



横須賀市健康安全科学センター一年報

第 18 号

平成 27 年度（2015 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27年度の業務概要を「横須賀市健康安全科学センター一年報第18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。

平成27年度は、改正法令に基づいて新たに感染症検査の信頼性確保体制を構築するとともに、多岐にわたる検査分野で新規検査項目の追加、検査方法の見直しを進め、検査体制のさらなる強化、拡充に努めてまいりました。

調査研究は、市販食肉中の残留動物用医薬品の調査と遺伝子検査によるクラミジア検査法の構築の二題について実施しました。いずれも食の安心安全、そして公衆衛生の改善につながる重要な取り組みであり、成果は検査項目の増加や検査精度の向上など、検査体制の強化に確実に結びついています。

近年は、海外で次々に流行する新興再興感染症の脅威とともに、国内に目を向ければ、大地震や洪水など公衆衛生を脅かす災害も、食品や環境に関わる事件もいつどこで起きるか予想が付きません。当センターでは、検査を通して市民生活を支える基盤的な役割に加えて、これら内外を問わず発生が危惧されるあらゆる危機的事態で市民の安全安心を確保するために、求められる能力を十全に発揮できるよう迅速かつ高度な検査体制を維持、強化していかなければならないと、認識を新たにしています。

平成28年11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 27 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	12
ii	微生物学的検査	
1	予防検査	13
2	感染症病原体検査	14
3	食中毒(疑)、有症苦情等検査	14
4	感染症発生動向調査	15
iii	臨床検査	
1	臨床検査	17
iv	食品、家庭用品等検査	
1	食品微生物検査	18
2	食品理化学検査	23
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	
・	市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査(第 5 報)	37
・	市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査(平成 23~27 年度)	48
・	PCR 法によるクラミジア抗原検査の構築	54
V	資料	
i	課題検討及び発表報告等	63
・	排水中の「有機燐化合物」の検査における回収率の改善について	64
・	糞便からの <i>Kudoa septempunctata</i> 遺伝子検査法について	66
・	レジオネラ属菌検査における非選択分離培地追加使用の検討	71
・	改正通知法によるリステリア・モノサイトゲネス検査体制の整備	74

I 概 要

i 健康安全科学センターの概要

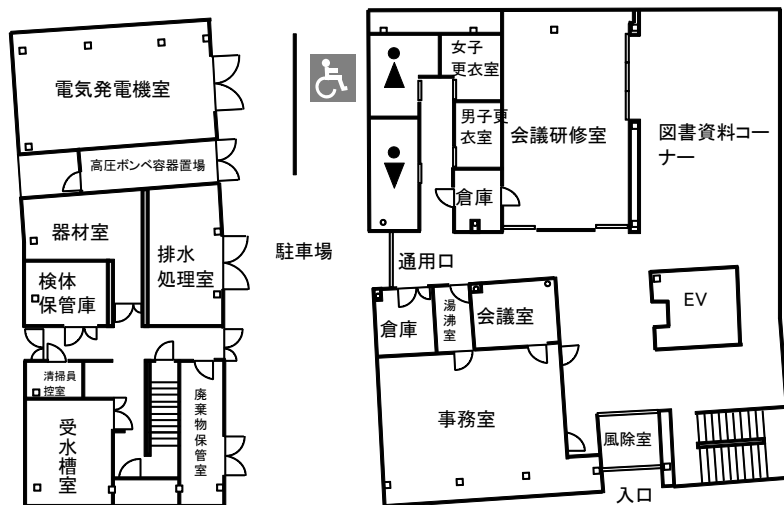
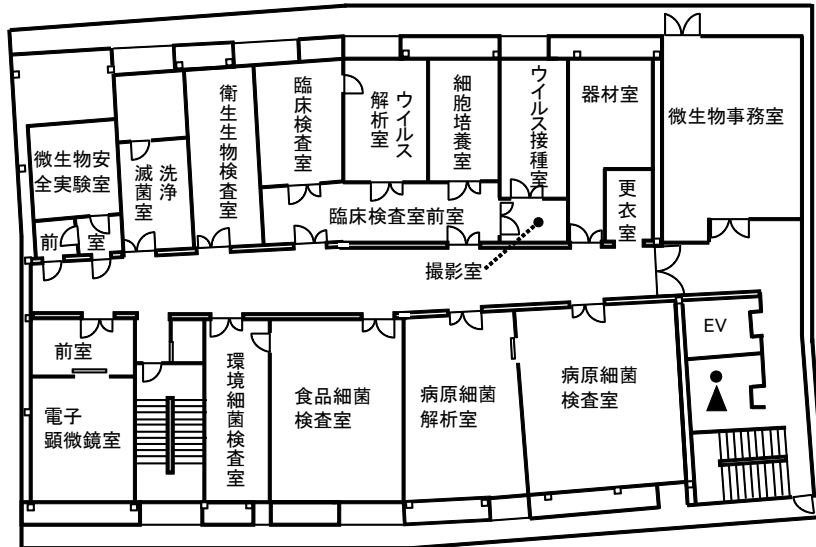
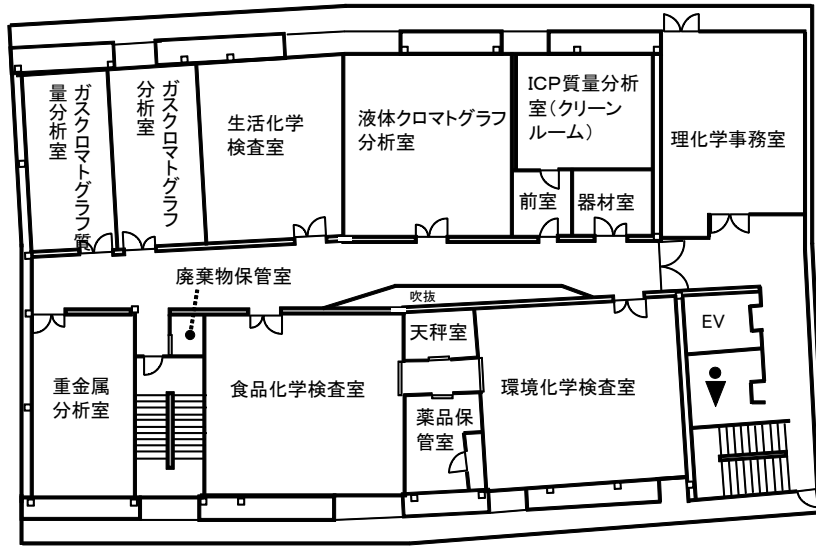
1 沿革

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。

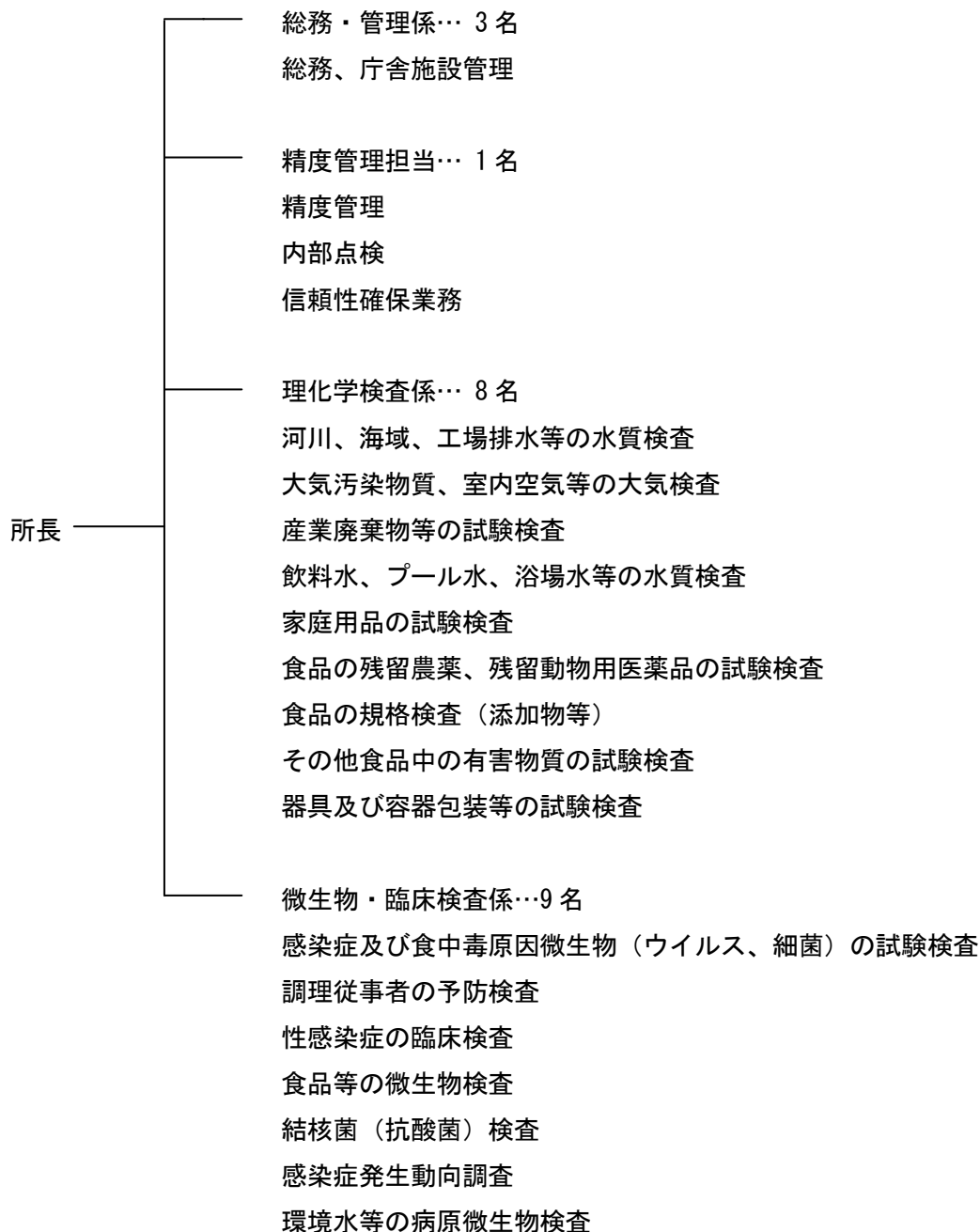
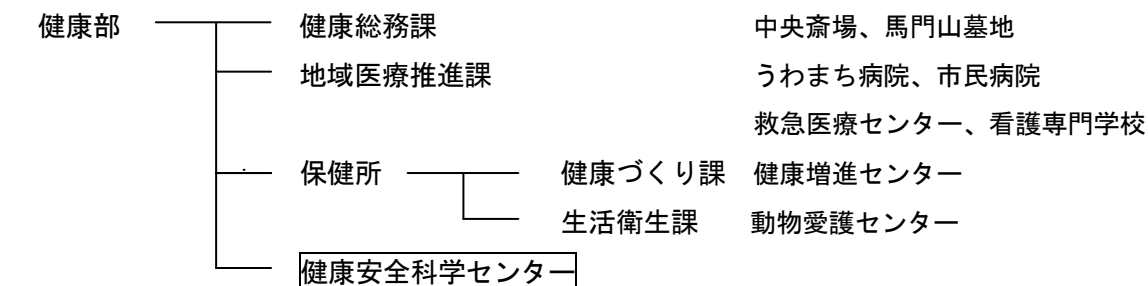
2 施設

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 組織（平成 28 年 4 月 1 日現在）



4 職員構成

平成 28 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	准看護師	
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		3	5			8
微生物・臨床検査係		8			1	9
合計	2	12	6	1	1	22

5 平成 27 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	7,070,000	6,547,300

2) 歳出

(単位：円)

節区分	予算現額	決算額
給料	87,899,000	87,406,080
職員手当等	56,351,000	55,914,556
共済費	29,625,000	29,092,960
旅費	347,000	265,900
需用費	43,133,000	42,150,940
役務費	579,000	563,438
委託料	37,770,000	36,920,781
使用料及び賃借料	8,032,000	7,624,788
備品購入費	943,000	936,844
負担金、補助及び交付金	349,000	341,410
公課費	7,000	6,600
合計	265,035,000	261,224,297

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28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一式	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-1303 II A/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	G L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	日本ビオメリュールバクテアラート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 プリントグラフ 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

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								検体数 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)			項目名	項目数	
	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数				
細菌検査	分離・同定・検出									1.大腸菌	10,370	
										腸管出血性大腸菌(EHEC)	10,370	
										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	10,360	
										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	10,358	
										6.コレラ菌 O1・O139 (CT+)	0	
										7.コレラ菌 O1・O139 (CT-)	0	
										8.コレラ菌 (O1・O139以外)	0	
										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	
				125	125	10,358	31,074			10,483	14.カンピロバクター属菌	0
											15.エルシニア・エンテロコリチカ	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	0
											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	111		
									* 核酸検査(PCR)(※)	(159)		
									* 核酸検査(PFGE)(※)	(84)		
結核	分離・同定・検出 (結核対策事業)									1.結核菌	0	
										2.非結核性抗酸菌	0	
										3.薬剤感受性検査	0	
										* 核酸検査(PCR)(※)	(0)	
									* 核酸検査(VNTR)(※)	(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								検体数 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)						
			検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数		項目名	項目数		
ウイルス等検査	分離・ 同定・ 検出	ウイルス			151	812					151	1.細胞培養法	240		
													2.血球凝集阻止試験	40	
													3.イムノクロマト法	5	
													4.中和試験	2	
													5.薬剤耐性株検査	27	
													6.蛍光抗体法	0	
													7.EIA法	0	
													8.核酸検査	498	
													* 核酸検査(DNAシーケンス)(※)	(42)	
													9.その他	0	
原虫 寄生虫等	原虫									0	1.アメーバ赤痢	0			
											2.クリプトスポリジウム	0			
											3.ジアルジア	0			
											4.その他	0			
	寄生虫										0	1.ザルコシスチス	0		
												2.その他	0		
											* 核酸検査(PCR)(※)	(0)			
											* 核酸検査(DNAシーケンス)(※)	(0)			
											0	0			
											0	0			
食中毒	病原微生物検査	細菌			56	1,190					56	1.大腸菌	270		
													腸管出血性大腸菌(EHEC)	54	
													毒素原性大腸菌(ETEC)	54	
													組織侵入性大腸菌(EIEC)	54	
													腸管病原性大腸菌(EPEC)	54	
													腸管凝集附着性大腸菌(EAggEC)	54	
													2.赤痢菌	54	
													3.腸チフス菌	54	
													4.パラチフスA菌	54	
													5.その他のサルモネラ属菌	54	
													6.コレラ菌 O1・O139 (GT+)	54	
													7.コレラ菌 O1・O139 (GT-)	54	
													8.コレラ菌 (O1・O139以外)	54	
													9.腸炎ビブリオ	56	
													10.ビブリオ フルビアールリス	54	
													11.ビブリオ・ミミカス	54	
													12.エロモナス属菌	54	
													13.プレジオモナス シゲロイデス	54	
													14.カンピロバクター属菌	54	
													15.エルシニア・エンテロコリチカ	54	
													16.黄色ブドウ球菌	54	
													17.セレウス菌	54	
													18.ウェルシュ菌	54	
													19.その他の細菌	0	
													* 核酸検査(PCR)(※)	(56)	
													* 核酸検査(PFGE)(※)	(15)	
				ウイルス			89	141					89	1.ノロウイルス	89
														2.アデノウイルス	13
														3.ロタウイルス	13
														4.その他のウイルス	26
														* 核酸検査(PCR)(※)	(115)
														* 核酸検査(DNAシーケンス)(※)	(12)
														5.電子顕微鏡検査	0
														0	0
											0	0			
平成27年度				421	2,268	10,358	31,074			10,779		33,342			
平成26年度				406	1,480	10,583	31,749			10,989		33,229			
平成25年度	1	1		465	2,232	10,626	31,878			11,092		34,111			
平成24年度				344	1,636	10,746	32,238			11,090		33,874			
平成23年度				624	3,348	10,882	32,644			11,506		35,992			

※: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						検体数 総合計	検査内容	
			保健所		庁内各部等		その他(学校、事業所等)				
			検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数		項目名	項目数
性病	梅毒		194	388					194	1.RPRテスト	194
										2.イムノクロマト	194
										3.その他	0
	その他		119	119					119	1.淋菌	119
ウイルス リケッチア等検査	分離・同定・検出	クラミジア	120	120					120	1.イムノクロマト	120
臨床検査	血清等検査	エイズ(HIV)検査	209	211					209	1.一次	209
										2.二次	2
		その他							0		0
平成27年度			642	838	—	—	—	—	642		838
平成26年度			714	1,176	—	—	—	—	714		1,176
平成25年度			670	1,081	—	—	—	—	670		1,081
平成24年度			965	1,398	—	—	—	—	965		1,398
平成23年度			892	1,327	—	—	—	—	892		1,327

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								検体数 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		
	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数					
食品等検査	微生物学的検査			709	2,483	479	1,098	11	13	1,199	1.一般細菌数	1,102	
											2.大腸菌群	769	
											3.大腸菌	269	
											4.腸管出血性大腸菌	71	
											5.乳酸菌	20	
											6.リステリア・モノサイトゲネス	0	
											7.サルモネラ	315	
											8.腸炎ピブリオ	218	
											9.カンピロバクター	64	
											10.黄色ブドウ球菌	612	
											11.ウェルシュ菌	54	
											12.ノロウイルス	30	
											13.その他	70	
										* 核酸検査(PCR)(※)	(119)		
										* 核酸検査(DNAシーケンス)(※)	(0)		
		理化学的検査			188	3,441	19	509			207	1.保存料	26
												2.漂白剤	13
												3.発色剤	12
												4.着色料	0
												5.甘味料	7
											6.品質保持剤	26	
											7.酸化防止剤	2	
											8.殺菌剤	9	
											9.添加物他	6	
											10.残留農薬	3,276	
											11.動物用医薬品	333	
											12.環境汚染物質	50	
											13.乳成分	160	
											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.トリフェニルスズ化合物	0	
											5.トリブチルスズ化合物	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		8,494		
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		
平成23年度	—	—	1,108	7,582	475	1,533	9	13	1,592		9,128		

※: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)。

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								検体数 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)					
			検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数		項目名	項目数	
水道水等 水質検査	飲用水	総検査数	21	224	9	136			43	549	73		909	
		細菌学的検査	19	38	4	8			43	86	66	1.一般細菌	66	
			理化学的検査	20	186	9	128			43	463	72	2.大腸菌	66
	3.その他の菌			0										
	1.簡易項目	692												
	利用水等(プール 水等を含む)	総検査数			163	898	104	676			267		1,574	
		細菌学的検査			163	399	104	208			267	1.一般細菌数	243	
			2.大腸菌	160										
	3.大腸菌群		83											
	理化学的検査			163	499	104	468			267	4.その他の菌	121		
1.基準項目		852												
2.その他の項目		115												
廃棄物	総検査数					4	28			4		28		
	一般廃棄物	細菌学的検査								0		0		
		理化学的検査					1	25			1	1.溶出試験	25	
	産業廃棄物	細菌学的検査									0		0	
		理化学的検査					3	3			3	1.含水率	3	
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					12	31			12	1.健康項目	12	
												2.生活項目	11	
												3.その他の項目	8	
		工場・事業場排水 (廃棄物処理場排水含む)						109	2,807	65	526	174	1.健康項目	1,977
													2.生活項目	1,318
													3.その他の項目	38
	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		
	2.官能試験	0												
	土壌・底質検査									0	1.土壌溶出	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		
平成23年度		16	176	169	914	314	3,735	287	2,430	786		7,255		

5 精度管理

表 6 外部精度管理実施状況

精度管理名	区分	検体数	検査項目	検査項目数
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(EQA2014)	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
平成27年度外部精度管理(ウイルス検査)	微生物検査(ウイルス)	0	リアルタイムRT-PCR法によるノロウイルス遺伝子定量	0
厚労省科学研究補助金 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	亜硝酸態窒素	1
神奈川県外部精度管理調査(水道水質)	環境理化学検査	1	塩素酸	1
環境測定分析統一精度管理	環境理化学検査	1	塩化物イオン	1
			硝酸イオン	1
			硫酸イオン	1
			カリウムイオン	1
			アンモニウムイオン	1
			ナトリウムイオン	1
			マグネシウムイオン	1
			カルシウムイオン	1
食品衛生精度管理	食品細菌検査	1	菌数測定	1
			細菌同定	2
	食品理化学検査	1	添加物	2
			動物用医薬品	1
ブロック協定に基づく模擬訓練	食品理化学検査	1	テストステロン	1
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
平成23年度		20		32

表 7 内部精度管理実施状況

精度管理名	区分	検体数	検査項目	検査項目数
臨床検査精度管理	微生物検査	22	グラム染色・鏡検	5
			分離培養同定	10
			薬剤感受性	21
			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	3	結核菌VNTR遺伝子型別(JATA15+3)	3
インフルエンザ精度管理	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	シアン化合物	1
食品衛生	食品細菌検査	6	菌数測定	6
			細菌同定	14
	食品理化学検査	2	添加物	3
			残留農薬(妥当性評価確認試験)	1,200
家庭用品検査	環境理化学検査	5	ホルムアルデヒド	10
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
平成23年度		40		67

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	検体数	調査項目	調査項目数
市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査	畜産物	6	動物用医薬品	288
	尿	8		12
PCR法によるクラミジア抗原検査の構築	子宮頸部拭い液	15	クラミジア抗原	25
	菌株	2		6
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
平成23年度		58		604

ii 微生物学的検査

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。

平成 27 年度の微生物学的検査実施状況を表 1 に示した。

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	10,358	31,074	教育委員会学校教育部学校保健課	8,847	26,541
			こども育成部保育運営課	1,499	4,497
			こども育成部児童相談所	12	36
感染症病原体検査	25	25	保健所健康づくり課(細菌)	14	14
			保健所健康づくり課(ウイルス)	11	11
食中毒(疑)、有症苦情等検査	134	1,320	保健所生活衛生課(細菌)	56	1,190
			保健所生活衛生課(ウイルス)	78	130
			保健所健康づくり課(ウイルス)	0	0
感染症発生動向調査	262	923	保健所健康づくり課 (感染症情報センター)(細菌)	111	111
			保健所健康づくり課 (感染症情報センター)(ウイルス)	125	734
			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)	26	78
結核菌(抗酸菌)検査	0	0	保健所健康づくり課	0	0
合計				10,779	33,342

1 予防検査

予防検査の実施件数 10,358 件 31,074 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 0157、026、0111 は検出されなかった。

検出された病原菌を表 2 に示した。

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	04群	invA	1
	07群	invA	1
合計			2

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、14件14項目であり、その内訳は、患者・接触者陰性確認が7件7項目、ベロ毒素確認試験が7件7項目であった。検出病原菌は腸管出血性大腸菌1株、腸管病原性大腸菌2株の計3株であった。検出された病原菌を表3に示した。

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(-)	1
腸管病原性大腸菌	O157:HUT	eae(+)	2
合計			3

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、給食従事者等ノロウイルス検査(陰性確認検査含)4事例11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。ノロウイルスによる感染症事例の検査検出状況を表4に示した。4事例中2事例からGⅡが5件検出された。うち1事例は、他都市の飲食店において喫食した事例であり、有症者に給食従事者等が含まれていたため、その陰性確認検査と無症者の給食従事者の検査も行った。

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	給食従事者等ノロウイルス検査 (陰性確認検査含)4事例	不明	便	1	0	
		他都市 飲食店	便	7	4	GⅡ 4件
		不明	便	2	1	GⅡ 1件
		不明	便	1	0	
合計				11	5	GⅡ 5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56件1190項目であった。検査の内訳は、有症苦情事例が2事例15件288項目、他都市依頼事例が8事例19件418項目、食中毒事例が3事例22件484項目であった。病原菌の検出状況は、他都市依頼事例から腸管病原性大腸菌が1株、エンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌が3株検出され、食中毒事例から腸管病原性大腸菌が1株、エンテロトキシン産生黄色ブドウ球菌が3株、セレウス菌が1株検出された。

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78件130項目あった。検査の内訳は食中毒事例が4事例39件39項目(うち2事例は原因施設が同一飲食店)、有症苦情事例が1事例13件65項目、他都市依頼事例が10事例26件26項目であった。検査項目はノロウイルスであり、有症苦情例の1事例についてはノロウイルスの他にサポウイルス、アストロウイルス、ロタウイルス、アデノウイルスも行った。ノロウイルスはリアルタイムPCR法、サポウイルス、アストロウイルスはコンベンショナルPCR法、ロタウイルス、アデノウイルスはイムノクロマト法にて検査を行った。ノロウイルスによる食中毒事例の検査検出状況を表5に示した。

事例別検出状況は食中毒事例の4事例28件(GI2件、GII25件、GI+GII1件)、他都市依頼の10事例15件(GI4件、GII11件)がノロウイルス検査陽性となった。有症苦情例の1事例においては何も検出されなかった。

表5 ノロウイルスによる食中毒事例の検査検出状況

発生日	原因施設	摂食場所	原因食品	喫食者数	発症者数	死者数	区分	検査材料	検査件数	陽性数	遺伝子群
1/21~1/28	飲食店	飲食店	不明	14	7	0	有症者	便	7	5	GII 5件
							調理従事者	便	2	0	
1/27~1/28	飲食店	飲食店	不明	13	7	0	有症者	便	7	6	GI1件、GII4件、GI+GII1件
2/2~2/3	飲食店 (上記と同一飲食店)	飲食店 (上記と同一飲食店)	不明	14	7	0	有症者	便	7	5	GI1件、GII4件
							調理従事者	便	3	0	
3/6~3/7	飲食店	飲食店	不明	46	11	0	有症者	便	11	11	GII 11件
							調理従事者	便	2	1	GII 1件
合計									39	28	GI2件、GII25件、GI+GII1件

4 感染症発生動向調査

1) 細菌

平成27年度は111件111項目の検査依頼があった。検査の結果、*Enterococcus faecium* (vanA) が108株、*Enterococcus faecalis* (vanB) が1株、*Enterobacter aerogenes* (AmpC) が2株検出された。

2) ウイルス

平成27年度はインフルエンザ103件、流行性角結膜炎17件、デング熱疑い5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咽頭ぬぐい液38件、鼻腔ぬぐい液60件とインフルエンザ防疫対策実施要領に基づく含嗽水5件の合計103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。インフルエンザウイルス検査検出状況を表6に示した。検出されたインフルエンザウイルスの内訳は、AH1pdm09が59件(63.4%)、AH3型が6件(6.4%)であり、B型は山形系統が10件(10.8%)、ビクトリア系統が18件(19.4%)であった。

表6 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	0	0	0	0	0	0	0	0	11	33	39	20	103
AH1pdm09	0	0	0	0	0	0	0	0	2	23	27	7	59
AH3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	6
B/山形系統	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	4	10
B/ビクトリア系統	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	3	8	18
陰性	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	3	1	10

② 流行性角結膜炎

7月から9月にかけて17件の依頼があった。細胞培養法にて、CPE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、3型1件が検出された。

③ デング熱疑い

4月から6月にかけて5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5項目、チクングニアウイルス遺伝子4項目）およびデングウイルス NS1 抗原検査5項目を行った。結果は2件でデングウイルス遺伝子、デングウイルス NS1 抗原がともに陽性となった。

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26件実施した。期間は平成27年6月より10月までの計5回（6月7件、7月5件、8月6件、9月2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及びチクングニアウイルス遺伝子検査を行った。結果を表7に示した。捕獲した124匹の蚊（アカイエカ39匹、ヒトスジシマカ80匹、ヤマトヤブカ1匹、オオクロヤブカ2匹、キンパラナガハシカ1匹、ヤブカ類1匹）のウエストナイルウイルス遺伝子、デングウイルス遺伝子及びチクングニアウイルス遺伝子検査は陰性であった。

表7 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	1	6	34	7	3	51
	動物愛護センター	2	2	29	5	4	42
	くりはま花の国	3	6	0	0	1	10
	ソレイユの丘	3	0	17	0	1	21
総計		9	14	80	12	9	124
蚊の種類	アカイエカ	4	0	29	0	6	39
	ヒトスジシマカ	5	11	50	12	2	80
	ヤマトヤブカ	0	1	0	0	0	1
	オオクロヤブカ	0	2	0	0	0	2
	キンパラナガハシカ	0	0	1	0	0	1
	ヤブカ類	0	0	0	0	1	1
ウエストナイルウイルス遺伝子検査結果		陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
デングウイルス遺伝子検査結果		陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
チクングニアウイルス遺伝子検査結果		陰性	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、HIV 検査は血液検体、クラミジア、淋菌検査は尿、膣分泌物検体を対象とした。

平成 27 年度の臨床検査実施状況を表 1 に示した。

表 1 臨床検査実施状況

区分	件数	項目数	陽性数
梅毒検査	194	388	TP法 3
クラミジア検査（抗原検査）	120	120	
淋菌検査（抗原検査）	119	119	1
HIV検査	209	211	
合計	642	838	

梅毒検査は 194 件中、陽性は TP 法 3 件であった。

クラミジア検査（抗原検査）は 120 件行い、すべて陰性であった。

淋菌検査（抗原検査）は 119 件中、陽性が 1 件であった。

HIV 検査は 209 件行い、1 次検査イムノクロマト法で陽性が 1 件あったが、2 次検査 PA 法では HIV-1 型、HIV-2 型ともに陰性であった。このうち、HIV 即日検査は HIV 検査単独で年間 4 回（6、9、12、3 月）18 件実施した。

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。

平成 27 年度の食品、家庭用品試験検査等実施状況を表 1 に示した。

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	1,199	3,594	行政依頼	1,188	3,581	保健所生活衛生課	収去検査	612	1,858
							食中毒・苦情品等検査	92	593
							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	16	52			
				食器器具検査	343	686			
				手指検査	120	360			
一般依頼	11	13	事業者	食品検査	11	13			
食品等理化学検査	207	3,950	行政依頼	207	3,950	保健所生活衛生課	収去検査	188	3,441
							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	479
							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								1,441	7,579

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 612 件、1,858 項目行った。食品分類別検査項目数を表 2 に示した。

このうち、成分規格に係る検査は 285 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 943 項目行い、不適合の食品が 11 件（13 項目）あった。その内訳は惣菜 3 件と弁当 6 件（細菌数 9 項目、大腸菌 1 項目）、洋生菓子 2 件（細菌数 1 項目、大腸菌群 2 項目）である。県の指導基準に係る検査は 580 項目行い、不適合な食品が 3 件（5 項目）あった。その内訳は生菓子 3 件（細菌数 2 項目、大腸菌群 2 項目、黄色ブドウ球菌 1 項目）であった。

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. Coli)	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		3		3				47							53	
魚介類 加工品	02魚肉練り製品		5												5	
	03その他	9	8					15							32	
04食肉		10	10		10		10		10						50	
05食肉製品及び食肉加工品				11		11	11								33	
06卵及びその加工品		4		4		4	14								26	
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	4	4												8
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)		3	3												6	
14ソフトクリーム															0	
15乳製品		9	29							20					58	
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		35	8	27		35									105	
19もち															0	
20菓子類		55	55			55	55								220	
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		2				2									4	
24豆腐及びその加工品		15	15												30	
25漬物															0	
26そうざい及びその半製品		146		128		146	72	46							538	
27上記以外の野菜・果物加工品		5													5	
弁当類	28弁当	123		79		123	66	54							445	
	29調理パン	37		13		37	33	6							126	
冷凍食品	30無加熱摂取	20	20												40	
	31凍結前加熱加熱後摂取														0	
	32凍結前未加熱加熱後摂取	2		2											4	
	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		1	1												2	
38水															0	
39調味料															0	
40その他の食品															0	
合計		517	192	267	10	413	261	168	10	20	0	0	0	0	1,858	

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・苦情品等の検査を 92 件 593 項目(ノロウイルス検査 29 項目を含む)を行った。検査結果を表 3 に示した。

食中毒事例は 4 事例あった。事例 1 は黄色ブドウ球菌を原因とする食中毒事例で、有症者の便から黄色ブドウ球菌が検出された。事例 2、3、4 はノロウイルスを原因とする食中毒事例で、有症者便からノロウイルスが検出されたが、ふきとり検体からノロウイルスは検出されなかった。また、苦情品等検査は 3 事例あり、検査件数が 35 件であった。苦情品等の検査結果を表 4 に示した。

表 3 食中毒・苦情品等検査結果

区分	検体	検体数/項目数	検査結果	
食中毒	事例1	ふきとり	16/102	細菌数：特記なし 大腸菌群：4検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 腸管出血性大腸菌：陰性 サルモネラ属菌：陰性 腸炎ビブリオ：陰性 カンピロバクター：陰性 セレウス菌：陰性 ウェルシュ菌：陰性 (有症者から黄色ブドウ球菌検出)
	事例2	ふきとり	14/46 (ノロウイルス検査 9項目を含む)	細菌数：特記なし 大腸菌群：2検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 ノロウイルス：陰性 (有症者からノロウイルス検出)
	事例3	ふきとり	11/44 (ノロウイルス検査 11項目を含む)	細菌数：特記なし 大腸菌群：3検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 ノロウイルス：陰性 (有症者からノロウイルス検出)
	事例4	ふきとり	16/86 (ノロウイルス検査 9項目を含む)	細菌数：特記なし 大腸菌群：4検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 サルモネラ属菌：陰性 カンピロバクター：陰性 セレウス菌：陰性 ウェルシュ菌：陰性 ノロウイルス：陰性 (有症者からノロウイルス検出)
苦情品等	食品	35/315	詳細は表4参照	
	ふきとり			
合計		92/593		

表4 食中毒・苦情品等検査結果

区分	検体	検体数/項目数	苦情内容	検査項目及び検査結果	
苦情品	事例1	食品 ふきとり	15/135	下痢 腹痛	細菌数：特記なし 大腸菌群：8検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 腸管出血性大腸菌：陰性 サルモネラ属菌：陰性 腸炎ビブリオ：陰性 カンピロバクター：陰性 セレウス菌：1検体陽性 ウェルシュ菌：1検体陽性
	事例2	ふきとり	6/54	下痢	細菌数：特記なし 大腸菌群：陰性 黄色ブドウ球菌：陰性 腸管出血性大腸菌：陰性 サルモネラ属菌：陰性 腸炎ビブリオ：陰性 カンピロバクター：陰性 セレウス菌：陰性 ウェルシュ菌：陰性
	事例3	ふきとり	14/126	下痢 嘔吐	細菌数：特記なし 大腸菌群：4検体陽性 黄色ブドウ球菌：陰性 腸管出血性大腸菌：陰性 サルモネラ属菌：陰性 腸炎ビブリオ：陰性 カンピロバクター：陰性 セレウス菌：1検体陽性 ウェルシュ菌：陰性
合計		35/315			

3) 試買検査

保健所生活衛生課より依頼された試買検査を1件4項目(ノロウイルス検査1項目を含む)行った。検査結果を表5に示した。

表5 試買検査結果

区分	検体	検体数/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：16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検体について、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、衛生基準である変色及び異臭について1検体が不適合であった。また、別の1検体に異物混入があった。他の検査結果はすべての項目で衛生基準に適合していた。

5) 小学校等給食施設検査

教育委員会学校教育部学校保健課より依頼された小学校等給食施設検査を 479 件 1,098 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、腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157 であった。検査結果を表 6 に示した。

給食食材 16 件のうち 2 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 120 件のうち 2 件から大腸菌群、25 件から黄色ブドウ球菌(再検査を含む)が検出された。腸炎ビブリオ、腸管出血性大腸菌 026、0103、0111、0121、0145 及び 0157、については検出されなかった。

表 6 小学校等給食施設検査結果

区分	検体	検体数	項目数	検査結果
食材	給食食材	16	52	大腸菌群：2検体陽性
食器器具	食器器具ふきとり	343	686	特記なし
手指	調理従事者手指ふきとり	120	360	大腸菌群：2検体 黄色ブドウ球菌：25検体 (再検査を含む)
合計		479	1,098	

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 11 件 13 項目行った。検査項目は細菌数 9 項目、大腸菌群 2 項目、大腸菌 1 項目、黄色ブドウ球菌 1 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委員会学校保健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 207 件、3,950 項目実施した。表 7 に食品理化学検査実施状況を示した。

表 7 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	
	検体数	項目数	検体数	項目数	検体数	項目数
食品添加物等	66	101			66	101
残留農薬	31	2,797	4	479	35	3,276
魚介類	23	50			23	50
抗菌性物質等	14	333			14	333
乳製品	54	160			54	160
その他			15	30	15	30
合計	188	3,441	19	509	207	3,950

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 66 件、101 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 8 に食品添加物等検査実施状況を示した。

表 8 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	菓子類	野菜 果物 加工品	乳類 加工品	
検体数		6	12	35		13		66
保存料	ソルビン酸	6	12			8		26
漂白剤	二酸化硫黄					13		13
漂白剤	過酸化水素			9				9
発色剤	亜硝酸根		12					12
着色料	合成着色料							0
甘味料	サッカリンナトリウム	5						5
甘味料	アセスルファムカリウム					1		1
甘味料	スクラロース					1		1
品質保持剤	プロピレングリコール			26				26
酸化防止剤	BHA、BHT	2						2
成分規格	シアン（生あん等）					6		6
成分規格	水分活性							0
合計		13	24	35	0	29	0	101

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 2 件、レモン 2 件、グレープフルーツ 2 件）、輸入果実類 4 件（バナナ 2 件、マンゴー 1 件、パパイヤ 1 件）及び教育委員会学校教育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 31 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。残留農薬検査実施状況を表 9、10、検出した農薬を表 11 に示した。

表 9 残留農薬検査実施状況(収去検査)

検体名	検体数	項目数	検体名	検体数	項目数
トマト	3	297	オレンジ	2	46
なす	3	363	レモン	2	66
きゅうり	3	384	グレープフルーツ	2	56
大根	3	276	バナナ	2	218
キャベツ	3	279	マンゴー	1	99
みかん	3	318	パパイヤ	1	110
いちご	3	285			

表 10 残留農薬検査実施状況(学校給食食材)

検体名	検体数	項目数
きゅうり	2	258
キャベツ	2	221

表 11 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	1	0.049
オレンジ	アセタミプリド	1	0.042
	イマザリル	2	0.7
	チアベンダゾール	2	0.93~1.2
グレープフルーツ	イマザリル	2	0.5~0.6
	チアベンダゾール	2	0.13~0.29
	オルトフェニルフェノール	2	0.37~0.49
レモン	アゾキシストロビン	2	0.58~0.79
	イマザリル	2	1.9~2.1
	チアベンダゾール	2	0.34~0.41
きゅうり	アゾキシストロビン	1	0.008
	クロルフェナピル	1	0.014
トマト	クロルフェナピル	1	0.020
なす	スピノサド	1	0.016
パパイヤ	ホスメット	1	0.003
みかん	メチダチオン	1	0.005

3) 魚介類中の有害物質検査

魚介類収去検査として16件、試買検査として7件、計23件についてPCB及び総水銀検査を実施した。そのうちの1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、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実施状況 (単位: ppm)

番号	魚介類名	検査名	P C B	総水銀
1	シコイワシ*	収去	0.04	定量下限値未満
2	クロダイ*	収去	0.04	0.30
3	コショウダイ	収去	0.05	0.06
4	スズキ*	収去	0.06	0.04
5	シコイワシ*	収去	0.04	定量下限値未満
6	サザエ*	試買	定量下限値未満	定量下限値未満
7	アナゴ*	試買	0.06	0.04
8	カレイ*	試買	0.01	0.05
9	マイワシ*	収去	0.01	定量下限値未満
10	スズキ*	収去	0.05	0.45(0.33)
11	アジ*	収去	0.01	0.19
12	ヒラメ*	収去	0.01	0.05
13	アオアジ*	収去	定量下限値未満	定量下限値未満
14	ウルメイワシ	収去	定量下限値未満	0.02
15	カサゴ*	収去	定量下限値未満	0.21
16	コノシロ*	収去	0.02	0.03
17	タナゴ*	収去	定量下限値未満	0.12
18	スズキ*	試買	0.03	0.13
19	メバル*	試買	0.01	0.07
20	サザエ*	試買	定量下限値未満	定量下限値未満
21	アオアジ*	収去	定量下限値未満	0.03
22	スズキ*	収去	0.05	0.28
23	アサリ*	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~0.06	定量下限値未満~0.45
定量下限値			0.01	0.02
暫定的規制値			遠洋沖合魚介類 0.5 内海内湾魚介類 3	0.4(0.3)

☆: 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0.06ppm(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) 畜水産物中の残留抗菌性物質等の検査

保健所生活衛生課からの依頼による残留抗菌性物質等の検査を、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に残留抗菌性物質等検査実施状況を示した。

表13 残留抗菌性物質等検査実施状況

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		5	5
テトラサイクリン		5	5
クロルテトラサイクリン		5	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
オルメトプリム	4	5	5
トリメトプリム	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	4	5	5
エンロフロキサシン	4	5	5
ジクラズリル			
ダノフロキサシン	4	5	5
オフロキサシン	4	5	5
ナリジクス酸	4	5	5
ピロミド酸	4	5	
クロピドール	4	5	5
合計	88	125	120

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 54 件 160 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
検体数		33	5	14	2	54
検査項目	比重	33				33
	酸度	33	5			38
	乳脂肪分	33			2	35
	無脂乳固形分	33	5	14		52
	乳固形分				2	2
合計		132	10	14	4	160

6) 磁器製食器検査

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											合計	
	おしめ	おしめカバー	よだれ掛け	下着	中衣	外衣	靴下	衛生パンツ	寝衣	寝具	手袋		帽子
試買件数	3			3	4	2	3	1	3	1	3	1	24
検査件数	3			5	8	3	4	2	4	1	3	1	34
ホルムアルデヒド乳幼児用	3			3	4	3	2	2	4	1	3		25
ホルムアルデヒド乳幼児以外				2	4		2					1	9
ディルドリン													
有機水銀化合物													
トリブチルスズ化合物													
トリフェニルスズ化合物													
項目数計	3			5	8	3	4	2	4	1	3	1	34

検査区分	家庭用化学製品								合計	
	家庭用接着剤	かつら等の接着剤	家庭用塗料	家庭用ワックス	靴墨靴クリーム	家庭用エアゾル製品	住宅用洗剤	家庭用洗剤		クレオソート油
試買件数		1								1
検査件数		1								1
ホルムアルデヒド		1								1
有機水銀化合物										
トリブチルスズ化合物										
トリフェニルスズ化合物										
メタノール										
トリクロロエチレン										
テトラクロロエチレン										
酸消費量										
アルカリ消費量										
落下試験・漏水試験										
耐酸耐アルカリ試験										
圧縮変形試験										
塩化ビニル										
ジベンゾ[a,h]アントラセン										
ベンゾ[a]アントラセン										
ベンゾ[a]ピレン										
項目数計		1								1

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、市内事業所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・事業所排水、環境生物検査等の環境・公害関係検査である。

平成 27 年度の検査実施状況を表 1 に示した。

表 1 平成 27 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	73	909	行政依頼	9	136	保健所生活衛生課	9	136
			一般依頼	64	773	市民、事業所等(井戸水等)	36	409
						市民、事業所等(貯水槽水等)	22	286
						市民、事業所等(船舶水)	6	78
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	160	966	行政依頼	160	966	保健所生活衛生課	56	290
						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	83	530	行政依頼	83	530	保健所生活衛生課	83	530
公共用水域水質検査	12	31	行政依頼	12	31	環境政策部環境管理課	11	23
						環境政策部自然環境共生課	1	8
工場・事業所水質検査	174	3,333	行政依頼	109	2,807	環境政策部環境管理課	43	1,259
						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	367
一般依頼	65	526	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	4	28	行政依頼	4	28	資源循環部南処理工場	1	25
						資源循環部資源循環施設課	3	3
環境生物検査 (腸管系病原菌調査)	30	30	一般依頼	30	30	事業場	30	30
合計							573	5,980

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	9	136	22	286	31	422
	船舶水	0	0	6	78	6	78
	井戸水等	0	0	36	409	36	409
	その他	0	0	0	0	0	0
	合計	9	136	64	773	73	909
利用水等	プール水	160	966	0	0	160	966
	海水浴場海水	24	78	0	0	24	78
	公衆浴場等浴槽水	83	530	0	0	83	530
	合計	267	1,574	0	0	267	1,574

1) 飲用水水質検査

飲用水検査は計 73 件実施し、内訳は貯水槽水等 31 件、船舶水 6 件、井戸水等 36 件であった。

水質基準不適合は、24 件 (32.9%) であり、全て一般依頼の井戸水等であった。不適項目は一般細菌、大腸菌の他、亜硝酸態窒素、有機物(全有機炭素(TOC)の量)、蒸発残留物、臭気、色度、濁度であった。

過去 3 年間の井戸水等水質基準不適合項目の件数を図 1 に示した。

貯水槽水等は過去 2 年間、船舶水は過去 3 年間において水質基準不適合項目はなかった。

井戸水等の基準不適合項目数は昨年比で増加しており、一般細菌 21 件、大腸菌 12 件、亜硝酸態窒素 1 件、有機物(全有機炭素(TOC)の量)5 件、蒸発残留物 3 件、臭気 3 件、色度 10 件、濁度 6 件であった。

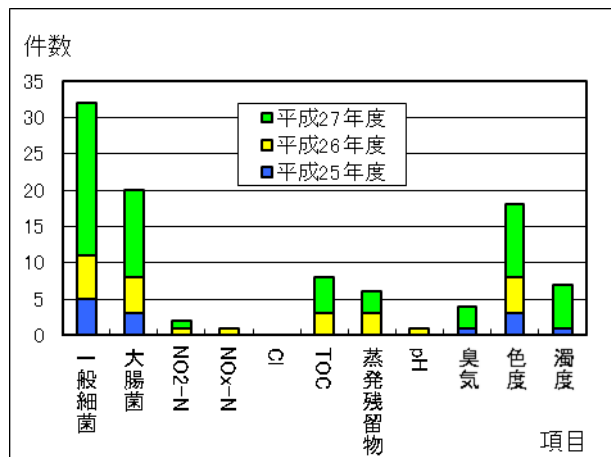


図 1 井戸水等の不適合項目数 (過去 3 年間)

2) 利用水等水質検査

利用水等水質検査は計 267 件実施し、プール水検査は 160 件、海水浴場海水等検査は 24 件、公衆浴場等浴槽水検査は 83 件であった。

プール水検査 160 件の内訳は、行政依頼が保健所生活衛生課 56 件、教育委員会スポーツ課 104 件であった。

過去 3 年間のプール水の不適合項目数を図 2 に示した。

プール水の遊離残留塩素の基準不適合項目数は、13 件 (不適合率 12.3%) であった。

学校プールにおいては、学校環境衛生基

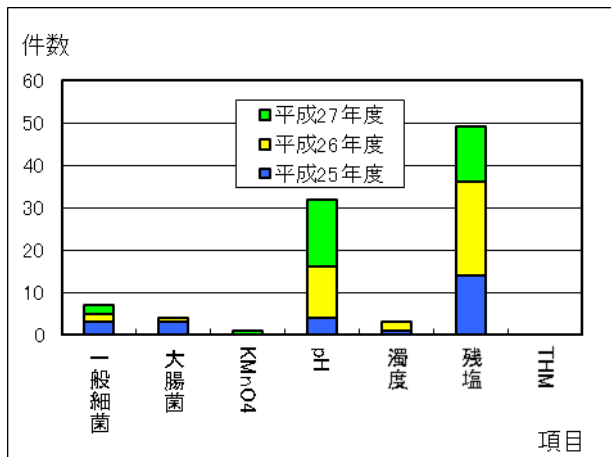


図 2 プール水の不適合項目数 (過去 3 年間)

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未满是13件、1.0mg/Lを超えた検体は67件あり、その中で2.0mg/Lを超えた検体は36件あった。さらにこの中には7.5mg/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避けたり、適切な換水を行う必要がある。

その他、プール水の基準不適合項目数は、一般細菌が2件、過マンガン酸カリウム消費量が1件、pH値が16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。

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0157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83件実施した。一部の浴槽水において遊離残留塩素が2mg/Lを超える高濃度で検出された。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繁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91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83件中27件(32.5%)、プール水等は8件中3件(37.5%)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。

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	検査 件数	レジオネラ属菌数 (CFU/100ml)				血清群別												
				10 未満	10 以上 100 未満	100 以上 1000 未満	1000 以上	<i>L.pneumophila</i>											L. gormanii	レジ オネ ラ属 菌UT
								SG1	SG2	SG3	SG5	SG6	SG8	SG9	SG15	UT				
公衆浴場等	一般公衆 浴場	内湯	42	31	8	3	0	1	0	0	1	5	0	0	0	0	2	0	2	
		露天風呂	4	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	その他の 公衆浴場	内湯	10	6	2	2	0	1	0	1	0	0	0	0	2	1	1	0		
		露天風呂	8	2	3	1	2	3	0	0	0	0	0	2	1	0	1	3		
	老人福祉 施設	内湯	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	旅館等	内湯	16	10	1	4	1	2	2	4	2	2	0	0	0	2	0	1		
プール水等	プール	プール水	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		ジャグジー	8	5	3	0	0	2	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0		
合計			91	61	17	10	3	9	2	5	5	7	1	2	3	5	2	6		

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、一般依頼による工場・事業場排水の試験を実施した。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	0	0	6	54
	工場・事業場排水	109	2,807	65	526	174	3,333
	公共用水域	12	31	0	0	12	31
	合計	127	2,892	65	526	192	3,418
大気	有害化学物質	7	21	0	0	7	21
廃棄物	廃棄物	4	28	0	0	4	28
環境生物	環境微生物	0	0	30	30	30	30

1) 水質検査

表5に水質検査の検体別検査状況を示した。

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43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174件3,333項目の検査を実施した。行政検査109件2,807項目の内訳は、規制対象事業場排水調査35件、主要工場夜間排水調査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26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11件23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11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 水質検査の検体別検査状況

表5-1

検査区分	浄化槽 放流水	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	109	65	12	192
項目数計	54	2,807	526	31	3,418
カドミウム		71	11		82
シアン化合物		58	4		62
有機燐化合物		50	4		54
鉛		71	17	1	89
六価クロム		57	11		68
ひ素		55	9	5	69
総水銀		66	29		95
アルキル水銀 化合物		37			37
PCB		38	4		42
トリクロロエチレン		70	9	1	80
テトラクロロエチレン		70	9		79
ジクロロメタン		70	9		79
四塩化炭素		70	9		79
1,2-ジクロロエタン		70	9		79
1,1-ジクロロエチレン		70	9	1	80
シス-1,2- ジクロロエチレン		70	9	1	80
1,1,1-トリクロロエタン		70	9		79
1,1,2-トリクロロエタン		70	9		79
1,3-ジクロロプロペン		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		46	4		50

表5-2

検査区分	浄化槽 放流水	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	74	24	8	112
BOD	6	85	28	3	122
COD	6	85	28		119
浮遊物質量	6	85	24		115
ノルマルヘキサン 抽出物質含有量		40	8		48
フェノール類		52	16		68
銅		70	17		87
亜鉛		70	17		87
溶解性鉄		70	17		87
溶解性マンガン		70	17		87
クロム		58	11		69
大腸菌群数	6	53	4		63
全窒素	6	75	29		110
全りん	6	75	29		110
ニッケル		70	17		87
アンモニア性窒素	6	63			69
硝酸性窒素及び 亜硝酸性窒素	6	62			68
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
ゴルフ場農薬		38			38
アルミニウム				4	4
塩化物イオン				4	4

2) 大気検査

表 6 に有害化学物質の検査状況を示した。

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、各検査において、基準値を超えるものはなかった。

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

表 7 に廃棄物の検査状況を示した。

廃棄物検査は、資源循環部南処理工場から 1 件 25 項目、同資源循環施設課から 3 件 3 項目の検査を実施した。内容は、不燃ごみの溶出試験 1 件、し渣の含水率試験 3 件である。

表 7 廃棄物の検査状況

検査区分	不燃ごみ	し渣	合計	検査区分	不燃ごみ	し渣	合計
件数	1	3	4	四塩化炭素	1		1
項目数計	25	3	28	1,2-ジクロロエタン	1		1
カドミウム	1		1	1,1-ジクロロエチレン	1		1
シアン化合物	1		1	シス-1,2-ジクロロエチレン	1		1
有機燐化合物	1		1	1,1,1-トリクロロエタン	1		1
鉛	1		1	1,1,2-トリクロロエタン	1		1
六価クロム	1		1	1,3-ジクロロプロペン	1		1
ひ素	1		1	チウラム	1		1
総水銀	1		1	シマジン	1		1
アルキル水銀化合物	1		1	チオベンカルブ	1		1
PCB	1		1	ベンゼン	1		1
トリクロロエチレン	1		1	セレン	1		1
テトラクロロエチレン	1		1	1,4-ジオキサン	1		1
ジクロロメタン	1		1	含水率		3	3

4) 環境生物検査

環境微生物検査は、一般依頼検査として事業場排水等 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31件46項目、内部精度管理(環境細菌検査を除く)を延べ69件1,281項目実施した。外部精度管理の実施状況を表1に、内部精度管理の実施状況を表2に示した。

表1 外部精度管理実施状況

精度管理名	区分	検体数	検査項目	検査項目数
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(EQA2014)	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
厚労省科学研究補助金 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	亜硝酸態窒素	1
神奈川県外部精度管理調査(水道水質)	環境理化学検査	1	塩素酸	1
環境測定分析統一精度管理	環境理化学検査	1	塩化物イオン	1
			硝酸イオン	1
			硫酸イオン	1
			カリウムイオン	1
			アンモニウムイオン	1
			ナトリウムイオン	1
			マグネシウムイオン	1
			カルシウムイオン	1
食品衛生精度管理	食品細菌検査	2	菌数測定	1
			細菌同定	2
	食品理化学検査	2	添加物	2
			動物用医薬品	1
ブロック協定に基づく模擬訓練	食品理化学検査	1	テストステロン	1
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
平成23年度		20		32

表 2 内部精度管理実施状況

精度管理名	区分	検体数	検査項目	検査項目数
臨床検査精度管理	微生物検査	22	グラム染色・鏡検	4
			分離培養同定	8
			薬剤感受性	18
			フォトサーベイ	8
結核菌遺伝子型別精度管理	微生物検査	3	結核菌VNTR遺伝子型別(JATA15+3)	3
インフルエンザ精度管理	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	シアン化合物	1
食品衛生精度管理	食品細菌検査	6	菌数測定	6
		14	細菌同定	14
	食品理化学検査	2	添加物	3
		10	動物用医薬品	1,200
家庭用品検査	環境理化学検査	5	ホルムアルデヒド	10
平成27年度		69		1,281
平成26年度		33		1,271
平成25年度		23		4,863
平成24年度		20		71
平成23年度		20		67

IV 調 査 研 究

市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査（第5報）

加藤 秀樹

I はじめに

動物用医薬品は畜水産物の生産段階において、疾病の予防と治療、生産性の向上等の目的で使用されている。しかし、食品に残留した動物用医薬品の食品衛生法違反事例が相次いでいる。輸入時の検査において、検疫所等での輸入食品検査は届出件数の約8%^{1) 2)}であり、全ての輸入食品の検査が行われるわけではなく、新たな動物用医薬品・農薬・食品添加物等の開発・使用・違反事例発生も考えられる。これらの背景を受け、平成23年度より食肉について、動物用医薬品の試験法検討と実態調査を実施してきたところであり、本報では平成27年度の調査結果について報告する。また、調査に先立って、平成22年度に策定された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」^{3) 4)}（以下、「ガイドライン」という。）に基づき、妥当性評価試験を行ったので併せて報告する。

II 調査方法

1 調査計画

調査計画を表-1に示す。調査期間は平成23年度から平成27年度までの5ヶ年とし、保健所収去検査で未実施かつ市民生活で消費量の多い食肉、肝臓及び食鳥卵を対象として、「市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査」を継続して実施する。

2 調査対象（試買品）

当所において、これまでに検査未実施であった豚肉と鶏肉を中心に調査対象とする。畜産物は検査部位（筋肉、脂肪、肝臓、腎臓、その他）により試験法及び基準値が異なる場合がある。

表-1 調査計画（調査対象部位）

H23年度	H24年度	H25年度	H26年度	H27年度
豚筋肉 ロース		豚筋肉 もも肉		牛筋肉 スネ
	フィレ	豚肝臓 レバー		もも肉
鶏筋肉 ササミ		鶏筋肉 もも肉		鶏卵
	胸肉	鶏肝臓 レバー		うずら卵

平成27年度は筋肉部位（牛スネ、牛もも肉各1検体）、卵（鶏、うずら各2検体）の計6検体を調査対象とした。

III 試験方法

1 試薬

動物用医薬品67分析対象化合物（以下、「化合物」という。）を測定対象として検討を行った。（代謝物5化合物を含む）

混合標準液：和光純薬（株）動物用医薬品混合標準液 PL-1-3 21化合物

和光純薬（株）動物用医薬品混合標準液 PL-2-1 24化合物

標準品：関東化学（株）、和光純薬（株）、林純薬（株）、シグマアルドリッチジャパン（株）及び Dr. Ehrenstorfer 22化合物（代謝物5化合物を含む）

標準原液：標準品をメタノール、アセトニトリル又はテトラヒドロフランを用いて100μg/mL

に調製した。

標準混合溶液：混合標準液と標準原液を混合し、40%アセトニトリルで希釈した。(1 μg/mL)
添加回収試験用混合標準溶液は標準混合溶液を40%アセトニトリルで希釈し、0.01、
0.1 μg/mL とし、同様に検量線作成用標準混合溶液は0.025、0.05、0.1、0.25 及
び0.5 μg/mL を調製した。

クリーンアップ用カートリッジカラム：GLサイエンス（株）InertSep PLS-2 265mg/20mL

2 装置

LC-MS/MS:Waters 社製 2695 Quattro micro
ホモジナイザー：Kinematika 社製 ポリトロンPT3100
遠心機：（株）日立製作所製 CF7D2

3 測定条件

1) HPLC 条件

カラム：関東化学(株)Mightysil RP-18 GP 150-2.0 (3 μm)
カラム温度：40°C
移動相：A液 0.1%ギ酸 B液 0.1%ギ酸アセトニトリル
グラジェント条件（分析時間45分）
A液 95%—85%（2分）—70%（10分）—5%（15分）—5%（30分）—95%（30.1分）
流速：0.2mL/min
注入量：10 μL

2) MS 条件

イオン化：ESI+及びESI-のMRM測定
キャピラリー電圧：3.5kV
ソース温度：110°C
デゾルベーション温度：350°C

4 分析方法

通知試験法⁵⁾及び既報^{6) 7)}の方法を参考に検討を実施した。

1) 一斉分析法

厚生労働省より通知された「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I（畜水産物）」（以下「一斉試験法I」という。）及び既報の方法を参考に実施を検討した。操作の概要を図-1に示す。一斉試験法Iでは試料5gにアセトニトリル30mL、アセトニトリル飽和ヘキサン20mL、無水硫酸ナトリウム10gを加え抽出しアセトニトリル層を分離後、アセトニトリル20mLで2回目の抽出を行うが、当所では保有する遠心機の50mL遠沈管に試料を採取したため、抽出をアセトニトリル20mL、15mL×2回の3回抽出に変更した。試験溶液に濁りが生じる場合があったため、最後に0.2 μmフィルターろ過を行った。その他の操作は通知法に従った。

2) オキシテトラサイクリン法

通知法「オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法」及び既報の方法を参考に実施を検討した。操作の概要を図-2に示す。通知法では試料5gに抽出液50mLを加えホモジナイズし、ヘキサンを加え振とう・遠心分離後、抽出液を全量回収してカラムによる精製を行うことになっているが、試料によってはヘキサンを加えて振とうした後にエマルジョンを生じるため、抽出液を全量分離することが困難な場合があった。このため、試料10g、抽出液100mLと2倍量にして抽出し、遠心分離後の抽出液を50mL分取してカラムによる精製を行った。その他の操作方法は通知法に従った。

5 妥当性評価試験

平成 27 年度は牛スネと鶏卵を対象品としてガイドラインに基づき、4 1) 及び 2) の試験法について試料 1g につき、各標準品をそれぞれ 0.01、0.1 μ g 添加した。また、妥当性評価試験を実施するにあたり、試料として使用する畜産物は測定対象の動物用医薬品が含まれていないブランク試料であることを確認した。

1) 併行精度

それぞれの濃度の試料について、5 併行の試験を実施した。

2) 室内精度

それぞれの濃度の試料について、1 日 1 回 (2 併行)、5 日間の試験を実施した。

IV 調査結果及び考察

1 イオン化最適条件

5 μ g/mL に希釈した各標準品をシリンジポンプにより ESI プローブに注入し、ポジティブイオン化とネガティブイオン化の MRM 測定を行い、感度が最大となるようなコーン電圧及びコリジョン電圧等の条件を求めた。フロルフェニコール、クロルスロン、チアンフェニコール、スルファニトラン、ナイカルバジン及びジクラズリルはネガティブイオン化での感度が高い結果となった。分析対象化合物 67 化合物 (代謝物 5 化合物を含む) ごとの測定条件を表-2 に示す。

2 検量線

LC-MS/MS による分析では、試料からの夾雑物の影響によるイオン化の促進・抑制といったマトリクス効果により定量を妨害されることが知られている。そのため、既報⁷⁾をもとに測定対象動物用医薬品を含まない試料を用いた試料抽出液に標準混合溶液を添加したマトリクス標準混合溶液を用いて検量線を作成した。

3 妥当性評価試験

1) 併行精度

一斉分析法とオキシテトラサイクリン法について、定量した結果より得られた回収率と変動係数を表-3 に示した。67 化合物 (代謝物 5 化合物を含む) を測定対象として、ガイドラインに示されている回収率 70 から 120%かつ濃度が 0.01ppm の試料では変動係数 25%未満、及び 0.1ppm の試料では変動係数 15%未満の条件を満たすことができた項目数は牛スネ 54 化合物、鶏卵 50 化合物となった。

2) 室内精度

一斉分析法とオキシテトラサイクリン法について、定量した結果より得られた回収率と変動係数を表-4 に示した。ガイドラインに示されている回収率 70 から 120%かつ濃度が 0.01ppm の試料では変動係数 30%未満、及び 0.1ppm の試料では変動係数 20%未満の条件を満たすことができた数は牛スネ 52 化合物、鶏卵 46 化合物となった。

4 試買調査結果

「市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査」として国内産の牛スネ、牛もも肉各 1 検体、鶏卵、うずら卵各 2 検体計 6 検体を市内にて購入した。妥当性評価試験 3 1)、2) において、併行精度の目標値と室内精度の目標値をそれぞれ 2 つの濃度ですべて満たすことができた化合物を本試買調査の測定対象化合物とした。測定対象とすることができたのは牛スネ 52 化合物、鶏卵 46 化合物であった。また、妥当性確認を実施していない牛もも肉とうずら卵については、それぞれ今年度実施した牛スネと鶏卵の妥当性評価試験の結果を適用して調査を行った。表-5 に示す結果のとおり、調査において検出された化合物はなかった。

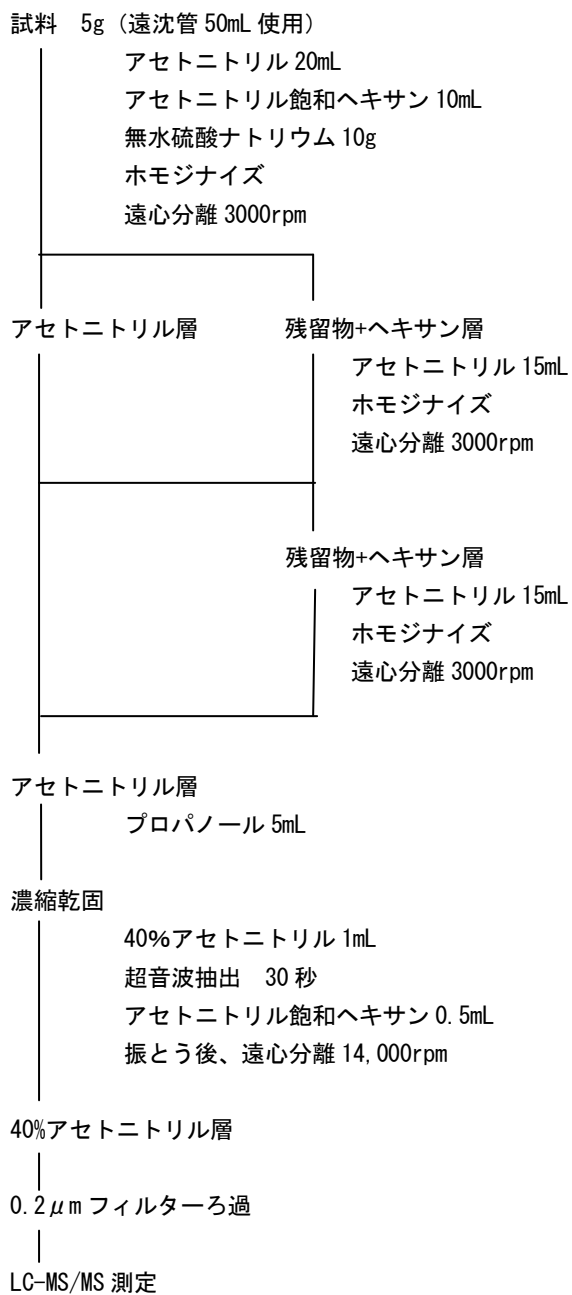


図-1 一斉分析法

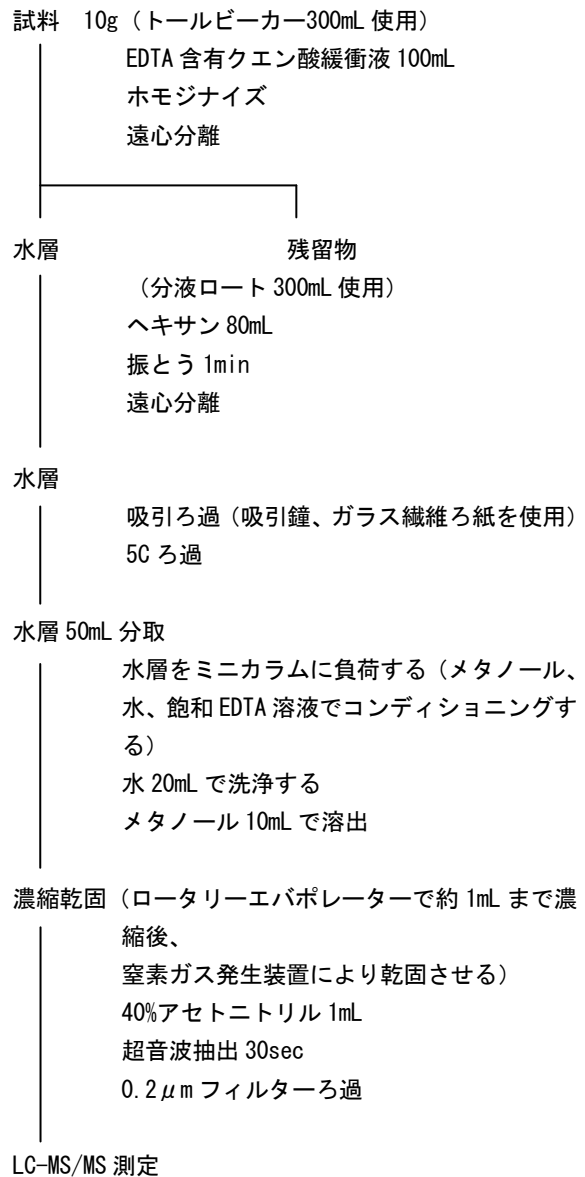


図-2 オキシテトラサイクリン分析法

表-2 分析対象化合物名とイオン化最適条件

No	分析対象化合物名	RT (min)	定量用イオン測定条件				確認用イオン測定条件				Q Trace
			フレーカー (m/z)	フラグメント (m/z)	CV(V)	CE(V)	フレーカー (m/z)	フラグメント (m/z)	CV(V)	CE(V)	
1	リンコマイシン	8.25	407	126	40	25	407	359	40	20	1
2	スルファセタミド	6.89	215	156	20	10	215	92	20	15	1
3	ダノフロキサシン	9.84	358	340	40	25	358	96	40	30	3
4	キシラジン	10.71	221	90	40	25	221	164	40	30	3
5	クレンブテロール	11.01	277	203	25	15	277	259	25	10	5
6	ピリメタミン	13.21	249	177	45	30	249	233	45	35	7
7	トリクロルホン	12.22	259	127	25	15	259	223	25	10	6
8	チルミコシン	14.76	870	174	55	45	870	88	55	50	8
9	チアムリン	16.98	494	192	35	25	494	119	35	30	10
10	ブレドニゾン	16.95	361	343	25	10	361	325	25	15	10
11	ヒドロコルチゾン	17.16	363	121	35	25	363	327	35	20	10
12	デキサメタゾン	17.91	393	373	20	10	393	355	20	15	11
13	エマメクチンB1	18.76	886	158	50	35	886	82	50	40	12
14	ファミフル(ファンフル)	19.43	326	217	30	20	326	281	30	15	13
15	フェニブカルブ	19.61	208	95	20	15	208	152	20	10	13
16	テメホス(アバテ)	21.54	467	419	35	25	467	143	35	30	14
17	アレスリン	21.94	303	107	20	20	303	93	20	15	14
18	モネンシン	24.65	679	465	55	55	679	447	55	50	15
19	フロルフエニコール	14.70	356	336	-30	-10	356	185	-30	-15	4
20	2-アセチルアミノ-5-ニコチン酸	14.32	188	146	20	10	188	100	20	15	8
21	クオールソン	16.41	380	344	-25	-20	380	344	-25	-25	4
22	5-プロピルスルホニル-1H-ベンゾイミダゾール-2-アミン	8.11	240	133	40	25	240	198	40	20	1
23	レバミゾール	7.75	205	178	40	20	205	123	40	25	1
24	チアベンダゾール	8.29	202	175	45	25	202	131	45	30	1
25	トリメトプリム	8.97	291	230	40	25	291	123	40	30	2
26	スルファジアジン	8.04	251	156	30	15	251	108	30	20	1
27	オルメトプリム	9.59	275	123	40	25	275	81	40	30	2
28	スルファチアゾール	8.86	256	156	20	15	256	92	20	20	2
29	スルファピリジン	9.18	250	92	30	25	250	156	30	20	2
30	スルファミラジン	9.69	265	156	30	20	265	108	30	25	2
31	チアンフェニコール	10.56	354	185	-30	-25	354	79	-30	-25	4
32	スルファジミジン	11.01	279	124	30	20	279	92	30	25	5
33	スルファメキシピリダジン	11.33	281	156	30	15	281	108	30	20	5
34	スルファミノメトキシ	12.65	281	156	35	20	281	92	35	25	6
35	スルファクロルピリダジン	13.10	285	156	30	15	285	92	30	20	7
36	スルファミキサゾール	14.05	254	156	30	15	254	92	30	20	8
37	スルファドキシ	14.14	311	92	35	25	311	126	35	20	8
38	エトバベート	16.63	238	206	20	15	238	164	20	20	10
39	スルファキノキサリン	16.81	301	156	30	15	301	108	30	20	10
40	スルファジメトキシ	16.75	311	156	35	20	311	92	35	25	10
41	スルファニトラン	17.97	334	136	-50	-30	334	137	-50	-35	4
42	β-トレンボロン	18.40	271	199	35	25	271	107	35	30	12
43	α-トレンボロン	18.58	271	253	35	25	271	107	35	30	12
44	メレンゲストロールアセテート	20.71	397	337	30	15	397	279	30	20	14
45	ゼラノール	18.67	305	189	25	20	305	167	25	15	12
46	オキシテトラサイクリン	9.59	461	426	30	20	461	443	30	15	2
47	テトラサイクリン	10.11	445	410	25	20	445	427	25	15	3
48	クロルテトラサイクリン	12.78	479	444	30	20	479	462	30	15	6
49	フルベンダゾール	17.64	314	282	35	20	314	123	35	25	11
50	オキソリニック酸	15.78	262	244	30	20	262	216	30	25	9
51	ナイカルバジン	19.50	301	137	-25	-15	301.1	137	-25	-20	4
52	エンロフロキサシン	10.30	360	316	35	20	360	245	35	25	3
53	ジクラズリル	20.04	405	334	-35	-20	405	335	-35	-20	4
54	オフロキサシン	9.39	362	318	35	20	362	261	35	25	2
55	サラフロキサシン	11.06	386	342	40	20	386	299	40	25	5
56	ジフロキサシン	11.18	400	299	40	30	400	356	40	25	5
57	ナリジクス酸	17.82	233	187	25	25	233	215	25	20	11
58	ピロミド酸	18.76	289	271	30	25	289	243	30	30	12
59	クロビドール	8.25	192	101	50	25	192	87	50	30	1
60	クロサンテル	23.52	663	264	45	30	663	150	45	25	15
61	フルフロキサシン	9.22	320	276	35	20	320	233	35	25	2
62	シプロフロキサシン	9.55	332	288	35	20	332	288	35	25	2
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	7.28	218	191	45	30	218	147	45	35	1
64	ピオアレスリン	21.73	303	135	15	10	303	93	15	15	14
65	89Z-エマメクチン安息香酸塩	18.78	887	158	45	30	887	82	45	35	12
66	スピラマイシン	12.26	422	101	20	20	422	145	20	15	6
67	ネオスピラマイシン	11.01	350	174	20	15	350	160	20	20	5

表-3 併行精度結果 (n=5)

No	分析対象化合物名	0.01ppm添加 回収率% (CV%)		0.1ppm添加 回収率% (CV%)	
		牛スネ	鶏卵	牛スネ	鶏卵
1	リンコマイシン	73.38(3.46)	90.95(18.34)	92.41(6.45)	90.96(4.50)
2	スルファセタミド	80.59(9.74)	78.38(4.24)	94.56(5.51)	79.66(8.65)
3	ダノフロキサシン	110.75(9.11)	79.36(3.99)	83.79(5.09)	98.06(6.33)
4	キシラジン	74.87(8.01)	82.97(8.27)	81.04(6.78)	78.55(2.48)
5	クレンブテロール	93.29(7.13)	107.95(9.21)	91.63(7.09)	103.15(7.30)
6	ピリメタミン	96.80(3.32)	92.84(10.14)	86.35(5.27)	97.00(4.98)
7	トリクロルホン	94.41(3.13)	95.30(9.34)	96.30(2.40)	39.79(3.60)
8	チルミコシン	91.34(5.38)	94.46(5.23)	95.62(8.80)	89.13(5.64)
9	チアムリン	102.43(6.85)	71.86(6.34)	86.73(2.04)	54.92(17.40)
10	プレドニゾロン	97.11(7.67)	97.70(6.49)	85.03(3.71)	108.11(1.83)
11	ヒドロコルチゾン	94.79(4.85)	101.37(2.53)	76.83(5.35)	102.82(3.57)
12	デキサメタゾン	116.15(3.76)	101.53(5.55)	93.84(6.56)	100.40(4.11)
13	エマメクチンB1	94.57(3.59)	73.47(2.98)	75.31(1.66)	47.19(11.57)
14	ファミフル(ファンフル)	105.83(2.50)	83.72(1.39)	98.83(2.70)	84.58(3.83)
15	フェノブカルブ	76.45(5.44)	54.80(14.38)	73.21(1.44)	60.51(12.42)
16	テメホス(アバテ)	15.64(24.76)	3.52(45.61)	13.29(10.50)	6.71(20.17)
17	アレスリン	8.03(8.69)	13.48(3.56)	5.45(6.74)	4.66(19.76)
18	モネンシン	23.45(8.63)	60.20(9.16)	33.94(4.76)	48.14(8.53)
19	フロルフエニコール	119.86(3.16)	111.65(6.07)	98.43(5.80)	118.46(4.45)
20	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	79.37(6.15)	89.25(5.07)	81.96(3.83)	95.87(8.56)
21	クロルスロン	82.99(7.73)	103.13(9.19)	85.30(5.15)	84.43(9.31)
22	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	81.70(2.68)	104.07(7.45)	88.33(6.43)	97.70(6.22)
23	レバミゾール	90.22(3.97)	92.84(10.07)	85.00(4.50)	75.72(7.18)
24	チアベンダゾール	94.97(4.31)	100.15(8.22)	93.33(5.06)	82.29(4.71)
25	トリメトプリム	84.80(4.37)	91.02(10.96)	90.75(9.45)	93.33(5.67)
26	スルファジアジン	72.59(8.32)	84.75(19.68)	90.51(3.68)	114.26(4.52)
27	オルメトプリム	91.09(4.88)	73.76(4.14)	85.45(5.79)	99.46(4.91)
28	スルファチアゾール	74.07(8.70)	93.57(14.95)	85.38(5.33)	104.09(6.25)
29	スルファピリジン	88.44(6.77)	95.39(8.52)	87.02(4.61)	108.28(4.35)
30	スルファメラジン	84.34(10.97)	102.11(4.64)	82.26(4.81)	108.09(7.14)
31	チアンフェニコール	85.27(10.25)	94.15(11.65)	98.78(2.64)	102.82(6.79)
32	スルファジミジン	77.77(7.19)	90.46(5.54)	84.52(4.02)	104.88(10.31)
33	スルファメキシピリダジン	86.10(3.73)	92.24(12.26)	88.69(8.26)	101.86(4.38)
34	スルファモノメキシシン	75.68(1.92)	100.75(7.39)	87.14(2.28)	104.24(3.91)
35	スルファクロルピリダジン	75.93(5.14)	98.61(1.72)	88.81(5.07)	103.25(3.32)
36	スルファメキサゾール	77.75(8.67)	99.81(2.99)	88.59(5.81)	101.12(4.50)
37	スルファドキシシン	75.36(4.31)	109.41(8.34)	86.63(2.34)	109.48(6.70)
38	エトパペート	107.94(6.06)	105.62(5.54)	95.72(7.61)	98.10(8.11)
39	スルファキノキサリン	75.73(4.47)	93.78(4.82)	63.11(7.14)	103.63(2.81)
40	スルファジメキシシン	75.94(6.92)	85.28(6.32)	75.47(3.65)	99.87(4.59)
41	スルファニトラン	108.30(2.74)	88.32(3.34)	90.64(2.29)	105.62(9.74)
42	β-トレンボロン	89.61(3.79)	95.06(4.11)	75.45(2.33)	101.73(2.52)
43	α-トレンボロン	93.92(3.65)	95.44(5.1)	75.67(3.78)	97.85(2.81)
44	メレンゲストールアセテート	79.49(4.03)	68.45(7.68)	67.26(5.47)	57.09(6.76)
45	ゼラノール	100.69(4.82)	88.50(3.62)	88.42(2.67)	94.97(1.54)
46	オキシテトラサイクリン	87.32(6.11)	105.56(4.41)	73.97(2.05)	48.89(13.03)

表-3の続き

No	分析対象化合物名	0.01ppm添加 回収率%(CV%)		0.1ppm添加 回収率%(CV%)	
		牛スネ	鶏卵	牛スネ	鶏卵
47	テトラサイクリン	81.56(4.12)	98.14(11.58)	75.12(6.98)	71.10(4.89)
48	クロルテトラサイクリン	64.49(10.91)	74.77(14.32)	30.20(23.43)	32.60(16.41)
49	フルベンダゾール	98.86(4.26)	94.17(3.08)	76.12(5.46)	96.65(4.79)
50	オキシリニック酸	95.22(2.79)	98.84(3.91)	91.30(1.79)	86.42(4.40)
51	ナイカルバジン	23.08(52.07)	52.34(13.93)	31.82(9.51)	22.73(15.12)
52	エンロフロキサシン	95.19(4.20)	104.22(8.19)	101.52(6.44)	81.24(7.44)
53	ジクラズリル	46.97(7.60)	56.83(15.67)	52.02(4.64)	68.35(4.46)
54	オフロキサシン	91.25(4.94)	101.51(6.21)	90.71(8.98)	102.52(4.35)
55	サラフロキサシン	82.49(5.38)	79.27(7.98)	80.23(3.42)	98.81(4.86)
56	ジフロキサシン	89.37(7.09)	93.66(4.93)	96.17(4.94)	82.67(7.94)
57	ナリジクス酸	109.09(4.00)	77.15(5.70)	91.52(4.56)	84.99(8.63)
58	ピロミド酸	103.11(5.20)	75.37(3.67)	85.77(4.33)	88.26(2.88)
59	クロピドール	105.27(3.23)	88.83(13.19)	99.31(2.63)	94.72(8.12)
60	クロサンテル	19.21(17.46)	28.24(15.88)	6.96(7.59)	17.13(38.98)
61	ノルフロキサシン	73.22(6.10)	70.54(7.05)	75.52(13.00)	99.43(5.18)
62	シプロフロキサシン	76.40(9.73)	73.20(12.29)	71.97(13.20)	101.83(3.10)
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	82.35(4.24)	93.44(11.17)	54.93(14.12)	99.21(13.71)
64	ビオアレスリン	26.78(6.43)	33.76(3.98)	5.12(6.91)	8.52(15.12)
65	89Z-エマメクチン安息香酸塩	98.28(1.39)	65.76(5.24)	75.79(6.60)	48.14(12.31)
66	スピラマイシン	84.81(9.18)	—	43.20(8.04)	—
67	ネオスピラマイシン	98.25(10.02)	—	40.32(19.65)	—

網かけ部分は回収率 70~120%の範囲内で、かつ変動係数 25%未満（濃度 0.01ppm の試料）または 15%未満（濃度 0.1ppm の試料）を満足する結果である。

表-4 室内精度結果 (n=2 5日間)

No	分析対象化合物名	0.1ppm添加 回収率%(CV%)		0.1ppm添加 回収率%(CV%)	
		牛スネ	鶏卵	牛スネ	鶏卵
1	リンコマイシン	73.24(7.75)	99.10(11.36)	81.21(10.19)	97.27(8.85)
2	スルファセタミド	78.95(18.74)	87.48(16.68)	84.36(14.44)	94.05(10.14)
3	ダノフロキサシン	90.42(11.63)	78.20(18.20)	78.28(10.09)	100.80(6.57)
4	キシラジン	72.63(12.09)	90.47(9.53)	78.50(11.43)	62.00(8.04)
5	クレンプテロール	79.97(13.45)	99.71(12.50)	91.68(7.70)	82.79(12.25)
6	ピリメタミン	90.95(5.35)	88.92(9.59)	84.80(6.91)	81.41(9.71)
7	トリクロルホン	89.25(6.31)	99.13(9.08)	95.21(6.88)	48.65(21.09)
8	チルミコシン	81.19(16.42)	108.57(3.40)	94.78(10.29)	98.23(4.37)
9	チアムリン	107.53(4.68)	63.24(12.09)	91.61(9.90)	55.34(20.40)
10	プレドニゾロン	92.09(9.95)	97.15(9.36)	86.28(10.98)	107.54(5.65)
11	ヒドロコルチゾン	96.64(13.51)	102.19(3.84)	77.12(11.85)	104.92(5.63)
12	デキサメタゾン	96.90(8.39)	94.00(14.72)	83.87(12.46)	95.34(4.07)
13	エマメクチンB1	93.27(6.93)	67.00(8.19)	72.63(5.79)	45.90(8.37)
14	ファミール(ファンフル)	102.65(4.15)	76.71(12.97)	83.81(4.45)	96.40(8.38)
15	フェノブカルブ	80.03(8.35)	51.92(20.60)	70.52(2.22)	59.48(9.20)
16	テメホス(アパテ)	29.52(54.36)	18.46(35.45)	15.54(17.57)	9.62(14.21)
17	アレスリン	28.70(86.84)	12.48(10.45)	4.85(11.63)	4.50(23.69)
18	モネンシン	33.99(28.86)	60.79(8.44)	23.15(7.71)	52.36(8.25)
19	フロルフェニコール	105.10(9.05)	89.98(14.10)	97.52(2.98)	91.96(4.26)
20	2-アセチルアミノ-5-ニトロチアゾール	79.83(10.74)	90.21(12.95)	72.23(7.60)	101.45(5.60)
21	クロルスロン	86.84(12.92)	95.53(13.65)	78.44(6.50)	88.58(14.15)
22	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	76.35(8.22)	99.42(12.30)	87.44(9.74)	101.97(5.55)
23	レバミゾール	87.22(7.81)	90.43(7.26)	81.34(10.01)	82.37(11.59)
24	チアベンダゾール	92.76(6.71)	100.46(8.40)	93.46(3.68)	93.46(5.91)
25	トリメブプリム	82.56(7.62)	106.80(10.33)	91.85(9.49)	102.36(5.64)
26	スルファジアジン	70.10(17.68)	107.97(14.36)	84.17(9.32)	84.70(8.49)
27	オルメブプリム	86.07(9.05)	108.14(10.00)	82.58(11.79)	103.39(8.02)
28	スルファチアゾール	70.34(11.63)	86.77(17.08)	86.29(9.25)	100.42(5.78)
29	スルファピリジン	89.26(8.22)	82.37(12.40)	83.44(8.23)	101.44(6.94)
30	スルファメラジン	78.87(8.93)	91.88(18.49)	83.56(8.50)	107.04(5.58)
31	チアンフェニコール	74.94(20.02)	107.69(24.33)	98.59(5.23)	107.42(9.44)
32	スルファジミジン	77.94(9.70)	96.98(12.75)	85.25(7.59)	101.85(5.99)
33	スルファメキシピリダジン	76.54(5.73)	84.01(13.33)	81.65(9.17)	101.50(5.77)
34	スルファモノメキシ	78.48(9.75)	99.63(11.14)	78.79(7.06)	97.19(6.43)
35	スルファクロルピリダジン	74.10(6.94)	87.34(10.66)	84.48(9.11)	99.59(6.76)
36	スルファメキサゾール	70.16(17.44)	93.70(10.15)	86.86(6.74)	98.82(4.69)
37	スルファドキシ	71.05(18.99)	87.58(11.68)	85.56(6.91)	104.90(5.46)
38	エトパベート	94.39(4.63)	99.28(10.59)	94.94(9.50)	107.05(7.01)
39	スルファキノキサリン	71.58(8.85)	81.91(16.26)	67.82(8.66)	100.37(6.29)
40	スルファジメキシ	80.50(10.07)	92.71(13.94)	76.00(8.96)	105.72(7.11)
41	スルファニトラン	114.38(4.67)	93.79(11.45)	91.12(3.13)	124.79(6.07)
42	β -トレンボロン	89.82(6.42)	90.50(9.07)	75.76(5.11)	93.86(6.39)
43	α -トレンボロン	91.96(2.87)	88.70(10.80)	76.12(3.75)	92.77(6.20)
44	メレンゲストロールアセテート	81.11(6.26)	62.63(9.05)	68.84(4.19)	54.57(11.89)
45	ゼラノール	99.76(10.57)	80.85(11.83)	87.52(3.70)	88.91(5.86)
46	オキシテトラサイクリン	79.37(13.45)	92.29(27.09)	71.47(6.06)	43.74(22.66)

表-4 の続き

No	分析対象化合物名	0.01ppm添加 回収率%(CV%)		0.1ppm添加 回収率%(CV%)	
		牛スネ	鶏卵	牛スネ	鶏卵
47	テトラサイクリン	73.48(12.69)	95.17(12.21)	67.21(8.31)	68.88(6.08)
48	クロルテトラサイクリン	62.05(30.41)	51.89(55.41)	33.08(30.41)	31.54(31.69)
49	フルベンダゾール	94.78(4.25)	93.61(6.69)	69.58(7.13)	92.54(8.08)
50	オキシロニク酸	92.68(7.95)	94.98(14.62)	93.99(4.69)	102.78(5.80)
51	ナイカルバジン	44.43(24.33)	3.12(193.36)	38.57(14.88)	22.83(16.00)
52	エンロフロキサシン	89.29(11.08)	97.65(10.60)	99.58(8.11)	95.24(7.59)
53	ジクラズリル	48.12(8.36)	55.45(17.89)	50.70(3.99)	67.70(12.92)
54	オフロキサシン	88.27(8.72)	91.62(17.24)	90.09(8.80)	101.01(8.44)
55	サラフロキサシン	79.60(6.74)	82.99(20.53)	77.22(7.94)	83.88(10.56)
56	ジフロキサシン	91.53(11.44)	100.76(4.30)	90.39(7.24)	92.35(9.09)
57	ナリジクス酸	111.48(5.54)	75.19(14.89)	87.84(2.59)	96.16(4.32)
58	ピロミド酸	98.87(5.19)	70.38(17.68)	81.99(6.91)	81.21(9.20)
59	クロピドール	97.63(9.40)	98.78(12.97)	94.52(7.72)	104.81(5.88)
60	クロサンテル	35.42(24.74)	31.85(38.52)	9.08(21.82)	18.44(27.07)
61	ノルフロキサシン	71.92(4.97)	64.87(21.82)	73.73(8.65)	82.20(16.53)
62	シプロフロキサシン	73.45(11.94)	89.19(18.85)	70.46(8.06)	74.03(17.99)
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	80.85(11.01)	96.27(14.43)	49.38(18.16)	106.72(13.96)
64	ピオアレスリン	19.29(39.94)	16.17(26.07)	4.58(7.39)	5.34(30.08)
65	89Z-エマメクテン安息香酸塩	95.41(3.04)	68.09(6.98)	73.06(7.27)	43.62(11.68)
66	スピラマイシン	73.86(49.03)	57.12(188.56)	21.23(23.41)	35.17(187.88)
67	ネオスピラマイシン	70.30(13.97)	7.79(244.95)	53.06(29.25)	20.37(213.31)

網かけ部分は回収率 70~120%の範囲内で、かつ変動係数 30%未満（濃度 0.01ppm の試料）または 20%未満（濃度 0.1ppm の試料）を満足する結果である。

表-5 試買調査結果

No	分析対象化合物名	A店舗購入品		B店舗購入品		C店舗購入品	
		鶏卵	うずら卵	鶏卵	うずら卵	牛スネ	牛もも肉
1	リンコマイシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
2	スルファセタミド	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
3	ダノフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
4	キシラジン	—	—	—	—	不検出	不検出
5	クレンブテロール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
6	ピリメタミン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
7	トリクロルホン	—	—	—	—	不検出	不検出
8	チルミコシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
9	チアムリン	—	—	—	—	不検出	不検出
10	フレドニゾロン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
11	ヒドロコルチゾン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
12	デキサメタゾン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
13	エマメクチンB1	—	—	—	—	不検出	不検出
14	ファミフル(ファンフル)	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
15	フェノブカルブ	—	—	—	—	不検出	不検出
16	テメホス(アパテ)	—	—	—	—	—	—
17	アレスリン	—	—	—	—	—	—
18	モネンジン	—	—	—	—	—	—
19	フルルフェニコール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
20	2-アセチルアミノ-5-ニコチンアゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
21	クロルスロン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
22	5-フロピルシルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
23	レバミゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
24	チアベンダゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
25	トリメトプリム	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
26	スルファジアジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
27	オルメトプリム	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
28	スルファチアゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
29	スルファピリジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
30	スルファミラジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
31	チアンフェニコール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
32	スルファジミジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
33	スルファメトキシピリダジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
34	スルファモノメトキシ	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
35	スルファクロルピリダジン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
36	スルファメキサゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
37	スルファドキシ	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
38	エトバベート	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
39	スルファキノキサリン	不検出	不検出	不検出	不検出	—	—
40	スルファジメトキシ	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
41	スルファニトラン	—	—	—	—	不検出	不検出
42	β-トレンボロン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
43	α-トレンボロン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
44	メレンゲストロールアセテート	—	—	—	—	—	—
45	ゼラノール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
46	オキシテトラサイクリン	—	—	—	—	不検出	不検出
47	テトラサイクリン	—	—	—	—	—	—
48	クロルテトラサイクリン	—	—	—	—	—	—
49	フルベンダゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	—	—
50	オキソリニック酸	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
51	ナイカルバジン	—	—	—	—	—	—
52	エンロフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
53	ジクラズリル	—	—	—	—	—	—
54	オフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
55	サラフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
56	ジフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
57	ナリジクス酸	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
58	ピロミド酸	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
59	クロビドール	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
60	クロサンテル	—	—	—	—	—	—
61	ノルフロキサシン	—	—	—	—	不検出	不検出
62	シフロフロキサシン	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出	不検出
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	不検出	不検出	不検出	不検出	—	—
64	ピオアレスリン	—	—	—	—	—	—
65	89Z-エマメクチン安息香酸塩	—	—	—	—	不検出	不検出
66	スピラマイシン	—	—	—	—	—	—
67	ネオスピラマイシン	—	—	—	—	—	—

表中の「—」は妥当性評価確認にてガイドラインの目標値を満たすことのできなかった化合物を表す。

V まとめ

- 1) LC-MS/MS を用いた一斉分析法及びオキシテトラサイクリン法により、牛筋肉（スネ）及び食鳥卵（鶏卵）を対象品として動物用医薬品 67 化合物（代謝物 5 化合物を含む）を各 0.01ppm 及び各 0.1ppm 添加し併行精度の確認を実施した結果、牛スネ 54 化合物、鶏卵 50 化合物がガイドラインに示されている回収率 70～120%かつ変動係数 15%未満 (0.1ppm) 又は 25%未満 (0.01ppm) の条件を満たすことができた。また、同様に室内精度の確認を実施した結果、牛スネ 52 化合物、鶏卵 46 化合物がガイドラインに示されている回収率 70～120%かつ変動係数 20%未満 (0.1ppm) 又は 30%未満 (0.01ppm) の条件を満たすことができた。
- 2) 市内に流通している国内産の牛スネ、牛もも肉各 1 検体、鶏卵、うずら卵各 2 検体計 6 検体を購入し、動物用医薬品調査を実施した。妥当性評価試験において、併行精度及び室内精度ともにガイドラインの目標値を満たした化合物（筋肉部位 52 化合物、食鳥卵 46 化合物）について、検出された動物用医薬品はなかった。

VI 参考文献等

- 1) 厚生労働省ホームページ 輸入食品の安全を守るために
<http://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/tp0130-1.html>
- 2) 厚生労働省ホームページ 食品安全情報
平成 9～18 年度 畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査結果
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/monitorring/index.html>
- 3) 「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」
(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 19 年 11 月 15 日 食安発第 1115001 号)
- 4) 「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」
(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 22 年 12 月 24 日 食安発第 1224 第 1 号)
- 5) 「食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」
(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 17 年 11 月 29 日 食安発第 1129002 号)
- 6) 佐藤浩他：横須賀市健康安全科学センター年報 第 9 号 (2006) ～第 13 号 (2010)
「市内に流通している養殖魚介類中の残留有害物質調査」
- 7) 加藤秀樹：横須賀市健康安全科学センター年報 第 14 号 (2011) ～第 17 号 (2014)
「市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査」

市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査（平成23～27年度）

加藤 秀樹

I はじめに

食の安心・安全を担保する科学的な情報を得るために、平成18年度より5ヶ年の調査研究事業として「市内に流通している養殖魚介類中の有害物質調査」を実施した。調査結果から、残留動物用医薬品と有害金属類について、市内に流通する養殖魚介類の安全性を確認することができた。引き続き、平成23年度からは調査対象を食肉、肝臓及び食鳥卵として、「市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査」を5カ年の調査研究事業として実施したので結果を報告する。また、平成22年度に策定された「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」¹⁾²⁾（以下、「ガイドライン」という。）に基づき、妥当性評価確認試験を行ったので併せて報告する。

II 調査方法

1 調査期間

平成23～27年度（5年間）

2 調査対象（試買品）

表-1 市内に流通している畜産物（国内産）

H23年度	H24年度	H25年度	H26年度	H27年度
豚筋肉 ロース		豚筋肉 もも肉		牛筋肉 スネ
ヒレ		豚肝臓 レバー		もも肉
鶏筋肉 ササミ		鶏筋肉 もも肉		鶏卵
胸肉		鶏肝臓 レバー		うずら卵

豚筋肉、豚肝臓、鶏筋肉及び鶏肝臓 各4検体 計32検体

牛筋肉 各1検体 計2検体

食鳥卵 各2検体 計4検体

3 調査品目

動物用医薬品 62化合物、代謝物 5化合物

4 試験方法等

1) 一斉分析法

厚生労働省より通知された「HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法I（畜水産物）」³⁾（以下「一斉試験法I」という。）及び既報⁴⁾の方法を参考に実施した。

2) オキシテトラサイクリン法

通知法「オキシテトラサイクリン、クロルテトラサイクリン及びテトラサイクリン試験法」及び既報の方法を参考に実施した。

5 妥当性評価試験

ガイドラインに基づき、4 1)及び2)の試験法について試料1gにつき、各標準品を

それぞれ 0.01、0.1 μg 添加した。また、妥当性評価試験を実施するにあたり、試料として使用する畜産物は測定対象の動物用医薬品が含まれていないブランク試料であることを確認した。

1) 併行精度

それぞれの濃度の試料について、5 併行の試験を実施した。

2) 室内精度

それぞれの濃度の試料について、1 日 1 回 (2 併行)、5 日間の試験を実施した。

III 調査結果及び考察

1 妥当性評価試験

併行精度と室内精度のそれぞれについて、67 化合物 (代謝物 5 化合物を含む) を測定対象として一斉分析法とオキシテトラサイクリン法を実施し、ガイドラインに示されている真度及び精度の目標値を満たすことができた項目数を表-2 に示した。

表-2 測定可能項目数

	豚もも肉	豚レバー	鶏ささみ	鶏もも肉	鶏レバー	牛スネ	鶏卵
併行精度	43	39	48	53	35	54	50
室内精度	45	37	40	50	27	52	46
測定可能	43	37	39	50	26	52	46

2 調査結果

市内に流通している国内産の畜産物を調査対象品とし、妥当性評価試験において、併行精度の目標値と室内精度の目標値をそれぞれ 2 つの濃度ですべて満たすことができた化合物を測定対象とした。妥当性確認を実施していない牛もも肉とうずら卵については、それぞれ牛スネと鶏卵の妥当性評価試験の結果を適用して調査を行った。その結果、表-3-1~3 に示すとおり、調査において検出された化合物はなかった。

表3-1 調査結果（豚筋肉、豚肝臓）

No	分析対象化合物名	豚			
		ロース	ヒレ	もも肉	レバー
1	リンコマイシン	0/4	—	0/4	0/4
2	スルファセタミド	—	—	0/4	—
3	ダノフロキサシン	—	—	—	0/4
4	キシラジン	—	—	—	—
5	クレンプテロール	—	0/4	0/4	0/4
6	ピリメタミン	—	—	0/4	—
7	トリクロルホン	0/4	0/4	0/4	0/4
8	チルミコシン	0/4	0/4	0/4	0/4
9	チアムリン	0/4	0/4	0/4	0/4
10	プレドニゾロン	0/4	—	0/4	0/4
11	ヒドロコルチゾン	—	0/4	—	0/4
12	デキサメタゾン	0/4	0/4	0/4	0/4
13	エマメクチンB1	0/4	—	0/4	—
14	ファミフル(ファンフル)	0/4	—	0/4	0/4
15	フェノブカルブ	—	—	—	—
16	テメホス(アバテ)	—	—	—	—
17	アレスリン	—	—	—	—
18	モネンシン	—	—	—	—
19	フロルフェニコール	0/4	0/4	0/4	0/4
20	2-アセチルアミノ-5-ニトロアゾール	—	—	0/4	0/4
21	クロルスロン	—	—	—	—
22	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	0/4	—	0/4	0/4
23	レバミゾール	0/4	0/4	0/4	0/4
24	チアベンダゾール	—	—	0/4	0/4
25	トリメトプリム	0/4	0/4	0/4	0/4
26	スルファジアジン	0/4	0/4	0/4	—
27	オルメトプリム	—	0/4	0/4	0/4
28	スルファチアゾール	—	—	0/4	0/4
29	スルファピリジン	—	—	0/4	0/4
30	スルファメラジン	—	0/4	0/4	—
31	チアンフェニコール	—	—	—	0/4
32	スルファジミジン	0/4	0/4	0/4	0/4
33	スルファメキシピリダジン	—	—	0/4	0/4
34	スルファモノメキシシン	—	0/4	0/4	—
35	スルファクロルピリダジン	—	—	0/4	—
36	スルファメキサゾール	0/4	0/4	0/4	—
37	スルファドキシシン	0/4	0/4	0/4	—
38	エトパベート	0/4	0/4	0/4	0/4
39	スルファキノキサリン	—	—	0/4	—
40	スルファジメトキシシン	0/4	—	0/4	—
41	スルファニトラン	—	—	—	0/4
42	β-トレンボロン	0/4	—	—	0/4
43	α-トレンボロン	—	—	—	0/4
44	メレンゲストロールアセテート	—	—	—	—
45	ゼラノール	—	—	0/4	0/4
46	オキシテトラサイクリン	0/4	0/4	0/4	0/4
47	テトラサイクリン	0/4	—	—	0/4
48	クロルテトラサイクリン	—	—	—	—
49	フルベンダゾール	—	—	0/4	—
50	オキシリニック酸	0/4	0/4	0/4	0/4
51	ナイカルバジン	—	—	—	—
52	エンロフロキサシン	—	—	—	0/4
53	ジクラズリル	—	—	—	—
54	オフロキサシン	0/4	0/4	0/4	0/4
55	サラフロキサシン	—	—	0/4	—
56	ジフロキサシン	0/4	0/4	0/4	0/4
57	ナリジクス酸	0/4	0/4	—	0/4
58	ピロミド酸	—	—	0/4	0/4
59	クロビドール	—	0/4	0/4	0/4
60	クロサンテル	—	—	—	—
61	ノルフロキサシン	—	—	—	—
62	シプロフロキサシン	—	—	—	—

No	分析対象化合物名	豚			
		ロース	ヒレ	もも肉	レバー
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	—	—	—	0/4
64	ビオアレスリン	—	—	—	—
65	89Z-エマメクチン安息香酸塩	0/4	—	0/4	—
66	スピラマイシン	—	—	0/4	—
67	ネオスピラマイシン	—	—	0/4	—

※表中の“0/4”は“検出数/検体数”を表す。

表3-2 調査結果（鶏筋肉、鶏肝臓）

No	分析対象化合物名	鶏			
		ささみ	胸肉	もも肉	レバー
1	リンコマイシン	0/4	0/4	0/4	0/4
2	スルファセタミド	—	—	0/4	—
3	ダノフロキサシン	—	—	—	0/4
4	キシラジン	0/4	—	0/4	—
5	クレンプテロール	0/4	0/4	0/4	—
6	ピリメタミン	—	—	0/4	—
7	トリクロルホン	0/4	0/4	0/4	0/4
8	チルミコシン	0/4	0/4	0/4	0/4
9	チアムリン	0/4	0/4	0/4	—
10	ブレドニゾロン	0/4	0/4	0/4	—
11	ヒドロコルチゾン	—	0/4	0/4	—
12	デキサメタゾン	0/4	0/4	0/4	0/4
13	エマメクチンB1	0/4	0/4	0/4	—
14	ファミフル(ファンフル)	0/4	—	0/4	—
15	フェノブカルブ	—	—	—	—
16	テメホス(アパテ)	—	—	—	—
17	アレスリン	—	—	—	—
18	モネンシン	—	—	—	—
19	フロルフェニコール	0/4	0/4	0/4	0/4
20	2-アセチルアミノ-5-クロチアゾール	—	—	—	—
21	クロルスロン	—	—	0/4	—
22	5-プロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	0/4	0/4	0/4	—
23	レバミゾール	0/4	0/4	0/4	0/4
24	チアベンダゾール	—	—	0/4	—
25	トリメプリム	0/4	0/4	0/4	0/4
26	スルファジアジン	0/4	0/4	0/4	0/4
27	オルメプリム	0/4	—	0/4	0/4
28	スルファチアゾール	0/4	0/4	0/4	—
29	スルファピリジン	0/4	0/4	0/4	0/4
30	スルファメラジン	0/4	0/4	0/4	0/4
31	チアンフェニコール	—	—	0/4	0/4
32	スルファジミジン	0/4	0/4	0/4	0/4
33	スルファメキシピリダジン	0/4	0/4	0/4	0/4
34	スルファモノメキシシン	0/4	0/4	0/4	0/4
35	スルファクロルピリダジン	—	—	0/4	0/4
36	スルファメキサゾール	0/4	0/4	0/4	0/4
37	スルファドキシシン	0/4	0/4	0/4	0/4
38	エトパベート	0/4	0/4	0/4	0/4
39	スルファキノキサリン	0/4	—	0/4	—
40	スルファジメトキシシン	0/4	0/4	0/4	—
41	スルファニトラン	—	—	0/4	—
42	β-トレンボロン	0/4	0/4	0/4	—
43	α-トレンボロン	—	—	0/4	—
44	メレンゲストロールアセテート	—	—	—	—
45	ゼラノール	0/4	—	0/4	—
46	オキシテトラサイクリン	0/4	0/4	0/4	0/4
47	テトラサイクリン	0/4	0/4	0/4	0/4
48	クロルテトラサイクリン	0/4	0/4	—	—
49	フルベンダゾール	—	—	—	—
50	オキシソリニック酸	0/4	0/4	0/4	0/4

No	分析対象化合物名	鶏			
		ささみ	胸肉	もも肉	レバー
51	ナイカルバジン	—	—	—	—
52	エンロフロキサシン	0/4	0/4	0/4	—
53	ジクラズリル	—	—	—	—
54	オフロキサシン	0/4	0/4	0/4	—
55	サラフロキサシン	—	—	0/4	—
56	ジフロキサシン	0/4	0/4	0/4	0/4
57	ナリジクス酸	0/4	0/4	0/4	—
58	ピロミド酸	—	—	0/4	—
59	クロピドール	0/4	0/4	0/4	0/4
60	クロサンテル	—	—	—	—
61	ノルフロキサシン	—	—	—	—
62	シプロフロキサシン	—	—	—	—
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	—	—	0/4	0/4
64	ピオアレスリン	—	—	—	—
65	89Z-エマメクチン安息香酸塩	0/4	0/4	0/4	—
66	スピラマイシン	—	—	—	—
67	ネオスピラマイシン	—	—	—	—

※表中の“0/4”は“検出数/検体数”を表す。

表3-3 調査結果（牛筋肉、食鳥卵）

No	分析対象化合物名	牛		鶏卵	うずら卵
		スネ	もも肉		
1	リンコマイシン	0/1	0/1	0/2	0/2
2	スルファセタミド	0/1	0/1	0/2	0/2
3	ダノフロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
4	キシラジン	0/1	0/1	—	—
5	クレンプテロール	0/1	0/1	0/2	0/2
6	ピリメタミン	0/1	0/1	0/2	0/2
7	トリクロルホン	0/1	0/1	—	—
8	チルミコシン	0/1	0/1	0/2	0/2
9	チアムリン	0/1	0/1	—	—
10	ブレドニゾロン	0/1	0/1	0/2	0/2
11	ヒドロコルチゾン	0/1	0/1	0/2	0/2
12	デキサメタゾン	0/1	0/1	0/2	0/2
13	エマメクチンB1	0/1	0/1	—	—
14	ファミール(ファンフル)	0/1	0/1	0/2	0/2
15	フェノブカルブ	0/1	0/1	—	—
16	テメホス(アバテ)	—	—	—	—
17	アレスリン	—	—	—	—
18	モネンシン	—	—	—	—
19	フロルフエニコール	0/1	0/1	0/2	0/2
20	2-アセチルアミノ-5-ニコチアゾール	0/1	0/1	0/2	0/2
21	クロルスロン	0/1	0/1	0/2	0/2
22	5-β-ピロピルスルホニル-1H-ベンズイミダゾール-2-アミン	0/1	0/1	0/2	0/2
23	レバミゾール	0/1	0/1	0/2	0/2
24	チアベンダゾール	0/1	0/1	0/2	0/2
25	トリメトプリム	0/1	0/1	0/2	0/2
26	スルファジアジン	0/1	0/1	0/2	0/2
27	オルメトプリム	0/1	0/1	0/2	0/2
28	スルファチアゾール	0/1	0/1	0/2	0/2
29	スルファピリジン	0/1	0/1	0/2	0/2
30	スルファメラジン	0/1	0/1	0/2	0/2
31	チアンフェニコール	0/1	0/1	0/2	0/2
32	スルファジミジン	0/1	0/1	0/2	0/2
33	スルファメトキシピリダジン	0/1	0/1	0/2	0/2
34	スルファモノメトキシ	0/1	0/1	0/2	0/2
35	スルファクロルピリダジン	0/1	0/1	0/2	0/2
36	スルファメトキサゾール	0/1	0/1	0/2	0/2
37	スルファドキシ	0/1	0/1	0/2	0/2
38	エトパベート	0/1	0/1	0/2	0/2

No	分析対象化合物名	牛		鶏卵	うずら卵
		スネ	もも肉		
39	スルファキノキサリン	—	—	0/2	0/2
40	スルファジメトキシシ	0/1	0/1	0/2	0/2
41	スルファニトラ	0/1	0/1	—	—
42	β-トレンボロン	0/1	0/1	0/2	0/2
43	α-トレンボロン	0/1	0/1	0/2	0/2
44	メレンゲストールアセテート	—	—	—	—
45	ゼラノール	0/1	0/1	0/2	0/2
46	オキシテトラサイクリン	0/1	0/1	—	—
47	テトラサイクリン	—	—	—	—
48	クロルテトラサイクリン	—	—	—	—
49	フルペンダゾール	—	—	0/2	0/2
50	オキシロニック酸	0/1	0/1	0/2	0/2
51	ナイカルバジン	—	—	—	—
52	エンフロロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
53	ジクラズリル	—	—	—	—
54	オフロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
55	サラフロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
56	ジフロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
57	ナリジクス酸	0/1	0/1	0/2	0/2
58	ピロミド酸	0/1	0/1	0/2	0/2
59	クロピドール	0/1	0/1	0/2	0/2
60	クロサンテル	—	—	—	—
61	ノルフロキサシン	0/1	0/1	—	—
62	シプロフロキサシン	0/1	0/1	0/2	0/2
63	5-ヒドロキシチアベンダゾール	—	—	0/2	0/2
64	ビオアレスリン	—	—	—	—
65	89Z-エマメクテン安息香酸塩	0/1	0/1	—	—
66	スピラマイシン	—	—	—	—
67	ネオスピラマイシン	—	—	—	—

※表中の“0/1”及び“0/2”はそれぞれ“検出数/検体数”を表す。

IV まとめ

- 1) 平成 23～27 年度に畜産物中の動物用医薬品について妥当性評価試験を行ったところ、添加した 67 化合物中（代謝物 5 化合物を含む）豚もも肉 43 化合物、豚レバー 37 化合物、鶏ささみ 39 化合物、鶏もも肉 50 化合物、鶏レバー 26 化合物、牛スネ 52 化合物及び鶏卵 46 化合物がガイドラインの目標値を満たすことができた。
- 2) 市内に流通している国内産の畜産物を購入し、残留動物用医薬品調査を実施した。妥当性評価試験において併行精度及び室内精度ともにガイドラインの目標値を満たした化合物を対象として調査を行ったところ、5 年間で検出された動物用医薬品はなかった。
- 3) 5 年間の調査により、市内に流通している国内産の畜産物の安全を確認することができたため、本調査は平成 27 年度で終了する。

V 参考文献等

- 1) 「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」
（厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 19 年 11 月 15 日 食安発第 1115001 号）
- 2) 「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」
（厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 22 年 12 月 24 日 食安発第 1224 第 1 号）
- 3) 「食品中に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法」
（厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 17 年 11 月 29 日 食安発第 1129002 号）
- 4) 加藤秀樹：横須賀市健康安全科学センター年報 第 14 号 (2011)～第 17 号 (2014)
「市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査」

PCR 法によるクラミジア抗原検査の構築

山口 純子、天野 肇

I はじめに

クラミジアに由来する感染症には *Chlamydia trachomatis* (以下 *C. trachomatis*) が病原体であるトラコーマ・性器クラミジア感染症、*Chlamydothila psittaci* (以下 *C. psittaci*) が病原体であるオウム病および *Chlamydothila pneumoniae* (以下 *C. pneumoniae*) が病原体であるクラミジア肺炎がある。その中で *C. trachomatis* を原因とする性器クラミジア感染症は、我が国で最も多い性感染症であり、5 類感染症として性感染症定点からの報告が義務付けられている。また、妊婦検診においては正常妊婦の 3~5% にクラミジア保有者がみられることから自覚症状のない感染者はかなりいるものと推測されている。¹⁾

横須賀市では平成 26 年度まで性感染症に関する特定感染症予防指針に基づいて、保健所の匿名検査として *C. trachomatis* 抗体検査を行ってきた。しかし、抗体検査では、感染初期の不検出期間や治療・治癒の判断が困難などの問題があった。よって、平成 28 年度から感染と関連の高い抗原検査として PCR 法の導入を予定しているが、検体が子宮頸部拭い液(女性)と初尿(男性)であるため、抗体検査の保存検体(血清)では検討ができない。そこで、平成 27 年度は子宮頸部拭い液(女性)と初尿(男性)を検体としてイムノクロマト法による抗原検査を実施することとし、同検体および長野市保健所環境衛生試験所より分与された *C. trachomatis* 陽性の臨床検体、ATCC 2 株 (*C. trachomatis*、*C. pneumoniae*) を用いて PCR 法の導入に向けた感度・特異性などの検討を行ったので報告する。

II 調査材料

- 1 長野市保健所環境衛生試験所より分与された *C. trachomatis* 陽性の臨床検体 6 件(尿 2 件 No. 107、130、子宮頸部拭い液 4 件 No. 105、115、120、137)。
- 2 *C. trachomatis* の ATCC 株 (VR-885 serovarD)、*C. pneumoniae* の ATCC 株 (VR-1310)。
- 3 平成 27 年 4 月から平成 28 年 3 月までに性感染症検査の依頼で *C. trachomatis* 抗原検査をした 120 件のうち、問診で既往歴ありと申告のあった臨床検体 17 件(尿 6 件、子宮頸部拭い液 11 件)、同臨床検体 17 件(血清)。

III 試薬

クラミジア抗原検査キット：クリアビュークラミジア(アリアーアメディカル株式会社)
クラミジア抗体検査キット：ヒタザイムクラミジア(日立化成株式会社)
DNA 抽出キット：QIAmp DNA Mini Kit (株式会社キアゲン)
DNA 精製キット：DNA 精製キット I (株式会社ベックス)
PCR 試薬：EX Taq (タカラバイオ株式会社)

IV 調査方法

1 PCR 反応の特異性

1) 材料

- ①長野市保健所環境衛生試験所より分与された臨床検体 6 件
- ② *C. trachomatis* の ATCC 株 (VR-885 serovarD)

③ *C. pneumoniae* の ATCC 株 (VR-1310)

2) DNA 抽出

臨床検体は直接、ATCC 株は HeLa229 細胞に接種した培養液を市販の DNA 抽出キットにより DNA を抽出した。

3) PCR 反応

性器クラミジア感染症検査マニュアル、オウム病検査マニュアル、肺炎クラミジア感染症検査マニュアル(平成 15 年)および Messmer TD, et al.: Application of a nested, multiplex PCR to psittacosis outbreaks. J Clin Microbiol. 35:2043-2046, 1997 に準じて行った。

PC は平成 21 年に国立感染症研究所ウイルス第一部第五室より分与されたものを使用した。

① プライマー

表 1 *C. trachomatis* 検出プライマー

<i>C. trachomatis</i>	塩基配列	増幅産物	備考
CTM1	5'-TTGCGATCCTTGACCACTT-3'	750 bp	1st PCR
CTM8	5'-GCTCGAGACCATTTAACTCC-3'		
CTM4	5'-GGTGACTTTGTTTTGCACCG-3'	680 bp	Nested PCR
CTM7	5'-CTCCAATGTAGGGAGTGAAC-3'		

表 2 *C. psittaci* 検出プライマー

<i>C. psittaci</i>	塩基配列	増幅産物	備考
C. psi 1st-F	5'-ACGGAATAATGACTTCGG-3'	436 bp	1st PCR
C. psi 1st-R	5'-TACCTGGTACGCTCAATT-3'		
C. psi 2nd-F	5'-ATAATGACTTCGGTTGTTATT-3'	127 bp	Nested PCR
C. psi 2nd-R	5'-TGTTTTAGATGCCTAAACAT-3'		

表 3 *C. pneumoniae* 検出プライマー

<i>C. pneumoniae</i>	塩基配列	増幅産物	備考
53-1	5'-ATGATCGCGGTTTCTGTTGCCA-3'	499 bp	1st PCR
53-2	5'-GAGCGACGTTTTGTTGCATCTC-3'		
53-3	5'-TGTCCAAGCGGTGAAACAAG-3'	239 bp	Nested PCR
53-4	5'-CAACCGTGACCCATTTACTG-3'		

② PCR 反応液

Nested PCR は 1st PCR の産物を DNA 精製キットにより精製し、Template DNA は 1.0 μl 使用する。

表 4 PCR 反応液の組成

	1st	Nested	最終濃度
10× Ex Taq Buffer (Mg ²⁺ 20mM)	5.0 μl	5.0 μl	Mg ²⁺ 2.0 mM
dNTP Mixture (2.5mM each)	5.0 μl	5.0 μl	0.25mM
Forward primer (100 μM)	0.25 μl	0.25 μl	0.5 μM
Reverse primer (100 μM)	0.25 μl	0.25 μl	0.5 μM
Ex Taq (5U/μl)	0.25 μl	0.25 μl	1.25 U
DDW	29.25 μl	38.25 μl	
Template DNA	10.0 μl	1.0 μl	
Total	50.0 μl	50.0 μl	

③PCR 反応条件

C. trachomatis の Nested PCR のみ 25 cycle、他は 1st PCR、Nested PCR とともに同じ cycle 数である。

表 5 PCR 反応条件

	<i>C. trachomatis</i>	<i>C. psittaci</i>	<i>C. pneumoniae</i>
前熱変性	94°C 3分	95°C 2分	95°C 9分30秒
熱変性	94°C 20秒	94°C 1分	94°C 30秒
アニーリング	55°C 20秒 } 35cycle	55°C 30秒 } 35cycle	55°C 30秒 } 40cycle
伸長	72°C 30秒	72°C 1分	72°C 1分
最終伸長	72°C 5分	72°C 5分	72°C 5分
	4°C ∞	4°C ∞	4°C ∞

4) クラミジア抗原検査キット

HeLa229 細胞に接種した ATCC 株の培養液について、添付の説明書に従った。

2 PCR 反応の感度

1) 材料

- ①長野市保健所環境衛生試験所より分与された臨床検体 6 件
- ②*C. trachomatis* の ATCC 株 (VR-885 serovarD)
- ③平成 27 年度性感染症検査を行った臨床検体 17 件

2) DNA 抽出

臨床検体は直接、ATCC 株は HeLa229 細胞に接種した培養液を原液とし、その 10 倍希釈液を 7 段階まで作製し、各々の希釈液を市販の DNA 抽出キットにより DNA を抽出した。

3) PCR 反応

「1 PCR 反応の特異性」と同様に行った。

4) クラミジア抗原検査キット

PCR を行った 7 段階の希釈液について添付の説明書に従った。

3 PCR、クラミジア抗原および抗体検査キットの比較

1) 材料

平成 27 年度、性感染症検査を行った臨床検体 17 件

2) クラミジア抗原検査キット

添付の説明書に従った。

3) クラミジア抗体検査キット

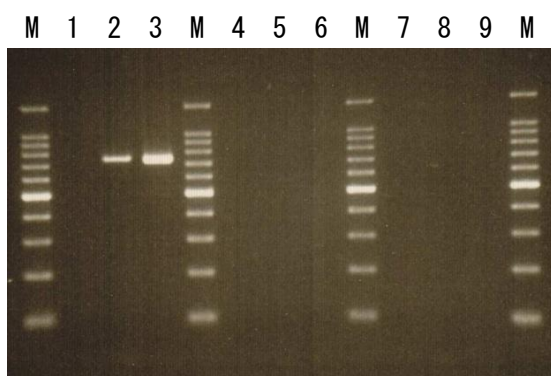
血清を用いて添付の説明書に従った。

V 結果

1 PCR 反応の特異性

1) *C. trachomatis* 検出プライマーによる各 PC の Nested PCR

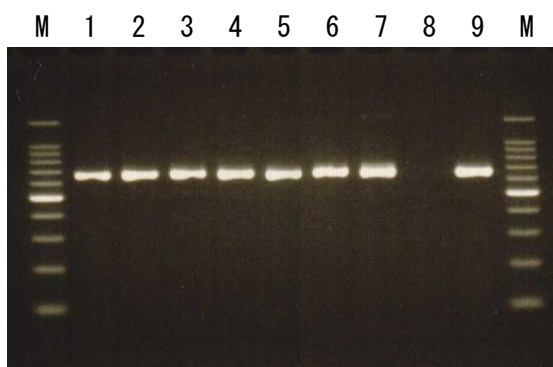
PC *C. trachomatis*(×100、×10,000)のみ 680bp のバンドが確認された。



1 : NC (蒸留水)
 2 : PC *C. trachomatis* ×100 (680bp)
 3 : PC *C. trachomatis* ×10,000
 4 : NC (蒸留水)
 5 : PC *C. psittaci* ×100
 6 : PC *C. psittaci* ×10,000
 7 : NC (蒸留水)
 8 : PC *C. pneumoniae* ×100
 9 : PC *C. pneumoniae* ×10,000
 M : サイズマーカー (100bp)

図1 各 PC の Nested PCR

2) *C. trachomatis* 検出プライマーによる臨床検体と ATCC 株 *C. trachomatis* の Nested PCR 臨床検体及び ATCC 株 *C. trachomatis* に 680bp のバンドが確認された。



1 : No. 105 (子宮頸部拭い液)
 2 : No. 107 (尿)
 3 : No. 115 (子宮頸部拭い液)
 4 : No. 120 (子宮頸部拭い液)
 5 : No. 130 (尿)
 6 : No. 137 (子宮頸部拭い液)
 7 : ATCC 株 *C. trachomatis*
 8 : NC (蒸留水)
 9 : PC (680bp)
 M : サイズマーカー (100bp)

図2 *C. trachomatis* 検出プライマーによる各検体の Nested PCR

3) *C. psittaci* 検出プライマーによる臨床検体と ATCC 株 *C. trachomatis* の Nested PCR 臨床検体及び ATCC 株 *C. trachomatis* とともにバンドは確認されなかった。



1 : No. 105 (子宮頸部拭い液)
 2 : No. 107 (尿)
 3 : No. 115 (子宮頸部拭い液)
 4 : No. 120 (子宮頸部拭い液)
 5 : No. 130 (尿)
 6 : No. 137 (子宮頸部拭い液)
 7 : ATCC 株 *C. trachomatis*
 8 : NC (蒸留水)
 9 : PC (127bp)
 M : サイズマーカー (100bp)

図3 *C. psittaci* 検出プライマーによる各検体の Nested PCR

- 4) *C. pneumoniae* 検出プライマーによる臨床検体と ATCC 株 *C. trachomatis* の 1st PCR
臨床検体 No. 105、115、120、130、137 に 499bp 付近のバンドが確認された。

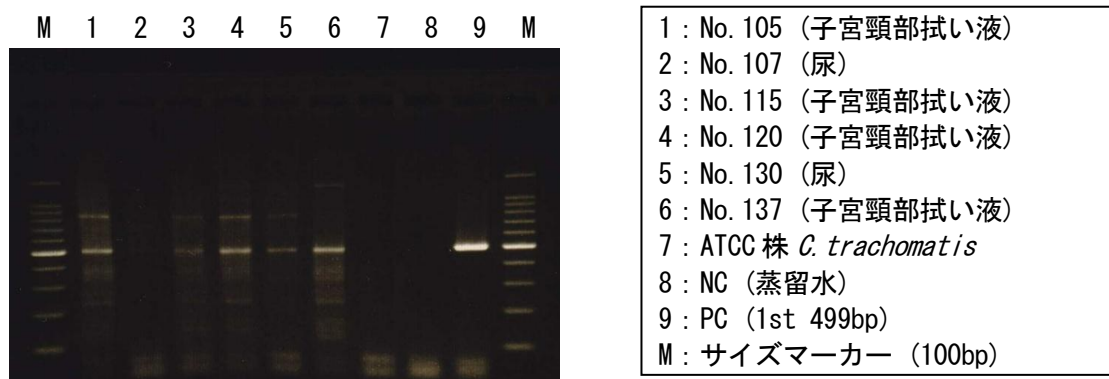


図 4 *C. pneumoniae* 検出プライマーによる各検体の 1st PCR

- 5) *C. pneumoniae* 検出プライマーによる臨床検体と ATCC 株 *C. trachomatis* の Nested PCR
臨床検体及び ATCC 株 *C. trachomatis* とともにバンドは確認されなかった。

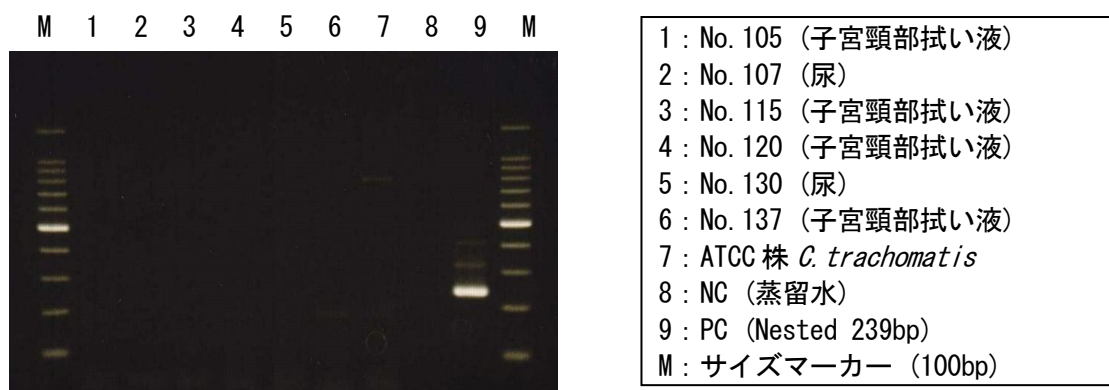


図 5 *C. pneumoniae* 検出プライマーによる各検体の Nested PCR

- 6) ATCC 株によるクラミジア抗原検査キット
ATCC 株 *C. trachomatis*、*C. pneumoniae* とともに陽性であった。

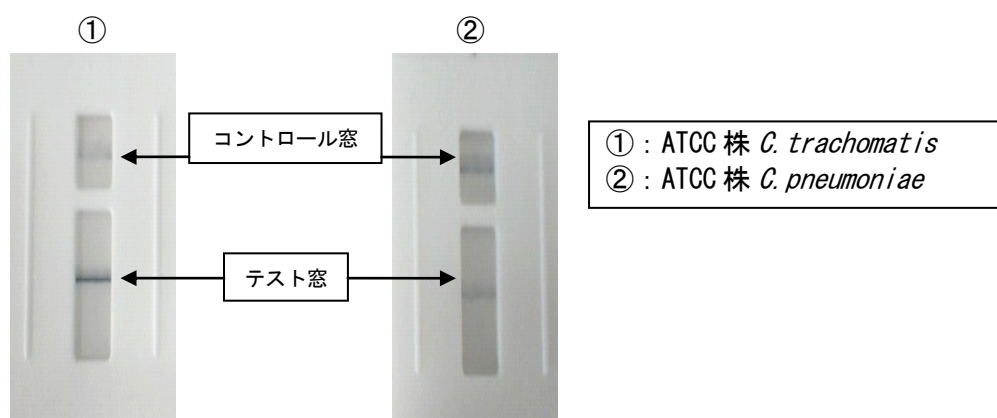


図 6 クラミジア抗原検査キット

- 7) *C. trachomatis* 検出プライマーによる ATCC 株 *C. pneumoniae* の Nested PCR
ATCC 株 *C. pneumoniae* はバンドが確認されなかった。

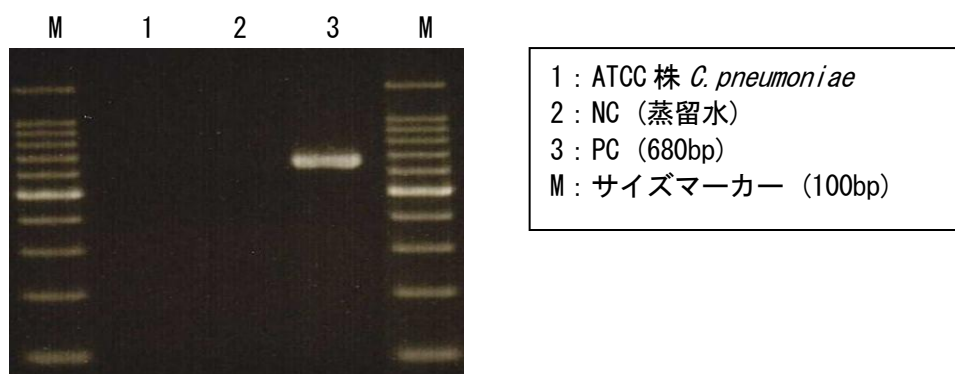


図 7 *C. trachomatis* 検出プライマーによる Nested PCR

2 PCR 反応の感度

- 1) *C. trachomatis* 検出プライマーによる臨床検体と ATCC 株 *C. trachomatis* の 1st, Nested PCR
①1st PCR

No. 107、115、120、130、137、ATCC 株 *C. trachomatis* は 750bp にバンドが確認できたが、No. 105 はバンドが確認できなかった。

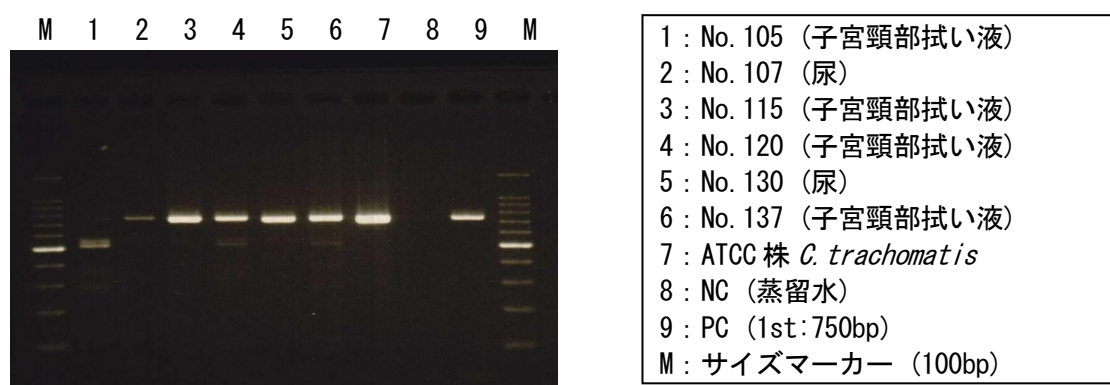


図 8 *C. trachomatis* 検出プライマーによる各検体の 1st PCR

②Nested PCR

すべての検体において 680bp のバンドが確認できた。(図 2)

- 2) ATCC 株 *C. trachomatis* の 7 段階の希釈液における Nested PCR とクラミジア抗原検査キットの比較

Nested PCR は 10^{-4} 、クラミジア抗原検査キットは 10^{-2} まで陽性が確認された。

表 6 Nested PCR と抗原検査キットの比較

培養液希釈倍数	Nested PCR	抗原検査キット
10^{-1}	+	+
10^{-2}	+	+
10^{-3}	+	-
10^{-4}	+	-
10^{-5}	-	-
10^{-6}	-	-
10^{-7}	-	-

3) クラミジア既往があると申告のあった臨床検体 17 件の Nested PCR とクラミジア抗原検査キットの陽性数

Nested PCR で子宮頸部拭い液から 1 件陽性が確認された。

表 7 Nested PCR と抗原検査キットの陽性数

材 料	件数	陽性数	
		Nested PCR	抗原検査キット
尿	6	0	0
子宮頸部拭い液	11	1	0
合 計	17	1	0

3 PCR、クラミジア抗原および抗体検査キットの比較

クラミジア既往があると申告のあった臨床検体 17 件の PCR、抗原および抗体検査キットの比較を行った。クラミジア抗体検査キットでは IgA、IgG 抗体ともに陽性(疑陽性含む)が 4 件あり、IgA 抗体のみ陽性が 1 件、IgG 抗体のみ陽性が 1 件であった。

表 8 PCR、抗原および抗体検査キット

番号	材料	PCR	抗原検査キット	抗体検査キット	
				IgA	IgG
1	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
2	尿	—	—	+	—
3	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
4	子宮頸部拭い液	+	—	+	+
5	尿	—	—	—	—
6	尿	—	—	—	—
7	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
8	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
9	子宮頸部拭い液	—	—	±	+
10	尿	—	—	—	—
11	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
12	子宮頸部拭い液	—	—	—	+
13	尿	—	—	—	—
14	子宮頸部拭い液	—	—	—	—
15	子宮頸部拭い液	—	—	+	+
16	子宮頸部拭い液	—	—	+	+
17	尿	—	—	—	—

VI 考察およびまとめ

1 PCR 反応の特異性

C. trachomatis 検出プライマーは *C. psittaci*、*C. pneumoniae* の PC には反応せず特異性が認められた。(図 1) また、長野市保健所環境衛生試験所より分与された臨床検体 6 件および ATCC 株 *C. trachomatis* においても *C. trachomatis* 検出プライマーによる陽性が確認できた。(図 2)

C. trachomatis 陽性の臨床検体および ATCC 株 *C. trachomatis* は *C. psittaci*、*C. pneumoniae* 検出プライマーには反応しなかったが(図 3、図 5)、*C. pneumoniae* 検出プライマーにおいては 1st PCR で陽性コントロールと同じ位の位置にバンドが見られる検体があった。(図 4) しかし、Nested PCR を行うことにより、それらのバンドはすべて見られなくなったため、Nested PCR での確認が必要と考えられる。

また、ATCC 株のクラミジア抗原検査キットを行ったところ、*C. pneumoniae* は *C. trachomatis*

同様にバンドが確認できた。(図6の②)このクラミジア抗原キットは免疫クロマトグラフ法の原理を応用して検体中の *C. trachomatis* 抗原を検出するとされているが、クラミジア属共通抗原(Lipopolysaccharide)に対するモノクローナル抗体を使用しているため、*C. trachomatis* のみならず *C. psittaci* や *C. pneumoniae* とも反応する。²⁾ よって、クラミジア抗原検査キットが陽性だった場合、*C. psittaci*、*C. pneumoniae* との鑑別ができない。しかし、ATCC 株 *C. pneumoniae* を *C. trachomatis* 検出プライマーによる PCR を行ったところ、目的の位置にバンドは確認できず、*C. trachomatis* は陰性であると判断することができた。(図7)

今回の結果から、*C. trachomatis* 検出プライマーによる PCR を行うことにより、検体中の *C. trachomatis* を特異的に検出することができ、またクラミジア抗原検査キットでは鑑別できなかった検体でも *C. trachomatis* を検出できることが確認できた。

2 PCR 反応の感度

C. trachomatis 検出プライマーによる 1st PCR で目的の位置にバンドが確認できない検体が1件あったが、Nested PCR を行うことにより目的の位置にバンドが確認できたため、Nested PCR の確認は必要である。(図8、図2) また、ATCC 株 *C. trachomatis* を HeLa229 細胞に接種し、その培養液を原液とし 10 倍希釈液を 7 段階まで作製し、PCR とクラミジア抗原検査キットの感度を比較したところ、PCR の方が 100 倍感度が高かった。(表6) また、クラミジアの既往歴があると申告のあった臨床検体 17 件についてクラミジア抗原検査キットはすべて陰性であったが、PCR では 1 件陽性が確認された。これは、PCR がクラミジア抗原検査キットより感度が高いことに起因すると推測される。³⁾(表7)

3 PCR、クラミジア抗原および抗体検査キットの比較

IgA、IgG 抗体ともに陽性(疑陽性含む)が 4 件、IgA 抗体のみ陽性が 1 件、IgG 抗体のみ陽性が 1 件あり、抗体検査の陽性率は 35% (6/17) であった。(表8) PCR による抗原検査の陽性率は 5.9% (1/17) と抗体検査の陽性率の約 1/6 であったが、この抗体検査陽性の検体は過去に感染したため陽性になったものである可能性が考えられる。

以上、今回検討した PCR 法は、特異性の高さより *C. psittaci*、*C. pneumoniae* との鑑別が可能であり、感度の高さより感染初期の無症状者に対しても有効であると考えられる。また、病原体遺伝子を検出することで検査時における感染の有無を明確にでき、よりの確な判断ができるようになる。これらのことにより、PCR 法によるクラミジア抗原検査について導入可能であることが確認できた。

VII 参考文献

- 1) IDWR 感染症発生動向調査週報「感染症の話」 2004 年第 8 週号
- 2) クラミジア抗原キット クリアビュークラミジア 添付文書
- 3) 静岡市環境保健研究所年報 第 25 号 平成 21 年度版 IV 調査研究
「性器クラミジアに対する抗原、抗体及び遺伝子検査の比較」

VIII 謝辞

本調査を行うに際して、*C. trachomatis* 陽性の臨床検体を分与して頂いた長野市保健所環境衛生試験所の岡村雄一郎先生に深謝いたします。

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*
排水中の「有機燐化合物」の検査における回収率の改善について	門松久美子	64
クロム及び溶解性鉄検査における抽出溶媒の検討	大家寿彦	…
GC-MS/MSによる水質事故等の農薬一斉分析について	工藤昭信	…
<i>E. faecalis</i> 及び <i>E. faecium</i> の菌種同定用 Multiplex PCR法について	片倉孝子	…
バンコマイシン耐性遺伝子とメチシリン耐性遺伝子の検査に関するPCR試薬組成及び増幅条件の変更の検討について	片倉孝子	…
「カルバペネム耐性グラム陰性桿菌検査マニュアル」の件について	片倉孝子	…
単純ヘルペス遺伝子検査の確認	山口純子	…
糞便からの <i>Kudoa septempunctata</i> 遺伝子検査法について	宍戸みずほ	66
レジオネラ属菌検査非選択培地追加使用の検討	古川美奈子	71
腸管出血性大腸菌0103、0121、0145検査法の検討結果について	進藤みちる	…
「黄色ブドウ球菌の試験法改定について」の検討について	進藤みちる	…
「リステリア・モノサイトゲネス定量試験法及び定性試験法」の検証について	進藤みちる	74
「サルモネラ属菌の試験法改正について」の検証について	進藤みちる	…

* 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

地方衛生研究所全国協議会の研究部会での発表報告、また、3月18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

番号	演題名	氏名
1	イオンクロマトグラフによるグリホサートおよびグルホシネートの測定について	工藤昭信
2	市内に流通している畜産物中の残留動物用医薬品調査	加藤秀樹
3	化学物質のリスクアセスメントについて	大家寿彦
4	感染症の流行と感染症法の改正及び感染症GLP	木村実千明
5	横須賀市におけるインフルエンザウイルス検出状況(平成26年度)	山口純子
6	仕出し弁当を原因とした黄色ブドウ球菌による食中毒について	金川治義
7	ヒラメからの <i>Kudoa septempunctata</i> 検査法(暫定)の検討	進藤みちる

排水中の「有機燐化合物」の検査における回収率の改善について

門松久美子

I はじめに

排水中の「有機燐化合物」の検査は、メチルジメトン、パラチオンメチル、パラチオン及びEPNの4成分が測定対象となる。当センターにおいて、4成分全体の平均回収率は評価の目安70～120%の範囲内（平成27年度平均80.2%）にあるものの、メチルジメトンの単独成分の回収率（平成27年度平均25.2%）はこの範囲を下回っている。

検査は「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」¹⁾（以下、環境庁告示64号という。）に基づいているが、その付表1の備考1に「有機燐（りん）化合物の抽出操作においてヘキサンの代わりにベンゼン又はジクロロメタンを用いることができる。」との表記がある。また、「下水試験方法 上巻 -2012年版-」²⁾第2編第2章第2節“1. パラチオン、メチルパラチオン、EPN及びメチルジメトン ガスクロマトグラフ法”の備考に「有機りん化合物の抽出操作において、ヘキサンによる抽出では、メチルジメトンの抽出率が低いので、酢酸エチル（ベンゼン又はジクロロメタン）を用いるのが良い。」と表記されており、メチルジメトンの低い回収率は、抽出溶媒の選択が原因のひとつと推察できる。

そこで、ベンゼン及びジクロロメタンのような排水規制項目ではない酢酸エチルを使用した場合の抽出段階での回収率の改善及びヘキサンを使用した場合の濃縮段階での回収率改善について検討したので、その結果を報告する。

II 方法

1 抽出段階における回収率

300mL 分液ロートに蒸留水を 200mL 入れ、この中に有機燐化合物混合標準液（各 10mg/L アセトン溶液）を 400 μ L 添加し、塩化ナトリウム、1N 塩酸を加え、溶媒で抽出する。溶媒層を数回水洗し、無水硫酸ナトリウムで脱水後、200mL メスフラスコに入れ、溶媒で定容する（最終濃度 0.02mg/L）。この溶液を GC-FPD に導入し、測定する。溶媒はヘキサン又は酢酸エチルとし、それ以外の操作は環境庁告示 64 号による。

2 濃縮段階における回収率

300mL ナスフラスコ 2 本にそれぞれヘキサン 135mL を入れ、うち 1 本にはアセトン 40mL を加える。それぞれに有機燐化合物混合標準液（各 1mg/L ヘキサン溶液）を 100 μ L 添加し、減圧濃縮する。その後、5mL メスフラスコに洗い移し、溶媒で定容する（最終濃度 0.02mg/L）。この溶液を GC-FPD に導入し、測定する。

3 装置及び測定条件

GC-FPD	GC-2010(島津製作所)
注入量	1 μ L
カラム	VF-5ms 30m×0.25mm×1.0 μ m(アジレント)
カラム温度	50°C(1.5min)→30°C/min→200°C→15°C/min→300°C(5min)
注入方法	スプリットレス(入口圧 249.8kPa、スプリット比 1:10)
気化室温度	250°C
検出器温度	325°C
キャリアガス	ヘリウム(カラム流量 4.60mL/min、パージ流量 3.0mL/min)
検出器	FPD(検出器ガス流量 H ₂ 80.0mL/min Air 120.0mL/min)

Ⅲ 結果および考察

1 抽出段階における回収率

抽出操作までの回収率を確認するため、各溶媒により抽出、抽出液の水洗、脱水まで実施した後定容したものについて GC-FPD により測定した結果を表 1 に示す。

表 1 抽出溶媒別の回収率 (%)

抽出溶媒	メチルジメトン	パラチオンメチル	パラチオン	EPN
ヘキサン	28.5	103	110	104
酢酸エチル	94.1	104	102	93.3

この結果より、ヘキサンをを用いた場合は抽出の段階で、すでにメチルジメトンの回収率が 30% 以下となっていることが分かった。一方、抽出溶媒を酢酸エチルに変えた場合は、メチルジメトンの抽出段階での回収率が 90% を超え、単独成分においても良好な回収率が得られた。

なお、酢酸エチルによる抽出操作の後、減圧濃縮を含めて一連の操作を行なった場合においても、回収率はメチルジメトン 93.0%、パラチオンメチル 107%、パラチオン 103%、EPN105% と良好であった。

2 濃縮段階における回収率

メチルジメトンの回収率は溶媒を酢酸エチルに変えることで改善されることが確認できた。一方、環境庁告示 64 号に従ってヘキサンを使用した場合、抽出段階で 30% 以下となる回収率が、濃縮段階で回収率がどのようになるか確認した結果を表 2 に示す。

なお、濃縮段階における回収率改善の方策として、濃縮前にアセトンを添加した場合の結果を併せて示す。

表 2 濃縮段階におけるアセトン添加による回収率改善

ヘキサン量 (mL)	135	135
アセトン量 (mL)	0	40
メチルジメトン回収率 (%)	0	60.5
パラチオンメチル回収率 (%)	96.5	96.5
パラチオン回収率 (%)	95.0	96.5
EPN回収率 (%)	93.0	94.0

濃縮時にヘキサンのみに混合標準液を添加した場合、メチルジメトンの回収率は 0% となったが、ヘキサンにアセトン 40mL を加えた場合には、メチルジメトンの回収率が 60.5% に改善した。ただし、結果の再現性は不十分で溶媒組成以外の要因も考えられるため、今後も濃縮時の条件を検討する必要がある。

Ⅳ まとめ

排水中の「有機燐化合物」の検査において、抽出溶媒をヘキサンから酢酸エチルに変えることにより、メチルジメトンの抽出回収率は 30% 以下から 90% 以上へと改善した。

一方、ヘキサンをを用いた場合は、抽出の段階のみならず、さらに濃縮の段階でメチルジメトンの回収率低下が認められるが、濃縮時にアセトンを添加することにより、濃縮段階でのメチルジメトンの損失を低減できることが示唆された。

Ⅴ 参考文献

- 1) 「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)
- 2) 「下水試験方法 上巻 -2012 年版-」
(公益社団法人日本下水道協会 平成 24 年 11 月 30 日発行)

糞便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検査法について

宍戸 みずほ

I はじめに

近年、ヒラメを生食した際に食後数時間程度で一過性の嘔吐、下痢等の症状を呈する事例が多く報告されている。平成23年6月、ヒラメに寄生するクドア属粘液胞子虫の一種である *Kudoa septempunctata* が食中毒病因物質として新たに追加された。

ヒラメの検査は、「*Kudoa septempunctata* の検査法について(暫定版)」(平成23年7月11日厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知)に基づいて実施されているところである。これまでの国内における食中毒事例から、ヒラメの体内に大量に胞子が含まれた場合に下痢や嘔吐などの症状を引き起こしやすいということが確認されている。

平成26年5月26日付け厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食中毒被害情報管理室より、「食中毒患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検査法(参考)について」事務連絡が出された。そこで、今回、この通知法及び神奈川県衛生研究所で行っている検査法を参考に糞便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検査法の検討を行った。

II 検査材料

- 1 予防検査の糞便に神奈川県衛生研究所より分与された *Kudoa septempunctata* の検出が確認されたヒラメ肉片を添加したもの(検体1)
- 2 1と同じ予防検査の糞便に上記ヒラメ肉片を添加しないもの(検体2)
- 3 国立医薬品食品衛生研究所よりヒラメの検査用に配布されている 1×10^9 コピー/ $1 \mu\text{l}$ の *Kudoa septempunctata* 18S rDNA を組み込んだ陽性コントロールプラスミド溶液(検体3)

III 検査方法

1 DNA抽出(検体1、2)

QIAGEN社 QIAamp DNA Stool Mini Kit を用い、以下の方法でDNA抽出した。

- ①糞便0.2g、ヒラメ肉片0.2gに等量の滅菌精製水を加えて攪拌する。
- ②200 μl を2ml チューブに採取する。
- ③Buffer ASL を1.4ml ずつ添加し、1分間ボルテックスする。
- ④70°Cで5分間加熱する。
- ⑤15秒間ボルテックス後、15000rpmで1分間遠心する。
- ⑥新しい2ml チューブに上清を1.2ml 採取し、ペレットを捨てる。
- ⑦Inhibit EX 錠1個を添加し、即座に1分間ボルテックス(錠剤が懸濁したことを確認)
- ⑧室温で1分間静置後、15000rpmで3分間遠心する。
- ⑨新しい1.5ml チューブに上清をすべて採取する。
- ⑩再度15000rpmで3分間遠心する。
- ⑪新しい1.5ml チューブにProteinase K を15 μl 分注しておき、これに上清を200 μl 添加する。
- ⑫さらにBuffer AL を200 μl 加え、15秒間ボルテックスし、軽くスピンドウンする。
- ⑬70°Cに10分間インキュベートし、終了後は軽くスピンドウンする。
- ⑭ライセートに100%EtOH を200 μl 添加し、ボルテックス後、軽くスピンドウンする。
- ⑮2ml コレクションチューブにスピнкаラムをセットし、ライセート全量をカラムに添加する。

- ⑯カラムのふたを閉じ、15000rpmで1分間遠心する。
 ⑰ろ液を捨て、スピнкаラムをコレクションチューブにセットする。
 ⑱カラムのふたを開け、Buffer AW1を500 µl添加し、15000rpmで1分間遠心する。
 ⑲ろ液を捨て、スピнкаラムをコレクションチューブにセットする。
 ⑳カラムのふたを開け、Buffer AW2を500 µl添加し、15000rpmで3分間遠心する。
 ㉑ろ液を捨て、スピнкаラムをコレクションチューブにセットし、再度遠心する。
 ㉒コレクションチューブを捨て、カラムを1.5mlチューブにセットする。
 ㉓カラムのメンブレンにBuffer AEを200µl添加し、室温で1分間静置する。
 ㉔15000rpmで1分間遠心し、回収した液をTemplate DNAとする。
- 2 リアルタイムPCRによる検出(検体1、2、3)
- ①リアルタイムPCR反応液の作成は表1のとおり。Probeのクエンチャーについては通知法のものではなく、BHQ(ブラックホールクエンチャー、シグマアルドリッチ社製)を使用する。
 ②リアルタイムPCRのwell配分は表2のとおり。
 ③PCR反応条件は、(95℃、30秒)×1サイクルの後、(95℃、5秒→60℃、31秒)×50サイクルで実施した。

表1 リアルタイムPCR反応液 (25 µl系)

	試薬	
1	精製水	9.4 µl
2	Premix EX Taq	12.5 µl
3	F - Primer (25 µM)	0.2 µl
4	R - Primer (25 µM)	0.2 µl
5	Probe (25 µM)	0.2 µl
6	Rox Reference Dye (50×)	0.5 µl
7	Sample	2 µl
8	合計	25 µl

F - Primer: CGGTCATATCAGCCATGGATAAC

R - Primer: CTATCGACAAATTAATGTTTCGATATGC

Probe: (6 - FAM) - TCACCATGTAAATGGTGGGAGCATTT - (BHQ)

表2 リアルタイムPCRのwell配分

機器: ABI 7900HT				
well	1	2	3	4
	検体1	検体2	検体3	NTC
A	糞便に <i>Kudoa septempunctata</i> の検出が確認されたヒラメ肉片を添加したもの	1と同じ糞便に左記ヒラメ肉片を添加しないもの	国立医薬品食品衛生研究所よりヒラメの検査用に配布されている陽性コントロール	陰性コントロール(精製水)

IV 結果

リアルタイム PCR の結果を図 1 に示す。

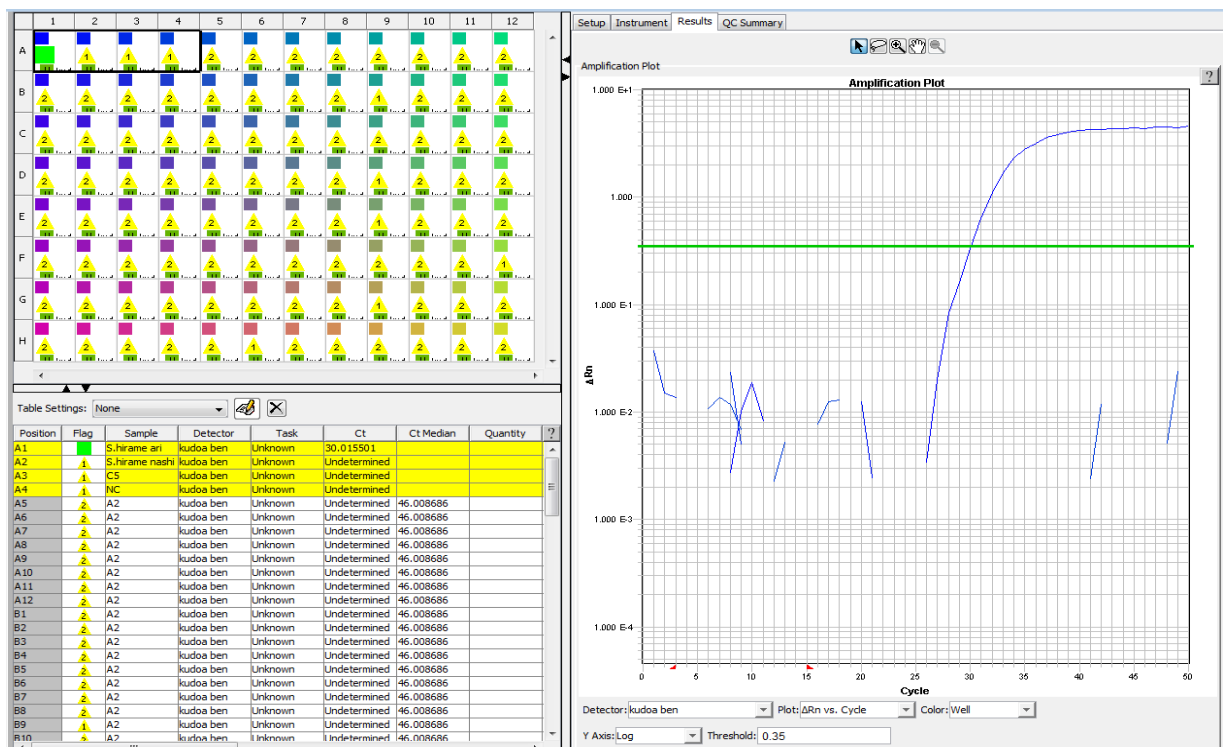


図 1 リアルタイム PCR の結果

Threshold line を 0.35 に設定し、Ct 値が 41 以下を示した検体を *Kudoa septempunctata* 遺伝子陽性と判定する。

検体 1 は Ct 値が 30 であり、*Kudoa septempunctata* 遺伝子陽性、検体 2 は増幅が認められず *Kudoa septempunctata* 遺伝子陰性を確認した。検体 3 は国立医薬品食品衛生研究所よりヒラメの検査用に配布された陽性コントロールであるため、ヒラメ検体の通知法では増幅されるが、糞便検査では増幅が認められず *Kudoa septempunctata* 遺伝子陰性であった。

V 考察及びまとめ

今回、糞便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子の検査法について検討を行った。

検討では、QIAGEN 社 QIAamp DNA Stool Mini Kit を用いて DNA 抽出を行い、DNA 抽出液から *Kudoa septempunctata* 遺伝子を検出した。今後、この DNA 抽出キットを使用する。また、Probe のクエンチャーについて、BHQ は蛍光を発しないダーククエンチャーであり、より感度の高い検査が可能となるため使用した。

食中毒患者便検体の通知法及びヒラメ検体の通知法で使用する Primer 及び Probe で増幅される特定の遺伝子領域は別紙 1 のとおり。国立医薬品食品衛生研究所よりヒラメの検査用に配布されている *Kudoa septempunctata* 18S rDNA を組み込んだ陽性コントロールプラスミド溶液は、国立医薬品食品衛生研究所に確認したところ GenBank Accession No. AB553293.2 の 306~1489 位の遺伝子領域であった。そのため、ヒラメの検査では陽性コントロールとして使用することができるが、糞便の検査では使用できない。

今後、糞便の検査の陽性コントロールは、今回の検査で作成した検体 1 の DNA 抽出液を使用する。保管については DNA 抽出液原液を数本に分け、そのうち 1 本を TE 溶液で 10~100 倍希釈し、約 10 μ l ずつ小分けして -80°C で保存し、1 テスト使い切りで使用する。

以上、検討の結果、当センターにおいて糞便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検査が実施可能となった。

VI 参考文献

- 1) 「食中毒患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検出法(参考)について」
厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課食中毒被害情報管理室事務連絡
平成 26 年 5 月 26 日
- 2) 「*Kudoa septempunctata* の検査法について(暫定版)」厚生労働省医薬食品局食品安全
部監視安全課長通知 平成 23 年 7 月 11 日 食安監発 0711 第 1 号

別紙 1

GenBank Accession No. AB553293. 2

LOCUS AB553293 1701 bp DNA linear INV 14-NOV-2011
 DEFINITION Kudoa septempunctata gene for 18S ribosomal RNA, partial sequence,
 specimen_voucher: NSMT:Pr257-261.
 ACCESSION [AB553293](#)
 VERSION AB553293. 2

食中毒患者便検体の通知法

ORIGIN

```

1 ggtcatatgc tcgtctcaaa gattaagc cta agttcacatc atttaaagat
61 gaaactgcga agcgctca gatta ttgtccgttc ggtcatatca gcatggata
121 actgtggtaa atctagagct aatacatagc aaatcacc atgtaaatgg tgggagcatt
181 tattagactg gaccaactgg cctcggccat ttgatgaatc ctaataactg agcatatcga
241 acattaattt gtcgatagtc cgatcgaatt tctgccctat gtgaggtagt
301 ggctcaccaa gttgtgacg ggtaacgggg gatcagggtt cgattccgga gagggagcct
361 gagaaacggc taccacatct aaggaaggca gcaggcgcgc aaattacca atccagactt
421 tgggaggtag tgacgagaaa taccggagtg gaccgtaaaa tggttcacta tcggaatgaa
481 cgtaatttaa taccttcgat gagtagctac tggagggcaa gtctggtgcc agcagccgcg
541 gtaattccag ctccagtagt gtatatcaaa attgttcggg ttaaacgct cgtagtgtgaa
601 ttacaaaagc tctttggcgg ccaaatctag gtttggctgt tgtggggttt tttatcgcg
661 agagccatac gtgggattaa attcttgtgt gtggtcactt gcgaggtgtg ccttgaataa
721 agcacaatgc tcaaaacagg cgaacccttg aatggtatag catggaacga ttatgttgat
781 cttg ヒラメ検体の通知法 tcgattaaaa gggacatttg agggcgttag
841 tacttgggtg cgagggtgaa aat F-Primer atcaaag actaactaat gcgaaagcat
901 tcgccaagag tgttttcatt aatcaagaac aaagttaga ggttcgaa gata
961 cogtcttagt tccatacagt aactatgcc aacatgggat tagcccggtt taatccaggt
1021 tgggcctca gtgaaaa cgt agt tttcgg ctttggggag agt gctcag caagtgaaa
1081 atttaaagaa attgacggaa tggcaccacc aggagtggag cctgcg R-Primer gattc
1141 aacacgggga aactcaccag gtccagacat tggtaggatt gacagactga gagatctttc
1201 atgatttgat gattggtggt gcacggcctt tcttagttgg tggagtgatc tgtcaggttt
1261 attccggtaa cgagcgagac cacgatcttt aattgattac ggtaaaatg tcttgaccga
1321 tcttaaagag accaccggat tgaagccggg ggaagcgtgg caataacagg tctgtgatgc
1381 ccttcgatgt tctgggctgc acgtgtgcta caatgatagt gacaacgagt acctgctctg
1441 agaggggtgg gaaatcttaa aaatcgctat cttgctttgg actgagcctt gtaataattg
1501 ctcacgaaag aggaattcct cgtaagcgcg agtcatcagc tcgtgttgaa taagtctctg
1561 ccctttgtac acaccgccg tcgctactac cgactggatg ttgcttcgaa atgttaggac
1621 ttgcggcgtc ttgacgctgc ggggaatagt ttttagatgt aatttctgga ggaagtaaaa
1681 gtogtaacaa ggtttccgta g

```

国立医薬品食品衛生研究所よりヒラメの検査用に配布された陽性コントロールプラスミド溶液
306~1489位

レジオネラ属菌検査における非選択分離培地追加使用の検討

古川 美奈子

I はじめに

平成26年度レジオネラ属菌検査外部精度管理調査の結果、調査試料(BioBall)について処理方法や分離培地によりレジオネラ属菌の発育が抑制されることが確認された。また、選択分離培地と非選択分離培地(BCYE α 寒天培地)を併用していたすべての参加機関から非選択分離培地(BCYE α 寒天培地)の検出菌数が最大値との回答があった。当センターは濃縮酸処理液を選択分離培地で培養する方法を実施しているが、検体や分離培地の種類によっては検出結果に差が生じる可能性がある。そこで、実検体を用い濃縮酸処理液を非選択分離培地と選択分離培地に塗抹培養することで、それぞれの検出菌数等を比較し、実検体での非選択分離培地(BCYE α 寒天培地)の追加使用について検討を行う。

II 材料

平成27年9月～平成27年12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41 プール水4 合計45

III 使用培地

- ・非選択分離培地 … BCYE α 寒天培地(以下「BCYE α 」という。)
- ・選択分離培地 … GVPC α 寒天培地(以下「GVPC α 」という。)
- ・L-システイン要求性確認培地 … 羊血液/BCYE α 寒天培地

IV 方法

- 1 各検体の濃縮酸処理液を非選択分離培地 BCYE α 2枚と選択分離培地 GVPC α 2枚に各100 μ Lずつ塗抹する。残留塩素濃度が0.4mg/L未満等の検体は濃縮酸処理液を希釈し培地に塗抹する。
 - ・濃縮酸処理液の希釈を必要とする検体(以下「希釈検体」という。)
 - ・濃縮酸処理液の希釈を必要としない検体(以下「未希釈検体」という。)
- 2 36 \pm 1 $^{\circ}$ C、7日間培養する。3日目以降は随時斜光法により発育の有無を観察する。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、発育の確認を行う。
- 3 羊血液/BCYE α 寒天培地において羊血液培地に発育せず、BCYE α のみに発育したコロニーをレジオネラ属菌とし、血清群を調べる。BCYE α とGVPC α で発育したコロニーの血清群に違いがあるか確認する。

V 結果

検査の結果、浴槽水及びプール水 計45件中17件(37.8%)からレジオネラ属菌が検出された。浴槽水では41件中16件(39.0%)からレジオネラ属菌が検出され、うち7件ではBCYE α 、GVPC α ともにレジオネラ属菌の発育を確認した。また、プール水では4件中1件(25.0%)からレジオネラ属菌が検出され、BCYE α 、GVPC α ともにレジオネラ属菌の発育を確認した。レジオネラ属菌検査の検出率については表1、検出結果については表2に示した。

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*1		45	17	37.8
検体種別	浴槽水	41	16	39.0
	プール水	4	1	25.0
培地使用方法別	GVPC α のみ使用した場合	45	14	31.1
	未希釈検体のみ BCYE α を追加使用した場合		15	33.3

*1 内訳：未希釈検体 29 検体 (64.4%)、希釈検体 16 検体 (35.6%)

表2 レジオネラ属菌検査の検出結果

種 別	検体番号*1	GVPC α (CFU/100mL)	BCYE α *2 (CFU/100mL)	血 清 群*3
浴槽水	1	50	<10*4	菌種不明
	2	90	<10	SG15
	3	620	<10*4	SG1、菌種不明
	4	70	<10*4	SG15
	5	30	<10*4	SG1、SG15、 <i>L. gormanii</i> 、菌種不明
	6	410	110	SG15
	7	10	<10	SGUT
	8	10	10	SG1
	9	10	<u>30</u>	SG9
	10	<10	<u>10</u>	SG9
	11	160	10	SG6
	12	110	40	SG6
	13	4700	4700	<u>SG1</u> 、 <u>SG2</u> 、 <u>SG3</u> 、SG5
	14	230	10	SG1、 <u>SG2</u>
	15	<10	<u>10</u>	SGUT
	16	<10	<u>10</u>	菌種不明
プール水	17	90	40	<u>SG1</u> 、SG5

*1 未希釈検体の検体番号に下線

*2 GVPC α より BCYE α の方が多く検出されたレジオネラ属菌数に二重下線

*3 *L. pneumophila* 血清群は「SG」と表記、 は GVPC α 、 は BCYE α のみ検出

*4 夾雑菌が多くレジオネラ属菌数は計測不能、可能な範囲で血清群の検査を実施

浴槽水では、GVPC α より BCYE α の方が多く発育していたのは41件中4件であり、うち2件は希釈を必要としなかった検体であった。BCYE α ではほぼ全ての浴槽水において夾雑菌が発育しており、その中から推定レジオネラ属菌コロニーを鑑別することは困難であった。特に残留塩素が低濃度の浴槽水では、 $\times 1$ の BCYE α はほぼ夾雑菌で埋め尽くされており、平板1枚ないし2枚でのコロニーの計測ができず、両培地 (BCYE α 、GVPC α) のコロニー数が解離してしまう検体が散見された。また、両培地で異なる血清群が検出された検体は3件であり、うち BCYE α のみで検出されたのは2件であった。

プール水では、レジオネラ属菌が検出された検体は1検体のみであり、GVPC α の方が BCYE α よりも多くのコロニーが発育した。しかし、これは BCYE α の平板2枚のうち1枚に夾雑菌が多く発育し、計測不能だったからである。また、GVPC α では2種の血清群が検出されたが、BCYE α に比べて GVPC α のコロニーが多かったためと思われる。

VI 考察

希釈検体について、非選択性の BCYE α では夾雑菌の影響により、レジオネラ属菌の発育が妨げられた。両培地ともに 1 検体につき 2 枚の平板を使用した。BCYE α では夾雑菌が平板全体に生えてしまい、1 枚ないし 2 枚でのコロニーの計測ができず、両培地のコロニー数が解離してしまう検体が散見された。また、検体中に含まれるレジオネラ属菌が少ない場合、GVPC α より BCYE α の方がより多くのレジオネラ属菌を検出することがあることを確認した。今回、BCYE α を全検体について追加使用したことによって、検出率が 6.7% 上昇した。また、未希釈検体のみ BCYE α を追加使用した場合では 2.2% の上昇となった。BCYE α のみで検出されたレジオネラ属菌血清群も少ないが存在した。以上のことから、両培地の併用により検出率は上昇したといえる。しかし、外部精度管理調査と違い、実検体の場合は BCYE α では夾雑菌が抑えられず、GVPC α と比べて検出菌数は少ない傾向を示した。

希釈検体では BCYE α を追加使用したことによる作業の煩雑さや夾雑菌の影響による検出菌数計測不能等のデメリットが感じられ、効率的に検出菌数や検出率の上昇は見込めないと思われる。一方、未希釈検体のみ BCYE α を追加使用する場合、濃縮酸処理液の希釈操作の煩雑さがなくなり使用培地枚数も全検体に追加使用する場合よりも減らすことができる。また、夾雑菌の影響による計測不能等が減ることから、検出率が上昇する可能性もある。しかし、全検体 45 件中未希釈検体は 29 件と約 6 割にもなり、衛生管理検査として 2.2% の上昇を得るための費用対効果は少ないと思われる。外部精度管理調査の結果で、GVPC α より BCYE α の方が検出菌数について多かったのはあくまでも純培養菌の使用によるものと考えられた。

VII まとめ

濃縮酸処理をしているが BCYE α では夾雑菌を完全に抑えることができず、期待される検出率の上昇は得られなかった。しかし、BCYE α を追加使用することで僅かではあるが検出率の上昇や GVPC α では検出されないレジオネラ属菌血清群を検出することができた。

以上のことから、衛生管理検査として浴槽水、プール水のレジオネラ属菌検査での BCYE α の追加使用は難しいと考えるが、レジオネラ症の原因として疑われるような環境水を検査する場合、両培地を併用して検査を行うことは有用であると考えられる。

VIII 参考文献等

- 1) 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」
- 2) レジオネラ症防止指針 第 3 版(平成 21 年 3 月)
- 3) レジオネラ症防止管理マニュアル(2015 年 3 月)
- 4) 旅館業法等施行取扱規則(改正平成 25 年 3 月 1 日 規則第 8 号、横須賀市)
- 5) 公衆浴場法等施行取扱規則(改正平成 25 年 3 月 1 日 規則第 9 号、横須賀市)

改正通知法によるリステリア・モノサイトゲネス検査体制の整備

進藤 みちる

I はじめに

平成26年12月25日付け、乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の改正²⁾によって、非加熱食肉製品及びナチュラルチーズ(ソフト及びセミハードに限る。)の成分規格にリステリアの基準値(100cfu/g)が設定され、食品安全部長通知「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」(平成26年11月28日食安発1128第2号)¹⁾に定められた検査法が適応されることとなった。

当センターの収去検査において改正されたリステリア・モノサイトゲネスの検査法を実施するため、リステリア・モノサイトゲネス定量試験法³⁾、リステリア・モノサイトゲネス定性試験法⁴⁾に基づいて使用培地を含めた検査法の確認を行い、検査実施標準作業書(SOP)等を改定し、検査体制を整備する。

II 検討期間

平成27年11月9日～平成27年11月20日

III 使用菌株

当センター保存菌株

検体No.	菌株番号	病原体名称
1	県2011-2	<i>Listeria monocytogenes</i>
2	L1013	<i>Listeria monocytogenes</i>
3	2010L.iva	<i>Listeria ivanovii</i>
4	2010L.inn	<i>Listeria innocua</i>
5		陰性確認

IV 使用培地

一次選択増菌培地：half-Fraser 液体培地

二次選択増菌培地：Fraser 液体培地

第一選択分離寒天培地：ALOA 寒天培地

第二選択分離寒天培地：Oxford 寒天培地

確認用培地：トリプトソイ寒天培地(TSA)

確認用培地：トリプトソイ酵母エキス液体培地(TSYEB)

V 検査の概要

基準適合性は、対象となる食品検体1g当たり、リステリア・モノサイトゲネス生菌数が100を超えないことをリステリア・モノサイトゲネス定量試験法³⁾により、検体量10gずつを対象とし、n=5の定量試験で評価する。(以下「本試験」という)

予備試験を行う場合は、3箇所以上から検体を採取し、計25gとし、リステリア・モノサイトゲネス定性試験法⁴⁾により生菌検出の有無を確認する。また、基準適合性を迅速に評価するため

に、定性試験用の試料液 (half-Fraser 液体培地) から一部を分取し、リステリア・モノサイトゲネス定量試験法³⁾により、定型集落を計数する。(以下「予備定量試験」という)これらの試験より本試験を行う必要性を決定する。

予備定量試験から *Listeria monocytogenes* と確認された集落数が計 11 集落以上観察された場合は、規格基準違反とする。計 1~10 個の場合、または、定性試験により *Listeria monocytogenes* が検出された場合は、本試験を行う。

今回は、予備試験及び予備定量試験を行い、本試験を行う必要性を決定する。「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」¹⁾ (前述)の予備試験を行う場合のフロー図に従い実施する。

VI 方法

1 リステリア・モノサイトゲネス定性試験法(予備試験)

1) 一次選択増菌培養

保存菌株 4 株を各一次選択増菌培地 (half-Fraser 液体培地) に一白金耳添加し、30°C で 24 ± 3 時間培養する。

2) 二次選択増菌培養

培養後の一次選択増菌培養液 0.1 ml を 10 ml の二次選択増菌培地 (Fraser 液体培地) が入った試験管に移し、37°C で 48 ± 3 時間培養する。

3) 平板培養

① 培養後の一次選択増菌培養液を白金耳に取り、第一選択分離寒天培地 (ALOA 寒天培地) に単独集落が形成されるよう画線塗抹する。第二選択分離寒天培地 (Oxford 寒天培地) についても同様に接種する。培養は、ALOA 寒天培地 37°C で 24 ± 3 時間、Oxford 寒天培地 35~37°C で 24~48 時間で培養する。

② 培養後の二次選択増菌培養液についても①同様の手順を実施する。

4) リステリア属菌の確認培養

① 各選択分離寒天培地から形成された定型集落を 5 個釣菌し (5 個未満の場合は、全て)、トリプトソイ寒天培地に単独集落が形成される画線塗抹し、37°C で 18~24 時間培養又は十分増殖するまで培養する。

② ヘンリー遮光試験 (必要に応じて) : 実体顕微鏡を用いた、45 度の角度反射光による透過光線での観察をする。

③ カタラーゼ反応 : ① で単離した集落で気泡発生を確認する。

④ グラム染色 : ① で単離集落からグラム陽性の細く短い桿菌を確認する。

⑤ 運動性試験 (必要に応じて) : ① で単離した集落をトリプトソイ酵母エキス液体培地へ接種し、25°C で 8~24 時間培養後スライドグラスにとり顕微鏡で旋回運動を観察する。また、半流動培地を用いて 25~30°C で 48 時間~5 日間培養し、傘状発育を確認する。

5) *Listeria monocytogenes* の確認試験

① CAMP 試験 : 羊血液寒天平板に、*Staphylococcus aureus* と *Rhodococcus equi* を培地上に平行線をえがくように画線培養する。次に、単離した試験菌株を *S. aureus* と *R. equi* に直角に、かつ、接触しないように 1~2 mm 離れた位置から画線し、37°C で 18~24 時間培養する。試験菌株が、*S. aureus* あるいは *R. equi* に交差する部分で β 溶血の反応や有無を確認する。

② 炭水化物分解能 : 4) ④ の TSYEB 培養液一白金耳を用いて炭水化物分解試験用培地にそれぞれ接種し、37°C で 5 日まで培養。変色による反応を確認する。

2 リステリア・モノサイトゲネス定量試験法(予備定量試験)

1) 蘇生培養

定性試験用の試料液(half-Fraser 液体培地)から、一部を分取し、 $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ で1時間 ± 5 分静置培養する。

2) 平板培養

1)の培養液1ml 全量を滅菌ピペットを用いてよく乾燥させた3枚の選択分離培地(ALOA 寒天培地)に分けて塗抹する。必要に応じて、10倍階段希釈繰り返して同様に塗抹する。蓋をし、液が寒天に吸収されるまで15分間放置した後、 37°C で 24 ± 3 時間培養する。なお、集落形成が認められない場合は、更に 24 ± 3 時間の培養を追加する。

3) 定型集落の計測

培養後、3枚の選択分離培地(ALOA 寒天培地)に形成された定型集落の合計数を計測する。

4) リステリア属菌の確認培養

① 3)から形成された定型集落を5個釣菌し(5個未満の場合は、全て)、トリプトソイ寒天培地に単独集落形成される画線塗抹し、 37°C で18~24時間培養又は十分増殖するまで培養する。

② ヘンリー遮光試験(必要に応じて):実態顕微鏡を用いた、45度の角度反射光による透過光線での観察をする。

③ カタラーゼ反応:①で単離した集落で気泡発生を確認する。

④ グラム染色:①で単離集落からグラム陽性の細く短い桿菌を確認する。

⑤ 運動性試験(必要に応じて):①で単離した集落をトリプトソイ酵母エキス液体培地へ接種し、 25°C で8~24時間培養後スライドグラスにとり顕微鏡で旋回運動を観察する。また、半流動培地を用いて $25\sim 30^{\circ}\text{C}$ で48時間~5日間培養し、傘状発育を確認する。

5) *Listeria monocytogenes*の確認試験

① CAMP試験:羊血液寒天平板に、*Staphylococcus aureus*と*Rhodococcus equi*を培地上に平行線をえがくように画線培養する。次に、単離した試験菌株を*S. aureus*と*R. equi*に直角に、かつ、接触しないように1~2mm離れた位置から画線し、 37°C で18~24時間培養する。試験菌株が、*S. aureus*あるいは*R. equi*に交差する部分で β 溶血の反応や有無を確認する。

② 炭水化物分解能:4)④のTSYEB培養液一白金耳を用いて炭水化物分解試験用培地にそれぞれ接種し、 37°C で5日まで培養。変色による反応を確認する。

6) *Listeria monocytogenes*の計数法

3)の3枚の選択分離培地(ALOA 寒天培地)上に形成された定型集落の合計数と、確認培養を実施した5集落のうち*Listeria monocytogenes*と確認された集落数を用いて、検体中の菌数を以下のように算出する。

$$a : \textit{Listeria monocytogenes} \text{ 集落数}$$
$$a = b / A \times C \quad b : \text{確認培養で } \textit{Listeria monocytogenes} \text{ と確認された集落数}$$
$$A : \text{確認培養に用いた集落数}$$
$$C : 3 \text{ 枚の選択分離培地(ALOA 寒天培地)上に形成された定型集の合計数}$$

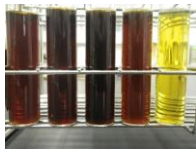
試験試料を階段希釈したものを塗布した平板の集落数を用いる場合には、集落数に希釈倍率をかけて検体1g(1ml)当たりの菌数を算出する。

VII 結果

1 リステリア・モノサイトゲネス定性試験法(予備試験)

- 1) 一次選択増菌培養
- 2) 二次選択増菌培養

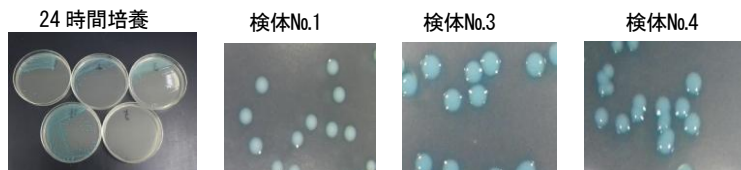
検体 No. 1 2 3 4 5



培養後の Fraser 液体培地で検体No.1~4に変色が見られた。検体No.5 変色なし。

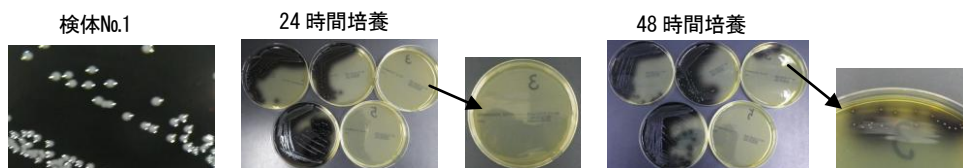
3) 平板培養

① 第一選択分離寒天培地 (ALOA 寒天培地)



一次選択増菌培地培養後及び二次選択増菌培地培養後共に青緑の円形の集落を形成した。また、検体No.1、2には集落周囲に不透明なハローを形成した。なお、検体No.5の陰性コントロールに集落は確認されなかった。

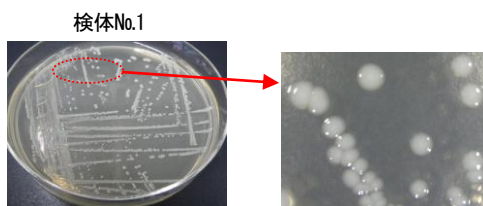
② 第二選択分離寒天培地 (Oxford 寒天培地)



24時間培養で検体No.3には、集落の確認が出来なかったが、48時間培養により集落確認、検体No.1~4のすべてに灰色で黒色ハローの集落が確認した。なお、検体No.5の陰性コントロールに集落は確認されなかった。

4) リステリア属菌の確認培養

① トリプトソイ寒天培地

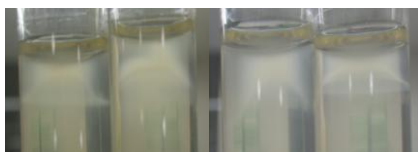


直径1~2mmで凸上を呈する無色不透明で、辺縁がはっきりしている集落を確認した。

- ② ヘンリー遮光試験：真珠様の青緑色~青白色の特有形態は不明確であった。
- ③ カタラーゼ反応：気泡確認した。カタラーゼ反応陽性
- ④ グラム染色：グラム陽性の細く短い桿菌を確認した。
- ⑤ 運動性試験(必要に応じて)：スライドグラスにとり顕微鏡で旋回運動を確認した。

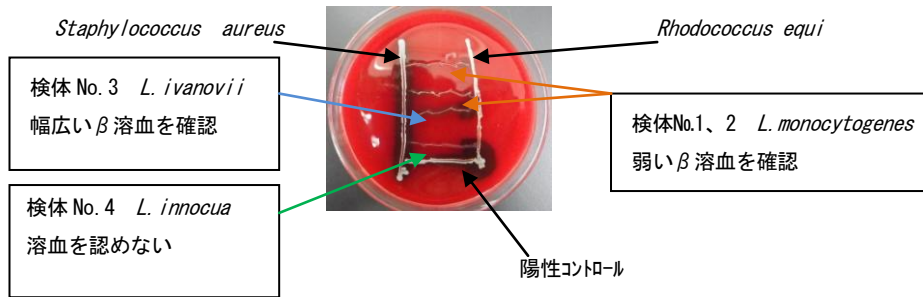
半流動培地を用いて傘状発育を確認した。

検体 No. 1 2 3 4

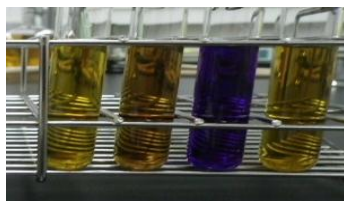


5) *Listeria monocytogenes* の確認試験

① CAMP 試験：羊血液寒天平板で各特徴的β溶血の有無を確認した。



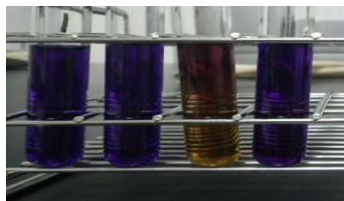
② 炭水化物分解能：炭水化物分解試験用培地で培地変化を確認した。



<ラムノース>

検体No.1、2 *L. monocytogenes*、検体4 *L. innocua* は陽性
検体3 *L. ivanovii* は陰性

検体 No. 1 2 3 4



検体 No. 1 2 3 4

<結果一覧表>

	検体No.1	検体No.2	検体No.3	検体No.4	検体No.5
ALOA 寒天培地	青緑の円形 不透明ハロ-	青緑の円形 不透明ハロ-	青緑の円形	青緑の円形	集落無
Oxford 寒天培地	灰色で黒色ハロ-	灰色で黒色ハロ-	灰色で黒色ハロ-	灰色で黒色ハロ-	集落無
トリプトソイ寒天培地	直径 1~2 mm 凸上 無色不透明	直径 1~2 mm 凸上 無色不透明	直径 1~2 mm 凸上 無色不透明	直径 1~2 mm 凸上無 色不透明	—
ヘンリー遮光試験	不明確	不明確	不明確	不明確	—
カタラーゼ反応	+	+	+	+	—
グラム染色	グラム陽性細短桿 菌	グラム陽性細短の 桿菌	グラム陽性細短の 桿菌	グラム陽性細短の桿 菌	—
運動性試験 旋回運動/傘状発育	+/+	+/+	+/+	+/+	—
CAMP 試験	弱いβ溶血	弱いβ溶血	幅広いβ溶血	溶血なし	—
炭水化物分解能 ラムノース/キロース	+/-	+/-	-/+	+/-	—

2 リステリア・モノサイトゲネス定量試験法(予備定量試験)

- 1) 蘇生培養
- 2) 平板培養(ALOA 寒天培地)



検体No.1~4のすべてに青緑の円形の集落の形成を確認した。検体No.5の陰性コントロールに集落は確認されず、更に24±3時間の培養を行ったが集落は確認されなかった。検体No.1~4のすべてに菌量が多く10倍希釈したものについても集落数がどれも>300であったため、算定は困難であった。従って、後日菌量調整において、3枚の選択分離培地(ALOA 寒天培地)上に形成された定型集落の合計数算出を行なった。(×10⁻⁴~10⁻⁷)

3) 定型集落の計測

	検体No.1	検体No.1 × 10 ⁻¹	検体No.2	検体No.2 × 10 ⁻¹	検体No.3	検体No.3 × 10 ⁻¹	検体No.4	検体No.4 × 10 ⁻¹	検体No.5
平板 1	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0
平板 2	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0
平板 3	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0
平板合計	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0
検体 1g 当 たりの菌数	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	>300	0

一次選択増菌培地 1ml が検体量 0.1g あたりと仮定した。今回、検体 1g 当たりの菌数を>300と表記したが、実検体においては実数で定量値を記載する。

4) リステリア属菌の確認培養

以下の行程はVI、1、4)と使用培地、試験法が同様のため省略とした。

VIII まとめ

「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」(平成26年11月28日食安発1128第2号)¹⁾が通知された。今回は、この通知に基づいて当センターの保管菌株を使用し、培地の確認を含めリステリア・モノサイトゲネス試験法の確認を予備試験及び予備定量試験法で行った。

予備試験の定性試験法では、第一選択分離寒天培地(ALOA 寒天培地)及び第二選択分離寒天培地(Oxford 寒天培地)に塗抹培養した検体No.1~4にそれぞれ定型的な集落が確認できた。その後、各検体5個を釣菌し、トリプトソイ寒天培地への塗抹培養で直径1~2mmで凸上を呈する無色不透明で、辺縁がはっきりしている集落を確認した。このトリプトソイ寒天培地の純培養を用いて、カタラーゼ反応陽性、グラム陽性細い短桿菌、運動性試験で旋回運動や半流動寒天培地を用いて傘状発育を確認、検体No.1~4すべて釣菌した集落がリステリア属菌であることを確認した。次の*Listeria monocytogenes*の確認試験では、CAMP試験、炭水化物分解能から、検体No.1,2は*Listeria monocytogenes*、No.3は*Listeria ivanovii*、No.4は*Listeria innocua*と確認できた。CAMP試験の際、*Listeria monocytogenes*の陽性コントロールの画線が濃く画線され、β溶血反応が強く現れた。今後CAMP試験での画線は、ごく薄くむらのない画線になるよう注意が必要と感じた。なお、陰性コントロールとした検体No.5には、集落の発育はなかった。

予備定量試験法では、3枚の選択分離寒天培地(ALOA 寒天培地)で検体No.1~4のすべてに青緑の円形の集落の形成を確認した。しかし、菌量が多く集落数がどれも>300で定型集落の計測が困難であった。後日、菌量調整においての検査で定型集落計測を行った。

改正されたリステリア・モノサイトゲネス試験法を実施し、各培地の準備と定型集落の確認ができた。今後、IVの各培地を用いて、予備試験を実施し、必要に応じて本試験を行うこととする。

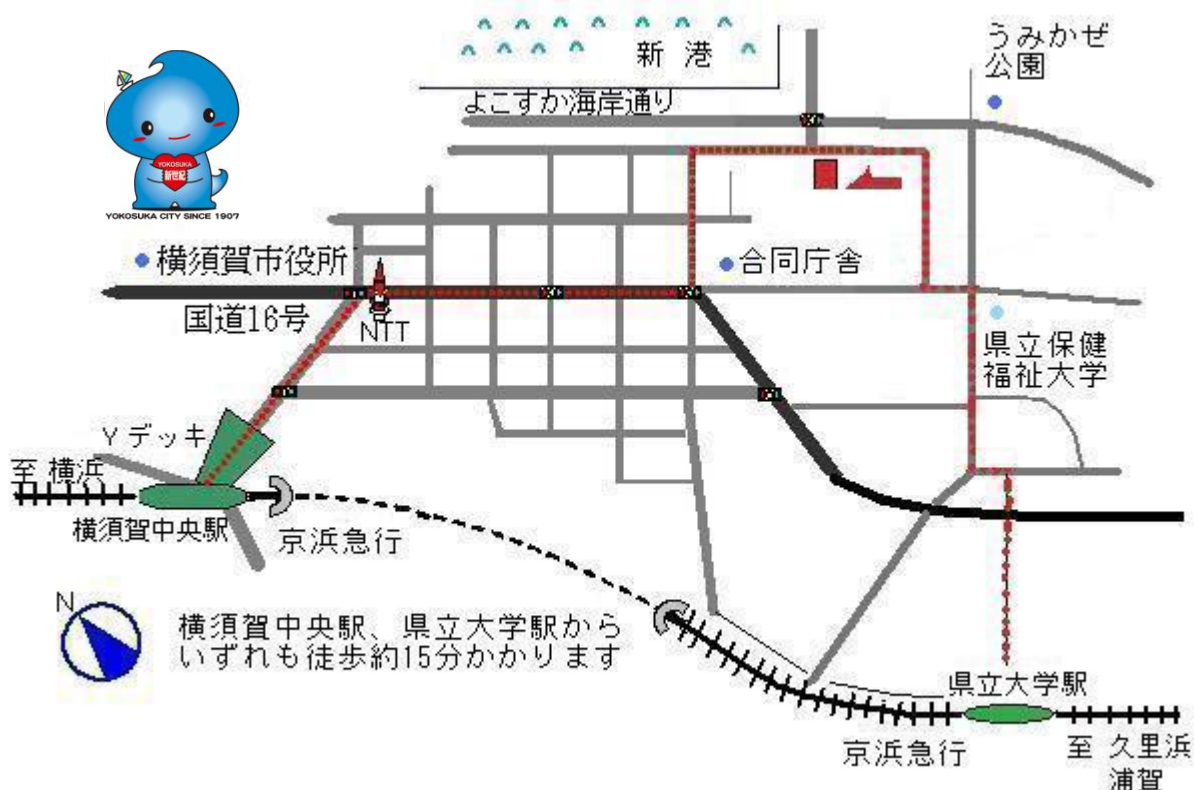
検査実施標準作業書(リステリア)を「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」(平成26年11月28日食安発1128第2号)¹⁾予備試験を行う場合のフローに従い、リステリア・モノサ

イトゲネス定量試験法³⁾、リステリア・モノサイトゲネス定性試験法⁴⁾に基づいて、改定し検査を実施する。

Ⅹ 参考文献等

- 1) 「リステリア・モノサイトゲネスの検査について」(厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 26 年 11 月 28 日 食安発 1128 第 2 号)
- 2) 「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令及び食品、添加物等の規格基準の一部改正する件について」(厚生労働省医薬食食品安全部長通知 平成 26 年 12 月 25 日 食安発 1225 第 1 号)
- 3) リステリア・モノサイトゲネス定量試験法
- 4) リステリア・モノサイトゲネス定性試験法
- 5) リステリア・モノサイトゲネス計測及び定量下限値

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18号 2015

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/>

〒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