

(1) QuEChERS 法に関する検討結果について

生活衛生部門

三輪真理子（中京区役所保健部）、並河幹夫、伴創一郎、瀬村俊亮、中尾好絵、柴田さよ、塩見哲生、伴埜行則

ア 発表先

平成 24 年度地方衛生研究所全国協議会近畿支部理化学部会研修会（平成 24 年 12 月 7 日 京都市）

イ 抄録

当研究所では残留農薬の分析法として第 47 回全国衛生化学技術協議会年会で発表した QuEChERS 法を採用している。

また、昨年新たに島津製作所製の四重極型タンデム質量分析計を装備した液体クロマトグラフを導入したので、サロゲートを用いた内部標準法による検討を行った。その結果、外部標準法では回収率が 70～120%の範囲外であった 16 農薬について、内部標準法では範囲内に入った。また、内部標準法でさらに回収率が向上した農薬が 71 種類あった。

これより、対象農薬 182 種類のうち、87 農薬の定量性が良くなったといえる。

さらに、チアベンダゾールの添加回収試験も行った結果、チアベンダゾールはマトリックス添加標準を用いた場合、ほぼ 100%の回収率となり、LC-MS/MS におけるイオンサプレッションの影響で定量性が低下しているのではなく、前処理のどこかに原因があると考えられた。

今後は、抽出操作の際に塩濃度を上げる等の検討を進めていきたい。

(2) フロー式イムノセンサーの魚介類中 PCB 分析への適用

生活衛生部門

並河幹夫、伴創一郎、三輪真理子（中京区役所保健部）、瀬村俊亮、中尾好絵、柴田さよ、塩見哲生、伴埜行則
 澤田石一之（カーバングル・バイオサイエンテック）、立石典生、向日野桂一、高木陽子（京都電子工業）

ア 発表先

第 49 回全国衛生化学技術協議会年会（平成 24 年 11 月 21 日、22 日 香川県）

イ 抄録

(ア) はじめに

魚介類中のポリ塩化ビフェニル類（PCBs）の分析法としては高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計等による機器分析が一般的であるが、近年、食品中の PCB 分析に、より簡便・迅速かつ低コストの分析法として生物機能を利用した生化学測定方法が注目されている。今回、3～6 塩素（カネクロール 300～600）の PCBs を広範囲に認識する抗体を用い、フロー式イムノセンサーによる魚介類中 PCBs 分析の簡易システム構築の検討を行った。

(イ) 分析法及び装置

分析法：加熱多層シリカゲルカラム/アルミナカラム/フロー式イムノセンサー法（絶縁油中の微量 PCB に関する簡易測定法マニュアル（第 3 版）2.7.1 章 3）

装置：フロー式イムノセンサ DXS-610（京都電子工業）

抗体：3～6 塩素（カネクロール 300～600）の PCBs を広範囲に認識する性質を有する抗体

(ロ) 試験溶液の調製

試料（ヘキサン抽出液）添加→カラムを加熱（60℃，60min）→精製→乾燥→DMSO で溶出したものを試験溶液とした。

(ハ) 結果及び考察

イムノセンサー測定用処理を行うことにより、測定系へ影響を及ぼすマトリクス成分などが除去されていることが確認された。また、PCB 生物認証標準物質 BCR-718 を使用し、回収率を算出したところ、通常、機器分析法（GC/ITMS/MS）で行っている前処理とほぼ同様の回収率が得られた。

スズキを試料とした 4 検体について前処理から測定まで 3 回の分析を行った結果、4 試料全てにおいて変動係数が 6.8～8.1%と再現性が良いことが確認された。DXS-610 測定値は GC/ITMS/MS 測定値に対して 70%～130%の範囲内に

収束し、本分析法は魚種によらず正確性の高い測定値が簡易に得られることが確認された。

これらの結果より、本分析法は定期的な魚中 PCB のモニタリング及びスクリーニングへの適用が期待される。しかしながら、数種類の検体において機器分析値との乖離が確認されたことから、今後、抽出、前処理、分析法における課題について更なる検討を行っていききたい。

(3) Detection of pandemic influenza A (H1N1) 2009 virus RNA by real-time reverse transcription polymerase chain reaction

微生物部門

伊藤正寛，奴久妻聡一（神戸市環境保健研究所），杉江真理子，吉岡政純（京都市北部環境共生センター），近野真由美（上京区役所保健部），安武廣（退職），梅垣康弘（西京区役所保健部），石川和弘，矢野拓弥（三重県保健環境研究所），庵原俊昭（独立行政法人国立病院機構三重病院）

ア 発表先

Pediatrics International (2012) 54, 959-962

イ 抄録

(7) 目的

臨床検体から real-time RT-PCR 法を用いて pandemic influenza A (H1N1) 2009 (以下 A(H1N1)pdm09) virus を定量的に検出する方法を確立することを目的とした。

(i) 方法

Real-time RT-PCR は Pabbaraju K et al (J Clin Microbiol 2009;47:3454) が報告した H 領域に設定した primer と probe を用いた。primer の外側に設定した primer を用いて京都市で分離された A(H1N1)pdm09 virus の H 領域を増幅して得られた DNA をクローニングし in vitro RNA 合成により RNA を合成しコピー数を計算し standard RNA として用いた。2009 年 8 月から 12 月の間にインフルエンザ様疾患と診断された症例の鼻腔スワブ，迅速診断キットに用いられたキット液，気管支洗浄液を検体として用いた。

(ii) 結果

standard RNA を用いて 10^{-10^7} copies/ μ l の A(H1N1)pdm09 virus RNA が直線状に検出された。鼻腔スワブ 68 検体中 61 検体，迅速診断キット陽性のキット液 16 検体中 16 検体，気管支洗浄液 4 検体から A(H1N1)pdm09 virus RNA が検出された。

(エ) 考察

以上の結果から real-time RT-PCR 法により臨床検体から定量的にウイルス RNA が検出され，今後インフルエンザ A(H1N1)pdm09 の診断や病態解明に応用できると思われる。

(4) 牛の膀胱

食肉検査部門

川口 かおる（京都市動物園）

ア 発表先

平成 24 年度全国食肉衛生検査所協議会病理部会第 65 回病理研修会（平成 24 年 11 月 7 日，8 日 神奈川県）

イ 抄録

動物名：牛 品種：黒毛和種 性別：牝 月齢：32 カ月齢

病歴：不明

生体所見：一般と畜として搬入。著変認めず。

内臓所見：粘膜面に大小様々な桃白色充実性の乳頭状腫瘤が密発しており，先端に黄色～赤橙色の嚢胞を有するものも少数認められた。乳頭状腫瘤は表面平滑，柔軟であった。長さは数mmから 3 cm，直径は太い所で数mmから 1.5 cm であった。基部から先端付近まで太さはほとんど変わらず，分岐しているものもあった。

粘膜は著しく肥厚し、硬度を増していた。

組織所見：腫瘍表層部は、上皮性の細胞が重層して覆っている。細胞の厚さは不均一で、多層化した部分から菲薄化した部分までみられたが、概ね8層以下であった。細胞形態はほとんど正常で、核異型や核分裂像などもほとんど認められなかった。

腫瘍内部の結合織では、膠原線維や線維芽細胞、大小の血管が増生しており、リンパ小節が散見された他、リンパ球、形質細胞などの炎症細胞が浸潤している部分もみられた。

組織診断名：線維性乳頭腫

疾病診断名：乳頭腫

(5) 牛の興奮と多発性出血斑（スポット）の関連性について

食肉検査部門
中川 力

ア 発表先

平成24年度全国食肉衛生検査所協議会近畿ブロック会議 技術研修会（平成24年10月31日 京都市）

イ 抄録

(7) 背景

多発性出血斑は、と畜検査時に内臓、横隔膜及び枝肉にみられることのある新鮮な点状出血で、スポット、シミとも呼ばれる。程度の重いものは廃棄処分となるが、合格したものでもセリ値の低下による経済的損失が大きい。また、流通後、カットされた部分肉で発見されたものではトラブルの原因となる場合もある。

これらの発生は、牛自体の血管の脆弱性や、と畜前の興奮等により血圧が上昇し、筋肉中の毛細血管が破裂することによるものと考えられている。

食肉検査部門では過去に多発性出血斑について、品種、性差、好発部位など、様々な報告を行っているが、興奮との関連について詳しく調査したものは今回が初めてである。その結果を報告する。

(8) 方法

平成23年6月～平成24年6月に京都市と畜場に搬入され、正常畜としてと殺解体された牛を調査の対象とした。生体検査時に興奮を認めた個体及び電撃等をあてられた個体を記録した。この場合の興奮は、係留所内で走った個体、生体検査時に鼻息が荒いと認められた個体及び作業員が生体用コンベヤーに繋いだ後、転倒した個体の三つとした。電撃等をあてられたものは、起立時や動作緩慢な場合に電気ショッカー等で行動を促がされた個体とした。

解体後検査で消化器、心臓、横隔膜、枝肉のスポットの有無を確認し、興奮及び電撃等の有無で発生率に差が生じるかを調査した。

(9) 結果

興奮及び電撃等の有無と内臓、横隔膜、枝肉を含めたスポットの発生との関係は表1に示した。興奮や電撃等がなかった個体と比較して、興奮のみられた個体及び電撃等をあてられた個体の両方でスポットの発生は有意に高かった。また、興奮の種類で分けたものは表2である。走った個体はスポットの発生率は低かった。

表1 興奮及び電撃等の有無とスポットの発生状況

	スポット有	全体	率 (%)
興奮	14	177	7.910
電撃	30	390	7.692
興奮・電撃計	44	567	7.760
正常	533	9982	5.340
全体	577	10549	5.470

** : p < 0.01

表2 興奮の種類別 スポットの発生状況

	スポット有	全体	率 (%)
走る	1	27	3.704
鼻息荒い	9	109	8.257
転倒	4	41	9.756
興奮全体	14	177	7.910

枝肉のみのスポットの発生と興奮及び電撃の関係を表したのが表3である。この場合でも、興奮や電撃等のなかった個体と比較すると、興奮のみられた個体及び電撃等をあてられた個体の両方で、スポットの発生は有意に高かった。興奮の種類で分けたのは表4である。走った個体では枝肉のスポットは発生していなかった。

表3 興奮及び電撃等の有無と枝肉スポットの発生状況

	スポット有	全体	率 (%)	
興奮	4	177	2.260	**
電撃	4	390	1.026	*
興奮・電撃計	8	567	1.411	**
正常	67	9982	0.671	
全体	75	10549	0.711	

*:p <0.05 **:p <0.01

表4 興奮の種類別 枝肉スポットの発生状況

	スポット有	全体	率 (%)
走る	0	27	0
鼻息荒い	3	109	2.752
転倒	1	41	2.439
興奮全体	4	177	2.260

(イ) 考察

今回の調査から、牛の興奮、または電気ショックなどのストレスなどにより、スポットの発生が多くみられることが明らかになった。牛のスポットの発生は、ノッキング時の作業工程や牛の品種、性別、飼養管理等が複合的に影響しているといわれているが、今回の結果によって、興奮やストレスも発生原因の一つであると確認された。と畜前の興奮やストレス等によって、血圧が上昇し、毛細血管が破裂しやすくなったことによるものと考えられる。

走った個体ではスポットの発生は少なかった。この理由としては、運動することによって血圧が下降したことによる可能性がある。人の報告では、軽い運動をすることによって末梢血管が拡張し、その結果血圧が下降する。牛の場合でもそれと同様のことが発生したと考えられる。

当部門が行った過去の調査では和牛よりF1で、牝牛より去勢牛でスポットが多くなっていた。生体時の牛では、和牛よりF1で気が荒く、また、牝牛より去勢牛で気が荒いことが多くみられるため、今回の結果と一致していると考えられる。

今後、と畜前に過度の刺激やストレスを与える行動を控えることによって、スポットの発生が少なくなることが期待できる。