

6 研究発表抄録

水質事故における AIQS-GC 及び AIQS-LC を用いたスクリーニング分析

○浅沼英明¹, 岩渕勝己², 伊藤朋子¹¹岩手県環境保健研究センター,²岩手県大船渡保健福祉環境センター

第 29 回環境化学討論会 (オンライン開催 2021.6.1-4)

【はじめに】

本県では、水質事故等の緊急時の迅速な分析手法として、門上ら¹⁾によって開発された AIQS-DB(Automated Identification and Quantification System with a DataBase)による化学物質検索を実施してきた。GC-MS 用 AIQS-DB(AIQS-GC)に加えて、一昨年から LC-QTOF-MS 用 AIQS-DB(AIQS-LC)を導入し、GC-MS では分析が難しい高極性農薬等の検索を行っている。本発表では、県内で発生したザリガニのへい死事故に対して、AIQS-DB を活用して原因推定を行った事例について報告する。

【方法】

ザリガニのへい死現場及びへい死影響のない上流部を比較として採水し、AIQS-GC 及び AIQS-LC による分析を行った。各々の前処理方法は、門上らの方法²⁾³⁾に準拠した。

【結果と考察】

測定結果と検出農薬の甲殻類に対する急性毒性濃度を表 1 に示す。AIQS-GC では、MS ヒット率、QT 比率及び RT の一致率が高く、検液中濃度が 0.10mg/L 以上である物質を検出とした。現場の検体からは、農薬のエトフェンプロックスとクロロタロニルが検出され、上流地点からはこれらの農薬は検出されなかった。AIQS-LC では、プレカーサーイオンの精密質量、MSMS スペクトル、RT の一致率等から判定したところ、現場の検体からカルベンダジムが検出された。また、エトフェンプロックスは AIQS-LC には未登録の物質であるが、プレカーサーイオンの精密質量によるサスペクトスクリーニングで LC 側でも存在が確認できた。同物質は、甲殻類への影響を示すミジンコ類の 48 時間半数遊泳阻害濃度 (48hEC₅₀) である 3.615µg/L⁴⁾を上回る濃度で検出されたこと等から本件の原因物質であると考えられた。

本件では、AIQS-GC に加えて AIQS-LC を適用することで、水質事故調査におけるスクリーニングの幅が広がった。さらに、TOF-MS の精密質量分析により、

表 1 各地点での検出濃度と水生生物に対する急性毒性濃度 (単位:µg/L)

検出項目		検出濃度*		急性毒性濃度 ⁴⁾
		現場	上流地点	オシロイソウ科 (48hEC ₅₀)
エトフェンプロックス	GC	42	検出なし	3.615
クロロタロニル	GC	25	検出なし	110
カルベンダジム	LC	11	0.002	350

*AIQS-GC 及び AIQS-LC による半定量結果

、夾雑物質の妨害の低減や、マススペクトル情報等に基づく未登録物質の解析も可能となり、緊急時における分析結果の確度の向上及び迅速な状況把握に有用であることが示された。

【謝辞】

本検討に用いた LC 用 AIQS-DB は、北九州市立大学門上希和夫名誉教授からご提供いただいたものである。ここに記して感謝の意を表します。

【参考文献】

- 1) Kadokami, K. K. Toda and K. Nakagawa (2005) *Journal of Chromatography A*, 1089, pp219-226
- 2) KADOKAMI K, D. JINYA and T. IWAMURA (2009) *Journal of Environmental Chemistry*, 19, 351-360
- 3) Kadokami K, Ueno (2019) *Anal. Chem.* 91 (12), 7749-7755
- 4) 環境省 水域の生活環境動植物の被害防止に係る農薬登録基準

Screening analysis using AIQS-GC and AIQS-LC in water pollution accidents

Hideaki Asanuma¹, Katsumi Iwabuchi², Tomoko Itou¹¹Iwate Prefectural Research Inst. Environ. Sci. and Pub. Health²Health, Welfare and Environ. Center Ofunato Branch

北奥羽地域の集落周辺に滞在するツキノワグマの大量出没年にみられた季節移動の変化
Change of seasonal migration in the mass intrusions year of Asiatic black bear inhabiting near
settlements in the North Ou Mountains

○鞍懸重和¹・山内貴義²

¹岩手県環境保健研究センター・²岩手大学農学部
日本哺乳類学会 2021 年度大会（オンライン開催 2021. 8. 28-31）

ツキノワグマ（以下、クマ）の大量出没年と非大量出没年での秋季における季節移動の変化を明らかにするため、集落周辺に出没する個体を対象に GPS テレメトリー調査を実施した。2017～2020 年の 6～9 月に岩手大学御明神演習林内にてオス 6 個体とメス 8 個体（亜成獣～成獣）に GPS テレメトリー首輪（Followit 社製 Tellus2D）を装着して放獣した。6～8 月の夏季行動圏は 1 時間に 1 点の測位点を用いて可変カーネル法で 95% 行動圏を算出した。そして 9～11 月の 2～3 日に 1 点（12 時時点）の測位点を用いて、秋季にこの夏季行動圏に滞在する割合を算出した。夏季には全個体集落周辺に滞在していた。この滞在率を目的変数に、大量出没年の有無及び雌雄を説明変数としたモデルについて、一般化線形混合モデル（GLMM）により、各パラメーターを推定した。GLMM の結果から、非大量出没年時のオスとメスの秋季における夏季行動圏滞在率は、オスで 13.8%、メスで 51.2%であったが、大量出没年時にはオスで 56.7%、メスで 42.8%上昇していた。このことから非大量出没年には秋季に集落周辺から離散しやすくなる一方、大量出没年には集落周辺に滞在し続ける傾向が示唆された。本発表では非大量出没年と大量出没年の秋季における夏季行動圏からの離散距離や利用標高の変化を比較し、秋季にクマが人里へ出没するメカニズムについても考察する。

（598 文字）

カキシメジの定性に向けたウスタル酸粗精製品の作成について

宮手 公輔

令和3年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会総会

(書面開催 2021.10)

1. 背景

自然毒が原因と疑われる食中毒等の原因究明に向けた分析では、通常、標準試薬等を用いた機器分析を行うことで成分を特定するが、多種多様な自然毒の中には毒成分が市販されていないものも多数存在するため、分析機器を用いた成分分析では原因物質の究明に至らないケースも発生しえる。

今般、LC-MS/MSを用いたキノコ毒の定性分析を行うことを目的として、標準品が市販されていない毒成分ウスタル酸(推定)を県内で採取したカキシメジから粗単離し、LC-MS/MS定性分析用ウスタル酸溶液を作成したのでその概要を報告する。

2. 方法

Fig. 1のとおり抽出した抽出液をTable 1の条件で分取する工程を10回繰り返した。ウスタル酸(推定)の含有を確認した9 - 11 minのフラクションをすべて合わせ、減圧濃縮したものをメタノールに溶かし定性分析用ウスタル酸溶液とした(メタノール溶液1mLあたり子実体1g相当)。

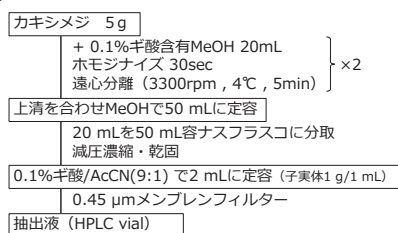


Fig. 1. 抽出方法

Table 1. 分取 HPLC 条件

	分取機器 (HPLC & フラクционコレクタ) : Agilent社製 1200 series
	移動相 : A液 ... 0.1%ギ酸 B液 ... アセトニトリル
	グラジエント : 0 min (10%) - 15 min (95%) - 20 min (95%) (B液%) - 20.01 min (10%) - 30.00 min (10%)
LC	流速 : 1.2 mL/min カラム : Imtakt社製 SM-C18 (6.0 mm × 150 mm, 3μm) カラム温度 : 40°C 試料注入量 : 100 μL フラクションコレクト設定 : 0 - 30 min, 溶出時間1分ごと採取

3. 結果

得られた溶液のウスタル酸(推定)含有確認及び感度確認のため、Yoshiokaら¹⁾の報告を参考にしてTable 2の条件によりLC-MS/MS測定した。200倍希釈液のProduct ion scanにより得られたMSスペクトル(Fig. 2)をYoshiokaraの報告及びItoら²⁾の報告と比較し、ウスタル酸を含有していることを確認した。また、1000倍希釈液のMRM測定ではFig. 3のとおり明確なピークが得られることを確認した。

Table 2. LC-MS/MS 測定条件

	機器 : 島津製作所社製 LC-20AD
	移動相 : A液 ... 0.1%ギ酸 B液 ... アセトニトリル
	グラジエント : 0 min (10%) - 12 min (70%) - 13 min (95%) - 16 min (95%) (B液%) - 16.01 min (10%) - 22.00 min (10%)
LC	流速 : 0.2 mL/min カラム : Waters社製 Atlantis dC18 (2.1 mm × 100 mm, 3μm) カラム温度 : 40°C 試料注入量 : 2μL
	機器 : AB Sciex社製 Triple Quad 5500
	イオン化方式 : ESI (-) ionspray voltage : -4500 V ion source temp : 300°C
MS	測定モード : MS scan (m/z : 50 - 400) Product ion scan (Precursor ion m/z : 337.0) MRM (337.0 > 219.0, 337.0 > 117.0)

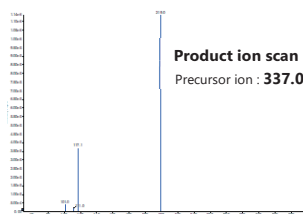


Fig. 2. MS spectrum

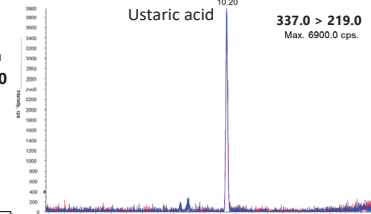


Fig. 3. MRM chromatogram

4. まとめ

分取クロマトグラフを用いてカキシメジからウスタル酸(推定)を分取することにより定性分析用ウスタル酸溶液を作成した。

今後、LC-MS/MS分析により経時的な感度確認を行い、ウスタル酸の安定性等についてデータを取得するとともに、他の毒成分についても同様に定性溶液を作成したい。

1) Yoshioka, N. et al, *Forensic Science International*. 2020, 317, 110554. DOI <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2020.110554>

2) Ito, T. et al, *Journal of Natural Medicines*. 2021. DOI <https://doi.org/10.1007/s11418-021-01496-z>

生体試料等安全管理要綱の作成について

宮手 公輔

令和3年度地方衛生研究所全国協議会北海道・東北・新潟支部衛生化学研究部会総会
(書面開催 2021.10)

1. 背景

本県では、テロ等の発生に対する各機関の連携マニュアルとして「岩手県NBCテロその他大量殺傷型テロ対処関係機関連携マニュアル」(県庁復興防災部防災課所管)を策定しており、テロ等による健康被害が発生し、保健所が医療機関を通じて被害者の血液、吐しゃ物等の検体を入手した場合には、当センター又は国立感染症研究所等において検査・分析を行う旨が規定されている。

当センターではこれまで、理化学検査部門では人体由来試料等の試験実績がほぼ無く、その安全な取扱いに関する規定類は整備されていなかったところであるが、今般、感染性が否定できない試料等の検査実施を想定しその安全な取扱いを図ることを目的として、理化学検査部門における安全管理要綱等を作成したのでその概要を報告する。

2. 方法

既報等^{1)~5)}を参考とし、当センターでの運用方法について検討し、安全管理要綱及び管理区域運営要領の案を作成した。なお、本稿では既報等によらず規定を検討した事項(図1)に絞って報告する。

3. 結果

検討した結果として要綱等において規定した事項を図2~4に示す。

対象範囲について、既報では人体由来試料に限定している。有事の際は動物試料の搬入可能性も否定できないことからこれらも対象の範囲としたが、動物試料でも感染性リスクが極めて低い食肉等の食品検体や自然環境調査関連検体は除外した。

試験場所・設備等について、実験室及び設備のうち理化学検査部門で有していない設備等の代替設備を図3のとおりとした。

その他、図4について手順書等に詳細を定めた。

なお、上記に関わらず、特定病原体等の含有が疑われる検体は、病原体等管理区域内で取り扱うこととしている。

4. まとめ

当センターにおける生体試料等の取扱いに関する規定類を作成した。今後、同様の規定類の策定を検討している道県の参考となれば幸いである。

- ①対象範囲の検討
- ②試験場所・設備等の検討
- ③その他

図1. 当所で検討した項目

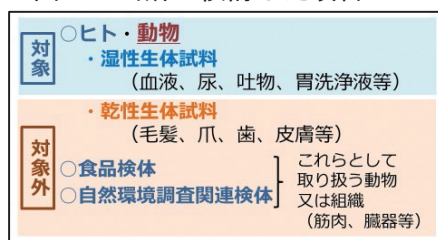


図2. 検体の対象範囲

試験場所・設備の検討		
理化学部門で有しない設備等	代替設備	留意点等
安全キャビネット	ドラフトチャンバー	・特定病原体等は、病原体等安全管理区域において取り扱う。 ・上記以外の検体は、ドラフトチャンバーでの作業をとした。
安全管理区域(実験室)	理化学部門試験室(時限的設定)	・ドラフトチャンバーが設置されている実験室を限定し、時限的管理区域に想定。
オートクレーブ	感染性廃棄物容器	・作業場所への感染性廃棄物容器設置、廃棄方法等について運営要領に明記し、記録作成。

図3. 代替設備の検討

- その他規定事項
- ・使用設備等の清掃・消毒手順及び記録
- ・廃棄物の取扱い及び廃棄方法
- ・時限的管理区域・保管容器等への表示

図4. その他に規定した事項

1) 岡部信彦. “衛生研究所での「人体(血液、尿等)試料の検査手法」の標準化にむけて”. 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業):食品防御の具体的な対策の確率と実行検証に関する研究(研究代表者:今村知明), 平成24~26年度総合研究報告書, 2015, 6-1~6-11

2) 岡部信彦. 感染性物質を含有する可能性のある生体試料等の理化学試験に関するガイドライン.
<http://www.nihs.go.jp/food/group3/JintaiShiryokuKensaJouhou/JintaiShiryokuKensaJouhou_files/Guideline.pdf>, (参照2020-8-17)

3) 岡部信彦. “衛生研究所での「人体(血液、尿等)試料の検査手法」の標準化”. 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進研究事業):行政機関や食品企業における食品防御の具体的な対策に関する研究(研究代表者:今村知明), 平成27-29年度総合研究報告書, 2018, 4-1~4-23

4) 川崎市HP「川崎市健康安全研究所 理化学試験における人体試料等安全管理要綱」.
<<https://www.city.kawasaki.jp/templates/outline/cmsfiles/contents/0000097/97884/jintaisiryoyoukou20180402.pdf>>, (参照2021-)

5) WHO「実験室バイオセーフティ指針第3版」

家畜防疫に使用される陽イオン界面活性剤の分析

○伊藤朋子、浅沼英明

第48回環境保全・公害防止研究発表会（オンライン開催 2021.11.18-19）

1 はじめに

高病原性鳥インフルエンザを始めとした家畜伝染病が発生した際、岩手県が行う防疫措置では、畜舎や車両等の消毒に陽イオン界面活性剤（CS）が使用される。また、防疫措置による環境影響を把握するため、周辺河川と地下水について CS を測定することが県マニュアルに規定されている。しかし、その分析方法や結果の評価、調査終了のための具体的な数値は、特に決められていない。

本研究では、防疫措置後の環境調査に対応するため、CS の分析方法を確立すると共に、平時の河川データを蓄積し、結果の評価や調査終了時の目安として活用することを目的として検討を行った。

2 実験方法

2-1 試薬

陽イオン界面活性剤：テトラジデシルジメチルベンジルアンモニウムクロリド（塩化ベンザルコニウムの主成分）和光純薬、〔モノ、ビス-（塩化トリメチルアンモニウムメチレン）〕アルキル（C₉₋₁₅）トルエン水溶液（防疫で使用されるCS（商品名）パコマの主成分）科学飼料研究所、固相カートリッジ：Oasis WAX Waters、発色剤：オレンジII 和光特級

2-2 CSの分析方法の検討

試料水中のCSの分析方法は、JIS K 0102 2013年度版付属書1（参考）補足のオレンジII 吸光光度法を基に、より高感度の測定ができるよう検討を行った。

2-3 CSの河川水中濃度実態

2-2 で検討した方法を用い、養鶏業が盛んな地域の河川5地点においてシーズンごとに採水を行い、水中濃度を測定した。

3 結果と考察

3-1 JIS 付属書オレンジII 吸光光度法の改良

JIS 付属書のオレンジII吸光光度法と今回検討した

JIS 改良法の分析フローを図1に示す。JIS 付属書の定量下限値は0.2 mg/Lと環境水の測定にはやや感度が不足している。本検討では、前処理、液々抽出の各段階を改良し、高感度化を検討した。

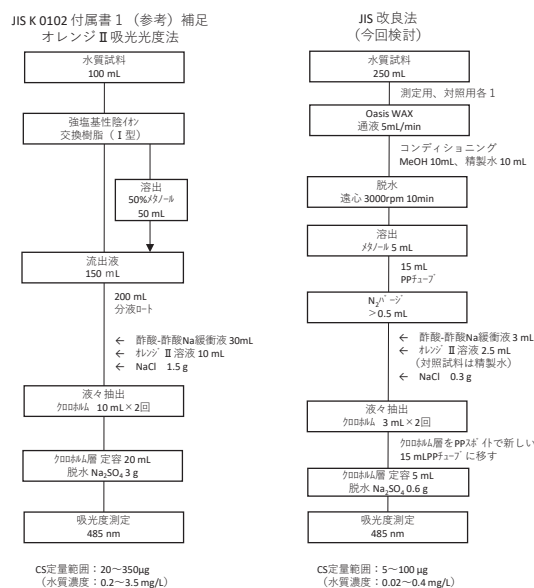


図1 JIS K 0102 付属書1（参考）補足 オレンジII 吸光光度法と今回検討した JIS 改良法の分析フロー

3-1-1 イオン交換樹脂による前処理

水中のCSは陰イオン界面活性剤（AS）と安定な会合体を形成するため、オレンジIIと反応させる前にASを除去する必要がある。JIS 付属書の方法では、この工程で試料が希釈されてしまう。今回、既報¹⁾を参考として、Oasis WAXを使用することとし、CSとASの両方を保持後、メタノールでCSのみ溶出して、N₂パージで試料を濃縮した上で、液々抽出を行うこととした。

3-1-2 塩及びメタノール量による回収率の変化

検討した方法では、クロロホルムによる液々抽出を大幅にスケールダウンしていることから、塩析のためのNaCl添加量やメタノールの残存による吸光度への影響を検討した。結果を図2、3に示す。

JIS 付属書では、塩化ベンザルコニウム（EB）を標準物質としている。今回、EBとパコマの2物質におい

て、塩析に用いる NaCl の添加量を検討した。パコマは塩の添加量に依存しなかったが、EB は 0.3~0.4g の添加で回収率が最も良い結果となった。

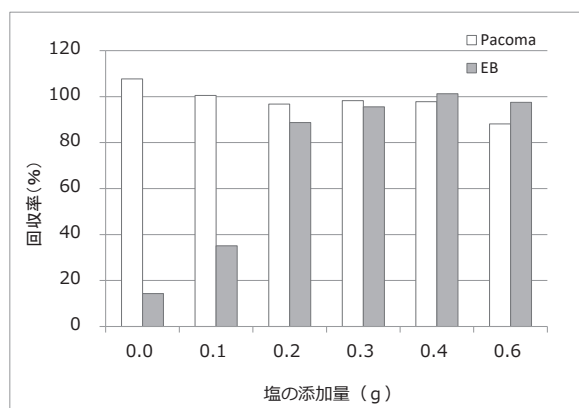


図 2 液々抽出時の塩析効果

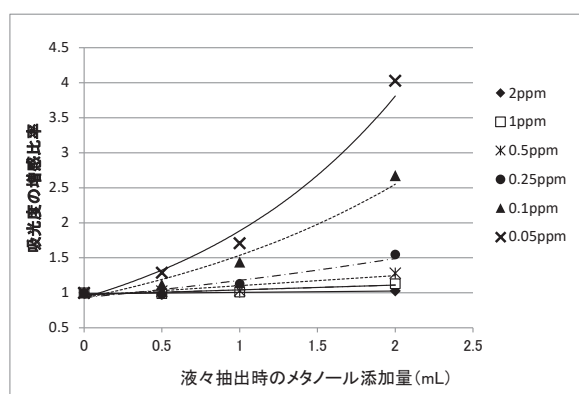


図 3 液々抽出時のメタノールによる増感効果

JIS 付属書では、液々抽出時メタノールが残存していても影響はないとされている。しかし、今回検討した方法では、検量線作成用標準液をメタノールで調製した場合と精製水で調製した場合で比較したところ、メタノールで吸光度が高くなることがわかった。メタノール残量で吸光度が変わる可能性があることから、CS 濃度別にメタノールの含有量を変化させ、増感効果を確認した。CS 濃度が低いほど増感効果が大きく、N₂ パージ後の液量を 0.5 mL 以下とすることにした。

3-1-3 対照試料によるバックグラウンド減算

JIS 付属書では、吸光度測定時の対照試料にクロロホルムを使用することになっている。しかし、河川試料では、着色成分により測定波長(485nm)で検量線の最小濃度以上の吸光度 (>0.05) を示すものが観察された。このため、対照試料をクロロホルムからオレンジ II を

添加しない測定用試料に変更し、バックグラウンド減算を行うこととした。

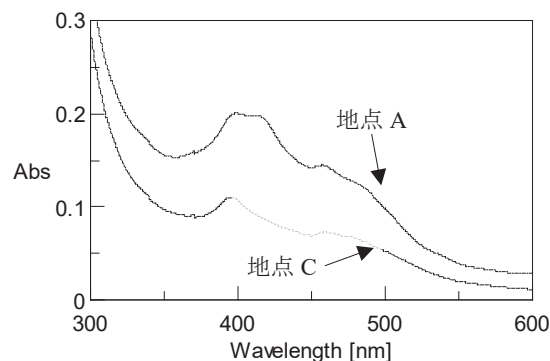


図 4 河川の着色成分のスペクトル

以上の検討結果から、最終的に図 1 の JIS 改良法を構築した。同法の定量下限値は、0.02 mg/L と JIS 付属書の方法より 10 倍高感度化することができた。また、河川水を用いた添加回収試験(0.1 mg/L)は、回収率 105 % (n=7)、変動係数 8.2% であった。

3-2 岩手県内河川の平時の CS 濃度

3-1 で検討した方法を用いて、県内河川 5 地点の CS 濃度を測定した結果を表 1 に示す。

表 1 河川水中の CS 濃度

地点	検出濃度(mg/L)	検出率
A	<0.02	0/4
B	<0.02~0.02	1/4
C	<0.02~0.02	2/4
D	<0.02	0/4
E	<0.02	0/4

EB やパコマ等の CS は日常的に使用されているが、当該方法による平時の河川水中濃度は、定量下限値程度であった。この濃度レベルが防疫措置後の環境影響評価の目安として活用できると考えられる。

また、防疫措置後は、周辺地下水も測定することになっている。パコマは食品健康影響評価により ADI が設定されており²⁾、ADI 算出時の NOAEL と安全係数を用いると、飲用水の TDI は 0.033 mg/L となる。今回検討した JIS 改良法はこれを下回る感度があり、周辺地下水の測定にも適用可能であると考えている。

【参考文献】

- 1) 岡山県環境保健センター年報 31,45-51,2007
- 2) 動物用医薬品評価書, [モノ, ビス (塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] -アルキルトルエン, 食品安全委員会動物用医薬品専門調査会, 2017 年 10 月

動物性自然毒の一斉分析法の検討

○鈴木 ゆめ¹、沼野 聡^{1,2}、宮手 公輔¹、松山 和弘¹

(¹岩手県環境保健研究センター、²現 宮城県北部保健福祉事務所栗原地域事務所)

第58回全国衛生化学技術協議会年会 (オンライン開催 2021.11.25-26)

[目的]

自然毒による食中毒は、発生件数では全体の10%に満たないが、重篤な症状を呈する場合があります。死亡に至る例も発生している¹⁾。

地方衛生研究所は、地域における危機管理の科学的技術拠点であり、食中毒が発生した際には、迅速かつ精確に原因を究明することが求められる。

自然毒の分析手法の一つとして、LC-MS/MSを用いた定性及び定量分析がある。一般的に、麻痺性貝毒 (paralytic shellfish toxins, PSTs) やふぐ毒 (tetrodotoxin, TTX) の分析は、HILIC (親水性相互作用クロマトグラフィー) を用いてグラジエント条件で行われているが、平衡化に時間がかかることやリテンションタイムが安定しないこと等の問題を抱える。

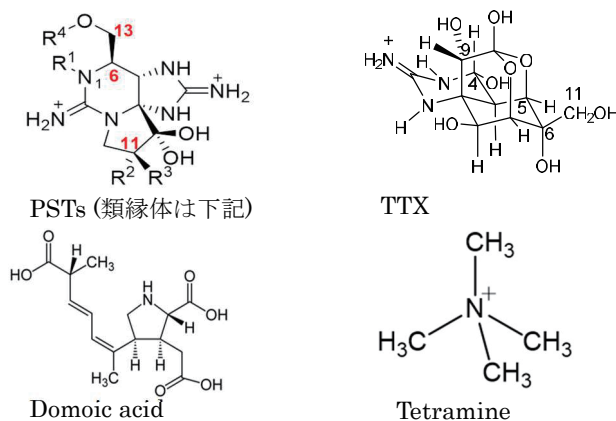
本研究では、既報の PSTs の LC-MS/MS 分析法²⁾³⁾⁴⁾を改良し、アイソクラティック条件で、麻痺性貝毒、ふぐ毒、記憶喪失性貝毒 (Domoic acid, DA) の一斉分析を検討した。同時にテトラミンも測定条件に加え、良好な結果を得たので報告する。

[方法]

本研究では、LC-MS/MS の測定条件を市販の標準品を用いて検討し、実際の試料で検証を行った。

1. 試薬

麻痺性貝毒及び記憶喪失性貝毒の標準品は、カナダ NRC 社の C1-2、GTX1-4、GTX2-3、GTX5-6、dcGTX2-3、dcSTX、DA を用いた。ふぐ毒の標準品は、富士フィルム和光純薬製を用いた。テトラミンの標準品は、ACROS 社製の塩化テトラメチルアンモニウムを用いた (Fig. 1)。



化合物	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	比毒性 (MU/μmol)
C1	H	OSO ₃ ⁻	H	C(O)NHSO ₃ ⁻	15
C2	H	H	OSO ₃ ⁻	C(O)NHSO ₃ ⁻	239
GTX1	OH	OSO ₃ ⁻	H	C(O)NH ₂	2468
GTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	C(O)NH ₂	892
GTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	C(O)NH ₂	1584
GTX4	OH	H	OSO ₃ ⁻	C(O)NH ₂	1803
GTX5	H	H	H	C(O)NHSO ₃ ⁻	160
GTX6	OH	H	H	C(O)NHSO ₃ ⁻	180
dcGTX2	H	OSO ₃ ⁻	H	H	1617
dcGTX3	H	H	OSO ₃ ⁻	H	1872
dcSTX	H	H	H	H	1274
STX (測定対象外)	H	H	H	C(O)NH ₂	2483

Fig. 1. 分析対象とした化合物群

2. 試料

本研究では、(1) 岩手県水産技術センター提供の毒化ホタテガイ、(2) 県内で採取されたマフグ、(3) 県内店舗で購入した他県産ヒメエゾボラを使用した。なお、毒化ホタテガイは試験用に養殖されたものである。

3. 装置及び分析条件

既報²⁾³⁾⁴⁾⁵⁾を改良し、Table 1 の条件で測定した。LCにおける圧力は56bar (5.6MPa) 前後である。

Table 1. LC-MS/MS 条件

LC:	Agilent 1100series
カラム:	TSKgel-Amide80 (150 mm×2.0 mm i. d., 5 μm)
移動相:	62 % MeCN, 2 mM HCOONH ₄ (0.0125% HCOOH)
流速:	0.2 mL/min
注入量:	5 μL
MS:	ABSciex API4000
イオン化モード:	ESI positive

[結果]

1. 標準品の分離

DAが2分で溶出し、その後にテトラミン、PSTs、TTX が溶出した。TTX に関しては、平衡体である4,9-anhydroTTXや4-epiTTXも検出した。(Fig. 2)

2. 試料の分析

(1) ホタテガイ (中腸腺)

標準品で確立した測定条件により、毒化ホタテガイを測定したところ、麻痺性貝毒のC1-2、GTX1-4、GTX2-3、GTX5、dcSTXを検出した。さらに、12β-deoxyGTX3⁶⁾⁷⁾や麻痺性貝毒の代謝物である M toxin(M1~10)、M5-HA 及び M6-HA⁸⁾を検出した。(Fig. 3)

(2) マフグ (肝臓)

TTX の他、既報⁵⁾の類縁体である5-deoxyTTX等と推測される成分を検出した。(Fig. 4)

(3) ヒメエゾボラ (唾液腺)

2つのSRM条件において、Tetramineを感度よく検出した。(Fig. 5)

[まとめ]

今回アイソクラティック条件での動物性自然毒の一斉分析法を検討した。本法は食中毒事案発生時の迅速かつ安定的な検査に寄与することが期待される。

[参考文献]

- 厚生労働省 HP 令和2年(2020年)食中毒発生状況
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html
- 沼野 聡, 第54回 全国衛生化学技術協議会 年会 講演集, 2017
- 沼野 聡, 第56回 全国衛生化学技術協議会 年会 講演集, 2019
- 沼野 聡, 第57回 全国衛生化学技術協議会 年会 講演集, 2020
- Yotsu-Yamashita mari *et al.*, Mar. Drugs, 2013, 11, 2799-2813
- Minowa.T, Cho.Y, Mari.Y. *et al.*, Toxins, 2019, 11, 539
- Numano.S, *et al.*, Mar. Drugs, 2019, 453
- Numano.S, *et al.*, Chemosphere, 2021, 278, 130224

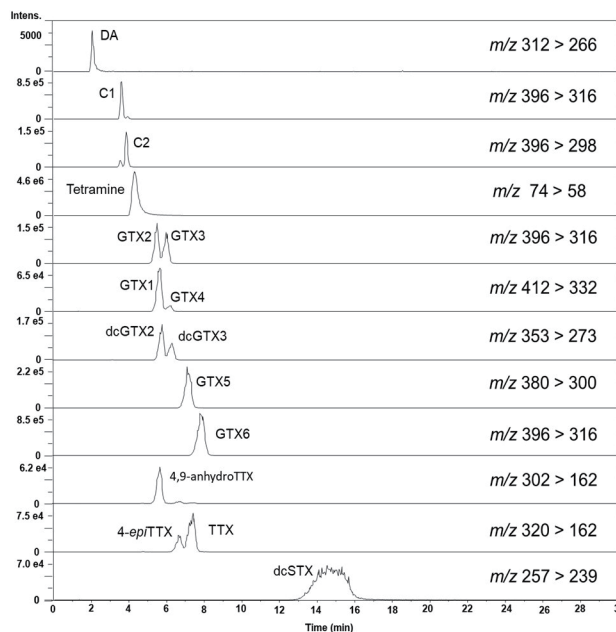


Fig. 2. 標準液のクロマトグラム (各0.1-1µg/kg)

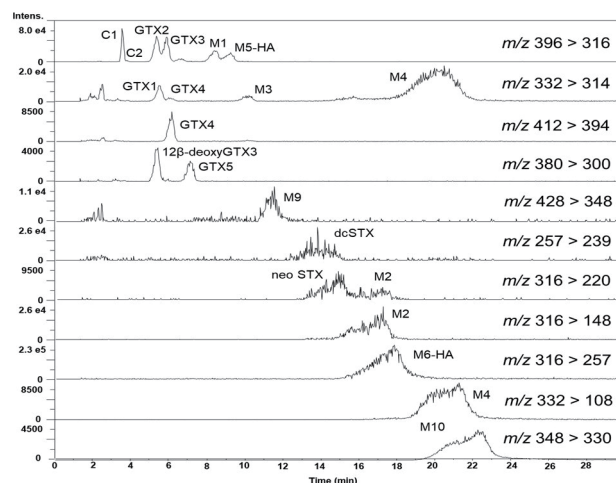


Fig. 3. PSTsを含有する毒化ホタテガイの分析例

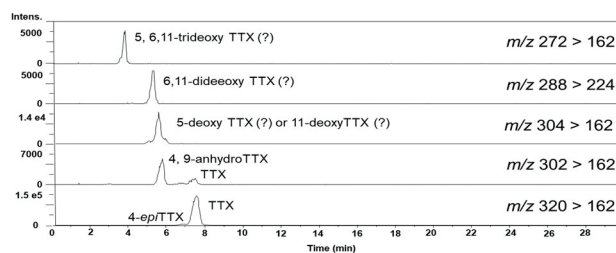


Fig. 4. TTX類を含有するフグの分析例

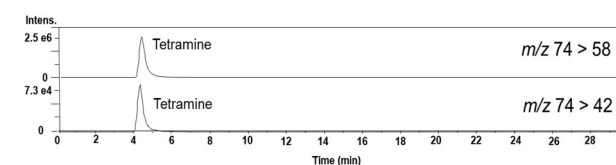


Fig. 5. テトラミンを含有するヒメエゾボラの分析例

家畜防疫に使用される陽イオン界面活性剤の分析

○伊藤朋子、浅沼英明、佐々木和明

令和3年度衛生・環境業務研究発表会（盛岡市 2022.1.20）

1 はじめに

高病原性鳥インフルエンザを始めとした家畜伝染病が発生した際、県が行う防疫措置では、畜舎や車両の消毒に陽イオン界面活性剤（CS）が使用される。また、防疫措置による環境影響を把握するため、周辺河川と地下水についてCSを測定することがマニュアルに規定されているが、分析方法及び結果の評価、調査終了のための具体的な数値は、特に定めがなかった。

当センターでは、防疫措置後の環境調査に対応するため、CSの分析方法を確立すると共に、平時の河川データを蓄積し、測定結果の評価や調査終了時の目安として活用することを目的として、昨年度まで検討を行ってきた。また、確立した方法を用いて、今年度2事例の家畜防疫措置時の環境調査を実施したので、その結果について報告する。

2 検討の概要

2-1 分析法の検討

水質中のCS分析には、JIS K 0102 2013年度版付属書1（参考）補足のオレンジII 吸光光度法（以後、JIS法という。）が適用できる。しかし、JIS法は定量下限値が高く（0.2 mg/L）環境測定にはより高感度化が必要であるとされている。また、家畜防疫に一般的に使用されるCSと、その水生環境有害性について表1に示したが、塩化ジデシルジメチルアンモニウムのオオミジンコに対するLC50等と比較しても、JIS法では10倍程度感度が不足している。

表1 家畜防疫に使用されるCS

製品名	成分	水生環境有害性（急性）
パコマ	[モノ、ヒス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)] アルキルエー	不明
アストップ、クリアル、 パンパックス	塩化ジデシルジメチルアンモニウム	オオミジンコ 48hrLC50=0.034 mg/L (ECETOCTechnicalReport 91, 2003)

そこで、必要な感度で測定ができるようJIS法の改良を行い、定量下限値が0.02 mg/Lとなる分析法を確立した。分析法のフローを図1に示す。なお、本法では標準物質に塩化ベンザルコニウムを用いるが、パコマやアストップの成分についても、1：1の感度で測定できることを確認している。

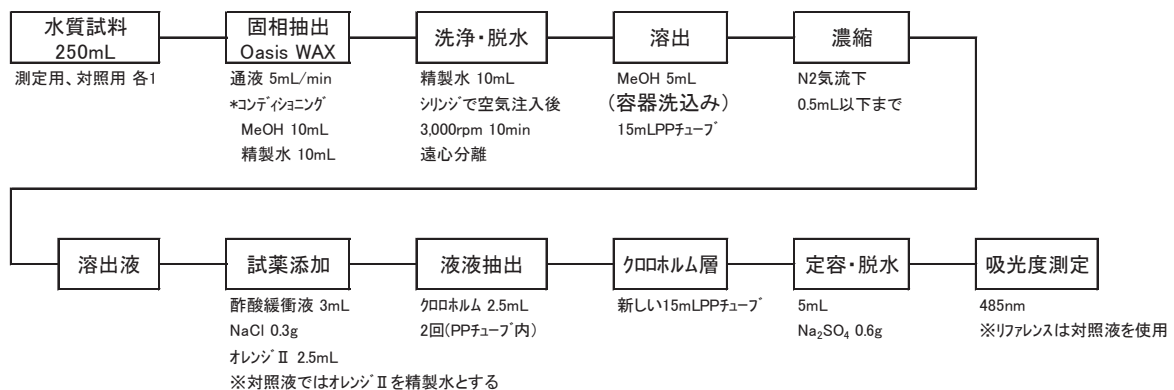


図1 JIS改良法による陽イオン界面活性剤の分析フロー

検討の詳細については、環境保健研究センター年報（H29～R2）に掲載

2-2 平時の河川水中CS濃度

養鶏業が盛んな5市町村について、令和2年度にシーズンごとの河川水中CS濃度を測定した結果を表2に示す。すべての地点で定量下限値である0.02 mg/L未満もしくは定量下限値程度の濃度であった。なお、この濃度レベルで魚類へい死などの環境影響は確認されていない。

表2 養鶏業が盛んな地域における平時の河川水中CS濃度 (単位 mg/L)

地点名	春	夏	秋	冬
白鳥川(二戸市)岩谷橋	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
瀬月内川(九戸村)大向橋	<0.02	0.02	<0.02	<0.02
雪谷川(軽米町)報国橋	0.02	0.02	<0.02	<0.02
黒沢川(金ヶ崎町)川原田橋	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02
黄海川(一関市)館山橋下流	<0.02	<0.02	<0.02	<0.02

2-3 家畜防疫時の測定事例

2-3-1 九戸村における高病原性鳥インフルエンザ防疫に係る環境調査

令和3年12月中旬、青森県の養鶏場で高病原性鳥インフルエンザが発生し、この施設から九戸村のM孵卵場に卵が搬入されていたことが確認された。

卵は青森県内に埋却処分されたが、施設を消毒(パンパックス使用)したことから、周辺河川の環境調査を実施した。図2の各地点において、12月13日、12月15日及び12月22日の3回にわたり調査を行ったが、CS濃度はすべて0.02 mg/L未満であった。

2-3-2 八幡平市における豚熱防疫に係る環境調査

令和3年12月末、宮城県の養豚場で豚熱が発生し、この農場から採取した精液を用いて八幡平市の養豚場で繁殖作業が行われていたことが確認された。繁殖用雌豚の殺処分と埋却処理及び豚舎の消毒(アストップ使用)が実施され、消毒後に周辺の土側溝と河川のCS濃度を測定したが、0.02 mg/Lもしくはこれ未満であった。

3 まとめ

家畜伝染病防疫時の環境調査に対応するため、CS分析法の確立と、河川の平時データ収集を行い、実際の調査に適用した。防疫措置後の河川水中CS濃度は、平時と比較し特に高濃度となる地点はなかった。また、県マニュアルでは消毒剤としてパコマ([モノ、ビス(塩化トリメチルアンモニウムメチレン)]アルキルトルエンを主成分とする)を使用することになっているが、今回、2事例とも塩化ジデシルジメチルアンモニウム製剤の消毒剤が用いられていた。

消毒剤については、CS以外にも利用可能なものがあるため、現地でどのような薬剤が使用されるのか、都度確認が必要であると感じた。また、環境保全課の現地確認で、CSによる畜舎消毒は内部への噴霧が中心で、それほど河川に流出しない状況で実施されていたとのことであった。今回の事例を通じ、実際に使用された薬剤量や使用の方法を情報収集し、環境調査をどのように実施するのか、より実際に即したマニュアルに再検討する必要があると考えている。

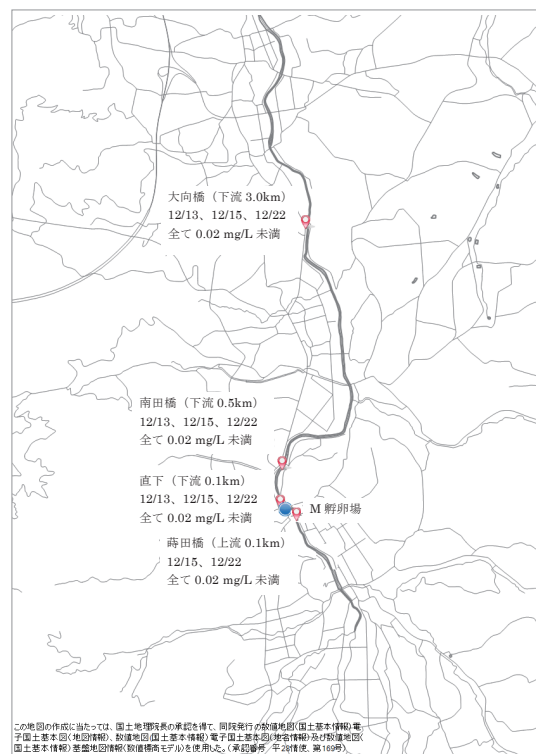


図2 九戸村における環境調査地点

県内海域における漂流マイクロプラスチック実態調査

浅沼英明

令和3年度衛生・環境業務研究発表会（盛岡市 2022.1.20）

1 はじめに

プラスチックごみによる海洋汚染は、喫緊の課題として国連をはじめとする国際会議でその対策が議論されている。本県においても、岩手県海岸漂着物対策推進計画を策定し、海岸漂着物等の組成や存在量から汚染実態の把握を進めている。その一環として、本県海域に漂流する5 mm以下のプラスチックごみ、いわゆるマイクロプラスチック（以下、MP）の分布状況を把握し、発生抑制対策に資することを目的として、実態調査を行った。

2 調査方法

本調査は、環境省が公開した「漂流マイクロプラスチックのモニタリング手法調和ガイドライン」（以下、ガイドライン）に沿って実施した。本ガイドラインは、異なる実施主体間でのデータの比較を可能にすることを目的に作成されており、本調査で取得するデータを今後広く活用するためにガイドラインに準拠することとした。

2-1 調査地点及びサンプリング方法

調査地点は、本県海域の全体を把握するため、本県の北部（黒崎）と南部（樺島）について、それぞれ0海里地点と50海里（岸から約93km沖）地点の計4地点を選定した。

サンプリングは、岩手県水産技術センターの協力のもと、「岩手丸」を調査船として行った。口径75 cm角、目合い0.35 mmのニューストーンネット（以下、ネット）を船速2～3ノットで、20分間曳網した。ネットには、開口部が1/2～2/3程度海に沈むよう浮きを取り付け、さらに開口部中央付近にはろ水計を装着して、正確なる水量の把握を試みた。船舶から剥離した塗料が混入するのを避けるため、ネットを船の右舷から2～3 m離すこととした。曳網後のネットを引き揚げ、吊るした状態で、外側から海水をかけながらPVC製容器にサンプルを収容した。試料水に含まれる有機物の腐敗を防ぐため、ホルマリンを2%程度の濃度になるように添加し、冷暗所で保存した。

2-2 分析方法

採取した試料の分析は、図1に示す方法で行った。

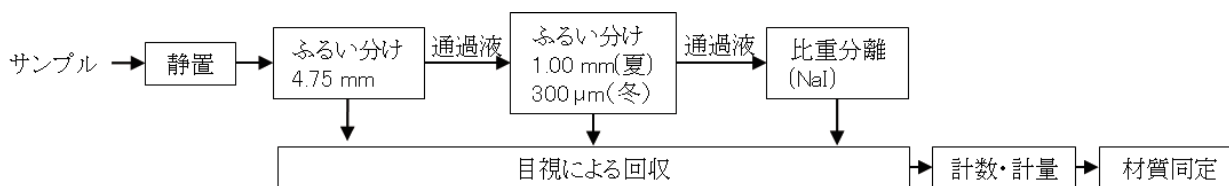


図1 分析手順

はじめに4.75 mmのふるいを通し、粗大な夾雑物の除去及び5 mm以上のプラスチック片を回収した。通過液は、より目合いの細かいふるいを通し、MPを回収した。ふるいの通過液は、ヨウ化ナトリウム溶液を用いた比重分離などを行い、目視で観察可能な全てのMPを回収した。

回収したMPは、個数をカウントし、形状（フラグメント、繊維、フォーム、ビーズ、ペレット）と色を記録した（図2）。さらに、FT-IR（ATR法）を用いて、材質の同定を行った。

3 調査結果

調査結果を表1に示す。

夏期の各地点の個数は、南部沖合が元も多く48個、南部沿岸が26個、北部沖合が34個、北部沿岸で5個であった。各地点の個数を濾水量で割った個数密度(個/m³)は、南部沖合が0.22 個/m³、南部沿岸が0.13 個/m³、北部沖合が0.12 個/m³、北部沿岸で0.03 個/m³であった。北部よりも南部の方で個数が多く、また沿岸よりも沖合で個数が多い結果となった。

冬期では、最も多かったのが北部沿岸で45個、南部沿岸が9個、南部沖合が7個、北部沖合が5個であった。個数密度では、北部沿岸が、0.17 個/m³、南部沿岸は0.03 個/m³、南部沖合と北部沖合は0.02 個/m³であった。夏期調査と比較して、北部沿岸では個数が大幅に増加し、その他の3地点で大幅に減少した。

回収したMPの特徴は、フラグメント形状が最も多く、素材別ではポリエチレン(PE)、ポリプロピレン(PP)、ポリスチレン(PS)の順に多かった。ガイドラインでは、1 mm以下のMPは、定量性にかけるため別に報告することとされているが、本調査で回収された1 mm以下のMPは1～3個であった。

表1 調査結果

		北部沿岸	北部沖合	南部沿岸	南部沖合
個数	(個)	50	39	35	55
夏期	個数(個)	5	34	26	48
	個数密度(個/m ³)	0.03	0.12	0.13	0.22
冬期	個数(個)	45	5	9	7
	個数密度(個/m ³)	0.17	0.02	0.03	0.02
大きさ	1mm以下	1	1	2	3
形状	フラグメント	48	35	28	49
	フォーム	0	1	7	6
	繊維	2	3	0	0
材質	PE	35	22	18	23
	PP	14	12	8	14
	PS	1	2	9	13
	その他・不明	0	3	0	5

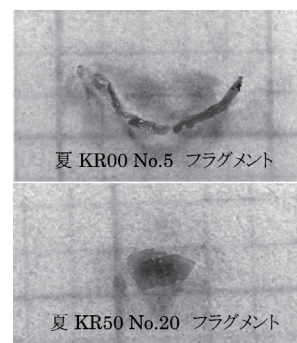


図2 回収したMP
(方眼 1mm)

4 まとめ

本調査結果では、本県海域のMP個数密度は0.02～0.22 個/m³であった。先行調査¹⁾によると、本県海域の個数密度は0.113～2.78 個/m³とされており、本調査結果と概ね一致した。また、全国平均は2.4 個/m³と報告されており、調査結果はこれよりも一桁低い結果となった。フラグメント形状のPE及びPP製品が圧倒的に多く、発泡スチロールや繊維から想定される漁具由来のMPよりも生活雑品類由来のMPが多いと思われる。

本調査では、夏期調査と冬期調査で個数に大きな差が生じた。MPは、海流に乗って移動しながら不均一に存在しているものと考えられ、サンプリング時にネットが通過するタイミングによって、結果が大きく異なると考えられる。今後の課題は、地点や季節による分布傾向を正しく把握するためにサンプリング時のばらつきによる影響を小さくすることであり、地点数と測定回数の増加、及び継続した調査の実施が必要である。

<参考資料>

- 1) 環境省 平成28, 29, 31年度 沖合海域における漂流・海底ごみ実態把握調査業務 報告書

安全性審査済み遺伝子組換え大豆検査法について

○関村照吉・後藤吉乃

令和3年度食の安全安心担当業務研究発表会（書面開催 2022.2.10）

1 はじめに

遺伝子組換え食品とは、他の生物から有用な性質を持つ遺伝子を取り出し、その性質を持たせたい動植物などに組込む(遺伝子組換え)技術を利用して作られた食品です。遺伝子組換え農作物とそれから作られた食品及び遺伝子組換え微生物を利用して作られた食品添加物があり、従来の育種技術では不可能と考えられていた害虫抵抗性や除草剤耐性の農作物を作れるなどの利点があります。人間には当然ですが、環境や動植物に影響を及ぼす恐れがないかなどの安全性審査を経たものが認められています。安全性が認められた遺伝子組換え農産物とその加工食品は、食品表示法に基づく表示が義務づけられ、現在大豆、とうもろこし、ばれいしょ、なたね、綿実、アルファルファ、てん菜及びパパイヤの8種類の農産物と、これを原材料として加工工程後も組換えられたDNAや生成するたんぱく質が検出できる加工食品33食品群となっています。県ではその混入の有無を検査し、適正な表示指導を実施しています。

本報告では、現在実施している遺伝組換え検査法と令和3年9月に改正された改正法について、環境保健研究センター(以下当センター)の取り組みを紹介します。

2 これまでの取り組み

当センターでは、ばれいしょ、とうもろこし、大豆の組換え遺伝子を平成18年からは安全性未審査とうもろこし加工品のBt10遺伝子を検査してきました。これらの検査は、主としてELIZA法で組換え遺伝子によって生成するたんぱく質を抗原抗体反応でその有無を判定し、擬陽性や陽性になった場合にその遺伝子を増幅PCRによって増やした後、電気泳動のバンド位置で遺伝子を特定する定性検査法でした。

令和元年からは、安全性審査済みの遺伝子組換え大豆 RRS (除草剤成分グリホサート抵抗性遺伝子を組込み) を対象に、リアルタイムPCR装置で遺伝子の割合を検査する方法を実施しています(図1、2)。しかし、安全性審査済みの遺伝子組換え大豆は RRS のほかに、LLS (除草剤成分グルホシネート抵抗性遺伝子を組込み) や RRS の次世代系統の RRS2 が既に収穫されており、国内に流通していると考えられています。このため、3遺伝子の合計を検査する必要がありますが、現在は RRS の1遺伝子に限定して検査し、結果を報告しています。

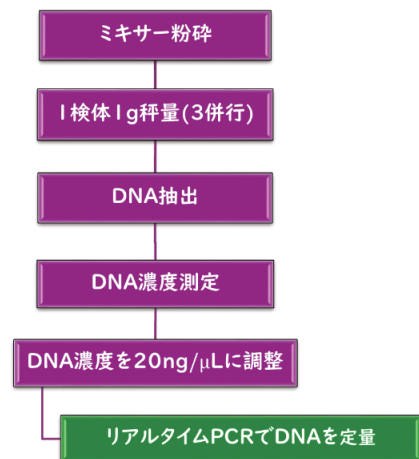


図1 検査手順

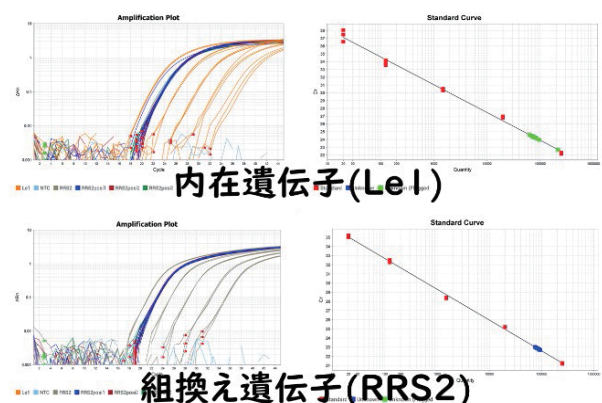
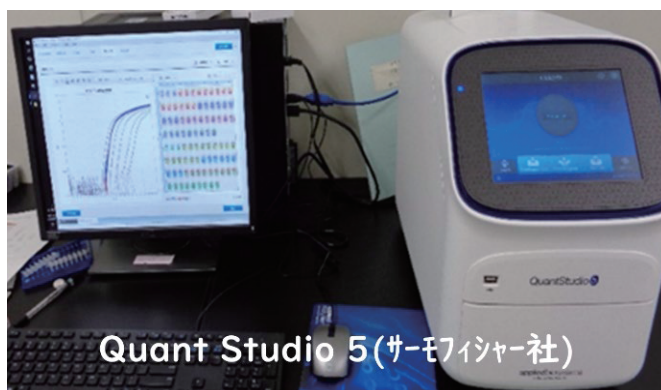


図2 リアルタイムPCRと遺伝子の増幅曲線

3 安全性審査済み大豆 3 遺伝子の検査

当センターの検査方法をこれら 3 遺伝子の検査に拡大・拡張するため、それぞれの遺伝子の陽性コントロールを入手し、正しく定性定量できるかどうかを確認し、現在と同じ 6 検体の検査を実施する場合の経費や時間を 1 遺伝子のみ実施する場合と比較しました。

その結果、各遺伝子のプライマーはそれぞれの陽性コントロールのみを認識しており、含有量も正しく検査できることが確認できました。また、6 検体を検査する経費と時間は 1 遺伝子から 3 遺伝子に拡大する場合それぞれ 2.5 倍と 1.8 倍になることが解かりました(表 1、2)。このことにより、当センターの標準作業書(SOP)を改正し、令和 4 年度の食品収去計画に組み込み実施する予定にしています。

4 改正検査法への取り組み

一方、分別生産流通管理が行われかつ非意図的な混入が 5%以内に抑えられている大豆に対して「遺伝子組換えでない」の表示が可能であったものが、令和 5 年 4 月からは表示は含まれていないときのみに限定されることから、令和 3 年 9 月に 3 遺伝子の検査方法はそのまま残して現行の検査方法が改正されました。改正検査法は含まれていないことを確認するため定性検査で、遺伝子組換え農産物の混入の有無は、大豆の内在性遺伝子(Le1)と組換え遺伝子それぞれの増幅率の差で示せることを利用した判定方法($\Delta \Delta Cq$ 法)となっています。令和 2 年 5 月現在で安全性審査済み大豆遺伝子は 33 品種あり本来は全部測定して合算する必要がありますが、流通品の 99%を占める P35S(RRS・LLS 両遺伝子の検知)と RRS2 の 2 遺伝子を対象にしています(図 3、4)。検査全体では 2 つの判定スキームがあり、擬陽性となった場合には、プレート作成や DNA 抽出からやり直す必要があります。来年度改正検査法に従い正しく測定可能かどうかを確認し、現行 SOP とは対象遺伝子や検査方法が異なることから新規に SOP を作成する予定にしています。

5 まとめ

当センターでは、日々進歩する技術・分析機械に対応して発出される検査方法に対応し、保健所が事業者を指導するための正確な検査結果を提示するため、今後も分析技術の向上と保健所のニーズに応え、県民の安全安心の確保に努めていきます。

表 1 3 遺伝子の定性定量結果

	RRSポジコン (1%含有)	LLSポジコン (100%含有)	RRS2ポジコン (100%含有)
RRSプライマー	0.88%	—	—
LLSプライマー	—	101%	—
RRS2プライマー	—	—	99.8%

表 2 3 遺伝子の 6 検体分の経費と時間比較

	1遺伝子	3遺伝子	比
経費	138千円	349千円	2.5倍
時間	19時間	34時間	1.8倍

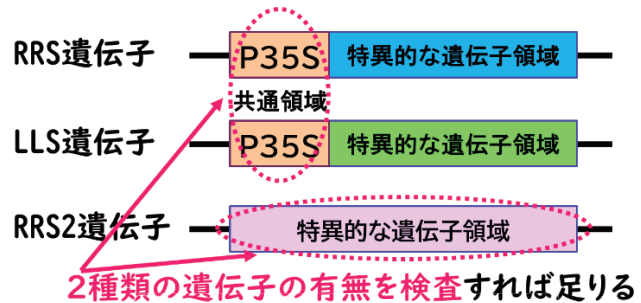


図 3 改正検査法の対象遺伝子

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	NTC	GM control	NTC	GM control	NTC	GM control	NTC	GM control	NTC	GM control	NTC	GM control
B	111	112	121	122	111	112	121	122	111	112	121	122
C	211	212	221	222	211	212	221	222	211	212	221	222
D	311	312	321	322	311	312	321	322	311	312	321	322
E												
F		Le1				P35S				RRS2		
G												
H												

図 4 改正検査法の 3 検体プレート配置例

食中毒原因究明のために行ったクサウラベニタケの分析例

○宮手公輔 関村照吉 松山和弘

令和3年度食の安全安心担当業務研究発表会（書面開催 2022.2.10）

1 はじめに

クサウラベニタケ (*Entoloma rhodopolium*) は、イッポンシメジ科のキノコで、夏から秋に広葉樹林やマツの混じった林内地上に発生する。可食キノコであるウラベニホテイシメジなどと形状が類似しており、誤認して喫食する食中毒事例が全国的に多い。

平成元年から平成22年までの間に全国でクサウラベニタケを喫食したことによる食中毒は258件（患者1,041名）発生している。これはツキヨタケの393件（患者1,719名）に次ぎ2番目に多く、毒キノコによる食中毒件数の約1/5を占める¹⁾。本県でも平成13年から令和2年の20年間に6件（患者20名）発生している²⁾。

クサウラベニタケは毒成分として、分子量約4万の溶血性タンパクの他、コリン、ムスカリン、ムスカリジンなどを含有していると言われている。食中毒発生時のクサウラベニタケの特定については、各地方衛生研究所において様々な試験法の検討が行われており、ムスカリン等をLC-MS/MSを用いて検出する方法³⁾、試薬による呈色を観察する方法⁴⁾、PCRにより遺伝子解析する方法⁵⁾などが報告されている。当センターではこれまでにLC-MS/MS法によりムスカリンが測定可能であることを確認している。

令和2年10月、一関保健所管内においてクサウラベニタケが原因食品として疑われる食中毒が発生し、5名に吐き気、嘔吐、腹痛、下痢の症状が現れ、うち3名が入院となった。保健所の調査において患者宅にあったキノコ残品（図1）を入手し、当センターにおいて原因究明に係る分析を行うこととなったが、LC-MS/MS法による成分分析では原因を特定することができない事例であったことからその概要を報告する。



図1. 搬入されたキノコ残品

2 試験方法

1) LC-MS/MS法

搬入検体の子実体を粉砕し、①メタノール、②0.5%ギ酸含有メタノール及び水、③1.5%TFA/アセトニトリル（1:9）のそれぞれの溶媒で抽出操作を行い、0.45 μmメンブレンフィルターでろ過したものをLC-MS/MSを用いて分析した。なお、標準品にはムスカリンクロリド（Sigma-Aldrich社製）を使用し、メタノールに溶解・希釈して5-50 ng/mLの範囲で6段階の濃度により検量線を作成した。

2) 呈色反応

搬入検体から1辺約1 cmとなるように子実体を採取し、①グアヤクチンキ（グアヤク脂1 gに70%エタノール5 mLを加えて溶解したもの）及び②硫酸バニリン液（バニリン1 gを、精製水3 mLに硫酸8 mLを加えた溶液に溶解したもの）を滴下し、5分～20分経過後の色を観察した。なお、大木ら⁴⁾によれば、クサウラベニタケに滴下した場合、①で緑色を呈し、②で呈色しない。

3) PCR-電気泳動法

搬入検体の子実体及びビーズクラッシャーを使用し粉砕したものをそれぞれ分取し、バイオマッシャーを用いて摩砕したのち、①MagExtractor -Plant genome-又は②DNeasy Plant mini kitを用いてDNAを抽出・精製した。それぞれのDNAをクラウラベニタケ用プライマーセットによりPCRサーマルサイクラーを用いて増幅させ、電気泳動法により109 bpのバンドの有無を確認した。

4) PCR-シーケンス法(サンガー法)

キノコ子実体を約3 mm角採取し、バイオマッシャーを用いて摩砕したのち、プライマーにキノコのユニバーサルプライマーのITS1 / ITS2を使用し、PCRサーマルサイクラーを用いてDNAを増幅した。増幅物をシーケンス用前処理ののちサンガー法シーケンスにより塩基配列を特定し、BLASTを用いた配列検索を行った。

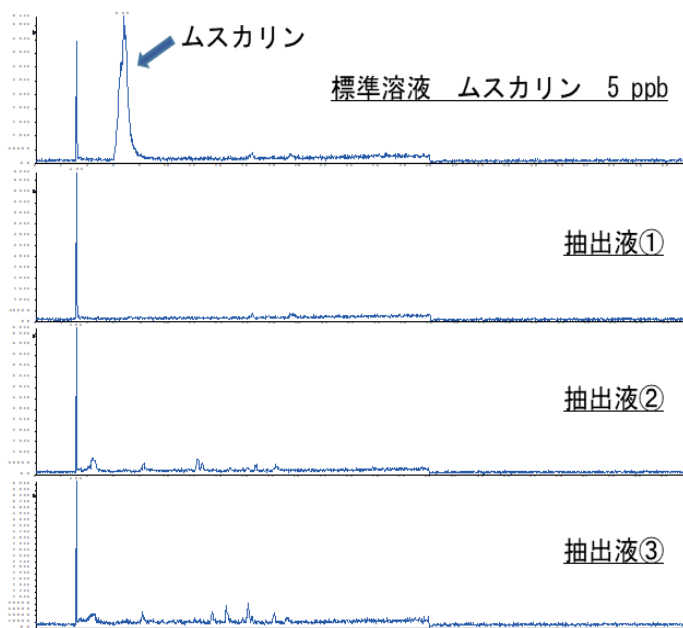


図2. MRM クロマトグラム (m/z 174.1 > 57.0)

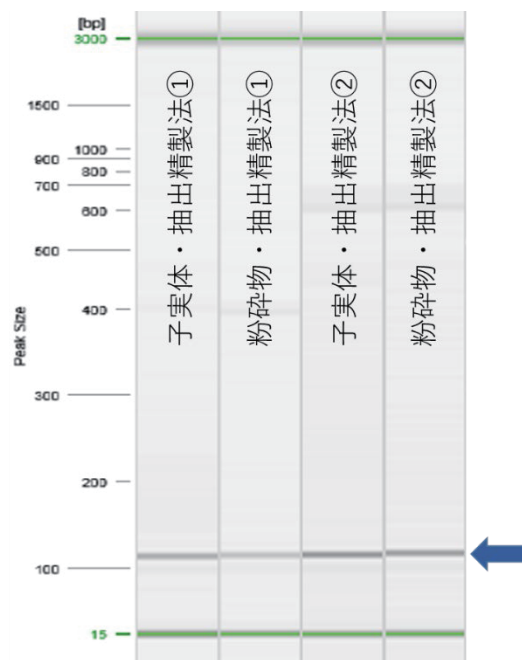


図3. 電気泳動結果

3 結果

1) LC-MS/MS 法

ムスカリン標準溶液では、5 ppb でも明確なピークが得られ、検量線は良好な直線性を示した ($r^2=0.998$)。標準溶液のクロマトグラムではいずれも溶出時間 6.7 min に明確なピークが確認できたが、一方、①、②及び③のいずれの抽出液からもムスカリンを検出しなかった。

2) 呈色反応

搬入検体に試薬を滴下したところ、グアヤクチンキでは呈色せず、硫酸バニリン液において淡い赤紫色を呈したが、明確な呈色ではなかったため判断するに至らなかった。なお、当センターで今回の検体とは別に入手していたクサウラベニタケでも同時に呈色試験を行ったが、いずれも呈色しなかった。

3) PCR-電気泳動法

子実体及びビーズクラッシャーを用いて粉砕した試料について、①及び②のいずれの DNA 抽出方法においても、増幅した塩基長 109 bp のバンドの発現を確認したことから、搬入検体はクサウラベニタケであると判断した (図 3)。

4) PCR-シーケンス法(サンガー法)

遺伝子配列解析により、233 bp の塩基配列が得られた。この配列について、NCBI (National Center for Biotechnology Information) が提供する BLAST を用いて検索したところ、*Entoloma rhodopolium* との相溶性が 100.00%との結果であったことから、搬入検

体はクサウラベニタケであると判断した。

4 まとめ

当センターで検討を進めてきた LC-MS/MS 法や呈色法など、クサウラベニタケの成分や含有物を対象とした試験法ではクサウラベニタケを特定できないケースがあることが分かった。今回の事案では PCR 法を用いることにより、電気泳動法とシーケンス法のいずれにおいてもキノコ種を特定することができ、自然毒食中毒の原因究明法として有用であると考えられる。

今後、様々な植物やキノコを用いて試験法等の検討を進めるとともに健康危機管理体制の強化を図っていきたい。

謝辞

PCR-電気泳動法の実施にあたり、試験方法について情報提供いただきました山形県衛生研究所の皆様には厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 登田ら, 食衛誌, 53(2), 105-120, 2012.
- 2) 厚生労働省, 食中毒統計資料.
- 3) 多田ら, 岐阜県保健環境研究所報, 21, 1-7, 2013.
- 4) 大木ら, 食品衛生研究, 36(1), 95-98, 1986.
- 5) 野村ら, 食衛誌, 58(3), 132-142, 2017.

特定健診・特定保健指導従事者研修の評価方法とその活用に関する考察

○平野春菜 並岡亜希子 田中久美子 高橋知子

令和3年度岩手県保健福祉環境行政セミナー（書面開催 2022.2.18）

I はじめに

当センターでは、平成19年度から「特定健診・特定保健指導従事者研修」を開催し、生活習慣病対策を担う人材の育成を行ってきたが、「理解」が「実践」につながらない等の課題があった。そこで今年度は、研修効果の評価をすることとし、評価方法を変更した。その評価方法と活用について考察したので、報告する。

II 評価方法

これまでの評価は、受講者の理解度及び自由記載から評価していたが、今年度はストラクチャー・プロセス・アウトプット・アウトカムの観点から評価指標（目標値）と評価計画（時期と方法）を設定し、評価することとした。

アウトカムは、「短期的に受講者がどうなったか」とし、「①到達目標の到達度」と「②業務遂行能力の習得度」を指標とした。①到達目標は業務遂行能力を基に、具体的かつ観察可能な行動目標を設定して4件法で評価し、②業務遂行能力は、国で示している業務遂行能力チェックリストを用いて4件法で評価することとした。①及び②について、受講者に研修前・後・3か月後に自己評価を求めた。①及び②の統計解析はR/EZRを用いて行った。

III 結果

（1）到達目標の到達度について

研修後、全ての到達目標の到達度が有意に向上し、今回の研修に効果があったことが示唆された一方、研修3か月後の到達度は、研修後から現状維持または有意に低下している

ことが確認された。

また、研修前に到達目標の到達度を自己評価したことにより、受講者から「研修から何を得て、どうなるべきかが示されたことで、より一層研修に励もうと気持ちが引き締まった」との反応が得られた。

（2）業務遂行能力の習得度について

研修後、業務遂行能力の習得度が有意に向上した能力・しなかった能力が確認できた。向上した能力の中には、研修プログラムに関連しない能力もあり、OJTや自己学習による効果が示唆された一方、習得を狙ったものの、能力の向上が認められない能力があった。

また、研修3か月後の習得度は、研修後より有意に向上していたことが確認できた。

IV 考察とまとめ

今回、研修効果の評価するために、評価方法を変更し、評価したところ、研修に一定の効果があることが確認できた。今後は、今回用いた評価方法の妥当性の検討や評価結果の効果的・具体的活用が課題と考える。

国・県が示す研修ガイドラインに照らし合わせながら、受講者の研修ニーズと、今回得たデータを基に、業務遂行能力の習得優先度を考え、プログラムに反映させていく必要がある。

また、習得を狙ったものの、能力の向上が認められなかった項目については、その要因を、より詳細なストラクチャー・プロセス・アウトプット評価指標を用いて検討していく。

今後も、研修ニーズの多様化に対応しながら、評価・改善を繰り返し、より効果的な研修となるよう努めていきたい。

便に含まれる夾雑菌により腸管出血性大腸菌O157の分離に困難をきたした事例

○山中拓哉、高橋幸子、太田美香子、千葉和久

令和3年度岩手県保健福祉環境行政セミナー（書面開催 2022.2.18）

I はじめに

大腸菌はヒト等の腸管に常在するグラム陰性桿菌で大半は無害だが、一部感染症や食中毒の原因となるものがある。これらを病原大腸菌と呼び腸管出血性大腸菌もこれに含まれる。このような菌を便検体から分離するには、検査で使用する選択分離培地において無害な大腸菌と鑑別することが重要である。

令和3年10月に保健所から腸管出血性大腸菌O157VT1, 2患者について治療後の陰性化確認の依頼があり、当センターで検便検査を実施した。結果はO157陽性であったが、便検体に優占的に含まれる夾雑菌（大腸菌）により菌分離に困難をきたした。本発表ではこの検査の経緯について報告する。併せて菌の分離に使用する選択分離培地について検討を行ったのでこれについても報告する。

II 検査の概要

便検体をCT-ソルビトールマッコンキー寒天培地（CT-SMAC、O社製）及びクロモアガーO157TAM寒天培地（TAM）という2種類の選択分離培地に塗抹し一晚培養した。

培養後のCT-SMAC寒天培地上ではO157の定型的集落（無色）は優占的に発育した夾雑菌の集落（赤色）に覆い隠され検出できなかった。一方、TAM寒天培地においてはO157の定型的集落（藤色）と夾雑菌が近い色調を示し鑑別が難しい状況だったが、同培地上でO157のコロニーがスムーズ（表面が平滑）なのに対し、夾雑菌のコロニーはラフ（表面が粗い）だったため、これを指標にO157を分離した。

III 結果と考察

TAM寒天培地からの分離については検査員

がO157と夾雑菌のコロニーの形状の細かな違いを見逃さなかった点、そしてO157が夾雑菌に覆い隠されなかったという幸運によるものであると考えられる。

CT-SMAC寒天培地は腸管出血性大腸菌の分離選択剤として使われるセフィキシム／亜テール酸カリウム（CT添加剤）を含むことから、本培地に発育した夾雑菌はCT添加剤に対する耐性を持つと考えられる。これを検証するため、CT-SMAC寒天培地におけるO157と夾雑菌の分離菌株の発育を比較した（表1）。培地には検査で使用したO社製及びB、E社製を用

表1 CT-SMAC寒天培地における発育*

培地の種類	O社製 CT-SMAC	B社製 CT-SMAC	E社製 CT-SMAC
O157	+	+	+
夾雑菌	+	遅延	+

*CT添加剤については製品・濃度とも全て同じ

いた。その結果、B社製の培地において夾雑菌に発育遅延が観察された。このことより、①B社製の培地ではCT添加剤の効果が他社製より強くなる、②夾雑菌はCT耐性を持つがO157より弱い、と考察される。これを踏まえ便検体をB社製の培地に塗抹し培養したところ、O157の集落（無色）が発育し分離に成功した。B社製の培地ではCT添加剤の効果が高く、夾雑菌の発育が抑制されたためと考えられる。

IV まとめ

腸管出血性大腸菌検査において、便検体に含まれる夾雑菌の性質により菌分離が困難になる事例を示した。特に今回は培地のメーカー間で検査結果に差が生じることを示唆する結果となった。今後、検査で使用する培地種について再検討の必要があると思われる。

水環境中のアミオダロン分析法の検討

高橋 律久

第 56 回日本水環境学会年会 (オンライン開催 2022. 3. 16-18)

Study of an analytical method for Amiodarone in environmental water, by Norihisa TAKAHASHI. (Research Institute for Environmental Sciences and Public Health of Iwate Prefecture)

1. はじめに

アミオダロン(AM)は塩酸塩が不整脈や心不全の医薬品として使用されている。AMについては血液¹⁾や血清中²⁾の定量方法については報告されているが、環境水からの検出方法については報告がなされていなかった。

本稿では、環境水中のAMについて、固相抽出とLC-MS/MSによる微量分析法を検討し、岩手県内の河川で検出されるか調査したのでその結果を報告する。

2. 分析法

(1) 対象物質

AMはToronto Research Chemicals製アミオダロン塩酸塩をメタノールに溶かし標準液として使用した。また重水素ラベルしたAM-d₄をサロゲート物質として用い、流通形態に合わせて塩酸塩換算で濃度を算出した。AMの構造式をFig.1に示す。

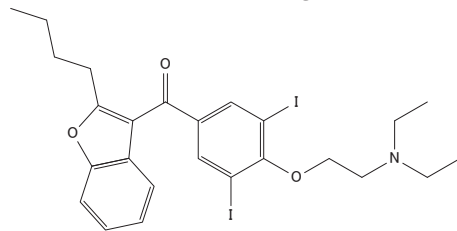


Fig.1 アミオダロンの構造式

(2) 試料

検出下限値 (MDL) の算出と添加回収試験には、河川水及び海水を使用した。

(3) 前処理・測定方法

水質試料 100mL にギ酸 20μL 及びサロゲート (AM-d₄ 10ng) を添加後、あらかじめコンディショニングを行った固相カートリッジ (Sep-Pak Plus Short tC2) に通水した。精製水 10mL で容器を洗い込み固相に通水した後、メタノール 10mL で容器を洗い込み、精製水で 50%メタノール溶液に希釈し固相に通水した。その後、空気 10mL で脱水し、1%ギ酸メタノール溶液 10mL で溶出し測定用試料とした。LC-MS/MSによる装置測定条件を Table 1 に示す。

Table 1 装置測定条件

装置	条件
LC	AB Sciex ExionLC
カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18 (2.1 mm × 150 mm, 1.8 μm)
移動相	0→7 min B=60 7→8 min B=60→95 linear gradient 8→11 min B=95 11→12 min B=95→60 linear gradient
流速	12→15 min B=60 0.2 mL/min
注入量	10 μL
MS	AB Sciex X500R QTOF
イオン化法	ESI-Positive
ガス温度 (TEM)	500°C
イオンスプレー電圧 (IS)	5500 V
モニターイオン	AM(定量) m/z 646.0>58.2 (確認) m/z 646.0>100.2 AM-d ₄ (定量) m/z 650.1>58.2 (確認) m/z 650.1>104.2

3. 結果及び考察

(1) 検量線範囲と標準物質のクロマトグラム

検量線は低濃度 (0.050~1.0 ng/mL) と高濃度 (1.0~10 ng/mL) の範囲で良好な直線性 (R²>0.998) を示した。Fig.2 に標準試料のクロマトグラムを示す。

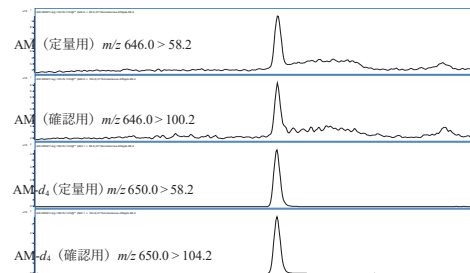


Fig.2 標準試料のクロマトグラム (AM : 0.050 ng/mL、AM-d₄ : 1.0 ng/mL)

(2) IDL 並びに MDL

本分析法を用いた結果、IDL は 0.52 pg、MDL は 3.5 ng/L であった。なお、それぞれの算出方法は環境省「化学物質環境実態調査の手引き」(平成 28 年 3 月) に従った。

(3) 添加回収試験

水質試料 100mL に標準物質を添加し、添加回収試験を行った結果を Table 2 に示す。回収率は 96~99% であった。

Table 2 添加回収試験結果 (n=5)

試料名	添加量 (ng)	検出濃度 (ng/L)	回収率 (%)*	変動係数 (%)
精製水	0	< 3.5	-	-
	2.0	19.6	98(75)	1.9
河川水 (豊沢川)	0	< 3.5	-	-
	2.0	20.0	99(87)	8.1
海水 (大船渡湾)	0	< 3.5	-	-
	2.0	19.1	96(72)	15

*サロゲート補正後の値。カッコ内はサロゲート回収率。

4. まとめ

環境水中の AM の分析法を検討し、1.0 ng/L オーダーの AM (塩酸塩) を検出できる分析法を開発した。また県内の河川水を分析したところいずれも検出下限値未満であった。

【謝辞】

本研究の一部は、環境省「化学物質環境実態調査」の委託を受けて行ったものです。

参考文献

- 1) Agilent Technologies ASMS2010: Evaluation of LC/MS/MS for the Determination of Amiodarone and its Metabolite Extracted From Dried Blood Spot Samples
- 2) Joachim K., et al. J. of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 51,210-216 (2010)

Long-distance movement of golden eagles in Japan

Taku Maeda

3rd seminar of the Japan x UK Bilateral Program on the Conservation
of Golden Eagles (WEB 2022.3.25)

The information on movement of the Japanese golden eagle is very limited. Concerning long tracks over 100 km, there are only four records obtained by tagging and photograph identification. Photographs taken by eagle watchers in various places contribute to outline the ranging behaviour of eagles in both wide and local scales.