

## IV 調査研究の概要

## 調査研究の概要

### 1. 保健科学課 保健科学係

調査研究名	研究の概要
<p><b>タンデム質量分析計によるスクリーニング・システム構築に関する研究</b></p> <p>研究担当者： 野町祥介、雨瀧由佳、吉永美和</p> <p>研究期間： 平成 20 年度から 2 年間</p>	<p><b>【目的】</b> 現行のろ紙血液を用いる新生児代謝異常等検査に、タンデム質量分析計による検査法を導入することで、見出しうる代謝異常疾患を増やし、新生児マス・スクリーニング事業の効果を高めることを目的として、新しい札幌市のスクリーニング・システムを構築する。</p> <p><b>【方法】</b> 2005 年 4 月から「タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」に基づいて研究を開始した。2010 年度は、5 年間の研究成果を踏まえ、本検査の事業化を行った。変更点等を以下にまとめる。</p> <p>(1) 関連要綱・要領：名称を「先天代謝異常等検査実施要綱・要領」から「新生児マス・スクリーニング実施要綱・要領」に変更し、対象疾患を 6 疾患から 26 疾患に拡充した。これに伴い、「タンデム質量分析計による新生児マス・スクリーニングの研究実施要領」を廃止した。また、追跡調査実施要領、連絡会議実施要領もこのたびの事業化に合わせて改訂した。</p> <p>(2) リーフレット：母子健康手帳交付時の「新生児マス・スクリーニングのお知らせ」と題する広報用リーフレットを改訂した。</p> <p>(3) パンフレット・申込書：事業化に伴う内容変更を実施した。申込書は、保護者の自由意思に基づいて、追加対象 20 疾患の拒否が可能な様式とした。</p> <p>(4) ホームページ：事業化に伴い内容を更新した。</p> <p>(5) 保健センター向け冊子類：保健センター職員向けの「新生児マス・スクリーニング Q&amp;A」と「新生児マス・スクリーニングの手引き」の内容を更新し、配布した。</p> <p>(6) マス・スクリーニングニュース第 17 号の発行：従来発行している市内の医療機関向け広報媒体で、このたびの事業化に関して、周知と啓発を目的としたものを発行・配布した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 札幌市の新生児マス・スクリーニング対象疾患を 26 に拡充することができた。これによって全国でももっとも充実した検査の提供が可能となった。なお、当該検査の事業化は 2010 年 4 月にこれを行った大阪市に次いで国内で 2 番目。</p>
<p><b>血中多種アミノ酸及び尿中アシルカルニチン・アミノ酸分析法の検討</b></p> <p>研究担当者： 野町祥介</p> <p>研究期間： 平成 20 年度から 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 代謝異常依頼検査でハイリスク児、もしくはスクリーニング精査例について、化学補助診断の一端として、精度の高い血中・尿中多項目アミノ酸及び尿中アシルカルニチンの分析を行うため、これらのタンデムマスを用いた簡易分析法を構築する。</p> <p><b>【結果及び考察】</b></p> <p>(1) 各アミノ酸の添加回収試験結果 4 濃度の Ctrl 尿検体を作製し、それぞれ n=6 で測定を行った。平均回収率は、Gly 49.1%、Ala 46.0%、Ser 46.7%、Val 42.9%、Thr 61.9%、Leu+Ile 77.4%、Lys 76.8%、Phe 56.7%、Tyr 79.0%、Asp 53.2%、Glu 62.7%、Orn 58.7%、Met 48.2%、Arg 48.5%、Cit 4.5%であった。</p> <p>(2) 直線性の検討 4 濃度の Ctrl 尿検体による測定値：理論値の直線性は良好だった。</p> <p>(3) AccqTag 法との相関 かつて AccqTag 法により測定後、凍結保存していた尿検体について、本</p>

	<p>法で測定した。</p> <p>良好な相関を示したもの：Gly、Ala、Phe、Tyr、Lys、Ser、Thr  相関が良好とは言えなかったもの：Asp、Leu+Ile、Glu、Val、Arg</p>
<p><b>代謝異常症依頼検査システムの構築</b></p> <p>研究担当者： 野町祥介、吉永美和</p> <p>研究期間： 平成 21 年度から当分の間</p>	<p><b>【目的】</b> 有用性の高い各種先天性代謝異常症の化学的補助診断システムを確立する。</p> <p><b>【方法】</b> 医療機関の依頼に基き、新生児マス・スクリーニング精査例及び臨床症状等から代謝異常疾患が疑われる例について、タンデム質量分析計による血中アミノ酸・アシルカルニチン分析、GC/MS による尿中有機酸分析を中心とした特殊検査により、診断補助・患者フォローに貢献できるデータを提供する。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 代謝異常依頼検査では例年通り毎月 50～80 件程度の依頼があり、2010 年度の主な国内補助診断症例とその代表的検査指標について示す。  (1) ピルビン酸デヒドロゲナーゼ欠損症：尿中 Pyruvate 高値、血中乳酸・ピルビン酸高値  (2) オキソプロリン尿症：尿中オキソプロリン高値  (3) プロピオン酸血症：血中プロピオン酸高値、アセチルカルニチン/アセチルカルニチン比高値、尿中メチルケトン酸高値；タンデム見逃し例  (4) MELAS (2 例)：PCR-RFLP 法による mtDNA 病因変異確認  (5) SCOT 欠損症：尿中ケトン体高値 (特に butyric)  なお、(5) の症例については、保護者の同意に基づいて北海道薬剤師会検査センターが保管する新生児マス・スクリーニング検査済検体による追加検査を実施したが、異常所見は認めなかった。</p> <p>また、本年度から、倫理審査委員会の助言に基づき、保護者から当該検査、及び追跡調査、検体の保管と二次利用に関する同意文書を書面により取得することとした。これによって、当該依頼検査の説明機会の確保と、検体の他の研究への利用に関する環境が整備された。</p>
<p><b>スクリーニング対象疾患における酵素診断法の構築に関する研究</b></p> <p>研究担当者： 雨瀧由佳、野町祥介</p> <p>研究期間： 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 札幌市におけるタンデム質量分析計による新生児スクリーニングで対象疾患が疑われた児を円滑に確定診断に導き、かつ「酵素診断法を複数の検査機関が保有する」という全国的な診断支援体制の一環を担うため、早期確定診断の重要性が高い中鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 (MCADD)、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素欠損症 (VLCADD) についての酵素診断法のプロトコールの検討を行い、診断のための測定系が施設として維持できる適切な方法であるかどうか等を含めて検討する。</p> <p><b>【方法】</b> MCADD と VLCADD の酵素診断法を広島大学の但馬先生のプロトコールを応用し、検討する。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 本研究のために必要な全血からの白血球抽出法について、血液分離キット Lympholyte (CEDARLANE) を試したところ、ある程度良好であった。また、白血球数計算は、希釈ペレットをノイバウエル計算版により目視カウントすることで可能であった。</p>
<p><b>1 歳 6 か月児を対象とした神経芽細胞腫スクリーニング事業の有用性の検討</b></p> <p>研究担当者： 吉永美和、太田優、</p>	<p><b>【目的】</b> 札幌市の神経芽細胞腫スクリーニング事業は、6MS で発見される予後良好例の過剰診断・治療を低減し、2 歳から 4 歳で発症する予後不良例を効果的に発見することを目的として、平成 18 年度から 1 歳 6 か月児を対象として実施している。本研究では、市内の神経芽細胞腫患者症例の確実な捕捉により、この目的が達成されているかどうか検証するとともに、18MS</p>

<p>花井潤師</p> <p>研究期間： 平成 21 年度から当分の間</p>	<p>導入後の札幌市の正確な罹患率、死亡率の把握及びスクリーニングを実施していない地域との比較検討を行い、スクリーニングの有効性を検証する。</p> <p><b>【方法】</b> 札幌市における 18MS のデータをまとめ、発見患児に関する治療状況などの情報を収集した。また、小児慢性特定疾患医療意見書を閲覧し、神経芽細胞腫に関する情報を収集した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 18MS 開始後 5 年目となり、これまでのスクリーニングの結果についてまとめた。 18MS の有効性を評価するために、小児慢性特定疾患医療意見書を調査した結果 2009 年度までの申請のうち 18MS で見逃した例は見つからなかった。また、共同研究者である西先生が収集しているデータにおいても 18MS 見逃し例は確認されなかった。</p> <table border="1" data-bbox="590 694 1380 862"> <thead> <tr> <th>期間</th> <th>受検者数</th> <th>精密検査数</th> <th>患者数</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>2006 年 4 月-2010 年 3 月</td> <td>40,478</td> <td>21</td> <td>12</td> </tr> <tr> <td>2010 年 4 月-2010 年 12 月</td> <td>7,913</td> <td>3</td> <td>1</td> </tr> <tr> <td>全 体</td> <td>48,391</td> <td>24</td> <td>13</td> </tr> </tbody> </table> <p>18MS で発見された患者は 6MS、14MS と比べ、進行例の割合が多くなった。</p> <table border="1" data-bbox="590 963 1380 1041"> <thead> <tr> <th>患者 No.</th> <th>原発部位</th> <th>INSS 病期</th> <th>治療</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>13</td> <td>右副腎</td> <td>1</td> <td>全摘</td> </tr> </tbody> </table>	期間	受検者数	精密検査数	患者数	2006 年 4 月-2010 年 3 月	40,478	21	12	2010 年 4 月-2010 年 12 月	7,913	3	1	全 体	48,391	24	13	患者 No.	原発部位	INSS 病期	治療	13	右副腎	1	全摘
期間	受検者数	精密検査数	患者数																						
2006 年 4 月-2010 年 3 月	40,478	21	12																						
2010 年 4 月-2010 年 12 月	7,913	3	1																						
全 体	48,391	24	13																						
患者 No.	原発部位	INSS 病期	治療																						
13	右副腎	1	全摘																						
<p>クレチン症スクリーニングシステム精度評価のための研究</p> <p>研究担当者： 藤倉かおり、田上泰子</p> <p>研究期間： 平成 21 年度から 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> クレチン症の診断精度向上とより効果的なスクリーニングシステムの再構築</p> <p><b>【方法】</b> ①クレチン症スクリーニング陽性例の児とその母の尿中ヨードの測定 クレチン症スクリーニング陽性例において、医療機関で行う精密検査の一環として採取した母児の採血ろ紙と尿を当所に送付する。当所では、ろ紙血中の甲状腺刺激ホルモン（TSH）、遊離サイロキシン（FT4）、尿中のヨード濃度、クレアチニン濃度を測定し、母児の甲状腺検査データとヨード測定データ、スクリーニング検査データ、精密検査データ、診断データを照合することで疫学的な検証を行う。 ②クレチン症スクリーニング正常例の尿中ヨード測定 新生児での尿中ヨード範囲について知見を得る目的で、NTT 東日本札幌病院産婦人科にて出生した生後 4～6 日目の児とその母親約 50 組を対象として、尿中ヨード濃度を測定する。また、児の母親に対してはアンケート調査票に記入してもらい、母親のヨード摂取状況等についても調べる。尿とアンケート調査票は随時当所へ送付されるものし、当所において ICP 発光分光分析法によりヨード濃度を測定する。得られた測定データおよびスクリーニング検査時の甲状腺機能検査データから、尿中ヨード濃度レベルの分布を調べる。また、健常児における尿中ヨードと甲状腺機能の関連についても調べる。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> アンケート集計の結果、昆布などヨード含有飲食物の摂取頻度、ヨード含有サプリメントの服用頻度、ヨード含有消毒剤によるうがいの頻度による尿中ヨード値に目立った差は見られなかった。子宮卵管造影検査の造影剤によるヨード負荷のあった母とその児で尿中ヨードが高くなっているケースがあったが、分布としては造影検査受検の有無による差は見られな</p>																								

	<p>かった。健常新生児とその母における尿中ヨードの基準範囲はそれぞれ&lt;math&gt;17 \mu\text{g}/\text{mgCre}&lt;/math&gt;、&lt;math&gt;&lt;2.6 \mu\text{g}/\text{mgCre}&lt;/math&gt;と推定された。</p> <p>②の検討で得られた健常児とその母のヨードレベルを、①のスクリーニング陽性例と比較した結果、健常児における中央値1.2に対し、要精密検査児では5.2と高値を示し、ヨード負荷による一過性高TSHがかなりの割合で存在することが示唆された。一方、健常児の母と要精密検査児の母の比較では、両者の分布に目立った差はみられなかった。</p>
<p><b>先天性副腎過形成症スクリーニングの精度向上に関する研究</b></p> <p>研究担当者： 藤倉かおり、田上泰子</p> <p>研究期間： 平成22年度から23年度</p>	<p><b>【目的】</b> 先天性副腎過形成症（CAH）スクリーニングの偽陽性率を減少させ、より精度の高いスクリーニングシステムを構築することを目的とした二次検査法の検討を行う。</p> <p><b>【方法】</b> タンデム質量分析計 Waters Quattro Premier XE を用いて、新生児ろ紙血中の下記のス��ロイドについてタンデム質量分析計による測定条件の検討を行なう。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・17-OHP</li> <li>・<math>\Delta</math>4-アンドロステンダイオン(4-AD)</li> <li>・コルチゾール(F)</li> <li>・11-デオキシコルチゾール(11-DOF)</li> <li>・21-デオキシコルチゾール(21-DOF)</li> </ul> <p><b>【結果及び考察】</b></p> <p>1) 分析条件 エレクトロスプレーイオン化法 MRM ポジティブモード、キャピラリー電圧:3.0kV、脱溶媒ガス 1000L/hr、イオン源ヒーター:120℃で検討した。保持時間 2.2 分に F、2.4 分に 21-DOF、2.6 分に 11-DOF、2.8 分に 4-AD、3.0 分に 17-OHP のピークが観測され、1 検体あたり平衡化も含め 9 分で測定可能であった。測定器の検出限界はそれぞれインジェクションあたり 0.25、0.05、2.5、0.5、2.5 pg であり、200ng/ml までの直線性は良好であることを確認した。</p> <p>2) ろ紙血からのサンプル調整方法の検討について 現行スクリーニングの確認検査で実施している HPLC 測定では、ろ紙血を水に溶出後にエーテル抽出していたが(従来法)、文献を参考に、より簡便な、ろ紙血から直接有機溶媒(80%アセトニトリル/水)で抽出する方法を検討した。この結果、両法の感度、直線性に大差はなかったことから、操作の簡便なアセトニトリル溶液で抽出する方法で今後の検討をすすめることとした。</p> <p>3) ろ紙からの回収率 活性炭でステロイド成分を除去した血清に5種の対象ステロイドを添加し、等量の血球を加えて作成した全血値5、20、100ng/mlの血液ろ紙により回収率を計算した。濃度5 ng/mlでの回収率は100%を超える場合が多かった。濃度20および100 ng/mlの回収率は79~225%であった。</p> <p>4) 17-OHPのHPLC法との相関 新生児ろ紙血液検体でHPLC法による17-OHP確認検査を行う検体について同時にタンデム質量分析計での17-OHP測定を行った。両法とも、ELISAキットに添付されている内部精度管理検体を標準検体として検量線を作成して定量した。良好な相関であった。</p> <p>5) 新生児における5種のろ紙血中ステロイドの分布 対象ステロイド5種を定量するために、CDC(アメリカ疾病予防センター)から送付されるキャリブレーション用血液ろ紙9点(0~150 ng/ml serum)を標準検体として使用した。ELISAで17-OHP&gt;5.5であった日齢4~6の新生児ろ紙血137件における5種のステロイドの平均値、中央値、最小値・最大値は表4のとおりであった。</p>

表4 ELISAで17-OHP>5.5であった新生児検体(日齢4-6)のステロイド分布

	n	平均	中央値	範囲(最小値~最大値)
F	137	83.4	42.6	0.0 ~ 594.7
21-DOF	137	0.0	0.0	0.0 ~ 0.7
11-DOF	137	1.5	1.1	0.0 ~ 13.3
4-AD	137	0.7	0.1	0.0 ~ 7.6
17-OHP	137	1.6	0.7	0.0 ~ 28.2

単位:ng/ml serum

分煙実施施設職員の受動喫煙状況の調査

研究担当者：  
花井潤師、吉永美和、  
太田優、

研究期間：  
平成22年度から23年度

【目的】

分煙を推進している本市の公共施設を対象として、健康増進法第25条に規定する受動喫煙防止対策の有効性について、就業する職員の受動喫煙状況を科学的に評価を行い、より効果的な分煙環境に改善していく。なお、今年度はすべて大気検査係で研究を実施した。

【方法】

- 調査期間：H22.11.5～11.29
- 対象施設：本市庁舎3施設10喫煙室
- 測定項目：喫煙本数、喫煙時間帯、浮遊粉じん、一酸化炭素、気流（風向・風速）、ニコチン等

【結果及び考察】

厚生労働省の「職場における受動喫煙防止対策ガイドライン」に示された室内空気環境の基準と照らし合わせると、

- ①全ての喫煙室に隣接する事務室等の非喫煙場所に、受動喫煙の影響は見られなかった。
- ②全ての喫煙室において浮遊粉じん濃度の”0.15mg/m<sup>3</sup>以下”を超える時間帯があった。
- ③喫煙本数及び喫煙時間と浮遊粉じん濃度にはほぼ良好な相関が認められた。
- ④喫煙本数及び喫煙時間とニコチン濃度にはあまり良い相関は認められなかった。
- ⑤喫煙室の排気処理能力については、不足している喫煙室があった。
- ⑥最大喫煙許容人数について浮遊粉じん濃度を基準として算出したところ、時間平均喫煙者数に対しては全ての喫煙室がクリアできたものの、時間最大喫煙者数に対しては全ての喫煙室がクリアできなかった。

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）（主任研究者：稲葉洋平 国立保健医療科学院）の研究費の補助を受けて実施した。

胆道閉鎖症スクリーニングの有用性の検討

研究担当者：  
花井潤師、林 康一、吉永美和

研究期間：  
平成22年度から当分の間

【目的】

札幌市の胆道閉鎖症スクリーニングは、2001年度（平成13年度）から、生後1か月の乳児を対象に、便色調カードを用いて保護者が便の色調を判定することで実施している。

本研究では、追跡調査の結果を元に、札幌市における本症の発生頻度、患者の治療成績、予後など調査し、スクリーニングの有効性を検証する。

【方法】

スクリーニングの有効性を疫学的に検討するため、以下の基礎データを収集する。

- 1) 便色調番号の回答数を集計し、精査例の特徴を調べる。
- 2) 追跡調査結果を元に、札幌市で発見された患児の予後、肝移植、合併症などを調査する。
- 3) 平成17年度以降の追跡調査結果を元に、胆道閉鎖症患児のスクリーニング履歴、手術日時、肝移植術施行者数などの調査する。

	<p><b>【結果及び考察】</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 便色調番号の異常を示す3を含む回答のあった49例では、単色の回答数が15例(31%)でその他は複数色の回答であった。</li> <li>2) 札幌市で発見された患児8例のうち、4例は6か月から1歳7ヶ月で肝移植を施行した。また、8例中3例が何らかの合併症を有していた。</li> <li>3) 平成17年度以降の追跡調査で確認された患児は41例であった。スクリーニングを受検した患児は合計12例で、判定が陽性と陰性だったものがそれぞれ6例ずつであった。また、肝移植術施行者数もそれぞれ3名ずつであった。</li> </ol>
<p><b>重症複合型免疫不全症の新生児スクリーニング法の検討</b></p> <p>研究担当者： 野町祥介、吉永美和</p> <p>研究期間： 平成21年度から当分の間</p>	<p><b>【目的】</b></p> <p>重症複合型免疫不全症は、易感染性を呈し、早期診断、早期治療を行わなければ致命的になる疾患である。しかし、診断がつけば、抗菌剤の投与、ガンマグロブリンの定期補充などにより感染症の予防が可能であり、さらに幹細胞移植により根治的な治療も期待できる。そこで、乾燥濾紙血液による重症複合型免疫不全症の簡便迅速で多検体処理が可能な測定法を確立して新生児スクリーニングへの応用を検討する。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>リアルタイム定量PCR法により、スクリーニングの指標であるTCR-rearrangement excision circles(TRECS)の高感度検出法により行う。 (DNA抽出) Generation Capture Card Kit (Quiagen)を使用。 (qPCR) Fast SYBRG 使用。プライマーは J Mol Med 2001;79:631 で示されている sjTREC primer を使用。</p> <p><b>【結果及び考察】</b></p> <p>1punchでpatientとNB(Normal newborn)の良好な分離を示した。2punchsでは逆に感度の不足を示すサンプルがあり、抽出過程の洗浄が不十分となる可能性が考えられた。</p>

## 微生物係

調査研究名	研究の概要
<p>食中毒事例及び感染症事例の パルスフィールド電気泳動パ ターン (PFGE) の解析につい て</p> <p>研究担当者：廣地 敬</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 細菌学的疫学指標の一つとしてパルスフィールド電気泳動パターン (PFGE) の解析は、食中毒事例では原因食品との因果関係を考察する上で、感染症事例では感染の関係を探る上で、有効活用されているところであり、当所で取扱った菌株の PFGE を蓄積しているところである。 また、昨年より EHEC O157 については IS Printing System (Version2) (TOYOBO) と併せて実施中である。</p> <p><b>【方法】</b> PFGE 法は国立感染症研究所ニュープロトコールに基づき実施し、泳動パターンを Fingerprinting II で解析し類似度を比較した。 EHEC O157 については、IS Printing System は取扱い説明書に従って実施した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> EHEC O111 は同一事例の 3 株で同じパターンを示していた。2004 年 2 株、2005 年 2 株、2006 年 2 株の保存株とも比較したが異なるパターンであった。 EHEC O157 は 12 株集まり PFGE と IS Printing System で解析した。PFGE で類似度 100% 一致したのは 3 例 7 株であった。 一例は親子の 2 株であり、残りの 2 例 5 株はそれぞれ同時期の発症であったが関係は不明であった。 PFGE で 100% 一致した株は IS Printing System の 1 st set、2nd set と同一のパターンを示した。 別の親子で PFGE の類似度 97.2% であった株の IS Printing System の結果は、1 st set で一箇所異なったところが確認された。 また、今回 PFGE と IS Printing System が同じパターンを示した 3 株については、2008,2009 年も一株ずつ検出されていた。 PFGE と IS Printing System は良く一致しているので確認のため併用していくことが望ましいと思われた。</p>
<p>結核菌の遺伝子型別について</p> <p>研究担当者：廣地 敬</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 本調査研究は平成 11 年 3 月から保健所と共同で「結核菌遺伝子分析研究事業」として実施しており、結核菌の遺伝子型分析を行うことにより、集団発生時における同一感染源の特定及び結核菌株の蔓延状況を把握するなど、結核予防対策に役立てることを目的としている。 結核菌の遺伝子型別検査法は RFLP 法により行ってきた。平成 20 年度から従来法よりも迅速検査が可能な PCR を用いた JATA(12)-VNTR 法を行っているが、RFLP 法に比べてクラスター形成率が高く解析能が劣っていると考えられた。 そこで、複数の Locus を追加することによって同等程度の解析能を有する組合せを検討した。</p> <p><b>【対象】</b> 過去の集団感染事例及び平成 17～22 年の結核陽性 260 株を用いた。</p> <p><b>【方法】</b> 財団法人結核予防会結核研究所「Kekkaku Vol.83, No.10:673-678, 2008」JATA(12)-VNTR 法に 6 箇所 Locus を追加して実施し比較した。 追加 Locus は 1982(QUB18)、2163a(QUB11a)、2165(ETR-A)、3820(VNTR3820)、4120(VNTR4120)、3232(VNTR3232)である。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 昨年までの統計をとると RFLP 法のクラスター形成率は約 31% であったのに対して JATA(12)-VNTR 法では、約 41% であった。 過去の集団感染事例においては JATA(12)-VNTR 法と 6 箇所の Locus</p>

を追加してもほとんど差異はみられなかった。  
 集団感染事例以外では JATA(12)-VNTR 法で同一のパターンであった 9 種・25 株中 2 種 4 株が同一由来の可能性があったが残り 7 種・21 株は異なると考えられた。  
 RFLP 法と同等のクラスター形成率を有する追加の組合せとして 1982(QUB18)、2165(ETR-A)、3820(VNTR3820)、4120(VNTR4120)の 4 箇所がコピー数も小さく判別しやすいことから良いと思われた。  
 今後、JATA(12)-VNTR 法でクラスター解析をし同一のパターンを示した場合に Locus を追加していくことが良いと思われる。  
 なお、今年度は 3 事例の検査依頼があり同室入院歴があった事例では同一のパターンを示したが残りの 2 事例は異なるものであった。

鶏肉における食中毒菌汚染調査と検査法についての研究

研究担当者：坂本裕美子

研究期間：平成 22 年度

**【目的】**

食肉を生あるいは生に近い状態で喫食することによる食中毒が最近増加傾向にある。そこで、鶏肉が原因で起こる食中毒の主な起因菌であるサルモネラ、カンピロバクターについて市販鶏肉を用い、

1. サルモネラ、カンピロバクター汚染調査
  2. 検査試料と増菌培養液の比率が検査結果に与える影響について
  3. 汚染鶏肉の冷凍保存による菌の消長について
- 以上 3 点について、調査研究を実施する。

**【方法】**

1. 産地、部位などが異なる市販鶏肉 5 種類を購入し検査試料 5 検体とし、食品衛生検査指針に準じた方法で目的細菌の検査を実施した。
2. サルモネラは試料が 2 倍、10 倍、100 倍に、カンピロバクターは 2 倍、5 倍、100 倍になる条件で培養液を調整し、目的菌の検出を調査した。
3. サルモネラまたはカンピロバクターに汚染されている鶏肉を -20℃ と -45℃ で保存し、1 週間、1 ヶ月、3 ヶ月、6 ヶ月、1 年経過後に培養検査を実施し、菌の消長を確認した。

**【結果及び考察】**

1. サルモネラは 5 検体中 3 検体から、カンピロバクターは 5 検体中 4 検体から検出され、鶏肉がこれらの菌に高率に汚染されていることを確認した。
2. サルモネラは試料を 10 倍にカンピロバクターは 5 倍に希釈した条件が菌を最も検出しやすい結果となり、試料と増菌培養液の比率が高くても低くても菌の検出率は悪くなり、試料と培養液は最適な条件で培養することが重要であることを確認した。
3. 結果を下記表に示す。

サルモネラ						カンピロバクター							
冷凍前	期間 温度	● 菌の発育を確認					冷凍前	期間 温度	● 菌の発育を確認				
		1週間	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	1年			1週間	1ヶ月	3ヶ月	6ヶ月	1年
●	-20℃	●	●	●	●	●	●	-20℃	●	●	●	●	●
	-45℃	●	●	●	●	●		-45℃	●	●	●	●	●

冷凍ストレスにより、サルモネラ、カンピロバクターは減少することを確認した。一方、1 ヶ月後に生存している試料は 1 年後も生存していることを確認し、冷凍ストレスに勝ち残った菌は長期間の低温環境下でも生存可能であることを確認した。冷凍温度は -20℃ よりさらに低温の -45℃ が菌の生存は良好であった。

<p>低温活性リゾチームを利用した低温増殖食品微生物の制御</p> <p>研究担当者：坂本裕美子</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 食品添加物としてニワトリ卵白リゾチームが利用されている。しかし、このニワトリ卵白リゾチームより低温で活性を示す低温活性型リゾチームを食品添加物として使用することができれば、チーズなどの低温で保存する食品には更に有効と考える。そこで低温活性型リゾチームの細菌に対する増殖抑制効果を調べることを最終目的に、まず卵白リゾチームの細菌に対する増殖抑制効果について調査する。</p> <p><b>【方法】</b> ニワトリ卵白リゾチームを 1μM～1mM まで数段階に濃度調製し、調査対象細菌として <i>Salmonella</i> <i>Infantis</i> を用い、寒天平板法による抗菌活性を調べる。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> ニワトリ卵白リゾチーム単独では抗菌活性が非常に弱い結果であった。このため、今後は抗菌ペプチドであるタキプレシンを併用して抗菌活性を調査する予定である。</p>
<p>札幌市におけるオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスのサーベイランス</p> <p>研究担当者：菊地正幸</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 2008/2009 シーズンに流行した季節性 A/H1N1 亜型インフルエンザウイルスは、そのほとんどが抗インフルエンザ薬オセルタミビル（商品名：タミフル）耐性であった。2009 年 4 月に発生した A/H1N1 新型インフルエンザウイルス(A/H1N1pdm)は、日本を含む世界中に広がり、オセルタミビル耐性 A/H1N1pdm 株の検出も報告された。 このような薬剤耐性インフルエンザウイルスの出現により、臨床現場では抗インフルエンザウイルス薬の選択等の治療方針に混乱が生じることが懸念される。また、日本は世界有数のオセルタミビル使用国であるため、耐性株発生状況を把握することが公衆衛生上重要であり、薬剤耐性サーベイランスを強化・継続して、速やかに臨床現場等に還元されることが望まれる。 本研究では、札幌市におけるオセルタミビル耐性株のサーベイランスとして、インフルエンザウイルス分離株の遺伝子解析を行い、感染症対策のための科学的データを得ることを目的とした。</p> <p><b>【方法】</b> 2010/2011 シーズンに感染症発生動向調査病原体検査定点から搬入された咽頭ぬぐい液から分離された A/H1N1pdm 型 88 株、A/H3N2 亜型 85 株について遺伝子解析を行った。A/H1N1pdm 分離株の遺伝子解析は、「H1N1pdm オセルタミビル耐性株検出法実験プロトコール（2010 年 11 月 ver.1）」（国立感染症研究所）に基づき One-step RT-PCR(TaqMan Probe 法)により実施し、耐性株が検出された場合には塩基配列を決定して H275Y 変異の有無を確認した。A/H3N2 分離株については、塩基配列を決定して E119V および R292K のアミノ酸変異の有無を調査した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> A/H1N1pdm 分離株について、耐性株が 1 株検出された。この事例は予防内服等については確認されていないが検体採取医療機関ではザナミビルが処方されていた。A/H3N2 亜型については、耐性マーカーをもつ分離株は無かった。札幌市におけるオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm の出現頻度は 1.1%(1/93)であった。全国的には、出現頻度は 1.8%(27/1521)であり(3 月 7 日現在)、多くの耐性 A/H1N1pdm は薬剤の選択圧により発生していると考えられている。以上より、耐性 A/H1N1pdm は、ヒト-ヒト間で効率よく伝播する性質を獲得していないと考えられる。また、オセルタミビル耐性 A/H3N2 亜型は全国的にも検出されておらず、出現頻度は A/H1N1pdm よりさらに低いと考えられる。</p>

<p>PCR法を用いた呼吸器系感染症起因ウイルスの検出法の検討</p>	<p><b>【目的】</b>  現在、札幌市感染症発生動向調査に伴う病原体検査においては、インフルエンザ・咽頭結膜熱・ヘルパンギーナ・手足口病が対象疾患（小児科定点等）とされており、ウイルス分離についてはこれらの原因ウイルスであるインフルエンザ・アデノウイルス・エンテロウイルス等を主にターゲットとして行っている。しかし、呼吸器系疾患の原因ウイルスとして、上記以外にヒトメタニューモウイルス（以下hMPV）・RSウイルス（以下RSV）など多数のウイルスがあり、当所ではこれらのウイルスについては検査方法が確立されていない。  そこで、PCR法によるhMPV、RSVの検出法について検討し、市内におけるこれらのウイルスの検出と流行状況の把握を目的とした。</p> <p><b>【方法】</b>  陽性コントロールを用いて検出系を整備し、2009年10月から2010年9月までに、感染症発生動向調査病原体検査定点(小児科)から搬入された咽頭ぬぐい液271検体について遺伝子検査を行い検出されたウイルスについて遺伝子解析を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b>  271検体のうちhMPVとRSVがあわせて44検体から検出され、検出率は16.2%であった。内訳として、hMPVに関しては21検体から検出され、検出率は7.7%(21/271)、RSVに関しては25検体から検出され、検出率は9.2%(25/271)であった。このうち重複感染が2検体あった。hMPV、RSVともに主な臨床症状は発熱で、平均39.0℃であり、また、23人に上気道炎、1人に下気道炎があった。(内訳：上気道炎hMPV11人、RSV12人、下気道炎RSV1人)hMPVの流行時期は4・6月の春から初夏にかけて多い傾向がみられた。RSVは、冬にかけて多いが1年間を通して検出された。  hMPVの遺伝子型は、21検体中20検体がサブグループA2、1検体がサブグループB2に分類された。RSVの遺伝子型は、25検体中21検体がサブグループA(genotypeGA2)、4検体がサブグループB(genotypeBA)に分類された。  今回の調査により、札幌市内でこれらのウイルスが流行していることが示唆された。hMPVは、迅速診断キットが販売されていないことから、今後も継続して発生動向を調査することが必要と考えられる。</p>
-------------------------------------	---

## 感染症検査担当

調査研究名	研究の概要
<p>新型インフルエンザウイルスに対するHI抗体価調査について</p> <p>研究担当者：扇谷陽子</p> <p>研究期間：平成21～22年度</p>	<p><b>【目的】</b>            新型インフルエンザ[インフルエンザ(H1N1) 2009]患者のHI抗体価についての疫学情報を得ることを目的として、患者血清を用いてHI抗体価調査を実施した。併せて、札幌市における成人の感染状況を把握するための疫学情報を得ることを目的として、流行前と流行期に採血された20・30歳代妊婦乾燥ろ紙血液を用いてHI抗体価調査を実施した。</p> <p><b>【方法】</b>            患者試料は、札幌市内の10医療施設を受診し、PCRまたは迅速検査A陽性であった患者のうち、インフォームド・コンセントを得られた97名の血清とした。このうち26名については、来院または入院時、および発症から1週間以上経過後に採血されたペア血清を用いた。残り71名については、発症から1週間以上経過後に採血された血清を用いた。            妊婦試料は、当所で行っている妊婦甲状腺機能検査を2009年4月～2010年1月までに受検した妊婦のうち、検査申込書において検査終了後の検体を他の研究等へ利用することを了承した者、期間内の各月20歳代と30歳代各50名、合計1,000名の乾燥ろ紙血液を用いた。            測定は、季節性インフルエンザウイルスに対するHI抗体価測定方法に準じ、4単位の不活化ウイルス(A/California/07/2009pdm X-179A)と0.5%七面鳥赤血球を用いて実施した。</p> <p><b>【結果と考察】</b>            患者について、免疫を獲得していると考えられる発症後22日以上経過後の採血が可能であった81名中78名(96%)のHI抗体価が40倍※1以上であった。ペア血清の検査が可能であった26名中19名の2回目のHI抗体価が、初回の4倍※2(2管)以上に上昇していた。上昇しなかった患者のうち6名は、2回目の採血が発症後7～14日と、2回目採血までの期間が短かった。            妊婦について、20歳代・30歳代とも、流行前(4・5月)に40倍※1以上の抗体を保有していた者が存在した(4月:20歳代4%、30歳代8%/5月:20歳代4%、30歳代4%)。両年齢群の月毎の40倍以上の抗体価の保有率が、流行前の4・5月それぞれと比較して有意に上昇(P&lt;0.05)した月は、2010年1月のみであった。1月採血者の保有する抗体は、感染症発生動向調査の結果と採血時期が妊娠早期であることから、感染由来によるものが大きいと考えられた。</p> <p style="text-align: right;">※1: 有効防御免疫の指標とされている抗体価            ※2 抗体価が有意に上昇したと考えられる倍数</p>

## 2. 生活科学課 食品化学係

調査研究名	研究の概要
<p><b>動物用医薬品分析法の検討 (1.一斉分析法の検討)</b></p> <p>研究担当者: 竹下紀子</p> <p>研究期間: 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 本研究では、新規の残留動物用医薬品検査を収去検査に取り込むため、本所の状況に合った一斉分析法を検討することを目的とする。</p> <p><b>【方法】</b> 厚生労働省から通知された「HPLC による動物用医薬品等の一斉分析法Ⅲ」に基づいて添加回収試験を行い、標準作業書を作成した。その他試験法の改良を検討した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 食肉を一斉分析法Ⅲに従って抽出し、抽出液を希釈して LC/MS/MS により添加回収試験を行ったところ、豚筋肉 25 項目、牛筋肉 23 項目、鶏筋肉 21 項目についてマトリックス標準液を用いずに良好な結果を得ることができた。これを元に標準作業書を作成した。 また、SUPELCO 社製 HybridSPE™を用いた前処理法について検討を行い、添加回収試験で有望な結果が得られた。</p>
<p><b>動物用医薬品分析法の検討(2. ニトロフラン類の分析法の検討)</b></p> <p>研究担当者: 小金澤望</p> <p>研究期間: 平成 21 年度～平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> H17 年度より施行されたポジティブリスト制度により、約 200 種類の動物用医薬品に対して規格基準が設定された。本研究では動物用医薬品のうち、特に一斉分析法の対象になっていないものについて、本所の現状に合った検査法を検討する。最終的にはルーチン検査(収去検査)のための SOP 作成を目的とする。</p> <p><b>【方法】</b> 平成 22 年 12 月の法改正により、告示法についても同等以上の性能を有すると認められる試験法による試験が可能となった。このため、告示法で分析が困難であったニトロフラゾンの分析を試みた。抽出は除タンパク効果が高いと報告のあるメタノール-メタリン酸で行い、分析には UPLC-LC/MS/MS を用いた。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 不安定なニトロフラゾンはギ酸含有メタノールを溶媒とすることで安定化することが判明し、標準品については基準(検出下限)値に比して十分な感度を得た。 しかし、サンプル抽出液に検出下限量のニトロフラゾン添加したところ、イオン化が非常に抑制され、希釈を行っても定量不可能であった。現在の抽出法ではマトリクス効果が高いと考えられるため、別の抽出精製法を検討する必要があると考えられた。</p>
<p><b>食品添加物一日摂取量調査</b></p> <p>研究担当者: 畠山久史、細木伸泰</p> <p>研究期間: 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 食品添加物一日摂取量調査は、日本人が日常の食生活を通じて摂取する添加物の量を把握し、安全性を評価するため、厚生労働省が行っている事業である。この事業には、国立医薬品食品衛生研究所と全国 6 つの地方衛生研究所が参加して調査を行っており、平成 22 年度については、当所では保存料である安息香酸とソルビン酸の調査を担当した。</p> <p><b>【方法】</b> 成人(20 歳以上)の食品喫食量リストに基づき、324 品目の食品を購入、8 つの食品群に分類し喫食量の比率に応じて混合した試料(群別試料)と、購入食品の中でソルビン酸及び安息香酸の表示のあった食品(個別食品試料)の安息香酸及びソルビン酸の含有量を測定した。群別試料の検査結果に喫食量を乗じて一日総摂取量を求め、その総和を安息香酸及びソルビン酸の一日総摂取量とした。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 安息香酸の一日総摂取量は 1.056mg/人/日、ソルビン酸の一日総摂取量は 6.820mg/人/日で、体重 50kg あたりの ADI(一日摂取許容量)のそれぞれ 0.42%、0.55%にあたり、特段の問題はないと考えられた。 安息香酸の一日総摂取量では、天然に含まれる成分のうち 5 群の乳類等からの寄与が比較的大きいことが示唆された。ソルビン酸の一日総摂取量では、個別食品の結果から算出される値と群別試料から測定された値はよい一致を示した。</p>

<p><b>茶葉中に含まれる残留農薬の一斉分析法の検討について</b></p> <p>研究担当者： 荒井修、小野准子、滝川香織</p> <p>研究期間： 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 茶葉中に含まれる残留農薬については、従来、単成分分析として対応してきたが、20 年度から開始された一斉分析では、対象検体とはしていなかった。今年度の収去計画において、茶葉の検査が予定されていることを受け、一斉分析の検討及び標準作業書の策定を行う。</p> <p><b>【方法】</b> 浜松市保健環境研究所年報(2008 年)の方法に基づく新たな一斉分析法について、カフェインの影響を評価し、有用性を確認することとした。 次に、この方法について妥当性評価を行い、検査適用可能な農薬を確定して、標準作業書の策定を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> ① 新試験法の検討 カフェインが除去されることが確認された。また、分析可能な農薬の数が現行法よりも増加した。 ② 妥当性評価 257 の農薬について、厚生労働省のガイドラインに基づく妥当性評価を行い、75 の農薬が目標値に適合していた。 以上の結果、新試験法は茶葉中の残留農薬の一斉分析に適用可能との結論を得た。</p>
<p><b>残留農薬分析法の検討 (1. 農作物の残留農薬 GC/MS 一斉分析法の検討)</b></p> <p>研究担当者： 小野准子 荒井修 滝川香織</p> <p>研究期間： 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 食品衛生法改正により、平成 18 年 5 月から食品中の残留農薬について「ポジティブリスト制度」が実施され、法的規制の対象となる農薬数が大幅に増加した。この対応として、一度で分析可能な農薬種の増加を目的とした検討を行った。</p> <p><b>【方法】</b> 厚生労働省の GC/MS による残留農薬一斉分析法の対象農薬のうち、365 農薬成分について、SIM/SCAN 同時取り込みモード測定による分析条件を検討した。検出感度の良くない農薬成分を SIM モードで、その他の農薬成分を SCAN モードで測定することとした。取り込みイオンについては、農薬成分ごとに比較的感受度が高く、各農薬成分に特徴的な定量イオン 1 つ、定性イオン 1 つを選定した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 検討した 365 農薬成分のうち、142 農薬成分については SIM モードでの測定、その他の農薬成分については SCAN モードでの測定とすることにより、同時に全ての農薬を一度に分析することが可能となった。この分析条件は、農薬のスクリーニング検査として利用可能と思われる。</p>
<p><b>残留農薬一斉分析法の検討 (2. 農作物の残留農薬 LC/MS/MS 一斉分析法の検討)</b></p> <p>研究担当者： 滝川香織 荒井修 小野准子</p> <p>研究期間： 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 熱に不安定、または難揮発性の農薬は GC/MS に供することが困難であり、液体クロマトグラフ/質量分析計(LC/MS)による分析が必要となる。近年、LC/MS による分析を必要とする農薬は増加傾向にあり、LC/MS を用いた一斉分析法についての検討の重要性が増している。厚生労働省の通知による LC/MS 一斉分析法(I)は、GC/MS 一斉分析法の試験溶液を利用して LC/MS で分析しているので、現在当所で行っている GC/MS 一斉分析法の試験溶液を利用し、適応可能であるかどうか検討する。LC/MS 一斉分析法(I)対象農薬は 97 成分であり、昨年度は農薬 57 成分について検討したが、平成 22 年度は新たに標準品が手に入った約 40 成分について、適用可能であるか検討する。</p> <p><b>【方法】</b> 新規導入の検討農薬 33 農薬について、LC/MS/MS を用いたプリカーサーイオン、プロダクトイオンの検討を行った。また、ばれいしよについて妥当性を確認するための添加回収試験を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 新規に導入された LC/MS/MS で各農薬成分のプリカーサーイオン、プロダクトイオンの、最適な条件を検討できた。 「食品中に残留する農薬等に関する試験法のガイドラインについて」を参考に、ばれいしよでバリデーションしたところ、24 成分で目標値を満たした。</p>





	<p><b>【結果及び考察】</b>  本分析法による4-ビニル-1-シクロヘキセンの定量下限値は0.072 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> であり、環境省が示す要求感度 100 <math>\mu\text{g}/\text{m}^3</math> の約 1,000 倍低い感度で測定が可能であった。  また、本分析法を用いて行った札幌市内の大気中からは、4-ビニル-1-シクロヘキセンは検出されなかった。</p>
<p>平成22年度化学物質環境実態調査(詳細環境調査:大気中のメチレンビス(4,1-シクロヘキシレン)=ジイソシアネート)</p> <p>研究担当者：鈴木恵子</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b>  詳細環境調査は、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」(昭和48 年法律第 117 号)における特定化学物質及び監視化学物質並びに環境リスク初期評価を実施すべき物質等の環境残留状況を把握するための調査である。平成 22 年度は大気中のメチレンビス(4,1-シクロヘキシレン)=ジイソシアネートについて調査を行った。</p> <p><b>【方法】</b>  Sep-Pak Plus PS-Air(Waters 社製)を用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からジクロロメタン 10ml で抽出を行い、窒素気流下で 1ml 以下に濃縮した後、内部標準物質としてフェナントレン-d10 を加え、ジクロロメタンで 1ml とし、GC/MS-SIM 法で定量する。  ◇GC/MS の条件  使用機器:HP6890/HP5973NMSD  使用カラム:J&amp;W DB-5MS(内径 0.25mm×長さ 15m×膜厚 1.0 <math>\mu\text{m}</math>)  カラム温度:70<math>^{\circ}\text{C}</math> (2min 保持)→10<math>^{\circ}\text{C}/\text{min}</math>→280<math>^{\circ}\text{C}</math> (5min 保持)  注入口温度:260<math>^{\circ}\text{C}</math>  インターフェース温度:260<math>^{\circ}\text{C}</math>  注入方法:スプリットレス  モニターイオン:  メチレンビス(4,1-シクロヘキシレン)=ジイソシアネート： 定量用 88  確認用 131  ナフタレン-d8 : 136</p> <p><b>【結果】</b>  札幌市内で採取した大気中のメチレンビス(4,1-シクロヘキシレン)=ジイソシアネートの濃度は、0.44~0.75 <math>\text{ng}/\text{m}^3</math> であった。</p>
<p>平成22年度化学物質環境実態調査(初期環境調査:大気中のtrans-クロトンアルデヒド)</p> <p>研究担当者：吉田 勤</p> <p>研究期間：平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b>  初期環境調査は、「特定化学物質の環境への排出量の把握等及び管理の促進に関する法律」における指定化学物質の指定について検討が必要とされる物質、社会的要因から調査が必要とされる物質等の環境残留状況の把握を目的とする。平成 22 年度は大気中の trans-クロトンアルデヒドについて調査を行った。</p> <p><b>【方法】</b>  前段にオゾンスクラバーを取り付けたDNPHカートリッジを用いて大気試料を捕集する。試料採取後の捕集剤からアセトニトリルを用いて抽出を行い、10mLにメスアップし、LC/MS-SIM 法で定量する。  ◇LC/MS の条件  使用機器:Agilent 1200/6410  使用カラム:Wakopak®Navi C30-5 (15cm×2.0mm、5 <math>\mu\text{m}</math>)  カラム温度:40<math>^{\circ}\text{C}</math>  注入量:5<math>\mu\text{L}</math>  移動相:精製水 (A)、アセトニトリル (B)  グラジエント条件  0→25min A: 90→5 B: 10→95 linear gradient  25→34min A: B=5:95  34→35min A: 5→90 B: 90→10 linear gradient  35→45min A: B=90:10</p>

	<p>流量：0.2mL/min  ガス温度：350℃  ガス流量：10L/min  ネブライザ：50psi  イオン化法：ESI(-)-SIM  キャピラリー電圧：4kV  モニターイオン  <i>trans</i>-クロトンアルデヒド：249</p> <p>【結果及び考察】  白本分析法では十分な回収率が得られず、環境省で再度分析法を再検討することとなった。</p>
<p>化学物質環境リスクに関する調査・研究</p> <p>研究担当者：立野英嗣</p> <p>研究期間：平成 20～23 年度</p>	<p>【目的】  現在札幌市で行っている有害大気汚染物質モニタリング調査は、対象が 19 物質であり、そのうち金属類を除く 13 物質については、調査期間が平成 9 年度からの約 10 年間に及び、調査地点が市内 4 ヶ所であることから、その蓄積データは 6,000 以上に及ぶ。  そこで、これらのデータを解析し、本市における大気中の化学物質のリスク評価を行うことは、市民の健康保持の観点からも有意義なものであると考えられる。</p> <p>【方法】  国立環境研究所で行われている「化学物質環境リスクに関する調査・研究」の結果報告書で示された解析方法(平成 20 年 1 月実施の環境科学課抄読会資料を参照)を、本市の有害大気汚染物質モニタリング調査結果に適用し、リスク評価を行う。</p> <p>【結果及び考察】  平成 22 年度は、解析方法の比較検討のための情報収集を行うにとどまり、解析までには至っていない。</p>
<p>有害大気汚染物質に関する調査・研究  -「大気中のフロン濃度について(2)」-</p> <p>研究担当者：立野英嗣  鈴木恵子</p> <p>研究期間：平成 20～22 年度</p>	<p>【目的】  特定フロン(CFC-11、CFC-12、CFC-113)は、成層圏オゾン層を破壊することからその製造が禁止された。このため、新たに代替フロンが使用されるようになった。  そこで、特定フロンのモニタリングに加えて、これら代替フロンの分析法を確立し、環境中の濃度の実態を把握することを目的とした。</p> <p>【方法】  フロン類の試料採取は、有害大気汚染物質モニタリングで使用するステンレス製容器(キャニスタ)に大気試料を採取し、自動試料濃縮装置(ENTECH7100A)を用いて試料の濃縮を行い、GC/MS-SIM 法で分析を行った。標準ガスとしては、TO-14 に準拠して調製された混合標準ガス、内部標準ガスとしてはトルエン-d8 を使用した。  また、代替フロン類の標準ガスは、高千穂化学工業(株)に依頼して調製を行った。</p> <p>【結果及び考察】  特定フロン(CFC-11、CFC-12、CFC-113)濃度については、平成 17 年(2005 年)度から継続して調査を行い、結果を取りまとめている。一方、代替フロンについては、沸点が非常に低いものが多く、従来の分析方法では分析ができないことがわかった。</p>
<p>酸性降下物に関する調査研究(1)  全国環境研協議会・酸性雨広域大気汚染調査研究部会  第5次酸性雨共同調査</p>	<p>【目的】  酸性雨対策の一環として、全国環境研協議会酸性雨調査研究部会では、乾性沈着と湿性沈着による全国的な大気汚染実態を把握する目的で、平成 21 年度から第 5 次酸性雨全国調査が実施され、当所も参加している。国内での湿性、乾性沈着物質の変動やパッシブ法による広範囲な乾性沈着物質調査も継</p>

<p>研究担当者：恵花孝昭</p> <p>研究期間：平成21～24 年度</p>	<p>続し、大陸方面の大気汚染影響等を把握するとともに、得られたデータから札幌市内の湿性、乾性沈着の評価を行う。</p> <p><b>【方法】</b> 調査地点は、湿性沈着は衛生研究所1地点、乾性沈着は衛生研究所、青少年山の家、手稲山口清掃事務所の3地点とした。採取法はウェットオンリー(WO)法、フィルターバック (FP)法、パッシブサンプラー(PS)法を用い、採取期間はWO法とFP法は1週間、PS法は1ヶ月とし、分析法はICP、IC等を用いた。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 平成22年度は採取地点を衛研1ヶ所とし、湿性沈着はウェットオンリー型採取法、乾性沈着はパッシブ法と4段ろ紙法を用いて採取しており、湿性沈着は1月までのデータを表1に、乾性沈着のうちパッシブ法は2月までを表2、4段ろ紙法は2月までを表3、表4に示した。 この中で、8月の降水の平均pHが5.18を示し、ウェットオンリー採取法で測定を始めた平成12年度以来、始めてpH5を超えた。pHの上昇に影響する塩基成分のCa<sup>2+</sup>、NH<sup>4+</sup>等の陽イオン濃度は低かったが、降水量は例年の2～4倍を示した。 pHは濃度表示であるが、水素イオン沈着量(単位面積当りのイオン量mg/m<sup>2</sup>等)で表した場合、例年と比べ大きな減少がみられなかったが、比較的降水強度が大きかったために、希釈効果によってpHが上昇したものと考えられる。</p>
<p><b>臭素系ダイオキシソ類に関する調査研究</b> -札幌市における臭素系ダイオキシソ類のモニタリング調査-</p> <p>研究担当者：吉田 勤 鈴木恵子</p> <p>研究期間：平成21～23 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 臭素系難燃剤は、化学反応によりダイオキシソ類と同等の毒性を有し、かつ、天然には存在しない臭素系ダイオキシソ類に変化する場合があると考えられており、臭素系難燃剤の使用・排出等に関する法的規制がないことから、環境中への放出が問題視されている。 そこで、臭素系ダイオキシソ類の分析法を確立させ、市内の排出実態・環境実態を明らかにする。</p> <p><b>【方法】</b> 昨年度開発した分析条件を用いて、市内数カ所の臭素系ダイオキシソ類の定量を行い、その結果をとりまとめる。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 昨年度のカラムの組み合わせでは、7、8臭素体のシリンジスパイクがないため定量が不可能であったが、福岡県保健環境研究所の報告を参考にし、DB-5を用いた分析法を検討したところ、6～8臭素体の同時分析が可能となり、4～8臭素体の定量が可能となった。来年度は、この分析法を用いて市内の数地点について調査を行う。</p>
<p><b>分煙に関する調査研究</b> -市有施設における分煙状況の実態調査-</p> <p>研究担当者：三上 篤 立野英嗣</p> <p>研究期間：平成21～23 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 分煙を推進している本市の公共施設を対象として、健康増進法第25条に規定する受動喫煙防止対策の有効性について、科学的に評価を行い、より効果的な職場環境に改善していく。</p> <p><b>【方法】</b> 新たな職場における喫煙対策のためのガイドライン(平成15年改正)に示された新しい分煙効果判定の基準を参考とし、室内環境調査として、3庁舎10箇所の喫煙室及び非喫煙場所における浮遊粉じん・一酸化炭素濃度・ニコチン等濃度の測定、境界における気流(風向・風速)の測定を行い、職場環境の評価を行った。</p> <p><b>【結果】</b> 喫煙室の排気設備の排気風量(実測値)は23.4±3.7m<sup>3</sup>/min(16.7～28.3m<sup>3</sup>/min)であった。喫煙率は31.0±14.2%(13.5～58.3%)、喫煙本数は64.9±34.5本(11～130本)、同1時間平均は10.8±5.8本(1.8±21.7本)であった。浮遊粉じん濃度(1時間平均)は、喫煙室が0.16±0.13mg/m<sup>3</sup>(0.06～0.48mg/m<sup>3</sup>)であり、3箇所で厚生労働省ガイドラインが示す基準値0.15mg/m<sup>3</sup>を超えていた。非喫煙場所では0.010±0.008mg/m<sup>3</sup>(0.001～</p>

	<p>0.031mg/m<sup>3</sup>)であり、1箇所WHOの24時間平均の基準値0.025mg/m<sup>3</sup>を超えていた。一酸化炭素濃度は、喫煙室1箇所厚生労働省ガイドラインが示す基準値の10ppmを超える時間帯があった。ニコチン濃度は、喫煙室が16.0±16.7・g/m<sup>3</sup>(3.4~46.6・g/m<sup>3</sup>)、非喫煙場所が0.07±0.05・g/m<sup>3</sup>(0.0~0.15・g/m<sup>3</sup>)、ニコチン漏洩率(非喫煙場所濃度/喫煙室濃度の百分率)は1.2±1.3%(0.0±3.9%)であった。また、空気清浄機を活用している喫煙室のニコチン濃度対浮遊粉じん濃度比が、空気清浄機を利用していない喫煙室と比べて高い傾向があり、厚生労働省の分煙効果判定基準策定委員会報告書(2002年)に示された、「空気清浄機ではたばこ煙中のニコチンをはじめとしたガス状成分の除去が不十分である。」との報告を支持する結果が得られた。</p> <p>喫煙室の排気処理能力については、扉全開時の風速0.2m/s以上あるいは浮遊粉じん濃度0.15mg/m<sup>3</sup>以下を確保可能な喫煙室はいずれも共通の9箇所であった。また、最大喫煙許容人数については、1分間平均喫煙者数ベースではすべての喫煙室で浮遊粉じん濃度0.15mg/m<sup>3</sup>以下を確保可能であり、最大喫煙者数ベースではいずれの喫煙室も確保不可能であった。</p>
<p><b>有機フッ素化合物の環境汚染実態と排出源について(C型共同研究)</b>  <b>-札幌市における大気中の有機フッ素化合物のモニタリング調査-</b></p> <p>研究担当者：吉田 勤</p> <p>研究期間：平成21~23年度</p>	<p><b>【目的】</b>  ストックホルム条約にて、排出が制限されることとなったペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びその類似化合物であるペルフルオロオクタン酸(PFOA)について、環境動態等の状況を明らかにするため、本物質に関連したC型共同研究に参加している。今年度は、大気中の有機フッ素化合物の分析方法を確立し、札幌圏におけるモニタリング調査実施体制を整える。</p> <p><b>【方法】</b>  ハイボリウムエアサンプラー(HV)を用いて捕集する場合、ガス状成分となっているものは石英ろ紙では捕集されず、通り抜けてしまう恐れがある。そこで、ポリウレタンフォーム(PUF)などの捕集材を組み合わせ、捕集する方法について検討を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b>  PUFから抽出する場合、アセトンソックスレーが最も回収率がよかった。ただし、PFAsについては回収率が50%を下回ってしまい、検討の余地がある。</p> <p>別の捕集材としてXAD-2について検討を行ったが、回収率に大きな改善は見られず、取り扱いが煩雑なことから、PUFの方が適していると思われる。</p> <p>PUFを用いてHVで添加回収試験を行ったが、そのほとんどが石英ろ紙上で捕集されており、従来報告されているような通り抜けはほとんど見られなかった。</p> <p>分析法としてはデータのバラツキが大きく、その原因を探るとともに、サロゲートを組み合わせた分析法や、他の捕集材について検討してみたい。</p>
<p><b>ダイオキシン類調査結果の検証</b></p> <p>研究担当者：鈴木恵子  吉田 勤</p> <p>研究期間：平成22年度</p>	<p><b>【目的】</b>  2001年度~2008年度まで依頼検査等で測定した環境大気中のダイオキシン類の検査結果のデータのとりまとめを行い、各測定地点の濃度推移、同族体、各異性体の割合等から排出状況等の検証を行う。</p> <p><b>【方法】</b>  環境大気中のダイオキシン類の検査結果のうち、PCDD/Fsについては同族体及び個々の異性体、Co-PCBsについてはそれぞれの異性体を対象として、沿道、一般環境及び発生源周辺のそれぞれの地点における経年変化及び季節変動を折れ線グラフにまとめた。また、環境対策課から提供を受けた主な発生源である焼却炉及び清掃工場の排出ガスの自主検査結果を同様にまとめ、グラフの形状を比較した。</p>

	<p><b>【結果及び考察】</b></p> <p>一般環境、沿道、発生源周辺については、年度により春または秋にPCDDsの八塩素体が特に多く検出された。排出源として、PCDDsの八塩素体を多く含む排出ガスを出す施設からの影響を受けたものと思われた。また、Co-PCBsについては、夏期に上昇する傾向があったため、身近に発生源があることが考えられた。沿道については、夏期のCo-PCBsの上昇が顕著であり、原因としては、平成19年度調査研究報告のとおり、建物に使用されているシーリング材が主な発生源であることが確認されているが、他地点については発生源で燃焼ガスのCo-PCBsの形状よりもPCB製品に含まれるCo-PCBsと類似した形状をもつ施設があるため、PCB製品以外にも発生源の排出ガスの影響を受けていた可能性があると考えられる。</p>
<p><b>ダイオキシン類分析の精度向上について</b></p> <p>研究担当者：吉田 勤 鈴木恵子</p> <p>研究期間：平成22年度</p>	<p><b>【目的】</b></p> <p>ダイオキシン類の分析の、カラムクロマトグラフィーによるクリーンアップ操作の精度向上、時間短縮のための検討を行った。</p> <p><b>【方法】</b></p> <p>コプラナーPCBのブランク値が高かったので、原因を究明したところ、多層シリカゲルクロマトグラフィー由来であると考えられたので、洗浄に用いるヘキサンの量を増やしてブランク値の変動を観察した。</p> <p>カラムの時間を短縮するため、活性炭分散シリカゲルリバーScラムの使用を試みた。ブランク試験、添加回収試験を行い、今まで使用してきた活性炭分散シリカゲルカラムと同等以上の性能であることを示した。</p> <p>底質試料の有機物を除去する方法として硫酸処理があるが、有機物の量が多いとエマルジョンができて処理に時間がかかる。そこで、55%硫酸シリカゲルを用いたカラム処理を行い時間の短縮を図った。</p> <p><b>【結果】</b></p> <p>多層シリカゲルカラム処理では、ヘキサン100mLで洗浄するとシリカゲル由来のコプラナーPCBを除去することができた。</p> <p>有機物の多い底質等の試料は、55%硫酸シリカゲルを用いた多層カラム処理を行ってから硫酸処理を行うと、従来法より手順、時間ともに短縮できた。</p>

## 水質環境係

調査研究名	研究の概要
<p>平成 22 年度環境省化学物質環境 実態調査受託調査 分析法開発(17β-ヒドロキシエスト ラ-4,9,11-トリオン-3-オン 別名β- トレンボロン)</p> <p>研究担当者: 折原智明</p> <p>研究期間: 平成 20~23 年度</p>	<p><b>【目的】</b> LC/MS により水質試料中の β-トレンボロンの分析法開発を行う。 要求感度が 0.00005 μg/L である。</p> <p><b>【方法】</b> 水質試料を固相抽出し、メタノールで溶出して LC/MS/MS-SRM で測定す る。β-トレンボロンと異性体である α-トレンボロンとの同時定量を行う。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 夾雑物除去の検討、LC/MS/MS 条件の最適化を行った。夾雑物除去では 固相の変更と溶出条件の変更を行い、MS/MS では ESI から APCI 測定に変 更することで東橋、茨戸橋河川水の添加回収にて 70%以上の回収率が得ら れた。平成 23 年度は、詳細検討及び海水での検討を実施する予定である。</p>
<p>下水処理プロセス中の有機フッ素 系化合物(PFCs)について</p> <p>研究担当者: 中島純夫</p> <p>研究期間: 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 我が国でも新たな汚染物質として注目されているペルフルオロオクタンスル ホン酸(PFOS)、ペルフルオロオクタン酸(PFOA)などのフッ素系界面活性剤 (PFCs)による環境汚染の実態が明らかになりつつあり、平成 20 年度~21年 度に実施した当所の調査結果で、本市においても PFOA、PFOS を含む有機 フッ素化合物による汚染のあることが判明した。</p> <p>一方、PFOA については、下水放流水中に 3.0~61ng/L の範囲で含まれて おり、処理施設によって濃度差が大きく、変動係数も 80.6%と高い結果が得ら れ、下水処理プロセスにおける PFCs の挙動把握が必要と考えられた。</p> <p><b>【方法】</b> 自動採水器を用い、下水流入水及び放流水を2時間毎に採取した。流入 水は、GFでろ過し、ろ液とろ紙上の残渣中の PFCs を別々に測定した。 測定は、LC/MS/MS を用い、PFCs15 成分を同時測定した。 流入水及び放流水の PFCs 測定の結果、返送汚泥中の濃度把握が必要と 考えられたため、再度、流入水及び放流水のコンジット試料と返送汚泥の3 系統試料を採取し、PFCs15 成分を測定した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> PFOA は、流入水より放流水濃度が高く、返送汚泥中の PFOA 濃度の影響 を受けていると考えられた。また、PFNA は、流入変動があり、一定の流入負 荷のあることが推定された。また、下水処理プロセスにおける化学物質の挙動 を十分に把握するには、返送汚泥中の濃度把握が必要であると考えられた。</p>
<p>穴の川の底質調査について</p> <p>研究担当者: 藤沼政憲</p> <p>研究期間: 平成 22 年度</p>	<p><b>【目的】</b> 旧A鉱山鉱滓堆積場跡地の影響調査として、堆積場に近接している穴の 川の水質検査を行っている。そのデータでは河川水中の鉄、マンガンが高い 傾向となっていることから河川底質への影響把握調査を行った。</p> <p><b>【方法】</b> 穴の川の 4 地点及びその影響をみるため、豊平川の穴の川合流前後 2 地 点を含む全 6 地点について採泥を行った。 底質の全含有試験、溶出試験(Cd,Pb,Cu,Zn,Fe,Mn,Cr,As,B)を行い、穴の 川の堆積場上流から下流域及び豊平川の底質状況を把握した。</p> <p><b>【結果及び考察】</b> 穴の川最下流地点で、鉄、マンガン、亜鉛が高い結果であった。豊平 川への影響では、合流前後の底質全含有量で比較して、亜鉛(191→ 430mg/kg)とマンガン(792→1,320mg/kg)が高い結果であったが、その他の 元素では大きな差は見られず、堆積場の浸出水などによる河川底質への 大きな影響はないものと思われた。</p>

<p>環境水及び底質中の農薬等の系統分析法の検討について</p>	<p><b>【目的】</b>  水道法の水質管理目標設定項目を参考に一斉分析法を検討し、下水処理場の処理水、ゴルフ場の排水、土壌、底質等の分析に適用する。更にゴルフ場の排水調査の標準作業書を作成する。</p> <p><b>【方法】</b>  昨年度と同じ条件で、ゴルフ場排水監視と事業場排水監視全項目検査の検体を用いて添加回収試験を行った。LC/MS/MS系では、極性が高く ODS カラムに保持しない農薬（ヒドロキシイソキサゾール、アセフェート、メタミドホス、2-アミノベンゾイミダゾール、MBC、8-キノリノール、イミノクタジン、ポリオキシシン B）について、親水性相互作用クロマトグラフィー用カラム（Atlantis HILIC Silica 15cm）を用いて HPLC 条件の検討を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b>  イミノクタジンとポリオキシシンが保持する条件では、8-キノリノールのピークがブロードで、アセフェート、メタミドホス、2-アミノベンゾイミダゾールは保持しなかった。このため、これらの農薬をいくつかのグループに分けて別々に測定する必要がある。なお、ゴルフ場排水の依頼で測定した 8-キノリノール（オキシシン銅）については、ポリマー系カラム（VMPak-25）を用いた逆相クロマトグラフィーで対応した。</p>
<p>環境水イオン類測定方法の検討</p>	<p><b>【目的】</b>  環境水、各種事業場排水、水道水等の陽イオン、陰イオンを各 1 つのメソッドで行ってきたが、妨害成分の影響等により適当でない場合もあり検体に見合ったメソッドの検討を行った。また、水質把握のため合わせて基準項目以外の多種成分についても検討を行った。</p> <p><b>【方法】</b>  高濃度 <math>\text{Na}^+</math> 中 <math>\text{NH}_4^+</math> の、高濃度 <math>\text{Cl}^-</math> 中 <math>\text{NO}_2^-</math> の分離改善の検討実施。各種検体でのメソッドの検証を行った。</p> <p><b>【結果及び考察】</b>  陽イオンはカラムを CS12A から CS16 に変更し <math>\text{Na}^+</math> 1,500mg/L 中の <math>\text{NH}_4^+</math>-N 0.05mg/L の条件を設定したが、<math>\text{NH}_4^+</math>-N は性質上直線性範囲が 0.1～1.0mg/L と狭かった。他 <math>\text{Li}^+</math>, <math>\text{Na}^+</math>, <math>\text{K}^+</math>, <math>\text{Mg}^{2+}</math>, <math>\text{Ca}^{2+}</math> を検討。陰イオンはカラムを AS17 から AS11-HC に変更し <math>\text{Cl}^-</math> 2,000mg/L 中の <math>\text{NO}_2^-</math>-N 0.01mg/L の測定条件を設定した。他 <math>\text{F}^-</math>, <math>\text{Br}^-</math>, <math>\text{NO}_3^-</math>-N, <math>\text{ClO}_2^-</math>, <math>\text{ClO}_3^-</math>, <math>\text{BrO}_4^-</math>, <math>\text{AsO}_4^{3-}</math>, <math>\text{SCN}^-</math> を検討。  各種検体測定中に F-付近の分離が悪いものがあり、平成 23 年度に検討を実施する予定である。</p>