

岩手県における散発事例のサルモネラ症の発生状況及び分離株の遺伝子解析等について（2006～2007年）

藤井伸一郎 太田美香子 佐藤徳行 岩渕香織 後藤徹

はじめに

岩手県における散発事例のサルモネラ症の実態を把握するため、Laboratory Survey を実施した。県内の主な臨床検査機関等からサルモネラ属菌を収集し、血清型別検査、薬剤感受性試験及びパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）による遺伝子解析を実施し、散発事例の実態調査と散在的集団発生の探知について概要を報告する。

材料及び方法

1 材料

2006～2007年に臨床検査機関等からサルモネラ属菌を109株収集した。

2 方法

(1) 発生状況等の調査

分離株の月別件数、性別、年齢を調査した。

(2) 血清型別検査

(3) 薬剤感受性試験

KB法により、薬剤感受性試験を行なった。使用した薬剤（センシディスク）は11薬剤で、アンピシリン（ABPC）、セフトロキサム（CET）、セフトロキサム（CFPM）、セフトリアキソン（CTX）、セフトラジソン（CAZ）、イミペネム（IPM）、カマイク（KM）、トラサイクリン（TC）、シプロフロキサシン（CPFX）、フルロキサソン（NFLX）、ホルモキサソン（FOM）である。

(4) PFGEによる遺伝子解析及び系統樹解析

PFGEによる遺伝子解析、解析ソフト（Finger-Printing）による系統樹解析を行った。

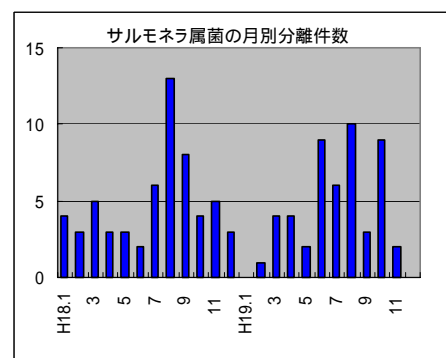
PFGEのプロトコールは、国立感染症研究所で示された方法に従い、制限酵素は *Bln* を用いた。

結果

1 発生状況等

(1) 月別分離件数

2006年（59株）、2007年（50株）分離され、月別分離件数は図のとおりである。



(2) 性別

男（55株）、女（52株）不明（2株）であった。

(3) 年齢別

0～9歳が25株（23%）と最も多かった。他の年齢層は、10～19歳8株（7%）、20～29歳5株（5%）、30～39歳5株（5%）、40～49歳2株（2%）、50～59歳2株（2%）、60～69歳4株（4%）、70歳以上5株（5%）、不明53株（49%）であった。

2 血清型別

血清型は、27の血清型が分離され、多い順に、*S. Typhimurium* 23株（21%）、*S. Enteritidis* 20株（18%）、*S. Infantis* 7株（6%）であった。

No	血清型	分離株数	%
1	<i>S. Typhimurium</i>	23	21%
2	<i>S. Enteritidis</i>	20	18%
3	<i>S. Infantis</i>	7	6%
4	<i>S. Agona</i>	6	6%
5	<i>S. Saintpaul</i>	6	6%
6	<i>S. Thompson</i>	5	5%
7	<i>S. Virchow</i>	4	4%
8	<i>S. Hadar</i>	3	3%
9	<i>S. Braenderup</i>	3	3%
10	<i>S. Litchfield</i>	2	2%
11	<i>S. Stanley</i>	2	2%
12	<i>S. Derby</i>	2	2%
13	<i>S. Bardo</i>	2	2%
14	<i>S. Mbandaka</i>	2	2%
15	<i>S. Bovismorbificans</i>	1	1%
16	<i>S. Anatum</i>	1	1%
17	<i>S. Brandenburg</i>	1	1%
18	<i>S. Othmarschen</i>	1	1%
19	<i>S. Newport</i>	1	1%
20	<i>S. Nagoya</i>	1	1%
21	<i>S. Javiana</i>	1	1%
22	<i>S. Bareilly</i>	1	1%
23	<i>S. Istanbul</i>	1	1%
24	<i>S. Weltevreden</i>	1	1%
25	<i>S. Montevideo</i>	1	1%
26	<i>S. Haifa</i>	1	1%
27	<i>S. Narashino</i>	1	1%
28	型別不能	9	8%
	計	109	1

なお、型別不能が9株あったが、内6株の血清型は、O4: - - (2相凝集せず)であり、それらは、*S. Typhimurium*の2相の1,2が欠落したものであるとの報告があることから、*S. Typhimurium*であると思われる。

O血清の型別は、4群(46%)、9群(20%)、7群(18%)、8群(12%)、その他(4%)であった。

3 薬剤感受性

(1) 薬剤感受性

供試菌株109株を11薬剤について試験した結果、68株(62.4%)が感受性であった。耐性を示した41株(37.6%)の耐性薬剤数は、1剤耐性が30株(27.5%)、2剤耐性が6株(5.5%)、3剤耐性が4株(3.7%)、4剤耐性が1株(0.9%)であった。

(2) 薬剤別耐性率

薬剤別耐性率は、ABPC耐性30株(28%)、TC耐性23株(21%)、CET耐性5株(4%)、KM耐性3株(3%)であった。

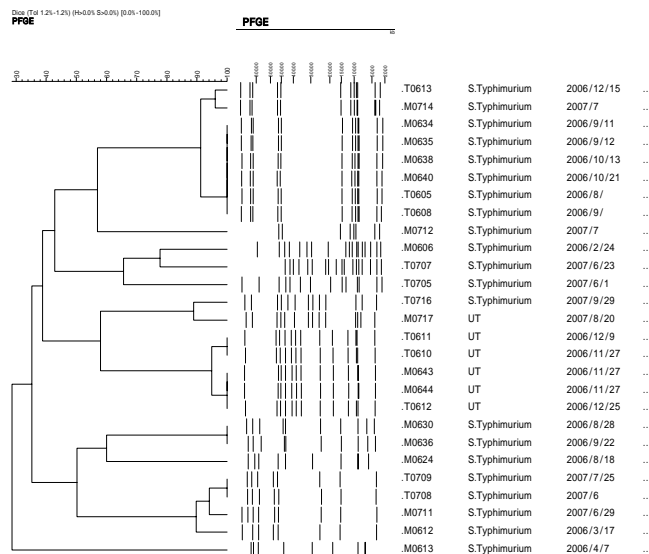
4 PFGEによる遺伝子解析

(1) *S. Typhimurium*の系統樹解析

*S. Typhimurium*の系統樹解析の結果、同一由来と思われる株が、2006年8月から2007年7月の1年間に計8株あった。これらの株は、分離時期が近く、また、分離場所もH地

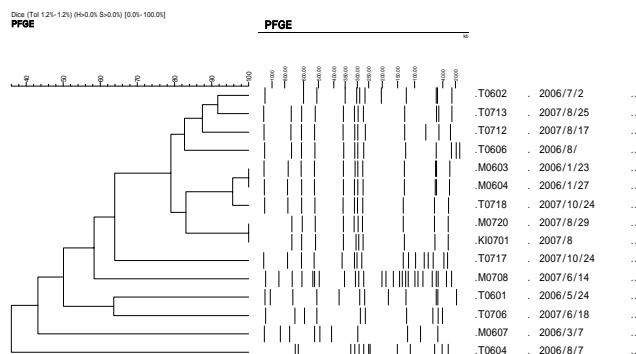
区に集中していることから、同一株による健康被害(散在的集団発生)の可能性が示唆された。

また、H血清の2相が欠落したと思われる*S. Typhimurium*(図ではUT(型別不能))の5株も同一株と推定された。これら5株は、2006年11月から12月の短期間に分離され、分離場所もK地区に集中していた。



(2) *S. Enteritidis*の系統樹解析

*S. Enteritidis*の系統樹解析の結果、同一クラスターが2つあった。株数はどちらも2株と少なかった。



まとめ

サルモネラ症の集団事例は、全国食中毒統計で把握されているが、本研究では、Laboratory

Survey を実施し、散発事例の実態を調査した。

調査の結果、散発事例の血清型は非常に多岐にわたり、*S. Entertidis* が主である集団事例とは明らかに様相が異なっていた。散発事例の上位3つの血清型は集団事例でも分離されているが、なかには通常の集団事例からは分離されない血清型もあり、感染源が食品に限らず多様であると思われた。

サルモネラの血清型のなかには、汚染食品との関連性が明らかなものがあり（例えば、*S. Entertidis* は卵、*S. Infantis* は鶏肉など）散発事例の原因究明には、多岐にわたった血清型がどのような食品を汚染しているのか、食品以外の感染源（例えば保菌動物）にどのようなものがあるのかを、今後、明らかにしていく必要がある。

サルモネラ症は、カンピロバクター症と同じように散発事例の占める割合が多い食中毒ではあるが、そのなかには、同一の感染源による健康被害、いわゆる散在的集団発生（Diffuse Outbreak）があり、感染源が早期に特定されず、健康被害を拡大することがある。

散在的集団発生をいち早く探知するには、分離菌株の遺伝子解析が有用である。今回の調査で最も多く分離された血清型 *S. Typhimurium* に複数の同一由来株が存在し、感染源が同一であった可能性が否めない。

感染源の特定は困難なことが多いが、病原体の遺伝子解析等のデータを継続して蓄積するとともに、行政や医師への情報提供のあり方について検討する必要もある。さらに、消費者等への情報提供も大切であり、検査室・行政・医師・消費者などによる情報共有の場、リスクコミュニケーションなどを活用し、サルモネラ症の散発事例について啓発していくことが今後の課題であると思われた。

流入下水中のノロウイルス濃度から推察されるノロウイルス胃腸炎の流行状況と下水処理によるノロウイルス除去について

研究協力者 高橋 朱実、高橋 雅輝、蛇口 哲夫（岩手県環境保健研究センター保健科学部）
分担研究者 田中 智之

研究要旨

2005年10月から2008年1月の3シーズンに亘って、県内のG下水処理場に流入するノロウイルス(NV)量を継続的に調査したところ、夏から初秋(8月~9月)を除き、年間を通じてNVが検出され、その濃度は高い時で 10^4 copy/mlのオーダーだった。小児科定点からの感染性胃腸炎患者報告数が増加した時期には流入濃度が高くなる傾向にあったが、報告数の少ない時期にもNVが流入していた。さらに患者から検出される頻度が低いGIも検出されることが多く、胃腸炎の流行時期以外にも症状が比較的軽いか、あるいは不顕性感染者のいる可能性が示唆され、年間を通して食中毒を含めたNV感染症発生リスクの管理をする必要性が確認された。

冬期の3回、流入NV量の経時変化を調査したところ、G終末処理場の場合には、朝方5時~7時の時間帯を除けば、ほぼどの時間帯に採水しても一定した結果が得られることがわかった。

下水処理によるNV除去率は、概ね99.9%以上であったが、放流先の河川や海域汚染のリスク評価をするにあたっては、そのNVが不活化されているか否かも含めて、更に調査検討を進める必要がある。

A. 研究目的

ノロウイルス(NV)は冬季を中心に毎年流行し、多くの感染性胃腸炎患者を発生させる。特に2006年/2007年以降は、集団感染事例が全国的に多発し、社会問題となっている。感染者の腸管で増殖したNVは、糞便とともに排出され下水道に流入し、下水処理によって減少するが除去しきれない場合に河川等に放流されると考えられている。しかし、下水処理におけるNVの挙動についての定量的な知見は十分に無いのが実情である。

本研究は、特定下水道使用住民のNV排出状況からNV感染者の実態を把握するとともに、下水処理によるNV除去の実態を把握する目的で、下水道流入水と処理水中のNV濃度を継続的に調査した。

B. 研究材料と方法

1) 調査材料

G下水道終末処理施設(標準活性汚泥法による処理施設)における処理前の流入水と処理後放流水を検液とし、05年7月から08年1月にかけてNV胃腸炎流行期(11~3月)は1ヶ月に2~3回、それ以外の時期には概ね1ヶ月に1回(計38回)、午前11時に検体を採取した。また、冬季の3回(06年12月7~8日、06年2月21~22日、07年11月7~8日)については、流入水を2~4時間毎に採取した。

2) ウイルス濃縮方法

流入水及び放流水検体はPH調整後塩化アルミニウム系凝集剤を加えて混和し、フィルターで捕集後グリシン緩衝液(PH11.5)で溶出し、遠心分離(3,000rpm、30分)を2回実施した。この上清を30%ショ糖液に重層後超遠心(36000rpm150分)を行い、得られた沈殿を300 μ lの蒸留水で再浮遊し、ウイルス濃縮検体とした。尚、07年6月以降は、フィルター捕集に換えて、PEG沈殿後に上記超遠

心を行った。

3) NVの検出方法

各濃縮検体のRNAの抽出はQIAamp Viral RNA Miniキット (QIAGEN) を用いた。DNase I 処理を行った後、random primer を用いて逆転写し、Super Script II RTでcDNAを合成した。尚、平成19年度からは、ABIのHigh Capacity cDNA 合成キットを用いた。

全ての検体についてNVのnested-PCRを行った。1st PCR にはCOG1F/G1-SKR、COG2F/G2-SKRを、nested-PCRにはそれぞれG1-SKF/G1-SKR、G2-SKF/G2-SKRを用いた。増幅産物が確認された検体は、1st PCR産物を Universal PCR Master Mix (ABI)を用いたRealtime-PCR法で確認した。NVが検出された検体は、同様のRealtime-PCR法を用いて、濃縮検体のNVコピー数を測定した。

C. 研究結果

1) 流入水中のNV検出状況

05/06シーズン、06/07シーズン、07/08シーズンのNV検出状況を図1に示した。38回の調査のうち、定量可能なレベルでNVが検出されたのは、G Iが17回、G IIが32回で、G Iに比較してG IIの方が定量可能なレベルで検出される頻度は高かったものの、ヒトのNV胃腸炎から検出されることの少ないG Iも比較的高頻度に下水中に流入していた。また、また3シーズン共に、夏季から秋季(8月から10月)にかけて、G I及びG II共に検出されない時期があった。3シーズン中の流入下水中のNV濃度は、G Iは検出限界未満 $\sim 5.1 \times 10^3$ コピー/ml、G IIは検出限界未満 $\sim 1.2 \times 10^4$ コピー/mlのNVが検出された。G Iに比較してG IIの方が高い濃度で検出されることが多かったが、G Iの方が高い濃度で検出された場合もあった(05年7月、06年3, 6, 7月)。概ね感染性胃腸炎の流行時期である冬季から春季に高い濃度で検出される傾向にあったが、盛夏の時期(05年7月、06年7月、07年8月)でも1ml当たり10の二乗オーダーのコピー数を示した。

2) 感染性胃腸炎報告数と流入下水中のNV濃度

G終末下水処理区管轄のA保健所管内の感染症発生動向調査による感染性胃腸炎患者報告数と流入下水中のNV濃度との関連を図2に示した。小児科定点からの報告数が多い時期には、流入下水中のNV濃度が高くなる傾向にはあったが、報告数が少ない時期にも高濃度にNVが検出される場合があった。

3) NV胃腸炎集団感染事例数と流入下水中NV濃度

調査期間中3シーズンにおける、当該下水処理区域に係るA保健所管内のNVによる胃腸炎集団感染事例数の推移を図3に示した。06年12月に急激に事例が増加し、12事例発生したが、その時期特に下水流入水中のNV濃度が増加する事は無く、逆に05-06シーズン、07-08シーズンの方が1ccあたり10の3乗オーダーコピーと、高濃度にNVが検出された。

4) 下水流入水中のNV濃度と負荷量の経時変化

通日採水におけるNV濃度と下水流入量の経時変化を図4に、NV負荷量と流入量の経時変化を図5に示した。日中午後から深夜3時頃までは採水時刻の違いによるNV濃度の変動は比較的少なかったが、朝方5時から7時の時間帯には、NV濃度及びNV負荷量共に変動が大きかった。各家庭から終末処理場への流達時間を考慮すると、一般的に人が活動する時間帯においては、採水時刻によらずほぼ一定のオーダーのNV濃度、NV負荷量となるが、朝方5時から7時の時間帯に採取した場合には、一日の平均的なNV濃度、NV負荷量とはならなかった。

5) 放流水中のNV検出状況

3シーズンにおける放流水中のNV濃度を図6に示した。G I、G II共に調査期間のほとんどで定量限界以下であったが、冬季の感染性胃腸炎の流行時期に限り定量可能なレベルでNVが検出された。G Iで定量可能だったのは、38回の調査のうち2回(06年1月、07年12月採水)で、27コピー/mlが検出され、G IIは38回のうち6回(06年1, 2, 12月、07年11, 12月、08年1月採水)で13 \sim 1200コピー/mlが検出された。流入下水の下水処理によるNV除去率は、概ね99.9%以上であった。

D. 考察

NV 感染症発生の実態は、感染症発生動向調査による小児科定点医療機関からの感染性胃腸炎患者報告数、食中毒統計、病原微生物検出情報から推察されている。しかし、これらのデータだけでは、ノロウイルスを原因とする胃腸炎の正確な発生状況は把握できていない。本調査では、発生動向調査による患者報告数や、NV による胃腸炎の集団発生状況では流行が確認されない時期にも、下水中に NV が流入されていた。さらにヒトの NV 感染症から検出される割合の低い GI が、GII と同等の濃度で下水中に検出される場合があった。これらのことから、年間を通じて症状の軽いあるいは、不顕性感染者がいる可能性があり、年間通して食中毒を含めた NV 感染症発生のリスクの管理を行う必要性が確認された。さらに、本調査のような流入下水の NV のモニタリングは、特定地域の NV 感染症の発生動向を知る指標となる可能性が示された。

また、G 終末処理場の場合、流入下水中における NV 量のモニタリングは、明け方の時間帯を除けば、ほぼ一定した結果が得られることが分かった。

下水処理場に流入してきた NV は、下水処理によって、概ね 99.9% 以上が除去されていた。

E 結論

1. 集団発生や患者報告で NV 感染症の流行が確認されない時期にも下水中に NV が流入されていること、さらにヒトの NV 感染症から検出される割合の低い GI が、GII と同等の濃度で下水中に検出される場合があることから、流入下水の NV のモニタリングは、特定地域の NV 感染症の発生動向を知る指標となりうること、また年間を通して食中毒を含めた NV 感染症発生のリスクの管理をする必要性が示された。

2. G 終末処理場の場合、流入下水中における NV 量のモニタリングは、明け方の時間帯を除けば、ほぼ一定した結果が得られることが分かった。

3. 下水処理によって NV は、ほぼ除去されていたが、放流先の海域や河川を汚染するリスクを検討

するにあたっては、その NV が不活化されているかどうかも含めてさらに調査検討を進める必要がある。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

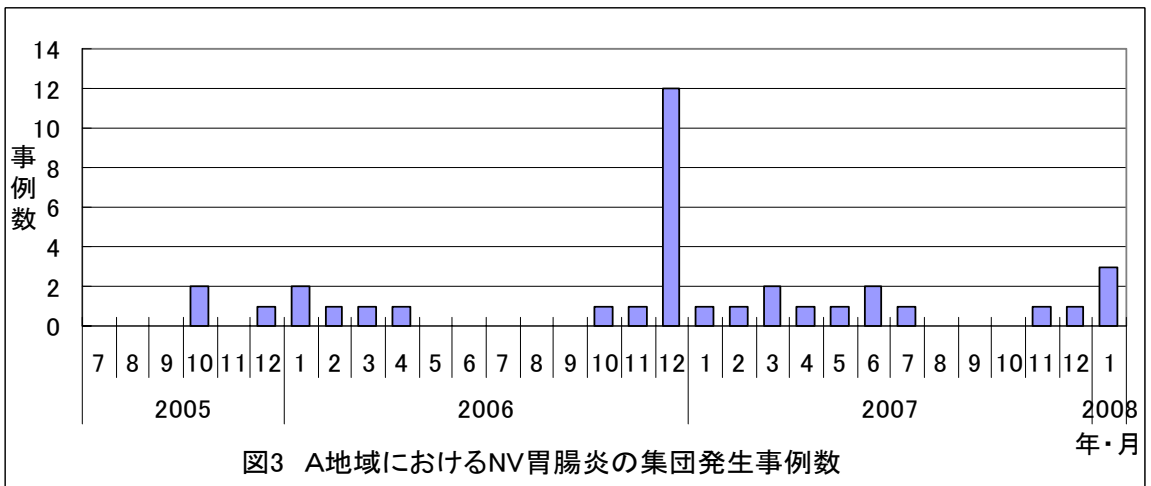
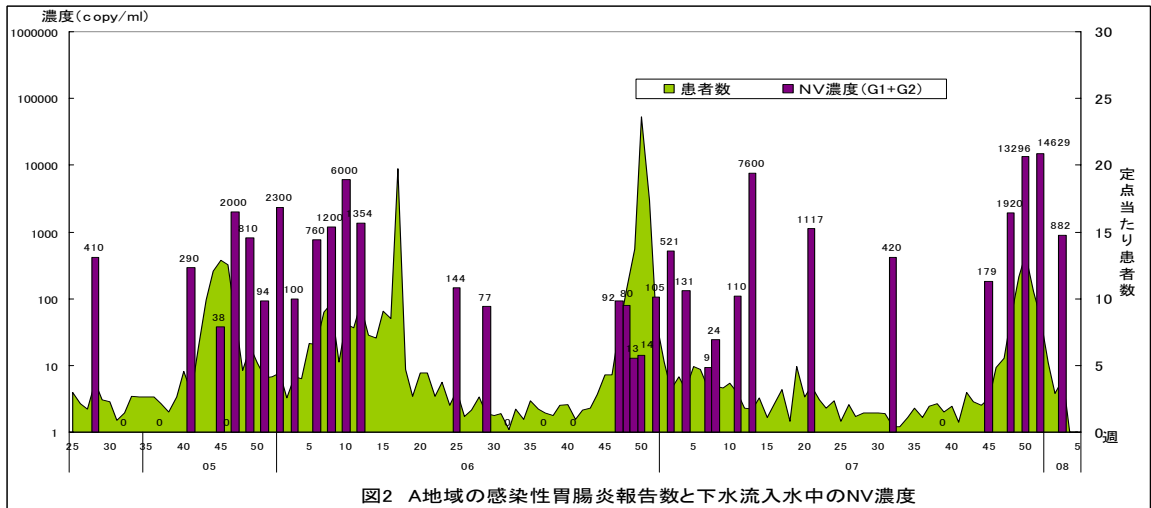
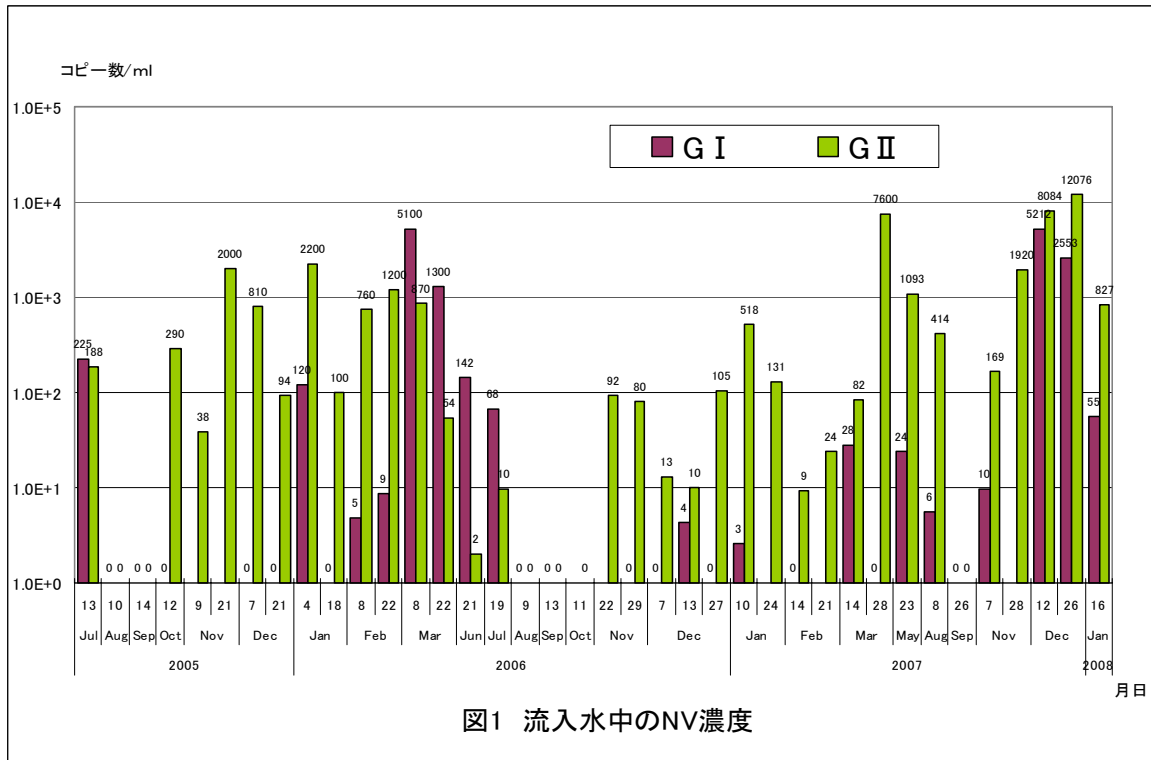
なし

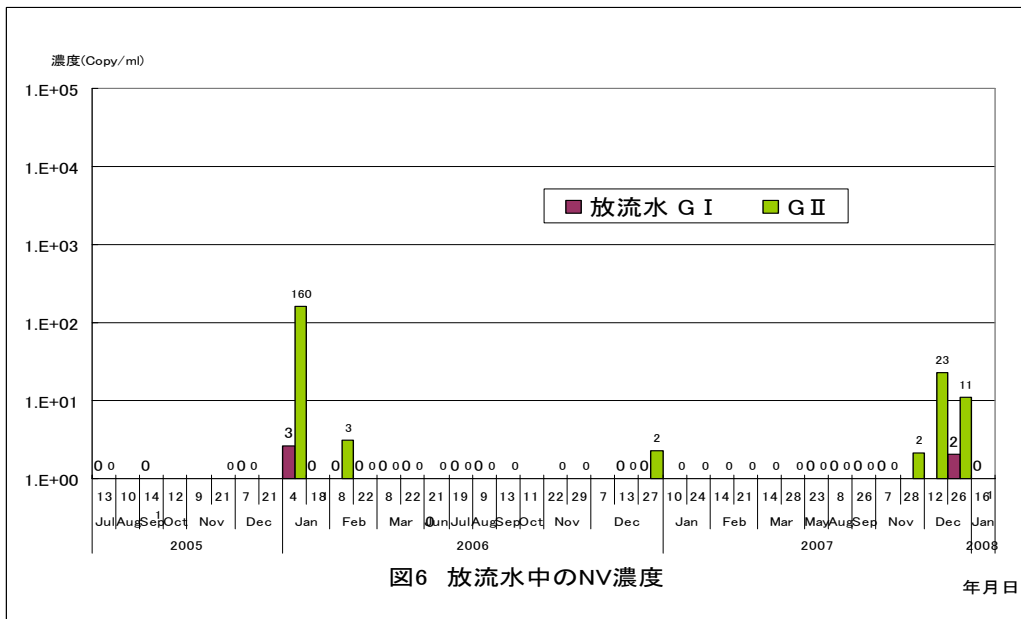
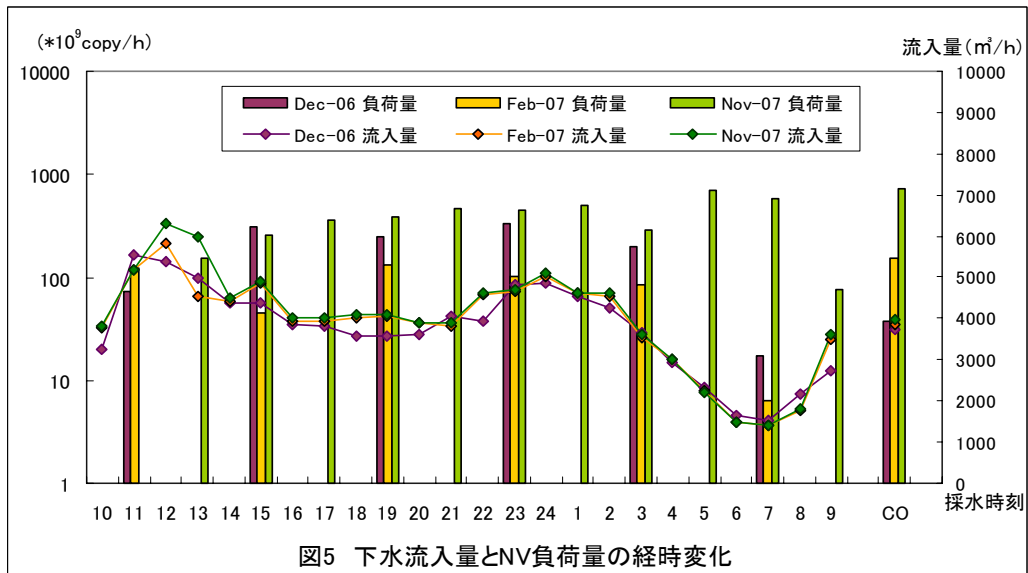
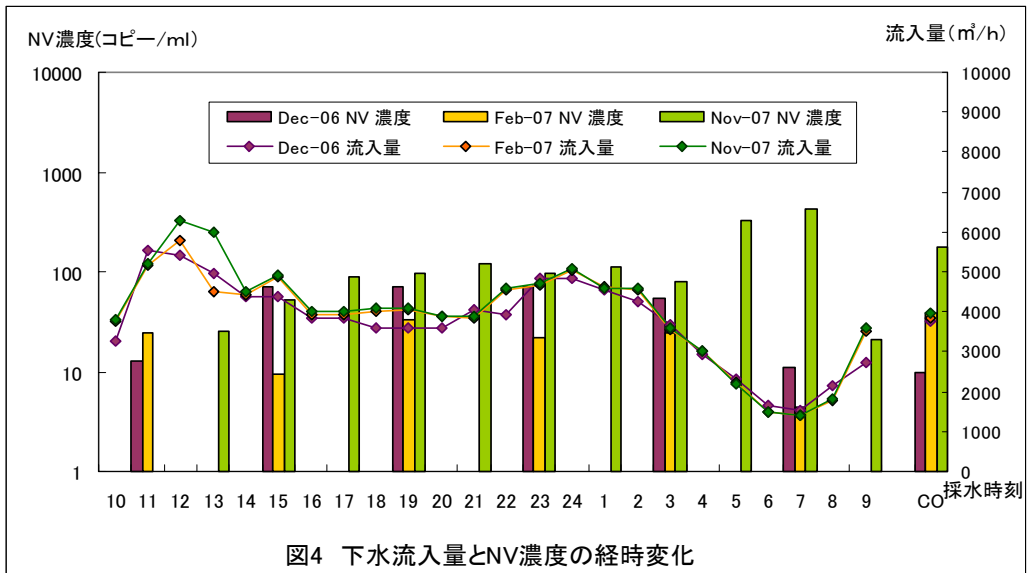
2. 学会発表

なし

H. 知的所有権の取得情報

なし





感染症発生動向調査事業における病原体検出状況（平成 19 年度）

高橋 雅輝 松舘 宏樹 藤井 伸一郎 岩淵 香織 蛇口 哲夫

平成 19 年度は、県内の病原体定点等で 328 名の患者から採取した 331 検体について検査を実施した結果、114 の病原体（ウイルス 113 株、細菌 1 株）を検出した。

はじめに

平成 14 年 2 月に岩手県結核・感染症発生動向調査事業の実施要領が改められ、29 医療機関が病原体定点として選定された。本報では、平成 19 年度の病原体検出結果を報告する。

検査対象

5 類感染症（定点把握）の指定疾患に加え、対象外の上気道炎、不明熱、リンパ節炎、発疹症等も検査対象とした。検体は病原体定点等の 11 医療機関において採取した。表 1 に診断名別検査依頼件数を示した。

検査方法

1. ウイルス検査

(1) ウイルス分離

RD-18S、HEp-2、VERO、CaCo-2、MDCK、L20B の 6 種類の培養細胞を併用してウイルス分離を行った。分離したウイルスは主に中和試験により同定した。MDCK 細胞はインフルエンザウイルスの分離に用い、赤血球凝集抑制試験により HA 亜型を決定した。L20B 細胞はポリオウイルスの分離に用い、中和試験のほか、RT-PCR およびダイレクトシーケンス法を併用した。

(2) RT-PCR 法及びリアルタイム PCR 法

糞便検体は、RT-PCR 法によるノロウイルス及びサポウイルスの検出を行った。同定はダイレクトシーケンス法を用いた。一部の糞便検体は、リアルタイム PCR 法によりノロウイルスの検

出・同定を行った。また、エンテロウイルスの一部の株については、検出および同定に RT-PCR 法およびダイレクトシーケンス法を用いた。

(3) その他

必要に応じ市販キット（ELISA、RPHA、蛍光抗体法、イムノクロマトグラフィー等）を用い、ロタウイルス、アデノウイルス、単純ヘルペスウイルス等の検出を行った。

2. 細菌検査

A 群溶血性レンサ球菌の分離には、SEB 培地で増菌後、羊血液寒天培地を用いた。分離菌株は、グラム染色、カタラーゼテスト、ラテックス凝集試験によるランズフィールドの血清群型別により同定した。

検査結果

対象疾病患者 328 名から採取した 331 検体について検査し、113 株の病原ウイルスと 1 株の病原細菌を検出した。月別病原体検出状況を表 2 に、診断名別病原体検出状況を表 3 に示す。以下に診断名別の検出状況の概要を述べる。

1. インフルエンザ

2006/2007 シーズンには、2007 年 2 月上旬に A 香港型インフルエンザウイルスが検出され始め、5 月まで検出された。また 3 月上旬に B 型インフルエンザウイルスが検出され始め、5 月下旬まで検出された（図 1）。

流行曲線は二峰性であり、2007 年 1 月下旬から 3 月にかけて、主に A 香港型インフルエンザウ

ウイルスによる流行と、4月から6月にかけて5歳～19歳を中心に、主にB型インフルエンザウイルスによる小流行が認められた。

2007/2008シーズンは、1月上旬にA型インフルエンザウイルスが検出され始め、次いで3月上旬からB型インフルエンザウイルスが検出され始め、42株(Aソ連型が39株、A香港型が1株、B型が2株)が検出された。また、咽頭ぬぐい液1検体からRSウイルスが検出された。

2. 感染性胃腸炎

73検体の糞便を検査したところ、32株のウイルスが検出された。最も多く検出されたのはノロウイルスで、冬期(11～2月)を中心に、28株(遺伝子型 : 3株、遺伝子型 : 25株)が検出された。

検出されたノロウイルスの遺伝子型は、遺伝子型 /4 が3株(うち1検体はA群ロタウイルスを重複して検出)、遺伝子型 /4 が12株、遺伝子型 /3 が1株、遺伝子型 /不明が12株(うち1検体はノロウイルス遺伝子型 /4 を重複して検出)であった。

そのほか、アデノウイルス1型が1株、ポリオウイルス3型が1株(経口ワクチン株)、A群ロタウイルスが2株検出された。

3. 流行性角結膜炎

122検体の結膜ぬぐい液を検査したところ、アデノウイルス37型が2株、アデノウイルス3型が1株、アデノウイルス11型が1株、単純ヘルペスウイルス1型が1株検出された。

4. 無菌性髄膜炎

9検体の髄液を検査したところ、B群コクサッキーウイルス5型が1株、エコーウイルス30型が1株検出された。

5. ウイルス性口内炎

3検体の水泡内容物及び咽頭ぬぐい液を検査したところ、単純ヘルペスウイルス1型が1株検

出された。

6. ヘルパンギーナ

1検体の咽頭ぬぐい液を検査したところ、B群コクサッキーウイルス5型が検出された。

7. その他の胃腸炎

9検体の糞便を検査したところ、急性胃腸炎2検体からノロウイルス遺伝子型 が2株、遷延性腸炎1検体からポリオウイルス2型(経口ワクチン株)が1株検出された。

8. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎

2検体の咽頭ぬぐい液を検査したところ、1検体からA群溶血性レンサ球菌(T-1型)が分離された。

9. その他

2検体の糞便、咽頭ぬぐい液を検査したところ、発疹熱1検体からノロウイルス遺伝子型 が検出された。

ま と め

1. 患者情報の収集解析によると、2007/2008シーズンの岩手県におけるインフルエンザの流行は、2001/2002シーズン以降では2005/2006シーズンに次いで二番目に早く、12月中旬に始まった。1月上旬にA型インフルエンザウイルスが検出され始め、3月上旬からB型インフルエンザウイルスが検出され始めたが、シーズンを通じて、Aソ連型インフルエンザウイルスを中心とした流行であった(図1)。

2. 10月から3月にかけてノロウイルスによる感染性胃腸炎の流行が確認され、県内ではノロウイルスによる急性胃腸炎の集団発生も頻発した。

表1 診断名別検査依頼件数(平成19年4月～平成20年3月)

	診断名	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計	
五類感染症指定疾患	インフルエンザ	19	8						1	1	20	17	8	74	
	咽頭結膜熱									4	1	6		11	
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎		2											2	
	感染性胃腸炎	5	10	4	6	1	1	3	6	21	9	6	1	73	
	突発性発疹														
	ヘルパンギーナ								1					1	
	流行性耳下腺炎	1												1	
	急性出血性結膜炎								1	1			1	1	4
	流行性角結膜炎	4	18	20	7	10	6	12	12	13	12	5	3	122	
	急性脳炎											1		1	
	無菌性髄膜炎				2	2	1	1	1		2			9	
五類感染症指定疾患以外	上気道炎	1			2	1							1	5	
	不明熱				1	3								4	
	リンパ節炎					1		1						2	
	発疹症					1						1		2	
	単純疱疹		1											1	
	カポジ水痘					1								1	
	ウイルス性口内炎								1			1	1	3	
	血小板減少性紫斑病					1								1	
	けいれん重積	1												1	
	腸重積症					2								2	
	その他の消化器疾患 1	1			1					2	1		1	6	
その他 2		1						1					2		
総計	32	40	24	19	23	8	20	22	41	45	38	16	328		

1 遷延性腸炎、急性胃腸炎、出血性大腸炎、潰瘍性大腸炎

2 肝機能障害、アメーバ赤痢

表2 月別病原体検出状況(平成19年4月～平成20年3月)

検出病原体	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
Aソ連型インフルエンザウイルス									1	18	13	7	39
A香港型インフルエンザウイルス	14	1									1		16
B型インフルエンザウイルス	4	6									1	1	12
RSウイルス								1					1
アデノウイルス 1型		1											1
アデノウイルス 3型									1				1
アデノウイルス 11型					1								1
アデノウイルス 37型			2										2
B群コクサッキーウイルス 5型							1	1					2
エコーウイルス 30型				1									1
単純ヘルペスウイルス 1型	1										1		2
ノロウイルス 遺伝子型	1										3		4
ノロウイルス 遺伝子型	3	1						3	9	7	2	2	27
A群ロタウイルス											2		2
ポリオウイルス 2型(経口ワクチン株)				1									1
ポリオウイルス 3型(経口ワクチン株)				1									1
A群溶血性レンサ球菌		1											1
総 計	23	10	2	3	1		1	5	11	25	23	10	114

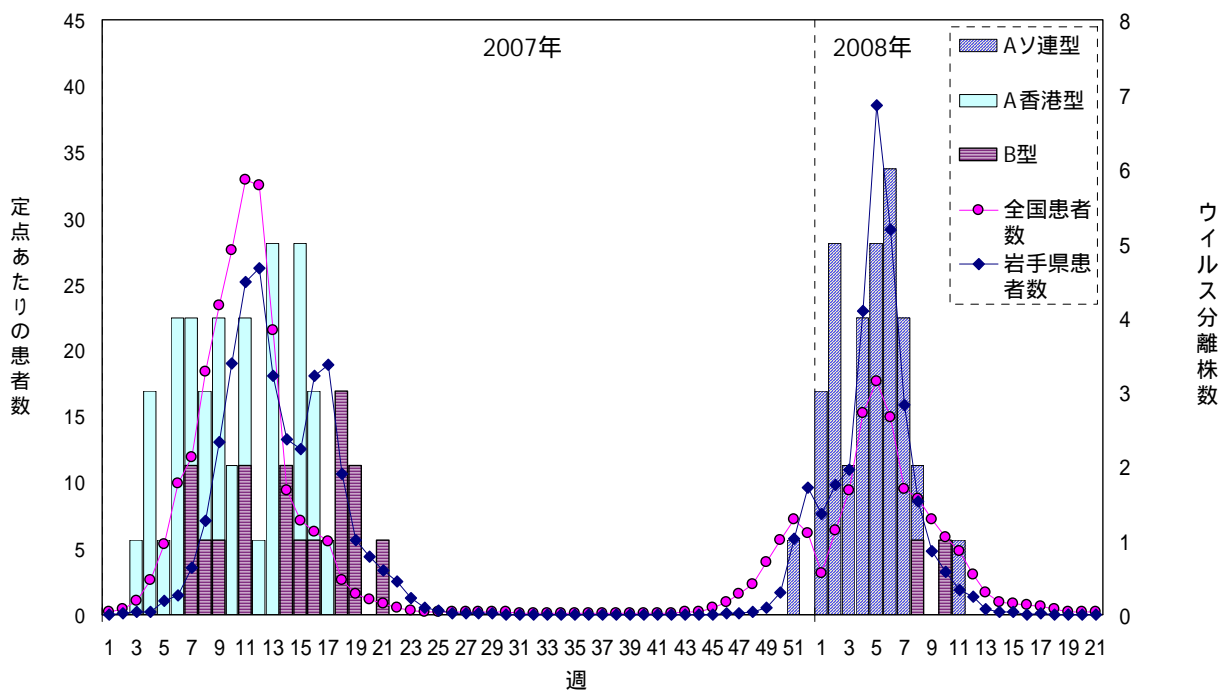


図 1. インフルエンザ患者発生状況とウイルス分離数(2006/2007,2007/2008シーズン)

表3 診断名別病原体検出状況(平成19年4月～平成20年3月)

診断名	(検体数)	検出病原体	検出数
インフルエンザ	(74)	Aソ連型インフルエンザウイルス	39
		A香港型インフルエンザウイルス	16
		B型インフルエンザウイルス	12
		RSウイルス	1
感染性胃腸炎	(73)	アデノウイルス 1型	1
		ポリオウイルス 3型	1
		ノロウイルス 遺伝子型	3
		ノロウイルス 遺伝子型	25
		A群ロタウイルス	2
ヘルパンギーナ	(1)	B群コクサッキーウイルス 5型	1
流行性角結膜炎	(122)	アデノウイルス 3型	1
		アデノウイルス 11型	1
		アデノウイルス 37型	2
		単純ヘルペスウイルス 1型	1
無菌性髄膜炎	(9)	B群コクサッキーウイルス 5型	1
		エコーウイルス 30型	1
ウイルス性口内炎	(3)	単純ヘルペスウイルス 1型	1
急性胃腸炎	(2)	ノロウイルス 遺伝子型	2
遷延性腸炎	(1)	ポリオウイルス 2型	1
発疹熱	(1)	ノロウイルス 遺伝子型	1
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	(2)	A群溶血性レンサ球菌	1
総 計			114

狂犬病対策のための効果的な啓発活動のあり方 - 人獣共通感染症対策研修会「狂犬病の発生に備えて」を開催して -

岩手県環境保健研究センター 高橋朱実，松館宏樹，高橋雅輝，岩淵香織，藤井伸一郎，蛇口哲夫

1 はじめに

長い間発生が無く、国民の間で危機意識が薄れてしまっている感染症に対しては、「万が一の発生に備え、その対策にあたる自治体等関係職員における意識レベルの高揚」と、「発生時に、的確で迅速な対応を可能とする上で必要な、情報の伝達システム並びに診断技術レベルの確保」は大きな課題である。今回、狂犬病をその危機意識の薄れた感染症のモデルとして取り上げ、関係職員の意識レベルの高揚と診断技術の習得、さらに自治体間の広域連携の構築を目的として、狂犬病対策研修会を開催した。研修会終了後にアンケート調査を行い、参加者の狂犬病に対する認識の実態を把握するとともに、今後の狂犬病対策充実のための効果的な啓発（研修）のあり方について考察した。

2 研修会の概要

第1日(H18.7.13): 総合研修 1)参加者: 北東北3 県等の自治体狂犬病対策担当者及び臨床獣医師(79名) 2)内容: 講演「狂犬病の社会的インパクトとその発生リスク(国立感染症研究所 井上智)」「兵庫県の狂犬病対策の歴史」「自治体における狂犬病対策の現状と課題」(兵庫県動物愛護センター 沼田一三)「イヌ狂犬病臨床観察のポイント」(佐藤獣医科 佐藤克) ヒト狂犬病発症例の記録上映、質疑・討論

第2日(H18.7.14): ウイルス検査研修 1)参加者:自治体試験検査機関の病原体検査担当者(13名) 2)内容: 講演「イヌ狂犬病試験室内検査法」 実習「イヌの脳摘出、脳塗沫材料直接蛍光抗体染色像観察」

3 アンケート調査概要

目的 1)研修効果の把握、2)参加者の研修評価の把握、3)参加者の意見収集、4)今後の研修法の検討、方法 第1日参加者69名(回収率87%)及び第2日参加者13名(回収率100%)の調査票を集計した。

第1日(総合研修)調査結果

1)講演「狂犬病の社会的インパクトとその発生リスク」を聴き初めて知った事として「暴露後ワクチン」(6名)「海外の発生状況」(6名)「数理モデルを利用した侵入リスク」(6名)「海外の発生とそれに伴う社会的な混乱」(5名)「致死率100%」(2名)が挙げられた。また、これらで得た知識は「狂犬病対策に関する啓蒙活動の際に関係者を説得する資料として有効」(11名)と多くの参加者が答えた。 2)講演「国内の自治体における狂犬病対策の現状と課題」を聴き初めて知った事として、「衛生研究所でウイルス検査ができないこと」(7名)が最も多く、「自治体の対策が不十分な事」(4名)「狂犬病に対する危機意識の低下」(4名)「犬の登録率やワクチン接種率の低下」(2名)「連携や連絡会議の重要性」等が挙げられた。 3)講演「イヌ狂犬病臨床観察のポイント」について、参加者の36%は「講演内容を知らなかった」と答えた。 4)良かったこと:「狂犬病対策の重要性の理解、課題の掘り起こし、再認識に非常に有用」(9名)「各分野の専門家の話を聞き、学べた」(8名)「ビジュアルな映像を用い、強いインパクトがあった」(4名)「行政、検査、臨床等の様々な職域の人が一堂に会し、各々の課題を共有できた」(3名)「具体的な狂犬病の症状や対応等を初

めて知った」等が挙げられた。5)印象に残った事としては、「ヒト狂犬病、イヌ狂犬病の記録映像のインパクト」(11名)が最も多かった。また、「講師の先生方の熱意」(4名)、「多くの人の意識の高さ」(3名)、「狂犬病に対する危機管理の重要性と啓発活動の必要性の再認識」(3名)、「マニュアルの必要性の認識」(3名)、「イヌの登録、ワクチン接種の重要性の認識」(2名)、「市町村担当者への研修の必要性を認識」(2名)等が挙げられた。

第2日(検査研修)調査結果

1)狂犬病が疑われる犬を検査する意義・検査法、イヌ狂犬病発見時の初期対応のいずれについても、参加者の38~46%は「あまり知らなかった」、「知らなかった」と答え、狂犬病の検査について、参加者は十分に知っているとは言えなかった。2)検査研修で初めて知った事、狂犬病に対する意識が変わった部分としては、「検査の意義や検査法(器具の準備、解剖、脳の摘出、抗原検査)を初めて知った」(7名)、「実際に検査してみなければ、発生時の対応は不可能と認識した」(4名)が多かった。3)自治体の連携による研修開催の利点や課題

利点:「平常時からの情報交換により、感染症発生時もスムーズな対応が可能」(8名)が最も多く、「地域の特性を見出し、自らの地域の取り組むべき課題を見出せる」(4名)、「希少感染症研修の場合、単独で開催するより、自治体や講師の負担が少なく効率的」(3名)、「国内の専門家と繋がりができる」等が挙げられた。

課題:「人的要因や予算面で単自治体開催は負担が大きい。国が主体となり、地衛研ブロック毎に開催する等の検討を要す」(2名)、「行政レベルでも同様の繋がりが必要」、「研修会で指導できる講師陣の育成」等が挙げられた。

4 考察

狂犬病対策に関する、このような研修会の開催は、自治体の取り組みとしては初めての試みである。参加者にとって、今回の研修内容が非常に新鮮で、意識高揚に役立ったことがアンケート結果から明らかになった。また、狂犬病の知識に関して、参加者は十分に持ち合わせていないことが判明した。幅広い

知見を持つ専門家からの、臨場感に富んだ情報に接することで、病気の重要性と市民に対する意識啓発の必要性を認識することに繋がった。特に、実例映像が参加者の意識に強く働きかけたことが判った。診断技術については、マニュアル資料等に基づく座学ではなく、実技を伴う研修が、確実な習得のために効果的であることが判った。

狂犬病が疑われる事例が発生した場合、情報伝達や診断が的確かつ迅速に行われることが、市民の不安を拡大させないために重要である。そのためには、関係機関と日頃からお互いの役割分担を確認し、その内容を共有しておくことが不可欠と考えられる。今回、自治体の枠組みを超え、対策に携わる自治体(県)の担当者および臨床獣医師が一堂に会して意見交換した結果、お互いの地域の特性を認識し、その対策の課題等を効果的、効率的に情報共有することができた。今後は狂犬病予防法に基づく犬の登録事務等を行っている市町村、あるいは医師会等も加え、関係機関との連携を推進することが重要であり、今回の研修を第一歩として、体制の整備を進める必要がある。また、狂犬病に限らず、限られた人員で効果的かつ効果的な感染症対策を講じるためには、市町村職員及び隣接県職員との連携、獣医師会などの団体との所謂「顔の見える連携」を推進することが重要である。

奇しくも、本研修を終えて4ヵ月後の11月に、国内で人の狂犬病の発症が立て続けに2例確認された。いずれもフィリピンにおいて感染し、帰国後に発症した事例であり、その後、二人とも亡くなった。この発生を受け、渡航者のワクチン接種が増えていると聞く。我々狂犬病対策に関わる担当者自身の意識改革だけではなく、そのリスクに関する知識について一般市民の理解を促す努力も継続する必要がある。

茶中の残留農薬実態調査

畠山えり子 阿久津千寿子 梶田弘子 菅原隆志 佐々木陽 高橋悟 小向隆志
(岩手県環境保健研究センター)

市販の茶 20 検体 (緑茶 10、玄米茶 3、ほうじ茶 2、杜仲茶 3) を対象に、残留農薬実態調査を行った。その結果、基準値に比べて低濃度ではあったが、有機 JAS 表示のあった緑茶 2 検体および杜仲茶を除く全ての緑茶、ほうじ茶および玄米茶から殺虫剤 (10) 及び殺菌剤 (5) の 15 農薬、延べ 84 農薬が検出された。最も検出例の高い農薬は殺菌剤テブコナゾールの 13 例、次いで、殺虫剤アセタミプリドの 12 例、殺虫剤クロルフェナピルの 11 例であった。一つの試料から検出した農薬数は 1 から 11 農薬で、複数の農薬を検出した割合は 65% と他の農産物に比べても高い傾向を示したことから、今後も継続して検査を行う必要があると考えられた。

はじめに

近年、茶はその有効成分による機能性が注目され、飲用のみならず食べるお茶としても利用されるなど、食の形態は多様化している。一方、消費者の食品中の残留農薬への不安は高く、茶においても高濃度に残留しているのではとの懸念が指摘されているが、茶に残留する農薬の調査結果^{1,2)}は非常に少ない状況にある。分析法については、厚生労働省からの通知法³⁾において茶は抹茶と抹茶以外に分け、抹茶以外の茶ではほとんどの農薬が熱湯抽出法による個別分析法が示されている。しかしながら、この方法による場合、検査に多大な労力と時間を要すること、また、熱湯抽出法による場合、水に溶けにくい農薬の残留実態はほとんど把握できないといった問題も指摘されている。そこで、著者等はこれまでに限外ろ過法を用いた LC/MS/MS による茶中の残留農薬一斉分析法⁴⁾について報告しているが、今回、本法による LC/MS/MS 一斉分析および超臨界抽出法 (SFE) による GC/MS 一斉分析法を用いて、市販の茶を対象に残留農薬実態を調査するとともに、検出した農薬について、通知法 (LC/MS/MS 法) との比較を行うことにより、限外ろ過法の精度を検証した。また、検出例の多かった農薬について、茶

湯への移行についても若干の検討を加えた。

実験方法

2.1 試料

2006 年に盛岡市内で市販されていた緑茶 (煎茶) 10 検体、玄米茶 4 検体、ほうじ茶 3 検体、杜仲茶 3 検体の合計 20 検体を対象とした。

2.2 調査対象試薬

GC/MS 105 農薬、LC/MS/MS135 農薬 (両方の検出器により測定している項目数;23) の合計 217 農薬について調査した (表 1)。

2.3 標準品および試薬等

農薬標準品：和光純薬工業(株)、林純薬工業(株)、関東化学(株)、Dr.Eherenstorfer 社製の残留農薬試験用農薬標準品を用いた。

固相およびろ過膜；固相は SUPELCO 社製の ENVI-Carb/NH₂ を用いた。ENVI-Carb/NH₂ は使用直前にトルエン：アセトニトリル(1:3)10mL でコンデショニングを行った。ろ過膜は Millipore 社製の ULTRAFREE-MC30,000 を用いた。

有機溶媒等：有機溶媒は関東化学の残留農薬分析用、超臨界抽出用吸水剤は ISUCO 社製の Wetsupport、その他の試薬は特級品、水はミリ Q 水を用いた。

2.4 装置および測定条件

2.4.1 GC/MS 法

超臨界抽出装置：SFX1220 (ISCO 社製)

抽出条件：CO₂ 圧力；2000psi、抽出カートリッジ温度；40、リストラクター温度；60、スタティック；15min、ダイナミック；20min

GC/MS；6890GC/5973MSD (Agilent 社製)

GC/MS 条件：カラム；DB-XLB (内径 0.25mm × 30m、膜圧 0.1mm、Agilent 社製) ガス；He、オープン温度；80 (1min) 20 /min 140 4 /min 200 8 /min 300 (5min)、注入口温度；230、注入量；3 μL、測定モード；SIM

2.4.2 LC/MS/MS 法

LC；Agilent 1100 (Agilent 社製), MS；API4000 (Applied Biosystems 社製)

LC 条件：カラム；AtlantisTM d-C18 3 μm 2.1 × 150mm (Waters 社製) 移動相；A-0.05% formic acid + 10mM Ammonium Acetate、B-Methanol、グラジエント条件；ポジティブモード：0分(A:B, 80:20) 2分~8分(10:90) 8分~20分(10:90) 20.01分(80:20) 20.01分~30分(80:20) ネガティブモード；0分、(80:20) 1分~6分(10:90) 6分~14分(10:90) 14.01分(80:20) 14.01分~22分(80:20) 注入量；10 μL、

MS 条件：イオン化モード；ESI(+)および(-) 測定モード；MRM、温度；600、イオンソース；Voltage 5500

2.5 試験溶液の調製

超臨界流体抽出 (SFE) - GC/MS 法および限外ろ過 - LC/MS/MS 法における試験溶液の調製方法を図 1 に示した。なお、試験溶液の作物換算濃度は GC/MS で 2 倍希釈、LC/MS/MS で 250 倍希釈とした。

2.5.1 SFE-GC/MS 法における試験溶液の調製

粉碎した試料 1.0g を乳鉢にとり、水 1mL 加えて 15 分間放置したのち、ウェットサポート 2g 加えて良く摩擦混合した。その試料混合物をあらかじめ球状砂 1g を積層した抽出容器 (10mL 容器)

に詰め、モデファイヤーとしてアセトン 200 μL を添加し、さらに、試料上部に球状砂 1g を積層した。その後、抽出容器を装置に接続し、2.4.1 の条件により抽出し、アセトン 20mL で捕集した。SFE 抽出液を減圧濃縮、窒素気流で溶媒を除去したのちトルエン：アセトニトリル(1:3)3mL で溶解して ENVI-Carb/NH₂ ミニカラムに負荷し、トルエン：アセトニトリル(1:3)20mL で溶出した。溶出液を減圧濃縮、窒素気流で乾固したのち、アセトン：ヘキサン(1:1)1mL に溶解しこれを試験溶液とした。

2.5.2 限外ろ過-LC/MS/MS 法による試験溶液の調製

粉碎した試料 1.0g に水 4mL 加えて 15 分間放置したのち、既報⁴⁾ に準じて試験溶液を調製した。

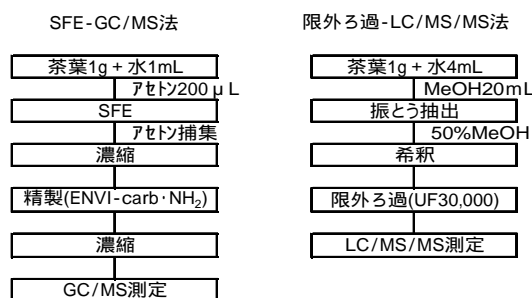


図-1 試験溶液の調製方法

2.5.3 LC/MS/MS 法による試験溶液の調製

通知法³⁾ に示された LC/MS/MS 法に準じて試験溶液を調製した。

2.5.4 熱湯抽出-LC/MS/MS 法による試験溶液の調製

試料 5.0g に熱湯水 300mL 加えて 5 分間放置後、ろ紙を用いて吸引ろ過し、ろ液を冷却した。ろ液をメタノール 50% 容に希釈調製し、ULTRAFREE-MC30,000 を用いて遠心ろ過した液を試験溶液とした。

結果及び考察

3.1 添加回収試験

SFE-GC/MS 法、限外ろ過-LC/MS/MS 法および LC/MS/MS 法において、絶対検量線を用いて定量した場合の添加回収試験結果を表 2 に示した。

添加濃度はGC/MS法が0.2 µg/g、LC/MS/MS法が1 µg/gとした。SFE-GC/MS法においては、茶に大量に含まれるカフェイン等の夾雑物質の影響によって、プロパニル、メトリブジン、シンメチリン、レナシルはピークを全く消失していた。また、測定を繰り返しているうちにピークを検出できなくなる農薬もあり、ENVI-Carb/LC-NH₂カラム精製のみでは測定機器への負荷が大きいと考えられた。一方、限外ろ過-LC/MS/MS法では、回収率が50%以下となった成分は少なかったが、回収率が50~70%の成分が多い傾向を示した。これらの農薬は、マトリックス標準溶液と溶媒標準溶液の面積比から、イオン化抑制を受けていることが示唆され、マトリックス添加検量線を用いて定量することで補正が可能であった。通知法のLC/MS/MS法においては法適用農薬や一部の農薬で全く回収されない農薬があった他は、極性の高い農薬で回収率が低い傾向にあった。

表2 分析法による添加回収試験結果

回収率の範囲(%)	GC/MS	LC/MS/MS	
	SFE	UF法	法
50以下	8	8	35
50~70	3	65	26
70~120	80	67	79
120~150	12	1	1
150以上	2	0	0

3.2 実態調査結果

検出した農薬別の検査結果を表3に、検体別検査結果を表4に示した。有機栽培と表示された緑茶2検体、杜仲茶3検体を除く全ての検体から1から11種類の農薬が検出された。いずれの農薬も残留基準値以下であった。最も検出例が多かった農薬はテブコナゾール(殺菌剤)で13例、次いで、アセタミプリド(殺虫剤)で12例、クロルフェナビル(殺虫剤)で11例であった。調査の結果、市販の緑茶等において複数の殺虫剤・殺菌剤が検出されたサンプルが多い原因としては、産地の違う茶葉を混ぜて製造される場合が多いことも一因と考えられた。また、緑茶を原材料とした茶の農薬の検出率は100%(有機栽培と表示

された茶を除く)で、他の農産物に比べても高い傾向にあった。

表3 農薬別検出状況

検出農薬名	用途	検出数	検出濃度(ppm)	残留基準(ppm)
テブコナゾール	殺菌剤	13	0.04~2.38	30
アセタミプリド	殺虫剤	12	0.04~2.23	50
クロルフェナビル	殺虫剤	11	0.02~1.49	50
フルフェノクスロン	殺虫剤	9	0.04~0.39	15
ジフェノコナゾール	殺菌剤	8	0.03~0.16	10
イミダクロプリド	殺虫剤	7	0.19~1.02	10
ブプロフェジン	殺虫剤	6	0.10~0.56	20
フェンピロキシメート	殺菌剤	4	0.02~0.06	10
ピリミホスメチル	殺虫剤	3	0.07~0.18	10
アゾキシストロピン	殺菌剤	2	0.02~0.03	10
イソキサチオン	殺虫剤	2	0.03	10
カルベンダジム	殺菌剤	2	0.13~0.23*1	10
トリアジメノール	殺菌剤	2	0.17~0.59	20
トルフェンピラド	殺虫剤	2	0.34~0.63	15
クロルピリホス	殺虫剤	1	0.08	10

*1 ;チオファネートメチルはカルベンダジムに換算し、合算した。
斜字はGC/MS項目、その他はLC/MS/MS項目

3.3 LC/MS/MS 法と限外ろ過法の比較

LC/MS/MSで検出した農薬は全て通知法のLC/MS/MS法が適用可能な項目であったので、通知法との比較により限外ろ過法の精度を検証した。定量は、いずれの方法においても添加検量線を用いた。検体、農薬によって若干の違いは認められたが、ほぼ一致する結果が得られた(表5)。

表5 限外ろ過法(UF法)と通知法(法)との比較

No.	(単位:ppm)							
	テブコナゾール		ジフェノコナゾール		アセタミプリド		イミダクロプリド	
	UF法	法	UF法	法	UF法	法	UF法	法
1	2.18	2.19	0.07	0.05	0.51	0.65	0.19	0.31
2	1.91	1.72	0.16	0.09	0.33	0.32	0.79	0.99
3	0.65	0.64	0.11	0.10	0.46	0.56	0.11	0.12
4	2.38	2.03	0.05	0.04	1.92	2.19	0.53	0.68
5	0.40	0.27	0.00	0.00	0.71	0.57	0.00	0.00
6	0.24	0.27	0.00	0.00	2.23	2.99	0.00	0.00
7	0.77	0.80	0.04	0.03	0.00	0.00	1.02	1.28

また、実試料における再現性試験(n=5)の結果を表6に示した。限外ろ過法の変動係数は20%以下と通知法の法に比べて若干変動が少ない傾向にあった。これらの結果から、限外ろ過法によるLC/MS/MS一斉分析は茶葉の残留農薬スク

リーニング検査法として有用性が高いと考えられた。

による再現性試験(n=5)

農薬名	UF法		法	
	作物濃度 (ppm)	Cv.	作物濃度 (ppm)	Cv.
フルフェノクスロン	0.31	4	0.22	17
フェンピロキシメート	0.02	5	0.01	15
テブコナゾール	0.64	2	0.71	6
イミダクロプリド	0.14	13	0.09	23
アセタミプリド	0.55	10	0.36	9
アゾキシストロビン	0.03	6	0.03	21
ジフェノコナゾール	0.10	4	0.08	11

測定値：添加検量線法

3.4 農薬の浸出液の移行

永山らは市販茶中の有機リン系農薬の茶汤への移行について、農薬の浸出率は農薬の水溶解度に大きく依存していることを報告している⁵⁾。そこで、LC/MS/MSで検出した農薬を対象に、農薬の茶汤への移行について、熱湯抽出法を用いて試験を行った。溶媒抽出法および熱湯抽出法による農薬の測定値を表7に示した。試験の結果、茶汤への農薬の移行は農薬によって大きく違う傾向を示した。すなわち、溶媒抽出法で検出した11農薬のうちテブコナゾール、アセタミプリド、イミダクロプリド、チオファネートメチルおよびカルベンダジムの5農薬は茶汤へ移行したが、ジフェノコナゾール、ピリミホスメチル、イソキサチオン、フェンピロキシメート、フルフェノクスロンおよびクロルピリホスの6農薬は茶汤へは移行しないという結果であった。

No.	テブコナゾール		アセタミプリド		イミダクロプリド		チオファネートメチル		カルベンダジム	
	溶媒	熱湯	溶媒	熱湯	溶媒	熱湯	溶媒	熱湯	溶媒	熱湯
3	2.18	0.58	0.51	0.36	0.19	0.21	0.00	0.00	0.00	0.00
6	1.91	0.43	0.33	0.17	0.79	0.66	0.00	0.01	0.17	0.09
7	0.65	0.15	0.46	0.30	0.11	0.10	0.00	0.00	0.00	0.00
8	2.38	0.55	1.92	1.18	0.53	0.39	0.00	0.00	0.00	0.00
9	0.40	0.10	0.71	0.43	0.00	0.02	0.00	0.00	0.00	0.00
10	0.24	0.08	2.23	1.65	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
13	0.77	0.26	0.00	0.00	1.02	0.88	0.02	0.02	0.32	0.18

移行した農薬について、溶媒抽出法と熱湯抽出法の測定値の相関について調べた結果を図2に示した。いずれも高い相関を有しており、農薬によ

る回帰式の傾きの違いは茶汤へのその農薬の移行率に関係していることが示唆された。また、水溶性の低い農薬は熱湯抽出では茶汤への移行は少ないことが確認された。しかしながら、茶が直接喫食されることもあることから、茶葉の残留農薬については熱湯抽出法のみではなく、溶媒抽出法により検査する必要もあると考えられた。

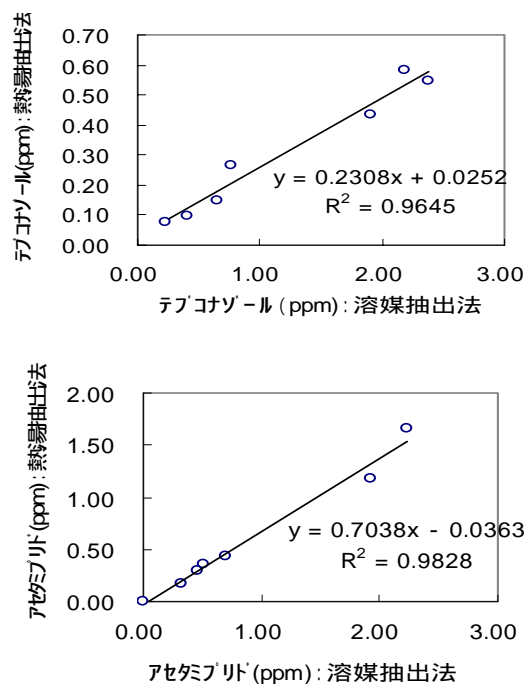


図2 熱湯抽出法と溶媒抽出法の測定値の相関
上段；テブコナゾール，下段；アセタミプリド

まとめ

茶葉に残留する農薬の実態を把握することを目的として、超臨界流体抽出法によるGC/MS一斉分析法および限外ろ過法によるLC/MS/MS一斉分析法を用いて残留農薬調査を実施した。その結果、20検体中15検体から15種類の農薬、延べ84農薬が検出された。農薬の残留量は基準値に比べて低濃度ではあったが、複数の農薬を検出する割合は65%と高い傾向にあった。

検出された農薬について限外ろ過法と通知法による一斉分析法を比較した結果、概ね一致する結果が得られたことから、限外ろ過法は茶葉の残留農薬分析における迅速分析法として有用な手法であると考えられた。

抹茶以外の茶の残留農薬基準は熱湯抽出法により検査することが規定されている農薬が多い。今回、残留実態調査の結果、農薬が検出された検体について、熱湯抽出法により農薬の茶汤への移行を検討した。その結果、農薬の茶汤への移行は農薬によって大きく違う傾向を示し、水溶解度の低い農薬はほとんど浸出されないこと、浸出率は水溶解度に大きく依存していることが確認された。茶が飲用のみでなく直接喫食する場合もあることから、農薬の残留量を把握できる検査を行う必要があると考えられた。

文献

- 1) 西田ら，福岡市保環研年報，**28**，160-164,2003.
- 2) 青柳ら，東京安研七報，**56**,161-164,2005
- 3) 食安発第 0124001 号，平成 17 年 1 月 24 日
- 4) 梶田ら，第 92 回日本食品衛生学会要旨集
- 5) 畠山ら，食品衛生学雑誌 **47**，137-144，2006
- 6) 永山ら，日本農薬学会誌 **14**，39-45

表 1 検査対象農薬一覧

分類	用途	農薬名
有機リン系	殺虫剤	EPN、アザメチホス、アセフェート、イソキサチオン、イソフェンホス、エチオン、エトプロホス、エトリムホス、オメトエート、カズサホス、キナルホス、クロルピリホス、クロルピリホスメチル、クロルフェンビンホス、シアノフェンホス、シアノホス、ジクロフェンチオン、ジクロルボス、ジメチルビンホス、ジメトエート、ダイアジノン、テルブホス、トリクロルホン、パミダチオン、パラチオン、パラチオンメチル、ピラクロホス、ピリダフェンチオン、ピリミホスメチル、フェントロチオン、フェンチオン、フェントエート、プロチオホス、プロフェノ
	殺菌剤	イプロベンホス、エディフェンホス、トルクロホスメチル、ピラゾホス
	除草剤	ブタミホス
ピレスロイド系	殺虫剤	アクリナトリン、シハロトリン、シフルトリン、シベルメトリン、シラフルオフェン、テフルトリン、デルタメトリン&トラロメトリン、ハルフェンブロックス、ピフェントリン、フェンバレレート、フェンプロバトリン、フルシトリネート、フルバリネート、ベルメトリン
カーバメート系	殺虫剤	XMC、アラニカルブ、アルジカルブ、イソプロカルブ、エチオフェンカルブ、オキサミル、カルバリル、カルボフラン、ピリミカルブ、フェノチオカルブ、フェノブカルブ、プロボキシル、ベンダイオカルブ、メソミル(チオジカルブ含)、メチオカルブ、フェノチオカルブ、フラチオカルブ、ベンフラカルブ
	殺菌剤	ジエトフェンカルブ
	除草剤	EPTC、クロルプロファミン、エスプロカルブ、ベンチオカルブ、ピリブチカルブ、モリネート
有機塩素系	殺虫剤	BHC、 ^γ -BHC、DDT、ディルドリン(アルドリン含)、ヘプタクロール(ヘプタクロールエポキシド含)、クロルベンジレート、エンドスルファン
	殺虫剤	テブフェンピラド、ピリダベン、ピリプロキシフェン、ピリミジフェン、プロプロフェジン、ヘキシチアゾクス
含窒素系	殺菌剤	イプロジオン、エポキシコナゾール、オキサジキシル、キノキシフェン、クレソキシムメチル、ジフェノコナゾール、シプロコナゾール、シプロジニル、テトラコナゾール、テブコナゾール、トリアジメノール、トリアジメボン、トリフルミゾール、ピテルタノール、ピリフェノックス、フェナリモル、フルアジナム、フルシラゾール、フルトラニル、プロクロラズ、プロビコナゾール、ヘキサコナゾール、ベナラキシル、ベンコナゾール、ボスカリド、マイクロブタニル、メタラキシル、メブロニル
	除草剤	アセトクロール、アラクロール、オキサジアゾン、クロキントセットメキシル、シマジン、ターバシル、トリフルラリン、ブタクロール、プレチラクロール、プロバクロール、プロパニル、ベンディメタリン、メトラクロール、メトリブジン、メフェナセット
	植物成長調整剤	バクロブトラゾール
ネオニコチノイド系	殺虫剤	アセタミプリド、イミダクロプリド、クロチアニジン、チアメトキサム、ニテンピラム
ベンゾイルフェニル尿素系	殺虫剤	ジフルベンズロン、テフルベンズロン、フルフェノクスロン、ルフェヌロン
スルホニルウレア系	除草剤	アジムスルフロン、イマソスルフロン、シクロスルファミン、ハロスルフロンメチル、ピラゾスルフロンエチル、フラザスルフロン、ベンスルフロンメチル、メトスルフロンメチル
その他	殺虫剤	エトキサゾール、クロルフェナビル、スピノサド、テブフェノジド、トルフェンピラド、ピメトロジン、フェノキシカルブ、フェンスルホチオン、フェンピロキシメート、フルメトリン、プロモプロピレート、ホキシム
	殺菌剤	アゾキシストロビン、イソプロチオラン、イマザリル、イミベンコナゾール、カルベンダジム等、ジクロラン、チアベンダゾール、トリシクラゾール、ニトロタールイソプロピル、ピロキロン、フェリムゾン、フェンヘキサミド、フサライド、ブピリメート、フルスルファミド、プロシミドン、プロバモカルブ、プロベナゾール、ペンシクロン
	除草剤	アトラジン、アニコホス、インダノファン、エトベンザニド、オキサジクロメボン、ギザロホップエチル、クロジナホッププロバルギル、クロマゾン、クロルスルフロン、クロルタールジメチル、ジメチピン、シンメチリン、セトキシジム、ダイムロン、テニルクロール、トリアスルフロン、ハロキシホップ、フェノキサプロップエチル、プチレート、フラムプロップエチル、フルアジホップ、プロスルフロン、ベンタゾン、ベンフレレート、メタベンズチアズロン、リニユロン、レナシル
	植物成長調整剤	イナベンフィド、エトキシキン
	殺鼠剤	ワルファリン
	薬害軽減剤	ベノキサコール

表 4 市販の茶の分析結果

No.	品名	検出農薬名 (検出濃度:ppm)
1	緑茶	ピリホスメチル(0.16)
2	緑茶	ピリホスメチル(0.18)
3	緑茶	テブコナゾール(1.59), クロルフェチル(0.75), アセタミプリド (0.33), プロピロキシゾン(0.23), フルフェノクスロン (0.2), イミダクロプリド (0.14), シンフェノコナゾール(0.05), イソキサチオン (0.03), フェンピロキシメト(0.02)
4	緑茶(有機JAS表示)	
5	緑茶(有機JAS表示)	
6	緑茶	クロルフェチル (1.49), テブコナゾール(1.39), トリアジメノール(0.59), イミダクロプリド (0.58), フルフェノクスロン (0.39), プロピロキシゾン (0.28), アセタミプリド (0.21), カルベンダシム(0.13), シンフェノコナゾール (0.11), フェンピロキシメト (0.06), イソキサチオン (0.03)
7	緑茶	クロルフェチル (0.52), トルフェンピラト (0.49), テブコナゾール(0.48), アセタミプリド (0.3), フルフェノクスロン (0.17), プロピロキシゾン (0.10), シンフェノコナゾール(0.08), イミダクロプリド (0.08), アジキストロピン (0.03)
8	緑茶	テブコナゾール(1.73), アセタミプリド (1.25), クロルフェチル (1.18), イミダクロプリド (0.39), フルフェノクスロン (0.16), フェンピロキシメト (0.06), シンフェノコナゾール(0.04), クロルピリホス(0.04), アジキストロピン (0.02)
9	緑茶	アセタミプリド (0.46), テブコナゾール(0.3), プロピロキシゾン(0.23), ピリホスメチル(0.07), フルフェノクスロン (0.07), チアマトキサム(0.05)
10	緑茶	アセタミプリド (1.46), プロピロキシゾン(0.34), テブコナゾール(0.18), フルフェノクスロン (0.05), クロルフェチル (0.02)
11	玄米茶	テブコナゾール(0.34), クロルフェチル (0.34), トルフェンピラト (0.32), アセタミプリド (0.12), イミダクロプリド (0.04), フルフェノクスロン (0.04)
12	玄米茶	テブコナゾール(0.38), アセタミプリド (0.12), フルフェノクスロン (0.12), イミダクロプリド (0.08), シンフェノコナゾール(0.01)
13	玄米茶	イミダクロプリド (0.74), テブコナゾール(0.56), クロルフェチル (0.4), カルベンダシム (0.23), フルフェノクスロン (0.19), トリアジメノール(0.17), シンフェノコナゾール(0.06)
14	ほうじ茶	テブコナゾール(0.81), クロルフェチル(0.28), アセタミプリド (0.08), シンフェノコナゾール(0.03)
15	ほうじ茶	テブコナゾール(0.14), アセタミプリド (0.02)
16	ほうじ茶	クロルフェチル(0.21), テブコナゾール(0.1), アセタミプリド (0.05), フェンピロキシメト(0.05), シンフェノコナゾール (0.02)
17	ほうじ茶	アセタミプリド (0.05), テブコナゾール(0.04)
18	杜仲茶	
19	杜仲茶	
20	杜仲茶	