

和歌山市衛生研究所報

第 20 号

(2014)



和歌山市衛生研究所

〒640-8422 和歌山市松江東3丁目2番67号

ANNUAL REPORT
OF
WAKAYAMA CITY INSTITUTE
OF PUBLIC HEALTH

No. 20

(2014)



**WAKAYAMA CITY INSTITUTE
OF
PUBLIC HEALTH**

**3-2-67, Matsuehigashi, Wakayama-shi, Wakayama 640-8422
JAPAN**

はじめに

和歌山市衛生研究所は、市民の健康と生命を守り、安心して暮らすことができるように、保健・環境行政を科学的側面からサポートすることを使命としております。特に、健康危機管理に関する検査機能を拡充・強化するとともに、これらの行政を推進するために必要な科学的根拠となる試験検査結果を、迅速な対応で関係機関に提供して参りました。

昨年（平成 27 年）は、西アフリカを中心としてエボラ出血熱の流行が続く中、お隣の韓国では中東から持ち込まれた MERS（中東呼吸器症候群）が流行し、わが国への侵入が懸念されました。中国では鳥インフルエンザ（H7N9）の人への感染事例が現在でも発生しています。また、国内におきましては、SFTS（重症熱性血小板減少症候群）の患者発生が続き、新型ノロウイルスの流行も危惧されています。このような中、平成 28 年 4 月 1 日からは、改正感染症法が全面施行されますが、感染症対策において地方衛生研究所が果たす役割がなお一層大きくなっています。

さらに環境分野では PM2.5 などの有害物質による環境汚染対策が、食品衛生の分野では残留農薬や毒物混入などへの対応が、公衆衛生上の重要な課題となっています。

今後とも所員一同、更なる研鑽に努め、さまざまな健康危機から市民を守るべく使命を果たしていく所存です。

このたび、和歌山市衛生研究所報第 20 号として刊行する運びとなり、実施した業務並びに調査研究の成果を掲載いたしました。内容をご覧いただき、ご指導、ご助言をいただければ幸甚に存じます。

平成 28 年 1 月

和歌山市衛生研究所

所長 森野吉晴

目次

| | | |
|-----|------------------------------------|----|
| I | 総説 | |
| 1 | 沿革 | 1 |
| 2 | 施設 | 1 |
| 3 | 機構 | 4 |
| 4 | 事業費等 | 6 |
| 5 | 関係条例及び規則 | 7 |
| 6 | 主要機器 | 11 |
| 7 | 学会、研修会及び地研全国協議会等への出席状況 | 13 |
| 8 | 調査研究投稿規定 | 14 |
| II | 業務概要 | |
| 1 | 生活科学班 | 17 |
| 2 | 環境科学班 | 20 |
| 3 | 微生物学班 | 24 |
| III | 調査研究 | |
| 1 | LC/MS/MSによるヒト血清および尿中のテトロドトキシンの分析事例 | 26 |
| 2 | ICP-MSによる金属元素同時定量 | 30 |
| 3 | 和歌山市における麻疹の発生状況について（2014年） | 36 |
| IV | 発表業績 | |
| 1 | 学会、研究会、誌上発表等 | 41 |
| 2 | 調査、研究協力 | 41 |

I 総説

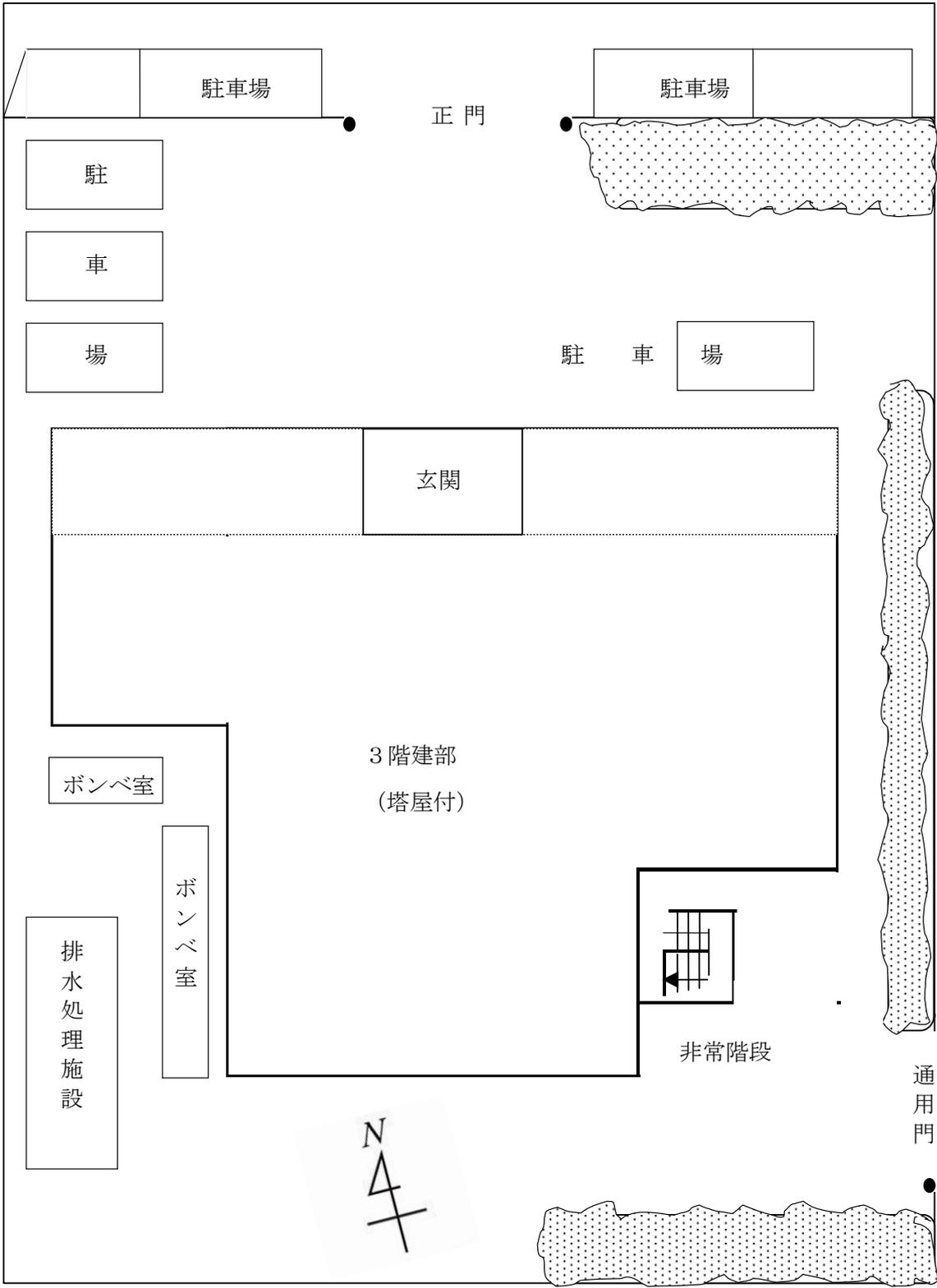
1 沿 革

| | |
|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 昭和 22 年 10 月 1 日 | 旧市立皮革工業研究所（汐見町 1 丁目一当時、閉鎖中）の空舎を改造して、所長以下 6 名により市立衛生試験所を開設する。 |
| 昭和 23 年 8 月 23 日 | 保健所法による政令市として市保健所（友田町 3 丁目）が設置され、衛生試験所は保健所に統合される。 |
| 昭和 40 年 12 月 1 日 | 河西地区に西保健所（松江東 3 丁目）を設置したため従来の保健所は中央保健所と改称し、試験検査は 2 ヶ所の保健所で実施するようになる。 |
| 昭和 52 年 4 月 1 日 | 各保健所の試験検査室を統合して現在地に和歌山市衛生研究所を設置し、所員 15 名により、3 係制（化学検査係、細菌検査係、環境検査係）で業務を開始する。 |
| 昭和 55 年 11 月 15 日 | 機構改革により、従来の 3 係制を 5 科制（総務企画科、生活科学科、水質衛生科、衛生微生物科、環境衛生科）に改める。 |
| 昭和 62 年 4 月 1 日 | 機構改革により、従来の 5 科制を 3 班制（生活科学班、環境衛生班、衛生微生物班）に改める。 |
| 平成 7 年 4 月 1 日 | 機構改革により、従来の 3 班制を 4 班制（管理班、生活科学班、環境衛生班、衛生微生物班）に改める。 |
| 平成 13 年 4 月 1 日 | 機構改革により、従来の 4 班制を 4 担当制（管理担当、生活科学担当、環境科学担当、微生物学担当）に改め、グループリーダーとして管理室長、生活科学研究室長、環境科学研究室長、微生物学研究室長を置く。 |
| 平成 15 年 4 月 1 日 | 機構改革により、生活科学担当、環境科学担当、微生物学担当のグループリーダーを総括研究員に改め、班長を置く。 |
| 平成 17 年 4 月 1 日 | 副所長を置く。 |
| 平成 18 年 4 月 1 日 | 機構改革により、従来の 4 担当制を 4 班制（管理班、生活科学班、環境科学班、微生物学班）に改める。 |
| 平成 19 年 4 月 1 日 | 機構改革により、従来の 4 班制を 3 班制（生活科学班、環境科学班、微生物学班）に改める。 |

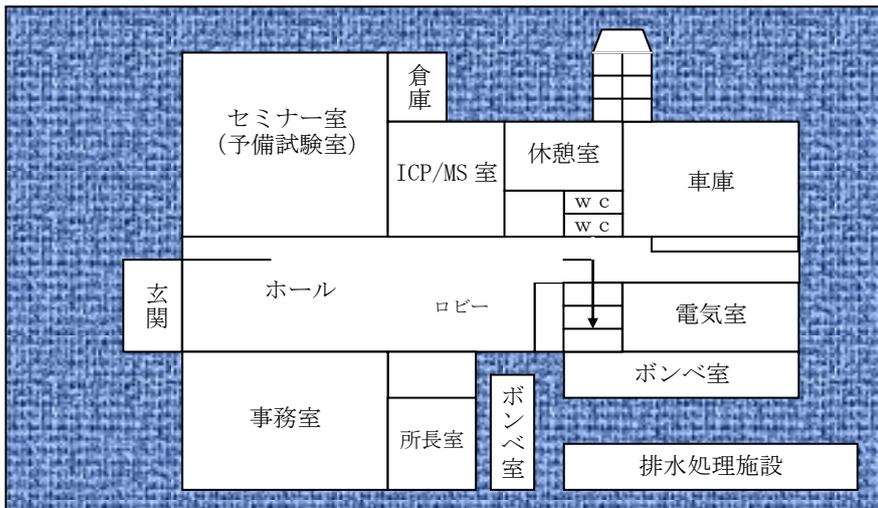
2 施 設

| | |
|-------|---------------------------|
| 敷地面積 | 1,253.12 m ² |
| 建物延面積 | 1,482.23 m ² |
| | 1 階 439.83 m ² |
| | 2 階 462.20 m ² |
| | 3 階 462.20 m ² |
| | 塔屋 118.00 m ² |
| 構 造 | 鉄筋コンクリート 3 階建 一部塔屋付 |
| | 起工 昭和 50 年 7 月 30 日 |
| | 竣工 昭和 52 年 3 月 31 日 |
| 総 工 費 | 228,575,000 円 |

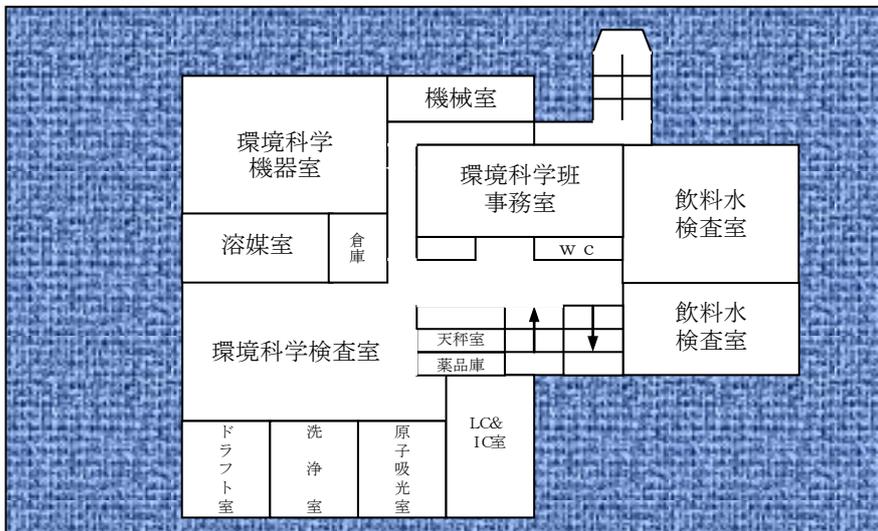
配置図



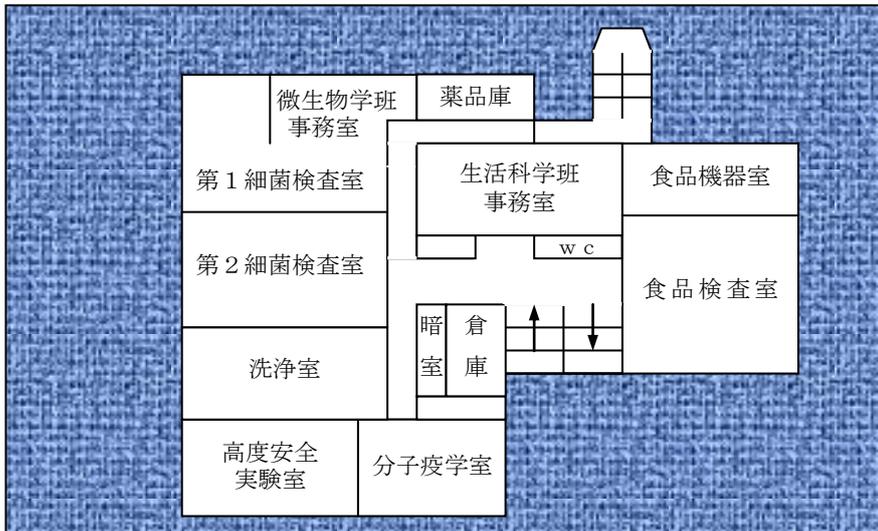
1 階



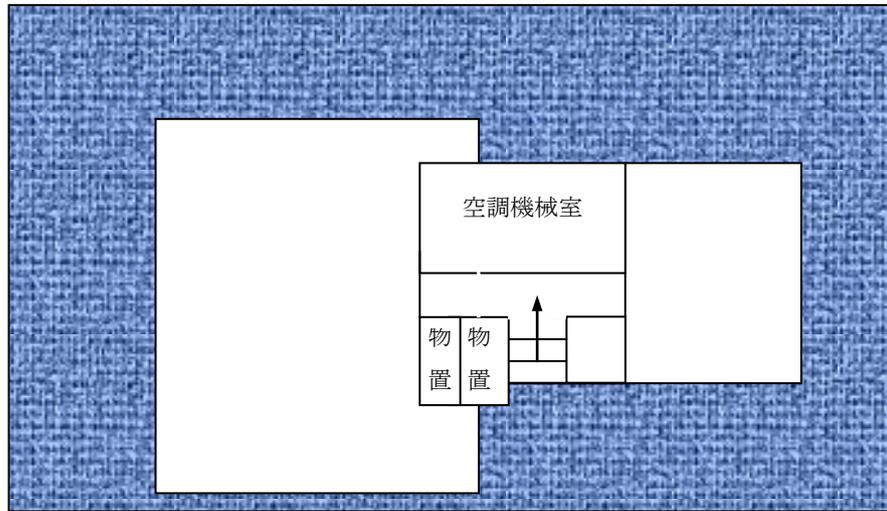
2 階



3 階

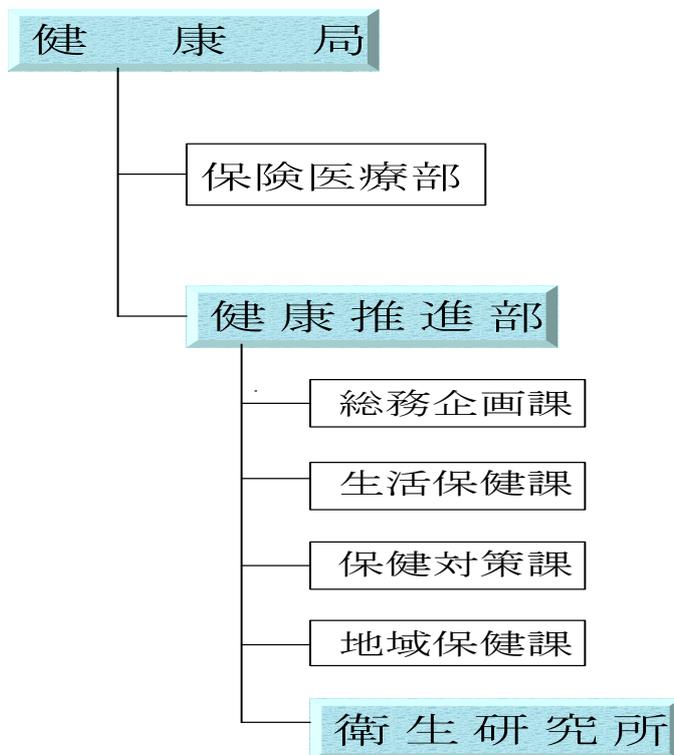


塔 屋

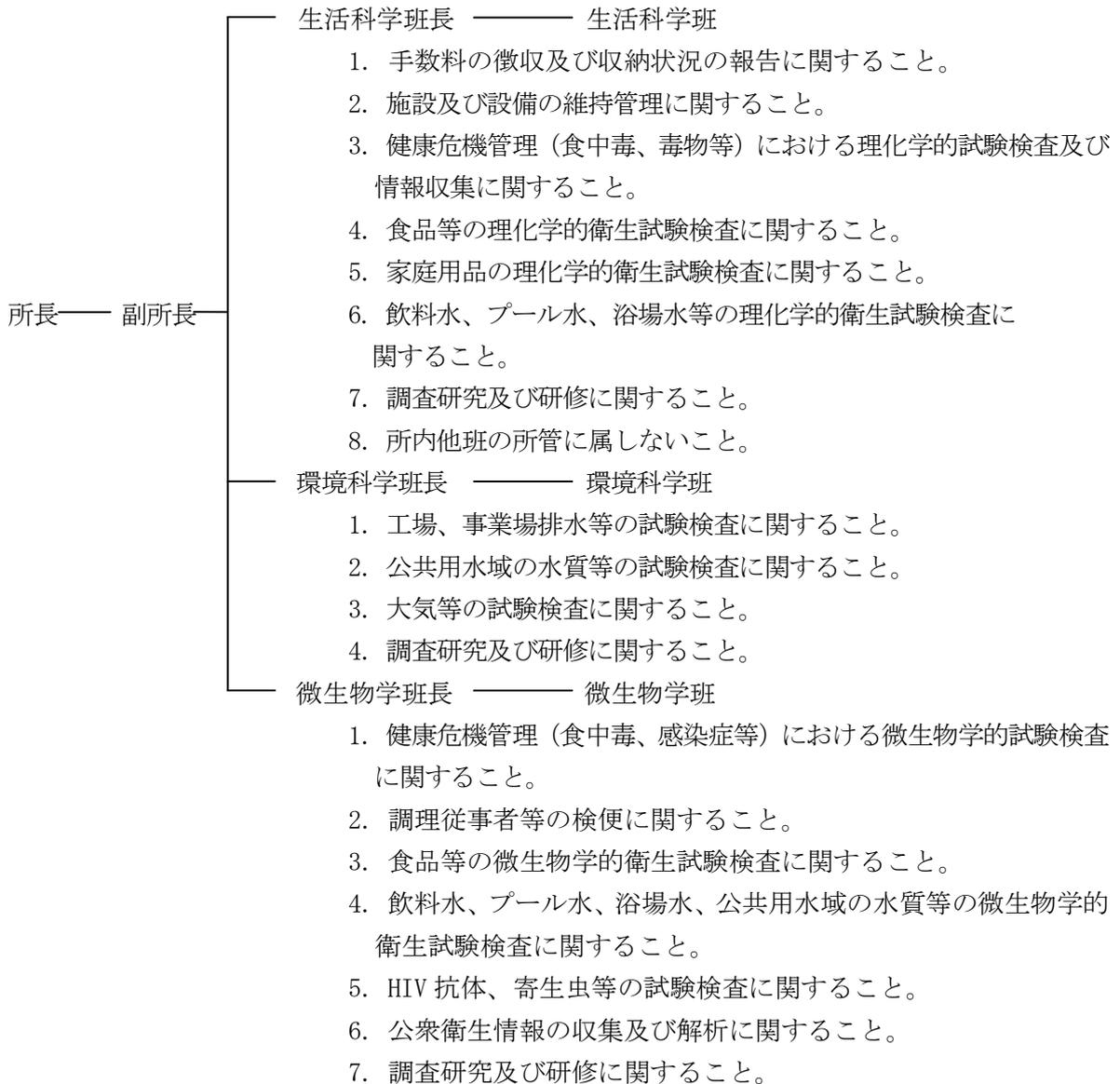


3 機 構

(平成 27 年 3 月 31 日現在)



1. 組織と主な業務



2. 職員人員配置表

(平成 27 年 3 月 31 日現在)

| | 事務系 | 理工系 | 農学系 | 薬学系 | 獣医師 | 水産系 | 計 |
|-------|-----|------|-----|-----|-----|-----|-------|
| 所 長 | | | | | | 1 | 1 |
| 副 所 長 | | | | 1 | | | 1 |
| 生活科学班 | (2) | 3 | | 2 | | | 5(2) |
| 環境科学班 | | 3(1) | 1 | | | | 4(1) |
| 微生物学班 | (1) | | | 2 | 2 | | 4(1) |
| 計 | (3) | 6(1) | 1 | 5 | 2 | 1 | 15(4) |

※ () 内は再任用/非常勤/賃金支弁職員

4 事業費等

1. 平成 26 年度

事業別歳出

単位：円

| 事業名 | 決算額 |
|-------------------|------------|
| 一般諸経費 | 4,787,517 |
| 衛生研究所施設管理事業 | 9,343,435 |
| 生活科学検査事務 | 15,092,814 |
| 環境衛生検査事務 | 11,149,497 |
| 衛生微生物検査事務 | 2,833,493 |
| 新興感染症等検査体制強化事業 | 9,705,238 |
| 大気等測定検査事業 | 556,297 |
| 毒物等検査事業 | 762,991 |
| 新型インフルエンザ検査体制整備事業 | 876,612 |
| 合 計 | 55,107,894 |

歳入

単位：円

| 説明 | 決算額 |
|----------|-----------|
| 衛生研究所手数料 | 9,701,750 |

5 関係条例及び規則

○ 和歌山市手数料条例(抜粋)

(平成 12 年 3 月 27 日条例第 5 号)

(その他の手数料)

第 43 条 衛生検査事務に関し、次の各号に掲げる手数料として当該各号に定める金額を申請者から徴収する。

(1) 臨床に関するもの

ア 寄生虫卵検査

- (ア) 塗抹法 1 検体 210 円
- (イ) 浮遊法 1 検体 160 円
- (ウ) セロファン法 1 検体 210 円

イ 細菌検査

(ア) ふん便培養検査

- a 腸管出血性大腸菌 0157 1 検体 2,750 円 (法令等義務者は 1,370 円)
- b 赤痢菌、サルモネラ及び腸管出血性大腸菌 0157 1 検体 4,320 円 (法令等義務者は 2,160 円)
- c 赤痢菌及びサルモネラ 1 検体 1,720 円 (法令等義務者は 860 円)
- d その他の細菌 1 項目 1,720 円 (法令等義務者は 860 円)

(イ) 細菌性状試験 1 項目 1,720 円

(2) 環境衛生に関するもの

ア 一般水質検査

(ア) 細菌項目検査

- a 一般細菌 1 検体 1,500 円
- b 大腸菌群
 - (a) 定性 1 検体 2,050 円
 - (b) 定量 1 検体 2,910 円
- c 腸管出血性大腸菌 0157 1 検体 5,150 円

(イ) 理化学項目検査

- a 単純なもの 1 項目 1,080 円
- b 普通のもの 1 項目 2,680 円
- c 複雑なもの 1 項目 8,840 円

(ウ) 井戸水

理化学検査

- a 基本成分 1 検体 3,020 円
- b 金属成分 1 検体 3,080 円
- c ミネラル成分 1 検体 1,950 円

(エ) 浴場水、プール水

規格検査 1 検体 5,060 円

(オ) 船舶水

規格検査 1 検体 7,090 円

(カ) 専用水道水、簡易専用水道水

- a 水質基準に関する省令(平成 15 年厚生労働省令第 101 号)の表中上欄に掲げる一般細菌、大腸菌、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、鉄及びその化合物、マンガン及びその化合物、塩化物イオン、カルシウム、マグネシウム等(硬度)、有機物(全有機炭素(TOC)の量)、pH 値、味、臭気、色度並びに濁度の事項 1 検体 7,090 円
- b 水質基準に関する省令の表の上欄に掲げる事項 1 検体 241,810 円
- c 理化学検査

- (a) 基本成分 1 検体 3,760 円
- (b) 金属成分 1 検体 3,080 円
- (c) ミネラル成分 1 検体 1,950 円

イ 特殊水質検査

- (ア) 単純なもの 1 項目 1,080 円
- (イ) 普通のもの 1 項目 2,680 円
- (ウ) 複雑なもの 1 項目 26,200 円

(3) 食品衛生に関するもの

ア 食品添加物検査

- (ア) 定性 1 項目 2,740 円
- (イ) 定量 1 項目 5,500 円
- (ウ) 特殊分析 1 項目 26,730 円

イ 食品微生物検査

- (ア) 大腸菌群
 - a 定性 1 検体 2,050 円
 - b 定量 1 検体 2,910 円
- (イ) 乳酸菌数 1 検体 1,710 円
- (ウ) 一般細菌数 1 検体 1,500 円
- (エ) 腸管出血性大腸菌 0157 1 検体 5,150 円
- (オ) その他
 - a 単純なもの 1 項目 1,710 円
 - b 普通のもの 1 項目 4,320 円
 - c 複雑なもの 1 項目 29,160 円

ウ 成分検査、規格検査

- (ア) 牛乳規格検査 1 検体 5,700 円
- (イ) アイスクリーム類規格検査 1 検体 5,700 円
- (ウ) 発酵乳規格検査 1 検体 5,700 円
- (エ) その他
 - a 単純なもの 1 項目 1,390 円
 - b 普通のもの 1 項目 4,320 円
 - c 複雑なもの 1 項目 29,160 円

(4) 家庭用品に関するもの

ア 液体洗剤検査 1 検体 1,390 円

イ 繊維製品検査 1 検体 10,800 円

ウ 容器被包検査

- (ア) 漏水 1 検体 1,390 円
- (イ) 落下 1 検体 1,390 円
- (ウ) 耐酸性 1 検体 1,390 円
- (エ) 圧縮変形 1 検体 1,390 円

(5) 成績証明 1 件 300 円

○和歌山市衛生研究所規則

昭和 52 年 3 月 31 日
規則第 12 号

(設置)

第 1 条 保健衛生の向上を図るため、衛生に関する試験検査及び調査研究を行う機関として衛生研究所(以下「所」という。)を設置する。

(名称及び位置)

第 2 条 所の名称及び位置は、次のとおりとする。

| 名称 | 位置 |
|-----------|-----------------------|
| 和歌山市衛生研究所 | 和歌山市松江東 3 丁目 2 番 67 号 |

(試験検査の依頼)

第 3 条 所に試験検査を依頼しようとするものは、市長の承認を受けなければならない。

(手数料及び試験検査物件の不還付)

第 4 条 試験検査のために提出した物件は、還付しない。ただし、市長が特別の理由があると認めるときは、この限りでない。

(成績書の交付)

第 5 条 市長は、依頼を受けた試験検査の結果が判明したときは、試験検査成績書を交付する。ただし、その必要がないと認めるときは、この限りでない。

(雑則)

第 6 条 この規則に定めるもののほか必要な事項は、市長が別に定める。

附 則抄

(施行期日)

1 この規則は、昭和 52 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(昭和 52 年 12 月 28 日)

この規則は、昭和 53 年 1 月 1 日から施行する。

附 則(昭和 55 年 11 月 15 日)抄

1 この規則は、公布の日から施行する。

附 則(昭和 59 年 3 月 30 日)

この規則は、昭和 59 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(昭和 62 年 3 月 31 日)

この規則は、昭和 62 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(昭和 63 年 3 月 31 日)

1 この規則は、昭和 63 年 4 月 1 日から施行する。

2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則別表の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成元年 3 月 31 日)

1 この規則は、平成元年 4 月 1 日から施行する。

2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則別表の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成元年 5 月 31 日)

この規則は、平成元年 6 月 1 日から施行する。

附 則(平成 4 年 3 月 26 日)

1 この規則は、平成 4 年 4 月 1 日から施行する。

2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 5 年 3 月 26 日)

1 この規則は、平成 5 年 4 月 1 日から施行する。

- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 5 年 3 月 29 日)抄

- 1 この規則は、平成 5 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 5 年 11 月 30 日)

この規則は、平成 5 年 12 月 1 日から施行する。

附 則(平成 7 年 3 月 15 日)

- 1 この規則は、平成 7 年 4 月 1 日から施行する。
- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 7 年 3 月 31 日)抄

(施行期日)

- 1 この規則は、平成 7 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 8 年 3 月 15 日)

- 1 この規則は、平成 8 年 4 月 1 日から施行する。
- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 9 年 3 月 27 日)

- 1 この規則は、平成 9 年 4 月 1 日から施行する。
- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 9 年 3 月 31 日)抄

(施行期日)

- 1 この規則は、平成 9 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 10 年 3 月 26 日)

- 1 この規則は、平成 10 年 4 月 1 日から施行する。
- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 10 年 3 月 27 日)抄

(施行期日)

- 1 この規則は、平成 10 年 4 月 1 日から施行する。

附 則(平成 11 年 3 月 15 日)

- 1 この規則は、平成 11 年 4 月 1 日から施行する。
- 2 この規則による改正後の和歌山市衛生研究所規則の規定は、この規則の施行の日以後に依頼される試験検査に係る手数料から適用し、同日前に依頼された試験検査に係る手数料は、なお従前の例による。

附 則(平成 12 年 3 月 30 日)抄

(施行期日)

- 1 この規則は、平成 12 年 4 月 1 日から施行する。

6 主要機器

100 万円以上の重要物品及びそれに準ずる機器

(平成 27 年 3 月 31 日現在)

| 品 名 | 数量 | 機 種 |
|-----------------------------|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 原 子 吸 光 光 度 計 | 3 | 日立 偏光ゼーマン Z-8270 (フレームレス) 日立 偏光ゼーマン Z-5310 (フレーム) 日立 偏光ゼーマン Z-2000 |
| 水 銀 分 析 計 | 1 | 日本インスツルメンツ マーキュリー RA-2、SC20 |
| ガ ス ク ロ マ ト グ ラ フ | 3 | 島津 GC-7AG (FID) 島津 GC-14A (FID, FPD) 島津 GC-17A (FID, FTD) |
| ガスクロマトグラフ質量分析装置 | 4 | 島津 QP-2010 Ultra 日本電子 JMS-AMII 120 ブルカー・ダルトニクス 300MS、450GC Varian Saturn 2000 (CP3800、CP8200) |
| 高 速 液 体 ク ロ マ ト グ ラ フ | 2 | Agilent Technologies HP1100 (DAD、蛍光付) Agilent Technologies 1260 Infinity (DAD、蛍光付) |
| 高速液体クロマトグラフ質量分析装置 | 1 | AB Sciex API4000QTRAP |
| 超 低 温 フ リ ー ザ ー | 1 | レブコ ULT-1186-3SIJA |
| ラ ボ ラ ト リ ー ウ オ ッ シ ャ ー | 1 | ヤマト科学 AW-83 |
| 高 度 安 全 実 験 室 | 1 | 日立冷熱 |
| 自 動 p H メ ー タ ー | 2 | 東亜電波 HM-60G、TTT-510 東亜電波 MM-60R、TTT-510、FAR-210/HSU-202 |
| ク ラ ス II A 安 全 キ ャ ビ ネ ッ ト | 1 | 日立 SCV-1302EC II A |
| 超 純 水 装 置 | 1 | 日本ミリポア Milli-Q Integral 3 |
| イ オ ン ク ロ マ ト グ ラ フ | 2 | サーモフィッシャーサイエンティフィック ICS-2000 サーモフィッシャーサイエンティフィック ICS-2000、ICS-1000 |
| 有 機 溶 剤 用 ド ラ フ ト チ ャ ン バ ー | 2 | ヤマト科学 FHP-150P ヤマト科学 KFF 特型 |
| 紫 外 可 視 分 光 光 度 計 | 1 | 島津 UV-2400PC |

| 品 名 | 数量 | 機 種 |
|---------------------------|----|--------------------------------------------------|
| サ ー マ ル サ イ ク ラ ー | 1 | PERKIN ELMER GeneAmp PCR System 9600 |
| パルスフィールドゲル電気泳動装置 | 1 | BIO-RAD CHEF-DRIII |
| マイクロプレートリーダー | 1 | BIO-RAD 550 |
| キャピラリー電気泳動装置 | 1 | ヒューレットパッカード C-1602A |
| 高 速 自 動 濃 縮 装 置 | 1 | ザイマーク ターボバップII |
| 誘導結合プラズマ質量分析装置 | 1 | ヒューレットパッカード HP-4500 G1822A |
| 高 速 溶 媒 抽 出 装 置 | 1 | サーモフィッシャーサイエンティフィック ASE-100 |
| T O C 計 | 1 | 島津製作所 TOC-L CPH |
| 小 型 貨 物 自 動 車 | 1 | トヨタ ハイエースロングバン ジャストロー |
| 電 気 泳 動 ゲ ル 撮 影 装 置 | 1 | ATTO AE-6933FXCF-U |
| 遺 伝 子 抽 出 装 置 | 1 | QIAGEN QIAcube TypeV plus 1 |
| リ アル タ イ ム P C R 装 置 | 2 | アプライドバイオシステムズ 7500Fast アプライドバイオシステムズ 7500 |
| D N A シ ー ケ ン サ ー | 1 | アプライドバイオシステムズ 3100 Avant |
| 顕 微 鏡 | 2 | ニコン エクリプス 50iT-RFL-4 ニコン Ti-S |
| 自 動 電 気 泳 動 装 置 | 1 | 島津 MCE-202 |
| フ ー リ エ 変 換 赤 外 分 光 光 度 計 | 1 | 島津 IRAffinity-1 |
| ケ ル ダ ー ル 分 析 装 置 一 式 | 1 | BUCHI K-350 K-415 K-439 |
| 蒸 留 装 置 | 1 | スギヤマゲン EHP-521-6ELC |
| 卓 上 フ ー ド | 2 | オリエンタル技研工業 GCH-2100-2S オリエンタル技研工業 GCH-2000-2S |

7 学会、研修会及び地研全国協議会等への出席状況

| 年 月 日 | 名 称 | 場 所 | 参加人員 |
|-----------|---------------------------------------------------------------|---------|------|
| 5. 13～14 | 「ダニ媒介性細菌感染症の診断・治療体制構築と技術・情報の体系化に関する研究」における研修会 | 阪南市・大阪市 | 1 |
| 5. 20 | メルクミリポア技術講習会ミリスクール超純水・純水編 | 大阪市 | 1 |
| 5. 20 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部第 1 回総会 | 大阪市 | 1 |
| 5. 22 | 第 53 回近畿公衆衛生学会 | 和歌山市 | 9 |
| 6. 4 | 分析機器基礎講座 | 大阪市 | 1 |
| 6. 5～6 | 全国地方衛生研究所長会議及び地方衛生研究所全国協議会臨時総会 | 東京都 | 1 |
| 6. 15 | 第 169 回日本小児科学会和歌山地方会 | 和歌山市 | 4 |
| 6. 20 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会役員会 | 神戸市 | 1 |
| 6. 24 | 第 1 回感染防止対策合同カンファレンス | 和歌山市 | 6 |
| 6. 26～27 | 衛生微生物技術協議会第 35 回研究会 | 東京都 | 1 |
| 7. 4 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会役員会 | 大津市 | 1 |
| 7. 10 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部役員会 | 大阪市 | 1 |
| 7. 16 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部理化学部会役員会 | 神戸市 | 1 |
| 7. 24 | 地方衛生研究所全国協議会近畿ブロック会議及び第 2 回支部総会 | 姫路市 | 1 |
| 7. 29 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部疫学情報部会役員会 | 京都市 | 1 |
| 9. 5 | デングウイルス検査の研修 | 大阪市 | 1 |
| 10. 3 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会 | 神戸市 | 2 |
| 10. 6～24 | 国立保健医療科学院ウイルス研修 | 武蔵村山市 | 1 |
| 10. 10 | 食品衛生検査施設信頼性確保部門責任者等研修会 | 東京都 | 1 |
| 10. 17 | 地域保健総合推進事業「精度管理事業」説明会 | 京都市 | 1 |
| 10. 21 | Dionex IC 技術説明会 2014 | 豊中市 | 1 |
| 10. 22～23 | 厚生労働省科学特別研究事業における感染症媒介蚊対策に関する実技検討会 | 岡山市 | 1 |
| 10. 24 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会 | 大津市 | 1 |
| 11. 4～6 | 市立衛生研究所・衛生試験所連絡協議会総会・第 65 回地方衛生研究所全国協議会総会 第 73 回日本公衆衛生学会総会 | 宇都宮市 | 1 |
| 11. 8 | エボラ出血熱に関する医療関係者研修会 | 和歌山市 | 3 |
| 11. 13 | 食品衛生研究者育成基礎セミナー | 大阪市 | 1 |
| 11. 14 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒部会研究会 | 和歌山市 | 3 |
| 11. 18～21 | 貝毒分析研修会 | 横浜市 | 1 |
| 11. 20～21 | 第 51 回全国衛生化学技術協議会年会 | 別府市 | 1 |
| 11. 25 | 「地域保健総合推進事業」全国疫学情報ネットワーク構築会議 | 東京都 | 1 |
| 11. 28 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部理化学部会 | 神戸市 | 2 |
| 12. 2 | LC トラブルシューティングセミナー | 和歌山市 | 2 |
| 12. 12 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部疫学情報部会定期研究会 | 京都市 | 1 |
| 12. 16～17 | 一般食品からのウイルス濃縮法の研修 | 大阪市 | 2 |
| 1. 13 | 地方衛生研究所全国協議会近畿支部第 2 回近畿ブロック会議及び近畿支部第 3 回総会 | 大阪市 | 1 |
| 1. 22～23 | 感染症制御セミナー | 東京都 | 1 |
| 2. 9～10 | 「麻疹ならびに風疹排除の実験室検査に関する研究」研究班第 2 回班会議 | 大阪市 | 1 |
| 2. 17～18 | 希少感染症診断技術研修会 | 東京都 | 1 |
| 3. 17 | 和歌山県環境衛生研究センター研究発表会 | 和歌山市 | 5 |

8 調査研究投稿規定

和歌山市衛生研究所調査研究報告投稿規定

て中央に配置する。

平成 9年11月 1日施行
 平成13年 4月 1日改定
 平成23年 4月 1日改定
 平成27年 1月27日改定

1. 構成

研究報告は原則として、表題、著者名、抄録及びキーワード、はじめに、材料と方法、結果、考察、おわりに、参考文献から構成し、通し番号を付けずに記述する。

2. 原稿の作成

原稿は原則としてワードプロセッサを用い、著者が構成し作成する。

3. 表題

- (1) 2行以上の表題は原則として中央に配置し、逆三角形とする。
- (2) 副題は行を変え、前後にハイフンを付ける。
- (3) シリーズの表題は表題の後に(第1報)、(第2報)とする。
- (4) 論文の発表機関名、号数、発表年次(西暦年号)、記載ページを第1ページの左上に配置する。

4. 著者名

- (1) 著者名は表題または副題の下に1行あけて中央に配置する。
- (2) 著者の所属に変更があった場合、著者名の右肩に全角上付け文字で*印を付け、脚注に記す。ただし、脚注が2つ以上になる場合には、最初に出現したものから順に一連の通し番号を付けて *1, *2, *3の順に列記する。
(例: *1, *2, *3)

5. 英文表題と英文著者名

- (1) 論文には必ず英文表題(名詞、代名詞、形容詞の頭文字は大文字)およびローマ字の著者名(フルネーム、姓は全部大文字、名は頭文字のみ大文字)を記載する。
 - (a) 英文表題は著者名の下に1行あけて中央に配置する。
 - (b) ローマ字の著者名は英文表題の下に1行あけて

6. 抄録及びキーワード

- (1) 抄録は簡潔にまとめ字数200~300とし、英文著者名の下に1行あけて配置し、左右の行端は左右の端から1文字文中側に記載する。
- (2) キーワードは日本語および英語を用い選定数は3個以上5個以内とし、抄録の下に1行あけて配置する。

7. 本文

- (1) 本文中では物質名を化学式であらわさない。ただし、反応式であらわす部分は化学式を用いてもよい。
- (2) 句読点は、と。を用いる(、と. は用いない)。()や「」などは全角文字とする。
- (3) 文の書き出しは1文字あける。行を改めるときも1文字あける。書き出しに続く行は、先頭行より1文字左から書き始める。
- (4) 英字・数字は成語となっているもの以外は、原則として半角とする。コンマ等の記号もこれらに準じて記載する。
- (5) 小数点は半角とする。
- (6) 項目を細別するときの見出し符号は、次の順序で用いる。

| |
|--------------|
| 1. □ ○ ○ ○ |
| 1. 1 □ ○ ○ ○ |
| (1) □ ○ ○ ○ |
| □(a) □ ○ ○ ○ |

□ は半角

ただし、結果と考察は次の順序とする。

| |
|--------------|
| 1. □ ○ ○ ○ |
| (1) □ ○ ○ ○ |
| □(a) □ ○ ○ ○ |

- (7) 文中の人名は姓のみとし、欧語にあっても姓のみとし、大文字で記載する。なお、人名が複数の場合は列記しないで、最初の人名の上に「ら」を付け、年号は省く。
8. ワードプロセッサの文書設定
 - (1) 用紙設定 A4単票、縦方向
 - (2) 原稿のページ設定は以下のとおりとする。
 - (a) 字数 44文字

- (b) 行数 42行
 (c) 上端マージン 20mm
 (d) 下端マージン 20mm
 (e) 左端マージン 20mm
 (f) 右端マージン 20mm
 (g) 段組 2段組 段間7mm
 各段22文字
 (h) ページ番号 (フッター)
 位置 中央下
 マージン 10mm
 飾り (- ? -)
 (i) ヘッダー 12mm

9. 文体・文字

- (1) 原稿は原則として新仮名遣い、新送り仮名、平仮名混じり、国語文とし、簡潔で理解し易い表現にする。やむを得ぬ学術用語、地名、人名などのほかは常用漢字を用いる。
- (2) 書体は基本的に和文フォント、数字フォント及び欧文フォントはMS明朝体、10.5ポイントとする。
 ただし、表題、著者名等以下の項目はその設定に従う。
- (a) 表題
 MS明朝体、16ポイント
- (b) 英文表題
 Century、12ポイント
- (c) 著者名
 MS明朝体、12ポイント
- (d) 英文著者名
 Century、12ポイント
- (e) 抄録
 MS明朝体、9ポイント
- (f) キーワード
 タイトルMS明朝体ボールド体、9ポイント
 内容はMS明朝体、9ポイント
- (g) はじめに、材料と方法、結果、考察、おわりに、参考文献
 MS明朝体ボールド体、13ポイント
- (h) 本文中の中見出し
 (1. 試薬及び材料、1.1 試薬等 等)
 MS明朝体ボールド体、10.5ポイント
- (i) 本文中の小見出しの記号や数字
 ((a)、(b)、(1)、(2)等)
 MS明朝体、10.5ポイント
- (j) 表と図
 MS明朝体、10.5ポイント
- (k) ページ番号

MS明朝体、10.5ポイント

- (1) 本文中の「-」はMS明朝体を用いる。
 (3) 物質名は原則として略号は用いないが、記載頻度の高い場合、または一般に使用されている場合は使用してもよい。
 (4) 人名、地名は原語を用いる。
 (5) 動物・植物名は全角カタカナ、学名はCenturyイタリック体を用いる。その他カタカナ書きで表現するものは、全角とする。

10. 数字・数式・単位・記号

- (1) 数字フォントは、和文フォント (MS明朝体) を用いる。
 (2) 数字は原則としてアラビア数字を用いる。
 (例：1、2、3)
 (3) 文中の数字は、原則として半角を用いる。
 (4) 単位「%」及びローマ字は、原則として半角、Centuryを用いる。
 (5) 単位として用いる英字及び記号は、「%」を除き、原則として半角、MS明朝体を用いる。
 また、ミリリットルは「mL」、ナノリットルは「nL」、リットルは「L」を、摂氏は「℃」を用いる。
 (例：%、pH、cm、km、mg、kg、cc、m²、cm³、m³)
 (6) 表や図に続く数字は、全角とする。
 (例：図1、表2)
 (7) 本文中の中見出し、小見出しの(a)、(b)、(1)、(2)などは、すべて半角を用いる。
 (8) 文章中に数式を挿入するときは、 a/b 、 $(a+b)/(c+d)$ とし、文章中でないものは以下のように記す。

$$\frac{a}{b} \quad , \quad \frac{a+b}{c+d}$$

- (9) 単位は原則としてMKS単位を用いる。必要に応じてCGS単位を用いてもよい。
 (10) 記号は国際的に慣用されているものを用いる。

11. 行のとりかた

- (1) 大見出し (はじめに、材料と方法等) は上下に1行ずつあけ、中央に書く。ただし、「はじめに」の場合のみ上の1行は省く。
 (2) 中見出し (1. 試薬及び材料等) は上1行のみをあけ、左端から書き始め、中見出しに続く文は半角あけて書く。
 (3) 中見出し (1.1 試薬等) は行をあけずに行を変えて、左端から書き始め、中見出し

に続く文は半角あけて書く。

- (4) 小見出しの(1)、(2)などは行をあげずに行を変えるだけで、左端から書き始める。
- (5) 小見出しの(a)、(b)などは行を変え、左端から半角あけて配置し、小見出しに続く文は半角あけて書き始める。

12. 表と図

- (1) 番号と表題は、表では表の上部に1文字あけて、図では図の下部に1文字あけて配置する。図○に続く説明文は1文字空白を入れてから書き始める。
- (2) 表と図は本文中にその説明があるので、原則として同じページか同じ見開きページに配置する。

13. 参考文献

- (1) 文中における参考文献は、引用箇所の右肩に通し番号を、右側かっこを付けて全角上付文字(例¹⁾・²⁾)で書く。複数の場合はコンマで区切って記載する。また参考文献数が3を超える場合は、最初と最後を「～」で繋ぎ、全角上付文字で表示する。(例¹⁾～⁵⁾)
- (2) 参考文献は、本文の末尾に引用番号順に列記する。左端より書き始め、書き出しに続く行は、先頭行と同じ位置から書き始める。
- (3) 参考文献の句読点は、全角の「, 」と「. 」を用いる。
- (4) 著者名が複数の場合は、代表者を1人記載し、半角スペース挿入後「他」と書く。
- (5) 引用形式は原則として次の形式による。

(a) 雑誌、所報の場合

著者名：雑誌名，巻数，開始ページ-最終ページ(発行年)の順に記載する。ただし、通しページのない場合のみ巻数のあとに号数を挿入する。雑誌の巻数はMS明朝体ボード体で記す。欧文雑誌はCenturyで記す。

[例]

- 1) Krisman C. : J. Clin. Microbiol, **25**, 1043-1047 (1987)
- 2) 殿山繁治：環境と測定技術，**5**，22-28(1995)
- 3) 中村明子：モダンメディア，**40**，7，30-33 (1994)
- 4) 宇治田正則 他：和歌山市衛生研究所報，**9**，61-64(1994)

(b) 官報、告示、通達の場合

表題，号数，日付の順に記載する。ただし、表題がない場合は省略する。ページ数は省略

してもよい。

[例]

- 5) 水質汚濁防止法の一部を改正する法律の施行について，環水管第189号，平成元年9月14日
- 6) 官報第1725号，平成7年12月1日
- (c) 図書(単行本)の場合
著者名：図書名，発行所，ページ数(西暦)の順に記載する。ページ数は省略してもよい。
- [例]
- 7) 並木博：工場排水試験方法，日本検査協会(1995)
- (d) 資料の場合
会社名，資料名(西暦)
著者名：所属機関名，資料名(西暦)
- (e) その他
(a)～(d)に該当しない場合は、所報編集委員が検討し、決定する。

14. 謝辞

論文の末尾、参考文献の前に上1行をあげ、1文字あけて書く。謝辞のタイトルは入れないで、MS明朝体、9ポイントで記載する。

15. 校正

原則として著者が行い、各班で最終調整し、所報編集委員会へ提出するものとする。提出された研究報告を所報編集委員で再調整する。

16. 発行

和歌山市衛生研究所報は1年に1回の発行とする。

17. 編集委員

和歌山市衛生研究所報編集委員は、所報の作成及び発行を行うものとする。

Ⅱ 業務概要

1. 生活科学班

(1) 概要

当班は、総務及び企画等の事務的業務、保健所や事業者からの依頼による食品の理化学検査及び家庭用品検査、市民や事業者などから依頼される種々の飲料水検査及び用水（プール水等）検査を実施している。

事務的業務は、主として予算及び決算、手数料収納等の経理事務、庁舎とその付帯設備の維持管理業務を行うほか、公衆衛生情報の収集、解析、提供、調査研究や研修の企画及び連絡調整を担っている。

食品検査は、食品中の残留農薬検査、食品添加物の規格等検査、乳及び乳製品の成分規格検査、異物検査及び毒物混入の疑いのある食中毒検査、農畜水産物の放射性物質検査等を実施している。

飲料水検査は、主に井戸水水質検査、水道法による水質基準に関する検査、プール水等の規格検査を行っている。

(2) 食品等の検査

食品の検査には、保健所からの行政依頼検査、製造業者などからの一般依頼検査、添加回収試験等の自主検査があり、平成26年度の検査内容を表1^{注1}に示した。

(a) 残留農薬検査

輸入野菜及び果実、国産野菜及び果実、加工野菜等について、残留農薬一斉分析法で農薬の検査を行なっている。

しかし、平成22年12月24日厚生労働省通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」により、試験方法について妥当性評価を実施する必要が生じたため、平成25年12月13日以降は妥当性評価が完了している農作物について正式な検査を実施することとしている。

平成26年度はキャベツ、りんごについて妥当性評価を行ない、市内で流通している13検体延べ1,447項目の検査を実施したところ、すべて基準に適合していた。

(b) 食品の添加物検査

魚肉ねり製品、漬物、菓子、惣菜等の保存料、甘味料、着色料、漂白剤、生めん類等の品質保持剤、食肉製品の発色剤、果実の防ばい剤の検査を行っている。各添加物の検査項目については、表2のとおりである。市内で生産された113検体延べ561項目について検査を実施したところ、すべて基準に適合していた。

表2 各添加物の検査項目

| 添加物 | 検査項目 |
|-------|--------------|
| 保存料 | 安息香酸 |
| | ソルビン酸 |
| | デヒドロ酢酸 |
| | プロピオン酸 |
| 甘味料 | サッカリンナトリウム |
| 着色料 | 酸性タール色素 |
| 漂白剤 | 亜硫酸ナトリウム |
| | 過酸化水素 |
| 品質保持剤 | プロピレングリコール |
| 発色剤 | 亜硝酸ナトリウム |
| 防ばい剤 | イマザリル |
| | オルトフェニルフェノール |
| | ジフェニル |
| | チアベンダゾール |

(c) 乳及び乳製品の成分規格検査

乳及び乳製品について、成分規格検査を行なっている。

市内で流通している25検体延べ54項目について検査を実施したところ、すべて基準に適合していた。

(d) 苦情検査

表1に示した食品の理化学検査のうち、苦情品として検査したものは6件126項目であった。

検査内容は農薬、着色料、亜硫酸、残留塩素等多様であった。

※注) 1 表1については19ページに記載

(e) 放射性物質検査

市内に流通する食品について、NaI (Tl) シンチレーション検出器により、放射性セシウム (^{134}Cs 、 ^{137}Cs) の検査を行なっている。

穀類 4 件、肉類 5 件合計 9 検体について検査を行なったところ、すべて暫定規制値未満であった。

(3) 家庭用品等の検査

「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき、生後24ヶ月以内の乳幼児用繊維製品の試買検査を行っている。

表3に実施した検査内容を示した。いずれの製品も規格基準に適合していた。

表3 ホルムアルデヒド検査製品内訳

| 検体数 | 繊維製品 (24ヶ月以内の乳幼児用のもの) | | | | | |
|-----|-----------------------|-----|-------|----|----|-------|
| | おしめカバー | スタイ | 下着・肌着 | 帽子 | 手袋 | バスタオル |
| 10 | 1 | 2 | 4 | 1 | 1 | 1 |

(4) GLP (業務管理基準)

食品衛生に関する検査データの信頼性確保を目的として、国及び地方自治体の検査施設に導入されたGLPについて、和歌山市衛生研究所食品衛生検査施設等の業務管理要領に基づく検査機器の保守点検及び外部精度管理調査を実施した。

(a) 外部精度管理

一般財団法人食品薬品安全センター秦野研究所が実施する外部精度管理調査に参加し、次のとおり外部精度管理を実施した。

表4 外部精度管理項目

| | 食品添加物 I | 残留農薬検査 II |
|-----|---------|-----------------------------|
| 試料 | 漬物 | とうもろこしペースト |
| 項目名 | ソルビン酸 | クロルピリホス チオベンカルブ マラチオン |

(5) 飲料水等の検査

一般依頼検査のほとんどが飲料水であり、通常の検査項目として、色度、濁度、臭気、味、pH値、硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素、塩化物イオン、硬度、有機物、鉄、マンガン、大腸菌、一般細菌等の検査を実施している。

水道法による水質基準全項目検査、食品衛生法にかかる清涼飲料水の原水検査等その他の項目についても、依頼者の要望や相談に応じ適宜対応している。

プール水などは規格項目の検査を実施し、また依頼者の苦情相談や検査結果についての説明等も行っている。行政依頼については、保健所の依頼による公衆浴場水の検査等を行っている。

表5、表6に実施した検査内容を示した。検査件数は983件であった。

表5 種類別飲料水等の検査

| | | 件数 | (%) |
|-----|----------|-----|--------|
| 飲料水 | 井戸水 | 320 | (32.6) |
| | 水道水 | 36 | (3.7) |
| | 簡易専用水道 | 324 | (33.0) |
| | 専用水道 | 13 | (1.3) |
| | 船舶水 | 14 | (1.4) |
| | その他 | 20 | (2.0) |
| 用水 | 環境水 | 204 | (20.8) |
| | 浴場水・プール水 | 52 | (5.3) |
| 合計 | | 983 | (100) |

表6 依頼者別飲料水等の検査

| | 件数 | (%) |
|------------|-----|--------|
| 保健所 | 34 | (3.5) |
| 保健所以外の行政機関 | 22 | (2.2) |
| 学校及び事業所 | 724 | (73.7) |
| 一般 | 203 | (20.7) |
| 合計 | 983 | (100) |

表 1 食品等の検査

| 検体種別 | 依頼別（検体数） | | | | 項目別（項目数） | | | | | | | | | | | |
|---------------|----------|-------|------|------|----------|--------|-----------|-----|-----|-----|-------|------|------|------|-----|-----|
| | 総数 | 保健所依頼 | 一般依頼 | 自主検査 | 総数 | 食品規格 | 食品中の添加物試験 | | | | | | 栄養成分 | 乳等規格 | その他 | |
| | | | | | | | 甘味料 | 着色料 | 発色剤 | 漂白剤 | 品質保持剤 | 防ばい剤 | | | | 保存料 |
| 総数 | 251 | 151 | 9 | 91 | 10,845 | 10,108 | 26 | 231 | 4 | 20 | 16 | 24 | 292 | 0 | 59 | 65 |
| 魚介類 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 魚介類加工品 | 13 | 11 | | 2 | 80 | | | 48 | | 5 | | | 24 | | | 3 |
| 肉卵類及びその加工品 | 11 | 9 | | 2 | 97 | 69 | | | 4 | | | | 12 | | | 12 |
| 穀類及びその加工品 | 21 | 20 | | 1 | 48 | 24 | | | | | 16 | | | | | 8 |
| 野菜類、果実及びその加工品 | 61 | 45 | 2 | 14 | 9,360 | 9,028 | 26 | 180 | | 15 | | 24 | 86 | | | 1 |
| 菓子類 | 29 | 25 | | 4 | 107 | | | | | | | | 107 | | | |
| 牛乳及び加工乳 | 2 | 2 | | | 8 | | | | | | | | | | 8 | |
| 乳製品 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 乳類加工品 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| アイスクリーム類、氷菓 | 28 | 19 | 4 | 5 | 51 | | | | | | | | | | 51 | |
| 清涼飲料水 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| その他 | 86 | 20 | 3 | 63 | 1,094 | 987 | | 3 | | | | | 63 | | | 41 |

2. 環境科学班

(1) 概要

当班は、環境政策課からの依頼による行政検査が主で、河川等の公共用水域、市内の工場・事業場等の排水、地下水の水質検査、ゴルフ場排水中の残留農薬の検査及び一般環境・工場等の敷地境界線上における悪臭検査を実施している。

(2) 検査実績

平成 26 年度は次のとおりである。なお、(a)～(f)の詳細については表 3-1、表 3-2 (p22、p23)に示した。

(a) 公共用水域の水質検査

公共用水域の常時監視のための測定計画に基づき、市内の主要河川において 168 検体 2,108 項目の水質検査を実施した。

また、測定計画以外で必要に応じて実施した検査は、150 検体 366 項目であった。

(b) 工場、事業場の水質検査

工場等の排水基準監視のための測定計画に基づき実施した水質検査は、283 検体 2,220 項目であった。

また、測定計画以外で必要に応じて実施した検査は、42 検体 347 項目であった。

(c) 地下水検査

地下水水質状況の把握を目的とする水質測定計画に基づき実施した水質検査は、市内 32 地点で 27 有害物質であった。計画以外の検査を含め、61 検体 1,222 項目であった。

(d) 他行政機関依頼の水質検査

青岸清掃センター、住宅政策課、農林水産課等からの依頼により実施した検査は、30 検体 194 項目であった。

(e) 所排水処理施設の水質検査

排水処理施設の管理のため実施した検査は、24 検体 260 項目であった。

(f) その他の検査

市民からの一般依頼検査及び自主検査として実施した検査は、202 検体 297 項目であった。

(g) 悪臭検査

市内の一般環境監視測定として、悪臭防止法で定められている 22 物質について実施した検査は、50 検体 176 項目であった。

工場等の敷地境界線上における悪臭検査として実施したものは、25 検体 35 項目であり併せて 75 検体 211 項目であった。詳細については表 1 に示した。

表 1 悪臭検査実績

| 検体数 | 75 |
|-------------|------------|
| 項目名 | 項目数 |
| アンモニア | 21 |
| メチルメルカプタン | 9 |
| 硫化水素 | 21 |
| 硫化メチル | 9 |
| 二硫化メチル | 9 |
| トリメチルアミン | 8 |
| アセトアルデヒド | 8 |
| プロピオンアルデヒド | 8 |
| ホルマリン | 8 |
| イソブチルアルデヒド | 8 |
| ホルマリン | 8 |
| イソブチルアルデヒド | 8 |
| イソブチルアルコール | 9 |
| 酢酸エチル | 9 |
| メチルイソブチルケトン | 9 |
| トルエン | 9 |
| スチレン | 9 |
| キシレン | 9 |
| プロピオン酸 | 8 |
| ホルマリン | 8 |
| ホルマリン | 8 |
| イソブチル酸 | 8 |
| 合 計 | 211 |

表 2 ゴルフ場農薬検査実績

| 検体数 | | 10 |
|------------------|----------------|-----|
| 項目名 | | 項目数 |
| 殺 虫 剤 | アセフェート | 10 |
| | イソキサチオン | 10 |
| | クロルピリホス | 10 |
| | ダニアジノン | 10 |
| | トリクロルホン (DEP) | 10 |
| | ピリタフェンチオン | 10 |
| | フェントロチオン (MEP) | 10 |
| 殺 菌 剤 | イソプロチオラン | 10 |
| | イプロシオン | 10 |
| | エトリジアゾール | 10 |
| | オキシ銅 | 10 |
| | キャプタン | 10 |
| | クロタロニル (TPN) | 10 |
| | クロネブ | 10 |
| | チウラム | 10 |
| | トルクロホスメチル | 10 |
| | フルトラニル | 10 |
| | ペンシクロン | 10 |
| | メタラキシル | 10 |
| | メフロニル | 10 |
| | プロピコナゾール | 10 |
| アゾキシストロビン | 10 | |
| 除 草 剤 | アシュラム | 10 |
| | ジチオピル | 10 |
| | シマジン (CAT) | 10 |
| | テルフカルブ | 10 |
| | トリクロピル | 10 |
| | ナプロハミト | 10 |
| | ヒリフチカルブ | 10 |
| | ブタミホス | 10 |
| | プロピサミト | 10 |
| | ヘンズリト | 10 |
| | ペンテイメタリン | 10 |
| | ペンフルラリン | 10 |
| | メコフロップ | 10 |
| | シテュロン | 10 |
| | ハロスルフロメチル | 10 |
| | フラサスルフロン | 10 |
| 独 自 項 目 | チオヘンカルブ | 10 |
| | EPN | 10 |
| | シクロホス | 10 |
| | フェノフカルブ | 10 |
| | イプロヘンホス | 10 |
| クロルニトロフェン | 10 | |
| 合 計 | | 440 |

(h) ゴルフ場排水の残留農薬検査

環境省から指針値が示されている農薬等について、市内のゴルフ場の調整池で採取し実施した水質検査は、10 検体 440 項目であり、詳細については表 2 に示した。

表 3-1 水質検査実績 1

| | 公共用水域 | | 工場・事業場 | | 地下水 | 他行政 機 関 | 所排水 施 設 | その他 | 合計 |
|-----------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|------------|------------|--------------|
| | 計 画 | その他 | 計 画 | その他 | | | | | |
| 検体数 | 168 | 150 | 283 | 42 | 61 | 30 | 24 | 202 | 960 |
| 項目数 | 2,108 | 366 | 2,220 | 347 | 1,222 | 194 | 260 | 297 | 7,014 |
| pH | 108 | 62 | 210 | 14 | 8 | 30 | 24 | 104 | 560 |
| COD | 108 | 150 | 158 | 16 | 8 | 30 | 14 | 33 | 517 |
| BOD | 108 | 80 | | | 2 | 26 | 4 | 16 | 236 |
| SS | 108 | 1 | 151 | 9 | | 18 | 14 | 7 | 308 |
| DO | 108 | 13 | | | 5 | 6 | | | 132 |
| n-ヘキサン抽出物質 | 108 | | 53 | 8 | 3 | 6 | 4 | 1 | 183 |
| 全窒素 | 54 | 6 | 140 | 5 | 4 | 18 | 8 | 36 | 271 |
| 全燐 | 54 | 6 | 140 | 5 | 4 | 18 | 8 | 22 | 257 |
| カルシウム | 54 | | 81 | 9 | 38 | | 6 | | 188 |
| 全アン | 54 | | 65 | 4 | 33 | | 4 | | 160 |
| 鉛 | 54 | | 81 | 29 | 40 | | 6 | | 210 |
| 六価クロム | 54 | | 82 | 9 | 37 | | 6 | 7 | 195 |
| 砒素 | 54 | | 81 | 29 | 38 | | 6 | 3 | 211 |
| 総水銀 | 54 | | 13 | 9 | 35 | | 4 | | 115 |
| ジクロロメタン | 16 | | 47 | 10 | 51 | | 8 | 1 | 133 |
| 四塩化炭素 | 16 | | 47 | 10 | 51 | | 8 | 1 | 133 |
| 1,2-ジクロロエタン | 16 | | 47 | 10 | 51 | | 8 | 1 | 133 |
| 1,1-ジクロロエチレン | 16 | | 47 | 10 | 51 | | 8 | 1 | 133 |
| 1,2-ジクロロエチレン | | | | | 44 | | | 1 | 45 |
| シス-1,2-ジクロロエチレン | 16 | | 47 | 10 | 10 | | 8 | 1 | 92 |
| 1,1,1-トリクロロエタン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | 1 | 130 |
| 1,1,2-トリクロロエタン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | 1 | 130 |
| トリクロロエチレン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | 1 | 130 |
| テトラクロロエチレン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | 1 | 130 |
| 1,3-ジクロロプロパン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | 1 | 130 |
| チウラム | 16 | | 4 | | 33 | | 2 | | 55 |
| シマジン | 16 | | 4 | | 33 | | 2 | | 55 |
| チオベンカルブ | 16 | 1 | 4 | | 34 | | 2 | | 57 |
| ベンゼン | 16 | | 47 | 10 | 48 | | 8 | | 129 |
| セレン | 16 | | 4 | 4 | 33 | | 2 | | 59 |
| 1,4-ジオキサン | | | 33 | 5 | 39 | | 8 | 3 | 88 |

表 3-2 水質検査実績 2

| | 公共用水域 | | 工場・事業場 | | 地下水 | 他行政 機 関 | 所排水 施 設 | その他 | 合 計 |
|-----------------|-------|-----|--------|-----|-----|------------|------------|-----|-----|
| | 計 画 | その他 | 計 画 | その他 | | | | | |
| フェノール | 36 | | | 4 | | | 4 | | 44 |
| フェノール類 | | | 22 | | | | | | 22 |
| EPN | 16 | | | | 1 | | | | 17 |
| 銅 | 54 | 1 | 25 | 8 | 3 | | 6 | | 97 |
| 亜鉛 | 54 | | 46 | 8 | 3 | | 6 | | 117 |
| 溶解性鉄 | | | 18 | | | | | | 18 |
| 溶解性マンガン | | | 18 | | | | | | 18 |
| 全クロム | 54 | | 31 | 4 | 4 | | 6 | | 99 |
| ふっ素 | 32 | | 10 | 8 | 34 | | 2 | | 86 |
| ほう素 | 32 | | 15 | 4 | 34 | | 6 | | 91 |
| 全鉄 | | | | 4 | 2 | | 4 | | 10 |
| 全マンガン | | | | 8 | 2 | | 4 | | 14 |
| クロホルム | 16 | | | 4 | 4 | | | | 24 |
| トルエン | 16 | | | 4 | 6 | | | | 26 |
| キシレン | 16 | | | 4 | 3 | | | | 23 |
| ニッケル | | | 21 | 4 | 3 | | | | 28 |
| アンチモン | | | | | | | | | 0 |
| 塩素イオン | 54 | | | | | 2 | | 44 | 100 |
| リン酸性リン | 36 | | | | | | | | 36 |
| 亜硝酸性窒素+硝酸性窒素 | 36 | | | | 33 | | | | 69 |
| アンモニア性窒素 | 36 | | | | | 6 | | 1 | 43 |
| 亜硝酸性窒素 | 36 | | | | 33 | 6 | | 4 | 79 |
| 硝酸性窒素 | 36 | | | | 33 | 6 | | 5 | 80 |
| アンモニア・硝酸・亜硝酸性窒素 | | | 11 | 4 | | 6 | | | 21 |
| 硫化物イオン | | | 8 | 4 | | | | | 12 |
| 着色度 | 60 | 1 | 73 | 5 | | | | | 139 |
| 透視度 | 60 | 1 | 73 | 5 | | 6 | | | 145 |
| 残留塩素 | | | 25 | | | | | | 25 |
| 大腸菌群 | | | | | | 10 | 10 | | 20 |
| その他 | 108 | 44 | 3 | | 51 | | | | 206 |

3. 微生物学班

(1) 概要

当班の主な業務は、感染症や食中毒の原因となる細菌やウイルスの検査である。

感染症や食中毒の発生時には行政依頼により、感染源究明と感染拡大防止のために、原因微生物の検索および遺伝子検査による疫学解析を実施している。さらに、新型インフルエンザ等の健康危機事象の発生に備えて検査体制を整備するとともに、感染症のサーベイランス検査や発生動向調査に係る検査を実施している。

また、食品による健康被害を未然に防止するため、事業所等の一般及び行政から依頼された食品について、衛生指標菌や食中毒起因菌の検査を実施するとともに、食品取扱従事者等の健康保菌者検査も実施している。

その他の業務としては、行政依頼による水質細菌検査、市民からの一般依頼による飲料水の水質検査、寄生虫卵検査等がある。

(2) 検査実績

(a) 感染症に係る検査

保健所からの行政依頼によって、下痢症ウイルス等による集団感染症、海外渡航による輸入感染症、並びに腸管出血性大腸菌等 3 類感染症等の事例発生時には患者やその接触者の検査を実施した。また、インフルエンザや麻疹・風疹等のサーベイランスに係る遺伝子検査を実施し、分離したウイルスの薬剤感受性の解析、遺伝子型別等を実施した。

昨年度末以降市内において、幼稚園での集団発生及び 3 例の家族内の麻疹事例が発生し、平成 26 年度は麻疹ウイルスの検査数が増えた。また、国内で発生したデングウイルスの検査体制を新たに整備した。感染症に係る検体数は表 1 のとおりである。

表 1 感染症に係る行政検査

| | 患者数(疑) | 検体数 |
|--------------|--------|-----|
| インフルエンザウイルス | 245 | 245 |
| 鳥インフルエンザウイルス | 1 | 1 |
| 麻疹ウイルス | 107 | 246 |
| 風疹ウイルス | 17 | 36 |
| SFTSウイルス | 8 | 9 |
| デングウイルス | 7 | 7 |
| 腸管出血性大腸菌 | 6 | 28 |
| その他 | 8 | 22 |

(b) 食中毒及び苦情に伴う検査（行政依頼）

保健所からの行政依頼によって、食中毒等の事例発生時には有症状者及びその原因食品や施設の検査を実施し、原因微生物の検索および疫学解析を行なった。

平成 26 年度は飲食店において食中毒が 6 例発生した。その病因物質の内訳はカンピロバクター 2 事例及びノロウイルス 4 事例であった。食中毒、苦情の事例数、検体数は表 2 のとおりである。

表 2 食中毒及び苦情に係る行政検査

| | 事例数 | 検体数 | 検査項目数 |
|------|-----|-----|-------|
| 食中毒 | 6 | 121 | 330 |
| 有症苦情 | 22 | 157 | 548 |
| 食品苦情 | 12 | 12 | 14 |
| 計 | 40 | 290 | 892 |

(c) 臨床検体検査（一般依頼）

食品取扱従事者、学校関係者、水道関係従事者等について、赤痢菌、サルモネラ、腸管出血性大腸菌 O157 等の項目について保菌者検索を実施した。また、蟻虫卵等の寄生虫卵検査を実施した。

検体数、検査項目数は表 3 のとおりである。

表 3 検便及び寄生虫卵検査

| | 検体数 | 検査項目数 |
|------|-----|-------|
| 検便 | 867 | 2,692 |
| 寄生虫卵 | 73 | 73 |

(d) 食品等検査（行政依頼・一般依頼）

保健所からの行政依頼による収去食品及び施設等のふき取り材料、並びに食品製造事業所等からの一般依頼による食品について、細菌検査を実施した。検査の内訳は表 4 (p25) のとおりである。

(e) 水質検査（行政依頼・一般依頼）

農林水産課の依頼により、海域の大腸菌群数測定を 4 件実施した。なお、飲料水、浴場水等の水質検査の実施数は生活科学班で集計している。

表 4 食品等検査(微生物検査)

| 項目 | 種別 | 行政依頼検査 | | | | | | | | | | | 一般依頼検査 | | | | | | | | | | | |
|--------------|----|------------|-------|---------|----------|----------|------|-----|-----|-----|-------|-----|--------|------------|-------|---------|----------|-----------|-----|-----|-------|-----|-----|-----|
| | | 魚介類・魚肉練り製品 | 弁当・惣菜 | 食肉・食肉製品 | アイスクリーム類 | 牛乳・乳酸菌飲料 | 冷凍食品 | 菓子類 | 豆腐類 | めん類 | ふきとり | その他 | 計 | 魚介類・魚肉練り製品 | 弁当・惣菜 | 食肉・食肉製品 | アイスクリーム類 | 氷雪・清涼飲料水類 | 菓子類 | 豆腐類 | 野菜・果物 | めん類 | その他 | 計 |
| 検体数 | | 42 | 86 | 44 | 12 | 2 | 11 | 30 | 15 | 16 | 502 | 28 | 788 | 55 | 119 | 23 | 5 | 18 | 7 | 11 | 8 | 1 | 57 | 304 |
| 大腸菌群 | | 6 | 0 | 0 | 12 | 2 | 4 | 27 | 15 | 7 | 501 | 0 | 574 | 26 | 14 | 17 | 5 | 18 | 3 | 10 | 0 | 0 | 33 | 126 |
| 大腸菌 | | 4 | 86 | 3 | 0 | 0 | 7 | 0 | 0 | 9 | 391 | 17 | 517 | 8 | 7 | 5 | 0 | 3 | 0 | 2 | 0 | 0 | 12 | 37 |
| 一般細菌数 | | 14 | 86 | 0 | 10 | 2 | 11 | 30 | 15 | 16 | 392 | 7 | 583 | 55 | 115 | 21 | 5 | 18 | 7 | 10 | 4 | 0 | 54 | 289 |
| 黄色ブドウ球菌 | | 27 | 86 | 3 | 0 | 0 | 0 | 25 | 15 | 16 | 502 | 8 | 682 | 19 | 11 | 16 | 0 | 13 | 2 | 3 | 0 | 1 | 10 | 75 |
| サルモネラ | | 0 | 86 | 44 | 0 | 0 | 0 | 25 | 0 | 0 | 70 | 27 | 252 | 1 | 49 | 13 | 0 | 10 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 76 |
| 腸炎ビブリオ | | 31 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 80 | 10 | 121 | 8 | 79 | 0 | 0 | 10 | 0 | 0 | 3 | 0 | 5 | 105 |
| セレウス菌 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 15 | 0 | 0 | 0 | 15 | 6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 6 |
| 腸管出血性大腸菌0157 | | 0 | 86 | 41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 134 | 0 | 0 | 7 | 0 | 10 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 19 |
| 腸管出血性大腸菌026 | | 0 | 86 | 41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 7 | 134 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 腸内細菌科菌群 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 糞便系大腸菌群 | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| カンピロバクター | | 0 | 0 | 41 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 40 | 0 | 81 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| クロストリジア | | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 1 | 0 | 4 |
| 項目数合計 | | 82 | 516 | 173 | 22 | 4 | 22 | 107 | 60 | 48 | 1,976 | 83 | 3,093 | 123 | 275 | 80 | 10 | 82 | 12 | 27 | 10 | 2 | 117 | 738 |

Ⅲ 調査研究

LC/MS/MS によるヒト血清および尿中の テトロドトキシンの分析事例

北尾 拓也 藤田 緑 面家 真奈美 有本 美文
木野 善夫 森野 吉晴

Analytical Case of Tetrodotoxin in Human Serum and Urine by Liquid Chromatography with Tandem Mass Spectrometry

KITAO Takuya FUJITA Midori OMOYA Manami ARIMOTO Mifumi
KINO Yoshio MORINO Yoshiharu

平成 27 年 2 月、和歌山市内においてトラフグの喫食による食中毒事例が発生した。和歌山市保健所から搬入された患者の血清と尿について、高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (LC/MS/MS) を用いて検査したところ、患者 2 名の尿からそれぞれ 155ng/mL (0.70MU 相当)、60ng/mL (0.27MU 相当) のテトロドトキシン (TTX) を検出した。また、定量下限値未満であるが、1 名の尿から 9ng/mL (0.04MU 相当) 程度の痕跡が見られ、TTX 含有量は患者の喫食量及び中毒症状の程度に比例していた。

キーワード: トラフグ、食中毒、テトロドトキシン、LC/MS/MS、生体試料、尿、血清

はじめに

テトロドトキシン (以下「TTX」という) は神経や筋肉を麻痺させる強力な自然毒であり、トラフグやクサフグに代表されるフグ毒の成分である。毒量はマウスユニット (以下「MU」という) (20 グラムのマウスを 30 分で死亡させる量が 1MU) で表わされ、マウス試験法によって分析されてきた。

和歌山県内では、過去 20 年間に於いてフグを原因とする食中毒事例が 6 件発生しており、死亡例はないものの、喫食した 14 人のうち 10 人が発症している。

平成 27 年 2 月、和歌山市内において、トラフグのコースを喫食した 1 グループ 6 名のうち、5

名が嘔吐、麻痺等の食中毒症状を呈した。和歌山市保健所が調査したところ、有症者 5 名全員が当該施設でフグの有毒部位である肝臓を喫食しており、食中毒症状及び事件の背景から病因物質が TTX であると断定した。

今回、これら患者のうち血清及び尿の採取できたものについて、高速液体クロマトグラフ質量分析装置 (以下「LC/MS/MS」という) による機器分析を行ったので報告する。

試料と方法

1. 検査試料

有症患者 5 名のうち、医療機関で採取できた 4 名の血清及びその中の 3 名の尿を用いた。こ

これらの生体試料はいずれも発症約 13 時間後に採取されたものである。

2. 試薬及び装置

2.1 試薬等

テトロドトキシシン標準品（ナカライテクス、純度 95～97%）

メタノール（和光純薬工業、LC/MS 用）

アセトニトリル（和光純薬工業、LC/MS 用）

酢酸（キシダ化学、特級）

酢酸アンモニウム溶液（和光純薬工業、HPLC 用、1mol/l）

0.1Vo1%ぎ酸-蒸留水（関東化学、HPLC 用、0.09～0.11Vo1%）

限外ろ過フィルター（MILLIPORE、Amicon Ultra-4、Ultracel-10K）

C18 カートリッジ（アジレントテクノロジー、Mega BE-C18、1g）

活性炭カートリッジ（GL サイエンス、GL-Pak Active Carbon Jr、400mg）

0.2 μ m フィルター（MILLIPORE、Millex-LG）

カラム（Waters、Atlantis HILIC Silica、3 μ m、2.1 \times 150mm）

固相カートリッジについて、C18 カートリッジの下に活性炭カートリッジを連結し、あらかじめメタノール 5mL 及び水 5mL でコンディショニングして使用した。

2.2 標準液の調整

テトロドトキシシン標準液を 0.1%酢酸に溶解し、100mg/L となるように調整した。これを 0.1%酢酸で希釈し、5～200ng/mL として使用した。

2.3 装置

高速液体クロマトグラフ（島津製作所、Prominence 20A System）

質量分析装置（ABSciex、4000QTRAP）

遠心分離機（KUBOTA、5010）

3. 方法

3.1 テトロドトキシシンの分析方法

赤木ら¹⁾、矢野ら²⁾ 及び秦野ら³⁾、⁴⁾ の報告を参考にして行った。

試料 1mL に 2%酢酸 9mL を加え振とう後、限外ろ過フィルターを用いて遠心ろ過（3000rpm、50min）し、ろ液を 10mL に定容した。うち 1mL を 70°C で減圧濃縮し、窒素吹き付け乾固した後、2mmol/L 酢酸アンモニウム 2mL に溶解した。この 1mL を、C18 カートリッジの下に活性炭カートリッジを直列に接続した 2 連カートリッジに負荷し、精製水 5mL で洗浄した後 2%酢酸メタノール溶液 2mL で溶出した。50°C で減圧濃縮し、窒素を吹き付け乾固した後、0.1%酢酸 0.5mL に溶解し、0.2 μ m フィルターでろ過したものを試料溶液として LC/MS/MS を用いて TTX の定量分析を行った。なお、生体試料を取り扱うため、限外ろ過フィルターを用いて定容するまでの試験操作を安全キャビネット内で行った。

分析フローを以下、図 1 に示す。

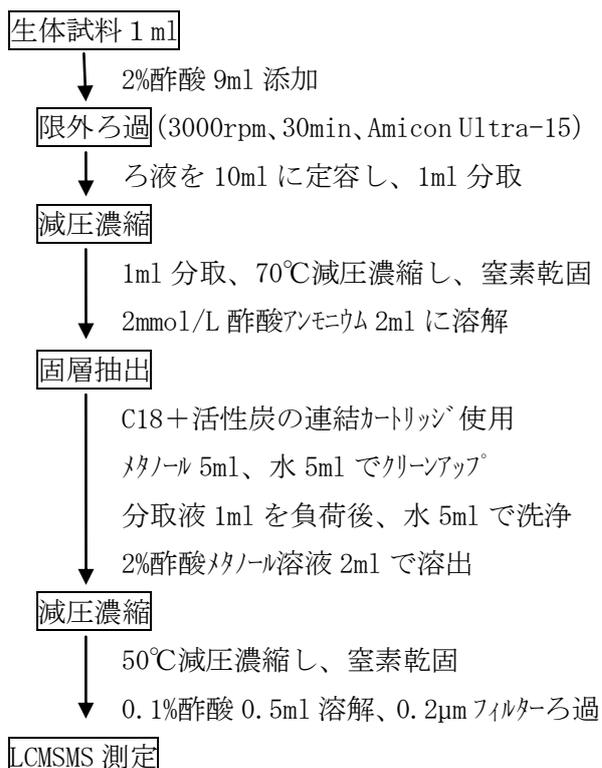


図 1 テトロドトキシシンの分析フロー

3.2 測定条件

LC/MS/MS の測定条件を表 1 に示す。

表 1 LC/MS/MS 測定条件

| |
|-----------------------------------------------------------------------|
| カラム： Atlantis HILIC Silica 3 μ m 2.1mm \times 150mm (Waters) |
| 移動相： A 液 0.1% ぎ酸 B 液 アセトニトリル |
| 流速： 0.2ml/min |
| カラム温度： 40 $^{\circ}$ C |
| 注入量： 5 μ l |
| イオン化： ESI, Positive |
| イオンスプレー電圧： 5500V |
| ターボガス温度： 650 $^{\circ}$ C |
| プリカーサーイオン： m/z 320.1 |
| プロダクトイオン： m/z 162.1(定量イオン), 302.2(定性イオン), 77.1(定性イオン) |

結果および考察

TTX 標準液 (10ppb) と患者の尿について得られたクロマトグラムを図 2、血清について得られたクロマトグラムを図 3、TTX 分析結果を表 2 に示す。尿については比較的良好なピークが得られたが、血清については全ての検体で、TTX のピークはほとんど確認できなかった。

尿を採取できた有症者のうち、一番喫食量の多かった患者 A からは 155ng/mL (0.70MU 相当)、次いで患者 B から 60ng/mL (0.27MU 相当) の TTX が検出された。一番喫食量が少なかった患者 C においても定量下限値未満ではあるが、9ng/mL (0.04MU 相当) 程度の痕跡が見られた。患者 D は尿が採取出来なかったため、分析を行っていない。また、患者の喫食量と中毒症状の程度は比例関係であった。

添加回収試験結果を表 3 に示す。超純水に TTX 標準液を添加したものをブランク添加試料、患者 C の血清及び尿について標準液を添加したものをそれぞれ血清添加試料、尿添加試料とした。回収率はブランク添加試料で 57.0%、血清

添加試料は 50.0%、尿添加試料は 51.5% となった。

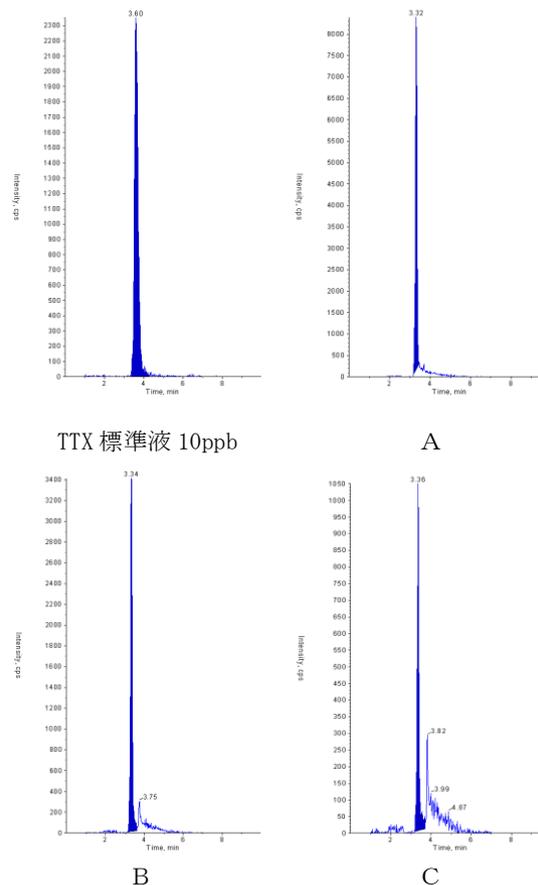


図 2 標準液及び尿のクロマトグラム

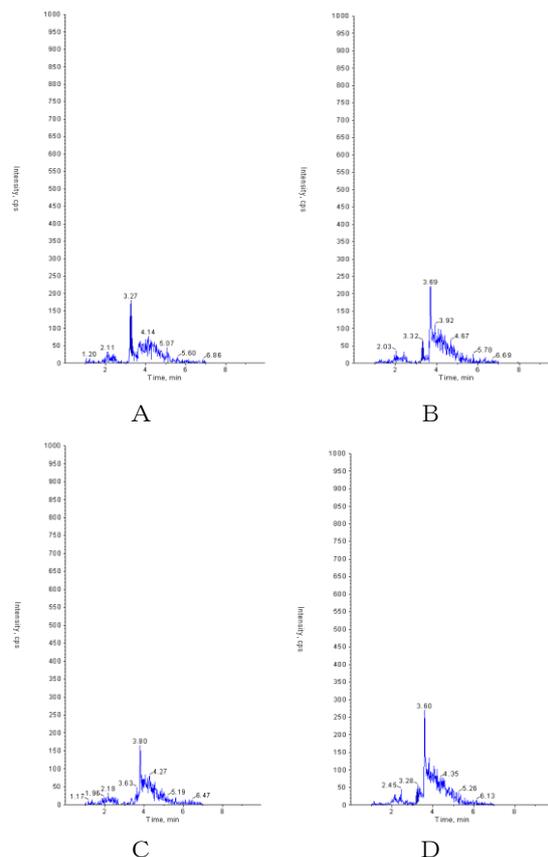


図 3 血清のクロマトグラム

表 2 TTX の分析結果

| 患者 | 喫食量 | 年齢 | 性別 | 血清 (ng/mL) | 尿 (ng/mL) | 症状 |
|----|------|------|----|---------------|--------------|---------------------|
| A | 4 切れ | 50 代 | 男 | 不検出 | 155 | 麻痺、嘔吐、倦怠感、脱力感 |
| B | 2 切れ | 40 代 | 男 | 不検出 | 60 | 麻痺、嘔吐、倦怠感、脱力感 |
| C | 半切れ | 40 代 | 男 | 不検出 | (9) | 麻痺、発熱、頭痛、悪寒、倦怠感、脱力感 |
| D | 1 切れ | 40 代 | 男 | 不検出 | --- | 麻痺、嘔吐、倦怠感、脱力感 |

患者 C の尿中 TTX 量は定量下限値 (50ng/mL) 未満であるため、参考値である。

表 3 TTX の添加回収試験結果

| 試料名 | 回収率 (%) |
|----------|---------|
| ブランク添加試料 | 57.0 |
| 血清添加試料 | 50.0 |
| 尿添加試料 | 51.5 |

(最終濃度 200ng/mL)

おわりに

フグ中毒患者の尿及び血清等の生体試料については、TTX 含有量が少ないためマウス試験法での検出が難しく、当所においてはこれまで分析を行ったことがなかった。今回、LC/MS/MS を用いて分析を行ったところ、血清については検出できなかったが、尿では検出することができ、喫食量及び中毒症状の程度に応じた定量結果が得られた。今後、フグ中毒発生時には、フグの検査だけでなく患者の生体試料からも分析が可能となり、健康危機管理体制の強化を図ることができると考える。しかし、回収率については良好な結果が得られなかったため、今後カラムや希釈率等の前処理を検討することで、回収率の向上を図るのが課題である。

本検査を行うにあたり、情報提供をしていただいた和歌山市保健所生活保健課の皆様に深謝いたします。

参考文献

- 1) 赤木浩一 他：食衛誌，47，No. 2 (2006)
- 2) 矢野昌弘 他：神戸市環境保健研究所報，39，48-53 (2011)
- 3) 秦野真澄 他：愛媛環衛研年報，8，17-20 (2005)
- 4) 秦野真澄 他：愛媛環衛研年報，10，14-17 (2007)

ICP-MS による金属元素同時定量

佐武 晃司 藪 修 高橋 和也 吉本 武浩

Simultaneous Determination of Metal Elements by Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry

SATAKE Koji YABU Osamu TAKAHASHI Kazuya YOSHIMOTO Takehiro

和歌山市衛生研究所における平成 27 年度の分析機器整備の一貫として、誘導結合プラズマ質量分析装置 (ICP-MS) を更新した。従来の装置では、干渉イオンの問題から、正確な定量ができない元素があった。更新した装置は、「コリジョン・リアクションセル」を有しているため、干渉イオンを排除し、定量を行うことができる。今回、金属元素同時定量時におけるコリジョン・リアクションセルへの導入ガスを決定するとともに、添加回収試験を行ったところ、25 種類の金属元素で良好な回収率が得られた。

キーワード : ICP-MS、金属元素、同時定量、コリジョン・リアクションセル、干渉イオン

はじめに

毒物事件などの健康危機事象が発生した場合、原因物質の特定が急がれる。このための手法の一つとして、誘導結合プラズマ質量分析装置 (以下「ICP-MS」という。)を使用した金属類の多元素同時定量がある¹⁾。従来の ICP-MS では干渉イオンの影響を受けやすく、元素によっては正確な定量が出来ない場合があった。しかし、近年の ICP-MS では、コリジョン・リアクションセル内にガスを流し、干渉イオンの影響の低減化を図る手法が開発された^{2), 3)}。流すガスの種類によって、コリジョンガスとリアクションガスに分けられる。一般的に、コリジョンガスには、He、Ne などの不活性ガスが用いられ、リアクションガスには、H₂、CH₄、NH₃、CO などのガスが用いられることが多い。

当所の装置では、ガスを使用しない No Gas モードに対し、He ガスを使用する He ガスモードと、H₂ ガスを使用する H₂ ガスモードがある。今回、それぞれのガスモードで各元素にどのような違いが見られるかを検証し、金属類の多元素同時定量を

行ったので報告する。

材料と方法

1. 使用機器

- 1.1 マイクロウェーブ分解システム
マイルストーンゼネラル社製
MLS-1200MEGA
- 1.2 超純水製造装置
日本ミリポア株式会社製
MILLI-Q INTEGRAL 3(A10)
- 1.3 測定機器
ICP-MS
Agilent Technologies 社製 Agilent 7900

2. 標準溶液及び試薬

- 2.1 標準液 : 31 元素混合標準原液 (SPEX 製 XSTC-13) 10mg/L (in5% HNO₃)
- 2.2 内部標準液 : Sc (スカンジウム) および Y (イットリウム) 標準液 (SPEX 製) 10mg/L (in2% HNO₃)

2.3 試薬等：硝酸(関東化学製)電子工業用 (比重 1.38)

3. 標準溶液の調製

3.1 内部標準溶液の調製

各元素 10mg/L を混合希釈し、1mg/L (in5% HNO_3)として調製した。

3.2 標準溶液の調製

標準液 10mg/L を希釈して、0.1、0.2、0.5、2、10、50($\mu\text{g/L}$)を調製し、内部標準液を 1 $\mu\text{g/L}$ となるように 添加した。

4. 試料の調製

試料は、和歌山市内の河川水 2 検体、地下水 1 検体を用いた。河川水 A および河川水 B は 20 倍、地下水は 10 倍に希釈調整した。試料に硝酸が 5% となるように加え、マイクロウェーブ分解システムを用いて前処理した。

これを ICP-MS により内部標準法を用いて定量し、添加回収試験を行った。回収試料は標準溶液を 10 $\mu\text{g/L}$ となるように添加した。

5. ICP-MS の分析条件

ICP-MS の測定条件を表 1 に、測定対象元素を表 2 に示した。

表 1 ICP-MS の測定条件

| | |
|-------------------------|---------|
| 高周波出力(W) | 1550 |
| 積分時間(sec./1 元素) | 389.655 |
| ピークパターン(ポイント) | 1 |
| 繰り返し回数(回) | 3 |
| H_2 流量[mL/min] | 6.0 |
| He 流量[mL/min] | 4.3 |

表 2 測定元素の質量数

| 元素名 *()内は実際の の質量数 | | 測定 質量 m/z | 元素名 *()内は実際の の質量数 | | 測定 質量 m/z |
|--------------------------|--------|-----------------|--------------------------|---------|-----------------|
| Li (7) | リチウム | 7 | As (75) | ヒ素 | 75 |
| Be (9) | ベリリウム | 9 | Se (79) | セレン | 78 |
| Na (23) | ナトリウム | 23 | Rb (85) | ルビジウム | 85 |
| Mg (24) | マグネシウム | 24 | Sr (88) | ストロンチウム | 88 |
| Al (27) | アルミニウム | 27 | Y (89) | イットリウム | 89 |
| K (39) | カリウム | 39 | Ag (108) | 銀 | 107 |
| Ca (40) | カルシウム | 44* | Cd (112) | カドミウム | 111 |
| Sc (45) | スカンジウム | 45 | In (115) | インジウム | 115 |
| V (51) | バナジウム | 51 | Cs (133) | セシウム | 133 |
| Cr (52) | クロム | 52 | Ba (137) | バリウム | 137 |
| Mn (55) | マンガン | 55 | Hg (201) | 水銀 | 201 |
| Fe (56) | 鉄 | 56 | Tl (204) | タリウム | 205 |
| Co (59) | コバルト | 59 | Pb (207) | 鉛 | 208 |
| Ni (59) | ニッケル | 60 | Bi (209) | ヒスマス | 209 |
| Cu (64) | 銅 | 63 | Th (232) | トリウム | 232 |
| Zn (65) | 亜鉛 | 66 | U (238) | ウラン | 238 |
| Ga (70) | ガリウム | 71 | | | |

* H_2 ガスモードのみ 40 を選択。

m/z: 質量電荷比 (m: 質量数, z: 電荷数)

結果および考察

1. 標準溶液の測定

最適なガスモードを選択するために、標準溶液の測定を行った。表 3 に各元素、ガスモードでのバックグラウンド等価濃度(以下「BEC」という。)を示した。BEC とは、バックグラウンドの信号強度に相当する濃度のことで、この値が小さいほど、他元素イオンの影響は少ないといえる。

Na、Hg について、全てのガスモードにおいて、検量線が直線性を示さなかったため、除外した。

表 3 各元素の BEC

| 元素名 | BEC ($\mu\text{g/L}$) | | |
|-----|-------------------------|-------------------|--------|
| | No Gas | H ₂ ガス | He ガス |
| Li | 0.015 | 0.022 | 0.015 |
| Be | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Mg | 0.266 | 0.218 | 0.218 |
| Al | 0.240 | 0.129 | 0.129 |
| K | 124.1 | 1.634 | 37.47 |
| Ca | 16.66 | 0.996 | 0.497 |
| V | 0.022 | 0.016 | <0.001 |
| Cr | 0.404 | 0.040 | 0.015 |
| Mn | 0.102 | 0.010 | 0.010 |
| Fe | 118.5 | 0.296 | 0.492 |
| Co | 0.003 | <0.001 | <0.001 |
| Ni | 0.017 | 0.016 | 0.015 |
| Cu | 0.126 | 0.123 | 0.113 |
| Zn | 0.226 | 0.174 | 0.175 |
| Ga | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| As | 0.008 | 0.001 | <0.001 |
| Se | 16.6 | 0.002 | 0.317 |
| Rb | 0.001 | 0.002 | 0.001 |
| Sr | 0.003 | 0.003 | 0.002 |
| Ag | 0.030 | 0.031 | 0.030 |
| Cd | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| In | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Cs | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Ba | 0.011 | 0.006 | 0.006 |
| Tl | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Pb | 0.009 | 0.007 | 0.008 |
| Bi | <0.001 | <0.001 | <0.001 |
| Th | 0.003 | 0.002 | 0.002 |
| U | <0.001 | <0.001 | <0.001 |

Li から As までの、質量数が中程度までの元素は、He ガスモードで最も小さくなるか、もしくは、どのガスモードを使用してもほとんど変わらないことが多かった。K、Fe、Se は、H₂ ガスモードで、値が最も小さくなった。Rb 以降の質量数が大きい元素は、各ガスモードで大きな違いは見られなかった。

表 3 の値から、各元素で使用する最適なガスモードを選択し、表 4 に示す。

表 4 各元素の選択ガスモード

| 元素名 | ガスモード | 元素名 | ガスモード |
|-----|----------------|-----|----------------|
| Li | No Gas | As | He |
| Be | No Gas | Se | H ₂ |
| Mg | He | Rb | He |
| Al | He | Sr | He |
| K | H ₂ | Ag | He |
| Ca | H ₂ | Cd | He |
| V | He | In | He |
| Cr | He | Cs | He |
| Mn | He | Ba | He |
| Fe | H ₂ | Tl | He |
| Co | He | Pb | He |
| Ni | He | Bi | He |
| Cu | He | Th | He |
| Zn | He | U | He |
| Ga | He | | |

Li、Be のように質量数が小さい元素は、ガスモードを使用すると、衝突によりはじき出されて検出できなくなる割合が大きくなるため、No Gas モードを選択した。

Al 以降の質量数が大きい元素は、多元素の干渉を抑えることができる He ガスモードを選択した。

K、Fe、Se は、BEC が最も小さくなった H₂ ガスモードを選択した。また、Ca は、He ガスモードで BEC が最も小さくなったが、質量存在比が最も大きい質量数 40 で、Ar 干渉の低減ができる H₂ ガスモード⁴⁾ を選択した。

選択ガスモードでの、各元素の検量線は、良好な直線性を示した。

表 5 に、各元素の選択ガスモードでの検出限界値と定量下限値を計算したものを示す。

Ca について、検量線の低濃度領域では、信号強度の誤差が大きく、正確に値を求めることはできなかった。

表 5 各元素の検出限界値、定量下限値

| 元素名 *()内は 選択ガス | 検出限界値 (μ g/L) | 定量下限値 (μ g/L) |
|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Li (No Gas) | 0.008 | 0.026 |
| Be (No Gas) | 0.008 | 0.028 |
| Mg (He) | 0.023 | 0.076 |
| Al (He) | 0.043 | 0.142 |
| K (H ₂) | 0.077 | 0.257 |
| Ca (H ₂) | 0.000 | 0.000 |
| V (He) | 0.004 | 0.014 |
| Cr (He) | 0.003 | 0.011 |
| Mn (He) | 0.007 | 0.023 |
| Fe (H ₂) | 0.013 | 0.042 |
| Co (He) | 0.003 | 0.010 |
| Ni (He) | 0.007 | 0.024 |
| Cu (He) | 0.004 | 0.015 |
| Zn (He) | 0.032 | 0.107 |
| Ga (He) | 0.003 | 0.011 |
| As (He) | 0.009 | 0.031 |
| Se (H ₂) | 0.013 | 0.043 |
| Rb (He) | 0.004 | 0.014 |
| Sr (He) | 0.005 | 0.018 |
| Ag (He) | 0.002 | 0.008 |
| Cd (He) | 0.007 | 0.023 |
| In (He) | 0.002 | 0.008 |
| Cs (He) | 0.003 | 0.009 |
| Ba (He) | 0.005 | 0.017 |
| Tl (He) | 0.002 | 0.006 |
| Pb (He) | 0.002 | 0.006 |
| Bi (He) | 0.002 | 0.008 |
| Th (He) | 0.002 | 0.007 |
| U (He) | 0.001 | 0.005 |

検出限界値は、ブランク濃度 (n=7) の標準偏差 (σ) の 3σ 、
定量下限値は 10σ にした。

2. 試料の定量試験及び添加回収試験

定量に用いた試料の pH、COD、塩素イオン、電気伝導率を表 6 に示す。河川水 B は塩分濃度の多い試料を選んだ。

表 6 試料の状態

| | pH | COD (mg/L) | 塩素イオン (mg/L) | 電気伝導率 (μ S/cm) |
|-------|-----|---------------|-----------------|------------------------|
| 地下水 | 8.5 | 1.0 | 9.8 | 190 |
| 河川水 A | 7.1 | 10 | 27 | 340 |
| 河川水 B | 7.5 | 5.3 | 9,400 | 16,000 |

表 7 試料の定量結果 (μ g/L)

| 元素名 *()内 は 選択ガス | 超純水 | 地下水 (10 倍 希釈) | 河川水 A (20 倍 希釈) | 河川水 B (20 倍 希釈) |
|---------------------------|--------|---------------------|-----------------------|-----------------------|
| Li (No Gas) | 0.065 | 2.794 | 3.448 | 79.29 |
| Be (No Gas) | <0.028 | <0.28 | <0.56 | <0.56 |
| Mg (He) | 0.434 | --- | --- | --- |
| Al (He) | 0.575 | 42.77 | 62.61 | 318.8 |
| K (H ₂) | 2.558 | --- | --- | --- |
| Ca (H ₂) | 3.479 | --- | --- | --- |
| V (He) | <0.014 | 2.475 | 0.952 | 2.093 |
| Cr (He) | 0.030 | 0.746 | 1.983 | 1.990 |
| Mn (He) | <0.023 | 1.372 | 88.53 | 118.2 |
| Fe (H ₂) | 0.739 | 31.08 | 594.3 | 693.7 |
| Co (He) | <0.010 | 0.139 | 0.253 | 0.214 |
| Ni (He) | 0.089 | 2.901 | 7.502 | 2.348 |
| Cu (He) | 0.017 | 51.88 | 5.597 | 1.976 |
| Zn (He) | 0.227 | 29.03 | 17.28 | 72.28 |
| Ga (He) | <0.011 | <0.11 | <0.22 | <0.22 |
| As (He) | <0.031 | 1.126 | 0.802 | 1.532 |
| Se (H ₂) | <0.043 | 0.567 | <0.86 | <0.86 |
| Rb (He) | <0.014 | 0.603 | 3.463 | 51.77 |
| Sr (He) | <0.018 | 103.2 | 117.1 | 3713 |
| Ag (He) | 0.111 | 2.685 | 3.155 | 2.513 |
| Cd (He) | <0.023 | <0.23 | <0.46 | <0.46 |
| In (He) | <0.008 | <0.08 | <0.16 | <0.16 |
| Cs (He) | <0.009 | <0.09 | <0.18 | 0.220 |
| Ba (He) | <0.017 | 13.13 | 15.63 | 17.69 |
| Tl (He) | <0.006 | <0.06 | <0.12 | <0.12 |
| Pb (He) | 0.110 | 0.554 | 0.836 | 1.402 |
| Bi (He) | <0.008 | <0.08 | <0.16 | <0.16 |
| Th (He) | <0.007 | <0.07 | <0.14 | <0.14 |
| U (He) | <0.005 | <0.05 | <0.10 | <0.10 |

ICP-MS による各金属元素の選択ガスモードにおける測定結果を表 7 に示す。ブランクは、超純水とした。Mg、K、Ca について、超純水以外の試料が示す信号強度は、検量線の範囲外であったため、定量することはできなかった。また、Fe についても同様に、河川水 A、河川水 B の試料で検量線の範囲外であったため、定量することはできなかった。

各試料での添加回収試験の結果を図 1 ～ 4 に示す。

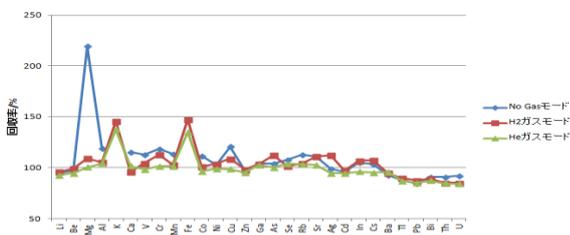


図 1 超純水における各モードの回収率

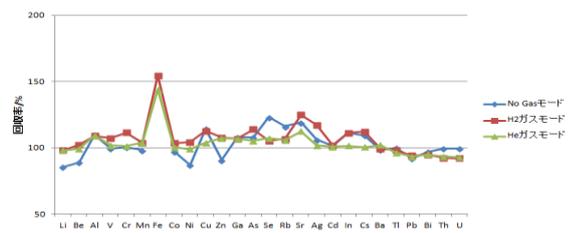


図 2 地下水における各モードの回収率

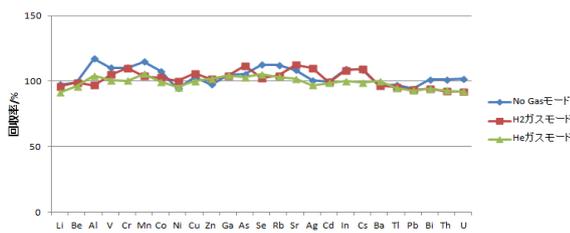


図 3 河川水 A における各モードの回収率

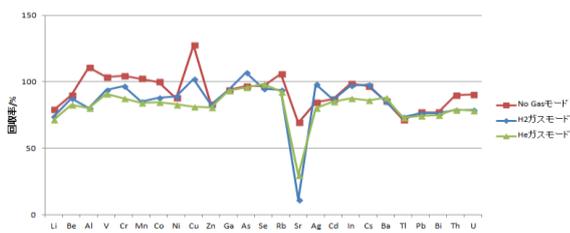


図 4 河川水 B における各モードの回収率

図 1 に示すとおり、ブランク測定である超純水の回収率は、K、Fe を除く全ての元素で良好であり、特に選択ガスモードを使用すると、84～104%の回収率が得られた。K、Fe について、No Gas モードでは、検量線の範囲外であるため、定量することができなかった。

図 2 に示した地下水の回収率は、Fe を除く全ての元素で良好であり、選択ガスモードを使用すると、85～109%の回収率が得られた。Fe について、No Gas モードでは、検量線の範囲外であるため、定量することができなかった。

図 3 に示した河川水 A は、地下水と比べて各モードとも安定した良好な回収率であった。

図 4 に示した河川水 B は各元素ごとに回収率にばらつきが見られた。これは、この試料に含まれる塩素イオンと他のイオンによるマトリックス効果のためと考えられる。Sr は、海水中に多く含まれているため、海水の影響が大きい河川水 B では、定量結果が検量線の範囲外になり、回収結果を正確に計算することはできなかった。

選択ガスモードを使用した各試料の回収率を表 8 に示す。

選択ガスモードを使用すれば、分析した金属元素の回収率は概ね良好であった。内部標準に使用した Sc と Y の質量数から離れた元素になると、回収率は若干低くなる傾向があった。

今回、使用した 31 元素混合標準原液中で、25 種類の金属元素を定量することができ、良好な回収率が得られた。

Na、Hg については、装置の特性上、メモリー効果や吸着効果のために、検量線が直線性を示さなかったと考えられる。K、Mg、Ca については、検量線は直線性を示したが、試料中に多く含まれているため、定量結果が検量線の範囲外になり、回収結果を正確に計算することはできなかった。

Fe については、添加回収試験において、回収率が 150%程度と高くなった。これは、一連の作業の中で何らかの汚染があったものと考えられる。

表 8 各試料への添加回収率 (%)

| 元素名 *()内は 選択ガス | 超純水 | 地下水 | 河川水 A | 河川水 B |
|-----------------------|-----|-----|----------|----------|
| Li (No Gas) | 94 | 85 | 98 | 79 |
| Be (No Gas) | 97 | 89 | 99 | 90 |
| Mg (He) | 100 | --- | --- | --- |
| Al (He) | 104 | 109 | 104 | 80 |
| K (H ₂) | 145 | --- | --- | --- |
| Ca (H ₂) | 96 | --- | --- | --- |
| V (He) | 98 | 102 | 101 | 91 |
| Cr (He) | 102 | 101 | 100 | 88 |
| Mn (He) | 101 | 104 | 106 | 84 |
| Fe (H ₂) | 147 | 155 | --- | --- |
| Co (He) | 96 | 100 | 99 | 85 |
| Ni (He) | 99 | 99 | 96 | 83 |
| Cu (He) | 99 | 104 | 100 | 81 |
| Zn (He) | 95 | 107 | 102 | 81 |
| Ga (He) | 103 | 107 | 105 | 93 |
| As (He) | 100 | 105 | 103 | 96 |
| Se (H ₂) | 102 | 105 | 103 | 95 |
| Rb (He) | 103 | 106 | 103 | 93 |
| Sr (He) | 103 | 112 | 97 | 30 |
| Ag (He) | 95 | 102 | 97 | 80 |
| Cd (He) | 95 | 101 | 99 | 85 |
| In (He) | 96 | 102 | 100 | 88 |
| Cs (He) | 95 | 100 | 99 | 86 |
| Ba (He) | 96 | 102 | 100 | 88 |
| Tl (He) | 87 | 96 | 95 | 73 |
| Pb (He) | 85 | 93 | 93 | 75 |
| Bi (He) | 87 | 95 | 94 | 75 |
| Th (He) | 85 | 93 | 93 | 79 |
| U (He) | 84 | 93 | 92 | 78 |

おわりに

これらの結果より、ICP-MS で最適なガスモードを選択すれば、25 種類の金属元素の同時定量を行えることがわかった。

今後、内部標準液の種類を増やしたり、添加濃度を変えるなど、さらに測定条件を検討して、マトリックス効果の多い検体でも、より正確な定量ができるように取り組んでいきたい。

参照文献

- 1) 千賀暢子：和歌山市衛生研究所報，**13**，78-82 (2004)
- 2) 安部隆司 他：岩手県環境研センター年報，**3**，73-77 (2003)
- 3) 高橋純一 他：分析化学総説，**53**，11，1257-1277 (2004)
- 4) Agilent Technologies, Agilent アプリケーションノート 5989-4147JAJP (2006)

和歌山市における麻疹の発生状況について (2014年)

江川 秀信 金澤 祐子 太田 裕元 廣岡 真理子 西山 貴士 森野 吉晴

Epidemiological features of measles epidemic in Wakayama City(2014)

EKAWA Hidenobu KANAZAWA Yuko OHTA Hiromoto HIROOKA Mariko
NISHIYAMA Takashi MORINO Yoshiharu

2014年に麻疹疑い患者133人の咽頭ぬぐい液133検体、血液120検体、尿47検体を用いて麻疹ウイルスの検査を実施した。3月には和歌山市内の幼稚園において麻疹の集団感染事例が発生した。さらに4月に家族内感染2事例と4月から5月にかけて家族内感染1事例が発生し合計4事例の集団感染事例が発生した。これら4事例において22人の麻疹患者が確認され、患者のワクチン接種歴は、ワクチン接種者13人、ワクチン未接種者7人、接種歴不明が2人であった。麻疹ウイルスの遺伝子は、患者22人の咽頭ぬぐい液22検体中20検体、血液22検体中21検体、尿10検体中8検体から検出され、その内患者12人の咽頭ぬぐい液12検体、血液5検体、尿4検体から麻疹ウイルスが分離された。これら患者から検出されたウイルスのN遺伝子の系統樹解析の結果はB3型であった。

キーワード：麻疹ウイルス、Nested PCR、ウイルス分離

はじめに

和歌山市では、2014年3月に市内幼稚園において集団感染1事例、4月～5月に家族内感染3事例、合計4事例の麻疹ウイルスによる集団感染が発生した。これら麻疹患者の発生を受け、保健所における積極的な疫学調査により多くの検体が衛生研究所に搬入された。これら4事例を含む2014年に実施した麻疹ウイルスの検査について報告する。

材料と方法

1. 検査材料

2014年に衛生研究所に搬入された麻疹疑い患者133人の咽頭ぬぐい液133検体、血液120検体、尿47検体を用いた。臨床検体の処理の方法は、国立感染症研究所の麻疹検査マニュアル(第2版)¹⁾に準じて、咽頭ぬぐい液は、3,000rpm、20分遠

心し上清を検査に使用し、血液は、Ficol-paque(比重1.077)を用いて末梢血単核球細胞を分画し検査に使用した。尿については、12,000rpm、10分遠心し、不純物が少ない場合は沈渣細胞を用い、不純物が多い場合は上清を検査に用いた。

2. 検査方法

2.1 ウイルス遺伝子検査

麻疹ウイルスのH遺伝子及びN遺伝子のRT-Nested PCRを実施した。処理した検体からQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いてウイルスRNAを抽出し、PrimeScript® RT reagent Kit(Perfect Real Time)(TaKaRa)を用いてcDNAを合成した。H遺伝子及びN遺伝子の1st PCR、Nested PCRは、Premix Taq TaKaRa Taq™ Vervion 2.0(TaKaRa)により、表1、表2のプライマーを用いて、98°C1分後、98°C10秒、53°C30秒、72°C60秒を30サイクル、72°C5分の反応条件で実施し、

Nested PCR 産物を DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA（島津製作所）により目的とする遺伝子（H 遺伝子 349bp、N 遺伝子 533bp）の増幅を確認した。

表 1 H 遺伝子の 1stPCR 及び Nested PCR に用いたプライマーの配列

| 1st PCR プライマー | |
|------------------|-----------------------------|
| MHL1 | 5' -AACGGATGATCCAGTGATAG-3' |
| MHR1 | 5' -TTGAATCTCGGTATCCACTC-3' |
| Nested PCR プライマー | |
| MHL2 | 5' -TACCTCTCATCTCACAGAGG-3' |
| MHR2 | 5' -CACCTAAGGCTAGGTTCTTC-3' |

表 2 N 遺伝子の 1stPCR 及び Nested PCR に用いたプライマーの配列

| 1st PCR プライマー | |
|------------------|-----------------------------|
| pMvGTf1m | 5' -CGRTCTACTTYGATCCRGC-3' |
| pMvGTr1m | 5' -TTATTACAATGATGGAGG-3' |
| Nested PCR プライマー | |
| pMvGTf2m | 5' -AGAYTAGGRCARGAGATGGT-3' |
| pMvGTr2m | 5' -GAGGGTAGGCGGATGTTGTT-3' |

2.2 ウイルス分離

麻疹患者から採取された咽頭ぬぐい液、血液、尿を用いた。咽頭ぬぐい液と尿については、ウイルス遺伝子検査に用いるために遠心処理した上清、血液については末梢血単核球細胞を Vero/SLAM 細胞に接種後、35°C で 1 週間程度培養し、細胞変性効果（CPE）である巨細胞の有無を観察した。ウイルス分離用培地は、MEM（GIBCO）にペニシリン 100U/mL、ストレプトマイシン 100 μg/mL、ファンギゾン 0.5 μg/mL を加えたものを使用した。

2.3 ウイルス遺伝子の系統樹解析

ウイルスが分離された患者については、ウイルス分離株を用いて N 遺伝子の RT-Nested PCR を実施し、PCR 産物を DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置 MultiNA で目的とする遺伝子の増幅を確認した。さらにダイレクトシーケンス法により 450bp の塩基配列を決定し、MEGA (Ver. 5) を用いて NJ 法により系統樹解析を行った。ウイルス

が分離されなかった患者においては、ウイルス遺伝子検査陽性検体である咽頭ぬぐい液又は血液から検出された N 遺伝子を用いて同様に系統樹解析を行った。

結果

1. ウイルス遺伝子検査及びウイルス分離

ウイルス遺伝子検査の結果、麻疹疑い患者 133 人中 22 人から麻疹ウイルスの遺伝子が検出された。患者 22 人の検体種別では、咽頭ぬぐい液 22 検体中 20 検体、血液 22 検体中 21 検体、尿 10 検体中 8 検体からウイルス遺伝子が検出された。遺伝子の検出領域別では、N 遺伝子については検出された全ての検体から目的とする位置にバンドが確認されたが、H 遺伝子については Nested PCR 産物が約 400bp の位置にバンドが確認された（図 1）。さらに血液検体 21 検体中 4 検体から H 遺伝子が検出されなかった。

ウイルス分離の結果、咽頭ぬぐい液 22 検体中 12 検体、血液 22 検体中 5 検体、尿 10 検体 4 検体からウイルスが分離された。

患者 22 人の麻疹ウイルス遺伝子の検出状況、ウイルス分離状況及び疫学情報を表 3、患者の発生機序を図 2、図 3 に示した。患者 A から患者 K は市内幼稚園児とその家族における集団感染事例、患者 L から患者 N は家族内感染事例①、患者 O と患者 P は家族内感染事例②、患者 Q から患者 V は家族内感染事例③である。

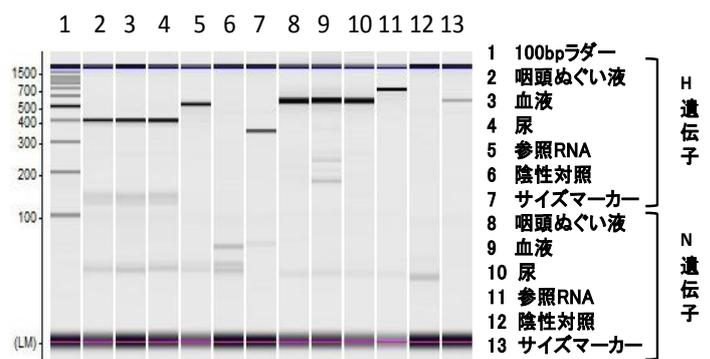


図 1 RT-Nested PCR 電気泳動図

表 3 麻疹患者の疫学情報及び麻疹ウイルスの検出状況

| 陽性患者 | 咽頭ぬぐい液 | 血液 | 尿 | ワクチン接種歴 | 年齢 | 性別 | 検体採取日 | 発症日 | 発疹 | 発熱 | 症状 |
|------|--------|----|---|---------|----|----|-----------|-----------|----|------|-----------------|
| A | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 1 | F | 2014/3/19 | 2014/3/15 | + | 39.5 | 咳、鼻汁、コプリック斑、目脂 |
| B | ○ | ○ | ○ | MR1 | 6 | M | 2014/3/22 | 2014/3/17 | + | 38.6 | 咳 |
| C | ○ | ○ | ○ | MR1 | 5 | M | 2014/3/24 | 2014/3/17 | + | 39 | 咳 |
| D | ○ | ○ | ○ | MR1 | 4 | F | 2014/3/24 | 2014/3/19 | + | 39.3 | 咳、鼻汁 |
| E | ○ | ○ | ○ | MR1 | 5 | M | 2014/3/26 | 2014/3/19 | + | 39.5 | 咳、鼻汁 |
| F | ○ | ○ | ○ | MR1 | 5 | F | 2014/3/23 | 2014/3/21 | + | 38.2 | 咳、鼻汁 |
| G | ○ | ○ | ○ | MR1 | 3 | F | 2014/3/25 | 2014/3/21 | + | 40.4 | 咳、鼻汁 |
| H | ○ | ○ | ○ | MR1 | 4 | F | 2014/3/31 | 2014/3/27 | + | 39 | 咳、鼻汁 |
| I | ○ | ○ | ○ | MR1 | 4 | F | 2014/4/2 | 2014/4/2 | + | 38.4 | |
| J | ○ | ○ | ○ | MR1 | 5 | F | 2014/4/6 | 2014/4/5 | + | 38 | 咳、鼻汁 |
| K | ○ | ○ | ○ | MR1・2 | 7 | M | 2014/4/8 | 2014/4/8 | + | 39.4 | 咳 |
| L | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 15 | M | 2014/4/4 | 2014/3/29 | + | 40.1 | 咳、鼻汁、コプリック斑、中耳炎 |
| M | ○ | ○ | ○ | M | 18 | M | 2014/4/12 | 2014/4/11 | + | 38.6 | 鼻汁 |
| N | × | ○ | ○ | M | 21 | F | 2014/4/12 | 2014/4/11 | + | 38.3 | 鼻水 |
| O | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 10 | F | 2014/4/18 | 2014/4/14 | + | 39.7 | 咳、鼻汁 |
| P | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 20 | F | 2014/4/18 | 2014/4/16 | + | 40.1 | 咳、鼻汁 |
| Q | ○ | ○ | ○ | 不明 | 26 | F | 2014/5/16 | 2014/4/27 | + | + | 咳、鼻汁 |
| R | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 4 | F | 2014/5/16 | 2014/5/11 | + | 40 | 咳、鼻汁 |
| S | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 7 | M | 2014/5/16 | 2014/5/12 | + | 38 | 咳、鼻汁、コプリック斑 |
| T | × | ○ | × | 不明 | 23 | M | 2014/5/16 | 2014/5/12 | - | 40 | 咳、鼻汁 |
| U | ○ | × | × | M | 14 | F | 2014/5/16 | 2014/5/16 | - | - | 咳 |
| V | ○ | ○ | ○ | 未接種 | 9 | F | 2014/5/24 | 2014/5/24 | + | 38.9 | 咳、鼻汁、結膜充血 |

○ウイルス遺伝子検出検体 ×ウイルス遺伝子不検出検体 ■ウイルス分離検体

患者 A～患者 K 幼稚園児とその家族による集団感染事例

患者 L～患者 N 家族内感染事例① 患者 O、患者 P 家族内感染事例② 患者 Q～患者 V 家族内感染事例③

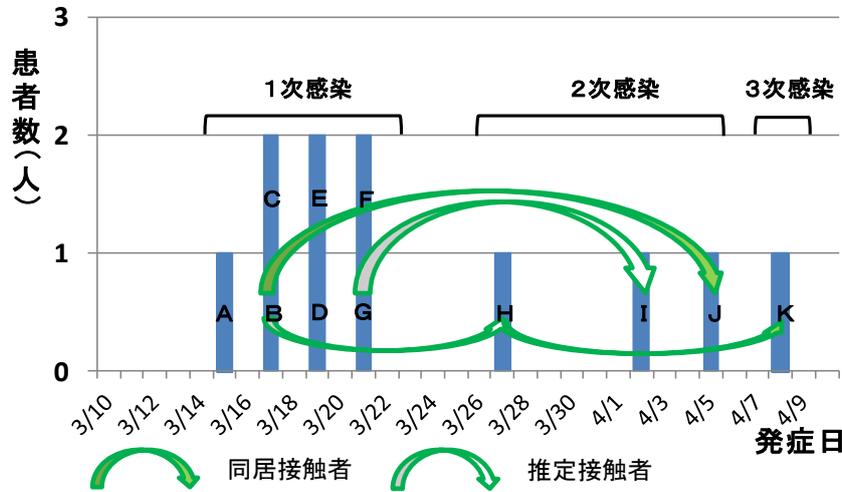


図 2 患者 A～患者 K の発症日別発生状況（幼稚園児とその家族による集団感染事例）

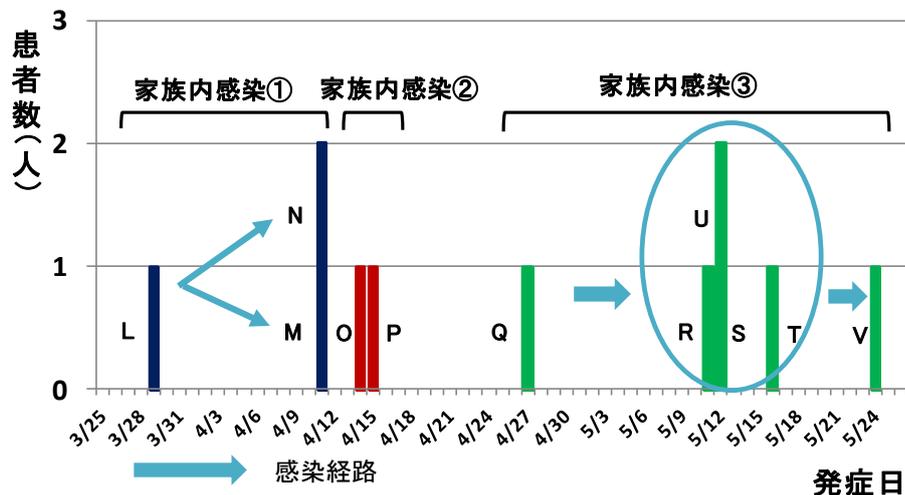


図 3 患者 L～患者 V の発症日別発生状況（家族内感染事例①～③）

2. ウイルス遺伝子の系統樹解析

系統樹解析の結果、麻疹患者から検出された麻疹ウイルスの遺伝子型は B3 型であった (図 4)。

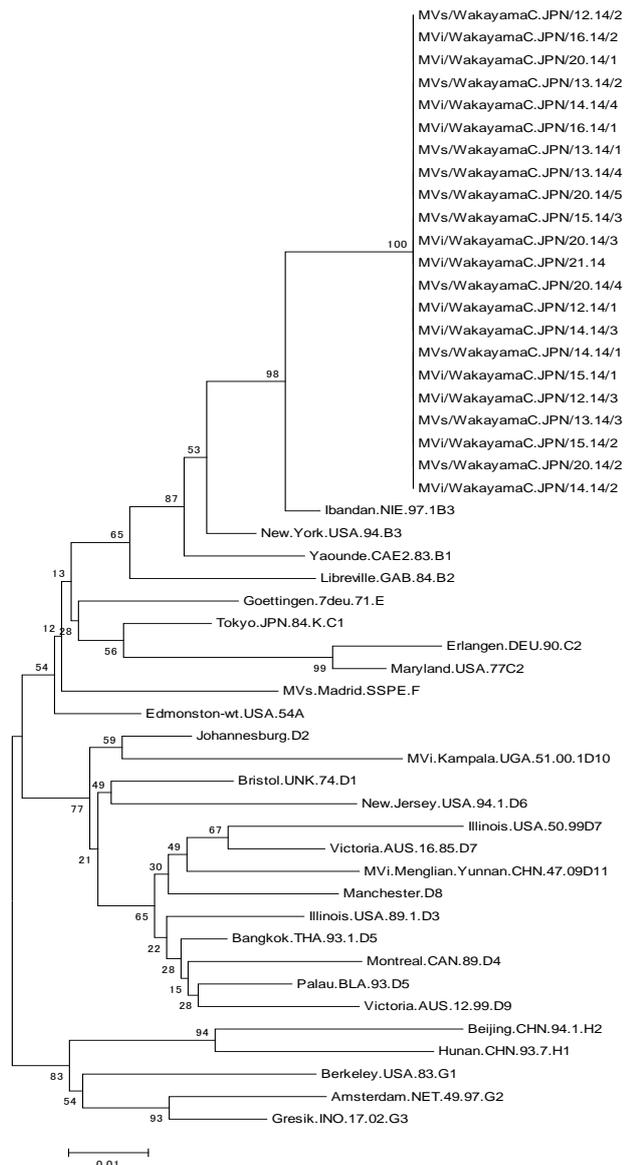


図 4 麻疹ウイルス N 遺伝子 450bp の分子系統樹

考察

2014年に和歌山市内で発生した4事例において、患者22人のワクチン接種歴は、ワクチン接種者13人、ワクチン未接種者7人、ワクチン接種歴不明2人であった。ワクチン接種歴の判明している患者において、ワクチン接種、未接種における患者の症状やウイルス遺伝子検査、ウイルス分離の検出状況について比較した。まず、患者の症状について、ワクチン未接種者は発熱、咳、鼻汁、発疹、コプリック斑等の典型的な麻疹の症状を示し

ていたが、ワクチン接種者は、発熱、咳、鼻汁、軽度の発疹で、高熱を示した患者もいたがほとんどが軽症であり、ワクチン接種者の散発事例等において、臨床症状のみの診断では、患者を見逃す恐れがあると考えられた。さらにワクチンの接種歴の有無に関わらず、発熱や軽度の発疹があれば、麻疹ウイルスの検査は必要であると考えられた。次にウイルス遺伝子検査について、ワクチン未接種者では、採取した全ての検体から麻疹ウイルスの遺伝子が検出され、ワクチン接種者では、患者Nの血液、患者Tの咽頭ぬぐい液と尿からウイルス遺伝子は検出されなかったため、検体採取においては、咽頭ぬぐい液、血液、尿の3検体を採取するのが望ましいと考えられた。ウイルス分離について、ワクチン未接種者では、患者Aの発症日から4日目に採取された血液と患者Lの発症日から5日目に採取された血液以外からウイルスが分離され、ワクチン接種者では、2日以内に採取された咽頭ぬぐい液のみからウイルスが分離された。ウイルス分離に用いる検体としては、ワクチン未接種者は咽頭ぬぐい液と尿が有効であり、血液については採取日から4日以降になると分離率が低くなると考えられた。また、ワクチン接種者は発症日から2日以内の咽頭ぬぐい液が有効であると考えられた。

ウイルス遺伝子検査のH遺伝子については、Nested PCR産物は、目的とする約350bpではなく1st PCR産物とほぼ同じサイズの約400bpであった。今回検出されたB3型では、HR2プライマーとの相関性が低いとの報告があり²⁾、検出されたH遺伝子についてもsemi Nested PCRとなり約400bpの位置にバンドが確認されたと考えられる。

4事例の発生機序について、幼稚園児とその家族における集団感染事例では、発症日から患者Aから患者Gの7人が、ほぼ同一時に感染したと考えられる。この7人のグループから遡ると、感染は3月初め頃と考えられ、この期間に幼稚園では雛祭りやお別れ会等の行事が行われており、園児以外も幼稚園に出入りをしている。園児でない患者Aもこの期間に幼稚園に出入りをしているため、この期間において幼稚園での感染が疑われた。また、患者H、患者Iは幼稚園での接触、患者Jは

患者Bの妹であり、それぞれ2次感染が考えられ、さらに小学生である患者Kは、患者Hの兄で3次感染であると考えられた。幼稚園で接触のあった3歳～6歳の園児の発症率は、349人中9人で、僅か2.6%であった。幼稚園でのワクチンの接種率は99.8%であった。幼稚園の園児は3歳～6歳が349人、2歳（週2回保育）が64人の合計413人であり、そのうちワクチン未接種者は1人で幼稚園におけるMR1期ワクチンの接種率が高率であったため、感染拡大は限定的であったと考えられた。患者Kについては、MRワクチンを1期と2期に接種していたが、検体採取時（発症日）の抗体保有状況は、IgM 0.13、IgG 2.3であった。次に、家族内感染3事例について、家族内感染事例①は、ワクチン未接種である患者Lからワクチン接種済みの患者M、患者Nに家族内で感染したと考えられた。家族内感染事例②は、保健所の疫学調査により患者Oと患者Pの発症前に家族内にもう1人ワクチン未接種者で麻疹の症状を示した者が判明した。その患者により患者Oと患者Pが感染し発症したと考えられた。後に確認された患者は、臨床症状のみでの届出となっている。家族内感染事例③はワクチン接種歴が不明である患者Qからワクチン未接種である患者Rと患者S、ワクチン接種済みである患者U、ワクチン接種歴が不明である患者Tに2次感染し、さらに家族内の3次感染でワクチン未接種である患者Vに感染したと考えられた。

おわりに

2014年は1月から全国的にフィリピンに渡航歴がある患者から検出された麻疹ウイルスB3型の流行が見られた³⁾。和歌山市内で検出された麻疹ウイルスは全てB3型であったが、4事例の患者と家族には渡航歴がなく、それぞれの事例の患者との接触もなかったため4事例について感染源の特定には至らなかった。幼稚園児の集団感染事例においては、患者11人中10人がワクチン接種者であり、症状が、発熱、咳、鼻汁、軽度の発疹と軽症であった。これらの通常見逃してしまう恐れがある患者は、保健所による積極的な疫学調査と市

内医療機関への迅速な情報提供、衛生研究所の迅速な検査対応により探知することができた。また、ワクチン接種者からウイルスが分離され、さらに2次、3次感染を起こしており、ワクチン接種者も感染源になっていることがわかった。これらのことから麻疹対策においては、保健所、衛生研究所の連携を密にするとともに、医療機関の協力を得て早期に対応することが重要である。

参考文献

- 1) 駒瀬勝啓 他, 病原体検出マニュアル 麻疹診断マニュアル (第2版), 平成20年
- 2) IASR, **34**, 201-202 (2013)
- 3) IASR, **36**, 57-58 (2015)

IV 発表業績

1 学会、研究会、誌上発表等

浦崎美和、北尾拓也、有本美文、藤田緑、木野善夫、森野吉晴：ツブ貝の喫食による有症苦情事例について 平成26年度第53回近畿公衆衛生学会（和歌山市）2014

北尾拓也、浦崎美和、有本美文、藤田緑、吉方優美、木野善夫、森野吉晴：和歌山市における井戸水の水質検査状況について -平成23、24年度- 平成26年度第53回近畿公衆衛生学会（和歌山市）2014

太田裕元、金澤祐子、廣岡真理子、江川秀信、西山貴士、森野吉晴：スッポン料理店に起因する *Salmonella* Thompsonの分子疫学的検討 平成26年度第53回近畿公衆衛生学会（和歌山市）2014

江川秀信、金澤祐子、太田裕元、廣岡真理子、西山貴士、森野吉晴：和歌山市における風疹の発生状況について -（2）ウイルス検査- 平成26年度第53回近畿公衆衛生学会（和歌山市）2014

江川秀信、森野吉晴、金澤祐子、太田裕元、廣岡真理子、西山貴士、永井尚子^{*}（^{*}和歌山市保健所）：和歌山市における麻疹対策について（2）ウイルス検査 第169回日本小児科学会 和歌山地方会

太田裕元、金澤祐子、廣岡真理子、江川秀信、西山貴士、森野吉晴：スッポン料理店に関連する *Salmonella* Thompsonの分子疫学的検討 平成26年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会（大津市）

江川秀信、西山貴士、廣岡真理子、太田裕元、金澤祐子、森野吉晴：和歌山市における麻疹の発生状況について 平成26年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部ウイルス部会研究会（神戸市）

江川秀信、金澤祐子、太田裕元、廣岡真理子、西山貴士、森野吉晴、丹生哲哉^{*}、藤井広子^{*}、神戸千佐^{*}、岩田ゆかり^{*}、松浦英夫^{*}、永井尚子^{*}（^{*}和歌山市保健所）：幼稚園における麻疹の集団発生事例について-和歌山市 IASR Vol. 35 p. 278-280: 2014年11月号

2 調査、研究協力

北尾拓也、藤田緑、面家真奈美：平成26年度食品残留農薬等一日摂取量実態調査（厚生労働省）

廣岡真理子：厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）「近畿ブロックにおける病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究」病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究 平成26年度研究分担報告書

編集委員

金澤 祐子

太田 裕元

江川 秀信

西山 貴士

藤田 緑

佐武 晃司

和歌山市衛生研究所報

第 20 号

(2014)

発行日 平成 28 年 3 月

発行所 和歌山市衛生研究所

〒640-8422 和歌山市松江東 3 丁目 2 番 67 号

TEL (073) -453-0055(代) FAX (073) -454-7831

E-mail eiken@city.wakayama.lg.jp