,830,000	0	0	0	0	0	0	0	0	183	1,830,000
	遺伝子解析(PFGE法)	2	40,000	0	0	0	0	0	0	0	0	2	40,000
	レジオネラ	102	387,600	0	0	0	0	0	0	14	53,200	116	440,800
	結核菌群抗原精密測定	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細菌培養同定(便)	7	26,180	0	0	0	0	0	0	0	0	7	26,180
	細菌培養同定(血)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細菌培養同定(膿)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	細菌培養同定(生)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	嫌気性培養	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	簡易培養	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	薬剤感受性1	12	20,400	0	0	0	0	0	0	0	0	12	20,400
	薬剤感受性2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	薬剤感受性3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
部	QFT検査	154	942,480	0	0	0	0	0	0	0	0	154	942,480
	髄液抗原検出	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	STD細菌	4	17,200	0	0	0	0	0	0	0	0	4	17,200
	下痢症検便	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌顕微鏡検査	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌分離培養検査1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌同定(生化学)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌同定(AccuMTB)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MAC同定(AccuMAC)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌核酸同定(DDH)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結核菌直接PCR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MAC直接PCR	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	結核菌RNA増幅(MTD)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品腸管出血性大腸菌o157・o26・o111	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	抗酸菌薬剤感受性4剤	1	3,800	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3,800
サルモネラ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ペロ毒素	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
赤痢等培養	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
細菌同定	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
水質細菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	67,200	21	67,200

部別	検査項目	健康局		環境局		その他の市関係		市立病院		その他		合計	
		件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
生 活 科 学 部 (食 品 化 学)	食品簡易	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品比較的複雑	203	1,218,000	0	0	0	0	0	0	0	0	203	1,218,000
	食品複雑	25	250,000	0	0	0	0	0	0	0	0	25	250,000
	食品特殊	23	460,000	0	0	6	120,000	0	0	0	0	29	580,000
	牛乳規格	1	6,000	0	0	6	36,000	0	0	0	0	7	42,000
	質量分析等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	アレルギー(定性試験)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	アレルギー(各定量試験)	18	360,000	0	0	0	0	0	0	0	0	18	360,000
	アレルギー(各確認試験)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	遺伝子組換え(DNA抽出)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	遺伝子組換え(定性試験)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	遺伝子組換え(各定量試験)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学成績書	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学成績書特殊	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学写真カラー	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学写真カラー追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学写真モノクロ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学写真モノクロ追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	食品化学写真モノクロ追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	農薬等一斉分析1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
農薬等一斉分析2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
農薬等一斉分析3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌鏡検	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌培養同定(咽)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌培養同定(便)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌培養同定(血)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌培養同定(膿)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
真菌培養同定(生)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
食品真菌鏡検	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
食品真菌数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
食品真菌培養	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
食品真菌同定	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
食品化学合計	270	2,294,000	0	0	12	156,000	0	0	0	0	282	2,450,000	
前年度合計	461	4,031,000	0	0	14	196,000	0	0	0	0	475	4,227,000	
前年度比 (%)	58.6	56.9	-	-	85.7	79.6	-	-	-	-	59.4	58.0	

部別	検査項目	健康局		環境局		その他の市関係		市立病院		その他		合計	
		件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
生活科学部 (環境化学)	簡易水質(飲適)	48	192,000	0	0	0	0	0	0	21	84,000	69	276,000
	水質簡易	485	727,500	0	0	0	0	0	0	0	0	485	727,500
	水質複雑	460	1,058,000	0	0	0	0	0	0	0	0	460	1,058,000
	水質有機物(PCB等)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	トリハロメタン	10	200,000	0	0	0	0	0	0	0	0	10	200,000
	水質特殊	18	360,000	0	0	0	0	0	0	0	0	18	360,000
	水質特殊追加	39	117,000	0	0	0	0	0	0	0	0	39	117,000
	排水簡易	0	0	5	7,500	0	0	0	0	0	0	5	7,500
	排水複雑	0	0	14	63,000	0	0	0	0	0	0	14	63,000
	排水特殊	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	排水特殊追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス検知管	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス簡易	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス比較的複雑	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス複雑	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス複雑追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	ガス特殊	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ガス特殊追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状降下煤塵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状浮遊粉塵	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状粒度分布	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状粉塵水溶性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状粉塵金属	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
粒子状粉塵特殊(アスベスト)	0	0	17	340,000	0	0	0	0	0	0	17	340,000	
粒子状粉塵特殊追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
燃料硫黄分	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
燃料灰分	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
水質底質簡易	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
水質底質複雑	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
水質底質農薬	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
水質底質農薬追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ガス揮発性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
ガス揮発性追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
環境化学成績書	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
環境化学写真カラー	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
環境化学写真カラー追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
環境化学写真モノクロ	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

環境化学写真モノクロ追加	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
環境化学写真ボロ作	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
酸性雨水溶性	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
排水特殊PCB等	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
酸性雨簡易	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
環境化学合計	1,060	2,654,500	36	410,500	0	0	0	0	21	84,000	1,117	3,149,000		
前年度合計	986	1,992,800	24	231,000	0	0	0	0	27	96,100	1,037	2,319,900		
前年度比 (%)	107.5	133.2	150.0	177.7	-	-	-	-	77.8	87.4	107.7	135.7		

令和3年度

総括

	部		健康局		環境局		その他の市関係		市立病院		その他		合計	
	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額	件数	金額
令和3年度合計														
感染症部	50,631	500,948,160	0	0	45	65,000	0	0	0	0	215	649,900	50,891	501,663,060
生活科学部(食品化学)	270	2,294,000	0	0	12	156,000	0	0	0	0	0	0	282	2,450,000
生活科学部(環境化学)	1,060	2,654,500	36	410,500	0	0	0	0	0	0	21	84,000	1,117	3,149,000
総合計	51,961	505,896,660	36	410,500	57	221,000	0	0	0	0	236	733,900	52,290	507,262,060
前年度合計														
感染症部	26,457	256,080,970	0	0	44	55,000	0	0	0	0	204	702,500	26,705	256,838,470
生活科学部(食品化学)	461	4,031,000	0	0	14	196,000	0	0	0	0	0	0	475	4,227,000
生活科学部(環境化学)	986	1,992,800	24	231,000	0	0	0	0	0	0	27	96,100	1,037	2,319,900
総合計	27,904	262,104,770	24	231,000	58	251,000	0	0	0	0	231	798,600	28,217	263,385,370
前年度比 (%)														
感染症部	191.4	195.6	-	-	102.3	118.2	-	-	-	-	105.4	92.5	190.6	195.3
生活科学部(食品化学)	58.6	56.9	-	-	85.7	79.6	-	-	-	-	-	-	59.4	58.0
生活科学部(環境化学)	107.5	133.2	150.0	177.7	-	-	-	-	-	-	77.8	87.4	107.7	135.7
総合計	186.2	193.0	150.0	177.7	98.3	88.0	-	-	-	-	102.2	91.9	185.3	192.6

【 参 考 】

手数料条例によらない(事業に伴う)検査件数

感染症部

年 度	H28	H29	H30	H31	R2	R3
結核菌QFT検査	379	333	275	256	196	154
結核菌遺伝子型別解析	215	220	170	189	173	160
HIV確認検査	20	14	7	10	5	8
感染症部合計	614	567	452	455	374	322

生活科学部

(環境関連)

年 度	H28	H29	H30	H31	R2	R3	
ゴルフ場使用農薬	1,804	1,842	1,886	1,840	1,472	1,285	※1
地下水調査	402	388	376	378	378	396	
環境測定を外部機関に委託 する場合の信頼性確保事業	437	439	435	403	426	268	※2
有害大気汚染物質	2,213	2,340	2,160	2,160	2,165	2,162	※3
小 計	4,856	5,009	4,857	4,781	4,441	4,111	

(食品関連)

年 度	H28	H29	H30	H31	R2	R3	
残留農薬	27,263	22,105	22,360	19,482	5,404	5,437	※4
動物用医薬品	1,665	1,215	1,260	855	135	207	※5
小 計	28,928	23,320	23,620	20,337	5,539	5,644	

生活科学部合計	33,784	28,329	28,477	25,118	9,980	9,755
---------	--------	--------	--------	--------	-------	-------

総 合 計	34,398	28,896	28,929	25,573	10,354	10,077
-------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

※1 1検体当たり、45～60項目を検査

※2 1検体当たり、1～54項目を検査

※3 1検体当たり、9～25項目を検査

※4 1検体当たり、30～255項目を検査

※5 1検体当たり、3～35項目を検査

調査研究テーマ（令和4年度）

令和4年度 健康科学研究所 調査研究テーマ

I 研究所研究費事業(重点化プロジェクト事業)

1 都市下水中の病原体遺伝子の網羅的な解析

- ①薬剤耐性菌の網羅的な解析と抗生物質濃度の推移
- ②ウイルス及び細菌の網羅的な解析
- ③COVID-19発生動向のモニタリング

2 MALDI-TOF MSの有効利用に向けた検討

- ①MALDI-TOF MS結果の検証と解析対象の拡張(食中毒等)
- ②耐性菌が産生するカルバペネマーゼの検出

II 各分野別テーマ

(代表研究者)

1-1 感染症対策分野【新規課題】

- ・神戸市におけるアデノウイルス流行型の変遷の解明 伊藤 絵里香
- ・クラミジア属の検出検査法に関する検討 大西 優伽
- ・神戸市内下水中の薬剤耐性菌の網羅的な解析と経時変化【重点化プロジェクト事業 1-①】 細菌パート
- ・MALDI-TOF MSの有効利用に向けた検討【重点化プロジェクト事業 2-①,②】 細菌パート
- ・下水中のウイルスと細菌の網羅的な解析【重点化プロジェクト事業 1-②】 メタゲノムグループ
- ・神戸市内下水中の抗生物質実態把握【重点化プロジェクト事業 1-①】 抗生物質グループ
- ・リケッチア類の培養に関する研究 近藤 隆彦

1-2 感染症対策分野【継続課題】

- ・新型コロナウイルスのワクチン接種によって獲得された抗体の継時的変化・ウイルス中和効果に関する研究 谷本 佳彦
- ・神戸市内の流入下水における新型コロナウイルス等の検出による流行検知【重点化プロジェクト事業 1-③】 ウイルス・結核パート
- ・薬剤耐性菌のモニタリングと耐性機序の解析 中西 典子
- ・5類感染症原因細菌の分子疫学解析と薬剤耐性機序に関する研究 小松 頌子
- ・神戸市で流行するSARS-CoV-2のゲノム解析 野本 竜平
- ・環境及びヒト由来*Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis*の詳細な遺伝子解析 有川 健太郎
- ・急性脳炎・脳症患者検体からの次世代シーケンサーを用いた病原体探索 森 愛
- ・病原体サーベイランスで検出されるウイルスの詳細な遺伝子解析 森 愛
- ・次世代シーケンサーを活用した結核ゲノム疫学への展開に向けた研究 岩本 朋忠
- ・神戸市結核菌バンク事業保存菌株の全ゲノム解析 伏屋 智明

2-1 食品衛生分野【新規課題】

- ・神戸市内を流通する鶏肉および食中毒患者から検出されたカンピロバクター属菌におけるギランバレー症候群関連遺伝子保有調査 花房 剛志

- ・総アフラトキシンの検査法の検討 岸本 由里子
- ・遺伝子塩基配列解析による異物同定法の検討(植物) 佐藤 徳子
- ・残留農薬検査におけるGC-MS分析項目のLC-MS分析への移行の検討 山路 章
- ・健康危機管理-異臭、農薬等を含む揮発性物質の分析について 上田 泰人
- ・輸入ナチュラルチーズのヒスタミン蓄積量の部位別差の調査 大久保 祥嗣
- ・神戸市内に流通する食品全般の試買調査 食品パート

2-2 食品衛生分野【継続課題】

- ・カンピロバクター属細菌の定量試験法の検討 野本 竜平
- ・畜水産物中の抗生物質のLC-MSによる分析法の検討 山路 章
- ・食品添加物の妥当性評価試験について 上田 泰人
- ・農作物の残留農薬多成分一斉分析法の検討 平良 由貴

3 環境衛生分野【継続課題】

- ・人工環境水中のレジオネラ属菌の遺伝子型別解析とモノクロラミン等の消毒効果の検証 小松 頌子
- ・レジオネラ属菌における菌株間の相互作用と定着性、病原性についての解析 中西 典子

4-1 環境保全分野【新規課題】

- ・河川水の環境汚染事象発生時に対応するための基礎調査－無機物質－ 藤永 千波

4-2 環境保全分野【継続課題】

- ・神戸の水環境をさらに改善するために 向井 健悟
- ・神戸市の環境水中に残留が懸念される化学物質の実態解明及び超極性物質の網羅分析法の開発 八木 正博
- ・神戸市域内の有害大気汚染物質の実態調査及び動態解析 福田 彩香
- ・地下水調査及びこれに関連する物質動態解析 藤永 千波
- ・災害時の緊急時調査体制の構築、化学物質環境実態調査 吉野 共広

研究報告

I 原著

マルチプレックスリアルタイム PCR による下痢原性大腸菌の遺伝子検出法

谷本佳彦、花房剛志、濱夏樹

神戸市健康科学研究所 感染症部

1 はじめに

大腸菌はヒトや動物の腸内常在菌で、通常病原性はない。しかし、一部はヒトに対して下痢症を引き起こし、それらは下痢原性大腸菌 (DEC) と呼ばれている。DEC はその病原機構と病原遺伝子保有の特徴によって、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC) および腸管凝集接着性大腸菌 (EAEC) の大きく 5 種類に分類される¹。これら以外にも分散接着性大腸菌 (DAEC)² など非定型 DEC の存在も知られており、DEC は多様性に富んでいる。

当研究所で現在使用している DEC 遺伝子検出のためのプライマー・プローブセットは、1 遺伝子を 1 ウェルで検出するシングル検出系であり、多種多様な遺伝子を網羅的に検出する作業に手間がかかっていた。また、ほとんどがプライマー・プローブの設計時に、一つの配列しか参照しておらず、バリエーションが存在した際に検出不能となる可能性が予想された。

そこで本研究では、より簡便かつ網羅的に DEC 遺伝子の検出を可能にするために、複数遺伝子の 1 ウェル検出かつバリエーション検出可能な系を構築することを目的とした。

2 方法

本研究では、EHEC が保有する *stx1*、*stx2* 遺伝子 (*stx2* については *stx2f* とそれ以外のバリエーションを検出するものに分けた)、EPEC が保有する *eae* 遺伝子、ETEC が保有する *LT*、*STh*、*STp* 遺伝子、EIEC が保有する *ipaH* 遺伝子、EAEC が保有する *aggR*、*astA* 遺伝子、ETEC が保有するヒトに対する接着性を担う CS6 オペロンを構成する *cssB* 遺伝子、非定型 DEC のひとつである DAEC が保有する *afaB* 遺伝子を加えて合計 12 遺伝子について検出する系を構築した。

それぞれの遺伝子について、多様な配列の検出を目指すため、National Center for Biotechnology Information (NCBI) および Pathosystems Resource Integration Center (PATRICK) から遺伝子配列情報を幅広く取得した。取得した配列は、clustalW によるアライメントを行い、コンセンサス領域を整理した。過去の文献³⁻⁹から使用できるプライマ

ー・プローブはそのまま採用し、数塩基のミスマッチがあるものは当該部分を混合塩基とした。それ以外のバリエーションを見逃す可能性の高いものについては、ウェブツールである Primer3 を使用してプライマー・プローブの Tm 値、相補性を確認して新たに設計した。プローブの検出色素は、FAM、HEX、Cy5 の 3 色を用いた。

本研究では、当研究所にストックされている菌株を用いた (表 1)。ストック培地から、マッコンキー培地にスリークし一晩培養後、シングルコロニーを釣菌して TSI 培地でさらに一晩培養した。そこから TSB 培地で一晩培養した培養液を遠心分離したペレットを PBS で懸濁し、100°C、5 分インキュベートした後の遠心上清を DNA テンプレートとした。

表 1. 本研究で用いた菌株とその保有遺伝子

Strain ID	gene
H29-109	<i>stx1a</i> / <i>stx2a</i>
H29-116	<i>stx2d</i>
H29-118	<i>stx2f</i>
H22-036	<i>LT</i> / <i>STh</i>
H23-278	<i>STp</i> / <i>cssB</i> (CS6)
H22-039	<i>eaeA</i>
H22-035	<i>ipaH</i>
H22-038	<i>aggR</i> / <i>astA</i>
H30-082	<i>afaB</i>

リアルタイム PCR は、Probe qPCR Mix (2x) (Takara Bio、滋賀) の試薬を用い、Thermal Cycler Dice Real Time System III (Takara Bio) を用いて測定を行った。PCR 条件は、(95°C、30 秒) × 1 サイクル、(95°C、5 秒 → 60°C、30 秒) × 45 サイクルで行った。

3 結果

既報のプライマー・プローブ情報を基に、データベース上の配列と比較したところ、*stx1*、*stx2*、*ipaH* については、そのまま使用しても多様な配列を検出できることが分かった。*LT*、*aggR*、*astA*、*afaB* については、既存の報告の配列を一部変更することで多様な配列を検出できるようにした。

eaeA, *cssB* については、本研究で新しく設計した。本研究で整理・設計したプライマー・プローブセットを表 2 に示した。

これらを用いて、当研究所で保管されていた菌株から DNA を抽出し、リアルタイム PCR を行ったところ、すべてのプライマー・プローブセットにおいて良好な波形を認めた(図 1)。また、それぞれのプライマー・プローブセットは、別の遺伝子との交差反応はなく、特異的に遺伝子を検出できた。

4 考察

本研究では、DEC の多様な遺伝子を検出すること、またこれまでの検出系と比較して省力化することを目的として、マルチプレックス PCR 検出系を構築した。今回構築したすべての遺伝子において良好な波形が認められ、交差反応もなかった。このことから、それぞれの遺伝子が特異的に検出できていると考えられる。

実際の検査としての運用は、下痢症疑い患者検体における大腸菌の検査として、まず Mixture A を用いて *stx* 遺伝子の保有を確認し、それが陰性であった検体に追加で Mixture B-D を用いて他の遺伝子保有を確認することが考えられる。また今回は、Thermal Cycler Dice Real Time System III で検出可能な色素 (FAM, HEX, Cy5) にしたが、プローブの色素を変更することで他の機械へ適用することも可能と考えられる。

2020 年には、埼玉県において *astA* 遺伝子保有大腸菌を原因とする 3000 人超規模のアウトブレイクの事例が報告された¹⁰。*astA* 遺伝子単独陽性大腸菌は、それまで非定型 DEC と考えられていたが、この大規模なアウトブレイクによって注目すべき DEC となった。そのため、定型 DEC 以外の遺伝子を検出できる方法を確立しておくことは重要である。今回は ETEC の CS6 構成遺伝子(*cssB*)および DAEC の *afa* 遺伝子を新たに加えたが、毒素遺伝子として報告のある *cdt* 遺伝子¹¹など、現在は非定型 DEC であると考えられている遺伝子についても検出系を構築する必要がある。

大腸菌による下痢症が疑われる事例で、志賀毒素(遺伝子)陰性である検体の迅速検査に役立つことを期待したい。

5 参考文献

1) Jesser KJ, Levy K. (2020) Updates on defining and detecting diarrheagenic *Escherichia coli* pathotypes.

Curr Opin Infect Dis. 33(5): 372-80.

2) Servin AL. (2014) Pathogenesis of human diffusely adhering *Escherichia coli* expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): current insights and future challenges. *Clin Microbiol Rev.* 27(4): 823-69.

3) Tzschoppe M, Martin A, Beutin L. (2012) Int J Food Microbiol. (2012) A rapid procedure for the detection and isolation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) serogroup O26, O103, O111, O118, O121, O145 and O157 strains and the aggregative EHEC O104:H4 strain from ready-to-eat vegetables. 152(1-2): 19-30.

4) Harada T, Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Taguchi M, Kumeda Y. (2015) Multiplex real-time PCR assays for screening of Shiga toxin 1 and 2 genes, including all known subtypes, and *Escherichia coli* O26-, O111-, and O157-specific genes in beef and sprout enrichment cultures. *J Food Prot.* 78(10): 1800-11.

5) Iijima Y, Tanaka S, Miki K, Kanamori S, Toyokawa M, Asari S. (2007) Evaluation of colony-based examinations of diarrheagenic *Escherichia coli* in stool specimens: low probability of detection because of low concentrations, particularly during the early stage of gastroenteritis. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 58(3): 303-8.

6) Liu J, Gratz J, Amour C, Kibiki G, Becker S, Janaki L, Verweij JJ, Taniuchi M, Sobuz SU, Haque R, Haverstick DM, Houpt ER. (2013) A laboratory-developed TaqMan Array Card for simultaneous detection of 19 enteropathogens. *J Clin Microbiol.* 51(2): 472-80.

7) Vu DT, Sethabutr O, Von Seidlein L, Tran VT, Do GC, Bui TC, Le HT, Lee H, Hounh HS, Hale TL, Clemens JD, Mason C, Dang DT. (2004) Detection of *Shigella* by a PCR assay targeting the *ipaH* gene suggests increased prevalence of shigellosis in Nha Trang, Vietnam. *J Clin Microbiol.* 42(5): 2031-5.

8) Osawa K, Raharjo D, Wasito EB, Harijono S, Shigemura K, Osawa R, Sudarmo SM, Iijima Y, Shirakawa T. (2013) Frequency of diarrheagenic *Escherichia coli* among children in Surabaya, Indonesia. *Jpn J Infect Dis.* 66(5): 446-8.

9) Hidaka A, Hokyo T, Arikawa K, Fujihara S, Ogasawara J, Hase A, Hara-Kudo Y, Nishikawa Y. (2009) Multiplex

real-time PCR for exhaustive detection of diarrhoeagenic *Escherichia coli*. **J Appl Microbiol.** 106(2): 410-20.

- 10) Kashima K, Sato M, Osaka Y, Sakakida N, Kando S, Ohtsuka K, Doi R, Chiba Y, Takase S, Fujiwara A, Shimada S, Ishii R, Mizokoshi A, Takano M, Lee K, Iyoda S, Honda A. (2021) An outbreak of food poisoning

due to *Escherichia coli* serotype O7:H4 carrying astA for enteroaggregative *E. coli* heat-stable enterotoxin1 (EAST1). **Epidemiol Infect.** 149: e244.

- 11) Taieb F, Petit C, Nougayrède JP, Oswald E. (2016) The Enterobacterial Genotoxins: Cytolethal Distending Toxin and Colibactin. **EcoSal Plus.** 7(1).

表2. 本研究で用いたプライマー・プローブ

DEC	Target	Name	Sequence (5' - 3')	Product size (bp)	Final conc (μM)	Reference
Mixture A						
EHEC	<i>stxI</i>	six1-Fw	GGTTACATTGTCTGGTGACAGTAGCT	71	0.2	3
		six1-Rv	GCATCCCGTACGACTGATC			
EHEC	<i>stx2abcddeg</i>	six1-Probe	[FAM]-ACGTTACAGCGTGTTC-[MGB]	63	0.2	3
		six2-Fw	GAACGTTCCGGAATGCAAAAT			
		six2-Rv	CTCCATT AACGCCAGATATGATGA			
		six2-Probe	[HEX]-AGTCGTCACTCACTGGT-[MGB]			
EHEC	<i>stx2f</i>	six2f-Fw	GTCCCGTAGCCAAAACACAG	90	0.2	4
		six2f-Rv	TATTCGCTTCCACAAAACA			
		six2f-Probe	[Cy5]-AATGTTGGAGACAGGGCGCCATT-[BHQ2]			
Mixture B						
ETEC	<i>LT</i>	LT-Fw	AAGAGCGCGMAACAATT	70	0.2	5 (modified)
		LT-Rv	CAATGGCTTTTTTYTGGGAGTCT			
EETC	<i>StH</i>	LT-Probe	[FAM]-AGGTCGAAAGTCCCGGCCAGTCAA-[TAMRA]	119	0.2	5
		StH-Fw	AGAATCAGAACAATATAAAGGGAAGTGT			
		StH-Rv	CCTGAAAGCATGAATAGTAGCAATTACT			
		StH-Probe	[Cy5]-AGCACCCGGTACAAGCAGGATTACAACA-[BHQ2]			
		StP-Fw	TGAATCACTTGACTCTTCAAAA			
EETC	<i>StP</i>	StP-Rv	GGCAGGATTACAACAAGT	136	0.2	6
		StP-Probe	[HEX]-TGAACAACACATTTTACTGCT-[MGB]			
Mixture C						
EHEC/EPEC	<i>eae</i>	eae-Fw	TTCCTCTGGTGACGATGG	79	0.4	This study
		eae-Rv	CGGAACTGCATTGAGTAAAGG			
		eae-Probe	[HEX]-GATTACCGTCATGGKACRGGTAATGAAA-[BHQ1]			
EHEC	<i>ipaH</i>	ipaH-Fw	CCITTTCCCGCTTCCCTG	64	0.2	7
		ipaH-Rv	CGGAATCCGGAGGTATTGC			
EETC	<i>CS6</i>	ipaH-Probe	[FAM]-CGCCITTCGGATACCGTCTCTGCA-[TAMRA]	77	0.2	This study
		cssB-Fw	CGTCATACACATCTCAGCAA			
		cssB-Rv	TCCTGCATAAGTACCAGACGAA			
		cssB-Probe	[Cy5]-TGGTGGCGAATACCCTAATAGCGGA-[BHQ2]		0.2	This study
Mixture D						
EAEC	<i>aggR</i>	aggR-Fw	ATGCCCTRATGATAATAACGGAAATAT	88	0.2	5 (modified)
		aggR-Rv	TCWGCATCAGCTACAATTATTCCTTT			
EAEC	<i>astA</i>	aggR-Probe	[Cy5]-AAAARTAGATGCTTGYAGTTGTCCGAATTGG-[BHQ2]	72	0.2	5 (modified)
		astA-Fw	GRCCMRCAATCCAGTTATG			
		astA-Rv	TGTAKTCTTCCATGACACGAA			
		astA-Probe	[FAM]-ATCGTGCATATGGTCCGAACACAGC-[TAMRA]			
DAEC	<i>afaB</i>	afaB-Fw	GTCWCYCTGAATGTACAGCTTTCA	112	0.4	9 (modified)
		afaB-Rv	CYCTCTGCCACTCCACCTT			
		afaB-Probe	[HEX]-TCAAAGCTGTTGTCTGTC-[MGB]			

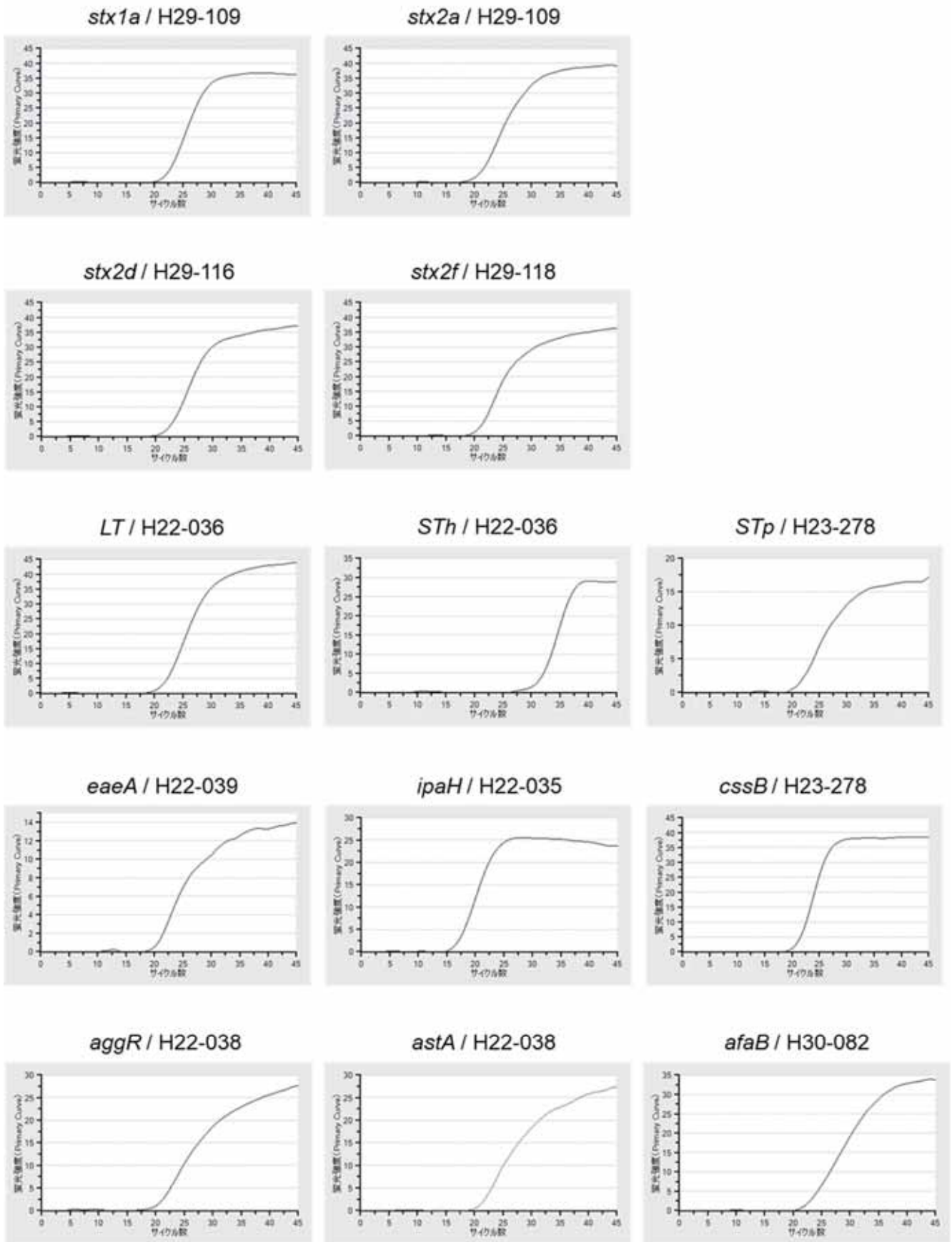


図 1. リアルタイム PCR の波形

それぞれの遺伝子の増幅波形を(遺伝子名 / 菌株名)として示した。

酸性タール系色素の精製時使用のポリアミドへの吸着についての基礎的検討

上田泰人、岸本由里子、佐藤徳子、大久保祥嗣

神戸市健康科学研究所 生活科学部

1 はじめに

当所では食品衛生検査指針¹⁾に準じて酸性タール系着色料の分析を実施しており、ポリアミドで精製後乾固し、薄層クロマトグラフィー(TLC)及び高速液体クロマトグラフィー(HPLC)で測定している。TLCとHPLCは原理が異なることから定性は両方併用している。定量はTLCでは困難なことからHPLCを用いているが、回収率が低かった。赤色3号等キサンテン系色素の回収・精製が困難なことが知られており、種々の分析法が報告されている^{2)~4)}。

今回、基礎的検討として、当所の分析法におけるポリアミド精製、乾固及び再溶解について検討し、改善点が見いだされたので報告する。

2 方法

2.1 試料

試料として、精製水を使用した。

2.2 試薬、試液等

アンモニア水(特級、28%)はキシダ化学(株)製、エタノール(高速液体クロマトグラフ用)、酢酸(試薬特級)及びポリアミド(カラムクロマトグラフ用、C-100)は富士フィルム和光純薬(株)製、酸性タール系色素は東京化成工業(株)製食品着色料検査試薬用対照試液Aセット(許可色素12種、1mg/mL)を用いた。アンモニア・エタノール溶液(50%エタノール、1%アンモニア)及びエタノール・アンモニア混液(50%エタノール、0.5%アンモニア)の調製は食品衛生検査指針に従った。80%エタノール・アンモニア混液は28%アンモニア水10mLに水を加えて112mLとした液にエタノール448mLを加えた。

分離用カラムは、ポリアミドを水に懸濁し、ジーエルサイエンス(株)製(以下GL製)エンプティリーザーバー(6mL、フリット付)に約3.5cmの高さになるように充てんし、GL製6mL用フリットを乗せ軽く押さえて空気を除き、GL製1-3-6mLアダプター付リザーバー25mLを装着し、吸着柱の上部の水を流出させた後、酢酸(1→100)約20mLを流出させた。

シリンジフィルターはメルク(株)製マイレックス-LH(親水性PTFE、孔径0.45µm、直径25mm)を用いた。

2.3 装置

ウォーターバスはヤマト科学(株)製BS660、高速液体クロマトグラフは(株)島津製作所製LC-20Aを用いた。

2.4 測定条件

測定条件は表1のとおり。

表1. HPLC条件

機器	島津 LC-20A
カラム	Chemcobond 5-ODS-W 4.6mm×250mm (6A)
温度	40°C
移動相	A:0.01 mol/L 酢酸アンモニウム B:アセトニトリル
グラジエント 条件	B(%) 2%(0-5分)-50%(30分)-2%(30.1-50分)
流速	1 mL/分
注入量	10 µL
検出波長	Y4,Y5:428 nm G3,B1:624 nm R2,R3,R40,R102,R103,R104,R105,R106:520 nm

2.5 試験溶液の調製

試料10gを量り、精製水30mL、アンモニア・エタノール溶液30mLを加え均一化し、遠心分離(3,500rpm、5分)して水層をとり検液とした。検液に酢酸2.5mLを加え酸性とし、分離カラムに流し込み、酢酸(1→100)20mL、水20mLで洗浄後、エタノール・アンモニア混液20mLで溶出させた。溶出液をシリンジフィルターを過後85°Cで水浴乾固し、残留物を50%エタノールを加えて溶解し、2mLに定容し試験溶液とした。

2.6 添加回収試験

青色2号を除く11色素について、保持時間を考慮して3群(第1群:黄色4号(Y4)、青色1号(B1)、赤色105号(R105)及び赤色106号(R106)、第2群:赤色102号(R102)、赤色40号(R40)及び赤色104号(R104)、第3群:赤色2号(R2)、黄色5号(Y5)、緑色3号(G3)及び赤色3号(R3))に分けた。各対照試液を0.5mLずつ量り、50%エタノールを加えて5mLに定容し、添加用混合標準液とした(100µg/mL)。

水10gに添加用混合標準液100µLを添加し、添加回収試験を実施した(添加濃度:1µg/g)。溶出液はエタ

ノール・アンモニア混液に加えて、80%エタノール・アンモニア混液を追加した。

3 結果および考察

3.1 ポリアミド分離カラムの調製法の変更

従来の方法では、ポリアミドカラムの調製は、検液に酢酸 2.5 mL を加え酸性にした後に、水で膨潤したポリアミド約 6 mL を加え 1 時間静置したものをポリプロピレン製カラム管(内径 20 mm、長さ 80 mm)に充てんしていた。その場合、ポリアミドカラムは充てん時の高さが約 1.3cm で、全体が着色していた。溶媒によっては膨潤や収縮が発生し、エタノール・アンモニア混液の溶出後も若干赤みを帯びていた。

一方、食品衛生検査指針では、ポリアミドは懸濁し、よくかき混ぜて空気を除き、垂直に保持したガラス管(内径 10 mm、長さ 200 mm)に約 5 cm の高さに充てんとされている。そこで、食品衛生検査指針に準じて、当所にあったエンプティリーザーバー(6 mL、フリット付)を用いてポリアミドを充てんした。ポリアミドの充てん高さは、食品衛生検査指針と同じ体積(約 3.925 cm³)にするため、高さ約 3.2 cm とし、6 mL 用フリットを乗せて少し押さえ空気を除き、1-3-6mL アダプター付リザーバー25 mL を装着した。

3.2 水浴乾固前のシリンジフィルターろ過の追加

従来の方法では、溶出液の水浴乾固後 50%エタノール再溶解時に、溶液より濃い部分(ポリアミド)が底に確認された。ポリアミドが分離カラムの底の隙間から流出し、乾固時にアンモニア及びエタノールが除去されることで、酸性タール系色素を再吸着したものと考えられた^{4),5)}。

ポリアミドへの再吸着を防ぐために、シリンジフィルターろ過を水浴乾固前に追加した。孔径 0.45 μm および 0.20 μm を用いたが、両方ともにポリアミドを除去できたので、操作性を考慮し 0.45 μm を用いることとした。

3.3 添加回収試験

従来法および改善後の方法での結果を表 2 に示す。従来法における 11 種の回収率はエタノール・アンモニア混液では 0.2%~61.9%と全て 70%未満であり、特に R2、Y5、R3、及び R105 の 4 種は 10%未満であった。追加した 80%エタノール・アンモニア混液での回収率は 0%~1.7%であった。

改善後の方法は、エタノール・アンモニア混液では 41.5%~97.0%の範囲で、全ての色素で高くなった。70%未満は、R40(41.5%)、R3(49.0%)、R106(67.7%)、R105(68.6%)、R102(68.7%)であった。80%エタノール

・アンモニア混液での回収率は 0%~1.6%であり、本液の追加は不要と考えられた。

表 2. 添加回収試験結果(n=1)

着色料	保持時間(分)	従来法		改善後の方法	
		エタノール・アンモニア混液	80%エタノール・アンモニア混液	エタノール・アンモニア混液	80%エタノール・アンモニア混液
Y4	4.208	23.4%	0.9%	91.1%	0.7%
R2	13.084	0.2%	0.7%	92.2%	0.6%
R102	14.198	26.8%	0.0%	68.7%	0.0%
Y5	16.824	1.8%	0.0%	87.5%	0.0%
R40	18.353	36.3%	0.0%	41.5%	0.3%
G3	22.094	61.9%	1.7%	97.0%	1.6%
B1	22.538	60.2%	1.3%	90.9%	0.5%
R3	24.979	4.1%	0.2%	49.0%	0.7%
R104	26.031	37.3%	0.2%	76.6%	0.6%
R106	27.148	41.0%	1.0%	67.7%	0.1%
R105	27.372	4.3%	1.1%	68.6%	1.2%

4. まとめ

ポリアミド分離カラムの調製法の変更、シリンジフィルターろ過の追加で回収率が改善された。水試料に酸性タール系色素 11 種を 1 μg/g 添加した場合において、エタノール・アンモニア混液での回収率が 41.5~97.0%であった。今後、食品試料での添加回収試験を実施するとともに、高蛋白食品における回収率の低下についての改善も検討していきたい。

参考文献

- 1) 岡尚男:“食用赤色 2 号及びそのアルミニウムレーキ”、食品衛生検査指針食品添加物編、169-177、東京、社団法人日本食品衛生協会、2003
- 2) 古賀梓美ら:福岡市保健環境研究所報、37、77-80(2011)
- 3) 山下毅ら:京都市衛生環境研究所年報、82、91-95(2016)
- 4) 鈴木理央ら:第 58 回全国衛生化学技術協議会年会講演要旨集、64-65(2021)
- 5) 角田光淳ら;食衛誌、28、473-479(1987)

II 著書及び発表論文記録
(令和3年度)

< 欧文(論文・総説・著書等) >

Genomic features of *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* isolated from pigs in Japan

Tetsuya Komatsu¹, (略:19名), Tomotada Iwamoto², and Fumito Maruyama³

¹Aichi Prefectural Chuo Livestock Hygiene Service Center, ²Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health, ³Hiroshima University
Gigabyte 1–12, 2021

要旨: *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH) is one of the most important agents causing non-tuberculosis mycobacterial infection in humans and pigs. There have been advances in genome analysis of MAH from human isolates, but studies of isolates from pigs are limited despite its potential source of infection to human. Here, we obtained 30 draft genome sequences of MAH from pigs reared in Japan. The 30 draft genomes were 4,848,678–5,620,788 bp in length, comprising 4652–5388 coding genes and 46–75 (median: 47) tRNAs. All isolates had restriction modification-associated genes and 185–222 predicted virulence genes. Two isolates had tRNA arrays and one isolate had a clustered regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR) region. Our results will be useful for evaluation of the ecology of MAH by providing a foundation for genome-based epidemiological studies.

和訳: *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* (MAH)はヒトと豚の抗酸菌症の最も主要な原因菌である。これまでにヒト臨床分離株のゲノム解析データは蓄積されているが、豚分離株に関するデータは乏しい。我々は日本で飼育されている豚由来株 30 株のドラフトゲノム配列を取得した。これら 30 株は、塩基長 4,848,678-5,620,788bp で 4652-5388 遺伝子からなり、46-75 (中央値 47)の t-RNA を持っていた。全ての株は制限修飾関連遺伝子を保有しており、185-222 個の病原性遺伝子が推定された。2 株で tRNA アレイの保有が認められた。1 株は CRISPR 領域を示した。これらの結果は、ゲノムに基づく疫学研究の基礎となり、MAH の生態評価に有用である。

Seroepidemiological survey on pigs and cattle for novel K88 (F4)-like colonisation factor detected in human enterotoxigenic *Escherichia coli*

Yoshihiko Tanimoto^{1,2}, Miyoko Inoue¹, Kana Komatsu¹, Atsuyuki Odani¹, Takayuki Wada¹, Eriko Kage-Nakadai¹, Yoshikazu Nishikawa¹

¹Graduate School of Human Life Science, Osaka City University, ²Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health (present address)

Epidemiol Infect. 150, e6, 2022

要旨: Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) strains that express various fimbrial or nonfimbrial colonisation factors (CFs) and enterotoxins are critical causes of diarrhoeal diseases. In the present study, we focused on K88-like CF (K88_{O169}) that may allow the organisms to infect domestic livestock like original K88-harboring strains that can cause diarrhoea in piglets. Samples were tested for antibodies against recombinant proteins of possible paralogous adhesins, FaeG1 and FaeG2, from K88_{O169} and the FaeG of typical K88 (F4). The seroepidemiological study using recombinant antigens (two paralogs FaeG1 and FaeG2 from K88_{O169}) showed reactivity of porcine (18.0%) and bovine (17.1%) sera to K88_{O169} FaeG1 and/or FaeG2 antigens on indirect ELISA tests. This is the first report of domestic livestock having antibodies to K88_{O169} of human ETEC. Although human ETEC had been thought to be distinguished from those of domestic animals based on CFs, zoonotic strains may conceal themselves among human ETEC organisms.

和訳: 腸管毒素原性大腸菌(ETEC)は、様々な線毛型あるいは非線毛型の接着因子(CF)や腸管毒素を発現しており、下痢症の重要な原因菌である。本研究では、ブタに下痢を引き起こすK88に類似したCF(K88_{O169})に着目した。間接ELISA法でブタとウシの血清がK88_{O169}のFaeG1およびFaeG2抗原に反応することが確認された。これらの結果は、K88_{O169}接着因子保有大腸菌がブタやウシを含む様々な宿主に感染する可能性を示唆するものである。家畜がヒトETECのK88_{O169}に対する抗体を持つという報告は今回が初めてである。これまで、ヒトETECと家畜のETECはCFによって区別されると考えられてきたが、人獣共通感染症株はヒトETEC菌の中に紛れ込んでいる可能性がある。

Comparison of RT-PCR, RT-LAMP, and antigen quantification assays for the detection of SARS-CoV-2

Yoshihiko Tanimoto, Ai Mori, Sonoko Miyamoto, Erika Ito, Kentaro Arikawa, Tomotada Iwamoto

Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health
Jpn J Infect Dis. 75 (3): 249-253, 2022

要旨: A rapid and simple alternative test to real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) is required for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) to help curb the spread of coronavirus disease (COVID-19). In the present study, we compared the RT-PCR method with chemiluminescent enzyme immunoassay (CLEIA) and reverse transcription loop-mediated isothermal amplification (RT-LAMP). We observed that the number of SARS-CoV-2 RNA copies and the CLEIA antigen quantification values were highly correlated. For both purified RNA and purification-free crude RNA, the number of RNA copies and RT-LAMP threshold time (Tt) values were inversely correlated. CLEIA antigen quantification is potentially useful for large-scale screening, as it is compatible with high-throughput testing. RT-LAMP with crude RNA samples is applicable for rapid point-of-care testing because it can directly use patient specimens. It is important to select a diagnostic method that is simple and rapid when compared with RT-PCR, depending on the situation.

和訳: 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)については、コロナウイルス感染症(COVID-19)の蔓延を抑制するために、リアルタイムPCR法(RT-PCR)に代わる迅速かつ簡便な検査法が求められている。本研究では、RT-PCR法と化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)および逆転写LAMP法(RT-LAMP)を比較検討した。その結果、SARS-CoV-2 RNAコピー数とCLEIA抗原定量値には高い相関が認められた。精製RNA、精製していない粗RNAともに、RNAコピー数とRT-LAMPのTt値には逆相関があった。CLEIA抗原の定量は、ハイスループット検査に対応できるため、大規模なスクリーニングに有用である。粗RNAを用いたRT-LAMP法は、患者検体を直接使用できるため、迅速なポイントオブケア検査に適用可能である。RT-PCRと比較し、簡便かつ迅速な診断法を状況に応じて選択することが重要である。

Whole-Genome Sequencing of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* OX18 from a Fatal Hemolytic Uremic Syndrome Case.

Kenichi Lee¹, (略13名), Natsuki Hama², Ryohei Nomoto², (略4名)

¹National Institute of Infectious Diseases, ²Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health
Emerg Infect Dis. 2021 (5): 1509-1512. doi: 10.3201/eid2705.204162.

要旨: In this study, we report a HUS case with urinary tract infection caused by a STEC belonging to the emerging O serogroup OX18. Our retrospective survey revealed that the novel pathogenic STECs OX18:H2, H19, and H34 have been continually isolated from humans and cattle. However, commercial antisera cannot identify these lineages. Elucidating the transmission routes and natural reservoirs of the bacteria is essential to control infection. DNA-based serotyping methods, including Og/Hg typing and whole-genome sequencing, would be helpful for identification and surveillance of these potentially pathogenic lineages.

和訳: 本研究では、新興のO血清群OX18に属するSTECによる尿路感染症を呈したHUSの1例を報告する。我々のレトロスペクティブなサーベイランスにより、新規病原性STECであるOX18:H2、H19、H34がヒトおよびウシから継続的に分離されていることが判明した。しかし、市販の抗血清ではこれらの系統を同定することはできない。感染制御のためには、これらの菌の感染経路や自然貯蔵庫を明らかにすることが不可欠である。Og/Hgタイピングや全ゲノム配列決定などのDNAベースの血清型別法は、これらの潜在的病原系統の同定や監視に有用であろう。

Occurrence of Carriage of Multidrug Resistant Enterobacteriaceae among Pregnant Women in the Primary Health Center and Hospital Setting in Surabaya, Indonesia.

Siti Rochmanah Oktaviani Sulikah¹, (略 4 名), Noriko Nakanishi⁷, Ryohei Nomoto⁷, (略 5 名)

¹Department of Clinical Microbiology, Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, ⁷Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health.

Microb Drug Resist. 2022(1):48-55. doi: 10.1089/mdr.2020.0506. Epub 2021 Aug 4.

要旨: The incidence of healthy individuals carrying multidrug resistant Enterobacteriaceae is increasing worldwide. Although ESBL-E causes early or late onset of neonatal sepsis, the prevalence of ESBL-E carriage among pregnant women in Indonesia is not clear. In the present study, we compared the occurrence of carriage of ESBL-E among pregnant women in a primary health center (PHC) versus two hospitals. ESBL-E strains were isolated from 25 (24.8%) pregnant women who visited the PHC and 49 (49.5%) pregnant women who were admitted to the hospitals. The rate of ESBL-E carriage of pregnant women in the hospitals was significantly higher than that in the PHC. Among the 74 isolated ESBL-E strains, ESBL-EC was most frequently isolated (62 strains), followed by ESBL-KP (12 strains). In addition, *bla*_{CTX-M-15} was the most frequent ESBL gene type of the isolated ESBL-E strains. Our results revealed the high occurrence of ESBL-E carriage in pregnant women, especially those who were admitted to the hospitals.

和訳: 健康な人が多剤耐性腸内細菌科細菌を保菌する頻度は、世界的に増加している。ESBL-Eは新生児敗血症の早期または後期発症の原因となるが、インドネシアにおける妊婦のESBL-E保有の有無は明らかではない。本研究では、プライマリヘルスセンター (PHC) と2つの病院における妊婦のESBL-E保菌の発生状況を比較した。PHCを受診した妊婦25名 (24.8%) および病院に入院した妊婦49名 (49.5%) よりESBL-E株が分離された。病院の妊婦のESBL-E保有率は、PHCの妊婦のそれよりも有意に高率であった。分離されたESBL-E株のESBL遺伝子型は、*bla*_{CTX-M-15}が最も高頻度であった。以上の結果より、妊婦、特に入院中の女性においてESBL-Eが高率に検出されることが明らかとなった。

A discernable increase in the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 R.1 lineage carrying an E484K spike protein mutation in Japan.

Tsuyoshi Sekizuka¹, (略 7 名), Ryohei Nomoto⁷, (略 4 名)

¹Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases, ⁷Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health.

Infect Genet Evol. 2021 Oct;94:105013. doi: 10.1016/j.meegid.2021.105013.

要旨: Three COVID-19 waves in Japan have been characterized by the presence of distinct PANGO lineages (B.1.1.162, B.1.1.284, and B.1.1.214). Recently, in addition to the B.1.1.7 lineage, which shows 25% abundance, an R.1 lineage carrying the E484K mutation in the spike protein was found to show up to 40% predominance. E484K could be a pivotal amino acid substitution with the potential to mediate immune escape; thus, more attention should be paid to such potential variants of concern to avoid the emergence of mutants of concern. Such comprehensive real-time genome surveillance has become essential for the containment of COVID-19 clusters.

和訳: 日本において発生したこれまで3度のCOVID-19の感染流行の波では、それぞれに異なるPANGO系統 (B.1.1.162、B.1.1.284、B.1.1.214) が優占となることが特徴であった。一方、最近の傾向では全国的に25%程度存在しているB.1.1.7系統に加え、スパイクタンパク質にE484K変異を持つR.1系統が最大40%存在することが判明した。E484Kは免疫逃避を引き起こす可能性のある重要なアミノ酸置換である可能性がある。したがって、このような潜在的な変異体に警戒を高め、懸念される変異体の出現を避ける必要がある。COVID-19クラスターを封じ込めるためには、このような包括的なリアルタイムのゲノムサーベイランスが不可欠になってきている。

Characterization of a Novel Plasmid in *Serratia marcescens* Harboring *bla*_{GES-5} Isolated from a Nosocomial Outbreak in Japan

Noriko Nakanishi, Shoko Komatsu, Tomotada Iwamoto, Ryohei Nomoto

Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health. J Hosp Infect. 2022 Mar;121:128-131. doi: 10.1016/j.jhin.2021.11.022.

要旨: *Serratia marcescens* is a nosocomial pathogen with carbapenem resistance, which limits the availability of effective treatment options. In this study, molecular characterization of GES-5 carbapenemase-producing *S. marcescens* isolated from an outbreak in Japan was undertaken. Comparative genetic analysis revealed that the *bla*_{GES-5}-encoding plasmid p2020-O-9 is a unique plasmid contributing to carbapenem resistance. Furthermore, this study highlights the need for surveillance programmes to monitor both novel and commonly occurring carbapenemases in clinical settings.

和訳: カルバペネム耐性 *Serratia marcescens* は院内感染病原体であり、有効な治療法の選択肢が限られている。本研究では、日本の集団発生から分離された GES-5 カルバペネマーゼ産生 *S. marcescens* の分子学的特徴を検討した。比較遺伝学的解析の結果、*bla*_{GES-5} をコードするプラスミド p2020-O-9 はカルバペネム耐性に寄与するユニークなプラスミドであることが明らかになった。さらに、本研究は、臨床現場における新規および一般的なカルバペネマーゼを監視するためのサーベイランスプログラムの必要性を浮き彫りにした。

Complete Genome Sequences of Four *Streptococcus parasuis* Strains Obtained from Saliva of Domestic Pigs in Japan

Ryohei Nomoto¹, Kasumi Ishida-Kuroki², Ichiro Nakagawa³, Tsutomu Sekizaki^{3,4}

¹Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health, ²Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases, ³Department of Microbiology, Graduate School of Medicine, Kyoto University, ⁴Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo.

Microbiol Resour Announc. 2022 Feb 17;11(2):e0124521. doi: 10.1128/mra.01245-21.

要旨: *Streptococcus parasuis* is a close relative of *Streptococcus suis*, an important zoonotic pathogen that causes various diseases in pigs and humans. Here, we report the complete genome sequences of four strains, including the type strain of *S. parasuis*, isolated from the saliva of healthy pigs in Japan.

和訳: *Streptococcus parasuis* は *Streptococcus suis* の近縁種であり、豚やヒトに様々な病気を引き起こす重要な人獣共通感染症病原体である。本稿では、本邦の健康な豚の唾液から分離された *S. parasuis* の標準株を含む4株の全ゲノム配列について報告する。

False-positive results in SARS-CoV-2 antigen test with rhinovirus A infection

Shogo Otake¹, Sonoko Miyamoto², Ai Mori², Tomotada Iwamoto², Masashi Kasai¹

¹Division of Infectious Disease, Department of Pediatrics, Hyogo Prefectural Kobe Children's Hospital, ²Department of Infectious Diseases, Kobe Institute of Health
Pediatr Int. 63(9):1135-1137, 2021

要旨: According to the clinical guidelines in Japan, patients with positive rapid antigen results are declared COVID-19 positive. The rapid antigen test was introduced for the benefit of obtaining results easily and quickly. We performed multiplex PCR using a FilmArray Respiratory Panel 2.1 for the patients who tested positive through the rapid antigen test. FilmArray can detect 21 microorganisms simultaneously, including the SARS-CoV-2. Here we report three cases of human rhinovirus A infection where the patients presented with false-positive results for SARS-CoV-2 on the rapid antigen test.

和訳: 日本の臨床ガイドラインでは、迅速抗原検査の結果が陽性である患者をCOVID-19陽性と判定している。迅速抗原検査は、簡便かつ迅速に結果を得ることができるという利点から導入されている。我々は、迅速抗原検査で陽性となった患者に対して、SARS-CoV-2を含む21種類の微生物を同時に検出することができるFilmArray Respiratory Panel 2.1を用いたMultiplex PCRを実施した。その結果、迅速抗原検査ではSARS-CoV-2陽性であったがFilmArray では陰性となり、ヒライノウイルスA感染症が検出された3症例を確認した。

〈邦文(論文・総説・著書等)〉

新型コロナウイルス VOC-202012/01 感染者の陰性確認完了までに要した日数と Ct 値の推移に関する考察

野本竜平¹、中西典子¹、森 愛¹、岩本朋忠¹、小寺有美香²、尾崎明美²、神戸市健康科学研究所 COVID-19 検査チーム

¹神戸市健康科学研究所感染症部、²神戸市健康局保健所保健課

IASR Vol. 42 p101-102: 2021 年 5 月号

要旨:SARS-CoV-2 の Spike タンパク質の N501Y 変異を持つ、「懸念される変異株 (variants of concern: VOC)」については、令和 2 年 12 月 25 日付事務連絡において通常とは異なる退院基準が設定され、2 回連続の核酸増幅法による陰性確認が必要となった。この陰性確認の要件を満たすためには、現在の通常の COVID-19 患者の療養解除基準である発症日から 10 日という日数を超えるケースが多く、入院病床の圧迫の一因となっている。本稿では神戸市において PCR 検査により 2 回の陰性が確認された 90 名の VOC-202012/01 (英国型変異株) 感染患者について、発症日から陰性確認完了に要した日数と Ct 値の推移を解析したものを報告する。対象とした 90 名のうち有症者は 74 名で、無症状感染者が 16 名であった。陰性確認完了に要した日数の平均は有症者で 17.4 日、無症状感染者で 14.3 日であったが有意差は確認できなかった。Ct 値の平均は 35.0 であり、発症日から 10 日未満の検体においても 8 割以上が Ct > 30 を示していた。陰性確認検査においては、Ct 値が 35 付近になってからも複数回陽性となる感染者もあり、症状が改善し感染リスクも低いと考えられる患者が長期間病床を占有してしまうという大きな問題を抱えている。現在の国内における VOC の感染者数増加を受けて、退院基準の再検討が必要であると考えられる。

SARS-CoV-2 検出検査の RT-qPCR 法と抗原定量法の比較

谷本佳彦、森 愛、宮本園子、有川健太郎、岩本朋忠、神戸市健康科学研究所 COVID-19 検査チーム

神戸市健康科学研究所感染症部

IASR Vol. 42 p126-128: 2021 年 6 月号

要旨: 新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の検出における RT-qPCR 法は、核酸取扱の熟練を要し、結果判定までに 4-5 時間かかる。抗原定量法は、化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)を用いた検査であり、技術習得が容易であり、測定時間も 35-60 分と短い。そこで、当研究所に搬入された唾液および鼻咽頭ぬぐい液の各検体について、RT-qPCR 法と抗原定量法の比較を行った。RT-qPCR 法陽性検体について、唾液(Sa)と鼻咽頭ぬぐい液(N)の両方において、Ct 値と対数変換した抗原定量値をプロットしたところ、両値が逆相関した(Sa; $r = -0.985$, N; $r = -0.962$)。また、Ct 値が 30 を超えると、Ag 値が判定保留域以下になる傾向にあり、抗原定量法では概ね 500 copy が検出限界であった。一方で、PCR 陰性検体については、鼻咽頭ぬぐい液の 1 検体(判定保留域)を除いて全て陰性値であった。以上のことから、抗原定量法は RNA 抽出が不要であることと、測定時間が短いことから、例えば、施設内で定期的に行うスクリーニング検査など多検体を処理する場合に使用する場合に有用だと考えられる。ただしその際には、ウイルス保有量が少ない患者を見逃す可能性に留意する、判定保留域になった場合に RT-qPCR 法を行う、陰性の場合でも患者の症状や疫学情報と総合的に判断するなど、対応を決めておく必要があると考える。

瀬戸内海における海水中有機物の C:N:P 比と窒素・りん濃度の関係性について

鈴木元治¹、栢原博幸²、大島韶³、中村玄⁴、向井健悟⁵、藤田和男⁶、小田新一郎⁷、宇都宮涼⁸、浅川愛⁹、管生伸矢¹⁰、安藤真由美¹¹、秋吉貴太¹²、柳明洋¹³、松尾剛¹⁴、藤原建紀¹⁵

¹(公財)ひょうご環境創造協会兵庫環境研究センター、²(地独)大阪府立環境農林水産総合研究所、³大阪市立環境科学研究センター、⁴堺市衛生研究所、⁵神戸市健康科学研究所、⁶岡山県環境保健センター、⁷広島県立総合技術研究所保健環境センター、⁸倉敷市環境監視センター、⁹徳島県立保健製薬環境センター、¹⁰徳島県危機管理環境部環境管理課(元徳島県立保健製薬環境センター)、¹¹香川県環境保健研究センター、¹²大分県衛生環境研究センター、¹³大分県産業科学技術センター(元大分県衛生環境研究センター)、¹⁴北九州市環境局環境監視部環境監視課、¹⁵京都大学名誉教授 いであ株式会社大阪支社

全国環境研会誌 Vol.46 No.3: 115-122, 2021

要旨: 瀬戸内海では、海水中有機物の濃度に関する調査は多く実施されているが、質に関する情報は少ない。本研究では、瀬戸内海の表層水について、溶存有機物(DOM)及び粒状有機物(POM)の炭素:窒素:りんモル比(C:N:P比)を測定し、窒素・りん濃度との関係性を調べた。調査した62測点の全てのC:N比及びC:P比は、POMは4割程度、DOMは9割以上がレッドフィールド比(C:N比=6.63, C:P比=106)よりも大きかった。また、有機態窒素・りん濃度が低い海域ほどC:N比及びC:P比が大きくなる傾向がみられ、その傾向はPOMよりもDOMのほうが顕著であった。C:N比及びC:P比の大きな有機物は、難分解性である傾向がある。このことから、瀬戸内海では有機態窒素・りん濃度が低い低栄養の海域ほど、分解されにくいDOMの割合が大きいことが示唆された。

理化学検査分野における食の安全確保について－神戸市健康科学研究所の取り組み(過去 20 年間)

上田泰人

FOODS & FOOD INGREDIENTS JOURNAL OF JAPAN
227(1):50-56, 2022

要旨:検査業務の大半は、保健所の下部組織である衛生監視事務所、食品衛生検査所等において計画的に実施された収去検査を担っている。2000 年度から 2019 年度の 20 年間に、食品添加物検査 19,837 項目、残留農薬検査 396,492 項目、動物用医薬品検査 17,534 項目、特定原材料(アレルギー物質)検査 1,560 項目、遺伝子組換え食品検査 1,747 項目、食品成分規格・食品成分など検査 4,880 項目、器具容器包装検査 4,105 項目、食品放射性物質検査 787 項目、家庭用品検査 2,030 項目、合計 448,972 項目の検査を実施した。基準違反は食品添加物、残留農薬、動物用医薬品、特定原材料(アレルギー物質)、家庭用品などで認められた。収去検査とは別に化学性の食中毒や有症苦情などで、2000 年度から 2019 年度の 20 年間に 668 検体の検査を受け付けた。この 20 年間に、最新機器の導入の活用により GC-MS-SPME 法を用いた異臭検査、LC-MS/MS を用いた自然毒検査、FTIR や蛍光 X 線装置を用いた異物検査が出来るようになった。

III 学 会 発 表 記 録
(令和3年度)

<国内学会>

結核菌全ゲノム解析による VNTR クラスターの信頼性の検証

岩本朋忠¹、藤山理世²、村瀬良朗³、御手洗聡³、有川健太郎¹

¹ 神戸市健康科学研究所、² 神戸市保健所保健課、³ 結核予防会結核研究所抗酸菌部

第 96 回日本結核・非結核性抗酸菌症学総会・学術集会:2021 年 6 月 18 日、web・誌上開催

要旨: 未知の感染源や感染経路をとらえるための地域内結核分子疫学であるが、VNTR 遺伝型別の一致によるクラスターは感染伝播を過大評価している可能性がある。本研究では、VNTR クラスターの信頼性に及ぼす要因を全ゲノムベースの一塩基変異(SNV)解析により検討した。2016 年分離株と 2015-2017 年に VNTR クラスターを形成した株の計 281 株を全ゲノム SNV 解析し、SNV 5 か所以内で形成されるクラスター(ゲノムクラスター)と VNTR クラスターの一致率をもとめた。VNTR クラスターを形成した 110 株のうちゲノム解析で最近の感染伝播が支持されたのは 52 株(47.2%)であった。VNTR クラスターとゲノムクラスターの一致率は北京型株 modern type で 81%、40 歳以下の患者では 70%であった。一方、80 歳以上では 28%であった。患者年齢と菌遺伝系統により VNTR クラスターの感染伝播予測精度は異なるだろう。

SARS-CoV-2 検出検査の RT-PCR 法と抗原定量法・LAMP 法の比較

谷本佳彦、森愛、宮本園子、伊藤絵里香、有川健太郎、岩本朋忠

令和 3 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部 ウイルス部会研究会:2021 年 10 月 8 日、Web 開催

要旨: 本発表では、新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の検出における RT-PCR 法の代替法として化学発光酵素免疫測定法(CLEIA)および LAMP 法との比較を行った。抗原定量法と RT-PCR 法の比較では、抗原定量法で算出された抗原量と RNA コピー数の間に高い相関が認められた。検出感度は、鼻咽頭ぬぐい液検体で 23.4 コピー、唾液検体で 42.8 コピーとなった。RT-PCR 陰性検体については、鼻咽頭ぬぐい液の 1 検体を除いて全て陰性値となった。LAMP 法と RT-PCR 法の比較では、LAMP 法で算出される Tt 値と RNA コピー数が逆相関した。RNA 抽出サンプルは LAMP 法でも低コピーまで検出が可能であったが、粗抽出サンプルでは、約 250 コピーを下回ると検出できない傾向にあった。また、RT-PCR 陰性検体は LAMP 法も全て陰性であり、今回の検討では偽陽性は出なかった。以上から、代替法は簡便な検出方法として有用であることが分かった。

神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況

野本竜平

神戸市健康科学研究所・感染症部

第 80 回日本公衆衛生学会総会 地方衛生研究所研修フォーラム:2021 年 12 月 21-23 日、京王プラザホテル(東京)

要旨: 新型コロナウイルスが 2019 年 12 月に中国・武漢市で初めて確認されてから今日に至るまで、世界中の検査・研究機関でその全長配列のゲノム解析が実施されており、GISAID には 150 万を超えるゲノム配列が登録・公開されている。神戸市では SARS-CoV-2 のゲノムサーベイランスを実施しており、市内で流行している遺伝系統の把握や、保健所と連携して市内で発生したクラスターの感染伝播様式の解明などに活用してきた。その中で、これまでの感染拡大の波に併せて流行する遺伝系統が変遷することが確認された。特に 2021 年 2 月以降のアルファ株の流行(第 4 波)から 6 月以降のデルタ株の流行(第 5 波)においてはその傾向が顕著であった。本講演では当研究所の SARS-CoV-2 ゲノムサーベイランスに関するこれまでの取り組みと、保健所との連携、クラスター対策におけるゲノム情報の活用事例などについて紹介する。

神戸市における SARS-CoV-2 変異株の検査体制と検出状況

野本竜平、中西典子、岩本朋忠

神戸市健康科学研究所

第 41 回全国衛生微生物技術協議会:2021 年 6 月 9 日-10 日、Web 開催

要旨: 神戸市では感染研が実施する SARS-CoV-2 ゲノムサーベイランスに協力し、2020 年 3 月ごろより感染研への陽性検体の送付を開始した。更に同年 10 月下旬からは当研究所でのゲノム解析も可能となり、市内で流行している遺伝系統の把握や、保健所と連携して市内で発生したクラスターの感染伝播様式の解明などに活用してきた。また、市内の医療機関と一部の民間検査センターから陽性検体の回収も実施しており、市内で発生届が提出された検体のうち 5 割程度が当研究所へ集約されるシステムを構築している。神戸市では 8 月末までに市内感染者の 30%以上に当たる 7000 件以上のゲノムを確定した。そのサーベイランスの中で、これまでの感染拡大の波に併せて流行する遺伝系統が変遷することが確認された。特に本年 2 月以降のアルファ株の流行(第 4 波)から 6 月以降のデルタ株の流行(第 5 波)においてはその傾向が顕著であった。本講演では当研究所の SARS-CoV-2 ゲノムサーベイランスに関するこれまでの取り組みと、保健所との連携、クラスター対策におけるゲノム情報の活用事例などについて紹介する。

COVID19 のクラスター事例における遺伝子解析結果の応用

野本竜平

神戸市健康科学研究所

令和 3 年度地研協議会近畿支部疫学情報部会研究会:2022 年 2 月 4 日、Web 開催

要旨:神戸市が実施してきた新型コロナウイルスのゲノムサーベイランスの実施体制と、これまでの遺伝系統の変遷について概説する。ゲノム情報の活用事例として、アルファ株の流行(第 4 波)とルタ株の流行(第 5 波)における事例を紹介する。アルファ株の流行の初期には保健所の徹底的な疫学調査と囲い込みにより疫学リンク不明の陽性者が存在せず、またそれはゲノム情報からも裏付けられた。しかし、囲い込みが困難な感染集団の出現により一気に市中感染が広がった。一方でデルタ株では全国的に流行している遺伝系統が流入することにより市中感染が広がる様子が確認できた。その他、保健所との連携、クラスター対策におけるゲノム情報の活用事例などについて紹介する。

K-mer 関連解析を用いた *emm89* 型化膿レンサ球菌による侵襲性感染症の発症機構の解明

大野誠之^{1,2}、(略 12 名)、中西典子¹¹、(略 3 名)

¹阪大・院歯・口腔細菌、²阪大・院歯・クラウンブリッジ、¹¹神戸市健科研・感染症部

第 44 回日本分子生物学会:2021 年 12 月 1 日-3 日 MBSJ2021 online

要旨:化膿レンサ球菌 *Streptococcus pyogenes* は咽頭炎や膿痂疹などの非侵襲性感染症の原因菌である一方で、レンサ球菌性毒素性ショック症候群や壊死性筋膜炎などの致死的な侵襲性感染症を引き起こす。近年 *emm89* 型化膿レンサ球菌による侵襲性感染症が世界的に増加している。本研究では、侵襲性感染症の病態の解明を目的として、*emm89* 型化膿レンサ球菌の全ゲノム情報から侵襲性感染症の発症に関与する細菌側の因子を探索した。日本及び海外で分離された *emm89* 型侵襲性由来株 374 株および非侵襲性由来株 142 株、計 516 株の全ゲノム配列から、一塩基から複数塩基にわたる変異を特定するため k-mer の抽出を行い、ゲノムワイド関連解析にて病態と関連する細菌因子の探索を行った。ゲノムワイド関連解析の結果、ゲノム中の 37 箇所が存在する変異が侵襲性感染症と有意に関連することが示唆され、そのうち少なくとも一部がタンパク質の構造変化を伴うことで病原性に影響する可能性が示された。

洗浄後浴室環境における非結核性抗酸菌の経時調査

有川健太郎¹、前田親男²、御厨真幸²、原田一宏²、越海義明²、岩本朋忠¹

1 神戸市健科研・感染症部、2(株)ダスキン・開発研究所 日本防菌防黴学会 第 48 回年次大会:2021 年 9 月 8-9 日、Web 開催

要旨:浴室全体洗浄による NTM の除去効果や、洗浄後の NTM 検出菌数を経時的に調査した。健康者 4 家庭浴室からシャワー水 2L、給湯口のバイオフィルムを採取した。サンプリングは全体洗浄前、洗浄直後、洗浄後 1 か月、2 か月、3 か月に行った。浴室の全体洗浄は(株)ダスキンが通常行っている浴室洗浄法を実施した。NTM の検出は培養法で行い、分離されたコロニーの菌種同定は 16S rRNA にて行った。1 家庭で MAV を含む多数の NTM が検出された。この家庭では、洗浄直前ではシャワー水から 58 CFU、給湯口から 8.1×10^3 CFU の NTM が検出された。洗浄直後は各々の菌数が 9 CFU、15 CFU、と大きく減少していたが、洗浄後 2 か月で洗浄前の基準に戻っていた。浴室の全体洗浄により NTM 菌数の大幅な減少が期待できるが、低い状態を保つためには、日ごろからの十分な換気や、浴槽部以外の定期的な清掃など、増やさない環境づくりが重要である。

VNTR でダブルピークが検出された結核菌株の全ゲノム比較解析

有川健太郎¹、藤山理世²、村瀬良朗³、御手洗聡³、岩本朋忠¹

1 神戸市健科研・感染症部、2 神戸市保健所、3 結核研究所 第 96 回日本結核 非結核性抗酸菌症学会総会・学術講演会:2021 年 6 月 18 日、Web 開催

結核菌の VNTR 解析でダブルピークを検出する事がある。生体内での微小進化によるサブクローン株だと推測されるが、それらの異同性は不明である。本研究では 1 ないし 2 領域での VNTR ダブルピーク株を純化したシングルコロニー間の異同を全ゲノム比較解析により調べた。供試菌株として神戸市結核分子疫学調査の VNTR 解析でダブルピークを示した 20 症例由来結核菌株を用いた。各症例株(元株)を平板で培養し、元株由来の 8 シングルコロニーを鈎菌した。分離株の VNTR 型から元株でダブルピークを示した領域でシングルピークが確認された 2 株を抽出し、全ゲノム比較解析を行った。20 症例のうち、13 症例で 2 種類のシングルピーク株が得られた。各株間の SNV を比較したところ、SNV が 5 以下は 8 例、6-12SNV は 2 例、13SNV 以上が 3 例であった。ダブルピークの多くは微小進化サブクローンによると考えられたが、13SNV 以上離れたサブクローンも存在し、さらなる検証を深める。

地下式受水槽のノロウイルス汚染を原因とする食中毒事例と近年の神戸市で発生した下痢症ウイルス事例について

有川健太郎、野本竜平、花房剛志、米澤武志、濱夏樹、中西典子、田中忍、岩本朋忠

神戸市健科研・感染症部

ウイルス性下痢症研究会第 32 回学術集会:2021 年 11 月 15 日、Web 開催

平成 31 年 2 月、地下埋設式受水槽を有する雑居ビルにテナントとして入居する飲食店においてノロウイルスによる食中毒が発生し、保健所の疫学調査により飲食店の給水栓水が原因である可能性が疑われた。その後の調査で、患者便と飲食店の給水栓水及び受水槽に隣接する湧水槽よりノロウイルスが検出されたため、ビルの地下式受水槽がノロウイルスに汚染されたことが本食中毒事例の原因であると判明した。雑居ビルに置ける水道事故により、ノロウイルス食中毒が発生した珍しい事例であるため、その概要について報告をおこなった。また、近年神戸市で発生した下痢症ウイルスを原因とした食中毒事例として、①同一施設におけるサボウイルス事例と、②患者・従業員・食品から NoV が検出されたが、食中毒と断定しなかった事例を合わせて紹介した。

市内温泉施設における緊急事態宣言後のレジオネラ属菌の検出状況と遺伝子型の推移

小松頌子、中西典子、岩本朋忠

神戸市健康科学研究所・感染症部

令和 3 年度地研近畿支部細菌部会研究会:2021 年 11 月 19 日、Web 開催

要旨:令和 2 年度は新型コロナウイルス感染症の流行により、4 月に初めての緊急事態宣言が発出され、温泉入浴施設に対して使用制限等の要請がなされた。本研究では、緊急事態宣言後の影響を調べるために、継続的に行政検査を実施している市内温泉地区を対象として、レジオネラ属菌の検出状況と遺伝子型の推移を調査した。宣言解除後に実施した R2 年度の行政検査ではレジオネラ属菌検出率が高まることが危惧されたが、実際には検出率は上昇していなかった。一方で、検出菌数の多い施設の割合が高いことが明らかとなった。検出菌数の多かった 5 施設において、過去 9 年間に分離された *L. pneumophila* の遺伝子型を調査した結果、R2 年度に分離された菌株のほぼ全てが過去に分離されたものと同じの遺伝子型であったことから、休業の影響を受け、施設内に定着していた菌株が増殖したことが菌数増加の一因と考えられた。また、R2 年度に新たな遺伝子型の *L. pneumophila* が分離された 1 施設については、外部からの菌株が混入したことも検出菌数増加の一因と考えられた。

<第 19 回神戸市生活衛生研究発表会>

誌面発表

アストロウイルス検出法の検討と遺伝子保有調査

花房剛志、谷本佳彦、有川健太郎、森愛、岩本朋忠

浴槽水における *Legionella pneumophila* の検出状況について

小松頌子、中西典子、田中忍、岩本朋忠

LC-MS による畜産物中のアミノグリコシド系抗生物質分析法の検討

山路章、吉野共広、向井健悟

第58回全国衛生化学技術協議会年会:2021年11月25-26日、Web・紙上開催(名古屋)

要旨:当所では畜産物中に残留する抗生物質について、松本らの希釈法を基にした方法を用い、β-ラクタム系、テトラサイクリン系、マクロライド系等の抗生物質の検査を実施している。アミノグリコシド系抗生物質については極性が高く逆相系の分析法が適用できないため、検査を実施できない状態にある。

近年、高い選択性を追求した様々な分子鑄型ポリマーを用いた固相抽出カラム(以下「MIPS」という。)が開発され、アミノグリコシド系抗生物質を対象とする MIPS が市販されていることから、畜産物中に残留するアミノグリコシド系抗生物質 7 項目について MIPS を使用した一斉分析法を検討した。

ゲンタマイシン、ジヒドロストレプトマイシン、ストレプトマイシン及びトブラマイシンの回収率は概ね 50~70%の範囲であったが、アブラマイシン、カナマイシン及びネオマイシンは 30%を下回り、試験操作の見直しが必要な結果であった。

水環境中 2-ベンジリデンオクタナールの分析法開発と実態調査

吉野共広、八木正博、向井健悟

第24回日本水環境学会シンポジウム「環境汚染物質分析へのMS技術の応用」(MS技術研究委員会):2021年9月14日、Web開催(東京)

要旨:2-ベンジリデンオクタナール(HCA)は広範に使用される香料であり、近年のモニタリングデータがなかったため、分析法を検討し、神戸市内の水環境中の実態調査を実施した。なお、HCAは、ボディソープなどの身近な日用品に香料として使用されているため、併せて日用品についての実態調査も実施した。

水環境中のHCAの定量分析法を開発し、pptレベルでHCAの分析が可能となった。河川水、海水、下水処理場流入及び放流水試料を分析したところ、下水流入水を除き、0.0053 µg/L未満であった。また、この分析での注意点としては、①HCAが器具に疎水性吸着をするため、採水時にメタノール入り容器に採水する必要があること、②身近な日用品に使われているので手指、髪、衣服等からの汚染に注意することなどが挙げられる。

水環境中 2-ベンジリデンオクタナールの LC-MS/MS による分析法開発と実態調査及び LC-QTOF/MS によるスクリーニング分析

吉野共広、八木正博、向井健悟

第48回環境保全・公害防止研究発表会:2021年11月18-19日、Web開催(秋田)

要旨:2-ベンジリデンオクタナール(別名、α-ヘキシルシンナムアルデヒド(HCA))は広範に使用される香料であり、近年のモニタリングデータがなかったため、分析法を検討した。本研究ではHCAと同時分析可能な物質の探索を目的とし、定量用に調製したHCAの試験溶液をそのまま使用して、Sciex製X500R(LC-QTOF/MS)のIDA及びSWATHモードで、分析を行った。解析は、NIST2017のMSMSデータベースを含む約23000種の化学物質と照合した。ライブラリーヒットスコア50、面積10000cpsを下限值として定性解析した。

結果、HCAと同時分析可能な物質は、界面活性剤、化粧品原料、脂質低下薬、忌避剤、食品添加物、医薬・農薬・染料・ゴム薬品中間体などの疎水性の高い物質が大半を占める結果となった。

参 考

沿 革

明治 45 年 5 月 (1912 年)	市立東山病院内に市立衛生試験所設置	昭和 45 年 4 月 (1970 年)	化学部を食品化学部と公害検査部に分離
昭和 10 年 9 月 (1935 年)	葺合区野崎通 8 丁目(万国病院隔離病舎跡)に移転	昭和 47 年 4 月 (1972 年)	病院管理センターから分離し、事務係を設置
昭和 11 年 (1936 年)	増築	昭和 48 年 4 月 (1973 年)	神戸市環境保健研究所に改称
昭和 14 年 4 月 (1939 年)	市立都市生活科学研究所に改称(庶務部、化学部、細菌部、栄養部で 30 名)	昭和 56 年 3 月 (1981 年)	現在地(中央区港島中町 4 丁目)に新築移転(建設費 19 億 7 千万円 地上 7 階 延 5,500 m ²)
昭和 17 年 4 月 (1942 年)	市立衛生試験所は、都市生活科学研究所(葺合区野崎通)と細菌検査室(東山病院内)の 2 箇所に分離	平成 7 年 1 月 (1995 年)	阪神・淡路大震災による被災
昭和 20 年 3 月 (1945 年)	都市生活科学研究所は空襲にて焼失、戦後、市立東山病院内に細菌検査室として業務の一部を復活	平成 7 年 12 月 (1995 年)	阪神・淡路大震災による被害部分の改修
昭和 23 年 9 月 (1948 年)	神戸市衛生局防疫課細菌検査所となる	平成 8 年 4 月 (1996 年)	局統合のため、衛生局環境保健研究所から保健福祉局健康部環境保健研究所となる
昭和 24 年 4 月 (1949 年)	厚生省地方衛生研究所設置要綱に基づき神戸市立衛生研究所に改称し、市防疫課に所属	平成 9 年 2 月 (1997 年)	排水処理施設建替
昭和 28 年 4 月 (1953 年)	機構改革により部制が廃止	平成 9 年 3 月 (1997 年)	地盤杭亀裂による建物傾斜復旧工事開始
昭和 31 年 4 月 (1956 年)	神戸市衛生研究所に改称(1 課 4 部制:庶務課、細菌検査部、疫学部、化学試験部、虫疫部)	平成 10 年 3 月 (1998 年)	復旧工事完了
昭和 33 年 10 月 (1958 年)	市立中央市民病院内(生田区加納町 1 丁目)に新築移転(建設費 3,300 万円地下 1 階地上 4 階 延約 1,500m ²)	平成 10 年 4 月 (1998 年)	病理部を廃止し、企画情報部を設置 疫学部を寄生体部に、公害検査部を環境化学部に名称変更
昭和 36 年 5 月 (1961 年)	神戸市医療センター設置により市立医療センター衛生研究所に改称	平成 15 年 4 月 (2003 年)	細菌部と寄生体部を統合し、微生物部に名称変更 庶務部を事務係に名称変更
昭和 37 年 4 月 (1962 年)	虫疫部を廃止し、病理部を設置	平成 22 年 12 月 (2010 年)	中央市民病院移転に伴う熱源等改修工事開始
昭和 42 年 1 月 (1967 年)	病院管理センター発足により病院管理センター衛生研究所に改称	平成 23 年 6 月 (2011 年)	熱源、電気、ガス、電話等改修工事終了

平成 24 年 5 月 (2012 年)	創立 100 周年	令和 3 年 4 月 (2021 年)	機械設備改修工事(4 階他一部終了)
平成 24 年 11 月 (2012 年)	環境保健研究所保全計画を策定	令和 3 年 4 月 (2021 年)	事務係を事務部門に名称変更
平成 25 年 4 月 (2013 年)	微生物部を感染症部に改称 食品化学部と環境化学部を統合し、 生活科学部とする 企画情報部を廃止し、その業務を事 務係へ移行させる		
平成 26 年 2 月 (2014 年)	エレベーター設備の更新完了		
平成 26 年 3 月 (2014 年)	受変電設備の更新完了		
平成 27 年 3 月 (2015 年)	みなとじま寮売却に伴い、みなとじま 寮敷地内埋設の給排水設備撤去と付 替工事完了		
平成 27 年 8 月 (2015 年)	BSL-3 (P3) 室更新等 6 階実験室の改 修完了		
平成 27 年 9 月 (2015 年)	看護短大売却に伴い、看護短大敷地 内埋設の雨水管の移設工事完了		
平成 28 年 8 月 (2016 年)	耐震補強・外壁改修完了		
平成 29 年 3 月 (2017 年)	ドラフト I 期改修、貯湯槽 1 基更新		
平成 30 年 3 月 (2018 年)	ドラフト改修完了		
平成 31 年 3 月 (2019 年)	中和槽更新、重金属処理装置撤去		
令和 2 年 8 月 (2020 年)	機械設備改修工事(5 階他一部終了)		
令和 3 年 2 月 (2021 年)	火災報知設備更新工事完了		
令和 3 年 4 月 (2021 年)	神戸市環境保健研究所から神戸市健 康科学研究所に名称変更		

所報編集委員会

有川 健太郎・大西 優伽・小松 頌子(感染症部)

佐藤 徳子(生活科学部)

都倉 亮道・辻 敦子(事務)

神戸市健康科学研究所報

第50巻(非売品)

令和4年11月1日発行

編集発行

神戸市健康科学研究所

〒650-0046

神戸市中央区港島中町4丁目6番5号

電話 078-302-6197

Email kanpoken-hp@office.city.kobe.lg.jp

HP <http://www.city.kobe.lg.jp/life/health/lab/kih/index.html>

印刷

株式会社ルネック

〒652-0047

神戸市兵庫区下沢通4丁目7-30

電話 078-576-8866

FAX 078-576-3016
