

平成29年度

千葉市環境保健研究所年報

第25号

Annual Report
of
Chiba City
Institute of Health and Environment

No. 25

2018

千葉市環境保健研究所

はじめに

千葉市環境保健研究所は、平成5年3月、試験検査と調査研究機能を兼ね備えた科学的・技術的中核機関として設置し、保健衛生及び環境保全行政を推進するために必要な科学的根拠となる試験検査結果を関係機関に提供して参りました。

研究所の使命は、市民の皆様が快適な環境のもとで健康な生活を送ることができるよう、広範多岐にわたる行政施策の効果的な推進に寄与し、公衆衛生の更なる向上に貢献することにあります。

そのため、日々の業務は行政依頼の試験検査業務が多くの割合を占めており、精度管理に裏付けされた正確な結果を迅速に提供することを常に心掛け、実践して参りました。

一方、社会状況及び環境の変化、検査・分析技術の進歩、新興・再興感染症対策等、求められる試験検査は年々多様化し、変化しています。これら新たな事案や喫緊の課題に的確に対処するためには、専門知識と技術の蓄積、解析能力と解決策を導く能力の向上に繋がる基礎的な調査研究の充実が重要、不可欠なことと考え、限られた人的・財政的状况の中、人材の育成と機器の整備に取り組んでいるところです。

そして、この継続的な取り組みの中から意識改革や能力開発が図られ、技術を継承、発展させることにより、地方衛生・環境研究所としての研究所の存在感が高まるものと確信し、職員一同、業務に励んでおります。

また、平成30年度に保健所より感染症情報センター業務の移管を受けたことから、市民の皆様をはじめとする関係者に向けた情報の発信に、一層努めることとして取り組んでおります。

皆様方にはご理解とご支援をいただきますとともに、引き続きご指導とご鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

ここに、平成29年度の事業実績及び調査研究を取りまとめた年報を発行いたしました。ご高覧頂き、ご意見ご批判などお聞かせいただければ幸いに存じます。

平成30年12月

千葉市環境保健研究所
所長 山本一重

目 次

事業概要

I 環境保健研究所の概要

1	沿革	3
2	施設	3
3	行政組織図と環境保健研究所の各課事務分掌 (平成30年度)	4
4	検査業務の流れと根拠法令	5
5	職員構成(平成30・29・28年度)	7
6	予算・決算(平成30・29・28年度)	8
7	主要備品	9
8	購読雑誌	10
9	会議・学会・研修会等への参加	11
10	普及啓発等	14

II 各課等の事業概要

1	健康科学課	17
2	環境科学課	34

調査研究

I 調査報告・資料

1	Real-time PCR法によるヒトボカウイルス遺伝子の検出	43
2	千葉市の水域における有機フッ素化合物調査(第10報)	48
3	マイナーな血清群(O113、O156及びO55)の腸管出血性大腸菌が分離 同定された事例	51
4	千葉市におけるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況	55

5	麻しん疑い症例からの発疹性ウイルスの検出状況	58
6	Py-Tag 誘導体化試薬を用いた LC-MS/MS によるヒスタミン測定方法の 検討	62
7	農産物の残留農薬検査結果について (2015~2017 年度)	66
8	LC-MS/MS を用いた一斉分析法によるフルベンダゾール代謝体 R35475 の 妥当性評価について	72
9	千葉市内流通食品の放射能検査について (第 6 報)	74
10	東京湾沿岸における揮発性有機化合物 (VOCs) 調査	76
11	千葉市における湿性沈着成分の経年変化について	78

II 学会・学術誌発表等

1	クドア属粘液胞子虫の遺伝子配列による種同定について (<i>Kudoa</i> <i>hexapunctata</i> が原因と疑われた有症事例について)	83
2	マイナーな血清群の腸管出血性大腸菌が分離同定された事例	83
3	千葉市におけるヒトライノウイルス検出状況	84
4	清涼飲料水に関する試験法の改良と妥当性確認について	84
5	1, 4-ジオキサン分析方法に関する検討	85
6	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> :CRE) による院内感染事例について	85

その他

	千葉市環境保健研究所条例・同施行規則	89
--	--------------------	----

事業概要

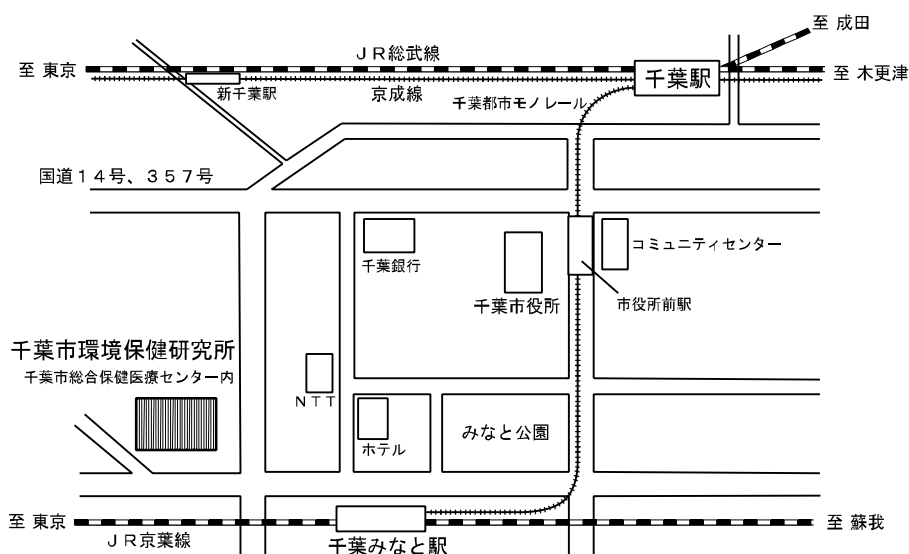
I 環境保健研究所の概要

1 沿革

昭和49年4月1日	千葉市環境化学センターを設置し、環境関係の試験検査を開始。
昭和63年4月1日	保健所法政令市移行に伴い、千葉市保健所検査課で公衆衛生の試験検査を開始。
平成4年4月1日	地方自治法の政令指定都市移行に伴い、保健所検査課理化学部門、保健所食品衛生課食肉部門および環境化学センターを統合して、衛生検査センターを設置。
平成5年3月8日	保健所検査課と衛生検査センターを改組し、新たに調査研究機能を備えた環境保健研究所を千葉市総合保健医療センター内に開設。
平成12年4月1日	千葉市結核・感染症発生動向調査事業実施要綱の施行に伴い、医科学課内に千葉市感染症情報センターを開設。
平成16年4月1日	機構改革に伴い、管理課を医科学課に統合。
平成23年4月1日	機構改革に伴い、生活科学課を医科学課に統合、課名を健康科学課に変更。 感染症情報センターを保健所へ移管。
平成30年4月1日	感染症情報センターを保健所から環境保健研究所へ移管。

2 施設

所在地	千葉市美浜区幸町1丁目3番9号（千葉市総合保健医療センター内）
敷地面積	11,831m ² （千葉市総合保健医療センター全体）
建物	鉄骨・鉄筋コンクリート 地上5階・地下1階 延床面積 15,200m ² （環境保健研究所専用延床面積 4,183m ² ）
建築期間	平成2年6月～平成5年3月
開所年月日	平成5年3月8日



JR 京葉線千葉みなと駅より徒歩5分 千葉都市モノレール千葉みなと駅より徒歩5分

3 行政組織図と環境保健研究所の各課事務分掌

(平成30年4月1日現在)

保健福祉局

健康部

健康企画課

健康支援課

健康保険課

生活衛生課

保健所

総務課

感染症対策課

環境衛生課

食品安全課

環境保健研究所

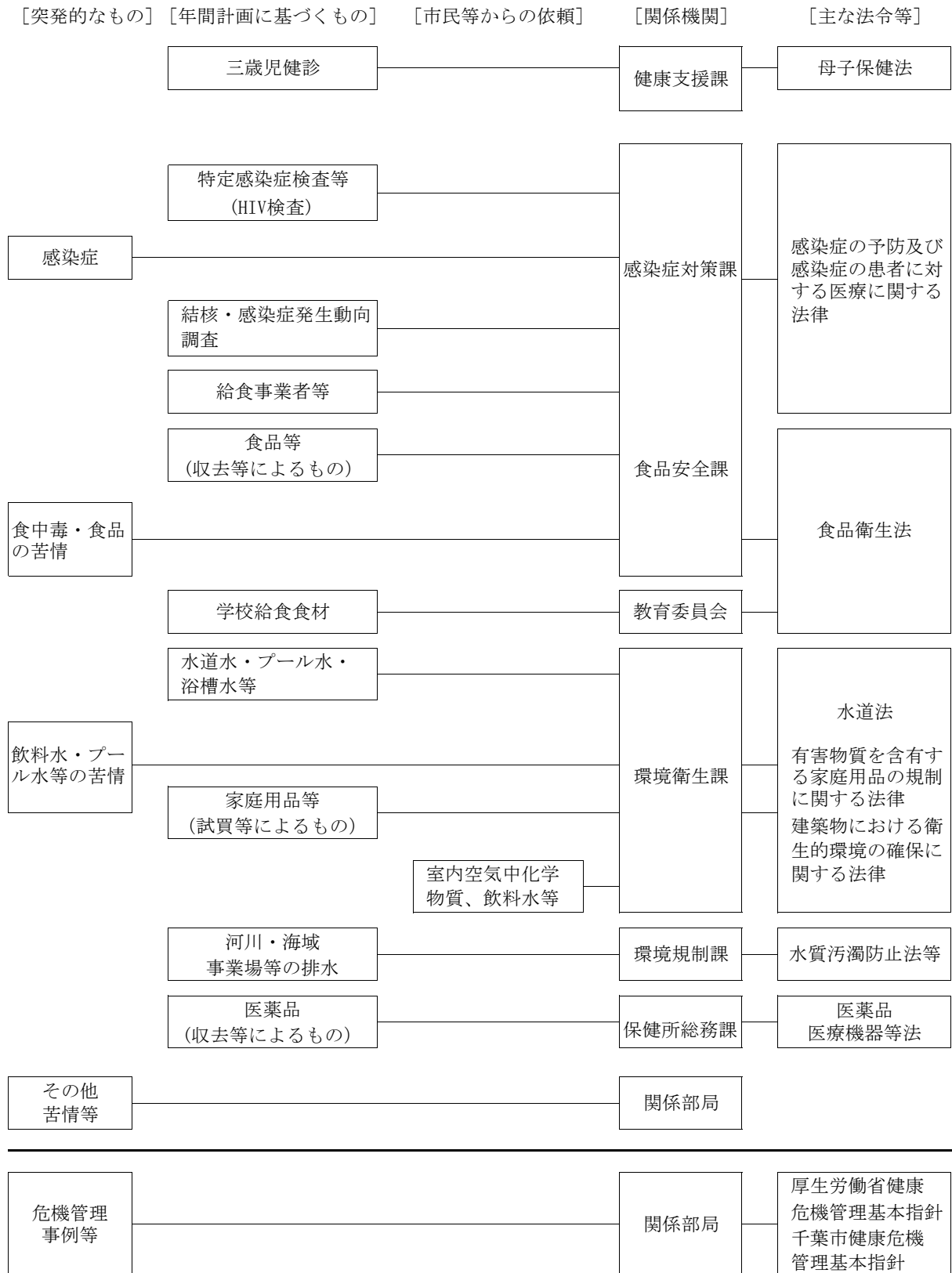
健康科学課

- ・所の予算及び経理に関すること
- ・所に係る使用料及び手数料の徴収に関すること
- ・所内の連絡及び調整に関すること
- ・所内他の課の所管に属さない事項に関すること
- ・感染症情報センターに関すること
- ・健康危機に係る検査体制に関すること
- ・臨床病理学的検査及び調査研究に関すること
- ・真菌の検査及び調査研究に関すること
- ・細菌学的検査及び調査研究に関すること
- ・ウイルス及びリケッチアの検査及び調査研究に関すること
- ・寄生虫学的検査及び調査研究に関すること
- ・食鳥処理の事業の規制及び食鳥検査に関する法律に規定する食鳥検査のうち、精密な検査を要する微生物学的、病理学的検査及び理化学的検査に関すること
- ・と畜場に規定する獣畜の検査のうち、精密な検査を要する微生物学的、病理学的検査及び理化学的検査に関すること
- ・感染症等の疫学的調査研究に関すること
- ・食品中の添加物の検査及び調査研究に関すること
- ・食品の栄養分析及び調査研究に関すること
- ・食品中に残留する農薬、動物用医薬品等の検査及び調査研究に関すること
- ・組換えDNA技術応用食品の検査及び調査研究に関すること
- ・食品衛生に関するその他の理化学的検査及び調査研究に関すること
- ・医薬品等の検査及び調査研究に関すること
- ・家庭用品の検査及び調査研究に関すること
- ・飲料水の検査及び調査研究に関すること
- ・公衆浴場水の検査及び調査研究に関すること
- ・プール水の検査及び調査研究に関すること
- ・室内空気中の化学物質の検査及び調査研究に関すること
- ・各種成績表の発行に関すること
- ・試験検査の統計に関すること

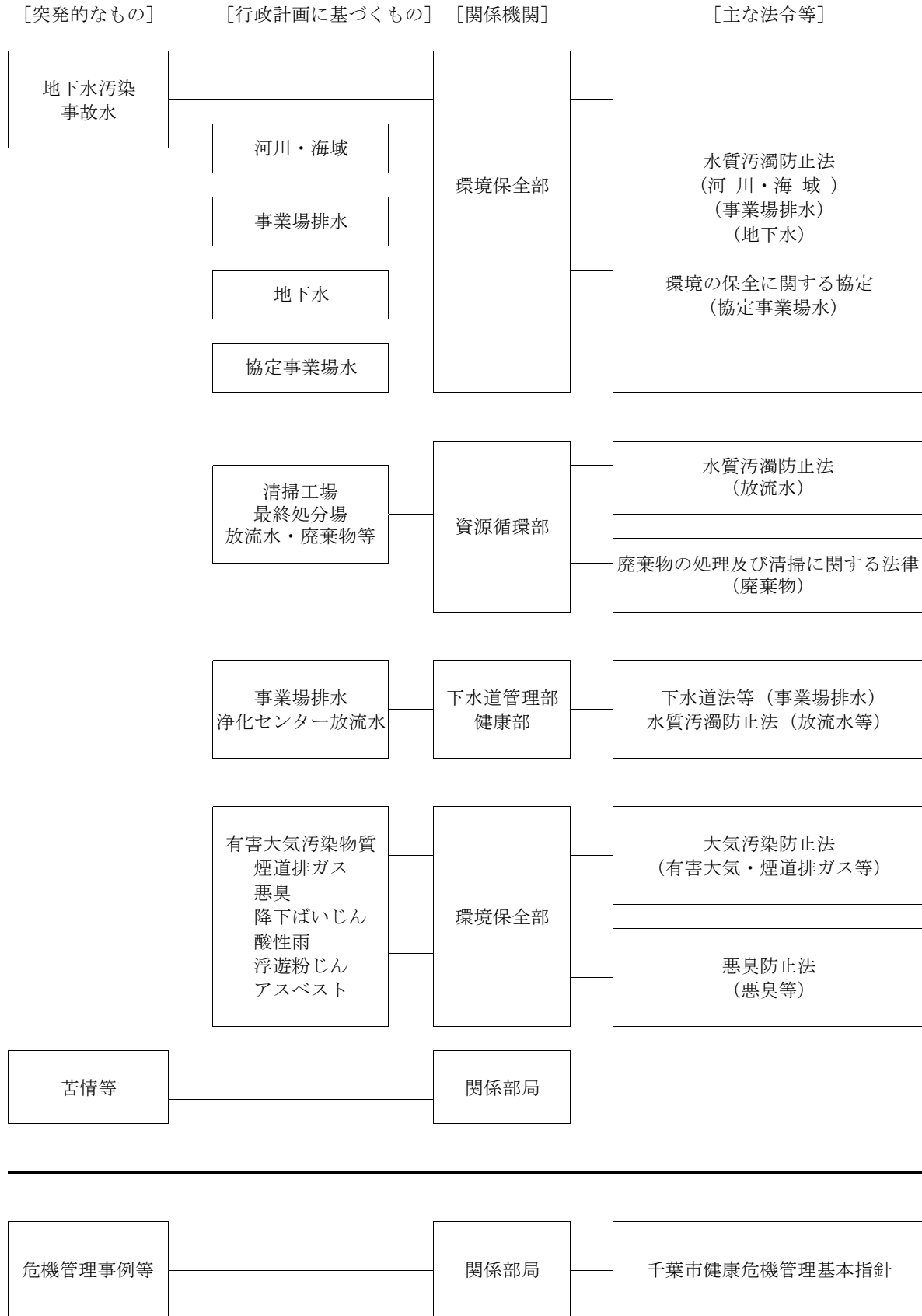
環境科学課

- ・ばい煙、粉じん等の発生源に係る測定及び調査研究に関すること
- ・環境大気に係る測定及び調査研究に関すること
- ・悪臭成分の測定及び調査研究に関すること
- ・騒音の測定及び調査研究に関すること
- ・河川、海域、湖沼等の公共用水域の水質及び底質の検査並びに調査研究に関すること
- ・公共用水域に排出する工場排水の水質及び底質の検査並びに調査研究に関すること
- ・土壌汚染の検査及び調査研究に関すること
- ・産業廃棄物の検査及び調査研究に関すること

4-1 検査業務の流れと根拠法令（健康科学課）



4-2 検査業務の流れと根拠法令（環境科学課）



5 職員構成（平成30年度・29年度・28年度）

		事務	獣医師	薬剤師	臨床 検査技師	技術職 (化学)	技術職 (その他)	計
平成 30 年度	所長		1					1
	健康科学課	1	5	11	4	1		22
	環境科学課				1	11		12
	計	1	6	11	5	12	0	35
平成 29 年度	所長		1					1
	健康科学課	1	5	9	4	3		22
	環境科学課				1	11		12
	計	1	6	9	5	14	0	35
平成 28 年度	所長		1					1
	健康科学課	2	5	8	4	3		22
	環境科学課				1	12		13
	計	2	6	8	5	15	0	36

平成30年度		平成29年度		平成28年度	
所	所長（獣医師）	所	所長（獣医師）	所	所長（獣医師）
健康科学課	課長（獣医師） 補佐（事務）1 主査（薬剤師）4 主任獣医師 3 主任薬剤師 4 主任臨床検査技師 4 主任技師（化学）1 獣医師 1 薬剤師 3	健康科学課	課長（獣医師） 補佐（事務）1 主査（薬剤師）4 主任獣医師 3 主任薬剤師 4 主任臨床検査技師 3 主任技師（化学）2 獣医師 1 薬剤師 1 臨床検査技師 1 技師（化学）1	健康科学課	課長（薬剤師） 補佐（事務）1 主査（薬剤師）4 主任主事（事務）1 主任獣医師 3 主任薬剤師 3 主任臨床検査技師 3 主任技師（化学）3 獣医師 2 臨床検査技師 1
環境科学課	課長（化学） 補佐（臨床検査技師）1 主査（化学）1 主任技師（化学）6 技師（化学）3	環境科学課	課長（化学） 補佐（臨床検査技師）1 主査（化学）1 主任技師（化学）5 技師（化学）4	環境科学課	課長（化学） 補佐（臨床検査技師）1 主査（化学）1 主任技師（化学）7 技師（化学）3

6 予算・決算 (平成 30 年度・29 年度・28 年度)

(1) 歳入

(単位：千円)

款	項	目	節	平成 30 年度		平成 29 年度		平成 28 年度		備考
				予算額	決算額	予算額	決算額	予算額	決算額	
使用料及び手数料	手数料	衛生 手数料	保健衛生 手数料	21,333	-	21,333	6,735	21,333	6,554	水質 検査 等収入

(2) 歳出 (予算額：当初予算額)

(単位：千円)

款	項	目	節	平成 30 年度		平成 29 年度		平成 28 年度	
				予算額	決算額	予算額	決算額	予算額	決算額
衛生費	保健衛生費	環境保健 研究所費		110,573	-	93,192	90,017	93,497	91,399
			共済費	410	-	411	28	55	170
			賃金	3,388	-	3,353	3,126	3,301	5,164
			報償費	0	-	0	0	0	0
			旅費	933	-	926	639	925	631
			需用費	46,084	-	39,965	39,360	40,862	39,280
			(消耗品費)	1,289	-	1,377	1,276	1,327	1,253
			(燃料費)	64	-	64	42	75	44
			(食糧費)	0	-	0	0	0	0
			(印刷製本費)	0	-	0	0	0	0
			(光熱費)	85	-	85	62	85	62
			(修繕費)	10,667	-	6,500	7,747	6,000	7,274
			(医薬材料費)	33,979	-	31,939	30,233	33,375	30,647
			役務費	422	-	420	78	420	71
			(通信運搬費)	53	-	51	51	51	51
			(手数料)	369	-	369	27	369	20
			委託費	26,000	-	25,800	25,496	27,221	25,127
			使用料及び賃借料	1,123	-	1,052	1,015	1,052	1,015
			備品購入費	31,850	-	20,897	19,960	19,285	19,651
			負担金補助金及び交付金	363	-	368	315	376	290
			公課費	0	-	0	0	0	0

7 主要備品（平成 29 年度）

品 名	型 式	台数(台)
ガスクロマトグラフ	島津 GC-14B 他	6
ガスクロマトグラフ質量分析計 (汎用)	日本電子 Automass Sun200、島津 GCMS-QP2010	2
(カビ臭測定)	島津 GCMS-QP2010 Purge Trap	1
(有害大気汚染物質測定)	島津 GCMS-QP2010 ultra システム	1
(GPC クリーンアップ 付農薬測定)	島津 GCMS-QP2010 Prep-Q	1
(揮発性有機化合物測定)	島津 GCMS-QP2010 ultra システム HS-20	1
	島津 GCMS-QP2010 システム TurboMatrix HS40	1
高速液体クロマトグラフ	島津 LC-10 シリーズ、日本分光 2000 シリーズ 他	7
高速液体クロマトグラフ質量分析計	ウォータース Quattromicro API システム	1
ポストカラム高速液体クロマトグラフ (カーバメート系農薬測定)	島津 LC-10 シリーズ	1
(シアン測定)	島津 LC-10 シリーズ	1
(臭素酸測定)	島津 LC-10 シリーズ	1
イオンクロマトグラフ	サーモフィッシャー Dionex Integrion シリーズ	2
高周波誘導結合プラズマ質量分析計	パーキンエルマー ジャパン DRC-e、DRC-II	2
高周波誘導結合プラズマ発光分析計	バリアンテック ロジーズ VISTA-PRO	1
赤外分光光度計	日本分光 VALOR-III 他	2
分光光度計	島津 UV-2450 他	4
透過型電子顕微鏡	日立 H-7100	1
走査型電子顕微鏡	日立 S-4100	1
アスベスト測定用位相差分散顕微鏡	Nikon Eclipse 80i	1
遺伝子増幅分析装置 (定量 PCR 装置)	ABI 7300 他	3
遺伝子配列解析装置	ABI ジェネティックアナライザー3500 他	2
PCR 遺伝子増幅装置	ABI GeneAmp PCR System 9700 他	8
有機体炭素測定装置	島津 TOC-Vcph	1
水銀分析装置	日本インスツルメンツ RA-3A・SC-20	1
超遠心分離機	日立 himac CP80α	1
高速冷却遠心機	トミー suprema21 他	3
オートクレーブ	ヒラサワ AⅡV-4E 他	8
培養器	ヒラサワ NX-1 他	10
超低温フリーザー	パナソニックヘルスケア MDF-C2156VA-PJ 他	8
超音波洗浄器	シャープ、東京超音波 他	5
マイクロウェーブ分解装置	Milestone Ethos	1
固相抽出用定流量ポンプ	日本ウォーターズ Sep-Pak Concentrator Plus	3
渦流式濃縮器	ザイマーク ターボバップ 500、LV	6
パルスフィールドゲル電気泳動装置	Bio Rad CHEF Mapper	1
放射能測定装置 (ゲルマニウム半導体検出器)	キャンベラ ジャパン GC2020-7500SL-2002CSL	1

8 購読雑誌（平成29年度）

エネルギーと環境

環境と測定技術

質量分析

食品衛生学雑誌

食品衛生研究

大気環境学会誌

日本食品微生物学会雑誌

ぶんせき

分析化学

保健衛生ニュース

水環境学会誌

臨床と微生物

9 会議・学会・研修会等への参加（平成29年度）

（1）-1 健康科学課（細菌班・ウイルス班）

開催月	会議・学会・研修会等の名称	開催地
5月	平成29年度病原体等の包装・運搬講習会	東京都
	平成29年度食品安全行政講習会	東京都
	平成29年度生活衛生等業務担当者会議	千葉県
6月	衛生微生物技術協議会総会及び第38回研究会	東京都
9月	平成29年度（第32回）地研全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会	神奈川県
	薬剤耐性菌研修 応用コース	東京都
10月	平成29年度「地域保健総合推進事業」に係る関東甲信静ブロックレファレンスセンター連絡会議	千葉県
	平成29年度動物由来感染症対策技術研修会	東京都
	平成29年度短期研修「新興再興感染症技術研修」	東京都
	厚生労働省動物実験基本指針の遵守徹底のための研修会	東京都
11月	平成29年度「地域保健総合推進事業」全国疫学情報ネットワーク構築会議	東京都
	平成29年度第7回公衆衛生情報研究部会	栃木県
1月	第31回公衆衛生情報研究協議会総会及び研究会	埼玉県
2月	平成29年度希少感染症診断技術研修会	東京都
	平成29年度地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会第30回総会・研究会	長野県
	感染症サーベイランスシステム システム研修会	東京都
	平成29年度(第56回)千葉県公衆衛生学会	千葉県
	マイクrobiペットセミナー	東京都
3月	透過型電子顕微鏡研修会	神奈川県
	腸管出血性大腸菌遺伝子型試験法研修会	東京都

(1) - 2 健康科学課 (食品化学班)

開催月	会議・学会・研修会等の名称	開催地
4月	水道水質・環境分析セミナー 2017	東京都
5月	Dionex IC技術説明会 2017	東京都
	平成29年度水質検査精度管理研修会	千葉県
	平成29年度食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会	東京都
6月	(公社) 日本食品衛生学会平成29年度総会シンポジウム	東京都
	マイコトキシン分析ワークショップ	東京都
9月	JAIMAセミナー これであなとも専門家-LC編	千葉県
10月	厚生労働省動物実験基本指針の遵守徹底のための研修会	東京都
	平成29年度関東・東海ブロック家庭用品安全対策会議	千葉県
11月	第113回日本食品衛生学会学術講演会	東京都
	FTIRテクノロジーフェア	東京都
	第54回全国衛生化学技術協議会年会	奈良県
	Chromeleon7 Basicコース	神奈川県
	LC/MSトレーニングコース	東京都
12月	第5回FDSC食品衛生精度管理セミナー	東京都
	イオンクロマトグラフ (Integrionシリーズ) Basicコース	神奈川県
1月	平成29年度地方衛生研究所全国協議会衛生理化学分野研修会	東京都
2月	平成29年度(第56回)千葉県公衆衛生学会	千葉県
	平成29年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部理化学研究部会総会・研究会	神奈川県

(2) 環境科学課

開催月	会議・学会・研修会等の名称	開催地
5月	Dionex IC技術説明会	東京都
	平成29年度悪臭測定技術講習会	千葉県
	平成29年度ばい煙測定技術講習会	千葉県
	平成29年度騒音・振動測定技術講習会	千葉県
	環境省環境調査研修所 平成29年度機器分析研修	埼玉県
6月	第26回環境化学討論会	静岡県
	平成29年度関東地方大気環境対策推進連絡会第1回微小粒子状物質調査会議	東京都
	東京国際空港環境研修	東京都
7月	平成29年度全国環境研協議会関東甲信静支部騒音振動専門部会	千葉県
9月	日本分析化学会第66年会	東京都
	第58回大気環境学会	兵庫県
10月	平成29年度関東地方大気環境対策推進連絡会第2回微小粒子状物質調査会議	東京都
	第42回空港環境対策関係担当者研修	東京都
	G C M S 操作講習会 (榊島津テクノロジー主催)	神奈川県
	平成29年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会	東京都
	平成29年度全国環境研協議会関東甲信静支部水質専門部会東京湾連絡会	神奈川県
11月	環境省環境調査研修所 平成29年度水質分析研修	埼玉県
	平成29年度全国環境研協議会関東甲信静支部大気専門部会	埼玉県
12月	平成29年度関東地方大気環境対策推進連絡会第3回微小粒子状物質調査会議	東京都
2月	全国環境研究所交流シンポジウム	茨城県
	平成29年度関東地方大気環境対策推進連絡会第4回微小粒子状物質調査会議	東京都
	平成29年度環境測定分析統一精度管理ブロック会議 (関東甲信静支部)	長野県
3月	平成29年度関東地方大気環境対策推進連絡会微小粒子状物質調査会議講演会	群馬県
	第52回日本水環境学会年会	北海道

10 普及啓発等（平成29年度）

（1）夏休み教室

開催日：平成29年7月20日

テーマ・概要	対象者	参加者数	担当課
光るイクラをつくろう！ ～食品添加物の性質～	小学校5・6年生	12名	健康科学課
びっくり電池とスライムを作ろう	小学校5・6年生	12名	環境科学課

（2）施設見学等

内容等	実施日	見学者等	参加者数	担当課
研究所の 業務説明と施設見学 「千葉市インターシップ事業 （保健所）への協力」	平成29年7月24日	大学生	1名	健康科学課
	7月31日	大学生	3名	健康科学課
	8月10日	大学生	2名	健康科学課
研究所の 業務説明と施設見学	8月3日	衛生研究所等への 就職希望者	1名	健康科学課
食品細菌検査の見学	12月4日	千葉衛生化学検査 センター職員	3名	健康科学課
研究所の 業務説明と施設見学	12月18日	千葉県生活協同組合 連合会会員	11名	健康科学課

（3）千葉市未来の科学者育成プログラムへの協力

テーマ・概要	主催課	対象者	参加者数	担当課
生命・医療系コース 「千葉市の環境・保健衛生 最前線」	生涯学習振興課	中学校2年生以上 高校生まで	6名	健康科学課 環境科学課

（4）千葉市インターンシップ事業

テーマ・概要	主催課	対象者	参加者数	担当課
公共用水域（河川）等の 水質検査補助	人材育成課	大学生	2名	環境科学課

事業概要

Ⅱ 各課の事業概要

1 健康科学課

健康科学課は、細菌、ウイルス、臨床（表 1-1）及び理化学検査に関する試験検査業務を実施し調査研究、並びに研究所の管理運営を行っている。

細菌検査では、食中毒、苦情食品、収去食品、飲料水、プール水、河川水、浴槽水及び結核・感染症発生動向調査事業等に係る試験検査及び調査研究を行っている。

ウイルス検査では、結核・感染症発生動向調査事業に係る検査と調査研究、並びに食中毒及び感染症の集団発生時の検査を実施している。

臨床検査では、三歳児健康診査、被爆者健康診断に係る検査の他、特定感染症検査等事業実施要綱に基づき HIV 抗体検査等を実施している。

理化学検査では、食品、家庭用品等について GLP（検査結果の信頼性を担保するための検査業務管理制度）に則した試験検査のほか、食中毒・苦情食品等の理化学検査や飲料水及びプール水等の水質検査、医薬品等検査、室内空気中の化学物質検査などを実施している。

（1）細菌検査

ア 病原細菌検査

赤痢予防対策実施要綱に基づき、給食従事者及び保健所職員の定期検便等を実施した（表 1-2）。赤痢菌、チフス菌及び腸管出血性大腸菌等の病原菌は検出されなかった。

感染症法に基づき、感染症発生時に細菌検査を実施した（表 1-3）。

イ 食中毒発生時及び苦情食品の検査

食中毒及び苦情に伴う患者便、食品、拭き取り等について原因菌及び寄生虫の検索を行った（表 1-4）。原因菌として、毒素原性大腸菌 O159、サルモネラ属菌、カンピロバクター及びビブリオ属菌が検出された。また、寄生虫検査を実施した 9 検体のうち、1 検体からクドア・セブテンプレククタータ遺伝子が検出され、虫体が搬入された 4 件については全てアニサキス・シンプレックスであった。

ウ 収去食品等の細菌検査

食品衛生法に基づく規格基準、千葉市の指導基準及び食品の汚染状況に係る細菌検査を実施した（表 1-5）。

エ 水質検査

水道法に基づく飲料水検査、千葉市遊泳用プール指導要綱に基づくプール水検査及び環境基本法等に基づく事業場排水、河川水、海水、海水浴場水の検査を実施した。また、公衆浴場法及び特定建築物維持管理指導要綱に基づき、浴槽水、冷却塔水等のレジオネラ検査を実施した。

水質細菌検査の種類及び項目数については、表 1-6 のとおりである。

（2）ウイルス検査

ア 結核・感染症発生動向調査事業に係るウイルス検査（表 1-7）

（7）麻疹ウイルス及び風疹ウイルス検査

保健所から依頼された咽頭ぬぐい液 42 検体、血液 42 検体及び尿 38 検体の計 122 検体について実施した。その結果、全ての検体で不検出であった。

（イ）デングウイルス、チクングニアウイルス及びジカウイルス検査

保健所から依頼された血液 4 検体について検査を実施した。その結果、全ての検体で不検出であった。

（ウ）その他のウイルス検査

保健所及び病原体定点から依頼された咽頭ぬぐい液、糞便及び髄液等 526 検体について検査を実施した。

イ 食中毒及び感染症の集団発生時のウイルス検査（表 1-8）

食中毒及び感染症の集団発生時の食品、糞便及び拭き取り検体について、ノロウイルス及びその他のウイルス検査を実施した。また、ウイルスが検出された一部の検体については遺伝子解析（シーケンス）を実施した。

ウ 蚊媒介感染症に関する定点モニタリング検査

保健所から依頼された蚊の虫体 15 検体（123 匹）について、デングウイルス、チクングニアウイルス及びジカウイルスの検査を実施した（表 1-1）。その結果、全ての検体で不検出であった。

（3）臨床検査

ア 三歳児健康診査

三歳児健康診査について尿検査（一次、二次）を行った。一次検査は糖、蛋白、潜血、白血球、亜硝酸塩、比重について、二次検査は糖、蛋白、潜血、白血球、亜硝酸塩に沈査を追加して行った（表 1-9）。

一次検査 6,958 件のうち、有所見（糖・蛋白・潜血が±以上、白血球・亜硝酸塩が+以上）により行った二次検査数は 646 件（8.9%）であった。

イ HIV 抗体検査

特定感染症検査等事業に係る HIV 抗体検査を行った。スクリーニング及び確認検査は合計 658 件であり、最終判定で陽性は 1 件であった（表 1-10）。

表 1-1 平成 29 年度 健康科学課（細菌・ウイルス・臨床）検査件数

総 計		57,922
細菌	病原細菌	335
	食中毒細菌	7,146
	食品細菌	1,746
	飲料水細菌	931
	プール水細菌	24
	河川水、放流水等の細菌	193
	冷却塔水、浴槽水等	41
真菌	分離培養	-
ウイルス	分離同定(含食中毒、食品及び蚊)	1,224
	HIV 抗体検査 (スクリーニング)	658
臨床	尿一般	45,624

表 1-2 平成 29 年度 腸内細菌検査実施状況

項 目	件 数
赤痢菌、チフス菌	60
腸管出血性大腸菌等	95
計	155

表 1-3 平成 29 年度 感染症発生時細菌検査実施状況

項 目	患者及び接触者等
赤痢菌	10
チフス菌	-
コレラ菌	1
腸管出血性大腸菌	111
CRE (院内感染を含む)	36
その他	22
計	180

CRE : カルバペネム耐性腸内細菌科細菌

表 1-4 平成 29 年度 食中毒発生時及び苦情食品等の細菌検査実施状況

区 分		総数	食品	糞便	吐物	ふきとり	その他
検 体 数		550	122	355	-	68	5
項 目 数		7,146	1,787	4,564	-	790	5
検 査 項 目	生菌数	-	-	-	-	-	-
	大腸菌群	-	-	-	-	-	-
	E.coli	-	-	-	-	-	-
	ビブリオ属菌	469	121	300	-	48	-
	黄色ブドウ球菌	484	121	305	-	58	-
	サルモネラ属菌	480	121	301	-	58	-
	カンピロバクター	519	121	329	-	68	1
	腸管出血性大腸菌	491	121	312	-	58	-
	病原大腸菌	485	121	306	-	58	-
	セレウス菌	479	121	300	-	58	-
	ウェルシュ菌	447	91	308	-	48	-
	エルシニア	469	121	300	-	48	-
	エロモナス	469	121	300	-	48	-
	プレジオモナス	469	121	300	-	48	-
	赤痢菌	469	121	300	-	48	-
	コレラ菌	469	121	300	-	48	-
	チフス菌	469	121	300	-	48	-
	パラチフス菌	469	121	300	-	48	-
	その他の菌	-	-	-	-	-	-
	寄生虫	9	2	3	-	-	4
検 出 状 況	毒素原性大腸菌 O159	3	-	3	-	-	-
	サルモネラ属菌	2	2	-	-	-	-
	カンピロバクター属菌	26	-	26	-	-	-
	腸炎ビブリオ	1	1	-	-	-	-
	クドア・セブテンブククタータ	1	-	1	-	-	-
	アニサキス・シンプレックス	4	-	-	-	-	4

表 1-5 平成 29 年度 収去食品等の細菌検査実施状況

項目 分類	総数	細菌検査項目																				
		細菌数	大腸菌群	E.coli MPN	E.coli	乳酸菌数	ビブリオ属菌	腸炎ビブリオ最確数	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	カンピロバクター	腸管出血性大腸菌	セレウス菌	ウエルシユ菌	リステリア	クロストリジウム属菌	恒温試験	腸球菌	VRE	緑膿菌	細菌試験	抗生物質
項目数	1,746	250	149	9	142	4	667	35	175	135	89	68	2	-	2	-	5	-	-	-	5	9
魚介類	235	19	1	9	10	-	142	35	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	9
冷凍食品 (無加熱摂取)	6	3	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
冷凍食品 (凍結前加熱)	28	14	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
冷凍食品 (凍結前未加熱)	56	28	-	-	28	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
魚介類加工品	240	17	17	-	17	-	135	-	16	12	9	17	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
肉卵類及び その加工品	375	38	5	-	30	-	96	-	54	83	43	26	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
乳製品	23	5	12	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-
アイスクリーム類	32	16	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
氷菓																						
穀類及び その加工品	345	40	10	-	31	-	168	-	39	28	28	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
野菜類・果実及び その加工品	291	35	31	-	26	-	126	-	26	12	9	25	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
菓子類	90	30	30	-	-	-	-	-	30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
清涼飲料水	5	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
牛乳	10	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
加工乳(3%未満)	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
その他の食品	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5	-	-	-	5	-

表 1-6 平成 29 年度 水質細菌検査実施状況

検査項目	件数
飲料水	
一般細菌	364
大腸菌	478
嫌気性芽胞菌	89
小計	931
プール水	
一般細菌	12
大腸菌群	12
小計	24
事業場排水	
大腸菌群数	64
河川水、海水	
大腸菌群数(最確数)	128
海水浴場水	
EHEC O157	1
小計	193
浴槽水・冷却塔水等	
レジオネラ	41
小計	41
総計	1,189

表 1-7 平成 29 年度 結核・感染症発生動向調査事業に係るウイルス検査実施状況

		咽頭ぬぐい液 (うがい液含む)	鼻汁	糞便 等	髄液	尿	血液	その他	計
検 体 数	病原体定点	31	385	32	-	-	-	12	460
	保健所	61	5	14	15	40	56	1	192
	計	92	390	46	15	40	56	13	652
検 出 状 況	インフルエンザウイルス	4	107	-	-	-	-	-	111
	コクサッキーウイルス	1	1	-	-	-	-	3	5
	エコーウイルス	-	2	-	-	-	-	-	2
	ヒトパレコウイルス	1	-	2	2	1	2	-	8
	ヒトライノウイルス	7	82	-	-	-	-	-	89
	ヒトコロナウイルス	1	13	-	-	-	-	-	14
	RS ウイルス	2	75	-	-	-	-	-	77
	ヒトメタニューモウイルス	1	51	-	-	-	-	1	53
	パラインフルエンザウイルス	2	33	-	-	-	-	1	36
	ヒトボカウイルス	-	35	-	-	-	-	-	35
	アデノウイルス	19	8	2	-	-	-	-	29
	ヒトヘルペスウイルス	4	-	1	-	-	1	-	6
	単純ヘルペスウイルス	1	1	-	-	-	-	-	2
	ムンプスウイルス	-	-	-	-	-	-	1	1
	A型肝炎ウイルス	-	-	3	-	-	-	-	3
	ノロウイルス	-	-	11	-	-	-	-	11
ロタウイルス	-	-	11	-	-	-	-	11	
アストロウイルス	-	-	4	-	-	-	-	4	

表 1-8 平成 29 年度 食中毒及び感染症の集団発生時のウイルス検査実施状況

		食品	糞便	吐物	拭き取り	その他	計
検 体 数	食中毒	69	387	-	67	-	523
	感染症	-	34	-	-	-	34
	計	69	421	-	67	-	557
項 目 別 検 体 数	ノロウイルス	69	421	-	67	-	557
	その他のウイルス (※)	8	280	-	43	-	331
	遺伝子解析	2	102	-	3	-	107
	計	79	803	-	113	-	995
検 出 状 況	ノロウイルス GI	-	12	-	-	-	12
	ノロウイルス GII	2	156	-	3	-	161
	サポウイルス	-	2	-	-	-	2
	アストロウイルス	-	2	-	-	-	2
	ロタウイルス	-	7	-	-	-	7

(※) その他のウイルス：サポウイルス、アストロウイルス、ロタウイルス及びアデノウイルス

表 1-9 平成 29 年度 臨床検査実施状況

検査項目		区 分	総 数	内 訳	
				三歳児健診	
				一次	二次
尿	糖		7,604	6,958	646
	蛋白		7,604	6,958	646
	潜血反応		7,604	6,958	646
	白血球		7,604	6,958	646
	亜硝酸塩		7,604	6,958	646
	比重		6,958	6,958	-
	沈渣		646	-	646

表 1-10 平成 29 年度 HIV 抗体検査実施状況

項目	件数	陽性数
スクリーニング検査	658	2
確認検査	2	1

(4) 理化学検査

ア 食品等検査

平成 29 年度の理化学検査総数は、食品等 922 検体、18,482 項目であった。

(7) 食品中の添加物等検査、乳及び乳製品・容器包装等の規格試験検査、重金属検査、自然毒検査

a 添加物等検査

甘味料 252 項目、着色料 1,743 項目、保存料 202 項目、酸化防止剤 108 項目、漂白・殺菌剤 13 項目、発色剤 22 項目、防ばい剤 2 項目、品質保持剤 12 項目、乳化剤 10 項目を実施した(表 1-11-1)。

b 乳及び乳製品

乳等規格検査 48 項目を実施した(表 1-11-1)。

c 容器包装等規格検査

容器包装等規格検査 43 項目(器具容器包装の重金属検査 17 項目を含む)を実施した(表 1-11-1)。

d 重金属検査

魚介類、清涼飲料水、器具容器包装などについて 71 項目(容器包装等規格検査項目に計上した器具容器包装の重金属 17 項目及び添加物規格(重金属)の 4 項目を含む)を実施した(表 1-11-1~2)。

e 自然毒検査

カビ毒、貝毒について 12 検体 12 項目を実施した(表 1-11-1、表 1-11-3)。

(イ) 農産物等の残留農薬検査

穀類及びその加工品 5 検体 810 項目、農産物(豆類、果実、野菜、種実、茶) 74 検体 12,486 項目、学校給食食材 10 検体 10 項目を実施した。

以上、全体で 178 種類の農薬について、合計 89 検体 13,306 項目の検査を実施した(表 1-11-1、表 1-11-4-1~3)。

(ロ) 畜水産物中の残留動物用医薬品の検査

乳(生乳・牛乳・加工乳・乳飲料) 11 検体 176 項目、鶏卵 9 検体 171 項目、食肉(牛肉・豚肉・鶏肉) 39 検体 803 項目(うち 2 検体 2 項目は学校給食)、魚介類(コイ・マダイ等 9 種) 18 検体 101 項目を実施した。

以上、23 種類の動物用医薬品について 77 検体 1,251 項目の検査を実施した(表 1-11-5)。

(ハ) 組換え DNA 技術応用食品の検査

トウモロコシ 5 検体 5 項目の検査を実施した(表 1-11-6)。

(ニ) 流通食品中の放射能検査

東京電力福島第一原子力発電所の事故により放出された放射性物質の汚染状況について、流通食品および給食(提供食・食材)の検査を 535 検体実施した。(表 1-11-7)。

(ホ) 苦情食品検査

保健所から依頼された苦情食品検査は 27 検体で、依頼項目は 328 項目であった(表 1-11-8~9)。

イ 家庭用品の規格検査

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき、健康被害を防止するため、ホルムアルデヒド等 8 物質について検査を行った。内訳は繊維製品 13 種 105 項目、家庭用化学製品 3 種 22 項目であり、合計 16 種 127 項目の検査を実施した(表 1-12)。

ウ 飲料水等及び遊泳用プール水の水質検査

飲料水等の水質検査は、水道法の「水質基準に関する省令」に基づき、51 基準項目(31 健康項目+20 性状項目)について実施した。また、「千葉市遊泳用プール指導要綱」に基づきプール水の検査を行なった。

平成 29 年度の全検査件数は 538 件で、このうち飲料水等の水質検査は 525 件、プール水は 13 件であった(表 1-13-1)。

自家用井戸水の検査件数 146 件中 30 件(20.5%)で不適項目があった(表 1-13-2)。

必須項目検査を実施した自家用井戸水(138 件)の検査結果を区別、項目別に集計した(表 1-13-3)。また、平成 29 年度に検査を実施した飲料水等の検査項目別理化学検査件数と不適合数を表 1-13-4 に示した。なお、プール水の検査状況は表 1-13-5 のとおりであった。

エ 室内空気化学物質の検査

建築物における衛生的環境の確保に関する法律に基づく依頼検査を 5 件 25 検体について実施した(表 1-14)。

表 1-11-1 平成 29 年度 食品理化学等検査実施状況

検査項目 検査検体の種類	総検体数	食品添加物等										乳等規格	容器包装等規格	添加物規格	清涼飲料水規格	重金属	カビ毒・貝毒	残留農薬	動物用医薬品	組換えDNA技術応用食品	放射能	その他	総検査項目数
		甘味料	着色料	保存料	酸化防止剤	漂白・殺菌剤	発色剤	防ばい剤	品質保持剤	乳化剤													
検査区分合計	922	252	1,743	202	108	13	22	2	12	10	48	43	11	84	26	12	13,306	1,251	5	1,070	262	18,482	
食品等	魚介類	48	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	3	-	101	-	50	1	177	
	魚介類加工品	41	48	279	48	6	1	7	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	22	-	412	
	肉卵類及びその加工品	70	-	168	15	-	-	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	974	-	12	-	1,184
	乳製品	25	18	12	21	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	18	-	73
	乳類加工品	3	-	-	9	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	21
	アイスクリーム類・氷菓	16	32	192	-	-	-	-	-	-	-	22	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	246
	穀類及びその加工品	23	-	132	-	-	-	-	-	-	11	-	-	-	-	-	-	810	-	4	6	11	974
	野菜類・果物及びその加工品	181	58	414	52	20	12	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3	12,496	-	-	104	-	13,161
	菓子類	46	90	510	47	70	-	-	-	-	10	-	-	-	-	-	-	-	-	1	10	2	740
	清涼飲料水	24	6	36	10	-	-	-	-	-	-	-	-	84	-	-	-	-	-	-	38	-	174
	その他の食品	385	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	770	-	770
	添加物及びその製剤	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	-	4	-	-	-	-	-	-	15
	器具容器包装	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43	-	-	-	-	-	-	-	-	-	43
	生乳	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	1	-	16	-	-	-	19
	牛乳	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	-	-	-	5	-	80	-	12	-	117
	加工乳(乳脂肪分3%未満)	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	-	6
加工乳(乳脂肪分3%以上)	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2	
その他の乳	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	20	-	20	
小計	895	252	1,743	202	108	13	22	2	12	10	48	43	11	84	26	12	13,306	1,171	5	1,070	14	18,154	
苦情品(食品等)	27	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	80	-	-	248	328	

表 1-11-2 平成29年度 重金属検査

項目名	検体名											総計	
		清涼飲料水	器具容器包装	添加物	アサリ	クルマエビ	スズキ	ヒラメ	ブリ	ホタテガイ	マダイ		ムラサキイガイ
検体数		5	5	2	1	1	1	1	2	1	1	1	21
ホウ素		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
六価クロム		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
マンガン		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
銅		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
亜鉛		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
ヒ素		5	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	7
セレン		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
カドミウム		2	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
バリウム		2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
鉛		5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
水銀		2	-	-	1	1	-	1	2	1	1	1	10
TBTO		-	-	-	1	1	1	1	2	1	1	1	9
TPT		-	-	-	-	1	-	1	2	-	1	-	5
アンチモン		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ゲルマニウム		-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
重金属（器具容器包装規格・添加物規格）		-	5	2	-	-	-	-	-	-	-	-	7
合計		28	17	4	2	3	1	3	6	2	3	2	71

表 1-11-3 平成29年度 自然毒検査

項目名	検体名							総計	
		らつかせい	アーモンド	牛乳	生乳	アサリ	ムラサキイガイ		ホタテガイ
検体数		2	1	5	1	1	1	1	12
総アフラトキシン		2	1	-	-	-	-	-	3
アフラトキシンM1		-	-	5	1	-	-	-	6
麻痺性貝毒		-	-	-	-	1	1	1	3
合計		2	1	5	1	1	1	1	12

表 1-11-4-1 平成29年度 農作物等の残留農薬検査（検体種別 収去・買上検査）

分類	検体種	検体数	項目数
穀類及びその加工品	小麦粉	5	810
豆類	らっかせい	2	300
果実	いちご	2	346
	りんご	1	173
	日本なし	1	173
野菜	アスパラガス	1	159
	かぶ	1	177
	かぼちゃ	1	177
	キャベツ	5	850
	きゅうり	4	692
	ごぼう	2	354
	こまつな	5	847
	さつまいも	1	170
	さといも	3	510
	サラダ菜	1	173
	しゅんぎく	1	174
	たまねぎ	1	171
	チンゲン菜	1	174
	トマト	2	352
	なす	1	176
	にら	2	342
	にんじん	6	1,036
	ねぎ	6	1,026
	ばれいしょ	2	334
	ピーマン	2	346
	ブロッコリ	2	318
	ほうれんそう	6	1,006
	未成熟いんげん	1	172
	レタス	2	346
	らっきょうその他ユリ科	1	171
	れんこん	1	170
	わけねぎ	1	171
種実類	アーモンド	1	150
茶	茶	5	750
	合 計	79	13,296

表 1-11-4-2 平成29年度 農作物等の残留農薬検査（検体種別 給食食材）

分類	検体種	検体数	項目数
野菜	キャベツ	1	1
	きゅうり	1	1
	こまつな	1	1
	じゃがいも	1	1
	にら	1	1
	ねぎ	1	1
	はくさい	1	1
	ピーマン	1	1
	ブロッコリー	1	1
	ほうれんそう	1	1
	合 計	10	10

表 1-11-4-3 平成29年度 農作物等の残留農薬検査（農薬別 収去・買上、給食食材検査数）

農薬名	検査数	農薬名	検査数	農薬名	検査数
BHC(リンデンを除く)(和)	79	ジメトエート	79	フルバリネート(合算)	79
DDT	76	ジメピベレート	79	フルフェノクスロン	58
EPN	3	シラフルオフェン	76	フルミオキサジン	79
XMC	76	ダイアジノン	79	フルミクロラックベンチル	63
アクリナトリン	79	チオベンカルブ	79	プレチラクロール	79
アザコナゾール	74	チオメトン	72	プロシミドン	79
アセタミプリド	69	テトラクロルピンホス	79	プロチオホス	76
アセトクロール	79	テトラジホン	79	プロバクロール	72
アトラジン	63	テニルクロール	79	プロバニル(DCPA)	63
アメトリン	53	テブコナゾール	79	プロバルギット(合算)	79
アルジカルブ	58	テブフェノシト	58	プロビコナゾール(合算)	79
アルドリノ及びディルドリン	34	テブフェンピラド	79	プロビザミド	79
イサゾホス	79	テフルトリン	79	プロフェノホス	79
イソキサチオン(代謝体含)	79	テフルベンズロン	58	プロボキスル	79
イソフェンホス	79	デルタメトリン	79	プロマシル	79
イソプロカルブ	79	テルブホス	79	プロメトリン	79
イソプロチオラン	79	トリアジメノール(合算)	79	プロモブチド	79
イプロジオン	79	トリアジメホン	79	プロモプロピレート	79
イプロバリカルブ	58	トリアゾホス	79	プロモホスメチル	79
イプロベンホス	79	トリアレート	76	ヘキサジノン	74
イマザメタベンズメチルエステル	71	トリブホス(DEF)	79	ベナラキシル	79
イミベンコナゾール	70	トリフロキシストロビン	79	ベノキサコル	79
エスプロカルブ	79	トルクロホスメチル	79	ヘプタクロール	76
エチオン	79	トルフェンピラド	79	ベルメトリン(合算)	76
エディフェンホス	79	ナプロパミド	79	ベンダイオカルブ	58
エトフメセート	79	ニトロタールイソプロピル	79	ペンディメタリン	79
エトプロホス	79	ノルフルラゾン	79	ペンフルラリン	72
エトリムホス	79	バクロブトラゾール	79	ペンフレセート	79
エンドスルフアン(和)	79	パラチオン	77	ホサロン	79
エンドリン	36	パラチオンメチル	79	ホスチアゼート(合算)	79
オキサジアゾン	79	ハルフェンブロックス	76	ホスファミドン	74
オキサジキシル	79	ピテルタノール(合算)	79	ホスメット	63
オキサミル	58	ピフェントリン	79	ホレート	72
オキシフルオルフェン	79	ピペロホス	79	マラチオン	79
カズサホス	79	ピラクロホス	79	ミクロブタニル	74
カルバリル	58	ピラゾホス	79	メタラキシル	79
カルフェントラゾンエチル	79	ピリダフェンチオン	79	メチオカルブ	79
カルボフラン	79	ピリダベン	79	メチダチオン	79
キナルホス	53	ピリフェノックス(和)	79	メトキシクロル	79
キノキシフェン	79	ピリプロキシフェン	79	メトミノストロビン(和)	79
キノクラミン	48	ピリミカルブ	58	メトラクロール	79
キントゼン	69	ピリミホスメチル	79	メフェナセット	79
クロマゾン	79	ピンクロゾリン	79	メプロニル	79
クロータールジメチル(TCTP)	79	フェナミホス	79	モノクロトホス	74
クローデン	76	フェナリモル	79	ルフェヌロン	58
クローピリホス	89	フェニトロチオン	79	レナシル	75
クローピリホスメチル	79	フェノチオカルブ	79		
クローフェンピンホス(合算)	79	フェノトリン(合算)	76		
クローフルアズロン	58	フェノブカルブ	58		
クロープロファム	79	フェンスルホチオン	74		
クローベンジレート	79	フェンチオン	79		
シアノホス	79	フェントエート	79		
ジエトフェンカルブ	79	フェンバレレート(合算)	79		
ジクロホップメチル	79	フェンブコナゾール	74		
ジクロラン	79	フェンブプロバトリン	79		
ジコホール(合算)	62	フェンブプロビモルフ	76		
シハロトリン(合算)	79	フサライド	79		
ジフェナミド	79	ブタミホス	79		
ジフェノコナゾール(合算)	79	ブピリメート	79		
シフルトリン(合算)	79	ブプロフェジン	79		
ジフルベンズロン	58	フラムブロップメチル	79		
シブコナゾール(合算)	79	フルアクリピリム	79		
シベルメトリン(合算)	76	フルシトリネート(合算)	79		
シマジノ	79	フルシラゾール	79		
ジメタメトリン	72	フルトラニル	63		
ジメチルピンホス(合算)	79	フルトリアホール	79	合計	13,306

表 1-11-5 平成 29 年度 畜水産物中の残留動物用医薬品検査

検体名 項目名	牛乳	生乳	加工乳	乳飲料	鶏卵	牛肉	豚肉	鶏肉	アユ	マダイ	コイ	ニジマス	ウナギ	ヒラメ	クルマエビ	ブリ	生食用カキ	総計
	5	1	4	1	9	13	1	25	1	1	1	1	1	1	1	2	9	
オキシテトラサイクリン	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	9	75
クロルテトラサイクリン	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
テトラサイクリン	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
スピラマイシン	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	1	-	2	5	11
スルファメラジン	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
スルファジミジン	5	1	4	1	9	13	1	25	1	1	1	1	1	1	1	2	-	68
スルファモノメトキシシ	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
スルファジメトキシシ	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
スルファキノキサリン	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
スルファジアジン	-	-	-	-	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46
スルファチアゾール	-	-	-	-	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46
スルファドキシシ	-	-	-	-	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46
スルファメトキサゾール	-	-	-	-	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	46
オキシリン酸	5	1	4	1	-	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	57
チアンフェニコール	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
オルメトプリム	5	1	4	1	9	13	-	24	1	1	1	1	1	1	1	2	-	66
チアベンダゾール	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
フルベンダゾール	5	1	4	1	9	-	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	44
トリメトプリム	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
レバミゾール	5	1	4	1	9	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	57
オフロキサシ	-	-	-	-	-	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37
オルピロキサシ	-	-	-	-	-	13	-	24	-	-	-	-	-	-	-	-	-	37
合計	80	16	64	16	171	273	1	529	10	10	9	10	9	10	9	20	14	1,251

表 1-11-6 平成 29 年度 組換え DNA 技術応用食品検査

品 種	検体種類	項 目	検体数	項目数
トウモロコシ	加工食品	トウモロコシ (CBH351)	5	5

表 1-11-7 平成 29 年度 放射能検査

対 象 食 品	検体数	依頼元	
流通食品	150	食品安全課	
保育所給食	陰膳 (提供食検査)	90	幼保運営課
	食材検査		
学校給食	陰膳 (提供食検査)	70	保健体育課
	食材検査		
合 計	535		

表 1-11-8 平成 29 年度 苦情食品検査 (理化学検査)

搬入月	検 体 の 種 類	検体数	検 査 項 目
5 月	乳飲料	1	揮発性有機化合物(19項目)
	中華くらげ	2	揮発性有機化合物(19項目)
6 月	加工乳	5	動物用医薬品(16項目)
	イクラ	1	鑑別
8 月	ミネラルウォーター	2	揮発性有機化合物(19項目)
	ミネラルウォーター	1	鑑別
	豆乳プリン	2	鑑別
9 月	枝豆	2	揮発性塩基性窒素、鑑別
	ミネラルウォーター	1	揮発性有機化合物(19項目)
	牛スネ肉	1	揮発性塩基性窒素
9～10月	ミネラルウォーター	4	ジェオスミン、2-メチルイソボルネオール (1検体のみ) 揮発性有機化合物(19項目)
2 月	ポテトサラダ	2	揮発性有機化合物(19項目)
3 月	りんごのケーキ	3	揮発性有機化合物(19項目)、鑑別

苦情食品等検査依頼数 13 件 依頼検体数 27 検体 328 項目

表 1-11-9 平成 29 年度 項目別苦情食品等検査依頼件数

項 目	依頼件数
揮発性有機化合物	7
ジェオスミン、2-メチルイソボルネオール	1
動物用医薬品	1
鑑別	5
揮発性塩基性窒素	2

表 1-12 平成 29 年度 家庭用品検査

検体名	項目名	ホルムアルデヒド			有機水銀	デイルドリン	水酸化カリウム・水酸化ナトリウム	メタノール	テトラクロロエチレン	トリクロロエチレン	容器試験	ジベンゾ（a・h）アントラセン	ベンゾ（a）アントラセン	ベンゾ（a）ピレン	検査数合計	検体数合計
		生後二十四ヶ月以内のもの	生後二十四ヶ月以内を除くもの	小計												
試験検査数合計		59	12	71	33	3	2	4	6	6	2	0	0	0	127	80
基準違反数合計		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
織 維 製 品	おしめ	2	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2
	おしめカバー	2	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	2
	よだれ掛け	4	-	4	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	4
	下着	8	4	12	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	24	12
	中衣	8	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	8
	外衣	8	-	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	8	8
	手袋	2	2	4	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	9	4
	くつした	6	2	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16	8
	帽子	6	-	6	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6	6
	衛生パンツ	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
	寝衣	9	2	11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11	11
	寝具	4	-	4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	4
	家庭用毛糸	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
小計		59	10	69	33	3	0	0	0	0	0	0	0	0	105	72
家庭用化学製品	家庭用接着剤	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	くつしたどめ等接着剤	-	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2
	家庭用塗料	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	家庭用ワックス	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	くつ墨・くつクリーム	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
	家庭用エアゾル製品	-	-	-	-	-	-	4	4	4	-	-	-	-	12	4
	家庭用洗浄剤	-	-	-	-	-	2	-	2	2	2	-	-	-	8	2
	防腐木材・防虫木材	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	0
小計		0	2	2	0	0	2	4	6	6	2	0	0	0	22	8

表 1-13-1 平成 29 年度 飲料水等及びプール水の検査種別件数

検体名	検査種別	一般依頼件数	保健所依頼件数	合計
飲料水等	全項目検査	10	0	10
	省略不可能項目検査	60	0	60
	必須項目検査	277	6	283
	有機塩素系検査	0	0	0
	給水設備関連項目検査	6	0	6
	消毒副生成物検査	3	0	3
	原水項目検査	4	0	4
	単項目検査（細菌検査分を含む）	159	0	159
	小 計	519	6	525
プール水		13	0	13
合 計		532	6	538

表 1-13-2 平成 29 年度 飲料水等の検体種別検査結果

検体種別	検査件数	適合件数	不適合件数	不適合率（%）
自家用井戸水	146	116	30	20.5
専用水道原水	86	85	1	1.2
専用水道浄水	221	219	2	0.9
小規模専用水道原水	7	5	2	28.6
小規模専用水道浄水	19	19	0	0.0
簡易専用水道	12	12	0	0.0
その他	34	34	0	0.0
合 計	525	490	35	6.7

表 1-13-3 平成 29 自家用井戸水における区別必須項目検査結果

項目 区名	検査 件数	不 適 合 数	不 適 合 率 (%)	項 目 別 不 適 合 数										
				一般 細菌	大腸菌	亜硝酸 態窒素	硝酸・ 亜硝酸 態窒素	塩素 イオン	有機 物	pH 値	臭気	色度	濁度	
中央区	17	4	23.5	3	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
花見川区	10	5	50.0	1	-	-	3	-	-	-	-	1	-	-
稲毛区	13	3	23.1	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	-
若葉区	67	8	11.9	4	-	1	3	-	-	-	-	1	2	1
緑区	29	8	27.6	3	-	-	4	-	-	-	-	1	-	-
美浜区	2	0	0.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
合 計	138	28	20.3	11	0	1	13	0	0	0	0	4	2	1

表 1-13-4 平成 29 年度 項目別飲料水等理化学検査

	検査件数	不適合数	不適合率(%)
亜硝酸態窒素	364	3	0.8
硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	363	13	3.6
塩化物イオン	363	0	-
有機物（全有機炭素（TOC）の量）	363	0	-
pH値	363	0	-
臭気	365	7	1.9
色度	364	2	0.5
濁度	363	2	0.6
カドミウム	14	0	-
水銀	14	0	-
セレン	14	0	-
鉛	20	0	-
ヒ素	22	0	-
六価クロム	15	0	-
シアン化物イオン及び塩化シアン	77	0	-
臭素酸	73	0	-
ホルムアルデヒド	73	0	-
フッ素	14	0	-
亜鉛	20	0	-
鉄	32	1	3.1
銅	20	0	-
ナトリウム	14	0	-
マンガン	37	1	2.7
カルシウム、マグネシウム等（硬度）	16	0	-
蒸発残留物	21	0	-
陰イオン界面活性剤	14	0	-
フェノール類	14	0	-
ホウ素	14	0	-
1,4-ジオキサン	14	0	-
アルミニウム	16	1	6.3
非イオン界面活性剤	14	0	-
ジオスミン	14	0	-
2-メチルイソボルネオール	14	0	-
クロロ酢酸	73	0	-
ジクロロ酢酸	73	0	-
トリクロロ酢酸	73	0	-
ジクロロメタン	14	0	-
シス1,2-ジクロロエチレン及びトランス1,2-ジクロロエチレン	14	0	-
ベンゼン	14	0	-
クロロホルム	73	0	-
ジブロモクロロメタン	73	0	-
ブロモジクロロメタン	73	0	-
ブロモホルム	73	0	-
総トリハロメタン	73	0	-
四塩化炭素	14	0	-
テトラクロロエチレン	14	0	-
トリクロロエチレン	14	0	-
1,1,1-トリクロロエタン	0	0	-
塩素酸	73	0	-
合 計	4,259	30	

表 1-13-5 平成 29 年度 プール水検査

検査項目	検査件数
pH値	12
濁度	12
有機物等（過マンガン酸カリウム消費量）	12
総トリハロメタン	1
合計	37

表 1-14 平成 29 年度 室内中化学物質検査

項目	検査件数	検体数
ホルムアルデヒド	5	25

表 1-15 平成 29 年度 精度管理に関する業務

	内部精度管理		外部精度管理		
	実施頻度	実施項目	実施項目数 実施検体数	実施項目	実施機関
食品等	検査実施毎	試験品の検査項目毎に添加回収試験を実施	5項目 3検体	<ul style="list-style-type: none"> シロップ中の安息香酸の定量 にんじんペースト中の6種農薬中3種農薬の定性と定量 果実ペースト中の着色料の定性 	一般財団法人食品薬品安全センター
家庭用品	検査実施毎	試験品の検査項目毎に添加回収試験を実施	-	-	-
飲料水等	検査実施毎	約10試料毎及び最後に一定濃度の標準試料を測定し、算出濃度が規定値内かを確認	2項目 2検体	<ul style="list-style-type: none"> ホウ素及びその化合物 ベンゼン 	千葉県水道水質管理連絡協議会（水質検査精度管理委員会）
			2項目 2検体	<ul style="list-style-type: none"> フッ素及びその化合物 ホルムアルデヒド 	厚生労働省

(5) 内部精度管理・外部精度管理

検査の信頼性確保を目的として「千葉市食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」等に基づき、内部精度管理・外部精度管理を行った。

ア 細菌検査

各検査は、「標準作業書」に基づき実施し、検査に使用する機器類についても、GLPで規定した「機械器具保守管理標準作業書」に基づく保守点検を実施した。

(7) 内部精度管理

検査精度確認のため、生菌数検査を年4回実施した。

(イ) 外部精度管理

第三者機関である一般財団法人食品薬品安全センターから送付された検体について、微生物学的検査（E. coli 検査）を実施した。

また、厚生労働省が実施する外部精度管理事業（腸管出血性大腸菌検査）に参加した。

イ ウイルス検査

(7) 厚生労働省が実施する外部精度管理事業（リアルタイム RT-PCR 法によるインフルエンザウイルス遺伝子の検出）に参加した。

(イ) 日本医療研究開発機構(AMED)「麻疹ならびに風疹排除およびその維持を科学的にサポートするための実験診断および国内ネットワークに資する研究」研究班が実施する外部精度管理評価（風疹検査）に参加した。

検査は、国立感染症研究所から送付された検体について実施した。

ウ 臨床検査

厚生労働省エイズ対策政策研究事業のHIV検査の精度管理に参加した。

検査は、東京都健康安全研究センターから送付された検体（血清）について実施した。

エ 理化学検査

内部精度管理は、食品等や家庭用品の理化学検査試行毎の精度確認であり、外部精度管理は、外部機関から送付される擬似食品等を通常と同様に検査を行い、他の検査施設との比較を目的に行うもので、食品等や飲料水等の理化学検査について行った。（表 1-15）。

各検査は、「標準作業書」に基づき実施し、「検査標準作業書」は常に見直し、必要な改定を実施した。また、食品等や家庭用品検査に使用する機器類についても、GLPで規定した「機械器具保守管理標準作業書」に基づく保守点検を実施した。

(7) 食品等検査

保健所が「千葉市食品衛生監視指導計画」に基づき収去、買上した検体の検査については、「千葉市食品衛生検査施設における検査等の業務管理要領」に基づき実施した。

a 内部精度管理

検査精度確認のため、試験品の検査頻度に応

じ、検査項目ごとに添加回収試験を実施した。

b 外部精度管理

第三者機関である一般財団法人食品薬品安全センターから送付された検体について延べ3回の検査を実施した。

(イ) 家庭用品検査

保健所が「千葉市家庭用品監視指導要領」に基づき試買した検体の検査については、「千葉市家庭用品検査施設における検査等の業務管理要領」に基づき実施した。内部精度管理として、検査項目毎に件数に応じた頻度での添加回収試験を実施した。

(ウ) 飲料水等検査

一般及び行政依頼による検体の検査について、「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法（平成15年厚生労働省告示第261号）」に基づき実施した。

a 内部精度管理

約10試料毎及び最後に一定濃度の標準試料を測定し、算出濃度が規定値内かを確認した。

b 外部精度管理

千葉県水道水質管理連絡協議会及び厚生労働省が実施する外部精度管理に参加し、延べ3回4項目について実施した。

2 環境科学課

環境科学課は、行政依頼による検査・測定業務と調査研究業務を実施している。

検査・測定業務は、環境基本法に基づく大気や水質等の環境基準の達成状況を評価する業務及び大気汚染防止法・水質汚濁防止法・下水道法等に基づく、規制基準の遵守状況を確認する業務である。

調査研究業務は、近年の分析技術等の進展や新規規制項目の設定に対応するためにも重要な業務であり、体制の充実に努めている。

平成 29 年度の業務実績は次のとおりである。

(1) 大気関係業務

大気検査は、行政依頼と調査研究を合わせて 364 検体延べ 3,159 項目であった(表 2-1、図 2-1)。

調査研究として微小粒子状物質調査会議に参加し、平成 28 年春季(3 月)に発生した PM2.5 高濃度事象についての解析を実施した。また、平成 29 年度酸性雨全国調査にも参加した。

ア 検査測定

(7) 浮遊粒子状物質検査

千葉県の降下ばいじん及び浮遊粉じん調査実施要領に基づき、毎月 1 回、千葉市総合保健医療センター屋上で採取した試料の粉じん濃度(粒径 10 μ m 以上と 10 μ m 以下)と金属成分 10 項目の検査を行った(表 2-1)。

(4) 降下ばいじん検査

千葉県の降下ばいじん及び浮遊粉じん調査実施要領に基づき、毎月 1 回、市内 12 地点でダストジャー法により採取された全降下物試料の不溶解性金属成分 10 項目の検査を行った。(表 2-1、図 2-1)。

(4) 酸性雨検査

全国環境研協議会の第 6 次酸性雨全国調査実施要領に基づき、毎月 1 回、宮野木測定局で採取した雨水と乾性降下物の pH、EC 及び水溶性イオン成分 9 項目、さらに、乾性降下物については、全降下物量、溶解性降下物量、不溶解性降下物量、不溶解性金属成分 10 項目の検査を行った(表 2-1)。

(1) 有害大気汚染物質等の検査

大気汚染防止法等に基づき、県下一斉調査として 6 地点において毎月 1 回、有害大気汚染物質 13 項目の検査を行った。また、千葉市独自調査として、臨海部においてベンゼンの検査を 1 地点においては毎月 1 回、別の 1 地点においては、年 4 回行った。(表 2-1、図 2-1)。

(4) アスベストの検査

大気環境中のアスベスト濃度を把握するため、一般環境(住宅地域) 6 地点において年 4 回、自排局(幹線道路周辺) 2 地点において、夏・冬の年 2 回検査を行った(表 2-1)。

イ 調査研究

(7) 微小粒子状物質調査会議

微小粒子状物質の汚染実態及び発生源の把握を目的として、関東甲信静地方の 1 都 9 県 7 市によ

る関東微小粒子状物質調査会議に参加し、調査報告書の平成 28 年春季(3 月)に発生した PM2.5 高濃度事象についての解析を担当した。

(4) 平成 29 年度酸性雨全国調査

日本全域における酸性沈着による汚染実態の把握を目的とした調査に参加し、湿性沈着のイオン成分、pH、EC の分析を行った。

(2) 水質関係業務

水質検査は、検査測定と調査研究を合わせて 990 検体延べ 13,702 項目であった(表 2-2)。調査研究としては、千葉市内における有機フッ素化合物(PFCs)の分布状況の調査を行った。

ア 検査測定

(7) 河川の水質検査

水質汚濁防止法等に基づく常時監視として、市内 9 河川 25 地点において毎月、健康項目と生活項目を実施した(図 2-2)。さらに、有機塩素化合物を年 6 回、農薬を年 4 回、要監視項目(表 2-3)を年 1 回実施した(表 2-2)。ここで、要監視項目とは、検出状況等からみて現時点では健康項目とはしないものの、引き続きデータ収集に努め、状況によっては健康項目への移行等の検討が必要になるとされた項目である。

(4) 海域の水質検査

水質汚濁防止法に基づく常時監視として、環境基準補助点 3 地点と市独自監視地点 1 地点の計 4 地点において、毎月、健康項目と生活項目を実施した(図 2-2)。ここで、環境基準補助点とは、環境基準が達成されているかどうかの判断を行うための環境基準点とは異なり、基準点の参考資料となるデータを得るための測定地点である。

環境基準補助点については、さらに、有機塩素化合物・農薬等 15 項目を年 4 回、要監視項目(表 2-3)を年 1 回実施した(表 2-2)。

(4) 事業場排水の水質検査

水質汚濁防止法等に基づく排水基準の遵守状況を確認するため、立入検査した 171 検体延べ 2,771 項目の検査を実施した。その結果、5 検体 5 項目が基準値超過であった。また、下水道法に基づく下水排除基準の遵守状況を確認するため、立入検査した 72 検体延べ 2,016 項目の検査を実施した。その結果、2 検体 2 項目が基準値超過であった。

(1) 市施設の自主調査

浄化センター等の市各施設からの排水等について、維持管理に必要な検査を実施した。

(4) その他

その他に地下水、調整池、合併浄化槽、環境省化学物質環境実態調査等の検査を実施した(表 2-2)。環境省化学物質環境実態調査とは、一般環境中に排出された化学物質がどの程度残留しているかを把握するための調査で、昭和 49 年から毎年実施されているものである。

イ 調査研究

(7) 有機フッ素化合物（PFCs）調査

環境中で分解されにくく、残留性や生物蓄積性が問題となっている PFCs について、市内の河川における汚染状況調査を夏・冬の年 2 回、5 地点で実施した。PFOS（ペルフルオロオクタンスルホン酸）、PFOA（ペルフルオロオクタン酸）だけでなく、代替品と推測される炭素鎖の短い PFCs も検出された地点があった。

(3) 内部精度管理・外部精度管理

検査の信頼性を確保することを目的に、添加回収試験等の内部精度管理を行った。また、外部機関から送付される擬似排水等を通常の検査と同様に行い、その検査結果について他の検査施設と比較評価を行う外部精度管理に参加した。検査は、「標準作業書」に基づき実施しており、本作業書については常に見直し、必要な改訂を実施している。

ア 大気関係

(7) 内部精度管理

有害大気、降下ばいじん、酸性雨検査について、環境省が示す各種マニュアルに則り、作業手順についての評価を行い、試験毎に分析装置の精度及び値の信頼性の確認を行った。

(4) 外部精度管理

平成 29 年度酸性雨測定分析精度管理調査に参加し、模擬雨水試料中の pH、EC、イオン成分について検査を実施した。

イ 水質関係

(7) 内部精度管理

事業場排水について、標準作業書に基づき添加回収試験の実施や、検査実施者及び実施日時の記録等を行い、検査の信頼性の確認及び作業手順の確認を行った。

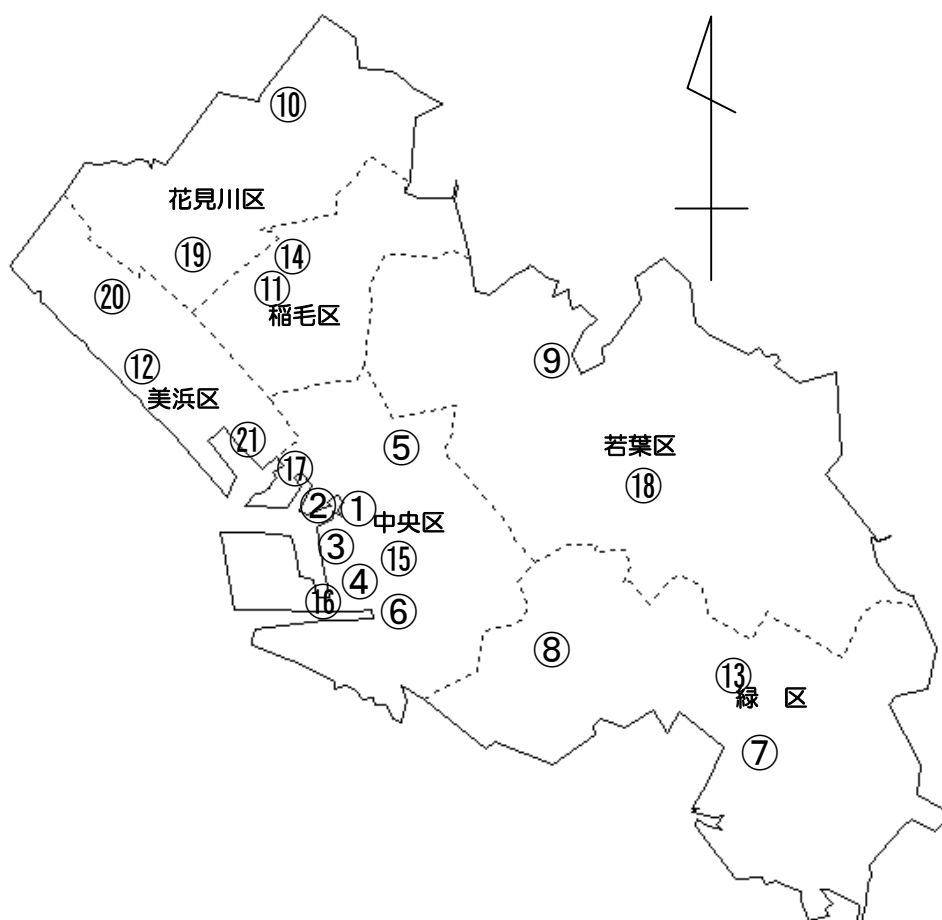
(4) 外部精度管理

平成 29 年環境測定分析統一精度管理調査に参加し、模擬水質中の COD、BOD、ふっ素、ほう素、TOC および揮発性有機化合物について検査を実施した。

表 2-1 平成29年度 大気検査実施状況（自主測定除く）

項目	調査名	浮遊粒子状物質	降下ばいじん	乾性降下物	酸性雨	有害大気汚染物質	アスベスト	合計
検体数		24	144	12	12	88	84	364
水素イオン濃度(pH)				12	12			24
電気伝導度(EC)			12	12	12			36
金属成分 14項目	銅	12						12
	亜鉛	12						12
	鉄	12	144	12				168
	マンガン	12	144	12				168
	全クロム	12	144	12				168
	カドミウム	12						12
	鉛	12	144	12				168
	ニッケル	12						12
	バリウム	12	144	12				168
	アルミニウム	12	144	12				168
	カルシウム		144	12				156
	マグネシウム		144	12				156
	ランタン		144	12				156
	セリウム		144	12				156
粉じん濃度		24						24
粉じん量				12				12
不溶性降下物				12				12
溶解性降下物				12				12
イオン成分 9項目	塩素イオン		12	12	12			36
	亜硝酸イオン		12	12	12			36
	硝酸イオン		12	12	12			36
	硫酸イオン		12	12	12			36
	ナトリウムイオン		12	12	12			36
	アンモニウムイオン		12	12	12			36
	カリウムイオン		12	12	12			36
	マグネシウムイオン		12	12	12			36
	カルシウムイオン		12	12	12			36
有害大気汚染物質 11項目	アクリロニトリル					72		72
	塩化ビニルモノマー					72		72
	クロロホルム					71		71
	1,2-ジクロロエタン					72		72
	ジクロロメタン					72		72
	テトラクロロエチレン					72		72
	トリクロロエチレン					72		72
	1,3-ブタジエン					72		72
	ベンゼン					88		88
	アセトアルデヒド					72		72
	ホルムアルデヒド					72		72
トルエン					72		72	
塩化メチル					72		72	
アスベスト						84		84
合計		144	1,560	288	132	951	84	3,159

図 2-1 降下ばいじん等測定位置図



	地点名	降下ばいじん	浮遊粒子状物質	有害大気	アスベスト	酸性雨
1	寒川小学校測定局	○		○	○	
2	千葉職業能力開発短期大学校	○				
3	フェスティバルウオーク	○		市独自		
4	イトーヨーカドー	○				
5	都公園測定局	○				
6	蘇我保育所測定局	○				
7	土気測定局	○			○	
8	泉谷小学校測定局	○				
9	千城台北小学校測定局	○				
10	花見川小学校測定局	○				
11	宮野木測定局	◎			○	○
12	真砂公園測定局	○		○	○	
13	千葉市水道局			○		
14	宮野木自排局			○		
15	福正寺測定局			○		
16	フクダ電子アリーナ			市独自		
17	千葉市役所自排局			○	○	
18	大宮小学校測定局				○	
19	検見川小学校測定局				○	
20	真砂自排局				○	
21	千葉市総合保健医療センター		○			

◎：宮野木測定局では全降下物に加え乾性降下物も分析した。

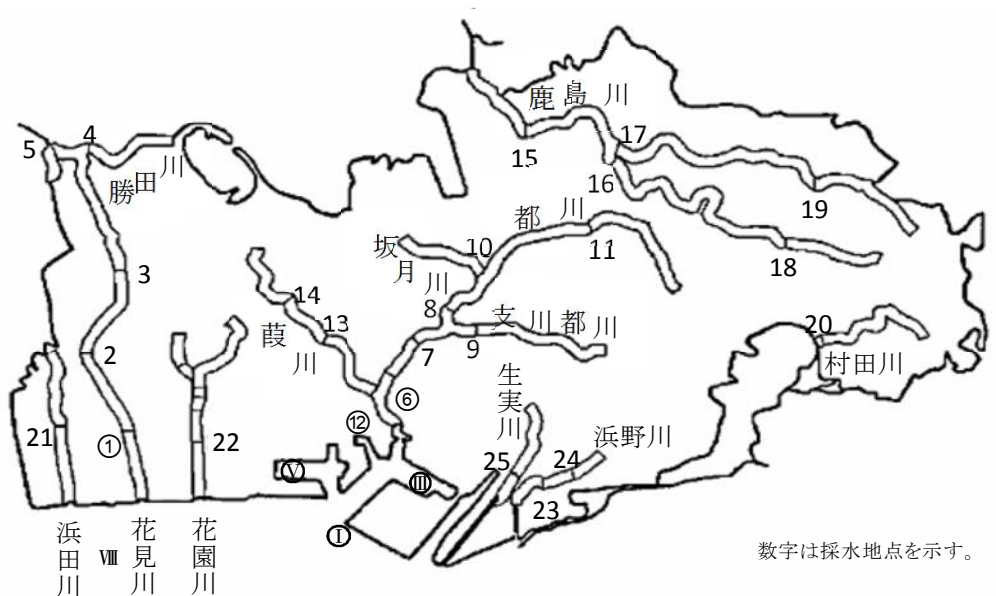
市独自：ベンゼンのみ測定。

表 2-2 平成29年度 水質検査実施状況

依頼元 項目	環境局 環境保全部					環境局 資源循環部			建設局 下水道管理部				その他	委託等 環境省	合計	
	河川	海域	排水	地下水	その他	小計	浄化槽	その他	小計	放流	流入	その他				小計
検体数	300	160	171	122	0	753	33	16	49	36	18	85	139	45	4	990
pH	300	104	168	10	0	582	33	4	37	12	12	84	108	20	1	748
DO	300	112	0	0	0	412	0	0	0	0	0	12	12	2	1	427
BOD	300	0	56	0	0	356	31	4	35	0	0	12	12	15	0	418
COD	300	104	165	0	0	569	33	4	37	12	0	12	24	30	1	661
SS	300	0	166	0	0	466	33	4	37	12	0	12	24	15	1	543
大腸菌群数（事業場等）	0	0	11	0	0	11	0	5	5	0	0	0	0	0	0	16
大腸菌群数（公共用水域）	72	52	0	0	0	124	0	0	0	0	0	0	0	15	0	139
ヘキサン抽出物質	12	28	127	0	0	167	0	4	4	12	12	12	36	12	0	219
全窒素	96	104	166	0	0	366	33	4	37	12	12	12	36	35	0	474
全りん	96	104	166	0	0	366	33	4	37	12	12	12	36	30	0	469
カドミウム	63	16	65	0	0	144	0	4	4	36	18	72	126	17	0	291
シアン	63	48	72	0	0	183	0	4	4	36	18	72	126	12	0	325
鉛	63	48	65	0	0	176	0	4	4	36	18	72	126	17	0	323
六価クロム	75	16	65	2	0	158	0	4	4	36	18	72	126	17	0	305
ヒ素	63	16	60	6	0	145	0	4	4	36	18	72	126	16	0	291
総水銀	63	16	58	0	0	137	0	4	4	36	18	72	126	16	0	283
アルキル水銀	0	0	7	0	0	7	0	4	4	36	18	72	126	12	0	149
PCB	9	4	17	0	0	30	0	4	4	0	0	0	0	4	0	38
ジクロロメタン	114	16	57	0	0	187	0	4	4	36	18	72	126	12	0	329
四塩化炭素	114	16	57	23	0	210	0	4	4	36	18	72	126	12	0	352
1,2-ジクロロエタン	114	16	57	0	0	187	0	4	4	36	18	72	126	12	0	329
1,1-ジクロロエチレン	114	16	57	23	0	210	0	4	4	36	18	72	126	12	0	352
シス-1,2-ジクロロエチレン	114	16	57	12	0	199	0	4	4	36	18	72	126	12	0	341
1,1,1-トリクロロエタン	114	16	57	23	0	210	0	4	4	36	18	72	126	12	0	352
1,1,2-トリクロロエタン	114	16	57	0	0	187	0	4	4	36	18	72	126	12	0	329
トリクロロエチレン	114	16	57	23	0	210	0	4	4	36	18	72	126	12	0	352
テトラクロロエチレン	114	16	57	71	0	258	0	4	4	36	18	72	126	12	0	400
1,3-ジクロロプロペン	114	16	57	0	0	187	0	4	4	36	18	72	126	12	0	329
チウラム	12	12	5	0	0	29	0	4	4	0	0	0	0	12	0	45
シマジン	12	12	5	0	0	29	0	4	4	0	0	0	0	12	0	45
チオベンカルブ	12	12	5	0	0	29	0	4	4	0	0	0	0	12	0	45
ベンゼン	114	16	57	0	0	187	0	4	4	36	18	72	126	12	0	329
セレン	12	12	55	0	0	79	0	4	4	36	18	72	126	16	0	225
1,4-ジオキサソリン	10	8	20	0	0	38	0	4	4	36	18	72	126	12	0	180
有機りん	0	0	17	0	0	17	0	4	4	0	0	0	0	12	0	33
ホウ素	70	0	87	0	0	157	0	4	4	36	18	72	126	17	0	304
フッ素	70	0	87	0	0	157	0	4	4	36	18	72	126	17	0	304
窒素3項目	0	0	18	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
フェノール	12	12	52	0	0	76	0	4	4	36	18	0	54	12	0	146
銅	12	12	61	0	0	85	0	4	4	36	18	72	126	17	0	232
亜鉛	0	0	61	0	0	61	0	4	4	36	18	72	126	17	0	208
鉄	12	12	61	0	0	85	0	4	4	36	18	72	126	17	0	232
マンガン	12	12	61	0	0	85	0	16	16	36	18	72	126	17	0	244
クロム	12	12	61	0	0	85	0	4	4	36	18	72	126	17	0	232
アンモニア態窒素	28	76	18	0	0	122	0	4	4	0	0	0	0	20	0	146
亜硝酸態窒素	62	76	18	43	0	199	30	4	34	0	0	0	0	5	0	238
硝酸態窒素	62	76	18	43	0	199	30	4	34	0	0	0	0	5	0	238
りん酸態りん	28	76	0	0	0	104	0	0	0	12	0	0	12	15	0	131
塩素イオン	63	0	0	0	0	63	0	4	4	0	0	0	0	1	1	69
電気伝導率	62	0	0	10	0	72	0	4	4	0	0	0	0	1	1	78
有機体炭素	18	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
陰イオン界面活性剤	18	0	0	0	0	18	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18
ナトリウム等陽イオン	1	0	0	0	0	1	0	16	16	0	0	0	0	0	0	17
硫酸イオン	0	0	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	0	4
要監視項目	66	63	0	0	0	129	0	0	0	0	0	0	0	5	0	134
その他	0	0	0	56	0	56	0	0	0	0	0	0	0	142	7	205
合計	4,095	1,431	2,771	345	0	8,642	256	217	473	1,092	552	2,112	3,756	818	13	13,702

* 窒素3項目とは、アンモニア、アンモニウム化合物、亜硝酸化合物及び硝酸化合物

図2-2 河川及び海域の水質検査地点図



河川の水質検査地点

河川名	No.	採水地点名
花見川	①	新花見川橋
	2	汐留橋
	3	花島橋
	4	勝田川管理橋
	5	八千代都市下水道横戸町33番地地先
都川	⑥	都橋
	7	立会橋下
	8	青柳橋
	9	新都川橋
	10	辺田前橋
	11	高根橋
葭川	⑫	日本橋
	13	都賀川橋梁
	14	源町407番地地先

河川名	No.	採水地点名
鹿島川	15	下泉橋
	16	中田橋
	17	富田橋
	18	平川橋
	19	下大和田町1146番地地先
村田川	20	高本谷橋
浜田川	21	下八坂橋
花園川	22	高洲橋
濱野川	23	濱野橋
	24	どうみき橋
生実川	25	平成橋

○印は環境基準点

海域の水質検査地点

地点	東経	北緯	備考
①	140° 04' 55	35° 34' 50	JFEスチール西工場地先
Ⅲ	140° 06' 42	35° 34' 52	JFEスチール港湾内
Ⅴ	140° 05' 21	35° 36' 12	新港コンビナート港湾内
Ⅷ	140° 02' 04	35° 37' 25	幕張の浜地先

○印は環境基準補助点

表 2-3 平成29年度 要監視項目実施状況

項 目	河川	海域
トランス-1, 2-ジクロロエチレン	3	3
クロロホルム	3	3
1, 2-ジクロロプロパン	3	3
p-ジクロロベンゼン	3	3
イソキサチオン	3	3
ダイアジノン	3	3
フェニトロチオン	3	3
イソプロチオラン	3	3
オキシシン銅	3	3
クロロタロニル	3	3
プロピザミド	3	3
E P N	3	0
ジクロルボス	3	3
フェノブカルブ	3	3
イプロベンホス	3	3
クロルニトロフェン	3	3
トルエン	3	3
キシレン	3	3
フタル酸ジエチルヘキシル	3	3
ニッケル	3	3
モリブデン	3	3
アンチモン	3	3
小 計	66	63
計	129	

調查研究

I 調查報告・資料

Real-time PCR 法によるヒトボカウイルス遺伝子の検出

西川 和佳子、坂本 美砂子、横井 一

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 急性呼吸器感染症に関与するウイルス検出の迅速化を目的として、Real-time PCR 法によるヒトボカウイルス (HBoV) 遺伝子の検出系の構築について検討した。HBoV の NP1 遺伝子を標的配列として選択し、プライマーと TaqMan プローブを新たに設計した。その結果、 1.0×10^1 copies/tube から 1.0×10^7 copies/tube の範囲で HBoV 遺伝子の定量が可能であった。本法の検出感度は Conventional PCR 法と比較して 10 倍高く、他の呼吸器系ウイルス等との交差反応も認められなかった。臨床検体からの検出においても本法の検出感度は Conventional PCR 法よりも高く、特異度については、ほぼ同等であった。以上の結果から、今回検討した Real-time PCR 法は HBoV 遺伝子の検出に有用であると考えられた。

Key Words : ヒトボカウイルス, Real-time PCR, 急性呼吸器ウイルス感染症

1. はじめに

ヒトボカウイルス (HBoV) は、2005 年にスウェーデンの呼吸器感染症患者の鼻咽頭液から発見された DNA ウイルスで、パルボウイルス科パルボウイルス亜科ボカウイルス属に分類される¹⁾。HBoV ゲノムは主に乳幼児の呼吸器感染症患者から検出され、その患者は発熱、咳嗽、鼻汁、多呼吸、喘鳴、呼吸困難等の非特異的で多彩な症状を呈する。一般的に HBoV 感染症の重症化は少ないと考えられているが、基礎疾患のある乳児で重篤な細気管支炎を起こした報告などがあり、基礎疾患をもつ患者などでは注意が必要である²⁾。

HBoV は、細胞培養による検出は困難で、一般的に遺伝子検査による検出が行われている。また、HBoV が検出される呼吸器感染症の症例では、HBoV 以外のウイルスが同時に検出されることが多いことから³⁾、当所では、急性呼吸器ウイルス感染症の全体像を明らかにする目的で、市内の小児科及び内科医療機関で採取された臨床検体について急性呼吸器ウイルスの網羅的検索を行ってきた。

しかし、対象ウイルス全ての検出を Conventional (RT)-PCR 法及びシーケンス解析によって実施することは、作業工程が多岐にわたるため、結果を得るまでに多くの労力と時間を要する。今回、我々は急性呼

吸器ウイルス感染症に関与するウイルス検出の迅速化を目的として、迅速性、高感度、定量性を兼ね備えた Real-time PCR 法による HBoV 遺伝子の検出系の構築について検討を行ったので報告する。

2. 材料と方法

2.1 供試検体

本法の検出限界を確認するため、HBoV が検出された臨床検体から抽出したウイルス核酸を TE buffer にて 10 倍階段希釈 (10^{-1} から 10^{-7} 倍希釈) し、この希釈系列を Real-time PCR 法及び Conventional PCR 法に供した。

また、HBoV 以外の呼吸器系ウイルス等との交差反応の有無を確認するため、細胞培養により分離されたウイルス株及び HBoV 以外のウイルス遺伝子が検出された臨床検体から抽出したウイルス核酸を Real-time PCR 法に供した。対象ウイルスは、分離株が A 型インフルエンザウイルス (5 株)、B 型インフルエンザウイルス (2 株)、RS ウイルス (4 株)、ヒトメタニューモウイルス (4 株)、麻疹ウイルス (3 株)、コクサッキー A 群ウイルス (7 株)、コクサッキー B 群ウイルス (5 株)、エンテロウイルス A71 (1 株)、エコーウイルス (2 株)、ムンプスウイルス (1 株)、アデノウイルス (4

株)及び単純ヘルペスウイルス(1株)、また、臨床検体がパルボウイルス B19(1検体)、パラインフルエンザウイルス(3検体)、ヒトライノウイルス(3検体)及びヒトパレコウイルス(2検体)とした。

さらに、臨床検体における本法の有用性(感度と特異度)を確認するため、2017年4月から9月までの期間に上気道炎や下気道炎(気管支炎、肺炎)の急性呼吸器症状等を呈した患者から採取された臨床材料 201検体(鼻汁 153検体、咽頭ぬぐい液 34検体、その他 14検体)から抽出したウイルス核酸を Real-time PCR 法及び Conventional PCR 法に供した。

2.2 Real-time PCR のプライマー及び TaqMan プロープの設計

HBoV の NP1 遺伝子領域を Real-time PCR 法の標的配列に選択した。Gene Bank に登録されている HBoV 29 株の配列アライメントを行い、各株に共通する配列を検索した。

検索の結果、各株に共通の sense プライマーと antisense プライマーを設計し、TaqMan プロープは FAM 標識とした(表 1)。なお、各プライマーの合成は Invitrogen、TaqMan プロープは Applied Biosystems (ABI) に依頼した。

2.3 ウイルス核酸の抽出

ウイルス分離株の培養上清 200 μ L、または臨床検体の遠心上清 200 μ L から High Pure Viral RNA Kit (Roche)を使用してウイルス核酸の抽出を行った。

2.4 コントロールプラスミドの作製

臨床検体を用いて HBoV の NP1 遺伝子の PCR 産物を TA クローニングすることによりコントロールプラスミドを作製した。すなわち、後述の T.Allander らの方法¹⁾に準拠した Conventional PCR 法(表 1)により増幅させた PCR 産物を TOPO TA Cloning Kit for Sequencing (Invitrogen)を用いて pCR4-TOPO vector にサブクローニングし、その塩基配列をダイレクトシーケンス法により確認した。Plasmid Mini Kit (QIAGEN)により精製した環状プラスミドを制限酵

素 *Spe* I で切断して直鎖状プラスミドとした後、UV260nm の OD 値を測定し、コントロールプラスミドのコピー数を算出した。TE buffer (10mM Tris-HCl, pH8.0; 1mM EDTA, pH8.0)にて 1.0×10^9 copies/ μ L の濃度に調整し、使用時まで -80 $^{\circ}$ C 保存とした。

2.5 Real-time PCR 法

1tube あたり 25 μ L の反応量で Real-time PCR 法を実施した。20 μ L の Real-time PCR 反応液 (QuantiTect Probe PCR Master Mix (QIAGEN)、sense プライマー及び antisense プライマー(最終濃度各 0.4 μ M)、TaqMan プロープ(最終濃度 0.1 μ M)及び RNase-free 滅菌蒸留水を混合)に 5 μ L の DNA 溶液を加え、ABI 7300 Real-time PCR system (ABI) を使用して増幅反応を行った。反応条件は、95 $^{\circ}$ C 15 分 (DNA polymerase の活性化)を 1 サイクル、94 $^{\circ}$ C 15 秒 (熱変性)と 56 $^{\circ}$ C 75 秒 (アニーリングと伸長反応)を 45 サイクルとした。また、コントロールプラスミドについては、TE Buffer を使用して 1.0×10^7 から 1.0×10^1 copies/5 μ L までの 10 倍階段希釈系列を作製し、DNA 溶液と同様に増幅反応を行った。反応終了後に ABI Sequence Detection System Software ver. 1.4 を使用し、ウイルス遺伝子の検出と定量解析を実施した。

2.6 Conventional PCR 法

HBoV の NP1 遺伝子に設計された T.Allander ら¹⁾のプライマーセット(表 1)を用いて Conventional PCR 法を行った。PCR 反応は、 $10 \times$ Ex Taq Buffer 5.0 μ L、50 μ M プライマー各 0.5 μ L、2.5mM dNTP Mix 4.0 μ M、5units/ μ L Ex Taq Hot Start Vesion (TaKaRa) 0.25 μ L、および RNase-free 滅菌蒸留水 34.75 μ L を混合した反応液に DNA 5.0 μ L を加え、94 $^{\circ}$ C 2 分の反応後、94 $^{\circ}$ C 30 秒、54 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 1 分の反応を 40 回繰り返した。PCR 産物は、2.5% (w/v) アガロースゲル電気泳動により目的のバンドを確認した。なお、PCR 産物については、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定し、BLAST 検索による確認を行った。

表 1 Real-time PCR 及び Conventional PCR のプライマーと TaqMan プロープの配列

検出法	プライマー/プロープ	塩基配列(5' \rightarrow 3')	塩基配列(5' \rightarrow 3') ^a	設定位置 ^b
Real-time PCR	HBoV-Fa3	CTCGGGCTCATATCATCAG	sense	2483-2501
	HBoV-Ra	CACTTGGTCTGAGGCTTCGA	antisense	2558-2538
	HBoV-TPf2	FAM-ATCARCCACCTATYGTCTTGCACTGC-TAMRA	sense	2511-2536
Conventional PCR	188F	GAGCTCTGTAAGTACTATTAC	sense	2281-2301
	542R	CTCTGTGTTGACTGAATACAG	antisense	2634-2614

^a Mix bases in degenerated probe is as follows: R, G or A; Y, C or T

^b Location is relative to the genome of HBoV st1 (accession number DQ000495)

3. 結果

3.1 Real-time PCR 法の定量性と特異性

HBoV のコントロールプラスミドの 10 倍階段希釈系列について、Real-time PCR 法による増幅曲線及び検量線の検討を実施した。その結果、 1.0×10^1 copies/tube から 1.0×10^7 copies/tube の範囲内で、PCR サイクル数に比例した遺伝子の増幅が認められた。また、X 軸にコントロールプラスミドのコピー数（対数表示）、Y 軸に PCR サイクル数（Ct 値）をプロットした場合の検量線は、図 1 に示すように $R^2=0.999$ 、Slope : -3.43 と直線性を示した。以上の結果から、本法による HBoV 遺伝子の検出と定量が可能であることが明らかとなった。また、検出感度は 1.0×10^1 copies/tube であると推定された。

また、他の呼吸器系ウイルス等（A 型インフルエンザウイルス、B 型インフルエンザウイルス、RS ウイルス、ヒトメタニューモウイルス、麻疹ウイルス、コクサッキーA 群ウイルス、コクサッキーB 群ウイルス、エンテロウイルス A71、エコーウイルス、ムンプスウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス、パルボウイルス B19、パラインフルエンザウイルス、ヒトライノウイルス、ヒトパレコウイルス）に対する本法の交差反応性について確認した結果、遺伝子の増幅は認められなかった。

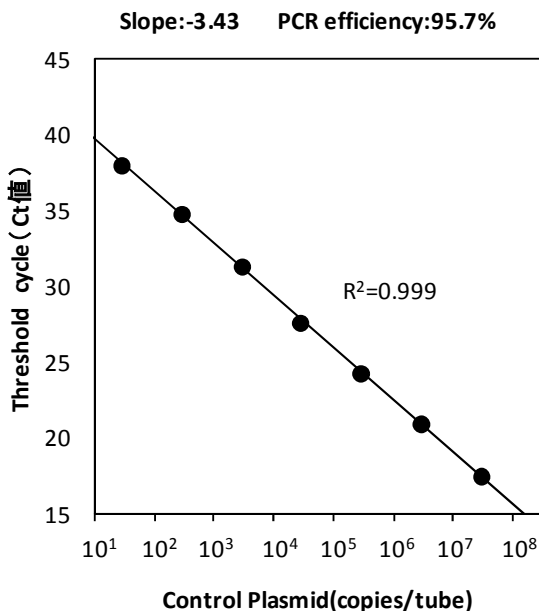


図 1 コントロールプラスミドによる検量線の作成

3.2 Real-time PCR 法による HBoV 遺伝子の検出限界

HBoV が検出された臨床検体から抽出したウイルス核酸を TE buffer にて 10 倍階段希釈 (10^{-1} から 10^{-7} 希釈) し、Real-time PCR 法の検出限界について確認した。その結果、 10^{-4} 希釈 (9.9copies/tube、Ct 値 : 37.76) まで遺伝子が検出された。一方、同じウイルス核酸の 10 倍階段希釈系列を用いて Conventional PCR 法を行ったところ、 10^{-3} 希釈 (82 copies/tube) まで遺伝子が検出された (表 2)。

3.3 臨床検体からの HBoV 遺伝子の検出

臨床検体から抽出したウイルス核酸を用いて Real-time PCR 法の感度と特異度の確認を行った結果、Real-time PCR 法によって 201 検体のうち 24 検体から HBoV 遺伝子が検出され、Conventional PCR 法によって 17 検体から遺伝子が検出された。Real-time PCR 法の感度は 100%、特異度は 96.2%、Conventional PCR 法の感度は 70.8%、特異度は 100%であった (表 3)。

また、Real-time PCR 法で陽性となった 24 検体のコピー数は、 3.5×10^6 から 3.2×10^0 copies/tube であった (図 2、表 4)。これら 24 検体について他の急性呼吸器ウイルスの網羅的検索⁴⁾を行ったところ、HBoV 単独検出の 3 検体と他の急性呼吸器ウイルスが共検出された 21 検体の間では、HBoV 遺伝子のコピー数に明確な差はみられなかった (表 4)。

表 2 Real-time PCR 法と Conventional PCR 法の検出限界の比較

DNA濃度 (copies/tube)	遺伝子が検出された最終希釈	
	Real-time PCR	Conventional PCR
1.06×10^5	10^{-4} (Ct:37.76)	10^{-3}

表 3 Real-time PCR 法と Conventional PCR 法の感度と特異度の比較

検出法	Conventional PCR			
	陽性	陰性	計	
Real-time PCR	陽性	17	7	24
	陰性	0	177	177
	計	17	184	201

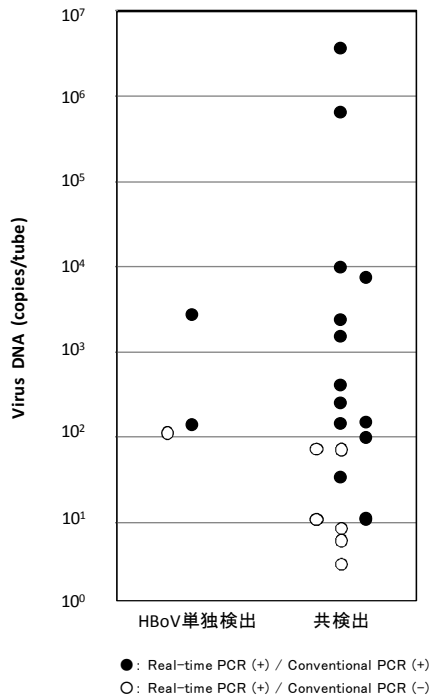


図 2 臨床検体における Real-time PCR 法により
検出された HBoV 遺伝子コピー数

表 4 臨床検体における Real-time PCR 法により検出された
HBoV 遺伝子コピー数及び共検出ウイルス

検体No.	Real-time PCR		Conventional PCR	共検出ウイルス	
	コピー数 (copies/tube)	Ct値			
1	3.5×10^6	19.01	(+)	hMPV	HRV
2	6.5×10^5	21.55	(+)	hMPV	HRV
3	9.9×10^3	27.80	(+)	HRV	
4	7.4×10^3	28.23	(+)	HRV	
5	2.7×10^3	29.73	(+)	(-)	
6	2.3×10^3	29.96	(+)	hMPV	HRV
7	1.5×10^3	30.60	(+)	HRV	
8	4.0×10^2	32.58	(+)	PIV	
9	2.5×10^2	33.27	(+)	ADV	
10	1.5×10^2	34.07	(+)	hMPV	RSV
11	1.4×10^2	34.13	(+)	HRV	RSV
12	1.4×10^2	34.16	(+)	(-)	
13	1.1×10^2	34.37	(-)	(-)	
14	9.9×10^1	34.67	(+)	PIV	
15	7.3×10^1	35.12	(-)	hMPV	HRV
16	7.2×10^1	35.15	(-)	PIV	
17	3.4×10^1	36.27	(+)	PIV	
18	1.1×10^1	37.83	(+)	RSV	
19	1.1×10^1	37.94	(+)	Flu	
20	1.1×10^1	37.96	(-)	RSV	
21	1.1×10^1	38.00	(+)	PIV	
22	8.5×10^0	38.33	(-)	RSV	
23	6.1×10^0	38.68	(-)	HRV	
24	3.2×10^0	39.77	(-)	HRV	

(+): 検出, (-): 不検出
hMPV: ヒトメタニューモウイルス, HRV: ヒトライノウイルス, PIV: パラインフルエンザウイルス
ADV: アデノウイルス, RSV: RSウイルス, Flu: インフルエンザウイルス

4. 考察

本研究で構築した Real-time PCR 法は、HBoV の NP1 遺伝子を標的配列として選択し、プライマーとプローブを設計した。その結果、 1.0×10^1 copies/tube 以上の遺伝子が存在すれば、HBoV 遺伝子の検出と定量が可能であり、他の呼吸器系ウイルス等との交差反応がなかったことから、高い特異性を有することが確認された。また、本法の検出感度は Conventional PCR 法と比べて 10 倍高いことが確認された。臨床検体を用いた検討においても、NP1 遺伝子に対する Conventional PCR 法よりも本法の感度は高く、特異度はほぼ同等であり、さらに 3.2×10^0 copies/tube の検体からも HBoV 遺伝子の検出が可能であった。このことから、本法は HBoV を対象とした遺伝子診断に有用であることが明らかとなった。

これまでに、本法と同様に Real-time PCR 法による HBoV 遺伝子の検出系が Neske ら⁵⁾によって報告されている。Neske らも NP1 遺伝子領域にプライマーとプローブを設計しており、検出感度と臨床検体での検出率は本法と同等であった。本法が対象としている検体は呼吸器系サンプルであるのに対し、Neske らは呼吸器系サンプルに加えて糞便と血清も対象としている。

しかしながら、Real-time PCR 法と Conventional PCR 法の比較では、Conventional PCR 法で検出、かつ、Real-time PCR 法で不検出であった検体が鼻咽頭吸引液で 2 検体報告されている。Neske らと比較しサンプル数は少ないものの、このような検体は本法では認められなかったことから、呼吸器系サンプルを対象とした場合、本法の検出感度が若干ではあるが高いものと思われた。

本研究で構築した Real-time PCR 法は、従来の Conventional PCR 法と比較して PCR 反応後の電気泳動や PCR 産物のシーケンス解析が不要であることから、簡便で迅速に、かつ高感度に HBoV 遺伝子の検出と定量が可能である。従って、地域における流行状況調査の他、急性呼吸器感染症の集団発生時における疫学調査にも応用可能であることが考えられた。

また、呼吸器系ウイルスの遺伝子検索を実施した際に、HBoV を含む複数のウイルスが同一検体から検出されることが多く^{4), 6), 7)}、このことは急性呼吸器系ウイルス感染症の遺伝子検査には網羅的検索が必要であることを示唆しており、今回構築した Real-time PCR 法は、検査効率の向上に貢献できるものと考えられた。

一方、HBoV と他のウイルスが同時に検出された場

合の意義については未だ解明されておらず 2)、今回の臨床検体を用いた検討においても HBoV 遺伝子の単独検出と他の急性呼吸器ウイルスとの共検出における HBoV のウイルス量の関連性については明らかにならなかった。HBoV 感染症の病態解明には、さらなる網羅的検索の積み重ねが必要と考えられた。

文 献

- 1) Allander T, Tammi MT, Eriksson M, Bjerkner A, Tiveljung-Lindell A, Andersson B : Cloning of a human parvovirus by molecular screening of respiratory tract samples, Proc Natl Acad Sci, Vol.102 no.36, 2005, pp.12891-12896
- 2) 石黒信久, 遠藤理香 : ヒトボカウイルス感染症, 臨床検査, Vol.53 no.1, 2009, pp.97-104
- 3) 石黒信久, 遠藤理香, 有賀正 : ヒトボカウイルス感染症, モダンメディア, 53 巻 10 号, 2007, pp.259-266
- 4) 西川和佳子, 坂本美砂子 : 千葉市におけるヒトライノウイルス検出状況, 千葉市環境保健研究所年報, 第 24 号, 2017, pp.61-67
- 5) Neske F, Blessing K, Tollmann F, Schubert J, Rethwilm A, Kreth H, Weissbrich B : Real-time PCR for diagnosis of human bocavirus infections and phylogenetic analysis, J Clin Microbiol, Vol.45, 2007, pp.2116-2122
- 6) 田中俊光, 小林圭子, 横井一 : 千葉市内の 1 小児科クリニックにおける重症呼吸器ウイルスの検出状況, 千葉市環境保健研究所年報, 第 18 号, 2011, pp.49-51
- 7) 土井妙子, 水村綾乃, 小林圭子, 横井一 : 千葉市の感染症発生動向調査における急性呼吸器ウイルスの検出状況, 千葉市環境保健研究所年報, 第 20 号, 2013, pp.49-52

千葉市の水域における有機フッ素化合物調査 (第 10 報)

鈴木 瑞穂、設楽 夕莉菜、坂元 宏成

(環境保健研究所 環境科学課)

要 旨 本研究所では有機フッ素化合物 (PFCs) の調査を 2008 年度から 10 年間行っており、本年度も市内 5 地点において PFCs12 種について実態調査を行った。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) については、一部地点で比較的高濃度であり、PFOS は 0.2~11 ng/L、PFOA は 2.2~59 ng/L であった。PFOS は 2010 年度に八千代芦太で高い値が検出されたが、それ以降は低濃度で推移している。PFOA についても 2010 年度に汐留で高い値が検出されたが、それ以降は低濃度で推移している。しかし、六方では近年 PFOA が上昇傾向である。

Key Words : PFCs, 実態調査

1. はじめに

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) をはじめとする有機フッ素化合物 (PFCs) は、フッ素樹脂製造時の補助剤、撥水・撥油剤、泡消火剤として広く利用されているが、その難分解性と生物への蓄積性¹⁾が懸念されている。日本では、2002 年には PFOS 及び PFOA が化審法の第 2 種監視化学物質に指定され、さらに 2010 年 4 月には PFOS 及びその塩並びにペルフルオロオクタンスルホン酸フルオリド (PFOSA) が第 1 種特定化学物質に指定され、製造、輸入及び使用が禁止もしくは制限されることとなった。

毒性については、肝及び腎毒性、発達毒性が指摘されており、米国環境保護庁 (EPA) では、これまで飲料水の暫定健康勧告値を PFOS: 200 ng/L、PFOA: 400 ng/L としていたが、2016 年になり、最新の知見に基づき生涯曝露を想定した、新たな健康勧告値 (PFOS 及び PFOA の合計濃度で 70 ng/L) を公表している。

そのような中、本研究所では、2008 年度から PFCs の調査を行っており、本年度も 12 種の PFCs について、市内 5 地点で夏季、冬季に実態調査を行ったので報告する。また、10 年間の調査結果についてもとりまとめたので併せて報告する。

2. 方法

2.1 対象物質

対象物質は、Wellington Laboratories 社製混合標準溶液 PFAC-MXB に含まれる PFOA を含むペルフルオロカルボン酸類 (PFCAs) 13 物質、PFOS を含むペルフルオロアルキルスルホン酸類 (PFASs) 4 物質の計 17 物質のうち、一定程度感度が得られた 12 物質とした (表 1)。

2.2 測定地点および試料採取日

測定地点を図 1 に示す。本市の主要河川である鹿島川から下泉、葭川から源町 407 番地地先と六方、花見川から汐留と八千代芦太の 5 地点を測定地点として選び、夏季 (2017 年 8 月 14 日) および冬季 (2018 年 3 月 5 日) に試料の採取を行った (以下「源町 407 番地地先」を「動物公園」と表記する)。

2.3 試薬及び器具

リン酸、酢酸アンモニウムは特級 (和光純薬製)、メタノール、アセトニトリルは LC/MS 用 (和光純薬製) を用いた。純水はミリポア社製超純水製造装置により精製した水を使用した。前処理は、日本ウォーターズ社製固相抽出装置を使用し、固相カートリッジは、Waters 社製 Oasis Wax Plus (225 mg) を用いた。



図1 測定地点

2.4 標準液

標準原液は混合標準溶液 PFAC-MXB 17種(各 2 µg/mL メタノール溶液)に内標準物質としてラベル化体混合液 MPFAC-MXA 9種(2 µg/mL メタノール溶液)を混合し、内標準物質が 2 µg/L となるように 70% メタノール/水混液で希釈定容し、0.02 から 100 µg/L までの検量線用標準液を作成した。

2.5 試料の前処理

千葉県環境研究センターの方法^{2),3)}を参考にし、下記のとおり前処理を行った。

採取した試料 1000 mL をリン酸(1+4)で pH3 に調整後、内標準物質を添加し、固相カートリッジに 10 mL/min で通液した。全量通液後、試料容器を純水及び 70%メタノール水溶液で洗浄し、それぞれこの洗浄液を固相カートリッジに通液した。この固相カートリッジを 1500 rpm で 10 分間遠心分離した後、10 分間窒素吹付けを行い、乾燥させた。その後、1%アンモニア/メタノール溶液 5 mL を通して溶出させ、これを窒素吹付けにより 0.2 mL まで濃縮した後、90%メタノール水溶液を加え 1 mL とし、試験溶液とした。

2.6 測定装置及び測定条件

測定装置は Waters Quattro Micro API を、分離カラムは Waters 社製 Atlantis T3 (3 µm, 2.1×150 mm) を使用し、10 mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルでグラジエント分析を行った。測定条件は第 5 報に準じた。

3. 結果および考察

3.1 実態調査結果

今回の調査結果を表 2 に示す。また、経年変化を図 2

に示す。

鹿島川では、例年と同様、他の調査地点と比較して全ての物質について低濃度の傾向があり、濃度は概ね横ばいであった。

葎川では動物公園で、例年 PFPeA 及び PFHxA が他の調査地点と比較して高濃度の傾向にあるが、今回も夏季調査でそれぞれ 14 ng/L 及び 11 ng/L と高い値であった。また、2015 年度から 2016 年度に 5.0~27 ng/L と比較的高い PFOS が検出されているが、今回の調査では 7.9 ng/L、11 ng/L と若干の低下が見られた。同じく葎川の六方では、例年他の調査地点と比較して PFOA が高濃度であり、近年上昇傾向にある。今回の夏季調査では、過去最高濃度である 59 ng/L が検出された。

PFOS 及び PFOA については、2008 年度から継続して調査を行っているが、PFOS よりも PFOA のほうが高濃度の傾向がある。PFOS では 2010 年度に八千代芦太で 180 ng/L と高濃度で検出されたが、それ以降は低濃度で推移している。PFOA では、2010 年度に汐留で 130 ng/L と高濃度で検出されたが、以降汐留については低濃度で推移している。しかし、PFOA は PFOS よりも濃度の変動が大きく、六方では濃度が上昇傾向である。

表 2 調査結果

化合物名	採水日：2017.8.14 (ng/L)				
	鹿島川	葎川		花見川	
	下泉	動物公園	六方	汐留	八千代芦太
PFBA	4.4	5.8	5.7	2.1	6.9
PFPeA	2.2	14	2.4	1.2	4.4
PFHxA	4.9	11	3.9	1.6	5.3
PFHpA	2.3	3.2	6.9	1.4	6.1
PFOA	6.7	16	59	2.2	5.2
PFNA	0.7	2.6	7.9	1.2	3.5
PFDA	0.1	0.8	0.0	0.3	1.4
PFUdA	<0.1	1.2	0.2	0.1	0.9
PFBS	0.5	2.3	0.6	0.5	0.6
PFHxS	0.5	10	2.2	0.2	1.0
PFOS	0.2	7.9	0.9	0.7	3.3
PFDS	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

化合物名	採水日：2018.3.5 (ng/L)				
	鹿島川	葎川		花見川	
	下泉	動物公園	六方	汐留	八千代芦太
PFBA	3.7	3.0	3.3	6.3	4.1
PFPeA	2.3	3.1	1.4	2.8	2.1
PFHxA	3.5	3.3	2.6	6.8	4.8
PFHpA	1.9	2.4	3.4	3.7	2.5
PFOA	7.3	15	40	11	5.9
PFNA	1.0	3.6	4.4	4.2	3.9
PFDA	<0.4	<0.4	<0.4	1.2	0.7
PFUdA	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4	<0.4
PFBS	0.6	0.8	0.5	0.9	0.6
PFHxS	0.6	5.7	1.4	0.4	0.9
PFOS	0.3	11	0.5	3.3	2.0
PFDS	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1	<0.1

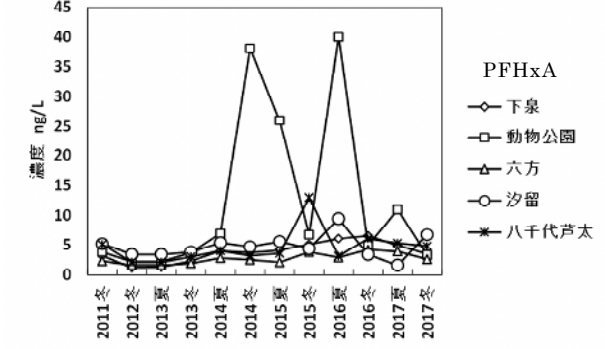
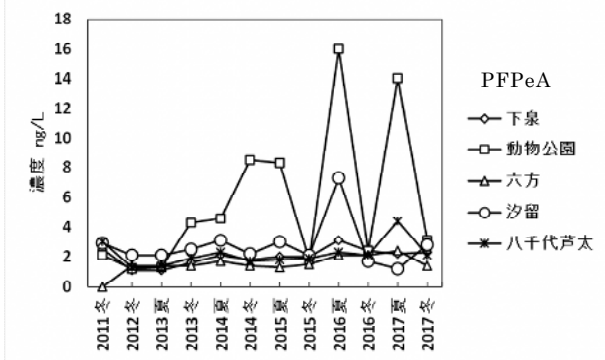
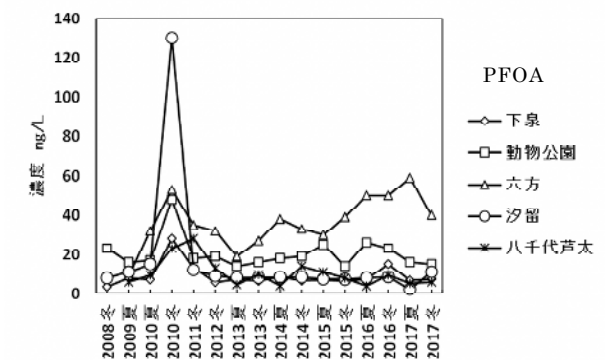
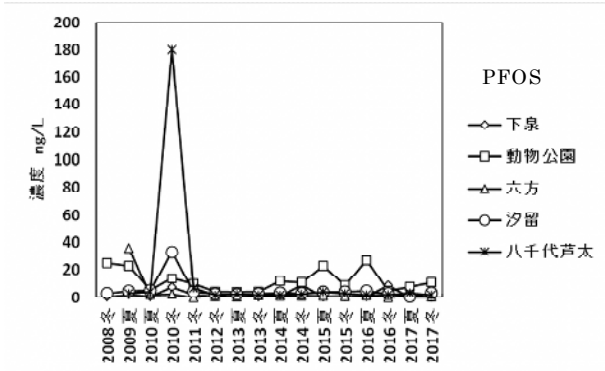


図2 経年変化

3.2 考察

2017年度は、PFOAは一部の調査地点で上昇傾向にあり、2.2～59 ng/Lであった。また、PFOSについては概ね横ばいであり、0.2～11 ng/Lであった。今回の調査では、すべての地点でEPAの飲料水の暫定健康勧告値であるPFOS及びPFOAの合計濃度で70 ng/Lを

満たしている。しかし、国内河川のPFOS及びPFOA濃度の実態調査としてSaito⁴⁾らが報告している関東地方の河川14か所の幾何平均値は、PFOSで3.69 ng/L、PFOAで2.84 ng/Lであり、PFOSでは動物公園で、PFOAではすべての地点でこの値を超過している。

近年六方のPFOAが上昇傾向であるが、発生源等は確認されておらず、今後も監視していく必要があると考えられる。また、今回の5地点以外は汚染状況が不明であることから、市内全域で河川水の調査を行い、実態を確認する予定である。

文献

- 1) J. P. Giesy, K. Kannan: Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in wildlife, *Environ. Sci. Technol.*, 35: 2001, 1339-1342.
- 2) 栗原正憲ら「海水中PFCSの前処理、測定条件の検討」: 千葉県環境研究センター年報、8号: 2010, 185-192
- 3) 清水明ら「千葉県港湾部における有機フッ素化合物の実態」: 千葉県環境研究センター年報、8号: 2010, 193-198
- 4) N. Saito, K. Harada, K. Inoue, K. Sasaki, T. Yoshinaga, A. Koizumi: Perfluorooctanoate and Perfluorooctane Sulfonate Concentrations in Surface Water in Japan, *J. Occup. Health.*, 46: 2004, 49-59

マイナーな血清群 (O113、O156 及び O55) の腸管出血性大腸菌が分離同定された事例

北橋 智子、鈴木 信一、篠田 亮子、東尾 裕江、大木 旬子

三枝 真奈美、横井 一、山本 一重

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 マイナーな血清群の腸管出血性大腸菌 (EHEC) を分離同定した事例を経験した。事例 1 では、クロモアガーSTEC の選択性の強さを利用することにより、牛肉から EHEC O113 を分離同定することができた。事例 2 では、検体の増菌培養液 0.1mL をクロモアガーSTEC にコンラージすることにより、EHEC O156 を分離同定することができた。事例 3 では、分離過程の EHEC が CT-SMAC に発育したこと及び生菌が EHEC O157 血清と交差反応を示したことにより、EHEC O55 を分離同定することができた。

なお、これらの事例では、コロニーのスクリーニングとして、LAMP 法による VT 遺伝子の検出を優先させたことから、マイナーな血清群の EHEC の分離同定に繋がったものと考えられた。

Key Words : クロモアガーSTEC, O113, O156, O55

1. はじめに

2017 年度は全国的に腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症の発生が多い年であった。本市では、厚生労働省通知¹⁾に準じて EHEC の分離同定を行っている。本法は、主要 6 血清群 (O26、O103、O111、O121、O145 及び O157) を対象とした検査法であり、これら以外の血清群に対する効率的な検査法は示されていない。

そこで、主要 6 血清群以外のマイナーな血清群の EHEC を効率的に分離同定する際の補助とするため、主要な EHEC に対するクロモアガーSTEC の鑑別性能に着目してマイナーな血清群 (O113、O156 及び O55) の EHEC を分離同定した 3 事例の概要を報告する。

2. 事例 1 【EHEC O113】

2.1 検体の情報

- ①受付日 : 2017 年 6 月 20 日
- ②検 体 : 食品 (牛肉)
- ③検査目的 : 収去食品検査

2.2 方法と結果

分離同定までの検査フローを図 1 に示した。検体 25g に mEC 培地 (関東化学) 225mL を添加し、ストマッキング後、42℃で 22 時間増菌培養した。この増菌液からベロ毒素 (VT) 遺伝子の検出を LAMP 法 (栄研化学) により行った。VT 遺伝子陽性の増菌液を、主要 6 血清群 (O26、O103、O111、O121、O145 及び O157) の免疫磁気ビーズにより濃縮後、それぞれを DHL (栄研化学)、クロモアガー O157TAM (O157TAM、CHROMagar 社)、CT-SMAC (OXOID) 及びクロモアガーSTEC (クロモ STEC、CHROMagar 社) の平板培地 4 種類に塗抹し、37℃で 20 時間培養した。その結果、各平板培地のコロニーは数個であり、主要 6 血清群に対する生菌の試し凝集試験は全ての平板培地で陰性であった。

これと並行して、増菌液の直接塗抹法を実施した結果、各平板培地のコロニーは、約 30~約 100 個であった。4 種類の平板培地のコロニー計 30 個 (主にクロモ STEC 上の藤色コロニー及び CT-SMAC 上の白色コロ

ニー) を 5 個ずつまとめて DNA をアルカリ抽出し、VT 遺伝子を LAMP 法により確認した。VT 遺伝子陽性の DNA 抽出液については、再度、個々のコロニーに戻って、VT 遺伝子の確認を行い、遺伝子陽性のコロニーに対して、VT 産生性試験、生化学性状の確認及び血清型別を実施し、最終的に EHEC O113:H- (VT2) と同定した。なお、VT 遺伝子陽性のコロニーはクロモ STEC のみに認められた。(表 1)

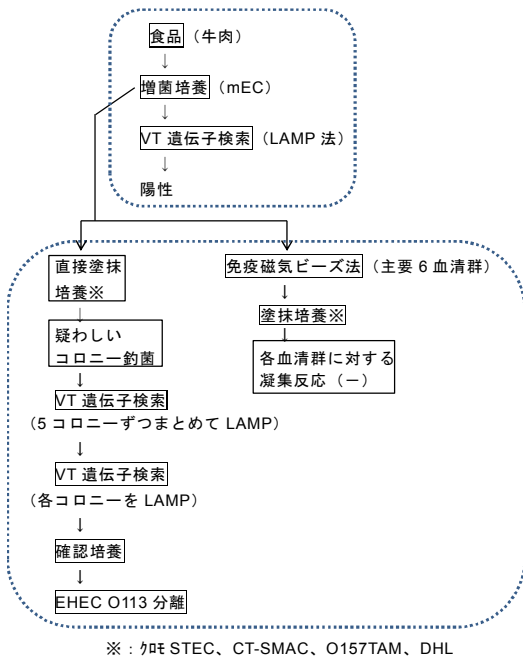


図 1 事例 1 の検査フロー

表 1 事例 1 平板培地上のコロニーに対する VT 遺伝子検索の結果

培地	発育したコロニー数	釣菌したコロニー数	VT 遺伝子陽性コロニー数
ｸﾛﾓ STEC	約 30	15	10
CT-SMAC	約 30	7	0
O157TAM	約 100	4	0
DHL	約 100	4	0

2.3 考察

クロモ STEC 上で EHEC O113 が発育し、EHEC に特徴的な藤色のコロニーを形成したこと及び LAMP 法による VT 遺伝子の検出をスクリーニングとして優先させたことから、分離同定が可能となった事例であった。

3. 事例 2 【EHEC O156】

3.1 検体の情報

①受付日 : 2017 年 7 月 21 日

②検体 : 便

③検査目的 : 接触者検便

(患者から EHEC O103 を分離同定)

3.2 方法と結果

分離同定までの検査フローを図 2 に示した。患者から分離された EHEC O103 の確認を優先して検査を開始した。便を事例 1 と同様の 4 種類の平板培地に直接塗抹し 37°C で 18 時間培養すると並行して、ノボピオシン加 mEC 培地 (N-mEC、極東製薬工業) を用いて 42°C で 20~22 時間増菌培養した。直接塗抹した培地上の疑わしいコロニーについて O103 血清に対する生菌の試し凝集試験を行ったが全て陰性であった。

一方、増菌培養については VT 遺伝子の検出を LAMP 法により行ったところ VT 遺伝子陽性であったため、免疫磁気ビーズ O103 により濃縮後、事例 1 と同様に 4 種類の平板培地に塗抹し、37°C で 18~20 時間培養した結果、クロモ STEC にコロニーの発育はなかった。他 3 種類の平板培地上のコロニーについて O103 血清に対する生菌の試し凝集試験を行ったが全て陰性であった。

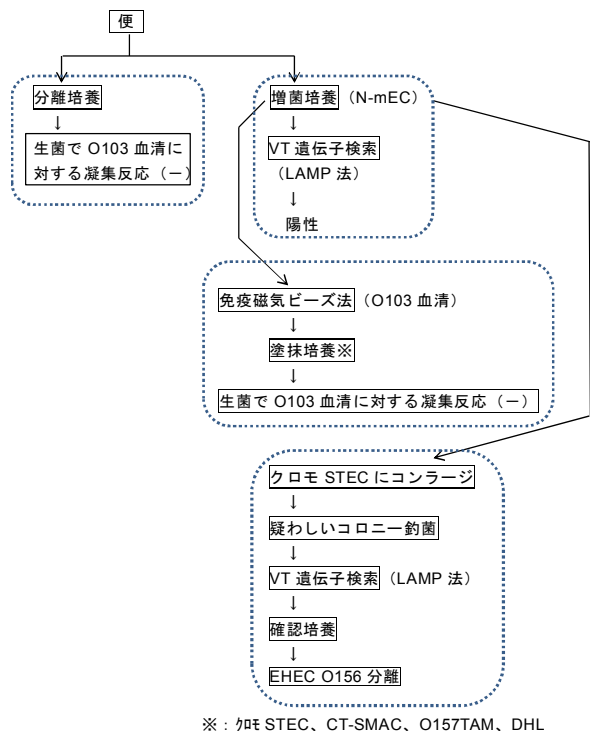


図 2 事例 2 の検査フロー

そこで、増菌液 0.1mL をクロモ STEC にコンラージし 37°C で 18~20 時間培養したところ、約 20 個の藤色コロニーが認められた (表 2)。コロニーを 5 個ずつまとめ、VT 遺伝子を LAMP 法により確認し、VT 遺伝子陽性の場合、再度、個々のコロニーに戻って、VT 遺

伝子の確認を行った（表 2）。遺伝子陽性のコロニーに対して、VT 産生性試験、生化学性状の確認及び血清型別を実施し、最終的に EHEC O156:H25 (VT1) と同定した。

表 2 事例 2 分離法の違いによるコロニー数

増菌液	加糖 STEC	CT-SMAC	O157TAM	DHL
O103 ビーズによる濃縮	0	2	約 10	約 10
直接コンラージ	約 20 (8/10)※	NT	NT	NT

※：(VT 遺伝子陽性コロニー数/釣菌したコロニー数)、 NT：実施せず

3.3 考察

増菌液 0.1mL をクロモ STEC にコンラージしたことによって、EHEC O156 が培地上に藤色のコロニーを形成したこと及びコロニーのスクリーニングとして生菌の試し凝集ではなく VT 遺伝子の検出を優先させたことにより、EHEC O156 を分離同定することができた事例であった。マイナーな血清群の EHEC がクロモ STEC に発育し、且つクロモ STEC が増菌液中に存在する夾雑細菌の発育を抑制する場合は、クロモ STEC に増菌液 0.1mL をコンラージすることにより、エーゼの 10 倍量塗抹できるため、目的の EHEC を分離できる可能性が高まるものと考えられた。

4. 事例 3 【EHEC O55】

4.1 検体の情報

①受付日：2017 年 8 月 14 日

②検体：便

③検査目的：接触者検便

(患者から EHEC O157 を分離同定)

4.2 方法と結果

患者から分離された EHEC O157 の確認を優先して検査を開始した。事例 2 と同様に便の増菌培養後、VT 遺伝子の検出を行った。VT 遺伝子陽性の増菌液を CT-SMAC と O157TAM に塗抹すると同時に、増菌液 0.1mL をクロモ STEC にコンラージし、37°C で 18～20 時間培養した。その結果、クロモ STEC では紺色の菌が一面に発育し、釣菌は不可能であった。O157TAM では EHEC O157 を疑う藤色のコロニーは認められなかった。

CT-SMAC では白色コロニーについて、O157 血清に対する生菌の試し凝集試験を行うとともに、VT 遺伝子を LAMP 法により確認した。その結果、両者が陽性であったため、VT 産生性試験、生化学性状の確認及び血清型別を実施し検査を進めたが、EHEC O157 ではなく、EHEC O55:HUT (VT1) と同定された。

以上の結果から、EHEC O157 と EHEC O55 の重複

感染を疑い、増菌液を免疫磁気ビーズ O157 で濃縮したが、EHEC O157 を分離同定することはできなかった。なお、分離同定された EHEC O55:HUT (VT1) を CT-SMAC により 37°C で 18～20 時間培養したが、コロニーの発育は殆ど認められず、さらに培養を継続した結果、少数の赤色コロニーの発育が認められた(表 3)。

表 3 事例 3 EHEC O55 の性状変化

	CT-SMAC		O157 血清に対する凝集	
	発育状況	コロニーの色	生菌	死菌
分離過程	発育	無色	+	NT
分離後	ほとんど発育せず	赤	+	-

NT：実施せず

4.3 考察

EHEC O55 の分離同定で、クロモ STEC は利用できなかったが、免疫磁気ビーズを使用しなかったこと、分離過程の EHEC O55 が CT-SMAC に発育したこと及び EHEC O55 の生菌が O157 血清に凝集したことから、分離同定できた事例である。EHEC O157 は EHEC O55 から派生したと言われており、両者の O 抗原遺伝子は相同性が高いことが報告されている²⁾。このことから、O 抗原の抗原性も類似していると考えられ、O157 血清に対する凝集反応において交差反応を示したと考えられた。なお、分離過程の EHEC O55 は CT-SMAC に白色コロニーとして発育したものの、分離後の EHEC O55 は CT-SMAC に殆ど発育せず、時間の経過とともに極小の赤色コロニーとして僅かに発育したことから、分離培養の過程で EHEC O55 の性状が変化したことが示唆された。その理由の 1 つとして、亜テルル酸塩の耐性に関与するとされている *terA* がプラスミドにも存在し^{3,4)}、分離過程でプラスミドが脱落したことにより、CT-SMAC 感受性に性状が変化した可能性が考えられた。

5. まとめ

マイナーな血清群の EHEC については、増菌液の VT 遺伝子が陽性であるにもかかわらず、菌株として分離同定できないことがある。EHEC の分離同定の成否は、検査法の選択、時間、労力及び経費に左右される。接触者検便では、患者から分離された EHEC と同じ血清群に焦点を絞って検査を進めることが一般的である。患者と接触者から分離された EHEC が同じ血清群であれば、免疫磁気ビーズによる濃縮及び生菌の試し凝集試験によるスクリーニングは、極めて効率的な方法である。しかし、事例 2 や 3 のように患者から分離された EHEC と接触者から分離された EHEC の血清群が

異なるケースには利用できないため、前述の通知¹⁾に準じた主要な血清群の分離ができない場合は、多数のコロニーについて VT 遺伝子を迅速にスクリーニングできる LAMP 法が有効であると考えられる。

クロモ STEC は主要血清群のみならずマイナーな血清群の EHEC の分離にも有効であることが報告されている^{5,6)}。今回の事例においてもマイナーな血清群の EHEC に対するクロモ STEC の有用性が示され、クロモ STEC に増菌液 0.1mL をコンラージすることによって、更にマイナーな血清群の EHEC の分離率が向上するものと思われた。しかし、事例 3 EHEC O55 のようにクロモ STEC によって発育が抑制されるマイナーな血清群の EHEC の存在にも留意すべきである。

文 献

- 1) 厚生労働省，腸管出血性大腸菌 O26、O103、O111、O121、O145 及び O157 の検査法について．平成 26 年 11 月 20 日，食安監発 1120 第 1 号
- 2) Iguchi Atsushi, Iyoda Sunao, Kikuchi Taisei *et al.* : A complete view of the genetic diversity of the *Escherichia coli* O-antigen biosynthesis gene cluster. DNA Research. 22(1), 101-107, 2015
- 3) Whelan, K. F., Collieran, E. Taylor, D. E. : Phage inhibition, colicin resistance, and tellurite resistance are encoded by a single cluster of genes on the *IncHI2* plasmid R478. J. Bacteriol., 177, 5016-5027, 1995.
- 4) 秋吉充子，中村寛海，伊豫田淳 他：さまざまな O 血清群に属する志賀毒素産生性大腸菌の市販選択培地上での生育特性．日本食品微生物学会雑誌，32(4)，192-198，2015
- 5) 角屋勇気，梅沢政功，山崎恒 他：3 種類の腸管出血性大腸菌分離用発色基質培地の基礎的検討とクロモアガー STEC の有用性．日本臨床微生物学雑誌，22(3)，231-238，2012
- 6) 青木日出美，茂谷美和，山崎貢 他：酵素基質培地 CHROMagar STEC における志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) の発育性および亜テルル酸カリウム感受性の検討．日本臨床微生物学雑誌，25(2)，117-124，2015

千葉市におけるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況

東尾 裕江、鈴木 信一、吉原 純子、篠田 亮子、北橋 智子
三枝 真奈美、横井 一、山本 一重

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 2017年4月から2018年7月までの期間に、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) として当所に搬入された16株について、PCR法による薬剤耐性遺伝子の検索とディスク法によるβ-ラクタマーゼ産生性の確認を行った。CREの菌種は、*Enterobacter cloacae*が12株、*Enterobacter aerogenes*が4株であった。CRE16株のうち、*E.cloacae*10株(62.5%)がカルバペネマーゼ (IMP型メタロβ-ラクタマーゼ) 遺伝子を保有するカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) であり、残りの*E.cloacae*2株は、EBC型AmpCβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有するカルバペネマーゼ非産生菌であった。一方、*E.aerogenes*4株は、検索対象としたAmpCβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有しないカルバペネマーゼ非産生菌であった。

Key Words : カルバペネム耐性, CRE, カルバペネマーゼ, CPE

1. はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant Enterobacteriaceae : CRE) 感染症は、2014年9月19日から感染症法に基づき、医療機関で発生した全例について保健所への届出が義務付けられている五類全数届出疾病である。平成29年3月28日付け厚生労働省通知¹⁾ (以下、通知) において、届出があった株は地方衛生研究所でβ-ラクタマーゼ遺伝子の検出と阻害剤を用いたβ-ラクタマーゼ産生性の確認をすることとなった。

カルバペネム耐性のメカニズムは、カルバペネム分解酵素 (カルバペネマーゼ) の関与や細胞膜透過性の低下などが挙げられる。カルバペネマーゼはβ-ラクタマーゼの一つであるが、カルバペネム系薬剤の分解能が高く、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (carbapenemase-producing Enterobacteriaceae : CPE) は、それ自体が広域β-ラクタム剤に汎耐性を示し、他の複数の系統の薬剤にも耐性を示すことが多い²⁾。カルバペネマーゼ遺伝子は別の耐性遺伝子と共にプラスミド上に存在することが多い³⁾ことから、プラスミドの伝達による新たなCPEの出現や院内感染への関与⁴⁾が報告されている。このことから、搬入され

たCREがCPEであるか否かを確認することが重要となる³⁾。

そこで今回、2017年4月から2018年7月の間に当所に搬入されたCREについて、β-ラクタマーゼ遺伝子の検出とβ-ラクタマーゼ産生性の確認を実施したので、その結果を報告する。

2. 材料と方法

2.1 菌株

2017年4月から2018年7月までに当所に搬入されたCREは16株であった。血液から5株、腹水から4株、尿から2株、その他に臍臓腫瘍、喀痰、褥瘡、膿及び術後のドレーン排液から各1株が分離された。医療機関でCRE判定に用いられた薬剤はメロペネム (MPM) のみ、イミペネム (IPM) とセフメタゾール (CMZ) の組み合わせ、若しくはその両者であった (表1)。

2.2 菌種の同定

BTB培地に純培養後、Api20E (バイオメリュー・ジャパン) を用いて行った。

2.3 薬剤耐性遺伝子の検索

通知¹⁾に示されたカルバペネマーゼ遺伝子 (IMP、

NDM、KPC、OXA-48、VIM、GES、SMB)、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子 (CTX-M、TEM、SHV) 及び AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 (MOX、CIT、DHA、ACC、EBC、FOX) について、国立感染症研究所ホームページに掲載されている病原体検出マニュアル「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症」⁵⁾に従い PCR 法を実施した。

2.4 β-ラクタマーゼ産生性の確認

CRE が産生しているβ-ラクタマーゼの種類を推定するために、通知¹⁾に示されたβ-ラクタマーゼ阻害剤であるメルカプト酢酸 (SMA) 又はアミノフェニルボロン酸 (APB) を用いたディスク法を実施した。前述の病原体検出マニュアル「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症」⁵⁾に従い、阻害剤の存在下で、阻止円径の拡張がみられたものを阻害有り (陽性) とし、SMA によりカルバペネム系薬剤の阻止円が拡張した場合はメタロβ-ラクタマーゼ産生、APB により CMZ の阻止円が 5mm 以上拡張した場合は AmpC β-ラクタマーゼ産生と判定した。なお、メタロβ-ラクタマーゼをコードする遺伝子は、IMP、NDM、VIM 及び SMB の遺伝子型に分類される。

2.5 カルバペネム系薬剤に対する感受性

CRE 16 株の MPM と IPM に対する感受性を確認するため、CLSI のディスク拡散法に準じ、MPM (10µg/ディスク) 及び IPM (10µg/ディスク) に対する阻止円径を測定した。

表 1 CRE の分離由来臨床検体と判定薬剤

No.	菌種	臨床検体	判定に用いた薬剤	
			MPM	IPM+CMZ
1	<i>E.cloacae</i>	血液	+	+
2	<i>E.cloacae</i>	血液	+	NT
3	<i>E.cloacae</i>	血液	+	+
4	<i>E.cloacae</i>	血液	+	NT
5	<i>E.cloacae</i>	腹水	+	NT
6	<i>E.cloacae</i>	腹水	+	NT
7	<i>E.cloacae</i>	腹水	+	+
8	<i>E.cloacae</i>	腹水	+	+
9	<i>E.cloacae</i>	脾臓腫瘍	+	+
10	<i>E.cloacae</i>	尿	+	+
11	<i>E.cloacae</i>	喀痰	+	NT
12	<i>E.cloacae</i>	褥瘡	+	NT
13	<i>E.aerogenes</i>	血液	NT	+
14	<i>E.aerogenes</i>	尿	NT	+
15	<i>E.aerogenes</i>	膿	NT	+
16	<i>E.aerogenes</i>	術後のドレーン排液	NT	+

MPM:メロベナム IPM:イミベナム CMZ:セフメタゾール NT:未実施(不明も含む)

3. 結果

CRE 16 株について、菌種の同定を行った結果、*Enterobacter cloacae* が 12 株、*Enterobacter aerogenes* が 4 株であった。

PCR 法による薬剤耐性遺伝子の検索において、CRE 16 株のうち、*E.cloacae* 10 株 (62.5%) が IMP 型メタロβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有していた。残りの *E.cloacae* 2 株は、IMP 型メタロβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有していなかったが、EBC 型 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子を保有していた。*E.aerogenes* 4 株は、今回、検索対象としたβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有していなかった (表 2)。なお、データとして示していないが、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する CRE は認められなかった。

ディスク法によるβ-ラクタマーゼ産生性の確認において、IMP 型メタロβ-ラクタマーゼ遺伝子を保有する *E.cloacae* 10 株については、SMA による阻害が認められたことから、メタロβ-ラクタマーゼを産生する CPE であることが示された。また、これらの 10 株のうち 2 株については、APB による阻害も認められた。EBC 型 AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子を保有する *E.cloacae* 2 株については、APB による阻害が認められ、AmpC β-ラクタマーゼを産生する CRE であることが示された。一方、β-ラクタマーゼ遺伝子を保有していなかった *E.aerogenes* 4 株については、APB による阻害が認められ、AmpC β-ラクタマーゼを産生する CRE であることが示された (表 2)。

表 2 薬剤耐性遺伝子の検索とβ-ラクタマーゼの産生性

No.	菌種	メタロ-β-ラクタマーゼ		AmpC β-ラクタマーゼ	
		PCR	ディスク法	PCR	ディスク法
1	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
2	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
3	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
4	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
5	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
6	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
7	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
8	<i>E.cloacae</i>	-	-	EBC	+
9	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	+
10	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	-
11	<i>E.cloacae</i>	IMP	+	-	+
12	<i>E.cloacae</i>	-	-	EBC	+
13	<i>E.aerogenes</i>	-	-	-	+
14	<i>E.aerogenes</i>	-	-	-	+
15	<i>E.aerogenes</i>	-	-	-	+
16	<i>E.aerogenes</i>	-	-	-	+

IMP:IMP型メタロβ-ラクタマーゼ EBC:EBC型AmpC β-ラクタマーゼ

カルバペネム系薬剤に対する感受性を確認するため、MPM と IPM に対する阻止円径の測定を実施した。その結果、PCR 法とディスク法により CPE と判定された *E.cloacae* 10 株のうち、9 株は MPM と IPM に対する阻止円径が CRE の届出基準である 22mm 以下であったが、残りの 1 株は MPM と IPM に対する阻止円径が共に 22mm 以上であった。一方、カルバペネマーゼ非産生と判定された *E.cloacae* 2 株のうち、1 株は MPM が 24mm 以上、IPM が 22mm 以下であったが、残り 1 株は MPM と IPM が共に 24mm 以上であった。なお、カルバペネマーゼ非産生と判定された *E.aerogenes* 4 株のうち、3 株は MPM が 24mm 以上、IPM が 22mm 以下であったが、残り 1 株は MPM と IPM が共に 26mm 以上であった。

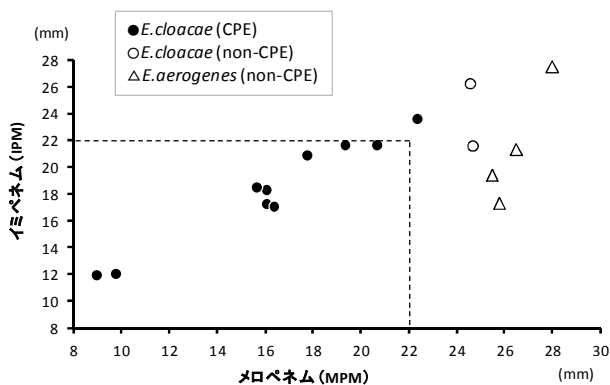


図1 カルバペネム系薬剤に対する阻止円径

4. 考察

PCR 法により薬剤耐性遺伝子を検索した結果、*E.aerogenes* 4 株は β -ラクタマーゼ遺伝子を保有していなかったが、ディスク法により β -ラクタマーゼ産生性を確認した結果、APB による阻害が認められたことから、今回、検索対象としていない AmpC β -ラクタマーゼ遺伝子を保有する可能性があると考えられた。また、PCR 法とディスク法により CRE と判定された *E.cloacae* 10 株のうち、2 株については、ディスク法で APB による阻害も認められた。このことから、*E.aerogenes* と同様に検索対象としていない AmpC β -ラクタマーゼ遺伝子を保有する可能性があると考えられた。

当所に搬入された CRE16 株について、カルバペネム系薬剤 (MPM と IPM) に対する阻止円径を測定した結果、CPE と判定された *E.cloacae* 10 株のうち、1 株については MPM と IPM に対する阻止円径が共に届出

基準の 22mm を超えた。このことから、ディスク法において、CRE の届出基準を満たさない株の中に CPE が存在する可能性が示唆された。MPM に対する阻止円径が 22mm 以下となった CRE は、CPE と判定された *E.cloacae* 9 株のみであった。しかしながら、IPM に対して 22mm 以下となった CRE は、これら 9 株の CPE に加え、カルバペネマーゼ非産生と判定された *E.cloacae* 1 株と *E.aerogenes* 3 株も含まれたことから、CPE の検出には MPM が適していると考えられた。

国内における CRE の約 3 割が CPE であると報告⁶⁾されているが、今回の薬剤耐性遺伝子検索と β -ラクタマーゼ産生性の確認によって、当所に搬入された CRE 16 株において、CPE の占める割合は 62.5% (10 株) と高い傾向が認められたことから、本市において CPE の地域流行が懸念される状況であることが判明した。従って、今後も継続して市内の CRE に対する薬剤耐性遺伝子の保有状況と β -ラクタマーゼの産生性を明らかにし、CPE やカルバペネマーゼ非産生菌の検出状況とカルバペネマーゼ遺伝子型の動向を監視することが、本菌による感染症のまん延を防止する上で重要である。

文献

- 1) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症等に係る試験検査の実施について 健感発 0328 第 4 号 平成 29 年 3 月 28 日
- 2) 病原微生物検出情報 (IASR) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 The Topic of This Month, Vol.35, No.12, 2014, 281-282
- 3) カルバペネムに耐性化傾向を示す腸内細菌科細菌の問題 (2017) 四学会連携提案 平成 29 年 10 月 25 日
- 4) 病原微生物検出情報 (IASR) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌による院内感染事例について Vol.38, No.11, 2017, 229-230
- 5) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌 平成 28 年 12 月改訂版
- 6) 化学療法領域 特集 2 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) Vol.32, No.11, 2016, 66-11

麻しん疑い症例からの発疹性ウイルスの検出状況

坂本 美砂子、西川 和佳子

(環境保健研究所 健康科学課)

要旨 2015～2017年に麻しん疑い症例として163症例443検体の遺伝子検査を実施し、そのうち1症例から麻疹ウイルス（ワクチン由来株）が検出された。一方、麻疹ウイルスが検出されなかった症例のうち、28症例から発疹性ウイルス（風疹ウイルス、ヒトパルボウイルスB19、エンテロウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型、ヒトヘルペスウイルス7型）が検出された。このことから、麻疹ウイルス以外の発疹性ウイルスの紛れ込みを除外できる麻疹ウイルスの遺伝子検査が、麻しんの確定診断に重要であることを再認識した。

Key Words : 麻しん, 遺伝子検査

1. はじめに

麻しんは、麻疹ウイルス（MV）による発熱、発疹、カタル症状を伴う急性呼吸器感染症である。厚生労働省は麻しんに関する「特定感染症予防指針（平成19年12月28日厚生労働省告示第442号）」に基づき、麻しん排除に向けた取り組みを進めた。その結果、麻しんの患者報告数は減少し、12ヶ月間以上にわたりMVの地域的流行株が認められないことから、2015年3月に世界保健機関西大西洋地域麻しん排除認証委員会より、日本は麻しん排除の状態にあると認定され、現在もその状態を維持している¹⁾。

麻しん排除に向けた取り組みの一つとして、地方衛生研究所による麻しんの確定診断が推進された²⁾。本市でも、2010年から麻しんを疑う症例についてMVの遺伝子検査³⁾を実施している。2015年から2017年の3年間では、443検体の検査を実施して1検体からMV（ワクチン由来株）が検出された。一方、MVが検出されなかった症例については、麻しん以外の発熱、発疹を主症状とする発疹性ウイルスによる症例が紛れ込んでいる可能性が考えられた。

そこで、麻しんの診断の一助として、麻しん疑い症例について風しん、伝染性紅斑、突発性発疹および手足口病等の病原体検索を実施したので、その結果を報告する。

2. 麻しん疑い患者の概要

2015年1月から2017年12月に発症し、当所でMV遺伝子検査を実施した麻しん疑い症例は163例（男性80例、女性83例）であった。年齢幅は0～71歳で1歳が最も多く19例、次いで3歳が9例、2歳が8例であり、0～4歳が全体の26.4%（43例）を占めた（図1）。

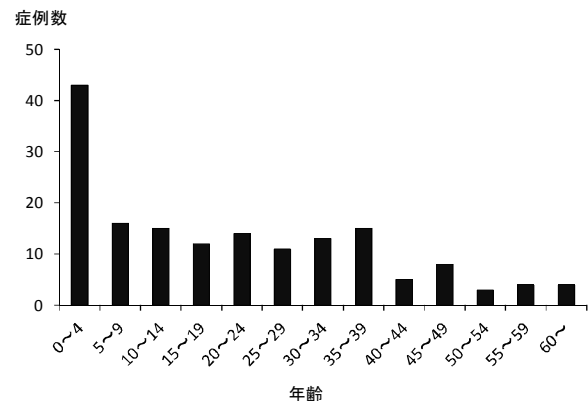


図1 麻しん疑い症例の年齢分布

麻しんワクチンの接種歴は、接種歴ありが89例（54.6%）、接種歴不明が65例（39.9%）、接種歴なしが9例（5.5%）であった（図2）。接種歴ありの内訳は、1回が30例、2回が14例、回数不明が45例であった。

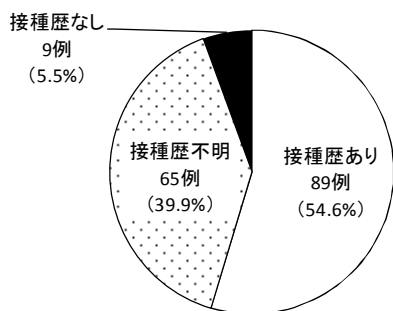


図2 麻疹ん疑い症例のワクチン接種歴

3. 検査材料と方法

3.1 検索対象ウイルス

発疹性ウイルスとして、麻疹の病原体である風疹ウイルス (RV)、伝染性紅斑の病原体であるヒトパルボウイルス B19 (B19)、手足口病等の発疹性疾患の病原体であるエンテロウイルス (EV)、突発性発疹の病原体であるヒトヘルペスウイルス 6 型 (HHV-6) およびヒトヘルペスウイルス 7 型 (HHV-7) を検索対象とした。

3.2 臨床検体

麻疹ん疑い症例 163 例から採取された臨床材料 443 検体 (血液 152 検体、尿 132 検体、咽頭ぬぐい液 159 検体) から発疹性ウイルスの遺伝子検出を実施した。

RV は、443 検体全てについて検査を実施した。B19 および EV は、発症後 7 日以内に採取された咽頭ぬぐい液 138 検体について検査を実施した。HHV-6 および HHV-7 は、突発性発疹の症例が多い 2 歳以下の患者の血液 19 検体 (発症後 7 日以内) を対象とした。なお、血液は 1300rpm、20 分間で遠心分離後、血漿を分取して検体とした。

3.3 ウイルス核酸の抽出

検体 200 μ L から High Pure Viral RNA Kit (Roche 社製) を用いてウイルス核酸を抽出した。ウイルス核酸の一部については DNaseI 処理後、Super Script III (Invitrogen 社製) にて cDNA を作成し、ウイルス遺伝子の検出に供した。

3.4 ウイルス遺伝子の検出

RV⁴⁾については Real-time RT-PCR 法、B19⁵⁾、HHV-6⁶⁾および HHV-7⁶⁾については Real-time PCR 法を実施した。EV⁷⁾については、cDNA を用いた Conventional RT-PCR 法を実施した。なお、Real-time RT-PCR 法で RV が陽性となった検体については、cDNA を用いた Conventional RT-PCR 法を行った。

3.5 シーケンスと塩基配列の解析

Conventional RT-PCR 法で得られた EV および RV の PCR 産物について、ダイレクトシーケンス法により塩基配列を決定した。EV については、得られた VP4/VP2 領域の塩基配列を NCBI-Blast で検索し、既知のウイルス株との相同性を確認した。RV については MEGA6 を使用し、得られた E1 遺伝子の塩基配列 739bp を ClustalW でアライメント後、近隣結合法による系統樹解析を実施して遺伝子型を決定した。

4. 結果

検査を実施した 443 検体のうち 28 検体から発疹性ウイルスが検出された。検出されたウイルスは RV が 1 件、B19 が最多で 11 件、コクサッキーウイルス A9 (CA9) が 3 件、エコーウイルス 7 型 (E7) が 1 件、エコーウイルス 9 型 (E9) が 1 件、HHV-6 が 9 件、HHV-7 が 2 件であった (表 1)。

RV は、咽頭ぬぐい液 1 検体から検出された。患者の年齢は 49 歳であり、遺伝子型は 2B であった。

B19 は、咽頭ぬぐい液 11 検体から検出された。患者の年齢幅は 5~55 歳であった。

EV は咽頭ぬぐい液 5 検体から検出され、CA9 が 3 件、E7 が 1 件、E9 が 1 件であった。患者の年齢幅は 1~44 歳であった。

HHV-6 は血液 9 検体、HHV-7 は血液 2 検体から検出された。患者の年齢幅は 0~1 歳であった。

これらの発疹性ウイルスが検出された 28 例の臨床症状として、発疹が 26 例、発熱が 24 例、コプリック斑が 3 例に認められた (表 1)。

5. 考察

麻疹ん疑い症例から MV 以外の発疹性ウイルス (RV、B19、EV、HHV-6 および HHV-7) が検出されたことから、発疹性ウイルス感染症の紛れ込みが示唆され、麻疹の臨床診断の難しさが改めて示された。

咽頭ぬぐい液からは B19 が最も多く検出され、B19 感染症と麻疹の鑑別診断が困難であることが推察された。HHV-6 および HHV-7 は、1 歳以下の患者 11 例から検出された。血漿中からウイルス遺伝子が検出されたことから、初感染か再活性化のいずれかの状態であると考えられた⁸⁾。一方、同じウイルスが検出された症例でも発熱、発疹以外にさまざまな症状が認められた (表 1)。このことから、発疹性ウイルス感染症の臨床診断が容易ではなく、遺伝子検査による実験室診断は有用であると考えられた。

表 1 麻しん疑い症例における発疹性ウイルスの検出状況

No.	年齢 (歳)	臨床 検体	発症日から の採取期間	臨床症状			ワクチン 接種歴	検出 ウイルス
				発疹	発熱	その他		
1	49	T	0日	+	37.9	咽頭痛、結膜充血	不明	RV
2	5	T	1日	+			1回	B19
3	7	T	2日	+	38.0		2回	B19
4	7	T	5日	+	38.3		2回	B19
5	8	T	5日	+	38.5	鼻汁、結膜充血	2回	B19
6	9	T	2日	+	39.2	鼻汁、咳	2回	B19
7	23	T	4日	+	38.4	鼻汁、咽頭炎、咳	不明	B19
8	32	T	5日	+	37.1	筋肉痛、関節痛、腹痛	不明	B19
9	35	T	1日	+		咳	不明	B19
10	36	T	6日	+	38.0		1回	B19
11	45	T	5日	+	38.0	倦怠感	不明	B19
12	55	T	4日	+	39.0	咳	不明	B19
13	1	T	2日	+	38.5	コプリック斑	1回	CA9
14	7	T	0日		37.0	咽頭痛	1回	CA9
15	44	T	3日	+	39.3	咳、胃痛、軟便	2回	CA9
16	3	T	3日	+	40.8	咽頭痛、咽頭炎、結膜充血、眼脂	1回	E7
17	7	T	5日	+	38.2	鼻閉、咳	2回	E9
18	0	P	5日	+	40.0	鼻汁、咳、眼脂、腸炎	なし	HHV-6
19	0	P	5日	+	37.6	鼻汁	なし	HHV-6
20	1	P	6日	+	40.0	鼻汁、咳	なし	HHV-6
21	1	P	4日	+	38.0	結膜充血	1回	HHV-6
22	1	P	7日	+	40.0	咳、気管支炎、眼脂	1回	HHV-6
23	1	P	5日	+			2回	HHV-6
24	1	P	7日	+		鼻汁	なし	HHV-6
25	1	P	2日	+	38.5	コプリック斑	1回	HHV-6
26	1	P	6日	+	38.5	鼻汁、咳	1回	HHV-6
27	1	P	1日		39.1	咽頭痛、結膜充血、コプリック斑	1回	HHV-7
28	1	P	2日	+	37.3	下痢	1回	HHV-7

T: 咽頭ぬぐい液、P: 血漿

麻しん症例は 2015 年以降、全国で 35~187 例で推移している⁹⁾。また、ワクチンが普及し、発熱、発疹、カタル症状の一部しか示さない修飾麻しんの割合が増加している。麻しん症例の減少とそれに占める修飾麻しんの増加により、麻しんの臨床診断は一層困難になっている。さらに、血清学的診断である麻しん IgM 抗体検査では、発疹性ウイルス感染者が偽陽性になるケースが報告されている⁹⁾。このような状況から、MV 以外の発疹性ウイルスによる症例の紛れ込みを除外できる MV 遺伝子検査が、麻しんの確定診断として重要であることを再認識した。

MV の感染力は強く、現在でも海外の多くの国で流行しており、海外からの MV 持ち込みはこの先も続くことが予想される。また、麻しんあるいは修飾麻しんの発症予防の目安とされるゼラチン粒子凝集 (PA) 抗体価は、1:128 以上であるが、PA 抗体価 1:128 未満の者が全ての年齢層に存在する¹⁰⁾。このため、国内でも輸入症例を起点とした麻しんのアウトブレイクが発生している。これらの MV の由来や伝播状況の解明は、麻しん排除状態の維持に欠かせないものであり、遺伝子検査の重要な役割であると考えられる。

MV 遺伝子検査には、発症後 1 週間以内の適切な時期に採取された検体を使用すること¹¹⁾が重要である。

発症後 8 日以上に採取された検体を用いた遺伝子検査では、麻しん症例であっても MV 陰性になる場合が考えられる。当所でも発症後 8 日以上に採取された検体が 58 検体 (16 症例) あり、これらが麻しん症例であった可能性は否定できない。正確な遺伝子検査のためには、検体を採取する医療機関の協力が不可欠であり、今後も各関係機関と連携し、迅速に麻しん症例を確定し、国内での感染拡大を防止することによって、麻しん排除状態を維持することが重要である。

文 献

- 1) <特集> 麻疹 2018 年 2 月現在, 病原微生物検出情報月報 Vol39, No4, 1-3
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課, 麻しんの診断について, 平成 22 年 11 月 11 日, 健感発 1111 第 2 号
- 3) 田部井由紀子 他: リアルタイム PCR 法による麻しんウイルス検出法の開発, 東京都健康安全研究センター研究年報 第 62 号, 2011, 43-48
- 4) 国立感染症研究所: 風疹 第 3.2 版, 病原体検出マニュアル, 平成 29 年 8 月

- 5) Claudia Aberham et al. : A quantitative, internally controlled real-time PCR Assay for the detection of parvovirus B19 DNA, J Virol Method 92, 2001, 183 - 191
- 6) Kaoru Wada et al. : Multiplex real-time PCR for the simultaneous detection of herpes simplex virus, human herpesvirus 6, and human herpesvirus 7, Microbiol Immunol, 2009, 22 - 29
- 7) 石古博昭 他 : 遺伝子系統解析によるエンテロウイルスの同定, 臨床とウイルス 27, 1999, 283-286
- 8) 国立感染症研究所 : 突発性発疹, 病原体検査マニュアル, 2015
- 9) Wood CR. : False-Positive Results for Immunoglobulin M Serologic Results: Explanations and Examples , J Ped Infect Dis Soc, 2013, 87-90
- 10) 多谷馨子 他 : 麻疹の抗体保有状況 - 平成 29 (2017)年度感染症流行予測事業(暫定結果), 病原微生物検出情報月報 Vol139.No4, 13-14
- 11) 国立感染症研究所 : 麻疹 (第 3.4 版), 病原体検出マニュアル, 平成 29 年

Py-Tag 誘導体化試薬を用いた LC-MS/MS によるヒスタミン測定方法の検討

山口 玲子

(環境保健研究所 健康科学課)

要旨 第一級アミン類と反応する Py-Tag 誘導体化試薬を用いた LC-MS/MS によるヒスタミン測定方法を検討したところ、ダンシルクロライド誘導体化 HPLC 法、又は HILIC 系カラムを用いた LC-MS/MS 法よりも迅速に測定することが可能となった。

Key Words : Py-Tag, ヒスタミン, LC-MS/MS

1. はじめに

ヒスタミン測定についてはこれまでに、トリクロロ酢酸で除蛋白を行い、ダンシルクロライドで誘導体化後 HPLC 測定をする方法¹⁾、除蛋白後に誘導体化を行わず逆相系ポリマーカラムと陽イオン交換カラムで精製し HILIC 系カラムを用いて LC-MS/MS で測定する方法²⁾を報告した。今回は誘導体化試薬として 2,4,6-トリエチル-3,5-ジメチルピリリウムトリフルオロメタンスルホン酸塩 (以下「Py-Tag」という) を使用し、精製等を行わずに LC-MS/MS で測定する方法を検討した。

Py-Tag は、アルカリ条件下で第一級アミン類 (ヒスタミン、プトレシン等) と特異的に反応する質量分析用試薬であり³⁾、誘導体化時間が短く (50°C 15 分)、LC カラムとして、比較的安価で汎用性の高い ODS カラムを使用できるという特徴がある。

2. 試料

食品として鮮魚のブリ、魚加工品としてサバの干物、乳製品としてナチュラルチーズ、酒類として日本産ブドウから作られた赤ワインを試料に供した。

なお、日本産ブドウから作られた赤ワインは、ヒスタミンが検出されないとされているが、今回使用した赤ワインについては、予め検出されないことを確認し使用した。

3. 試薬・試液

ヒスタミン標準原液 (1000ppm) : ヒスタミン二塩酸塩 (関東化学) 41.40mg を水で 25mL に定容した。
200mM Py0 (Py-Tag) 水溶液 (大陽日酸製)
0.05% トリエチルアミン (以下 TEA という)
0.05% TEA90% アセトニトリル

標準液用希釈液 : メタノール 1mL に 0.05% TEA90% アセトニトリルを加えて 200mL とした

0.1% ギ酸溶液

0.1% ギ酸アセトニトリル

試薬は特級あるいは LC-MS 用を使用した。

4. LC-MS/MS 測定条件

測定機器 : Quattro Micro API System (Waters 社製)

LC

カラム : InertSustain C18 (GL サイエンス)
2.1mm×150mm 3μm

カラム温度 : 40°C

流量 : 0.2mL/min

グラジェント条件

移動相 A : 0.1% ギ酸

移動相 B : 0.1% ギ酸アセトニトリル

A:B=98:2 (初期-1 分間ホールド) → 50:50 (7 分-5 分間ホールド) 98:2 (12.1 分-7.9 分間ホールド) 全 20 分

MS/MS

ESI-Positive : MRM モード

イオンソース温度 : 120°C

脱溶媒温度 : 400°C

コーンガス流量 : 50L/h

脱溶媒ガス流量 : 800L/h

コーン電圧 (V) : 17.0

コリジョン電圧 (eV) : 14.0

測定イオン

プレカーサーイオン (m/z) : 286.2

プロダクトイオン (m/z) : 95.1

5. 検量線及び試験溶液調製方法の検討

5.1 誘導体化に用いるアルカリ溶液の検討

Py-Tag は pH9.5 のアルカリ条件下で反応させるとなっているが、アンモニウムイオンと反応する為、アンモニアや酢酸アンモニウムを使用できない。また、今回は検体からヒスタミンを抽出後、精製等を行わずに希釈のみで LC-MS/MS により測定することを目指していたことから、りん酸緩衝液等の不揮発性塩類は使用できない。そこで、アルカリ溶液として 0.05%TEA を使用し、ギ酸で pH を調製して、0.1ppm 標準溶液について誘導体化 (図 1) を 3 施行ずつ行い比較した。

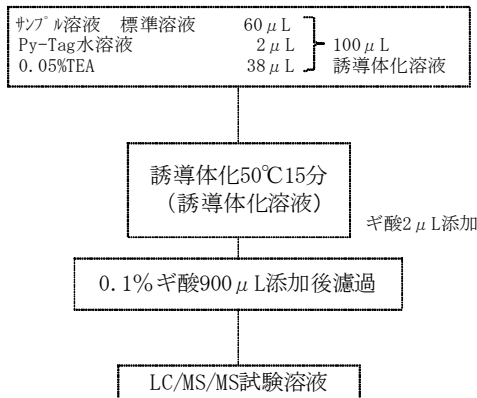


図 1 誘導体化法

0.05%TEA は pH 調製しない場合 pH11.5 となったが、誘導体化の効率が良くばらつきも小さかった。0.05%TEA99mL+0.5%ギ酸 1 mL は pH10.4 となり、ある程度は誘導体化することが出来たが、0.05%TEA と比較して誘導体化効率が悪く、ばらつきも大きかった。また、0.05%TEA をギ酸で調製し pH9.5 にした場合は誘導体化することが出来なかった。これは TEA に緩衝能がないため pH が酸性側に傾いた可能性が示唆された。そこで、pH がよりアルカリ側にあり、誘導体化効率が良かった 0.05%TEA (ギ酸で pH を調製しない) をアルカリ溶液として採用した (表 1)。

表 1 アルカリ溶液の検討

溶液名	面積値			平均	標準偏差	変動計数
	1	2	3			
水	24370	23224	23869	23821	574.51	2.41
0.05%TEA	35137	36243	34007	35129	1118.02	3.18
0.05%TEA99mL +0.5%ギ酸1mL	29554	33885	33752	32397	2463.01	7.60
0.05%TEA (ギ酸でpH調製)	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D	N. D

5.2 検量線直線性の確認

1~0.005µg/mL 標準溶液について誘導体化を行い、検量線の直線性を確認した (図 2)。

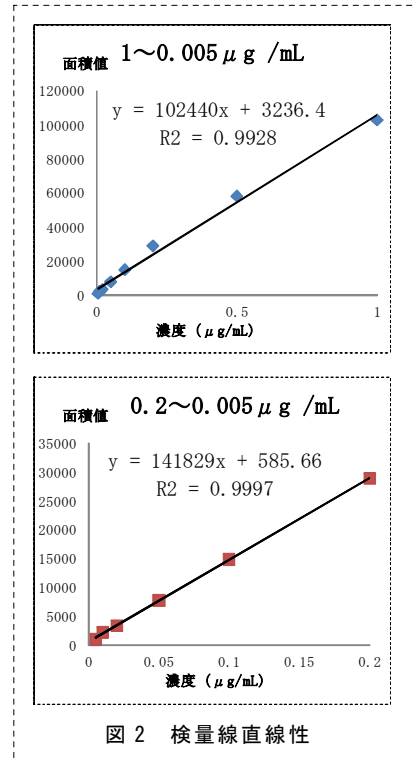


図 2 検量線直線性

0.5µg/mL 以上の濃度では、相関係数 (R²) が 0.995 未満と低くなったことから、検量線の最大濃度は 0.2µg/mL 以下とした (表 2)。また、クロマトグラムの S/N 比から定量限界値を 0.005µg/mL として検量線を作成することとした (図 3)。

表 2 検量線ファクター

検量範囲 (µg/mL)	相関係数 (R ²)	傾き	y切片
1.0~0.005	0.9928	102440	3236
1.0~0.01	0.9932	101535	3871
1.0~0.05	0.9947	98556	6010
0.5~0.005	0.9911	115584	1985
0.5~0.01	0.9913	114318	2430
0.5~0.05	0.9918	109963	4027
0.2~0.005	0.9997	141829	586
0.2~0.01	0.9999	140987	707
0.1~0.005	0.9991	143527	536

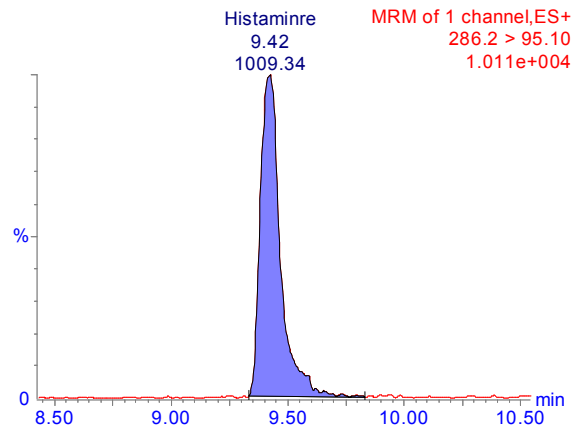


図 3 定量限界値クロマトグラム

5.3 検体抽出液の検討

鮮魚のブリと赤ワインを用いて検体抽出液の検討を行った。鮮魚のブリには0.5%ギ酸、メタノール、アセトニトリルを使用し、赤ワインにはメタノール、水、0.05%TEAを使用した。試験溶液の濃度が0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように添加回収試験を行った。

鮮魚のブリでは、0.5%ギ酸についてはホモジナイズ後に遠心しても溶液が混濁していた為、その後の作業を断念した。アセトニトリルでは添加回収率が21%と低くなった為、メタノールを使用することとした。

赤ワインでは、メタノールの添加回収率が83%となり他の2種の抽出液より低くなった。水と0.05%TEAは95%以上の添加回収率で大差はなかったが、操作性を考えて水を使用することとした(表3)。

表3 検体抽出液の検討

検体名	抽出溶媒	添加回収率 (%)
ブリ	メタノール	96
	アセトニトリル	21
赤ワイン	メタノール	83
	水 0.05%TEA	96 99

5.4 抽出時の洗いこみ回数の検討

食品のホモジナイズ後に行う洗いこみの回数について、鮮魚のブリを用いて試験溶液の濃度が0.05 $\mu\text{g}/\text{mL}$ となるように添加回収試験を行い検討した。洗いこみを行わない場合の添加回収率は72%、洗いこみ1回の場合は87%、洗いこみ2回の場合は88%となった。洗いこみ1回と2回ではほとんど差が見られないことから、洗いこみ回数は1回とした。

6. 試験溶液調製法

以上の結果から、以下のような試験溶液調製法とした(図4, 5)。

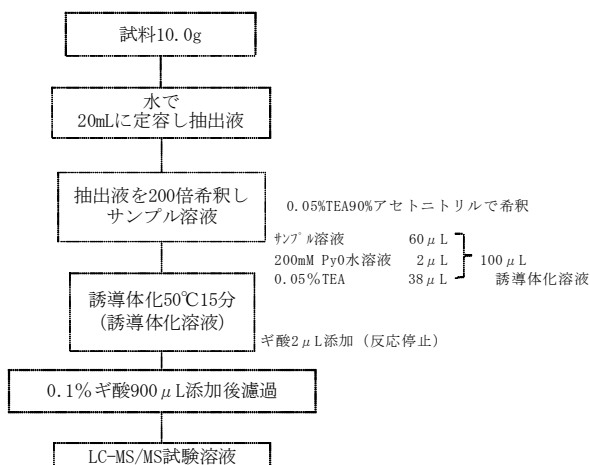


図4 酒類試験溶液調製法

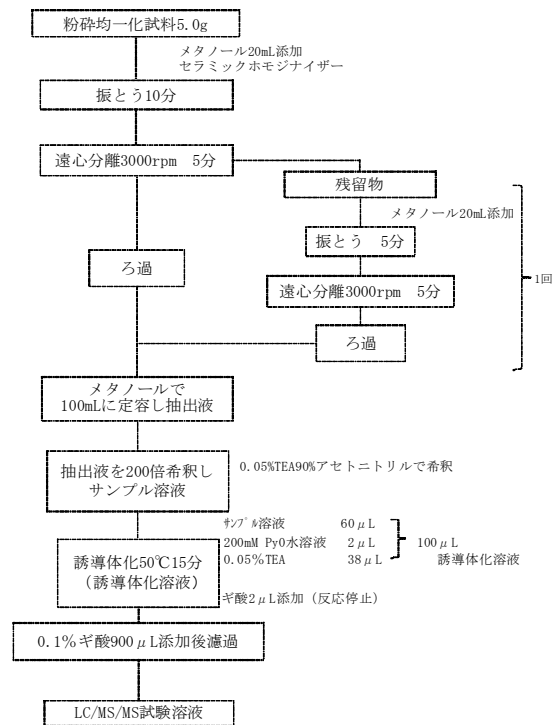


図5 食品試験溶液調整法

7. 試験法の評価

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインを参考にして⁴⁾、食品のブリ及び酒類の赤ワインを用いて妥当性評価を行った。添加濃度はブリ200mg/kg、赤ワイン20mg/kgとし、施行回数は、真度は7回、精度は分析者1名が1日3回5日間分析する枝分かれ実験を行った。なお、今回の測定条件における検量線はヒスタミン濃度0.2~0.01 $\mu\text{g}/\text{mL}$ の範囲で良好な直線性を示した。この場合の定量下限値は食品(ブリ)では40mg/kg、酒類(赤ワイン)では4mg/kgとなる。

8. 結果

真度、精度ともに目標値を達成した(表4)。

表4 評価結果

	結果 (%)		目標値 (%)
	ブリ	赤ワイン	
真度	96	81	70~120
併行精度	1.5	3.6	<10
室内精度	4.0	6.1	<15

また、妥当性評価された試験法を類似の食品に適応する場合として⁴⁾、魚加工品としてサバの干物、乳製品としてナチュラルチーズについて6試行で添加回収試験を行い、真度を確認したところ、サバの干物では96%、ナチュラルチーズでは93%となり、目標値を達成した。

9. 考察

Py-Tag は pH9.5 で反応させることとなっているが、pH11.5 となる 0.05%TEA を用いても安定した反応が得られたことから、緩衝液を使用せずに測定できることが明らかとなった。また、試験法の評価結果は良好であり、食品（鮮魚、魚加工品、乳製品等）及び酒類の試験法として使用することが出来ると考えられる。

迅速性については、セラミックホモジナイザーを使用したこと、誘導体化時間が 15 分でありダンシルクロライド法の 60 分に比べて短いこと、精製作業を行わずに希釈のみで測定可能であること、LC-MS/MS の測定時間が 1 回あたり 20 分であることから、既報¹⁾と比較して、より迅速な結果報告が可能となった。標準作業書を作成し日常検査に役立てて行きたい。

赤ワインの添加回収率が他の食品と比べて 10%以上低いことから、ポリフェノール等の影響が考えられたが、色素を精製することよりも迅速性を優先した。今後、より高い測定精度が必要であれば検討したい。

ヒスタミン以外の不揮発性腐敗アミン類への応用については、Py-Tag と誘導体化物の割合の変化により、誘導体化反応で競合する可能性が高いため、誘導体化溶液の調製方法（Py-Tag の添加量等）を含めて検討する必要がある。また、ヒスタミン以外の不揮発性腐敗アミン類のアレルギー様食中毒への関与については不明な点が多いことから、これらに対する本法の応用については、今後の課題である。

昨今の経済連携協定等の締結状況（ヨーロッパ連合との経済連携協定や環太平洋パートナーシップ協定等）から将来的には発酵食品（チーズ、ワイン、魚醤等）の輸入量は増加することが見込まれる。輸入赤ワインではヒスタミンが検出されることがあり、チーズについても多くの報告例がある⁵⁾。その他の発酵食品についてもヒスタミンが含まれる可能性は否定できないことから、本法を用いた実態調査の必要性について検討して行きたい。

謝 辞

今回の検討に当たり、Py-Tag 誘導体化試薬を提供して頂いた、大陽日酸株式会社メディカル事業本部 SI 事業部 SI イノベーションセンター開発課の池田明夏里様、ならびに、同事業部営業部営業課の村主芳広様に深謝します。

文 献

- 1) 山口玲子, 宮本廣, “不揮発性アミン類分析法の検討” 千葉県環境保健研究所年報 第 18 号 :

2011, pp.56-60.

- 2) 山口玲子, “LC/MS/MS を用いたヒスタミン測定方法の検討” 千葉県環境保健研究所年報 第 24 号 : 2017, pp.74-76.
- 3) 池田明夏里, 寺内勉, 他 “新規誘導体化試薬「Py-Tag」を用いたヒスタミン分析方法の検討” 第 112 回日本食品衛生学会学術講演会講演要旨集 : 2016, pp.76.
- 4) “食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について”, 食安発第 1224 第 1 号, 平成 22 年 12 月 24 日.
- 5) 井部明広, “発酵食品に含まれるアミン類” 東京都健康安全研究センター年報 第 55 号 : 2004, pp.13-22.

農産物の残留農薬検査結果について (2015～2017年度)

山口 玲子

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 千葉市食品衛生監視指導計画に基づき実施した 2015～2017 年度の農産物残留農薬検査では、全 262 検体のうち基準値を上回るものは 2 検体（再収去 1 検体を含む）であり、こまつなから EPN が検出された。また、これ以外に検出された農薬は全て基準値以下であり、2012～2014 年度における 3 年間と傾向は同様であった。

Key Words : 農産物残留農薬

1. はじめに

当所では毎年度策定される千葉市食品衛生監視指導計画の食品等の試験検査計画に基づいて、市内に流通する食品等の試験検査を実施している。このうち残留農薬の試験検査は、市内産の農産物 20～30 検体、地方卸売市場に流通している農産物 30～40 検体、ブランピング野菜 5～10 検体、種実類（加工品）5～10 検体、茶 5 検体、穀類（小麦粉）5 検体（概ね年間 80～90 検体）について実施している。前報¹⁾では 2012～2014 年度の 3 年間の結果を報告したが、今回は 2015～2017 年度の 3 年間に実施した、262 検体の結果について報告する。

2. 方法

2.1 検体数

検体数の内訳を示す（表 1）。

表 1 検体数

分類	品目	検体数
野菜	ブランピング野菜	26
	市内産農産物	82
	地方卸売市場流通農産物	107
種実類	アーモンド	3
	その他のナッツ類	2
	らっかせい	12
穀類	小麦粉	15
茶	茶	15
	合計	262

2.2 検査方法

厚生労働省通知²⁾の GC-MS による農薬等の一斉試験法（農産物）及び、LC-MS による農薬等の一斉試験

法 I（農産物）を一部改良して実施した。

2.3 検査項目

検査項目数は 178 項目であり、のべ 43,855 項目の検査を行った（表 2）。

3. 結果及び考察

3.1 結果概要

全 262 検体のうち基準値を上回るものは 2 検体だった。この検体は地方卸売市場で収去されたこまつなで、初回収去時に基準値超過が疑われた為、再収去した 1 検体と合わせた 2 検体である。検出項目は EPN（殺虫剤）、検出濃度は 1 検体目が 0.3ppm、2 検体目が 0.8ppm、基準値は一律基準値の 0.01ppm である。こまつなの EPN は農薬取締法では適用外農薬³⁾であるため、基準値超過の原因は、農薬散布時に対象作物以外に飛散する「ドリフト」など非意図的な飛散が考えられたが、生産者が他市町村であったため詳細は不明である。

前報¹⁾では基準値を超過した検体はなく、過去 6 年間で初の基準値超過となった。この期間に収去された検体のうち、海外生産野菜を使用したブランピング野菜と、再収去検体を除いた農産物検体数は 462 検体で、規格基準値超過検体の割合は 0.22%となった。厚生労働省がまとめた結果^{4) 5)}では、検査全体（年間検体数は 100 万件以上）に占める基準値超過の割合は 0.002%であり、検査検体数の違いが大きく影響していると考えられた（表 3）。

表 2 検査項目及び検査数

No.	項目名	検査数	No.	項目名	検査数	No.	項目名	検査数
1	BHC(リンデンを除く)	261	60	シフルトリン	261	119	フェンバレート	261
2	DDT	244	61	ジフルベンズロン	188	120	フェンプロナゾール	246
3	EPN	19	62	シプロコナゾール	261	121	フェンプロバトリン	261
4	XMC	244	63	シベルメトリン	244	122	フェンプロビモルフ	244
5	アクリナトリン	261	64	シマジン	261	123	フサライド	261
6	アザコナゾール	246	65	ジメタメトリン	244	124	ブタミホス	261
7	アセタミプリド	231	66	ジメチルビンホス	261	125	ブリメート	261
8	アセトクロール	261	67	ジメトエート	261	126	ブプロフェジン	261
9	アトラジン	215	68	ジメビレート	261	127	フラムプロップメチル	261
10	アメトリン	166	69	シラフルオフェン	244	128	フルアクリピリム	261
11	アルジカルブ	188	70	ダイアジノン	261	129	フルシトリネート	261
12	アルドリン及びディルドリン	115	71	チオベンカルブ	261	130	フルシラゾール	261
13	イサゾホス	261	72	チオメトン	244	131	フルトラニル	215
14	イソキサチオン	261	73	テトラクロルビンホス	261	132	フルトリアホール	261
15	イソフェホス	261	74	テトラジホシ	261	133	フルバリネート	261
16	イソプロカルブ	261	75	テニルクロール	261	134	フルフェノクスロン	188
17	イソプロチオラン	261	76	テプロコナゾール	261	135	フルミオキサジン	261
18	イブジオン	261	77	テブフェノシト	188	136	フルミクロラックベンチル	215
19	イプロバリカルブ	188	78	テブフェンピラド	261	137	プレチラクロール	261
20	イプロベンホス	261	79	テフルトリン	261	138	プロシミドン	261
21	イマザメタベンズメチルエステル	229	80	テフルベンズロン	188	139	プロチオホス	244
22	イミペンコナゾール	234	81	デルタメトリン	261	140	プロバクロール	244
23	エスプロカルブ	261	82	テルブホス	261	141	プロバニル (DCPA)	215
24	エチオン	261	83	トリアジメノール	261	142	プロバルギット (261
25	エディフェンホス	261	84	トリアジメホシ	261	143	プロビコナゾール(合	261
26	エトフメセート	261	85	トリアゾホス	261	144	プロビザミド	261
27	エトプロホス	261	86	トリアレート	244	145	プロフェノホス	261
28	エトリムホス	261	87	トリブホス (DEF)	261	146	プロボキスル	261
29	エンドスルフアン	261	88	トリフロキシストロビン	261	147	プロマシル	261
30	エンドリン	105	89	トルクロホスメチル	261	148	プロメトリン	261
31	オキサジアゾン	261	90	トルフェンピラド	261	149	プロモブチド	261
32	オキサジキシル	261	91	ナプロバミド	261	150	プロモプロビレート	261
33	オキサミル	188	92	ニトロタールイソプロピル	261	151	プロモホスメチル	261
34	オキシフルオルフェン	261	93	ノルフルラゾン	261	152	ヘキサジノン	246
35	カズサホス	261	94	バクロブトラゾール	261	153	ベナラキシル	261
36	カルバリル	188	95	バラチオン	257	154	ベノキサコル	261
37	カルフェントラゾンエチル	261	96	バラチオンメチル	261	155	ヘブタクロール	244
38	カルボフラン	261	97	ハルフェンブロックス	244	156	ベルメトリン	244
39	キナルホス	166	98	ビテルタノール	261	157	ベンダイオカルブ	188
40	キノキシフェン	261	99	ビフェントリン	261	158	ベンディメタリン	261
41	キノクラミン	151	100	ビペロホス	261	159	ベンフルラリン	244
42	キントゼン	227	101	ビラクロホス	261	160	ベンフレセート	261
43	クロマゾン	261	102	ビラゾホス	261	161	ホサロン	261
44	クロルタールジメチル (TCTP)	261	103	ピリダフェンチオン	261	162	ホスチアゼート	261
45	クロルデン	244	104	ピリダベン	261	163	ホスファミドン	246
46	クロルピリホス	261	105	ピリフェノックス	261	164	ホスメット	215
47	クロルピリホスメチル	261	106	ピリプロキシフェン	261	165	ホレート	244
48	クロルフェンビンホス	261	107	ピリミカルブ	188	166	マラチオン	261
49	クロルフルアズロン	188	108	ピリミホスメチル	261	167	マイクロプタニル	246
50	クロルプロファミ	261	109	ピンクロゾリン	261	168	メタラキシル	261
51	クロルベンジレート	261	110	フェナミホス	261	169	メチオカルブ	261
52	シアノホス	261	111	フェナリモル	261	170	メチダチオン	261
53	ジエトフェンカルブ	261	112	フェニトロチオン	261	171	メトキシクロル	261
54	ジクロホップメチル	261	113	フェノチオカルブ	261	172	メトミノストロビン	261
55	ジクロラン	261	114	フェノトリン	244	173	メトラクロール	261
56	ジコホール	214	115	フェノブカルブ	188	174	メフェナセット	261
57	シハロトリン	261	116	フェンスルホチオン	246	175	メブロンル	261
58	ジフェナミド	261	117	フェンチオン	261	176	モノクロトホス	246
59	ジフェノコナゾール	261	118	フェントエート	261	177	ルフェヌロン	188
						178	レナシル	249
							合計	31532

表 3 結果概要

種別	検体数	項目数	検出検体数	検出項目数
野菜	215	36625	47	60
種実類、穀類	32	4980	8	8
茶	15	2250	13	47
合計	262	43855	68	115

3. 2 野菜

3. 2. 1 収去別検出数

前報¹⁾と同様に市内産農産物（農業協同組合から直接収去）より地方卸売市場から収去された検体の検出率が高い結果となった。ブランチング野菜（海外生産の野菜）の検出率及び、野菜全体の検出率は前報¹⁾（ブランチング野菜 20%、野菜全体 23%）とほぼ変わらなかった（表 4）。

表 4 収去別検出数

品目	検体数	検出検体数	検出率 (%)
ブランチング野菜	26	5	19
市内産農産物	82	8	10
地方卸売市場流通農産物	107	34	32
合計	215	47	22

3. 2. 2 品目別検出数

全 35 品目のうち、複数の農薬が検出された検体があり、キャベツ 1 検体は 3 種、きゅうり 1 検体、こまつな 2 検体、はくさい 1 検体、ピーマン 2 検体、ブロッコリー 2 検体、ほうれんそう 2 検体、未成熟えんどう 1 検体はそれぞれ 2 種の農薬が検出された。また、にんじん 1 検体、ブロッコリー 1 検体、未成熟えんどう 1 検体は海外生産野菜を使用したブランチング野菜だった（表 5）。

表 5 品目別検出数

品目	検体数	項目数	検出 検体数	検出 項目数	検体検出率 (%)	項目検出率 (%)
アスパラガス	1	159				
いちご	6	1038	1	1	17	0.1
かぶ	1	177	1	1	100	0.56
かぼちゃ	3	505				
キャベツ	20	3387	3	5	15	0.15
きゅうり	14	2422	5	6	36	0.25
ごぼう	5	872				
こまつな	17	2741	8	10	47	0.36
さつまいも	2	340				
さといも	10	1687				
サラダ菜	3	519				
しゅんぎく	3	522	1	1	33	0.19
すいか	4	692	1	1	25	0.14
だいこん	5	880				
たまねぎ	3	513				
チンゲン菜	3	522				
トマト	9	1584	1	1	11	0.06
なす	4	704	1	1	25	0.14
菜の花	2	322	1	1	50	0.31
日本なし	1	173	1	1	100	0.58
にら	2	342	1	1	50	0.29
にんじん	17	2970	2	2	12	0.07
ねぎ	15	2565	2	2	13	0.08
はくさい	2	346	2	3	100	0.87
ばれいしょ	4	668				
ピーマン	10	1730	5	7	50	0.4
ブロッコリー	8	1311	2	4	25	0.31
ほうれんそう	21	3534	5	7	24	0.20
未成熟いんげん	3	516	1	1	33	0.19
未成熟えんどう	3	477	2	3	67	0.63
らっきょう	3	513				
りんご	1	173				
レタス	6	1038	1	1	17	0.1
れんこん	1	170				
わけねぎ	3	513				
合計	215	36625	47	60	22	0.16

注：空欄は 0

3. 2. 3 品目別検出農薬

農薬が検出された47検体のうち基準値超過の2検体を除いた45検体について、品目別の検出農薬、検出濃度、基準値及びその用途を示す(表6)。なお、使用時期と使用方法については参考³⁾として示した。

なばなのブプロフェジンと、にらのプロチオホスは基準値相当濃度で検出された。なばなは国外生産のブラチング野菜であったため、国内では適用外農薬³⁾

とされているブプロフェジンが検出されたと考えられる。にらは地方卸売市場で取去されたものであった。プロチオホスの作用は持続性が高いとされており土壌に使用されること、にらは土が付着していることが多く農薬の試験検査に供する農産物は基本的には水洗していない事から、残留する可能性は否定できないと考えられる。その他の検体では基準値との比較で、50%以上検出された項目はなかった。

表6 品目別検出農薬

品目	検出検体数	項目名	検出濃度(ppm)	基準値(ppm)	用途	使用時期	使用方法
いちご	1	フルフェノクスロン	0.05	0.5	殺虫剤	前日まで	散布
かぶ	1	ピリミホスメチル	0.01	1.0	殺虫剤	適用無	
キャベツ	3	イプロジオン	0.02	5.0	殺菌剤	7日前まで	散布
		シフルトリン	0.19	2.0	殺虫剤	7日前まで	散布
		トルクロホスメチル	0.14	2.0	殺菌剤	7日前まで	散布
		フェンバレレート	0.03	3.0	殺虫剤	前日まで	散布
		ペルメトリン	0.05	5.0	殺虫剤	3日前まで	散布
きゅうり	5	ジエトフェンカルブ	0.02	5	殺菌剤	前日まで	散布
		ブプロフェジン	0.03	1	殺虫剤	前日まで	散布
		フルフェノクスロン	0.01	0.5	殺虫剤	前日まで	散布
		プロシミドン	0.04、0.07	4	殺菌剤	前日まで	散布
		ホスチアゼート	0.04	0.2	殺線虫剤(土壌)	は種前又は定植前	全面土壌混和
こまつな	6	シベルメトリン	0.04、0.04、0.45	5.0	殺虫剤	前日まで	散布
		テフルトリン	0.01	0.5	殺虫剤	は種前	全面土壌混和
		フルフェノクスロン	0.05、0.22、0.34	10	殺虫剤	7日前まで	散布
		メタラキシル	0.01	1	殺菌剤	21日前まで	全面土壌混和
しゅんぎく	1	プロピザミド	0.1	0.3	除草剤	は種後発芽前 雑草発生前	全面土壌散布
すいか	1	イプロジオン	0.01	10	殺菌剤	前日まで	散布
トマト	1	ブプロフェジン	0.01	1	殺虫剤	前日まで	散布
なす	1	アセタミプリド	0.2	2	殺虫剤	前日まで	散布
なばな	1	ブプロフェジン	0.01	0.01	殺虫剤	適用無	
日本なし	1	フェンプロパトリン	0.2	5	殺虫剤	前日まで	散布
にら	1	プロチオホス	0.1	0.1	殺虫剤	21日前まで	株元かん流
にんじん	2	トリアジメノール	0.03	0.1	殺菌剤	適用無	
		ホスチアゼート	0.01	0.2	殺線虫剤(土壌)	は種前	全面土壌混和
ねぎ	2	イプロジオン	0.01	5.0	殺菌剤	14日前まで	散布
		トルフェンピラド	0.1	5	殺虫剤	3日前まで	散布
はくさい	2	フェンバレレート	0.01	3.0	殺虫剤	前日まで	散布
		ルフェヌロン	0.02、0.03	1	殺虫剤	7日前まで	散布
ピーマン	5	ジフェノコナゾール	0.1	2	殺菌剤	前日まで	散布
		フルフェノクスロン	0.02、0.2	1	殺虫剤	前日まで	散布
		プロシミドン	0.01	5	殺菌剤	前日まで	散布
		ミクロブタニル	0.03、0.08、0.09	1	殺菌剤	前日まで	散布
ブロッコリー	2	シハロトリン	0.02	0.5	殺虫剤	適用無	
		シフルトリン	0.08	2.0	殺虫剤	適用無	
		シベルメトリン	0.02	1.0	殺虫剤	前日まで	散布
		フェンプロパトリン	0.09	3	殺菌剤	適用無	
ほうれんそう	5	テフルトリン	0.02	0.5	殺虫剤	は種時	全面土壌混和
		フェニトロチオン	0.02	0.2	殺虫剤	21日前まで	散布
		フルフェノクスロン	0.02、0.05、0.14、1.8	10	殺虫剤	3日前まで	散布
未成熟いんげん	1	メタラキシル	0.01	2	殺菌剤	は種時	全面土壌混和
		フェニトロチオン	0.05	0.5	殺虫剤	21日前まで	散布
未成熟えんどう	2	アセタミプリド	0.06	2	殺虫剤	前日まで	散布
		ビフェントリン	0.01	0.6	殺虫剤	適用無	
		メタラキシル	0.02	0.2	殺菌剤	は種前	塗抹処理
レタス	1	イプロジオン	0.22	10	殺菌剤	14日前まで	散布

表 7 品目別検体数

品目	検体数	項目数	検出 検体数	検出 項目数	検体検出率 (%)	項目検出率 (%)
アーモンド	3	450	1	1	33	0.22
その他のナッツ類 (カシューナッツ)	2	300				
らっかせい	12	1800	5	5	42	0.28
小麦粉	15	2430	2	2	13	0.08
合計	32	4980	8	8	25	0.16

注：空欄は 0

用途別では、殺虫剤 16 項目、殺菌剤 9 項目、殺線虫剤 1 項目、除草剤 1 項目であった。殺虫剤と殺菌剤の多くは、使用方法が散布で、収穫日の前日～14 日前まで使用可能な項目であった。

適用外農薬³⁾のうち、にんじんのトリアジメノール、ブロッコリーのシハロトリン、未成熟えんどうのピフェントリンは国外生産のブランピング野菜から検出された。このほかの項目については、基準値の設定があるため、以前は適用されていた可能性、あるいはドリフト等も考えられた。

3. 3 種実類、穀類

3. 3. 1 品目別検体数

アーモンド及びその他のナッツ類は全て輸入品であった。らっかせいは 3 検体が中国産、9 検体が千葉県産であり、中国産の 3 検体全てから農薬が検出された。また、穀類は全て海外生産の小麦を原料とした小麦粉であった(表 7)。

3. 3. 2 品目別検出農薬

種実類のうち、アーモンドでは 1 検体からマラチオン、らっかせいでは 4 検体からクロルピリホス、1 検体からマラチオン(ともに殺虫剤)が検出された。検出濃度は 0.01～0.09ppm で、基準値と比較して 50%を超える検体はなかった。その他のナッツ類はカシューナッツで、加工度が高く検体数が少ないため、検出検体はなかった。

小麦粉では 2 検体からフェニトロチオンが検出された。輸入小麦にはポストハーベスト農薬として有機リン系殺虫剤が使われることがあり、残留農薬として検出される例が報告されている⁶⁾(表 8)。

表 8 品目別検出農薬

品目	検出項目	検出濃度 (ppm)	基準値 (ppm)
アーモンド	マラチオン	0.01	8
らっかせい	クロルピリホス	0.02、0.04、 0.06、0.09	0.2
	マラチオン	0.01	8
小麦粉	フェニトロチオン	0.01、0.02	1

3. 4 茶

3. 4. 1 品目別検体数

検体は全て国内生産の緑茶(不発酵茶)茶葉(多くは煎茶)であった。検出検体の全てで複数の農薬が検出され(2～5 種)、検体検出率は 87%、項目検出率は 2.09%であり、前報¹⁾(検体検出率は 100%、項目検出率は 2.29%)と大きな変化はなかった(表 9)。

表 9 品目別検体数

品目	検体数	項目数	検出 検体数	検出 項目数	検体検出率 (%)	項目検出率 (%)
茶	15	2250	13	47	87	2.09

3. 4. 2 品目別検出農薬

検出された農薬は基準値との比較で、50%以上検出された項目はなかった。農薬の使用方法は全て散布、使用時期は摘採 7～60 日前まで³⁾となっている。野菜に比べると散布時期は早い項目が多くなっているが、検出率、検出濃度ともに高くなっており、これは製造工程で成分が濃縮されることが原因と考えられる。基準値が他の品目と比較して高い項目が多いことも、同様の理由であると推察された(表 10)。

表 10 品目別検出農薬

農薬名	検出数	用途	検出濃度 (ppm)	基準値 (ppm)
ジフェノコナゾール	4	殺菌剤	0.06～0.31	15
シラフルオフェン	8	殺虫剤	0.01～0.39	80
テブコナゾール	13	殺菌剤	0.06～1.4	50
テフルトリン	1	殺虫剤	0.03	0.2
トルフェンピラド	8	殺虫剤	0.04～0.43	20
ピフェントリン	1	殺虫剤	0.02	30
ピリプロキシフェン	2	殺虫剤	0.01	15
ピリミホスメチル	3	殺虫剤	0.01～0.02	10
フェンプロバトリン	1	殺虫剤	0.06	25
ブプロフェジン	5	殺虫剤	0.01～0.04	30
プロフェノホス	1	殺虫剤	0.05	5.0

4. おわりに

2015～2017 年度に実施した農産物の残留農薬検査結果について報告した。分析に使用している機器、試薬、検査に供する検体の採取先等は前報¹⁾と変更がないことから、検出された農薬の傾向や検出頻度に大き

な変化はなかった。しかし、前報¹⁾で考察した問題点、すなわち、現在国内で使用されている農薬と検査している農薬との乖離は引き続き残っている。今後、分析機器の更新に備え、統計資料等^{4),5)}を参考に改善を検討して行きたい。

文 献

- 1) 山口玲子, “農産物の残留農薬検査結果について (平成 24~26 年度)” 千葉県環境保健研究所年報 第 22 号 : 2015, pp.67-70.
- 2) “GC/MS による農薬等の一斉試験法 (農産物)” “LC/MS による農薬等の一斉試験法 I (農産物)”, 食安発第 1129002 号, 平成 17 年 11 月 29 日.
- 3) 農林水産消費安全技術センター, “農薬登録情報システム”, <http://www.acis.famic.go.jp> (2018. 6. 11 アクセス).
- 4) 厚生労働省, 平成 25~26 年度 食品中の残留農薬検査結果について, <http://www.mhlw.go.jp> (2018. 6. 5 アクセス).
- 5) 厚生労働省, 平成 27 年度 食品中の残留農薬検査結果について, <http://www.mhlw.go.jp> (2018. 6. 5 アクセス).
- 6) 農林水産省, 米麦の残留農薬等の調査結果, <http://www.maff.go.jp> (2018. 6. 11 アクセス).

LC-MS/MS を用いた一斉分析法によるフルベンダゾール代謝体 R35475 の 妥当性評価について

清野 詩織

(環境保健研究所 健康科学課)

要 旨 食品、添加物の規格基準が一部改正され、牛、豚及びその他の陸棲哺乳類に属する動物の食用組織及び乳についてはフルベンダゾール及び代謝物 R35475 を残留の規制対象とすることになった。そこで液体クロマトグラフタンデム質量分析計 (LC-MS/MS) による牛及び牛乳の残留農薬一斉分析法の妥当性評価を行った。

Key Words : LC-MS/MS, R35475, 妥当性評価

1. はじめに

フルベンダゾールは、ベンズイミダゾール系の寄生虫駆除剤であり、日本では、牛、豚、馬及び犬を対象とした動物用医薬品として承認されている。平成 28 年 9 月 16 日に、食品、添加物の規格基準 (昭和 34 年厚生労働省告示第 370 号。以下「告示」という) の一部が改正¹⁾され、牛、豚及びその他の陸棲哺乳類に属する動物の食用組織及び乳については、残留規制対象をフルベンダゾール及び代謝物(2-amino-1H-benzimidazole-5-yl)(4-fluoro-phenyl)methanone (以下、「R35475」という) とすることになった。

現在、当所におけるフルベンダゾールの測定は、平成 17 年 1 月 24 日食安発第 0124001 号「HPLC による動物用医薬品等の一斉分析法 I (畜水産物)」²⁾ (以下、「一斉法 I」という) に則し、一斉法 I のうちの 1 項目として測定している。今回の改正により、追加された R35475 について、牛、豚及びその他の陸棲哺乳類に属する動物の食用組織及び乳のうち牛の筋肉及び乳を対象として LC-MS/MS を用いた妥当性評価を実施したので報告する。

2. 試料

牛の筋肉、乳

3. 試薬・試液

試薬は、LC/MS 用又は特級グレード、試液は通知¹⁾に従った。

4. LC-MS/MS 分析条件

LC-MS/MS : Waters 社製 Quattro micro API System

LC カラム : Waters Atlantis T3

3 μ m (2.1mm \times 150mm)

LC 部

カラム温度 : 40 $^{\circ}$ C

流速 : 0.2mL/min

グラジェント条件

移動相 A 0.1%ギ酸

移動相 B アセトニトリル

A : B=99 : 1 (初期) \rightarrow 0 : 100 (40 分 5 分間ホールド)

サンプル量 : 10 μ L

MS/MS 部

ESI-Positive MRM モード

イオン源温度 : 120 $^{\circ}$ C

脱溶媒温度 : 350 $^{\circ}$ C

コーンガス流速 : 50L/h

脱溶媒ガス流速 : 600L/h

MRM 条件

プレカーサイオン : 256.4

プロダクトイオン : 122.8

コーン電圧 : 30V

コリジョンエネルギー : 35eV

5. 試験溶液の調製

一斉法 I の試験溶液調製法を一部改変し、調製した (図 1)。

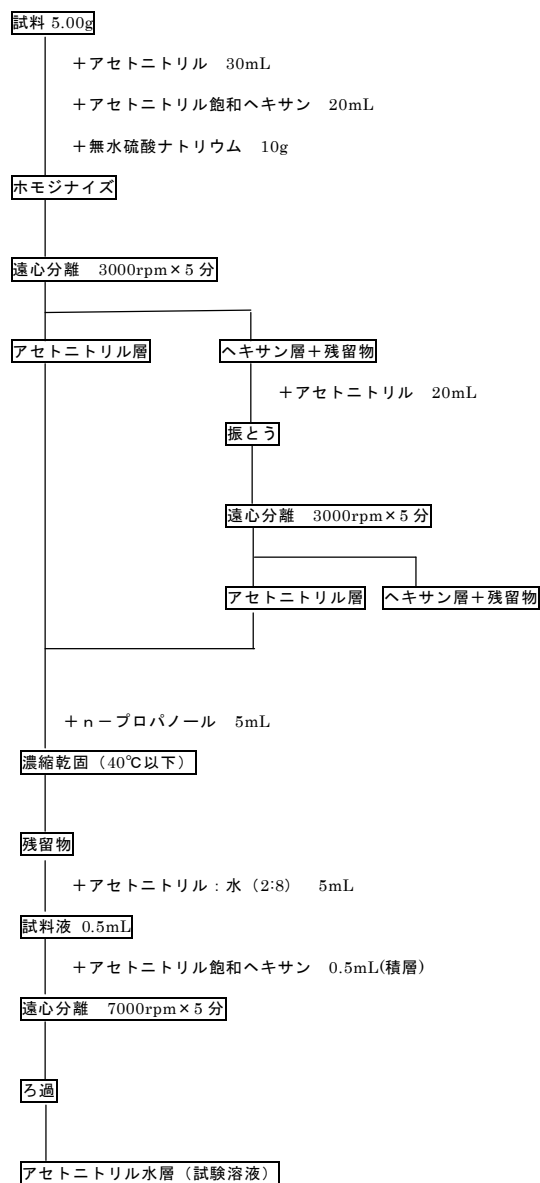


図 1 調整方法

6. 妥当性評価法

妥当性評価は、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」³⁾に則して行った。

添加濃度は牛の筋肉は $0.02\mu\text{g/g}$ 、牛乳は $0.7\mu\text{g/g}$ の基準値相当量で実施した。検量線の範囲は、牛の筋肉は $0.005\sim 0.1\mu\text{g/mL}$ 、乳は $0.01\sim 1\mu\text{g/mL}$ の範囲とし、この場合の定量下限値は牛の筋肉では $0.005\mu\text{g/g}$ 、乳では $0.01\mu\text{g/g}$ となる。施行回数は、真度 (回収率) は 5 回、精度は分析者 1 名が 1 日 2 回 5 日間分析する枝分かれ実験を行った。

7. 結果

牛の筋肉、乳について、真度、精度のいずれも妥当性評価ガイドラインの目標値を達成した (表 1)。

表 1 妥当性評価結果

パラメーター	牛の筋肉		乳	
	結果	目標値	結果	目標値
真度(%)	71	70~120	90	70~120
併行精度(RSD%)	3.8	15>	1.2	10>
室内精度(RSD%)	4.4	20>	5.7	15>

8. まとめ

告示の一部改正に伴い、妥当性評価を行った。結果、牛の筋肉、乳ともに妥当性評価ガイドラインの目標値を達成し、評価は良好だった。今後は標準作業書の改正を行い、行政検査に対応していきたい。

文 献

- 1) “食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について”，生食発 0916 第 1 号，平成 28 年 9 月 16 日
- 2) “HPLC による動物用医薬品の一斉試験法 I (畜水産物)”，食安発第 0124001 号，平成 17 年 1 月 24 日
- 3) “食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて”，食安発第 1115001 号，平成 19 年 11 月 15 日

千葉県内流通食品の放射能検査について (第6報)

渡辺 美香、大竹 正芳

(環境保健研究所 健康科学課)

要旨 東京電力福島第一原子力発電所の事故による放射性物質の拡散を把握するため、本市では放射能測定機器であるゲルマニウム半導体検出器の整備を行い、2012年度から2016年度までに市内流通食品 1,160 検体の放射性セシウム検査を実施した。2017年度も引き続き 150 検体の検査を実施したが基準値超過はなく、放射性セシウムの検出率は 3.3%まで減少した。

Key Words : 放射性物質, セシウム, 市内流通食品

1. はじめに

2012年8月に放射能検査機器を導入し、2016年度末までに市内流通食品 1,160 検体の放射性セシウム検査を行ってきた^{1),2),3),4),5)}。2017年度も引き続き、150 検体の放射性セシウム検査を実施した。2017年度の検査結果を取りまとめるとともに、年度ごとの放射性物質の検出状況を比較検討した。

2. 検査

検査期間：2017年4月11日～2018年3月27日

検査対象：放射性セシウム

(セシウム 134 及びセシウム 137)

検体数：150 検体

(飲料水 13 検体、牛乳 19 検体、
一般食品 92 検体、乳児用食品 26 検体)
全て国内産か国内で加工されたもの

測定機器：ゲルマニウム半導体検出器

(GC2020-7500SL-2002CSL) (キャンベラ社)

測定時間：バックグラウンド 50,000 秒

ブランク 3,000 秒

検体 (マリネリ容器) 3,000 秒または
4,000 秒

(U8 容器) 50,000 秒

試料の調製および測定は、厚生労働省通知^{6),7)}等に準じて行い、ポリエチレン製内袋を予め入れた 2L マリネリ容器または U8 容器に充填、採取重量を計測した。測定機器汚染防止のため、容器全体をポリエチレン袋で覆い、検査核種の目標検出限界値が概ね 1Bq/kg となるようゲルマニウム半導体検出器で測定した。なお、

測定時間については、2L マリネリ容器の場合、採取重量が 1.4kg 以上の検体は 3000 秒、1.4kg 未満の検体は 4000 秒とし、U8 容器の場合は 50,000 秒とした。

3. 結果

2017年度は基準値を超過した食品はなかった。食品分類別実施検体数および放射性セシウムの検出状況は表 1 のとおりである。放射性セシウムの検出下限値を超過検出されたのは 5 検体で、全検体数に対する検出率は 3.3%であった。

放射性セシウムを検出した食品の詳細は表 2 のとおりである。農産物 2 検体から 0.87、2.5 Bq/kg、水産物 2 検体から 0.74、0.84 Bq/kg、その他加工品 1 検体から 3.0Bq/kg の放射性セシウムが検出された。

表 1 食品分類別実施検体数及び放射性セシウムの検出状況

食品分類	基準値※ (Bq/kg)	実施 検体数	放射性セシウム 検出数 (%)
飲料水	10	13	0 (0.0)
牛乳	50	19	0 (0.0)
一般食品	100	92	5 (5.4)
農産物		29	2 (6.9)
畜産物		5	0 (0.0)
水産物		25	2 (8.0)
乳製品		5	0 (0.0)
その他加工品		28	1 (3.6)
乳児用食品	50	26	0 (0.0)
		150	5 (3.3)

※セシウム134とセシウム137の和

表2 放射性セシウムを検出した食品

分類	品名	生産地又は製造所	結果(Bq/kg)		
			セシウム134	セシウム137	セシウム合計
農産物	ミョウガ	群馬県	<0.560	0.865	0.87
	サツマイモ	千葉県	<0.554	2.54	2.5
	平均				1.7
水産物	スズキ	千葉県	<0.565	0.739	0.74
	マダイ	千葉県	<0.569	0.839	0.84
	平均				0.79
その他加工品	干しいも	茨城県	<0.975	2.98	3.0

4. 考察

2017年度の検査では一般食品5検体から放射性セシウムが検出された。水産物では魚食魚であるスズキ、底層の定住種であるマダイから、農産物では根菜であるサツマイモ、ミョウガ、加工品では干しいもから検出され、検出目目は前年度と比べ大きな変化はなかった。

測定年度ごとの放射性セシウム検出率の推移を図1に示した。検体全体の検出率は、2012年度の22%から2016年度の4%へと年々減少してきたが、2017年度はさらに3.3%まで減少しており、食品中の放射性セシウムの低レベル化がさらに進んでいることが示唆された。

詳細に放射性セシウムの検出状況を検討すると、前年度大きく減少した水産物の検出率が8.0%と微増し、食品分類別で最も高い検出率となった。また、水産物の放射性セシウム検出値も検出平均0.79Bq/kgと前年度平均の0.70Bq/kgから微増している。一方、農産物の検出率は6.9%と前年度の12.5%よりも減少しており、平均検出値も1.7Bq/kgと前年度平均の2.7Bq/kgよりも減少している。

放射性セシウム134、137の両核種がともに検出された検体は、2012年度の21検体から2016年度の2検体にまで減少し、2017年度には0検体となった。半減期が2.06年のセシウム134は、事故から約6年が経過した時点で当初の1/8程度の存在比となっていることから、検出限界値未満の検体が増えたものと考えられる。

今後は半減期が約30年のセシウム137が検出の主体となり、食品から放射性セシウムが検出されたとしても検出限界値付近の極めて微量であることが予想される。引き続き行われる2018年度以降の検査において、水産物・農産物のうち、継続して検出されている品目を中心に放射性物質の消長を監視していきたい。

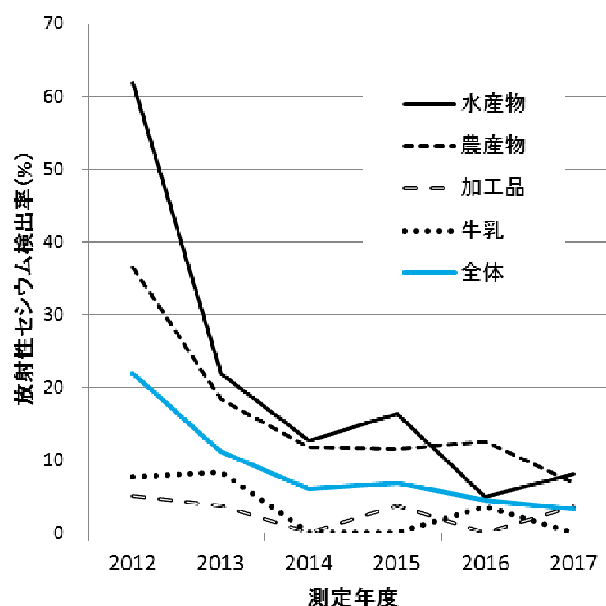


図1 検体分類ごとの放射性セシウム経年検出率

文献

- 1) 町野義信, 上村勝, 高梨嘉光, 他, “千葉市内流通食品の放射能検査について(第1報)”, 千葉市環境保健研究所年報 第20号: 2013, pp.65-66.
- 2) 高梨嘉光, “千葉市内流通食品の放射能検査について(第2報)”, 千葉市環境保健研究所年報 第21号: 2014, pp.73-74.
- 3) 高梨嘉光, “千葉市内流通食品の放射能検査について(第3報)”, 千葉市環境保健研究所年報 第22号: 2015, pp.61-62.
- 4) 高梨嘉光, “千葉市内流通食品の放射能検査について(第4報)”, 千葉市環境保健研究所年報 第23号: 2016, pp.67-68.
- 5) 平山雄一, 高梨嘉光, “千葉市内流通食品の放射能検査について(第5報)”, 千葉市環境保健研究所年報 第24号: 2017, pp.69-70.
- 6) “食品中の放射性物質の試験法について”, 食安発0315第4号, 平成24年3月15日
- 7) “農畜水産物等の放射性物質検査について”, 食安発0312第7号, 平成24年3月12日

東京湾沿岸における揮発性有機化合物 (VOCs) 調査

坂元 宏成、後藤 有紗

(環境保健研究所 環境科学課)

要 旨 光化学オキシダントの発生要因を明らかにするための予備調査として、東京湾沿岸の 1 地点において、2018 年 3 月 28 日に、光化学オキシダントの主成分であるオゾンと VOCs 濃度の関連について調査を行った。VOCs のオゾン生成能の最高値は $900 \mu\text{g}\cdot\text{O}_3/\text{m}^3$ を超え、過去の他調査と比較しても高い値であった。また、そのうち芳香族が占める割合が高い傾向が見られた。

Key Words : VOC, 実態調査

1. はじめに

光化学オキシダントは、高濃度の場合、目の刺激、喉の痛みなどの症状を伴った健康被害を発生させる酸化性物質で、主成分はオゾンである。工場や自動車等から排出された窒素酸化物 (NO_x) や揮発性有機化合物 (VOCs) を前駆物質として、光化学反応で二次的に生成される。本市においては、前駆物質である NO_x や VOCs は減少傾向にあるが、光化学オキシダントについては、全測定局で環境基準未達成の状況が続いており、昼間 (5~20 時) の年平均値についても直近 10 年間でほぼ横ばいである¹⁾。そこで、その発生要因を明らかにするための予備調査として、東京湾沿岸部の 1 地点において、光化学オキシダントの主成分であるオゾンと VOCs 濃度の関連について調査を行った。

2. 調査方法

稲毛海浜公園内にある美浜公園緑地事務所 (図 1) 屋上において、2018 年 3 月 28 日 0~24 時の 2 時間毎に試料の採取を行った。採取及び測定は、「有害大気汚染物質測定方法マニュアル」に従い、アルデヒド類及びオゾンは固相捕集-高速液体クロマトグラフ法により、その他の成分は容器採取-ガスクロマトグラフ質量分析法 (低沸点 VOCs についてはガスクロマトグラフ水素炎イオン化検出法) により実施した。なお、低沸点

VOCs 等は東京都環境科学研究所にて、その他の成分は横浜市環境科学研究所にて分析していただいた。



図 1 調査地点

3. 結果および考察

図 2 に各時間帯の VOCs のオゾン生成能およびオゾン濃度を示す (8~10 時および 14~16 時はアルデヒド類以外の VOCs は欠測)。6~8 時において、VOCs のオゾン生成能が $900 \mu\text{g}\cdot\text{O}_3/\text{m}^3$ を超える高値を示し、その後、時間とともにオゾン濃度の上昇が確認できた。

東京都と横浜市において、2014 年 7 月 23 日に VOCs の同時観測調査を実施している²⁾が、この時のオゾン生成能は、東京は一日を通して $400 \mu\text{g}\cdot\text{O}_3/\text{m}^3$ 前後であったのに対し、横浜は最高値で $1000 \mu\text{g}\cdot\text{O}_3/\text{m}^3$ 程度と、

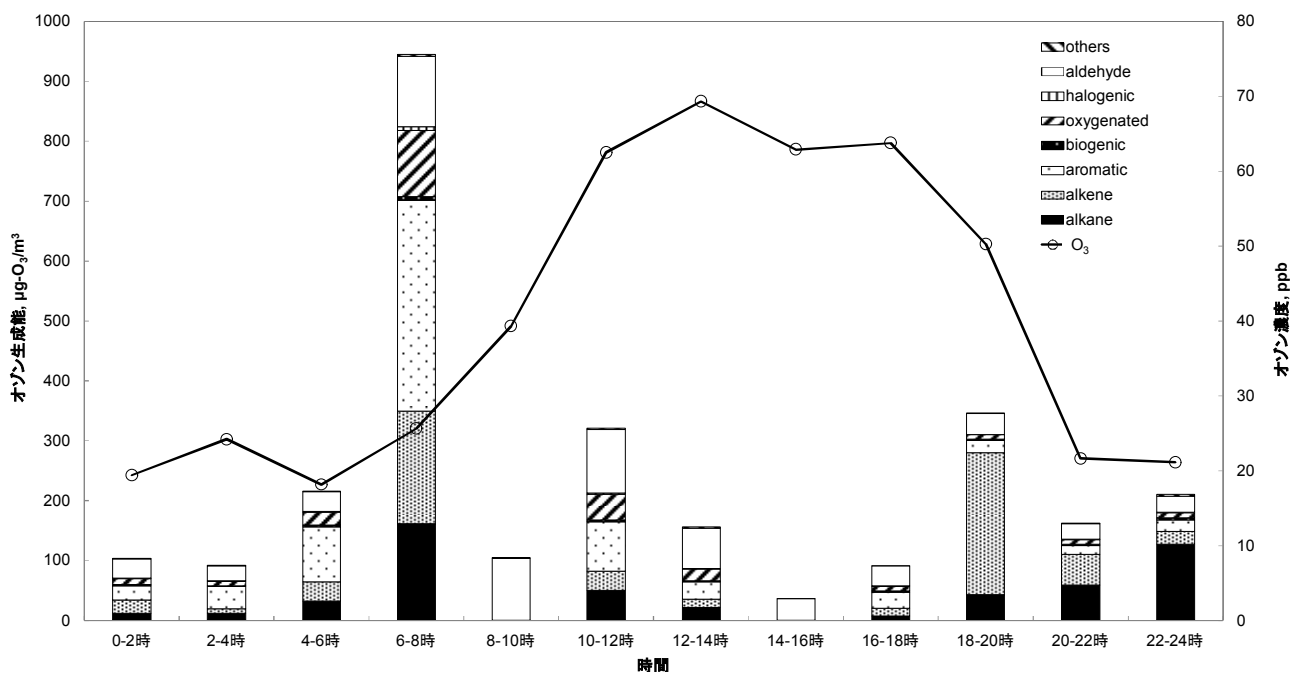


図2 VOCsのオゾン生成能およびオゾン濃度

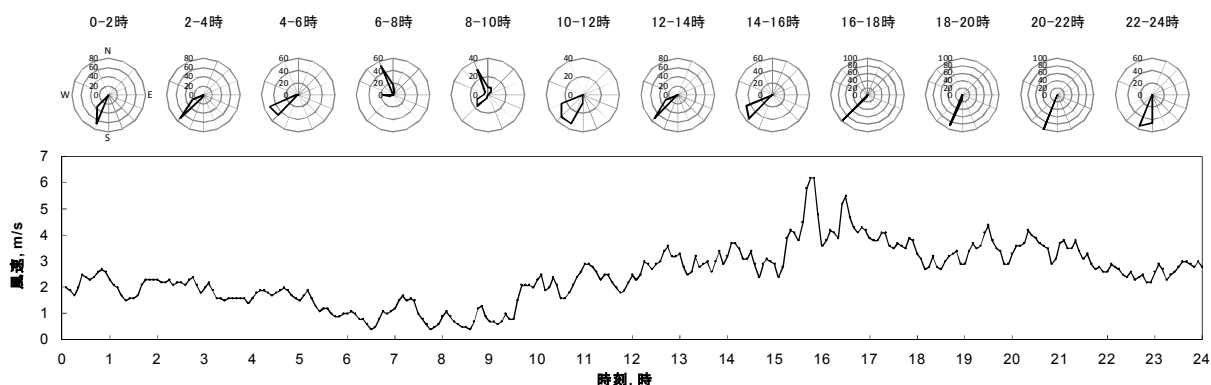


図3 風配図および風速

東京より横浜の方が高い傾向にあった。また、横浜の方がアルカン及び芳香族が高い傾向にあった。今回の6～8時のオゾン生成能は、この時の横浜と同程度であり、継続して調査する必要があるものの、千葉もオゾンを生じやすい大気質である可能性がある。また、横浜同様、芳香族が占める割合が高い傾向も見られた。

図3に、調査地点から直近の測定局である真砂公園の常時監視データの風配図および風速を示す。一日を通して南西よりの風であるが、6～10時は北よりの風で風速は小さくなっている。6～8時のオゾン生成能の高値は、調査地点北側の影響を受け、空気が滞留したため発生したと推測される。

4. まとめ

2018年3月28日にオゾンとVOCsの調査を行ったところ、VOCsのオゾン生成能の最高値は900 µg-O₃/m³

を超え、過去のお調査の結果と比較しても高い値であった。また、そのうち芳香族が占める割合が高い傾向も見られた。

今後は、光化学オキシダントの発生要因を明らかにするため、光化学オキシダントが高濃度となる夏季を中心に、東京都環境科学研究所と横浜市環境科学研究所と共同で調査を継続していく予定である。

文献

- 1) 千葉市, “平成29年版千葉市環境白書”, 2017, pp.59-61.
- 2) 福崎有希子, 石倉淳士, 星純也, 小森陽昇, 志村徹, 上野広行, “横浜市と東京都における夏季の揮発性有機化合物(VOC)同時観測調査”, 大気環境学会誌, vol.53, no.1: 2018, pp.13-24.

千葉市における湿性沈着成分の経年変化について

後藤 有紗、坂元 宏成

(環境保健研究所 環境科学課)

要 旨 2008 年度から 2017 年度に稲毛区宮野木で実施した酸性雨調査の結果をまとめたので報告する。pH はこの 10 年間、最低値 4.76 (2009 年度) から最高値 5.58 (2015 年度) で、改善傾向であった。全国および関東、近隣市との比較においても、2013 年度あたりから本市は高い値を示した。雨水中のイオン成分に着目すると、酸性物質である SO_4^{2-} 、 NO_3^- 濃度が低下傾向であった。塩基性物質においても NH_4^+ 濃度が低下傾向、 Ca^{2+} 濃度はほぼ横ばいであったことから、本市の pH が上昇している要因として、雨水に含まれる酸性物質濃度の低下が考えられる。また、それは大気中の硫黄酸化物濃度および窒素酸化物濃度の低下により、雨水に溶け込む量が減少しているためと推測される。

Key Words : 酸性雨, 湿性降下物, 実態調査

1. はじめに

湿性沈着モニタリングは、越境大気汚染・酸性雨の実態およびその影響を把握するための大気常時監視のひとつとなっている。全国地方自治体の環境関係試験研究機関から構成されている全国環境研協議会では酸性雨全国調査を実施しているが、本市は 1995 年度から本調査に継続して参加している。今回、2008 年度から 2017 年度の本市における湿性沈着成分濃度について、全国および関東、近隣市と比較し、大気中の硫黄酸化物、窒素酸化物濃度との関係性を考察したので報告する。

2. 調査方法

2.1 調査地点

調査地点は、稲毛区宮野木に位置する一般大気環境測定局である。同測定局は、低層住宅が密集する地域の高台にあり、北東 50 m に主要地方道、北 30 m に高速道路が通っている。

2.2 採取方法および測定方法

「湿性沈着モニタリング手引き書」¹⁾に従って、降水時開放型雨水採取装置により雨水を採取し、各項目について分析を行った。

3. 結果

3.1 データに関して

本調査で使用した湿性沈着に関するデータは、全国環境研協議会による酸性雨全国調査の値を用いた²⁾ (<http://db.cger.nies.go.jp/dataset/acidrain/ja/05/>)。

3.2 pH の比較

図 1 に 2008 年度から 2017 年度の千葉市、全国、EJ (Eastern Japan area: 栃木県, 埼玉県, 茨城県, 群馬県, 千葉県, 神奈川県)、および近隣市である市原市の pH、 SO_4^{2-} ($\mu\text{mol/L}$)、 NO_3^- ($\mu\text{mol/L}$) の年平均値推移を示した。

本市の pH は 2008 年度から 2017 年度の間で最低値 4.76 (2009 年度)、最高値 5.58 (2015 年度) であり、上昇傾向であった。全国平均、EJ 平均においても 10 年間の推移は本市と概ね同様な傾向であった。本市のデータを全国平均と比較すると、2009 年度を除き高い傾向にあった。EJ 平均と比較すると、2014 年度まではほぼ同様の値であったが、2015 年度は大幅に高い結果となった。一方、市原市は、2013 年度から 2015 年度にかけて、低下傾向であり、2013 年度以降は本市の pH が高い状況であった。

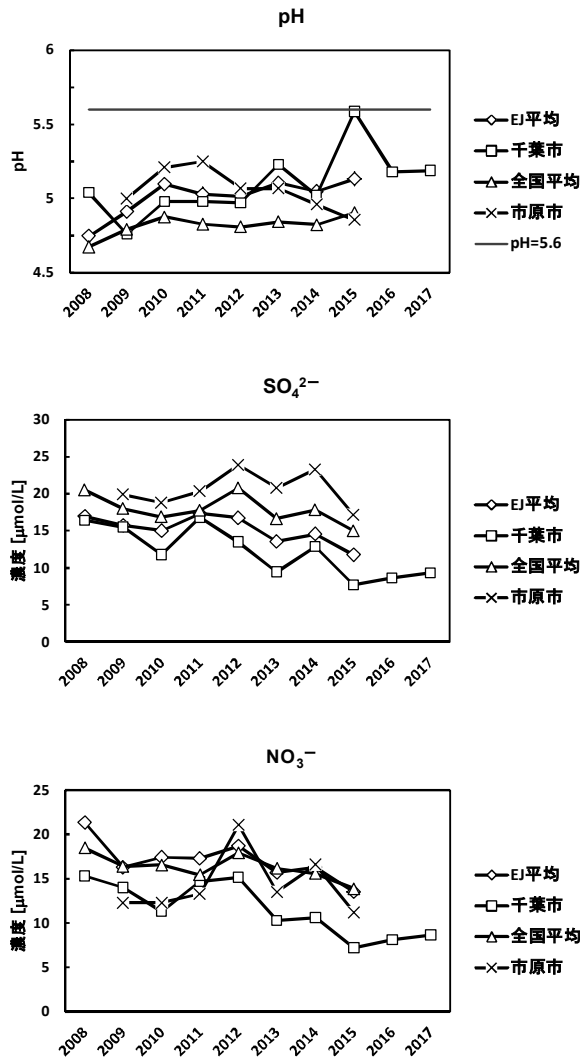


図1. 全国平均、EJ平均、千葉市、市原市の年平均値推移

3.3 イオン成分の比較

本市の雨水中のイオン成分について、酸性物質は10年間で低下傾向であった。SO₄²⁻濃度は最高値 16.4 μmol/L(2008年度)、最低値 7.68 μmol/L (2015年度)、NO₃⁻濃度は最高値 15.3 μmol/L (2008年度)、最低値 7.21 μmol/L (2015年度)であり、全国平均、EJ平均、市原市よりも概ね低い傾向にあった。

これに対して、塩基性物質については、NH₄⁺濃度は低下傾向であったが、Ca²⁺濃度はほぼ横ばいであり、特徴的な変化がみられなかった。

3.4 大気中の硫黄酸化物および窒素酸化物濃度との比較

図2に、本市における大気中の硫黄酸化物濃度と雨水中のSO₄²⁻濃度およびnss SO₄²⁻濃度(非海塩由来のSO₄²⁻)の関係、大気中の窒素酸化物濃度と雨水中

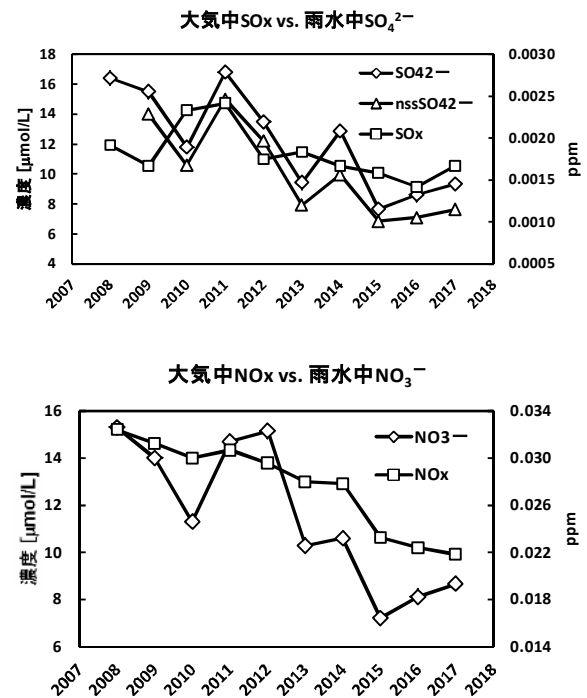


図2. 大気中SOx、NOxと雨水中SO₄²⁻、NO₃⁻

のNO₃⁻濃度の関係をそれぞれ示した。硫黄酸化物、窒素酸化物濃度については、大気常時監視データを用いた。硫黄酸化物濃度とSO₄²⁻、nss SO₄²⁻濃度はともに2008年度から2017年度の間で概ね低下傾向であった。窒素酸化物濃度とNO₃⁻濃度も同様に10年間で低下傾向であった。

4. 考察

本市の雨水を全国平均や近隣市と比較すると、pHは2013年度を境に高く、酸性物質等の濃度は低い傾向にあることがわかった。

本市のpHが年々上昇しているのは、SO₄²⁻濃度、NO₃⁻濃度が低下していること、Ca²⁺濃度に変化がみられないことから、酸性物質が低下していることが主な要因として考えられる。また、それは大気中の硫黄酸化物濃度および窒素酸化物濃度の低下により、雨水に溶け込む量が減少しているためと推測される。

文献

- 1) 環境省; 湿性沈着モニタリング手引き書(第2版)(平成13年3月), 越境大気汚染・酸性雨長期モニタリング計画(平成26年3月改訂)
- 2) 全国環境研協議会酸性雨広域大気汚染調査研究部会: 第5次酸性雨全国調査報告書(平成27年度), 全国環境研会誌, 43(3), 2-45, 2017

調 査 研 究

Ⅱ 学 会 ・ 学 術 誌 発 表 等

学会等発表

クドア属粘液胞子虫の遺伝子配列による種同定について (*Kudoa hexapunctata* が原因と疑われた有症事例について)

大木旬子、北橋智子、鈴木信一、東尾裕江、篠田亮子、三枝真奈美、横井 一、山本一重（環境保健研究所）

平成 29 年度（第 56 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：本市内で開催された宴会において、食中毒が疑われる事例が発生した。患者の喫食状況及び症状等から、原因としてクドア属粘液胞子虫が疑われた。患者便 9 検体についてリアルタイム PCR による検査を行った結果、*Kudoa septempunctata* は全て陰性であったが、患者便 2 検体でクドア属粘液胞子虫が陽性となった。また、保存されていた刺身 4 検体について同様に検査を実施したところ、*K. septempunctata* は全て陰性であったが、刺身 1 検体（メジマグロ）でクドア属粘液胞子虫が陽性（ 9.4×10^7 コピー/g）となり、鏡検により 6 極嚢を有するクドア属胞子が確認された。メジマグロから抽出した DNA について 28S rDNA のうち約 900bp をシーケンス解析した結果、メジマグロに寄生していたクドア属粘液胞子虫は *K. hexapunctata* であることが明らかとなった。なお、陽性を示した患者便 2 検体に関しては、Ct 値が 38.4、37.5 と高く、コンベンショナル PCR でも遺伝子の増幅が認められなかったことから、シーケンス解析に至らなかった。

ヒトに食中毒症状を起こす 6 極嚢のクドア属粘液胞子虫として、*K. hexapunctata* 及び *K. neothunni* が報告されているが、その同定には 28S rDNA のうち約 3,250bp のシーケンス解析が用いられている。この領域の 5'側に塩基配列の違いが集中しているため、5'側領域を含めた約 900bp の解析でも同定が可能であった。また、当該塩基配列は遺伝子バンクの登録数が多いことから、より多くのクドア属粘液胞子虫の配列解析が可能である。

以上のことから、28S rDNA における 5'側領域を含めた約 900bp のシーケンス解析は、約 3,250bp の解析に比べ、経費と時間の削減を可能とし、迅速な種同定が可能であることから、クドア属粘液胞子虫を疑う有症苦情事例の行政検査に有用であることが示唆された。

学会等発表

マイナーな血清群の腸管出血性大腸菌が分離同定された事例

北橋智子、鈴木信一、篠田亮子、東尾裕江、大木旬子、三枝真奈美、横井 一、山本一重（環境保健研究所）

平成 29 年度（第 30 回）地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会

要旨：マイナーな血清群（O113、O156 及び O55）の腸管出血性大腸菌（EHEC）を分離同定した事例を経験した。事例 1 では、クロモアガー STEC の選択性の強さを利用し、EHEC に特徴的な藤色のコロニーを形成したことにより、牛肉から EHEC O113 を分離同定することができた。事例 2 では、検体の増菌培養液 0.1mL をクロモアガー STEC にコンラージしたことにより、EHEC が培地上に藤色のコロニーを形成したこと及びコロニーのスクリーニングとして VT 遺伝子の検出を優先させたことにより、EHEC O156 を分離同定することができた。このことから、マイナーな血清群の EHEC がクロモアガー STEC に発育し、且つクロモアガー STEC が増菌培養液中に存在する夾雑細菌の発育を抑制する場合は、クロモアガー STEC にエーゼの 10 倍量の増菌液を塗抹することにより、目的の EHEC を分離同定できる可能性が高まるものと考えられた。事例 3 では、分離過程の EHEC が CT-SMAC に発育したこと及び生菌が EHEC O157 血清と交差反応を示したことにより、EHEC O55 を分離同定することができた。なお、分離過程の EHEC O55 は、CT-SMAC に白色コロニーを形成したものの、分離後の EHEC O55 は、CT-SMAC に殆ど発育せず、時間の経過とともに極小の赤色コロニーとして僅かに発育したことから、分離培養の過程で EHEC O55 の性状が変化したことが示唆された。

マイナーな血清群の EHEC については、増菌液の VT 遺伝子が陽性であっても、菌株として分離同定できないことがある。免疫磁気ビーズ法及び生菌の試し凝集試験によって、主要な血清群（O26、O103、O111、O121、O145 及び O157）の分離が出来ない場合は、クロモアガー STEC に発育した藤色コロニーの VT 遺伝子を迅速にスクリーニングできる LAMP 法が有効であった。

学会等発表

千葉市におけるヒトライノウイルス検出状況

西川和佳子、佐藤典子、坂本美砂子、三枝真奈美
横井一、山本一重（環境保健研究所）

平成 29 年度（第 32 回）地研全国協議会関東甲信静支部
ウイルス研究部会

要旨：ヒトライノウイルス（HRV）の地域的な流行状況を把握することを目的に 4 年間の HRV 検出状況を解析した。2013 年 1 月から 2016 年 12 月までの期間に、市内小児科定点の急性呼吸器患者の鼻汁等 1,254 検体を検査材料とした。検索ウイルスは HRV の他、エンテロウイルス、ヒトメタニューモウイルス（hMPV）、ヒトコロナウイルス、RS ウイルス（RSV）、パラインフルエンザウイルス 1～3 型、ヒトボカウイルス（HBoV）、アデノウイルス及びインフルエンザウイルスとした。

検索を実施した 1,254 検体のうち、317 検体（25.3%）から HRV が検出された。HRV 全体の検出率は各年 20% 台であったが、遺伝子群間では各年で HRV-A は 44.3～64.1%、HRV-C は 34.6～52.3% と検出率に差がみられた。HRV は春季または秋季を主体とした流行があることが示唆されたが、2016 年は季節的な検出ピークが認められず通年横ばいで、他年とは異なる傾向を示したことから、今後の発生動向を注視する必要があると考えられた。HRV が検出された患者の年齢は 0 歳～2 歳が全年齢の 92.1% を占めた。その中でも 1 歳が最多で、次いで 0 歳からの検出が多く、各遺伝子群及び各年においても同様の傾向が認められた。臨床診断名では下気道炎が 76.0% と最も多く、さらに、検出された HRV の 58.6% が他のウイルスとの共検出例であった。共検出されたウイルスのうち HBoV が最も多く、次いで RSV、hMPV の順であった。しかし、これらのウイルスは HRV と同様に下気道炎の症状を呈する割合が高く、どのウイルスに起因して下気道炎を発症したか推察するためには、ウイルス量、発症から検体採取までの日数、さらには抗体価などを考慮した急性呼吸器ウイルスのサーベイランスを実施することが重要であると考えられた。

学会等発表

清涼飲料水に関する試験法の改良と妥当性確認について

石川永祐、上村勝、大竹正芳、三枝真奈美、横井一、
山本一重（環境保健研究所）

平成 29 年度（第 56 回）千葉県公衆衛生学会

要旨：当所における清涼飲料水中のヒ素、鉛、スズに関する試験法について、試料の分解操作には、マイクロウェーブ分解装置を使用している。この方法は、ケルダールフラスコ湿式分解に比べ簡便で前処理時間の短縮が可能であるが、清涼飲料水の多くが設定した条件で十分に分解できず、分解できる試料は糖類やタンパク質などの含有物が少ない茶系飲料のみであった。

そこで、試験法の適用範囲を広げるため、茶系飲料以外の清涼飲料水を分解できる新たな条件の検討を行った。また、改良した試験法を導入するために妥当性評価を実施し、真度・併行精度・室内精度の各パラメータが、あらかじめ設定した目標値（真度 80～110%（スズは 90～110%）・併行精度<10%・室内精度<15%）を満たすか否かを確認した。

条件の検討では、炭酸飲料・果実飲料・コーヒー飲料・茶系飲料・野菜飲料・スポーツ飲料・乳性飲料の 7 種類を試料とし、マイクロウェーブ分解の最高温度を従来の 150℃から 10℃ずつ上昇させた。各温度における各試料の分解の程度を観察したところ、200℃の場合に 7 種類全てを十分に分解できることが明らかとなった。また、硝酸添加量を従来の 5mL から 4mL に減らしても同様に分解可能であったことから、検体 2g に対し、硝酸 4mL、水 4mL を添加することとした。

改良した試験法により試料 7 種類の妥当性評価を行ったところ、ヒ素が真度 91～95%・併行精度 2.1～3.7%・室内精度 2.4～4.6%、鉛が真度 96～99%・併行精度 0.5～0.9%・室内精度 2.1～3.4%、スズが真度 97～99%・併行精度 1.3～2.2%・室内精度 2.7～4.2% であり、全てのパラメータが目標値を満たしたことから、糖類やタンパク質などの含有物が多い、茶系飲料以外の清涼飲料水に対しても、本試験法を適用することが可能となった。

学会等発表

1,4-ジオキサン分析方法に関する検討

設楽夕莉菜、鈴木瑞穂、坂元宏成、五木田正
(環境保健研究所)

平成 29 年度全国環境研協議会関東甲信静支部
水質専門部会

要旨：1,4-ジオキサンは人や生態系に有害な影響を及ぼすおそれがあることから、「人の健康の保護に関する水質環境基準項目」および「地下水の水質汚濁に係る環境基準項目」に追加された。そのため分析頻度の高い状況であるが、当該物質は水との親和性が高く、他の VOCs に比べるとヘッドスペース-GC/MS 法（以下、HS-GC/MS 法と記す。）では低感度である。しかし、本研究所において、これまで HS-GC/MS 法による 1,4-ジオキサン分析方法について検討した結果、塩析剤に炭酸カリウムを用いることで感度を向上させることができた。そこで、本方法の妥当性を評価するため、本方法と公定法である固相抽出-GC/MS 法（以下、固相抽出法と記す。）とで分析を実施し、両者の結果について比較・検討を行った。

はじめに、環境水を用いて HS-GC/MS 法および固相抽出法で添加回収試験を行った。どちらも 0.2 μg/L の濃度になるように 1,4-ジオキサン標準液を添加した。回収率はそれぞれ 98%、89%、変動係数も 2.8%、3.4%と、両者とも良好な結果を得ることができた。

また、両方法を用いて市内 4 河川 8 地点において 1,4-ジオキサンの分析を行った結果、両者の分析値は R^2 値が 0.999 以上と非常に強い相関が見られ、回帰直線の傾きは 1.07 とほぼ同程度であることが確認できた。

このことから、塩析剤に炭酸カリウムを用いることで、HS-GC/MS 法により、河川中の 1,4-ジオキサンを簡便に分析できることがわかった。

学術誌発表

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* : CRE）による院内感染事例について

北橋智子、篠田亮子、鈴木信一、大木旬子、元吉まさ子、都竹豊茂、山本一重（環境保健研究所）
飯島善信、早川克実、舘岡恭子、大山照雄、大塚正毅、山口淳一（千葉市保健所）

病原微生物検出情報月報 Vol.38, 229-230, 2017

要旨：本市内の医療機関においてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の院内感染が発生し、分離菌株の遺伝学的解析を行った。2014 年 2 月から 2015 年 12 月に 25 人の患者から分離された *Enterobacter cloacae* 30 株を解析対象とした（患者 5 人については 2 株ずつ）。30 株のうち、22 株においてメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）による阻害を利用したメタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）産生スクリーニング試験で陽性となり、PCR 法による IMP-1 型 MBL 遺伝子の検出結果と一致した。残り 8 株の MBL 産生スクリーニング試験は陰性、カルバペネマーゼ遺伝子も陰性であった。これら 8 株のうち 7 株は、ボロン酸による阻害を利用した AmpC β-ラクタマーゼ産生スクリーニング試験で陽性であったことから、AmpC β-ラクタマーゼ産生の可能性が考えられた。

PFGE（制限酵素 *Spe I*）の結果、18 株が 3 つのクラスター（I・II・III）を形成し、いずれも IMP-1 型 MBL 遺伝子陽性株であった。クラスター I に属する株は 22 カ月にわたって分離された。クラスター III に属する株が分離された患者 2 名から、後日、クラスター I に属する株も分離された。さらに、IMP-1 型 MBL 遺伝子の保有株が各クラスターで認められたことから、IMP-1 型 MBL 遺伝子を保有するプラスミドの水平伝達が、同じ *E. cloacae* 間で起こった可能性が考えられた。一方、クラスター（I・II・III）に属さない 12 株のうち 8 株は、IMP-1 型 MBL 遺伝子陰性の株であった。*E. cloacae* 30 株は、10 の病棟（ICU 及び A 病棟～I 病棟）の入院患者から分離されたが、クラスターを形成した株は、ICU、B 病棟、G 病棟入院患者分離株に集中しており、これら 3 病棟を中心に複数の CRE 株が拡がったものと考えられた。

その他

千葉県環境保健研究所条例

平成 4 年 12 月 18 日条例第 52 号

(設置)

第 1 条 本市は、保健衛生及び環境に関する試験、検査、調査及び研究を行い、公衆衛生の向上及び環境保全に寄与するため、次のとおり千葉県環境保健研究所(以下「研究所」という。)を設置する。

名 称	位 置
千葉県環境保健研究所	千葉県美浜区幸町 1 丁目 3 番 9 号

(業務)

第 2 条 研究所は、次の業務を行う。

- (1) 保健衛生及び環境に関する試験及び検査
- (2) 保健衛生及び環境に関する調査及び研究
- (3) 保健衛生及び環境に関する研修及び指導
- (4) 公衆衛生情報の解析及び提供

(試験等の依頼)

第 3 条 本市に住所を有する者又は市内に事務所若しくは事業所を有する法人その他の団体は、研究所に試験、検査、調査又は研究を依頼することができる。

2 市長が特別の理由があると認めたときは、前項に規定する者以外の者に対しても、その依頼に応ずることができる。

(使用の許可)

第 4 条 研究所の設備を使用しようとする者は、市長の許可を受けなければならない。

(手数料等)

第 5 条 前 2 条の規定により研究所に試験、検査、調査若しくは研究を依頼する者又は研究所の設備を使用する者は、手数料又は使用料を納付しなければならない。

2 前項の手数料の額は、健康保険法(大正 11 年法律第 70 号)第 76 条第 2 項の規定により厚生労働大臣が定めた算定方法又は高齢者の医療の確保に関する法律(昭和 57 年法律第 80 号)第 71 条第 1 項の規定により厚生労働大臣が定めた基準により算定した額の範囲内で規則で定める。

3 前項の規定によることができない手数料の額については、規則で定める。

4 第 1 項の使用料の額は、現に要する費用を基準として市長が別に定める。

(平成 6 条例 20・平成 12 条例 59・平成 14 条例 35・平成 20 条例 13・一部改正)

(手数料等の納付時期)

第6条 手数料及び使用料は、これを前納しなければならない。ただし、市長が特に必要があると認めたときは、この限りでない。

(手数料等の減免)

第7条 市長は、特に必要があると認めたときは、手数料及び使用料を減額し、又は免除することができる。

(委任)

第8条 この条例の施行に関し必要な事項は、規則で定める。

附 則

この条例は、規則で定める日から施行する。

(平成5年規則第8号で平成5年3月8日から施行)

附 則(平成6年3月24日条例第20号)

(施行期日)

1 この条例は、平成6年4月1日から施行する。

(経過措置)

2 この条例による改正後の千葉市職員医務室設置条例、千葉市療育センター設置管理条例、千葉市病院事業の設置等に関する条例、千葉市保健所使用料及び手数料条例、千葉市休日救急診療所条例及び千葉市環境保健研究所条例の規定は、この条例の施行の日以後の診療等に係る使用料及び手数料について適用し、同日前の診療等に係る使用料及び手数料については、なお従前の例による。

附 則(平成12年12月19日条例第59号)

この条例は、平成13年1月6日から施行する。

附 則(平成14年9月25日条例第35号)

この条例は、平成14年10月1日から施行する。

附 則(平成20年3月21日条例第14号)

1 この条例は、平成20年4月1日から施行する。

千葉県環境保健研究所条例施行規則

平成 5 年 3 月 5 日規則第 9 号

(趣旨)

第 1 条 この規則は、千葉県環境保健研究所条例(平成 4 年千葉県条例第 52 号。以下「条例」という。)の施行に関し必要な事項を定めるものとする。

(試験等の依頼)

第 2 条 条例第 3 条の規定により、千葉県環境保健研究所(以下「研究所」という。)に試験、検査、調査又は研究を依頼しようとする者は、千葉県環境保健研究所試験等依頼書(様式第 1 号)を市長に提出しなければならない。

(使用許可の申請)

第 3 条 条例第 4 条の規定により、研究所の設備を使用しようとする者は、千葉県環境保健研究所設備使用申請書(様式第 2 号)を市長に提出しなければならない。

(手数料の額)

第 4 条 条例第 5 条第 2 項の規定による手数料の額は、別表第 1 のとおりとする。
2 条例第 5 条第 3 項の規定による手数料の額は、別表第 2 のとおりとする。

(手数料等の減免)

第 5 条 条例第 7 条の規定により手数料及び使用料の額の減免を受けようとする者は、手数料・使用料減免申請書(様式第 3 号)を市長に提出しなければならない。
2 市長は、前項の申請を審査し、減額又は免除の可否を決定したときは、手数料・使用料の減額・免除決定通知書(様式第 4 号)により申請者に通知するものとする。

(平成 23 規則 22・一部改正)

附 則

この規則は、平成 5 年 3 月 8 日から施行する。

附 則(平成 5 年 11 月 26 日規則第 75 号)

この規則は、平成 5 年 12 月 1 日から施行する。

附 則(平成 6 年 3 月 31 日規則第 18 号)

この規則は、平成 6 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 10 年 3 月 23 日規則第 13 号)

この規則は、平成 10 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 12 年 12 月 28 日規則第 115 号)

この規則は、平成 13 年 1 月 6 日から施行する。

附 則(平成 14 年 10 月 1 日規則第 49 号)

この規則は、公布の日から施行する。

附 則(平成 16 年 3 月 26 日規則第 16 号)

この規則は、平成 16 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 20 年 3 月 26 日規則第 14 号)

この規則は、平成 20 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 21 年 3 月 30 日規則第 18 号)

この規則は、平成 21 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 23 年 3 月 30 日規則第 22 号)

1 この規則は、平成 23 年 4 月 1 日から施行する。

2 この規則による改正後の千葉県環境保健研究所条例施行規則別表第 2 の規定は、この規則の施行の日以後の依頼に係る手数料について適用し、同日前の依頼に係る手数料については、なお従前の例による。

3 この規則の施行に際現にこの規則による改正前の様式により調製された用紙は、当分の間、必要な箇所を修正して使用することができる。

別表第 1 ～第 2 (略)

様式第 1 号 ～様式第 4 号 (略)

千葉市環境保健研究所年報編集委員会

編集委員 川瀬 義信（委員長・環境科学課長）

清田 智子・川畑 美子・西川 和佳子・石川 永祐・東尾 裕江
（健康科学課）

平山 雄一・鈴木 瑞穂（環境科学課）

千葉市環境保健研究所年報 第 25 号

平成 29 年度

発行 平成 30 年 12 月

発行者 山本 一重

発行所 千葉市環境保健研究所

〒261-0001 千葉市美浜区幸町 1-3-9

TEL（代表）043-238-1900

FAX 043-238-1901

E-mail

kenkokagaku.IHE@city.chiba.lg.jp

