

CODEN : AEKEES
ISSN 0913-5146

平成30年度

尼崎市立衛生研究所報

第45号

Annual Report

of

Amagasaki City Institute of Public Health

Vol. 45 2018

尼崎市立衛生研究所

はじめに

この度、平成 30 年度における調査研究等の事業成果をまとめ、尼崎市立衛生研究所報第 45 号として発刊いたしました。ご高覧の上、皆様からご忌憚のない意見を賜れば幸いです。

尼崎市立衛生研究所は、昭和 41 年に設置され、平成 5 年に現在の地に移転して 27 年を経過しました。当所は、地域における科学的かつ技術的中核機関として市保健所、市環境部などの行政部門からの依頼検査を行い、環境行政、公衆衛生行政の科学的、技術的な役割を担って参りました。

平成から令和への改元を経て新たな時代へと心も新たに業務に取り組んでいるところです。平成最後の築城となった尼崎城が完成し、雄姿を見せています。これを機に尼崎市も観光への取り組みを加速しています。また、関西に目を向けると国際的なイベントも開催され、感染症、食中毒等の危機管理への意識も高まりました。

地方衛生研究所全国協議会が 70 周年を迎え、その意義をとどめ記念式典も開催され、各分野での研究で業績を残された方々の表彰があり、各地方衛生研究所の果たしてきた役割の大きさを改めて感じたところです。地方衛生研究所全国協議会近畿支部の研修会等事業は多彩・有意義で、当所職員の人材育成に役立っています。また、兵庫県立健康科学研究所から様々な形で研修、指導、助言をいただき、当所の技術向上に配慮いただいていることに感謝しております。

今後も分析機器の更新を適正に行い、検査技術を向上させるよう研修・研究に取り組み、市民が健康で安全・安心を実感できるまちづくりにさらに寄与してまいりたいと思いますので、どうぞご指導・ご鞭撻の程よろしくお願い申し上げます。

令和 2 年 1 月

尼崎市立衛生研究所長

宮永 恵三

目 次

I	衛生研究所の概要	1
1	沿革	3
2	施設の概要	3
3	組織と事務分掌	4
4	職員の配置	5
5	組織別職員表	6
6	主要機器	7
7	試験検査実施状況	8
8	平面図	10
II	事業概要	11
	微生物管理担当・感染症制御担当	13
	生活環境科学担当	21
III	資料	31
	・ Multiplex PCRによるブドウ球菌毒素遺伝子検出の最適化検討および実用性の評価 ——田中 雄大, 山路 昇一郎, 萩原 康裕, 神谷 恵利, 村山 隆太郎, 平垣内 雅規, 谷口 誠	33
	・ 尼崎市立衛生研究所における外部資金導入研究について ————村山 隆太郎, 平垣内 雅規, 谷口 誠, 神谷 恵利, 中井 良人, 宮永恵三	37
	・ 尼崎市における急性脳炎・脳症の原因ウイルス遺伝子の検出 ————村山 隆太郎, 平垣内 雅規, 谷口 誠	40
	・ 農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について(第八報) ———— 吉田 京矢, 番園 恵理佳, 三宅 謙, 中井 良人, 宮田 伸一	42
	・ 六価クロム測定時の亜硝酸による妨害対策について ———— 芦原 佳祐, 平田 翔子, 中井 良人	48
IV	その他	51
	・ 尼崎市立衛生研究所の設置及び管理に関する条例	53
	・ 尼崎市立衛生研究所の設置及び管理に関する条例施行規則	55
	・ 検査手数料(主なもの)	58
	・ 付近の地図	59

I 衛生研究所の概要

1 沿革

- 昭和26年10月 当所の母体である検査施設が尼崎市中央保健所試験検査室として発足
- 昭和41年12月 尼崎市立衛生研究所開設
- 4 保健所検査室の統合強化及び市内医療機関の臨床検査を主軸として開設した。(事務部門、疫学部、理化学部)
- 昭和43年 4月 臨床部発足
- 昭和45年 4月 理化学部の大気汚染自動測定部門を公害対策室へ移管
- 昭和46年 4月 公害部発足
- 理化学部から分離独立し水質汚濁防止法に基づく水質検査業務等を開始
- 昭和48年 4月 ウイルス部発足
- 昭和54年 4月 微生物部発足 (疫学部の細菌検査業務とウイルス部を合併)
- 平成 5年11月 機構改正に伴い疫学部、臨床部及び微生物部の一部を(財)尼崎健康・医療事業財団に移管するとともに部制から係制とし、公害部を環境科学係と名称変更。また、研究所全施設を市民健康開発センター5階へ移転
- 平成 7年 1月 阪神・淡路大震災により、多数の検査機器等が被害を受け、検査等業務が一時不能になる。
- 平成 7年 2月 一般依頼検査業務を再開
- 平成11年 4月 機構改正に伴い係制から担当制になる。
- 平成13年 4月 特例市に指定
- 平成18年 8月 近畿2府7県及び8市(地方衛生研究所設置市)の間で「健康危機発生時における協力に関する協定書」を締結
- 平成21年 4月 中核市に移行
- 平成28年12月 開所50周年
- 平成29年 4月 機構改正に伴い微生物管理担当、感染症制御担当、生活環境科学担当の3体制になる。

2 施設の概要

(1) 所在地

〒661-0012

尼崎市南塚口町4丁目4番8号 市民健康開発センター ハーティ21内

Tel 06(6426)6355 Fax 06(6428)2566

E-mail: ama-eisei-kenkyusyo@city.amagasaki.hyogo.jp

(2) 建物

鉄筋コンクリート6階建の5階部分

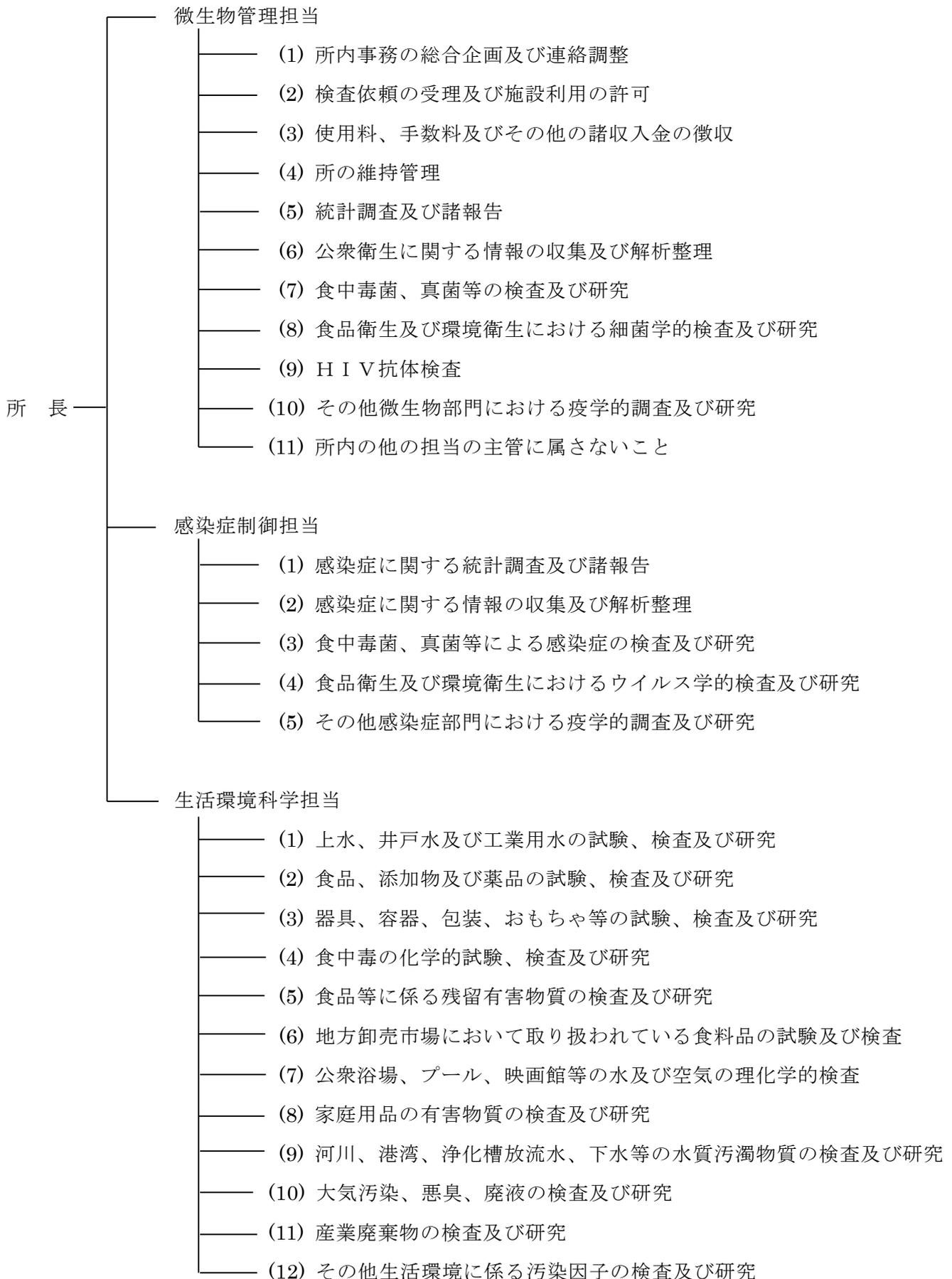
延面積 1,250 m²

*市民健康開発センター ハーティ21

敷地面積 4,796.89 m²

建築延面積 10,247.54 m²

3 組織と事務分掌（平成31年4月1日現在）



4 職員の配置 (平成31年4月1日現在)

専門等 職種等		事務職員	技術職員				合計
			農学系	理工学系	薬剤師	臨床検査技師	
所長			1				2
課長補佐						1	
微生物管理	係長			1			5
	主任						
	職員		2	1		1*	
感染症制御	係長					(1)	2
	主任						
	職員		2				
生活環境科学	係長			1			11
	主任				1		
	職員		4*	3*	2		
合計		0	9	6	3	2	20

() : 事務取扱(再掲)

* : 嘱託を含む

5 組織別職員表（平成31年4月1日現在）

職名	氏名	職種
所長 課長補佐	宮永恵三 谷口誠	環境・衛生 臨床検査技師
微生物管理担当 係長	神谷恵利 山路昇一郎 竹谷明奈 田中雄大 萩原康裕（嘱託）	環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 臨床検査技師
感染症制御担当 係長	谷口誠（事務取扱） 村山隆太郎 平垣内雅規	臨床検査技師 環境・衛生 環境・衛生
生活環境科学担当 係長 主任	中井良人 太田貴子 尾崎香織 番園恵理佳 芦原佳祐 吉田京矢 平田翔子 三宅謙 篠原紘恵 宮田伸一（嘱託） 田井孝典（嘱託）	環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生 環境・衛生

6 主要機器 (100万円以上) (平成31年4月1日現在)

品名	型式
調理台 (洗浄流し台)	ダルトンICU-7321
実験台 (中央大型)	GA-685
たな (図書室移動棚)	コンコ-移動棚 KZ、KZM
プレハブ (クリーンルーム)	日立冷熱 SC - B40TTS
プレハブ (安全実験室)	日本医化器械CH-P3-13 (ケミカルサ-ト 対策P3C)
遠心機 (高速冷却遠心機)	国産 H - 2000C、コクサ H - 9R
電気炉 (低温灰化装置)	Trapelo LTA - 302
窒素酸化物自動測定記録計	BCL-611
全有機炭素分析計 (TOC分析計)	島津TOC-V c s H
顕微鏡	オリンパスBX50、朝日光学
純水器 (超純水製造装置)	ミホアEQ-3S
自動希釈装置 (自動分注希釈ノズル装置)	富士ビ-オ FASTEC405
水質検査測定器 (重金属排出処理装置)	ダルトン MT50A - 1
粉じん流動測定器 (等速吸引装置)	岡野 ESA - 302CT - 20M
ドラフトドラットチャンバー	ダルトン DN - 101K、DS - 112K、DS - 115K(4) ダルトン DE - 271K 日立 SCV-1007EC II AB3、SCV - 1303EC II、 SCV - 1304EC II B、 日本医化器械 VH - 1300BH - 2B クリーンベンチPAU-1900
光度計 (分光)	日立 U-2810
(赤外分光)	島津 IR - 435
(原子吸光)	日立 Z - 8200、Thermo iCE3500
(マイクロプレートリーダー)	ト-ソー MPR - A4 i
試験管洗浄器	三洋MJW-8000
クロマトグラフ (液体)	HP 1090 II /M Agilent 6430A Triple Quad LC/MS
(ガス)	HP 6890 HP GC5980/MS5971A JMS Q1500、JMS Q1050 Agilent7890A GC/MS/MS、Agilent7890B GC ECD
(イオン)	島津 HIC-20ASP
酸素濃度測定器	NGK SCP - X
悪臭分析装置 (臭気濃縮装置)	島津 VPC - 1
遺伝子解析装置 (DNAシーケンサー)	ABI-3500 MLVA解析装置
温度制御機 (リアルタイムPCR装置)	ABI-7500、ABI-7500Fast
(リアルタイム濁度測定装置)	Loopamp LA-320C
(サーマルサイクラー)	ABI-Veriti
(電気泳動装置)	Agilent4200 TapeStation/G2991AA

7 試験検査実施状況(平成30年度)

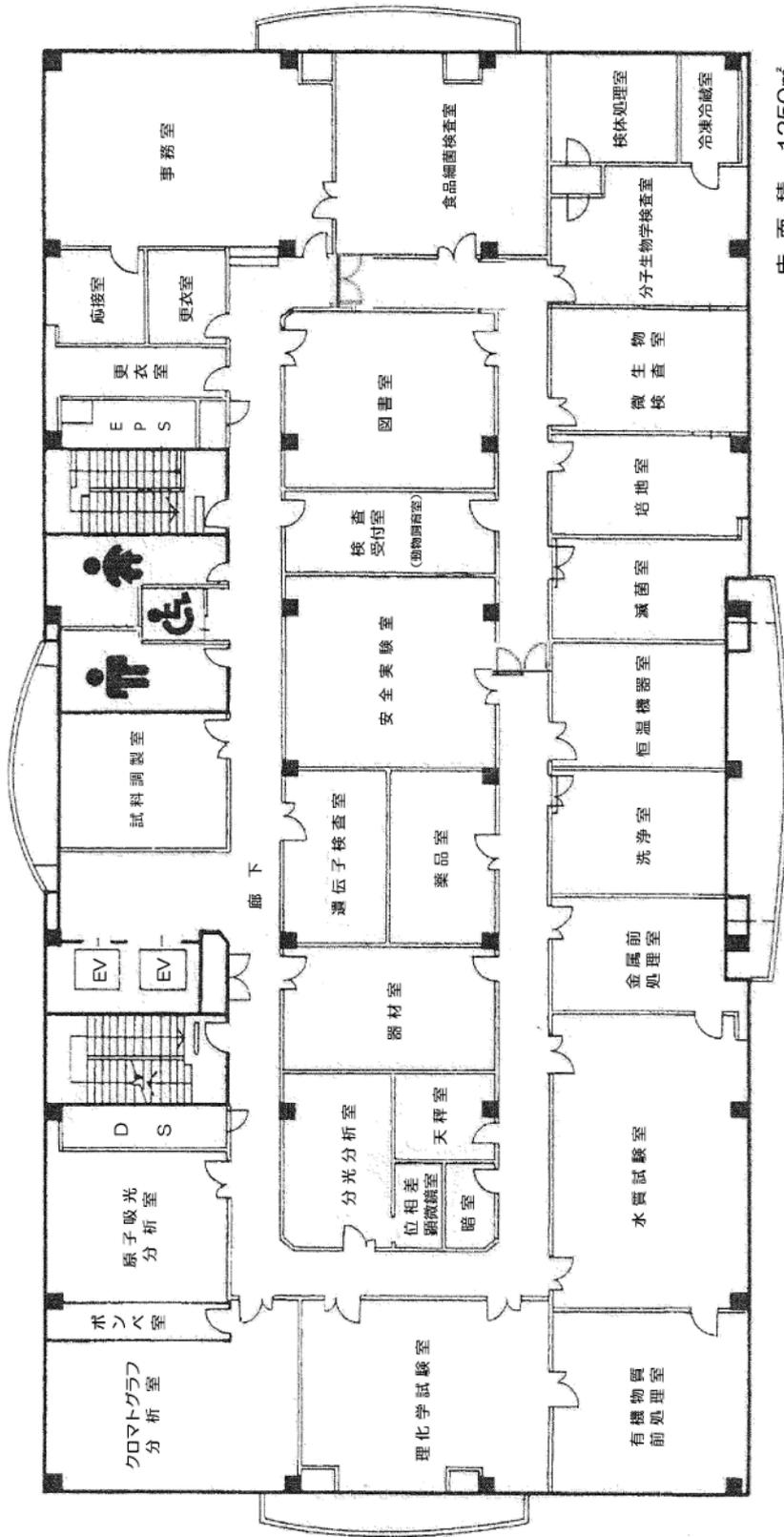
		依頼によるもの				自らの調査・研究として行うもの
		住民	保健所	保健所以外の行政機関	その他(医療機関、学校、事業所等)	
結核	分離・同定・検出					
	化学療法剤に対する耐性検査					
性病	分離・同定・検出					
	化学療法剤に対する耐性検査					
リウケイ ツルス ア・	分離・同定	ウイルス		402		13
		リケッチア				
		クラミジア・マイコプラズマ				
	抗体検査	ウイルス				
		リケッチア				
		クラミジア・マイコプラズマ				
病原微生物の動物試験						
寄生 虫・ 原虫 等	原虫					
	寄生虫					
	そ族・節足動物					
	真菌・その他					
食中 毒	病原微生物検査	細菌		34		
		ウイルス		12		
	理化学的検査					
	その他					
臨床 検査	血液検査(血液一般検査)					
	血清等検査	エイズ(HIV)検査		511		4
		HBs抗原、抗体検査				
		その他				
	生化学検査	生化学検査				
		先天性代謝異常検査				
	尿検査	尿一般				
		神経芽細胞腫				
		その他				
アレルギー(検査抗体検査・抗体検査)						
その他						
食品 検査 等	微生物学的検査			162	45	32
	理化学的検査(残留農薬・食品添加物等)			82	12	
	その他					
細菌 記 検査 外	分離・同定・検出			90		29
	核酸検査					
	抗体検査					
	化学療法剤に対する耐性検査					

* 検査件数は検体数

			依頼によるもの				自らの調査・研究として行うもの
			住民	保健所	保健所以外の行政機関	その他(医療機関、学校、事業所等)	
家庭用品等検査・医薬品検査	医薬品						
	医薬部外品						
	化粧品						
	医療用品						
	毒劇物						
	家庭用品			40			
	その他			2			
栄養関係検査							
水道等水質検査	水道原水	細菌学的検査			6		
		理化学的検査			6		
		生物的検査					
	飲料水	細菌学的検査		8	56	41	
		理化学的検査	8	8	61	32	
	利用水等(プール水等を含む)	細菌学的検査		165	54	194	3
		理化学的検査	1	59	52	136	
廃棄物関係検査	一般廃棄物	細菌学的検査					
		理化学的検査					
		生物的検査					
	産業廃棄物	細菌学的検査					
		理化学的検査			12		
		生物的検査					
環境・公害関係検査	大気検査	SO ₂ ・NO ₂ ・O _x 等					
		浮遊粒子状物質			812		
		降下煤塵			1,029		
		有害化学物質・重金属等			184		
		酸性雨			142		
		その他					
	水質検査	公共用水域			349		73
		工場・事業所排水			1,256	24	
		浄化槽放流水					
		その他	1		37	21	39
	騒音・振動						
	悪臭検査						
	土壌・底質検査				11		
	環境生物検査	藻類・プランクトン・魚介類					
		その他					
	一般室内環境						
	その他						
放射能	環境試験(雨水・空気・土壌等)				51		36
	食品						
	その他						
温泉(鉱泉)泉質検査							
その他							

* 検査件数は検体数

平面図



Ⅱ 事業概要

微生物管理担当 感染症制御担当

平成 30 年度に実施した主な行政検査業務は保健所からの依頼による食品、飲用水、プール水、浴槽水などの細菌検査、食中毒検査、感染症による有症患者とその接触者の病原菌検査、薬剤耐性菌検査等と環境保全課からの依頼による地下水、河川水、海域水の細菌検査である。

また、一般依頼検査として市民及び市内事業者等からの食品、飲用水、プール水、浴槽水などの細菌検査並びに保健所からの HIV 抗体検査を実施した。(表 1)

平成 29 年度より主に食品や水質の検査を行う微生物管理担当と、主に臨床検体の検査を行う感染症制御担当の 2 担当制となったが、統計報告については取りまとめる。

I 行政依頼検査

1 食品細菌検査

春期等食品、夏期食品、年末食品の 3 大一斉取締りと学校乳等の年間収去計画に基づき検査を実施した。

食品衛生法で規格基準が定められている食品 32 検体の検査を実施し、基準値を上回るものはなかった。(表 2)

規格基準が定められていない食品については弁当、惣菜、洋生菓子、寿司、さしみなど食中毒を起こしやすいものを検査した。また、衛生管理状況を確認するため、施設のふきとり検体を検査した。

表 1 検査件数

検査区分	行政依頼検査		一般依頼検査	
	検体数	項目数	検体数	項目数
食品細菌検査	162	996	45	129
水質細菌検査	269	520	351	645
食中毒関連検査	46	532	—	—
感染症関連検査	492	1,136	—	—
HIV 抗体検査	—	—	511	511
合計	969	3,184	907	1,285

規格基準が定められていない食品における細菌の検出状況は（表3）のとおりである。

鶏肉について実施した検査では、1検体からサルモネラ属菌、9検体からカンピロバクター属菌が検出された。サルモネラ属菌の血清型は04、カンピロバクター属菌は9検体すべてが *Campylobacter jejuni* であった。

豆腐は4検体のうち2検体からセレウス菌が検出され、すべてがエンテロトキシン保有株であった。

漬物について腸炎ビブリオの検査を実施したが、4検体すべて陰性（不検出）であった。

その他、ふきとり検体から黄色ブドウ球菌、洋生菓子から *E. coli* が検出された。最も検査検体数の多い惣菜については黄色ブドウ球菌や大腸菌は検出されなかったものの、未加熱検体（サラダ）2検体から細菌数が衛生規範で定める基準（100万以下）を越えて検出された。

表2 規格検査件数

品名	検査項目	検体	不適
牛乳	細菌数、大腸菌群	3	0
氷菓・アイスクリーム	細菌数、大腸菌群	4	0
カキ	細菌数、 <i>E. coli</i>	3	0
清涼飲料水	細菌数、大腸菌群	3	0
食肉製品	<i>E. coli</i> 、サルモネラ属菌、黄色ブドウ球菌	2	0
冷凍食品	細菌数、大腸菌群、 <i>E. coli</i>	7	0
魚肉ねり製品	大腸菌群	2	0
生食用鮮魚介類	腸炎ビブリオ	8	0
合計		32	0

表3 衛生規範等に基づく検査における細菌の検出状況

品名	検査検体数	陽性検体数					
		黄色ブドウ球菌	大腸菌	サルモネラ属菌	カンピロバクター属菌	セレウス菌	腸炎ビブリオ
惣菜(加熱)	10	0	0	-	-	-	-
惣菜(未加熱)	39	0	0	-	-	-	-
野菜加工品	3	0	0	-	-	-	-
洋生菓子	10	0	1	0	-	-	-
おにぎり・寿司	10	0	-	-	-	-	-
豆腐	4	0	-	-	-	2	-
漬物	4	0	-	-	-	-	0
鶏肉(生)	10	-	0	1	9	-	-
ふきとり検体	40	2	-	0	0	-	-
合計	130	2	1	1	9	2	0

※ - : 検査実施なし

2 水質細菌検査（表 4）

水道法に基づく水質基準に関する省令の方法に準じて上水道水質試験を 8 検体について実施した。一般細菌数、大腸菌ともに基準を超えるものはなかった。

本市における遊泳用プール水の衛生を確保する観点から厚生省生活衛生局長通知・尼崎市遊泳用プール指導要綱に基づきプール水及び採暖槽について検査を行った。また、尼崎市浴場業に関する条例に基づき浴槽水の検査を実施した。そのうち浴槽水 6 検体から *Legionella pneumophila* が検出され、血清型別では SG6 が 4 件、SG5 が 2 件であった。また、浴槽水 1 検体から *Legionella micdadei* が検出された。

河川水については本市の主要河川である庄下川、蓬川、神崎川、武庫川水系の 11 地点を 6 回（66 検体）、海域水については尼崎港などの海域 3 地点を 6 回（18 検体）採水し、大腸菌群（MPN 法）と一般細菌数について検査を実施した。さらに、環境省の平成 23 年 3 月の要測定指標の測定実施依頼により、大腸菌検査を特定酵素基質寒天培地メンブランフィルター法により同時に実施した。

公園の地下水 12 検体について大腸菌群（MPN 法）と一般細菌数の検査を実施した。

3 食中毒及び感染症検査

食中毒及び有症苦情等の原因究明等のため糞便 9 検体、ふきとり 10 検体の検査を実施した。（市内に原因施設を有するもののみ）食中毒事例の検査結果は（表 5）のとおりである。

感染症の発生届等に基づき、492 検体の臨床検体等について検査を実施した。（表 6）そのうち、陽性例は（表 7）のとおりである。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の検査については、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症等に係る試験検査の実施について（平成 29 年 3 月 28 日健感発 0328 第 4 号）に基づき、平成 29 年度より検査体制を整え、実施している。

表 4 水質細菌検査件数

検査区分	行政検査	
	検体数	項目数
上水道水	8	16
プール水	9	18
浴槽水	154	204
河川水	66	198
海域水	18	54
地下水	12	24

表5 食中毒事例検査

検査年月日	患者数	検査対象品	検査数(陽性数)	原因食品	原因物質
H30.11.30	8	有症者糞便	6 (6)	不明	<i>Campylobacter jejuni</i>
H30.12.26	4	ふきとり	5 (0)	不明	<i>Campylobacter jejuni</i> (※)
H31.3.26	3	ふきとり 有症者糞便	5 (0) 3 (2)	不明	<i>Campylobacter jejuni</i>

※ 有症者がすべて市外居住者であったため、本市では施設のふきとり検査のみ実施したが、他都市による有症者糞便検査で *Campylobacter jejuni* が検出されたもの。

表6 感染症事例

検査項目	対象者数	検体数	項目数
腸管出血性大腸菌（接触者便）	55 (0)	55	55
腸管出血性大腸菌（菌株）	6 (6)	15	216
麻疹	59 (1)	172	290
風しん	64 (22)	213	341
赤痢	1 (0)	1	1
日本脳炎	1 (0)	4	20
蚊媒介感染症 (デング熱・ウエストナイル熱・チクングニア熱・ジカ熱)	3 (2)	6	54
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌	16 (8)	26	159

()は陽性数

表7 感染症事例 陽性例 (No. 1~15)

No.	項目別 No.	検査項目	年齢 性別	発症 日	届出 日	検体	症状	発生状況	型	備考
1	1	腸管出血性大腸菌	35 M	2018 4/3	2018 4/11	菌株	腹痛	散発	O157:H7 VT2	
2	2	腸管出血性大腸菌	34 M	—	2018 6/28	菌株	無症状	散発	O157 VT2	
3	3	腸管出血性大腸菌	6 M	2018 7/13	2018 7/31	菌株	下痢・血便・腹痛	散発	O157:H7 VT1&VT2	
4	4	腸管出血性大腸菌	5 F	2018 8/11	2018 8/22	菌株	発熱・下痢・腹痛	散発	O157:H7 VT2	
5	5	腸管出血性大腸菌	18 F	2018 10/27	2018 11/7	菌株	下痢・腹痛	散発	O26:H11 VT1	
6	6	腸管出血性大腸菌	25 F	2019 3/7	2019 3/29	菌株	血便	散発	O111:HUT VT1&VT2	
7	1	麻疹・風疹	29 F	2018 11/1	2018 11/2	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹	散発	麻疹ウイルス D8	
8	1	麻疹・風疹	50 M	2018 8/20	2018 8/22	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	東京へ旅行
9	2	麻疹・風疹	28 M	2018 8/21	2018 8/24	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	東京へ旅行
10	3	麻疹・風疹	40 M	2018 10/18	2018 10/22	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	
11	4	麻疹・風疹	46 M	2018 10/26	2018 10/27	咽頭・ 尿・血液	発熱・頸部リン パ節腫脹・結膜 充血・咳・鼻汁	地域流行	風疹ウイルス 1E	東京へ旅行
12	5	麻疹・風疹	55 M	2018 11/6	2018 11/10	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹	地域流行	風疹ウイルス 1E	有症者と接 触
13	6	麻疹・風疹	27 M	2018 11/9	2018 11/10	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	有症者と接 触
14	7	麻疹・風疹	38 F	2018 11/13	2018 11/14	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・搔 痒感	家族間	風疹ウイルス 1E	有症者(兄) と接触
15	8	麻疹・風疹	37 F	2018 12/20	2018 12/21	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血・ 関節痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	東京へ旅行

表7 感染症事例 陽性例 (No. 16~27)

No.	項目別 No.	検査項目	年齢 性別	発症 日	届出 日	検体	症状	発生状況	型	備考
16	9	麻疹・風疹	44 M	2018 12/20	2018 12/25	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血・ 関節痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	有症者と接 触
17	10	麻疹・風疹	49 F	2019 1/7	2019 1/10	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	
18	11	麻疹・風疹	21 M	2019 1/12	2019 1/17	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・関節痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	
19	12	麻疹・風疹	22 M	2019 1/21	2019 1/23	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・関節痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	有症者と接 触
20	13	麻疹・風疹	19 M	2019 1/21	2019 1/24	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・咳	地域流行	風疹ウイルス 1E	
21	14	麻疹・風疹	26 M	2019 1/28	2019 1/29	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・結 膜充血・コブリッ ク斑	地域流行	風疹ウイルス 1E	
22	15	麻疹・風疹	40 M	2019 2/10	2019 2/11	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・咳・鼻汁	地域流行	風疹ウイルス 1E	
23	16	麻疹・風疹	28 M	2019 2/5	2019 2/14	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・関 節痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	
24	17	麻疹・風疹	56 M	2019 2/20	2019 2/21	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	有症者と接 触
25	18	麻疹・風疹	42 M	2019 2/21	2019 2/25	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・結 膜充血・咳・鼻 汁	地域流行	風疹ウイルス 1E	
26	19	麻疹・風疹	36 M	2019 3/5	2019 3/11	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫 脹・結膜充血・ 咳・鼻汁・関節 痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	
27	20	麻疹・風疹	32 M	2019 3/13	2019 3/14	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・頸 部リンパ節腫脹	地域流行	風疹ウイルス 1E	

表7 感染症事例 陽性例 (No. 28~39)

No.	項目別 No.	検査項目	年齢 性別	発症 日	届出 日	検体	症状	発生状況	型	備考
28	21	麻疹・風疹	20 M	2019 3/16	2019 3/18	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・結 膜充血・咳・咽 頭痛	地域流行	風疹ウイルス 1E	
29	22	麻疹・風疹	46 M	2019 3/26	2019 3/27	咽頭・ 尿・血液	発熱・発疹・結 膜充血	地域流行	風疹ウイルス 1E	
30	1	蚊媒介感染症	32 M	2018 5/16	2018 5/18	尿・血液	発熱・発疹・頭 痛・結膜充血・ 筋肉痛	散発	デングウイルス D4 型	タイ・インド ネシア・ベト ナムへ渡航
31	2	蚊媒介感染症	34 M	2019 2/15	2019 2/18	血液	発熱・関節痛・ 白血球減少	散発	デングウイルス D1 型	タイへ渡航
32	1	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	76 F	2018 4/14	2018 4/23	尿	不詳	散発	<i>E.coli</i> IMP-6	
33	2	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	76 M	—	2018 5/2	菌株	—	—	<i>Klebsiella</i> <i>oxytoca</i> IMP-6	
34	3	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	95 F	2018 9/4	2018 9/11	血液	尿路生殖器症 状・菌血症	散発	<i>E.coli</i> IMP-6	
35	4	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	42 M	2018 11/22	2018 11/30	膿	皮膚軟部組織 感染症	散発	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> IMP-11	
36	5	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	80 F	—	2018 12/3	穿刺液	腹膜炎	散発	<i>Citrobacter</i> <i>freundii</i> IMP-6	
37	6	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	77 F	2019 1/18	2019 1/28	尿	尿路感染症	散発	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> IMP-11	
38	7	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	53 M	2019 1/28	2019 1/30	尿	尿路感染症	散発	IMP-6	
39	8	カルバペネム耐性 腸内細菌科細菌	88 M	2019 1/28	2019 2/4	喀痰	肺炎	散発	<i>Klebsiella</i> <i>pneumoniae</i> IMP-11	

II 一般依頼検査（表 8）

市民、事業者などから依頼を受け、食品、上水道水、地下水、プール水、浴槽水などについて検査を実施した。また、他都市から環境水等の依頼があり、水質細菌検査を実施した。

1 食品細菌検査

事業者から自主管理の目的で依頼された 45 検体の検査を実施した。

2 水質細菌検査

上水道水について 95 検体の飲料水適否検査を実施した。上水道水以外については井戸水、湧き水等 8 検体の水質検査を実施した。

3 環境関係細菌検査

プール水、浴槽水について 248 検体の検査依頼があった。レジオネラ属菌の検査依頼があった浴槽水のうち、5 検体から *Legionella pneumophila* を検出した。血清型別は SG1 が 2 件、その他は SG4、SG5、SG6 であった。

4 HIV 抗体検査

保健所からの依頼に基づき PA 法による HIV 抗体検査を実施した。2 検体については WB 法による確認検査を実施し、すべて陰性であった。

表 8 一般依頼検査

検査区分		検体数	項目数
食品細菌検査		45	129
水質細菌検査	上水道水	95	192
	井戸水・湧き水等	8	15
	プール水	116	247
	浴槽水	132	191
HIV 抗体検査		511	511

III 精度管理

1 食品の精度管理

食品衛生法に基づき、内部精度管理として、自家調製枯草菌検体を用いて一般細菌数の内部精度管理検査を行った。

また、外部精度管理として、一般財団法人食品薬品安全センターの実施する食品衛生外部精度管理調査のうち、加熱食肉製品（ハンバーグ）の E.coli 検査、加熱食肉製品（マッシュポテト）の黄色ブドウ球菌検査、食鳥卵のサルモネラ属菌検査に参加した。

2 環境水の外部精度管理

厚生労働科学研究補助金健康安全・危機管理対策総合研究事業において、環境水のレジオネラ属菌の細菌検査に参加した。

3 感染症検体の外部精度管理

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に基づき、表 9 の外部精度管理に参加した。

表 9 外部制度管理（感染症）

実施主体	調査項目
厚生労働省	麻疹・風疹ウイルス
地方衛生研究所 全国協議会	風疹ウイルス
	IS-Printing System, MLVA
	抗インフルエンザ薬剤耐性
	結核菌 VNTR
	HIV

生活環境科学担当

生活環境科学担当において平成30年度に実施した主な業務は、理化学分野の食品衛生、家庭用品及び飲料水等に関する試験検査と調査研究並びに環境科学分野の公共用水域の水質汚濁、産業廃棄物、土壌汚染及び大気汚染等に関する試験検査と調査研究である。

I 理化学分野

1 行政検査

食品、家庭用品及び飲料水等について、生活衛生課の事業実施計画に基づき、試験検査を行った。

(1) 食品衛生検査

食品衛生法に基づき、各種食品に残留する汚染物質及び使用された添加物等の検査を行った。

(表1)

汚染物質については、魚介類中のPCB、総水銀、動物用医薬品及び野菜・果実中の残留農薬の検査を行った。

食品の添加物については、春期等食品、夏期食品及び年末食品一斉取締りに伴い、食品中の甘味料(サッカリンナトリウム)、保存料(ソルビン酸・安息香酸・パラオキシ安息香酸)、発色剤(亜硝酸根)、漂白剤(二酸化硫黄)及び着色料(酸性タール系色素)の検査を行った。(表2)

特定食品については、生あん中のシアン及び漂白剤(二酸化硫黄)の検査を行った。(表3)

その他、市内の乳処理業者が学校に納入している牛乳の規格検査を行った。

(2) 家庭用品検査

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき、生活衛生課が試買した家庭用品中のホルムアルデヒド及びアゾ化合物の検査(ベビー服20検体)を行った。また市内の貸おしぼり

の衛生検査として変色度、臭気、異物について行った。(表4)

(3) 環境衛生検査

「水道法」、「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」及び「旅館業法」に基づく施設等の水道水、プール水及び公衆浴場の浴槽水等の水質の検査を行った。(表5)

それらのうち、水道の水質検査項目の内訳は、色度、濁度、臭気、pH値、硝酸態窒素、亜硝酸態窒素、塩化物イオン、TOC、クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルム、クロロ酢酸、ジクロロ酢酸、トリクロロ酢酸、ホルムアルデヒド、鉄、亜鉛、銅、鉛、マンガン及び蒸発残留物である。

2 一般依頼検査

市内の公的機関、企業、市民及び他都市行政機関からの依頼により、食品や飲料水等の試験検査を行った。

(1) 食品衛生検査

食の安全・安心のため学校保健課及び保育指導課からの依頼で給食用食材の残留農薬の検査を行った。(表6)

(2) 環境衛生検査

市内の公的機関、貯水槽清掃業者、一般市民及び他都市行政機関からの依頼により、水道、井戸、プール及び浴場等の水質検査を実施した。(表7)

主なものは、貯水槽清掃業者、公的機関及び他都市行政機関からの貯水槽水道の水質検査、浴槽水の水質検査並びに遊泳用プールの水質検査である。

3 信頼性確保業務

(1) 食品検査施設の業務管理基準(GLP)の運用

平成9年4月から導入された食品検査の信頼性を確保するための業務管理基準に基づき、「検査実施標準作業書」、「機械器具保守管理標準作業書」等の標準作業書の作成及び見直し、内部精度管理の実施及び外部精度管理調査への参加など検査の信頼性確保の体制整備を図った。

(2) 妥当性評価

「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」（平成22年12月24日 食安発1241第1号）に従い、農産物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価について、平成30年度はレモン及びバナナについて行った。(表8)

(3) 外部精度管理

ア 食品の外部精度管理

平成30年度食品衛生外部精度管理調査において、食品添加物の着色料（酸性タール色素）、保存料

（ソルビン酸）及び残留農薬（フェニトロチオン、クロルピリホス、フェントエート、マラチオン、フルシトリネート及びフルトラニル）検査に参加した。

イ 兵庫県における水道水質検査の外部精度管理

兵庫県水道水質管理連絡協議会精度管理委員会主催の平成30年度外部精度管理調査において、鉄及びホルムアルデヒドの検査に参加した。

4 その他

地方衛生研究所全国協議会近畿ブロック主催の平成30年度地域保健総合推進事業に係る健康危機管理事業（健康危機模擬訓練）に参加した。

今年度は「農村・漁村体験学習に参加した多数の小学生が激しい下痢・吐き気等を発症した」という設定で、その原因物質の特定等の検証訓練を行った。喫食食品や症状等から原因は貝毒によるものと推察し、LC/MS/MSで定性分析を行ったところ、オカダ酸群のジノフィシストキシン1のピークを確認した。

表1 行政検査・食品衛生関係等全般

事業名	検体数	項目数	不適合数
魚介類中のPCB・総水銀・動物用医薬品検査	5	13	0
魚肉ねり製品の規格等検査	2	8	0
野菜・果実中の農薬検査	35	6,421	0
果実中の防かび防ばい剤	5	20	0
春期等食品一斉取締りに伴う検査	6	16	0
夏期食品一斉取締りに伴う検査	17	63	0
年末食品一斉取締りに伴う検査	14	41	1
特定食品検査	2	3	0
牛乳検査	3	12	0
緊急依頼検査	0	0	0
計	89	6,597	1

表2 食品一斉取締りに伴う検査

品名	検査項目	春期等食品		夏期食品		年末食品		不適件数	
		検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数
魚介乾製品・加工品	甘味料・保存料・着色料	4	14					0	0
えび	漂白剤					5	5	1	1
たらこ・魚介加工品	甘味料・保存料・発色剤・着色料			4	20			0	0
野菜加工品	甘味料・保存料・漂白剤・着色料	2	2			4	16	0	0
漬物	甘味料・保存料・発色剤・着色料			4	20			0	0
ソース・醤油	甘味料・保存料					3	12	0	0
ぼんず・つゆ	甘味料・保存料					2	8	0	0
清涼飲料水	規格			2	8			0	0
氷菓・アイスクリーム	着色料・規格			4	8			0	0
ミネラルウォーター	規格			1	5			0	0
食肉製品	規格			2	2			0	0
計		6	16	17	63	14	41	1	1

表3 特定食品検査

品名	検査項目	検体数	項目数	不適件数
生あん	シアン化水素、漂白剤	2	3	0
計		2	3	0

表4 行政検査・家庭用品

品名	検査項目	検体数	項目数	不適件数
寝具・寝衣・よだれかけ・下着・くつ下・中衣・外衣・帽子	ホルムアルデヒド、アゾ化合物	20	183	0
おしぼり	変色度、臭気、異物	2	6	0
計		22	189	0

表5 行政検査・環境衛生関係全般

事業名	検査項目	検体数	項目数	不適件数	不適項目
水道水質検査	基本項目※ 総トリハロメタン※ 消毒副生成物※ 重金属※・蒸発残留物	8	184	0	-
プール水質検査	濁度・pH値・KMnO ₄ 消費量等	9	27	0	-
公衆浴場浴槽水質検査	濁度・KMnO ₄ 消費量	50	100	0	-
計		67	311	0	-

- ※ 基本項目 : 色度、濁度、臭気、pH値、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、塩化物イオン、TOC
 ※ 総トリハロメタン : クロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルム
 ※ 消毒副生成物 : クロ酢酸、ジクロ酢酸、トリクロ酢酸、ホルムアルデヒド
 ※ 重金属 : 鉄、亜鉛、銅、鉛、マンガン

表6 一般依頼検査・食品衛生

品名	検査項目	検体数	項目数
野菜・果実	残留農薬	6	1,128
野菜加工品	残留農薬	6	1,026
計		12	2,154

表7 一般依頼検査・環境衛生

種別	検査項目	検体数	項目数	不適件数	不適項目
水道水	色度・濁度・pH値・TOC等	99	1,002	5	色度・残留塩素・TOC
井戸水	色度・濁度・pH値・TOC等	2	22	-	-
その他の水	色度・濁度・pH値・TOC等	6	68	-	-
プール水	濁度・pH値・KMnO ₄ 消費量 トリハロメタン等	126	356	7	pH値・KMnO ₄ 消費量・濁度
浴槽水	濁度・KMnO ₄ 消費量	63	156	1	KMnO ₄ 消費量
計		296	1,604	13	-

表8 精度管理・妥当性評価

実施年度	品名
平成25年度	キャベツ
平成26年度	ジャガイモ・タマネギ
平成27年度	ナス・キュウリ
平成28年度	リンゴ・コマツナ
平成29年度	ダイコン・シュンギク
平成30年度	レモン・バナナ

II 環境分野

1 水質関係（表 9）

公共用水域（河川・海域）の水質、底質及び地下水、工場等の排水、地下水及び土壌並びに当所の排水等の水質検査を行った。

（1）行政依頼検査

ア 公共用水域水質調査

公共用水域の水質監視業務に伴う水質調査を河川 11 定点（神崎川水系 3 定点、庄下川水系 4 定点、蓬川水系 2 定点、武庫川水系 2 定点）及び海域 7 定点（表層 3 定点、中層 2 定点、底層 2 定点）で行った。（表 10）

健康項目では、環境基準値を超えるものはなかった。生活環境項目では、大腸菌群数、pH、溶存酸素量、COD、全亜鉛、全窒素及び全リンが環境基準値及び「尼崎市の環境をまもる条例」の基準値を超えるものがあつた。要監視項目では、指針値を超えるものはなかった。

イ 公共用水域底質調査

公共用水域の底質監視業務に伴う底質調査を河川 5 定点（神崎川水系 1 定点、庄下川水系 3 定点、蓬川水系 1 定点）及び海域 3 定点で行った。（表 10）

暫定除去基準が定められている水銀及び PCB については全定点が基準値を下回っていた。

ウ 地下水質調査

地下水の水質監視業務に伴う地下水質調査等を行った。（表 11）

表 9 水質関係事業内容

事業名	検体数	項目数
1 行政依頼検査		
(1) 公共用水域水質調査	243	4,596
(2) 公共用水域底質調査	8	112
(3) 地下水質調査	14	555
(4) 工場等の水質土壌調査	1,204	3,097
2 一般依頼検査		
(1) 工場等の水質検査	130	1,173
3 自主検査		
(1) 排水自主検査	38	473
(2) その他の水質調査	206	852
合 計	1,844	10,858

エ 工場等の水質・土壌調査

水質汚濁防止法及び土壌汚染対策法並びに環境の保全と創造に関する条例に基づく排水基準の遵守状況、浄化等済土壌の状態の把握及び水質保全上必要な資料を得るための調査として、工場排水、地下水及び土壌等の延べ 1,204 検体、3,097 項目について行った。(表 12)

(2) 一般依頼検査

工場等の水質検査を、延べ 130 検体、1,173 項目について行った。

(3) 自主検査

ア 排水自主検査

当所の排水は雨水も含め公共下水道に放流しており、下水道法に基づく基準の遵守状況を把握するため、排水の自主検査を延べ 38 検体、473 項目について行った。

イ その他の水質調査

自主検査として、行政依頼以外の調査を実施した。

表 10 水質行政依頼 公共用水域 水質・底質調査

		検体数	項 目 数					計
			一般項目	健康項目	生活環境項目	要監視項目	その他の項目	
水質	河川	156	441	704	1,185	364	465	3,159
	海域	87	252	225	477	132	351	1,437
	合計	243	693	929	1,662	496	816	4,596
底質	河川	5	15	30	5	0	20	70
	海域	3	9	18	3	0	12	42
	合計	8	24	48	8	0	32	112

一般項目：外観（色相）、臭気、透視度、性状

健康項目：水質汚濁に係る環境基準について（環境庁告示第 59 号）別表 1 に定める項目

生活環境項目：水質汚濁に係る環境基準について（環境庁告示第 59 号）別表 2 に定める項目

要監視項目：水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件及び地下水の水質汚濁に係る環境基準についての一部を改正する件の施行について（平成 21 年 11 月 30 日付け通知）別表に定める項目

その他の項目：上記以外の項目

表 11 水質行政依頼 地下水質調査

	検体数	項目数				計
		一般項目	環境基準項目	要監視項目	その他の項目	
概況・継続監視調査	10	24	204	161	46	435
その他の調査	4	0	112	0	8	120
合計	14	24	316	161	54	555

環境基準項目：地下水の水質汚濁に係る環境基準について（環境庁告示第 10 号）別表に定める項目
 一般項目、要監視項目及びその他の項目については、（表 10）と同じ

表 12 水質行政依頼 工場等の水質・土壌調査

	検体数	項目数			計
		有害物質	その他の物質	有機すず等	
工場排水調査	84	385	754	0	1,139
総量規制調査	1,081	0	1,627	0	1,627
有機すず化合物調査	1	0	0	2	2
地下水調査	33	233	0	0	233
土壌調査	3	76	6	0	82
緊急調査	2	0	14	0	14
合計	1,204	694	2,401	2	3,097

有害物質：排水基準を定める省令（総理府令第 35 号）別表第一に定める項目、土壌汚染対策法施行
 令第一条に定める項目、地下水の水質汚濁に係る環境基準について（環境庁告示第 10 号）
 別表に定める項目

その他の物質：排水基準を定める省令（総理府令第 35 号）別表第二に定める項目

有機すず等：トリブチルスズ、トリフェニルスズ等、上記以外の項目

2 産業廃棄物関係（表 13）

市内事業場から発生する産業廃棄物の重金属等の溶出及び含有の濃度を把握するとともに、事業者には指導又は助言を行い、生活環境の保全に資することを目的として、12検体について検査を行った。

表 13 産業廃棄物関係事業内容

事業名	検体数	項目数
1 行政依頼検査		
(1) 土壌汚染関係	10	319
(2) 特別管理産業廃棄物関係	2	44
(3) その他	0	0
合計	12	363

3 大気関係（表 14）

特定粉じん排出作業、環境大気、酸性雨及び放射線量率等の調査を行った。

（1）行政依頼調査

ア 特定粉じん排出作業に係る調査

特定建築材料が使用されている建築物又はその他工作物を解体し、改造し又は補修する作業の際、大気汚染防止法において飛散防止の作業基準が定められていることから、市として作業基準の遵守状況を把握するため、大気中のアスベスト調査を行った。

イ 環境大気の調査

浮遊粒子状物質の調査は、市内 4 定点において重金属 9 成分（Cd、Co、Cu、Fe、Mn、Ni、Pb、V、Zn）の測定を毎月実施した。デポジットゲージによる降下ばいじん中の成分調査は、市内 3 定点において 10 項目の測定を毎月実施した。またアスベスト環境調査は、市内 4 定点において年 3 回（5 月、9 月、1 月）測定した。（表 15）

ウ 酸性雨に係る調査

環境省委託業務として降雨日に一日毎の湿性降下物を採取し、降水重量、pH、導電率、陰イオン 3 成分（NO₃⁻、SO₄²⁻、Cl⁻）及び陽イオン 5 成分（NH₄⁺、Ca²⁺、K⁺、Mg²⁺、Na⁺）を測定した。

エ 放射線量率測定

産業廃棄物汚泥の適正管理確認のため放射線量率の測定を行った。また、当所の屋上等で一般環境大気中の測定を行った。

オ 工場排ガス測定

工場における排出ガス中の有害物質濃度の法令等の遵守状況を把握するため、測定を行った。

4 外部精度管理（表 16）

信頼性確保の体制整備を図るため、外部精度管理調査に参加した。

（1）環境測定分析統一精度管理調査

環境測定分析統一精度管理調査に係る分析を、1 検体、6 項目について行った。

（2）降水分析機関間比較調査

酸性雨分析の精度管理として、環境省主催の降水分析機関間比較調査に係る分析を、2 検体、20 項目について行った。

表 14 大気関係事業内容

事業名	検体数	項目数
1 行政依頼検査		
(1) 特定粉じん排出作業に係る調査	136	272
(2) 環境大気の調査	1,735	16,356
(3) 酸性雨に係る調査	140	1,280
(4) 放射線量率測定	87	87
(5) 工場排ガス測定	2	2
合計	2,112	18,009

表 15 環境大気の調査

	検体数	項目数
浮遊粒子状物質中の重金属調査*	658	5,922
降下ばいじん中の成分調査*	1,029	10,290
アスベスト環境調査	48	144
合計	1,735	16,356

*厚生労働省報告要領に基づき算出

表 16 外部精度管理

	検体数	項目数
環境測定分析統一精度管理調査	1	6
降水分析機関間比較調査	2	20
合計	3	26

Ⅲ 資料

Multiplex PCR によるブドウ球菌毒素遺伝子検出の 最適化検討および実用性の評価

微生物管理担当 田中 雄大、山路 昇一郎、萩原 康裕、神谷 恵利
TANAKA YUDAI, YAMAJI SHOICHIRO, HAGIHARA YASUHIRO, KAMITANI ERI
感染症制御担当 村山 隆太郎、平垣内 雅規、谷口 誠
MURAYAMA RYUTARO, HIRAGAKIUCHI MASAKI, TANIGUCHI MAKOTO

I はじめに

Staphylococcus aureus(以下、*S. aureus* という)による食中毒の原因毒素としてブドウ球菌エンテロトキシン (Staphylococcus enterotoxins:SEs)がある。SEs は *S. aureus* が食品中で増殖する際に産生され、この毒素に汚染された食品を喫食することで嘔気、嘔吐などの症状を呈する¹⁾。

従来、SEs は抗原性の異なる 5 種類 (SEA, SEB, SEC, SED, SEE) が食中毒の原因毒素であると知られてきたが、現在ではその他にも多くの新型 SEs が報告され、食中毒原因毒素は多数存在する¹⁾⁷⁾。

当所においては、逆受身ラテックス凝集法 (RPLA 法) による SEA, SEB, SEC, SED の 4 種類の毒素について検査を行っているが、疫学マーカーとしてのより詳細な毒素遺伝子の検査および検査の迅速化を目的として Multiplex PCR 法によるブドウ球菌毒素遺伝子検出を検討した²⁾。

今回、既報での課題改善に取り組むとともに、RPLA 法および Multiplex PCR 法の毒素型別結果に相違がないことを検証したので、報告する。

II 検討概要

既報での課題として、Set1 PCR (sea, seb, sec, sed, see, ses) において^{3), 4)}、内部陽性対照として加えた *S. aureus* に特異的な femB 遺伝子検出プライマーが、seb の検出感度を著しく低下させるということが挙げられる²⁾。今回、Set1 PCR の検出感

度に影響する因子に関して最適条件を検討した。

また、本法の検査精度が RPLA 法の代用として適切であるか、当所で保管している黄色ブドウ球菌菌株を用いて検討した。

III 材料および方法

1 検体

大阪健康安全基盤研究所梅田先生よりご供与頂いた SEA, SEB, SEC, SED, SEE 各陽性対照株の DNA 抽出液、および当所が保有する食中毒患者便由来の菌株 17 検体を用いた。

2 検査方法

(1) Set1 PCR の最適化

既報に記載された手法をもとに Set1 PCR について種々の条件検討を行った。PCR 試薬は Gotaq Hot Start Green Master Mix (Promega) を使用した。反応液は PCR 試薬を 12.5 μ L, 鋳型として陽性対照検体抽出 DNA を 2.0 μ L, 既報の 20 μ M プライマー (SEA-3, SEA-4, SEB-1, SEB-4, SEC-3, SEC-4, SED-3, SED-4, SEE-3, SEE-2, SES-For, SES-Rev, femB-3, femB-4) を各 0.25 μ L 混合したプライマーミックス (以下、Set1 プライマーという) 3.5 μ L を加え、DDW 7 μ L にて 25 μ L の反応系とした²⁾ (表 1)。

反応条件は 95°C15min の熱変性後、94°C30sec, 57°C90sec, 72°C60sec の増幅反応を 30 サイクル、72°C10min の最終伸長反応を行った²⁾ (表 2)。

表 1、表 2 の条件を基本とし、プライマー組成、初期熱変性時間、サイクル数ならびにアニーリング温度の検討を行った。増幅した PCR 産物は 3% アガロースゲルで電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、バンドを観察した。

(2) RPLA 法による SEs 検出

菌株を直接卵黄加マンニット食塩培地に塗抹し、37°C で 2 日間培養した。マンニット培地上でマンニット分解性と卵黄反応を示す典型的なコロニーを釣菌し、コアグララーゼ陽性、VP 陽性であるものを検体とした。その後、SET-RPLA (デンカ生研) の添付文書に準じて、SEs の検出を行った。

(3) SE 遺伝子の検出

(2) で *S. aureus* であることを確認した 1 コロニーを普通寒天培地に塗抹し、37°C で 2 日間培養した。

普通寒天培地上にある 1 コロニー分量の菌体を 100 μ L の MightyPrep reagent for DNA (TaKaRa) に懸濁し、95°C、10min 熱処理した後、4°C、15,000rpm、2min で遠心し、上清を DNA テンプレートとした。遺伝子検出には Set1 プライマーを用い、(1) で最適化された PCR 条件にて SE 遺伝子の検出を行った。

IV 結果

1 Set1 PCR の条件検討

(1) seb 比率およびアニーリング温度の検討

PCR 条件のうち seb プライマー比率およびアニーリング温度の検討をはじめに行った。seb の検出感度が課題であることから、Set1 プライマー中の seb 比率を 1 倍、4 倍、8 倍に設定した。

また、それぞれの倍率にてアニーリング温度を 55°C、57°C、59°C とし、検討を行った。

seb 比率と温度の増加に伴い、seb バンドの良好

な増幅が観察された (図 1)。しかし、既報では報告されていなかった sec, sed の検出感度にも課題があると考えられた。

(2) sec, sed 比率および初期熱変性時間の検討

sec, sed のプライマー比率を 1 倍、2 倍、3 倍に設定すると同時に、初期熱変性時間を 15min、5min として比較検討した。

2 倍量以上にて sec と sed のバンドを検出できたが、3 倍量にて seb の増幅を妨げる傾向が観察された。また、初期熱変性時間を 5min にした条件では、seb バンドの増幅がより顕著であった。(図 2)

(3) サイクル数の検討

30, 35 サイクルを比較した結果、35 サイクルにて sed バンドの増幅がより良好であった。(図 3)

以上 (1) ~ (3) の検討結果をもとに、Set1 PCR の最適条件および Set1 プライマーの組成を決定した (表 1、2)。

表 1 Set1 プライマー組成

	基本組成 (μ L)	最適組成 (μ L)
SEA-3	0.25	0.11
SEA-4	0.25	0.11
SEB-1	0.25	0.88
SEB-4	0.25	0.88
SEC-3	0.25	0.22
SEC-4	0.25	0.22
SED-3	0.25	0.22
SED-4	0.25	0.22
SEE-3	0.25	0.11
SEE-2	0.25	0.11
SES-For	0.25	0.11
SES-Rev	0.25	0.11
femB-3	0.25	0.11
femB-4	0.25	0.11
Total	3.5	3.5

表 2 Set1 PCR 条件

基本条件

最適条件

Initial Denaturation	95°C 15min	95°C 5min
Denaturation	94°C 30sec	94°C 30sec
Annealing	57°C 90sec	59°C 90sec
Extension	72°C 60sec	72°C 60sec
Final Extension	72°C 10min	72°C 10min

30 サイクル 35 サイクル

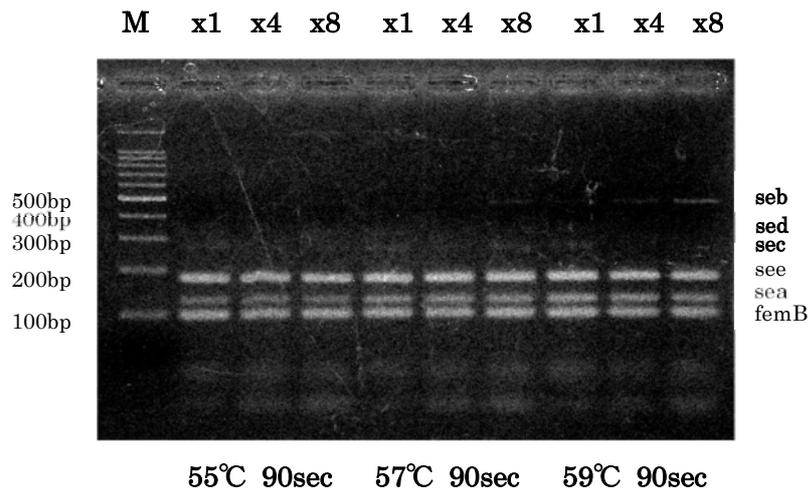


図1 seb プライマー比率およびアニーリング温度の検討
 seb プライマー比率を 1、4、8 倍の 3 通りに設定し、おのおののアニーリング温度を 55°C、57°C、59°C にて PCR の検討を行った。
 M : サイズマーカー

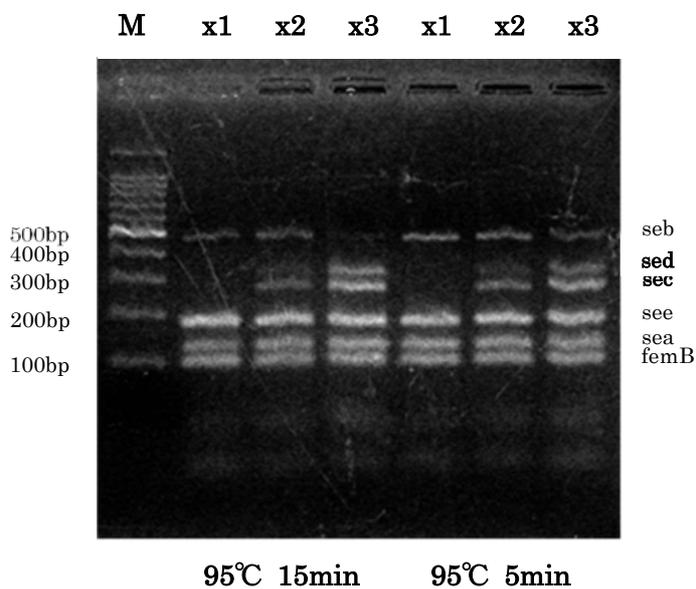


図2 sec, sed プライマー比率および初期変性時間の検討
 sec, sed プライマー比率を 1、2、3 倍の 3 通りに設定し、おのおの初期変性時間を 15min、5min にて PCR の検討を行った。
 M : サイズマーカー

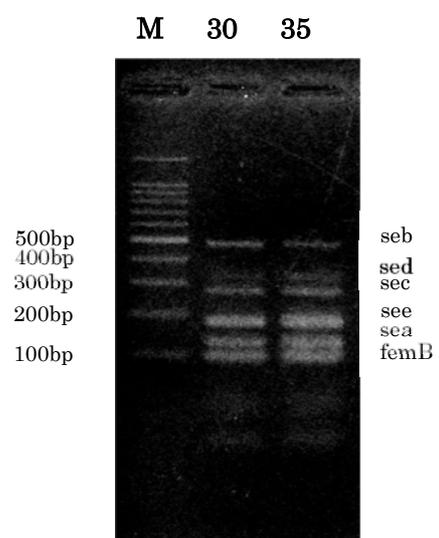


図3 サイクル数の検討
 seb, sec および sed, その他 4 種のプライマー比率を 4 : 2 : 1 とし、サイクル数を 30, 35 にて PCR の検討を行った。
 M : サイズマーカー

2 Multiplex PCR の実用性評価

黄色ブドウ球菌株 17 株の RPLA 型、SE 遺伝子型を調査した。結果を表 3 に示す。すべての菌株において、RPLA 法による SE 検出型および Multiplex PCR 法による sea, seb, sec, sed, see の検出型は一致していた。17 株中 15 株がいずれかの毒素を持ち、2 株が RPLA 法、PCR 法ともに陰性であった。検出された SE 遺伝子型のうち sec が最多で 5 株 (29.4%)、次いで seb が 4 株 (23.5%)、sea 3 株 (17.6%)、sed 1 株 (5.9%) であり、see は検出されなかった。また、毒素を検出した 17 株のうち 2 株は SEA, SEB の 2 種類の毒素を保有していた。

なお、ses は陽性対照がないため確認していない。

V 考察

既報の課題を解決するとともに、Multiplex PCR 法による *S. aureus* の SEs 検出の実用性を確認した。検討事項であった seb の検出感度が著しく低い原因は、検討の中で sea, sec, see, femB の PCR 産物による阻害を受けているものによると示唆された。そのため、プライマー組成や PCR 条件を調整することで、今回の最適化を達成した。

また黄色ブドウ球菌は菌体に Taq polymerase 阻害因子を有し、従来のアルカリ熱抽出では偽陰性が生じる可能性が報告されていることを受け 4)、DNA 抽出には MightyPrep reagent for DNA (TaKaRa) を使用した。

表 3 食中毒事例由来 *S. aureus* の SEs 表現型と SE 遺伝子検出結果 (n=17)

Toxin Phenotype	No. of strains	No. of positive samples detected by		No. of differences
		RPLA	Multiplex PCR	
SEA	3	3	3	0
SEB	4	4	4	0
SEC	5	5	5	0
SED	1	1	1	0
SEE	0	0	0	0
SEA+SEB	2	2	2	0
Nondetected	2	2	2	0
Total	17	17	17	-

最後に、実用性評価の結果から RPLA 法による従来の方法と比較し、Multiplex PCR 法の検査精度に遜色はなく、SEs 同定までの時間を大幅に短縮することが可能であるということが分かった。今後も新たに検出される菌株を用い、本法の精度確認を継続して行っていきたい。

VI 謝辞

本検討にあたり、検査方法のご助言および検査試薬をご供与いただきました大阪健康安全基盤研究所天王寺センター・梅田薫先生に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) (社) 日本食品衛生協会「食中毒予防必携」第 3 版:63-65, 2013.
- 2) 山路昇一郎ら、「黄色ブドウ球菌毒素遺伝子の Multiplex PCR の検討」, 尼崎市立衛生研究所報第 43 号:34-37, 2016.
- 3) Omoe, K., et al., FEMS Microbiol. Lett., 246:191-198, 2005.
- 4) 狩野真由子ら、岩獣会報 35(2):43-48, 2009.
- 5) W.M. JOHNSON, et al., J. Clin. Microbiol., 29:426-430, 1991.
- 6) BECKER, K., et al., J. Clin. Microbiol., 36:2548-2553, 1998.
- 7) 梅田薫ら、Jpn. J. Food Microbiol., 29(2): 114-118, 2012.

尼崎市立衛生研究所における外部資金導入研究について

村山 隆太郎、平垣内 雅規、谷口 誠、神谷 恵利、中井 良人、宮永 恵三
MURAYAMA RYUTARO, HIRAGAKIUCHI MASAKI, TANIGUCHI MAKOTO, KAMITANI ERI, NAKAI YOSHIHITO, MIYANAGA KEIZO

I はじめに

地方衛生研究所は、厚生労働省発出の地方衛生研究所設置要綱において「地域保健対策を効果的に推進し、公衆衛生の向上及び増進を図るため、都道府県又は指定都市における科学的かつ技術的中核として、関係行政部局、保健所等と緊密な連携の下に、調査研究、試験検査、研修指導及び公衆衛生情報等の収集・解析・提供を行うことを目的とする」と示されており、地方衛生研究所において、機能・技術基盤・危機管理能力を維持向上させるためには、日常の試験検査業務に加え調査研究を行い新たな専門的な技術及び知識を取り入れていく必要がある¹⁾。

地方衛生研究所がどの程度の研究事業を取り入れているのかを調べるため、地方衛生研究所全国協議会学術委員会による地方衛生研究所における研究活動の実態調査が行われ、平成14年度から平成28年度までの15年間の論文等の発表状況についてまとめられた。調査報告によると、尼崎市が含まれる中核市・特別区における英文論文投稿数は地方衛生研究所全3,632件中2件、邦文論文投稿数は全4,086件中36件、学会発表は全16,072件中62件であった²⁾。

この調査報告より、数は少ないものの中核市・特別区でも学会発表及び論文を投稿することができ、地方衛生研究所もあることがわかったが、当所では、調査研究できる環境整備に課題があり行っていないのが現状である。

そこで、研究に用いる試薬等を準備するために外部資金である競争的資金を利用することを考えた。競争的資金とは、内閣府の科学技術政策により策定された第3期科学技術基本計画において定義されている、「資源配分主体が広く研究開発課題

等を募り、提案された課題の中から、専門家を含む複数の者による科学的・技術的な観点を中心とした評価に基づいて実施すべき課題を採択し、研究者等に配分する研究開発資金」のことを指す³⁾。

競争的資金の内、地方衛生研究所において獲得実績の多いものとして文部科学省管轄の科学研究費助成事業及び厚生労働省管轄の厚生労働科学研究費補助金の2つの公的研究費がある。この2つに加えて様々な企業等が助成しているその他の企業等からの外部資金の獲得も視野に入れ、調査研究を行うことについて所内で協議した。

協議の結果、外部資金導入研究に向けて新たに「尼崎市立衛生研究所研究要領」を策定し、外部資金導入に向けての方向性を示したため、その内容を報告する。

II 課題

調査研究は、技術レベルの向上や職員のモチベーションの向上のために必要不可欠であると考えられるが、当所では調査研究に関する予算措置はされておらず、機器は試験検査業務と共用することができても試薬等を準備することは困難であり、研究のできる職場環境整備が課題となっている。

平成22年度及び平成29年度に尼崎市立衛生研究所の今後を考える目的で行った「衛生研究所のあり方検討会」報告書においても、調査研究の課題として、「本市のような中核市レベルの衛生研究所では、関係行政部局からの依頼に基づく試験検査が中心であり、予算面・職員配置面からも調査研究機関としての役割が不十分であった」ことが挙げられている⁴⁾。

数年が経過した現状においても、当所では、日常の試験検査が主な業務となっており、調査研究

を行う時間が限りなく少ない。加えて、調査研究に使用する機器や試薬についても特別な予算措置はなく、職員配置面・予算面どちらにおいても調査研究を行うための環境整備はできているとは言えない状況である。

III 解決に向けた取り組み

課題の一つである試薬について、外部資金である競争的資金を獲得し調査研究に使用することを考えた。

当所が獲得可能な競争的資金は、公的研究費である文部科学省管轄の科学研究費助成事業及び厚生労働省管轄の厚生労働科学研究費補助金の2つと企業等が助成しているその他の企業等からの外部資金があり、それらについて獲得へ向けた取り組みを行った。

文部科学省管轄の科学研究費助成事業等で、代表研究者、研究分担者及び連携研究者となるには文部科学省が指定する研究機関に所属する必要があるが、衛生研究所は要件を満たせていないため研究機関としては指定されていない。

研究機関の指定基準は8項目あるが、その中でも次の4項目を満たすことが現状では困難である。「(5) 申請の際現に当該申請機関に所属している研究者の1/5以上の者がその原著論文を過去1年間(原則として、申請の前年度とする。)に学会誌及びこれに類するもの(紀要を除く。)に掲載されている者であること。

(6) 外部資金を除いた当該申請機関全体の一人当たりの研究費(申請の前年度の決算額とする。)が年間36万円以上であること。なお、申請年度に新設された申請機関については、申請年度の予算額における一人当たりの研究費が年間36万円以上であること。

(7) 科研費の適切かつ効率的な管理及び監査の体制が当該申請機関において整備されていること。

(8) 科研費による研究活動の公正な推進のための体制が当該申請機関において整備されていること。」⁵⁾

したがって、現状での所内調査研究内容は、要件を満たす必要がない研究協力者として他の研究の協力をするのみとなっている。

しかし、研究協力者では代表研究者が行う研究

に協力する形であり、購入する試薬等も必要最低限であることが大多数であるため、当所が十分に調査研究を行うための試薬等を準備することはできない。

衛生研究所の職員が十分な調査研究を行っていくためには、前述の要件を満たし衛生研究所を研究機関と指定することが必要であるとともに、指定後も適正に運営を行う組織づくりが必要不可欠となっており、課題が多く残っている状況であることがいえる。

もう一つの公的研究費である厚生労働省管轄の厚生労働科学研究費補助金は、文部科学省の科学研究費とは異なり、地方衛生研究所であれば地方公共団体の附属試験研究機関として要件なしに応募資格者となる⁶⁾。しかしながら、科学研究費と同様に適正な運営を行うための組織づくりが必要であり、経理事務や不正を防止するための体制等の事務的な負担が生じることが大きな障壁となっている。これらを防止するため、何らかのルール作りが必要である。

一方、公的研究費ではない他の企業等からの外部資金の獲得は、それぞれの企業等が個々の要件を出しているため、その要件を満たすことで助成金を受けとることができる。多種多様な要件があるため、どのような助成金があるか調べるだけでも大変であるが、要件に合っていれば応募しやすいのが利点である。

どちらにしても、公的研究費及びその他の企業等からの外部資金にかかわらず、経理事務や不正の防止を規定することが必要であり、適正に研究を実施するため、要領等を作成することとした。

要領を作成した後、公的研究費に比べて採択可能性のあるその他の企業等からの外部資金を獲得し、研究実績を残していくことが今後継続して研究費獲得を目指す上での糸口であると考えられたため、今回は、その他の企業等からの外部資金である「保健福祉研究助成」(公益財団法人大同生命厚生事業団)に応募した。

IV 成果

外部資金を獲得した場合に適正な運営を行うための組織づくりをし、経理事務や不正を防止するための体制を整えるために以下の4件の要領を作

成した。

尼崎市立衛生研究所研究要領として、「1 尼崎市立衛生研究所 公的研究費による研究実施要領」、「2 尼崎市立衛生研究所 公的研究費の管理及び監査に関する要領」、「3 公的研究費の管理に関する実施細則」及び「4 尼崎市立衛生研究所における外部資金導入研究取扱要領」の4件を作成した。

要領1、2及び3は公的研究費導入に関して規定し、要領4はその他の企業等からの外部資金導入に関して規定した。

要領4に基づき応募した「地域保健福祉研究助成」（公益財団法人大同生命厚生事業団）「尼崎市における急性脳炎・脳症の原因ウイルス遺伝子の検出について」が採択され、助成金を獲得することができた。

V さいごに

今回、「尼崎市立衛生研究所研究要領」を策定したことにより、公的研究費及びその他の企業等からの外部資金を導入し調査研究を行っていく最低限の土台が完成した。また、その土台を用い尼崎市立衛生研究所として最初の外部資金導入研究を開始することができた。

調査研究を行い学会発表及び論文を投稿することは、広く公衆衛生に寄与し市民の安全・安心を守るとともに、市をアピールすることにつながるため、当所も積極的に行っていくべきである。

過去に研究論文が公募論文に入選した本市職員は、自治体職員としての幅広い活躍をし、職員の名誉を高揚し、イメージアップに貢献したとして尼崎市職員表彰規程により優秀賞の表彰を受けている。このことから調査研究は、市役所全体でも奨励されていることと考えられ、当所の職員だけでなく市役所全体の士気が上がるものであり、それが市民への良い影響をもたらすと考えられる⁷⁾。

今回の外部資金導入研究を皮切りにいくつもの外部資金を獲得し、当所の技術レベル向上が進むとともに、外部からの評価実績が積み重ねられていくことを期待している。そのために、当所でのよりよい調査研究を行うため、引き続き外部資金導入研究を行うことに加え、調査研究のできる環境整備を行っていく必要がある。

また、今回は職員配置面については考慮していないが、調査研究を進めていく上で人員の確保は必須であり、外部資金を適正に運用していくためには、経理事務及び不正防止といった事務的な整備も必要である。全国的に予算・人員が削減されている地方衛生研究所の現状を踏まえ、当所でも人員を増員させることは困難であるが、現在行っている試験検査等を少しでも改善し調査研究を行える時間を作っていくことが大切である。そのためには、日ごろから知識と経験を重ね、技術職としての力を培いながら調査研究を行う姿勢を見ることが大切であることを実感した。

VI 謝辞

尼崎市立衛生研究所研究要領の作成の際、資料をご提供いただいた兵庫県立健康科学研究所危機管理部総務課に深謝いたします。

尼崎市立衛生研究所研究要領の作成の際、ご指導及びご助言をいただいた総務局行政法務部法務支援担当及び健康福祉局企画管理課に深謝いたします。

VII 参考文献

- 1) 厚生省(1997)「地方衛生研究所の機能強化について」
- 2) 地方衛生研究所全国協議会学術委員会(2018)「地方衛生研究所における研究活動について」
- 3) 内閣府(2006)「第3期科学技術基本計画(平成18～22年度)」
- 4) 尼崎市立衛生研究所(2014)「衛生研究所のあり方検討会報告書～安全・安心の担い手、衛生研究所～」
- 5) 文部科学省(2001)「科学研究費補助金取扱規程第2条第1項第1号及び第4号並びに同条第4項の機関の指定に関する要項」
- 6) 厚生労働省(2018)「厚生労働科学研究費補助金公募要項」
- 7) 尼崎市(1996)「尼崎市職員表彰規程」

尼崎市における急性脳炎・脳症の原因ウイルス遺伝子の検出

感染症制御担当

村山 隆太郎、平垣内 雅規、谷口 誠
MURAYAMA RYUTARO, HIRAGAKIUCHI MASAKI, TANIGUCHI MAKOTO

I 概要

急性脳炎・脳症は種々の病原体による脳組織の炎症に起因する疾患群の総称である。原因となる病原体は多種多様なものが含まれるが、ウイルスとしては単純ヘルペスウイルス、エンテロウイルス、アデノウイルス、麻疹ウイルス、風疹ウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、ヒトヘルペスウイルス等がある¹⁾。

尼崎市は関西国際空港から利便性が高く、訪日外国人が多数訪れる。また、兵庫県立尼崎総合医療センターを有し、感染症対策の中核を担うことから市内に限らず県内外から患者が集まることが考えられる。

そうした中、尼崎市では、平成 29 年に 3 件、平成 30 年に 7 件、過去 5 年間平均で年間約 4 件の急性脳炎・脳症例が発生しているが、当所では日本脳炎ウイルスのみ遺伝子検査を実施しており、原因究明に至らない。その他のウイルスについては兵庫県に検査依頼しているところである。

そこで、急性脳炎・脳症例において、より詳細な疫学情報を迅速に得る体制を整備し、急性脳炎・脳症患者の治療に寄与するため、頻繁に検出されるウイルスについて、1 回の検査で複数のウイルスを検出可能なマルチプレックス PCR 遺伝子検査法を検討したので報告する。

II 検体

平成 29 年から令和元年に尼崎市に急性脳炎・脳症疑い例として搬入された 3 名 10 検体を検査対象とした。検体は、咽頭ぬぐい液 2 検体、尿 2 検体、血液 3 検体、髄液 1 検体、糞便 1 検体、喀痰 1 検体の計 10 検体であった。

検査検討のために用いたポジティブコントロー

ルについては、麻疹ウイルス・風疹ウイルスは国立感染症研究所から、エンテロウイルスは兵庫県立健康科学研究所から分与していただいた。ネガティブコントロールには、水を用いた。

III 方法

検体からの RNA 抽出は、High Pure Viral RNA Kit (Roche) を用いてキット添付書類に準じて行った。同時に水を検体として RNA 抽出することで、ネガティブコントロールとした。

抽出した RNA を PrimeScript RT reagent kit (Perfect Real Time) (TaKaRa) を用いて逆転写反応を行い、cDNA を合成した。

合成した cDNA を用いて、以下の条件でマルチプレックス PCR を行った。

麻疹ウイルスは HA 及び N 遺伝子を検出する 2 種類のプライマーペア、風疹ウイルスとエンテロウイルスの 2 種ウイルスを検出する各プライマーペア、合わせて 4 種類のプライマーペアを混合して用いた。マルチプレックス PCR にするためプライマーの相互干渉を考慮して、濃度をそれぞれ調整した。プライマー配列は、国立感染症研究所の病原体検出マニュアルを参考に設計した²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾⁶⁾⁷⁾。

1st PCR 反応は、Tks Gflex™ DNA Polymerase (TaKaRa) を用いて、逆転写反応液 2.0 μ L を混合し、総量 20 μ L の反応液を 98°C, 1 分後、98°C, 10 秒、55°C, 15 秒、68°C, 30 秒の反応を 30 サイクル行った。この 1st PCR 産物 2.0 μ L を用い、nested PCR を行った。この増幅はアニーリング温度を 58°C に変更した以外は、全て 1st PCR と同条件で行った。

マルチプレックス PCR を行うにあたり、各プライマーが正常に働くかどうかモノプレックス PCR

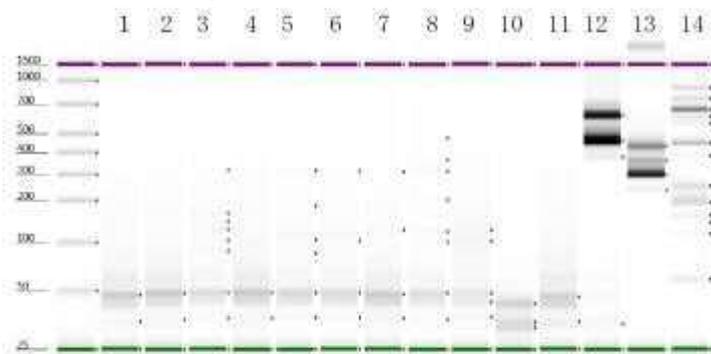
での確認も行った。

電気泳動は、Agilent 4200 TapeStation を用い、添付書類に準じて行った。

IV 結果

尼崎市に急性脳炎・脳症疑い例として搬入された3名10検体は、すべてバンド不検出であった。ポジティブコントロールは、モノプレックス PCR でバンドが確認でき、マルチプレックス PCR でも同様のバンドが確認できた。ネガティブコントロールはバンドが確認されなかった(図1)。

検体を用いた反応での非特異反応は、モノプレックス PCR 及びマルチプレックス PCR ともに見られなかった。



レーン1	患者A	咽頭ぬぐい液
レーン2	患者A	尿
レーン3	患者A	血清
レーン4	患者A	糞便
レーン5	患者B	尿
レーン6	患者B	咽頭ぬぐい液
レーン7	患者B	髄液
レーン8	患者C	喀痰
レーン9	患者C	血清
レーン10	患者C	全血
レーン11	検体に水を用いたネガティブコントロール	
レーン12	麻疹HA及びN遺伝子 ポジティブコントロール	
レーン13	風疹 ポジティブコントロール	
レーン14	エンテロウイルス ポジティブコントロール	

図1 マルチプレックス PCR 法による急性脳炎・脳症疑い事例の原因ウイルス遺伝子検出

V 考察

麻疹ウイルス、風疹ウイルス、エンテロウイルスを同時検出するマルチプレックス PCR 法を検討した。各種ポジティブコントロールを用いた結果は良好であり、ウイルス3種を同時に検出することが可能となった。

このマルチプレックス PCR 法を用いて、尼崎市に搬入のあった検体を調べてみたところ、すべて

の検体で陰性であった。しかし、臨床検体由来の陽性検体を所持していないため、臨床検体から検出可能かどうか検討することができなかった。

今後は、今回実施できなかった単純ヘルペスウイルス、アデノウイルス、水痘帯状疱疹ウイルス、ヒトヘルペスウイルスについて、マルチプレックス PCR 法を引き続き検討する。しかしながら、当所のように、ウイルス培養設備がなく、通常検査で扱っていないウイルスの遺伝子検査を行う場合、ポジティブコントロールを準備することが非常に困難である。今回の検討のように、診断や届出のために検査が必須ではない場合、ポジティブコントロールの準備がいかに困難で重要であることを痛感した。

急性脳炎・脳症疑い例からのウイルス遺伝子検出は困難であるが、今後、少しでも多くのウイルス遺伝子を調べることで、症例の原因究明に寄与する考えである。

VI 謝辞

エンテロウイルスのポジティブコントロールを分与していただいた兵庫県立健康科学研究所に感謝します。

本研究の一部は、「地域保健福祉研究助成」(公益財団法人大同生命厚生事業団)の助成を受けた。

VII 参考文献

- 1) 国立感染症研究所(2003)「急性脳炎(ウエストナイル脳炎、西部ウマ脳炎、ダニ媒介脳炎、東部ウマ脳炎、日本脳炎、ベネズエラウマ脳炎及びリフトバレー熱を除く)とは」(IDWR 2003 年第13号)
- 2) 国立感染症研究所(2017)病原体検出マニュアル「麻しん」
- 3) 国立感染症研究所(2019)病原体検出マニュアル「風しん」
- 4) 国立感染症研究所(2018)病原体検出マニュアル「手足口病」
- 5) 国立感染症研究所(2018)病原体検出マニュアル「ヘルパンギーナ」
- 6) 国立感染症研究所(2015)病原体検出マニュアル「突発性発しん」
- 7) 国立感染症研究所(2017)病原体検出マニュアル「咽頭結膜熱・流行性角結膜炎」

農作物中に残留する農薬に関する試験法の 妥当性評価の実施について(第八報)

生活環境科学担当 吉田 京矢、番園 恵理佳、三宅 謙、中井 良人、宮田 伸一
YOSHIDA KYOYA, BANZONO ERIKA, MIYAKE KEN, NAKAI YOSHIHITO, MIYATA SHINICHI

I はじめに

平成 22 年 12 月のガイドライン改正¹⁾に伴い、当所においては、高感度かつ選択性の高い液体クロマトグラフ質量分析計（以下 LC/MS/MS）及びガスクロマトグラフ質量分析計（以下 GC/MS/MS）を用いて、農作物中に残留する農薬の一斉分析試験を実施する一方、これらの試験の妥当性評価に取り組んできた²⁾⁻⁸⁾。

本稿では前回の報告⁸⁾以降、新たに実施した妥当性評価の結果について報告する。

II 方法

1 実験方法及び妥当性評価

試験溶液の調製、試薬、装置、測定条件、対象農薬（LC/MS/MS 89 種、GC/MS/MS 109 種）、妥当性評価の目標値（選択性・真度・精度）は既報⁸⁾と同様にした。

各種農薬について、合計 12 回（2 人×2 併行×3 日間）の測定を行った。

2 試料

市内で販売されていた農作物をランダムに購入し予備実験を行い、妨害ピークが無いことを確認したものの中から、市内での流通量を考慮し、とうもろこしを選択した。

III 結果

とうもろこしの妥当性評価結果を表 1 に示す。真度・室内精度・併行精度が表 2 に示すガイドライン規定の目標値¹⁾をすべて満たしている場合は“○”、

満たしていない場合は“×”で評価した。真度・室内精度・併行精度すべての目標値を満たしていた農薬は LC/MS/MS 0.1 ppm で 86 種（96.6%）、0.01 ppm で 84 種（94.3%）、GC/MS/MS 0.1 ppm で 104 種（95.4%）、0.01 ppm で 102 種（93.5%）であった。

IV まとめ

当所で検査を行っている LC/MS/MS 89 種及び GC/MS/MS 109 種の農薬について、とうもろこしにおいて妥当性評価を実施したところ、おおむね 90%以上の農薬の妥当性を確認することができた。今後も継続して種々の農作物で妥当性の評価試験を実施していくとともに、さらに多くの農薬種で妥当性の評価試験を実施し、検査可能な農薬種を拡充する予定である。

V 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知「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 食安発 1241 第 1 号）
- 2) 武田広宣、志賀谷一仁、谷口誠：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について、平成 22 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 37 号、42-43（2010）
- 3) 鳥居憲親、谷口誠、志賀谷一仁、宮田伸一、武田広宣：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第二報）、平成 24 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 39 号、

43-50 (2012)

- 4) 鳥居憲親、谷口誠、志賀谷一仁、宮田伸一：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第三報）、平成 25 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 40 号、47-56 (2013)
- 5) 神谷恵利、谷口誠、志賀谷一仁、宮田伸一：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第四報）、平成 26 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 41 号、41-50 (2014)
- 6) 神谷恵利、谷口誠、太田貴子、志賀谷一仁、宮田伸一：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第五報）、平成 27 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 42 号、34-43 (2015)
- 7) 神谷恵利、後藤敦子、志賀谷一仁、宮田伸一：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第六報）、平成 28 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 43 号、42-51 (2016)
- 8) 吉田京矢、番園恵理佳、三宅謙、中井良人、宮田伸一：農作物中に残留する農薬に関する試験法の妥当性評価の実施について（第七報）、平成 29 年度 尼崎市立衛生研究所報 第 44 号、34-43 (2017)

表 1-a LC/MS/MS 対象農薬における妥当性評価 (とうもろこし)

No.	LC/MS/MS	真度(回収率)%		併行精度%		室内精度%		評価	
		0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm
1	Oxamyl	72.79	75.59	0.84	3.00	3.32	6.11	○	○
2	Methomyl	81.92	86.91	1.82	4.71	4.55	6.06	○	○
3	Thiamethoxam	75.84	82.13	1.28	3.82	4.61	6.38	○	○
4	Imidacloprid	83.38	90.01	2.08	3.88	4.23	4.34	○	○
5	Clothianidin	82.55	91.67	2.03	5.54	3.46	6.89	○	○
6	Chloridazon	85.80	94.42	2.07	4.89	4.02	5.98	○	○
7	Thiacloprid	86.40	95.24	1.40	3.34	3.02	4.12	○	○
8	Oxycarboxin	83.13	92.75	2.47	2.43	3.41	6.49	○	○
9	Aldicarb	86.78	93.66	2.51	3.65	3.87	6.71	○	○
10	Thiabendazole	84.01	89.76	1.44	2.36	3.00	2.77	○	○
11	Azamethiophos	93.65	97.92	1.48	2.80	4.33	6.55	○	○
12	Bendiocarb	90.10	99.33	1.81	1.76	4.53	5.64	○	○
13	Tebuthiuron	87.27	94.21	1.26	3.76	3.02	5.11	○	○
14	Carbaryl	89.54	97.65	1.86	1.85	4.27	4.93	○	○
15	Monolinuron	86.30	95.28	2.27	3.12	2.97	6.52	○	○
16	Thiodicarb	84.86	90.21	1.12	2.98	4.99	3.75	○	○
17	Dimethirimol	82.98	94.38	0.77	3.53	3.84	5.45	○	○
18	Pirimicarb	89.16	98.04	0.97	2.74	4.57	4.83	○	○
19	Carbofuran	89.82	97.70	1.19	3.09	3.91	4.17	○	○
20	Methabenzthiazuron	87.93	95.65	1.77	4.56	2.76	5.10	○	○
21	Furametpyr	87.46	94.38	1.37	2.74	2.35	5.43	○	○
22	Diuron	87.98	95.77	1.87	3.62	3.22	4.40	○	○
23	Isoxaflutole	87.26	92.59	1.40	5.59	2.08	6.30	○	○
24	Azinphos methyl	88.15	96.60	2.32	4.26	2.91	4.44	○	○
25	Phenmedipham	83.74	90.94	1.87	1.41	3.90	5.94	○	○
26	Pyrifthalid	90.12	99.81	3.56	5.66	3.86	6.80	○	○
27	Fluridon	87.80	96.21	2.41	3.26	2.56	4.20	○	○
28	Fenobucarb	88.59	100.92	3.05	2.33	5.15	5.43	○	○
29	Linuron	88.47	98.18	2.02	3.56	3.66	5.36	○	○
30	Acibenzoral-S-methyl	83.37	88.43	4.64	7.58	4.69	16.57	○	○
31	Azoxystrobin	86.72	94.86	1.78	2.18	2.22	2.75	○	○
32	Methiocarb	91.39	100.62	1.68	3.84	5.17	8.18	○	○
33	Ferimzone(E)	88.85	95.07	1.26	3.31	4.40	4.63	○	○
34	Fenamidone	86.94	94.06	1.84	4.79	4.39	5.39	○	○
35	Tralkoxydim	66.13	66.76	-	-	-	-	×	×
36	Boscalid	80.97	93.10	1.77	5.68	4.25	5.68	○	○
37	Dimethomorph	86.26	96.10	1.62	4.86	2.19	4.89	○	○
38	Dymuron	87.72	96.32	1.68	4.57	2.63	4.85	○	○
39	Methoxyfenozide	90.04	99.61	1.93	3.67	2.60	4.27	○	○
40	Cumyluron	92.07	102.67	1.86	6.78	3.59	8.21	○	○
41	Chlorxuron	88.12	98.49	2.09	3.71	3.64	6.73	○	○
42	Mepanipyrim	88.71	95.01	2.84	8.41	5.14	9.43	○	○
43	Chromafenozide	87.81	98.09	2.54	4.55	2.75	6.08	○	○
44	Iprovalicarb	89.32	97.03	2.82	4.96	4.22	5.33	○	○
45	Butafenacil	86.75	97.77	2.55	6.35	3.56	7.87	○	○
46	Simeconazole	86.12	97.16	2.59	3.21	5.65	3.24	○	○
47	Triticonazole	86.86	97.62	2.35	6.15	5.26	7.47	○	○
48	Flufenacet	88.01	96.52	1.75	4.38	3.39	5.86	○	○
49	Epoxyconazole	85.71	96.80	1.17	5.63	3.28	7.83	○	○
50	Indanofan	88.83	94.57	3.32	7.53	5.86	8.10	○	○

No. LC/MS/MS	真度(回収率)%		併行精度%		室内精度%		評価	
	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm
51 Diflubenzuron	81.70	93.07	3.04	8.95	8.52	10.05	○	○
52 Naproanilide	85.84	98.82	2.46	7.09	3.57	8.71	○	○
53 Tebufenozide	85.53	94.13	2.43	2.67	3.32	2.70	○	○
54 Fenoxycarb	71.61	93.63	10.90	-	13.54	-	○	×
55 Tetrachlorvinphos	89.95	96.12	2.68	4.63	4.97	8.67	○	○
56 Anilofos	89.09	96.39	1.87	4.65	3.11	6.44	○	○
57 Carpropamide	84.91	97.06	3.79	7.66	5.21	8.16	○	○
58 Imazalil	86.75	98.41	6.74	12.62	7.39	14.31	○	○
59 Cyprodinil	85.45	86.50	3.78	7.72	4.64	7.85	○	○
60 Pyraclostrobin	85.29	91.99	1.56	3.04	4.25	3.54	○	○
61 Triflumuron	80.46	92.47	3.81	6.96	6.75	11.88	○	○
62 Cyflufenamide	81.65	92.97	2.47	3.89	4.04	8.30	○	○
63 Pyrazolate	81.21	87.82	2.84	5.60	4.86	8.13	○	○
64 Clofentezin	83.27	88.21	2.56	11.67	4.08	14.39	○	○
65 Pencycuron	84.07	92.43	2.45	6.11	4.60	6.46	○	○
66 Indoxacarb	84.78	88.55	3.73	12.70	4.23	17.04	○	○
67 Hexaflumuron	80.14	84.02	4.54	11.31	4.72	28.48	○	○
68 Cycloate	76.30	73.19	4.09	3.73	5.60	3.87	○	○
69 Novaluron	79.08	88.35	2.70	11.10	8.48	11.19	○	○
70 Diallate	80.08	95.61	11.24	10.57	12.62	21.88	○	○
71 Benzofenap	84.59	91.46	2.56	4.67	2.81	4.81	○	○
72 Oxadiclefomefene	89.20	94.26	1.78	6.01	3.31	6.80	○	○
73 Fenoxaprop-ethyl	85.09	93.18	2.13	4.25	2.15	4.83	○	○
74 Quizalfop-ethyl	81.28	89.89	0.79	4.60	2.34	4.91	○	○
75 Furathiocarb	86.49	94.74	1.15	3.97	4.14	5.33	○	○
76 Lactofen	79.41	89.86	1.32	5.60	1.48	7.36	○	○
77 Clomeprop	78.77	83.92	3.45	2.50	4.42	3.20	○	○
78 Lufenuron	86.25	91.59	5.74	18.18	6.65	22.36	○	○
79 Propaquizafop	85.13	96.01	1.55	4.69	1.87	5.72	○	○
80 Teflubenzuron	82.04	95.31	5.62	-	7.28	-	○	×
81 Cloquintcet-mexyl	86.20	92.56	2.32	3.37	3.94	4.02	○	○
82 Hexythiazox	83.26	90.67	1.66	10.14	5.24	12.72	○	○
83 Flufenoxuron	85.71	92.11	2.77	6.09	3.75	6.29	○	○
84 Fenpyroximate(E, Z)	85.17	89.39	1.50	2.47	1.86	2.97	○	○
85 Abamectin Bla	70.21	56.96	17.88	48.49	22.69	112.12	×	×
86 Spinosyn A	70.74	76.29	2.84	7.46	5.80	7.77	○	○
87 Spinosyn D	70.18	75.29	0.55	7.29	5.86	7.75	○	○
88 Tridemorph	40.62	49.72	3.12	10.41	9.03	10.85	×	×
89 Silafluofen	79.40	86.52	0.63	5.52	1.75	6.04	○	○

表 1-b GC/MS/MS 対象農薬における妥当性評価 (とうもろこし)

No.	GC/MS/MS	真度(回収率)%		併行精度%		室内精度%		評価	
		0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm
1	Dichlorvos	85.09	86.21	3.82	0.54	10.00	0.84	○	○
2	Methamidophos	64.18	88.62	3.98	0.58	10.19	0.76	×	○
3	EPTC	70.02	92.40	2.63	0.14	8.78	0.33	○	○
4	Butylate	69.39	86.94	3.34	0.15	13.53	1.90	×	○
5	Acephate	86.05	109.41	3.08	1.25	7.88	1.63	○	○
6	Isoprocarb(MIPC)	105.08	109.28	3.91	0.46	8.69	0.52	○	○
7	Fenobucarb	107.69	116.97	4.26	0.33	8.12	0.38	○	○
8	Ethoprophos	98.68	106.95	4.34	0.32	8.59	0.38	○	○
9	Chlorpropham	102.61	115.00	4.42	0.19	6.79	0.25	○	○
10	Bendiocarb	112.85	127.71	3.84	0.30	11.56	1.31	○	×
11	Cadusaphos	98.79	107.59	4.22	0.43	8.74	0.54	○	○
12	Thiometon	95.97	104.50	3.50	0.27	7.96	0.33	○	○
13	BHC(δ)	105.54	108.34	2.20	0.32	4.24	0.42	○	○
14	Dimethipin	99.00	102.44	2.28	0.33	5.38	0.56	○	○
15	Diazinon	96.29	105.78	5.76	0.19	9.32	0.28	○	○
16	Tefluthrin	105.67	112.34	3.41	0.42	7.19	1.04	○	○
17	Terbufos	93.83	105.19	3.40	0.27	8.51	0.39	○	○
18	Ethiofencarb	110.44	116.52	4.17	0.15	7.25	0.16	○	○
19	Pirimicarb	114.38	121.86	4.69	0.29	8.65	0.47	○	×
20	Carbaryl	117.27	145.52	2.51	0.85	7.17	1.76	○	×
21	Tolclofos-methyl	94.24	105.00	2.85	0.17	6.19	0.43	○	○
22	Parathion-methyl	94.78	105.31	2.97	0.39	5.49	0.79	○	○
23	Benfuresate	106.45	106.68	2.52	0.43	4.70	0.55	○	○
24	Pirimiphos-methyl	103.45	110.78	2.76	0.18	6.58	0.27	○	○
25	Fenitrothion	91.75	94.40	3.57	0.48	5.72	0.99	○	○
26	Methiocarb	112.05	132.67	3.67	0.66	7.67	2.03	○	×
27	Isofenphos-oxon	100.84	104.36	3.21	0.34	7.66	0.44	○	○
28	Esprocarb	105.38	105.02	3.14	0.41	6.04	0.79	○	○
29	Chlorpyrifos	89.49	96.79	2.58	0.24	5.71	0.69	○	○
30	Chlorfenvinphos-E	101.94	103.39	3.48	0.19	6.83	0.48	○	○
31	Diethofencarb	105.87	106.60	2.91	0.62	5.78	0.69	○	○
32	Dichlofluanid	54.96	51.44	2.51	0.15	19.06	0.94	×	×
33	Dimethylvinphos-Z	101.73	99.98	5.14	0.24	8.92	1.28	○	○
34	Thiobencarb	96.91	100.89	3.22	0.41	7.23	0.93	○	○
35	Parathion	84.55	100.87	2.66	0.40	6.93	0.87	○	○
36	Fenthion	92.28	98.24	2.56	0.20	5.78	0.95	○	○
37	Fosthiazate I	106.99	115.61	4.60	0.31	8.69	0.70	○	○
38	Fosthiazate II	109.62	116.75	6.08	0.75	9.12	1.12	○	○
39	Malathion	102.64	105.57	3.60	0.18	6.59	0.68	○	○
40	Metolachlor	103.49	106.02	4.13	0.40	7.36	0.47	○	○
41	Isofenphos	102.43	101.34	3.65	0.23	8.19	0.33	○	○
42	Quinalphos	91.66	105.24	3.14	0.27	7.68	0.42	○	○
43	Captan	100.07	117.27	4.23	3.70	5.23	3.87	○	○
44	Chlorfenvinphos-Z	102.63	116.69	2.68	0.62	7.79	1.12	○	○
45	Pyrifenox-Z	97.87	97.25	3.38	0.39	7.97	1.05	○	○
46	Phenthoate	92.85	94.75	3.49	0.17	8.22	1.02	○	○
47	Pendimethalin	91.63	106.33	3.40	0.42	7.46	0.50	○	○
48	Triadimenol I	99.64	104.62	1.23	0.39	3.86	0.41	○	○
49	Triadimenol II	100.39	99.28	3.34	0.42	4.52	0.58	○	○
50	Chinomethionat	12.46	0.06	0.08	3.86	12.28	4.04	×	×
51	Paclobutrazol	100.89	99.22	2.09	0.14	4.70	0.35	○	○
52	Pyrifenox-E	99.09	105.70	2.77	0.38	6.98	0.98	○	○
53	DDE(4,4')	87.04	100.47	2.17	0.25	3.15	0.46	○	○
54	Chlorobenzilate	102.56	99.68	3.51	0.16	7.21	0.26	○	○
55	Cyproconazole	106.38	105.13	3.31	0.35	10.03	0.86	○	○
56	Tricyclazole	102.27	105.42	2.98	0.78	8.23	0.90	○	○
57	Fensulfotion	96.19	104.14	2.26	0.36	3.53	0.44	○	○
58	Flusilazole	95.48	96.23	4.45	0.33	9.17	0.91	○	○
59	Flutolanil	106.32	106.96	3.18	0.34	6.10	0.43	○	○
60	Pretilachlor	102.13	102.46	4.52	0.42	8.92	0.50	○	○

No.	GC/MS/MS	真度(回収率)%		併行精度%		室内精度%		評価	
		0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm	0.1ppm	0.01ppm
61	Prothiophos	95.46	103.30	3.52	0.29	7.75	0.87	○	○
62	Myclobutanil	96.99	104.58	3.02	0.23	7.77	0.34	○	○
63	DDD (4,4')	87.73	102.24	4.46	0.20	5.42	0.21	○	○
64	Mepronil	104.10	106.77	2.45	0.18	7.20	0.54	○	○
65	Edifenphos(EDDP)	97.29	104.57	3.81	0.31	6.46	0.74	○	○
66	Captafol	103.63	103.26	7.68	0.89	9.91	1.49	○	○
67	Thenylchlor	101.73	105.15	4.10	0.30	7.39	0.41	○	○
68	Tebuconazole	97.46	98.25	2.91	0.50	7.16	0.83	○	○
69	Propiconazole I	95.02	100.32	4.24	0.45	6.86	0.85	○	○
70	Propiconazole II	99.55	104.33	4.18	0.27	8.25	0.68	○	○
71	Lenacil	96.47	102.83	3.49	0.17	7.24	0.36	○	○
72	EPN	81.47	99.39	3.16	0.25	7.73	0.30	○	○
73	Acetamiprid	84.39	94.20	6.09	0.64	7.19	0.94	○	○
74	Iprodion	98.67	115.44	3.03	1.09	3.69	1.12	○	○
75	Tebufenpyrad	94.21	104.85	2.94	0.20	7.38	0.31	○	○
76	Acrinathrin	89.44	103.46	3.81	0.25	4.44	0.33	○	○
77	Cyhalothrin(γ)	90.66	102.93	3.10	0.18	4.99	0.32	○	○
78	Cyhalothrin(λ)	85.47	103.62	3.30	0.24	5.63	0.39	○	○
79	Pyriproxyfen	95.11	101.49	4.03	0.26	8.59	1.02	○	○
80	Fenarimol	81.92	95.60	3.44	0.27	10.46	1.96	○	○
81	Phosalone	99.45	105.01	2.77	0.27	5.99	0.67	○	○
82	Mefenacet	93.56	104.48	3.02	0.24	8.03	0.84	○	○
83	Pyraclufos	99.47	109.02	5.47	0.31	5.77	0.71	○	○
84	Cyfluthrin I	92.37	104.60	3.01	0.24	3.59	0.29	○	○
85	Cyfluthrin II	92.15	104.04	3.27	0.24	3.61	0.27	○	○
86	Cyfluthrin III	92.02	93.81	2.98	0.33	4.59	1.13	○	○
87	Cyfluthrin IV	98.66	91.47	2.45	0.67	4.87	0.71	○	○
88	Bitertanol I	102.54	103.47	2.22	0.28	7.23	0.44	○	○
89	Bitertanol II	100.78	98.80	8.76	1.17	10.88	1.74	○	○
90	Pyridaben	91.70	103.00	3.51	0.24	9.76	0.30	○	○
91	Permethrin(cis)	91.51	102.90	3.16	0.16	6.16	0.35	○	○
92	Permethrin(trans)	93.51	104.26	2.89	0.16	4.65	0.25	○	○
93	Cypermethrin I	85.99	101.34	2.60	0.35	5.36	0.39	○	○
94	Cypermethrin II	86.73	103.55	4.45	0.38	6.08	0.52	○	○
95	Halfenprox	80.36	101.16	2.02	0.45	4.48	0.54	○	○
96	Cypermethrin III	86.94	104.88	2.20	0.42	3.81	0.45	○	○
97	Cypermethrin IV	91.88	102.46	1.96	0.28	3.56	0.63	○	○
98	Flucythrinate I	96.66	101.73	1.87	0.30	4.55	0.60	○	○
99	Flucythrinate II	96.78	103.36	1.61	0.33	6.69	0.49	○	○
100	Silafluofen	76.44	68.20	4.25	0.88	16.35	1.52	○	×
101	Pyrimidifen	45.72	82.60	1.65	0.35	6.22	2.07	×	○
102	Fenvalerate I	85.46	91.20	1.92	0.52	6.16	0.99	○	○
103	Fluvalinate-tau-I	88.97	98.96	2.07	0.24	3.95	0.48	○	○
104	Difenoconazole I	87.43	99.57	2.03	0.31	3.64	0.45	○	○
105	Fenvalerate II	89.79	92.41	2.17	0.30	5.42	0.65	○	○
106	Fluvalinate-tau-II	90.02	107.72	1.95	0.35	4.04	0.81	○	○
107	Difenoconazole II	91.79	102.11	2.54	0.52	3.88	1.49	○	○
108	Deltamethrin	86.68	97.13	3.44	0.69	3.95	0.84	○	○
109	Imibenconazole	91.51	98.80	3.29	0.53	3.57	0.77	○	○

表2 各濃度における真度(回収率)および精度の目標値(ガイドライン¹⁾より抜粋)

濃度(ppm)	真度(回収率)(%)	併行精度(RSD%)	室内精度(RSD%)
0.001~ \leq 0.01	70~120	25>	30>
0.01~ \leq 0.1	70~120	15>	20>

六価クロム測定時の亜硝酸による妨害対策について

生活環境科学担当 芦原 佳祐、平田 翔子、中井 良人
ASHIHARA KEISUKE, HIRATA SHOKO, NAKAI YOSHIHITO

I はじめに

当所では、水質汚濁防止法（昭和 45 年 12 月 25 日法律第 138 号）に規定する排水基準の遵守状況の把握等を目的として、工場及び事業場排水等の六価クロム濃度を測定しているところである。

六価クロム濃度を測定するに当たっては、「排水基準を定める省令の規定に基づく環境大臣が定める排水基準に係る検定方法」（昭和 49 年 9 月 30 日環境庁告示 64 号）に従い JIS K 0102（以下「規格」という。）65.2.1 の方法を用いている。

規格 65.2.1 の方法は、試料を硫酸酸性としてジフェニルカルバジド溶液を加え、生成する赤紫の錯体の吸光度を測定して六価クロム濃度を求めるものであるが、検液中に一定濃度以上の亜硝酸イオンが含まれていた場合、発色妨害が生じて正確な六価クロム濃度の測定が困難となる。

亜硝酸イオンによる妨害を除く方法としては、規格 38.1.2（全シアンの測定）に記載のとおり、検液にアミド硫酸アンモニウム溶液を添加する方法がある。

そこで、六価クロム濃度の測定においても、検液にアミド硫酸アンモニウム溶液を添加することで亜硝酸イオンによる妨害を除けないか検討したところ、良好な結果を得たので報告する。

II 方法

1 標準溶液及び試薬

六価クロム標準溶液は和光純薬工業(株)製 (Cr100) を、亜硝酸イオン標準溶液は富士フィルム和光純薬(株)製 (NO₂-1000) を用いた。

アミド硫酸アンモニウムは和光純薬工業(株)製を

用いた。

水は ADVANTEC（株式会社東洋製作所）製 RFD240NC から得た蒸留水を用いた。

2 検量線

六価クロム標準溶液を蒸留水で希釈し、1mg/L の六価クロム標準溶液を調製した。これを蒸留水で希釈し、0.01～0.2mg/L の検量線用溶液を調製した。

3 装置

分光光度計は島津製 UV-120 を使用した。

4 分析操作

(1) アミド硫酸アンモニウム溶液添加による六価クロム濃度への影響調査

アミド硫酸アンモニウム溶液を添加した場合においても六価クロム濃度を正確に測定できるか確認するため、0.05mg/L の六価クロム標準溶液に 5% アミド硫酸アンモニウム溶液（アミド硫酸アンモニウム 2.5g を蒸留水で 50mL に定容したもの）0.5～5.0mL を段階的に添加し、六価クロム濃度を測定した。

(2) 妨害が生じる亜硝酸イオン濃度の調査

六価クロム濃度の測定に妨害が生じる亜硝酸イオン濃度を調査するため、0.05mg/L の六価クロム標準溶液に亜硝酸イオン標準溶液を段階的に添加し、六価クロム濃度を測定した。

(3) 亜硝酸イオンの除去調査

アミド硫酸アンモニウム溶液を添加することで亜硝酸イオンによる妨害を除くことが可能か確認するため、(2)と同様 0.05mg/L の六価クロム標準溶液に亜硝酸イオン標準溶液を段階的に添加した後、5%アミド硫酸アンモニウム溶液を 2mL 添加して六価クロム濃度を測定した。

III 結果および考察

(1) アミド硫酸アンモニウム溶液添加による六価クロム濃度への影響調査

調査結果を表 1 に示す。5%アミド硫酸アンモニウム溶液を添加した場合においても六価クロム濃度を正確に測定できることが確認できた。

表 1 六価クロム濃度への影響調査

5%アミド硫酸アンモニウム溶液添加量	六価クロム濃度
0.0mL	0.05mg/L
0.5mL	0.05mg/L
1.0mL	0.05mg/L
2.0mL	0.05mg/L
5.0mL	0.05mg/L

(2) 妨害が生じる亜硝酸イオン濃度の調査

調査結果を図 1 に示す。検液中の亜硝酸イオン濃度が 18mg/L を超えると妨害が生じた。

(3) 亜硝酸イオンの除去調査

調査結果を図 1 に示す。5%アミド硫酸アンモニウム溶液を 2mL 添加したところ、六価クロム濃度を正確に測定できることが確認できた。

亜硝酸イオンが存在している溶液に 5%アミド硫酸アンモニウム溶液を添加することで、図 2 のとおりジアゾ化反応が起こり亜硝酸イオンが消費されたため、妨害を除くことができたと考えられる。

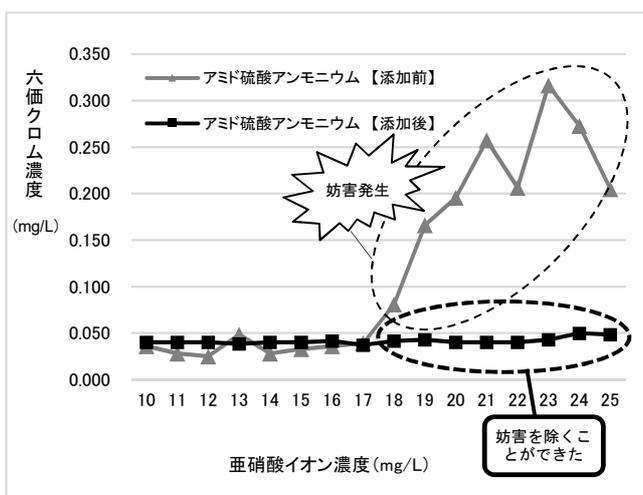


図 1 妨害調査の結果

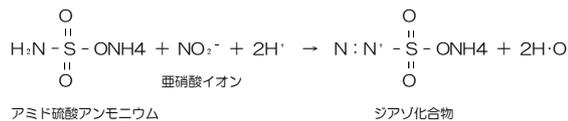


図 2 反応式

IV まとめ

本法は、規格 65.2.1 の方法により六価クロム濃度を測定するに当たって、亜硝酸イオンによる妨害が生じた場合においても正確に六価クロム濃度が測定できる検査法であると考えられた。

なお、アミド硫酸アンモニウム溶液を添加するタイミングについては、検査条件を揃えるためにも中和前に添加するのが良いと考える。

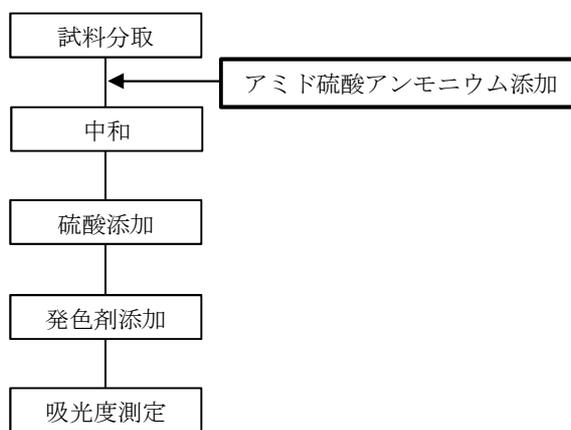


図 3 本法の操作フロー

V 今後の課題

本法を工場等排水試験に適用していくに当たり、排水中にアミド硫酸アンモニウムの働きを阻害する成分が含まれるなど、本法が適用できない場合も想定される。

そのため、今後もデータをさらに蓄積していく必要があるものと考えている。

VI 参考文献

- 1) 日本水道協会：上水試験方法（1978年版）

IV その他

○尼崎市立衛生研究所の設置及び管理に関する条例

昭和 41 年 10 月 4 日

条例第 36 号

(この条例の趣旨)

第 1 条 この条例は、尼崎市立衛生研究所(以下「研究所」という。)の設置及び管理について必要な事項を定めるものとする。

(設置)

第 2 条 衛生に関する各種の試験、検査、研究及び調査(以下「試験等」という。)を行い、公衆衛生の向上及び増進に寄与するため、本市に研究所を設置する。

(昭 43 条例 20・平 5 条例 45・一部改正)

(位置)

第 3 条 研究所の位置は、尼崎市南塚口町 4 丁目 4 番 8 号とする。

(昭 42 条例 33・平 5 条例 45・一部改正)

(業務)

第 4 条 研究所は、次の各号に掲げる業務を行う。

- (1) 微生物等に関する試験等
- (2) 公害に関する試験等
- (3) 食品衛生及び環境衛生に関する試験等
- (4) 前各号に掲げるもののほか、公衆衛生に関する試験等

(昭 43 条例 20・一部改正、平 5 条例 45・全改)

(使用の許可)

第 5 条 市内に居住し、又は勤務場所を有する医師、歯科医師、薬剤師、獣医師その他市長が適当と認める者で衛生に関する試験等のため研究所施設を使用しようとするものは、市長の許可を受けなければならない。

(使用料)

第 6 条 前条の規定により使用の許可を受けた者(以下「使用者」という。)は、1 回 1,000 円の範囲内で規則で定める額の使用料を納付しなければならない。

2 使用者が、研究所施設の使用に際し、特別に薬品、資材等を要した場合は、前項に定める使用料のほか、別にその実費を徴収する。

(試験等の依頼)

第 7 条 市内に居住する者及び市内に事務所を有する者は、衛生に関する試験等の依頼をすることができる。

2 前項の規定にかかわらず、市長が特別の理由があると認めるときは、前項に規定する者以外の者に対しても、その依頼に応ずることがある。

(昭 43 条例 20・平 5 条例 45・一部改正)

(手数料)

第 8 条 前条の規定により研究所に試験等を依頼しようとする者は、別表の範囲内で規則で定める額の手数料を納付しなければならない。

2 別表の種別に該当しない試験等に係る手数料については、その都度定める。

(昭 43 条例 20・平 5 条例 45・一部改正)

(使用料及び手数料の納付時期等)

第 9 条 使用料及び手数料は、前納しなければならない。ただし、市長が特別の理由があると認めるときは、この限りでない。

2 市内に居住する者で生活保護法(昭和 25 年法律第 144 号)による保護を受けているもの又は市長が必要があると認める者に対しては、使用料及び手数料を減免することができる。

3 既納の使用料及び手数料は、還付しない。ただし、市長が特別の理由があると認めるときは、この限りでない。

(原状回復義務等)

第 10 条 使用者は、建物又は付属設備を損傷し、又は滅失したときは、すみやかにこれを原状に回復し、又はその損害を賠償しなければならない。ただし、市長が特にやむを得ない事情があると認めるときは、この限りでない。

(委任)

第 11 条 この条例に定めるもののほか、研究所の管理について必要な事項は、規則で定める。

(以降省略)

尼崎市立衛生研究所の設置及び管理に関する条例施行規則

昭和 41 年 11 月 30 日

規則第 76 号

(令和元年 6 月 17 日施行)

(この規則の趣旨)

第 1 条 この規則は、尼崎市立衛生研究所の設置及び管理に関する条例(昭和 41 年尼崎市条例第 36 号。以下「条例」という。)第 6 条第 1 項、第 8 条第 1 項及び第 11 条の規定に基づき、尼崎市立衛生研究所(以下「研究所」という。)の管理について必要な事項を定めるものとする。

(使用許可の手続)

第 2 条 条例第 5 条の規定により研究所施設の使用の許可(以下「使用許可」という。)を受けようとする者は、次の各号に掲げる事項を記載した研究所施設使用許可申請書を市長に提出しなければならない。

- (1) 使用許可を受けようとする者の氏名及び住所(法人にあつては、名称及び主たる事業所の所在地並びにその代表者の氏名。以下同じ。)
- (2) 研究所施設の使用の目的
- (3) 研究所施設を使用しようとする日及び時間帯
- (4) その他市長が必要と認める事項

2 市長は、使用許可をしたときは、当該使用許可を申請した者に研究所施設使用許可書を交付するものとする。

(使用料)

第 3 条 条例第 6 条第 1 項の規則で定める額は、別表第 1 のとおりとする。

(使用の制限)

第 4 条 市長は、次の各号のいずれかに該当すると認めるときは、使用許可をしないことができる。

- (1) 営利を目的として使用するおそれがあるとき。
- (2) 公の秩序、善良の風俗その他公益を害するおそれがあるとき。
- (3) 研究所施設又は研究所の設備その他の物件(以下「付属設備」という。)を汚損し、毀損し、又は滅失させるおそれがあるとき。
- (4) その他研究所の管理上支障があるとき。

(試験等の依頼の手続)

第 5 条 条例第 7 条の規定により試験等の依頼をしようとする者(以下「依頼者」という。)は、次の各号に掲げる事項を記載した依頼書を所長に提出しなければならない。

- (1) 依頼者の氏名及び住所
- (2) 依頼する試験等の種別及び項目
- (3) その他市長が必要と認める事項

(検体の提出等)

第6条 依頼者は、条例第7条の規定により依頼する試験等が検体を要するものであるときは、別に指示する量の検体を研究所に提出しなければならない。

2 前項の規定により提出された検体は、返還しない。ただし、当該検体に係る試験等の依頼の際にその依頼者から当該検体について返還の申出があった場合については、残量があった場合に限り、当該検体を返還する。

(成績書の交付)

第7条 所長は、条例第7条第1項の規定による依頼があった試験等（以下「依頼試験等」という。）が終了したときは、当該試験等に係る成績書を当該依頼を行った者に交付するものとする。

(手数料)

第8条 条例第8条第1項の規則で定める額は、別表第2のとおりとする。

(使用料等の後納)

第9条 市長は、次の各号のいずれかに該当するときは、使用料又は手数料を後納させることができる。

(1) 研究所施設の使用後又は依頼試験等の終了後でなければ使用料又は手数料の額の算定が困難であるとき。

(2) 国又は他の地方公共団体その他公共団体が研究所施設を使用し、又は試験等を依頼するとき。

(3) その他市長が特別の理由があると認めるとき。

2 前項の規定による使用料又は手数料の後納の承認を受けようとする者は、あらかじめ、研究所使用料・手数料後納申請書を市長に提出しなければならない。

(使用料等の減免)

第10条 使用料又は手数料の減免額は、次に掲げる者の区分に応じ、当該号に定める額とする。

(1) 市内に居住する者で生活保護法(昭和25年法律第144号)による保護を受けているもの及びこれに準ずると市長が認める者（依頼者に限る。） 所定の手数料の全額

(2) その他特別の事情により市長が特に減免の必要があると認める者 市長が別に定める額

2 使用料又は手数料の減免を受けようとする者は、研究所使用料・手数料減免申請書を市長に提出しなければならない。

(使用料等の還付)

第11条 条例第9条第3項ただし書の特別の理由は、次のとおりとする。

(1) 使用許可を受けた者（以下「使用者」という。）の責めに帰することのできない理由により研究所施設を使用することができなくなったとき。

(2) 使用者がその使用の日の前日までに使用許可の取消しを申し出たとき。

(3) その他市長が特に還付の必要があると認めるとき。

2 使用料又は手数料の還付額は、次に掲げる区分に応じ、当該号に定める額とする。

- (1) 前項第 1 号又は第 2 号に該当するとき 所定の使用料の全額
 - (2) 前項第 3 号に該当するとき 市長が別に定める額
- 3 使用料又は手数料の還付を受けようとする者は、研究所使用料・手数料還付請求書を市長に提出しなければならない。

(使用許可の取消し等)

第 12 条 市長は、次の各号のいずれかに該当するときは、使用許可を取り消し、又は使用許可の条件を変更することができる。

- (1) 使用者が偽りその他不正の手段により使用許可を受けたとき。
 - (2) 使用者が使用許可の条件に違反したとき。
 - (3) 条例若しくはこの規則の規定又はこれらの規定に基づく処分に違反する行為があったとき。
 - (4) その他市長が研究所の管理上支障があると認めるとき。
- 2 市は、前項の規定による使用許可の取消し又は使用許可の条件の変更を受けた者が、これらによって損害を受けても、その損害について賠償等の責任を負わない。

(使用者の遵守事項)

第 13 条 使用者は、次の各号に掲げる事項を守らなければならない。

- (1) 研究所施設若しくは研究所の付属設備を汚損し、毀損し、若しくは滅失させ、又はこれらのおそれがある行為をしないこと。
- (2) 使用許可を受けていない研究所施設又は研究所の付属設備を使用しないこと。
- (3) 所定の場所以外の場所に立ち入らないこと。
- (4) 所定の場所以外の場所において飲食し、又は喫煙その他火気の使用をしないこと。
- (5) 他人に迷惑を及ぼす行為をしないこと。
- (6) 使用を終えたときは、直ちに、清掃のうえ原状に回復し、その旨を係員に報告し、点検を受けること。
- (7) その他市長が指示した事項

(施行の細目)

第 14 条 この規則に定めるもののほか、研究所の運営について必要な事項は、主管局長が定める。

(以降省略)

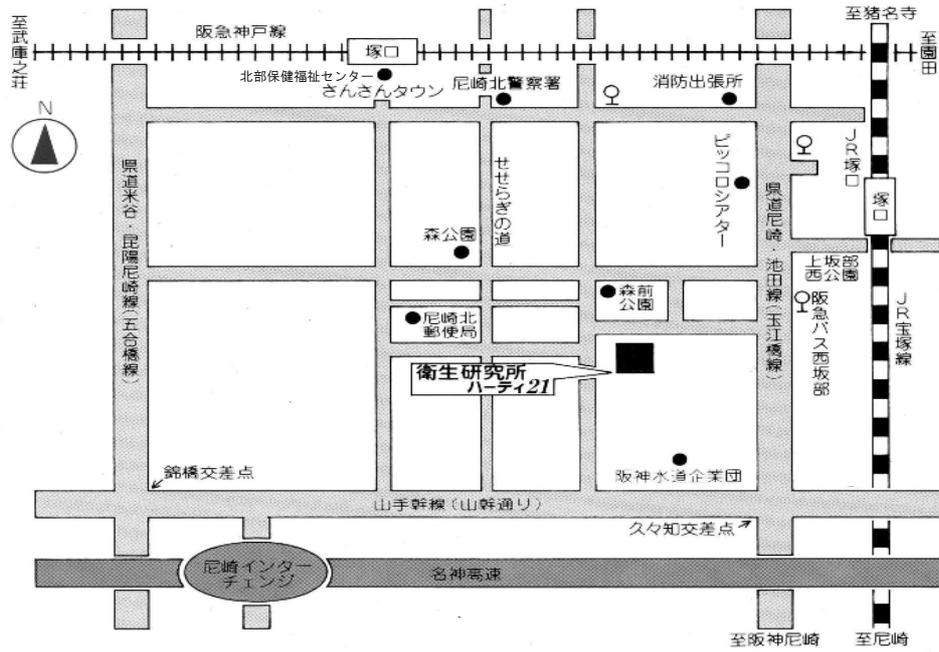
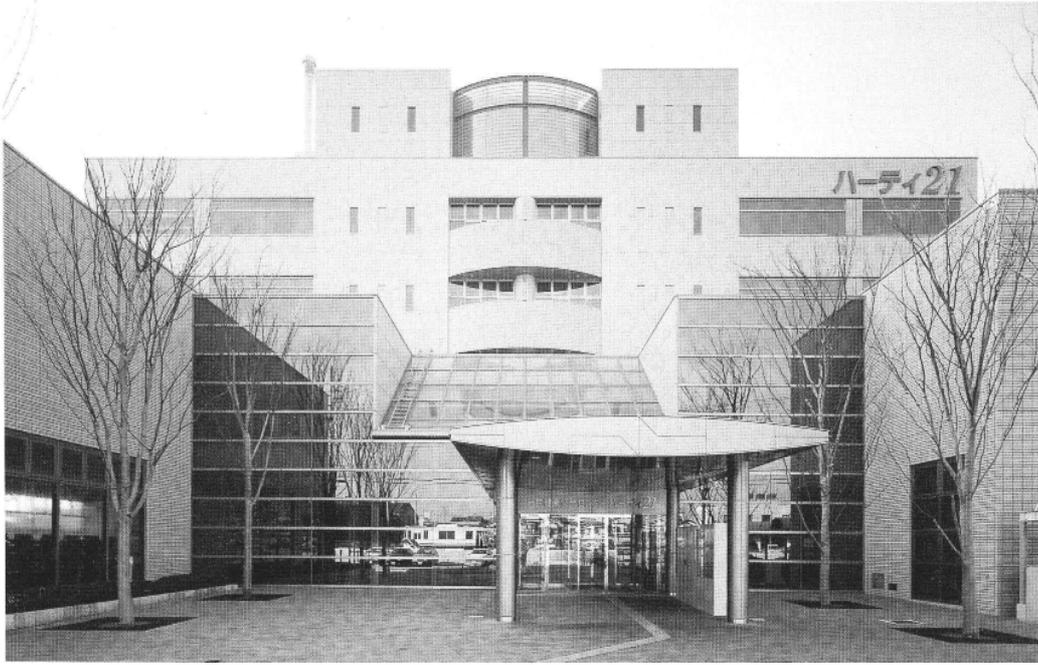
検査手数料一覧

検査手数料の主なものは、次のとおりです。

飲料水適否検査セット 10項目 7,800円		【化学試験 8項目 4,000円】 外観 硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素 色度 塩化物イオン 濁度 有機物(TOC) 臭気 PH値	【細菌検査 2項目 3,800円】 一般細菌数 大腸菌
浴場水検査セット 3項目 5,600円		【化学試験 2項目 3,700円】 濁度 過マンガン酸カリウム消費量	【細菌検査 1項目 1,900円】 大腸菌群
プール水検査セット 5項目 7,600円		【化学試験 3項目 3,800円】 濁度 PH値 過マンガン酸カリウム消費量	【細菌検査 2項目 3,800円】 一般細菌数 大腸菌
細菌検査	水質	1菌種につき 1,900円 ただし、 O-157 及び レジオネラ属菌 については 各3,400円	
	食品	1菌種につき 3,600円 ただし、 O-157 については 4,400円	
検査成績書再交付手数料		300円	

- 当所では、市内在住の方又は市内事業所からの依頼のみ受付けています。
- 検査受付けは、原則的に毎週月曜日(月曜日が休日の場合は火曜日)の午前中(9時~12時)です。月曜日以外の検査を希望される方は、事前にご相談ください。
- 料金は、前払いで検査依頼書提出と同時に支払い願います。
- 飲料水等水質検査については、あらかじめ所定の容器をお渡します。月曜日~金曜日の9時~17時30分の間に容器を取りにお越しく下さい。
- なお、詳細及び不明な点については職員にお問い合わせください。

661-0012
 尼崎市南塚口町4丁目4番8号 ハーティ21 5階
 尼崎市立衛生研究所
 TEL (06)6426-6355
 FAX (06)6428-2566



- ☆ 阪急バス：西坂部より徒歩4分
- ☆ 阪急神戸線：塚口駅より徒歩13分
- ☆ JR宝塚線：塚口駅より徒歩13分

尼崎市立衛生研究所 第 45 号

令和 2 年 3 月 9 日 発行

発行所 尼崎市立衛生研究所

〒661-0012 尼崎市南塚口町 4 丁目 4 番 8 号

TEL 06-6426-6355 FAX 06-6428-2566

E-mail : ama-eisei-kenkyusyo@city.amagasaki.hyogo.jp

