

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告

平成28年



BULLETIN
OF
OSAKA PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No.54 (2016)

大阪府立公衆衛生研究所

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告

目 次

—研究報告—

大阪府における蚊媒介性ウイルス感染症に対するサーベイランス調査（2015年度）	青 山 幾 子 石 川 温 子 弓 指 孝 博	山 元 誠 司 尾 崎 瑤 子 加 瀬 哲 男	1
大阪府におけるエンテロウイルス感染症の流行状況と分子疫学的解析（2015年度）	中 田 恵 子 弓 指 孝 博	左 近 直 美 加 瀬 哲 男	9
農産物中の残留農薬の検査結果（平成26年度～平成27年度）	北 川 陽 子 山 口 聡 子 吉 光 真 人 高 取 聡 尾 花 裕 孝	福 井 直 樹 小 阪 田 正 和 阿 久 津 和 彦 梶 村 計 志	17
総アフラトキシン試験法の妥当性評価	小 阪 田 正 和 福 井 直 樹	吉 光 真 人 梶 村 計 志	29
マルチモードカラムを用いた簡便な危険ドラッグスクリーニング法の開発	武 田 章 弘 浅 田 安 紀 子 梶 月 由 香 沢 辺 善 之	田 上 貴 臣 土 井 崇 広 川 口 正 美	34
大阪府内22浄水場におけるカルタップ、グルホシネット、ジチオカルバメート系農薬、パラコート、ピラクロニルおよびフェリムゾンの存在実態	吉 田 仁 安 達 史 恵 中 島 孝 江 足 立 伸 一	高 木 総 吉 小 泉 義 彦 田 中 榮 次	39
大阪府水道水質検査外部精度管理結果 - 臭素酸（平成26年度） -	中 島 孝 江	足 立 伸 一	44
大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 - ハロ酢酸（平成26年度） -	小 泉 義 彦	足 立 伸 一	50
大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 - ジクロロメタン（平成27年度） -	小 泉 義 彦	木 村 明 生	59
浄化槽処理水中の大腸菌群と大腸菌の環境中での消長	中 野 仁		64
小型浄化槽の運転状況と放流水質の実態調査（第2報）	奥 村 早 代 子 東 恵 美 子	肥 塚 利 江 浅 野 和 仁	70

クレオソート油を使用した市販中古枕木の違反事例 -法規制されている3種の多環芳香族炭化水素の検出-	味村真弓 吉田仁	小泉義彦 中島晴信	77
大阪府における環境および食品中放射能調査（平成27年度報告）	肥塚利江 足立伸一	東恵美子	83
—抄録—			
4種類のウイルス感染と関連する小児の急性脳症事例報告 （英文）	中田恵子 榊田翠 大場千鶴 加瀬哲男	柏木充 茂原聖史 村田真野 駒野淳	91
下痢のみを主症状とした乳児集団感染性胃腸炎事例からのコク サッキーウイルスB5型とヒトパレコウイルス1型の検出 — 大阪府	中田恵子 松尾由美 加瀬哲男	左近直美 弓指孝博	91
E型肝炎の輸入感染症例報告	左近直美 藤岡研 木下真孝 入交重雄 石井孝司	弓指孝博 関雅之 三島伸介 倭正也	92
新たなノロウイルス流行株に対する迅速体外診断薬の評価	左近直美	加瀬哲男	92
小児における呼吸器ウイルスの流行像および、ライノウイルス の重症度との関連（英文）	森川佐依子 保坂泰介 赤川翔平 加瀬哲男	関府寺美 石井紘介 廣井聡	93
大阪府における風しん流行と先天性風しん症候群の発生動向	倉田貴子 弓指孝博 小林和夫 木下優 安井良則 東野博彦 吉田英樹 廣川秀徹 入谷展弘 谷本芳美 大石和徳 感染症情報解析評価委員会 大阪市立環境科学研究所 堺市衛生研究所 大阪府 堺市	上林大起 加瀬哲男 田邊雅章 松本治子 塩見正司 八木由奈 奥町彰礼 狭間礼子 信田真里 松浪桂 砂川富正	93

	高 槻 市 豊 中 市 枚 方 市 国 立 感 染 症 研 究 所	
成人での風疹流行状況下における麻疹報告数の増加（英文）	倉 田 貴 子 上 林 大 起 西 村 公 志 駒 野 淳 加 瀬 哲 男 高 橋 和 郎	94
小さな吸血鬼と病気の話 - 蚊やマダニが吸血するしくみと媒介する感染症について -	弓 指 孝 博	94
病期進行が早い感染初期HIV-1症例の一群において $p^{6gag/pol}$ と pol/vif に新規の変異を有するHIV-1が検出された（英文）	森 治 代 小 島 洋 子 川 畑 拓 也 松 浦 基 夫 宇 野 健 司 古 西 満 駒 野 淳	95
日本の未治療HIV-1感染初期症例における薬剤耐性変異の解析（英文）	服 部 純 子 椎 野 楨 一 郎 潟 永 裕 之 森 治 代 南 留 美 内 田 和 江 貞 升 健 司 近 藤 真 紀 子 杉 浦 互	95
性感染症クリニック及び産科病院における口腔内性感染症に関する検体検査と性行動アンケート調査	白 井 千 香 古 林 敬 一 川 畑 拓 也 吉 田 弘 之 荒 川 創 一	96
日本人HIV感染者における新たな組換えB型肝炎ウイルスの発見	小 島 洋 子 川 畑 拓 也 森 治 代 古 林 敬 一 谷 口 恭 井 戸 田 一 朗 駒 野 淳	96
腸炎ビブリオの迅速かつ簡便な同定法(イムノクロマト法)の開発(英文)	坂 田 淳 子 川 津 健 太 郎 岩 崎 忠 久 米 田 裕 子	97
選択分離培地上のTDH産生腸炎ビブリオコロニーを直接同定する際のイムノクロマトアッセイの評価（英文）	川 津 健 太 郎 坂 田 淳 子 米 北 太 郎 久 米 田 裕 子	97
食品検査においてすべての志賀毒素サブタイプ遺伝子と志賀毒素産生性大腸菌026、0111、0157をスクリーニングするためのリアルタイムPCR法の確立（英文）	原 田 哲 也 井 口 純 伊 豫 田 淳 勢 戸 和 子 田 口 真 澄 久 米 田 裕 子	98
非分泌型の患者から検出されたノロウイルス遺伝子型GII.4のキャプシッドの解析（英文）	依 田 知 子 鈴 木 定 彦 青 山 幾 子 山 崎 謙 治 中 田 修 二 高 橋 和 郎	98

大阪府内で収集したリステリア・モノサイトゲネス食品由来株の InlAおよびPrfA表現型の特徴とCaco-2細胞への侵襲能力について (英文)	神 吉 政 史 田 口 真 澄	成 世 久 世 久 米 田 裕 子	99
ホーチミン市の食品流通過程におけるESBL/AmpC 産生大腸菌の汚染状況 (英文)	Do Phuc Nguyen Thi Anh Dao Nguyen Thi Hien Le Nguyen Minh Doan Tran Thanh Phong Ngo Van Chinh Dang 河 合 高 生 神 吉 政 史 陳 内 理 生 山 本 容 正	河 原 隆 二 余 野 木 伸 哉 平 井 佑 治 久 米 田 裕 子	99
日本で分離された第三世代セファロスポリン耐性 腸管出血性大腸菌O157:H7の解析 (英文)	河 原 隆 二 田 口 真 澄 久 米 田 裕 子	勢 戸 和 子 中 島 千 絵 鈴 木 定 彦	100
日本の長期ケア施設における GES-5 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生緑膿菌 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i>) によるアウトブレイクの制御 (英文)	金 山 敦 宏 山 岸 拓 也 小 原 ゆ み 子 森 定 一 稔 川 西 史 子 松 井 珠 乃	河 原 隆 二 後 藤 研 三 高 野 正 子 浮 村 聡 田 渕 文 子 大 石 和 徳	100
1-クロロピレンの酸化的代謝物の同定及び特性評価(英文)	柿 本 健 作 稲 角 直 也 小 西 良 昌 大 浦 健 唐 寧 鳥 羽 陽	永 吉 晴 奈 谷 篤 史 梶 村 計 志 中 野 武 早 川 和 一	101
大阪府7市の小学校給食における食物アレルギー対応に関する調査	清 田 恭 平 岡 島 沙 織 梶 井 訓 吉 光 真 人 梶 村 計 志	竹 元 晶 子 森 野 静 香 佐 久 間 淳 子 阿 久 津 和 彦	101
オレンジアレルゲンであるプロフィリン(Cit s 2)の定量法の開発(英文)	清 田 恭 平 坂 田 淳 子 阿 久 津 和 彦	川 津 健 太 郎 吉 光 真 人 梶 村 計 志	102
母乳中のポリ塩化ビフェニル鏡像体組成の推移(英文)	小 西 良 昌 永 吉 晴 奈	柿 本 健 作 中 野 武	102

汎用マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価	福井直樹 山口聡子 吉光真人 梶村計志	高取 聡 北川陽子 小阪田正和 尾花裕孝	103
貝9種類の下痢性貝毒分析法の妥当性評価	山口瑞香 柿本健作 起橋雅浩	山口貴弘 永吉晴奈 梶村計志	103
ハーブ製品中のLY2183240およびその位置異性体の類似体の同定	浅田安紀子 武田章弘 川口正美 沢辺善之	土井崇広 田上貴臣 皐月由香	104
危険ドラッグ製品から検出された α -PVT, α -PBTおよびそのブロモ・チエニル類似体の同定	土井崇広 武田章弘 片木宗弘 鎌田寛恵 皐月由香 尾花裕孝	浅田安紀子 田上貴臣 松田駿太郎 川口正美 沢辺善之	104
水中農薬類分析における安定同位体元素標識化合物の有用性について	高木総吉 吉田仁 中島孝江 足立伸一	安達史恵 小泉義彦 田中榮次	105
直接注入-高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)法によるネライストキシンを指標とした水試料中カルタップの定量	吉田仁 小泉義彦	高木総吉 足立伸一	105
行政の動き 府民の健康と生活の安全を守る ～大阪府立公衆衛生研究所～	枝川亜希子		106
培養法、アメーバ共培養法、およびリアルタイムPCR法を用いた浴槽水のレジオネラ汚染調査（英文）	枝川亜希子 倉田（川淵）貴子 足立伸一 宮本比呂志	木村明生 古畑勝則	106
温泉水から分離された新種 <i>Legionella thermalis</i> （英文）	石崎直人 井上浩章 枝川亜希子 福山正文	曾川一幸 縣 邦雄 宮本比呂志 古畑勝則	107
集合住宅に付帯する低負荷浄化槽への間欠ばっ気運転導入について	中野仁 佐竹哲	奥村早代子 角谷和志	107
浄化槽の維持管理指導による放流水質と河川水質の改善について	杉原敬太 西村貴文	奥村早代子	108

大阪府における蚊媒介性ウイルス感染症に対するサーベイランス調査 (2015年度)

青山幾子^{*1} 山元誠司^{*1} 石川温子^{*1} 尾崎瑤子^{*1} 弓指孝博^{*1} 加瀬哲男^{*2}

大阪府では蚊媒介性ウイルス感染症、特にウエストナイルウイルス(WNV)の侵入を監視する目的で、2003年度より媒介蚊と死亡カラスについてサーベイランス事業を実施している。

2015年度は6月末から9月末にかけて府内24カ所で蚊の捕集を行い、得られた雌の蚊についてWNV遺伝子の検出を試みた。捕集された蚊は9種4718匹で、そのうちヒトスジシマカ(59.8%)とアカイエカ群(37.9%)が大部分を占め、他にコガタアカイエカなど7種類が捕集された。定点別及び種類別の蚊393プールについてWNV遺伝子検査を実施したが、すべての検体においてWNVは検出されなかった。さらに、ヒトスジシマカ170プールについて、デングウイルスとチクングニアウイルス遺伝子検査を実施したが、いずれも陰性であった。また、死亡カラス6羽の脳を対象にWNV遺伝子検査を行ったが、WNVは検出されなかった。

キーワード:蚊媒介性感染症、ウエストナイルウイルス、媒介蚊、サーベイランス、RT-PCR

Key words: mosquito-borne infection, West Nile Virus, vector mosquitoes, surveillance, RT-PCR

ウエストナイルウイルス(WNV)は、フラビウイルス科フラビウイルス属に属し、アルボウイルス(arthropod-borne virus: 節足動物によって媒介されるウイルス)の一つとされている。WNVは主に蚊を介してヒトに感染し、発熱疾患や脳炎を引き起こす原因となる¹⁾。同様に、蚊が媒介するウイルス性感染症にはデング熱やチクングニア熱、日本脳炎などがある。デング熱と日本脳炎の病原体は、WNVと同じフラビウイルス属のデングウイルス(DENV)、日本脳炎ウイルス(JEV)で、チクングニア熱の病原体はトガウイルス科アルファウイルス属に属するチクングニアウイルス(CHIKV)である。

ウエストナイル熱は、従来アフリカ、ヨーロッパ、

西アジア、中東を中心に散発的な流行がみられた感染症である¹⁾。しかし、1999年に米国で初めて発生して以来、北米での流行は毎年持続し、中南米へも拡大した^{2,3)}。米国では2003年に患者数9862人(死者264人)が報告され、国全域での大流行となった。その後4年間は患者数が2500~4200人前後で推移していたが、2009年には患者数が720人(死者32人)にまで減少し、このまま流行は収束していくかのように思われた。しかし、2012年には再び大流行が起こり、患者数は5674人(死者286人)となった。その後も患者数は毎年2000人を超えており、ウエストナイル熱の脅威は去っていない²⁾。わが国では2005年に米国渡航者によるウエストナイル熱の輸入症例が初めて確認された⁴⁾。現在のところ、国内における感染報告事例はない。

デング熱は世界的には熱帯・亜熱帯地域を中心に毎年3億9千万人が感染していると推定されている疾患で⁵⁾、近年国内への輸入症例も年間200例を超え、2006~2009年に比べ倍以上に増加している⁶⁾。国内での発生は約70年間見られなかったが、2014年夏に東京都内の公園を中心に流行が起こり、162人のデング熱患者が

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

^{*2}大阪府立公衆衛生研究所感染症部

(2016年3月における所属)

Mosquito-borne Virus Surveillance in Osaka Prefecture. (Fiscal 2015 Report)

by Ikuko AOYAMA, Seiji YAMAMOTO, Atsuko ISHIKAWA, Yoko OZAKI, Takahiro YUMISASHI, and Tetsuo KASE

発生した⁷⁾。これらのデング熱患者は、東京都を中心に大阪府を含む 15 以上の都府県で報告された⁸⁾。

チクングニア熱は、近年流行域が急速に拡大しており、2004 年頃にアフリカ東海岸で流行が見られた後、2005 年にはインド洋諸島およびアジアの熱帯・亜熱帯地域へ拡大した。その後 2013 年には西半球のカリブ海の諸島国、2014 年には北南米の熱帯・亜熱帯地域に拡大した⁹⁾。日本への輸入症例は 2007 年にはじめて報告され¹⁰⁾、2015 年までに 85 人が報告されている^{6,11~13)}。現在のところ、国内における CHIKV 感染報告事例はない。

また、日本脳炎は以前から国内で発生の見られる疾患で、不活化ワクチンが定期接種として普及しており、国内の患者の発生数は毎年約 10 名以下である⁶⁾。しかし、感染症流行予測調査におけるブタの日本脳炎抗体保有状況を見ると¹⁴⁾、2015 年では 29 県で新鮮感染抗体陽性のブタが確認され、JEV が蔓延あるいは活動している地域では、ヒトへの感染の危険性が高くなっていると考えられる。

このように、近年、蚊媒介性ウイルス感染症の流行地域が拡大し、予防や診断が重要となっている。予防として、国内で利用できるワクチンは現在のところ日本脳炎のみである。海外では、デング熱ワクチンが 2015 年 12 月に初めてメキシコで認可され、現在 WHO の推奨する地域で限定的に使用されている¹⁵⁾。ウエストナイル熱ワクチンはウマ用が以前から実用化されているものの、まだヒト用は実用化されていない¹⁶⁾。そのため、我々のできる身近な予防法としては蚊に刺されないことが重要となる。

わが国において WNV の媒介蚊として注意すべき種類は 10 種を超え、また DENV、CHIKV の媒介蚊となるヒトスジシマカは、本州の秋田県・岩手県以南に定着している¹⁷⁾。そのため、これら蚊媒介性ウイルスの国内への侵入は非常に危惧されており、流行を監視する必要がある。現在、国のガイドラインにおいて地方自治体における媒介蚊の調査体制が求められている^{18,19)}。幸い、2014 年のデング熱の国内流行の際は報告されたデング患者の居住地等に関連するような大きな 2 次流

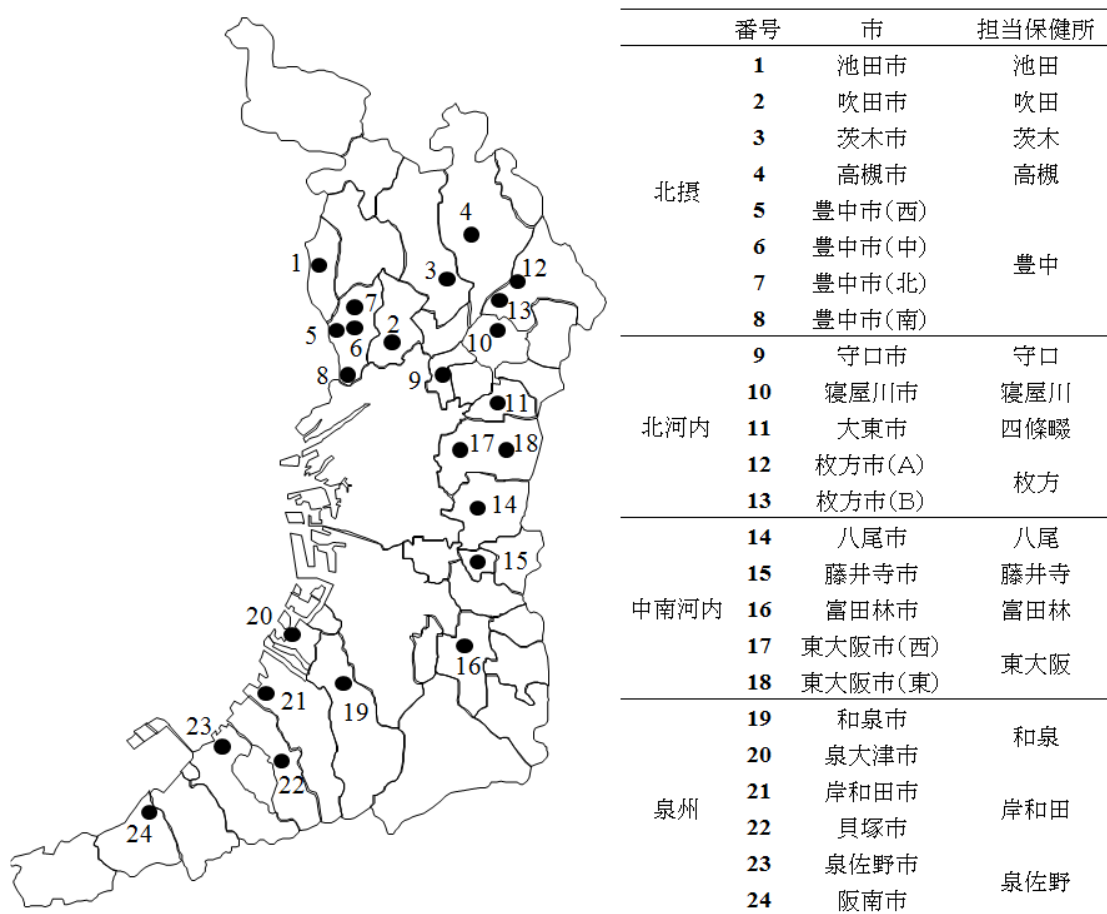


図1 蚊の捕集地点定点

行は見られなかったが、今後同様の国内流行が起きた際も2次流行が起きないように努めることが重要である。

大阪府ではWNVの侵入を早期発見し、蔓延を防止するために、2003年度より蚊のサーベイランス調査を開始し^{20,21)}、WNVに対する継続的な監視を実施してきた²²⁾。また、サーベイランスに加え、WNV侵入後の対応が速やかに行える体制を整えるため、2004年にウエストナイル熱対応指針を策定した²³⁾。さらに、蚊媒介性疾患に対する防疫に対応できるよう大阪府保健所の環境衛生監視員に対し、大阪で捕集される主要な蚊の同定法や蚊の捕集法（トラップの設置方法やヒト図法による捕集法）、蚊の生息場所等について毎年研修を実施している。蚊の調査以外にも、厚生労働省の通知に従い²⁴⁾、死亡原因の不明なカラスの死骸が同地点で2羽以上見られた場合、そのカラスについてWNV検査を実施している。また、WNV検査を実施する際にWNV特異的な検査法以外にフラビウイルスを共通で検出可能な系を用いて、DENVやJEVもスクリーニング検査を実施してきたが、その系で検出できないアルファウイルスのCHIKVについても2008年度から検査を開始し、流行監視を実施している²⁵⁾。ここでは2015年度の調査結果について報告する。

調 査 方 法

1. 捕集定点および調査実施期間

図1に示したように大阪府管内、東大阪市、高槻市、豊中市、枚方市の市街地域に計24カ所の定点を設定し、2015年6月第4週から9月第4週（東大阪市及び高槻市は9月第2週）までの期間、隔週の火曜日から水曜

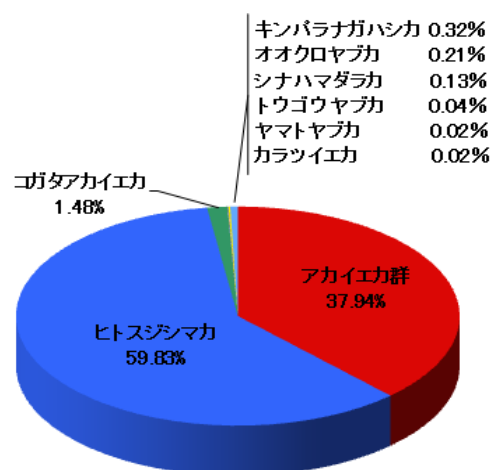


図2 捕集された蚊の比率 (24地点)

日に蚊の捕集調査を実施した。昨年度20カ所より地点6、7、8、13の4カ所が増設された。ただし、地点7と地点8は実施日によってどちらかの定点を選択して実施した。

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集にはCDCミニライトトラップ(John W.Hock Company)を使用し、蚊の誘引のためドライアイス(1～2kg)を併用した。トラップは調査実施日の夕刻16～17時から翌朝9～10時までの約17時間設置した。トラップを設置する高さは地上1.5～2mの高さとした。

3. 蚊の同定

捕集した蚊は、各保健所において種類を同定し、種類ごとに別容器に入れて当日中に公衆衛生研究所に搬入した。同定が困難な蚊等については公衆衛生研究所で再度同定を実施した。アカイエカとチカイエカは外

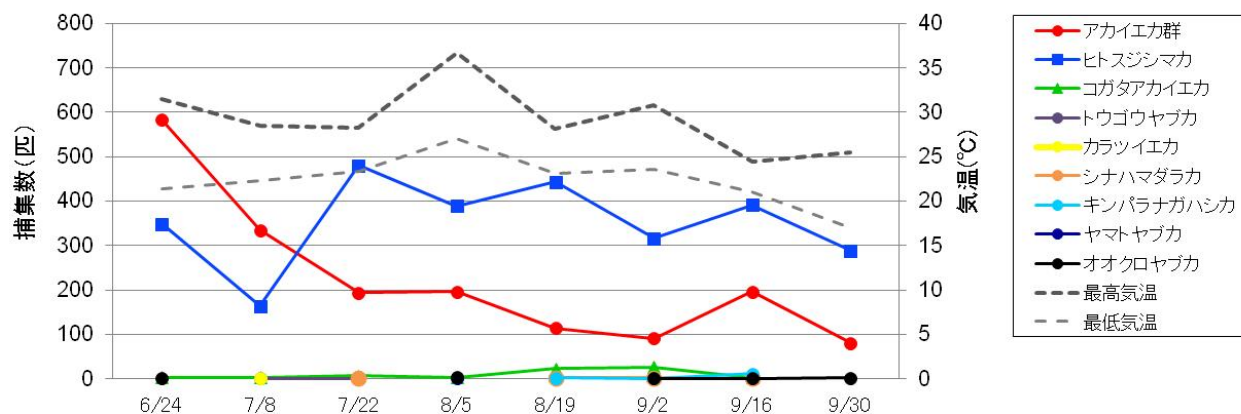


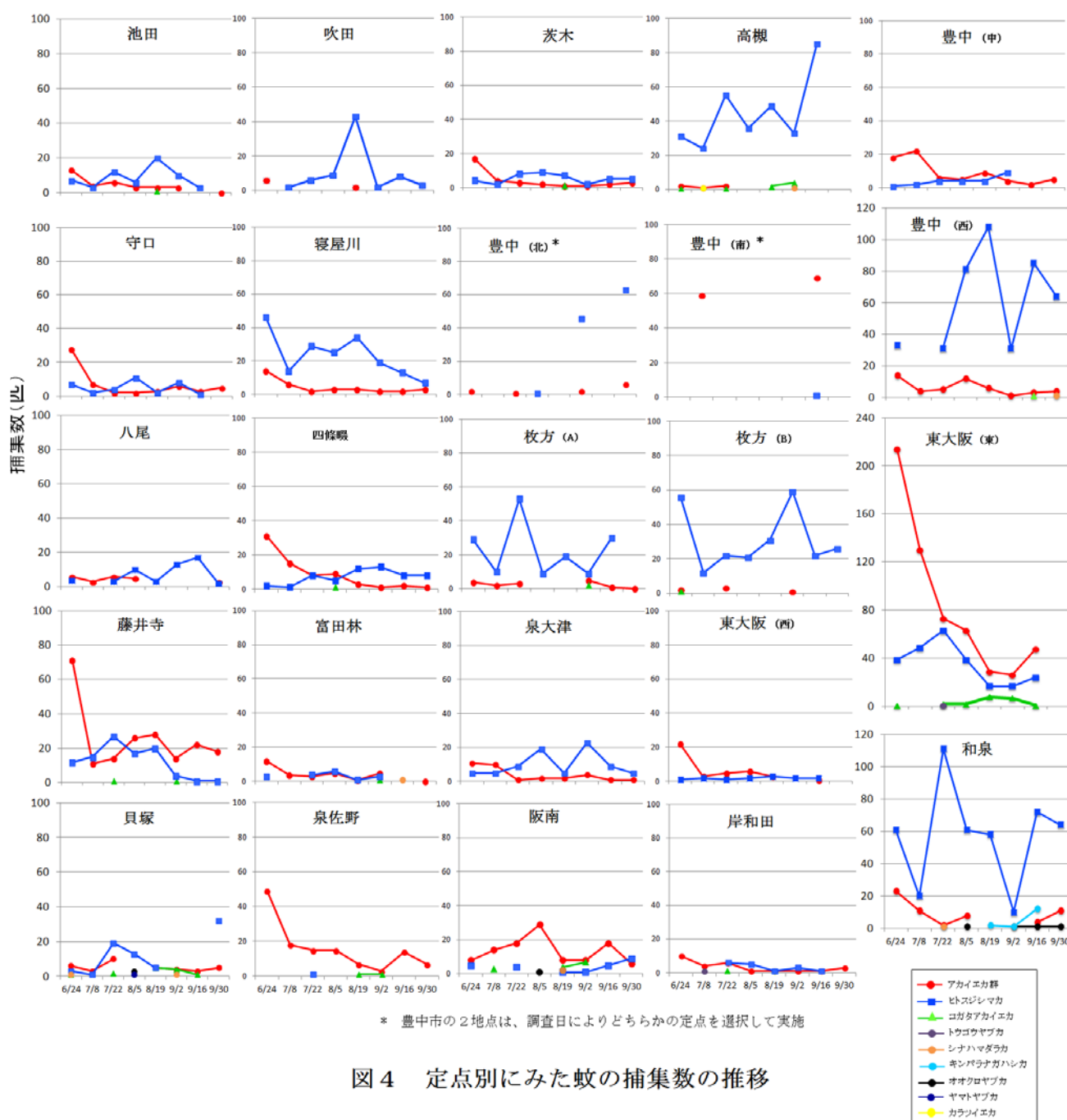
図3 種類別にみた蚊捕集数の推移

見上の区別が困難であることから、全てアカイエカ群とした。

4. 蚊からのウイルス検出

各定点で捕集された蚊のうち、ヒトを吸血する雌のみを検査の対象とし、定点毎、種類毎にウイルス検査に用いた。1 定点 1 種類あたりの検体数が 50 匹を超える場合は、複数のプールに分割した。蚊の破碎は 2mL のマイクロチューブに検体と滅菌したステンレス製クラッシャーを入れ、0.2%ウシ血清アルブミン (BSA) 加ハanks液を 250 μ L加えた後、多検体細胞破碎装置

(シェイクマスターVer1.2 システム、バイオメディカルサイエンス) で約 1 分振とうして行った。破碎後、マイクロチューブを軽く遠心してからクラッシャーを除去し、0.2%BSA加ハanks液を 500~750 μ L追加して攪拌した。それを 4℃ 12,000rpmで 15 分間遠心し、その上清を 0.45 μ m Millexフィルター (ミリポア) で濾過して蚊乳剤を作製した。このうち 150 μ LについてE.Z. N.A.Viral RNA Kit (OMEGA bio-tek) を使用してRNAを抽出した。RT-PCRは、全プールについてフラビウイルス共通プライマー (Fla-U5004/5457)、およびWNV特異的検出プライマー (WNNY 514/904) を用い、ヒトスジ



シマカのプールについてDENV特異的検出プライマー（Dus/Duc）とCHIKV特異的検出プライマー（chik10294s/ 10573c）を用いて、ウイルス遺伝子の検出を試みた^{26～29）}。

5. カラスからのウイルス検出

死亡原因の不明なカラスの死骸が同地点で 2 羽以上確認され、ウジが発生しておらず、腐乱していない新鮮な個体の場合、WNV 検査を実施した。死亡カラスは、解剖して採脳した後、カラスごとに 0.2%BSA 加ハンス液を用いて 10%脳乳剤を作製し、蚊と同様に RNA 抽出後、WNV 遺伝子検査を実施した。

結 果

1. 蚊の捕集結果について

捕集された雌の蚊は 9 種 4718 匹であった。その構成はヒトスジシマカ 2823 匹（59.83%）、アカイエカ群 1790 匹（37.94%）の 2 種で大部分を占め、次いでコガタアカイエカが 70 匹（1.48%）捕集された（図 2）。その他に捕集された蚊の種類はキンバラナガハシカ 15 匹、オオクロヤブカ 10 匹、シナハマダラカ 6 匹、トウゴウヤブカ 2 匹、ヤマトヤブカ 1 匹、カラツイエカ 1 匹であった。

調査期間を通じた捕集数の推移をみると（図 3）、アカイエカ群は、調査期間中常に捕集され、捕集数の推移はサーベイランス開始時の 6 月末に既にピークに達しているか、ピークを過ぎており、その後捕集数は減少するが、また 9 月中旬にやや増加傾向が見られた。ヒトスジシマカも、調査期間中常に捕集され、6 月から 9 月にかけて増減を繰り返しながらも一番多く捕集された。コガタアカイエカは、6 月から 9 月前半まで捕集

され、9 月初めがピークであった。

定点別の捕集数では（図 4）、各定点によって捕集数や捕集される種類の大きな差がみられたが、アカイエカ群とヒトスジシマカはすべての地点で捕集された。ヒトスジシマカは、和泉、豊中（定点番号 5）、高槻で多く捕集され、それぞれ 457 匹（16.19%）、433 匹（15.34%）、313 匹（11.09%）であった。アカイエカ群は東大阪東部で 583 匹（32.57%）が捕集され、大きな割合を占めた。定点別の捕集数の推移からも、アカイエカ群のピークが 6 月と考えられる定点は 14 地点あった。コガタアカイエカは 14 地点で捕集され、東大阪市東部、阪南、貝塚で多く捕集され、それぞれ 21 匹（30.00%）、14 匹（20.00%）、13 匹（18.57%）であった。キンバラナガハシカは和泉のみ、オオクロヤブカは豊中（定点 5）、和泉、貝塚、阪南の 4 地点、シナハマダラカは高槻、富田林、和泉、貝塚、阪南の 5 地点、トウゴウヤブカは、岸和田、東大阪市東部の 2 地点、ヤマトヤブカは貝塚の 1 地点、カラツイエカは高槻の 1 地点でそれぞれ捕集された。

2. 捕集蚊からのウイルス遺伝子検査結果

各定点で捕集された蚊を種類別に分け 393 プールの乳剤を作製して RT-PCR 法による遺伝子検査を実施したが、すべての検体において WNV の遺伝子は検出されなかった。またヒトスジシマカの 170 プールについて、DENV と CHIKV の遺伝子検査を実施したが、いずれの遺伝子も検出されなかった。

3. 死亡カラスの回収数とウイルス遺伝子検査結果

今年度回収されたカラス 6 羽から、WNV の遺伝子は検出されなかった。

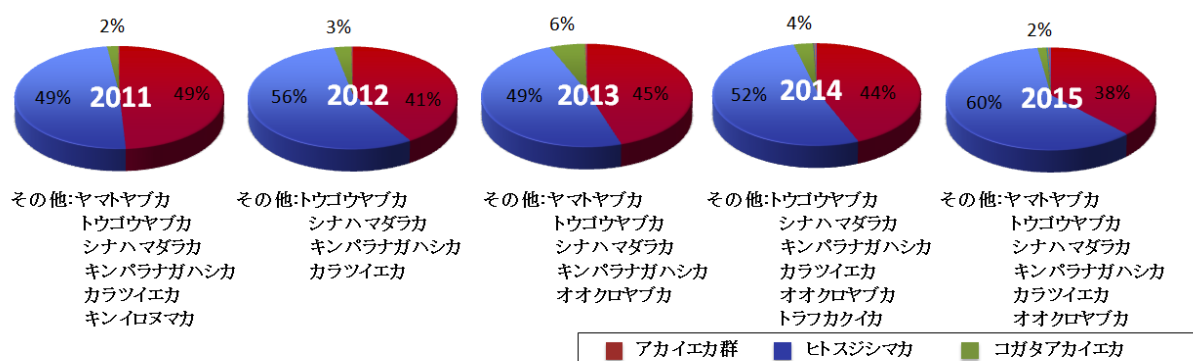


図 5 捕集された蚊の構成比経年比較

考 察

これまでの捕集実績から、各調査地点で捕集される蚊の種類や数の変動には、気温、降水量などの気候変動と、調査実施前と当日の天候、気温、風速などが大きく影響すると考えられた。今年度は捕集日に降雨がみられた回が5回あり、そのうち7/21-22は一日の降水量が33mmと一番多かったが、大阪の平均風速は2.0m/sで³⁰⁾、捕集数は増加しており、調査にそれほど影響はみられなかったと考えられた。捕集日に平均風速が10m/sを超えた回はなく、今年度はそれほど風に影響されることなく調査が実施できたと考えられる。また、調査を開始した6月末の最高気温は30℃と高く、調査開始前から巷では蚊が多く発生していた。今年度の捕集数をみるとアカイエカ群のピークが6月と考えられる定点は半分以上あり、アカイエカ群は6月には既に多く発生していることが示された。現在は調査時期を6月末から10月初めと定めて例年実施しているが、今後、蚊の発生がピークを迎える前から調査を開始するなど、調査時期の検討が必要と思われる。

また、5年間の捕集蚊の種類構成を比較すると(図5)、この間に定点の場所変更や、定点数の増加などがあるが、主要な3種の蚊の構成比に大きな影響は見られなかった。その他の蚊の種類も大きな変化は見られず、ほぼ同じ種類が捕集され、大阪府の市街地における媒介蚊対策は、ヒトスジシマカとアカイエカ群を筆頭に、これらの蚊の種類を主に対象にすればいいことが確認された。

WNVは自然界において蚊と鳥類の間で感染サイクルを形成し、ヒトやウマなどは終末宿主である。JEVは蚊と主に豚との間で感染サイクルを形成し、同じくヒトは終末宿主である。WNVにおける鳥類、JEVにおける豚などはウイルス増幅動物と呼ばれ、これらの動物は感染後血中のウイルス量が多いため、蚊へのウイルス供給源となる。終末宿主であるヒトの場合は、末梢血中のウイルス量は少ないため、直接吸血蚊にウイルスが伝搬することはないと考えられる³¹⁾。

逆に、DENやCHIKVは蚊とヒトの間で感染サイクルを形成し、ヒトが増幅動物となり、次の吸血蚊へとウイルスを伝播することができる。蚊媒介性感染症においては、増幅動物の種類と、媒介する蚊の種類が重要になるが、WNVの場合、非常に多種類の鳥類と蚊によ

ってウイルスが保持、媒介されることが明らかにされている³¹⁾。府内の定点で捕集された蚊はヒトスジシマカとアカイエカ群が多数を占めたが、これらの種類はWNVに対して高い感受性を持つことが確かめられており、また他に捕集されたコガタアカイエカ、ヤマトヤブカ、オオクロヤブカ、シナハマダラカもWNV媒介蚊として注意すべき種類とされている³¹⁾。これまでの我々の調査でも、多くの自治体で実施されている蚊の調査でも、現在のところ国内で蚊や鳥からWNVは検出されていないが、このような調査を継続することはWNVの動向を監視するうえで必要不可欠である³²⁾。

DENVやCHIKVの海外における媒介蚊は主にネッタイシマカとヒトスジシマカである。国内には現在ネッタイシマカの定着地はないため、ヒトスジシマカが媒介蚊として考えられる。ヒトスジシマカは府内の全ての定点で捕集されており、ウイルス血症を起こしている急性期患者が蚊に吸血された場合、府内のどの地域においても感染拡大が起こる可能性がある。このヒトスジシマカは、ジカ熱(ジカウイルス感染症)の媒介蚊でもある。

ジカ熱の病原体はWNVやDENV、JEVと同じフラビウイルス属のジカウイルス(ZIKV)で、1947年にウガンダでアカゲザルから初めて分離された。その後ジカ熱はアフリカや西、東南アジアで患者の報告があり、近年ではミクロネシア連邦のヤップ島やフランス領ポリネシアで大流行が発生した³³⁾。そして2015年ブラジルで大流行し、短期間でカリブ海地域に拡大した³⁴⁾。その間、ブラジルにおいてジカ熱流行地における小頭症の増加が報告され³⁵⁾、2016年にはジカウイルス感染症は小頭症の原因となることが断定された³⁶⁾。これらの流行をうけ、国内でも蚊媒介性感染症への関心が高まっており、今後は本調査においてもジカウイルス検査への対応が必須と考えられる。

ウイルスの侵入が確認されたとき、媒介種となる蚊を根絶することは困難である。行政として行うべきことは、ウイルス保有蚊の存在する地点などの特定に努め、幼虫・成虫の媒介蚊対策を実施し、感染症の正確な情報や個人レベルでの対策法を府民に適宜情報発信することである。流行の拡大に遅れを取らないよう、緊急時に即時対応するためには、保健所と行政、自治体同士の連携が不可欠であり、本サーベイランスは危機管理対策の一つとして重要だと考えられる。

謝 辞

本調査は、大阪府立公衆衛生研究所、大阪府健康医療部環境衛生課および各保健所の協力のもとに大阪府健康医療部保健医療室医療対策課の事業として実施されたものであり、調査に関係した多くの方々に感謝致します。また、データの提供にご協力頂いた東大阪市保健所、高槻市保健所、豊中市保健所、枚方市保健所の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

文 献

- 1) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57 (2), 199-206 (2007)
- 2) CDC: West Nile Virus
<http://www.cdc.gov/westnile/statsmaps/index.html>
- 3) Gubler DJ. : The continuing spread of West Nile virus in the western hemisphere. Clin Infect Dis., 15 45 (8) :1039-46. (2007)
- 4) 小泉加奈子, 中島由紀子, 松崎真和ら: 本邦で初めて確認されたウエストナイル熱の輸入症例, 感染症誌, 80 (1) , 56-57 (2006)
- 5) Bhatt S, Gething PW, Brady OJ, Messina JP., et al : The global distribution and burden of dengue. Nature, 496(7446), 504-507 (2013)
- 6) 国立感染症研究所: 発生動向調査年別報告数一覧(全数把握) <http://www.nih.go.jp/niid/ja/survei/2085-idwr/ydata/5672-report-ja2014-20.html>
- 7) Kutsuna S, Kato Y, Moi ML, Kotaki A., et al : Autochthonous dengue fever, Tokyo, Japan. Emerg Infect Dis. Mar; 21 (3) , 517-520 (2015)
- 8) 厚生労働省健康局結核感染症課: デング熱の国内感染症例について(第三十八報). 厚生労働省報道発表(2014年10月6日), (2014)
- 9) 林昌宏: 流行地を拡大しているチクングニアウイルス, 臨床とウイルス, 44 (1) , 29-36 (2016)
- 10) 水野泰孝, 加藤康幸, 工藤宏一郎ら: 遅延する関節痛より確定診断に至ったチクングニア熱の本邦発症例. 感染症誌, 81 (5) , 600-601 (2007)
- 11) Lim CK, Nishibori T, Watanabe K., et al : Chikungunya virus isolated from a returnee to Japan from Sri Lanka : Isolation of two sub-strains with different characteristics. Am J Trop Med Hyg, 81 (5) , 865-868 (2009)
- 12) Aoyama I, Uno K, Yumisashi Y., et al : A Case of Chikungunya fever imported from India to Japan, follow-up of specific IgM and IgG Antibodies over a 6-month period. Jpn J Infect Dis 63 (1) , 65-66 (2010)
- 13) Yamamoto K, Matsumoto K, Lim CK., et al : Chikungunya fever from Malaysia. Internal Medicine, 49 (5) , 501-505 (2010)
- 14) 国立感染症研究所: 感染症流行予測調査, 豚の日本脳炎抗体保有状況
<http://www.nih.go.jp/niid/ja/je-m/2075-idsc/yosoku/sokuhou/6037-je-yosoku-rapid2015-15.html>
- 15) WHO : Questions and Answers on Dengue Vaccines
http://www.who.int/immunization/research/development/dengue_q_and_a/en/
- 16) 高崎智彦: ウエストナイル熱・脳炎, ウイルス, 57 (2), 199-206 (2007)
- 17) 小林睦生, 二瓶直子, 駒形修ら: ヒトスジシマカの生態と東北地方における分布域の拡大. 病原微生物検出情報 IASR, 32 (6) , 167-168 (2011)
- 18) 国立感染症研究所: ウエストナイル熱媒介蚊対策に関するガイドライン (2003)
- 19) 国立感染症研究所: デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き 地方公共団体向け (2015)
- 20) 弓指孝博, 瀧幾子, 齋藤浩一ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, 大阪府立公衛研所報, 42, 57-63 (2004)
- 21) 瀧幾子, 弓指孝博, 吉田永祥ら: 大阪府の住宅地域における蚊の分布調査, 大阪府立公衛研所報, 42, 65-70 (2004)
- 22) 弓指孝博, 青山幾子, 小川有里ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, 大阪府立公衛研所報, 53, 1-6 (2014)
- 23) 大阪府健康福祉部: ウエストナイル熱対応指針(2004)
- 24) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知: ウエストナイル熱の流行予測のための死亡カラス情報の収集等について (2003.12.13)
- 25) 青山幾子, 弓指孝博, 中田恵子ら: 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス, 大阪府立公衛研所報, 47, 1-7 (2008)

- 26)国立感染症研究所：ウエストナイルウイルス病原体
検査マニュアル Ver.4 (2006) [http://www0.nih.go.jp/
vir1/NVL/WNVhomepage/WNVLbotest.pdf](http://www0.nih.go.jp/vir1/NVL/WNVhomepage/WNVLbotest.pdf)
- 27)弓指孝博, 青山幾子：ウエストナイル熱（脳炎）,大
阪府立公衆衛生研究所感染症プロジェクト委員会編
感染症検査マニュアル第Ⅲ集, 1-13 (2004)
- 28)国立感染症研究所：デングウイルス感染症診断マニ
ュアル [http://www.nih.go.jp/niid/images/vir1/PDF/
denguelabomannual.pdf](http://www.nih.go.jp/niid/images/vir1/PDF/denguelabomannual.pdf)
- 29)国立感染症研究所：チクングニアウイルス検査マニ
ュアル (2012)
<http://www.nih.go.jp/niid/images/lab-manual/CHIKV.pdf>
- 30)気象庁：過去の気象データ検索
<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>
- 31)ウエストナイル熱媒介蚊対策研究会：ウエストナ
イル熱媒介蚊対策ガイドライン, 日本環境衛生センタ
ー, 神奈川 (2003)
- 32)弓指孝博, 瀧幾子,大竹徹ら：地方におけるウエスト
ナイル熱対策, 臨床とウイルス, 33 (1) , 33-40 (2005)
- 33)Musso D, Cao-Lormeau VM, Gubler DJ: Zika virus:
following the path of dengue and chikungunya?, Lancet,
18;386(9990), 243-4 (2015)
- 34)WHO : Map displaying infected countries from 1947-
2016 [http://www.who.int/emergencies/zika-virus/zika-
historical-distribution.pdf?ua=1](http://www.who.int/emergencies/zika-virus/zika-historical-distribution.pdf?ua=1)
- 35)Schuler-Faccini L, Ribeiro EM, Feitosa IM., et.al :
Possible Association Between Zika Virus Infection and
Microcephaly - Brazil, 2015.,
Morb Mortal Wkly Rep. 29, 65(3), 59-62 (2016)
- 36)Rasmussen SA, Jamieson DJ, Honein MA.,
et.al : Zika Virus and Birth Defects--Reviewing
the Evidence for Causality., N Engl J Med, 374,
1981-1987 (2016)

大阪府におけるエンテロウイルス感染症の流行状況と分子疫学的解析 (2015年度)

中田恵子*¹ 左近直美*¹ 弓指孝博*¹ 加瀬哲男*²

2015年度に感染症発生動向調査事業に基づいて搬入された無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナと診断された患者から採取された検体を対象に実施したエンテロウイルスに関する検査結果を総括する（ライノウイルスおよびムンプスウイルスの検査結果を含む）。163症例（211検体）のうち、108症例（119検体）（66.3%）からウイルスが検出された。手足口病から検出されたエンテロウイルスは、Coxsackievirus A6 (CVA6、57% : 42/74 ; 重複検出含む) および Coxsackievirus A16 (CVA16、27% : 20/74)、ヘルパンギーナでは、Coxsackievirus A10 (CVA10、39% : 9/23) および CVA6 (26% : 6/23) が主要な血清型であった。分離株の viral protein 1 領域に対する系統樹解析では、CVA6は、2011年シーズンの分離株よりも2013年にマレーシア、中国、兵庫県および大阪府で検出された株と近縁であったことから、経年で遺伝子変化が生じていると思われた。一方で、分離された CVA16は、2005年富山県、2008年中国、2014年タイでそれぞれ検出された株と近縁であったことから経年変化が比較的少ないと考えられた。

キーワード: 無菌性髄膜炎、手足口病、ヘルパンギーナ、コクサッキーウイルス A6、コクサッキーウイルス A16
Key words: Aseptic meningitis, Hand, foot and mouth disease, Herpangina, Coxsackievirus A6, Coxsackievirus A16

エンテロウイルス感染症は夏季（流行シーズンは春から秋：4月から11月）に小児で流行するが、流行株の血清型は年ごとに変動する。臨床病型は多様性に富み、中でも無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナは「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（以下、感染症法）の5類感染症定点把握疾患に指定されている（ただし、無菌性髄膜炎については原因としてエンテロウイルスの他に、ムンプスウイルス、その他のウイルスや病原体によって引き起こされる場合がある）。疾患ごとに患者から検出されるウイルス血清型に特徴があり、血清型の違いによって症状や重症度が異なる¹⁾。2011年シーズンにCVA6による手足口病がサーベイランス開始以来最大の流行となった²⁾。CVA6による手足口病では、手足の水疱と口内炎といった典型的な症状ではなく、体幹

にまでおよぶ水痘様の激しい皮膚症状や手指の爪の脱落が報告された³⁾。一方、EV71が原因となる手足口病が流行するシーズンでは中枢神経系症状が合併する頻度が高くなると報告されている⁴⁾。

従って、エンテロウイルス感染症において、ウイルス血清型を継続的にモニタリングすることは、流行予測および重症化に対する注意喚起のために重要である。本稿では、2015年4月1日から2016年3月31日の間に感染症発生動向調査事業に基づいて当所に搬入された無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナと診断された患者検体からの病原体検出情報を集約し、2015年シーズンに流行したエンテロウイルス血清型（無菌性髄膜炎患者からのムンプスウイルスの検出情報を情報を含む）および分離ウイルスの分子疫学的解析を実施したので報告する。

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所感染症部ウイルス課

*² 元大阪府立公衆衛生研究所感染症部

調 査 方 法

1. 検体および情報収集

2015年4月1日から2016年3月31日の期間、大阪

府内の定点医療機関から当所に搬入された無菌性髄膜炎、手足口病あるいはヘルパンギーナと診断された163名から採取された211検体を対象とした（ただし、大阪市、東大阪市および堺市を除く）。検体種別の内訳は、髄液が36検体、呼吸器由来検体（咽頭拭い液、うがい液、鼻汁、唾液）が143検体、消化器由来検体（糞便、腸内容物）が29検体、皮膚病巣由来検体が2検体、尿検体が1検体であった。検体情報（患者の年齢、性別、診断名、体温、発症日）は、感染症法に基づく感染症発生動向調査事業によって得られた調査票より収集した。

2. 検体処理およびウイルス遺伝子検出

咽頭拭い液は、綿棒で咽頭等の病巣を擦過後、1 ml の検体輸送用培地に浸漬したもの、うがい液、唾液、鼻汁、髄液は無処理のもの、それぞれから200 µl を採取しRNA抽出用検体とした。糞便は、緩衝液で10%懸濁液を作製し、15,000 rpm で5分間遠心分離した後、上清の200 µl をRNA抽出用検体とした。また、上清を10倍希釈したのち、0.45 µm ミニザルトシリンジフィルター（sartorius 社）でろ過したものを培養細胞によるウイルス分離用検体（糞便溶液）とした。RNA抽出は、Magtration®-MagaZorb® RNA Common Kit（PSS 社）を用いて、全自動核酸抽出装置 Magtration® System 6GC および 12GC（PSS 社）で行った。抽出したRNAを用い、エンテロウイルス VP4-2 領域に対する seminested RT-PCR⁵⁾を実施し、増幅産物のダイレクトシーケンスを行ない、BLAST 相同性検索にて血清型を同定した。ムンプスウイルスについては SH 遺伝子に対する nested RT-PCR⁶⁾を実施し、エンテロウイルスと同様の方法で同定を行った。

3. 培養細胞および哺乳マウスによるウイルス分離

培養細胞によるウイルス分離には 48 ウェルプレートに播種した RDA、VeroE6、FL、Caco-2 細胞を用いた。これらの細胞に上記のように処理した検体をそれぞれ 100 µl 接種し、37℃の CO₂ インキュベーターで1週間培養し、CPE (cytopathic effect) を観察した。CPE が出現した場合は培養上清を回収した。なお、3代盲継代を繰り返し、CPE が出現しなかった場合は陰性と判定した。

検体から抽出した RNA に対して実施したエンテロ

ウイルス VP4-2 領域に対する seminested RT-PCR で CVA6 が陽性だったもののうち、培養細胞でのウイルス分離が陰性でかつ、哺乳マウスによる検査のために十分な検体量が残っていたものについては、哺乳マウスによるウイルス分離を実施した。生後 72 時間までの哺乳マウスの頸部皮下に糞便溶液またはそれ以外の検体を 0.05 ml 接種した。1 週間観察し、弛緩麻痺を呈した哺乳マウスは同定するまで -80℃ で保存した。

4. 遺伝子解析による培養上清およびマウスからのウイルス同定

CPE が認められた培養細胞の培養上清からは、検体からの RNA 抽出と同法にて RNA を抽出した。弛緩麻痺が認められた哺乳マウスについては、頭部、内臓、皮膚、四肢を取り除いた部分に緩衝液を加えて、多検体細胞破碎装置（シェイクマスター Ver1.2 システム、バイオメディカルサイエンス社）で約 1 分間振とうした。その後、15,000 rpm で5分間遠心し、上清から同様の方法で RNA を抽出した。

培養上清および哺乳マウスから抽出した RNA を用いてエンテロウイルスの VP1 領域に対する RT-PCR⁷⁾を実施し、得られた増幅産物に対してダイレクトシーケンスを行なった。また、CVA6、CVA10 および CVA16 に対して、ClustalW を用いた系統樹解析を実施した。

結 果

1. 患者情報およびウイルスの検出状況

検体が採取された患者のうち、無菌性髄膜炎と診断されたのは36名で、年齢の中央値は5カ月（範囲：15日-15歳3ヶ月齢）、性別は男性20名（56%）、女性16名（44%）であった。手足口病と診断された患者は81名で、年齢の中央値は1歳6カ月（15日-8歳1ヶ月齢）、性別は男性53名（65%）、女性28名（35%）であった。ヘルパンギーナと診断された患者は46名で、年齢の中央値は3歳7ヶ月（6ヶ月-47歳）、性別は男性19名（42%）、女性27名（59%）であった。

無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナと診断された患者163名中、108名（66%）からウイルスが検出された。検出方法別では seminested RT-PCR での検出割合が高く、211検体中129検体（61%）が陽性であった（表 1,2,3）。細胞培養で陰性だったが、seminested RT-

PCR で CVA6 が陽性であった 30 検体について哺乳マウスによるウイルス分離を試みたところ、21 検体からウイルスが分離された。ウイルス分離ができた 21 検体の検体種別の内訳は呼吸器由来検体が 19/28 (67.9%)、消化器由来検体が 1/1 (100%)、髄液が 1/1 (100%) であった。

2.疾患別ウイルス検出割合および検出ウイルスタイプ

無菌性髄膜炎患者の 30% (11/36 名) からウイルスが検出されたが、エンテロウイルスは Echo16、Echo18 および CVB5 が各 1 症例ずつであった。一方でムンプスウイルスが 36.5% (4/11 名) と高い割合で検出された (図 1)。検出検体別にみると、髄液からウイルス遺伝子が検出されたのは 33 検体中 3 検体 (0.09%) のみで、うち 2 検体はムンプスウイルス (mumps)、残りの 1 検体は Echo18 と同定された。呼吸器由来検体では 17 検体中 10 検体 (58.8%) でウイルスが検出され、呼吸器由来検体においてもムンプスウイルスの検出が高い割合であった (3/17 検体) (表 1)。

手足口病では 91% (74/81 名) の患者からウイルスが検出され、そのうち CVA6 が 57% (重複検出含む)、次いで CVA16 が 27% (重複検出含む) を占めた (図 2)。なお、手足口病では皮膚病巣 (その他) 検体からのウイルス遺伝子検出が 100% (2/2 検体)、次いで呼吸器由来検体で 92.4% (73/79 検体) と検出割合が高かった (表 2)。一方、ヘルパンギーナでは 50% (23/46 名) の患者検体からウイルスが検出され、そのうち CVA10 が 39%、CVA6 が 26% を占めた (図 3)。ヘルパンギーナ患者由来の検体は全て呼吸器由来検体で、ウイルス遺伝子検出割合は 52.2% であった (表 3)。

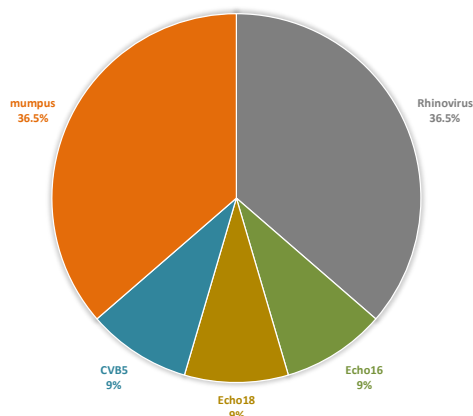


図 1.ウイルスが検出された無菌性髄膜炎患者 (n=11)におけるウイルス血清型割合

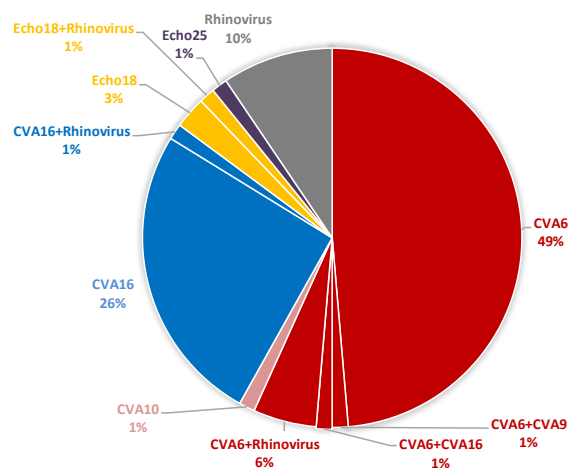


図 2.ウイルスが検出された手足口病患者 (n=74)におけるウイルス血清型割合

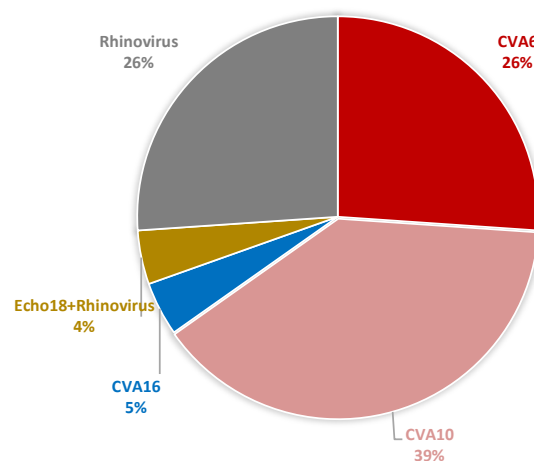


図 3.ウイルスが検出されたヘルパンギーナ患者 (n=23)におけるウイルス血清型割合

3.疾患別月別の検出エンテロウイルス血清型

無菌性髄膜炎患者ではエンテロウイルスの検出は 7 月および 8 月であったが、ムンプスウイルスは 10 月にも検出された (図 4)。手足口病患者で最も検出割合が高かった CVA6 は 6 から 9 月に集中して検出され、次いで検出割合が高かった CVA16 は 4 から 7 月に多く検出された (図 5)。ヘルパンギーナ患者で最も多く検出された CV10 は 5 から 9 月にかけて検出された (図 6)。次いで検出割合が高かった CVA6 は、手足口病の

患者から CVA6 が検出された時期と同時期（6 から 8 月）に検出された（図 5, 6）。

4.CVA6、CVA10 および CVA16 の系統樹解析

患者検体から分離された株のうちウイルス抗原決定領域である viral protein 1 (VP1) 領域の遺伝子解析が実施可能であった CVA6、11 株、CVA10、7 株および CVA16、10 株についてそれぞれ増幅長の領域が 686bp、656bp および 663bp の系統樹解析を実施した。その結果、今シーズン検出された CVA6 のクラスター内に、2013 年にマレーシア、中国、兵庫県で検出された株が含まれており、2010 年に台湾で検出された株や大阪府の株とも近縁であった。しかし、CVA6 による手足口病が大流行した 2011 年シーズンの株とは異なるクラスターを形成した（図 7）。CVA10 では、2013 年に大阪府で検出された株とは異なるクラスターを形成した一方で、今シーズン検出された一部のウイルスが 2013 年にロシアや中国で検出された株と同じクラスターを形成した（図 8）。CVA16 では今シーズン検出された株と同じクラスターに 2005 年に富山県や山形県で検出された株や 2008 年の中国株、2014 年のタイ株が含まれていた（図 9）。

考 察

無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナを比較した場合、手足口病と診断された患者からのウイルス検出割合が最も高く、無菌性髄膜炎と診断された患者からのウイルスの検出割合が最も低かった。例年同様の傾向が認められており^{8),9),10),11)}、これは、無菌性髄膜炎は症候群として診断されるため、エンテロウイルス以外のウイルスやその他の原因でも引き起こされるためである。

無菌性髄膜炎は流行規模が小さく¹²⁾、エンテロウイルスの検出も 3 症例からのみと非常に少なかった。一方で、ムンプスウイルスが検出された事例においては、流行性耳下腺炎の流行時期とも重なったため、流行性耳下腺炎¹²⁾の合併症として無菌性髄膜炎を発症したと考えられる。

手足口病に関しては、2014 年シーズンは通常の流行期とは異なる冬期にも CVA16 が検出されていた¹¹⁾。したがって、2015 年シーズンの 7 月頃までの CVA16 の検出は前シーズンから継続していたと考えられる。夏

期は CVA6²¹⁾が最も多く検出された。したがって、2015 年シーズンの手足口病の流行規模は、サーベイランス開始以来 2 番目に大きかったが¹²⁾、CVA16 と CVA6 の 2 種類のウイルスが流行に関与したためであると考えられる。2011 年シーズンには、これまでヘルパンギーナの主な原因ウイルスとして知られていた CVA6 による手足口病の大流行が記録された。以降、CVA6 は手足口病の主要な原因ウイルスとなった。その後、2013 年シーズン、2015 年シーズンに手足口病の大きな流行を記録したが、その全てに CVA6 が寄与していた¹⁴⁾。系統樹解析の結果、2015 年シーズンに流行した CVA6 は、2011 年シーズンに大阪府で検出された株よりも 2013 年に大阪府で検出された株に近縁であった。さらに、同年にマレーシアや中国で検出された株とも同じクラスターを形成したことから、経年的にウイルス遺伝子に変化し、アジア諸国でウイルスが循環していることが示唆された。一方、CVA16 では 2015 年シーズンに検出された株と同じクラスターに 2005 年に富山県や山形県で検出された株や 2008 年の中国株、2014 年のタイ株が含まれていた。このことにより、CVA16 は、経年によるウイルス遺伝子の変化が大きくないと考えられた。

2015 年シーズンにおいてヘルパンギーナで主な検出ウイルスであった CVA10 は、2013 年に大阪府で検出された株とは異なるクラスターを形成した。このことにより、CVA6 と同様、経年的にウイルス遺伝子に変化し、世界的にウイルスが循環している可能性が示された。

無菌性髄膜炎、手足口病およびヘルパンギーナの全ての患者からライノウイルスが検出されているが、ライノウイルスは不顕性感染が多いウイルスとして知られている¹⁵⁾。本報告で用いたウイルス遺伝子検出法ではエンテロウイルスと共通遺伝子領域を増幅させる系を用いている。そのため、検出事例として挙げているが、疾患との因果関係は明確であるとは言えない。しかし、無菌性髄膜炎およびヘルパンギーナ患者で高い割合でライノウイルスが検出されていることから、何等かの症状を起こす可能性は否定できない。

エンテロウイルスは血清型が多数存在し年毎に流行する血清型が入れ替わる。また、流行の規模も毎年変化する。近年、エンテロウイルスによる無菌性髄膜炎

表 1.無菌性髄膜炎患者由来検体における検体種別検出法別ウイルス検出結果

	呼吸器由来検体 n=17		消化器由来検体 n=19		髄液 n=33		その他 n=1	
	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養
Echo16	1	0	1	0	0	0	0	0
Echo18	2	0	1	0	1	0	0	0
CVB5	1	1	1	0	0	0	1	0
Rhinovirus	3	0	3	0	0	0	0	0
mumps	3	1	1	0	2	0	0	0
合計(%)	10(58.8)	2(11.8)	7(36.8)	0(0)	3(0.9)	0(0)	1(100)	0(0)

表 2. 手足口病患者由来検体における検体種別検出法別ウイルス検出結果

	呼吸器由来検体 n=79		消化器由来検体 n=11		髄液 n=3		その他 n=2	
	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養	遺伝子検出	分離培養
CVA6	48	13	4	0	1	0	2	1
CVA9	0	1	0	0	0	0	0	0
CVA10	1	0	0	0	0	0	0	0
CVA16	20	16	2	1	0	0	0	0
Echo18	2	2	1	0	0	0	0	0
Echo25	3	0	1	0	0	0	0	0
Rhinovirus	7	0	0	0	0	0	0	0
合計(%)	73(92.4)	32(40.5)	8(72.7)	1(9.0)	1(33.3)	0(0)	2(100)	1(50)

重複検出含む

表 3. ヘルパンギーナ患者由来検体における検体種別検出法別ウイルス検出結果

	呼吸器由来検体 n=46	
	遺伝子検出	分離培養
CVA6	6	2
CVA10	9	7
CVA16	1	0
Echo18	1	0
Rhinovirus	7	0
合計(%)	24(52.2)	9(19.6)

重複検出含む

呼吸器由来検体：咽頭ぬぐい液、鼻汁、うがい液、唾液

消化器由来検体：糞便、直腸ぬぐい液

その他：皮膚病巣（水疱内容物）、尿

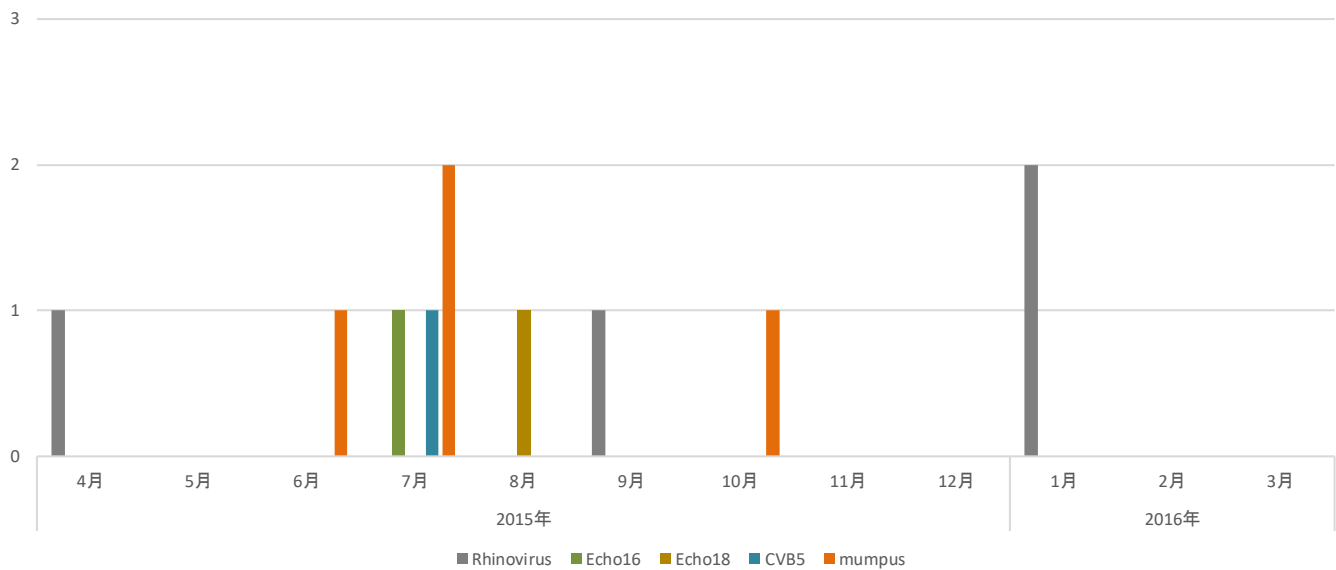


図 4. 無菌性髄膜炎患者から検出された月別検出ウイルス遺伝子型

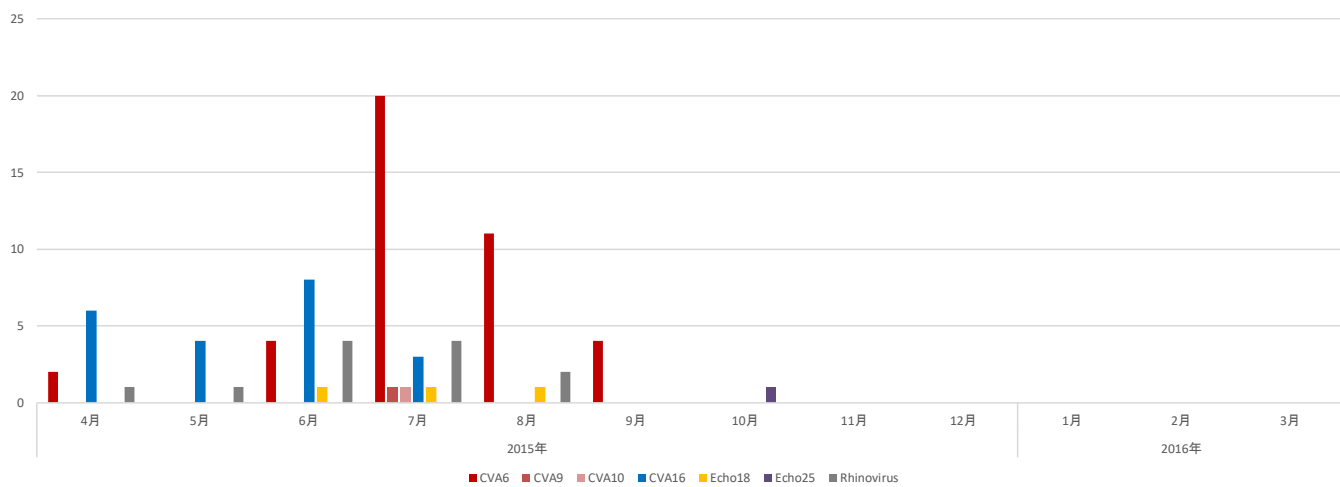


図 5. 手足口病患者から検出された月別検出ウイルス遺伝子型

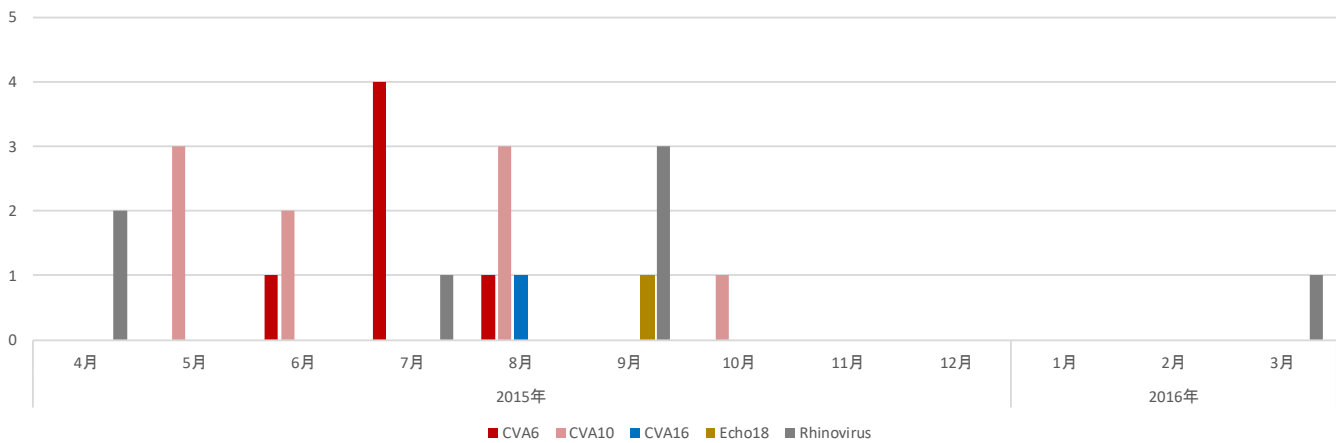


図 6. ヘルパンギーナ患者から検出された月別検出ウイルス遺伝子型

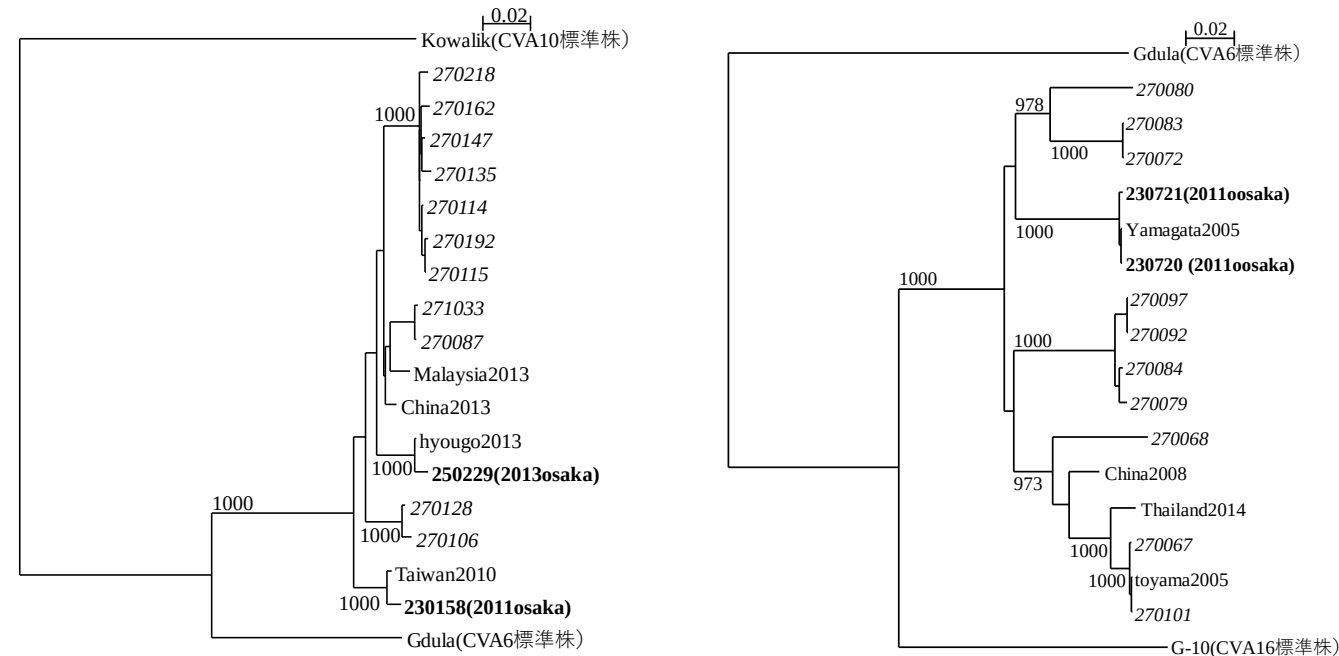


図 7. CVA6 系統樹 (VP1 領域,686bp)

太字は 2011 年 2013 年、斜体は 2015 年シーズン大阪分離株

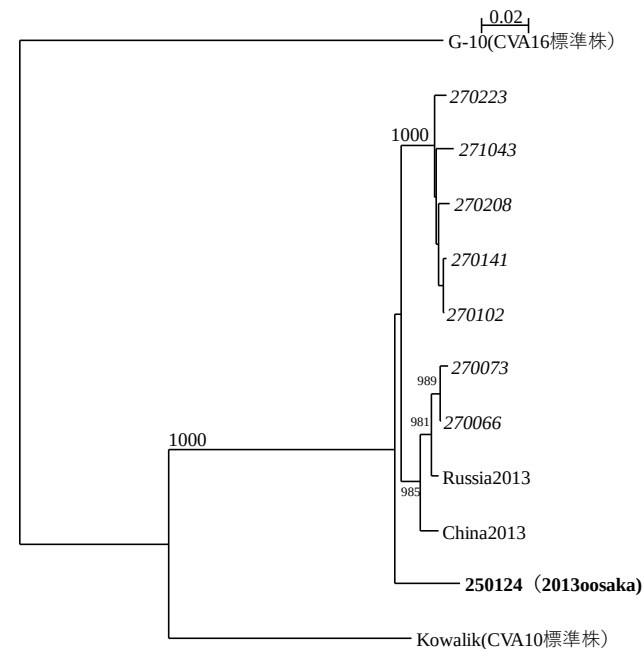


図 9.CVA16 系統樹 (VP1 領域, 663bp)

太字は 2011 年、斜体は 2015 年シーズン大阪分離株

図 8. CVA10 系統樹 (VP1 領域,656bp)

太字は 2013 年、斜体は 2015 年シーズン大阪分離株

太字は 2013 年、斜体は 2015 年シーズン大阪分離株

の流行は報告されていないが、過去には Echo13、30 による大規模な流行が報告された¹⁶⁾。手足口病においては主な原因ウイルスとして知られていた EV71 や CVA16 に加えて CVA6 が流行するようになった。したがって、中枢神経系の合併症の頻度が高いとされている EV71⁴⁾だけではなく、皮膚症状が重症化する CVA6¹⁷⁾の今後の流行状況にも注目する必要がある。

文 献

- 1) Heinz, Z. and Hans-Peter, G. : Clinical virology manual third edition-Enteroviruses, p252-269, American society for microbiology, Wasington, D. C (2000).
- 2) Fujimoto, T., Iizuka, S., Enomoto. M., Abe. K., Yamashita, K., Hanaoka, N., Okabe, N., Yoshida, H., Yasui, Y., Kobayashi, M., Fujii, Y., Tanaka, H., Yamamoto, M., Shimizu, H. : Hand, foot, and mouth disease caused by coxsackievirus A6, Japan, 2011, Emerg Infect Dis., 18(2), 337-339 (2012)
- 3) 渡部裕子 : 手足口病後の爪変形・爪甲脱落症, 病原微生物検出情報月報 (IASR) , 33 ,62-63(2012)
- 4) 清水博之: 東アジアにおけるエンテロウイルス 71 型感染症の流行, 病原微生物検出情報月報 (IASR) , 30, 9-10 (2009)
- 5) 石古博昭, 島田康司, 興那覇麻理, 栄賢司 ; 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, 17, 283-293 (1999)
- 6) 国立感染症研究所監修, ムンプスウイルス病原体検出マニュアル
- 7) Oberste, MS., Maher, K., Kilpatrick, D. R. and Pallansch, MA. : Molecular evolution of the human enteroviruses: correlation of serotype with VP1 sequence and application to picornavirus classification, J. Virol., 73, 1941-1948 (1990)
- 8) 中田恵子, 左近直美, 駒野淳, 加瀬哲男 : 大阪府におけるエンテロウイルスおよびヒトパレコウイルス感染症の流行状況と分子疫学的解析 (2014 年度), 大阪府立公衆衛生研究所所報, P7-14 (2015).
- 9) 中田恵子, 山崎謙治, 左近直美, 加瀬哲男 : 大阪府におけるエンテロウイルスの検出状況と分子疫学的解析 (2013 年度), 大阪府立公衆衛生研究所所報, P7-13 (2014)
- 10) 中田恵子, 山崎謙治, 左近直美, 加瀬哲男 : 大阪府におけるエンテロウイルスの検出状況と分子疫学的解析 (2012 年度), 大阪府立公衆衛生研究所所報, P7-13 (2013)
- 11) 中田恵子, 山崎謙治, 左近直美, 加瀬哲男 ; 大阪府におけるエンテロウイルスの検出状況と分子疫学的解析 (2011 年度), 大阪府立公衆衛生研究所所報, P8-13 (2012)
- 12) 大阪府感染症発生動向調査事業報告書, 第 34 報
- 13) 飯塚節子, 木内郁代, 日野英輝 : 2011 年に流行した手足口病およびヘルパンギーナからのウイルス検出— 島根県, 病原微生物検出情報月報 (IASR) 33, 58-59 (2012)
- 14) 大阪府立公衆衛生研究所ホームページ : エンテロウイルス関連情報, (参照 2016-5-31)
- 15) Hasegawa, K., Linnemann, RW., Avadhanula, V., Mansbach, JM., Piedra, PA., Gern, JE and Camargo, CA, Jr. : Detection of respiratory syncytial virus and rhinovirus in healthy infants, BMC Res Notes. 8: 718 doi: 10.1186/s13104-015-1695-6 (2015)
- 16) 国立感染症研究所感染症情報センターホームページ, 病原微生物検出情報 (無菌性髄膜炎由来ウイルス) : 無菌性髄膜炎患者から検出されたウイルス. 2010 ~2014 年
- 17) 渡部裕子 : 手足口病後の爪変形・爪甲脱落症, 病原微生物検出情報月報 (IASR) 33: 62-63 (2012)

農産物中の残留農薬の検査結果

(平成26年度～平成27年度)

北川陽子^{*1} 福井直樹^{*1} 山口聡子^{*2} 小阪田正和^{*1}
吉光真人^{*1} 阿久津和彦^{*1} 高取 聡^{*1} 梶村計志^{*1} 尾花裕孝^{*3}

平成26年度および27年度に実施した農産物中の残留農薬の行政検査結果をまとめた。検査総数564検体について分析した結果、殺虫剤のべ157件、殺菌剤のべ135件を検出した。このうち、食品衛生法の残留基準値を超えた事例はバナナからビフェントリンが検出された1件のみであった。

キーワード：農産物、残留農薬、行政検査、モニタリング

key words: agricultural products, pesticide residues, administrative examination, monitoring

食品中の残留農薬等を規制するポジティブリスト制度が導入されて約10年が経過した。現在、約800化合物について、残留基準値が設定されているが、当所では、迅速簡便化に重点をおいた一斉分析法¹⁻³⁾を開発し、ポジティブリスト制度への対応を行ってきた。また、平成20年度から平成24年度までの5カ年計画となる「大阪府食の安全安心推進計画」の中で、残留農薬検査における項目数の拡充を目標に掲げ、131項目(平成19～21年度)、153項目(平成22～23年度)、200項目(平成24～25年度)と順次拡充を図ってきたところである。

一方で、平成19年および平成22年に厚生労働省から通知された「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」^{4,5)}(以下、ガイドライン)により、分析精度の確認を目的とした妥当性評価の実施が試験機関毎に求められることとなった。当所では、代表的な農産物であるほうれんそう、きゅうり、

ばれいしょ、玄米、りんごおよびウーロン茶等15種類について妥当性評価を実施し^{6,7)}、残留農薬検査の標準作業書を改訂した。今回、妥当性評価結果を踏まえて実施した平成26年度および27年度の行政検査結果を総括したので報告する。

実験方法

1. 試料

平成26年5月から平成28年2月の間に搬入された564検体(国産農産物266検体、輸入農産物298検体)を対象とした。検体の内訳を表1に示した。

2. 測定対象農薬

表2に示したのべ221項目の農薬を対象とした。

3. 農薬標準品および試薬

農薬の標準品は、和光純薬工業(株)、関東化学(株)、Riedel-de Haën及びDr. Ehrenstorfer GmbH製の残留農薬分析用標準品又は同等品を用いた。各標準品をアセトン、またはメタノールで溶解し、1000ppm標準溶液を調製した。各標準溶液を分析機器別に混合し、標準混合溶液を調製した。アセトニトリル、アセトン、トルエン、ヘキサン、塩化ナトリウム、クエン酸三ナトリウム二水和物、クエン酸二ナトリウムセスキ水和物、無水硫酸マグネシウム、トリフェニルリン酸、ポリエチレングリコール300は既報^{6,7)}に準じた。精製用カ

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

^{*2}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課
(現 大阪府藤井寺保健所 検査課)

^{*3}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課
(現 三栄源エフ・エフ・アイ株式会社 検査部)

Pesticide Residues in Agricultural Products - from 2014 to 2015-

by Yoko KITAGAWA, Naoki FUKUI, Satoko YAMAGUCHI, Masakazu OSAKADA, Masato YOSHIMITSU, Kazuhiko AKUTSU, Satoshi TAKATORI, Keiji KAJIMURA and Hirotaka OBANA

ラムには、グラファイトカーボンブラック (GCB) /PSA 積層カラム (ENVI-CarbII/PSA, 500/500 mg ; SUPELCO 製)、GCB カラム (ENVI-Carb, 500 mg ; SUPELCO 製)、オクタデシルシリル化シリカゲル (C18) カラム (ENVI-18, 1000 mg ; SUPELCO 製) およびシリカゲル (SiL) カラム (InterSep SI, 1000 mg, ジーエルサイエンス (株) 製) を使用した。

4. 器具および機器

使用器具および機器は既報^{6,7)}に準じた。使用機器の概略を以下に記す。

4-1) GC-MS/MS 装置

GC : 7890A (Agilent 製)、MS/MS : 7000B (Agilent 製)、分析カラム : DB-5ms (30 m×0.25 mm, 0.25 μm ; Agilent 製)、イオン化方式 : EI

4-2) LC-MS/MS 装置

LC : NEXERA ((株) 島津製作所製)、MS/MS : 4000QTRAP (ABSciex 製)、分析カラム : ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm ; 2.1×100 mm ; Waters 製)、プレカラム : ACQUITY UPLC HSS T3 (1.8 μm ; 2.1×5 mm ; Waters 製)、イオン化方式 : ESI (ポジティブ)

5. 前処理方法

当所の残留農薬検査実施標準作業書に従った。試験法の概略を図 1 に示す。なお、定量限界はいずれの農薬も 0.01 ppm であった。ただし、茶の熱湯抽出液を試料として用いる場合 (試験法 V) のみ、定量限界を 0.05 ppm とした (アセタミプリド、ジフェノコナゾール、ジフルベンズロン、ジメトエート、テトラコナゾール、テブフェンピラド、ピラクロホス、フルフェノクスロンの計 8 項目)。

結果および考察

1. 検体搬入実績

農産物の特性および精製方法を考慮し、農産物を 12 種類の「類型」に分類した⁸⁾ (表 1)。各類型において、代表的な農産物 1~2 種を「基幹食品」として選定した。これらの農産物については、ガイドラインに沿って妥当性を評価した。各類型における分析項目は、基幹食品で妥当性が確認できた農薬を選定した (表 2)。なお、基幹食品が複数の場合は、それらの共通項目とした。

表 1 に検体搬入実績を示した。2 年間の総検体数は 564 件であり、このうち国産農産物が 266 件、輸入農産物が 298 件であった。検体搬入数が多い農産物は、国産がだいこん (27 件)、きゅうり (24 件)、たまねぎ (22 件)、玄米 (20 件) であり、輸入ではバナナ (58 件)、オレンジ (41 件)、グレープフルーツ (38 件)、キウイ (20 件) であった。多くの農産物は、国産あるいは輸入どちらかに偏る傾向が高いが、ブロッコリー、かぼちゃ、ねぎおよびメロンは、国産と輸入の搬入件数がほぼ同等であった。

2. 農薬検出状況

全 564 検体中、何らかの農薬が検出された検体数は 193 (検出率 34%) であった。国産と輸入で検出率を比較すると国産が 24% (266 検体中 65 検体)、輸入が 43% (298 検体中 128 検体) となり、輸入農産物に検出率が高い傾向が認められた。過去の報告⁹⁻¹⁵⁾ から、野菜・穀類と比較して、果実は農薬検出率が高く、輸入農産物中に果実の搬入割合が高いことが要因と考えられた。

類型別検出農薬を表 3 にまとめた。検出率の高い農産物は、レモン (100%)、グレープフルーツ (95%)、ぶどう (83%)、ピーマン (パプリカ) (78%)、きゅうり (75%)、その他のかんきつ類 (75%)、小松菜 (75%) であった。野菜ではウリ科野菜 (類型 3) の検出率が高く、果実 (類型 8.9.および 10) では全般的に検出率が高い傾向が認められた。その中には複数の農薬が同時に検出される検体も数多く確認された。表 4 に複数農薬が検出されやすい農産物を示した。ピーマン (パプリカ)、りんご、かぼちゃおよびぶどうは、複数農薬が検出される事例が多く、5 項目以上の農薬を 1 検体から同時に検出する事例も認められた。一方、芋類・根菜類 (類型 6)、たまねぎ (類型 5) およびキウイ (類型 9) からの検出率は低かった。

検査対象となる農薬 221 項目のうち 2 年間で検出実績があったのは、42 項目であった。検出頻度の高い農薬は、殺虫剤ではクロルピリホス (48 件)、イミダクロプリド (24 件)、アセタミプリド (23 件)、殺菌剤ではピラクロストロビン (38 件)、プロシミドン (21 件)、ボスカリド (18 件)、アズキシストロビン (17 件) であった。このうち、イミダクロプリドおよびボスカリドは項目拡充に伴い、平成 26 年度から検査対象となっ

た項目であった。これらの検出頻度の高い農薬は、不特定多数の農産物から検出されるのではなく、特定の農産物から検出される傾向が認められた。表 5 に特定農産物から高頻度に検出された農薬を示した。ピラクロストロビン（グレープフルーツ）、メチダチオン（その他のかんきつ類）、テトラコナゾールおよびボスカリド（ピーマン（パプリカ））、クロルピリホス（レモン）等は当該農産物における検出率が 60%を超過し、特に高頻度で検出される組み合わせであった。我々は過去にも農産物中残留農薬の検査結果について報告を行っている⁹⁻¹⁵⁾。前回^{14, 15)}の農産物と検出農薬の組み合わせと比較すると、高頻度に検出される組み合わせの事例が増大していた。これら高頻度に検出する組み合わせの増大傾向は、検査項目の拡充によるものと推察された。

3. 農薬検出濃度について

農薬が検出された 193 検体の検出濃度は、ほとんどが食品衛生法で定められている残留基準値の 20%未満であった。全ての農薬検出値の残留基準値に対する割合を図 2 に示した。その結果、基準の 10%未満となる検出値が全体の約 90%を占めた。

平成 26 年度および 27 年度の検査において、食品衛生法の残留基準値を超過した事例は、バナナから殺虫剤のビフェントリンが検出された 1 件（検出値 0.2 ppm、基準値 0.1 ppm）のみであった。過去の大阪府の行政検査における違反事例は、平成 22～23 年度が 3 件、平成 24～25 年度が 4 件であり、平成 26～27 年度の違反事例は減少傾向にあった。これらは、農薬の散布状況を示すと考えられ、日本の基準を遵守した食料生産が国内外で行なわれていることが推察された。

4. 今後の対応

残留農薬分析において、より多くの食品に適用可能な迅速一斉分析方法の開発は重要である。ガイドラインが導入されて以降、対象食品毎の分析精度についても評価が求められている。検査業務と並行し、引き続き妥当性評価の実施を行う予定であるが、その作業には、膨大な時間と労力が必要である。今後、限られた時間と人員で対応するためには、評価対象とする食品や農薬の「優先順位付け」が重要な課題となる。

今回報告した行政検査結果の検体搬入実績や検出状

況は、今後の優先順位を決める上で、非常に有用なデータであると考えられた。これらのデータを活用し、行政検査へ反映するとともに、今後も府内に流通する農産物の安全性確保に努める予定である。

分析検体の搬入に御尽力いただきました大阪府健康医療部食の安全推進課および各保健所の食品衛生監視員の皆様に深謝致します。

文 献

- 1) Okihashi, M., Kitagawa, Y., Obana, H., Tanaka, Y., Yamagishi, Y., Sugitate, K., Saito, K., Kubota, M., Kanai, M., Ueda, T., Harada, S. and Kimura, Y.: Rapid multiresidue method for the determination of more than 300 pesticides residues in food, Food, 1, 101-110 (2007)
- 2) Takatori, S., Okihashi, M., Okamoto, Y., Kitagawa, Y., Kakimoto, S., Murata, H., Sumimoto, T. and Tanaka, Y.: A rapid and easy multiresidue method for the determination of pesticide residues in vegetables, fruits, and cereals using liquid chromatography/tandem mass spectrometry, J. AOAC Int., 91, 871-883 (2008)
- 3) 高取聡, 岡本葉, 北川陽子, 柿本幸子, 村田弘, 住本建夫, 起橋雅浩, 田中之雄: 農産物中の残留農薬検査に用いる新規一斉分析法, 大阪府立公衆衛生研究所報, 45, 67-75 (2007)
- 4) 平成 19 年 11 月 15 日, 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発第 1115001 号
- 5) 平成 22 年 12 月 24 日, 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知, 食安発 1224 第 1 号
- 6) 高取聡, 山本遥菜, 福井直樹, 山口聡子, 北川陽子, 柿本葉, 小阪田正和, 起橋雅浩, 梶村計志, 尾花裕孝: LC-MS/MS を用いた迅速な野菜類および果実中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 日本食品衛生学雑誌, 54, 237-249 (2013)
- 7) 福井直樹, 高取聡, 山口聡子, 北川陽子, 吉光真人, 小阪田正和, 梶村計志, 尾花裕孝: マトリックス添加標準溶液を活用した野菜類および果実類中の残留農薬一斉分析法の妥当性評価, 日本食品衛生学雑誌, 56, 178-184 (2015)
- 8) 山口聡子, 高取聡, 福井直樹, 北川陽子, 吉光真人, 小阪田正和, 梶村計志, 尾花裕孝: 妥当性ガイドラ

- インを踏まえた残留農薬検査における大阪府の取り組み, 第51回全国衛生化学技術協議会講演集(大分, 2014)
- 9) 小西良昌, 吉田精作, 今井田雅示: 野菜および果実中の残留農薬汚染実態 - 昭和 61 年度～平成 2 年度 -, 大阪府立公衆衛生研究所報 食品衛生編, 18, 63-68 (1987)
- 10) 北川幹也, 村田弘, 今井田雅示, 堀伸二郎: 野菜および果実中残留農薬汚染実態 - 平成 3 年度～平成 7 年度 -, 大阪府立公衆衛生研究所報 食品衛生編, 27, 49-52 (1996)
- 11) 福島成彦, 北川幹也, 高取聡, 吉光真人, 桑原克義, 堀伸二郎: 野菜および果実中の残留農薬の汚染実態 - 平成 8 年度～平成 12 年度 -, 大阪府立公衆衛生研究所報 食品衛生編, 40, 117-125 (2002)
- 12) 北川陽子, 起橋雅浩, 尾花裕孝, 阿久津和彦, 柿本幸子, 岡本葉, 高取聡, 小西良昌, 村田弘, 住本建夫, 堀伸二郎, 田中之雄: 輸入農産物中の残留農薬の調査結果 - 平成 11 年度～平成 18 年度 -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 45, 29-36 (2007)
- 13) 柿本幸子, 高取聡, 北川幹也, 吉光真人, 北川陽子, 岡本葉, 起橋雅浩, 小西良昌, 尾花裕孝, 福島成彦, 村田弘, 住本建夫, 堀伸二郎, 田中之雄: 国産野菜および果実中の残留農薬の汚染実態 - 平成 13 年度～平成 18 年度 -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 45, 37-42 (2007)
- 14) 北川陽子, 高取聡, 福井直樹, 柿本葉, 柿本幸子, 山本晃衣, 村田弘, 住本建夫, 尾花裕孝: 輸入農産物中の残留農薬の検査結果 - 平成 19 年～平成 21 年, 大阪府立公衆衛生研究所報, 48, 8-13 (2010)
- 15) 福井直樹, 高取聡, 北川陽子, 柿本葉, 柿本幸子, 山本晃衣, 中辻直人, 村田弘, 住本建夫, 尾花裕孝: 国産農産物中の残留農薬の検査結果 - 平成 19 年～平成 21 年 -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 48, 14-21 (2010)

表1 農産物の類型分類および搬入検体数

類型	分類	農産物	搬入総数(件)	国産農産物(件)	輸入農産物(件)	妥当性評価 ^{*2}	試験方法 ^{*3}
1	緑黄色 / 葉菜・花菜	かいわれだいこん					I
		クレソン					
		ケール					
		こまつな	4	4			
		しゅんぎく					
		チンゲンサイ	7	7			
		ブロッコリー	27	14	13	GC/LC	
		ほうれんそう	11	9	2	GC/LC	
		みずな(きょうな)	2	2			
2	淡色 / 葉菜・未成熟豆類	アスパラガス	1		1		
		カリフラワー	4	2	2		
		キャベツ(芽キャベツを含む)	11	10	1	GC/LC	
		さやいんげん	10	1	9		
		さやえんどう					
		サラダ菜					
		セロリ					
		チシャ					
		トレビス	1		1		
		はくさい	3	3			
3	ナス科、ウリ科、結実	パセリ					
		みつば					
		レタス	9	9		GC/LC	
		オクラ	6		6		
		かぼちゃ(スカッシュを含む)	17	6	11		
		きゅうり(ガーキンを含む)	24	24		GC/LC	
		ししとう					
		しろうり					
		とうがん	1	1			
4	ネギ類	トマト	12	12		GC/LC	II
		なす	10	10			
		にがうり					
5	地下部	ピーマン(パプリカ)	9		9		
		にら	1	1			
		ねぎ	19	8	11		
6	芋類・根菜	わけぎ					
		たまねぎ	28	22	6	GC/LC	
		らっきょ					
7	穀類	かぶ					
		かんしょ	6	4	2		
		ごぼう	3	1	2		
		さといも類(やつがしらを含む)	3	1	2		
		だいこん	27	27		GC/LC	
		にんじん	19	15	4		
		ばれいしょ	10	10		GC/LC	
		やまいも(長いも含む)	4	4			
		れんこん	4	3	1		
8	果樹 / 柑橘類	えだまめ	17	1	16		III
		とうもろこし	6	2	4		
		玄米	20	20		GC/LC	
9	果実	あまなつみかん					II
		オレンジ	41		41	GC	
		その他のかんきつ類 ^{*1}	4	4		LC	
		グレープフルーツ	38		38		
		なつみかん					
		ライム					
10		レモン	5		5		

表1 農産物の類型分類および搬入検体数(続き)

類型	分類	農産物	搬入総数(件)	国産農産物(件)	輸入農産物(件)	妥当性評価*2	試験方法*3
9	酸性／柑橘以外 果実	あんず					I
		いちご	1	1		GC/LC	
		うめ					
		おうとう(チェリーを含む)					
		キウイ	20		20	GC/LC	
		すもも					
		なし(西洋なしを含む)					
		ネクタリン					
		パイナップル	13	1	12		
		ぶどう	6	3	3		
		みかん	5	5			
		もも	4	4			
10	その他	りんご	9	8	1	GC/LC	
		かき	2	2			
		すいか	1	1			
		バナナ	58		58	GC/LC	
		びわ					
		まくわうり					
11	茶	ウーロン茶	8		8	LC	IV(抽出液)
							V(茶葉)
12	アボカド	アボカド	4		4	GC/LC	II
99	その他	その他(菜の花)	2		2		I

*1: いよかん、かぼす、河内晩柑、スウィーティー、デコポン、はっさく、日向夏、ぶんたん、ぼんかん、ゆず

*2: 添加濃度2濃度(0.01 ppmおよび0.05 ppm)で実施

*3: 図1に概略を示す

表2 類型別検査対象項目

No.	農薬	類型													分析機器
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]*7	[99]	
1	BHC(γ)	○	×	○	○	○	×	○	○	×	○	-	×	×	GC
2	EPN	×	○	×	×	○	○	○	×	×	○	-	×	×	GC
3	XMC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	LC
4	アザコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	LC
5	アセタミプリド*1	○	×	○	○	○	×	○	○	○	○	●	○	×	LC
6	アセクロール	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	○	×	LC
7	アゾキシストロビン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
8	アトラジン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
9	アニロホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
10	アミノカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	LC
11	アトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC/GC
12	アラクロール	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	○	○	×	LC
13	アレスリン	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	×	×	×	LC
14	イサゾホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
15	イソウロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
16	イソキサチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
17	イソプロカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
18	イソプロチオラン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
19	イプロバリカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
20	イプロベンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
21	イマザメタベンズメチルエステル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
22	イミダクロプリド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
23	インダノファン	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	×	○	×	LC
24	エスプロカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	×	LC
25	エタルフルリン	×	○	○	×	×	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
26	エチオン	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	×	GC
27	エチプロール	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	LC
28	エディフェンホス	×	×	×	○	○	×	○	○	×	×	-	○	×	GC
29	エトキサゾール	○	○	×	○	○	×	○	○	×	○	×	×	×	LC
30	エトフェンブロックス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
31	エトフメセート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC/GC

表2 類型別検査対象項目(続き)

No.	農薬	類型													分析機器
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]*7	[99]	
32	エトプロホス	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
33	エトベンザニド	×	○	×	○	○	×	×	×	×	○	×	×	×	LC
34	エトリムホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
35	エボキシコナゾール	×	×	×	×	×	○	×	×	×	×	○	×	×	LC
36	オキサジアゾン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
37	オキサジキシル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
38	オキサジクロメホン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
39	カズサホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
40	カルフェントラゾンエチル	○	×	○	○	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
41	カルプロバミド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
42	カルボフェノチオン	×	○	×	○	○	○	×	○	×	○	×	×	×	LC
43	キナルホス	○	○	×	○	○	○	○	○	×	○	-	○	×	GC
44	キノキシフェン	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
45	キノクラミン	○	○	○*6	○	○	○	○	×	○	○	-	○	×	GC
46	キントゼン	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
47	クミルロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
48	クリミジン	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	×	×	LC
49	クロキンセットメキシル	○	○	×	○	○	×	×	○	○	○	○	○	×	LC
50	クロチオホス	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	×	×	LC
51	クロマゾン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
52	クロメブロップ	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
53	クロルタールジメチル	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
54	クロルピリホス	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
55	クロルピリホスメチル	×	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
56	クロルフェンゾン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
57	クロルフェンピンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
58	クロルフルアズロン	○	○	×	○	○	○	○	○	×	○	×	×	×	LC
59	クロルベンシド	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	-	×	×	GC
60	クロロベンジレート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
61	シアナジン	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	×	LC
62	シアノホス	×	×	○	×	×	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
63	ジウロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
64	ジエトフェンカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
65	ジクロトホス	×	×	○	○	○	×	○	×	×	○	-	×	×	GC
66	ジクロフェンチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
67	ジクロブトラゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
68	ジクロホップメチル	○	○	×	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
69	ジクロラン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
70	ジチオビル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
71	ジニコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
72	シハロホップブチル	×	○	○	×	○	×	○	○	×	○	-	×	×	GC
73	ジフェナミド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC/GC
74	ジフェノコナゾール*1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	×	○	LC
75	シフルフェナミド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	GC/LC
76	ジフルベンスロン*1	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	●	○	×	LC
77	シブロジニル	×	○	×	×	○	○	○	○	×	○	-	○	×	GC
78	シマジン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	○	GC
79	シメコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
80	ジメタメトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
81	ジメチルピンホス	×	×	○	×	×	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
82	ジメトエート*1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	○	○	LC
83	ジメトモルフ	○	○	○	○	×	○	○	○	×	○	×	×	×	LC
84	シメトリン	×	○	○	○	○	×	○	○	○	×	-	○	×	GC
85	ジメピベレート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	GC/LC
86	シラフルオフエン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	○	GC
87	スルプロホス	×	○	○	○	○	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
88	スルホテップ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
89	ターバシル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
90	ダイアジノン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
91	ダイアレート	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	×	×	LC
92	ダイムロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
93	チアクロブリド	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	○	×	LC
94	チアゾビル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
95	チオベンカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
96	チオメトン	×	○	×	○	○	×	○	×	×	○	-	○	×	GC
97	チフルザミド	×	○	○	×	○	○	×	○	×	○	-	×	×	GC

表2 類型別検査対象項目(続き)

No.	農薬	類型													分析機器
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]*7	[99]	
98	テトラクロロピンホス	×	×	○	×	×	×	○	×	×	○	-	○	×	GC
99	テトラコナゾール*1	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	●	○	○	LC/GC
100	テトラジホン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
101	テニルクロール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
102	テブコナゾール	○	○	○	×*4	○	○	○	○	○	○	○	○	×*4	LC
103	テブフェノジド	×	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	×	×	LC
104	テブフェンピラド*1	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	●	×	×	LC
105	テフルトリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
106	テフルベンズロン	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	×	×	×	LC
107	テルブカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	LC
108	テルブトリン	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
109	トリアジメノール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
110	トリアジメホン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
111	トリアゾホス	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	×	GC
112	トリアレート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	GC/LC
113	トリシクラゾール	×	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	○	×	LC
114	トリコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
115	トリブホス	×	○	○	×	○	○	○	○	○	×	-	×	×	GC
116	トリフルムロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
117	トリフルラリン	○	○	○	×	×	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
118	トリフロキシストロビン	○	○	○	×	×	×	○	○	○	○	○	×	×	LC
119	トリホリン	×	×	×	×	○	○	×	×	×	×	×	×	×	LC
120	トルクロホスメチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
121	トルフェンピラド	×	×	○	×	○	○	×	○	×	×	-	×	×	GC
122	ナフチルアセタミド	×	○	○	×	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
123	ナブロアニリド	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	×	LC
124	ナブロバミド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
125	ニトロタールイソプロピル	○	○	○*6	×	×	○	○	○	○	○	-	×	×	GC
126	バクロブトラゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
127	バラチオン	×	○	○	×	×	×	×	○	○	×	-	×	×	GC
128	バラチオンメチル	×	×	○	○	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
129	ビテルタノール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
130	ビフェントリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
131	ビベロニルブトキシド	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	-	○	×	GC
132	ビベロホス	×	○	○	×	○	○	○	○	○	○	-	×	×	GC
133	ビラクロストロビン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
134	ビラクロホス*1	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	●	○	×	LC
135	ビラゾホス	×	×	○	×	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
136	ビラフルフェンエチル	○	×	×*5	○	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
137	ビリダフェンチオン	×	×	○*6	○	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
138	ビリダベン	×	○	○	×	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
139	ビリダリル	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	×	×	×	LC
140	ビリフェノックス	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	-	○	×	GC
141	ビリブチカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	○	GC
142	ビリブクロキシフェン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	LC/GC
143	ビリミカーブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
144	ビリミジフェン	○	×	×	×	×	○	×	×	○	○	-	×	×	GC
145	ビリミノバックメチル	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
146	ビリミホスメチル	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
147	ピンクロゾリン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
148	フェナミホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
149	フェナリモル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
150	フェントロチオン	×	×	○	×	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
151	フェノキサニル	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
152	フェノキシカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
153	フェノチオカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC/GC
154	フェノブカルブ	×	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	LC
155	フェンアミドン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
156	フェンクロルホス	×	×	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
157	フェンスルホチオン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
158	フェントエート	×	×	○	○	○	×	×	×	○	○	-	○	×	GC
159	フェンブコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
160	フェンブプロパトリン	×	○	○	×	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
161	フェンブロピモルフ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
162	フサライド	○	○	○	×	×	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
163	ブタクロール	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC

表2 類型別検査対象項目(続き)

No.	農薬	類型													分析機器
		[1]	[2]	[3]	[4]	[5]	[6]	[7]	[8]	[9]	[10]	[11]	[12]*7	[99]	
164	ブタミホス	×	○	○	×	○	○	○	○	○	○	-	×	×	GC
165	ブピリメート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
166	ブプロフェジン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
167	フラムブロップメチル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
168	フルフェナセット*2	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
	フラメビル*3	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
169	フリラゾール	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
170	フルアクリピリム	○	×	×	×	×	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
171	フルジオキシニル	×	○	○	×	○	○	○	×	×	○	-	○	×	GC
172	フルシラゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
173	フルトラニル	×	×	○	×	○	○	○	○	○	×	-	○	×	GC
174	フルトリアホール	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	×	LC
175	フルフェノクスロン*1	○	○	×	○	○	○	○	○	○	×	●	○	×	LC
176	フルミオキサジン	○	×	×	○	○	×	○	○	×	○	-	×	×	GC
177	フルリドン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
178	ブレチラクロール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
179	プロシミドン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
180	プロチオホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
181	プロバクロール	×	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
182	プロバジン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
183	プロバニル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	-	○	×	GC
184	プロバホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
185	プロピコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	×	○	GC
186	プロピザミド	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	○	×	LC
187	プロフェノホス	×	○	○	×	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
188	プロボキシル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
189	プロマシル	×	×	○	×	○	○	○	×	○	○	-	×	×	GC
190	プロメトリン	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	×	GC
191	プロモホス	×	×	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
192	ヘキサコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	LC
193	ヘキサジノン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
194	ヘキシチアゾクス	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	×	×	×	LC
195	ベナラキシル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC/GC
196	ベノキサコール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
197	ヘプタクロル	○	○	○	○	○	○	○	×	×	○	-	×	×	GC
198	ベルメトリン	×	×	×	×	○	×	×	○	○	○	-	×	×	GC
199	ベンコナゾール	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
200	ベンシクロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
201	ベンゾフェナップ	○	○	○	×	×	○	○	○	○	○	×	×	×	LC
202	ベンチアバリカルブイソプロピル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
203	ベンフルラリン	○	○	○	×	×	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
204	ベンフレセート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	-	○	○	GC
205	ボスカリド	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	×	LC
206	ホスチアゼート	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
207	ホスファミドン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
208	ホレート	○	○	○	○	○	×	○	○	×	○	-	○	×	GC
209	マラチオン	×	×	○	×	○	×	○	○	○	○	-	×	×	GC
210	ミクロブタニル	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
211	メタベンズチアズロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
212	メチダチオン	×	×	○	×	×	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
213	メトキシクロール	×	×	○	×	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
214	メトミノストロピン	○	○	×	○	○	×	×	○	×	×	-	○	×	GC
215	メトルカルブ	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	LC
216	メビンホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC/GC
217	メフェナセット	○	○	×	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	LC
218	メフェンビルジェチル	○	○	○	○	○	×	○	○	○	○	-	○	×	GC
219	メブロンル	×	○	○	×	○	○	×	×	○	○	-	×	×	GC
220	モノクロトホス	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
221	モノリニュロン	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	×	○	○	LC
検査対象項目数		[173]	[191]	[196]	[183]*8	[206]	[171]	[204]	[199]	[179]	[210]	[53]	[153]	[107]*8	

○:検査対象項目(定量下限 0.01 ppm), ●:検査対象項目(定量下限 0.05 ppm), ×:検査対象外項目, -:未評価項目

*1:類型11で茶熱湯抽出物を試料とする項目

(H26年度→H27年度の変更事項)

*2:フルフェナセットを項目から削除(類型外99を含む全類型対象)

*3:フラメビルを項目に追加(類型11を除く全類型対象)

*4:類型4および類型99のテブコナゾールを項目から削除

(H26年度→H27年度の変更事項)

*5:類型3のジクロホップメチル、シプロジニルおよびピラフルフェンエチルを項目から削除

*6:類型3にキノクラミン、ニトロタールイソプロピルおよびピリダフェンチオンを項目に追加

*7:新規類型12としてアボカドを新設(項目数152)

*8:分析項目の変更により、項目数が1項目減少

表3 農産物中の残留農薬検査結果一覧

()内は検出件数

類型	農産物	検体		検出率 (%)	殺虫剤	殺菌剤
		総数	検出			
1	こまつな	4	3	75	アセタミプリド(2) フルフェノクスロン(1)	
	チンゲンサイ	7	1	14	ピリダリル(1)	
	ブロッコリー	27	1	4		アゾキシストロビン(1)
	ほうれんそう	11	6	55	イミダクロプリド(3) テフルペンズロン(1) フルフェノクスロン(3)	
	みずな(きょうな)	2	0	0		
2	アスパラガス	1	0	0		
	カリフラワー	4	0	0		
	キャベツ(芽キャベツを含む)	11	2	18		プロシミドン(1) ボスカリド(1)
	さやいんげん	10	3	30	イミダクロプリド(2) エトフェンブロックス(2) フルフェノクスロン(1)	アゾキシストロビン(1)
	トレビス	1	0	0		
	はくさい	3	1	33	ピリダリル(1)	ボスカリド(1)
	レタス	9	1	11		プロシミドン(1)
3	オクラ	6	2	33	アセタミプリド(1) イミダクロプリド(1) ジメトエート(1)	
	かぼちゃ	17	7	41	アセタミプリド(1) イミダクロプリド(5) ピフェントリン(1) フェンプロパトリン(1)	ピラクロストロビン(1) ボスカリド(1) ミクロブタニル(4)
	きゅうり	24	18	75	アセタミプリド(2) イミダクロプリド(1) シフルペンズロン(1) ピリダベン(1) ホスチアゼート(1)	ビテルタノール(1) フルジオキシニル(2) プロシミドン(13) ベンチアバリカルブイソソプロピル(5)
	とうがん	1	0	0		
	トマト	12	5	42	アセタミプリド(1) チアクロプリド(1) トルフェンピラド(1) ブプロフェジン(1)	アゾキシストロビン(1) フルジオキシニル(1) プロシミドン(2) ベンチアバリカルブイソソプロピル(1) ボスカリド(3)
	なす	10	4	40	アセタミプリド(1) ブプロフェジン(1)	アゾキシストロビン(1) プロシミドン(1) ボスカリド(1)
	ピーマン(パプリカ)	9	7	78	アセタミプリド(1) チアクロプリド(2)	アゾキシストロビン(2) テトラコナゾール(6) ピラクロストロビン(2) フルジオキシニル(1) ボスカリド(6)
4	にら	1	0	0		
	ねぎ	19	4	21		アゾキシストロビン(2) プロシミドン(2)
5	たまねぎ	28	0	0		
6	かんしょ	6	0	0		
	ごぼう	3	0	0		
	さといも類(やつがしらを含む)	3	0	0		
	だいこん	27	2	7	ホスチアゼート(2)	
	にんじん	19	1	5		ミクロブタニル(1)
	ばれいしょ	10	0	0		
	やまいも(長いもを含む)	4	0	0		
	れんこん	4	0	0		
7	えだまめ	17	11	65	アセタミプリド(8) エトフェンブロックス(2) クロルピリホス(2) クロルフルアズロン(1)	アゾキシストロビン(4) ジメトモルフ(1)
	とうもろこし	6	0	0		
	玄米	20	7	35	シラフルオフェン(1)	トリシクラゾール(1) フサライド(5) フルトラニル(1)

表3 農産物中の残留農薬検査結果一覧(続き)

()内は検出件数

類型	農産物	検体		検出率 (%)	殺虫剤	殺菌剤
		総数	検出			
8	オレンジ	41	17	41	クロルピリホス(10) ピフェントリン(1) フェンプロパトリン(3) メチダチオン(4)	ピラクロストロビン(1)
	その他のかんきつ類*	4	3	75	メチダチオン(3) イミダクロプリド(1)	シプロジニル(1)
	グレープフルーツ	38	36	95	イミダクロプリド(6) クロルピリホス(9) ピリプロキシフェン(4) フェンプロパトリン(2) ブプロフェジン(1) メチダチオン(2)	アゾキシストロビン(1) ピラクロストロビン(30) フェンブコナゾール(1)
	レモン	5	5	100	イミダクロプリド(2) クロルピリホス(3)	アゾキシストロビン(1)
9	いちご	1	0	0		
	キウイ	20	0	0		
	パイナップル	13	1	8		トリアジメノール(1) トリアジメホン(1)
	ぶどう	6	5	83	イミダクロプリド(1) ピリダベン(1) ベルメトリン(1)	キノキシフェン(1) テブコナゾール(3) ピラクロストロビン(2) ボスカリド(2) ミクロブタニル(1)
	みかん	5	2	40	アセタミプリド(2)	
	もも	4	1	25	ブプロフェジン(1)	
	りんご	9	3	33	アセタミプリド(2) クロルピリホス(1) チアクロプリド(2) フェニトロチオン(1)	トリフロキシストロビン(2) ピラクロストロビン(2) ボスカリド(3)
10	かき	2	0	0		
	すいか	1	0	0		
	バナナ	58	29	50	エトフェンブロックス(2) クロルピリホス(23) ピフェントリン(5)	アゾキシストロビン(3)
	メロン類	7	3	43	イミダクロプリド(2) ベルメトリン(1)	プロシミドン(1)
11	ウーロン茶	8	2	25	アセタミプリド(2)	
12	アボカド	4	0	0		
99	その他(菜の花)	2	0	0		

*: 日向夏、河内晩柑、はっさく、いよかん

表4 複数農薬が検出されやすい農産物

農産物名	搬入 検体数	複数農薬を検出		
		検体数	検出率 (%)	最大同時 検出項目数
ピーマン(パプリカ)	9	6	67	6
りんご	9	3	33	6
かぼちゃ	17	3	18	6
ぶどう	6	2	33	5
グレープフルーツ	38	13	34	4
えだまめ	17	4	24	4
トマト	12	5	42	3
きゅうり	24	7	29	3

表5 特定農産物から高頻度(検出率30%以上)に検出された農薬

農産物名	農薬名	検体数	検出数	検出率 (%)
グレープフルーツ	ピラクロストロビン	38	30	79
その他のかんきつ類	メチダチオン	4	3	75
ピーマン(パプリカ)	テトラコナゾール	9	6	67
ピーマン(パプリカ)	ボスカリド	9	6	67
レモン	クロルピリホス	5	3	60
きゅうり	プロシミドン	24	13	54
こまつな	アセタミプリド	4	2	50
ぶどう	テブコナゾール	6	3	50
えだまめ	アセタミプリド	17	8	47
みかん	アセタミプリド	5	2	40
レモン	イミダクロプリド	5	2	40
バナナ	クロルピリホス	58	23	40
ぶどう	ピラクロストロビン	6	2	33
ぶどう	ボスカリド	6	2	33
りんご	ボスカリド	9	3	33

試験法 I	試験法 II	試験法 III	試験法 V	試験法 IV
試料 10.0 g	試料 10.0 g	試料 5.0 g	試料 9.0 mL	試料 5.0 g
アセトニトリル 20 mL	アセトニトリル 20 mL	精製水 5 mL・静置 アセトニトリル 20 mL	アセトニトリル 20 mL	精製水 5 mL・静置 アセトニトリル 20 mL
ホモジナイズ				ホモジナイズ・遠心・ろ過
				アセトニトリル 20 mL
				ホモジナイズ・ろ過
				粗抽出液 100 mL
塩析脱水・振とう・遠心				塩析・振とう・静置
精製 GCB/PSA	精製 C18+GCB/PSA		精製 GCB/PSA	精製 C18
				濃縮
				精製 GCB/PSA+GCB
				濃縮
				精製 SiL
濃縮・乾固				
試験液				
機器分析				

図1 試験法の概略

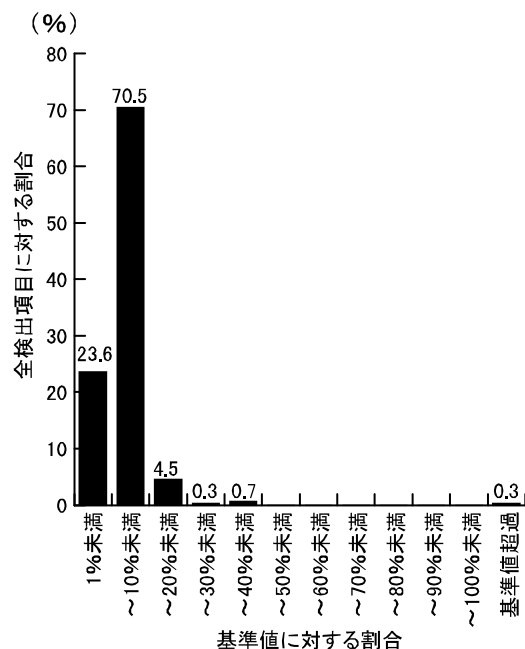


図2 農薬検出値の基準値に対する割合

総アフラトキシン試験法の妥当性評価

小阪田正和* 吉光真人* 福井直樹* 梶村計志*

アフラトキシンの規制値は B1 のみが対象であったが、指標が総アフラトキシンに変更された。国は総アフラトキシン試験法を通知したが、当所においても通知試験法に準じる試験法を採用した。国の示す農薬等の試験法に関する妥当性評価ガイドラインに準じて、評価を行なったところ、ライスペーパー、ポップコーン、ピーナッツ、アーモンドについて、選択性、真度（回収率）、精度、定量限界ともにガイドラインの目標値を満たし、この試験法が総アフラトキシンの規制値の適合判定に使用できることがわかった。

キーワード：総アフラトキシン、イムノアフィニティーカラム、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計、妥当性評価

Key words: Total Aflatoxins, Immunoaffinity Column, FL-HPLC, LC-MS/MS, Validation

アフラトキシンを含有する食品については、平成 23 年に指標がアフラトキシン B1 から総アフラトキシン（アフラトキシン B1、B2、G1 及び G2 の総和）に変更された¹⁾。それに伴い、食品中の総アフラトキシンの定量について試験法が通知された²⁾。

当該試験法では、試験溶液の精製に多機能カラムまたはイムノアフィニティーカラムを用いる方法が示されている。多機能カラムは穀類および種実類に、イムノアフィニティーカラムは香辛料や加工食品、その他多機能カラムで精製が不十分な試料に適用される。当所では当該試験法に準ずる方法として、穀類および種実を対象にイムノアフィニティーカラムを用いて試験を行うこととした。

農薬等の試験法については、平成 22 年に改定された「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」において、独自の試験法に加え、通知試験法についても、ガイドラインに定められた妥当性の確認が必要になった³⁾（平成 25 年 12 月より施行）。

総アフラトキシン試験法の通知でも、ガイドライン

に準じた妥当性評価の方法が示されており、当所で実施する試験法について、評価を行うこととした。ライスペーパー、ポップコーン、ピーナッツ、アーモンドの 4 種類の穀類および種実を対象とし、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフおよび 2 機種的高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計を用いた試験法について、妥当性評価を行なった結果を報告する。

方法

1. 試料

大阪府内で販売されていた、ライスペーパー、ポップコーン、ピーナッツ、アーモンドを用いた。なお、対象のアフラトキシンが含まれていないことを事前に確認した試料を用いた。

2. 試薬、器具

2-1. 標準品：市販の混合標準溶液（SUPELCO 社製、アフラトキシン B1、B2、G1 及び G2 各 25mg/L）を用いた。

2-2. 標準溶液：標準品をアセトニトリルで希釈し、添加用標準溶液（250ng/mL、アセトニトリル）、検量線用標準溶液（0.2, 0.5, 1, 2, 5ng/mL、10% アセトニトリル溶液）を調製した。MS/MS 測定条件の検討には添加用標準溶液を希釈したものを用

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

Validation Study on A Method for Analysis of Total Aflatoxins

by Masakazu OSAKADA, Masato YOSHIMITSU, Naoki FUKUI and Keiji KAJIMURA

いた。

2-3. その他の試薬、器具：アセトニトリル、塩化ナトリウムは和光純薬工業（株）製の残留農薬 PCB 試験用、メタノールは残留農薬 PCB 試験用または LC/MS 用、酢酸アンモニウムは試薬特級、Phosphate Buffer Saline は組織洗浄用を用いた。水は Merck Millipore 社製 Milli-Q 純水製造装置（Elix Advantage, Milli-Q Advantage A10）で精製した水（比抵抗値 $18.2\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$ ）を用いた。ガラス繊維ろ紙は GE Healthcare Life Sciences 社製 934-AH を用いた。15mL ポリプロピレン製遠沈管は Corning Science 社製を用いた。イムノアフィニティーカラムは堀場製作所（株）製 Smart Column AFLAKING を用いた。

3. 装置

ホモジナイザー：KINEMATICA 社製 POLYTRON PT10-35GT、遠心機：日立工機（株）製 CR20GⅢ、05PR-22、遠心エバポレーター：東京理化学器械（株）製 CVE-3100、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ：LC；Waters 社製 alliance e2695, 蛍光検出器；Waters 社製 2475, 分析カラム；関東化学（株）製 Mightysil RP-18 GP ($5\mu\text{m}$, $4.6 \times 150\text{mm}$)、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計：LC；Shimadzu 社製 Prominence, MS/MS；ABSciex 社製 API3200QTRAP, 分析カラム；SUPELCO 社製 ASCENTIS C18 ($3\mu\text{m}$, $2.1 \times 150\text{mm}$)、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計：LC；Shimadzu 社製 NEXERA, MS/MS；ABSciex 社製 API4000QTRAP, 分析カラム；Waters 社製 ACQUITY UPLC HSS T3 ($1.8\mu\text{m}$, $2.1 \times 100\text{mm}$)

4. 蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ測定条件

4-1. 移動相：水-メタノール（3:2）、流速：0.7mL/min、カラム温度：40℃、注入量：20 μL

4-2. 検出条件：励起波長 365nm、検出波長 450nm

5. 高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計測定条件

5-1. 移動相：A 液：0.5mM 酢酸アンモニウム

表 1. MS/MS 測定条件

(API3200QTRAP)			
	Transition	Declustering Colligion Potential	
		(<i>m/z</i>)	(V) (V)
Afratoxin B1	313	61	—
	313→241	61	47
Afratoxin B2	315	71	—
	315→259	71	35
Afratoxin G1	329	61	—
	329→243	61	33
Afratoxin G2	331	66	—
	331→245	30	30

上段：定量用イオン（SIM）

下段：定性用イオン（MRM）

(API4000QTRAP)			
	Transition	Declustering Colligion Potential	
		(<i>m/z</i>)	(V) (V)
Afratoxin B1	313→241	96	53
	313→284	96	33
Afratoxin B2	315→287	91	37
	315→259	91	41
Afratoxin G1	329→243	86	39
	329→200	86	59
Afratoxin G2	331→245	91	43
	331→115	91	115

上段：定量用イオン（MRM）

下段：定性用イオン（MRM）

表 2. 真度および精度の目標値

添加濃度 ($\mu\text{g/kg}$)	回収率 (%)	精度 (RSD%)	
		併行精度	室内精度
2.5	70~110	20 $\geq$	30 $\geq$

水溶液、B 液：0.5mM 酢酸アンモニウムメタノール、グラジエント条件：（Shimadzu 社製 Prominence）；（%B）Initial（40）→ 10min（95）→ 15min（95）、流速：0.2mL/min、カラム温度：40℃、注入量：10 μL 、（Shimadzu 社製 NEXERA）；（%B）Initial（40）→ 5min（95）→ 9min（95）、流速：0.2mL/min、カラム温度：50℃、注入量：5 μL

5-2-1. MS/MS 測定条件：API3200QTRAP について対象とした 4 種のアフラトキシンの定量用 SIM および確認用 MRM を測定するメソッドを作成した。測定条件は下記のように設定した。アフラトキシンごとのパラメーターは表 1 に示した。

Ion mode : positive、Ion spray voltage : 5500 V、Turbo heater : 450 °C、Ion source gas 1 : 70psi、Ion source gas 2 : 60psi

5-2-2. MS/MS 測定条件：API4000QTRAP について対象とした 4 種のアフラトキシンの定量用および確認用 MRM を測定するメソッドを作成した。測定条件は下記のように設定した。アフトキシンごとのパラメーターは表 1 に示した。

Ion mode : positive、Ion spray voltage : 5500 V、Turbo heater : 500 °C、Ion source gas 1 : 75psi、Ion source gas 2 : 65psi

6. 抽出、精製

試料は殻等の非可食部を除去し、粉碎した。試料 50.0g を 500mL ポリプロピレン製遠沈管に採取し、塩化ナトリウム 5g およびメタノール水 (4:1) 200mL を加えて、ホモジナイザーで 2 分間抽出した。5000rpm で 10 分間遠心分離し、上清をメスフラスコに 10mL 採取し、MilliQ 水を加えて 50mL とした後、ガラス繊維ろ紙を用いてろ過し抽出液とした。その後、抽出液 10mL をイムノアフィニティーカラムに注入した後、10mL の MilliQ 水で洗浄し、カラムを 800rpm で 30 秒間遠心して水を除去した。アセトニトリル 1 回あたり 1mL を注入する操作を 3 回繰り返して、溶出液を 15mL ポリプロピレン製遠沈管に採った。遠心エバポレーターを用いて溶出液を 45°C 以下で濃縮し、溶媒を除去した。残留物に 100μL アセトニトリルを加え、5 分間超音波処理を行った後、MilliQ 水 900μL を加えてよく混和して試験溶液とした。

7. 妥当性評価

試料中の濃度が 2.5μg/kg になるように標準溶液を添加し、30 分間放置後、抽出、精製し、分析を行った。実施者 2 名がそれぞれ 2 併行の添加回収試験を 3 日間行い、真度、併行精度および室内精度を求め目標値（表 2）と比較した。

表 3. 妥当性評価結果（蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ 真度、精度）

アフラトキシシン	回収率 (%)	精度 (RSD%)	
		併行精度	室内精度
(ライスペーパー)			
Afratoxin B1	86.4	3.25	2.99
Afratoxin B2	90.6	3.31	3.71
Afratoxin G1	89.1	3.87	4.63
Afratoxin G2	94.0	3.38	4.50
(ポップコーン)			
Afratoxin B1	74.2	2.32	4.16
Afratoxin B2	80.5	1.59	3.24
Afratoxin G1	81.5	3.39	4.13
Afratoxin G2	87.1	1.96	3.40
(ピーナッツ)			
Afratoxin B1	80.0	2.42	5.49
Afratoxin B2	83.5	2.49	4.42
Afratoxin G1	83.1	4.64	6.24
Afratoxin G2	86.3	3.47	5.41
(アーモンド)			
Afratoxin B1	78.6	1.76	2.13
Afratoxin B2	82.3	1.61	2.89
Afratoxin G1	84.1	2.49	3.44
Afratoxin G2	86.5	1.81	3.07

結果および考察

1. 選択性

アフラトキシンの含有が認められない試料から調製したブランク試料と、標準溶液を添加した試料から調製した添加試料のクロマトグラフを比較したところ、定量を妨害する夾雑ピークは、ライスペーパー、ポップコーン、ピーナッツ、アーモンドいずれの試料においても確認されなかった。

2. 真度、精度

表 3 に示すように、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフにおいて真度は 74.2～90.6%であった。併行精度は 1.59～4.64%、室内精度は 2.13～6.24%であった。表 4 に示すように、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 (API3200QTRAP) において真度は 73.3～88.7%で

表 4. 妥当性評価結果（高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 [API3200QTRAP] 真度、精度）

アフラトキシン	回収率 (%)	精度 (RSD%)	
		併行精度	室内精度
(ライスペーパー)			
Afratoxin B1	84.6	2.21	3.49
Afratoxin B2	88.7	1.32	2.73
Afratoxin G1	81.4	5.19	7.96
Afratoxin G2	88.3	5.18	6.18
(ポップコーン)			
Afratoxin B1	73.3	3.62	3.57
Afratoxin B2	78.0	0.74	3.22
Afratoxin G1	79.6	10.3	10.0
Afratoxin G2	86.7	6.51	7.04
(ピーナッツ)			
Afratoxin B1	75.8	1.67	4.32
Afratoxin B2	77.7	1.51	5.49
Afratoxin G1	74.9	4.75	8.59
Afratoxin G2	78.3	3.54	6.88
(アーモンド)			
Afratoxin B1	80.4	2.58	4.22
Afratoxin B2	83.6	3.24	4.95
Afratoxin G1	82.3	3.91	5.93
Afratoxin G2	85.5	3.36	5.19

あった。併行精度は 0.74～10.3%、室内精度は 2.73～10.0%であった。表 5 に示すように、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 (API4000QTRAP) において真度は 73.3～93.0%であった。併行精度は 2.17～10.9%、室内精度は 5.58～21.4%であった。真度および精度は、いずれの測定機器でもすべての項目において、ガイドラインの目標値を満たす結果が得られた。

3. 定量限界

2.5μg/kg 添加試料の S/N 比を算出した。蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフでは Waters 社の定量解析ソフトウェア Empower2 を用い、高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計では ABSciex 社の MS 用定量解析ソフトウェア Analyst を用いて、ピークの前または後、約 2 分間をノイ

表 5. 妥当性評価結果（高速液体クロマトグラフータンデム型質量分析計 [API4000QTRAP] 真度、精度）

アフラトキシン	回収率 (%)	精度 (RSD%)	
		併行精度	室内精度
(ライスペーパー)			
Afratoxin B1	87.0	3.61	7.73
Afratoxin B2	90.2	2.17	7.10
Afratoxin G1	89.1	3.57	5.61
Afratoxin G2	93.0	2.39	5.58
(ポップコーン)			
Afratoxin B1	73.3	5.04	6.64
Afratoxin B2	79.3	5.57	7.04
Afratoxin G1	83.6	10.9	11.6
Afratoxin G2	89.3	8.09	9.74
(ピーナッツ)			
Afratoxin B1	74.3	6.91	9.93
Afratoxin B2	76.2	8.14	9.76
Afratoxin G1	74.6	8.96	10.7
Afratoxin G2	74.9	9.45	9.87
(アーモンド)			
Afratoxin B1	74.6	8.51	21.3
Afratoxin B2	77.2	8.12	21.0
Afratoxin G1	81.9	9.01	21.4
Afratoxin G2	83.6	9.34	20.5

ズ範囲の対象とし、ピークおよびノイズの振れ幅の最大値の比を算出した。2.5μg/kg 添加試料において、いずれのアフラトキシンも S/N 比は 10 以上であり、この濃度での定量性を確認した。

結論

総アフラトキシンの試験法の妥当性評価を行った。試料中の濃度が 2.5μg/kg になるよう標準溶液を添加し、選択性、真度、精度、定量限界を評価した。通知された試験法が示すガイドラインに準じた目標値を満たす結果が得られた。

文献

- 1) 「アフラトキシンを含有する食品の取扱いに

ついて」平成 23 年 3 月 31 日付け食安発 0331
第 5 号 (2011)

- 2) 「総アフラトキシンの試験法について」平成
23 年 8 月 16 日付け食安発 0816 第 2 号 (2011)
- 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の一部改正について」
平成 22 年 12 月 24 日付け食安発 1224 第 1 号
(2010)

マルチモードカラムを用いた簡便な危険ドラッグスクリーニング法の開発

武田章弘* 田上貴臣* 浅田安紀子* 土井崇広*
梶月由香* 川口正美* 沢辺善之*

高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器によるマルチモードカラムを用いた危険ドラッグスクリーニング法を開発した。その結果、従来実施していたスクリーニング法に比べ、分析時間を78分から35分に短縮し、分析の準備、後処理についても簡略化することができた。

キーワード：マルチモードカラム、高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器、新規精神活性物質

Key words : multi-mode-column, high performance liquid chromatography/ photodiode array detector (HPLC/PDA), new psychoactive substances

大阪府では、危険ドラッグの流通実態の把握及び取り締まりを行うために大阪府内及びインターネット上で流通する危険ドラッグ製品を買い上げ、その成分分析を行っている。危険ドラッグの分析においては、検体に含まれる成分を推定するスクリーニング法のひとつとして、高速液体クロマトグラフィー／フォトダイオードアレイ検出器 (HPLC-PDA) を用いている¹⁾。危険ドラッグの分析では、合成カンナビノイド系などの疎水性化合物とカチノン系などの塩基性化合物を同時に分析する必要があることから、現在使用している方法 (従来法) では、移動相にドデシル硫酸ナトリウム (SDS) を使用しているため、分析に長時間を要することに加え、移動相の調製やカラムの洗浄等の後処理に多くの時間と手間を要している。

そこで HPLC-PDA によるスクリーニングの迅速化及び簡便化を目的として、SDS を使用することなく、疎水性化合物および塩基性化合物の同時分析が期待できる、オクタデシルシリル基 (ODS) とスルホン酸基の双方を備えたマルチモードカラムによる危険ドラッグのスクリーニング法の検討を行った。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
Development of a Screening Analysis for New Psychoactive Substances with a Multi-mode-column
by Akihiro TAKEDA, Takaomi TAGAMI, Akiko ASADA,
Takahiro DOI, Yuka SATSUKI, Masami KAWAGUCHI
and Yoshiyuki SAWABE

実験方法

1) 標準物質及び試薬

危険ドラッグの標準物質は市販品、国立医薬品食品衛生研究所、大阪府警察科学捜査研究所、及び東京都健康安全研究センターからの分与品、または当研究所で合成したものを使用した。その他試薬類はすべて市販品を用いた。

2) 検体

検体は2011年から大阪府が実施している危険ドラッグ買上調査で買い上げた危険ドラッグ製品を用いた。

3) 装置

HPLC-PDA は Waters 製 Alliance HPLC e2695/2998 を使用した。

4) 試料溶液の調製

検体の性状ごとに以下の方法で試料原液を調製した。
液体：メタノールで100倍希釈して試料原液とした。
粉末：メタノールで1 mg/mL 相当になるように溶解した。

植物片：検体約50 mg をとり、メタノール2.5 mL を加え、ボルテックスミキサーで攪拌後、0.45 µm のメンブランフィルターでろ過した。

また、分析に供する際は、液体検体、粉末検体、植物片検体の試料原液を70% アセトニトリルでそれぞ

れ 10 倍、100 倍、10 倍に希釈した液を試料溶液とした。

5) 標準溶液の調製

標準品を約 0.1 mg/mL となるようにメタノールに溶かした液を標準原液とし、 -20°C で保管した。分析に供する際は、標準原液を 70% アセトニトリルで 10 倍希釈した液を標準溶液とした。

6) 測定条件

新規分析法

移動相：5.0 mM リン酸二水素カリウム溶液／5.0 mM リン酸水素二カリウム溶液／アセトニトリル (3:3:14)

カラム：カプセルパック CR 1:4、150 mm×4.6 mm、5 μm (資生堂)

カラム温度： 40°C

注入量：50 μL

流量：1 mL/min

測定波長：200-400 nm

従来法²⁾

移動相 A：アセトニトリル／水／リン酸混液 (300:700:1、SDS 2.8 g/L 含有)

移動相 B：アセトニトリル／水／リン酸混液 (700:300:1、SDS 2.8 g/L 含有)

カラム：L-columnODS、150 mm×4.6 mm、5.0 μm (化学物質評価研究機構)

カラム温度： 40°C

注入量：50 μL

流量：1 mL/min

グラジエント条件：0-10 min (A/B：75/25) → 30 min (A/B：10/90)

※ 合成カンナビノイド系または上記のグラジエント条件では化合物が溶出しない場合は以下のように条件を変更した。グラジエント条件：0-10 min (A/B: 75/25) → 30-90 min (A/B: 10/90)

測定波長：200-400 nm

結果

1) マルチモードカラムによる分析の条件検討

マルチモードカラムにはカプセルパック CR (資生堂、150 mm×4.6 mm、5 μm) を用いたが、当該カラムは ODS 基とスルホン酸基の充てん比率の違いにより 3 種類が存在する。そこで、カチノン系化合物などの塩基性化合物の保持が良好になることを期待して、スルホン酸基の充てん比率が最も高い CR1:4 を選択した。

検討の際に使用した対象成分はカチノン系から 1-(2-fluorophenyl)-2-(methylamino)propan-1-one (2-FMC)、1-phenyl-2-(pyrrolidin-1-yl)octan-1-one (PV-9)、合成カンナビノイド系から N-(1-amino-3-methyl-1-oxobutan-2-yl)-1-(5-fluoropentyl)-1H-indazole-3-carboxamide (5F-AB-PINACA)、naphthalen-1-yl[4-(pentyl)ox)naphthalen-1-yl]methanone (CB-13)、フェネチルアミン系から 1-(4-methylphenyl)propane-2-amine (4-MA)、トリプタミン系から N-ethyl-N-isopropyl-5-methoxytryptamine (5-MeO-EIPT)、ピペラジン系から 1-[(4-bromo-2,5-dimethoxyphenyl)methyl]-piperazine (2CB-BZP) を選択した (図 1)。

移動相の有機溶媒比率は、従来法において最も溶出の遅かった合成カンナビノイド系化合物 CB-13 が 60 分以内に溶出する 70% に固定し、アイソクラティック分析を行った。リン酸二水素カリウム水溶液及びリン酸水素二カリウム水溶液とアセトニトリルを混合し、pH 及び塩濃度の異なる移動相による対象成分の保持時間と分離を検討した。

その結果を図 2 に示した。5F-AB-PINACA、CB-13 はともに、移動相の pH 及び塩濃度の影響を受けず、一定の保持時間を示した。4-MA、5-MeO-EIPT、2CB-BZP は pH の上昇に伴い、保持時間が短縮し、塩濃度の低下に伴い、保持時間が長くなった。2-FMC もまた同様の傾向を示したのに対し、PV-9 は pH の上昇に伴い、保持時間が長くなった。

以上の結果、CB-13 以外の成分が 15 分以内に溶出し、カチノン系 2 化合物並びに 5F-AB-PINACA 及び 2-FMC の分離がそれぞれ良好であった、pH 6.5 および塩濃度 5 mM を分析条件として採用した。なお、当該条件下における各成分のピーク形状に問題は認められなかった。

2) 従来法とマルチモードカラムによる分析法の比較

1) で確定した分析条件と SDS を使用する従来の分析条件の比較を危険ドラッグ成分 260 化合物 (カチノン系 75 化合物、合成カンナビノイド系 101 化合物、フェネチルアミン系 43 化合物、トリプタミン系 10 化合物、ピペラジン系 6 化合物、その他 25 化合物) を対象に比較した。その結果、従来法では全成分の溶出に 78 分を要した。一方、マルチモードカラムによる分析法では 35 分で全成分を溶出することが可能であった (図 3)。

3) マルチモードカラムによる危険ドラッグ検体の分析

実際に大阪府下で買い上げられた危険ドラッグ 3 検体 (液体状、粉末状、植物片それぞれ 1 検体) を、マルチモードカラムによる分析法で分析した。その結果、検体中の夾雑物による妨害は確認されなかった。また、検体中の危険ドラッグ成分は互いに完全に分離された状態で検出され、各成分の保持時間及び吸収スペクトルは標準溶液と一致した (図 4)。

考察

危険ドラッグ検査で実施している HPLC-PDA を用

いたスクリーニング法において、マルチモードカラムを用いた新規分析法を開発した。その結果、対象とした危険ドラッグ 260 化合物を、従来法と比較して約半分の 35 分で全成分を検出することが可能であった。また、実際の検体についても夾雑物の妨害を受けず、含有成分を全て検出することができた。さらに、従来法で使用していた移動相には SDS を含有していたため、移動相の調製及び分析後のカラム洗浄処理にも多くの時間を費やしていたが、新たな分析法で用いられる移動相は調製及び分析後の処理は容易であり、費やされる時間を削減することが可能となった。

文献

- 1) 武田章弘、浅田安紀子、田上貴臣、土井崇広、皐月由香、川口正美、沢辺善之：平成 23・24 年度の違法ドラッグ買上調査について、大阪府立公衆衛生研究所報、**51**、23-27 (2013)
- 2) 吉田正雄、鈴木仁、高橋美佐子、守安貴子、中嶋順一、金井千恵子、長嶋真知子、瀬戸隆子、清水雅子、濱野朋子、中江大：平成 22 年度指定薬物検出事例、東京都健康安全研究センター年報、**62**、107-114 (2011)

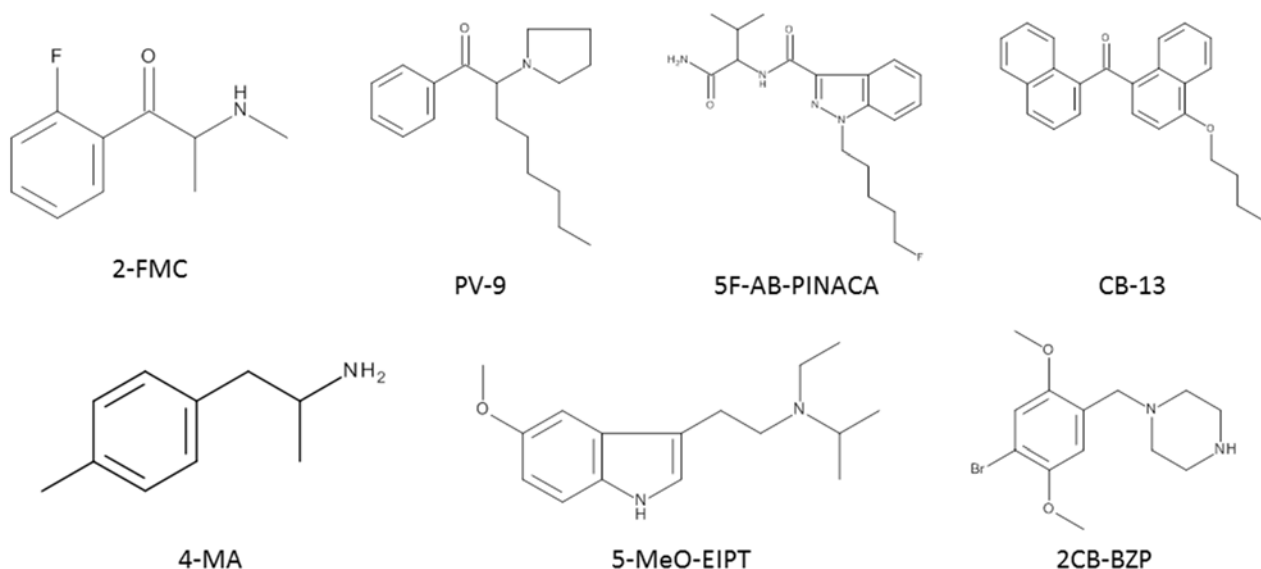


図 1 分析の条件検討に使用した対象成分

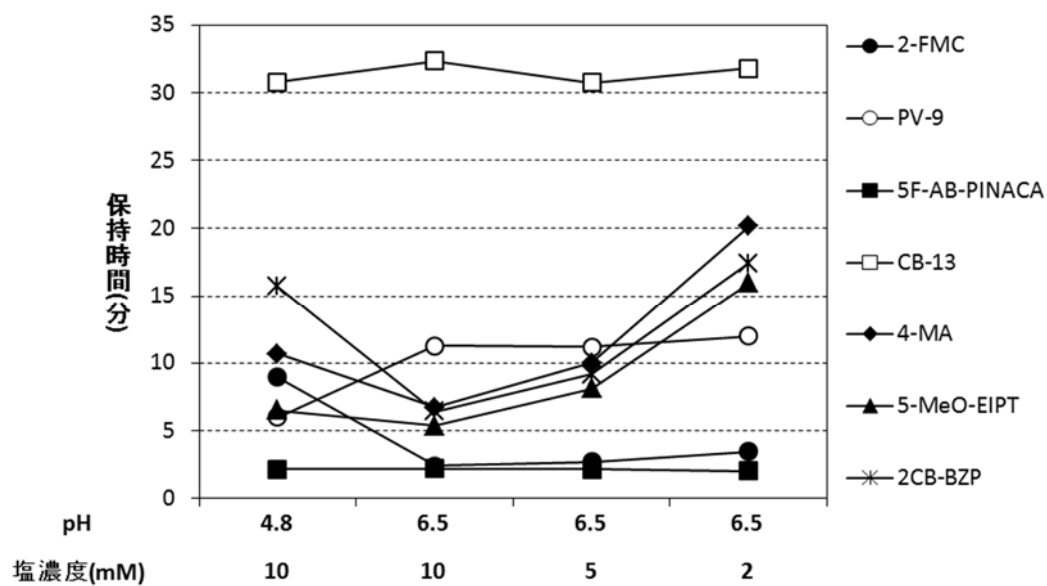


図2 マルチモードカラムによる分析の条件検討の結果

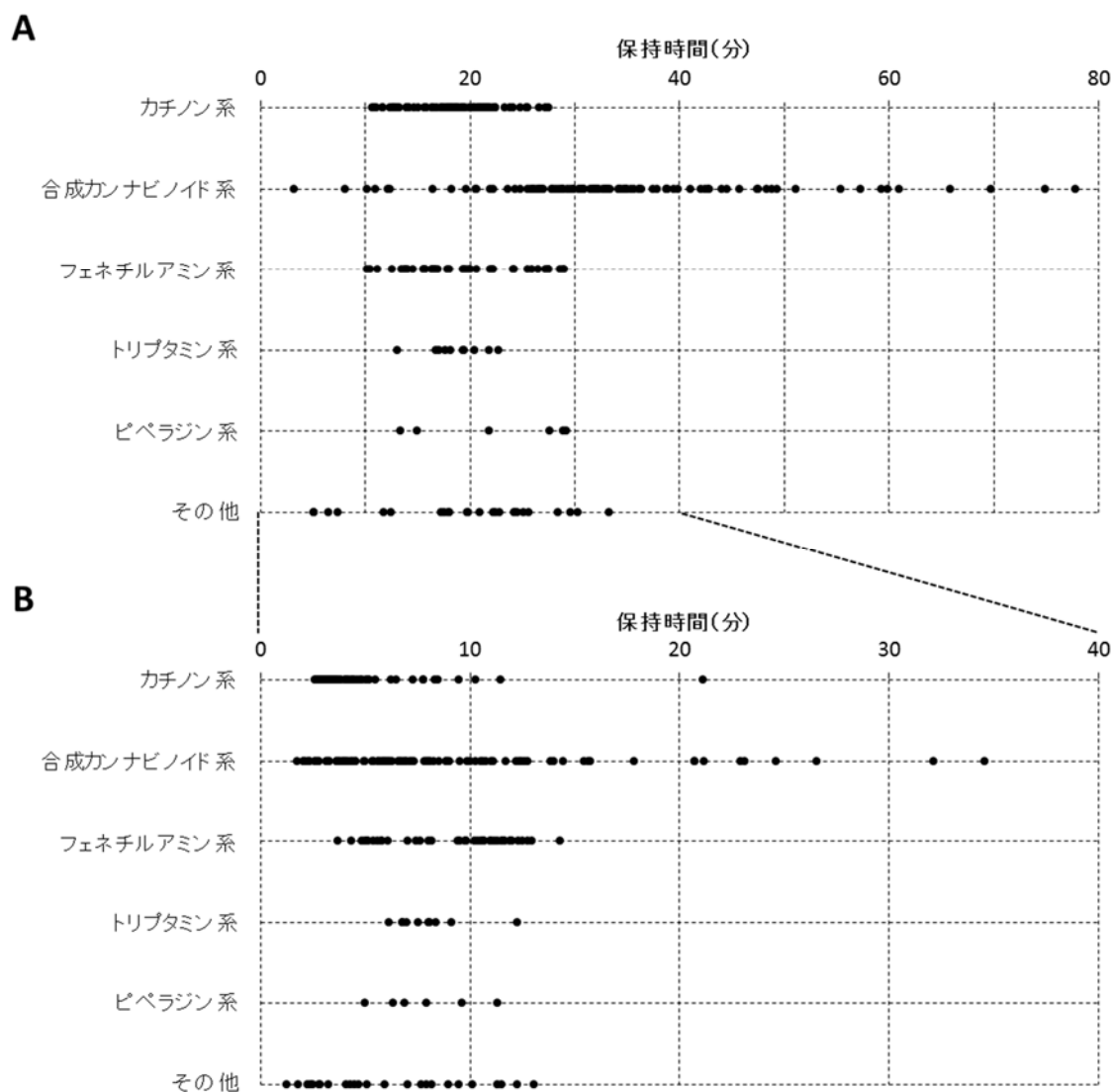


図3 従来法(A)及び新規分析法(B)による危険ドラッグ成分の保持時間の分布

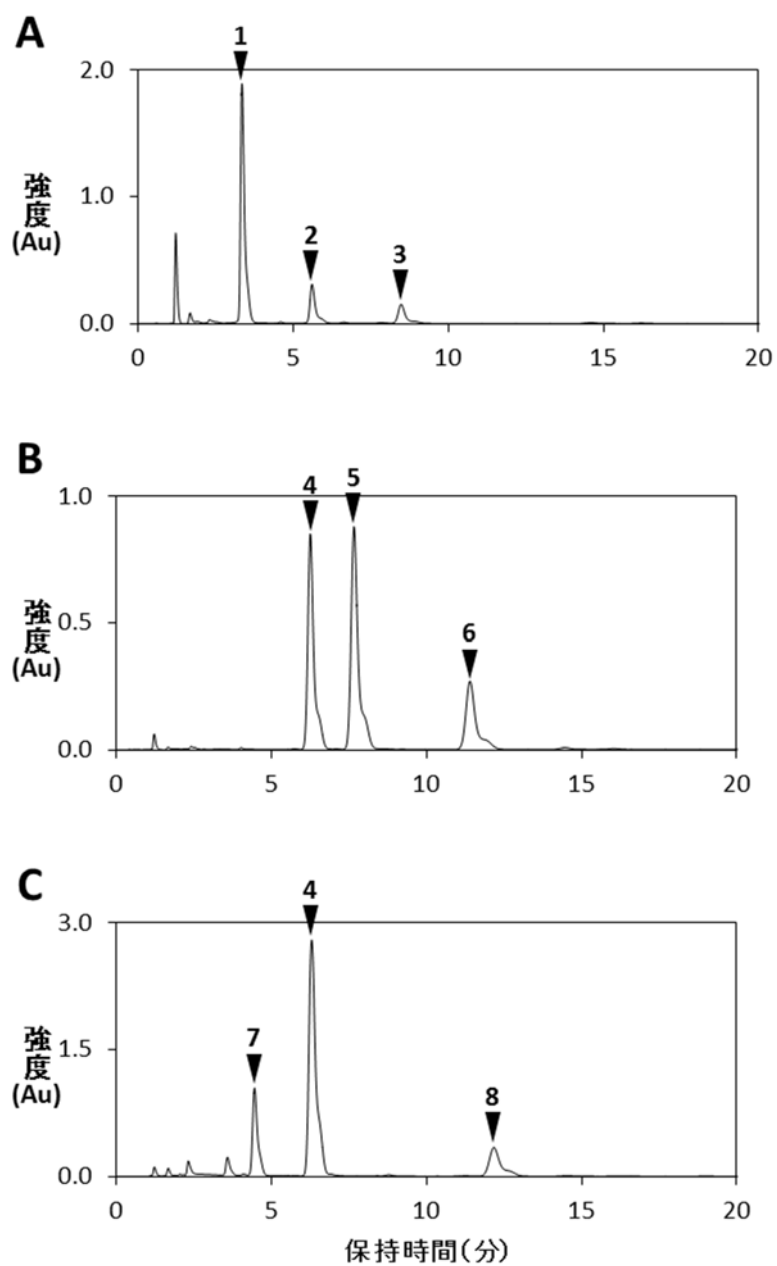


図4 マルチモードカラムによる危険ドラッグ検体の分析

A: 液体, B: 粉末, C: 植物片 (1) α -ethylaminopentylphenone, (2) 4F- α -PVP, (3) α -PHPP, (4) 5F-MN-18, (5) diclofensine, (6) PV-9, (7) FUB-PB-22, (8) NNE1 indazole analog なお、縦軸は波長範囲 200- 400 nm のカウントを積分した強度を示している。

大阪府内 22 浄水場におけるカルタップ、グルホシネート、ジチオカルバメート系 農薬、パラコート、ピラクロニルおよびフェリムゾンの存在実態

吉田 仁* 高木総吉* 安達史恵* 小泉義彦* 中島孝江* 田中榮次* 足立伸一*

大阪府内の水道原水および浄水を対象にカルタップ、グルホシネート、ジチオカルバメート系農薬、パラコート、ピラクロニルおよびフェリムゾンの存在実態およびその処理性を明らかにすることを目的に研究を実施した。

大阪府内の 22 浄水場を対象に平成 26 年 6 月に採取した原水試料において、2 施設からピラクロニルが同濃度(0.00011 mg/L)で検出された。しかし浄水中からは検出されなかったため、ピラクロニルは浄水処理により適切に除去されていると考えられた。他の農薬類は、いずれの施設においても原水・浄水試料から検出されなかった。ピラクロニルは平成 19 年に農薬登録を受けた比較的新しい農薬で、関西地域において出荷量が年々増加していることから今後も注視していく必要があると考えられた。

キーワード：農薬、浄水処理、ピラクロニル

key words：pesticides, water purification process, pyraclonil

水道水は水質基準に適合するものでなければならず、水道法（第 4 条）により水道事業者等に検査の義務が課されている¹⁾。また、水質基準以外にも水質管理上留意すべき項目を水質管理目標設定項目、毒性評価が定まらない、水道水中での検出実態が明らかでない等の項目を要検討項目として定めている。このうち水道水における農薬類は、水質管理目標設定項目に分類されている²⁾。平成 25 年 4 月 1 日より、対象農薬リスト掲載農薬類として 120 種類が提示され、新たに 33 種類の農薬が追加された³⁾。水道事業者等は、このリストを参考にしてその地域に合った農薬を選択して検査することとされている。この 120 種の農薬の多くは、これまでの農薬の標準検査法で対応可能であったが、

10 種の農薬についてはリストに分類されたにもかかわらず、標準検査法が設定されていなかった。上記 10 種のうち水中で速やかに分解するジチアノンを除いた 9 種の農薬について平成 27 年 3 月 25 日に標準検査法が設定されたが⁴⁾、これら農薬類の存在状況はほとんど明らかにされていないのが実情である。著者らはこれまでの間、カルタップ、グルホシネート、ジチオカルバメート系農薬について分析法を検討しその成果を報告してきた^{5~7)}。本研究は、対象農薬リストに選定されたが平成 27 年 3 月 25 日まで標準検査法が未設定であった農薬の内、カルタップ、グルホシネート、ジチオカルバメート系農薬(ジネブ、ジラム、チウラム、プロピネブ、ポリカーバメート、マンゼブ、マンネブ)、パラコート、ピラクロニルおよびフェリムゾンの大阪府内浄水場における実態およびその処理性を明らかにすることを目的に研究を実施したので以下にその詳細を報告する。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Concentrations of Cartap, Glufosinate, Dithiocarbamate Fungicides,
Pyraclonil, Ferimzone and Paraquat in 22 Water Purification Plants in
Osaka Prefecture, Japan

by Jin YOSHIDA, Sokichi TAKAGI, Fumie ADACHI, Yoshihiko
KOIZUMI, Takae NAKAJIMA, Hidetsugu TANAKA and Shin-ichi
ADACHI

方法

1. 試薬および分析機器

ネライストキシンしゅう酸塩、グルホシネートアンモニウム、ジネブ、ジラム、マンゼブ、マンネブ、パラコート、ピラクロニル、(E)-フェリムゾン、(Z)-フェリムゾン(残留農薬試験用)、チウラム(Trace Sure®)、およびアントラセン-d₁₀は和光純薬工業(株)製を使用した。ポリカーバメート(残留農薬試験用)は関東化学(株)製、プロピネブはDr. Ehrenstorfer GmbH製を使用した。精製水は、ミリポア製Direct-Qで精製したものを使用した。ギ酸、アセトニトリルおよびメタノール(LC/MS用)、りん酸(高速液体クロマトグラフ用)、*tert*-ブチルメチルエーテル、アセトン、ヘキサンおよびジクロロメタン(残留農薬試験用)、硫酸ナトリウム(無水)(PCB・フタル酸エステル試験用)、アスコルビン酸ナトリウム、チオ硫酸ナトリウム、亜硫酸ナトリウム、ほう酸ナトリウム、クロロギ酸 9-フルオレニルメチル(FMOC)、りん酸二水素ナトリウム二水和物、L-システイン塩酸塩・一水和物、硫酸水素テトラブチルアンモニウム、水酸化ナトリウム、ヨウ化メチル(試薬特級)は和光純薬工業(株)製を用いた。エチレンジアミン四酢酸三ナトリウム・三水和物(EDTA)は同仁化学研究所(株)製を使用した。固相カラムOasis WCX Plusは、Waters製を使用した。高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計(LC-MS/MS)は、LCが 1100 シリーズ (Agilent Technologies製) およびShimadzu Nexera ((株)島津製作所製)、MS/MSがAPI-3000 (AB Sciex製) および 3200Q-Trap (AB Sciex製)の 2 台を使用した。LC-蛍光検出器(FL)は、LCがLC-10ADシリーズ((株)島津製作所製)、FLがRF-10AXL((株)島津製作所製)を使用した。ガスクロマトグラフ-質量分析計(GC-MS)は、GCが 7890A(Agilent Technologies製)、MSがJMS-Q1050GC(日本電子(株)製)を使用した。分析カラムは、Ascentis Si (2.1×150 mm、5 μm) (SUPELCO製)、Ascentis C18 (2.1×150 mm、5 μm) (SUPELCO製)、Shodex DE413 (4.6×150 mm、4 μm)(昭和電工(株)製)およびVF-23 MS (30 m×0.25 mm、0.25 μm) (Agilent Technologies製)を用いた。

2. 調査方法

調査施設は、対象化合物が農薬であることから、原水が表流水系であることとし、大阪府内の水源を網羅する 22 施設(水道用水供給:2 施設、上水道:17 施設、簡易水道:3 施設)を選定し、原水と浄水を対象とし

た。浄水処理方法としては、急速ろ過処理:11 施設、緩速ろ過処理:5 施設、膜処理:3 施設、活性炭処理:1 施設、オゾン-活性炭処理:2 施設であった。調査時期は農薬類の使用が多いと考えられる平成26年6月と7月に実施した。

3. 分析法

3-1 カルタップ、ピラクロニル、フェリムゾン

カルタップは、容易に加水分解しネライストキシンとなるため、ネライストキシンを直接注入-LC/MS/MS法で分析した⁵⁾。ピラクロニルおよびフェリムゾンについても既報を参考に直接注入-LC/MS/MS法で分析した⁸⁾。原水試料は孔径 0.20 μmの酢酸セルロース製メンブランフィルター(東洋濾紙(株)製)でろ過した。浄水試料は残留塩素をチオ硫酸ナトリウムで消去した。原水および浄水試料を一定量採り、LC-MS/MSで測定した。LC-MS/MSの測定条件を表1に示した。

3-2 グルホシネート

グルホシネートの分析法は溶媒抽出-誘導体化-LC/FL法とした⁶⁾。浄水試料は残留塩素を亜硫酸ナトリウムで消去した。試料 20 mLを 100 mL分液ロートに分取し、5%ほう酸ナトリウム水溶液 1 mLおよび0.13% FMOC溶液 4 mLを添加し軽く攪拌した後、静置した。続いて*tert*-ブチルメチルエーテル 10 mLを添加して上下振とう(300 rpm、5 min)した後、静置した。水層を一定量採り、LC-FLで測定した。LC-FLの測定条件を表1に示した。

3-3 ジチオカルバメート系農薬

ジチオカルバメート系農薬(ジネブ、ジラム、チウラム、プロピネブ、ポリカーバメート、マンゼブおよびマンネブ)の分析法は、誘導体化-GC/MS法とした⁷⁾。本法ではジラム、チウラムおよびポリカーバメートからはジメチルジチオカルバミン酸メチル(DMDC-Me)が、ジネブ、ポリカーバメート、マンゼブおよびマンネブからはエチレンビスジチオカルバミン酸ジメチル(EBDC-Me)が、プロピネブからはプロピレンビスジチオカルバミン酸ジメチル(PBDC-Me)が生成される。本研究では、DMDC-Meを最も目標値が低く設定されているジラムに、EBDC-Meを最も目標値が低く設定されているマンネブに、PBDC-Meをプロピネブの濃度に換算して検出濃度を算出した。浄水試料は残留塩素を亜硫酸ナトリウムで消去した。試料 100 mLに 2.5 mol/L

L-システイン溶液 5 mL、1 mol/L EDTA溶液 10 mLおよび 0.4 mol/L硫酸水素テトラブチルアンモニウム溶液 5 mLを加えた後、50 v/v%水酸化ナトリウム溶液でpH値を 7.5 に調整した。さらに 0.1 mol/L よう化メチル含有ジクロロメタン・ヘキサン混液 (75 : 25) 5 mLを加え、振とう機を用いて 10 分間激しく振り混ぜ、1 時間静置後に有機溶媒層を分取した。残りの水層にジクロロメタン・ヘキサン混液 (45 : 55) 5 mLを加えた後 10～20 秒間振り混ぜて 10 分間静置後、有機溶媒層を先の有機溶媒層に合わせた。分取した有機溶媒層に水が混在していた場合は、1000 rpmで 10 分間遠心分離を行い、分離した水層を取り除いた。同上のジクロロメタン・ヘキサン混液を加えて 10 mLにした後、硫酸ナトリウム（無水）を加えて振とう後静置した。誘導体化物の揮散を防ぐために、キーパーとしてトリエチレングリコールを上澄み液 5 mLに対し 5 μ L添加して、窒素ガスを緩やかに吹き付けて 0.5 mLとし、これを試験溶液とした。GC-MS測定条件を表 1 に示した。

3.4 パラコート

パラコートの分析法は、既報を参考に固相抽出-LC/MS/MS法とした⁹⁾。パラコートはガラスへ吸着する性質を有するため、分析はすべてプラスチック製の器具を使用した。原水試料は孔径 0.20 μ mの酢酸セルロース製メンブランフィルターでろ過した。浄水試料は残留塩素をチオ硫酸ナトリウムで消去した。試料量は 50 mLとした。固相Oasis WCX Plusをメタノール 10 mL、精製水 20 mLでコンディショニングし、流速 4 mL/minで試料を通水した。通水後、窒素ガスを 2 L/minで 20 分間通気して脱水を行い、通水方向とは逆方向から 10%ギ酸アセトニトリル 2.5 mLで溶出した。溶出液を一定量採り、LC-MS/MSでの測定に供した。なお、濃縮液に沈殿物が生じた場合は孔径 0.2 μ mのGLクロマトディスク(ジーエルサイエンス(株))でろ過したものを測定に供した。LC-MS/MS測定条件を表 1 に示した。

4.分析法の評価

本研究では、各農薬類の定量下限値を以下の様に算出した。当所で水道水を採取し、脱塩素処理を実施した後、各農薬の濃度が目標値の 1/1000～1/10 になるように添加し、添加回収試験を実施した。真度(回収率)および併行精度が厚生労働省の示す水道水質検査方法

表 1 農薬類の測定条件

カルタップ (ネライストキシン)			
HPLC			
装置	1100シリーズ(Agilent Technologies)		
カラム	Ascentis Si (2.1 x 150 mm, 5μm) (SUPELCO)		
移動相(A)	0.1w/v% 酸		
移動相(B)	アセトニトリル		
アイソクラディック	60%B (15 min)		
カラム温度	40 ℃		
注入量	2 μL		
MS/MS			
装置	API-3000 (AB Sciex)		
イオン化方法	ESI-Positive		
測定方法	SRM		
モニターイオン	ブリーカーサー イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	
	ネライストキシン	150	105、 61

ビラクロニルおよびフェリムゾン			
HPLC			
装置	1100シリーズ(Agilent Technologies)		
カラム	Ascentis C18 (2.1×150 mm, 5μm) (SUPELCO)		
移動相(A)	0.1v/v% ギ酸		
移動相(B)	アセトニトリル		
グラジエント	20% B(2 min)→3 min→90% B (10 min)		
カラム温度	40 ℃		
注入量	10 μL		
MS/MS			
装置	API-3000 (AB Sciex)		
イオン化方法	ESI-Positive		
測定方法	SRM		
モニターイオン	ブリーカーサー イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	
ビラクロニル	315	169、241	
フェリムゾン	255	91、132	

グルホシネート	
HPLC	
装置	LC-10ADシリーズ((株)島津製作所)
カラム	Shodex DE-413(4.6×150mm, 4 μm) (昭和電工(株))
移動相(A)	pH3.4, 10 mmol/L リン酸ナトリウム溶液
移動相(B)	アセトニトリル
グラジエント	25%B→12 min→60%B (8 min)
カラム温度	40 ℃
注入量	5 μL
FL	
装置	RF-10AXL((株)島津製作所)
励起波長(Ex)	270 nm
蛍光波長(Em)	315 nm

ジチオカルバメート系農薬			
(ジネブ、ジラム、チウラム、プロピネブ、ポリカーバメート、マンゼブおよびマンネブ)			
GC			
装置	7890A (Agilent Technologies)		
カラム	VF-23 MS (30 m×0.25 mm×0.25 μm)(Agilent Technologies)		
注入口温度	200℃		
昇温条件	60℃ (5 min) → 20℃/min → 130℃ (0 min) → 30℃/min → 250℃ (5 min)		
注入量	2 μL		
MS			
装置	JMS-Q1050GC(日本電子(株))		
イオン化方法	EI-Positive		
イオン化電圧	70 eV		
イオン化室温	230℃		
測定方法	SIM		
モニターイオン	定量イオン (m/z)	確認イオン (m/z)	
	DMDC-Me	135	88
	EBDC-Me	114	72
	PBDC-Me	158	86
	アントラセン-d ₁₀	188	-

パラコート			
HPLC			
装置	Simadzu Nexera ((株)島津製作所)		
カラム	Ascentis Si (2.1×150 mm, 5μm) (SUPELCO)		
移動相(A)	200 mM ぎ酸		
移動相(B)	アセトニトリル		
アイソクラディック	40%B (15 min)		
カラム温度	40 ℃		
注入量	10 μL		
MS/MS			
装置	3200Q-Trap (AB Sciex)		
イオン化方法	ESI-Positive		
測定方法	SRM		
モニターイオン	ブリーカーサー イオン (m/z)	プロダクト イオン (m/z)	
パラコート	93、186	171	

の妥当性ガイドラインの目標を満たした濃度を定量下限値とした¹⁰⁾。

結果

1. 定量下限値および併行精度

本研究における各農薬類の定量下限値、真度および併行精度を表2に示す。

表2 農薬類の定量下限値、真度および併行精度

	定量下限値 (mg/L)	添加濃度 (mg/L)	添加濃度の目 標値に対する 割合	試行回数 (n)	真度 (%)	併行精度 (RSD)(%)
カルタップ (ネライストキシン)	0.0030	0.0030	1/100	12	81.3	2.8
グルホシネート	0.00020	0.00020	1/100	12	95.7	9.3
ジチオカルバメート系農薬						
ジネブ	0.0010	0.0010	1/10	5	111.5	13.0
ジラム	0.0010	0.0010	1/10	5	81.9	21.4
チウラム	0.0020	0.0020	1/10	5	101.8	19.2
プロピネブ	0.00020	0.00020	1/100	5	80.7	12.3
ポリカーバメート	0.0030	0.0030	1/10	5	114.7	18.5
マンゼブ	0.0020	0.0020	1/10	5	92.5	6.6
マンネブ	0.0010	0.0010	1/10	5	71.8	8.9
パラコート	0.000050	0.000050	1/100	12	96.8	8.7
ピラクロニル	0.00010	0.00010	1/100	7	103.0	6.2
(E)フェリムゾン	0.000050	0.000050	1/1000	7	87.0	8.5
(Z)フェリムゾン	0.000050	0.000050	1/1000	7	100.0	2.7

ジチオカルバメート系農薬の定量下限値はプロピネブを除いて目標値の1/10となったが、それ以外の農薬類については目標値の1/100以下の濃度で精度よく分析できることが確認できた。

2. 大阪府内浄水場における検出状況

平成26年6月に採水した原水試料において、22施設中2施設からピラクロニルが同濃度(0.00011 mg/L)で検出された(2/22施設、検出率：9%)。一方、他の農薬類は、いずれの施設においても定量下限値未満であった。平成26年7月に採取した原水試料においては、すべての農薬類が定量下限値未満であった。浄水試料については、平成26年6月、7月のいずれにおいても農薬類は定量下限値未満であった。

考察

2施設の原水試料から検出されたピラクロニルは浄水処理により適切に除去されたことが明らかになった。ピラクロニルの目標値は、0.01 mg/Lであるため、本研究では、水道原水においてピラクロニルが目標値の1/100程度のレベルで存在していることが明らかになった。ピラクロニルが検出されたいずれの施設も淀川を水源としていたため、検出濃度が同濃度になったと考えられた。原水からピラクロニルが検出された2施設はいずれもオゾン-活性炭処理の高度浄水処理を行っている施設であった。高度浄水処理のプロセス、す

なわち凝集沈殿、急速砂ろ過、オゾン処理、活性炭処理および塩素処理の内、どの工程がピラクロニルの除去に関与しているかは不明であり、今後の研究の課題となった。農薬類の急速ろ過処理、緩速ろ過処理および膜処理による除去効果については、対象施設の原水試料からいずれの農薬類も検出されず、本研究では評価することはできなかった。カルタップの変換体であるネライストキシンは、塩素処理により速やかに分解されることを確認している⁵⁾。ジチオカルバメート系農薬は水や有機溶剤への溶解性が低い化合物であり、オクタノール/水分配係数(log Pow)は、-0.26~1.79と疎水性が比較的大きい¹¹⁾。そのため、水道原水中では溶解状態で存在せず、凝集沈殿処理で除去されと考えられた。

ピラクロニルは、ダイアゾール系除草剤で平成19年に農薬登録を受けている¹¹⁾。構造式は図1の様となり、水溶解度は0.051 g/L(20℃)と比較的親水性は低い。

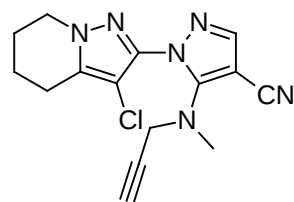


図1 ピラクロニルの構造式

加水分解性はpH4~9で半減期は1年以上と安定性の高い物質である。平成25年の全国出荷量は120 tと報告されている¹¹⁾。図2に大阪府、京都府、滋賀県、奈良県、兵庫県および和歌山県におけるピラクロニルの年間出荷量の推移を示す。

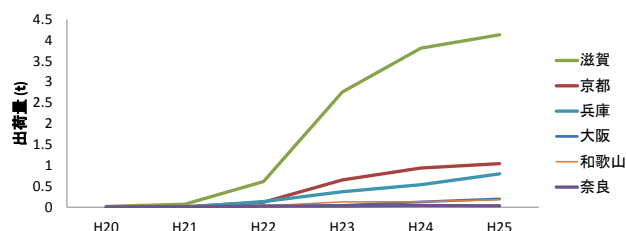


図2 滋賀県、京都府、兵庫県、大阪府、和歌山県および奈良県におけるピラクロニルの年間出荷量の推移¹²⁾

ピラクロニルは、関西において水道原水から検出され、出荷量も年々増加している農薬であるため、今後

も注視すべき農薬であると考えられた。

本研究は、平成 26 年度大阪府水道水中微量有機物質調査により実施された。各水道事業体との調整、採水、試料の搬入に関してご協力いただいた大阪府環境衛生課および各水道事業体の職員の方々に御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 水道法, 法律第 177 号, 昭和 32 年 6 月 15 日 (最終改正 平成 26 年 6 月 13 日法律第 69 号)
- 2) 厚生労働省健康局長: 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等について, 健発第 1010004 号, 平成 15 年 10 月 10 日
- 3) 厚生労働省健康局長: 「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等について」の一部改正について, 健発 0328 第 7 号, 平成 25 年 3 月 28 日
- 4) 厚生労働省健康局長: 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について, 健水発第 1010001 号, 平成 15 年 10 月 10 日 (最終改正 平成 28 年 3 月 30 日健水発 0330 第 1 号)
- 5) 吉田仁, 高木総吉, 小泉義彦, 足立伸一: 直接注入-高速液体クロマトグラフ-タンデム型質量分析計 (LC-MS/MS) 法によるネライストキシンを指標とした水試料中カルタップの定量, 水道協会雑誌, **84** (8), 2-7 (2015)
- 6) 中島孝江, 安達史恵, 吉田仁, 高木総吉, 小泉義彦, 田中榮次, 足立伸一: 蛍光検出-高速液体クロマトグラフィーによる水試料中グルホシネート, グリホサート, AMPA の同時分析, 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 236-237 (2014)
- 7) 高木総吉, 吉田仁, 小泉義彦, 安達史恵, 中島孝江, 田中榮次, 足立伸一: 誘導体化-ガスクロマトグラフ-質量分析法を用いた水道原水および水道水中ジチオカルバメート系農薬の定量, 環境化学 (印刷中)
- 8) 小林憲弘, 久保田領志, 五十嵐良明: 水道水中のピラクロニル, フェリムゾンの分析法開発, 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 230-231 (2014)
- 9) 小林憲弘, 久保田領志, 齋藤信裕, 木村謙治, 宮崎悦子, 平林達也, 水田裕進, 木村慎一, 宮本紫織, 大倉敏裕, 中村弘揮, 粕谷智浩, 古川浩司, 塚本多矩, 市川千種, 高原玲華, 林田寛司, 京野完, 佐久井徳広, 山本五秋, 齊藤香織, 五十嵐良明: 水道水中のイミノクタジン・ジクワット・パラコート LC/MS/MS 一斉分析法の妥当性評価, 環境科学会誌, **29** (1), 3-16 (2016).
- 10) 厚生労働省健康局水道課長: 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて, 健水発 0906 第 1 号, 平成 24 年 9 月 6 日
- 11) 社団法人日本植物防疫協会: 農薬ハンドブック 2011 年版 (2011)
- 12) 国立環境研究所化学物質データベース (2015 年 6 月 29 日アクセス)
(http://db-out.nies.go.jp/kis-plus/index_3.html)

大阪府水道水質検査外部精度管理結果

— 臭素酸（平成26年度） —

中島孝江* 足立伸一*

大阪府水道水質検査外部精度管理事業は、本府環境衛生課が、大阪府立公衆衛生研究所の協力を得て、府内の試験研究機関及び水道事業体を対象に実施している。平成26年度は無機物質項目として臭素酸を対象とし、27機関から回答のあった検査値を解析した。外れ値になった機関は2機関（全体の7.4%）であり、概ね良好な結果が得られた。外れ値の原因は、2機関共チェック体制の不備であると考えられた。

キーワード：水道水、外部精度管理、臭素酸

Key words : drinking water, external quality control, bromic acid

大阪府水道水質検査外部精度管理事業は、水道水質検査精度の向上を図ることを目的として、平成5年度より大阪府健康医療部環境衛生課と共同で府内水道事業体等の協力を得て実施されてきた¹⁻⁸⁾。平成26年度は、臭素酸を無機項目の対象項目として実施した。

臭素酸は、オゾン処理による消毒副生成物として生成される⁹⁾他、消毒用に添加される次亜塩素酸ナトリウムに不純物として含まれることが知られており¹⁰⁾、平成25年度の大阪府内における臭素酸(HBrO_3)の浄水中濃度は $<0.001\sim0.003\text{mg/L}$ であった¹¹⁾。国際がん研究機関(IARC)が、Group2B(ヒトに対して発がんの可能性があると分類するなど¹²⁾、発がん性が指摘されたことから、人体に害がある物質として水質基準値(0.01mg/L)が設定された¹³⁾。

調査方法

1. 対象物質

臭素酸を対象物質とした。

2. 参加機関

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Results of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap Water in Osaka Prefecture—Bromic acid (2014)—

by Takae NAKAJIMA and Shinichi ADACHI

表1に示す27機関であった。

表1 外部精度管理参加機関

大阪市水道局	岸和田市上下水道局
池田市上下水道部	貝塚市上下水道部
箕面市上下水道局	大阪広域水道企業団（水質管理センター）
豊中市上下水道局	大阪広域水道企業団 （河南水質管理ステーション）
吹田市水道部	
茨木市水道部	大阪広域水道企業団（村野浄水場）
高槻市水道部	大阪広域水道企業団（庭窪浄水場）
枚方市上下水道局	堺市衛生研究所
寝屋川市上下水道局	高槻市環境科学センター
守口市水道局	大阪市立環境科学研究所
門真市上下水道局	東大阪市環境衛生検査センター
交野市水道局	大阪府茨木保健所
堺市上下水道局	大阪府泉佐野保健所
和泉市上下水道部	大阪府立公衆衛生研究所

3. 実施方法

3-1. 精度管理試料の調製方法

平成26年9月22日(月)に大阪府立公衆衛生研究所(大阪市東成区中道1丁目3番69号)に給水されている水道水約30Lをポリタンクに採水し、臭素酸イオン標準液(2000mg/L、和光純薬)を0.045mL添加し調製した。当所で測定した添加前の水道水の臭素酸濃度は0.00257mg/Lであった。この調製試料は、250mLポ

リエチレン製瓶 50 本に分注し、配布まで 4℃で冷蔵保存した。

3-2. 試料の均一性及び安定性

精度管理試料を分注順に等間隔で 5 本抜き取って測定したところ、平均値 0.00523 mg/L、標準偏差 0.00009 mg/L、変動係数 1.76%で均一性に問題がないことが確認された。また、この試料を 4℃で冷蔵保存し、安定性の確認のため配布後 27 日まで定期的に測定した結果、臭素酸濃度は 0.00513～0.00552 mg/L で保存期間による有意差は認められなかった（クラスカル・ウォリス検定）（図 1）。

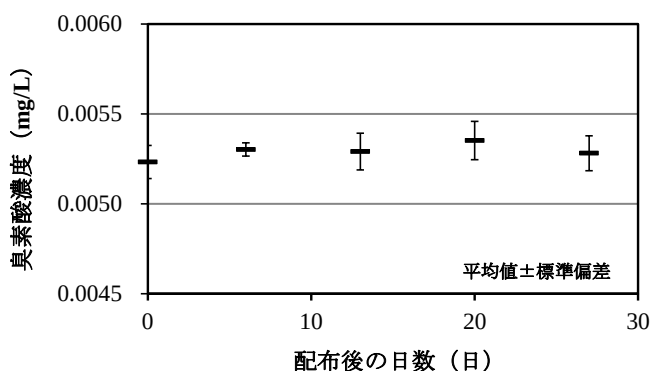


図 1 試料の安定性

3-3. 試料の配布方法

精度管理試料は、平成 26 年 9 月 24 日（水）に当所上水試験室において各検査実施機関に配布した。

3-4. 試料の検査方法

検査方法は、「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」の別表第 18 に定める方法の「イオンクロマトグラフィーポストカラム吸光光度法」（公定法）¹⁴⁾とした。

参加機関は配布試料について併行数 5 で分析を行い、その測定値と分析法の分析条件を「外部精度管理結果報告書」に記入することとした。

検査結果として、外部精度管理結果報告書（試料検査結果、検量線結果、分析条件調査票）、分析チャート、検量線、標準作業手順書、作業記録、計算過程記載メモ等を平成 26 年 10 月 24 日（金）までに回収した。

3-5. 結果の検証方法

報告された測定値 (n=5) の変動係数 (CV) は 10%

を許容範囲とし、10%の許容範囲を超えたものについては外部精度管理の評価の対象外とした。

測定値の平均値を検査値とした。

1) 「真値」と「真値」に対する誤差率の算出

各機関からの検査値を用いて、有意水準を 5%として Grubbs の棄却検定¹⁵⁾を行い、棄却された検査値を除いた検査値から平均を求め、これを「真値」とし、以下の式から誤差率を算出した。

$$\text{誤差率 (\%)} = (\text{各機関の検査値} - \text{真値}) / \text{真値} \times 100$$

2) Z スコアの算出

Z スコアは、四分位法で算出した^{16~18)}。以下に計算式を示す。

$$Z = (x - X) / s$$

ここで、x=各検査値

X=検査値の第 2 四分位数（中央値）

$$s = 0.7413 \times (\text{検査値の第 3 四分位数} - \text{検査値の第 1 四分位数})$$

3) 「外れ値」の評価

検査値は「真値」に対する誤差率の許容範囲を±10%とする方法と Z スコアの許容範囲を絶対値が 3 未満とする方法の 2 つの方法で評価し、両方法で許容範囲を超えた検査値のみを「外れ値」と評価した。

結果

1. 検査結果の検証

誤差率および Z スコアを表 2 に示した。検査値のヒストグラムを図 2 に、Z スコアのヒストグラムを図 3 に示した。なお、表 2 の検査機関番号は表 1 と対応しない。

1-1. 変動係数

27 機関のうち 5 つの測定値の変動係数が 10%を超えた機関は存在しなかったため、全機関を評価対象とした。

1-2. 「真値」と誤差率

Grubbs の棄却検定で 2 検査値 (A-26、27) が棄却され、残りの 25 検査値を平均した 0.00533 mg/L を「真値」とした。誤差率の許容範囲を超えたのは 2 機関 (A-26、27)であった。

1-3. Z スコア

全機関の検査値を用いて Z スコアを求めた結果、Z スコアの範囲は -2.81～3.2282 となり、Z スコアが許容

範囲を超えたのは2機関(A-26、27)であった。

1-4. 「外れ値」

検証方法で示した誤差率およびZスコアの両方の許容範囲を超えた「外れ値」に該当する機関は2機関(A-26、27)で、全体の7.4% (2/27) となり、多くの機関が良好な分析結果であった。

表2 臭素酸に関する各機関の結果

検査機関番号	検査値 (mg/L)	変動 係数 (%)	誤差率 (%)	Zスコア
A-1	0.00489	1.9	-8.26	-2.81
A-2	0.00508	2.5	-4.81	-1.68
A-3	0.00513	2.0	-3.80	-1.36
A-4	0.00517	6.3	-2.97	-1.09
A-5	0.00519	1.3	-2.63	-0.98
A-6	0.00520	0.7	-2.52	-0.94
A-7	0.00521	3.6	-2.37	-0.89
A-8	0.00530	2.4	-0.68	-0.34
A-9	0.00530	2.5	-0.65	-0.33
A-10	0.00530	1.3	-0.57	-0.31
A-11	0.00533	1.3	0.03	-0.11
A-12	0.00534	0.8	0.14	-0.07
A-13	0.00535	1.9	0.33	-0.01
A-14	0.00535	2.4	0.37	0.00
A-15	0.00538	2.3	0.93	0.18
A-16	0.00540	0.4	1.27	0.29
A-17	0.00540	0.3	1.27	0.29
A-18	0.00542	0.9	1.57	0.39
A-19	0.00543	1.0	1.79	0.46
A-20	0.00544	1.7	1.98	0.52
A-21	0.00551	1.7	3.25	0.94
A-22	0.00552	4.5	3.52	1.03
A-23	0.00553	0.3	3.74	1.10
A-24	0.00555	0.8	4.15	1.23
A-25	0.00560	1.9	4.94	1.49
A-26 *	0.552	1.1	10248	3336
A-27 *	5.29	1.2	99178	32282
n	27			
平均値**	0.00533			
最大値**	0.00560			
最小値**	0.00489			
標準偏差**	0.000164			
変動係数(%)**	3.1			
n**	25			

「真値」：0.00533 mg/L

*：「真値」に対する誤差率が±10%を超え、Zスコアの絶対値が3以上の機関（外れ値）

**：「外れ値」を除いて求めた値

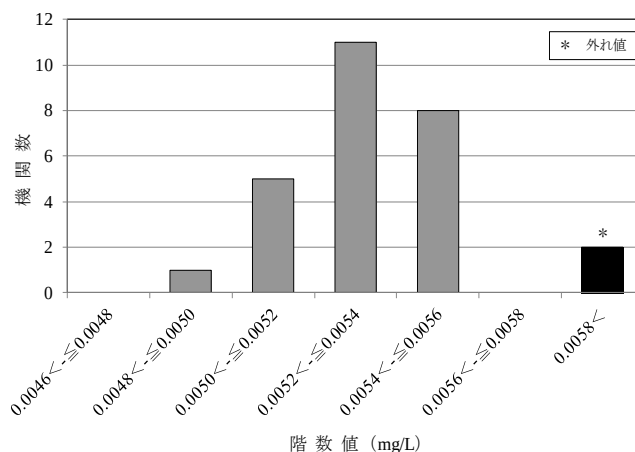


図2 検査結果の分布図

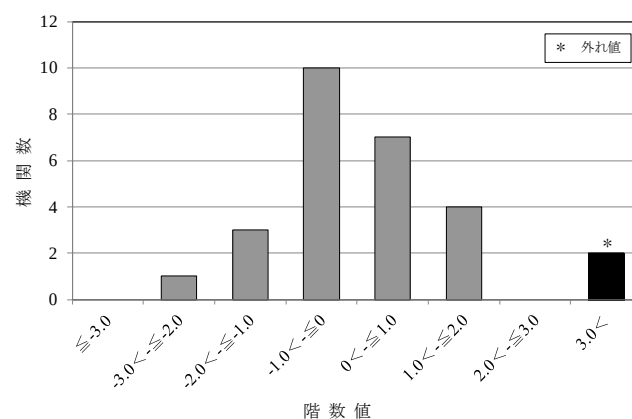


図3 Zスコアの分布図

なお、「外れ値」が桁外れの値であったので、表2の平均値、最大値、最小値、標準偏差、変動係数、は「外れ値」を除いて求め、それぞれ0.00533 mg/L、0.00560 mg/L、0.00489 mg/L、0.000164 mg/L、3.1%であった。

1-5. 「外れ値」になった原因

機関A-26の検査値は0.552 mg/L、誤差率は10248%、Zスコアは3336、変動係数は1.1%であった。提出された資料、『計算過程記載メモ』の値(n=5)は0.00543～0.00558であったが、報告書にはその100倍の値が記載されており、原因は報告書に転記する際のミスであると考えられた。

機関A-27の検査値は5.29 mg/L、誤差率は99178%、Zスコアは32282、変動係数は1.2%であった。提出された資料の、『検量線』の単位がμg/Lになっており、

この検量線を用いて得られた値をそのまま転記したことが 1000 倍の値になった原因であると考えられた。

両機関共、転記ミスがなかった場合の検査値の誤差率は、それぞれ 3.48%と -0.72%で「真値」に近い値となっており、測定方法に問題はないと考えられた。

1-6. 使用機器およびカラム

使用機器のメーカーはサーモフィッシャーサイエンティフィック（旧日本ダイオネクスを含む）（以下 TF）が 11 機関、島津製作所（以下 SM）が 13 機関、その他が 3 機関であった。使用カラムは TF 製が 11 機関、SM 製が 14 機関、その他が 2 機関であった。

「外れ値」を除き、使用機器に TF 製と SM 製を用いた検査値について差の検定を行った。東ソーおよび日立ハイテクノロジーズの機器を使用していたのはそれぞれ 1 機関と少なかったため比較の対象外とした。比較の結果、検査値に使用機器による差がみられ、TF 製で有意に低い値であった（マン・ホイットニーの U 検定）（図 4）。原因についてはそれぞれの機器で用いるカラムの分離能の違いが疑われるが、「外れ値」を除いた全検査値の変動係数は 3.1%（表 2）であるので、どちらの機器を使用して測定しても問題はないと考えられる。

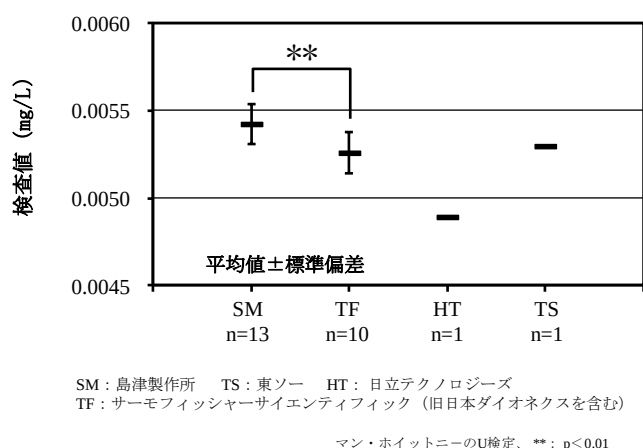


図 4 検査値と分析機器メーカーとの関係

1-7. 前処理

公定法では試料を孔径 0.2 μm のメンブランフィルターでろ過することになっているが、ろ過していなかった機関が 3 機関あり、公定法どおりの前処理を行う

必要がある。

1-8. 検量線

すべての機関の検量線は、公定法に定められた検水の濃度範囲を超えない範囲で 4 点以上の検量点を用い、寄与率(R^2)は 0.99 以上であり、直線性は概ね良好であった。

しかし、4 点以上の標準溶液を測定しているにもかかわらず、検量線の作成の際、強制的に原点を通過させている機関が 1 機関存在した。このように作成された検量線は原点の影響を受けるため不適切である。

また、検量線の作成に使用した標準溶液の最小濃度が 0.001 mg/L より高かった機関が 3 機関存在した。空試験値は公定法に定められた検水の濃度範囲の下限値を下回ることを確認することになっているので、最小濃度を測定していないと空試験の判定を行うことが出来ないため不適切である。

さらに、臭素酸の基準値は 0.01 mg/L であり、その 1/10 の 0.001 mg/L まで定量することが通知されている¹⁹⁾。すべての機関の濃度範囲は、今回の外部精度管理試料を定量するには問題ない濃度範囲ではあったが、最小濃度が 0.001 mg/L より大きい標準液で作成された検量線を用いて、0.001 mg/L 未満を判定することは不適切であるので、検査に使用する検量線は、公定法に示された濃度範囲内（0.001～0.02 mg/L）において、最小濃度を含む検査試料の濃度をはさむ 4 点以上の濃度で作成することに留意する必要がある。

また、外部精度管理を実施した時点で、公定法では臭素酸カリウムを秤量して、標準原液を調製することになっていたが、1 機関以外の検査機関において市販の標準液を標準原液としていた。これに関して、公定法の一部改正により、平成 27 年 4 月 1 日から、標準原液は、計量法の規定に基づく証明書が添付された公定法に定める標準原液と同濃度のものが用いることができることになった²⁰⁾が、今回使用されていた標準液はこの規格に適合したものではなかった。市販の標準液は製造元により濃度が保証されていることから、秤量の操作を省略できるなど利便性が高いことが使用されている大きな理由と考えられるので、公定法の規格に適合した市販品ができることが望まれる。

1-9. その他

報告書への結果が有効数字 3 桁で入力されていない機関、『分析チャート』、『本分析に係る作業記録』およ

び『分析結果の計算過程を記録したメモ』が未提出の機関が数機関見受けられた。

『分析チャート』、『本分析に係る作業記録』および『分析結果の計算過程を記録したメモ』については日々の検査においても重要な書類である。整備が不十分な機関においては早急に対応しなければならない。

まとめ

平成 26 年度大阪府水道水質検査外部精度管理として、臭素酸の検査結果を「真値」に対する誤差率 $\pm 10\%$ と Z スコアの絶対値 3 未満を許容範囲とする 2 つの方法で評価を行った。27 の機関の内、測定値の変動係数が 10%を超えた機関は存在しなかった。「真値」に対する誤差率が許容範囲を超えたのは 2 機関、Z スコアが許容範囲を超えたのは 2 機関であった。両評価方法で許容範囲を超え、「外れ値」に該当したのは 2 機関であった。「外れ値」の存在率は 7.4% (2/27) で、多くの機関が良好な分析結果であった。

なお、添付資料等を検証し、「外れ値」の原因を検討した結果、検査精度を維持、向上する上で、次の留意点が考えられた。

- 検査結果を複数人で確認を行う等、チェック体制を整備、強化すること。

文献

- 1) 小泉義彦, 宮野啓一, 足立伸一, 高木総吉, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 -フェノール類 (平成 17 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 46, 61-73(2008)
- 2) 小泉義彦, 宮野啓一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 -トリハロメタン (平成 19 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 46, 75-90 (2008)
- 3) 宮野啓一, 小泉義彦, 高木総吉, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果 -陰イオン界面活性剤 (平成 18 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 47,81-88 (2009)
- 4) 田中榮次, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果 -ナトリウム及びその化合物 (平成 19 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報,

48, 50-57 (2010)

- 5) 小泉義彦, 宮野啓一, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 -ホルムアルデヒド (平成 20 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 48, 40-49 (2010)
- 6) 田中榮次, 安達史恵, 小川有里, 吉田直志, 木村直昭, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果 -蒸発残留物 (平成 21 年度) -, 水道協会雑誌, 80(10), 12-22 (2011)
- 7) 小泉義彦, 宮野啓一, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 -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 (平成 22 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所報, 49, 61-72 (2011)
- 8) 中島孝江, 宮野啓一, 田中榮次: 大阪府水道水質検査外部精度管理 -シアン化物イオン及び塩化シアン (平成 22 年度) -, 水道協会雑誌, 82(5), 11-18,(2013)
- 9) 上水試験方法解説編 2001 年版, pp210-213, 社団法人日本水道協会 (東京) (2001)
- 10) 厚生労働省健康局水道課事務連絡, 次亜塩素酸ナトリウム等水道用薬品の使用に当たっての留意事項について (平成 16 年 6 月 16 日) (2004)
- 11) 平成 25 年度 大阪府の水道の現況, pp83-123, 大阪府健康医療部環境衛生課 (2015)
- 12) 厚生労働省, 水質基準の見直しにおける検討概要 (整理番号 13104 臭素酸) (<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/konkyo0303.html>, 2015 年 1 月 6 日現在)
- 13) 厚生労働大臣, 水道法施行規則の一部を改正する省令 (平成 15 年 9 月 29 日) (厚生労働省令第 142 号) (2003)
- 14) 「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 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号 [一分改正 平成 26 年 3 月 31 日付け厚生労働省告示第 147 号])
- 15) ISO 5725-2 (JIS Z 8402-2) (1994)
- 16) 藤井賢三: 試験所認定制度における技能試験(1)-付与された値, Z スコア, ロバストな方法, そして四分位数法-, 環境と測定技術, 27(2),51-56(2000)
- 17) 藤井賢三: 試験所認定制度における技能試験 (2) -四分位数法による Z スコア算出の実例-, 環

境と測定技術, 27(3),42-44(2000)

18) ISO/IEC GUIDE 43-1 (JIS Q 0043-1) (1997)

19) 厚生労働省健康局水道課長, 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について(平成 15 年 10 月 10 日)(健水発第 1010001 号)(2003)
(<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-1090-0000-Kenkoukyoku/0000055184.pdf>, 2015 年 3 月 27 日現在)

20) 厚生労働省, 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 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号[一分改正平成 27 年 3 月 12 日付け厚生労働省告示第 56 号])(2015)

大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点

- ハロ酢酸 (平成 26 年度) -

小泉義彦* 足立伸一*

大阪府水道水質検査外部精度管理は、本府環境衛生課が公衆衛生研究所の協力を得て、府内の水道事業者及び試験研究機関を対象に実施している。平成 26 年度は有機物質項目としてハロ酢酸（クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸）を対象項目とし、23 機関から回答のあった 23 検査値を解析した。クロロ酢酸及びトリクロロ酢酸では、それぞれ 1 機関が外れ値（全体の 4.3%）となったが、ジクロロ酢酸では外れ値はなかった。今回の外部精度管理に参加した機関は、概ね良好な結果であった。検証の結果、検査精度を向上するには、液々抽出時の漏れ、誘導体試薬の濃さなどに留意すべきことが明らかになった。

キーワード：水道水、外部精度管理、ハロ酢酸

Key words：drinking water, external quality control, halo acetic acid

大阪府水道水質検査外部精度管理は、水道水質検査精度の向上を図ることを目的として、平成 5 年度より大阪府健康医療部環境衛生課と共同で、府内水道事業者等の協力を得て実施されてきた¹⁸⁾。平成 26 年度はハロ酢酸（クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸）を有機物質の対象項目として実施した。

クロロ酢酸は 2,4-PA（除草剤）、BPBG（チューインガム用可塑剤及び塩化ビニル可塑剤）、医薬品、パーマネント液、香料、キレート剤及び界面活性剤などの原料に使用され、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の工業的用途はほとんどない⁹⁾。

水道水に含まれるハロ酢酸は、主として、原水に含まれる有機物質と消毒剤（塩素）が反応して生じる消毒副生成物である。一方、天然に存在するハロゲンにはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素があるが、水道水中に見出される主なハロ酢酸は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ブロモ酢酸、ジブロモ酢酸、トリブロモ酢酸、ブロモクロロ酢酸、ブロモジクロロ酢酸及びジブロモクロロ酢酸の 9 種である。このうち、

クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の 3 種が水道水質基準に指定され、他の 6 種は要検討項目に指定されるが、目標値の設定はない¹⁰⁾。

クロロ酢酸の基準値は 0.02mg/L である。これは、耐容 1 日摂取量を 3.5 μ g/kg 体重/日として設定されたものである。

ジクロロ酢酸の基準値は、平成 27 年 4 月 1 日より 0.04mg/L から 0.03mg/L に強化された。これは、非発がん毒性を指標とした場合の耐容 1 日摂取量を 12.5 μ g/kg 体重/日、発がん性を指標とした場合の耐容 1 日摂取量を 12.9 μ g/kg 体重/日、発がんユニットリスクを 7.8×10^{-3} /(mg/kg 体重/日)として設定された¹¹⁾。

トリクロロ酢酸の基準値についても同じく 4 月 1 日より、0.2mg/L から 0.03mg/L に強化された。これは耐容 1 日摂取量を 6 μ g/kg 体重/日として設定されたものである¹¹⁾。

調査方法

1. 参加機関

表 1 に示す 23 機関であった。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

表 1 外部精度管理参加機関

大阪市水道局	貝塚市上下水道部
豊中市上下水道局	大阪広域水道企業団（水質管理センター）
吹田市水道部	大阪広域水道企業団（河南水質管理ステーション）
茨木市水道部	大阪広域水道企業団（村野浄水場）
高槻市水道部	大阪広域水道企業団（庭窪浄水場）
枚方市上下水道局	堺市衛生研究所
寝屋川市上下水道局	高槻市環境科学センター
守口市水道局	大阪市立環境科学研究所
交野市水道局	東大阪市環境衛生検査センター
堺市上下水道局	大阪府藤井寺保健所
和泉市上下水道部	大阪府立公衆衛生研究所
岸和田市上下水道局	

2. 実施方法

2-1. 精度管理試料の調製方法

平成 26 年 9 月 22 日（月）に精製水約 70L をステンレスタンクに採取し、クロロ酢酸標準液（和光純薬：1 mg/mL）を 0.6mL、ジクロロ酢酸標準液（和光純薬：1 mg/mL）を 0.8mL、トリクロロ酢酸標準液（和光純薬：1 mg/mL）を 2mL 添加した。調製に用いた精製水中のクロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸はいずれも定量下限値（0.001mg/L）未満であった。精度管理試料の設定濃度は、クロロ酢酸 0.00857mg/L、ジクロロ酢酸 0.0114mg/L 及びトリクロロ酢酸 0.0286mg/L とした。

上記調製試料をマグネチックスターラーで 30 分間攪拌後、500 mL ガラス瓶に 80 本分注し（満水）、配布まで冷暗所で保管した。平成 26 年 9 月 24 日（水）に検査実施機関に配布した。

2-2. 試料の均一性及び安定性

試料の均一性を調べるために、分注した試料から、調製した順に一定間隔で 5 本の試料を抜き取り、測定した。変動係数はクロロ酢酸で 0.477%、ジクロロ酢酸で 1.97%、トリクロロ酢酸で 1.99%であり、均一性に問題はなかった（表 2）。安定性に関して、配布後 14 日まで定期的に測定した結果を図 1 に示した。クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸とも危険率 5%としたクラスカル・ウォリス検定の結果、有意差は認められなかった。

以上により、配布試料の均一性及び冷蔵庫にて保管した場合、2 週間後まで安定であることを確認した。

2-3. 試料の測定方法

配布試料は前処理を含め、併行数 5 で測定を行い、その結果と分析法の分析条件を「外部精度管理報告書」

表 2 配布試料の均一性

統計値	クロロ酢酸	ジクロロ酢酸	トリクロロ酢酸
n	5	5	5
平均値 (mg/L)	0.00821	0.0107	0.0265
標準偏差 (mg/L)	0.0000391	0.000210	0.000528
変動係数 CV (%)	0.477	1.97	1.99

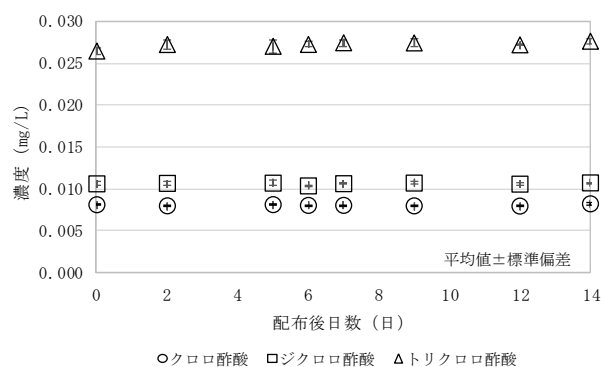


図 1 配布試料の安定性

に記入し、平成 26 年 10 月 24 日（金）までに回収した。

2-4. 結果の検証方法

各機関から報告された測定値(n=5)の変動係数(CV) 20%を許容範囲とし、20%を超えるものについては評価の対象外とした。測定値の平均値を検査値とした。

次に、Z スコアの許容範囲は絶対値が 3 未満、誤差率の許容範囲は、真値±20%以内とし、両方法で許容範囲を超えた検査値を外れ値と評価した。

Z スコアは、四分位数法で算出し¹²⁾、誤差率は有意水準を 5%とした Grubbs の棄却検定¹³⁾で棄却された検査値を除外した後の平均を真値とし、次式で算出した。

$$\text{誤差率(\%)} = [(\text{各機関の検査値} - \text{真値}) / \text{真値}] \times 100$$

結果及び考察

1. 分析方法

「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 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号〔一部改正 平成 26 年 3 月 31 日付け厚生労働省告示第 147 号]) (以下、告示) の別表第 17 (溶媒抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法) (以下、GC/MS 法) 及び別表第 17 の 2 (液体クロマトグラフ-質量分析計による一斉分析

法) (以下、LC/MS 法) のいずれかとした。参加機関の分析法は、GC/MS 法が 22 機関、LC/MS 法が 1 機関であった。

2. 検査結果の検証

2-1. 誤差率、Z スコア及び外れ値

23 機関から報告された 5 回の検査値の平均値、変動係数、真値に対する誤差率及び Z スコアを表 3～5 に、検査値の度数分布を図 2～4 に示した。なお、表 3～5 の機関番号は表 1 と対応しない。

クロロ酢酸では、変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかった。真値を算出するため、検査値を有意水準 5%で Grubbs の棄却検定を行った。その結果、2 機関(機関 1, 2) が棄却され、残りの 21 検査値を平均した 0.00819 mg/L を真値とした。真値に対する誤差率の許容範囲を超えたのは 1 検査値(機関 1) であった。また、23 検査値を用いて Z スコアを求めた結果、Z スコアの範囲は-4.17～2.59 となり、Z スコアが許容範囲を超えたのは 1 検査値(機関 1) であった。以上の結果より、誤差率及び Z スコアの両方の許容範囲を超えた外れ値に該当するのは 1 検査値(機関 1) であった。

ジクロロ酢酸では、変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかった。Grubbs の棄却検定で棄却された機関はなく、全ての 23 検査値を平均した 0.0110 mg/L を真値とした。真値に対する誤差率の許容範囲を超えた検査値はなかった。23 検査値を用いて Z スコアを求めた結果、Z スコアの範囲は-2.16～1.84 となり、Z スコアが許容範囲を超えた検査値はなかった。以上の結果より、外れ値に該当する機関はなかった。

トリクロロ酢酸では、変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかった。Grubbs の棄却検定では 2 機関(機関 2,5) が棄却され、残りの 21 検査値を平均した 0.0275 mg/L を真値とした。真値に対する誤差率の許容範囲を超えたのは 1 検査値(機関 2) であった。23 検査値を用いて Z スコアを求めた結果、Z スコアの範囲は-5.74～3.35 となり、Z スコアが許容範囲を超えたのは 3 検査値(機関 2,5,8) であった。以上の結果より、外れ値に該当するのは 1 検査値(機関 2) であった。

「外れ値」の存在率は、クロロ酢酸では 4.3% (1/23)、ジクロロ酢酸では 0% (0/23)、トリクロロ酢酸では 4.3% (1/23)であり、概ね良好な結果であった。

表 3 検査値と評価値 (クロロ酢酸)

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	Z スコア
1 **	0.00650	11.9	-21.1	- 4.17
2	0.00734	1.4	-10.8	- 1.92
3	0.00759	2.9	- 7.81	- 1.26
4	0.00780	3.4	- 5.21	- 0.69
5	0.00783	8.0	- 4.90	- 0.62
6	0.00787	4.7	- 4.43	- 0.52
7	0.00793	2.4	- 3.63	- 0.35
8	0.00801	4.6	- 2.64	- 0.13
9	0.00804	1.8	- 2.37	- 0.07
10	0.00805	10.3	- 2.20	- 0.03
11	0.00805	5.5	- 2.15	- 0.02
12	0.00806	1.1	- 2.05	0.00
13	0.00813	1.8	- 1.25	0.18
14	0.00817	3.3	- 0.69	0.30
15	0.00827	2.9	0.52	0.57
16	0.00833	6.3	1.15	0.70
17	0.00839	3.8	1.88	0.86
18	0.00842	4.1	2.35	0.97
19	0.00856	3.8	4.02	1.33
20	0.00861	2.5	4.58	1.46
21	0.00884	3.9	7.35	2.06
22	0.00887	4.5	7.74	2.15
23	0.00903	9.6	9.73	2.59
平均値	0.00812			
最大値	0.00903			
最小値	0.00650			
標準偏差	0.00054			
変動係数 (%)	6.7			
n	23			

真値：0.00819 mg/L

**真値に対する誤差率が±20%を超え、Zスコアの絶対値が3以上の機関

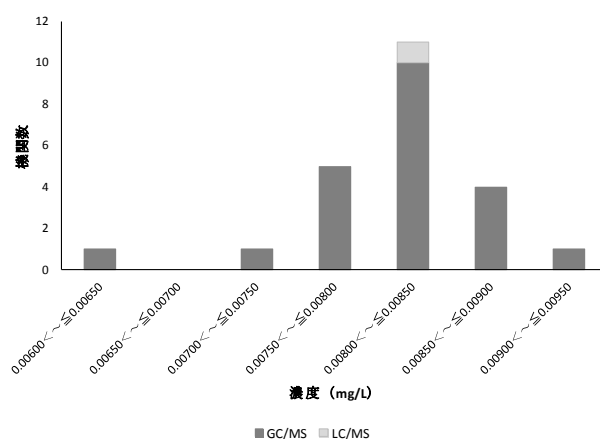


図 2 検査値の度数分布 (クロロ酢酸)

表4 検査値と評価値（ジクロロ酢酸）

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	Zスコア
2	0.00957	0.8	-13.3	-2.16
7	0.0100	2.7	-9.24	-1.53
1	0.0101	12.8	-8.48	-1.41
5	0.0102	5.4	-7.57	-1.27
12	0.0102	1.6	-7.43	-1.25
14	0.0107	2.4	-3.44	-0.64
13	0.0107	1.5	-3.08	-0.58
9	0.0108	1.4	-2.53	-0.50
6	0.0109	1.4	-1.63	-0.36
16	0.0109	2.4	-1.45	-0.33
18	0.0110	4.8	-0.54	-0.20
17	0.0111	3.1	0.73	0.00
19	0.0111	4.6	0.91	0.03
4	0.0113	5.2	2.18	0.22
15	0.0113	0.6	2.36	0.25
21	0.0114	3.2	3.44	0.42
10	0.0116	2.9	5.26	0.70
8	0.0117	1.6	5.80	0.78
3	0.0117	2.0	5.80	0.78
11	0.0117	3.9	6.16	0.83
22	0.0117	2.5	6.34	0.86
20	0.0118	2.2	7.07	0.97
23	0.0124	7.6	12.7	1.84
平均値	0.0110			
最大値	0.0124			
最小値	0.00957			
標準偏差	0.00070			
変動係数(%)	6.4			
n	23			

真値：0.0110 mg/L

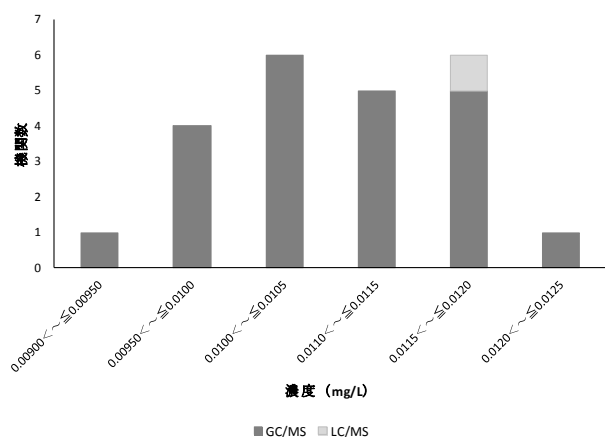


図3 検査値の度数分布（ジクロロ酢酸）

表5 検査値と評価値（トリクロロ酢酸）

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	Zスコア
2 **	0.0215	2.4	-21.6	-5.74
5 *	0.0228	12.0	-17.1	-4.48
7	0.0253	1.8	-8.02	-1.92
11	0.0258	7.5	-5.91	-1.33
9	0.0260	1.8	-5.48	-1.21
6	0.0264	1.6	-3.73	-0.72
19	0.0266	3.3	-3.29	-0.59
14	0.0268	1.6	-2.49	-0.37
22	0.0270	1.7	-1.69	-0.14
18	0.0270	5.7	-1.54	-0.10
10	0.0271	1.3	-1.32	-0.04
13	0.0271	1.8	-1.18	0.00
17	0.0272	2.0	-0.89	0.08
16	0.0274	3.4	-0.09	0.31
12	0.0275	1.5	0.13	0.37
15	0.0277	0.8	0.79	0.55
4	0.0278	7.4	1.22	0.67
20	0.0278	1.9	1.37	0.72
21	0.0285	2.4	3.85	1.41
1	0.0288	10.1	4.79	1.68
23	0.0291	7.6	6.03	2.02
3	0.0293	1.3	6.69	2.21
8 *	0.0304	2.5	10.8	3.35
平均値	0.0275			
最大値	0.0304			
最小値	0.0215			
標準偏差	0.00195			
変動係数(%)	7.1			
n	23			

真値：0.0275 mg/L

*Zスコアが±3を超えた機関

**真値に対する誤差率が±20%を超え、Zスコアの絶対値が3以上の機関

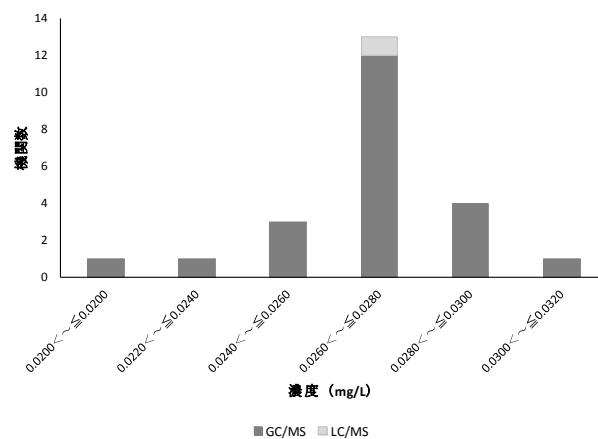


図4 検査値の度数分布（トリクロロ酢酸）

2-2. 外れ値の原因

1) 機関 1

機関 1 ではクロロ酢酸が外れ値となった。誤差率は、クロロ酢酸が -21.1%、ジクロロ酢酸が -8.5%、トリクロロ酢酸が 4.8%であった。検量線の寄与率 (R^2) は、クロロ酢酸が 0.989、ジクロロ酢酸が 0.996、トリクロロ酢酸が 0.997 であり、クロロ酢酸の寄与率は、参加機関の中で最も小さかった。液々抽出を行う器具に 50mL 試験管を使用しており、原因を担当者に確認すると、塩析時に塩化ナトリウムの結晶が、栓の擦りの部分に挟まり、液漏れが生じていたとのことであった。

表 6 にハロ酢酸の物性を示した¹⁴⁾。蒸気圧は、ジクロロ酢酸が最も高く、次いでクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の順である。水相と気相の存在比は、ヘンリー定数が目安となり、値が大きい方ほど、液相よりも気相に多く分配されることになる。ヘンリー定数はトリクロロ酢酸が最も大きく、次いでクロロ酢酸、ジクロロ酢酸の順であり、気相にはこの順に多く分配される。一方、水溶解度はジクロロ酢酸で最も高く、次いでクロロ酢酸、トリクロロ酢酸の順である。また、トリクロロ酢酸の水溶解度はクロロ酢酸やジクロロ酢酸に比べて 1 桁低い。これらのことから、特に水溶液が漏れると、クロロ酢酸やジクロロ酢酸が失われやすい状況にある。このため、再調査では抽出時の漏れに留意するよう求めた。

表 6 ハロ酢酸の物性

物質名	沸点 (°C)	蒸気圧 (mmHg)	ヘンリー定数 (atm/mol)	水溶解度 (g/L)
クロロ酢酸	189	6.5×10^{-2} (25°C)	9.26×10^{-9} (25°C)	858 (25°C)
ジクロロ酢酸	194	1.79×10^{-1} (25°C)	8.38×10^{-9} (25°C)	1000 (20°C)
トリクロロ酢酸	198	6.0×10^{-2} (25°C)	1.35×10^{-8} (25°C)	54 (25°C)

2) 機関 2

機関 2 ではトリクロロ酢酸が外れ値となった。誤差率は、クロロ酢酸が -10.8%、ジクロロ酢酸が -13.3%、トリクロロ酢酸が -21.6%であった。

聞き取りの結果、誘導体化試薬であるジアゾメタン溶液の濃さ(黄色の着色)が十分とは言えず、

試薬量が不足していたと考えられた。

このため、再調査においては、ジアゾメタン溶液の着色に留意するよう求めた。

2-3. 再調査

外れ値に該当した 2 機関に対して、新たに調製した精度管理試料を配布した。設定濃度は、クロロ酢酸 0.0100mg/L、ジクロロ酢酸 0.0129 mg/L 及びトリクロロ酢酸 0.0214mg/L とした。検証は、検査値 (n=5) の変動係数 (CV) 20%を許容範囲とし、これを超えた場合は、評価の対象外とした。次に、「設定値」を真値とし、誤差率の許容範囲 (±20%) を超えた検査値を再検査における外れ値と評価した。

検査値の平均値、変動係数、真値に対する誤差率を表 7~9 に示した。クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸のいずれにおいても、変動係数が 20%を超えた機関は存在せず、真値に対する誤差率が許容範囲を超えた機関はなく、外れ値に該当する機関はなかった。

1) 機関 1

本調査では不透明擦りの共栓付き試験管を使用した。再調査においては、透明擦りの試験管を用い、液々抽出時の液漏れがなくなった。誤差率はクロロ酢酸が -8.6%、ジクロロ酢酸が -0.47%、トリクロロ酢酸が 3.64%となった。検量線の寄与率 (R^2) は、クロロ酢酸が 1.000、ジクロロ酢酸が 1.000、トリクロロ酢酸が 0.999 であり、クロロ酢酸の直線性が改善した。検水やガスの流出が減少した結果、クロロ酢酸の直線性が良好になり精度が向上したと考えられた。

2) 機関 2

再調査においては、十分に着色したジアゾメタン溶液を使用した。誤差率は、クロロ酢酸が -3.58%、ジクロロ酢酸が -6.36%、トリクロロ酢酸が -4.21%となった。誘導体化試薬を濃くすることで、メチル化反応が十分に進行し、トリクロロ酢酸の分析精度が向上したと考えられた。

以上のことから、2 機関とも分析精度が向上し、すべての項目で外れ値に該当することなく、良好な結果が得られた。

表 7 再調査の結果（クロロ酢酸）

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)
1	0.00914	3.8	-8.6
2	0.00964	0.8	-3.6
公衆衛生研究所	0.0104	2.6	3.6
平均値	0.00971		
最大値	0.0104		
最小値	0.00914		
標準偏差	0.000613		
変動係数 (%)	6.3		
n	3		

真値：0.0100mg/L

表 8 再調査の結果（ジクロロ酢酸）

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)
1	0.0128	3.4	-0.5
2	0.0121	2.7	-6.4
公衆衛生研究所	0.0125	1.7	-3.4
平均値	0.0125		
最大値	0.0128		
最小値	0.0121		
標準偏差	0.000380		
変動係数 (%)	3.0		
n	3		

真値：0.0129mg/L

表 9 再調査の結果（トリクロロ酢酸）

機関番号	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)
1	0.0222	3.6	3.6
2	0.0205	1.4	-4.2
公衆衛生研究所	0.0211	1.1	-1.3
平均値	0.0213		
最大値	0.0222		
最小値	0.0205		
標準偏差	0.000850		
変動係数 (%)	4.0		
n	3		

真値：0.0214mg/L

2-4. 前処理までの保存期間

配布から前処理までの保存期間と検査値の関係を図 5 に示した。告示では 72 時間（3 日）以内と定められているが、5 機関で超過した。

外れ値になった機関では、機関 1 において 5 日であり超過していた。前述のように当所の保管試料では配布後 14 日まで濃度変化を認めなかったこと（図 1）、超過した他の 4 機関が、外れ値にならなかったことから、保存期間が外れ値の原因と

して考慮する必要はないものと考えられた。

最も遅かったのは 15 日要した機関であった。報告書とともに提出されたチェックシートの、“すみやかに分析を行いましたか” という問いには“チェック” が記されていた。

今回の試料は、精製水で調製したために生分解はなかった。しかし、原水中や浄水中では、ハロ酢酸は生分解することがあるので保存期間には注意が必要である。すみやかに分析できない場合は、告示に従い、冷暗所に保管し 72 時間以内に前処理しなければならない。

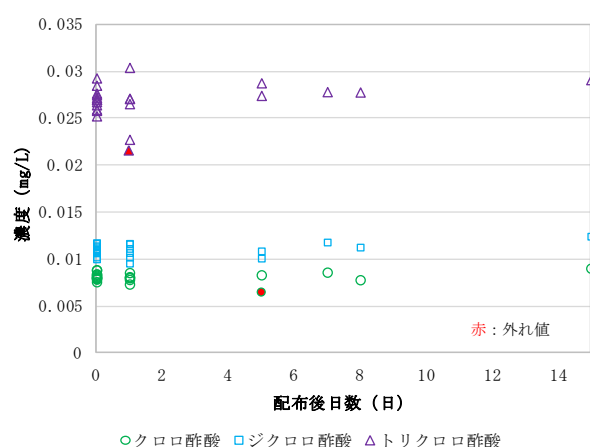


図 5 前処理までの保存期間と検査値の関係

2-5. 検量線

検量線の次数は、1 次が 22 機関、2 次が 1 機関であった。寄与率は概ね良好であり、1 次式の機関では、検量線は、ほぼ直線を示していた。2 次を用いたある機関では、「1 次式では検量線がうまく乗らないため」と、検量線に関するコメントが記されていた。定量は検出器が直線性を示す範囲で行うのが基本であるため、1 次回帰で定量が行えるように機器を調整することが望ましい。

告示では、0.001～0.1mg/L の濃度範囲内の 4 点以上で検量線を作成する必要があるとあり、検量点には 0mg/L を含まないこととしている。検量点数の範囲は 4 点～8 点、検量点の濃度範囲は、0mg/L～0.1mg/L であった。最大検量点濃度及び検量点数は全ての機関で告示を満たしていた。0mg/L を検量点とした機関は 13 機関存在した。ある機関から、理由として、「水道 GLP では、検量線に濃度ゼロ

を含めることとされている」とのコメントがあった。告示からの乖離はあるが、GLPに従った SOP（0mg/L を検量点とした検量線を使用）で妥当性評価を実施し、信頼性は担保されている。

平成 26 年度のクロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸の基準値は、それぞれ、0.02 mg/L、0.04 mg/L 及び 0.2 mg/L であった。通知⁴)により 1/10 まで定量する必要があるが、0mg/L を除く最小検量点濃度が基準値の 1/10 より高かった機関が 1 機関存在した。

また、告示が示す濃度範囲の最小値（0.001mg/L）を最小検量点（0mg/L を除く）としなかった機関は 12 機関存在した。これは今回の外部精度管理試料を定量するには問題ない濃度範囲ではあったが、告示が求める空試験値（0.001mg/L 未満）を判定するには不十分であると考えられた。

日々の検査に使用する検量線は、告示に示された濃度範囲内（0.001～0.1 mg/L）において、検査試料の濃度をはさむ 4 点以上の濃度で作成しなければならない。

また、空試験値を判定するには、検量点として 0.001 mg/L（定量下限値がこれ以下である場合は、定量下限値に対応する検量点）を使用しなければならない。

その他、原点を通過させている機関が 1 機関あった。データを再解析したところ、原点通過させた検量線とさせないものの傾きは、クロロ酢酸で 17.101 及び 16.940、ジクロロ酢酸で、96.121 及び 93.547、トリクロロ酢酸で、54.734 及び 54.406 であり、かなり近い値であった。また、原点通過させないものの切片はクロロ酢酸で 0.0055、ジクロロ酢酸で 0.0924、トリクロロ酢酸で 0.0118 と小さかった。寄与率はクロロ酢酸で、0.9988 及び 0.9989、ジクロロ酢酸で、0.9985 及び 0.9998、トリクロロ酢酸では、0.9998 が及び 0.9998 であった。原点通過の有無の違いを図 6 に示した。いずれの項目も 2 種類の検量線には大差がなかった。

重み付け法を用いた機関は 1 機関あり、この機関は 2 次式を用いていた。データを再解析し、重み付けをしない 1 次の検量線を作成し、図 7 に併せて示した。重み付けをしない 1 次式と、重み付けをした 2 次式で寄与率を比較すると、クロロ酢

酸では、0.9981 及び 1、ジクロロ酢酸では、0.9997 及び 1、トリクロロ酢酸では、0.9993 が及び 1 であった。寄与率だけで比較すると 2 次式の方が良く見えるが、この値は、作成した回帰曲（直）線と検量点間の隔たりから算出した数値であり、直線性を示すものではない。

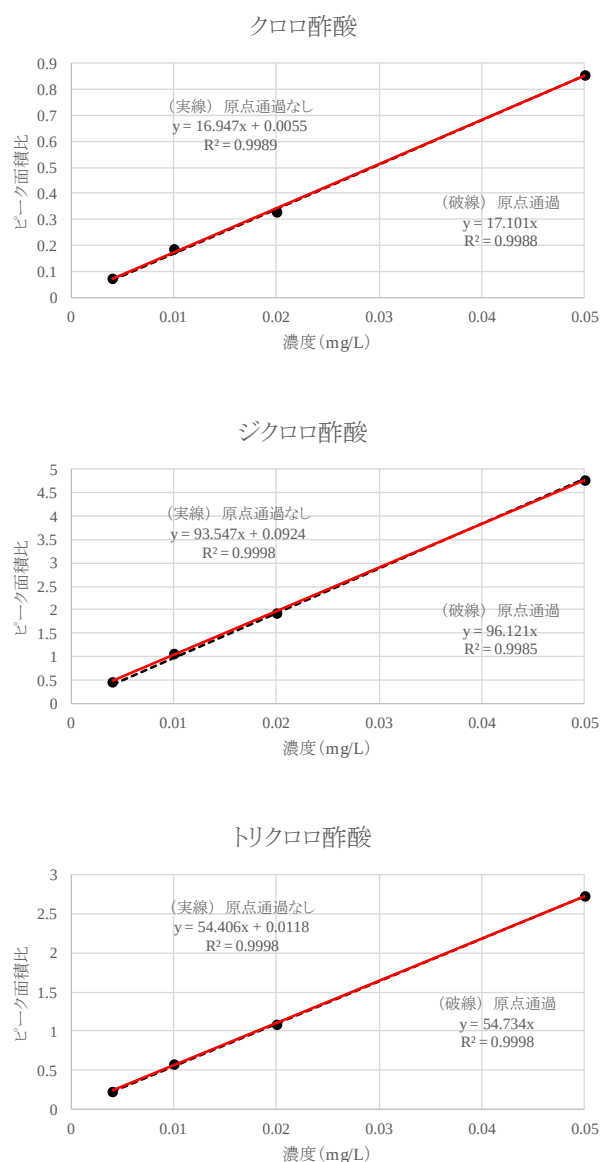


図 6 検量線の検討（原点通過の有無）

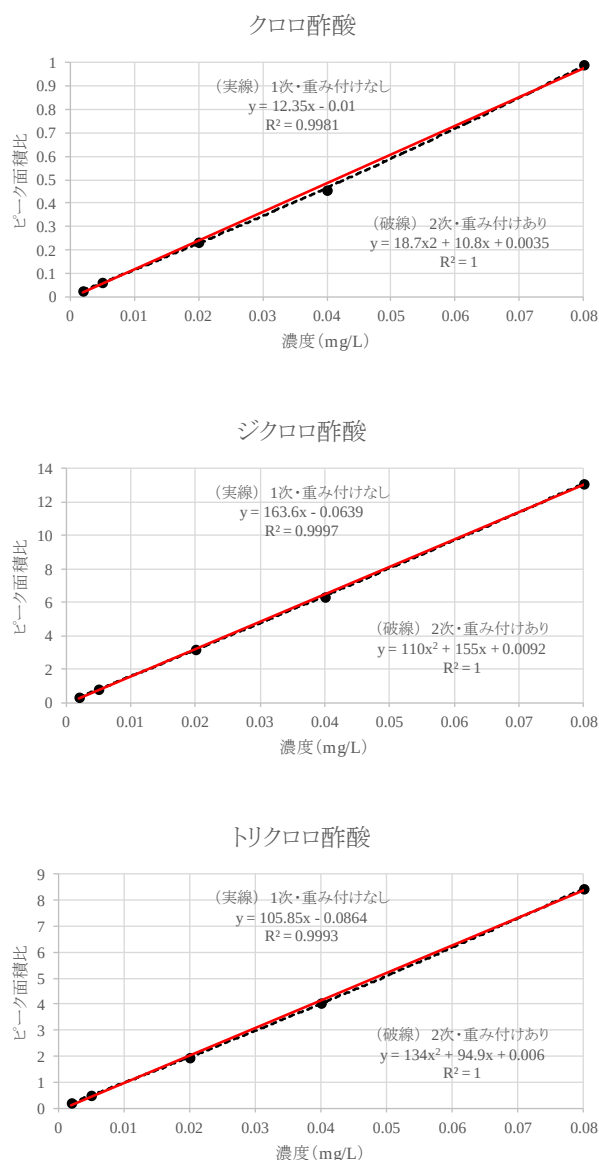


図7 検量線の検討 (次数・重み付け)

2-6. 検査法別による検討

GC/MS 法を用いた機関は 22 機関、LC/MS 法を用いた機関は 1 機関であった。検査方法別の度数分布は図 2～4 に示した。LC/MS 法を用いた結果は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸とも全体の間～後半付近に存在していた。なお、機関数が非常に少ないため、統計的手法を用いた比較はしなかった。

2-7. その他

告示と異なる操作の事例としては、GC/MS 法を用いた機関において、標準原液の濃度が異なる機関が 5 機関、混合標準溶液の調製を用時調製しなかった機関が 3 機関、内部標準原液の濃度が異なる

機関が 23 機関（全機関）、内部標準溶液の調製を用時調製しなかった機関が 3 機関、内部標準溶液の濃度と添加量が異なる機関が 4 機関、液々抽出の水量を減じた機関が 1 機関、抽出溶媒量を増した機関が 1 機関、誘導体化反応の静置時間を短縮した機関が 1 機関、反応後の加熱処理を省略した機関が 2 機関、液々抽出の振盪時間を延長した機関が 3 機関みられた。告示から逸脱しないように留意し分析する必要がある。

3. まとめ

平成 26 年度大阪府水道水質検査外部精度管理として、ハロ酢酸（クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸）の検査結果を真値に対する誤差率と Z スコアの 2 つの方法で評価を行った。検査が実施された 23 機関（23 検査値）のうち変動係数（CV）が 20%を超えた機関は、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸及びトリクロロ酢酸のいずれにおいても存在せず、全て評価対象とした。

クロロ酢酸は、真値に対する誤差率で許容範囲を超えたのは 1 機関で、Z スコアが許容範囲を超えたのは 1 機関であった。誤差率と Z スコアとの両方の許容範囲を超えた外れ値は 1 つであった。

ジクロロ酢酸では、誤差率及び Z スコアで許容範囲を超えた機関はなく、外れ値に該当する機関はなかった。

トリクロロ酢酸では、誤差率で許容範囲を超えたのは 1 機関で、Z スコアが許容範囲を超えたのは 3 機関であった。外れ値に該当する機関は 1 つであった。

「外れ値」の存在率は、クロロ酢酸で 4.3% (1/23)、ジクロロ酢酸で 0% (0/23)、トリクロロ酢酸では 4.3% (1/23)であり、概ね良好な結果であった。

なお、外れ値等の原因及び添付資料を検証した結果、検査精度を維持、向上する上で、次の留意点が考えられた。

- 1) 液々抽出を行う際、ガラス器具の栓の擦り合わせに注意を払うこと。塩化ナトリウムを飽和量以上に添加するため、擦り合わせに塩化ナトリウムの結晶が挟まり、液漏れやガス漏れを生じやすい。
- 2) 誘導体化に用いるジアゾメタン溶液は十分に着色したものをを用いること。
- 3) 告示から逸脱しないように留意すること。

参考文献

- 1) 小泉義彦, 宮野啓一, 足立伸一, 高木総吉, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-フェノール類(平成 17 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **46**, 61-73 (2008)
- 2) 小泉義彦, 宮野啓一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-トリハロメタン(平成 19 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **46**, 75-90 (2008)
- 3) 宮野啓一, 小泉義彦, 高木総吉, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果-陰イオン界面活性剤(平成 18 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **47**, 81-88 (2009)
- 4) 田中榮次, 安達史恵, 渡邊功: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果-ナトリウム及びその化合物(平成 19 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **48**, 50-57 (2010)
- 5) 田中榮次, 安達史恵, 小川有理, 吉田直志, 木村直昭, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理-蒸発残留物(平成 21 年度)-, 水道協会雑誌, **80**, 10, 12-22 (2011)
- 6) 小泉義彦, 宮野啓一, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-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(平成 21 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **49**, 61-72 (2011)
- 7) 小泉義彦, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-1,4-ジオキサン(平成 23 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **52**, 49-52 (2014)
- 8) 小泉義彦, 足立伸一: 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点-全有機炭素(TOC)の量(平成 24 年度)-, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, **52**, 53-57 (2014)
- 9) 16313 の化学商品 PDF、pp640-642、化学工業日報社(2013)
- 10) 厚生労働省 水質基準項目と基準値(51 項目)
(<http://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/kijunchi.html> 平成 27 年 4 月 10 日現在)
- 11) 食品健康影響評価の結果の通知について、平成 26 年 10 月 7 日付け、府食第 775 号
- 12) 藤井賢三: 試験所認定制度における技能試験(1), 環境と測定技術, **27** (2), 51-56 (2000)
- 13) JIS Z8402-2: 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度) - 第 2 部: 標準測定方法の併行精度及び再現性を求めるための基本的方法, 日本規格協会 (1999)
- 14) Pubchem OPEN CHEMISTRY DATABASE (NIH: 米国国立衛生研究所)
(http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/trichloroacetic_acid#section=Top,
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6597#section=Top>,
<http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/300#section=Top> 平成 27 年 4 月 10 日現在)
- 15) 厚生労働省健康局水道課長、水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について(平成 15 年 10 月 10 日)(健水発第 1010001 号)(2003 年)(<http://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-1090000-Kenkoukyoku/0000055184.pdf> 平成 27 年 3 月 27 日現在)

大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点

－ ジクロロメタン（平成 27 年度）－

小泉義彦* 木村明生*

大阪府水道水質検査外部精度管理は、本府環境衛生課が公衆衛生研究所の協力を得て、府内の水道事業体及び試験研究機関を対象に実施している。平成 27 年度は有機物質項目としてジクロロメタンを対象とした。検査を実施した 27 機関のうち、変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかったため、すべての検査値で評価を行った。その結果、誤差率と Z スコアの両方が許容範囲を超えて外れ値に該当した機関は 1 機関であった。外れ値の存在率は、3.7%(1/27)であったため、今回の外部精度管理に参加した機関は、概ね良好な結果であった。検証の結果、検査精度を向上するには、告示から逸脱しない方法で検量線を作成するなどの留意点が明らかになった。

キーワード：水道水、外部精度管理、ジクロロメタン

Key words : drinking water, external quality control, dichloromethane

大阪府水道水質検査外部精度管理は、水道水質検査精度の向上を図ることを目的として、平成 5 年度より大阪府健康医療部環境衛生課と共同で、府内水道事業体等の協力を得て実施されてきた¹⁾。平成 27 年度はジクロロメタンを有機物質の対象項目として実施した。

ジクロロメタンは、殺虫剤、塗料、ニス、塗料剥離剤、食品加工中の脱脂及び洗浄剤、プリント基板洗浄剤、金属脱脂洗浄剤、ウレタン発泡助剤、エアゾール噴射剤、ポリカーボネードの反応溶媒、冷媒、ラッカー、香料の抽出、分析用など、様々な用途に用いられる化学物質である²⁾。また、国際がん研究機関 (IARC) によって、Group2B(ヒトで発がんの可能性あり)に分類されている³⁾。

ジクロロメタンは、1992 年の水質基準に関する省令の改正(厚生省令第 69 号)において、発がん性の観点から水道水質基準項目に設定された。基準値は、TDI(6 μ g/kg 体重/day)に対する飲料水の寄与率を 10%、体重 50kg のヒトが 1 日 2L 飲むと仮定して、「0.02 mg/L 以下」となっている⁴⁾。

調査方法

1. 参加機関

表 1 に示す 27 機関が参加した。

表 1 外部精度管理参加機関

大阪市水道局	堺市上下水道局
池田市上下水道部	和泉市上下水道部
箕面市上下水道局	岸和田市上下水道局
豊中市上下水道局	泉佐野市上下水道局
吹田市水道部	大阪広域水道企業団 (水質管理センター)
摂津市水道部	大阪広域水道企業団 (河南水質管理ステーション)
茨木市水道部	大阪広域水道企業団 (村野浄水場)
高槻市水道部	大阪広域水道企業団 (庭窪浄水場)
枚方市上下水道局	堺市衛生研究所
寝屋川市上下水道局	大阪市立環境科学研究所
守口市水道局	東大阪市環境衛生検査センター
交野市水道局	大阪府藤井寺保健所
東大阪市上下水道局	大阪府立公衆衛生研究所
八尾市水道局	

2. 実施方法

2-1. 精度管理試料の調製方法

平成 27 年 9 月 28 日(月)に精製水約 60 L をステンレスタンクに採水し、ジクロロメタン標準液(和光純薬：1mg/mL)550 μ L、塩酸を 30mL 添加し、スターラーで 10 分間攪拌した。タンク下部のコックから、約 10L を捨てた後、500mL ガラス瓶に満水になるよう分注し、

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Results of External Quality Control on the Analytical Measures for Tap

Water in Osaka Prefecture — Dichloromethane (2015) —

by Yoshihiko KOIZUMI and Akio Kimura

70 本程度採取した。なお、上記精製水中のジクロロメタン濃度は 0.0001mg/L 未満であった。

2-2. 試料の均一性及び安定性

試料を分注順に等間隔で 8 本抜き取って測定したところ、試料間の変動係数は 2.40% で、均一性に問題がないことを確認した(表 2)。また、当所において冷暗所に保管した試料を、配布後 14 日まで定期的に測定した結果、試料間の変動係数は 3.8% であり、安定性に問題がないことを確認した(図 1)。

表 2 試料の均一性 (n=9)

平均値 (mg/L)	0.00467
標準偏差 (mg/L)	0.000112
変動係数 CV (%)	2.40

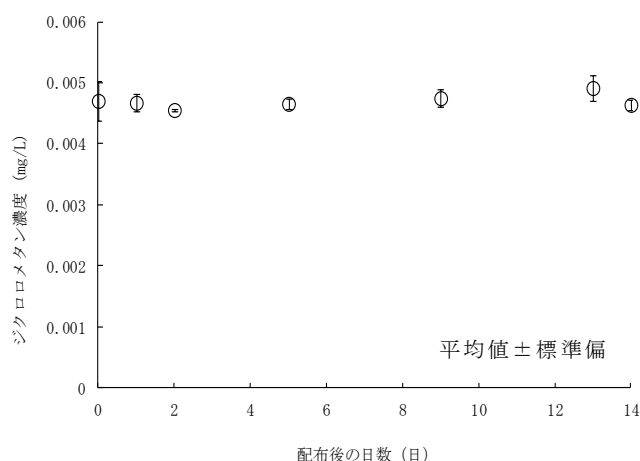


図 1 試料の安定性

2-3. 試料の検査方法

検査方法は「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 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号〔一部改正 平成 27 年 3 月 12 日付け厚生労働省告示第 56 号〕)(以下、告示)の別表第 14 (ページ・トラップ - ガスクロマトグラフ - 質量分析計による一斉分析法) (以下 PT 法)及び別表第 15 (ヘッドスペース - ガスクロマトグラフ - 質量分析計による一斉分析法) (以下 HS 法)とした。

配布試料は併行数 5 で測定を行い、その結果と分析法の分析条件を「外部精度管理結果報告書」に記入し、平成 27 年 10 月 30 日までに回収した。

2-4. 結果の検証方法

既報¹⁾に従い、Z スコア及び誤差率の両方が許容範囲を超えた検査値を外れ値と評価した。Z スコアによる許容範囲は、その絶対値が 3 未満であることとし、誤差率の許容範囲は、真値±20%以内とした。また、各機関の測定値の平均値を検査値とした。

結果及び考察

1. 分析方法

PT 法が 12 機関、HS 法が 15 機関であった。

2. 検査結果の検証

27 機関から報告された検査値の平均値、変動係数、真値に対する誤差率及び Z スコアを表 3 に示した。機関番号の順番は表 1 の順番とは異なる。また、検査値の度数分布を図 2 に示した。

2-1. 変動係数

検査を実施した機関のうち変動係数 (CV) が 20% を超えた機関はなかった。このため全機関を評価対象とした。

2-2. 誤差率

有意水準 5% で Grubbs の棄却検定を行った結果、1 検査値(番号 27)が棄却され、残りの 26 検査値を平均した 0.00530mg/L を真値とした。真値に対する誤差率の許容範囲を超えたのは 1 機関(番号 27)であった。

2-3. Z スコア

27 検査値を用いて Z スコアを求めた結果、Z スコアの範囲は-2.64~4.75 となり、Z スコアが許容範囲を超えたのは 1 検査値(番号 27)であった。

2-4. 外れ値

誤差率と Z スコアとの両方の許容範囲を超えた外れ値に該当するのは 1 検査値(番号 27)であった。

以上の結果より、外れ値に該当する機関は全体の 3.7%(1/27)となり、今回の外部精度管理に参加した機関は、概ね良好な結果であった。

2-5. フォローアップ調査

外れ値に該当した機関 27 に対するフォローアップ調査を実施した。

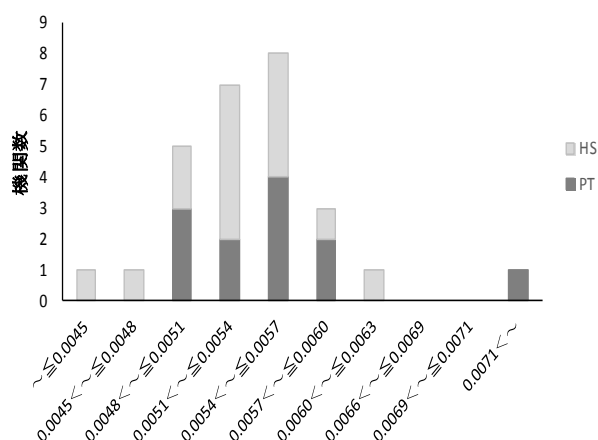
機関 27 は、PT 法を用いており、検査値は 0.00669 mg/L、Z スコアは 4.75、真値に対する誤差率は 31.5%であった。提出された資料、E-メール及び聞き取りをもとに検討したところ、検量線作成用の

表3 検査値と評価値

機関番号	報告値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	Zスコア
1	0.00450	4.66	-15.2	-2.64
2	0.00474	1.94	-10.5	-1.90
3	0.00482	2.55	-9.08	-1.67
4	0.00487	2.40	-8.10	-1.52
5	0.00489	0.95	-7.69	-1.45
6	0.00490	2.49	-7.50	-1.42
7	0.00508	4.16	-4.14	-0.889
8	0.00510	1.50	-3.80	-0.836
9	0.00512	1.47	-3.35	-0.764
10	0.00515	2.75	-2.78	-0.674
11	0.00519	1.03	-2.18	-0.579
12	0.00520	1.67	-1.88	-0.531
13	0.00530	1.92	-0.0305	-0.239
14	0.00538	0.57	1.48	0.000
15	0.00544	1.44	2.69	0.191
16	0.00545	4.84	2.76	0.203
17	0.00546	2.63	2.95	0.233
18	0.00548	0.77	3.36	0.298
19	0.00548	1.37	3.44	0.310
20	0.00550	4.54	3.74	0.358
21	0.00559	4.87	5.36	0.615
22	0.00567	1.26	6.91	0.860
23	0.00573	4.96	8.00	1.03
24	0.00578	1.29	9.06	1.20
25	0.00586	0.60	10.5	1.43
26	0.00615	10.0	16.0	2.30
27 *	0.00697	3.81	31.5	4.75
平均値	0.00536			
最大値	0.00697			
最小値	0.00450			
標準偏差	0.000495			
変動係数 (%)	9.24			
n	27			

真値：0.00530 mg/L

*真値に対する誤差率が20%を超え、Zスコアの絶対値が3以上の機関

図2 検査値の度数分布図
(真値 0.00530mg/L)

試料調製方法に問題があることがわかった。

告示ではメスフラスコ中で精製水に混合標準溶液を添加し、各溶液を調製した後、バイアル瓶に移し調製する。しかし、この機関は、精製水を満たしたバイアル瓶に、マイクロシリンジを用いて混合標準溶液を、設定濃度に応じた体積(バイアル瓶あたり 2.1~4.2 μ L)で添加していた。

また、精製水を満たしたバイアル瓶にマイクロシリンジで標準溶液を添加する際、針先を浅く(1cm 程度)差し添加していた。水中に放出されたメタノール混合標準溶液は上昇しながら拡散する。そのため蓋を閉めるまでの間に、水相と気相の界面付近にまで達し、水とともに一部が流出したと考えられた。したがって、実際より薄い水溶液で検量線を作成したことになり、精度管理試料の定量値が高く(誤差率：+31.5%)なったと推察された。

後日、機関 27 において、マイクロシリンジの針先を深く差しして調製した検量線を用いて、浅く差しして調製した添加試料(設定濃度 0.010mg/L)と、深く差しして調製した添加試料(設定濃度 0.010mg/L)を定量し、回収率を算出した。その結果、深く差しした場合は 107%の回収率が得られたが、浅く差しした場合は 77.4%に低下した。

機関 27 の用いた検量線作成方法は、告示と比べ、用いる混合標準溶液の種類が少なく、メスフラスコを用いた定容を省いた方法である。今後、告示に沿って検量線を作成する場合、操作が複雑になる分、ロスを生じる可能性が高まると考えられた。このため、告示に基づいた検量線作成方法の研修(フォローアップ研修)を実施した。

メスフラスコからバイアル瓶に移す際の損失の有無を比較するため、改正前の平成 26 年の告示(以下、旧告示)に従った方法も行った。同時に全操作を比較するため、機関 27 が用いた方法についても併行して実施した。各方法のフローを図 3 に示した。

得られた検量線を図 4 に示した。告示と旧告示では、いずれの検量点ともほぼ同じ値となった。メスフラスコによる定容を介しても、損失することなく、操作を実施することができた。告示法による水道水に対する添加回収試験を同時に行ったところ、添加濃度 0.005mg/L における回収率は

91.1%であった。機関 27 は告示に従った方法で検量線を適切に調製できたことを確認した。この機関では標準検査手順書(SOP)を作成していなかったが、今後は告示に基づいた SOP を整備し、検査に用いることを確認した。

一方、機関 27 の方法においては、告示に比べ、濃度が低下した検量点が多かった。検量点 0.0001mg/L では設定濃度の 33%、0.0005mg/L では 72%、0.001mg/L では 105%、0.005mg/L では 91%、濃度 0.010mg/L では 81%の値になっていた。精製水 5mL に対する混合溶液の添加量は、告示及び旧告示が $2\mu\text{L}$ であるのに対し、機関 27 は $0.25\sim 0.5\mu\text{L}$ であった。添加量が少なく、正確に添加されていないことが、検量点が乖離した原因であると考えられた。また、このことは、外れ値の原因の 1 つであると考えられた。

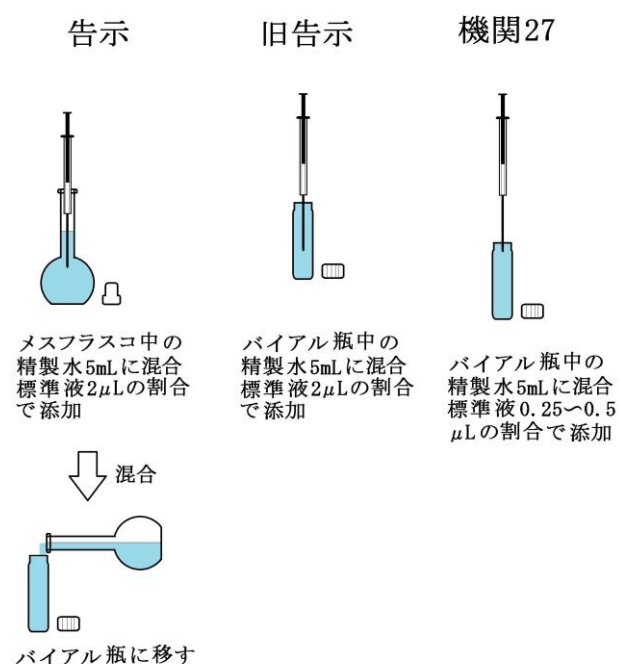


図3 フォローアップ研修における検量線用試料の調製方法(番号 27)

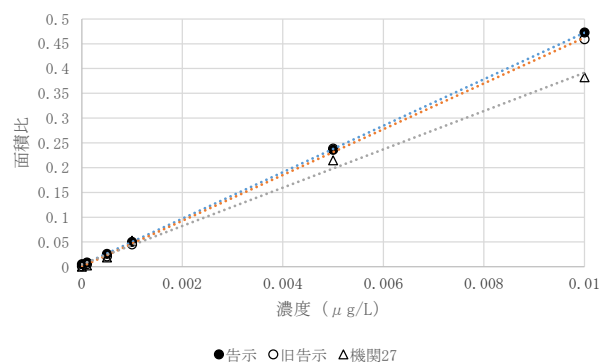


図4 フォローアップ研修におけるジクロロメタン検量線の比較(番号 27)

2-6. 検量線に関する検証

告示では別表に記載された濃度範囲内で4段階以上の標準液を用いて検量線を作成するように記載されている⁵⁾。全ての機関において検量点を4点以上用いて検量線を作成していた。

告示では濃度 0 mg/L を検量点とはしないが、15機関で、0 mg/L を検量点としており、改善が必要であると考えられた。

また、PT法及びHS法の告示における濃度範囲の上限は共に 0.010 mg/L であるが、2機関で上限を超えていた。これらの機関では検量線の範囲を告示の範囲内に修正する必要がある。

告示では空試験の判定の際、空試験の値が測定法ごとの濃度範囲の下限値(PT法及びHS法、共に 0.0001 mg/L)を下回る必要がある。13機関において報告書の検量線で空試験を判定することができなかった。これらの機関は検量線を告示の濃度範囲の下限値まで設定し、空試験の評価を行う必要がある。なお、所定の是正措置を講じたにもかかわらず、空試験の値が告示の濃度範囲の下限値を下回ることができなかった場合に限り、平成 25 年 3 月 6 日付の事務連絡に従い、「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて(平成 24 年 9 月 6 日付健水発 0906 第 1 号空 4 号)」を参考に定量下限値の見直しを行った後に空試験の判定基準の見直しを行うこととされている^{6~7)}。これら空試験の判定方法変更の経緯は、SOP 等に明記することが望ましい。

すべての機関で 1 次式を用いて検量線を算出していた。原点強制通過を行った機関は 1 機関存在

した。原点の強制通過は、濃度範囲の下限值以上の検量点における濃度と強度（面積）の関係から検量線を作成するものではなく、適当でないと考えられた。また、寄与率(R^2)の範囲は、0.9975～1.0000 と概ね良好であった。

2-7. 検査法別による検討

検査方法別の統計値を表 4 に、及び検査値の度数分布を図 2 に示した。その結果、測定法による検査値に与える影響はとくに認められなかった。

表 4 検査方法別統計値

	PT法	HS法
n	12	15
平均値 (mg/L)	0.00549	0.00526
標準偏差 (mg/L)	0.000559	0.000432
変動係数 (CV(%))	10.2	8.20

3. まとめ

平成 27 年度大阪府水道水質検査外部精度管理として、ジクロロメタンの検査結果を真値に対する誤差率と Z スコアの 2 つの方法で評価を行った。検査が実施された 27 機関のうち変動係数 (CV) が 20%を超えた検査値はなかった。全ての検査値に対して評価を行ったところ、Grubbs の棄却検定で棄却された検査値は 1 つであった。真値に対する誤差率で許容範囲を超えた検査値及び Z スコアで許容範囲を超えた検査値は 1 つであった。外れ値に該当する機関は 1 機関であり、全体の 3.7%であった。

以上のことから、ジクロロメタンに関して概ね良好

な外部精度管理結果が得られた。

検証の結果、検査精度を向上するためには、以下の留意点が考えられた。

- (1) 告示から逸脱しない方法で検量線を作成すること。
- (2) 空試験値の判定及び告示の上限を超えないように検量線の濃度範囲を設定すること。
- (3) 標準液は用時調製すること。

参考文献

- 1) 小泉義彦, 木村明生 : 大阪府水道水質検査外部精度管理結果と分析の留意点 -ハロ酢酸 (平成 26 年度) -, 大阪府立公衆衛生研究所研究報告, 54, 50-58(2016)
- 2) 水質基準の見直しにおける検討概要
整理番号 12021 ジクロロメタン(PDF)
厚生労働省ホームページ
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/kenkou/suido/kijun/dl/k17.pdf>
- 3) 水道水質基準ガイドブック、pp68-69、丸善(2009)
- 4) 上水試験方法解説編 1993 年版、pp435-436、日本水道協会(1993)
- 5) 厚生労働省(2012)水質基準に関する規定に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の一部を改正する件、資機材等の材質に関する試験の一部を改正する件並びに給水装置の構造及び材質の基準に係る試験の一部を改正する件等について、健水発 0228 第 1 号(平成 24 年 2 月 28 日)
- 6) 厚生労働省(2012)水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて、健水発 0906 第 1 号(平成 24 年 9 月 6 日)
- 7) 厚生労働省(2013)検査方法告示における空試験の取扱について、事務連絡(平成 25 年 3 月 6 日)

浄化槽処理水中の大腸菌群と大腸菌の環境中での消長

中野 仁*

河川水中の有機物濃度は水量の少ない冬期に高くなる傾向がある一方、大腸菌群や糞便性大腸菌群、大腸菌など、糞便汚染の指標となる細菌数は水量も多く、水温の高い夏期に高くなる傾向がある。そこで、これらの細菌が夏期に環境中で増殖しているのではないかと考え、模擬排水、河川水、浄化槽処理水及びみなし浄化槽の処理水を用い、25℃と10℃で1～2日間振盪培養し、増殖の有無を検討した。

大腸菌の純粋株や河川水のような低濃度有機物中に存在していた大腸菌は、培地のような資化されやすい有機物中ではBOD10mg/Lの低濃度でも25℃では増殖したが、同程度以上の有機物濃度であっても、微生物を多く含む浄化槽の処理水や生活雑排水を添加しても増殖せず、現段階では環境中での増殖の可能性を確認するまでには至っていない。

キーワード：排水、浄化槽、大腸菌群、大腸菌、再増殖

Key words：wastewater、johkasou、coliform group、*Escherichia coli*、regrowth

感染症予防の観点から公共用水や生活用水には細菌に関する基準が設けられており、例えば水道水では大腸菌数が、河川水では大腸菌群数が、海水浴場では糞便性大腸菌群数等が定められている。浄化槽の放流水に関しては、そのBOD処理性能に関わらず、一律大腸菌群数が3,000個/mL以下で規定されている。大腸菌群は糞便中に含まれる大腸菌以外に土壤中に存在する細菌の一部も測定されるため、糞便汚染の指標としては必ずしも良好とは言えないが、測定の容易性から長年大腸菌群数が用いられている。

河川水のCODやBODで表される有機物濃度は冬期に高く、大腸菌群や大腸菌などは夏期に高い濃度を示す傾向があることが、多くの河川定点水質調査結果から読み取ることができる。奈良県から大阪府に流れる一級河川の大和川も同様で、糞便性大腸菌群が夏期に高い濃度を示しており、その排出源シュミレーションでは、浄化槽やし尿のみを処理するみなし浄化槽からの放流水が主因であると考えられている。しかし、夏期において浄化槽の機能が悪化したり、消毒薬剤切れ

が多発することが多いとは考えにくい。むしろ、水温が高い方が処理機能もよく、これらの細菌も死滅したり他の微生物に捕食され、処理水中の濃度は低下するものと考えられる。

そこで、浄化槽の処理水に生残した大腸菌群や大腸菌が、水温の高い時期に処理水そのもの、あるいは他の処理水や生活雑排水等の有機物と混ざった後に再増殖する可能性の有無について検討した。

実験方法

1. 実験試料水

種々の有機物濃度中での大腸菌群や大腸菌の増殖の有無を検討するため、模擬排水として従属栄養細菌を測定する際に用いるR2A培地を希釈したものをを用いた。

河川水として、淀川から分岐した一級河川の大川河川水を、環状線桜宮駅近辺で採取した。

浄化槽排水として、家庭用小型浄化槽の嫌気ろ床接触ばっ気方式3基(A宅、B宅：6人槽、C宅：8人槽)と、担体流動生物ろ過方式2基(D宅：8人槽、E宅：6人槽)の処理水を用いた。

みなし浄化槽排水として、集合住宅に設置された1,050人槽(多室腐敗槽→散水ろ床槽→流量調整槽→接

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部生活環境課

Fluctuation of Coliform Group and *Escherichia coli* Discharged from
Johkasou in the Different Environment.

By Hitoshi NAKANO

触ばっ気槽→沈殿槽)の処理水を用いた。この施設からは生活雑排水として、同じ敷地内に設置された雑排水槽(ばっ気実施)から採取した。

2. 接種大腸菌

接種実験には独立行政法人 製品評価技術基盤機構から分譲を受けた大腸菌株(NBRC 3301: *Escherichia coli* (Migula 1895) Castellani and Chalmers 1919)を用い、標準寒天培地上に形成させたコロニーを釣菌し、これを滅菌リン酸塩希釈水で5回洗浄後の希釈菌液を用いた。

3. 細菌数測定方法

大腸菌群(Coli-G)と大腸菌(*E.coli*)は、デソキシコレート酸塩寒天培地法または特定酵素基質培地法であるラウリル硫酸 X-GAL・MUG 培地を用いた MPN 法(5 本法)で測定した。

4. 増殖試験操作

各実験試料水を 300mL 三角フラスコに 100~200mL 入れ、夏期の河川水の水温に近い 25℃と冬期の 10℃に設定した振盪培養器を用い、振盪回数 100rpm で増殖の有無を検討した。

4.1 大腸菌の増殖に必要な BOD 濃度試験

どの程度の BOD 源があれば大腸菌は増殖するのか、R2A 培地を細菌測定用のリン酸塩希釈水を用いて BOD 濃度 10~100mg/L に調整し、これに分譲を受けた大腸菌株の希釈菌液を接種し、振盪培養して検討した。25℃では5時間後と1日後を、10℃では1日後と2日後の菌数を測定した。

試料水には大腸菌しか存在しないため、菌数の測定はデソキシコレート酸塩寒天培地法を用いた。

4.2 河川水

河川水中に存在している大腸菌群や大腸菌が、河川水のみ、および河川水に新たな有機物が流入したことを想定して、BOD 濃度が 10、20mg/L になるよう R2A 希釈培地を添加した河川水中で増殖するのか、25℃で振盪培養し、増殖の有無を検討した。

4.3 浄化槽排水での試験

4.3.1 排水中の挙動

消毒が不十分で放流水中に生残した大腸菌群や大腸

菌が、その処理水中で増殖するかを検討するため、家庭用小型浄化槽 2 基(A 宅、B 宅)の消毒前二次処理水を 10℃と 25℃で2日間振盪培養し、変化を観察した。

4.3.2 有機物との接触

浄化槽の放流水中に生残した大腸菌群や大腸菌が放流先で新たな有機物と接触した場合を想定し、B 宅の二次処理水に BOD 濃度が 10mg/L、50mg/L 上昇するように希釈 R2A 培地を添加したもの、さらに有機物として C 宅の二次処理水のろ過滅菌水を等量混合したもの、大規模浄化槽の流量調整槽流出水ろ過滅菌水を等量混合したものを、それぞれ 25℃で1日振盪培養して検討した。

4.3.3 新たな大腸菌との接触

二次処理水の消毒が充分になされた放流水や、膜ろ過方式の浄化槽のように無菌状態に近い放流水が新たな大腸菌と接触したときの挙動をみるため、2 基(D 宅、E 宅)の二次処理水およびそのろ過滅菌水に分譲を受けた大腸菌の希釈菌液を接種し、25℃で2日間振盪培養して検討した。

4.4 みなし浄化槽排水での試験

実験対象とした集合住宅には、し尿のみを処理するみなし浄化槽が設置されており、生活雑排水は雑排水槽を経由して側溝に放流されている。みなし浄化槽の放流水中に生残した大腸菌群や大腸菌が有機物を多く含んだ生活雑排水と接触したときを想定して、二次処理水に雑排水及びろ過滅菌雑排水を 3 対 7 の割合で混合した試料を、25℃で振盪培養して検討した。

調査結果

1. 大腸菌の増殖に必要な BOD 濃度

分譲を受けた大腸菌を用いた 25℃での結果を図 1 に、10℃での結果を図 2 に示した。

25℃ではリン酸塩希釈水中(0mg/L)での増殖は観察されなかったが、BOD10mg/L の低濃度有機物の存在では 24 時間後に 3 オーダー近い増殖が観察された。

一方、10℃では BOD 濃度にかかわらず、減少する傾向にあった。

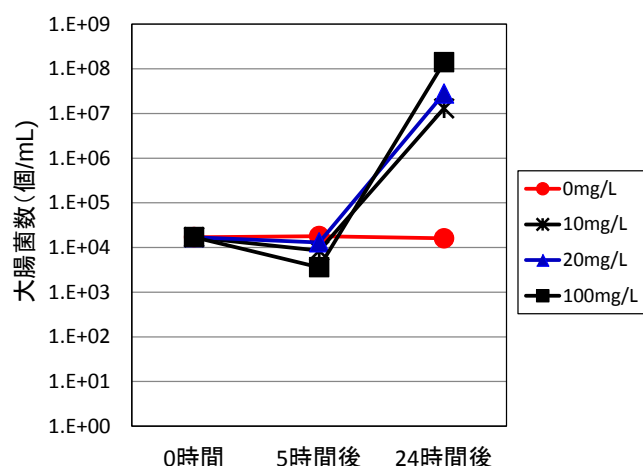


図 1 BOD 濃度別大腸菌数の変化(25°C)

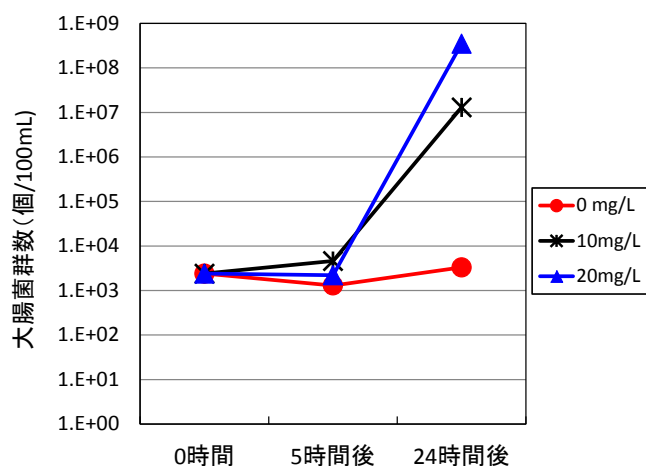


図 3 河川水中の大腸菌群数の変化

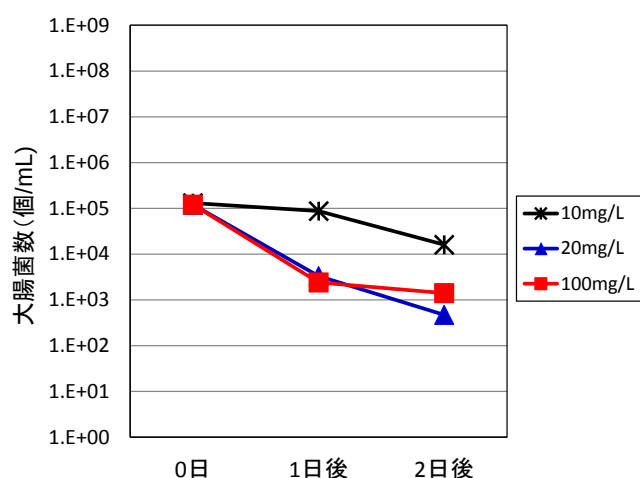


図 2 BOD 濃度別大腸菌数の変化 (10°C)

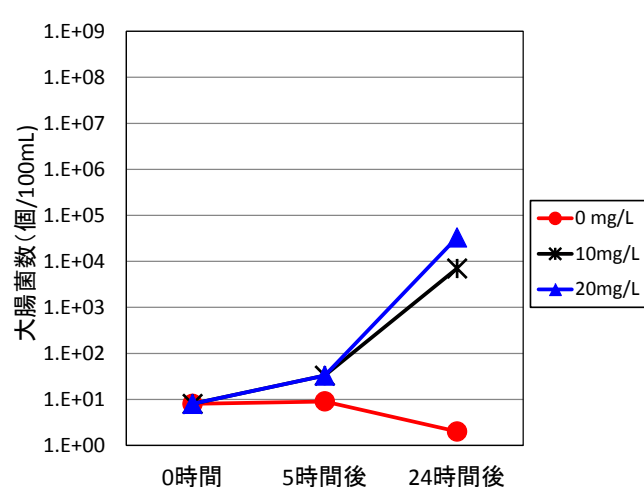


図 4 河川水中の大腸菌数の変化

2. 河川水

河川水中に存在する大腸菌群や大腸菌の河川水のみ、および BOD 濃度 10、20mg/L に調整した河川水中での 5 時間後と 24 時間後の大腸菌群数の変化を図 3 に、大腸菌数の変化を図 4 に示した。

河川水中の大腸菌群は有機物との新たな接触がなければ横ばい状態であり、大きく増殖することはなかったが、希釈培地のような有機物が流入した場合、BOD10mg/L 程度の濃度でも 24 時間後で 3~4 オーダーの増殖が観察された。大腸菌は河川水そのままでは減少傾向にあったが、有機物の流入があると大腸菌群と同様、3 オーダーの増殖が観察された。

3. 浄化槽排水

3.1 排水中の挙動

A 宅の採水時の水温は 13.6°C、二次処理水の BOD は

19mg/L、C-BOD（有機物に由来する酸素消費量）は 18mg/L であった。10°C と 25°C で振盪培養した時の大腸菌群数の変化を図 5 に、大腸菌数の変化を図 6 に示した。

いずれの細菌も 10°C ではほぼ横ばいに近い状態であったが、25°C では減少する傾向にあった。

B 宅の採水時の水温は 14.3°C、二次処理水の BOD は 26mg/L、C-BOD は 16mg/L であった。大腸菌群数の変化を図 7 に、大腸菌数の変化を図 8 に示した。

A 宅同様、10°C ではいずれの菌も横ばい状態であったが、25°C では C-BOD が 16mg/L あるにもかかわらず増殖することはない、むしろ減少傾向にあった。

3.2 有機物との接触

各試料水の BOD を表 1 に、25°C で振盪培養した大腸菌群数の変化を図 9 に、大腸菌数の変化を図 10 にそれぞれ示した。

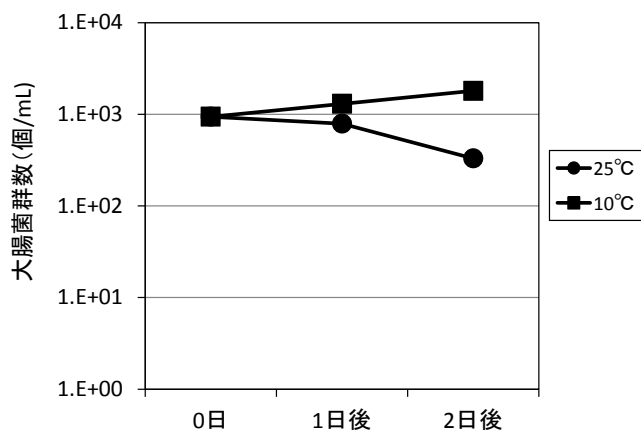


図 5 A 宅二次処理水中の大腸菌群数の変化

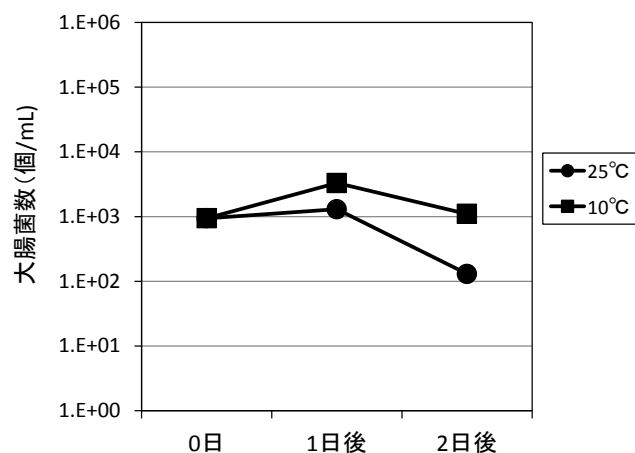


図 8 B 宅二次処理水中の大腸菌数の変化

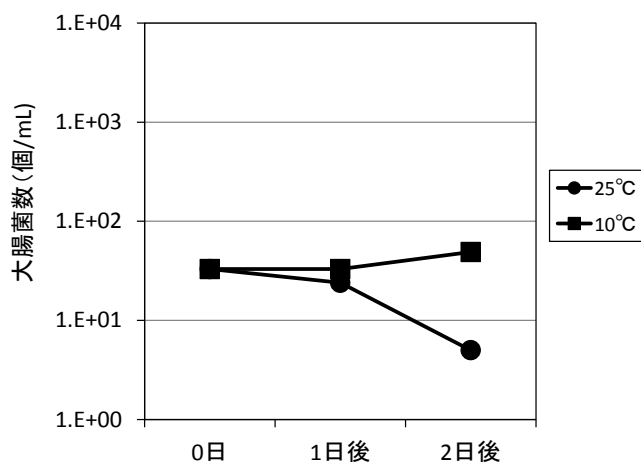


図 6 A 宅二次処理水中の大腸菌数の変化

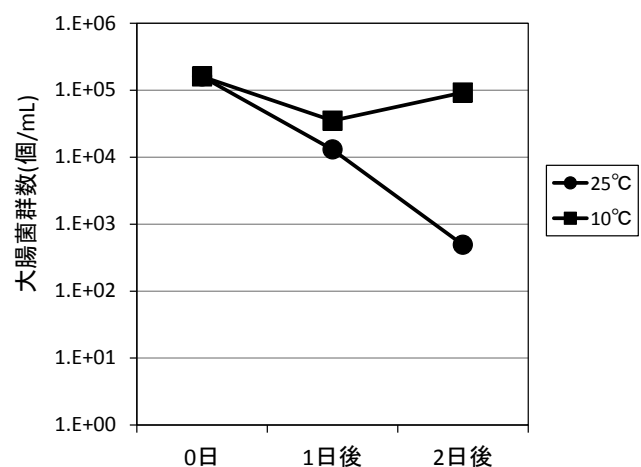


図 7 B 宅二次処理水中の大腸菌群数の変化

B 宅の二次処理水 BOD が 27mg/L に対し、C 宅の二次処理水ろ液の BOD が 5mg/L と低かったため、等量混合後の BOD は 16mg/L に、同様に流量調整槽流出水の BOD が 31mg/L であったため、混合後は BOD

表 1 各試料水の BOD 濃度

	BOD mg/L
① B 宅二次処理水	27
② + BOD 10mg/L	37
③ + BOD 50mg/L	77
④ B 宅二次処理水 + C 宅二次処理水ろ液	16
⑤ B 宅二次処理水 + 大規模流調流出水ろ液	29

29mg/L であった。

二次処理水中(①)では先の実験結果と同様、減少傾向にあった。二次処理水に BOD が 10mg/L 上昇するよう希釈培地を添加(②)した場合は増殖しなかったが、BOD が 50mg/L 上昇するよう添加(③)した場合は、大腸菌群も大腸菌も増殖した。他の施設の二次処理水(④)や流量調整槽流出水のろ過滅菌水を添加(⑤)した場合は、BOD 濃度が低かったこともあり、増殖は観察されなかった。

3.3 新たな大腸菌との接触

結果を図 11 に示した。D 宅、E 宅(両宅とも処理水 BOD 10mg/L 以下)の二次処理水中には既然大腸菌群や大腸菌、その他の細菌が存在しており、ここに新たに大腸菌を接種した場合、2 日後では接種直後の菌数よりも減少する方向にあった。一方、二次処理水をろ過滅菌し、存在していた細菌を完全に排除した二次処理水に接種した場合では、大腸菌の増殖が観察された。

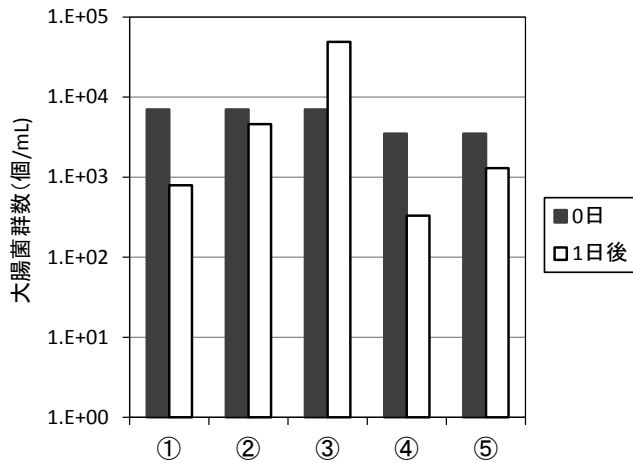


図 9 有機物と接触後の大腸菌群数の変化

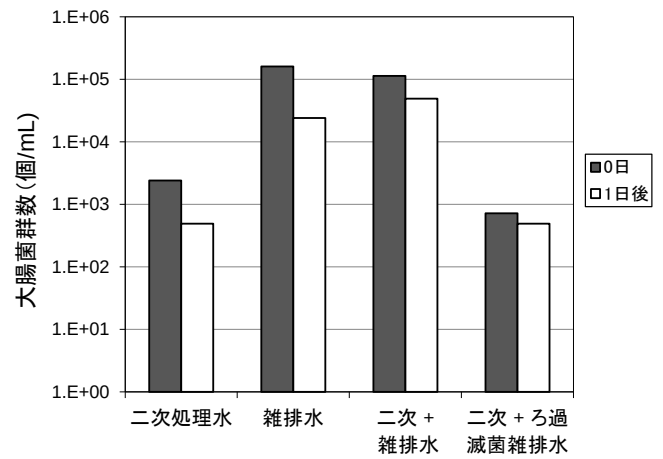


図 12 みなし浄化槽水での大腸菌群数の変化

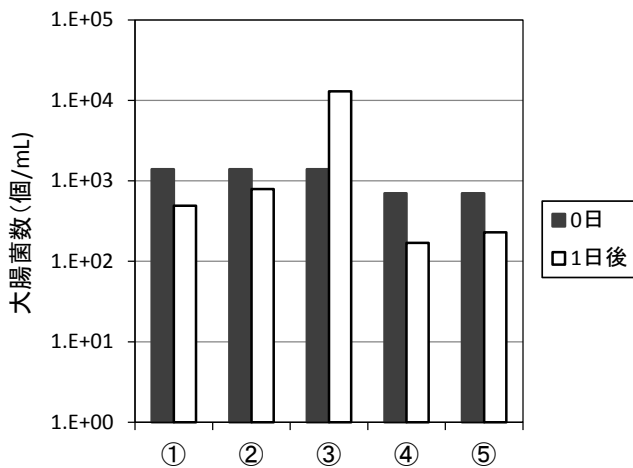


図 10 有機物と接触後の大腸菌数の変化

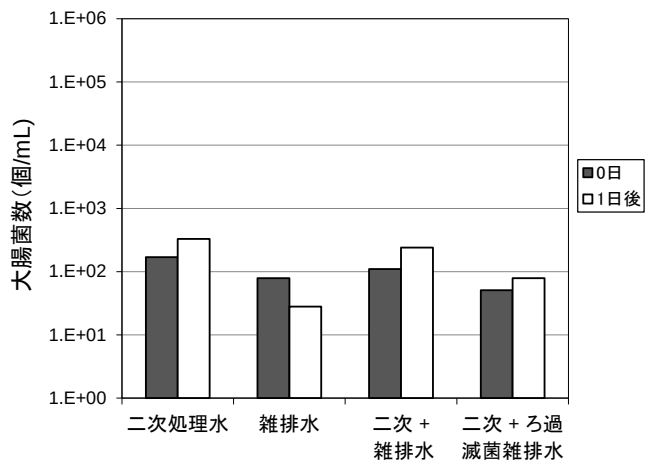


図 13 みなし浄化槽水での大腸菌数の変化

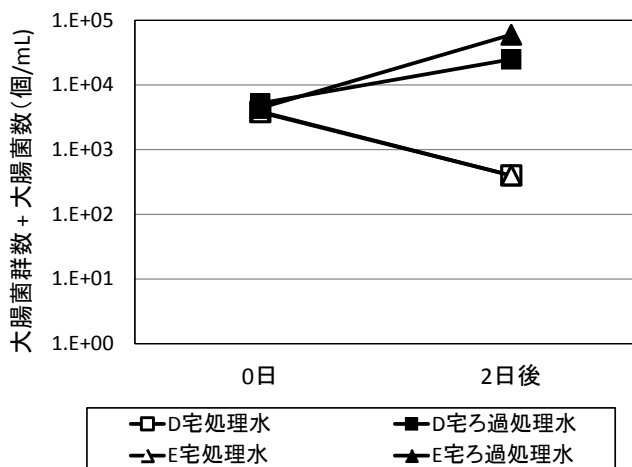


図 11 新たな大腸菌と接触後の細菌数変化

4. みなし浄化槽

採水時の水温は 27～28℃であった。二次処理水の

BOD は 31mg/L であったが、過去のデータから考えると窒素化合物の酸化に由来する酸素消費量

(N-BOD) が多く、C-BOD は 10mg/L 以下と考えられた。生活雑排水は雑排水槽内がばっ気されていることもあり、BOD は 36mg/L と低かった。二次処理水に雑排水を混合した後の BOD は 34mg/L、ろ過滅菌雑排水を混合した後の BOD は 20mg/L であった。

結果を図 12、図 13 に示した。二次処理水に雑排水またはそのろ液を添加した場合、大腸菌群数はわずかに減少、大腸菌はわずかに増殖しているように見えるが、大きな変化はなかったと考えられた。

まとめ

夏期に河川水中の大腸菌群や大腸菌が多い原因とし

て、気温の上昇に伴い環境中でこれら細菌が増殖する可能性について検討した。

純粋培養された大腸菌や河川水中に存在している大腸菌群や大腸菌は、培地で調製された BOD10mg/L 程度の低濃度有機物の存在でも、25℃では1日後に3オーダー以上の増殖が観察されたが、10℃では増殖は観察されなかった。

河川水や浄化槽、みなし浄化槽の処理水を振盪培養したところ、そこに存在していた大腸菌群や大腸菌は、25℃であっても1～2日後では増殖することはなく、むしろ10℃より減少する傾向が強かった。花本¹⁾は河川水を4～25℃で静置培養したところ、大腸菌は水温が高い方が死滅速度が速かったことを、大河内²⁾も水温が高い方が海水中の大腸菌の減数速度が大きかったと報告しており、今回の実験結果と一致していた。

浄化槽の二次処理水に R2A 培地の希釈液を添加したところ、BOD10mg/L の上昇では河川水と異なり増殖しなかった。これは河川水の BOD が 1mg/L 以下であったことに対し、BOD が 27mg/L の処理水に 10mg/L 添加であったためと考えられた。一方、希釈培地で BOD50mg/L 上昇させた場合には、大腸菌群と大腸菌とも増殖が観察された。

浄化槽の二次処理水が他の施設の二次処理水や未処理の流入汚水と混ざった場合、混合後の BOD 濃度が二次処理水と同程度であれば、25℃でも大腸菌群や大腸菌の大幅な増殖は観察されなかった。

一方で、二次処理水の BOD が 10mg/L 以下であっても、そのろ過滅菌水にそこには存在していない新たな大腸菌を接種した場合、2 日後では増殖する傾向が観察された。これはろ過滅菌により、二次処理水中に存在していた微生物が除去されたためと考えられた。石井³⁾は都市河川水での研究で、被食や他細菌との競争がない条件では大腸菌が増殖しようとしている。

今回の実験では、大腸菌の純粋株や河川水のような低濃度有機物中に存在していた大腸菌は、培地のような資化されやすい有機物中では BOD10mg/L の低濃度でも 25℃では増殖したが、同程度以上の有機物濃度であっても、微生物を多く含む浄化槽の処理水や生活雑排水を添加しても増殖せず、現段階では環境中での増殖の可能性を確認するまでには至らなかった。

今回の実験は培養日数が 1 日もしくは 2 日と短かったが、小出⁴⁾の河川水での実験では、2 日間のラグタ

イムの後、大腸菌が増殖したことを報告している。また、Hillel⁵⁾は、塩素滅菌された処理水を貯留槽に長期間滞留させると大腸菌が増殖したことを報告している。

このことから、今後培養日数を長くして検討を加える。さらに、環境中では増殖しないとされている腸球菌を河川水や浄化槽処理水を対象に毎月測定し、大腸菌との季節変動パターンの比較から環境中での増殖の有無について検討を加える。

文 献

- 1) 花本征也：現地調査と数理モデルとに基づく河川流下過程における化学物質と病原性微生物の減衰に関する研究、(公財)琵琶湖・淀川水質保全機構 水質保全研究助成成果報告会報告書(平成 26 年度)
- 2) 大河内由美子、長澤基至、平田 強、古畑勝則：海水浴場のふん便汚染に対する腸球菌の指標適用性評価、第 50 回日本水環境学会年会講演集 P-D02 (2016)
- 3) 石井淑大、栗栖 太、春日郁朗、片山浩之、古 米弘明：都市河川水中における大腸菌の増殖と 溶解有機物質との関係、第 50 回日本水環境学会 年会ポスター発表 (2016)
- 4) Taku Koide, Masako Furuya and Toru Iyo : Experimental study on the behavior of fecal contamination indicators on surface water sampled at Hanbara intake station : Japanese Journal of Water Treatment Biology, 38, 3, 145-151 (2002)
- 5) Regrowth of coliforms and fecal coliforms in chlorinated wastewater effluent : Hillel I. Shuval, Judith Cohen and Robert Kolodney, Water Research Pergamon Press 7, 537-543 (1973)

小型浄化槽の運転状況と処理水質の実態調査 (第2報)

奥村早代子*1 肥塚利江*1 東恵美子*2 浅野和仁*3

市町村によって管理されている浄化槽の処理の状況を把握するため、居住人数 1～6 人の 5 人槽、10 型式、23 基の処理水質を調査した。消毒前処理水の生物化学的酸素要求量 (BOD) は、20 mg/L 以下が 83% (19 基/23 基)、BOD 10 mg/L 以下が 74% (17 基/23 基) であった。全窒素 (T-N) は、除去性能を持つ 11 基すべてで 20 mg/L 以下であり、高度処理型は 5 基(6 基)が 10 mg/L 以下であった。消毒後処理水の大腸菌群は、23 基すべてが基準の 3,000 個/cm³ 以下であった。

キーワード：浄化槽、BOD、全窒素、大腸菌群

key words : Johkasou, biochemical oxygen demand, total nitrogen, total coliforms

わが国の生活排水処理施設整備は、これまで下水道を中心に進められてきたが、下水道整備は多額の初期費用が必要となり、地方財政を圧迫する一因となっている^{1) 2) 3)}。さらに、老朽化した設備の更新や維持管理コストの増加が問題となっており、平成 28 年 4 月の財務省財務制度等審議会において、利用者に下水道の維持管理費用の負担を求める方針を示したとされており、生活排水処理施設の整備について、コスト効率性がより求められると考えられる。

大阪府における生活排水適正処理率 (汚水衛生処理率) は、94.1% (平成 25 年度末) で全国 4 位となっている。このうち、下水道が占める割合が 91.8% (813.7 万人) と大部分を占めているが、浄化槽処理人口が 24.6 万人あり、さらに雑排水未処理人口が 48.0 万人⁴⁾ となっている。このため生活排水適正処理に向けては、コスト面で優れている浄化槽による整備も進むものと考えられる。

浄化槽には、処理水の生物化学的酸素要求量 (BOD) 20mg/L 以下の性能を持つものとして構造基準に示さ

れているもの (構造例示型) と、構造例示型と同等以上の性能を持つとして大臣認定を受けたもの (性能評価型) がある。性能評価型は、小容量化と処理性能の高度化の開発が続けられており、型式ごとに構造、維持管理作業内容が大きく異なる。浄化槽の持つ処理性能を発揮させるためには、従来の型式よりも保守点検と清掃が重要となっている。

大阪府で新設される浄化槽は、平成 21 年度以降 99% 以上を性能評価型が占めている。特に平成 22 年以降には構造例示型の有効容積の 50 %程度に小容量化が進んだ型式 (モアコンパクト型) の浄化槽の発売が開始され、大阪府においても設置割合を急速に増やしており⁵⁾ 運転状況の把握が急務である。

浄化槽の処理水 BOD は 7 条検査や 11 条検査 (使用開始 2 年目以降、1 年に 1 回の検査) などの法定検査で確認できるが、大阪府における法定検査受検率は、7 条検査はほぼ 100 %と高いものの 11 条検査は 7.7 % (平成 26 年度) と低い状況⁶⁾ であり、運転状況が把握しにくい状況となっている。

これまでに 7 条検査の処理水 BOD が浄化槽放流水の技術上の基準 (20 mg/L) 以下である割合は、人員比 (居住人数/人槽) が大きいほど小さくなり、型式によって適合率に差がある事が示されている⁷⁾。さらに、11 条検査結果から、高度処理型については、市町村により管理されているものの方が個人管理のものより BOD 平均値が低い事が示されている⁸⁾。

ここでは昨年度に引き続き、処理実態を確認するた

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

*2 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 食品化学課

*3 富田林市 上下水道部

Survey of Operating Conditions and Effluent Water Quality in Small Scale Johkasou (Part 2)

by Sayoko OKUMURA, Toshie HIZUKA, Emiko AZUMA and Kazuhito ASANO

表 1 浄化槽の概要と使用状況

No.	構造 種別		型式 分類	汚泥	ろ過 ^{*2}	性能評定値(mg/L)			居住 人数	清掃からの 経過月数
				ばっ気 ^{*1}		BOD	T-N	SS		
1	構造 例示型		S1	×	×	20	-	-	3	11
2									3	11
3									4	1
4									4	4
5			S2	5	11					
6			S3	5	11					
7	性能 評価 型	高度 処理型	H1	×	○	10	10	10	3	10
8									3	11
9									4	11
10									4	11
11									6	8
12									6	9
13		コン パクト型	C1	×	○	20	-	-	4	6
14			C2	○	×				5	11
15			C3	×	○				4	11
16									6	11
17			C4	○	×				3	6
18								15	3	8
19		モア コン パクト型	MC1	○	○	15	20	10	1	7
20									2	8
21									3	5
22									4	2
23			MC2						5	2

*1:汚泥のばっ気処理

*2:担体ろ過または生物ろ過と自動逆洗

め、市町村管理によって浄化槽の維持管理が実施されている富田林市の協力を得て、最小規模である 5 人槽を 1～6 人で使用している浄化槽 10 型式、23 基の処理水質を調査したので報告する。

調査方法

1. 調査時期

調査と採水は平成 27 年 7～8 月の平日の午前 10 時～午後 1 時の間に実施した。

2. 調査浄化槽の概要

調査浄化槽の概要と使用状況として居住人数と前回の清掃からの経過月数を表 1 に示す。調査浄化槽は、すべて住宅専用の 5 人槽である。

浄化槽の構造種別として、BOD、全窒素（T-N）、浮遊物質（SS）の性能評定値がともに 10 mg/L 以下のものを高度処理型（H 型）、単独処理浄化槽の合併化

を可能とする設置スペースとして開発された超小容量型をモアコンパクト型（MC 型）とし、それ以外の性能評価型をコンパクト型（C 型）とし、構造例示型（S 型）と区別して示した。型式については構造種別ごとの型式分類を作成して表示した。調査基数は構造例示型、高度処理型、コンパクト型がそれぞれ 6 基、モアコンパクト型が 5 基である。

対象とする住宅の居住人数は主に 3～5 人を対象としたが、昨年度の調査において⁹⁾ 居住人数 4～5 人の調査で水質が安定していた高度処理型とコンパクト型については、居住人数 6 人の浄化槽も対象とした。また、大阪府においても近年設置割合が増加しているモアコンパクト型については、居住人数 1 人と 2 人の住宅の浄化槽も調査した。

清掃からの経過月数は 1～11 ヶ月で、清掃直後の 1～2 ヶ月が 3 基、半年程度の 4～7 ヶ月が 5 基、8～11 ヶ月が 15 基である。

各型式の有効容量について、1 次処理槽、2 次処理

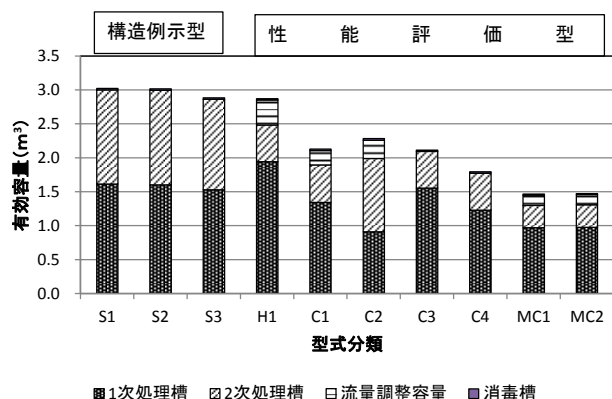


図1 5人槽の型式別有効容積の比較（構成部分別）

槽、流量調整容量、消毒槽を区別して図1に示した。各型式の有効容量を構造例示型のS1型と比較すると、高度処理型では95%と同程度であるが、コンパクト型では59～76%とコンパクト化されており、モアコンパクト型では48～49%と約半分の容量であった。

装置のコンパクト化は採用されている処理方式によって差がある。1次処理容量のコンパクト化が図られているのは、汚泥好気処理を採用している型式に見られ、コンパクト型のC2型とC4型、モアコンパクト型のMC1型とMC2型が相当し、S1型の60～76%となっている。一方で高度処理型のH1型は構造例示型と同じ嫌気ろ床方式の構造であるが、S1型の120%と大きく設計されている。

2次処理容量は、構造例示型のS1型と比較して、コンパクト型のC2型が78%であるものの、その他の型式では24～40%と半分以下の容量にまでコンパクト化されている。

3. 調査項目と試験方法

処理状況に関する調査項目は、接触ばっ気槽のDO、pH、水温および循環水量とした。測定はDOメーター（飯島電子製 ID-100）、pHメーター（東興化学研究所製 TPX-90）、アルコール温度計を用いて測定した。循環水量は循環水を採取時間と容器にて採取した容量から、1分値に換算して求めた。循環水量が流入水量に対する循環比（Q）で標準値が設定されているものについては、居住人数1人につき0.2m³/（人・日）とした1日水量に対する比で示した。

水質に関する調査項目は、消毒前処理水の透視度、溶存酸素（DO）、pH、浮遊物質（SS）、BOD、硝化

を抑制した生物化学的酸素要求量（C-BOD）、有機性炭素（TOC）、T-N、アンモニア性窒素（NH₄-N）、亜硝酸性窒素（NO₂-N）、硝酸性窒素（NO₃-N）りん（T-P）および消毒後処理水の遊離残留塩素、総残留塩素、大腸菌群、大腸菌とした。消毒後処理水は消毒槽で採水した。ただし、放流ポンプ槽が設置されている場合は、放流ポンプ槽で採水した。大腸菌に関しては、環境省において生活環境項目の新たな環境基準項目として大腸菌数を導入することが検討されている¹⁰⁾ため測定することとした。

水質分析は下水道試験法 1997 年版に準拠した。SS はガラス繊維ろ紙法、BOD の DO 測定は隔膜電極法（飯島電子製 B-100S）、T-N は紫外線吸光光度法（島津作所製 UV-160）、NH₄-N はフローインジェクト法を用いたインドフェノール青吸光光度法（ポンプ：Watson Marlon 製、検出器：HIRAMA 製）、NO₃-N 及び NO₂-N はイオンクロマトグラフ法で紫外吸光度検出器（Shodex CD-5）220nm で測定した。T-P はペルオキシ二硫酸カリウムによる分解法、TOC は燃焼酸化－赤外線式 TOC 自動計測法（島津製作所製 TOC-V_{CSH}）を用いた。大腸菌群はデソキシコレート寒天培地（日水製薬製）、大腸菌は XM-G 寒天培地（日水製薬製）で培養後に計測した。

結果および考察

1. 運転状況

水温は 23.5～29.6℃であった。浄化槽の運転状況として、ばっ気槽 DO、沈殿槽 pH、および循環水量を表2に示す。

ばっ気槽 DO は 1.1～7.5 mg/L の範囲であり、すべてが浄化槽の維持管理上の目安である 1.0 mg/L 以上であった。

沈殿槽 pH は 6.8～7.6 の範囲で概ね中性であった。

循環水量の標準設定値は、1分あたりの水量が設定されている型式（H1型：1.9～2.4 L/分、C4型：2.1 L/分、C3型：.0～2.4 L/分、MC1型：2.0～2.9 L/分、MC2型：1.8～3.3 L/分）と循環比 Q（流入水量に対する水量割合）が設定されている型式（S1型、C1型、C2型、いずれも 1～3Q、S2型：3Q）がある。循環水量が設定範囲内であったものは、23基中3基と少なかった。

表2 DO、pH、循環水量

No.	構造種別	型式分類	DO(mg/L)	pH	循環水量(L/分)		循環水量(Q)	
			ばっ気槽	沈殿槽	測定値	設定値	測定値	設定値
1	構造例示型	S1	3.3	7.3	—	—	4.8	1～3
2			5.7	7.5	—		14.1	
3			4.6	7.5	—		6.9	
4			2.0	7.4	—		3.6	
5		S2	1.7	7.3	—		8.1	3
6		S3	3.3	6.9	3.4		—	—
7	性能評価型	高度処理型	7.5	7.3	2.5	1.9～2.4	—	—
8			6.1	7.3	1.2			
9			3.8	7.1	2.6			
10			5.3	7.1	2.0			
11			3.2	6.8	2.6			
12			2.2	7.0	2.0			
13		コンパクト型	C1	1.6	7.2	—	0*	1～3
14			C2	7.5	7.2		6.0	
15			C3	3.7	6.9	2.0～2.4	—	—
16				1.1	7.6			
17			C4	3.2	6.9	2.1	—	—
18				1.2	7.4			
19		モアコンパクト型	MC1	7.1	7.1	2.0～2.9	—	—
20				2.9	7.4			
21				5.3	7.0			
22				4.0	7.3			
23		MC2	5.2	7.1	1.5	1.8～3.3		

*: 低水位で循環無し

これは昨年度調査⁹⁾と同様の傾向であった。

2. 透視度、BOD、TOC、SS、窒素、りん

2次処理水の透視度、BOD、TOC、SS、窒素、りん濃度を表3に示す。

BODは1～47 mg/Lの範囲で、20 mg/L以下が83 % (19基/23基)であった。そのうち10 mg/L以下が74 % (17基/23基)あり、良好な処理状況にある割合が高かった。10 mg/L以下であったのは、構造例示型が5基、高度処理型が6基、コンパクト型は4基、モアコンパクト型は2基であった。BOD 20mg/Lを超過した浄化槽は、モアコンパクト型2基とコンパクト型2基 (No.16とNo.18)であった。モアコンパクト型はわずかに20 mg/Lを越えている程度であったが、コンパクト型については、技術上の基準の2倍程度であった。

C-BODは1～40 mg/Lの範囲であった。BODのうち窒素由来によるBOD (BODとC-BODの差)は、1～7mg/Lであった。

TOCは5.8～36.9 mg/Lの範囲であった。TOCが10 mg/L以下であったのは、構造例示型は2基、高度処理型は6基、コンパクト型は4基、モアコンパクト型は2基であった。

SSは1未満～36 mg/Lの範囲であった。SS 10 mg/L以下の処理性能値を持つ高度処理型は6基すべてで、モアコンパクト型は3基 (5基)が10 mg/L以下であった。SS 15 mg/L以下の処理性能を持つコンパクト型のC4型は2基 (2基)が15 mg/L以下であった。SSの性能評定値を満たしているものは84.6 % (11基/13基)であった。

T-Nは5.2～38.0 mg/Lの範囲であった。窒素 10 mg/L以下の処理性能値を有する高度処理型は5基 (6基)が10 mg/L以下で、窒素 20 mg/L以下の処理性能値を有するモアコンパクト型は5基すべてが20 mg/L以下であった。

T-Pは1.91～6.14 mg/Lの範囲であった。

今回調査した5人槽、10型式、23基においては、

表3 2次処理水の水質

No.	構造 種別		型式 分類	透視度 度	BOD mg/L	C-BOD mg/L	TOC mg/L	SS mg/L	T-N mg/L	NH ₄ -N mg/L	NO ₂ -N mg/L	NO ₃ -N mg/L	T-P mg/L
1	構造 例示型		S1	18	16	11	13.3	19	16.3	7.82	0.50	2.73	6.07
2				>50	2	1	7.4	3	6.0	0.31	0.12	5.12	2.31
3				49	8	8	11.7	2	14.7	11.1	0.37	1.82	2.84
4				47	7	6	10.7	5	22.2	21.5	0.21	<0.1	3.63
5			S2	38	8	7	14.7	8	25.9	21.2	0.30	2.51	3.39
6			S3	>50	7	6	8.0	7	10.2	4.63	0.39	4.07	1.91
7	性能 評価型	高度 処理型	H1	>50	1	1	5.8	<1	1.9	<0.1	<0.1	1.88	2.33
8				45	4	4	7.0	8	8.8	0.17	0.12	7.64	3.30
9				>50	4	3	7.6	3	5.9	0.20	<0.1	4.52	3.99
10				>50	3	2	7.8	3	7.8	0.15	0.16	6.42	6.14
11				>50	3	2	8.0	2	11.1	3.06	<0.1	5.13	5.15
12				>50	7	4	6.8	3	9.2	6.88	0.09	1.24	2.70
13		コン パクト型	C1	>50	8	3	7.2	1	34.7	31.9	0.23	1.11	3.20
14			C2	36	5	4	6.7	7	17.6	0.16	<0.1	12.0	1.96
15			C3	>50	4	2	6.4	2	4.5	0.82	<0.1	2.98	5.34
16				9	47	40	36.9	36	48.7	48.3	<0.1	<0.1	5.22
17			C4	>50	8	3	6.7	<1	3.1	1.90	0.78	0.33	2.51
18				24	39	37	32.2	14	32.1	29.3	<0.1	<0.1	4.08
19		モア コン パクト型	MC1	39	11	10	12.4	8	5.3	1.00	0.11	3.86	3.45
20				39	22	19	16.0	12	13.7	8.17	0.39	1.81	2.02
21				19	23	21	17.1	17	16.2	5.58	0.57	6.14	3.43
22				>50	5	4	6.6	4	19.0	16.5	0.30	0.64	2.59
23			MC2	>50	4	4	8.1	3	10.4	3.80	0.25	6.33	5.20

表4 放流水の残留塩素と大腸菌群、大腸菌

No.	構造 種別	型式 分類	遊離 残留塩素	総 残留塩素	大腸菌群	大腸菌	
			mg/L	mg/L	個/cm ³	個/cm ³	
1	構造 例示型	S1	<0.05	0.15	480	380	
2			<0.05	<0.05	21	7	
3			1.0	>2.0	0	0	
4			0.05	0.4	120	130	
5		S2	<0.05	0.1	6	0	
6		S3	1.3	>2.0	11	4	
7	性能 評価型	高度 処理型	H1	0.05	0.1	0	0
8			H1	<0.05	0.2	0	0
9			H1	0.05	0.1	2	0
10			H1	<0.05	<0.05	22	8
11			H1	<0.05	<0.05	14	6
12			H1	<0.05	<0.05	1,400	46
13			コン パクト型	C1	0.3	0.8	0
14		C2		0.1	0.15	490	500
15		C3		0.1	1.0	0	0
16				<0.05	<0.05	2,900	730
17		C4	<0.05	<0.05	150	5	
18			<0.05	<0.05	2,400	570	
19		モア コン パクト型	MC1	0.1	2.0	0	0
20				0.4	>2.0	0	0
21				0.1	0.4	5	1
22				0.6	>2.0	40	48
23			MC2	1.5	>2.0	11	0

19 基の浄化槽で BOD 20 mg/L 以下が確認され、そのうちの 17 基は BOD 10 mg/L 以下であり良好な処理状況であった。

一方で、BOD が性能評定値の約 2 倍と高かったものがコンパクト型で 2 基確認された。No.16 は、2 次処理槽の担体が摩耗する素材の型式であることから、担体の摩耗が一因と考えられる。No.18 は居住人数は 3 名であるが、使用水量が 30 m³/月程度と居住人数 5 人相当の使用水量であり、水量負荷が機能低下の一因と考えられた。これらの浄化槽については、修理または浄化槽の入れ替えを検討している。

性能評価型の浄化槽は、型式毎に構造が異なっており、このように担体の入れ替えなどの修理が必要となることがある。個人管理の浄化槽では、コスト面から修理が困難となり、機能改善が難しくなることが想定される。しかし、地域の生活排水処理施設として市町村により維持管理されることで、適切な対応が可能となると考えられる。

3. 残留塩素、大腸菌群数、大腸菌数

消毒後処理水の残留塩素と大腸菌群、大腸菌を表 4 に示す。遊離塩素が検出されたものは 57% (13 基/23 基)、総残留塩素が検出されたものは 70% (16 基/23 基) であった。総残留塩素が検出されなかったものは 30% (7 基/23 基) であった。

大腸菌群は、1 未満～2,900 個/cm³ で、すべての浄化槽が処理性能である 3,000 個/cm³ 以下であった。今回の調査では残留塩素が検出されなかった 7 基でも、大腸菌群 3,000 個/cm³ 以下であった。これは、残留塩素が検出されなかった浄化槽においても消毒薬が充填されていたためと考えられた。

大腸菌は、1 未満～730 個/cm³ で、検出されなかったものが 43 % (10 基/23 基) であった。

浄化槽の処理水質は、居住人数が多いほど、清掃からの月数が多いほど不安定になると考えられるが、今回実施した市町村管理の 5 人槽 10 型式、23 基の浄化槽調査では、構造例示型、高度処理型、コンパクト型において、居住人数 4 人または 5 人で清掃からの経過期間 11 ヶ月の場合でも BOD 10 mg/L 以下の良好な処理が確認された。モアコンパクト型は、おおむね処理性能を満足しているが、他の構造類別よりも BOD と

TOC が高い傾向が見られた。

平成 26 年度の大阪府の 7 条検査におけるモアコンパクト型 5 人槽の BOD 20 mg/L 以下の適合率は、居住人数 4 人においてコンパクト型と比較して大きく低下する型式があった⁵⁾ 事が示されている。浄化槽の運転状況について、設置基数が増えているモアコンパクト型など、調査型式を広げた調査を継続して実施する必要があると考えられた。

謝辞

本調査を実施するに当たり、富田林市下水道課、PFI 事業者藤野興業(株)の方々には、お忙しい中、調整および立ち会いのご協力を頂きました。また大阪大学医学部医学科の学生諸君には現地調査に協力を頂きました。ここに深謝申し上げます。

文献

- 1) 市村浩一郎：地方財政と下水道整備事業に関する質問主意書，平成 18 年 6 月 7 日提出，質問第 309 号
- 2) 遠藤誠作：地方公営企業の現状と課題～水道事業を中心に～，日経研月報，2013.9
- 3) 総務省自治財政局地域企業経営企画室：平成 15 年度決算における経費回収の状況について，今後の下水道財政のあり方に関する研究会報告書 16，平成 18 年 3 月
- 4) 大阪府の生活排水処理の現状，大阪府 HP，http://www.pref.osaka.lg.jp/kankyohozen/sei-hai/sei-hai_genjyo.html 最終確認平成 28 年 5 月 31 日
- 5) 奥村早代子，中野仁，波元恭子，森川洋佑：住宅に設置される浄化槽の使用水量および放流水質について，第 29 回全国浄化槽技術研究集会，97-101 (2015)
- 6) 平成 26 年度末における浄化槽の設置状況等について(お知らせ)，環境省ホームページ <http://www.env.go.jp/press/101999.html> 最終確認日平成 28 年 5 月 30 日
- 7) 平成 24 年度、平成 23 年度、平成 22 年度 7 条検査結果による型式別・人員比と BOD の関係，福島県浄化槽協会ホームページ (<http://www.f-jkjk.com/>) より

- 8) 処理形態別 BOD 一覧（浄化槽全体），公益社団法人岩手県浄化槽協会、岩手県浄化槽検査センターホームページ，
<http://iwjoso.sakura.ne.jp/gijutsu/11bod/itiran.html#syoribetu>
- 9) 奥村早代子，東恵美子，肥塚利江，浅野和仁：小型浄化槽の運転状況と処理水質の実態調査（第 1 報），大阪府立公衛研所報，53，76-80（2015）
- 10) 最近の排水基準等の動向について 大腸菌、下層 DO、透視度，公益社団法人日本下水道協会ホームページ，<http://www.jswa.jp/haisuidoukou> 最終確認
平成 28 年 5 月 31 日

クレオソート油を使用した市販中古枕木の違反事例 —法規制されている 3 種の多環芳香族炭化水素の検出—

味村真弓*¹ 小泉義彦*¹ 吉田 仁*¹ 中島晴信*²

家庭用品規制法では、クレオソート油処理木材中のベンゾ [a] アントラセン (BaA)、ベンゾ [a] ピレン (BaP)、ジベンゾ [a,h] アントラセン (DBA) の 3 種の多環芳香族炭化水素 (PAH) が、それぞれ基準値 3 ppm 以下で規制されている。公定分析法に示されている GC/MS 条件 (SIM 測定) では、規制物質の定量イオンと同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合がある。それら物質が相互分離する分析条件を検索した。また、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去する前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。

平成 24 年度に試買及び収去したガーデニング用中古枕木 (合計 5 検体) を、確立した方法で検査したところ、全ての検体から 3 種の規制対象物質が基準値を超えて検出された。

キーワード：多環芳香族炭化水素、クレオソート処理枕木、ベンゾ [a] ピレン、ベンゾ [a] アントラセン、ジベンゾ [a,h] アントラセン

Key words：Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Creosote-Treated Railroad Ties, Benzo[a]pyrene, Benz[a]anthracene, Dibenzo[a,h]anthracene

国際がん研究機関 (IARC) は、いくつかの多環芳香族炭化水素 (PAH) を発がん性がある、または疑われる物質として分類しており、ベンゾ [a] ピレン (BaP) はグループ 1 (ヒトに対して発がん性を示す)、クレオソート油 (コールタール由来)、ベンゾ [a] アントラセン (BaA) 及びジベンゾ [a,h] アントラセン (DBA) はグループ 2A (ヒトに対しておそらく発がん性を示す) に分類している¹⁾。クレオソート油は、過去に電柱や鉄道の枕木の処理に使用されていたが、廃枕木がガーデニング資材として再利用等され、そこに含有される PAH の発がん性が問題となり^{2,3)}、家庭用品に含有する有害物質規制法でクレオソート油及びクレオソート油処理木材中の BaA、BaP、DBA が規制された⁴⁾。

クレオソート油中はそれぞれ 10 ppm、処理木材中ではそれぞれ 3 ppm 以下と基準値が定められている。

公定分析法に示されている質量分析器付ガスクロマトグラフ (GC/MS) 条件 (Selected Ion Monitoring (SIM) 測定) では、規制物質の定量イオンと同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合があり、正確な判定及び定量が困難である。そこで、それら物質が相互分離する分析条件を検索した。さらに、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去するため前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。また、クレオソート油や由来不明の油分等による GC/MS 検出器の汚染を軽減するため、水素炎イオン化検出器付ガスクロマトグラフ (GC/FID) を用いた予備分析法を検討した。作成した方法を用いて分析したところ、平成 24 年度に試買及び収去したガーデニング用中古枕木から BaA、BaP、DBA 全てが基準値を超えて検出された事例について報告する。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

*2 国立医薬品食品衛生研究所

Case Study of Law Violation: Detection of 3 Kinds of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Creosote-Treated Railroad Ties Reusing as Household Products in Japan.

By Mayumi MIMURA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA and Harunobu NAKASHIMA

実験方法

1. 試料

平成 24 年度に行政検査用として試買及び収去したガーデニング用中古枕木（明らかな汚染のない試料 3 検体と汚染がある試料 2 検体の合計 5 検体、全て中国製）を試料とした。

2. 試薬

ベンゾ [a] アントラセン、ベンゾ [a] ピレン、ジベンゾ [a,h] アントラセンの各標準品及び内部標準物質のアセナフテン-d₁₀ は和光純薬工業（株）製の環境分析用、多環芳香族炭化水素（PAHs）Mix（16 成分、各 2000 µg/mL ジクロロメタン：ベンゼン（50:50）溶液）は SUPELCO 製、ジクロロメタン、アセトンは和光純薬工業（株）製の残留農薬・PCB 試験用 5000、シリカゲルミニカートリッジカラムは Waters 製の Sep-Pack® plus Silica®（690 mg、55-105 µm Particle Size）を用いた。

3. 装置及び測定条件

3-1. GC/MS（Electron Ionization: EI 測定）:

GC/MS 装置は、Hewlett Packard 製 5890 Series II GC に MSD 検出器（HP-5971）を装着した装置を用い、自動注入装置は、Hewlett Packard 製 7673 型を用いた。キャピラリーカラムは、DB-5MS（0.25 mmφ×30 m、膜厚 0.25 µm、J&W Scientific 製）、DB-1（0.25 mmφ×60 m、膜厚 1 µm、J&W Scientific 製）、DB-1（0.25 mmφ×30 m、膜厚 0.1 µm、Agilent 製）を用いた。注入温度（280℃）、注入方法（スプリットレス）、注入量（1 µL）は公定法通りとした。カラム温度は、公定法に示された条件及び 100℃ - 15℃/min - 265℃（6 min） - 25℃/min - 280℃（23 min） - 25℃/min - 300℃（55 min）にプログラミングし、インターフェイス温度は 250℃、イオン源温度は 160℃、キャリアーガス流量は He 1 mL/min に設定した。イオン化法は EI 法で、イオン化電圧は 70eV とした。スキャンモード（SCAN: $m/z=50\sim550$ ）及び SIM モードで測定し、SIM モード測定時の定量イオン（ m/z ）は公定法通り（BaA : 228、BaP : 252、DBA : 278）とした。

3-2. GC/FID :

GC 装置は、Hewlett Packard 製 5890 Series II GC に FID 検出器を装着した装置を用いた。キャピラリーカラムは DB-1（0.25 mmφ×60 m、膜厚 1 µm、J&W Scientific 製）を用いた。キャリアーガス流量は He 1 mL/min に設定した。カラム温度は、100℃ - 15℃/min - 265℃（6 min） - 25℃/min - 280℃（23 min） - 25℃/min - 300℃（55 min）にプログラミングし、注入温度は 280℃、検出器温度は 250℃に設定した。注入方法はスプリットレス、注入量は 1 µL で Manual 注入とした。

4. 標準溶液及び内部標準液の調製と検量線の作成

BaA、BaP、DBA の各標準品 10 mg を正確に量り取り、それぞれジクロロメタン 100 mL で溶解し、標準原液（100 µg/mL）を調製した。その溶液をジクロロメタンで希釈し、1.0、2.0、5.0、10 µg/mL となるように検量線用 3 種混合標準溶液を調製した。別途、内部標準物質としてアセナフテン-d₁₀ 10 mg を正確に量り取り、ジクロロメタンを加えて正確に 100 mL とした。その溶液 5 mL を正確に採取し、ジクロロメタンで正確に 100 mL として内部標準液（5 µg/mL）を調製した。各濃度の検量線用 3 種混合標準溶液 2 mL に対して内部標準液を 0.5 mL 加え、キャピラリーカラムを用いた GC/MS 測定による検量線を作成した。

5. 試験溶液の調製

5-1. 明らかな汚染のない試料 :

公定法に従い処理を行った。すなわち、試料表面から深さ 10 mm、幅 5 mm、長さ 20 mm の木片を採取し、細切後よく混ぜ約 1.0 g 量り採った。ジクロロメタン 20 mL を加えて 37℃で 24 時間静置抽出した。抽出液をろ紙でろ過した後、約 2 mL まで濃縮してシリカゲルミニカートリッジカラムに負荷し、ジクロロメタン 10 mL で溶出した。分析に適した濃度にジクロロメタンで希釈して、試料溶液 2 mL に内部標準液 0.5 mL 添加して GC/MS 測定用試料とした。

5-2. 汚染がある試料 :

公定法に従い木片を約 1.0 g 採取し、ジクロロメタン 20 mL を加えて 37℃で 24 時間静置抽出し、抽出液をろ紙でろ過後、2 mL に濃縮した。その液について浜田らの方法^{5,6)}を参考に以下の処理を行った。濃縮液を目盛付共栓試験管に移し、5%含水アセトン及び 10%塩化ナトリウム水溶液各 4 mL を加え、振とう静

置して、ジクロロメタン・アセトン層の 1/2 量 (2.5 mL) を採取した。無水硫酸ナトリウムを添加して脱水、ろ過後、溶媒を留去し、ジクロロメタン 1 mL に溶解した。その液をシリカゲルミニカートリッジカラムに負荷し、ジクロロメタン 10 mL で溶出した。分析に適する濃度に調製し、試料溶液 2 mL に内部標準液 0.5 mL 添加して GC/MS 測定用試料とした。

結果及び考察

1. 前処理法の検討

使用済み枕木のような試料は、使用中あるいは保存中に由来及び成分不明の油分や泥などで汚染されることがあり、ジクロロメタン抽出液に混入してくる。これらの物質を除去する方法を検討した。

1-1. 液液分配による精製

浜田らの方法^{5,6)}を参考に、試料のジクロロメタン抽出・濃縮液 (2 mL) に以下の処理を加え、水層と有機溶媒層の分離状況について比較した。

- 1) ジクロロメタンを蒸発後ヘキサンと 10%塩化ナトリウム水溶液を等量加えた
 - 2) ジクロロメタン抽出・濃縮液にアセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液を各 4 mL 加えた
 - 3) ジクロロメタン抽出・濃縮液に 5%含水アセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液を各 4 mL 加えた
- 1) ~ 3) の条件で抽出・振とう後、一夜静置し、層の分離について観察した。その結果、1) ~ 3) 全てで上層と下層に分離したが、条件 3) では上層 (ジクロロメタン・アセトン層)、浮遊物 (油分等) 含有層、下層 (水層) の 3 層に完全に分離し、上層と下層の容量がほぼ等しくなった。そこで、この条件が油分等汚染物質を除去するのに最適と判断し、条件 3) を採用することとした。なお、液液分配前のジクロロメタン抽出液と液液分配後の上層について GC/FID で分析したところ、双方に含有される 3 種の規制 PAH 付近に検出されるピークは、数、強度ともにほぼ同等で、早い保持時間に検出される規制対象外 PAH のピークパターンも近似していた。従って、本精製による目的物質の損失はほとんどないと推定された。

1-2. 規制対象物質の上層移行率

検体中に含まれる濃度に近い、BaA 500 µg、BaP 200 µg、DBA 25 µg の標準物質を 2 mL のジクロロメタン

に溶解し、その液に 5%含水アセトンと 10%塩化ナトリウム水溶液各 4 mL 加え、振とう後静置し、上層の 1/2 量を正確に採取した。無水硫酸ナトリウムで脱水後、エバポレーターで留去し、ジクロロメタン 10 mL に溶解した。その後、物質毎に分析に適した濃度に希釈し GC/MS 測定して上層への移行率とした。結果は表 1 に示した通りで、BaA、BaP は 100%以上、DBA は約 90%が移行した。

1-1 及び 1-2 の結果から、条件 3) で液液分配後、得られた上層の 1/2 を正確に採取し、脱水濃縮した液について、公定法に従いシリカゲルミニカートリッジカラムによる精製を行うこととした。

表 1 BaA, BaP, DBA の移行率 (n=3)

化学物質	添加量 (µg)	移行率 (%)	CV (%)
BaA	500	115.1	1.68
BaP	200	111.8	4.17
DBA	25	88.5	4.04

2. GC/MS 分析条件と使用カラムの検討

2-1. カラムの検討

規制物質を含む 16 種の PAHs Mix 標準溶液を GC/MS (SCAN) で分析したところ、公定法に示されたカラムに相当する DB-5MS カラムでは、BaA の定量イオン ($m/z=228$) と同じ質量数のフラグメントイオンを持つクリセンが BaA とほぼ同じ保持時間に検出された。そこで、この 2 物質のピークが分離する分析条件を検討した。検討に使用したカラムと昇温条件及びその条件でのピーク分離状況は表 2 の通りで、DB-1 カラムを用い、カラム長さを 2 倍 (60 m)、膜厚を 4 倍 (1 µm) にし、昇温速度を遅くして、対象成分が検出されるタイミングに一定温度で保持させたところ (条件 3) 相互分離が可能となった。さらに、3 種の標準物質と内部標準物質の混合溶液を表 2 の条件 3 で GC/MS (SIM) 測定した際のクロマトグラムを図 1 に示した。

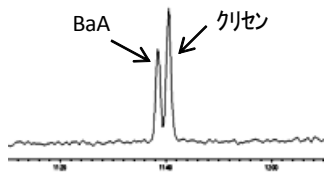
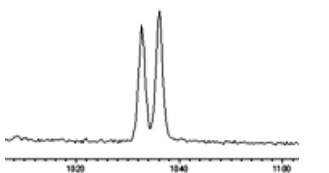
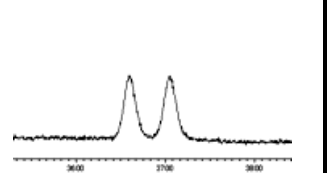
2-2. 検量線の作成

表 2 の条件 3 で GC/MS (SIM) 測定した検量線は、1.0-10 µg/mL の範囲で相関係数 0.998 以上の良好な直線性を示した。(図 2)。

3. 中古枕木試料の分析結果

今回試料とした中古枕木を公定法に従い GC/MS 分

表2 GC/MS 分析条件と使用カラムによる BaA とクリセンのピーク分離

条件	1 (公定法)	2	3
カラム名	DB-5MS	DB-1	DB-1
カラム仕様	0.25 mmφ × 30 m、膜厚0.25 μm	0.25 mmφ × 30 m、膜厚0.1 μm	0.25 mmφ × 60 m、膜厚1 μm
昇温条件	60°C(2min)-25°C/min-300°C(6min)	100°C-15°C/min-240°C(2.5min) -25°C/min-270°C(3.5min)-25°C/min -300°C(5min)	100°C-15°C/min-265°C(6min) -25°C/min-280°C(23min)-25°C/min -300°C(55min)
クロマトグラム			

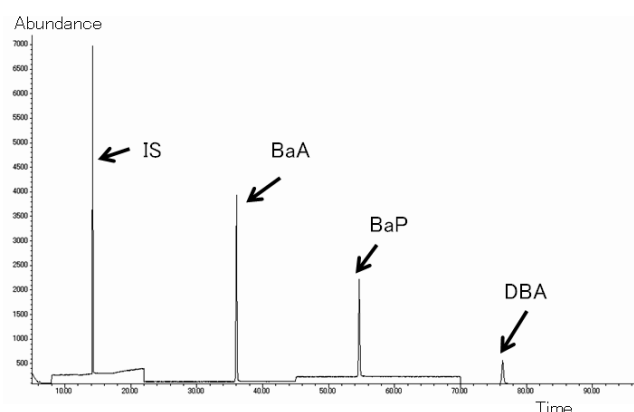


図1 DB-1 キャピラリーカラム (60 m) を用いた BaA、BaP、DBA の GC/MS (SIM) クロマトグラム

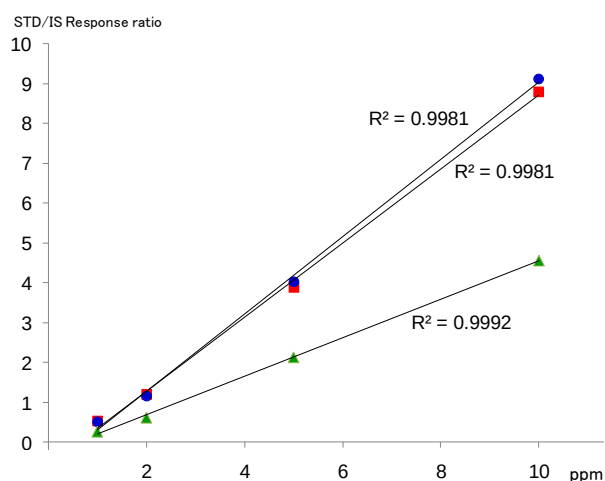


図2 BaA、BaP、DBA の GC/MS (SIM) 検量線

■ : BaA, ● : BaP, ▲ : DBA

析を行ったところ、規制対象物質である BaA、BaP、DBA 全てが検出され、BaA のピークと重なってクリセシと考えられるピークが検出された。そこで、DB-1 60m カラムを用い、表2の条件3で分析を行った。その結果、BaA とクリセシと考えられるピークが完全に分離し、正確に定量が可能となった。図3に実試料の GC/MS (SCAN) クロマトグラムと BaA 及びクリセシに相当するピークの MS スペクトルを示した。いずれのスペクトルもマスライブラリー (NIST98) から検索した BaA (CAS No. 56-55-3)、クリセシ (CAS No. 218-01-09) のマススペクトルと一致していた。また、GC/MS (SCAN) クロマトグラムは文献^{7,8)}で報告されているクロマトパターンと近似していた。

5 検体全てから3つの規制対象物質 BaA、BaP、DBA が基準値を大きく超えて検出され、含量比は BaA > BaP > DBA の傾向を示し、その比率は過去に報告された値と同じ傾向であった (表3)^{7,8)}。

表3 中古枕木中の BaA、BaP、DBA 濃度 (ppm)

	BaA	BaP	DBA
基準値	3ppm以下	3ppm以下	3ppm以下
試買検体	227	63	14
収去検体1	1830	819	156
収去検体2	2360	1100	222
収去検体3	621	166	25
収去検体4	834	314	92

4. GC/FID を用いた予備分析法の検討

クレオソート油そのものが GC/MS 検出器を汚染す

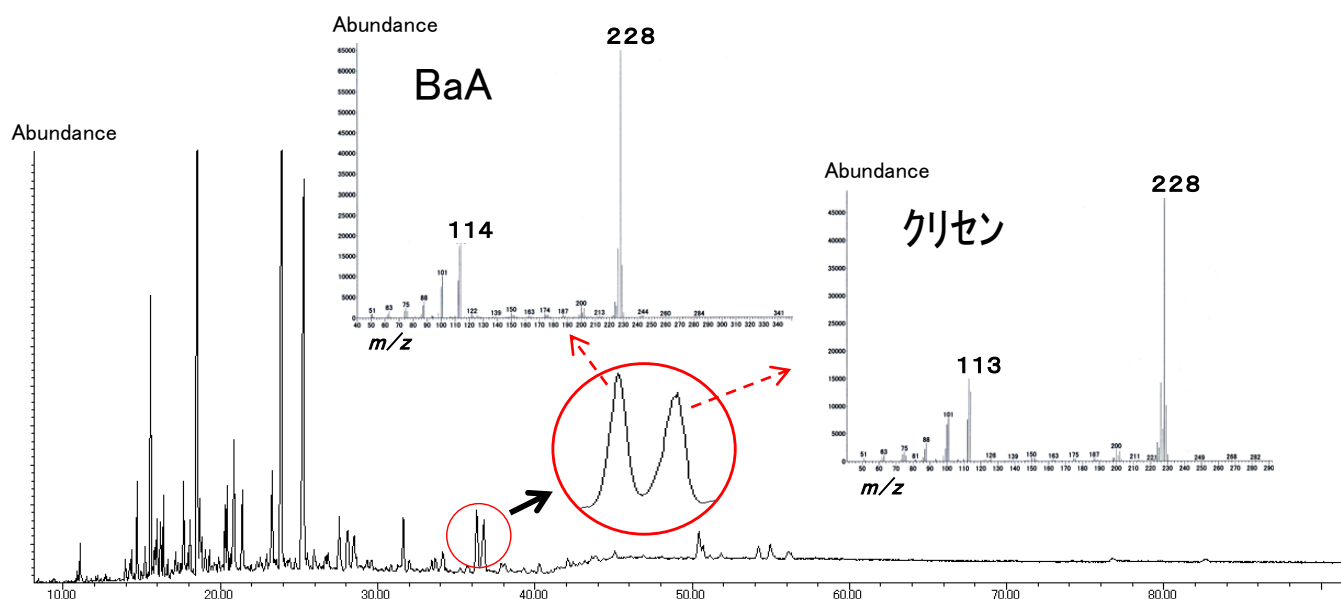


図3 DB-1 キャピラリーカラム (60 m) を用いた実試料の GC/MS (SCAN) クロマトグラムと BaA 及びクリセンの MS スペクトル

るが、使用済み枕木のような試料は、使用中の汚染物質も大量に存在するため、さらに深刻な汚染を起こす可能性が高い。そこで、GC/FID 分析で、規制対象物質含有の有無や含量推定が可能か検討した。

一定量の内部標準物質を含む 3 種混合標準溶液を、表 2 の条件 3 で GC/FID 分析を行って得られたクロマトグラムを図 4 に示した。GC/FID は GC/MS よりも感度が低く基準値 3 $\mu\text{g/mL}$ の検出は困難で、検出限界は $S/N=3$ として、BaA と BaP は 5 $\mu\text{g/mL}$ 、DBA は 10 $\mu\text{g/mL}$ であった。BaA と BaP は 20-200 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で、DBA は 50-200 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で検量線の直線性を認めた。

次に、16 種の PAHs Mix 標準溶液をジクロロメタンで希釈して GC/FID 分析し、ピークの分離状況を確認したところ、同じ条件で GC/MS 分析した際のクロマ

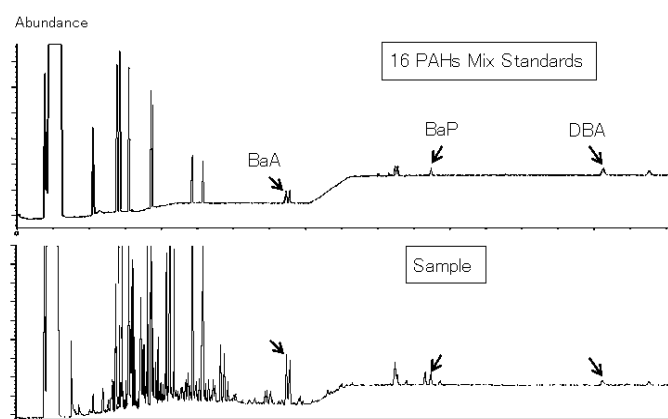


図5 DB-1 キャピラリーカラムを用いた 16 種の PAHs 混合標準と実試料の GC/FID クロマトグラム

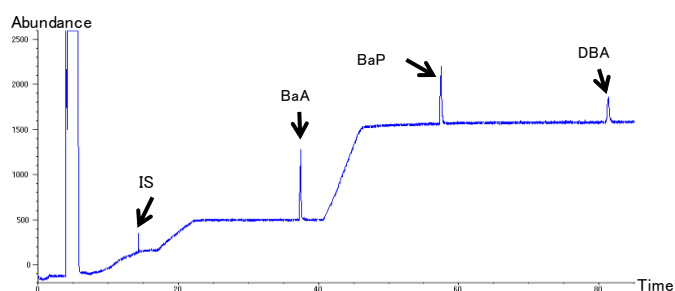


図4 BaA, BaP, DBA, 内部標準物質 (IS) の GC/FID ガスクロマトグラム

トグラムと近似し、BaA とクリセンのピークは分離した。実試料の GC/FID クロマトグラムも同様であった (図 5)。このことから、高濃度の BaA や BaP を含有する検体では GC/FID で分析することにより含有の有無及び含有量の予測が可能であることが示唆された。一方、DBA は BaA や BaP よりも感度が低く、ほぼ同じ保持時間で検出される規制対象外の PAH (16 種の PAHs Mix に含まれる成分ではインデノ (1,2,3-c d) ピレン) のピークと分離が不十分であり、含有量の推定は困難と推察された。

まとめ

家庭用品規制法でクレオソート油に使用規制されている 3 種の PAH の公定分析法に示されている GC/MS 条件 (SIM 測定) では、規制物質 (BaA) の定量イオン ($m/z=228$) と同じ質量数のフラグメントイオンを有する規制対象外の PAH (クリセン) が、規制物質と同じ保持時間で検出される場合があり、正確な判定及び定量が困難である。そこで、それら物質が相互分離し、MS スペクトルでの確認も可能な GC カラム及び分析条件を検索し、より正確に分析する方法を確立した。さらに、中古枕木を汚染している由来不明の油分などを除去するため前処理法の検討を行い、良好な定量確認法を作成した。確立した方法で試買及び収去した市販中古枕木を分析したところ、規制対象の BaA と規制対象外のクリセンが分別定量できた。BaA、BaP、DBA 全ての規制対象物質が基準値を大幅に超えて検出された。

公定法に従い使用済み枕木の検査を実施したところ、GC/MS 検出器等への顕著な汚染が認められた。クレオソート油そのものも汚染原因であるが、中古枕木を汚染している由来不明の油分等により汚染が深刻化すると考えられた。そこで、GC/FID を用いた予備分析法を検討したところ、高濃度の BaA と BaP は含有の有無及び含有量について予測できることがわかった。GC/FID を用いて予備分析を実施し、その後、GC/MS 測定を行うことで GC/MS 検出器汚染の軽減が可能であることが示唆された。しかし、GC/MS 検出器ほど深刻な汚染ではないが、GC/FID への影響も認められたため、今後、ジクロロメタン中に抽出される規制対象外のクレオソート油由来 PAH 除去法について検討を行う必要があると考える。さらに、近年各社から数多く市販されている PAH 分析用カラムを用いて GC/MS 測定すると、DB-1 カラムよりもピーク形状がシャープになったり、ピーク分離がより良好になるものもあるので、使用カラムを比較検討することでより正確な定量が可能となると考えられる。

文 献

Carcinogenic Risks to Humans”,

〈http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/latest_classif.php〉 accessed 30 May 2016

- 2) 鹿庭正昭, 五十嵐良明:市販製品における製品表示及び化学物質等安全データシート (MSDS) の実態調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品, 第 40 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 210-211 (2003)
- 3) 鹿庭正昭, 五十嵐良明: 健康被害の発生実態と製品情報の理解度に関する消費者アンケート調査—木材防腐剤クレオソート及びクレオソート処理品, 第 40 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 214-215 (2003)
- 4) 有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律施行規則の一部を改正する省令の制定について (厚生労働省令 104 号), 平成 16 年 6 月 15 日
- 5) 浜田洋彦, 小坂妙子, 田中重雄: クレオソート油処理木材中の有害物質の分析について, 第 42 回全国衛生化学技術協議会年会講演集, 276-277 (2005)
- 6) 浜田洋彦, 小坂妙子, 田中重雄: クレオソート油処理木材中の有害物質の分析について, 宮崎県衛生環境研究所尾年報, **16**, 69-72 (2004)
- 7) Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa and Toshie Tsuchiya: Determination of Benzo[a]pyrene, Benz[a]anthracene and Dibenz[a,h]anthracene in Creosotes and Creosote-Treated Woods, J. of Health Science, **51**(5), 597-606 (2005)
- 8) Yoshiaki Ikarashi, Masa-aki Kaniwa, Toshie Tsuchiya: Monitoring of polycyclic aromatic hydrocarbons and water-extractable phenols in creosotes and creosote-treated woods made and procurable in Japan, Chemosphere, **60**, 1279-1287 (2005)

- 1) IARC:”*Monographs on the Evaluation of*

大阪府における環境および食品中放射能調査

(平成27年度報告)

肥塚 利江* 東 恵美子*
足立 伸一*

平成27年度の原子力規制庁委託により実施した大阪府における環境および各種食品中放射能調査結果を報告する。調査は、降水中の全ベータ放射能測定、環境試料（降下物、大気浮遊じん、上水、海水、土壌、海底土）および各種食品試料中のガンマ線放出核種分析および空間放射線量率（モニタリングポスト）について実施した。

また、平成22年度より行っている福島第1原子力発電所の事故を受けたモニタリングの強化を引き続き行った。さらに、平成28年1月6日に北朝鮮が4回目となる地下核実験を行ったことを受け、当日から1月14日まで原子力規制庁の指示によりモニタリングの強化を行った。

キーワード：環境放射能、全ベータ放射能、核種分析、空間放射線量率

Key words: environmental radioactivity, gross β activity, radionuclide analysis, environmental γ activity

当所では、昭和35年（1960年）度より大阪府における環境および食品中の放射能測定調査を実施している。この調査は、人工放射性降下物および原子力施設等からの放射性物質の漏洩による環境汚染の有無およびそのレベルを明らかにする目的で行っており、主として原子力規制庁の委託によるものである。

降水（雨水）については全ベータ放射能測定、その他の環境試料および食品試料についてはガンマ線核種分析〔セシウム134 (^{134}Cs)、セシウム137 (^{137}Cs)、ヨウ素131 (^{131}I)、カリウム40 (^{40}K) 等]を行った。

また、モニタリングポストに関しては平成24年度より、平成23年3月11日の東北地方太平洋沖地震により発生した福島第1原子力発電所の事故を受けて増設された5ヶ所（茨木市、寝屋川市、東大阪市、富

田林市、泉佐野市）に既設の大阪市を加えた6ヶ所において調査を行っている。

ガンマ線核種分析に関しては、測定値の信頼性確保のため、(公財)日本分析センターとの間で、既知量の放射性核種を添加した試料7検体について、クロスチェック（標準試料法による相互比較分析）を行った。

さらに、福島第1原子力発電所の事故を受け、モニタリング強化として、平日に上水（蛇口水）を採取し3ヶ月間貯水した蛇口水のガンマ線核種分析を行い、毎月第2週の水曜日にはサーベイメータによる地上1mの高さにおける空間放射線量率調査を行った。

また、平成28年1月6日に北朝鮮が地下核実験を行ったことによる大阪府内への影響の有無を調査するため、当日から1月14日までモニタリングの強化を行い、連日、降下物（定時降下物）および大気浮遊じんのガンマ線核種分析を行った。

本報告では、平成27年度に実施した上記の放射能調査結果を、過去の測定結果との比較も含め報告する。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Survey of Environmental and Food Radioactivity in Osaka Prefecture
(Fiscal 2015 Report)

by Toshie HIZUKA, Emiko AZUMA and Shin-ichi ADACHI

表1 放射能調査項目および試料等

調査項目	試料名	種別	採取場所	採取回数等	件数
全ベータ放射能	定時降水	雨水	大阪市東成区 当所屋上	降雨毎	95
ガンマ線核種分析	大気浮遊じん		大阪市東成区 当所屋上	3ヶ月毎	4
	降下物	雨水・ちり	大阪市東成区 当所屋上	毎月	12
	上水	原水 蛇口水	守口市大庭町 大阪府庭窪浄水場 大阪市東成区 当所本館1F	年1回(平成27年6月) 年1回(平成27年6月)	1 1
	海水	表面水	大阪港入口	年1回(平成27年7月)	1
	海底土	表層	大阪港入口	年1回(平成27年7月)	1
	土壌	0～5cm 5～20cm	大阪市中央区 大阪城公園内 大阪市中央区 大阪城公園内	年1回(平成27年8月) 年1回(平成27年8月)	1 1
	牛乳	原乳(生産地)	大阪府羽曳野市	年1回(平成27年8月)	1
	野菜	タマネギ(生産地) キャベツ(生産地)	大阪府泉南郡熊取町 大阪府泉南郡熊取町	年1回(平成27年6月) 年1回(平成27年12月)	1 1
	相互比較分析試料 (標準試料)	模擬牛乳 模擬土壌 寒天	(公財)日本分析センターで調製 (公財)日本分析センターで調製 (公財)日本分析センターで調製	年1回(平成27年8月) 年1回(平成27年8月) 年1回(平成27年8月)	1 1 5
	モニタリング強化 (福島第1原発事故) 上水	蛇口水(3ヶ月)	大阪市東成区 当所本館1F	3ヶ月毎	4
	モニタリング強化 (北朝鮮核実験) 大気浮遊じん		大阪市東成区 当所屋上	平成27年1月6～14日	8
	降下物	雨水・ちり	大阪市東成区 当所屋上	平成27年1月6～14日	8
空間線量率	モニタリングポスト		大阪市東成区 当所屋上 茨木市大住町 茨木保健所 寝屋川市八坂町 寝屋川保健所 東大阪市西岩田 東大阪市環境衛生検査センター 富田林市寿町 富田林保健所 泉佐野市羽倉崎 市立佐野中学校	毎日/年間 毎日/年間 毎日/年間 毎日/年間 毎日/年間 毎日/年間	366 366 366 366 366 366
	モニタリング強化 (福島第1原発事故) サーベイメータ		大阪市東成区 当所中庭	毎月	12

実験方法

試料の採取、処理および測定は、「環境放射能水準調査委託実施計画書（平成 27 年度）」¹⁾に基づいて行った。表 1 に調査項目および試料等を示す。

1. 全ベータ放射能測定

1-1 降水（雨水）試料

当所（大阪府立公衆衛生研究所：大阪市東成区）観測室屋上（地上約 20m）に設置したデポジットゲージ（表面積 1000cm²）で雨水を集めた。毎朝 9 時 30 分に採取し、100mL（1mm）以上の降水があった場合には 100mL を測定試料とした。

1-2 測定方法

蒸発皿に試料 100mL とヨウ素担体(1mg I⁻/mL) 1mL、0.1mol/L 硝酸銀 1mL および 10%硝酸 1mL を加えて加熱濃縮させた。濃縮物を直径 25mm のステンレス製試料皿に移して蒸発乾固させ、測定用試料とした。測定は低バックグラウンド放射能自動測定装置（キャンベラ製、S5X2050E 型）で行った。比較試料は、酸化ウラン（U₃O₈：日本アイソトープ協会製、35.3dps）を用いた。測定は試料採取から 6 時間後に行った。測定時間は、比較試料 5 分、降水試料 30 分とした。

2. 核種分析

2-1 測定試料

(1) 大気浮遊じん：当所観測室屋上（地上約 20m）に設置したハイボリウム・エアサンプラー（柴田科学株式会社製、HV-1000R）を用いて、ろ紙（東洋濾紙、HE-40T）上に大気浮遊じんを捕集した。毎月 3 回、午前 10 時から翌日の午前 10 時までの 24 時間捕集を行った。3 ヶ月分のろ紙試料（測定に供した吸引量：約 10000m³）をカッターで円形(直径 50mm)に切り取り、プラスチック製容器（U-8 容器）に詰め測定用試料とした。

(2) 降下物（雨水・ちり）：当所観測室屋上（地上約 20 m）に設置した水盤（表面積 5000cm²）に降下した雨水およびちりを 1 ヶ月間採取し、採取した試料全量を上水自動濃縮装置（柴田理化工機製）を用いて蒸発濃縮させた。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固させた後、残留物を U-8 容器に移し測定用試料とした。

(3) 上水：原水（淀川河水）は大阪府庭窪浄水場（守口市）原水取水口から、蛇口水は当所本館 1 階の実験室内蛇口から採取した。採取試料各 100L を上水自動濃縮装置を用いて蒸発濃縮させた。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固させた後、残留物をそれぞれ U-8 容器

に移し測定用試料とした（時期および測定数は表 1 を参照）。

(4) **食品**：牛乳 5L のうち、2L をマリネリビーカー（2L 容）に入れ測定用試料とした。残りの 3L を石英製容器に入れて IH 調理器（Panasonic 製、KZ-PH5P）で濃縮させた後、電気炉（Advantec 製、FUW263PA、450℃）で灰化した。野菜類の食用部約 4kg は 65℃の乾燥器（Panasonic 製、MOV212PJ）で乾燥させた後に、石英製容器に移して電気炉（450℃）で灰化した。それぞれの灰試料は 0.35mm メッシュのふるいに通し、U-8 容器に移して測定用試料とした（試料採取場所、時期および測定数は表 1 を参照）。

(5) **海水、土壌、海底土**：2L の海水をマリネリビーカー（2L 容）に入れ、測定用試料とした。土壌および海底土は、採取後に 105℃の乾燥器で乾燥させた後、2mm メッシュのふるいに通して得られた乾燥細土約 100g を U-8 容器に入れ、測定用試料とした（試料採取場所、時期および測定数は表 1 を参照）。

(6) **標準試料法による相互比較分析**：（公財）日本分析センターが数核種を添加して調製した放射能標準容積線源（寒天）（以下「寒天」という）および放射能標準容積線源（模擬土壌（アルミナ））（以下「模擬土壌」という）ならびに分析比較試料（模擬牛乳）（以下「模擬牛乳」という）について、寒天（U-8 容器：5 試料）および模擬土壌（U-8 容器：1 試料）は U-8 容器のまま、模擬牛乳（1 試料）は全量（2L）をマリネリビーカー（2L 容）に入れ測定を行った。

測定結果については、（公財）日本分析センターにおいて基準値（添加値）と比較し評価を行った。評価は、当所（分析機関）の分析値と基準値の拡張不確かさ（ U ）から En 数を算出し、 $|En| \leq 1$ を基準値内（基準値と一致）とした。なお、 En 数は下記の式により求められる。

$$En \text{ 数} = \frac{(\text{分析値}_{\text{分析機関}} - \text{基準値})}{\sqrt{U^2_{\text{分析機関}} + U^2_{\text{基準値}}}}$$

2-2 測定方法

あらかじめエネルギーの異なる核種を含んだ標準線源を用いてエネルギー校正および検出効率校正を行ったゲルマニウム半導体検出器（キャンベラ製、GC2018

または、GC2518）を用い、試料中の核種より放出されるガンマ線量を測定した。測定時間は原則 80000 秒とし、寒天のみ 20000 秒から 80000 秒とした。得られた計測結果をバックグラウンド補正した後、エネルギー補正および検出効率補正を行ない、測定試料中の核種（ ^{134}Cs 、 ^{137}Cs 、 ^{131}I および ^{40}K 等）の定性定量分析を行った。

3. 空間放射線量率測定

モニタリングポスト（NaI シンチレーション式、エネルギー補償型、アロカ製 MAR-22 型）による空間放射線量率の測定は、当所観測室屋上に設置したモニタリングポスト（地上約 20m）に、茨木市、寝屋川市、東大阪市、富田林市、泉佐野市に設置した 5 基（地上 1m）を加えた 6 基で連続測定を行った（設置場所は表 1 を参照）。結果は 1 時間平均値による 1 日の変動をメモリーカードから読み取った。

なお、モニタリングポスト 6 基の測定結果は、自動測定・配信システムにより 10 分間の平均値が原子力規制委員会のホームページにリアルタイムで公表されている（<http://radioactivity.nsr.go.jp/map/ja/>）。

4. 福島第 1 原子力発電所の事故によるモニタリング強化

4-1 ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

(1) 測定試料

1) **上水（蛇口水）**：土、日、祝日を除く毎日、当所本館 1 階の実験室内蛇口から上水を 1.5L ずつ採水し、3 ヶ月分貯水した（四半期毎：約 90L）。貯水した採取全量について上水自動濃縮装置を用いて蒸発濃縮させ、蒸発皿に濃縮物を移して蒸発乾固させた後、残留物を U-8 容器に移し測定用試料とした。

(2) 測定方法

2-2 と同様の方法でガンマ線核種分析を行った。測定時間は 80000 秒とした。

4-2 サーベイメータによる空間放射線量率調査

毎月第 2 週の水曜日の午前 10 時に当所中庭においてサーベイメータ（NaI シンチレーション式、アロカ製 TCS-171B 型）で空間放射線量率を測定した。測定は、「環境放射能水準調査委託実施計画書（平成 20 年 7 月）」²⁾に準じて行った。測定器の時定数を 30 秒とし、地表 1m の高さにおけるサーベイメータの指示値を 30

秒間隔で5回以上読み取り、平均値を算出した。但し、原子力規制庁の指示により上記計画書で加えることとなっている宇宙線による線量率 30 nGy/h は、加えていない。

5. 北朝鮮核実験によるモニタリング強化

平成28年1月6日に北朝鮮が地下核実験を行ったことを受け、原子力規制庁から「国外における原子力関係事象発生時の対応について」の協力依頼があり、当日から1月14日までモニタリングの強化を行い、連日、降水物（定時降水物）および大気浮遊じんのガンマ線核種分析を行った。

5-1 ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

(1) 測定試料

1) 降水物（定時降水物）

前日15時から当日15時までの24時間に降水用デポジットゲージ（表面積 1000 cm²）で採取された降水、降水がなければ 160 mL の精製水でデポジットゲージについたちりを洗い流して採取し、80mL を U-8 容器に入れ、測定試料とした。

2) 大気浮遊じん

上記の大気浮遊じんと同様の方法[2-1(1)参照]で前日9時から当日9時までの24時間捕集を行った。1日分のろ紙試料を円形（50mm φ）に切り取り、U-8 容器に詰め、測定試料とした。

(2) 測定方法

2-2 と同様の方法でガンマ線核種分析を行った。測定時間は 20000 秒とした。降水物データは翌日 10 時までに、大気浮遊じんデータは当日 17 時までに原子力規制庁へ報告した。

結果および考察

1. 全ベータ放射能

表2に降水中の全ベータ放射能測定値を示す。

降水中の全ベータ放射能は、95 試料中 8 例から検出されたが、異常値は検出されなかった。

2. 核種分析

環境試料および食品試料中の ¹³⁴Cs、¹³⁷Cs、¹³¹I および ⁴⁰K の分析結果を表3に示す。

表2 降水中全ベータ放射能測定結果

年 月	降水量 mm	件数 (検出数)	濃度 Bq/L	月間降下量 MBq/km ²
平成27年 4月	99	10(1)	ND～0.31	0.61
平成27年 5月	99	7(1)	ND～0.72	0.87
平成27年 6月	171	10(1)	ND～0.61	1.47
平成27年 7月	373	16(1)	ND～0.45	0.61
平成27年 8月	187	10(1)	ND～0.33	0.50
平成27年 9月	171	12(0)	ND	ND
平成27年 10月	41	3(0)	ND	ND
平成27年 11月	112	8(0)	ND	ND
平成27年 12月	91	6(0)	ND	ND
平成28年 1月	20	2(0)	ND	ND
平成28年 2月	128	5(2)	ND～1.27	5.23
平成28年 3月	92	6(1)	ND～0.67	0.99
平成27年度 ¹⁾	1584	95(8)	ND～1.27	10.3
過去3年間の値				
平成24年度 ²⁾	1473	81(8)	ND～1.1	47.8
平成25年度	1424	82(8)	ND～0.9	13.1
平成26年度	1270	85(20)	ND～1.1	41.0

ND: 計数値がその計数誤差の3倍を下回るもの

1): 北朝鮮核実験に伴うモニタリング強化のため、平成28年1月7日～14日まで休止。

2): 北朝鮮核実験に伴うモニタリング強化のため、平成25年2月13日～22日まで休止。

(1) ¹³⁴Cs および ¹³⁷Cs: 今年度も例年同様、¹³⁷Cs が土壌、海底土の各試料から検出されたが、そのレベルは過去の値と同程度であった。¹³⁴Cs は、どの試料からも検出されなかった。

(2) ¹³¹I : ¹³¹I は、上水原水および蛇口水試料から微量（それぞれ 1.0 および 1.4 mBq/L）検出された。他の環境試料および食品試料からは検出されなかった。上水中の ¹³¹I については、原水が平成元年度から、蛇口水が平成2年度から検出されており、そのレベルも過去の値（原水：0.4～4.9、蛇口水：0.4～1.4mBq/L）³⁾ と同程度であることや他の環境試料等から検出されていないこと、半減期が8日と短いことなどから、既報⁴⁾に述べたように、その起源は医学利用によるものであらうと推定される。

上水中に存在する ¹³¹I による府民への健康影響については、既報⁴⁾でも論じたように、そのレベルは飲食物摂取制限の基準⁵⁾（飲料水中の放射性ヨウ素：300Bq/kg）の30万分の1程度の低値であり、問題はないと考えられる。

(3) ⁴⁰K: 天然放射性核種である ⁴⁰K レベルは過去の値と同程度であり、特に異常値は認められなかった。

(4) 標準試料法による相互比較分析：（公財）日本分

表3 環境および食品試料中の¹³⁴Cs、¹³⁷Cs、¹³¹Iおよび⁴⁰K濃度

試料	採取年月日	単位	¹³⁴ Cs	¹³⁷ Cs	¹³¹ I	⁴⁰ K
大気浮遊じん						
平成27年 4月～6月	H27.4.2 ～H27.6.16	mBq/m ³	ND	ND	ND	0.18±0.037
7月～9月	H27.7.2 ～H27.9.26	〃	ND	ND	ND	0.21±0.038
10月～12月	H27.10.5 ～H27.12.15	〃	ND	ND	ND	0.19±0.038
平成28年 1月～3月	H28.1.4 ～H28.3.16	〃	ND	ND	ND	0.20±0.037
平成27年度		mBq/m ³	ND	ND	ND	0.18～0.21
過去3年間の値		mBq/m ³	ND	ND	ND	0.19～0.37
降下物						
平成27年 4月	H27.4.1 ～H27.5.1	MBq/km ²	ND	ND	ND	ND
5月	H27.5.1 ～H27.6.1	〃	ND	ND	ND	1.1±0.20
6月	H27.6.1 ～H27.6.30	〃	ND	ND	ND	ND
7月	H27.6.30 ～H27.8.3	〃	ND	ND	ND	ND
8月	H27.8.3 ～H27.9.1	〃	ND	ND	ND	ND
9月	H27.9.1 ～H27.10.1	〃	ND	ND	ND	ND
10月	H27.10.1 ～H27.11.2	〃	ND	ND	ND	ND
11月	H27.11.2 ～H27.12.1	〃	ND	ND	ND	ND
12月	H27.12.1 ～H28.1.4	〃	ND	ND	ND	ND
平成28年 1月	H28.1.4 ～H28.2.1	〃	ND	ND	ND	0.56±0.18
2月	H28.2.1 ～H28.3.1	〃	ND	ND	ND	0.68±0.18
3月	H28.3.1 ～H28.3.31	〃	ND	ND	ND	0.90±0.19
平成27年度		MBq/km ²	ND	ND	ND	ND～1.1
過去3年間の値		MBq/km ²	ND	ND	ND	ND～0.99
上水・原水	H27.6.15	mBq/L	ND	ND	1.0±0.11	64±2.3
過去3年間の値		mBq/L	ND	ND	1.4～3.8	76～96
上水・蛇口水	H27.6.5	mBq/L	ND	ND	1.4±0.13	80±2.5
過去3年間の値		mBq/L	ND	ND	ND～0.66	71～81
上水・蛇口水(モニタリング強化)						
平成27年 4～6月	H27.4.1 ～H27.6.30	mBq/L	ND	ND	ND	66±2.4
7～9月	H27.7.1 ～H27.9.30	mBq/L	ND	ND	ND	76±2.5
10～12月	H27.10.1 ～H27.12.28	mBq/L	ND	ND	ND	83±2.7
平成28年 1～3月	H28.1.4 ～H28.3.31	mBq/L	ND	ND	ND	60±2.3
平成27年度		mBq/L	ND	ND	ND	66～83
過去3年間の値		mBq/L	ND	ND	ND	64～86
海水	H27.7.7	Bq/L	ND	ND	ND	6.0±0.40
過去3年間の値		Bq/L	ND	ND	ND	3.8～6.8
海底土	H27.7.7	Bq/kg dry	ND	2.6±0.33	ND	640±11
過去3年間の値		Bq/kg dry	ND	1.3～2.2	ND	620～670
土壌	H27.8.7	Bq/kg dry	ND	1.9±0.22	ND	700±11
0～5cm層		(MBq/km ²)	(ND)	(96±11)	(ND)	(35000±530)
過去3年間の値		Bq/kg dry	ND	1.3～2.0	ND	650～730
		(MBq/km ²)	(ND)	(62～89)	(ND)	(28000～34000)
土壌	H27.8.7	Bq/kg dry	ND	3.4±0.23	ND	680±9.9
5～20cm層		(MBq/km ²)	(ND)	(500±35)	(ND)	(100000±1500)
過去3年間の値		Bq/kg dry	ND	3.0～3.9	ND	660～670
		(MBq/km ²)	(ND)	(520～580)	(ND)	(100000～110000)
牛乳 原乳	H27.8.18	Bq/L	ND	ND	ND	49±0.94
過去3年間の値		Bq/L	ND	ND	ND	48～49
農産物 タマネギ	H27.6.23	Bq/kg生	ND	ND	ND	46±0.34
過去3年間の値		Bq/kg生	ND	ND	ND	41～45
農産物 キャベツ	H27.12.22	Bq/kg生	ND	ND	ND	66±0.46
過去3年間の値		Bq/kg生	ND	ND	ND	71～95

ND:計数値がその計数誤差の3倍を下回るもの

表4-1 モニタリングポストによる空間放射線量率
(大阪市 府立公衆衛生研究所：地上20m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：大阪市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	62	40	42
5月	31	58	40	42
6月	30	61	40	42
7月	31	65	40	42
8月	31	51	40	42
9月	30	51	40	42
10月	31	57	40	42
11月	30	57	40	42
12月	31	55	40	42
平成28年 1月	31	50	40	42
2月	29	53	40	42
3月	31	54	40	41
平成27年度	366	65	40	42
過去3年間の値				
平成24年度	365	71	41	43
平成25年度	365	63	41	43
平成26年度	365	62	40	42

表4-2 モニタリングポストによる空間放射線量率
(茨木市 茨木保健所：地上1m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：茨木市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	85	54	56
5月	31	83	54	57
6月	30	89	53	57
7月	31	91	51	55
8月	31	80	52	56
9月	30	72	53	56
10月	31	75	55	58
11月	30	76	54	57
12月	31	66	54	55
平成28年 1月	31	67	53	56
2月	29	71	53	55
3月	31	72	52	55
平成27年度	366	91	51	56
過去3年間の値				
平成24年度	365	93	54	57
平成25年度	365	88	53	57
平成26年度	365	92	53	57

表4-3 モニタリングポストによる空間放射線量率
(寝屋川市 寝屋川保健所：地上1m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：寝屋川市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	96	70	72
5月	31	93	71	72
6月	30	93	70	73
7月	31	111	70	72
8月	31	82	70	72
9月	30	86	70	72
10月	31	92	70	72
11月	30	91	71	73
12月	31	85	70	72
平成28年 1月	31	83	71	72
2月	29	87	71	72
3月	31	89	70	72
平成27年度	366	111	70	72
過去3年間の値				
平成24年度	365	110	70	73
平成25年度	365	92	70	72
平成26年度	365	103	70	72

表4-4 モニタリングポストによる空間放射線量率
(東大阪市 東大阪市環境衛生検査センター：地上1m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：東大阪市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	97	76	78
5月	31	113	76	79
6月	30	104	75	79
7月	31	110	74	77
8月	31	107	75	78
9月	30	89	75	78
10月	31	110	76	79
11月	30	97	76	79
12月	31	110	76	78
平成28年 1月	31	88	76	78
2月	29	105	75	77
3月	31	96	75	77
平成27年度	366	113	74	78
過去3年間の値				
平成24年度	365	122	75	79
平成25年度	365	112	75	79
平成26年度	365	103	75	78

表4-5 モニタリングポストによる空間放射線量率
(富田林市 富田林保健所：地上1m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：富田林市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	76	61	63
5月	31	82	61	63
6月	30	78	61	63
7月	31	86	60	62
8月	31	74	61	63
9月	30	76	61	62
10月	31	80	61	63
11月	30	76	62	63
12月	31	72	61	63
平成28年 1月	31	76	62	63
2月	29	74	61	63
3月	31	74	61	63
平成27年度	366	86	60	63
過去3年間の値				
平成24年度	365	93	61	63
平成25年度	365	82	60	63
平成26年度	365	87	61	63

表4-6 モニタリングポストによる空間放射線量率
(泉佐野市 佐野中学校：地上1m)

測 定 年 月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地：泉佐野市)		
		最高値	最低値	平均値
平成27年 4月	30	84	49	51
5月	31	75	49	52
6月	30	81	49	52
7月	31	85	48	51
8月	31	64	49	51
9月	30	64	49	51
10月	31	79	50	52
11月	30	69	49	52
12月	31	65	49	51
平成28年 1月	31	66	50	51
2月	29	76	49	51
3月	31	70	49	51
平成27年度	366	85	48	51
過去3年間の値				
平成24年度	365	94	49	51
平成25年度	365	77	48	51
平成26年度	365	105	48	51

析センターの報告書によると、当所の分析結果は基準値（添加値）とよく一致しており、かつ、En 数も「1」以下であり、ガンマ線核種分析の精度は確保されている事が認められた。

3. 空間放射線量率

モニタリングポストによる空間放射線量率調査の結果を表 4-1 から表 4-6 に示す。

表 4-1 に示す大阪市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 40～65 nGy/h で平常値の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

表 4-2 に示す茨木市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 51～91 nGy/h の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

表 4-3 に示す寝屋川市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 70～111 nGy/h の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

表 4-4 に示す東大阪市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 74～113 nGy/h の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

表 4-5 に示す富田林市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 60～86 nGy/h の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

表 4-6 に示す泉佐野市の空間放射線量率値の 1 時間平均値に基づく 1 日の変動は、年間を通じて 48～85 nGy/h の範囲であり、過去 3 年間の結果と同程度であった。

4. 福島第 1 原子力発電所の事故によるモニタリング強化

(1) ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

平日に上水（蛇口水）を採取し 3 ヶ月間貯水して測定した結果を表 3 の中に示した。

3 ヶ月貯水した蛇口水からは、人工放射性核種は検出されなかった。

(2) サーベイメータによる空間放射線量率調査

当所中庭で行った測定の結果を表 5 に示す。

表5 サーベイメータによる空間放射線量率
(地上1m、当所中庭)

測定年月	サーベイメータ (nGy/h)	
	測定回数	測定値
平成27年	4月	1
	5月	1
	6月	1
	7月	1
	8月	1
	9月	1
	10月	1
	11月	1
	12月	1
	平成28年	1
平成28年	1月	1
	2月	1
	3月	1
平成27年度		12
過去の値		63～81(平均:74)
平成24年度		12
平成25年度		12
平成26年度		12
平成8～20年度		156
		72～87(平均:79)
		74～88(平均:78)
		66～80(平均:75)
		77～108(平均:92)

当所中庭での値は、測定期間中 63～81 nGy/h の範囲であり、同じ場所で測定していた過去の値（平成 8 年度～20 年度：77～108 nGy/h）から見て平常値の範囲内であった。

5. 北朝鮮核実験によるモニタリング強化

(1) ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析

ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析の結果、モニタリングの強化期間中、降下物（定時降下物）および大気浮遊じんから人工放射性核種は検出されなかった。

ま と め

核種分析により人工放射性核種である ^{131}I および ^{137}Cs が検出された。医学利用等に由来すると考えられる ^{131}I は上水（原水および蛇口水）に極低レベルで検出された。 ^{137}Cs は土壌や海底土から例年と同様に検出されたが、そのレベルは低値であった。また、他の人工放射性核種はいずれの試料からも検出されなかった。また、空間放射線量率値にも異常値は検出されなかった。

福島第 1 原子力発電所事故によるモニタリング強化で実施された、ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析調査でも人工放射性核種は検出されなかった。

また、サーベイメータによる空間放射線量率調査も例年とほぼ同じ範囲内であった。

また、北朝鮮核実験時のモニタリング強化で実施された、ゲルマニウム半導体検出器を用いた核種分析調査の結果でも異常値は認められず、大阪府内への影響は認められなかった。

謝 辞

本調査の遂行にあたり、調査試料の採取にご協力いただきました大阪城パークセンター、熊取町役場、大阪府環境農林水産総合研究所、大阪府広域水道企業団庭窪浄水場の各機関に感謝致します。また、調査実施にあたり、ご指導をいただきました原子力規制庁監視情報課放射線環境対策室、日本分析センターの皆様に謝意を表します。

注：本報告は、電源開発促進対策特別会計法に基づく原子力規制庁からの受託事業として、大阪府立公衆衛生研究所が実施した平成 27 年度「環境放射能水準調査」の成果です。

文 献

- 1) 原子力規制庁 監視情報課放射線環境対策室：環境放射能水準調査委託実施計画書,平成 27 年度
- 2) 文部科学省科学技術・学術政策局原子力安全課防災環境対策室：環境放射能水準調査委託実施計画書,平成 20 年 7 月
- 3) 肥塚利江, 東恵美子,足立伸一：大阪府における環境および食品中放射能調査（平成 25 年度報告）, 大阪府立公衛研所報, 第 52 号, 67-74 (2014)
- 4) 田村幸子, 渡辺功, 布浦雅子：大阪府における環境および食品中放射能調査, 一平成元年 4 月～平成 2 年 3 月一, 大阪府立公衛研所報, 公衆衛生編, 第 28 号, 165-170 (1990)
- 5) 原子力災害対策指針（平成 24 年 10 月 31 日, 原子力規制委員会, 平成 27 年 8 月 26 日改正, 平成 28 年 3 月 1 日部分改正）

A Child with Acute Encephalopathy Associated with
Quadruple Viral Infection,

NAKATA, K^{*1}., KASHIWAGI, M^{*3}., MASUDA, M^{*3}.,
SHIGEHARA, S^{*3}., OBA, C^{*3}., MURATA, S., KASE^{*1}, T.,
KOMANO, JA^{*2}.

Front Pediatr., 3; 26, doi: 10.3389/fped.2015.00026.
eCollection (2015)

小児において急性脳症（AE）は、時としてウイルス感染に起因する場合がある。しかし、ウイルス感染により常に AE になるわけではない。ウイルスが感染した際、乳児において AE を発症させる危険因子は不明である。そこで、コクサッキーウイルス A6（CVA6）、エンテロウイルス D68（EV-D68）、ヒトパレコウイルス（HPeV）およびヒトヘルペスウイルス 6（HHV-6）の同時感染を引き起こし、AE を発症した乳児の病態について報告する。

EV-D68 は、母親からの垂直感染が疑われ、CVA6 と HPeV は、保育園での水平感染が疑われた。また、HHV-6 は再活性化の可能性が考えられた。AE の病因として中心的な役割を果たしている病原体を決定することはできなかったが、4 ウイルス同時感染は、AE の発症につながる、サイトカインストームを誘発していると考えられた。

下痢のみを主症状とした乳児集団感染性胃腸炎事例からの
コクサッキーウイルス B5 型とヒトパレコウイルス 1
型の検出—大阪府

中田恵子^{*1}, 左近直美^{*1}, 松尾由美^{*2},
弓指孝博^{*1}, 加瀬哲男^{*1}

病原微生物検出情報, 36, 229 (2015)

大阪府内の保育園において下痢を主症状とする集団感染性胃腸炎が発生し、患者からコクサッキーウイルス B5 型（CVB5）とヒトパレコウイルス 1 型（HPeV-1）を検出したので報告する。

2015 年 8 月 11 日、0 歳児クラス（15 名）で 2 名の下痢発症患児を認めた。その後 19 日には 0 歳児クラスでさらに 4 名が下痢症状を呈し、20 日、1 歳児クラスでも 1 名に下痢症状の患者が発生した（累積患者数 7 名）。

夏季であること、患者が 0 歳児に集中していたこと、症状が下痢のみの患者がほとんどであったことから、エンテロウイルス（EV）およびヒトパレコウイルス（HPeV）に対する RT-リアルタイム PCR を実施した。

その結果、5 名中 4 名から EV および HPeV が検出された。HPeV が検出された 4 名はすべて 0 歳児クラスの患者で、EV が検出されたのは 0 歳児クラスの 3 名と 1 歳児クラスの 1 名であった。最終的に、0 歳児クラスの 4 名すべての HPeV は 1 型、3 名の EV は CVB5 と同定された。1 歳児クラスの患者 1 名の EV はエコーウイルス 18 型と同定された。これらの結果より、0 歳児クラスの感染性胃腸炎の原因ウイルスは CVB5 および HPeV-1 であったと推測された。なお、9 月 1 日時点で 0 歳児クラスの累積患者数は 15 名中 8 名で、うち 1 名にはまだ下痢症状があったと報告されている。

本事例における症状は主に下痢のみであり、有症期間が 1 週間以上にわたっていた。重感染が長期化の一要因であったことが推察された。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

^{*2} 国立病院機構 名古屋医療センター

^{*3} 枚方市民病院 小児科

4 種類のウイルス感染と関連する小児の急性脳症事例報告

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

^{*2} 大阪府寝屋川保健所

Isolation of Coxsackievirus B5 and Human Parechovirus 1 from an Outbreak of Infectious Gastroenteritis among Infants whose Sole Clinical Manifestation was Diarrhea-Osaka Prefecture

E 型肝炎の輸入感染症例報告

左近直美^{*1}, 弓指孝博^{*1}, 藤岡研^{*2}, 関 雅之^{*2}, 木下真孝^{*2}, 三島伸介^{*2}, 入交重雄^{*2}, 倭 正也^{*2}, 石井孝司^{*3}

病原微生物検出情報, 37, 35-36 (2016)

海外で E 型肝炎に感染し、発症期に帰国した症例。2015 年 8 月よりインド、アフリカ諸国を訪問し、再びインドを経て 11 月オーストラリアに入国。10 月中旬より食欲低下、倦怠感、胃痛、嘔気、発疹を認めた。オーストラリアの病院を受診し、肝炎血清診断を受け、3 日後に帰国。帰国時に発疹を除く症状の継続があり、入院。入院時血清より E 型肝炎検査マニュアル（国立感染症研究所）に記載のプライマーを使用して nested PCR にて増幅バンドを認めた。配列を決定したところ、E 型肝炎ウイルス G1 であった。E 型肝炎の潜伏期（約 6 週間）から旅行期間中に感染・発症したことが想定されたが、HEV G1 は発展途上国で最も蔓延している遺伝子型であり、感染国の特定はできなかった。

新たなノロウイルス流行株に対する迅速体外診断薬の評価

左近直美^{*1}, 加瀬哲男^{*2}

医学と薬学, 72, 1895-1899 (2015)

ノロウイルス感染症の診断には、抗体を用いてウイルス抗原を捕捉するイムノクロマトの原理を応用した迅速診断薬が有用である。しかし、変異が多いノロウイルスに対し、流行する遺伝子型の検出能を常にモニタリングする必要がある。2014/15 シーズンは全国的に食中毒事例からこれまで報告数が少ない GII.17 検出が相次いだ。そこで、核酸検査で陽性となった便検体を用いて、GII.17 を始めとする各種遺伝子型のノロウイルスに対する栄研化学イムノキャッチーノロの性能を再評価した。

2005 年 12 月～2015 年 6 月までに集団発生事例から採取されたノロウイルス陽性便 37 検体を用いた。使用した核酸検査陽性の検体におけるノロウイルス遺伝子型は計 13 種類で、GI は GI.3, GI.4, GI.6, GI.7, GI.11 の 5 種類、GII は GII.2, GII.3, GII.4, GII.6, GII.7, GII.12, GII.14, GII.17 の 8 種類であった。GI では 5 遺伝子型のうち GI.3, GI.4, GI.6 の 3 種類が、GII では 8 遺伝子型全てが検出可能であった。

臨床検体においては便の性状や保存期間等の影響で、検体の質が低下している恐れもある。臨床現場では新鮮な便検体を使用する事から、陽性率は本研究よりも高くなると予想される。しかし、診断には臨床症状および地域における流行状況に基づいた判定も極めて重要である。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

^{*2} りんくう総合医療センター 感染症内科

^{*3} 国立感染症研究所ウイルス第二部

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

Seasonal Variations of Respiratory Viruses and Etiology of
Human Rhinovirus Infection in Children.

SAEKO MORIKAWA*¹, URARA KOHDERA*², TAISUKE
HOSAKA*², KOUSUKE ISHII*², SHOHEI AKAGAWA*²,
SATOSHI HIROI*¹ and TETSUO KASE*¹.

Journal of Clinical Virology, 73, 14-19 (2015)

背景：検体からのウイルス検出に、高感度の検出法である
PCR 法が汎用されるようになった結果、複数のウイルスが
同時に検出される例が多数存在していることが明らかと
なってきた。しかしながら、症状と重感染との関連につい
ては詳しく調べられていない。

目的：上気道症状を呈する小児から、呼吸器ウイルスの
網羅的検出を試み、各ウイルスの流行期および単独感染
と重感染での症状の差について検討した。

方法：子ども病院を受診した、呼吸器症状を呈する外来
または入院患者の鼻汁を採取し、16 種の呼吸器ウイルス
を検査した。ウイルスごとの流行期、上位 5 種のウイル
スの単独感染と重感染時の症状の差を喘鳴、酸素投与
の有無、入院日数を指標として比較した。

結果：512 検体のうち 83%に相当する 424 検体から 1 種
以上のウイルスを検出し、160 検体は 2 種以上のウイル
スが検出された。各ウイルスの流行のピークは少しずつ
ずれていた。ライノウイルスは最も多く検出され、他ウ
イルスとの重感染率も高かった。しかし、他ウイルスと
ライノウイルスが重感染している場合と、他ウイルスの
み単独感染している場合での重症度は変わらなかった。

考察：各ウイルスの流行期のずれから、ウイルス同士で
何らかの干渉が存在している可能性が示唆された。ライ
ノウイルスが重感染している場合と、他ウイルスのみ単
独感染している場合での重症度に有意差はなかったこと
から、ライノウイルスは小児ではごくありふれたウイル
スであり、症状を規定しているのは宿主側の因子である
と考えられた。

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

*² 中野こども病院

小児における呼吸器ウイルスの流行像および、ライノウイルスの重症度
との関連

大阪府における風しん流行と先天性風しん症候群の
発生動向

倉田貴子*¹, 上林大起*¹, 弓指孝博*¹, 加瀬哲男*¹
大阪府*², 大阪市*², 堺市*², 東大阪市*², 高槻市*², 豊中市
*², 枚方市*², 小林和夫*², 田邊雅章*², 木下優*², 松本治子
*², 安井良則*², 塩見正司*², 東野博彦*², 八木由奈*², 吉田
英樹*², 奥町彰礼*², 廣川秀徹*², 狭間礼子*²,
入谷展弘*², 信田真里*², 谷本芳美*², 松浪桂*²
大阪市立環境科学研究所
堺市衛生研究所
大石和徳*³, 砂川富正*³

病原微生物検出情報, 36, 120-122 (2015)

大阪府内で感染症サーベイランスシステム(NESID)に
報告された風しん報告数は 2008 年 24 例、2009 年 12 例、
2010 年 9 例と推移していたが、2011 年には前年の 5.8 倍
となる 53 例、2012 年、2013 年にはそれぞれ 408 例、3,192
例が報告される大きなアウトブレイクとなった。報告症
例数は、その後 2013 年末から減少し、2014 年には 18 例
が報告されるのみとなった。風しん患者の年齢層と性別
は、20-40 歳代の男性が大部分を占め、全国的な傾向と同
様に風しんワクチンの定期接種を受けていない世代の男
性が流行の中心であった。2012 年から 2013 年までの流
行に伴い先天性風しん症候群(CRS)が相次いで発生し、
2013 年始めに 1 例、2013 年後半に 4 例、2014 年始めに 1
例と、東京都に次いで全国で 2 番目に多い 6 例が報告さ
れた。大阪府内は 2013 年当初、妊娠の可能性がある女性
と妊婦の家族に対して麻しん風しん混合ワクチン(MR ワ
クチン) または風しんワクチン費用の助成を行ったが、
現在は同様の条件の人を対象に無料で風しん抗体検査を
行っている。今後の風しん排除に向けて、定期予防接種
に加え、ワクチン未接種世代の成人への接種をより積極
的に行うことが重要になると考えられる。

*¹ 大阪府立公衆衛生研究所

*² 感染症情報解析評価委員会

*³ 国立感染症研究所感染症疫学センター

Rubella Outbreak and Congenital Rubella Syndrome in Osaka Prefecture

Increased Reports of Measles in a Low Endemic Region
During a Rubella Outbreak in Adult Populations

T. KURATA^{*1}, D. KANBAYASHI^{*1}, H. NISHIMURA^{*1}, J.
KOMANO^{*2}, T. KASE^{*1} and K. TAKAHASHI

Am. J. Infect. Control., 43, 653-655 (2015)

麻疹とは発熱・発疹・カタル症状を主徴とする急性熱性疾患である。効果的な生ワクチンが開発された1960年代以前は、世界の乳幼児で高い死亡率を占める疾患であったが、ワクチンが普及してからは罹患率および死亡率は大きく減少した。日本では2006年に麻疹含有ワクチン2回接種が導入され、2008年にWHOの定める麻疹排除を目指す取り組みが全国的に始まった。ワクチン2回接種により小児および学童の抗体保有率が上昇するに連れ、全国の麻疹患者数は年々減少した。特に大阪では順調に患者数が減少したため、2012年には既に地域的な麻疹排除状態に達していた。

一方で、全国での風疹の報告数は、2008-2010年までは人口100万人あたり1未満で推移していたが、2011年から増加し始め、2013年に人口密集地域である東京と大阪を中心とした風疹のアウトブレイクがみられた。この際に麻疹発生が非常によくコントロールされていた大阪では、同時に麻疹の報告数増加が見られた。この現象は、風疹と麻疹の患者年齢層（20-40歳代男性）が類似していたこと、修飾麻疹と風疹の臨床症状が類似していたことが要因であったと考えられた。本来であれば臨床症状が軽いために発見することが困難であった修飾麻疹患者の掘り起こしが生じたことが示唆された。

*1 大阪府立公衆衛生研究所

*2 国立病院機構 名古屋医療センター

成人での風疹流行状況下における麻疹報告数の増加

小さな吸血鬼と病気の話
—蚊やマダニが吸血するしくみと
媒介する感染症について—

弓指孝博*

青淵 796, 14-16 (2015)

昆虫やダニの中には、我々を吸血するよう進化した一群がいる。そのなかには、蚊、ブユ、ノミ、シラミなどの昆虫や、マダニ、ツツガムシなどのダニが含まれている。血を吸われるだけでも、いやな感じがするものであるが、これらの最も厄介なところは、ときに病原体の運び屋になり、我々に感染症をもたらすところである。このような小さな吸血鬼の中でも双壁をなす蚊とマダニ、媒介する感染症について解説する。

蚊やマダニが血を吸う際に、なぜ病原体がヒトの体に入ってくるのだろうか？吸血性の昆虫やダニは血を吸う前に、まず自らの唾液を我々の体に注入する。唾液には痒みを感じさせないようにしたり、血液が凝固しにくくなるような成分などが含まれている。この中にウイルスやリケッチアなどの病原体が含まれている場合があり、人の体内に運ばれて感染してしまうと重い病気を引き起こすことがある。

国内では蚊が媒介する感染症として日本脳炎がある。一方、海外の流行地で蚊に刺されて感染するデング熱、マラリア、チクングニア熱などの輸入症例数が増加している。デング熱については昨年度東京都内の公園において、多数の国内感染事例が出た。マダニが媒介する感染症としては日本紅斑熱、ライム病、バベシア症などが報告されているが、近年新たに重症熱性血小板減少症候群（SFTS）の存在が明らかになり、西日本を中心に患者や死者が相次いだ。

これらの感染症の予防には、できるだけ蚊やダニに刺されないようにすることが重要である。

*大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

A Small Vampire and Vector-Borne Diseases.

A Cluster of Rapid Disease Progressors upon Primary HIV-1 Infection Shared a Novel Variant with Mutations in the *p6^{gag/pol}* and *pol/vif* Genes

Haruyo MORI^{*1}, Yoko KOJIMA^{*1}, Takuya KAWAHATA^{*1}, Motoo MATSUURA^{*2}, Kenji UNO^{*3}, Mitsuru KONISHI^{*3} and Jun KOMANO^{*4}

AIDS, 29, 1717-1719 (2015)

2011～2012 年にかけて、当所における HIV 検査検体の中に大阪府南部を中心とした、著しく高いウイルス量と急激な CD4 細胞数の低下を特徴とする 7 例の感染初期症例の集積を認めた。うち 4 例はすでに抗 HIV 薬による治療を開始しており、その中には抗体陽転までに 8 ヶ月以上を要した症例も認められた。

血清検体中のウイルス RNA について、HIV-1 *gag*、*pol*、*env* 領域をシークエンスした結果、感染初期例群に見られる HIV-1 は全例ともサブタイプ B、CCR5 指向性で、いずれの領域においても一つの遺伝的クラスターを形成し、遺伝学的にきわめて近縁なウイルス集団であることが示された。

gag-pol 領域の塩基配列を詳細に解析した結果、このクラスターに属する HIV-1 は特徴的な 5 アミノ酸のリピー挿入変異が *p6^{gag/pol}* に認められた。また、インテグラーゼのストップコドンが T→C 置換によりグルタミン(Q)をコードするコドンに変異しており、そのためインテグラーゼの C 末端に 4 アミノ酸が付加されている可能性が示唆された。これら特徴的な変異を有する HIV-1 はこれまでにほとんど報告がなく、この新型変異 HIV-1 の感染が急速な病期進行に関わっていることが懸念される。

*1 大阪府立公衆衛生研究所

*2 堺市立総合医療センター

*3 奈良県立医科大学

*4 名古屋医療センター

病期進行が早い感染初期 HIV-1 症例の一群において *p6^{gag/pol}* と *pol/vif* に新規の変異を有する HIV-1 が検出された

Characteristics of Transmitted Drug-Resistant HIV-1 in Recently Infected Treatment-Naïve Patients in Japan

Junko HATTORI^{*1}, Teiichiro SHIINO^{*2}, Hiroyuki GATANAGA^{*3}, Haruyo MORI^{*4}, Rumi MINAMI^{*5}, Kazue UCHIDA^{*6}, Kenji SADAMASU^{*7}, Makiko KONDO^{*8} and Wataru SUGIURA^{*1}

J Acquir Immune Defic Syndr, 71, 367-373 (2016)

2007-2012 年の新規 HIV 診断症例 3904 例における薬剤耐性変異の保有状況を調査した結果、9.1%において耐性関連変異が検出された。CD4 細胞数が>50 個/ μ L 以上、ウイルス量が>1000 コピー/mL 以上であった 1403 例のうち、468 例 (33.4%) が BED アッセイにより感染初期（感染後約 6 ヶ月以内）と診断された。感染初期症例の割合は男性、日本人、MSM で有意に高かった。薬剤耐性変異の検出率は、感染初期症例と慢性感染期症例の間で有意な差は認められなかった。M46I/L 変異と T215 リバータント変異はどちらのグループでも検出された。さらに、K103N と D30N/N88D を有する株は、系統樹でそれぞれクラスターを形成した。

*1 独立行政法人国立病院機構名古屋医療センター

*2 国立感染症研究所

*3 独立行政法人国立国際医療研究センター

*4 大阪府立公衆衛生研究所

*5 独立行政法人国立病院機構九州医療センター

*6 埼玉県衛生研究所

*7 東京都健康安全研究センター

*8 神奈川県衛生研究所

日本の未治療 HIV-1 感染初期症例における薬剤耐性変異の解析

性感染症クリニック及び産科病院における口腔内性感染症に関する検体検査と性行動アンケート調査

白井千香^{*1}、古林敬一^{*2}、川畑拓也^{*3}、吉田弘之^{*4}、
荒川創一^{*4}

日本性感染症学会誌、Vol.26, No.1

「性感染症に関する特定感染症予防指針」に注意喚起されている、口腔を介した性的接触による感染について、性感染症のリスクが高いと考えられる性産業従事者（CSW）や男性同性間性的接触者（MSM）および妊婦を対象に、うがい液による *Chlamydia trachomatis*(CT)および *Neisseria gonorrhoeae* (NG) の核酸増幅検査（TMA・SDA・リアルタイム PCR）と性行動アンケート調査を行った。うがい液検体提出協力者は計 162 人で、CSW 女性 77 人、MSM 35 人、妊婦 50 人であった。うがい液検査の結果、リアルタイム PCR で CT 陽性は 4 人（CSW 3、妊婦 1）、NG 陽性は 3 人（CSW 1、MSM 2）であった。性行動アンケートでは回答者の約 9 割が口腔性交を経験していた。エイズと性器クラミジアの名前は 9 割以上が知っており、「無症状でも感染する」「予防にはコンドームが有効」と答えていたが、感染予防のために「オーラルセックスを含めて常時コンドームを使う」のは男女とも 1 割に満たなかった。感染予防の知識があっても予防行動としてのコンドーム使用は日常的でないことがわかった。口腔内の性感染症の実態把握と効果的な予防方法についてさらなる検討が必要である。

Identification of Novel Recombinant Forms of Hepatitis B Virus Generated from Genotypes Ae and G in HIV-1-Positive Japanese Men Who Have Sex with Men.

Y. KOJIMA^{*1}, T. KAWAHATA^{*1}, H. MORI^{*1}, K. FURUBAYASHI^{*2}, Y. TANIGUCHI^{*3}, I. ITODA^{*4} and J. KOMANO^{*1,5}

AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES,
31(7), 760-767 (2015)

2006～2013 年に陽性が判明した 817 例の新規 HIV 感染者の 59 例(7.2%)に HBs 抗原陽性を認めた。HBs 抗原陽性例の中で解析可能だった 57 例のうち、70.2% (40/57 例)はジェノタイプ Ae であった。また、10.5% (6/57 例)は世界的にも報告の少ないジェノタイプ G であった。興味深いことに、ジェノタイプ G の 6 例のうち、ゲノム全塩基配列の解析ができた 5 例すべてが新規 Ae/G リコンビナントであった。組換えパターンは 2 通りであった。全症例でジェノタイプ Ae および Ae/G リコンビナント特異的 PCR が陽性で、ジェノタイプ G 特異的 PCR は陰性であった。以上の結果から、感染者は当初から Ae および Ae/G リコンビナントに共感染しており、それぞれ独自に Ae と G の間で組換えが起こったのではないと推測された。これら 5 症例の肝機能マーカーは正常あるいは軽度の上昇であった。HBV 感染症はジェノタイプによって臨床経過、インターフェロンによる治療効果、劇症化率などが異なる事が報告されている。今後は HBV ジェノタイプの動向を把握するだけでなく、新規 Ae/G リコンビナントウイルスが病態に与える影響を調査する必要があると思われる。

^{*1} 神戸市保健福祉局

^{*2} そねざき古林診療所

^{*3} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*4} 神戸大学医学部附属病院感染制御部

Laboratory Testing and a Sexual Behavior Questionnaire on Oral Infections
Distributed in an STI Clinic and Maternity Hospital

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 ウイルス課

^{*2} そねざき古林診療所

^{*3} 太融寺町谷口医院

^{*4} しらかば診療所

^{*5} 国立病院機構 名古屋医療センター

日本人 HIV 感染者における新たな組換え B 型肝炎ウイルスの発見

Development of a Rapid and Simple Immunochromatographic Assay to Identify *Vibrio parahaemolyticus*

J. SAKATA^{*1}, K. KAWATSU^{*1}, T. IWASAKI^{*2},
and Y. KUMEDA^{*1}

J. Microbiol. Meth., 116, 23–29 (2015)

これまでの研究において、我々は、腸炎ビブリオの F₀F₁-ATP 合成酵素 δ サブユニットに対するモノクローナル抗体 (VP34 抗体) を作出し、VP34 抗体が ⁴⁷LLTSSFS⁵⁴ を認識することを明らかにした。そこで本研究では、F₀F₁-ATP 合成酵素 δ サブユニット上の VP34 抗体のエピトープとは異なる部位を認識するモノクローナル抗体 (VP109 抗体) を作出し、次いで、この抗体と VP34 抗体を用いて、「サンドイッチタイプの検出系であるイムノクロマト法による腸炎ビブリオ迅速同定法 (VP-イムノクロマト法)」を開発した。

特異性を検証した結果、VP-イムノクロマト法は試験に供した腸炎ビブリオ 124 株全てに陽性反応を示したが、腸炎ビブリオ以外の 62 菌種 94 株に対しては、全て陰性反応を示した。

次にペプチドアレイ法により VP109 抗体のエピトープ解析を実施した結果、本抗体は F₀F₁-ATP 合成酵素 δ サブユニット上の ¹⁶FDFAVD²¹ を認識することが判明した。さらに全菌種を対象にアミノ酸配列相同性検索を行った結果、VP34 抗体及び VP109 抗体のエピトープのアミノ酸配列の両方を保有する菌種は腸炎ビブリオのみであった。したがって、本法は腸炎ビブリオに対して非常に高い特異性を有していると考えられた。

VP-イムノクロマト法は、同定に要する時間は 30 分程度で、特別な機器も必要としないことから、腸炎ビブリオの迅速かつ簡便な同定法として有用であると考えられた。

Evaluation of an Immunochromatographic Assay for Direct Identification of Thermostable Direct Hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* Colonies on Selective Agar Plates

K. KAWATSU^{*1}, J. SAKATA^{*1}, T. YONEKITA^{*2},
and Y. KUMEDA^{*1}

J. Microbiol. Meth., 119, 4–6 (2015)

腸炎ビブリオによる食中毒は、主として本菌に汚染された魚介類の摂食により発生するため、魚介類を生食する食習慣を持つ我が国においては、非常に重要な細菌性食中毒である。しかし、全ての腸炎ビブリオが本食中毒を引き起こすわけではない。ほとんどの場合、耐熱性溶血毒 (TDH) を産生する腸炎ビブリオが本食中毒の原因となる。従って、TDH が腸炎ビブリオの主要な病原マーカーとみなされている。

環境材料や患者便から腸炎ビブリオを検出する場合、従来の細菌培養法では、分離された腸炎ビブリオが病原株 (TDH 産生株) であるかどうかを確定するまでに数日間を必要とし、また、多数の検体を取り扱う際には、操作が煩雑になり、多くの手間や労力を必要とした。

そこで、この問題を解決するために、我々は、以前に開発した TDH 検出用イムノクロマト (NH IC TDH) を用いて、選択分離培地 (TCBS 寒天培地) 上の TDH 産生腸炎ビブリオコロニーを直接同定することが可能であるかを評価した。評価には、*tdh* 保有株 189 株、*tdh* 非保有株 41 株を使用した。その結果、NH IC TDH アッセイは、*tdh* の存在と比較して、100% の特異性と 100% の検出感度を示した。

本法を用いれば、分離された腸炎ビブリオが病原株 (TDH 産生株) であるかを、選択分離培地から直接、20 分程度の時間で判定できるため、腸炎ビブリオ食中毒の診断や原因食品の究明の迅速化に貢献できると考えられた。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*2} 大阪府立大学 生命環境科学科

腸炎ビブリオの迅速かつ簡便な同定法 (イムノクロマト法) の開発

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*2} 日本ハム株式会社 中央研究所

選択分離培地上の TDH 産生腸炎ビブリオコロニーを直接同定する際のイムノクロマトアッセイの評価

Multiplex Real-Time PCR Assays for Screening of Shiga Toxin 1 and 2 Genes, Including All Known Subtypes, and *Escherichia coli* O26-, O111-, and O157-Specific Genes in Beef and Sprout Enrichment Cultures

T. HARADA^{*1}, A. IGUCHI^{*2}, S. IYODA^{*3}, K. SETO^{*1}, M. TAGUCHI^{*1} and Y. KUMEDA^{*1}

J. Food Prot., 78, 1800-1811 (2015)

【目的】複数の志賀毒素(Stx)サブタイプを網羅的かつ定量的にスクリーニングするためのリアルタイムPCR法の確立を目的とした。さらに、国内で患者から分離される志賀毒素産生性大腸菌(STEC)の主要 O 抗原型である O26、O111、O157 を対象とした定量性の高いリアルタイムPCR法の確立を目指した。【方法】Stx1 および Stx2 サブタイプ遺伝子 (Mixture A)、O26 および O157 の O 抗原特異的遺伝子 (Mixture B)、O111 の O 抗原特異的遺伝子およびインターナルコントロール (Mixture C) をそれぞれ標的とする 3 組の multiplex リアルタイム PCR 法を用いた。Stx サブタイプの陽性対照株および大阪府内の分離株等を用いて、各方法の特異性と定量性を検討した。さらに、食品検査での有用性を検証するため、10 株の STEC と牛肉およびスプラウト野菜の mEC 培養液を用いた接種試験を実施し、定量性を確認した。【結果および考察】3 組の multiplex リアルタイム PCR 法について、STEC および non-STEC 株を供試した結果、高い特異性と定量性が確認された。また、Mixture B と C は、O 抗原標準大腸菌株を用いて当該 O 抗原以外に非特異反応がないことを確認した。食品培養液への接種試験では、すべての検討で高い定量性が確認され、検出限界は約 10^3 - 10^4 CFU/ml であった。今回の方法は、すべての Stx サブタイプと O26、O111、O157 を定量的にスクリーニングできるため、STEC 食中毒検査の効率化に有用であると考えられた。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

*2 宮崎大学

*3 国立感染症研究所

食品検査においてすべての志賀毒素サブタイプ遺伝子と志賀毒素産生性大腸菌 O26、O111、O157 をスクリーニングするためのリアルタイムPCR法の確立

No Crucial Amino Acid Changes in the Predicted Histo Blood Group Antigen-binding Sites of Norovirus Genotype GII.4 Capsid between Non-secretors and Secretors Origin might Suggest an Alternative Route of Infection or Existence of Coincidental Molecules

T. YODA^{*1}, Y. SUZUKI^{*2}, I. AOYAMA^{*1}, K. YAMAZAKI^{*3}, S. NAKATA^{*4} and K. TAKAHASHI^{*5}

J. Med. Microbiol., 64, 1544-1547 (2015)

ノロウイルスに対する感染のしやすさは、宿主の分泌型、非分泌型とウイルスの遺伝子型で異なるといわれている。分泌型は、血液型抗原を消化管上皮細胞と分泌液中(唾液、胃液など)に発現するが、非分泌型は発現しない。小児の急性胃腸炎患者から採取した糞便と口腔上皮細胞を材料として、ノロウイルス遺伝子型と宿主の分泌型、非分泌型を調査した。その結果、主要な遺伝子型(GII.2, GII.3, GII.6)と比較し、GII.4 が、分泌型に感染しやすい事が分かった。さらに非分泌型患者由来 GII.4 の 2 株についてキャプシッドのアミノ酸配列を分泌型患者由来株と比較すると、2 株に共通の変異はなく、血液型抗原やαフコースへの結合部位にも決定的な変異は存在しなかった。インビトロで作製されたヒトモノクローナル抗体に認識される特異的なエピトープ(モノクローナル抗体を作用させると糖鎖への結合が阻害される)も比較したが、決定的な差異はなかった。この事は、GII.4 のノロウイルスの感染には別の感染経路あるいは、別分子が存在することを示唆しているのかもしれない。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

*2 人獣共通感染症リサーチセンター

*3 (株) 富士微生物研究所

*4 中田小児科

*5 国際医療福祉大学病院

非分泌型の患者から検出されたノロウイルス遺伝子型 GII.4 のキャプシッドの解析

Characterization of Specific Alleles in InlA and PrfA of
Listeria monocytogenes Isolated from Foods in Osaka, Japan
and Their Ability to Invade Caco-2 Cells

M. KANKI *, H. NARUSE*, M. TAGUCHI* and Y.
KUMEDA*

Int. J. Food Microbiol., 211, 18–22 (2015)

Listeria monocytogenes は表面タンパク質であるインターナリン A (InlA) を発現することにより ヒト腸管上皮細胞へ侵入し、重篤な食品由来感染症を引き起こす。食品由来 114 株について *inlA* の塩基配列を解析した結果、中途終止コドン (PMSC) が 29 株で、9 塩基欠損 (aa 738 to 740) が 6 株で見つかった。PMSC が存在する *inlA* を保有する株は、Caco-2 細胞への侵襲能が正常株より有意に低かった ($P < 0.01$) が、9 塩基欠損 *inlA* 保有株は正常株と比較して侵襲能に差は見られなかった ($P > 0.05$)。病原因子を正に制御する positive regulatory factor A (PrfA) の塩基配列を解析した結果、鶏肉由来血清型 1/2a である 7 株で終止コドンを含む 712 番目から 716 番目の 5 塩基欠損が見られた。終止コドン欠損 *prfA* 保有株は 30℃での培養後は正常株と同程度の細胞侵襲性がみられた ($P > 0.05$)が、20℃での培養後では正常株より有意に高い細胞侵襲性が見られた ($P < 0.01$)。

Dissemination of Extended-Spectrum β -
Lactamase- and AmpC β -Lactamase-Producing
Escherichia coli within the Food Distribution
System of Ho Chi Minh City, Vietnam

P. D. NGUYEN*¹, D. T. A. NGUYEN*¹, H. T. LE *¹, D. N.
M. TRAN*¹, P. T. NGO*¹, C. V. DANG*¹, T. KAWAI*², M.
KANKI*², R. KAWAHARA*², M. JINNAI*², S. YONOGI*², Y.
HIRAI*², Y. YAMAMOTO*^{2,3}, Y. KUMEDA*²

Biomed Res. Int., Article ID 8182096, 9 pages (2016)

ベトナムにおける薬剤耐性菌発生機構の解明を目的とする研究プロジェクトの一環で、2012 年 10 月から 2014 年 3 月にかけて、ホーチミン市の食材流通過程における基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) と pAmpC β -ラクタマーゼを産生する大腸菌の汚染状況を調査した。ホーチミン市内にある食肉処理場、食鳥処理場、卸売市場、およびスーパーマーケットで収集した鶏肉 82 検体、豚肉 92 検体、牛肉 74 検体、魚介類 82 検体について、ESBL/pAmpC 産生大腸菌の分離を試みた結果、合計 330 検体中、鶏肉 76/82 (92.7%)、豚肉 32/96 (34.8%)、牛肉 18/74 (34.3%)、魚介類 24/82 (29.3%) が陽性であり、鶏肉の検出率が非常に高かった。豚肉と牛肉については、食肉処理場での検出率はそれぞれ 22.0%と 0%であったが、スーパーマーケットでは 50.0%、40.9%と有意に高い結果となったことから、流通段階での不衛生な食肉取扱いが ESBL/pAmpC 産生大腸菌の拡散を助長していることが示唆された。食品由来 ESBL/pAmpC 産生大腸菌 342 株の CTX-M グループ型と pAmpC グループ型を検討した結果、CTX-M-9, CTX-M-1, CIT グループが多かった。ベトナムの食品で pAmpC の汚染率を報告するのはこの論文が初めてである。また、薬剤耐性を調べた結果、6 剤以上に耐性の菌株が 80.7%を占め、多剤耐性率が非常に高いことが明らかになった。特に、シプロフロキサシン (80.5%) とホスミシン (50.8%) に対する高い耐性率が特徴的であった。

* 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

大阪府内で収集したリスティア・モノサイトゲネス食品由来株の InlA および PrfA 表現型の特徴と Caco-2 細胞への侵襲能力について

*¹ ホーチミン市国立衛生研究所

*² 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

*³ 大阪大学グローバルコラボレーションセンター

ホーチミン市の食品流通過程における ESBL/AmpC 産生大腸菌の汚染状況

Characterization of Third-generation Cephalosporin-resistant Shiga Toxin-producing Strains of *Escherichia coli* O157:H7 in Japan

R. KAWAHARA^{*1}, K. SETO^{*1}, M. TAGUCHI^{*1}, C. NAKAJIMA^{*2}, Y. KUMEDA^{*1}, and Y. SUZUKI^{*2}

J. Clin. Microbiol., 53, 3035-3038, (2015)

我々は大阪府内で 1996～2011 年に分離された腸管出血性大腸菌 O157 から、7 株の第三世代セファロスポリン耐性株を見いだした。

これらの株はカルバペネム系を除く、ペニシリン系、セファロスポリン系、モノバクタム系すべての β -ラクタム系薬剤に耐性で、さらに ESBL 確認試験で陰性、ボロン酸阻害試験で陽性を示したことから、AmpC β -ラクタマーゼ産生株であることが示唆された。PCR および DNA シーケンシングを用いた遺伝学的解析から、いずれの株からも AmpC β -ラクタマーゼの一種である *bla*_{CMY-2} が検出された。さらに分子疫学的解析としてパルスフィールド電気泳動および IS-typing を行ったところ、同一家族内の 3 株を除き、菌株間で関連性はないことが明らかとなった。一方で、各菌株のプラスミドの解析の結果、*bla*_{CMY-2} を含むプラスミドは、1 株を除き、同一のレプリコンタイプかつプラスミド MLST 型であった。

これらの結果から、これらの第三世代セファロスポリン耐性 O157 株は、同一株が広がったものではなく、同一～類似の *bla*_{CMY-2}-プラスミドの獲得によって出現したことが示唆された。今後、こういったプラスミドを持つ腸内細菌の研究およびサーベイランスが重要であると考えられた。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*2} 北海道大学人獣共通感染症リサーチセンター

日本で分離された第三世代セファロスポリン耐性腸管出血性大腸菌 O157:H7 の解析

Successful Control of an Outbreak of GES-5 Extended-spectrum β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in a Long-term Care Facility in Japan

A. KANAYAMA^{*1}, R. KAWAHARA^{*2}, T. YAMAGISHI^{*3}, K. GOTO^{*4}, Y. KOBARU^{*4}, M. TAKANO^{*5}, K. MORISADA^{*5}, A. UKIMURA^{*6}, F. KAWANISHI^{*6}, A. TABUCHI^{*1}, T. MATSUI^{*3}, and K. OISHI^{*3}

J. Hosp. Infect., 93, 35-41, (2016)

長期ケア施設 (LTCF) における多剤耐性緑膿菌 (MDRP) によるアウトブレイクについての報告は少ない。我々は、2013 年 1 月から 2014 年 1 月に LTCF で発生したアウトブレイク事例について、記述的分析、症例対照研究、および微生物学的分析を実施したので報告する。

特定された症例計 23 例のうち、16 例が喀痰より MDRP が検出された。医療従事者の手指消毒において、口腔ケア、創傷ケアおよび性器ケアで不備があり、さらに経鼻胃管および酸素マスクの使用がリスク要因となった可能性がある。また、口腔内洗浄機などのデバイス、洗浄用ボトルや軟膏で消毒不良があり、それらの共有も MDRP 感染が拡大した要因であると考えられた。MDRP 分離株 11 株について、パルスフィールドゲル電気泳動を行ったところ、これらは同一か極めて近縁であり、いずれもカルバペネマーゼの一つである *bla*_{GES-5} を保有していることが明らかになった。

これらの分析結果にもとづき、近隣の病院および保健所、地方衛生研究所、国立感染症研究所の支援により感染制御策が強化され、2014 年 1 月以降、1 年間にわたり新たな症例は発生しておらず、本アウトブレイクが終息したことが確認された。

^{*1} 国立感染症研究所実地疫学専門家養成コース

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 細菌課

^{*3} 国立感染症研究所感染症疫学センター

^{*4} 新生病院 ^{*5} 高槻市保健所

^{*6} 大阪医科大学付属病院感染対策室

日本の長期ケア施設における GES-5 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生緑膿菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) によるアウトブレイクの制御

Identification and Characterization of Oxidative
Metabolites of 1-Chloropyrene

K. KAKIMOTO^{*1}, H. NAGAYOSHI^{*1}, N. INAZUMI^{*2},
A. TANI^{*2}, Y. KONISHI^{*1}, K. KAJIMURA^{*1},
T. OHURA^{*3}, T. NAKANO^{*2}, N. TANG^{*4},
K. HAYAKAWA^{*4} and A. TORIBA^{*4}

Chem. Res. Toxicol., 28, 1728-1736 (2015)

塩素化多環芳香族炭化水素(CiPAH)は PAH 同様、焼却炉や自動車排ガス等の燃焼由来や食品の加熱等により生成し、また大気中や干潟等で二次的に生成する。大気中主要 CiPAH である、Cl-Pyrene についてヒトにおける代謝挙動を解明するために、AhR に依存し誘導を受ける第 I 相代謝酵素 (P4501A1、1A2、及び 1B1) を用いた *in vitro* 実験を行い代謝物の探索を行った。その結果、3 つの主要代謝物の存在を確認し、それらが 3Cl-pyren-1-ol、6Cl-pyren-1-ol、8Cl-pyren-1-ol であることを同定した。また Cl-Pyrene は CYP1A1、1A2、1B1 酵素の中で 1A1 で最も代謝生成されやすく、各種酵素によって 3 種の代謝化合物の生成割合に差が生じることがわかった。また代謝物の AhR 結合能を評価した結果 Cl-Pyrene と同様に AhR 結合能を保持していることが判明した。このことは Cl-Pyrene が AhR に結合し誘導した酵素により代謝を受けた後にもその代謝物により AhR が活性化を受け続ける可能性が示された。持続する AhR の活性化は突然変異原性、発がん性、免疫系の異常等ヒトへの有害作用を引き起こすことが指摘されていることから、今後、第 II 相反応を含めた代謝機構の更なる解明等が必要と考えられる。

大阪府 7 市の小学校給食における
食物アレルギー対応に関する調査

清田恭平^{*1}, 竹元晶子^{*2}, 岡島沙織^{*3}, 森野静香^{*4},
梶井訓^{*4}, 佐久間淳子^{*4}, 吉光真人^{*1}, 阿久津和彦^{*1},
梶村計志^{*1}

食品衛生学雑誌, 56, 151-156 (2015)

食物アレルギーを有する児童数は増加しており、学校給食におけるアレルギー物質を含む食品の誤食や混入の防止対策がより求められている。今回、大阪府東ブロック管内 7 市において、小学校給食における食物アレルギー対応の実態を明らかにするために調査を行った。アレルギー物質を含む食品の除去食は、5 市で提供されており、このうち 4 市では、除去食とその調理器具の検査で卵の混入はすべて認められなかった。調査した全市では、一定水準の食物アレルギー対応が実施されていたが、その対応マニュアル策定の状況から、各市間において食物アレルギー対応の実態に差異があることが明らかになった。今後、各市の事情を考慮したマニュアル策定の促進が必要であると考えられる。

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

^{*2} 大阪大学

^{*3} 名城大学

^{*4} 金沢大学

1-クロロピレンの酸化的代謝物の同定及び特性評価

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

^{*2}大阪府食品衛生監視員協議会中ブロック

^{*3}大阪府食品衛生監視員協議会北ブロック

^{*4}大阪府食品衛生監視員協議会北ブロック

A Survey of School Lunch Provision for Elementary School Students with Food Allergy in Seven Cities of Osaka Prefecture

Development of Sandwich ELISA for Quantification of the
Orange Allergen Profilin (Cit s 2)

K. KIYOTA^{*1}, K. KAWATSU^{*2}, J. SAKATA^{*2},
M. YOSHIMITSU^{*1}, K. AKUTSU^{*1} and K. KAJIMURA^{*1}

Food Agric. Immunol., 27, 128-137 (2016)

オレンジは、人によってアレルギー反応を引き起こすことがある。これまで不明であった、オレンジの主要アレルゲンであるプロフィリン (Cit s 2) 濃度を明らかにすることは、アレルギーの発症予防のために有用である。本研究では、ネーブルオレンジと柑橘類果物 12 品種において、プロフィリン濃度を測定するためにモノクローナル抗体およびポリクローナル抗体の組み合わせを用いたサンドイッチ ELISA (酵素免疫測定法) を開発した。

ネーブルオレンジのプロフィリン濃度は、果肉と果皮でそれぞれ $1.81 \pm 0.74 \mu\text{g/g}$ 、 $1.19 \pm 0.87 \mu\text{g/g}$ であり、他の柑橘類果物においても果肉中のプロフィリン濃度が高い傾向を示した。

これらの結果から、プロフィリン含有量の低いオレンジ個体や部位を選択することによって、オレンジアレルギー患者の発症リスクを低減した加工品の生産に役立つことが考えられる。

Trends in the Enantiomeric Composition of Polychlorinated
Biphenyl Atropisomers in Human Breast Milk

Y. KONISHI^{*1}, K. KAKIMOTO^{*1}, H. NAGAYOSHI^{*1} and
T. NAKANO^{*2}

Environ. Sci. Pollut. Res. Int., 23, 2027-32 (2016)

PCBs には 209 種の Congener が存在するが、そのうち 19 種はキラルであり鏡像異性体 (エナンチオマー) を有する。この中で PCB #183 は母乳、食品ともに最も高濃度で検出されるキラル性 PCB Congener である。エナンチオマーには左旋性 (-) と右旋性 (+) があり、テクニカルはラセミ体 (1 : 1, Enantiomer Fraction (EF) = 0.5) で存在する。エナンチオマーは物理的性質 (密度、融点、沸点、屈折率、熱伝導度等) が全く同じだが、生体内では代謝酵素の影響を受けるため、挙動や生理活性が大きく異なる。本研究では保存乳脂肪 (1973–2008 年) を用いて PCB #183 (2,2',3,4,4',5',6-hepta CB) のエナンチオマー別分析を行い、EF 値の経年推移を明らかにするとともに、Total diet study (TDS) を用いて食品摂取との関係を考察した。食品 (魚介類) 中の PCB #183 濃度は経年的に緩やかに減少したが、EF 値はほとんど変化していない。一方、母乳中 #183 濃度は経年的に減少しているにもかかわらず、EF 値は上昇していた。このことは、ヒト体内では、(-)-PCB-183) 方が (+)-PCB-183 よりも代謝されやすいことを示す。すなわち、魚では PCB #183 に対して EF 値を変えるほどのキラル選択的代謝は起こらないが、ヒトではキラル選択的蓄積があると推察される。

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

^{*2}大阪府立公衆衛生研究所 感染症部

オレンジアレルゲンであるプロフィリン (Cit s 2) の定量法の開発

^{*1}大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

^{*2}大阪大学 環境安全研究管理センター

母乳中のポリ塩化ビフェニル鏡像体組成の推移

汎用マトリックス添加標準溶液を活用した
野菜類および果実類中の
残留農薬一斉分析法の妥当性評価

福井直樹*, 高取聡*, 山口聡子*, 北川陽子*,
吉光真人*, 小阪田正和*, 梶村計志*, 尾花裕孝*

食品衛生学雑誌, 56, 178-184 (2015)

GC-MS/MS を用いた残留農薬の一斉分析においては、マトリックス効果を補正するため、マトリックスマッチング法が多用される。しかし、多種類の試料の分析には、その種類ごとにマトリックスマッチング標準溶液を調製する必要があり煩雑で時間を要する。

そこでマトリックス効果を補正し、かつマトリックスマッチング標準溶液に代用可能な、多種類の試料に共用できる標準溶液(汎用マトリックス添加標準溶液)を、ポリエチレングリコール、野菜果実ジュースおよびトリフェニルりん酸を活用し考案した。

次に、ばれいしょ、ほうれんそうおよびりんごに 168 農薬を添加（添加濃度：0.010 および 0.050 µg/g）し、マトリックスマッチング法および汎用マトリックス添加標準溶液を用いた定量法（PEG-VFJm 併用法）の双方で妥当性評価を実施した。

これら 3 試料において、マトリックスマッチング法で目標値をみたした農薬数は 144～158 であり、PEG-VFJm 併用法では 129～149 であった。

汎用マトリックス添加標準溶液を活用すれば、迅速で効率的な分析が実施可能であることが示唆された。

貝 9 種類の下痢性貝毒分析法の妥当性評価

山口瑞香*, 山口貴弘*, 柿本健作*, 永吉晴奈*,
起橋雅浩*, 梶村計志*

食品衛生学雑誌, 57, 19-22 (2016)

貝類中の下痢性貝毒であるオカダ酸、ジノフィシストキシン-1 およびジノフィシストキシン-2 の分析法を検討し、厚生労働省通知の妥当性確認の目標値を満たしているかを確認した。通知別紙 2 オカダ酸群分析操作例を参考にしてヘキサン分配と ODS カラムによる精製を HLB カラムによる精製に変更し、マトリックス添加標準溶液にて定量を行った。貝類 9 種類を用いて妥当性評価を実施した結果、真度が 79～101%、併行精度が 12%以下、室内精度が 16%以下であり、目標値を満たしていることが確認できた。

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

Validation Study on a Multi-residue Method for Determination of Pesticide Residues in Vegetables and Fruits by Using General Matrix Standard Solutions

*大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

Validation Study for Analytical Method of Diarrhetic Shellfish Poisons in 9 Kinds of Shellfish

Identification of analogs of LY2183240 and the LY2183240 2'-isomer in herbal products

A. ASADA*, T. DOI*, A. TAKEDA*, T. TAGAMI*,
M. KAWAGUCHI*, Y. SATSUKI* and Y. SAWABE*
Forensic Toxicology, 33(2), 311-320 (2015)

LY2183240 および LY2183240 2'-isomer は、内因性カンナビノイドの細胞再取込および酵素による加水分解を阻害する化合物である。これらの化合物はいわゆる危険ドラッグ（違法ドラッグ）であるハーブ製品より検出された。それと同時に、当該ハーブ製品より LY2183240 もしくは LY2183240 2'- isomer の類似体が 2 種類検出された。我々は予想化合物の化学合成、もしくは単離精製した対象成分を NMR 測定と X 線結晶構造解析に供することで、これらの類似体の同定を行った。また、それらの類似体が生成する条件についても種々検討を行った。実験の結果、LY2183240 と LY2183240 2'- isomer に共通する分解物と LY2183240 2'- isomer のみから生成される分解物が存在することを明らかにした。本結果は当該化合物の分析を行う上で重要な知見であり、また、危険ドラッグ製品中の化合物の一部が構造変化しているという一例を示したものである。これらの類似体については生体影響などの報告例は存在せず、人体に悪影響を及ぼす可能性がある。

Identification and characterization of α -PVT, α -PBT, and their bromothieryl analogs found in illicit drug products

T. DOI^{*1}, A. ASADA^{*1}, A. TAKEDA^{*1}, T. TAGAMI^{*1}, M. KATAGI^{*2}, S. MATSUTA^{*2}, H. KAMATA^{*2}, M. KAWAGUCHI^{*1}, Y. SATSUKI^{*1}, Y. SAWABE^{*1} and H. OBANA^{*1}

Forensic Toxicology, 34(1), 76-93 (2016)

最近新たなタイプの違法ドラッグ化合物として、 α -PVT のようなチオフエン型カチノン化合物の検出事例が報告された。本研究では、 α -PVT、 α -PBT および、そのブロモチエニル類似体の同定について述べる。

危険ドラッグの買い取り調査において α -PVT を検出した製品から、チオフエン環に臭素置換した α -PVT と思われるピークが確認された。その化合物は、合成した化合物との比較から、4Br- α -PVT、5Br- α -PVT 及び 4,5Br- α -PVT と確認された。また、 α -PBT を検出した検体からは、5Br- α -PBT が共に検出された。臭素化 PVT は、 α -PVT の合成原料である 1-(2-チエニル) ペンタン-1-オンを過剰に臭素化したものをピロリジン置換した場合にも確認されたことから、 α -PVT 合成の副生成物であると考えられた。

日本ではカチノン化合物の包括規制が導入されたことから、今後規制を逃れるために、 α -PVT や α -PBT のように芳香環をベンゼン以外に置き換えた類似体の検出が想定される。今回示した合成法や分析結果はチオフエン型カチノン化合物の同定に有用であると考えられる。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 薬事指導課
ハーブ製品中の LY2183240 およびその位置異性体の類似体の同定

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部

^{*2} 大阪府警科学捜査研究所

危険ドラッグ製品から検出された α -PVT、 α -PBT およびそのブロモチエニル類似体の同定

水中農薬類分析における安定同位体元素標識化合物
の有用性について

高木総吉*, 安達史恵*, 吉田仁*, 小泉義彦*,
中島孝江*, 田中榮次*, 足立伸一*

水道協会雑誌, 84 (4), 15-21 (2015)

近年、水中農薬類の分析は高い感度と精度が求められているが、厚生労働省の示す標準検査法では不十分な農薬類があるのが実情である。これらの問題点を改善するために、安定同位体元素標識化合物（ラベル化体）の有用性をアセフェートとイミノクタジンを例に評価した。

浄水と原水に目標値の 1/100 の濃度になるように各化合物を添加し、真度、相対標準偏差 (RSD) を求めた。

その結果、両化合物とも絶対検量線法で定量した場合と比べ、ラベル化体を内部標準物質として補正した方が真度、RSD とともに良好な結果となった。したがって、ラベル化体の使用による補正は有効であり、積極的に取り入れていく必要があることがわかった。

直接注入- 高速液体クロマトグラフ- タンデム型質量分
析計(LC-MS/MS) 法によるネライストキシンを指標とし
た水試料中カルタップの定量

吉田仁*, 高木総吉*, 小泉義彦*, 足立伸一*

水道協会雑誌, 84 (8), 2-7 (2015)

水試料中のカルタップ分析法として、カルタップの主要な分解生成物であるネライストキシンを直接注入 LC-MS/MS 法により定量する方法を開発した。水中でカルタップは、14 時間で 90%以上がネライストキシンに分解した。カルタップの類縁化合物であるベンスルタップとチオシクラムから、ネライストキシンは生成されなかった。したがって、水中のカルタップは、ネライストキシンとして定量できることがわかった。カルタップの目標値である 0.3 mg/L の 1/100 である 0.003 mg/L に対応するネライストキシン濃度 0.0019 mg/L で妥当性試験を実施したところ、真度、併行精度および室内精度のいずれも良好な結果が得られた。

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Application of Stable-isotope-labelled Compounds in Pesticide Analysis in
Water Sample

* 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

Determination of Cartap in Tap Water Using by Liquid Chromatography-
tandem Mass Spectrometry

行政の動き 府民の健康と生活の安全を守る
～大阪府立公衆衛生研究所～

枝川亜希子*

ビルと環境, 152, 48-51 (2015)

建築物環境衛生管理担当者のための技術誌に、当研究所衛生化学部生活環境課の業務やこれまで行ってきた環境衛生分野の調査研究について紹介する。

特定建築物に関する環境微生物調査としては、これまでに大型ビル内の給湯設備、学校や商業施設の水景施設でレジオネラ属菌生息調査を実施している。平成 26 年度に行った水景施設の調査では、培養法でのレジオネラ属菌検出率は 9.7% であった。しかし、遺伝子検査法である LAMP 法を用いた検査では 51.6% と高い検出率を示した。遺伝子検査法では、生菌だけでなく死菌も含めて陽性となることから、LAMP 法による陽性はレジオネラ属菌が存在していた痕跡を示すものと考えられる。これらの結果は、管轄する保健所を通じて調査対象施設に報告され、衛生管理を行う上での一助として役立てられている。このように、遺伝子検査を始めとする新規技術を早期に取り入れ、検査の迅速化や高度化を図ることにより、衛生行政に積極的に還元できるよう努めている。

Investigation of *Legionella* Contamination in Bath Water Samples by Culture, Amoebic Co-culture, and Real-time Quantitative PCR Methods

A. EDAGAWA^{*1}, A. KIMURA^{*1},
T. KAWABUCHI-KURATA^{T*2}, S. ADACHI^{*1},
K. FURUHATA^{*3}, and MIYAMOTO^{H*4}

Int J Environ Res Public Health., 12, 13118-13130 (2015)

レジオネラ属菌は、生きてはいるが培養できない (viable but non-culturable; VBNC) 生理状態になる菌であり、また、一部の菌種は人工培地で培養できない。そのため、培養法のみではレジオネラ汚染状況の把握は十分ではない。本研究では、レジオネラがアメーバ内で増殖することを利用したアメーバ共培養法の手法を使って、浴槽水中のレジオネラ汚染実態調査を行った。

浴槽水 68 試料について、培養法、リアルタイム PCR 法によりレジオネラの検出を行った。アメーバ共培養法は *Acanthamoeba* を使用し、得られた試料について同様にレジオネラを検出し、それぞれの検出結果の比較検討を行った。

培養法により、浴槽水は 11 試料 (16.2%)、アメーバ共培養後試料は 4 試料 (5.9%) からレジオネラを検出した。リアルタイム PCR 法により、浴槽水は 46 試料 (67.6%)、アメーバ共培養後試料は 57 試料 (83.8%) が陽性であった。アメーバ共培養法を行うことにより、30 試料 (44.1%) で 10 倍以上の菌数増加がみられた。いずれの方法でもレジオネラが検出されなかった試料は 6 試料 (8.8%) のみであった。

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

To Maintenance Health and Safety of the People of Osaka Prefecture,
Osaka Prefectural Institute of Public Health

*1 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

*2 大阪府立公衆衛生研究所 感染症部 ウイルス課

*3 麻布大学 生命・環境科学部

*4 佐賀大学 医学部

培養法、アメーバ共培養法、およびリアルタイム PCR 法を用いた浴槽水のレジオネラ汚染調査

Legionella thermalis sp. nov., Isolated from Hot Spring Water
in Tokyo, Japan.

N. ISHIZAKI^{*1}, K. SOGAWA^{*1}, H. INOUE^{*2}, K. AGATA^{*2},
A. EDAGAWA^{*3*4}, H. MIYAMOTO^{*4}, M. FUKUYAMA^{*1},
and K. FURUHATA^{*1}

Microbiol Immunol., 60, 203-208 (2016)

レジオネラ症の原因菌であるレジオネラ属菌は、温泉水など環境中に広く生息しており、現在までに 59 菌種が報告されている。我々は、温泉水からレジオネラ属菌の分離を行い、分離株の菌種の特定を行った。分離株のうち、免疫血清などで菌種の特定が出来なかった L-47 株について、16S rRNA の塩基配列について検討したところ、他のレジオネラ種とは 95.0%未満の類似度であり、既存の種には該当しなかった。そこで、種々の分類学的検討を行った結果、L-47 株は新種のレジオネラ属菌であることが判明し、*Legionella thermalis* と命名した。

集合住宅に付帯する低負荷浄化槽への間欠ばっ気運転導入について

中野 仁^{*1}, 奥村早代子^{*1}, 佐竹 哲^{*2}, 角谷和志^{*2}

浄化槽研究, 28 (1), 1-7 (2015)

集合住宅である大阪府営住宅では、入居者の高齢化にともない 1 戸当たりの居住人員が減少したり、立地条件によっては空き家率が高くなったりと、流入水量が大幅に減少している施設が多く見受けられる。そのうち、流入水量が設計水量の 3 分の 1 程度の極めて少ない 1 施設（長時間ばっ気方式の 500 人槽）を対象に、1 時間ばっ気・30 分ばっ気停止、および 1 時間ばっ気・1 時間ばっ気停止の間欠ばっ気運転を導入し、3 年間の調査を通して主に処理水の BOD と総窒素におよぼす影響を検討した。

その結果、間欠ばっ気運転を行うことにより、連続ばっ気運転時に比べ処理水の BOD や総窒素濃度の平均値と中央値が低下するなど、間欠ばっ気運転が浄化槽の機能に悪影響をおよぼすことはなく、むしろ改善効果が認められた。

今回調査した浄化槽で、連続ばっ気運転から 1 時間ばっ気・1 時間停止運転にすることにより、1 日 56.1kWh (42%) の電力消費量が削減され、これを二酸化炭素の排出量に換算すると 1 年間で約 10,500kg-CO₂ が、居住者 1 人当たり換算すると 60kg-CO₂/年の排出量の削減効果がもたらされた。

^{*1} 麻布大学 生命・環境科学部

^{*2} アクアス株式会社

^{*3} 大阪府立公衆衛生研究所 衛生化学部 生活環境課

^{*4} 佐賀大学 医学部

温泉水から分離された新種 *Legionella thermalis*

^{*1} 大阪府立公衆衛生研究所衛生化学部生活環境課

^{*2} (一財)関西環境管理技術センター環境技術部調査課

Effect of Intermittent Aeration on Power Consumption and Water Quality in the Case of Low-loading Household Johkasou

浄化槽の維持管理指導による放流水質と
河川水質の改善について

杉原敬太^{*1}，奥村早代子^{*2}，西村貴文^{*3}

生活と環境, 60, 48-50 (2015)

大阪府豊能郡豊能町で実施された市町村設置による浄化槽整備事業による環境影響を確認するため、継続的に河川調査を実施している。これまで、その河川の上流と下流の河川水質に大差ないことを確認していた。ところが、浄化槽整備地域よりも下流に位置する採水地点において大腸菌群数の増加が見られたことから、周辺を調査したところ、河川下流地点のやや上流に設置された地上設置型中型浄化槽の影響が疑われた。そのため、保健所と衛生研究所が連携し、立入調査、維持管理等の改善指導を行った結果、河川水質の改善がみられた。

^{*1} 大阪府池田保健所

^{*2} 大阪府立公衆衛生研究所

^{*3} 豊能町行下水道部

大阪府立公衆衛生研究所 研究報告
第 54 号

発行年月日	平成28年10月
編集兼	大阪府立公衆衛生研究所
発行者	所長 山本 容正
〒537-0025	大阪市東成区中道1丁目3番69号
	TEL 06-6972-1321(代)
	FAX 06-6972-2393