

論文・報告書

河川水中の遺伝毒性物質モニタリングへの発光 *umu* 試験の適用性について

中島大介¹⁾、影山志保¹⁾、白石不二雄¹⁾、鎌田亮¹⁾、永洞真一郎²⁾、高橋悟³⁾、大金仁一⁴⁾、大谷仁己⁵⁾
堀内孝信⁶⁾、渡邊雅之⁷⁾、濱根貴志⁸⁾、山根一城⁹⁾、原口公子¹⁰⁾、陣矢大助¹¹⁾、門上希和夫¹¹⁾
後藤純雄¹²⁾、鎌迫典久¹⁾、白石寛明¹⁾、鈴木規之¹⁾

¹⁾国立環境研究所環境リスク研究センター、²⁾北海道環境科学研究センター、³⁾岩手県環境保健研究センター
⁴⁾宮城県保健環境センター、⁵⁾群馬県衛生環境研究所、⁶⁾長野県環境保全研究所、⁷⁾静岡県環境衛生科学研究所
⁸⁾京都府保健環境研究所環境衛生課、⁹⁾鳥取県衛生環境研究所、¹⁰⁾北九州市環境科学研究所
¹¹⁾北九州市立大学大学院国際環境工学研究科、¹²⁾麻布大学環境保健学部
環境化学, 第17巻, 第3号 (2007)

河川水の遺伝毒性モニタリング手法として、発光 *umu* 試験法を検討した。試料を C18 フィルターで濃縮し、その抽出物をフロリジルカラムによって 3 分画した。綾瀬川試料に適用した結果、マイクロサスペンション法よりも高感度で検出できた。国内 20 河川水について適用したところ、活性のほとんどは 10%アセトン/ジクロロメタン溶出画分から得られ、18 試料で比活性を算出することができた。その比活性の最大値は、代謝活性化酵素非添加系で 1,709count/ml、添加系で 825count/ml となった。河川水の遺伝毒性と、総有機体炭素量、全窒素及び全りん量との相関は認められなかった。本法は多検体試料にも適応でき、モニタリングに適した方法であると考えられた。

Nationwide Study of Dioxins in the Freshwater Fish *Carassius auratus (gibelio) langsdorfii* (crucian carp) in Japan: Concentrations and Estimation of Source Contribution Ratios

Yoko Kajiwara^a, Nobuhisa Kashiwagi^b, and Kiwao Kadokami^{c,*}

^a Kitakyushu City Institute of Environmental Sciences, Kitakyushu, Japan

^b The Institute of Statistical Mathematics, Tokyo, Japan

^c Graduate School of Environmental Engineering, The University of Kitakyushu, Kitakyushu, Japan

Chemosphere 69 (2007) 1177-1187

We investigated dioxin concentrations in freshwater fish in Japan by standardizing species to detect subtle decreasing trends of dioxin concentrations in the future with the reinforcement of regulations. The fish studied were crucian carp (*Carassius auratus (gibelio) langsdorfii*), an omnivorous species. Fish and sediments were collected from 14 rivers and lakes located in remote areas, agricultural areas, and small and large cities throughout Japan. The total toxic equivalent (TEQ) dioxin concentrations at the three remote sites were about 20% of the concentrations at the other 11 sites, which all had similar concentrations. The average concentrations in fish collected from these 11 sites were 0.69 pg TEQ g⁻¹ wet wt (95% CI 0.52–0.85) or 57.3 pg TEQ g⁻¹ fat (95% CI 47.9–66.7). There were notable differences in congener profiles of polychlorinated p-dibenzodioxins (PCDDs) and polychlorinated dibenzofurans (PCDFs) between sampling areas. A chemical mass balance method was used to estimate the proportions of dioxin contributions from different sources. The sampling areas were classified into 4 groups on the basis of the predominant source of dioxin contamination: a combustion group, a chlornitrofen herbicide group, a chlornitrofen and pentachlorophenol herbicide group, and a remote group. The congener profiles of dioxin like polychlorinated biphenyls (DL-PCBs) were almost the same in all areas and close to those in Kanechlor, which indicates that pollution from PCB products has spread throughout Japan. From samples collected during the spawning season, it was determined that about 20% of the dioxins in adult females were transferred to the eggs, resulting in higher dioxin concentrations in adult males than in females. Biota-sediment accumulation factors (BSAFs) of 2,3,7,8-substituted PCDDs/DFs for crucian carp were larger than those of non-2,3,7,8-substituted congeners, and BASFs decreased with increasing number of chlorines. The BASFs of DL-PCBs were 10 times greater than those of PCDDs/DFs, and BASFs of mono-ortho type DL-PCBs were higher than those of non-ortho types.

平成 19 年度化学物質分析法開発調査報告書 (2,4,5-トリクロロフェノール)

飯田義和

平成 19 年度環境省受託事業報告書

環境省からの委託を受け、環境水中の 2,4,5-トリクロロフェノール (以下 2,4,5-TCP) の分析法開発を行った。2,4,5-TCP は、殺菌剤、種子消毒剤、防かび剤、防汚剤等に使用され、過去に洞海湾の底質から検出されたことのある物質である。今回の分析法開発は、水中のより低濃度の 2,4,5-TCP 分析を可能にするためのものであった。開発した分析方法は次のとおりである。試料 200mL を pH2 に調整しサロゲート物質を添加後、ジビニルベンゼン系の固相カートリッジに通水し、ジクロロメタンで対象物質を溶出させる。溶出液を 0.5mL に濃縮し誘導体化 (トリメチルシリル) を行い、GC/MS-SIM 法により測定する。本法により、水試料中 2,4,5-トリクロロフェノールの 0.01 μ g/L レベルの定量が可能となった。

平成 19 年度 厚生労働科学研究費補助金 (食品の安心・安全確保推進研究事業)

検査機関の信頼性確保に関する研究

— 農薬等のポジティブリスト化に伴う検査の精度管理に関する研究 —

花田喜文

主任研究者：遠藤明 (財団法人食品薬品安全センター理事長)、分担研究者：田中之雄 (大阪府立公衆衛生研究所食品化学課長)

研究協力者：土田由里子 (新潟県保健環境科学研究所)、上野英二 (愛知県衛生研究所)、田中敏嗣 (神戸市環境保健研究所)、宇野正清 (奈良県保健環境研究センター)、木野善夫 (和歌山市衛生研究所)、佐々木珠玉 (広島市衛生研究所)、堤泰造 (徳島県保健環境センター)

平成 19 年度総括・分担研究報告書 (主任研究者 遠藤明), pp. 27-154 (2007)

平成 18 年 5 月に施行された「食品中に残留する農薬等のポジティブリスト制度」により約 800 種類の農薬等に暫定基準または、一律基準が設定された。この規制に対応するため検査機関では検査体制を再構築し農薬検査の拡大を図ってきた。そこで、検査機関のポジティブリスト制度における一律基準値 (0.01 p p m) 付近の農薬検査の信頼性を確保するために、地方衛生研究所の 9 参画機関 (新潟県、愛知県、神戸市、奈良県、和歌山市、広島市、徳島県、北九州市、大阪府) の協力を得て外部精度管理を実施した。

均質性、安定性を確認したほうれんそう (GC/MS 用)、とうもろこし (LC/MS 用) の外部精度管理試料に、一律基準値 (0.01 p p m) 付近の低濃度の農薬 10 種類を添加した結果は、全機関が添加農薬をすべて正しく検出した。各農薬の全体の平均値は 0.01 p p m 付近でも良好な結果が得られた。品質管理などにもちいられている \bar{X} -R 管理図による方法及び検査精度の相対的な判定に有効な z スコアによる評価では、適正域に入っていない機関も認められたが、総合成績では前年度と比較して良好な結果が得られた機関が多かった。R 管理図で適正域に入っていない機関 (RSD が 10% を超える) も安定同位体 (サロゲート物質) を内標準として補正した結果、再現性において、RSD が 5% 以下となり良好な結果が得られた。

現行の主流である GC/MS-SIM 測定及び LC/MS/MS-MRM 測定の他に農薬データベースを搭載した GC/MS-SCAN 測定及び LC/TOF/MS 測定による検討を行った結果、データベースから添加農薬及びその濃度を的確に検出し、その有用性が確かめられた。

9 検査機関は、いずれも信頼性のあるデータを得るための要素である「正確な標準品」を用いて「適正な分析法」を実施し「良好な状態の装置」で分析が行われており、測定データの信頼性について問題の無いことが示唆された。

ポジティブリスト制導入に対応した農産物中の一斉分析法による参画機関の測定感度、添加回収率等の技術情報を交互に交換したところ、GC/MS 対象農薬では 244 農薬 (異性体等を含む 274 種類) 及び LC/MS/MS 対象農薬 180 農薬 (異性体等を含む 189 種類) が、機器の測定感度から一律基準 (0.01 p p m) を満足していた。添加回収率では、農産物 28 種類 (のべ 47 種類) について延べ 352 農薬の回収率の良否の情報が得られた。本研究は地方衛生研究所の相互協力体制、情報の共有、精度管理を含む技術能力の向上等に極めて有効であった。

同一 PFGE 型を示す O157 が検出された複数の食中毒事件について——北九州市

徳崎里美、清水寧、下原悦子

藤吉久美子、廣田晶己（北九州市保健所保健予防課）

太田宏一、橋本礼子、木賀ゆりえ、彌田輝雄、今泉五和男（同 東部生活衛生課）

太田孝幸、植田英一（同 西部生活衛生課）

病原微生物検出情報、28(5)、pp137-138 (2007)

2006（平成 18）年 8 月 19 日から 25 日にかけて、北九州市において、市内の複数の医療機関から腸管出血性大腸菌 O157:H7（VT1&2）（以下 O157）感染症患者発生の届出が相次いだ。これらの事例は、4 件 6 グループ有症者 11 名（入院 7 名）で、一見散発に見うけられたが、患者 11 名中 10 名から得られた 10 株と無症状保菌者 2 名から得られた 2 株計 12 株は、*Xba*I によるパルスフィールド電気泳動（PFGE）ですべて同じパターンを示し、11 種の薬剤に対しても同様の感受性を示した。このことと、①8 月中旬に発生した ②原因施設が焼肉店であった ③患者の全部または多くが肉類を生食していた ④その肉類の処理・流通ルートが同一であった という共通点から、それぞれ別の焼肉店が原因施設ではあるが、同一菌を原因とする集団食中毒であることが判明した。O157 による汚染が、肉類の処理や流通の段階で、あるいは調理や摂食の段階で広がったと考えられた。各食中毒事件の探知は、すべて 3 類感染症としての届出がきっかけであったが、詳しい疫学調査を進めたことと、患者分離株の遺伝子解析を行ったことが原因究明につながった。（なお、この事例は、地方衛生研究所全国協議会が収集している「健康危機事例集」にも収録された。No. 1344）

九州地区における食品由来感染症の拡大防止・予防に関する取り組み 2 —IS-printing System の分子疫学的解析法としての有用性について—

村瀬浩太郎

堀川和美、江藤良樹、小野塚大介、中村祥子（福岡県保健環境研究所）、瓜生佳世（福岡市保健環境研究所）

眞子純孝（佐賀県衛生薬業センター）、右田雄二（長崎県衛生公害研究所）、江原裕子（長崎市保健環境試験所）

八尋俊輔（熊本県保健環境科学研究所）、峯真由美（熊本市環境総合研究所）、河野喜美子（宮崎県衛生環境研究所）

緒方喜久代（大分県衛生環境研究センター）、上野伸広（鹿児島県環境保健センター）、久高潤（沖縄県衛生環境研究所）

大岡唯祐¹、林哲也^{1, 2}（宮崎大学・¹医学部、東洋紡績・バイオフィロンティアプロジェクト推進室²）、

楠本正博（東洋紡績・バイオフィロンティアプロジェクト推進室）寺嶋淳（国立感染症研究所細菌第一部）

平成 19 年度厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業「広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究」）平成 19 年度分担研究報告書（2008）

九州ブロックでは平成 18 年度の研究において、IS-printing system を実用化するため、DNA 抽出条件、DNA ポリメラーゼ量や PCR 条件等について検討を行った。平成 19 年度は 18 年度に問題となった 5 つの検討課題について改良し、新バージョンの IS-printing system を用いて、各地研で分離された O157 について解析した。①1st set *aeae* 遺伝子（495bp）の増幅率、②1st set の 1kb 付近の 3 種 primer set の増幅産物のサイズが近似していた点、③2nd primer set で 480bp 付近（449bp と 499bp の間）および 230bp 付近（211bp と 240bp の間）にエキストラバンドが出る点、④1kb 付近のバンドとスタンダードマーカーとずれる点、及び⑤100bp ladder と IS サンプル（スタンダードマーカーも含めて）との移動度の違い、以上 5 点が改善された。改良された IS-printing System は、再現性もよく、ID コード数は PFGE Type 数の約 3 分の 2 で識別能力は劣るが、疫学情報との相関性が良かった。IS-printing System を用いた解析は、1 日で数値データが得られ、過去のデータとの比較解析が容易である点で優れ、現場における細菌学的情報提供に適した解析方法であると考えられた。また ID コード化が容易であり、他の機関や過去の結果と普遍的に比較可能であり、迅速性が求められる公衆衛生分野での応用が期待される。