

Development of Loop-Mediated Isothermal Amplification  
and PCR Assays for Rapid and Simple Detection of  
*Campylobacter fetus* subsp. *venerealis*

W. YAMAZAKI<sup>\*1</sup>, M. TAGUCHI<sup>\*2</sup> and N. MISAWA<sup>\*1</sup>

Microbiology and Immunology, 54, 398–404 (2010)

LAMP (loop-mediated isothermal amplification) 法を用いて、家畜の病原菌であるカンピロバクター・フィータス亜種ヴェネリアリス (*C. fetus* subsp. *venerealis*) の迅速検査法を開発した。さらに PCR (polymerase chain reaction) 法を用いた *C. fetus* 亜種の鑑別法を開発した。LAMP 法は供試した 7 株の *C. fetus* subsp. *venerealis* をそれぞれ正確に同定し、陰性対照として使用した 53 株の *C. fetus* subsp. *fetus* 菌株には反応を示さなかった。PCR 法は上述の計 60 株の *C. fetus* の亜種を正確に鑑別した。判定所要時間は従来法である生化学的性状試験では 2-7 日であるのに対し、LAMP 法では 50 分以内、PCR 法では 4 時間以内であった。本法は *C. fetus* subsp. *venerealis* の迅速鑑別に有用と思われた。

A Novel Method for the Purification of DNA by Capturing  
Nucleic Acid and Magnesium Complexes on Non-Woven  
Fabric Filters under Alkaline Conditions for the Gene  
Diagnosis of Tuberculosis by Loop-Mediated Isothermal  
Amplification (LAMP)

T. FUKAZAWA<sup>\*1</sup>, N. ODA<sup>\*1</sup>, Y. WADA<sup>\*1</sup>, A. TAMARU<sup>\*2</sup>,  
Y. FUKUSHIMA<sup>\*3</sup>, C. NAKAJIMA<sup>\*3</sup> and Y. SUZUKI<sup>\*3</sup>

Jpn. J. Infect. Dis., 63, 246-250 (2010)

LAMP 法による結核菌検出のために、DNA とマグネシウムイオンが結合する性質を利用して、臨床検体からの DNA 精製法を新しく開発した。

臨床検体中の DNA とマグネシウムをアルカリ条件下で結合させ、結合物をポリエチレンテレフタレート不織布（不織布）で回収した。不織布に付着した DNA を抽出等の操作なしに LAMP 法のテンプレートとして用いたところ、結核菌特異的 DNA 断片を増幅することができた。本抽出法と LAMP を組み合わせた検出効率は既存の市販 DNA 抽出キットを用いた場合より高かった。

<sup>\*1</sup> 宮崎大学

<sup>\*2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

LAMP法およびPCR法によるカンピロバクター・フィータス亜種ヴェネリアリスの迅速簡易検出法の開発

<sup>\*1</sup> 旭化成

<sup>\*2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

<sup>\*3</sup> 北海道大学人獣共通伝染病リサーチセンター

アルカリ条件下でのマグネシウムと核酸の結合と不織布を利用した LAMP 法による結核診断のための新しい DNA 精製法

Appearance and Genetic Diversity of El Tor *Vibrio cholerae* O1 That Possess Classical Biotype *ctxB* among Imported Cases of Cholera in Japan

M. MORITA<sup>\*1</sup>, M. OHNISHI<sup>\*1</sup>, E. ARAKAWA<sup>\*1</sup>, S. YAMAMOTO<sup>\*1</sup>, G. B. NAIR<sup>\*2</sup>, S. MATSUSHITA<sup>\*3</sup>, K. YOKOYAMA<sup>\*3</sup>, A. KAI<sup>\*3</sup>, K. SETO<sup>\*4</sup>, H. WATANABE<sup>\*1</sup> and H. IZUMIYA<sup>\*1</sup>

J. Med. Microbiol., 59, 708-712 (2010)

コレラ菌には古典型、エルトール型の2つの生物型があり、それぞれの生物型に特有のコレラ毒素遺伝子がコードされている。1960年代以降の流行株はエルトール型であるが、最近分離されるコレラ菌は古典型のコレラ毒素遺伝子をもつようになってきた（エルトール型変異株）。我々は、1991年から2006年に日本で分離された海外渡航者由来コレラ菌について、コレラ毒素Bサブユニット遺伝子(*ctxB*)を型別するとともに、分子疫学的手法で解析した。

エルトール型コレラ菌のうちエルトール型変異株は1993年頃から分離され、1995年以降はすべてエルトール型変異株に置き換わった。また、パルスフィールド・ゲル電気泳動および *multilocus variable-number tandem-repeat* 解析の結果、古典型コレラ菌はエルトール型コレラ菌と区別され、エルトールコレラ菌は由来や毒素タイプに関係なく複数の小さなクラスターを作ることがわかった。したがって、1つのタイプのエルトール型変異株が流行したのではなく、多様なエルトール型変異株がそれぞれにアジアで感染拡大していったと考えられた。

<sup>\*1</sup> 国立感染症研究所

<sup>\*2</sup> インド国立コレラ研究所

<sup>\*3</sup> 東京都健康安全研究センター

<sup>\*4</sup> 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

日本における海外渡航者由来 *Vibrio cholerae* O1 エルトール型変異株の分布と遺伝子解析

食品の微生物検査法と食中毒発生時の疫学調査法

5. 下痢原性大腸菌

勢戸和子\*

防菌防黴, 38, 339-350 (2010)

下痢原性大腸菌は病原機序の違いから数種類に分類される。このうち食中毒や集団感染症が報告されているものは、腸管病原性大腸菌 (EPEC)、腸管侵入性大腸菌 (EIEC)、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)、腸管出血性大腸菌 (EHEC)、腸管凝集附着性大腸菌 (EAEC) で、同定には病原因子の確認が必要である。

なかでも腸管出血性大腸菌 (EHEC) は病原性が強く、溶血性尿毒症症候群や脳症などの合併症を引き起こす場合があるため、感染症法では全数把握疾患 (三類感染症) に指定されており、食中毒統計でもその他の病原大腸菌とは区別して集計されている。

食品からの EHEC 検出法は、平成 18 年に厚生労働省から通知された方法に従って実施されるが、食品が冷凍あるいは加熱されている場合は非選択性の増菌培地が望ましい。分離培地は、代表的な血清群である O157 や O26 については特徴的な性状を利用した培地が使用できるが、その他の血清群については、多くのコロニーをベロ毒素 (VT) 産生性または VT 遺伝子保有でスクリーニングする必要がある。

同様に、ETEC はエンテロトキシン産生性、EIEC は細胞侵入性、EPEC と EAEC は細胞附着性を確認して同定する。いずれもエンテロトキシン遺伝子あるいは侵入性や附着性に関連する遺伝子を検出する PCR 法を利用できるが、EIEC は赤痢菌と同一の病原性関連遺伝子を保有するため、生化学的性状や血清型別による鑑別が必要である。

EHEC の遺伝子型別法は、パルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法が標準的解析法になっており、国立感染症研究所と地方衛生研究所を結ぶネットワーク (パルスネット) で PFGE 型と疫学情報を組み合わせて活用されている。PFGE 法は、EHEC 以外の下痢原性大腸菌でも有用である。

\*大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

Diarrheagenic *Escherichia coli*

Isolation of VanA-Type Vancomycin-Resistant  
*Enterococcus* Strains from Domestic Poultry Products with  
Enrichment by Incubation in Buffered Peptone Water at  
42°C

T. HARADA<sup>\*1</sup>, M. KANKI<sup>\*1</sup>, T. KAWAI<sup>\*1</sup>, M.  
TAGUCHI<sup>\*1</sup>, T. ASAO<sup>\*2</sup> and Y. KUMEDA<sup>\*1</sup>

Appl. Environ. Microbiol., 76, 5317-5320 (2010)

2008年9月から2009年4月に大阪府内の小売店で購入した国産鶏肉171検体について、Buffered peptone water (BPW)を用いて35°Cおよび42°C増菌培養を行い、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)分離を行った。これに加え、BPW42°C増菌培養の効果を35°C培養と比較するため、分離株について鶏肉接種試験を行い *vanA* 遺伝子の検出率を比べた。また、分離株の純培養条件下での発育動態を比較した。さらに、市販国産鶏肉を用い BPW35°C培養と BPW42°C培養での一般細菌と *Enterococcus* 属菌の菌数変化を経時的にモニタリングした。

国産鶏肉8検体より VanA 型 *E. faecium* 2株と VanA 型 *E. faecalis* 6株が分離され、このうち5検体は BPW42°C増菌培養液のみからの分離であった。鶏肉接種試験では、*vanA* 遺伝子の検出率は有意に42°C培養が高かった ( $P<0.01$ )。純培養条件下での発育増殖試験では、指数増殖期開始までの時間が35°C培養と比較し、42°C培養で2時間程度短縮された株がみられた。経時的モニタリングでは、*Enterococcus* 属菌数は24時間後の測定で35°C培養に比べ42°C培養で5.5から222.2倍の増加が認められた。以上の結果から鶏肉中の VanA 型 VRE 試験法として、BPW42°C増菌培養は BPW35°C培養よりも優れていることが示された。さらに分離株について制限酵素 SmaI による PFGE 解析を行ったところ、*E. faecium* 2株はそれぞれ異なるパターンを示したが、VanA 型 *E. faecalis* 6株は類似度の高いパターンを示した。

<sup>\*1</sup>大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

<sup>\*2</sup>財団法人日本食品分析センター 彩都研究所

Buffered peptone water 42°C増菌培養による国産鶏肉からの VanA 型 VRE の分離

新型インフルエンザ検査診断

加瀬哲男\*, 森川佐依子\*, 廣井 聡\*

小児科, 51, 1681-1686, (2010)

2009年5月に我が国においても新型インフルエンザ(パンデミックインフルエンザ H1N1(2009))が発生し、各病院・診療所、保健所、地方衛生研究所は、その検査対応に追われた。その中で、簡易診断は迅速診断キット、確定診断には主として国立感染症研究所が開発したリアルタイム RT-PCR が用いられた。新型インフルエンザ発生初期には迅速診断キットの有用性が疑問視されたが、流行が拡大するにつれて診断に関する混乱は少なくなった。確定診断に用いられたリアルタイム RT-PCR は信頼性および利便性に優れていた。血清診断では中和試験および HI 試験による抗体価測定が可能であった。

\*大阪府立公衆衛生研究所

Diagnostic test of pandemic influenza

## 一抄 録一

Evaluation of seasonal influenza vaccination effectiveness based on antibody efficacy among the institutionalized elderly in Japan.

M. HARA<sup>\*1</sup>, K. TANAKA<sup>\*1</sup>, T. KASE<sup>\*2</sup>,  
A. MAEDA<sup>\*3</sup> and Y. HIROTA<sup>\*3</sup>

Vaccine, 28, 5664-5668 (2010)

2002年-03年シーズンに、インフルエンザワクチン効果について、高齢者施設入所者114名において調査した。ここではA/H3N2亜型ウイルスが分離され、44名が37.8°C以上の突然の発熱し、8名が迅速診断キットで陽性となった。多変量解析によってodds ratiosを求めた結果、40倍以上のHI抗体価を持つヒトは、抗体を持たないヒトに較べて発熱の頻度が低く(OR 0.35 95%CI 0.09-1.28)、またインフルエンザと診断された頻度も低かった(OR 0.35 95%CI 0.03-4.64)。40倍以上のHI抗体価は、このような施設内高齢者では、予防効果があると推測できるが、調査規模が小さいために有意差は検出されなかった。

Interleukin-15 is critical in the pathogenesis of influenza A virus-induced acute lung injury

R. NAKAMURA<sup>\*1</sup>, N. MAEDA<sup>\*1</sup>, K. SHIBATA<sup>\*1</sup>, H. YAMADA<sup>\*1</sup>, T. KASE<sup>\*2</sup> and Y. YOSHIKAI<sup>\*1</sup>.

Journal of Virology, 84, 5574-5582 (2010)

インフルエンザではサイトカインストームを原因とする重症肺炎がある。我々は、インターロイキン-15のノックアウトマウスにA/FM/1/47 (H1N1)を感染させた時にウイルスの感染価はコントロールマウスと変わらないが、死亡率が減少することを見つけた。インフルエンザウイルスを感染させたインターロイキン-15のノックアウトマウスでは抗原特異的CD44(+)CD8(+)T細胞が有意に減少していた。またCD8(+)T細胞の欠如は感染マウスの死亡率を減少させた。これらのことは、A型インフルエンザウイルスによる急性肺炎には少なくともインターロイキン-15依存性CD8(+)T細胞が関与していることを示している。

---

\*<sup>1</sup> 佐賀大学医学部予防医学分野

\*<sup>2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

\*<sup>3</sup> 大阪市立大学大学院医学研究科公衆衛生学

日本の施設高齢者における抗体応答からみた季節性インフルエンザワクチンの有効性評価

---

\*<sup>1</sup> 九州大学生体防御医学研究所

\*<sup>2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

A型インフルエンザウイルスによる急性肺炎にはインターロイキン15が重要な役割を果たす

## 一抄 録一

エンテロウイルス 71 による手足口病の成人例

山崎謙治\*, 中田恵子\*

小児科, 52, 377-381 (2011)

成人における手足口病の経験事例と手足口病の総説を記述した。手足口病は夏季を中心として小児の間で流行し、口腔粘膜および四肢末端に水疱性の発疹を生ずる比較的軽度な疾患であり、コクサッキーウイルスA16およびエンテロウイルス71 (EV71)が主な原因ウイルスである。EV71は手足口病に無菌性髄膜炎を伴うことがしばしば認められる。成人における手足口病はまれであるが、2010年EV71の家族内二次感染によって発症した成人の手足口病2事例を経験した。そのうち1事例は無菌性髄膜炎を併発した。

Rapid and Easy Multiresidue Method for Determination of Pesticide Residues in Foods Using Gas or Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry

S. TAKATORI\*, M. OKIHASHI\*, Y. KITAGAWA\*,  
N. FUKUI\*, Y. KAKIMOTO-OKAMOTO\* and H.  
OBANA\*

Pesticides-Strategies for Pesticides Analysis, INTECH,  
ISBN, 978-953-307-460-3, pp.197-214 (2011)

農薬の種類増加と残留基準値の低濃度化に伴って、その分析に必要とされる労力は、増加の一途にある。これに対応するため、迅速かつ簡便な残留農薬一斉分析法は有用である。また、中国製冷凍餃子に含まれた有機リン系農薬による中毒事例に類するケースでは、適用する農薬一斉分析法には、一層、迅速さと簡便さが求められる。そこで著者らは、迅速かつ簡便な残留農薬一斉分析法である QuEChERS 法を改良し、新たな残留農薬一斉分析法を構築した。また、餃子を含む多様な加工食品に対しては、その食品の特性（脂質、糖分、塩分あるいは水分含量）に応じた分析法を系統的に考案し、その適用性について検証した。

---

\*大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

Adults who had hand, foot and mouth disease by infection with enterovirus

71

---

\*大阪府立公衆衛生研究所

タンデム型質量分析計付ガスクロマトグラフまたは液体クロマトグラフを使用した迅速かつ簡便な食品中の残留農薬一斉分析法

Determination of Five Phthalate Monoesters in Human Urine Using Gas Chromatography-Mass Spectrometry

F. KONDO<sup>\*1</sup>, Y. IKAI<sup>\*1</sup>, R. HAYASHI<sup>\*1</sup>,  
M. OKUMURA<sup>\*1</sup>, S. TAKATORI<sup>\*2</sup>, H. NAKAZAWA<sup>\*3</sup>,  
S. IZUMI<sup>\*4</sup> and T. MAKINO<sup>\*4</sup>.

Bull. Environ. Contam. Toxicol. , 85, 92-6 (2010)

質量分析計付ガスクロマトグラフ (GC/MS) を用いた尿中の 5 種類のフタル酸モノエステル(フタル酸モノエチル、モノブチル、モノベンジル、モノエチルヘキシルおよびモノイソノニル) の分析法を開発した。尿中のフタル酸モノエステルおよびこれらのグルクロン酸抱合体について、グルクロン酸脱抱合反応を施した後、ジアゾメタンを用いて誘導体化した。これをフロリジルカラムで精製し、GC/MS で分析した。添加回収試験では、回収率が 86.3-119%であり、その相対標準偏差は、0.6-6.1%であった。本法を 36 検体の試料分析に適用したところ、フタル酸モノエチルおよびフタル酸モノブチルは、すべての検体から検出された。フタル酸モノベンジルおよびモノエチルヘキシルの検出率は、それぞれ 75 および 56%であった。また、フタル酸モノイソノニルについては、すべての検体で不検出であった。なお、フタル酸モノエチルおよびフタル酸モノブチルの尿中濃度は、男性よりも女性で高い傾向にあることが認められた。

加工食品を用いた農薬分析技能試験用  
試料調製の検討

起橋雅浩\*, 小阪田正和\*, 内田耕太郎\*, 永吉晴奈\*,  
山口貴弘\*, 柿本健作\*, 中山裕紀子\*, 尾花裕孝\*

食品衛生学雑誌, 51, 253-257 (2010)

加工食品中の農薬分析を対象とした、技能試験の試料調製方法を検討した。検討用試料としてレトルトカレーとパンケーキを用い、農薬を添加した試料の均一性を評価した。レトルトカレーは調製時と採取時に加熱して均一化することが必要であった。有機リン系農薬およびカーバメート系農薬を中心に、15 種類の農薬を添加したところ、14 種類の農薬濃度で試料の均一性が確認された。パンケーキは生地に 10 種類の農薬を添加した。生地は農薬添加後に加熱調理したが、調製したパンケーキ中の農薬濃度はほとんど影響を受けず、添加した全ての農薬濃度で試料の均一性が確認された。また、-20℃で保存した場合、約 2 ヶ月間は農薬濃度の大きな変化は無かった。以上の結果よりこれらの調製試料は、技能試験用試料として使用可能と考えられた。

\*1 愛知県衛生研究所

\*2 大阪府立公衆衛生研究所

\*3 星薬科大学

\*4 東海大学医学部

質量分析計付ガスクロマトグラフを用いた尿中の 5 種類のフタル酸モノエステルの測定

\*大阪府立公衆衛生研究所

Preparation of Samples for Proficiency Testing of Pesticide Residue Analysis in Processed Foods

Determination of Liothyronine and Levothyroxine in  
Dietary Supplements by HPLC Using a Pre-column  
Derivative

Y. SAWABE\*, T. TAGAMI\*, K. YAMASAKI\*  
and S. TAGUCHI\*

Journal of Health Science, 57, 47-52 (2011)

ダイエット用健康食品に違法に含まれる甲状腺ホルモンであるリオチロニン (T3) とレボチロキシン (T4) の新しい定量法を検討した。本法は LC/MS を必要とせず、4-フルオロ-7-ニトロベンゾフラザン (NBD-F) の誘導体を用いたプレカラム高速液体クロマトグラム法である。T3 と T4 は 10%アンモニア水で抽出し、その抽出液はポリビニルポリピロリドン (PVPP) カラムで処理した。PVPP からの溶出は 60%アセトニトリルを用いた。溶出液中の T3 と T4 は NBD-F で 60°C、30 分で誘導体化された。その誘導体を HPLC で測定した。ODS カラムを用い、アセトニトリルと 0.1%リン酸混液を移動相とし、蛍光検出器で検出した。誘導体は 12 時間、安定であった。添加回収実験により、回収率と精度を検討した。回収率とその標準偏差は T3 で 80.4-103.7%、4.8%以内、T4 で 79.8-101.5%、4.3%以内であった。直線性と特異性も良好であった。定量限界濃度は 0.002  $\mu$  g/ml であった。

\* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課  
プレカラム誘導体化ー液体クロマトグラフ法を用いたダイエット用健康食品に含まれるリオチロニン及びレボチロキシンの定量

Rapid Determination of Atropine and Scopolamine Content  
in Scopolia Extract Powder by HPLC

Y. SAWABE\*, K. YAMASAKI\*, T. TAGAMI\*,  
M. KAWAGUCHI and S. TAGUCHI\*

Journal of Natural Medicines, 65, 395-399 (2011)

複雑な前処理を必要としない、HPLC を用いたロートエキス散中のアトロピンとスコポラミンの迅速な定量法を検討した。試料を 0.1mol/L 塩酸/メタノール(8:2)で抽出し、ペンタフルオロフェニルプロピルカラムで分離し、210nm で検出した。移動相はアセトニトリル・pH5 の 10mmol/L 酢酸アンモニウム混液(8:2)を用いた。本法の直線性は良好であり、定量限界濃度はアトロピンで 5.0  $\mu$  g/mL, スコポラミンで 0.5  $\mu$  g/mL であった。「日局 15」法と比較したとき、同等の精度を示し、アルカロイドの合計値は 1.3-3.7%高い数値を示した。

\* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課  
HPLC によるロートエキス散中のアトロピン及びスコポラミンの迅速定量法

Improvement of the Official Method to Analyze  
Organochlorine Pesticides in Glycyrrhizae Radix

T. TAGAMI\*, K. KAJIMURA\*, C. NOMURA\*,  
K. YAMASAKI\*, Y. SAWABE\*, S. TAGUCHI\* and  
H. OBANA\*

Pharmaceutical and Medical Device Regulatory Science,  
41(4), 318-323 (2010)

第十五改正日本薬局方に収載されている生薬中の有機塩素系農薬を分析する公定法は、カンゾウ中の有機塩素系農薬の回収率が悪いことから改善の余地がある。本研究では、カンゾウを対象とした場合に、回収率が悪くなる原因について検討した。我々の検討から、濃縮工程において生成する茶色のタール状物質に有機塩素系農薬が吸着することが原因と考えられた。そこで、公定法から濃縮工程を省略したところ、良好な回収率および再現性が得られた。検討した分析法は、公定法とほとんど同一であることから、カンゾウ中の有機塩素系農薬の分析法として導入しやすいものと考えられる。検討した分析法を用いて、カンゾウ4試料について分析したところ、対象とした有機塩素系農薬（BHCおよびDDT）は、検出限界以下であった。

トコフェロールニコチン酸エステルカプセルにおける  
溶出挙動の経時変化に関する検討

川口正美\*, 梶村計志\*, 田口修三\*

医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 42,  
149-155 (2011)

トコフェロールニコチン酸エステルの硬カプセル剤（4製剤）について、3種類の条件で保存し、0,3,6ヶ月後に溶出試験を実施した。溶出試験の条件は、局外規第三部に従い、医療用医薬品品質情報集に収載されている4種類の試験液を用い、溶出曲線を作成した。保存試験の結果、溶出挙動に変化が認められた製剤が存在した。40°C,75%RHで6ヶ月間保存した製剤の内、pH1.2の試験液を用いた場合に、製品間の差が最も大きく現れた。そこで、保存後の製剤からカプセル外皮を除いた内容物を試料とし、pH1.2の試験液を用いた溶出試験を行ったところ、溶出の遅延や低下が改善された。

また、変化が認められなかった製剤と変化が認められた製剤の組み合わせで、カプセル外皮と内容物を入れ替えた試料を作成し、同様の条件で溶出試験を行った。その結果、内容物の違いによって溶出挙動が一致する製剤、カプセルの違いによって溶出曲線が一致する製剤、特に一致が認められない製剤があった。

これらのことから、溶出挙動の変化の原因は、カプセル皮膜または内容物の変化、あるいはその両方に起因するものと考えられた。

\*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部  
カンゾウ中の有機塩素系農薬を分析する公定法の改善

\*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課  
Changes in Dissolution Behavior of Tocopherol Nicotinate  
Capsules during Storage



## 一抄 録一

使用人員の少ない家庭用浄化槽の夜間間欠ばっ気運転  
による省電力化と水質への影響

中野 仁\*<sup>1</sup>, 奥村早代子\*<sup>1</sup>, 百合竜三\*<sup>2</sup>, 井上俊行\*<sup>2</sup>

月刊浄化槽, 416, 13-17 (2010)

設置された浄化槽の規模 (人槽) に対し、実際の使用者が少ない、すなわち流入負荷が少ない浄化槽でも24時間連続ばっ気しているのが一般的であり、使用者数当たりの電力消費量は大きくなっている。そこで、このような浄化槽を間欠ばっ気運転にすることにより、処理水質に影響をおよぼすことなく消費電力の低減、ひいては家庭からの二酸化炭素の発生抑制を行うことができないかと考えた。

調査対象は嫌気ろ床接触ばっ気方式の家庭用浄化槽で、5施設において夜間計6時間のばっ気停止を行った。

その結果、使用人員比 (=使用人員/人槽) が0.3以下の浄化槽では、間欠運転が原因とは考えられない突発的な水質悪化を除けば、夜間に間欠ばっ気運転を行っても水質に与える影響はあまりないと考えられた。

今回調査対象とした浄化槽の消費電力は、7人槽で147Wで、6時間ばっ気停止を行った場合には月に26.5kWhの電力が削減され、これを二酸化炭素の排出量に換算すると8.96kg/月(107.5kg/年)が削減されることになる。

小型浄化槽の維持管理と処理状況について

奥村早代子\*<sup>1</sup>, 百合竜三\*<sup>2</sup>, 井上俊行\*<sup>2</sup>

月刊浄化槽, No.416, 23-27 (2010)

窒素除去型 (処理性能値 BOD 10 mg/L以下、T-N 20 mg/L以下) で面整備された浄化槽について、11条検査の8年間のBOD適合率を示した。BOD 10 mg/L以下の適合率は年度により50~75%であった。適合率を上げる目的で、平成21年度から、保守点検と清掃の記録票を、設置された浄化槽に対応するように改善した。しかしながら、平成21年度の11条検査のBOD 10 mg/L以下、20 mg/L以下の適合率ともに、これまでの適合率の範囲内であり、記録票を改善したことによる処理機能の向上は見られなかった。

また、前回清掃から約12か月が経過した浄化槽の処理水質と1次処理第1室の流出水の水質分析を行った。使用人員比が小さいものには、処理水のBOD 3 mg/L以下、透視度50度以上で、1次処理流出水のBOD 20 mg/L以下のものがあつた。使用状況や処理状況を考慮して清掃間隔を調整できれば、より効率的な浄化槽の維持管理が可能になると考えられた。

\*<sup>1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

\*<sup>2</sup> 大阪府豊能町 上下水道部 工務課

Reduction in Electric Consumption and Effect of Effluent Quality using Intermittent Aeration at Nighttime on the Johkasou with a Low Load Condition.

\*<sup>1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

\*<sup>2</sup> 大阪府豊能郡豊能町 上下水道部 工務課

Maintenance Method and Water Quality of Effluent of Small Scale Johkasous

Estimation of Absorption of Aromatic Hydrocarbons Diffusing from Interior Materials in Automobile Cabins by Inhalation Toxicokinetic Analysis in Rats

T. YOSHIDA\*

J. Appl. Toxicol., 30, 525-535 (2010)

芳香族炭化水素は乗用車室内の空気汚染に関与する一般的な化合物類である。本研究では、過去の乗用車室内空気汚染の実態調査結果をもとに芳香族炭化水素7種を選定し、運転中のドライバーにおける各物質の経気道吸収量を動物実験により推定した。

ラットを閉鎖系曝露装置内に入れ、一定量の各炭化水素類を装置内へ注入・気化させたのち、ラットへの吸入により減少する装置内空气中化学物質濃度の時間的推移を調べた。得られた結果を薬物動力学的に解析し、一定濃度の各物質に曝露した際のラットにおける各物質の体内動態をシミュレーションした。さらに、実際の車室内濃度レベルの各化学物質に一定時間曝露されたヒトにおける経気道吸収量を外挿した。購入後1ヶ月の新車の閉め切った車内で夏季に連続2時間運転するドライバー (60 kg) における各物質の吸収量を、ラットから得た結果および車室内空气中化学物質濃度に関する過去の調査結果をもとに推定したところ、トルエン(車室内濃度中央値 40  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  において 30  $\mu\text{g}$ ) および 1,2,4-トリメチルベンゼン(同 24  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 27  $\mu\text{g}$ ) の吸収量が他 (エチルベンゼン(12  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 10  $\mu\text{g}$ )、*o*-キシレン(10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 6.4  $\mu\text{g}$ )、*m*-キシレン(11  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 7.5  $\mu\text{g}$ )、*p*-キシレン(11  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 8.9  $\mu\text{g}$ )、スチレン(11  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  にて 11  $\mu\text{g}$ ) に比較して多かった。同様に、各物質による空気汚染の著しい車室内のドライバーにおけるスチレンの吸収量 (654  $\mu\text{g}$ ) は、WHO の勧告するその耐容一日摂取量の約 1.5 倍であった。

Estimation of  $\alpha$ -Pinene Absorption in the Japanese Resident Based on Toxicokinetic Analysis in Rats by Inhalation Exposure

T. YOSHIDA\*

Indoor Environment, 13, 141-154 (2010)

$\alpha$ -ピネンは、多くの脂肪族及び芳香族炭化水素と同様に日本の住宅内の空気汚染に関与する主要な化学物質である。本研究では、 $\alpha$ -ピネンの2つの異性体(+)-及び(-)- $\alpha$ -ピネンのラットにおける体内動態をそれぞれ薬物動力学的に解析し、ヒトにおける経気道吸収量を外挿した。

ラットを入れた閉鎖系曝露装置内に一定量の $\alpha$ -ピネンを注入後気化させ、ラットへの吸入による装置内濃度推移を調べ、その動態を薬物動力学的に解析した。得られた結果から、一定濃度の $\alpha$ -ピネンに一定時間曝露されたラットにおける吸収量を推定したところ、異性体間で差は認められなかった。ラットにおける炭化水素類の経気道吸収量について過去に我々が得た結果と比較すると、同一の曝露濃度下において $\alpha$ -ピネンは*n*-ヘキサン、*n*-デカン、トルエン、キシレン、エチルベンゼン、スチレンなどよりも吸収されやすく、1,2,4-トリメチルベンゼンと同程度であると推定された。ラットから得た結果及び日本の住宅における各物質の室内濃度に関する過去の調査結果をもとに、居住者 (体重 60 kg) における $\alpha$ -ピネンおよび各炭化水素類の吸収量を推定した。16 時間の在宅時間中の $\alpha$ -ピネン吸収量 (住宅内濃度中央値 4.4  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  において 31  $\mu\text{g}$ ) は、トルエンに次いで多かった。また、各物質による空気汚染の著しい住宅居住者の $\alpha$ -ピネン吸収量 (住宅内濃度 1.8  $\text{mg}/\text{m}^3$  において 13  $\text{mg}$ ) は他の物質の吸収量よりもはるかに多く、米国環境保護庁 (EPA) の提案する $\alpha$ -ピネンの無毒性量 (NOAEL) から算出した耐容一日摂取量 (TDI) と同レベルであった。

\* 大阪府立公衆衛生研究所 生活環境課

乗用車室内において内装材から放散される芳香族炭化水素類の乗員への吸収量の推定 — 吸入曝露ラットにおける体内動態の薬物動力学的解析から —

\* 大阪府立公衆衛生研究所 生活環境課

日本の住宅内での $\alpha$ -ピネン吸収量の推定 — 吸入曝露ラットにおける体内動態の薬物動力学的解析から —

Effects of Nitrous Acid Exposure on Pulmonary Tissues in Guinea Pigs

M. OHYAMA<sup>\*1</sup>, K. OKA<sup>\*2</sup>, S. ADACHI<sup>\*3</sup>  
and N. TAKENAKA<sup>\*4</sup>

Inhal. Toxicol., 22, 930-936 (2010)

膨大な量の疫学調査により二酸化窒素が喘息や呼吸機能に影響を与えることが報告されている。しかし、それらの調査における二酸化窒素測定値は亜硝酸も二酸化窒素として検出される方法で測定された値であり、喘息影響の原因は亜硝酸による可能性がある。実際に、二酸化窒素と亜硝酸を正確に分離測定した疫学調査では、呼吸機能低下は二酸化窒素測定値より亜硝酸測定値と関連したと報告されている。

今回の目的は、亜硝酸ガス発生装置を開発し、かつ、モルモットに亜硝酸曝露し呼吸器の組織変化を調べ、亜硝酸の生体影響を検討することにある。

我々は3.6 ppmの亜硝酸(0.3ppmの二酸化窒素と1.6 ppmの一酸化窒素の副生を含む)を4週間モルモットに連続曝露し、肺の組織学的検索を行った。その結果、ガス曝露により肺気腫様変化や肺胞道の湾曲や、肺胞道での平滑筋細胞や気管支上皮細胞の伸展が認められた。これらの結果は、高濃度の亜硝酸ガスは呼吸機能の低下や呼吸器の傷害を起こすことを示唆する。

Association between Occupational Exposure Levels of Antineoplastic Drugs and Work Environment in Five Hospitals in Japan

J. YOSHIDA<sup>\*1</sup>, S. KODA<sup>\*2</sup>, S. NISHIDA<sup>\*3</sup>,  
T. YOSHIDA<sup>\*1</sup>, K. MIYAJIMA<sup>\*1</sup> and S. KUMAGAI<sup>\*1</sup>

J. Oncol. Pharm. Pract., 17, 29-38 (2011)

本研究の目的は、医療従事者がより安全な環境で抗がん剤を調製するための対策を評価することである。筆者らは、国内5病院(病院A~E)の調製現場における抗がん剤の汚染とその取扱い状況の関連性について調べた。

空気サンプル、調製室内備品およびエアコンフィルタ拭きサンプルを採取してシクロホスファミド(CPA)、フルオロウラシル(5FU)、ゲムシタビン(GEM)、白金製剤(Pt)を測定した。薬剤師の24時間尿を採取してCPAおよびPtを測定した。

その結果、病院Bの安全キャビネット内空気サンプルからPtが検出された。拭き試料については、病院A,B,Dの安全キャビネット内から、また病院A,B,C,Dの安全キャビネット以外の備品から抗がん剤が検出された。CPAと5FUが病院Aのエアコンフィルタ拭き試料から、CPAが病院Dのエアコンフィルタ拭き試料から検出された。病院B,D,Eの薬剤師の尿サンプルからCPAが検出された。

抗がん剤の汚染レベルは、抗がん剤取扱量、調製室内の備品の清掃方法および薬剤師の陰圧手技などの技術の違いによるものと考えられた。手技のみならず、適切な清掃方法等を網羅した安全対策が職場環境汚染と職業性抗がん剤曝露を予防するためには必要であることがわかった。

<sup>\*1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*2</sup> 大阪府環境農林水産総合研究所

<sup>\*3</sup> 相模女子大学

<sup>\*4</sup> 大阪府立大学大学院工学研究科

モルモット肺組織における亜硝酸曝露の影響

<sup>\*1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*2</sup> 独立行政法人労働安全衛生総合研究所

<sup>\*3</sup> 近畿大学薬学部

国内5病院における抗悪性腫瘍剤の職場曝露とその取扱い方法との関連性について

## 一抄 録一

家庭用品に含有されるトリブチルスズ、トリフェニルスズの分析法 ー公定分析法の改定にむけてー

中島晴信<sup>\*1</sup>, 富山健一<sup>\*2</sup>, 河上強志<sup>\*3</sup>, 伊佐間和郎<sup>\*3</sup>

薬学雑誌, 130, 945-954 (2010)

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」で使用が禁止されているトリブチルスズ化合物 (TBT) 及びトリフェニルスズ化合物 (TPT) の公定分析法の改定法として、TBT 及び TPT を誘導体化 (水素誘導体化法とエチル誘導体化法) し、GC/MS で検出する方法を検討した。次に、①繊維製品、②水性製品 (水性塗料など)、③油性製品 (ワックスなど) ④接着剤と、分析対象品によって異なる前処理法を検討した。内部標準物質に各サロゲート物質 (TBT-d<sub>27</sub>, TPT-d<sub>15</sub>) を用いた添加回収実験を行い、良好な回収率 (TBT が 94.5 ~ 118.6%, TPT が 86.6 ~ 110.1%) が得られた。開発した分析法で、市販製品を分析したところ、1 製品 (接着剤) から、法規制基準値を超過する TBT が検出された。そこで、製造日の異なる同一製品を分析したところ、8 製品中 4 製品から規制基準超過の TBT (10.2 ~ 10.8 µg/g) が検出されると共に、高濃度の DBT が検出された。当該製品には、DBT の不純物である TBT が残存していたものと考えられた。本法は、現公定法の改定法として十分適用できるものと考えられる。

Analysis of Relation between an Intercellular Calcium and Cell Death Mechanism in RCR-1 Cells Exposed to Tributyltin Chloride

KI. TOMIYAMA<sup>\*1,5</sup>, T. KURIYAMA<sup>\*2,5</sup>,  
H. NAKASHIMA<sup>\*3</sup>, Y. OGAWA<sup>\*4</sup>  
and Y. ARAKAWA<sup>\*4,5</sup>

Trace Nutrients Research, 27, 28-34 (2010)

トリブチル錫 (TBT) の脳内暴露に伴い嗅球や海馬において Ca<sup>2+</sup>が選択的に蓄積する。ラット大脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 に TBT を暴露し、アポトーシスの指標として caspase-3 を、ネクローシスの指標として Propidium Iodide を測定した結果、caspase-3 の活性化を伴うアポトーシス誘導が確認された。次に、細胞内 Ca<sup>2+</sup>増加が細胞死誘導に関与しているか調べるために、細胞内変化を Fura2-AM で、Ca<sup>2+</sup>依存型アポトーシス因子として calpain の活性を解析したところ、Ca<sup>2+</sup>の増加に伴って calpain の活性増加が認められた。さらに、アポトーシスの誘導に関与しているミトコンドリア膜電位の変化と cytochrome c 遊離を観察した。その結果、ミトコンドリアの膜電位が経時的に低下し、それに伴う cytochrome c の遊離が確認された。従って、TBT による RCR-1 の細胞死は、細胞内 Ca<sup>2+</sup>の増加に伴うアポトーシス誘導とミトコンドリアによるアポトーシス誘導という少なくとも 2 つのメカニズムに誘導されることが示唆された。

<sup>\*1</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*2</sup> 静岡県立大学

<sup>\*3</sup> 国立医薬品食品衛生研究所

Analytical Method for Tributyltin and Triphenyltin Contained in Household Products - Preparing for the Revision of Authorized Analytical Method -

<sup>\*1</sup> (独)国立精神・神経医療研究センター

<sup>\*2</sup> 東北生活文化大学

<sup>\*3</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*4</sup> (独)労働安全衛生総合研究所

<sup>\*5</sup> 静岡県立大学

ラット大脳由来アストロサイト細胞株 RCR-1 を用いた TBT 暴露によって誘導される細胞内カルシウムと細胞死誘導メカニズムの解析

Mechanism Underlying Olfactory Disturbance Induced by  
Intraperitoneal Injection of Tributyltin Chloride in Rat

KI. TOMIYAMA<sup>\*1</sup>, H. NAKASHIMA<sup>\*2</sup>,  
Y. ARAKAWA<sup>\*3</sup> and H. KUMAGAI<sup>\*4</sup>

Toxicology, 276, 110-114 (2010)

トリブチル錫 (TBT) 暴露による中枢神経障害の一つである嗅覚障害誘発メカニズムの一端を解明できた。ラットに 2.5 mg/kg の TBT を腹腔内投与し、嗅覚試験、嗅球での TBT 濃度測定および嗅球病理組織の検討を行った。嗅覚試験は、鼠類の忌避剤として用いられているシクロヘキシミド (CYH) 含有水を 0.1、1、10、100 ppm 濃度で調製し、これを用いてラットの臭い判断能力を観察した。TBT 暴露前には CYH 含有水の忌避率は 100%であったが 96 時間後には 0.1-10 ppm の間で忌避率が 50%まで低下し嗅覚能力が低下したと考えられた。また、GC/MS を用いたエチル誘導体化による TBT 分析によって、嗅球中 TBT 濃度は 24 時間で最大となり、以後速やかに減少することが確認された。嗅球組織では、TBT 暴露 24 時間および 96 時間の嗅球糸球体、僧帽細胞層、顆粒細胞層で細胞脱落を認め、その原因は TUNEL 染色によってアポトーシスであることが確認された。以上の結果から、TBT は体内に取り込まれると速やかに嗅球に移行し、嗅球組織内でアポトーシスを誘導し、その結果ラットは嗅覚異常に至ると考えられた。

病院の病理検査室におけるホルムアルデヒドばく露の  
リスクアセスメントについて

甲田茂樹<sup>\*1</sup>, 熊谷信二<sup>\*2</sup>, 佐々木 毅<sup>\*1</sup>, 吉田 仁<sup>\*2</sup>

労働安全衛生研究, 3, 5-10 (2010)

病院の病理検査室で働く検査技師のホルムアルデヒドばく露を評価するために、勤務時間およびホルムアルデヒドを直接取り扱う作業におけるパッシブサンプラーを用いたばく露測定を実施した。二つの病院の病理検査室に勤務する 9 名の検査技師に協力していただき、勤務時間中のばく露測定を 30 事例、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業の短時間ばく露を 11 事例について実施し、一日の労働時間やホルムアルデヒドの高濃度ばく露が予想される作業でのばく露時間との関係を検討した。

病理検査室で働く検査技師の勤務時間中のホルムアルデヒドばく露測定を実施した結果、その三分の二で許容濃度の 0.1 ppm を超えていた。ホルムアルデヒドのばく露濃度は、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業の時間と有意な高い相関が認められ、さらに、その取り扱う作業時間が 1 時間を超える (60.0%) と、1 時間以下の場合 (6.7%) に比べて許容濃度の 0.1 ppm を超える比率が有意に高くなっていた。ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業における短時間ばく露測定結果では、半数近くが日本産業衛生学会 (0.2 ppm) や ACGIH (0.3 ppm) の提案する天井値としてのばく露基準も超えていた。

病理検査室に勤務する検査技師のホルムアルデヒドばく露の低減対策を実施するためには、ホルムアルデヒドを直接取り扱う作業に関しては、局所排気装置を備えたドラフト内部で行うことを徹底することが必要であろう。

<sup>\*1</sup> (独)国立精神・神経医療研究センター

<sup>\*2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

<sup>\*3</sup> (独)労働安全衛生総合研究所

<sup>\*4</sup> 静岡県立大学

トリブチル錫腹腔内投与によるラット嗅覚障害発症メカニズムの解析

<sup>\*1</sup> 独立行政法人労働安全衛生総合研究所

<sup>\*2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

Risk Assessment for Formaldehyde Exposure among Medical Technicians of Hospital Pathological Section

## 一抄 録一

### Analysis of Primary Aromatic Amines Originated from Azo Dyes in Commercial Textile Products in Japan

T. KAWAKAMI<sup>\*1</sup>, K. ISAMA<sup>\*1</sup>, H. NAKASHIMA<sup>\*2</sup>,  
T. TSUCHIYA<sup>\*1</sup> and A. MATSUOKA<sup>\*1</sup>

J. Environ. Sci. Health PartA, 45, 1281-1295 (2010)

EU 及び中国で規制されている繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類 24 種類並びに aniline および 1,4-phenylenediamine の計 26 種類について、分析法の検討と試買調査を行った。試買調査製品数は 86 製品、総検体数は 121 検体であった。その結果、21 種類のアミン類が検出限界値以上で 1 検体以上検出されたが、それらのほとんどは低濃度であった。しかし、インド製の綿製品 (ランチョンマット) の一部から EU の基準値 (30 µg/g) を超過した対象アミン類を検出した。基準値超過は、benzidine、3,3'-dimethoxybenzidine および 2,4-diaminotoluene であり、その濃度は 56.2~439 µg/g であった。また、基準値超過製品数は 7 製品、検体としては 8 検体であった。2 種類の前処理方法を 15 検体についてそれぞれ実施し比較したところ、両方で検出されるアミン類が異なる場合が認められ、綿とポリエステルなど材質の異なる繊維が混合され、それらが分離しにくい場合には両方の前処理方法を行い、それぞれ測定することが望ましいと考えられた。

---

<sup>\*1</sup> 国立医薬品食品衛生研究所

<sup>\*2</sup> 大阪府立公衆衛生研究所

繊維製品中に含有するアゾ染料由来の芳香族アミン類の分析