



横須賀市健康安全科学センター一年報

第 19 号

平成 28 年度 (2016 年度)

横須賀市健康安全科学センター

はじめに

横須賀市健康安全科学センターは、市民の健康と環境を守る中核検査機関として、保健所をはじめとする関係行政部局との緊密な連携のもとで、食の安全、感染症の蔓延防止、生活環境の保全そして飲用水の安全確保に取り組んでいます。

ここに平成28年度の業務概要を「横須賀市健康安全科学センター年報 第19号」としてまとめました。忌憚のないご意見をお寄せ願います。

調査研究は、家庭用品のアゾ化合物の試験調査とレジオネラ属菌検査における最適検査法の検討の二題について実施しました。安全な暮らしと公衆衛生の改善につながる重要な取り組みであり、成果は検査体制の強化に確実に結びついています。

平成28年は、ジカウイルス感染症について2月にWHOが「国際的な公衆衛生上の緊急事態」を宣言し、夏には空港施設で麻疹の集団感染が発生するなど、人やモノの移動がますます盛んになる中で、海外からの感染症の侵入リスクの高まりが切迫感を持って受け止められました。国内では近年、広域的な食中毒が社会問題となっており、本市においても7月に県外で発生した食中毒で、転入者の集団から新興感染症原因菌と位置付けられた *Escherichia albertii* が多数検出され、10月には冷凍メンチカツによる腸管出血性大腸菌感染症が県内を中心に広域で発生しました。国内外を問わず、感染経路の解明や感染の拡大抑制、そして的確な検査の実施の観点からは、全国の検査機関そして行政機関の間の緊密な情報交換、情報共有が不可欠となっています。

当センターでは、検査項目の拡大、検査精度の向上そして信頼性確保体制の確立など検査体制の強化に継続的に取り組むとともに、課題を共有する検査機関、行政機関と積極的に連携することで、市民の健康と安全を支える基盤的な役割を果たしていきます。

平成29年12月

横須賀市健康安全科学センター所長 村田省平

目 次

I	概 要	
i	健康安全科学センターの概要	
1	沿革	1
2	施設	1
3	組織	3
4	職員構成	4
5	平成 28 年度 歳入、歳出決算額	4
6	主要備品の整備状況	5
II	試験検査実施状況及び事業概要	
i	試験検査実施状況	
1	微生物学的検査	7
2	臨床検査	9
3	食品、家庭用品等検査	10
4	大気、水質、廃棄物等の検査	11
5	精度管理	12
6	調査研究	13
ii	微生物学的検査	
1	予防検査	14
2	感染症病原体検査	14
3	食中毒(疑)、有症苦情等検査	15
4	感染症発生動向調査	16
iii	臨床検査	
1	臨床検査	19
iv	食品、家庭用品等検査	
1	食品微生物検査	20
2	食品理化学検査	24
3	家庭用品試買検査	28
v	大気、水質、廃棄物等検査	
1	飲用水、利用水等水質検査	30
2	環境・公害関係検査	32
III	精度管理	
i	精度管理実施状況	35
IV	調査研究	
・	家庭用品のアゾ化合物の試験調査	37
・	レジオネラ属菌検査における最適検査法の検討	52
V	資料	
i	課題検討及び発表報告等	59
・	HPLC による食品中のサッカリンナトリウム及び保存料の一斉分析	60
・	肺炎球菌とインフルエンザ菌の遺伝子検査方法の変更について	64
・	淋菌感染症の PCR 検査法について	71
・	レジオネラ症患者発生に伴うレジオネラ属菌関連調査	74

I 概 要

i 健康安全科学センターの概要

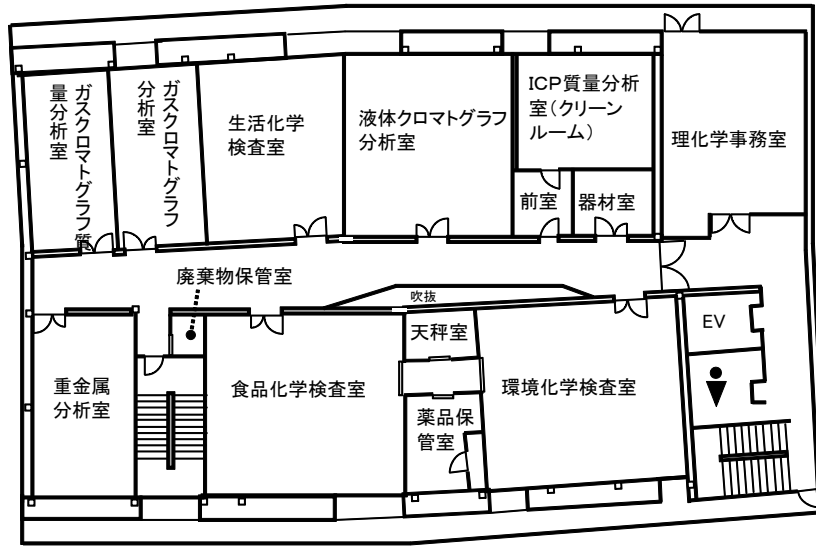
1 沿革

昭和41年4月	中央保健所と日の出診療所の検査部門を統合して衛生試験所を開設する。
昭和49年9月	中央保健所、衛生試験所合同庁舎新築により横須賀市米が浜通2-7に移転する。
昭和52年4月	事務分掌規則の改正により検査係が廃止となり、化学検査係と細菌検査係の二係となる。
昭和62年4月	衛生試験所条例施行規則の一部を改正し、手数料を全面改定する。
平成7年4月	水道法の改正に伴い、衛生試験所条例施行規則の一部を改正する。
平成10年4月	機構改革により主査制が導入され、環境検査・庶務担当と感染症・臨床・食品検査担当の二体制となる。
平成12年4月	手数料の条例化に伴い、衛生試験所条例及び施行規則の一部を改正する。
平成13年1月	保健所のウェルシティ市民プラザへの移転により、衛生試験所の単独施設となる。
平成13年4月	総務・管理担当、理化学検査担当、微生物・臨床検査担当の三体制となる。
平成18年2月	横須賀市日の出町2-14に新築移転。「健康安全科学センター」に改称する。
平成26年4月	総務・管理係、精度管理担当、理化学検査係、微生物・臨床検査係となる。

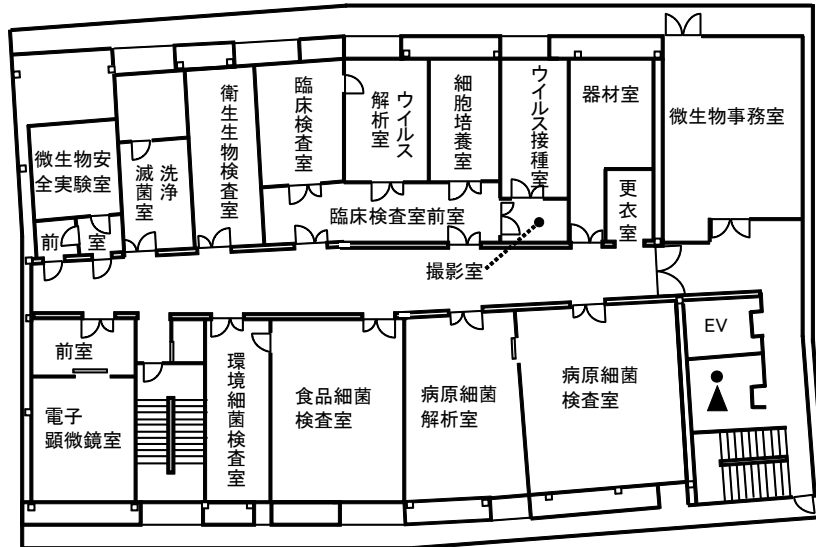
2 施設

所在地	〒238-0006 神奈川県横須賀市日の出町2丁目14番地 TEL 046 (822) 4057 (直通) FAX 046 (822) 5540	
敷地	敷地面積	1,460.12 m ²
	総延床面積	2,349.71 m ²
建物	鉄骨造（一部鉄筋コンクリート造）3階建 免震装置付	

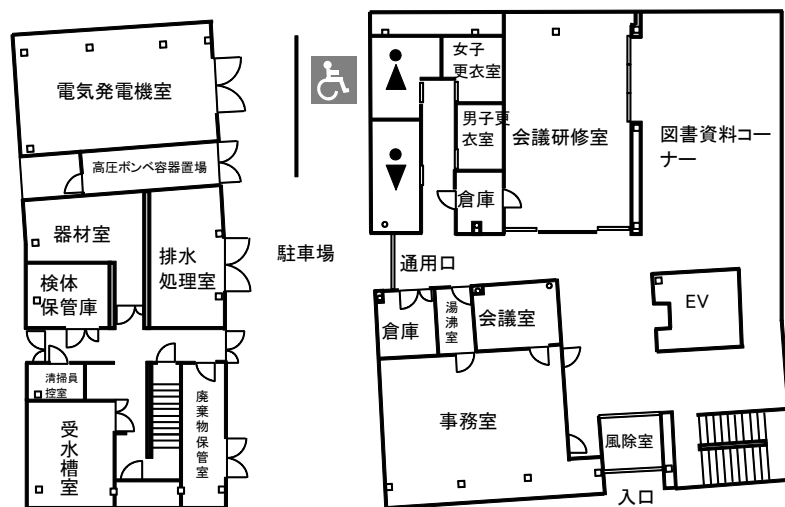
健康安全科学センター平面図



3階

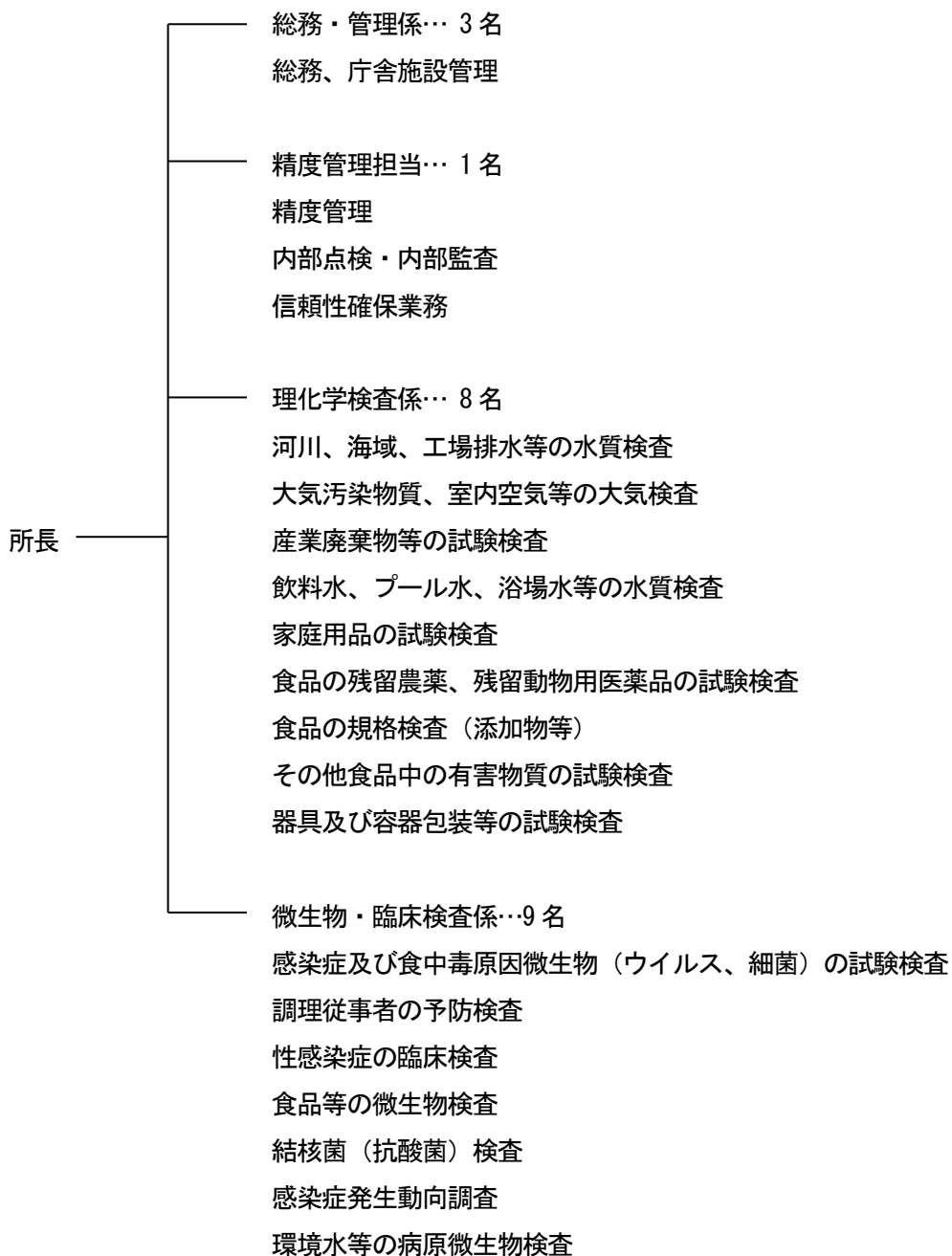
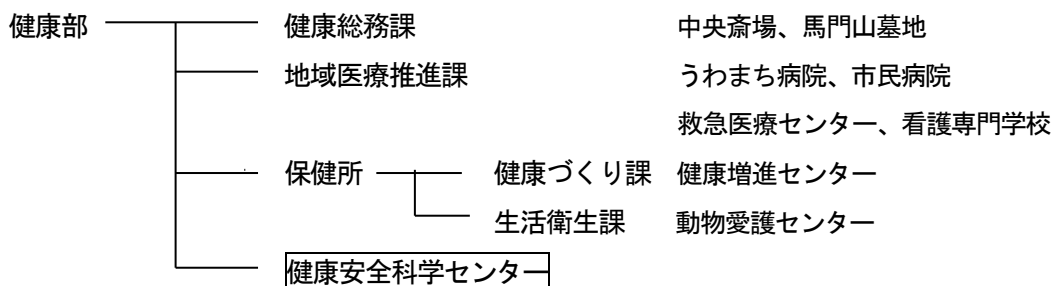


2階



1階

3 組織（平成 29 年 4 月 1 日現在）



4 職員構成

平成29年4月1日現在

区分	事務職	技術職				合計
	一般事務	臨床検査技師	化学技術	看護師	準看護師	
所長	-	-	1	-	-	1
総務・管理係	2	-	-	1	-	3
精度管理担当	-	1	-	-	-	1
理化学検査係	-	4	4	-	-	8
微生物・臨床検査係	-	7	1	-	1	9
合計	2	12	6	1	1	22

5 平成28年度 歳入、歳出決算額

1) 歳入

(単位：円)

区分	予算現額	決算額
健康安全科学センター手数料	6,491,000	6,615,000

2) 歳出

(単位：円)

節区分	予算現額	決算額
給料	91,033,000	90,846,266
職員手当等	61,374,000	59,933,727
共済費	29,904,000	29,787,113
旅費	335,000	213,560
需用費	46,048,000	41,166,945
役務費	550,000	547,646
委託料	34,193,000	33,145,385
使用料及び賃借料	11,590,000	11,354,012
備品購入費	4,094,000	3,581,755
負担金、補助及び交付金	363,000	343,910
合計	279,484,000	270,920,319

6 主要備品の整備状況

主要備品（100万円以上）

健康安全科学センター所管

平成29年4月現在

購入年度	品名	メーカー・規格	数量
S63	オートダイリユーター	三光 SPR-2	1
H5	高速液体クロマトグラフ	日本分光ガリバーシリーズ	1
H5	顕微鏡（落射蛍光）	オリンパス BHS-RFC	1
H5	オートダイリユーター	三光 SJ101-24A	1
H7	増幅インキュベーター式	日本ロシュ PCR-2400	1
H8	ポストカラム蛍光検出反応ユニット	日本分光	1
H9	微量高速遠心器	日立 Cr-22F	1
H9	テーハー式CO2培養器	平沢 CPD-1702	1
H9	滅菌器（高圧）GLP用	池田理化 MC-40	1
H10	高速液体クロマトグラフ	日本分光ガリバーシリーズ	1
H11	生物顕微鏡	オリンパス BX-40-33	1
H12	カンピロ・インキュベーター	ヒラサワHZC-3	1
H12	炭酸ガス培養器	ヒラサワCPD-1702	1
H12	炭酸ガス培養器	ヒラサワCPD-1702	1
H12	組織顕微鏡	オリンパス IX70-22PM	1
H12	安全キャビネット	日本エアーテックBHC-1303ⅡA/B3型	1
H12	GPCクリーンアップシステム	島津 LC-10AVP GPCシステム	1
H13	パルスフィールド電気泳動装置	日本バイオラッドラボラトリー-CHEF MAPPER他	1
H14	高速液体クロマトグラフ	日本ウォーターズ 2695システム	1
H15	振とう器	杉山元 医理器VS-L	1
H15	水分活性測定装置	スイスアクセル社THF100型	1
H15	マイクロプレートリーダー	日本バイオラッド社モデル680	1
H16	全有機炭素測定装置（TOC）	島津製作所 TOC-VCSH	1
H17	ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-2010	1
H17	液体クロマトグラフ質量分析計	日本ウォーターズ LC-MS/MS Quattro micro	1
H17	原子吸光度計（水素化物発生装置付）	島津製作所 AA-6300	1
H17	蒸留装置	杉山元 P-521-1ELC	1
H17	赤外分光光度計	島津製作所 FTIR-8400	1
H17	イオンクロマトグラフ	ダイオネクスICS2000, ICS1500	1
H17	マイクロウェーブ分解装置	理学 Multiwave3000	1
H17	Sep-pakコンセントレータープラス	日本ウォーターズ	2
H17	ガスブロー式濃縮ラック	GLサイエンス	1
H17	ロータリーエバポレーター	柴田科学 R-205V-5	1
H17	超純水製造装置	ミリポア EQE-3S	1
H17	誘導結合プラズマ質量分析計	アジレント AGILENT 7500CE	1
H17	ガスクロマトグラフ質量分析計（PT付）	アジレント GC-MS5973N	1
H17	ガスクロマトグラフ質量分析計（MS/MS）	バリアン 1200	1
H17	マウスゲージ	ヤマト科学 KN-734-A	1
H17	冷凍冷蔵庫	三洋バイオメディカ MDF-U72V	1

主要備品（100万円以上）の続き

購入年度	品名	メーカー・規格	数量
H17	恒温器	日本ビオメリユーバクテアラート3D60	1
H17	クリーンベンチ	三洋バイオメディカ MCV-B131F	1
H17	超純水製造装置	日本ミリポア GPA-3S	1
H17	遠心沈殿器（冷却）	久保田商事 3-16K	1
H17	超高速遠心分離器	日立工機 CP-80WX	1
H17	遺伝子増幅装置（定量）	ABI 7900HT4	1
H18	ガスクロマトグラフ	島津製作所 GC-2010	2
H18	分光光度計	島津製作所 UV2550	1
H18	電子顕微鏡	日立ハイテクノロジーズH-7650	1
H19	水銀分析装置	日本インスツルメンツ	1
H19	位相差機能付微分干渉顕微鏡	オリンパス BX51N-34DICT	1
H23	遺伝子解析装置（リース対応）	ベックマン・コールターGenomeLab GeXP Basic	1
H24	安全キャビネット	日本エアーテックBHC-1306 II A2	1
H25	遠心沈殿器	久保田商事 Model6200	1
H26	ガスクロマトグラフ質量分析計（リース対応）	島津製作所 GCMS-TQ8040	1
H26	電気泳動ゲル撮影装置	アトー WSE-5200A フリントグラフ 2M	1
H26	ロータリーエバポレーター	日本ビュッヒ R-215V	1
H26	濁度計	日本電色工業 WA6000	1
H27	ガスクロマトグラフ質量分析計（リース対応）	Agilent 7000C トリプル四重極	1
H27	高速液体クロマトグラフ（リース対応）	Waters e2695 Alliance HPLC	1
H27	増幅インキュベーター	Applied Quantstudio3	1
H27	増幅インキュベーター	Applied PloFlex PCR system	1
H28	遠心分離器	久保田商事 S700FR	1
H28	分光光度計	島津製作所 UV-1850	1

Ⅱ 試験検査実施状況及び事業概要

i 試験検査実施状況

1 微生物学的検査

表1 微生物学的検査実施状況

検査区分	依頼によるもの								件数 総合計	検査内容				
	住民		保健所		庁内各部等		その他（学校、事業所等）			項目名	項目数			
	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数						
細菌検査	分離・同定・検出	-	-	104	112	10,425	31,273	-	-	10,529	1.大腸菌	10,446		
												腸管出血性大腸菌(EHEC)	10,446	
												毒素原性大腸菌(ETEC)	0	
													組織侵入性大腸菌(EIEC)	0
													腸管病原性大腸菌(EPEC)	0
													腸管凝集付着性大腸菌(EAggEC)	0
													2.赤痢菌	10,424
													3.腸チフス菌	0
													4.パラチフスA菌	0
													5.その他のサルモネラ属菌	10,425
													6.コレラ菌 01・0139 (GT+)	4
													7.コレラ菌 01・0139 (GT-)	4
													8.コレラ菌 (01・0139以外)	4
													9.腸炎ビブリオ	0
													10.ビブリオ フルビアーリス	0
													11.ビブリオ・ミミカス	0
													12.エロモナス属菌	0
													13.ブレジオモナス シゲロイデス	0
													14.カンピロバクター属菌	0
													15.エルシニア・エンテロコロチカ	0
													16.黄色ブドウ球菌	0
													17.セレウス菌	0
													18.ウェルシュ菌	0
													19.ジフテリア菌	0
													20. A群溶血性レンサ球菌	0
													21. A群以外の溶血性レンサ球菌	0
													22.百日咳菌	0
													23.レジオネラ菌	1
													24.マイコプラズマ	0
													25.淋菌	0
													26.ペニシリン耐性肺炎球菌	0
											27.侵襲性髄膜炎菌	0		
											28.侵襲性インフルエンザ菌	0		
											29.侵襲性肺炎球菌	0		
											30.その他の細菌	77		
											* 核酸検査(PCR) (※)	(134)		
											* 核酸検査(PFGE) (※)	(168)		
ウイルス等検査	分離・同定・検出 ウイルス	-	-	133	660	-	-	-	-	133	1.細胞培養法	172		
												2.血球凝集阻止試験	0	
												3.イムノクロマト法	3	
												4.中和試験	6	
												5.薬剤耐性株検査	1	
												6.蛍光抗体法	0	
												7. E I A 法	0	
												8.核酸検査	478	
												* 核酸検査 (DNAシーケンス) (※)	(25)	
										9.その他	0			

表2 微生物学的検査実施状況

検査区分	依頼によるもの								件数 総合計	検査内容				
	住民		保健所		庁内各部等		その他（学校、事業所等）			項目名	項目数			
	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数						
原虫 寄生虫等	原虫	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1. アメーバ赤痢 2. クリプトスポリジウム 3. ジアルジア 4. その他	0 0 0 0		
	寄生虫	-	-	-	-	-	-	-	-	0	1. ザルコシスチス 2. その他 * 核酸検査（PCR）（※） * 核酸検査（MAシーケンス）（※）	0 0 (0) (0)		
	そ族・節足動物	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0		
	真菌・その他	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0		
食中毒 病原微生物検査	細菌	-	-	140	1,241	-	-	-	-	140	1. 大腸菌 腸管出血性大腸菌（EHEC） 毒素原性大腸菌（ETEC） 組織侵入性大腸菌（EIEC） 腸管病原性大腸菌（EPEC） 腸管凝集付着性大腸菌（EAggEC） 2. 赤痢菌 3. 腸チフス菌 4. パラチフスA菌 5. その他のサルモネラ属菌 6. コレラ菌 01・0139（GT+） 7. コレラ菌 01・0139（GT-） 8. コレラ菌（01・0139以外） 9. 腸炎ビブリオ 10. ビブリオ フルビアールス 11. ビブリオ・ミミカス 12. エロモナス属菌 13. プレジオモナス シゲロイデス 14. カンピロバクター属菌 15. エルシニア・エンテロコリチカ 16. 黄色ブドウ球菌 17. セレウス菌 18. ウェルシュ菌 19. その他の細菌 * 核酸検査（PCR）（※） * 核酸検査（PFGE）（※）	255 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 51 117 (140) (0)		
		ウイルス	-	-	82	82	-	-	-	-	82	1. ノロウイルス 2. アデノウイルス 3. ロタウイルス 4. その他のウイルス * 核酸検査（PCR）（※） * 核酸検査（MAシーケンス）（※）	82 0 0 0 (82) (10)	
			理化学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
			その他	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
			平成28年度	0	0	459	2,095	10,425	31,273	0	0	10,884		33,368
			平成27年度	0	0	421	2,268	10,358	31,074	0	0	10,779		33,342
		平成26年度	0	0	406	1,480	10,583	31,749	0	0	10,989		33,229	
		平成25年度	1	1	465	2,232	10,626	31,878	0	0	11,092		34,111	
		平成24年度	0	0	344	1,636	10,746	32,238	0	0	11,090		33,874	

※：核酸検査のうち、項目数が他の検査と重複するものは数値を括弧書きとした（項目数に含まず）。

2 臨床検査

表3 臨床検査実施状況

検査区分			依頼によるもの						件数 総合計	検査内容		
			保健所		庁内各部等		その他(学校、事業所等)					
			件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数		項目名	項目数	
性病	梅毒		182	364	-	-	-	-	182	1.RPRテスト	182	
											2.イムノクロマト	182
											3.その他	0
	淋菌		131	131	-	-	-	-	131	1.PCR	131	
	その他		-	-	-	-	-	-	0		0	
ウイルス リケッチア等検査	分離・同定・検出	クラミジア	131	131	-	-	-	-	131	1.PCR	131	
臨床検査	血清等検査	エイズ(HIV)検査	195	195	-	-	-	-	195	1.一次	195	
										2.二次	0	
		その他	-	-	-	-	-	-		0	0	
平成28年度			639	821	0	0	0	0	639		821	
平成27年度			642	838	0	0	0	0	642		838	
平成26年度			714	1,176	0	0	0	0	714		1,176	
平成25年度			670	1,081	0	0	0	0	670		1,081	
平成24年度			965	1,398	0	0	0	0	965		1,398	

3 食品、家庭用品等検査

表4 食品、家庭用品等検査実施状況

検査区分	依頼によるもの						件数 総合計	検査内容	
	保健所		庁内各部等		その他(学校、事業所等)			項目名	項目数
	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数			
食品等検査	微生物学的検査	698	2,111	460	1,019	12	16	1,170	1. 一般細菌数 1,059 2. 大腸菌群 712 3. 大腸菌 245 4. 腸管出血性大腸菌 26 5. 乳酸菌 18 6. リステリア・モノサイトゲネス 0 7. サルモネラ 250 8. 腸炎ビブリオ 189 9. カンピロバクター 13 10. 黄色ブドウ球菌 547 11. ウェルシュ菌 0 12. ノロウイルス 70 13. その他 17 * 核酸検査 (PCR) (※) (96) * 核酸検査 (DNAシーケンス) (0)
	理化学的検査	195	3,725	19	430	-	-	214	1. 保存料 26 2. 漂白剤 10 3. 発色剤 10 4. 着色料 0 5. 甘味料 10 6. 品質保持剤 31 7. 酸化防止剤 4 8. 殺菌剤 9 9. 添加物他 6 10. 残留農薬 3,467 11. 動物用医薬品 334 12. 環境汚染物質 53 13. 乳成分 165 14. 苦情品等 30
家庭用品検査	35	35	-	-	-	-	-	35	1. ホルムアルデヒド 35 2. 有機水銀化合物 0 3. ディルドリン 0 4. トリフェニル錫化合物 0 5. トリブチル錫化合物 0 6. メタノール 0 7. テトラクロロエチレン 0 8. トリクロロエチレン 0 9. 容器試験 0
平成28年度	928	5,871	479	1,449	12	16	1,419	7,336	
平成27年度	932	5,959	498	1,607	11	13	1,441	7,579	
平成26年度	997	6,941	469	1,548	9	9	1,475	8,498	
平成25年度	1,071	6,386	531	1,644	9	9	1,611	8,039	
平成24年度	979	6,054	468	1,653	7	7	1,454	7,714	

4 大気、水質、廃棄物等の検査

表5 大気、水質、廃棄物等の検査実施状況

検査区分		依頼によるもの								件数 総合計	検査内容		
		住民		保健所		庁内各部等		その他（学校、事業所等）					
		件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数		項目名	項目数	
水道水等 水質検査	総検査数	14	150	-	-	-	-	47	607	61		757	
	飲用水	細菌学的検査	12	24	-	-	-	-	47	94	59	1. 一般細菌	59
												2. 大腸菌	59
												3. その他の菌	0
	理化学的検査	14	126	-	-	-	-	-	47	513	61	1. 簡易項目	633
												2. 複雑項目	6
3. 特殊項目												0	
利用水等（プールの水等を含む）	総検査数	-	-	178	945	104	676	-	-	282		1,621	
	細菌学的検査	-	-	178	437	104	208	-	-	282	1. 一般細菌数	249	
											2. 大腸菌	153	
3. 大腸菌群											96		
理化学的検査	-	-	166	508	104	468	-	-	270	1. 基準項目	841		
										2. その他の項目	135		
廃棄物	総検査数	-	-	-	-	2	49	-	-	2		49	
	一般廃棄物	細菌学的検査	-	-	-	-	-	-	-	0		0	
											理化学的検査	-	-
	産業廃棄物	細菌学的検査	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
理化学的検査												-	-
環境・公害関係検査	大気検査	SO ₂ ・NO ₂ ・OX等	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
		有害化学物質（重金属等）	-	-	-	-	7	21	-	-	7	1. 大気汚染物質	21
		酸性雨	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
		その他	-	-	-	-	-	-	-	-	0		0
	水質検査	公共用水域	-	-	-	-	20	991	-	-	20	1. 健康項目	17
												2. 生活項目	20
												3. その他の項目	954
		工場・事業場排水（廃棄物処理場排水含む）	-	-	-	-	107	2,801	65	526	172	1. 健康項目	1,971
												2. 生活項目	1,314
												3. その他の項目	42
	浄化槽放流水	-	-	-	-	6	54	-	-	6	1. 健康項目	12	
											2. 生活項目	42	
											3. その他の項目	0	
悪臭検査	-	-	-	-	-	-	-	-	0		1. 悪臭物質	0	
土壌・底質検査	-	-	-	-	-	-	-	-	0		2. 官能試験	0	
環境生物検査	藻類・プランクトン・魚介類	-	-	-	-	-	-	-	-	0		1. 有害残留物質	0
	その他	-	-	-	-	30	30	-	-	30	1. 腸管系病原菌	30	
一般室内環境	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0		1. 有害化学物質	0
平成28年度	14	150	178	945	276	4,622	112	1,133	580			6,850	
平成27年度	21	224	172	1,034	272	3,647	108	1,075	573			5,980	
平成26年度	14	168	205	1,049	340	5,895	129	935	688			8,047	
平成25年度	9	63	168	958	302	3,931	238	1,893	717			6,845	
平成24年度	6	57	128	701	313	3,893	284	2,339	731			6,990	

5 精度管理

表 6 外部精度管理実施状況

精度管理名	区分	件数	検査項目	項目数
日臨技臨床検査精度管理	微生物検査	7	グラム染色・鏡検	1
			分離培養同定	2
			薬剤感受性	3
			フォトサーベイ	4
神奈川県臨床検査精度管理	微生物検査	4	グラム染色・鏡検	1
			分離培養同定	2
			薬剤感受性	6
結核菌遺伝子型別法の外部精度評価	微生物検査	3	結核菌VNTR遺伝子型別 (JATA15+3)	3
インフルエンザウイルス核酸検出検査 (EQA2016)	微生物検査 (ウイルス)	6	A型インフルエンザウイルス亜型診断	6
HIV精度管理	微生物検査 (ウイルス)	4		10
厚生労働科学研究費補助金研究事業	環境細菌検査	1	レジオネラ属菌	1
厚労省水道水質検査	環境理化学検査	1	銅	1
			六価クロム	1
環境測定分析統一精度管理	環境理化学検査	1	ジクロロメタン	1
			トリクロロエチレン	1
			1,4-ジオキサン	1
食品衛生精度管理	食品細菌検査	1	菌数測定	1
		2	細菌同定	2
	食品理化学検査	2	添加物	2
		1	動物用医薬品	1
地衛研関東甲信静ブロック精度管理	食品理化学検査	1	残留農薬	3
平成28年度		34		53
平成27年度		31		46
平成26年度		33		45
平成25年度		23		38
平成24年度		20		29

表 7 内部精度管理実施状況

精度管理名	区分	件数	検査項目	項目数
臨床検査精度管理	微生物検査	33	グラム染色・鏡検	6
			分離培養同定	12
			薬剤感受性	27
			フォトサーベイ	12
結核菌遺伝子型別精度管理	微生物検査	2	結核菌VNTR遺伝子型別 (JATA15+3)	2
インフルエンザウイルス核酸検出検査	微生物検査	6	A型インフルエンザウイルス亜型診断	6
排水水質検査	環境理化学検査	1	フェノール類	1
		1	PCB	1
		1	全窒素	1
飲料水水質検査		1	TOC	1
食品衛生	食品細菌検査	6	菌数測定	6
		12	細菌同定	12
	食品理化学検査	3	添加物	3
		10	残留農薬(妥当性評価確認試験)	1,200
平成28年度		76		1,290
平成27年度		69		1,281
平成26年度		62		1,271
平成25年度		68		4,863
平成24年度		54		71

6 調査研究（区分内訳）

表 8 調査研究実施状況

調査名	検体名	件数	調査項目	項目数
家庭用品のアゾ化合物の試験調査	家庭用品	6	アゾ化合物	132
レジオネラ属菌検査における最適検査法の検討	浴槽水、プール水	93	レジオネラ属菌	93
平成28年度		99		225
平成27年度		31		331
平成26年度		44		420
平成25年度		34		216
平成24年度		58		294

ii 感染症検査業務

本検査業務は、感染症や食中毒の予防検査として行う食品取扱者や給食従事者等の健常者検便、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や食品衛生法に基づき行う患者等の病原細菌およびウイルス検査、感染症発生動向調査で実施する病原細菌およびウイルス検査である。表1に微生物学的検査実施状況を示した。

表1 微生物学的検査実施状況

検査区分	件数	項目数	依頼元	件数	項目数
予防検査	10,425	31,273	教育委員会学校教育部学校保健課	8,906	26,716
			こども育成部保育運営課	1,507	4,521
			こども育成部児童相談所	12	36
感染症病原体検査	31	39	保健所健康づくり課(細菌)	26	34
			保健所健康づくり課(ウイルス)	5	5
食中毒(疑)、有症苦情等検査	217	1,318	保健所生活衛生課(細菌)	140	1,241
			保健所生活衛生課(ウイルス)	77	77
			保健所健康づくり課(ウイルス)	0	0
感染症発生動向調査	211	738	保健所健康づくり課(感染症情報センター)(細菌)	78	78
			保健所健康づくり課(感染症情報センター)(ウイルス)	93	500
			保健所健康づくり課(ウエストナイルウイルス、デングウイルス)	40	160
合計				10,884	33,368

1 予防検査

予防検査の実施件数 10,425 件 31,273 項目のうち、検出病原菌はサルモネラ属菌 2 株が検出された。赤痢菌、腸管出血性大腸菌 O157、O26、O111 は検出されなかった。表2に予防検査の検出病原菌を示した。

表2 予防検査の検出病原菌

種類	0群	病原因子	検出数
サルモネラ属菌	07群	invA	1
	08群	invA	2
合計			3

2 感染症病原体検査

1) 細菌

感染症病原体検査の細菌検査は、26 件 34 項目であり、その内訳は、患者・接触者陰性確認が 22 件 30 項目、ベロ毒素確認試験が 4 件 4 項目であった。検出病原菌は腸管病原性大腸菌 2 株であった。表3に感染症病原体検査の検出病原菌を示した。

表3 感染症病原体検査の検出病原菌

種類	血清型	病原因子	検出数
腸管出血性大腸菌	O157:H7	VT1(+):VT2(+):eae(+):astA(+)	1
腸管出血性大腸菌	O157:HNM	VT1(+):VT2(+):eae(+)	1
合計			2

2) ウイルス

感染症病原体検査のウイルス検査は、保健所健康づくり課から、給食従事者ノロウイルス検査(陰性確認検査)3事例5件の依頼があった。

検査項目はすべてノロウイルスであり、リアルタイムPCR法にて検査を行った。3事例中1事例からGⅡが2件検出され、この2件は同一人であった。表4にノロウイルスによる感染症事例の検査検出状況を示した。

表4 ノロウイルスによる感染症事例の検査検出状況

依頼課	事例種別	原因施設	検査材料	検査件数	陽性数	遺伝子群
保健所健康づくり課	給食従事者ノロウイルス検査 (陰性確認検査)3事例	不明	便	1	0	
		不明	便	3	2	GⅡ 2件
		不明	便	1	0	
合計				5	2	GⅡ 2件

3 食中毒(疑)、有症苦情等検査

1) 細菌

保健所生活衛生課から依頼された食中毒(疑)及び有症苦情等検査のうち、細菌検査の依頼は140件1,241項目であった。検査の内訳は、他都市依頼事例が6事例123件909項目、有症苦情事例が1事例17件332項目であった。食中毒事例はなかった。

病原菌の検出状況は、他都市依頼事例から *E. albertii* が78株、エンテロトキシン産生 *S. aureus* が6株、*C. jejuni* が2株、*S. infantis* が1株、EPECが1株検出され、有症苦情事例から *C. perfringens* が1株、エンテロトキシン産生 *S. aureus* が1株検出された。表5に有症苦情等検査の病原菌検出状況を示した。

表5 有症苦情等検査の病原菌検出状況

依頼区分	病原菌	株数
他都市依頼事例	<i>E. albertii</i>	78
	<i>S. aureus</i> (エンテロトキシン産生)	6
	<i>C. jejuni</i>	2
	<i>S. infantis</i>	1
	EPEC	1
有症苦情事例	<i>C. perfringens</i>	1
	<i>S. aureus</i> (エンテロトキシン産生)	1
合計		90

2) ウイルス

食中毒（疑）、有症苦情等検査として、保健所生活衛生課からの依頼が 77 件 77 項目あった。検査の内訳は有症苦情例が 3 事例 71 件 71 項目、他都市依頼事例が 3 事例 6 件 6 項目であり、食中毒事例はなかった。検査項目はすべてノロウイルスであり、有症苦情事例の 3 事例においては 24 件(GⅡ)、他都市依頼の 1 事例からは 1 件(GⅡ)が陽性であった。

4 感染症発生動向調査

1) 細菌

平成 28 年度は 78 件 78 項目の検査依頼があった。検査の結果、*Enterococcus faecium* (vanA) が 75 株、*Enterococcus raffinosus* (vanA) が 1 株、*Enterobacter cloacae* (GRE) が 1 株、*Legionella pneumophila* (SG1) が 1 株検出された。表 6 に感染症発生動向調査(細菌)検出状況を示した。

表 6 感染症発生動向調査(細菌)検出状況

細菌名	臨床診断名・検査目的	検出数
<i>Enterococcus faecium</i>	薬剤耐性菌検査	75
<i>Enterococcus raffinosus</i>	薬剤耐性菌検査	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	薬剤耐性菌検査	1
<i>Legionella pneumophila</i>	レジオネラ症	1

2) ウイルス

平成 28 年度はインフルエンザ 61 件、流行性角結膜炎 25 件、デング熱疑い 3 件、麻しん疑い 2 例 4 件の依頼があった。

① インフルエンザ

本調査は、市内の医療機関から提供された鼻腔ぬぐい液 58 件とインフルエンザ防疫対策実施要領に基づく含嗽水 3 件の合計 61 件について、リアルタイム PCR 法および細胞培養法によってインフルエンザウイルス検査を行った。

検出されたインフルエンザウイルスの内訳は、AH1pdm09 が 1 件(1.7%)、AH3 型が 40 件(69.0%)であり、B 型は山形系統が 4 件(6.9%)、ビクトリア系統が 13 件(22.4%)であった。表 7 にインフルエンザウイルス検査検出状況を示した。

表 7 インフルエンザウイルス検査検出状況

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	合計
検査件数	-	-	-	-	-	-	2	10	6	22	7	14	61
AH1pdm09	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	1
AH3	-	-	-	-	-	-	2	7	6	20	2	3	40
B/山形系統	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3	4
B/ビクトリア系統	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3	8	13
陰性	-	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	3

② 流行性角結膜炎

7月から9月にかけて25件の依頼があった。細胞培養法で、GPEが認められた検体について中和試験およびダイレクトシーケンスを行い、アデノウイルス19型1件、37型1件、46型1件及び54型3件が検出された。

③ デング熱疑い

3件の依頼があり、遺伝子検査9項目（デングウイルス遺伝子3項目、チクングニアウイルス遺伝子3項目、ジカウイルス遺伝子3項目）およびデングウイルスNS1抗原検査3項目を行った。結果は1件でデングウイルス遺伝子、2件でデングウイルスNS1抗原が陽性となった。

④ 麻しん疑い

市内の医療機関から2例4件（血液2件、咽頭ぬぐい液2件）の依頼があり、H遺伝子検査・N遺伝子検査を行ったが陰性であった。また追加検査で風疹のNS遺伝子検査も行ったが陰性だった。

3) ウエストナイル熱等媒介蚊調査

ウエストナイル熱等媒介蚊の調査として40件実施した。期間は平成28年6月から10月までの計5回（6月6件、7月6件、8月13件、9月9件、10月6件）、設置場所は三笠公園敷地内、動物愛護センター敷地内、くりはま花の国敷地内、およびソレイユの丘敷地内の4か所で、蚊を捕獲（ドライアイス併用CDC型ライトトラップ法）して分類後、RT-PCR法によるウエストナイルウイルス遺伝子、デングウイルス遺伝子、チクングニアウイルス遺伝子及びジカウイルス遺伝子検査を行った。

捕獲した217匹の蚊（アカイエカ61匹、ヒトスジシマカ127匹、ヤマトヤブカ5匹、オオクロヤブカ1匹、キンパラナガハシカ4匹、ハマダラナガスネカ1匹、ヤブカ類18匹）のウエストナイルウイルス遺伝子検査、デングウイルス遺伝子検査、チクングニアウイルス遺伝子検査及びジカウイルス遺伝子検査の結果は陰性であった。表8にウエストナイル熱等媒介蚊調査結果を示した。

表 8 ウエストナイル熱等媒介蚊調査結果

設置回数		1	2	3	4	5	合計(匹)
設置月		6月	7月	8月	9月	10月	
設置場所	三笠公園	13	13	35	21	8	90
	動物愛護センター	10	9	5	8	2	34
	くりはま花の国	4	-	8	1	1	14
	ソレイユの丘	-	11	59	7	2	79
総計		27	33	107	37	13	217
内訳	アカイエカ	20	20	9	8	4	61
	ヒトスジシマカ	7	13	72	27	8	127
	ヤマトヤブカ	-	-	4	1	-	5
	オオクロヤブカ	-	-	-	-	1	1
	キンパラナガハシカ	-	-	4	-	-	4
	ハマダラナガスネカ	-	-	-	1	-	1
	ヤブカ類	-	-	18	-	-	18
遺伝子検査結果	ウエストナイルウイルス	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
	デングウイルス	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
	チクングニアウイルス	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	
	ジカウイルス	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	

iii 臨床検査

本検査業務は、保健所健康づくり課で行う各種事業の血液検体等を対象とした臨床検査である。

1 臨床検査

保健所健康づくり課の感染症予防対策事業として梅毒検査、クラミジア検査（抗原検査）、淋菌検査（抗原検査）を、エイズ対策事業として HIV 検査を実施した。梅毒検査、HIV 検査は血液検体、クラミジア検査、淋菌検査は尿、膣分泌物検体を対象とした。

梅毒検査は 182 件中、陽性は TP 法 2 件、RPR 法 1 件であった。クラミジア検査（抗原検査）は 131 件中、陽性が 9 件であった。淋菌検査（抗原検査）は 131 件中、陽性が 1 件であった。HIV 検査は 195 件行い、すべて陰性であった。このうち、HIV 即日検査は HIV 検査単独で年間 2 回（6、12 月）行い 17 件実施した。表 1 に臨床検査実施状況を示した。

表 1 臨床検査実施状況

区 分	件数	項目数	陽 性 数
梅毒検査	182	364	TP法 2、RPR法 1
クラミジア検査（抗原検査）	131	131	9
淋菌検査（抗原検査）	131	131	1
HIV検査	195	195	
合 計	639	821	

iv 食品、家庭用品等検査

本検査業務は、健康部、教育委員会等庁内各部課からの行政依頼及び市民、市内事業者等からの一般依頼による試験検査である。検査業務の内容は、食品衛生法に基づく食品等の微生物及び理化学検査、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く検査等である。表1に食品、家庭用品試験検査等実施状況を示した。

表1 食品、家庭用品試験検査等実施状況

検査区分	件数	項目数	区分	件数	項目数	依頼元	内 訳	件数	項目数
食品微生物検査	1,170	3,146	行政依頼	1,158	3,130	保健所生活衛生課	収去検査	622	1,815
							食中毒・苦情品等検査	71	264
							試買検査	1	4
							おしぼり検査	4	28
			教育委員会学校教育部 学校保健課	食材検査	40	103			
				食器器具検査	344	688			
				手指検査	76	228			
一般依頼	12	16	事業者	食品検査	12	16			
食品等理化学検査	214	4,155	行政依頼	214	4,155	保健所生活衛生課	収去検査	195	3,725
							苦情品等検査	0	0
						教育委員会学校教育部 学校保健課	食材検査	4	400
							食器器具検査	15	30
家庭用品等検査	35	35	行政依頼	35	35	保健所生活衛生課	繊維製品等検査	34	34
							化学製品検査	1	1
合計								1,419	7,336

1 食品微生物検査

1) 収去検査

保健所生活衛生課より依頼された収去検査を622件、1,815項目行った。このうち、成分規格に係る検査は295項目行い、すべて基準に適合していた。衛生規範に係る検査は936項目行い、不適合の食品が4件(5項目)あった。その内訳は惣菜1件(黄色ブドウ球菌1項目)と弁当3件(細菌数2項目、黄色ブドウ球菌1項目、大腸菌1項目)である。県の指導基準に係る検査は527項目行い、不適合な食品が6件(7項目)あった。その内訳は生菓子4件(細菌数3項目、大腸菌群2項目)、豆腐2件(大腸菌群2項目)であった。表2に食品分類別検査項目数を示した。

表2 食品微生物食品分類別検査項目数

食品分類		細菌数	大腸菌群	大腸菌(E・C・O・i)	腸管出血性大腸菌	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	カンピロバクター	乳酸菌数	リステリア	クロストリジウム属菌	残留抗菌性物質	ノロウイルス	合計
01魚介類		2	-	2	-	-	-	59	-	-	-	-	-	-	63
魚介類 加工品	02魚肉練り製品	3	6	-	-	-	-	3	-	-	-	-	-	-	12
	03その他	17	4	-	-	-	-	19	-	-	-	-	-	-	40
04食肉		10	10	-	10	-	10	-	10	-	-	-	-	-	50
05食肉製品及び食肉加工品		-	-	10	-	10	10	-	-	-	-	-	-	-	30
06卵及びその加工品		3	-	3	-	3	7	-	-	-	-	-	-	-	16
乳	07生乳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	08牛乳	34	34	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68
	09部分脱脂乳	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	加工乳	10乳脂肪分3%以上	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
		11乳脂肪分3%未満	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	10
12その他の乳		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0	
13アイスクリーム類・氷菓（*ソフトクリームを除く）		8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	16
14ソフトクリーム		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
15乳製品		10	28	-	-	-	-	-	-	18	-	-	-	-	56
16乳類加工品（アイスクリーム類を除きマーガリンを含む）		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
17穀類（豆類を除く）		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
18めん類		40	9	31	-	40	-	-	-	-	-	-	-	-	120
19もち		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
20菓子類		52	52	-	-	52	51	-	-	-	-	-	-	-	207
21上記以外の穀類加工品		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
22生野菜（豆類含む）及び果物		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
23野菜果物乾燥品及び加工品		1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
24豆腐及びその加工品		9	9	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18
25漬物		-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	2
26そうざい及びその半製品		145	-	128	-	145	83	31	-	-	-	-	-	-	532
27上記以外の野菜・果物加工品		7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7
弁当類	28弁当	118	-	54	-	118	54	59	-	-	-	-	-	-	403
	29調理パン	38	-	10	-	38	31	4	-	-	-	-	-	-	121
冷凍食品	30無加熱摂取	18	18	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	37
	31凍結前加熱加熱後摂取	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
	32凍結前未加熱加熱後摂取	3	-	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	6
	33生食用冷凍鮮魚介類	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
34かん詰・びん詰食品		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
35清涼飲料水		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
36酒精飲料		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
37氷雪		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
38水		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
39調味料		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
40その他の食品		-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0
合計		523	183	242	10	406	247	176	10	18	0	0	0	0	1,815

2) 食中毒・苦情品等検査

保健所生活衛生課より依頼された食中毒・苦情品等の検査 71 件 264 項目（ノロウイルス検査 69 項目を含む）を行った。本年度、苦情品等検査は 5 事例、検査件数が 71 件、食中毒事例はなかった。表 3 に苦情品等検査結果を示した。

表 3 苦情品等検査結果

区分	検体	件数/項目数	苦情内容	検査項目及び検査結果	
苦情品等	事例1	食品 ふきとり	27/84	嘔吐	細菌数：特記なし 大腸菌群：1件陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 ノロウイルス：陰性
	事例2	食品 ふきとり	32/128	下痢 嘔吐	細菌数：特記なし 大腸菌群：5検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 ノロウイルス：陰性
	事例3	ふきとり	10/50	下痢 嘔吐	細菌数：特記なし 大腸菌群：陰性 黄色ブドウ球菌：陰性 腸炎ビブリオ：陰性 ノロウイルス：陰性
	事例4	食品	1/1	異物	真菌： <i>Aspergillus restrictus</i>
	事例5	食品	1/1	便ゆるい	細菌数：特記なし
合計		71/264			

3) 試買検査

保健所生活衛生課より依頼された試買検査 1 件 4 項目（ノロウイルス検査 1 項目を含む）を行った。表 4 に試買検査結果を示した。

表 4 試買検査結果

区分	検体	件数/項目数	検査項目及び検査結果
試買	殻付きカキ	1/4 (ノロウイルス検査1項目を含む)	細菌数：300未満 E. coli最確数：18未満 腸炎ビブリオ最確数：3未満 ノロウイルス：陰性

4) おしぼり検査

保健所生活衛生課より依頼された市内 1 業者の貸しおしぼり 4 件について、変色及び異臭、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、一般細菌数（1 枚当たり）、pH、異物混入の検査を行った。結果はすべての項目で衛生基準に適合していた。しかし、そのうち 3 件について、毛髪様の異物混入が見られた。

5) 小学校等給食施設検査

教育委員会学校教育課より依頼された小学校等給食施設検査を460件1,019項目行った。検体は小学校等で使用する給食食材、食器器具ふきとり及び調理従事者手指ふきとりで、検査項目は細菌数、大腸菌群、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ属菌、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157 であった。

給食食材40件のうち3件から大腸菌群が検出された。また、調理従事者手指ふきとり76件のうち7件から黄色ブドウ球菌(再検査を含む)が検出された。サルモネラ属菌、カンピロバクター、腸炎ビブリオ、腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157 は検出されなかった。表5に小学校等給食施設検査結果を示した。

表5 小学校等給食施設検査結果

区分	検体	件数	項目数	検査結果
食材	給食食材	40	103	大腸菌群：3検体陽性
食器器具	食器器具ふきとり	344	688	特記なし
手指	調理従事者手指ふきとり	76	228	黄色ブドウ球菌：7検体 (再検査を含む)
合計		460	1,019	

6) 一般依頼食品検査

市内事業者より依頼された一般依頼食品検査を12件16項目行った。検査項目は細菌数7項目、大腸菌群6項目、大腸菌1項目、黄色ブドウ球菌2項目であった。

2 食品理化学検査

保健所生活衛生課及び教育委員会学校教育課からの依頼による食品中の添加物、残留農薬等の検査を 214 件、4,155 項目実施した。表 6 に食品理化学検査実施状況を示した。

表 6 食品理化学検査実施状況

検査区分	保健所		教育委員会		合計	
	件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数
食品添加物等	68	106	-	-	68	106
残留農薬	33	3,067	4	400	37	3,467
魚介類	24	53	-	-	24	53
抗菌性物質等	14	334	-	-	14	334
乳製品	56	165	-	-	56	165
その他	-	-	15	30	15	30
合計	195	3,725	19	430	214	4,155

1) 食品添加物等検査

保健所生活衛生課からの依頼により、市内で製造又は流通している食品中の食品添加物使用基準検査及び成分規格検査を 68 件、106 項目実施した。結果は全て基準、成分規格共に適合していた。表 7 に食品添加物等検査実施状況を示した。

表 7 食品添加物等検査実施状況

項目名		区分				合計
		魚介類加工品	食肉製品	めん類	野菜物加工品	
件数		8	10	40	10	68
保存料	ソルビン酸	8	10	-	8	26
漂白剤	二酸化硫黄	-	-	-	10	10
漂白剤	過酸化水素	-	-	9	-	9
発色剤	亜硝酸根	-	10	-	-	10
甘味料	サッカリンナトリウム	6	-	-	-	6
甘味料	アセスルファムカリウム	-	-	-	2	2
甘味料	スクラロース	-	-	-	2	2
品質保持剤	プロピレングリコール	-	-	31	-	31
酸化防止剤	BHA、BHT	4	-	-	-	4
成分規格	シアン（生あん等）	-	-	-	6	6
合計		18	20	40	28	106

2) 残留農薬検査

保健所生活衛生課からの依頼（収去検査）による市内産農産物 21 件（トマト 3 件、なす 3 件、きゅうり 3 件、大根 3 件、キャベツ 3 件、みかん 3 件、いちご 3 件）、輸入柑橘類 6 件（オレンジ 3 件、レモン 1 件、グレープフルーツ 2 件）、輸入果実類 6 件（バナナ 2 件、パパイヤ 2 件、キウイ 2 件）及び教育委員会学校教育部学校保健課からの依頼による学校給食食材 4 件（きゅうり 2 件、キャベツ 2 件）計 37 件について残留農薬検査を行った結果、基準を超えた項目はなかった。表 8、9 に残留農薬検査実施状況を表 10、11 に検出した農薬を示した。

表 8 残留農薬検査実施状況(収去検査)

検体名	件数	項目数	検体名	件数	項目数
トマト	3	357	オレンジ	3	60
なす	3	339	レモン	1	27
きゅうり	3	378	グレープフルーツ	2	44
大根	3	324	バナナ	2	150
キャベツ	3	297	パパイヤ	2	222
みかん	3	315	キウイ	2	230
いちご	3	324			

表 9 残留農薬検査実施状況(給食食材検査)

検体名	件数	項目数
きゅうり	2	220
キャベツ	2	180

表 10 検出した農薬(収去検査)

農産物名	農薬名	検出数	検出値(ppm)
バナナ	クロルピリホス	2	0.007~0.082
レモン	イマザリル	1	0.41
オレンジ	イマザリル	3	0.83~1.9
	チアベンダゾール	3	0.70~1.0
グレープフルーツ	イマザリル	2	0.66~0.68
パパイヤ	オメトエート	2	0.007~0.009
きゅうり	クロルフェナピル	1	0.003
トマト	マラチオン	2	0.005~0.006
キウイ	テブコナゾール	1	0.010
みかん	メチダチオン	1	0.003
いちご	シフルフェナミド	1	0.010
	ミクロブタニル	1	0.013
大根	アゾキシストロビン	1	0.024

表 11 検出した農薬(給食食材検査)

農産物名	農薬名	検出数	検出値(ppm)
きゅうり	チアメトキサム	1	0.011
	プロシミドン	1	0.017
	ボスカリド	1	0.004

3) 魚介類中の有害物質検査

保健所生活衛生課からの依頼により、魚介類収去検査として17件、試買検査として7件、計24件についてPCB及び総水銀検査を実施した。そのうちの2検体について総水銀の暫定的規制値を超えるものがあったため、メチル水銀の測定を行ったところ、1件についてメチル水銀の暫定的規制値を超えていた。

表12に魚介類中の有害物質検査実施状況を示した。

表12 魚介類中の有害物質検査

番号	魚介類名	検査名	PCB	総水銀
1	マダイ*	収去	0.03	0.17
2	メジナ*	収去	0.01	0.05
3	クロダイ*	収去	0.03	0.49(0.28)
4	カタクチイワシ*	収去	定量下限値未満	0.03
5	サザエ*	試買	定量下限値未満	定量下限値未満
6	アナゴ*	試買	0.03	0.03
7	カレイ*	試買	0.02	0.04
8	マイワシ*	収去	定量下限値未満	定量下限値未満
9	ミズカマス*	収去	定量下限値未満	0.03
10	ヒラメ*	収去	0.02	定量下限値未満
11	タナゴ*	収去	定量下限値未満	0.02
12	ウルメイワシ*	収去	定量下限値未満	定量下限値未満
13	アオアジ*	収去	定量下限値未満	定量下限値未満
14	コショウダイ*	収去	0.05	0.02
15	マコガレイ*	収去	0.02	定量下限値未満
16	コチ*	収去	定量下限値未満	0.22
17	スズキ*	試買	0.07	0.50(0.50)
18	メバル*	試買	0.02	0.08
19	サザエ*	試買	定量下限値未満	定量下限値未満
20	アオアジ*	収去	定量下限値未満	定量下限値未満
21	スズキ*	収去	0.06	0.26
22	ヒラメ*	収去	定量下限値未満	0.03
23	マコガレイ*	収去	0.02	0.06
24	あさり*	試買	定量下限値未満	定量下限値未満
検出範囲			定量下限値未満～0.07	定量下限値未満～0.50
定量下限値			0.01	0.02
暫定的規制値			遠洋沖合魚介類 0.5	0.4(0.3)
			内海内湾魚介類 3	

☆：遠洋沖合魚介類 *：内海内湾魚介類 カッコ内はメチル水銀の測定値

アサリ 1 検体について重金属類含有量試験を実施した結果、カドミウムは定量下限値未満（定量下限値：0.04ppm）、鉛は定量下限値未満（定量下限値：1.2ppm）、クロムは定量下限値未満（定量下限値：0.20ppm）であった。

これらの項目は魚介類についての基準値は設定されていないが、他の食品の基準値（*注）と比較すると低濃度であった。

（*注）他の食品の残留基準値（カドミウム：0.4ppm（米））

4) 畜水産物中の残留動物用医薬品の検査

保健所生活衛生課からの依頼による残留動物用医薬品の検査を、市内養鶏場の鶏卵4件、牛肉5件、及び養殖エビ5件について実施した。検査結果は、すべて定量下限値未満であった。

表13に残留動物用医薬品検査実施状況を示した。

表13 残留動物用医薬品検査実施状況

区分	鶏卵	牛肉	養殖エビ
検体数	4	5	5
オキシテトラサイクリン	4	5	5
テトラサイクリン	4	5	5
クロルテトラサイクリン	4	1	5
フルベンダゾール	4	5	5
スルファジミジン	4	5	5
スルファメラジン	4	5	5
スルファモノメトキシ	4	5	5
スルファジメトキシ	4	5	5
スルファキノキサリン	4	5	5
オキシリニック酸	4	5	5
チアンフェニコール	4	5	5
オルメプリム	4	5	5
トリメプリム	4	5	5
ピリメタミン	4	5	5
チアベンダゾール	4	5	5
5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	4	5	5
ナイカルバジン	-	-	-
レバミゾール	-	5	-
エンロフロキサシン	-	5	5
ジクラズリル	-	-	5
ダノフロキサシン	4	5	5
オフロキサシン	4	5	5
サラフロキサシン	4	5	5
ジフロキサシン	4	5	5
ナリジクス酸	4	5	5
ピロミド酸	4	5	5
クロピドール	-	5	5
合計	88	121	125

5) 乳及び乳製品の成分規格検査

保健所生活衛生課からの依頼による乳及び乳製品について、比重、酸度、乳脂肪分、無脂乳固形分等の成分規格検査を 56 件 165 項目実施した。検査結果は、すべて基準に適合していた。

表 14 に乳及び乳製品の成分規格検査実施状況を示した。

表 14 乳及び乳製品の成分規格検査実施状況

区分		牛乳	加工乳	発酵乳	アイスクリーム類	合計
件数		34	5	15	2	56
検査項目	比重	34	-	-	-	34
	酸度	34	5	-	-	39
	乳脂肪分	34	-	-	2	36
	無脂乳固形分	34	5	15	-	54
	乳固形分	-	-	-	2	2
合計		136	10	15	4	165

6) 食器器具検査

教育委員会学校保健課の依頼により、学校給食用磁器食器 3 件について鉛及びカドミウムの検査、学校給食用合成樹脂食器 12 件について重金属及び過マンガン酸カリウム消費量の検査を実施した結果、すべて基準に適合していた。

3 家庭用品試買検査

保健所生活衛生課より依頼された家庭用品試買検査等を 35 件 35 項目実施した。結果は、すべて基準に適合していた。表 15 に家庭用品の試買検査等状況を示した。

表 15 家庭用品の試買検査等状況

検査区分	繊維製品												化学製品	合計
	おしめ	おしめカバー	よだれ掛け	下着	寝衣	手袋	くつした	中衣	外衣	帽子	寝具	たび	かつら等の接着剤	
試買件数	-	-	3	5	3	1	3	2	2	2	1	1	1	24
検査件数	-	-	5	8	7	1	5	2	2	2	1	1	1	35
ホルムアルデヒド(乳幼児用繊維製品)	-	-	5	4	2	1	3	2	2	2	1	-	-	22
ホルムアルデヒド(その他)	-	-	-	4	5	-	2	-	-	-	-	1	1	13
項目数合計	0	0	5	8	7	1	5	2	2	2	1	1	1	35

v 大気、水質、廃棄物等検査

本検査業務は、健康部、環境政策部、資源循環部、教育委員会等庁内各部課からの行政依頼及び市民、市内工場・事業場等からの一般依頼による試験検査である。検査業務の内容は、飲用水、利用水等の水質検査並びに大気検査、工場・事業場排水、環境生物検査等の環境・公害関係検査である。

表 1 に平成 28 年度の検査実施状況を示した。

表 1 平成 28 年度の検査実施状況

検査区分	件数	項目数	依頼区分	件数	項目数	依頼元	件数	項目数
飲料水水質検査	61	757	一般依頼	61	757	市民、事業所等(井戸水等)	22	276
						市民、事業所等(貯水槽水等)	27	326
						市民、事業所等(船舶水)	12	155
海水浴場水質検査	24	78	行政依頼	24	78	保健所生活衛生課	24	78
プール水質検査	153	937	行政依頼	153	937	保健所生活衛生課	49	261
						教育委員会学校教育部スポーツ課	104	676
公衆浴場水質検査	105	606	行政依頼	105	606	保健所生活衛生課	105	606
公共用水域水質検査	20	991	行政依頼	20	991	環境政策部環境管理課	19	983
						環境政策部自然環境共生課	1	8
工場・事業場水質検査	172	3,327	行政依頼	107	2,801	環境政策部環境管理課	41	1,241
						資源循環部資源循環施設課	41	929
						資源循環部廃棄物対策課	12	252
			健康安全科学センター	13	379			
一般依頼	65	526	工場・事業場	65	526			
浄化槽水質検査	6	54	行政依頼	6	54	環境政策部環境管理課	6	54
大気検査	7	21	行政依頼	7	21	環境政策部環境管理課	7	21
廃棄物関係検査	2	49	行政依頼	2	49	資源循環部南処理工場	1	25
						資源循環部廃棄物対策課	1	24
環境生物検査 (腸管系病原菌調査)	30	30	一般依頼	30	30	工場・事業場	30	30
合計							580	6,850

1 飲用水、利用水等水質検査

行政依頼及び一般依頼による飲用水（貯水槽水等、船舶水、井戸水等）、利用水等（プール水、海水浴場海水、公衆浴場等浴槽水）の試験検査を実施した。表 2 に飲用水・利用水等の検体別検査状況を示した。

表 2 飲用水・利用水等の検体別検査状況

検体区分		行政依頼		一般依頼		合計	
		件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数
飲用水	貯水槽水等	-	-	27	326	27	326
	船舶水	-	-	12	155	12	155
	井戸水等	-	-	22	276	22	276
	その他	-	-	-	-	-	-
	合計	0	0	61	757	61	757
利用水等	プール水	153	937	-	-	153	937
	海水浴場海水	24	78	-	-	24	78
	公衆浴場等浴槽水	105	606	-	-	105	606
	合計	282	1,621	0	0	282	1,621

1) 飲用水水質検査

飲用水検査は計 61 件実施し、内訳は貯水槽水等 27 件、船舶水 12 件、井戸水等 22 件であった。

水質基準不適合は、全体で 13 件 (21.3%) であり、内訳は一般依頼の井戸水等 11 件、貯水槽水 1 件、船舶水 1 件であった。不適合項目は一般細菌の他、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、蒸発残留物、臭気、色度、濁度であった。

図 1 に過去 3 年間の井戸水等の基準不適合項目件数を示した。

貯水槽水等及び船舶水は過去 3 年間に於いて平成 28 年度のみ基準不適合項目があった。

井戸水等の基準不適合項目件数は昨年比で減少しており、一般細菌 8 件、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素 3 件、蒸発残留物 5 件、色度 5 件、濁度 2 件であった。

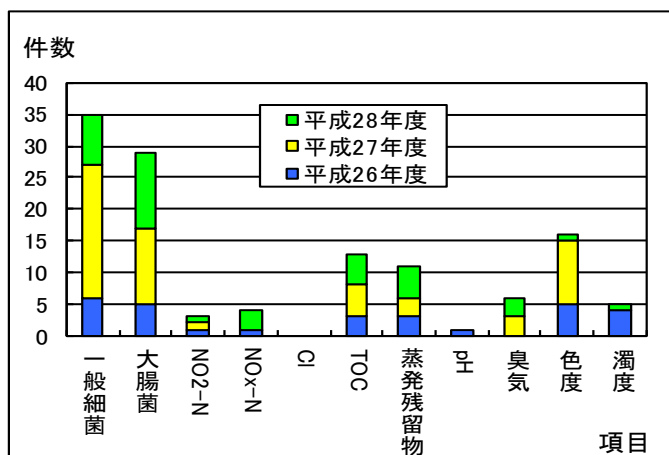


図 1 過去 3 年間の井戸水等の基準不適合項目件数

2) 利用水等水質検査

利用水等水質検査は計 282 件実施し、プール水検査は 153 件、海水浴場海水検査は 24 件、公衆浴場等浴槽水検査は 105 件であった。

プール水検査 153 件の内訳は、行政依頼が保健所生活衛生課 49 件、教育委員会スポーツ課 104 件であった。

図 2 に過去 3 年間のプール水の基準不適合項目件数を示した。

プール水の遊離残留塩素の基準不適合項目件数は、7 件（不適率 6.5%）であった。

学校プールにおいては、学校環境衛生基準により「遊離残留塩素は 0.4mg/L 以上であること。また、1.0mg/L 以下であることが望ましい。」とされている。学校プール 104 件中、遊離残留塩素 0.4mg/L 未満は 7 件、1.0mg/L を超えた検体は 72 件あり、その中で 2.0mg/L を超えた検体は 32 件あった。さらにこの中には 10mg/L という高濃度の検体もあった。

高濃度の遊離残留塩素は総トリハロメタン（以下総 THM）濃度上昇の一因となるため、塩素系消毒剤の過剰な使用を控え、適切な換水等の措置を行う必要がある。

その他、プール水の基準不適合項目件数は、一般細菌が 1 件、過マンガン酸カリウム消費量が 1 件、pH 値が 9 件、濁度が 1 件、レジオネラ属菌が 1 件であった。

総 THM は、学校プールにおいては学校環境衛生基準として「0.2mg/L 以下であることが望ましい。」とされているが、0.2mg/L を超えるものはなかった。

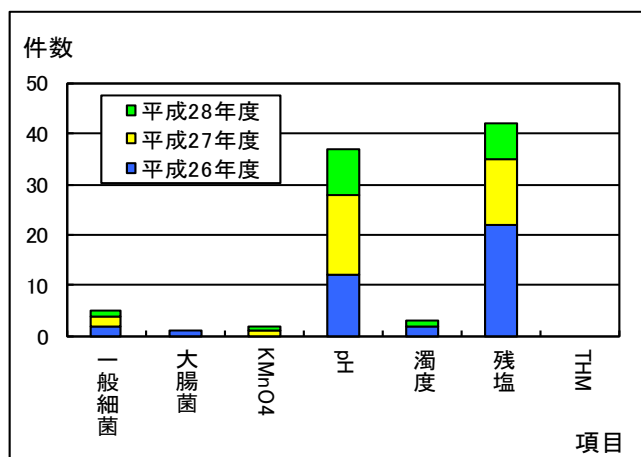


図 2 過去 3 年間のプール水の基準不適合項目件数

保健所生活衛生課の依頼により、海水浴場海水検査は 3 ヶ所について、1 日に午前、午後 2 回の検査を 2 日間、2 回行い計 24 件の検査を実施した。結果は良好であった。この検査とあわせて腸管出血性大腸菌 O157 の検査を 6 件実施し、すべて陰性であった。

公衆浴場等浴槽水検査は計 105 件実施した。一部の浴槽水において遊離残留塩素が 20mg/L という高濃度の検体があった。消毒剤を過剰に入れており、浴槽水中の遊離残留塩素を頻りに測定し管理する必要があると思われた。

また、保健所生活衛生課の依頼により、公衆浴場等浴槽水及びプール水等の計 117 件について、レジオネラ属菌検査を実施した。

表 3 にレジオネラ属菌検査結果を示した。

公衆浴場等浴槽水は 105 件中 17 件（16.2%）、プール水等は 12 件中 1 件（8.3%）が基準値（10 未満）を超え、管理不適切とされる結果であった。公衆浴場等浴槽水 105 件には「レジオネラ症患者発生による関連調査」が含まれ、19 件中 4 件からレジオネラ属菌が検出された。

表3 レジオネラ属菌検査結果

検査区分	施設区分	検体区分	件数	レジオネラ属菌数 (CFU/100ml)				血清群別								レジオネラ属菌UT
				10未満	10以上100未満	100以上1000未満	1000以上	<i>L.pneumophila</i>								
								SG1	SG3	SG4	SG5	SG6	SG7	SG8	UT	
公衆浴場等	一般公衆浴場	内湯	44	40	3	1	-	1	-	-	2	4	-	-	1	1
		露天風呂	2	1	-	1	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-
	その他の公衆浴場	内湯	25	17	8	-	-	7	-	2	-	-	1	-	1	-
		露天風呂	10	7	2	1	-	-	1	2	-	-	-	-	-	1
		その他	10	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	老人福祉施設	内湯	14	13	1	-	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-
	旅館等	内湯	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
プール水等	プール	プール水	7	7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		ジャグジー	5	4	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1	-	-
合計			117	99	15	3	0	8	1	4	3	6	1	1	2	2

2 環境・公害関係検査

行政依頼による水質、大気、廃棄物、環境生物の検査及び一般依頼による工場・事業場排水の検査を実施した。表4に環境・公害関係検査の検査状況を示した。

表4 環境・公害関係検査の検査状況

検体区分		行政依頼		一般依頼		合計	
		件数	項目数	件数	項目数	件数	項目数
水質	浄化槽放流水	6	54	-	-	6	54
	工場・事業場排水	107	2,801	65	526	172	3,327
	公共用水域	20	991	-	-	20	991
	合計	133	3,846	65	526	198	4,372
大気	有害化学物質	7	21	-	-	7	21
廃棄物	廃棄物	2	49	-	-	2	49
環境生物	環境微生物	-	-	30	30	30	30

1) 水質検査

浄化槽放流水検査は、行政依頼として環境政策部環境管理課から6件(501人槽以上)、54項目の検査を実施した。

事業場排水検査は、行政依頼として環境政策部環境管理課から41件、資源循環部資源循環施設課から41件、同廃棄物対策課から12件、当健康安全科学センターが13件、一般依頼として65件、合計172件3,327項目の検査を実施した。行政依頼107件2,801項目の内訳は、規制対象工場・事業場排水調査34件、主要工場・事業場夜間排水調査5件、廃棄物処理場排水調査41件、ゴルフ場農薬2件、その他の排水調査25件である。結果は、基準値を超えるものはなかった。

また、公共用水域検査は、環境政策部環境管理課から19件983項目、同自然環境共生課から1件8項目の検査を実施した。内容は、市内水質事故の調査等19件、里山的環境の保全・活用

事業に伴う、河川の水質確認1件である。表5に水質検査の検体別検査実施状況を示した。

表5 水質検査の検体別検査実施状況

表5-1

検査区分	浄化槽 放流水	工場・事業場 排水		公共用 水域	合計
	行政 依頼	行政 依頼	一般 依頼	行政 依頼	
件数	6	107	65	20	198
項目数計	54	2,801	526	991	4,372
カドミウム	-	70	11	-	81
シアン化合物	-	57	4	6	67
有機燐化合物	-	50	4	-	54
鉛	-	70	17	1	88
六価クロム	-	58	11	-	69
ヒ素	-	55	9	1	65
総水銀	-	65	29	-	94
アルキル水銀 化合物	-	37	-	-	37
PCB	-	38	4	-	42
トリクロエチレン	-	70	9	1	80
テトラクロエチレン	-	70	9	-	79
ジクロメタン	-	70	9	-	79
四塩化炭素	-	70	9	-	79
1,2-ジクロエタン	-	70	9	-	79
1,1-ジクロエチレン	-	70	9	1	80
シス-1,2- ジクロエチレン	-	70	9	1	80
1,1,1-トリクロエタン	-	70	9	-	79
1,1,2-トリクロエタン	-	70	9	-	79
1,3-ジクロプロペン	-	70	9	-	79
チウラム	-	42	9	-	51
シマジン	-	42	9	-	51
チオベンカルブ	-	42	9	-	51
ベンゼン	-	70	9	1	80
セレン	-	55	9	1	65
ほう素	-	45	4	-	49

表5-2

検査区分	浄化槽 放流水	工場・事業場 排水		公共用 水域	合計
	行政 依頼	行政 依頼	一般 依頼	行政 依頼	
ふっ素化合物	-	51	4	1	56
1,4-ジオキサン	-	58	4	-	62
水素イオン濃度	6	84	24	9	123
BOD	6	84	28	5	123
COD	6	84	28	-	118
浮遊物質量	6	84	24	-	114
ノルマルヘキサン 抽出物質含有量	-	39	8	-	47
フェノール類	-	51	16	-	67
銅	-	69	17	-	86
亜鉛	-	69	17	-	86
溶解性鉄	-	69	17	-	86
溶解性マンガン	-	69	17	-	86
クロム	-	57	11	-	68
大腸菌群数	6	52	4	-	62
全窒素	6	74	29	-	109
全りん	6	74	29	-	109
ニッケル	-	69	17	-	86
アンモニア性窒素	6	62	-	-	68
硝酸性窒素及び 亜硝酸性窒素	6	61	-	3	70
アンモニア等	-	-	4	-	4
硝酸性窒素	-	1	-	-	1
亜硝酸性窒素	-	1	-	-	1
塩化ビニルモノマー	-	1	-	-	1
農薬	-	42	-	948	990
溶存酸素	-	-	-	6	6
塩化物イオン	-	-	-	3	3
油分の定性分析	-	-	-	3	3

2) 大気検査

有害化学物質検査は、行政依頼として環境政策部環境管理課から7件、21項目の検査を実施した。結果は、基準値を超えるものはなかった。表6に有害化学物質の検査状況を示した。

表6 有害化学物質検査状況

検査区分	有害化学物質
件数	7
項目数計	21
トルエン	4
キシレン	4
ベンゼン	4
ジクロロメタン	3
トリクロロエチレン	3
テトラクロロエチレン	3

3) 廃棄物検査

廃棄物検査は、資源循環部南処理工場から1件25項目、同廃棄物対策課から1件24項目の検査を実施した。内容は、不燃ごみの溶出試験1件、搬入物の溶出試験1件である。表7に廃棄物の検査実施状況を示した。

表7 廃棄物の検査実施状況

検査区分	不燃ごみ	搬入物	合計
件数	1	1	2
項目数計	25	24	49
カドミウム	1	1	2
シアン化合物	1	1	2
有機燐化合物	1	1	2
鉛	1	1	2
六価クロム	1	1	2
ヒ素	1	1	2
総水銀	1	1	2
アルキル水銀化合物	1	-	1
PCB	1	1	2
トリクロロエチレン	1	1	2
テトラクロロエチレン	1	1	2
ジクロロメタン	1	1	2

検査区分	不燃ごみ	搬入物	合計
四塩化炭素	1	1	2
1,2-ジクロロエタン	1	1	2
1,1-ジクロロエチレン	1	1	2
シス-1,2-ジクロロエチレン	1	1	2
1,1,1-トリクロロエタン	1	1	2
1,1,2-トリクロロエタン	1	1	2
1,3-ジクロロプロパン	1	1	2
チウラム	1	1	2
シマジン	1	1	2
チオベンカルブ	1	1	2
ベンゼン	1	1	2
セレン	1	1	2
1,4-ジオキサン	1	1	2

4) 環境生物検査

環境微生物検査は、一般依頼検査として工場・事業場排水等30件について、腸管出血性大腸菌0157検査を実施した。すべての検体から腸管出血性大腸菌0157は検出されなかった。

III 精度管理

i 精度管理実施状況

試験検査精度の維持向上を目的として、微生物検査、食品細菌検査、食品理化学検査、環境細菌検査、環境理化学検査に関して、外部精度管理を延べ34件53項目、内部精度管理(環境細菌検査を除く)を延べ76件1290項目実施した。表1に外部精度管理の実施状況、表2に内部精度管理の実施状況を示した。

表1 外部精度管理実施状況

精度管理名	区分	件数	検査項目	項目数
日臨技臨床検査精度管理	微生物検査	7	グラム染色・鏡検	1
			分離培養同定	2
			薬剤感受性	3
			フォトサーベイ	4
神奈川県臨床検査精度管理	微生物検査	4	グラム染色・鏡検	1
			分離培養同定	2
			薬剤感受性	6
結核菌遺伝子型別法の外部精度評価	微生物検査	3	結核菌VNTR遺伝子型別(JATA15+3)	3
インフルエンザウイルス核酸検出検査(EQA2016)	微生物検査(ウイルス)	6	A型インフルエンザウイルス亜型診断	6
HIV精度管理	微生物検査(ウイルス)	4	HIV検査	10
厚生労働科学研究費補助金研究事業	環境細菌検査	1	レジオネラ属菌	1
厚労省水道水質検査	環境理化学検査	1	銅	1
			六価クロム	1
環境測定分析統一精度管理	環境理化学検査	1	ジクロロメタン	1
			トリクロロエチレン	1
			1,4-ジオキサン	1
食品衛生精度管理	食品細菌検査	1	菌数測定	1
		2	細菌同定	2
	食品理化学検査	2	添加物	2
		1	動物用医薬品	1
地衛研関東甲信静ブロック精度管理	食品理化学検査	1	残留農薬	3
平成28年度		34		53
平成27年度		31		46
平成26年度		33		45
平成25年度		23		38
平成24年度		20		29

表2 内部精度管理実施状況

精度管理名	区分	件数	検査項目	項目数
臨床検査精度管理	微生物検査	33	グラム染色・鏡検	6
			分離培養同定	12
			薬剤感受性	27
			フォトサーベイ	12
結核菌遺伝子型別精度管理	微生物検査	2	結核菌VNTR遺伝子型別(JATA15+3)	2
インフルエンザウイルス核酸検出検査	微生物検査	6	A型インフルエンザウイルス亜型診断	6
排水水質検査	環境理化学検査	1	フェノール類	1
		1	PCB	1
		1	全窒素	1
飲料水水質検査		1	TOC	1
食品衛生	食品細菌検査	6	菌数測定	6
		12	細菌同定	12
	食品理化学検査	3	添加物	3
		10	残留農薬(妥当性評価確認試験)	1,200
平成28年度		76		1,290
平成27年度		69		1,281
平成26年度		62		1,271
平成25年度		68		4,863
平成24年度		54		71

IV 調査研究

家庭用品のアゾ化合物の試験調査

大家寿彦

I はじめに

アゾ化合物は、繊維製品及び革製品等の染色のためのアゾ染料として、世界中で用いられている。近年、その一部は、皮膚表面や人体内部で還元分解され、発がん性又はそのおそれがある特定芳香族アミンを生ずるとの報告があり、現在、EU等においては、特定芳香族アミンを生ずるおそれのあるアゾ染料の使用が禁止されている。

国内では、平成27年7月9日に「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」(以下、「省令」という)が改正されて、特定芳香族アミン24物質を生ずるアゾ化合物を含む染料の基準が新たに設けられ、平成28年4月1日に施行された。

横須賀市においても、当該物質を含む製品が流通しているおそれがあるため、繊維製品を対象とした検査体制の整備及び試買調査を目的として調査研究を行った。

II 試薬

1 純水

アドバンテック東洋(株)RFD240NCにより精製されたもの

2 超純水

日本ミリポア(株)EQE-3Sにより精製されたもの

3 クエン酸緩衝液(0.06mol/L、pH=6.0)

クエン酸一水和物(関東化学(株)、特級)12.526g及び水酸化ナトリウム(関東化学(株)、特級)6.32gを純水に溶かし、1,000mLとしたもの

4 亜ジチオン酸ナトリウム溶液

亜ジチオン酸ナトリウム(関東化学(株))20gを純水に溶かし、100mLとしたもの(用時調製)

5 水酸化ナトリウム溶液(10%)

水酸化ナトリウム(関東化学(株)、特級)10gを純水90mLに溶かしたもの

6 水酸化ナトリウム溶液(2%)

水酸化ナトリウム(関東化学(株)、特級)2gを純水98mLに溶かしたもの

7 塩化ナトリウム(関東化学(株)、特級)

8 tert-ブチルメチルエーテル(関東化学(株)、残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮))(メチル-tert-ブチルエーテル、MTBE)

9 メタノール(関東化学(株)、残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮))

10 アセトニトリル(関東化学(株)、残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮))

11 アセトン(関東化学(株)、残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮))

12 モノクロロベンゼン（関東化学(株)、鹿特級）（以下、「クロロベンゼン」という）

13 溶離液 1

リン酸二水素カリウム 0.68g を超純水に溶かして 1,000mL とし、メタノール（関東化学(株)、高速液体クロマトグラフィー用）150mL を加えたもの

14 溶離液 2

メタノール（関東化学(株)、高速液体クロマトグラフィー用）

15 標準液

1) アニリン/1,4-フェニレンジアミン混合標準液（関東化学(株)）

2) 特定芳香族アミン類混合標準液(21種)（関東化学(株)）

3) 2-ナフチルアミン標準液（AccuStandard Inc.）

4) 4-アミノビフェニル標準液（AccuStandard Inc.）

5) 4,4'-ベンジジン標準液（AccuStandard Inc.）

6) o-トルイジン(1,000ppm、1mL)（SPEX）

7) 2,4-ジアミノトルエン(1,000ppm、1mL)（SPEX）

1)～5) : 100mg/L アセトニトリル溶液

6)、7) : 1,000mg/L メタノール溶液

適宜、メタノール、アセトニトリル、MTBE で希釈及び混合して使用した。各標準液に含まれる物質（No. 1～26）については、表 1 に示した（以下、各物質を表 1 の No. を用いて表記する）。

16 内部標準液

ナフタレン-d₈（関東化学(株)、環境分析用）10mg 及び 2,4,5-トリクロロアニリン（関東化学(株)、環境分析用）10mg をそれぞれメタノールに溶かし 10mL としたものと並びにアントラセン-d₁₀（関東化学(株)、環境分析用）10mg をアセトンに溶かし 10mL としたものを MTBE で希釈及び混合し、20mg/L としたもの

17 標準品

調査に使用した標準品を表 1 に示した。

表1 標準品一覧

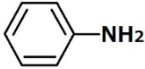
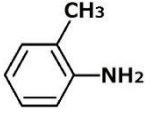
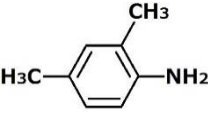
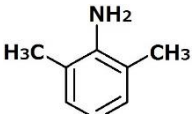
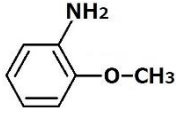
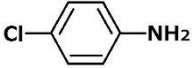
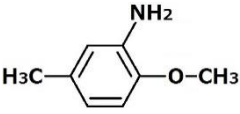
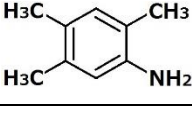

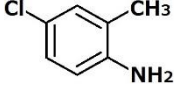
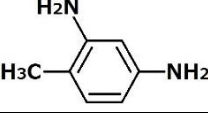
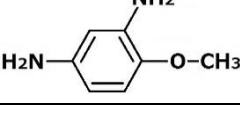
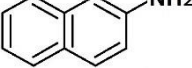
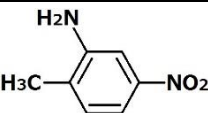
No.	JIS 政令	物質名	CAS No.	構造式	標準液	標準品 メーカー・容量・濃度等※1
1	—	アニリン	62-53-3		1)	Sigma-Aldrich 1mL
	—					
2	18	o-トルイジン	95-53-4		2) 6)	Sigma-Aldrich 250mg
	ハ					
3	—	2,4-ジメチルアニリン	95-68-1		2)	SUPELCO 1,000mg
	ヲ					
4	—	2,6-ジメチルアニリン	87-62-7		2)	SUPELCO 1,000mg
	ワ					
5	21	o-アニジジン	90-04-0		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ロ					
6	7	p-クロロアニリン	106-47-8		2)	Sigma-Aldrich 1,000mg
	ソ					
7	14	2-メトキシ-5-メチルアニリン	120-71-8		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ウ					
8	20	2,4,5-トリメチルアニリン	137-17-7		2)	Sigma-Aldrich 100mg/L in AcCN
	タ					
9	—	1,4-フェニレンジアミン	106-50-3		1)	東京化成工業 25g
	—					
10	3	4-クロロ-2-メチルアニリン	95-69-2		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ニ					
11	19	2,4-ジアミノトルエン	95-80-7		2) 7)	SUPELCO 1,000mg
	リ					
12	8	2,4-ジアミノアニソール	615-05-4		2)	Sigma-Aldrich 100mg
	ホ					
13	4	2-ナフチルアミン(別名β-ナフチルアミン)	91-59-8		3)	AccuStandard Inc. 100mg/L in AcCN
	レ					
14※2	6	2-メチル-5-ニトロアニリン	99-55-8		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ラ					

表 1 標準品一覧

No.	JIS 政令	物質名	CAS No.	構造式	標準液	標準品 メーカー・容量・濃度等※1
15	1	4-アミノジフェニル	92-67-1		4)	AccuStandard Inc. 100mg/L in AcCN
	イ					
16	22	p-フェニルアゾアニリン	60-09-3		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ツ					
17	16	4,4'-ジアミノジフェニル エーテル	101-80-4		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	へ					
18	9	4,4'-メチレンジアニリン	101-77-9		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ム					
19	2	ベンジジン	92-87-5		5)	AccuStandard Inc. 100mg/L in AcCN
	ネ					
20※2	5	2-メチル-4-(2-トリルア ゾ)アニリン	97-56-3		2)	東京化成工業 25g
	ナ					
21	13	4,4'-ジアミノ-3,3'- ジメチルジフェニルメタン	838-88-0		2)	Sigma-Aldrich 100mg
	チ					
22	12	3,3'-ジメチルベンジ ジン(別名オトリジン)	119-93-7		2)	Sigma-Aldrich 100mg
	カ					
23	17	4,4'-ジアミノジフェニル スルไฟド	139-65-1		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ト					
24	10	3,3'-ジクロロベンジ ジン	91-94-1		2)	Dr. Ehrenstorfer GmbH 100mg
	ル					
25	15	3,3'-ジクロロ-4,4'- ジアミノジフェニルメタン	101-14-4		2)	Sigma-Aldrich 250mg
	ヌ					
26	11	3,3'-ジメチキシベンジ ジン	119-90-4		2)	Dr. Ehrenstorfer GmbH 100mg
	ヨ					

※1 AcCN:アセトニトリル

※2 No. 14 及び No. 20 は規制対象だが、試験操作によりそれぞれ No. 11 及び No. 2 に還元されるため測定不要

III 試験方法

試験の方法は省令に従った。検査全体の手順を図1に、各操作フローを図2～6に示した。

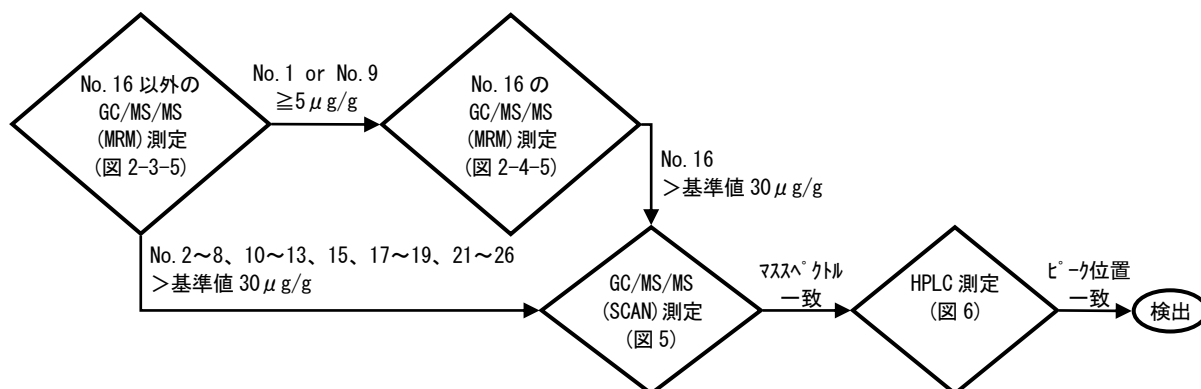
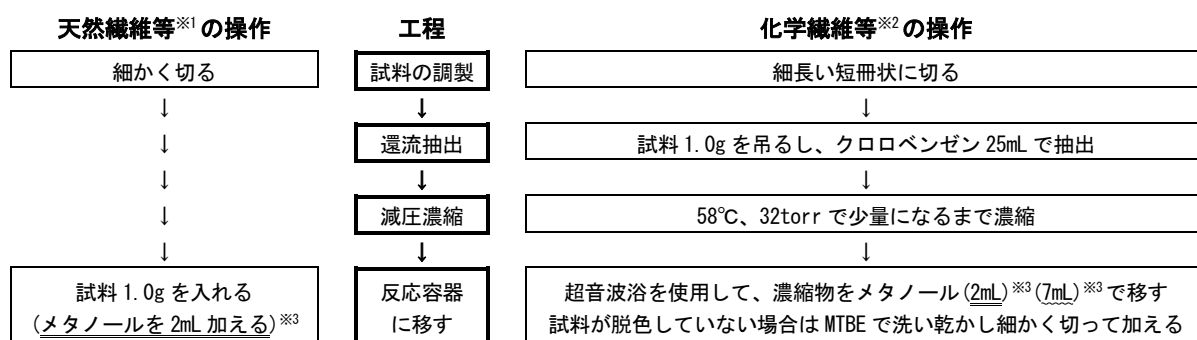


図1 検査全体の手順



※1 分散染料が使用されていない繊維製品

※2 分散染料が使用されている繊維製品

※3 ()内の二重下線部は No. 16 以外を測定する場合、波下線部は No. 16 のみを測定する場合に行う

図2 染料の抽出等の操作

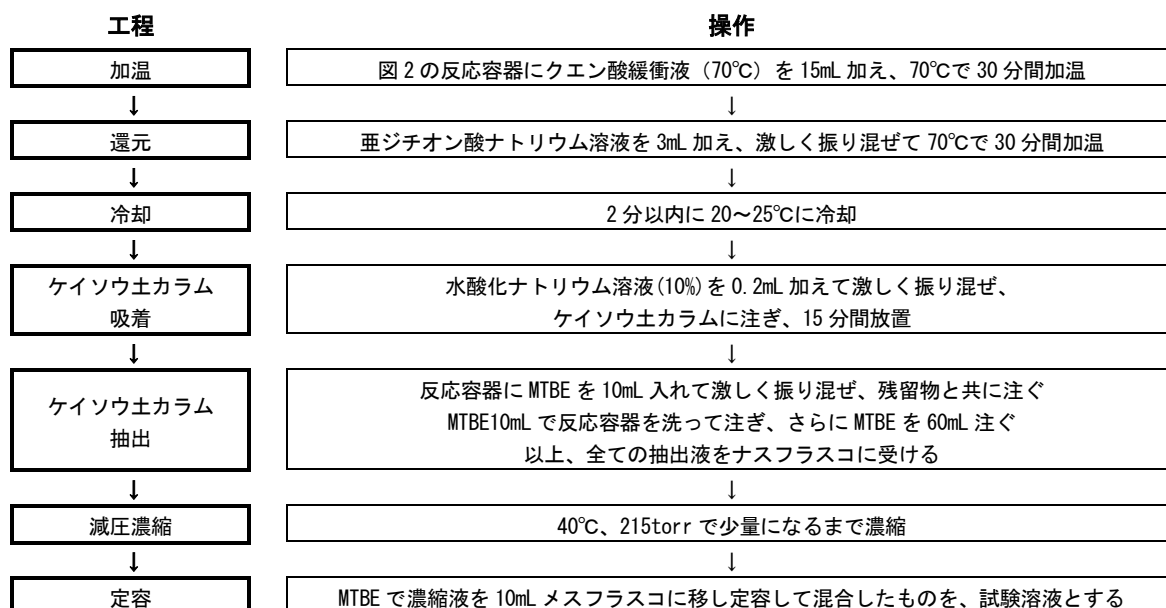


図3 No. 16 以外を測定する場合の還元・抽出等の操作

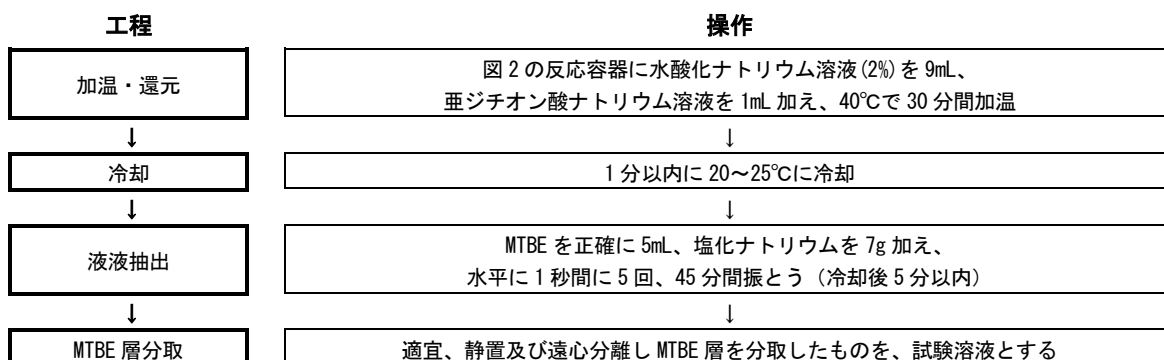
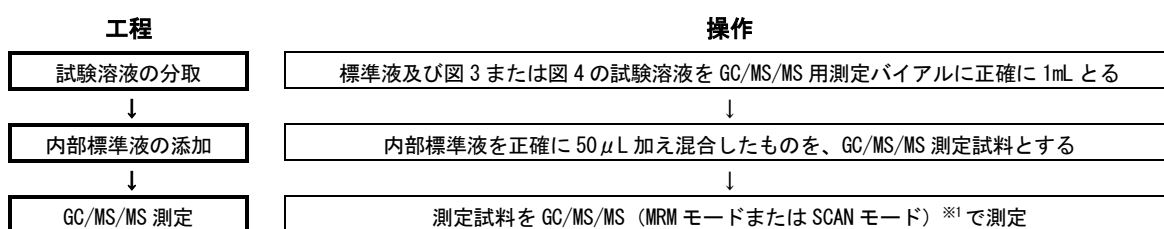


図4 No.16のみを測定する場合の還元・抽出等の操作



※1 MRMモードで物質が検出された場合、SCANモードで測定を行う(図1参照)

図5 ガスクロマトグラフ質量分析計(GC/MS/MS)用測定試料の調製

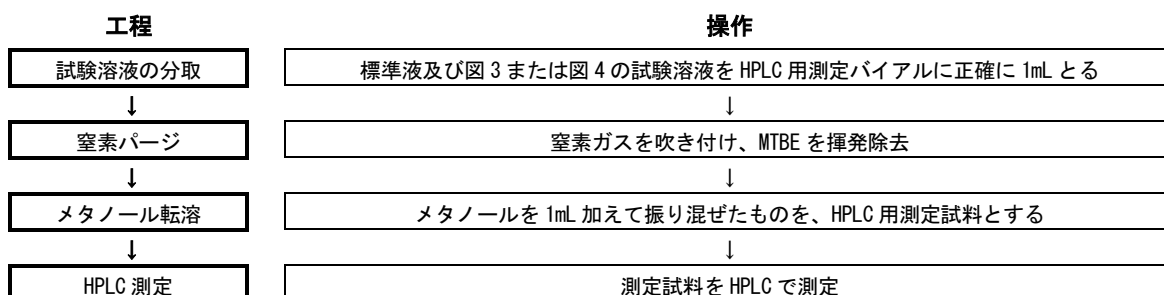


図6 高速液体クロマトグラフ(HPLC)用測定試料の調製

1 GC/MS/MS測定条件の検討

GC/MS/MSの測定条件は島津製作所製のソフトウェア「Smart Pesticides Database」を利用し、省令に準じて作成した。各物質の保持時間は、データベースのマススペクトル類似性検索及び各物質の単一成分標準液の測定により決定した。内部標準物質の選択については、Kawakamiらの報告¹を参考にした。

2 HPLC測定条件の検討

HPLCの測定条件は省令に準じて作成した。各物質の保持時間は、各物質の単一成分標準液の測定により決定した。

3 窒素パージの影響の検討（図 6 関係）

GC/MS/MS 用測定バイアル 2 個にそれぞれ標準液 (1mg/L) を 1mL 分取し、窒素パージにより MTBE を除去した。一方は MTBE をわずかに残し、もう一方は MTBE を完全に除去し乾固させた。それぞれに MTBE 1mL 及び内部標準液 50 μ L を加えて溶解、混合したものを、GC/MS/MS で測定した。同様の操作により MTBE を除去し、メタノールに溶解したものを HPLC で測定した。

4 回収率試験

回収率試験は「化学的变化により容易に特定芳香族アミンを生成するアゾ化合物を含有する家庭用繊維製品等について（平成 28 年 2 月 22 日付け薬生化発 0222 第 1 号厚生労働省医薬・生活衛生局審査管理課化学物質安全対策室長通知）」に従い、JIS^{2,3}を参考に行った。具体的には、No. 16 以外を測定する場合は、反応容器に入れたクエン酸緩衝液 (70 $^{\circ}$ C) 15mL に標準液を加えたものを図 3、5 の操作フローに従って試験を行い、No. 16 を測定する場合は、反応容器に標準液 2) を加えたものを図 4、5 の操作フローに従って試験を行った。なお、使用した標準液の濃度設定を受けて、各物質の添加量は一律、基準値の 3 分の 1 の 10 μ g とした。

また、回収率試験の試料は標準液 1)、6)、7)（「II 試薬 15 標準液」の項参照、以下同じ）を混合したもの及び標準液 2)～5) を混合したものの 2 種類を用意した。これは、図 2 の試験操作により No. 16 から No. 1 及び No. 9 が、No. 14 から No. 11 が、No. 20 から No. 2 がそれぞれ生成されるため、No. 1、9 を含む標準液 1) と No. 16 を含む標準液 2) を混合できないことと、No. 2、11、14、20 を含む標準液 2) では No. 2 及び No. 11 の回収率を求められないことの 2 点が理由である。

定量には、標準液 1)～5) を MTBE で希釈及び混合したものにより作成した多点検量線を使用した。

5 試買調査

横須賀市内の衣料品店で合計 6 点の繊維製品を購入し、図 1 の検査全体の手順及び図 2～6 の操作フローに従い検査を行った。検査では、物質の検出・不検出にかかわらず、図 1 に示した全ての測定操作を実施した。

IV 結果及び考察

1 GC/MS/MS 測定条件の検討

構築した測定条件を表 2、3 に示した。いずれかの物質が検出された場合、改めて SCAN モードでの測定を行うが、試験溶液の保存による影響が危惧されるため、MRM モードと SCAN モードを同時に実施できる条件とした。

標準液 1)～5) を混合した 3mg/L 溶液を GC/MS/MS で測定した SCAN データのトータルイオンクロマトグラフ (TIC) を図 7 に示した (以下、図中の数字は表 1 の No. に対応している)。ピークが重なっているものや近接しているものがあるが、そのほとんどはモニターイオンを適切に設定することで定量可能であった。No. 3、4 は互いにメチル基 1 個分が異なる位置異性体でありマススペクトルが酷似しているが、ピークが分離できているため定量可能であった (図 8)。カラムの消耗・劣化等によってピークの変位や分離が悪くなる可能性があるため、注意が必要である。

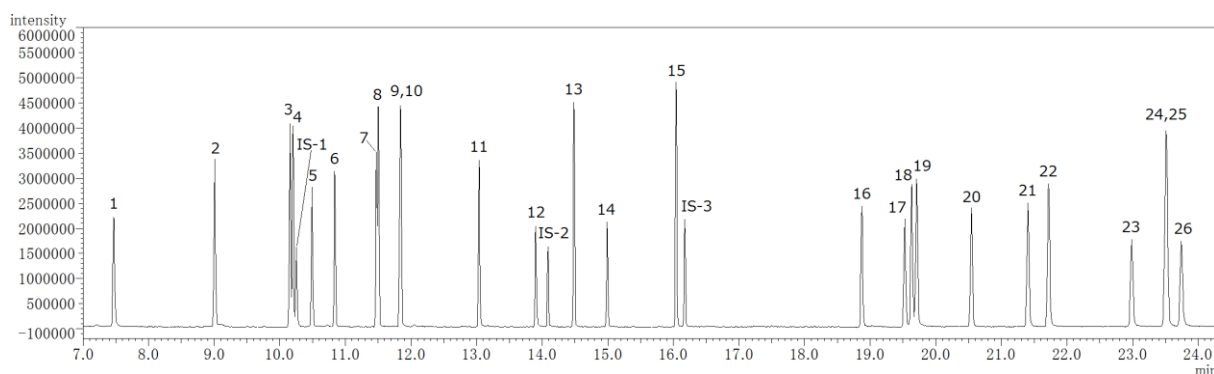


図 7 標準液 (3mg/L) の GC/MS/MS の SCAN データ TIC

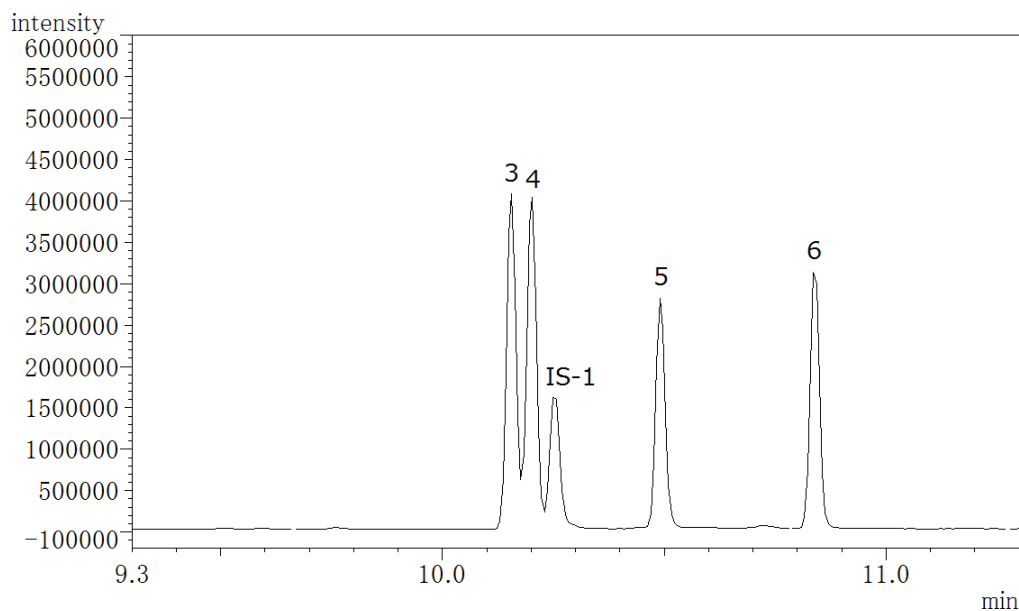


図 8 標準液 (3mg/L) の GC/MS/MS の SCAN データ TIC (9.3～11.3min)

表2 GC/MS/MS 測定条件

機種	GCMS-TQ8040 (島津製作所)
カラム	Rxi-35sil ms 30m×0.32mm×0.25μm (Restek)
カラム温度	55°C (5min) -15°C/min-230°C (0min) -5°C/min-290°C (0min) -20°C/min-310°C (5min)
注入方法	スプリットレス (高圧注入 100.0kPa)、1.0μL
キャリアーガス	ヘリウム (線速度 55.0cm/sec)
インターフェース温度	260°C
イオン源温度	230°C
イオン化電流	60μA
検出器電圧	1.50kV
測定モード	MRM モード (モニターイオンは表3)・SCAN モード (m/z 45~500)

表3 モニターイオン (MRM モード)

No.	物質名	IS	定量トランジション	CE	確認トランジション1	CE	確認トランジション2	CE
1	アニリン	1	93.00>66.10	15	93.00>54.10	21	93.00>51.00	27
2	o-トリジン	1	106.00>77.10	18	106.00>79.10	15	79.00>77.00	9
3	2,4-ジメチルアニリン	1	121.00>106.10	15	120.00>77.10	21	106.00>77.10	21
4	2,6-ジメチルアニリン	1	121.00>106.10	15	106.00>77.00	21	120.00>77.10	21
IS-1	ナフタレン-d ₈	—	136.00>108.10	18	136.00>134.10	18	136.00>84.10	24
5	o-アニジン	1	108.00>80.10	12	123.00>80.10	21	123.00>108.00	12
6	p-クロロアニリン	1	127.00>65.10	24	127.00>92.10	18	127.00>100.00	9
7	2-メキシ-5-メチルアニリン	1	122.00>94.00	12	137.00>122.10	12	122.00>77.10	21
8	2,4,5-トリメチルアニリン	1	135.00>120.10	15	120.00>77.00	18	134.00>91.10	21
9	1,4-フェニレンジアミン	1	108.00>80.10	21	80.00>53.10	12	107.00>80.10	15
10	4-クロロ-2-メチルアニリン	1	141.00>106.10	18	106.00>77.10	15	106.00>79.10	12
11	2,4-ジアミノトルエン	1	121.00>94.10	12	121.00>77.10	18	122.00>105.10	15
12	2,4-ジアミノフェニール	2	138.00>123.00	12	123.00>95.00	12	138.00>95.10	24
IS-2	2,4,5-トリクロロアニリン	—	195.00>133.00	21	195.00>124.00	18	195.00>160.10	9
13	2-ナフチルアミン (別名 β-ナフチルアミン)	2	143.00>115.10	24	115.00>89.10	21	115.00>65.10	18
14	2-メチル-5-ニトロアニリン	3	79.00>77.10	9	77.00>51.00	15	152.00>106.10	15
15	4-アミノフェニル	3	169.00>167.10	21	169.00>141.10	24	169.00>115.10	27
IS-3	アントラセン-d ₁₀	—	188.00>160.10	24	188.00>158.10	27	188.00>184.10	27
16	p-フェニルアゾアニリン	3	92.00>65.10	9	197.00>92.10	18	120.00>92.10	9
17	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	3	200.00>108.20	24	200.00>80.10	30	200.00>171.30	12
18	4,4'-メチレンジアニリン	3	197.00>180.10	12	198.00>180.00	24	198.00>106.10	15
19	ベンジン	3	184.00>156.00	21	184.00>166.10	21	184.00>139.10	33
20	2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン	3	106.00>77.10	15	106.00>79.10	9	225.00>106.10	18
21	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	3	226.00>211.10	12	211.00>180.00	21	226.00>180.10	33
22	3,3'-ジメチルベンジン (別名 o-トリジン)	3	212.00>180.10	30	212.00>196.20	15	212.00>195.10	30
23	4,4'-ジアミノジフェニルスルファイド	3	216.00>184.10	18	216.00>156.20	27	216.00>198.90	27
24	3,3'-ジクロロベンジン	3	252.00>153.70	36	252.00>182.10	30	252.00>215.00	24
25	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	3	231.00>195.30	18	266.00>230.90	12	266.00>195.10	36
26	3,3'-ジメキシベンジン	3	201.00>158.00	27	244.00>201.10	18	244.00>158.20	36

2 HPLC 測定

構築した測定条件を表 4 に示した。省令が示す流速のグラジエントでは、急激に圧力が上昇する部分があるため、グラジエントを緩やかにした。

HPLC のクロマトグラムを図 9 に示した。No. 1、9、14、20 は測定対象ではないが参考として測定した。分離が十分でないピークもあるが、定性には問題ないと考えられる。

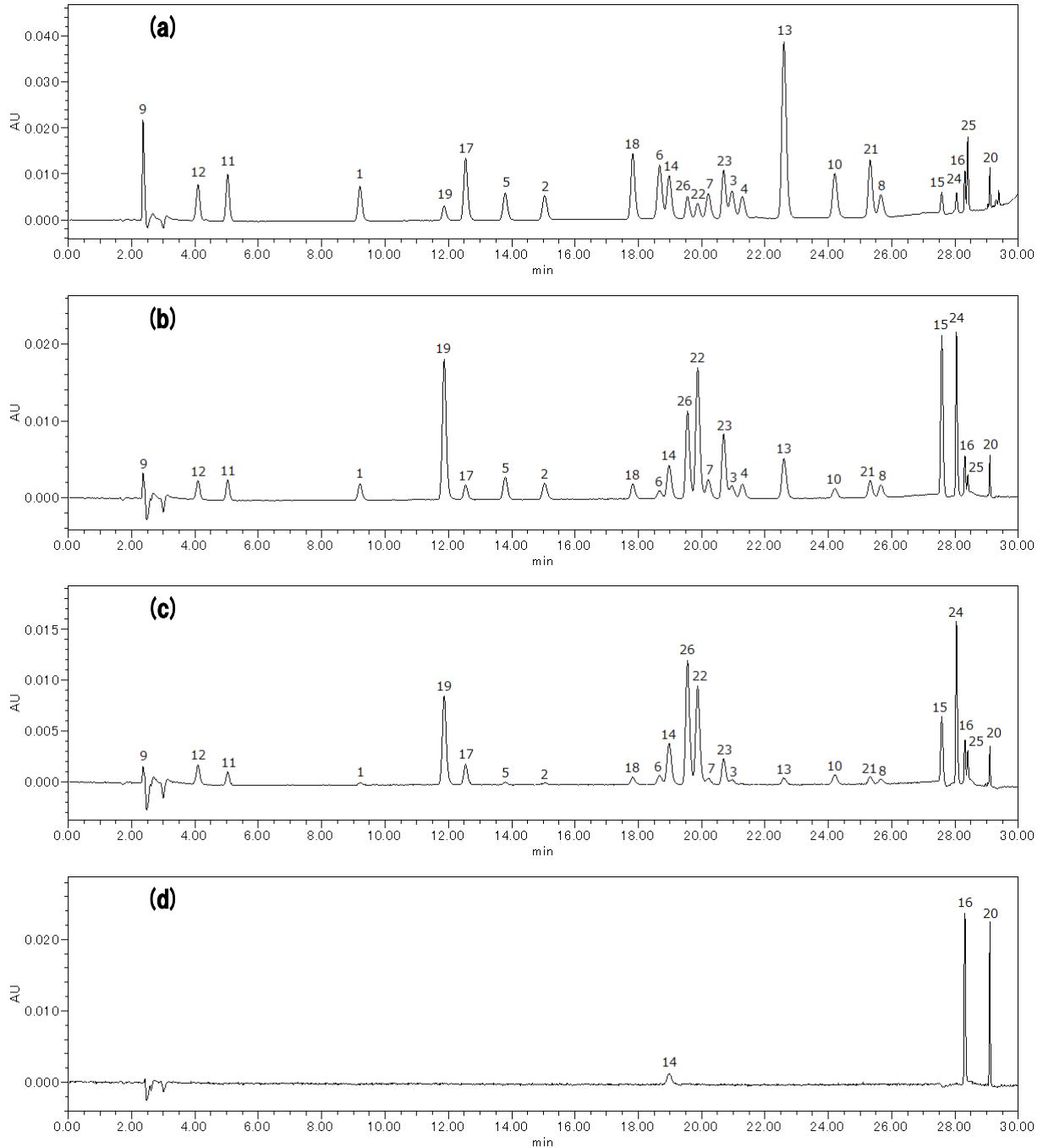


図 9 標準液 (3mg/L) の HPLC クロマトグラム ((a) 240nm、(b) 280nm、(c) 305nm、(d) 380nm)

表 4 HPLC 測定条件

機種	Alliance HPLC 2695/2996 (PDA) (Waters)
カラム	ZORBAX Eclipse XDB-C18 4.6mm×150mm×3.5μm (Agilent Technology)
カラム温度	32°C
注入量	5μL
検出器	紫外可視検出器 (PDA)
検出波長	240、280、305、380nm
移動相	溶離液 1/2 = 90/10 - 22.5min - 45/55 - 5min - 5/95 (2min 保持) - 0.5min - 90/10 (6min 保持), v/v
流速	0.6mL/min(27.5min 保持) - 2min - 2mL/min - 2.5min - 0.6mL/min(4min 保持)

3 窒素パージの影響の検討 (図 6 関係)

標準液(1mg/L)を窒素パージ後、GC/MS/MS で測定した結果を表 5 に示した。GC/MS/MS で早く出現する物質ほど窒素パージの影響を受けていることがわかる。(a)MTBE をわずかに残したものでは、いずれの物質も残存率が 80%以上であり定性可能であるが、(b)乾固させたものでは、No. 1~4 では検出されず、No. 5~8、10 については 2.2~15.5%であり、定性が困難になると思われる。HPLC 測定の結果も同様であった (図 10)。

残存率が(a)よりも(b)の方が高い物質については、(a)の方が残した MTBE によって、溶液量が多くなり、濃度が低くなったことが理由として考えられる。

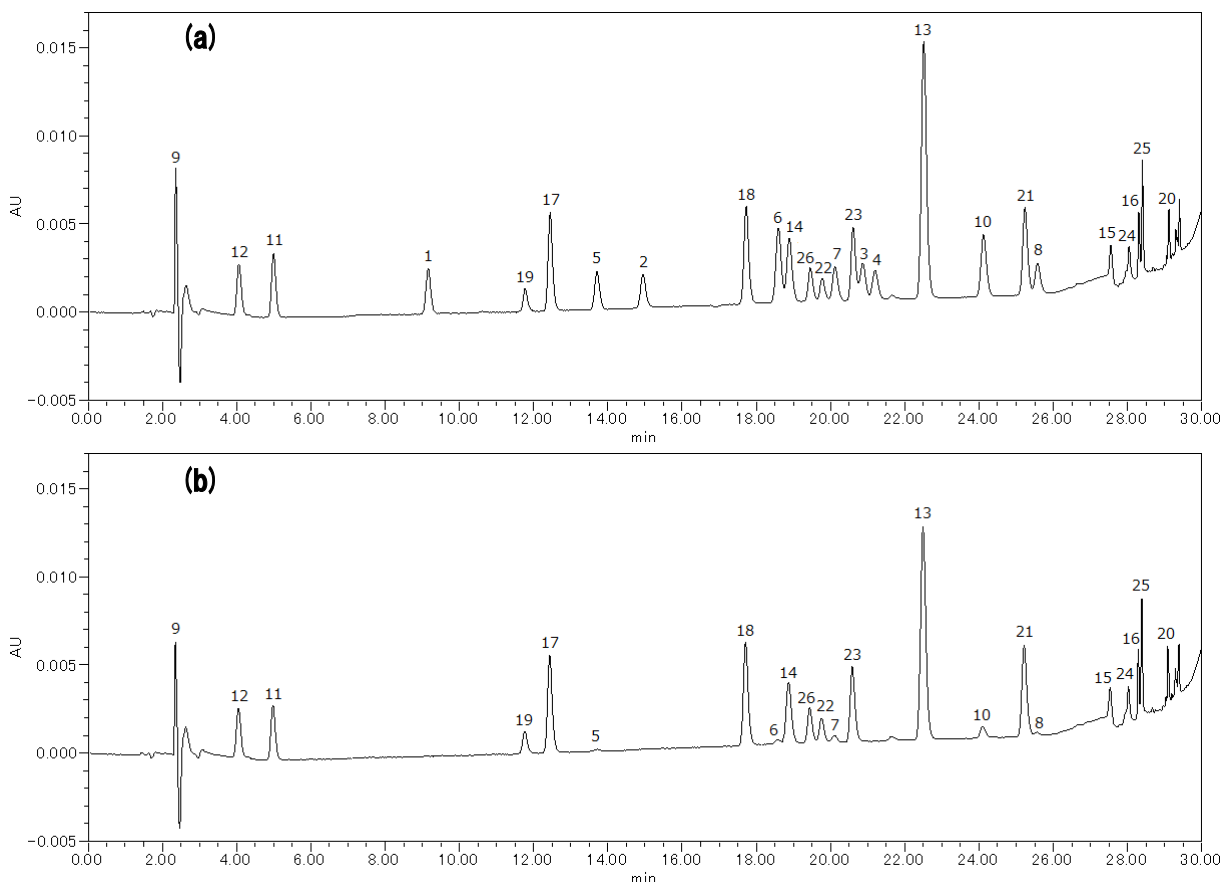


図 10 窒素パージ後に測定した標準液(1mg/L)の HPLC クロマトグラム(240nm)
 (a) MTBE をわずかに残したものの、(b) 乾固させたもの

表 5 窒素パージ後の標準液(1mg/L)のGC/MS/MS 測定結果

(a) MTBE をわずかに残したものの残存率、(b)乾固させたものの残存率

No.	物質名	(a) (%)	(b) (%)
1	アニリン	81.7	0.0
2	o-トルイジン	84.3	0.0
3	2,4-ジメチルアニリン	86.5	0.0
4	2,6-ジメチルアニリン	86.9	0.0
5	o-アニジジン	86.9	2.2
6	p-クロロアニリン	87.6	2.7
7	2-メキシ-5-メチルアニリン	89.0	15.5
8	2,4,5-トリメチルアニリン	89.4	7.0
9	1,4-フェニレンジアミン	88.7	71.2
10	4-クロロ-2-メチルアニリン	89.7	15.5
11	2,4-ジアミノトルエン	91.2	85.8
12	2,4-ジアミノアノール	90.3	93.7
13	2-ナフチルアミン(別名β-ナフチルアミン)	97.8	81.9
14	2-メチル-5-ニトロアニリン	93.7	90.3
15	4-アミノジフェニル	98.9	95.8
16	p-フェニルアゾアニリン	97.2	97.0
17	4,4'-ジアミノジフェニルエーテル	95.1	95.7
18	4,4'-メチレンジアニリン	96.9	97.8
19	ベンジジン	97.8	99.0
20	2-メチル-4-(2-トリルアゾ)アニリン	98.6	98.9
21	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルジフェニルメタン	95.5	96.0
22	3,3'-ジメチルベンジジン(別名o-トリジン)	97.0	98.1
23	4,4'-ジアミノジフェニルスルフィド	96.4	98.0
24	3,3'-ジクロロベンジジン	98.5	98.2
25	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノジフェニルメタン	99.0	99.0
26	3,3'-ジメキシベンジジン	92.2	96.4

4 回収率試験

いずれの物質の回収率も JIS の要求水準を満たしていることを確認した (表 6)。要求水準が定められていない物質の回収率については、No. 3、4 は 90%以上と良好であったが、No. 9 は検出されず 0.0%となった。No. 9 は No. 1 とともに No. 16 検出の判断基準となるスクリーニング的な物質であるが、所定の操作では No. 9 は分解されている可能性がある。

表 6 各物質の回収率

No.	物質名	添加量 (μ g)	Lot. ※1	回収率 (%)	要求水準※2 (%)
1	アニリン	10	#1	94.3	70
2	o-トリジン	10	#1	100.8	50
3	2,4-ジメチルアニリン	10	#2	93.7	—
4	2,6-ジメチルアニリン	10	#2	94.1	—
5	o-アニジン	10	#2	94.1	70
6	p-クロロアニリン	10	#2	94.5	70
7	2-メキシ-5-メチルアニリン	10	#2	94.1	70
8	2,4,5-トリメチルアニリン	10	#2	92.7	70
9	1,4-フェニレンジアミン	10	#1	0.0	—
10	4-クロロ-2-メチルアニリン	10	#2	93.4	70
11	2,4-ジアミノトルエン	10	#1	77.5	50
12	2,4-ジアミノソール	10	#2	34.0	20
13	2-ナフチルアミン (別名 β -ナフチルアミン)	10	#2	91.5	70
15	4-アミノフェニル	10	#2	92.4	70
16	p-フェニルアゾアニリン	10	#3	77.2	60
17	4,4'-ジアミノフェニルエーテル	10	#2	72.4	70
18	4,4'-メチレンジアニリン	10	#2	72.1	70
19	ベンジン	10	#2	78.2	70
21	4,4'-ジアミノ-3,3'-ジメチルフェニルメタン	10	#2	80.5	70
22	3,3'-ジメチルベンジン (別名 o-トリジン)	10	#2	90.3	70
23	4,4'-ジアミノフェニルスルフィド	10	#2	85.1	70
24	3,3'-ジクロロベンジン	10	#2	93.2	70
25	3,3'-ジクロロ-4,4'-ジアミノフェニルメタン	10	#2	93.3	70
26	3,3'-ジメチルベンジン	10	#2	89.9	70

※1 Lot. が同じのものは同一試料

※2 JIS による

5 試買調査

横須賀市内の衣料品店①～③の3ヶ所で、合計6点A～Eの繊維製品を購入して検体とした。内訳を表7に示した。

GC/MS/MS (MRM) 測定の結果、すべての検体について、いずれの物質も基準値未満であった。なお、試買品CではNo. 6が0.4mg/L程度、試買品EではNo. 24が0.1mg/L程度となる小さなピークが認められた。HPLC測定では、試買品CはNo. 6とのピーク位置の一致(図11(a))及びUVスペクトルの一致(図11(a₁)(a₂))も確認できたが、試買品EはNo. 24とピーク位置がわずかに一致しておらず(図11(b))、UVスペクトルも一致していない(図11(b₁)(b₂))ため、No. 24ではないと考えられる。試買品Dにおいては、測定を妨害するおそれがあるピークが確認されており、検出された物質によってはカラムや移動相等の条件を変えなければいけない場合があることがわかった(図11(c))。

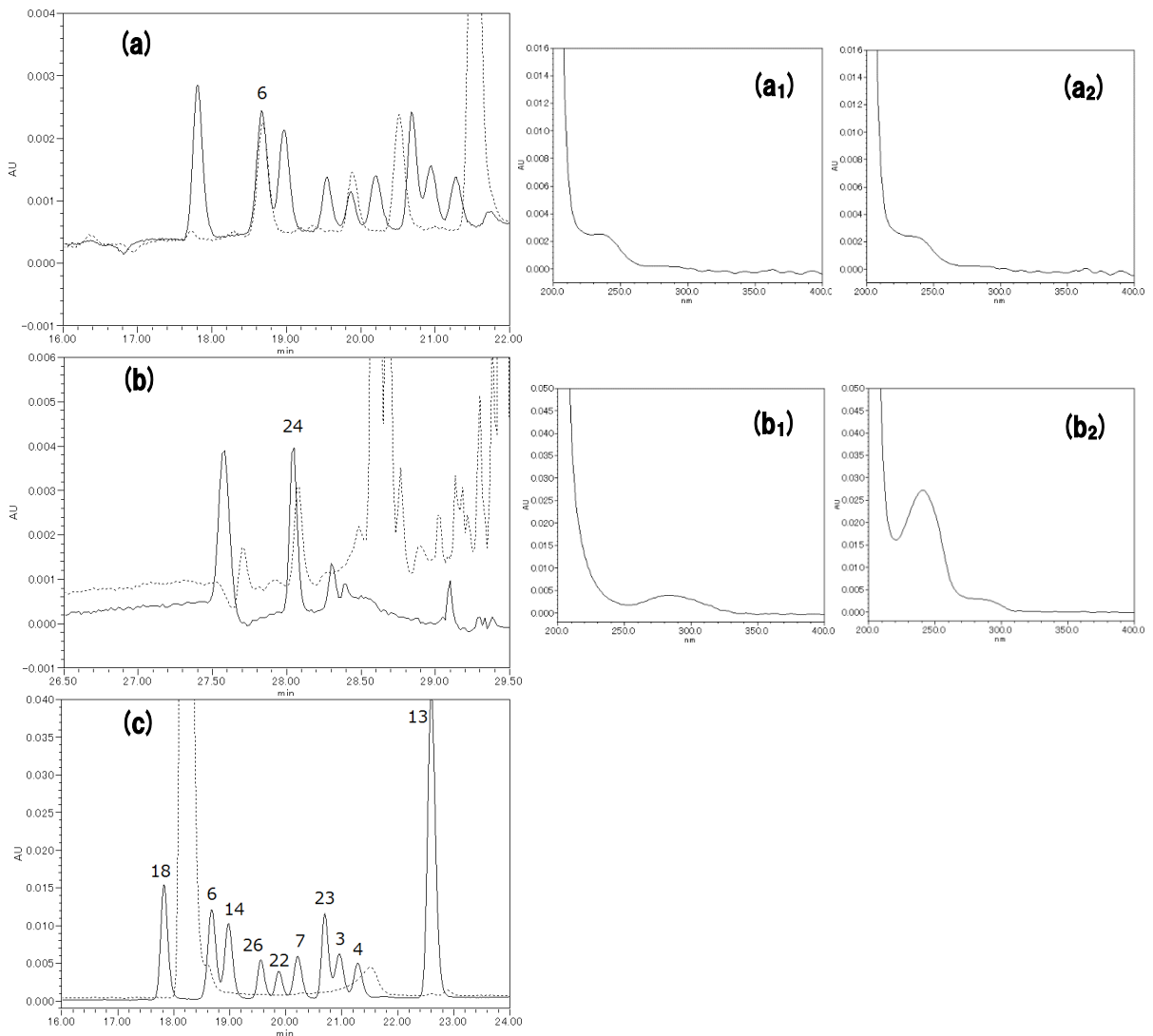


図11 HPLCクロマトグラム：(a) 240nm、実線：標準液(0.5mg/L)、点線：試買品C、(b) 280nm、実線：標準液(0.5mg/L)、点線：試買品E、(c) 240nm、実線：標準液(3mg/L)、点線：試買品D、UVスペクトル：(a₁) 標準液(0.5mg/L) (18.68min)、(a₂) 試買品C (18.68min)、(b₁) 標準液(0.5mg/L) (28.04min)、(b₂) 試買品E (28.08min)

表 7 試買品内訳

分類	天然繊維等			化学繊維等		
	店舗①			店舗②	店舗①	店舗③
試買品	A	B	C	D	E	F
品目	タオル	スポン	下着	帽子	スポーツウェア	バスマット
素材	綿	綿	絹	毛	ポリエステル	ポリエステル
色	緑	ピンク	黒	濃赤紫	黄緑	紫
原産国	インドネシア	バングラデシュ	中国	中国	インドネシア	中国

また試買品 C については、No. 16 を測定する際の液液抽出の操作において、静置による MTBE 層の分離が悪く遠心分離を必要とした。化学繊維等に分類される試買品 E 及び F は、メタノール転溶の際に白色沈殿が生成したため、省令に記載はないが、遠心分離後の上清を測定試料とした。これは、メタノールに不溶な疎水性物質がクロロベンゼン及び MTBE により抽出されてしまったことが原因と考えられる。

V まとめ

- 1 繊維製品中のアゾ化合物を含む染料に関する検査について、GC/MS/MS 及び HPLC の測定条件を構築した。
- 2 測定物質によっては、HPLC 測定の際の窒素パージが結果に大きく影響するため、完全に乾固しないように転溶するのが望ましいことがわかった。
- 3 回収率試験の結果、JIS の要求水準を満たすことを確認した。
- 4 市内で販売されている繊維製品を対象とした試買調査では、基準値を超えるものはなかった。
- 5 HPLC による測定では、検体によって測定条件を変更する必要があることが示唆された。

VI 参考文献

- 1 Kawakami, T., Isama, K., Nishimura, T.: Survey of Primary Aromatic Amines Originating from Azo Dyes in Commercial Textile Products in Direct Contact with Skin and in Commercial Leather Products in Japan, J. Environ. Chem, Vol. 22, No. 4, 197-204 (2012)
- 2 日本工業標準調査会: JIS L 1940-1:2014 繊維製品—アゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法—第 1 部: 繊維の抽出及び非抽出による特定アゾ色素の使用の検出
- 3 日本工業標準調査会: JIS L 1940-3:2014 繊維製品—アゾ色素由来の特定芳香族アミンの定量方法—第 3 部: 4-アミノアゾベンゼンを放出する特定アゾ色素の使用の検出

レジオネラ属菌検査における最適検査法の検討

古川 美奈子

I はじめに

現在、当センターにおける浴槽水等のレジオネラ属菌検査は、レジオネラ症防止指針 第3版（以下「指針」という。）¹⁾に従って実施し、検水の濃縮はろ過濃縮を、前処理は酸処理を採用している。本検査に関して、平成25年度にレジオネラ属菌検査精度管理ワーキンググループ²⁾（以下「WG」という。）が実施した全国地方衛生研究所等を対象とする外部精度管理調査において、検査法によって検出感度に差があることが明らかとなったことから、WGでは、非濃縮（①未処理、②酸処理、③熱処理）及び濃縮（④未処理、⑤酸処理、⑥熱処理）の計6系統による検査を推奨して、改めて平成26年度に外部精度管理を実施した。この結果からは、夾雑菌を含まない純培養菌の試料では、非濃縮かつ未処理の系統で最大値を得る傾向が認められた。

これを受けて、今回、外部精度管理調査に用いられた純培養された検体ではなく、浴槽水等の実検体を用いてWG推奨検査法を実施し、本市としての最適な検査法を比較検討することとした。

II 材料

平成28年5月から平成28年11月までに搬入された浴槽水及びプール水
実施件数 浴槽水 87件 プール水 6件 合計 93件

III 使用培地及びフィルター

- ・GVPC α 寒天培地(日生研)
- ・L-システイン要求性確認培地 … 羊血液/BCYE α 寒天培地(日生研)
- ・アイソポアメンブレンフィルター孔径0.22 μ m(ミリポア)

IV 方法

- 1 各検体について、WG推奨検査法に基づく検査フロー(図1)によって6系統の処理を行った後、所定量を培地に塗布した。ただし、酸処理の処理時間は指針に従い5分間^{*1}とする。残留塩素濃度が0.4mg/L未満等のろ過濃縮処理検体は希釈し培地に塗抹する。
- 2 培養は36 \pm 1 $^{\circ}$ C、7日間とした。3日目以降は随時、斜光法により発育の有無を観察し、確認したレジオネラ属菌疑いのコロニーを羊血液/BCYE α 寒天培地に塗抹し、発育の確認を行った。
- 3 羊血液/BCYE α 寒天培地において、羊血液寒天培地に発育せずBCYE α 寒天のみに発育したコロニーをレジオネラ属菌として計数した後、血清群別、PCR³⁾検査を行い、各系統から検出されたレジオネラ属菌の血清群別検出状況を確認した。

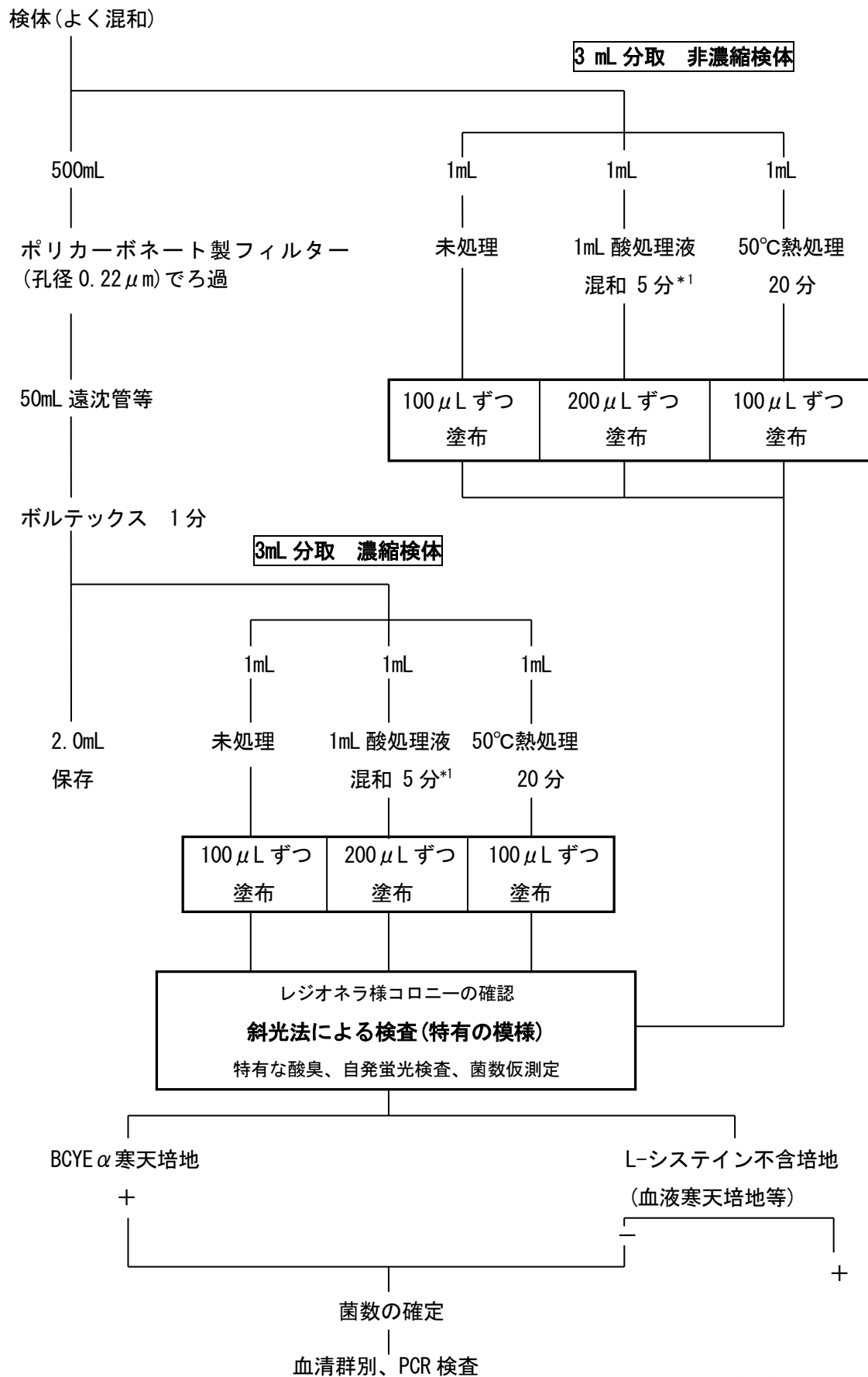


図 1 WG 推奨検査法に基づく検査フロー(濃縮法 : ろ過濃縮)

V 結果

検査の結果、浴槽水及びプール水 計 93 件中 13 件 (14.0%) からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水では 87 件中 13 件 (14.9%) からレジオネラ属菌が検出されたが、プール水からレジオネラ属菌は検出されなかった。また、処理別ではろ過濃縮酸処理試料が最も多く、13 件 (14.0%) からレジオネラ属菌が検出された。なお、ろ過濃縮酸処理試料で検出されず、他の処理法で検出された検体はなく、ろ過濃縮酸処理試料のみから検出された検体は 1 件であった。

表 1 にレジオネラ属菌検査の検出率を示した。

表 1 レジオネラ属菌検査の検出率

区 分		検査数	検出数	検出率 (%)
全検体		93	13	14.0
検体種別	浴槽水	87	13	14.9
	プール水	6	0	0.0
処理別	非濃縮	①未処理	2	2.2
		②酸処理	1	1.1
		③熱処理	2	2.2
	ろ過濃縮	④未処理	7	7.5
		⑤酸処理	13	14.0
		⑥熱処理	12	12.9

表 2 に非濃縮とろ過濃縮の最大値の比較、表 3 に各濃縮内最大値の処理別検体の件数、表 4 にレジオネラ属菌検査の検出結果を示した。

表 2 非濃縮とろ過濃縮の最大値の比較

検体番号	(A) 非濃縮の最大値 (CFU/100mL)	(B) ろ過濃縮の最大値 (CFU/100mL)	(A) / (B)
32	1,000	150	6.7
62	1,000	60	16.7
63	1,000	120	8.3
65	1,000	50	20.0
76	2,000	40	50.0

表 3 各濃縮内最大値の処理別検体の件数

各濃縮内最大値	非濃縮			ろ過濃縮		
	①未処理	②酸処理	③熱処理	④未処理	⑤酸処理	⑥熱処理
件数	2	1	2	3	7	5
計	5			15*		

* 同一検体内で複数の処理において最大値となった検体 2 件含む

レジオネラ属菌が検出された 13 件のうち、非濃縮で検出された検体は 5 件あり、それぞれ非濃縮の菌数の最大値はろ過濃縮のそれに比べて明らかに高かった (6.7~50.0 倍)。また、各検体で非濃縮、濃縮に分けて最大値が得られた処理をみると、非濃縮では明確な差はなかったが、ろ過濃縮では酸処理が最も多く 7 件であった。

表4 レジオネラ属菌検査の検出結果

種別	検体番号*1	残留塩素濃度 (mg/L)	非濃縮*2、3、4			ろ過濃縮*2、3、4			検出されたすべての処理に共通した血清群
			①未処理 (CFU/100mL)	②酸処理 (CFU/100mL)	③熱処理 (CFU/100mL)	④未処理 (CFU/100mL)	⑤酸処理 (CFU/100mL)	⑥熱処理 (CFU/100mL)	
浴槽水	9	0.1	ND	ND	ND	40	70	20	SG6
	12	0.6	ND	ND	ND	ND	10	ND	SG6
	22	0.0	ND	ND	ND	ND	30	50	SG6
	<u>32</u>	0.0	ND	<u>1,000</u> (SG6)	ND	90 (SG1、SG5、菌種不明)	130 (SG5、菌種不明)	<u>150</u> (SG1、SG5、SG6、菌種不明)	
	34	0.0	ND	ND	ND	ND	70	<u>90</u> (SGUT)	SG5、SG6
	48	0.8	ND	ND	ND	30	30	20	SG1
	61	0.0	ND	ND	ND	ND	100	20 (SG6)	SG5
	<u>62</u>	0.6	<u>1,000</u>	ND	ND	<u>60</u> (SG4)	40 (SG4)	30	SG1
	<u>63</u>	0.8	<u>1,000</u>	ND	ND	40	120 (SG1)	30	SG4
	64	0.4	ND	ND	ND	40	50 (SG4)	20	SG1
	<u>65</u>	0.6	ND	ND	<u>1,000</u>	<u>50</u>	30	30	SG4
	75	痕跡	ND	ND	ND	ND	10	10	菌種不明
<u>76</u>	0.0	ND	ND	<u>2,000</u>	ND	10	<u>40</u> (SG7、菌種不明)	SG1	

*1 非濃縮検体で検出された検体番号に下線

*2 「ND」は定量下限値未満、各々の定量下限値は非濃縮検体が1,000 (CFU/100mL)、ろ過濃縮検体が10 (CFU/100mL)

*3 濃縮酸処理検体より多く検出された他の処理検体のレジオネラ属菌数に二重下線

*4 *L. pneumophila* 血清群は「SG」と表記

血清群別、PCR³⁾検査を行い、13件、6系統の処理試料から検出されたレジオネラ属菌の血清群別検出状況を確認した。*L. pneumophila* SG1、4、5、6と各処理(未処理、酸処理、熱処理)の検出結果について、カイ2乗検定等を行ったところ有意差は見られなかった。表5に各血清群における処理別検出結果(SGUT、菌種不明は除く)を示した。

表5 各血清群における処理別検出結果(SGUT、菌種不明は除く)

血清群別	検体番号	非濃縮			ろ過濃縮		
		①未処理	②酸処理	③熱処理	④未処理	⑤酸処理	⑥熱処理
SG1	32	ND	×	ND	○	×	○
	48	ND	ND	ND	○	○	○
	62	○	ND	ND	○	○	○
	63	×	ND	ND	×	○	×
	64	ND	ND	ND	○	○	○
	76	ND	ND	○	ND	○	○
SG4	62	×	ND	ND	○	○	×
	63	○	ND	ND	○	○	○
	64	ND	ND	ND	×	○	×
	65	ND	ND	○	○	○	○
SG5	32	ND	×	ND	○	○	○
	34	ND	ND	ND	ND	○	○
	61	ND	ND	ND	ND	○	○
SG6	9	ND	ND	ND	○	○	○
	12	ND	ND	ND	ND	○	ND
	22	ND	ND	ND	ND	○	○
	32	ND	○	ND	×	×	○
	34	ND	ND	ND	ND	○	○
	61	ND	ND	ND	ND	×	○
SG7	76	ND	ND	×	ND	×	○

* 当該血清群が検出された場合は「○」、レジオネラ属菌は検出されたが当該血清群が検出されなかった場合は「×」

今回の検討は、夾雑菌を含まない純培養菌の試料ではなく浴槽水等の実検体で行ったが、夾雑菌の影響によりレジオネラ属菌様コロニーの確認が困難な検体はなかった。

VI 考察

ろ過濃縮酸処理でレジオネラ属菌が検出されず、他の処理で検出された検体はなかった。このことから、当センターの衛生管理検査においては、ろ過濃縮酸処理が適切な選択であることが示唆された。

非濃縮とろ過濃縮では、定量下限値が非濃縮 1,000CFU/100mL に対してろ過濃縮 10CFU/100mL であり、検出感度が異なるため、すべての菌数域で比較することはできないが、同程度の菌数が期待される。しかし、非濃縮で検出された検体は13件中5件(38.5%)であり、いずれの検体においてもろ過濃縮で検出された菌数に比べ、非濃縮の菌数は明らかに高かった。これは、濃縮工程が、検査結果に影響を与えている可能性を示した。また、外部精度管理調査で使用した夾雑菌を含まない純培養菌の試料だけでなく、夾雑菌の存在が認められる環境下でも同様な傾向を示し、

非濃縮の導入により、高い菌数を検出できるというWGの推奨検査法を裏付ける結果となった。

処理について、酸処理より熱処理の方が菌数の高い検体や、ひとつの処理では検出されなかった血清群が他の処理法で検出された検体もあった。その菌株の持つ性状に依存する可能性もあるので、より高い菌数や多くの血清群をとらえようとするならば、より多くの処理法を試みる必要がある。

VII まとめ

今回の検討で、次のような結果が得られた。

- 1 浴槽水、プール水のレジオネラ属菌の検査について、6系統の処理を検討した結果、ろ過濃縮酸処理の検出率14.0%と最も高く、また、ろ過濃縮酸処理で検出されず、他の処理で検出された検体はなかったことから、実検体においては、ろ過濃縮酸処理が適切な処理であることが示唆された。
- 2 非濃縮は、検出率は低いものの、検出された場合は濃縮と比較して高い菌数が得られ、WGの推奨検査法では、非濃縮の導入によって、高い菌数を検出できることが裏付けられた。
- 3 *L. pneumophila* 血清群と各処理(未処理、酸処理、熱処理)の検出結果について、有意差は見られなかった。
- 4 多くの処理法を試みることによって、高い菌数と多くの血清群が得られた。

なお、横須賀市では、旅館業法等施行取扱規則(平成12年3月31日規則第67号、横須賀市、平成25年3月1日改正)や公衆浴場法等施行取扱規則(平成12年3月31日規則第68号、横須賀市、平成25年3月1日改正)において、「冷却遠心濃縮法又はろ過濃縮法」による検査が定められているため、衛生管理検査では非濃縮による検査の導入は難しい。

一方、原因物質の特定を目的とする検査では、より高い菌数と多くの血清群を見つけることが原因物質、施設を特定する重要な要素となる。したがって、ろ過濃縮酸処理のみ実施するのではなく、非濃縮(①未処理、②酸処理、③熱処理)と濃縮(④未処理、⑤酸処理、⑥熱処理)の計6系統の検査を行うことが望ましい。

VIII 参考文献等

- 1) レジオネラ症防止指針 第3版(平成21年3月)
- 2) 厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事業)レジオネラ検査の標準化及び消毒等に係る公衆浴場等における衛生管理手法に関する研究 平成26年度分担研究報告書「レジオネラ属菌検査法の安定化に向けた取り組み」
- 3) レジオネラ症病原体検出マニュアル(平成23年10月7日改訂)
- 4) レジオネラ症防止管理マニュアル(2015年3月)
- 5) 旅館業法等施行取扱規則(平成12年3月31日規則第67号、横須賀市、平成25年3月1日改正)
- 6) 公衆浴場法等施行取扱規則(平成12年3月31日規則第68号、横須賀市、平成25年3月1日改正)

V 資 料

i 課題検討及び発表報告等

I 課題検討報告等

衛生管理や感染症対策等の検査業務に関しては、新たな感染症への対応や検査体制の充実を目的として新規の検査項目を導入するとともに、検査精度の向上と検査の効率化、迅速化を目指して検査方法の改善・変更、課題の解決に取り組んだ。また、感染症対策上で重要な検査結果については別途、内容を取りまとめた。実施した取組みを表1に示した。

表1 取組み課題検討報告等

題 名	氏 名	掲載ページ*
HPLCによる食品中のサッカリンナトリウム及び保存料の一斉分析	鈴木良太	60
検査におけるキャピラリーカラムGC/ECD法の検討	門松久美子	…
コレラ菌の検査方法変更について	片倉孝子	…
外部精度管理に基づく細菌数検査法の検討（報告）について	進藤みちる	…
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> 溶血毒素遺伝子検出PCRの検査方法等の変更について（報告）	片倉孝子	…
<i>Sarcosystis fayeri</i> の検査法マニュアルの作成について	穴戸みずほ	…
肺炎球菌とインフルエンザ菌の遺伝子検査方法の変更について	長澤由美子	64
淋菌感染症のPCR検査法について	金川治義	71
レジオネラ症患者発生に伴うレジオネラ属菌関連調査	進藤みちる	74

* 報告内容について、掲載ありは「ページ数」、掲載なしは「…」を表示

II 発表報告等

平成29年3月17日に当センターにおいて検査業務に関する業務報告会を開催した。所内業務報告会の演題名等を表2に示した。

表2 業務報告会の演題名等

	演 題 名	氏 名
1	アルキル水銀化合物の検査について	門松久美子
2	輸入柑橘類に使用されている防カビ剤について	鈴木良太
3	感染症GLPの運用について	木村実千明
4	静岡県で発生した <i>Escherichia albertii</i> による食中毒について	金川治義
5	レジオネラ患者発生に伴うレジオネラ属菌検出について	進藤みちる

HPLC による食品中のサッカリンナトリウム及び保存料の一斉分析

鈴木良太

I はじめに

食品検査において、保存料に関しては水蒸気蒸留、甘味料に関しては透析などで抽出精製した後、高速液体クロマトグラフィー（HPLC）により定量するのが一般的であるが、同一検体について保存料と甘味料の検査をおこなう場合がある。そこで、保存料 9 種類と甘味料 1 種類を一斉に測定できる HPLC 測定条件の検討及び同時に透析法によって抽出精製した場合の回収率や精度について水蒸気蒸留法と比較することで、保存料と甘味料の同時測定の可能性を検討したのでその結果を報告する。また使用が認められていないパラオキシ安息香酸メチルについても参考として検討したので併せて報告する。

II 方法

1 試料

市販の清涼飲料水及びチーズを用いた。

2 対象化合物

安息香酸(以下 BA)、ソルビン酸(以下 SoA)、デヒドロ酢酸(以下 DHA)、パラオキシ安息香酸メチル(以下 PHBA-Met)、パラオキシ安息香酸エチル(以下 PHBA-Et)、パラオキシ安息香酸プロピル(以下 PHBA-Pro)、パラオキシ安息香酸イソプロピル(以下 PHBA-Iso-Pro)、パラオキシ安息香酸ブチル(以下 PHBA-Bu)、パラオキシ安息香酸イソブチル(以下 PHBA-Iso-Bu)、サッカリンナトリウム(以下 SAC-Na)

3 前処理法

食品中の食品添加物分析法¹⁾に準じて水蒸気蒸留法及び透析法により抽出操作をおこなった。食品中の食品添加物分析法では保存料と甘味料は透析法によって同時に抽出できると記載されていることから、保存料については水蒸気蒸留法と透析法、甘味料については透析法を用いた。

4 測定装置

Waters 社製 2695 システム

5 測定条件

分析カラム：Mightysil RP-18GP II 150-4.6 (5 μ m)

カラム温度：40 °C

移動相：A液及びB液を表1の割合で送液した

表1

	A 液 (%)	B 液 (%)
0 分	7.5	92.5
11.5 分	7.5	92.5
15.5 分	50	50
39 分	50	50

A液：メタノール B液：0.01mol/Lリン酸緩衝液

移動相流量：1.0 mL/min

試料注入量：20 μ L

測定波長：230nm(BA、DHA、SAC-Na)

255nm(PHBA エステル類 6種)

260nm(SoA)

III 結果および考察

1 移動相の条件

移動相の条件については、主にクエン酸緩衝液とリン酸緩衝液を用いる条件を検討した。クエン酸緩衝液を用いた条件では、アセトニトリルを使用するもの、アセトニトリルとメタノールを使用するもの、メタノールを使用するものの3つを様々なグラジエントの条件で検討したところ、アセトニトリルが入った条件では SAC-Na がうまく保持されない結果となった。そこで、メタノールを使用する条件でグラジエント条件の検討をおこなった。しかしメタノールのみとすると SAC-Na は保持されるが、その他の BA、SoA、DHA、PHBA-Met のピークが重なるなど十分に分離しない結果となったため、次に SAC-Na のピークが出た後にアセトニトリルを使用するグラジエントの条件の検討をおこなった。その結果、表2に示す条件で10種類の成分が分離した。リン酸緩衝液を用いた条件では、メタノールを使用するもので SAC-Na は保持されたので、リン酸緩衝液の濃度や pH を変更するなど条件を変えながらグラジエント条件の検討をおこなった。その結果表1の条件で10種類の成分を分離することができた。どちらの緩衝液を使用する条件でも分離することはできたが、クエン酸緩衝液の条件では DHA と PHBA-Met ピークが近接していることと、リン酸緩衝液を使用した条件と比べて PHBA-Bu と PHBA-Iso-Bu の分離が悪いこと、クエン酸緩衝液は常温ですぐに傷んで使用できなくなってしまうこと、リン酸緩衝液を使用した条件のほうが各々の成分のピーク間が離れといることから最終的に上記に示したリン酸緩衝液とメタノールの条件となった。

表 2 クエン酸緩衝液を用いた移動相の条件

	A 液 (%)	B 液 (%)	C 液 (%)
0 分	0	10	90
5 分	0	10	90
8.3 分	20	10	70
16 分	20	10	70
21 分	5	45	50
39 分	5	45	50

A 液 : アセトニトリル B 液 : メタノール C 液 : 0.005mol/L クエン酸緩衝液

2 添加回収試験結果

添加回収試験の結果を表 3、4 に示す。水蒸気蒸留法における PHBA-Met 以外は、回収率、併行精度ともに良好な結果であった。PHBA-Met については水蒸気蒸留法では回収率、併行精度も他の項目に比較して悪いことから、水蒸気蒸留法は適さないことが示唆された。水蒸気蒸留法と透析法との比較では、PHBA-Met 以外の保存料の透析法での測定値は、水蒸気蒸留法の測定値に対して 96.9~106.2%となり、ほぼ同等の値を示した。

表 3 清涼飲料水に関する回収率と併行精度

透析法

項目	回収率 (%)	併行精度 (CV%)
BA	102.46	1.27
SAC-Na	101.44	1.63
SoA	100.94	1.97
DHA	101.62	1.88
PHBA-Met	101.16	1.7
PHBA-Et	104.5	1.79
PHBA-Iso-Pro	100.8	1.88
PHBA-Pro	100.92	2.03
PHBA-Iso-Bu	95.2	2.16
PHBA-Bu	102.58	2.00

添加濃度 0.06g/kg

水蒸気蒸留法

項目	回収率 (%)	併行精度 (CV%)	* 割合 (%)
BA	101.17	0.96	101.3
SAC-Na	-	-	-
SoA	96.6	1.35	104.5
DHA	103.17	0.63	98.5
PHBA-Met	66.63	6.13	151.8
PHBA-Et	98.43	1.24	106.2
PHBA-Iso-Pro	101.17	0.70	99.6
PHBA-Pro	101.43	1.09	99.5
PHBA-Iso-Bu	98.27	0.53	96.9
PHBA-Bu	104.8	1.32	97.9

添加濃度 0.06g/kg

* 透析法の測定値/水蒸気蒸留法の測定値 × 100

表4 チーズに関する回収率と併行精度

透析法

項目	回収率 (%)	併行精度 (CV%)
SoA	96.24	1.91
DHA	94.16	1.84
PHBA-Met	85.60	1.15

添加濃度 0.06g/kg

水蒸気蒸留法

項目	回収率 (%)	併行精度 (CV%)
SoA	95.13	2.20
DHA	96.37	1.28
PHBA-Met	59.40	4.73

添加濃度 0.06g/kg

IV まとめ

保存料9種類と甘味料1種類を一斉に測定できるHPLC測定条件の検討及び透析法と水蒸気蒸留法での回収率や精度を比較した。

HPLC測定条件はメタノールとリン酸緩衝液を用い、グラジェント分析を行うことにより一斉分析が可能であった。検体への添加回収試験では、PHBA-Met以外の成分では良好な回収率が得られ、透析法と水蒸気蒸留法もほぼ同じ値を示しており、良好な結果となった。

V 参考文献

- 1) 第2版 食品中の添加物分析法 (2000) 厚生省生活衛生局食品化学課

肺炎球菌とインフルエンザ菌の遺伝子検査方法の変更について

長澤由美子

I はじめに

平成 26 年度、肺炎球菌とインフルエンザ菌の検査方法を検討したが、これら検査項目の検査方法のひとつである PCR を用いた遺伝子検出試薬キット(湧永製薬)が平成 28 年 12 月末日に製造・販売中止となる。そこで、このキットを使用せずキットと同じ特定の遺伝子の増幅を目的とした遺伝子検査方法(PCR)について検討したので報告する。

II 方法

キットの添付文書に記載された関連文献等^{1)、2)}より、キットに用いられているものと同じと思われるプライマーを用いてキットに付属の陽性標準液について、ExTaq HS と ExTaq の 2 種類の酵素で検討を行った。ExTaq HS は ExTaq に抗 Taq 抗体が混合されており非特異的増幅を防ぐことのできる酵素である。さらに、平成 26 年度に検討したときに用いた臨床株 No. 21~No. 30(肺炎球菌)、No. 41~53(インフルエンザ菌)、インフルエンザ菌の ATCC 株(49247、49766)について検査した。

プライマー配列(表 1、2)、試薬組成(表 3、4)及び反応条件を以下に示す。

1 プライマー

表 1 肺炎球菌検査用プライマー

プライマー名	Sequence	PCR 産物サイズ (bp)
lytA F lytA R	CAACCGTACAGAATGAAGCGG TTATTCGTGCAATACTCGTGCG	319
pbp1a F pbp1a R	AAACCGCGACTGGGGATCAAC GGTTGAGTCCGACCTTGTTT	263
pbp2x F pbp2x R	CCAGGTTCCACTATGAAAGTG ATCCCAACGTTACTTGAGTGT	197
pbp2b F pbp2b R	CCTATATGGTCCAACAGCCT GGTCAATTCCTGTGCGAGTA	147
mefA F mefA R	GGGACCTGCCATTGGTGTGC CCCAGCTTAGGTATACGTAC	402
ermB F ermB R	CGTACCTTGGATATTCACCG GTAAACAGTTGACGATATTCTCG	224

表2 インフルエンザ菌検査用プライマー

プライマー名	Sequence	PCR 産物サイズ (bp)
P6 F P6 R	ACGATGCTGCAGGCAATGGT CATCAGTATTACCTTCTACTAAT	198
TEM F TEM R	TAAGAGAATTATGCAGTGCTGCC TCCATAGTTGCCTGACTCCCC	458
pbp3-1 F pbp3-1 R	GATACTACGTCCTTTAAATTAAG GCAGTAAATGCCACATACTTA	551
pbp3-2 F pbp3-2 R	TTCAAGTAACCGTGGTGTGAC GCAGTAAATGCCACATATTC	465

2 試薬組成

表3 ExTaqHS

ExTaqHS を使用	(μ l)
10×ExTaq Buffer	2.5
dNTP (25mM)	2
lytA F (100 μ M)	0.05
lytA R (100 μ M)	0.05
pbp1a F (100 μ M)	0.05
pbp1a R (100 μ M)	0.05
DW	17.6
ExTaq HS	0.2
DNA	2.5

表4 ExTaq

ExTaq を使用	(μ l)
10×ExTaq Buffer	2.5
MgCl ₂ (25mM)	2
dNTP (25mM)	2
lytA F (100 μ M)	0.05
lytA R (100 μ M)	0.05
pbp1a F (100 μ M)	0.05
pbp1a R (100 μ M)	0.05
DW	17.6
ExTaq	0.2
DNA	2.5

※(pbp2x/pbp2b)、(mefA/ermB)、(P6/TEM)の組み合わせについても上記と同じ組成で行い、pbp3-1、pbp3-2 は単独で行う。

3 反応条件

94°C 1min	} 30 サイクル
94°C 1min	
53°C 1min	
72°C 1min	
72°C 7min	

III 結果

肺炎球菌は ExTaq HS、ExTaq (図1) いずれの酵素でも陽性標準液の増幅が確認できた。一方、インフルエンザ菌は ExTaq HS (図2) 使用の場合は全ての組み合わせで陽性標準液の増幅が確認できたが、ExTaq 使用の場合は (P6 /TEM-1) の組み合わせで陽性標準液の増幅が確認できなかった。

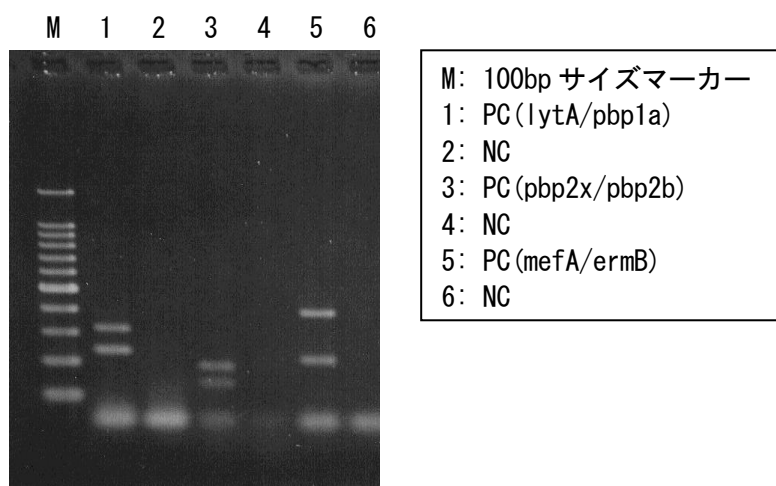


図1 肺炎球菌 (ExTaq 使用)

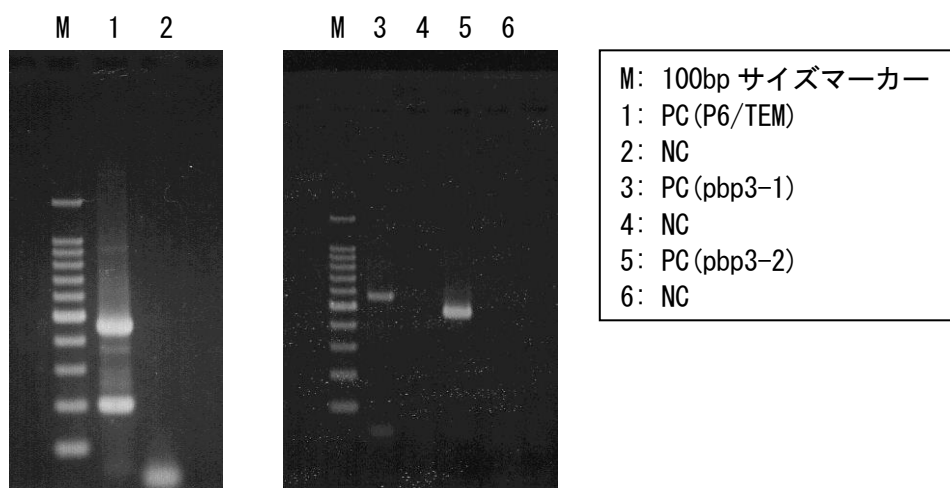


図2 インフルエンザ菌 (ExTaq HS 使用)

臨床株と ATCC 株の結果を図 3~11 に示す。臨床株については、肺炎球菌はキットを用いた結果と同じであった(図 3、4、5)。一方、インフルエンザ菌は P6/TEM と pbp3-2 についてはキットと同じ結果であったが(図 6、8、9、11)、pbp3-1 は臨床株 3 株(41、42、52)と ATCC 株 1 株(49247)において陽性で、キットを用いた結果と異なった(図 7、10)。そのため、pbp3-1 は PCR 酵素を ExTaq HS より高い正確性をもつ PrimeSTAR GXL に変更して検討したが、やはり陽性で ExTaq HS と同様な結果であった。

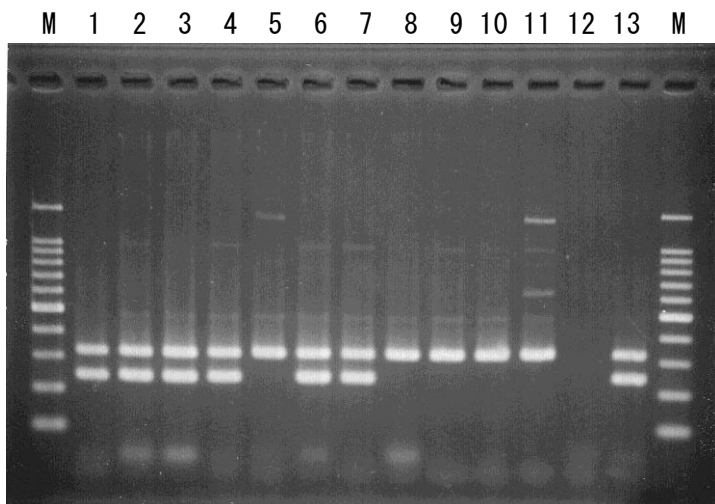


図3 肺炎球菌(臨床株、lytA/pbp1a、ExTaq 使用)

- M: 100bp サイズマーカー
- 1: PC (lytA/pbp1a)
- 2: 21
- 3: 22
- 4: 23
- 5: 24
- 6: 25
- 7: 26
- 8: 27
- 9: 28
- 10: 29
- 11: 30
- 12: NC
- 13: PC (lytA/pbp1a)

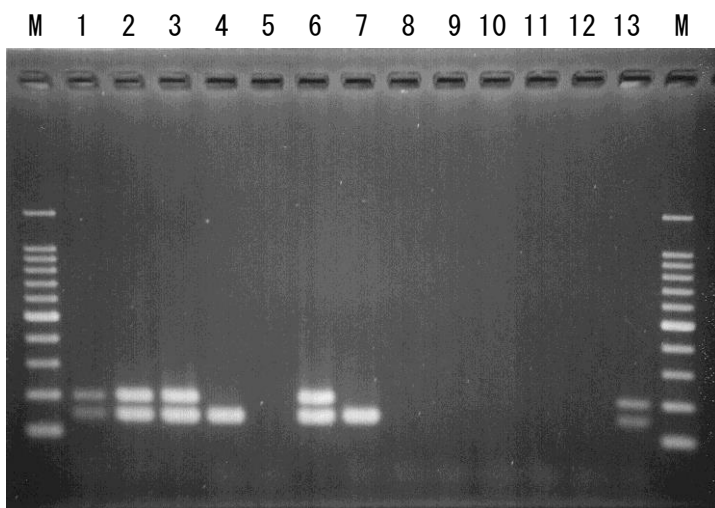


図4 肺炎球菌(臨床株、pbp2x/pbp2b、ExTaq 使用)

- M: 100bp サイズマーカー
- 1: PC (pbp2x/pbp2b)
- 2: 21
- 3: 22
- 4: 23
- 5: 24
- 6: 25
- 7: 26
- 8: 27
- 9: 28
- 10: 29
- 11: 30
- 12: NC
- 13: PC (pbp2x/pbp2b)

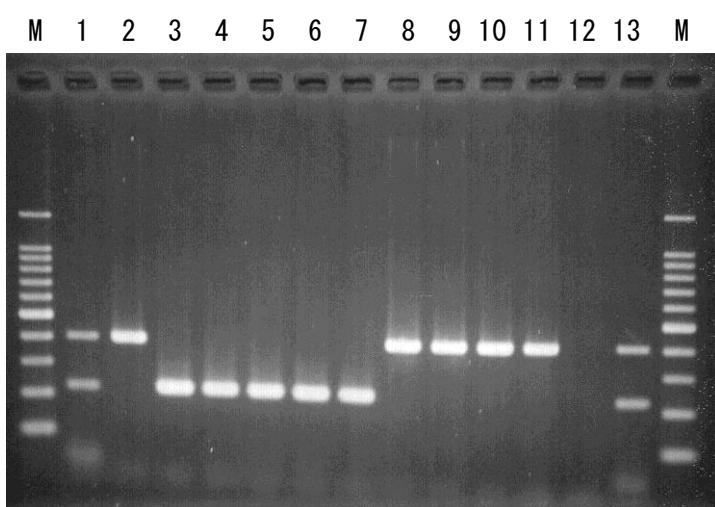


図5 肺炎球菌(臨床株、mefA/ermB、ExTaq 使用)

- M: 100bp サイズマーカー
- 1: PC (mefA/ermB)
- 2: 21
- 3: 22
- 4: 23
- 5: 24
- 6: 25
- 7: 26
- 8: 27
- 9: 28
- 10: 29
- 11: 30
- 12: NC
- 13: PC (mefA/ermB)

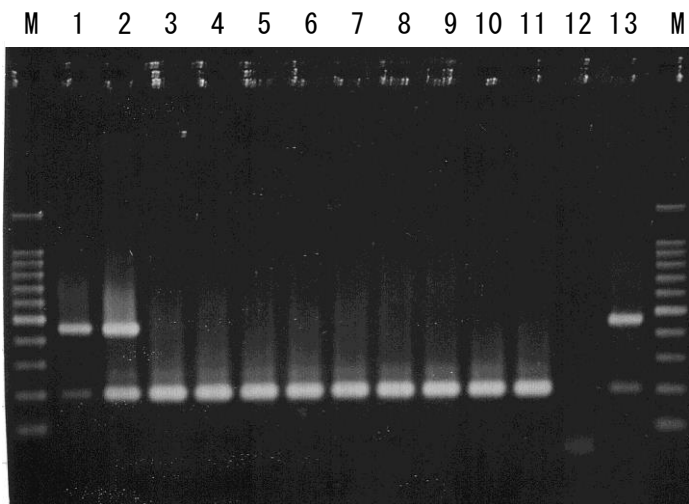


図6 インフルエンザ菌(臨床株、P6/TEM、ExTaqHS 使用)

M: 100bp サイズマーカー
 1: PC (P6/TEM)
 2: 41
 3: 42
 4: 44
 5: 45
 6: 47
 7: 48
 8: 50
 9: 51
 10: 52
 11: 53
 12: NC
 13: PC (P6/TEM)

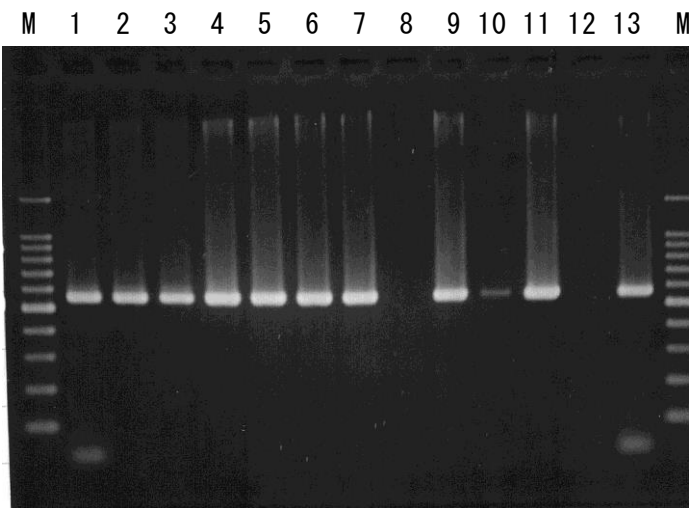


図7 インフルエンザ菌(臨床株、pbp3-1、ExTaqHS 使用)

M: 100bp サイズマーカー
 1: PC (pbp3-1)
 2: 41
 3: 42
 4: 44
 5: 45
 6: 47
 7: 48
 8: 50
 9: 51
 10: 52
 11: 53
 12: NC
 13: PC (pbp3-1)

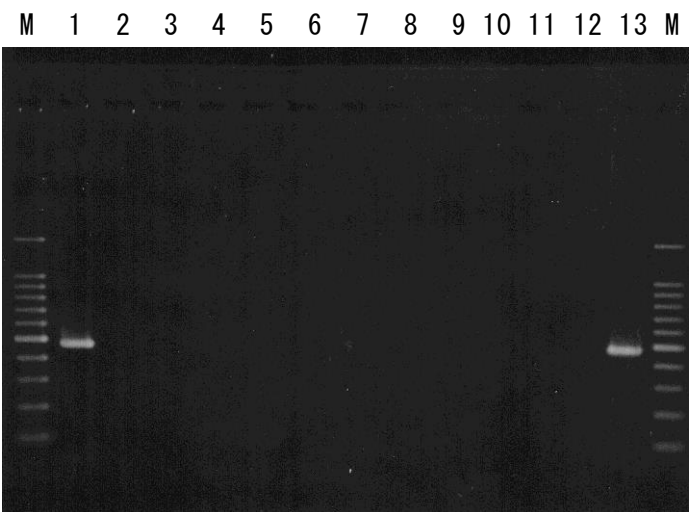


図8 インフルエンザ菌(臨床株、pbp3-2、ExTaqHS 使用)

M: 100bp サイズマーカー
 1: PC (pbp3-2)
 2: 41
 3: 42
 4: 44
 5: 45
 6: 47
 7: 48
 8: 50
 9: 51
 10: 52
 11: 53
 12: NC
 13: PC (pbp3-2)

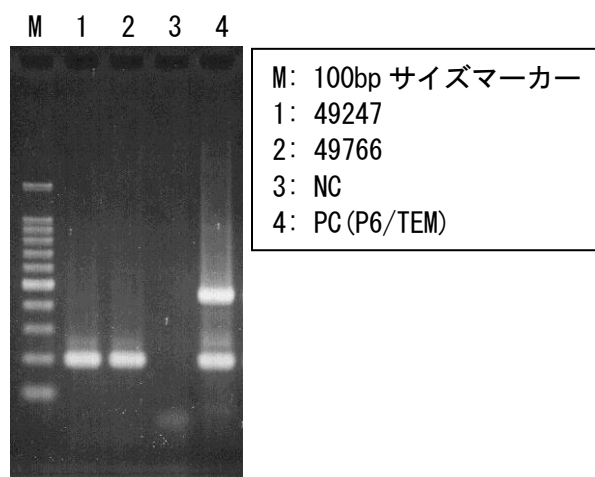


図 9 インフルエンザ菌
(ATCC 株、P6/TEM、ExTaqHS 使用)

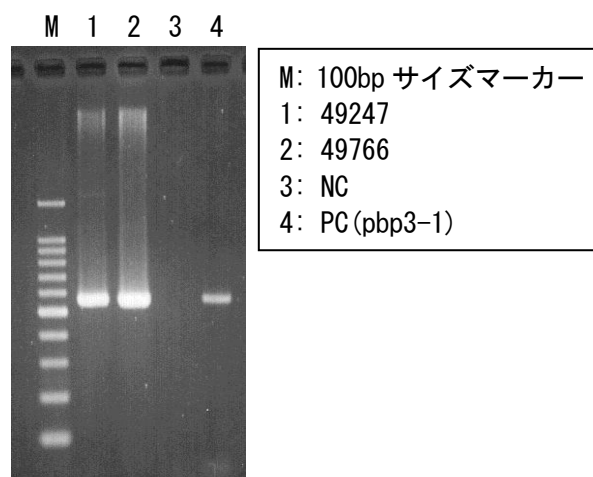


図 10 インフルエンザ菌
(ATCC 株 pbp3-1、ExTaqHS 使用)

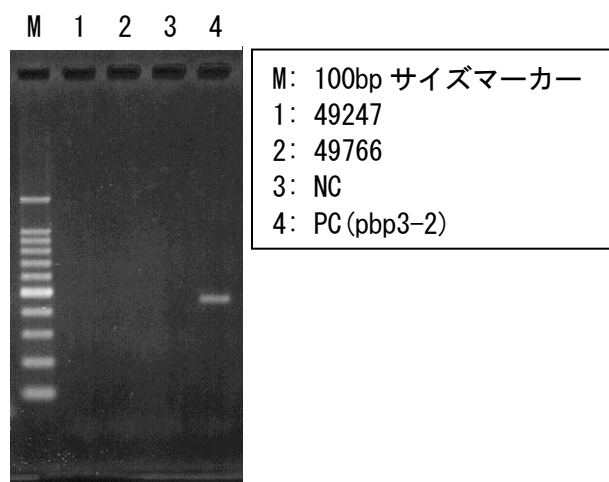


図 11 インフルエンザ菌 (ATCC 株、pbp3-2、ExTaqHS 使用)

IV まとめ

PCR で使用する酵素について、肺炎球菌の場合は ExTaq、インフルエンザ菌の場合は ExTaq HS を用いることですべてのプライマーの組み合わせで増幅が確認できた。しかし、インフルエンザ菌の P6 ではインフルエンザ菌以外の菌でも増幅がみられ(平成 26 年度の検討結果)、pbp3-1 では一部の菌株でキットとは異なる結果であった(今回の検討結果)。したがって、インフルエンザ菌については今回検討した方法とは異なる方法での検討が必要である。

今後、肺炎球菌の遺伝子検査を行う場合は上記の内容に留意し、今回検討した方法で PCR を行うこととする。インフルエンザ菌の遺伝子検査では、キットの結果と不一致であったインフルエンザ菌株の遺伝子 (P6、pbp3-1) について、シーケンサーを用い塩基配列を確認するなど、不一致の原因について究明したい。

V 文献

- 1) 千葉菜穂子, 小林玲子, 長谷川恵子, 生方公子, 紺野昌俊 : 肺炎球菌に対するカルバネム系薬の抗菌作用の比較. 日本化学療法学会雑誌, 50 : 161-170, 2002
- 2) 長谷川恵子ほか : 化膿性髄膜炎例から分離された *Haemophilus influenzae* の疫学解析—1999年から2003年の分離について. 感染症学雑誌, 78 : 835-845, 2004

淋菌感染症の PCR 検査法について

金川 治義

I はじめに

淋菌感染症は、淋菌 (*N. gonorrhoeae*) の感染による性感染症である。男性は主として淋菌性尿道炎、女性は子宮頸管炎の症状を呈する。*Neisseria* 属菌の中でヒトに明らかな病原性を示すのは淋菌 (*N. gonorrhoeae*) と髄膜炎菌 (*N. meningitidis*) の 2 種である。

平成 27 年度から当センターにおいて、「性感染症に関する特定感染症予防指針」(平成 24 年 1 月 19 日厚生労働省告示第 19 号改正現在)に基づき、淋菌感染症検査を開始した。

淋菌感染症検査(抗原検査)は、市販の PCR 検査キット(*Neisseria gonorrhoeae* 370/660 IC) (以下、現行法)を使用しているが、より簡便な PCR 検査法(以下、検討法)を検討するため、淋菌感染症検査として搬入される検体(尿または膣分泌物)を用い、適宜比較検討を実施した。平成 27 年度に実施した全 119 件の検査結果を報告するとともに、現行法と検討法の結果が不一致となった例(培養検査含)も併せて報告する。

II 検査材料及び方法

1 検査材料

平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月まで淋菌感染症検査として搬入された 119 検体(尿または膣分泌物)をキアゲン抽出し PCR 検査に供する。

2 検査方法

1) PCR 検査

検体から DNA を抽出後、PCR、電気泳動を行い、目的の位置にあるバンドを確認する。

初めに Primers Ng 1/2 で PCR を行い、陽性となった検体について Primers Ng 3/4 を用いて PCR を行う。Primers Ng 1/2 と Primers Ng 3/4、共に陽性となった場合、淋菌感染症検査が陽性と判定する。

①現行法 市販の PCR 検査キット(*Neisseria gonorrhoeae* 370/660 IC)

プライマー、反応条件等を表 1 に示す。

表 1 プライマー、反応条件等

プライマー名	増幅産物	反応条件・結果の解釈
Primers Ng 1/2	395 bp	検査キット添付書のとおり
Primers Ng 3/4	450 bp	

- ②検討法 淋菌の 16S ribosomal RNA 遺伝子の塩基配列の一部に相補的な 2 種類の oligonucleotide NG-A と NG-B をプライマーとして用いた。¹⁾
 プライマー、反応条件等を表 2 に示す。

表 2 プライマー、反応条件等

プライマー名	塩基配列	増幅産物	反応条件
NG-A	AGGCTGTTGCCAATATCG	206 bp	95°C30 秒・55°C20 秒・72°C30 秒 32 サイクル
NG-B	ACACTCGAGTCACCCAGTTC		

2) 培養検査

- ①サイヤー・マーチン培地とチョコレート寒天培地で培養(37°C、Overnight)
 ②培養後、グラム染色し菌の形態観察、オキシダーゼ反応の確認

3) 追加検査

- ①市販の迅速同定キット(病原性ナイセリア菌種迅速同定 ゴノチェック-II チューブ)
 ②細菌同定検査キット(アピ NH)
 ③糖分解試験 (GLU、MAL、LAC、SUC、FRU)

IV 結果

検査の結果、119 件のうち No. 124 の 1 件が現行法で淋菌感染症検査が陽性(Primers Ng 1/2、Primers Ng 3/4 とともに目的のバンド確認)となった。また、検討法は 119 件のうち No. 23、No. 48、No. 95、No. 124 の 4 件について淋菌感染症検査が陽性となった。この 4 件のうち No. 23、No. 48、No. 95 は現行法の Primers Ng 3/4 のみ陽性となった。No. 124 について培養を行ったところ、淋菌は分離できなかった。検討法のみ陽性となった 3 件のうち、No. 48 のみグラム陰性双球菌の該当菌株が分離でき、同定を試みたが同定不能であった。しかし、CTA 培地を用いた糖分解試験や、同定キットでの糖分解において明らかに淋菌とは異なる性状を示した。そのため、検査成績は No. 23、No. 48、No. 95 については淋菌感染症検査を陰性、No. 124 については淋菌感染症検査を陽性とした。4 件について、PCR、培養検査等の結果を表 3 に、現行法と検討法の比較を表 4 に示す。

表 3 PCR、培養検査等の結果

検体 No.	現行法*		検討法*	培養、追加検査
	Primers Ng 1/2	Primers Ng 3/4	NG-A/NG-B	
23	—	+	+	分離不能
48	—	+	+	グラム陰性双球菌、同定不能
95	—	+	+	分離不能
124	+	+	+	分離不能

* 目的のバンドがある場合は「+」、ない場合は「-」とする。

上記以外の検体は現行法、検討法ともに陰性。

表4 現行法と検討法の比較

		【検討法】	
		陽性	陰性 (件)
【現行法】	陽性	1	0
	陰性	3	115

V 考察及びまとめ

現行法と検討法の結果判定において3件の不一致例がみられたが、3件すべて現行法の Primers Ng 3/4 での PCR は陽性であった。また、そのうち1件からはグラム陰性双球菌が分離された。このことから検討法は淋菌以外の *Neisseria* 属菌も陽性となってしまうことが示唆された。また、No. 124 において、淋菌を分離できなかった原因として、①培養する前に淋菌が死滅してしまった、②淋菌を培養できるほど菌量が無かったが PCR 検査の感度が高く、陽性となった、③現行法の Primers Ng 1/2 が陽性の *Neisseria* 属菌と Primers Ng 3/4 が陽性の *Neisseria* 属菌がそれぞれ同一検体に存在した等が考えられる。③の原因による偽陽性を想定すると、できる限り培養による淋菌の分離を試みる必要がある。

以上のことから、淋菌感染症検査は、今後も引き続き現行法の PCR 検査と培養、追加検査を併行してを実施する。

VI 参考資料

- 1) 出口 隆 他 : Polymerase chain reaction 法による男子尿道炎患者からの淋菌の検出 : 感染症誌、66、555-560、1992
- 2) *Neisseria gonorrhoeae* 370/660 IC(添付資料)

レジオネラ症患者発生に伴うレジオネラ属菌関連調査

進藤 みちる

I はじめに

平成11年4月、感染症法の施行により、レジオネラ症は四類感染症に指定され、診断した医師は保健所への届出が義務づけられた。その後、レジオネラ尿中抗原検査が保険適用になる等により、届出数が増加した。レジオネラ症は、レジオネラ属菌による細菌感染症で、その病型は劇症型の肺炎と一過性のポンティアック熱がある。また、レジオネラ属菌は環境細菌であり、土壌、河川、湖沼等の自然環境に生息し、一般にその菌数は少ないと考えられるが、人工の施設や設備の中で増殖すると、感染によりレジオネラ症を発症するリスクがある。

今回、レジオネラ症患者発生に伴い、関連調査として患者及び患者が利用した施設についてレジオネラ属菌検査を実施したので報告する。

II 調査内容

1 事例概要

平成28年10月、市内の医療機関からレジオネラ症患者の発生届が提出された。患者は市内在住の男性1名、患者家族からの聞き取りで患者が頻繁に利用している施設があったため、関連調査として患者及び利用施設についてレジオネラ属菌検査を実施した。関連調査は感染源を特定するための検査(以下「原因調査」という。)及び衛生措置の基準を確認するための検査(以下「衛生確認」という。)とした。

2 検査実施期間

平成28年10月25日～平成28年11月15日

3 検体の種類及び件数(検査項目)

原因調査	臨床検体 … 喀痰	1件(レジオネラ属菌)
	環境検体 … 浴槽水等	6件(レジオネラ属菌・細菌数・大腸菌群)
	ふきとり	3件(レジオネラ属菌・細菌数・大腸菌群)
衛生確認	環境検体 … 浴槽水等	7件(レジオネラ属菌)
	ふきとり	3件(レジオネラ属菌)

III 使用培地

非選択培地 … BCYE α 寒天培地(日生研) (以下「BCYE α 」という。)

選択培地 … GVPC α 寒天培地(日生研) (以下「GVPC α 」という。)

L-ス테인要求性確認培地 … 羊血液/BCYE α 寒天培地(日生研) (以下「確認培地」という。)

IV 検査のフロー

検査のフローについて図1に示した。

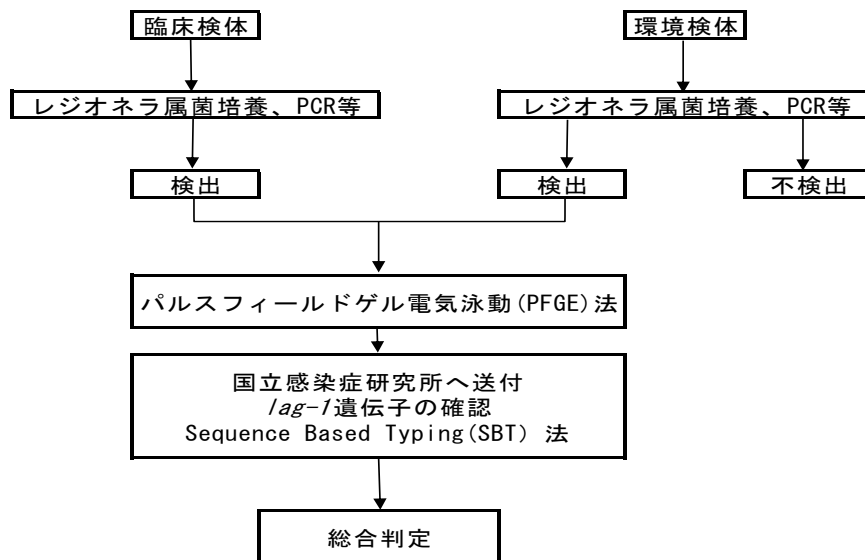


図1 検査のフロー

V レジオネラ属菌検出法(培養、PCR等)

1 臨床検体(喀痰)

- 1) 臨床検体(喀痰)について、スプタザイム処理を行う。
- 2) 1)に酸処理を行い、それを3段階の10倍希釈を行う。
- 3) 2)で希釈した各段階を100 μ lずつ、BCYE α 1枚、GVPC α 1枚へ塗抹し、37 $^{\circ}$ Cで7日間培養する。
- 4) 3)のBCYE α 、GVPC α について、培養3日目から目視及び斜光法でコロニーを観察する。
- 5) 4)で疑わしいコロニー(再単分離が必要な時はBCYE α を用い、37 $^{\circ}$ Cで2日間培養する。)があれば、確認培地でL-システイン要求性を確認する。塗抹は、羊血液寒天培地から行う。
- 6) L-システイン要求性の確認されたコロニーについて、LEGプライマーとLmipプライマーを用いてPCRを行う。プライマー及び増幅条件を表1、反応液を表2に示した。
- 7) 検出されたレジオネラ属菌について、ラテックスや特異抗血清による血清群別を行う。

表1 プライマー及び増幅条件(LEG及びLmip)

	プライマー	塩基配列	増幅産物	増幅条件
LEG (genus <i>Legionella</i> 16S rRNA gene)	LEG448A	5'-GAGGGTTGATAGGTTAAGAGC-3'	430bp	94 $^{\circ}$ C 5min
				94 $^{\circ}$ C 1min
				61 $^{\circ}$ C 1min
				72 $^{\circ}$ C 1min
	LEG854B	5'-CGGTCAACTTATCGCGTTTGCT-3'	72 $^{\circ}$ C 7min	
Lmip (<i>L. pneumophila</i> macrohage infectiator gene)	LmipL920	5'-GCTACAGACAAGGATAAGTTG-3'	650bp	94 $^{\circ}$ C 5min
				94 $^{\circ}$ C 1min
				50 $^{\circ}$ C 1min
				72 $^{\circ}$ C 1min
	LmipL1548	5'-GTTTTGTATGACTTTAATTCA-3'	72 $^{\circ}$ C 7min	

表2 反応液

試薬	容量(μl)
滅菌蒸留水	15.875
×10 ExTaq Buffer (Mg ²⁺ free)	2.5
MgCl ₂ (25mM)	2.0
dNTP Mixture (2.5mM each)	2.0
プライマーF (20 μM)	0.25
プライマーR (20 μM)	0.25
Ex Taq (5U/μl)	0.125
	23.0
Template	2.0
Total	25.0

2 環境検体(浴槽水等)

- 1) 検体 500ml をろ過濃縮し、ろ過濃縮液 5ml を得る。
- 2) ろ過濃縮液 100 μl を GVPC α1 枚へ塗抹し、37°Cで7日間培養する。
- 3) ろ過濃縮液 1ml に酸処理を行い、100 μl ずつ GVPC α2 枚へ塗抹し、37°Cで7日間培養する。
- 4) ろ過濃縮液 2ml から DNA 抽出し、濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR を行う。プライマー及び増幅条件を表3に示した。反応液は臨床検体(喀痰)と同様とする。(表2)
- 5) 2)、3)の GVPC αについて、培養3日目から目視及び斜光法でコロニーを観察する。
- 6) 5) で疑わしいコロニー(再単分離が必要な時は BCYE α を用い、37°Cで2日間培養する。)があれば、確認培地で L-シスチン要求性を確認する。塗抹は、羊血液寒天培地から行う。
- 7) L-シスチン要求性の確認されたコロニーについて、LEG プライマーと Lmip プライマーを用いた PCR を行う。プライマー、増幅条件及び反応液は臨床検体(喀痰)と同様とする。(表1、2)
- 8) 2)、3)の GVPC αは7日間で培養を終了し、3)の GVPC α2枚で、菌数の算定を行う。
- 9) 検出されたレジオネラ属菌について、ラテックスや特異抗血清による血清群別を行う。

表3 プライマー及び増幅条件(濃縮検体直接 1st 及び 2ndPCR)

プライマー	塩基配列	増幅産物	増幅条件
1st step primers	LmipL920	5'-GCTACAGACAAGGATAAGTTG-3'	94°C 5min
	LmipR1548	5'-GTTTTGTATGACTTTAATTCA-3'	94°C 1min
			50°C 1min
			72°C 1min
		650bp	72°C 7min
2nd step primers	LmipL997	5'-TAATCCGGAAGCAATGGCTA-3'	94°C 5min
	LmipR1466	5'-GGGCCAATAGGTCCGCCAAC-3'	94°C 1min
			55°C 1min
			72°C 1min
		489bp	72°C 7min

3 環境検体(ふきとり)

- 1) 検体 5ml のうち 100 μ l を BCYE α 1 枚へ塗抹し 37°C で 7 日間培養する。
- 2) 検体 5ml のうち 0.9ml に酸処理を行い、100 μ l ずつ GVPC α 2 枚へ塗抹し、37°C で 7 日間培養する。
- 3) 1) の BCYE α 1 枚、2) の GVPC α 2 枚について、培養 3 日目から目視及び斜光法でコロニーを観察する。
- 4) 3) で疑わしいコロニー(再単分離が必要な時は BCYE α を用い、37°C で 2 日間培養する。)があれば、確認培地で L-システイン要求性を確認する。塗抹は、羊血液寒天培地から行う。
- 5) L-システイン要求性の確認されたコロニーについて、LEG プライマーと Lmip プライマーを用いた PCR を行う。プライマー、増幅条件及び反応液は臨床検体(喀痰)と同様とする。(表 1、2)
- 6) 1) の BCYE α 1 枚、2) の GVPC α 2 枚は 7 日間で培養を終了し、2) の GVPC α 2 枚で、菌数の算定を行う。
- 7) 検出されたレジオネラ属菌について、ラテックスや特異抗血清による血清群別を行う。

4 分子疫学解析

臨床及び環境検体から分離されたレジオネラ属菌に対して、パルスフィールドゲル電気泳動法(以下「PFGE 法」という。)を実施する。制限酵素は *Sfi* I で処理時間 50°C 4 時間、パルスタイム 5-50 秒、6V/cm、泳動時間 21 時間で行う。また、平成 28 年 9 月に同施設の衛生確認で浴槽水から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1(以下「9 月分離株」という。)1 株も併せて PFGE 法を実施した。

5 衛生確認

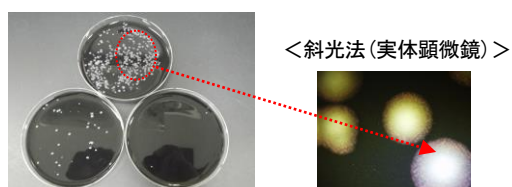
検出法は上記、環境検体(浴槽水等、ふきとり)と同様とする。ただし、「2 環境検体(浴槽水等)」の「2)、4)」及び「3 環境検体(ふきとり)」の「1)」は除く。

VI 結果

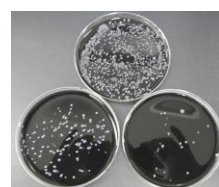
原因調査の臨床及び環境検体から分離されたレジオネラ属菌の培地性状を図 2、培養等検査の結果を表 4、濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR の結果を図 3 に示した。

【臨床検体(喀痰) 痰(吸引したもの)】

酸処理後 GVPC α (培養 3 日目)

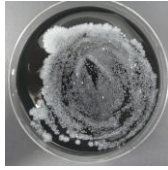


酸処理後 BCYE α (培養 3 日目)

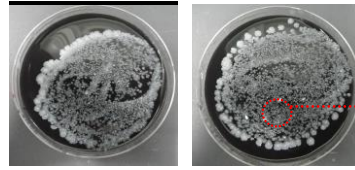


【環境検体(浴槽水等) 男 大浴場 10CFU/100mL】

濃縮検体 GVPC α (培養 7 日目)



酸処理後 GVPC α (培養 7 日目)

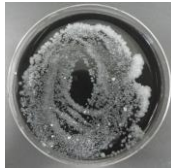


<斜光法(実体顕微鏡)>

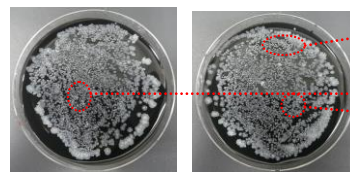


【【環境検体(浴槽水等) 男 ジャグジー 40CFU/100mL】】

濃縮検体 GVPC α (培養 7 日目)



酸処理後 GVPC α (培養 7 日目)



<斜光法(実体顕微鏡)>

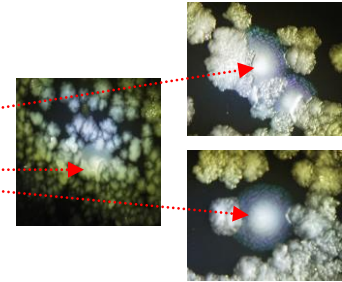
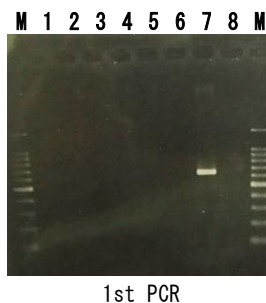


図 2 レジオネラ属菌の培地性状

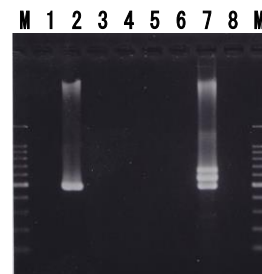
表 4 培養等検査の結果

検体種類	検体名	レジオネラ属菌		細菌数 (CFU/mL)	大腸菌群 (個/mL)
		菌数	血清群		
臨床検体 (喀痰)	痰(吸引したもの)	<i>Legionella pneumophila</i> 血清群1			
	男 大浴場	10CFU/100mL	<i>Legionella pneumophila</i> 血清群1	8,900	0
	男 ジャグジー	40CFU/100mL	<i>Legionella pneumophila</i> 血清群1	8,600	0
環境検体 (浴槽水等)	男 シャワー	定量下限値未滿		90	0
	女 大浴場	定量下限値未滿		0	0
	女 シャワー	定量下限値未滿		0	0
	男 冷水器	定量下限値未滿		210	0
※定量下限値10CFU/100mL					
環境検体 (ふきとり)	男 ミストサウナ	定量下限値未滿		420	0
	男 岩盤浴	定量下限値未滿		1	0
	男 冷水器	定量下限値未滿		1,500	0
※定量下限値10CFU/mL					



1st PCR

1: 男 大浴場
2: 男 ジャグジー
3: 男 シャワー
4: 女 大浴場
5: 女 シャワー
6: 男 冷水器
7: PC (650bp)
8: NC (蒸留水)
M: サイズマーカー (100bp)



2nd PCR

1: 男 大浴場
2: 男 ジャグジー
3: 男 シャワー
4: 女 大浴場
5: 女 シャワー
6: 男 冷水器
7: PC (489bp)
8: NC (蒸留水)
M: サイズマーカー (100bp)

図 3 濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR の結果

1 臨床検体(喀痰)

培養等検査から *Legionella pneumophila* 血清群 1 が検出された。また、希釈した各段階の全ての BCYE α 、GVPC α からレジオネラ属菌の発育が確認された。各平板から釣菌した 10 コロニー全てが *Legionella pneumophila* 血清群 1 であった。

2 環境検体(浴槽水等)

培養等検査を行った 6 件中 2 件から *Legionella pneumophila* 血清群 1 が検出された。菌数は、「男 大浴場」が 10CFU/100mL、「男 ジャグジー」が 40CFU/100mL であった。濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR は、6 件中 1 件「男 ジャグジー」から検出された。

3 ふきとり

培養等検査からレジオネラ属菌は検出されなかった。

4 分子疫学解析

9 月分離株及び原因調査の培養等検査から分離された *Legionella pneumophila* 血清群 1 の 7 株について、PFGE 法の DNA 切断パターンを図 4 に示した。DNA 切断パターンを解析ソフトで分析の結果、9 月分離株及び今回、分離された環境検体(浴槽水等)5 株の類似度は $83.240 \pm 1.81\%$ であり、クラスターを形成していた。これら環境検体(9 月分離株含)6 株のクラスターと臨床検体(喀痰)2 株の類似度は $20.793 \pm 0.63\%$ であった。

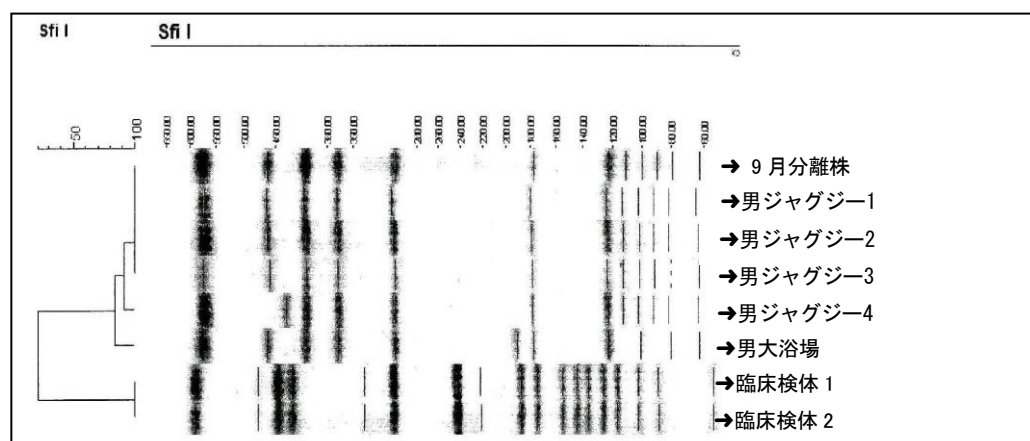


図 4 PFGE 法の DNA 切断パターン

5 衛生確認

環境検体(浴槽水等、ふきとり)の衛生確認の結果を表 5 に示した。培養等検査を行った 10 件中 2 件から *Legionella pneumophila* が検出された。菌数と血清群については、「男 大浴場」が 10CFU/100mL で血清群 1、「男 ジャグジー」が 10CFU/100mL で血清群 UT であった。

表5 衛生確認の結果

検体種類	検体名	レジオネラ属菌	
		菌数	血清群
男	大浴場	10CFU/100mL	<i>Legionella pneumophila</i> 血清群1
男	ジャグジー	10CFU/100mL	<i>Legionella pneumophila</i> 血清群UT
男	シャワー	定量下限値未満	
環境検体 (浴槽水等)	女 寝湯ジャグジー	定量下限値未満	
	女 水風呂	定量下限値未満	
	女 冷水器	定量下限値未満	
	女 大浴場ジャグジー	定量下限値未満	
※定量下限値10CFU/100mL			
女	温床浴	定量下限値未満	
環境検体 (ふきとり)	女 冷水器 水	定量下限値未満	
	女 冷水器 湯	定量下限値未満	
※定量下限値10CFU/mL			

VII 考察

原因調査の培養等検査では、臨床検体(喀痰)、環境検体(浴槽水等)の「男 大浴場」及び「男 ジャグジー」から *Legionella pneumophila* 血清群1 を検出した。環境検体(浴槽水等)は夾雑菌が多かったため、斜光法での観察が有効であった。濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR では、「男 ジャグジー」から検出されたが、「男 大浴場」からは検出されなかった。これは培養検査と濃縮検体直接 1st 及び 2nd PCR の検出感度が異なる可能性が考えられる。

分子疫学解析では、環境検体(9月分離株含)から分離された6株及び臨床検体(喀痰)から分離された2株について、PFGE法のDNA切断パターンの類似度は20.793±0.63%と低く、一致しなかった。これら8株は、国立感染症研究所に送付し、Sequence Based Typing法(以下「SBT法」という。)による検査を依頼した。結果は、環境検体(9月分離株含)6株がシークエンスタイプST763、臨床検体(喀痰)2株がシークエンスタイプST89であり、PFGE法による検査結果が裏付けられた。また、併せて実施された *lag-1* 遺伝子の確認においても、環境検体(9月分離株含)6株は *lag-1* 遺伝子保有せず、臨床検体(喀痰)2株は *lag-1* 遺伝子保有との結果であり、環境検体(9月分離株含)6株と臨床検体(喀痰)2株の *Legionella pneumophila* 血清群1はPFGE法と同様に一致しなかった。

衛生確認では、培養等検査を行った10件中2件から *Legionella pneumophila* が検出された。原因調査の分子疫学解析の結果は一致しなかったが、原因調査、衛生確認共に当該利用施設からレジオネラ属菌が検出され、法令等に基づく衛生管理が不十分であることが判明した。

今回の関連調査では、臨床検体(喀痰)及び環境検体(浴槽水等)から分離された *Legionella pneumophila* は共に血清群1であったが、分子疫学解析の結果は一致しなかった。感染源を特定するための原因調査において、血清群別検査以外にもPFGE法、SBT法等の分子疫学解析を行い、より詳細な検査情報を提供することが行政措置の根拠となるため必須であり、極めて重要であることが確認できた。

Ⅷ まとめ

- 1 原因調査の培養等検査では、臨床検体(喀痰)、環境検体(浴槽水等)の「男 大浴場」及び「男 ジャグジー」から *Legionella pneumophila* 血清群 1 を検出したが、臨床検体(喀痰)と環境検体(浴槽水等)の分子疫学解析の結果は一致しなかった。
- 2 衛生確認では、培養等検査を行った 10 件中 2 件から *Legionella pneumophila* が検出された。原因調査、衛生確認共に当該利用施設からレジオネラ属菌が検出され、法令等に基づく衛生管理が不十分であった。
- 3 感染源を特定するための原因調査において、血清群別検査以外にも PFGE 法、SBT 法等の分子疫学解析を行い、より詳細な検査情報を提供することが極めて重要である。今後、SBT 法や *lag-1* 遺伝子の確認等の分子疫学解析について、当センターでの検査体制の整備に向けて、国等からの情報収集や検査技術の習得に努めたい。

Ⅸ 参考文献等

- 1) 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（平成十年法律第百十四号）
- 2) 新版 レジオネラ症防止指針(1999 年 11 月)
- 3) 第 3 版 レジオネラ症防止指針(2009 年 3 月)
- 4) レジオネラ症病原体検出マニュアル(平成 23 年 10 月 7 日改訂) 国立感染症研究所
- 5) 公衆浴場法等施行取扱規則(平成 12 年 3 月 31 日規則第 68 号、横須賀市)

健康安全科学センター案内図



横須賀市健康安全科学センター年報 第19号 2016

編集・発行・印刷

横須賀市健康安全科学センター

<http://www.city.yokosuka.kanagawa.jp/3150/iph/index.html>

〒238-0006

神奈川県横須賀市日の出町2丁目14番地

TEL 046(822)4057

FAX 046(822)5540