

茨城県衛生研究所年報

第 47 号

Annual report of Ibaraki Prefectural
Institute of Public Health

2 0 0 9

茨城県衛生研究所

はじめに

近年、「世界的な感染症の流行」が問題となっております。その中で本年は、新型インフルエンザH1N1(Swine)の感染拡大が瞬く間に世界を席卷しており、現在もその拡大はとどまる様相を示しておりません。また、高病原性鳥インフルエンザH5N1の感染は世界的に浸透しており、いつ今回のインフルエンザのような流行につながるか、予断を許さない状況であります。さらに、目を転じれば昨年は「食の安全・安心」が大きな問題となっており、農薬混入餃子事件も確たる説明がなされないままとなっております。また、世界的規模での地球温暖化は環境の著しい変化を引き起こし、マラリアの感染拡大に代表されるように、本来はその地域にはあるべきはずのない感染症や寄生虫等の発生を引き起こしております。このように、世界は日々刻々とつながりを強化して、ある面から見れば、地球の地域間の縮小化・ボーダーレス化によって、危機の日常化をもたらしているとも考えられます。国及び県においても、危機管理の観点から各種の対策や計画を立て、地域においては保健所等を中心として県民の日常生活の維持向上と健康危機管理を目指した、着実な取り組みがなされております。しかしながら、世界的な大流行が発生した場合には、封じ込め等の対応は不可能になります。いかにして、拡散を最小限にするか、患者や死亡者を最小限にとどめるかなどの対応が、求められることとなります。このため、新型インフルエンザや食の安全問題等の事例について、いつでもこのような状況が起こりうるという現実認識と、住民の方々には、過度の不安を与えることのないような情報の提供が、重要かと考えられます。

当衛生研究所でも、普段から検査、調査、研究はもとより、情報の収集、解析を通じて「健康危機管理の技術的中核」としての役割を念頭におき、職員一丸となって、不断の努力を重ねております。

関係者の皆様におかれましては、今後とも尚一層のご指導、ご助言、ご鞭撻をいただきますようお願い申し上げます。

平成22年 3月

茨城県衛生研究所長 大和 慎一

目次

第1章 総説

- 1 沿革・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 5
- 2 組織と業務概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 6
- 3 職員の配置・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 7

第2章 業務の概要

- 1 企画情報部・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 9
- 2 微生物部・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 13
- 3 理化学部・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 18
- 4 遺伝子科学部・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 22

第3章 調査及び研究報告

- 1 茨城県内のヒトにおけるH5N2 亜型トリインフルエンザに対する抗体検査について・・・ 25
- 2 健康食品中に含まれる重金属に関する調査・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 30
- 3 農作物中の残留農薬一斉分析法の検討・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 33

第4章 学会発表要旨・抄録

- 1 茨城県の若年女性におけるヒトパピローマウイルス（HPV）の感染状況
（第一報）・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 41

第5章 他誌掲載論文要旨

- 1 茨城県内のヒトにおけるH5N2 亜型トリインフルエンザに対する抗体検査について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 44
- 2 HI試験と中和試験におけるオセルタミビルとオセルタミビルカルボキシレートが
与える影響・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 45
- 3 一般住民のインフルエンザ予防接種とH5N2 鳥インフルエンザウイルス中和抗体・・・・ 46
- 4 日本におけるH5N2 亜型トリインフルエンザウイルスのヒトにおける感染と
それに関連する中和抗体価について・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 47
- 5 住民検診におけるHCV キャリアの一次スクリーニングに用いる関連マーカーと
スクリーニングの限界・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 48
- 6 PCR - インベーター法によるウイルス量定量法の開発・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 50

第6章 研究報告書要旨

- 1 首都圏及び近郊における薬剤耐性 HIV の調査研究・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・ 52

第 1 章 総 説

1.沿革

昭和30年12月	厚生省通達に基づき、それまで衛生部に設置されていた細菌検査所及び衛生試験所（昭和6年警察部衛生課所属設置）の2機関が統合されて、茨城県衛生研究所として設置された。 （所在地：水戸市三の丸県庁構内，建物構造：鉄筋コンクリート2階建）
昭和34年 4月	庶務部，細菌部，化学部，食品衛生部の4部制が敷かれた。
昭和38年 4月	庶務部，微生物部，化学部，食品衛生部，放射能部の5部制となる。
昭和40年10月	水戸市愛宕町4番1号に庁舎竣工，県庁構内から移転した。
昭和47年 6月	放射能部が環境局公害技術センターへ移管され，4部制となる。
昭和53年 6月	組織改正により，庶務部，微生物部，環境保健部，食品薬品部，生活環境部の5部制となる。
平成 3年 5月	水戸市笠原町993番2に新庁舎竣工，旧庁舎から移転した。
平成13年 4月	組織改正により，庶務部，企画情報部，微生物部，理化学部，遺伝子科学部へ改編される。

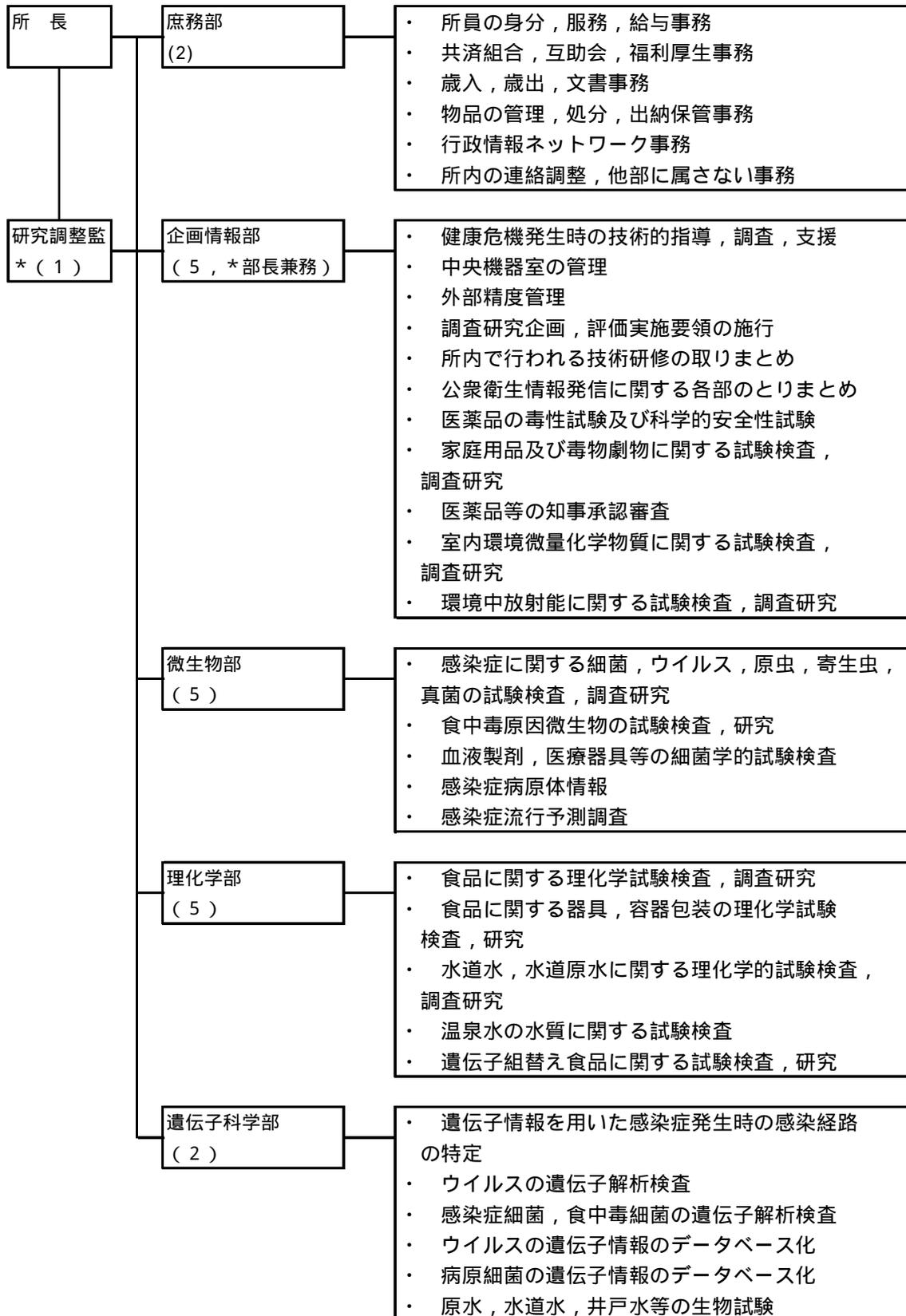
【施設の概要】

所在地	水戸市笠原町993番2
敷地	いばらき予防医学プラザ敷地（22,418㎡）内
建設	平成11年10月26日 着工 ~ 平成13年3月31日 竣工
建物	いばらき予防医学プラザ内庁舎 （鉄筋コンクリート3階建・2,916.73㎡）

【歴代所長】

根津 尚光	（昭和30年11月～昭和37年6月）
斎藤 功	（昭和37年7月～昭和47年5月）
野田 正男	（昭和47年6月～昭和52年5月）
藤崎 米蔵	（昭和52年6月～昭和56年9月）
野田 正男	（昭和56年10月～昭和60年8月）
美譽志 康	（昭和60年9月～平成10年3月）
村田 明	（平成10年4月～平成11年3月） 水戸保健所長が衛生研究所長兼務
土井 幹雄	（平成11年4月～平成19年3月） *平成17年4月～ひたちなか保健所長を兼務
藤枝 隆	（平成19年4月～平成20年3月） 水戸保健所長が衛生研究所長兼務
真家 則夫	（平成20年4月～平成21年3月）
大和 慎一	（平成21年4月～） 水戸保健所長が衛生研究所長兼務

2. 組織と業務内容（平成21年4月1日現在）



3. 職員の配置

(1) 部別職員数(平成21年4月1日現在)

所属	内訳	事務					任期付 研究員	技能 労務	計	嘱託及 び臨時 職員	合計
		医師	獣医師	薬剤師	臨床検 査技師	化学農 芸化学					
所長		1						1		1	
庶務部	2							2	1	3	
企画情報部			1	2				5		5	
微生物部			2		3			5	1	6	
理化学部				2	1	2		5	1	6	
遺伝子情報部				1	1			2		2	
計	2	1	3	5	5	4	0	0	20	3	23

第 2 章 業 務 の 概 要

1. 企画情報部

1 試験検査の概況

平成 20 年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

項 目	品目数	行政検査（件）	合計(件)
県内流通医薬品試験検査	65	エキス含量試験 8 定量試験 7 粒度試験 45 重量偏差試験 5	65
医薬品及び医療機器一斉監視指導に係る試験検査	31	溶出試験 29 外観及び無菌試験 2	31
家庭用品試買試験検査 家庭用品（家庭用エアゾル製品，繊維製品等）	150	メタノール 12 トリフェニル錫化合物 27 トリブチル錫化合物 27 有機水銀化合物 27 ホルムアルデヒド 111	204
無承認無許可医薬品試験検査 ダイエット食品 強壮食品	49 (20) (29)	甲状腺ホルモン等 160 シルデナフィル等 145	305
外部精度管理	2	定量試験 1 製剤均一性試験 1	2
計	297	607	607

上記表の行政検査は，薬務課及び保健所から送付されたものについて実施した。内容は下記のとおりである。

(1) 県内流通医薬品試験検査 (65 品目)

県内流通医薬品の有効性及び安全性を確保することを目的として、エキス含量試験、定量試験、粒度試験及び重量偏差試験を実施した。

すべての品目について、基準を満たしていた。

(2) 医薬品及び医療機器一斉監視指導に係る試験検査 (31 品目)

国及び県の年度計画に基づき試験検査を実施した。

全ての品目について、基準を満たしていた。

(3) 家庭用品試買試験検査 (150 品目)

県内における家庭用品の試買試験検査を実施することにより、人の健康に被害を及ぼすおそれのある物質を含有する家庭用品を発見、排除し、県民の健康に係る被害の発生又は拡大防止を図ることを目的として実施した。

メタノール、トリフェニル錫化合物、トリブチル錫化合物、有機水銀化合物、ホルムアルデヒドについて検査を行ったが、いずれも、有害物質は検出されなかった。

(4) 無承認無許可医薬品検査 (49 品目)

県内における健康食品の試買試験検査を実施することにより、無承認無許可の医薬品の流通防止とそれらが原因となる健康被害を未然に防止することを目的として実施した。

県内で販売されているダイエット目的と推察される製品 20 品目について、8 項目(甲状腺ホルモン、フェンフルラミン、N-ニトロソフェンフルラミン、センノシド、エフェドリン、ノルエフェドリン、シブトラミン、脱 N-ジメチルシブトラミン)の検査を行った。1 品目からセンノシドが検出されたが、規制の対象となるセンナ葉等は確認されなかった。

また、強壮目的と推察される製品 29 品目については 5 項目(シルディナフィル、バルディナフィル、タダラフィル、ホンデナフィル、ヒドロキシホモシルデナフィル)の検査を行ったが、全て不検出であった。

2 県内試験検査機関外部精度管理 (水質検査外部精度管理事業)

水道水測定分析に従事する諸機関が、均一に調整された試料を分析することによって得られる結果と前処理条件、測定機器の使用条件等の関係その他分析実施上の具体的な問題点の調査を行うことにより、分析の精度及び正確さの向上を図り、データの信頼性の確保に資することを目的として実施した。

11 検査機関を対象に水道法の水質基準項目のクロロホルム、ジブロモクロロメタン、ブロモジクロロメタン、プロモホルム、総トリハロメタンについて外部精度管理調査を実施した。

各機関の変動係数は、クロロホルム及びブロモジクロロメタンの2物質では11機関中10機関、ジブロモクロロメタン、ブロモホルム、及び総トリハロメタンの3物質では10%以下と小さく測定精度は良好であった。また、回収率は、クロロホルム及びブロモジクロロメタンの2物質では11機関中9機関、ジブロモクロロメタンでは11機関中10機関、ブロモホルム及び総トリハロメタンの2物質では11機関すべてが0.8~1.2の範囲内にあり、良好と判断された。

3 調査研究企画・評価委員会実施

当所が行う調査研究事業について、公正かつ適切な企画・評価を行うことにより、効率的・効果的な調査研究を実施し、もって本県における健康危機管理能力の向上と保健衛生の推進に資することを目的として8月19日(火)に実施した。

完了課題2題、継続課題4題、計画変更課題3題の計9課題について評価委員の審査を受けた。いずれも、研究課題として妥当なものとして評価された。

<完了課題>

- 1 ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体(GMO)検知法の検討
- 2 農作物中の残留農薬一斉分析法の検討

<継続課題>

- 1 腸管ウイルス感染症の免疫応答に関する研究および免疫変容に関する研究~ノロウイルス細胞培養系の確立
- 2 健康効果をうたうサプリメントおよび清涼飲料水中のミネラル濃度
- 3 増加する若年者の子宮頸がんヒトパピローマウイルス(HIV)の感染実態に関する調査研究
- 4 子宮頸がんの新しい診断法の開発

<計画変更課題>

- 1 薬剤耐性 HIV の発生動向把握のための検査方法・調査体制確立に関する研究
- 2 ブタインフルエンザウイルスの分子進化学的調査
- 3 健康食品中に含まれる重金属に関する調査

<評価委員>

委員長	日本薬科大学教授	下 條 信 弘
委 員	筑波大学教授	大久保 一 郎
	国立感染症研究所副所長	渡 邊 治 雄
	(財)食品薬品安全センター秦野研究所研究顧問	小 野 宏
	保健福祉部次長	神 山 光 男
	土浦保健所長	大 和 慎 一

4 学会・研修会等

学会等の名称	開催地	年月日	人員
平成 20 年度指定薬物分析，鑑定に関する研修	東京都	21.1.26	1
平成 20 年度地方衛生研究所全国協議会関東甲信 静支部理化学研究部会	さいたま市	21.2.13	1
日本薬学会第 129 年回	京都市	21.3.26 ~ 27	1

2. 微生物部

1 試験検査の概況

平成20年度試験検査実施状況を別表に示した。その内容は次のとおりである。

(1) 行政検査

ア 細菌の分離同定検査

感染症法により三類感染症として届出のあった患者から分離され、保健所等から送付された菌株について同定試験、毒素産生性試験等を実施した。分離菌株は、29株で、その内訳は腸管出血性大腸菌（EHEC）24株、赤痢菌3株、チフス菌1株、コレラ菌1株であった。

EHEC O157 はベロ毒素 VT1 & VT2 産生株 14 株、VT2 産生株 5 株の計 19 株、O157 以外では EHEC O26 (VT1 産生) 2 株、EHEC O111 (VT1 & VT2 産生) 2 株及び EHEC O145 (VT1 産生) 1 株であった。

赤痢菌は 2 株が *Shigella flexnerii* で、1 株は *Shigella sonnei* であった。

チフス菌は *Salmonella* Paratyphi-A であった。

また、コレラ菌は確認検査を実施したが、*Vibrio cholerae* non O1, non O139 で、コレラ毒素非産生であった。

イ 細菌の分子疫学検査

レジオネラ属菌感染症（1 事例）、細菌性赤痢（1 事例）及び腸管出血性大腸菌（1 事例）において、感染源特定と菌株間の相同性を確認するためにパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）を実施した。

また、結核の集団感染事例（11 事例）においては、感染源特定に資するために結核菌 33 株について RFLP 分析を実施した。

ウ ウイルス、リケッチア及びクラミジア等の検出検査

感染症発生動向調査及び集団発生関連で検査依頼のあった 214 検体について病原体の検出を目的とした検査を実施した。

インフルエンザ（様疾患）は発生動向調査病原体定点医療機関から提出された咽頭ぬぐい液または鼻腔ぬぐい液 89 検体、集団感染事例 18 事例から提出のあったうがい液 104 検体、脳症 3 検体、不明熱 1 検体、合計 197 検体について検査を実施した。その結果、AH1 亜型インフルエンザウイルス 55 株、AH3 亜型インフルエンザウイルス 25 株、B 型インフルエンザウイルス 35 株を分離した。B 型インフルエンザ分離株は山形系統株が 10 株、ビクトリア系統株が 25 株であった。

その他、ヘルパンギーナ 1 検体、流行性角結膜炎 1 検体、脳髄膜炎 1 検体、エンテロウイルス脳炎 2 検体、左下肢麻痺 3 検体について培養をおこなったがウイルスは分離できなかった。

また、麻疹 2 検体、トリプルエンザ疑い例 1 検体、デング熱疑い例 6 検体に

ついて遺伝子検査を実施したが検出できなかった。

ノロウイルス（NV）は、76 事例の 876 検体について、RT-PCR 法により検査を行った。その結果、359 検体から NV が検出された。ロタウイルスは 58 検体中 3 検体から検出された。

サポウイルスは 94 検体中 4 検体から検出された。

エ ウイルス、リケッチア、クラミジアの血清反応

デング熱疑い患者の血清 3 検体について、日本脳炎ウイルス HI 抗体検査、デング熱ウイルス IgM 抗体検査、デング熱ウイルス IgG 抗体検査を実施したが有意な抗体上昇がみられなかった。なお、デング熱ウイルス抗体検査に関しては国立感染症研究所に依頼した。

また「保健所及び衛生研究所に勤務する職員の B 型肝炎検査及びワクチン接種実施要領」に基づき、104 名について HBs 抗原及び HBs 抗体検査を実施した。

オ 食中毒

食中毒及びその疑いの症例で当所が受け付けたのは 72 検体であり、それら菌株の血清型別、毒素産生能等について検査を行った。

内訳は、サルモネラ属菌 7 検体、黄色ブドウ球菌 13 検体、カンピロバクター属菌 18 検体、セレウス菌 17 検体及びウェルシュ菌 17 検体であった。

ノロウイルス（NV）による食中毒は 3 事例 86 検体について、RT-PCR 法により検査を行った。その結果、56 検体から NV が検出された。

カ 食鳥肉等の衛生状況調査

県内の認定小規模食鳥処理場 15 施設を対象として 7 月～9 月の夏期と、1 月及び 2 月の冬期に食鳥肉及び使用器具類等の拭き取り検査検体から分離されたサルモネラ属菌、カンピロバクター属菌の鑑別同定を実施した。サルモネラ属菌は冬期に 1 施設の拭き取り検査検体から検出され、血清型は *Salmonella* *Infantis* であった。

カンピロバクター属菌は、夏期に 6 施設から 23 検体、冬期に 5 施設から 17 が検出され、すべて *Campylobacter jejuni* と同定された。

（2）感染症流行予測調査

平成 20 年素感染症流行予測調査については、保健予防課長の依頼によって、日本脳炎感染源調査・インフルエンザ感受性調査・麻疹感受性調査・日本脳炎感受性調査を実施した。

ア 日本脳炎感染源調査

ブタが日本脳炎ウイルスの増幅動物となっていることを利用し、ブタ血清中の日本脳炎ウイルスに対する抗体価を測定することで、その浸淫度を追跡し、夏季での流行を把握するために実施した。

平成 20 年 8 月から 10 月にかけて、(株)茨城県中央食肉公社に集荷された生後 6 ヶ月の県内産のブタについて毎回 10~22 頭、8 回採血した 132 頭について、血清中の日本脳炎ウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体) 価を測定した。第 7 回採血(9 月 30 日)に実施した調査で、HI 抗体及び 2ME 感受性抗体が陽転化した。第 8 回採血(10 月 7 日)では、HI 抗体陽性率 13%、2ME 感受性抗体陽性率 31% となり調査を終了した。

イ インフルエンザ感受性調査

インフルエンザウイルスに対する血清中の抗体を測定することでヒトの免疫状況を把握し、次シーズンの流行予測に役立てるために実施した。

平成 20 年 9 月~10 月に年齢群ごとに採血した 233 名の血清について 4 種の HA 抗原を用いてインフルエンザウイルスに対する赤血球凝集抑制抗体 (HI 抗体) 検査を実施した。

感染防御の指標となる 1:40 以上の抗体保有状況をみると、A/プリズベン/59/2007 (H1N1) に対して平均抗体保有率は 28.3%であった。特に 15~19 歳の年齢群で抗体保有率 63.6%と良好であった。また、1:160 以上の平均抗体保有率は 6.4%と、4 種抗原のなかでは一番抗体保有状況が良好であった。

A/ウルグアイ/716/2007 (H3N2) に対する平均抗体保有率は 9.9%であった。抗体保有状況が一番良好だったのは、20~24 歳の年齢群であり抗体保有率は 33.3%であった。

B/フロリダ/4/2006 (山形系統) に対する平均抗体保有率は 18.5%であったが、15~19 歳・20~24 歳・40~44 歳の年齢群が比較的抗体保有状況が良好であった。B/マレーシア/2506/2004 (ピクトリア系統) に対する抗体保有率が昨年度同様一番低く、平均抗体保有率は 8.2%であった。

なお、この調査は水戸市の 7 医療機関の協力を得て実施した。

ウ 麻疹感受性調査

麻疹ウイルスに対する血清中の抗体保有状況を調査し、麻疹ワクチン接種効果を調査するとともに今後の流行予測を行うことを目的として実施した。

平成 20 年 9 月~10 月に各年齢群別に採血した 234 名の血清について、富士レビオ社「セロディア・麻疹」を用い麻疹 PA 抗体価を測定した。

1:16 以上を麻疹 PA 抗体陽性とし、1:16 未満を麻疹 PA 抗体陰性とした。麻疹 PA 抗体陽性者の幾何平均は 1:396 であった。また、麻疹 PA 抗体陰性者は 10 名と全体の 4.3%であった。感染防御の指標は 1:128 であるが、1:128 未満の者は 35 名と全体の 15%を占めていた。

なお、この調査は水戸市の 7 医療機関の協力を得て実施した。

エ 日本脳炎感受性調査

日本脳炎ウイルスに対する血清中の抗体保有状況を調査し、今後の流行の可能性を推測し、予防接種行政に役立てることを目的として実施した。

平成 20 年 9 月～10 月に各年齢群別に採血した 234 名の血清について、日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価を測定した。1:10 以上を陽性とし、1:10 未満を陰性とした。

1:10 以上の中和抗体保有率は、全体で 43.3%であった。1:10 以上の中和抗体保有率を年齢群別で見ると、「日本脳炎ワクチン接種の積極的勧奨の差し控え」の通知の影響が考えられる「0～4 歳」が一番低いですが、5～9 歳年齢群は 52%と上昇し、10 歳代・20 歳代で 70%以上となるが、30 歳代で 32%、40 歳代で 12%、50 歳代で 33%、60 歳以上で 60%となり、40 歳代の抗体保有の落ち込みが目立った。

なお、この調査は水戸市の 7 医療機関の協力を得て実施した。

(3) 有料依頼検査

ア 細菌の分離同定検査

総合健診協会等の民間検査センターから 26 件のサルモネラ属菌の同定検査依頼があった。

イ その他の感染症検査

総合健診協会等の民間検査センターから依頼のあった腸管病原性大腸菌の血清型別検査・腸管出血性大腸菌 O157 関連のベロ毒素等について 3 件の検査を行った。

ウ 納豆検査

昭和 46 年環第 973 号の部長通知により県内納豆製造業者(茨城県納豆商工業協同組合員)が年 3 回自主検査を行った(153 検体)。いずれも大腸菌群陰性であった。

エ 医薬品等細菌検査

血液製剤等の無菌検査を行った(10 検体)。

2 研修指導

(1) 検査課検査業務に係る試験検査技術研修

ア 実施年月日：平成 21 年 3 月 5 日～6 日

イ 参加者：水戸・土浦保健所職員 7 名

ウ 研修内容：ウェルシュ菌の検査法

腸管出血性大腸菌ベロ毒素産生試験

3 学会・研修会出席

学 会 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
薬剤耐性菌解析機能強化に関する研修会	東京都新宿区	20.6.23	1
衛生微生物技術協議会第 29 回研究会	東京都江戸川区	20.6.24 ~ 25	3
高病原性 H5N1 鳥インフルエンザウイルス感染診断技術研究会	東京都武蔵村山市	20.8.18 ~ 20	1
平成 20 年度関東・東京合同地区獣医師大会・三学会	つくば市	20.9.15	2
第 23 回地研全国協議会関東甲信静支部ウイルス研究部会総会・研修会	神奈川県川崎市	20.9.25 ~ 26	2
第 29 回日本食品微生物学会学術総会	広島市	20.11.12 ~ 13	1
平成 20 年度全国食品衛生監視員研修会	東京都中央区	20.11.13	1
感染症流行予測・日本脳炎感受性調査の研修	東京都新宿区	20.11.13 ~ 14	1
平成 20 年度「地域保健総合推進事業」地方衛生研究所全国協議会関東甲信静ブロック専門家会議（微生物部門）	静岡市	21.1.16	1
第 21 回地研全国協議会関東甲信静支部細菌研究部会総会・研修会	神奈川県横浜市	21.2.19 ~ 20	1
平成 20 年度希少感染症診断技術研修会	東京都新宿区	21.2.24 ~ 25	3

3. 理化学部

1 試験検査の概況

(1) 平成20年度試験検査実施状況は次表のとおりである。

平成20年度試験検査実施状況			
項目	品目数	項目数	検体数
食中毒・苦情食品・違反食品等の行政検査	27	85 (各種総計)	43
輸入加工食品安全確保緊急対策事業 (緊急検査)	14	39	200
遺伝子組換え食品検査	1	1	10
輸入食品残留農薬検査(柑橘類)	3	12	23
輸入食品検査(食品添加物)	5	1	65
県外産農産物残留農薬検査	6	120	20
輸入野菜残留農薬検査	11	120	50
アレルギー物質食品検査	48	2	48
農産物加工食品残留農薬検査	3	100	10
外部精度管理	3	5	3
小計	121	485	472
		項目数	検体数
精度管理		5	1
小計			1
合計			473

(2) 業務内容

食品検査について

ア 食中毒・苦情食品・違反食品等検査

・ 食中毒

アジサイの葉による食中毒の発生において青酸配糖体の検査及びイワシのすり身による食中毒の発生においてヒスタミンの検査を実施した。

・ 苦情食品等検査

有症苦情や苦情の届け出のあった、ウーロン茶、オレンジ、フライドポテト、乳飲料、カジキマグロ和風ソテー、ジャンボ肉まんじゅう、おかき、コイ、粒あん、冷凍インゲン、焼きそば、カップヌードル、だんご、ブランデー、冷凍えび等の多種・多様の食品について原因究明のための検査を行った。

イ 輸入加工食品安全確保緊急対策事業（緊急検査）

中国産冷凍餃子にメタミドホス等の有機リン系農薬が混入して健康被害が生じた事件に関連して、昨年に引き続き県内に流通する輸入加工食品の安全性を確認するため有機リン系農薬の検査を行った。輸入加工食品200検体について検査を行ったが、食品衛生法上問題のあるものはなかった。

ウ 残留農薬検査（県外産農産物）

平成20年度は県外で生産された6品目（ダイコン、キュウリ、キャベツ、レタス、トマト、ニンジン）の野菜20検体について農薬120項目の検査を行った。その結果、キュウリ1検体からプロシミドン0.07ppm、キャベツ2検体からプロシミドン0.01及び0.03ppm、レタス1検体からフルバリネート0.15ppm、トマト1検体からブプロフェジン0.05ppm検出されたが、いずれも基準値以下で、食品衛生法上問題がなかった。

エ 残留農薬検査（輸入野菜）

輸入野菜11品目（ブロッコリー、パプリカ、アスパラガス、さといも、たけのこ、にんじん、カリフラワー、ハウレンソウ、未成熟インゲン、未成熟えんどう、カボチャ）50検体について農薬120項目の検査を行った。その結果、パプリカ6検体から検出され、5検体でイミダクロプロリド0.03～0.15ppm、2検体でインドキサカルブ0.01～0.03ppm、1検体でメトキシフェノジド0.01ppm、1検体でチアクロプロリド0.02ppm、1検体でチアメトキサム0.30ppm、1検体でクロチアニジン0.06ppmが検出されたが、いずれも基準値を超えるものはなかった。

オ 農産物加工食品残留農薬検査

はくさい、きゅうり、だいこんを原材料とする漬物3品目、10検体について農薬100項目の検査を行った。その結果、きゅうり塩漬1検体からインドキサカルブ0.01ppmが検出されたが、食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

カ 輸入食品残留農薬検査（柑橘類）

柑橘類23検体（グレープフルーツ10、オレンジ7、レモン6）について有機リン系農薬12項目の検査を行った。その結果、レモン2検体からマラチオンが0.05～0.06ppm、レモン1検体からクロルピリホス0.07ppm、グレープフルーツ1検体からクロルピリホス0.07ppm検出されたが、いずれも基準値以下であった。

キ 輸入食品検査（食品添加物）

輸入食品65検体（乾燥果実8、乾燥かんぴょう2、シロップ漬け19、ワイン22、冷凍魚介類加工品8、煮豆6）について残存する二酸化硫黄（亜硫酸塩）の検査を行ったが、基準値を超えるものはなかった。

ク 遺伝子組換え食品検査

大豆10検体（ラウンドアップレディ大豆遺伝子）について検査を行ったが、食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

ケ 食品中のアレルギー物質検査

加工食品48検体について、食品衛生法上表示義務のある特定原材料(卵,乳)の検査を行った。乳で1件陽性があり、他は食品衛生法上、問題のあるものはなかった。

水質検査について

コ 実績及び成果

平成20年度外部精度管理1検体5項目について実施した。結果については概ね良好であった。

2 学会発表・論文等

- ・ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体(GMO)検知法の検討
茨城県衛生研究所年報46,(2008)掲載

3 学会・研修会出席

学 会 の 名 称	開 催 地	年 月 日	人 員
平成 20 年度食品安全行政研修会	東京都	20.5.23	1
第 69 回分析化学討論会	愛知県	20.5.15	1
温泉ガス測定講習会	東京都	20.7.17	1
MATLAB(解析用プログラミング言語):ベクトルトレーニングコース	東京都	20.8.20	1
全国食品衛生監視員協議会第 48 回関東ブロック研修会	埼玉県	20.8.29	1
日本分析学会第 57 年会	福岡県	20.9.10~12	1
日本食品衛生学会第 96 回学術講演会	兵庫県	20.9.17~19	3
近赤外講習会	つくば市	20.9.18~19	1
日本食品衛生学会第 10 回特別シンポジウム	東京都	20.10.3	1
MATLAB(解析用プログラミング言語):アドバンストレーニングコース	東京都	20.10.21	1
第 29 回食品微生物学術総会	広島県	20.11.11~13	1
第 45 回全国衛生化学技術協議会年会	佐賀県	20.11.12~14	1
平成 20 年度全国食品衛生監視員研修会	東京都	20.11.13~14	1
平成 20 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部自然毒研究発表会	大阪府	20.11.27~28	1
機能性食品分析における最近の話題	東京都	20.12.11	1
第 6 回霞ヶ浦環境科学センターセミナー	土浦市	20.12.11	1
光-分子強結合反応場の創成シンポジウム	愛知県	21.1.24	1
第 14 回 LCテクノプラザ	千葉県	21.1.29	1
平成 20 年度地方衛生研究所研関東甲信静支部専門家会議	群馬県	21.2.6	2
日本食品衛生学会第 11 回特別シンポジウム	東京都	21.2.6	1
平成 20 年度地方衛生研究所関東甲信静支部理化学部会	埼玉県	21.2.13	2
MS テクノロジーセミナー	東京都	21.2.19	1
日本農薬学会第 34 回大会	東京都	21.2.19	1
日本薬学会第 129 年会	京都府	21.3.26~28	2

4. 遺伝子科学部

1 試験検査の概況

(1) 平成 20 年度における試験検査の実施状況は下表のとおりである。

試験項目	件数		計
	水道原水	浄水	
pH	5	5	10
濁度	5	5	10
残留塩素濃度	-	5	5
大腸菌	5	-	5
嫌気性芽胞菌	5	-	5
クリプトスポリジウム	5	5	10
ジアルジア	5	5	10
合計	30	25	55

(2) 業務内容

ア 病原性微生物等実態調査

病原性微生物等実態調査実施要領に基づき、水道原及び浄水中のクリプトスポリジウム等の汚染状況の実態を把握し、水道施設の適正な水質管理対策に資した。

平成 20 年度は 5 つの水源(5 施設)について上記項目についての調査を行った。

その結果、クリプトスポリジウム、ジアルジアは不検出で、残留塩素と浄水濁度は基準内(原水濁度は基準なし)、原水における大腸菌は 2 カ所から、嫌気性芽胞菌は 1 カ所からそれぞれ検出された。

2 学会・論文等発表

(1) 学会等発表

茨城県内の若年女性におけるヒトパピローマウイルス (HPV) の感染状況
地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部第 23 回ウイルス研究部会, 2008.9,
川崎市

(2) 論文発表

- ア The associated markers and their limitations for the primary screening of HPV carriers in public health examination
Hepatology Research 2009;39:664-674(2009)
- イ The influence of oseltamivir carboxylate and oseltamivir on hemagglutinin inhibition and microneutralization test. Antiviral Research 2008 Dec;80(3):354-359
- ウ Serological survey of avian H5N2 subtype influenza virus infections in human populations.
Archives of Virology 2009 Mar;154(3):421-427

(3) 研究報告書

首都圏及び近郊における薬剤耐性 HIV の調査研究 . 厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「薬剤耐性 HIV の動向把握のための調査体制確立及びその対策に関する研究」(研究代表者 杉浦 互 国立感染症研究所エイズ研究センター第 2 研究グループ長)平成 20 年度総括・分担研究報告書 100-102(2009)

3 学会・研修会等出席状況

(学 会 等 の 名 称)	(開催地)	(年月日)	(人員)
1 組織培養学シンポジウム	つくば市	20.5.20	1
2 日本分子生物学会第 8 回春季シンポジウム	札幌市	20.5.2 ~ 27	1
3 第 4 9 回日本臨床細胞学会総会(春季大会)	東京都	20.6.8	1
4 第 6 回北里疾患プロテオーム研究会	東京都	20.8.31	1
5 平成 2 0 年度関東・東京地区獣医師会大会 ・三学会	つくば市	20.9.15	1
6 地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部 第 2 3 回ウイルス研究部会	川崎市	20.9.2 ~ 26	1
7 第 1 8 回日本健康医学会総会	名古屋市	20.11.8	1
8 アプライドバイオシステムズセミナー	東京都	20.11.18	1
9 第 3 回アジア染色体コロキウム	大阪市	20.12.2 ~ 3	1
1 0 サーモフィッシャーサイエンティフィック ライフサイエンスセミナー	横浜市	21.1.20	1

第 3 章 調査及び研究報告

茨城県内のヒトにおける H5N2 亜型鳥インフルエンザに対する抗体検査について

山崎 良直

要旨

ヒト集団において、H5N2 亜型インフルエンザウイルスに対する抗体価保有の分布を血清学的試験により調べる目的で 266 のヒト血清検体を採取し、陽性の試験結果と影響を与えうる因子間における関連性を調査した。養鶏場従事者における中和試験陽性（40 倍以上）の検体数は、全国平均の検体に比べ有意に高かった（ $P<0.05$ ）。茨城県民並びに養鶏従事者から得られた中和抗体価の幾何平均値は全国平均のそれと比較して有意に高かった（ $P<0.0001$ ）。養鶏従事者検体において、年齢（50 歳以上）と血清学的試験陽性の現象は関連性があった（ $P<0.05$ ）。これらの結果から、茨城県由来ならびに養鶏従事者由来の検体は日本の平均的な検体よりも高い抗 H5 ウイルス抗体を保有することが示唆され、同時にヒト以外由来のウイルスがヒトに侵入することを把握するためのサーベイランスが必要であることを併せて示唆している。

キーワード：インフルエンザ，H5N2，中和試験，HI 試験，特異的抗体

1. はじめに

平成 17 年 6 月に水海道市（現常総市）の養鶏場で H5N2 亜型インフルエンザウイルスが発生して以来（1）、家畜伝染病予防法に基づき約 10 ヶ月間にわたり感染鶏・抗体陽性鶏の処分が行われた（2）。これに従事した養鶏従業者・県職員等の健康状態の把握、健康管理が保健予防の観点から問題となった。作業従事者の健康状態の把握のため、被験者の血清を用いて実施された抗インフルエンザウイルス中和抗体（H5N2 亜型）の検査結果からは複数の陽性例が存在することが示唆された。よって弱毒性であり、一般的にはヒトへ感染しないと理解されてきた H5N2 亜型インフルエンザウイルスにヒトが罹患したとの見解がなされ（3）、注目を集めることとなった。しかし、この結果のみを拠り所にして結果を評価するには不十分な点があり、更なる検討・調査を必要としている。これを受け、茨城県では県内における同ウイルスに対する抗体保有の状況を調査したのでその概要について報告する。

2. 材料および方法

2.-1) 披験血清

茨城県内の住民 114 人（男性 60 人、女性 54 人）

を選抜し、同意の上検体の提供を受けた。また、県外の住民 100 人（国立感染症研究所；以下感染研 血清銀行から分与、男性、女性 50 人ずつ）を全国の平均的な検体として試験に供した。また、鳥インフルエンザウイルスが未検出、もしくは抗体産生鶏が未発生農場等由来の養鶏従事者の中から県内全域を対象として 52 人（男性 37 人、女性 15 人）から同意の上検体の提供を受けた。なお、検体の採取にあたっては茨城県疫学研究合同倫理審査委員会あて調査内容を申請し、許可を得た。

2.-2) マイクロプレートを用いた中和試験

検体血清は予め Receptor Destroying Enzyme（RDE）を用いて非特異的凝集物質を除き、試験に供した。96 穴マイクロプレート上に調製した MDCK 細胞に検体血清と一定感染量に調製した攻撃用ウイルス（A/chicken/Ibaraki/1/2005; H5N2 亜型、動物衛生研究所より分与）を等量混合したものを接種し、細胞変性効果を指標とした中和試験を実施した（4）。

2.-3) 赤血球凝集抑制（HI）試験

HI 試験は定法（4）に従って実施した。血球はウマ血球を 0.75%、ニワトリを 0.5%、そして七面鳥を 0.5%の濃度で PBS(-) に懸濁して用いた。

2.-4) 統計処理

両試験において測定限界値を下回った数値 (<10) については、既報(5)を参考に5として解析を行った。集団間の差と男女間における差についてはFischer's exact probability test を用いた。年齢における差については、Mann-Whitney's U test を用いた。P値は0.05以下を有意差ありと判定した。

3. 結果

3.-1) 中和抗体価の測定結果

中和抗体価は50%感染を阻止した検体血清の希釈倍数をもって表した。なお、全ての検体について複数回(最低2回)測定を実施し、その中で最も高い数値を示したものを中和抗体価として記載した。茨城県住民(以下II, n=114)においては、8検体(男6, 女2)が40倍以上の抗体価を示した。日本国民の平均(以下NA, n=100)においては、4検体(男3, 女1)が40倍以上の抗体価を示した。また、養鶏従事者(以下PW, n=52)においては8件(男5, 女3)が40倍以上の抗体価を示した。最も高い抗体価は160倍であり、2件の検体において認められた(表2)。

3.-2) HI抗体価の測定結果

IIにおいては、9検体(男6, 女3)が40倍以上の抗体価を示した。NAにおいては、2検体(男1, 女1)が40倍以上の抗体価を示した。また、PWにおいては2件(男1, 女1)が40倍以上の抗体価を示した(表3)。

3.-3) 血清抗体価の統計解析

表4に中和抗体価とHI抗体価の幾何平均値(geometric mean titers; GMTs)を示す。既報(5)によると、抗H5ウイルスの中和抗体価は40倍以上を以て陽性と判定されている。これを受け、本報告では40倍以上を陽性とした。IIにおける抗体陽性率は7.0%、NAでは4.0%、そしてPWにおいては15.3%であった。表5に各種因子と抗体価陽性との関連を示した。PWにおいては、抗体価陽性は年齢(50歳以上)と関連していた

(P=0.038)。性差は抗体価陽性に関連せず、またIIとNAにおいては何れの因子も抗体価陽性に関連していなかった。

3.-4) 40倍以上の中和抗体価を示した検体の解析

20検体(IIから8件, NAから4件, PWから8件)が40倍以上の抗体価を示し、陽性と判定された。表6にIIとNAの、またPWとNAのカイ二乗検定結果を示す。NAの陽性数とPWの陽性数を比較すると統計的に有意であった(P=0.018)。また、表7に中和抗体価で陽性を示した検体のHI試験の結果を示す。ウマ血球を用いたHI抗体価は<10から40倍の間の値を示した。II-18とII-83は七面鳥とニワトリ血球を用いたHI試験において40倍を示した。

4. 考察

茨城県において発生したH5N2亜型インフルエンザウイルス発生時、ヒト血清から抗ウイルス抗体が検出されたが、これは世界で初めてH5N2亜型ウイルスのヒトへの感染を示唆するものとして注目された。今回、ウマ血球を用いたHI試験の結果はニワトリ、七面鳥のそれに比べて統計的に有意差を認めた。しかし、IIにおいてはその差は有意ではなかった。恐らく、ウマ以外の血球においても高いHI価を示したためと思われる。興味深いことに、II-18とII-83はニワトリと七面鳥血球において40倍の値を示した。この値はウマ血球のそれよりも高く、他の検体とは違った傾向を示した。なぜこのような結果が得られたのかは不明であるが、原因としてはRDE処理が不完全である等が考えられる。

既報(6)において、RoweらはH5N1亜型ウイルスを抗原として用いたとき、中和試験はHI試験よりも特異性・感度共に優れていると結論づけている。またStephensonら(7)は、HI試験においてH5N3亜型ウイルスを用いたとき、ウマ血球での値の方が七面鳥のそれよりも高いと報告している。今回の報告では、H5N2亜型ウイル

スを抗原として用いたとき、中和抗体価の方が HI 抗体価のそれより高く、またウマ血球の方が鳥類血球より高い値を示した。これは、H5N2 ウイルスを抗原として用いたとき前述の現象が起こることを示唆した初めての報告である。既報(8)においては、ヒトボランティアに H4, 6, 10 亜型ウイルスを接種すると抗体応答はあったものの、ウイルスは回収されなかった。また、今回の試験において得られた結果は、H5 亜型ウイルスとヒトの免疫機構の間で何らかの相互反応が起きうる可能性を示唆している。しかし、まだこのことを検証するためには多くの知見が必要となるものと考えられる。

表4において、IIより得られた両試験の結果(中和試験: $P < 0.0001$, HI 試験: $P < 0.05$)とPWより得られた中和試験の結果($P < 0.05$)はNAのそれと比較したところ有意差を認めた。このことは、全国平均に比べて茨城の住民と養鶏従事者は有意に高い中和抗体価、もしくは HI 抗体価を保有していることを示唆する。更に、20検体は40倍以上の中和抗体価を示し(表6, 7)、またPWにおける中和抗体価の陽性者数はNAのそれよりも有意に高かった(表6, $P = 0.018$)。これらのことは、PWは高い中和抗体価を保有し、また同時にH5インフルエンザウイルスの暴露を受けているかも知れないことを意味している。養豚従事者、養鶏従事者、また獣医師等の特殊な環境で作業に従事する者が複数の亜型のインフルエンザウイルスの暴露を受けていることが疫学的に示唆されている(9-11)。また、中国南西部に居住する人々にも同様に複数の亜型のインフルエンザウイルスの暴露が起こっているという(12)。これらのことは、特定の環境や地理的条件がインフルエンザウイルスの暴露と関係がある可能性を示している。茨城県においては、2004年時に1,190万羽のニワトリが飼育されており(13)、日本において最大であった。このことは、(偶発的にしろ)鳥類とヒトの接触の機会が増加することを示すものかも知れない。しかし、ヒト検体における抗

体陽性の値が擬陽性であるか否かについては、他の方法で検証されるべきであろう。今回得られたデータからは、年齢(50歳以上)は抗体陽性の現象と関連性があることも併せて示された。しかし、既報においては、HI試験(14)または中和試験(10)において抗体価の上昇と年齢は関連が無いとの結論であった。これらのことは、今回得られたデータは検体数が少ないことで影響を受けた、また未知の因子により影響を受けたものであった可能性を示唆される。検体数を増やすなどして、さらなる解析の実施が望まれる。

今回の結果から、ウイルスの暴露を受けていないヒト血清中にH5特異的な抗ウイルス抗体が含まれている可能性が示唆された。中和試験とSRHを用いた以前の調査結果(15)では、ヒト血清中には抗H5抗体は検出されなかった。ウイルスが分離されなかったことより、トリヒト間のウイルス伝播は起こっていないことが示された。しかし、多量の鳥類由来ウイルスをヒトに接種するとヒト体内でウイルスは複製されると考えられており、このことはH5N2ウイルスがヒトに侵入してくる可能性を示すものである。このことはまた、実験室ベースのサーベイランスの必要性を強く示している。これは鳥類由来ウイルスを含むヒト由来以外のウイルスのヒトにおける感染や暴露を察知することに繋がると思われる。今後の展望は、血清学的試験の結果が他の方法により検証されることが必要となる。精製ウイルス抗原を用いたウエスタンブロットングや特異的ELISA等が考えられる。同時にH5N2ウイルスがヒトから分離されることで、この検証は更に厚みを増すことになるだろう。

謝辞

国立感染症研究所ウイルス第3部より陽性コントロール血清を分与していただきましたことに厚く御礼申し上げます。また、同感染症情報センターからは日本全国の平均的なヒト検体を分与していただきました。併せて感謝申し上げます。

更に、H5N2 亜型インフルエンザウイルス抗原を分与下さいました動物衛生研究所にも併せて感謝いたします。更に、本調査の遂行には他の多くの方々のご協力を頂きました。併せて厚く御礼申し上げます。

参考文献等

1. 動物衛生研究所：茨城県での H5N2 亜型による鳥インフルエンザの発生について (URL は省略)
2. 高度病原性鳥インフルエンザ感染経路究明チーム. 2006. 2005 年に発生した高度病原性鳥インフルエンザの感染経路について (URL は省略)
3. 平成 18 年 1 月 10 日付厚生労働省発表資料：茨城県及び埼玉県の鳥インフルエンザの抗体検査の結果について (URL は省略)
4. WHO, 2002. WHO manual on animal influenza diagnosis and surveillance (URL は省略)
5. Stephenson, I. et al. 2004. Virus Res 103: 91-95
6. Rowe, T. et al. 1999. J Clin Microbiol 37: 937-943
7. Stephenson, I. et al. 2003. J Med Virol 70: 391-398
8. Beare, AS. et al. 1991. Arch Virol 119: 37-42
9. Buxton Bridges, C. et al. 2000. J Infect Dis 181: 344-348
10. Myers, KP. et al. 2007. Clin Infect Dis 45: 4-9
11. Olsen, CW. et al. 2002. Emerg Infect Dis 8: 814-819
12. Shu, LL. et al. 1996. Epidemiol Infect 117: 179-188
13. 農林水産省, 2006. 農林水産統計 畜

産統計調査(平成 16 年 2 月 1 日現在, 豚及び鶏の飼養動向)(URL は省略)

14. Myers, KP. et al. 2006. Clin Infect Dis 42: 14-20
15. Donatelli, I. et al. 2001. J Gen Virol 82: 623-630

表 1. 本報告で用いた集団の内訳

	茨城県住民 (II, n=114)		全国平均 (NA, n=100)		養鶏従事者 (PW, n=52)	
		(%)		(%)		(%)
性別						
男性	60	52.6	50	50	37	71.2
女性	54	47.4	50	50	15	28.8
年齢						
20-29	22	19.3	20	20	9	17.3
30-39	21	18.4	20	20	8	15.4
40-49	25	21.9	20	20	14	26.9
50-59	22	19.3	20	20	14	26.9
60-	24	21.1	20	20	7	13.5
年齢の中央値	46.0*		43		46.5	

*:一人分の年齢情報が不明だったため n=113 で解析

表 2. 中和試験の結果

中和抗体値	性別	年齢層 / 性別 / 検体数												
		20-29		30-39		40-49		50-59		60-				
		男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
<10	11	6	17	5	0	5	3	1	2	0	1	0	0	
10	31	27	58	9	7	5	7	6	3	5	4	6	6	
20	12	19	31	0	0	0	1	4	9	4	4	4	5	
40	2	2	4	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	
80	2	0	2	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	
160	2	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
茨城県住民 (II)	<10	28	27	55	8	9	7	6	4	1	4	5	5	6
	10	17	11	28	2	1	3	4	5	3	4	1	3	2
	20	4	9	13	0	0	0	1	3	2	4	1	2	
	40	1	3	4	0	0	0	0	3	0	0	1	0	
	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
全国平均 (NA)	<10	18	3	21	6	1	5	1	6	0	1	1	0	0
	10	10	4	14	2	0	2	0	1	0	1	4	4	0
	20	4	5	9	0	0	0	2	3	2	2	0	0	
	40	2	0	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	
	80	2	3	5	0	0	0	0	1	1	1	1	1	
	160	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
養鶏従事者 (PW)														

表3. ウマ赤血球を用いた赤血球凝集抑制 (HI) 試験の結果

HI 抗体価	年齢層 / 性別 / 検体数															
	性別		20-29		30-39		40-49		50-59		60-					
	男	女	計	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	男	女	
<10	3	3	6	2	0	1	0	0	2	0	0	0	0	0	1	
10	16	15	31	3	2	4	3	3	5	3	4	3	1			
20	35	33	68	10	5	4	7	10	7	6	4	5	10			
40	5	2	7	0	0	1	1	0	0	1	1	3	0			
80	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0			
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
茨城県住民 (II)																
<10	10	15	25	3	5	4	3	1	1	1	3	1	3			
10	26	24	50	5	5	6	7	6	4	4	5	5	3			
20	13	10	23	2	0	0	0	3	5	5	1	3	4			
40	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1			
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
全国平均 (NA)																
<10	14	4	18	5	1	4	0	4	0	1	2	0	1			
10	18	8	26	1	0	2	1	6	3	4	3	5	1			
20	4	2	6	2	0	1	0	0	1	1	1	0	0			
40	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0			
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
養鶏従事者 (PW)																
<10	14	4	18	5	1	4	0	4	0	1	2	0	1			
10	18	8	26	1	0	2	1	6	3	4	3	5	1			
20	4	2	6	2	0	1	0	0	1	1	1	0	0			
40	1	1	2	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0			
80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
160	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			

表4. 中和試験および HI 試験結果の幾何平均値 (Geometric mean titers; GMTs)

	GMTs	
	中和試験	HI試験
茨城県住民 (II)	12.45*	16.46*
養鶏従事者 (PW)	11.58**	8.99
全国平均 (NA)	7.9	10.21

*, P<0.0001, **, P<0.05, いずれも Mann-Whitney U test による NA との比較

表5. 中和試験結果の統計解析結果

影響を与える因子	ヒト集団 / P値		
	茨城県住民 (II)	養鶏従事者 (PW)	全国平均 (NA)
性別	0.173*	0.419*	0.308*
年齢 (50歳以上)	0.144**	0.038**	0.473**

*, Fischer's exact probability test による

***, Mann-Whitney U test による解析 P<0.05 を有意差ありと判定

表6. 集団における中和試験結果を元にした血清抗体価陽性の件数

	集団 / 検体数		
	茨城県住民 (II)	養鶏従事者 (PW)	全国平均 (NA)
中和抗体価陽性	8	8	4
中和抗体価陰性	106	44	96
P ^S	0.256	0.018	

S; NA との比較をカイ二乗検定により実施; P<0.05 を有意差ありと判定

表7. 中和抗体価が40倍以上を示した検体のHI試験結果

検体No.	中和抗体価	以下の動物種の血球によるHI試験		
		ウマ	ニワトリ	七面鳥
II*-9	80	20	<10	<10
II-10	40	10	<10	<10
II-16	40	20	<10	<10
II-18	160	20	40	40
II-29	80	40	<10	<10
II-41	40	40	<10	<10
II-75	40	20	<10	<10
II-83	160	<10	<10	40
NA**-8	40	20	ND ^S	ND
NA-47	40	20	ND	ND
NA-59	40	20	ND	ND
NA-75	40	20	ND	ND
PW***-4	80	10	<10	<10
PW-5	80	10	<10	<10
PW-14	80	40	<10	<10
PW-17	80	40	<10	<10
PW-25	160	20	<10	<10
PW-30	40	10	<10	<10
PW-33	40	<10	<10	<10
PW-47	80	10	<10	<10
陽性対照 ^{SS}	1600	800	200	400

*, 茨城県住民, **, 全国平均, ***, 養鶏従事者, S, 未実施

SS; 抗 A/duck/Hong Kong/342/78 (H5N2) 高度ヤギ免疫血清を使用

健康食品中に含まれる重金属に関する調査

前田 良彦, 福田 聡

要旨

健康食品中の重金属クロム (Cr), カドミウム (Cd), 鉛 (Pb) について誘導結合プラズマ発光分光分析装置 (ICP-AES) による定量を実施した。市場流通製品 20 検体中 4 検体から最大で試料中濃度 1.9 $\mu\text{g/g}$ のクロムが検出され, カドミウム, 鉛については全て不検出の結果を得た。

キーワード: 健康食品, 重金属, ICP-AES

はじめに

健康への関心の高まりを受け, スーパー, ドラッグストア等の店舗, インターネットショッピングでは様々な健康食品が販売されている。健康食品は栄養素や目的とする成分を手軽に摂取できる一方, 錠剤やカプセル等成分を濃縮した形状の製品が多く, 製造者・消費者が意図しない有害な成分までも高濃度に含まれる可能性があることが懸念される。

実際, 高濃度のセレン及びクロムを含むダイエット用サプリメント¹⁾, 1日最大摂取量の14倍に相当する鉛を含む中国漢方製品²⁾が報告されている。該当製品摂取との因果関係が疑われる健康被害については不明であるが, 健康食品中から重金属が発見される事例は以前から報告されており, 今後も同様の製品が流通するおそれがある。

そこで, 各種形状の製品の前処理方法を検討するとともに, クロム (Cr), カドミウム (Cd), 鉛 (Pb) 濃度について市場流通製品の実態調査を行ったので報告する。

方法

1. 試料

水戸市内のドラッグストアで購入した健康食品 20 製品を使用した (表 1)。

表1. 試料概要

形状	品目数	内容物, 標榜の例
カプセル	2	マカ
ソフトジェル	2	DHA, CoQ10
シリアル	1	カロリーサポート
クッキー	3	豆乳, 鉄分
粉末	3	クエン酸, 大麦
錠剤	5	グルコサミン, グアラ
茶葉	4	ウコン茶, 杜仲茶
計	20	

2. 試薬等

硝酸 (63%, 有害金属測定用, 関東化学), 過酸化水素 (31%, 高純度試薬, 関東化学), 多元素混合標準溶液 (Al, Sb, As, Ba, Be, Cd, Ca, Cr, Co, Cu, Fe, Pb, Mg, Mn, Mo, Ni, K, Se, Ag, Na, Tl, Th, U, V, Zn, 各 10 $\mu\text{g/mL}$ in 5% HNO_3 , ICP 用, AccuStandard), 超純水 (ミリポア製 ZMQA000KT_EQA_3S システムから採水した)

3. 装置

マイクロ波分解装置 (CEM MDS-2000), ICP-発光分光分析装置 (島津 ICPS-8100)

4. 標準液調製

混合標準液を超純水で希釈し, 1, 2, 5, 10, 50, 200 ng/mL に調製した。なお, 調製の際, 硝酸による減感作用を補正するため, 試験液と同濃度 (2%) になるよう硝酸を加えた。

5. 試料前処理

破碎，均質化した試料を 0.5g 量りとり，マイクロ波分解装置用テフロン容器に入れた。8 mL の硝酸，1 mL の過酸化水素及び 8 mL の超純水を加え，混和後，超音波洗浄装置に 1 時間供し，懸濁した。

表 2 に示す条件でマイクロ波分解装置による酸分解を実施した。

表2. マイクロ波分解装置運転条件

ステップ	出力 (W)	上限圧力 (psi)	時間 (分)
1	504	60	5
2	504	85	10
3	0	85	20
4	504	85	10
5	504	100	5

1 時間放冷後，反応液を 50 mL メスフラスコへ移し，超純水で定容。2 mL を分取し，超純水でさらに 5 倍希釈し PTFE フィルターでろ過。これを試験液とした。

6. 添加回収試験

均質化した試料 0.5g に対し，混合標準溶液 0.5 mL を加え，同様に試料前処理を行い試験液を調製した。

7. 測定

表 3，表 4 に示す条件で測定を行った。

表3. ICP-AES測定条件

高周波出力	1.2 kW
トーチ観測高	15 mm
クーラントガス流量	14.0 L/min
プラズマガス流量	1.2 L/min
キャリアガス流量	0.7 L/min

表4. 測定波長

元素	波長 (nm)
Cr	267.726
Cd	226.502
Pb	220.351

結果及び考察

1) 検量線

結果を図 1 に示す。

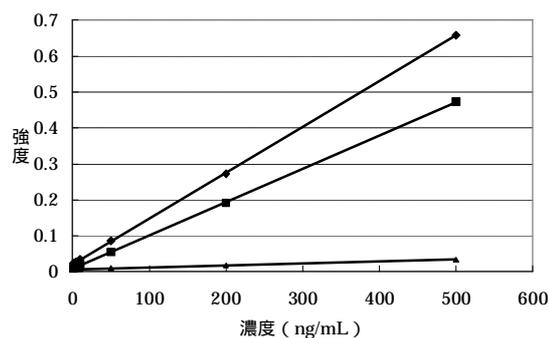


図 1. 検量線

◆Cr: $y = 0.0013x + 0.02118$, $R^2 = 0.9999$
 ▲Cd: $y = 0.0009x + 0.0083$, $R^2 = 1$

Cr, Cd, Pb について 1 ~ 500 ng/mL の範囲で相関係数 0.9999 以上であり，良好な直線性が得られた。

2) 検出限界値，定量下限値

超純水をブランクとして 5 回繰り返し測定し，検出限界値，定量下限値を求めた。強度の標準偏差の 3 倍に相当する強度を与える濃度を検出限界値，10 倍に相当する強度を与える濃度を定量下限値として算出した（表 5）。

表5. 検出限界値，定量下限値 (ng/mL)

	Cr	Cd	Pb
検出限界値	0.34	0.67	2.9
定量下限値	1.1	2.2	9.7

Cr, Cd については ng/mL で小数点以上 1 桁台，Pb は 2 桁台から定量可能であることを確認した。

3) 測定結果

結果を表 6 に示す。

Cr の結果については，カプセル 2 は 1.2 ng/mL，粉末 3 は 4.1 ng/mL，錠剤 5 は 1.5 ng/mL，茶葉 1 は 1.9 ng/mL。Cd, Pb に関しては全て不検出の結果を得た。

表6. 市場流通製品の測定結果 (ng/mL)

	Cr	Cd	Pb
カプセル 1	N.D.	N.D.	N.D.
カプセル 2	1.2	N.D.	N.D.
ソフトカプセル 1	N.D.	N.D.	N.D.
ソフトカプセル 2	N.D.	N.D.	N.D.
シリアル	N.D.	N.D.	N.D.
クッキー 1	N.D.	N.D.	N.D.
クッキー 2	N.D.	N.D.	N.D.
クッキー 3	N.D.	N.D.	N.D.
粉末 1	N.D.	N.D.	N.D.
粉末 2	N.D.	N.D.	N.D.
粉末 3	4.1	N.D.	N.D.
錠剤 1	N.D.	N.D.	N.D.
錠剤 2	N.D.	N.D.	N.D.
錠剤 3	N.D.	N.D.	N.D.
錠剤 4	N.D.	N.D.	N.D.
錠剤 5	1.5	N.D.	N.D.
茶葉 1	1.9	N.D.	N.D.
茶葉 2	N.D.	N.D.	N.D.
茶葉 3	N.D.	N.D.	N.D.
茶葉 4	N.D.	N.D.	N.D.
定量下限値	1.1	2.2	9.7

N.D.: 定量下限値未満

4) 添加回収試験

前処理方法の妥当性を確認するため、各金属元素が終濃度 20 ng/mL になるように添加し、試験液を調製した後、測定した(表 7)。

表7. 添加回収試験結果

	Cr		Cd		Pb	
	定量結果 (ng/mL)	回収率 (%)	定量結果 (ng/mL)	回収率 (%)	定量結果 (ng/mL)	回収率 (%)
カプセル 1	23.2	116	22.5	112	19.5	97
カプセル 2	21.0	105	20.9	105	16.2	81
ソフトカプセル 1	23.4	117	25.8	129	19.3	96
ソフトカプセル 2	27.1	136	27.5	138	23.0	115
シリアル	17.4	87	18.0	90	18.0	90
クッキー 1	21.4	107	21.8	109	19.4	97
クッキー 2	20.1	101	21.2	106	15.6	78
クッキー 3	22.6	113	23.5	118	24.0	120
粉末 1	19.0	95	20.0	100	17.5	88
粉末 2	20.8	104	22.2	111	22.2	111
粉末 3	19.1	96	16.5	83	19.9	99
錠剤 1	18.7	94	20.5	102	17.3	87
錠剤 2	22.5	112	24.2	121	16.8	84
錠剤 3	18.3	92	19.1	96	17.1	85
錠剤 4	17.3	87	17.8	89	17.7	88
錠剤 5	20.5	103	20.3	101	20.5	103
茶葉 1	21.9	110	20.3	101	22.1	110
茶葉 2	19.3	96	20.6	103	19.5	98
茶葉 3	22.3	112	23.7	119	23.5	117
茶葉 4	16.6	83	16.7	83	20.4	102
平均回収率		103		106		97

DHA 食品等油脂を多く含有するソフト

カプセルは回収率が 140 %に達する製品も見られたが、他の試料はほぼ 80 ~ 120 %の範囲にあり、良好な結果を得た。

5) 摂取目安量に対する安全性の検討

クロムが検出された 4 検体について濃度レベルの安全性を確認するため、試料中濃度を求め、さらに包装に記載された推奨摂取量から 1 日当たりのクロム推定摂取量を算出した(表 8)。

表8. クロムの推定摂取量

	Cr				
	定量結果 (ng/mL)	回収率 (%)	試料中濃度 (µg/g)	推奨摂取量 (g/日)	摂取量 / 日 (µg)
カプセル 2	1.2	105	0.62	1.2	0.75
粉末 3	4.1	96	1.9	6	12
錠剤 5	1.5	103	0.79	1.8	1.4
茶葉 1	1.9	110	1.1	9	9.5

・試料中濃度 = 定量結果 (ng/mL) × 回収率 (%) / 100 × 希釈倍率250 / 0.5g / 1,000

・推奨摂取量 : パッケージに記載された 1 日当たりの製品摂取目安 (g)

・摂取量 / 日 = 試料中濃度 (µg/g) × 推奨摂取量 (g/日)

1 日当たりのクロムの摂取量は、最大で 12 µg であり、WHO が定める暫定上限量である 250 µg と比較すると、約 1/20 であった。この値は他の食品からの摂取を考慮に入れても、通常の摂取量、摂取方法であれば健康への影響はない水準と考えられる。

まとめ

調査対象 20 検体中 4 検体から微量のクロムが検出されたが、直ちに健康被害が引き起こされるおそれはない水準であった。

今後は調査範囲を広げるため、調査対象金属の追加、検体数の増加、原産地国別の調査を実施してゆくことが課題としてあげられる。

参考文献

- 1) 国立医薬品食品衛生研究所 食品安全情報, No.10, 2008.05.07
- 2) 国立医薬品食品衛生研究所 食品安全情報, No.04, 2006.02.15

農作物中の残留農薬一斉分析法の検討 LC/MS/MSによるスクリーニング法の検討

柳岡知子，山本浩嗣，白田忠雄，山本和則，小室道彦

要旨

農作物中の残留農薬 87 項目について，QuEChERS 改良法¹⁾とコンディショニング不要の精製カラムを組み合わせた簡易前処理法を用い，液体クロマトグラフ タンデム質量分析法（LC/MS/MS）による一斉分析法の検討を行った。5 農作物への添加回収試験を行ったところ，87 項目中 64 項目において，すべての農作物で回収率が 60～130%，C.V.20%以下の範囲に入るなどスクリーニング法として十分期待できる結果を得た。

キーワード：残留農薬，農作物，LC/MS/MS，スクリーニング法，QuEChERS

はじめに

平成 18 年 5 月にポジティブリスト制度が施行され，約 800 農薬についての残留基準が食品ごとに設定され，さらに，基準値のないものには 0.01ppm の一律基準が適用されるなど残留農薬の規制が大きく拡大された。これに伴い，当所でも検査項目数の拡大と迅速な検査を求められ，従来の GC や HPLC を用いた分析法から質量分析装置を用いた一斉試験法³⁾（厚生労働省通知法）に変更し対応してきた。

前報²⁾では，より迅速に多成分を分析するため，QuEChERS 改良法とコンディショニング不要の精製カラムを組み合わせた簡易前処理法を用い，さらに GC/MS/MS 分析法により測定および解析の迅速化を検討し報告した。今回は，この簡易前処理法を用いた LC/MS/MS による農薬 87 項目の一斉分析法について，通知法と比較検討した結果を報告する。

方法

1. 試料

県内で市販されていたダイコン，キャベツ，レタス，ニンジン，ホウレンソウを使用した。

2. 試薬等

農薬標準溶液：林純薬工業(株)製の PL2005 農薬 LC/MS Mix4~6 および PL2005 農薬 LC/MS 分析条件検討用単品溶液 法セットを使用した。

有機溶媒：アセトニトリル，アセトン，ヘキサン，トルエンは関東化学(株)製残留農薬試験用，移動相用メタノールは和光純薬(株)製 LC/MS 用を使用した。

その他試薬：塩化ナトリウムは関東化学(株)製残留農薬試験用，その他の試薬は和光純薬(株)製特級試薬を用いた。

簡易前処理用精製カラム等：昭和電工(株)製多機能カートリッジ M9coSep[®] PR，バリアン社製ボンデシル PSA を使用した。

通知法用精製カラム：GL サイエンス(株)製 GL-PakGC/NH2 500mg/500mg/20ml を使用した。

3. 分析装置および測定条件

(1) 高速液体クロマトグラフ

装置：Waters 社製 Alliance 2695 Separation Module

分析カラム：XBridgeC18 3.5 μm (2.1mm×150mm) ガードカラム使用

カラム温度：40

移動相：5mM 酢酸アンモニウム水溶液
(A 液), 5mM 酢酸アンモニウムメ
タノール溶液(B 液)

グラジエント条件：0 分(A:B=85:15)
1 分~3.5 分(60:40) 6 分(50:50) 8
分(45:55) 17.5~30 分(5:95) 30.5
~45 分(85:15)

流速：0.2ml/min

注入量：5 µl

(2) タンデム型質量分析計

装置：Waters 社製 Quatro PremierXE

イオン化法：ESI (positive , negative)

測定モード：MRM 法

4. 試験溶液の調製

(1) 簡易前処理法

粉碎均一化した試料 10g を 50ml の PP 製遠沈管にとり，アセトニトリル 10ml を加えホモジナイザーで 1 分攪拌し，塩化ナトリウム 1g，硫酸マグネシウム(無水)4g，クエン酸水素二ナトリウム 1.5 水和物 0.5g，クエン酸三ナトリウム二水和物 1g を加え，手で振とうしたのち遠心分離した。アセトニトリル層 8ml を 15ml 遠沈管にとり，硫酸マグネシウム(無水)1.2g，PSA 0.2g を加え，振とうし，再び遠心分離した。上清を MycoSep PR に通液し，その溶出液を試験溶液とした。図 1 に，そのフローを示した。

(2) 通知法

粉碎均一化した試料 20g を使用し，厚生労働省から示されている「LC/MS による農薬等の一斉試験法」³⁾(以下，通知法)に準じた方法で試験溶液を調製した。

5. 添加回収試験

粉碎均一化した試料 10g に，分析対象農薬(87 項目)を各 0.1ppm となるように添加し，30 分間放置したのち試験溶液を調製した。これを LC/MS/MS で測定し絶対検量線法により定量して回収率を求めた。

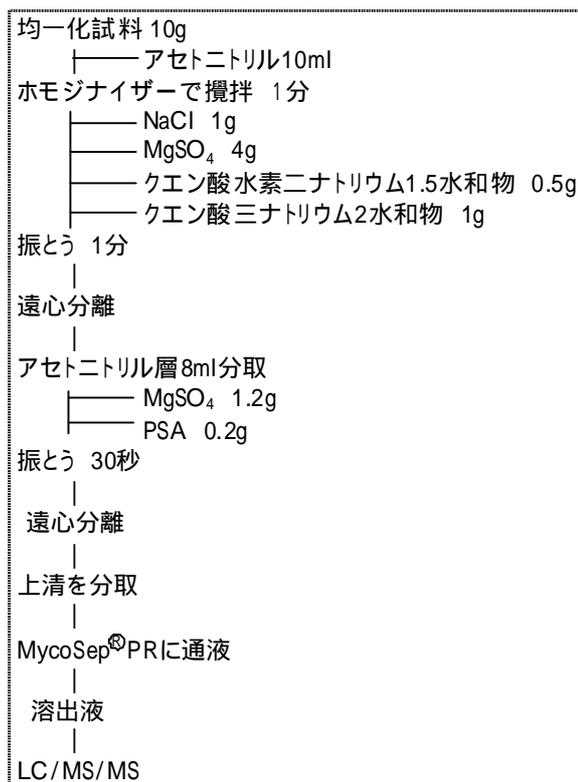


図 1 簡易前処理法のフロー

結果および考察

(1) MRM 条件の設定

87 項目について定量用と確認用の 2 イオンをモニターイオンとして設定した。うち 3 項目については negative mode とした。これらを 15 グループ分け，1 グループあたり 2~20 イオンを測定することにした。ピークの切れ目がない場合は，グループのデータ取り込み時間を重ねて設定した。

(2) 添加回収試験

ダイコン，キャベツ，レタス，ニンジン，ホウレン草への添加回収試験 (n=3) を行い，各項目の平均回収率と変動係数(C.V.)を求めた結果を図 2 および表 1 に示した。平均回収率が 70~120%であったものは，通知法では 69~82 項目であったのに対し，簡易前処理法では 62~73 項目であった。その C.V. は 1 データを除き 10%以下であり，通知法より変動が少なかった。全データ中，

回収率が 70~120%かつ C.V.20%以下の範囲に入ったものは通知法では 87%,簡易前処理法では 77%と簡易前処理法の方が 10%少ない結果となった。

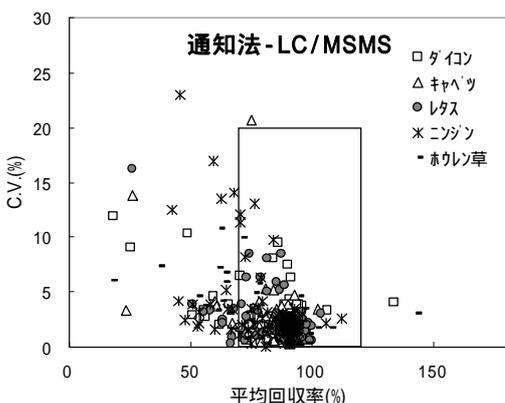
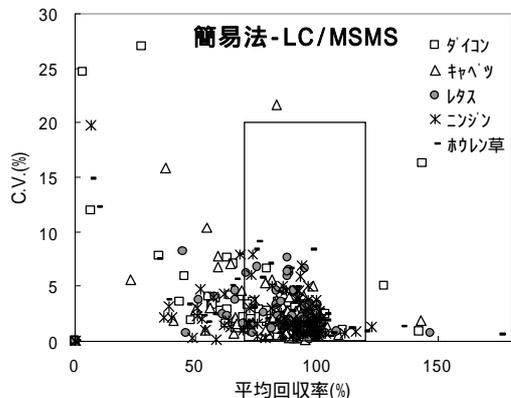


図 2 添加回収試験結果 (5 農作物)

次に、二種の方法による回収率の関係を散布図に表した(図 3)。この図から、多くの項目で二法の回収率は近い値であることがわかるが、一部、通知法では良好に回収できたにもかかわらず、簡易前処理法では著しく低くなったものが見られた。これらはスピノシド A, スピノシド D, イマザリル, ジメチリモール, トリチコナゾールなどである。原因を探るため、標準溶液を MycoSep PR に直接負荷しその溶出液を測定したところ、これらの農薬はカラム内に吸着されたまま溶出しないということがわかった。

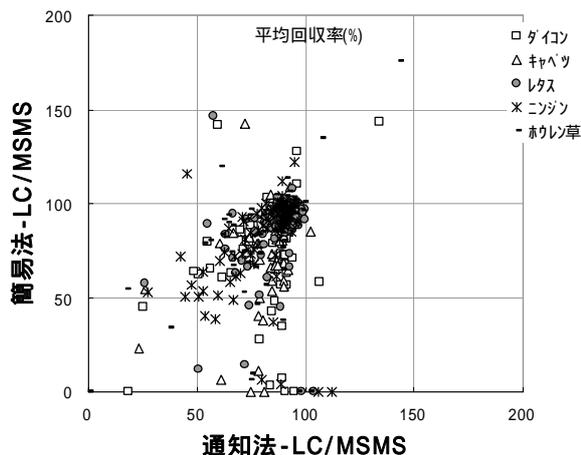


図 3 二法による回収率の関係

(2) 試買検査

簡易前処理-LC/MSMS 法を用い、市内の小売店で購入したミニトマト、スイカ、ナシ、キュウリ、メロン中の残留濃度を分析した。また同時に、0.01ppm を添加した試料を分析し検出の確認および検出下限確認データとした。その回収率が 40~150%となった 70 項目を対象に定量した結果を表 2 に示した。ミニトマトでフルフェノクスロン 0.11ppm、日本ナシでジプロジニル 0.07ppm とボスカリド 0.02ppm を検出し、メロンでイミダクロプリド 0.01ppm を検出したが、基準値を超えるものはなかった。なお、10 検体の抽出・精製に要した時間は約 2.5 時間(検査員 1 人)であった。

表 2 試買検査結果

農作物	検出農薬
ミニトマト (茨城県産)	Flufenoxuron 0.11ppm (基準値 0.5ppm)
スイカ (青森産)	不検出
日本ナシ (茨城県産)	Cyprodinil 0.07ppm (基準値 5ppm) Boscalid 0.02ppm (基準値 3.0ppm)
キュウリ (茨城県産)	不検出
メロン (山形県産)	Imidacloprid 0.01ppm (基準値 0.2ppm)

まとめ

簡易前処理法を用いた LC/MS/MS による残留農薬一斉分析法を検討した。農薬 87

項目について、5 農作物への添加回収試験を行ったところ、62～73 項目で回収率が 70～120%、かつ C.V.20%以下と良好な結果が得られた。通知法の結果(69～82 項目)と比較すると 1 割程度少なくなったが、これは精製カラム (MycoSep PR) に吸着され溶出しにくい農薬があることが要因の一つであった。

また、5 種すべての農作物において回収率が 60～130%で C.V.20%以下となったのは、87 項目中 64 項目であった。これらの項目については、他の 5 農作物を用いた 0.01ppm の添加試験においても 40%～150%の回収率となり、十分検出できることを確認した。

一方、迅速化についても、前処理に要する時間を通知法の 1/3 程度に短縮でき、また、使用する有機溶媒や器具を大幅に削減したことにより、器具の洗浄や準備に要する労力や時間も削減することができた。これらのことから、本法はスクリーニング法として有用であると考えられる。さらに、前報の GC/MS/MS による一斉分析法を併行することにより、より多くの農薬をモニタリングすることができる。

なお、油脂分など夾雑成分の多い農作物への応用については、今後さらに検討する必要がある。

文献

- 1) M. Anastassiades, S. J. Lehotay, D. Stajnbaher and F. J. Schenck: *J. AOAC Int.* **86**, 412-431(2003)

URL :

http://www.quechers.com/docs/quechers_en_oct2005.pdf

- 2) 柳岡知子 他：農作物中の残留農薬一斉分析法の検討 - GC/MS, GC/MS/MS によるスクリーニング法の検討 - 茨城県衛生研

究所年報 **45**, 46-53 (2007)

- 3) 食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験方法について 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知 平成 17 年 1 月 24 日付食安発第 0124001 号
- 4) M. Okihashi, Y. Kitagawa, K. Akutsu, H. Obana and Y. Tanaka: *J. Pestic. Sci.* **30**, 368-377(2005)

表 1-1 添加回収試験結果

簡易前処理法

農薬	MRM		回収率 (n=3)									
	RT	定量イオン (m/z)	ダイコン		キャベツ		レタス		ニンジン		ホウレン草	
			平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)
1 Acibenzolar_S_methyl	17.4	211 > 136	87.9	3.1	69.7	1.7	86.8	1.4	72.9	6.1	85.8	2.2
2 Aldicarb	11.3	208 > 116	87.8	1.1	99.4	3.1	91.7	0.3	96.2	5.1	94.1	2.8
3 Aldoxycarb	5.6	240 > 86	94.0	1.3	95.3	0.9	96.4	1.6	96.8	1.8	97.2	0.7
4 Anilofos	20.2	368 > 125	96.2	1.2	99.1	0.7	100.2	3.4	100.1	0.8	101.4	2.3
5 Aramite	22.2	352 > 191	88.0	1.6	86.9	0.9	94.8	6.7	93.3	7.0	97.2	8.3
6 Azafenidin	16.0	338 > 264	79.5	6.6	88.3	4.1	93.4	2.2	93.2	0.8	93.6	0.6
7 Azamethiphos	12.6	325 > 183	141.9	0.8	142.9	1.9	146.5	0.7	115.9	0.8	119.8	0.9
8 Azinphos_methyl	16.6	318 > 132	88.9	2.7	83.9	3.1	86.1	4.7	95.3	0.7	83.5	0.8
9 Azoxystrobin	17.2	404 > 372	98.3	1.5	100.0	2.2	100.4	2.3	100.5	2.7	101.0	1.8
10 Bendiocarb	13.3	224 > 109	94.4	1.2	99.1	0.6	98.8	1.3	100.9	1.7	100.8	2.0
11 Benzofenap	21.6	431 > 105	47.9	1.9	49.6	2.8	51.1	3.8	40.2	2.2	52.6	2.4
12 Boscalid	17.9	343 > 307	72.2	1.0	84.8	2.3	73.3	0.8	72.2	3.1	76.3	5.8
13 Butafenacil	18.8	492 > 180	110.4	1.0	108.8	0.5	108.1	0.8	111.5	0.7	113.2	1.1
14 Carbaryl	14.1	202 > 145	92.4	0.8	94.8	1.7	96.0	1.3	98.7	1.5	99.6	0.8
15 Carbofuran	13.4	222 > 123	127.7	5.0	98.8	1.1	98.7	1.0	103.7	0.7	134.8	1.2
16 Carpropamid	20.2	334 > 139	99.3	1.5	97.4	1.6	99.5	2.3	99.3	2.2	103.7	2.4
17 Chloridazon	9.0	222 > 92	60.4	2.8	87.3	2.5	94.1	2.2	89.8	1.6	92.1	0.7
18 Chloroxuron	18.7	291 > 72	88.4	3.5	87.2	2.1	91.6	1.7	90.8	1.8	94.2	1.2
19 Chromafenozide	18.8	395 > 175	99.8	2.4	97.0	1.1	98.3	1.2	98.1	1.6	101.0	1.3
20 Clofentezine	20.8	303 > 138	84.4	2.3	78.9	0.6	88.7	1.7	64.2	1.3	85.1	0.4
21 Clomeprop	22.1	324 > 120	56.3	3.3	55.6	3.1	66.4	4.6	61.4	4.3	67.3	8.0
22 Cloquintocet_mexyl	22.2	336 > 192	63.0	2.8	64.4	7.1	70.9	6.2	67.9	8.0	65.9	5.6
23 Clothianidin	8.2	248 > 58	75.7	2.9	90.5	1.4	96.7	1.0	91.8	4.6	93.7	0.6
24 Cumyluron	18.6	303 > 185	94.4	1.7	88.4	1.0	94.6	2.4	96.0	1.3	94.5	0.4
25 Cyazofamid	19.3	325 > 108	102.1	1.4	102.8	1.2	102.4	1.8	100.3	0.6	105.0	0.4
26 Cycloprothrin	23.1	499 > 181	83.8	1.6	81.6	2.2	83.1	3.4	56.8	4.0	82.5	1.9
27 Cyflufenamid	20.7	413 > 295	96.3	0.9	92.5	0.7	96.7	2.5	69.1	1.0	99.9	0.8
28 Cyprodinil	20.2	226 > 93	84.1	3.6	86.0	3.1	84.8	3.5	86.8	1.9	88.7	1.6
29 Diflubenzuron	19.6	311 > 158	85.9	1.0	88.0	1.2	88.6	6.4	86.5	1.5	93.5	0.4
30 Dimethirimol	15.3	210 > 71	3.4	24.7	6.5	68.3	11.5	47.1	4.1	33.6	6.4	14.9
31 Dimethomorph	18.2	388 > 301	86.5	0.5	71.9	1.6	88.4	1.5	84.9	2.6	80.6	1.6
32 Diuron	16.1	233 > 72	62.7	7.6	81.2	5.6	87.9	1.5	89.8	0.5	91.0	0.7
33 Dymuron	18.3	269 > 151	95.6	1.4	91.0	1.2	95.0	2.1	96.1	2.0	97.0	0.4
34 Epoxiconazole	19.2	330 > 121	86.4	1.6	87.1	0.6	91.0	1.7	94.0	0.7	95.1	0.9
35 Fenamidone	17.8	312 > 92	93.2	0.6	94.4	0.5	97.0	0.6	93.1	5.9	97.6	0.8
36 Fenobucarb	17.4	208 > 95	92.7	2.0	93.9	1.5	95.0	1.4	96.6	3.2	98.5	0.5
37 Fenoxaprop_ethyl	21.8	362 > 288	77.9	2.0	73.2	1.7	87.4	1.7	71.3	1.6	91.1	4.9
38 Fenoxycarb	19.7	302 > 88	90.0	1.1	89.8	1.0	87.8	6.4	75.6	0.5	96.5	0.8
39 Fenpyroximate_E	23.1	422 > 366	58.4	3.9	59.0	6.8	60.8	2.4	48.7	0.4	56.8	2.5
40 Fenpyroximate_Z	22.2	422 > 366	69.2	2.2	68.5	4.6	75.6	6.8	73.0	7.9	75.0	9.0
41 Ferimzone_E_Z	17.8	255 > 91	80.7	1.1	83.3	3.8	84.0	2.3	81.0	5.1	84.6	1.2
42 Flufenacet	19.2	364 > 194	99.5	1.4	99.9	1.8	99.7	2.5	100.6	0.8	103.2	1.9
43 Flufenoxuron	22.9	489 > 158	72.5	2.5	69.4	1.3	72.7	1.5	53.9	1.0	73.5	3.1
44 Fluridon	16.8	330 > 309	98.4	1.7	100.2	1.3	96.6	3.3	97.8	1.2	98.3	0.8
45 Furametpyr	15.5	334 > 157	90.8	3.1	91.1	2.7	90.0	1.3	91.8	1.2	89.9	0.9
46 Furathiocarb	22.0	383 > 195	27.3	26.9	83.1	1.1	92.6	0.8	81.5	3.0	33.8	7.6
47 Hexythiazox	22.7	353 > 228	68.1	4.0	66.1	2.1	69.4	1.6	50.4	3.1	68.3	1.0
48 Imazalil	20.3	297 > 159	6.7	11.9	10.8	49.2	14.5	32.9	6.6	19.8	9.4	12.3
49 Imidacloprid	8.0	256 > 175	79.3	1.8	90.4	0.2	98.5	1.4	93.1	3.5	99.1	0.2
50 Indanofan	19.1	341 > 175	101.7	2.6	96.6	1.9	98.9	2.2	98.2	1.4	98.6	3.2
51 IndoxacarbMP	21.2	528 > 203	92.8	3.4	88.1	0.2	94.0	1.0	84.1	1.7	95.6	1.7
52 Iprovalicarb	18.9	321 > 119	93.3	2.3	92.1	0.8	91.4	1.1	96.0	2.7	96.0	1.8
53 Isoxaflutole	16.0	360 > 251	65.7	7.1	94.5	4.2	100.7	0.8	97.8	1.4	95.9	2.4
54 Lactofen	22.0	479 > 344	73.2	3.6	65.2	0.8	85.4	1.8	73.7	3.7	88.2	6.6
55 Linuron	17.4	249 > 160	87.1	1.7	88.9	1.4	92.6	1.3	92.2	3.9	95.0	0.9
56 Mepanipyrim	18.8	224 > 106	88.0	2.0	88.7	1.7	89.6	2.4	90.8	0.7	91.7	1.8
57 Methabenzthiazuron	15.3	222 > 165	96.2	0.8	98.4	5.1	95.6	0.9	99.6	3.7	96.3	1.7
58 Methiocarb	17.7	226 > 169	90.7	1.2	92.1	0.9	93.1	1.0	92.4	4.6	95.9	0.5
59 Methomyl	6.7	163 > 88	143.4	16.3	83.4	21.6	96.9	1.6	122.1	1.4	175.2	0.5
60 Methoxyfenozide	18.3	369 > 149	96.5	0.7	91.9	0.3	96.7	0.2	96.1	3.7	97.3	0.2
61 Monolinuron	14.4	215 > 126	100.4	1.8	95.1	0.1	94.7	1.5	100.9	0.7	106.2	0.8
62 Naproanilide	19.5	292 > 171	87.5	2.5	90.5	1.5	90.3	4.6	87.8	1.2	95.2	0.9
63 Novalron	21.5	493 > 158	42.9	3.6	40.5	1.9	45.6	0.8	38.5	3.1	46.7	3.3
64 Oxamyl	6.1	237 > 72	103.1	2.4	104.4	1.3	103.3	0.7	91.9	1.0	93.1	0.7
65 Oxaziclomefone	21.8	376 > 190	83.9	0.4	80.4	1.7	91.4	1.0	85.6	5.1	89.8	3.5
66 Oxycarboxine	9.9	268 > 175	62.4	1.6	81.7	2.4	91.9	0.9	90.2	1.6	91.2	0.2
67 Pencycuron	21.0	329 > 125	87.3	1.6	87.2	0.7	88.2	1.9	85.6	0.8	88.8	1.3
68 Pentoxazone	21.9	354 > 286	71.0	3.4	67.1	1.6	77.9	2.6	50.7	2.3	80.0	7.0
69 Pirimicarb	15.2	239 > 72	90.9	3.1	92.0	2.9	88.0	7.7	90.7	3.9	89.1	2.7
70 Propaquizafop	22.1	444 > 100	56.9	3.4	53.5	0.9	62.9	2.3	51.5	4.7	73.9	8.4

注)斜字は negative mode での測定イオン

農薬	MRM		回収率 (n=3)									
	RT	定量イオン (m/z)	ダイコン		キャベツ		レタス		ニンジン		ホウレン草	
			平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)
71 Pyraclostrobin	20.5	388 > 163	91.7	2.0	87.7	2.8	92.2	1.4	90.1	0.7	94.0	1.4
72 Pyrazolynate	20.8	439 > 91	63.9	4.2	78.5	5.3	89.4	1.3	71.7	1.6	78.7	2.0
73 Pyrifthalid	16.8	319 > 139	97.3	1.1	99.3	2.2	96.9	3.4	99.5	2.4	99.8	1.7
74 Quizalofop_ethyl	21.8	373 > 299	72.7	2.1	66.7	1.2	81.1	1.1	58.2	0.1	83.8	4.4
75 Simeconazole	19.2	294 > 70	55.2	4.0	58.8	7.8	65.8	3.8	61.3	1.5	64.3	5.0
76 SpinosynA	24.2	732 > 142	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-
77 SpinosynD	24.7	746 > 142	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-	0.0	-
78 Tebufenozide	19.7	351 > 149	93.4	1.4	91.9	1.8	88.1	6.2	94.5	1.7	93.4	1.7
79 Tebuthiuron	13.6	229 > 172	78.9	2.7	85.7	3.0	85.5	1.3	86.4	2.0	86.7	1.4
80 Teflubenzuron	22.4	379 > 339	83.9	1.5	80.1	0.6	83.4	4.7	87.0	4.6	81.9	3.2
81 Tetrachlorvinphos	19.8	367 > 127	91.9	1.6	88.4	1.0	87.6	6.0	78.3	0.3	91.8	1.5
82 Thiabendazole	11.5	202 > 175	44.9	5.9	54.6	10.4	57.4	4.0	52.6	2.0	54.4	1.8
83 Thiacloprid	10.0	253 > 126	80.4	1.5	86.6	1.1	101.4	1.2	100.9	0.5	98.7	1.2
84 Thiamethoxam	7.0	292 > 211	86.0	2.3	22.9	5.6	95.1	3.1	94.7	2.5	93.2	0.6
85 Thiodicarb	14.4	355 > 88	0.0	-	90.6	1.7	89.5	1.7	63.2	1.9	0.0	-
86 Triflumuron	20.7	359 > 156	87.2	1.7	78.7	1.0	87.6	1.4	75.4	1.5	89.5	0.6
87 Triticonazole	19.1	318 > 70	34.6	7.8	37.6	15.9	44.8	8.2	36.7	2.2	38.1	3.7

注)斜字は negative mode での測定イオン

表 1-2 添加回収試験結果

通知法

農薬	MRM		回収率 (n=3)									
	RT	定量イオン (m/z)	ダイコン		キャベツ		レタス		ニンジン		ホウレン草	
			平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)
1 Acibenzolar_S_methyl	17.4	211 > 136	88.3	2.0	78.8	2.7	84.0	1.5	74.7	3.4	85.1	1.9
2 Aldicarb	11.3	208 > 116	76.1	3.5	84.0	0.9	73.2	6.3	83.8	9.8	64.2	5.9
3 Aldoxycarb	5.6	240 > 86	83.5	2.7	86.4	1.7	88.5	1.1	86.0	2.7	85.7	0.4
4 Anilofos	20.2	368 > 125	92.4	2.1	91.8	0.7	96.6	0.7	91.7	1.6	94.1	0.3
5 Aramite	22.2	352 > 191	92.0	1.4	90.8	2.2	66.5	0.3	70.5	11.3	74.4	3.5
6 Azafenidin	16.0	338 > 264	74.2	2.7	83.7	2.6	93.4	1.0	89.2	1.9	91.1	1.1
7 Azamethiphos	12.6	325 > 183	59.6	4.7	72.1	1.3	57.9	3.3	45.4	23.0	60.3	3.2
8 Azinphos_methyl	16.6	318 > 132	84.7	2.6	66.9	2.2	93.8	2.8	91.8	0.7	77.6	5.8
9 Azoxystrobin	17.2	404 > 372	89.5	2.6	92.9	4.8	96.5	1.1	94.6	1.3	98.7	1.1
10 Bendiocarb	13.3	224 > 109	88.6	2.0	90.7	1.5	92.5	0.9	89.8	2.4	88.9	1.6
11 Benzofenap	21.6	431 > 105	86.2	1.7	79.1	0.4	78.8	6.3	53.8	2.2	71.0	9.9
12 Boscalid	17.9	343 > 307	91.1	1.4	102.5	3.4	93.0	2.7	85.8	3.1	88.9	1.5
13 Butafenacil	18.8	492 > 180	96.2	1.9	92.7	1.8	94.3	2.7	89.0	1.7	90.4	1.9
14 Carbaryl	14.1	202 > 145	90.6	1.4	91.1	1.7	94.1	2.2	89.1	1.7	90.1	1.0
15 Carbofuran	13.4	222 > 123	96.0	3.7	91.0	2.3	92.1	0.9	89.5	2.2	107.5	1.7
16 Carpropamid	20.2	334 > 139	91.9	1.3	89.3	1.3	97.5	1.4	89.0	0.3	90.8	1.9
17 Chloridazon	9.0	222 > 92	61.7	2.0	87.0	1.4	94.1	1.5	90.5	2.3	91.4	1.3
18 Chloroxuron	18.7	291 > 72	94.5	1.9	92.1	1.3	99.8	0.6	95.9	3.0	94.8	0.1
19 Chromafenozide	18.8	395 > 175	94.3	3.9	91.6	1.7	94.1	1.8	93.0	2.3	90.3	2.2
20 Clofentezine	20.8	303 > 138	70.5	6.5	78.1	1.4	81.7	5.0	53.2	3.2	79.9	1.7
21 Clomeprop	22.1	324 > 120	91.7	1.6	90.0	1.3	73.3	2.8	67.9	14.1	66.2	1.6
22 Cloquintocet_mexyl	22.2	336 > 192	91.4	1.4	92.4	1.8	67.0	0.8	76.2	13.1	76.3	4.9
23 Clothianidin	8.2	248 > 58	71.6	0.8	90.2	2.2	87.1	2.2	81.8	1.3	79.7	1.3
24 Cumyluron	18.6	303 > 185	93.8	1.9	87.6	1.1	96.7	2.5	91.9	1.9	89.4	1.9
25 Cyazofamid	19.3	325 > 108	88.3	1.0	83.7	2.6	90.1	2.6	81.8	3.1	85.8	1.0
26 Cycloprothrin	23.1	499 > 181	89.1	3.1	90.1	3.9	80.6	1.3	47.6	2.5	75.4	2.1
27 Cyflufenamid	20.7	413 > 295	89.8	2.4	87.5	1.0	92.0	0.3	60.2	1.6	88.8	1.6
28 Cyprodinil	20.2	226 > 93	90.8	2.2	89.1	1.3	93.1	1.3	88.6	1.4	86.4	1.1
29 Diflubenzuron	19.6	311 > 158	90.0	2.0	88.1	2.9	87.6	0.9	82.1	2.0	92.1	1.5
30 Dimethirimol	15.3	210 > 71	84.0	8.0	60.9	3.7	50.9	3.8	88.5	1.9	74.4	2.4
31 Dimethomorph	18.2	388 > 301	90.8	2.3	85.1	1.4	96.9	0.6	93.5	1.4	89.1	1.8
32 Diuron	16.1	233 > 72	66.1	3.9	86.4	2.9	95.9	2.6	92.6	2.4	92.9	0.2
33 Dymuron	18.3	269 > 151	91.2	2.7	88.9	1.3	93.9	0.4	90.8	1.4	91.0	0.2
34 Epoxiconazole	19.2	330 > 121	92.0	2.4	89.2	1.7	94.0	1.6	90.4	0.3	93.8	1.6
35 Fenamidone	17.8	312 > 92	93.3	2.6	89.6	1.0	96.9	1.4	91.5	1.3	91.4	1.1
36 Fenobucarb	17.4	208 > 95	87.8	1.6	85.6	2.6	91.0	1.4	85.3	1.7	86.9	0.8
37 Fenoxaprop_ethyl	21.8	362 > 288	89.0	2.8	84.8	0.4	86.5	5.1	67.1	3.5	62.1	10.8
38 Fenoxycarb	19.7	302 > 88	91.0	1.4	86.2	2.0	92.2	1.3	73.6	1.6	87.2	1.4
39 Fenpyroximate_E	23.1	422 > 366	106.5	3.2	90.1	1.5	82.4	2.0	66.6	1.5	80.9	0.4
40 Fenpyroximate_Z	22.2	422 > 366	74.0	2.0	89.8	1.0	63.3	2.1	70.7	12.1	71.4	2.1
41 Ferimzone_E_Z	17.8	255 > 91	91.3	2.4	90.2	1.2	90.5	0.4	88.2	2.8	88.7	1.2
42 Flufenacet	19.2	364 > 194	89.8	1.4	92.5	2.6	93.6	1.5	89.8	1.2	93.9	1.1
43 Flufenoxuron	22.9	489 > 158	89.8	2.6	86.8	1.2	79.6	1.3	53.0	1.8	78.0	0.8
44 Fluridon	16.8	330 > 309	91.1	2.2	91.4	2.1	98.1	2.0	92.6	2.1	94.7	2.0
45 Furametpyr	15.5	334 > 157	91.3	6.3	84.3	5.1	95.9	3.1	90.1	0.8	94.6	4.6

注)斜字は negative mode での測定イオン

農薬	MRM		回収率 (n=3)									
	RT	定量イオン (m/z)	ダイコン		キャベツ		レタス		ニンジン		ホウレン草	
			平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)	平均(%)	CV(%)
46 Furathiocarb	22.0	383 > 195	78.8	0.6	90.1	0.9	81.5	1.3	72.3	8.2	37.3	7.3
47 Hexythiazox	22.7	353 > 228	90.9	2.2	84.0	0.5	70.9	3.9	51.2	3.8	72.6	0.7
48 Imazalil	20.3	297 > 159	89.3	0.8	78.0	4.2	72.5	0.6	79.6	2.6	75.2	1.5
49 Imidacloprid	8.0	256 > 175	55.2	3.3	90.3	1.3	92.0	1.0	89.1	1.6	92.5	1.6
50 Indanofan	19.1	341 > 175	87.3	0.7	90.3	1.4	91.4	1.8	88.2	3.0	91.2	0.4
51 IndoxacarbMP	21.2	528 > 203	88.9	1.7	85.6	3.5	88.4	5.6	75.1	0.4	88.2	1.9
52 Iprovalicarb	18.9	321 > 119	94.2	2.4	91.4	1.4	95.1	2.2	92.9	3.4	90.2	2.7
53 Isoxaflutole	16.0	360 > 251	56.2	2.7	81.4	1.5	87.3	1.6	79.8	4.2	81.4	1.9
54 Lactofen	22.0	479 > 344	89.0	3.8	85.8	1.1	76.6	1.0	62.8	13.5	66.0	3.1
55 Linuron	17.4	249 > 160	88.3	2.1	87.2	3.8	95.7	0.9	90.4	2.0	92.2	1.0
56 Mepanipyrim	18.8	224 > 106	75.0	2.8	90.1	2.4	93.4	0.9	89.7	1.5	89.6	1.1
57 Methabenzthiazuron	15.3	222 > 165	90.1	7.5	90.3	0.2	99.1	0.6	94.8	0.6	98.1	0.3
58 Methiocarb	17.7	226 > 169	90.2	2.0	91.2	1.9	92.8	1.2	91.0	1.8	91.0	0.2
59 Methomyl	6.7	163 > 88	133.8	4.0	88.1	1.9	89.0	1.2	94.7	2.6	142.8	3.0
60 Methoxyfenozide	18.3	369 > 149	93.4	2.5	91.6	1.3	95.3	0.8	91.7	2.1	94.1	0.4
61 Monolinuron	14.4	215 > 126	92.7	3.4	88.9	2.0	91.3	2.0	87.7	2.5	92.4	2.3
62 Naproanilide	19.5	292 > 171	88.0	2.7	86.9	1.2	90.5	1.8	80.7	0.1	89.5	1.4
63 Novalron	21.5	493 > 158	84.2	2.2	78.1	1.1	74.5	8.4	58.3	3.9	77.3	2.7
64 Oxamyl	6.1	237 > 72	82.7	2.8	84.1	2.1	87.1	1.3	85.0	2.4	86.0	1.4
65 Oxaziclomefone	21.8	376 > 190	90.4	4.3	89.5	0.8	87.5	8.5	78.7	6.3	63.9	6.7
66 Oxy-carboxine	9.9	268 > 175	51.1	2.9	73.9	1.2	77.3	3.2	71.2	2.1	72.8	1.3
67 Pencycuron	21.0	329 > 125	87.4	1.8	89.4	2.1	94.0	2.7	85.6	2.0	89.6	3.0
68 Pentoxazone	21.9	354 > 286	93.9	3.9	87.4	1.2	81.2	8.0	44.8	4.1	55.5	3.7
69 Pirimicarb	15.2	239 > 72	85.9	9.5	81.3	2.0	88.6	1.3	90.5	2.4	90.6	1.7
70 Propaquizafop	22.1	444 > 100	88.6	2.7	84.2	1.3	67.7	3.5	59.6	16.9	65.5	3.0
71 Pyraclostrobin	20.5	388 > 163	89.7	1.3	88.5	1.5	94.2	1.8	88.9	2.8	90.8	0.6
72 Pyrazolynate	20.8	439 > 91	48.7	10.3	60.3	4.1	55.3	3.2	42.5	12.5	53.0	4.6
73 Pyrifthalid	16.8	319 > 139	92.4	1.5	92.8	1.0	99.5	1.9	94.8	1.9	96.0	2.3
74 Quizalofop_ethyl	21.8	373 > 299	90.7	3.0	85.9	1.8	85.6	5.9	65.2	3.5	61.3	7.2
75 Simeconazole	19.2	294 > 70	90.9	2.1	84.6	1.1	92.5	1.7	86.4	2.3	89.6	2.0
76 SpinosynA	24.2	732 > 142	90.8	2.4	81.1	5.3	103.5	3.0	105.7	2.2	102.0	1.7
77 SpinosynD	24.7	746 > 142	94.6	3.4	75.1	20.6	98.5	2.1	112.2	2.7	96.3	3.4
78 Tebufenozide	19.7	351 > 149	92.4	1.8	85.0	1.7	86.8	1.6	77.6	1.3	73.7	0.9
79 Tebuthiuron	13.6	229 > 172	85.1	1.5	89.8	1.1	94.2	1.9	89.6	2.5	88.8	0.2
80 Teflubenzuron	22.4	379 > 339	92.6	1.9	88.2	0.8	63.5	2.5	64.8	5.1	62.9	4.2
81 Tetrachlorvinphos	19.8	367 > 127	86.9	2.0	88.5	1.2	93.3	1.7	77.5	3.5	92.3	3.3
82 Thiabendazole	11.5	202 > 175	25.5	9.1	26.3	13.7	26.4	16.3	27.7	41.8	17.4	6.0
83 Thiacloprid	10.0	253 > 126	72.9	0.6	90.7	0.3	94.2	3.1	87.3	1.6	86.4	1.8
84 Thiamethoxam	7.0	292 > 211	70.4	1.8	23.3	3.3	90.3	1.8	92.4	2.8	91.7	1.3
85 Thiodicarb	14.4	355 > 88	18.5	11.9	84.3	0.9	85.7	3.0	70.2	1.1	0.1	173.2
86 Triflumuron	20.7	359 > 156	88.3	0.5	78.0	1.9	91.8	2.2	76.4	2.0	88.6	1.5
87 Triticonazole	19.1	318 > 70	89.6	1.5	80.7	2.8	88.7	0.6	84.9	1.0	88.8	2.0

注)斜字は negative mode での測定イオン

表 1-3 添加回収試験結果

集計

分析法	平均回収率 範囲	ダイコン		キャベツ		レタス		ニンジン		ホウレン草		合計	
		項目数	%	項目数	%	項目数	%	項目数	%	項目数	%	項目数	%
簡易前処理法	50%未満	10	11	8	9	6	7	8	9	8	9	40	9
	50 ~ 70%	12	14	13	15	7	8	13	15	7	8	52	12
	70 ~ 120%	62	71	65	75	73	84	65	75	70	80	335	77
	120%超	3	3	1	1	1	1	1	1	2	2	8	2
通知法	50%未満	3	3	2	2	1	1	5	6	3	3	14	3
	50 ~ 70%	6	7	3	3	8	9	13	15	11	13	41	9
	70 ~ 120%	77	89	82	94	78	90	69	79	72	83	378	87
	120%超	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0

第 4 章 学会発表要旨・抄録

茨城県の若年女性におけるヒトパピローマウイルス（HPV）の感染状況 （第一報）

原 孝， 増子京子

【はじめに】

我が国では、子宮癌による死亡数は1975年以降横這いの状況にあったが、若年者の癌の増加によって最近では横這いから増加に転じたため、茨城県は先駆的に子宮頸癌検診に取り組んでいる。子宮頸癌の発生にはHPVの持続感染が深く関係している。HPVのうち約40の遺伝子型が性器に感染するが、そのうち少なくとも13の遺伝子型（high-risk型HPV）が子宮頸癌の原因として知られており、その分布には地域性があるとみられている。

【目的】

茨城県の若年女性におけるhigh-risk型HPVの感染実態を明らかにし、子宮頸癌の増加との関連について検討する。

【材料及び方法】

対象は、子宮頸癌検診等のために共同研究機関を受診した方（水戸市を中心とした県中央部の住民）の中から、インフォームド・コンセントを受けた39歳までの女性とした。試料は、SurePath液に保存された頸部擦過細胞を用い、はじめにハイブリッドキャプチャー法（HPV DNA「ミツビシ」HC）によりHPV-DNAのスクリーニング検査を行った。陽性者については、さらにPCR-Invader法及び吉川らのプライマー（L1C1，L1C2-1，L1C2-2）を使いPCR法によって遺伝子型を調べた。併せて、遺伝子検査と子宮頸癌の精密検査の結果との関連について検討した。

【結果】

全受診者1475名(延べ1531名)のうち、

HPV-DNA陽性者は199名であった（陽性率13.5%）。年齢別の陽性率は20歳代前半が24.7%と最も高く、次いで10代後半，20歳代後半，30歳代前半であり，30歳代後半が7.0%と最も低かった。

HPV陽性者の中で有所見者は33名（18.3%），うち21例は中等度又は高度異形成，4名が上皮内癌，1名が浸潤癌であった。

遺伝子型の中で最も検出頻度の高かったのは58型と52型(ともに15%)であった。次いで16型(12%)，51型(10%)，56型(9%)で，全部で20の遺伝子型が検出された。また，陽性例の16.4%に混合感染がみられ，なかには5つの遺伝子型に感染している症例もあった。

高度異型性以上の進展例から16型が多く検出されたためオッズ比を算出したところ，11.1(95%信頼区間：2.3-54.0)であった。

HPV-DNA陽性者のうち43名がフォローアップされたが，28例(65.1%)が持続陽性であった。

【考察】

茨城県では，過去に他のグループにより県南西部で同様の研究が行われている。それによると39歳までの若年者の陽性率は38%で，今回の我々のデータより3倍高かった。一方，沖縄県における研究では我々のデータと同等であった。陽性率はそれぞれの研究における対象，検出法等によって異なるので，本研究における陽性率はそれらを考慮して最終年度に評価する予定である。

16 型の発癌リスクが高いということについては、今回のデータからも示唆された。また、16 型の癌への進展は他の型よりずっと早いことが知られており、臨床の現場で患者さんをフォローアップする際には遺伝子型を調べるのが重要であると思われた。現在、海外のメーカーからワクチンの販売

認可の申請が出されているが、感染予防効果がある遺伝型は基本的には 16 型と 18 型である。遺伝子型の分布には地域性があると考えられ、導入の検討や効果を類推するためには遺伝子型の分布を把握することが望まれる。

地方衛生研究所全国協議会関東甲信静支部第 23 回ウイルス研究部会（川崎市）

第 5 章 他誌掲載・論文要旨

Serological survey of avian H5N2-subtype influenza virus infections in human populations.

(ヒトにおける H5N2 亜型インフルエンザに対する血清疫学調査)

Yamazaki Y¹, Doy M², Okabe N³, Yasui Y³, Nakashima K³, Fujieda T², Yamato S², Kawata Y², Ogata T².

¹Ibaraki Prefectural Institute for public health, Mito, Ibaraki, Japan.

² Department of Health and Welfare, Ibaraki Prefectural Government. Mito, Ibaraki, Japan.

³ Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Shinjuku, Tokyo, Japan.

Arch Virol. 2009; 154(3): 421-7.

To investigate the distribution of antibodies against H5N2 influenza virus in human beings living in Ibaraki prefecture, Japan, 266 single sera samples were collected to perform serological tests. The number of positive serum neutralization antibody titers (≥ 40) against avian influenza virus A/H5N2 was significantly higher ($p < 0.05$) among poultry workers, in comparison to Japanese healthy population. The geometric mean titers of serum neutralization antibody against A/H5N2 were significantly higher ($p < 0.05$) among Ibaraki

inhabitants and poultry workers ($p < 0.0001$) when compared to Japanese healthy population. Further, seropositivity against A/H5N2 virus was significantly ($p < 0.05$) associated with age (≥ 50 years old) in poultry workers. These results suggest that the laboratory-based surveillance of avian influenza viruses is very important to evaluate the invasion or emergence of new pandemic influenza viruses from the other species other than humans.

茨城県内在住民における H5N2 亜型インフルエンザウイルスの抗体分布について調べるため、茨城県内在住の住民と茨城県以外在住者におけるインフルエンザウイルス A/chicken/Ibaraki/1/05(H5N2) に対する血清抗体価を比較したところ、茨城県内在住民における抗体価は全国在住者のそれより有意に高かった。

これらの結果から、本亜型もしくは他の亜型を含めたウイルスに対するサーベイランスが今後新型インフルエンザウイルスのヒト世界への侵入を察知する手段として有効であること、又同時に継続的な監視を必要としていることが示唆された。

The influence of oseltamivir carboxylate and oseltamivir on hemagglutinin inhibition and microneutralization test.

(HI 試験と中和試験におけるオセルタミビルとオセルタミビルカルボキシレートが与える影響)

Yamazaki Y¹, Ishii T¹, Honda A².

¹Ibaraki Prefectural Institute for public health, Mito, Ibaraki, Japan.

²Center for collaborative research, Tokyo medical university, Kasumigaura hospital, Ami, Ibaraki, Japan.

Antiviral Res. 2008 Dec; 80(3): 354-9.

It has been suggested that prescription of oseltamivir phosphate in humans affected the results of hemagglutinin-inhibition test. To investigate these events further, the amount of oseltamivir phosphate and oseltamivir carboxylate in sera taken from oseltamivir - administered persons, were quantified by LC-MS/MS system. The analysis revealed that the amounts of oseltamivir carboxylate taken at 4 and 7 hours after administration were greater than those of at 24 hours after administration. Flow cytometry analyses revealed that oseltamivir carboxylate or oseltamivir phosphate added in sera affect the expression level of sialic acid alpha-2,3-Gal

linkage on horse erythrocytes, however no striking differences were observed with chicken erythrocytes. Moreover, addition of oseltamivir phosphate or oseltamivir carboxylate may cause the pseudopositive results in hemagglutinin-inhibition and microneutralization assays. These results suggest that the pseudopositive results in hemagglutinin-inhibition tests can be occurred by the presence of oseltamivir carboxylate or oseltamivir phosphate, mainly oseltamivir carboxylate, and that the events described here were interlocked to the reduction of lectin-specific sialic acid receptors located on the cell surface.

オセルタミビルのヒトにおける服用がインフルエンザ抗体検出試験 (HI 試験) に影響を与えることについて調査を行うため、オセルタミビル投与後の健常人血清とウイルス抗原 (A/chicken/Ibaraki/1/05 株) を用いてフローサイトメーターにより赤血球表面の糖鎖分布を解析した。本ウイルスのレセプターであるシアル酸はウイルス存在時には減少したが、オセルタミビ

ルが反応系内に存在するとその減少が抑制された。また、活性型オセルタミビルを段階希釈して HI 試験の操作を行うと擬陽性像が再現できた。これらのことから、オセルタミビルの存在により HI 試験において擬陽性反応が起きること、またその機序については赤血球表面におけるシアル酸の発現量と関連があることが示された。

一般住民のインフルエンザ予防接種と H5N2 鳥インフルエンザウイルス中和抗体

緒方 剛¹, 山崎 良直², 岡部 信彦³, 中村 好一⁵, 田代 真人⁴, 永田 紀子¹, 板村 繁之⁴,
安井 良則³, 中島 一敏³, 土井 幹雄¹, 泉 陽子¹, 藤枝 隆¹, 大和 慎一¹, 川田 諭一¹

¹ 茨城県 保健福祉部, ² 茨城県衛生研究所, ³ 国立感染症研究所 感染症情報センター

⁴ 国立感染症研究所 ウイルス 3 部, ⁵ 自治医科大学 公衆衛生学教室

厚生指標 2009 56 ; 33-38

目的 一般住民において、インフルエンザ予防接種歴や年齢が H5N2 中和抗体陽性と関連しているかについて検討を行う。

方法 一般住民 165 名を調査対象とした。年齢、養鶏場従事歴、過去 1 年間のインフルエンザ予防接種歴およびインフルエンザ罹患歴などの変数に対して、H5N2 中和抗体価をマン・ホイットニー検定で比較した。インフルエンザ予防接種歴のある者とない者について、H5N2 中和抗体価の陽性率を計算した。変数の H5N2 中和抗体価への関連を調べるため、ロジスティック回帰分析を用いてオッズ比を計算した。

結果 H5N2 中和抗体陽性率は、予防接種歴のある対象では 16%、予防接種歴のない対象では 6%であり、各年齢層でもまた養鶏場従事の有無に分けても、予防接種歴のある者は接種歴がない者よりも高かった。インフルエンザ予防接種歴のある者の調整をしないオッズ比は 3.3 (95%信頼区間: 1.1 - 9.8), 調整オッズ比は 3.9 (95%信頼区間: 1.1 - 14.2), 40 歳以上の者の調整をしないオッズ比は 8.8 (95%信頼区間: 1.1 - 68.9), 調整オッズ比は 8.5 (95%信頼区間: 0.99 - 72.9)であった。

結論 一般住民において、インフルエンザ予防接種歴は H5N2 中和抗体陽性と関連していた。

Human H5N2 avian influenza infection in Japan and the factors associated with high H5N2-neutralizing antibody titer.

(日本におけるH5N2 亜型トリインフルエンザウイルスのヒトにおける感染とそれに関連する中和抗体価について)

Ogata T, Yamazaki Y, Okabe N, Nakamura Y, Tashiro M, Nagata N, Itamura S, Yasui Y, Nakashima K, Doi M, Izumi Y, Fujieda T, Yamato S, Kawata Y.

J. Epidemiol. 2008 18(4): 160-166.

Background: H5N2 avian influenza virus infection of humans has not been reported thus far. The first H5N2 avian influenza infection of poultry in Japan occurred in Ibaraki. Methods: The subjects were workers at 35 chicken farms in Ibaraki Prefecture, where the H5N2 virus or antibody was isolated from chickens. None of the subjects exhibited influenza symptoms. The H5N2-neutralizing antibody titers of the first and second paired sera samples were compared. To investigate the possible factors for this increase, the H5N2-neutralizing antibody titer (1:40 or more) was calculated for the second samples. A logistic regression analysis was performed to examine the association of these factors with H5N2-neutralizing antibody positivity. Results: We performed Wilcoxon matched-pairs signed-ranked test on data collected from 257 subjects, and determined that the H5N2 antibody titers of the second paired sera samples were significantly higher

than those of the first samples ($P < 0.001$). The H5N2 antibody titers of paired sera of 13 subjects without a history of seasonal influenza vaccination within the previous 12 months increased 4-fold or more. The percentage of antibody positivity was 32% for subjects with a history of seasonal influenza vaccination (28% of all subjects) and 13% for those without a history of the same. The adjusted odds ratio of H5N2-neutralizing antibody positivity was 4.6 (95% confidence interval: 1.6-13.7) for those aged over 40 and 3.1 (95% confidence interval: 1.6-6.1) for those with a history of seasonal influenza vaccination within the previous 12 months. Conclusion: The results suggest that this may have been the first avian influenza H5N2 infection of poultry to affect humans. A history of seasonal influenza vaccination might be associated with H5N2-neutralizing antibody positivity.

茨城県において発生した高病原性鳥インフルエンザの防疫作業に従事した人々が H5N2 亜型ウイルスに感染しているかを調査するため、養鶏従事者から 257 件のペア血清を採取し中和抗体価を比較したところ、2 回目採取時における血清の抗体価は 1 回目のそれより有意に高かった。抗体価の上昇が 4 倍以上の 13 件についてはインフルエンザワクチン接種歴がなかった。インフルエンザワクチンを接種した群(全体の 28%)では抗体陽

性率は 32%、接種歴のない群では 13%であった。40 歳以上における H5N2 中和抗体価陽性率のオッズ比は 4.6 であり、12 ヶ月以内にインフルエンザのワクチン接種した人々におけるそれは 3.1 であった。これらのことから、H5N2 インフルエンザウイルスがヒトに感染する可能性があること、また、インフルエンザワクチンの接種と H5N2 亜型ウイルスに対する中和抗体価陽性という現象に関連があることが示唆された。

The associated markers and their limitations for the primary screening of HCV carriers in public health examinations

住民検診におけるHCVキャリアの一次スクリーニングに用いる関連マーカーとスクリーニングの限界

Teruo Miyazaki,^{1,2} Akira Honda,^{1,2} Tadashi Ikegami,³ Takashi Hara,⁴ Yoshifumi Saitoh,³ Takeshi Hirayama,³ Mikio Doy⁵ and Yasushi Matsuzaki^{1,3}

¹Department of Development for Community Medicine, Tokyo Medical University, ²Center for Collaborative Research, ³Department of Internal Medicine, Division of Gastroenterology and Hepatology, Tokyo Medical University Ibaraki Medical Center, Ami, ⁴Ibaraki Prefectural Institute of Public Health, Mito, and ⁵Ibaraki Prefectural Central Hospital, Kasama, Ibaraki, Japan

Hepatology Research 39,664-674(2009)

Aim: Although the anti-hepatitis C virus (HCV) antibody test has been recommended to the whole Japanese population, most countries have not implemented it. The present study aims to re-evaluate the usefulness of makers examined in the general health examination for the initial screening of HCV carriers.

Methods: Of the overall population, 25142 individuals (8876 males, 16266 females) participated in health examinations with HCV tests in 2005, and the most commonly associated makers for HCV-positive subjects were explored by multivariate analysis, based on blood biochemical, physical, sphygmomanometric and hematological parameters. Thereafter, the efficiencies of the makers were estimated from a total population of 85013 individuals (29502 males, 55511 females) in 2003-2005.

Results: The most significantly associated markers for HCV positivity were aspartate aminotransferase (AST) and alanine aminotransferase (ALT). Optimal limits of ALT and AST by receiver-operator characteristic (ROC) analysis were 24 and 27 IU (male,33 and 28 IU ; female, 22 and 26 IU), respectively. However, one-quarter of HCV carriers were not found to be positive using the optimal limits of aminotransferases.

Conclusion: The present study confirmed the limitation of serum aminotransferase levels as makers of HCV for primary screening. Therefore, at present, an anti-HCV antibody test is required for the efficient screening of HCV carriers in all health examinations.

Key word: aminotransferases, HCV, health examinations

要 旨

【目的】

わが国では抗 HCV 抗体テストを勧奨しているが、ほとんどの国では行われていない。この研究の目的は、HCV キャリアの一次スクリーニングのために住民検診で実施されているマーカーの有用性を再評価することである。

【方法】

2005 年の住民検診全受診者のうち 25,142 人（男 8,876 人，女 16,266 人）が HCV テストを受けた。HCV テスト陽性者については、血液生化学的、血液学的検査項目等のごく一般的な関連マーカーについて多変量解析により詳しく調べた。その後、これらのマーカーの有用性について、2003-2005 年に行われた検診の全受診者 85,013 人（男 29,505 人，女 55,511 人）のデータを用いて評価した。

【結果】

HCV 陽性者を発見するための最も有用性の高い関連マーカーは、AST と ALT であった。ROC 解析により得られた最適な閾値は ALT が 24IU，AST 27IU であった。しかし、HCV キャリアの 25%は、この閾値では検出できなかった。

【結論】

この研究によって、一次検診で HCV キャリアを発見するために血清 aminotransferase レベルでスクリーニングするには限界のあることが裏付けられた。よって、現在ではすべての健康診断において、HCV キャリアの効果的なスクリーニングには抗 HCV 抗体テストが必要とされている。

Quantitation of viral load by real-time PCR-monitoring the Invader reaction
PCR-インベーター法によるウイルス量定量法の開発

Kenichi Tadokoro¹, Toshikazu Yamaguchi ¹, Toru Egashira ¹ and Takashi Hara²

¹Development of Clinical Genomics, BML, Inc. Saitama, Japan

²Ibaraki Prefectural Institute of Public Health, Ibaraki, Japan

J Virol Methods 155,182-186(2009)

With its broad effective range for fluorescence detection, real-time PCR is one of most valuable techniques for quantitation in molecular biology. A modified real-time PCR assay is described for determining viral load. The assay uses fluorescence to measure the number of PCR amplicons by monitoring the Invader reaction in four steps in the thermal cycle. The Invader reaction with its cleavase was performed at moderate temperature after the amplicon

was denatured at a high temperature. The method was as effective as real-time PCR with a TaqMan probe in determining the quantity of virus in samples of human papillomavirus type 16. Importantly, the assay allows the use of a common probe for multiple reactions. Thus, this method is a rapid inexpensive assay with common fluorescence probe that does not depend on the conformation of the target DNAs.

蛍光検出のための幅広い有効測定範囲をもつリアルタイム PCR 法は、分子生物学において最も役に立つ定量法の1つである。この研究では、リアルタイム PCR 法の一部を変えたウイルス量の測定法を紹介する。この方法は、PCR 反応系の中にインベーター反応を組入れ、インベーター反応によって発光する蛍光をモニターすることによって PCR 産物の数を測定する。インベーター反応は、増幅された DNA が高温

で変性された後、酵素 cleavase を使って中程度の温度で行われる。この方法は、ヒトパピローマウイルス 16 型のウイルス量の測定において TaqMan probe を使ったリアルタイム PCR 法と同程度の性能を有した。このように、PCR インベーター法は、複合反応でもふつうの probe の使用が可能な迅速かつ安価な使いやすい測定系である。

第 6 章 研究報告書要旨

首都圏及び近郊における薬剤耐性HIVの調査研究

原 孝¹，増子京子¹，人見重美²，大石 毅³，今井一穂⁴，
片岡俊輔⁵，内田和江⁶，浅川洋美⁷，畔上由佳⁸

¹茨城県衛生研究所，²筑波大学大学院人間総合科学研究科，³東京医科大学茨城医療センター
感染症科，⁴栃木県保健環境センター，⁵宇都宮市衛生環境試験所，⁶埼玉県衛生研究所，
⁷山梨県衛生公害研究所，⁸長野県環境保全研究所

厚生労働科学研究費補助金エイズ対策研究事業「薬剤耐性 HIV の動向把握のための
調査体制確立及びその対策に関する研究」(研究代表者 杉浦 互 国立感染症研究所
エイズ研究センター第2研究グループ長)平成20年度総括・分担研究報告書 100-102

要 旨

東京や大阪などの大都市では HIV 感染者 / AIDS 患者の報告数が多く，また，未治療の感染者等からは薬剤耐性 HIV が高い割合で検出されており，周辺地域や地方への拡散が懸念されている。首都圏及び近郊を調査対象地域する当グループは，今年度，新たに1つの地方衛生研究所と1つのエイズ拠点病院の協力を得て，調査体制の充実を図った。

地方衛生研究所の18検体(保健所由来)及びエイズ拠点病院の8検体，合計24の未治療検体について耐性変異の検出を試みた結果，薬

剤耐性変異は認められなかった。しかし，捕捉率が28.7%(平成19年)であるため，当地域における耐性変異の発生動向を正しく反映していない虞があり，調査体制の一層の充実が急務である。

サブタイピングの結果，3つのタイプが検出された。B型が17検体(70.8%)と最も多く，次いで CRF01_AE が6検体(25%)，CRF02_AG が1検体(4.2%)であった。当地域は，全国的にみて CRF01_AE の頻度が高い特異な地域であるといえる。