

令和3年度

相模原市衛生研究所年報



No. 4 2022.12

はじめに

令和3年度相模原市衛生研究所年報をお届けいたします。

平成12年、保健所設置市になり、法に基づく衛生試験所が設置され、当研究所の前身である神奈川県旧相模原保健福祉事務所の試験室を借用して、検便検査、血液検査、食品検査、飲料水等の検査を行う検査施設としてスタートいたしました。

更に、平成22年に政令指定都市へ移行したことに伴い、食品検査、感染症検査、環境検査等の公衆衛生に係る検査及び研究を行う機関として、平成27年4月から衛生研究所に移行しました。

衛生研究所として、地域保健対策を効果的に推進し、公衆衛生の向上及び増進を図り、指定都市における科学的かつ技術的中核として、保健所の関係課等と緊密な連携の下に、調査研究、試験検査、公衆衛生情報等の収集・解析・提供を行っております。

今後とも市民の皆様に親しまれ、頼りにされる研究機関となるよう、より一層の努力を重ねていきたいと考えています。

この年報が当所に対するご理解を深めていただく機会となり、少しでもお役に立てれば幸いです。

令和4年3月31日

相模原市衛生研究所長
中村 廣志



内容

I. 概要	1
1 沿革	2
2 組織	2
3 施設	2
主要機器整備状況.....	3
II. 検査業務内容	5
1 微生物学的試験.....	6
2 理化学的試験.....	6
3 精度管理検査.....	7
4 研修	8
III. 感染症情報センター	9
IV. 信頼性確保部門	9
V. 調査研究報告書	10
・新型コロナウイルス感染症ワクチン接種後の抗体保有状況調査について	11
・食品の苦情事例（平成 30～令和 3 年度）	13
・生食用食肉の腸内細菌科菌群の検査法の一部改正について	16
・食品添加物分析における確認試験法の確立.....	20
他誌掲載論文抄録	24
発表	24

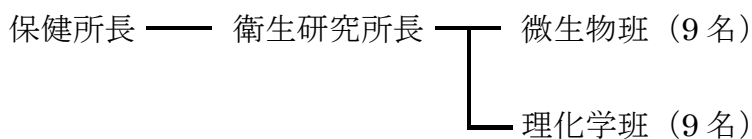
I. 概要

1 沿革

- 平成 12 年 4 月 相模原市が保健所設置市に移行したことに伴い、旧神奈川県相模原保健福祉事務所において保健所衛生試験所として検査業務を開始
- 平成 18 年 3 月 本市環境検査センターと統合し、旧メディカルセンターを全面改修して相模原市富士見 1 丁目に移転
- 平成 22 年 4 月 相模原市が政令市に移行したことに伴い、研究事業を開始
- 平成 23 年 3 月 会議室を検査室へ改修
- 平成 27 年 4 月 保健所衛生研究所へ移行
- 平成 31 年 1 月 感染症情報センターを衛生研究所へ移管
- 令和 2 年 4 月 信頼性確保部門を統合し、衛生研究所へ移管

2 組織

当所は健康福祉局保健所に属する組織であり、衛生及び環境保全に係る試験検査、衛生に係る調査研究、公衆衛生情報の収集・解析・提供、衛生に係る研修指導の事務を所管している。



3 施設

- 所在地 相模原市中央区富士見 1 丁目 3 番 41 号
- 建物構造 鉄筋コンクリート 4 階建て
(環境情報センター及び犬の一時抑留施設と合築)
- 延床面積 2807.9 m²
- 占有面積 2207.9 m² (犬の一時抑留施設を含む)
- 竣工 平成 18 年 (昭和 48 年 10 月竣工の既存施設を改修)

主要機器整備状況

(令和4年3月31日現在)

No.	機器名称	機器メーカー	型式
1	ガスクロマトグラフ (ECD、FID)	島津製作所	GC-2014
2	ヘッドスペースオートサンプラー付ガスクロマトグラフ質量分析計※	Agilent Technologies	Agilent 5977B HSS-GC/MSD システム
3	ガスクロマトグラフ質量分析計	Agilent Technologies	Agilent 7000D/7890B
4	高速液体クロマトグラフ	Agilent Technologies	Agilent HP1260 Infinity II
5	液体クロマトグラフ質量分析計	SCIEX	QTRAP4500
6	液体クロマトグラフ質量分析計	Agilent Technologies	Agilent Ultivo LCMS
7	陽イオン分析用イオンクロマトグラフ (シアンポストカラム付)	Thermo Fisher Scientific	Integrion,AS-PS,PCM520
8	陰イオン分析用イオンクロマトグラフ※	Thermo Fisher Scientific	DionexInterigion
9	誘導結合プラズマ質量分析装置	Agilent Technologies	Agilent 7700X
10	分光光度計	日立	U-2900
11	分光光度計	Thermo Fisher Scientific	NanoDrop One
12	紫外線可視分光光度計※	島津製作所	UV-1900i
13	原子吸光光度計	島津製作所	AA-7000
14	全有機体炭素計	島津製作所	TOC-L CPN
15	水銀濃度計	日本インスツルメンツ	RA-3A
16	DNA シーケンサー	Thermo Fisher Scientific	3500-250-BA04 GeneticAnalyzer
17	PCR 遺伝子増幅装置	タカラ	TP600
18	PCR 遺伝子増幅装置	タカラ	TP650
19	PCR 遺伝子増幅装置	Thermo Fisher Scientific	SimpliAmp PCR System
20	PCR 遺伝子増幅装置	Thermo Fisher Scientific	ProFlex PCR System 3×32Well
21	リアルタイム PCR システム	Thermo Fisher Scientific	QuantStudio5
22	リアルタイム PCR システム	Thermo Fisher Scientific	QuantStudio5
23	リアルタイム PCR システム	Thermo Fisher Scientific	QuantStudio5
24	リアルタイム PCR システム	Thermo Fisher Scientific	QuantStudio5
25	パルスフィールド電気泳動装置	バイオラッド	CHEF DRIII システム
26	蛍光・可視光イメージング装置	ATTO	WSE-5200 Pringtgraph2M
27	生物顕微鏡	オリンパス	BX50
28	生物顕微鏡	オリンパス	CKX53-22PH
29	生物顕微鏡	オリンパス	CKX53
30	赤外分光光度計	日本分光	FT/IR-4600

No.	機器名称	機器メーカー	型式
31	蛍光X線分析装置	日立ハイテク	EA6000VX

※印の機器及び固相抽出送液装置（ジーエルサイエンス株式会社 アクアローダー（AL898））、冷凍機付インキュベーター2台（PHC株式会社（MIR-554-PJ、MIR-154S-PJ）2台を令和3年度特定防衛施設周辺整備調整交付金を使用して更新した。

II. 検査業務内容

1 微生物学的試験

1) 性感染症検査

性感染症である梅毒及び HIV の検査について、337 件の検査を行った。

令和 3 年度は、即日検査のみ実施のため性器クラミジアについては実施中止となった。

2) 感染症法における検査

ア 病原体定点

感染症発生動向調査事業の病原体定点からの臨床検体について分離・同定を行った。

細菌においては、0 件であった。

ウイルスにおいては、2 件について分離培養及び遺伝子検査を行い、2 件とも分離陰性であった。

イ 積極的疫学調査

感染症発生動向調査事業の積極的疫学調査からの臨床検体及び菌株について 16,880 件 16,880 項目の分離・同定を行った。そのうち、16,823 件 16,823 項目は、新型コロナウイルス感染症に係る検査であった。

ウ 健康診断

患者接触者の健康診断として 31 件の腸管出血性大腸菌分離・同定を行った。また、255 件の結核 QFT 検査を行った。

3) 食中毒検査

市内で発生した食中毒及び他自治体で発生した食中毒に関連する検査 5 件について行った。内訳は細菌及びウイルスの分離・同定で 899 項目であった。

4) 食品検査

食品衛生法に基づく行政検査として、冷凍食品、アイスクリーム・氷菓、清涼飲料水、ふきとりなど 65 件、129 項目の検査を行った。

基準値を超えて細菌が検出されたのは

冷凍食品 1 件で、細菌数の基準値超過があった。

5) 水質検査

市民からの依頼による飲料水の細菌検査を 52 件行った。生活衛生課の依頼検査として浴槽水及び採暖槽について、レジオネラ属菌 38 件、大腸菌群 25 件の分離・同定を行った。

6) 苦情品検査

生活衛生課に市民から相談のあった事例のうち、異物 4 件について形態観察を、食材 3 件について食中毒菌等検査を行った。

また、危機管理課から依頼があった除菌製品 1 件について 2 種の培養検査を行い、消毒用エタノール及び次亜塩素酸ナトリウムとの消毒効果の比較を行った。

7) デング熱等媒介蚊のサーベイランス

デングウイルス等を媒介するヒトスジシマカ雌のウイルス保有状況調査を行った。6～10 月にかけて 5 回東京オリンピック競技会事前キャンプ地周辺 4 ヶ所の定点で蚊を採取し、105 匹のヒトスジシマカ雌を捕獲した。検査は定点ごとにまとめて 20 件とし、デングウイルス、チクングニアウイルス及びジカウイルスの遺伝子検査を行った。

いずれの検体からも遺伝子は検出されなかった。

2 理化学的試験

1) 食品検査

ア 食品添加物検査

食品衛生法に基づく行政検査として菓子、清涼飲料水、酒精飲料など 72 検体について、保存料、着色料、甘味料などの検査を実施した。総数は 1,037 項目であった。このうち 44 検体は指定外添

加物としてサイクラミン酸、TBHQ 及び着色料の検査を行った。

表示にない添加物が検出されたものが 1 件あった。内訳は原材料由来と思われる安息香酸がジャムで 1 件であった。

イ 残留農薬検査

食品衛生法に基づく行政検査として市内農産物及び輸入の冷凍食品（ブランチング野菜）23 検体について有機リン系、カーバメート系、有機塩素系などの検査を実施した。総数は 5,092 項目であった。基準値を超えて検出されたものはなかった。

市内農産物で 1 件、輸入の冷凍食品（ブランチング野菜）1 件で定量下限値を超える数値が検出された。定量値は市内農産物のやまといもでペンシクロン 0.01g/kg、輸入の冷凍食品（ブランチング野菜）のいんげんでジメトエート 0.002g/kg であった。

ウ 動物用医薬品検査

食品衛生法に基づく行政検査として市内で流通している畜水産物 6 検体についてテトラサイクリン系抗生物質及び合成抗菌剤の検査を実施した。

総数は 94 項目であった。基準値を超えて検出されたものはなかった。

2) 器具容器包装検査

新型コロナウイルス感染症の影響により中止となった。

3) いわゆる健康食品の医薬品成分検査

痩身や強壮効果を標榜するいわゆる健康食品 5 検体について、シルデナフィル、バルデナフィルなどの検査を行った。総数は 35 項目であった。いずれの検体からも医薬品成分は検出されなかった。

4) 水質検査

市民からの依頼による飲料水、他課か

らの依頼による工場排水や浴槽水の検査を 154 検体について行った。飲料水及び工場排水については水質基準適合検査、浴槽水については濁度及び全有機炭素（TOC）の量又は過マンガン酸カリウム消費量の検査を行った。また、4 検体について排水自主検査を行った。

5) 家庭用品検査

行政検査として市内に流通している繊維製品、洗剤など 30 検体についてホルムアルデヒド、アゾ化合物などの有害物質検査を行った。総数は 116 項目であった。

基準値を超えて検出されたものはなかった。

6) 放射性物質に関する検査

行政検査及び市民持ち込みによる食品、飲料水など 32 検体について、セシウム 134、セシウム 137 などの放射性物質検査を行った。総数は 96 項目であった。このうち 10 検体 30 項目は、神奈川県衛生研究所に検査委託した。

食品及び飲料水において基準値を超えて検出されたものはなかった。

7) 苦情品検査

生活衛生課に市民から相談のあった事例のうち、異物 4 件について蛍光 X 線測定、赤外分光光度計検査などの検査を行った。総数は 8 項目であった。

3 精度管理検査

1) 食品衛生検査における精度管理

食品検査の業務管理に基づき、内部精度管理として 891 検体、5,307 項目について検査を行った。

また、外部精度管理に参加し、15 検体、33 項目について検査を行った。

2) 感染症法における精度管理

内部精度管理として 637 検体、637 項目について検査を行った。

また、国が行う外部精度管理に参加し、12 検体、12 項目について検査を行った。

3) 水質検査における精度管理

内部精度管理として 13 検体、82 項目について検査を行った。

神奈川県水質管理計画及び厚生労働省が行う外部精度管理に参加し、2 検体、2 項目について検査を行った。

4 研修

当所及び関係機関職員の資質向上のため、研修会を企画・実施した。

No.	表題	講師
1	GCMSMS メンテナンス研修	アジレントテクノロジー (株)
2	顕微鏡研修	オリンパスメディカルサイエンス販売 (株)
3	LCMSMS トレーニング研修	(株) エービー・サイエックス
4	残留農薬試験技術研修	所内講師
5	サンガー法研修	横浜市衛生研究所職員

III. 感染症情報センター

感染症情報センターは、国の感染症発生動向調査実施要綱に基づき設置されるもので、各都道府県等域内に1カ所、原則として地方衛生研究所の中に設置することとなっている。

相模原市では、平成31年1月1日から、衛生研究所内に感染症情報センターを設置し、その役割を担っている。

主な業務として、毎週、発生届の報告に問題がないことを確認し、国に報告すること、国が集計した情報を週報・月報として分かりや

すく表やグラフ化し、市民や医療機関に還元すること、その際、トピックスとして適切な時期に感染症の注意喚起等を行うことを行っている。

また、定期的に発生動向について解析を行い、感染症の早期発見、結果報告に努めている。

令和3年は、週報52回、月報12回、病原体検出情報12回を発行した。

IV. 信頼性確保部門

相模原市食品衛生検査施設等における業務管理要綱で設置が定められている信頼性確保部門を独立した体制とするため、令和2年度から衛生研究所に業務を移管した。

収去及び食品衛生検査に従事しない職員が信頼性確保業務を担当した。

食品収去検査において、収去部門及び検査部門の内部点検を行った。令和3年度は新型コロナウイルス感染症の影響により、年1回の実施となった点検は業務管理規程に沿った業務の実施に関して、書類及び実技を確認した。さらに検査部門においては、内部精度

管理計画及びその実施状況を確認した。

外部精度管理に関しては、検査区分責任者と協議の上、(一財)食品薬品安全センター秦野研究所が実施している外部精度管理調査のうち、食品添加物の着色料、残留農薬検査(一斉試験法)、一般細菌数測定及びE.coliに参加し、良好な結果であることを確認した。

V. 調査研究報告書

新型コロナウイルス感染症ワクチン接種後の抗体保有状況調査について

播磨由利子・金沢聡子・井村香織

相模原市は、2021年4月から新型コロナウイルス感染症ワクチンの接種を開始した。2022年2月末日現在、2回目接種終了者は、接種対象（満12歳以上）人口の87.4%にあたる570,540人である。この度、市内A病院の職員に協力いただき、ワクチン2回接種後の抗体保有状況を調査することができたので報告する。

1. 調査対象

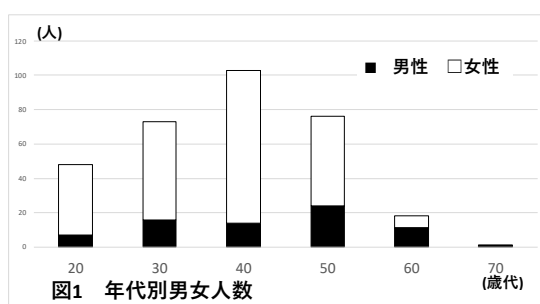
市内のA病院において、抗体検査に同意を得られた職員319人（男性73人、女性246人）を調査対象とした。このうち、ワクチン接種者は307人、未接種者は12人であり、ワクチン接種者中、1回だけ接種は2人、2回接種は305人だった。

ワクチン1回目接種日は、令和3年4月19日から8月18日まで、ワクチン2回目接種日は、令和3年5月10日から8月4日までであった。

検体（血清）採取は、令和3年7月1日から9月10日までで行い、抗体検査は、令和3年8月25日から27日までに行った。

2. 検体

職員は20歳代から70歳代までで、女性の割合が多かった。（図1）



3. 試薬

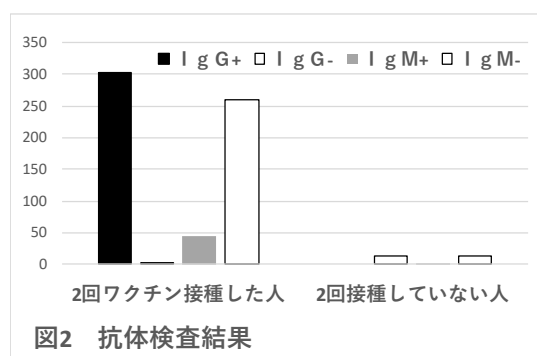
IgG抗体とIgM抗体の検査は、LSIメディエンス社製プロラスト SARS-CoV-2 IgM/IgG (Artron)イムノクロマト法を使用

し、中和抗体阻害率の検査は、MBL社製 SARS-CoV-2 Neutralization Antibody Detection Kit ELISA法を使用した。

4. 結果

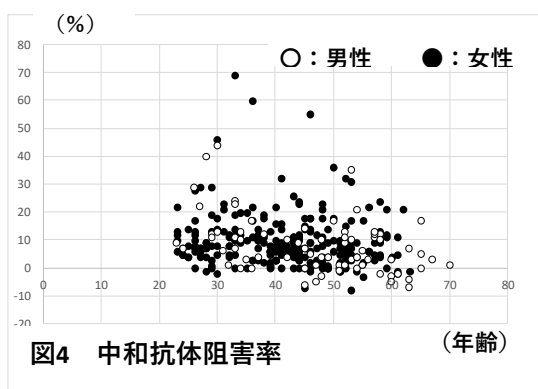
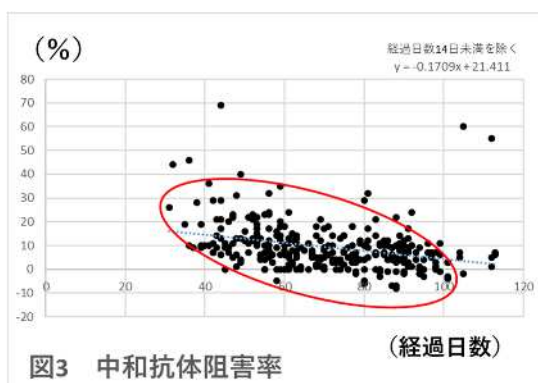
イムノクロマト法の結果は表1及び図2のとおりであった。2回ワクチンを接種している人は、IgG抗体陽性は304検体、IgM抗体陽性は44検体であった。2回ワクチンを接種していない人は、IgG抗体陽性は0検体、IgM抗体陽性は1検体であった。

	IgG+	IgG-	IgM+	IgM-
2回ワクチン接種した人	304	1	44	261
2回接種していない人	0	14	1	13

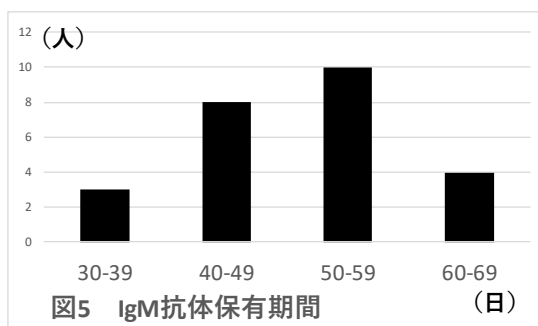


また、中和抗体阻害率について、ワクチン接種からの日数についてプロットしたものを図3に、年齢性別についてプロットしたものを図4に示す。中和抗体阻害率とは、ウイルスがヒトのACE受容体と結合し、感

染することをどの程度阻害するかを百分率で表したものである。数字が大きいほど感染を防ぐ効果がある。



次に IgM 抗体陽性者のワクチン 2 回目接種日から採血日までの日数を図 5 に示す。最長日数は 69 日であった。



5. 考察

1) 抗体検査結果より、ワクチンを 2 回接種した人は、ほぼ全員が IgG 抗体を保有していた。また、接種していない人と比べて有意に抗体を保有していた ($P > 0.05$)。ワクチンを 1 回だけ接種した人も抗体を保有していな

かったことから、ワクチンの 2 回接種により抗体の定着が図られたことが示唆された。2) 中和抗体阻害率とワクチン接種からの経過日数の関係は、徐々に阻害率が下がる傾向が見られた。中和抗体阻害率は、年齢、性別には関係が認められなかった。

3) IgM 抗体は、6 週間ほどで検出率が下がるとの報告¹⁾があり、そのことが示唆された。

6. まとめ

ワクチン接種後の抗体調査を実施したところ、2 回接種で全員に IgG 抗体を検出でき、ワクチンの効果が期待できることがわかった。ワクチンの効果を推定する方法として中和抗体阻害率を検査したところ、ワクチンは、経時的に効果が減じるようであった。また、ワクチンの効果は、年齢、性別による差は無いようであった。

7. 謝辞

市内 A 病院には検体の提供及び倫理審査を実施していただいた。このような調査ができたことを心より感謝申し上げます。

8. 参考文献

1) N Sethuraman 著
Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2
JAMA. 2020Jun9;323(22):2249-2251,
Copyright©2020AmericanMedical
Association. All rights reserved.

食品の苦情事例（平成 30～令和 3 年度）

植田 壽美子

平成 30 年度から令和 3 年度に検査を実施した食品苦情に関する 34 事例の中から、原因が推定できたものや今後の異物検査の参考となるものなど 4 事例について報告する。

はじめに

当所では食品や給食に混入した異物について同定依頼を受けている。平成 30 年度は 10 件、令和元年度は 11 件、令和 2 年度は 7 件、令和 3 年度は 6 件を合わせて 34 件の検査依頼があった。依頼課の内訳は生活衛生課から 25 件、学校保健課から 7 件、危機管理課から 2 件であり、相談の内訳は異物混入に関するものが 26 件、異味・異臭に関するものが 2 件、腐敗疑いの微生物検査に関するものが 3 件、製品効果等に関するものが 3 件であった。

今回は異物 3 事例及び異臭 1 事例について報告する。

1. メンチカツ中の異物

1) 依頼概要

惣菜として購入した鶏肉のメンチカツを喫食したところ、プラスチック片らしき異物が出てきたとの届け出があり、生活衛生課から異物の提供を受け検査を行った。

2) 試料

届け出された異物。参考品として鶏の骨及び軟骨。



図 1 メンチカツ中の異物

3) 検査項目

顕微鏡による観察、フーリエ変換赤外分光光度計による分析（以下「FTIR 分析」という）及び蛍光 X 線分析を実施した。

4) 結果

異物は長辺約 7mm、短辺約 2mm の乳白色な欠片。

顕微鏡観察では不均一な筋状の構造が見られたが由来の推測はできなかった。

FTIR 分析による赤外吸収スペクトルは、有機物特有の波形でありプラスチック片ではないと推測された。また、参考品である鶏の骨と比較したところ、2,400 カイザーの波形が特徴的に一致したがスペクトル全体で比較すると完全な一致ではなかった。

蛍光 X 線分析による X 線強度から、異物はカルシウムが多量に含まれており、亜鉛及びリンも含有が見られた。鶏の骨及び軟骨と比較したところ、カルシウム含有量の違いから軟骨に近かった。

5) 考察

以上から、異物はプラスチック片ではなく、鶏の軟骨に類似した物質であると推測された。

2. うどん中の異物

1) 依頼概要

店舗でうどんを喫食したところ、硬質な異物が出てきたとの届け出があり、生活衛生課から異物の提供を受け検査を行った。

2) 試料

届け出された異物。参考品として施設駐車場のコンクリート、小石、白色陶器及び茶色陶器の 4 種。



図2 うどん中の異物

3) 検査項目

顕微鏡による観察及び蛍光 X 線分析.

4) 結果

異物は長辺約 4mm, 短辺約 3mm の灰白色な欠片.

顕微鏡で観察したところ, 異物は大きさが異なる黒点を含有する白色で, 層状に欠けた構造が見られ, 半透明な部分がガラスのようにも見えた.

蛍光 X 線分析による X 線強度から, 異物はケイ素, カリウム及び鉄を多く含有していた. 参考品 4 種の中では, 白色陶器が一番異物とよく似た含有比を示した. (異物と白色陶器の測定結果を図 3 に示す.)

コンクリート及び小石は異物よりカルシウムの含有比が非常に多く, 茶色陶器は異物より鉄の含有量が多かった.

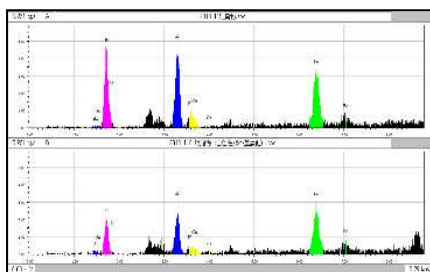


図3 蛍光 X 線分析結果

(上段: 異物, 下段: 白色陶器)

5) 考察

以上から, 異物は陶器に似た物質であると推測された.

3. キャラメル中の黒色異物

1) 依頼概要

棒付きキャラメルを複数本購入して喫食したところ黒い虫のようなもの(黒色部分)が混入していたとの届け出があり, 生活衛生課から当該食品の提供を受け検査を行った.

2) 試料

喫食せずに残っていたキャラメル.



図4 キャラメルと黒色部分

3) 検査項目

顕微鏡による観察, 水溶解試験及び FTIR 分析.

4) 結果

顕微鏡で観察したところ, 虫の形状は見られず, 黒色部分は小さい物だと 0.3mm 程度でキャラメル全体に点々と存在していた.

黒色部はやや軟性を示し, 水に溶解しなかったため, キャラメルを焦がしたものを顕微鏡で観察したところ, 黒色部分とよく似ていた.

FTIR 分析でキャラメルの黒色部分と焦がした部分を比較したところ, 非常に似たスペクトルを示した.

5) 考察

以上から, 異物と思われた黒色部分は虫ではなく, キャラメルが焦げたものと推測された.

4. スポーツドリンクから薬品臭

1) 依頼概要

購入したスポーツドリンクを開封して飲んだところ, 甘みがなく薬品臭がして頭がくらくらしたとの届け出があり, 生活衛生課か

ら当該飲料の提供を受け検査を行った。

2) 試料

当該スポーツドリンクの残品。

3) 検査項目

外観の観察，官能検査，ヘッドスペース GCMS によるスキャン測定，pH 測定，燃焼試験及び食塩溶解度。

4) 結果

外観を観察したところ，苦情品は無色透明であり，市販のスポーツドリンクの白色を帯びた色とは異なっていた。官能検査の結果は，エタノールに芳香を加えたような臭いであった。

ヘッドスペース GCMS によるスキャン測定の結果，苦情品から得られたピークはライブラリ検索でエタノールに高いマッチ度を示した。また，このピークは 10%エタノールの溶出時間と一致した。

その他の検査でも，苦情品は市販のスポーツドリンクと性状が一致せず，酒精飲料に近い性状を示した。

5) 考察

以上から，苦情品は中身がスポーツドリンクではなく酒精飲料と推測され，購入後に入れ替えられた可能性が高いと考えられた。

後に依頼課の調査により，苦情品の中身は家族によって酒精飲料に入れ替えられていたことが判明した。

3. まとめ

近年の苦情事例の中からメンチカツ中の異物，うどん中の異物，キャラメル中の黒色異物及びスポーツドリンクの薬品臭を報告した。

異物の同定に関しては，FTIR 分析及び蛍光 X 線分析により，異物の推測ができたと言える。

異味や異臭に関しては，揮発性成分の分析としてヘッドスペース GCMS を用いた検索が有用であった。またこの検査は，前処理が

ほぼ不要なことから迅速な結果の提供に役立つと思われた。

今後も苦情等の相談に対応する各課に対し，科学的根拠が提供できるよう機器整備や技術向上を図っていきたい。

生食用食肉の腸内細菌科菌群の検査法の一部改正について

田村 有美

令和3年3月30日付け生食発0330第8号により「生食用食肉の腸内細菌科菌群の試験法について」が一部改正され、EE ブイヨンを用いた選択増菌培養の削除及びブドウ糖発酵試験用培地としてアンドレードペプトン半流動培地等に代わり、グルコース加 OF 培地を指定する旨の通知があった。これに伴い、当所で規定していた「腸内細菌科菌群検査実施標準作業書」SOP1190の見直しを行った。

はじめに

生食用食肉の腸内細菌科菌群の試験法は、緩衝ペプトン水 (BPW) を用いて検体を培養することにより損傷菌を回復させた後、腸内細菌科菌群の選択増菌培地 (EE ブイヨン) で選択的に増菌、これを腸内細菌科菌群の選択分離培地であるバイオレットレッド胆汁ブドウ糖寒天培地 (VRBG) に画線培養し、生えてきた淡紅~赤色又は紫色を呈する典型的なコロニーについて、生化学的試験を実施し、オキシダーゼ陰性、ブドウ糖発酵陽性であった場合、腸内細菌科菌群陽性と判定する試験法である。

今回検査法の改正を検討するにあたり、腸内細菌科菌群が陽性判定されることを確認すると共に、遺伝的に腸内細菌科に類似し、VRBG 培地上に紫色コロニーを形成するが、腸内細菌科には属さない *Aeromonas* 科の *Aeromonas* 属菌を用いて、本検査で適正に陰性判定がされているかについても確認検査を実施した。

また、腸内細菌科菌群選択分離培地である VRBG 培地について、製造する会社により形成されるコロニーの色調等が異なるという情報を得たため、従来使用してきた OXOID 社及び当所で他の培地に使用している日水製薬社製を用いてコロニー形態を比較観察した。

1.材料と方法

1) 材料

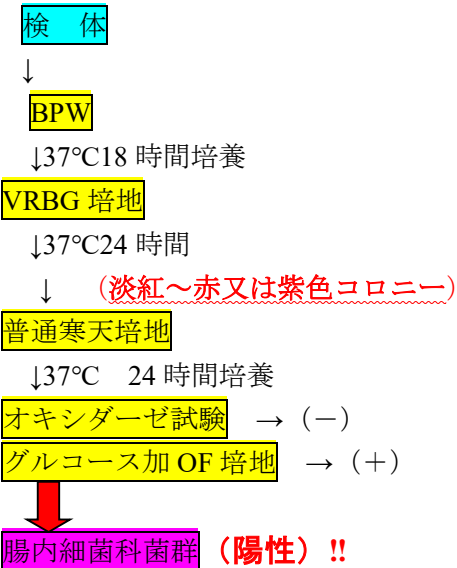
当所で保管する腸内細菌科菌群 5 種類 (*Citrobacter braakii*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella oxytoca*, *E.coli* O111, *E.coli* O157) 及び VRBG 培地において腸内細菌科菌群類似の紫色のコロニーを生じる *Aeromonas* sp. 及び *Aeromonas sobria* の計 7 種類の細菌を用いた。

2) 方法

各菌液 1ml に 9ml の BPW を添加し 10 倍希釈液を作成、それを 37°C18±2 時間培養したもの 1ml を VRBG 培地で重層し、37°C24±2 時間培養した。VRBG 培地の淡赤~赤又は紫色の腸内細菌科菌群の定型コロニーを釣菌し、普通寒天培地に画線塗抹、普通寒天からオキシダーゼ試験及びグルコース OF 培地に穿刺しブドウ糖発酵試験を実施し、オキシダーゼ (-) かつブドウ糖発酵性 (+) となった菌を、腸内細菌科菌群陽性と判定した。

なお、今回は検体として菌液を使用したため、BPW で培養した培養液を 10 倍段階希釈で 10 乗まで希釈し、VRBG 培地に接種した。各平板を確認し、概ね 30~300 個のコロニーが生えた 7 又は 8 乗希釈の培地について、菌の観察、検査を実施した。

【検査の概要】

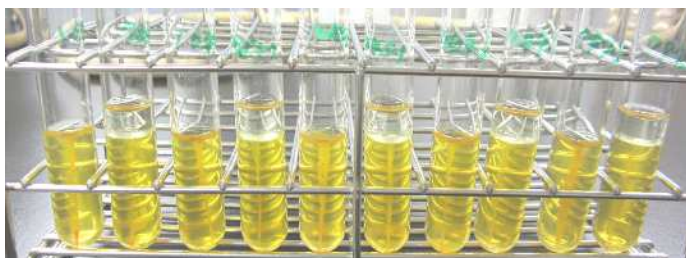


改正法を用いた検討の結果、検体 1～7 の全てについて、VRBG 培地上で、腸内細菌科菌群に特徴的な淡紅～赤、又は紫色のコロニーを形成し、グルコース加 OF 培地を使用したブドウ糖発酵試験においても陽性を示したが、検体 6,7 についてはオキシダーゼ試験において、オキシダーゼ陽性を示したため、腸内細菌科菌群陰性と判定出来た。(写真 1, 2)

その他の検体 1～5 については腸内細菌科菌群陽性と判定できた。(表 1)

また、OXOID 社と日水製薬の VRBG 培地上のコロニーを比較したところ、大きな違いは見られなかったが、菌によっては OXOID 社の方がコロニーが大きく釣菌等の作業しやすかった。(写真 3)

2. 結果








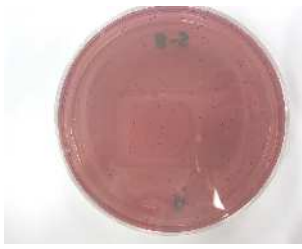

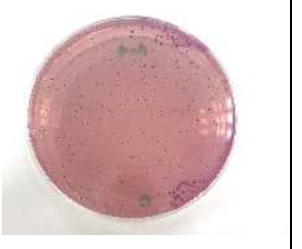
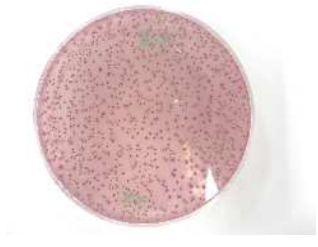


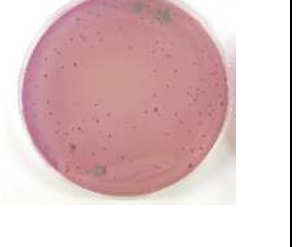

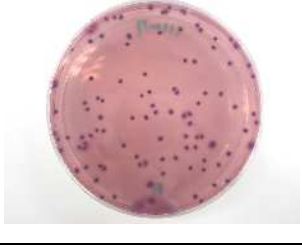
検体№1 2 3 6 7
 【写真1】ブドウ糖発酵試験 (ブドウ糖加 OF 培地)
 全て：陽性



検体№5 6 7
 【写真2】オキシダーゼ試験
 検体 5：陰性
 検体 6,7：陽性

検体№ 細菌	コロニー性状	オキシダーゼ	ブドウ糖発酵	判定 (腸内細菌科菌群)
1 <i>Citrobacter braakii</i>	紫(小)	-	+	陽性
2 <i>Serratia marcescens</i>	紫(小)	-	+	陽性
3 <i>Klebsiella oxytoca</i>	紫(大)	-	+	陽性
4 <i>E.coli</i> O111	紫(大)	-	+	陽性
5 <i>E.coli</i> O157	紫(中)	-	+	陽性
6 <i>Aeromonas</i> sp.	青紫	+	+	陰性
7 <i>Aeromonas sobria</i>	青紫	+	+	陰性

【表 1】腸内細菌科菌群検査結果

№	OXOID	日水製薬	№	OXOID	日水製薬
1			5		
2			6		
3			7		
4			<p>【写真3】 1 <i>Citrobacter braakii</i>. 2 <i>Serratia marcescens</i> 3 <i>Klebsiella oxytoca</i>. 4 <i>E.coli O1115</i> <i>E.coli O157</i> 6 <i>Aeromonas sp.</i>. 7 <i>Aeromonas sobria</i></p>		

3.考察

改正された方法を用いて検査を実施した結果、EE ブイヨンを用いた選択増菌を実施しなくても腸内細菌科菌群の検出が可能であった。また、ブドウ糖発酵性試験についても OF 培地で問題なく判定出来た。

以上のことから、改正試験法を SOP として採用して問題ないことが分かった。

また、VRBG 培地の製品比較において、当所で使用していた OXOID 社の製品のほうが観察しやすかったため、今後も OXOID 社の VRBG 培地を採用したい。

4.まとめ

本検査法の検討により、選択増菌培養の削除及びブドウ糖発酵試験の OF 培地への変更が可能であることが分かった。また、VRBG 培地についても従来から使用してきた OXOID 社の製品が適していることが分かった。

今後さらに SOP の整備を進めると共に、腸内細菌科菌群を衛生指標として用いた環境材料の検査系の整備へつなげていきたい。

参考文献

1) 「生食用食肉の腸内細菌科菌群の試験法について」の一部改正について（令和 3 年 3 月 30 日付生食発 0330 第 8 号）

厚生労働省大臣官房生活衛生・食品安全審議官通知

2) 新たに導入された腸内細菌科菌群試験法の検討

東京健安研セ年報 63（2012.151-157）
下島優香子等

食品添加物分析における確認試験法の確立

伊関 直美

当所において添加物の収去検査は、平成 12 年 3 月 30 日通知 衛化第 15 号「食品中の食品添加物分析法」に基づき、標準作業書を作成して検査を実施している。通常の検査においては通知に示されている高速液体クロマトグラフの条件で行っている。平成 29 年度に高速液体クロマトグラフ質量分析計（以下「LCMSMS」という。）による確認条件を検討し SOP に追加しているが、LCMSMS を更新したことにより、再度測定条件の検討が必要となった。収去で依頼頻度の高い保存料及び甘味料について LCMSMS 測定条件の検討を行ったので報告する。

はじめに

現在、保存料、甘味料などの添加物検査は紫外可視吸光度検出器を使用して測定を行っている。表示にない成分が検出された場合や夾雑成分と思われるピークが重なった場合などは、UV スペクトルの一致率により測定対象物質であるかの確認を行っているが、判断が難しい場合は LCMSMS で確認することとなっている。

今回 LCMSMS を更新したことにより、測定条件の再検討が必要となった。更新前の LCMSMS で検討した項目に加え、サイクラミン酸についても測定条件の検討を行ったので報告する。

1. 検討項目

【保存料】

安息香酸 (BA), ソルビン酸 (SoA), デヒドロ酢酸 (DHA)
 パラオキシ安息香酸エチル (PHBA-Et),
 パラオキシ安息香酸イソプロピル (PHBA-isoPr),
 パラオキシ安息香酸プロピル (PHBA-Pr),
 パラオキシ安息香酸イソブチル (PHBA-isoBu),
 パラオキシ安息香酸ブチル (PHBA-Bu)

【甘味料】

サッカリンナトリウム (SA), アセスルファムカリウム (ASEK), スクラロース

(SUC), サイクラミン酸 (CYC)

2. 機器

LCMSMS : Ultivo LC/QqQ システム
 (Agilent Technologies (株))

3. 方法

1) LCMSMS 条件設定

(1) MS 条件

各項目について、Ultivo LC/QqQ システムの Mass Hunter Optimizer ソフトウェアを使用し、最適条件を設定した。

(2) LC 条件

各項目について、カラム及び移動相の条件を検討した。

2) 標準溶液繰り返し測定

各項目について、検量線が直線となる(相関係数 0.995 以上)範囲の最小濃度の 2 倍程度の濃度(定量下限値相当とする。)の標準溶液を 10 回繰り返し測定し、測定精度を確認した。また、10 回繰り返し測定を行った濃度の標準溶液の S/N 比が 10 以上であることを確認した。

4. 結果

1) LCMSMS 条件

(1) 保存料

保存料 (BA・SoA・DHA) の LC 条件については、まず、SOP に記載のグラジエント条件で検討を行ったが、ポストタイムを含めると分析時間が長いため、アイソクラティックの条件を検討した。また、SOP に記載されている条件は「0.01vol%ギ酸水溶液」と「アセトニトリル」のグラジエント分析だが、通知法の参考 (確認分析法)¹⁾ では「0.05vol%ギ酸含有 5vol%アセトニトリル」と「0.05vol%ギ酸含有 95vol%アセトニトリル」のグラジエント分析とされている。移動相の調製と機器の移動相の置換に掛かる時間を考慮し、「0.1vol%ギ酸水溶液」と「アセトニトリル」のアイソクラティック分析で検討を行い LC 条件を設定した。

また、保存料 (パラオキシ安息香酸エステル類 (PHBA-Et・PHBA-isoPr・PHBA-Pr・PHBA-isoBt・PHBA-Bt)) の LC 条件については、まず、SOP に記載のアイソクラティック条件で検討を行ったが、最後に溶出する物質のピーク幅が広がってしまうため、グラジエントの条件を検討した。また、保存料と同様に「0.1vol%ギ酸水溶液」と「アセトニトリル」で検討を行い LC 条件を設定した。

測定条件を以下に示す。

【LC 条件】

カラム：L-column2 ODS 3 μ m, 2.1 \times 100mm
(CERI)

移動相：A 液：0.1%ギ酸水溶液

B 液：アセトニトリル

[BA・SoA・DHA]

B(%)：25% (10分)

[パラオキシ安息香酸エステル類]

B(%)：30% (5分) \rightarrow (5分) \rightarrow
40% (10分)

流速：0.2mL/min

注入量：2 μ L

カラム恒温槽温度：40 $^{\circ}$ C

【MS 条件】

イオン化法：ESI ポジティブモード

ESI ネガティブモード (BA
の定性イオンのみ)

ネブライザー圧力：50psi

乾燥ガス流量：10L/min

乾燥ガス温度：350 $^{\circ}$ C

キャピラリー電圧：3500V

測定イオン：表 1 のとおり

(表 1) 保存料測定イオン

	定量イオン	定性イオン	フラグメント電圧
BA	123>79 (10V)	121>77 (10V)	80V
SoA	113>95 (5V)	113>67 (10V)	60V
DHA	169>85 (20V)	169>127 (10V)	80V
PHBA-Et	167>139 (5V)	167>95 (15V)	60V
PHBA-isoPr	181>139 (5V)	181>95 (15V)	60V
PHBA-Pr	181>139 (5V)	181>95 (15V)	60V
PHBA-isoBu	195>139 (5V)	195>95 (15V)	60V
PHBA-Bu	195>139 (5V)	195>95 (15V)	60V

() 内はコリジョン電圧

(2) 甘味料

SA 及び ASEK の LC 条件については、SOP に記載の LC 条件では、ODS カラムへの保持が弱いことから移動相にイオンペア試薬を使用しているが、機器の汚染が懸念されることから酢酸アンモニウムを用いて検討を行った。5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液とアセトニトリルで条件を検討した

が、ODS カラムへの保持が弱く 5 分以内に溶出してしまうため、移動相をアセトニトリルからメタノールに変更，カラムのサイズを 100mm から 150mm に変更し LC 条件を設定した。

また，SUC 及び CYC の LC 条件については，SA 及び ASEK と同じカラム及び移動相を使用したアイソクラティック条件を検討し LC 条件を設定した。

測定条件を以下に示す。

【LC 条件】

カラム：Inertsil ODS-3 3 μ m, 2.1 \times 150mm
(GL サイエンス)

移動相：A 液：5mmol/L 酢酸アンモニウム水溶液

B 液：メタノール

【SA, ASEK】

B(%)：5% (5分) \rightarrow (5分) \rightarrow
30% (5分)

【SUC, CYC】

B(%)：25% (10分)

流速：0.2mL/min

注入量：2 μ L

カラム恒温槽温度：40 $^{\circ}$ C

【MS 条件】

イオン化法：ESI ネガティブモード

ネブライザー圧力：50psi

乾燥ガス流量：10L/min

乾燥ガス温度：350 $^{\circ}$ C

キャピラリー電圧：4000V

フラグメント電圧：100V

測定イオン：表 2 のとおり

(表 2) 甘味料測定イオン

	定量イオン	定性イオン	フラグメント電圧
SA	182>42 (30V)	182>106 (20V)	100V
ASEK	162>82	162>78	60V

	(10V)	(25V)	
SUC	395>359 (10V)	395>35 (15V)	80V
CYC	178>80 (30V)	178>95.9 (25V)	160V

() 内はコリジョン電圧

2) 標準溶液繰り返し測定

各項目について，検量線が直線となる（相関係数 0.995 以上）範囲の最小濃度の 2 倍程度の濃度（以下「定量下限値相当濃度」という。）の標準溶液について，10 回繰り返し測定を行った。

保存料（BA・SoA・DHA）は 20, 50, 100, 200, 500 (ppb) の 5 点，保存料（パラオキシ安息香酸エステル類）は 10, 25, 50, 100, 250, 500 (ppb) の 6 点，甘味料（SA, ASEK）は 4, 8, 10, 20, 40, 80, 100 (ppb) の 7 点，甘味料（SUC）は 20, 50, 100, 200, 400, 500 (ppb) の 6 点，甘味料（CYC）は 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 20 (ppb) の 6 点で検量線の検討を行ったところ，相関係数 0.995 以上の良好な直線の検量線となった。

各項目について，定量下限値相当濃度の標準溶液の 10 回繰り返し注入精度の検討を行ったところ，全ての項目で CV 値<10%，10SD<定量下限値相当濃度であり測定精度は良好となった。さらに，定量下限値相当濃度の S/N 比を確認したところ，全ての項目で S/N \geq 10 であった。

5. 考察

以上の結果より，保存料（安息香酸・ソルビン酸・デヒドロ酢酸，パラオキシ安息香酸エステル類）及び甘味料（アセスルファミカリウム・サッカリンナトリウム，スクラロース，サイクラミン酸）について LCMSMS での測定が可能であることが確認できた。この結果を基に確認条件として

各項目の SOP の LCMSMS 測定条件を変更又は追加する。

なお、項目により検量線が直線性となる濃度範囲が異なるため、検体の希釈倍率に注意が必要である。

また、測定項目や試料の種類によってはイオンサプレッションが起きる可能性があるため、定量する場合には標準添加試料で測定値の補正が必要となる場合がある。今後、実試料に標準添加し、イオンサプレッション及びイオンエンハンスメントの傾向を検討する予定である。

6. 参考文献

- 1) 令和元年 6 月 28 日 厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長通知
薬生食基発 0628 第 1 号
令和元年 6 月 28 日 厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長通知
薬生食監発 0628 第 1 号
「食品中の食品添加物分析法」の改正について」

他誌掲載論文抄録

(令和3年4月～令和4年3月)

相模原市における新型コロナウイルス感染症のウイルス分離 培養について

井村香織 金沢聡子 播磨由利子

神奈川県公衆衛生学会誌第67号(令和3年度), 51-52

大豆食品のタンパク質測定に及ぼす調理・加工の影響

渡邊裕子(神奈川県衛研), 秋山晴代(帝京平成大学), 大澤伸彦(川崎市健康安全研究所), 井村香織(相模原市衛研), 伊関直美(相模原市衛研), 植田壽美子(相模原市衛研), 政岡智佳(神奈川県衛研), 赤星千絵(川崎市健康安全研究所)

食品衛生学雑誌 62,6, 193 - 202
(December 2021)

発表

(令和3年4月～令和4年3月)

第31回日本禁煙推進医師歯科医師連盟
学術総会

令和4.2.26-27 静岡

・相模原市のCOVID-19における喫煙に関するHERSYSデータ解析

相模原市保健所 鈴木仁一

相模原市衛生研究所 金沢聡子

播磨由利子

中村廣志

令和3年度神奈川県内衛生研究所等連絡協議会理化学情報部会

令和4.3.3 WEB

・水素キャリアガスを用いたGC-MS/MSによる食品中の残留農薬分析について

井上里沙

・アゾ化合物検査に用いる珪藻土カラムについて

植田 壽美子

